

Abstrakt

Kolorektální karcinom představuje celosvětově jedno z nejčastěji diagnostikovaných nádorových onemocnění a je příčinou více než devíti procent úmrtí v důsledku neoplázie. Jednou z možností vzniku kolorektálního karcinomu je tzv. serátní cesta, pro kterou je charakteristická přítomnost onkogenní mutace *BRAF V600E*. Nádory vznikající touto cestou nereagují na klasickou terapii, a proto jsou v současné době studovány na molekulární úrovni. Onkogenní varianta kinázy BRAF aktivuje MAPK signalizaci a je považována za hlavní příčinu vzniku střevního nádoru serátního typu. Samotná přítomnost tohoto onkogenu však není dostatečná pro rozvoj nádoru, který vyžaduje další změny v rámci genomu buňky. V této práci se snažíme objasnit, jaký má mutace *BRAF V600E* efekt na buňky střevního epitelu. Vedle toho se pokoušíme identifikovat možnou kooperaci mezi mutací genu *BRAF* a narušením signalizací p53 a Wnt, jejichž komponenty jsou v kolorektálním karcinomu rovněž často mutovány. Jako model pro studium procesů spojených s aktivací *BRAF V600E* využíváme myší kmen s regulovatelnou expresí mutované varianty genu *Braf*. Z těchto myší izolujeme střevní organoidy a následně provádíme *in vitro* analýzy. Ke splnění vytyčených cílů využíváme především biochemickou a proliferační analýzu a genom organoidů modifikujeme pomocí technologie CRISPR/Cas9. V této práci ukazujeme, že *Braf V600E* ovlivňuje chování a proliferaci buněk střevního epitelu a poukazujeme na to, že výsledky z tenkého a tlustého střeva se mohou lišit. Naše pozorování rovněž naznačují, že sekundární mutace v genech *Wip1*, *Apc* nebo *Rnf43* mají potenciál napomáhat vzniku či rozvoji malignit spojených s mutací *Braf V600E*.

Klíčová slova

BRAF kináza, signální dráha MAPK, kolorektální karcinom, transformace epitelálních buněk, střevní organoidy