



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Molecular dissection of Cdc6 and the miR-148 family : two stories with common themes

Duursma, A.M.

Citation

Duursma, A. M. (2008, May 14). *Molecular dissection of Cdc6 and the miR-148 family : two stories with common themes*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/12848>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/12848>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Een gezonde cel heeft meerdere regulatiemechanismen die ervoor zorgen dat een cel zich op een gecontroleerde manier deelt. Deze regulatie ligt vast in de code van het erfelijk materiaal van een cel, het DNA. Bij elke celdeling is er een kleine kans dat het DNA niet helemaal goed gerepliceerd wordt en kan er een mutatie ontstaan. Wanneer er een mutatie ontstaat in een van de cellulaire controlemechanismen, kan het gebeuren dat cellen zich in het lichaam ongecontroleerd vermenigvuldigen. Wanneer deze cellen zich uitbreiden naar andere weefsels noemen we dit kanker.

Om te voorkomen dat er DNA-schade en dus kanker ontstaat heeft een cel meerdere overlappende controlemechanismen die DNA-schade kunnen vaststellen en hier vervolgens adequaat op reageren. Deze reactie wordt de DNA-schaderesponse genoemd, en deze response zorgt ervoor dat een cel onmiddellijk stopt met delen en begint met de reparatie van het DNA. Hierna zal een cel weer verder delen, tenzij de schade zo aanzienlijk is dat reparatie niet meer mogelijk is. In dat geval zal een cel in permanente groeiarrest blijven of dood gaan.

De genetische code van het DNA wordt in een cel vertaald naar RNA, dat weer vertaald wordt naar eiwitten. Mutaties in het DNA van een gen dat voor een bepaald eiwit codeert, kan de functie van dat eiwit veranderen, maar kan ook tot veranderde expressie (de hoeveelheid eiwit die van RNA en DNA wordt gemaakt) daarvan leiden. Ook andere veranderingen in een cel die tot veranderde eiwitexpressie leiden kunnen een rol spelen bij het ontstaan van kanker, zoals veranderingen in bepaalde modificaties van het DNA of eiwitten die aan het DNA binden, de zogenaamde epigenetische veranderingen.

Recentelijk zijn er kleine RNA moleculen van 20-25 nucleotiden ontdekt waarvan geen eiwit wordt gemaakt. Deze moleculen, de

zogenaamde microRNAs (miRNAs) binden aan grotere target-RNA moleculen waarvan wel eiwit wordt gemaakt. Hierdoor kan de vertaling van RNA naar eiwit worden geremd en kan het target-RNA ook worden afgebroken. Doordat miRNAs de expressie van RNA naar eiwit reguleren, kunnen ook deze kleine regulatoren een rol spelen bij het ontstaan van kanker.

In het eerste deel van dit proefschrift (Hoofdstukken 2 en 3) wordt het effect van DNA-schade op de stabiliteit van Cdc6, een belangrijk DNA replicatie-eiwit, beschreven. Hoofdstuk 2 laat zien dat serine 54 fosforylatie van Cdc6 door CDK2/Cycline E het Cdc6 eiwit stabiliseert. Deze modificatie voorkomt herkenning door de E3-ligase APC^{Cdh1} die voor de afbraak van Cdc6 zorgt. Na DNA-schade wordt CDK2/Cycline E activiteit echter geblokkeerd op een p53-afhankelijke manier, waardoor ook Cdc6 instabiel wordt en wordt afgebroken. De belangrijke rol die Cdc6 speelt in de initiatie van DNA-replicatie suggereert dat de afbraak van Cdc6 een rol zou kunnen spelen in het voorkomen van celdeling in cellen met DNA-schade. P53 is een van de belangrijkste tumor-suppressors in een cel, en p53 is in heel veel tumoren gemuteerd. Behalve de p53-afhankelijke regulatie van Cdc6 na DNA-schade laat Hoofdstuk 2 zien dat dit regulatiemechanisme ook een rol speelt tijdens normale celdeling. Cellen met verlaagde expressie van p53 groeien sneller, een effect dat teniet gedaan kan worden door gelijktijdig ook de expressie van Cdc6 te verlagen. Deze bevindingen geven meer inzicht in de essentiële rol van Cdc6 in de initiatie van DNA-replicatie en hoe Cdc6 wordt gereguleerd in de normale celcyclus en na DNA-schade. In Hoofdstuk 3 worden deze bevindingen en de implicaties hiervan verder bediscussieerd.

In het tweede deel van dit proefschrift (Hoofdstukken 4, 5 en 6) wordt de functie

van de miR-148/152 miRNA familie ontrafeld. In Hoofdstuk 4 wordt een nieuw miRNA regulatiemechanisme beschreven. Tot nu toe werd gedacht dat miRNAs hun target-RNAs reguleren door aan de 3'UTR van dat RNA te binden, het gedeelte dat niet in eiwit vertaald wordt. Dit hoofdstuk laat zien dat in het geval van Dnmt3b en miR-148/152 deze regulatie plaatsvindt in het eiwit coderende gedeelte van het RNA. Dit heeft als belangrijk gevolg dat een Dnmt3b mRNA splice-variant die dit gedeelte niet tot expressie brengt, ook niet gereguleerd kan worden door de miR-148/152 familie. Om verder de biologische functie van de miR-148/152 familie te karakteriseren hebben we de functie van deze miRNAs onderzocht in vroege humane T-cel ontwikkeling (witte bloedcellen uit de thymus) en in primaire fibroblasten, omdat dit de celtypen zijn waar deze miRNAs met name tot expressie komen. miR-148 bleek hoog tot expressie te komen in multipotente voorlopercellen en in alle vroege T-cellen die uit deze voorlopercel ontstaan. miR-148 expressie is echter aanzienlijk verlaagd in plasmacytoïde dendritische cellen (pDCs) en natural killer cellen die uit diezelfde multipotente voorlopercellen ontstaan. Wanneer miR-148 tot overexpressie wordt gebracht in voorloper cellen die vervolgens in vitro naar pDCs worden gedifferentieerd neemt het aantal pDCs dramatisch toe (Hoofdstuk 5). Aan de andere kant vonden we dat inhibitie van miR-152 in fibroblasten het doorlopen van een celdelingscyclus remde (Hoofdstuk 6). Samen suggereren deze data dat de miR-148/152 een rol zou kunnen spelen in celdeling.

In dit proefschrift getiteld "Moleculaire ontrafeling van Cdc6 en de miR-148 familie" komen twee verschillende onderzoekslijnen aan bod. In het eerste gedeelte wordt de rol van een specifieke modificatie van het DNA replicatie-eiwit Cdc6 onderzocht tijdens de normale celdelings cyclus en na DNA-schade. In het tweede gedeelte worden de functies van een bepaalde miRNA familie, de miR-148/152 familie, ontrafeld. Net als Cdc6 speelt ook deze miRNA familie mogelijk een rol in de regulatie van celdeling. Beide

studies grijpen dus aan op een van de meest fascinerende regulatiemechanismen van een cel, het celdelings controlemechanisme, dat in alle humane tumoren gedereguleerd is.



