

Molekulárně genetická analýza pacientů s Usherovým syndromem

Posudek vedoucí diplomové práce

Autor: Bc. Kateřina Průšová

Vedoucí diplomové práce: Ing. Lubica Ďudáková, PhD., Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. LF UK a VFN v Praze

Téma diplomové práce Bc. Kateřiny Průšové vycházelo z dlouhodobého odborného zaměření Laboratoře pro studium vzácných onemocnění, konkrétně skupiny oční genetiky. Předmětem studia studentky bylo molekulárně genetické testování pacientů s Usherovým syndromem. Tento syndrom je nejčastější příčinou dědičné hluchoslepoty a je klinicky a geneticky heterogenní.

Úkolem Kateřiny bylo provést testování vybraných exonů s nejčastějším výskytem mutací v genu *USH2A*. V případě negativního výsledku pak následovalo celoxomové, případně celogenomové sekvenování a následně interpretování zjištěných variant v kontextu dostupné literatury nebo pomocí nástrojů *in silico*. Pro definitivní potvrzení kauzality variant byla použita segregáční analýza. Dalším úkolem Kateřiny bylo potvrdit nebo vyvrátit potenciální efekt zakladatele, jelikož v předchozím projektu se ukázalo, že 60% pacientů neslo variantu c.11864G>A; p.(Trp3955*) v genu *USH2A*.

Během přípravy diplomové práce se Kateřina nejprve seznámila s problematikou a osvojila si základní molekulárně genetické metody - izolace DNA z periferní krve nebo slin, stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky, polymerázová řetězová reakce včetně návrhu oligonukleotidových primerů a optimalizace podmínek reakce, elektroforetická separace DNA v agarosovém gelu, Sangerovo sekvenování PCR produktu, celoxomové a celogenomové sekvenování, hodnocení a interpretace získaných dat *in silico*, práce s databázemi a odbornou literaturou.

Kateřina zpracovala literární rešerši o současném stavu poznání Usherova syndromu. Pomocí celoxomového sekvenování našla několik nových, dosud nepopsaných variant. Použitím celogenomového sekvenování se jí dále podařilo určit přesné body zlomu u rozsáhlých delecí v genu *USH2A* (167 596 bp) a *ADGRV1* (10 641 bp).

Kromě molekulárně genetického vyšetření českých probandů s Usherovým syndromem byla u pacientů s mutací c.11864G>A; p.(Trp3955*) v genu *USH2A* provedena haplotypová analýza, která potvrdila efekt zakladatele a byla vymezena sdílená oblast na chromozomu 1 o rozsahu 83 743 bp.

Kateřina se bez problémů zapojila do chodu pracoviště a koordinovala svou práci s prací ostatních kolegů. Pracovala samostatně, čistě a přesně. Teoretické znalosti zkoumané problematiky si průběžně doplňovala studiem odborné literatury. Výsledky její práce budou použity jako součást připravované publikace. Po výzvě k přepracování diplomové práce, práci formálně i obsahově zdokonalila.

Jako školitelka jsem s výsledky práce Kateřiny Průšové spokojená. Předkládaná práce splnila stanovené cíle, splňuje všechny podmínky kladené na diplomovou práci, a proto doporučuji přijmout práci k obhajobě. Navrhuji hodnotit diplomovou práci stupněm výborně.



V Praze 5. září 2020

Ing. Lubica Ďudáková, PhD.