

Poznanie ródeł powstawania mutacji spontanicznych ma fundamentalne znaczenie zarówno dla badania mechanizmów kontroluj cych stabilno genomu jak i dla poznania mechanizmów ewolucji. Badania ródeł mutacji spontanicznych mają szczególne znaczenie w wietle ostatnich prac wykazuj cych, e w przypadku ok. 70% nowotworów to mutacje powstaj ce w trakcie powielania materiału genetycznego (replikacji DNA) dziel cych si komórek, a nie predyspozycje genetyczne (dziedziczone zmiany w materiale genetycznym) lub czynniki rodowiskowe (np. promieniowanie UV), s decyduj cym czynnikiem okre laj cym ryzyko powstania choroby nowotworowej.

Wykazano, e bł dy powstaj ce w trakcie replikacji DNA stanowi najcz stsze ródo mutacji spontanicznych. Poniewa DNA jest liniowym biopolimerem, którego monomerami s deoksyrybonukleotydy, to wierno procesu replikacji jest kontrolowana przede wszystkim poprzez selekcj wla ciwego deoksyrybonukleotydu przez polimeraz DNA. Polimerazy DNA selektywnie wstawiaj deoksyrybonukleotydy, a nie, obecne w komórce rybonukleotydy. Rybonukleotydy, w odró nieniu od deoksyrybonukleotydów, zawieraj w pier cieniu rybozy reaktywn grup hydroksylow w pozycji 2' przez co ich obecno w DNA znacznie zwi ksza mo liwo hydrolizy DNA. Wykluczanie w procesie syntezy DNA rybonukleotydów jest zwi zane z obecno ci w centrum aktywnym polimerazy DNA tzw. bramek sterycznych (ang. steric-gate). Obecno „steric-gate” powoduje, e do centrum aktywnego polimerazy wchodzi deoksyrybonukleotyd, a nie rybonukleotyd. Badania ostatnich lat wykazały, e rybonukleotydy s jednak inkorporowane do DNA z cz sto ci wy sz (1/2500 – 1/5000 replikowanych zasad) ni ma to miejsce w przypadku inkorporacji niewla ciwego deoksyrybonukleotydu (1/100000 replikowanych zasad). Stanowi wi c najcz ciejsz powstaj cy „bł d” w trakcie procesu syntezy DNA. Przy tak du ej cz sto ci inkorporacji rybonukleotydy nie s jednak wykrywane w DNA. wiadczy to o istnieniu w komórce bardzo wydajnych mechanizmów ich rozpoznawiania i usuwania z DNA. W trakcie replikacji DNA jedna z nici DNA replikowana jest w sposób ci gły (ni prowadz ca), a druga (ni opó niona) w postaci krótkich fragmentów, tzw. fragmentów Okazaki. Przedstawiony projekt, dotyczy lepszego poznania mechanizmów inkorporacji i usuwania rybonukleotydów z DNA. Szczególnie interesuj ce jest znalezienie odpowiedzi na pytanie: czy cz sto wstawiania i wycinania rybonukleotydów na obu replikowanych niciach DNA jest taka sama czy ró na? Nasze wcze niejsze prace, przy u yciu systemu do badania wierno ci replikacji DNA na obu niciach wykazały, e ko cowa wierno replikacji DNA jest 2-3 krotnie wy sza na nici opó nionej. Jednym z mo liwych wytłumacze tego fenomenu jest zarówno udział innych polimeraz DNA w replikacji nici opó nionej, jak i wydajniejsze usuwanie niewla ciwych deoksyrybonukleotydów i rybonukleotydów z tej nici. Wykorzystanie, w trakcie realizacji tego projektu, do do wiadczec in vivo i in vitro ró nych mutantów zaburzonych w procesie wycinania rybonukleotydów z DNA, jak równie mutantów posiadaj cych zmienione „steric-gate” polimeraz DNA pozwoli na otrzymanie nowych danych na temat ródeł niestabilno ci materiału genetycznego.