

Lidská onemocnění způsobená zárodečnými mutacemi Hedgehog signální dráhy

Posudek vedoucí diplomové práce

Autor: Bc. Iva Trsová

Vedoucí diplomové práce: MUDr. Anna Křepelová, CSc., Ústav biologie a lékařské genetiky FN Motol a 2.LF UK v Praze

Téma diplomové práce Bc. Ivy Trsové vycházelo z dlouhodobého odborného zaměření Ústavu biologie a lékařské genetiky ve Fakultní nemocnici v Motole na studium vzácných chorob. Předmětem studia Ivy Trsové bylo ověřit, zda u dosud negativně testovaných nemocných s projevy Gorlina syndromu nebo s holoprosencefalií není onemocnění způsobeno dosud neidentifikovanou patogenní variantou genu kódujícího protein hedgehog signální dráhy, zejména genu *SUFU* u Gorlina syndromu a genu *PTCH1* u holoprosencefalie. Úkolem Ivy bylo provést revizi klinických údajů a dostupnosti genomové DNA vybraného souboru nemocných, nově zavést analýzu genu *SUFU* metodou Sangerova sekvenování a metodou MLPA, analyzovat geny *PTCH1* a *SUFU* kombinací metod masivně paralelního sekvenování na analyzátoru MiSeq (Illumina) a Sangerova sekvenování na genetickém analyzátoru 3130xL (Applied Biosystems), interpretovat zjištěné varianty *in silico*

Během přípravy diplomové práce od listopadu 2017 do července 2019 se Iva nejprve seznámila s problematikou a osvojila si základní molekulárně genetické metody (izolace DNA z periferní krve, stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky, polymerázová řetězová reakce včetně návrhu oligonukleotidových primerů a optimalizace podmínek reakce, elektroforetická separace DNA v agarosovém gelu, Sangerovo sekvenování PCR produktu, hodnocení a interpretace získaných dat *in silico*, práce s databázemi). Zpracovala literární rešerši o současném stavu poznání proteinů Hedgehog signální dráhy. Provedla revizi klinických dat u souboru nemocných s podezřením na Gorlinův syndrom. S využitím nejnovějších poznatků o lidském genomu zavedla analýzu všech kódujících exonů genu *SUFU*, s jejím použitím analyzovala gen *SUFU* u vybraných *PTCH1*-negativních pacientů. Seznámila se s metodou sekvenování panelu genů metodou NGS a s postupy hodnocení získaných dat. Identifikovala dvě dosud nepopsané patogenní varianty genu *PTCH1* u dvou z deseti vyšetřených pacientů s Gorlinovým syndromem. Nepotvrdila, resp. prakticky vyloučila přítomnost patogenní varianty genu *SUFU* u 28 *PTCH1*-negativních pacientů. Zavedené metody budou využity též pro diagnostiku holoprosencefalie u nově indikovaných nemocných, nedostatek DNA nedovolil doplnit původně plánovanou NGS analýzu u starších případů.

Iva se bez problémů zapojila do chodu pracoviště a koordinovala svou práci s prací ostatních kolegů. Pracovala čistě a přesně. Teoretické znalosti zkoumané problematiky si průběžně doplňovala studiem odborné literatury. Výsledky její práce již jsou využívány při molekulárně genetické diagnostice Gorlina syndromu a holoprosencefalie. Pozitivní i negativní výsledky vyšetření byly nebo budou využity v klinické

praxi. Jako školitelka jsem s výsledky práce Ivy Trsové velmi spokojena. Předkládaná práce Bc. Ivy Trsové splnila stanovené cíle, splňuje všechny podmínky kladené na diplomovou práci a proto doporučuji přijmout práci k obhajobě.

V Praze 10. září 2019

MUDr. Anna Křepelová, CSc.

anna.krepelova@fnmotol.cz