

Replikacja DNA jest procesem, w którym dochodzi do kopiowania materiału genetycznego. Proces ten wymaga skoordynowanego działania wielu katalitycznych i niekatalitycznych białek tworzących w widełkach replikacyjnych funkcjonalny kompleks nazywany replisomem. Pierwszym etapem procesu replikacji jest jego inicjacja. Polega ona na przyłączeniu się specjalnych białek do odpowiedniego miejsca na podwójnej nici DNA zwanego miejscem inicjacji replikacji. Kompleks białkowy CMG (białko Cdc45-białka Mcm2-7-kompleks białkowy GINS) pełni rolę aktywnej helikazy DNA, która jest odpowiedzialna za rozplatanie podwójnej helisy DNA. Do rozplecionych nici DNA przyłącza się następnie polimeraza α , która jest enzymem syntetyzującym startery RNA/DNA na obu niciach. Powstałe startery są następnie wydłużane przez polimerazę ϵ i polimerazę δ . Polimeraza ϵ i δ są enzymami katalizującymi przyłączanie się kolejnych, komplementarnych nukleotydów i tym samym syntetyzującymi nowe nici DNA. Polimeraza ϵ syntetyzuje nić wiodącą, z kolei polimeraza δ odpowiedzialna jest za syntezę nici opóźnionej. Dodatkowo, polimerazą, która w warunkach replikacji nieuszkodzonej matrycy wydajnie uczestniczy w replikacji DNA jest mutagenna polimeraza ζ .

Zachowanie wysokiej wierności replikacji DNA ma istotne znaczenie dla zapewnienia wiernego przekazywania informacji genetycznej w czasie podziałów komórkowych, jak również podczas przekazywania materiału genetycznego przez rodziców swojemu potomstwu. Wiadomo, że tak ważny element jakim jest materiał genetyczny powinien być skopiowany z jak największą precyzją, ponieważ każdy błąd (czyli w tym wypadku mutacja) może doprowadzić do syntezy nieprawidłowego lub w ogóle braku syntezy białka, a to z kolei może prowadzić do utraty funkcji komórki, bądź jej śmierci. Skutkiem nieprawidłowego przepisania informacji genetycznej na nową matrycę DNA może być rozwój chorób nowotworowych, a także chorób genetycznych.

Głównymi strażnikami wiernej replikacji DNA są polimerazy DNA, których rola w przebiegu replikacji jest od lat szczegółowo analizowana. Badania prowadzone w Pracowni Mutagenyzy i Reperacji DNA wykazały, że również inne komponenty replisomu są istotne dla zachowania wierności procesu replikacji, a tym samym utrzymania stabilności genomu. Jednym z takich elementów jest kompleks białkowy CMG, stanowiący aktywną helikazę. Wiadomo, że aktywność helikazy jest głównie związana z białkami Mcm 2-7, a kompleks GINS i białko Cdc45 wydają się pełnić rolę platformy umożliwiającej koordynację funkcjonowania poszczególnych białek replisomu. Dokładna funkcja białka Cdc45 w kompleksie CMG jest słabo poznana. **Celem projektu jest zbadanie *in vivo*, jaką rolę w kształtowaniu wierności replikacji chromosomalnego DNA pełni niekatalityczne białko Cdc45 wchodzące w skład kompleksu helikazy CMG, oraz jakie są biologiczne konsekwencje powstawania mutacji w genie *CDC45* w drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*.**

W związku z tym, że proces replikacji DNA jest silnie konserwowany u wszystkich organizmów, uzasadnia to użycie w naszych badaniach drożdży piekarskich (*Saccharomyces cerevisiae*), które są znakomitym organizmem modelowym. Badania przedstawione w projekcie będą prowadzone przy użyciu mutantów w genie *CDC45*, który jest niezbędny do przeżycia każdej komórce. Przeprowadzone zostaną pomiary poziomu mutagenyzy spontanicznej w komórkach drożdży niosących mutacje w genie *CDC45*, a także zbadany będzie wpływ tych mutacji na przebieg cyklu komórkowego. Mutanty w genie *CDC45* są doskonałym narzędziem do badania *in vivo* mechanizmu rekrutacji polimeraz do replikacji poszczególnych nici DNA oraz konsekwencji zmian w udziale poszczególnych polimeraz w replikacji. Badając oddziaływania pomiędzy zmutowanymi formami białka Cdc45 z pozostałymi białkami kompleksu CMG pełniącymi funkcję aktywnej helikazy lub z podjednostkami polimerazy ϵ replikującej nić wiodącą, chcemy pokazać, które z oddziaływań są kluczowe w zachowaniu wierności procesu replikacji DNA.