

Nové sekvenační techniky v blízké budoucnosti změní přístup, jakým jsou prováděny vědecké experimenty a prováděna diagnostika známých onemocnění. Umožní vznik personalizované medicíny.

Smyslem této diplomové práce je podat přehled nových metodických postupů sekvenování DNA, ukázat možnosti a omezení vhodných bioinformatických nástrojů a demonstrovat přínos těchto technik pro projekty zaměřené na odhalení molekulární podstaty vzácných dědičně podmíněných onemocnění.

V úvodu práce je podán přehled nových, komerčně dostupných metod sekvenace genomu (firm 454 Life Science, Applied Biosystems, Illumina, Helicos), vysvětlen princip na kterém tyto metody pracují a nastíněn směr, kterým se ubírá další vývoj na tomto poli. Úvod se dále věnuje způsobům analýzy dat, která je nedílnou součástí sekvenačních technik.

V praktické části je prezentováno spektrum metod analýzy genomu, které byly úspěšně využity k určení kauzálního genu a mutací způsobujících adultní formu autozomálně dominantní neuronální ceroid lipofuscinózy (ANCL). V rámci tohoto projektu bylo využito v jedné ANCL rodině kombinace celogenomového genotypování (GeneChip® Mapping 10K 2.0 Array), vazebné analýzy (Merlin), analýzy počtu kopií genomové DNA (Genome-Wide Human SNP Array 6.0), analýzy expresních profilů (HumanRef-8 v2 Expression BeadChips) a sekvenování exomu (SOLiD™ 4 System). Získaná data byla podrobena ucelené bioinformatické analýze, v jejímž rámci bylo použito vazebné analýzy a analýzy diferenciálních expresních profilů. Zvláštní důraz byl kladen na porovnání a zhodnocení aktuálně dostupných mapovacích algoritmů pro rekonstrukci, analýzu a anotaci sekvenačních dat a na jejich výběr. Vzájemným propojením výsledků těchto analýz byla definována omezená množina genů, které jsou lokalizovány v kandidátních oblastech definovaných vazebnou analýzou, mají změněný transkripční profil v tkáni pacientů, obsahují unikátní funkčně významnou mutaci, a jejichž biologická funkce naznačuje možnou souvislost se studovaným neurologickým postižením.

Takto definované mutace a jejich segregace se studovaným fenotypem byly následně ověřeny přímým sekvenováním. Konečným výsledkem této studie bylo určení jedné kandidátní mutace, jejíž kauzalita je v současnosti experimentálně prokazována.