

# RNA-molekyler

styr reparationen av  
människans arvs massa  
i cancerceller

Länge trodde man att RNA endast deltog i proteintillverkning, men ny forskning visar motsatsen. "Våra senaste forskningsfynd visar att vissa RNA kan binda till enzym som reparerar skadat DNA och fungera som av- och på-knapp för dessa enzym", skriver här **Marianne Farnebo**, docent vid Karolinska Institutet.

Därmed kan RNA styra DNA-reparation, en upptäckt som på sikt kan leda till möjligheten att både motverka cancerutveckling och skapa bättre cancerbehandlingar.





Orsakerna till DNA-skador är många – de kan exempelvis uppstå som följd av exponering av solstrålar, ciga-

**// Allt fler studier pekar på att icke-kodande RNA kan spela en avgörande roll vid reparation av DNA på flera olika sätt. RNA kan agera både som vägvisare för reparationsfaktorer eller bro-byggare vid själva reparationen genom att hybridisera med skadat DNA.**

rettrök eller andra mutagena ämnen, men också av naturliga händelser inom cellen, som vid celledelning eller energi-produktion. När en skada skett avlägsnas den av speciella enzymer och på olika sätt. Skador som kemiska modifieringar på DNA-molekylen repareras genom excision reparation, där den skadade delen tas bort och ersätts med en frisk del. Om DNA-strängarna istället går av, antingen den ena eller båda strängarna, utförs reparation på andra sätt och via andra enzym (se exempel nedan). Olämpligt val av reparations-väg kan resultera i ett spektrum av sjukdomar som sträcker sig från utvecklingsstörningar till cancer och därför behöver dessa val regleras noggrant.

#### **DUBBELSTRÄNGSBROTT FARLIGAST**

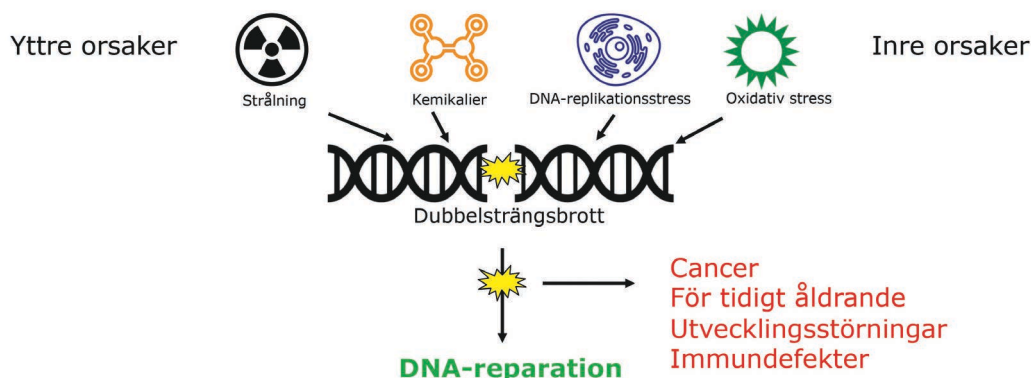
Den mest toxiska formen av DNA-skada innebär att båda DNA-strängarna

går av samtidigt, så kallat dubbelsträngsbrott. Eftersom båda strängarna är skadade kan ingen av dem användas som ritning för att genomföra reparation vilket gör processen svårare. Cellen måste då antingen använda friska DNA-strängar på andra kromosomer som ritning (kallad homolog rekombination) eller klistra ihop de fria ändarna utan ritning (kallad icke-homolog sammanfogning)<sup>1</sup>. Den förstnämnda (som använder en ritning) resulterar i mer perfekt resultat och används ofta för att reparera delar av DNA som anses innehålla viktig information (till exempel gener). Men eftersom den tar längre tid och endast är tillgänglig vid vissa cellcykel-faser, används icke-homolog sammanfogning oftare. Exakt hur cellen styr av och på för dessa reparationsvägar som konkurrerar med varandra är oklart, men våra senaste fynd ger svaret – RNA-molekyler.

RNA är grundläggande molekyler som finns i alla levande organismer. En del fungerar som källa för proteintillverkning och kallas protein-kodande RNA medan andra, icke-kodande RNA, utför andra funktioner i cellen. Allt fler studier pekar på att icke-kodande RNA kan spela en avgörande roll vid reparation av DNA på flera olika sätt. RNA kan agera både som vägvisare för reparationsfaktorer eller bro-byggare vid själva reparationen genom att hybridisera med skadat DNA<sup>2</sup>. Vår senaste upptäckt visar att RNA dessutom kan kontrollera DNA-reparation genom att blockera eller aktivera reparationsenzym.

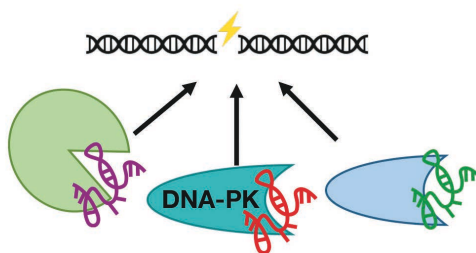
**D**en genetiska informationen för hur en människa ska se ut finns i vårt DNA som lagrar all information om hur kroppens celler ska utvecklas och fungera. Varje dag uppstår tusentals skador i cellernas DNA, ändå håller den sig förvånansvärt intakt. Ett effektivt reparationsmaskineri är källan till hur cellen säkrar den genetiska informationen, reparerar sitt DNA och motverkar sjukdomar som cancer.

## Varje dag uppstår tusentals DNA-skador som kräver reparation

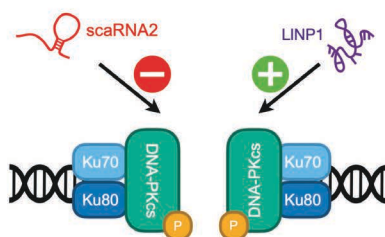


### Vår upptäckt:

RNA fungerar som som Av och På knapp för DNA-reparationsenzym



## Samspel mellan blockerande och aktiverande RNA



Redan för ett par år sedan upptäckte vår forskargrupp att vissa typer av icke-kodande RNA kallade scaRNA (små Cajal-kroppsassocierade RNA) ansamlas vid DNA-skador. Det var då vi började misstänka att RNA-molekylerna kanske var inblandade i DNA-reparationsarbetet.

### FUNGERAR SOM AV-KNAPP

Ett annat genombrott skedde när vi upptäckte att scaRNA2 binder enzy-

met DNA-PK som styr icke-homolog sammanfogning. Genom olika biokemiska metoder kunde vi visa att scaRNA2 binder den katalytiska subenheten av DNA-PK (DNA-PKcs) på ett sätt som blockerar medhjälpande faktorer (som Ku70/80-subenheterna) att binda, och därmed inaktivera enzymet. scaRNA2 verkade alltså fungera som av-knapp för reparationsenzymet och riktigt nog – utan scaRNA2 ökade aktiviteten hos DNA-PK till en onatur-

ligt hög nivå<sup>3</sup>. Vi såg att det i sin tur resulterade i att cellerna inte kunde utföra homolog rekombination, den mer precisa typen av reparation, eftersom aktivering av DNA-PK kan konkurrera ut den reparationsvägen. I slutändan fick celler utan scaRNA2 bestående DNA-skador och dog. Det visar hur viktig rätt balans mellan de olika reparationsvägarna är för cellöverlevnad och att scaRNA2 spelar en central roll i denna process.

**Redan för ett par år sedan upptäckte vår forskargrupp att vissa typer av icke-kodande RNA kallade scaRNA (små Cajal-kroppssassocierade RNA) ansamlas vid DNA-skador. Det var då vi började misstänka att RNA-molekylerna kanske var inblandade i DNA-reparationsarbetet.**

Vi upptäckte också att scaRNA2 kontrollerar DNA-PK genom att konkurrera ut ett annat icke-kodande RNA kallat LINP1. Det hyperaktiva DNA-PK-komplexet som bildas i frånvaro av scaRNA2 innehöll också förhöjda mängder LINP1, som underlättar interaktion mellan DNA-PKs och Ku80 genom att binda båda samtidigt. Således spelar LINP1 och scaRNA2 motsatta roller i samband med DNA-PK-aktivering, där hämning av scaRNA2 verkar vara mer potent än stimulering av LINP1<sup>3</sup>. Denna upptäckt visar ett intrikat samspel mellan scaRNA2 och LINP1 i samband med regleringen av DNA-PK som svar på DNA-skada och en helt ny mekanism för hur celler kontrollerar reparation av DNA.

#### UPPTÄCKTE HELT NY GEN

Tidigare upptäckte vår forskargrupp en helt ny gen WRAP53 (WD repeat containing antisense to TP53), som ger upphov till proteinet WRAP53β<sup>4,5</sup>. Människor som föds med mutationer i WRAP53β drabbas av sjukdomar kopplade till försenad utveckling, för tidigt åldrande och cancer, kallade Dyskeratos congenita<sup>6</sup> och Hoyeraal-Hreidarsson syndrom<sup>7</sup>, där den sistnämnda är en svårare variant av Dyskeratos congenita och där patienten ofta dör innan tonåren.

I den aktuella studien fann vi att proteinet WRAP53β kan binda till scaRNA2 och frigöra DNA-PK för aktivering. Denna funktion visade sig viktig i situationer när cellen behöver tillgång

till den snabba reparationsprocessen som styrs av DNA-PK. Vid förlust av WRAP53β såg vi ökad blockering av DNA-PK via scaRNA2 och att cellerna inte kunde reparera sitt DNA genom icke-homolog sammanfogning<sup>3</sup>. Vi fann också att sjukdomsmutationerna i WRAP53β förstörde proteinets möjlighet att binda scaRNA2<sup>7</sup>, vilket öppnar för att kontrollen av scaRNA2 är satt ur spel i patienter med muterat WRAP53β. Det kan i sin tur leda till att DNA-PK konstant är "avslaget" och att cellerna därmed har en försämrad förmåga att reparera DNA-skador.

scaRNA2 har också visat sig överuttryckt i cancer. I två studier observerade man att scaRNA2 är överuttryckt i kolorektal- och skivepitelcancer och att nivåerna av scaRNA2 korrelerade med försämrad överlevnad hos patienterna och ökad resistens mot cellgifter<sup>8,9</sup>. Vår upptäckt att scaRNA2 är kopplad till DNA-reparation kan ge svar på varför balansen av scaRNA2 är så viktig för att motverka sjukdom. Vi hoppas att våra resultat ska öppna för nya tillvägagångssätt att behandla cancer, till exempel med syntetiska RNA-molekyler för att styra DNA-reparation och öka celldöd hos cancerceller.

#### REFERENSER

1 Scully, R., Panday, A., Elango, R. & Willis, N. A. DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20, 698-714, doi:10.1038/s41580-019-0152-0 (2019).

2 Bader, A. S., Hawley, B. R., Wilczynska, A. & Bushell, M. The roles of RNA in DNA double-strand break repair. *Br J Cancer* 122, 613-623, doi:10.1038/s41416-019-0624-1 (2020).

3 Bergstrand, S. et al. Small Cajal body-associated RNA 2 (scaRNA2) regulates DNA repair pathway choice by inhibiting DNA-PK. *Nat Commun* 13, 1015, doi:10.1038/s41467-022-28646-5 (2022).

4 Mahmoudi, S. et al. Wrap53, a natural p53 antisense transcript required for p53 induction upon DNA damage. *Molecular cell* 33, 462-471, doi:10.1016/j.molcel.2009.01.028 (2009).

5 Bergstrand, S., O'Brien, E. M. & Farnebo, M. The Cajal Body Protein WRAP53beta Prepares the Scene for Repair of DNA Double-Strand Breaks by Regulating Local Ubiquitination. *Front Mol Biosci* 6, 51, doi:10.3389/fmolb.2019.00051 (2019).

6 Zhong, F. et al. Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita. *Genes Dev* 25, 11-16, doi:10.1101/gad.2006411 (2011).

7 Bergstrand, S. et al. Biallelic mutations in WRAP53 result in dysfunctional telomeres, Cajal bodies and DNA repair, thereby causing Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. *Cell Death Dis* 11, 238, doi:10.1038/s41419-020-2421-4 (2020).

8 Zhang, Z., Jia, M., Wen, C., He, A. & Ma, Z. Long non-coding RNA SCARNA2 induces cutaneous squamous cell carcinoma progression via modulating miR-342-3p expression. *J Gene Med* 22, e3242, doi:10.1002/jgm.3242 (2020).

9 Zhang, P. F. et al. The lncRNA SCARNA2 mediates colorectal cancer chemoresistance through a conserved microRNA-342-3p target sequence. *J Cell Physiol* 234, 10157-10165, doi:10.1002/jcp.27684 (2019).

MARIANNE FARNEBO, DOCENT, INSTITUTIONEN FÖR CELL- OCH MOLEKYLÄRBIologi OCH INSTITUTIONEN FÖR BIOVETENSKAPER OCH NÄRINGSLÄRA, KAROLINSKA INSTITUTET, MARIANNE.FARNEBO@KI.SE

