

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

Datum: 30.5.2013

Autor: Bc. Ivona Marešová

Název práce: Molekulárně genetická analýza u Niemann-Pickovy choroby typu C

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Cíle práce

- Zavést metody založené na technice PCR/RFLP pro analýzu exprese transkriptu u vybraných patogenních mutací v genu NPC1.
- Zavedené metody použít pro vyšetření kultur kožních fibroblastů od pacientů s NPC1.
- Zavést sekvenační analýzu promotorové oblasti genu NPC1.
- Provést sekvenační analýzu promotoru u pacientů.
- U nově diagnostikované pacientky provést analýzu mutací v genu NPC1 (sekvenační analýza, případně metoda MLPA).

Niemann-Pickova choroba typu C (NPC) je vzácné závažné neurodegenerativní onemocnění s autozomálně recesivním typem dědičnosti. Diagnostika onemocnění NPC je založena na řadě laboratorních vyšetření, jedním ze základních diagnostických přístupů je analýza mutací.

Kauzální terapie je u Niemann-Pickovy choroby typu C v současnosti stále neuspokojivá. Proto se vyvíjejí nové terapeutické postupy, které jsou založeny na posílení exprese mutovaného NPC1 proteinu či na využití chaperonů, které napomáhají ke správnému prostorovému uspořádání a stabilitě proteinů.

K této problematice přispívá i předkládaná diplomová práce, která je věnována zejména studiu vlivu genotypu na expresi transkriptu a analýze struktury promotoru.

Důvody k řešení těchto otázek jsou následující:

- Schopnost buňky produkovat mutantní transkript je prvním indikátorem přítomnosti mutantního proteinu, jehož biologickou aktivitu by bylo možné ovlivnit působením chaperonů.
- Vzácné varianty v promotorové oblasti by mohly ovlivňovat expresi genu NPC1.

Diplomová práce je součástí grantu IGA MZ ČR (NT12239-5/2011):

Niemann-Pickova choroba typu C: klinická, molekulárně genetická, biochemická a morfoloická studie. Návrh nových diagnostických a prediktivních algoritmů.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Potřebnou literaturu studentka získala od školitelky nebo ji samostatně vyhledávala na odborných informačních serverech (především NCBI). Na základě studia kapitol z odborných knih a vědeckých článků z mezinárodních časopisů získala studentka potřebné teoretické znalosti, které pak využila zejména v úvodní části práce a v diskusi při interpretaci svých výsledků. Studentka se rovněž naučila pracovat s internetovými databázemi a speciálními programy pro analýzu a úpravu sekvencí DNA/RNA. Tyto dovednosti pak využila při zavádění nových metod a vyhodnocení výsledků.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematičnost práce i docházky do laboratoře):

Studentka prokázala zručnost, píli, samostatnost, schopnost pracovat v týmu. Rychle se naučila metody používané v laboratoři a zavedla metody nové. Za použití speciálních počítačových programů navrhla vhodné postupy analýzy a ty potom optimalizovala na kontrolních vzorcích. Studentka tak zavedla metody pro analýzu exprese transkriptu u pěti různých patogenních mutací v genu NPC1. Tyto optimalizované metody dále využila

k analýze vlivu genotypu na množství transkriptu u 12 tkáňových kultur. Studentka dále zavedla sekvenční analýzu promotorové oblasti genu NPC1 a sekvenci promotorové oblasti vyšetřila u 31 pacientů. K provedení mutační analýzy u nově přichozí pacientky použila metody zavedené v laboratoři – přímé sekvenování PCR produktů a metodu MLPA. K veškeré práci v laboratoři přistupovala studentka velmi zodpovědně, aktivně a pečlivě, projevovala velký zájem o danou problematiku.

Přístup studenta při sepisování práce:

K sepisování práce studentka přistupovala aktivně, výsledky a jejich interpretaci konzultovala se školitelkou a dalšími pracovníky laboratoře. Prováděné analýzy a výsledky zaznamenávala v pečlivě vedených protokolech, jejich souhrn potom přenesla do diplomové práce. Studentka uplatňovala své vlastní nápady, které se školitelkou průběžně konzultovala. Velmi přínosné byly diskuse nad různými aspekty práce, kdy studentka projevila velký zájem o danou problematiku.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Studentka pracovala na své práci 16 měsíců a vzhledem k velké pili se jí podařilo shromáždit dostatečné množství experimentálních podkladů k sepsání práce. Výsledky práce jsou cenné a lze na ně navázat dalšími experimenty při řešení grantového projektu. Výsledky rovněž byly součástí přednášky prezentované na 28. pracovních dnech dědičných metabolických poruch (Tábor, květen 2013, abstrakt přiložen k diplomové práci – Příloha 10) a předpokládám, že budou součástí publikace v mezinárodním časopise. Vzhledem k relativně krátkému časovému intervalu pro řešení dané problematiky a šíři prováděných analýz nebyl dostatečný časový prostor pro precizní sepsání práce, formální stránka práce není zcela bezchybná. Překlepy a v některých případech ne zcela přesné formulace však nemohou převážit nad skutečností, že studentka úspěšně splnila všechny vytyčené cíle. Diplomová práce splňuje všechna požadovaná kritéria a doporučuji ji k obhajobě.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele: