

ABSTRAKT (CZ)

Lidé jsou v průběhu života vystaveni různým faktorům způsobujícím poškození DNA, vedoucí ke změnám v buněčné fyziologii a potenciálně k expanzi imortalizovaného buněčného klonu a vzniku nádoru. Mutace v DNA jsou jak záznamem o působení mutagenních procesů, tak klíčem k biologii a patofyziologii nádorů. Masivně paralelní sekvenování umožňuje sekvenování všech kódujících sekvencí či dokonce celých genomů lidských nádorů. Z těchto dat je možné získat vzorce mutací typické pro jednotlivé mutagenní procesy, stejně jako poukázat na mutace a geny hrající roli při vzniku a vývoji nádoru. Řada popsaných vzorců mutací však nemá známou příčinu a řada známých karcinogenů nemá dosud přiřazen mutační vzorec. Stejně tak se předpokládá, že dosud není známa řada mutací a genů s vlivem na vznik nádoru. Tato disertační práce charakterizuje experimentální systém založený na imortalizaci myších embryonálních fibroblastů (MEF) za působení mutagenu, umožňující určení vzorců mutací daných mutagenů a určení mutovaných genů důležitých pro vznik nádoru. Kultivace buněk MEF vede k jejich senescenci, která může být překonána mutacemi ve funkčně důležitých genech, analogicky ke stádiím vzniku lidských nádorů. Sekvenování kódujících sekvencí 25 imortalizovaných buněčných linií, které vznikly za působení rozličných mutagenů ukázalo, že tento systém dokáže rekapitulovat vzorce mutací nalezené v lidských nádorech. Tyto buněčné linie také vykazovaly mutace v řadě genů důležitých pro vznik rakoviny u člověka a genů účastnících se epigenetické regulace. Skórovací systém, vyvinutý v rámci této práce, určil jako možné geny podporující vznik nádorů geny známé (např. Tp53 a Hras), ale i geny, jejichž vliv na vznik nádorů u člověka dosud nebyl zkoumán, jako je Smarcd2, kódující podjednotku komplexu BAF regulujícího chromatin. Použití molekulárního inhibitoru ukázalo, že MEF buněčná linie s mutací Smarcd2 je závislá na aktivitě komplexu PRC2, což koresponduje s výsledky získanými z lidských buněčných linií s mutacemi dalších podjednotek komplexu BAF. Předložená disertační práce ukazuje, že imortalizované linie z MEF buněk mohou být využity jako účinné modely pro studium důležitých aspektů vzniku nádorů.

Klíčová slova: mutace, vzorce mutací, mutagen, onkogen, tumor supresor, Ras, BAF