

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

RNDR. Michaela Schierová, PhD.

Datum:

4.9.2017

Autor:

**Bc. Miriam J. Kavec**

Název práce:

**Sekvenčné varianty génu *HNF1B* u autozomálne recesívnej polycystickej choroby obličiek**

### Cíle práce

Cílem práce bylo zavést metodiku detekce polymorfismu a mutací v genu *HNF1B* u pacientů s podezřením na polycystickou chorobu ledvin.

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** ANO

Rozsah práce (počet stran): 92

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO, je informačně velmi bohatý, vysvětluje velmi pěkně molekulární mechanismy vývoje ledvin.

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?

ANO, cituje celkem 108 prací, 18 jich vyšlo v posledních 3 letech.

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?

Většinou ANO, u učebnic chybí odkaz na kapitolu a zdrojové strany, u práce Obeidova *et al.* (2015) rozsah stran.

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito?

Autorka použila 3 metody detekce mutací a polymorfismů, zejména u NGS jde o velmi komplexní metodu. Používala vhodný software pro analýzu sekvencí a databáze polymorfismů a mutací.

Jsou metody srozumitelně popsány?

Srozumitelně ANO, přehledně příliš NE. Především u kapitol 4.2.7.5. a 4.2.7.6., kde je velký počet kroků metodiky sloučen do celostránkového odstavce.

V kapitole Materiál a metody chybí složení roztoků, seznam použitých kitů a přístrojů – jsou však uvedeny u jednotlivých metod.

Ačkoliv jsou metody pečlivě popsány, není uvedena podstata daného kroku – např. eluce, purifikace atd.

#### **Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

#### **Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou?

Autorka se v Diskusi zaměřuje především na rozbor vlastních výsledků, odkazuje pouze na 4 práce, které nejsou detailně charakterizovány.

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

#### **Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO

#### **Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Práce je napsána slovensky, nemohu tedy spolehlivě posoudit výskyt chyb. Text je napsán čtivě. Zaznamenala jsem jen malý počet překlepů a nesrozumitelných vět, anglicismy se vyskytují zřídka, v práci je však příliš vysoký počet zkratk.

Autorka zařadila do práce několik obrázků, kterým bohužel chybí legenda, ani nejsou upraveny do slovenského jazyka. Většina z nich je dobře uvedena v textu.

Výtku mám i k zápisu názvů genu a proteinů: ne ve všech případech je název genu kurzívou a na rozdíl od angličtiny je vhodnější uvádět název genu či proteinu až za slovo gen, resp. protein.

#### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

**Miriám Kavec předložila velmi pěknou diplomovou práci, s vynikajícím literárním přehledem a velmi pěknými výsledky. Autorka splnila všechny požadavky kladené na DP, a proto práci doporučuji k obhajobě.**

#### **Otázky a připomínky oponenta:**

1. Ve své práci uvádíte (str. 19), že autozomálně recesivní polycystické onemocnění ledvin je fenotypově velmi variabilní, ačkoliv se jedná o monogenně podmíněné onemocnění. Lze korelovat typ mutace v genu *PKHD1* s fenotypovým projevem?
2. Pokud je ARPKD spojeno s hyperproliferační a dediferenční ledvinových buněk, je u pacientů s ARPKD i zvýšený výskyt nádorů ledvin? Liší se výskyt nádorů u

pacientů s mutacemi v genech *PKHD1* a *HNF1B*?

3. Při zavedení metodiky Sangerova sekvenování u genu *HNF1B* jste sama navrhovala primery pro amplifikaci jednotlivých exonů. Proč jste nepoužila primery již popsané? Byly v té době již k dispozici?
4. Do jaké míry souvisel záchyt mutací v genu *HNF1B* ve Vašem souboru pacientů a zdravých příbuzných s dobou projevu nemoci?
5. V Diskusi jste se jen velmi málo zabývala porovnáním Vašich výsledků s podobnými studiemi, především bych očekávala srovnání s prací konzultantky Obeidové a také s pracemi Clissfold *et al.* 2016 a Boeckenhauer a Jaureguiberry (2016). Tyto práce jsou zmíněny pouze okrajově. Jaká je frekvence záchytu mutací u těchto prací, jaká je u pozitivních případů korelace mezi genotypem a fenotypem, jak se liší charakter analyzovaných souborů?
6. Jaká je frekvence mutovaných alel genu *HNF1B* v populaci? Jsou tyto alely zpravidla recesivní nebo dominantní nebo to závisí na oblasti genu? Jsou některé mutace typické pro diabetes typu MOD45 a jiné spíše pro selhání ledvin, např. CAKUT? Je se znalostí povahy mutací v genu *HNF1B* přesné psát, že podmiňuje autozomálně recesivní onemocnění ledvin?

#### **Připomínky:**

Abstrakt: *HNF1B* je tkáňově specifický transkripční faktor, který reguluje expresi *PKHD1*. Je třeba rozlišit gen kódující protein a protein.

#### Zkratky

PI3-K fosfatidylinozitol 3-kináza opravít na fosfatidylinozitol **3-fosfát** kináza

Str. 10: „Kauzálným génom tohto ochorenia je **gén *PKHD1*, ktorý je lokalizovaný na primárnych cíliach buniek** renálneho epitelu zberných kanálikov.“ Gen může být exprimován ve specifické tkáni, lokus genu je však na chromozómu.

Str. 16: Chybná formulace: V nektorých prípadoch môžu tieto bunky invadovať a porušiť priľahlé tkanivá, pričom schopnosť rozširovania sa je typická je malígne neoplastické bunky (PRIOLO a HENSKE, 2013).

Str.28: Pri štúdiu renálnych buniek s vyradeným *PKHD1* génom MAI *et al.* (2005) pozorovali inhibíciu tubulomorfogenézy, poškodenie bunka-bunka spojení, iniciáciu spontánneho bunkové rozptylu a disorganizáciu aktínového cytoskeletu, zvýšenú apoptózu a zníženú mieru bunkovej proliferácie.  
iniciáciu spontánneho bunkové rozptylu Co to je?

Str. 33: Co označuje pojem haplotypová variabilita, kterou zmiňujete u substituční mutace pThr36Met?

Str. 35: V legendě obr. 10 by bylo vhodné vysvětlit všechny zkratky. Pokud jste zařadila obrázek, měl být molekulární princip předčasné terminace translace lépe vysvětlen.

Str. 40: embryonální vývoj

Str.43: nepřesná terminologie: Na základe záverov skupiny THOMAS *et al.* (2011) sú **heterozygótne mutácie** v géne *HNF1B* najčastejšou monogénnou príčinou vývojových porúch obličiek.

Návrh hodnotení oponenta (známka nebude súčasťou zverejnených informácií)

výborně  veľmi dobre  dobre  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: