

## **Abstrakt**

Dětské akutní leukémie jsou geneticky komplexní poruchy hematopoézy. U většiny pacientů se vyskytují rekurentní či náhodné aberace, jejichž pečlivá funkční charakterizace je zásadní pro pochopení role, kterou hrají v procesu leukemogeneze. Naším cílem byla identifikace a charakterizace genetického pozadí dvou leukemických entit.

Transientní myeloproliferativní porucha (TMD) je preleukémie, která postihuje 10% novorozenců s Downovým syndromem. Trisomie 21 chromozomu a in-utero získané mutace v genu GATA1 jsou kauzální pro vznik TMD a společně představují ideální “více-zásahový” model leukemogeneze. Zaměřili jsme se na zkoumání alternativního mechanismu vzniku TMD bez účasti trisomie 21. U jedinečného případu TMD jsme jako potenciálně spouštěcí aberace popsali nové delece v genech GATA1 a JAK1. Delece D65\_C228 v GATA1 způsobuje tvorbu poškozené izoformy, u níž se předpokládá ztráta transaktivační schopnosti a rovněž částečná ztráta vazby ke specifickým vazebným místům v DNA, což může stačit ke spuštění TMD. Námi provedená podrobná charakterizace delece F636 v JAK1 zpochybňuje význam této aberace pro patogenezi TMD. Analýza signalizace JAK/STAT odhalila pokles kinázové aktivity po ztrátě F636. Růst buněk Ba/F3, které vytvářejí poškozený JAK1, je závislý na cytokinech, podobně jako je tomu u buněk produkujících JAK1 divokého typu. Dále jsme prokázali, že delece F636 v JAK1 neměla žádný dopad na růst a dozrávání buněk v “prenatálním” prostředí, reprezentovaném fetálními hematopoietickými kmenovými a progenitorovými buňkami vytvářejícími mutovaný GATA1. V předkládané práci popisujeme molekulární děje v prvním známém případě TMD s mutovaným genem GATA1 a zároveň nezávislém na trisomii 21 chromozomu.

Fúzní gen ETV6-ABL1 je vzácný, avšak opakovaně se vyskytující genetický jev při akutní lymfoblastické leukémii (ALL). Popsali jsme chromosomální přestavbu vedoucí ke vzniku ETV6-ABL1 a dvou dalších dosud nepopsaných fúzních genů ABL1-AIF1L a AIF1L-ETV6. Vznik tří fúzních genů, se zachovaným čtecím rámcem, z jediné přestavby je v hematologii ojedinělý jev. Dále zde popisujeme první známé poškození genu AIF1L u leukémií. Analýza chimérické bílkoviny v buňkách HEK293T ukázala, že AIF1L-ETV6 je tvořen a umístěn v jádře, kde se pomocí své ETV6 domény může vázat na DNA. Pomocí metody PCR se nám v pacientově Guthrieho kartě podařilo prokázat specifickou zlomovou sekvenci fúzního genu

ETV6-ABL1 a tedy prenatalní původ studované chromozomální přestavby. Díky tomu jsme následně potvrdili, že ETV6-ABL1 není dostatečný ke spuštění diagnostikovatelné leukémie a musí následovat další druhotné aberace, kterými jsou v tomto případě pravděpodobně delece v genech IKZF1 a/nebo CDKN2A/B.

Naše výsledky zabývající se TMD bez trisomie 21 chromozomu přinášejí nové informace ohledně patogeneze tohoto intenzivně studovaného onemocnění připomínajícího leukémii. Podrobná charakterizace jedinečné chromozomální přestavby, která vyústila v prenatalní vznik několika in-frame fúzních genů, prohlubuje naše znalosti o ETV6-ABL1-pozitivních ALL.