

Każda komórka musi przed podziałem powielić swój materiał genetyczny, aby przekazać swoje geny komórkom potomnym. Proces ten nazywany jest replikacją DNA i jest skoordynowany z przebiegiem cyklu komórkowego. Oznacza to, że po fazie przygotowania komórki do replikacji (faza G1), rozpoczyna się synteza DNA (faza S), a po jej zakończeniu (faza G2) następuje podział komórki (faza M). Przebieg cyklu komórkowego jest jednokierunkowy, co oznacza, że po jego rozpoczęciu komórka jest „skazana” na kontynuację, dokończenie i podział. Zaburzenia regulacji przebiegu cyklu komórkowego są często związane z chorobami spowodowanymi niestabilnością genomu i utratą kontroli nad przebiegiem cyklu komórkowego, co może prowadzić do powstania nowotworów.

DNA replikowany jest przez kompleks wielu białek nazywany replisomem, spośród których helikaza rozplata helisę DNA, a polimerazy DNA na udostępnionych niciach syntetyzują nici komplementarne. W komórkach eukariotycznych helikaza jest wielopodjednostkowym kompleksem. Aktywność helikazy jest stymulowana poprzez wzajemne oddziaływania wielu niezbędnych do życia elementów (białek) replisomu. Składnikami kompleksu helikazy CMG są białka Cdc45, sześciopodjednostkowy pierścień Mcm 2-7 i czteropodjednostkowy kompleks GINS (Psf1-3, Sld5). Z kompleksem CMG łączy się polimeraza DNA epsilon (Pol ϵ) tworząc z nim kompleks helikazy-polimerazy CMGE.

Skoordynowane działanie CMG i Pol ϵ umożliwia syntezę DNA na nici wiodącej. Wykazano, że Pol ϵ gra podwójną rolę: działa, jako enzym replikujący DNA oraz jako element istotny w powstawaniu kompleksu CMGE. Ponadto, Pol ϵ stymuluje aktywność helikazy CMG. Mutacje w genach kodujących składniki kompleksu helikazy i polimerazy DNA zwiększają częstość mutagenezy, co wynika z zaburzeń w procesie replikacji DNA. Źródłem tych zaburzeń są zmiany oddziaływań między białkami kompleksu CMGE wpływające na funkcjonowanie całego kompleksu. Najnowsze dane wskazują, że białka tego kompleksu są również zaangażowane w kontrolę przebiegu cyklu komórkowego oraz transkrypcji genów, których produkty są niezbędne do replikacji i reperacji DNA oraz prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego.

Planujemy zbadanie roli kompleksu CMGE helikazy-polimerazy w prawidłowej regulacji cyklu komórkowego i kontroli syntezy DNA. Użyjemy do tego modelowego organizmu eukariotycznego – drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Zastosujemy nowoczesne techniki biologii molekularnej do monitorowania momentu rozpoczęcia i przebiegu syntezy DNA w komórkach szczepów z mutacjami w genach kodujących elementy kompleksu CMGE. Przeanalizujemy też nowosyntetyzowane odcinki DNA na poziomie pojedynczej cząsteczki. Ponadto, stosując technologię „sekwencjonowania następnej generacji” porównamy całościowe transkryptomy w zmutowanych szczepach z transkryptomami komórek typu dzikiego. Zidentyfikujemy zmiany w programie transkrypcyjnym odpowiedzialnym za produkcję białek niezbędnych do replikacji DNA i kontroli przebiegu cyklu komórkowego.

Nasze badania przyczynią się do lepszego poznania mechanizmów zaangażowanych w regulację przebiegu cyklu komórkowego i replikacji DNA.