

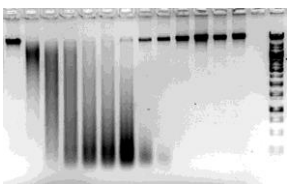
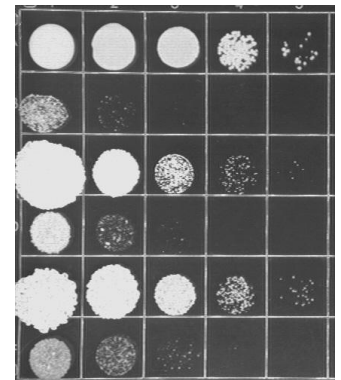
OTVORENA POZICIJA ZA IZRADU DOKTORSKE DISERTACIJE

u Laboratoriji za molekularnu biologiju biljaka
Instituta za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
od septembra 2020. godine na temu:

Identifikovanje novih faktora uključenih u regulaciju homologne rekombinacije u mikroorganizmu *Ustilago maydis*

Održanje integriteta genoma je jedna od osnovnih ćelijskih funkcija i kao takva je evolutivno konzervirana od bakterija do ljudi. Nepravilno funkcionisanje mehanizama popravke DNK vodi ka ćelijskoj smrti ili transformaciji (kancer). Najopasniji tip lezija DNK su dvolančani prekidi, koji se dešavaju u ćelijama ne samo pod uticajem spoljašnjih faktora, kao što je zračenje ili hemoterapeutici, već i tokom normalnog funkcionisanja ćelije kada dođe do zastoja replikacione mašinerije. Jedini mehanizam koji bez uvođenja grešaka može da popravi dvolančane prekide je homologna rekombinacija (HR).

Jedan od model sistema pogodnih za izučavanje HR-e je jednoćelijska gljiva *Ustilago maydis*, koja je ekstremno rezistentna na UV i jonizujuća zračenja. U osnovi ove rezistencije je efikasna popravka oštećenja na DNK homolognom rekombinacijom. Sam Robin Holidej je, radeći upravo na ovom mikroorganizmu, dao svoj prvi model rekombinacije-Holidejeve strukture. Značajno je i to što je kod ovog vrlo razrađenog/uhodanog eksperimentalnog model sistema proces HR vrlo sličan kao kod čoveka (*U. maydis* je BRCA2 organizam), tako da su otkrića dobijena na ovom jednostavnom organizmu bitna za razumevanje HR kod ljudi.



Cilj rada bi bio identifikacija novih faktora koji regulišu proces HR. Rad bi obuhvatao molekularno genetičke, molekularno biološke i biohemijske analize:

Mutagenaza posredstvom UV zračenja, skrining mutanata, ispitivanje rezistencije na genotoksične agense, komplementaciono kloniranje novih gena i njihova dalja karakterizacija kroz utvrđivanje uloge u homolognoj rekombinaciji primenom genetičkih eksperimenata (konstruisanje deletanata za selektovane gene, određivanje stope mutacija, uloga faktora u mitotičkoj i mejotičkoj rekombinaciji, epistatičke interakcije). Nakon određivanja doprinosa faktora homolognoj rekombinaciji, ispitiće se međusobne interakcije (koimunoprecipitacija ili yeast two hybrid system), kao i eventualne interakcije sa DNK (EMSA). Faktori će biti fuzionisani sa fluorescentnim tagovima (GFP, YFP, RFP) te će njihova lokalizacija, kolokalizacija i uticaj na formiranje fokusa nakon izlaganja DNK-oštećujućim agensima, biti praćena na fluorescentnom mikroskopu (Live-cell imaging).

Oko 30% genoma *U. maydis* konstituišu geni čija je funkcija nepoznata. Neki od njih su, vrlo verovatno, uključeni u procese regulacije/modulacije homologne rekombinacije. Pred nama je da to i pokažemo.