

Posudek na diplomovou práci Bc. Šárky Kocourkové  
**Čipová analýza cRNA ze vzorků plné krve smíchané s RNA later u kardiovaskulárních onemocnění**

Diplomová práce Šárky Kocourkové se zabývá identifikací genů, jejichž diferenciální exprese by mohla být využita pro predikci či prognózu výskytu infarktu myokardu či cévní mozkové příhody a využívá čipové technologie.

K čipové analýze diplomantka použila vzorky plné krve smíchané s RNA later pacientů, hospitalizovaných s infarktem myokardu či cévní mozkovou příhodou v Městské nemocnici Čáslav či na kardiologické klinice v Pardubicích. Vzorky z akutní fáze infarktu myokardu byly porovnávány s kontrolními náběry daných pacientů po šesti měsících od srdeční příhody. K této dvojici vzorků byly pomocí vybraných kritérií přiřazeny kontrolní osoby. Vzorky pacientů s cévní mozkovou příhodou byly srovnávány pouze s náběry kontrolních osob.

V rámci zpracování jednotlivých vzorků diplomantka provedla vždy izolaci celkové RNA z plné krve smíchané s RNA later, precipitaci, přečistění izolované RNA spojené s odstraněním dvou hlavních globinových frakcí, hodnocení kvality a kvantity získané RNA, amplifikaci RNA s následnou precipitací a opětovnou kontrolou kvality a kvantity. Amplifikované cRNA ze 174 zpracovaných vzorků hybridizovala na Sentrix Human-6 Expression BeadChip firmy Illumina verze 2, 3 a 4. Pro ověření výsledků získaných pomocí čipové analýzy provedla i nezávislou analýzu relativní exprese pomocí kvantitativní RT-PCR u deseti vytipovaných genů. V rámci statistického vyhodnocení kontrolovala kvalitu získaných dat, odstraňovala z nich šum, data normalizovala, filtrovala a analyzovala pomocí uvedených lineárních modelů. Zaobírala se i popisnými charakteristikami kategorických a spojitých veličin.

Klinicky a statisticky významnou diferenciální expresi u skupiny pěti genů ve skupině pacientů s infarktem myokardu, kteří zemřeli do šesti měsíců po příhodě oproti pacientům, kteří nezemřeli, stanovila s využitím Bioconductoru verze 2.3 s balíčkem limma v jazyce R verze 2.8.1.

Bc. Šárka Kocourková ve své práci zjistila, že hlavními kritickými parametry zvoleného postupu se jeví nalezení vhodných kontrol, závažnost zdravotního stavu pacientů a nutnost odstranění globinových frakcí. Splnila všechny v práci dále vytyčené cíle a především identifikovala geny TCRA, LOC650751, LOC650761, PRR6 a TMEM98, u kterých dosud nebyl prokázán vztah k infarktu myokardu.

Předkládaná diplomová práce obsahuje 106 stran textu včetně seznamu literatury a příloh. Diplomantka Šárka Kocourková v ní prokázala schopnost pracovat s odbornou literaturou a cizojazyčnými texty. Velmi kladně hodnotím její přehledné zpracování literárního úvodu u tak široké problematiky jako jsou kardiovaskulární onemocnění. Výborně se zhostila též statistického vyhodnocení, jeho interpretace a především diskuze nad získanými výsledky. Diplomantka po celé dva roky pracovala zcela samostatně, velmi svědomitě a precizně a výborně si osvojila správné laboratorní návyky nutné pro práci nejen s ribonukleovými kyselinami.

**Předkládaná práce jak po obsahové tak po formální stránce splňuje všechny podmínky kladené na diplomové práce a doporučuji ji k obhajobě s hodnocením výborně.**