

ABSTRAKT

Fanconiho anémie je autosomálně recesivní onemocnění způsobené mutací v jednom z Fanconiho genů. Mezi projevy tohoto onemocnění patří vývojové abnormality, poruchy tvorby kostní dřeně, zvýšená citlivost na činnidla způsobující tvorbu meziřetězcových spojení komplementárních vláken DNA predispozice k rakovině a mnoho dalších. Takto vzniklá spojení vláken DNA jsou opravena za pomoci opravné dráhy Fanconiho anémie, která pro správnou funkci vyžaduje monoubiquitylaci proteinu FANCD2, která je závislá na fosforylaci proteinu FANCI pomocí ATR kinasy. Bylo zjištěno, že fosforylace FANCI spouští tuto opravnou dráhu, ovšem přesný molekulární mechanismus není doposud znám.

V této práci byl studován molekulární mechanismus regulace opravné dráhy Fanconiho anémie za pomoci fosforylace proteinu FANCI. Za tímto účelem byly vytvořeny fosfomimetické mutanty tohoto proteinu, s jejichž pomocí byla sledována vazba na DNA. Hlavním cílem této diplomové práce bylo odhalit jak fosforylace proteinu FANCI ovlivňuje jeho vazbu na DNA, a to s i bez přítomnosti jeho vazebného partnera FANCD2. Fosfomimetické mutace na určitých fosforylačních místech byly zkoumány a porovnány v DNA vazebných testech a také za pomoci anizotropie fluorescence. Vliv fosforylace FANCI na monoubiquitylaci FANCD2 byl zkoumán pomocí monoubiquitylačních reakcí.

Klíčová slova: Fanconiho anémie, opravná dráha Fanconiho anémie, oprava poškozené DNA, FANCI, FANCD2, DNA vazebné testy, fosforylace FANCI, monoubiquitylace FANCD2