

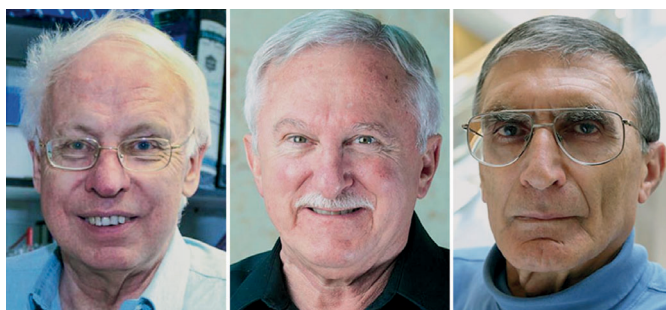


Gyurcsik Béla

■ SZTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, MTA-SZTE Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport

A sejtek DNS-javító mechanizmusainak molekuláris szintű magyarázatával kapcsolatos kutatások érdemelték ki a kémiai Nobel-díjat 2015-ben¹

A Svéd Királyi Tudományos Akadémia 2015-ben három kutatónak ítélte kémiai Nobel-díjat a DNS-javító mechanizmusok tanulmányozása során elért eredményeikért. *Tomas Lindahl* Stockholmban (Svédország) született 1938-ban, jelenlegi munkahelye a Francis Crick Intézet és a Clare Hall Laboratórium (Hertfordshire, Egyesült Királyság); *Paul Modrich* 1946-ban született az Egyesült Államokban, kutatásait a Howard Hughes Orvosi Intézetben és a Duke University School of Medicine egyetemen (Durham, NC, USA) végzi; *Aziz Sancar* szintén 1946-os születésű (Savur, Törökország), az Észak-Karolinai Egyetemen (Chapel Hill, NC, USA) kutat. Mindhárman a biokémia professzorai.



Tomas Lindahl, Paul Modrich és Aziz Sancar (balról jobbra), 2015 kémiai Nobel-díjasai

Ismert, hogy a DNS-molekulák nem kívánt módosulása a sejtekben meglehetősen gyakori folyamat, amit okozhat elektromágneses sugárzás (ionizáló röntgensugarak, UV-sugárzás), kiválthatják különböző oxidatív kémiai reaktánsok (reaktív metabolitok és egyéb szervezetbe kerülő – rákkeltő – vegyületek), de másolása, a DNS-replikáció során is sérülhet. Mindez meglepően hangzik, hiszen a DNS a genetikai információt örökítő anyag, így létfontosságú a földi élet fenntartásában. A DNS hasadása sejt-halálhoz vezethet, a kódoló szekvenciák véletlenszerű változása pedig rákos vagy örökítő genetikai betegségek kialakulását idézheti elő.

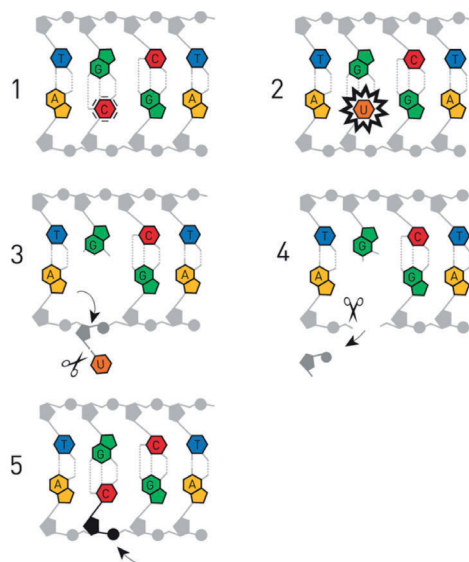
A DNS integritásának megőrzéséhez a sejtekben tehát szükség van olyan molekuláris gépezetekre, melyek a DNS sérülése nyomán lépnek működésbe, és javítják a meghibásodásokat. Ezeknek az egyedülálló molekuláris mechanizmusoknak a feltárása új, jobb

minőségű és hatékonyabb terápiás eljárásokhoz, új gyógyszerek kifejlesztéséhez vezethet a DNS károsodásához rendelhető, többségében ma még gyógyíthatatlan betegségek terén. Tomas Lindahl szerint minél többet tudunk a DNS-molekula sérüléseiről és az ezek következtében fellépő javító mechanizmusokról, annál hatékonyabban pusztíthatunk el rákos sejteket anélkül, hogy az egészséges sejtekre káros hatást gyakorolnánk. A három 2015. évi Nobel-díjas egymástól független kutatásokat végzett a különböző típusú DNS-javító mechanizmusok megértése céljából.

Tomas Lindahl PhD-disszertációját a stockholmi Karolinska Intézetben készítette el 1967-ben. Az 1970-es években kimutatta, hogy a DNS-molekula olyan mértékben bomlékony, hogy e tulajdonsága lehetetlenné tenné az élet kifejlődését a Földön [1]. Demonstrálta a fiziológiai körülmények között spontán lejátszódó hidrolitikus depurinálást [2], ami a DNS-lánc hasításához vezet [3], valamint a nagymértékű citozin-dezaminálódást, ami pedig mutagén uracil kialakulását eredményezi [4]. Ennek ismeretében jött rá, hogy a sejtekben a DNS meghibásodását folyamatosan

A báziskivágó DNS-javító mechanizmus sematikus ábrázolása.

1. Egy citozin dezaminálódik. 2. A képződő uracil nem tudja kialakítani a megfelelő hidrogénhidás kölcsönhatásokat.
3. A glikoziláz enzim kivágja a hibás nukleobázist. 4. További enzimek eltávolítják a hibás nukleotid maradványát. 5. A DNS-polimeráz és -ligáz enzimek pótolják a DNS-szálabban képződött hiányt

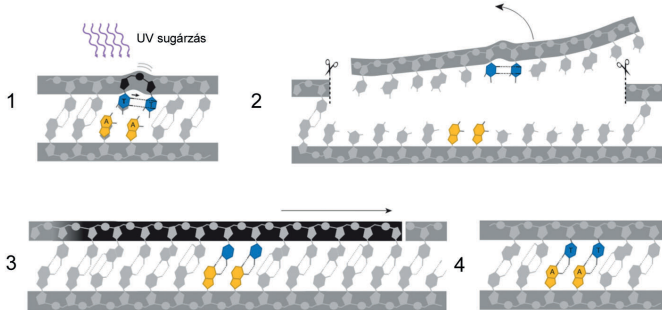


¹ A cikk alapját a Svéd Királyi Tudományos Akadémia 2015. évi kémiai Nobel-díjról szóló kiadványa képezi.



korrigáló báziskivágó mechanizmus (base excision repair – BER) akadályozza meg a genetikai információ összeomlását. Azonosította az uracil-DNS-glikoziláz enzimet [5], mely a BER alapját képezi. Tomas Lindahl részleteiben feltárta a DNS-javítás BER-mechanizmusát [6], s elvégezte a bakteriális és a humán BER teljes rekonstrukcióját tisztított enzimekkel [7,8]. Ma már a DNS oxidatív károsodásának több mint 100 féle típusát ismerjük, melyek többségét a BER-mechanizmus javítja.

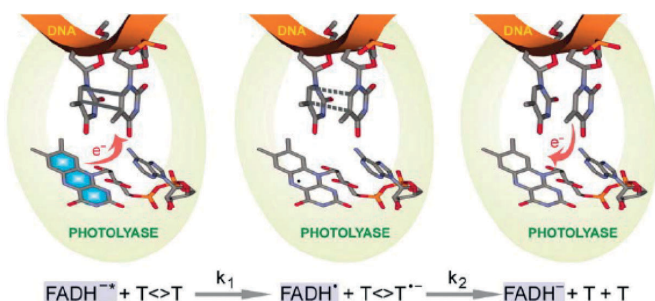
Aziz Sancar a Texasi Egyetemen (Dallas, USA) szerezte meg PhD-fokozatát 1977-ben. Már PhD-kutatásai során sikerült elsőként olyan enzimet, az *Escherichia coli*-fotoliázt izolálnia, mely a DNS-ben az UV-fény hatására bekövetkezett károsodásokat állítja helyre [9]. Hamarosan kifejlesztett egy olyan eljárást, melynek segítségével új fehérjéket tudott egyszerűen detektálni a sejteken belül [10]. Ez vezette el a nukleotidkivágó DNS-javításban szerepet játszó enzimek azonosításához, melyek működési mechanizmusára is javaslatot tett – előbb az UvrA, UvrB és UvrC fehérjéket exinukleáz-komplekként kezelve [11], majd az UvrD, valamint a DNS-polimeráz és -ligáz enzimekkel kiegészítve [12], végül a négy fenti fehérje szekvenciális szerepét tisztázta [13]. Ma már a humán sejtekben lejátszódó nukleotidkivágó DNS-javító mechanizmus elemei is ismertek, többek között Aziz Sancar munkásságának köszönhetően [14].



A nukleotidkivágó DNS-javító mechanizmus vázlatos működési elve. 1. A DNS-láncban két szomszédos timin kapcsolódhat össze UV-sugárzás hatására. 2. A hiba felismerését követően az exinukleáz enzimkomplex a DNS-láncból 12 nukleotid hosszúságú szakaszt vág ki, amit a DNS-helikáz eltávolít onnan. 3. A DNS-polimeráz felépíti a hiányzó nukleotidszakaszt. 4. A ligáz enzim kovalens kötéssel összekapcsolja az újonnan képződött és a már meglévő láncrészletet

1984 és 1989 között Aziz Sancar még visszatért a fotoliáz enzim tanulmányozásához is. Megállapította, hogy az UV-fény hatására képződő timin-dimerek javítása a látható fény segítségével működő fenti enzim segítségével is végbemehet. Azonosította a fényenergiát kémiai energiává alakító kromofórokat és az

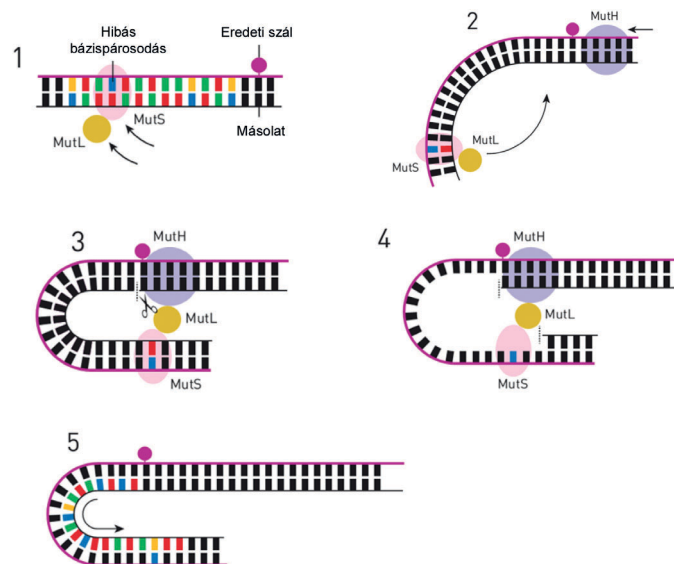
Timin-dimerek hasítása a fotoliáz enzim segítségével baktériumsejtekben [18]



ezek segítségével képződő gyököket a fotoliázban. Az egyik ilyen kromofór a flavin-adenin-dinukleotid redukált formája (FADH⁻), melyről gerjesztett állapotban egy elektron kerül a pirimidin-dimere annak felhasadását eredményezve [15–17].

Bár ez a fényindukált DNS-javító mechanizmus nem öröklődött az emlősökre, a napi biológiai ritmus a fotoliázzal homológ fehérjék működésén alapul [19].

Paul Modrich a Stanford Egyetemen doktorált 1973-ban. Amint azt már a fentiekben említettük, a DNS replikációja nem hibamentes folyamat, ami a humán genom méretét és a szervezet felépítő sejtek számát tekintve érthető. Bár a DNS-polimeráz képes bizonyos mértékben korrigálni a hibákat, még így is kb. 10⁻⁵ nagyságrendű a hibás bázispárok kialakulásának valószínűsége. A sejtekben egy DNS-javító mechanizmus jelentős mértékben csökkenti az ilyen össze nem illő bázispárok számát. Paul Modrich adta meg e hibás bázispárosodásokat korrigáló DNS-javító mechanizmus részletes leírását sejtmentes *E. coli*-extraktumok tanulmányozásával. Ő mutatta ki először azt is, hogy a javítás



A DNS másolása közben kialakuló hibás bázispárosodásokat korrigálja a sejtek erre hivatott DNS-javító mechanizmusa, a Mismatch Repair (MMR). 1. A hibás bázispárt a MutL és MutS enzimek érzékelik. 2. A MutH enzim felismeri a metilált bázist a templát-szálon. 3. Az előbbi enzimek eltávolítják a hibás nukleotidot tartalmazó DNS-szakaszt. 4. A DNS-polimeráz és -ligáz enzimek helyreállítják a hiányzó szekvenciát

metilált nukleobázisokhoz kötődik [20–25]. A későbbiekben a humán sejtekben lejátszódó hasonló javítómechanizmust is jellemezte [26], melyet nem a metiláció, hanem inkább az egyszálú DNS-hasítás vezérelhet.

Összefoglalva elmondható, hogy Tomas Lindahl, Paul Modrich és Aziz Sancar alapvető és átütő erejű felfedezései a DNS enzimatisz javítása terén nagyban hozzájárultak e folyamatok mechanizmusának molekuláris szintű megértéshez. Ezzel párhuzamosan a DNS-javítás egyéb mechanizmusai is, mint amilyen a nem homológ végek összekapcsolása vagy a homológ rekombináció, egyre pontosabban körvonalazódnak. Ezek az eredmények várhatóan további olyan kutatásokat is jelentősen előrelendítenek és inspirálnak, amelyek révén a DNS meghibásodásához köthető betegségek gyógyítása válik majd lehetségessé. A rákos sejtekben a DNS-javító mechanizmusok gátlása a sejtek pusztulásához vezet, míg például mesterséges nukleázok által indukált homológ



rekombináció egy mutációt hordozó gén javítását eredményezi. Magyarországon is számos kutatóműhelyben dolgoznak hasonló jellegű problémák megoldásán.

IRODALOM

- [1] T. Lindahl: Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* (1993) 362, 709–715.
- [2] T. Lindahl, B. Nyberg: Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* (1972) 11, 3610–3618.
- [3] T. Lindahl, A. Andersson: Rate of chain breakage at apurinic sites in double-stranded deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* (1972) 3618–3623.
- [4] T. Lindahl, B. Nyberg: Heat-induced deamination of cytosine residues in deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* (1974) 13, 3405–3410.
- [5] T. Lindahl: An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues. *Proc Natl Acad Sci USA* (1974) 71, 3649–3653.
- [6] T. Lindahl, R.D. Wood: Quality control by DNA repair. *Science* (1999) 286, 1897–1905.
- [7] G. Dianov, T. Lindahl: Reconstitution of the DNA base excision-repair pathway. *Curr Biol* (1994) 4, 1069–1076.
- [8] Y. Kubota, R.A. Nash, A. Klungland, P. Schär, D.E. Barnes, T. Lindahl: Reconstitution of DNA base excision-repair with purified human proteins: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein. *EMBO J* (1996) 15, 6662–6670.
- [9] A. Sancar, C. S. Rupert: Cloning of the phr gene and amplification of photolyase in *Escherichia coli*. *Gene* (1978) 4, 295–308.
- [10] A. Sancar, A. M. Hack, W.D. Rupp: Simple method for identification of plasmid-coded proteins. *J Bacteriol* (1979) 137, 692–693.
- [11] A. Sancar, W. D. Rupp: A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of *Escherichia coli* cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. *Cell* (1983) 33, 249–260.
- [12] I. Husain, B. Van Houten, D. C. Thomas, M. Abdel-Monem, A. Sancar: Effect of DNA polymerase I and DNA helicase II on the turnover rate of UvrABC excision nuclease. *Proc Natl Acad Sci USA* (1985) 82, 6774–6778.
- [13] C. Petit, A. Sancar: Nucleotide excision repair: from *E. coli* to man. *Biochimie* (1999) 81, 15–25.
- [14] D. Mu, C. H. Park, T. Matsunaga, D. S. Hsu, J. T. Reardon, A. Sancar: Reconstitution of human DNA repair excision nuclease in a highly defined system. *J Biol Chem* (1995) 270, 2415–2418.
- [15] G. B. Sancar, F. W. Smith, R. Reid, G. Payne, M. Levy, A. Sancar: Action mechanism of *Escherichia coli* DNA photolyase. I. Formation of the enzyme-substrate complex. *J Biol Chem* (1987) 262, 478–485.
- [16] M. S. Jorns, E. T. Baldwin, G. B. Sancar, A. Sancar: Action mechanism of *Escherichia coli* DNA photolyase. II. Role of the chromophores in catalysis. *J Biol Chem* (1987) 262, 486–491.
- [17] G. B. Sancar, M. S. Jorns, G. Payne, D. J. Fluke, C. S. Rupert, A. Sancar: Action mechanism of *Escherichia coli* DNA photolyase. III. Photolysis of the enzyme-substrate complex and the absolute action spectrum. *J Biol Chem* (1987) 262, 492–498.
- [18] Y.-T. Kao, C. Saxena, L. Wang, A. Sancar, D. Zhong: Direct observation of thymine dimer repair in DNA by photolyase. *Proc Natl Acad Sci USA* (2005) 102, 16128–16132.
- [19] A. Sancar: Regulation of the mammalian circadian clock by cryptochrome. *J Biol Chem* (2004) 279, 34079–34082.
- [20] P. J. Pukkila, J. Peterson, G. Herman, P. Modrich, M. Meselson: Effects of high levels of DNA adenine methylation on methyl-directed mismatch repair in *Escherichia coli*. *Genetics* (1983) 104, 571–582.
- [21] A. L. Lu, S. Clark, P. Modrich: Methyl-directed repair of DNA base-pair mismatches in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* (1983) 80, 4639–4643.
- [22] S. S. Su, P. Modrich: *Escherichia coli* mutS-encoded protein binds to mismatched DNA base pairs. *Proc Natl Acad Sci USA* (1986) 83, 5057–5061.
- [23] M. Grilley, K. M. Welsh, S. S. Su, P. Modrich: Isolation and characterization of the *Escherichia coli* mutL gene product. *J Biol Chem* (1989) 264, 1000–1004.
- [24] K. M. Welsh, A. L. Lu, S. Clark, P. Modrich: Isolation and characterization of the *Escherichia coli* mutH gene product. *J Biol Chem* (1987) 262, 15624–15629.
- [25] R. S. Lahue, K. G. Au, P. Modrich: DNA mismatch correction in a defined system. *Science* (1989) 245, 160–164.
- [26] L. Dzantiev, N. Constantin, J. Genschel, R. R. Iyer, P. M. Burgers, P. Modrich: A defined human system that supports bidirectional mismatch-provoked excision. *Mol Cell* (2004) 15, 31–41.

Szendrei Kálmán–Csupor Dezső

■ SZTE Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziás Intézet

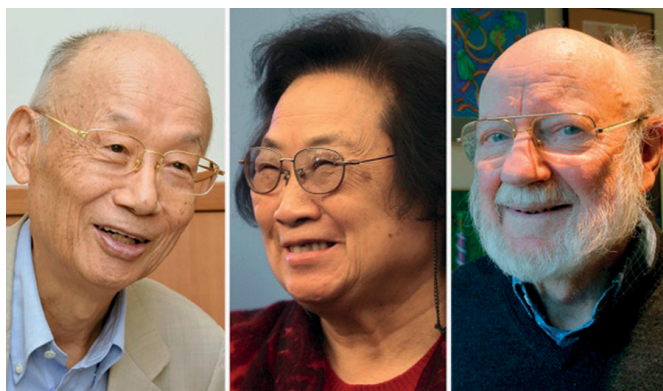
Megosztott Nobel-díj két természetes eredetű gyógyszermolekula felfedezéséért

Az orvosi-életteni Nobel-díjak több mint 100 éves történetében nagy ritkaságnak számít, hogy gyógyszermolekula felfedezését ítéli a Nobel Bizottság jutalomra méltónak. Nobel-díjjal elsősorban nagy jelentőségű elméleti kutatásokat jutalmaznak; a korábbi példák (hormonok, vitaminok) az emberi szervezet életleni folyamatainak kutatásából származtak és gyógyszerként történő alkalmazásuk is a szervezet egyensúlyi folyamatainak befo-lyásolását, helyreállítását célozta.

2015 októberében a Nobel Bizottság bejelentette, hogy ebben az évben az orvosi-életteni díjjal megosztva jutalmazza Juju Tu kínai kutatót a malária, William C. Campbell ír és Omura Satoshi japán kutatót pedig a féregfertőzések gyógyításában elért úttörő eredményeikért.

A természetes artemizinin és származékai

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által az 1970-es években nagy lelkesedéssel meghirdetett „Egészséget mindenkinek 2000-re” kampányról hamar kiderült, hogy túlzott, irreális elvárásokat fogalmaz meg. A fertőzéses és krónikus megbetegedések számának gyors emelkedése megújult erőfeszítéseket tett indokolttá a kormányok és a gyógyszerkutatás részéről. Minderre tipikus pél-



Omura Satoshi, Juju Tu és William C. Campbell (balról jobbra), az orvosi Nobel-díjasok

da a malária: a WHO zászlaja alatt elindított maláriaeradikációs kampány korlátai a kezdeti sikerek után már korán jelentkeztek. A kininből származtatott maláriaellenes szerekkel (klorokin, meflokin) szemben rezisztenciát mutató kórokozók (elsősorban a *Plasmodium falciparum*) Afrika-szerte és Délkelet-Ázsiában gyors tempóban ismét terjedtek. Világszerte intenzív keresés in-