

Molekularne mechanizmy uszkodzeń i naprawy DNA - metodyka badań

Zagadnienia:

Budowa chemiczna DNA

Rodzaje i mechanizmy uszkodzeń DNA

- utrata zasady
- interkalacja
- modyfikacje zasad azotowych: alkilacja, metylacja, hydrolityczna deaminacja, oksydacja
- pęknięcia jedno- i dwuniciowe DNA
- wiązania krzyżowe DNA-DNA, DNA-białko

Mechanizmy naprawy uszkodzeń DNA (systemy)

- BER
- NER
- MMR
- NHEJ
- rekombinacja homologiczna (HR)
- naprawa bezpośrednia

Uszkodzenia DNA a ich naprawa/apoptoza

Metody badań uszkodzeń i naprawy DNA

- test kometowy: wersje alkaliczna, neutralna, FISH
- elektroforeza w polu pulsacyjnym
- aberracja chromosomowe
- test mikrojądrowy
- test klonogeny
- test gamma-H2AX
- analiza przejść konformacyjnych plazmidów
- techniki PCR: RFLP-PCR, PCR w czasie rzeczywistym (TagMan), HRM-PCR
- metody immunoserologiczne: ELISA, mikroskopia konfokalna, cytometria przepływowa

Literatura:

- Bukowiecka-Matusika M, Wozniak L. Struktura DNA od A do Z. Postępy Biochemii 2006, 52(3) – [link](#)
- Mol A, Stolarek M. Indukowane mutagenami uszkodzenia DNA i mechanizmy ich powstania. Postępy Biologii Komórki 2011, 38(3) – [link](#)
- Popławski T, Stoczyńska E, Błasiak J. Naprawa DNA przez niehomologiczne łączenie końców — nowe białka, nowe funkcje, nowe mechanizmy. Postępy Biochemii 2006, 55(1) – [link](#)
- Śliwinski T, Błasiak J. Naprawa DNA przez wycinanie zasad. Postępy Biochemii 2005, 51(2) – [link](#)
- Popławski T, Błasiak J. Naprawa błędnie sparowanych zasad. Postępy Biochemii 2003, 49(3) – [link](#)
- Keith A, Grimaldi, Claire J, McGurk, Peter J, McHugh, John A, Hartley. PCR-based methods for detecting DNA damage and its repair at the sub-gene and single nucleotide levels in cells. Molecular Biotechnology. 2002, 2, 181-196 – [link](#)
- Azqueta A, Slysokva J, Langie SA, O'Neill Gaivão I, Collins A. Comet assay to measure DNA repair: approach and applications. Front Genet. 2014, 25; 5, 288 – [link](#)