

## Abstrakt:

Krvetvorba je vysoce uspořádaný hierarchický proces, ve kterém je diferenciace specializovaných krevních buněk závislá na koordinované regulaci genové exprese dvěma klíčovými regulátory: transkripčními faktory a mikroRNA.

PU.1 je základní transkripční faktor nezbytný pro vývoj a diferenciaci kmenových a progenitorových buněk do myeloidní a lymfoidní krevní řady.

MikroRNA jsou nekódující ~22 nukleotidů dlouhé RNA, jež regulují posttranskripčně genovou expresi vazbou do nepřekládané oblasti mRNA a tím způsobují umlčení translace.

Předložená disertační práce popisuje nové mechanismy vzájemné regulace a funkce onkogenních mikroRNA, miR-17-92 klastru a miR-155 a transkripčních faktorů PU.1 a Egr2, účastnících se makrofágové diferenciace myeloidních progenitorů.

MiR-17-92 (Onkomir1) kóduje sedm příbuzných mikroRNA, které regulují buněčnou proliferaci, apoptózu a vývoj, které jsou nadprodukovány v nádorových buňkách myeloidních leukemií a dalších malignit. Tato práce popisuje nový mechanismu regulace miR-17-92 klastru

v myeloidních progenitorech. V průběhu makrofágové diferenciace transkripční faktor PU.1 indukuje expresi sekundárního transkripčního faktoru Egr2. Ten se váže do CpG ostrůvku v promotorové oblasti miR-17-92 klastru a současně přináší protein Jarid1b, histon demetylázu,

jež demetyluje trimetylouvou skupinu na histonu 3 lysinu 4 (H3K4) a tato změna chromatinové

struktury má za následek represi transkripce miR-17-92 klastru.

Nadprodukce miR-17-92 klastru v myeloidních progenitorech prokázala, že vypnutí exprese miR-17-92 klastru je nezbytným předpokladem makrofágové diferenciace.

Tato disertační práce dále prokazuje, že naopak transkripční faktor Egr2 je cílem miR-17-92 klastru, který ho posttranskripčně inhibuje. Tyto výsledky ukazují, že Egr2 a miR-17-92 jsou součástí negativního zpětnovazebného mechanismu, kde Egr2 reprimuje miR-17-92

v diferencujících se buňkách a naopak miR-17-92 inhibuje Egr2 v proliferujících progenitorech.

V této disertační práci je dále ukázáno, že PU.1 indukuje expresi miR-155 v časných fázích makrofágové diferenciace progenitorů mechanismem zahrnujícím histonovou acetylaci.

Identifikované mechanismy regulace miR-17-92 klastru a miR-155 jsou narušeny v průběhu leukemogeneze pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML), jejichž leukemické blasty mají významně zvýšenou hladinu miR-17-92 klastru a miR-155 a zároveň sníženou hladinu transkripčních faktorů EGR2 a PU.1.

Tato disertační práce popisuje nové mechanismy regulace onkogenních mikroRNA miR-17-92 a miR-155. Tyto mechanismy jsou nezbytné pro diferenciaci makrofágů a jsou narušeny v průběhu leukemogeneze AML a potenciálně dalších malignit.