

K inaktivaci genů signální dráhy Fanconiho anémie (FA) dochází v řadě lidských nádorů včetně karcinomu pankreatu a způsobuje jejich citlivost k látkám tvořícím meziřetězcové můstky (interstrand-cross-linking agents, ICL). Snaha specificky léčit pankreatické a jiné nádory s FA mutacemi vzbudila v poslední době velký zájem, nicméně preklinické studie byly doposud limitovány nedostatkem vhodných lidských dobře kontrolovatelných buněčných modelů.

Endogenně jsme přerušili geny *FANCC* a *FANCG* v buněčné adenokarcinomové linii a pozorovali fenotyp typický pro deficit FA signální dráhy (ztráta FANCD2 monoubiquitinace, chromosomální nestabilita, zástava buněčného cyklu v G2M a snížená proliferace při expozici ICL, spontánní zlomeniny chromosomů).

Homozygotní přerušení bylo možné pro *FANCC* a *FANCG*, ale ne pro *FANCD2* a *BRCA2* v buněčné linii RKO, což může svědčit pro zhoubný fenotyp při jejich deficitu. Tato skutečnost podporuje paradoxní předpoklad, že jejich inaktivace může být nádorovými buňkami nepreferována.

Za pomoci vysokokapacitního skríningu jsme posuzovali růst našich isogenních *FANCC* a *FANCG* buněk po expozici 880 léčivům a 40 000 různorodým chemickým látkám. Látka vykazující největší efekt, nazvaná 80136342, měla odlišný mechanismus účinku než ICL. Když byla podána společně s ICL, měla přinejmenším aditivní efekt, čímž vzniká šance na její použití v kombinaci s ICL.

Pomocí homologní rekombinace jsme přerušili exon 11 *BRCA2* genu a tím vytvořili první lidský isogenní nádorový buněčný model Brca2 deficitu. Pozorovali jsme typický fenotyp (ztrátu Rad51 nukleárních ohnisek, zvýšenou chromosomální nestabilitu a sníženou proliferaci při expozici ICL). Dvě chemoterapeutika, která vyvolala hypersensitivitu, mohou být úspěšně použita v klinické praxi (etoposid, NU1025).

Za použití našich *BRCA2* hemizygotních (*wt/Δexon*) buněk jsme zkonstruovali knihovnu syngenních variant exonu 27 (Syngeneic Variance Library, SyVaL) pomocí knockin techniky. Funkční analýza zkonstruovaných variant umožnila klasifikaci mutací nejasného významu nalezených u pacientů s nádory či posouzení významu některých regulačních částí genu. SyVal tak představuje možnost, jak podrobně anotovat funkci genu pomocí jednoduchých numerických a jednoznačných výsledků.

Nakonec jsme na základě našich zkušeností z předchozích prací definovali termín farmakogenetické okno a farmakogenetická synergie.