

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: <i>RNDr. Šárka Růžičková, Ph. D.</i>
	Datum: <i>5.6.2013</i>
Autor: <i>Bc. Klára Vochoytánová</i>	
Název práce: <i>Příprava monoklonálních protilátek proti proteinu VP2 lidských polyomavirů</i>	
Cíle práce	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 150 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
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 Kolik metod bylo použito? 44 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostatečná? ANO Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO	
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO	
Závěry (Souhrn) : Jsou výstižné? ANO	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): <i>výborná</i>	

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Základním cílem studie bylo vytvoření monoklonálních protilátek dovolujících studium lokalizace proteinů polyomavirů a jejich případné kolokalizace s buněčnými proteiny během infekce buněk těmito viry.

Proto měly být nejprve připraveny dva proteinové antigeny odvozené od minoritního proteinu VP2 lidského polyomaviru BK a polyomaviru karcinomu Merkelových buněk. Ty pak měly být použity k produkci monoklonálních protilátek s dostatečnou stabilitou a především specifitou pro VP2 protein.

Rekombinantně vytvořené proteiny VP1 a VP2 byly skutečně funkční a in vitro tvořily viru podobné částice, avšak u monoklonálních protilátek požadovaného stupně stability a specifity dosaženo nebylo.

Práce je psána v anglickém jazyce, v celkovém rozsahu 150 stran. Je přehledně členěna do kapitol Introduction and Aims of the Thesis (2 strany), Literature Review (20 stran), Material and Methods (29 stran), Results (56 stran), Discussion (9 stran), Summary (2 strany), References (93 citací, z velké části velmi recentní) a Supplements (4 strany se sekvenčními daty).

Jednotlivé kapitoly a podkapitoly jsou logicky správně řazeny, metodická část a výsledky jsou vysvětleny zcela názorně pro čtenáře, který se danou problematikou nezabývá. Zvláště pak oceňuji bohatou grafickou dokumentaci dosažených výsledků.

Jazykové zpracování a prezentace jsou na velmi dobré úrovni, práce obsahuje minimum překlepů.

Otázky a připomínky oponenta:**Otázky:**

1) Minoritní proteiny VP2 a VP3 jsou si strukturně velmi podobné. Mohou se během reprodukce viru nějak funkčně zastupovat?

2) V práci je uvedeno, že jedním problémů, s nimiž se autorka potýkala, je ztráta produkce a specifity protilátek při rozpěstování hybridomů. První problém je jasný, avšak jaký mechanismus by mohl vést ke ztrátě specifity protilátek, pokud máme na vědomí VDJ rekombinaci, která by měla být pro konkrétní hybridom zcela unikátní a neměnná.

3) Mohlo při použití imunizace pomocí lyzátů syngenních BALB 3T3 buněk dojít k nespecifické imunizaci nevirovými buněčnými proteiny a neovlivnilo to účinnost imunizace?

Připomínky:

1) Na str. 19 obr. 2.1. představuje fylogenetický strom polyomavirů. Chybí však popis toho, co znamenají čísla u spojnic?

2) Autorka se přece jen nevyhnula malým chybám jako např. v anglické části Abstrakt odskočení řádků nebo v citačním přehledu u Gustafssona na str. 139 není citace uvedena celá.

3) V textu metodik jsem postrádala popis konkrétní aplikace plazmidu ph2m obsahujícího VP2-specifickou sekvenci pomocí tzv. „gene gun“ posupu. Z literatury je např. známo, že DNA vakcinace u myši byla velmi účinná při intramuskulární aplikaci virové DNA.

4) Metodiky jsou celkem jasně popsány až na jednu maličkost: např. u „feeder“ buněk nebo transfekovaných BALB 3T3 buněk není popsáno, kolik jich bylo v dané reakci, případně

jamce aplikováno, nebo kolik bylo získáno buněk ze sleziny a kolik myelomových buněk bylo použito při tvorbě hybridomů.

5) Vzhledem k velmi širokému spektru použitých metod a postupů by pro lepší bazální orientaci čtenáře bylo vhodné jednoduché schéma znázorňující logistiku a řazení experimentů.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

5.6.2013 RNDr. Šárka Růžičková, Ph. D.