

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Petra Studenovská

Školitel: doc. PharmDr. Boušová Iva, Ph.D.

Název diplomové práce: Výběr a validace referenčních genů pro relativní kvantifikaci mRNA v lidských jaterních řezech

Použití ultratenkých jaterních řezů je často využívaným *in vitro* systémem při biochemických, farmakologických a toxikologických studiích. Důvodem je zejména zachování buněčné architektury tkáně, a tedy i jejích funkcí. Cílem diplomové práce byl výběr a validace referenčních genů pro relativní kvantifikaci mRNA v lidských jaterních řezech. Jako vzorky byla použita jaterní tkáně od 3 pacientů s různým věkem, diagnózou a farmakoterapií. Ze vzorků jater byly připraveny jaterní řezy, které byly vystaveny působení dimethylsulfoxidu (kontrola) nebo známým induktorům cytochromu P450, rifampicinu (10  $\mu$ M) a  $\beta$ -naftoflavonu (10  $\mu$ M). Následně byla ověřena stabilita exprese referenčních genů pomocí programu RefFinder, který integruje programy geNorm, BestKeeper, NormFinder a komparativní  $\Delta C_T$  metodu. Optimální počet referenčních genů, které by měly být použity k relativnímu hodnocení genové exprese cílových genů, byl zjištěn pomocí programu geNorm. Nejvhodnější kombinací genů pro normalizaci exprese sledovaných genů byla dvojice YWHAZ a B2M. Nicméně rozdíly mezi stabilitami jednotlivých referenčních genů byly malé a všechny geny by byly použitelné pro normalizaci dat. Vybrané referenční geny byly validovány v praktickém experimentu, kdy byla sledována exprese mRNA CYP1A2 a CYP3A4 v jaterních řezech inkubovaných s dimethylsulfoxidem, rifampicinem nebo  $\beta$ -naftoflavonem po dobu 24 hodin. Zdá se, že optimálním intervalem pro indukční studie v lidských jaterních řezech je 18-24 hodin.