

Posudek oponenta *bakalářské práce**

Autor práce: Kubištelová Alžběta

Název práce: Automatizace biochemického experimentu s využitím robotické pipetovací stanice

Kritérium hodnocení	Dílčí hodnocení**						
	A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
Celkový rozsah práce, vyváženost jednotlivých částí, struktura			X				
Kvalita teoretické části (množství poznatků z literární rešerše a jejich zpracování)				X			
Výstižnost formulace základního problému a cílů práce			X				
Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci			X				
Úplnost popisu použitých metodik a postupů					X		
Úroveň zpracování výsledků (grafy, tabulky, fotografie)			X				
Úroveň legend obrázků a tabulek (správnost, srozumitelnost a úplnost)				x			
Adekvátnost interpretace výsledků			X				
Způsob diskuse, začlenění do kontextu výzkumu na pracovišti a ve světě							X
Výstižnost souhrnu			X				
Jazyková a stylistická úroveň, názvosloví							X
Správnost citací použité literatury (citace v textu a v seznamu, jednotný styl, oficiální zkratky časopisů)							
Navrhovaná známka***:							
C *							

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Výsledná známka nemusí být průměrem známek dílčích.

Komentář k práci, připomínky a dotazy.

Tato část je nepovinná, libovolného rozsahu. Slovní zhodnocení vhodné zejména při horším známkování a v případě, že výsledná známka není průměrem známek dílčích (např. když některému kritériu byla dána větší váha).

Předložená bakalářská práce studentky A. Kubištelové je specifická svým zaměřením jak po teoretické, tak také praktické stránce a je nutné na tuto práci pohlížet více prakticky než vědecky. Cílem práce bylo seznámení se s přístrojem „Pipetovací stanice Tecan Freedom EVO 100/8“, jeho zprovoznění a zavedení prvních programů pro využití v laboratoři. V rámci práce byly vytyčeny tyto cíle: 1) byla testována přesnost pipetování přístroje, 2) byla provedena optimalizace podmínek pro nasávání a vypouštění roztoků obsahující analyty různé povahy, 3) bylo provedeno porovnání rychlosti pipetování přístroje vs. manuální pipetování, a 4) finálně byly testovány minimální zbytkové objemy kapalin pro dosažení bezproblémového průběhu programu. Plánované cíle byly během bakalářské práce dosaženy a získané výsledky jsou shrnuty ve výsledcích, diskuzi a závěru.

Se závěrem práce budu polemizovat. Určitě bych si nedovolil tvrdit, že zásadní nevýhodou robotické stanice je složitost přípravy experimentu pro analýzu vzorků ve srovnání s manuálním pipetováním. Samozřejmě, že pro jednotlivé malé série vzorků s proměnlivými podmínkami je výhodnější použití automatických pipet. Ale výhoda robotických pipetovacích stanic se projeví při práci s velkými sériemi vzorků, které jsou zpracovávány pomocí přesně definovaného spektra metod. Také bych si nedovolil tvrdit, že po osvojení postupů programování stanice, může provádět pipetování každý bez zkušeností. To není tak zcela pravda, protože takový člověk nebude znát závislosti nutné pro nastavení vhodných podmínek pro pipetování např. vzorků s vysokou viskozitou.

Připomínky:

1. Teoretická část práce obsahuje převážně informace z manuálu k pipetovací stanici a je ji spíše možné charakterizovat jako překlad než literární rešerži. Chápu, že studentka se musela seznámit s jednotlivými kroky nastavení přístroje pro jeho použití, ale informace vypsané v práci lze stejně tak najít v originálním manuálu. Spíše než prostý překlad bych uvítal například kapitolu s diskuzí nad souhrnným nastavením parametrů věnovaným vztahu mezi rychlosti nasávání a vypouštění z hlediska změn viskozity kapalin, přítomnost pěnících činidel nebo vysvětlení funkce a výhody využití kapacitní detekce hladiny na přesnost pipetování vs. nastavení nasávání a pipetování z definované výšky ve zkumavce a tak podobně.
2. Metodická část práce je nejslabší částí. Chybí zde řada informací týkajících se přípravy roztoků použitých k práci, u metody pipetovací stanice chybí prakticky veškerý popis přípravy zásobních roztoků analytů, složení pufru a také finální objemy jednotlivých roztoků pipetovaných stanicí do 96 jamkové desky. Stejně tak tyto informace chybí i při experimentech provedených během manuálního pipetování.
3. V kapitole výsledky jsou rovnice závislosti u grafů 22 -26 přiřazeny opačně. Rovnice, ve kterých jsou směrnice záporné, mají být u klesající závislosti a pozitivní zase u rostoucí závislosti.
4. Dále na obrázku 30 chybí podrobné informace o koncentraci sondy a proteinu, při které tato spektra byla naměřena.

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Výsledná známka nemusí být průměrem známek dílčích.

5. Obrázky 31, 33, 34, 35 obsahují stejné popisky bez rozlišení, i když zobrazují výsledky z různých měření. Popis grafu by měl obsahovat všechny důležité informace k obrázkům bez nutnosti vyhledávání informací v textu.
6. V grafech chybí chybové úsečky nebo zobrazení všech naměřených hodnot u experimentů, které byly provedeny v 96 jamkových deskách.
7. Tabulka č. 1 uvedená v diskuzi obsahuje informace o množství použitých jednotlivých roztoků. Vzhledem k tomu, že v metodikách a ani v souhrnu výsledků nejsou uvedeny objemy pipetovaných roztoků pro stanici a manuální pipetování, tak je toto problematické pro čtenáře porovnat. Pak u experimentu „titrace ve spektrofotometru“ je u proteinu uvedeno 60 μ l, což mi nevychází, když v textu je uvedeno, že na jeden experiment bylo použito 30 μ l a experiment byl proveden 3x (viz. Metody str. 32).

Otázky:

1. Byly po kalibraci pipetovací stanice provedeny kontrolní testy s jinými eppendorf zkumavkami od stejné firmy? Byly dosaženy stejné přesnosti pipetování jako při kalibraci?
2. Výsledné absorbance a jejich přírůstky, které byly naměřeny v 96 jamkových deskách, jsou velmi malé. Jaký byl finální objem kapaliny a tím i finální optická dráha v 96 jamkové desce při měření absorbance? Nebylo by možné zvýšit objem pipetovaných roztoků do desky, tak aby se využila celá jamka s objemem okolo 300 μ l?

Závěr: práci ~~ne~~/doporučuji* k obhajobě.

V Olomouci dne 23.5.2016

Mgr. René Lenobel, Ph.D.

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Výsledná známka nemusí být průměrem známek dílčích.