

ABSTRAKT

Breast cancer gene 1 (BRCA1) kóduje jaderný fosfoprotein, jehož základní funkce spočívá v regulaci odpovědi na poškození genomové DNA. Protein BRCA1 se podílí na vzniku a funkci proteinových superkomplexů, které se účastní reparace dvouřetězcových zlomů. Tyto superkomplexy vznikají na základě protein-proteinových interakcí mezi vysoce konzervativními doménami proteinu BRCA1 a jeho vazebnými partnery. Kromě divoké formy (wt) BRCA1 mRNA obsahující všech 22 exonů kódujících protein o velikosti 220 kD, byla popsána řada alternativních sestřihových variant (ASV) BRCA1 mRNA, které dávají vzniknout proteinovým izoformám postrádajícím významné strukturní domény. Předpokládá se, že vznik ASV BRCA1 mRNA je jednou z možností regulace funkce BRCA1 proteinu.

Do současné doby není znám komplexní profil ASV BRCA1 ve fyziologických tkáních či míra a tkáňová specifičnost jejich exprese. Studium těchto aspektů bylo náplní této práce.

Na vzorcích celkové RNA jsme optimalizovali postup identifikace ASV BRCA1 včetně celých transkriptů wt BRCA1 s délkou přes 5,5 kb. V následně vyšetřovaných vzorcích RNA izolované z periferní krve pacientek s karcinomem prsu a žen bez nádorového onemocnění jsme vedle wt formy identifikovali celkem 13 ASV BRCA1 mRNA. Většina (9/13) identifikovaných ASV BRCA1 reprezentovala formy se zachovaným čtecím rámcem. Expresi pěti nejčastějších ASV BRCA1 jsme následně kvantifikovali ve vzorcích RNA izolovaných z lymfocytů periferní krve a z nenádorové mamární a tukové tkáně pacientek s karcinomem prsu a kontrol pomocí qPCR. Výsledky kvantifikací ukázaly, že identifikované ASV BRCA1 (s výjimkou BRCA1 Δ 8-9) jsou exprimovány ve vyšetřovaných vzorcích velmi omezeně. Jejich podíl na celkové expresi, které dominuje wt forma BRCA1 mRNA, nepřesahuje 5 %.

Doposud získané výsledky naznačují, že přítomnost ASV BRCA1 mRNA ve vyšetřovaných vzorcích je četná, avšak jejich zastoupení je minimální. Otázkou řešenou v návaznosti na výsledky stávajících analýz bude studium dynamiky změn exprese ASV BRCA1 mRNA především po genotoxickém poškození DNA.