

1. Do kapitoly 3.2.1 Izolace protilátek doplňuji:

- Imunizace pokusné slepice antigenem (rekombinantně připravený lektin BC2L-A bakterie *Burkholderia cenocepacia*) byla realizována pracovníkem odborné firmy. Imunizační schéma bylo provedeno s dávkou 3 x 100 µg lektinu/zvíře. První injekce byla aplikována ve formě tzv. kompletního Freundova adjuvans (CFA), což představuje emulzi připravenou ze 100 µg rekombinantního lektinu a minerálního oleje obsahující usmrčené mykobakterie (*Mycobacterium tuberculosis*). Další dávky byly analogické, ale již bez použití mykobakterií. Podání antigenu probíhalo po dobu 3 týdnů, dál během 14 dní došlo k rozvoji imunitní odpovědi a po dobu 6 týdnů byla sbírána vejce. Přeočkování pokusné slepice bylo realizováno injekcí antigenu ve formě CFA. Za 14 dní od aplikace lektinu bylo zahájeno sebrání vajec, které probíhalo po dobu 2 týdnů.
- Jednotlivé frakce specifických imunoglobulinů byly izolovány vždy ze 6 vaječných žloutků.
- Izolace protilátek byla provedena podle metody popsané v [50].
- Úprava pH roztoku na hodnotu 4,0 byla provedena pomocí 0,5 M kyseliny chlorovodíkové.
- Roztok byl míchán po dobu 30 minut.

2. Do kapitol 3.2.4 ELISA a 3.2.9 Western blot doplňuji:

- Jako sekundární protilátka byla použita králičí protilátka proti slepičí protilátce s navázanou alkalickou fosfatase.

3. Do kapitoly 3.2.6 Příprava lyzátů doplňuji:

- Bakteriální kultury kultivované na agarových plotnách byly před analýzou pomocí metody Western blot zpracovány dvěma různými způsoby. Jednak k peletě bakteriálních buněk byl přidán vzorkový pufr a provedena centrifugace po dobu 20 minut při 5500 RPM a teplotě 4 °C.

Supernatant byl následně odstraněn, k bakteriím přidán vzorkový pufr a provedena sonikace na ledu po dobu 2 minut pulsy o délce 15 sekund. Dalším způsobem zpracování kultury bylo přidání k peletě buněk ihned lyzáčního pufru a provedení sonikace za stejných podmínek.

4. Do kapitoly 4 VÝSLEDKY doplňuji:

Tabulka 1: Výtěžky jednotlivých frakcí izolovaných slepičích protilátek.

frakce	výtěžek, [mg]
kontrolní frakce	1301
specifická frakce 1 (S1)	2041
specifická frakce 2 (S2)	1520
specifická frakce 3 (S3)	1982
specifická frakce 4 (S4)	1448
specifická frakce 5 (S5)	933,0
afinitní purifikovaná frakce 1 (AP1)	3,512
afinitní purifikovaná frakce 2 (AP2)	0,606

5. Strana 33, obrázek 11, upravena legenda:

- Jako primární protilátka byla použita frakce specifických imunoglobulinů S1.

6. Strana 35, obrázek 13, upravena legenda:

- Jako primární protilátka byla použita frakce afinitně purifikovaných imunoglobulinů AP1.

7. Strana 39, druhý odstavec, chybně uvedené obohacení frakce afinitně purifikovaných protilátek

Při porovnání s původní frakcí došlo k obohacení frakci až **9x** a množství afinitně purifikovaných imunoglobulinů odpovídá přibližně 0,2 % z celkového množství izolovaných protilátek.

by mělo být nahrazeno:

Při porovnání s původní frakcí došlo k obohacení frakci až **30x** a množství afinitně purifikovaných imunoglobulinů odpovídá přibližně 0,2 % z celkového množství izolovaných protilátek.