

Mechanizmy zachowywania metylacji DNA u ssaków: czas, wierność i podstawy kopiowania wzoru metylacji

DNA jest nośnikiem informacji genetycznej. Podstawowe informacje są w nim zakodowane w postaci czteroliterowego kodu genetycznego zbudowanego z chemicznie różnych zasad DNA. Sekwencja tych zasad jest identyczna w prawie wszystkich komórkach określonego organizmu. Jednak w organizmach wielokomórkowych, komórki różnych tkanek interpretują ten sam kod genetyczny w różny sposób. Umiejętność ta wynika z dodatkowej warstwy informacji, która opiera się o modyfikację jednej z zasad, uzyskiwaną przez dodanie małej hydrofobowej grupy metylowej (kod epigenetyczny). Modyfikacja ta powoduje konwersję reszt cytozyny (C) do reszt 5-metylocytozyny (5mC).

Podczas podziału komórkowego, obie komórki potomne otrzymują pełen zestaw informacji. Dzieje się tak dzięki temu, że DNA jest zbudowane z dwóch komplementarnych nici zawierających ten sam kod genetyczny. Podczas podziału, DNA jest rozdzielane semi-konserwatywnie, tzn. każda komórka potomna otrzymuje jedną oryginalną nić i drugą nić syntetyzowaną w oparciu o nić oryginalną. Na podstawowym poziomie kodu genetycznego, sekwencja nowo powstałej nici jest bezpośrednio zdefiniowana przez sekwencję nici macierzystej. Jednak, podczas syntezy DNA komórki dysponują jedynie zestawem czterech standardowych (niemodyfikowanych) zasad. Dlatego też drugi, epigenetyczny poziom informacji, jest kopiowany w bardziej skomplikowany sposób. Selektywna modyfikacja reszt cytozyny do 5mC, jest wprowadzana na podstawie informacji z nici macierzystej, jak również innych elementów kodu epigenetycznego oraz enzymów działających „*in trans*” (wrażliwych na obecność modyfikacji w innych miejscach).

W ramach przedstawionego projektu, planujemy skoncentrować się na epigenetycznej informacji zawartej w DNA, a precyzyjniej, na mechanizmach selektywnej konwersji reszt cytozyny do 5mC. Większość dotychczasowych badań dotyczyła uśrednionego poziomu tej modyfikacji. W ramach niniejszego projektu, chcemy przeanalizować przebieg tego procesu w czasie oraz określić wierność kopiowania informacji o położeniu reszt 5mC z dokładnością do pojedynczej komórki.

Podstawowymi narzędziami, które planujemy wykorzystać, są chemiczne metody rozróżniania modyfikowanych i niemodyfikowanych zasad oraz najnowsze techniki sekwencjonowania DNA, które pozwalają na odczyt bilionów zasad w ramach jednego doświadczenia. Niektóre z narzędzi, których chcemy użyć, zostały opracowane w ciągu ostatnich dwóch lat (w formie dostępnej do rutynowego wykorzystania). Daje nam to unikalną szansę dostosowania do nowych potrzeb metodologii, używanej wcześniej jedynie w połączeniu ze starymi technikami do sekwencjonowania (typu Illumina, IonTorrent lub PacBio).

Planujemy poprawić czasową rozdzielczość informacji o kopiowaniu metylacji DNA. Chcemy również precyzyjnie określić wierność tego procesu, zarówno bezpośrednio po syntezie DNA, jak i po upływie czasu niezbędnego do naprawy ewentualnych błędów przez epigenetyczne mechanizmy kontrolne. Wyniki naszych badań powinny przyczynić się do lepszego zrozumienia poziomów kontroli metylacji DNA, bardziej skomplikowanych niż proste kopiowanie instrukcji pochodzących z nici macierzystej. Chcielibyśmy również wyjaśnić, w jaki sposób komórki unikają wiernego powielania informacji epigenetycznej, gdy jest to niezbędne do jej przeogramowania.

Nasze badania będą ważne nie tylko ze względu na to, iż przyczynią się do lepszego zrozumienia jednego z podstawowych fenomenów życia. Są one istotne również z powodów medycznych. Procesy nowotworowe wynikają przede wszystkim z zmian genetycznych (na podstawowym poziomie kodu genetycznego). Jednak podczas rozwoju nowotworu, komórki wykazują również rosnącą liczbę zaburzeń epigenetycznych. Możliwość precyzyjniejszego monitorowania tych procesów może tym samym mieć w przyszłości znaczenie medyczne.