



ČVUT

ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE

Analýza expresie galektínov vo vybraných nádorových líniách

Bakalárska práca

Fakulta biomedicínskeho inžinierstva

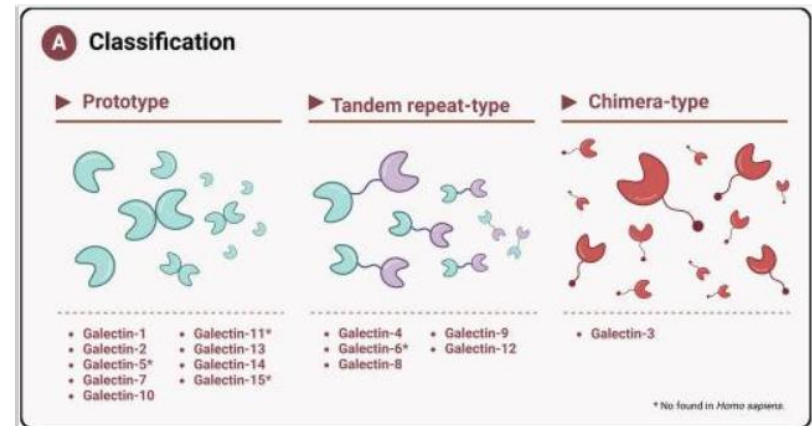
Autor: Kristína Kalušová

Vedúci práce: Ing. Jana Jarošová, Ph.D.

Konzultant: Prof. RNDr. Pavla Bojarová, Ph.D.

Galektíny: Charakteristika a klasifikácia

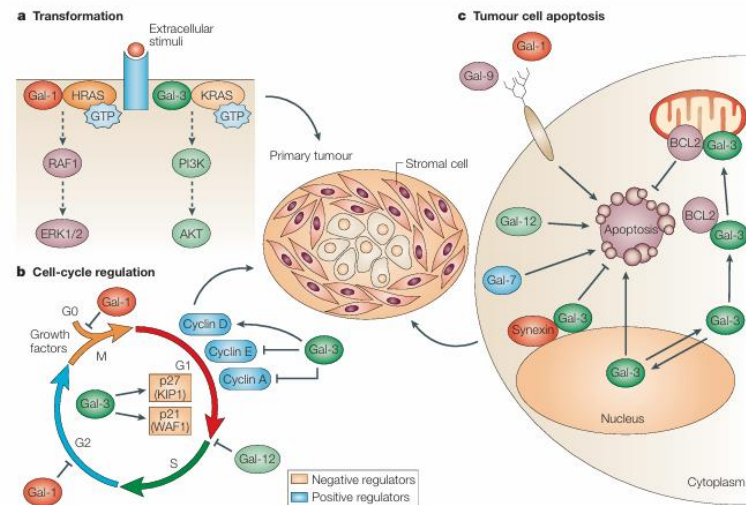
- **S-tyt lektíny** - afinita k β -galaktózidom
- sacharid-viažúca doména (CRD)
- **Klasifikácia (3 typy):**
 - Proto-tyt (Gal-1, -2)
 - Tandem-repeat tyt (Gal-4, -8, -9)
 - Chiméra-tyt (Gal-3)



Zdroj: Zhang a kol., 2025

Biologický význam galektínov v onkológií

- Regulácia **proliferácie** a **apoptózy**
- Podpora **angiogenézy**
- Facilitácia **invazivity** a **metastázovania**
- **Imunitný únik**: Mechanizmus tzv. *glyco-immune checkpoints*
- **Prognostické biomarkery** – diagnostický a terapeutický potenciál



Zdroj: Liu a Rabinovich, 2005

Ciele práce

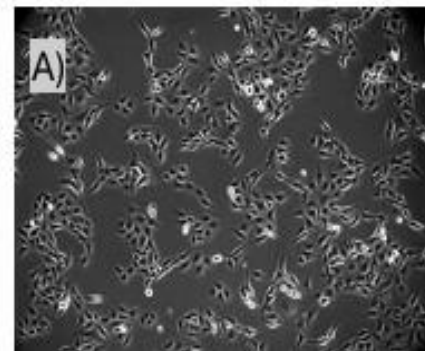
LGALS1, -2, -3, -4, -7, -8, -9, -10, -12, -13, -14, -16

- Systematická analýza transkripčnej expresie **12 génov** rodiny galektínov (*LGALS*)
- Porovnanie profilov v **5 modelových bunkových líniah** (prsník, prostata, kolorektál, ľadvina)
- Vyhodnotenie miery **heterogenity expresie galektínov** medzi nádorovými modelmi

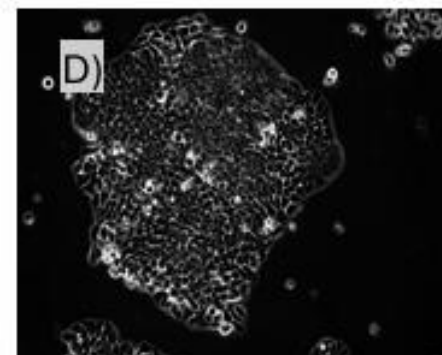
Biologické modely: Bunkové línie

Tabuľka 1: Charakteristika modelových línií

Bunková línia	Pôvod	Fenotyp / Klinický kontext
MDA-MB-231	Prsník	Agresívny, triple-negatívny (TNBC), metastatický
DU-145	Prostata	Androgén-independentný, stredne invazívny
HT-29	Hrubé črevo	Diferencovaný adenokarcinóm, mikroklky
T84	Hrubé črevo	Metastatický (pľúca), vysoký bariérový odpor (TEER)
HEK-293	Ladvina	Kontrola: Nenádorový model, embryonálny pôvod



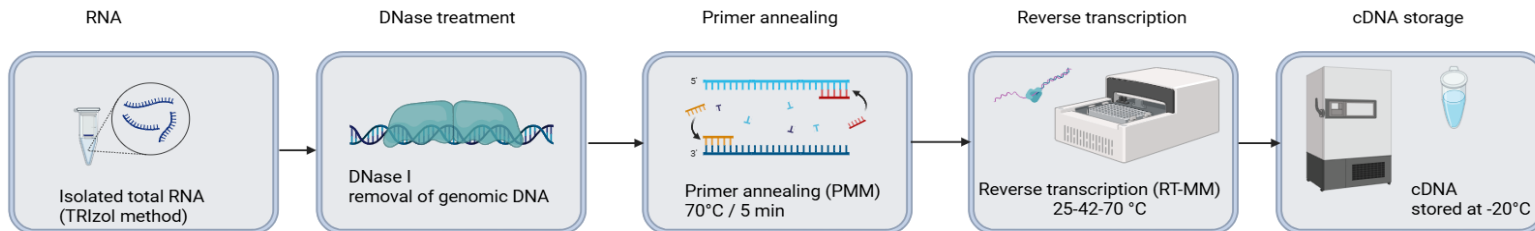
A) MDA-MB-231



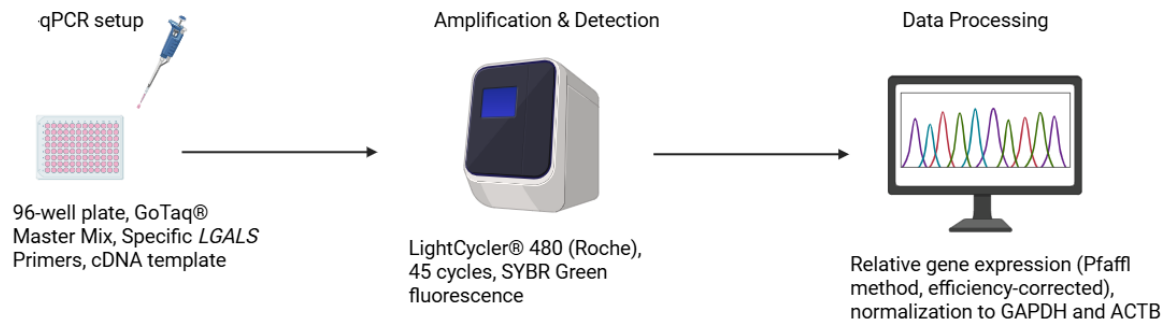
D) HT-29

Metodický postup

Príprava vzoriek



Analýza génovej expresie (qPCR)



Analýza dát a štatistické spracovanie

- **Relatívna kvantifikácia:**
Pfafflova metóda
- **Normalizácia:** Geometrický priemer referenčných génov (**GAPDH a ACTB**)
- **Štatistická analýza:** Log-normálna analýza rozptylu (**ANOVA**)
- **Softvérové spracovanie:**
GraphPad Prism
- **Signifikancia:** P-hodnoty ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$)

Pfafflov model:

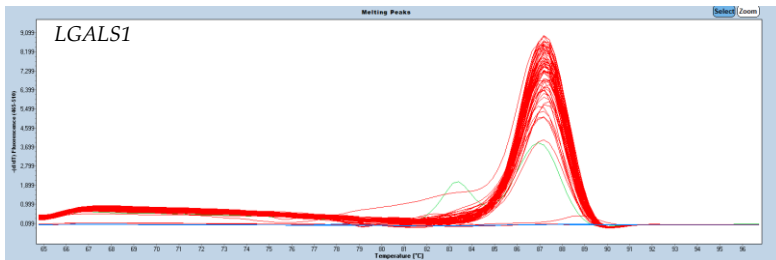
$$Ratio = \frac{(E_{target})^{\Delta C_{t_{target}}(control-sample)}}{(E_{ref})^{\Delta C_{t_{ref}}(control-sample)}}$$

E = efektivita amplifikácie

ΔC_t = rozdiel cyklov (kontrola-vzorka)

Expresný profil rodiny galektínov v testovaných líniách

Reprezentatívna krivka tánia

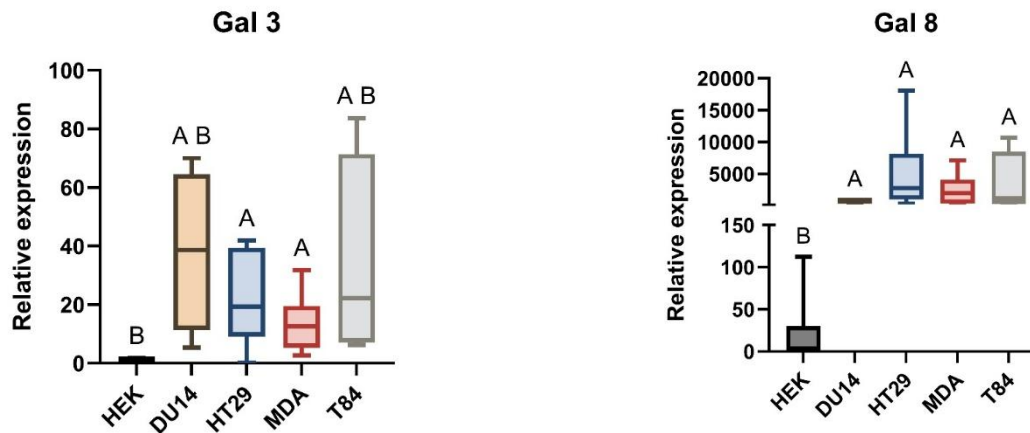


- Špecifickosť: 1 pík / bez NTC
- Efektivita: 49.5-102.8 %
- Model: Pfaffl (korekcia E)

Tabuľka 2: Efektivita amplifikácie cieľových génov

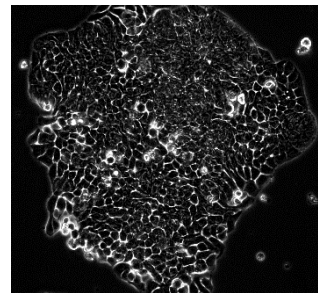
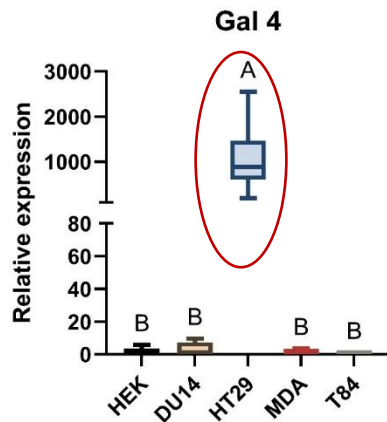
Gene	Efficiency (%)
LGALS1	81.2
LGALS2_1	88.0
LGALS2_2	86.7
LGALS3	85.9
LGALS4	56.7
LGALS8_1	102.8
LGALS8_2	61.4
LGALS9_1	97.3
LGALS9_2	49.5
LGALS10	75.6
LGALS12_1	88.5

LGALS3 a *LGALS8* – Univerzálné markery nádorového fenotypu

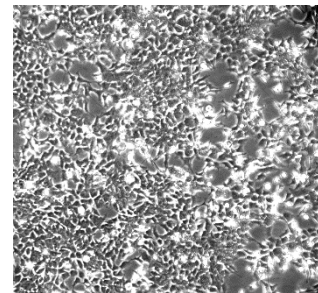


- **Konzistentná upregulácia** vo všetkých nádorových líniách
- **Nezávislosť od tkaniva:** spoločný znak nádorových buniek
- **Stabilné biomarkery:** potenciál pre diagnostiku
- *LGALS8*: masívna upregulácia (15 000-násobok)

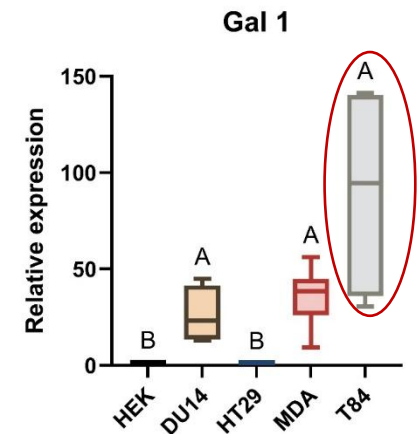
Molekulárna heterogenita kolorektálneho karcinómu (HT-29 vs. T84)



HT-29

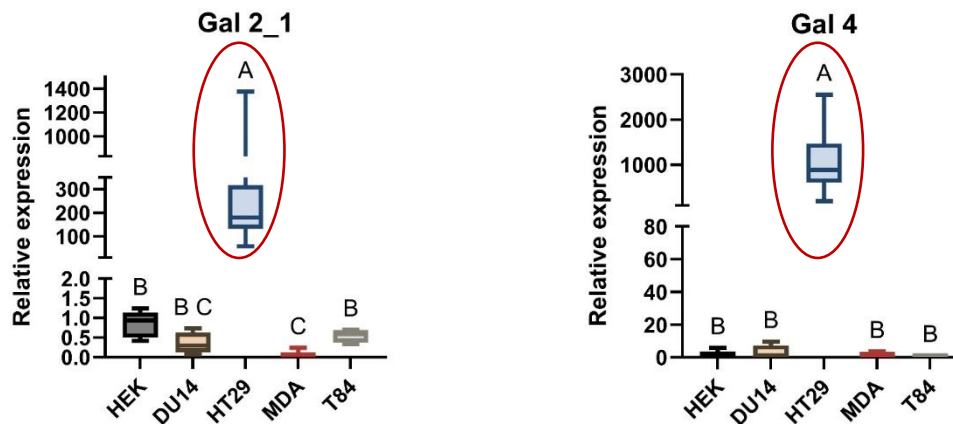


T84



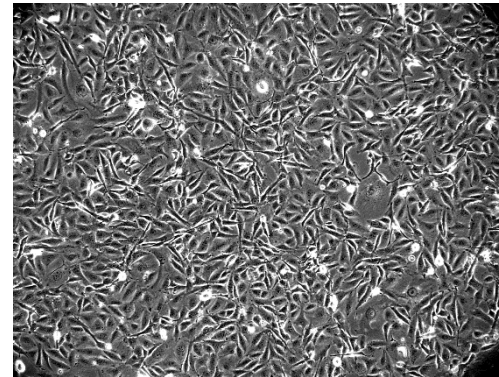
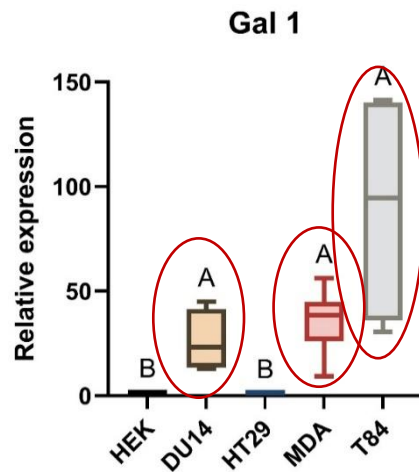
- **Odlišný expresný profil** v línách z rovnakého orgánu
- *LGALS4*: dominantný transkript pre HT-29
- *LGALS1*: dominantný transkript pre T84
- **Dôkaz molekulárnej heterogenity** kolorektálneho karcinómu

Gastro-špecifický profil línie HT-29 a súvislosť s diferenciaciou



- **Tkanivová špecifita:** expresia limitovaná na GI trakt
- **Marker diferenciacie:** súvislosť s enterocytárnym fenotypom
- **Biologický význam:** stabilizácia membrány a sekrécie mucínov
- **LGALS4:** marker diferencovaného epitelu

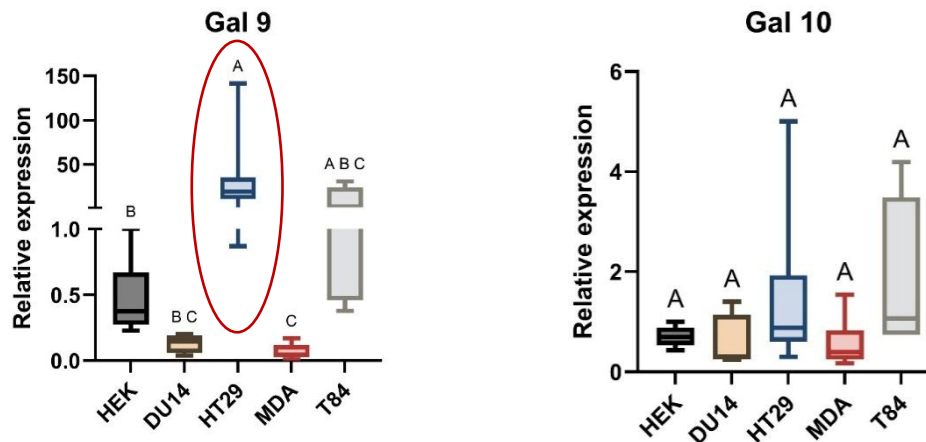
LGALS1: Marker agresivity a imunitnej tolerancie



MDA-MB-231 –
vretenovitá morfológia

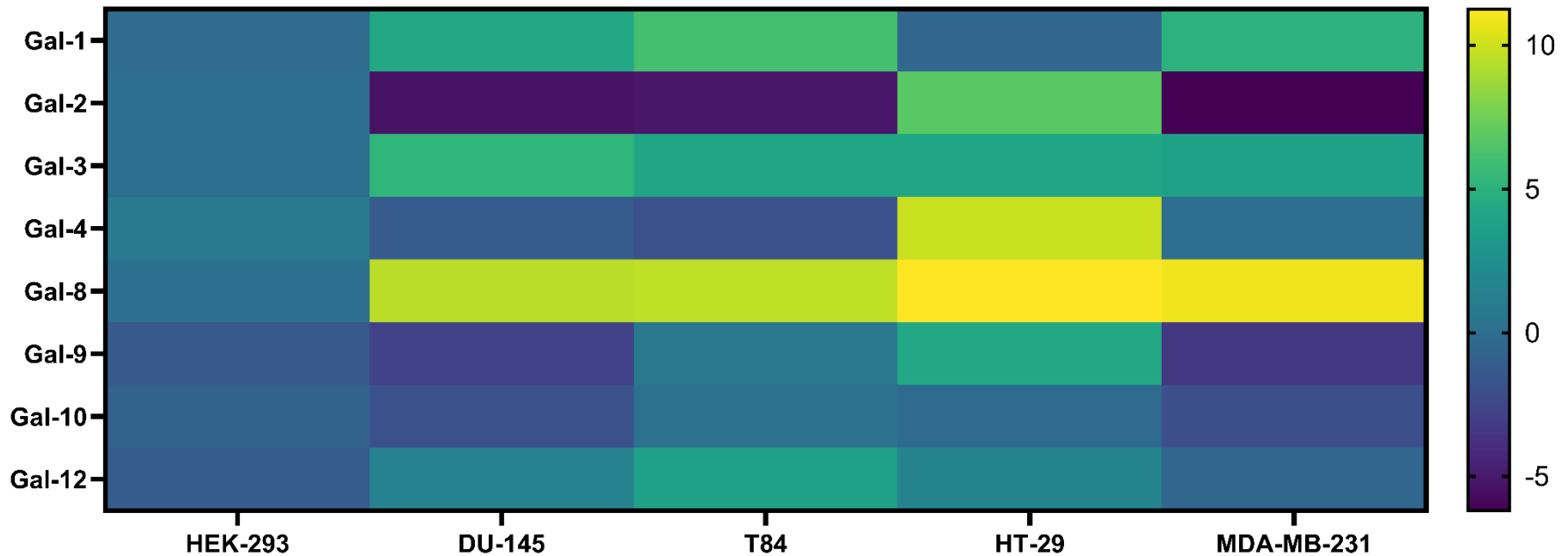
- **Upregulácia (skupina A):** línie T84, MDA-MB-231 a DU-145
- **Maximum v T84:** najvyšší transkripčný nárast (vyše 100x)
- **Marker agresivity:** súvislosť s invazívnym potenciálom

Molekulárna variabilita a imunomodulačný potenciál



- **LGALS9:** výrazná tkanivová variabilita s maximom v línii HT-29
- **Imunomodulačný potenciál:** schopnosť potláčať imunitnú odpoveď (napr. cez interakciu s T-lymfocytmí)
- **LGALS10:** plošne nízka bazálna expresia (priemerná hodnota $C_p = 33$)
- **Interpretácia:** potvrdenie špecificity Gal-10 pre bunky IS

Súhrnný transkripčný profil galektínového panelu



- Heatmapa relatívnej expresie galektínov v bunkových líniách
- Hodnoty sú zobrazené v \log_2 farebnej škále

Závery a perspektívy

- **Molekulárna identita > Tkanivový pôvod**
- *LGALS3* a *LGALS8*: potenciálne univerzálne onkologické biomarkery
- **Precízna onkológia**: nutnosť personalizovaného výberu modelov
- **Perspektíva**: validácia na proteínovej úrovni a funkčné štúdie

Ďakujem za pozornosť!

Pod'akovanie:

- Ing. Jana Jarošová, Ph.D.
- Prof. RNDr. Pavla Bojárová, Ph.D.