

DNA polimerasa mu humana (Pol μ)

Descripción

La DNA polimerasa mu humana (Pol μ) es una enzima monomérica (55 kDa) implicada en procesos de reparación de roturas de doble cadena del DNA. Perteneciente a la familia X de DNA polimerasas, Pol μ presenta un gran parecido con TdT a nivel estructural (ver Figura 1) y de secuencia de aminoácidos (42% de identidad). De acuerdo con ello, comparte con TdT su capacidad de polimerizar en ausencia de cadena molde (actividad transferasa terminal). A diferencia de TdT, la actividad de Pol μ se estimula fuertemente en presencia de una cadena de DNA molde, por lo que es, principalmente, una DNA polimerasa DNA dependiente. Diversos metales (Mg, Mn y Co) pueden actuar como activadores de ambos tipos de reacciones de polimerización catalizadas por Pol μ , si bien el Mn es el metal activador preferido. La mayor activación por Mn provoca que Pol μ exhiba un fenotipo fuertemente mutador, por incorporación de nucleótidos erróneos frente a un molde. En este sentido, Pol μ es una de las polimerasas más infieles que se conocen en eucariotas superiores, pudiendo alcanzar tasas de error de 10^{-1} . Esta capacidad mutadora se basa en un mecanismo de dislocación mediante el cual Pol μ es capaz de insertar nucleótidos dirigidos por posiciones adyacentes en el molde alejadas del extremo del iniciador. La capacidad mutadora de Pol μ se ve además potenciada por su falta de actividad exonucleasa 3'-5' correctora de errores, y por su baja discriminación de azúcar, siendo capaz de incorporar no sólo dNTPs, sino también rNTPs en el ADN. Estas características le permiten además incorporar cualquier tipo de nucleótido modificado en sustratos de DNA de cadena simple y doble.

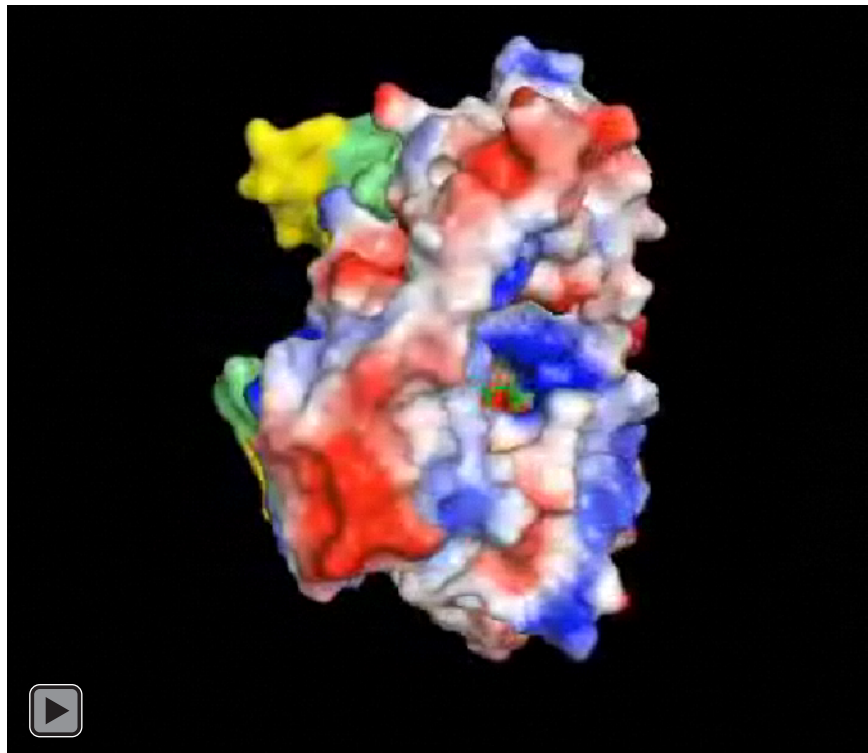


Figura 1. Estructura tri-dimensional de la Pol μ murina, formando un complejo con una molécula de DNA (la cadena molde se indica en amarillo y la cadena discontinua (gap) en verde). Se representa la superficie electrostática de carga de la proteína (en rojo la carga negativa y en azul la carga positiva, esta última compatible con la interacción del DNA). La imagen se ha generado con el programa Pymol a partir de los datos estructurales del archivo PDB id 2IHM.

Aplicaciones

Marcaje interno de sustratos de DNA que contienen nicks o pequeños gaps, utilizando nucleótidos radiactivos o fluorescentes.

Marcaje de extremos 3' terminales del DNA. Pol μ es capaz de marcar tanto extremos romos, como 3' protuberantes y 3' recesivos, utilizando cualquier tipo de nucleótido modificado.

"Tailing" o adición sucesiva de nucleótidos al extremo 3' de un DNA. Esta capacidad permite generar colas homopoliméricas en el DNA para su uso en distintas aplicaciones (clonaje, sondas, etc).

Mutagénesis *in vitro*, por incorporación de nucleótidos no complementarios a una cadena molde, incluyendo la incorporación errónea de nucleótidos modificados.

Referencias seleccionadas

Domínguez O, Ruiz JF, Laín de Lera T, García-Díaz M, González MA, Kirchhoff T, Martínez-A C, Bernad A, Blanco L. (2000). DNA polymerase mu (Pol mu), homologous to TdT, could act as a DNA mutator in eukaryotic cells. *EMBO J.* 19(7):1731-42.

Zhang Y, Wu X, Yuan F, Xie Z, Wang Z. (2001). Highly frequent frameshift DNA synthesis by human DNA polymerase mu. *Mol. Cell. Biol.* 21(23):7995-8006.

Duvauchelle JB, Blanco L, Fuchs RP, Cordonnier AM. (2002). Human DNA polymerase mu (Pol mu) exhibits an unusual replication slippage ability at AAF lesion. *Nucleic Acids Res.* 30(9):2061-7.

Zhang Y, Wu X, Guo D, Rechkoblit O, Taylor JS, Geacintov NE, Wang Z. (2002). Lesion bypass activities of human DNA polymerase mu. *J. Biol. Chem.* 277(46):44582-7.

Nick McElhinny SA, Ramsden DA. (2003). Polymerase mu is a DNA-directed DNA/RNA polymerase. *Mol. Cell. Biol.* 23(7):2309-15.

Ruiz JF, Juárez R, García-Díaz M, Terrados G, Picher AJ, González-Barrera S, Fernández de Henestrosa AR, Blanco L. (2003). Lack of sugar discrimination by human Pol mu requires a single glycine residue. *Nucleic Acids Res.* 31(15):4441-9

Tippin B, Kobayashi S, Bertram JG, Goodman MF. (2004). To slip or skip, visualizing frameshift mutation dynamics for error-prone DNA polymerases. *J. Biol. Chem.* 279(44):45360-8.

Roettger MP, Fiala KA, Sompalli S, Dong Y, Suo Z. (2004). Pre-steady-state kinetic studies of the fidelity of human DNA polymerase mu. *Biochemistry* 43(43):13827-38.

Ruiz JF, Lucas D, García-Palomero E, Saez AI, González MA, Piris MA, Bernad A, Blanco L. (2004). Overexpression of human DNA polymerase mu (Pol mu) in a Burkitt's lymphoma cell line affects the somatic hypermutation rate. *Nucleic Acids Res.* 32(19):5861-73.

Nick McElhinny SA, Havener JM, Garcia-Diaz M, Juárez R, Bebenek K, Kee BL, Blanco L, Kunkel TA, Ramsden DA. (2005). A gradient of template dependence defines distinct biological roles for family X polymerases in nonhomologous end joining. *Mol. Cell* 19(3):357-66.

Juárez R, Ruiz JF, Nick McElhinny SA, Ramsden D, Blanco L. (2006). A specific loop in human DNA polymerase mu allows switching between creative and DNA-instructed synthesis. *Nucleic Acids Res.* 34(16):4572-82.

Moon AF, Garcia-Diaz M, Bebenek K, Davis BJ, Zhong X, Ramsden DA, Kunkel TA, Pedersen LC. (2007). Structural insight into the substrate specificity of DNA Polymerase mu. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 14(1):45-53.

Andrade P, Martín MJ, Juárez R, López de Saro F, Blanco L. (2009). Limited terminal transferase in human DNA polymerase mu defines the required balance between accuracy and efficiency in NHEJ. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U S A)* 106(38):16203-8.