



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Chromatin modifiers in DNA repair and human disease

Helfricht, A.

### Citation

Helfricht, A. (2016, November 1). *Chromatin modifiers in DNA repair and human disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/43800>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/43800>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/43800> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Helfricht, A.

**Title:** Chromatin modifiers in DNA repair and human disease

**Issue Date:** 2016-11-01

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het menselijk lichaam bestaat uit een groot aantal verschillende soorten cellen, die allemaal dezelfde genetische informatie bevatten. Deze informatie ligt in ons DNA, in specifieke regio's die we de genen noemen. Elk gen bevat een bouwplan voor een bepaald eiwit met een of meerdere specifieke functies. De functies van alle eiwitten samen faciliteren de processen in onze cellen, die voor het leven noodzakelijk zijn. Om gezond te kunnen leven is het van belang dat elke cel de genomische informatie intact houdt, en deze onveranderd doorgeeft aan de dochtercellen. Ons DNA wordt echter elke dag blootgesteld aan een diversiteit van schadelijke stoffen die uit de omgeving op ons inwerken, zoals UV licht, ioniserende straling en sigarettenrook. Ook ontstaan er schadelijke stoffen tijdens chemische reacties binnen onze cellen, zoals bijvoorbeeld oxidatieve radicalen. Wetenschappers hebben berekend dat er door de blootstelling aan DNA-schade-inducerende stoffen elke dag tussen de 1000 en 10.000 DNA schades per cel ontstaan. Gelukkig zijn onze cellen uitgerust met een geraffineerd signaleringssysteem en verschillende herstel mechanismen, die allerlei types DNA schade kunnen detecteren en repareren. Maar, als de schades in het DNA niet of onzorgvuldig gerepareerd worden, kunnen veranderingen ontstaan in de basiseenheden van het DNA, de nucleotiden. Dergelijke veranderingen worden mutaties genoemd en kunnen kanker veroorzaken. De manier waarop cellen verschillende vormen van DNA schade repareren is globaal in kaart gebracht. Toch worden er nog regelmatig nieuwe eiwitten geïdentificeerd die een rol spelen tijdens het herstel van DNA schade. Studies naar het functioneren van deze eiwitten leveren nog steeds nieuwe inzichten over het verloop van DNA schade herstel. Bovendien worden er meer en meer kanker-veroorzakende mutaties in patiënten gevonden in genen die voor DNA schadeherstel eiwitten coderen. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat kennis over DNA reparatie belangrijk is voor het ontwikkelen van nieuwe kankertherapieën. Daarom is het van groot belang de rol van (nieuwe) DNA schadeherstel eiwitten te onderzoeken en deze kennis te gebruiken voor de mogelijke ontwikkeling van nieuwe behandelingen.

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift richt zich op de reactie van cellen op DNA dubbelstrengbreuken (DSBs). Dit is een zeer schadelijke vorm van DNA schade waarbij beide strengen van het DNA doorbroken worden. In **hoofdstuk 1** van mijn proefschrift voorzie ik de lezer van een uitgebreide inleiding over DSB signalering en herstel. Ook ga ik in op de link tussen fundamenteel mechanistisch onderzoek van DNA schadeherstel, menselijke ziekten zoals kanker en therapiemogelijkheden.

De verkregen resultaten van een siRNA screen, die ik heb uitgevoerd om nieuwe eiwitten met een rol in de signalering van DSB te identificeren, worden gepresenteerd in **hoofdstuk 2**. Hier heb ik de ophoping van de DNA schade-signalerings-eiwitten  $\gamma$ H2AX en 53BP1 op DNA breuken in cellen na blootstelling aan ioniserende straling (IS) bestudeerd. Door middel van RNA interferentie technologie heb ik systematisch chromatine-modificerende eiwitten uitgeschakeld om het effect daarvan op de accumulatie van  $\gamma$ H2AX en 53BP1 te bestuderen. Euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 1 (EHMT1) kwam als een prominente hit uit de screen; het eiwit bleek de 53BP1 ophoping te controleren. In vervolgonderzoek heb ik gevonden dat EHMT1 naar laser-geïnduceerde DNA schade gerekruteerd wordt en betrokken is bij de twee belangrijke DSB herstel routes, 'Non-Homologous End-Joining' (NHEJ) en 'Homologous Recombination' (HR).

In **hoofdstuk 3** leggen mijn bevindingen een nieuwe rol voor 'Remodeling and Spacing Factor 1' (RSF1) in het NHEJ-herstelmechanisme bloot. RSF1 faciliteert het ophopen en inbouwen

van de centromerische eiwitten CENP-S en CENP-X op DSB. Dat heeft als gevolg, dat de NHEJ factor XRCC4 naar beschadigd chromatine gerekruteerd wordt en DSB met behulp van NHEJ gerepareerd worden. RSF1 is echter ook noodzakelijk voor het efficiënte herstel van DSBs door middel van HR, maar omdat CENP-S en CENP-X overbodig bleken voor de HR route, lijkt de functie van RSF1 tijdens HR onafhankelijk te zijn van de twee centromerische eiwitten. Tegen de verwachting in bleek de rol van RSF1 in DSB herstel ook onafhankelijk te zijn van de interactie partner SMARCA5.

Het effect van post-translationale modificatie van RSF1 door small ubiquitin-like modifier (SUMO) op de DSB herstel-gerelateerde rol van RSF1 is beschreven in **hoofdstuk 4**. Er zijn 21 lysines in de aminozuursequentie van RSF1 geïdentificeerd die door SUMO gemodificeerd kunnen worden. De SUMO-afhankelijke modificatie van RSF1 neemt duidelijk toe na de inductie van DNA schade door middel van IS. Verder bleek, dat een niet-SUMO-modificeerbare vorm (SUMO $\Delta$ ) van RSF1 nog steeds op laser-geïnduceerde DSBs ophoopt. Echter, terwijl wildtype RSF1 XRCC4 naar DSBs kan rekruteren, was de RSF1 SUMO $\Delta$  mutant hiertoe niet langer in staat.

In **hoofdstuk 5** vat ik onze bevindingen samen over het Zinc finger and BTB (bric-a-bric, tramtrack, broad complex) containing 24 (ZBTB24) eiwit, waarvoor is aangetoond dat genetische defecten het Immunodeficiency, Centromeric instability and Facial anomalies (ICF) syndroom type 2 veroorzaken. Ik laat zien dat, in cellen van ICF2 patiënten die geen werkend ZBTB24 hebben, NHEJ tijdens immunoglobuline class switching niet naar behoren functioneert. Dat leidt tot verminderde immunoglobuline productie en een onbalans in de immunoglobuline subtype formatie in deze patiënten. Verder onderzoek wees uit dat de zinc finger van ZBTB24 en poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1)-associeerde poly(ADP-ribose) ketens met elkaar interacteren. De zinc finger is dan ook noodzakelijk voor de PARP1-afhankelijke accumulatie van ZBTB24 op laser-geïnduceerde DNA schade. De beschermende binding van ZBTB24 aan poly(ADP-ribose) ketens werkt hun afbraak door poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) tegen, en verbetert de poly(ADP-ribose)-gemedieerde interactie van PARP1 en het NHEJ complex LIG4/XRCC4, hetgeen DSB herstel via NHEJ bevordert.

Tot slot voer ik in **hoofdstuk 6** discussie over de ontdekte functies van de bestudeerde chromatine-modificerende eiwitten EHMT1, RSF1 en ZBTB24, in DNA schade herstel. Omdat deze drie eiwitten te maken hebben met kanker en andere menselijke ziekten evalueer ik ook hoe de vergaarde kennis over deze eiwitten gebruikt kan worden voor de ontwikkeling van nieuwe therapieën.

