

ATTIVITÀ DI RICERCA (G. LIBERI)

La forcella di replicazione del DNA deve superare numerose barriere imposte dalla trascrizione per completare la duplicazione del genoma prima della divisione cellulare. L'incapacità nel far fronte a queste barriere causa l'arresto e il collasso della forcella di replicazione, causando il fenomeno noto come *replication stress* che si osserva nei tumori e in altre patologie umane.

Nel nostro laboratori indaghiamo i meccanismi che coordinano la replicazione con la trascrizione del DNA e che quindi prevengono il fenomeno patologico del *replication stress* causato dalla trascrizione. Abbiamo dimostrato che uno di questi meccanismi dipende dall'attività della DNA/RNA elicasi Sen1 del lievito *S.cerevisiae*, una proteina evolutivamente conservata chiamata Senataxina nell'uomo. La Senataxina è un potenziale gene soppressore dei tumori ed è inoltre mutata in alcune malattie neurodegenerative, tra le quali una forma di Atassia (AOA2) e una forma di SLA (ALS4). Abbiamo dimostrato che Sen1 si associa alla forcella di replicazione e ne preserva l'integrità quando si scontra frontalmente con geni trascritti dalla RNA Polimerasi II. In questi scontri tra replicazione e trascrizione, Sen1 impedisce che si accumulino ibridi di RNA:DNA, le quali sono strutture che possono danneggiare il DNA. Abbiamo recentemente osservato che la trascrizione ha un profondo impatto sulla dinamica della replicazione di un intero replicone in mutanti *sen1*: entrambe le forcelle che si muovono in direzioni opposte all'interno di un replicone vengono bloccate, mentre solo una delle due collide con la trascrizione, come conseguenza del fatto che le attività dei due replisomi sono accoppiati durante la sintesi del DNA. Le forcelle di replicazione bloccate dalla trascrizione vengono comunque salvate sia dall'attivazione di origini di replicazione dormienti prossime al sito di stallo che da specifici fattori di protezione che agiscono nel preservare la forcella dall'attacco di nucleasi.

Stiamo utilizzando approcci genetici e genomici accoppiati all'analisi degli intermedi di replicazione in gel bidimensionali e di microscopia elettronica per identificare altri meccanismi e i fattori che preservano l'integrità della forcella di replicazione che si scontra con la trascrizione e studiare le transizioni patologiche che si verificano alla forcella bloccata dalla trascrizione in mutanti *sen1*.