

DNA-kopiering

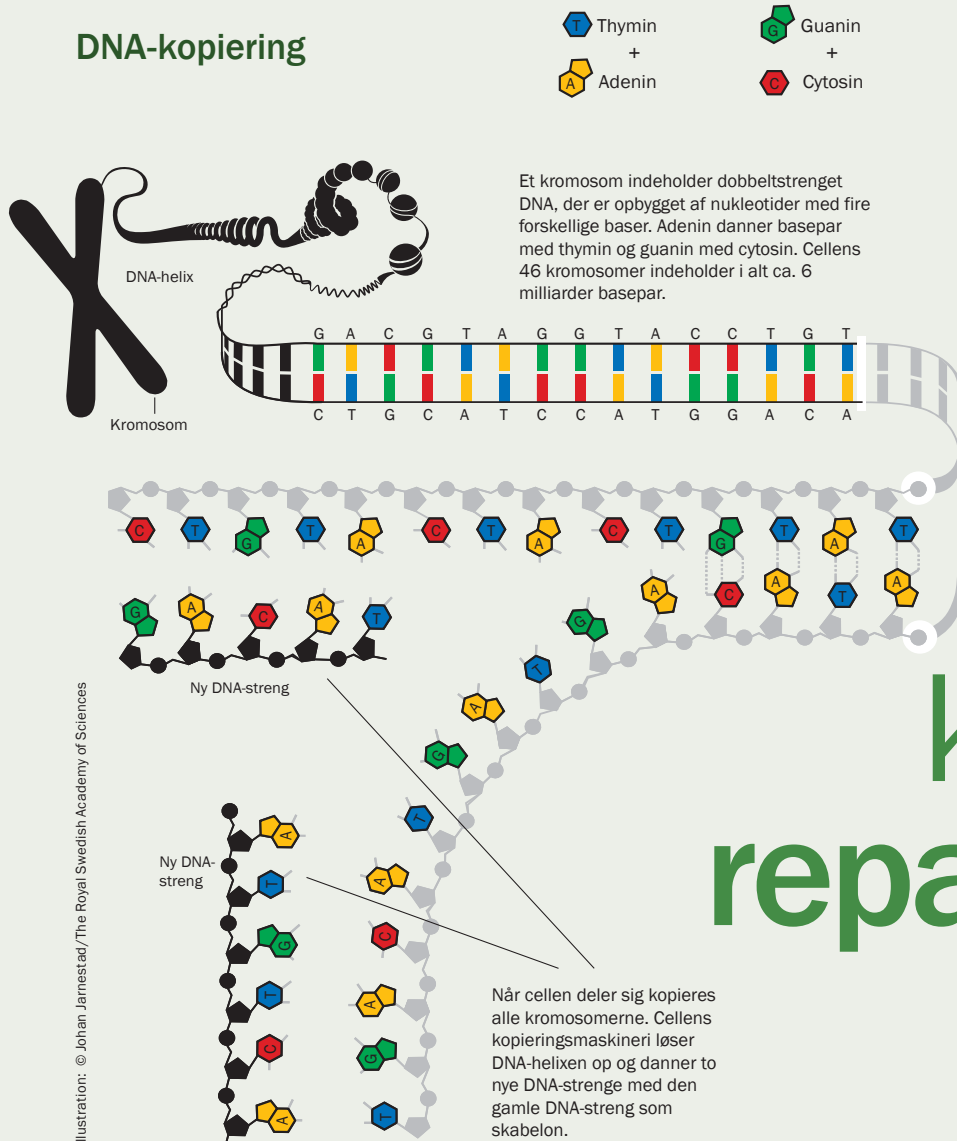


Illustration: © Johan Järnstedt/The Royal Swedish Academy of Sciences

Nobelprisen i 2015 blev givet til tre forskere, der har opdaget livsvigtige mekanismer i cellerne, der reparerer DNA, når det bliver beskadiget. En nærmere forståelse af disse mekanismer kan være nøglen til at forbedre behandlingen af en række sygdomme, der ofte opstår med alderen.

Når kroppen reparerer DNA

Forfatterne



Sofie Hindkjær Laurrup er ph.d.-studerende
laurrup@au.dk



Tinna Stevnsner er lektor
tvs@mbg.au.dk

Begge ved
Dansk Center for
Molekylær Gerontologi,
Dansk Center for Aldrings-
forskning, Institut for
Molekylærbiologi og
Genetik
Aarhus Universitet

I løbet af et normalt menneskeliv, vil vores krop blive udsat for et utal af skader, som kan være alt fra små rifter til brækkede lemmer. For at kroppen skal kunne fungere optimalt, er det vigtigt, at de mangartede skader bliver repareret bedst muligt. En brækket arm eller et sår heler heldigvis normalt op før eller siden. Men en stor del af kroppens reparationsarbejde foregår i virkeligheden skjult for vores øjne på molekylært niveau i kroppens enkelte celler. Mange af cellens molekyler, eksempelvis proteinerne, kan i stor udstrækning blot erstattes af nye, når gamle og slidte proteiner ikke længere fungerer. Men det forholder sig helt anderledes med cellens arvemateriale, DNA'et. Det kan man ikke bare skifte ud, og derfor er det helt essentielt, at DNA kan repareres, når det bliver skadet, hvilket sker hele tiden. Nobelprisen i Kemi blev i 2015 givet til tre forskere, Tomas Lindahl, Aziz Sançar og Paul Modrich, som hver især har bidraget væsentligt til forståelsen af de livsvigtige DNA-reparationsmekanismer, som vi ikke kan overleve uden.

Reparation af DNA er essentielt for overlevelse

Vores DNA udsættes konstant for forskellige typer af skadende faktorer. Det kan være udefrakommende faktorer som UV-stråling fra Solen, skadelige stoffer i cigaretrøg, visse fødevarer eller forurenende partikler i luften. Men det kan også være faktorer, der dannes inde i cellerne som frie radikaler, der er meget reaktive iltforbindelser. De produceres bl.a. i cellens små "kraftværker", mitokondrierne, og er altså et slags biprodukt af cellens almindelige stofskifte. Afhængig af, hvilke faktorer der angriber vores DNA, vil en eller flere typer af skader kunne opstå. Skader i DNA'et kan resultere i, at der dannes mutationer eller fejl i vores gener. Afhængig af præcist, hvor skaden sidder, kan det ende med, at cellen ikke længere kan dele sig, når det er nødvendigt, og i stedet dør. I andre tilfælde kan fejlene ramme gener, som normalt begrænser celledelingsaktiviteten. Hvis sådanne skader ikke reparerer, kan cellen udvikle sig til en kræft-

celle. Det er derfor meget vigtigt, at vores DNA bliver repareret, så skaderne og fejlene bliver fjernet. Det har vist sig, at cellerne har en større værktøjskasse, som kan hjælpe med at forebygge og reparere DNA-skader.

Langt de fleste DNA-skader reparerer ved hjælp af tre mekanismer, som oprindeligt blev opdaget og beskrevet af de tre nobelprismodtagere. Disse tre livsvigtige mekanismer kaldes henholdsvis Base Excisions Reparation, Nukleotid Excisions Reparation og Mismatch Reparation (se boks næste side).

DNA-reparation og sygdom

Efterhånden som vi ældes, sker der en ophobning af reaktive iltmolekyler i hjernen, og disse bidrager med stor sandsynlighed til hjernens aldring. Men det har vist sig, at patienter med Alzheimers sygdom har et endnu højere niveau af reaktive iltmolekyler i hjernen end raske individer på samme alder. Derfor er man nu i gang med at undersøge, hvorvidt det høje niveau af reaktivt ilt bidrager væsentligt til sygdomsudviklingen. Nyere forskning tyder ydermere på, at aktiviteten af mekanismen Base Excisions Reparation er nedsat i hjernen hos ældre, men igen ser den ud til at være yderligere nedsat hos Alzheimers-patienter. Det skyldes måske, at patienter med Alzheimers sygdom også har lavere mængder af et af de proteiner, som deltager i denne proces, nemlig DNA-Polymerase β . Endelig ser det ud til, at bestemte varianter af nogle af proteinerne involveret i Base Excisions Reparation giver dårligere kognitiv kapacitet hos ældre personer.

Hos folk, som har relativt lav aktivitet af mekanismen Nukleotid Excisions Reparation i deres celler, ses der en stor stigning af ophobede skader i deres DNA, og de har desuden en forøget risiko for at udvikle kræft, hvis de udsættes for nogle af de faktorer, som normalt reparerer af denne mekanisme. Patienter, der lider af den arvelige, men heldigvis ret sjældne sygdom *Xeroderma pigmentosum*, mangler eller har stærkt nedsat funktion af Nukleotid Excisions Reparation. Disse patienter er ekstremt følsomme over for Solens UV-lys, og hvis de udsættes for solens lys har de flere tusinde gange højere risiko for at udvikle bl.a. hudkræft, når man sammenligner med normale mennesker. Der findes desværre endnu ingen mulighed for at behandle denne sygdom, så i stedet må patienterne undgå at blive udsat for sollys og andre DNA-skadende faktorer, hvilket gør deres liv særdeles besværligt.

Defekt i Mismatch Reparations-systemet leder til meget høj genetisk ustabilitet og øget antal mutationer. En særlig form for tarmkræft, *arvelig nonpolypos tyk- og endetarmskræft* (HNPCC) skyldes meget ofte mutationer i dele af dette reparationssystem. HNPCC karakteriseres ved, at patienterne udvikler denne type tarmkræft i en relativt ung alder sam-



Aktiviteten af mekanismen *Base Excisions Reparation* er nedsat i hjernen hos ældre, men den ser ud til at være yderligere nedsat hos Alzheimers-patienter.

Nobelprismodtagerne

Nobelprismodtagerne i kemi 2015 har alle tre gjort meget vigtige observationer, der har været med til at klarlægge nogle af de essentielle DNA-reparationsmekanismer.

I 1970'erne viste Tomas Lindahl (f. 1938 i Sverige), at DNA ikke er så stabilt et molekyle, som man tidligere havde troet. Han viste, at der opstår forandringer i DNA'et med så stor hastighed, at liv ville være umuligt, medmindre en ukendt mekanisme kunne bidrage til at bevare DNA'et intakt. Lindahls observationer ledte til opdagelsen af en DNA-reparationsmekanisme, som han kaldte Base Excisions Reparation. Tomas Lindahl var bl.a. med til at identificere proteiner kaldet DNA-glykosylaser, som er vigtige for de første trin i denne mekanisme.

Aziz Sancar (f. 1946 i Tyrkiet) beskrev mekanismen Nukleotid Excisions Reparation, som cellerne bl.a. bruger til at reparere de skader, der opstår i DNA'et, når det udsættes for Solens UV-stråler eller andre faktorer, som ændrer på DNA'ets struktur.

Paul Modrich (f. 1946 i USA) demonstrerede, hvordan cellen retter de fejl, der opstår når DNA'et bliver kopieret i forbindelse med, at cellen deler sig. Denne mekanisme kaldes Mismatch Reparation.



Tomas Lindahl

Foto: Cancer research UK



Aziz Sancar

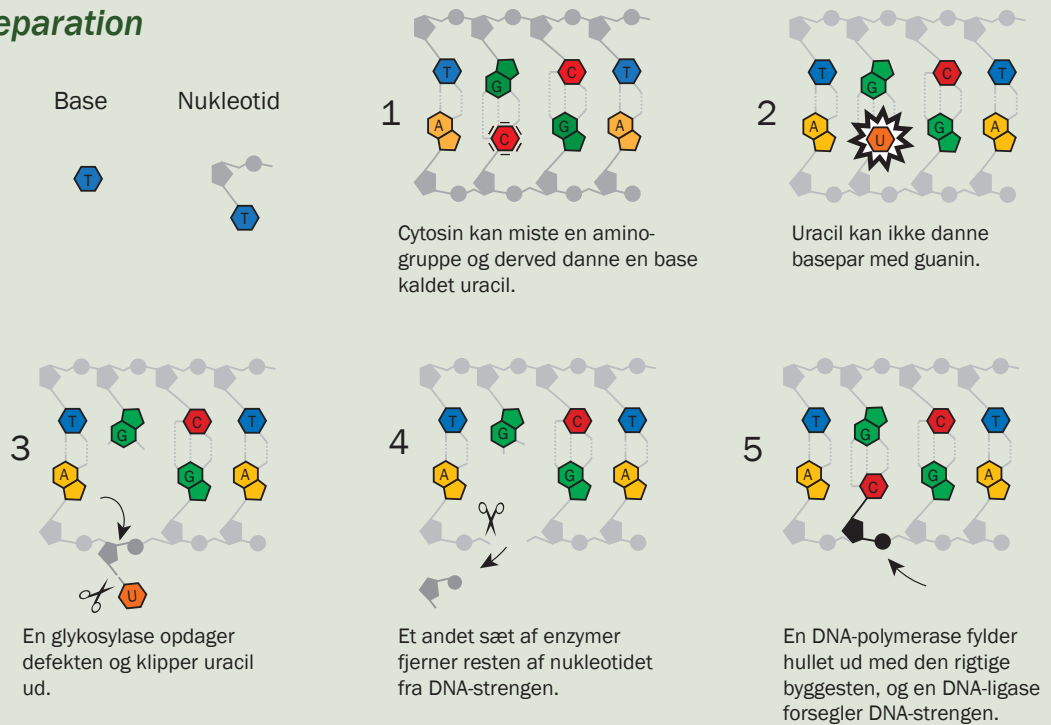
Foto: M. Englund, UNC-School of Medicine



Paul Modrich

Foto: HHMI, Duke University

Base Excisions Repair

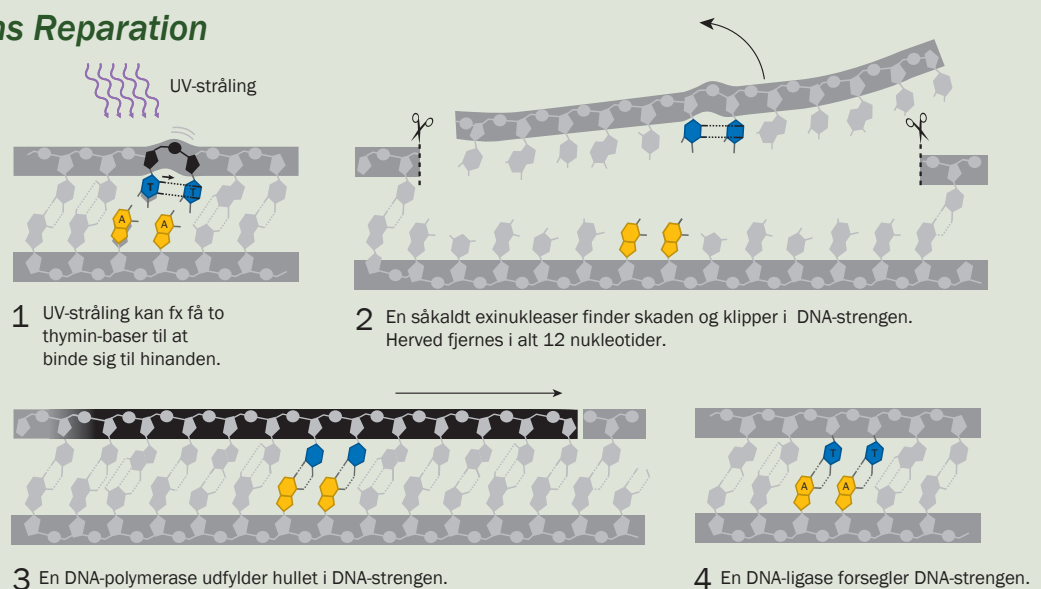


Princippet i mekanismen *Base Excisions Repair* her vist med et eksempel, hvor der opstår en skade på basen cytosin.

Base Excisions Repair er en mekanisme, som primært reparerer såkaldte oxidative DNA-skader, der opstår, når DNA'et reagerer med fx frie radikaler. Oxidative DNA-skader

genkendes af nogle bestemte proteiner kaldet DNA-glykosylaser. Efter at have bundet sig til den oxiderede byggesten skærer glykosylasen skaden ud af DNA'et. Det efterlader et lille hul i DNA'et, som "files" til, så en DNA-polymerase kan indsætte en ny korrekt byggesten ved at aflæse koden i den komplementære DNA-streng.

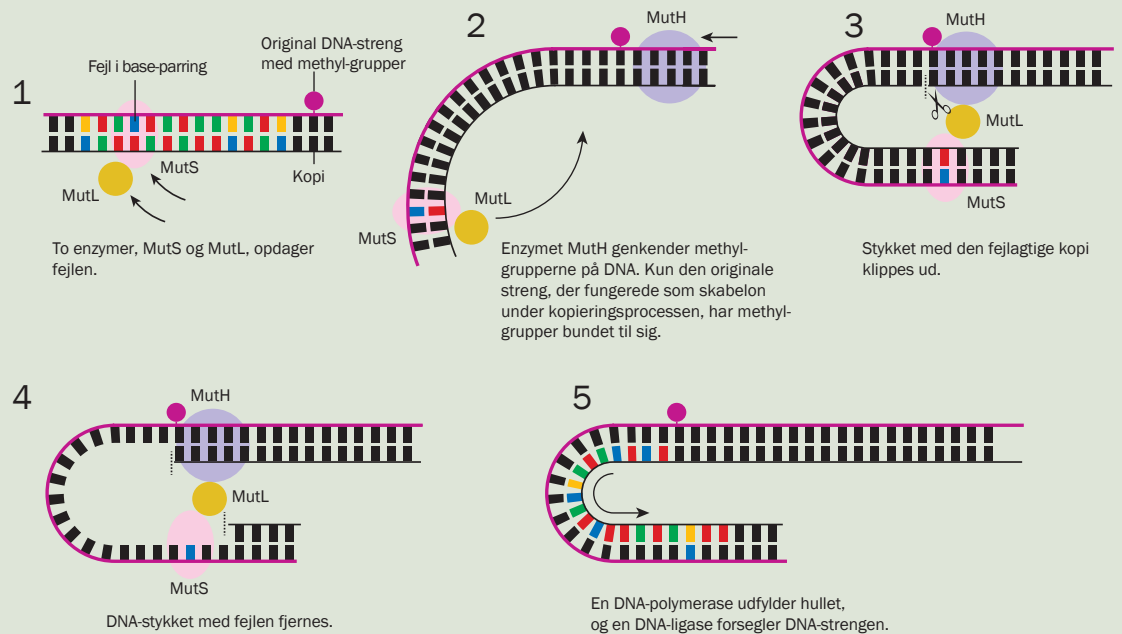
Nukleotid Excisions Repair



Princippet i mekanismen *Nukleotid Excisions Repair* i et tilfælde, hvor UV-stråling får to thymin-baser til fejlagtigt at binde sig til hinanden. Her vises hvordan mekanismen fungerer i bakterier, men de overordnede principper er tilsvarende i pattedyr. *Nukleotid Excisions Repair* reparerer skader på DNA's struktur, når det har været udsat for UV-stråling eller visse kemiske stoffer. Sådanne skader kan opstå når en af byggestenene i DNA'et bindes sammen med en anden, eller byggestenen kan ændres således, at den bliver større og buler

ud af DNA'et. Dermed kan DNA-strukturen blive ustabil, hvilket igen kan forhindre bestemte proteiner i at udføre deres arbejde på DNA'et i cellen. Afhængig af, hvor skaden sidder i DNA'et, vil enten en RNA-polymerase eller proteinet XPC genkende skaden og tilkalde flere reparationsproteiner til skadestedet. Nogle af disse proteiner klipper i DNA'et på begge sider af skaden. Det skadede DNA-stykke fjernes herefter fra resten af DNA'et og nedbrydes. Derefter kan et andet protein, en DNA-polymerase, indsætte et nyt stykke DNA med de rigtige byggesten.

Mismatch Repair



Princippet i *Mismatch*-reparationsmekanismen, der retter fejl i forbindelse med kopiering af DNA. Mekanismen er så effektiv, at ud af 1000 fejl, vil alle på nær en blive repareret.

Den tredje mekanisme, *Mismatch Repair*, er på spil, når cellen deler sig. Ved celledeling skal DNA'et kopieres, så der dannes to identiske sæt DNA – ét sæt til hver ny celle. Cellen bruger den allerede eksisterende DNA-streng som skabelon for, hvordan den nye DNA-streng skal se ud. Under kopieringen kan der ske fejl, så der indsættes en forkert byggesten,

som ikke passer med skabelonen. *Mismatch*-reparations-systemet involverer proteiner, som kan registrere forkert indsatte byggesten, hvorefter en såkaldt endonuklease klipper i DNA'et foran den forkerte base. Det frigør en ende af DNA'et og tillader dermed et andet protein, en exonuklease, at gribe fat i den frie ende og nedbryde den del af DNA'et, hvor skaden sidder. Dernæst kan en DNA-polymerase, ligesom i de to andre reparationsmekanismer, indsætte den rigtige rækkefølge af byggesten i DNA'et ved at aflæse den komplementære streng (skabelonen).

Alle illustrationer:
© Johan Järnstad/The Royal
Swedish Academy of Sciences

men lignet med andre patienter med tyk- og endetarmskræft. Da sygdommen er arvelig, og man nu har opnået stor viden om de specifikke mutationer i *Mismatch* Reparations-systemet i de berørte familier, er det muligt at tilbyde forebyggende screeninger i familier, som har en høj risiko for at udvikle denne type kræft. Dermed kan man opdage og fjerne eventuelle svulster på et tidligt stadie.

Spændende perspektiver i forskningen

Kræftceller adskiller sig bl.a. fra andre celler ved, at de deler sig meget hurtigt og kan blive ved med det i utroligt lang tid. Hver gang en celle deler sig, bliver der produceret en ny kopi af cellens DNA. Mange af de lægemidler, som bruges til kemoterapi i kræftbehandling, hæmmer kræftcellernes evne til at dele sig. Det gøres ved at beskadige kræftcellernes DNA og derved forhindre cellens DNA-kopierings-maskineri i at lave kopier af DNA'et til den næste generation af celler. I nogle tilfælde er kræftcellernes DNA-reparation dog så effektiv, at skaderne forårsaget af kemoterapi bliver repareret og

dermed ikke har den ønskede virkning. Efterhånden som vi opnår et bedre kendskab til DNA-reparationsmekanismer, og hvordan de kan blokeres, vil det forbedre mulighederne for behandlingen af kræft. Faktisk har man allerede nu identificeret én gruppe af stoffer, som øger effekten af kemoterapeutika ved at blokere DNA-reparationen i kræftceller.

Som nævnt er Alzheimers sygdom, og også andre såkaldt neurodegenerative lidelser, kendetegnet ved forøgede niveauer af reaktive iltmolekyler, hvilket resulterer i flere oxidative skader i DNA'et i hjernens impulsledende celler, neuronerne. Derfor kan en bedre forståelse af DNA-reparation og større viden om, hvilke mekanismer der kan øge effektiviteten af DNA-reparationen også kunne hjælpe til at få forståelse og behandling af disse sygdomme. Man forventer, at fremtidige medikamenter, der øger DNA-reparationen og dermed fjerner flere DNA-skader, vil kunne mindske og måske endda totalt standse sygdomsudviklingen for en række neurodegenerative lidelser.

Der er også teorier, der forbinder mængden af skader i DNA'et og effektiviteten af DNA-reparationen med, hvor hurtigt og hvordan vi ældes. Ældre menneskers DNA indeholder en øget mængde af DNA-skader i forhold til unge, og de fleste ældre har også en lavere DNA-reparationsaktivitet. Da der kan være individuelle forskelle i hvor effektivt vores DNA reparerer, vil en større viden om, hvordan DNA-reparationsaktiviteten reguleres også kunne bidrage til at forstå, hvorfor der er relativt store individuelle forskelle på, hvor stor en del af vores kognitive evner, vi bevarer i alderdommen. På længere sigt vil vi formodentlig kunne komme med forslag til, hvilke livsstilsændringer der vil kunne bidrage til en mere sygdomsfri alderdom og velbevarede kognitive funktioner. Da flere og flere mennesker i nutidens samfund opnår en meget høj alder, vil forskning indenfor aldersrelaterede forandringer i DNA-reparation derfor kunne være med til at højne livskvaliteten hos de ældste i samfundet.

Endelig findes der nogle sjældne arvelige sygdomme, hvor patienterne lider af såkaldte førtidige aldrings-symptomer, dvs. at de ældes langt hurtigere end normalt. Flere af disse lidelser ser ud til at skyldes fejl i gener, der koder for proteiner, som er involveret i DNA-reparation. Fremtidig forskning i DNA-reparationsmekanismer vil således også kunne hjælpe de patienter, der lider af disse sygdomme. ■



Otteårig pige fra Nepal, som lider af sygdommen *Xeroderma pigmentosum*, som skyldes defekt i DNA-reparationsmekanismen Nukleotid Excisions Reparation. Patienter med denne lidelse er ekstremt følsomme over for Solens UV-lys.

Videre læsning

Populærvidenskabelig artikel om kemiprisen på Nobelprisens hjemmeside: www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/popular-chemistryprize2015.pdf

Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. (2011): DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol.* 94(2):166-200.

Maynard S, Fang EF, Scheibye-Knudsen M, Croteau DL, Bohr VA. (2015): DNA Damage, DNA Repair, Aging, and Neurodegeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 5(10), pii: a025130. doi: 10.1101/cshperspect.a025130.

Tinna Stevnsner (2014): *Hvorfor ældes vi? - når vores molekyler gør os gamle.* I Kjaer, CR. (ed) "25 Søforklaringer" (s. 336-347), Aarhus Universitetsforlag.

Stevnsner, T., Thorslund, T. & Bohr, VA: Aldringens molekylærbiologi. *Aktuel Naturvidenskab* 1/2004.

Annonce