

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Autor: Bc. Petra Blažková

Školitel: Doc. PharmDr. Martin Beránek Ph.D.

Název diplomové práce: Vyšetření deficitu v alfa-1-antitrypsinovém genu pomocí real-time PCR

Diplomová práce se zaměřuje na validaci metody PCR v reálném čase (real-time PCR) pro vyšetření mutací Z a S v genu SERPINA1, který se nachází na dlouhém raménku 14. chromozómu (14q32.13) a obsahuje pokyny pro přípravu proteinu zvaného alfa-1-antitrypsin (A1AT). A1AT je inhibitor serinových proteáz a chrání tkáň před degradací neutrofilní elastázou. Nedostatek, který je nejčastěji způsoben právě těmito mutacemi, může způsobit onemocnění plic a jater u dětí a dospělých. Metoda real-time PCR se po úspěšné validaci aplikovala na soubor 46 klinických vzorků DNA získaných z krve a 30 vzorků DNA z buněk bukalní sliznice. Izolace DNA byla provedena extrakcí kitem QIAamp® DNA Mini Kit od firmy QIAGEN. Ke genotypizaci jsem použila sadu primerů a hybridizačních sond dle *Snydera (2006)*. Analýza teploty tání probíhala v termocykléru LightCycler 1.2. Výsledky vzorků DNA získaných z krve byly následně porovnány s výsledky získanými akreditovanou metodou založenou na principu PCR/RFLP. Obě metody dávaly 100% shodné výsledky. V těchto vzorcích byla zjištěna frekvence Z alely 14 % a wt alely 86 %. Frekvence S alely byla nulová. Ve vzorcích DNA získaných z bukalního stěru byla zjištěna frekvence Z alely 3 % a wt alely 97 %. Frekvence S alely v této skupině vzorků byla nulová.