

## ABSTRAKT

V předkládané doktorské práci bylo našim cílem objasnit molekulární mechanismy role hexokinas ve zdraví a nemoci. Nejprve jsme se zabývali molekulární podstatou *GCK-MODY* a možnostmi, jak obecně predikovat efekty mutací v genech kódujících Mendelistická onemocnění. Provedli jsme *in vitro* experimenty s *GCK* a jejími variantami nesoucími aktivační, neutrální a inaktivační mutace. Následně jsme porovnali výsledky experimentů s výstupy z nejmodernějších predikčních algoritmů, které mají rozdílný základ. Díky analýzám jsme zjistili, že predikční algoritmy obecně trpí nízkou specificitou. Proto jsme navrhli metodu, jak upravit numerické výstupy predikčních algoritmů, aby se zvýšila specificita. Navíc jsme určili pH optimum lidské *GCK* a *HK2* a zkoumali jsme vliv koncentrací *ATP* na pufrovací kapacitu pufrů běžně používaných v hexokinasových stanoveních.

V části týkající se role hexokinas ve vzniku a rozvoji nádorů jsme studovali *in vitro* somatické mutace *GCK* nalezené v nádorech. Ačkoliv část těchto mutací byla aktivačních, a tedy potenciálně výhodných pro nádory, studie nepřinesla významnou evidenci role *GCK* pro vznik nádorů. Raději jsme se tedy posunuli ke studii *HK1* a *HK2* na modelu ovariální nádorové linie. U *HK1* a *HK2* bylo již uvedeno, že jsou důležitými isoenzymy pro nádorové buňky. Připravili jsme buněčné linie neexprimující *HK1* a *HK2* metodou *CRISPR/Cas9*. Poté jsme zkoumali změny úrovně exprese proteinů z metabolických i signálních drah. V nádorových buňkách neexprimujících *HK1* jsme pozorovali změny napomáhající zvýšenému přežívání a proliferaci buněk. Nicméně stále zbývají k podobnému prostudování nádorové buňky neexprimující *HK2* a naše současné výsledky musíme podpořit dalšími experimenty.