

## OPONENTNÍ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

**Jméno a příjmení studenta:** Bc. Pavel Šenkyřík

**Název bakalářské práce:** Optimalizace digitální polymerázové řetězové reakce pro aplikaci v neinvazivní prenatální diagnostice

**Studijní obor:** Antropologie a genetika člověka

**Titul, jméno a příjmení oponenta práce:** Doc. Mgr. Radek Vodička, Ph.D.

**Cíl práce a jeho naplnění:** Cílem práce bylo optimalizovat digitální polymerázovou řetězovou reakci pro její využití v neinvazivní prenatální diagnostice

### Obsahové zpracování:

Předkládaná diplomová práce Bc. Pavla Šenkyříka se zabývá aktuálním tématem zaměřeným na optimalizaci digitální PCR v neinvazivní prenatální diagnostice. Je strukturována do jednotlivých kapitol dle obvyklých pravidel. „Abstrakt“ stručně popisuje obsah diplomové práce.

„Seznam zkratk“ je jednotný, pouze u zkratky „AGO1“ je vhodné k jejímu významu napsat termín „gen“, vzhledem k tomu, že je tato zkratka napsána kurzívou.

Literární rešerše je psaná srozumitelně a shrnuje dosavadní poznatky o dané problematice

Student si stanovil čtyři cíle: 1. Optimalizovat izolaci volné DNA ze vzorků plazmy,

2. Optimalizovat metodu multiplexování dPCR s využitím interkalačního barviva a fluorescenčně značené sondy.

3. Optimalizovat experiment tak, aby byl schopen rozlišit hladiny fluorescence 18. a 21. chromosomu v jednom kanále na základě rozdílů fluorescence.

4. Použít metodu na souboru vzorků s fyziologickým počtem chromozomů a na souboru vzorků s trisomií chromozomu 21, stanovit cut off hodnoty a parametry u této metody.

V kapitolách „Materiál“ a „Metody“ je patrné, že student zvládl provést metodiku digitální PCR. Doporučuji pro přehlednost psát legendy pod tabulky.

Kapitola „Diskuse“ je věnována faktorům, které mohou ovlivnit kvalitu měření vzorků. Je zde uvedena jejich možná příčina a navrženo i řešení.

V kapitole „Závěr“ je stručně shrnuta celá práce, dosažené výsledky a návrh dalších možností k získání lepších výsledků.

„Seznam použité literatury“ je poměrně rozsáhlý, zahrnuje jak recentní zdroje, tak i ty původní. Uvedené citace však nejsou vždy sjednoceny.

V textu se objevují poznámky autora, které tam nepatří str. 88 a dále drobné překlepy

### Otázky doporučené k bližšímu vysvětlení při obhajobě

V práci uvádíte, že trisomií 18. chromozomu bývají častěji postiženy ženy než muži (1:3-4). Existuje nějaké vysvětlení, proč tomu tak je?

Pro přesnější optimalizaci a kvantifikaci fetální frakce by bylo vhodné začít s plody mužského pohlaví. Proč tomu tak nebylo v případě této práce?

Při hodnocení výsledků optimalizace metody byly popsány některé její nedostatky (chyba při manuálním měření vzorků, interpretace výsledků nebo vznik precipitátů). Plánujete další práci na optimalizaci této metody a eliminaci těchto problémů?

V diskuzi uvádíte, že jedním z možných důvodů vzniku precipitátů může být způsob izolace DNA. Který ze způsobů izolace by mohl počet precipitátů snížit?

### Závěr

Diplomovou práci studenta Bc. Pavla Šenkyříka hodnotím kladně. V textu se nachází drobné překlepy nebo stylistické chyby. Také by bylo vhodné dotáhnout konsistenci citací a uvedení citací v textu. Tyto nepřesnosti zbytečně snižují kvalitu práce.

Práci **doporučuji** k obhajobě a hodnotím ji i přes drobné formální nedostatky známkou **výborně**.

V Olomouci 6. 9. 2022

Radek Vodička

