

IL NOBEL ALLA RIPARAZIONE DEL DNA

IL PREMIO NOBEL 2015 PER LA CHIMICA È STATO ASSEGNATO AI PROFESSORI TOMAS LINDAHL, PAUL MODRICH E AZIZ SANCAR PER I LORO STUDI FONDAMENTALI SUI MECCANISMI MOLECOLARI DI RIPARAZIONE DEI DANNI CAUSATI DA AGENTI ENDOGENI O ESOGENI SUL DNA, AL FINE DI CONSERVARE E TRASMETTERE INTATTA L'INFORMAZIONE GENETICA



Paul Lawrence Modrich è nato nel New Mexico nel 1946. Ha conseguito il PhD nel 1973 alla Stanford University. Dal 1976 è professore di Biochimica al Duke Cancer Center, Duke University, Durham. È membro dell'American Academy of Arts and Sciences, della National Academy of Medicine e della National Academy of Sciences. Le sue ricerche si sono indirizzate principalmente a elucidare il meccanismo mismatch repair, MMR. In particolare ha dimostrato come tale sistema sia in grado di correggere errori di copiatura del DNA, riducendo la frequenza di mutazione di un fattore mille.



Tomas Robert Lindahl, FRS FMedSci, è nato in Svezia nel 1938, ha ottenuto il PhD al Karolinska Institutet a Stoccolma nel 1967 e il titolo di Doctor of Medicine presso la stessa istituzione nel 1970. È emeritus scientist al Francis Crick Institute di Londra. È stato direttore dei Clare Hall Laboratories, ora affiliati al Francis Crick, dal 1986 to 2005. Ha ottenuto vari riconoscimenti internazionali tra cui la medaglia della Royal Society nel 2007, la medaglia Copley nel 2010 e il premio INSERM Etranger nel 2009. È membro della Norwegian Society of Science and Letters. I suoi principali interessi scientifici hanno riguardato l'elucidazione dei meccanismi di carcinogenesi, strettamente correlati con la riparazione del patrimonio genetico; in particolare ha scoperto il meccanismo di escissione delle basi, BER.



Aziz Sancar, è nato nel 1946 a Savur in Turchia. Si è laureato in Medicina all'Università di Istanbul nel 1969 e ha conseguito il PhD nel 1977 all'Università del Texas a Dallas. È Professore di Biochimica all'Università della Nord Carolina, Chapel Hill. È membro onorario dell'Accademia Turca di Scienze, membro dell'Accademia Americana di Arti e Scienze e della National Academy of Sciences. Le sue ricerche si sono principalmente incentrate sui meccanismi di escissione dei nucleotidi, NER, elucidando i dettagli del ripristino del DNA danneggiato da radiazioni.

Il patrimonio genetico è contenuto nella sequenza delle basi che si susseguono nel DNA. La sua conservazione è di fondamentale importanza per la salvaguardia della specie e il corretto funzionamento della cellula. Proteggere il genoma costituisce una priorità assoluta per gli organismi viventi, in particolare ovviando ad insulti chimici o fisici dannosi. Fattori ambientali e processi fisiologici possono, infatti, modificare l'acido nucleico secondo due meccanismi principali:

- processi endogeni quali produzione fisio-

logica, e quindi inevitabile, di specie reattive, come radicali liberi, o imprecisa copiatura della catena polinucleotidica dovuta all'imperfetto funzionamento del macchinario replicativo; - processi esogeni dovuti alle radiazioni emesse dalla luce solare (UV) o da altre sorgenti ad alta energia come i raggi X o i raggi gamma. Vanno inoltre annoverate le reazioni di tossine naturali e di agenti chimici derivanti da produzioni industriali, dal fumo di sigaretta, da additivi usati quali conservanti o coloranti negli alimenti.

Se i processi di danneggiamento sopra citati fossero rari, non ci sarebbe motivo di preoccupazione sull'integrità del patrimonio genetico. Al contrario, alla temperatura corporea il numero di lesioni subite quotidianamente dal DNA varia tra 10.000 e 1.000.000. Con questo ritmo si accumulerebbero rapidamente mutazioni letali, che porterebbero all'estinzione della specie.

Se, com'è evidente, siamo qui a testimoniare il contrario, si deve pensare a processi attivi d'intervento cellulare per riparare le lesioni sul



DNA e ripristinare il normale corredo genetico. Allo studio della riparazione dei danni causati al DNA e all'elucidazione dei meccanismi molecolari attraverso i quali questa si realizza, hanno ampiamente contribuito i vincitori del Premio Nobel per la Chimica di quest'anno.

Strutture biologiche alterate sono di norma eliminate dalle cellule senza gravi conseguenze per la sopravvivenza. La rimozione non è purtroppo applicabile al DNA poiché il suo allontanamento azzererebbe l'informazione genetica con catastrofiche conseguenze. Nel caso del DNA si sono quindi attivati sistemi di riparazione per il ripristino delle condizioni originarie a difesa della specie. Data la variabilità delle lesioni, si sono evoluti meccanismi d'intervento ristorativo molteplici e complementari, specializzati per tipo di danno. Non meraviglia che i processi di riparazione siano funzionalmente conservati in tutti gli organismi viventi, dai più semplici ai più complessi. Di qui la rilevanza generale degli studi che hanno portato all'assegnazione dei premi Nobel. Si noti che, mentre nel passato chimica e biologia costituivano discipline relativamente distanti, ora invece sono strettamente correlate anche per merito degli avanzamenti tecnologici che permettono di operare sulla cellula a livello molecolare con metodi d'intervento e d'indagine efficaci e innovativi.

Tornando alla riparazione del danno, gli insulti di origine endogena, provocati da specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto o dall'idrolisi o deaminazione delle basi, sono eliminati tramite il meccanismo di escissione delle basi (BER). Tale meccanismo è essenziale in particolare per lo sviluppo dell'embrione. Dato che quest'ultimo non è di norma a contatto con agenti esogeni, si evidenzia l'importanza di una difesa dalle reazioni derivanti dal metabolismo fisiologico. Il processo inizia con il riconoscimento della lesione da riparare per opera di enzimi chiamati DNA glicosilasi. Tali enzimi identificano la base danneggiata e comprimono la doppia elica dell'acido nucleico in modo da "estrudere" tale base in un'apposita cavità enzimatica. In seguito l'enzima rescinde la base dal desossiribosio creando un sito "abasic", cioè privo di base (AP). Il sito AP può anche derivare da eventi idrolitici, a loro volta causa di danno. La struttura AP è riconosciuta da un'endonucleasi che scinde il legame fosfodiesterico. A questo punto il meccanismo si sdoppia in due processi distinti.

Il primo, tipico dei mammiferi, è definito BER

"short patch". In questo caso l'enzima polimerasi beta promuove la rimozione dell'unità di desossiribosio dal sito AP. Segue il ripristino della base originaria tramite un enzima denominato DNA ligasi 3 che opera con l'assistenza di una proteina specializzata.

Il secondo meccanismo BER "long-patch" prevede un allungamento di 2-10 basi al terminale scisso. La nuova sequenza va a spiazzare quella danneggiata, che è rimossa da un'apposita endonucleasi. La ricucitura del legame fosfodiesterico avviene sempre per opera di una ligasi.

Si tratta di meccanismi molto precisi, operativi solo in presenza del danno.

La riparazione di lesioni causate da agenti esogeni (radiazioni, reattivi chimici) che provocano distorsioni strutturali nell'acido nucleico si attua tramite il meccanismo di escissione di nucleotidi (NER). Il processo inizia con lo scorrimento di un complesso enzimatico (UvrA/UvrB) lungo la catena del DNA per verificarne l'integrità. Eventuali distorsioni, indici di danneggiamento, sono riconosciute da UvrA. L'elicasi UvrB presente nel complesso provoca disavvolgimento con separazione dei filamenti nella zona danneggiata. Si genera una struttura a "bolla", che recluta l'endonucleasi UvrC per scindere il DNA a monte e a valle della lesione. Il frammento contenente il danno è quindi rimosso dall'elicasi UvrD e rimpiazzato con un frammento integro per intervento della DNA polimerasi 1 e della DNA ligasi.

Un terzo importante meccanismo di riparazione corregge errori replicativi o danni, che producono accoppiamenti incorretti tra basi (di regola le purine A e G sono accoppiate alle pirimidine rispettivamente T e C). Il processo è denominato "mismatch repair", MMR.

Data la conservazione evolutiva, studi fondamentali sono stati condotti in *E. coli*. Normalmente il DNA è metilato dall'enzima adenina metilasi all'N-6 dei residui adenosinici incorporati nella sequenza GATC. Tale metilazione è parziale nel filamento neosintetizzato (verosimilmente quello che incorpora l'errore), rendendolo distinguibile da quello parentale. Il processo prevede il taglio del filamento non metilato in prossimità del sito da riparare, seguito dall'eliminazione della base sbagliata e quindi da risintesi con ripristino della sequenza corretta. In *E. coli*, la proteina Mut S si lega al DNA in prossimità della base disappaiata e recluta la proteina Mut L, che, interagendo con Mut S, attiva una terza proteina, detta Mut H.

Quest'ultima è un'endonucleasi, specifica per il DNA semi-metilato, che taglia in prossimità della sequenza non metilata. La successiva reazione di escissione richiede la partecipazione di un'esonucleasi e di un'elicasi; come in precedenza si rimpiazza il frammento escisso via DNA polimerasi e ligasi. Nei lieviti e nei mammiferi sono presenti omologhi delle proteine MutS e MutL a conferma della conservazione del percorso MMR.

A difendere il patrimonio genetico contiamo quindi su efficaci meccanismi complementari che riconoscono precisi danni chimici o variazioni strutturali del DNA. Sono noti oltre 100 enzimi deputati al ripristino della sequenza genomica originaria di un DNA lesionato. Questo testimonia quanto sia prioritario per la cellula eliminare mutazioni dalle conseguenze catastrofiche tra cui lo sviluppo di gravi patologie a base genetica, *in primis* il cancro.

I premi Nobel per le conoscenze fondamentali apportate in questo campo sono stati attribuiti nel 2015 a Tomas Lindahl, Paul Modrich e Aziz Sancar.

Nobel to DNA Repairing

The 2015 Nobel Prize for Chemistry has been awarded to Professors Tomas R. Lindahl, Paul L. Modrich and Aziz Sancar for their seminal studies on the molecular mechanisms of exogenous and endogenous DNA damage repair, enabling conservation and faithful transmission of genetic information.

MANLIO PALUMBO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO
UNIVERSITÀ DI PADOVA

MANLIO.PALUMBO@UNIPD.IT