

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Pavly Šoffrové na téma:

Příprava agonistické myší monoklonální protilátky proti lidskému CD40 antigenu

Diplomantka si pro svou práci zvolila přípravu monoklonálních protilátek proti lidskému CD40 antigenu metodou hybridomové technologie, následnou charakterizaci těchto protilátek a odlišení jejich možných biologických funkcí na agonistické a antagonistické. Lidský CD40 antigen je vyjádřen zejména na povrchu antigen prezentujících buněk, ale také na některých imunokompetentních buňkách přirozené imunity i buňkách celé řady tkání zdravých, ale také nádorových. Jedná se o molekulu, která se spolu se svým ligandem CD40L (molekulou CD154) účastní nejen kostimulačního signálu pro B lymfocyty, ale celé řady fyziologických i patologických procesů v organismu. A právě z tohoto důvodu je na molekulu CD40 zaměřena pozornost výzkumu zejména v oblasti imunoterapie nádorů, autoimunit či jiných zánětlivých onemocnění.

Studentka si klade za cíl připravit myší monoklonální protilátky proti lidskému CD40 antigenu a na *in vitro* modelu vybrat ty, které stimulují B lymfocyty a monocyty tedy CD40+ antigen prezentující buňky, a nebo naopak mají na tyto buněčné linie inhibiční (antagonistický) vliv.

Po formální stránce je předložená magisterská práce rozsahu 53 stran psána srozumitelným jazykem s minimem chyb a překlepů (na str. 19 v kompletním kultivačním médiu...) a s některými nedostatky v užívání citací, fontu písma (str. 3, 12), zarovnání textu, odstavců a používání převzatých slov z angličtiny (cross-prezentace, upregulace, downregulace str. 5, 8, 10). Domnívám se, že by si práce zasloužila výraznější obrazovou dokumentaci.

Práce je klasicky členěna do jednotlivých kapitol.

V literárním přehledu se čtenář blíže seznamuje s cílovým terčem pro připravované protilátky, tedy molekulou CD40 a souvisejícími molekulami, s jejich fyziologickou funkcí (např. jako kostimulačním signálem aktivace B lymfocytů a dalších antigen prezentujících buněk, vliv na vývoj Th1/Th2 odpovědi) a jejich uplatnění v patologii imunitní odpovědi (např. při autoimunitě, patologickém zánětu, odhojení transplantovaného štěpu apod.).

Cíle práce jsou stanoveny jasně a jednoznačně.

Z kapitoly Materiály a metody je zřejmé, že autorka zvládla širokou škálu laboratorních technik, od manipulace se živými zvířaty, náročné a pečlivé práce s kulturami *in vitro*, po základní i nadstavbové metody používané v imunologii (technologie pro přípravu hybridomů k produkci monoklonálních protilátek, příprava ELISA testů pro detekci

sledovaných produktů aktivovaných buněk, sledování životnosti buněčných kultur).

Z výsledků je zřejmé, že se diplomantce úspěšně podařila i experimentální část této práce. Domnívám se, že prezentované výsledky jsou dobrým základním kamenem, pro další výzkum na poli imunoterapie. Podařilo se jí získat celkem 4 monoklonální protilátky s potenciálně stimulačním (agonistickým) nebo inhibičním (antagonistickým) vlivem na CD40 molekulu na antigen prezentujících buňkách.

Na autorku bych měla několik dotazů:

- 1) Kde se fyziologicky uplatňuje reakce a spolupráce aktivovaných makrofágů a Th1 populace T lymfocytů?
- 2) Kolik hybridomových kolonií, jejichž produkty pozitivně reagovaly s antigenem CD40 se Vám podařilo získat? Ve výsledcích na str. 27 jich popisujete 15, v diskuzi na str. 37 pak jen 8?
- 3) Jak si vysvětlujete zvýšenou smrtnost buněk THP-1 monocytární linie pod vlivem antagonistických protilátek? Sledovala se také životnost buněk pod vlivem stimulačních protilátek?
- 4) Jakou metodu byste použila pro charakterizaci izotypu připravených monoklonálních protilátek?

V diskuzi, která je psána jasně a zasvěceně, autorka analyzuje získané výsledky v konfrontaci se světovou literaturou.

Autorka sepsáním této práce dokázala, že je schopna samostatně pracovat s vědeckou literaturou, plánovat a provést experimenty, porovnat a vyhodnotit získané výsledky. Předloženou magisterskou práci Bc. Pavly Šoffrové považuji po stránce formální a obsahové za spis, který splňuje standardní požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji jako velmi dobrou.

V Českých Budějovicích, 12.1.2023.

RNDr. Pavlína Tinavská, Ph.D.