

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Ensamblaje de la cromatina e integridad genómica

Félix Prado

Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER)

Biografía Resumen

El Dr. Félix Prado (Madrid, 1968) es licenciado en Biología por la Universidad de Sevilla (1991), donde realizó una tesis doctoral (1992-1996) bajo la dirección del Dr. Andrés Aguilera sobre los mecanismos de inestabilidad genética asociados a repeticiones en el ADN. Tras una estancia posdoctoral en el laboratorio del Dr. Miguel Beato en la Philipp-Universität en Marburg (Alemania) (1997-2000), estudiando la importancia del posicionamiento nucleosómico en la regulación transcripcional, se reincorporó a la Universidad de Sevilla dentro del programa Ramón y Cajal. En el año 2006 obtuvo una plaza como Científico Titular del CSIC, y desde entonces dirige un grupo de investigación en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina regenerativa (CABIMER), cuyos principales logros se centran en la importancia de la dinámica de la cromatina en la estabilidad genética y el ciclo celular, así como en los mecanismos de tolerancia a estrés replicativo.

El ensamblaje del ADN en cromatina genera una estructura altamente dinámica que regula el metabolismo de los cromosomas. Defectos en el proceso de ensamblaje de nucleosomas por déficit de histonas o mutaciones en genes que codifican factores de ensamblaje, situaciones asociadas a cáncer y envejecimiento, causan roturas en las horquillas de replicación e inestabilidad genética.

Summary

The assembly of DNA into chromatin generates a highly dynamic structure that regulates chromosome metabolism. Defective nucleosome assembly by histone depletion or mutations in genes encoding chromatin assembly factors, conditions associated with cancer and aging, causes replication fork breakage and genetic instability.

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

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

La interacción entre histonas y ADN genera una estructura nucleoproteica – la cromatina – que facilita el empaquetamiento del material genético dentro del reducido espacio que le proporciona el núcleo. Más allá de esta función estructural, pronto se demostró que las histonas constituyen una “armadura” dinámica que limita y regula la interacción del ADN con los factores que dirigen la replicación, la transcripción o la segregación cromosómica (Kornberg y Lorch, 1999). Su unidad repetitiva – el nucleosoma, formado por 4 pares de las histonas canónicas: H3, H4, H2A y H2B – puede ser desplazado, alterado estructuralmente con histonas no canónicas, y modificado covalente – y reversiblemente – mediante la adición de residuos químicos. Estas modificaciones no sólo alteran la accesibilidad del ADN, sino que generan un código de información adicional al genético (determinado por la secuencia de ADN) llamado código epigenético (Strahl y Allis, 2000). La pérdida de integridad genómica es una característica tanto de los procesos tumorales como de numerosas enfermedades genéticas. La íntima conexión entre ADN e histonas plantea cuál es el papel que la cromatina tiene en el mantenimiento de la estabilidad genética y la proliferación celular. De acuerdo con su potencial regulador, la cromatina tiene funciones esenciales en la respuesta a daños en el ADN, controlando los mecanismos que reparan los daños y los que coordinan esa reparación con la progresión a lo largo del ciclo celular (Soria et al., 2012).

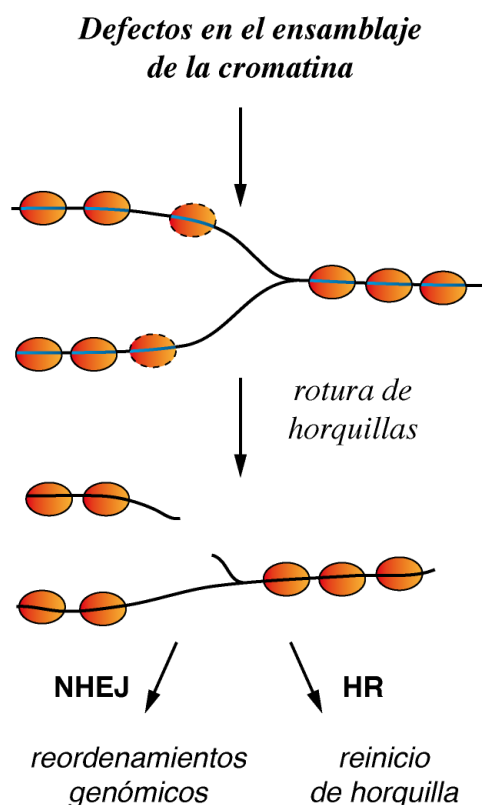
En nuestro grupo nos hemos planteado si defectos en la dinámica e integridad de la cromatina pueden ser una fuente adicional de inestabilidad genética, y en caso afirmativo, cómo responden las células a esos daños en el ADN. Estas preguntas son particularmente relevantes en cuanto que la integridad de la cromatina puede verse afectada tanto por mutaciones como por agentes genotóxicos que afectan a la deposición de las histonas y a los patrones de marcas epigenéticas. De hecho, el envejecimiento celular está asociado a modificaciones en los patrones epigenéticos y a reducciones en los niveles disponibles de histonas (O'Sullivan y Karlseder, 2012).

El estudio del intercambio de histonas canónicas por histonas variantes pone de manifiesto la importancia de la

dinámica de la cromatina sobre la integridad funcional del genoma. La sustitución de H2A por H2A.Z, catalizada por el complejo SWR1, facilita la regulación transcripcional, el silenciamiento de cromatina, la actividad de la cromatina centromérica y la reparación de daños en el ADN. Mientras que la ausencia de H2A.Z da lugar a una actividad genotóxica del complejo SWR1 sobre la cromatina que genera defectos transcripcionales y de reparación, la ausencia del complejo SWR1 afecta a la dinámica de los centros de reparación (Morillo-Huesca et al., 2010).

No obstante, el principal mecanismo de inestabilidad genética asociado a defectos en la dinámica de la cromatina parece estar ligado al ensamblaje de los nucleosomas durante la replicación. El ensamblaje del ADN en cromatina durante la fase S está físicamente y genéticamente acoplado a la síntesis de ADN. El ensamblaje en cromatina de todo el genoma requiere una fuerte demanda de histonas durante la fase S; éstas son rápidamente depositadas tras la horquilla de replicación mediante un proceso que requiere chaperonas, modificaciones específicas de histonas, y ensambladores de cromatina. Mutaciones en genes que codifican algunos de estos factores están asociados a cáncer y enfermedades genéticas, pero el hecho de que tengan funciones adicionales a su papel en ensamblaje de nucleosomas hace difícil determinar cómo promueven la enfermedad (Burgess y Zhang, 2013). Mediante aproximaciones genéticas en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, hemos demostrado que una reducción en los niveles disponibles de histonas causa una pérdida de estabilidad del replisoma y la consecuente rotura de

horquillas de replicación, resaltando la importancia de un estricto control de los niveles de histonas en la integridad genómica (Clemente-Ruiz y Prado, 2009). Estos datos sugieren un papel activo del proceso de ensamblaje de cromatina en la estabilidad de las horquillas de replicación y, en consecuencia, en el mantenimiento de la integridad genómica. De acuerdo con esa hipótesis, hemos demostrado que mutaciones en genes que controlan diferentes pasos del proceso de deposición de las histonas H3 y H4 causan roturas de horquillas de replicación (Clemente-Ruiz et al., 2011). Por tanto, los defectos en el ensamblaje de la cromatina son una fuente potencial de inestabilidad genética. Sin embargo, estos mutantes son capaces de completar la replicación con relativamente pocos reordenamientos genómicos, lo cual consiguen gracias a una eficiente reparación por recombinación homóloga (HR, homologous recombination) que evita que las roturas se procesen por unión de extremos no homólogos (NHEJ, non-homologous end-joining) (Clemente-Ruiz y Prado, 2009; Clemente-Ruiz et al., 2011) (ver Figura). Aunque necesitamos determinar el impacto de mutaciones que afecten al ensamblaje de los nucleosomas sobre la estabilidad de las horquillas replicativas y la acumulación de daños en el ADN en células humanas, nuestros resultados sugieren que defectos en el proceso de ensamblaje de cromatina pueden ser una causa importante del estrés replicativo asociado a cáncer y envejecimiento. Es por ello importante determinar las causas moleculares mediante las cuales los nucleosomas recién ensamblados estabilizan las horquillas de replicación, y qué condiciones genéticas y ambientales comprometen este proceso.



Referencias

- Burgess, R.J., and Zhang, Z. (2013). Histone chaperones in nucleosome assembly and human disease. *Nat Struct Mol Biol* 20, 14–22.
- Clemente-Ruiz, M., and Prado, F. (2009). Chromatin assembly controls replication fork stability. *EMBO Rep.* 10, 790–796.
- Clemente-Ruiz, M., González-Prieto, R., and Prado, F. (2011). Histone H3K56 Acetylation, CAF1, and Rtt106 Coordinate Nucleosome Assembly and Stability of Advancing Replication Forks. *PLoS Genet* 7, e1002376.
- Kornberg, R.D., and Lorch, Y. (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98, 285–294.
- Morillo-Huesca, M., Clemente-Ruiz, M., Andújar, E., and Prado, F. (2010). The SWR1 Histone Replacement Complex Causes Genetic Instability and Genome-Wide Transcription Misregulation in the Absence of H2A.Z. *PLoS ONE* 5, e12143.
- O'Sullivan, R.J., and Karlseder, J. (2012). The great unravelling: chromatin as a modulator of the aging process. *Trends in Biochemical Sciences* 37, 466–476.
- Soria, G., Polo, S.E., and Almouzni, G. (2012). Prime, Repair, Restore: The Active Role of Chromatin in the DNA Damage Response. *Molecular Cell* 46, 722–734.
- Strahl, B.D., and Allis, C.D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403, 41–45.

Pie de figura. El ensamblaje de nucleosomas previene la inestabilidad de las horquillas de replicación.