

Opnieuw een stukje van de puzzel

# Alarm-eiwit waarschuwt cel voor DNA-schade

Niet ernaartoe, maar er vanaf. Onderzoekers van het Erasmus MC keken anders naar DNA-schade in cellen en kwamen tot verrassende ontdekkingen. Mogelijk dragen die in de toekomst bij aan betere therapieën tegen kanker.

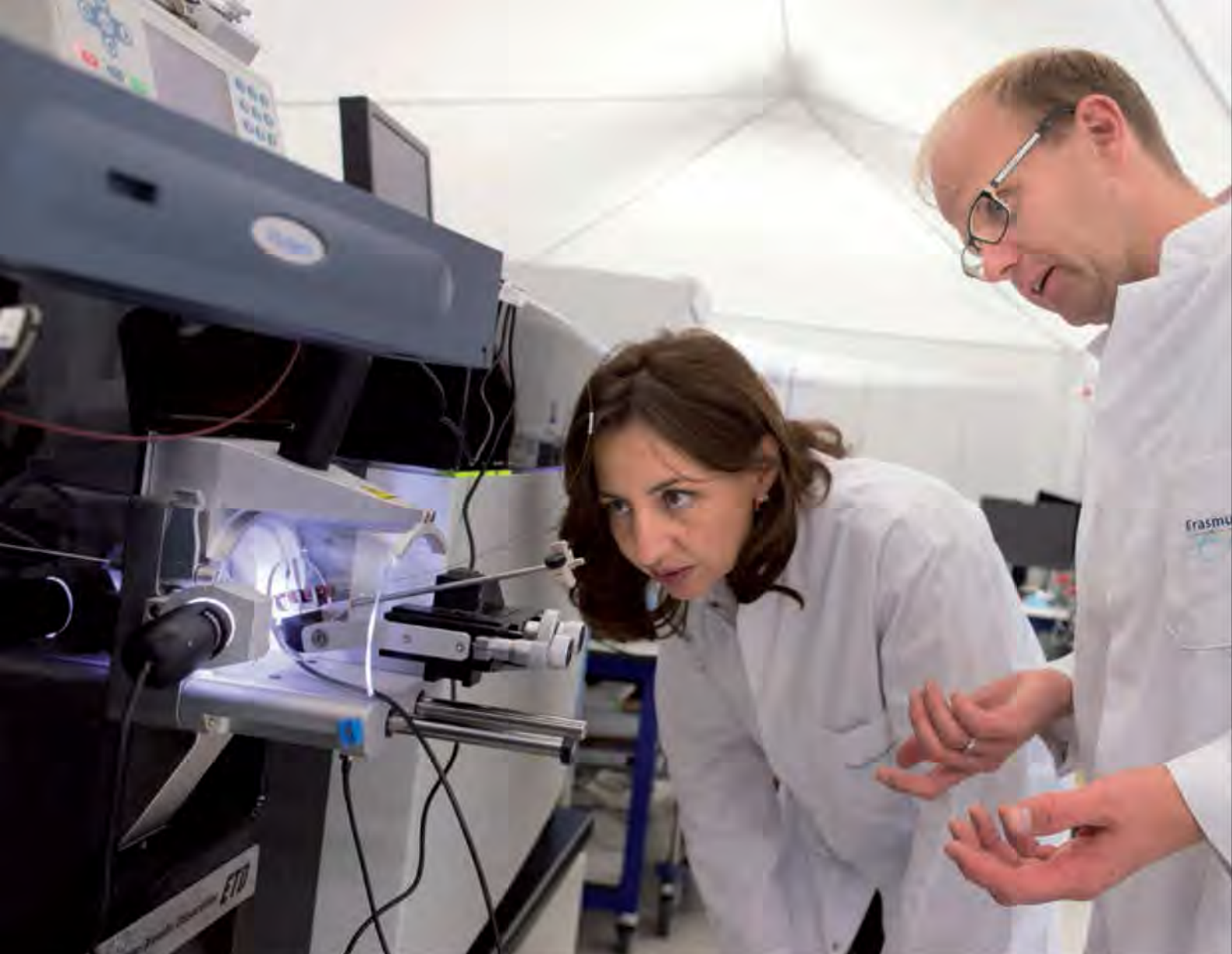
Anders naar de zaken kijken. In de wetenschap leidt dat niet zelden tot mooie resultaten. Labhoofd prof. dr. Wim Vermeulen, groepsleider dr. Jurgen Martejn en postdoc dr. Maria Tresiini van de afdeling Genetica van het Erasmus MC kunnen daarover meepraten: onlangs werden hun baanbrekende onderzoeksresultaten gepubliceerd in het gezaghebbende wetenschappelijke tijdschrift *Nature* (zie Kader).

In het artikel wordt een nieuw mechanisme geïntroduceerd waarmee cellen reageren op DNA-schade. Dergelijke schade treedt voortdurend in ons lichaam op, door inwerking van chemicaliën of door straling, bijvoorbeeld van de zon. DNA-schade verstoort het normale functioneren van cellen en zorgt voor veranderingen in de genetische code. Veroudering en kanker kunnen daaruit voortvloeien.

Het is dus belangrijk dat een cel adequaat reageert op DNA-schade. Die moet zo snel mogelijk worden gerepareerd. Dat gebeurt door speciale reparatie-eiwitten. Maar de cel moet er ook voor waken dat de fout ondertussen niet wordt doorgegeven aan dochtercellen, cellen die ontstaan na een celdeling. Bovendien kan DNA-schade de productie van eiwitten in de war sturen. Immers, het DNA bevat de codes

voor eiwitten, dus een fout in zo'n code kan resulteren in niet goed functionerende of zelfs schadelijke eiwitten. Vermeulen: "We wisten al dat de transcriptie, het overschrijven van het DNA om RNA en uiteindelijk eiwitten te vormen, wordt geblokkeerd door DNA-schade. We hebben nu ont-



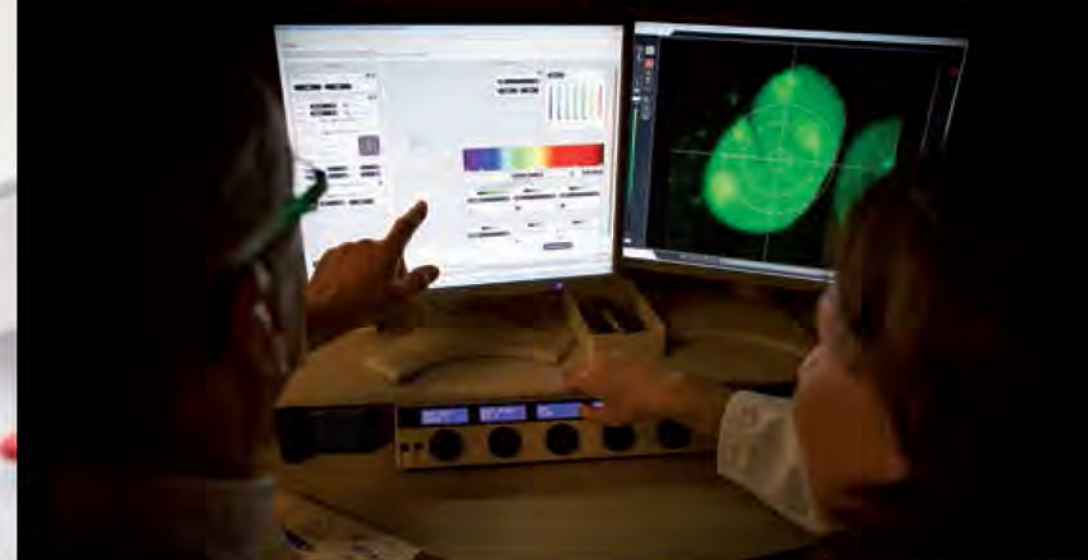


### Alle expertise in huis

De Rotterdamse onderzoekers waren enthousiast over hun ontdekkingen en zetten voor publicatie van hun bevindingen hoog in: *Nature*. Maar publiceren in dit tijdschrift doe je niet een-twee-drie. Het wetenschappelijk toptijdschrift kiest alleen de beste onderzoeken uit.

In april 2014 stuurden de wetenschappers hun manuscript op. Martijn: "De eerste reacties waren positief, maar onder voorbehoud: we moesten nog veel verschillende experimenten uitvoeren om onze bewijsvoering overtuigender te maken en het door ons voorgestelde mechanisme verder uit te bouwen. Onder behoorlijke tijdsdruk is dat gelukt. Ruim een jaar later, in mei dit jaar, werd het definitieve manuscript geaccepteerd."

Prof. dr. Wim Vermeulen van de afdeling Genetica benadrukt dat het onderzoek alleen zo efficiënt kon verlopen dankzij de samenwerking met drie ondersteunende zogenaamde 'Core-faciliteiten' binnen het Erasmus MC die hoogwaardige technologie ondersteunen: het Proteomics Center, waar eiwitten kunnen worden geïdentificeerd, het Optical Imaging Center, waar de dynamiek van eiwitten in levende cellen in beeld kan worden gebracht, en het Biomics Center, waar veranderingen in DNA- en RNA-moleculen kunnen worden ontrafeld. "Het is fantastisch dat we in één 'huis' over deze technologieën en bijbehorende expertise kunnen beschikken. De contacten verlopen direct en dat scheelt enorm veel tijd. En snelheid is geboden. Ons werkterrein is erg competitief. We moeten rekening houden met de concurrentie. Daarom is het van cruciaal belang dat deze faciliteiten op dit niveau behouden blijven om baanbrekend onderzoek te blijven doen."



dekt dat het eiwit ATM de cel op dat moment in verhoogde staat van paraatheid brengt, waardoor de gevolgen van DNA-schade zoveel mogelijk worden beperkt."

#### Nieuwe spelers

Vermeulen: "Onze afdeling heeft een lange traditie in onderzoek naar DNA-schade en -herstelprocessen. Inmiddels zijn er al diverse eiwitten geïdentificeerd die daarbij betrokken zijn en we hebben al een aardig beeld hoe de verschillende DNA-reparatieprocessen verlopen. Maar om het DNA-schadeherstel beter te doorgronden, zoeken we nog steeds naar andere factoren die een belangrijke rol spelen. Het was te verwachten dat juist deze factoren aan het DNA zullen binden na schade." Martijn vult aan: "Juist van deze eigenschap wilden we gebruikmaken om nieuwe reparatie-eiwitten te ontdekken. Ons plan: we veroorzaken bij een cel DNA-schade en kijken dan naar de eiwitten die naar het DNA toe gaan. Dat zijn namelijk kandidaat-eiwitten die een rol zouden kunnen spelen." Een bakje met cellen werd met uv-licht bestraald, waardoor veel beschadigingen in het DNA ontstonden. Ter controle werd een ander bakje met cellen niet bestraald. Met een massaspectrometer, een apparaat dat zeer nauw-

keurig eiwitten kan identificeren, werden de eiwitten op het DNA geanalyseerd. Tresini: "Eerlijk gezegd waren de eerste resultaten teleurstellend. We zagen dat bepaalde eiwitten, na bestraling met uv-licht, weliswaar meer aan het DNA bonden, maar daar zaten eigenlijk geen verrassende nieuwe eiwitten bij: de meeste kenden we al uit onze eerdere studies en uit de wetenschappelijke literatuur. Maar er was iets opvallends: als we de bestraalde cellen vergeleken met niet-bestraalde cellen, zagen we dat bepaalde eiwitten juist *minder* aan het DNA waren gebonden. Het gaat om eiwitten die horen bij het spliceosoom."

#### Varianten

DNA bestaat uit lange ketens met de codes voor alle eiwitten die de cel of het lichaam nodig heeft. Om die eiwitten te produceren, moet er eerst een kopie van het DNA worden gemaakt: de keten wordt overgeschreven en er ontstaat RNA. Dat proces heet transcriptie. Het RNA moet daarna in de cel worden vertaald in een eiwit. Dat kan niet direct: het RNA moet eerst worden 'gespliced'. Daarbij worden bepaalde onbruikbare stukjes uit het RNA geknipt. Dat gebeurt door eiwitten die behoren tot het spliceosoom. Martijn: "Die

eiwitten spelen bovendien een rol in *alternatieve* splicing: uit eenzelfde voorloper RNA-molecuul kunnen meerdere varianten ontstaan, omdat er bepaalde stukjes wel of juist niet uit worden geknipt. Uit die RNA-varianten ontstaan verschillende eiwitten, die allemaal een andere functie hebben."

#### Live volgen

Vermeulen: "Wij zagen dus dat na DNA-schade de hoeveelheid spliceosoom-eiwitten dat aan het DNA gebonden is, afneemt. Die waarneming was een grote verrassing. De vraag was toen: worden die eiwitten afgebroken? We hebben de spliceosoom-eiwitten gemeten die gebonden waren aan het DNA en in de rest van de cel, en die waarden vergeleken met de eiwitten in niet-bestraalde controle-cellen zonder DNA-schade. Wat bleek? De totale hoeveelheid eiwitten bleef gelijk, dus van afbraak was geen sprake. Laten de eiwitten het DNA dan los en bewegen ze zich naar andere delen van de cel? Met behulp van speciale microscopen zijn we in staat om de beweging van eiwitten in de cel *live* te volgen. Als we een cel met uv-licht bestralen en zo DNA-schade veroorzaken, zien we de spliceosoom-eiwitten inderdaad binnen een minuut van het DNA af bewegen. Er bestaat een direct verband tussen

de hoeveelheid DNA-schade en de hoeveelheid spliceosoom-eiwitten dat vrij in de cel gaat circuleren. Veel DNA-schade betekent veel ongebonden spliceosoom-eiwit."

#### Verhoogde staat van paraatheid

Maar wat betekent deze waarneming? Martijn: "Door DNA-schade komt het transcriptie-proces in de knel: het kopiëren van DNA in RNA wordt geremd. De spliceosoom-eiwitten die het RNA normaal gesproken omzetten in de gewenste vorm, zullen loslaten en er resteert 'naakt' RNA. Wij denken dat het naakte RNA een lusstructuur vormt met het DNA. We vermoeden dat deze *R-loop* een specifiek eiwit activeert: ATM. Dat eiwit 'zwemt' vervolgens door de cel om daar andere eiwitten te activeren. ATM zal bovendien andere spliceosoom-eiwitten stimuleren om ook los te komen van het RNA, waardoor het proces in een stroomversnelling komt. Er ontstaan steeds meer *R-loops*, waardoor het splicings-proces steeds meer geremd wordt." Vermeulen: "We hebben ontdekt dat ATM de cel in verhoogde staat van paraatheid brengt als de transcriptie wordt geremd. Zodra de DNA-schade is hersteld, wordt de ATM-activiteit weer genormaliseerd en starten de transcriptie en splicing weer op." Tresini: "Omdat DNA-schade een verandering

van het spliceosoom teweegbrengt, ontstaan er tijdelijk andere RNA-varianten en daaruit worden andere eiwitten gevormd. Wat die eiwitten doen? Dat moeten we nog verder uitzoeken, maar mogelijk beschermen ze de cel tegen DNA-schade."

"Ons onderzoek is geen makkelijk te verteren kost", erkent Vermeulen, "niet iets wat je op een feestje eenvoudig uitlegt. Zodra we de acceptatie van ons artikel door *Nature* hadden ontvangen, dacht ik 'Yes!'; maar ook: hoe gaan we dit in hemelsnaam aan het grote publiek overbrengen? Toch zijn onze bevindingen van groot belang voor de wetenschap. Ze werpen een ander licht op de herstelprocessen die een belangrijke rol spelen in het tegengaan van, door DNA-schade veroorzaakte, veroudering en kanker. Op termijn kunnen de nieuwe inzichten leiden tot een efficiëntere therapie. Bovendien kan met de ontdekking van deze functie van het ATM-eiwit meer begrepen worden over de tot nu toe onverklaarde symptomen bij ziekten als ataxia telangiectasia. Door aangeboren afwijkingen in het ATM-gen komen bij patiënten met deze aandoening kanker en ernstige neurologische problemen voor."

