

# SEBBM DIVULGACIÓN

## ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS

### Dinámica de la topología del DNA durante la replicación

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder

Departamento de Biología Celular y Molecular del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB - CSIC)



#### Biografía Resumen

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder es Profesor de Investigación del CSIC en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de Madrid. Doctor por la Universidad Politécnica de Madrid, trabajó en el Brookhaven National Laboratory (Upton) y en el Albert Einstein College of Medicine (New York) en replicación, daño y reparación del DNA. En el CIB ha investigado los mecanismos de formación de intercambios entre cromátidas hermanas y actualmente dirige el grupo de investigación "Biología molecular de los cromosomas". Desde 1986 estudia la topología del DNA e inhibidores de topoisomerasas en células procariontas y eucariotas.

**En las células vivas las topoisomerasas regulan la topología del DNA durante procesos vitales como la transcripción, replicación, reparación y recombinación. Estas enzimas son el blanco de drogas empleadas como antibióticos y en la quimioterapia del cáncer. De ahí la importancia de conocer cómo actúan y por qué su inhibición induce citotoxicidad.**

#### Summary

**In all living cells topoisomerases regulate DNA topology during vital processes such as replication, transcription, repair and recombination. These enzymes have become key drug targets both for anti-bacterial and anti-cancer chemotherapy. This explains the importance to understand their mechanism of action and why their inhibition leads to cytotoxicity.**

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: [http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/acercate-a-nuestros-cientificos\\_107](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107)

Ya se han cumplido 60 años desde que Watson y Crick (1953a) propusieran su modelo de la estructura de la molécula que codifica la información genética, el ácido desoxiribonucleico (DNA). El modelo presenta complicaciones funcionales que no pasaron desapercibidas a los autores a juzgar por lo que escribieron entonces: "El DNA es una doble hélice y dado que las dos cadenas están entrelazadas, es obvio que deben desenrollarse para que se puedan separar. Aunque en este momento es difícil vislumbrar cómo puede ocurrir este proceso sin que las cadenas terminen enredadas, no creemos que este problema sea insuperable" (Watson and Crick, 1953b). Hoy sabemos que la separación de las dos cadenas del DNA durante la replicación y la transcripción genera superenrollamiento. En todas las células vivas unas enzimas evolutivamente muy conservadas llamadas topoisomerasas regulan este superenrollamiento y otras formas topológicas que puede adoptar el DNA *in vivo*, como son el encadenamiento y el anudamiento. De hecho, superenrollamiento, encadenamiento y anudamiento pueden considerarse complicaciones colaterales de la propia organización del DNA en una doble hélice. Resulta particularmente interesante conocer la dinámica de los cambios topológicos que tienen lugar durante la replicación del DNA. El avance de la horquilla replicativa genera superenrollamiento positivo con cruces levógiros por delante. En caso de no ser eliminado, la acumulación de este superenrollamiento positivo dificultaría el progreso de la horquilla y, eventualmente, podría incluso llegar a detenerla. Las células disponen de varios mecanismos para eliminar dicho superenrollamiento positivo. Algunas topoisomerasas están especializadas en su eliminación. Pero la procesividad de las helicasas replicativas supera con creces el de las topoisomerasas. Por ello, durante la replicación siempre hay una acumulación transitoria de superenrollamiento positivo inmediatamente por delante de la horquilla. La tensión torsional generada por este superenrollamiento fuerza la rotación de la horquilla con lo que dicha torsión se traslada a la región ya replicada. En ésta las cadenas nacientes son discontinuas por lo que no pueden albergar superenrollamiento. Pero la migración del superenrollamiento positivo

de la región no replicada a la ya replicada hace que las cromátidas hermanas se crucen de forma dextrógira para equilibrar la tensión torsional entre las regiones no replicada y ya replicada. Estos cruces entre cromátidas hermanas se denominan pre-encadenados ya que se convertirán en encadenados una vez que concluya la replicación. Curiosamente, se ha observado que en bacterias, la topoisomerasa IV (Topo IV) elimina cruces levógiros más eficientemente que los dextrógiros. La Topo IV es también llamada la desencadenasa bacteriana, ya que es la única topoisomerasa bacteriana de tipo II capaz de desencadenar las cromátidas hermanas *in vivo*. Pero la Topo IV elimina los cruces dextrógiros menos eficientemente que los levógiros. Este hecho se conoce como la "paradoja de la Topo IV".

Para estudiar la topología del DNA y el papel de las topoisomerasas en la resolución del superenrollamiento, encadenamiento y anudamiento, se emplea frecuentemente el análisis por electroforesis bidimensional en geles de agarosa de moléculas circulares que, por definición, constituyen dominios topológicamente cerrados (ver inserto en el ángulo superior derecho de la figura). Este método, se combina con el empleo de células portadoras de mutaciones que afectan a distintas topoisomerasas, la confirmación de la interpretación de los resultados por microscopía de fuerza atómica (ver figura) y simulaciones matemáticas por el método de Metropolis Monte Carlo. Todas estas aproximaciones permiten actualmente avanzar cada vez con mayor rigor en la comprensión mecánica de cómo actúan las topoisomerasas y cómo bloquean su acción sus inhibidores y los llamados venenos de topoisomerasas, de extendido uso en medicina como antibióticos y en la quimioterapia del cáncer.

Una vez completada la replicación cada una de las dos cromátidas hermanas se convierte en un dominio

topológico cerrado, aunque ambas permanecen encadenadas. Se ha comprobado que la progresiva adquisición de superenrollamiento, negativo en el caso de procariontes (Martínez-Robles et al., 2009) y positivo en la mitosis de los eucariotes (Baxter et al., 2011), favorece que la desencadenasa correspondiente (Topo IV en los primeros y topo 2 en los segundos) elimine selectivamente el encadenamiento sin afectar el superenrollamiento para permitir así la segregación de las moléculas hijas.

También se ha comprobado que durante la replicación la velocidad de avance de las horquillas influye decisivamente en la formación y eliminación de los pre-encadenados. Un eventual bloqueo de las horquillas por causas no naturales, como el provocado por lesiones en el DNA, da lugar a una disminución significativa del pre-encadenamiento. Esto a su vez provoca una disfunción de las desencadenasas que en lugar de desencadenar pueden realizar cruces que dan lugar a la formación de nudos intermoleculares o entre cromátidas hermanas. Es decir, en estas condiciones deletéreas, la misma topoisomerasa encargada de desencadenar las cromátidas hermanas se encarga de anudarlas (López et al., 2012).

El abordaje multidisciplinar del estudio de la topología del DNA constituye un claro ejemplo de la importancia de la investigación básica en el desarrollo de tratamientos cada vez más efectivos en la lucha contra las infecciones y el cáncer.

#### Referencias

1. Baxter, J., Sen, N., Martínez, V.L., De Carandini, M.E., Schwartzman, J.B., Diffley, J.F., and Aragon, L. (2011). Positive supercoiling of mitotic DNA drives decatenation by topoisomerase II in eukaryotes. *Science* 331, 1328-1332.
2. López, V., Martínez-Robles, M.L., Hernández, P., Krimer, D.B., and Schwartzman, J.B. (2012). Topo IV is the topoisomerase that knots and unknots sister duplexes during DNA replication. *Nucleic Acids Res* 40, 3563-3573.
3. Martínez-Robles, M.L., Witz, G., Hernández, P., Schwartzman, J.B., Stasiak, A., and Krimer, D.B. (2009). Interplay of DNA supercoiling and catenation during the segregation of sister duplexes. *Nucleic Acids Res* 37, 5126-5137.
4. Watson, J.D., and Crick, F.H.C. (1953a). Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 161, 737-738.
5. Watson, J.D., and Crick, F.H.C. (1953b). Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acids. *Nature* 171, 964-967.

*Pie de figura. Intermediario de replicación del plásmido bacteriano pBR-TerE@AatII recubierto con la proteína RecA y visualizado por microscopía de fuerza atómica (AFM). El inserto en el ángulo superior derecho corresponde al análisis de las formas no replicadas del mismo plásmido por electroforesis bidimensional en geles de agarosa de alta resolución en presencia de cloroquina (López et al., 2012).*

