

At give fingeren til Huntingtons Sygdom - to forskningsgrupper har succes med zinkfinger-lægemidler i celler og mus



Zinkfingerlægemidler nedsætter succesfuldt produktionen af det skadelige protein i celle- og musemodeller for HS

Skrevet af Dr Ed Wild den 10. december 2012

Redigeret af Dr Jeff Carroll; Oversat af Signe Marie Borch Nielsen

Oprindeligt offentliggjort 1. november 2012

At designe lægemidler, der får vores celler til at lave mindre af det skadelige mutante huntingtin-protein, er en af de mest lovende tilgange til behandling af Huntingtons Sygdom. De fleste huntingtin-reducerende forsøg hidtil har forsøgt at "skyde budbringeren" snarere end at angribe kilden til budskabet - selve DNA'et. Nu har to uafhængige studier haft succes med behandling af HS-mus med "zinkfinger-lægemidler" - som interagerer direkte med HS-genet. Denne nye teknologi er stadig i den tidlige udviklingsfase: hvad ved vi, og hvilke udfordringer ligger forude?

Hvad i alverden er zinkfingre?

Zink er det skinnende metal som findes i "sølv"-mønter, batterier og hvid maling. Men vores egne kroppe bruger også zink til et spændende formål - som forskerne håber at kunne udnytte til at bekæmpe Huntingtons Sygdom. Det viser sig, at zink har stor betydning for, hvorvidt cellerne er i stand til at kontrollere aktivitetsniveauerne af forskellige gener i vores DNA.

Husk på at et **gen** er et sæt instruktioner, stavet med de kemiske 'bogstaver' A, C, G og T. Hvert gen består af en specifik sekvens af bogstaver, og celler bruger zink-holdige proteiner til at hjælpe med at kontrollere individuelle gener baseret på deres specifikke bogstavsekvens.

Når zink binder sig til et gen-kontrollerende protein, danner de tilsammen et "zinkfinger-protein" - navnet skyldes, at det kan række ind i det smalle mellemrum imellem de to DNA-strengene og røre ved den bogstavrækkefølge, de er lavet til.

Et enkelt zinkfinger-protein kan binde sig til tre bogstaver ad gangen, afhængigt af hvordan zink- og proteindelen er arrangeret. Så én zinkfinger kunne gå efter sekvensen "ATG", mens en anden kan gå efter "CAG".



Zinkfingre kan designes til at binde sig til en hvilken som helst

Den spændende del er, at individuelle zinkfingre kan sættes sammen efter hinanden. Sætter man fx de to førnævnte proteiner sammen, ville man ende op med et molekyle, der binder til bogstavssekvensen ATG-CAG.

DNA-sekvens vi ønsker. De ligner dog ikke rigtigt en robothånd, som navnet ellers kunne antyde.

Designerfingre

Efter årtiers arbejde med at afkode og forstå vores DNA og gener, kan forskerne nu skabe syntetiske zinkfingre, som er fremstillet til at binde sig til en hvilken som helst DNA-sekvens, de måtte ønske.

Endvidere kan disse syntetiske zinkfingermolekyler ændres, så de kan pakkes sammen med andre lægemidler, for at skabe DNA-bindende proteinværktøjer, der både kan holde på, skære i, lime og blokere for DNA.

Da Huntingtons Sygdom er forårsaget af et enkelt defekt gen, er det en god kandidat til zinkfinger-lægemiddelforskning.

Huntingtons Sygdom opstår, når en person har en stavefejl i det gen, der fortæller cellerne, hvordan de skal lave et bestemt protein, der kaldes huntingtin. Når en person har for mange gentagelser af bogstavssekvensen 'CAG' efter hinanden nær starten af huntingtin-genet, laves der en skadelig "mutant" variant af proteinet, der produceres ud fra anvisningerne i genet.

Blokering af HS-genet ved kilden

To grupper af forskere - den ene en forskningsgruppe fra Barcelona, Spanien, den anden en biotekvirksomhed fra Californien kaldet Sangamo - har netop annonceret, at de har gennemført vellykkede forsøg med zinkfinger-lægemidler rettet mod genet for Huntingtons Sygdom.

Det spanske holds resultater blev for nylig offentliggjort i tidsskriftet PNAS. Sangamos resultater blev præsenteret på det seneste 'Society for Neuroscience'-møde i New Orleans, hvor HDBuzz var blandt publikum.

Begge grupper har designet zinkfinger-molekyler, der binder sig til den del af huntingtin-genet, hvor der er mange "CAG"-gentagelser - på den måde kan molekylerne fortælle cellerne, at de ikke skal aflæse genet.

Zinkfinger-proteinerne blev udvalgt og tilpasset til at binde sig så godt som muligt til de skadelige lange CAG-rækker, uden at binde sig til CAG-rækker af normal længde. Det spanske hold kaldte det 'molekylær målebånds'-tilgangen.

Efter lidt kemiske tilpasninger, kunne hver af grupperne derpå teste deres bedste opskrifter på zinkfingre i celler, der vokser i en petriskål.

Virale proteiner



Når først et zinkfinger-protein er blevet rettet

Desværre kan forskerne ikke bare designe og lave et zinkfinger-protein og hælde det over nogle celler, eller proppe det ind i en pille. Proteiner som zinkfinger-lægemidlerne er nemlig store, komplekse og skrøbelige. Hvis man indtog dem som en pille, ville lægemidlet nedbrydes af fordøjelsessystemet.

mod en specifik DNA-sekvens, bliver det teoretisk set muligt at gøre mange spændende ting.



Selv hvis man gav dem som en injektion i blodet, vil zinkfinger-proteinet ikke nå hjernen, endsiige komme så langt som ind i kernen af vores neuroner, hvor det skal nå hen for at udføre sit arbejde.

For at løse dette problem, kan forskerne bruge virus til at nå ind i cellernes kerner.

Efter at have valgt det zinkfinger-protein som de ønsker, er det forholdsvis ligetil for forskerne at designe en DNA-sekvens, der fortæller celler, at de skal fremstille lige præcis det protein. Denne DNA-sekvens kan derefter puttes ind i viruspartikler kaldet AAV, som er ufarlige, men gode til at inficere neuroner.

Når virusen møder en egnet celle, sprøjter den sit indhold af DNA ind i cellen hvorved cellen omdannes til en lille fabrik, der kan fremstille zinkfinger-lægemidlet!

Afprøvning i celler

Det spanske hold finpudsede deres bedste potentielle zinkfinger-lægemidler i flere typer gensplejsede celler samt celler dyrket fra hudprøver fra patienter med Huntingtons Sygdom. Forskerne fra Sangamo brugte også disse HS-patientceller samt hjerneceller fra en HS-musemodel.

Begge holds zinkfinger-lægemidler gjorde som de skulle og reducerede aktiviteten af gener, der indeholder en lang strækning med CAG-gentagelser.

Uønskede effekter

Der er dog en mulig hage her. Huntingtingenet er ikke det eneste, der indeholder et stort antal CAG-gentagelser - det er der masser af andre gener, som også gør. Så derfor kunne et lægemiddel, der er målrettet mod CAG-rige områder, komme til at slukke for disse gener også, hvilket kan ende med at gøre mere skade end gavn.

En lille særhed ved huntingtingenet kan være nyttig, når det kommer til at undgå disse såkaldte "off-target effekter". CAG-området i huntingtingenet ligger meget tæt på starten af genet, hvor zinkfinger-lægemidler virker mest effektivt.

Begge grupper foretog målinger for at se, om andre gener blev påvirkede af zinkfinger-lægemidlerne, og deres resultater var opmuntrende. De eventuelle virkninger, der opstod, var små sammenlignet med den ønskede virkning på det mutante huntingtingen.

Gør musene klar

Den spanske gruppe, som er nået en smule længere med deres arbejde, valgte derefter at teste deres bedste zinkfinger-lægemiddel i en musemodel for Huntingtons Sygdom.

De gav musene en enkelt injektion i hjernen, der indeholdt viruspartikler pakket med DNA-instruktioner i at fremstille zinkfinger-protein.

Aktiviteten af det mutante huntingtingen blev reduceret med omkring 50% i hjernen tæt ved injektionsstedet.

Fremkomsten af klatter af mutant huntingtin-protein blev også reduceret med omkring 40%. Der var ingen tegn på skadelige virkninger såsom vægttab, men undersøgelsen var for lille til at afgøre, om zinkfinger-lægemidlet forbedrede sygdomssymptomerne.

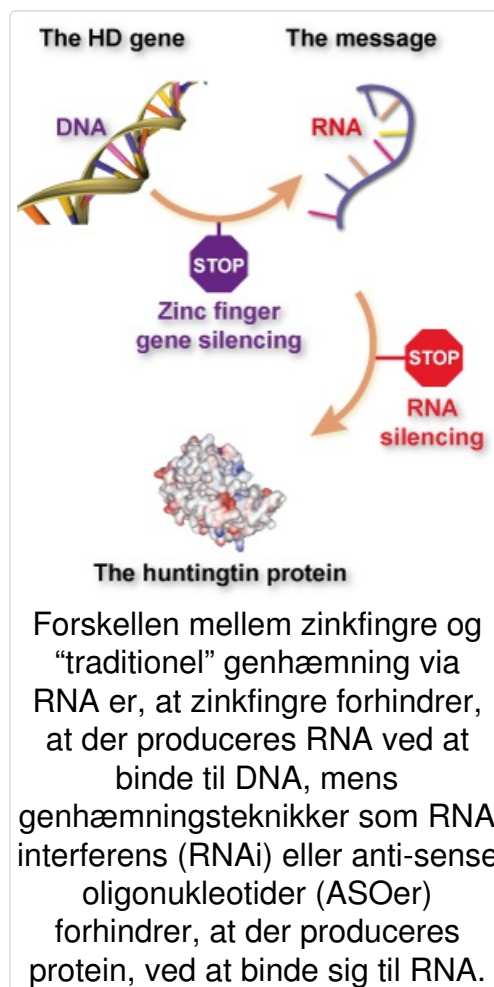
Vent nu lige lidt - er det ikke bare genhæmning?

Hvis det du har læst her om zinkfinger-teknologi minder dig om "genhæmning" eller "huntingtin-reducerende" metoder til behandling af Huntingtons Sygdom, så giv dig selv et klap på skulderen. Hvad disse grupper forsøger at gøre, er dybest set "genhæmning", med et twist - det er rettet direkte mod DNA'et, snarere end mod et "meddelelsesmolekyle" kaldet RNA.

Hidtil har de fleste forsøg på at sænke huntingtinproduktionen fokuseret på RNA-beskedmolekyler, fordi det er lettere at designe lægemidler rettet mod RNA end DNA. RNA flyder rundt i cellerne som en enkelt streng, mens DNA er gemt væk i vores cellers kerne. Desuden har RNA-hæmningsmedicin eksisteret længere, og nogle behøver ikke engang at blive pakket ind i viruspartikler.

Da forsøg med RNA-baserede genhæmnings-lægemidler har været vellykkede indtil videre, hvorfor så bruge tid på den større udfordring med at målrette medicin mod huntingtin-genets DNA, især hvis det betyder brug af viruspartikler og store, skrøbelige stoffer fremstillet af protein? Det er et rimeligt spørgsmål, og der er tre svar.

For det første går man her direkte til årsagen til Huntingtons Sygdom. Vi ved med sikkerhed, at mutationen i huntingtingenet er den ultimative grund til, at folk får HS. At gå efter DNA'et med zinkfinger betyder, at man målrettet går efter den kendte årsag til sygdommen. Selvom RNA er et vigtigt punkt i processen når celler laver mutant protein, så er det stadigvæk et skridt væk fra den egentlige årsag - genmutationen. Zinkfinger-entusiaster mener, at det er værd at forsøge at overvinde de yderligere forhindringer der er, for at udvikle medicin rettet mod DNA, fordi der er en chance for, at slutresultatet kan være mere sikkert og mere effektivt.



Det andet svar vedrører RNA. Traditionelt set har biologer antaget, at RNA ikke direkte gør nyttige eller skadelige ting - det indeholder simpelthen bare noget information som aflæses af det cellulære maskineri. Men vi ved nu, at der er mere i det end det, og der er flere genetiske sygdomme, hvor RNA-molekyler er direkte giftige for celler, snarere end blot at være bærere af et skadeligt budskab.

Mens alle er enige om, at det muterede huntingtin-protein er den vigtigste årsag til skader i Huntingtons Sygdom, er der nogle forskere der mener, at huntingtin-RNA kunne give ophav til yderligere skade. Andre er uenige, men hvis RNA kan være skadeligt, virker det ideelt at forhindre det i at blive lavet, i stedet for at slippe af med det bagefter.

Den sidste grund handler om at gå videre end genhæmning. Zinkfingre kan bruges til mere end at reducere gen-aktiviteten. Når først et zinkfinger-protein rettes mod en specifik DNA-sekvens, bliver det teoretisk set muligt at gøre mange spændende ting.

Hvis vi tænker mange år frem i fremtiden, er det muligt, at zinkfingre kan anvendes som direkte molekylære sakse og lim i det mutante HS-gen, og simpelthen "klippe" de uønskede CAG-gentagelser helt ud. Dette kaldes **genomredigering**, og det er en af de fremgangsmåder, som Sangamo og andre er interesserede i at forfølge.

Fordele og ulemper

De fleste af de HS-forskere vi taler med, siger, at zinkfingre er en "ret sej" måde at behandle Huntingtons Sygdom på, og vi er tilbøjelige til at give dem ret. At bekæmpe HS på DNA-niveau, den egentlige årsag til problemet, er absolut noget, vi skal forsøge, og vi er glade for, at to forskellige grupper uafhængigt af hinanden har kunnet gøre fremskridt efter så kort tid.

Det er vigtigt at huske på, at det vil tage lang tid at finpudse disse teknikker, som stadig er meget nye - og det vil tage årtier før ting som genomredigering vil komme til at kunne bruges af HS-patienter.

I mellemtiden er alle, der beskæftiger sig med HS, stadig begejstrede for de igangværende bestræbelser rundt om i verden på at sænke huntingtinniveauet ved at gå målrettet efter RNA. Disse teknikker er meget længere fremme, og bør være på vej mod kliniske studier med mennesker meget snart.

Dr. Carroll, som har redigeret denne artikel, har tidligere arbejdet med genhæmningsteknikker via RNA indenfor Huntingtons Sygdom, og har del i et patent associeret til dette. Artiklen blev udformet uden hans input, og hans forskning og publikationer indgår ikke direkte i artiklen. Redigeringen af artiklen, med henblik på at sikre dennes videnskabelige nøjagtighed, ændrede hverken dens indhold eller vinkling. For mere information om vores offentliggørelsespraksis kig under FAQ...

Ordliste

Huntingtin-protein proteinet, der dannes af HS-genet

Genomredigering brugen af zink finger nukleaser eller CRISPR til at lave ændringer i DNAet. "Genom" er et ord, som bruges om alt det DNA vi hver især har

Genhæmning en måde at behandle HS på, hvor der benyttes målrettede molekyler, der fortæller cellerne, at de ikke skal producere det skadelige huntingtinprotein

Kerne en del af cellen, der indeholder gener (DNA)

RNA det molekyle, der ligner DNA, som fungerer som 'budbringer'-molekyle i cellerne, når de laver arbejdskopier af generne til proteinproduktionen

© HDBuzz 2011-2018. Indholdet på HDBuzz kan frit deles under en Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.

HDBuzz er ikke en kilde til lægefaglige råd. For mere information besøg hdbuzz.net

Dannet 19. januar 2018 — Downloaded fra <https://da.hdbuzz.net/103>