UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Téma diplomové práce	**Detekce bodových mutací v genu pro MTHFR metodou real-time PCR**
Jméno studenta, studentky	**Alena Víšková**
Jméno oponenta	**Mgr. Antonín Libra**

II. Posudek oponenta

Diplomová práce Aleny Víškové se zabývá screeningem mutací v genu pro methylentetrahydrofolátreduktázu (MTHFR) pomocí moderní molekulárně-biologické metody. Práce má 57 stran včetně příloh a je patřičně členěna.

Úvod práce je výstižný a cíle jasně definované. V teoretické části jsou srozumitelně popsány principy real-time PCR a význam MTHFR v metabolismu homocysteinu včetně aspektů souvisejících s dvěma nejfrekventovanějšími mutacemi genu pro MTHFR. Autorka čerpala ze širokého množství pramenů. K teoretické části mám pouze formální připomínky týkající se ojedinělých překlepů a chyb vzniklých automatickými opravami textového editoru (např. na str. 9 ve čtvrtém řádku zdola má být zřejmě místo slova „nepacifických" slovo „nespecifických").

Metody v experimentální práci jsou popsány srozumitelně. Názornost zvyšují obrázky dokumentující vyhodnocování jednotlivých alelických variant ze záznamu real-time PCR amplifikace. K popisu metod mám pouze jedinou připomínku - na str. 34 v textu dole v závorce je chybně uvedeno, že k polymeraci dochází při přechodu z annealingu k denaturaci – k polymeraci však dochází během inkubace 56°C/40s a tento krok je společným pro annealing a polymeraci. Výsledky jsou zpracovány jednoznačně a přehledně.

V diskuzi jsou srovnávány nejen dosažené výsledky s publikovanými daty jiných autorů, ale je zde také diskutován význam sledování trombofilních mutací a vhodné metody pro jejich detekci.

Otázky:

1) Jaké bylo věkové rozmezí u testovaných osob?

2) Na str. 35 uvádíte, že vzorky, které neposkytovaly jednoznačné výsledky, byly analyzovány opakovaně. Co bylo považováno za nejednoznačné?

3) Je škoda, že dosažené výsledky nebylo možné hodnotit také spolu s klinickými daty. Uvažovali jste o nějakém dalším porovnání s klinickými údaji?

Hodnocení:

Téma práce je zajímavé a aktuální. Její význam nesnižují uvedené výtky, které se týkají pouze formální stránky textu. Hlavní cíl vyšetřit skupinu pacientů na přítomnost dvou polymorfismů v genu MTHFR byl splněn. Byl vyšetřen dostatečný soubor vzorků a dosažené výsledky jsou v souladu s publikovanými. Zpracování diplomové práce vypovídá o autorčině pečlivém přístupu k řešení vytyčeného cíle a zároveň o velmi dobrém porozumění dané problematice. Práci hodnotím jako výbornou a doporučuji k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **výborně**

V Hradci Králové dne 26.5.2006

Antonín Libra

Podpis oponenta diplomové práce