

Mutacje w DNA z jednej strony są przyczyną niestabilności genetycznej organizmów, ale z drugiej strony są ważnym czynnikiem umożliwiającym przebieg procesów ewolucji, dlatego kontrola liczby mutacji w komórkach musi być ściśle kontrolowana. Niestabilność materiału genetycznego może doprowadzić do poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu komórki takich jak procesy nowotworowe.

Badania dotyczące mutacji spontanicznych mają szczególne znaczenie w świetle ostatnich prac wykazujących, że w przypadku ok. 70% nowotworów istnieje ścisła korelacja pomiędzy liczbą podziałów komórek odpowiedzialnych za homeostaz danej tkanki a ryzykiem powstania danego nowotworu (Tomasetti i Vogelstein, 2015). Innymi słowy to wierność powielania materiału genetycznego, a nie predyspozycje genetyczne (dziedziczne zmiany w materiale genetycznym) lub czynniki środowiskowe (promieniowanie UV lub w glowodory aromatyczne), jest decydującym czynnikiem wyznaczającym ryzyko powstania choroby nowotworowej. Co najmniej 50% mutacji spontanicznych powstaje na skutek niedoskonałej wierności kopiowania materiału genetycznego w procesie zwanym replikacją DNA. Głównymi enzymami zaangażowanymi w ten proces są polimerazy DNA. Prawidłowe powielanie podwójnej helisy DNA zależy od sprawnego funkcjonowania ogromnej ilości białek, tworzących kompleks zwany „replisomem”. W jego skład wchodzi zarówno polimerazy DNA odpowiedzialne za syntezę DNA, jak również białka umożliwiające rozplatanie podwójnej helisy DNA oraz wiele białek nieposiadających aktywności katalitycznej, ale pełniących ważną funkcję w procesie replikacji. Rola wielu z tych niekatalitycznych białek wchodzi w skład replisomu jest nadal słabo poznana.

Wykazano, że każda nici w podwójnej helisie DNA syntetyzowana jest przez inne polimerazy DNA charakteryzujące się różnymi częstościami wstawiania błędów (różnicami wierności replikacji). Oznacza to, że liczba mutacji powstających na obu niciach jest różna. Zmiany w udziale poszczególnych polimeraz DNA w replikacji określonej nici DNA mogą powodować istotne zaburzenia w liczbie mutacji w komórkach. Wzrost liczby mutacji w genomowym DNA może mieć poważne konsekwencje fizjologiczne, dlatego poznanie i zrozumienie mechanizmów kontrolujących udział poszczególnych polimeraz DNA w replikacji DNA jest szczególnie ważne.

Obecnie uznaje się, że za syntezę helisy DNA w komórkach eukariotycznych odpowiedzialne są trzy polimerazy DNA: Pol alfa, która rozpoczyna syntezę DNA na każdej z nici DNA oraz dwie główne replikazy odpowiedzialne za syntezę konkretnych nici DNA, Pol epsilon odpowiedzialna za syntezę nici wiodącej oraz Pol delta za syntezę nici opóźnionej. Niewiele natomiast wiadomo jest o mechanizmie odpowiadającym za przyłączenie poszczególnych replikazy do określonej nici DNA.

W związku z tym, że proces replikacji DNA jest silnie konserwowany we wszystkich organizmach drożdżowych (Saccharomyces cerevisiae) znakomitym organizmem modelowym.

Nasze badania dotyczą roli niekatalitycznych podjednostek replisomu w rekrutacji polimeraz DNA do widetek replikacyjnych w drożdżach Saccharomyces cerevisiae.

Wyizolowane przez nas mutanty, w genach kodujących niezbędne do przeżycia, niekatalityczne podjednostki replisomu są doskonałym narzędziem do badania in vivo mechanizmu rekrutacji polimeraz do replikacji określonej nici DNA oraz konsekwencji zmian w udziale poszczególnych polimeraz w replikacji. Badając zmutowane formy polimerazy epsilon i kompleksu GINS wchodzącego w skład helikazy replikacyjnej chcemy pokazać, że zaburzenia oddziałują między tymi kompleksami prowadzą do zmiany udziału polimeraz w replikacji nici wiodącej DNA i w konsekwencji do wzrostu poziomu mutacji w komórkach. Badania niekatalitycznych podjednostek replisomu budzą coraz większe zainteresowanie między innymi dlatego, że w komórkach nowotworowych zaobserwowano obecność mutacji w genach kodujących te białka. Na przykład, w 2012 roku ukazała się praca sugerująca, że zmniejszenie udziału Pol epsilon w replikacji powoduje u ludzi zespół FISH dymorfizmu twarzowego (ang. facial dysmorphism, immunodeficiency, livedo and short stature) (Pachlopnik Schmid i wsp., 2012).