

Abstrakt

CCCTC-vázající faktor (CTCF) má schopnost aktivovat a tlumit transkripci genů mechanismem vytváření chromatinových smyček, jež spojují regulační oblasti s promotory, na nichž je zahájena transkripce RNA. Metylace DNA představuje modifikaci cytosinových nukleotidů, jež má regulační vlastnosti a je vytvářena jaderným enzymatickým aparátem. Regulační role CTCF tkví ve vazbě na nemetylovanou DNA a interakci s dalšími bílkovinami kohezinového komplexu vedoucí k ovlivnění transkripce sousedících genů; například genů pro *H19* a *Igf2*. Role CTCF v krvetvorbě je předpokládána a řada prací ukazuje i na význam CTCF pro vznik leukemické transformace a nadměrné produkci klonálních myeloblastů, avšak přesný mechanismus těchto procesů není znám. Imprinting je epigenetický mechanismus pro regulaci transkripce skrze metylaci DNA a CTCF, jež je využívána při maternálním a paternálním přenosu genetické informace do zygoty. Mezi molekulární mechanismy CTCF patří takzvaný blokující efekt, kterým CTCF odstraní vliv regulační zesilovací („enhancerové“) sekvence na funkci promotoru. V naší výzkumné práci jsme si položili otázky vedoucí ke zjištění role CTCF v krvetvorbě.

Výsledky mé práce potvrzují, že se CTCF váže do kontrolní oblasti pro geny *H19* a *Igf2*. V mé práci jsme identifikovali nového vazebného partnera pro CTCF, kterým je chromatin remodelační faktor z rodiny ISWI ATPáz Smarca5, který taktéž interaguje s kohezinovým komplexem a umožňuje vazbu CTCF na jeho vazebná místa na DNA. Navíc Smarca5 funkčně podporuje Ctf a je nezbytný pro jeho enhancer-blokující aktivitu v kontrolní oblasti *H19/Igf2*. Dále jsme identifikovali nový CTCF-regulovaný lokus v oblasti klíčového hematopoetického regulátoru *SPI1* (PU.1) a prokázali, že v normálně diferencujících myeloidních buňkách jsou CTCF a SMARCA5 společně s členy kohezinového komplexu vázány na enhancer pro gen *SPI1*. Vazba k *SPI1* je závislá na metylaci DNA a v myeloblastech je znemožněna hypermetylací, jež je reverzibilní po působení DNA demetylačního činidla Azacytidinu.