

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU (W JĘZYKU POLSKIM)

Materiał genetyczny jest stale narażony na powstawanie uszkodzeń. Czynniki zewnętrzne takie jak promieniowanie jonizujące i związki chemiczne mogą powodować pęknięcie podwójnej nici DNA. Powstawanie takich uszkodzeń może prowadzić do zaburzeń w replikacji i zahamować podziały komórkowe. Sprawnie funkcjonujący mechanizm naprawy uszkodzeń zapobiega powstawaniu trwałych mutacji. Jedną ze ścieżek naprawy DNA jest homologiczna rekombinacja. Proces ten prowadzi do naprawy podwójnych pęknięć DNA bez utraty informacji zawartej w sekwencji. Ponadto, mechanizm ten jest konieczny do rekombinacji genetycznej w trakcie podziału mejotycznego. W proces homologicznej rekombinacji zaangażowanych jest wiele białek, z których centralną rolę pełni Rad51, rekombinaza tworząca nukleofilamenty w obrębie uszkodzenia. Jednakże niezbędny jest również udział białek mediatorowych, które stabilizują powstające struktury.

Materiał genetyczny w jądrze komórkowym jest silnie upakowany. Każde 147 par zasad jest nawinięte na rdzeń histonowy, tworząc nukleosom. Genom nie jest jednorodny – niektóre regiony upakowane są słabiej a inne silniej. Prowadzi to do różnic w aktywności transkrypcyjnej poszczególnych regionów. Obszarem o zmniejszonej dostępności jest heterochromatyna, występująca u *Schizosaccharomyces pombe* w centromerach, telomerach, rDNA i regionie zmiany typu płciowego. Utrzymanie stabilności chromatyny jest niezbędne dla zachowania integralności genomu. Zaburzenia w regulacji wyciszania mogą prowadzić do nieuprawnionej rekombinacji w miejscach szczególnie wrażliwych, takich jak serie powtórzeń w obrębie centromeru. Za utrzymanie tej struktury odpowiedzialne są białka regulatorowe, w większości należące do rodziny SNF2. Są to DNA zależne ATPazy, mogące remodelować strukturę chromatyny.

Organizacja genomu jest silnie konserwatywna u organizmów eukariotycznych. Pozwala to na wykorzystanie organizmów modelowych, a uzyskane wyniki można odnieść do komórek ludzkich. Idealnym organizmem modelowym do badania struktury chromatyny i mechanizmów naprawy DNA są drożdże *Schizosaccharomyces pombe*. Umożliwiają tanie i szybkie prowadzenie badań nad tymi skomplikowanymi procesami.

Białka biorące udział w powyżej opisanych procesach często występują w postaci kompleksów. Jednymi z nich są występujące u *S. pombe* białka Rrp1 i Rrp2. Są one paralogami białka Uls1, SUMO-zależnej ligazy ubikwitynowej, obecnej u *Saccharomyces cerevisiae*. W trakcie poprzednich badań, wykazano ich rolę w procesie homologicznej rekombinacji. Pokazano ich interakcję z białkiem Rad52, głównym mediatorem homologicznej rekombinacji. Ponadto zaliczono je do rodziny Snf2 DNA zależnych ATPaz. Podobieństwo strukturalne i obecność specyficznych motywów pozwala przypuszczać, że mogą one funkcjonować jako regulatory struktury chromatyny.

W ramach projektu, zaplanowano przeprowadzenie testów aktywności białek Rrp1 i Rrp2 *in vitro*. Sprawdzona ich zdolność do ubikwitynacji SUMOilowanych białek. Białka Rrp1 i Rrp2 mogą ulegać potranslacyjnym modyfikacjom – SUMOilacji i fosforylacji. Odpowiedzialne za to są specyficzne motywy obecne w ich sekwencji. Przeprowadzona zostanie analiza obecności cząsteczek SUMO i reszt fosforanowych przyłączonych do obu białek. Przy wykorzystaniu endonukleazy MN, przetestowana zostanie zdolność Rrp1 i Rrp2 do remodelowania struktury chromatyny.

Informacje uzyskane w ramach projektu, pozwolą na rozszerzenie wiedzy dotyczących mediatorów homologicznej rekombinacji, oraz dostarczą nowych danych o organizacji struktury chromatyny. Pozwoli to na dokładniejsze poznanie mechanizmów utrzymania stabilności genomu, która jest niezwykle ważna w kontekście wielu chorób.