

REPARACIÓN DEL ADN. PROPORCIONANDO ESTABILIDAD QUÍMICA A LA VIDA

*De una célula a otra, de una generación a la siguiente. La información genética que determina cómo se forman los seres humanos se ha transmitido en nuestros cuerpos durante cientos de miles de años y, aunque está constantemente sometida a agresiones del medio ambiente, permanece sorprendentemente intacta. **Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar** reciben el Premio Nobel de Química 2015 por haber descrito y explicado cómo las células reparan el ADN salvaguardando la información genética.*

Usted ha sido creado cuando los 23 cromosomas de un espermatozoide se combinaron con los 23 cromosomas de un óvulo. Al juntarse se creó la versión original de su genoma, su material genético. Toda la información genética necesaria para crearle estaba presente en esa fusión. Si alguien hubiera extraído las moléculas de ADN de esta primera célula y las colocara en línea, obtendría una cadena de dos metros de largo.

Cuando el óvulo fertilizado se divide posteriormente las moléculas de ADN se copian, y la célula hija obtiene un conjunto completo de cromosomas. Después, las células se dividen otra vez: dos se convierten en cuatro, cuatro se convierten en ocho. Al cabo de una semana se han formado 128 células, cada una con su propio conjunto de material genético. La longitud total de su ADN se aproxima a los 300 metros.

Hoy (millones de divisiones celulares más tarde) su ADN tiene la longitud suficiente para ir hasta el sol y volver, alrededor de 250 veces. A pesar de que su material genético ha sido copiado muchas veces, la copia más reciente es notablemente similar a la original que fue creada cuando el óvulo fue fecundado. Las moléculas de la vida nos muestran su grandeza, porque desde una perspectiva puramente química esto debería ser imposible. Todos los procesos químicos son propensos a errores aleatorios. Además, su ADN está sometido diariamente a radiaciones que puede dañarlo y a moléculas capaces de reaccionar con él. De hecho, usted debe de haber sido un caos químico antes de convertirse en un feto.

Su ADN es supervisado por un enjambre de proteínas

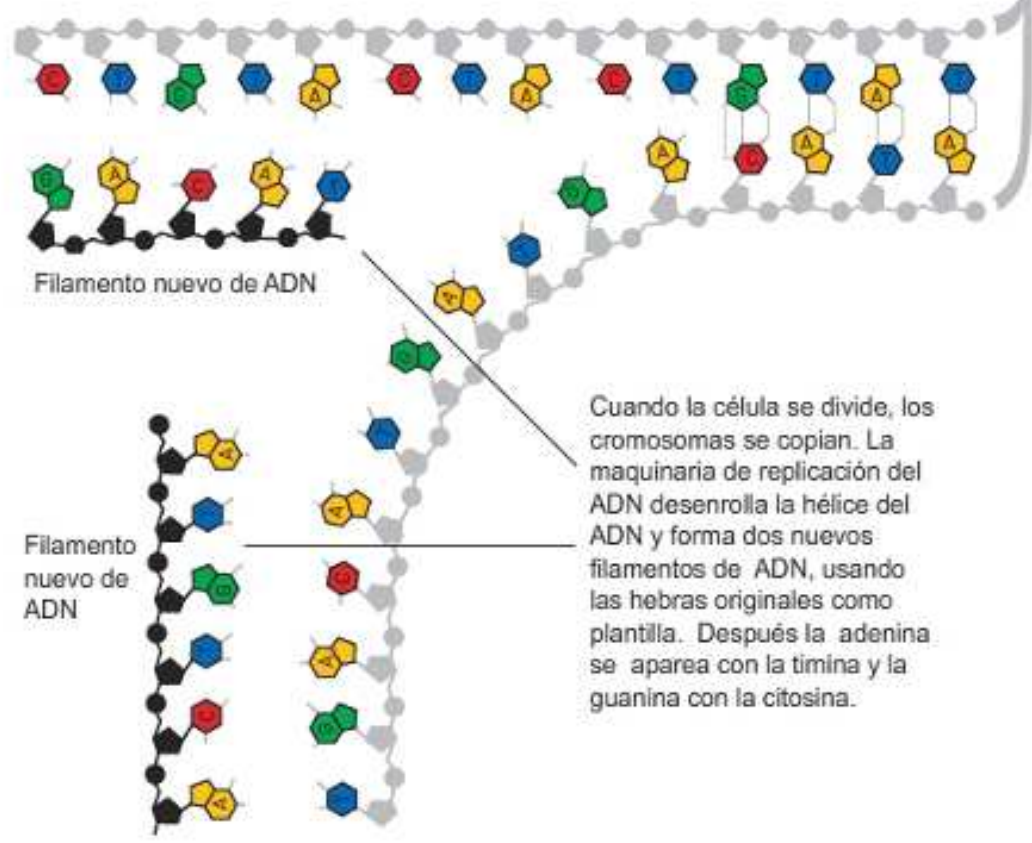
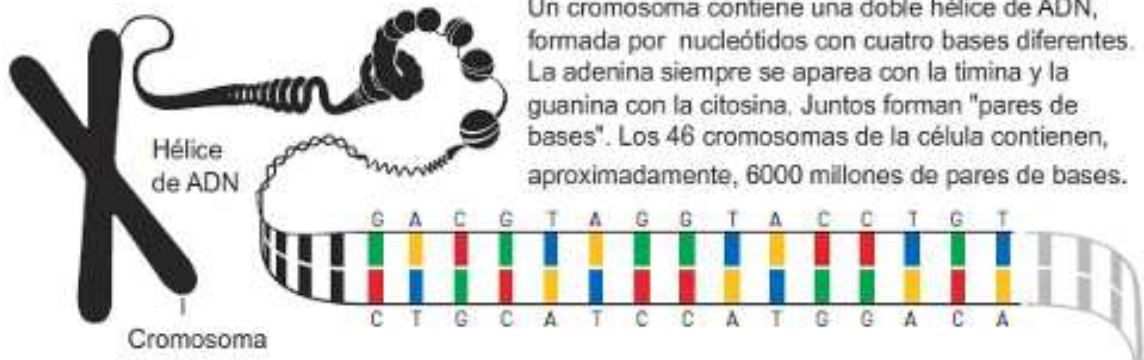
Nuestro ADN se mantiene sorprendentemente intacto, año tras año, debido a una serie de mecanismos de reparación molecular: un enjambre de proteínas que controlan los genes. Ellas continuamente leen el genoma y reparan cualquier daño que se ha producido. El Premio Nobel de Química 2015 ha sido adjudicado a **Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar** por haber descrito estos procesos fundamentales a nivel molecular. Su trabajo ha significado una contribución decisiva para la comprensión de cómo funcionan las células, además de proporcionar conocimiento sobre las causas moleculares de varias enfermedades hereditarias y sobre los mecanismos de desarrollo del cáncer y el envejecimiento.

Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar han investigado y descrito, de forma independiente, varios procesos para la reparación del ADN, relevantes para los seres humanos. La historia comienza con Tomas Lindahl, nacido en el mismo país que Alfred Nobel.

La vida existe, por lo que el ADN debe ser reparable

"¿Cuánto de estable es el ADN, realmente?", **Tomas Lindahl** comenzó haciéndose esta pregunta a finales de la década de 1960. Entonces, la comunidad científica consideraba que la molécula de ADN – la base de la vida – era extremadamente resistente. La evolución requiere mutaciones, pero sólo de un número limitado por generación. Si la información genética fuera demasiado inestable los organismos multicelulares no podrían existir

La estructura del ADN



Durante su postdoctorado en la Universidad de Princeton, Estados Unidos, **Tomas Lindahl** trabajó con la molécula de ARN, un primo molecular del ADN. No fue fácil. En sus experimentos tenía que calentar el ARN, pero esto conducía, inevitablemente, a una degradación rápida de la molécula. Era bien conocido que el ARN era más sensible que el ADN, pero si el ARN era destruido con tanta facilidad cuando es expuesto al calor, ¿podían ser las moléculas de ADN estables de por vida? Esta pregunta obsesionaba a Lindahl.

Deberían de pasar unos cuantos años antes de que comenzara a buscar una respuesta a esa pregunta. Por entonces había vuelto a Suecia, al Karolinska Institutet, en Estocolmo. Algunos experimentos le mostraron entonces que sus sospechas eran correctas: el ADN experimentaba una degradación lenta pero notable. Lindahl estimó que se producían miles de lesiones potencialmente devastadoras en el genoma cada día, una frecuencia claramente incompatible con la vida humana. Su conclusión fue que deberían existir siste-

mas moleculares para la reparación de todos estos defectos y, con esta idea, Tomas Lindahl abrió la puerta a un nuevo campo de investigación.

Enzimas especiales para eliminar daños en el ADN

Usando ADN bacteriano que, al igual que el ADN humano, se compone de nucleótidos que contienen las bases adenina, guanina, citosina y timina, Tomas Lindahl comenzó a buscar las enzimas reparadoras.

Una de las zonas más susceptibles químicamente en el ADN es la citosina que, fácilmente, pierde un grupo amino, pudiendo conducir a la alteración de la información genética. En la doble hélice del ADN, la citosina siempre se empareja con la guanina, pero cuando el grupo amino desaparece, tiende a aparearse con la adenina. Por lo tanto, si este defecto persiste, podríamos tener una mutación en la próxima replicación del ADN. Lindahl se dio cuenta de que las células deberían de tener alguna protección contra esto y fue capaz de identificar una enzima bacteriana que elimina las moléculas de citosina dañada del ADN. En 1974, publicó sus hallazgos.

Tomas Lindahl reúne las piezas del mecanismo de reparación

Este fue el inicio de 35 años de trabajo, durante los cuales Tomas Lindahl ha encontrado y examinado muchas de las proteínas que las células emplean para la reparación del ADN. A principios de la década de 1980, se fue a Gran Bretaña, para trabajar en la Imperial Cancer Research Fund, en Londres. En 1986 fue nombrado director del recién fundado Clare Hall Laboratory, posteriormente conocido por su creatividad en el campo de la ciencia. Poco a poco, Lindahl elabora una imagen molecular de cómo se produce la supresión y reparación de las bases dañadas, un proceso en el cual las *glicosilasas*, enzimas similares a la que había encontrado en 1974, son el primer paso en el proceso de reparación del ADN. La escisión y reparación de las bases también se produce en los seres humanos y, en 1996, Tomas Lindahl logró recrear, in vitro, el proceso de reparación en humanos.

El concepto clave para Tomas Lindahl era la afirmación de que el ADN, inevitablemente, se degrada, incluso cuando se encuentra en el entorno protector de la célula. Hacía tiempo que se sabía que el ADN puede ser dañado por agresiones ambientales, tales como los rayos UV. El mecanismo utilizado por la mayoría de las células para reparar el daño producido por los rayos UV, (*nucleotide excision repair*) había sido descrito por Aziz Sancar, nacido en Savur, Turquía y que desarrolló su carrera profesional en Estados Unidos.

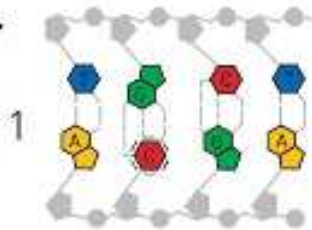
La bioquímica es preferible a la vida como médico

La fascinación de **Aziz Sancar** por las moléculas de la vida tuvo lugar mientras estudiaba medicina en Estambul. Después de graduarse trabajó durante unos años como médico en Turquía, pero en 1973 decidió estudiar bioquímica. Un hecho singular despertó su interés: cuando las bacterias son expuestas a dosis letales de radiación ultravioleta, puede recuperarse si se iluminan con luz azul. Sancar quedó fascinado por este hecho, casi mágico; ¿Cuál era el mecanismo químico implicado?

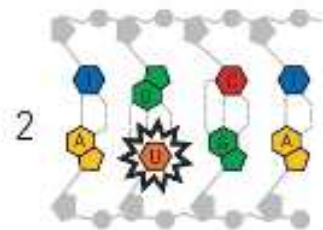
Claud Rupert, un estadounidense, había estudiado este fenómeno y Aziz Sancar se incorporó a su laboratorio en la Universidad de Texas en Dallas, Estados Unidos. En 1976, utilizando las herramientas que la biología molecular ponía entonces a su disposición, clonó con éxito el gen de la enzima que repara el ADN dañado por la radiación ultravioleta, la fotoliasa, y también bacterias productoras de la enzima. Este trabajo se convirtió en una tesis doctoral, pero no tuvo excesivo eco en la comunidad científica. Así que los estudios sobre la fotoliasa fueron aparcados. Para seguir trabajando en los mecanismos de reparación del ADN, Aziz Sancar se convirtió en técnico de laboratorio en la Yale University School of Medicine, una institución líder en su campo. Aquí comenzó el trabajo que eventualmente resultaría premiado con el Nobel de Química.

Base excision repair

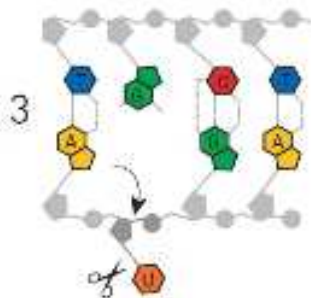
Escisión y reparación de las bases
El ADN se repara escindiendo las bases dañadas, por ejemplo la citosina.



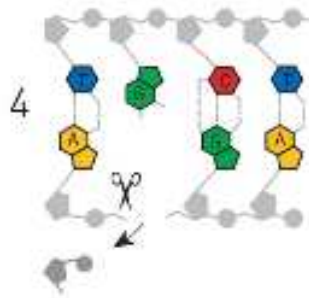
1 La citosina puede perder fácilmente un grupo amino, formando una base llamada uracilo.



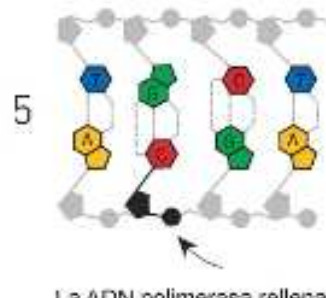
2 El uracilo no puede formar un par con la guanina.



3 Una enzima, la glicosilasa, descubre el defecto y suprime el uracilo.



4 Un par de enzimas retiran los restos de los nucleótidos de la hebra de ADN.



5 La ADN polimerasa rellena el hueco y el filamento de la DNA es sellado por la ADN ligasa.

Aziz Sancar investiga cómo las células reparan los daños causados por la radiación ultravioleta.

Estaba claro que las bacterias tienen dos sistemas para la reparación del daño causado por los rayos UV: además de la *fotoliasa*, que actuaba en presencia de la luz, se había descubierto un segundo sistema que funcionaba en la oscuridad. Los nuevos colegas de Aziz Sancar en Yale habían estudiado este mecanismo que opera en la oscuridad desde mediados de la década de 1960, utilizando tres cepas de bacterias sensibles a la radiación UV que llevan a tres mutaciones genéticas diferentes: *uvrA*, *uvrB* y *uvrC*.

Tal y como había hecho en sus anteriores estudios con la fotoliasa, Sancar comenzó a investigar el proceso molecular en ausencia de luz. Al cabo de algunos años había conseguido identificar, aislar y caracterizar las enzimas codificadas por los genes *uvrA*, *uvrB* y *uvrC*. En experimentos *in vitro* mostró que estas enzimas pueden identificar un daño producido por la luz UV, luego hacer dos incisiones en el filamento de la DNA, una a cada lado de la parte dañada, retirando posteriormente un fragmento de 12 -13 nucleótidos que incluye la parte dañada.

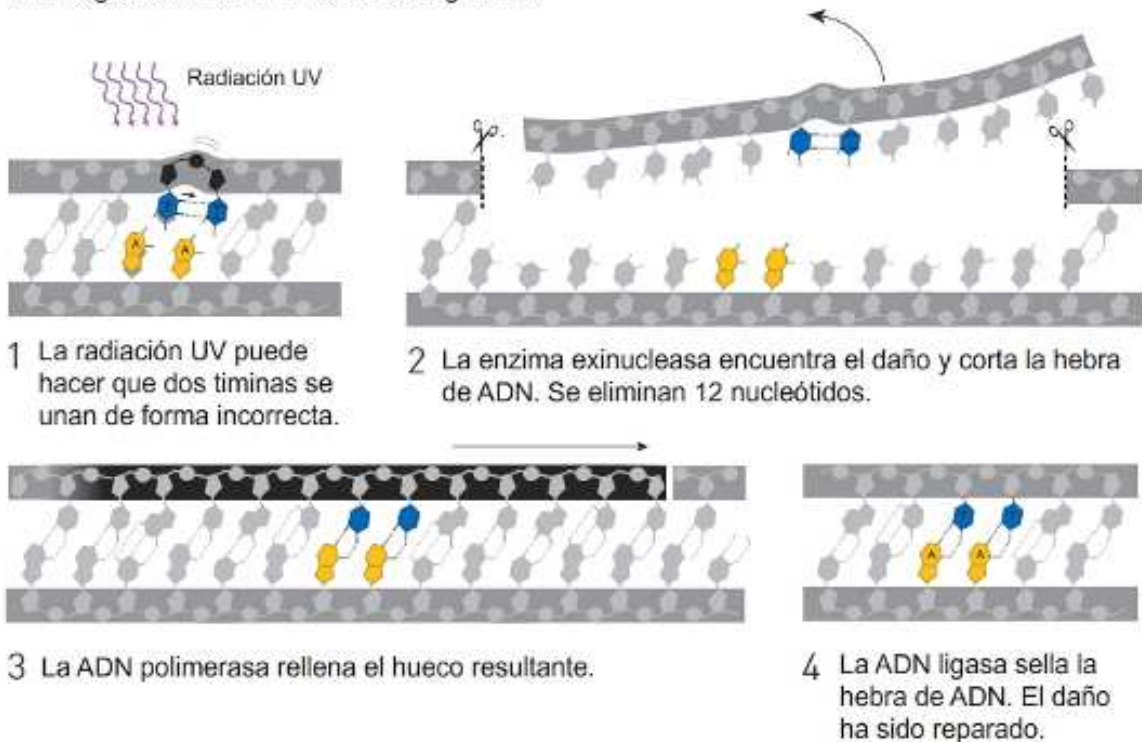
Los mecanismos de reparación del daño producido por radiación UV son similares en humanos y bacterias

Los conocimientos aportados por Aziz Sancar acerca de los detalles moleculares del proceso cambiaron por completo el rumbo de las investigaciones. Publicó sus hallazgos en 1983 y gracias a ello fue propuesto como profesor asociado de Bioquímica de la Universidad de North Carolina en Chapel Hill. En esta universidad describe, con idéntica precisión, las siguientes etapas de reparación de los nucleótidos suprimidos. En paralelo con otros investigadores, entre ellos Tomas Lindahl, Sancar investigó la supresión y reparación de los nucleótidos en los humanos. La maquinaria molecular que repara el daño UV en el ADN humano es más compleja que la que actúa en las bacterias, pero, en términos químicos, el mecanismo de reparación funciona del mismo modo en todos los organismos.

Entonces, ¿qué pasó con el interés inicial de Sancar por la fotoliasa? Bueno, Sancar, finalmente regresó a esta enzima, descubriendo el mecanismo responsable de la reactivación de las bacterias. Además, ayudó a demostrar que el equivalente humano a la fotoliasa nos ayuda a ajustar el reloj circadiano.

Nucleotide excision repair

Escisión y reparación de los nucleótidos del ADN dañados por radiación ultravioleta o sustancias carcinógenas como el humo de los cigarrillos



Ha llegado la hora de comentar la obra de Paul Modrich. Él también comenzó con una vaga idea sobre un mecanismo de reparación que luego concretó en un elegante mecanismo molecular.

Vale la pena conocer "cosas de ADN"

Paul Modrich creció en un pequeño pueblo en el norte de nuevo México, Estados Unidos. La diversidad del paisaje estimuló su interés por la naturaleza, pero un día su padre, profesor de biología, le comentó: "Deberías aprender cosas sobre el ADN". Esto fue en 1963, un año después de que James Watson y Francis Crick fueran galardonados con el Premio Nobel por descubrir la estructura del ADN.

Unos años más tarde, esas "cosas de ADN" llegaron a ser centrales en la vida de Paul Modrich. Desde el comienzo de su carrera como investigador, como estudiante de doctorado en Stanford, durante su postdoctorado en Harvard y como profesor asistente en la Universidad de Duke, examinó una serie de enzimas relacionadas con el ADN: *la ADN ligasa*, *la polimerasa del ADN* y *la enzima Eco RI*. Cuando posteriormente, a finales de la década de 1970, centró su atención a la enzima *Dam metilasa* se encontró con otra "cosa de ADN" que ocuparía gran parte de su carrera como científico.

Entrelazamiento de dos hilos de la investigación

La *Dam metilasa* une grupos metilo al ADN. Paul Modrich demostró que estos grupos metilo podrían funcionar como postes indicadores, ayudando a una enzima a cortar la cadena de ADN en el lugar correcto. Sin embargo, pocos años antes, **Matthew Meselson**, un biólogo molecular de la Universidad de Harvard, había sugerido una función distinta para los grupos metilo en el ADN.

Manejando de forma magistral la biología molecular, Meselson había construido un virus bacteriano con las bases del ADN emparejadas incorrectamente. Por ejemplo, la A se une con la C, en lugar de con la T. Cuando estos virus se empleaban para infectar bacterias, las bacterias corregían esos defectos. Nadie sabía por qué las bacterias habían desarrollado esta función pero en 1976 Meselson especuló que podría ser un mecanismo de reparación para corregir fragmentos defectuosos producidos cuando se replica el ADN. Si

eso era así, continuaba Meselson, tal vez los grupos metilo del ADN ayudaban a las bacterias a identificar qué hilo utilizar como plantilla durante la corrección. Si la nueva hebra de ADN, la réplica defectuosa, carecía de grupos metilo, ¿podría motivar que fuera identificada y corregida?

Aquí (en la metilación del ADN) los caminos de Paul Modrich y de Matthew Meselson se cruzaron. Trabajando juntos crearon un virus con una serie de desajustes en su ADN. Esta vez la dam metilasa de Modrich fue utilizada para agregar grupos metilo a una de las hebras de ADN. Cuando estos virus infectaban bacterias, las bacterias corregían el filamento de ADN que carecía de grupos metilo. La conclusión de Modrich y de Meselson fue que la reparación del ADN es un proceso natural que corrige los fallos que se producen cuando se copia el ADN, reconociendo el filamento defectuoso por no estar metilado.

Paul Modrich. Ilustrando la reparación del ADN desajustado

Para Paul Modrich este descubrimiento inició una década de trabajo sistemático clonando y estudiando las enzimas que toman parte en el proceso de reparación. Hacia el final de la década de 1980, fue capaz de recrear el mecanismo de reparación molecular complejo in vitro y estudiarlo con gran detalle. Este trabajo fue publicado en 1989.

Paul Modrich, al igual que Tomas Lindahl y Aziz Sancar, también ha estudiado el sistema de reparación en humanos. Hoy sabemos que uno de cada mil errores que ocurren cuando se copia el genoma humano, son corregidos mediante este procedimiento. Sin embargo, en el proceso humano, todavía no sabemos a ciencia cierta cómo se identifica la cadena original. La metilación del ADN tiene funciones distintas en nuestro genoma y en de las bacterias, así que algo más debe establecer cuál es el filamento correcto. Cómo sucede exactamente, está por aclarar.

Defectos en los sistemas de reparación causan cáncer

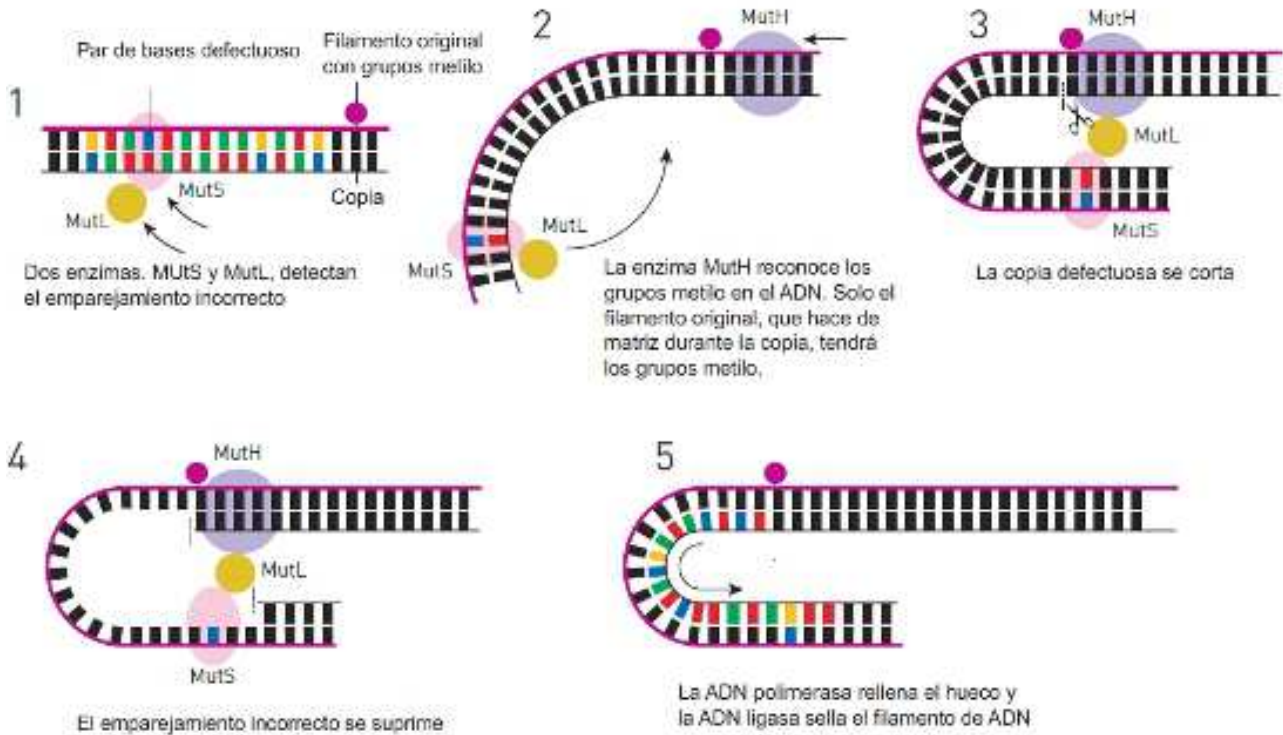
Además de la reparación de las bases, y la reparación de desajustes de la cadena, hay varios mecanismos que mantienen nuestro ADN. Cada día, tienen lugar miles de daños en el ADN causados por el sol, el humo de los cigarrillos u otras sustancias genotóxicas; continuamente, en cada división celular, alteraciones del ADN son corregidas, miles de desajustes. Nuestro genoma se derrumbaría sin estos mecanismos de reparación. Si un componente falla, la información genética cambia rápidamente y aumenta el riesgo de cáncer.

Daños congénitos en el proceso de escisión y reparación de los nucleótidos son la causa de la enfermedad conocida con el nombre de *xeroderma pigmentosa*. Los individuos que la padecen son extremadamente sensibles a la radiación UV y desarrollan cáncer de piel si se exponen al sol. Defectos en la reparación del ADN aumentan el riesgo de desarrollar cáncer de colon hereditario, por ejemplo.

De hecho, en muchas formas de cáncer, uno o más de estos sistemas de reparación han sido parcial o totalmente desactivados. Esto hace que el ADN de las células cancerosas sea inestable, de ahí que las células cancerosas a menudo mutan y se vuelven resistentes a la quimioterapia. Al mismo tiempo, estas células enfermas son muy dependientes de los sistemas de reparación que siguen funcionando; sin éstos, su ADN podría dañarse seriamente provocando la muerte de las células. Los investigadores están intentando aprovechar todo esto para el desarrollo de nuevos fármacos contra el cáncer. Inhibiendo un sistema de reparación pueden frenar o detener completamente el crecimiento del cáncer. Un ejemplo de un fármaco que inhibe un sistema de reparación de las células cancerosas es el *Olaparib*.

Mismatch repair

Reparación de emparejamientos incorrectos en el ADN
Cuando se produce la copia, durante la división celular, los nucleótidos pueden emparejarse de forma incorrecta en el nuevo filamento.



En conclusión, la investigación básica realizada por los laureados con el Premio Nobel de Química de este año no solo ha aumentado nuestro conocimiento sobre procesos moleculares básicos, también sus investigaciones podrían conducir al desarrollo de tratamientos que salven vidas. O, en palabras de Paul Modrich, "la curiosidad en la investigación es muy importante. Nunca se sabe donde nos va a llevar... Un poco de suerte también ayuda."

Enlaces y lecturas

Información adicional sobre los premios de este año, incluyendo un fondo científico en inglés, está disponible en el sitio web de la Real Academia sueca de Ciencias, en <http://kva.se> y en <http://nobelprize.org>. Allí y en el de <http://kvatv.se>, puede ver videos de las conferencias de prensa, las conferencias Nobel y mucho más. Información sobre exposiciones y actividades relacionadas con los premios Nobel están disponibles en www.nobelmuseum.se.

Artículos de divulgación

Howard Hughes Medical Institute, Biography Paul Modrich.

<http://www.hhmi.org/scientists/paul-l-modrich>

Weston, K. (2014) Country Life: Repair and Replication. In *Blue Skies and Bench Space: Adventures in Cancer Research*. Long Island, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

<http://blueskiesbenchspace.org/index.php?pag=4>

Zagorski, N. (2005) Profile of Aziz Sancar, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 102(45), 16125–16127.

<http://www.pnas.org/content/102/45/16125.full.pdf>

Videos

Howard Hughes Medical Institute (2003) Mismatch repair.

<http://www.hhmi.org/biointeractive/mismatch-repair>

Interview with T. Lindahl (2015) Cancer Research UK.

https://www.youtube.com/watch?v=FHlnqjEQig0&index=16&list=PL_bJU93S6g0sCs1CQ_ah2o_z7ztU-QkE-

Artículos científicos

Lahue, R. S, Au, K. G. and Modrich, P. (1989) DNA Mismatch Correction in a Defined System, *Science*, 245(4914), 160–164.

Lindahl, T. (1974) An N-Glycosidase from *Escherichia coli* That Releases Free Uracil from DNA Containing Deaminated Cytosine Residues, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71(9), 3649–3653.

Sancar, A. and Rupp, W. D. (1983) A Novel Repair Enzyme: UVRABC Excision Nuclease of *Escherichia coli* Cuts a DNA Strand on Both Sides of the Damaged Region, *Cell*, 33(1), 249–260.

Los premiados

TOMAS LINDAHL

Swedish citizen. Born 1938 in Stockholm, Sweden. Ph.D. 1967 from Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. Professor of Medical and Physiological Chemistry at University of Gothenburg 1978–82. Emeritus group leader at Francis Crick Institute and Emeritus director of Cancer Research UK at Clare Hall Laboratory, Hertfordshire, UK. <http://crick.ac.uk/research/a-z-researchers/emeritus-scientists/tomas-lindahl/>

PAUL MODRICH

U.S. citizen. Born 1946. Ph.D. 1973 from Stanford University, Stanford, CA, USA. Investigator at Howard Hughes Medical Institute and James B. Duke Professor of Biochemistry at Duke University School of Medicine, Durham, NC, USA. <http://www.biochem.duke.edu/paul-l-modrich-primary>

AZIZ SANCAR

U.S. and Turkish citizen. Born 1946 in Savur, Turkey. Ph.D. 1977 from University of Texas, Dallas, TX, USA. Sarah Graham Kenan Professor of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC, USA. <http://www.med.unc.edu/biochem/people/faculty/primary/asancar>