



Информация за изпълнение на етап на проект

Наименование на конкурса:
Конкурс за финансиране на научни изследвания – 2017 г.
Основна научна област:
Биологически науки
№ на договор:
ДН11/17
Начална и крайна дата на проекта:
18. 12. 2017 – 18. 12. 2020
Заглавие на проекта:
Хроматинови механизми в контрола на ДНК репликацията и защитата от репликационен стрес
Базова организация:
Институт по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, Българска академия на науките
Партньорски организации:
Ръководител на научния колектив (академична длъжност, научна степен, име):
Доц. д-р Анастас Господинов
Общ размер на отпуснатото финансиране за първи етап:
60 000 лева
Интернет страница на проекта (ако има такава):
Научни публикации по проекта:
Към момента две изпратени публикации са в процес на peer review в издания с IF>5.
Други 2 публикации са в подготовка.



Описание на очакваните резултати по проекта (до 1 стр. в рамките на полето по-долу):

Работен пакет I на това проектно предложение има за цел да установи детайлния молекулен механизъм, чрез който хроматин-ремоделирация комплекс INO80 участва в контрола на Р-бримките (структури състоящи се от РНК-ДНК хибрид и свободна едноверижна ДНК, получаващи се при хибридизацията на новосинтезираната РНК с комплементарната ДНК верига) и произтичащата от тях геномна нестабилност. Получените нашите данни ще доведат до установяването на изцяло нов хроматин-зависим път, който предпазва от репликационен стрес и ДНК повреди по време на S-фазата. В допълнение, нашите изследвания ще позволят да се разбере ролята на този път в онкогенезата и възможностите за използването му за селективно унищожение на трансформирани клетки.

Работен пакет II на предложеното изследване ще установи динамичните промени в поведението на ключови реплизомни белтъци при различните типове репликационен стрес. Чрез извършване на описаните експерименти и анализи, ние очакваме да установим специфични характеристики, които да служат като индикатор за динамичното състояние на репликационния процес, а именно дали ДНК синтезата протича нормално или има репликационен стрес, който може да предизвика активиране на S-фазен контролен пункт и да спре репликационната вилка. Ние очакваме резултатите от нашата работа да доведат до разработването на нов подход, който на база на специфичните характеристики на реплизомата, да индикира, околичествява и претегля риска от наличието на репликационния стрес за запазването на стабилността на генома. В допълнение, получените нови знания ще допринесат за разбирането на механизмите, контролиращи репликацията и отговора на репликационен стрес, и биха могли да допринесат за разработката на нови терапевтични стратегии.

Работата по проекта ще бъде от първостепенно значение за професионалното развитие на младите участници. Те не само ще работят върху съвременни научни проблеми и ще усвоят модерни технологии, но ще придобият умения за работа в динамична, стимулираща, конкурентна среда и ще получат възможност да представят работата си на научни форуми, включително международни.

Въпреки че предлаганите изследвания са изцяло фундаментални, те пряко кореспондират с търсенето на нови средства за борба с рака и други социално значими заболявания. Конкретно, понастоящем всички средства за избирателно унищожаване на раковите клетки атакуват активно пролифериращите такива. Това прави белтъците, участващи в репликация и отговора на репликационен стрес, важни потенциални мишени за въздействие. Почти половината от гените, чийто дефекти стимулират туморогенезата, са хроматинови регулатори. Идентификация на синтетично-летални взаимодействия е важен подход в разработката на селективни средства насочени срещу раковите клетки. Това е ролята на механистичното познаване на факторите, които регулират репликацията на ДНК и биха позволили намирането на начини за увеличаване на чувствителността на туморните клетки към настоящите и бъдещи терапевтични агенти.



Членове на научния колектив

<i>Организации/участници¹</i>	<i>Бележка²</i>
<i>Базова организация:</i>	
Институт по молекулярна биология „Акад. Р. Цанев“, Българска академия на науките	
<i>Ръководител на научния колектив</i>	
Доц. д-р Анастас Господинов	
<i>Участници:</i>	
доц. д-р Марина Неделчева-Велева, доц. д-р Стойно Стойнов, Росица Христова (МУ, ДО), д-р Ивелина Василева (МУ, ПД), Петър Ботев (МУ, ДО), д-р Соня Узунова (МУ, ПД), д-р Радослав Александров (МУ, ПД), Анелия Иванова (МУ, ДО), Александър Атемин (МУ, ДО), Христина Дойчинова,	
<i>Партньорска организация:</i>	
<i>Участници:</i>	
<i>Партньорска организация:</i>	
<i>Участници:</i>	
<i>Партньорска организация:</i>	
<i>Участници:</i>	

¹ Отбележете академичната длъжност, научната степен, име и фамилия на всеки участник като включите и участниците, които са работили по проекта не през целия период за изпълнение на проекта

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



Постигнати резултати от изпълнението на проекта и кратък анализ на тяхната приложимост (до 1 стр. в рамките на полето по-долу)

Работен пакет 1. (РП1) Резултатите получени при изпълнението на дейностите предвидени в РП1 за първия етап на проекта показаха, че дефицита на субединици на хроматин-ремоделиращия комплекс INO80 в туморни клетки води до натрупване на Р-бримки и потиска тяхната пролиферация. Вследствие на Р-бримките, дефицитните по INO80 клетки изпитват репликационен стрес изразяващ се в намалена скорост на репликационните вилки и натрупване на ДНК увреждания. Намерихме също, че Р-бримките стимулират свързването на INO80 към хроматина. Тези резултати предполагат, че INO80-зависимото премахване на Р-бримките е биохимичен път, който намалява конфликтите репликация-транскрипция и позволява безконтролната пролиферация на туморните клетки. Другите комплекси от семейството не повлияват метаболизма на Р-бримките въпреки, че влияят на конфликтите репликация-транскрипция по други механизми. Получените резултати предполагат, че комплексът INO80 може да бъде ефективна мишена за таргетна терапия, тъй като туморните клетки разчитат на функциите му за безконтролната си пролиферацията.

РП. 2. Резултатите получени при изпълнението на дейностите предвидени в РП2 за първия етап бяха насочени към разбиране на количествените и качествените промени настъпващи на репликационната вилка в условия на репликационен стрес.

В резултат на репликационния стрес се генерира едноверижна ДНК, която веднага се покрива с RPA белтъка, които на свой ред задействат сигнална каскада, водеща до активиране на S-фазен контролен пункт.

По тази причина е изключително важно да се открие подход, който да открива и описва специфични характеристики на реплизомата, които да съответстват на вида и силата на репликационния стрес, способен да индуцира активация на S-фазен контролен пункт.

За това ние измерихме кинетиката на натрупване на едноверижна ДНК както по време на нормална репликация, така и при арест на репликационната вилка и при възстановяване на репликацията. Определихме също количествения профил на ключовите репликационни белтъци, слетите с EGFP флуоресциращ белтък, по време на целия клетъчен цикъл. За провеждане на тези изследвания, използвахме най-съвременната микроскопска система за визуализация на живи клетки. Натрупването на тези данни ще даде възможност за тестване на антиракови препарати, които повлияват кинетиката на ДНК репликация.

Тези резултати са част от дисертациите на 4 докторанти. В изследванията по проекта участват и 3 млади учени постдокторанти.