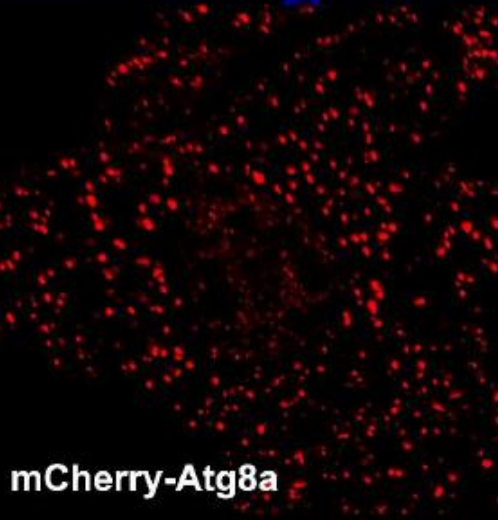
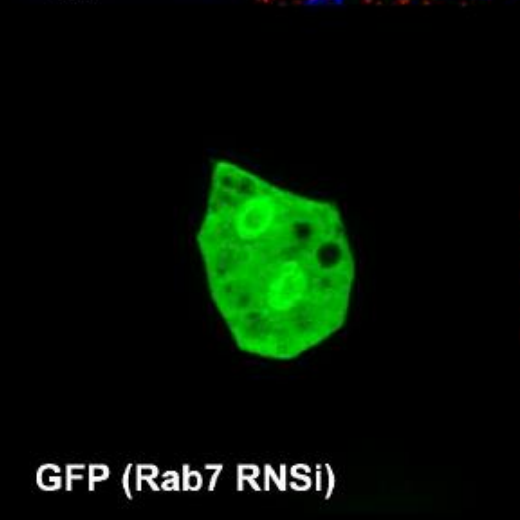
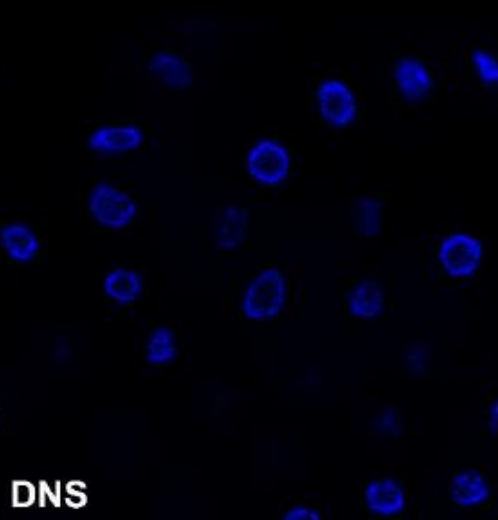
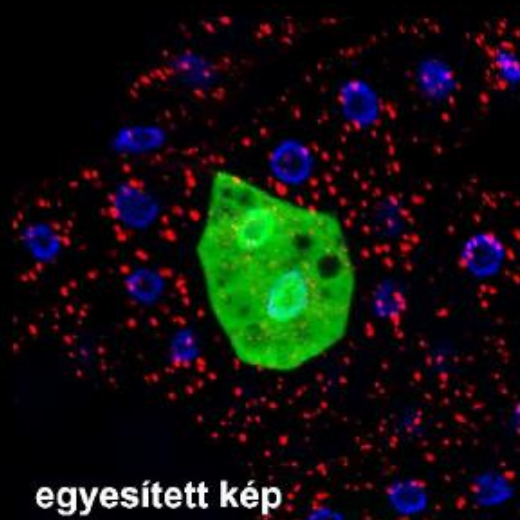


BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XL. évfolyam 4. szám

2016. december



BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

Bősze Szilvia, Erdődi Ferenc, Ifj. Gallyas Ferenc, Geiszt Miklós,
Kiricsi Mónika (titkár), Maksay Gábor, Nyitray László, Sarkadi Balázs,
Székács András, Szondy Zsuzsa

Főszerkesztő:

Szűcs Mária

szucs.maria@brc.mta.hu

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter

info@remekdesign.hu

XL. ÉVFOLYAM 4. SZÁM

2016. december

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép:

*A Rab7 kis GTPáz szükséges a pirossal jelölt autofág vezikulák fúziójához
(Lőrincz Péter felvétele, lásd Takáts Szabolcs és Juhász Gábor írását, 30. oldal)*

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak 4.

Wollemann Mária: Emlékezés az elmúlt időkre 5.

FIATAL KUTATÓK MŰHELYEI

Szűcs Diána és Pankotai Tibor: A DNS károsodások által kiváltott
sejtválaszok tanulmányozása emlős sejtekben és in vivo Drosophila
modellrendszerben 17.

REVIEW

Takáts Szabolcs és Juhász Gábor: Az autofágia élettani vizsgálatáért
odaítélt Nobel-díj 30.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNY

Scheer Ildikó, Róna Gergely, Vértessy G. Beáta: A DNS-beli uracil
kvantifikálása egy érzékeny jelölő módszerrel 40.

VISSZATEKINTÉS AZ ELMÚLT 50 ÉV KIEMELKEDŐ CIKKEIRE

Patthy László: Moduláris fehérje evolúció és exon-shuffling 52.

KONFERENCIA BESZÁMOLÓK

Az MBKE 2016. évi vándorgyűlése, Szeged 63.

2nd Danube Scientific Conference on Epigenetics, Budapest 66.

KONFERENCIA HIRDETÉSEK

Hungarian Molecular Life Sciences, 2017- Molekuláris Élettudományi
Konferencia, 2017 69.

FEBS konferencia 2017 70.

FELHÍVÁSOK

A 2016. évi kiemelkedő cikkek listájának beküldése 72.

Alapítvány a Tudományos Szemészetért pályázat 73.

ÁLLÁSHIRDETÉS 74.

TUDOMÁNY ÉS MŰVÉSZET

Gráf László: A nagy évfolyam 75.

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület
4012 Debrecen, Pf. 6, <http://www.mbkegy.hu>
Felelős kiadó Dr. Fésűs László és Dr. Buday László
Az engedély száma III/SZI/397/1977
HU ISSN 2060 8152 (Online) | HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

A DNS KÁROSODÁSOK ÁLTAL KIVÁLTOTT SEJTVÁLASZOK TANULMÁNYOZÁSA EMLŐS SEJTEKBEIN ÉS IN VIVO DROSOPHILA MODELLRENDSZERBEN

Szűcs Diána és Pankotai Tibor

**SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék,
Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoport**

A DNS károsodások által kiváltott sejtválaszok

Az eukarióta élőlények sejtmagi DNS állománya számos kondenzációs lépésen keresztül kromoszómákba szerveződik. A kromatin szerkezet felépítésében a hiszton fehérjék (H1, H2A, H2B, H3, H4) esszenciális szerepet játszanak. A H2A-H2B, H3-H4 hiszton heterodimerek két-két kópiája alkotja az oktamer szerkezetet, melyre a DNS 147 bázispár hosszúságú szakaszon tekeredik fel. Így jön létre a nukleoszóma, melynek szerkezetét a H1 hisztonok kötődése stabilizálja. A nukleoszóma alakítja ki az ún. „gyöngyfűzér struktúrát”, mely a kromoszómát alkotó DNS molekula eredeti hosszát egyharmadára csökkenti, majd további lépések során a még tömörebb „szolenoid” szerkezet jön létre. A legkondenzáltabb kromoszóma szerkezet a metafázisban figyelhető meg, mely a sejtek osztódása során már fénymikroszkóp alatt is látható.

Az eukarióta sejtekben a DNS-t templátként használó folyamatok lejátszódásához (pl. transzkripció, replikáció) szükséges a kondenzált kromatin szerkezet fellazulása. Ezen struktúra dinamikus változásainak szabályozásában kulcsfontosságúak a hiszton fehérjék oktamerből kinyúló, N-terminális farki részén található aminosavainak poszt-transzlációs módosításai (PTM). Ezek a PTM-ek számos egyedi mintázatot hozhatnak létre a hisztonokon, mivel ugyanazon az aminosav oldalláncon több típusú módosítás is létrejöhet (1. táblázat). Feltételezések szerint a hiszton fehérjéken megfigyelhető PTM mintázatok egyedi információ tartalommal rendelkeznek, melyet hiszton kód hipotézisnek nevezünk. Az egyes PTM-ek egy dinamikusan változó rendszert alkotnak, melyek kialakításáért és eltávolításáért különböző komplexek felelősek

(1. táblázat). A PTM mintázatok kialakulása hozzájárul a transzkripció, valamint a replikáció aktivációjához és lejátszódásához is, továbbá szabályozza a környezeti stresszhatásokra bekövetkező gyors és dinamikus kromatin szerkezeti változásokat is. Ennek legjobb példája, hogy a károsodott DNS környezetében a kromatin szerkezet fellazul, így lehetővé válik a hibajavító fehérjék kötődése a károsodott DNS régióhoz.

1. táblázat. A hisztonok aminosav oldalláncain létrejövő poszt-transzlációs módosítások és az azokat létrehozó vagy eltávolító kromatin módosító komplexek bemutatása.

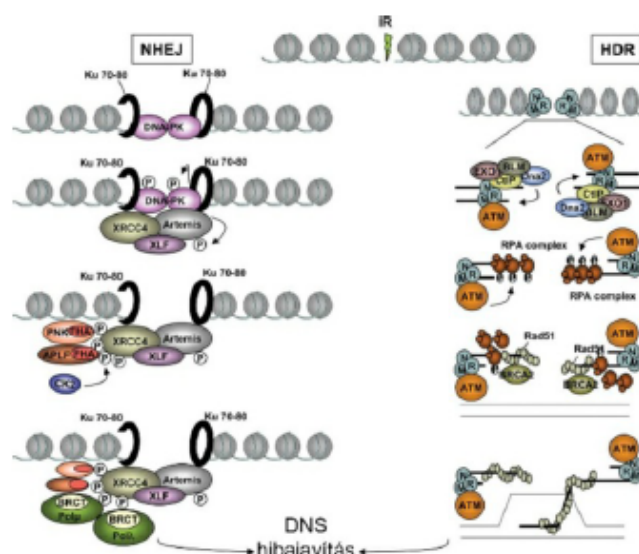
Aminosav	Módosítás típus	Módosítást léterhozó enzim	Módosítást eltávolító enzim
Lizin	acetiláció	Hiszton acetiltransferáz	Hiszton deacetiláz
	metiláció	Hiszton metiltransferáz	Hiszton demetiláz
	ubiquitiláció	E3 ubiquitin ligáz	Deubiquitináz
	riboziláció	ADP-ribóz polimeráz	ADP-ribóz hidroláz
Szerin	foszforiláció	Kináz	Foszfatáz
Threonin	foszforiláció	Kináz	Foszfatáz
Arginin	metiláció	Hiszton metiltransferáz	Hiszton demetiláz

Az endogén- és exogén forrásból származó DNS károsító ágensek változást idéznek elő a DNS szerkezetében, így veszélyeztetik a genom stabilitását [1, 2]. A különböző DNS sérülések eltérő hibajavító útvonalak aktiválódását eredményezik: replikációs hibák – Mismatch hibajavítás; oxidáció, alkiláció – Bázis-kivágó hibajavítás; timin-dimerek – Nukleotid-kivágó hibajavítás, valamint a DNS mindkét szálának eltörésekor aktiválódó kettős-szálú DNS törés hibajavító útvonalak. A DNS hibajavítás mellett megfigyeltek egy azzal párhuzamosan aktiválódó DNS károsodás hatására bekövetkező sejtválaszt (DNA Damage Response – DDR) is, amely biztosítja a sejtciklus átmeneti felfüggesztését és a transzkripció, valamint a replikáció gátlását is. A hiszton PTM-ek a DNS hibajavító útvonalak és a DDR működésére is jelentős hatást gyakorolnak, a hibajavításban szerepet játszó fehérjék számára felismerő-/kötőhelyet biztosítva [3-8]. A DNS sérülés gyors és precíz kijavításához szükséges a kromatin szerkezet felnyílása is a DNS károsodás környezetében [6-14]. A DNS sérülés környezetében a nukleosómák destabilizálódnak, majd a javítás befejeztével a hiszton oktamerek reorganizációjával az eredeti kromatin szerkezet helyreállítása is megtörténik [8, 9, 11, 12, 15-18]. A sérülés környezetében a PTM-ek (pl.

ubiquitiláció, acetiláció) hatására további hiszton chaperonok (pl. Nucleolin, ASF1, CAF-1) és kromatin módosító komplexek (pl. Tip60, p400) lépnek működésbe. Ezek együttes hatása egy nyitottabb kromatin szerkezet kialakulását segíti elő [2, 7-11, 14-17]. A DNS hibajavítás befejezése után a nukleoszómák vissza-helyezésével egyidejűleg a heterokromatikus régiókra jellemző fehérjék felhalmozódásával (HP1, PC1) elindul egy, az eredeti kromatin szerkezet visszaállítását elősegítő mechanizmus [16].

A kettős-szálú DNS törések javítását főként a Nem-homológ végek összekapcsolása (Non-homologous End Joining – NHEJ) és a Homológ rekombináció (Homology Directed Repair – HDR) hibajavító útvonalak végzik (1. ábra), ezek mellett léteznek alternatív utak is (Alternative End-Joining – Alt-EJ/MMEJ, Single Strand Annealing – SSA) [2, 7, 8, 12, 19]. A két fő útvonal elsősorban sejtciklus függő módon aktiválódik, a NHEJ a G_0 és G_1 fázisban, míg a HDR az S és G_2 fázisban jellemző. A két hibajavító útvonal közti választást azonban jelentősen befolyásolja a sérülés környezetében megjelenő hiszton PTM-ek mintázata, a törés sejtmagon belüli elhelyezkedése, a körülötte levő kromatin szerkezet, valamint a sejt típusa is [2, 14, 19-23].

A DNS hibajavítást követően az adott régióra jellemző kromatin szerkezet visszarendeződik [11, 18]. Az újonnan szintetizálódott hiszton fehérjékből a nukleoszómák a hiszton chaperonok segítségével újra szerveződnek [9, 11, 15-17]. Mivel a citoplazmában újonnan létrejött hiszton fehérjék egyedi PTM-eket hordoznak, a kromatin szerkezetbe történő beépülésük után a hiszton módosító komplexek kialakítják a genomi környezetre jellemző hiszton poszt-transzlációs módosításokat [15-18]. Egyes tanulmányok szerint azonban az eredeti PTM mintázat nem alakul ki újra, hanem az újonnan szintetizálódott hiszton fehérjék eltérő módosításai jelként szolgálnak az ellenőrző folyamatokban szerepet játszó fehérjekomplexek számára, így további felülvizsgálat alá helyezik a helyreállított DNS régiót [16, 18].



1. ábra. A kettős-szálú DNS törések hibajavító útvonalai (Timothy M. Thomson, Marta Guerra-Rebollo nyomán [33]). A NHEJ útvonalban elsőként a Ku70/80 heterodimer komplex kötődik gyűrűként illeszkedve a sérült DNS végekhez, ezáltal dokkoló helyet biztosítva a DNA-PK fehérjének. A kötődést követően a DNA-PK autofoszforiláció révén aktiválódik és foszforilálja az Artemis endonukleázt, így az komplementer végeket kialakítva lehetővé teszi, hogy az XRCC4 és Cer-XLF fehérjék által a törés helyére irányított DNS ligáz IV összekapcsolja a sérült DNS szálakat. A HDR működéséhez szükség van a templátként szolgáló testvér kromatida jelenlétére. A komplementer DNS szakasz keresése érdekében a törött DNS végeket egyes-szálú DNS-sé (ssDNS) alakítja az útvonalban elsőként kötődő MRN (Mre11-Rad50-Nbs1) komplex a CtIP fehérjével együttműködve. Ezt követően az EXO1 és DNA2 összehangoltan működve további hosszabb ssDNS szakaszokat hoz létre. Az ssDNS-hez az RPA kötődik, amely elősegíti a RAD51 fehérje kötődését is. A RAD51-ssDNS filament a testvér kromatida komplementer szakaszával kapcsolatot létesít, így kialakítva a D-loop szerkezetet. A DNS szintézis során a DNS polimeráz δ által beépített nukleotidok kapcsolódnak a 3' ssDNS véghez. Ezt a második hibridizációs eseményt követően a követő szál szintézise is elindul. Végezetül a kialakult Holliday szerkezet felbomlása következik be, és a fennmaradó nickeket a DNS ligáz IV kapcsolja össze.

A DNS károsító vegyületek és a rák kialakulása közötti kapcsolatot elsőként Percival Pott írta le 1775-ben [24]. A DNS kettős-hélix felfedezését követően 1955-ben igazolták, hogy a mutagének megváltoztatják a DNS kémiai szerkezetét, ezáltal kapcsolat mutatható ki a mutagenézis és karcinogenezis között [25]. Habár 1958-ban már felismerték, hogy a DNS hibák javíthatók, újabb tíz év telt el, míg a Xeroderma pigmentosum betegségről igazolták, hogy a DNS hibajavítás defektusa okozza [26, 27]. Mindezidáig számos DNS hibajavításban szerepet játszó fehérjéről kimutatták, hogy funkcióvesztéses mutációjuk figyelhető meg a tumorigenezis során. Az elmúlt tíz év eredményei

azt bizonyítják, hogy a DNS hibajavításban szerepet játszó ATM kináz és a rák kialakulása között szoros kapcsolat feltételezhető [28]. Továbbá igazolták, hogy a hisztonok ubiquitilációjában szerepet játszó BRCA1/2, RNF8/168 E3 ubiquitin ligázok fehérje szintjének csökkenése és növekedése is megfigyelhető bizonyos tumor típusokban [29]. Mivel a DNS hibajavítást vizsgáló tudományterület mindösszesen pár évtizedet ölel fel, ezért az egész folyamatról csak kevés információval rendelkezünk.

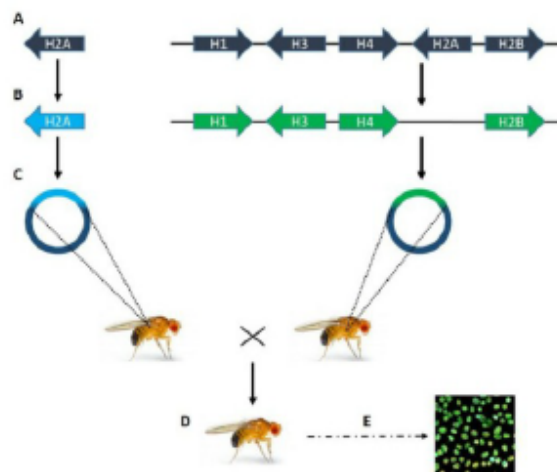
A Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoport

A Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoport (2. ábra) 2015 elején alakult az SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszéken TÁMOP, OTKA és MTA Bolyai támogatással. Fő kutatási területünk a DNS károsodás által aktivált szignalizációs útvonalak térképezése. Célunk annak megértése, hogyan történik a DNS törések azonosítása az eukarióta kromatin szerkezetben, valamint a törések milyen kromatin szerkezeti változásokat hoznak létre a hibajavítás során. További kutatási témáink a következők: a DNS károsodás során bekövetkező transzkripcionális válaszok jellemzése és a rák diagnosztikában alkalmazható potenciális biomarkerek karakterizálása. A kérdéseink megválaszolásához humán sejt kultúrákat és *Drosophila* modellrendszert használunk, melyeken a legmodernebb biokémiai és genetikai megközelítéseket (kromatin immunprecipitáció, új generációs szekvenálás, szuperrezolúciós STORM mikroszkópia) alkalmazzuk.



2. ábra. A Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoport tagjai. Első sor: Újfaludi Zsuzsanna, Majoros Hajnalka, Szűcs Diána, Borsos Barbara, Ördög Nóra. Második sor: Varga Árpád, Páhi Zoltán, Pankotai Tibor.

Kutatócsoportunk egy olyan kísérleti rendszer előállítását tűzte ki célul, amely az egyedi hiszton PTM-ek DNS hibajavításra gyakorolt hatásának *in vivo* vizsgálatát teszi lehetővé. A kérdéseink megválaszolásához *Drosophila* modellállatokat használunk, amelyekben egyedülálló lehetőség nyílik az endogén hiszton régió eltávolítására és az általunk vizsgálni kívánt hiszton mutációk visszajuttatására. A *Drosophila* modell-rendszerben nyert eredményeinket egér és humán sejt kultúra rendszerekben teszteljük, ezáltal olyan DNS hibajavításban fontos kromatin szerkezeti változásokat azonosíthatunk, amelyek általánosan érvényesek minden magasabb rendű eukarióta szervezetre. Első lépésként előállítottuk az egyedi hiszton géneket és a teljes hiszton klasztert tartalmazó plazmidokat (3.A ábra).



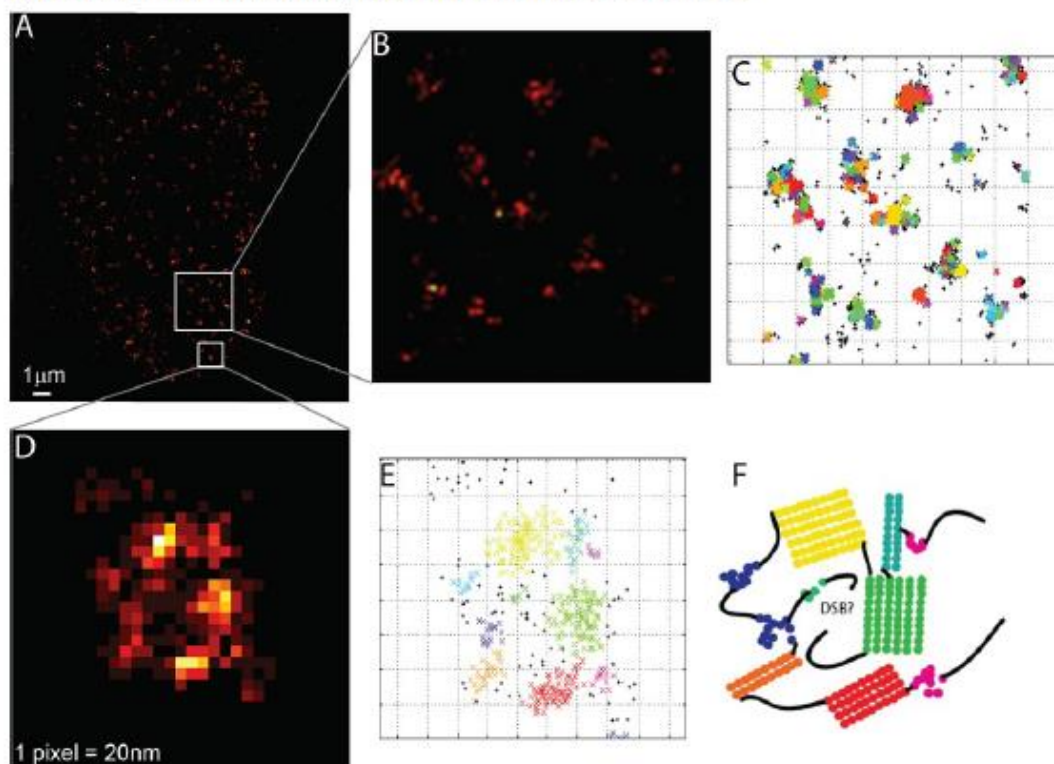
3. ábra. A H2A hiszton poszt-transzlációs módosítások vizsgálatára alkalmas kísérleti rendszer sematikus ábrázolása. A lépések megegyeznek a H1, H2B, H3 és H4 hisztonok esetében is. (A) PCR segítségével előállítottunk egyedi hiszton géneket (bal oldal – H2A) és a teljes hiszton klasztert tartalmazó plazmidokat (jobb oldal). (B) A hiszton gének kódoló régióiban mutációkat hoztunk létre, valamint a hiszton klaszterből eltávolítottuk a vizsgálni kívánt hiszton kódoló DNS szakaszt. (C) A pontmutáns hiszton géneket (kék kör részlet) és a deléciós hiszton klasztert (zöld kör részlet) hordozó transzgenikus állatok keresztezéséből létrejöttek olyan egyedek, amelyek a mutációt tartalmazó H2A fehérjét termelik. (D) Ezeket az utódokat felhasználva, meghatározott genomi pozíciókban kettős-szálú DNS törések indukálhatók a CRISPR-Cas9 rendszer alkalmazásával. (E) A pontmutáns H2A fehérjét tartalmazó állatokban vizsgálható a DNS hibajavítás kinetikája.

A hiszton génekben (H1, H2A, H2B, H3, H4) *in vitro* mutagenézis segítségével meghatározott pozíciókban pontmutációkat hoztunk létre, amelyek a hiszton fehérjében aminosav cserét eredményeznek. A létrehozott mutációk egy adott PTM jelenlétét mimikálják, vagy a módosítás kialakulását akadályozzák (3.B ábra). Ezzel párhuzamosan az előállított hiszton klaszterekből egy-egy hiszton gént részben vagy teljesen eltávolítottunk (3.B ábra). A mutációt hordozó hiszton géneket és a deléciós klasztereket *Drosophila* klónozó vektorba (pUAST-attB) építettük, amely alkalmas transzgenikus állatok létrehozására. A módosított hiszton géneket és deléciós klasztereket tartalmazó transzgenikus *Drosophila* vonalak egyedeinek keresztezéséből létrejönnek olyan utódok, amelyek csak a mutációt hordozó hiszton fehérjét termelik (3.C ábra). Ezekben az állatokban kettős-szálú DNS töréseket hoztunk létre CRISPR-Cas9 rendszer segítségével, majd vizsgáltuk a DNS hibajavítás kinetikáját (3. D-E ábra).

A projekt részét képezi olyan deubiquitinázok (DUB) azonosítása, amelyek szerepet játszhatnak a hiszton- és nem hiszton típusú fehérjék deubiquitilálásában egyes- és kettős-szálú DNS törések hibajavítása során. Ehhez rendelkezésünkre áll a Dr. Deák Péter (SZTE TTK Genetika Tanszék) laboratóriumában előállított *Drosophila* törzsgyűjtemény, amely minden, az ecetmuslicában azonosított DUB génre tartalmaz deléciós- vagy siRNA csendesítést eredményező transzgenikus vonalakat. A törzsgyűjtemény felhasználásával egy röntgen, valamint UV-B sugárforráson alapuló screen-t végeztünk. Eredményeink alapján négy DUB fehérjét azonosítottunk, amelyek szerepet játszhatnak az UV és a röntgensugárzás által keletkezett DNS hibák javításában. Az azonosított fehérjék molekuláris karakterizálása és a DNS hibajavító útvonalban betöltött szerepének tisztázása jelenleg is folyamatban van.

A *Drosophila* modellrendszerben azonosított, DNS hibajavításban szerepet játszó hiszton PTM-ek szabályozó funkciójának vizsgálatához humán sejtenyészeteket is alkalmazunk. A DNS hibajavítás során az egyes hiszton

módosítások szintbeli változását követjük nyomon, elsősorban immunhisztokémiai és kromatin immunprecipitációs kísérletekben.



4. ábra. A DNS hibajavító fókuszokban megjelenő H2AX S139P hiszton PTM eloszlásának tanulmányozása STORM mikroszkópiával. (A) A sejtekben látható hibajavítási fókuszok konfokális mikroszkópiával készült képe. (B-D) A sejtmagok egy-egy részletének STORM technikával történő vizsgálata látható. (C-E) Mikroszkópos felvételek Matlab programmal készült klaszter analízise figyelhető meg. (F) Az ábra mutatja az egyetlen hibajavítási fókuszban megfigyelhető, S139P módosítást hordozó H2AX hisztonok elhelyezkedését.

Kísérleteinkben véletlenszerű genomi régiókban, valamint irányítottan, specifikus genomi pozíciókban kettős-szálú DNS töréseket idézünk elő, majd a kezelést követően az egyes hiszton fehérjék acetiláltsági szintjének időbeni változását vizsgáljuk és azonosítjuk az azokat kialakító kromatin módosító komplexeket is [30]. Eredményeink segítenek annak megértésében, hogy a kromatin szerkezet hogyan befolyásolhatja a kromoszómális transzlokációk kialakulását, melyek rákos folyamatokhoz vezethetnek. A biokémiai módszerek mellett a DNS törés környezetében kialakuló kromatin szerveződési változások

3 dimenziós eloszlását is vizsgáljuk. Ehhez egyedi sejteken nagyfelbontású STORM mikroszkópiát alkalmazunk. Közel egy év optimalizálást követően, egy speciális immunfestési eljárás segítségével, képesek vagyunk a DNS hibajavítási fókuszokban közel 20 nm-es felbontás elérésére. Ez lehetővé teszi a sérült DNS régiókban létrejövő nyitottabb és zártabb kromatin régiók további vizsgálatát és az adataink összevetését a biokémiai kísérleteinkben nyert eredményeinkkel. Mivel a 20 nm-es felbontás elérésével láthatóvá tehető a DNS károsodás környezetében található nukleoszómák mennyisége és a PTM-ek eloszlása, ezáltal egyedi sejtekből és eltérő genomi régiókból nyerhetünk információt a kromatin szerkezetéről és a hiszton PTM-ek terjedési távolságáról is (4. ábra).

Laboratóriumunk harmadik fő projektje annak megértése, hogy a kettős-szálú DNS törések hibajavítása milyen hatással van a transzkripció folyamatára. A projektben korábban elvégzett munka folytatásaként kimutattuk, hogy az RNS polimeráz II (RNSPII) által átíródó régiókban történő kettős-szálú DNS törések kialakulása a sérült génről történő transzkripció leállítását okozza a hiba kijavításának ideje alatt, majd a javítás befejezése után a génátírás újraindul [31, 32]. Igazoltuk, hogy a transzkripció leállításához számos, a DNS hibajavításban szerepet játszó fehérje jelenléte szükséges, mint a Ku70, p53 és DNA-PK. Kromatin immunprecipitációs kísérletekkel igazoltuk, hogy a javítás idejére az RNSPII eltávolításra kerül a hibás DNS szálról, és mind a transzkripció iniciációja, mind az elongációja gátolt. Specifikus inhibitorok és siRNS csendesítés segítségével bizonyítottuk, hogy az RNSPII proteaszómális degradáció útján kerül lebontásra. Az előzetes várakozásokkal ellentétben az RNSPII megállása a CTD S2 hiperfoszforilációját eredményezi és a folyamat lezajlásához a fent említett hibajavító faktorok jelenléte szükséges. A hiperfoszforilált CTD kötőhelyként szolgál számos E3 ubiquitin ligáz számára, amelyek hatására a 26S proteaszómákban elkezdődik az RNSPII degradációja. Ellentétben a citoplazmatikus fehérje lebontással, az RNSPII degradációja a DNS sérülés közvetlen környezetében valósul meg, mivel a DNS károsodás után a sérült génen megfigyelhető a 26S proteaszóma 19S és 20S alegységeinek kötődése is.

Kísérleti eredményeink rávilágítanak arra, hogy – a Nukleotid-kivágó hibajavításhoz hasonlóan – az RNSPII komplex a transzkripción kívül szerepet játszhat a DNS hibák azonosításában is, mivel a DNS hibajavító fehérjék DNS károsodás nélkül is kölcsön hatnak a normál RNSPII ciklusban résztvevő transzkripciós komplexszel. Továbbá, ha a DNS károsodás átíródó géneken jön létre, a DNS hibajavító faktorok segítik a transzkripció teljes leállítását a DNS hibajavítás alatt, amely során az RNSPII komplexen történő foszforilációs és ubiquitilációs módosítások sorozatát elindítva biztosítják az RNSPII szabályozott, 26S proteaszóma által közvetített eltávolítását. Feltételezésünk szerint elsősorban ez a kapcsolat biztosítja a DNS hibajavítás gyors lejátszódását, valamint meggátolja olyan hibás mRNS termékek keletkezését, amelyek tumork indukciójára alkalmas fehérjék termelődését segíthetik elő.

Ahogy korábban említettük, számos hibajavításban szerepet játszó fehérjéről ismert, hogy mutációja vagy hiánya rákos folyamatok elindulásához vezethet. Feltételezésünk szerint a DNS hibajavítás sebességét befolyásoló folyamatok feltárása segíthet a tumoros folyamatok kialakulásának megértésében. Reményeink szerint kutatásaink hasznosnak bizonyulnak majd ahhoz, hogy jobban megértsük a folyamat molekuláris szabályozását és jelentőségét. Mindezen túl a DNS hibajavítás kinetikájának megismerése segíthet feltárni, hogy a kromatin szerkezet hogyan befolyásolhatja a transzlokációk kialakulásának valószínűségét is. Továbbá arra a kérdésre is választ adhatnak, hogy a tumorigenezis során kialakuló tumor őssejtek hogyan képesek a DNS hibajavítás hatékonyságának növelésével túlélni a kemo- és radioterápiás kezeléseket. Így az általunk használni kívánt kísérleti rendszer nagymértékben hozzájárulhat olyan, eddig nem ismert kromatin szerkezetet érintő folyamatok megértéséhez, amelyek nemcsak új rákterápiás célpontok azonosítását teszik lehetővé, hanem rákellenes gyógyszerek tesztelésének lehetőségeit is.

Irodalomjegyzék

- [1] Nagy, Z., Soutoglou, E. (2009) DNA repair: easy to visualize, difficult to elucidate. *Trends Cell Biol*, **19 (11)**: 617-29.
- [2] Cannan, W.J., Pederson, D.S. (2016) Mechanisms and Consequences of Double-Strand DNA Break Formation in Chromatin. *J Cell Physiol*, **231 (1)**: 3-14.
- [3] Jackson, S.P., Bartek, J. (2009) The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, **461 (7267)**: 1071-8.
- [4] Jackson, S.P., Durocher, D. (2013) Regulation of DNA damage responses by ubiquitin and SUMO. *Mol Cell*, **49 (5)**: 795-807.
- [5] Liu, Y., Li, Y., Lu, X. (2016) Regulators in the DNA damage response. *Arch Biochem Biophys*, **594**: 18-25.
- [6] Greenberg, R.A. (2011) Histone tails: Directing the chromatin response to DNA damage. *FEBS Lett*, **585 (18)**: 2883-90.
- [7] Miller, K.M., Jackson, S.P. (2012) Histone marks: repairing DNA breaks within the context of chromatin. *Biochem Soc Trans*, **40 (2)**: 370-6.
- [8] Polo, S.E., Jackson, S.P. (2011) Dynamics of DNA damage response proteins at DNA breaks: a focus on protein modifications. *Genes Dev*, **25 (5)**: 409-33.
- [9] Adam, S., Dabin, J., Polo, S.E. (2015) Chromatin plasticity in response to DNA damage: The shape of things to come. *DNA Repair (Amst)*, **32**: 120-6.
- [10] Cao, L.L., Shen, C., Zhu, W.G. (2016) Histone modifications in DNA damage response. *Sci China Life Sci*, **59 (3)**: 257-70.
- [11] Dabin, J., Fortuny, A., Polo, S.E. (2016) Epigenome Maintenance in Response to DNA Damage. *Mol Cell*, **62 (5)**: 712-27.
- [12] Jeggo, P.A., Downs, J.A. (2014) Roles of chromatin remodellers in DNA double strand break repair. *Exp Cell Res*, **329 (1)**: 69-77.
- [13] Kruhlak, M.J., Celeste, A., Dellaire, G., Fernandez-Capetillo, O., Muller, W.G., McNally, J.G., Bazett-Jones, D.P., Nussenzweig, A. (2006) Changes in chromatin structure and mobility in living cells at sites of DNA double-strand breaks. *J Cell Biol*, **172 (6)**: 823-34.
- [14] Gursoy-Yuzugullu, O., House, N., Price, B.D. (2016) Patching Broken DNA: Nucleosome Dynamics and the Repair of DNA Breaks. *J Mol Biol*, **428 (9 Pt B)**: 1846-60.
- [15] Polo, S.E. (2015) Reshaping chromatin after DNA damage: the choreography of histone proteins. *J Mol Biol*, **427 (3)**: 626-36.
- [16] Polo, S.E., Almouzni, G. (2015) Chromatin dynamics after DNA damage: The legacy of the access-repair-restore model. *DNA Repair (Amst)*, **36**: 114-21.

- [17] Soria, G., Polo, S.E., Almouzni, G. (2012) Prime, repair, restore: the active role of chromatin in the DNA damage response. *Mol Cell*, **46 (6)**: 722-34.
- [18] Polo, S.E., Almouzni, G. (2007) DNA damage leaves its mark on chromatin. *Cell Cycle*, **6 (19)**: 2355-9.
- [19] Ceccaldi, R., Rondinelli, B., D'Andrea, A.D. (2016) Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol*, **26 (1)**: 52-64.
- [20] Lemaître, C., Grabarz, A., Tsouroula, K., Andronov, L., Furst, A., Pankotai, T., Heyer, V., Rogier, M., Attwood, K.M., Kessler, P., Dellaire, G., Klaholz, B., Reina-San-Martin, B., Soutoglou, E. (2014) Nuclear position dictates DNA repair pathway choice. *Genes Dev*, **28 (22)**: 2450-63.
- [21] Kalousi, A., Soutoglou, E. (2016) Nuclear compartmentalization of DNA repair. *Curr Opin Genet Dev*, **37**: 148-57.
- [22] Misteli, T., Soutoglou, E. (2009) The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **10 (4)**: 243-54.
- [23] Chapman, J.R., Taylor, M.R., Boulton, S.J. (2012) Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice. *Mol Cell*, **47 (4)**: 497-510.
- [24] Pott, P. (1993) [The first description of an occupational cancer in 1777 (scrotal cancer, cancer of chimney sweeps)]. *Bull Soc Liban Hist Med*, **4**: 98-101.
- [25] Burdette, W.J. (1955) The significance of mutation in relation to the origin of tumors: a review. *Cancer Res*, **15 (4)**: 201-26.
- [26] Hill, R.F. (1958) A radiation-sensitive mutant of *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta*, **30 (3)**: 636-7.
- [27] Cleaver, J.E. (1969) Xeroderma pigmentosum: a human disease in which an initial stage of DNA repair is defective. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **63 (2)**: 428-35.
- [28] Shiloh, Y., Tabor, E., Becker, Y. (1982) Cellular hypersensitivity to neocarzinostatin in ataxia-telangiectasia skin fibroblasts. *Cancer Res*, **42 (6)**: 2247-9.
- [29] Lord, C.J., Ashworth, A. (2013) Mechanisms of resistance to therapies targeting BRCA-mutant cancers. *Nat Med*, **19 (11)**: 1381-8.
- [30] Pankotai, T., Komonyi, O., Bodai, L., Ujfaludi, Z., Muratoglu, S., Ciurciu, A., Tora, L., Szabad, J., Boros, I. (2005) The homologous *Drosophila* transcriptional adaptors ADA2a and ADA2b are both required for normal development but have different functions. *Mol Cell Biol*, **25 (18)**: 8215-27.

- [31] Pankotai, T., Bonhomme, C., Chen, D., Soutoglou, E. (2012) DNAPKcs-dependent arrest of RNA polymerase II transcription in the presence of DNA breaks. *Nat Struct Mol Biol*, **19 (3)**: 276-82.
- [32] Pankotai, T., Soutoglou, E. (2013) Double strand breaks: hurdles for RNA polymerase II transcription? *Transcription*, **4 (1)**: 34-8.
- [33] Thomson, T.M., Guerra-Rebollo, M. (2010) Ubiquitin and SUMO signalling in DNA repair. *Biochem Soc Trans*, **38 (Pt 1)**: 116-31.



Szűcs Diána 2015-ben csatlakozott a laborhoz B.Sc. szakdolgozó hallgatóként. 2015-ben megszerezte biológus diplomáját és az Alexandrúpoliban megrendezett SymbioSE konferencián eredményeit előadás és poszter formájában prezentálta. 2016-ban I. évfolyamos Biológia M.Sc. hallgatóként részt vett a Tudományos Diákköri Konferencia tavaszi fordulóján, melyen a „A DNS hibajavítást segítő hiszton poszt-transzlációs módosítások in vivo vizsgálatára alkalmas kísérleti rendszer létrehozása *Drosophila* és humán modellrendszerben” című pályamunkájával III. helyezést ért el. 2016 nyarán az MBKE 2016. évi Vándorgyűlésén a labor által létrehozott kísérleti elrendezést poszter formájában mutatta be. Jelenleg M.Sc. hallgatóként dolgozik a laborban, kutatási tevékenysége a kettős-szálú DNS törések hibajavításában résztvevő hiszton poszt-transzlációs módosítások azonosítására irányul.



Pankotai Tibor 1999-ben csatlakozott a Dr. Boros Imre által vezetett Eukarióta Transzkripció Szabályozás Kutatócsoporthoz. Kutatási témája a *Drosophila melanogaster* hiszton acetiltranszferáz komplexek jellemzése volt. A biológus diplomát 2003-ban, majd a kutatási témáját folytatva a Ph.D. fokozatot 2007-ben szerezte meg. Posztdoktor kutatóként 4 hónapot töltött Alexander Pintzas athéni laboratóriumában, majd 2009-ben csatlakozott Evanthia Soutoglou akkor induló kutatócsoportjához (IGBMC, Strasbourg, Franciaország). A strasbourgi posztdoktori időszak alatt elnyerte az FRM és a La Ligue kutatási ösztöndíjakat. Hazatérése után 2015-ben megalapította a Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoportot. 2014-ben elnyerte az MTA Bolyai ösztöndíjat, míg 2016-ban a Magyar Genetikusok Egyesülete Györfly Barna díjjal jutalmazta.