

En studie av reparationen av dubbelsträngsbrott i DNA

Ann-Sofie Gustafsson

Det unika med cancerceller är att de har förlorat sin förmåga att reglera sin egen tillväxt, dvs de sker en konstant celledelning oberoende av betingelser. En av orsakerna till detta är att det kan ha skett ett så kallat dubbelsträngsbrott (DSB) i DNAt. DNA är namnet på den kemiska substansen som bär på vårt genetiska arv och kodar för en av pelarna nödvändiga för liv, proteiner. Proteiner har en mängd olika funktioner i kroppen, bland annat som byggstenar för celler, katalysatorer och regulatorer för kemiska reaktioner och som transportörer av olika substanser i kroppen. När ett DSB uppstår betyder det att DNAt helt har gått av, vilket leder till att den genetiska koden inte längre går att läsa. Beroende på var detta brott har skett i DNAt blir konsekvenserna olika, ett brott vid en kod som ger ett protein som hämmar tillväxt kan i värsta fall leda till ohämmad tillväxt av den cellen, dvs bildandet av en cancercell. Det är därför livsviktigt för cellen att korrekt och snabbt reparera brottet och självklart har cellen utvecklat olika vägar att göra detta. Mycket forskning har varit fokuserad på att förstå hur cellen signalerar att ett DNA brott uppstått och hur den reparerar brottet, och fortfarande är mycket okänt. Ur ett annat perspektiv behandlas cancerpatienter med strålningsterapi, i syfte att ta död på cancerceller. Strålningen skapar DSB i cellen och på så vis även, dock i detta fall oönskad, reparation av dem. Kunskapen om hur cellen reparerar brotten skulle i detta fall kunna leda till tillverkning av mediciner som i kombination med strålningsterapi hämmar proteiner inblandade i reparation av DSB, så att ingen reparation kan ske, vilket ökar sannolikheten att cancercellerna dör.

Den viktigaste reparationsvägen i mänskliga celler kallas för icke-homolog rekombination. Denna väg omfattar två proteinkomplex som benämns DNA-beroende proteinkinasa (DNA-PK), som hittar DSB, och ligaseIV som tillsammans med proteinet XRCC4 binder till DNA-PK och limmar ihop ändarna igen. DNA-PK består i sin tur av DNA-PKcs och Ku70 i komplex med Ku80. Detta arbete har fokuserat på att använda en ny teknik, kallad proximitetsligering, för att kunna följa interaktionerna mellan DNA-PKcs och Ku80. Ideén är att man binder varsin första antikropp (som enbart känner igen dessa proteiner) till de två proteinerna som man är intresserad av, och sedan tillsätter en annan sekundär antikropp som känner igen de två första antikropparna. På de sekundära antikropparna sitter korta DNA-trådar som kommer att kunna hitta varandra och binda samman om de två första antikropparna finns i närheten av varandra. Genom att tillsätta fluorescerande färg som enbart binder till dessa DNA-trådar kan man se varje protein-protein interaktion som en röd prick i fluorescencemikroskop. Försöken i detta projekt gav positiva resultat som tydde på att det med hjälp av proximitetsligering går att följa protein-protein interaktionerna mellan DNA-PKcs och Ku80. Resultaten visade bland annat att 15 minuter efter att det hade skett DSB i cellen hade en reparation startat. Efter 30 minuter hade signalerna ökat och 60 minuter senare så var signalerna nästan borta. Detta visar att proteinerna interagerar som mest 30 minuter efter att ett DSB skett och att de flesta brott är lagade efter 60 minuter.

Examensarbete i biologi, 20p, HT 2007-12-18

Institutionen för biologisk grundutbildning och Institutionen för onkologi, radiologi och klinisk immunologi

Handledare: Bo Stenerlöv