

## 1.5 DNA-Reparaturmechanismen

H. Höhn

Ein **stabiles Genom** ist die Voraussetzung für **Langlebigkeit** und (gesundes) **Altern**. Ungenügend oder fehlerhaft reparierte **DNA-Schäden** können zur Aktivierung von Proto-Onkogenen oder zur Inaktivierung von Tumor-Suppressorgenen in den betroffenen Zellen führen. Sie sind damit **potenzielle Krebszellen**.

Mutationen in Genen, welche für die Schadenserkennung und Reparatur zuständig sind, führen beim Menschen zu verfrühtem Auftreten von **Krebserkrankungen** und beschleunigen den **Alterungsprozess**. Die altersabhängige Zunahme von Krebserkrankungen reflektiert sowohl die mit dem Alter zunehmende Akkumulation von DNA-Schäden als auch die mit dem Alter nachlassende Effektivität unserer Schadenserkennungs- und Reparatursysteme.

### 1.5.1 Ursachen von DNA-Schäden

DNA-Schäden entstehen durch exogene und endogene Ursachen. Eine ausführliche Beschreibung der Entstehungsmechanismen finden Sie im Kapitel 1.4 auf S. 64.

**Exogene Ursachen.** Hierzu gehören ionisierende Strahlung, UV-Strahlung (im Wellenbereich von 260 nm, UV-C), und Chemikalien wie polyzyklische Kohlenwasserstoffe (u. a. im Zigarettenrauch), Alkylanzien und Toxine (z. B. Aflatoxine).

**Endogene Ursachen.** Hierzu gehören vor allem reaktive Sauerstoffspezies, die während der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien produziert werden, sowie die Körpertemperatur von 37 Grad Celsius, bei der die Basen unserer DNA nicht stabil sind, sondern ständigen Modifikationen wie Depurinierung und Deaminierung unterliegen (Thermoinstabilität). Weitere endogene Ursachen sind Fehler bei der DNA-Replikation, z. B. der Einbau von Uracil anstelle von Thymidin, sowie Fehler bei der DNA-Reparatur, durch die z. B. Strangbrüche, Deletionen oder Insertionen in der DNA zurückbleiben können.

### 1.5.2 Schadenserkennung und Vorbereitung der DNA-Reparatur

Zur Aufrechterhaltung der genomischen Integrität verfügen Säugerzellen über mehr als 150 DNA-Überwachungs- und Reparatur-Gene (sogenannte Caretaker-Gene). Mutationen in Caretaker-Genen führen zu genetischer Instabilität, in

deren Folge es zu verfrühten Alterungserscheinungen und Krebserkrankungen kommt.

**ATR-** und **ATM-Kinasen** sowie **p53** sind zentrale Proteine der Signalkaskade zwischen Schadenserkenkung und DNA-Reparatur.

Sind UV-Licht oder Chemikalien die Ursache für den Schaden, wird die **ATR-Kinase** aktiviert, und die Reparatur erfolgt über den Nukleotid-Exzisions-Apparat (NER, s.S.94). Sind die Schäden dagegen durch ionisierende Strahlung entstanden, wird die **ATM-Kinase** aktiviert. Im ATM-Kinase-Weg werden die Schäden in der DNA entweder durch die Rekombinations-Reparatur (RR, s. u.) repariert, oder der Zellzyklus wird durch die Phosphorylierung von Checkpoint-Kinasen und des p53-Proteins angehalten.

Das **p53-Protein** ist eines der wichtigsten **Caretaker-Proteine**, die Schäden an der DNA erkennen. p53 arretiert den Zellzyklus an sogenannten Checkpoints, damit die Reparatur der DNA durchgeführt werden kann.

Wie die Proteine ATM, ATR, NBS-1, MRE11 und RAD 50 (s. u.) gehört das p53-Protein zu den zentralen Proteinen der Schadenserkenkung. p53 kontrolliert sogenannte **Zellzyklus-Checkpoints** (s.S.164). An diesen Kontrollstellen wird jeweils überprüft, ob die DNA intakt ist oder ob der Zellzyklus zur Durchführung der DNA-Reparatur angehalten werden muss, damit Schäden nicht unrepariert an die Tochterzellen weitergegeben werden.

Das p53-Protein hat eine Vielzahl von Funktionen beim Erhalt der genetischen Stabilität unserer Somazellen. Man nennt es daher auch „Guardian of the Genome“ (Abb. 1.37). In Tumorzellen ist es oft durch Mutationen inaktiviert.

Keimbahnmutationen im **p53-Gen** sind eine Ursache der familiären Häufung von Krebserkrankungen (**Li-Fraumeni-Syndrom**, s.S.538). In diesen Familien treten schon in jungen Jahren ganz unterschiedliche Arten von Leukämien und Tumoren auf.

Mutationen im **ATM-Gen** machen Menschen hoch empfindlich gegenüber **ionisierender Strahlung**, da die Erkennung und Reparatur von DNA-Strangbrüchen nicht mehr richtig funktioniert. Dadurch kommt es auch zu Störungen des Immunsystems und dem vermehrten Auftreten von lymphoretikulären Neoplasien. Das entsprechende Krankheitsbild ist die **Ataxia telangiectasia** (s.S.100).

Gelingt die Reparatur der DNA-Schäden nicht oder sind die Schäden zu stark, kommt es zum **Zelltod (Apoptose)**.

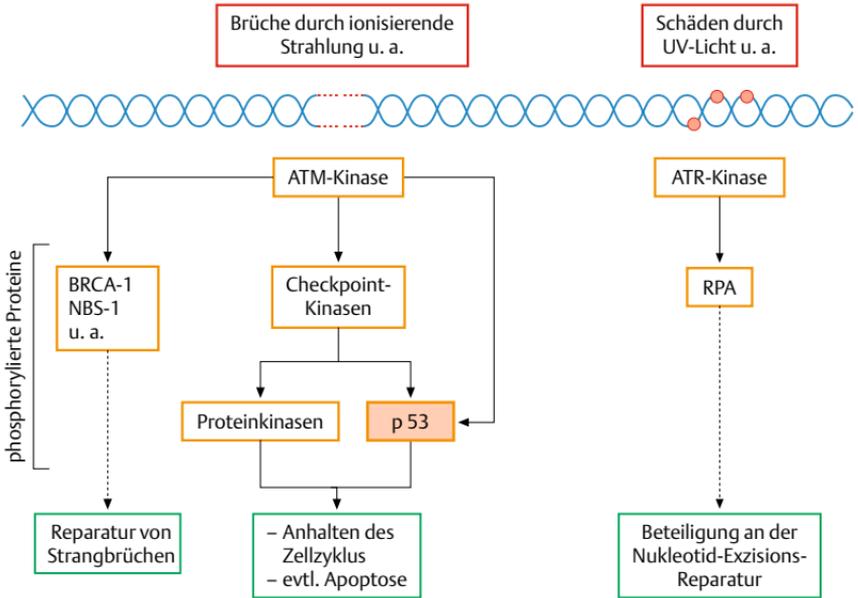


Abb. 1.37 Schadensinduzierte Regulation der Zellproliferation (Checkpoint-Kontrolle).

### 1.5.3 Chromatin-Modifikation als Voraussetzung für DNA-Reparatur

Damit die geschädigte DNA repariert werden kann, müssen die DNA-Reparaturproteine **Zugang zur DNA** erhalten.

Da die DNA-Doppelhelix um Nucleosomen gewunden und in Form von Chromatinfibrillen verpackt ist, muss zunächst eine Änderung der Chromatin-Verpackung erfolgen. Zur Vorbereitung der postreplikativen Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen erfolgt die Phosphorylierung der **Histone H2A** und **H2AX**. Durch diese posttranslationelle Modifikation kommt es u. a. zur Rekrutierung der Cohesine, welche die Schwester-Chromatiden zusammenhalten und damit Schadensbehebung auf dem Wege der Rekombinationsreparatur ermöglichen.

Die Modifikation des Chromatins geschieht durch **Histon-Acetylierung**, **Histon-Phosphorylierung** und **ADP-Ribosylierung**.

Die Veränderungen des Chromatins und der DNA-Doppelhelix bei Replikation (s. S. 15), Transkription (s. S. 21) und DNA-Reparatur sind prinzipiell ähnlich. Deshalb verwundert es nicht, dass die beteiligten Protein-Komplexe zum Teil aus identischen Komponenten bestehen. Dies gilt teilweise auch für die Protein-Komplexe, die die Enden der Chromosomen (Telomere, s. S. 146) stabil halten.

Die schadensinduzierten Chromatinveränderungen sowie die Rekrutierung der Reparatur-Protein-Komplexe sind im Zellkern als sogenannte **Kern-Foci** lichtmikroskopisch nachweisbar. Diese Kern-Foci reflektieren die DNA-Reparaturaktivität einer Zelle.

### 1.5.4 DNA-Reparatur in Säugerzellen

Abb. 1.38 fasst die in Säugerzellen verfügbaren DNA-Reparatursysteme zusammen. Welches der verschiedenen Systeme jeweils aktiviert wird, hängt von der Ursache und Art des DNA-Schadens ab.

#### Reversions-Reparatur (RER)

Bei der **Reversions-Reparatur** (Abb. 1.38) wird die modifizierte Base in **einem** Schritt in die Ursprungsform zurückkonvertiert.

Diese seltene Reparaturart wird auch „**direkte**“ **DNA-Reparatur** genannt, weil sie ohne Zwischenschritte erfolgt. **Alkylierende Verbindungen** bzw. deren reaktive Stoffwechselprodukte können Nukleotide der DNA an verschiedenen Positionen methylieren oder ethylieren. Die dadurch veränderten Eigenschaften der Basen führen zu Fehlpaarungen. So kann zum Beispiel **O<sup>6</sup>-Methylguanin** statt mit Cytosin mit Thymin und **O<sup>4</sup>-Methylthymin** statt mit Adenin mit Guanin paaren. Ein wichtiges Enzym für die Rückkonvertierung ist die **O<sup>6</sup>-Methylguanin-Methyltransferase** (MGMT), die die Methyl-Gruppe von alkyliertem Guanin und Thymin entfernt und dadurch selbst inaktiviert wird.

#### Basen-Exzisions-Reparatur (BER)

Die **Basen-Exzisions-Reparatur** (Abb. 1.38) ist die bevorzugte Reparaturart für **oxidativ veränderte** oder **alkylierte DNA-Basen** und erfolgt in mehreren Schritten.

Diese oxidativen Schäden können endogen (spontan), bei Entzündungsprozessen oder durch exogene Faktoren (z. B. ionisierende Strahlung) entstehen. Bisher sind über 100 verschiedene durch Oxidation bedingte DNA-Modifikationen bekannt. Eine der häufigsten ist die Modifikation der Purinbase **Guanin** (s. S. 71). Das oxi-

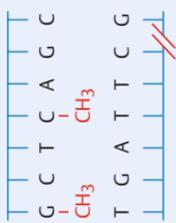
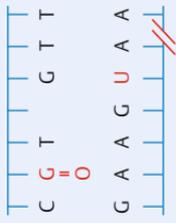
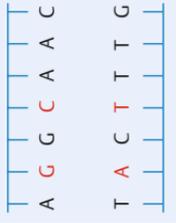
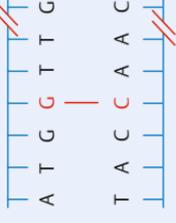
<b>Ursache des DNA-Schadens</b>	Alkylanzien, UV-Strahlung 	reaktive Sauerstoffspezies, ionisierende Strahlung, Alkylanzien 	Replikationsfehler; hydrolytische Deaminierung von 5-Methylcytosin 	UV-Strahlung, polyzyklische Kohlenwasserstoffe 	ionisierende Strahlung, DNA-Crosslinkers, Zytostatika (z. B. Cisplatin, Mitomycin) 
<b>Art des DNA-Schadens (Beispiele)</b>	O6-Methylguanin O4-Methylthymin 3-Methylcytosin Einzelstrangbrüche	7, 8-Dihydro-8-Oxoguanin AP-Stellen Einzelstrangbrüche Uracil	A-C- oder T-C Fehlpaarungen Insertionen Deletionen	Pyrimidin-Dimere DNA-Addukte („bulky adducts“)	Doppelstrangbrüche Inter-Strang-Vernetzungen
<b>Art der DNA-Reparatur</b>	Reversionsreparatur <b>(RER)</b>	Basen-Exzisions-Reparatur <b>(BER)</b>	Mismatch-Reparatur <b>(MMR)</b>	Nukleotid-Exzisions-Reparatur <b>(NER)</b>	Rekombinations-Reparatur <b>(RR: HR, NHEJ)</b>
<b>beteiligte Gene (Auswahl)</b>	MGMT	ADPRT, APTX1, FEN1, LIG1, NEIL1, NEIL2, HOGG1, PCNA, UNG2, XRCC1, TDPI, MUTYH	hMLH1, hMLH3, hMSH1, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1, hPMS2	CKN1, ERCC1 – 6, RAD23a, RAD23b, RPA1, RPA3, XPA-XPF, CSA, CSB, TTD1	BRCA1/2 FANCA-P MRE11A, NBS1, RAD50, RAD51, RAD51C, RAD51L1, RAD52, RAD54L, XRCC2 – 5, LIG4, Ku70, Ku80

Abb. 1.38 Möglichkeiten der DNA-Reparatur in Säugerzellen.

dativ modifizierte **8-Oxoguanin (8-OHdG)** führt zur Fehlpaarung mit Adenin. Dadurch wird ein GC-Paar durch ein AT-Paar ersetzt.

Diese sogenannte **GC→AT-Transversion** ist eine der häufigsten mutagenen Veränderungen der menschlichen DNA.

**Apurin-Stellen** (AP-Stellen, s. S. 66) gehören zu den häufigsten und potenziell gefährlichsten DNA-Läsionen. Mehr als 10 000 solcher Läsionen entstehen pro Zelle und Tag. Zusätzlich entstehen täglich ca. 400 **Apyrimidin-Stellen** im Genom jeder somatischen Zelle. Dies geschieht meist durch eine Deaminierung von Cytosin, was zur Bildung von Uracil führt. Uracil wird als falsche Base von der **Uracil-DNA-Glykosylase** erkannt und von dieser herausgeschnitten. Dadurch entsteht die Apyrimidin-Stelle.

Die BER erfolgt im sogenannten **Short-Patch-Weg** in mehreren Schritten unter Beteiligung verschiedener DNA-Glykosylasen. Die Reparatur des 8-OHdG erfolgt zum Beispiel durch das Reparaturenzym 8-Oxoguanin-Glykosylase I (*OGG1*). Es wird vermutet, dass bestimmte Krebsrisiken (z. B. für **nasopharyngeale Karzinome**, **Ösophaguskarzinom**, **Lungen-** und **Prostatakarzinom**) von der Aktivität des BER-Reparaturenzym *hOGG1* beeinflusst werden.

Außerdem existiert ein sogenannter **Long-Patch-Weg** der BER, bei der die DNA-Polymerase  $\beta$  mehrere Nukleotide über die AP-Stelle hinweg synthetisiert.

Von BER-Defekten betroffene Patienten zeigen variable neurologische Symptomatik. Das Krebsrisiko ist nur bei Defekten des *MUTYH*-Gens erhöht (Tab. 1.7).

Tab. 1.7 Klinische Manifestationen von Defekten in Komponenten der Basen-Exzisions-Reparatur (BER)

Erkrankung	Erbgang	Gensymbol	Neoplasie	sonst. Defekte
Sonderform des familiären kolorektalen Ca	AR	MYTH (Glycosylase)	kolorektales Karzinom	assoziierte Tumoren
Ataxia-oculomotor-apraxia-Syndrom (AOA1)	AR	APTX (aprataxin)	kein erhöhtes Krebsrisiko	zerebelläre Atrophie kognitive Defekte neurol. Defekte
spinozerebelläre Ataxie mit axonaler Neuropathie	AR	TDP1 (Tyrosyl-DNA-Phosphodiesterase)	kein erhöhtes Krebsrisiko	zerebelläre Atrophie periphere Neuropathie Hypoalbuminämie

AR = autosomal rezessiv