

EFOP-3.4.3-16-2016-00014

A DNS SZERKEZETE, REPLIKÁCIÓJA ÉS HIBAJAVÍTÁSA EUKARIÓTA SEJTEKBEN

2020

*AP4_TTIK KÁRPÁT-MEDENCEI OKTATÁSI TÉR KIALAKÍTÁSA
ÉRDEKÉBEN TETT TEVÉKENYSÉGEK A TTIK-N
BBTE OKTATÁSI EGYÜTTMŰKÖDÉS*

***DR. HABIL PANKOTAI
TIBOR***

*SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
EGYETEMI ADJUNKTUS*

SZÉCHENYI 

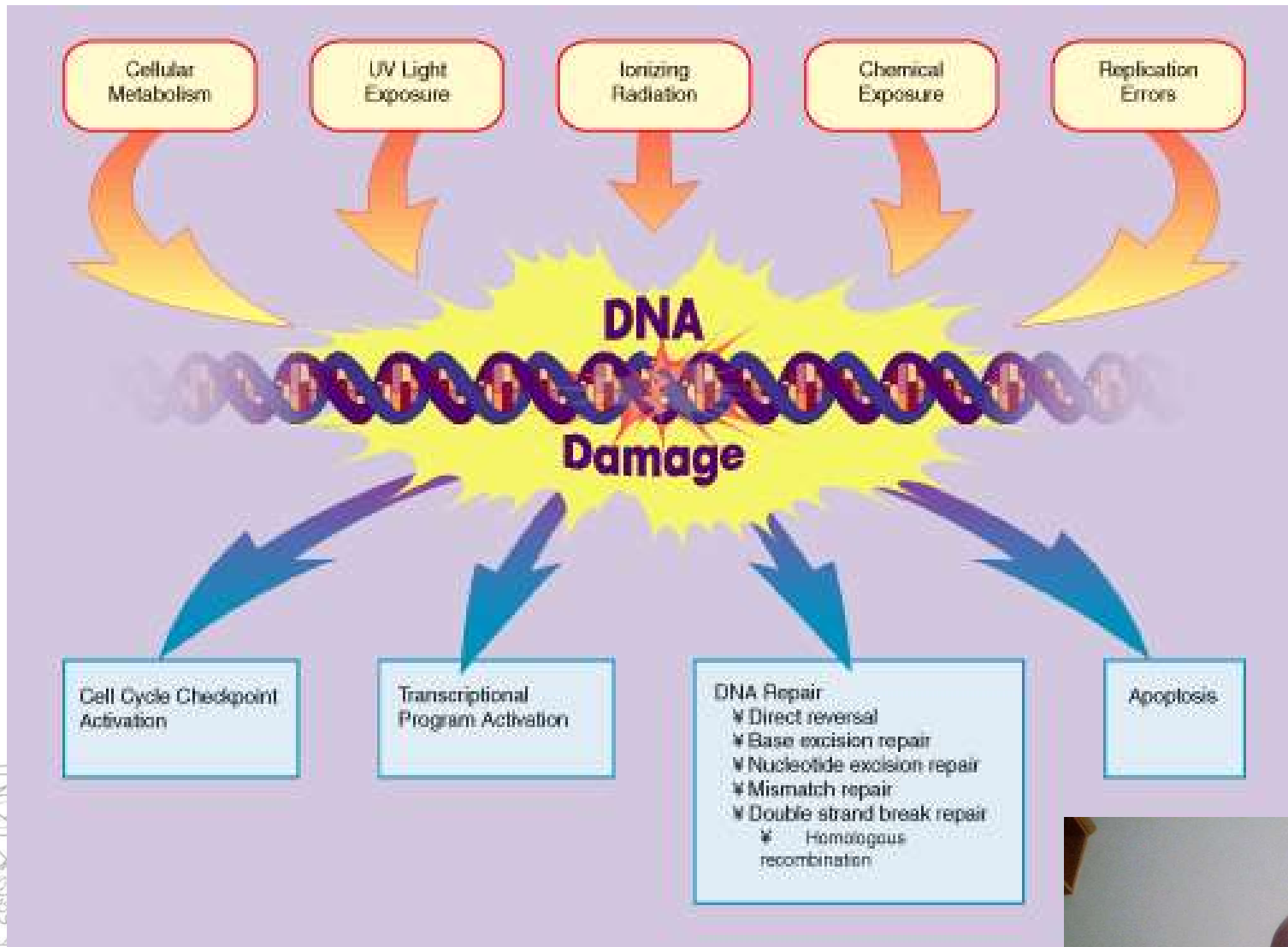


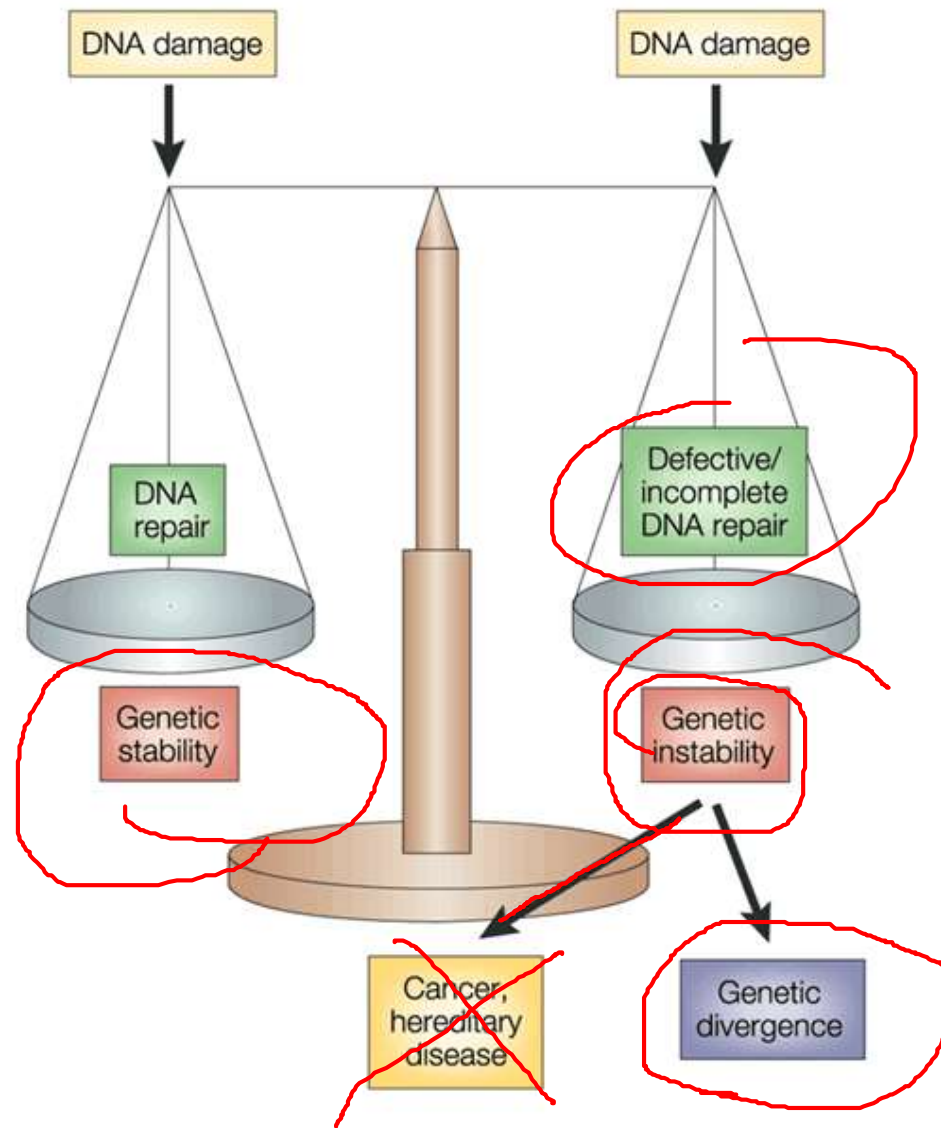
MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE





DNS hibák

DNS hibák naponta minden sejtben 1000-1000000 esetben történik amelyeknek hibátlanul ki kell javítódnia (10^{14} sejt \times 10^6 hiba = 10^{20} hibajavítás naponta).

Ez nagyjából a teljes humán genom 0.000165%-át érinti (3×10^9 bázispár), a kijavítatlan hibák zavarják a DNS-en történő folyamatokat (transzkripció, replikáció) és növelik a rákos folyamatok kialakulásának esélyét is.





A DNS hibák transzkripció leálláshoz és a replikáció során bekövetkező újabb hibák kialakulásához járulnak hozzá és így toxikusak a sejteknek.

Humán sejtekben kimutatták, hogy a DNS hibajavítás hibái nagyban hozzájárulnak a tumoros folyamatok kialakulásában növelve a mutagenézis esélyét.

A DNS hibák forrásai

A DNS hibák kialakulásának forrásai

1. endogén hibák ROS normál metabolikus termékekből (oxidative deamination);
 - Replikációs villa hibái
 - Jóval nagyobb mennyiségű hibát generál







Külső (exogén) források

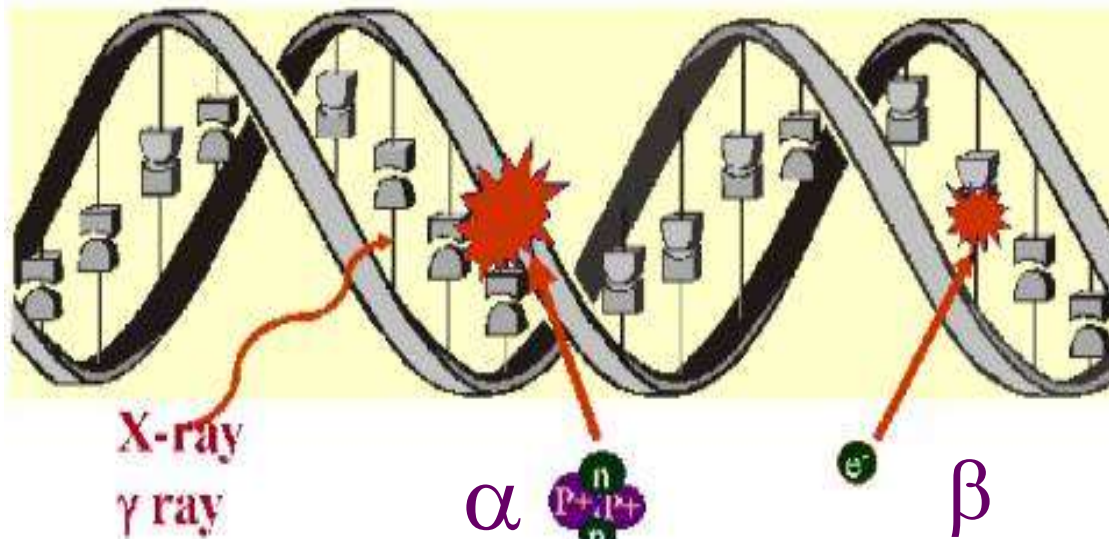
- UV 200-300nm a Napból
- Röntgen és and gamma sugárzás
- Kemikáliák - aromatikus vegyületek DNS
láncokba épül be a láncok közé



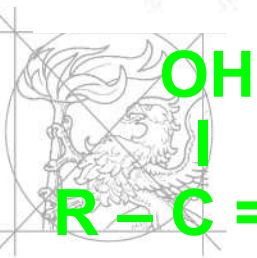
A DNS károsító molekulák hatásmechanizmusa



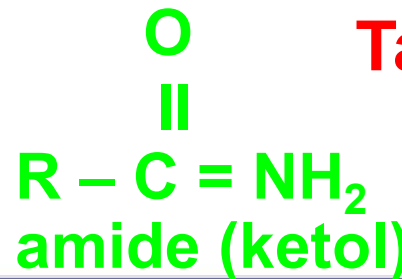
A DNS szál ionizációja



Bond breaks

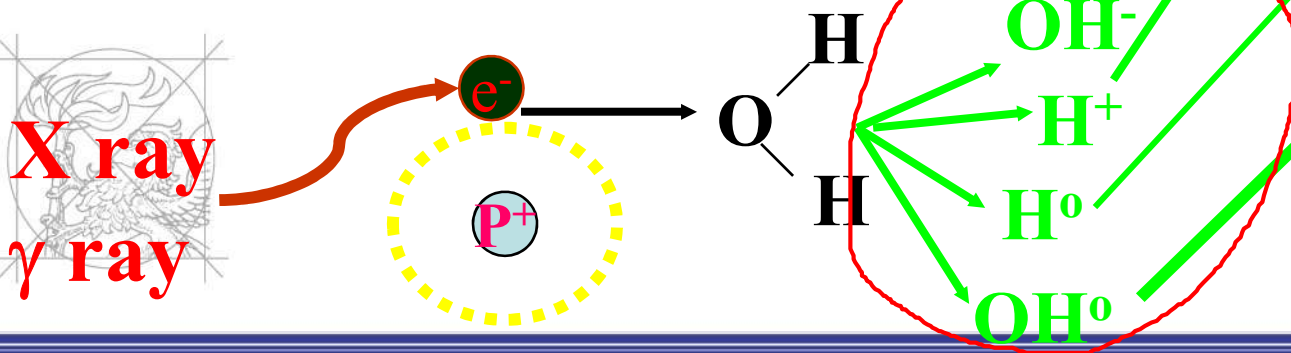
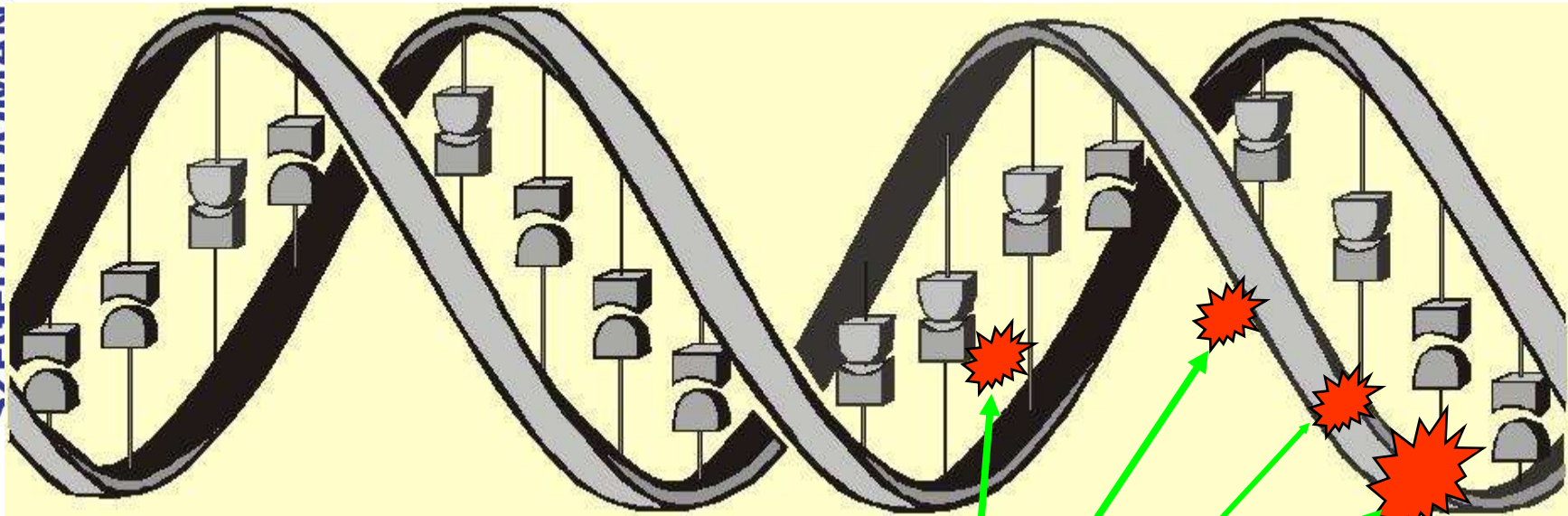


imidol (enol)

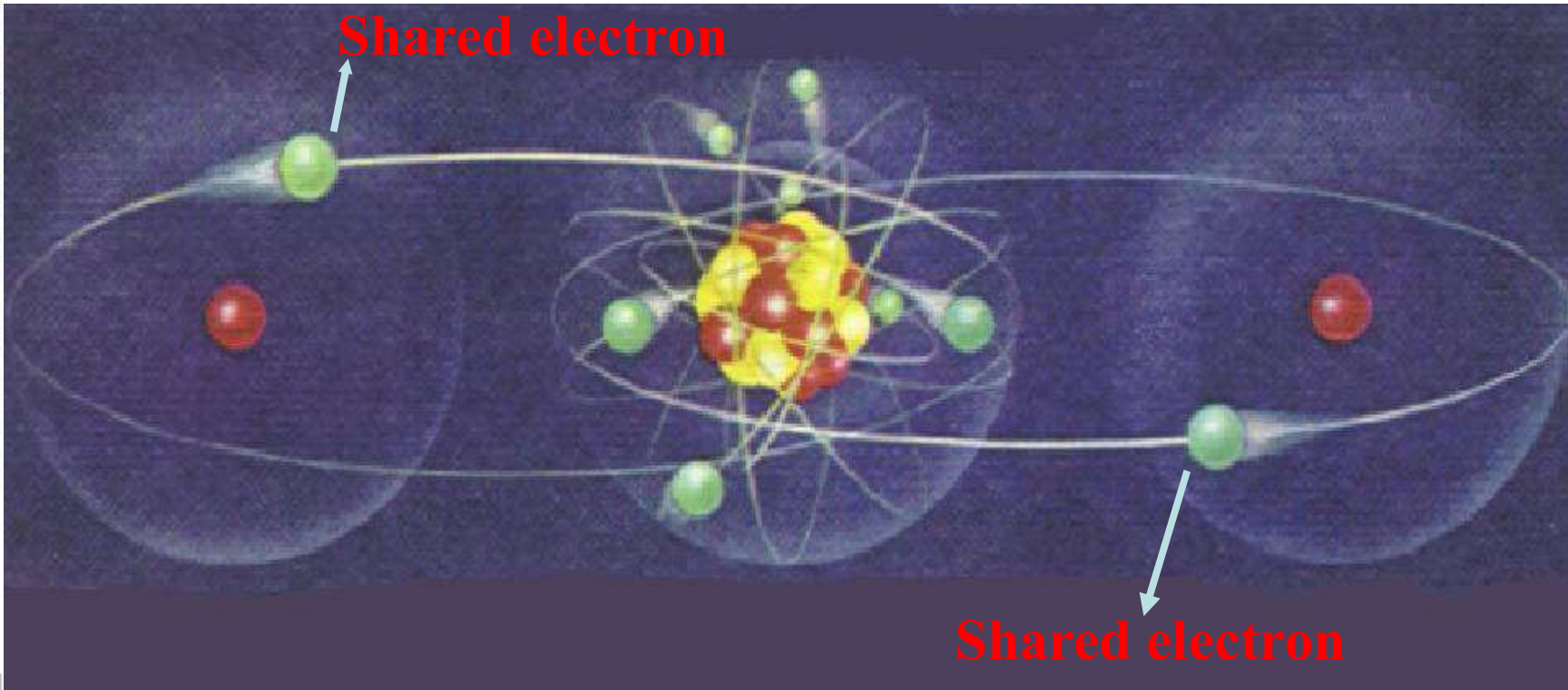


Tautomeric shifts

ROS keletkezés

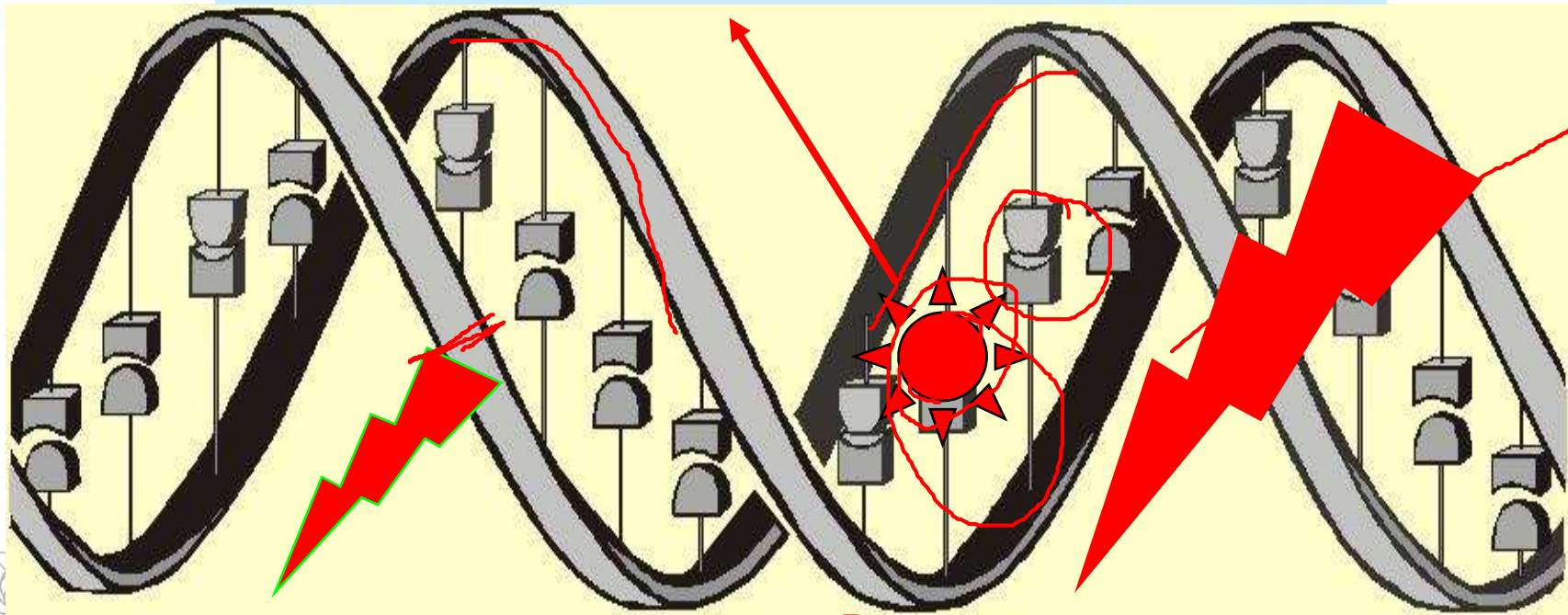


A víz radiolízis kémiája



A DNS törések fajtái és keletkezésük gyakorisága

Base damage: 1000-2000 per 1 Gy



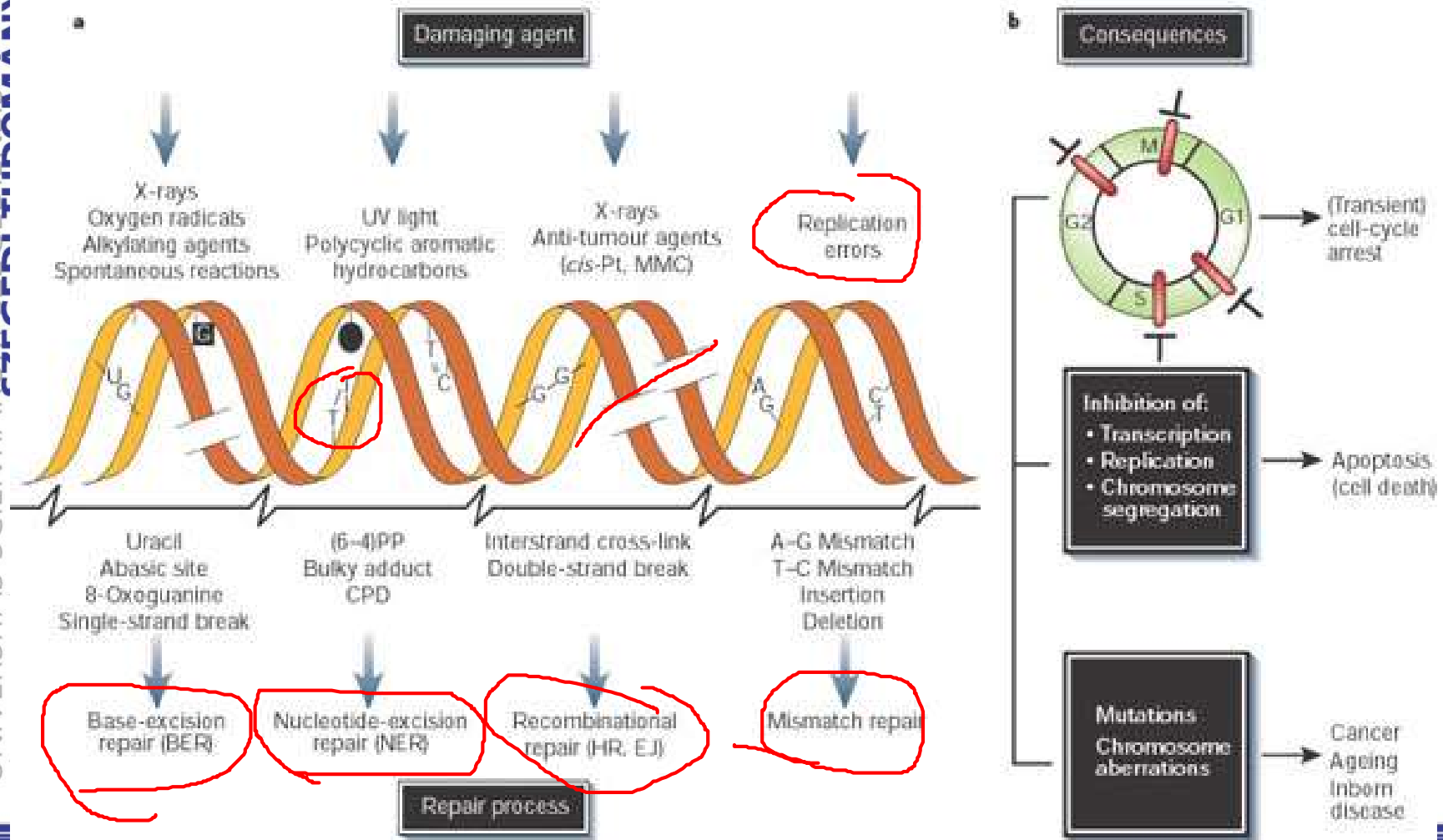
**Single-strand breaks
500-1000 per 1 Gy**

**Double strand breaks
40-50 per 1 Gy**

Szerencsére van DNS hibajavító mechanizmusunk



A DNS hibák és javítási útvonalai



Mutáció típusok

- **Kromoszóma szám** változások
- **Pont mutációk**, nukleotid cserék(A,T,C,G)
- **Inszerciók**
- **Deléciók**



DNS hibák

1. **oxidáció** 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxoG) amely főként a ROS-ból keletkezik
2. **alkyláció** (általában methiláció), 7-methylguanine, 1-methyladenine, O6-methylguanine
3. **Bázisok hydrolízise** deamináció, depurináció és depyrimidináció.

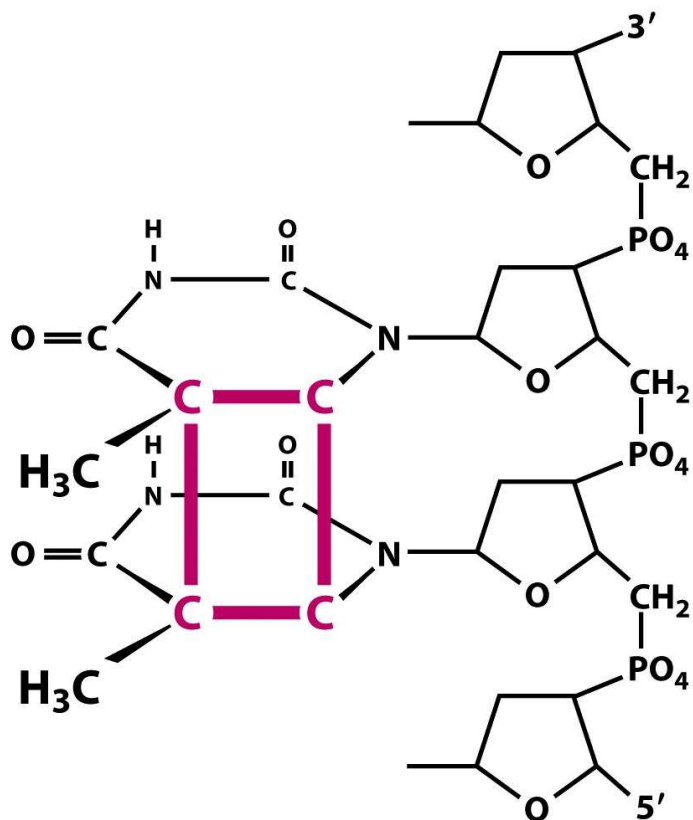




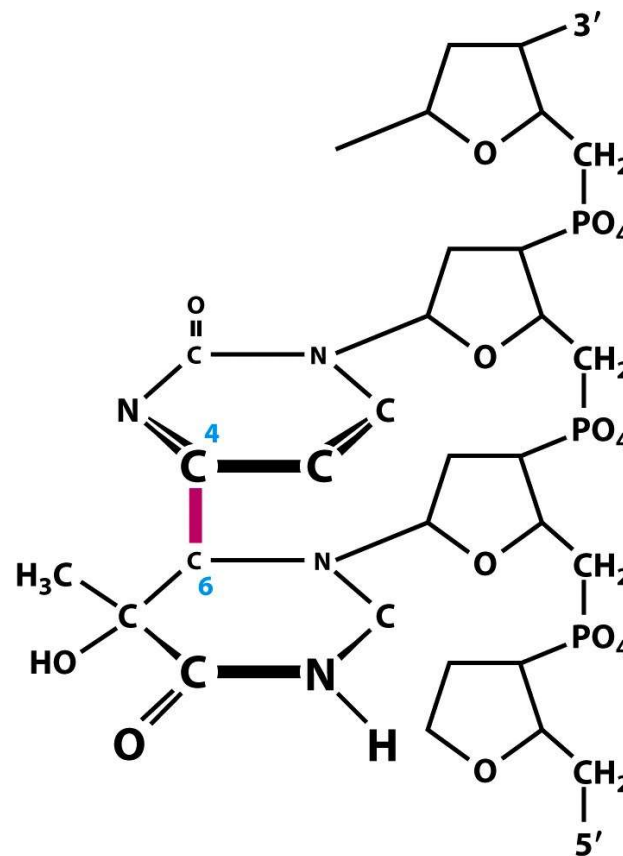
4. "bulky adduct " (benzo[a]pyrene diol epoxide-dG).

5. *mismatch*, DNS replikáció, hibás bázis beépítése az újonnan szintetizált DNS láncba

UV hatása



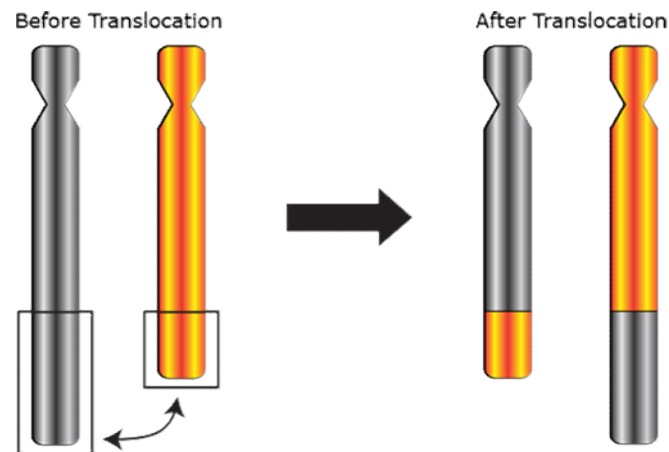
cyclobutane pyrimidine dimers
 (60% T-T, 30% C-T, 10% C-C dimers)



pyrimidine (6-4) pyrimidinone

Ionizáló Sugárzások által okozott DNS átrendeződések

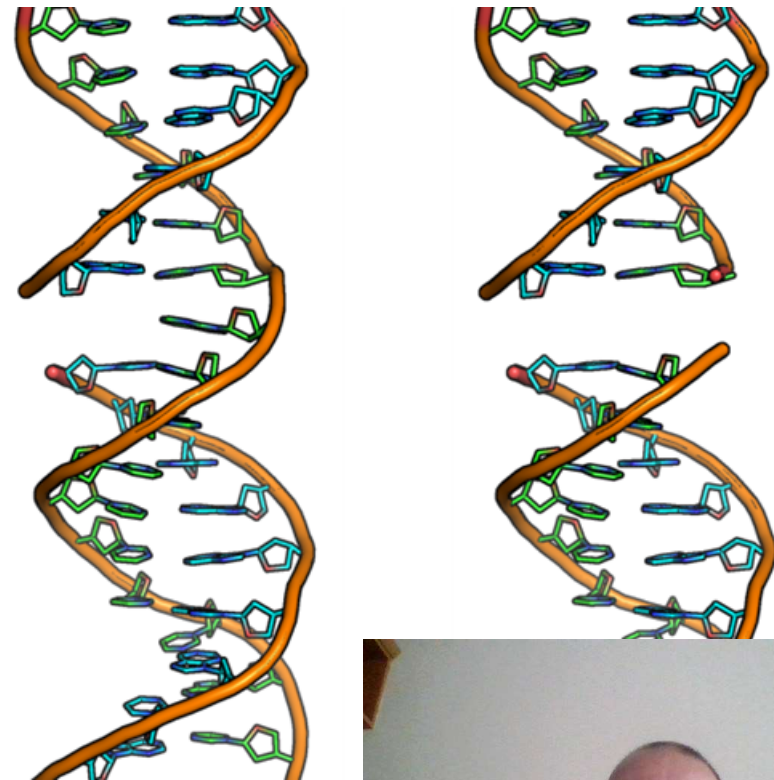
- **IR DNS törés** a kromoszómákon
Deléciók, Duplikációk, Inverziók,
Transzlokációk



DNS törések

- Single-strand and double-strand breaks are produced at low frequency during normal DNA metabolism by topoisomerases, nucleases, replication fork "collapse", and repair processes.

- Breaks are also produced by ionizing radiation.

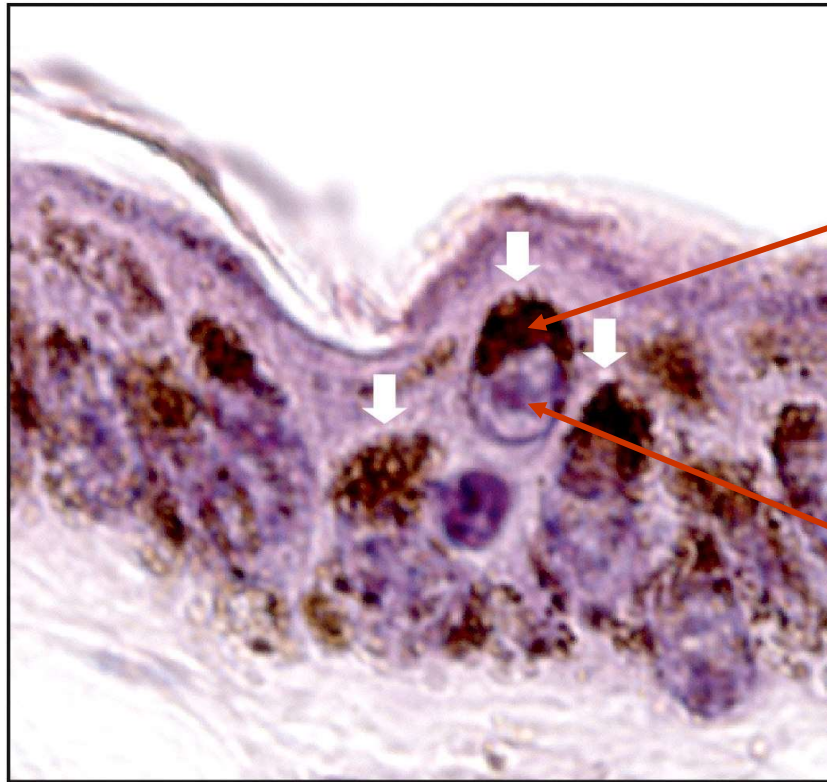


A mutagének elleni védekezés módjai

- Fizikális pajzs: bőr és a melanin
 - detoxifikáló enzimek: superoxide dismutase (SOD) és catalase
 - szabadgyök megkötők: vitamin C, vitamin E, bilirubin
 - glutathione-S-transferases (GSTs)
-



Melanin pigment shields keratinocyte nuclei from UV radiation



supranuclear cap
(parasol or sun umbrella)

keratinocyte nucleus

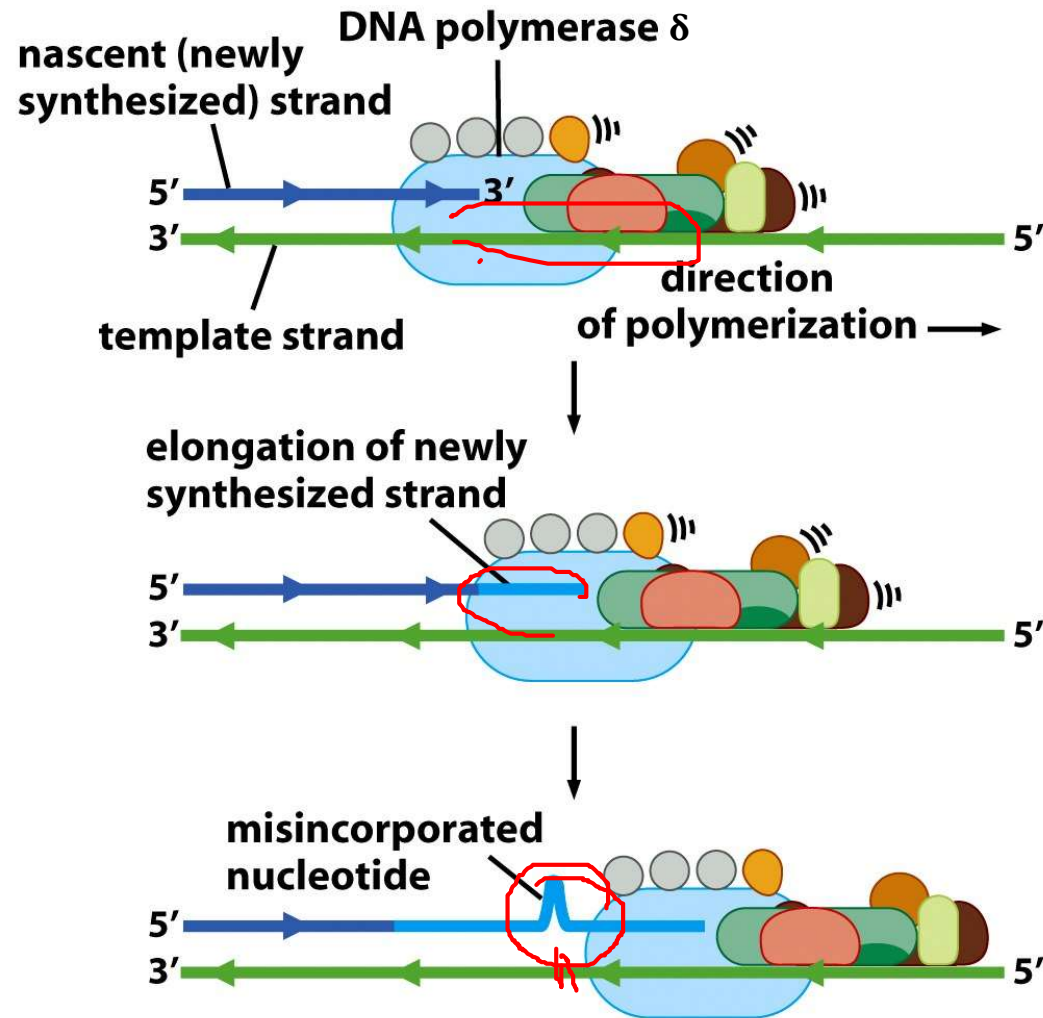


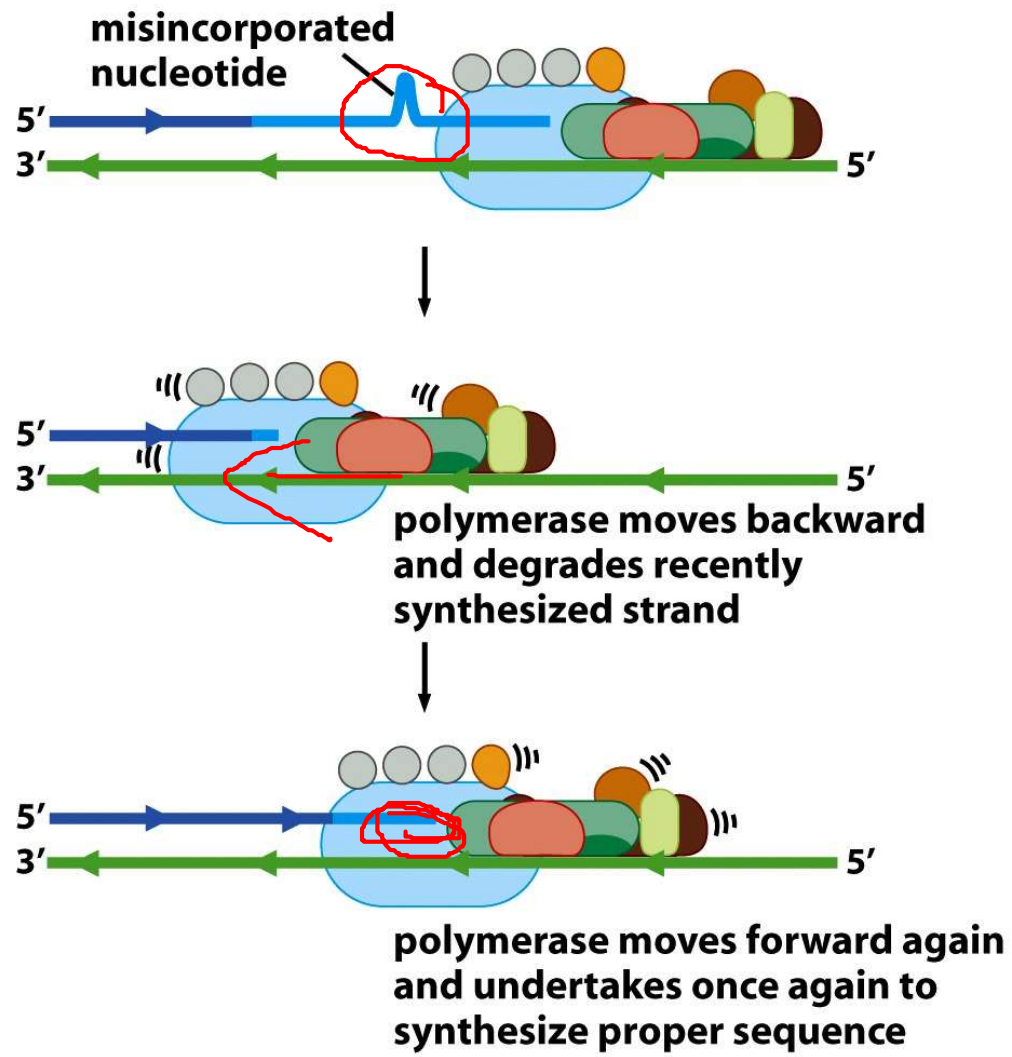
- 2 útvonal a DNS replikáció során fellépő hibák javítására.

1. *Proofreading* aktivitás a DNS polimeráz enzimen
2. *DNS javító mechanizmus: mismatch repair* (MMR)

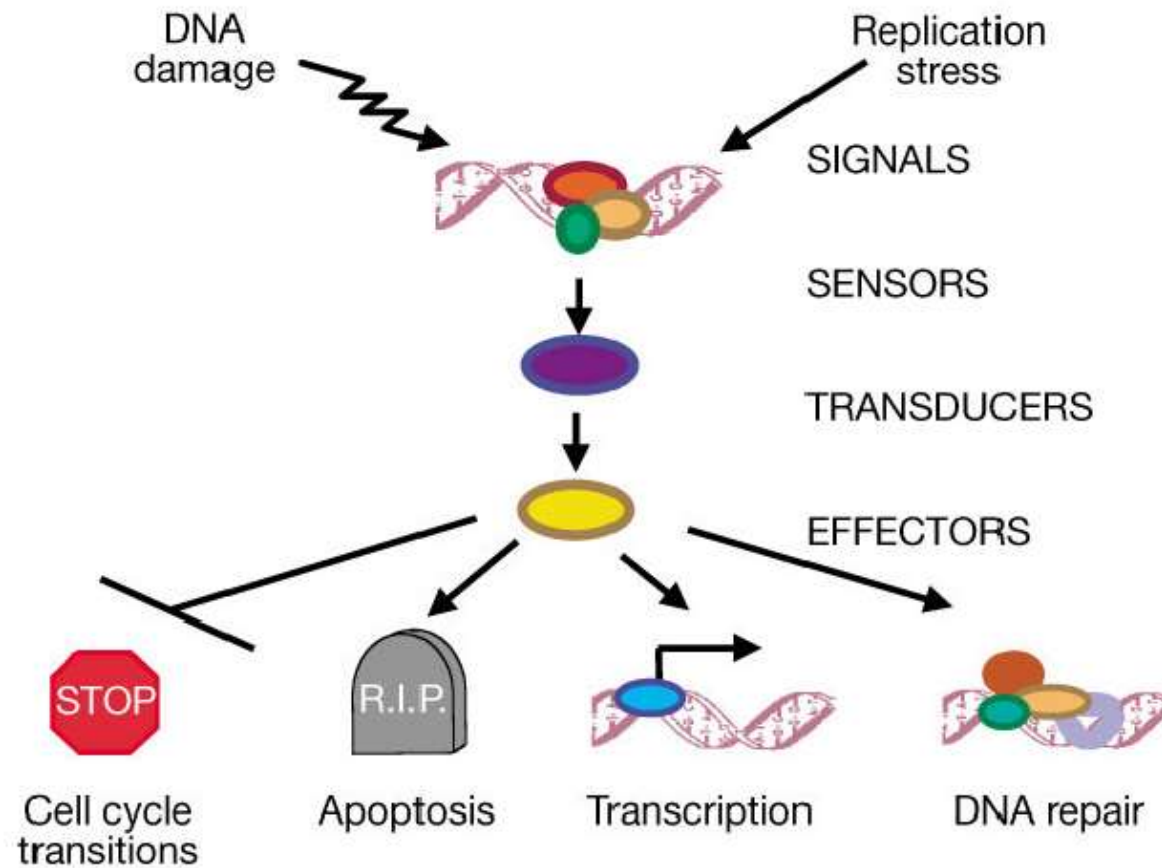


Proofreading aktivitás a DNS polimerázon

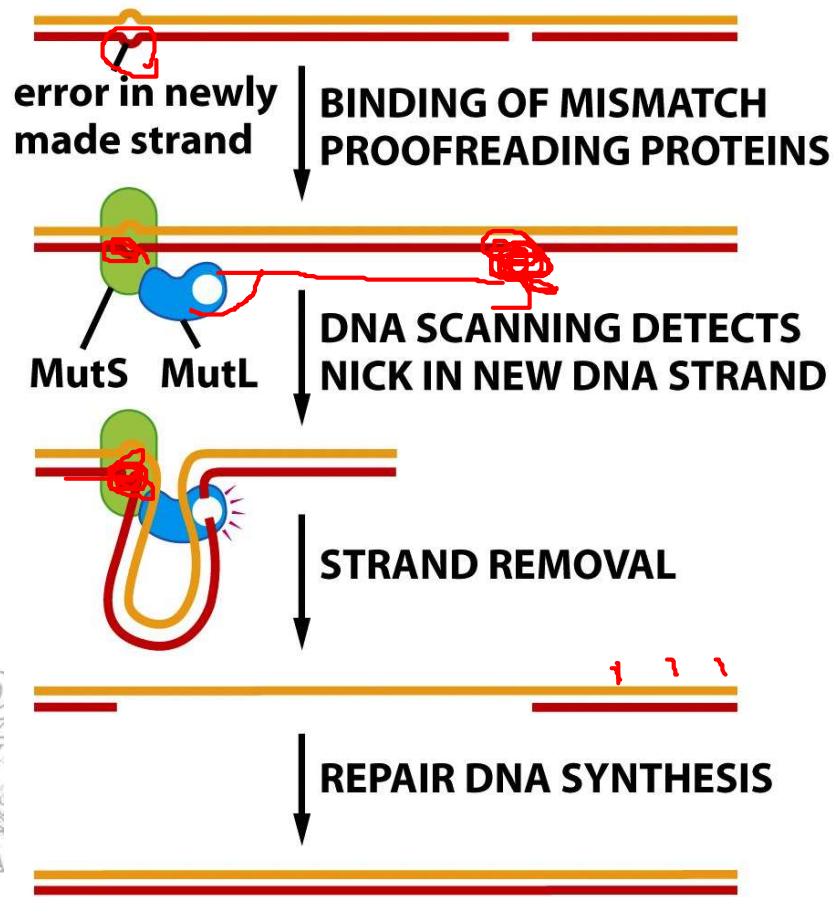




Sensing DNA Damage



Mismatch repair (MMR) enzimek a DNS szintézis hibáit javítják.

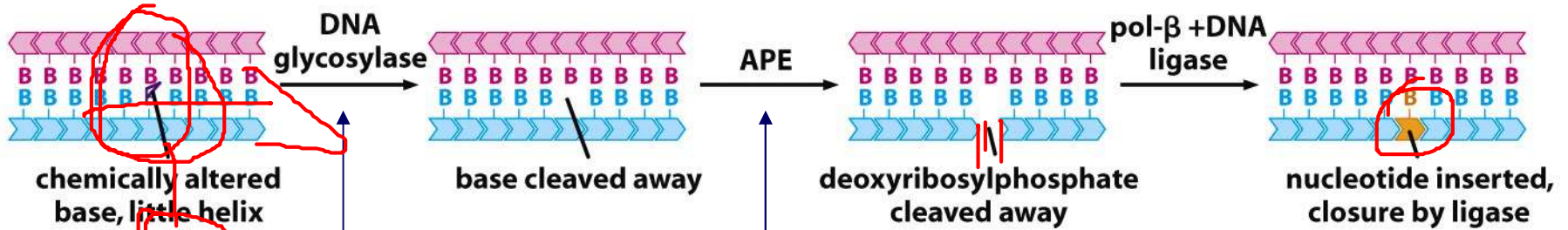


3 fehérje játszik benne szerepet, MutS és MutL, kapcsolódása

- **MutS** hibák keresése
- MutL DBs metilációt vagy szálak további töréseit keresik, annak eldöntésére, hogy melyik a templát szál.

Base-excision repair (BER)

base excision repair (BER)



Glikozil kötéseket hasítja

*ap*urinic/*ap*yrimidinic
endonukleáz





(A) **BASE EXCISION REPAIR**

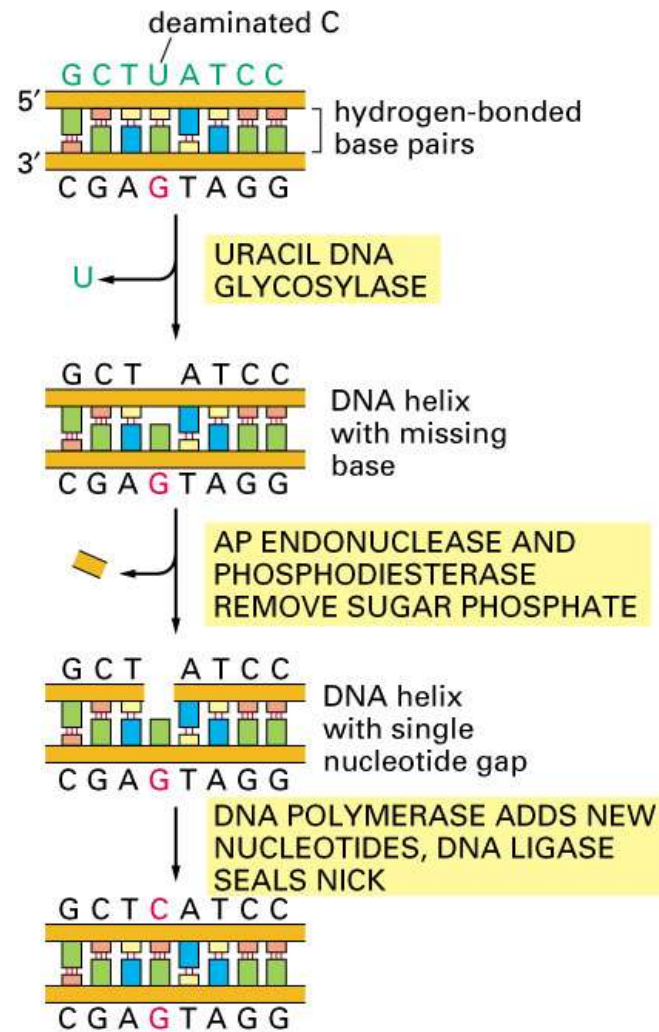
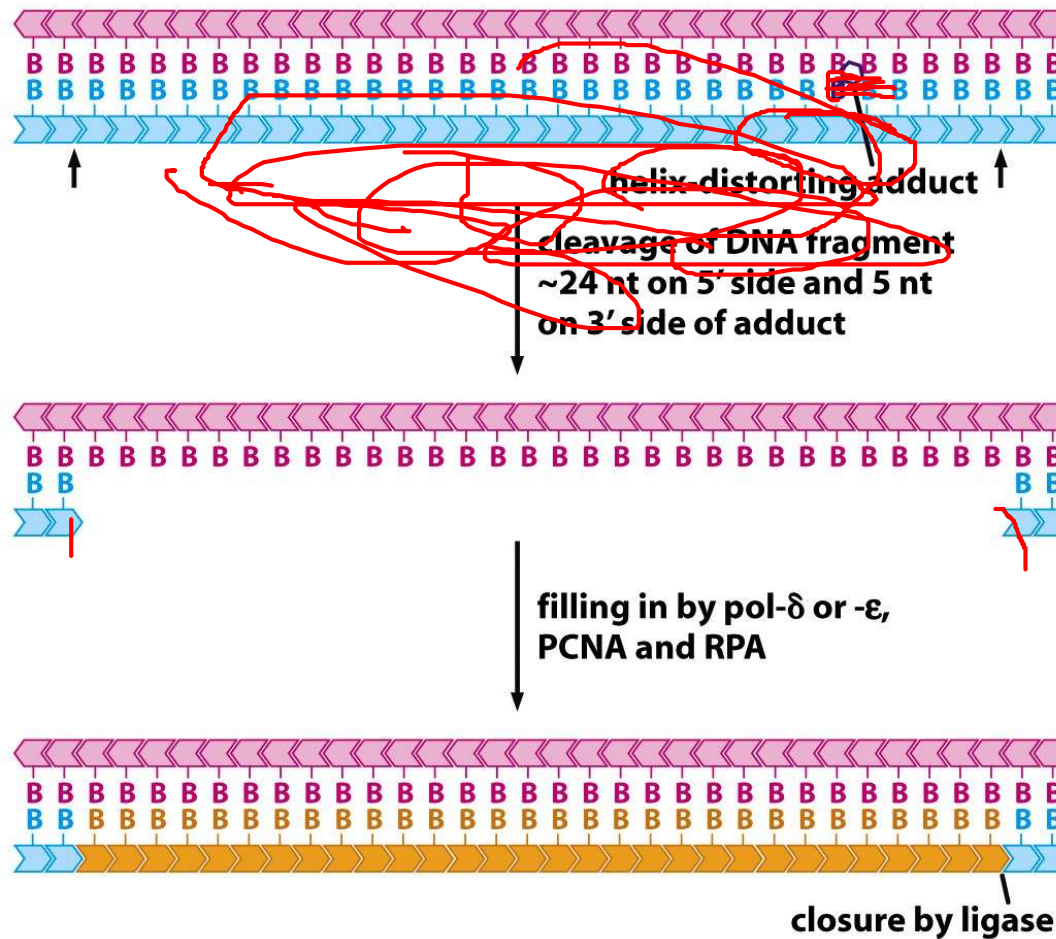


Figure 5-50 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Nucleotide-excision repair (NER)

nucleotide excision repair (NER)



NER ~20 fehérjéből álló komplex

PCNA: *proliferation-cell nuclear antigen*

RPA: egyes szálú DNS kötő fehérje

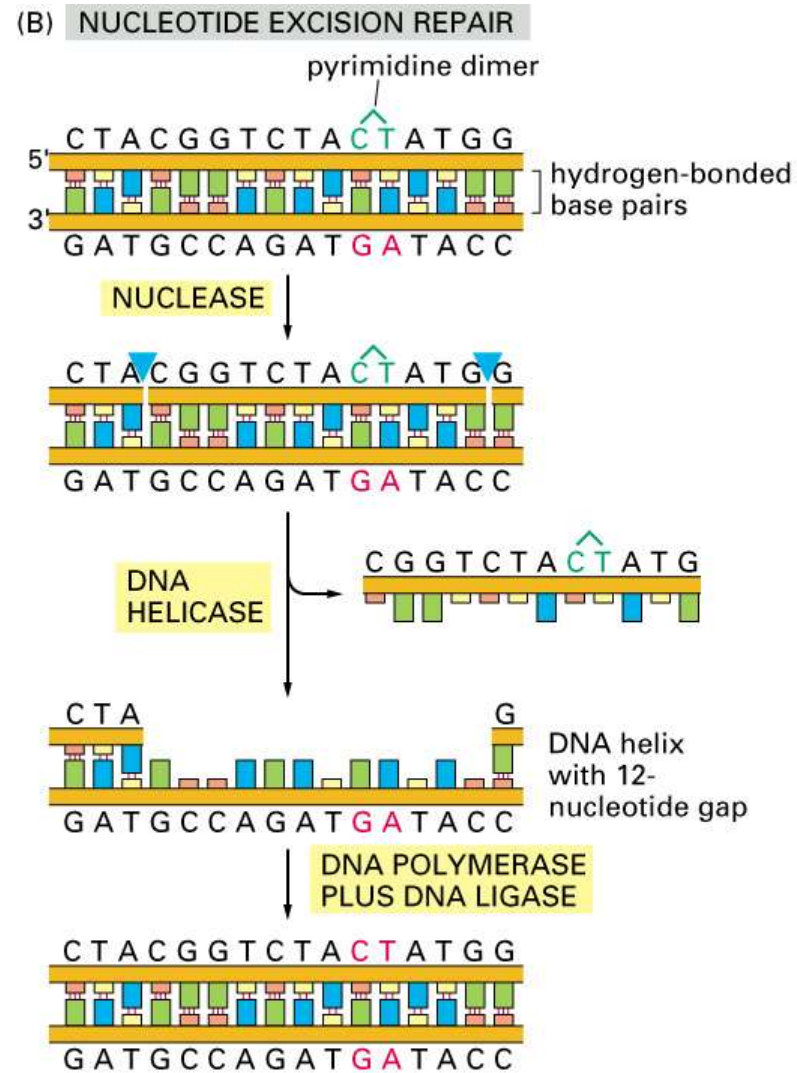


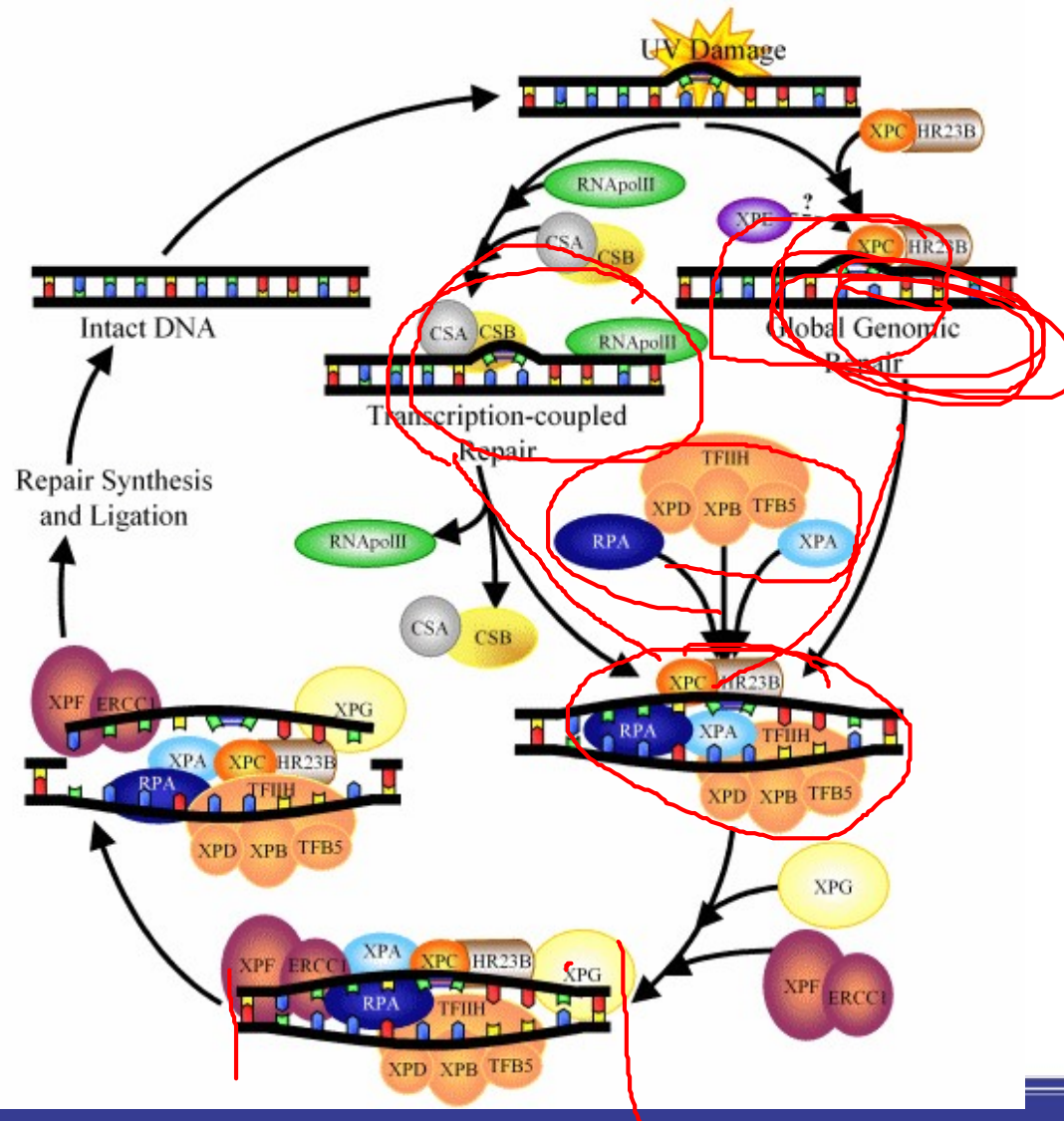
Figure 5-50 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

- NER két útvonala:
 - transcription-coupled repair* (TCR)
 - global genomic repair* (GGR)





TCR és GGR





Hibák a nucleotide-excision repair (NER) és mismatch repair (MMR) során rák kialakulásához vezetnek

NER hibák: Xeroderma pigmentosum (XP)

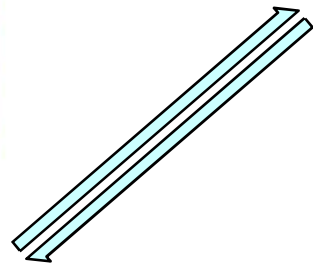
MMR hibák: Hereditary non-polyposis colon cancer (HNPCC)

Xeroderma pigmentosum (XP) szindróma :

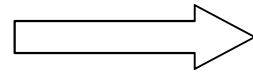
- extrém UV érzékenység
- 1,000X valószínűség a bőrrák kialakulására
- 100,000 valószínűség carcinoma kialakulására a nyelv hegyén.
- Gyulladások a bőrön napsugárzás hatására
- 8 NER gén (XPA,-B,-C,-D,-E,-F,-G és XPV) okozza.



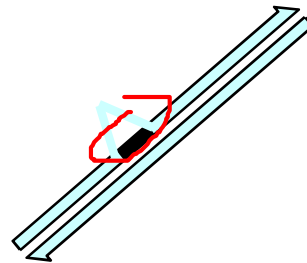
Mi az oka az érzékenységnek?



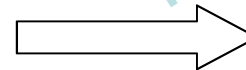
Ép DNS



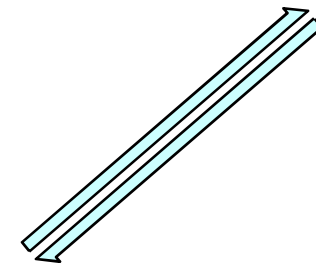
UV



Sérült
DNS

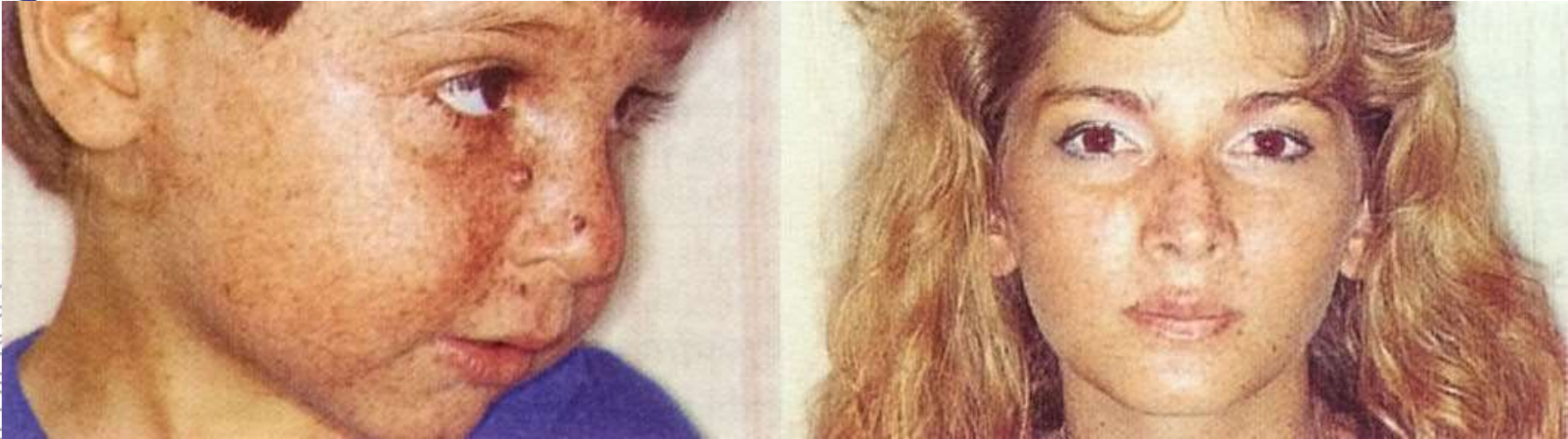


~~8 gén~~
~~NER~~



Ép DNS





Xeroderma Pigmentosum (XP) betegek nem képesek kijavítani a T^T dimerizációt és ami az exciziós repair hibájából ered.

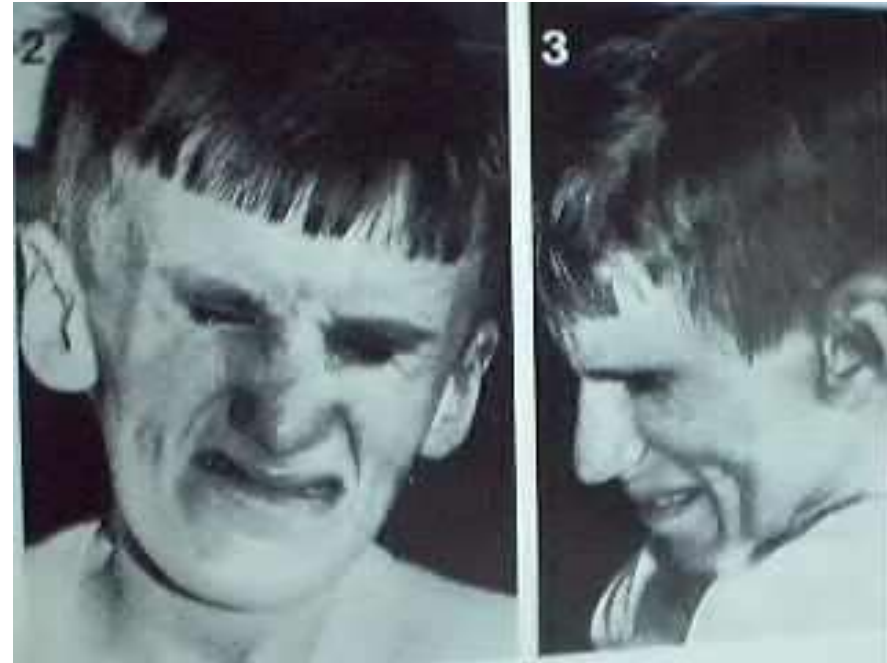
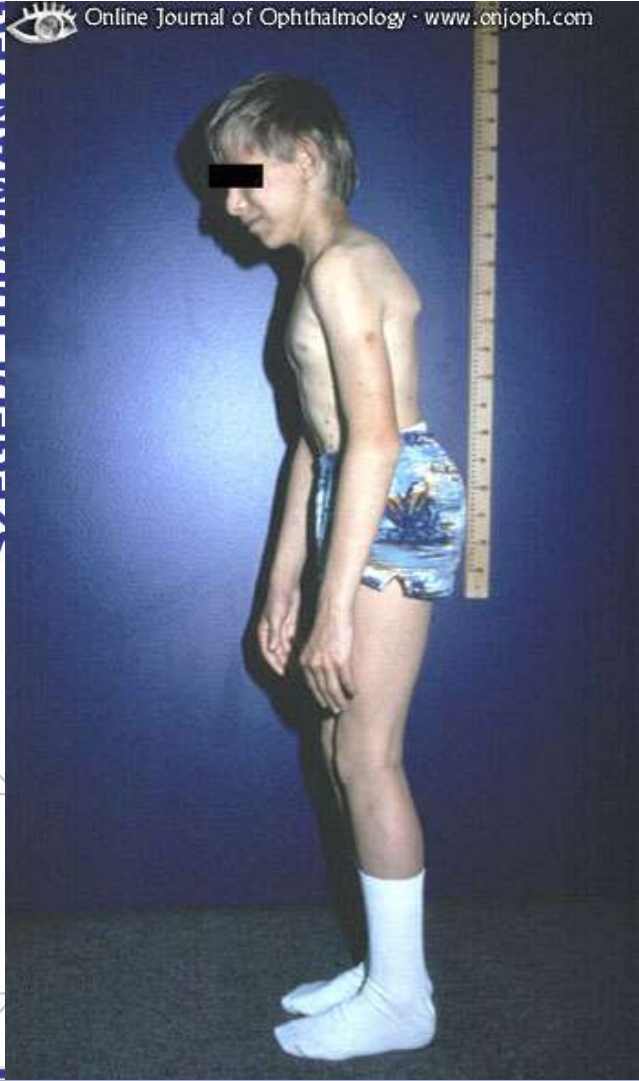


Cockayne's Syndrome

- 1:10⁶ az előfordulása
- UV hiperszenzitivitás (napfény)
- fejlődési rendellenességek, mentális retardáció,
(de nincs megnövekedett rákos hajlam)
- a NER hibái okozzák
- Autoszómális recesszív, öt gén okozza (A, B
és XPB, D & G)



Cockayne Syndrome

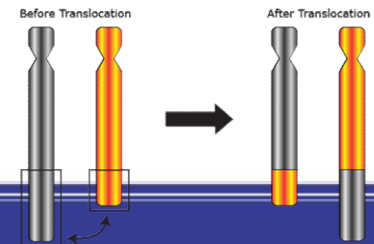


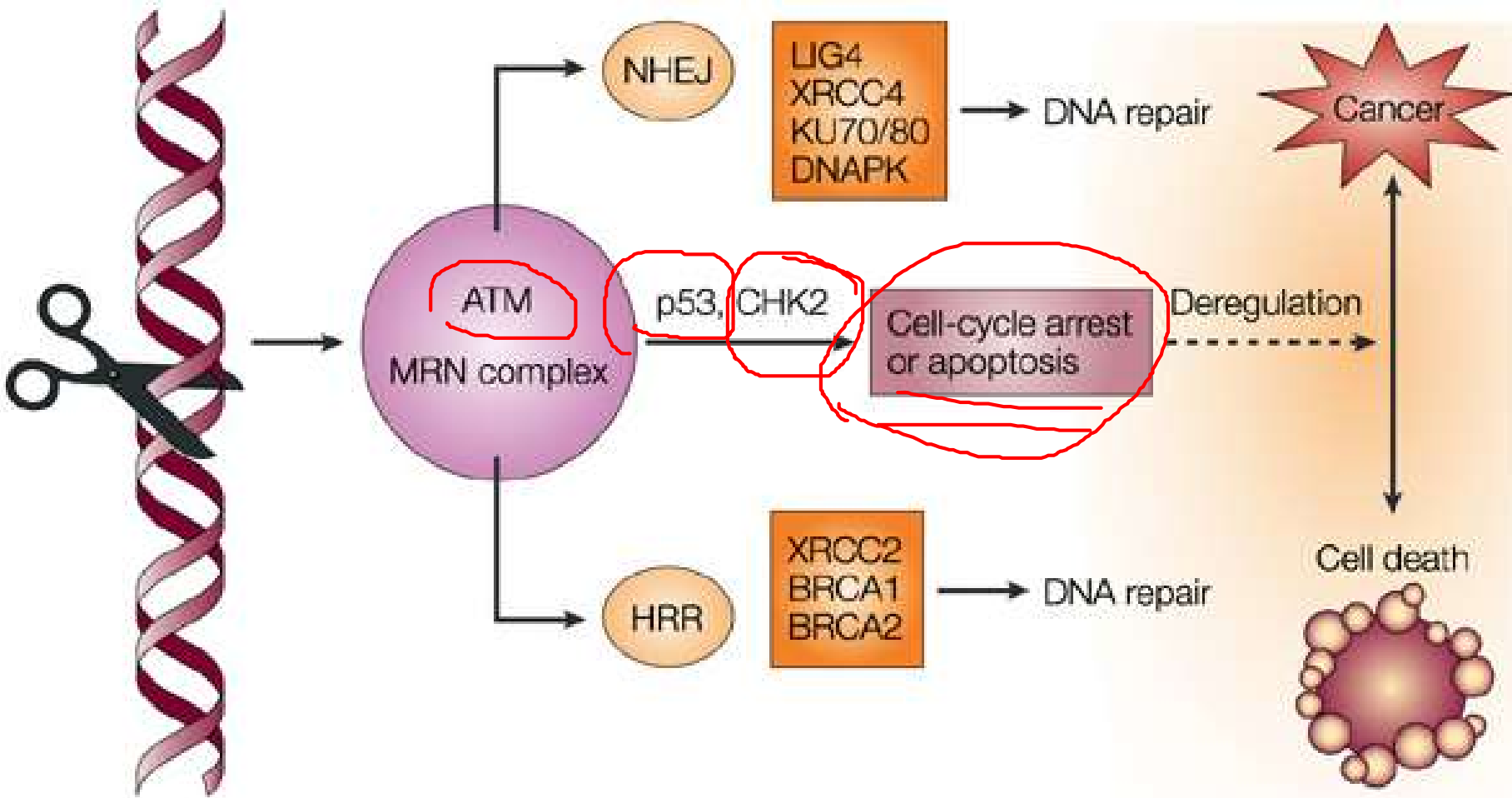
Double-strand breaks (Kettős szálú DNS törés)

Double-strand breaks (DSBs), a DNS mindkét szála érintett, a legveszélyesebb törés, mert kromoszóma átrendeződésekhez vezethet.

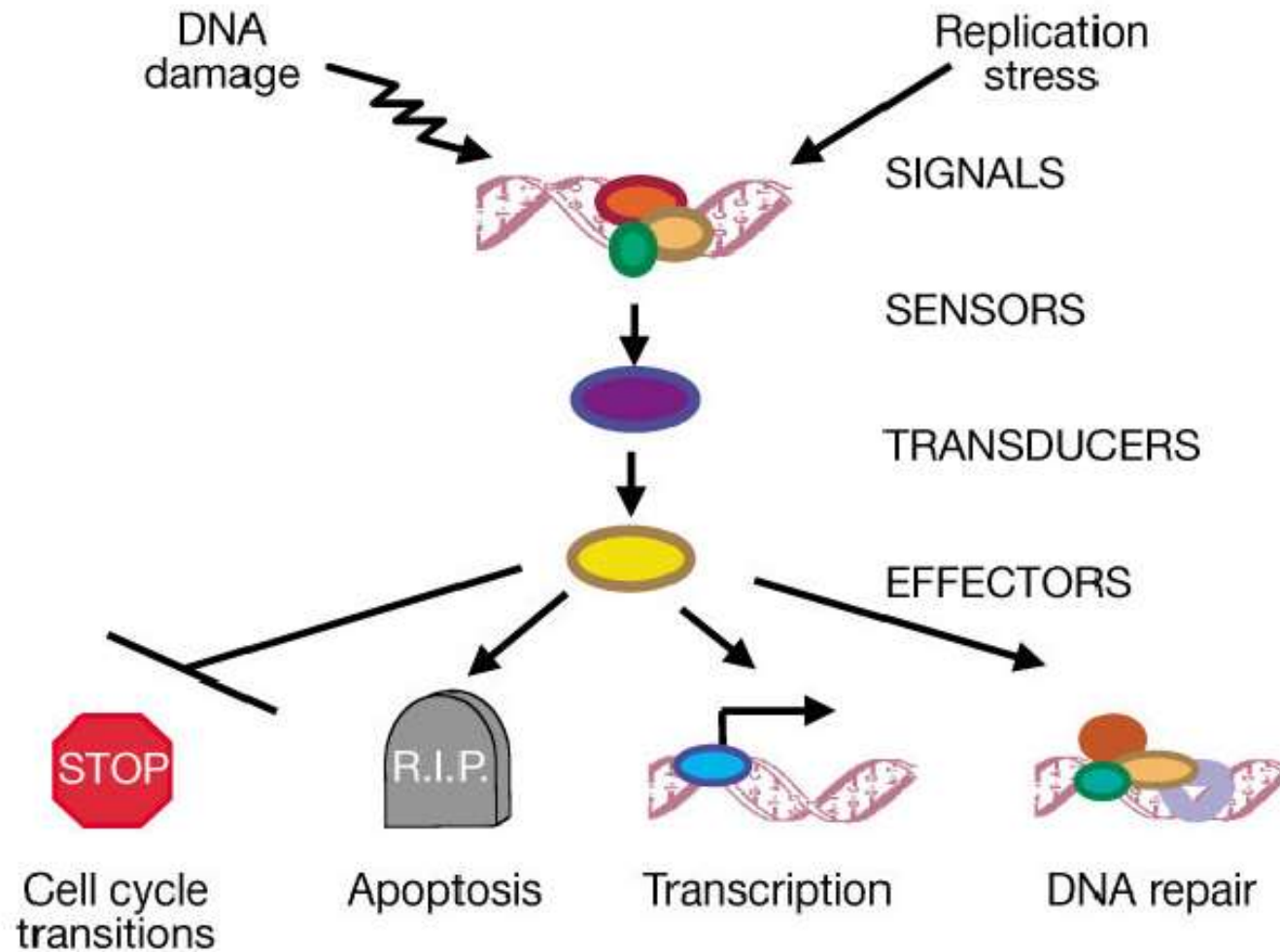
Több útvonal is javíthatja a DSB-t:

- 1) non-homologous end joining (NHEJ),
- 2) Homológ rekombinációs repair (templát szál szükséges hozzá - csak a sejtciklus specifikus részein)





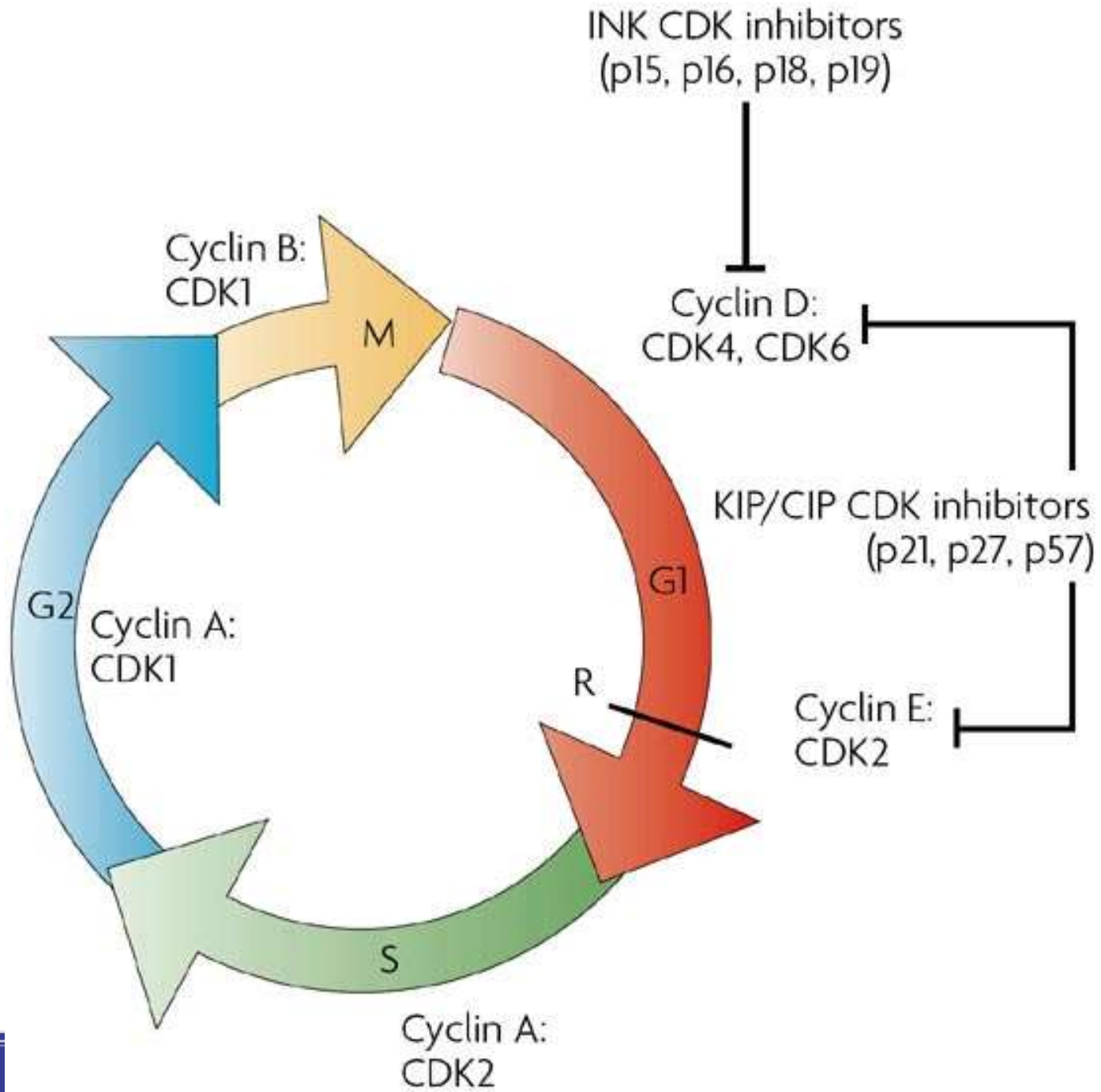
Sensing DNA Damage



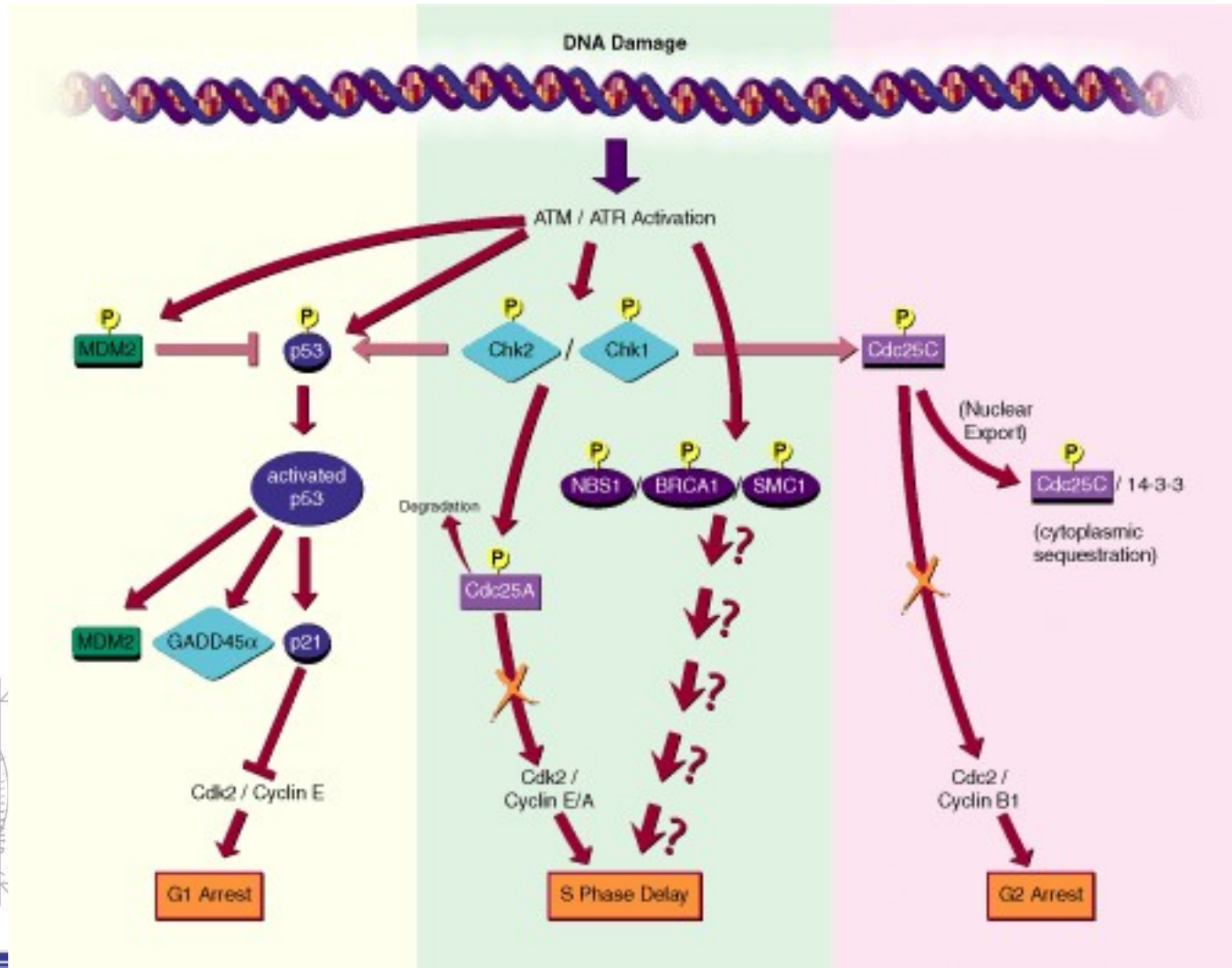
DNS sérülés során a sejtciklust is meg kell állítani.

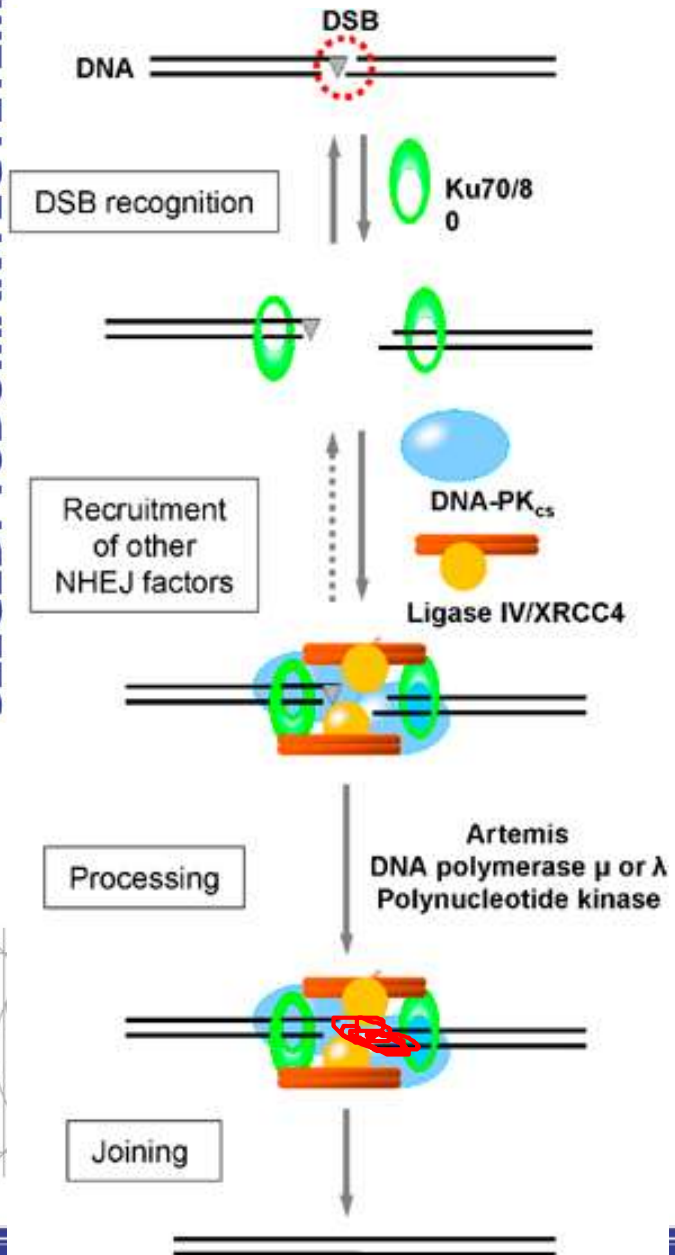
- DNS sérülés után, a sejtciklus checkpoint aktiválódik.
- Checkpoint aktiváció megállítja a sejtciklust és ezáltal biztosítja a szükséges időt a DNS kijavítására. Ezután a sejtciklus folytatódik.





DNA Damage Response (DDR)





NHEJ

DNS Ligáz IV,
összekapcsolja a DNS
végeket

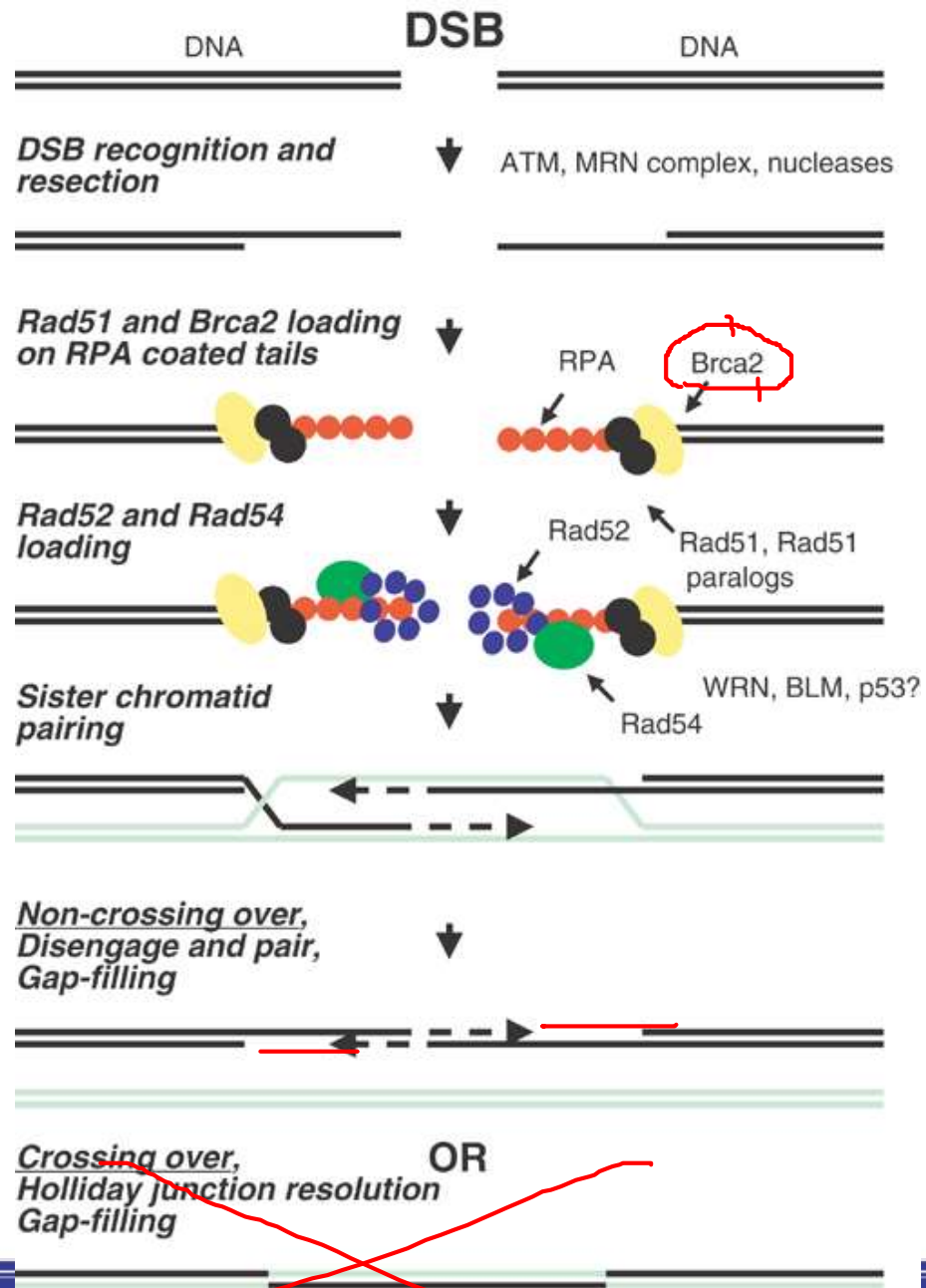
Recombinational Repair (HR)

Homológ rekombinációhoz szükséges egy homológ DNS templát.

Szinte ugyanazok a fehérjék vesznek részt mint a meiotikus crossover során.

Ez a folyamat a sziszter kromatidákat használja templátként (sejtciklus S és G2 fázisaiban) vagy másik homológ DNS szakaszt.





DNS hibajavítás kapcsolata a rákos folyamatokkal

A DNS hibajavításban a szerepet játszó fehérjéket kódoló gének hibái megnövekedett kockázatot jelentenek a rák kialakulásához.

Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) kialakításában például a mismatch repair útvonal kiesik.

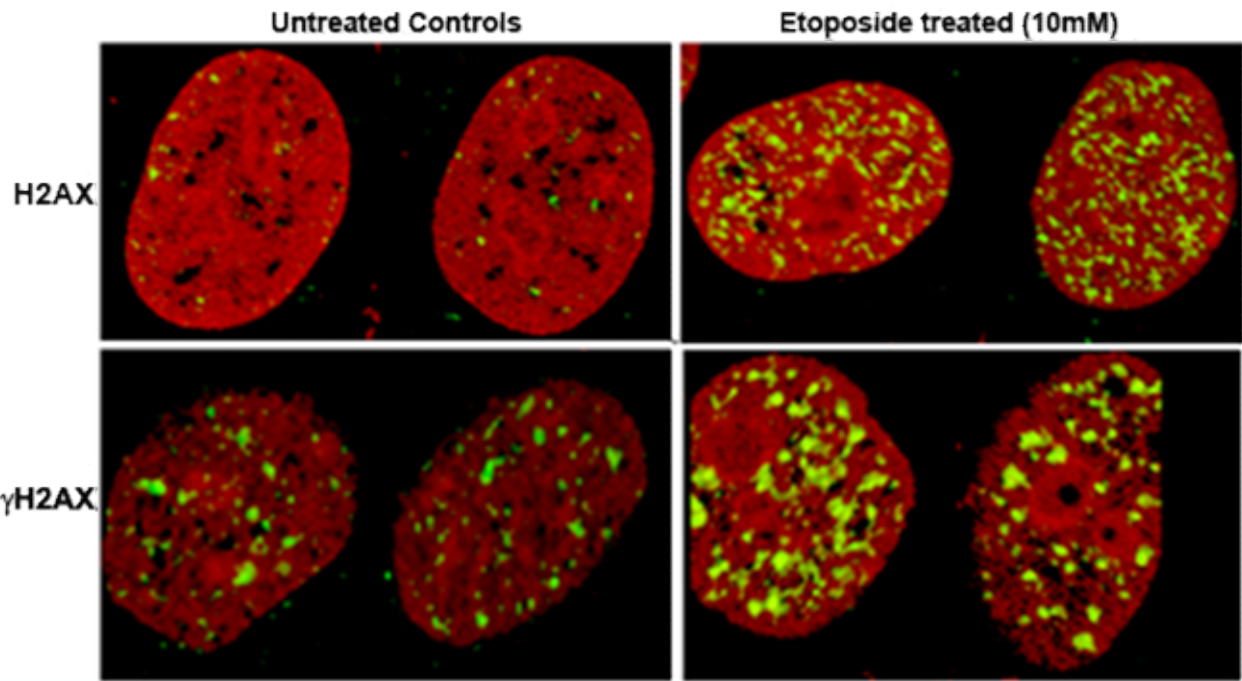
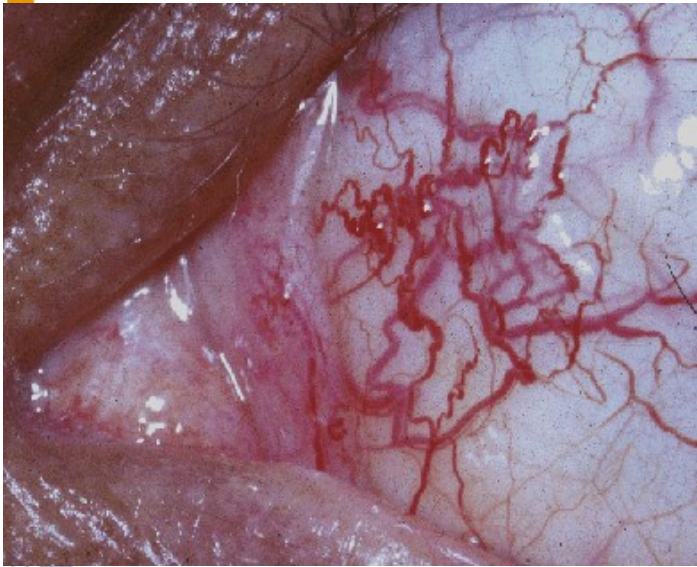
BRCA1 és BRCA2, két a mellrákban érintett fehérje ami a DNS hibajavítás során a DNA damage response-ban nélkülözhetetlen, és szorosan kapcsolódik a kettős szálú DNS kötés hibajavítási útvonalakhoz is.

ATM: Ataxia-telangiectasia mutated

Ataxia-telangiectasia ritka, korai gyermekkorban neurológiai problémákat okoz az agyban egy részében ami a motoros finom mozgásokat végzi.

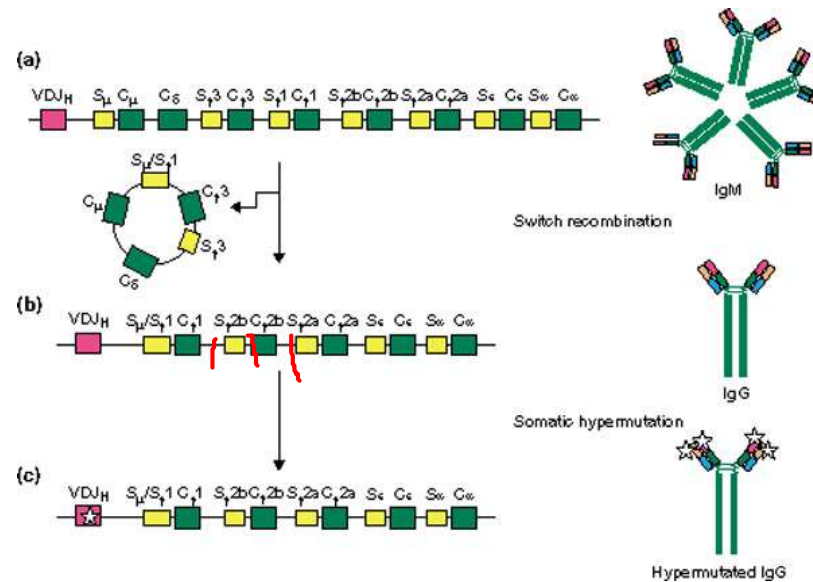
Ezen felül hiperszenzitivitás az ionizáló sugárzásokkal szemben, pl. röntgen és gamma sugárzások.





Az A-T betegek 20%-ban fejlődik ki a rák, a legtöbb esetben acute lymphocytic leukemia vagy lymphoma.

Az A-T betegeknek gyengébb az immun rendszerük, a class switch rekombináció miatt.

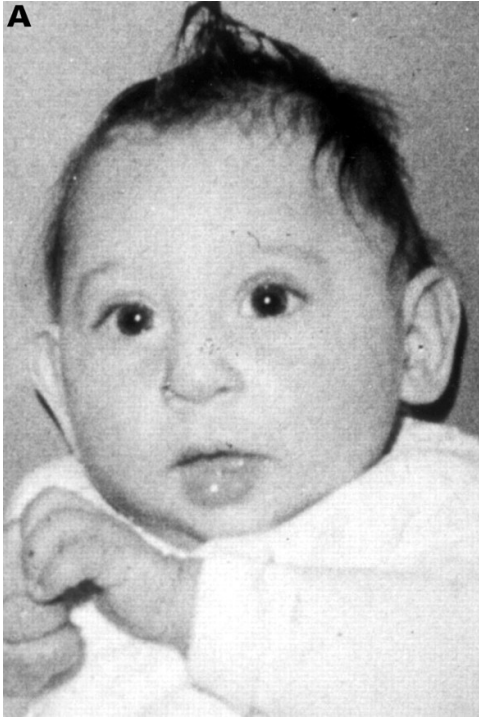


ATM mutations are associated with breast cancer

Researchers have found that having a mutation in one copy of the ATM gene in each cell (particularly in people who have at least one family member with ataxia-telangiectasia) is associated with an increased risk of developing breast cancer.

• About 1 percent of the United States population carries one mutated copy of the ATM gene in each cell. These genetic changes prevent many of the body's cells from correctly repairing damaged DNA.

Nijmegen Breakage Syndrome



Fanconi anemia (FA)

- Fanconi anemia (FA) is an autosomal recessive disease characterized by progressive bone marrow failure due to defective stem cell function.
- FA cells are hypersensitive to DNA cross-linking agents such as mitomycin C (MMC) resulting in cytogenetic aberrations, G2-M cell cycle arrest, apoptosis, and cell death.
- Seven complementation groups (termed FANCA -G) are identified. Group A (FANCA) mutations are the most prevalent (70%).
- There are at least seven FA genes: A, C, D2, E, F, G and BRCA2
- The function of the FANC genes are still unclear. Involvement in DNA repair system is suggested.

Fanconi anemia



Fanconi anemia



WERNER'S SYNDROME



WS patient age 15 yrs



WS patient age 48 yrs



BRCA1, BRCA2

Homologous recombination repair (HRR) of double-strand breaks and daughter strand gaps Breast, ovarian

ATM

NHEJ or homology-directed DSB (HDR) Leukemia, lymphoma and breast cancer

NBS

NHEJ Lymphoid malignancies

MRE11

HRR Breast

BLM

HRR Leukemia, lymphoma, colon, breast, skin, auditory canal, tongue, esophagus, stomach, tonsil, larynx, lung and uterus.

WRN

HRR and NHEJ as well as long-patch BER soft tissue sarcomas have a particularly high incidence in WS, but also colorectal, skin, thyroid, and pancreatic cancers

RECQ4 (RECQL4)

causing Rothmund-Thomson syndrome (RTS), RAPADILINO syndrome or Baller Gerold syndrome likely HRR cutaneous carcinomas, including basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and Bowen's disease (intraepidermal carcinoma characterized by the development of pink or brown papules and sarcomas are the second most frequently reported malignancy, at a frequency of 9% of RTS cases

FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM, FANCN

HRR and TLS leukemia, liver tumors, solid tumors in many locations

XPC, XPE(DDB2) XPA, XPB, XPD, XPF, XPG

NER(GGR type) skin cancer (melanoma and non-melanoma)

XPV(POLH)

TLS skin cancer (melanoma and non-melanoma)

hMSH2, hMSH6, hMLH1, hPMS2

MMR colorectal, endometrial and ovarian cancer

MUTYH

BER of A mispaired with 8OH-dG, as well as mispairs with G, FapydG and C colon cancer

Table 12.1 Human familial cancer syndromes due to inherited defects in DNA repair

Name of syndrome	Name of gene	Cancer phenotype	Enzyme or process affected
HNPCC	(4–5 genes) ^a	colonic polyposis	mismatch repair enzymes
XP ^b	(8 genes) ^b	UV-induced skin cancers	nucleotide-excision repair
AT ^c	<i>ATM</i>	leukemia, lymphoma	response to dsDNA breaks
AT-like disorder ^c	<i>MRE11</i>	not yet determined	dsDNA repair by NHEJ
Familial breast, ovarian cancer	<i>BRCA1, BRCA2</i> ^d	breast and ovarian carcinomas	homology-directed repair of dsDNA breaks
Werner	<i>WRN</i>	several cancers	exonuclease and DNA helicase ^e , replication
Bloom	<i>BLM</i>	solid tumors	DNA helicase, replication
Fanconi anemia	(9 genes) ^f	AML, HNSCC	repair of DNA cross-links and ds breaks
Nijmegen break ^g	<i>NBS</i>	mostly lymphomas	processing of dsDNA breaks, NHEJ
Li-Fraumeni	<i>TP53</i>	multiple cancers	DNA damage alarm protein
Li-Fraumeni	<i>CHK2</i>	colon, breast	kinase signaling DNA damage

^aFive distinct MMR genes are transmitted as mutant alleles in the human germ line. Two MMR genes—*MSH2* and *MLH1*—are commonly involved in HNPCC; two other MMR genes—*MSH6* and *PMS2*—are involved in a small number of cases; a fifth gene, *PMS1*, may also be involved in a small number of cases.

^bXeroderma pigmentosum, at least eight distinct genes, seven of which are involved in NER. The seven genes are named *XPA* through *XPG*. An eighth gene, *XPV*, encodes DNA polymerase η .

^cAtaxia telangiectasia, small number of cases.

^dMutant germ-line alleles of *BRCA1* and *BRCA2* together may account for 10–20% of identifiable human familial breast cancers.

^eAn exonuclease digests DNA or RNA from one end inward; a DNA helicase unwinds double-stranded DNA molecules.

^fNine genes have been cloned and at least eleven complementation groups have been demonstrated. Complementation group J encodes the BACH1 protein, the partner of *BRCA1*.

^gThe *NBS1* protein (termed nibrin) forms a physical complex with the *Rad50* and *Mre11* proteins, all of which are involved in repair of dsDNA breaks. The phenotypes of patients with Nijmegen break syndrome are similar but not identical to those suffering from AT.

Adapted in part from B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. New York: Garland Science, 2002; and from E.R. Fearon, *Science* 278:1043–1050, 1997.



discovered in sporadic cancers

Table 12.2 Genes and proteins that have been inactivated in human cancer cell genomes because of mismatch repair defects

Gene	Function of encoded protein	Wild-type coding sequence	Colon	Stomach	Endometrium
<i>ACTR11</i>	GF receptor	A ₈	X		
<i>AIM2</i>	interferon-inducible	A ₁₀	X		
<i>APAF1</i>	pro-apoptotic factor	A ₈	X	X	
<i>AXIN-2</i>	Wnt signaling	A ₆ , G ₇ , C ₆	X		
<i>BAX</i>	pro-apoptotic factor	G ₈	X	X	X
<i>BCL-10</i>	pro-apoptotic factor	A ₈	X	X	X
<i>BLM</i>	DNA damage response	A ₉	X	X	X
<i>Caspase-5</i>	pro-apoptotic factor	A ₁₀	X	X	X
<i>CDX2</i>	homeobox TF	G ₇	X		
<i>CHK1</i>	DNA damage response	A ₉	X		X
<i>FAS</i>	pro-apoptotic factor	T ₇	X		X
<i>GRB-14</i>	signal transduction	A ₉	X	X	
<i>hG4-1</i>	cell cycle	A ₈	X		
<i>IFRIIR</i>	decoy GF receptor	G ₈	X	X	X
<i>KIAA097</i>	unknown	T ₉	X		
<i>MLH3</i>	MMR	A ₉	X		X
<i>MSH3</i>	MMR	A ₈	X	X	X
<i>MSH6</i>	MMR	C ₈	X	X	X
<i>NADH-UO8</i>	electron transport	T ₉	X		
<i>OGT</i>	glycosylation	T ₁₀	X		
<i>PTEN</i>	pro-apoptotic	A ₆	X		X
<i>RAD50</i>	DNA damage response	A ₉	X	X	
<i>RHAMM</i>	cell motility	A ₉	X		
<i>RIZ</i>	pro-apoptotic factor	A ₈ , A ₉	X	X	X
<i>SEC63</i>	protein translocation into endoplasmic reticulum	A ₁₀ , A ₉	X		
<i>SLC23A1</i>	transporter	C ₉	X		
<i>TCF-4</i>	transcription factor	A ₁₀	X	X	X
<i>TGF-βRII</i>	TGF-β receptor	A ₁₀	X	X	X
<i>WISP-3</i>	growth factor	A ₉	X		

From A. Duval and R. Hamelin, *Cancer Res.* 62:2447-2454, 2002.

repeated sequences

DNA Repair and Clinical Syndromes: Increased Sensitivity; Chromosomal Instability and Increased Cancer Risk

Table 1 Human syndromes with defective genome maintenance

Syndrome	Affected maintenance mechanism	Main type of genome instability	Major cancer predisposition
Xeroderma pigmentosum	NER (\pm TCR)	Point mutations	UV-induced skin cancer
Cockayne syndrome	TCR	Point mutations	None*
Trichothiodystrophy	NER / TCR	Point mutations	None*
Ataxia telangiectasia (AT)	DSB response/repair	Chromosome aberrations	Lymphomas
AT-like disorder	DSB response/repair	Chromosome aberrations	Lymphomas
Nijmegen breakage syndrome	DSB response/repair	Chromosome aberrations	Lymphomas
BRCA 1/BRCA2	HR	Chromosome aberrations	Breast (ovarian) cancer
Werner syndrome	HR?/TLS?	Chromosome aberrations	Various cancers
Bloom syndrome	HR?	Chromosome aberrations (SCET \uparrow)	Leukaemia, lymphoma, others



UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS
SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

SZÉCHENYI  2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE