



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Solusyklin normaali säätely ja sen häiriöt

Julia Rantala

Biologia

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

04.04.2024

Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Biologian laitos

Julia Rantala: Solusyklin normaali säätely ja sen häiriöt

Huhtikuu 2024

Solusykli on erilaisten solun sisäisten ja ulkoisten säätelytekijöiden tarkasti säätämä prosessi. Nämä säätelijät sekä solusyklin tarkistuspisteet eri vaiheiden siirtymäkohdissa varmistavat, että solunjakautuminen tapahtuu virheettömästi eikä solu etene seuraavaan syklin vaiheeseen ennen edellisen vaiheen loppumista. Solusykli pyritään pysäyttämään, mikäli kahdentuneessa DNA:ssa havaitaan virheitä. Tarpeen vaatiessa kasvunrajoitegeenien koodaamat proteiinit hillitsevät solun jakautumista ja ohjaavat solun apoptoosiin, mikäli virheitä ei pystytä korjaamaan korjausmekanismien avulla. Proto-onkogeneenien koodaamat proteiinit sekä erityisesti sykliinit ja sykliiniriippuvaiset kinaasit puolestaan vievät solusykliä eteenpäin. Näiden säätelytekijöiden mutatoituminen aiheuttaa usein solujen hallitsemattoman jakautumisen ja mahdollisesti solusykliä säätelevien signaaliteiden sammumisen tai liiallisen aktivaation. Solusyklin häiriöt ovat merkittäviä erityisesti syövässä, jossa solut jakautuvat hallitsemattomasti eivätkä reagoi ulkopuolelta tuleviin signaaleihin. Syöpähoidoissa solusyklin säätelijöihin vaikuttamalla voidaan palauttaa mutatoituneen geenin normaalitoiminta tai hiljentää yli-ilmentyviä geenejä, jolloin syöpäsolujen kasvu ja jakautuminen rajoittuu. Lisäksi syöpäsolut voidaan ohjata solukuolemaan vaikuttamalla apoptoosia sääteleviin signaaliteihin ja säätelyproteiineihin.

Avainsanat: solusykli, sykliinit, kasvunrajoitegeenit, proto-onkogeneenit, syöpä

SISÄLLYSLUETTELO

1	JOHDANTO	1
2	SOLUSYKLIN NORMAALI ETENEMINEN JA SÄÄTELY.....	2
2.1	Solusyklin vaiheet	2
2.2	Solusyklin tarkistuspisteet.....	4
2.3	Sykliinit ja sykliiniriippuvaiset kinaasit.....	6
2.4	p53-p21-RB-signalointi	9
2.4.1	p53.....	9
2.4.2	p21.....	10
2.4.3	Retinoblastoomaproteiini	11
3	SOLUSYKLIN VIRHEET JA SYÖPÄ.....	12
3.1	DNA-vaurioiden korjausmekanismit	13
3.2	Proto-onkogeenien mutatoituminen	16
3.3	Kasvunrajoitegeenien mutatoituminen.....	18
4	SÄÄTELYPROTEIINEIHIN KOHDISTUVAT SYÖPÄHOIDOT	22
5	YHTEENVETO	25
6	KIRJALLISUUS	26

1 JOHDANTO

Solusykli on sarja tapahtumia, joiden seurauksena solu jakautuu useiden vaiheiden ja säätelytekijöiden vaikutuksesta kahdeksi tytärsoluksi. Solusykli on erittäin tarkasti säädelty prosessi, jota säätelevät erilaiset solun sisäiset sekä solun ulkoiset säätelytekijät. Solunjakautuminen on aina riski solulle, joten kaikki erilaiset virhemahdollisuudet pyritään minimoimaan säätelytekijöiden ja korjausmekanismien avulla. Lisäksi syklin tärkeissä siirtymäkohdissa on tarkistuspisteitä, joiden tehtävä on varmistaa solusyklin oikeanlainen ja johdonmukainen eteneminen. Tarkistuspisteet varmistavat eri vaiheissa prosessien virheettömyyden ja sen, ettei solu etene syklin seuraavaan vaiheeseen liian aikaisin. Tarkistuspisteiden tehtävä on esimerkiksi varmistaa DNA:n virheetön kahdentuminen ja geneettisen materiaalin jakautuminen muodostuviin tytärsoluihin. Mikäli tarkistuspisteiden ja säätelytekijöiden toiminnassa esiintyy virheitä, ne voivat johtaa solun hallitsemattomaan jakautumiseen ja syövän kehittymiseen.

Säätelytekijöiden tehtävä on ohjata syklin etenemistä ja tarvittaessa pysäyttää solusykli tai ohjata solu apoptoosiin. Mikäli säätelytekijöiden toiminta on häiriintynyt, solusykli pääsee etenemään virheistä huolimatta syklin seuraaviin vaiheisiin. Normaalisti DNA-vauriot tai kromosomien vääränlainen konjugaatio pysäyttävät syklin, mutta mikäli esimerkiksi mutaatioiden vaikutuksesta säätelytekijät eivät pysty toimimaan oikein, ei virheitä voida korjata. Seurauksena voi olla virheiden kertyminen muodostuviin tytärsoluihin tai solu voi poistua kokonaan säätelytekijöidensä vaikutuksen alaisuudesta, jolloin solut alkavat jakautumaan hallitsemattomasti.

Tässä tutkielmassa käsittelen solusyklin normaalitoiminnan lisäksi solusyklin mahdollisia virheitä ja sitä, millainen rooli niillä on erityisesti syövän kehittämisessä. Merkittävimmät säätelytekijät ovat erilaiset sykliinit sekä sykliiniriippuvaiset kinaasit (CDK), joissa esiintyvät mutaatiot ovat erittäin haitallisia solun normaalille toiminnalle. Sykliinien lisäksi tärkeitä säätelytekijöitä ovat proto-onkogeenien koodaamat proteiinit, jotka edistävät solun jakautumista. Merkittäviä solusyklin säätelijöitä ovat myös kasvunrajoitegeenien koodaamat proteiinit, jotka puolestaan estävät solunjakautumista. Näiden geenien mutatoituminen ja sitä kautta proteiinien toiminnan muuttuminen ovat keskeisessä roolissa solusyklin häiriöissä ja syövän kehittämisessä. Siksi näiden eri säätelytekijöiden toiminnan ymmärtäminen on myös tärkeää erityisesti syöpähoitojen kehittämisessä.

2 SOLUSYKLIN NORMAALI ETENEMINEN JA SÄÄTELY

2.1 Solusyklin vaiheet

Mitoottisessa solusyklissä yhdestä somaattisesta solusta jakautuu monivaiheisten prosessien seurauksena kaksi identtistä tytärsolua. Solusyklissä vuorottelevat interfaasi eli välivaihe ja mitoottinen vaihe, jossa solu jakautuu (kuva 1). Interfaasin aikana solu kasvaa kokoa, kromosomit kahdentuvat ja solu valmistautuu jakautumaan. Interfaasin jälkeen solu jatkaa erilaisten säätelytekijöiden vaikutuksesta mitoottiseen vaiheeseen, jossa kahdentuneet kromosomit erkanevat toisistaan, soluaines jakautuu muodostuvien tytärsolujen kesken ja kaksi identtistä tytärsolua muodostuvat. Solusyklin kokonaiskesto ja syklin säätely vaihtelevat solutyypistä ja lajista riippuen.

Interfaasissa solun koko kasvaa ja proteiini- ja RNA-tuotanto on vilkasta. Kromosomit kahdentuvat ja spesifit säätelytekijät varmistavat replikoitumisen virheettömyyden ennen mitoottiseen vaiheeseen siirtymistä. Interfaasi voidaan jakaa kahteen kasvuvaiheeseen eli G-vaiheisiin sekä S-vaiheeseen eli synteisivaiheeseen. Solusykli alkaa interfaasin G1-vaiheesta, joka on solusyklin pisin vaihe. G1-vaiheessa solun koko kasvaa ja solun metabolia on vilkasta. G1-vaiheen jälkeen solu siirtyy S-vaiheeseen, jossa DNA kahdentuu ja solun kromosomiluku kaksinkertaistuu. Lisäksi eläinsoluilla kahdentuvat synteisivaiheessa myös sentriolit eli keskusjyväset. Viimeisenä vaiheena ennen mitoosia on syklin toinen kasvuvaihe eli G2-vaihe, jossa solu kasvaa edelleen ja valmistautuu jakautumaan.

Mitoottinen vaihe jaetaan edelleen mitoosiin ja sytokineesiin. Mitoosissa solun tuma jakautuu ja varsinainen solunjakautuminen tapahtuu sytokineesissä. Mitoosissa kahdentuneet kromosomit jakautuvat kahteen muodostuvaan tytärsoluun. Profaasissa eli mitoosin ensimmäisessä vaiheessa interfaasissa kahdentuneet kromosomit ovat tiiviisti pakkautuneina ja kahdentuneet sentrosomit kulkeutuneet solun vastakkaisiin pooleihin. Tumakalvo hajoaa ja tumasukkula muodostuu prometafaasissa, jonka jälkeen metafafaasissa kromosomit ovat asettautuneina jakotasoon ja sukkularihmat ovat kiinnittyneinä sisarkromatidien sentromeerikohdista. Anafaasissa sukkularihmat vetävät sisarkromatidit erilleen toisistaan kohti vastakkaisia pooleja ja telofaasissa eli mitoosin viimeisessä vaiheessa tumakotelo muodostuu uudelleen solun vastakkaisissa pooleissa olevien tytärkromosomien ympärille. Mitoosin lopuksi tumasukkula häviää ja tytärkromosomit dekonzensoituvat eli niiden pakkautuneisuus purkautuu.

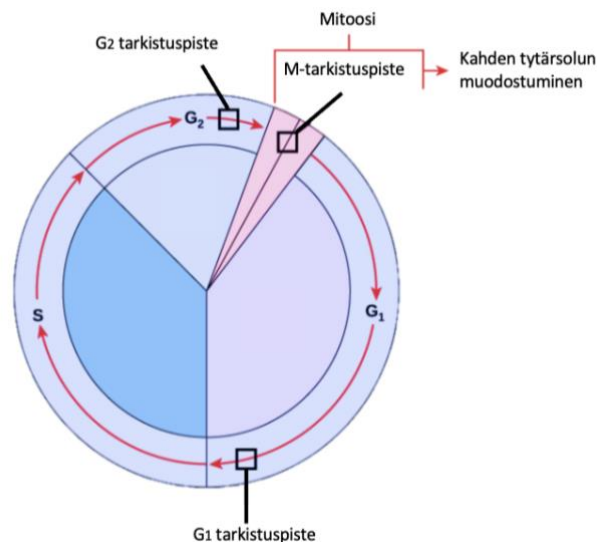
Mitoottisen vaiheen lopussa sytokineesissä sytosoli ja soluorganellit jakautuvat muodostuviin tytärsoluihin. Muodostuvat tytärsolut kuroutuvat toisistaan erilleen aktiinifilamenteista ja myosiinista muodostuvan supistusrenkaan avulla. Solujen jakautuminen tapahtuu yleensä symmetrisesti, mutta tumasukkulan sijainnin mukaan solu voi jakautua myös asymmetrisesti, jolloin muodostuvat tytärsolut voivat olla erikokoiset. Jokaisessa normaalissa mitoottisessa solusyklissä muodostuneisiin tytärsoluihin jakautuu kuitenkin sama perintöaines niin, että solut omaavat emosolunsa kanssa saman geneettisen informaation. Perimäaineksen siirtyminen muuttumattomana seuraavaan tytärsoluun on välttämätöntä monisoluisien eliöiden kasvun ja toiminnan kannalta.

Tarkan säätelyn ansiosta solusyklit voivat olla toisistaan poikkeavia riippuen esimerkiksi eliön sen hetkisestä kehitysvaiheesta. Eri lajien välillä ja solutyypin mukaan sekä mitoosin että muiden solusykliden vaiheiden pituus voi vaihdella tai joitakin vaiheita voi jopa puuttua kokonaan. Eläinsoluissa solusykliden pituus vaihtelee yleensä noin 16-24 tunnin välillä. Ihmisen solujen S-vaihe kestää noin 8 tuntia ja kasvuvaiheiden pituus vaihtelee aina muutamasta tunnista jopa kymmeneen tuntiin. Syklisen lyhin vaihe on mitoottinen vaihe, joka kestää noin tunnin. (Cooper, 2000.)

Erilaiset säätelytekijät ovat vastuussa solusykliden oikeaoppisesta ja virheettömästä etenemisestä vaiheesta toiseen. Ne varmistavat solun hallitun jakautumisen ja syklisen pysähtymisen tarpeen vaatiessa. Solusykli voi pysähtyä ennen kuin se tulee päätökseen, mikäli syklissä havaitaan virheitä tai sykliä ohjaavaa säätelytekijää ei ole ympäristössä. Kun solun solusykli on pysähtynyt, se on G₀-vaiheessa. Mikäli tarvittavia kasvutekijöitä on myöhemmin saatavilla, solu voi poistua G₀-vaiheesta ja sykli voi jatkua uudelleen normaalisti. Solun siirtyminen G₀-vaiheesta G₁-vaiheeseen on riippuvainen solunulkoisista mitogeenisistä signaaleista (Wang, 2021). Mitogeenit ovat signaalitekijöitä, kuten esimerkiksi proteiineja tai kasvutekijöitä, jotka säätelevät solusykliden alkamista ja edistävät mitoosia. Mitogeenien ilmentyminen G₀-vaiheessa olevissa soluissa saa aikaan solusykliden alkamiseen tarvittavien signaalireittien aktivoitumisen.

2.2 Solusyklin tarkistuspisteet

Solusyklin tärkeimmässä siirtymäkohdissa on tarkistuspisteitä, jotka varmistavat syklin etenemisen oikeassa järjestyksessä ja varmistavat, ettei solu etene syklin seuraavaan vaiheeseen liian aikaisin. Virheet solusyklissä johtavat normaalisti syklin pysähtymiseen tarkistuspisteiden toiminnan seurauksena. Mikäli virheitä ei voida korjata, solu ohjataan apoptoosiin, jotta virheet eivät pääse siirtymään eteenpäin muodostuviin tytärsoluihin. Tarkistuspisteiden tehtävä on varmistaa kromosomiston virheetön kahdentuminen ja geneettisen materiaalin jakautuminen muodostuviin tytärsoluihin. Tärkeimmät tarkistuspisteet ovat G1/S1-tarkistuspiste ennen DNA:n synteesiä, G2/M-tarkistuspiste ennen mitoosia ja metafaasi-anafaasi-tarkistuspiste ennen anafaasia (kuva 1).



Kuva 1. Solusyklin päävaiheet ja tarkistuspisteet. (Muokattu Wikimedia Commons 2016a)

Ensimmäinen tarkistuspiste G₁/S₁ säätelee solun siirtymistä ensimmäisestä kasvuvaiheesta synteisivaiheeseen. Solun eteneminen synteisivaiheeseen riippuu esimerkiksi DNA:n eheydestä, solun koosta ja soluorganellien määrästä. Mikäli kaikki kriteerit täyttyvät, solu jatkaa syklissä synteisivaiheeseen, jossa DNA kahdentuu. Mikäli huomataan virheitä esimerkiksi DNA:n eheydessä, solusykli pysähtyy ja virheet joko korjataan erilaisin korjausmekanismein tai solu ohjataan apoptoosiin. Ensimmäisessä tarkistuspisteessä solusykli on riippuvainen kasvutekijöiden välittämistä signaaleista,

mutta G1-vaiheen jälkeen solusyklin oikeanlainen eteneminen on muiden tarkistuspisteiden ja säätelymekanismien vastuulla.

G2/M tarkistuspisteessä säädellään solun siirtymistä mitooseen toisen kasvuvaiheen jälkeen. Tarkistuspisteessä varmistetaan, että DNA on kahdentunut kokonaan synteesivaiheessa ja mahdolliset virheet DNA:ssa korjataan ennen mitoottiseen vaiheeseen siirtymistä. Ennen mitoosia myös sentrosomien on kahdennuttava. Vauriot kromosomeissa johtavat solusyklin pysähtymiseen ja mikäli virheitä ei pystytä korjaamaan, solu ohjataan apoptoosiin. Tarkistuspisteen tärkeä säätelytekijä on mitoosia edistävä tekijä (engl. mitosis promoting factor, MPF), joka aktivoi solussa signaalireitit, jotka johtavat tumakalvon häviämiseen, tumasukkulan muodostumiseen sekä kromosomien kondensaatioon. MPF-kompleksin toimintaa inhiboivat spesifiset fosforyloivat kinaasit ja kompleksi aktivoituu vasta, kun Cdc25-fosfataasi poistaa MPF-kompleksista sen toimintaa inhiboivat fosfaatit (Sur & Agrawal, 2016). Mikäli DNA ei ole kahdentunut oikein, Cdc25 voidaan hajottaa, jolloin MPF-kompleksi pysyy inaktiivisena eikä solu pääse etenemään mitooseen.

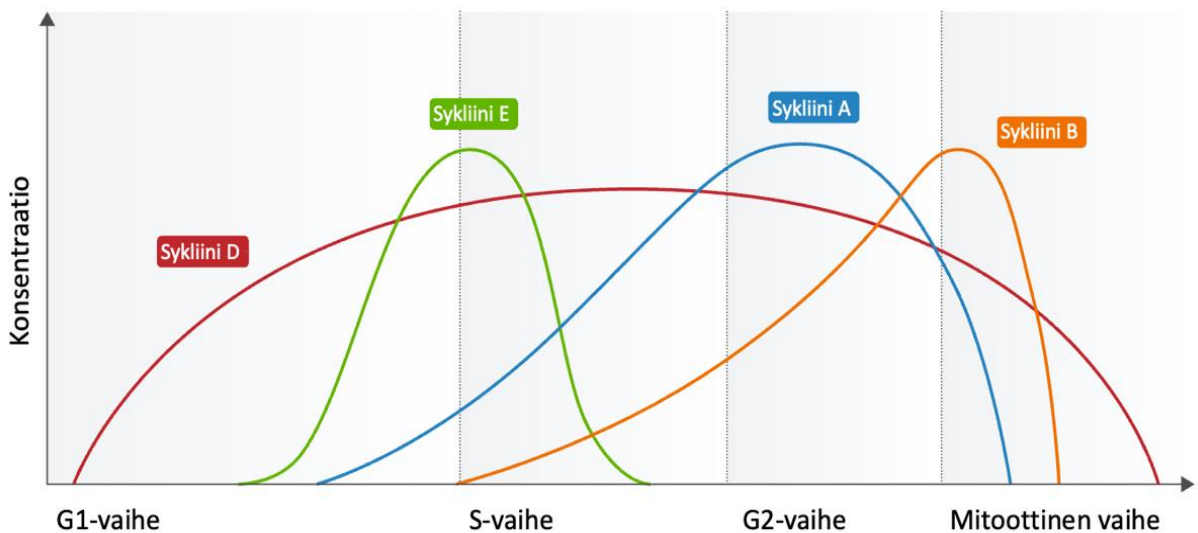
Metafaasi-anafaasi-tarkistuspisteessä eli viimeisessä tarkistuspisteessä ennen solun jakautumista varmistetaan, että tumasukkula on muodostunut oikein ja sukkularihmat ovat kiinnittyneet jakotasossa olevien kromosomien kinetokorialueille. Solu pääsee jatkamaan anafaasiin vasta, kun kaikki jakotasossa olevat kromosomit ovat kiinnittyneet sukkularihmoihin. Anafaasin aloituksessa tärkeä säätelytekijä on anafaasia edistävä kompleksi (engl. anaphase promoting complex, APC), joka säätelee sisarkromatidien erkaantumista. APC:n aktivoi Cdc20-proteiini, ja yhdessä ne muodostavat ubikitiiniligaasi-kompleksin, jonka toimesta sekuriini merkitään hajotettavaksi (Qiao ym., 2016). Sekuriini on tärkeä solunjakautumista säätelevä proteiini, sillä sen hajoaminen on edellytys sisarkromatidien erkaantumiselle ja siten solun siirtymiselle anafaasiin. Sekuriinin hajottaminen vapauttaa separaasin, joka puolestaan pilkkoo sisarkromatideja yhdessä pitävän kohesiinin ja näin sisarkromatidit pääsevät erkaantumaan.

Sisarkromatidien erkanemista säädellään tarkasti. Mikäli jakotasossa olevista kromosomeista löytyy vapaita kinetokorialueita, sekuriinin hajotus estetään, jolloin sisarkromatideja yhdessä pitävä kohesiini ei pääse pilkkoutumaan ja sisarkromatidit pysyvät yhdessä. Vapaisiin kinetokorialueisiin sitoutuu anafaasia inhiboivia Mad- ja Bub-proteiineja, jotka inhiboivat APC-kompleksia (Overlack ym., 2014). Mad-proteiini

sitoutuu Cdc20-proteiiniin, jolloin APC:n ja Cdc20:n muodostama ubikitiiniligaasi-kompleksi pysyy inaktiivisena ja sekuriinin hajotus estyy. Kun kaikkien kromosomien kinetokorialeuille on kiinnittyneinä mikrotubulukset, Mad ja Bub proteiinit inaktivoituvat ja Cdc20 aktivoituu, jolloin sekuriini hajotetaan ja kohesiinin pilkkova separaasi vapautuu ja sisarkromatidit pääsevät erkaantumaan.

2.3 Sykliinit ja sykliiniriippuvaiset kinaasit

Solusyklin tärkeimmät säätelijät ovat sykliinit ja sykliiniriippuvaiset kinaasit (engl. cyclin dependent kinase, CDK). Sykliinit ovat säätelyproteiineja, jotka aktivoivat solusyklin etenemistä sitoutumalla kohdekinaasiinsa eli sykliiniriippuvaiseen kinaasiin. Kinaasien toiminta perustuu niiden kykyyn fosforyloida proteiineja, ja siten aktivoida useita eri signaalireittejä, joita tarvitaan solusyklin etenemisen säätelyssä. Sykliinejä on lukuisia erilaisia ja kullakin sykliinillä on sille spesifinen kinaasi, johon sitoutumalla se säätelee solusyklin etenemistä. Kuvassa 2 esitetään yleisimpien sykliinien D, E, A ja B esiintyminen solusyklin eri vaiheissa.



Kuva 2. Sykliinien ilmentyminen solusyklin eri vaiheissa. (Muokattu Wikimedia Commons 2016b)

Sykliinit voidaan jakaa G1-sykliineihin ja G2-sykliineihin. G1-sykliinit kuten sykliini D ja sykliini E edistävät solun siirtymistä synteosivaiheeseen ja sykliini A ja sykliini B, jotka luokitellaan G2-sykliineihin, edistävät solun siirtymistä solunjakautumiseen. Tiettyt sykliinit esiintyvät vain tietyissä vaiheissa solusykliä, ja kun sykliiniä ei enää tarvita, se hajotetaan. Sykliiniin liitetään ubikitiinia spesifisen entsyymikompleksin avulla, jolloin proteasomit tunnistavat merkityn sykliinin ja hajottavat sen. Sykliiniriippuvaisia kinaaseja puolestaan ei hajoteta, mutta ne aktivoituvat vasta kun kinaasille spesifinen sykliini ilmenee solussa ja aktivoi kinaasin sitoutumalla siihen.

Sykliini D säätelee solusyklin aloitusta ja sen ilmentymisen G1-vaiheessa aikaansaavat erilaiset kasvutekijät, erityisesti mitogeenit. Sykliini D säätelee G1/S1 tarkistuspisteen toimintaa aktivoimalla tiettyjä transkriptiotekijöitä. Sykliini D osallistuu esimerkiksi retinoblastoomaproteiinin (RB-tekijä) fosforylaatioon, jolloin synteosivaiheessa tarvittavat E2F-geeniperheen transkriptiotekijät pääsevät aktivoitumaan. Defosforyloitunut retinoblastoomaproteiini estää solun siirtymisen syklissä eteenpäin, sillä se inhiboi solun kasvua ja jakautumista ollessaan kiinni seuraavassa vaiheessa tarvittavissa transkriptiotekijöissä. Kun sykliini D sitoutuu kohdekinaasiinsa CDK4/6:een ja aktivoi sen, aktivoitunut CDK4/6 fosforyloi solusyklin etenemistä inhiboivan retinoblastoomaproteiinin, jolloin spesifiset transkriptiotekijät vapautuvat. Transkriptiotekijöiden vapautuminen saa aikaan S-vaiheessa tarvittavien geenien ilmenemisen, kuten esimerkiksi sykliini E:n ja sykliini A:n synteosin.

Sykliini D saa solusyklistä poistuneet G0-vaiheessa olevat solut palaamaan solusykliin, mikäli sitä indusoidaan kyseisissä soluissa. Vaikka sykliini D toimii pääsääntöisesti solusykliä edistävänä tekijänä, sen hajottaminen ennen S-vaiheen alkua on kuitenkin tärkeää, sillä sen liiallisen määrän on osoitettu estävän DNA:n replikaatiota. Sykliini D:n pitoisuuden ollessa korkea se voi estää replikaation aloitusta sitoutumalla joko PCNA-proteiiniin (engl. proliferating cell nuclear antigen) tai CDK2:een (Fukami-Kobayashi & Mitsui, 1999), jolloin solusykli ei pääse etenemään S-vaiheeseen.

Sykliini E ilmenee G1-vaiheen lopussa ja sykliini D:n tapaan sykliini E fosforyloi retinoblastoomaproteiinia, jotta S-vaiheessa tarvittavat transkriptiotekijät pysyvät aktiivisina. Sykliini E:n sitoutuminen CDK2:een edistää solun siirtymistä G1-vaiheesta S-vaiheeseen. G1-vaiheen lopussa ennen solun siirtymistä synteosivaiheeseen sykliini E ja sen kohdekinaasin CDK2:n muodostama kompleksi kontrolloi pre-replikatiivisen kompleksin muodostumista. Pre-replikatiivinen kompleksi varmistaa, että DNA

kahdentuu vain kerran, ja että replikaation aloituskohdat määräytyvät oikein. Synteesivaiheen alkaessa osa kompleksista ja sen proteiineista fosforyloidaan ja hajotetaan, jotta synteesivaiheessa ei voi muodostua enää uusia aloituskohtia ja näin varmistetaan DNA:n kahdentuminen ainoastaan yhden kerran.

Sykliini A:n synteesi alkaa G1-vaiheen lopussa ja se voi aktivoida kaksi erilaista sykliinistä riippuvaa kinaasia, CDK1:n ja CDK2:n. Sykliini A on välttämätön säätelytekijä sekä DNA:n kahdentumisen käynnistymiselle että myöhemmässä vaiheessa solusykliä myös mitoosin alkamiselle. Sitoutuessaan CDK2:een sykliini A edistää solun siirtymistä G1-vaiheesta S-vaiheeseen ja sitoutuessaan CDK1:een se edistää solun siirtymistä mitoosiin (Jeffrey ym., 1995). Kun sykli etenee synteesivaiheeseen, sykliini A saa aikaan pre-replikatiivisen kompleksin hajoamisen osiin ja DNA:n synteesin käynnistymisen (Coverley ym., 2002). Sykliini A varmistaa, että DNA kahdentuu vain kerran yhden solusyklin aikana fosforyloimalla DNA:n replikoitumista sääteleviä proteiineja kuten CDC6:a ja MCM-proteiinikompleksia (Yam ym., 2002).

MCM-entsyymi (engl. minichromosome maintenance protein complex, MCM) on helikaasi, joka on välttämätön DNA:n replikoitumiselle ja replikaation kontrolloimisessa. Ishimi ym. tutkivat (2000) sykliini A:n vaikutusta Mcm4,6,7-helikaasin aktiivisuuteen. He osoittivat sykliini A:n fosforyloivan Mcm4,6,7-kompleksin Mcm4-proteiinia, jolla on tärkeä rooli kyseisen kompleksin helikaasiaktiivisuudessa ja siten DNA:n replikaation aloituksessa. He totesivat, että kompleksin inaktivoituminen fosforylaation seurauksena toimii säätelykeinona sille, ettei DNA:n kahdentuminen pääse tapahtumaan uudelleen myöhemmässä vaiheessa solusykliä.

Sykliini B:n määrä solussa nousee kun solu lähestyy mitoosia. Sykliini B:n ja siitä riippuvaisen kinaasin CDK1:n aktivoi Cdc25c-fosfataasi. Ennen mitoosia G2/M tarkistuspisteen tärkein säätelytekijä on sykliini B:n ja sen kohdekinaasin säätelemä mitoosia edistävä tekijä (MPF), joka ohjaa solun etenemisen G2-vaiheesta mitoosiin ja aktivoi mitoosissa tarvittavat signaalireitit. Mitoosin loppuvaiheessa sykliini B on hajotettava, jotta solu pääsee etenemään anafaasiin. Lisäksi CDK1:n on oltava inaktiivinen, jotta solu voi myöhemmin edetä sytokineesiin ja siten sykliini B:n hajottaminen on välttämätöntä mitoosin loppuvaiheessa (Fung & Poon, 2005). Kun sykliini B on hajonnut, CDK1 pysyy inaktiivisena ja solussa käynnistyy sytokineesi.

2.4 *p53-p21-RB-signalointi*

Kasvunrajoitegeenit ovat geenejä, joiden koodaamat proteiinit ovat solusyklin etenemistä ja solun jakautumista hidastavia. Ne säätelevät lukuisia solusyklissä tarvittavia transkriptiotekijöitä ja varmistavat tarvittaessa solusyklin pysähtymisen esimerkiksi inhiboimalla seuraavassa vaiheessa tarvittavia säätelytekijöitä ja ohjaamalla solun tarvittaessa apoptoosiin. Merkittävimmät kasvunrajoitegeenit ovat *p53*-geenin koodaama *p53*-proteiini sekä *RB1*-geenin koodaama retinoblastoomaproteiini. Lisäksi *p53* indusoi vahvasti *CDKN1A*-geeniä, joka koodaa *p21*-proteiinia. *p21* rajoittaa solusyklin etenemistä inhiboimalla sykliiniriippuvaisia kinaaseja. Yhdessä nämä kolme muodostavat *p53-p21-RB* signaalireitin ja kunkin yksittäisen geenin toiminta on vahvasti yhteydessä signaalireitin muihin tekijöihin.

2.4.1 *p53*

p53-kasvunrajoitegeenin koodaama *p53*-proteiini on yksi merkittävimmistä säätelijöistä solun jakautumisessa, erityisesti DNA:n virheiden korjaamisessa sekä apoptoosin säätelyssä. *p53* määrä solussa nousee, mikäli DNA:n kahdentumisessa havaitaan virheitä. Mikäli DNA:ssa havaitaan vaurio, *p53* fosforyloituu ja aloittaa toimintansa tumassa transkriptiofaktorina säädellen muiden geenien ilmenemistä. *p53*:n määrän noustessa se aktivoi DNA:n korjausmekanismeja sääteleviä geenejä, jotka koodaavat erilaisia DNA-vaurioita korjaavia proteiineja. *p53*-pitoisuuden noustessa merkittävästi, sen toiminta voi myös johtaa solun apoptoosiin. Mikäli DNA-vaurioita ei saada korjattua, *p53*-pitoisuus nousee solussa korkealle ja solu ohjataan apoptoosiin Bax-proteiinin välityksellä.

On osoitettu, että *p53*-pitoisuuden nousu voi saada aikaan solun pysähtymisen G2-vaiheeseen estämällä sykliini B:n transkription. Krause ym. osoittivat (2000) *p53*-pitoisuuden nousun saavan aikaan B2-tyypin sykliinin transkription vaimentumisen. He tutkivat sykliinin B1 ja sykliinin B2 lähetti-RNA:n määrää indusoimalla *p53* transkriptiotekijää soluviljelmässä sekä myös *p53*:n suoraa vaikutusta sykliini B2:ta koodaavan geenin promoottorialueella. He totesivat, että *p53*-pitoisuuden nousu saa aikaan sykliini B:n ilmentymisen vaimentumisen. Aikaisemmin on jo osoitettu toisen sykliini B-tyypin eli sykliini B1:n olevan *p53*:n vaimentama (Innocente ym., 1999; Taylor

ym., 1999), joten Krause ym. (2000) tutkittua p53:n vaikutusta myös B2-sykliiniin, he vahvistivat päätelmän siitä, että sekä sykliini B1:tä ja sykliini B2:ta koodaavat geenit ovat p53:n vaimentamia.

Normaalisti p53 pitoisuutta solussa kontrolloi MDM2-proteiini, joka toimii p53-proteiinin inhibiittorina sitoutumalla siihen edistäen sen hajottamista sytoplasmassa sekä myös estämällä p53:n transkriptiota. p53:n fosforylaatio saa kuitenkin aikaan sen vapautumisen MDM2-proteiinilta, jolloin p53 aktivoituu ja kykenee toimimaan transkriptiotekijänä säädellen solusyklin muita säätelytekijöitä. p53 voi esimerkiksi aktivoida GADD45-transkriptiofaktorin toiminnan, joka voi saada aikaan solu syklin pysähtymisen, DNA:n korjaamisen käynnistymisen tai apoptoosin (Tamura et al., 2012). p53 voi saada aikaan solusyklin pysähtymisen myös aktivoimalla p21-proteiinin, joka voi pysäyttää solusyklin inhiboimalla useita syklinistä riippuvaisia kinaaseja.

2.4.2 p21

p21 on *CDKN1A*-geenin koodaama proteiini, joka toimii inhibiittorina syklinistä riippuvaisille kinaaseille. p21:n sitoutuminen esimerkiksi CDK2:een estää solusyklin etenemisen G1/S tarkistuspisteestä, joten sillä on merkittävä rooli solusyklin pysäyttäjänä ja inhiboijana. Normaalisti sykliini D ja sykliini E fosforyloivat kinaasiaktiivisuudellaan RB-tekijää, jolloin S-vaiheessa tarvittavat transkriptiotekijät vapautuvat. p21:n sitoutuminen sykliiniriippuvaaseen kinaasiin estää kuitenkin kompleksin toiminnan, jolloin RB-tekijä inhiboi S-vaiheessa tarvittavien säätelytekijöiden vapautumista eikä solu siten pääse etenemään syklissä eteenpäin. p21 on vahvasti p53:n indusoima, mutta sen toiminta ei ole kuitenkaan täysin riippuvainen p53:sta.

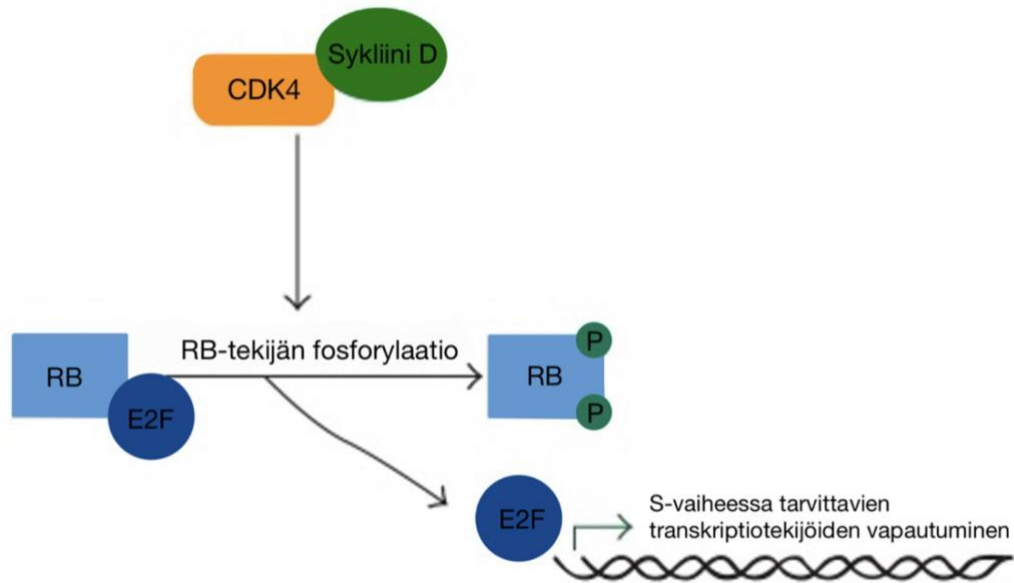
p21 toimii myös apoptoosia inhiboivana tekijänä ja siten antaa aikaa DNA:n korjausmekanismeille. Se inhiboi tarpeen vaatiessa DNA:n replikaatiota ja säätelee DNA:n korjaukseen tarvittavia mekanismeja. On osoitettu, että p21:n puuttuminen solussa saa aikaan solun DNA:n korjausmekanismien puutteellisen toiminnan. McDonald ym. (1996) tutkivat DNA-vaurioiden vaikutusta soluihin, joissa p21:n määrä oli puutteellinen. He totesivat, että p21-puutteellisissa soluissa DNA:n korjaustehokkuus oli alhaisempi kuin p21-proteiinia ilmentävissä soluissa. Lisäksi p21 inhiboi DNA:n synteesin alkamista sitoutumalla PCNA:han, jolloin PCNA:n toiminta estyy eikä DNA-

polymeraasi pääsee kiinnittymään DNA-juosteeseen, jolloin synteesivaihe ei pääse alkamaan.

2.4.3 Retinoblastoomaproteiini

Retinoblastoomaproteiini (RB-tekijä) on *RB1*-geenin koodaama proteiini, jonka tehtävä on hillitä solunjakautumista. RB-tekijä muodostaa p107- ja p130-proteiinien kanssa ”taskuproteiiniperheen” (engl. pocket protein family), jonka tehtävä on hillitä solun siirtymistä DNA:n synteesivaiheeseen säätelemällä E2F-transkriptiotekijöiden toimintaa ja siten solusyklin seuraavassa vaiheessa tarvittavien geenien ilmenemistä (Cobrinik, 2005). Taskuproteiineja ovat RB-tekijän lisäksi p130- ja p107-proteiinit, jotka ovat RB-tekijän kaltaisia, mutta omaavat affiniteetin eri transkriptiofaktoreihin. On osoitettu, että RB-tekijä estää erityisesti E2F-geeniperheeseen kuuluvan E2F1-transkriptiotekijän ubikitoinnista ja hajotuksen proteasomien toimesta, ja siten stabiloi sen toimintaa (Campanero & Flemington, 1997) säädellen solusyklin etenemisessä tarvittavien geenien aktivoitumista.

RB-tekijän ollessa defosforyloitu, se on sitoutuneena E2F-geeniperheen transkriptiotekijöihin, jotka säätelevät useita DNA:n synteesiin ja solusyklin etenemiseen tarvittavia geenejä. Kun solu on valmis siirtymään synteesivaiheeseen, RB-tekijää fosforyloidaan sykliiniriippuvaisen kinaasin toimesta ja E2F-geeniperheen transkriptiotekijät vapautuvat, jolloin ne pystyvät aktivoimaan solusyklin etenemiseen tarvittavia geenejä ja siten säätelemään solusyklin etenemistä (Kuva 3). RB-tekijän fosforylaatio on riippuvainen sykliiniriippuvaisten kinaasien toiminnasta ja epäsuorasti myös muista kasvunrajoitegeeneistä. Esimerkiksi p53-pitoisuuden nousu solussa aktivoi suoraan p21-proteiinia koodaavan geenin, jolloin p21-proteiini pääsee tarvittaessa inhiboimaan sykliiniriippuvaisten kinaasien toimintaa, minkä seurauksena RB-tekijää ei pystytä fosforyloimaan, eikä solusykli pääse etenemään.



Kuva 3. Retinoblastoomaproteiinin fosforylaatio sykliini D/CDK4 kompleksin toimesta vapauttaa S-vaiheessa tarvittavat transkriptiotekijät (Muokattu Wikimedia Commons 2020).

3 SOLUSYKLIN VIRHEET JA SYÖPÄ

Virheet ja mutaatiot solusyklin säätelijäproteiineja koodaavissa geneissä voivat johtaa solun hallitsemattomaan jakautumiseen, genomien epävakauteen, DNA-virheiden siirtymiseen seuraaviin tytärsoluihin, sekä välttämättömien signaalireittien toiminnan häiriintymiseen. Mutaatioiden seurauksena riski syövälle kasvaa ja erityisesti virheet DNA:n korjausmekanismeissa, solusykliä edistävissä proto-onkogeneissa ja solunjakautumista estävissä kasvunrajoitegeneissa ovat merkittäviä syövän kannalta.

Esimerkiksi kasvunrajoitegeenin koodaamien proteiinin toimimattomuus voi saada solun jakautumaan hallitsemattomasti, kun taas proto-onkogeneiden kohdalla niiden koodaamien proteiinien yli-ilmentyminen edistää solusyklin etenemistä tarpeettomasti ja voi saada solun jakautumaan hallitsemattomasti. Jo yhden solusyklin säätelyyn osallistuvan geenin mutatoituminen voi olla merkittävää syövän kannalta, sillä solusykliä säätelevät proteiinit ovat tiiviissä vuorovaikutuksessa keskenään, jolloin jo yksi toimimaton proteiini voi saada aikaan useiden tärkeiden signaalireittien toiminnan muuttumisen.

Geenivirheet voivat olla joko perinnöllisiä tai ympäristön vaikutuksesta syntyneitä. Syöpä ei periydy koskaan suoraan jälkeläisille, mutta tietyt geenivirheet voivat lisätä syöpään sairastumisen riskiä merkittävästi. Tietyissä syöpään altistavissa geenivirheissä riittää usein pelkästään toiselta vanhemmalta peritty virheellinen alleelimuoto. Myöhemmin ympäristön vaikutuksesta toisen alleelin mutatoituminen saa aikaiseksi toimimattoman tai virheellisen proteiinin. Lisäksi epigeneettiset muutokset voivat aiheuttaa geeniluennan hiljenemisen, jolloin tiettyä proteiinia ei pystytä tuottamaan solussa.

Tyypillisiä piirteitä syöpäsoluille ovat häiriöt solunjakautumista, erilaistumista ja selviytymistä säätelevissä mekanismeissa, jolloin syöpäsolujen jakautuminen alkaa tapahtua hallitsemattomasti säätelytekijöistä riippumatta. Mekanismin toimimattomuus on usein seurausta kasvunrajoitegeenien inaktivoitumisesta, proto-onkogeenien yli-ilmentymisestä tai virheistä DNA:n korjausmekanismeissa. Nämä virheet voivat johtaa edelleen seuraavien säätelytekijöiden toimimattomuuteen tai yli-ilmentymiseen, jolloin solusyklin normaalitoiminta häiriintyy. Lisäksi syövälle tyypillistä on apoptoosiin johtavien signaalireittien sammuminen, sekä myöhemmissä vaiheissa verisuonten ja etäpesäkkeiden muodostuminen, joiden avulla syöpäsolut pääsevät levittäytymään muualle elimistöön.

3.1 DNA-vaurioiden korjausmekanismit

Solu pyrkii erilaisin korjausmekanismein korjaamaan DNA:ssa mahdollisesti tapahtuneet virheet, jotta ne eivät siirry eteenpäin ja kerry seuraaviin soluihin. Virheitä voi tapahtua esimerkiksi DNA:n kahdentuessa tai DNA:han voi syntyä mutaatioita erilaisten mutageenien kuten säteilyn, kemikaalien tai karsinogeenien seurauksena. Kun virhe havaitaan, solusykli pyritään pysäyttämään ja virhe korjaamaan. Mikäli virheitä ei saada korjattua, solu ohjataan apoptoosiin. Jos korjausmekanismit eivät kuitenkaan toimi oikein, virheet perimässä siirtyvät seuraaviin tytärsoluihin ja riski syövän kehittymiselle kasvaa.

Virheiden korjauksessa käytettävät DNA:n korjausmekanismit riippuvat sekä vaurion tyypistä että solusyklin vaiheesta. Yleisimmät mekanismit DNA:n kaksoisjuosteen vaurioiden korjauksessa ovat homologinen rekombinaatio (engl. homologous recombination, HR) ja ei-homologisten päiden yhdistäminen (engl. non homologous end

joining, NHEJ). Homologisessa rekombinaatiossa DNA-virheiden korjaus tapahtuu käyttämällä mallina sisarkromatidin vahingoittumatonta sekvenssiä, jolloin korjauksessa mahdollisesti syntyvien virheiden todennäköisyys on erittäin pieni. Tätä HR-mekanismia käytetään pääsääntöisesti korjaamaan ennen mitoosia S-vaiheessa ja G2-vaiheessa tapahtuneet DNA:n kaksoisjuosteen vauriot.

G1-vaiheessa sekä mitoottisessa vaiheessa kromosomit ovat tiiviisti pakkautuneita, mikä tekee virheiden korjaamisesta vaikeaa HR-mekanismilla (Branzei & Foiani, 2008). Tästä syystä edellä mainituissa vaiheissa DNA:n kaksoisjuosteen vauriot korjataan pääsääntöisesti NHEJ-mekanismilla, jossa DNA:n ei-homologiset päät yhdistetään käyttämättä mallina sisarkromatidin sekvenssiä. Yhteen liitettävät DNA-juosteet muokataan tarvittaessa yhteensopiviksi ja juosteet yhdistetään ligaasi-entsyymien avulla. Muokkauksen yhteydessä juosteesta voi kuitenkin hävitä tai vaurioitua tärkeitä kohtia, jolloin rekombinaatiota ja virheitä syntyy herkemmin kuin HR-mekanismilla.

DNA:n korjausmekanismit solussa käynnistää DNA-vauriovaste (engl. DNA damage response, DDR), jonka tärkeimmät säätelytekijät ovat ATM- ja ATR-kinaasit. Edellä mainitut kinaasit aktivoituvat vasteena DNA-vaurioon ja fosforyloivat edelleen muita kinaaseja ja säätelytekijöitä, jotka voivat saada aikaan solusyklin pysähtymisen, DNA-vaurioiden korjausmekanismien aktivoitumisen tai apoptoosin (Maréchal & Zou, 2013). ATM- ja ATR-kinaasit havaitsevat muun muassa poikkeavuudet kromatiinin eheydessä tai aukot kaksijuosteisessa DNA:ssa. Ne säätelevät tärkeitä mekanismeja, jotka ovat välttämättömiä HR- ja NHEJ-korjausmekanismien toimimisen kannalta. Aikaisemmin luultiin ATM- ja ATR-kinaasien toimivan täysin riippumatta toisistaan, mutta Jazayeri ym. osoittivat (2006), että ATR-kinaasin aktivaatio vaatii toimiakseen sekä ATM-kinaasin että sykliiniriippuvaisten kinaasien toiminnallisen aktiivisuuden. Mutaatioiden näitä proteiinkinaaseja koodaavissa geneeissä on todettu olevan yhteydessä useisiin eri syöpiin (Jackson & Bartek, 2009).

ATM- ja ATR-kinaasit reagoivat erityyppisiin DNA-vaurioihin. ATM toimii pääsääntöisesti DNA:n kaksoisjuosteeseen syntyneiden vaurioiden korjauksessa. Aktivoituttuaan ATM saa aikaan kromatiinin rakennemuutoksia fosforyloimalla H2AX-histonia, mikä johtaa lukuisten korjaustekijöiden aktivointiin ja muun muassa kromatiinin dekondensoitumiseen, jolloin korjausmekanismit pääsevät helpommin vaurioituneen DNA:n luokse (Branzei & Foiani, 2008). Lisäksi ATM-kinaasin on myös osoitettu

vuorovaikuttavan PCNA-proteiinin kanssa ja sitä kautta osallistuvan DNA:n kahdentumisen säätelyyn (Gamper ym., 2012).

ATR-kinaasi puolestaan aktivoituu synteesivaiheessa solun havaitessa yksijuosteista DNA:ta tai pysähtyneitä replikaatiohaarukoita (Branzei & Foiani, 2008). ATR:n roolia on tutkittu myös kromosomien päiden eli telomeerien suojaamisessa. DDR-vaste tunnistaa kriittisen lyhyet telomeerit. Tutkittuaan ATR:n toimintaa McNees ym. (2010) osoittivat, että ATR kykenee tunnistamaan lyhyet telomeerit ja suojaamaan niitä hajoamiselta. Lisäksi he totesivat, että alhainen ATR-taso lisää telomeerien haurautta. Telomeerien rooli on suojata geneettistä informaatiota sisältävää DNA:ta, joten niiden haurastumisen estäminen on tärkeä tehtävä perimän ehjänä säilyttämisen kannalta.

Tärkeimmät ATM:n ja ATR:n säätelemät kinaasit ovat tarkistuspistekinaasi 1 (engl. checkpoint kinase 1, Chk1) ja tarkistuspistekinaasi 2 (engl. checkpoint kinase 2, Chk2). DNA:n vaurio aktivoi tarkistuspistekinaasien toiminnan, jolloin ne voivat saada aikaan muun muassa solusyklin pysähtymisen ja DNA-korjausmekanismien aktivoitumisen sekä solun CDK-aktiivisuuden vähentymisen inhiboimalla Cdc25-fosfataasia (Blasina ym., 1998; Hirao ym., 2000). DNA-vaurion seurauksena Chk1 ja Chk2 fosforyloivat molemmat Cdc25-fosfataasia, minkä seurauksena Cdc25:n toiminta inhiboituu eikä kykene poistamaan fosfaattiryhmiä tietyistä komplekseista ja CDK:t pysyvät inaktiivisina. Cdc25:n toimimattomuuden seurauksena esimerkiksi solun eteneminen mitooseen estyy ja solu pysähtyy G2/M tarkistuspisteeseen, kunnes vauriot saadaan korjattua.

Chk1 on pääsääntöisesti ATR:n säätelemä, mutta fosforyloidakseen Chk1:n se on myös riippuvainen spesifisen mediaattoriproteiinin toiminnasta. Kumagai ym. osoittivat (2000), että Chk1 vaatii *CLSPN*-geenin koodaaman Claspin-mediaattoriproteiinin aktivoituakseen. Lisäksi tietyissä tapauksissa Chk1:n fosforylaatioon tarvitaan myös ATM-kinaasin toimintaa. Jazayeri ym. tutkivat (2006) ionisoivan säteilyn vaikutusta muun muassa HeLa-soluihin ja osoittivat, että ionisoivan säteilyn seurauksena Chk1:n fosforylaatio vaatii ATR:n lisäksi myös ATM:n toimiakseen DNA:n korjausmekanismeissa.

Chk1:n ja ATR:n muodostama signaalireitti tunnistaa useita erilaisia DNA-virheitä, kuten UV-säteilyn tai virusinfektion aiheuttamia vaurioita sekä yksijuosteisia kohtia DNA:sta. Chk2 puolestaan muodostaa ATM:n kanssa signaalireitin, joka tunnistaa pääsääntöisesti

DNA:n kaksoisjuosteen vaurioita ja osallistuu niiden korjaukseen. Lisäksi on osoitettu, että Chk2 fosforyloi DNA:n vaurioituessa p53:a, jonka aktivaatio johtaa solussa muun muassa apoptoosiin johtavien signaalireittien muodostumiseen (Hirao ym., 2000).

DNA:n kahdentumisessa ja kahdentumisessa tapahtuvien virheiden korjauksessa tärkeä proteiini on myös PCNA, joka säätelee solussa useita erilaisia aineenvaihduntareittejä. PCNA mahdollistaa DNA-polymeraasin kiinnittymisen DNA:han ja siten sillä on tärkeä tehtävä säädellä replikaation aloitusta ja DNA:n korjausmekanismeja, sekä myös DNA:n metylaatiota ja kromatiinin uudelleenjärjestäytymistä. (Strzalka & Ziemienowicz, 2011). On osoitettu, että vasteena DNA-vaurioon PCNA:ta ubiquitinoidaan, minkä seurauksena DNA:ssa olevien aukkojen paikkaaminen tehostuu. Mikäli ubiquitinointia ei tapahdu, DNA-synteesin okazakin fragmenttien ligaatio häiriintyy todennäköisesti juosteeseen kertyneiden aukkojen seurauksena (Thkar et al., 2020).

3.2 *Proto-onkogeenien mutatoituminen*

Proto-onkogeenit eli esisyöpägeenit ovat solun kasvua ja jakautumista edistäviä geenejä, jotka ovat välttämättömiä solusyklin etenemisen kannalta. Proto-onkogeenien mutatoituminen ja niiden tuottamien proteiinien toiminnan muuttuminen on kuitenkin uhka solusyklin säätelyn häiriintymiselle ja syövän kehittymiselle. Mutatoitumisen seurauksena proto-onkogeenit voivat alkaa yli-ilmentymään ja normaalin säätelyn sijasta solu voi siirtyä pois säätelytekijöiden vaikutuksen alaisuudesta, jolloin solunjakautuminen voi muuttua hallitsemattomaksi. Syövässä mutatoituneita proto-onkogeneenejä ovat esimerkiksi *RAS*-geenit, sykliini D:tä ja sykliini E:tä koodaavat geenit, sekä apoptoosia säätelevät *BCL2*-geeni ja *c-myc*-geeni. Lisäksi useissa syövässä mutatoituneita ovat erilaiset kinaasireseptoreja koodaavat geenit, kuten *ERBB2*-geeni, joka koodaa HER2-tyrosiinikinaasia (engl. human epidermal growth factor, HER2) ja *EGFR*-geeni, joka koodaa epidermaalisen kasvutekijän reseptoria (engl. epidermal growth factor receptor, EGFR).

Proto-onkogeenit voivat mutatoitua onkogeneiksi eli syöpägeneiksi. Mutaatio tapahtuu yleensä pistemutaation, geenin monistumisen tai translokaation seurauksena. Yleisin syy esimerkiksi *RAS*-perheen geenien mutatoitumiselle on pistemutaatio, eli yhden DNA-emäksen muuttuminen toiseksi. On osoitettu, että noin kolmasosassa kaikista syövästä ja

erityisesti haimasyövässä erään RAS-geeniperheen *KRAS*-geenin kodoni 12 on mutatoitunut vain yhden emäsparin kohdalta (Stolze ym., 2014). Tämä pistemutaatio saa kyseisen proto-onkogeenin mutatoitumaan onkogeeniksi, jonka aktivoituminen voi saada aikaan solujen hallitsemattoman jakautumisen ja syöpäkasvainten muodostumisen.

Kaikista yleisimmät mutatoituneet onkogeenit syövässä ovat RAS-geeniperheeseen kuuluvat Ras-proteiineja koodaavat *KRAS*-, *HRAS*- ja *NRAS*-geenit. Ras-proteiinit ovat membraaniproteiineja, jotka säätelevät useita solun signaalireittejä GTPaasi-aktiivisuudellaan sitomalla joko guaniinitrifosfaattia (GTP) tai guaniinidifosfaattia (GDP). Normaalisti Ras-signaali on välttämätöntä solusyklin normaalille etenemiselle. Vasjari ym. tutkivat (2019) Ras-proteiinin välttämättömyyttä solujen siirtymisessä S-vaiheeseen inhiboimalla Ras-signaalia. He osoittivat, että Ras-signaalin inhibointi estää solun siirtymisen G1-vaiheesta S-vaiheeseen. Lisäksi he totesivat, että Ras on välttämätön G1-vaiheessa myös sykliini D:n synteesin indusoinnissa. Useat tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että mutatoituneena Ras-proteiini voi saada solun poistumaan solusyklin G0-vaiheesta ja käynnistää solusyklin sekä DNA-synteesin kasvutekijöiden ja solun ulkoisten tekijöiden signaaloinnista riippumatta, jolloin normaali solusyklin säätely ja solunjakautuminen häiriintyy.

Sykliineistä G1-sykliinit eli sykliini D ja sykliini E luokitellaan proto-onkogeenisiksi. Sykliinit säätelevät solusykliä sitoutumalla sykliinistä riippuvaisiin kinaaseihin, minkä jälkeen ne hajotetaan proteasomien toimesta. Esimerkiksi sykliini D on välttämätön säätelytekijä erityisesti solusyklin alussa, mutta myös sen hajottaminen on välttämätöntä muun muassa DNA-synteesin alkamiseksi. Lisäksi sykliini D:n yli-ilmentymisen seurauksena ovat häiriöt CDK-aktivoinnissa, tarkastuspisteiden ohitus sekä solujen hallitsematon kasvu ja jakautuminen (Qie & Diehl, 2016). Sykliini E:n yli-ilmentymisen on puolestaan osoitettu johtavan DNA:n replikaatioon häiriintymiseen, altistavan DNA:n kaksoisjuosteen katkeamiselle, sekä genomien epävakauteen, jolloin perimään kertyy herkemmin mutaatioita (Fagundes & Teixeira, 2021).

Eräillä proto-onkogeeneilla on myös merkittävä rooli apoptoosin säätelyssä. Apoptoosia eli ohjelmoitua solukuolemaa säätelevät muun muassa proto-onkogeenit *c-myc* ja *BCL2*. Normaalisti *c-myc*-geenin koodaama Myc-proteiini voi toimia apoptoosia edistävänä tekijänä sen määrän noustessa ja Bcl2-proteiini puolestaan apoptoosia estävänä tekijänä. Mutatoituneena tai yli-ilmentyessä niiden toiminta voi kuitenkin saada aikaan solun hallitsematonta jakautumista ja edistää syöpäsolujen selviytymistä. Myc-proteiinin kyky

edistää apoptoosia kuitenkin tasapainottaa sen onkogeenisia ominaisuuksia, mutta yli-ilmentyessään sen toiminta aiheuttaa muutoksia myös muiden geenien ilmentymisessä, minkä seurauksena se nopeuttaa solunjakautumista. Lisäksi Karlsson ym. (2003) osoittivat, että Myc-proteiinin yli-ilmentyminen häiritsee DNA:n kaksoisjuosteen vaurioiden korjaamista ja johtaa DNA-virheiden määrän kasvuun soluissa.

Tyrosiinikinaasiperheeseen kuuluvat proto-onkogeenit kuten *EGFR* ja *HER2* voivat mutatoituneina saada aikaan merkittäviä häiriöitä solusignaaloinnissa. Tyrosiinikinaasit toimivat solusignaaloinnin säätelijöinä fosforyloimalla erilaisten signaalikaskadien proteiineja. Normaalisti kinaasi aktivoituu, kun siihen sitoutuu jokin kasvutekijä. Mikäli reseptoreja koodaavissa geneissa on kuitenkin tapahtunut mutaatio, voi sen seurauksena reseptori pysyä jatkuvasti aktiivisena ilman siihen sitoutuvan kasvutekijän läsnäoloa. Toisaalta myös geenien monistuessa reseptorien määrä voi olla liian suuri, jolloin reseptorien aktiivisuus solussa on tarpeettoman korkea. Tutkimukset ovat osoittaneet, että mutaatiot esimerkiksi *HER2*-tyrosiinikinaasia koodaavassa geneissa esiintyvät jopa 20-30% kaikista rintasyövistä (Mitri ym., 2012).

3.3 Kasvunrajoitegeenien mutatoituminen

Proto-onkogeneistä poiketen kasvunrajoitegeenit vaikuttavat syövän syntyyn, mikäli niiden koodaamien proteiinien toiminta solussa heikentyy tai loppuu kokonaan esimerkiksi deleetion seurauksena. Kasvunrajoitegeenien koodaamien proteiinien tehtävä on säädellä solunjakautumista estämällä solusyklin etenemistä esimerkiksi inhiboimalla tiettyjä transkriptiotekijöitä tai ohjaamalla solu tarvittaessa apoptoosiin. Syövän syntyyn vaaditaan usein kasvunrajoitegeenin molempien alleelien mutatoituminen, sillä yhden toimintakykyisen alleelin toiminta on usein vielä riittävä kasvun rajoittamiseksi. Mikäli yksilö on perinyt vanhemmaltaan yhden mutatoituneen kasvunrajoitegeenin alleelin, on tällä kuitenkin merkittävästi suurentunut riski sairastua syöpään. Merkittäviä mutatoituneita kasvunrajoitegeenejä syövässä ovat muun muassa *p53*-, *RBI*-, *APC*-, *BRCA1*- sekä *CDKN2A*-geeni.

Merkittävin kasvunrajoitegeeni syövän kannalta on *p53*-proteiinia koodaava *p53*-geeni. Normaalisti sen toiminta on tärkeää solusyklin säätelijänä sekä syövän synnyn ehkäisyssä, sillä *p53* muun muassa pysäyttää solusyklin havaitessaan DNA-vaurioita ja

ohjaa solun apoptoosiin tarvittaessa, jotta virheet DNA:ssa ei siirry seuraaville tytärsoluille. Nykyään p53:a koodaava *p53*-geeni luokitellaan kasvunrajoitegeeniksi, mutta löydettyä se luokiteltiin onkogeeniksi. On todettu, että yli puolessa kaikista syövästä p53 esiintyy mutatoituneena.

Normaalisti p53 estää muun muassa onkogeenien toimintaa, mutta mutaatioiden seurauksena se voi inaktivoitua, jolloin se ei kykene enää rajoittamaan ja säätelemään solusykliä. p53 voi myös periä mutatoituneena, jolloin riski syöväälle kasvaa merkittävästi jo nuorena. Kun toinen alleeli on jo syntyessään mutatoitunut, mutatoituneen proteiinin syntymiseen vaaditaan enää toisen alleelin mutatoituminen. Esimerkiksi Li-Fraumenin oireyhtymässä p53 periä toiselta vanhemmalta mutatoituneena ja oireyhtymään sairastuneilla riski sairastua syöpään on miehillä noin 70 % ja naisilla jopa 90 % (Chompret ym., 2000). Eroon sukupuolien välillä vaikuttaa muun muassa rintasyövän yleisyys naisilla.

p53-proteiinin normaaliin toimintaan vaikuttaa merkittävästi sitä säätelevä *MDM2*-geenin koodaama MDM2-proteiini. Normaalisti MDM2-proteiini edistää p53:n hajottamista ja pitää sen inaktiivisena, kunnes p53 fosforyloidaan. Mikäli *MDM2*-geeni kuitenkin mutaation seurauksena yli-ilmentyy tai sen toiminta häiriintyy solussa, se voi estää p53-proteiinin toiminnan kokonaan, jolloin p53 ei kykene tarvittaessa pysäyttämään solusykliä eikä ohjaamaan solua esimerkiksi apoptoosiin.

Normaalisti p53-pitoisuuden nousu lisää p21-proteiinin tuotantoa solussa. p21:llä on tärkeä rooli solusyklin säätelyssä ja erityisesti sykliiniriippuvaisten kinaasien toiminnan inhiboinnissa. Elbendary ym. tutkivat (1996) p21:n ilmentymistä munasarjojen epiteelisoluissa sekä normaaleissa että pahalaatuisissa solulinjoissa. He totesivat, että peräti 88 % soluista, joissa p53 esiintyi mutatoituneena, p21:tä koodaavan lähetti-RNA:n pitoisuus oli vähentynyt. Mikäli DNA:ssa havaitaan virheitä ja p53:n toiminnassa esiintyy häiriöitä, on seurauksena siis usein myös muiden solusykliä säätelevien transkriptiofaktorien toiminnan heikkeneminen p53:n puutteellisen säätelyn toimesta.

RB-tekijää koodaava *RBI*-geeni on ensimmäisenä löydetty kasvunrajoitegeeni, joka esiintyy mutatoituneena useissa ei syöpätyypeissä. Mutatoitunut *RBI*-geeni aiheuttaa erityisesti harvinaista lapsilla esiintyvää retinoblastoomaa sekä osteosarkoomaa (Vélez-Cruz ym., 2016). Retinoblastooma on itse proteiinin lisäksi myös nimitys harvinaiselle silmän verkkokalvon syöväälle ja osteosarkooma puolestaan on eräs luusyövän tyyppi.

RB-tekijän toimimattomuuden syövässä aiheuttavat joko mutaatiot sitä koodaavassa *RBI*-geenissä tai muissa geeneissä, jotka vaikuttavat sen toiminnan estymiseen. Esimerkiksi sykliini D:n tai CDK4:n yli-ilmentyminen voi saada aikaan retinoblastoomaproteiinin toiminnan estymisen, sillä yli-ilmentyessään sykliini D/CDK4-kompleksi voi hyperfosforyloida RB-tekijän. Hyperfosforyloituneena RB-tekijä ei pysty toimimaan normaalisti eikä sitoutumaan E2F-transkriptiotekijöihin, jolloin solusykli pääsee etenemään retinoblastoomaproteiinin säätelystä riippumatta.

Vélez-Cruz ym. tutkivat (2016) RB-tekijän vaikutusta DNA:n korjausmekanismien toimintaan ja kuinka RB-tekijän puuttuminen vaikuttaa niihin. He osoittivat että RB-tekijä havaitsee DNA:n kaksoisjuosteen vaurioita E2F1-transkriptiotekijän ja ATM-kinaasin aktiivisuuden välityksellä. Lisäksi he totesivat, että RB-tekijä edistää DNA:n kaksoisjuosteen vaurioiden korjaamista HR-mekanismien kautta ja RB-tekijän puutteellinen toiminta johtaa genomien epävakautumiseen. He myös totesivat, että DNA-vaurioita tunnistavan ATR-kinaasin aktivaatio heikkeni ilman RB-tekijän aktiivisuutta. Toisaalta DNA:n kaksoisjuosteen virheitä havaitsevaan ATM-kinaasin toimintaan RB-tekijän puutteellinen toiminta ei vaikuttanut.

Suolistosyövässä puolestaan erittäin yleinen mutatoituneena esiintyvä kasvunrajoitegeeni on APC-proteiinia (engl. adenomatous polyposis coli, APC) koodaava *APC*-geeni. APC-proteiinin tehtävä on normaalisti muun muassa säädellä Wnt-signaalitietä negatiivisesti, jolloin sen toiminta estää solunjakautumista, edistää apoptoosia ja estää syövässä sen leviämistä ja etenemistä. Mutatoituneena APC-proteiini aiheuttaa kuitenkin esimerkiksi kromosomin epästabiilisuutta, jonka seurauksena solun kromosomien lukumäärissä tai eheydessä voi esiintyä virheitä (Fodde ym., 2001). Fodde ym. tutkivat (2001) APC-mutantteja soluja ja totesivat niissä laajoja kromosomipoikkeavuuksia. Lisäksi he osoittivat, että APC-proteiinin toimimattomuus edistää syöpäkasvainten muodostumista aktivoimalla jatkuvasti Wnt-signaalia. Aktiivisena Wnt-signaalitie edistää solunjakautumista ja syövässä signaalireitti voi usein olla jatkuvasti aktiivisena.

BRCA1- ja *BRCA2*-geeni ovat kasvunrajoitegeenejä, joiden koodaamat proteiinit osallistuvat muun muassa DNA-vaurioiden korjaamiseen ja estävät soluja jakautumasta liian nopeasti. Erityisesti rintasyövässä sekä myös munasarjasyövässä *BRCA*-geenien koodaama *BRCA1*- ja *BRCA2*-proteiini esiintyvät usein mutatoituneena. Jo toisen alleelin mutatoituminen ituradan soluissa saa aikaan perinnöllisen rinta- ja munasarjasyöpäoireyhtymän (HBOC). Kobayashi ym. (2013) arvioivat katsauksessaan,

että mutaatio pelkäästään *BRCA1*-geenissä nostaa rintasyövän sairastumisriskiä naisilla noin 60-80 %, sekä lisää myös merkittävästi munasarjasyövän riskiä. Lisäksi mutaatiot *BRCA*-geeneissä lisäävät miehillä riskiä sairastua eturauhassyöpään.

CDKN2A-geeni, toiselta nimeltään sykliinistä riippuvainen kinaasi-inhibiittori 2A, on kasvunrajoitegeeni, joka koodaa useita solusykliä sääteleviä proteiineja, joista tunnetuimmat ovat p16 ja p14. *CDKN2A*-geenin koodaamat proteiinit estävät sykliiniriippuvaisia kinaaseja, jolloin solun jakautuminen hidastuu tai estyy kokonaan. p16-proteiini inhiboi RB-tekijää fosforyloivan sykliiniriippuvaisen kinaasin (CDK4), minkä seurauksena solu ei pääse siirtymään G1-vaiheesta synteetivaiheeseen (Serrano ym., 1993). p14-proteiinin on puolestaan osoitettu siirtävän p53:a säätelevän MDM2:n tumaan ja siten estävän sen kykyä hajottaa p53:a (Lohrum ym., 2000). Brown ym. (2004) tutkivat *CDKN2A*-geenin aktiivisuutta ihon levyepiteelikarsinoomassa ja osoittivat, että kyseisessä syöpätyypissä mutaatiot *CDKN2A*-geenin lokuksessa ovat yleisiä ja johtavat usein p16- ja p14-proteiinien toiminnan muutoksiin. Muutokset näiden proteiinien toiminnassa voivat johtaa solun hallitsemattomaan kasvuun, jolloin riski syövän kehittymiselle kasvaa.

Lähes kaikissa soluissa ilmenevää fosfataasientsyymiä, fosfataasi- ja tensiinihomologia (engl. phosphatase and tensin homolog, PTEN), koodaa *PTEN*-geeni, joka on useissa syövässä mutatoitunut kasvunrajoitegeeni. PTEN-proteiinin tärkein tehtävä on säädellä negatiivisesti fosfatidyli-inositoli 3-kinaasia (engl. phosphoinositide 3-kinase, PI3K) ja siten vaikuttaa PI3K-Akt-signaalitien toimintaan, joka säätelee muun muassa solunjakautumista, kasvua ja eloonjäämistä. *PTEN*-geenin toimimattomuus johtaa kuitenkin PI3K-Akt-signaalitien normaalista poikkeavaan aktivoitumiseen minkä seurauksena *PTEN*-geeni ei kykene hillitsemään solunjakautumista ja muun muassa solun ohjautuminen apoptoosiin estyy ja solusyklin säätely muuttuu hallitsemattomaksi (Wu ym., 2020).

4 SÄÄTELYPROTEIINEIHIN KOHDISTUVAT SYÖPÄHOIDOT

Solusyklin häiriöiden ja säätelytekijöiden toiminnan ymmärtämisen pohjalta on pystytty kehittämään suoraan solusyklin säätelijöihin kohdistuvia erilaisia lääkemolekyylejä. Syövässä keskeisintä on solujen jatkuvan nopea ja hallitsematon jakautuminen solun säätelymekanismien toiminnan häiriintymisen tai puutteellisuuden seurauksena. Erityisesti mutatoituneiden proto-onkogeenien ilmenemisen rajoittaminen sekä kasvunrajoitegeenien toiminnan palauttaminen ovat avainasemassa syöpähoitojen kehittämisessä. Tärkeitä vaikutuskohteita syövän hoitamisessa ovat muun muassa apoptoosiin johtavat signaalitiet, solun jakautumista hillitsevät säätelytekijät, DNA:n korjausmekanismeihin liittyvät säätelijät ja solusykliä eteenpäin vievät säätelytekijät.

Kaikista yleisin syövässä mutatoituneena esiintyvä kasvunrajoitegeeni on p53-proteiinia koodaava *p53*-geeni. Koo ym. käsittelevät katsauksessaan (2022) MDM2:n ja p53:n vuorovaikutukseen kohdistuvia terapiakeinoja syöpäsolujen kuoleman indusoimiseksi. Katsauksessa nostetaan esille useita tutkimuksia, joiden mukaan MDM2:n ja p53:n vuorovaikutusta voidaan säädellä joko inhiboimalla suoraan MDM2:n toimintaa tai vaihtoehtoisesti säätelemällä suoraan p53:n fosforylaatioastetta. Syövän hoidossa MDM2:n ja p53:n vuorovaikutusta säätelemällä erilaisten lääkemolekyylien avulla voitaisiin tehostaa p53:n normaalitoimintaa kasvunrajoitegeeninä ja siten estää syöpäsolujen kasvua.

p53-proteiinin jälkeen toiseksi yleisin mutatoituneena esiintyvä kasvunrajoitegeeni syövässä on *PTEN*-geeni, joka koodaa PTEN-proteiinia. Lu ym. tutkivat (2016) *PTEN*-geenin merkitystä keuhkosyövässä. He totesivat, että yli-ilmentyessään PTEN-proteiinin toiminta inhiboi solujen lisääntymistä, edistää apoptoosia ja pysäyttää solusyklin G1-vaiheeseen. He myös osoittivat, että PTEN heikentää PI3K-Akt-signaalitien aktiivisuutta, mikä puolestaan johti keuhkojen adenokarsinoomasolujen kasvun estymiseen. Heidän tutkimuksensa antaa lupaavaa näyttöä erityisesti keuhkojen adenokarsinooman hoitomahdollisuuksiin, jossa *PTEN*-kasvunrajoitegeeni voisi toimia kasvaimen kasvua ja leviämistä rajoittavana tekijänä.

Keskeisimpiä säätelijöitä solusyklissä ovat sykliiniriippuvaiset kinaasit, joiden toiminta vie solusykliä eteenpäin. CDK:en toimintaa inhiboimalla solunjakautumista voidaan hillitä ja useat tutkimukset ovat todenneet CDK-inhibiittorien johtavan lupaaviin

tuloksiin syöpähoidoissa. Zhang ym. (2021) käsittelevät katsauksessaan CDK-inhibiittorien kehittymistä kliinisessä tutkimuksessa. He nostavat esiin ensimmäisen sukupoven CDK-inhibiittorit, kuten Roscovitinen ja Flavopiridolin. Nämä inhibiittorit eivät kuitenkaan olleet kovin selektiivisiä, ja niiden käyttö johti merkittäviin sivuvaikutuksiin, joten niitä ei hyväksytty kliiniseen käyttöön. Tutkijat ovat kuitenkin kehittäneet niin kutsuttuja spesifisiä CDK-inhibiittoreja, joiden toiminta kohdistuu vain kyseiseen CDK:iin. Spesifisten inhibiittorien käytön odotetaan vähentävän sivuvaikutuksia ja olevan entistä tehokkaampia. Esimerkiksi FDA:n ensimmäisenä kliiniseen hoitoon hyväksytty CDK4/6-inhibiittori on spesifinen CDK4/6:lle ja sen toiminta voi pysäyttää solusyklin G1-vaiheeseen estämällä RB-tekijän fosforylaation (Zhang ym., 2021).

Yleisimmät syövässä mutatoituneet proto-onkogeenit ovat RAS-geeniperheeseen kuuluvat geenit, joita havaitaan mutatoituneena jopa noin 20 % syövästä (Prior ym., 2020). Ras-proteiinia koodaavan geenin mutatoituessa se muuttuu proto-onkogeenistä onkogeeniksi ja usein yli-ilmentyy solussa, minkä vuoksi syöpähoidoissa voi olla tarpeen inhiboida Ras-proteiinin toimintaa. Ras-perheen yleisin mutatoitunut proteiini on KRAS, jonka toiminnan estämiseksi on kehitetty KRAS-inhibiittoreita.

Christensen ym. (2020) käsittelevät katsauksessaan mutatoituneen *KRAS*-geenin toiminnan inhiboimista ja nostavat esiin siihen liittyviä terapeuttisia ongelmia. Ensiksi ongelmia aiheuttaa KRAS-proteiinin korkea affiniteetti GTP:lle sekä GTP:n korkean konsentraation solussa. Lisäksi ongelmana inhibiittorin toiminnassa on myös sen sitoutuminen solun villityypin *KRAS*-geenin koodaamaan proteiiniin, joka on välttämätön solun normaalin toiminnan kannalta. He nostavat kuitenkin esiin yhden tietyn mutaation, KRASG12C:n, johon on kehitetty tehokas GTP:n sitoutumista ja siten mutatoituneen KRAS-proteiinin toimintaa estävä MRTX849-lääkemolekyyli. Lisäksi MRTX849-inhibiittori estää mutantisolulinjan kasvua ja voisi tulevaisuudessa mahdollistaa selektiivisen hoidon mutanti-KRAS-proteiinista kärsiville potilaille.

Toinen merkittävä mutatoitunut proto-onkogeeni syövässä on *BCL2*-geeni. Normaalisti geenin koodaama Bcl2-proteiini toimii solussa apoptoosia estävänä tekijänä, mutta Bcl2-perheeseen kuuluu myös joitakin apoptoosia edistäviä proteiineja. Syöpähoidoissa keskitytään *BCL2*-geenin koodaamien apoptoosia estävien proteiinin toiminnan inhiboimiseen. *BCL2*-geenin ollessa yliaktiivinen se voi estää apoptoosia niin, ettei solu

lopulta kykene reagoimaan muihin apoptoosia edistäviin signaaleihin eikä ohjaamaan syöpäsoluja apoptoosiin.

Qian ym. (2022) esittävät katsauksessaan Bcl2-antiapoptoottisiin proteiineihin kohdistuvien lääkkeiden kehittämistä ja niiden potentiaalia syöpähoidoissa. He esittävät merkittävänä Bcl2-proteiiniperheen estäjänä pienimolekyyliset inhibiittorit, jotka sitoutuvat Bcl2:een selektiivisesti. Inhibiittorien vaikutus normaalisolujen toimintaan on vähäinen, sillä kasvainsoluissa Bcl2-proteiinin ilmentyminen on merkittävästi korkeammalla tasolla kuin normaalisoluissa. Ensimmäinen markkinoilla saatavilla oleva Bcl2-proteiinin inhibiittori on Venetoclax, joka estää Bcl2:en toimintaa. Venetoclax sitoutuu Bcl2-proteiiniin selektiivisesti, mikä saa aikaan apoptoosia estävien proteiinin tuotannon estymisen ja apoptoosia edistävien proteiinien tuotannon aktivoitumisen, jolloin apoptoosiin johtava signaalitie aktivoituu.

Lisäksi merkittävänä solusyklin säätelijöihin kohdistuvana terapeuttisena kohteena syövässä ovat DNA:n korjausmekanismeihin kohdistuvat säätelijäproteiinit. DNA:n korjausmekanismien aktivoitumiseen osallistuvat ATR- ja ATM-kinaasit ovat erityisenä kiinnostuksen kohteena syöpähoidoissa, sillä syöpäsolujen selviytymien riippuu pitkälti DNA:n korjausmekanismien kyvystä korjata DNA:n kaksoisjuosteaurioita, joita syöpäsoluilla on erityisen paljon. Inhiboimalla näiden kinaasien toimintaa voidaan ohjata syöpäsolut apoptoosiin.

Turchick ym. (2023) tutkivat ATR- ja ATM-kinaasin toimintasuhdetta solussa ja näiden kinaasien potentiaalia syöpähoidossa. He totesivat ATR-kinaasin inhiboinnin johtavan DNA:n kaksoisjuosteen vaurioiden kertymiseen solussa, mutta ongelmana inhiboinnissa on kuitenkin ATM-kinaasin säätelien tarkistuspisteiden aktivoituminen vaurioiden seurauksena, mikä voi kumota ATR-kinaasin inhiboinnin vaikutukset ja suojata syöpäsoluja. Estämällä kuitenkin myös ATM-kinaasin toimintaa spesifien inhibiittorien avulla, ATM:n säätelien tarkistuspisteiden toiminta pystyttiin estämään. Mikäli soluista puuttui toimiva ATM-p53 signaali, solusykli eteni seuraavaan vaiheeseen vaurioista huolimatta, jolloin ne ohjautuivat solukuolemaan. Näiden kinaasien inhibiittorien kohdistaminen selektiivisesti syöpäsoluihin voisi siten toimia tehokkaana keinona syöpäsolujen tuhoamisessa.

Erilaiset solusyklin säätelijöihin kohdistuvat inhibiittorit ja lääkemolekyylit ovat antaneet potentiaalisia tuloksia syöpähoitojen kannalta, mutta usein niiden tuonti markkinoille on

kuitenkin estynyt sivuvaikutusten tai tulosten puutteellisuuden vuoksi. Lisäksi syöpäsolujen nopea mutatoituminen ja siten monissa tapauksissa vastustuskyvyn kehittyminen lääkemolekyylejä vastaan ovat hidasteena lääkekehityksessä. Haasteita tuo myös erityisesti lääkemolekyylien spesifisyys, jotta ne kohdistuisivat ainoastaan syöpäsoluihin, eivätkä normaaleihin soluihin.

5 YHTEENVETO

Solusyklin säätelijätekijät muodostavat monimuotoisen ryhmän erilaisia proteiineja, joista suurimman osan toiminta tunnetaan jo erittäin hyvin. Solusykliä säätelevien proteiinien mutatoituminen ja niiden toiminnan muuttuminen ovat keskeisessä asemassa erilaisissa syöpätyypeissä. Haasteena on kuitenkin keksiä ratkaisuja siihen, kuinka näiden syövässä mutatoituneiden säätelijöiden toimintaa voidaan hallita ja mahdollisesti palauttaa niiden toiminta normaaliksi. Tulevaisuuden näkymät ovat kuitenkin lupaavia, sillä solusyklin säätelijät ovat avainasemassa syöpätutkimuksessa.

Tärkeänä tutkimuskohteena syöpähoidoissa ovat erityisesti kasvunrajoitegeenit, proto-onkogeenit sekä DNA:n korjausmekanismeihin liittyvät geenit. Näiden normaalitoiminta tunnetaan pääosin jo varsin hyvin, mutta erityisesti niiden tuottamien proteiinien toimintaan vaikuttavien lääkemolekyylien kehittäminen vaatii vielä paljon lisätutkimuksia. Erityisesti onkogeenisten proteiinien sekä sykliiniriippuvaisten kinaasien suhteen tärkeää on kehittää ratkaisuja niiden liiallisen toiminnan inhiboimiseksi. Kasvunrajoitegeenien koodaamien proteiinien kohdalla puolestaan niiden toiminnan heikkeneminen on ongelmana syövän kehittämisessä, sillä niiden normaalitoiminta estää solun liiallista jakautumista ja ohjaa solun tarvittaessa apoptoosiin. Näiden monimutkaisten mekanismien sammuminen tai virheellinen toiminta vaikuttavat paitsi kyseisen proteiinin toimintaan, usein myös muihin solun signaalireitteihin. Säätelytekijöiden häiriintyneen toiminnan ja sen seurauksena muuttuneiden signaalireittien toiminnan ymmärtäminen ovat välttämättömiä syöpähoitojen kehittämiseksi tulevaisuudessa.

6 KIRJALLISUUS

- Blasina, A., Van De Weyer, I., Laus, M. C., Luyten, W. H., Parker, A. E., & McGowan, C. H. (1998). A human homologue of the checkpoint kinase Cds1 directly inhibits Cdc25 phosphatase. *Current Biology* 9, 1-10.
- Branzei, D., & Foiani, M. (2008). Regulation of DNA repair throughout the cell cycle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9, 297-308.
- Campanero, M. R., & Flemington, E. K. (1997). Regulation of E2F through ubiquitin-proteasome-dependent degradation: Stabilization by the pRB tumor suppressor protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 2221-2226.
- Chompret, A., Brugières, L., Ronsin, M., Gardes, M., Dessarps-Freichay, F., Abel, A., Ligot, L., Hua, D., Donfdon, M.-G., Bressac-de Paillerets, B., Frébourg, T., Lemerle, J., Bonaïti-Pellié, C., & Feunteun, J. (2000). p53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. *British Journal of Cancer* 82, 1932-1937.
- Christensen, J. G., Olson, P., Briere, T., Wiel, C., & Bergo, M. O. (2020). Targeting Krasg12c-mutant cancer with a mutation-specific inhibitor. *Journal of Internal Medicine* 288, 183-191.
- Cobrinik, D. (2005). Pocket proteins and cell cycle control. *Oncogene* 24, 2796–2809.
- Cooper, GM. (2000). *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates;. *The Eukaryotic Cell Cycle*.
- Coverley, D., Laman, H., & Laskey, R. A. (2002). Distinct roles for cyclins E and A during DNA replication complex assembly and activation. *Nature Cell Biology* 4, 523-528.
- Elbendary, A. A., Cirisano, F. D., Evans, A. C., Jr, Davis, P. L., Iglehart, J. D., Marks, J. R., & Berchuck, A. (1996). Relationship between p21 expression and mutation of the p53 tumor suppressor gene in normal and malignant ovarian epithelial cells. *Clinical Cancer Research : an Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2, 1571-1575.
- Fagundes, R., & Teixeira, L. K. (2021). Cyclin E/CDK2: DNA Replication, Replication Stress and Genomic Instability. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9, 774845.

- Fodde, R., Kuipers, J., Rosenberg, C., Smits, R., Kielman, M., Gaspar, C., Van Es, J. H., Breukel, C., Wiegant, J., Giles, R. H., & Clevers, H. (2001). Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nature Cell Biology* 3, 433-438.
- Fukami-Kobayashi, J., & Mitsui, Y. (1999). Cyclin D1 Inhibits Cell Proliferation through Binding to PCNA and Cdk2. *Experimental Cell Research* 246, 338-347.
- Fung, T. K., & Poon, R. Y. C. (2005). A roller coaster ride with the mitotic cyclins. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 16, 335-342.
- Gamper, A. M., Choi, S., Matsumoto, Y., Banerjee, D., Tomkinson, A. E., & Bakkenist, C. J. (2012). ATM protein physically and functionally interacts with proliferating cell nuclear antigen to regulate DNA synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 287, 12445-12454.
- Hirao, A., Yun Kong, Y., Matsuoka, S., Wakeham, A., Ruland, J., Yoshida, H., Liu, D., Elledge, S., & Tak W. Mak. (2000). DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase Chk2. *Science* 287, 1824-1827.
- Innocente, S. A., Abrahamson, J. L. A., Cogswell, J. P., & Lee, J. M. (1999). p53 regulates a G2 checkpoint through cyclin B1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 2147-2152.
- Ishimi, Y., Komamura-Kohno, Y., You, Z., Omori, A., & Kitagawa, M. (2000). Inhibition of Mcm4,6,7 helicase activity by phosphorylation with cyclin A/Cdk2. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 16235-16241.
- Jackson, S. P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 461, 1071-1078.
- Jazayeri, A., Falck, J., Lukas, C., Bartek, J., Smith, G. C., Lukas, J., & Jackson, S. P. (2006). ATM- and cell cycle-dependent regulation of ATR in response to DNA double-strand breaks. *Nature Cell Biology* 8, 37-45.
- Jeffrey, P. D., Russo, A. A., Polyak, K., Gibbst, E., Hurwitz, J., Massague, J., & Pavletich, N. P. (1995). Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclinA-CDK2 complex. *Nature* 376, 313-320.
- Karlsson, A., Deb-Basu, D., Cherry, A., Turner, S., Ford, J., & Felsher, D. W. (2003). Defective double-strand DNA break repair and chromosomal translocations by MYC overexpression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 9974-9979.
- Kobayashi, H., Ohno, S., Sasaki, Y., & Matsuura, M. (2013). Hereditary breast and ovarian cancer susceptibility genes (review). *Oncology Reports* 30, 1019-1029.

- Koo, N., Sharma, A. K., & Narayan, S. (2022). Therapeutics Targeting p53-MDM2 Interaction to Induce Cancer Cell Death. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 5005.
- Krause, K., Wasner, M., Reinhard, W., Haugwitz, U., Lange-Zu Dohna, C., Mössner, J., & Engeland, K. (2000). The tumour suppressor protein p53 can repress transcription of cyclin B. *Nucleic Acids Research* 28, 4410-4418.
- Kumagai, A., & Dunphy, W. G. (2000). Claspin, a novel protein required for the activation of Chk1 during a DNA replication checkpoint response in *Xenopus* egg extracts. *Molecular Cell* 6, 839-849.
- Lohrum, M. A. E., Ashcroft, M., Kubbutat, M. H. G., & Vousden, K. H. (2000). Contribution of two independent MDM2-binding domains in p14 ARF to p53 stabilization. *Current Biology* 10, 539-542.
- Lu, X.-X., Cao, L.-Y., Chen, X., Xiao, J., Zou, Y., & Chen, Q. (2016). PTEN Inhibits Cell Proliferation, Promotes Cell Apoptosis, and Induces Cell Cycle Arrest via Downregulating the PI3K/AKT/hTERT Pathway in Lung Adenocarcinoma A549 Cells. *BioMed Research International* 2016, 2476842.
- Maréchal, A., & Zou, L. (2013). DNA damage sensing by the ATM and ATR kinases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5, a012716.
- McDonald, E. R., Wu, G. S., Waldman, T., & El-Deiry, W. S. (1996). Repair Defect in p21 WAF1/CIP1 *-/-* human cancer cells. *Cancer Research* 56, 2250-2255.
- McNees, C. J., Tejera, A. M., Martínez, P., Murga, M., Mulero, F., Fernandez-Capetillo, O., & Blasco, M. A. (2010). ATR suppresses telomere fragility and recombination but is dispensable for elongation of short telomeres by telomerase. *The Journal of Cell Biology* 188, 639-652.
- Mitri, Z., Constantine, T., & O'Regan, R. (2012). The HER2 Receptor in Breast Cancer: Pathophysiology, Clinical Use, and New Advances in Therapy. *Chemotherapy Research and Practice* 2012, 743193.
- Overlack, K., Krenn, V., & Musacchio, A. (2014). When Mad met Bub. *EMBO Reports* 15, 326-328.
- Prior, I. A., Hood, F. E., & Hartley, J. L. (2020). The Frequency of Ras Mutations in Cancer. *Cancer Research* 80, 2969-2974.
- Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., & Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in Oncology* 12, 985363.

- Qiao, R., Weissmann, F., Yamaguchi, M., Brown, N. G., VanderLinden, R., Imre, R., Jarvis, M. A., Brunner, M. R., Davidson, I. F., Litos, G., Haselbach, D., Mechtler, K., Stark, H., Schulman, B. A., & Peters, J. M. (2016). Mechanism of APC/CCDC20 activation by mitotic phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113, E2570-E2578.
- Qie, S., & Diehl, J. A. (2016). Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment. *Journal of Molecular Medicine* 94, 1313-1326.
- Serrano, M., Hannon, G. J., & Beach, D. (1993). A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 366, 704-707.
- Stolze, B., Reinhart, S., Bullinger, L., Fröhling, S., & Scholl, C. (2014). Comparative analysis of KRAS codon 12, 13, 18, 61, and 117 mutations using human MCF10A isogenic cell lines. *Scientific Reports* 5, 8535.
- Strzalka, W., & Ziemienowicz, A. (2011). Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): A key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Annals of Botany* 107, 1127-1140.
- Sur, S., & Agrawal, D. K. (2016). Phosphatases and kinases regulating CDC25 activity in the cell cycle: clinical implications of CDC25 overexpression and potential treatment strategies. *Molecular and Cellular Biochemistry* 416, 33-46.
- Tamura, R. E., Ferreira De Vasconcellos, J., Sarkar, D., Libermann, T. A., Fisher, P. B., & Zerbini, L. F. (2012). GADD45 proteins: central players in tumorigenesis. *Current Molecular Medicine* 12, 634-635.
- Taylor, W. R., Deprimo, S. E., Agarwal, A., Agarwal, M. L., Schö, A. H., Katula, K. S., & Stark, G. R. (1999). Mechanisms of G2 Arrest in Response to Overexpression of p53. *Molecular Biology of the Cell* 10, 3607-3622.
- Thakar, T., Leung, W., Nicolae, C. M., Clements, K. E., Shen, B., Bielinsky, A. K., & Moldovan, G. L. (2020). Ubiquitinated-PCNA protects replication forks from DNA2-mediated degradation by regulating Okazaki fragment maturation and chromatin assembly. *Nature Communications* 11, 2147.
- Turchick, A., Zimmermann, A., Chiu, L. Y., Dahmen, H., Elenbaas, B., Zenke, F. T., Blaukat, A., & Vassilev, L. T. (2023). Selective Inhibition of ATM-dependent Double-strand Break Repair and Checkpoint Control Synergistically Enhances the Efficacy of ATR Inhibitors. *Molecular Cancer Therapeutics* 22, 859-872.

- Vasjari, L., Bresan, S., Biskup, C., Pai, G., & Rubio, I. (2019). Ras signals principally via Erk in G1 but cooperates with PI3K/Akt for Cyclin D induction and S-phase entry. *Cell Cycle* 18, 204-225.
- Vélez-Cruz, R., Manickavinayaham, S., Biswas, A. K., Clary, R. W., Premkumar, T., Cole, F., & Johnson, D. G. (2016). RB localizes to DNA double-strand breaks and promotes DNA end resection and homologous recombination through the recruitment of BRG1. *Genes & Development* 30, 2500-2512.
- Wang, Z. (2021). Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling. *Cells* 10, 3327.
- Wikimedia Commons 2016a [Viitattu 07.03.2024]
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Figure_10_03_01.jpg
- Wikimedia Commons 2016b [Viitattu 07.03.2024]
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cyclin_Expression_gl.svg
- Wikimedia Commons 2010 [Viitattu 07.03.2024]
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Role_of_CDK4,_cyklin_D,_Rb_and_E2F_in_cell_cycle_regulation.jpg
- Wu, J., Gao, H., Ge, W., & He, J. (2020). Over expression of PTEN induces apoptosis and prevents cell proliferation in breast cancer cells. *Acta Biochimica Polonica* 67, 515–519.
- Yam, C. H., Fung, T. K., & Poon, R. Y. C. (2002). Cyclin A in cell cycle control and cancer. *Cellular and Molecular Life Sciences* 59, 1317–1326.
- Zhang, M., Zhang, L., Hei, R., Li, X., Cai, H., Wu, X., Zheng, Q., & Cai, C. (2021). CDK inhibitors in cancer therapy, an overview of recent development. *American Journal of Cancer Research* 11, 1913-1935.