

Głównym celem niniejszego projektu jest określenie, na poziomie molekularnym, sposobu przekazywania informacji pomiędzy dwoma regionami białka. Kompleks białkowy Rad50/Mre11 jest odpowiedzialny za rozpoznanie i naprawę podwójnych pęknięć nici DNA, które występują w komórce naturalnie podczas jej podziałów, mejozy i rekombinacji w limfocytach B, jak również na skutek narażenia komórki na czynniki genotoksyczne, takie jak promieniowanie gamma. Rad50 to białko o wyjątkowo skomplikowanej strukturze. Posiada wydłużony odcinek superhelikalny (ang. *coiled-coil*), przypominający linię skomponowaną z dwóch sznurków, który rozdziela dwie domeny białka – globularną (sferyczną) domenę wiążącą Mre11 oraz domenę haczyka cynkowego odpowiedzialną za interakcję z haczykiem drugiego białka i utworzenie homodimeru. Kontakt dwóch białek pozwala na utworzenie kompleksu wiążącego DNA, które przeplata się przezeń na wzór nici i ucha igielnego. Poprzednio udokumentowaliśmy wpływ jaki niesie wiązanie się dwóch białek ze sobą poprzez haczyk cynkowy na domenę globularną. Wszystko wskazuje na to, że region superhelikalny funkcjonuje na wzór drążka skrzyni biegów, zmieniając pomiędzy odrębnymi, funkcjonalnymi stanami kompleksu. Podejrzewamy, że zmiany w trójwymiarowej strukturze białka są generowane nie tylko przez wiązanie jonu cynku, lecz również wiązanie DNA, czy ATP. Nasze badania skupią się na białku drożdżowym, bardzo blisko spokrewnionego z ludzkim odpowiednikiem. Aby zrealizować nasz cel i rozwiązać problem badawczy posłużymy się wieloma technikami analitycznymi, takimi jak fluorescencja czy spektrometria mas. Nasze laboratorium syntezuje substancje fluorescencyjne, które mogą specyficznie wiązać się do wybranego miejsca w badanym białku, co jest kluczowym aspektem i niezaprzeczalną zaletą proponowanych badań. Realizacja wszystkich celów tego projektu będzie wymagała wprowadzenia kilku mutacji w genie białka Rad50. Żadna z nich nie może wpływać na funkcje pełnione przez białko w komórce, dlatego wpływ mutacji będzie skrupulatnie monitorowany w warunkach *in vivo*. Z uwagi na powyższe badania będą wymagały efektywnej optymalizacji produkcji białka, jak również metod analitycznych, niemniej liczymy na to, że uda się rozwikłać molekularne podstawy zmian strukturalnych białka Rad50 spowodowane wiązaniem do specyficznych komponentów komórkowych oraz makro- i mikrocząsteczek. Liczymy na to, że z pomocą tych badań przyczynimy się do szerszego zrozumienia, pod wieloma względami wciąż tajemniczego, systemu naprawy DNA.