

# Abstrakt

Cyklooxygenáza (COX) je klíčovým enzymem v metabolismu arachidonové kyseliny (AA). Přeměňuje AA na prostaglandin H<sub>2</sub>, který je dále metabolizován různými enzymy na biologicky aktivní prostanoidy. Tato práce byla zaměřena na studium vztahů mezi geny souvisejícími s metabolismem AA. Pomocí RNA interference byla specificky snižována exprese vždy jedné z izoform COX v buněčné linii rakoviny děložního čípku (Hep2). Cyklooxygenáza 1 (COX-1) byla úspěšně inhibována jak pomocí siRNA („small interfering RNA“), tak shRNA („short hairpin RNA“) sekvencí. Pro snížení exprese cyklooxygenázy 2 (COX-2) se nepodařilo získat výrazně účinnou sekvenci shRNA. Bylo připraveno několik klonů buněčné linie Hep2 se specificky a stabilně inhibovanou expresí COX-1 (Hep2\_shRNA1), které byly využity pro další studie. Snížení COX-1 bylo potvrzeno na úrovni mRNA pomocí real-time PCR, na úrovni proteinů pomocí Westernu blotu a na funkční úrovni metodou ELISA. Specifická a stabilní inhibice exprese COX-1 způsobila výrazné snížení mikrozomální prostaglandin E syntázy 1 (mPGES-1). Dále bylo v linii Hep2\_shRNA1 nalezeno významné zvýšení hladiny mRNA genu ABCC4 („ATP-binding cassette, sub-family C, member 4“). Tento gen kóduje transportér MRP4 („Multidrug resistance protein 4“), který je přenašečem některých cytostatik, antivirotik a prostanoidů. Výše uvedené výsledky ukazují, že mPGES-1, která je považována za izoformu přednostně se párující s COX-2, může být transkripčně spojena také s COX-1. Zvýšení exprese genu ABCC4 přináší další důkaz, že je MRP4 zapojen do transportu prostanoidů. Tento nálezn může mít také velký klinický význam při léčbě rakoviny při kombinovaném užívání cytostatik a nesteroidních antiflogistik.