

Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Petry Křenkové „Validace metody High Resolution Melting (HRM) pro účely DNA diagnostiky; mutační analýza genu cystické fibrózy a vybraných kandidátních genů mužské fertility“

Předkládaná práce o rozsahu 149 stran včetně příloh je založena na souboru 6 publikací s IF, přičemž autorka je první autorkou dvou z nich. Presentaci výsledků obsažených v publikacích předchází čtivou formou napsaná úvodní část o rozsahu 44 stran názorně ilustrovaná obrázky s řádným uvedením jejich zdrojů. Každé prezentované publikaci je předřazeno krátké shrnutí jejich nejvýznamnějších výsledků. Práce tvoří vyvážený celek s dobře vyladěným hlavním motivem - problematikou mutační analýzy.

Téma práce – validace metod mutační analýzy, charakterizace mutací a jejich následná interpretace v návaznosti na fenotyp a klinická data - je v oblasti klinické genetiky trvale vysoce aktuální. Použité metody patří v oboru ke standardním.

První z prezentovaných publikací otištěná v časopise Human Mutation dokladuje autorčinu účast v rozsáhlé mezinárodní validační studii zaměřené na širokou paletu aspektů úspěšného etablování High Resolution Melting (HRM) jako účinné a ekonomické pre-sekvenční metody. Problematice validace této metody za využití malých ampliconů se věnuje i v pořadí druhá prezentovaná publikace. Autorka zde byla opět členkou týmu, který se zabýval precizním hodnocením analytických parametrů metody. Metodě HRM je věnována i třetí prezentovaná publikace, která se specializovala na detekci mutací v genu CFTR a při analýze 76,5% všech CF alel známých z české populace dosáhla 100% senzitivity a 96% specificity. Výše zmíněné publikace dokumentují autorčinu důvěrnou znalost metody a praktické schopnosti tuto metodu v diagnostické laboratoři úspěšně validovat a aplikovat.

Významné nové vědecké poznatky jsou prezentovány v práci publikované v Journal of Cystic Fibrosis. Studie zabývající se detekcí mutací v genu CFTR u nemocných ze západní Ukrajiny popisuje nově objevenou mutaci, zřejmě specifickou pro tuto oblast. Tato práce jako první poskytla přehled o spektru mutací v genu CFTR vyskytujících se na západní Ukrajině a tím významně přispěla k optimalizaci analytické strategie u osob pocházejících z tohoto regionu, mutační záchytnost zde stoupla na 84%.

Ve studii publikované v roce 2012 rovněž v časopise Journal of Cystic Fibrosis autorka shrnuje výsledky dvou desetiletí výzkumné a diagnostické činnosti v oblasti molekulárně genetické diagnostiky cystické fibrózy v České republice včetně přehledu spektra mutací nalezených v naší populaci. Výsledky práce mají kromě významu vědeckého také vysoce praktický dopad ve směru optimalizace diagnostických strategií.

Zkušenosti s mutační analýzou autorka využila rovněž jako členka autorského kolektivu zabývajícího se rolí variant protaminových genů (PRM1 a PRM2) v poruchách spermatogeneze, přičemž v genu PRM1 byl objeven haplotyp, který u homozygotů vede ke dvojnásobnému množství spermií než u mužů bez tohoto haplotypu. I zde se tedy otevírají nové možnosti pro další směr výzkumu.

Vzhledem k výše zmíněným kvalitám publikovaných studií považuji předkládanou disertační práci za velmi zdařilou. K formální stránce jejího zpracování mám jen drobné připomínky ve smyslu špatné čitelnosti popisu obrázku na str. 29, u obrázku na straně 22 zase postrádám vysvětlení, proč některé názvy genů jsou v něm uvedeny modře a jiné černě.

Tato disertační práce tedy plně splňuje požadavky na práci tohoto typu kladené, jednoznačně ji doporučuji k obhajobě a následnému udělení titulu Ph.D. uchazečce.