

## **Abstrakt**

Analýza volně cirkulující fetální DNA (cell-free fetal DNA - cffDNA) přítomné v prostředí mateřské plazmy se v posledních letech stala důležitou součástí neinvazivní prenatalní diagnostiky. Detekce sekvencí Y chromozomů ve volně cirkulující DNA (cfDNA) indikuje přítomnost mužského plodu; nepřítomnost Y chromozomálního signálu potvrzuje ženské pohlaví. Cílem práce je potvrdit užitečnost inserčních-delečních polymorfismů (INDEL) při určení ženského pohlaví plodu pomocí analýzy cffDNA metodou Digital Droplet PCR (ddPCR).

V diplomové práci byly vybrány na základě studia databází X chromozomální polymorfismy typu INDEL s vhodnou frekvencí alel tak, aby toto vyšetření umožnilo určení přítomnosti paternálního X chromozomu v cffDNA a tak vedlo k potvrzení ženského pohlaví plodu pozitivním amplifikačním signálem a k rychlému určení velikosti fetální frakce cirkulující DNA.

Molekulární genetické vyšetření těchto polymorfismů bylo zavedeno metodou ddPCR. Byla provedena populační studie ověřující využitelnost navržených polymorfismů s ohledem na účely neinvazivní prenatalní diagnostiky. Pomocí ddPCR jsme prozkoumali X chromozomální polymorfismy typu INDEL: rs2307932, rs16397, rs16637, rs3048996, rs16680. Pro získání údajů o populaci jsme provedli testy z bukalních stěrů 50 nepříbuzných žen. Pro všechny polymorfismy typu INDEL jsme testovali výkon ddPCR v 20%, 10%, 5% a 2,5% směsích homozygotek pro deleční a inserční formy. Vyšetřili jsme plazmy 13 těhotných žen s absencí Y chromozomálního signálu v cffDNA. Výsledkem testování byla malá frakce (reprezentující otcovskou X vázanou alelu na mateřském pozadí) ve všech umělých směsích. Pozitivním amplifikačním signálem jsme potvrdili přítomnost otcovského X chromozomu u 12 z 13 těhotných žen (citlivost 92,31%).

Námi zavedený přístup umožňuje potvrzení ženského pohlaví plodu pozitivním amplifikačním signálem v rámci neinvazivní prenatalní diagnostiky založené na analýze cfDNA v plazmě těhotných.

**Klíčová slova:** INDEL polymorfismy, volná fetální DNA, pohlaví dítěte, Digital Droplet PCR