
Et liv uten DNA-reparasjon

BASALFAGENE

ARNE KLUNGLAND

Email: arne.klungland@labmed.uio.no

Mikrobiologisk Institutt

Rikshospitalet

0027 Oslo

Seksjon for molekylærbiologi

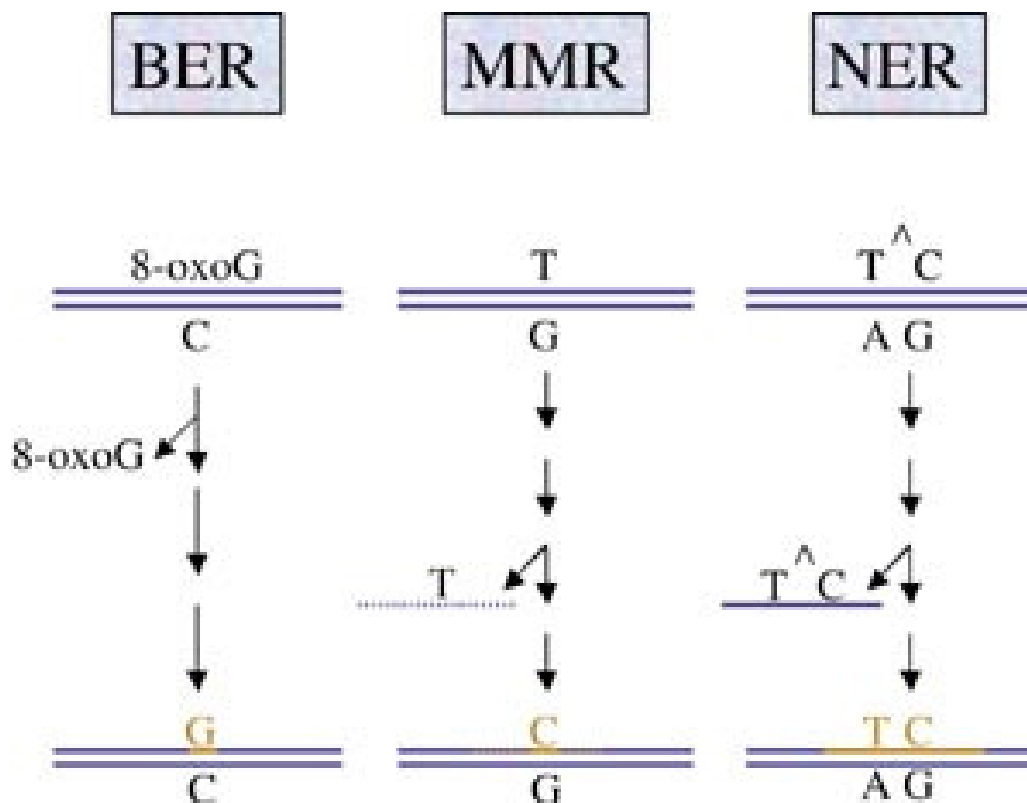
Effektivt vedlikehold av den genetiske informasjonen er helt avgjørende for at en art skal overleve. Det er derfor sannsynlig at DNA-reparasjonsmekanismer ble utviklet tidlig under evolusjonen. DNA-skade som ikke repareres, kan føre til mutasjoner som forårsaker celledød, ødelagt vekstkontroll, økt kreftrisiko eller alvorlige syndromer.

Allerede i 1968 ble det vist at defekter i reparasjonen av UV-skader medførte det alvorlige syndromet xeroderma pigmentosum. Slike pasienter utvikler tidlig hudkreft og må beskyttes mot sollys. De siste årene er en rekke andre defekter innen DNA-reparasjon funnet å være den direkte årsak til humane sykdommer.

En god del DNA-reparasjonsgener som disponerer for slike sykdommer er nå klonet og karakterisert. Disse representerer ulike reparasjonsveier for DNA-skader, og noen av dem er også involvert i koblingen mellom DNA-reparasjon og DNA-transkripsjon.

Nyere teknikker har gjort det mulig å "kopiere" denne gendefekten i mus, og over 100 mus med endret kapasitet for DNA-reparasjon er produsert siden 1995. Slike musemodeller representerer et unikt materiale for å undersøke sammenhengen mellom klinisk bilde og spesifikke defekter innen DNA-reparasjon.

Den genetiske informasjonen som er innebygd i DNA-molekylet, overføres nærmest uendret fra generasjon til generasjon. Det ble derfor lenge antatt at dette molekylet, til forskjell fra andre makromolekyler, var spesielt godt beskyttet mot degradering. De siste 20 – 30 årene er det imidlertid funnet at en rekke spontane og induserte skader, så mange som opptil 10 000 per celle per dag, truer stabiliteten av DNA-molekylet (1, 2). Dette kan synes som et paradoks, ettersom man i løpet av livslengden bare akkumulerer ca. åtte mutasjoner i hver celle. Imidlertid finnes det effektive mekanismer for DNA-reparasjon (fig 1). Slike DNA-reparasjonssystemer er overraskende godt konserverte fra mikroorganismer til humane celler.



Figur 1 Ulike reparasjonsveier benyttet av humane celler for å reparere DNA-skade. Reparasjonssyntese er i rødt, mens "gammelt" DNA er illustrert i blått. Baseutkuttingsreparasjon (base excision-repair; base excision-repair) korrigerer de mest vanlige endogene skadene på DNA, som 8-oxoG og uracil. Normalt vil bare det skadede nukleotidet bli byttet ut. Ved "mismatch"-reparasjon (MMR) fjernes korrekte baser i DNA som er satt inn på feil sted under DNA-replikering. Nukleotidutkuttingsreparasjon (NER; nucleotide excision-repair) korrigerer større skader i DNA, som tymidindimerer, som forårsaker lokale endringer av DNA-heliksstrukturen. Skaden fjernes som en del av en større oligonukleotid (ca. 27 nukleotider)

Forsvarsmekanismene mot omfattende DNA-skade er derimot forskjellige, ettersom slik skade i høyerestående organismer medfører p53-oppregulering og programmert celledød. DNA-reparasjonsmekanismene er likevel ikke fullstendig feilfrie, og degenerering av DNA-strukturen er antatt å gi et betydelig bidrag til spontan mutagenese, karsinogenese og aldring (1). Hvilke skader som er de viktigste i dette bildet, kan det imidlertid være vanskelig å avgjøre, spesielt fordi skader som induseres med høyest frekvens, som oksidative DNA-skader, ofte har de mest effektive reparasjonsmekanismene. Dette er blant annet vist i mus, hvor et gen for reparasjon av oksidativ DNA-skade ble slått ut. Som følge av mutasjonen fikk musen en høyere mutasjonsfrekvens og et helt annerledes mutasjonsspekter (3).

Dersom en DNA-skade dannes ved lav hyppighet, vil man kanskje bare se konsekvensen etter 40 – 100 år. Dermed vil man heller ikke oppnå en betydelig evolusjonsmessig fordel ved at slike skader fjernes. Dette medfører at det er defekter i reparasjon av bestemte DNA-skader som oftest gjenspeiles i kliniske tilfeller. Slike defekter kan medføre alt fra lett disposisjon for enkelte krefttyper til alvorlige syndromer med kort levetid for den rammede (4). En karakterisering av slike pasienter – og pasientgrupper – både med henblikk på mutert gen og den nøyaktige posisjonen for mutasjonen har gitt viktige bidrag til forståelsen av de molekylære mekanismene som ligger til grunn for den kliniske tilstanden. Det kan være avgjørende for pasienten hvor stor del av et gen som ødelegges ved en mutasjon. Er det snakk om e...n enkelt basesubstitusjon, kan man også få ulikt klinisk bilde ved ulike aminosyresubstitusjoner. Det finnes endatil tilfeller hvor ulike mutasjoner i samme gen kan gi helt forskjellige syndromer. Produksjon av mus med definerte genfeil gir unike muligheter både for å lage dyremodeller for eksisterende humane syndromer og for å undersøke virkningen av forskjellige mutasjoner i samme gen. De siste ti årene er det produsert over 100 mus med ulike defekter i DNA-reparasjonen.

DNA-reparasjon

Det finnes tre hovedutfordringer for stabiliteten av DNA:

- – Endogene DNA-skadende agenser
- – Eksogene DNA-skadende agenser
- – Replikasjonsfeil som unnslipper DNA-polymerasens korrekturlesing (den replikative DNA-polymerasen sjekker om rett nukleotid er satt inn – korrekturleser)

Tre ulike former for DNA-utkuttingsreparasjon, svært ulike, retter opp disse skadene (5, 6). Disse reparasjonsveiene er illustrert i figur 1 og beskrevet mer detaljert nedenfor. Alle celler synes å mangle spesifikke reparasjonsmekanismer for ioniserende stråling og enkelte miljøgifter. Imidlertid synes det som om allerede utviklede systemer, spesielt baseutkuttingsreparasjon, effektivt tar hånd om slike skader. En rekke andre DNA-reparasjonssystemer har mer spesialiserte oppgaver og er ikke beskrevet her. Disse inkluderer DNA-polymerasens korrekturlesing, direkte reversjon av DNA-skade, rekombinasjon, DNA-skadeavhengig cellesyklusregulering og signaltransduksjon (7).

Baseutkuttingsreparasjon

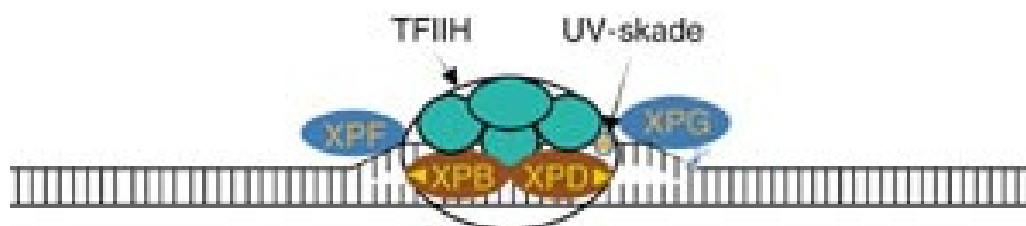
Baseutkuttingsreparasjon (base excision repair) er utvilsomt den mekanismen som tar seg av flest DNA-skader (8, 9). Reparasjonsveien fjerner skader som induseres ved spontan hydrolyse, reaktive oksygenradikaler, andre intracellulære metabolitter samt DNA-lesjoner produsert ved ioniserende stråling. Reparasjonen initieres ved at en DNA-glykosylase kutter bindingen mellom skadet DNA-base og sukkerenheten. Det finnes minst åtte ulike DNA-glykosylaser i humane celler. Disse er spesialisert til å fjerne ulike DNA-skader. Etter dette første steget vil sukkerfosfatkjeden fortsatt være intakt. De neste stegene under reparasjonen er i all hovedsak uavhengig av hvilken skade som initierte reparasjonsveien. Disse stegene består av:

- – Det baseløse setet (AP-sete) kuttes av en AP-endonuklease
- – Sukkerfosfatresten fjernes
- – En DNA-polymerase setter inn det korrekte nukleotidet
- – En DNA-ligase ligerer den reparerte DNA-tråden (10, 11).

Dette er den mest økonomiske mekanismen for utkuttingsreparasjon, ettersom bare det skadede nukleotidet blir erstattet. I en alternativ reaksjonsvei for baseutkuttingsreparasjon blir 2 – 6 nukleotider byttet ut (12). Dersom de siste stegene under baseutkuttingsreparasjonen ikke kan fullføres, vil cellen akkumulere et uakseptabelt høyt nivå av reparasjonsintermediater, noe som fører til at den dør. Dette er bekreftet ved produksjon av knockoutmus, hvor innføring av mutasjoner i essensielle gener for baseutkuttingsreparasjon er letale.

Nukleotidutkuttingsreparasjon

Nukleotidutkuttingsreparasjon (NER, nucleotide excision repair) er en prosess hvor DNA-skaden fjernes som en del av en større DNA-bit (7, 13). Mellom 15 og 18 proteiner er involvert i gjenkjenning og utkutting av skaden (fig 2), mens om lag 12 andre proteiner er nødvendige for reparasjonssyntese. Ved reparasjonssyntese brukes den intakte tråden som templat. Nukleotidutkuttingsreparasjon representerer den best undersøkte reparasjonsveien – og er også den mest kompliserte formen for DNA-utkuttingsreparasjon. Nukleotidutkuttingsreparasjon gjenkjenner og reparerer mange ulike typer av DNA-skader. Felles for disse skadene er at de forårsaker en lokal endring av DNA-strukturen.



Figur 2 Illustrasjonen viser et intermediat under nukleotidutkuttingsreparasjon (NER) av UV-skade. XPB og XPD er to av komponentene i transkripsjonsfaktoren TFIIH med helikaseaktivitet i henholdsvis 5' og 3' retning (på skadet tråd). Tilsvarende har XPF (i kompleks med et annet enzym, ERCC1) og XPG endonukleaseaktivitet og kutter den skadede DNA-tråden på 5'- og 3'- side av skadestedet

Den viktigste funksjonen for nukleotidutkuttingsreparasjon er å fjerne UV-skader. Dette kommer synlig til uttrykk i syndromet xeroderma pigmentosum, hvor en arvelig defekt i nukleotidutkuttingsreparasjonen gir de affiserte 1 000 ganger så stor risiko som normalt for hudkreft (14). Dette forteller også at nukleotidutkuttingsreparasjon er en effektiv mekanisme for å beskytte mot kreft og at DNA-reparasjonsgener kan klassifiseres som tumorsuppressorgener. De siste årene har forståelsen av nukleotidutkuttingsreparasjon gjort store fremskritt, ved at genene som gir xeroderma pigmentosum er klonet. Reparasjonsveien er også rekonstruert in vitro med rensede proteiner (15). En umiddelbar effekt av DNA-skade er blokkering av transkripsjonen (første trinn i proteinsyntesen). Nukleotidutkuttingsreparasjonen er koblet til transkripsjonen, slik at skader på den transkriberte tråden i aktive gener blir raskere reparert. Dette gjøres mulig ved at transkripsjonsfaktoren TFIIH også er involvert i DNA-reparasjon (16). Denne transkripsjonsfaktoren, som er et større proteinkompleks, inneholder blant annet enzymene XPB og XPD, som er blant de proteinene som i mutert tilstand forårsaker xeroderma pigmentosum (fig 2).

”Mismatch”-reparasjon

DNA-reparasjonens hovedoppgave synes å være fjerning av DNA-skade før DNA-replikasjon. DNA-replikasjon kan føre til fiksering av mutasjoner i de tilfeller hvor skaden er mutagen. ”Mismatch”-reparasjon (MMR, mismatch repair) er et system som kan fjerne feilparinger i DNA-tråden etter DNA-replikasjon. Denne reparasjonsveien kan gjenkjenne gammel og nysyntetisert DNA-tråd og fjerne feilparet base fra den nysyntetiserte DNA-tråden (5). Det kan dannes feil i DNA ved at ikke den rette base innsettes under DNA-replikasjonen eller ved enkelte former for DNA-skade og genetisk rekombinasjon. ”Mismatch”-enzymer gjenkjenner, i tillegg til feil som omfatter bare ett mispar (f.eks. G:T), også baseekspansjoner på en til fire nukleotider. Slike ekspansjoner dannes ved insersjon eller delesjon av DNA-baser eller ved feilparing av DNA-trådene i områder med trippelrepeterte sekvenser (trippelekspansjon). Denne reparasjonsveien har vist seg å være langt mer kompleks enn den som finnes i bakterier (17). Flere proteinkomplekser inngår, og det er påvist interaksjoner med andre reparasjonsveier. Sannsynligvis er det et tett samspill mellom de ulike reparasjonsveiene samt mellom ulike reparasjonsveier og cellenes transkripsjons- og replikasjonsapparat.

Humane DNA-reparasjonsdefekter

Revolusjonen innen molekylærbiologi har ført til store fremskritt innen karakterisering av humane DNA-reparasjonssyndromer. I tillegg er den genetiske bakgrunnen for flere kreftdisposisjoner kartlagt (4). Denne karakteriseringen har vist at gener for helt forskjellige DNA-reparasjonsveier er assosiert med humane syndromer og kreftdisposisjoner. Denne artikkelen vil gi en kort beskrivelse av noen av de mest kjente syndromer og sykdommer som er forårsaket av defekter innen DNA-reparasjonen. For å belyse hvor viktig det er med en molekylærbiologisk forståelse av den genetiske defekten som forårsaker humane sykdommer, vil syndromet xeroderma pigmentosum bli mer grundig beskrevet.

Blooms syndrom

Pasienter med Blooms syndrom er karakterisert med prenatal og postnatal vekstretardasjon (gjennomsnittlig høyde er om lag 150 cm for menn og 144 cm for kvinner) samt teleangiektasipreget utslett på steder eksponert for sollys (18). De har normal intelligens. Kvinner er fertile, mens alle menn med syndromet antas å være sterile. Hovedkomplikasjonen er leukemi, med en gjennomsnittlig alder ved diagnosetidspunkt på 22 år. Flere andre krefttyper er også vanlige, og et samlet kreftbilde minner om det man ser i ”normalpopulasjonen”, bortsett fra at de opptrer på et mye tidligere tidspunkt og med økt hyppighet.

Blooms syndrom har en autosomal recessiv arvegang. Syndromet er ekstremt sjeldent i de fleste befolkninger, med en forekomst på mindre enn én per million. Unntaket er askenasjøder, hvor det forekommer hos en av 10 000. Genet som i skadet form forårsaker syndromet, er klonet og lokalisert til kromosom 15q21.3 (19). Genet er medlem av helikasefamilien, det vil si det har

evnen til å tvinne opp (unwind) DNA og RNA. Et annet gen i denne familien er årsaken til Werners syndrom, hvor de affiserte er karakterisert med vekstretardasjon og hurtig aldring (20).

Ataxia-teleangiectasia (Louis Bars syndrom)

Kliniske kjennetegn for denne gruppen er progredierende nervedegenerering, teleangiektasier i hjernestammen, immundefekt i varierende grad og økt risiko for bindevevssvulster (4). I likhet med Blooms syndrom er celler fra pasientene karakterisert ved økt frekvens av kromosombrudd. Riktignok må cellene fra pasientene eksponeres for stråling for å få en signifikant økning av antall kromosombrudd, mens det i celler fra pasienter med Blooms syndrom er en påviselig spontan økning. I tillegg synes defekten hos pasienter med Louis Bars syndrom i ulik grad å påvirke produksjonen av immunoglobuliner. Dette har bakgrunn i rearrangeringer på kromosom 7 og 14, hvor gener for immunoglobuliner og T-cellerreseptorer er lokalisert (21). En tilsvarende defekt finnes i et beslektet syndrom, Nijmegen Breakage-syndromet.

Ataxia-teleangiectasia er et autosomt recessivt syndrom. Genet er lokalisert til kromosom 11q22 – 23 (22). ATM (Ataxia-teleangiectasia mutant protein) har homologi til en gruppe av kinaser som er involvert i signaltransduksjon, meiotisk rekombinasjon og kontroll av cellyklus (23). Man regner med at funksjonen til denne kinasen (kinaser fosforylerer andre proteiner, oftest transkripsjonsfaktorer, som dermed aktiveres) er innen koordinering av DNA-reparasjon. Det er viktig å merke seg at epidemiologiske studier har vist at bærere (heterozygote) av sykdommen har økt risiko for kreft (4, 24).

Fanconis anemi

Fanconis anemi er klinisk og molekylærbiologisk et mye mer komplekst syndrom enn de som er beskrevet over. Man regner med at minst fem ulike gener kan forårsake de kliniske symptomene (4, 25). Disse genene er foreløpig ikke karakterisert. Det er imidlertid ikke slik at en genotype gir en bestemt klinisk fenotype. I likhet med syndromene beskrevet over er celler fra pasientene karakterisert med økt frekvens av kromosombrudd, og pasientene har økt risiko for kreft. De er også karakterisert med pancytopeni og medfødte anomalier.

Xeroderma pigmentosum

Xeroderma pigmentosum representerer utvilsomt det best karakteriserte DNA-reparasjonssyndromet (tab 1, fig 3a). Den omfattende forskningsaktiviteten omkring xeroderma pigmentosum og nukleotidutkittingsreparasjon de siste 30 årene skyldes flere faktorer.



Figur 3 a) Pasienter med xeroderma pigmentosum og b) trichothiodystrofi. Legg merke til den store fenotypiske forskjellen mellom pasienter på samme alder med xeroderma pigmentosum og trichothiodystrofi. Bildet er gjengitt med tillatelse fra A. Sarasin, CNRS, Villejuif, Frankrike. Copyright A. Sarasin

Tabell 1

Komplementasjonsgrupper for nukleotidutkittingsreparasjons (NER)-relaterte syndromer

Komplementasjonsgruppe (gen)	Relativ forekomst ¹	NER-aktivitet		Kliniske symptomer	Nevrologiske abnormaliteter	Funksjon under NER
		TCR	GGR			
XPA	Høy	–	–	XP	++	DNA-skadegjenkjenning
XPB	Sjelden	–	–	XP-CS/TTD	+	DNA-helikase (+transkripsjon)
XPC	Høy	+	–	XP	–	Reparasjon av ikke-transkribert DNA
XPD	Intermediær	–	–	XP/XP-CS/TTD	±	DNA-helikase (+transkripsjon)
XPE	Sjelden	?	–	XP	–	DNA-skadegjenkjenning?
XPF	Sjelden	–	–	XP	–	Endonukleaseaktivitet
XPG	Sjelden	–	–	XP/XP-CS	+	Endonukleaseaktivitet
XPV	Høy	+	+	XP	–	Ingen (postreplikasjonsreparasjon)
CSA	Sjelden	–	+	CS	++	TCR
CSB	Høy	–	+	CS	+	TCR (transkripsjonselongering)

• Forkortelser: NER, nukleotidutkittingsreparasjon; CS, Cockaynes syndrom; GGR, global genomisk reparasjon; TCR, transkripsjonskoblet reparasjon; TTD, trichothiodystrofi; XP, xeroderma pigmentosum; XP-CS, kombinert XP og CS fenotype

• ¹ XP er et svært sjeldent syndrom (om lag 500 tilfeller er klassifisert)

- Xeroderma pigmentosum var det første syndromet hvor en defekt innen reparasjonen av en definert DNA-skade (UV-skade; pyrimidindimer) ble vist å være årsaken til den kliniske tilstanden.
- Flere komplementeringsgrupper av xeroderma pigmentosum, samt de beslektede syndromene Cockaynes syndrom og trichothiodystrofi, er forårsaket av defekt reparasjon av UV-skader.
- Eksponering for sollys medfører en nesten umiddelbar klinisk tilstand hos affiserte individer.

Hos individer med defekter innen nukleotidutkittingsreparasjon vil kort eksponering for UV-stråling medføre alvorlig solforbrenning på eksponerte steder på huden (26). Denne typen av forbrenning vil vanligvis oppstå ved et barns første eksponering for sollys – og med det gi første indikasjon på xeroderma pigmentosum. Dette er imidlertid en heterogen gruppe sykdommer, og noen varianter vil ikke gi økt solbrenthet. De fleste vil imidlertid over tid utvikle hudforandringer, deriblant unormalt mange fregner, irregulære mørke flekker, tynn hud, solar keratose og hudkreft. Disse hudendringene kan sammenliknes med dem man finner hos eldre som har tilbrakt mye tid i solen eller i solarium. De første tilfellene av hudkreft utvikles ofte før pasienten er ti år gammel. Alle typer av hudkreft (basalcellekarsinom, plateepitelkarsinom og melanom) forekommer med økt hyppighet.

Også øynene er svært sensitive for sollys og utsatt for danning av kreftceller. I tillegg vil om lag 20 % av pasientene få nerverelaterte problemer. Disse inkluderer døvhhet, dårlig koordinasjon, spastiske bevegelser og retardert utvikling. Enkelte individer har dvergvekst og unormal seksuell utvikling. Individer med xeroderma pigmentosum har bare en liten økning av kreft i indre organer, noe som indikerer at DNA-skade dannet av agenser som kan initiere slike kreftformer er substrat for andre reparasjonsveier enn nukleotidutkutterreparasjon.

Det ble tidlig funnet at pasienter med xeroderma pigmentosum kunne inndeles i sju komplementeringsgrupper (XP-A til XP-G), som representerer ulike proteiner av betydning for nukleotidutkutterreparasjon, samt en variant, XP-V (27). Årsaken til at det bare finnes sju komplementeringsgrupper, mens over 30 gener er nødvendige for komplett reparasjon, skyldes sannsynligvis at de øvrige proteinene som inngår i nukleotidutkutterreparasjon er helt sentrale for andre cellulære funksjoner. Noen faktorer er helt nødvendige for effektiv transkripsjon, og muterte utgaver av slike gener vil være letale svært tidlig under embryoutviklingen. Av de genene som kan forårsake xeroderma pigmentosum, er det også verdt å merke seg at det for noen gener kan tolereres en total inaktivering, mens det for andre bare godtas små endringer, slik som en aminosyresubstitusjon. Dette skyldes at enkelte proteiner er helt nødvendige for nukleotidutkutterreparasjon. For andre mangler vil det fortsatt kunne være noe restaktivitet av nukleotidutkutterreparasjon.

Alle genene assosiert med xeroderma pigmentosum er klonet (15). Proteinene XPA, XPC og muligens XPE er involvert i gjenkjenning og binding til DNA-skade. *XPG* og *XPF* (sammen med et partnergen) koder for strukturspesifikke endonukleaser som kutter DNA-tråden på henholdsvis 3' og 5' side av DNA-skaden. Dette skjer først etter at DNA-tråden er åpnet ved hjelp av DNA-helikasene XPB og XPD. Disse to proteinene er subenheter av transkripsjonsfaktoren TFIIH (fig 2). TFIIH er en transkripsjonsfaktor som er absolutt nødvendig for RNA-polymerase II-mediert transkripsjon av mRNA-kodende gen. Dette betyr at XPB og XPD er essensielle gener. Varianten av xeroderma pigmentosum, XPV, skyldes mutasjon av en DNA-polymerase. Denne DNA-polymerasen tilhører klassen av DNA-polymeraser som har evnen til å syntetisere forbi (bypass) en DNA-skade. Det er for tiden svært stor forskningsaktivitet for å karakterisere slike DNA-polymeraser (28).

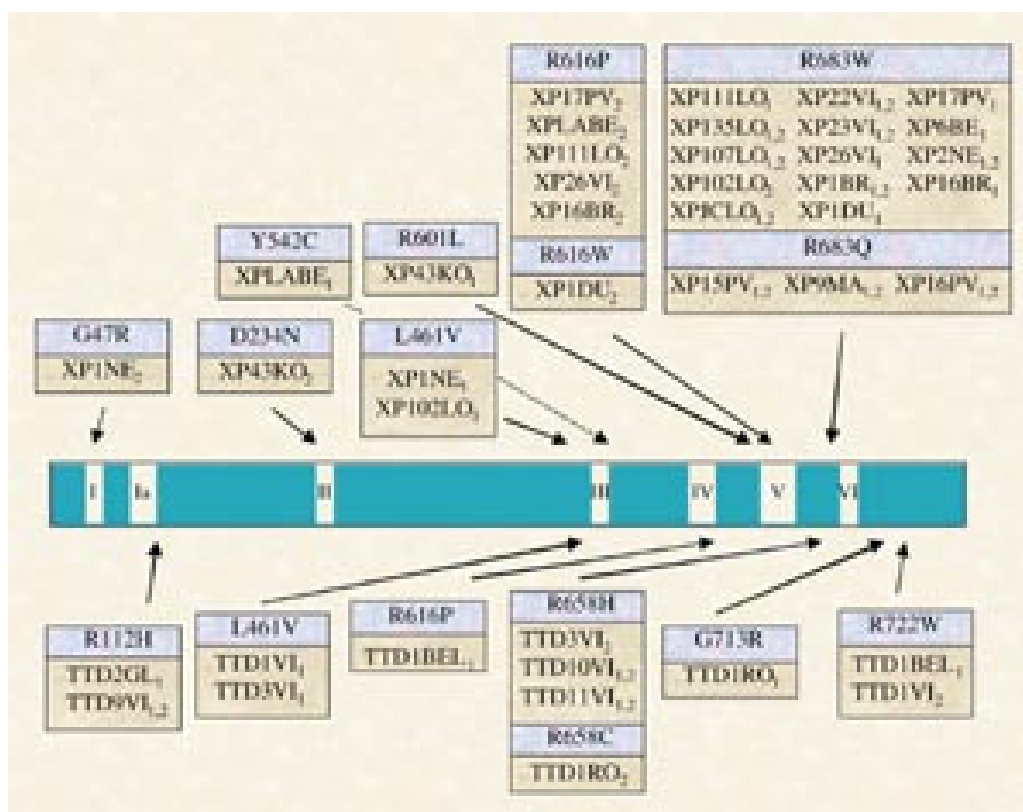
XPB – ett gen, flere syndromer

Tre genetiske syndromer, xeroderma pigmentosum, trichothiodystrofi og Cockaynes syndrom, er assosiert med defekt nukleotidutkutterreparasjon (13). Trichothiodystrofi er et syndrom som er svært forskjellig fra xeroderma pigmentosum (fig 3). Til tross for at pasienter med trichothiodystrofi er sensitive for sollys, utvikler de ikke kreft. Et karakteristisk trekk er at de har sprø hårstrå som lett brytes. Videre er de fysisk og mentalt tilbakestående og utvikler spesielle ansiktstrekk (fig 3b). Cellefusjonsstudier av 20 familier viste at defekten i 18 av disse familiene skyldes mutasjon i XPB-genet. Hvordan er det mulig at to så ulike syndromer som xeroderma pigmentosum og trichothiodystrofi skyldes defekt i det samme genet? Det synes å være to mulige forklaringer:

– Syndromene kan ha samme mutasjon i XPB dersom det ene syndromet i tillegg har en mutasjon i et annet gen.

– De kliniske tilstandene for syndromene bestemmes av hvor i genet mutasjonen ligger.

Et omfattende arbeid med sekvensering av XPB -genet viser at den siste forklaringen sannsynligvis er den korrekte (fig 4) (29). Genet er essensielt, og det er bare påvist mutasjoner som fører til aminosyresubstitusjoner eller mindre delesjoner. Ved å studere mutanter av det homologe genet i gjær (*S pombe*) er det funnet at mutasjonene som forårsaker xeroderma pigmentosum-fenotypen, ødelegger reparasjonsfunksjonen til TFIIH, sannsynligvis ved at XPBs helikasefunksjon reduseres uten at transkripsjonsaktiviteten påvirkes. For mutasjoner som forårsaker trichothiodystrofifenotype er det antatt at både reparasjonsaktiviteten og transkripsjonsaktiviteten hemmes. TFIIH inneholder minst ni subenheter, og en mutert XPB-subenhet kan lett påvirke binding av andre subenheter og dermed transkripsjonsaktiviteten. Redusert evne til rask transkripsjon kan forklare hårtap og fravær av kreft hos trichothiodystrofi-pasienter. Man regner med at mutasjoner i XPB vil vise samme tendens. Imidlertid er mutasjoner i XPB -genet uhyre sjeldne (bare fire er identifisert), slik at tilsvarende studier for XPB er umulige. En oppsummering:



Figur 4 XPD-proteinet med helikasemotivene I Æ VI avmerket. De ulike aminosyresubstitusjonene som er vist å gi xeroderma pigmentosum er avmerket over proteinet, mens aminosyresubstitusjonene som gir trichothiodystrofi er avmerket under proteinet. Tallene angir i hvilken posisjon aminosyresubstitusjonen er lokalisert. Det er benyttet bokstavkoder på aminosyrene. Eksempel: Mutasjonen beskrevet øverst til venstre på figuren, G47R, representerer en aminosyresubstitusjon i posisjon 47 på proteinet. Aminosyren glysin (G) er erstattet med arginin (R). Denne pasienten har betegnelsen XP1NE 2 . Totalt betyr mutasjon i allel 2. Allel 1 har mutasjonen L461V. Figuren er reproduisert (noe forenklet) med tillatelse fra A. Lehmann, Brighton, Storbritannia (29)

- – Det finnes ikke spesifikke xeroderma pigmentosum- og trichothiodystrofidomener i XPD-proteinet.
- – De fleste pasientene er såkalt ”compound” homozygote, det vil si at de har ulik mutasjon av de to allelene for XPD-genet (29). Det ene allelet er gjerne helt inaktivert.

Situasjonen blir enda mer komplisert ved et tredje syndrom som er defekt i nukleotidutkuttersreparasjon, Cockaynes syndrom (tab I) (13). Det er vist at celler fra pasienter med Cockaynes syndrom er defekte i transkripsjonskoblet reparasjon av UV-skader. TFIIHs kobling til nukleotidutkuttersreparasjon gjør at skader på den transkriberte tråden blir reparert mye forttere enn skader på ikke-transkribert tråd. To komplementeringsgrupper for Cockaynes syndrom er påvist, CS-A og CS-B. I tillegg er det funnet at enkelte pasienter med mutasjoner i XPB, XPD og XPG har kombinerte kliniske symptomer på xeroderma pigmentosum og Cockaynes syndrom. Pasienter med Cockaynes syndrom har svært alvorlige kliniske symptomer, som inkluderer dvergvekst, døvhhet og progredierende nevrodegenerering. Sykdommen er ikke assosiert med forhøyet kreftrisiko. I likhet med det som er tilfellet for pasienter med trichothiodystrofi, regner man med at redusert evne til effektiv transkripsjon forklarer at de affiserte ikke har økt risiko for å utvikle kreft. Det er nylig vist at enkelte pasienter og pasientgrupper med defekter i XP- og CS-assosierte gener også har redusert evne til å reparere oksidative DNA-skader på den transkriberte DNA-tråden (30, 31).

Familiær kolorektal kreft

Alle syndromene som er beskrevet over, nedarves autosomalt recessivt. Bare i ett tilfelle, ataxia teleangiectasia, er det påvist at heterozygote individer har økt risiko for kreft. Det er likevel viktig å være klar over at de beskrevne syndromene er svært sjeldne, slik at en svak disposisjon hos heterozygote individer (bærere av genetisk defekt på ett av allelene) ikke vil kunne påvises. Den genetiske disposisjon som gir hereditær ikke-polypøs kolorektal kreft, er sannsynligvis det mest vanlige arvelige DNA-reparasjonssyndromet med disposisjon for kreft (5, 17, 32). Disposisjonen kan forårsake tidlig utvikling av kreft og har en autosomal dominant arvegang.

Kolorektalkreft er den dominerende formen for kreft hos affiserte individer, men det er også overhyppighet av endometrie- og ovariekreft. Ikke-polypøs kolonkreft utgjør om lag 5 % av all kolonkreft. Det er også vist at somatiske mutasjoner i "mismatch"-reparasjonsgener bidrar til så mange som 15 % av alle tilfellene av sporadisk kolorektal kreft (6). Xeroderma pigmentosum er et svært sjeldent syndrom, og det er derfor helt uaktuelt å forsøke å identifisere slike individer på et tidlig stadium. For areditær ikke-polypøs kolorektal kreft er dette interessant og blir allerede utført (33). Ettersom mer enn 50 mutasjoner i de ulike genene for "mismatch"-reparasjon kan føre til areditær ikke-polypøs kolorektal kreft, vil første gangs påvisning av mutasjonen i en familie være arbeidskrevende. De fleste tilfellene av areditær ikke-polypøs kolorektal kreft er koblet til gener som er homologe til de bakterielle genene for postreplikativ "mismatch"-reparasjon,

mutS og *mutL*. Dette har også vært med på å gi navnene på de humane genene. Mutasjoner i hMSH2 (*h* uman *m* ut *S* *h* omolog) og hMLH1 (*h* uman *m* ut *L* *h* omolog) er blant de mest vanlige funnet hos pasienter med areditær ikke-polypøs kolorektal kreft, og dette fører til en sterk økning av mutasjonsfrekvensen i cellens genom. Denne molekylære fenotypen refereres ofte til som MIN, mikrosatellittustabilitet. MIN-fenotypen reflekterer en defekt i evnen til å gjenkjenne og reparere små insersjoner og delesjoner og medfører dermed en endring i lengden av ulike mikrosatellitter (repeterte DNA-sekvenser).

Musemodeller

Etter hvert som stadig flere sykdomsgener identifiseres, vil studier av celle- og dyremodeller være essensielle for funksjonsanalyse (34). En rekke mus med defekte DNA-reparasjonsgener er de siste årene etablert som modeller for studier av familiære kreftdisposisjoner. I denne artikkelen vil imidlertid bare musemodeller for de tre hovedveiene for DNA-reparasjon, beskrevet i innledningen, bli diskutert. I tillegg til disse er det en rekke interessante musemodeller med DNA-reparasjonsdefekter. Knockoutmus for BRCA1 og BRCA2, som hos mennesket disponerer for bryst- og ovariekreft, er letale (35). Noen få BRCA2-knockoutembryoer overlever. Disse er imidlertid sterile og utvikler tidlig thymusderiverte lymfomer. Cellelinjer fra slike embryoer er defekte i reparasjon av DNA-dobbeltråddbrudd induisert ved eksponering for γ -stråling og har redusert evne til reparasjon av oksidativ DNA-skade. Nullmutasjon i genet som forårsaker Fancomis anemi gruppe C (FAC), fører til kromosombrudd etter eksponering for DNA-kryssbindende agens (36). Ataxia telangiectasia $^{-/-}$ mus har dvergevekst og nerverelaterte abnormiteter (37). Både hann- og hunnmusen er sterile, har redusert antall av T-lymfocytter og utvikler thymusderiverte lymfomer i 2 – 4 -måneders alder.

Mus med baseutkuttingsreparasjonsdefekter

Defekter i nukleotidutkuttingsreparasjon og "mismatch"-reparasjon er assosiert med ulike arvelige syndromer og disposisjoner for kreft. Slike disposisjoner er ennå ikke koblet til gener for baseutkuttingsreparasjon. Dette kan synes som et paradoks, ettersom baseutkuttingsreparasjon retter opp det klart høyeste antall DNA-skader. Dette er også DNA-skader som dannes spontant ved normal cellulær metabolisme, og som det dermed ikke er mulig å beskytte seg mot. Ved konstruksjon av de første knockoutmusene med defekter for baseutkuttingsreparasjon viste det seg at de døde tidlig under fosterutviklingen (38). Dette kan forklares ved at en defekt i f.eks. endonukleasen som gjenkjenner baseløse seter i DNA (AP-seter), fører til akkumulering av et uakseptabelt høyt nivå av slike AP-seter. Man regner med at så mange som 10 000 til 20 000 AP-seter dannes hver dag i en mammalsk celle, enten som et intermediat under baseutkuttingsreparasjon eller direkte ved spontan hydrolyse av DNA-baser (1, 2). Dette AP-setet er ikke-kodende, det vil si at polymerasen ikke vet hvilket nukleotid som skal innsettes på den komplementære tråden som produseres under DNA-replikasjonen. Tilsvarende vil en mutasjon som ødelegger polymerasen som setter inn det korrekte nukleotidet under DNA-reparasjonen (DNA polymerase β), føre til akkumulering av enkelttråddbrudd i DNA-tråden.

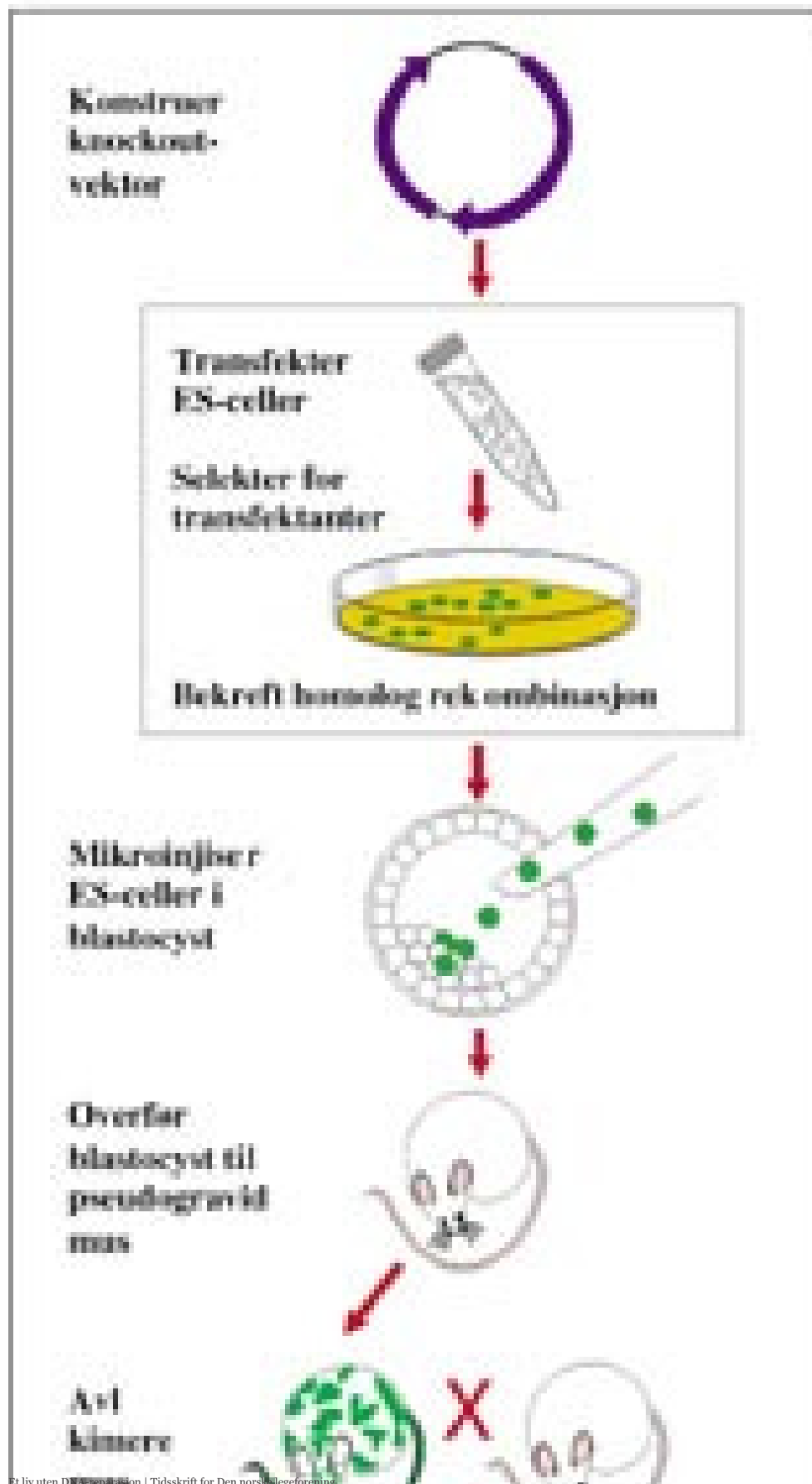
Det er også produsert knockoutmus for flere DNA-glykosylaser (39). Disse musene er alle levedyktige, og ingen fenotype er påvist. Dette skyldes sannsynligvis at noen DNA-glykosylaser har overlappende substratspesifisitet og dermed til en viss grad kan erstatte hverandre. En knockoutmus for *OGG1*-genet (OGG1 er involvert i reparasjon av oksidative DNA-skader) (40,

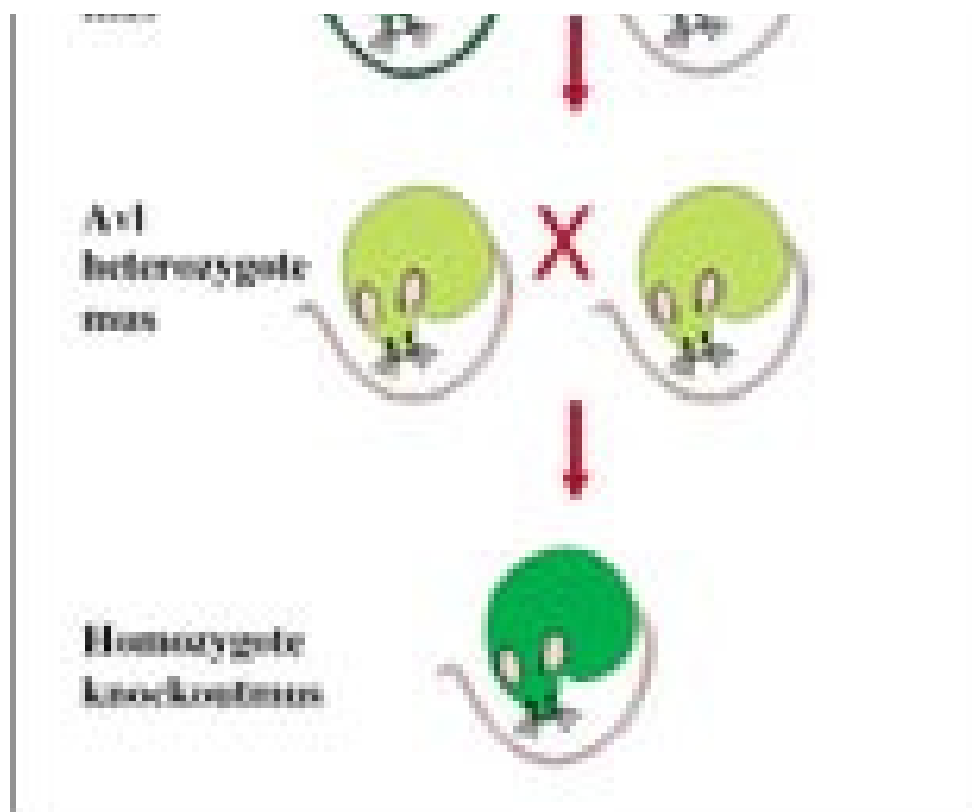
41) akkumulerer den mutagene DNA-skaden 8-oxoG og har 10 – 20 ganger økt frekvens av G Æ T-transversjonsmutasjoner (3). Det er funnet mutasjoner i OGG1-genet i humane lunge- og nyretumorer (42). Bruk av denne musemodellen var avgjørende for å karakterisere transkripsjonskoblet reparasjon av oksidative DNA-skader. Defekter innen denne reparasjonsveien er etter all sannsynlighet avgjørende for utviklingen av de spesifikke symptomer på Cockaynes syndrom (31). En mus med defekt UDG (uracil-DNA-glykosylase, fjerner uracil fra DNA) er nettopp konstruert. Musen er levedyktig og har ingen umiddelbar fenotype etter 18 måneder (43). I likhet med OGG1-knockoutmusen er det påvist økt mutasjonsfrekvens og akkumulering av DNA-skader i genomet.

Det er viktig å huske at de genene som er essensielle under baseutkutterreparasjon, alle representerer enzymer som inngår i den siste delen av denne reparasjonsveien. Dermed er de nødvendige for komplett reparasjon, uavhengig av hvilken DNA-skade og DNA-glykosylase som initierte reparasjonsveien. En videre karakterisering av knockoutmus med liten eller ingen fenotype involverer ofte etablering av dobbelte knockoutmus. Det vil si at en knockoutmus krysses med en annen mus med defekt i et annet DNA-reparasjonsgen som man tror kan reparere samme skade.

Mus med nukleotidutkuttings- reparasjonsdefekter

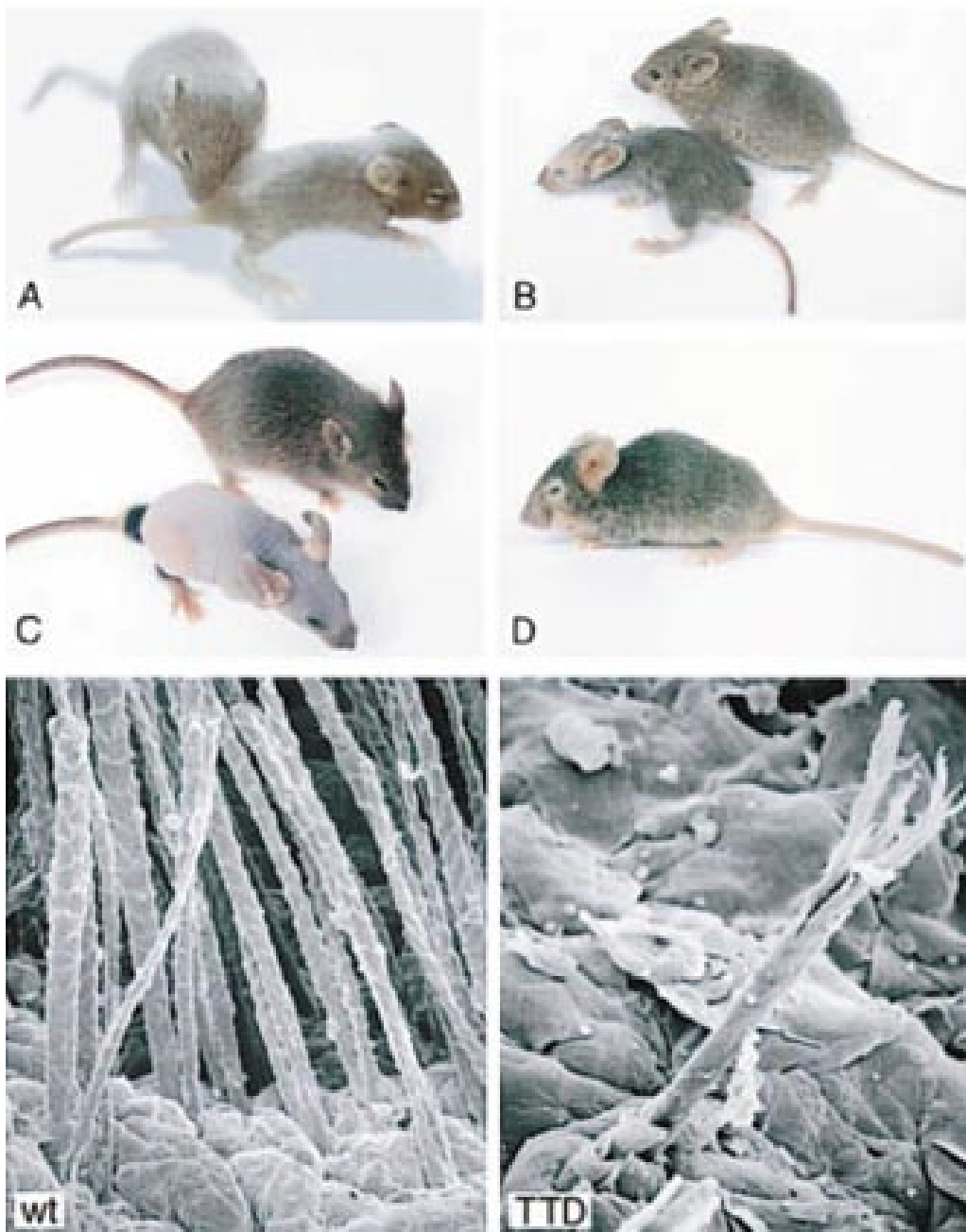
Konstruksjon av knockoutmus





Produksjon av knockoutmus starter med konstruksjon av en vektor hvor en antibiotikamarkør innsettes i en stor genomisk DNA-sekvens for det genet man ønsker å slå ut. Dette gjøres slik at den kodende regionen ødelegges. Denne vektoren innføres så i embryonale stamceller ved elektroporering. Ettersom vektoren inneholder lange DNA-sekvenser, ca. 3 000 baser på hver side av den selekterbare markøren, som er identiske med genot som finnes i embryonale stamceller vil det kunne forekomme homolog rekombinasjon. Ved homolog rekombinasjon vil en defekt utgave av dette genot, sammen med en selekterbar markør, erstatte den korrekte sekvensen. Slike heterozygote embryonale stamceller injiseres så i museblastocyster, og man følger opptak og utvikling av disse stamcellene ved å se på pelsfarge hos musene. De embryonale stamcellene er derivert fra en mus med pelsfarge som er forskjellig fra den musen blastocysten hentes fra. Kimagne (spraglede) mus benyttes for å avle frem nullmutasjonen. Homozygote knockoutmus produseres deretter ved paring av heterozygote mus. En grunn-

dig beskrivelse av denne teknikken er tidligere publisert av Andersson & Skålhegg (34). Figuren er gjengitt med tillatelse fra Stragene.



E
Figur 5 Bildene A-D viser sykklisk hårtap hos trichothiodystrofimusen. Bildene er tatt ved alder 14 dager (A), 19 dager (B), 28 dager (C) og 42 dager. Legg merke til at trichothiodystrofimusen er mindre enn den andre musen fra samme kull (A-C). E viser elektronmikroskopi av hud og hår for normal mus (WT) og trichothiodystrofimus (44). Figuren er gjengitt med tillatelse fra J.H.J. Hoeijmakers, Rotterdam, Nederland. Copyright Cell Press (46)

Tabell 2

Et utvalg av mus med mutasjoner i gener for nukleotidutkuttersreparasjon (NER)

Mutert gen	Type mutasjon	Relevant fenotype
XPA	KO	Normal mus, men disponert for UV-indusert hudkreft. Celler er defekte i NER
XPB	Leseramme ¹	Tidlig embryonal letal

XPC	KO	Normal mus, men disponert for UV-indusert hudkreft. Celler er defekte i NER
XPD	KO	Tidlig embryonal letal
XPD	Aa-substitusjon ²	Redusert størrelse, sykklisk hårfall og UV-sensitiv
XPG	KO	Mus med vekstretardasjon og kort livslengde
CSA	KO	Mindre vekstretardasjon og nevrologiske defekter
CSB	KO	Mindre vekstretardasjon og nevrologiske defekter

- Forkortelser: NER, nukleotidutkittingsreparasjon; CS, Cockaynes syndrom; TTD, trichothiodystrofi; XP, xeroderma pigmentosum; Aa, aminosyre; KO, knockout
- ¹ Leserammemutasjon som tilsvarer mutasjon i human pasient
- ² Aminosyresubstitusjon som tilsvarer mutasjon i human pasient

I 1987 ble det for første gang produsert ES-celler (embryonale stamceller) med spesifikk inaktivering av et bestemt gen ved hjelp av homolog rekombinasjon (se knockoutmusillustrasjon) (44). Allerede i 1994 var flere musemodeller for nukleotidutkittingsreparasjon konstruert (tab 2) (39). På flere områder har disse musemodellene bekreftet tidligere studier og ikke minst gjort det mulig å studere effekten av mutasjoner i spesifikke domener av genene. Dette gjelder blant annet det kanskje mest studerte genet i forbindelse med nukleotidutkittingsreparasjon og transkripsjon, *XPD*. Ved sekvensering av genet fra humane pasienter ble det bare funnet mutasjoner som førte til enkle aminosyresubstitusjoner. Ved å slå ut hele *XPD*-genet i mus (KO) viste det seg at musen døde svært tidlig under embryoutviklingen, sannsynligvis før det befruktete egget delte seg til to celler (45). Tilsvarende resultat ble funnet for *XPB*-genet. Genproduktet av *XPB* har sannsynligvis samme helikaseaktivitet som *XPD*, men med motsatt orientering. Ved konstruksjon av en musemodell med den samme aminosyresubstitusjonen i *XPD* som den man finner i to humane pasienter (R722W; det vil si arginin-til-tryptofan-substitusjon i posisjon 722 på *XPD*-proteinet, fig 4) ble det funnet overraskende mange likhetstrekk mellom de kliniske symptomene i musen og dem man kjente fra de humane TTD-pasientene (fig 5) (46). Disse inkluderer sykklisk hårtap, unormal utvikling, redusert livslengde og hudforandringer. Det ble konkludert med at fenotypen skyldes redusert transkripsjon av hudspesifikke gener samt redusert DNA-reparasjonsaktivitet. Det er også produsert en mus med samme genetiske defekt som en human pasient med Cockaynes syndrom (CSB). Musen viser alle de samme reparasjonsdefektene som dem man finner i humane

CSB-celler: UV-sensitivitet, inaktivering av transkripsjonskoblet reparasjon og blokkering av RNA-syntese etter UV-skade (47). Det er imidlertid én stor forskjell mellom musemodellene for *XPD* (trichothiodystrofi) og CSB og de humane pasientene. Musene har økt risiko for å utvikle hudkreft. Den sannsynlige forklaringen på dette er at det i humane celler er en mer effektiv generell reparasjon av UV-skader enn hos gnagere. De øvrige musene med defekter i XP-gener viser ulike fenotyper (tab 2), men i alle tilfeller finner man flere fellestrekk med humane pasienter (39).

Musemodeller med MMR-defekter

Flere gener involvert i "mismatch"-reparasjon er mutert i musemodeller. *MSH2* var det første genet som ble koblet til arvetidlig colonkreft (32), og var også et av de første "mismatch"-genene som ble inaktivert i mus (48, 49). Homozygot knockoutmus for dette genet har redusert livslengde. 50 % dør før seks måneders alder og resten innen ett år (normalt vil en forsøksmus

leve om lag to år). Mus som dør unge, har ofte T-cellelymfomer. Etter om lag seks måneder utvikler de også hudkreft. Resultatene viser at MSH2-musen er en god modell for arvede ikke-polypøs kolonkreft. MSH6-knockoutmusen har et liknende, men noe mildere, sykdomsbilde (50). Halvparten av musene dør innen 10 – 11 måneder, mens resten når en alder på opptil 18 måneder. Forklaringen på dette ble funnet ved biokjemisk rekonstituering av reparasjonsveien med rensede proteiner. Testen viste at MSH6-defekte ekstrakter fra celler ikke kunne reparere enkeltbasefeil, mens de fortsatt kunne reparere inserasjoner og delesjoner på en til fire baser. Inaktivering av mutL-homologen *Mlh1* medfører sterilitet og disposisjon for kreft (51). Steriliteten forklares ved defekt meiose både hos hunnmusen og hannmusen, mens ustabile mikrosatellittsekvenser regnes å være forklaringen på kreftdisposisjonen. En grundig gjennomgang av ”mismatch”-reparasjonsdefekte mus er publisert av Heyer og medarbeidere (52).

Modellsystemer i gjær og bakterier

Denne artikkelen har beskrevet DNA-reparasjonssystemer i humane celler/pasienter, samt for musemodeller. Det er viktig å være klar over at alle grunnleggende studier på området er gjort ved å benytte bakterier (*E coli*) og gjær (*S cerevisiae* og *S pombe*) som modellsystemer. I disse enkle organismene finnes reparasjonssystemer som er overraskende like dem man finner hos pattedyr (7, 9). Den største forskjellen er ofte at en prosess som i en bakterie bare behøver noen få enzymer (fem enzymer er nødvendige for nukleotidutkutterreparasjon i *E coli*), for pattedyr ofte involverer mange enzymer og proteinkomplekser (over 30 proteiner er involvert i nukleotidutkutterreparasjon i humane celler).

Isolering og karakterisering av mutante organismer har gjennom alle år vært avgjørende for å undersøke den normale betydning av genfunksjoner i ulike organismer. Det har lenge vært enkelt å produsere slike mutanter i bakterier (*E coli*), gjær (*S cerevisiae* og *S pombe*) og bananflue (*D melanogaster*). Dette er en viktig årsak til at nettopp disse organismene er benyttet innen molekylærbiologiske studier. Innenfor DNA-reparasjon har det også vært mulig å klonere humane genfunksjoner ved funksjonell komplementering av vel karakteriserte *E coli*-mutanter (9). Dette ble gjort ved å transformere den sensitive *E coli*-stammen med et humant cDNA-ekspresjonsbibliotek. Ved slike komplementasjonsstudier vil man finne det genet (enzymet) fra humane celler som komplementerer det defekte genet i *E coli*-mutanten. Et utmerket eksempel på at slike modeller fortsatt er helt sentrale for å øke forståelsen av sykdomsutvikling hos mennesker, kommer fra gjærmutanten *RAD27*. Dette genet er homologt til det humane FEN-1 (flap endonuklease-1), som er involvert under DNA-reparasjon og som fjerner 5' enkelttrådede DNA-sekvenser (12). Studier av *RAD27*-mutanten i gjær viser en rekke interessante genetiske defekter. Disse inkluderer DNA-dobbeltråddbrudd, høy mutasjonsfrekvens og mikrosatellitt ekspansjon (53). Det antas at FEN-1 kan være involvert i beskyttelse mot genetiske sykdommer som Huntingtons sykdom, fragil X-syndrom (begge skyldes mikrosatellitt ekspansjon) og kreft.

Konklusjon

De siste ti år er en rekke gener som er involvert i DNA-reparasjon klonet, og defekter i slike gener er vist å være den direkte årsak til en rekke humane syndromer. DNA-reparasjonsdefekter medfører et bredt spekter av kliniske tilstander. Disse inkluderer ofte dvergvekst og disposisjon for ulike kreftformer. Det er fortsatt mye arbeid igjen for å karakterisere den molekylære bakgrunnen for de kliniske symptomene, i og med at mange av genene er involvert i ulike DNA-reparasjonsveier – og ofte også i andre cellulære prosesser. Listen over DNA-reparasjonsgener som medfører humane kliniske symptomer utvides stadig, og etter hvert som sekvenseringen av det humane genomet nærmer seg avslutning, vil denne karakteriseringen skyte ytterligere fart. I tillegg til å medføre økt kreftrisiko mistenkes flere DNA-reparasjonsgener i defekt tilstand å kunne øke pasientens sensitivitet overfor strålebehandling og kjemoterapi. En diagnose for en slik disposisjon vil være avgjørende for individuell effektiv behandling. Etablering av

musmodell for slike defekter gir et unikt materiale for å undersøke gener som er involvert i initiering av tumorer, og vil være av uvurderlig betydning for utvikling av nye behandlingsmetoder innen humanmedisin.

Jeg takker Elisabeth Larsen og Tone Tønjum ved Rikshospitalet og Helge Klungland ved Norges landbrukshøgskole for kommentarer og rettelser til manuskriptet.

LITTERATUR

1. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993; 362: 709 – 15.
2. Lindahl T, Nyberg B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* 1972; 11: 3610 – 8.
3. Klungland A, Rosewell I, Hollenbach S, Larsen E, Daly G, Epe B et al. Accumulation of pre-mutagenic lesions in the DNA of mice defective in the removal of oxidative DNA base damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 13300 – 5.
4. Woods CG. DNA repair disorders. *Arch Dis Child* 1998; 78: 178 – 84.
5. Lindahl T, Karran P, Wood RD. DNA excision repair pathways. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 158 – 69.
6. Krokan HE, Slupphaug G. DNA-reparasjonsenzymmer og deres gener. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1998; 118: 2037 – 43.
7. Lindahl T, Wood RD. Quality control by DNA repair. *Science* 1999; 286: 189 – 95.
8. Krokan HE, Nilsen H, Skorpen F, Otterlei M, Slupphaug G. Base excision repair of DNA in mammalian cells. *FEBS Lett* 2000; 476: 73 – 7.
9. Seeberg E, Eide L, Bjørås M. The base excision repair pathway. *Trends Biochem Sci* 1995; 20: 391 – 7.
10. Kubota Y, Nash RA, Klungland A, Schär P, Barnes DE, Lindahl T. Reconstitution of the DNA base excision repair with purified human enzymes – interaction between DNA polymerase β and XRCC1. *EMBO J* 1996; 15: 6662 – 70.
11. Klungland A, Höss M, Gunz D, Constantinou A, Clarkson SG, Bolton P et al. Base excision-repair of oxidative DNA damage activated by XPG protein. *Mol Cell* 1999; 3: 33 – 42.
12. Klungland A, Lindahl T. Second pathway for completion of human DNA base excision-repair: reconstitution with purified proteins and requirement for DNase IV (FEN1). *EMBO J* 1997; 16: 3341 – 8.
13. De Boer J, Hoeijmakers JHJ. Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis* 2000; 21: 453 – 60.
14. Cleaver JE. Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature* 1968; 218: 652 – 6.
15. Aboussekhra A, Biggerstaff M, Shivji MK, Vilpo JA, Moncollin V, Podust VN et al. Mammalian DNA nucleotide excision repair reconstituted with purified protein components. *Cell* 1995; 80: 859 – 68.
16. Svejstrup JQ, Wang Z, Feaver WJ, Wu X, Bushnell DA, Donahue TF et al. Different forms of TFIIH for transcription and DNA repair: holo-TFIIH and a nucleotide excision repairosome. *Cell* 1995; 80: 21 – 8.
17. Jiricny J. Mediating mismatch repair. *Nature Genetics* 2000; 24: 6 – 8.
18. Ellis NA, German J. Molecular genetics of Bloom's syndrome. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1457 – 63.

19. Ellis NA, Groden J, Ye TZ, Straughen J, Lennon DJ, Ciocchi S et al. The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 1995; 83: 655 – 66.
20. Yu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F, Alisch R et al. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science* 1996; 272: 258 – 62.
21. Wilda M, Demuth I, Concannon P, Sperling K, Hameister H. Expression pattern of the Nijmegen breakage syndrome gene, Nbs1, during murine development. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1739 – 44.
22. Gatti RA, Berkel I, Boder E, Braedt G, Charmley P, Concannon P et al. Localization of an ataxia-telangiectasia gene to chromosome 11q22 – 23. *Nature* 1988; 336: 577 – 80.
23. Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 1995; 268: 1749 – 53.
24. Laake K, Ødegård A, Andersen TI, Bukholm IK, Karesen R, Nesland JM et al. Loss of heterozygosity at 11q23.1 in breast carcinomas: indication for involvement of a gene distal and close to ATM. *Gen Chrom Canc* 1997; 18: 175 – 80.
25. Strathdee CA, Gavish H, Shannon WR, Buchwald M. Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature* 1992; 356: 763 – 7. (Published erratum 1992: 434.)
26. Van Steeg H, Kraemer KH. Xeroderma pigmentosum and the role of UV-induced DNA damage in skin cancer. *Mol Med Today* 1999; 5: 86 – 94.
27. Wood RD. DNA repair in eucaryotes. *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 135 – 67.
28. Baynton K, Fuchs RPP. Lesions in DNA: hurdles for polymerases. *Trends Biochem Sci* 2000; 25: 74 – 9.
29. Taylor EM, Broughton BC, Botta E, Stefanini M, Sarasin A, Jaspers NGJ et al. Xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy are associated with different mutations in the XPD (ERCC2) repair/transcription gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8658 – 63.
30. Le Page F, Kwoh EE, Avrutskaya A, Gentil A, Leadon SA, Sarasin A et al. Transcription-coupled repair of 8-oxoguanine: requirement for XPG, TFIIH, and CSB and implications for Cockayne syndrome. *Cell* 2000; 101: 159 – 71.
31. Le Page F, Klungland A, Barnes DE, Sarasin A, Boiteux S. Transcription coupled repair of 8-oxoguanine in murine cells: The Ogg1 protein is required for repair in non transcribed sequences but not in transcribed sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8397 – 402.
32. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75: 1027 – 38. (Published erratum 1994: 167.)
33. Børresen-Dale A-L, Boman H. Arvelige kreftsykdommer. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1988; 118: 1873 – 7.
34. Andersson KB, Skålhegg BS. Genetisk skreddersøm av mus. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1998; 118: 3952 – 7.
35. Ludwig T, Chapman DL, Papaioannou VE, Efstratiadis A. Targeted mutations of breast cancer susceptibility gene homologs in mice: lethal phenotypes of Brca1, Brca2, Brca1/Brca2, Brca1/p53 and Brca2/p53 nullizygous embryos. *Genes Dev* 1997; 11: 1226 – 41.
36. Chen M, Tomkins DJ, Auerbach W, McKerlie C, Youssoufian H, Liu L et al. Inactivation of Fac in mice produces inducible chromosomal instability and reduced fertility reminiscent of Fanconi anemia. *Nat Genet* 1996; 12: 448 – 51.
37. Barlow C, Hirotsune S, Paylor R, Liyanage M, Eckhaus M, Collins F et al. Atm-deficient mice: a paradigm of ataxia telangiectasia. *Cell* 1996; 12: 159 – 71.
38. Wilson DM, Thompson LH. Life without DNA repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12754 – 7.

39. Friedberg EC, Meira LB. Database of mouse strains carrying targeted mutations in genes affecting cellular responses to DNA damage. Version 4. *Mutat Res* 2000; 459: 243 – 74.
 40. Bjørås M, Luna L, Johnsen B, Hoff E, Haug T, Rognes T et al. Opposite base-dependent reactions of a human base excision repair enzyme on DNA containing 7,8-dihydro-8-oxoguanine and abasic sites. *EMBO J* 1997; 16: 6314 – 22.
 41. Roldan-Arjona T, Wei YF, Carter KC, Klungland A, Anselmino C, Wang RP et al. Molecular cloning and functional expression of a human cDNA encoding the antimutator enzyme 8-hydroxyguanine-DNA glycosylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8016 – 20.
 42. Chevillard S, Radicella JP, Levalois C, Lebeau J, Poupon MF, Oudard S et al. Mutations in OGG1, a gene involved in the repair of oxidative DNA damage, are found in human lung and kidney tumours. *Oncogene* 1998; 16: 3083 – 6.
 43. Nilsen H, Rosewell I, Robins P, Skjelbred CF, Andersen S, Slupphaug G et al. UNG-deficient mice reveal a primary role of the uracil-DNA glycosylase enzyme during DNA replication. *Mol Cell* 2000; 5: 1059 – 65.
 44. Thomas KR, Capecchi MR. Site-directed mutagenesis by gene targeting in mouse embryo-derived stem cells. *Cell* 1987; 51: 503 – 12.
 45. De Boer J, Donker I, de Wit J, Hoeijmakers JH, Weeda G. Disruption of the mouse xeroderma pigmentosum group D DNA repair/basal transcription gene results in preimplantation lethality. *Cancer Res* 1998; 58: 89 – 94.
 46. De Boer J, De Wit J, Visser P, Morreau H, Duran M, Hoeijmakers JHJ et al. A mouse model for the basal transcription/DNA repair syndrome trichothiodystrophy. *Mol Cell* 1998; 1: 981–90.
 47. Van der Horst GT, van Steeg H, Berg RJ, van Gool AJ, de Wit J, Weeda G et al. Defective transcription-coupled repair in Cockayne syndrome B mice is associated with skin cancer predisposition. *Cell* 1997; 89: 425 – 35.
 48. Reitmar AH, Schmits R, Ewel A, Bapat B, Redston M, Mitri A et al. MSH2 deficient mice are viable and susceptible to lymphoid tumors. *Nat Genet* 1995; 11: 64 – 70.
 49. De Wind N, Dekker M, Berns A, Radman M, te Riele H. Inactivation of the mouse Msh2 gene results in mismatch repair deficiency, methylation tolerance, hyperrecombination, and predisposition to cancer. *Cell* 1995; 82: 321 – 30.
 50. Edelmann W, Yang K, Umar A, Heyer J, Lau K, Fan K et al. Mutation in the mismatch repair gene Msh6 causes cancer susceptibility. *Cell* 1997; 91: 467 – 77.
 51. Edelmann W, Cohen PE, Kane M, Lau K, Morrow B, Bennett S et al. Meiotic pachytene arrest in MLH1-deficient mice. *Cell* 1996; 85: 1125 – 34.
 52. Heyer J, Yang K, Lipkin M, Edelmann W, Kucherlapati R. Mouse models for colorectal cancer. *Oncogene* 1999; 18: 5325 – 33.
 53. Freudenreich CH, Kantrow SM, Zakian VA. Expansion and length-dependent fragility of CTG repeats in yeast. *Science* 1998; 279: 853 – 6.
-

Publisert: 10. januar 2001. Tidsskr Nor Legeforen.

© Tidsskrift for Den norske legeforening 2026. Lastet ned fra tidsskriftet.no 28. februar 2026.