

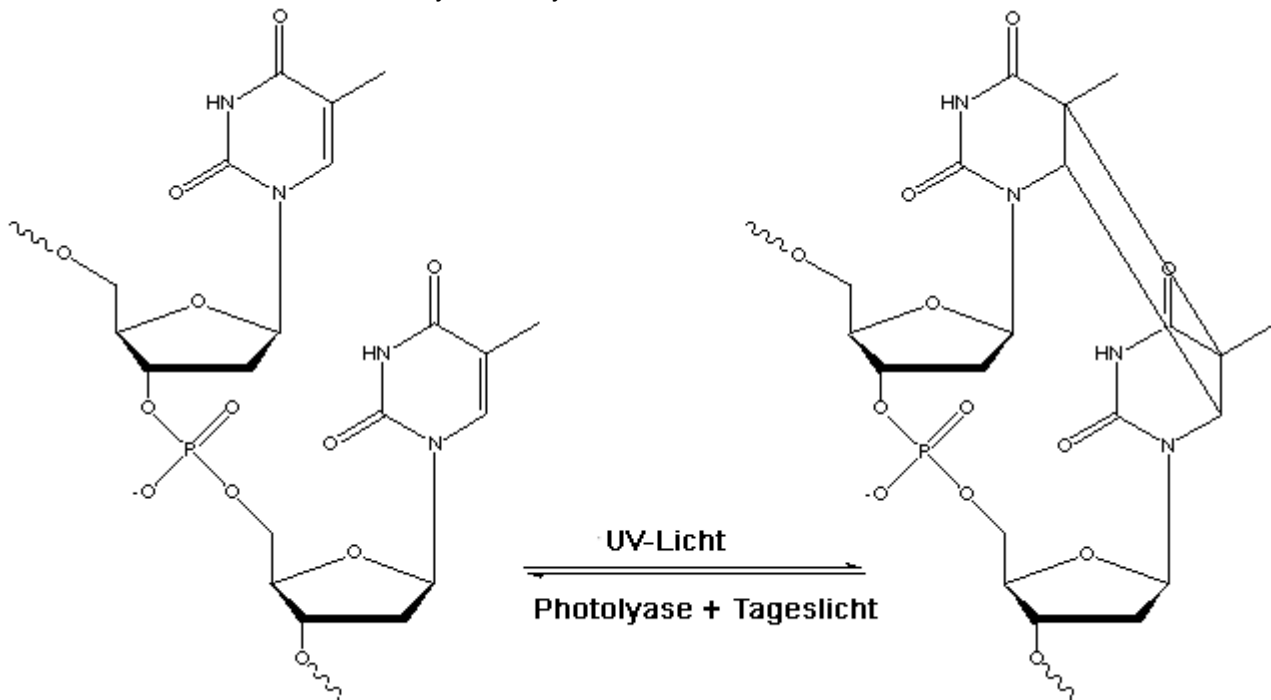
4 DNA-Reparatur

- 4.1 Direkte Reparatur
- 4.2 Basenexcisionsreparatur
- 4.3 Nucleotidexcisionsreparatur
- 4.4 Fehlpaarungsreparatur
- 4.5 Strangbruchreparatur
- 4.6 "Damage By-pass"

4.1 Direkte Reparatur

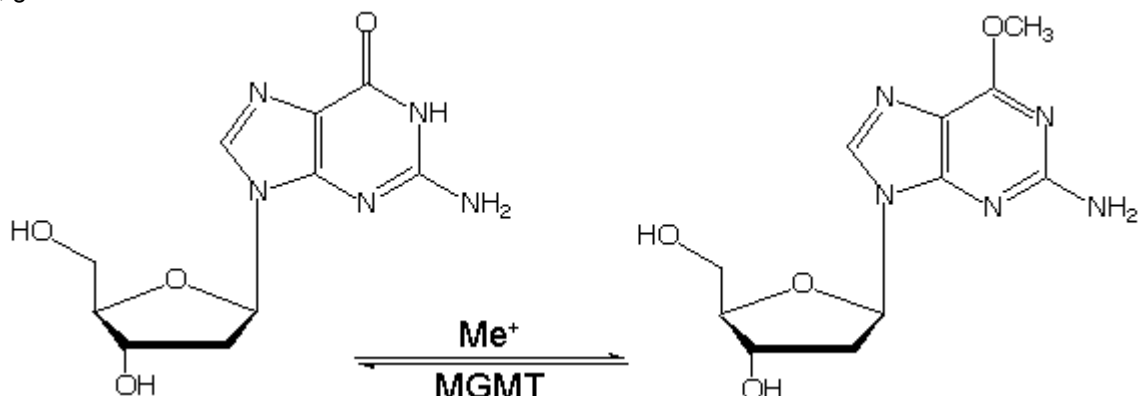
Photolyase (nur Bakterien und Hefe)

Ein UV-Pyrimidindimer kann photochemisch gespalten werden und zu zwei Thyminen rekonvertiert werden. Dies wird durch Licht und DNA-Photolyase katalysiert.



Methylguanin-Methyltransferase (MGMT)

6-O-Methylguanin entsteht als Produkt der chemotherapeutischen Behandlung mit Temozolomid, Procarbazin oder Dacarbazin. Durch den Transfer der Methylgruppe auf das "Kamikaze"-Enzym MGMT wird 6-O-Methylguanin zu Guanin konvertiert. Die Effizienz der Chemotherapie mit diesen Substanzen wird erhöht, wenn der Pegel des Enzyms durch Vorbehandlung mit 6-O-Benzylguanin, einem irreversiblen Hemmer der MGMT-Aktivität, gesenkt wird.

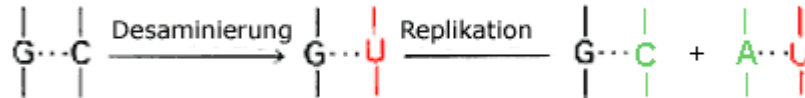


DNA-Ligase

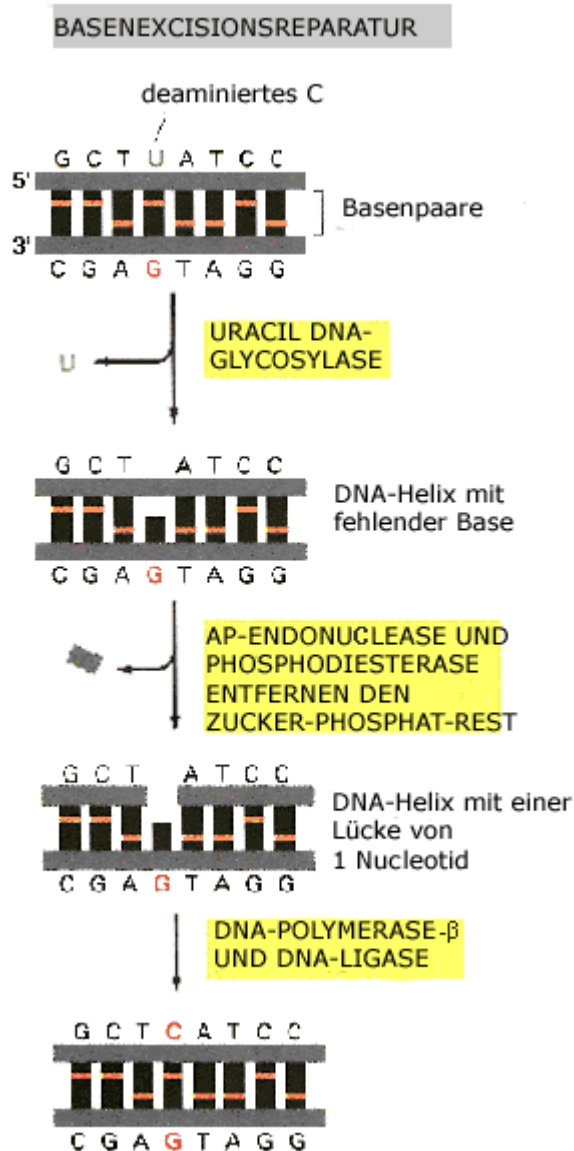
DNA-Ligasen reparieren Einzelstrangbrüche (3'-OH, 5'-Phosphat) (siehe 3.7).

4.2 Basenexcisionsreparatur

Beschädigte oder modifizierte Basen werden generell durch Basenexcision entfernt. Z.B. deaminiert Cytosin in der DNA auch spontan zu einem merklichen Prozentsatz zu Uracil. Die Deaminierung des Cytosins ist potentiell mutagen, da sich während der Replikation Uracil mit Adenin paart. Somit wird eines der Tochtermoleküle ein AU-Basenpaar anstelle des ursprünglichen GC-Basenpaares haben.



Ein Reparatursystem beugt dieser Mutation vor: das Uracil wird als fremde Base in der DNA erkannt und entfernt.

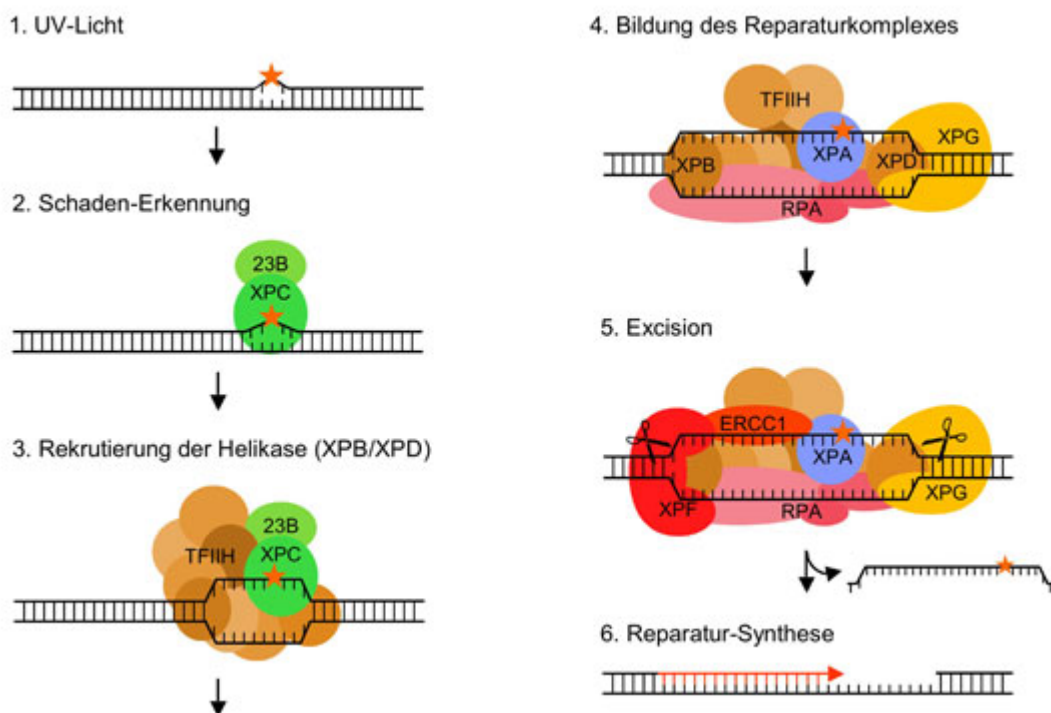


4.3 Nucleotidexcisionsreparatur

In *E. coli* werden Pyrimidindimere, die durch Einwirkung von ultraviolettem Licht auf DNA gebildet wurden, mit Hilfe der UvrABC Proteine ("UV-Excinuclease") entfernt (siehe Bild - nächste Seite).

In menschlichen Zellen wird die "UV-Excinuclease" aus ungefähr 30 Polypeptiden gebildet. *Xeroderma pigmentosum*, ein genetisches Syndrom, das mit erhöhtem Hautkrebs-Risiko verbunden ist, entsteht durch einen Defekt in der menschlichen "UV-Excinuclease". Die betroffenen Gene sind XPA-XPG und XPV.

Die Proteine XPC und XPA sind im Erkennungsprozess der modifizierten Stelle involviert, die Proteine XPB und XPD sind Helikasen, die die DNA an der beschädigten Stelle entwinden. Diese Proteine sind auch bei der Transkription erforderlich, nämlich als Untereinheiten des Transkriptionsfaktors TFIIH. XPF und XPG sind Endonucleasen, die den beschädigten Strang links und rechts vom Photodimer anschneiden. Ein Stück DNA von ungefähr 30 Nucleotiden Länge wird entfernt und durch Polymerase ϵ ersetzt.



Das Protein XPV (Variant) ist nicht beteiligt an der Reparatur. Es handelt sich dabei um eine Polymerase, die Pyrimidindimere tolerieren und übergehen kann (by-pass polymerase), ohne durch die Läsion blockiert zu werden (siehe 4.6).

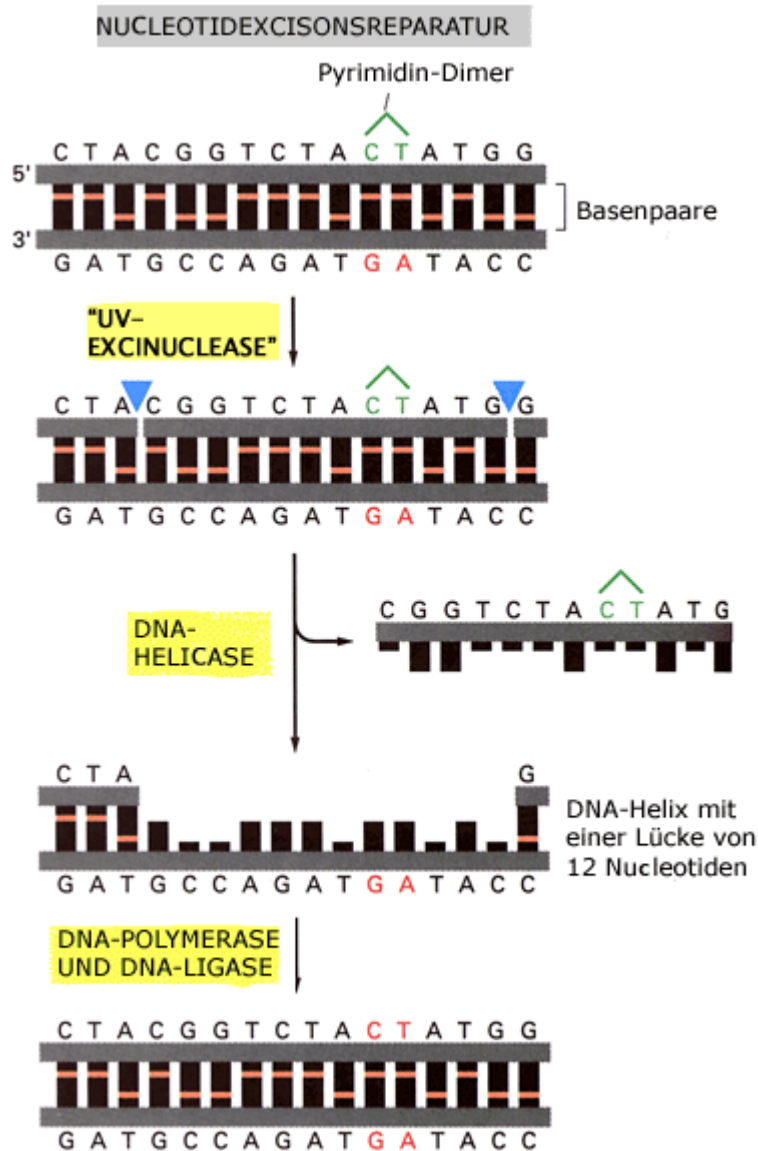


Bild: Pyrimidindimer-Reparatur in *E. coli*

4.4 Fehlpaarungsreparatur

Bei der Reparatur der Fehlpaarungen ist die Unterscheidung zwischen dem Matrizen- und dem Tochterstrang erforderlich.

Betrachten wir ein G/T-Basenpaar in einem neusynthetisierten DNA-Molekül. Wie unterscheidet die Reparaturmaschinerie zwischen dem authentischen Elternstrang und dem fehlerhaften Tochterstrang? Die Markierungen zur Identifizierung der Stränge bestehen in *E. coli* aus Methylgruppen an Adeninresten im Kontext von GATC-Sequenzen.

Die Reparatur von Fehlpaarungen der DNA in *E. coli* beginnt mit dem Zusammenspiel der MutS-, MutL- und MutH-Proteine. MutS erkennt die Fehlpaarung. MutH spaltet in der Nähe der Fehlpaarung das DNA-Rückgrat an einer unmethylierten GATC-Stelle. Ein Teil des DNA-Stranges, der das fehlerhafte Thymin enthält, wird von einer Exonuclease ausgeschnitten und von der DNA-Polymerase III neu synthetisiert.

In Eukaryoten ist kein MutH-Homolog gefunden worden. Der ganze eukaryotische Reparaturprozess ist stattdessen eng mit der DNA Replikation verknüpft, damit Strang-Diskriminierung gewährleistet werden kann. In Menschen existiert MutS als Heterodimer von hMSH2 und hMSH6, MutL als Heterodimer von hMLH1 und hPMS2. Die Replikationsproteine PCNA, RPA, RFC und Polymerase δ sowie Exonuclease I sind an der Fehlpaarungsreparatur beteiligt.

Der erbliche nichtpolypose kolorektale Krebs (HNPCC, hereditary nonpolyposis colorectal cancer) ist die Folge einer defekten DNA-Fehlpaarungsreparatur. Die am häufigsten mutierten Gene in HNPCC-Familien sind das *mutS*-Homolog *hMSH2* und das *mutL*-Homolog *hMLH1*.

Bild: Fehlpaarungsreparatur in *E. coli*. Der methylierte Matrisenstrang ist schwarz abgebildet, der unmethylierte Tochterstrang ist blau abgebildet.

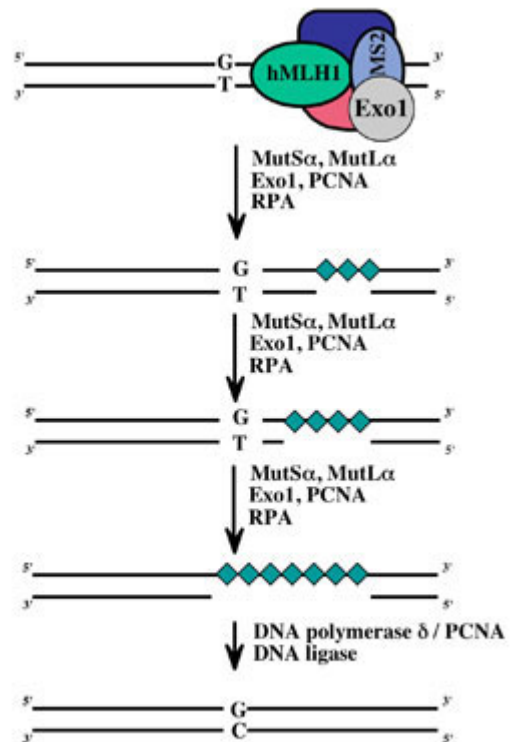
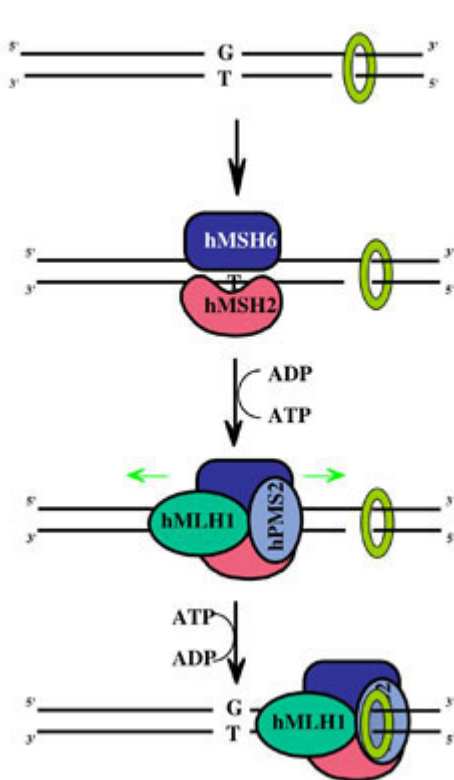
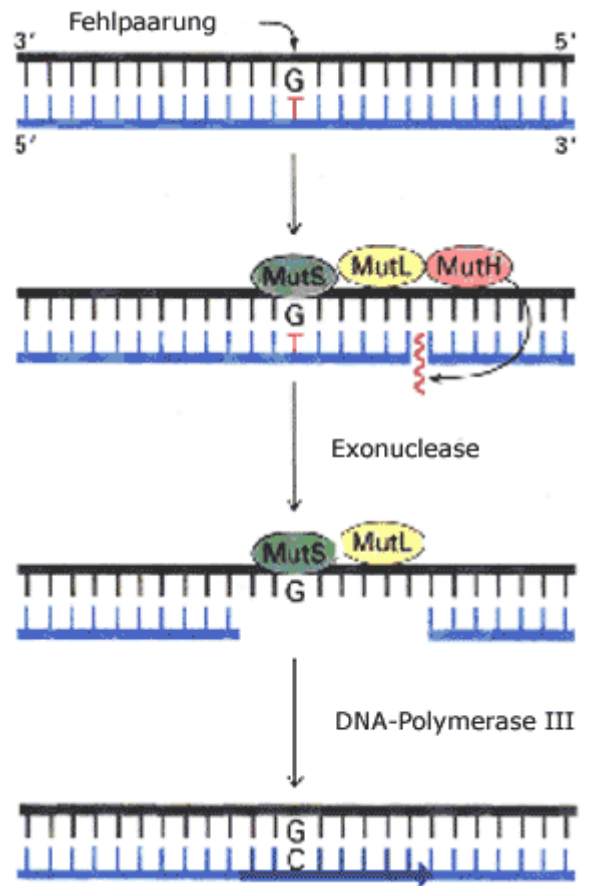


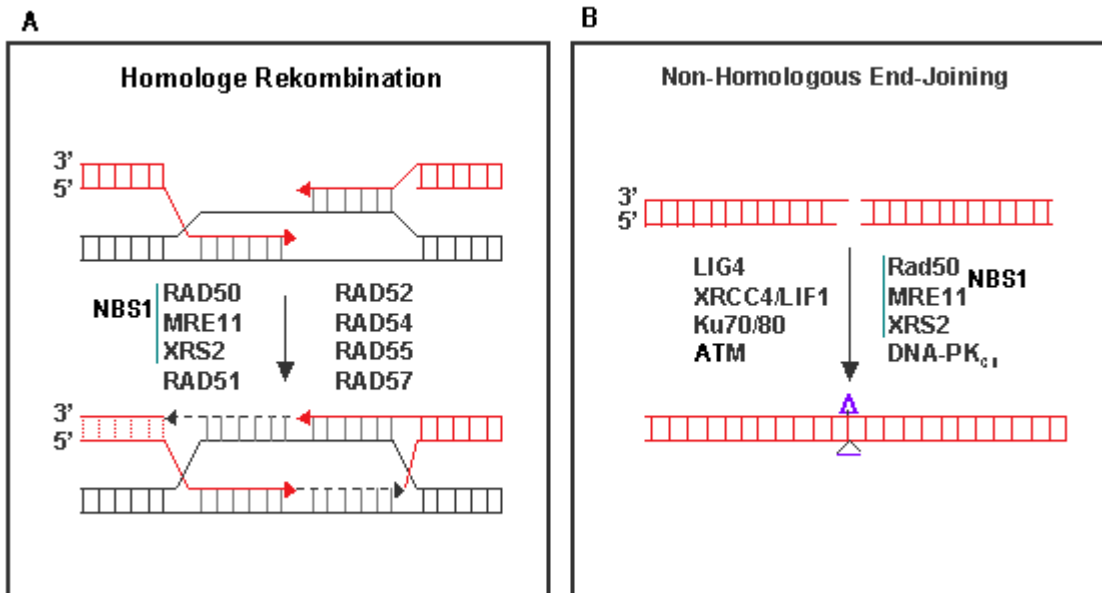
Bild: Fehlpaarungsreparaturmechanismus in menschlichen Zellen.

4.5 Strangbruchreparatur

Strangbrüche werden entweder durch homologe Rekombination (A) oder durch "non-homologous end-joining" (NHEJ) (B) repariert. Während der homologen Rekombination wird das Schwesterchromatid als Matrize verwendet. Somit geht keine genetische Information verloren. Während des "non-homologous end-joining" werden die beiden Enden zuerst exonucleolytisch abgebaut und dann religiert. Dieser Prozess führt zum Verlust von genetischer Information.

Mutationen in Strangbruchreparaturgenen sind mit mehreren klinischen Syndromen verbunden:

- Ku70, Ku80, DNA-PK (SCID: severe combined immune deficiency)
- NBS1 (Nijmegen breakage syndrome)
- MRE11 (ATLD: ataxia telangiectasia-like syndrome)
- ATM (ataxia telangiectasia).



4.6. Damage "By-pass"

DNA kann nur im doppelsträngigen Zustand repariert werden. DNA-Schäden, welche die DNA-Polymerasen während der DNA-Synthese blockieren, können nicht repariert werden. In vielen Organismen (mitunter auch beim Menschen) wurden spezialisierte DNA-Polymerasen charakterisiert, welche die blockierte replikative Polymerase (z.B. Pol δ) am Ort des Schadens ersetzen, über die beschädigte DNA hinweg synthetisieren und dann wieder dissoziieren. Dieser Prozess verläuft entweder fehlerfrei oder fehlerhaft.

In *E. coli* wurden drei solcher Polymerasen entdeckt: Pol II, Pol IV (DinB) und Pol V (UmuC). Pol V ist stressinduziert (z.B. durch UV-Strahlung) und löst die sogenannte SOS "Antwort" aus.

In Eukaryoten wurden bis anhin sieben solcher Polymerasen charakterisiert (Pol ζ , η , θ , ι , κ , λ und μ), deren Funktionen *in vivo* noch unklar sind. Pol η ist aber am "By-pass" von UV-Schäden beteiligt, da Personen mit mutiertem Pol η -Gen an Xeroderma pigmentosum (extrem hohes Risiko an Hautkrebs zu erkranken) leiden.

Lernziele

- Kenntnis über die 6 Prozesse, welche im Metabolismus von beschädigter DNA eine Rolle spielen
- Rolle von MGMT bei der Detoxifikation von Methylierungsschäden
- Kenntnis von Syndromen, welche auf fehlerhafte DNA-Reparatur zurückzuführen sind