

Úvod: Inaktivace tumor supresorového genu BRCA1 je predispozičním faktorem vzniku karcinomu prsu a ovaria. Vznik funkčně odlišných nádorově specifických alternativních sestřihových variant může být možným mechanismem snižujícím aktivitu BRCA1 v procesu reparace dvouřetězcových zlomů DNA (DDSB). V této práci jsme funkčně charakterizovali dvě alternativní sestřihové varianty BRCA114-15 a BRCA117-19, nalezené v průběhu genetického screeningu jedinců s vysokým rizikem vzniku karcinomu prsu. Metody: Pro funkční in vitro analýzu jsme vytvořili modelový systém klonů buněčné linie MCF-7 stabilně exprimujících zkoumané varianty. Pomocí comet assay a konfokální imunomikroskopie jsme v tomto systému sledovali vliv BRCA114-15 a 17-19 variant na kinetiku reparace DDSB a proliferaci. Aktivita DNA reparačních procesů byla stanovena přímo pomocí in vitro NHEJ assay a nepřímo testem senzitivity na mitomycin C. Proliferační aktivita byla stanovena klonogenním testem a růstovými křivkami. Výsledky: Exprese BRCA114-15 a 17-19 zvyšuje v MCF-7 buňkách úroveň endogenního poškození DNA, zpomaluje reparaci DDSB, negativně ovlivňuje tvorbu reparačních komplexů v počáteční fázi reparace a prodlužuje jejich trvání. Varianty BRCA114-15 a 17-19 rozdílně ovlivňují aktivitu HR, NHEJ a radiosensitivitu MCF-7 buněk. Závěr: Zvýšení exprese BRCA114-15 nebo 17-19 má v MCF-7 buňkách dominantně negativní vliv na reparaci DDSB. Možným mechanismem je narušení procesu vzájemné komunikace hlavních DDSB reparačních pochodů – HR a NHEJ. Důsledkem toho je ztráta flexibility procesu reparace DDSB a tím i snížení stability genomu. Výsledky naší práce ukazují, že alternativní sestřihové varianty BRCA114-15 a 17-19 v MCF-7 buňkách negativně ovlivňují aktivitu BRCA1 v procesu udržování genomové homeostazi.