

Biológia-kémia szekció

KÉMIA ALSZEKCIÓ

Batki Júlia (MTA TTK Enzimológia Intézet, ELTE TTK Kémiai Intézet, Eötvös József Collegium)

Az uracil-DNS szerepe a *Drosophila melanogaster* egyedfejlődésében

Az uracil megjelenése igen gyakori hiba a DNS-ben. Az uracil-tartalmú DNS metabolizmusának legfontosabb enzimei a dUTPáz, mely megakadályozza az uracil beépülését, és az uracil-DNS glikozilázok (UDG), melyek a báziskivágásos javítómechanizmus (BER) részeként eltávolítják a beépült uracilt. A *Drosophila melanogaster* metamorfózis során degradálódó lárvális szövetekben nincs jelen a dUTPáz, ezért genomjuk nagy mennyiségű uracilt tartalmaz. Az ún. imaginális szövetek, melyek a kifejtett állat szöveteit alakítják ki a metamorfózist követően, a dUTPáz kifejezésével alacsonyan tartják genomjuk uracil tartalmát. dUTPáz csendesítés hatására ezekben a szövetekben is megnő a genomi uracil tartalom, valamint az enzim hiánya letalitást okoz bábállapotban.

Munkám célja a dUTPáz hiányában bekövetkezett letalítás molekuláris mechanizmusának felderítése volt, melynek feltételezéseink szerint a genomi integritás csökkenése lehet az oka. Kísérleteimben a DNS integritását vizsgáló módszereket alkalmaztam, melyekkel DNS száltöréseket tartalmazó sejteket detektáltam vad típusú és dUTPáz csendesített imaginális szövetekben. A dUTPáz csendesített szövetekben tapasztalt, a vad típushoz képest kiterjedtebb festődés azt igazolja, hogy a dUTPáz fontos a genom integritásának megőrzésében.

Valószínűsíthető, hogy a száltörések megjelenéséért BER enzimek felelősek. Ennek tisztázásához olyan egyedekkel végeztem kísérleteket, melyekben egyszerre volt csendesítve a dUTPáz és a vizsgálni kívánt három BER enzim egyike (Thd1, SMUG, APE1). Mindhárom esetben különböző mértékű életképesség-növekedés volt tapasztalható, tehát a három enzim mindegyike szerepet játszhat a száltörések kialakulásában. A BER enzimek funkcióját különállóan is szerettem volna tanulmányozni. Eddigi munkám során Thd1 mutáns egyedek imaginális szövetét vizsgáltam meg, melyekben megmértem, hogy az enzim hiányában a genomi uracil tartalom megnő.

További célkitűzésem volt tanulmányozni a dUTPáz túltermelésének hatását. Ezzel választ kaphatunk arra a kérdésre, hogy van-e élettani szerepe az enzim hiányának, illetve a magas genomi uracil tartalomnak a degradálódó lárvális szövetekben. A tapasztaltak szerint, a dUTPáz kifejeződés mesterséges indukálása nem okozott zavart az egyedfejlődésben. Ebből az eredményből arra következtethetünk, hogy az uracil-mentes genom fenntartása csak az osztódó szövetekben elengedhetetlen. Jövőbeli tervem a DNS-beli uracil tartalom mérése, hogy a dUTPáz túltermelését molekuláris szinten jellemezzem.

Pálkás Hajnalka (BME)

Sejtmagba irányuló transzport vizsgálata a dUTPázok esetében

Élő szervezetekben a genomi integritás megőrzését számos élettani folyamat látja el. Ezek között a dUTPáz enzim a dUTP-t dUMP-vé és pirofoszfáttá hidrolizálja, biztosítva ezzel az alacsony sejtbeli dUTP/dTTP arányt és a genom uracilmentességét. Az enzim több szervezetben esszenciális, hiánya sejthalálhoz vezet, ami ígéretes terápiás kiindulópont lehet számos gyakori megbetegedés és kórkép kezelésében (pl. tuberkulózis, malária vagy a tumoros elváltozások). Eukarióta szervezetekben a dUTPáz általában a sejtmagba vagy a mitokondriumba transzlokálódik.

A 40 kDa-nál nagyobb fehérjék aktív magi transzportját az importin receptorcsalád tagjai látják el, a cargo fehérje nukleáris lokalizációs szignálján (NLS) keresztül. A dUTPázok általában homotrimer enzimek, melyek így három azonos NLS szignállal rendelkeznek, ahogy a *Drosophila melanogaster* dUTPáz enzime is. A *Drosophila virilis* azonban egy egyedű dUTPázal rendelkezik, amit három, kovalens úton összekötött domén egység épít fel, egy úgynevezett pseudo-heterotrimeret alkotva, amely csak egy NLS szignált tartalmaz. Mesterséges úton előállítható ebből egy homotrimer dUTPáz is, ami már három NLS szignált fog hordozni.