

Abstract (CZ)

Od jejich prvotní identifikace v háďátku *C. elegans* a také v lidských buňkách před více než 30 lety jsou proteiny z rodiny Bcl-2 spojovány s indukcí, regulací a potlačením mitochondriální apoptotické signalizace, ale také se mohou uplatňovat při modulaci neapoptotických signálních dráh. V této studii jsme si stanovili za hlavní cíl rozšířit stávající znalosti o neapoptotických rolích hlavních proapoptotických proteinů z Bcl-2 rodiny, BAX a BAK, zejména pak na jejich roli v buněčném metabolismu. Pomocí genové editace využitím CRISPR/Cas9 jsme eliminovali expresi těchto proteinů v lidských nádorových buňkách různého tkáňového původu a v těchto Bax/Bak-deficitních buňkách jsme primárně analyzovali mitochondriální respiraci a buněčnou glykolýzu. Zatímco eliminace exprese Bax a Bak neměla žádný patrný vliv na glykolýzu ve všech testovaných buněčných liniích, v závislosti na buněčném typu modulovala mitochondriální respiraci. Eliminace exprese Bax a Bak v buňkách rakoviny tlustého střeva HCT-116 neměla vliv na mitochondriální respiraci, ale zjevně ovlivnila mitochondriální respiraci v Bax/Bak-deficitních buňkách odvozených od glioblastomu (U87) a lymfomů (HBL-2, UPF1H, UPF1G). Bax/Bak $-/-$ buňky U87 významně upregulovaly mitochondriální respiraci a akcelerovaly svou proliferaci a také nádorový růst nádoru u NSG myšič. Naopak Bax/Bak $-/-$ HBL-2 buňky vykazovaly sníženou respiraci a také pomalejší růst jak *in vitro*, tak *in vivo*. Změny v respiraci byly u Bax/Bak-deficitních U87 buněk doprovázeny změnami v buněčném metabolismu, jako nárůstem poměru NAD⁺/NADH, zvýšením mitochondriálního membránového potenciálu (MMP) a vyšší produkcí ATP. Následné analýzy odhalily zvýšení (U87) či snížení (HBL-2) proteinové exprese mitochondriálně kódovaných podjednotek respiračních řetězců a stabilizaci (U87) či destabilizaci (HBL-2) mitochondriálního faktoru TEFM v Bax/Bak-deficitních buňkách. Potlačení exprese

TEFM pomocí shRNA vedlo k utlumení mitochondriální respirace nejen u buněk Bax/Bak $-/-$ U87 buněk, ale i u parentálních HBL-2 buněk. Z našich výsledků plyne, že (post)translační regulace hladin proteinu TEFM v Bax/Bak-deficitních buňkách moduluje hladiny exprese mitochondriálních podjednotek respiračních komplexů, čímž ovlivňuje buněčnou respiraci, metabolismus a dynamiku proliferace. V rámci vědecké spolupráce jsme se podíleli na posouzení role proteinů z Bcl-2 rodiny a mitochondriálního metabolismu v odpovědi hematopietických nádorových buněk na terapeuticky relevantní BH3 mimetika.