

Posudek školitele na bakalářskou práci Markéty Vopalecké na téma:
„Příprava monoklonálních protilátek proti *Cryptosporidium muris*“

Bakalářská práce s tímto tématem byla zpracovávána s cílem vytvořit alternativní, na protilátkách založený detekční systém oocyst kryptosporidií ke komerčně dodávaným kitům, protilátky získané hybridomovou technikou charakterizovat z hlediska specifity a senzitivity.

Markéta Vopalecká se ke zdárnému splnění vytyčených cílů musela vypořádat s celou řadou technických problémů spojených s nutností získat čistou suspenzi oocyst kryptosporidií potřebnou k imunizaci myši. Tento fakt vypadá sice triviálně, nicméně běžně používané purifikace oocyst pomocí sacharóзовého a césiu-m-chloridového gradientu nebyly pro daný účel dostatečné, proto musela Markéta nashromáždit o řád vyšší počet oocyst než bylo původně zamýšleno a poté absolvovat mnohahodinové sortování čistých oocyst pomocí průtokového cytometru na Mikrobiologickém ústavu AVČR v Krči. Z výše zmíněného vyplývá, že Markéta si již během prosté přípravy antigenu k imunizaci myši osvojila práci s laboratorními zvířaty, detekční a purifikační metody rutinně používané při práci s kryptosporidii a navíc se seznámila s prací na průtokovém cytometru. Posléze Markéta zvládla hybridomovou techniku přípravy monoklonálních protilátek a získala 7 stabilních subklonů produkujících protilátky proti antigenům oocyst kryptosporidií.

Markéta Vopalecká prokázala schopnost pracovat s literaturou a vyhledávat relevantní informace, ale jak již z povahy práce vyplývá, je spíše prakticky zaměřená bez provádění experimentů, z důvodu nedostatku srovnatelných dat, bylo těžké získané výsledky v diskuzi porovnat s literárními zdroji. Proto je diskuze napsána spíše v obecné rovině přípravy monoklonálních protilátek, jejich charakterizace a metod používaných k detekci kryptosporidií.

Dle mého názoru Markéta Vopalecká splnila cíle bakalářské práce a jí získané protilátky reagující s povrchovými antigeny oocyst jsou použitelné jak pro žaludeční, tak pro střevní kryptosporidie, což umožňuje universální použití v laboratorní praxi, přičemž pomocí titrování protilátek lze úspěšně odlišit jednotlivé, i morfologicky neodlišitelné druhy kryptosporidií, což bylo primárním účelem zadání této bakalářské práce.

Práci Markéty Vopalecké doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 20.5.2011

RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.