



Seminarios internos del IBFG

PP4 y la respuesta a daño en el ADN

Maite Villoria

Jueves 23 de Mayo de 2019

Los organismos están continuamente expuestos a la aparición de daños en su genoma, debido tanto a factores exógenos como endógenos. Afortunadamente, las células han desarrollado una serie de mecanismos para asegurar la integridad de su material genético, conocidos en conjunto como respuesta a daño en el ADN o DDR (*DNA Damage Response*). Esta respuesta coordina la progresión del ciclo celular con la reparación del daño en el ADN. Hoy en día sabemos que la activación del DDR se origina gracias a la activación de múltiples eventos de fosforilación por quinasas específicas de la respuesta. Sin embargo, la desfosforilación de estos residuos tras, o durante los diferentes estadios de la reparación, sigue siendo un misterio. Recientemente, la fosfatasa PP4 ha sido involucrada en la regulación del DDR, siendo su papel principal la desactivación del *checkpoint* de daño una vez la lesión ha sido reparada. Sin embargo, resultados obtenidos en nuestro laboratorio han puesto de manifiesto que esta fosfatasa también presenta una función directa en la regulación de la reparación de roturas en el material genético.

Mutantes de la subunidad catalítica de la holoenzima (PPH3) exhiben problemas a la hora de restaurar un corte de doble cadena generado por la endonucleasa HO. Experimentos de espectrometría de masas han revelado la existencia de múltiples dianas de Pph3 durante la respuesta a estrés genotóxico. Uno de estos factores es la kinasa del *checkpoint* Rad53, cuyo estado de fosforilación está drásticamente elevado en ausencia de actividad PP4. Curiosamente, la reducción de la fosforilación de Rad53 (mediante la introducción de un mutante catalítico *rad53 K227A*) observada en mutantes *pph3Δ*, mejora la viabilidad celular en respuesta a agentes genotóxicos, así como la capacidad de regeneración de cortes inducidos a través del sistema HO. Estos resultados confirman que la hiperactivación de Rad53 afecta negativamente a la respuesta a un daño en el material genético.

¿Cómo la hiperactivación del “*checkpoint*” de daño puede ser deletéreo en la viabilidad celular en respuesta a estrés genotóxico? En este trabajo hemos determinado que la desfosforilación de Rad53 por PP4 es fundamental durante los primeros estadios de la respuesta. Así, la bajada transitoria de la actividad de Rad53 durante el inicio de la reparación estimula el proceso de resección del ADN, hecho que favorece la reparación por recombinación homóloga. Desde el punto de vista molecular, la inhibición de Rad53 por PP4 promueve la exclusión de Rad9 de las zonas de daño. Dado que Rad9 afecta negativamente en la procesividad de Dna2, nuestros datos demuestran que PP4 activa la resección a través de la regulación de esta exonucleasa.

Estos resultados ofrecen un escenario prometedor para determinar el sentido fisiológico de la fosfatasa PP4 en la regulación negativa de la actividad del *checkpoint* de daño y sugieren que una sobreactivación del mismo podría ser perjudicial en la correcta ejecución de los diferentes pasos de la reparación. En resumen, la intensidad de la respuesta a daño debe estar finamente regulada tanto positiva como negativamente por quinasas y fosfatasas que trabajan en tándem. Este mecanismo aseguraría un control preciso, ni excesivo ni insuficiente, con el fin de lograr una perfecta ejecución del DDR que permita mantener la integridad del material genético.