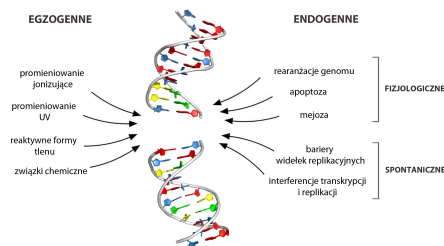


Celem projektu jest opracowanie nowej metody do bezpo redniego i wysokorozdzielczego znakowania podwójnych p kni DNA in situ w skali genomu (BLESS) w komórkach dro d y (*S. cerevisiae*) i zastosowanie jej do globalnego badania podwójnych p kni DNA w tym modelowym organizmie eukariotycznym z zastosowaniem kombinacji najnowocze niejszych metod eksperymentalnych i obliczeniowych z zakresu biologii molekularnej, genomiki, sekwencjonowania nowej generacji i bioinformatyki.

Dla prawidłowego funkcjonowania organizmu niezb dne jest by jego całe DNA (genom) pozostawało stabilne. Tymczasem w trakcie ycia komórki szereg czynników może powodować uszkodzenia w DNA. Jednym z najgro niejszych ich rodzajów s podwójne p knie DNA (ang DSBs), które charakteryzują się jednoczesnym przerwaniem obu nici podwójnej helisy DNA. Takie p knie mogą skutkować utratą części chromosomu lub wystąpieniem jego rearanacji. Z tego powodu nawet jedno DSB może spowodować śmierć komórki. Podwójne p knie DNA mogą być przyczyną niestabilności genomu, która jest cechą charakterystyczną wielu nowotworów, wielu chorób genetycznych i predyspozycji do rozwoju raka. Dlatego też niezwykle istotne jest określenie szczegółowej mapy DSBs i zrozumienie mechanizmu ich powstawania i sposobów w jaki komórki na nie reagują. Te kwestie dotychczas pozostają niewyjaśnione.

ŹRÓDŁA PODWÓJNYCH PĘKNIEŃ DNA



Wraz z naszymi współpracownikami opracowaliśmy w ostatnim czasie nową metodę BLESS, służącą do globalnego określenia miejsc podwójnych p kni DNA w genomie. Dotychczas metoda ta została zoptymalizowana i zwalidowana jedynie dla komórek ssaczy. Jednak zastosowanie dro d y piekarniczych *Saccharomyces cerevisiae*, eukariotycznego organizmu modelowego, do badania DSBs, niesie ze sobą wiele korzyści – łatwą manipulację genetyczną, dostępną dobrze poznano genomi oraz bogate zasoby danych z różnorodnych badań. Dlatego też w tym projekcie zamierzamy 1) stworzyć nową metodę BLESS opracowaną specjalnie dla dro d y, 2) zwalidować stworzoną metodę i 3) zastosować ją do zbadania zjawiska niestabilności genomu u dro d y. W szczególności chcemy przyjrzeć się wpływowi naturalnych miejsc spowolnionej replikacji na zatrzymywanie i załamywanie się widełek replikacyjnych, zbadamy również mechanizm udziału punktu kontrolnego replikacji w podtrzymywaniu stabilności widełek. W projekcie opracujemy i zastosujemy nowe, innowacyjne metody łączące szereg najnowocześniejszych technik do wiadczaalnych i obliczeniowych obejmujących genomikę, biologię molekularną, sekwencjonowanie nowej generacji, bioinformatykę i biologię obliczeniową. Spodziewamy się, że najbardziej znaczącym efektem tego projektu będzie przeniesienie badań z poziomu pojedynczych przykładów niestabilności genów do systematycznego, globalnego zrozumienia mechanizmów powstawania DSBs i określenia ich znaczenia dla RTCs i integralności genomu, jak również ogromny wpływ na inne spokrewnione dziedziny badań.