

## Abstrakt

Kauzální gen huntingtin (*HTT*) Huntingtonovy choroby byl identifikován před více než 25 lety. Prodloužení CAG opakovaného úseku na více než 39 opakování v exonu 1 jedné *HTT* alely je dostatečné pro úplnou penetraci této neurodegenerativní choroby. I když identifikace kauzální mutace vytvořila naději, že vývoj terapeutických léčiv bude snadno dosažitelný, pacienti a jejich rodiny dosud čekají na léčbu. Hlavním důvodem může být komplexní funkce proteinu HTT v buňce, která stěžuje stanovení konkrétního patologického mechanismu, což se odráží na vývoji léčiv. Přestože bylo dosud vytvořeno mnoho různých zvířecích modelů, žádný z nich plně nekopíruje onemocnění u pacientů. Miniprase se díky své anatomii, fyziologii a genetice zdá být vhodným kandidátem na modely neurodegenerativních nemocí. Ačkoliv transgenní (Tg) miniprasečí Liběchovský model projevuje některé příznaky typické pro HD u pacientů, jako poruchy mužského reprodukčního systému a zvýšené markery neurodegenerace, jsou také pozorovány zjevné nesrovnalosti. Důvodem může být skutečnost, že genetická modifikace je založena na aditivním transgenu kódujícím mutovaný a zkrácený konstrukt cDNA a tudíž neodráží četné regulační procesy, od iniciace transkripce až po post-translační modifikace kóduvaného proteinu. Lepším odrazem lidské situace jsou Knock-In modely, které nesou krátkou část lidské sekvence, buď CAG mutovaný úsek samotný, nebo v kombinaci s krátkými lemujícími sekvencemi. Existuje však důkaz, že několik oblastí mimo úsek CAG může ovlivnit molekulární důsledky prodloužení CAG. Predikce in silico ukazuje přísnou specifitu většiny těchto oblastí pro lidský gen, což naznačuje, že další generace prasečího HD modelu by vyžadovala humanizaci celého *HTT* lokusu. Vzhledem k rozsáhlé velikosti lokusu *HTT* a omezením klonování prasat, představuje takový počín obrovské úsilí. Na základě zkušeností s genetickými modifikacemi myší by nejúčinnějším přístupem byla rekombinace zprostředkovaná Cre rekombinázou, ta však vyžaduje zavedení lox míst na přesná místa plánované rekombinace v genomu. Umístění těchto lox míst do prasečího genomu bylo účinně dosaženo pomocí dvou odlišných strategií využívající krátké jednovláknové oligo-deoxynukleotidy a rozšířeného bakteriálního umělého genomu.