

Abstrakt

Dědičné mutace v predispozičních genech významně přispívají ke vzniku různých druhů rakoviny. Současné genetické testování pomocí panelového sekvenování účinně identifikuje patogenní zárodečné mutace v genu *TP53*, které mohou způsobit Li-Fraumeni syndrom (LFS) spojený s výrazně vyšším rizikem vzniku nádoru. Varianty nejasného významu (VUS) mohou však klinickou interpretaci komplikovat. Cílem této práce je zhodnotit funkční význam vybraných variant genu *TP53* identifikovaných genetickým screeningem zejména české populace. Gen *TP53* je klíčový pro regulaci buněčného cyklu, indukci apoptózy, opravu DNA a další funkce a jeho dysregulace je spojována s nádorovými onemocněními.

Pomocí technologie CRISPR/Cas9 jsme vytvořili buněčný model s inaktivovaným genem *TP53*. Další práce zahrnovala přípravu expresních plazmidů nesoucích kódující sekvence pro fluorescenční markery, cDNA vybraných *TP53* variant a selekční kazety. Po transfekci a vytvoření stabilních buněčných linií byla porovnána funkce mutovaných a wild-type forem genů. Nakonec byla napříč buněčnými liniemi vyhodnocena exprese genů *CDKN1A* a *MDM2* po použití nutlinu-3a. Kromě toho byla analyzována role vybraných variant *TP53* při tvorbě p53 tetrameru a testu tvorby kolonií.

Tato práce přispívá k hlubšímu pochopení buněčných funkcí některých mutací *TP53*. Výsledky přinášejí poznatky o jejich úloze v regulaci buněčného cyklu, což ve spolupráci s klinickými genetiky pomůže při hodnocení rizika vzniku rakoviny u nositelů mutací. Celkově jsme z 35 analyzovaných mutací určili 14 jako „loss-of-function“ (LOF), 20 jako benigní, a jedinou z nich (R267W) jako mutaci vykazující fenotypy mezi těmito dvěma kategoriemi. Dále jsme zjistili, že varianta E339del3, která byla nedávno identifikována u českého pacienta s rakovinou, je LOF mutací a může způsobit LFS.

Klíčová slova: *TP53*, varianty nejasného významu, rakovina, *CDKN1A*, *MDM2*