



Информация за финансиран проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на фундаментални научни изследвания – 2018 г.
Основна научна област или обществен приоритет:
Биологически науки
Входящ № на проект:
H21_43
Заглавие на проекта:
Молекулярна и клетъчна биология; Поправка на ДНК, рак, математическо моделиране на поправката на ДНК.
Базова организация:
Институт по молекулярна биология “Акад. Румен Цанев” при Българската академия на науките
Партньорски организации:
Няма
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Доц. д-р Стойно Стефанов Стойнов
Общ размер на отпуснатото финансиране:
120000 лева
Разпределение на сумата по проекта между базовата организация и партньорите
Организация:
Институт по молекулярна биология “Акад. Румен Цанев” при Българската академия на науките
Сума: 120000 лева



Резюме на проекта:

Много ендогенни агенти и фактори от околната среда са способни да доведат до повреди в ДНК. Поправката на тези увреждания е от огромно значение за поддържане както на клетъчната хомеостаза, така и за предотвратяване на злокачествената трансформация на клетките. Дефекти в пътищата за поправка на ДНК са свързани с предразположение към рак и преждевременно стареене, а произтичащите от тях заболявания имат значително въздействие върху човешката популация. Едни от най-токсичните ДНК повреди са ДНК-белтъчните сшивки (DPCs), тъй като те повлияват на фундаментални за клетките процеси като ДНК репликация и транскрипция. В допълнение, няколко биологично активни съединения, като цисплатина, производни на камптотецина и 5-aza-dC, индуцират DPCs и са широко използвани химиотерапевтици. Голяма част от белтъците, участващи в трите стъпки на поправката на ДНК-белтъчните сшивки: 1) нуклеаза-зависима DPCs поправка, 2) протеаза-зависима DPCs поправка и 3) директна хидролиза на сшивката, са добре проучени сами по себе си, като са изяснени както биохимичните им механизми, така и взаимодействията, в които те участват по време на DPCs поправката. За съжаление обаче, все още се знае изключително малко затова как трите стъпки за поправка на ДНК-белтъчните сшивки са кординирани във времето и пространството не само помежду си, но и с другите пътища за ДНК поправка с цел да се постигне ефективно поправяне на сшивката. Разкриването на взаимодействието между пътищата за поправка изисква систематично проучване на кинетиката на натрупване и премахване на белтъците в отговор на повредите вследствие на DPCs. До този момент такава комплексна информация липсва.

Поради тази причина ние ще приложим най-съвременни микроскопски техники за наблюдение на живи клетки, за да изследваме:

1. Механизмите и кинетиката на натрупване и премахване на белтъците, участващи в поправката на ДНК-белтъчните сшивки (DPCs)
2. Координацията между нуклеаза-зависимата DPCs поправка, протеаза-зависимата поправка на DPCs и директната хидролиза на сшивката.

За постигането на тези цели ще бъдат изпълнени следните задачи:

1. Генериране на стабилни двойни HeLa Kyoto клетъчни линии, експресиращи както mCherry белязан PCNA, така и един от EGFP-белязаните белтъци: TDP1 и TDP2. Всеки от белязаните белтъци ще бъде експресиран под контрола на собствените си регулаторни последователности.
2. Генериране на стабилни двойни миши фибробластни клетъчни линии с условен нокаут на SPRTN, експресиращи както mCherry белязан PCNA, така и един от EGFP-белязаните белтъци: RPA1 и PARP1. Всеки от белязаните белтъци ще бъде експресиран под контрола на собствените си регулаторни последователности.
3. Изследване на кинетиката на натрупване и премахване на PCNA, RPA1, MRE11, SPRTN, POLH, POLK, TDP1 и TDP2 на местата на DPC повреди.
4. Измерване на промените в кинетиката на натрупване и премахване на PCNA и RPA1 на места на DPC повреди след нокаут на SPRTN.
5. Измерване на промените в кинетиката на натрупване и премахване на PCNA, RPA1, SPRTN, POLH, POLK, TDP1 и TDP2 на местата на DPC повреди вследствие на инхибиране на MRE11 с мирин.
6. Математическо моделиране на кинетиката на натрупване и премахване на изследваните белтъци на местата на DPC повреди.



Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
Базова организация:	
Институт по молекулярна биология "Акад. Румен Цанев" при Българската академия на науките	
Ръководител на научния колектив	
Доц. д-р Стойно Стефанов Стойнов	
Участници:	
Доц. д-р Марина Неделчева Неделчева-Велева Доц. д-р Анастас Георгиев Господинов д-р Георги Иванов Георгиев д-р Радослав Александров Александров д-р Соня Димитрова Узунова Александър Сергеев Атемин Анелия Владимирова Иванова Георги Тодоров Дановски Теодора Красиминова Дянкова Росица Христова Христова	СУ „Св. Климент Охридски ПД, МУ ПД, МУ ДО, МУ ДО, МУ ДО, МУ ДО, МУ ДО, МУ

Общ брой млад учен (МУ)

Общ брой постдокторант (ПД) 2

Общ брой докторанти (ДО) 5

Общ брой студенти (СТ)

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник

² Отбележете дали участникът в колектива е млад учен (МУ), постдокторант (ПД), докторанти (ДО) или студенти (СТ), пенсионер (ПН) или учен от чужбина (УЧ) и съответната бройка.