

Karolína vypracovala v laboratoři interakcí vektor-hostitel již svou bakalářskou práci, která byla zaměřena na práci s buněčnými liniemi a vlivu SGE na boreliemi vyvolanou apoptózu buněk. Její magisterské téma na bakalářskou práci nenavazovalo.

Karolína započala magisterské studium v roce 2006. Vzhledem k tomu, že v té době bylo na našem oddělení aktuální téma využití DNA vakcinace v pokusech s protiklíštěcí imunitou, bylo Karolíně nabídnuto, aby tuto metodu vyzkoušela a pokusila se o její zavedení či optimalizaci pro naše potřeby. DNA vakcíny mají oproti klasické vakcinaci rekombinantním proteinem několik výhod: Příprava konstruktů je jednodušší, časově méně náročná a díky intracelulární expresi antigenu umožňuje lépe indukovat i Th1 odpověď, která je právě v protiklíštěcí imunitě důležitá. Na počátku byl úmysl imunizovat myši antigenem ze slin resp. slinných žláz a poté pozorovat zda se vyvine reakce při vpichu samotných slin. Protože první pokusy nevyšly podle očekávání, rozhodla se Karolína zjistit optimální podmínky, kdy bude DNA vakcinace účinná.

Kandidáti pro imunizaci byly vybráni na základě předchozích prací, které se zabývaly buď sekvenováním nebo skríníngem cDNA knihoven ze slinných žláz. Peptid označený jako contig14 je členem multigenní rodiny proteinů s nejvyšším zastoupením ve slinných žlázách. Ostatními kandidáty byly serpiny, které byly v knihovně objeveny pomocí skríníngu radioaktivně značenou DNA sondou. DNA vakcíny byly vytvořeny pomocí vektoru VR2001 speciálně navrženého pro laboratoř dr. Valenzuely, s nímž náš laboratoř spolupracovala, a který nám malé množství vektoru poskytl. Podle imunizačního schématu používaného v laboratoři dr. Valenzuely Karolína i postupovala.

Karolíně se podařilo úspěšně připravit celkem 6 konstruktů, a nimiž nadále pracovala. Mně připadla úloha školitele specialisty právě pro tuto část práce, tedy přípravy vakcín. Mohu říci, že v této fázi byla Karolína schopná rychle pochopit jednotlivé metody a nadále je prováděla bez mé asistence. Musím proto ocenit Karolíninu snahu o samostatný přístup a zároveň cit pro to, aby poznala, kdy je čas se dojíít zeptat.

O samotné vakcinační části práce toho moc nevím, jen to, že ne vše vždy šlo podle plánu a tak rychle, jak by si Karolína představovala. To byl i jeden z důvodů, proč své studium o rok prodloužila. Druhým důvodem byla několikaměsíční stáž ve skotském Glasgow v rámci programu Erasmus. Přesto si myslím, že se Karolíně nakonec podařilo získat některá zajímavá data, která jsou v její práci uvedena. Pokud bych měl Karolíně něco vytknout, bylo by to zřejmě časové podcenění psaní diplomky a někdy také nedůslednost ve vedení dokumentace svého postupu. Nicméně vzhledem k mým dokumentačním schopnostem musím přiznat, že ve mně neměla moc dobrý příklad.

Nakonec bych chtěl zdůraznit, že Karolína je schopná samostatné práce na projektu, má velmi slušné dovednosti jak v imunologické, tak i v molekulárně biologické laboratoři a myslím, že je schopná si rychle osvojit nové metody, což se jí bude určitě hodit, až bude pokračovat v doktorandském studiu.

V Českých Budějovicích 28.5.2009

RNDr. Jindřich Chmelař
Školitel specialista