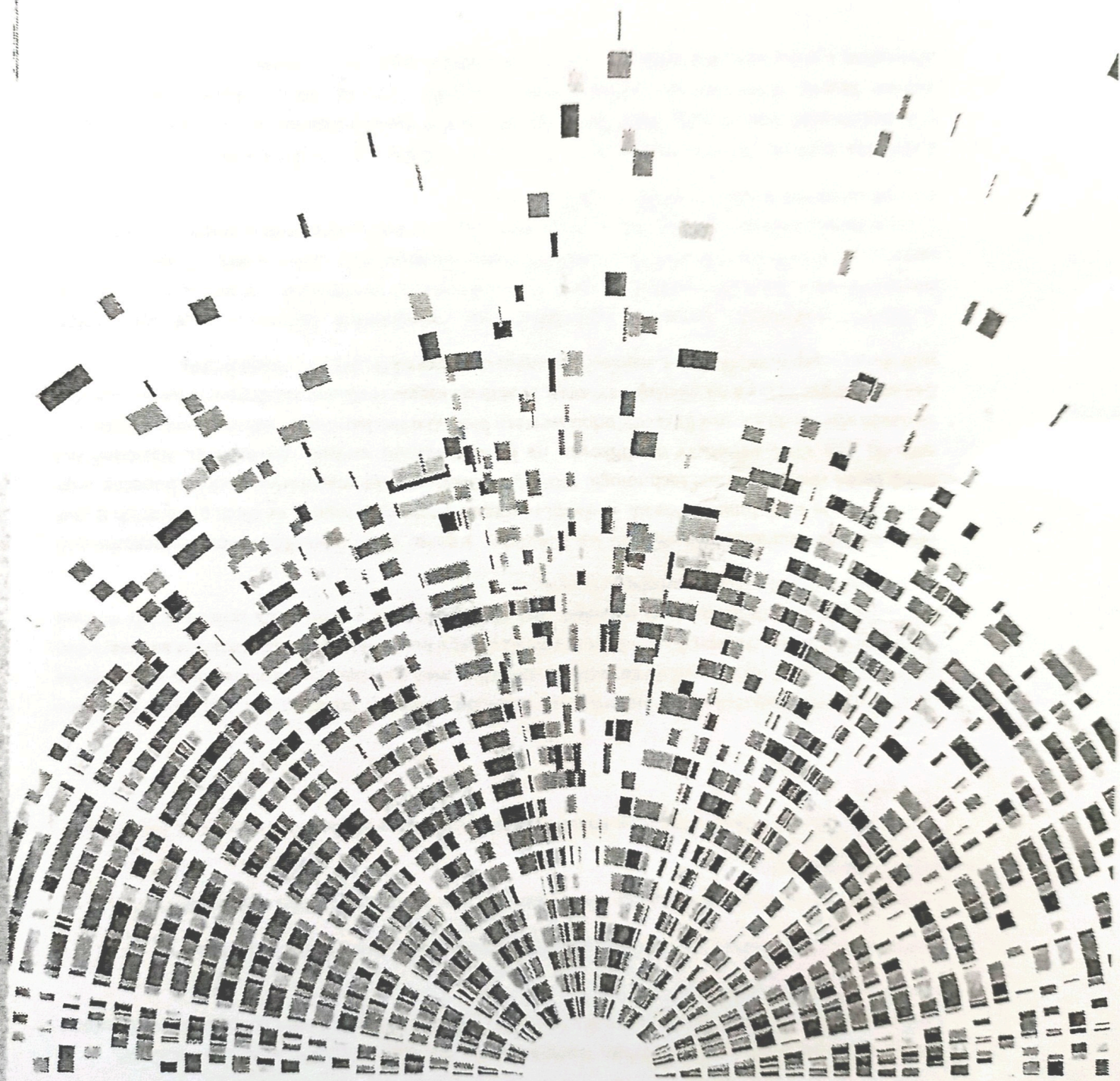


56. VÝROČNÍ  
CYTOGENOMICKÁ  
KONFERENCE

# SBORNÍK

7. – 8. září 2023 | Clarion Congress Hotel Ostrava



## **Intronová varianta v RAD50 způsobující neefektivní rozpoznání místa větvení a neočekávaný aberantní sestřih**

Blaháková Ivona<sup>1,2</sup>, Helma Robert<sup>1,2</sup>, Přemysl Souček<sup>5</sup>, Trizuljak Jakub<sup>1,3</sup>, Rastislav Beharka<sup>3,4</sup>, Vrzalová Zuzana<sup>1,2</sup>, Jiří Štika<sup>2</sup>, Kateřina Staňo Kozubík<sup>1,2</sup>, Kamila Réblová<sup>1,2</sup>, Michael Doubek<sup>1,2,3</sup>, Pospíšilová Šárka<sup>1,2,3</sup>

- 1- Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU
- 2- CEITEC MU (Středoevropský technologický institut), MU, Brno
- 3- Ústav lékařské genetiky a genomiky LF MU Brno
- 4- Pracoviště lékařské genetiky, Nemocnice Jihlava
- 5- *Centrum* kardiovaskulární a transplantační chirurgie *Brno*

**Úvod:** Intronové varianty nemění kódující sekvenci genů, ale mohou ovlivnit jejich funkci prostřednictvím aberantního sestřihu RNA. Vytvoření nového AG dinukleotidu v akceptorovém sestřihovém místě vede typicky k jeho využití, případně k přeskočení exonu. Záměnu tohoto typu jsme detekovali v intronu 15 genu *RAD50* (NM\_005732.4:c.2525-13T>A), který se účastní oprav poškozené DNA.

**Metody:** *In silico* predikce účinku detekované varianty na sestřih RNA byla provedena pomocí SpliceAI. Síla akceptorového sestřihového místa byla vypočtena pomocí MaxEntScan. Predikce míst větvení byla provedena pomocí LaBranchoR. Vznikající transkript byl analyzován pomocí dvoukrokové PCR následované kapilární elektroforézou. Ke kvantifikaci mutovaných alel byla použita minigene assay.

**Výsledky:** Oproti očekávání tato varianta aktivovala dvě velmi slabá kryptická akceptorová místa sestřihu exonu 15. Prokázali jsme, že tento neobvyklý sestřih byl pravděpodobně způsoben oslabením autentického místa větvení umístěného 15 nukleotidů od mutované pozice a následně upřednostněním kryptických míst větvení. Díky tomu došlo k využití blízkých kryptických míst sestřihu a to i přesto, že šlo o extrémně slabá akceptorová místa bez polypyrimidinového traktu.

**Závěr:** Z naší studie je zřejmé, že varianta c.2525-13T>A narušuje správný sestřih *RAD50*, což vede k posunu čtecího rámce a následnému NMD nebo produkci nefunkčního proteinu. Jedná se o velmi zajímavý případ, kdy je autentické využití 3' ss potlačeno z důvodu neefektivního rozpoznávání místa větvení.

**Podpořeno:** projekt ACGT (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_026/0008448), grant AZV (NU20-08-00137), FNBr (65269705), RRF EXCELES (ID LX22NPO5102).