

Rola mediatorów homologicznej rekombinacji w utrzymaniu struktury centromerów u *Schizosaccharomyces pombe*

Streszczenie

Homologiczna rekombinacja jest szlakiem naprawy DNA, który przy udziale białek tworzących heterochromatynę zapewnia prawidłową replikację oraz utrzymanie właściwej struktury i funkcji centromerów. Białka Rrp1 i Rrp2 z *Schizosaccharomyces pombe* należą do rodziny translokaz SWI2/SNF2 i są zaangażowane w naprawę DNA na szlaku homologicznej rekombinacji. W niniejszej pracy pokazano, że zwiększenie ilości Rrp1 i Rrp2 w komórkach prowadzi do nieprawidłowości w replikacji i segregacji chromosomów. Przyczynia się to do niestabilności genomu i spadku przeżywalności komórek. Ponieważ centromery są zbudowane z powtórzonych sekwencji, są one rejonem szczególnie trudnym do replikacji. Wykazano, że Rrp1 i Rrp2 wiążą się do DNA w obrębie centromerów. Ponadto pokazano, że Rrp1 i Rrp2 zwiększają transkrypcyjne wyciszenie genów reporterowych umieszczonych w obszarze centromeru, a także wpływają na strukturę centromerów. Aktywność translokazowa i ligazy ubikwityny Rrp1 i Rrp2 jest ważna dla prawidłowego funkcjonowania centromerów. Nadprodukcja Rrp1 i Rrp2 powoduje globalny spadek poziomu histonów w komórkach. Rola jaką Rrp1 i Rrp2 odgrywają w utrzymaniu stabilności centromerów polega najprawdopodobniej na utrzymaniu odpowiedniej równowagi w poziomie histonu H3 i specyficznego histonu Cnp1 w obszarze centromerowym.

Choć uzyskane do tej pory dane sugerują, że Rrp1 i Rrp2 działają jako kompleks, wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie doktorskiej wskazują, że białka te mogą również pełnić w komórce niezależne role. Rrp1, ale nie Rrp2, fizycznie oddziałuje z PCNA, a do zachowania tej interakcji niezbędny jest motyw PIM. Nadprodukcja Rrp1 prowadzi do spadku ilości PCNA w komórkach, przy jednoczesnym zwiększeniu ilości jego ubikwitynowanych form. Możliwe zatem, że Rrp1 jest ligazą, która ubikwitynuje PCNA, kierując je tym samym do proteasomalnej degradacji. Nadekspresja Rrp2 jest dla komórek bardziej toksyczna niż nadekspresja Rrp1. Rrp2, ale nie Rrp1, jest zaangażowane w utrzymanie stabilności telomerów. Rola jaką w tym rejonie odgrywa Rrp2 polega najprawdopodobniej na ochronie sumoilowanych białek przed degradacją. Z kolei Rrp1 może pełnić w komórce przeciwną funkcję i działać jako SUMO-zależna ligaza ubikwityny.