

DNA ONARIM MEKANİZMALARI

DNA REPAIR MECHANISMS

Elçin Latife Kurtoğlu İbrahim Tekedereli

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Biyoloji Ve Genetik AD, Malatya

Yazışma Adresi:

İbrahim Tekedereli
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Ve Genetik AD. 44280 Malatya – Türkiye

E posta: ibrahim.tekedereli@inonu.edu.tr

Kabul Tarihi: 14 Mayıs 2015

Balikesir Sağlık Bilimleri Dergisi

ISSN: 2146-9601

e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr

www.bau-sbdergisi.com

DOI: [10.5505/bsbd.2015.52523](https://doi.org/10.5505/bsbd.2015.52523)

ÖZET

İnsan genomik DNA'sının bütünlüğü, endojen ve ekzojen faktörlerin etkisiyle sürekli olarak tehdit altındadır. Bir memeli genomunda her gün yaklaşık olarak 10⁴'ten daha fazla DNA hasarının ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Hasarın yoğunluğuna ve tipine bağlı olarak; hücre döngüsünün durdurulması, gen ifadesinin değişmesi, DNA tamirinin uyarılması, programlı hücre ölümü, kanser ya da yaşlanma gibi olaylar meydana gelebilmektedir. Hücreler genomik bütünlüğü korumak amacıyla karmaşık bir dizi DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler. Bu derlemede, DNA onarım mekanizmaları tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: DNA hasarı, Mutasyon, DNA onarım mekanizmaları

SUMMARY

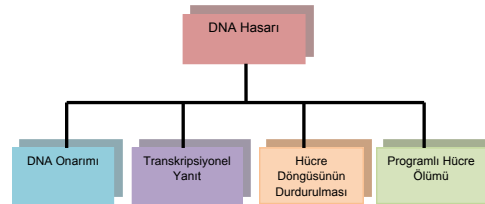
The integrity of human genomic DNA are constantly threatened by the action of endogenous and exogenous factors. It is estimated that more than 10⁴ DNA lesions are occur in each mammalian cell each day. Depending on the intensity and type of the damage; cell cycle arrest, change in gene expression, stimulation of DNA repair, programmed cell death, cancer or cellular aging events may occur. To protect genomic integrity, cells have a complex network of DNA repair mechanisms. In this review, DNA repair mechanisms are discussed in general.

Keywords: DNA damage, Mutation, DNA repair mechanisms

GİRİŞ

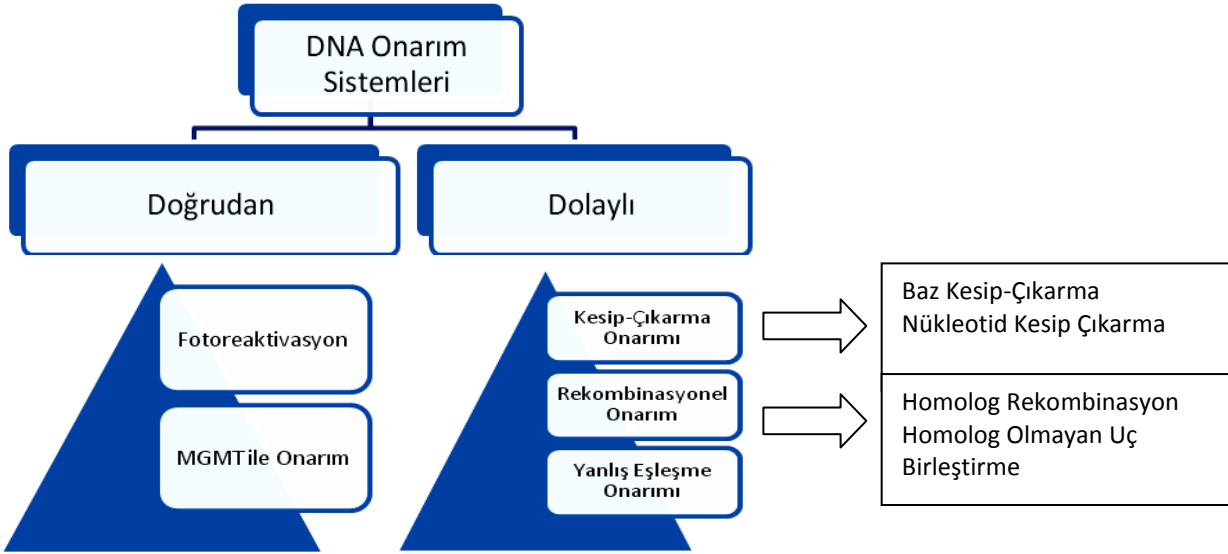
İnsan genomik DNA'sının bütünlüğü endojen ve ekzojen faktörlerin etkisiyle sürekli olarak tehdit altındadır¹. Endojen faktörler; DNA'da kendiliğinden meydana gelen hatalar olabildiği gibi hücre metabolizmasının yan ürünü olarak üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türleri, lipid peroksidasyon ürünleri, endojen alkilasyon ajanları, östrojen ve kolesterol metabolitleri ve reaktif karbonil türleri de olabilmektedir^{1,2,3}. Ekzojen faktörler ise ultraviyole ışığı, iyonize radyasyon, ağır metaller, hava kirliliği, sigara dumanı, kemoterapötik ilaçlar olarak sayılabilmektedir^{1,2,4,5}. Bir memeli genomunda her gün yaklaşık olarak 10⁴'ten daha fazla DNA hasarının ortaya çıktığı tahmin edilmektedir^{2,6}. DNA'daki hasarlar; tek baz değişimi (deaminasyon, depürinasyon, baz alkilasyonu, delesyon, insersiyon vs), tek veya çift zincir kırıkları, aynı veya farklı DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma gibi çeşitli şekillerde olabilmektedir^{4,7}. Hasarın yoğunluğuna ve tipine bağlı olarak; hücre döngüsünün durdurulması, gen ifadesinin değişmesi, DNA tamirinin uyarılması, programlı hücre ölümü, kanser ya da yaşlanma gibi olaylar meydana gelebilmektedir^{1,7,8} (Şekil 1).

Şekil 1. DNA Hasar Yanıt Reaksiyonları⁷.



Hücreler genomik bütünlüğü korumak amacıyla içi içe geçmiş, karmaşık, bir dizi DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler^{4,5}. DNA onarımı nükleazlar, helikazlar, polimerazlar, topoizomerazlar, rekombinazlar, ligazlar, glikozilazlar, demetilazlar, kinazlar ve fosfatazların kimyasal olarak modifiye edilmiş enzimatik aktivitelerine göre gerçekleştirilmektedir. Ökaryotik hücreler doğru zamanda doğru yerde, doğru faktörleri aktive etmek için geliştirilmiş stratejilere sahiptirler⁴. İnsanda DNA onarımında 130'dan fazla genin görev aldığı tahmin edilmektedir, bu sayı muhtemelen daha yüksektir, fakat bu genlerden sadece %50'sinin fonksiyonu bilinmektedir^{6,9}.

DNA ONARIM MEKANİZMALARI (Şekil 2)

Şekil 2. DNA Onarım Mekanizmaları¹⁰.

1. DOĞRUDAN ONARIM

- 1.1. Fotoreaktivasyon ile Onarım
- 1.2. O6-Metilguanin-DNA-Metiltransferaz ile Onarım

2. DOĞRUDAN OLMAYAN ONARIM

2.1. Kesip-Çıkarma Onarımı

- 2.1.1. Baz Kesip-Çıkarma Onarımı (Base Excision Repair) (BER)
- 2.1.2. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarımı (Nucleotide Excision Repair) (NER)

2.2. Çift Zincir Kırık Onarımı

- 2.2.1. Homolog Rekombinasyonel Onarım (Homologous Recombination Repair) (HR)
- 2.2.2. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (Non-Homologous End Joining) (NH-EJ)

2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair) (MMR)

1. DOĞRUDAN ONARIM

1.1. Fotoreaktivasyon ile Onarım

UV kaynaklı siklobütan pirimidin dimerleri ve (6-4) fotoürünlerin uzaklaştırılması bu sistemde kullanılan fotolizaz enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir⁹. Fotoreaktivasyon onarım sistemi bakterilerde, mantarlarda, bitkilerde ve çoğu omurgalıda bulunmasına karşın, insan dahil pek çok ökaryotik türde olmamasından dolayı evrensel bir onarım sistemi değildir⁷.

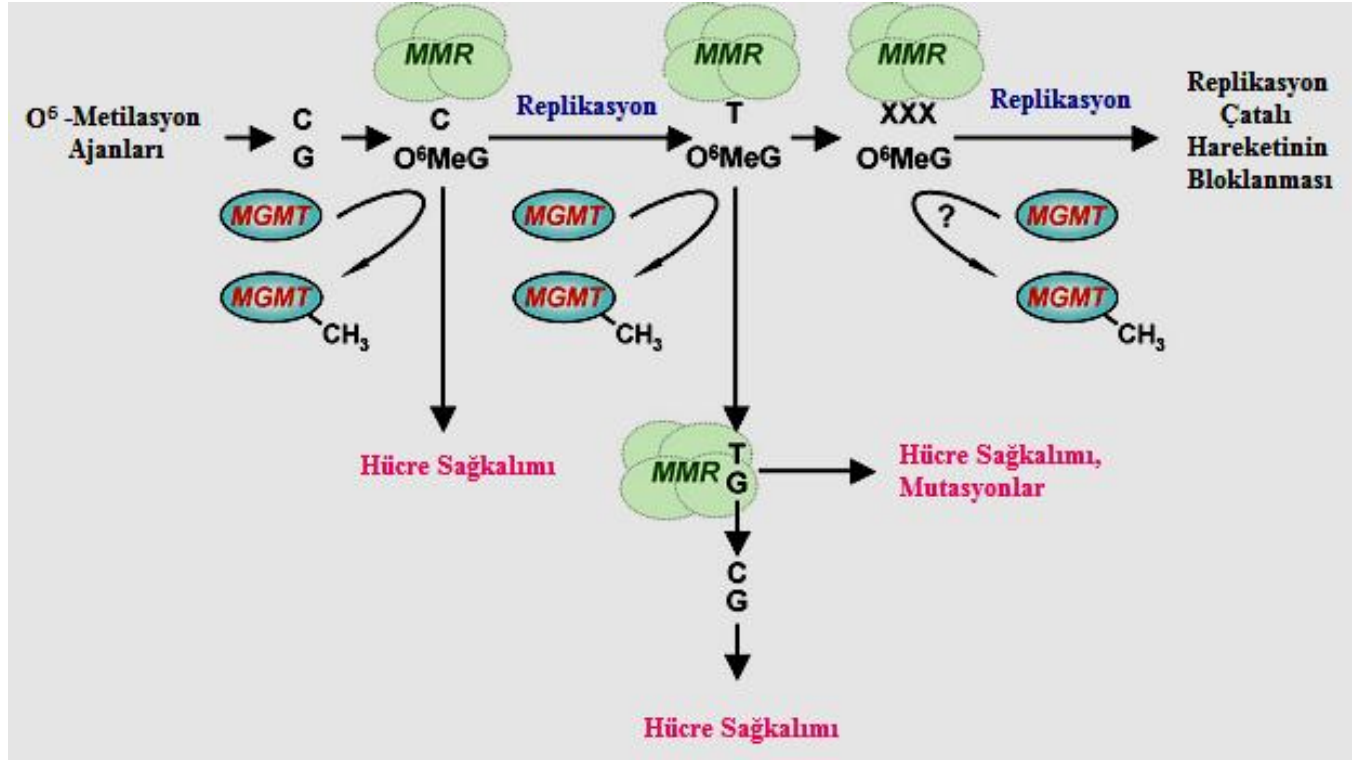
1.2. O6-MGMT ile Onarım

Günümüzde yaygın klinik kullanımı olan alkilasyon ajanları (örn. Metilasyon ajanları, kloroetilasyon ajanları) DNA, RNA ve protein gibi hücrel molekülere alkil grupları transfer ederek biyolojik etkilerini ortaya koymaktadırlar. Bu ajanlar; DNA omurgası içindeki fosfodiester gruplarının oksijeni ile birlikte, nükleik asitlerin nitrojen ve oksijeni içeren nükleofilik bölgeleriyle reaksiyona girerler¹¹. Metilasyon ve kloroetilasyon ajanlarının her ikisi de bir unimoleküler nükleofilik substitüsyon reaksiyonu (NS1 reaksiyonu) aracılığıyla hücrel makromoleküllere zarar verir ve bu nedenden dolayı onlar DNA'daki oksijen atomlarına doğru güçlü bir elektrofilik afiniteye sahiptirler. Bunlar arasında guaninin O6 pozisyonu biyolojik olarak oldukça önemlidir¹². NS1 reaksiyonu, DNA üzerinde nükleofilik bölgelere kovalent olarak bağlanan bir elektrofilik karbonyum iyonunun oluşumuna bağlı olan bir ilk dizi kinetikleri izler. Alkil DNA baz eklentileri farklı stabilitelere sahiptirler. N3-metiladenin (N3-MeA) ve N3-metilguanin (N3-MeG) kolaylıkla hidrolize olurken, diğer eklentiler ise, örn. N7-metilguanin (N7-MeG) uzun süre stabildir¹³. O6-MeG ise toplam alkilasyonun %8'inden daha az oranda meydana gelmekle birlikte daha karardır^{12,13}. Guanin bazının O6 pozisyonundaki alkilasyon, DNA'da meydana getirilen çeşitli alkilasyon lezyonlarından en mutajenik olanlarından biridir¹⁴.

O6-methylguanine (O6-meG), transkripsiyon sırasında RNA polimeraz II'nin uzatma görevini kısmi olarak bloke etmektedir. Eğer tamir edilemezse, hücrenin ilk replikasyonu sonunda O6-MeG karşısına tamamlayıcı baz olarak timin geçer. Yanlış baz çifti MMR (Mismatch

repair) sistemi ile de tamir edilemezse yanlış eşleşmiş bazlar replikasyon sonunda hücrede çift zincir DNA kırıklarının oluşmasına, apoptoz yolağının tetiklenmesine, ayrıca kromozomal anomalilere ve kansere yol açabilir^{2,13,15}. Metilasyon ajanlarının hücre DNA'sında oluşturduğu O⁶-MeG eklentisi, MGMT (O⁶-metilguanin-DNA-metiltransferaz) isimli bir enzim tarafından tamir

Şekil 3. MGMT tarafından O⁶-MeG'nin Onarımı¹³



MGMT geni kromozom 10q26 bölgesinde bulunmaktadır^{12,17}. Bu gen 24 kDa molekül ağırlıklı 207 aminoasit içeren bir protein için 866 nükleotidik bir mRNA kodlamaktadır¹². O⁶-MeG yalnızca MGMT ile tamir edilirken, guaninin O⁶ pozisyonundaki daha büyük eklentiler nükleotit ekzision tamir sistemi ile tamir edilebilir¹³. MGMT nükleusta bulunur ve tüm normal dokularda ifade edilir ancak MGMT'nin ifadesi ve aktivitesi farklı doku ve tümör tiplerine göre değişiklik göstermektedir^{2,15}. Tümör hücrelerinin büyük çoğunluğu (kolon kanseri, glioma, akciğer kanseri, meme kanseri, lösemi, lenfoma ve myeloma) MGMT'nin yüksek ekspresyon seviyelerine sahiptir ve bu da terapötik olarak kullanılan O⁶-alkilasyon ajanları tarafından indüklenen hücre ölümüne karşı koruyucu bir etkiye neden olur^{11,12,14,15}. Bununla birlikte MMR sistemi de bozulmuş olan bazı insan tümör hücre hatlarının alkilasyon ajanlarına karşı direnç geliştirdiği görülmüştür⁷. Pek çok çalışmada, MGMT aktivitesi ile tümör ilaç direnci arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir¹⁵. Alkilenmiş

edilir ve metilasyon kaldırılır^{2,13,16}. MGMT memeli hücre ve dokularında DNA alkilasyon ajanlarının zararlı etkilerine karşı koruyucu bir rol oynamaktadır^{11,15}. MGMT molekülü, alkil eklentilerini kendi üzerindeki sistein amino asidine transfer ederek alkilasyonun mutajenik etkisini ortadan kaldırmaktadır^{6,7,11} (Şekil3).

MGMT inaktif hale gelir, ubiquitlenir ve proteozomal sistem aracılığı ile parçalanır^{2,13}. MGMT geri dönüşümsüz olarak inaktive olduğu için sıklıkla bir intihar enzimi olarak bilinmektedir¹².

2. DOĞRUDAN OLMAYAN ONARIM

2.1. Kesip-Çıkarma Onarımı

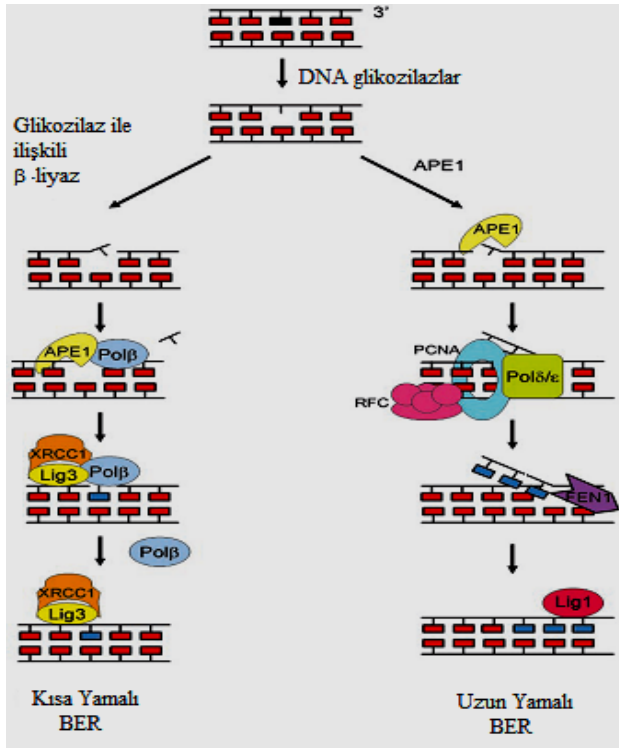
2.1.1. Baz Kesip-Çıkarma Onarımı (Base Excision Repair) (BER)

Alkilasyonun, deaminasyonun, oksidasyonun ve DNA replikasyon hatalarının neden olduğu küçük DNA modifikasyonları önemli DNA tamir süreçlerinden birisi olan BER ile tamir edilmektedir^{5,9,18}. BER mekanizması DNA glikozilaz, AP endonukleaz ya da AP DNA lityaz, DNA polimeraz ve DNA ligazı içeren enzimlerin fonksiyonunu gerektirmektedir¹⁹.

BER'de, kısa yamalı (short-patch) BER (SP-BER) ve uzun-yamalı (long-patch) BER (LP-BER) olmak üzere iki ayrı alt yolak bulunur¹⁹. Kısa yolakta tek nükleotid değişimi gerçekleşirken, uzun yolakta 2-8 arası nükleotidin kesip-

çıkarılması gerçekleşir^{6,7,18}. Her ikisinde de ilk basamakta tamir, hataya spesifik tek fonksiyonlu (urasil-DNA glikozilaz ve N-metilpürin-DNA glikozilaz gibi) ya da birden fazla fonksiyona sahip DNA glikozilazlar (8-oksoguanin DNA glikozilaz, mutY homolog vs) tarafından başlatılabilir⁵. İnsanda en az 12 farklı DNA glikozilaz tanımlanmıştır⁶. Bu enzimler abazik (AP) bir bölge oluşturmak ve bazı serbest bırakmak için modifiye baz ve şeker arasındaki N-glikozidik bağın hidrolize edilmesini katalizler^{13,18}. AP bölge, radyasyon ve kimyasallar tarafından da spontan olarak oluşturulabilmektedir¹⁸. Sonrasında ise LP-BER'de APE1 endonükleaz (APEX1) veya SP-BER'de ise glikozilaz ile ilişkili β -liyaz tarafından bu bölgede bir çentik oluşturularak AP bölgesine komşu bir 3'-OH ucu sağlanmaktadır¹⁹. Oluşturulan boşluklar, SP-BER yolağında DNA polimeraz β tarafından, LP-BER alt yolağında Pol β ve/veya Pol ϵ veya δ aracılığıyla doldurulur. Ligasyon işlemi, kısa yamalı BER alt yolağında XRCC1 ve LigazIII kompleksi tarafından gerçekleştirilirken, uzun yamalı BER alt yolağında Ligaz I tarafından gerçekleştirilir^{6,7,13} (Şekil 4).

Şekil 4. Baz Kesip-Çıkarma Onarımı (BER)⁷.



2.1.2. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarımı (Nucleotide Excision Repair) (NER)

NER mekanizması, çift zincir DNA'nın normal heliks yapısını bozan, UV ile indüklenmiş pirimidin dimerlerini ya da çoğunlukla mutajenik kimyasalların ve kemoterapötik ajanların oluşturduğu DNA eklentilerinden

kaynaklanan hasarların onarımını yapar^{1,2,9}. Memeli NER mekanizmasında 30'un üzerinde protein yer almaktadır¹. NER'deki defektler genetik olarak otozomal resesif hastalıkların bir grubu ile ilişkilidir: Xeroderma Pigmentosum (XP), Cockayne Sendromu (CS) ve Trikotodistrofi (TTD)'nin bir ışığa duyarlı formu^{2,20}. Bu hastalıkların her biri UV radyasyon duyarlılığı ile karakterizedir ve bazı durumlarda nörolojik fonksiyon bozukluğu gözlenmektedir².

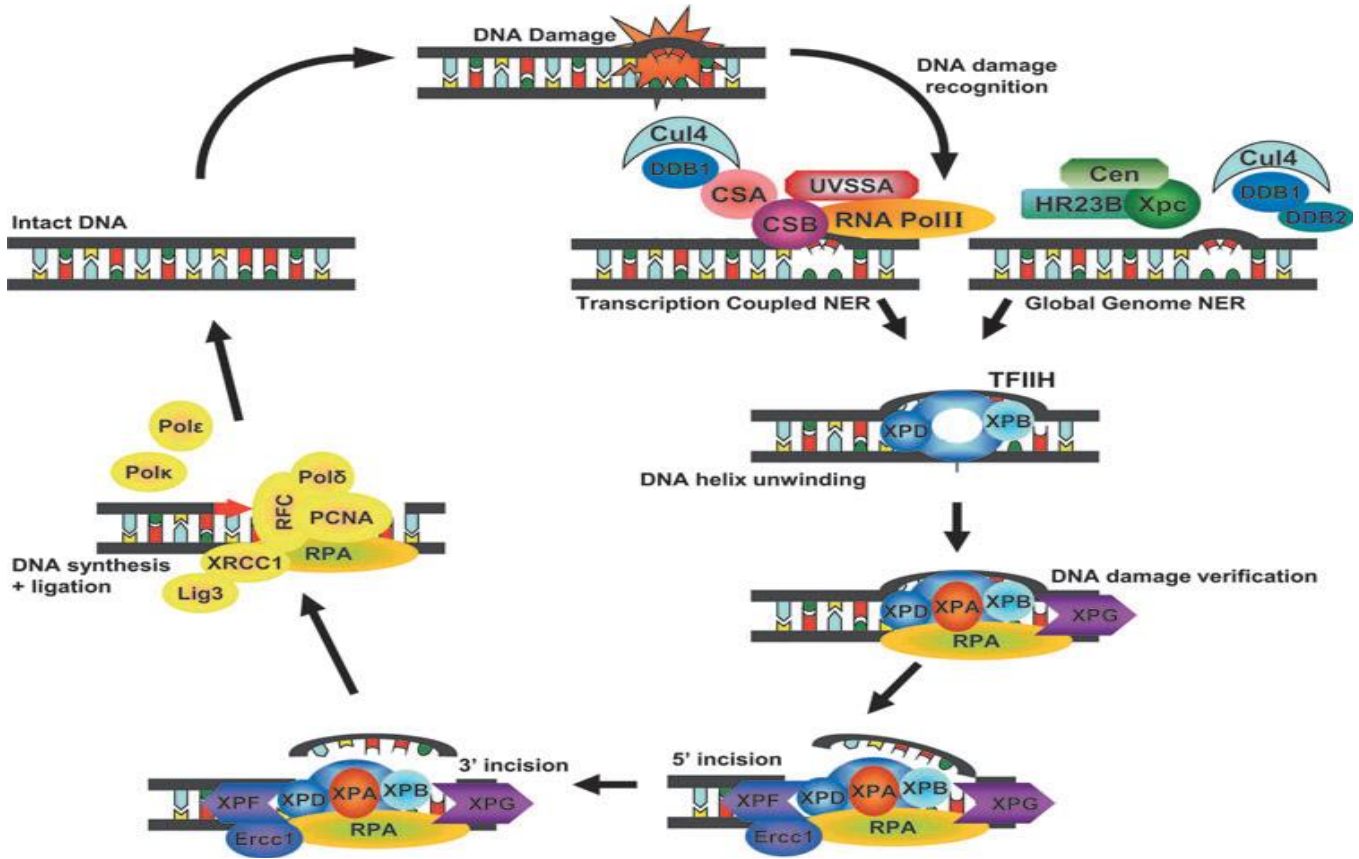
Transkripsiyona kenetlenmiş NER (Transcription Coupled NER)/(TC-NER) ve Global genom NER (Global Genome NER)/(GG-NER) olmak üzere iki ayrı NER alt yolağı tanımlanmaktadır^{1,5,21}. NER, DNA hasarının tanınması, hasarı içeren oligonükleotit fragmentin kesilmesi, oluşan boşluğun DNA polimerazlarca doldurulması ve ligasyon adımlarından meydana gelmektedir². Yalnızca hasarın tanınması adımı, GG-NER ve TC-NER mekanizmalarında farklıdır^{2,5,21}. GG-NER ile genom boyunca meydana gelen DNA hasarlarının tanınması ve uzaklaştırılması gerçekleştirilirken, TC-NER ile aktif olarak transkribe edilen genlerin tamiri gerçekleştirilmektedir⁵.

TC-NER sisteminde CSA (Cockayne sendromu grup A) ve CSB (Cockayne sendromu grup B) proteinleri çok önemli rol oynamakla birlikte hasarın tanınması ve RNA polimeraz II'nin stabilize edilmesi işlemleri bu proteinlerce gerçekleştirilmektedir^{5,22,23}. CSB, DNA bağımlı ATPaz'ların SWI/SNF ailesinin bir üyesidir ve RecA-helikaz benzeri motif içerir². CSB proteini RNA polimeraz II ile etkileşirken, CSA etkileşmez. CSB proteininin, durmuş olan RNA polimerazın yer değiştirmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. CSA'nın fonksiyonu ise tam olarak aydınlatılmamıştır, fakat TC-NER sisteminde transkripsiyon işleminin elongasyonu esnasında işe karıştığı görülmektedir. Ubikuitin ligaz kompleksi (CSA-DDB1-CUL4-RBX1 E3 ligaz) hasar bölgesine toplanır. Ubikuitin ligaz kompleksi GG-NER sisteminde de işe karışır ancak burada CSA'nın yerine DDB2 substrat reseptör olarak yer alır. Son zamanlarda ek bir TC-NER faktörü olarak UVSSA (UV-sensitive syndrome protein A) keşfedilmiştir. UVSSA, CSB'nin stabilizasyonunda işe karışmaktadır ve RNA polimeza-II ile etkileşmektedir. Birbirini izleyen NER bileşenlerinin hasarlı bölgeye toplanması CSB'ye bağlı bir şekilde gerçekleşmektedir²³.

GG-NER ile hasar tanınması XPC-hHR23B protein dimerleri (centrin2 dahil) tarafından sağlanmaktadır. XPC proteini genom boyunca helikal bozuklukları tanıyan ve hasarın bulunduğu bölgeye yerleşen ilk NER proteindir. hHR23B ubiquitin ile ilişkili domainler içermektedir, ubiquitin/proteozom protein degradasyon yoluyla ilişkilidir ve XPC'nin stabilize edilmesi için gereklidir²². Hasarın tanınması için ayrıca, UV-DDB (UV-DamagedDNA

Binding) proteinlerinden DDB1 ve DDB2 de işe karışmaktadır^{22,23}. DDB2-DDB1-CUL4-RBX1 E3 ligaz kompleksinin (CRL4DDB2) bir parçası olan UV-DDB kompleksi, DNA'nın heliks yapısının bozulmasına neden olan UV ile indüklenmiş siklobütan pirimidin dimerleri ve 6-4 fotoürün lezyonlarının tanınmasını kolaylaştırmaktadır^{2,5,23}. Hasarın tanınması işlemlerinden sonra her iki NER sisteminde de ortak olarak TFIIH kompleksi hasarlı bölgeye bağlanır. TFIIH kompleksi, 10 proteinden (XPB, XPD, p62, p52, p44, p34, p8 ve CDK-aktive eden (CAK) kompleks: MAT1, CDK7 ve Siklin H) meydana gelmektedir ve DNA sarmalının çözülmesinden sorumludur. TFIIH DNA sarmalında bir kabarcık oluşturur. XPB ve XPD DNA helikazlar tarafından insizyon kompleksinin lezyon bölgesine girmesini kolaylaştırmak amacıyla DNA sarmalının kısmi çözülmesi ileletirler. XPA, RPA ve XPG proteinleri insizyon kompleksinin ek faktörleridirler ve tümü hasarlanmış bölgede toplanırlar. XPA'nın hasarın doğrulanmasından sorumlu olduğuna ve RPA ve XPA'nın açık yapıyı stabilize ederek hasarlanmamış diziyi yanlış kesimden koruduğuna inanılmaktadır. Ayrıca hasarlı **Şekil 5. Nükleotid Kesip-Çıkarma Onarımı**²³

DNA'nın gerilmesinin, sonraki adım olan kesip/çıkarma işleminin başlaması için gerekli olduğu desteklenmektedir. RPA, hasarlı zincirin iki yönlü kesimi için gerekli olan endonükleazlardan XPG ve ERCC1-XPF dimerleri ile etkileşir. Endonükleazların doğru konumlanması RPA tarafından kolaylaştırılmaktadır²³. XPG ve ERCC1-XPF'nin ortak aktivitesi ile yaklaşık 24-32 nükleotidlik tek zincir fragmentin çıkarılması işlemi gerçekleşir. Genel olarak ERCC1-XPF'nin 5' ucun ilk kesiminden sorumlu olduğuna ve bunu daha sonra XPG tarafından 3' ucun kesilmesinin takip ettiğine inanılmaktadır^{2,5,23}. Hasarlı oligonükleotid serbest bırakılır ve oluşan boşluk DNA polimerazlar (Pol δ , Pol ϵ ve Pol η) tarafından doldurulur. Bu süreç RFC (replikasyon faktör C), RPA ve PCNA (proliferating cellular nuclear antigen) tarafından kolaylaştırılmaktadır^{5,23}. Son olarak, zincirlerin ligasyonu ise hücre döngüsünün S fazında iken DNA ligaz I tarafından ya da hücre döngüsünün diğer fazlarında DNA ligaz III α (LIG3 α)-XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1) kompleksi tarafından sağlanır^{2,5} (Şekil 5).



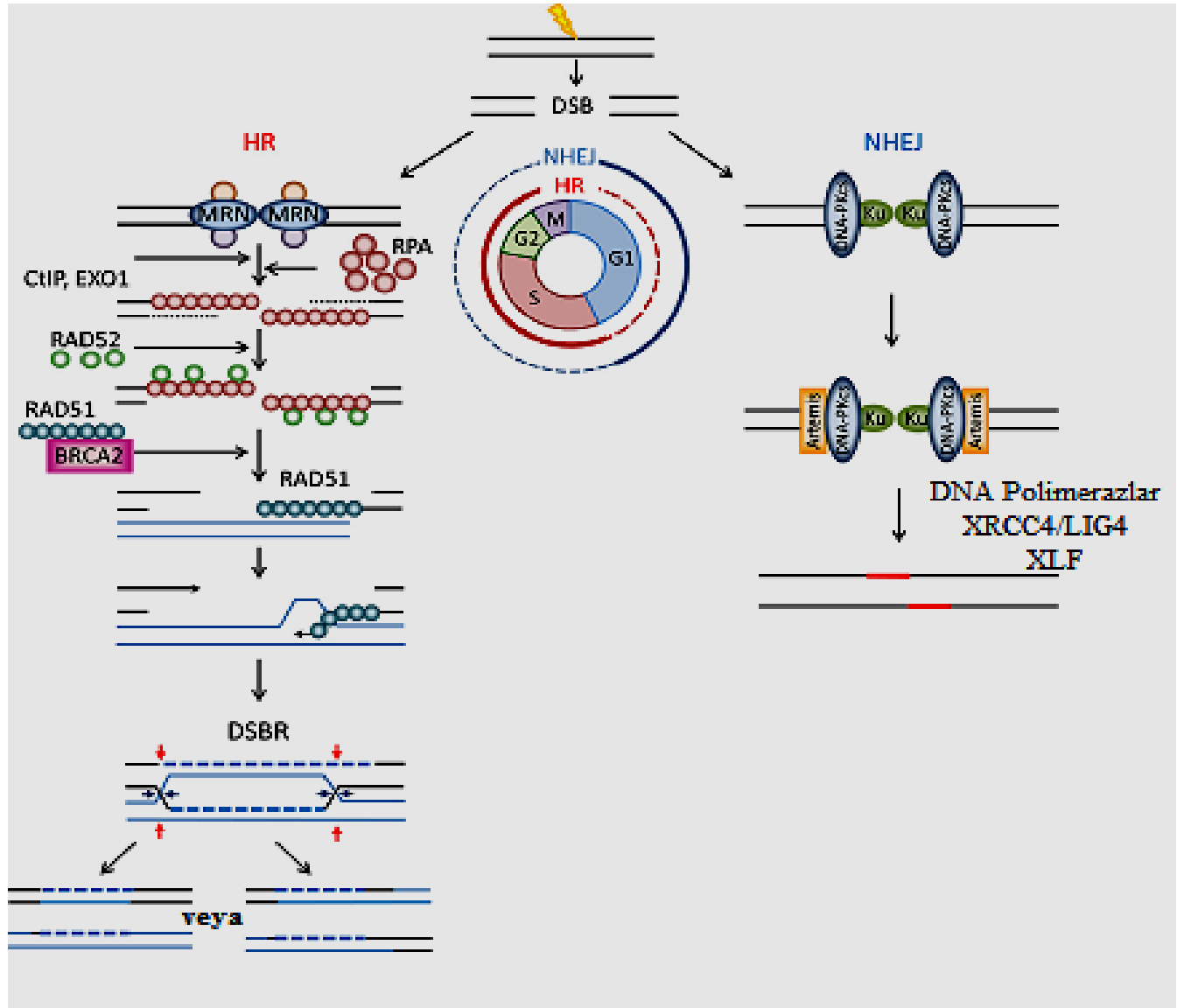
2.2.Çift Zincir Kırık Onarımı

Çift zincir kırıkları genetik bütünlüğün kaybıyla sonuçlanabilen kromozomal kırıklardır. Çift zincir kırıkları; iyonize radyasyon ve genotoksik bileşenler gibi ekzojen kaynaklarla indüklenebildiği gibi hücrel metabolizmanın yan ürünleri olan reaktif oksijen türlerinin etkisiyle replikasyon, mayotik rekombinasyon ve DNA onarımı sırasında replikasyon çatalının çökmesi sonucu meydana gelebilmektedir^{5,6}. Tamir edilemeyen çift zincir kırıkları hücre ölümüne neden olabilmektedir, bu nedenle çift zincir kırıklarının tamiri önemlidir⁶.

İnsanda çift zincir kırıklarının tamiri iki majör mekanizma ile sağlanmaktadır: homolog rekombinasyon (HR) ve

homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ)^{2,5}. HR ve NHEJ çok farklı mekanizmalardır ve çok farklı protein faktörlerini gerektirmektedir (Şekil 6). Bazı kaynaklar NHEJ'in HR onarımından daha fazla sıklıkta görüldüğünü desteklemektedir. Ancak çift zincir kırıklarının tamirinde hangi mekanizmanın seçileceği, hücre döngüsüne ya da her iki mekanizmanın kullanılabilir spesifik bileşenlerinin seviyesine bağlı olabilir^{5,6}. Ataksi telenjiektazi, Nijmegen breakage sendromu gibi nörolojik, immünolojik ve gelişimsel defektler sonucu oluşan çeşitli insan hastalıklarının HR ya da NHEJ onarımlarında meydana gelen hatalardan kaynaklandığı rapor edilmiştir²(Şekil 6).

Şekil 6. Homolog rekombinasyon (HR) ve Homolog Olmayan Uç Birleştirme (NHEJ) Onarım Sistemi².



2.2.1. Homolog Rekombinasyonel Onarım (Homologous Recombination Repair) (HR)

HR kardeş kromatid iplikçisini kalıp olarak kullanarak çift zincir kırık onarımının hatasız olarak yapılmasına izin verir. HR bölünen hücrelerde, homolog kardeş kromatide ulaşılabildiği zaman yani hücre döngüsünün S, G2/M fazlarında gerçekleşmektedir. Ek olarak HR, replikasyon çatalının korunması, telomer bakımı ve mayoz I'de kromozom dağılımının korunmasında önemlidir^{5,6}.

HR'da ilk aşamada MRN kompleksi tarafından çift zincir kırıklarının tanınması gerçekleşmektedir. MRN kompleksi Mre11, Rad50 ve Nbs1 proteinlerinden oluşmaktadır. Bu kompleks bir kırık sensörü olarak rol oynar². MRN, lezyonun etrafındaki DNA'ya bağlanır ve 5'-3' bağlı uç yönündeki kırık etrafındaki DNA'yı keser. Bu diğer hasar tanıma proteinlerini toplamak için bir sinyal olarak rol oynamaktadır. MRN kompleksi tarafından gerçekleştirilen bu kesim, HR'nin erken aşamasında, MRN kompleksi ile CtIP'nin etkileşimi sonucunda uyarılmaktadır.

Mre11 tarafından kesimin başlamasını takiben, tek zincir DNA'nın uzun şekilde gerilmesini sağlamak için Exo1 daha kapsamlı bir kesim uygular. Bir tek zincir DNA bağlayan heteromerik kompleks olan RPA (Replikasyon proteini A) uzamış tek zincir DNA'ya bağlanır ve BRCA1 tarafından lezyon bulunduğu bölgede kalması sağlanır²⁴. RPA'nın bağlanmasıyla tek zincir DNA stabilize hale getirilmekte ve nükleazlardan korunması sağlanmaktadır². RPA, BRCA2 tarafından DNA'ya yüklenmiş olan rekombinaz Rad51 aracılığı ile DNA'dan çıkartılır. Rad51, tek zincir DNA boyunca bir nükleoprotein filamenti oluşturur ve bu filament kardeş kromatidin zincir invazyonuna izin veren bir fonksiyona sahiptir²⁴. Rad51 nükleoprotein filamenti ile kaplanmış tek zincir DNA sağlam homolog DNA bölgesinin zincir invazyonunu gerçekleştirir. Değişim ve invazyonu takiben, bir polimeraz (genellikle pol δ) tarafından DNA uzatılır ve ligasyonla süreç tamamlanır^{2,6}.

2.2.2. Homolog Olmayan Uç Birleştirme (Non-Homologous End Joining) (NHEJ)

NHEJ, hücre döngüsünden bağımsız olarak, bölünen ve bölünmeyen hücrelerde görülebilirken, en aktif olduğu aşama G1 fazıdır². NHEJ çift zincir kırık uçları modifiye ederek birbirine bağlar. Bu tamir sistemi ile hasarlanmamış DNA kalıbına ihtiyaç duyulmaksızın hataya meyilli olarak, birkaç nükleotid kaybı ile DNA onarımı gerçekleşir^{5,6}. NHEJ'in ilk aşaması, iki çift zincir kırıklı DNA bölgesine yakın ve uzak uçlardan doğrudan bağlanarak onu yıkılmaktan koruyan Ku70 ve Ku80 heterodimerik protein kompleksini gerektirmektedir. Ku70 ve Ku80 kompleksi aynı zamanda DNA-bağımlı protein kinaz katalitik alt birimi (DNA-PKcs) ile birleşir^{2,6}. Bu multiprotein kompleksi DNA uçlarını stabilize eder ve hizaya sokar. Her bir çift zincir kırık uçlarında

konumlandırılmış iki DNA-PKcs arasındaki etkileşim, DNA-PKcs otofosforilasyonuna neden olan protein kinaz etkinliğini aktif hale getirir. Çift zincir kırıkların kompleksliliği ve uçların doğasına bağlı olarak farklı NHEJ faktörleri sürece dahil edilir. DNA-PKcs bir endonükleaz olan Artemisi aktive eder. Artemis komplementer nükleotid uzantılarını ortaya çıkarmak için kırık 3' ve 5' tek zincir çıkıntılarını düzeltir. Artemis tarafından sarkan uçların oluşturulmasından (anlatım ve şekil birleştirildiğinde iyi anlaşılıyor) sonra XRCC4/ligaz 4 kompleksi tarafından ligasyon yapılarak NHEJ onarımının son adımı gerçekleştirilmektedir^{2,6}.

2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair) (MMR)

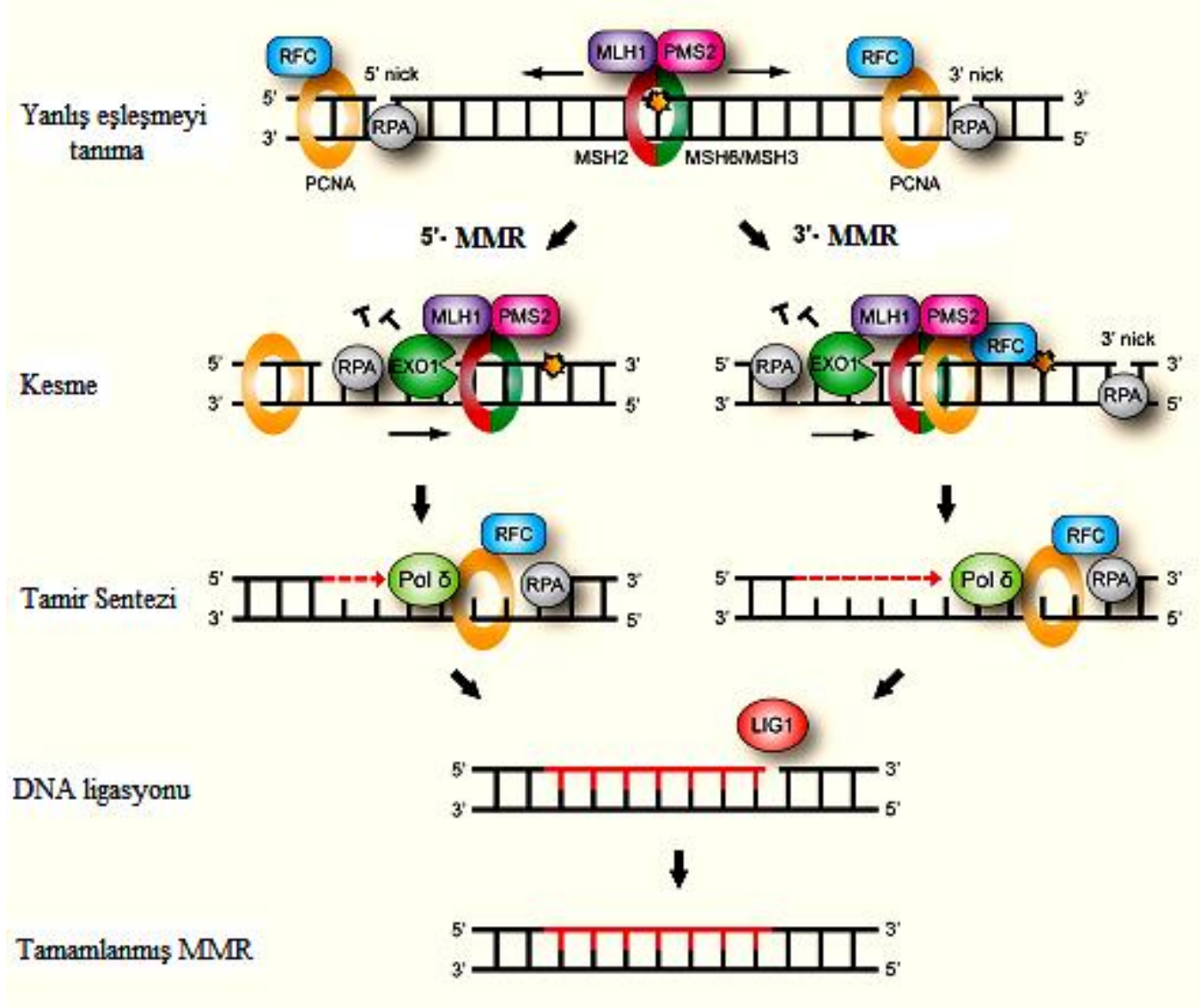
DNA yanlış eşleşme onarımı (MMR)'nin birincil fonksiyonu, baz-baz yanlış eşleşmeleri ile DNA replikasyonu ve rekombinasyonu esnasında ortaya çıkan insersiyon-delesyon looplarının uzaklaştırılmasıdır^{5,25}. MMR sisteminde meydana gelen hatalar hücre yapısını ve fonksiyonlarını etkileyebilmekte, tümör oluşumu veya dejeneratif hastalıklar meydana gelebilmektedir. İnsanda MMR için en az 6 farklı protein gerekmektedir. MSH proteinleri, hasarlı zincirin duplikasyonunu önlemek ve tek zincir kırıklarını tamir etmek amacıyla replikasyon sırasında genom dizisindeki hataları tanımaktadır. Yanlış eşleşmenin tanınması için, MSH2 proteini MSH6 ya da MSH3 ile bir heterodimer oluşturur. MMR sistemi ATP bağımlı olarak gerçekleşir²⁷.

MSH2'nin MSH6 ile yaptığı heterodimer MutS α 'yı, MSH2-MSH3 heterodimeri MutS β 'yi oluşturur. MutS α tercihen baz-baz yanlış eşleşmelerini ve 1 ya da 2 nükleotid insersiyon-delesyon hatalarını tanıırken, MutS β daha büyük insersiyon-delesyon hatalarını tanıyabilmektedir²⁷. MLH1 ve PMS2 heterodimeri (ya da MLH1-MLH3 ya da MLH1-PMS1), MMR için gerekli olan diğer proteinler ve yanlış eşleşme tanıma kompleksi arasındaki etkileşimi koordine eder. Tamire katılan diğer proteinler ise PCNA (proliferating cell nuclear antigen), ekzonükleazlar (örn. EXO1), DNA polimerazlar, replikasyon faktörleri (örn. Tek-zincir DNA'ya bağlanan protein RPA) ve helikazları içermektedir²⁸. MLH1'in PMS2, MLH3 ya da PMS1 ile yaptığı heterodimerler sırasıyla hMutL α , hMutL β ya da hMutL γ olarak adlandırılmaktadır. hMutL α bir ATPaz aktivitesine sahiptir ve bu aktivitede meydana gelen bir hata, insan hücrelerinde MMR'yi etkisiz hale getirir. MutL α yanlış eşleşmenin kesip çıkarılmasının sonlanmasını düzenlemektedir. Son çalışmalar, MutL α 'nın bir PCNA/replikasyon faktör C (RFC)-bağımlı endonükleaz aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu endonükleaz aktivite EXO1'in de işe karıştığı 3' ucun doğrudan MMR ile onarımında kritik bir rol oynamaktadır. PCNA, MSH2 ve MLH1 ile etkileşir ve MMR'nin başlamasında ve DNA'nın yeniden sentezi

adımlarında rol oynadığı düşünülmektedir. PCNA'ya benzer şekilde EXO1 de MSH2 ve MLH1 ile etkileşir. EXO1; MutSα ya da MutSβ ve RPA'nın varlığında yanlış eşleşme kesip-çıkarılmasını gerçekleştirmektedir.

PMS2'nin endonükleaz fonksiyonu ile ATP bağımlı olarak çentik açılır ve kesip çıkarma işlemi EXO1 ile

Şekil 7. İnsanda Yanlış Eşleşme Tamiri (MMR)⁵.



SONUÇ

Canlılarda DNA hasarı, endojen ya da ekzojen genotoksik ajanlar tarafından oluşturulmaktadır ve eğer bu hasarlar onarılmazsa genomik instabiliteye neden olabilmekte ve bunun sonucunda özellikle kanser, nörolojik anomaliler, immün yetmezlik ve erken yaşlanma gibi çeşitli hastalıklar meydana gelebilmektedir^{1,2}. Hücreler, bu tür zararlı sonuçları önlemek, spesifik DNA lezyonları gidermek ve

gerçekleştirilir²⁶. İnsan MMR'de, RPA, tamir sırasında Exo1'in aktivitesini kontrol ederek onun işlev kapasitesini azaltmakta ve tek zincir DNA'ya bağlanarak onu stabilize etmektedir²⁹. DNA Polimeraz δ boşluklu bölgeye uygun bazı ekler ve Lig1 ile ligasyon işlemi gerçekleştirilerek MMR tamamlanmaktadır²⁷.

KAYNAKLAR

1. Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med.* 2009;361(19):1914.

2. Iyama T, Wilson DM. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair*. 2013;12(8):620-36.
3. De Bont R, van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*. 2004;19(3):169-85.
4. Ciccia, A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010;40(2):179-204.
5. Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*. 2011;94(2):166-200.
6. Slupphaug G, Kavli B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutat Res*. 2003;531(1-2):231-51.
7. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*. 2004;73:39-85.
8. Sherman MH, Bassing CH, Teitell MA. Regulation of cell differentiation by the DNA damage response. *Trends Cell Biol*. 2011;21(5):312-9.
9. Morita R, Nakane S, Shimada A, et al: Molecular Mechanisms of the Whole DNA Repair System: A Comparison of Bacterial and Eukaryotic Systems. *J Nucleic Acids*. 2010;2010:179594.
10. Sameer AS, Nissar S, Fatima K. Mismatch repair pathway: molecules, functions, and role in colorectal carcinogenesis. *European Journal of Cancer Prevention*. 2014;23(4):246-57.
11. Hansen RJ, Ludeman SM, Paikoff SJ, Pegg AE, Dolan ME. Role of MGMT in protecting against cyclophosphamide-induced toxicity in cells and animals. *DNA Repair (Amst)*. 2007;6(8):1145-54.
12. Kaina B, Margison GP, Christmann M. Targeting O6-methylguanine-DNA methyltransferase with specific inhibitors as a strategy in cancer therapy. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(21):3663-81.
13. Kaina B, Christmann M, Naumann S, Roos WP. MGMT: Key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents. *DNA Repair (Amst)*. 2007;6(8):1079-99.
14. Christmann M, Verbeek B, Roos WP, Kaina B. O6-Methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) in normal tissues and tumors: Enzyme activity, promoter methylation and immunohistochemistry. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1816(2):179-90.
15. Liu L, Gerson SL. Targeted Modulation of MGMT: Clinical Implications. *Clin Cancer Res*. 2006;12(2):328-31.
16. Riemenschneider MJ, Hegi ME, Reifenberger G. MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Target Oncol*. 2010;5(3):161-5.
17. Buttarelli FR, Massimino M, Antonelli M, et al: Evaluation status and prognostic significance of O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation in pediatric high grade gliomas. *Childs Nerv Syst*. 2010;26(8):1051-6.
18. Weissman L, de Souza-Pinto NC, Stevnsner T, Bohr VA. DNA repair, mitochondria, and neurodegeneration. *Neuroscience*. 2007;145(4):1318-29.
19. Robertson AB, Klungland A, Rognes T, Leiros I. Base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(6):981-93.
20. Fousteri M, Mullenders LH. Transcription-coupled nucleotide excision repair in mammalian cells: molecular mechanisms and biological effects. *Cell Res*. 2008;18(1):73-84.
21. Shuck SC, Short EA, Turchi JJ. Eukaryotic nucleotide excision repair, from understanding mechanisms to influencing biology. *Cell Res*. 2008;18(1):64-72.
22. Mitchell JR, Hoeijmakers JH, Niedernhofer LJ. Divide and conquer: nucleotide excision repair battles cancer and ageing. *Curr Opin Cell Biol*. 2003;15(2):232-40.
23. Melis JP, van Steeg H, Luijten M. Oxidative DNA damage and nucleotide excision repair. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(18):2409-19.
24. Jekimovs C, Bolderson E, Suraweera A, Adams M, O'Byrne KJ, Richard DJ. Chemotherapeutic compounds targeting the DNA double-strand break repair pathways: the good, the bad, and the promising. *Front Oncol*. 2014;4:86.
25. Martin SA, Lord CJ, Ashworth A. Therapeutic Targeting of the DNA Mismatch Repair Pathway. *Clin Cancer Res*. 2010;16(21):5107-13.
26. Conde-Pérezprina JC, León-Galván MÁ, Konigsberg M. DNA Mismatch Repair System: Repercussions in Cellular Homeostasis and Relationship with Aging. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:728430.
27. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res*. 2008;18(1):85-98.
28. Peltomäki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res*. 2001;488(1):77-85.
29. Modrich P. Mechanisms in eukaryotic mismatch repair. *J Biol Chem*. 2006;281(41):30305-9.