

Diplomová práce Alžbety Vážnej

## **Molekulárna štúdia génu pre alfa-L-iduronidázu.**

Charakterizácia mutácií u pacientov s mukopolysacharidózou typu I a polymorfizmov v českej populácii

Posudek školitele

V říjnu roku 2003 začala Alžbeta Vážna řešit na Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK téma své diplomové práce Molekulárna štúdia génu pre alfa-L-iduronidázu.

Mukopolysacharidosa typ I (MPS I) způsobená deficitem alfa-L-iduronidasy (IDUA) je závažné metabolické onemocnění s nepříznivou prognosou, léčba je velmi komplikovaná, finančně náročná a v řadě případů nepřináší uspokojivé výsledky. V případě takových onemocnění je vždy důležitá spolehlivá diagnostická metoda. Jako jeden z nejspolehlivějších přístupů pro potvrzení diagnózy dědičného onemocnění je používána analýza mutací.

S podporou Výzkumného záměru MŠMT a dvou grantů Grantové agentury University Karlovy, v jednom z nich v roli hlavního řešitele, se Alžběta Vážna podílela na zavedení a aplikaci metod pro mutační analýzu genu alfa-L-iduronidasy. Alžběta Vážna se v průběhu řešení své diplomové práce seznámila s teoretickými i praktickými aspekty mutační analýzy – od získání referenčních sekvencí v internetových databázích a navržení specifických primerů pro přípravu PCR produktů přes optimalizaci polymerasové řetězové reakce, restriční analýzu a sekvenování PCR produktů přímo nebo po klonování až po vyhodnocení sekvenačních běhů a interpretaci výsledků. U pacientů s mukopolysacharidósou typu I se významnou měrou podílela na identifikaci 32 mutantních alel, mezi nimiž našla tři nové doposud nepopsané mutace. Patogenitu všech nových a tří dříve popsanych mutací ověřila ve funkční studii, kterou realizovala v laboratoři v Institute of the Child Care v Londýně. Na základě analýzy polymorfismů se jí podařilo definovat haplotypy asociované s jednotlivými mutacemi. Analýza polymorfismů a haplotypů u kontrolní populace přinesla první charakterisaci genu IDUA ve slovanské populaci.

Tyto výsledky již byly prezentovány na dvou mezinárodních a dvou domácích konferencích formou posterů. Ve sbornících abstrakt z těchto konferencí je Alžbeta Vážna spoluautorkou, v jednom případě poster sama prezentovala a je první autorkou abstraktu. Alžbeta Vážna výsledky též prezentovala formou přednášky na Celostátní konferenci DNA diagnostiky v Brně v roce 2004. Výsledky se staly podkladem pro publikaci, kterou hodláme spolu s londýnským pracovištěm publikovat v zahraničním časopise.

Během řešení diplomové práce se Alžbeta Vážna naučila orientovat v literatuře i v datech dostupných v internetových databázích, získala rozsáhlé metodické zázemí, velkým přínosem byla bezesporu její zahraniční stáž. Alžbeta Vážna prokázala značný vzestup své odborné úrovně, samostatnost, schopnost spolupracovat v rámci laboratoře a získala dobrý základ pro vědeckou práci.

V Praze, 26. <sup>května</sup>~~června~~ 2006



RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

školitelka