

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králová

Katedra biochemických vied

Kandidát: Bc. Dominika Papinčáková

Školiteľ: prof. RNDr. Lenka Skálová, Ph.D.

Názov diplomovej práce: Príprava STAT3-knockoutovanej bunkovej línie glioblastomu multiforme pomocou metódy CRISPR-Cas9

Glioblastoma multiforme (GBM) je jedným z najčastejších primárnych nádorov mozgu u dospelých a jedným z najfatálnejších nádorových ochorení u ľudí. Kľúčovým onkogénom vo vývoji a progresii GBM je signálny transduktor a aktivátor transkripcie 3 (STAT3), ktorý je jedným z mediátorov tumorigenézy. V GBM je permanentne aktivovaný, čo vedie k zvýšenej bunkovej proliferácii, invazivite a angiogenéze.

Cieľom tejto práce bolo vytvoriť bunkovú líniu GBM STAT3-knockout (STAT3-KO). Na tento účel sa použila bunková línia U87MG a metóda na knockoutovanie génov CRISPR-Cas9.

V prvom kroku sme skúmali možnosť tlmenia expresie STAT3 pomocou siRNA a vhodnosť tohto typu buniek na presné dourčenie mechanizmu na editáciu génov CRISPR do bunky. V druhom kroku sme transfekovali bunky pomocou súpravy na knockoutovanie génu STAT3 (CRISPR) a testovali úspešnosť knockoutu. Vo vytvorenej STAT3-KO GBM bunkovej línii sme potvrdili STAT3-KO na úrovni DNA, RNA a proteínu. Následne sme na bunkovú líniu U87MG a U87MG-STAT3-KO pôsobili temozolomidom (používaným chemoterapeutickým liekom na GBM) a porovnali ich citlivosť.

Na záver boli bunky U87MG-STAT3-KO úspešne implantované do modelového organizmu a bolo opäť pozorované zníženie expresie STAT3 markeru.