

Posudek školitele na magisterskou diplomovou práci Kristiny Kocarové „Interakce viru klíšťové encefalitidy s myšními keratinocyty“

Cílem diplomové práce Kristiny Kocarové bylo prokázat replikaci viru KE v myších keratinocytech a zabývat se otázkou, zda je replikace viru v těchto buňkách ovlivněna klíštěcím slinami.

Na začátku experimentální práce musela Kristina zvládnout poměrně náročnou metodu přípravy a kultivace keratinocytů. Vzhledem k její laboratorní zručnosti se jí to hned napoprvé podařilo a buňky rostly na mikroskopických sklíčkách in v jamkách kultivačních destiček. Potíže nastaly s uchováním buněk v tekutém dusíku – po rozmražení byla vysoká úmrtnost a buňky nechtěly růst. Infekce buněk proběhla úspěšně a virový antigen bylo možno prokázat nepřímou imunofluorescencí až ve 30% buněk. Pomocí protilátky proti keratinu si Kristina ověřila, že virus se replikuje skutečně v keratinocytech. Plakovou titrací viru v mediu z kultur keratinocytů Kristina ukázala, že tyto buňky skutečně virus produkují, i když ne v příliš vysokých titrech (10^5 PFU/ml).

Ovlivnění keratinocytů klíštěcími slinami ukázalo, že sliny zvyšují replikaci viru (až 14x). Toto zvýšení by velmi pravděpodobně bylo statisticky průkazné, pokud by experimenty nebyly provedeny pouze v duplikaci.

V každém případě přinesla diplomová práce Kristiny Kocarové zajímavé a pro vědu nové výsledky. Množení viru KE v keratinocytech bylo dosud dokumentováno pouze v jedné práci (Labuda et al. 1996) více méně jako vedlejší výsledek, účinek klíštěcích slin na tuto replikaci nebyl dosud popsán. Je třeba zmínit, že enhancující účinek klíštěcích slin na replikaci viru KE není zdaleka prokazován u všech permisivních buněk a obecně se prokazuje obtížně. V budoucnu bude třeba zabývat se otázkou, jaký význam má pro přenos viru KE jeho replikace právě v keratinocytech, které tvoří více než 90% buněk epidermis, a zhodnotit efekt klíštěcích slin na keratinocyty v souvislosti se slinami asistovaným přenosem viru.

Jak už jsem zmínil, Kristina byla velmi šikovná v laboratorní práci, metody práce s keratinocyty, imunofluorescenci nebo titrací viru zvládla velmi dobře. Její přístup byl velmi zodpovědný a pečlivý. Trochu potíže měla s písemným projevem, formulováním výsledků a závěrů vědeckým jazykem.

Celkově jsem byl s její prací spokojen a diplomku doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 18. 5. 2021



Prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc.