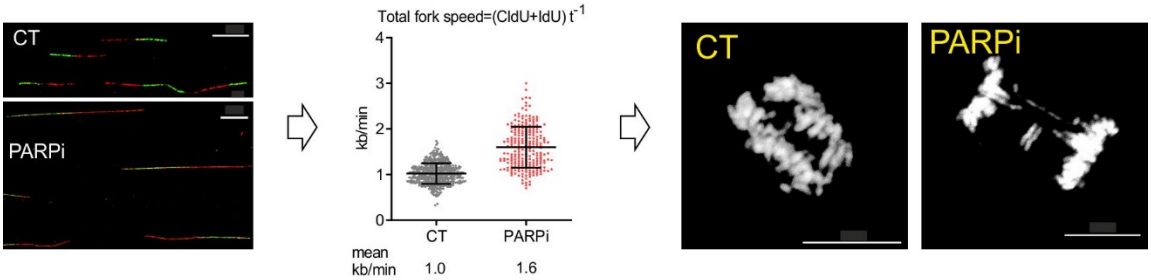
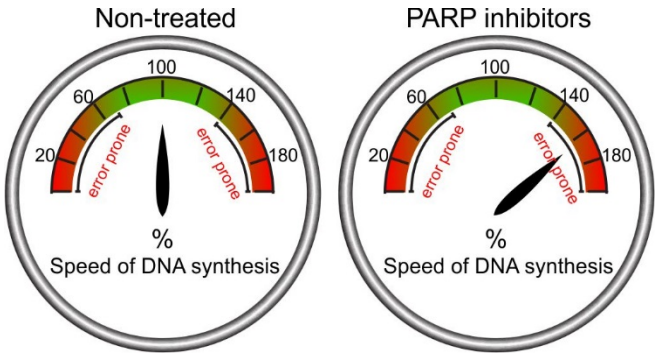
Årlige højdepunkt 1

PARylering og p21 regulerer DNA-replikationshastigheden for at bevare genomisk integritet
-Maya-Mendoza et al, *Nature* 279-284, 2018



PARP-hæmmere øger replikationshastigheden og forårsager genomisk ustabilitet (fra venstre til højre: strukket mærkede replikationsgafler, kvantificering af replikationshastighed og kromosom-abnormaliteter i mitose)

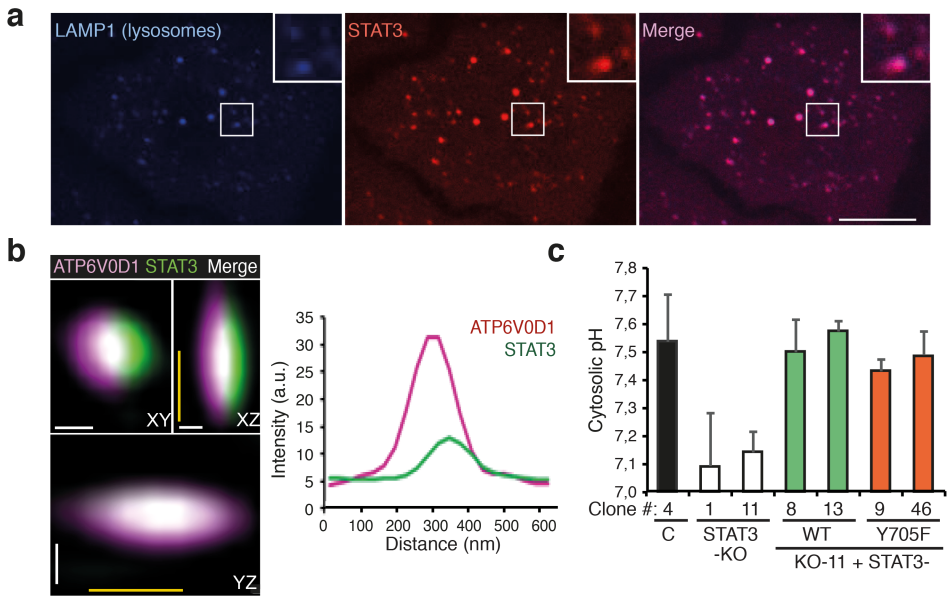
Poly(ADP-ribosyl)ering (PARylering) er en post-translationel protein modifikation som er involveret i reguleringen af DNA-reparation, genomisk stabilitet, metabolisme og autofagi. PARylering af AMPK i cellekernen er nødvendig for tilstrækkelig aktivering af autofagi under næringsmangel, og derfor påvirker hæmmere af PARylering (PARP-hæmmere) dannelsen af autofagosomer. PARylering er også nødvendig for at rekruttere reparationsfaktorer til beskadiget kromatin og reparere DNA-brud. PARP-hæmmere er godkendt til klinisk brug og er succesfuldt implementeret i behandlingen af livmoderhalskræft, prostatakræft, tripple-negativ brystkræft og bugspytkirtelkræft.
Tidligere modeller har foreslået at PARP-hæmmere virker ved at blokere progressionen af replikationsgafler og derved syntesen af DNA. Blokerede replikationsgafler vil bryde sammen og kollapse, hvilket medfører DNA-brud og celledød grundet defekt DNA-reparation. I modsætning til de tidligere foreslået modeller, opdagede vi at PARP-hæmmere øger replikationshastigheden i delende humane celler. Hvis replikationshastigheden øges med 40% over det normale niveau, medfører det akkumulering af DNA-skade og reduceret celle levedygtighed. I vores forskning har vi også karakteriseret en molekylær mekanisme der regulerer replikationshastigheden, som vi har navngivet "det replikationshastigheds-regulerende netværk". Dette netværk er afhængigt af samspillet mellem PARylering, p53 og p21 for at sikre korrekt replikationshastighed og DNA-syntese. Derfor foreslår vi at for høj replikationshastighed grundlæggende medfører replikations-stress og DNA-skade. Vores opdagelser kan dermed inspirere til nye behandlingsstrategier der fokuserer på at manipulere PAR/genbrug af metabolitter og DNA-replikationens nøjagtighed.



Årlige højdepunkt 2

Lysosomal STAT3 fremmer opretholdensen af kræftcellers basiske cytosol
-Liu et al., *Cell Research* 2018

Dereguleret intracellulær pH er et universalt kendetegn ved kræft observeret i maligne tumorer uanset deres patologi, genetik eller oprindelse. På trods af deres forøgede syre produktion og sure miljø, opretholder kræftceller en basisk intracellulær pH der fremmer kræft ved at hæmme apoptose (programmeret celle død) og øger glykolyse, celle vækst, invasion, omgåelse af immunforsvaret og kemiterapi resistens. Derfor er mekanismer der kontrollerer pH gradienten i stigende grad lovende mål for kemoterapi.
Vi har identificeret "signal transducer and activator of transcription 3" (STAT3), der er mest kendt for sin kræft-fremmende transkriptionelle aktivitet, som havende en central rolle i opretholdense af den basiske pH i kræftcellers cytosol. En mindre del af STAT3 proteinerne er at finde på de lysosomale membraner, hvor de associerer med den lysosomale proton pumpe (vacuolar H+-ATPase) og øger dens aktivitet, der øger transporten/flowet af protoner fra cytosolen ind i lysosomer.
Fjernes STAT3 ændres den intracellulære proton ligevægt radikalt med en sænkning af den cytosoliske pH og øgning af den lysosomal pH, hvilket understreger STAT3s essentielle rolle i opretholdelsen af den basiske cytosol. Denne ændrede regulering af pH kan vendes ved at genintroducere vildtype STAT3 eller STAT3 mutanter, der ikke kan aktivere dens targetgener, hvilket indikerer at STAT3 pH regulerende rolle er uafhængig af dens transkriptionelle aktivitet. Desforuden, sænkning af den cytosoliske pH på forskellige måder fremmer STAT3s lysosomale lokalisering og aktivitet og inaktiverer dens transkriptionelle aktivitet. Sammenlagt, viser disse data at STAT3 er en vigtig regulator af intracellulær pH og omvendt at intracellulær pH regulerer STAT3 lokalisering og aktivitet. Vi undersøger på nuværende tidspunkt detaljerne i denne proces for at finde effektive måder at ramme STAT3 på til brug i kemoterapi i fremtiden.



(a) STAT3s lysosomale lokalisering i A549 lungekræftceller.
(b) STAT3 og ATP6V0D1 (en del af vacuolar H+-ATPasen) super resolution-structured illumination microscopy projektioner (venstre) og co-lokaliserings analyse (højre) i HeLa celler. Angivet størrelse, 145nm (gul) og 200nm (hvid).
(c) Cytosolsk pH i kontrol (C) og STAT3-KO HeLa kloner og i STAT3-KO kloner med genindført vildtype (WT) og transkriptionel inaktiv STAT3 (Y705F).