

ABSTRAKT

Karcinom prsu je celosvětově nejčastěji diagnostikované nádorové onemocnění u žen. V 5-10 % všech případů je pozorována genetická souvislost, obvykle způsobená patogenní mutací v některém z predispozičních genů. Ačkoliv byla řada poškozujících mutací v kódující sekvenci těchto genů popsána, u velkého procenta familiárních případů (> 50 %) nebyla příčina dosud nalezena. Řada identifikovaných patogenních mutací byla lokalizována v konsenzních sestřihových místech, které mají za následek vznik aberantních sestřihových forem mRNA a z nich se odvíjející poškozené proteiny. Málo je však známo o variantách poškozujících regulační sestřihová místa, která mohou vést k tvorbě obdobných forem mRNA.

Pro nepřímou analýzu variant, ovlivňujících přirozený sestřih, jsme navrhli metodiku detekce sestřihových variant jakéhokoliv genu založenou na multiplexní PCR a následné analýze pomocí NGS s vysokou citlivostí. Ověření této metodiky na modelu *BRCA1* odhalila přítomnost 94 sestřihových variant v leukocytech periferní krve, zdravé prsní a přilehlé tukové tkáni, čímž byl vytvořen dosud nejpodrobnější katalog fyziologicky se vyskytujících mRNA variant *BRCA1*.

Nejčastěji se vyskytující varianty, zachovávající čtecí rámec, byly přesně kvantifikovány pomocí RT-qPCR, která odhalila přítomnost 6 ubikvitně se vyskytujících alternativních transkriptů s relativní expresí > 1 % celkové exprese *BRCA1* ($\Delta 5$; $\Delta 9_{10}$; $\Delta 9_{10,11q}$; $\blacktriangledown 13$ a IRIS). Dále jsme prokázali tkáňově specifickou míru exprese u variant $\Delta 9_{10}$, $\blacktriangledown 13$ a IRIS. Většina ubikvitních variant si pravděpodobně zachovává charakter wild-type formy, či vykazuje dosud neobjasněnou regulační funkci.

Výsledky práce objasňují složení a množství mRNA variant *BRCA1* v relevantních zdravých tkáních. Na základě tohoto katalogu je např. možné okamžitě identifikovat aberantní sestřihové mRNA varianty, vyskytující se v nádorové tkáni, či prokázat přítomnost mutace, vedoucí k deregulaci sestřihu pre-mRNA, v případě negativního výsledku mutační analýzy *BRCA1*.

Klíčová slova: Alternativní sestřih, *BRCA1*, karcinom prsu, analýza genové exprese