



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

Parazitologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice

telefon: +420 387 775 403

fax: +420 385 310 388

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344

číslo účtu: 600773445/0300, ČSOB a.s.

www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

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

Diplomová práce Bc. Hana Šmídové „Příprava monoklonálních protilátek specifických proti antigenům viru klíšťové encefalitidy pro další využití v imunodetekci“ si klade za cíl přípravu monoklonálních protilátek proti viru klíšťové encefalitidy, optimalizaci detekčních metod a charakterizaci monoklonálních protilátek.

Práce je sepsána na 47 stranách a je přehledně členěna na jednotlivé kapitoly: Literární přehled (12 stran), Cíle práce, Materiál a metody (9 stran), Výsledky (10 stran), Diskuze (4 strany), Závěr, Seznam použitých zkratk, Seznam použité literatury (7 stran).

Úvod představuje literární rešerši většinou logicky členěnou na podkapitoly. Úvodu předchází přehledný Obsah. Autorka stručně seznamuje čtenáře s virem klíšťové encefalitidy, imunitní odpovědí hostitele s důrazem na produkci protilátek. Text je vhodně proložen obrázky. Nicméně v žádném z nich se nejedná o autorčinu tvorbu, proto bych uvítal alespoň český překlad popisků.

Kapitola Materiál a metody autorka popisuje experimentální postupy, které ve své práci využila. Text je proložen přehlednými tabulkami obsahující seznam materiálu, reagensů a kitů. Objem experimentální práce je s ohledem na hybridomovou technologii nadprůměrný. Bohužel tato kapitola obsahuje větší množství zkratk, které nejsou vysvětleny. Kapitola postrádá odkazy na literární zdroje.

Ve výsledcích autorka prezentuje data z přípravy a selekce monoklonálních protilátek. Autorka fúzí splenocytů získala 873 hybridomových kolonií, z nichž postupnou selekcí byly vybrány dvě monoklonální protilátky. Po zakoncentrování a izotypizaci získaných protilátek následovala optimalizace detekčních metod, western blotting a imunofluorescenční značení, na základě vizuálního odečtení signálu.

Kapitolu Diskuze shledávám jako zdařilou. V Závěru autorka hodnotí cíle, které dle mého názoru splnila.

Seznam použité literatury se skládá zejména z recentních publikačních zdrojů a obsahuje okolo 70 literárních pramenů.



Seznam použitých zkratk je neúplný, zejména zde chybí zkratky použité v kapitole Materiál a metody (např.: MOI, PBS, BOFES, ATB, PNC, SMC,...).

Připomínky:

Ojedinele se vyskytují hovorové výrazy, častěji pak slangové nebo anglické výrazy (stock, sandwich, semi-dry, transfer,...), doporučil bych více používat české ekvivalenty. Obrázek číslo 3 obsahuje okopírovaný chybný popis. Odkazy na citovaný zdroj je vhodné uvádět za informací, ke kterým odkazují, ne až na konci odstavce, nebo kapitoly. U některých literárních zdrojů nebyla zcela patrná spojitost s textem.

Otázky:

- 1) Strana 20, opravdu byl k lyzačnímu roztoku přidán proteázový koktejl?
- 2) Jak si vysvětlujete dva pozitivní signály při značení NS1 proteinu pomocí western blotové analýzy, zvláště když elektroforetická separace proběhla za redukujících podmínek? Jakými vazbami je tvořen dimer NS1?
- 3) Mohou být výsledné dvě monoklonální protilátky/hybridomy totožné? Proč ano, proč ne.
- 4) Jaký vstupní údaj by bylo vhodné zohlednit pro optimalizaci koncentrace protilátek určené pro detekci virových proteinů pomocí metody western blotting?
- 5) Čím si vysvětlujete, že jste získala protilátky pouze proti virovému proteinu NS1 a ne proti jiným virovým proteinům?
- 6) Autorka na straně 36 srovnává vhodnost využití testování produkujících hybridomů metodou ELISA a imunofluorescenčním značením. Autorka uvádí, že imunofluorescenční značením nebyl získán žádný číselný výstup. Je možné získat číselný výstup z imunofluorescenčního značení? Případně jak? Obdobně u metody western blotting, je možné výsledek této metody kvantifikovat?

Diplomovou práci Bc. Hany Šmídové doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 18.5.2022


RNDr. Martin Paluš, Ph.D.