

Mutagenesis és Karcinogenesis kutatócsoport

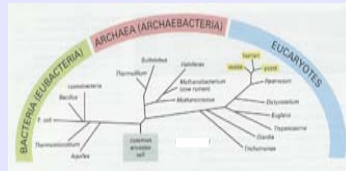
SZBK Genetikai Intézete (429 dolgozó, Tel: 62-599666)

Haracska Lajos

haracska@brc.hu www.brc.hu/lajoslab

Evolúció és karcinogenezis: közös gyökerek

Mutagenesis és karcinogenezis



DNS károsodások DNS javítás



Betekintés a Mutagenesis és Karcinogenezis Kutatócsoport munkájába

Élesztőtől az emberig

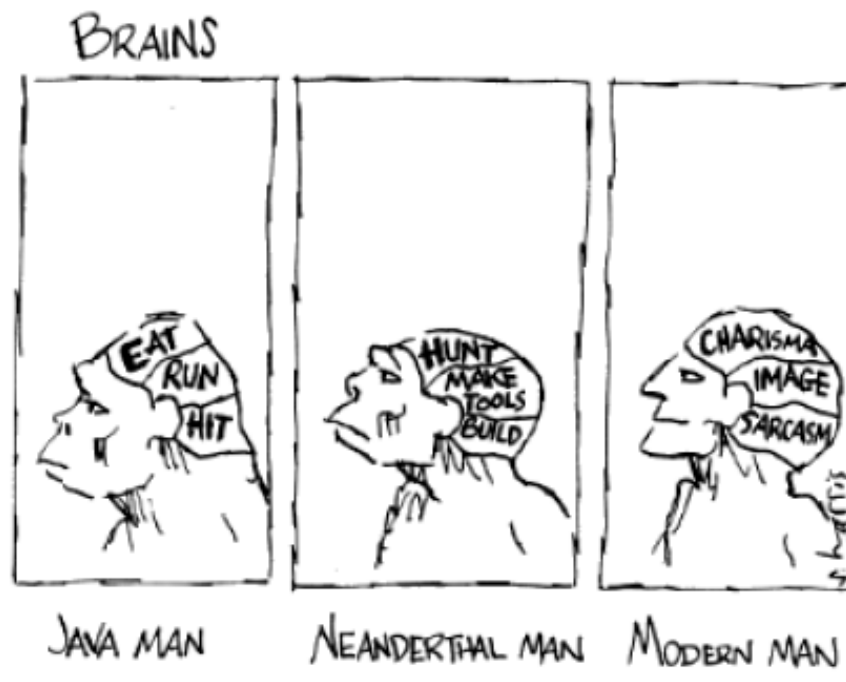
Csirkelábak és a DNS replikáció



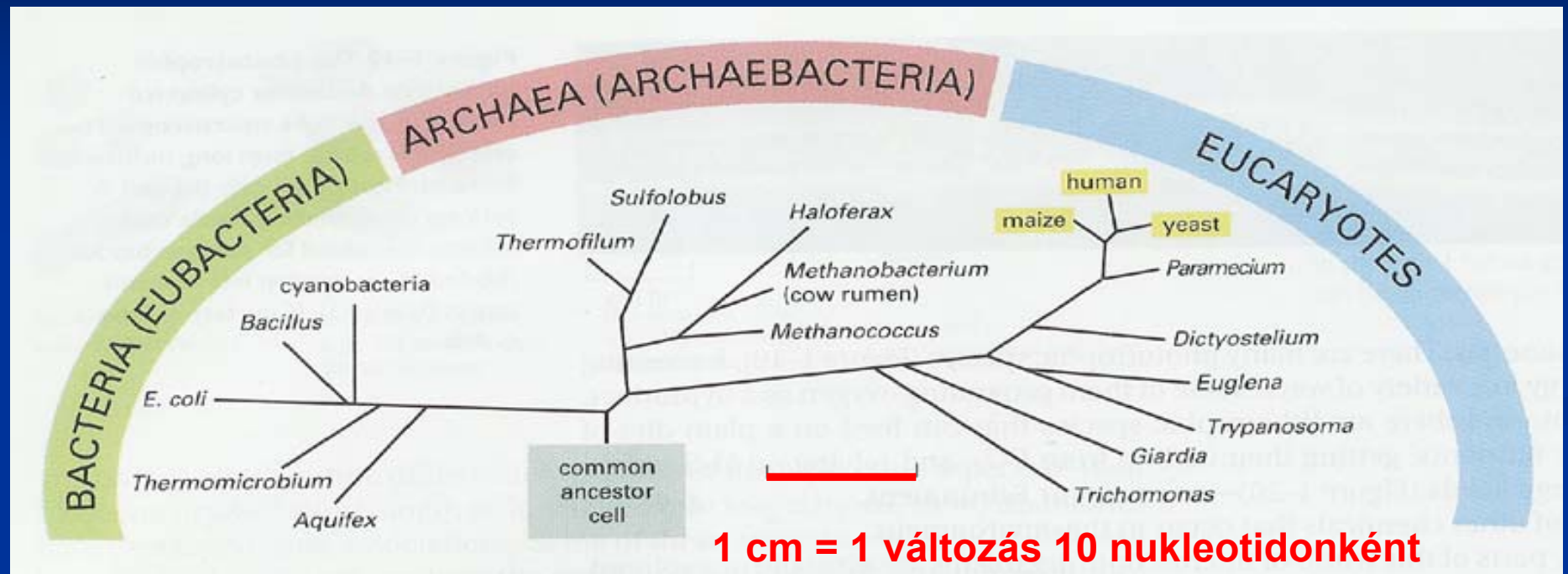
Evolúció és karcinogenezis: közös gyökerek

Why mutation?

- to gain chance for surviving
- spontaneous vs. induced/forced



Evolúció és karcinogenezis: közös gyökerek

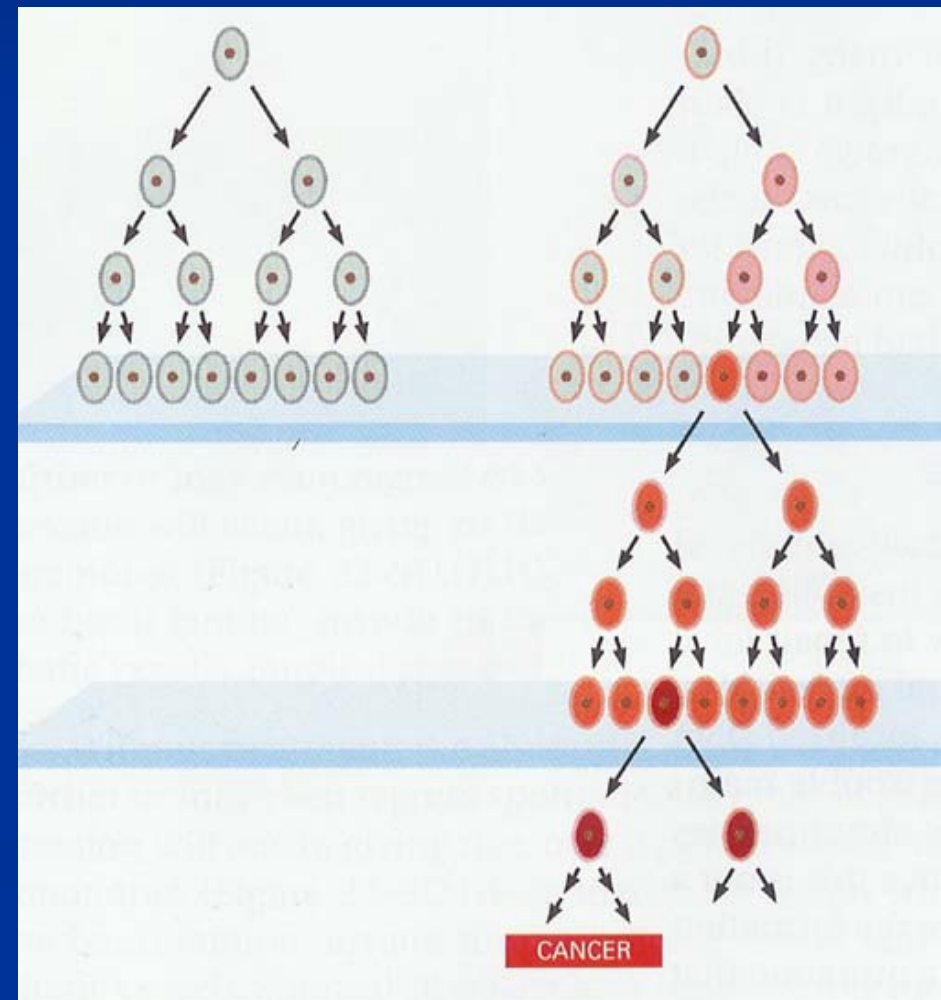
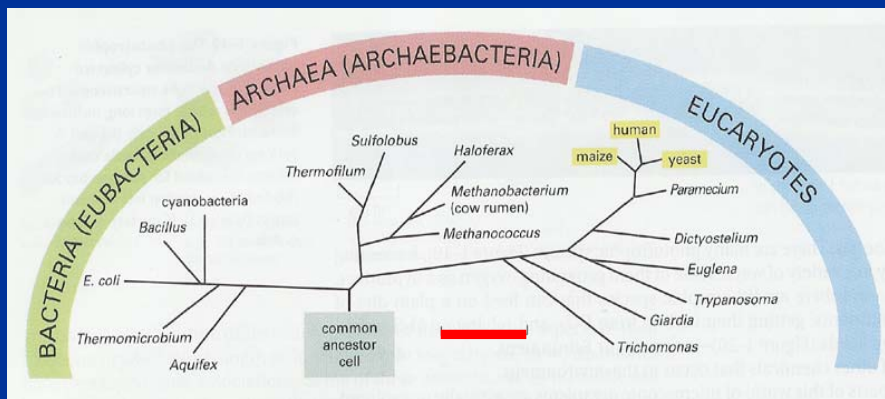


Species	Gene	Position	Sequence	Position
Sc	RAD5	590	IIVVEMSLLTQWVSNFTKANNSPDMYHEVYYGGNVSSLKTIILTKTKTPPTVVILTYGIVQNEWTKHSGKGRMTIED	663
Hs	SHPRH	720	IISPSSICHQVWDEINRHVRSSSLRVIIVYQGVKKDGF--LQPHFLAEQDIVIITTYDVLRSLELNYVDIPHSNSEDGRRLRN	797
<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> Helicase Ia Helicase II Helicase III </div>				
Sc	RAD5	664	----VNISGLFSVNFYRIIIDEGHNIRNRTTVTSKAVMALQGKCKWVLTGTPIINRLDDLYSLVKFLELDPWRQINYWK	739
Hs	SHPRH	798	QKRYMAIPSELVAVEWWRICLDEAQMVECPVKAEMAQRLSGINRWCI SGTPVQRGLEDLEGLVVFLGIEPYCVKHWV	877
Sc	RAD5	740	TFVSTPFESKNYKQAEDEVVNAILEEVLIRRTKQMKDKDGKPLVELPKKEVVIKRIPFSKSQDLIYKFLLDKAEVSVKSGI	819
Hs	SHPRH	878	RLLYRPPYCKKNPOHLY----SFIAKILWRSK----KDVIDCIQIPQTEEIHWHLHFSVVERHFYH---RQEVCCQDVV	946

Evolúció és karcinogenezis: közös gyökerek

stabil DNS

Instabil DNS



Lifetime Probability of Developing Cancer, by Site, Men, 2000-2002*

Site	Risk
All sites†	1 in 2
Prostate	1 in 6
Lung and bronchus	1 in 13
Colon and rectum	1 in 17
Urinary bladder‡	1 in 28
Non-Hodgkin lymphoma	1 in 46
Melanoma	1 in 52
Kidney	1 in 64
Leukemia	1 in 67
Oral Cavity	1 in 73
Stomach	1 in 82

* For those free of cancer at beginning of age interval. Based on cancer cases diagnosed during 2000 to 2002.

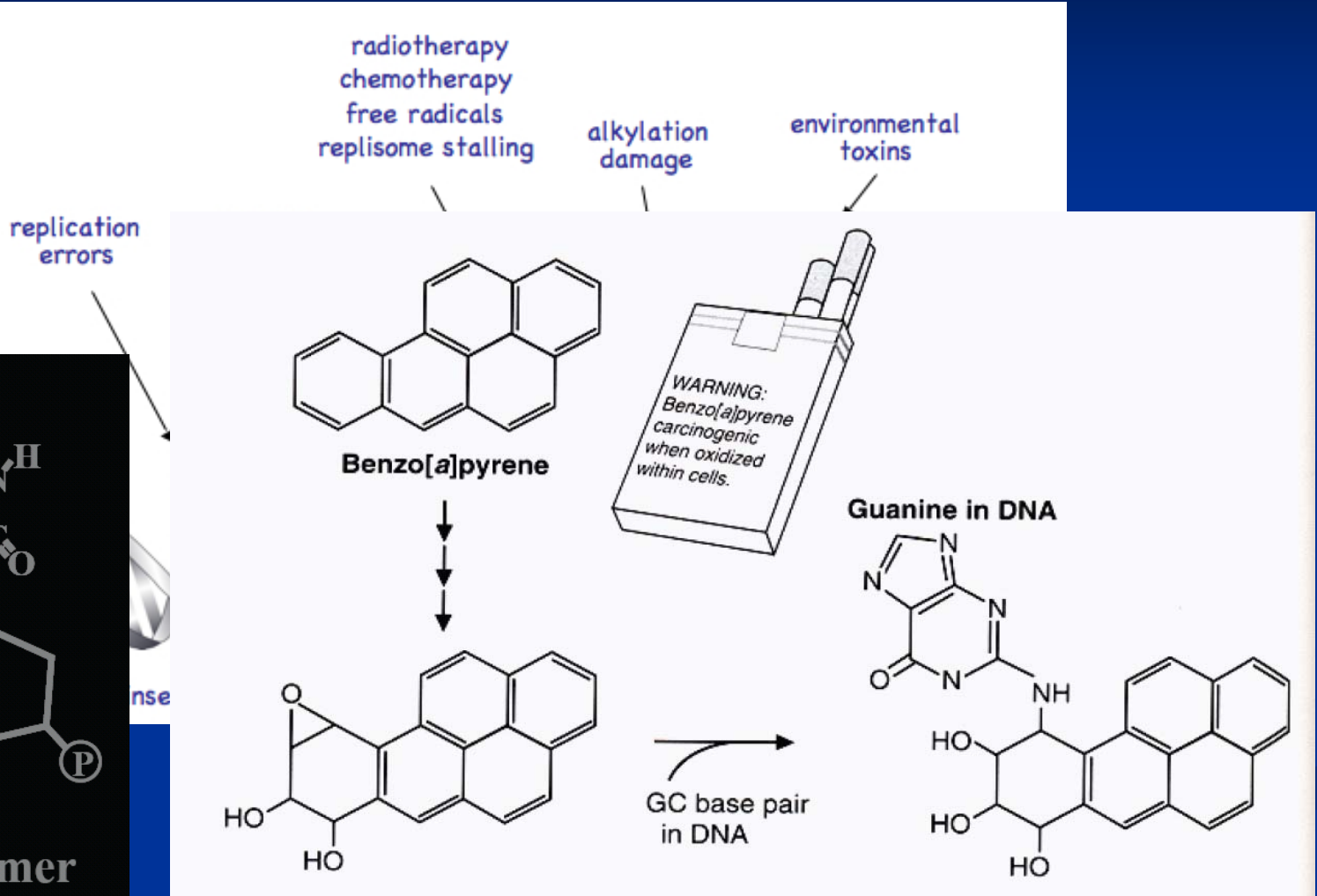
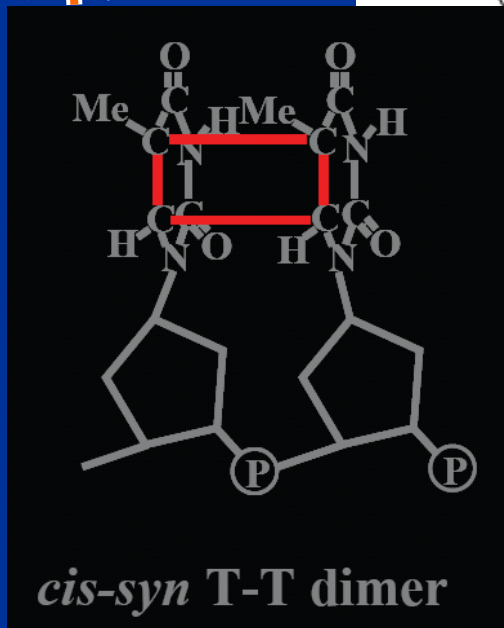
‡ Includes invasive and *in situ* cancer cases

† All Sites exclude basal and squamous cell skin cancers and *in situ* cancers except urinary bladder.

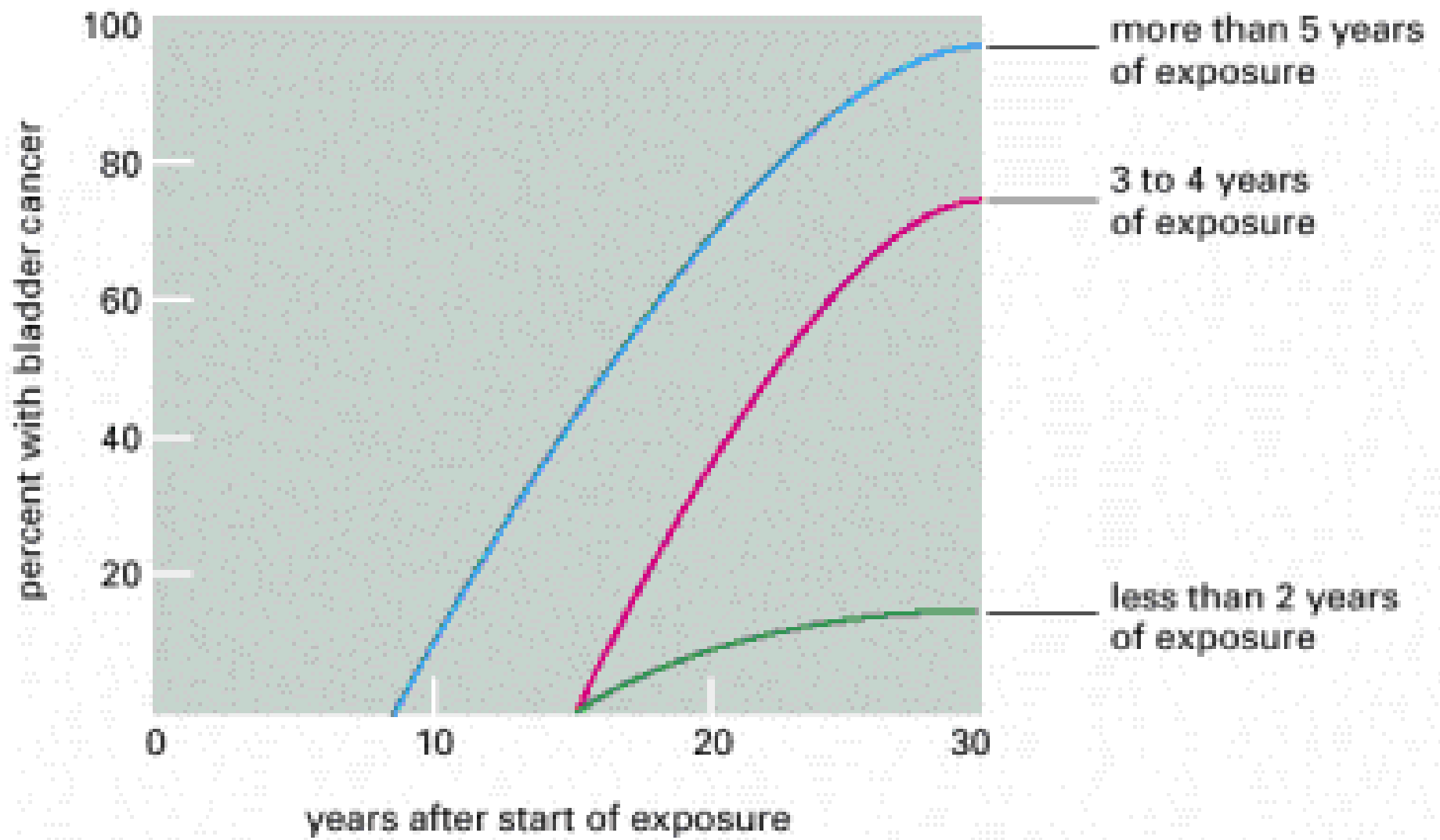
Source: DevCan: Probability of Developing or Dying of Cancer Software, Version 6.0 Statistical Research and Applications Branch, NCI, 2005. <http://srab.cancer.gov/devcan>

DNS instabilitás oka?

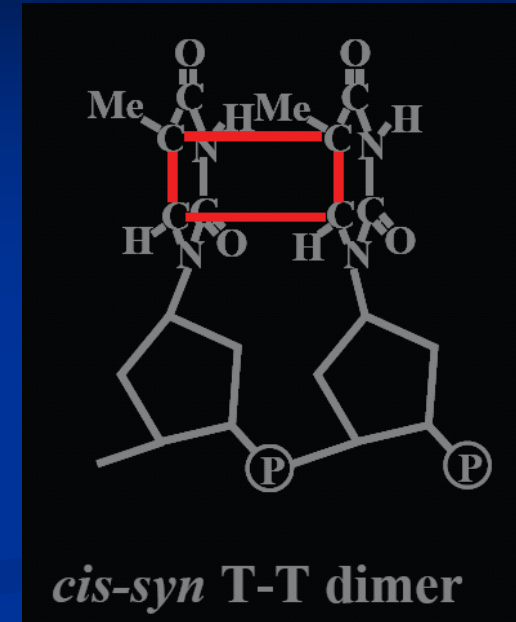
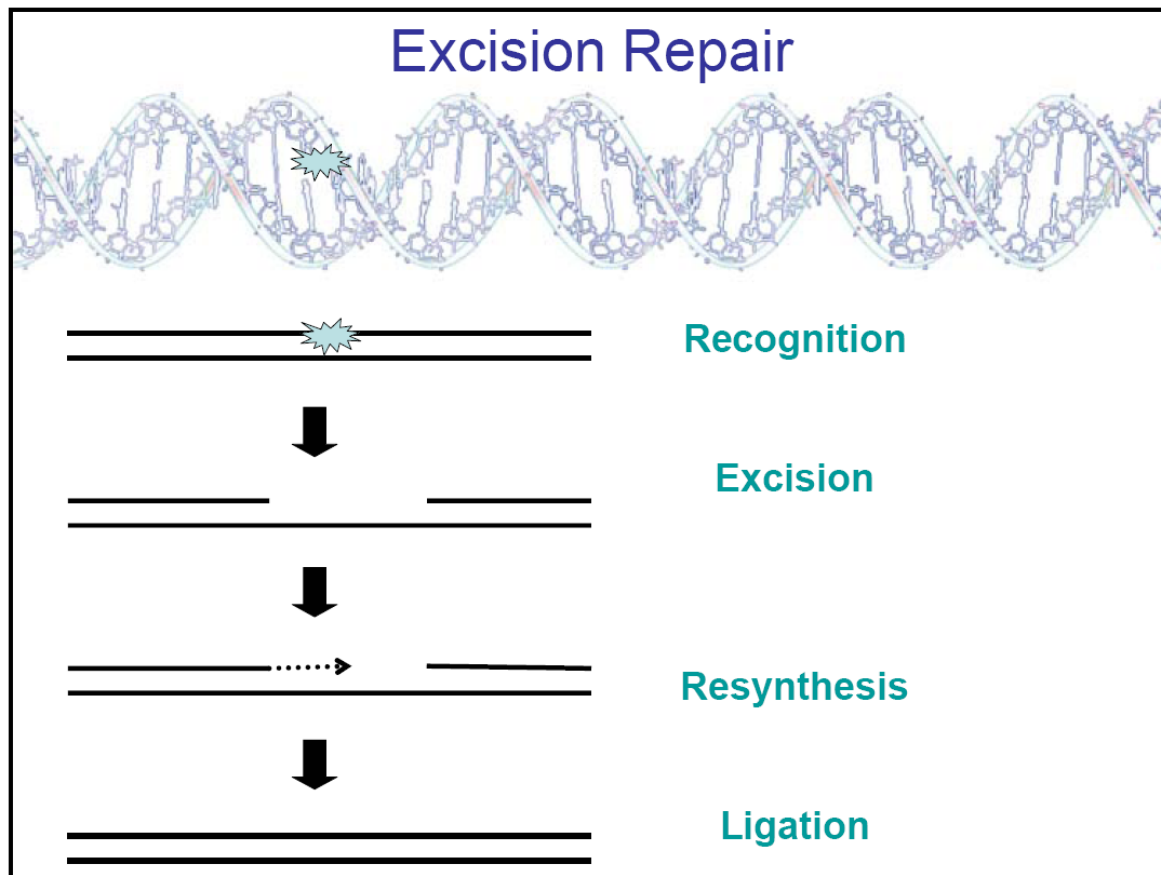
DNS instabilitás oka: DNS károsodások



2-naphtylamin expozíció és a hólyagrák kapcsolata



A DNS károsodások javítása



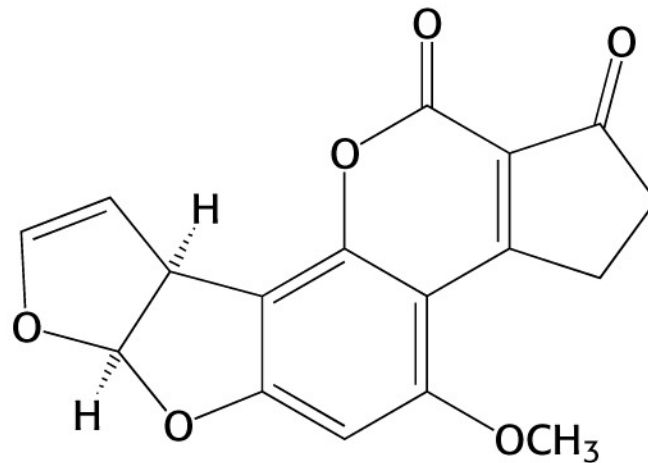
Bőrrák



Xeroderma-pigmentosum

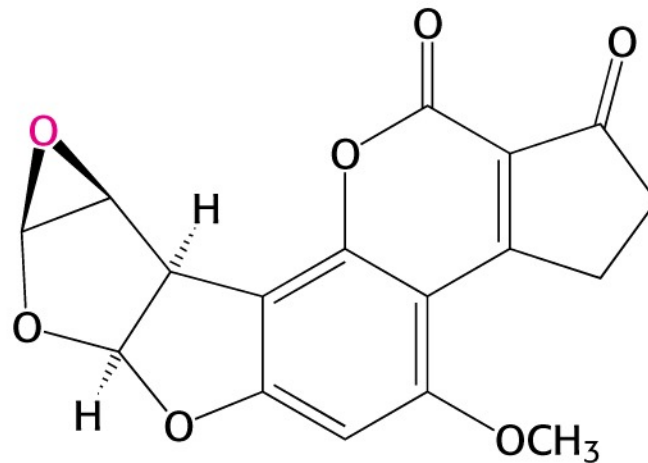
Aflatoxin

Natural product produced by the fungus *Aspergillus*.



Aflatoxin B₁

↓
Cytochrome P450



Active DNA-modifying agent

1. DNA Mutation

-- screening of mutagens

*DNA repair test

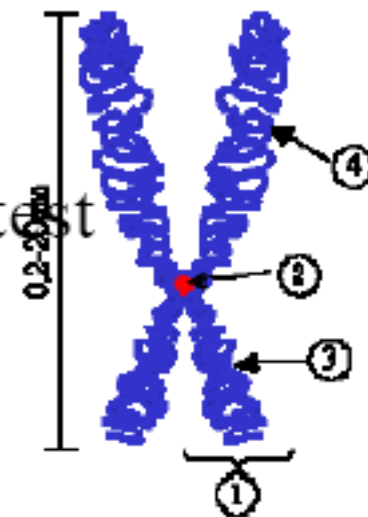
*prophage induction

***Salmonella (Ames) test**

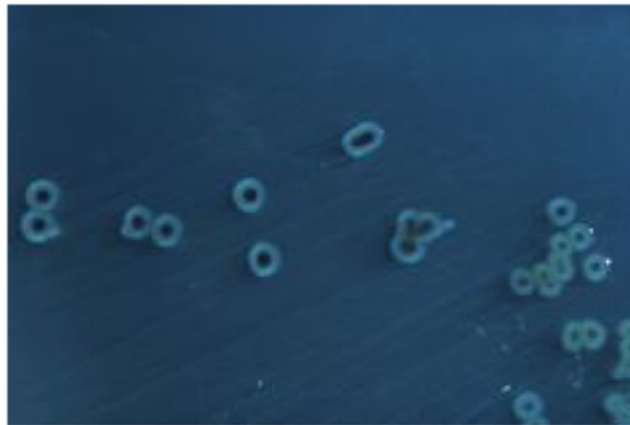
*sister chromatid exchange (SCE) test



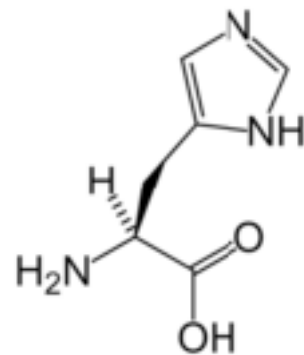
Bruce N. Ames



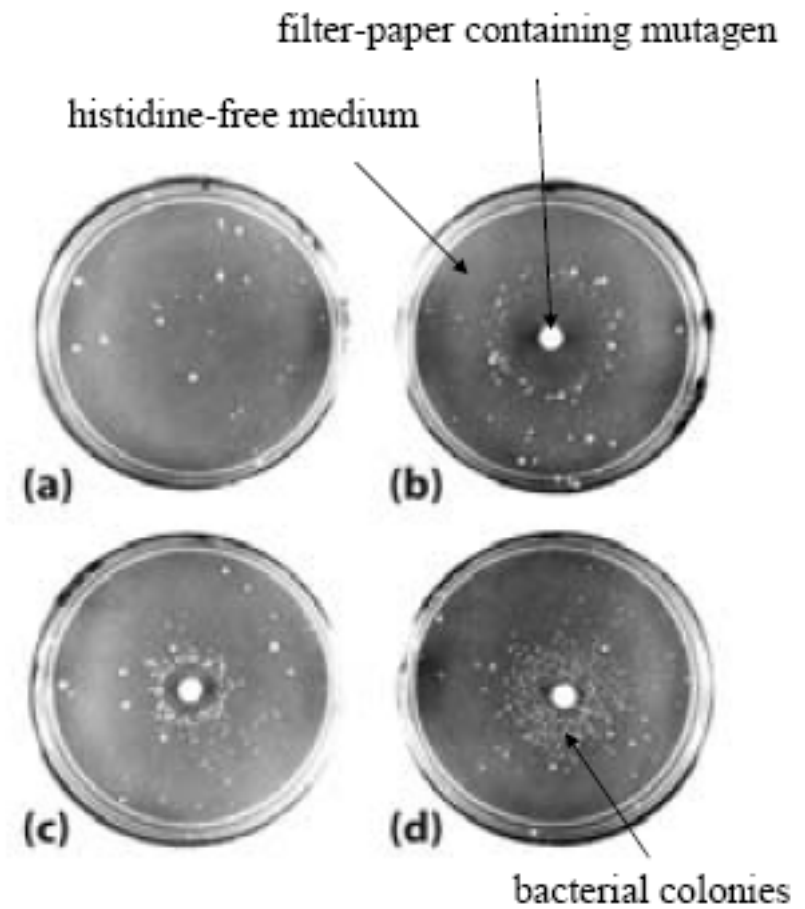
Ames test



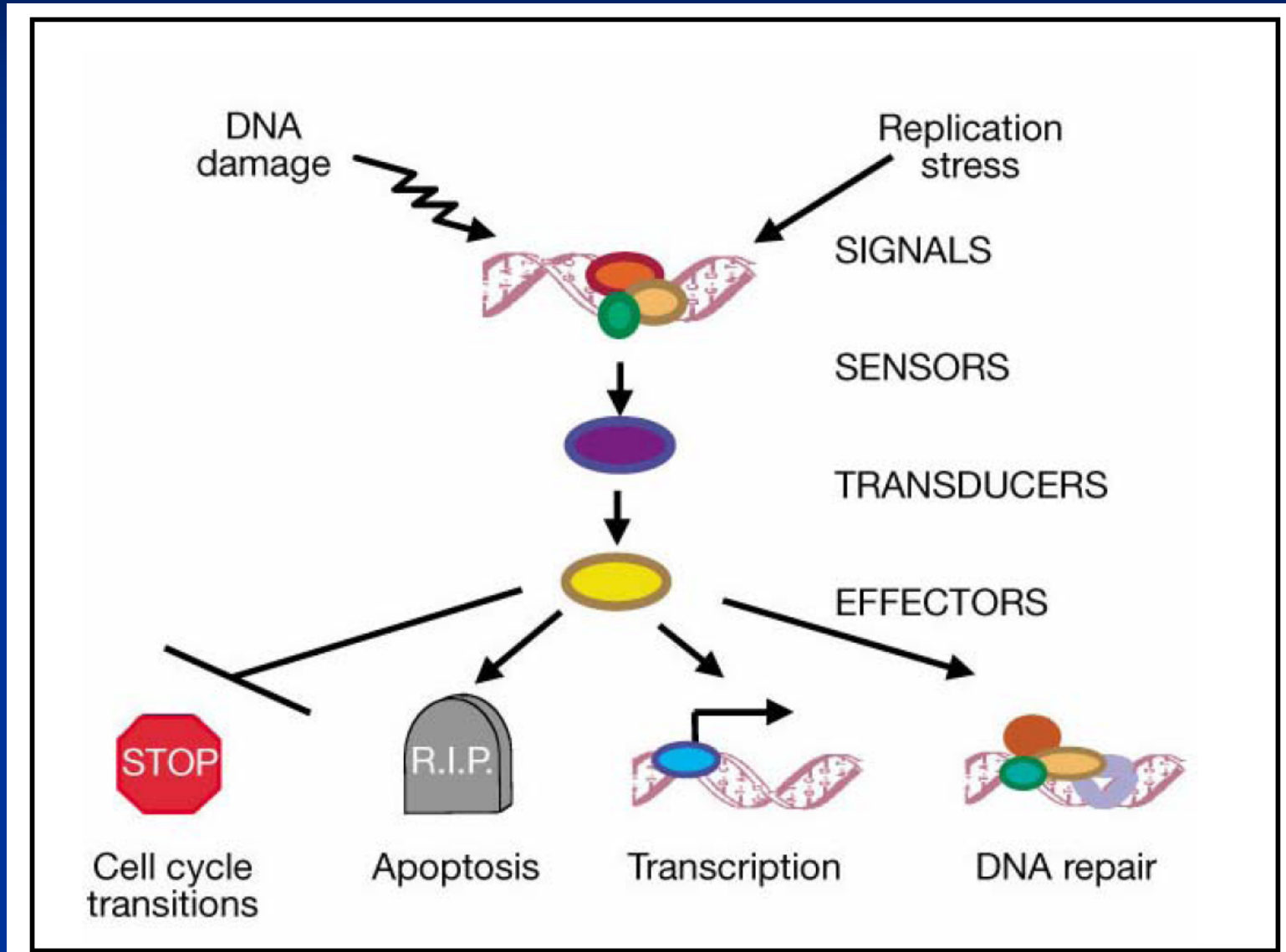
with mutation in histidine synthesis



Salmonella enterica is a flagellated, Gram-negative bacterium.

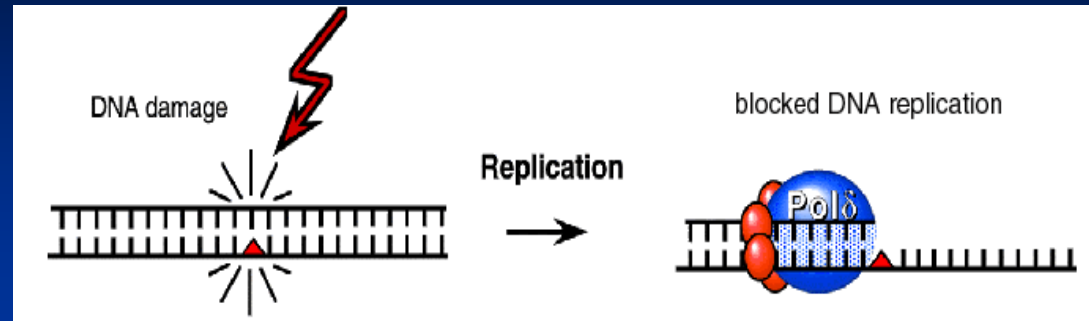


DNS hibák érzékelése és javítása



p53 fehérje központi szerepe

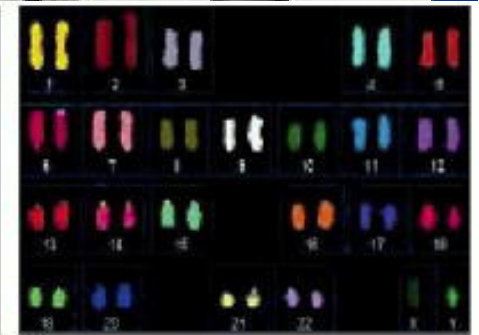
Mi történhet ha a DNS hiba nem javítódik ki ???



HHMI



(A)



(B)

Mutagenesis és Karcinogenesis kutatócsoport

SZBK Genetikai Intézete (429 dolgozó, Tel: 62-599666)

haracska@brc.hu www.brc.hu/lajoslab

Haracska Lajos

Mutagenesis & Carcinogenesis
Research Group

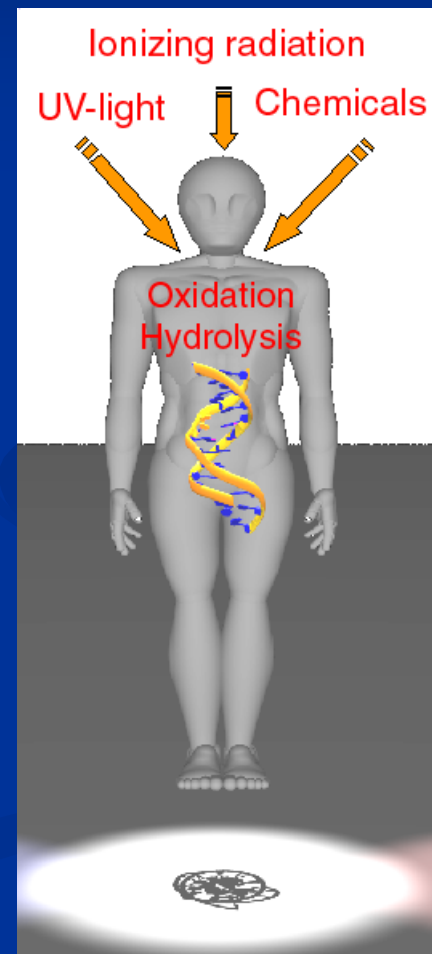
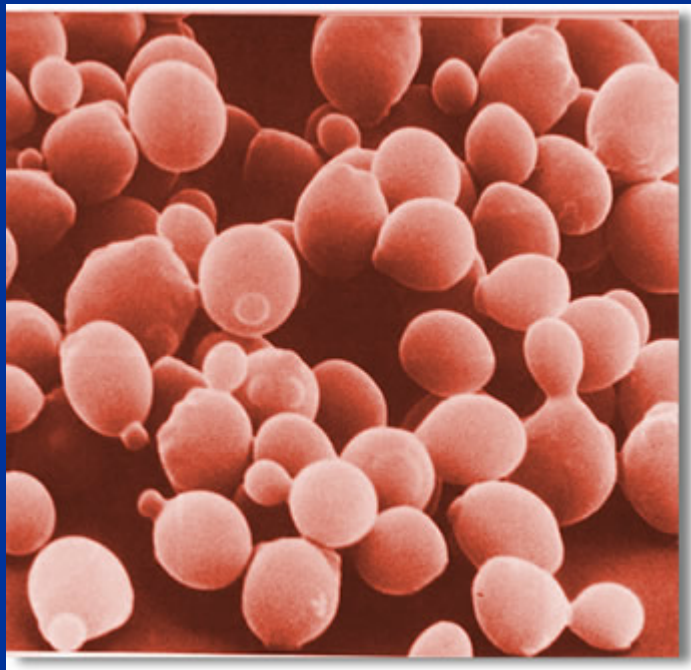
Linkek

"A karcinogenezis az a folyamat, amely során a normál sejtek a rákos sejtekké alakulnak. Ez a folyamat több lépésben történik, és a karcinogenezis során a sejtek a normál sejtektől eltérően osztódnak, és a karcinogenezis során a sejtek a normál sejtektől eltérően osztódnak, és a karcinogenezis során a sejtek a normál sejtektől eltérően osztódnak."

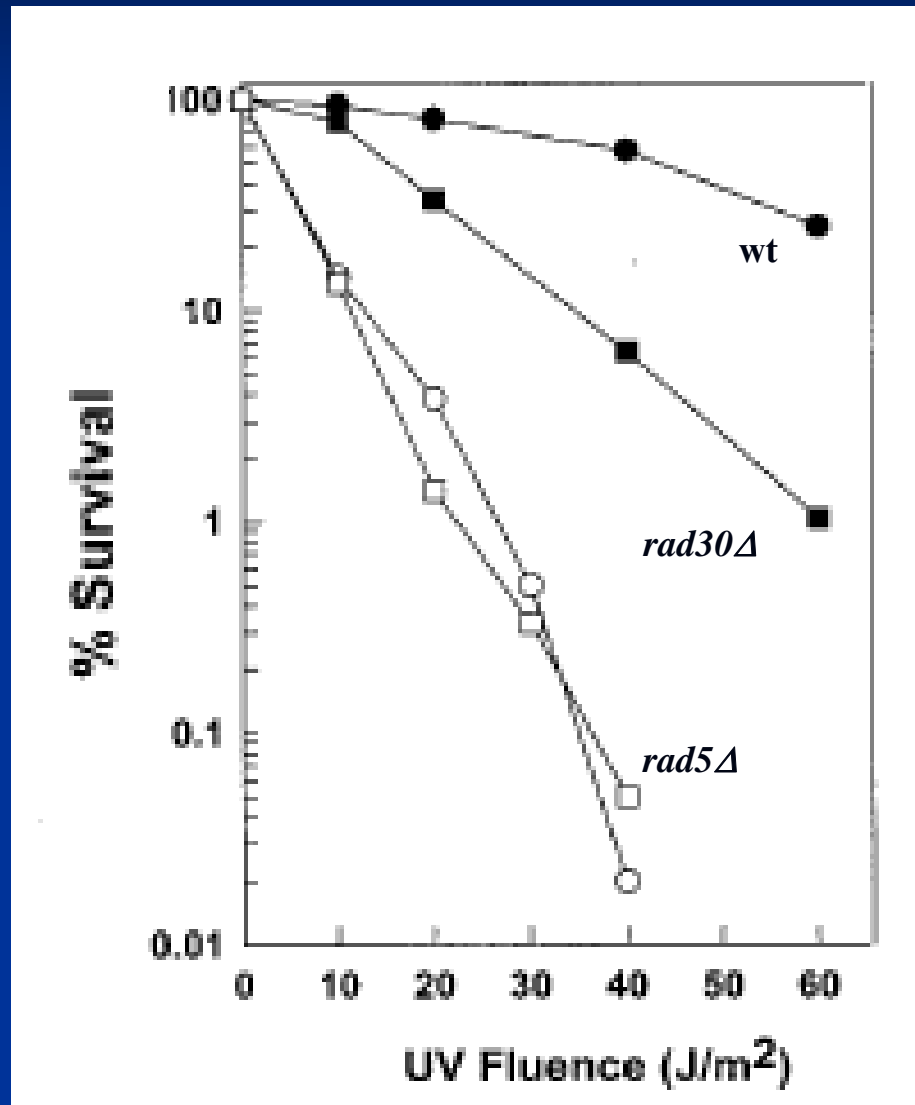
The screenshot shows a website layout with a header, a navigation menu, and a main content area. The main content area contains a grid of photos showing people in a laboratory and outdoors, along with a text box containing a quote in Hungarian. The quote discusses the process of carcinogenesis, mentioning that it is a multi-step process where normal cells transform into cancer cells through various mechanisms.

Betekintés a Mutagenézis és Karcinogenezis Labor életébe

élesztőtől az emberig



Élesztő mutánsok érzékenysége UV-fényre



DNS javítási útvonalak élesztőben

BER

DNA Glycosylases

APN1

APN2

Pol beta

NER

RAD1

RAD2

RAD3

RAD4

RAD7

RAD10

RAD14

RAD16

RAD23

RAD25

MMS19

DNS replikációs átírás

RAD30

RAD6

RAD18

RAD5

REV1

REV3

REV7

MMS2

UBC13

PCNA

Rekombináció

RAD50

RAD51

RAD52

RAD53

RAD54

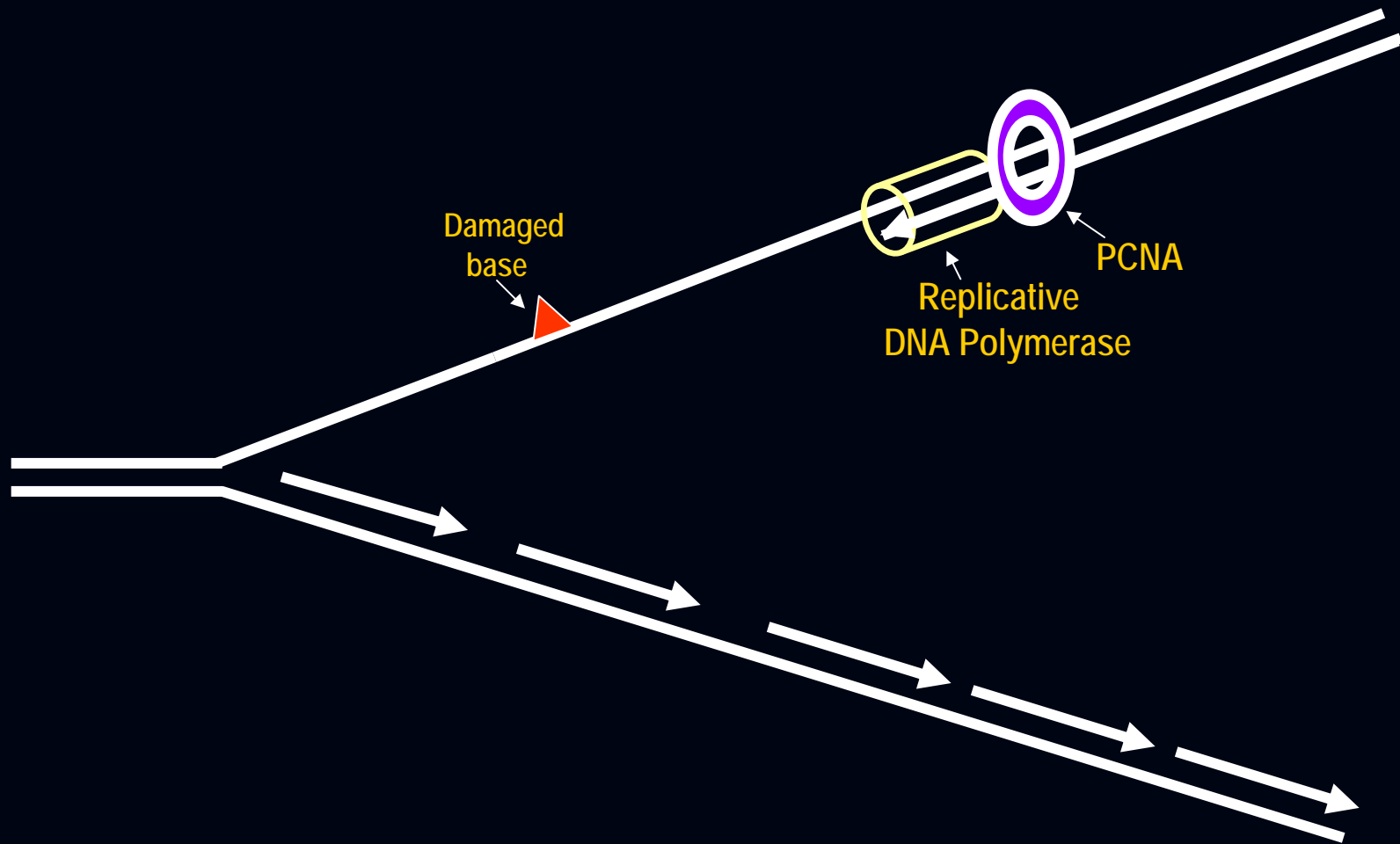
RAD55

RAD56

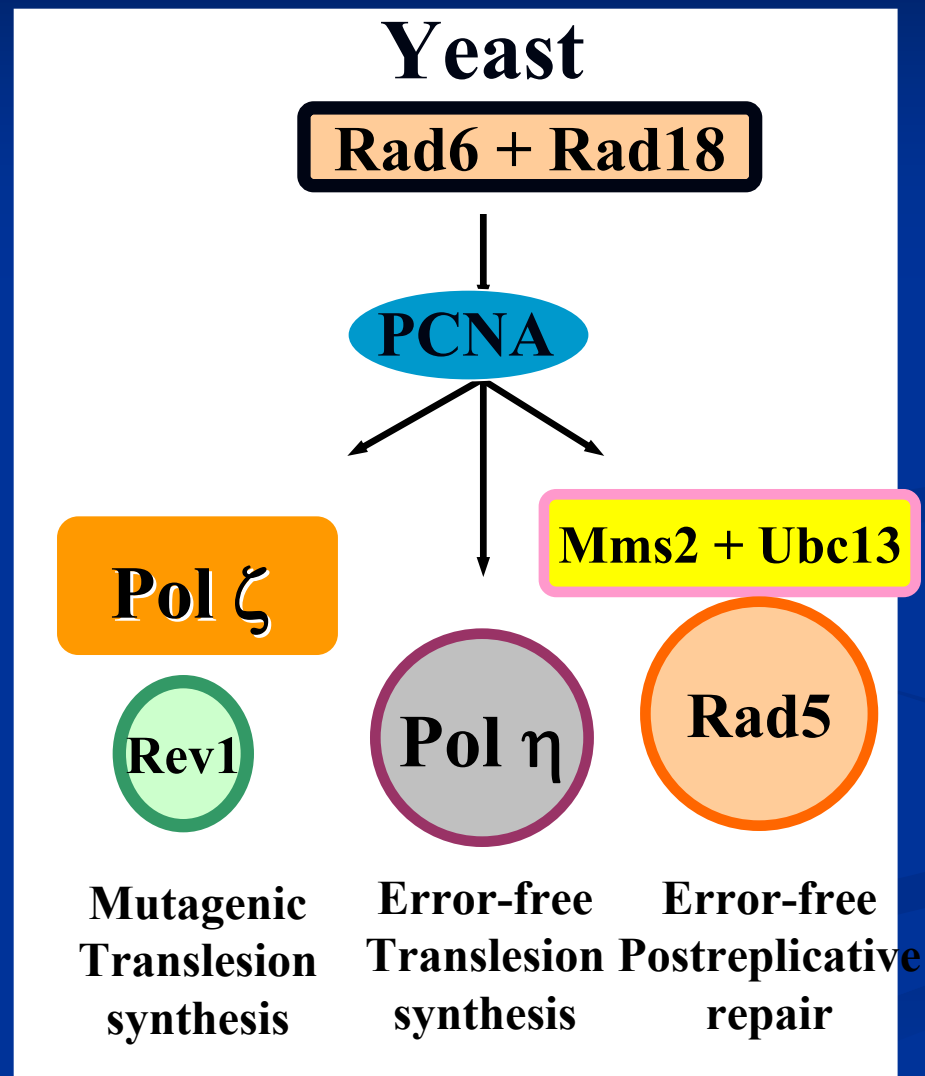
RAD57

DNS replikáció

DNS replikáció megállítása DNS töréseket eredményezhet



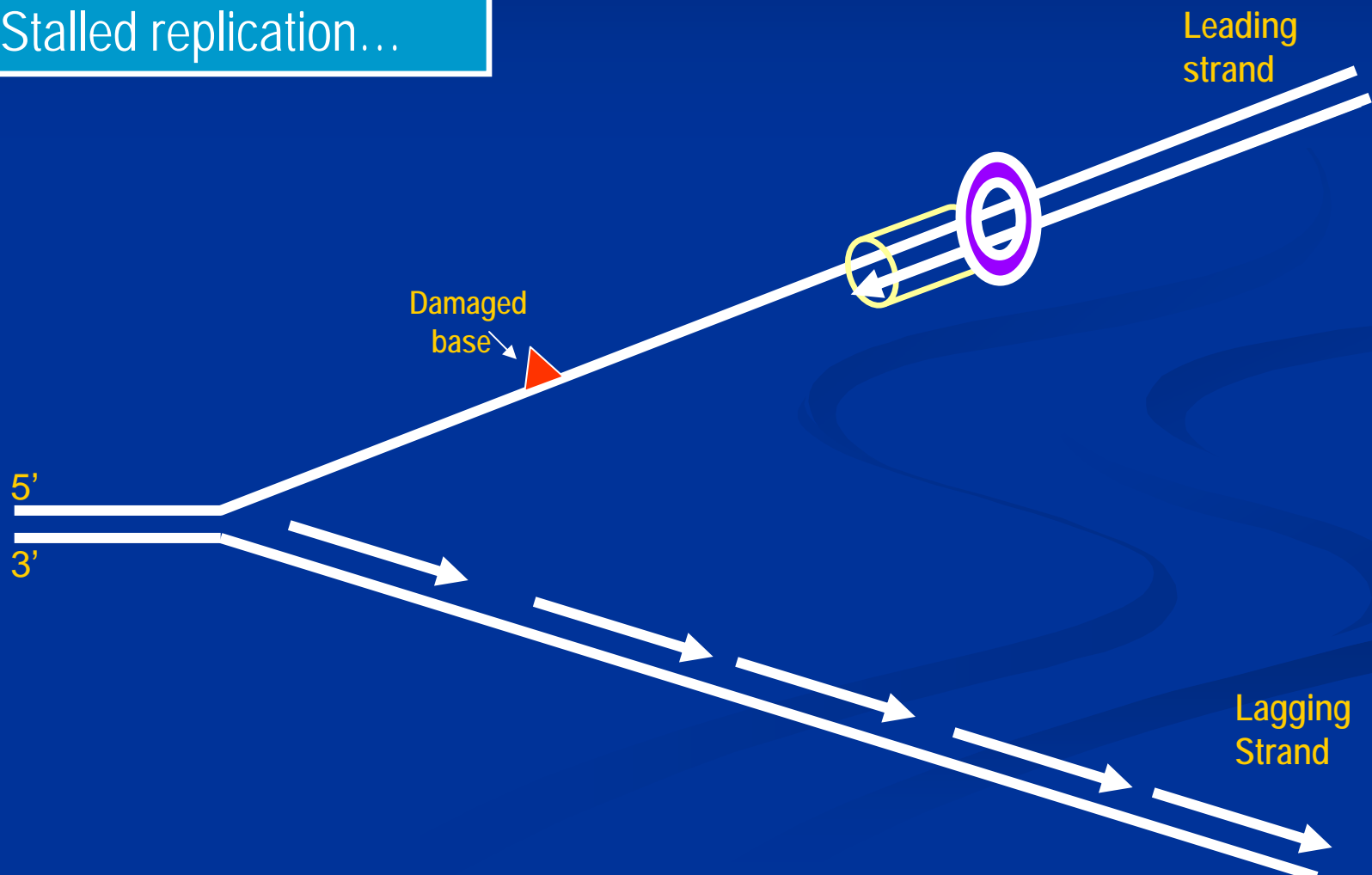
A károsított DNS replikációja élesztőben



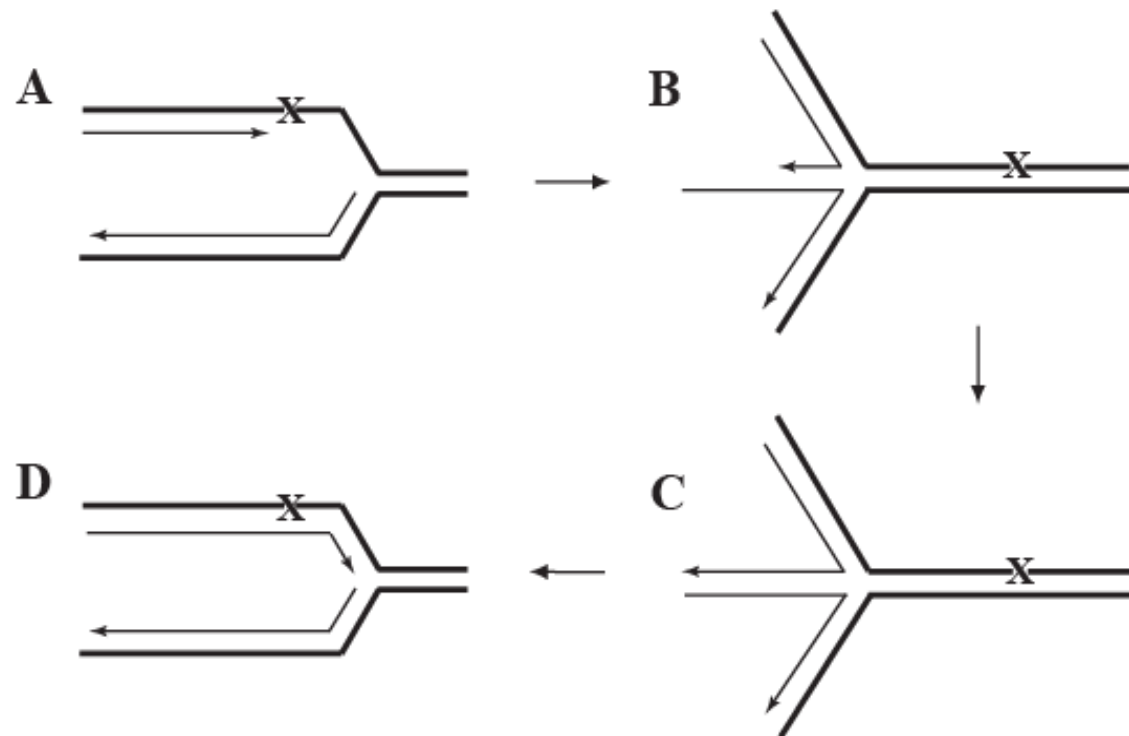
Rad5 részt vesz a DNS hibák mintaszálváltással történő átírásában

Mintaszál váltás

Stalled replication...

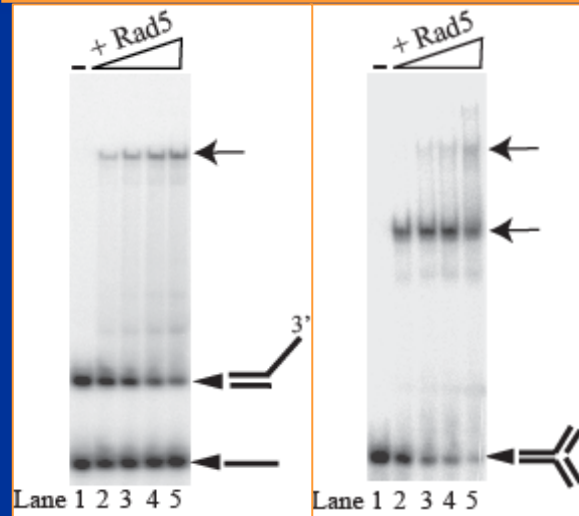


Hogyan segíti elő a Rad5 fehérje a károsodott DNS replikációját ?

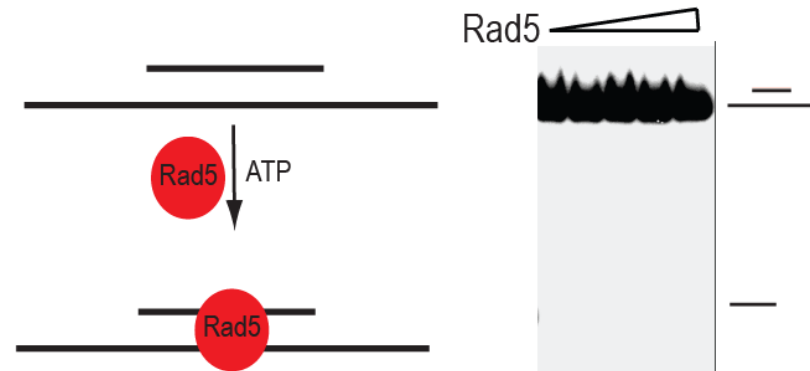


A Rad5 fehérje egy DNS helikáz ?

A Rad5 kétszálú DNS-hez kötődik

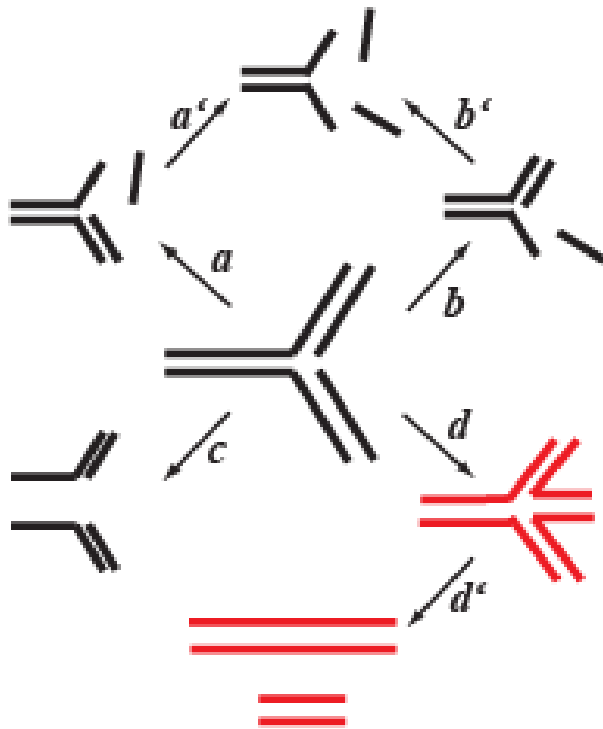


A Rad5 nem DNS helikáz hanem egy kétszálú DNS-függő transzlokáz

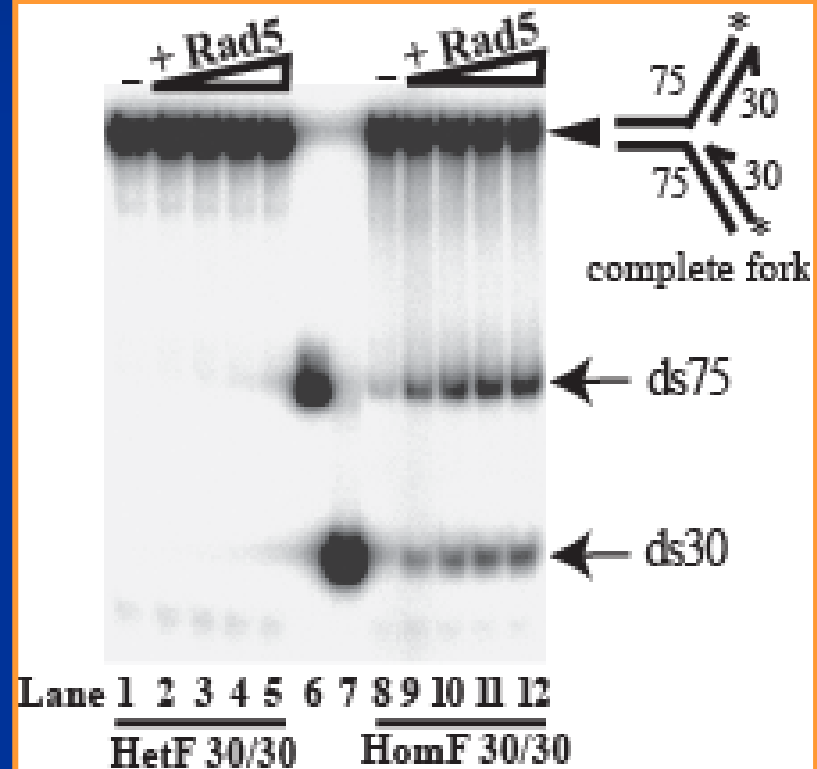


A Rad5 fehérje replikációs villa megfordító aktivitása

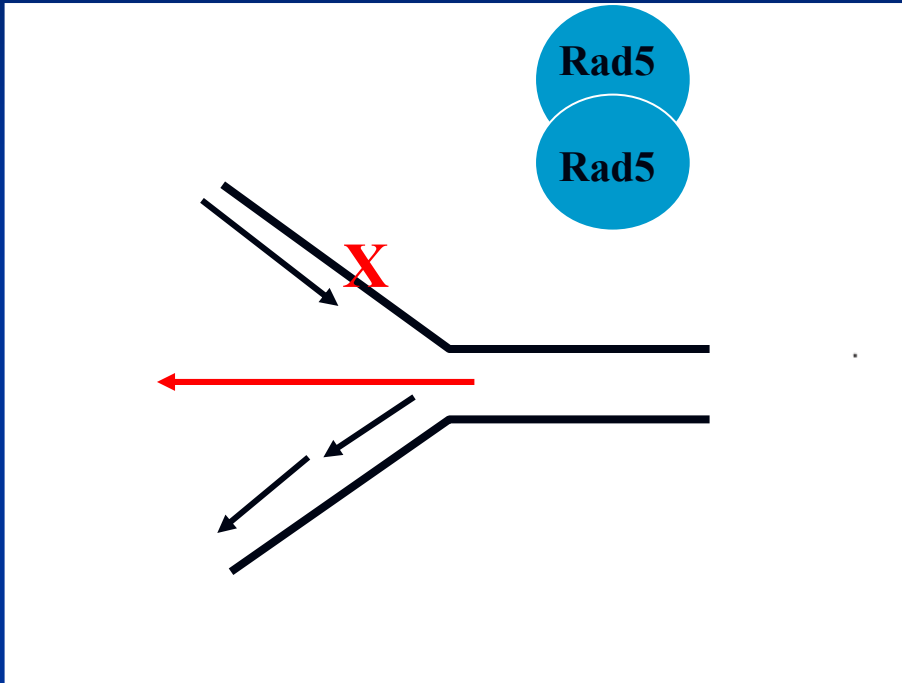
Possible outcomes of DNA helicase action on model replication fork substrate



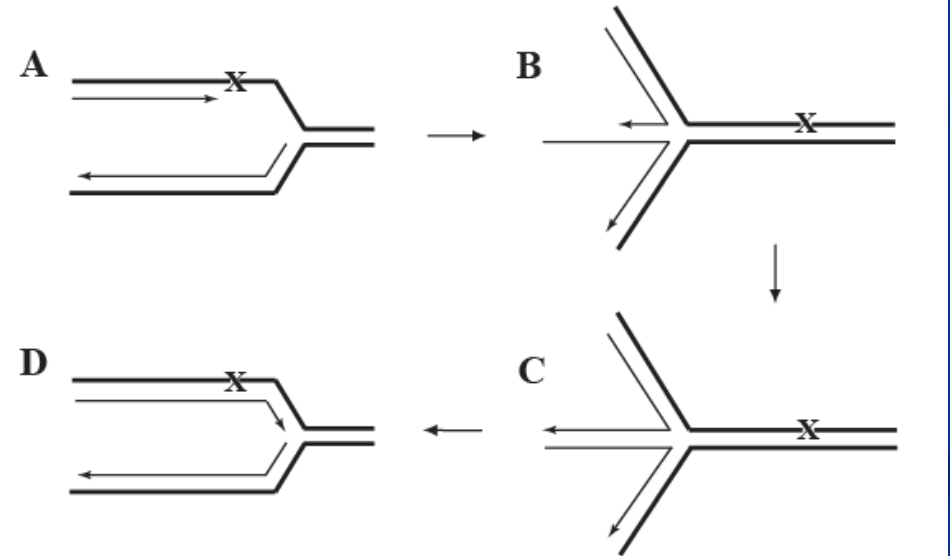
Rad5 can regress homologous fork



Következtetés: Rad5 a replikációs villa megfordítására specializálódott kétszálú DNS transzlokáz



"Copy-choice"-típusú DNS szintézis



A károsított DNS replikációja nagymértékben konzervált az élesztőtől az emberig

Yeast

Rad6 + Rad18

PCNA

Pol ζ

Rev1

Mutagenic
Translesion
synthesis

Pol η

Error-free
Translesion
synthesis

Rad5

Error-free
Postreplicative
repair

Mms2 + Ubc13

Human

Rad6A + Rad18

Rad6B + Rad18

Pol ι

Pol κ

PCNA

Pol ζ

Mms2 + Ubc13

Rev1

Mutagenic
Translesion
synthesis

Pol η

Error-free
Translesion
synthesis

?

Error-free
Postreplicative
repair

Az élesztő Rad5 human homológjainak azonosítása (human HLTF, SHPRH potenciális tumor szuppresszorok)

```

Sc RAD5 1  MSIIQESSEFFNDLDLTSSTAFKSEKESSTFANSHNDGQVAVVSVSTSGEORSIVTVRREIEEQQMFC 80
Hs SHPRH 1  MS-----SFRSE-----APRQVVDKQQLAIVMSKEDRRMFIICDDGQPCPS-----DTSSAVT 55

Sc RAD5 81  KLLRHHQHPHNDLQMLNHTFCQKESGLTALHYFDHNSGTSSKIPSPNQNLNLSQTSSEHSGSSPHKRRRIQ 160
Hs SHPRH 56  ---SSLSLKEVAHRDQRGSK---VSSFRPIEKEETVQI-----PSPISVKLIVLISE-----DSE 108

Sc RAD5 161  KQTRLEDKVTWVQVETFAVQVATPTVTRPLKYGGQMKLEKRSSEESATKVDYDGRGKASMSSTIRVLDIQD 240
Hs SHPRH 109  DQ-----SRRVGLQVQVHQLPAQ-----SLEKES-----SSEPT 239

Sc RAD5 241  FVSGTLAGLIVYVTSSEHSLSFVFLIFCQKRLSQQSEFTQLDCLTSTTEERNQGESVMSRRSTGGNRSKDN-GN 319
Hs SHPRH 140  LMSSESSNQFLIVMSKQGHEDVQK---KKEPMKHCQKGIIVSSSSGGE---HGSANQKERRIKLQVDSGNHIK 211

Sc RAD5 320  FRRVQSTD-EHESSIKRLAIEKRSQVQLRMLRMLDSQKALEKHEKRLSDVEITFDLDSICSNQVTEVHNNLITQ 398
Hs SHPRH 212  VETVDSAGLAHLVLDANSRQVSNQV---MAYVH---MHHSTFQDVLVLEK---PSS 267

Sc RAD5 399  EPTDQDQVQVFAAGSSEELKSLFESPERDVFVLELQVQVQVQVHMLQEQFAKASRORASRQVQVNNLML 478
Hs SHPRH 268  HGGQDQDQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 337

Sc RAD5 479  FKWPMDSMGAQLQQQVAVVQVGHVPLHLSSEFSLAKILKTYHGGIICDEMELGRTAAAYSVLS----- 548
Hs SHPRH 338  -----VTSGLKLDVQVYVQVCIIEVNSGQVLSGLIILDEMELGRTAVLALILRHTIQDVEGOA 399

Sc RAD5 549  -----HIS----- 550
Hs SHPRH 400  LYLDSKVVNVYFIPHYFGOKLKTETQNIIEFKPEKVVCPTRVMI LTAVDKSGKQVSI LSKVYSIYKYDQIN 479

Sc RAD5 551  -----HGDVWRK----- 559
Hs SHPRH 480  RLLLEKMLKLLFEGLVKQIKGHSQGFVLDGNYVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 559

Sc RAD5 560  -----HID----- 567
Hs SHPRH 560  DDVYVYVYKSRNRKLEKLVSTKQKSGQFVINDPSQKSCDQVSDSDSGLDMSKSTCTISEPNQSEHEDCAESIN 639

Sc RAD5 568  VSDNLSG-----HSDN----- 589
Hs SHPRH 640  DSCVPSVMSVSPVNTSDVRFPCICQELDQIDRRFVQVCLKCHLQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 719

Sc RAD5 590  HVVSGDLSVNSVIFDANKSPDPTHEVQVSNVSLKLDTRKIRTPVAVVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 663
Hs SHPRH 720  HLDSEKQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 797

Sc RAD5 664  -----HDSGHDNNDVTSKAVNQCCKVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 739
Hs SHPRH 798  QEKVVAHESVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 877

Sc RAD5 740  TVVSTFSEVRYQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 819
Hs SHPRH 878  KLVVSTFSEVRYQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 946

Sc RAD5 820  VSGDLSG-----STIIVLLELRQVCSSE----- 845
Hs SHPRH 947  VSLKREDAALKLSLQRRVTSIIVPLLELRQVCSSE-----DQVGRVDFLPLQKSTMTMHEKLLTSLQK 1026

Sc RAD5 846  -----GSDND----- 855
Hs SHPRH 1027  LAGDSETHIIRKRYALAAHLYREVLSEHMKKGLKTDLSLQRLHATHNAGELLARHPGIPPTLSDGRLEMA 1106

Sc RAD5 1107  MSEKNTVVARAQQLNFPVQQVTHELQSKIHNSFWNLVIRAIETIIDEVLQVRVNZITSNVQQTGFLMSSE 1186
Hs SHPRH 1262  MSLSPNKLVDQIVVSEGL----- 875
Hs SHPRH 1187  RNLQFLFTQVSELANCQLVQAVVSEGGPSPRNVISATVCHLRPAILNCCVFCADLFLFYESKLSFNTV 1266

Sc RAD5 876  -----HNV-----DQVTEVSDIC----- 890
Hs SHPRH 1267  AIFEMIEDREGLVDORMTTTRQIDNHSIETSRMGLSFAKQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1346

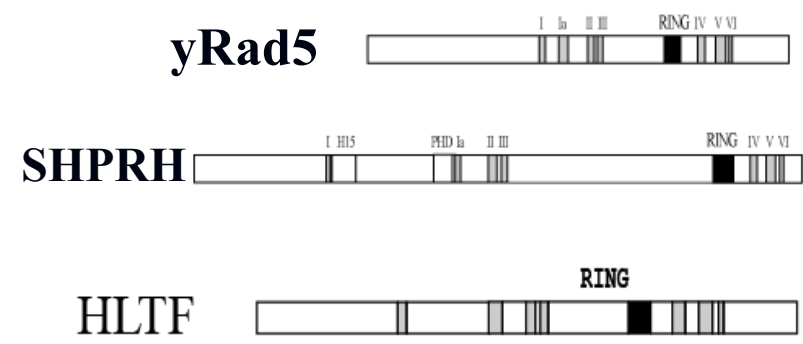
Sc RAD5 891  -----DAMICLKVRI-----DQVTEVSDIC----- 913
Hs SHPRH 1347  NRVSAVDMAMVFLKRVHGREPKFNPVPLHIEPHEVEQRIKLLAVAVASQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1426

Sc RAD5 914  -----SSTVTEVSDICLVDVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 986
Hs SHPRH 1427  VNPVSEVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1503

Sc RAD5 987  YSFAKSSKTKALLRQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1064
Hs SHPRH 1504  VR-QSSTKVAVVRQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1577

Sc RAD5 1065  KDYSRQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1141
Hs SHPRH 1578  -----LLELPHNSGQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1651

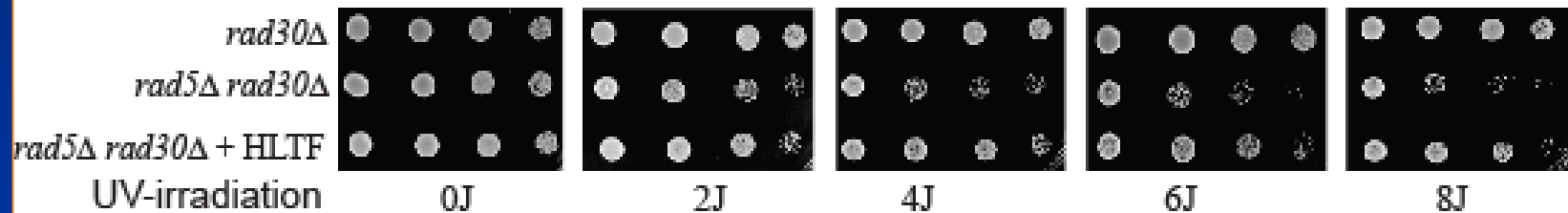
Sc RAD5 1142  KKHIGHMDRDEKRRKRSRQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV 1149
Hs SHPRH 1652  SHNSQVSE-----CASVLAADADSEKETELE 1683
    
```



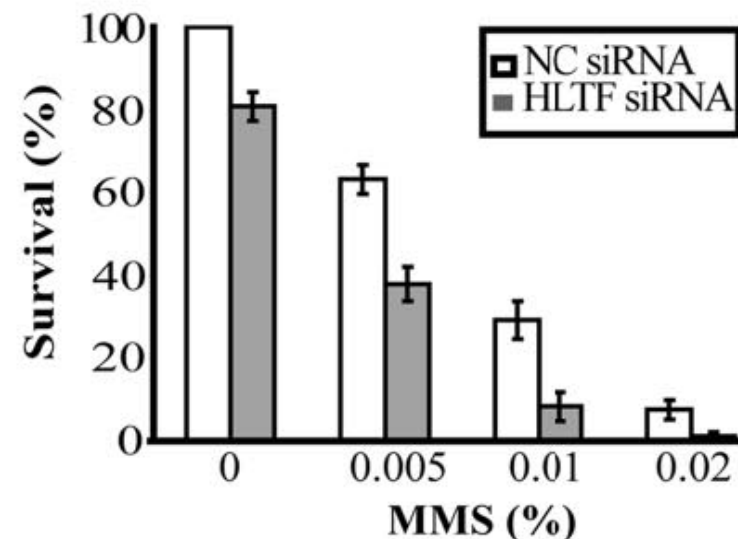
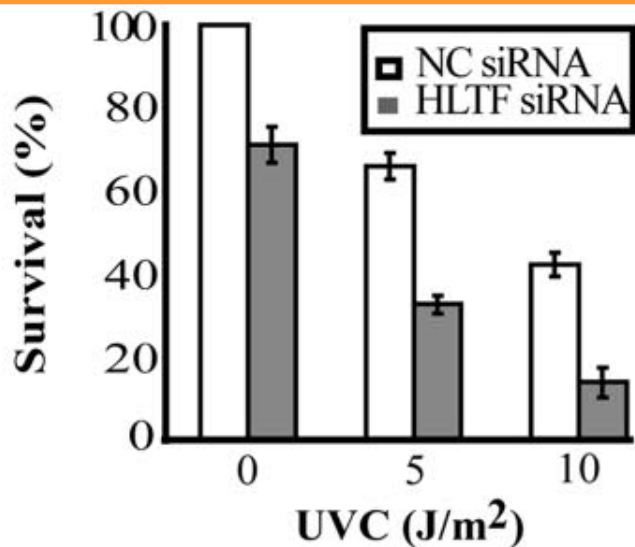
SHPRH: melanoma sejtvonalak 10%-ban mutáns
HLTF:gyomor és bélrendszeri rákok 40%-ban nincs jelen

A HLTF fehérje védelmet nyújt DNS károsító ágensek hatása ellen

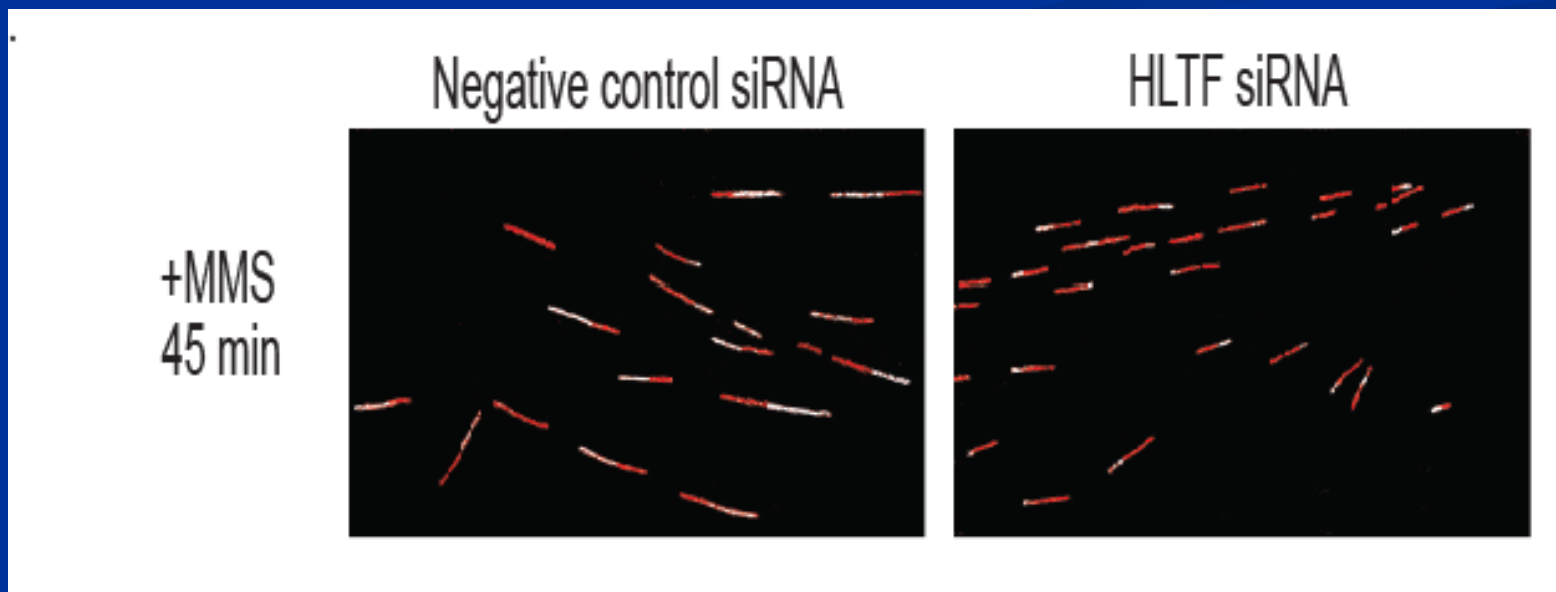
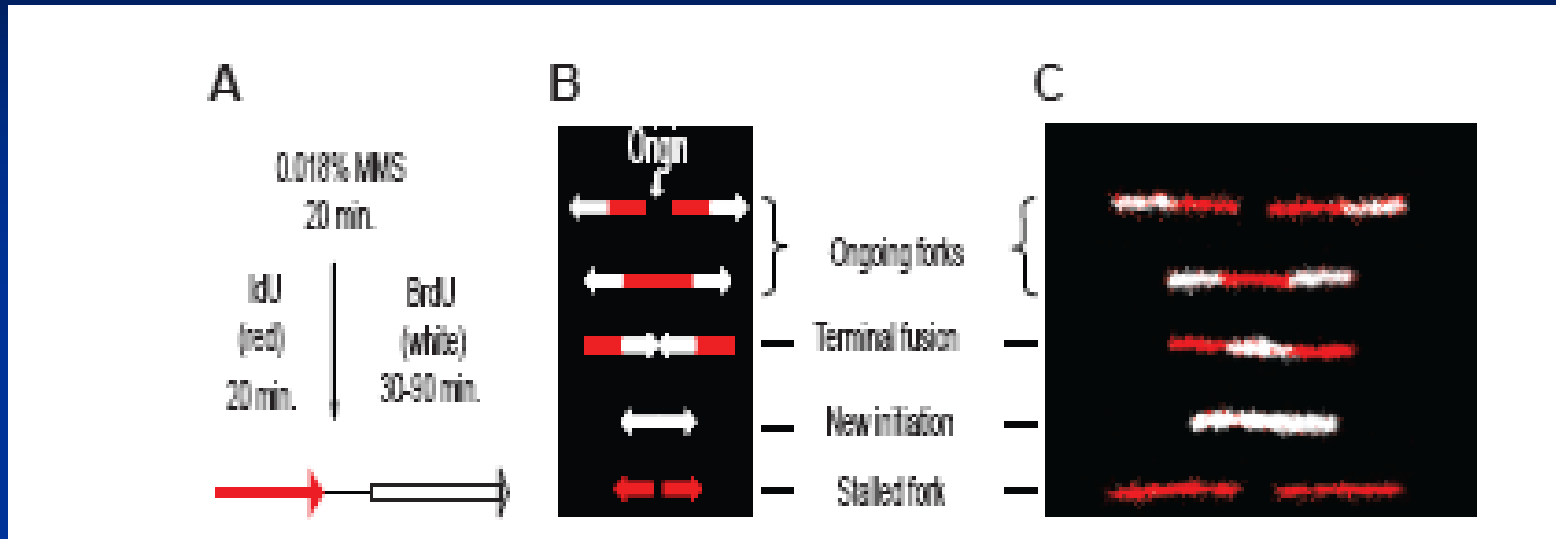
Complementation of the UV-sensitivity of yeast *rad5Δ* mutation by human HLTF



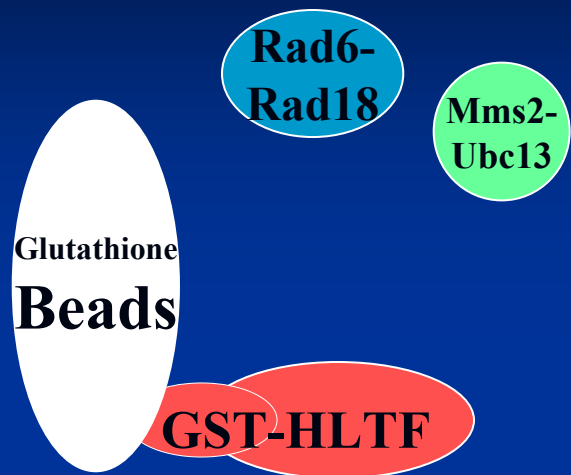
Depletion of HLTF by siRNA increases the UV- and MMS-sensitivity of human cells



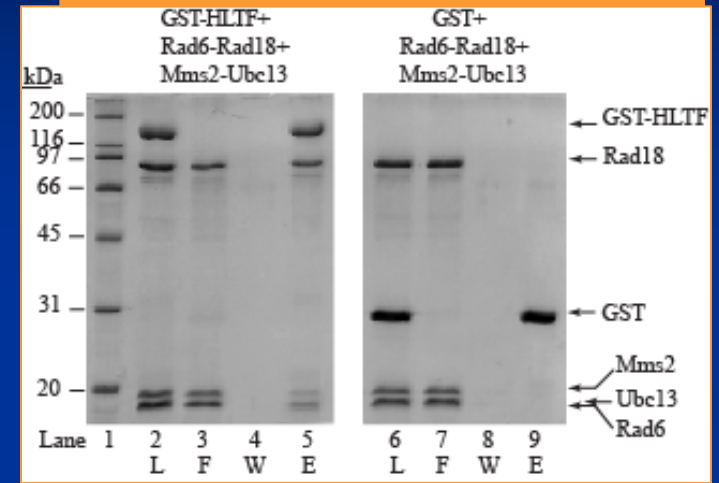
DNS replikáció követése mikroszkóppal a DNS fiberek halogenizált nukleotid jelölése segítségével



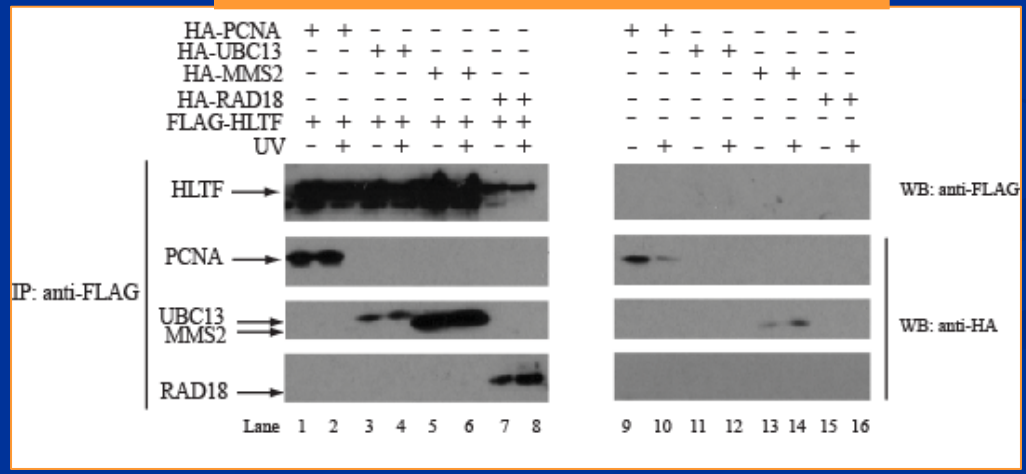
A HLTF fizikai interakciója a Rad6-Rad18 and Mms2-Ubc13 fehérjékkel



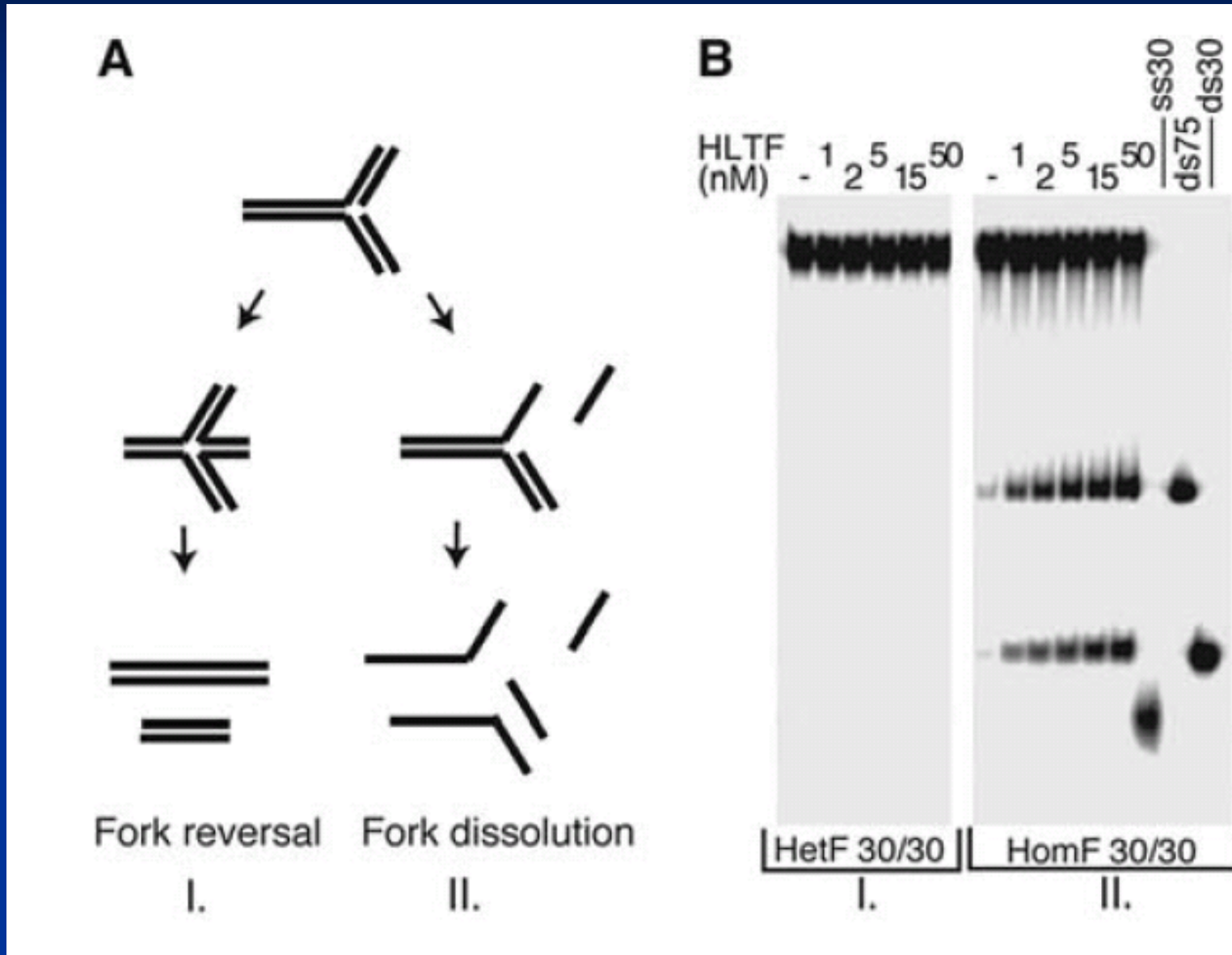
GST pull-down (*in vitro*)



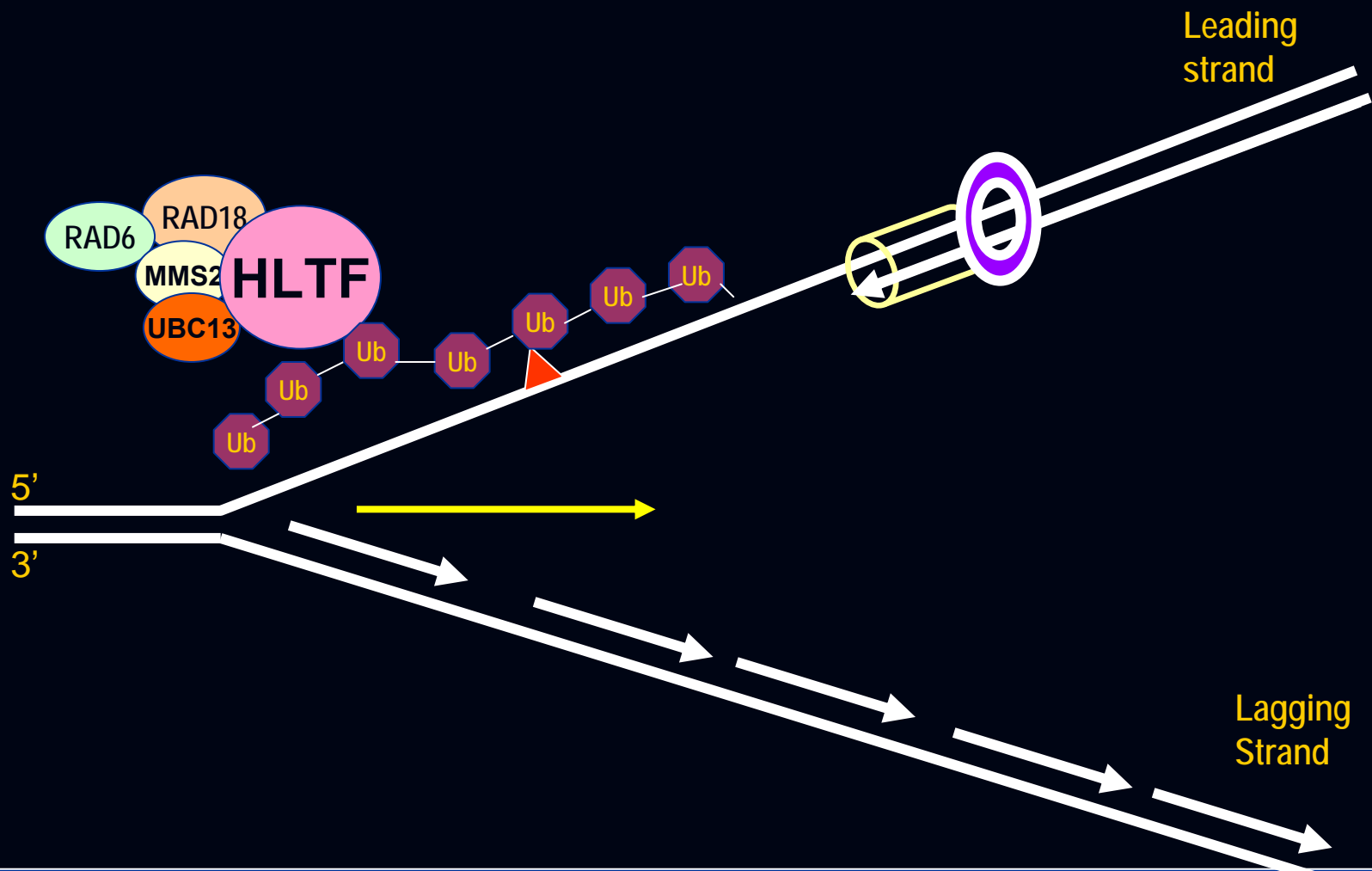
FLAG pull-down (*in vivo*)



A HLTF fehérje replikációs villa megfordító aktivitása

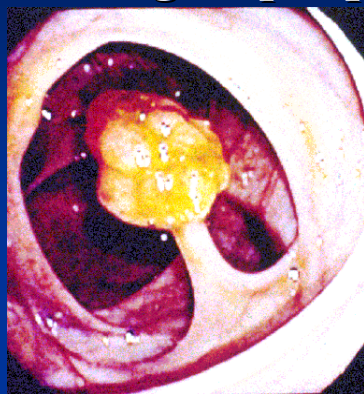


HLTF szerepe a DNS hibák átírásában

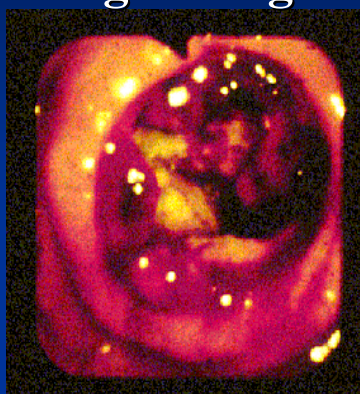


Tumorterápiás lehetőségek alkalmazott kutatási irányok

Vastagbél polip



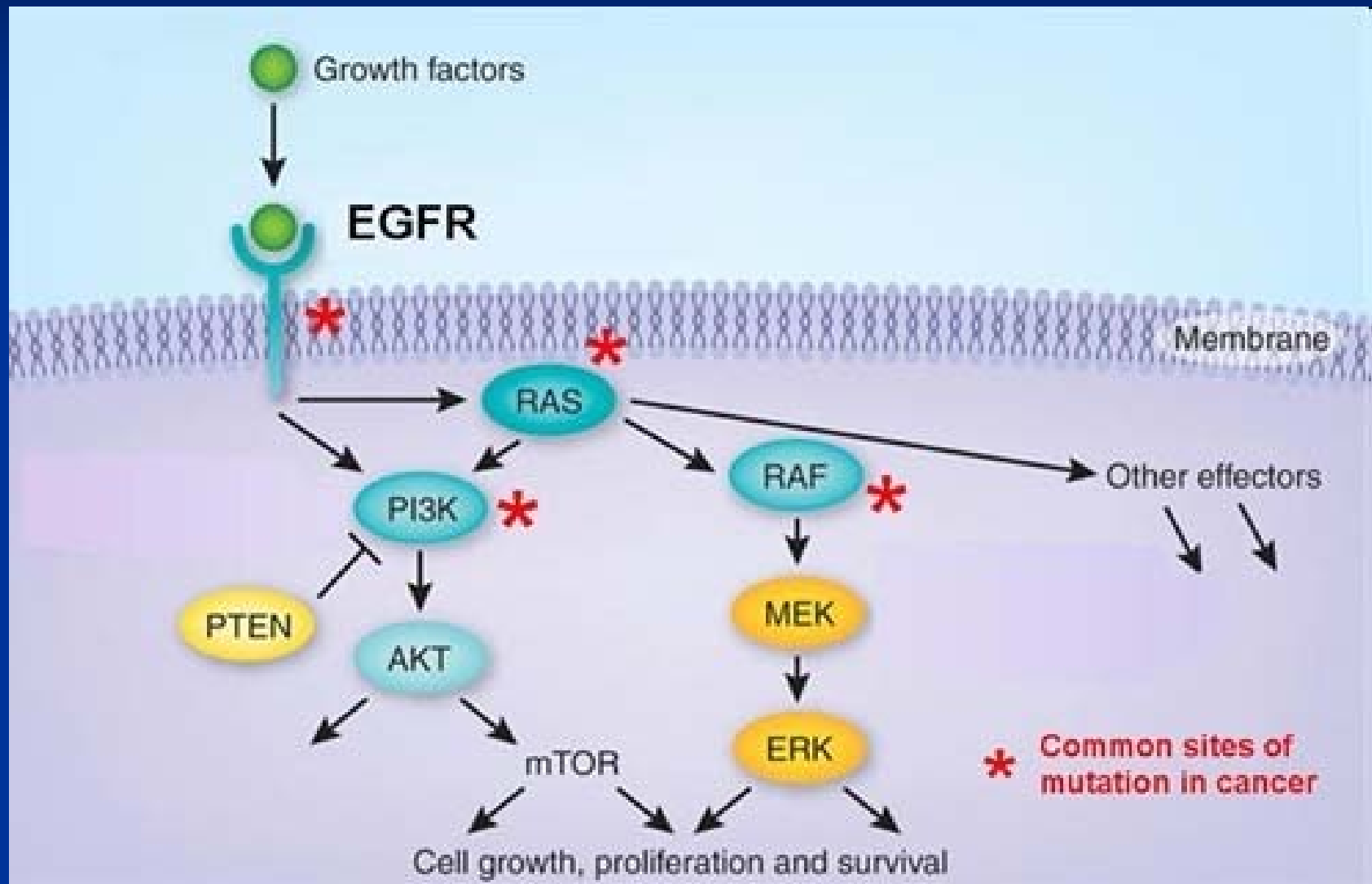
Vastagbél daganat



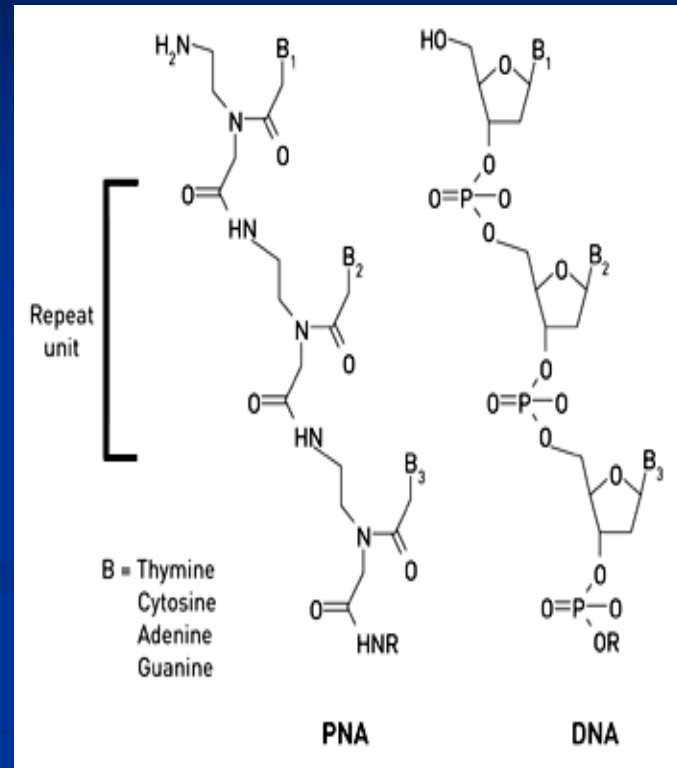
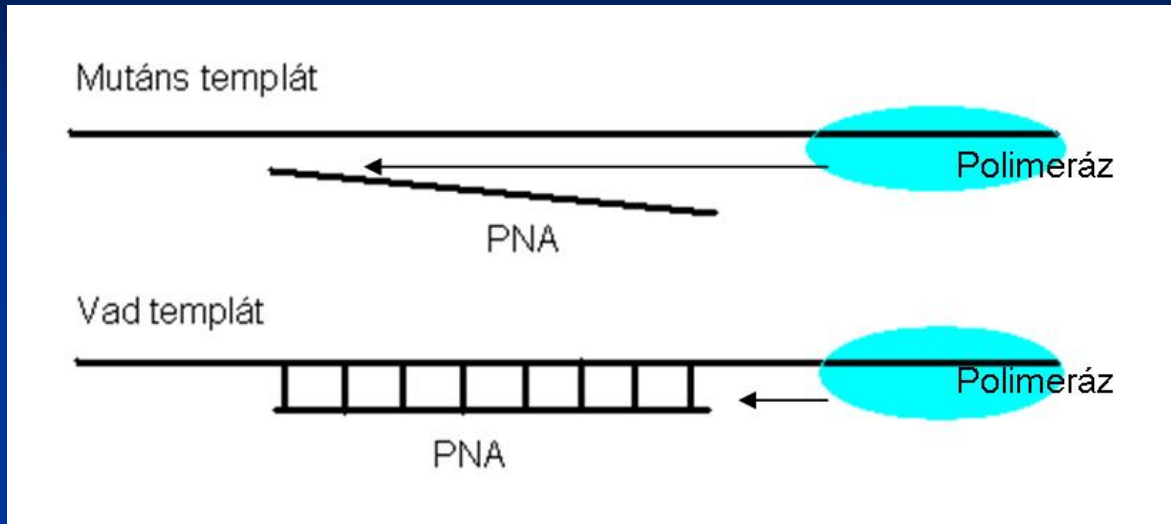
www.deltabio.eu

The screenshot shows the homepage of the Deltabio website. At the top, there are navigation links: Kezdőlap, Szolgáltatások, Áraink, Termékek, Tudományos háttér, Cégünkrol, and Elérhetőségek. Below the navigation is a 'Bejelentkezés' (Login) section with a 'Felhasználó név' (Username) input field and a 'Jelszó' (Password) input field, followed by 'Bejelentkezés' (Login) and 'Regisztráció' (Registration) buttons. To the right is a photograph of a woman in a lab coat looking at a microarray chip. Below the login section is an 'Aktuális híreink' (Latest news) box containing the text: 'Molekuláris diagnosztika: KRAS, EGFR, BRAF, BRCA1, BRCA2, PDGFRA, C-Kit, VHL' and 'DNS szekvenálás a legjobb áron (950 Ft/db-től) !'. To the right of the news box is a large heading: 'Üdvözljük a Deltagene Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium honlapján' (Welcome to the website of the Deltagene Molecular Diagnostic Laboratory). Below this heading is a paragraph: 'Megújult honlapunkat szolgáltatásaink bővítése és a megrendelések egyszerűsítése érdekében hoztuk létre. Oldalunkon elektronikus úton rendelhet, online megnézheti, illetve letöltheti az eredményeket, aminek elkészültéről e-mailben értesítjük. Ugyanitt láthatja számláit és a beépített bankkártyás modulal rendezheti tartozásait is.' Below this is another heading: 'Milyen szolgáltatásokat nyújtunk?' (What services do we offer?). The final part of the screenshot is a list of services: '- DNS szekvenálás: pl.: PCR termékek, plazmidok szekvenálása', '- Molekuláris DNS diagnosztika: HRM (High Resolution Melting), dHPLC, QPCR, kapilláris szekvenálás, SNP-shot technikákkal (pl. K-RAS és FGFR3 diagnosztika)', and '- Új DNS diagnosztikai eljárások kidolgozása és diagnosztikai kitek fejlesztése'.

Vastagbél tumorok egyénre szabott terápiaja



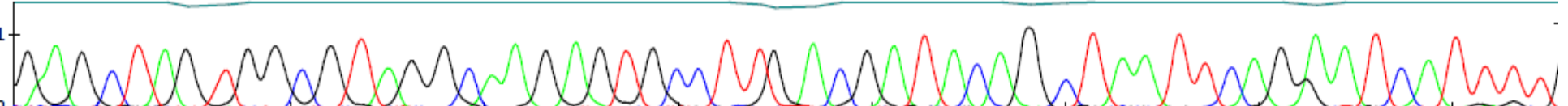
KRAS molekuláris-diagnosztika



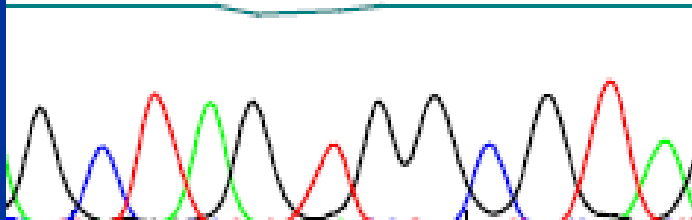
K-RAS

12-13. kodon
(Exon 2)

G A G C T A G T G G C G T A G G C A A G A G T G C C T T G A C G A T A C A G C T A A T T C A G A A T C A T T T T



G C T A G T G G C G T A



GGTGGC Vad típus

Tumorterápiás lehetőségek alkalmazott kutatási irányok

Új ismeretek:

- A **HLTF** a vastagbél tumorok 40%-ban nem fejeződik ki
- A **HLTF** segíti a károsított DNS replikációját

Hipotézisek:

- A **HLTF** tumor markerként szolgálhat
- A **HLTF** gátlása fokozhatja a DNS károsító szereken alapuló tumorterápia hatékonyságát

Alkalmazott kutatási feladatok:

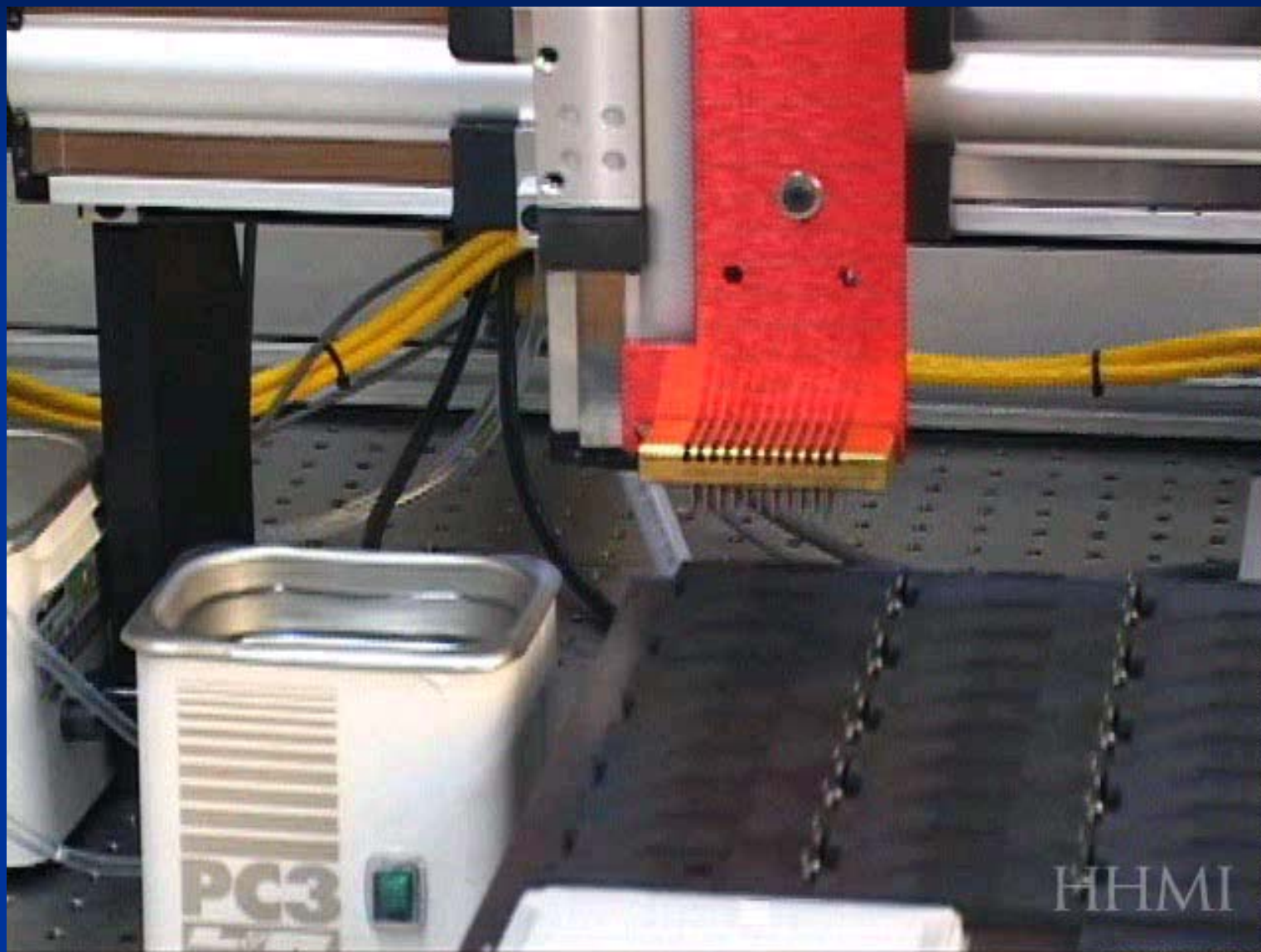
- HLTF** molekuláris diagnosztika beállítása
- HLTF** inhibitor molekula azonosítása

HLTF inhibitor molekulák izolálása



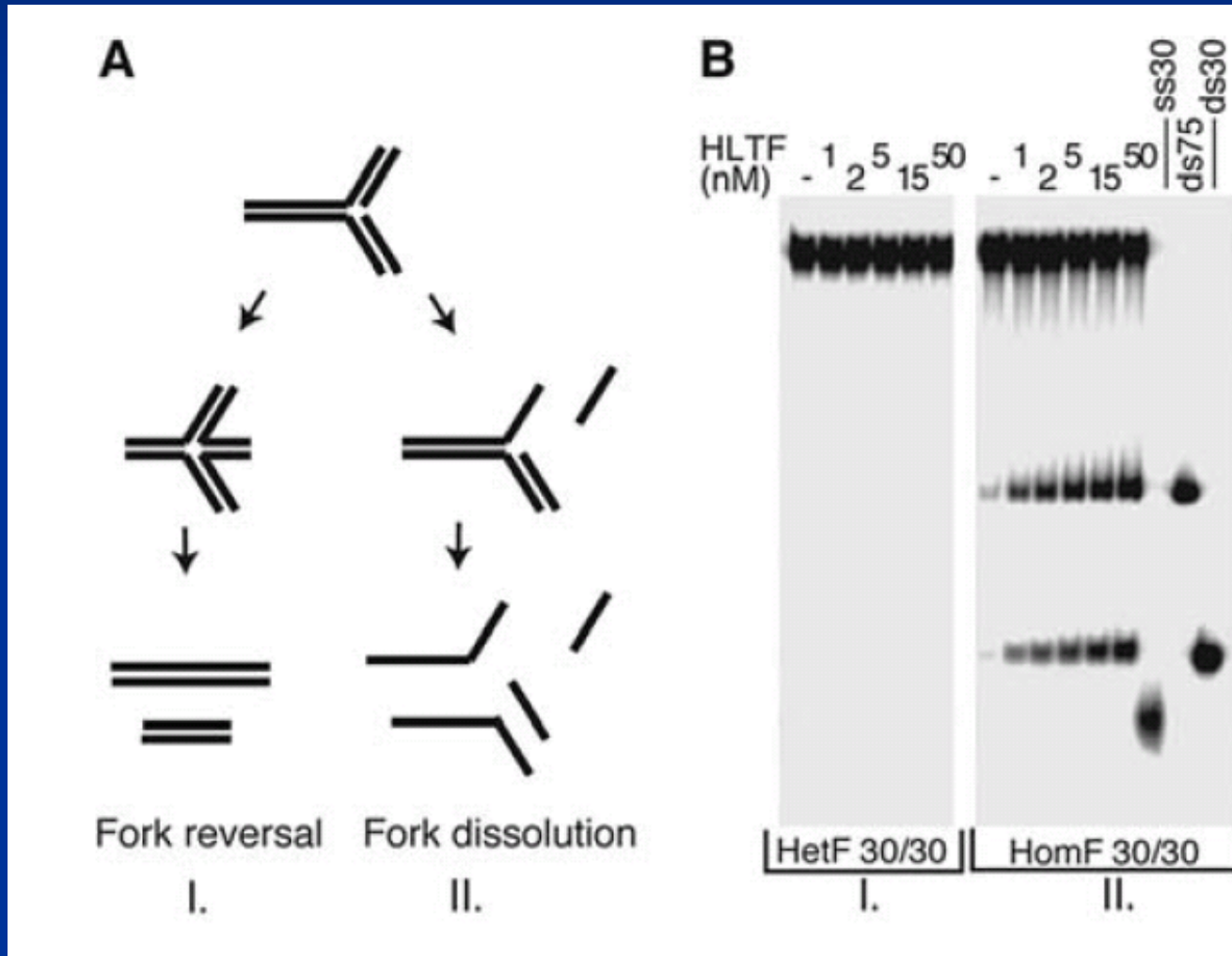
HHMI

HLTF inhibitor molekulák izolálása



Az izolált molekulák gátolják-e a HLTf fehérje replikációs villa megfordító aktivitását ???

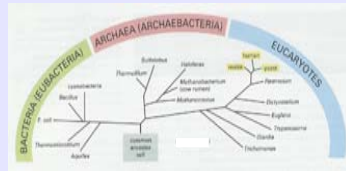
(sejtkultúrák tesztek, állatkísérletek, human I, II, III fázis, gyógyszer)



Összefoglalás

Evolúció és karcinogenezis: közös gyökerek

Mutagenesis és karcinogenezis



DNS károsodások DNS javítás



Betekintés a Mutagenesis és Karcinogenezis Kutatócsoport munkájába

Élesztőtől az emberig

Csirkelábak és a DNS replikáció

