

**Oponentský posudek disertační práce Lenky Piherové  
"Využití metod celoxomového sekvenování pro studium  
vzácných dědičně podmíněných chorob"**

Práce popisuje identifikaci genetických příčin dvou vzácných onemocnění, akadské varianty Fanconihho syndromu a vrozené srdeční vady novorozenců, a genetickou analýzu pacientů s kardiomyopatiemi. Spis má 50 číslovaných stran textu a 78 stran příloh. Přílohami jsou výtisky sedmi prací, které jsou podkladem disertace. Uchazečka je na člancích 4x sdílenou první autorkou (z toho 2x jde o trojici prvních autorů) a 3x spoluautorkou (sdílené první autorství u práce Chaloupka et al., které autorka uvádí v přehledu prací, se mi v článku nepovedlo dohledat). Na začátku spisu je představena problematika vzácných onemocnění, sekvenování nové generace a bioinformatická analýza dat. Cíle práce jsou vymezeny na výše jmenované projekty. Následuje seznam publikací, které jsou podkladem disertace, a komentáře k publikacím. Spis uzavírají krátké kapitoly "Souhrn výsledků", "Význam dosažených výsledků", "Seznam publikací, které nejsou součástí dizertace" a "Literatura". Články prošly recenzí v redakcích renomovaných časopisů, budu tedy posuzovat jen vlastní text práce.

Oponoval jsem více disertací z pracoviště autorky, asi nejlepšího v zemi v lidské genetice, které provádí špičkový výzkum mezinárodního významu. To přináší studentům velké výhody v aktuálnosti témat, vynikajícím vedení, vybavení a zázemí, i v možnosti navázat na práci předchůdců a inspirovat se z dříve odevzdaných prací. Na druhou stranu, týmová a často konsorciální povaha kompetitivních projektů má vliv na autorství článků. Jako badatel tomu plně rozumím, jako pedagog opakovaně zvažuji, jestli by uchazeč přeci jen neprofitoval z toho, kdyby za dobu svého působení na pracovišti (často i dlouhou - dle seznamu prací tam autorka publikuje od roku 2000) vytvořil svůj čistě vlastní prvoautorský článek, na kterém by si sám (veden školitelem) nepochybně prošel celým procesem publikace. Cesta by se určitě našla - autorka má jistě nějaký nepublikovaný zajímavý případ, který by byl pro vědeckou komunitu zajímavý třeba jako case report, a ani by nemusel být publikován v hvězdném časopisu (ostatně i v této disertaci jsou články s IF 1.0 nebo 2.1). U této konkrétní práce o příspěvku uchazečky nepochybuji; podle toho, co uvádí jako svůj podíl na jednotlivých projektech, to spíš vypadá, že řízení osudu jen opakovaně nehrálo v její prospěch.

Vlastní text spisu je v pořádku. Mám-li však být jako oponent kritický, tak v úvodu postrádám rozvedení strategií pro identifikaci nových kauzálních genů a pro analýzu šíře jejich genotypové variability. Autorka podrobně popisuje sekvenační technologie včetně postupů přípravy knihoven a základních kroků bioinformatické analýzy, které se ale dnes stávají spíše učebnicovou záležitostí (stejně tak se dnes již moc nezabýváme popisy izolace DNA). V kontrastu s tím se autorka snad až příliš rychle vypořádává s interpretací dat, a kromě homozygotního mapování nediskutuje žádné další strategie. A ač je popsán postup RNA-Seq, autorka se nevrací k obecným možnostem jeho využití ve zkoumání nových asociací genů s chorobami nebo ve studiu spekter mutací. K práci nemám specifické dotazy, ale předchozí dvě věty by mohly být pobídkou pro rozšíření prezentace při obhajobě.

V práci narazí čtenář i na rušivé drobnosti. Kuriózní údaje typu "pro vzácná onemocnění existuje 296 definic" určitě vyžadují citaci (str. 1). Tabulka 1 je těžko srozumitelná, dokud si člověk nenajde její originál a neorientuje se tam (jaký by jinak byl rozdíl mezi kategoriemi "gen se známou sekvencí a fenotypem" a "fenotyp se známou molekulární podstatou"?). Asi neexistuje žádné sekvenování metabolomů (str. 4), a neobvyklé jsou obraty "akustická sonikace" (str. 5) nebo "trunkující varianta" (str. 23 a 31). Nevýhodou metod založených na PCR může být chybovost DNA polymerázy (str. 5), ale hlavně to asi je bias, který pak ovlivňuje reprezentaci genomu. Při reverzibilní terminaci není odštěpen poslední nukleotid (str. 6), a invertován není homeobox, ale homeoboxový gen (str. 31). Na něco jsem již upozorňoval u jiného spisu z pracoviště a jde zřejmě o místní zvyklosti, nicméně hodné zamyšlení (střední rod pro PCR (str. 6), nejasný rozdíl mezi ztrátou smyslu a novým stop kodonem (str. 10) a limit pro strukturní varianty 1 kb vs. 50 bp (str. 11)). Formálně nejednotné jsou citace a reference, hlavně u článků institucí, redakčních rad či konsorcií, a u článků Filipa Majera a Erica S. Landera. U desminopatie není jasný rozdíl v počtech pacientů a spektrech variant mezi komentářem ke článku a vlastním článkem (str. 26-27).

Přes tyto výhrady nepochybuji o erudici uchazečky a blahopřeji jí k dosaženým výsledkům. Konstatuji, že disertační práce prokazuje předpoklady autorky k samostatné vědecké práci a k udělení titulu Ph.D., a doporučuji přijetí spisu jako podkladu k obhajobě. Autorce pak přeji úspěch u obhajoby i při dalším bádání.

prof. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.  
26. 5. 2021

