

Az uracil-tartalmú DNS sorsa ecetmuslicában

Batki Júlia, Vegyész MSc I. évfolyam

Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Enzimológia Intézet

Témavezetők: **Prof. Vértessy G. Beáta**, MTA doktora, egyetemi tanár
Horváth András, tudományos segédmunkatárs
MTA TTK Enzimológia Intézet

A DNS-ben igen gyakori hiba az uracil megjelenése. Az uracil-tartalmú DNS metabolizmusának legfontosabb enzimei a dUTPáz és az uracil-DNS glikozilázok (UDG). Az ecetmuslica modellszervezetben a dUTPáz esszenciális, és hiányában megnő a genomi uracil tartalom az imaginális szövetekben [1]. A metamorfózis során degradálódó szövetekben - ahol normálisan hiányzik a dUTPáz – természetes esetben is magas a DNS uracil tartalma.

Munkám során célul tűztem ki a letalitás molekuláris mechanizmusának felderítését, melynek feltételezéseink szerint a genomi integritás csökkenése lehet az oka. Kísérleteimben a DNS integritását vizsgáló módszereket alkalmaztam, melyekkel DNS száltöréseket tartalmazó sejteket detektáltam a dUTPáz hiányos imaginális szövetekben. Valószínűsíthető, hogy a száltörések megjelenéséért a báziskivágásos javítómechanizmus (BER) enzimei felelősek. Ennek tisztázásához olyan egyedekkel végeztem kísérleteket, melyekben egyszerre volt csendesítve a dUTPáz és a vizsgálni kívánt három BER enzim egyike (Thd1, SMUG, APE1). Mindhárom esetben különböző mértékű életképesség-növekedés volt tapasztalható.

A három BER enzim funkcióját különállóan is szerettem volna tanulmányozni. Eddigi munkám során Thd1 csendesített és Thd1 mutációt hordozó egyedek szöveteit vizsgáltam. Számszerűen meghatároztam az expresszió csökkenésének mértékét, majd ezt követően egy qPCR alapú módszer segítségével megmértem, hogy a szövetek genomjában az uracil-tartalom megemelkedik.

További célkitűzésem volt, hogy tanulmányozzam a dUTPáz túltermelésének hatását is mind az életképesség tekintetében, mind molekuláris szinten. Ennek segítségével több információt kaphatunk a dUTPáz genomvédő szerepéről. Ehhez olyan egyedeket vizsgáltam meg, melyekben mesterségesen volt túltermelve a dUTPáz. A túltermelés sikerességét immunhisztokémiával ellenőriztem. Az enzim megjelenése nem okozott zavart az egyedfejlődésben. A DNS-beli uracil tartalom mérésével szeretném molekuláris szinten jellemezni a dUTPáz túltermelés hatását.

1. Muha V, Horvath A, Bekesi A, Pukanics M, Hodoscsek B, Merenyi G, Rona G, Batki J, Kiss I, Jankovics F *et al*: **Uracil-containing DNA in Drosophila: stability, stage-specific accumulation, and developmental involvement.** *PLoS Genet* 2012, **8**(6):e1002738.