

Oponentní posudek disertační práce

Ústav: Středoevropský technologický institut VUT Akademický rok: **2019/2020**

Student (ka): **Jelena Pejovic Simeunovic**

Doktorský studijní program: **Pokročilé materiály a nanovědy**

Studijní odbor: **Pokročilé nanotechnologie a mikrotechnologie**

Vedoucí disertační práce: **doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.**

Oponent disertační práce: **Ing. František Foret, DSc.**

Název pojednání práce: **Nové metody pro rychlou detekci biologického materiálu na čipu**

Aktuálnost tématu disertační práce:

Miniaturizace je jedním z hlavních trendů současného vývoje moderní analytické instrumentace. Využití mikrofluidiky a reagentů na bázi nanočástic je velmi aktuální.

Miniaturization is one of the main trends of the current development of modern analytical instrumentation. The use of microfluidics and nanoparticle-based reagents is very topical.

Splnění stanovených cílů:

Cílem této disertační práce je vývoj a testování techniky pro separaci a detekci různých biologických materiálů. Instrumentálně je práce založena na elektroforéze na čipu s fluorescenční detekcí separovaných biokonjugovaných kvantových teček. Lze konstatovat, že stanovené cíle byly splněny.

The aim of this thesis is to develop and test techniques for separation and detection of various biological materials. Instrumentally, the work is based on chip electrophoresis with fluorescence detection of separated bioconjugated quantum dots. It can be stated that the set objectives have been met.

Postup řešení problému a výsledky disertace:

Práce navazuje na předchozí experimenty, které doktorandka započala již během magisterského studia. Byla připravena kompletní instrumentace včetně separačního čipu, zdroje vysokého napětí a fluorescenčního detektoru.

Připravené kvantové tečky i jejich konjugáty s proteiny vykazují velmi nízkou polydisperzitu a během separací byly zaznamenány symetrické píky s velmi dobrou separační účinností.

Práce je organizována do sedmi částí. Po krátkém úvodu jsou vysvětleny základní koncepty a technologie čipů, mikrofluidiky, kapilární elektroforézy, imunoanalýzy a použití biokonjugovaných kvantových teček v biotechnologii a medicíně. V dalších částech je prezentováno vyvinuté zařízení, použité metody a vlastnosti připravených kvantových teček včetně jejich kovalentní konjugace s hovězím sérovým albuminem. V šesté části je popsána víceanalytová imunoanalýza založená na luminiscenci konjugovaných kvantových teček a jejich separaci pomocí elektroforézy na čipu. Závěry jsou pak shrnuty v poslední, sedmé části.

The thesis is a follow-up to previous experiments, which the doctoral student started during her master's studies. Complete instrumentation was prepared including separation chip, high voltage source and fluorescence detector. The prepared quantum dots and their protein conjugates show very low polydispersity and symmetrical peaks with very good separation efficiency were recorded during the separations.

The work is organized into seven parts. After a short introduction, basic concepts and technologies of chips, microfluidics, capillary electrophoresis, immunoassays and the use of bioconjugated quantum dots in biotechnology and medicine are explained. The next part presents the developed device, used methods and properties of prepared quantum dots including their covalent conjugation with bovine serum albumin. The sixth part describes multi-analytical immunoassay based on luminescence of conjugated quantum dots and their separation by chip electrophoresis. The conclusions are then summarized in the last, seventh part.

Význam pro praxi nebo rozvoj vědního oboru:

Dosažené výsledky potvrzují experimenty dosažené na obdobných světových pracovištích a ukazují, že je realistické očekávat využití těchto analytických přístupů v praxi. Je také zjevné, že výhoda multidisciplinárního zaměření laboratoře by mohla v budoucnosti vést i k vývoji komerčně uplatnitelného zařízení.

The results obtained confirm the experiments achieved in similar world workplaces and show that it is realistic to expect the use of these analytical approaches in practice. It is also obvious that the advantage of the laboratory's multidisciplinary focus could also lead to the development of a commercially viable device in the future.

Formální úprava disertační práce a její jazyková úroveň:

Práce je psána anglicky a svou úrovní odpovídá podobným pracím na českých univerzitách. Občasné drobné překlepy formální a jazykovou úroveň nijak nesnižují.

The thesis is written in English and its level corresponds to similar works at Czech universities. Occasional minor typos do not lower the formal and linguistic level.

Připomínky a dotazy:

V práci jsem nenašel srovnání citlivosti použitého LED fluorescenčního detektoru s komerčními detektory používanými v kapilární elektroforéze, nebo ELISA. S tím souvisí otázka příčiny nízké dosažené citlivosti při stanovení modelových proteinů. Jde o problém citlivosti instrumentace, nebo chemického postupu?

In this work I did not find a comparison of sensitivity of used LED fluorescence detector with commercial detectors used in capillary electrophoresis or ELISA. Related to this is the question of the cause of low sensitivity in the determination of model proteins. Is it a problem of instrumentation sensitivity or chemical process?

Celkové zhodnocení disertační práce:

Disertační práce musí obsahovat původní výsledky uveřejněné jak formou vědeckých publikací, tak i formou prezentací na vědeckých konferencích. Po úspěšné obhajobě tak předložená disertační práce **splňuje podmínky VUT udělení titulu PhD včetně § 47 odst. 4 zákona.**

Disertační práci Jeleny Pejovic Simeunovic doporučuji k obhajobě pro udělení akademického titulu "doktor" (Ph.D.).

The dissertation must contain the original results published both in the form of scientific publications and presentations at scientific conferences. After successful defense, the submitted dissertation fulfills the conditions of BUT for the award of the PhD title, including Section 47 (4) of the Act.

I recommend the dissertation of Jelena Pejovic Simeunovic for the defense of the academic title "Doctor" (Ph.D.).

V Brně dne 2. 3. 2020

Ing. František Foret, DSc.