

27 DE OCTUBRE DE 05

Enzima del ADN tiene una capacidad acrobática inesperada

Nuevos experimentos realizados por investigadores del Instituto Médico Howard Hughes muestran que la enzima helicasa, que normalmente se arrastra a lo largo de una cadena de ADN durante su función en la replicación y otros procesos, exhibe una capacidad acrobática impresionante cuando encuentra un obstáculo. Los estudios muestran que la enzima vuelve inmediatamente a su posición original en la cadena de ADN para que el proceso pueda comenzar nuevamente.

Este inesperado descubrimiento invita a la especulación de que el movimiento de transporte de la enzima -el cual se repite múltiples veces- podría tener un propósito biológico útil. Por ejemplo, podría preservar la integridad del ADN al quitar de la cadena de ADN a proteínas potencialmente tóxicas que se acumulan durante la replicación.

La comprensión de la forma en la que funciona la enzima helicasa podría ayudar a deducir el mecanismo que subyace a las enfermedades genéticas causadas por una actividad anormal de la helicasa, dijo el autor senior del estudio Taekjip Ha, investigador del Instituto Médico Howard Hughes, en la Universidad de Illinois, en Urbana-Champaign.

"Nos recordó al personaje griego Sísifo, que tenía que levantarse todas las mañanas y subir la misma piedra por la ladera de la misma colina."

- Taekjip Ha

Ha y los colegas de Illinois, Sua Myong, Ivan Rasnik y Chirlmin Joo, realizaron los estudios en colaboración con Timothy Lohman, de la Facultad de Medicina de la Universidad Washington en St. Louis. Los estudios fueron publicados en el número del 27 de octubre de 2005, de la revista *Nature*.

Las helicasas son una parte crítica del proceso de replicación del ADN porque desenrollan al ADN de doble cadena para crear cadenas individuales que pueden ser copiadas por la maquinaria de replicación. Esta y otra actividad de la helicasa en la célula depende de la habilidad del “motor” de la proteína helicasa para arrastrarse a lo largo de la cadena de ADN. Esta locomoción es impulsada por el ATP, fuente de energía ubicua de la célula.

En sus experimentos de tubo de ensayo, Ha y sus colegas sólo utilizaron el componente del motor de una helicasa llamada Rep proveniente de la bacteria *E. coli*. Siguieron el movimiento del motor Rep a lo largo de la cadena de ADN marcándolo con un colorante fluorescente verde. Además unieron una molécula de un colorante fluorescente rojo al extremo del filamento de ADN. Utilizaron estos reactivos en una técnica llamada transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET, por sus siglas en inglés), que permite que los investigadores determinen la forma en la que las moléculas marcadas se mueven unas con respecto a otras al observar cómo una molécula colorante transfiere energía a otra molécula.

Los investigadores observaron a las moléculas a través de un microscopio de fluorescencia, y a medida que Rep se acercaba a un extremo bloqueado de la cadena de ADN, esperaban ver una reducción gradual en la señal roja y un aumento en la señal verde.

“Observamos el aumento gradual de FRET tal cual esperábamos y supimos que la proteína se movía en una dirección particular que acercaría a los dos colorantes entre sí”, dijo Ha. “Esperábamos que la proteína simplemente se detuviera en el bloqueo y se cayera del ADN. Pero nos sorprendió observar que de alguna manera aparecía de nuevo en el lugar del ADN donde había comenzado. Entonces repitió ese movimiento gradual hacia la barrera otra vez y repitió el movimiento de volver atrás rápidamente. Era como un autobús de transporte que se movía hacia adelante y hacia atrás entre dos estaciones, salvo que el movimiento hacia atrás era instantáneo”, dijo Ha.

Para su sorpresa, los experimentos mostraron que la proteína Rep no soltaba la cadena de ADN en el final de su viaje. En cambio, una vez que alcanzaba el bloqueo, se estiraba para tomar la cadena de ADN cerca de su punto de partida, formaba un lazo en el ADN y después liberaba su punto de parada para traerlo de nuevo a su inicio.

“Nos recordó al personaje griego Sísifo, que tenía que levantarse todas las mañanas y subir la misma piedra por la ladera de la misma colina”, dijo Ha. “Nos preguntamos cuál era la razón de todo este sufrimiento que padecía Rep. Por lo tanto, realizamos experimentos adicionales y los resultados sugirieron que el transporte repetitivo podría evitar la acumulación de proteínas indeseadas en el ADN de una sola cadena que podría resultar tóxico para la célula. Es como la inversa del hilo dental, ya que la proteína Rep actúa como los dientes que limpian al hilo de ADN”, dijo Ha.

A Ha y sus colegas les gustaría explorar a continuación si el fenómeno de transporte que observaron en sus estudios de tubo de ensayo funciona realmente en otras helicasas y en la célula viva. Dijo que además hay trastornos raros en los seres humanos que posiblemente podrían involucrar el malfuncionamiento del motor de la helicasa. Las personas con un trastorno llamado síndrome de Werner crecen normalmente hasta que llegan a la adolescencia, momento en que comienzan a envejecer muy rápidamente. El envejecimiento rápido sugiere que la helicasa podría desempeñar una función en el mantenimiento de la integridad genómica, dijo Ha.

Ha hizo notar que el síndrome de Bloom, otra intrigante enfermedad relacionada con la helicasa, es causado por un defecto en una helicasa diferente. “Este trastorno es especialmente interesante porque las personas con este defecto presentan una mayor propensión a muchos tipos de cáncer”, dijo Ha. “Además, la helicasa involucrada en este trastorno parece desempeñar una función en el mantenimiento general de la integridad genómica. Y si podemos comprender su función normal y la forma en la que se altera cuando está mutada, podría ser posible comprender un mecanismo más general subyacente al cáncer”, dijo.