

Streszczenie

Białko ATRX (ang. *alpha thalassemia mental retardation syndrome X-linked*) jest ważnym białkiem utrzymującym strukturę chromatyny o właściwościach helikazy. Występuje w różnych typach komórek i tkanek ssaków, a jego obecność wydaje się być szczególnie istotna w tkance nerwowej, gdyż mutacje w genie *ATRX* prowadzą do wystąpienia zespołu ATRX charakteryzującego się m.in. opóźnieniem umysłowym. Mimo tych obserwacji funkcja białka ATRX w neuronach jest wciąż mało poznana. Dane literaturowe sugerują, że głównym zadaniem tego białka jest uczestnictwo w przebudowie chromatyny i wyciszaniu sekwencji DNA. Jednak istnieją również doniesienia wskazujące na jego rolę w aktywacji ekspresji genów, co świadczy o jego ważnej, lecz niejednoznacznej roli.

Moje wstępne badania dotyczące występowania białka ATRX w neuronach hipokampa potwierdziły jego lokalizację w skondensowanych regionach DNA. W związku z tym, celem niniejszej rozprawy było określenie lokalizacji i roli białka ATRX w jądrze komórkowym neuronów w stanie spoczynkowym i po pobudzeniu. Cel ten realizowałam z wykorzystaniem pierwotnej hodowli neuronów hipokampalnych poddanych procedurze chemicznego wywołania długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (cLTP). Analiza lokalizacji białka ATRX w jądrze neuronów wykazała, że w stanie spoczynkowym ATRX lokalizuje przy chromatynie, kolokalizując z chromocentrami, natomiast po wywołaniu cLTP towarzyszy zmianom w organizacji chromatyny otaczając jej skupienia, bądź kolokalizując z nimi, a także ze znacznikami euchromatyny, co wskazuje na dwojaką rolę ATRX w neuronach. Natomiast wyciszenie *Atrx* w neuronach prowadzi do zmian w organizacji chromatyny manifestujących się wzmożoną kondensacją chromatyny, czemu towarzyszą zmiany we wzorcu potranslacyjnych modyfikacji histonów. Ponadto zidentyfikowałam nową strukturę jąderkową złożoną z białka ATRX, które jest konieczne do jej utrzymania. Wykazałam również, że wyciszenie *Atrx* skutkuje zmianami funkcjonalnymi w neuronach, czego odzwierciedleniem są zmiany w morfologii drzewek dendrytycznych, które stają się mniejsze i mniej rozłożyste.

Podsumowując, uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, iż białko ATRX odgrywa w neuronach ważną rolę w organizacji chromatyny oraz struktur jąderkowych, a możliwa zależność między strukturą chromatyny a morfologią komórki wymaga dalszych badań.

Summary

The ATRX (alpha thalassemia mental retardation syndrome X-linked) protein is an important protein that maintains chromatin structure with helicase properties. Its presence appears to be particularly important in neural tissue, as mutations in the *Atrx* gene lead to alpha thalassemia mental retardation syndrome X-linked (ATRAX) characterized by, among other things, mental retardation. Despite these observations, the function of the ATRX protein in neurons is still poorly understood. Literature data suggest that the main function of this protein is participation in chromatin remodeling and DNA sequence silencing. However, there are also reports indicating its role in the activation of gene expression, demonstrating its important but ambiguous role.

My preliminary studies on the occurrence of ATRX protein in hippocampal neurons confirmed its localization in condensed DNA regions. Therefore, the purpose of this dissertation was to determine the localization and role of the ATRX protein in the cell nucleus of neurons in the resting state and after stimulation. I pursued this goal using primary culture of hippocampal neurons subjected to a procedure for chemically inducing long term potentiation (cLTP). Analysis of the ATRX protein localization in the nucleus of neurons showed that in the resting state ATRX localizes at chromatin, colocalizing with chromocenters, while after cLTP evoking it accompanies changes in chromatin organization by surrounding chromatin clusters or colocalizing with them as well as with euchromatin markers, indicating an ambiguous role for ATRX in neurons. In contrast, silencing of *Atrx* in neurons leads to changes in chromatin organization manifested by increased chromatin condensation, accompanied by changes in the pattern of post-translational modifications of histones. In addition, I identified a new nucleolar structure composed of the ATRX protein, which is required for its maintenance. I also showed that silencing of *Atrx* results in functional changes in neurons, as reflected by changes in the morphology of dendritic trees, which become smaller and less spread out.

In conclusion, my results indicate that ATRX protein plays an important role in neurons in the organization of chromatin and nucleolar structures, and the possible relationship between chromatin structure and cell morphology requires further research.