

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Pavel Votýpka

Školitel: Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Nikola Ptáková

Název diplomové práce: Přínos Next Generation Sequencing pro laboratorní diagnostiku

Snaha o přečtení lidského genomu ve svém důsledku vedla nejen k získání poznatků o lidské genetické informaci, ale také k vývoji nových sekvenačních metod a technologií. Pro udržení kroku s rozvojem v oblasti genetiky se na řadě klinických i výzkumných pracovišť do běžného provozu zavádějí přístroje druhé generace na principu masivního paralelního sekvenování. Na trhu dnes dominují čtyři platformy – Illumina, Solid, Ion Torrent a 454 Life Technologies. Proces celé sekvenační analýzy lze shrnout do tří hlavních kroků – příprava sekvenační knihovny, sekvenování a detekce nukleotidů a analýza dat. Každá část analýzy přináší v závislosti na použité platformě svá specifika, se kterými je nutné počítat a také úskalí, kterým je vhodné se vyhnout či minimalizovat jejich vliv na finální výsledek analýzy. V posledních několika letech jsou vyvíjeny i nové metody označované jako třetí generace sekvenování, které umožňují čtení jediné molekuly nukleové kyseliny bez její amplifikace. NGS technologie dnes umožňují, aby si každé pracoviště zvolilo svůj přístup k sekvenování, přičemž si laboratoř zvolí, zda ke svému využití potřebuje data získaná celogenomovým sekvenováním, sekvenováním exomu, či bude testovat určitou skupinu genů v tzv. panelu.

V praktické části práce bylo popsáno zavedení metody sekvenování nové generace na klinickém genetickém pracovišti a optimalizace potřebných kroků. Ve spolupráci s kardiologickou klinikou FN Motol a IKEM byl vybrán zkušební soubor 191 pacientů s diagnózou hereditární kardiomyopatie pro detekci zárodečných mutací. U 65 z nich byl použit panel TruSight Cardiomyopathy, který dokázal odhalit kauzální mutaci u 48 pacientů. U dalších 126 vzorků ze 42 rodin byl vyšetřen klinický exom kitem TruSight One, který odhalil kauzální mutace u 27 rodin. Účinnost NGS metod byla také otestována na skupině 8 pacientů z 3 rodin se závažnou genetickou zátěží, u nichž byl vyšetřen celý exom o délce 37 Mb.