

09 DE AGOSTO DE 2001

Proteína de reparación alberga al ADN dañado

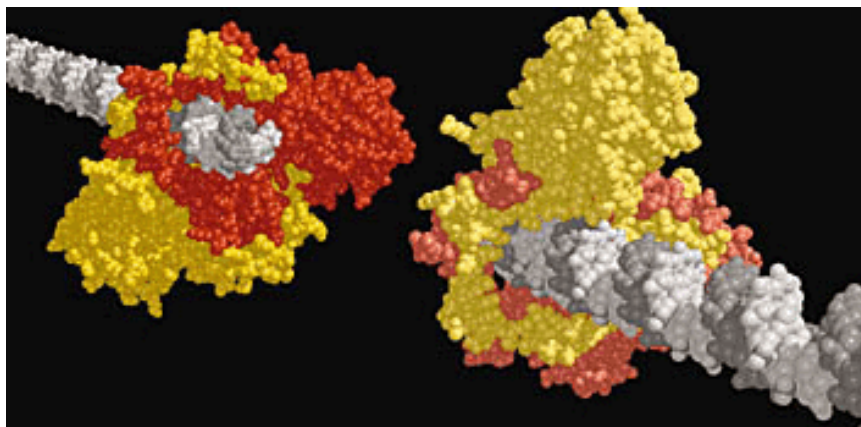


Image Title: Modelo espacial que muestra a Ku unida al ADN. Los dos componentes de Ku están coloreados de rojo (Ku70) y de amarillo (Ku80). El ADN está representado con una hebra gris oscura y una gris clara. - Jonathan Goldberg

Investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han generado las primeras imágenes detalladas de una proteína que realiza la crucial tarea de detectar y reparar hebras rotas de ADN. Las imágenes muestran que la proteína está diseñada para albergar al ADN mientras éste es reparado y vuelto a unir con gran precisión.

Las imágenes de la proteína Ku de reparación de ADN fueron publicadas en el número del 9 de agosto de 2001, de la revista *Nature*, por el investigador del Instituto Médico Howard Hughes Jonathan Goldberg y sus colegas John R. Walker y Richard A. Corpina del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center.

Las roturas en la doble hebra de ADN pueden ocurrir aleatoriamente como resultado de la exposición a radiaciones ionizantes o como eventos programados durante el intercambio de genes necesario para crear los

linfocitos que combaten a las infecciones. El heterodímero Ku, que consiste en dos subunidades, Ku70 y Ku80, es miembro de una familia de proteínas de reparación de ADN que reparan al ADN cortado para preservar la integridad del genoma. Cuando Ku encuentra un ADN dañado, inicia un proceso de reparación, llamado unión del extremo no-homólogo (NHEJ, por sus siglas en inglés), proceso que vuelve a unir los extremos cortados de la doble hebra, aunque los extremos de cada hebra de ADN no sean complementarios.

La función de Ku en el mantenimiento de la integridad del genoma fue establecida por estudios anteriores en los cuales el investigador del HHMI, Frederick W. Alt y sus colegas anularon a Ku70 y a otros componentes de NHEJ y encontraron que la reparación del ADN estaba comprometida, y que ocurrían cambios cromosómicos aberrantes con alta frecuencia. Aunque estos estudios reforzaron la función de Ku en la reparación del ADN, los detalles sobre cómo Ku realiza la detección e inicia la reparación seguían siendo incompletos. “La bioquímica es muy clara”, dijo Goldberg. “Ku se encuentra en el núcleo lista para detectar daños en el ADN y para unir los extremos del mismo”.

Lo que seguía siendo confuso, sin embargo, era cómo Ku podía distinguir con tal precisión entre los extremos cortados y el ADN intacto. “Además, el unir nuevamente el ADN parece peligroso debido a la probabilidad de perder información genética”, dijo Goldberg. “Pero, en realidad, el proceso que ensambla los extremos no-homólogos es muy preciso, y queríamos saber por qué Ku parece ser tan necesaria para tal precisión.”

Goldberg y sus colegas creían que el poder ver cómo se une Ku al ADN proporcionaría respuestas a algunos de los interrogantes sobre la interacción entre Ku y el ADN. Los investigadores utilizaron una técnica llamada cristalografía de rayos X para visualizar la interacción entre el heterodímero Ku y el ADN. Para realizar la cristalografía de rayos X, se bombardean los cristales de una proteína con intensos haces de rayos X. A medida que los rayos X rebotan con los átomos del cristal, emiten un patrón de difracción que, entonces, se puede analizar para determinar la estructura tridimensional de la proteína.

Antes de que pudieran visualizar completamente el complejo Ku-ADN, Goldberg y sus colegas decidieron estudiar sólo al heterodímero Ku. Los intentos para preparar cristales de la proteína Ku sólo produjeron algunos cristales usables de los centenares que prepararon. Afortunadamente, los científicos fueron capaces de utilizar una técnica iniciada por el investigador del HHMI, Wayne Hendrickson, para resolver la estructura completa del heterodímero Ku a partir de un solo cristal. La técnica, llamada difracción anómala de longitud de onda múltiple, fue aplicada durante los análisis cristalográficos realizados en la Fuente Nacional de Luz Sincrotrón del Laboratorio Nacional de Brookhaven. Una vez determinada la estructura de Ku, los científicos continuaron resolviendo la estructura del complejo Ku-ADN.

En los estudios, Goldberg y sus colegas tuvieron que imitar la rotura del ADN, asegurándose de que el fragmento de ADN a ser ensayado tuviera sólo un extremo accesible —para evitar que Ku se uniera a más de un sitio en el ADN—. Esto se logró bloqueando el otro extremo del ADN con un voluminoso motivo de ADN.

Luego de resolver la estructura de Ku unido al ADN, Goldberg y sus colegas pudieron ver cómo el heterodímero Ku se las arregla para “encontrar” un extremo cortado de ADN, independientemente de su secuencia. El problema es que Ku no actúa como un factor transcripcional que se une a una secuencia específica de ADN”, dijo Goldberg. “En cambio, le interesa reconocer cualquier ADN cortado. Y la estructura nos mostró que Ku es una molécula de forma anular que puede deslizarse hacia el extremo apenas se produce una rotura.”

La estructura del complejo Ku-ADN revela que el heterodímero Ku forma un anillo que rodea y “alberga” al extremo de la hebra de ADN. “Creemos que las proteínas Ku tienen que mantener juntos los extremos de ADN”, dijo Goldberg. “El interrogante es cómo sostener el extremo de un pedazo de ADN sin ocultarlo. Encontramos que nuestra proteína tiene una extensa base que alberga al ADN, con un puente muy estrecho que yace sobre la superficie —sosteniendo un costado del ADN casi por completo, pero dejando el otro lado casi totalmente expuesto—. Pensamos que esta exposición podría permitir que otros factores de reparación actúen sobre los extremos cortados para repararlos.”

Los científicos especulan que las proteínas Ku en dos extremos cortados se ligan unas a otras para mantener a los dos extremos en la posición adecuada para ensamblar nuevamente el ADN. Goldberg y sus colegas también encontraron que el heterodímero Ku no toma ningún tipo de contacto con las bases de ADN, pero se toma de la columna de azúcar de la hebra de ADN —lo que significa que a la proteína no le “importa” la secuencia de ADN a la que se une—. Los científicos también tienen evidencia de que Ku mantiene al ADN en una alineación precisa para permitir la rápida unión por las enzimas de reparación. “Es lógico que la alineación precisa de los extremos de ADN, que realiza la proteína, de una ventaja a las proteínas de reparación y a las ligasas que son las que en definitiva unen los extremos de ADN”, dijo Goldberg.

En el futuro, Goldberg y sus colegas planean explorar la estructura de las proteínas Ku unidas a dos hebras rotas de ADN, para entender el mecanismo por el cual alinean a los extremos con precisión. Esta precisión es la clave de la exactitud del proceso de unión, que podría ayudar a la reparación, en ausencia de homología natural de las hebras separadas, dijo Goldberg.