

Translokace t(12;21) s přítomností fúzního genu *ETV6-RUNX1* (*TEL-AML1*) je nejčastější chromozomová aberace nacházená u akutní lymfoidní leukemie v dětském věku. Výskyt *ETV6-RUNX1* se pojí s výborným výhledem a vysokou citlivostí na léčbu enzymem L-asparaginázou (ASNázou), která deaminuje aminokyseliny glutamin a asparagin. Rezistence na toto léčivo zhoršuje prognózu a zvyšuje riziko selhání léčby, proto se pracovní skupina CLIP věnuje určení mechanismu účinku ASNázy a příčin vzniku rezistence. Tato práce na dřívější poznatky skupiny navazuje a věnuje se analýze významu fúzního proteinu a signalizačním a metabolickým změnám doprovázející posuny v citlivosti leukemických buněk na L-asparaginázu.

V první části práce se vytvořením posunu čtecího rámce ve fúzním genu pomocí systému CRISPR/Cas9 podařilo vytvořit knockoutní buněčné klony se stabilně zvýšenou rezistencí vůči ASNáze. Úspěšnou mutageneze a odstranění fúzního proteinu byla ověřena na úrovni DNA, mRNA a proteinu a analýzou SNP byla vyloučena přítomnost jiných závažných aberací ovlivňujících citlivost k chemoterapeutiku.

Ve druhé části práce jsem se zabýval pozorování signalizační reakce vyvolané přítomností ASNázy, zejména v souvislosti se signalizačním komplexem mTORC1, a dále odlišných aspektů této reakce mezi původními liniemi REH a klony postrádajícími fúzní protein ETV6-RUNX1. Kromě komplexu mTOR byly sledovány ukazatele autofagie a proteiny ovlivňující buněčný metabolismus.

V poslední části projektu byla věnována pozornost analýze metabolického profilu buněk v kontextu přítomnosti L-asparaginázi a exprese, či absence proteinu ETV6-RUNX1. S využitím přístroje Seahorse byla měřena spotřeba kyslíku, jež je ukazatelem aktivity dýchacího řetězce. Pomocí radioaktivně značených metabolitů byla pak určena intenzita mitochondriální oxidace mastných kyselin a vychytávání glukózy z média.

Výzkum prokázal změny v signalizační kaskádě mTORC1 v reakci na ASNázu. Nepřítomnost fúzního proteinu se projevila změnou signalizace proteinů ACC, Akt, mTOR a poklesem koncentrace autofagických proteinů Atg5 a Beclin1. Protein ETV6-RUNX1 dále ovlivňuje charakter metabolických změn vyvolaných ASNázou, což může být příčinou pozorované zvýšené chemorezistence těchto buněk.