

## Posudek dizertační práce doktorského studia

V doktorském studijním programu „Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie“  
Fakulty **2. Lékařská fakulta UK v Praze**  
Pracoviště **Ústav biologie a lékařské genetiky 2LF UK a FN Motol, Praha 5**

Uchazeč **Mgr Petra Křenková**  
Disertační práce  
**„Validace metody High Resolution melting (HRM) pro účely DNA diagnostiky; mutační analýza genu cystické fibrózy a vybraných kandidátních genů u mužské infertility“**

Oponent **prof.emer., MUDr.Radim Brdička, DrSc**  
Pracoviště **v důchodu**

Disertační práce uchazečky odpovídá potřebám diagnostických molekulárně genetických metod, zvláště z hlediska procesu akreditace, která má zajistit jejich maximální věrohodnost a analytickou přesnost, tak aby jejich výsledky byly použitelné pro lékařskou praxi. Jedním z postupů, které mají ověřit použitelnost analytických metod v rámci medicínské diagnostiky je tzv. validace, během níž se ověřuje chybovost metody jak z hlediska případné nesprávné pozitivivity, tak i falešné negativity. Uchazečka validovala metodu HRM (high resolution melting) založenou na polymerázové řetězové reakci, při které je do vznikajícího produktu zařazeno fluorescenční barvivo a na kontinuálním sledování jeho uvolňovaného množství během následné denaturace. Validace byla provedena na konkrétních příkladech vybraných amplikonů genů *CFTR*, *MTHFR* a *BRCA1* a získané výsledky publikovány v časopisech s IF. Kromě vyhodnocování validace na uvedených příkladech se autorka věnovala aplikaci HRM metody na identifikaci genotypů v dalších genech: *PRM1* a *PRM2* uplaňujících se při poruchách spermatogeneze. Je pochopitelné, že samotný popis metod validace by dostatečně nenaplnil doktorskou disertační práci, a proto se autorka soustředila na rozbor genetické determinace poruch plodnosti, se zaměřením na mužskou stránku problému, na otázky genetického testování u cystické fibrózy, rakoviny prsu a ovárií a genu *MTHFR*, obvykle spojovaného s homocystinurií a dalšími poruchami, nicméně většinou testovaného pro riziko trombofilie. Ačkoliv se výběr vyšetřovaných genů může zdát poněkud nesourodý a jistě vyplývá z problematiky řešené na pracovišti, zůstává nosným prvkem a spojovacím článkem disertační práce použitá metoda HRM a ověřování vhodnosti jejího používání. Práce je hodnotná nejen svou „potřebností“, ale především množstvím analýz, kterými je podložena.

Domnívám se, že disertační práce v plné míře splňuje požadavky kladené na uchazeče o vědecký titul PhD a doporučuji, aby bylo přistoupeno k dalšímu řízení potřebnému k udělení titulu.

21. března 2013

Prof. MUDr Radim Brdička DrSc

Otázky oponenta:

- 1.Na straně 46 je uvedeno :“nepodařilo se detekovat homozygotní variatu c.3113A>G“, znamená to, že se ji nepodařilo **najít** nebo **nebyla v žádném vzorku přítomná?**
2. Mohla by autorka předvést některý z validačních protokolů?