

Oponentský posudek k bakalářské práci Markéty Vopalecké „Příprava monoklonálních protilátek proti *Cryptosporidium muris*“

Autorka předkládá práci, která v literárním úvodu seznamuje čtenáře se studovaným parazitem a s několika imunodiagnostickými metodami, ve druhé části popisuje práci na přípravě monoklonálních protilátek proti oocystám *C. muris*. V průběhu řešení zadaného problému využívá celou řadu laboratorních metod, od barvení preparátů a diagnostiky až po přípravu hybridomů a testování aktivity protilátek jimi produkovaných.

Z hlediska členění, úpravy, dodržení citační normy apod. je předložená práce v pořádku, ačkoli některé citace jsou dle mého názoru uvedeny na nevhodném místě. Např. tvrzení, že takřka 50 let stála kryptosporidia stranou zájmu bych neilustroval prací Wetzla (1938), popisující nový druh kryptosporidie (byť se později ukázalo, že neplatný). Na str. 3 např. autorka cituje práci z roku 1970 bezprostředně za tvrzením „Existuje více než 80 izolátů *C.* uvedených jako genotypy.“ – předpokládám, že popisy těchto genotypů jsou výrazně mladší než citovaná práce. U obr. 1 není zmíněn zdroj.

Práce obsahuje menší množství překlepů (např. „rosuspendována“ místo „resuspendována“, str. 20, „postsynetickou“ místo „postsyntetickou“, str. 28) a poněkud větší množství chyb v interpukci (např. chybějící čárka, případně tečka, ve větě „... vývoj je epicelulární je zde pravděpodobná autoinfekce ...“, str. 7, přebytečná čárka v první větě na str. 19, aj.). Chyby tohoto typu jsou nicméně takřka samozřejmou součástí prací podobného rozsahu a považuji je za podružné detaily. Za další drobnosti lze považovat např. chybné používání taxonomických kategorií – na str. 3 píše autorka o vztazích mezi „druhy *Cryptosporidium* a *Gregarina*“ – zde by bylo korektní užít termínu „rody“, později, na straně 7 píše o „kmenech Primates, Lagomorpha, Carnivora ...“, samozřejmě jde o řády. Možná by v tomto případě bylo vhodnější užít jejich česká označení, tím by se přinejmenším autorka vyhnula překlepu v „Artiodactyla“ – v práci chybně jako „Artiocadtyla“. Na str. 28 užívá autorka tvar „isolát“, jinde „izolát“ – doporučuji sjednotit. V seznamu literatury je v jednom případě jméno prvního autora uvedeno s diakritikou, ostatní bez ní („Pavlásek, Lavickova, Horak, Kral, Kral“)

Některá tvrzení jsou v práci formulována poněkud neobratně. Např. „[oocysty] jsou schopné [...] být odolné“, str. 8. Věta „Oocysty z gastrointestinálního traktu jsou vylučovány s výkaly, ty v dýchacích cestách vystupují z těla s respiračním nebo nasálním sekretem.“, str. 7, připouští dvojí výklad ... Spojení „... substrát, který je katalyzován enzymem ...“, str. 13, považuji za nevhodné – domnívám se, že enzym nekatalyzuje substrát, ale reakci. Také spojení „produkce rozpustné barvy, jejíž intenzita ...“, str. 13, bych raději vyjádřil delším opisem obsahujícím slova „barvivo“ a „zbarvení“. Nevím, co znamená „automatizace potenciálu“, str. 12, a „rychlost interakce antigen-protilátka“, str. 13. První větu kapitoly 4.2 jsem nepochopil ...

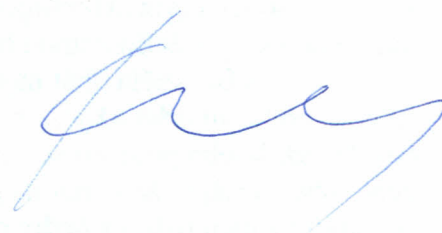
Z faktografického hlediska je práce bez vážných chyb, snad bych si jen dovolil nesouhlasit s příliš odvážným tvrzením „Obecně platí, že izoláty z jedné třídy obratlovců nebyly infekční pro zvířata z jiné třídy.“, str. 3. Existují práce (např. Akiyoshi et al., *Infection and immunity* 2003) dokládající infekčnost *C. meleagridis* jak pro ptáky tak pro savce, mj. člověka. Kapitola „3.1 Charakteristika monoklonálních protilátek“ uvádí několik hesel (mj. „homogenita“ a „specifičnost“), za pomlčkou za těmito hesly následuje text, který proti očekávání s těmito hesly vlastně nesouvisí (viz „Homogenita – protilátky jsou nejlépe charakterizované přírodní makromolekuly s definovanou biologickou aktivitou“; snad ano, ale jak to souvisí s homogenitou?). Autorka by vůbec měla dbát na důslednější definování pojmů – třeba termín „epitop“ je definován až poté, co ho autorka užije, str. 9. Podobně původ některých zkratk, např. „ELISA“, je ozřejmen (str. 11) až dlouho poté, co se s nimi čtenář poprvé setká (str. 9), význam jiných zkratk vysvětlen není vůbec. Chápu, že v mnoha případech je význam obecně známý, ale mě osobně přemítání nad některými z nich rušilo z četby práce (např. FITC-C-MAbs, str. 11, ale i třeba fixáže SAF a PVA, str. 13 aj.). V podobných případech doporučuji alespoň připojení seznamu použitých zkratk v závěru práce. Uvítal bych alespoň stručné objasnění principu popisovaných imunologických metod,

zejména kapitoly „Copro-Antigen Detection Immunoassays“ a „Immunochromatographic Assay“ jsou až příliš stručné.

Předloženou práci **doporučuji k obhajobě**, v tuto chvíli navrhuji hodnotit ji známkou „**velmi dobře**“, ovšem pokud autorka prokáže svou schopnost prezentovat výsledky své práce a reagovat v diskusi na odborné dotazy, bude mi potěšením přiklonit se ke známce „výborně“.

K práci mám několik dotazů:

1. na str. 27 autorka uvádí, že Iseki et al. v roce 1989 prokázali infekčnost *C. muris* pro člověka, přitom první případ infekce člověka tímto druhem zaznamenali Katsumata et al. až o 11 let později. Jakým způsobem tedy byla prokázána infekčnost *C. muris* pro člověka v první uvedené studii?
2. Jakým způsobem byla vyhodnocována intenzita pozitivní reakce (hodnocená stupnicí + až +++) testovaných protilátek? Z tabulky II je zřejmé, že v některých případech intenzita pozitivní reakce určitou dobu roste s tím, jak se zvyšuje titer – je to běžné? Jaké má pro tento fenomén autorka vysvětlení?
3. Přestože testování protilátek prokázalo, že připravené protilátky zkříženě reagují i s antigeny jiných druhů kryptosporidií, je zřejmě jejich afinita k těmto „necílovým“ druhům nižší. Postačuje pozorovaný rozdíl v afinitě k využití protilátek při druhové identifikaci *C. muris*?



18.5.2011 v Českých Budějovicích

Mgr. Martin Kostka, Ph.D.