

## SEMBLANZAS DE LOS PREMIOS NOBEL 2015

### EN QUÍMICA

La Real Academia de Ciencias de Suecia ha otorgado el Premio Nobel en Química 2015 a Aziz Sanjar, Tomas Lindahl y Paul Modrich “por sus estudios en los mecanismos de reparación del ADN”. Estos investigadores han demostrado cómo las células reparan el daño en el ADN a nivel molecular y mantienen la integridad de la información genética de una generación a otra.

### ¿QUÉ ES EL ADN?

El ácido desoxirribonucleico o ADN es una macromolécula formada por la sucesión lineal de miles de millones de nucleótidos. La especificidad del ADN viene determinada por la secuencia de cuatro nucleótidos diferentes (adenina, timina, citosina y guanina), la cual determina la información genética. En cuanto a su estructura tridimensional, esta molécula está formada por dos largas cadenas de nucleótidos formando la conocida doble hélice. Ambas cadenas se mantienen unidas entre sí por la formación de enlaces de hidrógeno entre las bases complementarias y enfrentadas, de tal forma que la adenina complementa con la timina y la citosina con la guanina, por lo que la secuencia de nucleótidos de una cadena determina la secuencia de la otra debido a la regla de complementariedad (Figura 1).

La secuencia de nucleótidos proporciona la información que determina las características de un organismo, por lo que mantener el orden de la secuencia de bases nitrogenadas de una generación a la siguiente es crítico para que no se produzcan alteraciones dentro de una especie. Por otro lado, para que la información se transmita de una generación a la siguiente el material genético de la célula debe replicarse, manteniendo la secuencia de nucleótidos de forma idéntica a la de la célula original. Este suceso ocurre momentos antes de la división celular, de tal manera que las dos células hijas resultantes contienen la misma información genética.

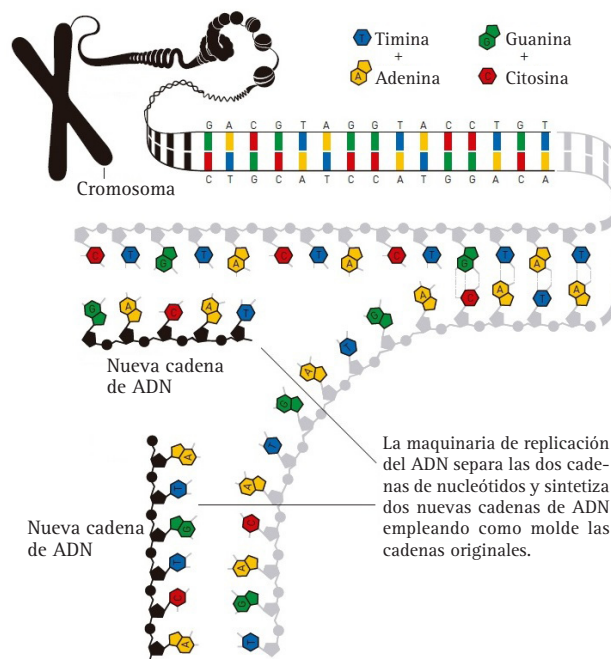


Figura 1. Estructura del ADN. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

### ¿CÓMO SE PRODUCEN LOS ERRORES EN LA SECUENCIA DE ADN?

Durante el proceso de la replicación del ADN se separan las dos cadenas de la doble hélice, de tal manera que cada una de ellas actúa como molde para la síntesis de una nueva cadena complementaria que se forma por la adición nucleótido a nucleótido (Figura 1).

En este proceso intervienen un gran número de enzimas diferentes, entre las que se encuentra la ADN polimerasa (ADNpol), que está implicada en la síntesis de la nueva cadena de ADN mediante las reglas de complementariedad de los nucleótidos. Esta enzima añade los nucleótidos a una velocidad aproximada de 50 nucleótidos por segundo en el caso de las levaduras, y de 1000 nucleótidos por segundo en el caso de las bacterias y, aunque posee diferentes mecanismos para asegurar la fidelidad en el mecanismo de copia de la secuencia de nucleótidos y tiene la capacidad de corregir errores durante la replicación, en este proceso puede producirse la aparición de errores aleatorios.

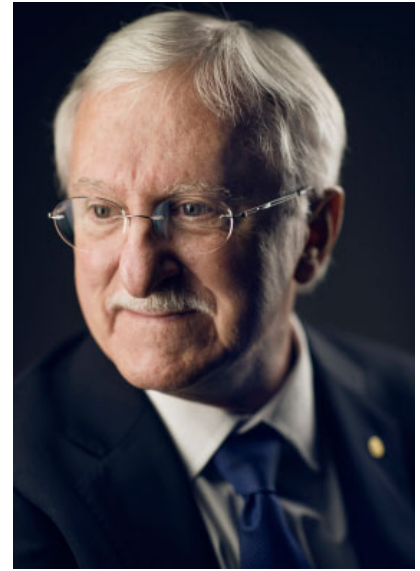
Además, nuestro ADN se somete diariamente a un gran número de agentes mutagénicos, como son los



*Aziz Sancar (Savur, Turquía, 1946), doctor por la Universidad de Estambul (Turquía). Actualmente es profesor en la Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill (Carolina del Norte, EE.UU.).*



*Tomas Lindahl (Estocolmo, Suecia, 1938), doctor por el Instituto Karolinska (Suecia). En la actualidad es investigador del Instituto Francis Crick (Londres, Reino Unido).*



*Paul Modrich (Ratón, EE.UU., 1946), doctor por la Universidad de Stanford (EE.UU.). Es profesor de la Universidad de Duke e investigador del Instituto Médico Howard Hughes (Carolina del Norte, EE.UU.).*

compuestos químicos genotóxicos, la luz ultravioleta o los rayos X, todos ellos capaces de alterar o romper la molécula de ADN, lo que conllevaría a la aparición de errores en la secuencia que si no son corregidos pueden conducir al desarrollo de diferentes enfermedades, incluyendo el cáncer.

Entonces, ¿cómo es posible que la secuencia de nucleótidos del ADN se mantenga estable de una generación a la siguiente? A esta pregunta se puede responder gracias al descubrimiento de Lindahl, Modrich y Sancar, los investigadores galardonados con el Premio Nobel de Química 2015, que han demostrado la existencia de mecanismos celulares para reparar las lesiones en el ADN.

### ¿QUÉ CONSECUENCIAS TIENE LA APARICIÓN DE ERRORES EN EL ADN?

Cualquier alteración del genoma, ya sea en la secuencia de nucleótidos o en la organización del ADN, puede considerarse como una mutación. La estabilidad del mismo de una generación a la siguiente puede considerarse como un inconveniente o como una ventaja. Aunque la mayoría de los errores permanecen “silenciados”, en algunos casos pueden producir inestabilidades genómicas, pudiendo iniciar el desarrollo de enfermedades, entre las que se encuentra el cáncer, desórdenes neurodegenerativos y envejecimiento celular. Por otro lado, las mutacio-

nes juegan un papel clave en la evolución de las especies, seleccionándose aquellas que son favorables para el individuo y transmitiéndose de una generación a la siguiente.

En este sentido, las células han desarrollado mecanismos para evitar las lesiones en el ADN y para mantener sus mutaciones en un nivel “tolerable”.

El investigador turco Aziz Sancar se interesó y se preguntó qué mecanismo utilizan las bacterias cuando se exponen a dosis letales de luz ultravioleta para recuperarse repentinamente si son iluminadas con luz visible azul. Durante el desarrollo de su tesis doctoral, Sancar descubrió la enzima fotoliasa, la cual era capaz de reparar el ADN dañado por luz ultravioleta en bacterias. Posteriormente, y ya como investigador postdoctoral en la Facultad de Medicina de la Universidad de Yale, mediante diferentes experimentos *in vitro* consiguió identificar los genes que codificaban para las proteínas que reconocían las lesiones en el ADN producidas por la luz ultravioleta y el mecanismo molecular implicado en la vía de reparación del ADN denominado “reparación por escisión de nucleótidos” (*Nucleotide Excision Repair*, NER). En este mecanismo se producen dos incisiones en la cadena, una a cada lado de la zona dañada, y se elimina el fragmento que contiene el daño (Figura 2). Sancar estudió el mecanismo NER también en humanos y observó que en términos químicos este sistema funcionaba de

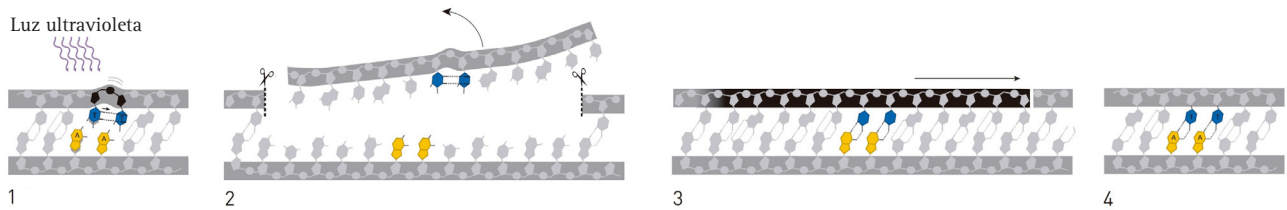


Figura 2. Modo de acción del sistema de reparación por escisión de nucleótidos (NER): (1) La luz ultravioleta produce una lesión en la secuencia de nucleótidos del ADN. (2) Unas enzimas implicadas en este proceso detectan la lesión y hacen dos incisiones a ambos lados del nucleótido dañado. (3) La ADN polimerasa "rellena" la cadena siguiendo la regla de complementariedad de nucleótidos. (4) Se obtiene de nuevo la doble hélice de ADN sin ninguna lesión. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

manera similar en todos los organismos. Actualmente se conoce que la inactivación de las enzimas implicadas en el mecanismo NER conduce al desarrollo del *xeroderma pigmentoso*, una enfermedad que hace que las personas que la padecen sean muy sensibles a la radiación ultravioleta y más susceptibles a padecer cáncer de piel.

Por otro lado, Tomas Lindahl demostró que, además de errores producidos durante la replicación y los producidos por mutágenos, pueden producirse mutaciones espontáneas en el ADN, las cuales se producen a un ritmo tan alto que no debería existir vida en la Tierra. En un principio se pensaba que el ADN era una molécula estable, pero con los descubrimientos de Lindahl se cambió de idea al haber observado que es una molécula inestable aun en condiciones fisiológicas adecuadas. Por tanto, postuló que las células deberían tener algún sistema para reparar el daño en el ADN. Una de estas modificaciones producidas en los nucleótidos de forma espontánea es la desaminación (eliminación del grupo  $-NH_2$ ) de la citosina convirtiéndola en uracilo. Se ha estimado en células humanas que se producen hasta 100 desaminaciones por célula y por día. Otra de las posibles modificaciones que puede sufrir un nucleótido es la despurinación, es decir, la pérdida de la base nitrogenada de adenina o de guanina. Si no se reparan las desaminaciones o las despurinaciones, cuando se emplee esta cadena que porta el error como cadena molde en la replicación se introducirá un nucleótido erróneo, incorporando una

nueva mutación durante el siguiente ciclo de replicación. En este sentido, tras observar la presencia de uracilos dentro de la cadena de ADN, Lindahl llegó a la conclusión de que debía existir un sistema enzimático capaz de reparar éste y otros tipos de lesiones en las bases nitrogenadas de los nucleótidos. En primer lugar, Lindahl descubrió la enzima uracil-ADN glicosilasa, la cual es capaz de reconocer los uracilos (o lo que es lo mismo, las citosinas desaminadas) en la secuencia de ADN y eliminar esta base rompiendo el enlace entre dicha base y el azúcar del nucleótido. Dos años después Lindahl descubrió una segunda enzima glicosilasa, pero en este caso reconocía de forma específica la 3-metiladenina del ADN. Actualmente se conoce que estas enzimas pertenecen, junto con otras que reconocen diferentes formas de nucleótidos modificados, al mecanismo de reparación denominado "reparación por escisión de bases" (*Base Excision Repair*, BER). Lindahl propuso que el esqueleto azúcar-fosfato del ADN debía permanecer intacto una vez se eliminaba la base dañada, por lo que sugirió que debía estar implicado otro tipo de enzimas, como las endonucleasas de sitiosapurínicos o apirimidínicos (Figura 3). Actualmente se ha descrito que BER repara muchas formas diferentes de lesiones en las bases nitrogenadas de los nucleótidos sin que causen la alteración estructural de la doble hélice de ADN.

Por último, Paul Modrich se centró en investigar los errores en la secuencia de nucleótidos que se produ-

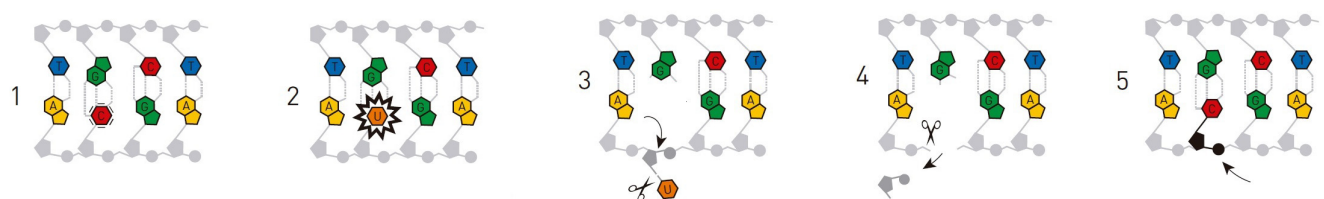


Figura 3. Modo de acción del sistema de reparación por escisión de bases (BER): (1) La citosina sufre una desaminación, transformando la base nitrogenada del nucleótido en un uracilo. (2) El uracilo no complementa con la guanina de la otra cadena de nucleótidos. (3) La enzima glicosilasa detecta el error y escinde la base nitrogenada del nucleótido. (4) Otra enzima escinde el resto del nucleótido de la cadena de ADN. (5) La ADN polimerasa "rellena" el hueco en la cadena del ADN. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

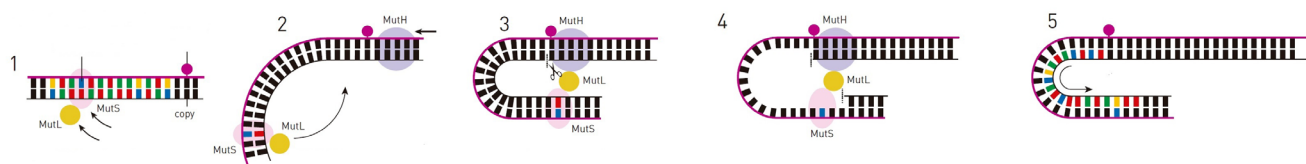


Figura 4. Modo de acción del sistema de reparación de apareamientos erróneos (MMR): (1) Dos enzimas implicadas en este proceso detectan el mismatch. (2) Otra enzima detecta los grupos metilo de los nucleótidos de la cadena de ADN empleada como molde. (3) Se hacen dos incisiones a ambos lados de la zona dañada de la cadena recién sintetizada. (4) El fragmento con el mismatches eliminado. (5) La ADNpolimerasa “rellena” el hueco en la cadena del ADN. Modificado de: <http://www.nobelprize.org>.

cían durante el proceso de replicación del ADN. Como hemos expuesto previamente, durante la replicación del ADN pueden introducirse nucleótidos no complementarios a los de la cadena molde, produciéndose una estructura aberrante en la doble hélice. Alrededor de uno de cada  $10^5$  nucleótidos que se incorporan durante la replicación del ADN no está correctamente apareado con el de la cadena molde. Este tipo de errores se denomina *mismatch* y se obtiene como resultado un cambio en la secuencia del ADN. Sin embargo, como primera línea de defensa la ADNpol tiene mecanismos que eliminan estos errores durante el proceso de la replicación del ADN, reduciéndose la tasa de error en unas cien veces. A pesar de ello, en determinadas ocasiones estos errores “se escapan” de este control y se mantienen en la secuencia de ADN, la cual se empleará como molde en el siguiente ciclo de replicación perpetuando ese cambio en el genoma de la célula. Para evitar que estos cambios en la secuencia de nucleótidos se transmita a la siguiente generación las células han desarrollado el mecanismo de “reparación de apareamientos erróneos” (*mismatch repair*, MMR), que está encargado de reparar los errores cometidos durante la replicación del ADN. Este sistema detecta los errores debido a que las uniones entre los nucleótidos de las dos cadenas no son correctas. Pero existe un problema añadido y es que si ambos nucleótidos (el “correcto” y el “incorrecto”) no poseen ninguna alteración estructural, como una desaminación o despurinación, ¿cómo se puede saber cuál de los dos nucleótidos es el correcto? Este sistema debe ser capaz de resolver esta pregunta porque si se elimina el nucleótido incorrecto en lugar del correcto, el propio sistema de reparación estaría creando una mutación permanente.

Por este motivo, Modrich se centró en averiguar cómo este mecanismo de reparación de apareamientos erróneos era capaz de discernir cuál de las dos cadenas sería la recién sintetizada, ya que sería la que posee el nucleótido introducido incorrectamente. Este investigador observó que en bacterias este sistema de reparación distinguía la secuencia original de la alterada por el estado de metilación, es decir, detectaba los grupos  $-CH_3$  unidos a los nucleótidos. Mientras que la cadena empleada como molde está metilada, la cadena recién sintetizada se mantiene sin metilar durante un tiempo. Por tanto, este sistema de reparación puede detectar la nueva cadena mediante la detección del estado no metilado, eliminándose un corto fragmento de nucleótidos de la cadena no metilada, en el cual se encontrará el error (Figura 4). El funcionamiento correcto de esta vía de reparación es fundamental, ya que se ha descrito que el *cáncer de colon hereditario de tipo no poliploide* se produce por la mutación de los genes que codifican para proteínas implicadas en este sistema de reparación.

Los descubrimientos de Sancar, Lindahl y Modrich fueron considerados como investigación básica, pero actualmente son de gran utilidad, como por ejemplo en el tratamiento del cáncer, ya que las células tumorales dependen de los diferentes mecanismos de reparación del ADN al tener una elevada tasa de división celular. Como dijo Paul Modrich: *Es por ello que la investigación basada en la curiosidad es tan importante. Nunca se sabe donde te va a llevar... Un poco de suerte también ayuda.*

Pedro José Martínez de Paz  
Grupo de Biología y Toxicología Ambiental  
Dpto. de Física Matemática y de Fluidos