



**КОМІСАРЕНКО**  
Сергій Васильович — академік НАН України, директор Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, svk@biochem.kiev.ua



**РОМАНЮК**  
Світлана Іванівна — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

## ЯК КЛІТИНАМ ВДАЄТЬСЯ ЗБЕРЕГТИ МОЛЕКУЛИ ДНК НЕУШКОДЖЕНИМИ, АБО ЗАВДЯКИ ЧОМУ ІСНУЄ ЖИТТЯ НА ЗЕМЛІ?

**Нобелівська премія з хімії 2015 р.**

7 жовтня 2015 р. у столиці Швеції Стокгольмі в рамках проведення 114-го Нобелівського тижня Нобелівським комітетом при Королівській академії наук Швеції в 107-й раз було оголошено імена лауреатів Нобелівської премії з хімії: Томаса Ліндаля (Tomas Lindahl), Пола Модрича (Paul Modric) і Азіза Санджара (Aziz Sancar). Ця нагорода є особливо престижною, оскільки засновник Нобелівських премій — шведський підприємець та винахідник Альфред Нобель (1833–1896) сам був хіміком і заробив свої статки завдяки винаходу динаміту. Хімія стала другою наукою після фізики, згаданою ним у заповіті.

**Ключові слова:** ушкодження ДНК, системи репарації ДНК, Нобелівська премія.

Напередодні оголошення рішення Нобелівського комітету компанія Thomson Reuters назвала імена дослідників, які, на їх думку, можуть отримати цю нагороду. Найімовірнішими кандидатами вважалися Еммануель Шарпантьє (Emmanuelle Charpentier) і Дженніфер Дудна (Jennifer A. Doudna) за розроблення методу CRISPR/cas9 для «редагування» геному живого організму, який може бути використаний для лікування генетичних захворювань людини. Премію могла отримати також Каролін Бертоцці (Carolyn R. Bertozzi) за вивчення біортогональних реакцій — хімічних реакцій, що відбуваються безпосередньо в живій клітині і дозволяють модифікувати лише один її певний компонент, не порушуючи при цьому функціонування живої системи. Крім того, за версією Thomson Reuters, шанси стати нобелівськими лауреатами були у Джона Гуденофа (John V. Goodenough) і Стенлі Уїтгінгема (M. Stanley Whittingham), які заклали наукове підґрунтя для розроблення літій-іонних акумуляторів, які зараз використовують практично в усіх сучасних гаджетах [1]. А 2014 року

Нобелівську премію з хімії було присуджено Еріку Бетцигу (Eric Betzig), Вільяму Мернеру (William E. Moerner) і Штефану Хеллю (Stefan W. Hell) за розроблення флуоресцентної мікроскопії надвисокої роздільної здатності, яка дає змогу візуалізувати шляхи окремих молекул усередині живих клітин.

Відкриття сучасної науки все частіше мають міждисциплінарний характер. Саме тому три Нобелівські комітети (з фізики, хімії та фізіології і медицини) проводять спільні засідання для обрання кандидатів. Найчастіше Нобелівську премію з хімії присуджували за дослідження в галузі біохімії (50 разів), органічної хімії (43 рази), фізичної хімії (38 разів), структурної хімії (20 разів) і ядерної хімії (13 разів).

Ось і цього року нобелівськими лауреатами з хімії (170—172 за рахунком) стали троє біохіміків — британець шведського походження *Томас Ліндаль (Tomas Lindahl)*, американець *Пол Модрич (Paul Modrich)* і американець турецького походження *Азіз Санджар (Aziz Sancar)*.

За традицією, секретар Нобелівської асамблеї при Каролінському інституті в Стокгольмі професор Йоран Ханссон оголосив п'ятьма мовами мотивування рішення про нагородження. Цьогорічних лауреатів було удостоєно цієї престижної нагороди за «дослідження процесів відновлення (репарації) пошкодженої ДНК». У формулюванні Нобелівського комітету зазначено, що лауреати розробили «інструментарій, який дозволяє на молекулярному рівні показати, як клітини ремонтують ушкоджену ДНК і зберігають генетичну інформацію» [2]. Оскільки Томас Ліндаль є членом Нобелівського комітету, було оприлюднено спеціальне повідомлення про те, що Ліндаль не брав участі у присудженні собі Нобелівської премії.

Церемонія нагородження лауреатів відбулася у Стокгольмі 10 грудня, в день смерті Альфреда Нобеля. Король Швеції Карл XVI Густав вручив лауреатам дипломи і золоті медалі, створені шведським скульптором Еріком Ліндбергом, а наступного дня Нобелівський фонд перерахував на їх банківські рахунки грошовий еквівалент премії — 8 мільйонів швед-



Томас Ліндаль

ських крон (приблизно \$950 тис.). Цікаво, що Нобелівські медалі з хімії та фізики мають однаковий дизайн. З одного боку на них викарбовано портрет Альфреда Нобеля, а з іншого — зображення Природи у вигляді богині, що підіймається з хмар з рогом достатку в руках, а алегорія Науки піднімає вуаль, що закриває обличчя богині. Напис латиною з поеми Вергілія «Енеїда» *Inventas vitam juvat excoluisse per artes*, що приблизно означає: «І ті, хто поліпшили життя на Землі своєю новознайденою майстерністю».

Хто ж ці щасливчики — цьогорічні лауреати Нобелівської премії з хімії?

77-річний професор біохімії Томас Ліндаль працює у Великій Британії в Інституті Френсіса Кріка в Лондоні та в Лабораторії Клер-Холл у містечку Поттерс-Бар у графстві Хартфордшир. З квітня 2015 р. Лабораторія Клер-Холл є структурним підрозділом Інституту Френсіса Кріка, який після завершення реконструкції в 2016 р. має стати найбільшим біомедичним дослідницьким центром в Європі. Томас Ліндаль народився 28 січня 1938 р. на Кунгсхольмені (Kungsholmen) — одному з островів Стокгольма (Швеція). Він навчався в Каролінському інституті в Стокгольмі, де в 1967 р. здобув PhD ступінь, а в 1970 р. — ступінь доктора ме-



Пол Лоуренс Модрич

дичних наук (MD). Після одержання ступеня PhD Томас Ліндаль переїхав до США, де працював у Принстонському університеті (штат Нью-Джерсі) та Університеті Рокфеллера у Нью-Йорку. З 1978 по 1982 р. він обіймав посаду професора медичної та фізіологічної хімії в Університеті Гетеборга (Швеція). Потім учений переїхав до Великої Британії, де почав працювати у Фонді дослідження раку в Лондоні (тепер — Британський інститут дослідження раку), а з 1986 по 2005 р. був першим директором створеної при цій організації Лабораторії Клер-Холл, яка стала провідним центром досліджень репарації ДНК. У 2009 р. Ліндаль заклав свою лабораторію мутагенезу в Лабораторії Клер-Холл. Зараз він є керівником лабораторії в Інституті Френсіса Кріка, почесним директором Лабораторії Клер-Холл, з 1988 р. — членом Лондонського королівського товариства, з 1998 р. — дійсним членом Академії медичних наук Великої Британії, а також членом Шведської і Норвезької академії наук. У 2007 р. Ліндаль одержав від Лондонського королівського товариства Королівську медаль, у 2010 р. — найвищу нагороду Королівського товариства — медаль Коплі, а у 2008 р. — нагороду Французького інституту здоров'я та медичних досліджень (INSERM Prix Etranger).

69-річний професор біохімії та медицини Пол Лоуренс Модрич працює у США в Медичному інституті Говарда Х'юза у Чеві Чейзі (штат Меріленд) та Медичній школі при Університеті Дюка в Даремі (штат Північна Кароліна). Пол Модрич народився у США 13 червня 1946 р. у невеличкому робітничому містечку Ратон (штат Нью-Мексико) в сім'ї вчителя біології та домогосподарки. Його предки по батьківській лінії емігрували до США з Хорватії. Пол з дитинства захоплювався наукою, ще у школі він постійно брав участь у наукових проєктах. Саме батько після відкриття Френсісом Кріком і Джеймсом Уотсоном у 1953 р. структури ДНК подав Полу ідею про необхідність докладного вивчення цієї молекули. У 1964 р. Пол Модрич вступив до Массачусетського технологічного інституту, де захопився молекулярною генетикою. У 1968 р. він закінчив інститут, отримав ступінь бакалавра. В 1973 р. Модрич здобув докторський ступінь у Стенфордському університеті (штат Каліфорнія). З 1976 р. працює в Інституті Дюка з вивчення раку, що є частиною Медичної школи Університету Дюка, а з 1994 р. — дослідник у Медичному інституті Говарда Х'юза. З 1984 р. він є професором біохімії, з 1988 р. — заслуженим професором медицини, з 1993 р. — членом Національної академії наук США, з 2003 р. — членом Інституту медицини Національної академії наук США, а з 2004 р. — членом Американської академії мистецтв і наук. Дружина Пола Модрича Вікерс Бердет також біохімік і працює разом з чоловіком у Медичній школі Університету Дюка.

69-річний професор біохімії та біофізики Азіз Санджар працює у США в Медичній школі при Університеті Північної Кароліни в місті Чапел Хілл (штат Північна Кароліна). Він народився 8 вересня 1946 р. у Туреччині в містечку Савур у провінції Мардін, що межує із Сирією. Азіз був сьомою дитиною у бідній арабомовній сім'ї фермера. Він зростав у злиднених умовах, вчитися доводилося при свічках. Батьки Азіза не мали освіти, однак усі їх вісім дітей закінчили університети. Азіз Санджар планував стати лікарем і в 1963 р. вступив на медичний

факультет Стамбульського університету, під час навчання зацікавився біохімією. Після закінчення університету він два роки працював сільським лікарем. У 1971 р. Санджар переїхав до США і вступив на відділення молекулярної біології Техаського університету в Далласі. Після закінчення університету в 1975 р. і отримання докторського ступеня в 1977 р. Санджар перейшов до Єльського університету (штат Коннектикут). З 1982 р. він працював в Університеті Північної Кароліни, де в 1988 р. здобув звання професора біохімії. З 2005 р. Азіз Санджар є членом Національної академії наук США, з 2006 р. — членом Академії наук Туреччини, з 2014 р. — почесним запрошеним професором Китайської академії наук. У 1984 р. він отримав премію Президента США для молодих дослідників від Національного наукового фонду США, в 1995 р. — премію Національного інституту здоров'я, в 2009 р. — премію Техаського університету в Далласі. У 1994 р. Азіза Санджара було обрано членом Світової академії наук (The World Academy of Sciences, TWAS), заснованої нобелівським лауреатом з фізики Абдусом Саламом з Пакистану з метою підтримки науки в країнах південного регіону. Санджар став другим в історії нобелівським лауреатом турецького походження після Орхана Памука, який у 2006 р. одержав Нобелівську премію з літератури. Дружина Азіза Санджара Гвен також є випускницею Техаського університету та професором біохімії і біофізики Університету Північної Кароліни. У 2007 р. подружжя Санджарів заснувало фонд Carolina Turk Evi з метою сприяння турецькій культурі, а також для підтримки турецьких студентів і вчених у США.

Що ж саме відкрили цьогорічні лауреати Нобелівської премії з хімії? І що взагалі таке репарація ДНК?

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) є носієм генетичної інформації та найважливішою молекулою в організмі, оскільки вона контролює нормальне функціонування та поділ клітин, ріст і розмноження організму. Генетична інформація зашифрована в послідовності 4 типів нуклеотидів — складових частин



Азіз Санджар

цієї полімерної молекули, що відрізняються за типом азотистих основ: пуринових (аденіну, гуаніну) і піримідинових (тиміну, цитозину). Два ланцюги в подвійній спіралі молекули ДНК утримуються разом завдяки взаємодії між комплементарними нуклеотидами різних ланцюгів: аденін взаємодіє з тиміном, гуанін — з цитозином [3].

Молекула ДНК не є стійкою, вона легко руйнується і вступає в хімічні реакції з багатьма іншими речовинами. Пошкодження ДНК виникають досить часто як під дією фізичних чинників (радіації, ультрафіолету), так і внаслідок взаємодії з хімічними агентами (активними речовинами зовнішнього середовища чи метаболітами організму). Наприклад, пошкоджувати ДНК можуть активні форми кисню, що утворюються на проміжних етапах синтезу енергетичного запасу клітини — аденозинтрифосфату (АТФ) і частково проникають за межі мітохондрій. Навіть звичайна вода, яка є головним компонентом живих організмів, спричинює гідроліз ДНК. Сонячні промені і куріння тютюну також руйнують ДНК. Крім того, під час поділу клітини ферменти ДНК-полімерази в процесі копіювання генетичної інформації часто припускаються помилок [4].

Які ж пошкодження виникають у молекулі ДНК внаслідок дії всіх цих чинників? ДНК може втрачати нуклеотиди з утворенням апуринових і апіримідинових сайтів (АП-сайтів). Дезамінування азотистих основ призводить до перетворення цитозину на урацил, який у нормі міститься в рибонуклеїновій кислоті (РНК) і, на відміну від цитозину, комплементарний аденіну. Крім того, аденін може перетворюватися на гіпоксантин, а гуанін — на ксантин. Приєднання метильної  $\text{CH}_3$ -групи до вуглецю у 5-му положенні цитозину перетворює його на тимін. При взаємодії з активними формами кисню та гідроперекисами утворюється тимін гліколь. Також можуть виникати розриви ДНК, міжмолекулярні ковалентні зшивки ДНК-ДНК, ДНК-протеїн та багато інших видів пошкоджень. Упродовж години в кожній клітині організму людини відбувається від кількох сотень до тисячі пошкоджень ДНК [5].

Будь-які пошкодження чи модифікації ДНК змінюють генетичну інформацію, унеможливають її зчитування (транскрипцію) або передачу дочірнім клітинам (реплікацію). З огляду на все зазначене вище, може здатися, що виконання молекулою ДНК своєї головної функції — передачі генетичної інформації, як і взагалі існування життя на Землі, є неможливим. Чому ж клітини при постійному пошкодженні ДНК не гинуть і продовжують синтезувати нормальні в структурному і функціональному відношенні протеїни? Як біологічні види можуть передавати генетичну інформацію з покоління в покоління практично в незмінному вигляді, зберігаючи свою індивідуальність? Наприклад, абсолютно неймовірним видається той факт, що маленькі ракоподібні — цитні практично не змінилися за 220 млн років свого існування.

Життя на Землі дійсно було б неможливим у тому вигляді, як воно є, якби в клітинах не було потужної ферментної системи репарації (відновлення, або «ремонткування») ДНК. Безперервний процес пошкодження ДНК супроводжується таким самим постійним процесом відновлення її вихідної структури, що дає змогу зберігати генетичну інформацію.

Здатність ДНК до репарації є унікальною і чи не найважливішою функцією клітини. Цьогорічні нобелівські лауреати не були першовідкривачами репарації ДНК, однак вони зробили дуже важливі кроки до розуміння механізмів її реалізації.

Історія дослідження репарації ДНК налічує близько 70 років. Протягом цього часу велика кількість видатних учених робила свій внесок у розкриття однієї з найбільших загадок живої клітини [6]. Присудження в 1945 р. Нобелівської премії з фізіології та медицини Олександрю Флемінгу, Говарду Флорі та Ернсту Борису Чейну за відкриття й очищення пеніциліну надихнуло вчених усіх країн на пошуки нових антибіотиків. Одним із тих, хто взявся за цю багатообіцяючу тему, був мікробіолог німецького походження Альберт Кельнер, який працював у Лабораторії Колд Спрінг Харбор (штат Нью-Йорк, США). Він використовував ультрафіолетове опромінення для одержання мутантних штамів стрептоміцетів. В експериментах було отримано дивні результати. В одних випадках опромінення пригнічувало ріст культур, а в інших — майже не впливало. Лише завдяки педантичності і наполегливості Кельнеру вдалося виявити закономірність: ультрафіолет майже не впливав на культури, що росли біля вікна. Він зробив припущення, що денне світло якимось чином допомагає клітинам виправити пошкодження, завдані ультрафіолетом. Так у 1949 р. було відкрито перший різновид репарації ДНК — фотореактивацію [7]. Через кілька тижнів після Кельнера і повністю незалежно від нього фотореактивацію відкрив американський вірусолог італійського походження Ренатто Дульбекко [8], більш відомий своїми дослідженнями онковірусів, що й було відзначено в 1975 р. Нобелівською премією з фізіології та медицини. Цікаво, що Кельнер написав Дульбекко про своє відкриття, але лист прийшов, коли той уже завершував власні експерименти з опроміненими бактеріофагами.

За іронією долі це видатне відкриття залишилося недооціненим, а сам Кельнер не став широко відомим. На сьогодні першовідкривачів репарації ДНК уже немає в живих: Альберт

Кельнер помер у 1994 р., Ренатто Дульбекко — у 2012 р. Започаткований ними новий напрям досліджень надалі активно розвивали інші вчені. Оскільки обрати лауреатів з величезної кількості претендентів було проблематично, вручення Нобелівської премії за дослідження репарації ДНК виглядало малоімовірним. Однак Нобелівський комітет усе ж вирішив відзначити максимально можливу за заповітом Нобеля кількість лауреатів — трьох учених, причому саме «за дослідження механізмів репарації ДНК», а не за відкриття репарації ДНК.

Чому ж серед багатьох кандидатів обрали саме Томаса Ліндаля, Пола Модрича та Азіза Санджара? Ці вчені відкрили і детально описали механізми реалізації основних способів відновлення структури ДНК: фотореактивації, ексцизійної репарації нуклеотидів, репарації помилково спарених нуклеотидів (місметч-репарації) та ексцизійної репарації азотистих основ. Одержані ними знання дозволили відтворити складні процеси репарації ДНК у лабораторних умовах.

Кар'єра Азіза Санджара почалася саме з вивчення фотореактивації. Вступивши у 1971 р. до Техаського університету, він потрапив до лабораторії Стена Руперта, який досліджував механізми фотореактивації і виділив ключовий фермент цього процесу [9], пізніше названий фотоліазою. Виявляється, що під впливом ультрафіолетового світла в ДНК утворюються зшивки між сусідніми основами тиміну. Такі циклобутанові піримідинові димери не дозволяють ДНК-полімеразі копіювати пошкоджену ділянку ДНК. Однак фермент фотоліаза розпізнає ці пошкодження і, використовуючи енергію видимого світла, а саме — синьої ділянки спектра, розщеплює зв'язок між тиміновими основами в димері. Дослідити механізм фотореактивації тривалий час не вдавалося переважно через те, що фотоліаза міститься в бактеріях у дуже невеликій кількості. Азіз Санджар уперше клонував ген фотоліази [10] і одержав рекомбінантний фермент у потрібних кількостях. Багато років учений досліджував механізм дії фотоліази і з'ясував його до найменших подробиць. Виявилось, що при

фотореактивації енергія фотона поглинається хромофором (5,10-метенілтетрагідропротероїл-поліглутаматом) у складі фотоліази і через інший хромофор (флавінаденін-динуклеотид) передається до циклобутанового піримідинового димера [11].

Покинувши Техаський університет через припинення фінансування досліджень фотоліази, Санджар перейшов на посаду простого лаборанта в медичну лабораторію Єльського університету і почав досліджувати механізм так званої «темної» репарації, коли бактерії, опромінені ультрафіолетом, виправляють пошкодження ДНК у темряві, але набагато повільніше. Це явище вперше було описано в 1964 р. Річардом Сетлоу та Уільямом Керієром [12] і майже одночасно Річардом Бойсом і Паулем Говард-Фландерсом [13]. Завдяки їхнім роботам стало зрозуміло, що під час «темної» репарації тимінові димери, які утворюються під дією ультрафіолету, вирізаються з ДНК. Філіп Ханавальд та Девід Петиджон продемонстрували, що вирізані ділянки активно відновлюються за рахунок синтезу нової ДНК [14]. Вищезгадані видатні вчені, без сумніву, також могли б претендувати на Нобелівську премію, однак саме Азіз Санджар встановив, які ферменти і в який спосіб здійснюють хімічні реакції, забезпечуючи реалізацію цього виду репарації ДНК.

На той час було відомо три гени стійкості до ультрафіолету — *uvrA*, *uvrB* і *uvrC*, що відповідають за «темнову» репарацію [15]. Одержати їх білкові продукти у достатній для вивчення кількості довго не вдавалося, аж поки Санджар не винайшов оригінальний метод бактеріальних «максі-клітин», який дозволив це зробити [16]. Учений вводив плазмиду з геном потрібного протеїну в клітини бактерій з дефектами репарації, опромінені ультрафіолетом. У таких клітинах власна ДНК була пошкоджена, і тому синтезувався лише потрібний плазмідний протеїн, причому у великих кількостях. За допомогою цього методу Санджар швидко отримав і охарактеризував білкові продукти генів *uvrA*, *uvrB* і *uvrC*. Він також показав, що ці білки утворюють ферментативний комплекс, який

вирізає фрагмент ДНК розміром 13 пар нуклеотидів навколо тимінового димера. Потім ДНК-полімераза синтезує нормальний фрагмент ДНК, а ДНК-лігаза зшиває фрагменти в єдиний ланцюг ДНК. Такий вид репарації називали *ексцизійною репарацією нуклеотидів*, а її фермент — ексцинуклеазою (від англ. excise — вирізати) [17].

Пізніше Санджар виявив, що окремі субодиниці ексцинуклеази працюють поетапно, і детально дослідив механізм ексцизійної репарації нуклеотидів у людини, в якому задіяно не 3, а більш як 15 протеїнів [18]. Згодом з'ясувалося, що ексцизійна репарація нуклеотидів відновлює не лише тимінові димери, а й інші пошкодження в ДНК. Вона є дуже важливою для людини, оскільки у людини і переважної більшості ссавців (крім сумчастих) фотоліази немає, і механізм фотореактивації не працює [19]. Цікаво, що Азіз Санджар відкрив також криптохроми — білки, що є гомологами фотоліази і відповідають за добові біоритми у людини [20].

Згодом виявилось, що переважна більшість пошкоджень у ДНК виправляється іншими системами репарації. Однією з таких систем є місметч-репарація (репарація гетеродуплексів, або репарація помилково спарених нуклеотидів), яка при синтезі ДНК виправляє помилкове утворення пар некомплементарних (невідповідних) нуклеотидів, наприклад, замість гуанін-цитозин або аденін-тимін з'являється пара цитозин-аденін. Цей тип репарації ДНК було відкрито в 1976 р. Робертом Вагнером і Метью Мезельсоном [21].

Однак залишалося незрозумілим, як саме можна виявити помилково спарені нуклеотиди, адже їх структура не змінена? Який з нуклеотидів у парі є правильним, а який включений помилково? Для того, щоб система місметч-репарації спрацювала, материнський ланцюг ДНК повинен мати якісь мітки, на відміну від щойно синтезованого дочірнього ланцюга. Пол Модрич разом із Метью Мезельсоном у 1983 р. довели, що такими мітками на ДНК є метильні групи, що приєднуються лише до комплементарно спарених азотистих основ. Відсутність метильних груп сприймається як сигнал для

виправлення помилок ферментами репарації [22]. У бактерій материнський ланцюг маркується ДНК-метилазою Dam, яка метилоє аденін у послідовностях -GATC-. У людини механізм розпізнавання є складнішим і пов'язаний з асиметричним зв'язуванням деяких білків при реплікації. Пол Модрич з'ясував, як саме розпізнається у бактерій метильований материнський ланцюг ДНК і яку роль у цьому відіграють продукти генів *mutH*, *mutL* і *mutS* та деяких інших генів, необхідних для репарації. Він застосував експериментальну систему, основу на утворенні дуплексів між ланцюгами ДНК бактеріофагів, які відрізнялися на один нуклеотид, і простежив, що відбувається з неправильними парами нуклеотидів та білками репарації в пробірці та в клітинах бактерій. Учений показав, що відразу після реплікації з метильними групами послідовностей -GATC- материнського ланцюга зв'язується білок MutH. Одночасно з неправильною парою нуклеотидів зв'язуються дві молекули білка MutS. Потім білок MutL допомагає білку MutH зблизитися з димером MutS для взаємодії, внаслідок якої білок MutH перетворюється на ендонуклеазу, яка розщеплює неметильований дочірній ланцюг у послідовності -GATC- і вирізає його фрагмент, поки не досягне неправильної пари основ. Після цього видалений фрагмент ДНК синтезується знову [23].

Найважливішою виявилася ексцизійна репарація азотистих основ (Base Excision Repair — BER), яка виправляє переважну кількість пошкоджень ДНК, зокрема й ті, що виникають під дією води і кисню. Цей вид репарації було відкрито третім нобелівським лауреатом Томасом Ліндалем. Спостереження за деградацією РНК при нагріванні викликало у Ліндала сумніви щодо хімічної стійкості ДНК і наштовхнуло на ідею про ймовірне існування якоїсь системи відновлення ДНК. Пізніше він підтвердив свою геніальну здогадку експериментально, показавши, що в молекулі ДНК відбуваються реакції відщеплення аденіну або гуаніну, а також дезамінування цитозину з перетворенням його на урацил [24]. У 1974 р. Ліндаль відкрив фермент урацил-ДНК-гліко-

зилазу (UNG), який виправляв пошкодження, видаляючи урацил [25]. Виявилось, що спочатку ДНК-глікозилаза розпізнає пошкоджену азотисту основу та вирізає її з ДНК, потім фермент апуринова/апіримідинова ендонуклеаза розриває ДНК поруч із пошкодженням, ДНК-полімераза вбудовує один або кілька нуклеотидів, а ДНК-лігаза відновлює цілісність ланцюга ДНК. Пізніше Томас Ліндаль описав інші різновиди ДНК-глікозилаз, кожний з яких спеціалізується на репарації певного типу пошкоджень ДНК [26].

Згодом дослідження вчених показали, що репарація ДНК не обмежується лише описаними вище механізмами, а є й інші способи виправлення пошкоджень ДНК. Наприклад, при постреплікативній репарації вихідна послідовність ДНК може відновлюватися шляхом гомологічної рекомбінації з непошкодженою ДНК іншої хромосоми [27]. Для усунення двониткових розривів ДНК можуть використовуватися репарація ДНК шляхом негомологічного злиття кінців (Non-Homologous End Joining — NHEJ) [28] або репарація ДНК шляхом злиття кінців за рахунок мікрогомолгії (Microhomology-Mediated End Joining — MMEJ) [29]. В останньому випадку частина ДНК може втрачатися, однак це не має великого значення, оскільки втрачені ділянки часто припадають на некодуючі фрагменти ДНК. Є також системи толерантності до пошкодження, коли клітина може функціонувати і навіть ділитися, незважаючи на пошкодження геному. SOS-репарацію ДНК назвали так від назви міжнародного сигналу лиха SOS, оскільки вона вмикається, коли накопичення великої кількості пошкоджень ДНК загрожує життю клітини. Цей вид репарації відкрили у 1975 р. Мирослав Радман [30] і Евелін Віткін [31]. Пошкодження ДНК спричинює активацію білка Rec A (у еукаріотів Rad51), а той, у свою чергу, стимулює розщеплення репресорних білків Lex A, які перешкоджають транскрипції різноманітних генів, пов'язаних з репарацією ДНК. Різна спорідненість білка Lex A до операторних ділянок різних генів дозволяє підібрати адекватну відповідь залежно від ступеня по-

шкоджень ДНК [32]. Є й інші клітинні системи відповіді на ушкодження, що визначають, як клітина відреагує на пошкодження ДНК: буде ділитися, перестане ділитися і відновить пошкодження чи помре. До речі, за дослідження системи відповіді на пошкодження в 2015 р. американці Стефан Елледж і Евелін Віткін отримали другу за престижністю після Нобелівської — Ласкерівську премію.

Порушення в роботі системи репарації ДНК мають катастрофічні наслідки для організму. Вони викликають важкі захворювання, що характеризуються різноманітними симптомами: неврологічними розладами, імунодефіцитними та аутоімунними станами, передчасним старінням, затримкою росту, патологічними змінами шкіри (сухість, розширення капілярів, пігментація, ускладнене загоювання ран), а також підвищеним ризиком розвитку раку. Прикладами таких захворювань можуть бути хвороби Альцгеймера, Паркінсона, Гантінгтона, Дауна, трихотіодистрофія, прогерія дорослих і дітей, атаксія-телеангіектазія, системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, склеродермія та багато інших [33].

Переважаюча більшість випадків захворювання на рак пов'язані з порушеннями репарації ДНК. Порушення ексцизійної репарації нуклеотидів спричинюють пігментну ксеродерму, при якій перебування на сонці призводить до опіків, а за кілька років життя розвивається рак шкіри. Для таких хворих є характерним навіть рак кінчика язика, який виникає через незначне опромінення під час облизування пересохлих губ на сонці [34]. Генетичні порушення місметч-репарації зумовлюють розвиток спадкового раку кишечника і є найпоширенішою причиною цього захворювання [35]. Діти з дуже серйозними генетичними порушеннями ексцизійної репарації азотистих основ, як правило, просто не народжуються. Вони гинуть ще на ембріональній стадії розвитку. Відомо, що глікозилази, задіяні при цій репарації, можуть мати багато ізоформ, які утворюються внаслідок заміни одного з нуклеотидів у послідовності їх гена. Деякі з цих ізоформ також пов'язані з підвищеним ризиком виникнення



онкологічних захворювань [36]. Останнім часом видається перспективним локальне використання інгібіторів ферментів репарації ДНК для лікування онкологічних захворювань, адже саме репарація ДНК у ракових клітинах протидіє хіміо- та радіотерапії, які широко застосовують у лікуванні раку. В 2014 р. було затверджено застосування при серозному раку яєчників препарату «Лінпарза» (виробник — AstraZeneca, Велика Британія), діючою речовиною якого є олапаріб — інгібітор полі(АДФ-рибоза)-полімерази (PARP), що задіяна в репарації ДНК і виконує полі-АДФ-рибозилування гістонів [37].

Імовірно, що подальше детальне вивчення механізмів репарації дасть змогу створити підходи для цілеспрямованого виправлення певних мутацій, які стануть основою нових методів лікування багатьох тяжких і невиліковних захворювань. Особливо перспективними для такої прицільної генної терапії видаються найсучасніші методи генетичних виправлень (Gene-Editing Techniques), як, наприклад, метод CRISPR/Cas9, або CRISPR/CPF1, чи їх модифікації. Ці методи дозволяють прецизійно вносити зміни в структуру ДНК [38]. Цікаво, що коли ця стаття вже була готова до друку, метод CRISPR/Cas9 було визнано журналом *Science* як найвизначніше наукове досягнення 2015 р. Хто знає, можливо, воно буде відзначено і Нобелівською премією.

Можливі напрями подальшого розвитку досліджень репарації ДНК обговорювали на конференції Томаса Ліндаля, що відбулася в червні 2015 р. в Осло. Більшість запрошених фахівців у цій галузі науки свого часу працювали в Лабораторії Клер-Холл і є учнями Ліндаля. Цікаво, що сам Томас Ліндаль, підбиваючи підсумки конференції, закликав колег надмірно не захоплюватися прикладними аспектами вивчення репарації ДНК, «припинити труїти щурів» у пошуках нових ліків і повернутися до вивчення фундаментальних питань, які залишаються нез'ясованими [39]. А таких питань, вочевидь, немало. Особливо, якщо взяти до уваги, що ферменти репарації ДНК можуть бути задіяні і в інших важливих процесах. На-

приклад, відомо, що система ексцизійної репарації азотистих основ бере участь в епігенетичних процесах: вона забезпечує спрямовану модифікацію ДНК з метою регулювання активності генів [40]. Крім того, ферменти репарації допомагають організму боротися з вірусами. Наприклад, спеціальний фермент АРОВЕС заміняє у ДНК вірусу імунодефіциту людини цитозин на урацил, а урацил-ДНК-глікозилаза потім розщеплює вірусну ДНК [41]. До речі, урацил-ДНК-глікозилаза задіяна також у процесі утворення різноманітності антитіл, що є дуже важливим для формування повноцінної імунної відповіді [42]. Швидше за все, ми ще багато чого не знаємо про призначення ферментів репарації ДНК, і попереду на нас чекає безліч відкриттів.

Відкриття та вивчення механізмів репарації ДНК стало одним із найважливіших досягнень біохімії і молекулярної генетики. Очевидно, що репарація відіграла ключову роль у процесі виникнення та еволюції життя на Землі. На користь цього свідчать експерименти Артура Корнберга, який тривалий час після відкриття ним ДНК-полімераз не міг відтворити в пробірці синтез нормальної спіралі ДНК (утворювалися розгалужені полімери), поки не додав ферменти репарації [43]. Завдяки системі репарації з тисячі пошкоджень ДНК лише одне призводить до мутації. Протягом життя ці мутації накопичуються і спричиняють онкологічні та генетичні захворювання, старіння організму.

Чому система репарації залишає невиправленими деякі пошкодження? Чому ферменти біосинтезу ДНК роблять помилки при копіюванні генетичної інформації? По-перше, неможливо створити ферменти, які б працювали зі 100%-ю ефективністю. По-друге, це і не потрібно робити, адже мутації є рушійною силою еволюції. Саме вони забезпечують можливість виникнення абсолютно нових рис і властивостей організмів, які можуть стати корисними в пристосуванні до змінених умов існування. Рак і спадкові захворювання, що виникають через генетичну нестабільність, є своєрідною платою за генетичне різноманіття, необхідне для виживання виду.

## REFERENCES

1. Forecasting the 2015 Nobel Prize winner. <http://thomsonreuters.com/en/press-releases/2015/september/thomson-reuters-forecasts-nobel-prize-winners.html>.
2. The 2015 Nobel Prize in Chemistry. Press Release. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2015/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/press.html).
3. Watson J.D., Crick F.H. The structure of DNA. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1953. **18**: 123.
4. De Bont R., van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*. 2004. **19**(3): 169.
5. DNA damage (naturally occurring). [https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_damage\\_\(naturally\\_occurring\)#cite\\_note-31](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_damage_(naturally_occurring)#cite_note-31).
6. Gustafsson C.M. Mechanistic studies of DNA repair. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2015/advanced-chemistryprize2015.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/advanced-chemistryprize2015.pdf).
7. Kelner A. Effect of visible light on the recovery of *Streptomyces griseus* conidia from ultra-violet irradiation injury. *PNAS*. 1949. **35**: 73.
8. Dulbecco R. Experiments on photoreactivation of bacteriophages inactivated with ultraviolet radiation. *J. Bacteriol.* 1950. **59**(3): 329.
9. Rupert C.S. Photoreactivation of transforming DNA by an enzyme from bakers' yeast. *J. Gen. Physiol.* 1960. **43**(3): 573.
10. Sancar A., Rupert C.S. Cloning of the phr gene and amplification of photolyase in *Escherichia coli*. *Gene*. 1978. **4**(4): 295.
11. Park H.W., Kim S.T., Sancar A., Deisenhofer J. Crystal structure of DNA photolyase from *Escherichia coli*. *Science*. 1995. **268**(5219): 1866.
12. Setlow R.B., Carrier W.L. The disappearance of thymine dimers from DNA: an error-correcting mechanism. *PNAS*. 1964. **51**: 226.
13. Boyce R.P., Howard-Flanders P. Release of ultraviolet light-induced thymine dimers from DNA in *E. coli* K-12. *PNAS*. 1964. **51**: 293.
14. Pettijohn D., Hanawalt P. Evidence for repair-replication of ultraviolet damaged DNA in bacteria. *J. Mol. Biol.* 1964. **9**: 395.
15. Howard-Flanders P., Boyce R.P., Theriot L. Three loci in *Escherichia coli* K-12 that control the excision of pyrimidine dimers and certain other mutagen products from DNA. *Genetics*. 1966. **53**(6): 1119.
16. Sancar A., Hack A.M., Rupp W.D. Simple method for identification of plasmid-coded proteins. *J. Bacteriol.* 1979. **137**(1): 692.
17. Sancar A., Rupp W.D. A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of *Escherichia coli* cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. *Cell*. 1983. **33**(1): 249.
18. Petit C., Sancar A. Nucleotide excision repair: from *E. coli* to man. *Biochimie*. 1999. **81**(1–2): 15.
19. Kato T.Jr., Todo T., Ayaki H., Ishizaki K., Morita T., Mitra S., Ikenaga M. Cloning of a marsupial DNA photolyase gene and the lack of related nucleotide sequences in placental mammals. *Nucleic Acids Res.* 1994. **22**(20): 4119.
20. Sancar A. Regulation of the mammalian circadian clock by cryptochrome. *J. Biol. Chem.* 2004. **279**(33): 34079.
21. Wagner R.Jr., Meselson M. Repair tracts in mismatched DNA heteroduplexes. *PNAS*. 1976. **73**(11): 4135.
22. Pukkila P.J., Peterson J., Herman G., Modrich P., Meselson M. Effects of high levels of DNA adenine methylation on methyl-directed mismatch repair in *Escherichia coli*. *Genetics*. 1983. **104**(4): 571.
23. Lahue R.S., Au K.G., Modrich P. DNA mismatch correction in a defined system. *Science*. 1989. **245**(4914): 160.
24. Lindahl T., Nyberg B. Heat-induced deamination of cytosine residues in deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*. 1974. **13**(16): 3405.
25. Lindahl T. An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues. *PNAS*. 1974. **71**(9): 3649.
26. Lindahl T. DNA glycosylases in DNA repair. *Basic Life Sci.* 1986. **38**: 335.
27. Schiller C.B., Seifert F.U., Linke-Winnebeck C., Hopfner K.P. Structural studies of DNA end detection and resection in homologous recombination. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014. **6**(10): a017962.
28. Waters C.A., Strande N.T., Wyatt D.W., Pryor J.M., Ramsden D.A. Nonhomologous end joining: a good solution for bad ends. *DNA Repair*. 2014. **17**: 39.
29. Sfeir A., Symington L.S. Microhomology-mediated end joining: a back-up survival mechanism or dedicated pathway? *Trends Biochem. Sci.* 2015. **40**(11): 701.
30. Radman M. SOS repair hypothesis: phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. *Basic Life Sci.* 1975. **5A**: 355.

31. Witkin E.M. Elevated mutability of polA derivatives of Escherichia coli B/r at sublethal doses of ultraviolet light: evidence for an inducible error-prone repair system ("SOS repair") and its anomalous expression in these strains. *Genetics*. 1975. **79**: 199.
32. Shinagawa H. SOS response as an adaptive response to DNA damage in prokaryotes. *EXS*. 1996. **77**: 221.
33. Knoch J., Kamenisch Y., Kubisch C., Berneburg M. Rare hereditary diseases with defects in DNA-repair. *Eur. J. Dermatol.* 2012. **22**(4): 443.
34. Cleaver J.E. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature*. 1968. **218**(5142): 652.
35. Parsons R., Li G.M., Longley M.J., Fang W.H., Papadopoulos N., Jen J., de la Chapelle A., Kinzler K.W., Vogelstein B., Modrich P. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER+ tumor cells. *Cell*. 1993. **75**(6): 1227.
36. Chen L., Elahi A., Pow-Sang J., Lazarus P., Park J. Association between polymorphism of human oxoguanine glycosylase 1 and risk of prostate cancer. *J. Urol.* 2003. **170**(6): 2471.
37. FDA approves Lynparza to treat advanced ovarian cancer. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm427554.htm>.
38. Zetsche B., Gootenberg J., Abudayyeh O., Slaymaker I.M., Makarova K., Essletzbichler P., Volz S., Joung J., van der Oost J., Regev A., Koonin E., Zhang F. Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System. *Cell*. 2015. **163**(3): 759.
39. [http://www.gazeta.ru/science/2015/10/07\\_a\\_7801073.shtml](http://www.gazeta.ru/science/2015/10/07_a_7801073.shtml).
40. Meng H., Cao Y., Qin J., Song X., Zhang Q., Shi Y., Cao L. DNA methylation, its mediators and genome integrity. *Int. J. Biol. Sci.* 2015. **11**(5): 604.
41. Franchini D.M., Petersen-Mahrt S.K. AID and APOBEC deaminases: balancing DNA damage in epigenetics and immunity. *Epigenomics*. 2014. **6**(4): 427.
42. Rada C., Williams G.T., Nilsen H., Barnes D.E., Lindahl T., Neuberger M.S. Immunoglobulin isotype switching is inhibited and somatic hypermutation perturbed in UNG-deficient mice. *Curr. Biol.* 2002. **12**(20): 1748.
43. Kornberg A. Some aspects of the enzymatic replication of DNA: the repair of partially single-stranded templates. *Proc. Nat. Cancer Conf.* 1964. **5**: 735.

Стаття надійшла 12.12.2015.

*С.В. Комисаренко, С.И. Романюк*

Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины (Киев)

КАК КЛЕТКАМ УДАЕТСЯ СОХРАНИТЬ МОЛЕКУЛЫ ДНК НЕПОВРЕЖДЕННЫМИ,  
ИЛИ БЛАГОДАРЯ ЧЕМУ СУЩЕСТВУЕТ ЖИЗНЬ НА ЗЕМЛЕ?

Нобелевская премия по химии 2015 г.

7 октября 2015 г. в столице Швеции Стокгольме в рамках проведения 114-й Нобелевской недели Нобелевским комитетом при Королевской академии наук Швеции в 107-й раз были объявлены имена лауреатов Нобелевской премии по химии: Томаса Линдала (Tomas Lindahl), Пола Модрича (Paul Modric) и Азиза Санджара (Aziz Sancar). Эта награда является особенно престижной, поскольку основатель Нобелевских премий – шведский предприниматель и изобретатель Альфред Нобель (1833–1896) сам был химиком и заработал свое состояние благодаря изобретению динамита. Химия стала второй отраслью науки после физики, упомянутой им в завещании.

**Ключевые слова:** повреждение ДНК, системы репарации ДНК, Нобелевская премия.

*S.V. Komisarenko, S.I. Romanyuk*

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

HOW CELLS MANAGE TO KEEP DNA MOLECULES UNDEMANAGED  
OR WHY DOES LIFE EXIST ON EARTH?

Nobel Prize in Chemistry 2015

On October 7, 2015 in Stockholm, the capital of Sweden in the frame of the 114th Nobel Week the Nobel Committee of the Royal Swedish Academy has awarded the Nobel Prize in Chemistry 2015 to Tomas Lindahl, Paul Modric and Aziz Sancar. This award is especially prestigious because the Nobel Prize founder was Swedish entrepreneur and inventor Alfred Nobel (1833–1896) who himself was a chemist and who got his fortune due to the dynamite invention. Chemistry was second after physics, which was mentioned in his testament.

**Keywords:** DNA damage, DNA repair, Nobel Prize.