

På fisketur: nye lægemiddelmål for Huntingtons Sygdom identificeret ved screening af proteinnetværk



'Opdagelses-drevet' screening afslører nye proteinnetværk involveret ved Huntingtons Sygdom & nye lægemiddelmål

Skrevet af Carly Desmond den 4. april 2013

Redigeret af Dr Ed Wild; Oversat af Mette Gilling Nielsen

Oprindelig offentliggjort 18. januar 2013

Det mutante huntingtinprotein er ikke skadeligt i sig selv - alle proteiner fungerer i forbundne netværk. Forskere ved det Californiske 'Buckinstituttet for forskning i aldring' har udført en stor-skala screening for at identificere proteinnetværk, der er involveret i at afhjælpe eller at forværre de skadelige effekter mutationen for HS har. Kunne påvirkning af disse netværk give nye terapeutiske muligheder for HS?

Huntingtinproteinet: lad os komme til sagens kerne

2013 er 20-året for opdagelsen af den genetiske årsag til Huntingtons Sygdom (HS). Forskere opdagede for første gang, at en gentagelse i DNA-sekvensen for et enkelt gen var unormalt lang i mennesker, der udviklede HS. Et gen indeholder de instruktioner, der er nødvendige for at cellerne kan lave et specifikt protein, hvilket for HS-genet er et protein vi kalder **huntingtin**. En mutation (ændring) af denne genetiske byggeinstruktion medfører, at huntingtinproteinet bliver bygget med en fejl, hvilket medfører små ændringer i proteinets opførsel inde i cellen. Efterhånden som en person med HS bliver ældre får disse ændringer alvorlige konsekvenser, især i neuronerne (nervecellerne) i hjernen.

Denne banebrydende opdagelse gjorde det muligt for forskerne at koncentrere deres indsats om en meget specifik opgave - for virkelig at forstå sygdommen blev de nødt til at finde ud af alt hvad de kunne om selve huntingtinproteinet. Så udover at kende huntingtinproteinets funktion i kroppen hos en rask person, skal man også vide hvad der går galt ved Huntingtons Sygdom.

Hvad kan være så vigtigt ved ét protein?

Man siger ofte, at et givet protein har en bestemt 'funktion' i cellen. For at forstå hvad det betyder er det måske en hjælp at forestille sig hver celle i kroppen som en travl fabrik. Det



Et stort net vil fange mange fisk, men det er hårdt arbejde at forarbejde dem og der er en risiko for at fange uønskede fisk. Det er det samme med 'opdagelses-drevet' forskning - det genererer en masse data, der skal analyseres meget omhyggeligt for

kræver en masse forskellige mennesker, der udfører mange forskellige arbejdsfunktioner for at opretholde en problemfri drift af en fabrik. Alle disse medarbejdere har bestemte færdigheder, og hvis enhver af disse personer undlader at gøre deres arbejde ordentligt, vil produktiviteten af hele fabrikken være i fare. at undgå forkerte konklusioner.

Så hvis vores celler var fabrikker, ville proteinerne være de ansatte. Ligesom de enkelte medarbejdere på en fabrik bliver hvert protein nødt til at udføre en række arbejdsopgaver eller 'funktioner'. Når huntingtinproteinet er muteret (som ved HS) påvirker det den måde huntingtinproteinet udfører sit arbejde eller sine funktioner på.

Ligesom ingen person alene ville være i stand til at udføre hver eneste arbejdsopgave på fabrikken, er der ingen proteiner, der arbejder helt alene. I stedet for er alle proteiner en del af et netværk af proteiner, der interagerer med hinanden for at fungere effektivt som hold. Så for at forstå et proteins funktion er forskerne nødt til at finde ud af hvilket forhold det har til andre proteiner i cellen.

Det er blevet anslået, at vores DNA indeholder instruktioner til at bygge mere end 30.000 forskellige proteiner. At prøve at forstå, hvordan alle disse proteiner er forbundet til hinanden, og hvordan de kan blive påvirket ved HS virker som en næsten overvældende udfordring.

Hypotese og opdagelse

For bedre at håndtere den moderne biologis kompleksitet er nogle forskere skiftet fra traditionel 'hypotese-drevet' forskning til en metode kaldet '**opdagelses-drevet**' forskning.

En hypotese er en forudsigelse som en forsker kommer med baseret på hvad man allerede ved. En god hypotese er en, der nemt kan testes. Her er et simpelt eksempel: lad os sige, at vi har en hypotese om, at katte foretrækker at spise kylling i stedet for tunfisk. En måde at teste dette på kunne være at sætte to skåle ud - én med hver type kød. Ved at tælle hvor mange katte, der nærmer sig hver skål vil der fremkomme beviser, der enten underbygger eller forkaster hypotesen.

Hypotese-drevet forskning fungerer rigtig godt, hvis du allerede ved en hel del om det du undersøger. Men når man forsøger at regne ud hvad et proteins funktion er i et netværk af tusindvis af andre forskellige proteiner kan det være meget langsomt hvis man kun stiller ét spørgsmål ad gangen. Forestil dig, at du ville finde ud af, hvilken en af 30.000 forskellige slags mad, der var kattens yndlingsmad - men du kunne kun teste to ad gangen!

'Opdagelses-drevet' forskning er en måde at fremhæve de biologiske processer, der kan være involveret i en sygdom. Man kan sige, at denne tilgang ikke skaber svar, men **bedre spørgsmål**. Det viser forskerne, hvad de skal fokusere på i fremtidige undersøgelser.

Eksperimenter, der er 'opdagelses-drevne' kaldes **screens** og indeholder tusindvis af forskellige mini-eksperimenter, der udføres samtidig.

På nogle punkter kan biologiske screeningeksperimenter

sidestilles med at fiske med trawler i stedet for med en fiskestang. Det er en effektiv teknik, men det kræver en større indsats efterfølgende at sortere det, der er fanget.



Nogle af netværkene var allerede kendt fra tidligere HS-studier hvorimod andre netværk ikke tidligere var blevet nævnt i forbindelse med HS.

At slukke for individuelle gener med RNAi

En ny undersøgelse ledet af Dr. Robert Hughes fra det californiske 'Buck Institut for forskning i aldring' og offentliggjort i tidsskriftet 'PLOS Genetics', beskriver en 'opdagelses-drevet' screening for at finde protein-netværk, der påvirkes af mutant huntingtin. Ved hjælp af en teknologi kaldet **RNAi**, forsøgte Hughes' gruppe at identificere proteiner, der bidrager til de skadelige virkninger som det mutante huntingtinprotein har.



RNAi står for **RNA-interferens**, og er en form for 'genhæmning'. RNAi anvendes til at sænke niveauet af et enkelt protein i cellen. Denne metode er en hjælp til at finde ud af hvilken funktion et bestemt protein har og proteinets betydning for andre cellulære aktiviteter.

RNAi opfanger og ødelægger den kemiske meddelelse, der dannes når et protein bliver lavet - dermed forhindres det, at proteinet bliver bygget. Praktisk taget ethvert gen og dets tilsvarende protein kan rammes ved hjælp af RNAi.

En RNAi-screening og nogle giftige fragmenter

Først fik Hughes' gruppe celler, der var genetisk modificerede til at producere den mest skadelige del af det mutante huntingtinprotein, til at vokse i laboratoriet. Dette mutante huntingtin 'fragment' får cellerne til at dø hurtigere hvis ikke de rigtige næringsstoffer er til stede. Sundheden af cellerne kan vurderes ved at måle de forandringer, der sker når en celle er ved at dø.

For at identificere de proteiner, der er involveret i mutant huntingtins skadelige virkninger, brugte Dr. Hughes og kolleger et 'bibliotek' på over 7.000 RNAi-kemikalier, som hver især er rettet mod et bestemt protein.

Disse 7.000 RNAi-kemikalier blev hver især testet på en separat portion af celler. På denne måde, var forskerne i stand til at analysere virkningerne af hvert enkelt protein, der var 'slukket'. Hvis cellerne dør hurtigere når et bestemt gen slukkes så indikerer det, at det tilsvarende protein normalt beskytter cellen. Og hvis cellerne dør langsommere betyder det, at proteinet normalt kan forværre de problemer, der er i cellerne ved HS.

At håndtere mængden

Eksperimenter som dette producerer et hav af data, så computere er nødvendige for at analysere og skabe mening ud af det. Heldigvis er mange protein-netværk allerede blevet kortlagt ved hjælp af mere traditionelle videnskabelige tilgange.

Computeren danner et nyt proteinnetværk ved at placere 'hits' fra de nye data ovenpå de eksisterende netværk. Ved at bruge denne teknik fandt Hughes' gruppe nogle netværk, der havde flere hits end forventet, hvilket indikerer, at de kunne være vigtige ved udviklingen af Huntingtons Sygdom.

Nogle af disse netværk var allerede kendt fra tidligere undersøgelser, hvilket gav forskerne en tro på, at deres 'opdagelses-baserede' tilgang fungerede. Men de stødte også på netværk, der ikke tidligere var blevet indikeret at være af betydning ved HS. Et netværk, der i særdeleshed blev fremhævet ved screeningen var forbundet til huntingtin via et protein kaldet RRAS.

På grund af det enorme antal forsøg, der var involveret i screeningen er det vigtigt efterfølgende at udføre særskilte eksperimenter for at kontrollere de mest markante resultater. Så Hughes gruppe udførte forsøg på flere forskellige cellemodeller og i HS-bananfluemodeller og fandt, at RRAS var i stand til at beskytte mod celledød. Hvad der var endnu bedre var, at de var i stand til at identificere de specifikke aktiviteter af proteinerne inden for netværket, som kan være lettest at målrette lægemidler imod.



Alle proteiner, inklusiv huntingtin, arbejder sammen med andre i netværket. At fokusere på netværket i stedet for de enkelte proteiner er en god måde at omdanne data fra en screeningsundersøgelse som denne til noget meningsfuldt.

At kende sine grænser

Det mest spændende aspekt ved denne undersøgelse er, at den fremhæver nye proteinnetværk, der kan være involveret i Huntingtons Sygdom. Men ligesom der ikke er noget fiskenet, der er stort nok til at gennemtrawlet hele havet på én gang, er det sandsynligt, at nogle vigtige protein-netværk ikke blev fundet ved denne undersøgelse.

En af grundene til dette er den cellemodel, der blev anvendt til screeningen. I stedet for at lade cellerne producere hele det mutante huntingtinprotein, valgt forskerne kun at anvende et lille fragment af proteinet (den del, der er ændret ved HS). Det betyder, at proteiner eller netværk, der er afhængige af at hele det mutante huntingtinprotein er til stede ikke blev fundet.

En anden grund er den celletype, der blev anvendt i eksperimenterne. Denne undersøgelse blev lavet med kommercielt tilgængelige celler kaldet HEK293. Disse celler er nemme at dyrke i store partier til forsøg i stor skala som dette. Men efter at cellerne er blevet ændret til at have egenskaber, der gør dem nemme at håndtere opfører de sig ikke længere på samme måde som en normal, sund celle i kroppen - og de er helt sikkert meget forskellige fra neuroner.

For at opveje disse potentielle svagheder i den eksperimentelle model ved den første screening blev alle de RNAi-'hits', der blev fundet testet igen i cellelinjer, der producerede hele huntingtinproteinet samt i mere komplekse bananfluemodeller af sygdommen. Og RRAS-netværket blev undersøgt i en HS-musemodel.

Hvad er næste skridt?

Denne undersøgelse vidner om en kæmpe indsats fra de involverede forskere. Biologiske screeninger kræver en masse omhyggelig planlægning! Men med denne undersøgelse vel gennemført kunne gruppen fortsætte med at udføre en lignende screening i celler, der indeholder hele det mutante huntingtinprotein.

Når det kommer til de hits, der blev fundet ved denne screening er der stadigvæk meget mere at undersøge. En fremgangsmåde kunne være at undersøge RRAS-netværket - eller endda gentage screeningen - i mere 'korrekte' cellemodeller, såsom stamceller fra rigtige HS-patienter.

Uanset hvad fremtiden vil vise når det kommer til resultaterne af denne undersøgelse så er det et godt eksempel på hvordan 'opdagelses-drevet' forskning kan generere nye mål og idéer, under den forudsætning, at vi er bevidste om teknikkernes begrænsninger. Vi ser frem til at lære mere om, hvordan disse nye protein-netværk påvirker udviklingen af HS, samt hvordan de kan manipuleres i jagten på behandlinger.

Forfatterne har ingen interessekonflikter. For mere information om vores offentliggørelsespraksis kig under FAQ...

Ordliste

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

Stamceller celler, der kan dele sig og blive til andre typer celler

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 arbejds kopier 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/113>