

Streszczenie rozprawy doktorskiej pani Agnieszki Hoang-Bujnowicz pt. „Wpływ indukowanego stresu komórkowego na dynamikę chromatyny i białka 53BP1 badany fluorescencyjną spektroskopią korelacyjną”

Odpowiedź komórki na uszkodzenie DNA jest istotnym zagadnieniem, które jest obecnie przedmiotem intensywnych dociekań zarówno na poziomie molekularnym jak i komórkowym.

Wciąż jednak niewiele wiadomo o lokalnej ruchliwości nici DNA w miejscu uszkodzenia, szczególnie w krótkiej skali czasowej i małej skali przestrzennej, które odpowiadają procesom molekularnym oraz lokalnym ruchom włókien chromatyny. Informacje te są teoretycznie dostępne dla fluorescencyjnej spektroskopii korelacyjnej, FCS (ang. *fluorescence correlation spectroscopy*). Za główny cel niniejszej pracy przyjęto sprawdzenie przy użyciu techniki FCS, czy istnieje zależność między wywołaniem skupioną wiązką światła wielu uszkodzeń nici DNA na niewielkim obszarze a zmianami lokalnej dynamiki chromatyny. W badaniach mierzono mobilność białek histonowych pod wpływem czynników modyfikujących strukturę chromatyny oraz mobilność białka 53BP1, będącego jednym z białek gromadzących się w ognisku naprawczym powstałym w miejscu uszkodzenia. Eksperymenty z czynnikami zmieniającymi upakowanie chromatyny, dzięki zastosowaniu modelu uwzględniającego wymianę białek na nici DNA, pozwoliły oszacować szybkość wymiany histonów łącznikowych oraz pokazać, że zwiększenie upakowania chromatyny wiąże się ze spadkiem mobilności włókien, natomiast jej rozluźnienie skorelowane jest ze zwiększoną wymianą histonów łącznikowych. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w ognisku naprawczym sugerują raczej dynamiczną wymianę białek z nukleoplazmą niż tworzenie się statycznych struktur. Ponadto, z jednej strony uzyskane wyniki sugerują niewielki wpływ ewentualnego zgęstnienia otoczenia chromatyny na ruchy samych włókien, co więcej, nie wskazują na ich globalne usztywnienie w wyniku dołączenia licznych czynników odpowiedzi na uszkodzenie DNA. Z drugiej strony, obserwowany jest znaczny spadek współczynnika dyfuzji białka 53BP1 w ognisku naprawczym, co można interpretować jego wiązaniem się do chromatyny. Porównanie mobilności histonów oraz 53BP1 w obrębie ogniska naprawczego sugeruje heterogenność ruchliwości włókien chromatyny oraz zakłada niejednorodność ich modyfikacji na obszarze mniejszym niż dyfrakcyjnie ograniczony obszar detekcji.

Uzyskane wyniki pokazują, iż FCS, mimo szeregu trudności, może być z powodzeniem wykorzystana w badaniach nad mobilnością chromatyny oraz procesami naprawy DNA.

Agnieszka Hoang-Bujnowicz 