

Meccanismi che modulano la stabilità della forcella di replicazione del DNA e la formazione di R-loops durante i conflitti con la trascrizione.

Giordano Liberi

Istituto di Genetica Molecolare “Luigi Luca Cavalli-Sforza” (IGM), CNR

Progetto

La replicazione e la trascrizione del DNA sono processi che possono interferire l'un l'altro causando danno al DNA, una delle cause principali d'instabilità genomica nei tumori e alte patologie degenerative. Gli scontri frontali tra la replicazione e la trascrizione sono particolarmente deleteri in quanto portano all'accumulo di strutture ricombinogeniche e mutageniche note come R-loops (Brambati et al., 2020).

La DNA/RNA elicasi del lievito *S.cerevisiae* Sen1 è ortologo della proteina umana Senataxina, la cui funzione è alterata nei tumori e nelle patologie neurodegenerative AOA2/ALS4. Abbiamo dimostrato che Sen1 promuove la progressione e l'integrità della forcella di replicazione mentre attraversa i geni molto trascritti (Alzu et al., 2012). In cellule in cui Sen1 è assente, la trascrizione diviene una barriera impenetrabile per la forcella di replicazione e specifici meccanismi di salvataggio devono intervenire per impedire la sua rottura e per ultimare la terminazione della replicazione (Brambati et al., 2018).

Il nostro approccio è di utilizzare tecniche genetiche e genomiche, combinate con approcci di biologia molecolare, tra cui l'analisi bi-dimensionale su gel di agarosio degli intermedi di replicazione (Zardoni et al., 2020). Con questi approcci ci proponiamo di esplorare meccanismi e fattori che preservano l'integrità della forcella che collide con la trascrizione; inoltre ci proponiamo di osservare le transizioni patologiche a cui la forcella arrestata dalla trascrizione è soggetta, sia in assenza di Sen1 che di altri fattori che prevengono la formazione di R-loops.

Referenze

- Brambati A, Zardoni L, Nardini E, Pelliccioli A, and Liberi G (2020). The dark side of RNA:DNA hybrids. *Mutat Res* 784:108300.
- Alzu A, Bermejo R, Begnis M, Lucca C, Piccini D, Carotenuto W, Saponaro M, Brambati A, Cocito A, Foiani M, and Liberi G. (2012). Senataxin associates with replication forks to protect fork integrity across RNA polymerase II-transcribed genes. *Cell* 151: 835-846
- Brambati A, Zardoni L, Achar YJ, Piccini D, Galanti L, Colosio A, Foiani M, and Liberi G (2018). Dormant origins and fork protection mechanisms rescue sister fork arrested by transcription. *Nucleic Acids Res.* 46:1227-1239
- Zardoni L, Nardini E, and Liberi G (2020). 2D gel electrophoresis to detect DNA replication and recombination intermediates in budding yeast. *Methods Mol Biol.* 2119: 43-59.