

dr Błażej Ruszczycki

Katedra Fizyki Medycznej i Biofizyki, WFIIS AGH.

tytuł wystąpienia: 3D-EM-ISH – obrazowanie specyficznych regionów chromatyny w skali nano.

Streszczenie:

Przestrzenne ułożenie chromatyny w jądrach komórkowych w trakcie interfazy wciąż pozostaje słabo zbadanym zagadnieniem. Zrozumienie sposobu upakowania dwumetrowej nici DNA w jądrze o wielkości ~ 10 mikrometrów pozwoli nam lepiej zrozumieć nie tylko organizację podstawowych jednostek strukturalnych, ale także rzucić światło na aspekty funkcjonalne, takie jak regulacja ekspresji genów i przyczyny chorób genetycznych. Jednak rozdzielczość klasycznej mikroskopii świetlnej nie jest wystarczająca do badania włókien chromatyny o średnicy około 5-30 nm. Najnowsze metody superrozdzielcze, takie jak interferencyjna mikroskopia lokalizacyjna pozwalają osiągnąć rozdzielczość lateralną rzędu 10-30 nm, przy istotnych ograniczeniach na głębokość obrazowania. Jako alternatywę, opracowaliśmy metodę opartą na trójwymiarowej mikroskopii elektronowej o rozdzielczości lateralnej do 5 nm. Opracowana metoda 3D-EM-ISH łączy trójwymiarową mikroskopię elektronową (3D-EM) i hybrydyzację DNA in situ (ISH). Metoda 3D-EM-ISH została użyta do sondowania struktur topologicznych domen asocjacyjnych chromatyny ujawnionych przez ChIA-PET (Chromatin Interaction Analysis by Paired-End Tag Sequencing) – technika badania przestrzennych oddziaływań chromatyny. Naszą metodę zastosowaliśmy jako narzędzie do badania w jaki sposób te domeny, podstawowe jednostki strukturalne i funkcjonalne chromatyny, są zorganizowane w pojedynczych komórkach, oraz jak wygląda ich zmienność. Omawiamy rekonstrukcję i kwantyfikację struktur topologicznych domen asocjacyjnych (TAD) w obrazach z mikroskopii elektronowej.