

Posudek oponenta na diplomovou práci

| | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> oponentský posudek | Jméno posuzovatele: RNDR. Radka Václavíková Ph.D. |
| | Datum: 3.9.2021 |
| Autor: Ing. Petra Slavíková | |
| Název práce: Re-analýza pacientů se suspektním FAP onemocněním | |
| Cíle práce Zadaná diplomová práce Ing. Petry Slavíkové se zabývá tématem re-analýzy souboru suspektních probandů na familiárně adenomatózní polyposu (FAP) s využitím současných technologií masivního paralelního sekvenování nové generace, které umožňují hloubkové čtení sledovaných sekvencí, přehodnocení suspektních diagnóz a odhalení dosud nepopsaných patogenních variant významných pro vznik sledovaného onemocnění. Z hlediska potenciálního využití NGS technologie a sledovaného panelu genů v rutinní diagnostice FAP onemocnění je předkládaná diplomová práce velmi aktuálním tématem, při jehož zpracování byla nalezena řada hodnotných výstupů. | |
| Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE Rozsah práce (počet stran): 93 stran včetně referencí bez seznamu tabulek, grafů a všech příloh 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? Byla použita metoda přípravy NGS knihoven, která zahrnuje širokou škálu jednotlivých molekulárně biologických metod. Dále byly použity 3 konfirmační metody a to Sangerovo sekvenování, MLPA analýza a Long-range PCR. Byly použity i metodiky bioinformatického hodnocení sekvenačních dat. 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 odpovědí 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):

Práce je členěna obvyklým způsobem a odpovídá požadavkům kladeným na práce tohoto typu. V úvodní části nás autorka seznamuje v dostatečné míře s familiární adenomatózní polypózou, jejími klinickými projevy, formami a diagnostikou včetně molekulární podstaty FAP onemocnění. Literární přehled je doplněn řadou schémat a obrázků vhodně doplňujících zpracované literární údaje. Cíle práce jsou jasně definovány. Metodická část práce je zpracována velmi detailně, zvláště podrobně je popsán celý proces přípravy DNA knihoven pro NGS analýzu, který vyžaduje již značnou zručnost a znalost molekulárně biologických metod. Srozumitelně je popsána analýza sekvenčních dat včetně postupů použitých pro prioritizaci sledovaných variant. Nalezené výsledky naplňují zadané cíle práce a jsou srozumitelnou formou prezentovány a sumarizovány.

V poměrně obsáhlé diskusní části jsou výsledky zmiňovány ve vztahu k současnému stavu poznání v oblasti kolorektálních polypů. Zvláště pěkně je zpracována tabulka diferenciální diagnostiky dědičných onemocnění spojených s tvorbou kolorektálních polypů. K této části mám jedinou formální připomínku, souhrn klinických dat pacientů a jejich zpracování bych spíše dala do výsledkové části, jelikož jejich význam je pro získané výsledky poměrně zásadní. Graficky je celá práce velmi dobře zpracována, výsledky jsou doplněny celou řadou názorných tabulek a grafů. Všechny podstatné doplňující informace ohledně sekvence adaptorů či primerů jsou součástí příloh diplomové práce. Jako další vhodná příloha by se hodilo například i složení studovaného panelu Czeanca. Práce je na velmi dobré jazykové úrovni, psána srozumitelnou formou a prakticky bez překlepů.

Splnění u cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle předkládané diplomové práce byly dle mého názoru splněny. Autorce se podařilo provést NGS analýzu panelu Czeanca v souboru 78 suspektních FAP probandů a potvrdit jednak předchozí diagnostiku, detekovat patogenní varianty v genu APC, ale i nalézt nové patogenní varianty v genech souvisejících s dalšími dědičnými formami predispozice k tvorbě kolorektálních polypů či kolorektálních karcinomů.

Celkově hodnotím práci jako velmi zdařilou. Získané výsledky podporují význam využití moderních technologií masivního paralelního sekvenování v oblasti rutinní diagnostiky nejen FAP, ale i dalších dědičných onemocnění. Zároveň představuje předkládaná diplomová práce dobrý základ pro další studium sledované problematiky např. v navazujícím doktorském programu.

Otázky a připomínky oponenta:

K práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Na jakém základě byla zvolena pro potřeby diplomové práce kombinace platform NGS na přístrojích MiSeq a NextSeq? Můžete nám říct, jaké jsou hlavní rozdíly ve využití těchto platform a na jakém základě obecně probíhá selekce vhodné platformy pro sekvenování připravených NGS knihoven?
2. Na str.29 v metodické části je zmíněna úprava koncentrace DNA před samotným započítáním přípravy knihovny, ale údaj „100/ μ l“ je pravděpodobně překlepem a zajímala by mě přesná koncentrace, na jakou byly vzorky upravovány.
3. Jak byla rozdělena příprava NGS knihovny pro studovaných 78 probandů? Předpokládám, že nebyly dělány vzorky v jednom sledu najednou, kolik vzorků

v jedné přípravě se Vám ukázalo být optimální pro přípravu kvalitní knihovny?

4. Ve výsledkové části jsou zmiňovány kromě detailně studovaného genu APC a jeho variant významných pro diagnostiku FAP i další geny související s tvorbou kolorektálních polypů, u kterých byly nalezeny zajímavé patogenní varianty. Jsou v panelu Czezanca obsaženy i další geny s významem pro tvorbu kolorektálních polypů či kolorektálního karcinomu, pro které nebyly nalezeny v této práci žádné významné genetické varianty? S tím souvisí i má další otázka vztahující se k další fázi re-analýzy zmiňované v závěru diskusní části. Zde doporučujete studium dalších klinicky významných genů, které nejsou obsaženy v panelu Czezanca. O které geny by se mohlo jednat a proč?
5. Domníváte se, že by mělo smysl analyzovat epigenetickou modifikaci genu APC či dalších významných genů pro FAP např. stanovit jejich methylační profil?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

× výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: