

## Wpływ (5'R) i (5'S) 5',8-cyko-2'-deoksy puryn na naprawę uszkodzeń zespolonych DNA

Każda komórka ludzkiego organizmu jest w sposób ciągły narażona na działanie promieniowania jonizującego, reaktywnych form tlenu (RFT), produktów metabolicznych procesów komórkowych, *etc.* Szacuje się, że w pojedynczej komórce w ciągu doby, w wyniku ich aktywności, inicjowanych jest około  $1,5 \times 10^5$  procesów utleniania. Informacja genetyczna gwarantująca prawidłowe przetrwanie danego gatunku zapisana jest w sekwencji zasad kwasu 2'-deoksyrybo nukleotydowego (DNA). Należy podkreślić, iż celem zmian ewolucyjnych nie było wydłużenie czasu życia organizmów, lecz zapewnienie przetrwania i przekazanie materiału genetycznego w formie niezmięnionej jednostkom potomnym. Ekspozycja DNA na działanie promieniowania jonizującego (UV, gamma, beta, alfa, X) lub RFT może prowadzić do powstania uszkodzeń zarówno w obrębie zasad nukleinowych jak i szkieletu fosforanowo-cukrowego. Obecnie zidentyfikowanych jest około 70 rodzajów uszkodzeń DNA. Uszkodzenia izolowane definiuje się jako: pojedynczą obecność np.: 8-okso-7,8-dihydro-2'-deoksyguanozyny (8-oxo-dG) przypadającą na jeden skręt helisy, 10 par zasad. Są one w większości przypadków usuwane z genomu przez mechanizm wycięcia zasady (BER), inicjowany przez specyficzne enzymy zdolne do hydrolizy wiązania glikozydowego. Natomiast miejsca wielokrotnionych uszkodzeń usuwane są przez bardziej skomplikowane systemy naprawcze, takie jak mechanizm wycięcia nukleotydu (NER), homologiczną rekombinację (HR) i niehomologiczne łączenie końców DNA (NHEJ). **Mianem uszkodzeń zespolonych określa się „wystąpienie dwóch bądź więcej uszkodzeń DNA w obrębie jednego bądź dwóch skrętów helisy”.** Jako ich przykłady można wymienić: dimery tymidylowe, wewnątrz- i międzyniciowe kowalencyjne połączenia DNA (inter/intra-strand cross-link), pęknięcia podwójne nici (DSB), addukty DNA – leki (DNA-cisplatyna). Defekt mechanizmu naprawy przez wycięcie nukleotydu może prowadzić do akumulacji uszkodzeń w obrębie genomu, co w konsekwencji może spowodować indukcję chorób nowotworowych, neurodegeneracyjnych, *etc.* Szczególnym przypadkiem uszkodzeń DNA są 5',8-cyko-2'-deoksy puryny (cdPu) będące uszkodzeniem tandemowym w obrębie pojedynczego nukleozydu/nukleotydu ze względu na obecność modyfikacji zarówno reszty cukrowej jak i zasady nukleinowej. Obydwa izomery (5'R) i (5'S) cdPu usuwane są z genomu przez mechanizm NER ze względu na brak specyficznych glikozylaz. Uważa się, że obecność w materiale genetycznym cdPu jest przyczyną powstawania chorób neurodegeneracyjnych (choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, stwardnienie rozsiane) jak i chorób nowotworowych. Natomiast w przypadku *Xerodermy Pigmentosum*, Cockayne syndrom czy trichotiodystofii u podstaw ich leży defekt w obrębie mechanizmu naprawy przez wycięcie nukleotydu, co może prowadzić do akumulacji uszkodzeń w obrębie genomu. **W trakcie planowanych zadań badawczych zostaną podjęte próby wyjaśnienia wpływu obecności cdPu na mechanizmy naprawcze uszkodzeń zespolonych DNA w kontekście komórek pozbawionych prawidłowej aktywności systemu NER.** Badaniom podlegać będzie: a) efektywność naprawy uszkodzeń wielokrotnionych, zgodnie z mechanizmem BER, obecnych zarówno w tej samej nici co cdPu jak i w nici komplementarnej, b) oszacowanie wpływu cdPu na aktywność enzymów restrykcyjnych (np.: Sspl, BsmAI), c) ocena udziału cdPu w procesie mutagenyzy w kontekście uszkodzeń zespolonych DNA. Ponadto w trakcie badań zostaną podjęte poszukiwania odpowiedzi na pytanie: czy mechanizm BER, w pewnych szczególnych przypadkach, jest zdolny do usunięcia cdPu i naprawy genomu? **Wyniki badań mogą pomóc w ustaleniu wpływu cdPu na aktywność mechanizmów naprawy uszkodzeń zespolonych DNA, określenie potencjalnego udziału cdPu w procesach muta- i kancerogenezy, mogą również stać się podstawą poszukiwania nowych strategii terapeutycznych oraz wpłynąć na zwiększenie bezpieczeństwa zarówno radioterapii jak i radiodiagnostyki.**