

Dinamika kromatina i progresija replikacijske viljuške u sisavaca

Tomislav Horvat

Znanstveno istraživanje koje ću prezentirati provedeno je pod mentorstvom Dr. Geneviève Almouzni s Instituta Curie u Parizu.

Moj osnovni interes vezan je uz istraživanje replikacije kromatina te čimbenika koji sudjeluju u procesu elongacije replikacijskih viljuški u stanicama sisavaca.

U uvodnom dijelu predstaviti ću osnovna znanja vezano uz replikaciju DNA i dinamiku kromatina tijekom tog staničnog procesa. Nakon toga ću opisati ključne histonske šaperone (eng. *histone chaperones*) te njihovu ulogu u replikaciji kromatina. Poseban naglasak staviti ću na protein Asf1 (eng. *anti silencing function 1*) koji je nedavno otkriven udružen s MCM2-7 proteinskim kompleksom, koji tijekom replikacije u sisavaca vjerojatno preuzima ulogu helikaze. Time je Asf1 postao zanimljiv kandidat u kontroli dinamike histona tijekom S faze staničnog ciklusa. Uslijedit će prikaz rezultata istraživanja dobivenih primjenom eksperimentalnog pristupa koji se temeljio na razvoju dvije komplementarne metode u analizi replikacije kromatina. Tijekom svojeg istraživanja razradio sam novi postupak za 3D analizu temeljen na kvantifikaciji elongacije u jezgrama sisavaca u *in vitro* uvjetima.

Drugi dio rezultata vezan je uz primjenu metode molekularnog češljanja (eng. *molecular combing*) u analizi replikacije kromatina. Koristeći navedenu metodu pokazao sam da utišavanje proteina Asf1 u humanim stanicama dovodi do usporavanja replikacijskih viljuški te smanjenog kapaciteta njihovog oporavka nakon replikativnog stresa, gubitka koordinacije tijekom progresije sestrinskih viljuški te moguće aktivacije dodatnih izvorišta replikacije. Ovim istraživanjem prvi put se prikazuju posljedice utišavanja proteina Asf1 na razini pojedinačnih replikacijskih

viljuški. U posljednjem dijelu predavanja diskutirat ću kako nepravilno odmatanje DNA tijekom replikacije, uzrokovano nedostatkom šaperona Asf1, može dovesti do remećenja replikacijskog programa stanice i to na razini njegove osnovne jedinice, tj. replikacijskog mjehurića.