

STRESZCZENIE

Histony zależne od replikacji odpowiedzialne są za organizację struktury chromatyny, w związku z czym poziom ekspresji tych genów jest ściśle skoordynowany z cyklem komórkowym. Podczas fazy S, kiedy syntetyzowana jest nowa kopia DNA, obserwuje się wysoki poziom ekspresji genów kodujących histony zależne od replikacji. W pozostałych fazach (G1 i G2/M) ekspresja ta jest wyciszona, ponieważ nadmiar histonów może być toksyczny dla komórki. Opisywane geny charakteryzują się brakiem intronów, a końce 3' ich transkryptów podlegają unikalnemu procesowi dojrzewania, w którym cząstka U7 snRNP stanowi unikalny i kluczowy składnik. W Zakładzie Ekspresji Genów na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza wykazano, że cząstka ta oddziałuje z białkiem PC4. Jest to małe, mocno zakonserwowane białko, które w komórce pełni rolę korelatora transkrypcji.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie roli białka PC4 w regulacji ekspresji genów kodujących histony zależne od replikacji w komórkach HeLa. Z uwagi na fakt, iż białko to jest znanym korelatorem transkrypcyjnym, zdecydowałam się sprawdzić jego wpływ na poziom transkrypcji badanych genów. Za pomocą eksperymentów typu immunoprecypitacja chromatyny (ChIP) oraz RT-qPCR wykazałam, że białko PC4 jest negatywnym regulatorem transkrypcji genów kodujących histony zależne od replikacji. Co więcej, wpływ ten uzależniony jest od fazy cyklu komórkowego. Podczas fazy S, kiedy ekspresja genów kodujących histony zależne od replikacji jest na najwyższym poziomie, zwiększenie poziomu białka PC4 w komórce skutkowało obniżeniem poziomu polimerazy RNA II związanej w obrębie tych genów. Z kolei, obniżenie poziomu białka PC4 przyczyniało się do podniesienia poziomu polimerazy RNA II związanej w obrębie tych genów. Co ważne, wzrost poziomu polimerazy RNA II związanej w obrębie genów kodujących histony zależne od replikacji w komórkach PC4 KD przekładał się na zwiększenie poziomu transkryptów tych genów. Natomiast podczas fazy G1, kiedy ekspresja genów kodujących histony zależne od replikacji jest wyciszona, wzrost poziomu białka PC4 w komórce skutkowało podniesieniem poziomu polimerazy RNA II związanej w obrębie tych genów. Jednakże, zmiana ta nie przekładała się na zwiększenie wydajności transkrypcji tych genów. W kolejnym etapie sprawdziłam wpływ białka PC4 na proces dojrzewania końca 3' transkryptów kodujących histony zależne od replikacji. Wykazałam, że również na tym etapie ekspresji białko PC4 funkcjonuje jako negatywny regulator, ale tym razem wpływ ten był niezależny od fazy cyklu

komórkowego. Dowiodłam także, że zwiększenie wydajności transkrypcji i dojrzewania końca 3' transkryptów genów kodujących histony zależne od replikacji, które jest wynikiem obniżonego poziomu białka PC4, znacznie zwiększa tempo proliferacji komórek, najprawdopodobniej na skutek skrócenia czasu trwania fazy S.

Wyniki niniejszej pracy pozwoliły na określenie funkcji białka PC4 jako negatywnego regulatora transkrypcji genów kodujących histony zależne od replikacji oraz dojrzewania końca 3' ich transkryptów. Wpływ tego białka jest specyficzny dla badanych genów, jako że wykazałam, iż zmiany w poziomie białka PC4 nie wpływały na poziom ekspresji genów kodujących histony niezależne od replikacji.