

Streszczenie

Funkcjonowanie organizmów żywych w nieustannie zmieniającym się środowisku wymaga od nich zdolności zarówno do szybkiej reakcji, jak i ciągłego uczenia się i formowania pamięci. Predyspozycja do adaptacji u zwierząt wiąże się z zachodzeniem długotrwałych modyfikacji funkcjonalnych w ich komórkach i tkankach. Współcześnie nie ma wątpliwości, że długotrwałe zmiany obserwowane na poziomie komórki wymagają zmian w ekspresji genów, co wpływa na morfologię i funkcjonowanie komórek, w tym neuronów, i w końcowym efekcie na zachowanie.

Wcześniej uzyskane wyniki w Pracowni Neuromorfologii Molekularnej i Systemowej wykazały, że indukcja długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w szurzych neuronach hipokampalnych hodowanych *in vitro* skutkuje globalną kondensacją chromatyny. Wspomnianej rearanżacji towarzyszył wzrost poziomu białka c-FOS, kodowanego przez gen odpowiedzi wczesnej *c-Fos*. Zmiany te były odwracalne i nie były związane z programowaną śmiercią komórki.

W związku z powyższym, celem niniejszej rozprawy było wyjaśnienie molekularnego mechanizmu wywołującego zmiany w przestrzennej organizacji chromatyny, zachodzące wskutek pobudzenia komórki nerwowej.

Uzyskane wyniki wykazały, że tempo i nasilenie zmian w organizacji chromatyny różnią się w zależności od typu badanych neuronów. Kondensacji chromatyny towarzyszyły zmiany w transkrypcji 931 genów, zmiany w lokalizacji potranslacyjnie modyfikowanych histonów i reorganizacja terytorium chromosomu 1. Co ciekawe, zmiany w organizacji chromatyny były niezależne od zachodzącej na skutek pobudzenia transkrypcji genów, bo pomimo specyficznego zahamowania aktywności polimerazy RNA II, chromatyna nadal ulegała kondensacji. Ponadto, wyniki pokazały, że kondensacja chromatyny jest zależna od napływu jonów wapnia do wnętrza komórki. Użycie inhibitorów deacetylaz histonowych o różnej specyficzności pozwoliło zidentyfikować deacetylazę HDAC1 jako bezpośrednio zaangażowaną w zmiany przestrzennej organizacji chromatyny po pobudzeniu neuronów. Wyciszenie ekspresji genu *Hdac1* za pomocą specyficznej spinki RNA, spowodowało widoczne zahamowanie kondensacji chromatyny, którą udało się przywrócić poprzez podanie ludzkiej wersji białka HDAC1, niewrażliwej na działanie interferencyjnego RNA.

Podsumowując, z uzyskanych wyników i danych literaturowych wyłania się obraz podwójnej roli białka HDAC1. Z jednej strony jego oddysocjowanie od DNA konieczne jest do aktywacji transkrypcji np. niektórych genów odpowiedzi wczesnej. Z drugiej – jego obecność na chromatynie jest kluczowa dla kondensacji chromatyny w celu wyciszenia transkrypcji genów, które w danej chwili nie powinny ulegać ekspresji.

Kondensacja chromatyny powodowana pobudzeniem może mieć długotrwały wpływ na funkcje neuronów, a tym samym odgrywać znaczącą rolę w plastyczności synaptycznej, obejmując procesy takie jak uczenie się i formowanie pamięci.

Abstract

The functioning of living organisms in a constantly changing environment requires them to possess the ability to react quickly and continuously adapt through learning and memory formation. The predisposition for adaptation in animals is associated with long-term functional modifications occurring in their cells and tissues. It is now widely accepted that long-term changes observed at the cellular level require changes in gene expression, which affect the morphology and functioning of cells, including neurons, ultimately resulting in behavioral changes.

Previously obtained results in the Laboratory of Molecular and Systemic Neuromorphology have shown that the induction of long-term potentiation in *in vitro* cultured rat hippocampal neurons leads to a global condensation of the chromatin. This reorganisation of chromatin is accompanied by an elevation in the level of c-FOS, an immediate-early gene. Importantly, these changes are reversible and do not coincide with programmed cell death.

In light of these findings, the objective of this dissertation was to explain the molecular mechanism underlying the changes in the spatial organization of chromatin induced by neuronal stimulation.

The experiments outlined in this study demonstrate that the intensity of changes in chromatin organization varies depending on the neuron type. Chromatin condensation is accompanied by alterations in the transcription of 931 genes, changes in the localization of posttranslationally modified histones and reorganization of the chromosome 1 territory. Interestingly, despite specific inhibition of RNA polymerase II activity, chromatin continues to undergo rearrangement. Moreover, it has been demonstrated that chromatin condensation relies on the influx of calcium ions into the cell. By employing histone deacetylase inhibitors with different specificities, HDAC1 has been identified as a key player directly involved in the changes in spatial organization of chromatin after neuronal stimulation.. Silencing HDAC1 using specific RNA interference reveals visible disruptions in chromatin condensation and its reorganization upon stimulation, which can be reversed by addback of the human HDAC1 protein, which was not sensitive to RNAi.

In summary, based on the obtained results and existing literature, a dual role of the HDAC1 protein emerges. On one hand, its dissociation from DNA enables transcriptional activation, while on the other hand, it plays a crucial role in chromatin condensation following cell activation to silence genes that are not currently being expressed.

The activity-driven condensation of chromatin can have a long-lasting impact on neuronal function, thereby playing a significant role in synaptic plasticity, including processes such as learning and memory formation.