

Abstrakt

V průběhu replikace často dochází k zastavení postupu replikačních vidlic v důsledku poškození DNA templátu, přítomnosti transkripčních komplexů nebo tvorby sekundárních struktur DNA. RecQ helicázy patří v buňce k nejdůležitějším faktorům, které zajišťují stabilitu genomu za podmínek replikačního stresu. Přestože jsou transkripce i replikace esenciálními buněčnými mechanismy, jejich vzájemná interference může vést k poškození DNA a následné genomové nestabilitě. RECQ5 helicáza interaguje s RNA polymerázou II během elongační fáze transkripce a zabraňuje vzniku transkripcí indukovaného poškození DNA. V této studii ukazujeme, že RECQ5 interaguje také s RNA polymerázou I a zabraňuje ztrátě či znásobení úseků ribozomální DNA, na kterých dochází k přepisu ribozomální RNA. Prokázali jsme, že během S-fáze buněčného cyklu RECQ5 asociuje s transkripcí v místech právě probíhající replikace. Odstranění RECQ5 pomocí RNA interference vede k zastavení replikačních vidlic v oblastech transkribovaných RNA polymerázou I nebo II, což naznačuje, že RECQ5 udržuje stabilitu genomu v místech kolize mezi replikací a transkripcí. Snížením exprese RECQ5 pomocí RNA interference dochází v jádrech replikujících buněk k akumulaci RAD51 a RAD18 fokusů, které pravděpodobně představují nerozřešené replikační intermediáty, které jsme v buňkách po odstranění RECQ5 také detekovali. Vznik RAD51 fokusů v místech kolize mezi replikací a transkripcí je závislý na přítomnosti BRCA1 a aktivní transkripce. Také jsme prokázali, že aktivní transkripce zabraňuje kolapsu replikačních vidlic a je potřeba pro jejich restart. V místech kolize mezi replikací a transkripcí indukuje helicázová aktivita RECQ5 částečné odstranění PCNA z replikační vidlice, přičemž zbylé PCNA je díky interakci s RECQ5 posttranslačně modifikováno ubikvitinací. RECQ5 pomocí své helicázové aktivity umožňuje také rozřešení replikačních intermediátů stabilizovaných pomocí RAD51. Přítomnost RECQ5 v místech kolize mezi replikací a transkripcí tedy indukuje změny na zastavené replikační vidlici, která je současně chráněna pomocí BRCA1 před kolapsem. Oba tyto procesy vedou k rozřešení kolize a restartu replikace. Tato práce identifikuje RECQ5 jako jeden z klíčových faktorů při řešení kolize mezi replikací a transkripcí.