

Posudek školitele na magisterskou diplomovou práci Bc. Pavly Šoffrové „Příprava agonistické myší monoklonální protilátky proti lidskému CD40 antigenu“

Téma diplomové práce bylo zadáno v souvislosti s výzkumem dr. Ženky, který používal komerční agonistickou anti-CD40 monoklonální protilátku k zesílení své MBTA imunoterapie nádorů. Původní, poněkud teoretická představa byla připravit myší agonistickou monoklonální protilátku, která by mohla být humanizována pro budoucí využití u lidí.

Pavla úspěšně připravila několik monoklonálních protilátek proti lidskému CD40 receptoru jejichž specifitu otestovala klasicky metodou ELISA. V dalších testech bylo třeba zjistit, zda některá z monoklonálních protilátek nepůsobí agonisticky, čili je schopná nahradit CD40 ligand. Už v této době jsme se začali potýkat s finančními problémy, protože protilátky proti CD znakům nebo cytokinům dostupné na katedře se týkají myšího modelu a my jsme potřebovali protilátky proti lidským antigenům.

Proto Pavla zvolila vliv anti-CD40 protilátek na proliferaci B lymfocytární buněčné linie RAJI za podmínek výrazně snížené koncentrace séra v kultivačním mediu. U dvou monoklonálních protilátek Pavla pozorovala signifikantní zvýšení proliferace buněk RAJI ve srovnání s kontrolou.

V dalším testu Pavla sledovala vliv svých anti-CD40 protilátek na produkci IL-8 lidskou monocytární linií THP-1. Jedna z potenciálně agonistických protilátek (podle efektu na proliferaci B lymfocytů) signifikantně zvyšovala produkci IL-8. Čili její agonistický efekt byl potvrzen dvěma nezávislými testy.

Další dvě protilátky se chovaly antagonisticky, blokovaly indukci IL-8 v buňkách THP-1 pomocí CD40 ligandu. Tyto protilátky také snižovaly životnost buněk THP-1 v tomto testu.

Pavle se tedy podařilo připravit myší monoklonální protilátky proti CD40 receptoru s agonistickým i antagonistickým efektem. Je však nutno připustit, že by bylo třeba testovat tyto protilátky ještě dalšími metodami, na příklad průtokovou cytometrií expresi MHC-II nebo CD80/CD86 znaků. Bylo by také možné sledovat vliv agonistických protilátek na buněčné signalizační dráhy vedoucí od CD40 receptoru, nebo produkci dalších prozánětlivých cytokinů.

Pavla přistupovala k experimentální práci zodpovědně, i když se potýkala s problémy, což vedlo k prodloužení jejího studia o jeden semestr. Jak už jsem ve svém posudku uvedl, omezený sortiment metod, které použila, nebyl její vinou.

Na druhé straně měla určité potíže s psaním diplomové práce, což se projevilo opožděným dodáváním jednotlivých kapitol školiteli, který pak neměl k opravě případných chyb dost času.

Závěr: přes výše uvedené nedostatky doporučuji diplomovou práci Pavly Šoffrové k obhajobě.

V Č. Budějovicích 14. 12. 2022

prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc.