

DNA-reparation – en grund för livets kemiska stabilitet

*Från cell till cell, från generation till generation. Den genetiska informationen för hur en människa ska se ut har flödat genom våra kroppar under hundratusentals år. Den utsätts ständigt för angrepp från omgivningen, ändå håller den sig förvånansvärt intakt. **Tomas Lindahl, Paul Modrich och Aziz Sancar** belönas med 2015 års Nobelpris i kemi för att de har kartlagt hur cellen felsäkrar den genetiska informationen och reparerar sitt DNA.*

Grunden till det som är du formades en gång när 23 kromosomer från en spermie smälte samman med 23 kromosomer från en äggcell. Tillsammans bildade de originalet till din arvs massa. All genetisk information som har krävts för att skapa dig låg däri. Om någon hade dragit ut DNA-molekylerna ur denna första cell, och lagt dem på rad, hade hen kunnat mäta upp en sträcka om två meter.

När det befruktade ägget sedan delade sig kopierades DNA-molekylerna, så att även dottercellen fick en uppsättning kromosomer. Därefter delade sig cellerna ännu en gång. Två blev till fyra, och sedan till åtta. Efter din första vecka bestod du av cirka 128 celler, alla med en egen uppsättning arvs massa. Den totala längden på ditt DNA började närma sig 300 meter.

Idag – väldigt många miljarder celldelningar senare – når ditt DNA till solen, fram och tillbaka, 250 gånger. På ett ungefär. Det märkliga är att trots att vår arvs massa har kopierats så många gånger, är den senast framställda kopian väldigt lik det original som en gång formades i det befruktade ägget. Här visar livets molekyler sin storhet, för utifrån ett kemiskt perspektiv borde det vara omöjligt. I alla kemiska processer uppstår slumpmässiga felaktigheter. Dessutom utsätts din arvs massa dagligen för strålning och reaktiva molekyler som skadar DNA. Faktum är att du borde ha varit ett kemiskt kaos redan innan du ens hann bli ett foster.

Ditt DNA övervakas av en svärm av proteiner

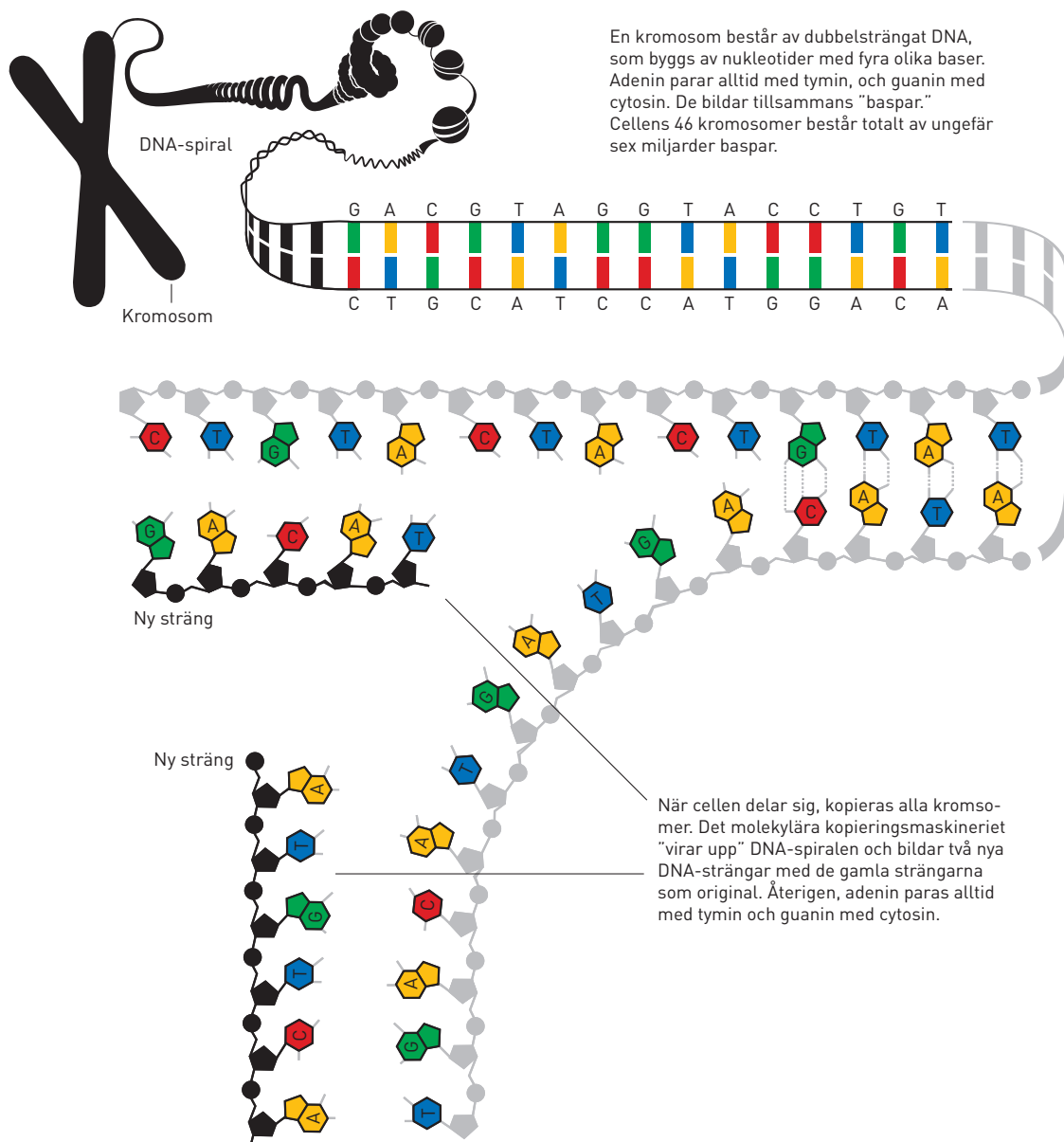
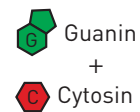
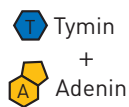
Det som år ut och år in håller vårt DNA förunderligt intakt är en rad molekyllära reparationsmekanismer. En svärm av proteiner övervakar arvs massan. De korrekturläser kontinuerligt den genetiska koden och lagar skador som uppstår. 2015 års Nobelpris i kemi går till Tomas Lindahl, Paul Modrich och Aziz Sancar för att de på molekyllär detaljnivå har kartlagt dessa fundamentala processer. Deras systematiska arbeten har på ett avgörande vis bidragit till förståelsen av hur den levande cellen fungerar, samtidigt har de lett till kunskap om vad som orsakar flera ärftliga sjukdomar och om mekanismer bakom åldrande och cancer.

Tomas Lindahl, Paul Modrich och Aziz Sancar har oberoende av varandra kartlagt flera för människan relevanta mekanismer för DNA-reparation. Historien börjar med Tomas Lindahl, född i samma land som Alfred Nobel.

Livet finns – alltså måste DNA kunna repareras

”Hur stabilt är egentligen DNA?” Den frågan ställde sig Tomas Lindahl mot slutet av 1960-talet. På den tiden antog forskarvärlden att DNA-molekylen – som ju utgör grunden för allt liv – var extremt beständig. Allt annat var otänkbart. Evolution kräver visserligen mutationer, men endast några få per generation. Om den genetiska informationen var för labil skulle inga flercelliga organismer kunna finnas.

Arvsmassans uppbyggnad



Tomas Lindahl arbetade som postdoktor vid Princeton University, USA, med en molekylär kusin till DNA, den så kallade RNA-molekylen. Det gick allt annat än bra. Experimentet krävde att han värmdes RNA, men det ledde obönhörligen till att molekylerna snabbt bröts ner. Det var ett känt faktum att RNA var mer känsligt än DNA. Men om RNA förstördes så fort av bara lite värme – kunde då verkligen DNA-molekyler vara stabila under ett helt liv? Den frågan landade i Tomas Lindahls hjärna.

Det dröjde några år innan han började söka svaret på frågan. Då hade han flyttat hem till Sverige igen, till Karolinska Institutet i Stockholm. Några enkla försök visade att han hade fog för sina misstankar. DNA genomgick en långsam, men ändå tydlig förändring. Tomas Lindahl uppskattade att det uppstod tusentals potentiellt förödande skador på arvmassan varje dag, en frekvens som utan tvivel var oförenlig med människans existens på jorden. Slutsatsen blev att det måste finnas molekylära system som lagar alla dessa skavanker på DNA. Och med den tanken öppnade Tomas Lindahl dörren till ett nytt forskningsområde.

Skador på DNA avlägsnas av speciella enzymer

Med hjälp av bakteriers DNA, vilket precis som mänskligt DNA byggs av nukleotider med baserna adenin, guanin, cytosin och tymin, började Tomas Lindahl söka efter reparationsenzymer. En kemisk svaghet hos DNA är att cytosin lätt tappar en så kallad aminogrupp, vilket i sin tur kan förändra den genetiska informationen. I DNA:s dubbelsträngade kedja paras alltid cytosin med guanin, men när aminogruppen försvinner parar sig den skadade resten hellre till adenin. Får felet finnas kvar kommer alltså en mutation att uppstå nästa gång DNA kopieras. Tomas Lindahl insåg att cellen måste ha ett försvar mot detta och han lyckades identifiera ett bakteriellt enzym som avlägsnade den skadade delen av cytosin. Han publicerade upptäckten 1974.

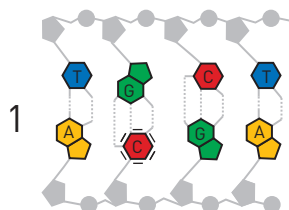
Tomas Lindahl lägger pusslet kring base excision repair

Detta var början på 35 års framgångsrikt arbete, där Tomas Lindahl har hittat och utforskat många av de proteiner som finns i cellens verktygslåda för DNA-reparation. I början av 1980-talet förde kärleken honom till Storbritannien, där han fick en tjänst vid Imperial Cancer Research Fund i London. 1986 blev han chef vid det nygrundade Clare Hall Laboratory, sedermera känt för sin kreativa forskning. Bit för bit fogade Tomas Lindahl ihop den molekylära bilden av hur *base excision repair* fungerar, där *glykosylaser*, enzymer liknande det han hittade 1974, utgör första steget i DNA-reparationen. *Base excision repair* pågår även i oss människor och 1996 lyckades Tomas Lindahl återskapa den humana reparationsprocessen i ett provrör.

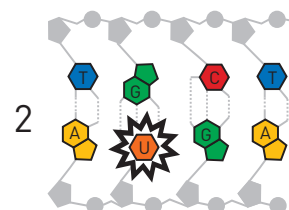
Avgörande för Tomas Lindahl var alltså att han insåg att DNA oundvikligen förändras, även när molekylen befinner sig i cellens milda och skyddande miljö. Att DNA kan skadas av angrepp från omgivningen, till exempel av UV-strålning, var dock känt sedan länge. Den mekanism som majoriteten av alla celler använder sig av för att laga UV-skador, *nucleotide excision repair*, har kartlagts av Aziz Sançar, född i Savur, Turkiet, och verksam i USA.

Base excision repair

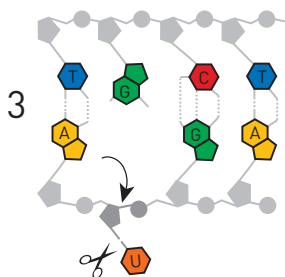
Base excision repair lagar DNA när någon bas har tagit skada, exempelvis cytosin.



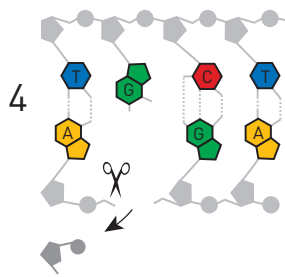
1 Cytosin kan lätt tappa en aminogrupp, då bildas istället en bas som kallas uracil.



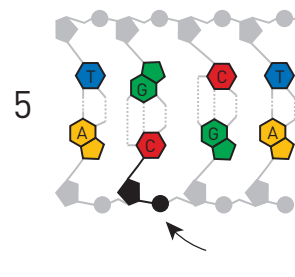
2 Uracil kan inte forma ett baspar med guanin.



3 Ett enzym, glykosylas, känner av felaktigheten och klyver bort basen i uracil.



4 Ett par andra enzymer avlägsnar resten av nukleotiden från DNA-kedjan.



5 Hålet fylls igen av DNA-polymeras och kedjan klistras ihop av DNA-ligas.

Biokemi lockade mer än livet som läkare

Aziz Sancars fascination för livets molekyler väcktes när han utbildade sig till läkare i Istanbul. Efter examen arbetade han under ett par år som doktor på den turkiska landsbygden, men 1973 beslöt han sig för att studera biokemi. Det var speciellt ett fenomen som fängade hans intresse: när bakterier utsätts för en dödlig dos UV-strålning kan de plötsligt återhämta sig om man lyser på dem med synligt blått ljus. Aziz Sancar blev nyfiken på den nästan magiska effekten. Hur fungerade den rent kemiskt?

Amerikanen Claud Rupert hade studerat fenomenet och till hans laboratorium vid University of Texas i Dallas, USA, sökte sig Aziz Sancar. Med dåtidens trubbiga molekylärbioologiska redskap lyckades han 1976 kлона genen för det enzym som lagar DNA-skadorna, *photolyas*, och även få bakterier att överproducera enzymet. På detta arbete disputerade han, men omgivningen var måttligt imponerad. På tre ansökningar om postdoktortjänster blev det lika många nekande svar. Studierna av fotolyas fick läggas på hyllan. För att ändå kunna fortsätta arbeta med DNA-reparation tog Aziz Sancar istället anställning som tekniker på ett laboratorium vid Yale University School of Medicine, som var framstående på området. Som tekniker påbörjade han sedan det arbete som skulle leda fram till Nobelpriset i kemi.

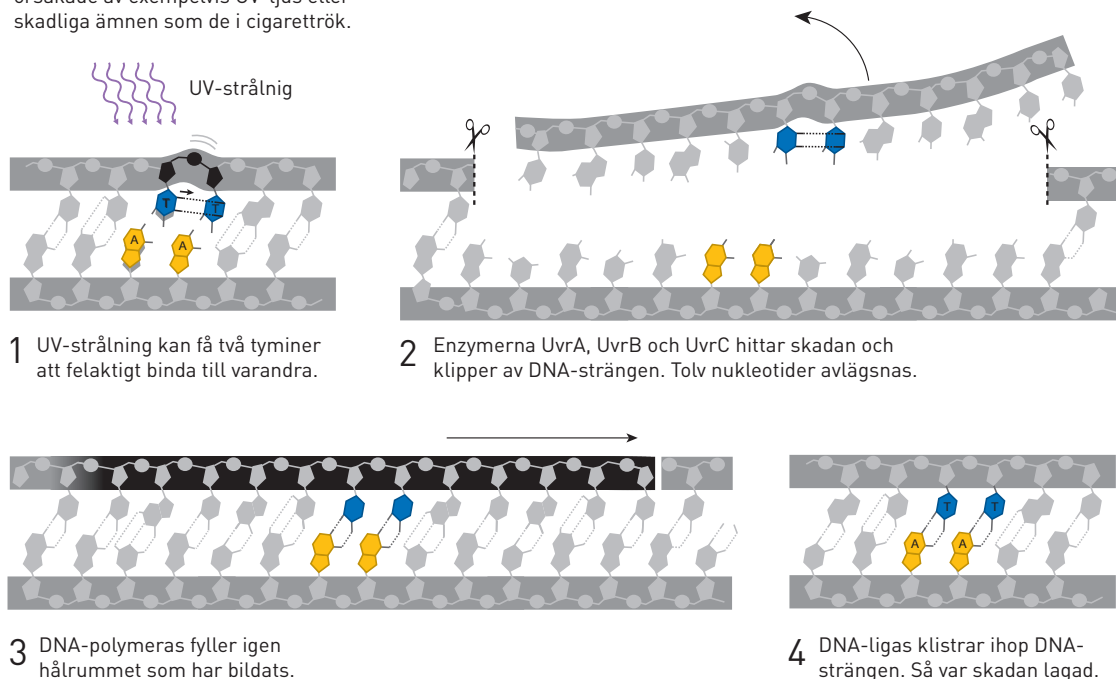
Aziz Sancar - ett detektivarbete kring hur cellen lagar UV-skador

Vid den här tiden stod det klart att bakterier har två system för reparation av UV-skador; utöver det ljusberoende fotolyaset hittade man även ett system som fungerar i mörker. Aziz Sancars nya kollegor vid Yale hade sedan mitten av 1960-talet studerat detta mörka system, bland annat med hjälp av tre UV-känsliga bakteriestammar som bar på tre olika genetiska mutationer: *uvrA*, *uvrB* och *uvrC*.

Precis som med fotolyas började nu Aziz Sancar utforska det mörka systemets molekylära maskineri. Inom loppet av några år lyckades han identifiera, isolera och karaktärisera de enzymer som generna *uvrA*, *uvrB* och *uvrC* kodar för. Genom banbrytande provrörsförsök visade han att dessa enzymer kan identifiera UV-skador och att de sedan gör två klipp i DNA-strängen, ett på varje sida av skadan. Sedan avlägsnas en bit DNA om 12-13 nukleotider som omfattar skadan.

Nucleotide excision repair

Nucleotide excision repair lagar DNA-skador orsakade av exempelvis UV-ljus eller skadliga ämnen som de i cigaretrök.



Människors och bakteriers UV-skador lagas på liknande vis

Aziz Sancars förmåga att skaffa kunskap om processens molekylära detaljer förändrade hela forskningsområdet. Han publicerade sitt arbete 1983. Framstegen ledde till ett erbjudande om en lektorstjänst i biokemi vid University of North Carolina i Chapel Hill. Där kartlade han med samma precision resten av stegen i *nucleotide excision repair*. Parallellt med andra forskare, bland annat Tomas Lindahl, undersökte Aziz Sancar även *nucleotide excision repair* hos människor. Det molekylära maskineri som klyver bort UV-skador från mänskligt DNA är mer komplext i sin uppbyggnad än den bakteriella motsvarigheten, men rent kemiskt fungerar *nucleotide excision repair* på ungefär samma vis i alla organismer.

Hur gick det då med Aziz Sancars första intresse, fotolyas? Jo, han återvände till det och löste mekanismen bakom återupplivningen av bakterierna. Dessutom har han bidragit till upptäckten att en mänsklig motsvarighet till fotolyas hjälper oss att hålla koll på dygnsrytmen.

Nu till Paul Modrich arbete. Även han har utgått från en mycket diffus bild av en reparationsmekanism och sedan mejslat fram eleganta molekylära detaljer.

Bra att lära sig om "DNA-grejer"

Paul Modrich växte upp i en liten stad i norra New Mexiko, USA. Mångfalden i det vidsträckta landskapet väckte hans intresse för naturen, men en dag sa hans far, som var biologilärare: "Du borde lära dig om de där DNA-grejerna." Det var 1963, året efter att James Watson och Francis Crick belönats med Nobelpriset efter avslöjandet av DNA:s struktur.

Några år senare blev verkligheten "de där DNA-grejerna" centrala i Paul Modrichs liv. Under sin tidiga forskarkarriär, som doktorand på Stanford, postdoktor på Harvard och forskarassistent på Duke University, utforskade han

en hel rad enzymer som verkar på DNA: *DNA-ligas*, *DNA-polymeras* och restriktionsenzymet *Eco RI*. När han sedan, mot slutet av 1970-talet, riktade sin uppmärksamhet mot enzymet *Dam-metylas*, snubblade han över ännu en ”DNA-grej” som skulle komma att uppta en stor del av hans forskarkarriär.

Två forskningstrådar vävs in i varandra

Dam-metylas kopplar metylgrupper till DNA. Paul Modrich visade att dessa metylgrupper kan fungera som ett slags riktmärke som hjälpte ett visst restriktionsenzym att klippa av DNA-strängen på rätt ställe. Men bara ett par år tidigare hade Matthew Meselson, molekylärbio­log vid Harvard University, föreslagit en annan signalfunktion för metylgrupperna på DNA.

Genom lite molekylärbio­logiskt trixande hade Meselson konstruerat bakterievirus vars DNA på flera ställen hade en felaktig matchning mellan baserna. A kunde till exempel matchas mot C, istället för mot T. När han sedan lät dessa virus infektera bakterier, rättade bakterierna intressant nog till matchningarna så att de blev korrekta. Ingen visste varför bakterierna hade utvecklat denna funktion, men 1976 spekulerade Meselson bland annat i att det kunde vara en reparationsmekanism som korrigerade de felaktiga matchningar som ibland görs när DNA kopieras. Om så var fallet, menade Meselson vidare, använde kanske bakterier metylgrupperna på DNA för att identifiera vilken sträng de skulle använda som original under korrigeringen. Den nybildade DNA-strängen, den felaktiga kopian, hade ännu inte hunnit bli metylerad. På så vis kunde den kanske kännas igen och rättas?

Här – i metyleringen av DNA – korsades Paul Modrichs och Matthew Meselsons vägar. I ett gemensamt arbete konstruerade de virus med ett antal felaktiga matchningar i sitt DNA. Modrichs *dam-metylas* fick även sätta metylgrupper på den ena DNA-strängen. När dessa virus infekterade bakterier, rättade bakterierna konsekvent till den DNA-sträng som saknade metylgrupper. Slutsatsen blev att *mismatch repair* är en naturlig process där felaktiga matchningar som uppstår under DNA-kopieringen korrigeras och där den defekta kopian känns igen på att den saknar metylering.

Paul Modrich målar bilden av mismatch repair

För Paul Modrich blev detta avsparken för ett decennium av systematiskt arbete, där han klonade och kartlade enzym efter enzym i *mismatch repair*. Mot slutet av 1980-talet hade han kommit så långt att han kunde återskapa och detaljstudera den komplexa molekylära reparationsmekanismen i ett provrör. Detta arbete publicerade han 1989.

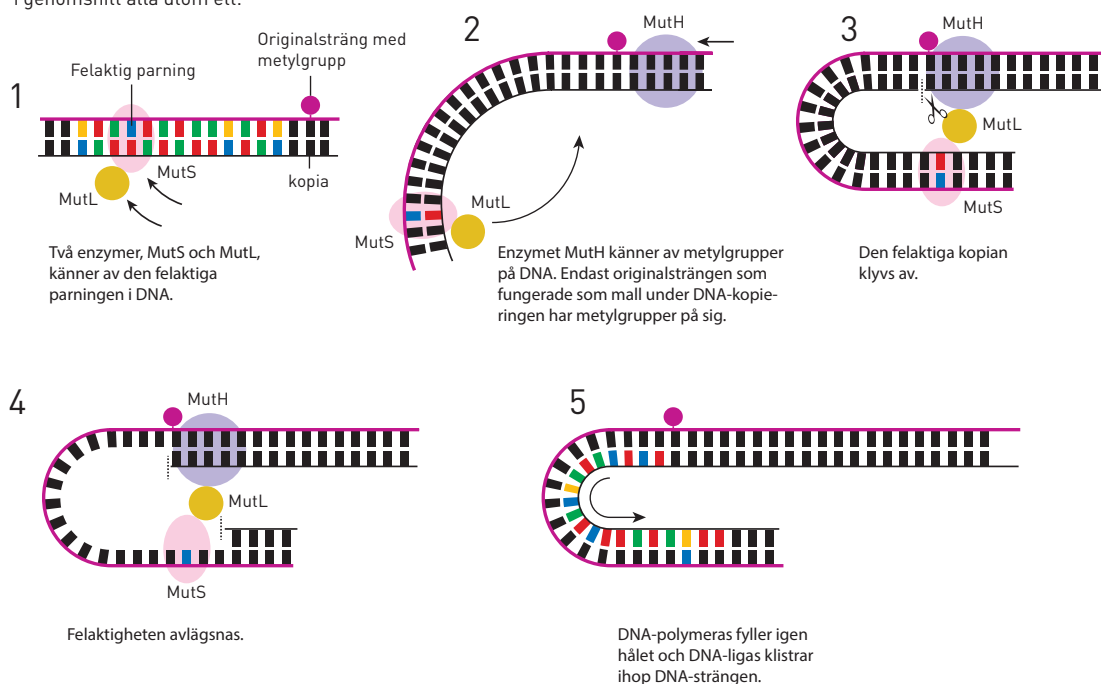
Paul Modrich har också, precis som Tomas Lindahl och Aziz Sancar, studerat den mänskliga varianten av reparations­systemet. Idag vet vi att per tusen fel som uppstår när den mänskliga arvs­massan kopieras, lagar *mismatch repair* i genomsnitt alla utom ett. När det gäller mänsklig *mismatch repair* är det dock ännu oklart hur originalsträngen identifieras. I vår arvs­massa har DNA-metylering andra funktioner än hos bakterier. Något annat måste alltså styra vilken sträng som korrigeras, exakt vad återstår att klarlägga.

Defekter i reparations­systemen orsakar cancer

Förutom *base excision repair*, *nucleotide excision repair* och *mismatch repair* finns flera andra mekanismer som underhåller vårt DNA. De lagar dagligen tusentals DNA-skador orsakade av solen, cigarett­rök eller andra mutagena ämnen; de motverkar kontinuerligt DNA:s spontana förändringar och vid varje celledelning rättar *mismatch repair* ett tusental matchningar som har råkat bli fel. Utan alla dessa reparationsmekanismer skulle vår arvs­massa kollapsa. Det räcker att någon delkomponent fallerar, så förändras den genetiska informationen snabbt och risken för cancer ökar. Medfödda skador i *nucleotide excision repair* orsakar

Mismatch repair

När DNA kopieras under en celledelning blir det ibland fel i parningen mellan nukleotiderna. Av tusen fel som uppstår, lagar mismatch repair i genomsnitt alla utom ett.



specifikt en sjukdom kallad *xeroderma pigmentosum*, där personen blir extremt känslig för UV-ljus och utvecklar hudcancer vid exponering för solljus. Defekter i *mismatch repair* ökar istället risken för bland annat ärftlig tarmcancer.

Faktum är att vid många former av cancer är något eller några av reparationssystemen helt eller delvis utslagna. Det bidrar till att cancercellernas DNA blir instabilt, vilket är en orsak till varför cancerceller lätt muterar och blir motståndskraftiga mot cellgifter. Samtidigt blir också dessa sjuka celler extra beroende av de reparationssystem som fortfarande finns kvar och fungerar; utan dem kommer deras DNA att bli alldeles för skadat och cellerna kommer att självdö. Denna känslighet försöker forskare utnyttja när de utvecklar nya cancerläkemedel. Genom att slå ut kvarvarande reparationssystem kan de bromsa eller helt stoppa cancers tillväxt. Ett exempel på ett läkemedel som hämmar ett reparationssystem hos cancerceller är *olaparib*.

Den förutsättningslösa grundforskning som 2015 år Nobelpristagare i kemi har bedrivit, har alltså inte bara ökat kunskapen om hur vi själva fungerar utan kan även ligga till grund för livräddande behandlingar. Eller som Paul Modrich har uttryckt det: ”Det är därför som nyfikenhetsstyrd forskning är så viktig. Du vet aldrig vart den kommer att leda. . . Lite tur hjälper också.”

LÄNKAR OCH LÄSTIPS

Mer information om årets priser, bland annat en vetenskaplig bakgrundsartikel på engelska, finns på Kungl. Vetenskapsakademiens webbplats, <http://kva.se>, och <http://nobelprize.org>. Där och på <http://kvatv.se> kan man också titta på presskonferenser, Nobelföreläsningar och annat videomaterial. Mer information om utställningar och aktiviteter kring Nobelpriset och Ekonomipriset finns på www.nobelmuseum.se.

Populärvetenskapliga artiklar

Howard Hughes Medical Institute, Biografi Paul Modrich.

<http://www.hhmi.org/scientists/paul-l-modrich>

Weston, K. (2014) Country Life: Repair and Replication. I *Blue Skies and Bench Space: Adventures in Cancer Research*. Long Island, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

<http://blueskiesbenchspace.org/index.php?pag=4>

Zagorski, N. (2005) Profile of Aziz Sancar, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 102(45), 16125–16127.

<http://www.pnas.org/content/102/45/16125.full.pdf>

Video

Howard Hughes Medical Institute (2003) Mismatch repair.

<http://www.hhmi.org/biointeractive/mismatch-repair>

Intervju med T. Lindahl (2015) Cancer Research UK.

https://www.youtube.com/watch?v=FHlnqiEQig0&index=16&list=PL_bJU93S6g0sCs1CQ_eh2o_z7ztU-QkE-

Vetenskapliga artiklar

Lahue, R. S, Au, K. G. och Modrich, P. (1989) DNA Mismatch Correction in a Defined System, *Science*, 245(4914), 160–164.

Lindahl, T. (1974) An N-Glycosidase from Escherichia coli That Releases Free Uracil from DNA Containing Deaminated Cytosine Residues, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71(9), 3649–3653.

Sancar, A. och Rupp, W. D. (1983) A Novel Repair Enzyme: UVRABC Excision Nuclease of Escherichia coli Cuts a DNA Strand on Both Sides of the Damaged Region, *Cell*, 33(1), 249–260.

PRISTAGARE

TOMAS LINDAHL

Svensk medborgare. Född 1938 (77 år) i Stockholm, Sverige. Disputerad 1967 vid Karolinska Institutet, Stockholm, Sverige. Professor i medicinsk och fysiologisk kemi vid Göteborgs universitet 1978–82. Emeritus group leader vid Francis Crick Institute och Emeritus director of Cancer Research UK vid Clare Hall Laboratory, Hertfordshire, Storbritannien.

<http://crick.ac.uk/research/a-z-researchers/emeritus-scientists/tomas-lindahl/>

PAUL MODRICH

Amerikansk medborgare. Född 1946. Fil.dr 1973 vid Stanford University, Stanford, CA, USA. Investigator vid Howard Hughes Medical Institute och James B. Duke Professor of Biochemistry vid Duke University School of Medicine, Durham, NC, USA.

<http://www.biochem.duke.edu/paul-l-modrich-primary>

AZIZ SANCAR

Amerikansk och turkisk medborgare. Född 1946 (69 år) i Savur, Turkiet. Fil.dr 1977 vid University of Texas, Dallas, TX, USA. Sarah Graham Kenan Professor of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC, USA.

<http://www.med.unc.edu/biochem/people/faculty/primary/asancar>