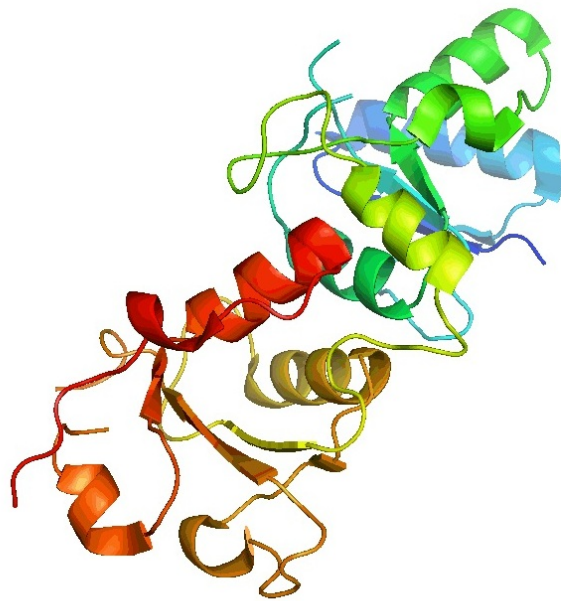




UPPSALA
UNIVERSITET

BRCA1 - från cellreglering till bröstcancer



Helen Kahsay

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2012
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Bröstcancer är den vanligaste cancerformen bland kvinnor i Sverige. Den kan vara sporadisk eller genetiskt nedärvd. Upp till 10 % av fallen är genetiskt nedärvda och de flesta beror på olika mutationer i en av bröstcancer-generna *BRCA1*. En mutation i genen ger inte automatiskt bröstcancer utan den ökar risken då *BRCA1* är en så kallad caretaker-gen. Proteinet, *BRCA1*, är involverat i både reparation av dubbelsträngat-DNA via homolog rekombination och vid två av cellcykelns kontrollpunkter, G₂/M och den interna S-faskontrollpunkten. Vid den homologa rekombinationen bildar *BRCA1* tre komplex som är med i varsitt steg. (1) Rekrytering av essentiella komplex till skadan, (2) skapa ett 3'-överhäng som möjliggör skapandet av (3) holliday junctions. Komplexen som är involverade i cellcykeln är delvis desamma som de som tar del i den homologa rekombinationen. *BRCA1*s funktion är viktig för cellen och vid en mutation kan inte alla komplex som är essentiella bildas. När till exempel reparationen inte fungerar ger det upphov till mer fel i genomet som i sin tur ger en större risk att utveckla cancer. Det stora frågetecknet är dock varför det är just bröstcancer som genen är kopplad till. På vilket sätt mutationer i genen ger upphov till cancer är inte heller helt säkerställt men kopplingar till menstruationscykeln och östrogen är svåra att bortse ifrån.

Inledning

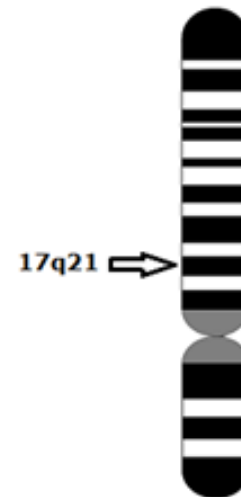
År 2010 var 30,1 % av alla cancerfall bland kvinnor i Sverige, bröstcancer (Socialstyrelsen 2011). Bröstcancer är därmed den vanligaste formen av cancer bland kvinnor där i genomsnitt 18 kvinnor per dag får diagnosen. Mellan 5 och 10 % av bröstcancerfallen beror framförallt på mutationer i bröstcancer-generna *BRCA1* (BRöstCAnCergen1) och *BRCA2* (BRöstCAnCergen2) (Campbell *et al.* 2008). Utöver bröstcancer ger även *BRCA* mutationerna en ökad risk att utveckla äggstockscancer. Man ser också att kvinnor som bär på mutationer i generna och utvecklar bröstcancer gör det vid en tidigare ålder än de kvinnor som får så kallad sporadisk bröstcancer, som inte beror på bröstcancer-generna.

BRCA1 är en caretaker gen som återfinns på kromosom 17 (Hall *et al.* 1990) och när den är muterad så ger den en ökad risk att utveckla bröstcancer på upp till 80 % (Cancerfonden 2011). Caretaker gener hjälper till att bibehålla genomets stabilitet. När *BRCA1*s genprodukt inte fungerar som vanligt bidrar det till att cellens alla reparationsmekanismer inte heller fungerar som vanligt. *BRCA1* klonades första gången av Miki *et al.* (1994). Proteinet, *BRCA1*, är involverat i reparation av dubbelsträngade (ds) skador på DNA (Wang *et al.* 2007) och i aktivering av kontrollpunkter i cellcykeln (Kim *et al.* 2007b). Homolog rekombination är ett utbyte av genetiskt material mellan två homologa DNA molekyler. Då en ds-DNA skada uppstår så kan cellen använda sig av bland annat homolog rekombination med systerkromatiden (som syntetiseras under S-fasen, se nedan) för att reparera DNA:t.

Med detta arbete vill jag ge en större insikt i varför *BRCA1* är en gen som ger en förhöjd bröstcancer-risk. Vad som är den friska (vildtyp, wt) genens funktioner och vad som inte fungerar korrekt när den är muterad kommer att beskrivas. Från detta ska jag försöka dra slutsatser till varför *BRCA1* ger en ökad risk till just bröstcancer då det är en gen som är viktig och aktiv i alla celler.

BRCA1

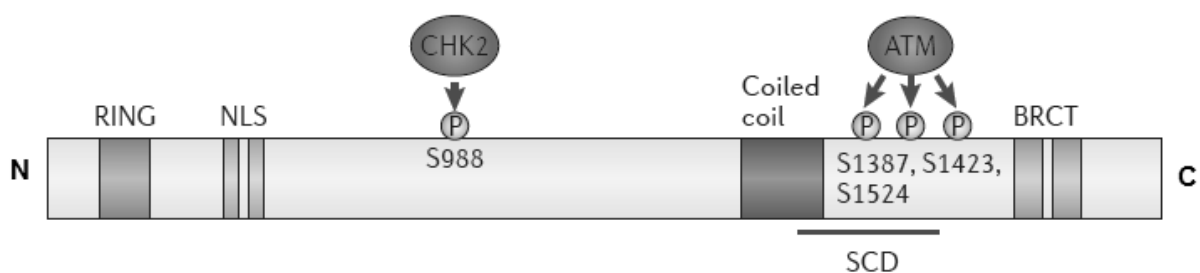
BRCA1 är en protein kodande caretaker gen man hittar på 17q21 (Figur 1). Genen identifierades först i en publikation 1990 (Hall *et al.*) genom att man lokaliserade dess locus på kromosomen. Ett lyckat klonande av genen publicerades sedan 4 år senare (Miki *et al.* 1994). Genens funktioner har å andra sidan varit svåra att komma fram till och viss osäkerhet råder fortfarande. Man vet att genen är involverad i att bibehålla genomets stabilitet och att den därför ger en ökad risk för cancer när den är muterad (Campbell *et al.* 2008). Proteinet som *BRCA1* kodar för, BRCA1, är 1863 aminosyror stort. Alla proteiner är uppbyggda av olika delar som har olika funktioner och så är även fallet med BRCA1. De olika funktionella delarna kallas för domäner, där varje domän är en egen funktionell enhet och kan bestå av ett eller flera motiv. I ett protein är ett motiv ett karakteristiskt sätt för en del av proteinet att vika sig. För att det ska kallas ett motiv måste veckningen finnas även hos andra proteiner.



Figur 1. Kromosom 17. Pilen markerar genen *BRCA1*s placering (17q21) på kromosomen. Region 2, band 1 på den långa armen (q) på kromosom 17.

Proteinets delar

Vid proteinets N-terminal har BRCA1 en N-terminal RING-domän (eng. N-terminus RING-domain) som är ett zink-finger (Miki *et al.* 1994). Proteinet har därefter en nukleärlokaliseringsssekvens då det är i kärnan som proteinet behövs. Efter det kommer ett coiled-coil motiv och sedan ett serin-glutamin (Ser-Gln, även kallat SQ) kluster domän (eng. SQ cluster domain) (Cortez *et al.* 1999). Vid C-terminalen finns två BRCA1 C-terminal repetitioner (BRCT) (Figur 2). BRCT-domänen utgör en fosfopeptid igenkänningsdomän som binder in peptider (Rodriguez *et al.* 2003, Menke *et al.* 2003, Yu *et al.* 2003). De peptider som binder in till BRCT-domänen och är essentiella för tumörsuppressionen har ett pSXXF-motiv där p står för fosforylering, S för aminosyran serin (Ser), X är en varierande aminosyra och F är aminosyran fenylalanin (Phe).



Figur 2. BRCA1 och dess domäner. Vid N-terminalen finns RING-domänen, därefter finns en nukleärlokaliseringsssekvens (NLS). Mellan NLS och coiled-coil finner man S988, ett fosforyleringsställe som fosforyleras av CHK2. Ett coiled-coil motiv, ett SQ/TQ kluster domän (SCD) som har ATM fosforyleringsställen och längst ut vid C-terminalen finns BRCT-domänen som består av två BRCT repetitioner. Omritad från Roy *et al.* 2011.

RING och ubikvitin

BRCA1s RING-domän interagerar med ett annat RING-protein som heter BARD1 (BRCA1-associerat RING-domän protein 1) (Wu *et al.* 1996). Denna interaktion ger upphov till bildandet av en RING-heterodimer. RING-heterodimeren ger E3 ligasaktivitet (Hashizume *et al.* 2001, Brzovic *et al.* 2003). E3 är en del av ett tredelat ubikvitinsystem där E3 står för ubikvitin ligas. E3 katalyserar formationen av polyubikvitin som blivit aktiverade av de andra två delarna i systemet, E1 och E2. E1 står för ubikvitin-aktiverande enzym och E2 för ubikvitin-konjugerande enzym. RING är ett vanligt E2 bindande motiv som man finner i E3 ligas och så är även fallet i BRCA1 (Brzovic *et al.* 2003). Det finns flera olika E2 som binder in till E3 och är med i BRCA1-BARD1 komplexets autoubikvitinering (Christensen *et al.* 2007). BARD1 anses stabilisera BRCA1 och BRCA1-BARD1 RING-heterodimeren kan ubikvitinera proteiner eftersom den har E3 ligasaktivitet (Hashizume *et al.* 2001). Ubikvitin har fler funktioner än dess proteolysstimulerande effekt som man annars oftast förknippar med ubikvitin. Exakt vilka effekter den har vet man inte riktigt men senare i texten beskrivs protein som binder in till BRCA1s BRCT domän, för dessa interaktioner är BARD1 viktig.

Proteinet och dess funktioner

BRCA1 har många funktioner och forskare hittar fortfarande fler områden där proteinet är involverat eftersom alla funktioner inte är helt klarlagda. Där man hittat BRCA1s funktion (som kommer bli beskrivna i detta arbete) är dock inte alla molekylära processer och interaktioner fastställda. Att cellcykelregleringen och reparationen av DNA skador är viktig kan ingen förneka. Det man däremot inte vet är vilken eller vilka funktioner som är viktigast för genomets stabilitet och främst i cancerutvecklingen. En annan viktig del i detta är att BRCA1 bildar många komplex och är därför involverad i många processer. Bildandet av dessa komplex är viktiga av olika anledningar som initieringen av homolog rekombination.

Homolog rekombination

ds-DNA skador kan inträffa av cellulär metabolism eller av påfrestningar utifrån såsom joniserande strålning (IR). När en skada på ds-DNA uppstår behöver cellen snabbt reparera sitt genom. Detta är viktigt för cellen då en ds-DNA skada annars kan leda till genetiska förändringar eller till och med celledöd. Ett sätt att reparera en sådan skada är genom homolog rekombination. Homolog rekombination är ett mycket effektivt sätt att reparera skador på eftersom det är väldigt specifikt. Det som gör den så specifik är att den använder en homolog sekvens på en systerkromatid eller en homolog kromosom som referens när skadan repareras.

BRCA1 är en så kallad förmedlare i reparationen av ds-DNA skador med hjälp av homolog rekombination. Det är flera BRCA1-komplex med olika funktioner involverade i reparationen av ds-DNA skador (Tabell 1). De första att påvisa att BRCA1 är med och kontrollerar reparationer via homolog rekombination var Moynahan *et al.* (1999). Detta påvisades genom att de celler som var BRCA1 fattiga visade sig ha en försämrad möjlighet att reparera ds-DNA skador med hjälp av homolog rekombination. Från detta har man hittat fler och fler proteiner som är involverade i reparationen. Man har dessutom kommit fram till mer specifikt vilka domäner på BRCA1 som är involverade.

Tabell 1. BRCA1-komplexens funktion och i vilken av de olika delarna av reparation via homolog rekombination som de är involverade i. De olika proteinernas bindning till BRCA1, huruvida de binder direkt eller indirekt och var på BRCA1 de binder in visas också.

Funktion	Domän på BRCA1	Binder till (direkt , indirekt)	Referenser
Rekrytering till ds-DNA skadan	BRCT	Abraxas , RAP80	Kim <i>et al.</i> 2007b, Yan <i>et al.</i> 2007b
3'-överhäng	BRCT och RING	CtIP , MRN	Yu <i>et al.</i> 2006, Chen <i>et al.</i> 2008
Homolog rekombination	Coiled-coil	PALB2 , BRCA2	Sy <i>et al.</i> 2009, Zhang Fe. <i>et al.</i> 2009

Rekrytering till ds-DNA skadan

För att kunna reparera en ds-DNA skada som uppstått behöver rätt protein rekryteras till skadan för att initiera och sedan reparera skadan. BRCA1 är med i denna process genom att det bildar ett komplex med två andra proteiner. Ett protein vid namn abraxas (även kallat CCDC98) binder specifikt till (wt) BRCA1s BRCT repetitioner med hjälp av fosforylering via pSXXF-motivet. pSXXF-motivet behöver proteiner som binder in till BRCT (Kim *et al.* 2007b). De aminosyror som X:en står för i just abraxas är prolin (P) och threonin (T). Utöver bindningen till abraxas så binder BRCA1, indirekt, till ett protein vid namn RAP80 (Receptor-Associated Protein 80) (Yan *et al.* 2007b, Liu Z. *et al.* 2007). Abraxas binder in till RAP80 oberoende av BRCA1 och alltså även när BRCA1 inte finns (Wang *et al.* 2007). Man tror att BRCA1 inte binder direkt till RAP80 för att RAP80 inte har ett pSXXF-motiv.

RAP80 har ubikvitin-interagerande motiv (UIM), det vill säga en domän som binder in proteinet ubikvitin. Studien utförd av Wang *et al.* (2007) visade att celler som saknade RAP80 eller abraxas var IR-känsligare än de med. Dessutom var bland annat reparation via homolog rekombination defekt. Försämringen i den homologa rekombinationen visade sig även vara mindre kraftig än med celler som saknade BRCA1. Detta indikerar att BRCA1 är mer essentiell för reparationsmekanismen. Utan att BRCA1 ackumuleras vid skadan kan inte reparationsvägen som är BRCA1 beroende initieras. RAP80s UIMs är specifika och essentiella för BRCA1s ackumulering vid fokuspunkten (eng. foci) av ds-DNA skadan (Kim *et al.* 2007a). Även om RAP80 är viktig för processen är ändå BRCA1 viktigare då den negativa effekten på den homologa rekombinationen är större när BRCA1 saknas. Vid en ds-DNA skada rekryteras komplexet av polyubikvitinkedjor (Sobhian *et al.* 2007, Kim *et al.* 2007a).

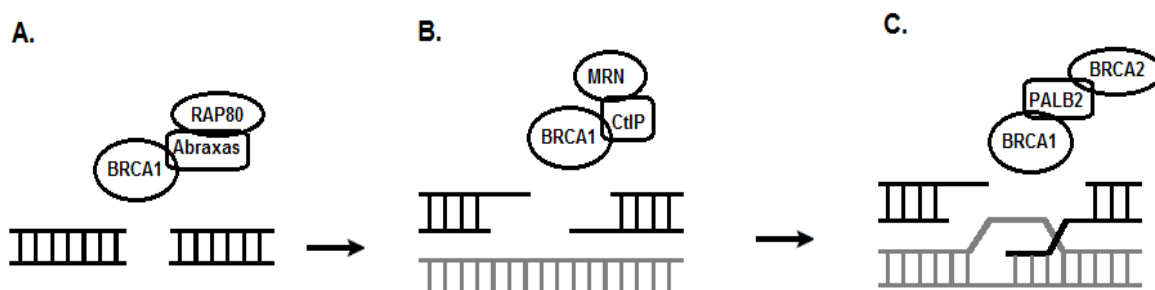
Skapa 3'-överhäng

För att homolog rekombination ska kunna ske via holliday junctions så krävs det ett 3'-överhäng. 3'-överhängen skapas genom att 5'-ändan bryts ned (eng. end resection). Även i denna process är ett BRCA1-komplex involverat. BRCA1 binder direkt till ett protein, CtIP (CtBP-interagerande protein), via BRCT-domänen med hjälp av fosforylering av ATM (ataxia-telangiectasia mutated) (Yu & Chen 2004). ATM är ett kinas som fosforylerar tre stycken Ser (S1387, S1423 och S1457, (Figur 2)) i SCD på BRCA1 (Gatei *et al.* 2000). BRCA1-CtIP är med och initierar reparation av ds-DNA skador genom att skapa (CtIP medierat) 3'-överhäng vid skadan (Yun & Hiom 2009). Det har också visats att CtIP utöver fosforylering även ubikvitineras av BRCA1 (Sartori *et al.* 2007). För denna ubikvitinering av CtIP så krävs (wt) BRCA1 (Yu *et al.* 2006).

BRCA1 binder indirekt till ett komplex, MRN, som består av tre proteiner: MRE11, RAD50 och NBS1. Den indirekta bindningen till komplexet är via BRCA1s bindning till CtIP där CtIP rekryterar MRN till BRCA1 genom dess bindning till NBS1 (Sartori *et al.* 2007, Chen *et al.* 2008). Tillsammans bildar BRCA1, CtIP och MRN ett komplex. För att komplexet ska bildas krävs cyklin-beroende kinas (CDK) aktivitet vilket betyder att det är reglerat av cellcykeln (Chen *et al.* 2008). Även om MRN-komplexet binder in indirekt till BRCA1 via CtIP (som binder till BRCT-domänen) så tror man att det finns en interaktion mellan MRN-komplexet och BRCA1s RING-domän. MRN är alltså viktigt för att kunna skapa 3'-överhänget vid en ds-DNA skada och MRNs bindning till CtIP visar att hela komplexet är viktigt för funktionen (Sartori *et al.* 2007).

Holliday junctions

När 3'-överhänget bildats så bildas holliday junctions som påbörjar den homologa rekombinationen och sedan reparerar skadan. Även vid själva rekombinationen är BRCA1 involverad. Genom coiled-coil domänen binder BRCA1 specifikt till PALB2 (partner och lokalisering av BRCA2) vilket kräver att BRCA1 fosforyleras av CHK2 (ett proteinkinase) (Sy *et al.* 2009, Zhang Fe. *et al.* 2009). CHK2 har också visat sig vara viktig då dess fosforylering av S988 (Ser 988, Figur 2) i BRCA1 behövs för att behålla kromosomstabiliteten (Stolz *et al.* 2010). Interaktionen mellan PALB2 och BRCA1 är inte beroende av att det finns en DNA skada utan de binder till varandra oberoende (Zhang Fe. *et al.* 2009). Genom PALB2 binder de två bröstcancer genererna indirekt till varandra. PALB2 binder vid N-terminalen till BRCA1 och vid C-terminalen till BRCA2 (Zhang Fa. *et al.* 2009). När PALB2s bindning till BRCA1 inte fungerar som den ska så störs den homologa rekombinationen visade Sy *et al.* (2009). BRCA1-PALB2-BRCA2 komplexet är även viktigt för initieringen av RAD51 förmedlad homolog rekombination.



Figur 3. BRCA1s roll i processen från ds-DNA skada till holliday junction. (a) BRCA1-abraxas-RAP80 komplexet rekryterar andra nödvändiga proteiner till skadan. (b) 3'-överhäng skapas av BRCA1-CtIP-MRN komplexet för reparation ska kunna ske. (c) Visar hur holliday junctions ser ut. BRCA1-PALB2-BRCA2 komplexet är med och skapar holliday junctions och därefter kan den homologa rekombinationen starta och reparera skadan.

BRCA1 är alltså via tre olika komplex med vid initieringen av homolog rekombination (Figur 3). Alla molekylära detaljer kring BRCA1s roll i initieringen av homolog rekombination är, som nämnts, inte helt klarlagda ännu men det finns en god grund och mycket information att ta ställning till. Även om mer forskning väntar har man dock kunnat klarlägga att BRCA1 har en viktig roll för den homologa rekombination som blivit beskriven ovan. När genprodukten inte fungerar som den ska ökar skadorna på DNA. I kombination med gener som även de är viktiga för att behålla genomets stabilitet fås en ökad risk att utveckla cancer i bröstets epitelceller som påbörjas tidigare än sporadisk bröstcancer.

Cellcykelreglering

Cellcykeln har fyra olika faser; tillväxtfasen (G_1), DNA:ts fördubbling (S), DNA:ts integritet säkerställs (G_2) och celldelningen, mitosen, (M) (Alberts *et al.* 2008). Meningen med cellcykeln är att duplicera DNA:t och genom celldelning skapa två identiska dotterceller. Miljön inne i cellen och utanför är viktiga för att cellcykeln ska fortsätta. Vid olika delar i cellcykeln finns det kontrollpunkter för att se till att föregående steg slutförts och utförts på ett korrekt sätt. BRCA1 är med och reglerar vid två sådana kontrollpunkter, G_2/M -kontrollpunkten och den interna S-fas kontrollpunkten (Tabell 2).

Tabell 2. BRCA1-komplexen involverade i cellcykelns kontrollpunktsaktiveringar. De olika proteinernas bindning till BRCA1, huruvida de binder direkt eller indirekt och var på BRCA1 de binder in visas också.

Funktion	Domän på BRCA1	Binder till (direkt, indirekt)	Referenser
G_2/M Kontrollpunkt	BRCT	Abraxas , RAP80	Kim <i>et al.</i> 2007a Kim <i>et al.</i> 2007b
	BRCT	CtIP , MRN	Yu <i>et al.</i> 2006
	SCD	ATM , MRN	Cortez <i>et al.</i> 1999
S-fas Kontrollpunkt	SCD	ATM , MRN	Xu <i>et al.</i> 2002
	BRCT	BRIP1 , TOPBP1	Greenberg <i>et al.</i> 2006

G₂/M-kontrollpunkt

Innan cellcykeln kan fortsätta in i M-fasen så finns en kontrollpunkt, G_2/M . Vid G_2/M kontrollpunkten så detekteras skador som uppkommit på DNA och de måste repareras innan cellcykeln kan fortsätta från G_2 -fasen till M-fasen. Vid denna kontrollpunkt är tre BRCA1 komplex involverade (Yarden *et al.* 2002). Som tidigare nämnts binder BRCA1 direkt till abraxas och indirekt (via abraxas) till RAP80. Detta komplex är också med vid G_2/M kontrollpunkten i cellcykeln (Kim *et al.* 2007a, b). Vid denna kontrollpunkt är komplexet involverat vid responsen att stoppa vid DNA skador. Utan komplexet stannar inte cellcykeln efter IR-inducerad skada vid G_2/M kontrollpunkten som den annars gör (Liu Z. *et al.* 2007).

BRCA1-CtIP är också involverad i G_2/M -kontrollpunktens aktivitet. Ubikvitineringen av CtIP är kopplad till kontrollpunkten genom att den associeras till kromatin efter en DNA skada (Yu *et al.* 2006). BRCA1s bindning till CtIP är essentiell för att cellcykeln ska kunna fortsätta in i M-fasen efter en DNA skada (Yu & Chen 2004). CtIP binder även här in MRN komplexet. Komplexets funktion vid just G_2/M kontrollpunkten tycks även vara kopplad till den höga expressionen av *CtIP* under denna del av cellcykeln. Det tredje komplexet som är involverat är BRCA1-ATM-MRN (Cortez *et al.* 1999, Gatei *et al.* 2000).

S-fas kontrollpunkt

Under S-fasen replikerar cellen sitt DNA för att få en dubbel uppsättning av genomet innan celldelningen. Det är viktigt att denna process är felfri då syftet är att skapa två identiska celler. I S-fasen finns det därför en intern kontrollpunkt där BRCA1 är inblandad. Cellcykeln stannar upp vid denna interna kontrollpunkt om replikationsgaffeln stannar upp eller om den kollapsar. Det är två BRCA1-komplex som är involverade i denna respons. Det ena komplexet är det där BRCA1 binder direkt till ATM via SCD i BRCA1 och indirekt till MRN-komplexet (Xu *et al.* 2002).

Det andra komplexet som bildas med BRCA1 vid kontrollpunkten är ett där BRIP1 (BRCA1-interagerande protein C-terminal helikas 1, även kallat BACH1) binder direkt till BRCA1 via dess BRCT-domän (Greenberg *et al.* 2006). BRIP1 binder sedan in TOPBP1 (DNA topoisomeras 2-bindande protein 1) och tillsammans bildar de tre det andra komplexet som är involverat i S-faskontrollpunkten. Utöver BRCA1-BRIP1-TOPBP1 komplexets funktion i responsen av S-faskontrollpunkten har det också visats att det har en funktion i själva reparationen av skador som uppkommer under replikationen (Cantor *et al.* 2001). Man har också sett en koppling till BRCA1 och S-faskontrollpunkten via p21 (en cellcykelinhibitor) och att BRCA1 på så sätt är med och stannar upp cellcykeln i S-fasen (Somasundaram *et al.* 1997).

Övriga funktioner

De två funktioner som tagits upp är inte de enda och man tror att det kan finnas fler ännu oundäckta områden där BRCA1 kan ha en funktion. Ett sådant område är lipidsyntes (Moreau *et al.* 2005). Via BRCT domänen binder BRCA1 till ACCA (acetyl coenzym A karboxylas α) som uttrycks i bröstcancer och det komplexet tycks ha en roll i lipidsyntesen. Studien styrker på så sätt teorin om att BRCA1 kan påverka lipogenesen (acetyl-CoA omvandlas till lipider) i bröstets epitelceller. Ubikvitineringen av andra protein har nämnts och denna aktivitet är också en funktion som proteinet har genom heterodimeren den skapar med BARD1. Som senare kommer beskrivas interagerar även BRCA1 med östrogenreceptor (ER) α .

Mutationer

En gen kan mutera på flera sätt. En mutation leder i många fall till en förändrad genprodukt och även en förändring i proteinets struktur. När genprodukten förändras så är konsekvenserna olika beroende på produktens funktion och interaktion med andra komponenter. När *BRCA1*, som är en caretaker gen, muterar kan inte längre BRCA1 binda in till andra protein som den ska då strukturen förändrats och bindningar omöjliggörs eller inte binder in på rätt sätt. Mutationer kan som känt också leda till att man får ett stoppkodon tidigare än annars vilket ger ett kortare protein som i sin tur ger samma konsekvenser. Vilka interaktioner som inte fungerar och därmed förhindrar bildandet av essentiella komplex beror på var i genen mutationen uppstår. Det avgör också hur mycket andra skador som genomet samlar på sig och om man därifrån får cancer eller inte. Vilken roll mutationer i *BRCA1* spelar i cancerutvecklingen är inte heller helt säkert. Det finns ett hundratal olika mutationer som identifierats som består av bland annat små insertioner och deletioner vilket ger en förändrad läsram som i sin tur leder till ett protein som inte fungerar (Miki *et al.* 1994, Simard *et al.* 1994).

BRCA1 och bröstcancer

Konsekvenserna som följer på en mutation i *BRCA1* är att den homologa rekombinationen inte fungerar som den ska samt att kontrollpunktsregleringen inte heller fungerar där BRCA1 är inblandat. En mutation i *BRCA1* i sig leder inte till bröstcancer utan den ger som nämnts en ökad risk. Exakt hur mutationer i genen ger denna ökade risk vet man inte helt säkert men man tror att genens funktion i reparation av skador i genomet är viktig. När BRCA1 inte kan binda in till alla komponenter som är essentiella för dess aktivitet kan det ge upphov till en större andel fel som inte upptäcks och/eller repareras. Det har visats att i celler där BRCA1 förlorat sin funktion får man epitelceller i bröstet som delar sig ovanligt mycket (Furuta *et al.* 2005). När celler delar på sig ofta ger det en större risk för skador i genomet som sedan ackumuleras.

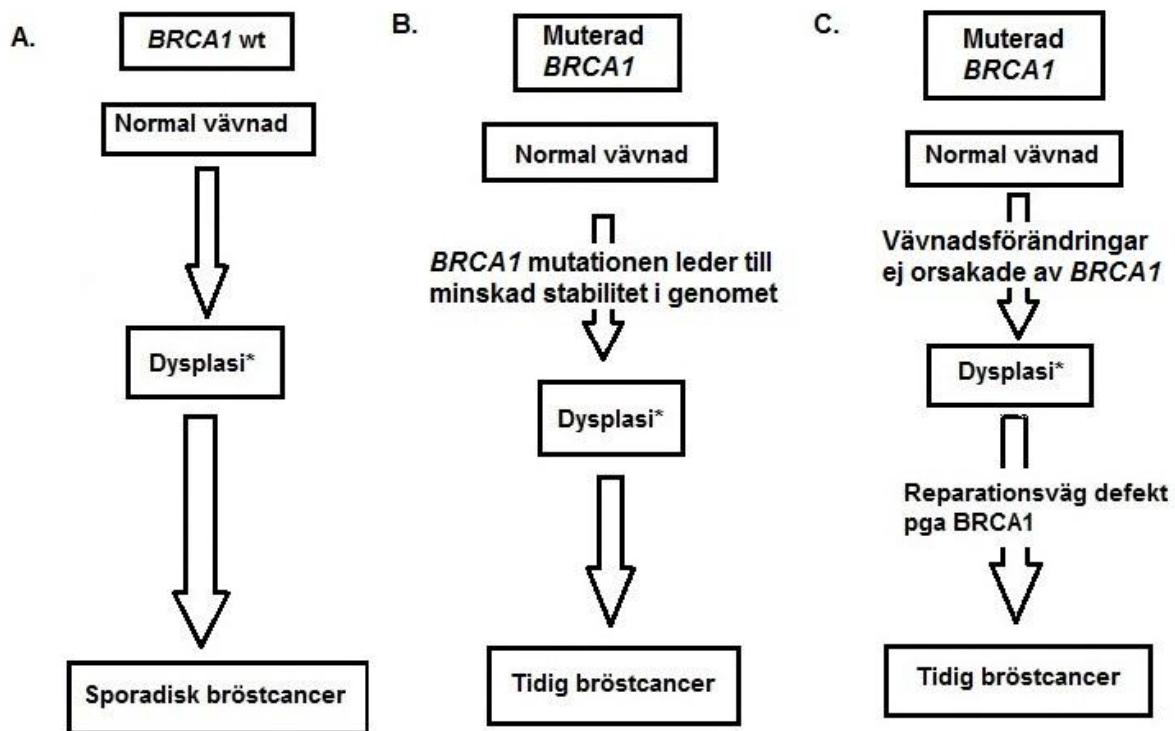
Med avseende på cancer där *BRCA1* och *BRCA2* är inblandande förlorar man heterozygotin. Det var länge allmänt accepterat att man alltid förlorade wt allelen i både *BRCA1* och *BRCA2* kopplad cancer. I en studie som publicerades 2007 visade man dock att detta kanske inte var fallet (King *et al.* 2007). I studien använde man sig av vävnadsprov från 23 kvinnor. 14 av de 23 hade *BRCA1* kopplad bröstcancer och de övriga hade *BRCA2* kopplad bröstcancer. I 11 av de 23 fallen visade det sig att det var mutanten som förlorades istället för wt som man tidigare antog. Av dessa var det 7 av dem som var *BRCA1* kopplade. Studien visade med det att det inte alls behöver vara wt allelen som förloras i tumörer i bröstvävnaden. En möjlig förklaring till detta som presenteras i studien är att mutanten behövs vid initieringen av tumören men inte sedan i utvecklandet. Vad dessa resultat egentligen säger får vidare forskning dock visa. Det visar också hur mycket som fortfarande finns att ta reda på kring bröstcancer och *BRCA1*.

Som det beskrevs i början så bildar *BRCA1* och *BARD1* en RING heterodimer som ger *BRCA1* dess E3 ligasaktivitet. Utöver E3 ligasaktivitetens ubikvitinerande funktion har man länge trott att *BRCA1*s E3 ligasaktivitet har varit viktig för proteinets stabiliserande funktion. Det har dock visat sig att den inte är essentiell. Även om *BRCA1/BARD1* komplexet är viktigt för proteinkomplexen som binder in till BRCT domänen (Shakya *et al.* 2011). I möss visades det att mutationer som förstörde BRCT domänens igenkännande av fosfopeptider inte alls hade samma tumörsuppresserande aktivitet som wt *BRCA1*. Eftersom man såg detta kunde man dra slutsatser kring BRCT domänen. Domänen är alltså väldigt viktig för proteinets aktivitet.

BRCA1 och p53

Som tidigare nämnts så är det inte mutationer i *BRCA1* i sig som per automatik ger bröstcancer utan det ger en ökad risk. När mutationer i *BRCA1* uppkommer leder det ofta till att andra gener muterar på grund av den ökade risken för ds-DNA skador som inte repareras. En gen som är inblandad i många cancerfall är *TP53* som kodar för proteinet p53 (Alberts *et al.* 2008). p53 är viktig för genomets stabilitet för att det exempelvis kan aktivera protein som behövs vid reparation av skador på DNA och initiera apoptos. När man förlorar funktionen i *BRCA1* är det ofta kopplat till en förlorad funktion av p53 i de fall som leder till tumörbildning (Liu X. *et al.* 2007). Liu X. *et al.* (2007) visade att de flesta *BRCA1* och *p53* muterade cellerna var ER-negativa karcinom (cancer i epitelceller) i mössen som visade tydliga tecken på likheter med mänsklig bröstcancer. Man har också sett att i tumörer med en muterad *BRCA1* gen kan ATM-uttrycket vara lägre och ibland även vara helt förlorat vilket man inte ser i tumörer som har wt *BRCA1* som i sporadisk bröstcancer (Tommiska *et al.* 2008). Tillsammans med p53 så är ATM och CHK2 med i signaleringen för apoptos. Om någon av dessa gener inte är funktionella ser man samma samband som man gör med p53, om än inte i samma utsträckning (Cao *et al.* 2006).

Det man inte heller vet med full säkerhet är hur mutationer i *BRCA1* faktiskt bidrar till bröstcancer. Tidigare i texten har processen beskrivits på ett sådant sätt att en mutation leder till fler skador som kan ge upphov till cancer. Man kan också se processen från ett annat håll, att det är en förändring i vävnaden som gör att den förlorar sin ursprungliga differentierade identitet (dysplasi) som uppkommer först, och inte som en direkt konsekvens av en mutation i genen. Från detta ökar DNA-skadorna som gör att reparationsvägarna blir viktigare och får ett högre tryck än tidigare. Med en mutation i *BRCA1* som gör att proteinet inte fungerar som wt fungerar inte reparationen och på så sätt går det snabbare att dysplasin utvecklas till cancer (Figur 4).



Figur 4. Hur bröstcancer kan uppkomma på grund av mutationer i *BRCA1*. (a) wt *BRCA1*. Från det att man har dysplasi* (förändring i vävnaden, kan vara ett förstadium till cancer) är tiden till att man får sporadisk bröstcancer normalt sett längre eftersom reparationen av DNA-skador är intakt. (b) Med en mutation i *BRCA1* kan skador ackumuleras och därmed ge upphov till dysplasi som i sin tur kan utvecklas till cancer som går snabbare än med wt. (c) Mutation i *BRCA1* gör att när man väl har fått dysplasi och behovet av reparationsystemet ökar går det snabbare att få cancer då *BRCA1* inte fungerar som det ska.

BRCA1 och östrogenreceptor α

Under menstruationscykeln växer bröstet. ER α är viktig då den reglerar ett komplext nätverk av vägar som behövs för proliferationen och differentieringen av både bröst- och äggstocksvävnad. Båda typerna av vävnader är hormonellt reglerade. Tidiga slutsatser kring wt *BRCA1* som drogs var att det skulle ha en hämmande effekt på östrogenberoende transkriptionella vägar i bröstepitelcellernas tillväxt (Fan *et al.* 1999). Det har utöver detta också visat sig att *BRCA1* kan blockera ligand-oberoende ER α -förmedlad transkriptionell aktivitet (Zheng *et al.* 2001). Detta sker med hjälp av en östrogen-oberoende interaktion som man hittade vid N-terminalen av *BRCA1* och C-terminal aktiverings funktion (AF-2) domänen på ER α (Fan *et al.* 2001). Man har sett att RING domänen på *BRCA1* inte är nödvändigt för bindningen men är viktigt för den hämmande effekten av ER α (Ma *et al.* 2005). Vidare föreslås att det är vid två kontaktpunkter som bindningen sker men att hela *BRCA1* behövs för maximalt hämmande av ER α . Om BARD1 har en funktion i interaktionen återstår att se.

I motsats till de inhiberande resultaten som *BRCA1* har visat sig ha av ER α är att de flesta cancerassocierade mutationerna i *BRCA1* saknar möjlighet att hämma ER α -signaler (Fan *et al.* 1999). Det är en viktig upptäckt som pekar på att wt *BRCA1* har en inbromsande effekt på ER α -driven proliferation och differentiering. Mutationer i genen gör att den förlorar de egenskaperna. Det innebär att proliferationen kan öka och på så sätt skapa en bra miljö för bildandet av tumörer. Differentieringen är viktig för vävnaden och om den inte fungerar som

den ska tappa cellerna sina specifika egenskaper vilket också gör det till en bättre miljö för tumörbildande. I möss visades det att ER α uttrycks mycket i förstadiet till *BRCA1* associerad cancer men att uttrycket senare förloras (Li *et al.* 2007). Studien visade att med östrogenbehandling ökade proliferering av *BRCA1*-muterade celler *in vitro* och *in vivo* visade studien ett ökat antal brösttumörer. Ungefär 90 % av *BRCA1*-kopplade tumörer är ER α -negativa (Lakhani *et al.* 2002). Det skulle kunna förklaras av resultaten i studien av Li *et al.* (2007) där alla tumörer i mössen med *BRCA1*-mutationer var ER α -positiva till en början men blev senare ER α -negativa.

***BRCA1* och övriga cancerfall**

Som nämnts kan mutationer i *BRCA1* bidra till bröstcancer men det är inte den enda kopplingen men sett även om den är den vanligaste. Genen kan också vara kopplad till äggstockscancer och kombinerad bröst- och äggstockscancer. Äggstockscancer hittas ofta ganska sent i cancerutvecklingen på grund av att symptomen är svaga och de dessutom inte börjar förrän ganska sent. Personer med mutationer i genen har utöver detta också påstått ha en ökad risk att utveckla cancer i tjocktarmen. Detta samband är det dock inte många som har hittat (Strewing *et al.* 1997). Istället har man senare dragit slutsatser att det inte finns en koppling mellan *BRCA1* och cancer i tjocktarmen (Peelen *et al.* 2000). Hos män har genen visat sig ge en ökad risk att drabbas av prostatacancer (Strewing *et al.* 1997, Thompson & Easton 2002). En ny studie visar dock att dessa slutsatser är dragna på felaktiga grunder (Fachal *et al.* 2011). De menar att data i studierna är baserade på populationer där man har grundareffekt, alltså att de kan spåras tillbaka till en gemensam förfader och att den genetiska variationen därför är låg i *BRCA1*. Det kan man se i vissa judiska populationer vilket gör att den påvisade effekten får högre association till mutationerna än den skulle i andra populationer.

Dessutom finns det ytterligare motsägande resultat om *BRCA1*. De innefattar dess eventuella koppling till pankreascancer (cancer i bukspottskörteln). En studie bekräftade teorin om att det skulle finnas en koppling till pankreascancer (Kim *et al.* 2009) medan en annan hävdade motsatsen (Axilbund *et al.* 2009). Båda dessa studier är publicerade samma år men kom trots det till diametralt olika slutsatser. Kim *et al.* (2009) visar på att det finns en ganska stor koppling mellan mutationer i både *BRCA1* och *BRCA2* och där män kan vara mer utsatta då de inte testas för mutationer i genen i samma utsträckning. Axilbund *et al.* (2009) gjorde studien på endast *BRCA1* mutationer och det visade sig ha en väldigt liten effekt i deras studie då genen inte verkade vara kopplad till merparten av pankreascancerfallen i studien.

Diskussion

Som beskrivits är *BRCA1* viktig för att genomet ska hålla sig stabilt och mutationer i *BRCA1* leder till ökade skador i genomet. Även om inte alla processer och *BRCA1*s involvering i alla dessa är kartlagda till fullo är den stora frågan ändå kopplingen till bröstcancer. Vilka av *BRCA1*s funktioner som är de viktigaste att inte förlora är inte heller klarlagt. Det man ser i bröstcancerfallen som är kopplade till *BRCA1* är att kvinnor löper en ökad risk att drabbas och då tidigare än vid sporadisk bröstcancer. Att utveckla cancer i båda bröstena oberoende av varandra är också vanligare. Det är inte heller klart på vilket sätt *BRCA1*s funktioner ger ökad risk för cancer och i vilket steg när genen är muterad. Varför är det just bröstcancer som mutationer i genen är främst associerade att ge en ökad risk att drabbas av? *BRCA1* är ändå viktig i alla celltyper men mutationer verkar mest vara kopplade till hormonellt reglerade vävnader som bröst och äggstockar. Cancerceller är generellt drivna att växa och dela sig så att man förlorat *BRCA1*s funktion är i sig ingen anledning till tumörutveckling. Hade det varit

en gen som endast uttrycks i den vävnaden hade kopplingen varit nästintill självklar men då det inte är fallet blir det mycket svårare att besvara men det finns ett antal hypoteser.

En teori är att kopplingen till bröstcancer har med menstruationscykeln och den hormonellt drivna tillväxten att göra. Då vävnaden i bröstet (och äggstockarna) är mål för denna hormonella reglering är det troligt att kopplingen finns där. Menstruationscykeln bidrar till förändringar i bröstet. Detta leder till högre metabolism som i sin tur betyder mer syre som kan ge oxidativa skador. Under menstruationscykelns hormonella reglering har man kunnat påvisa en ökning av oxidativa DNA-skador (Lavigne *et al.* 2001). Dessa skador kräver reparation via BRCA1 (och även BRCA2) förmedlad homolog rekombination. När genen då är muterad och behovet av reparationen ökar och inte kan tillgodoses till fullo kan skadorna i genomet öka. Dessa skador kan i sin tur leda till cancer. Utöver denna teori kring menstruationscykeln finns det också studier som har visat på BRCA1s koppling till ER α . Den inbromsande effekten som wt BRCA1 verkar ha är viktig för att hålla den ER α -drivna prolifereringen i bröstepitel under kontroll. När den inbromsningen inte fungerar, på grund av mutationer i genen, kan det leda till tumörbildning i bröstet som en konsekvens av den ökade prolifereringen.

Yan *et al.* (2007a) visade att RAP80 (bildar komplex med BRCA1 under både homolog rekombination och vid G₂/M kontrollpunkten) är ett protein som binder till östrogenreceptor α . De diskuterar de möjliga kopplingarna mellan RAP80s ER och kopplingen mellan BRCA1 och bröstcancer, genom genens östrogensignalering. En annan koppling som har diskuterats mellan bröstcancer och mutationer i *BRCA1* är att ungefär 90 % av cellerna inte uttrycker ER α , paradoxalt nog (Lakhani *et al.* 2002). ER α negativitet har blivit föreslaget som en indikation på att hitta tumörer med mutationer i *BRCA1*, ett samband man inte såg bland personer som bar på mutationer i *BRCA2* (Lakhani *et al.* 2005). Det är även möjligt att ER α -negativiteten kan förklaras av resultat som visat att cellerna i början är ER α -positiva men blir ER α -negativa senare (Li *et al.* 2007). Varför det är på det sättet vet man inte riktigt men det skulle kunna bero på till exempel epigenetiska förändringar som leder till ett förlorat uttryck av ER α vilket föreslås i studien. Med vidare studier kanske ER α :s roll i tumörbildandet i *BRCA1*-kopplad cancer kan lösas och ge svar på varför ER α -negativitet är observerat i så hög utsträckning.

De processer som BRCA1 är involverad i eller som man tror att den har en funktion i blir fler. E3 ubikvitin ligasaktiviteten har tidigare nämnts. Det ger en polyubikvitinering som är viktig för responsen för DNA reparation. Den är viktig för reparation via homolog rekombination och för cellcykelns kontrollpunkter. Det finns också teorier om att BRCA1 skulle vara involverad i transkriptionell aktivitet men dessa teorier är inte lika starka längre. Det har också visats att BRCA1s ubikvitin ligasaktivitet är viktig för att upprätthålla heterokromatin i både möss och celler från bröstcancervävnad (Zhu *et al.* 2011). Heterokromatin är kromosomsegment som är hårt packade och inte har någon transkriptionell aktivitet. De visade också att där *BRCA1* saknades (i möss) kunde man genom att uttrycka histon (2A) som man monoubikvitinerade återfå den effekt som man visat att genen hade.

Det är inte heller helt klart hur *BRCA1* ger en ökad risk till cancer. Det man vet är att genen är viktig för genomets stabilitet men på vilket sätt det sker och exakt vilken roll *BRCA1* har är lite oklart. Det skulle kunna vara så att när BRCA1 inte fungerar riktigt ackumuleras mutationer i gener som till exempel *p53*. Det kan i sin tur ge upphov till cancer. Ett alternativ till detta är att när förändringar sker i vävnaden som annars skulle kunna hållas tillbaka och inte ge cancer förrän väldigt sent inte fungerar riktigt som det ska på grund av mutation i

BRCA1 gör det att det inte går att hålla tillbaka och på så sätt kan förändringen utvecklas till en tumör mycket tidigare än det annars skulle. Hur det verkligen ligger till i detta fall är svårt att säga och svårt att ta reda på. Men om man fick reda på vilken roll *BRCA1* spelar i detta fall skulle man kanske kunna lösa gåtan.

De teorier om association till tjocktarmscancer, prostatacancer och pankreascancer som beskrivna ovan visar på är att vidare studier behöver göras. Inte bara inom dessa områden utan även mot bröstcancer och äggstockscancer. För att ta reda på om sambanden finns där eller ej behöver större studier genomföras och eventuella kopplingar till specifika mutationer kanske kan dras och på så sätt förklara de motsägande resultaten. Epigenetiken kring *BRCA1* kan också vara ett område där mer forskning behövs. I sporadisk bröstcancer har man tittat på epigenetiska orsaker till inaktivering av *BRCA1* (Butcher & Rodenhiser 2007). Det kan vara viktigare än man trott även i genetiskt nedärvd bröstcancer orsakad av *BRCA1*. I dagsläget finns det två bröstcancer gener, *BRCA1* och *BRCA2*. Forskare har ännu inte hittat någon tredje bröstcancer gen vilket borde innebära att de vanligaste ändå är *BRCA1* och *BRCA2* om det nu finns någon mer.

Det finns fortfarande mycket kvar att forska kring gällande *BRCA1*. För att viktiga slutsatser ska kunna dras behöver man först mer information om hur genen fungerar. Att ta reda på de molekylära processerna är också viktigt. Genom att förstå i vilka delar som mutationer ger negativa effekter kan man kartlägga och använda sig av informationen. Informationen skulle kanske i framtiden kunna användas till att bedöma risker hos patienter. Man kanske till och med skulle kunna använda informationen för att kunna utveckla möjliga substitut för proteinet och på så sätt minska den förhöjda cancer risken. I slutändan är forskningen viktig för de personer som bär på mutationer i *BRCA1*. Idag kan man välja att genomgå en förebyggande operation genom att operera bort bröstet. Om forskningen skulle kunna bidra till möjlighet till behandling av dessa patienter kanske förebyggande operationer inte skulle behövas i samma utsträckning.

Tack

Ett stort tack till min handledare Lage Cerenius för givande råd och kommentarer genom hela processen. Jag vill även tacka mina medstudenter Emmy Borgmästars och Jens Berndtsson som även dem följt arbetet från start och för all bra och konstruktiv feedback. Slutligen vill jag tacka Williams RS, Green R, Glover JN för kristallstrukturen av *BRCA1*'s BRCT repetitioner på arbetets framsida som är baserad på deras struktur 1JNX från Protein Data Bank (PDB).

Referenser

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2008. Molecular biology of the cell. 5:e uppl. Garland Science, New York.
- Axilbund JE, Argani P, Kamiyama M, Palmisano E, Raben M, Borges M, Brune KA, Goggins M, Hruban RH, Klein AP. 2009. Absence of germline *BRCA1* mutations in familial pancreatic cancer patients. *Cancer Biology and Therapy* **8**: 131-135.
- Brzovic PS, Keefe JR, Nishikawa H, Miyamoto K, Fox D, Fukuda M, Ohta T, Klevit R. 2003. Binding and recognition in the assembly of an active BRCA1 BARD1 ubiquitin-ligase complex. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*. **100**: 5646-5651.

- Butcher DT, Rodenhiser DI. 2007. Epigenetic inactivation of BRCA1 is associated with aberrant expression of CTCF and DNA methyltransferase (DNMT3B) in some sporadic breast tumours. *European Journal of Cancer* **43**: 210-219.
- Campbell NA, Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Miorsky PV, Jackson RB. 2008. *Biology*. 8:e uppl. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- Cancerfonden 2011. *Cancer och ärftlighet*. Cancerfonden, Stockholm.
- Cantor SB, Bell DW, Ganesan S, Kass EM, Drapkin R, Grossman S, Wahrer DCR, Sgroi DC, Lane WS, Haber DA. 2001. BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function. *Cell* **105**: 149–160.
- Cao L, Kim S, Xiao C, Wang R, Coumoul X, Wang X, Li WM, Xu XL, De Soto JA, Takai H *et al.* 2006. ATM–Chk2–p53 activation prevents tumorigenesis at an expense of organ homeostasis upon Brca1 deficiency. *European Molecular Biology Organization Journal* **25**: 2167-2177.
- Chen L, Nievera CJ, Lee AY, Wu X. 2008. Cell cycle-dependent complex formation of BRCA1·CtIP·MRN is important for DNA double-strand break repair. *Journal of Biological Chemistry* **283**: 7713-7720.
- Christensen DE, Brzovic PS, Klevit RE. 2007. E2–BRCA1 RING interactions dictate synthesis of mono- or specific polyubiquitin chain linkages. *Nature Structural and Molecular Biology* **14**: 941-948.
- Cortez D, Wang Y, Qin J, Elledge SJ. 1999. Requirement of ATM-dependent phosphorylation of Brca1 in the DNA damage response to double-strand breaks. *Science* **286**: 1162-1166.
- Gatei M, Scott SP, Filippovitch I, Soronika N, Lavin MF, Weber B, Khanna KK. 2000. Role for ATM in DNA Damage-induced Phosphorylation of BRCA1. *Cancer Research* **60**: 3299-3304.
- Greenberg RA, Sobhian B, Pathania S, Cantor SB, Nakatani Y, Livingston DM. 2006. Multifactorial contributions to an acute DNA damage response by BRCA1/BARD1-containing complexes. *Genes & Development* **20**: 34–46.
- Fan S, Wang J, Yuan R, Ma Y, Meng Q, Erdos MR, Pestell RG, Yuan F, Auburn KJ, Goldberg ID, Rosen EM. 1999. BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transfected cells. *Science* **284**: 1354-1356.
- Fan S, Ma XY, Wang C, Yuan R, Meng Q, Wang J, Erdos M, Goldberg ID, Webb P, Kushner PJ *et al.* 2001. Role of direct interaction in BRCA1 inhibition of estrogen receptor activity. *Oncogene* **20**: 77-87.
- Fachal L, Gómez-Caamaño A, Celeiro-Muñoz C, Peleteiro P, Blanco A, Carballo A, Forteza J, Carracedo A, Vega A. 2011. BRCA1 mutations do not increase prostate cancer risk: results from a meta-analysis including new data. *Prostate* **71**: 1768-1779.
- Furuta S, Jiang X, Gu B, Cheng E, Chen P, Lee W. 2005. Depletion of BRCA1 impairs differentiation but enhances proliferation of mammary epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 9176-9181.
- Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, King M. 1990. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* **250**: 1684-1689.
- Hashizume R, Fukuda M, Maeda I, Nishikawa H, Oyake D, Yabuki Y, Ogata H, Ohta T. 2001. The RING heterodimer BRCA1-BARD1 is a ubiquitin ligase inactivated by a breast cancer-derived mutation. *Journal of Biological Chemistry* **276**: 14537-14540.
- Kim H, Chen J, Yu X. 2007a. Ubiquitin-binding protein RAP80 mediates BRCA1-dependent DNA damage response. *Science* **316**: 1202-1205.
- Kim H, Huang J, Chen J. 2007b. CCDC98 is a BRCA1-BRCT domain-binding protein involved in the DNA damage response. *Nature Structural & Molecular Biology* **14**: 710-715.

- King TA, Li W, Brogi E, Yee CJ, Gemignani ML, Olvera N, Levine DA, Norton L, Robson, ME *et al.* 2007. Heterogenic loss of the wild-type BRCA allele in human breast tumorigenesis. *Annals of Surgical Oncology* **14**: 2510-2518.
- Kim DH, Crawford B, Ziegler J, Beattie MS. 2009. Prevalence and characteristics of pancreatic cancer in families with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Familial Cancer* **8**: 153-158.
- Lakhani SR, van de Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L, Easton DF. 2002. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *Journal of Clinical Oncology* **20**: 2310-2318.
- Lakhani SR, Reis-Filho JS, Fulford L, Penault-Llorca F, van der Vjiver M, Parry S, Bishop T, Benitez J, Rivas C, Bignon YJ. 2005. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clinical Cancer Research* **11**: 5175-5180.
- Li W, Xiao C, Vonderhaar BK, Deng C. 2007. A role of estrogen/ER α signaling in BRCA1-associated tissue-specific tumor formation. *Oncogene* **26**: 7204-7212.
- Liu X, Holstege H, van der Gulden H, Treur-Mulder M, Zevenhoven J, Velds A, Kerkhoven RM, van Vliet MH, Wessels LFA, Peterse JL *et al.* 2007. Somatic loss of BRCA1 and p53 in mice induces mammary tumors with features of human BRCA1-mutated basal-like breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**: 12111-12116.
- Liu Z, Wu J, Yu X. 2007. CCDC98 targets BRCA1 to DNA damage sites. *Nature Structural & Molecular Biology* **14**: 716-720.
- Ma YX, Tomita Y, Fan S, Wu K, Tong Y, Zhao Z, Song L, Goldberg ID, Rosen EM. 2005. Structural determinants of the BRCA1:estrogen receptor interaction. *Oncogene* **24**: 1831-1846.
- Menke IA, Lowery DM, Nguyen A, Yaffe MB. 2003. BRCT repeats as phosphopeptide-binding modules involved in protein targeting. *Science* **302**: 636-639.
- Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu O, Cochran C, Bennett LM, Ding W *et al.* 1994. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* **266**: 66-71.
- Moreau K, Dizin E, Ray H, Luquain C, Lefai E, Foufelle F, Billaud M, Lenoir GM, Venezia ND. 2005. BRCA1 affects lipid synthesis through its interaction with acetyl-CoA carboxylase. *Journal of Biological Chemistry* **281**: 3172-3181.
- Moynahan ME, Chiu JW, Koller BH, Jasin M. 1999. Brca1 controls homology-directed DNA repair. *Molecular Cell* **4**: 511-518.
- Peelen T, de Leeuw W, van Lent K, Morreau H, van Eijk R, van Vliet M, Wijnen J, Ligtenberg M, Ginjaar HB, Zweemer R *et al.* 2000. Genetic analysis of a breast-ovarian cancer family, with 7 cases of colorectal cancer linked to BRCA1, fails to support a role for BRCA1 in colorectal tumorigenesis. *International Journal of Cancer* **88**: 778-782.
- Rodriguez M, Yu X, Chen J, Songyang Z. 2003. Phosphopeptide binding specificities of BRCA1 COOH-terminal (BRCT) domains. *The Journal of Biological Chemistry* **278**: 52914-52918.
- Roy R, Chun J, Powell SN. 2011. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Review Cancer* **12**: 68-78.
- Sartori AA, Lukas C, Coates J, Mistrik M, Fu S, Bartek J, Baer R, Lukas J, Jackson SP. 2007. Human CtIP promotes DNA end resection. *Nature* **450**: 509-514.

- Shakya R, Reid LJ, Reczek CR, Cole F, Egli D, Lin C, deRooij DG, Hirsch S, Ravi K, Hicks JB *et al.* 2011. BRCA1 tumor suppression depends on BRCT phosphoprotein binding, but not its E3 ligase activity. *Science* **334**: 525-528.
- Simard J, Tonin P, Durocher F, Morgan K, Rommens J, Gingras S, Samson C, Leblanc JF, Belanger C, Dion F *et al.* 1994. Common origins of BRCA1 mutations in Canadian breast and ovarian-cancer families. *Nature Genetics* **8**: 392-398.
- Sobhian B, Shao G, Lilli DR, Culhane AC, Moreau LA, Xia B, Livingston DM, Greenberg RA. 2007. RAP80 Targets BRCA1 to specific ubiquitin structures at DNA damage sites. *Science* **316**: 1198-1202.
- Socialstyrelsen 2011. Cancer incidence in Sweden. Socialstyrelsen, Sverige.
- Somasundaram K, Zhang H, Zeng Y, Houvras Y, Peng Y, Zhang H, Wu GS, Licht JD, Weber BL, El-Deiry WS. 1997. Arrest of the cell cycle by the tumour-suppressor BRCA1 requires the CDK-inhibitor p21 (WAF1/CiP1). *Nature* **389**: 187-190.
- Stolz A, Ertych N, Kienitz A, Vogel C, Schneider V, Fritz B, Jacob R, Dittmar G, Weichert W, Petersen I, Bastians H. 2010. The CHK2–BRCA1 tumour suppressor pathway ensures chromosomal stability in human somatic cells. *Nature Cell Biology* **12**: 492-499.
- Strewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, Timmerman MM, Brody LC, Tucker MA. 1997. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *New England Journal of Medicine* **336**: 1401–1408.
- Sy SMH, Huen MSY, Chen J. 2009. PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 7155-7160.
- Thompson D & Easton DF. 2002. Cancer incidence in BRCA1 mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute* **94**: 1358-1365.
- Tommiska J, Bartkova J, Heinonen M, Hautala L, Kilpivaara O, Eerola H, Aittomäki K, Hofstetter B, Lukas J, von Smitten K *et al.* 2008. The DNA damage signalling kinase ATM is aberrantly reduced or lost in BRCA1/BRCA2-deficient and ER/PR/ERBB2-triple-negative breast cancer. *Oncogen* **27**: 2501-2506.
- Wang B, Matsuoka S, Ballif BA, Zhang D, Smogorzewska A, Gygi SP, Elledge SJ. 2007. Abraxas and RAP80 form a BRCA1 protein complex required for the DNA damage response. *Science* **316**: 1194-1198.
- Wu LC, Wang ZW, Tsan JT, Spillman MA, Phung A, Xu XL, Yang MW, Hwang L, Bowcock AM, Baer R. 1996. Identification of a RING protein that interact *in vivo* with the BRCA1 gene product. *Nature Genetics* **14**: 430-440.
- Xu B, O'Donnell AH, Kim S, Kastan MB. 2002. Phosphorylation of serine 1387 in Brca1 is specifically required for the Atm-mediated S-phase checkpoint after ionizing irradiation. *Cancer Research* **62**: 4588–4591.
- Yan J, Kim Y, Yang X, Albers M, Koegl M, Jetten AM. 2007a. Ubiquitin-interaction motifs of RAP80 are critical in its regulation of estrogen receptor α . *Nucleic Acids Research* **35**: 1673–1686.
- Yan J, Kim Y, Yang X, Li L, Liao G, Xia F, Jetten AM. 2007b. The ubiquitin-interacting motif-containing protein RAP80 interacts with BRCA1 and functions in DNA damage repair response. *Cancer Research* **67**: 6647-6656.
- Yarden RI, Pardo-Reoyo S, Sgagias M, Cowan KH, Brody LC. 2002. BRCA1 regulates the G2/M checkpoint by activating Chk1 kinase upon DNA damage. *Nature Genetics* **30**: 285-289.
- Yu X, Chen J. 2004. DNA damage-induced cell cycle checkpoint control requires CtIP a phosphorylation-dependent binding partner of BRCA1 C-terminal domains. *Molecular and Cellular Biology* **24**: 9478–9486.

- Yu X, Chini CCS, He M, Mer G, Chen J. 2003. The BRCT domain is a phosphor-protein binding domain. *Science* **302**: 639-642.
- Yu X, Fu S, Lai M, Baer R, Chen J. 2006. BRCA1 ubiquitinates its phosphorylation-dependent binding partner CtIP. *Genes & Development* **20**: 1721-1726.
- Yun MH, Hiom K. 2009. CtIP-BRCA1 modulates the choice of DNA double-strand-break repair pathway throughout the cell cycle. *Nature* **459**: 460-463.
- Zhang Fa, Fan Q, Ren K, Andreassen PR. 2009. PALB2 functionally connects the breast cancer susceptibility proteins BRCA1 and BRCA2. *Molecular Cancer Research* **7**: 1110-1118.
- Zhang Fe, Ma J, Wu J, Ye L, Cai H, Xia B, Yu X. 2009. PALB2 links BRCA1 and BRCA2 in the DNA-damage response. *Current Biology* **19**: 524-529.
- Zheng L, Annab LA, Afshari CA, Lee WH, Boyer TG. 2001. BRCA1 mediates ligand-independent transcriptional repression of the estrogen receptor. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **98**: 9587-9592.
- Zhu Q, Pao GM, Huynh AM, Suh H, Tonnu N, Nederlof PM, Gage FH, Verma IM. 2011. BRCA1 tumour suppression occurs via heterochromatin-mediated silencing. *Nature* **477**: 179-185.