

Utrzymanie integralności i stałości sekwencji DNA w komórce jest kluczowe dla jej właściwego funkcjonowania, a także utworzenia zdrowych komórek potomnych. Jednak DNA znajdujące się w jądrze komórkowym jest ciągle poddawane działaniu różnych, wewnętrznych i zewnętrznych czynników, które mogą wywoływać uszkodzenia nici DNA. Czynniki zewnętrzne, pochodzące spoza organizmu, jak promieniowanie UV, promieniowanie jonizujące, związki toksyczne czy nawet podwyższona temperatura mogą indukować zmiany DNA o różnym charakterze, w tym nawet przerwanie ciągłości nici DNA. Na szczęście komórki naszych organizmów dysponują szerokim wachlarzem metod monitorowania stanu DNA, detekcji uszkodzeń oraz zmian różnego typu, a przede wszystkim mechanizmami skutecznej ich naprawy.

Jednym z najbardziej niebezpiecznych typów uszkodzeń DNA jest pęknięcie obu komplementarnych nici naprzeciw siebie. Jest ono nazywane pęknięciem dwuniciowym. Jeżeli komórka nie poradzi sobie z naprawą takiego uszkodzenia, zazwyczaj przestaje poprawnie funkcjonować i umiera. Czasem zdarza się, że dwuniciowe pęknięcie, które nie zostało wykryte lub zostało naprawione niepoprawnie, może powodować zaburzenie właściwego działania genu, a także wymknienie się podziałów komórki spod kontroli organizmu. Może to prowadzić do niekontrolowanej proliferacji i powstania nowotworu.

Wiadomo, że DNA komórek ludzkich jest najbardziej podatne na uszkodzenia podczas replikacji oraz podziału komórki. Zwiększoną wrażliwość DNA na uszkodzenia obserwowano w fazie syntezy, w przypadku promieniowania jonizującego, UV i związków cytotoksycznych. Nie wiadomo jednak czy podatność DNA na uszkodzenie podczas replikacji związane jest ze szczególną cechą fazy S, czy jednak mechanizm uszkodzania powiązany jest bezpośrednio z procesami towarzyszącymi replikacji, takimi jak rozplatanie nici DNA, oddysocjowanie białek chromatynowych oraz działanie topoizomeraz w rejonach replikacji.

Celem badań objętych moim projektem badawczym jest uzyskanie obrazów mikroskopowych obszarów naprawy DNA i rejonów replikacji, oraz zaawansowana analiza tych obrazów w celu poszerzenia wiedzy o mechanizmach procesów naprawy, w tym o kompleksach białek naprawczych rekrutowanych do uszkodzeń DNA powstających w obszarach replikacji. Planuję zbadać ilościowo rozmieszczenie indukowanych uszkodzeń DNA względem ognisk replikacji w jądrze komórkowym. Miejsca aktywnie prowadzonej naprawy będą rozpoznawane przy pomocy immunodetekcji kluczowych czynników naprawczych – białka 53BP1, RAD51 oraz ufosforylowanej formy histonu H2AX.

W moich badaniach zostaną wykorzystane zaawansowane metody mikroskopii fluorescencyjnej. Obrazy jądra komórkowego z wyznaczonymi ogniskami naprawy oraz miejscami prowadzonej replikacji zostaną zarejestrowane przy użyciu mikroskopii konfokalnej i super-rozdzielczej. W projekcie zostanie wykorzystany własny algorytm do analizy rozkładu rozmieszczenia względem siebie rejonów replikacji i ognisk naprawy. .

Moje badania mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów naprawy DNA, a zwłaszcza ścieżki naprawy najbardziej niebezpiecznej z uszkodzeń – dwuniciowych pęknięć. Poznanie tych mechanizmów może mieć praktyczne znaczenie w opracowaniu metod zapobiegania chorobom genetycznym oraz nowotworowym.