

Gen CHEK2 kóduje serin/threoninovou kinázu Chk2 (Checkpoint kinase 2) aktivovanou v reakci na poškození genomové DNA. Aktivovaná Chk2 kináza dále fosforyluje své substráty (proteiny Cdc25C, BRCA1 nebo p53), a jejich aktivace pak vede k pozastavení buněčného cyklu, reparaci DNA, nebo indukci apoptózy. Vrozené mutace genu CHEK2 zvyšují riziko nádorových onemocnění (především karcinomu prsu a kolorekta). Analýza vysoce rizikových pacientek s karcinomem prsu v ČR prokázala přítomnost vzácných (především missense) mutací CHEK2 s nejasným klinickým významem.

Tato práce se zabývá studiem funkčního vlivu těchto variant *in vitro* a stanovením kinázové funkce variantních izoform kinázy Chk2. Za tímto účelem byly zkonstruovány plazmidy exprimující studované varianty v bakteriálních buňkách *E. coli*. Enzymová aktivita izoform Chk2 kinázy byla v bakteriálním lyzátu stanovena spektrofotometricky na základě fosforylace arteficiálního substrátu Chk2. Kinázová aktivita bylo korelována s výsledky predikčních programů hodnotících funkční význam studovaných variant *in silico*.

Z výsledků vyplývá, že z 15 missense mutací (a jedné delece neporušující čtecí rámec) vedou ke ztrátě kinázové aktivity všechny varianty v kinázové doméně Chk2, které jsou rovněž většinou predikčních algoritmů identifikované jako patogenní mutace. Takto je rovněž hodnocena varianta FHA domény p.R145Q. U dvou variant (p.I157T a R181H) se shoduje nalezený malý vliv na kinázovou funkci s benigní predikcí v *in silico* predikcích. Varianta I157T je však považována za patogenní mutaci zvyšující u nosičů riziko vzniku karcinomu prsu a kolorekta. Význam ostatních studovaných missense mutací není konkluzivní a bude vyžadovat další studium.

Výsledky naznačují, že funkční hodnocení kinázové aktivity variant Chk2 kinázy *in vitro* je nejspíše vhodné zejména pro stanovení významu variant postihujících kinázovou doménu Chk2, čímž může významně přispět k identifikaci potenciálně klinicky významných dědičných variant genu CHEK2.