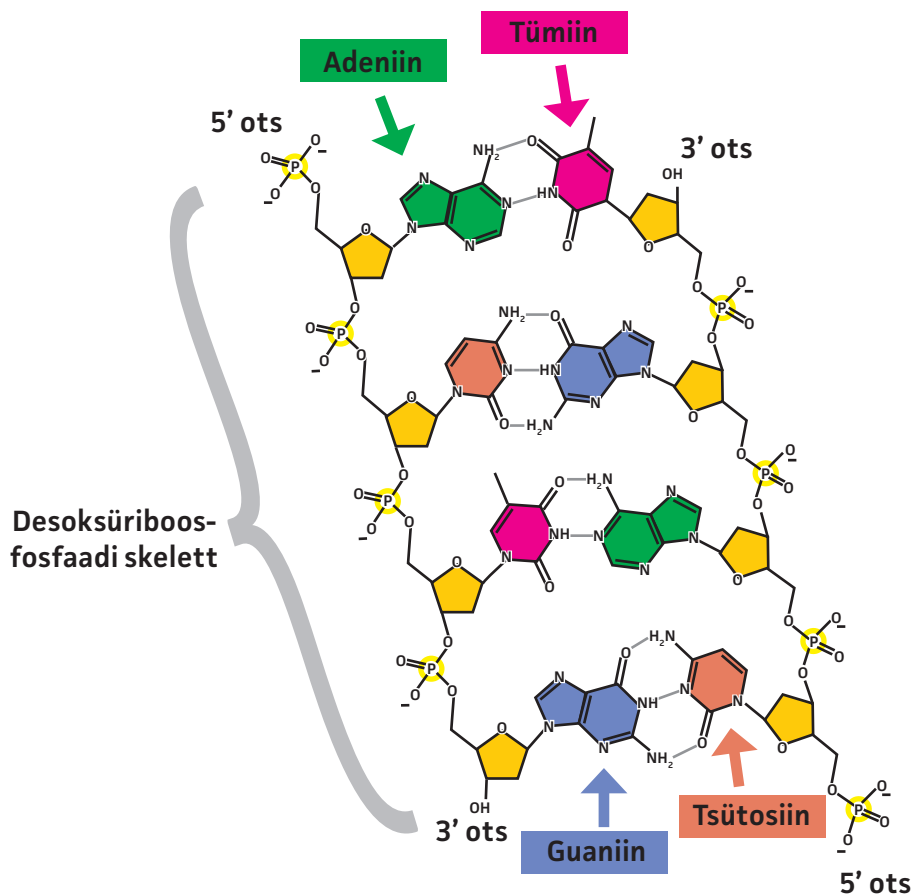


Nobeli preemia vigade paranduse eest

Toivo Maimets – TÜ molekulaar- ja rakubioloogia instituut

2015. aasta Nobeli keemiaauhinna pälvisid Tomas Lindahl (Francis Cricki instituut ja Clare Halli laboratoorium, Hertfordshire, Ühendkuningriik), Paul Modrich (Howard Hughesi meditsiiniinstituut ja Duke Ülikooli meditsiiniikool, Durham, USA) ja Aziz Sancar (Põhja-Carolina ülikool, Chapel Hill, USA) seletuse eest, kuidas rakk parandab oma DNAd ning säilitab seega geneetilise info püsivuse läbi raku- ja inim põlvkondade.

Desoksüribonukleiinhape (DNA) on oluline bioloogiline ressurss, mida elusorganismid kasutavad mitmesugustes geneetilistes ja arenguprotsessides. See on eelkõige inforessurs: DNA nelja tähe (A, T, C ja G) kombinatsioonides on kirjas palju valiku- võimalusi, mida rakk oma muutuvateks eluvajadusteks kasutada saab. Keemilises mõttes on need tähed tegelikult lämmastikalustest (vastavalt adeniin, tümiin, tsütosiin ja guaniin) ning desoksüriboosist koosnevad



Joonis. DNA koosneb fosfodietersidemete ühendatud nukleotiididest. Nukleotiidid on nelja tüüpi ning nad erinevad oma lämmastikaluste poolest. DNAs on tavaliselt kaks ahelat, mis on antiparalleelsed (üks ahel on suunas 3'-st 5'-ni, teine vastupidi). Ahelad seisavad koos tänu lämmastikaluste paardumisele vesiniksidemete kaudu (A + T ja C + G).

nukleotiidid, mis on omavahel fosfodiester-sidemetega ühendatud (vt joonis 1). Sellise ühenduse tulemuseks on nukleotiidne ahel. DNA koosneb tavaliselt kahest ahelast ning need ühinevad nii, et A paardub T-ga ning C paardub G-ga.

Kui James Watson ja Francis Crick oma kuulsas 1953. aastal ajakirjas Nature ilmunud artiklis esimest korda DNA struktuuri kirjeldasid, siis nentisid nad: „Meie tähelepanu alt ei ole välja jäänud ka asjaolu, et meie postuleeritud spetsiifiline paardumine pakub kohe välja ka geneetilise materjali võimaliku kopeerimise mehhanismi”. Tõepoolest, just tänu lämmastikaluste paardumisele on võimalik üha uute DNA-ahelate süntees (replikatsioon), mis kopeerib kogu algse DNA info uutesse rakkudesse.

Selliseid kopeerimisi on aga väga palju. Inimlik arvatakse olevat umbes 200 000 aastat vana, seega umbes 7000–8000 põlvkonda. Erinevate inimeste DNA ei erine aga üle 0,5 protsendi, järelikult on need tuhanded kopeerimised toimunud ülima täpsusega.

Veelgi enam. Inimene on tekkinud ühest ainsast rakust, s.o viljastatud munarakust tänu väga paljudele rakkude pooldumistele, mille üheks eeltingimuseks on DNA kopeerimine. Täiskasvanud inimene koosneb umbes 3×10^{13} rakust ning ehkki teatud erinevusi (mutatsioone) on isiku eri rakkude DNAs olemas, on nende suhtarv väga väike. Enamasti on kõigis rakkudes üsna täpne koopias algse viljastatud munaraku DNAs.

Kõik bioloogilised protsessid teevad veidi vigu ja teisiti ei ole see ka DNA kopeerimise puhul. Samas on teada, et elu jooksul mõjutab DNAd hulk kahjustavaid tegureid, näiteks kiirgused, kemikaalid ning hapniku ainevahetuse üliaktiivsed vahe- ja kõrvalproduktid. Kuidas saab siis olla, et hoolimata igapäevasest kahjulikust keskkonnast ja tohutust hulgast DNA kopeerimise aktidest on DNA molekuli nukleotiidne järjestus ikkagi säilinud üsna muutumatuna nii evolutsiooni vältel kui ka üksiku inimese rakkudes?

Just sellele küsimusele andsid vastuse kolm meest, keda sel aastal pärjati Nobeli keemiaauhinna. Tomas Lindahl, Paul Modrich ja Aziz Sancar pälvisid auhinna seletuse eest, kuidas rakk parandab oma DNAd ning säilitab seega geneetilise info püsivuse läbi raku- ja inim põlvkondade.

DNA parandamine lämmastikaluste väljavahetamise teel (BER)

1960. aastatel leidis Tomas Lindahl, et DNA ei olegi nii püsiv aine, nagu varem oli arvatud. Nagu kõigi teiste polümeersete biomolekulidega, toimub aja jooksul ka DNAs mitmesuguseid keemilisi muutusi.

Lindahl uuris lähemalt protsessi, mille käigus bakterite tsütosiin (C) kaotab oma aminorühma. Selline muudatus tekitab vale paardumise: selle asemel et paarduda guaniiniga (G), paardub muutunud tsütosiin adeniiniga (A). Tulemuseks on aga mutatsioon järgmises replikatsiooniringis: algse C asemel pannakse sellesse kohta T (kuna just see on A paariline). Lindahl sai aru, et bakteritel peab olema mingi mehhanism, millega selliseid vigu parandada, sest vastasel korral kuhjuks mutatsioonid suure kiirusega ja organism häviks õige pea. Järgmiste aastakümnete jooksul õnnestuski tal näidata, et bakteris töötavad erilised ensüümid, mis käivitavad vale lämmastikaluse väljalõikamise DNA-ahelast ja selle asendamise korrektse lämmastikalusega. Osutus, et BERi kaudne parandamismehhanism on evolutsioonis väga konserveerunud ning töötab nii bakteri kui ka inimese rakkudes.

Fotoreaktivatsioon

Juba ammu oli teada, et ultraviolettkiirgus (UV) tekitab DNA kahjustusi eriti aktiivselt. Aastakümneid on tsiteeritud Rootsi statistikat, mille kohaselt suurenes seal nahakasvajate esinemissagedus tunduvalt pärast seda, kui inimesed hakkasid nn päikesereisidel käima. On selge, et rakkudel peavad ka selliste kahjustuste parandamiseks mingid mehhanismid olema, ehkki nad ilmselt ei suuda kahjustusi sajabrotseendilisel vältida.

Türgis sündinud ja põhiliselt USAs oma teadustöö teinud Aziz Sancar tähelepanu köitis üks huvitav nähtus. Kui bakterirakke kiiritada UV surmava doosiga, siis pärast sinise valguse näitamist õnnestus neist paljudel taas ellu ärgata ja paljuneda. Juba enne Sancar näitasid uurijad, et UV tekitatud kahjustuste parandamine on ensümaatiline protsess. Sancar leidis aga üles geeni, mis selle funktsiooni eest vastutas: geeni produktiks oli ensüüm fotolüaas. Samas aga selgus, et inimeses selline mehhanism ei tööta ning ehkki ka inimesel on fotolüaasisarnane geen, tegeleb



Tomas Lindahl



Paul Modrich



Aziz Sancar

see hoopiski ööpäevaste valgusrütmide koordineerimisega. UV-kahjustusi parandab inimese rakkudes teistsugune parandamisüsteem, s.o NER.

DNA parandamine nukleotiidide väljavahetamise teel (NER)

1970. aastateks oli selge, et bakteritel on alternatiivne UV-kahjustuste parandamise mehhanism, mis töötab nii valgus kui ka pimedas. Üks tavalisemaid UVst tingitud kahjustusi on tümiini dimeeride T-T teke, need aga peatavad DNA replikatsiooni ja seega rakkude paljunemise. Sancar näitas, et sellise kahjustuse likvideerimisel osalevad kolm ensüümi – uvrA, uvrB ja uvrC –, mis esmalt leiavad üles kahjustatud kohta, siis lõikavad DNA-ahela kahelt poolt kahjustatud kohta katki ning eemaldavad (koos kahjustusega) 12–13 nukleotiidi pikkuse DNA-lõigu. Seejärel asendatakse puuduv DNA-ahel replikatsiooniga, mis võtab aluseks teise, kahjustamata DNA-ahela info. Erinevalt BERi mehhanismist ei asendata siin seega üksikut lämmastikalust, vaid koguni 12–13 nukleotiidi. Niisugune nukleotiidide väljalõikamise parandusmehhanism (NER) töötab erinevate modifikatsioonidega kõigis organismides, kaasa arvatud inimese rakkudes.

Valede paardumiste parandamine

Paul Modrich alustas oma teadustööd mitmesuguste ensüümide uurimisega, mis DNA replikatsiooni läbi viivad. DNA polümeraas sünteesib uusi ahelaid, lähtudes olemasoleva ahela infost (nukleotiidsest järjestusest). Ehkki kopeerimine on üsna täpne, ei ole polümeraas veatu – keskmiselt iga paarisaja tuhande nukleotiidi kohta teeb polümeraas vea ja asetab ahelasse vale nukleotiidi. Tulemuseks on nukleotiidide vale paardumine ning tekkinud viga, juhul kui seda ei parandata, kandub mutatsioonina edasi järgmistesse rakupõlvkondadesse. Kui arvestada, et inimese DNA koosneb 3×10^9 nukleotiidist, siis võiks iga järgmine rakupõlvkond saada kaasa tuhat-

kond vigast nukleotiidi ehk mutatsiooni. Ometigi see nii ei ole – Modrichi avastatud vigade parandamise mehhanism korrigeerib neist absoluutse enamiku (ehk vähemalt 99,9%). Selleks on rakkudes taas olemas spetsiifilised ensüümid, mis valepaardumise ära tunnevad ja vigasest ahelast jupi välja lõikavad. Siis asendab DNA polümeraas puuduva lõigu jällegi õige järjestusega.

Miks aga mõni üksik viga (0,1%) parandamata jääb? Nii nagu DNA sünteesi ensüümid, ei ole ka DNA parandamise ensüümid täiesti veatud. Evolutsiooni seisukohalt on see aga väga hea – väike hulk mutatsioone igas uues põlvkonnas loob bioloogilist mitmekesisust, millest looduslik valik iga elukeskkonna jaoks parimaid välja sõelub.

Kirjeldatud parandusmehhanismid töötavad igapäevaselt, korrigeerides tuhandeid vigu, mida päikesekiirgus, sigaretsuits ja paljud muud genotoksilised ained tekitavad. Samuti parandavad nad vigu, mis tekivad DNA info edasikandmisel uutesse rakupõlvkondadesse. Kui need mehhanismid korralikult ei tööta, on tulemuseks mitmesugused rasked haigused. Näiteks tekitab NERi pärilik defekt haiguse *Xeroderma pigmentosum*, mille puhul on patsiendid erakordselt tundlikud UV-kiirguse suhtes ning päikesekiirgus põhjustab neil väga sageli kasvajate tekke. Valepaardumise vigane kontroll aga näiteks suurendab oluliselt jämesoolekasvajasse haigestumise riski. Just vähirakkudes on DNA parandamise mehhanismid tihti vigased ja see muudabki rakud kontrollimatuks ning tihti ka ravi suhtes resistentseks. Teisalt on aga seda puudujääki kasutatud ka kasvajatest lahtisaamiseks. Kui kasvajarakkude niigi vigast DNA parandamise süsteemi veelgi rohkem häirida, näiteks ravimiga Olaparib (kasutatakse mutantse geeniga BRCA muna-sarjavähi puhul), siis hukuvad vähirakud tohutu hulga vigade kuhjumise tõttu.

Seega on tänavusel Nobeli preemial lisaks erakordsele tähtsusele fundamentaalteaduse vallas ka palju olulisi praktilisi rakendusi.