

**Rola DNA zależnych translokaz w utrzymaniu stabilności genomu u
*Schizosaccharomyces pombe***

STRESZCZENIE

Helikazy to grupa białek, które przemieszczają się wzdłuż kwasów nukleinowych. Podstawowa ich funkcja to rozplątywanie dwuniciowego DNA podczas replikacji. To tej grupy białek zalicza się też translokazy, które swoją aktywność ATPazową wykorzystują do poruszania się wzdłuż nici DNA bez ich rozplatania. Biorą one udział w procesach replikacji i naprawy DNA. Do rodziny helikaz Sfla zalicza się u *S.cerevisiae* i *S.pombe* zależną od DNA helikazę Srs2. Białka homologicznej rekombinacji u *S.pombe*, Rrp1 i Rrp2 należą do Snf2 translokaz, do grupy Rad5/16 podobnej. Rrp1 i Rrp2 działają na ścieżce zależnej od mediatorów homologicznej rekombinacji, Swi5/Sfr1, wspólnie z Srs2 w odpowiedzi na stres związany z naprawą i/lub replikacją DNA. W niniejszej pracy porównano rolę, jaką u *S.pombe* pełnią białka Srs2 oraz Rrp1 i Rrp2 w odpowiedzi na stres replikacyjny.

W pierwszej części pracy pokazano, że zwiększenie ilości Srs2, podobnie jak Rrp1 i Rrp2, prowadzi do zahamowania wzrostu komórek, niestabilności chromosomów i stresu replikacyjnego. Wykazano, że wzrost ilości Srs2, Rrp1 i Rrp2 w różny sposób aktywuje punkty kontrolne cyklu komórkowego. Wcześniejsze badania pokazały zaangażowanie Rrp1 w regulację rekombinazy Rad51. W niniejszej pracy wskazano, że nadmiar Srs2 pogłębia zmiany w komórce wywołane nadprodukcją Rad51, odwrotnie niż zaobserwowano dla Rrp1, czyli że Srs2 u *S. pombe* prawdopodobnie reguluje Rad51 inaczej niż Srs2 w *S. cerevisiae*.

W drugiej części pracy wykazano odmienne działanie Srs2 od Rrp1 i Rrp2 w postreplikacyjnej naprawie DNA u *S.pombe*. W zależności od użytych czynników stresujących pokazano, że Rrp1 i Rrp2 hamują ścieżkę naprawy zależną od homologicznej rekombinacji w postreplikacyjnej naprawie DNA u *S.pombe*, ale bez udziału Srs2 ta ścieżka nie jest w pełni funkcjonalna. Rrp1 i Rrp2 mogą działać także na ścieżce związanej z przełączaniem matrycy, tak jak Rad8. Za to Srs2 u *S.pombe* nie hamuje ścieżki naprawy zależnej od homologicznej rekombinacji, tak jak czyni to jego odpowiednik u *S.cerevisiae*.

Srs2 u *S.pombe* nie posiada C-końca, który u ortologa *S.cerevisiae* zawiera motywy PIM i SIM. Rrp1 posiada te obydwa motywy. W trzeciej części pracy, dzięki badaniom *in vivo* i *in vitro* pokazano, że Rrp1 oddziałuje specyficznie z PCNA (wykluczając łączenie się badanych białek za pośrednictwem DNA), a także Rrp1 może działać jako E3 ligaza ubikwityny, której substratem jest PCNA. Możliwe też, że Rrp1 uczestniczy w usuwaniu PCNA z DNA.

Uzyskane wyniki pozwoliły uzupełnić wiedzę o roli badanych białek w utrzymaniu stabilności genomu u *S.pombe*.