

50 år efter upptäckten av DNA har kunskapen inte slagit igenom i klinisk praxis

Arvsmassan »ett stort trassel av nukleinsyra och proteiner«

II I år är det 50 år sedan strukturen för den molekyl vi kallar DNA presenterades i en artikel i den brittiska tidskriften *Nature* [1]. Även om denna upptäckt räknas som en av 1900-talets mest banbrytande fick artikeln förhållandevis liten uppmärksamhet när den publicerades. Endast en brittisk nyhetstidning, *The News Chronicle*, rapporterade omedelbart om den nyupptäckta dubbelhelixen [2]. Under det halvdecennium som följt sedan dess har vi kommit att lära oss mer och mer om denna fascinerande molekyl, men ännu återstår många frågor.

DNA-strukturens 50-årsjubileum uppmärksammades nyligen i ett specialnummer av *Nature* [3].

Begränsat genomslag i klinisk praxis

Även om kunskapen om DNA-strukturen har haft stor betydelse för många olika discipliner inom medicinsk och genetisk forskning har den vad gäller klinisk praxis inte riktigt fått den genomslagskraft som många kanske hoppats på [4]. Om man jämför med några andra medicinska upptäckter som gjordes vid samma tid kan man konstatera att utvecklingen av en klinisk tillämpning med DNA-helixen som grund har varit både knapp och långsam. År 1941 upptäckte Ernst Chain och Howard Florey hur man enkelt kunde producera stora mängder antibiotika [5].

I början av 1950-talet framkom uppgifter om ett direkt samband mellan rökning och lungcancer [6]. Båda dessa framsteg fick en snabb effekt på både sjukdomsfrekvens och dödlighet.

Med en ökad kunskap om hur DNA-molekylen är beskaffad och fungerar kan vi förhoppningsvis få en liknande utveckling inom genterapi och genetisk medicin, med nya diagnos- och behandlingsmetoder som går ut på att utnyttja arvsmassans egenskaper.

En sak som dock bör påpekas är den betydelse som DNA har haft och fortfarande har inom det medicinska, men icke-terapeutiska, området. Även om det finns få läkemedel som är direkt riktade mot DNA-helixen har denna ändå med framgång använts för att framställa andra mediciner. Proteinbaserade läkemedel som exempelvis insulin och andra hormoner framställs i regel med hjälp av rekombinant DNA-teknik.

Kunskap om DNA är också en förutsättning för mycket av

SAMMANFATTAT

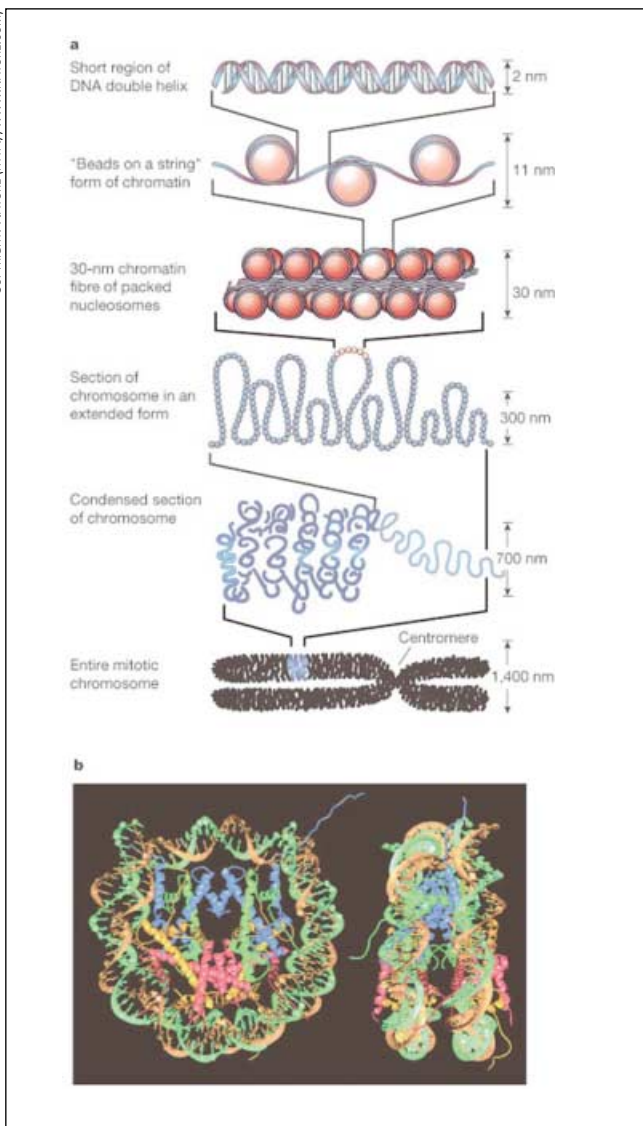
Det är i år 50 år sedan strukturen för DNA avslöjades.

Även om kunskapen om DNA-strukturen har haft stor betydelse för många olika discipliner inom medicinsk och genetisk forskning har den vad gäller klinisk praxis inte riktigt fått den genomslagskraft som många hoppats på.

I verkligheten är DNA-helixen lite mer komplicerad än man kan tro att döma av schematiska bilder på DNA. Den nära två meter långa DNA-helixen ligger tätt packad i cellkärnan tillsammans med en mängd proteiner, och detta trassel styrs på ett mycket komplext sätt.

Genomsekvensen innehåller visserligen all genetisk information, men det är sättet på vilket generna regleras som slutligen avgör hur vi fungerar och ser ut. Genom det regulatoriska nätverk bestående av de specifika kontrollsekvenser som finns i DNA och de proteiner som binder till dessa kan generna »prata« med varandra och den omgivande miljön.

Många hoppas nu att den forskning som pågår skall lära oss mer om DNA och cellkärnans proteiner. Med denna ökade kunskap kan cellkärnan bli en guldgruva för bioteknik- och läkemedelsindustrin.



Till vänster:
Schematisk bild av hur DNA packas till kromatin.

a. DNA lindas kring oktamerer av histonproteiner och bildar nukleosomer. Dessa binds ihop av korta sträckor DNA. Detta pärlband av nukleosomer packas sedan ihop till 30 nanometer tjocka filament, som sedan viks ihop till en ännu mer kompakt struktur, kromosomen.

b. Diffractionsröntgenbild av kärnan i en nukleosom, sedd från två olika håll (2,8 Å upplösning). Bilden visar hur DNA-helixen viras kring histonoktameren och hålls på plats av vätebindningar och elektrostatiska krafter.

Illustrationen är hämtad ur Gary Felsenfelds och Mark Groudines artikel »Controlling the double helix«, publicerad i Nature 2003;421:448-53.

Rosalind Franklins perfekta diffractionsröntgenbild visar hur DNA är uppbyggd som en dubbelhelix. Bilden publicerades i april 1953 men togs långt tidigare. Watson och Crick har i efterhand erkänt att denna bild spelade en stor roll när de avslöjade DNA-molekylens struktur. Bilden är hämtad från Raymond Goslings och Rosalind Franklins artikel med titeln »Molecular configuration in sodium thymonucleate«, publicerad i Nature 1941;171:740-1. Copyright: Nature (<http://www.nature.com>)



Aaron Levene fram en teori om att DNA-strukturen bestod av en tetranukleotid, där de fyra nukleotiderna låg arrangerade i rad i ett set om fyra. År 1928 fann Frederick Griffith att döda bakterier innehöll en substans som kunde inducera genetiska förändringar i levande bakterier i samma odling. Han kallade fenomenet transformation.

Tjugo år efter Phoebus' upptäckt att DNA var en tetranukleotid konstaterade Rudolf Signer, Torbjörn Caspersson och Einer Hammarsten att det fanns DNA-molekyler som vägde mellan 50 och 100 kD. De drog därför slutsatsen att DNA måste vara en



den diagnostik som används inom framför allt mikrobiologi och genetik.

Liten historik

Historien bakom James Watsons och Francis Cricks karakterisering av DNA-strukturen för 50 år sedan är lång [7]. Redan i slutet av 1860-talet upptäckte Fritz Miescher att kärnan i infekterade celler innehöll en sur substans, som han gav namnet nuklein. Nuklein skulle med tiden komma att kallas för nukleinsyra, senare för DNA. Omkring 1910 lade Phoebus

Det blev James Watson, Francis Crick och Maurice Wilkins (foto: Nobelstiftelsen) som 1962 belönades med Nobelpriset i fysiologi eller medicin ...



... medan Rosalind Franklin, som av många räknas som den egentliga upptäckaren av DNA-strukturen, aldrig fick något Nobelpris. Hon dog 1958 i cancer, endast 37 år gammal (bilden är hämtad från Brenda Maddox' artikel med titeln »The double helix and the wronged heroine«, publicerad i Nature 2003;421:407-8.

molekyl bestående av flera tetranukleotider, en polytetranukleotid.

I slutet av andra världskriget, 1944, slog Oswald Avery, Colin MacLeod och Maclyn McCarty fast att den kemiska substans som Griffith upptäckt tidigare var DNA. Det var första gången som DNA föreslogs vara genetiskt material [8].

År 1951, ett par år innan Watsons och Cricks artikel publicerades i Nature, upptäckte en kvinnlig forskare vid King's College i London, Rosalind Franklin, att det fanns två olika former av DNA, en B-form och en A-form. Året därpå fann Al Hershey och Martha Chase att DNA, men knappast något protein, går in i bakterien när den infekteras av ett virus. Samma år lyckades Rosalind Franklin tillsammans med sin medarbetare Raymond Gosling producera en perfekt diffraktionsröntgenbild av B-formen av DNA. Här kunde DNA-helixens gåta ha varit löst. I Franklins anteckningar fanns detaljerade uppgifter om hur helixen var uppbyggd av två strängar och hur fosfatgrupperna var orienterade. En sak som dock saknades var slutsatsen att strängarna inte låg i samma utan i motsatt riktning.

Nobelpriset till rätt person?

I stället blev det Watson och Crick som i början av 1953 kunde avslöja hur DNA-helixen är uppbyggd [1]. Förutom Watsons och Cricks artikel publicerade Nature sex andra artiklar om DNA-strukturen [9-14]. Året därefter föreslog George Gamow att DNA kodar för proteiner. Under de år som följde innan James Watson, Francis Crick och Maurice Wilkins 1962 belönades med Nobelpriset i fysiologi eller medicin följde en rad nya rön om förhållandet mellan DNA och protein: hur DNA förökar sig genom replikering och sedan transkriberas till protein.

Rosalind Franklin, som av många räknas som den egentliga upptäckaren av DNA-strukturen, fick aldrig något Nobelpris. Hon dog 1958 i cancer, endast 37 år gammal.

Kartläggning av människans arvs massa klar

För ungefär två år sedan avslutades kartläggningen av människans arvs massa, det över 3 miljarder baspar långa human-genomet [15, 16]. Den spiralformade, dubbelsträngade DNA-helixen beskrivs ofta som en perfekt och fulländad molekyl, en symbol för genetik och biomedicinsk vetenskap. I en artikel i Nature nyligen kallades den för den moderna vetenskapens Mona Lisa [17].

I verkligheten är dock DNA-helixen lite mer komplicerad än den ser ut att vara i de typiska schematiska figurer vi är vana vid. Människans arvs massa är ungefär 1,8 meter lång, uppdelad på 46 kromosomer [18]. Denna dubbelsträngade struktur ligger packad i en kärna som mäter 6 mikrometer i diameter. För att få plats med den nära två meter långa molekylerna krävs mycket sofistikerade mekanismer för att packa ihop nukleinsyran. Dessa mekanismer involverar en mängd olika proteiner. I cellkärnan finns ungefär två gånger så mycket protein som det finns DNA. Den arvs massa som finns i kärnan är med andra ord inte en fritt liggande, rak DNA-spiral, snarare ett stort trassel av nukleinsyra och proteiner.

Kromatinets byggstenar ett pärlband

Det komplex av DNA och proteiner som utgör cellkärnans genetiska material kallas kromatin. Kromatinet är uppbyggt av nukleosomer, ett slags pärlbandslika strukturer som bildas genom att DNA lindas kring en typ av proteinskivor. Varje sådan proteinskiva är en oktamer bestående av fyra olika slags proteiner (hisoner), plus en femte histon, H1, som fäster DNA vid skivan. Varje nukleosom binder ca 200 baspar

DNA; avståndet mellan nukleosomerna kan ibland vara så litet som åtta baspar. Raden av nukleosomer bildar en ca 10 nanometer tjock fiber, som sedan packas till ett tre gånger så brett filament. Dessa 30 nanometer tjocka filament är kromatinets huvudsakliga byggstenar.

Hur pass tätt filamenten ligger sammanpressade i kromosomerna beror på vilken fas i cellcykeln som cellen befinner sig i. Man brukar dela upp kromatinet hos eukaryota celler i två huvudtyper: eukromatin och heterokromatin. Eukromatin är den typ av kromatin som är vanligast, mest utspritt, och som kallas aktivt kromatin, eftersom detta är den form som kromatinet har när transkription pågår. Heterokromatin är mer kompakt och lokaliserat till vissa regioner av cellkärnan. Det är oklart hur fördelningen av kromosomerna i kärnan sker och regleras, men mycket tyder på att det rör sig om ett bestämt arrangemang. Man har kunnat konstatera att de »viktigare« kromosomerna, dvs de som har fler gener och är mer aktiva, är mer centrerade än de mindre aktiva kromosomerna, som i stället är lokaliserade till utkanten av cellkärnan [19]. Man har också observerat att kromosomerna är i ständig rörelse.

Det råder knappast något tvivel om vilket enormt stort inflytande den digitala DNA-koden har på oss människor och på allt liv på jorden – alltifrån den enskilda individen eller organismen till den evolutionära utvecklingen. DNA bär i huvudsak på två olika typer av digital information [20]: först generna som kodar för proteiner, sedan det regulatoriska nätverk som styr genernas beteende. Detta nätverk består dels av specifika kontrollregioner i DNA-sekvensen, dels av diverse transkriptionsfaktorer som binder till dessa regioner och på så vis aktiverar eller förhindrar transkriptionen. Förutom av de kroppsegna faktorerna kan DNA också påverkas av yttre faktorer i den omgivande miljön. Exempelvis kan skador på DNA uppstå till följd av att cellkärnan utsätts för fria syreradikaler, joniserande strålning eller vissa kemikalier [21].

Kromatinets mycket dynamiska uppbyggnad har en avgörande roll vid reglering av såväl genuttryck som en mängd andra grundläggande cellulära processer [22]. Normalt ligger kromatinet, som nämnts, tätt hoppackat i kärnan. För att det polymeras som katalyserar transkriptionen skall kunna binda till DNA krävs att sekvensen först friläggas. För detta behövs en konformationsförändring i kromatinet. Även de transkriptionsfaktorer som reglerar uttrycket av generna är beroende av denna strukturförändring, vilken kan ske på flera olika sätt. Exempelvis kan speciella komplex flytta om nukleosomerna så att kromatinstrukturen förändras [23]. Alternativt kan histonproteinerna i nukleosomerna modifieras genom kovalent modifiering eller ersättas av olika histonvarianter [24-25].

Förändringar i kromatinets struktur kan nedärvas

En intressant upptäckt man gjort är att förändringar i kromatinet och därmed genuttrycket kan nedärvas från generation till generation oberoende av själva DNA-sekvensen. »Gene imprinting« är ett fenomen som går ut på att den grad i vilken en viss gen uttrycks beror på vilken förälder den nedärvts från. Denna speciella typ av genreglering involverar ett komplext samspel mellan olika regulatoriska element i DNA, där antingen den allel som kommer från modern eller den som kommer från fadern modifieras (exempelvis genom metylering), vilket leder till att bara den ena allelen avläses vid transkription.

Ett sådant klassiskt fall hos däggdjur är det som involverar Igf2- och H19-generna, två gener som är »sekvensgranar« i DNA och uttrycks tidigt i den embryonala utvecklingen. Dessa två gener regleras på ett epigenetiskt vis [26]

och har en gemensam kontrollregion i DNA. I moderns allel är denna region ometylerad, vilket gör att en transkriptionsfaktor som kallas CTCF kan binda hit och förhindra uttryck av Igf2, samtidigt som uttrycket av H19 stimuleras. I faderns allel är samma region metylerad, vilket förhindrar CTCF från att binda och på omvänt vis främjar uttryck av Igf2, men hämmar uttryck av H19. Följden blir att medan Igf2-genen uttrycks endast från den kopia av genen som nedärvt från fadern uttrycks H19-genen endast från moderns kopia.

Exemplet Igf2 och H19 demonstrerar hur invecklad genetik och regleringen av DNA är. Den senaste tidens forskning har mer och mer visat att själva genomsekvensen är endast en del av förklaringen till varför vi fungerar och ser ut som vi gör. I genomsekvensen ligger visserligen all genetisk information lagrad, men när det gäller det inflytande på individers och organismers fenotyp denna information har är situationen långt mer komplicerad. Vi har ännu mycket kvar att lära om de regioner av DNA som inte kodar för proteiner. I dessa finns alla de element som reglerar genernas beteende. Via dessa kontrollregioner kan generna »prata« med varandra och med den omgivande miljön. Säkerligen kommer också allt fler proteiner avgörande för kromatinets struktur och därmed genernas uttryck att identifieras.

Med denna ökade kunskap kommer förhoppningsvis den kliniska revolution inom genetisk medicin och genteknik som ännu inte riktigt märkts av – trots att DNA-strukturen nu varit känd i 50 år och den fullständiga genomsekvensen i över två år – att snabbas på.

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

1. Watson JD, Crick FHC. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953;171:737-8.
2. Calder R. Why you are you: nearer the secret of life. *News Chronicle* 1953; p. 1.
3. Pearson H. Beyond the double helix. *Nature* 2003;421:310-2.
4. Bell JI. The double helix in clinical practice. *Nature* 2003;421:414-6.
5. Abraham ET, Chain E, Fletcher CM, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA. Further observations on penicillin. *Lancet* ii 1941; p. 177-88.
6. Doll R, Hill AB. Cancer and smoking. *Nature* 1958;182:596.
7. Olby R. Quiet debut for the double helix. *Nature* 2003;421:402-5.
8. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies of the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* Type III. *J Exp Med* 1944;79:137-58.
15. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860-921.
16. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GJ, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291: 1304-51.
17. Kemp M. The Mona Lisa of modern science. *Nature* 2003;421:416-20.
18. Ball P. Portrait of a molecule. *Nature* 2003;421:421-2.
19. Croft JA. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J Cell Biol* 1999;145:1119-31.
20. Hood L, Galas D. The digital code of DNA. *Nature* 2003;421:444-7.
21. Friedberg EC. DNA damage and repair. *Nature* 2003;421:436-40.
22. Felsenfeld G, Groudine M. Controlling the double helix. *Nature* 2003;421:448-53.
23. Becker PB, Horz W. ATP-dependent nucleosome remodeling. *Annu Rev Biochem* 2002;71:247-73.
24. Zhang Y, Reinberg D. Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev* 2001;15:2343-60.
25. Smith MM. Centromeres and variant histones: what, where, when and why? *Curr Opin Cell Biol* 2002;14:279-85.
26. Arney KL. H19 and Igf2 – enhancing the confusion? *Trends Genet* 2003;19:17-23.

I Läkartidningens elektroniska arkiv
<http://tarkiv.lakartidningen.se>
 är artikeln kompletterad med fullständig referenslista.

SUMMARY

50 years after the discovery of the DNA structure has its implications still not reached clinical practice – our genetic material »a big tangle of nucleic acids and proteins«

Ulrika Kahl

Läkartidningen 2003;100:2218-21

It is now 50 years since the double helical structure of DNA was discovered. Even if the knowledge about the DNA structure has had great implications for many disciplines in medical and genetic research, the big breakthrough is still to come in clinical practice. Much research is now focusing on elucidating the regulatory mechanisms controlling the activity and behaviour of the genes of our genome. Many researchers and clinicians are hoping that the tangle of nucleic acids and proteins that fills the cellular nucleus harbours interesting and potential drug targets.

Correspondence: Ulrika Kahl, Dept of Medical Epidemiology and Biostatistics, Karolinska institutet, Box 281, SE-171 77 Stockholm, Sweden (ulrika.kahl@mep.ki.se)