

## **ABSTRAKT**

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Barbora Ryšková

Školitel: Mgr. Filip Vrbacký

Název diplomové práce: Hledání vhodných genů pro standardizaci kvantitativní PCR v reálném čase u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

Chronická B-lymfocytární leukémie (B-CLL) je nejčastěji se vyskytující leukémií u dospělých, a proto se intenzivně studuje. Doposud nebyla zjištěna vyvolávající příčina toto onemocnění a také nevíme jak toto lymfoproliferativní onemocnění úplně vyléčit s nízkým rizikem následných komplikací, které provázejí použitelnou transplantaci kostní dřeně. K oblastem, které nejsou dostatečně prozkoumány, patří exprese angiogenních faktorů na úrovni RNA. Proto jsme se rozhodli v laboratoři II. Interní kliniky – Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Hradec Králové věnovat právě této problematice.

Mým úkolem bylo zavedení vhodné metody pro kvantifikaci odpovídajícího housekeeping genu použitého pro normalizaci výsledků kvantifikace vybraných angiogenních faktorů získaných pomocí PCR v reálném čase. Pro svou vhodnou míru exprese jsme zvolili gen Abl1. Tento gen je však alternativně sestřihován a pouze varianta obsahující 1.exon je skutečně použitelná jako housekeeping. Zaváděná metoda tudíž musela zohlednit tuto skutečnost.

V mé práci se mi podařilo pomocí amplifikace v bakterii *Escherichia coli* amplifikovat plazmid, který bude použit jako standard v kvantifikačních experimentech. Ten by následně izolován, spektrofotometricky kvantifikován a použit pro zavedení samotné metodiky kvantifikace pomocí PCR v reálném čase s využitím hydrolyzační sondy a to s vysokou účinností (97 %) při vysoké linearitě ( $R^2 = 0,9994$ ). Metodu je tak možné využít pro normalizaci výsledků následujících experimentů kvantifikujících míru transkripce sledovaných angiogenních faktorů.