

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: ŠARKA NĚMEČKOVÁ
	Datum: 26.5.08

Autor: Kateřina PODOLSKÁ

Název práce: Příprava monoklonálních protilátek a expresních plazmidů pro studium vlastností strukturních proteinů in vitro BK

### Cíle práce

Diplomová práce K. Podolské je věnována studiu lidského polyomaviru BK. Cílem experimentální části byla příprava reagentů a konstruktů, jež umožní sledování stadia infekce hostitelské buňky virem BK a hledání interakci virových a buněčných struktur. Úkolem K.P. byla produkce minoritních strukturních proteinů in vitro, příprava monoklonálních protilátek proti nim a konstrukce plazmidů pro expresi fluorescenčně označeného VP3 BK viru v buňce.

### Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO ~~NE~~

Rozsah práce (počet stran): 151

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO ~~NE~~

Je uveden seznam zkratk? ANO ~~NE~~

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO ~~NE~~

Je napsán srozumitelně? ANO ~~NE~~

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO ~~NE~~

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO ~~NE~~

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO ~~NE~~

Kolik metod bylo použito? 40

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO ~~NE~~

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO ~~NE~~

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO ~~NE~~ - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky?

ANO ~~NE~~ - co chybí, v čem je nedostačující?

### Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO ~~NE~~

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO ~~NE~~

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO ~~NE~~

**Závěry (Souhrn) :**Jsou výstižné? ANO  NE**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):*výborná dokumentace, sčáso jazykové nepřesnosti.***Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

K.P. připravila expresní systém pro produkci VP2 hmyzími buňkami a získala důležité poznatky o vlastnostech proteinu VP2 takto produkovaného, které jí umožní v budoucnu touto cestou získat solubilní formu VP2 vhodnou pro imunizaci. Zvládla úspěšně metodiku přípravy monoklonálních protilátek proti strukturním proteinům viru BK. Pro splnění druhého úkolu, jímž bylo studium kolokalizace minoritního proteinu s buněčnými markery, připravila fúzní konstrukty EGFP-VP3 a VP3-EGFP. Pomocí těchto plazmidů získala zajímavé výsledky, které využije v průběhu dalšího studia, např. pro srovnání vlastností homologních proteinů různých polyomavirů. Zadáni práce představuje náročný experimentální program, který se K.P. podařilo kompletně splnit a vytvořit tak solidní východisko pro navazující studium.

**Otázky a připomínky oponenta:** 1. Pro transfekci EGFP-VP3 konstrukty jste používali vedle buněk VERO také fibroblasty 3T3 a 3T6. Co vás k tomu vedlo? Mělo to nějaký vliv na průběh exprese? Jak se liší vlastnosti buněk 3T3 a 3T6?

2. Jaký je mechanismus selekce při použití média HT – na rozdíl od média HAT?

3. Při přípravě hybridomů (str. 80, str. 97) jste použila pro zabránění infekce mykoplazmaty antibiotikum geneticin (G 418). Toto antibiotikum se v eukaryotických buňkách obvykle využívá pro selekci neomycinové resistance a pro netransgeniční buňky je značně toxické (a také drahé). Zajímalo by mne, zda šlo o úmyslné použití tohoto antibiotika nebo o omyl. Nemohl by toto být důvod neúspěchu při klonování hybridomů proti VP2?

I když celkový dojem z této písemné prezentace dosažených výsledků a ze způsobu zpracování předložené práce je vynikající, mám výhrady vůči několika věcným nepřesnostem a formulacím.

str. 52 – bylo by dobré uvést zdroje pramerů

str. 66 – výsledná koncentrace RNázy 1mg/ml je řádově vyšší než uvádí Maniatis (20-100ug/ml)

str. 72 - IPTG je -sid nikoliv -áza

str. 76 a dále - buněčná linie sp2/O - lépe myelomová než myeloidní

jazykové zvláštnosti: str. 24 opůsobení, kritický (různý význam č vs. angl.), podpořit roli... použitím inhibitorů  
Návrh hodnocení oponenta (znamka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

