

## Popularnonaukowy opis badań

Każda komórka w ciele człowieka zawiera w swoim jądrze komórkowym nić DNA o długości dwóch metrów. Przeciętnie średnica jądra komórkowego wynosi od 5 do 10  $\mu\text{m}$  (0,005-0,010 mm). Musi zatem istnieć skomplikowany sposób, w jaki tak długa nić zwinięta jest w kulce o średnicy kilkusetkrotnie mniejszej od główki zapalniczki. Wiemy, że nić zwinięta jest za pomocą białek – histonów, tworząc nukleosomy i w końcu włókna chromatynowe. Nie jest jednak do końca jasne jak wspomniane włókna zorganizowane są w jądrze, w taki sposób, aby istniał do nich dostęp, między innymi dla systemów naprawy DNA czy RNA polimerazy II, odpowiedzialnej za transkrypcję genów. Wiemy też, że organizacja ta jest nieprzypadkowa. Dzięki technikom morfologicznym, takim jak fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* DNA (FISH), możemy wyznakować specyficzne odcinki DNA. Podejście takie wykazało, że chromosomy, łatwo wyróżnialne w trakcie podziału komórki, w interfazie zajmują ściśle określone przestrzenie zwane terytoriami chromosomowymi. Dowiedziono także, że od pozycji genu w jądrze może zależeć jego aktywność. Ostatnio powstały również nowe techniki badania interakcji międzychromatynowych, tak zwane metody biochemiczne. Uwidaczniają one regiony chromatyny, które znajdują się w bezpośrednim sąsiedztwie w przestrzeni jądra. Często są to regiony, które znajdują się od siebie w dużej odległości liniowej w sekwencji DNA. Takie interakcje konieczne są, między innymi, do aktywacji genu. Dzięki wspomnianym metodom wyodrębniono nowe jednostki funkcjonalne chromatyny – topologiczne domeny chromatynowe o długości  $\sim 1$  miliona par zasad. W domenach tych obserwuje się silne interakcje międzychromatynowe. Ograniczeniem większości metod biochemicznych jest możliwość ich przeprowadzenia jedynie na populacjach jąder komórkowych (miliony jąder). Uzyskiwane wyniki są zaś uśrednione. Jeśli w obrębie danego regionu obserwujemy 4 domeny topologiczne, nazwijmy je A, B, C i D, nie można stwierdzić czy wszystkie cztery domeny występują we wszystkich jądrach w obu kopiach chromosomu, czy może w połowie dwie domeny, na przykład A i B, a w drugiej połowie dwie kolejne domeny – C i D.

Ze względu na ograniczenia rozdzielczości stosowanych metod mikroskopowych, domeny te dotąd nie zostały zwizualizowane. Obserwowano je tylko na mapach kontaktów międzychromatynowych, które są wynikiem badań biochemicznych. Nie znana była zatem między innymi ich fizyczna wielkość. Poznanie tych wielkości, a także nieuśredniona informacja o poszczególnych jądrach, a nawet kopiach chromosomu pozwoliłaby lepiej zrozumieć sposób, w jaki chromatyna zorganizowana jest w jądrze komórkowym.

Dlatego też celem tego projektu jest opracowanie nowej metody wizualizacji genów i domen chromatynowych z wysoką rozdzielczością w trzech wymiarach. Opracowana przez mnie technika 3D-EM-ISH łączy trójwymiarową mikroskopię elektronową (EM) oraz wspomnianą hybrydyzację *in situ* DNA (ISH). Na podstawie danych biochemicznych wybrałem region na ludzkim chromosomie siódmym, w którym znajdują się dwie domeny topologiczne. Dzięki takiemu podejściu po raz pierwszy zwizualizowałem topologiczne domeny chromatynowe. Domeny te zwizualizowałem także z użyciem najlepszej alternatywnej techniki świetlnej mikroskopii superrozdzielczej, wykazując wyższą rozdzielczość 3D-EM-ISH.

Kolejnym celem projektu jest dokładne scharakteryzowanie tych domen pod względem kształtu, objętości, wielkości oraz porównanie otrzymanych rzeczywistych struktur z modelami bioinformatycznymi powstałymi na bazie danych biochemicznych. Zadanie to realizowane jest we współpracy z bioinformatykami z Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego.

Podsumowując, realizacja przedstawionych celów pozwoli na lepsze zrozumienie organizacji chromatyny w jądrze komórkowym, co stanowi kolejny krok do zrozumienia związku między strukturą chromatyny a jej aktywnością. Także niesie to ze sobą nadzieję na opracowanie w przyszłości terapii bazujących na podejściach modulujących strukturę chromatyny.