

# OPONENTSKÝ POSUDEK na rigorózní práci Bc. Petra Grossmanna na téma **Analýza mutací genů pro tyrozinkinázy KIT a PDGFR u gastrointestinálních stromálních tumorů a některých dalších nádorů**

Autor Petr Grossmann prezentuje diplomovou práci podloženou rozsáhlou laboratorní prací, navíc bylo zvoleno téma, které není příliš často publikované – jedná se tudíž o práci originální a novou.

Práce má standardní členění, celkový rozsah 33 stran včetně tabulek a obrázků je však menší, než bych od magisterské práce čekal.

V **úvodu** se autor věnuje popisu tyrozinkináz a jejich mutací. Chybí zde jakákoliv zmínka o vyšetřených nádorech, je zde jen vysvětlena zkratka GIST; u tak zajímavé problematiky bych očekával popis a charakteristiku zkoumaných vzorků jako je benigní a maligní status, rekurence a podobně. Také zcela chybí jakýkoliv přehled metod používaných ke screeningu mutací, jejich výhody a nevýhody. V popisu jsem nenašel velikost genů (a velikost jednotlivých exonů) v bp, což je důležitá informace k pochopení významu práce. Autor zde neuvádí systém třídění proteinkináz – na str. 1 označuje jako rodinu všechny proteinkinázy, na str. 2 zmiňuje proteinkinázy III. třídy, dále rozděluje receptorové kinázy do 20 rodin a nakonec přiřazuje zkoumané proteinkinázy KIT a PDGFR $\alpha$  do III. skupiny, což je údajně „rodina PDGFR“. Obrázky 3 a 4 mají být schématem genů KIT a PDGFR $\alpha$ , nalézáme zde však jen čísla exonů, která jsou zmíněna v textu, obrázky nic nového nepřinášejí. Na str. 6 je jako samozřejmá vlastnost c-kit pozitivních nádorů zmíněna pozitivita CD117, lze se však jen domnívat, že zmíněný epitop je produktem genu c-kit (?).

V kapitole **Materiál a metody** jsou popsány jednotlivé typy nádorů (bohužel nejčastěji jen jednou větou), použité metody jsou popsány stručně, ale výstižně; jednotným způsobem jsou uvedeni výrobci reagentů. Přivítal bych jen alespoň stručnou charakteristiku programu BioEdit, a popis použití „získaných sekvencí“ a „mRNA genů c-kit a PDGFR $\alpha$ “ (str. 13) – domnívám, že se jedná o získané sekvence, nikoliv fyzickou molekulu mRNA.

Část **Výsledky** je stručně a velice přehledně zpracována, popsané výsledky jsou vhodně doplněny obrázky. Nedostatečný je popis grafů na obr. 6a a 6b, nejsou mi úplně jasné všechny sekvencigramy.

V **Diskusi** pak autor s přehledem srovnává své výsledky s publikovanými pracemi a rozvíjí témata „domovského“ pracoviště. K této části nemám žádné konkrétní výhrady, jen zde více vystupuje základní otázka hodnocení vzorků, která není zcela patrná v celé práci: jestli jsou získané sekvence pouze popsány nebo jsou srovnávány se známými nebo nějakými „wild-type standardy“; zdali jsou jako mutace hodnoceny všechny alterace, jestli se počítá s přítomností polymorfismů a jak jsou polymorfismy definovány (předpokládám, že to nejsou jen změny v 3. nukleotidu tripletu, jak je popsáno na str. 30).

Seznam literatury je zapsán standardním způsobem, obsahuje 90 recentních citací a dokládá velkou pečlivost, která byla věnována teoretické přípravě studenta.

Pro Petra Grossmanna má připraveny tyto otázky:

- 1) Mohl byste nám říci (je-li to známo) něco o GIST?
- 2) Jak velké jsou testované exony, jakou část z nich postihla Vaše analýza (z elektroforetogramů lze vyčíst, že kolem 200 bp)?
- 3) Ve výsledcích (v tabulce 3) jsou popsány Vámi nalezené mutace (žluté plus) a polymorfismy (-p). Jak jste odlišil tyto dvě alterace? Jak odlišíte novou, ještě

nepublikovanou mutaci a nově nalezený polymorfismus? Co znamená žlutý polymorfismus „+p“? Jak jste na obr. 16 poznal, že se jedná o homozygotního mutanta K642E?

- 4) Jak probíhala zmíněná „predikce aberantních proteinů“ – je to převedením sekvence nukleotidů do sekvence aminokyselin?
- 5) Jak jste odhalil delečně-inzerční mutaci na obr. 19?

Při závěrečném hodnocení musím vyzdvihnout objem práce (a z obrazových příloh je patrné, že pečlivě vykonané práce), kterou Petr Grossmann tomuto tématu věnoval. Výsledný dojem sice trochu zkazila přílišná stručnost, která někdy přispívá k nepochopení popisovaného problému, ale mám dojem že Petr Grossmann svou práci napsal skromně spíše ve stylu stručného článku v odborném časopisu než jako exhibici svého ostrovtipu se získanými daty. Práce je kvalitní; přes popsání nedostatky nepochybuji o její publikaci (v opravené formě) a doporučuji jí k obhajobě.



Ondřej Scheinost

České Budějovice, 28. května 2006