

## Abstrakt

Chromatin remodelační protein Smarca5 se účastní řady buněčných procesů, které jsou důležité jak z hlediska vývoje tkání, tak i z pohledu nádorové biologie. Mezi procesy, v průběhu kterých Smarca5 remodeluje chromatinovou strukturu, patří například genová transkripce, replikace a opravy poškozené DNA. Předpokládali jsme, že Smarca5 představuje esenciální molekulu pro modulaci chromatinu především ve vývojově časných a rychle se dělících progenitorech tkání, u nichž se často objevuje i zvýšená hladina transkriptu této ATPázy. Jednou z takovýchto tkání je i krvetvorba. Předmětem předkládané disertační práce je analýza vlivu deplece Smarca5 na proliferaci a diferenciaci krvetvorných progenitorů *in vivo* a zároveň hledání mechanismů narušení jejich vývoje. Pomocí námi vytvořeného myšičího modelu s podmíněně deletovatelnou alelou (angl. „conditional knockout“) genu Smarca5 v krvetvorných kmenových buňkách jsme zjistili, že deplece této ISWI ATPázy způsobuje akumulaci časných hematopoetických progenitorů a inhibici jejich maturace směrem do erytroidní a myeloidní řady. Proerytroblasty vykazovaly dysplastické změny a u podstatné frakce bazofilních erytroblastů se objevovala zástava buněčného cyklu na rozhraní fází G2/M. Předpokládaným mechanismem pozorovaných změn se ukázala být aktivace stresové dráhy proteinu p53, která je obvykle asociovaná s neopraveným poškozením DNA. Studium delecí genu Smarca5 specificky v progenitorech lymfocytů také potvrdilo citlivost této buněčné linie ke ztrátě chromatin remodelačních aktivit zajišťovaných proteinem Smarca5. Výsledkem byla zástava vývoje na úrovni velmi časných T- a B-buněčných stádií a, podobně jako v případě erytroblastů, i aktivace dráhy proteinu p53. Nakřížením nulové alely genu Trp53 do myši s delecí Smarca5 jsme ovšem nezjistili výrazné zlepšení fenotypu, a domníváme se proto, že aktivace této signální dráhy není primární příčinou zástavy buněčného cyklu postižených vyvíjejících se lymfocytů. Nejvíce viditelné změny byly pozorovány v expresním profilu nezralých T-lymfocytů, který vykazoval známky vývojového opoždění. Maturovanější stadia exprimovala vývojově časná transkripty a zároveň nebyla schopna indukce exprese transkriptů specifických pro diferencovanou buňku. Data tedy naznačují, že gen Smarca5 hraje roli v nastavení vývojově specifické genové exprese v časných stádiích vývoje. Tuto eventualitu jsme podobněji studovali na úrovni genů, jejichž exprese je regulována epigenetickým regulátorem CTCF. Zjistili jsme, že SMARCA5 facilite vazbu proteinu CTCF do regulační oblasti genu SPI1/PU.1, kde společně inhibují expresi tohoto velmi důležitého transkripčního faktoru krvetvorby. Domníváme se, že popsany mechanismus inhibice exprese genu SPI1/PU.1 může přispívat

nádorovým buňkám akutní myeloidní leukémie k zablokování jejich diferenciaci do myeloidní řady krvetvorby. V souhrnu naše data ukazují, že remodelace chromatinu zajišťovaná ISWI ATPázou Smarca5 je nezastupitelná prakticky na všech úrovních hematopoézy od kmenových buněk a z nich odvozených nádorů až po terminálně diferencovaná stádia.