

Oponentský posudek disertační práce

Název disertační práce: **Genetické a molekulární příčiny neurodegenerativních a neuropsychiatrických onemocnění**

Jméno studenta: **Ing. Ivana Jedličková**

Jméno oponenta: **doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.**

Cílem disertační práce ing. Ivany Jedličkové byla identifikace genetických příčin a molekulárních mechanismů procesu neurodegenerace u vybraných pacientů s klinickým obrazem adultní neuronální ceroidní lipofuscinózy (ANCL), spinální svalové atrofie (SMA) a infantilní formy neuronální intranukleární inkluzní nemoci (iNIID).

V případě ANCL je řešená problematika rozdělena do dvou částí. V první části se studentka zaměřila na sekvenování exomu 18 rodin s výskytem ANCL. Výsledkem analýzy je objasnění genetické příčiny onemocnění v 5 rodinách, a to objasnění jak na základě přímé identifikace kandidátních patogenních variant (2 rodiny), tak objasnění na základě kombinace výsledků exomové sekvenace a dalších doplňujících genetických analýz (3 rodiny). V druhé části se studentka zaměřila na objasnění patofyziologických mechanismů 30 bázové duplikace v genu *DNAJC5*, která je kauzální patogenní variantou pro autosomálně dominantní ANCL. V této části práce ing. Jedličková rozšířila své metodické dovednosti o *in vitro* funkční přístupy založené na expresi mutantních a standardních proteinů a analýze jejich buněčné lokalizace a posttranslační modifikace. Část získaných výsledků je součástí tří publikací, u dvou z nich je ing. Jedličková spoluautorkou (IF=9.91, IF=9.91) a u jedné první autorkou (IF=4.24).

V další části disertační práce se studentka zaměřuje na stanovení genetické příčiny SMA u pacientky s klinickou diagnózou SMA a monoalelickou patogenní variantou v genu *SMN1*. Kombinací analýzy DNA a cDNA byla odhalena druhá patogenní varianta v genu *SMN1* a to intragenová delece exonů 2a – 5 iniciovaná rekombinací mezi *Alu* repeticemi. Kauzalita identifikovaných variant byla podpořena detekcí zásadně sníženého množství SMN proteinu u pacientky metodou Western blotu z leukocytů periferní krve. Uvedená kazuistika byla publikována (IF=3.09), ing. Jedličková je první autorkou této práce. Součástí disertační práce je i navržené schéma postupu molekulárně genetické diagnostiky SMA u pacientů, u kterých byla rutinní genetickou analýzou identifikována pouze jedna patogenní varianta v genu *SMN1*.

Část disertační práce zaměřená iNIID využívá DNA-sekvenační technologie s dlouhým čtením Pacific Biosciences pro vyšetření přítomnosti expanze v genu *NOTCH2NLC*. Výsledky jsou shrnuty ve dvou publikacích, v jedné je ing. Jedličková spoluautorkou (IF=3.66), ve druhé první autorkou (IF=2.92).

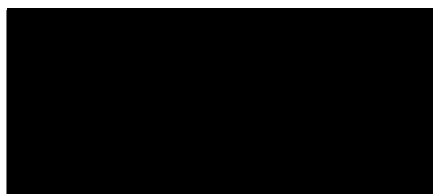
Disertační práce ing. Ivany Jedličkové zpracovává vysoce aktuální problematiku vzácných neurodegenerativních a neuropsychiatrických onemocnění, tj. nemocí které jsou unikátní svou klinickou a genetickou heterogenitou. Autorka prezentuje využití metodických přístupů zahrnujících DNA sekvenační technologie na platformách SOLiD a Illumina a dále sekvenační technologie s dlouhým čtením Pacific Biosciences v kombinaci s širokým spektrem molekulárně biologických technik na úrovni DNA/RNA/protein individuálně navržených pro daného pacienta a jeho specifickou patologii. Použití uvedených technik a jejich vhodné kombinace jsou postupy, které u mnoha pacientů jsou jedinou možností pro stanovení správné diagnózy a tedy pro indikaci adekvátní léčby.

O vysoké kvalitě disertační práce Ing. Ivany Jedličkové vypovídá nejen využití mnoha metodických přístupů ale i vysoce kvalitní publikační výstupy – studentka je první autorkou tří publikací (IF=4.24, IF=3.09, IF=2.92), spoluautorkou tří publikací (IF=9.91, IF=9.91, IF=3.66) a dále spoluautorkou čtyř publikací bez vztahu k tématu disertační práce (IF= 10.61, IF= 3.44, IF= 5.10, IF=10.5). Celkově se jedná o vynikající výsledek doktorského studia.

Disertační práce ing. Ivany jedličkové prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Brně, dne 12. 1. 2022

Lenka Fajkusová



Ke studentce mám následující dotazy:

1) Na straně 33 je uvedeno *Genetické vyšetření pacientů suspektních pro SMA je založeno na stanovení počtu kopií exonu 7 a 8 genů SMN1 a SMN2 metodou MLPA. Tato metoda je zacílena na nejčastější variantu klasických proximálních forem SMA, kterou je homozygotní delece exonu 7 a/nebo 8 genu SMN1 na chromozomu 5 (5q-SMA).*

V současné době jsou k dispozici dvě IVD MLPA diagnostické soupravy pro identifikaci počtu kopií genu *SMN1* a *SMN2* – SALSA® MLPA® Probemix P060-B2 SMA Carrier a SALSA® MLPA® Probemix P021-B1 SMA. Laboratořím provádějícím diagnostiku SMA je doporučeno používat kit SALSA® MLPA® Probemix P021-B1 SMA. Tento kit obsahuje 32 MLPA sond a to jak specifických pro exon 7 a 8 genu *SMN1* resp. genu *SMN2*, tak sondy detekující sekvence v obou genech (nejméně jedna sonda na každý další exon).

Myslíte, že by bylo možné s využitím tohoto kitu identifikovat patogenní varianty u Vámi popsaného pacienta s SMA za předpokladu, že máte nejen DNA pacienta ale i jeho rodičů?

2) Patogenní varianty v genu *C9ORF72* jsou dle OMIM spojeny s frontotemporální demencí a amyotrofickou laterální sklerózou. Vámi analyzovaná pacientka má kromě FTD (tento

fenotyp se vyskytuje i u dalších rodinných příslušníků pacientky) i progresivní myoklonickou epilepsii. Neuvažujete o možnosti, že by epilepsie mohla být způsobená další (zatím neidentifikovanou) genetickou variantou?

3) Na straně 29 uvádíte *Jeden případ byl vyřešen výpočetní analýzou expanzí tandemových repetit z exomových dat pomocí ExpansionHunter softwaru (expanze ATN1). Můžete přiblížit, jak tento software pracuje?*

