VÚVeL VÝZKUMNÝ ÚSTAV VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ, v. v. i.

Výzkumný ústav
veterinárního lékařství, v. v. i.,
Veterinary Research Institute
Hudcova 296/70
621 00 Brno

vri@vri.cz
www.vri.cz

Sekretariát:
+420 5 3333 2501

Operátor:
+420 5 3333 1111

Fax:
+420 5 4121 1229

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autorka: **Bc. Hana Šmídová**
Název práce: **Příprava monoklonálních protilátek specifických proti antigenům viru klíšťové encefalitidy pro další využití v imunodetekci**

Předkládaná diplomová práce popisuje přípravu monoklonálních protilátek proti viru klíšťové encefalitidy (VKE). Práce má celkem 47 stran a je členěna na kapitoly: Úvod, Literární přehled, Cíle práce, Materiály a metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr, Seznam použitých zkratek a Reference. V těchto oddílech autorka popisuje a diskutuje přípravu monoklonální protilátek proti VKE. Úvod obsahuje adekvátní informace a seznamuje čtenáře se studovanou problematikou. Autorka v rámci experimentální práce využila celou řadu metod zahrnujících např. kultivační techniky buněčných linií, hybridomovou technologii, imunofluorescenční značení, elektroforézu, imunoblot, purifikaci a měření koncentrace protilátek. Metoda přípravy monoklonálních protilátek je poměrně komplikovaná a časově náročná, proto oceňuji, že se autorce podařilo připravit a charakterizovat dvě monoklonální protilátky, které specificky rozpoznávají nestrukturní protein 1 VKE, čímž naplnila cíle své diplomové práce. Připravené protilátky mohou být využity pro detekci NS1 VKE při dalším vědeckém bádání.

Práce je napsána čtivou formou, **nepřesnosti a připomínky** k textu uvádím níže.

str. 2: Názvy virů se píší malými písmeny. Správně by mělo být uvedeno: ... virus **j**aponské encefalitidy, virus **d**engue nebo virus **ž**luté zimnice.

str. 3: Z nukleokapsidy se v buňce neuvolňuje „*polyprotein*“, ale „*virová RNA*“.

str. 7: Formulace „... *odkud je dále transportován do lymfatických uzlin, kde dochází k primární virémii*“ je zavádějící. Mělo by být uvedeno, že „*po pomnožení v lymfatických uzlinách se objevuje virémie*“.

str. 9: Namísto „diagnostika TBE je *obtížnou disciplínou*“ by bylo vhodnější „je *obtížná*“.

str. 9: Podkapitola 2.2.4. Projevy onemocnění a diagnostika by mohla být uvedena samostatně a ne jako součást kapitoly 2.2. Imunitní reakce na TBE. V kapitole postrádám informaci o imunopatologii onemocnění.

str. 11: Informace o tom, že MAbs mají schopnost se vázat na virus a neutralizovat ho, se týká pouze protilátek určených k léčbě virových onemocnění. V kapitole 2.3.2. Monoklonální protilátky chybí informace o využití MAbs k diagnostickým účelům.

str. 12: Namísto ...imunizace modelového organismu „*patogenním agens*“ by mělo být uvedeno „*antigenem*“.

str. 19: Namísto „*Virový stock*“ a „*virového roztoku*“ používat raději „*suspenze viru*“.

str. 25: Namísto „myš ... *zemřela* třetí týden“ uvádět „ ... *uhynula* ...“.

str. 32: Namísto „Na *fotkách*“ uvádět „Na *fotografiích*“

VÚVeL VÝZKUMNÝ ÚSTAV VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ, v. v. i.

Výzkumný ústav
veterinárního lékařství, v. v. i.,
Veterinary Research Institute
Hudcova 296/70
621 00 Brno

vri@vri.cz
www.vri.cz

Sekretariát:
+420 5 3333 2501

Operátor:
+420 5 3333 1111

Fax:
+420 5 4121 1229

str. 35: Autorka uvádí, že „... MAbs jsou specifické vždy proti jednomu *antigenu*"..., což je pravda, ale lepší by bylo uvádět „... proti jednomu *antigennímu epitopu*".

str. 36: Uvedeno „...je nutné pracovat v *opravdu sterilním* prostředí", uvádět „... ve *sterilním* prostředí".

K práci mám následující **dotazy:**

str. 16: Autorka uvádí, že „*Kmeny byly získány pomnožením ve Vero buňkách*".. Je tím myšlena izolace kmenů viru z původního materiálu nebo finální pomnožení pracovních virových suspenzí? V minulosti se často kmeny VKE izolovaly s využitím myší, na kterých se virus také pasážoval.

str. 30: Obr. 10 A – pozitivní kontrola má poměrně slabý signál. Čím si to autorka vysvětluje?

Autorce se podařilo připravit monoklonální protilátky proti nestrukturnímu proteinu 1. Mohla by autorka navrhnout postup, jak by bylo možné připravit a/nebo detekovat MAbs selektivně proti strukturním proteinům VKE?

Plánuje autorka získané výsledky publikovat, případně využít připravené monoklonální protilátky v navazujícím výzkumu?

Autorka se při vlastní experimentální práci seznámila s celou řadou laboratorních metod. Sepsáním diplomové práce prokázala schopnost samostatné práce s vědeckou literaturou.

Práci **doporučuji k obhajobě**.

[redacted]

V Brně 18. 5. 2022

RNDr. Jiří Salát, Ph.D.