

Artículo de revisión

Revisión bibliográfica: Función e importancia de las ADN polimerasas
Narrative review: Role and importance of DNA polymerases

Helena De la Torre*, Andrea C. Zurita-Leal**

*Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Ingeniera en Biotecnología. ORCID:
0000-0002-7278-7485

**Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Sede Ambato, Carrera de Medicina. ORCID: 0000-0001-7819-9513

azurita@pucesa.edu.ec

Recibido: 12 de enero del 2022

Revisado: 20 de abril del 2022

Aceptado: 28 de junio del 2022

Resumen.

Introducción: Las ADN polimerasas son enzimas las cuales se encuentran involucradas en los procesos de replicación y reparación. Dichas enzimas han sido clasificadas en cuatro familias, A, B, X y Y, basándose en la homología de sus secuencias y en el proceso que intervienen.

La polimerasa de la familia A y X, se caracterizan por tener un rol importante tanto en el proceso de replicación, como de reparación. Mientras tanto los miembros de la familia B, son consideradas enzimas de alta fidelidad participando en la replicación de ADN. Por último, los integrantes de la familia Y no poseen actividad exonucleasa 3'-5'; participando en la síntesis por translesión del ADN.

Objetivo: Realizar una revisión narrativa sobre las ADN polimerasas, con el fin de identificar su función en los procesos de replicación y reparación.

Materiales y métodos: La revisión biobibliográfica narrativa, fue realizada mediante la búsqueda de artículo científicos en las bases de datos PubMed y Google Académico. Los parámetros de búsqueda utilizados fueron: ADN polimerasas, polimerasas de translesión, polimerasas en salud y enfermedad

Conclusión: El correcto funcionamiento de las polimerasas es esencial en los organismos vivos, debido a su participación en procesos biológicos cruciales. La sobre expresión de estas o mutaciones en los genes que codifican para dichas enzimas, puede encontrarse involucrado en el desarrollo de ciertas enfermedades tales como cáncer o desordenes mitocondriales.

Palabras clave: ADN polimerasas, replicación, reparación, actividad exonucleasa, ADN.

Abstract

Introduction: DNA polymerases enzymes are involved in replication and repair processes. The enzymes are classified into four families based in sequence homology and function. The polymerases members of the A and X families are characterized for having a relevant role in replication and repair processes. Meanwhile, the members of the B family are considered high-fidelity enzymes, mainly participating in DNA replication. Finally, the Y family polymerases do not have 3'-5' exonuclease activity participating in translesion DNA synthesis.

Objective: To elaborate a narrative review on DNA polymerases in order to identify their role in replication and repair processes.

Material and methods: The narrative literature review was performed by searching scientific papers in the databases PubMed and Google Scholar. The search parameters were DNA polymerases, translesion polymerases and polymerases in health and disease.

Conclusion: The correct functioning of polymerases is essential in living organisms, due to their participation in crucial biological processes in cell survival. Their overexpression or mutations in the genes that code for the enzymes, can lead to the development of certain diseases such as cancer or mitochondrial disorders.

Keywords: DNA polymerases, replication, repair, exonuclease activity, nucleotides.

Introducción

Las ADN polimerasas son proteínas de gran importancia, cumpliendo roles relevantes durante los procesos de replicación y reparación en los organismos vivos. Dichas proteínas han sido clasificadas en cuatro familias, A, B, X y Y (1), basándose en la homología de sus secuencias y en el proceso que intervienen.

A pesar de las diferencias que existen entre los miembros de dichas familias, se puede observar que todas conservan su actividad catalítica (2). La misma que les permite agregar nucleótidos, facilitando la síntesis de ADN. Para hacer posible el proceso de síntesis, las polimerasas necesitan de ciertos elementos tales como los desoxirribonucleótidos, Mg^{2+} y cebador de ARN; permitiendo la elongación de la cadena. En el caso de las polimerasas de replicación, estas realizan dicho trabajo rigiéndose a la regla de apareamiento de bases de Watson y Crick (A•T y G•C). Mientras tanto, las polimerasas de reparación no siempre agregan las bases nitrogenadas siguiendo dicha regla (2).

Existen diversos mecanismos de reparación, siendo algunos de estos escisión de bases (BER), escisión de nucleótidos (NER), apareamiento erróneo (MMR), unión de extremos no homólogos (NHEJ), recombinación homóloga (HR) y síntesis de translesión (TLS) (3). El mecanismo de reparación BER, es responsable de eliminar bases erróneas; insertadas por procesos de oxidación, alquilación desaminación de bases (4). Mientras tanto, NER interviene en la reparación de aductos de ADN; provocados por radiación UV. La reparación de inserción de bases errónea generado durante la síntesis de ADN, es reparado por el mecanismo MMR. De igual manera HR, se encarga de reparar la rotura de la doble cadena de ADN (5). Por último, TLS es conocido como un proceso de reparación de emergencia. El cual interviene cuando los principales procesos de replicación no han identificado el error, de este modo permitiendo que se continúe con la síntesis de ADN (6).

Objetivo

Realizar una revisión narrativa sobre las ADN polimerasas, con el fin de identificar su función en los procesos de replicación y reparación.

Materiales y métodos

La revisión bibliográfica narrativa, fue realizada mediante la búsqueda de artículo científicos en las bases de datos PubMed y Google Académico. Los parámetros de búsqueda utilizados fueron ADN polimerasas, polimerasas de translesión, polimerasas en salud y enfermedad. De este modo seleccionando los artículos que describan las funciones de las polimerasas y su importancia en los organismos vivos.

Resultados

Familia A

Los miembros de la familia A participan tanto en procesos de replicación, como de reparación de ADN. Se caracterizan por su actividad exonucleasa 3'-5' con excepciones, lo cual les permite escindir los nucleótidos que han sido agregados incorrectamente. La polimerasa I, de origen bacteriano, fue la primera en ser descrita. Demostrando que esta interviene en procesos de reparación y en la maduración de los fragmentos de Okazaki durante la replicación. Mientras tanto, los organismos eucariotas constan de las polimerasas gamma (Pol γ), theta (Pol θ) y nu (Pol ν) (7). La Pol γ se encuentra involucrada en la replicación mitocondrial y en mecanismos de reparación tales como escisión de bases (BER) y unión de extremos no homólogos (NHEJ). En el caso de Pol θ y Pol ν , se ha demostrado que carecen de actividad exonucleasa. Lo cual indica que no pueden escindir los nucleótidos erróneos, por lo cual se sugiere que participan en el mecanismo de translesión de ADN (1, 3, 6, 8).

Familia B

Con respecto a los miembros de la familia B, los organismos eucariotas poseen cuatro polimerasas, siendo estas: alfa (Pol α), delta (Pol δ), épsilon (Pol ϵ) y zeta (Pol ζ). Pol δ y Pol ϵ son consideradas polimerasas de alta fidelidad, por su capacidad de corrección de errores exonucleasa 3'-5' (3,8).

Dichas polimerasas se encuentran involucradas en la síntesis de la cadena líder y rezagada de ADN, durante el proceso de replicación (10).

Pol α y Pol Z, carecen de actividad correctora. La primera está involucrada en la síntesis del cebador de ARN, en los orígenes de replicación y en la cadena de ADN rezagada (11). Mientras tanto, se sugiere que la última participa en la síntesis de translesión, evitando el bloqueo del proceso de replicación de ADN (12).

La Pol II de *Escherichia coli*, de igual manera es considerada un miembro de la familia B de polimerasas. Albergando la actividad de corrección exonucleasa 3'-5', asociada al reinicio de la replicación y a la síntesis de translesión de ADN (13).

Familia X

Las polimerasas beta (Pol β), sigma (Pol σ), mu (Pol μ) y lambda (Pol λ), pertenecientes a la familia X, poseen un rol fundamental en el proceso de reparación del ADN (11, 12). Identificando a Pol β como una enzima nuclear, cuyo rol principal es en la vía de reparación BER (10,15).

Existiendo excepciones, como es el caso del eucariota *Trypanosoma brucei*. En dicho protozooario se ha identificado dos polimerasas mitocondriales β , siendo estas Pol β y Pol β -PAK, en donde cada una cumple distintas funciones. Pol β tiene un papel activo durante la maduración de los fragmentos de Okazaki y Pol β -PAK está asociada con la inserción de bases durante la etapa final de replicación de minicírculos del ADN kinetoplástico (16). Esto contrasta con los eucariotas superiores y el protozooario *Leishmania infantum*, donde Pol β tiene una localización nuclear, sugiriendo un importante papel en la vía de reparación BER nuclear (17). Pol μ y Pol λ participan en la unión de extremos no homólogos, y Pol λ interviene en el proceso de reparación BER (18). Por último, los estudios realizados en *S. cerevisiae* indican que Pol σ colabora en el proceso de la cohesión de las cromátidas hermanas, asegurando una segregación cromosómica equitativa (19).

Familia Y

Todos los miembros de la familia Y se los conocen como polimerasas de translesión (TLS pol). A

pesar, de que ciertas polimerasas de las familias A (Polv, Pol θ) y B (PolZ), pueden llevar a cabo la misma actividad (20,21). Dichas enzimas poseen un papel importante en la supervivencia de la célula, teniendo la capacidad de tolerar daños durante la replicación (22). En los eucariotas superiores cuatro polimerasas forman parte de la familia Y, siendo estas polimerasas kappa (Polk), polimerasa iota (PolI), polimerasa eta (Pol η) y REV1 (23–25).

A pesar de que la maquinaria de replicación es extremadamente eficiente, este proceso puede verse interrumpido por lesiones no resueltas, generando un estancamiento de la horquilla de replicación (20). Las polimerasas TLS tienen la capacidad de remplazar a la polimerasa de replicación, con el fin de insertar bases en la región de la lesión, extendiéndose a través del daño (26). Durante este proceso, son propensos a insertar mutaciones debido a su falta de actividad de corrección exonucleasa 3'-5' (20,26,27). La tasa media de mutación está entre 10⁻²-10⁻⁴ errores por base replicada (25), en donde ciertas mutaciones serán letales para la célula (28). En los seres humanos se sugiere que siete polimerasas participan en la actividad TLS, como se mencionó anteriormente no todas pertenecen a la familia Y, siendo estas: PolZ, Polv, Pol θ , PolI, Pol η , PolK y Rev1. Por otro lado, *S. cerevisiae* sólo alberga tres Pols TLS, PolZ, Pol η y Rev1. Dichas polimerasas no están restringidas a los eucariotas, encontrándose también presentes en organismos procariotas (25). Como es en el caso de *E. coli*, presentando tres pols TLS: dos miembros de la familia Y (Pol IV (DinB) y Pol V (UmuD2C)), y un miembro de la familia B (Pol II); las cuales participan en la vía de reparación SOS (29).

Estructura de las polimerasas

Las polimerasas, sin importar la familia a la que pertenecen, conservan su estructura incluyendo únicamente pequeñas variaciones. Dichas enzimas se asemejan a una mano derecha, en donde la forma de los dominios es similar a una palma, dedos y pulgar (1).

El dominio palma se caracteriza por poseer el complejo catalítico, mientras tanto los dedos y el pulgar son los responsables de sujetar la hebra molde y el cebador; de esta manera formando el sitio activo. En el caso de las polimerasas de la

familia Y, los dominios pulgar y dedos son de menor tamaño. Existiendo la presencia de un dominio adicional conocido como meñique. Dichas variaciones permiten la formación de un sitio activo de mayor amplitud, el cual podría estar aceptando aductos de ADN (1,19).

Discusión

La replicación y los mecanismos de reparación son esenciales para la supervivencia de la célula. La replicación permite duplicar las moléculas de ADN, para posteriormente ser repartidas durante la división celular. Mientras tanto, las rutas de reparación aseguran que la secuencia de ADN se encuentre correcta (28,30); de este modo generando células viables (31). En ambos procesos se ha observado la intervención de las ADN polimerasas, teniendo roles específicos y fundamentales en estas rutas. Es debido a esto, que dichas enzimas son conservadas; estando presentes tanto en organismos procariotas como eucariotas. Teniendo como ejemplo la Pol δ , encontrándose presente en eucariotas unicelulares y multicelulares; participando en la replicación y reparación de ADN (32). Se ha demostrado que el gen que codifica para dicha enzima se encuentra sobre expresado en células cancerígenas (3,30,33). De igual manera, el gen que codifica para Pol Θ se ha visto sobre expresado en células tumorales de cáncer de pulmón, seno, ovario, estómago y colorrectal (3,30,34). Se sugiere que dicho incremento en la expresión de los genes que codifican para las polimerasas, se debe a que las células intentan buscar mecanismo de reparación alternos con el fin de corregir las mutaciones (23). En el caso de las TLS polimerasas, también se las ha vinculado con el cáncer. En este caso debido a la ausencia de actividad exonucleasa, son propensas a generar mutaciones en la secuencia de ADN. Las TLS también se han visto relacionadas con el aumento de la variabilidad genética y con la expresión de proteínas de superficie en el protozooario *Trypanosoma brucei*. En donde se ha asociado a la polimerasa TbPolIE con la expresión de genes que codifican para glucoproteínas variantes de superficie, lo cual permite al parásito evadir el sistema inmune del hospedero mamífero (35). De igual manera se ha observado que la presencia de mutaciones en el gen que codifica para la

polimerasa Poly, genera desordenes siendo uno de estos el síndrome Alpers–Huttenlocher (36).

Cada una de las polimerasas presentes en los organismos vivos cumplen funciones relevantes en los procesos de replicación y reparación, por lo cual su correcto funcionamiento es esencial para generar células viables (30).

Conclusiones

Las ADN polimerasas se agrupan en cuatro familias, basándose en la homología de secuencia y sus funciones. En donde la familia A y X se encuentran involucradas en mecanismos de reparación de ADN, los integrantes de la familia B en el proceso de reparación. Mientras tanto, la familia Y son responsable de la síntesis de translesión. El correcto funcionamiento de las mismas es esencial en los organismos vivos, debido a su participación en procesos biológicos cruciales en la supervivencia de la célula. Las polimerasas, sobre todo las involucradas en la replicación, realizan un trabajo de alta fidelidad debido a su capacidad de corrección de errores asegurando la viabilidad de la célula.

Las polimerasas de translesión se caracterizan por no poseer un mecanismo de corrección de errores, teniendo un rol importante en las vías de reparación de emergencia, evitando el bloque de horquilla de replicación. Debido a esto se les ha relacionado con el incremento de mutaciones en la secuencia de ADN, lo que puede ser la causa de ciertas enfermedades tales como el cáncer.

Referencias

1. Hoitsma NM, Whitaker AM, Schaich MA, Smith MR, Fairlamb MS, Freudenthal BD. Structure and function relationships in mammalian DNA polymerases. *Cellular and Molecular Life Sciences* [Internet]. 2020 Jan 13;77(1):35–59. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-019-03368-y>
2. Craggs TD, Sustarsic M, Plochowitz A, Mosayebi M, Kaju H, Cuthbert A, et al. Substrate conformational dynamics facilitate structure-specific recognition of gapped DNA by DNA polymerase. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(20):10788–800.

3. Wisdom AJ, Kirsch DG. Dissecting the functional significance of DNA polymerase mutations in cancer. *Cancer Research*. 2020;80(24):5459–61.
4. Zhang Y, Davis L, Maizels N. Pathways and signatures of mutagenesis at targeted DNA nicks. *PLoS Genetics*. 2021 Apr 15;17(4).
5. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis* [Internet]. 2017 Jun;58(5):235–63. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/em.22087>
6. Ler AAL, Carty MP. DNA Damage Tolerance Pathways in Human Cells: A Potential Therapeutic Target. *Frontiers in Oncology*. 2022;11(February):1–17.
7. Feng W, Simpson DA, Carvajal-Garcia J, Price BA, Kumar RJ, Mose LE, et al. Genetic determinants of cellular addiction to DNA polymerase theta. *Nature Communications*. 2019 Dec 1;10(1).
8. Schaub JM, Soniat MM, Finkelstein IJ. Polymerase theta-helicase promotes end joining by stripping single-stranded DNA-binding proteins and bridging DNA ends. *Nucleic Acids Research*. 2022 Apr 22;50(7):3911–21.
9. Bullock CR, Xing X, Shcherbakova P v. DNA polymerase δ proofreads errors made by DNA polymerase ϵ . *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(11):6035–41.
10. Zheng F, Georgescu RE, Li H, O'Donnell ME. Structure of eukaryotic DNA polymerase δ bound to the PCNA clamp while encircling DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(48):30344–53.
11. Wang Q, Zhang S, Xu Q, Liang J, Zhang P, Huang W, et al. The Mechanism and Prognostic Value of DNA Polymerase δ Subunits in Hepatocellular Carcinoma: Implications for Precision Therapy. *International Journal of General Medicine*. 2022;Volume 15(January):1365–80.
12. Donnianni RA, Zhou ZX, Lujan SA, Al-Zain A, Garcia V, Glancy E, et al. DNA Polymerase Delta Synthesizes Both Strands during Break-Induced Replication. *Molecular Cell* [Internet]. 2019;76(3):371–381.e4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.07.033>
13. Ghosh D, Raghavan SC. 20 years of DNA Polymerase μ , the polymerase that still surprises. Vol. 288, *FEBS Journal*. John Wiley and Sons Inc; 2021. p. 7230–42.
14. Ray S, Breuer G, DeVeaux M, Zelterman D, Bindra R, Sweasy JB. DNA polymerase beta participates in DNA end-joining. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(1):242–55.
15. Beard WA. DNA polymerase β : Closing the gap between structure and function. *DNA Repair* [Internet]. 2020;93:102910. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2020.102910>
16. Henrikus SS, Wood EA, McDonald JP, Cox MM, Woodgate R, Goodman MF, et al. DNA polymerase IV primarily operates outside of DNA replication forks in *Escherichia coli*. *PLoS Genetics*. 2018;14(1):1–29.
17. Howard MJ, Cavanaugh NA, Batra VK, Shock DD, Beard WA, Wilson SH. DNA polymerase β nucleotide-stabilized template misalignment fidelity depends on local sequence context. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 2020;295(2):529–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.RA119.010594>
18. Jain R, Rice WJ, Malik R, Johnson RE, Prakash L, Prakash S, et al. Cryo-EM structure and dynamics of eukaryotic DNA polymerase δ holoenzyme. *Nature Structural and Molecular Biology* [Internet]. 2019;26(10):955–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41594-019-0305-z>
19. Vaisman A, Woodgate R. Ribonucleotide discrimination by translesion synthesis DNA polymerases. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* [Internet]. 2018 Jul 4;53(4):382–402. Available from: <file:///C:/Users/Carla%0ACarolina/Desktop/Artigos%0Apara%0Aacrescentar%0Aana%0Aaqualificação/The%0Aimpact%0Aof%0Aabirth%0Aweight%0Aon%0Acardiovascular%0Adisease%0Arisk%0Ain>
20. Chen XS, Pomerantz RT. Dna polymerase θ : A cancer drug target with reverse transcriptase activity. *Genes (Basel)*. 2021;12(8).
21. Carvajal-Garcia J, Cho JE, Carvajal-Garcia P, Feng W, Wood RD, Sekelsky J, et al. Mechanistic basis for microhomology identification and genome scarring by polymerase theta. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2020 Apr 14;117(15):8476–85. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1921791117>

22. Martin SK, Wood RD. DNA polymerase ζ in DNA replication and repair. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(16):8348–61.
23. Powers KT, Elcock AH, Washington MT. The C-terminal region of translesion synthesis DNA polymerase η is partially unstructured and has high conformational flexibility. *Nucleic Acids Research.* 2018;46(4):2107–20.
24. Barnes RP, Tsao WC, Moldovan GL, Eckert KA. DNA polymerase eta prevents tumor cell-cycle arrest and cell death during recovery from replication stress. *Cancer Research.* 2018;78(23):6549–60.
25. Vaisman A, Woodgate R. Translesion DNA polymerases in eukaryotes: what makes them tick? *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* [Internet]. 2017 May 4;52(3):274–303. Available from: <file:///C:/Users/Carla%0ACarolina/Desktop/Artigos%0Apara%0Aacrescentar%0Ana%0Aqualificaçãõ/The%0Aimpact%0Aof%0Abirth%0Aweight%0Aon%0Acardiovascular%0Adisease%0Arisk%0Ain>
26. del Prado A, Rodríguez I, Lázaro JM, Moreno-Morcillo M, de Vega M, Salas M. New insights into the coordination between the polymerization and 3'-5' exonuclease activities in ϕ 29 DNA polymerase. *Scientific Reports.* 2019;9(1):1–13.
27. Rogozin IB, Goncarencu A, Lada AG, De S, Yurchenko V, Nudelman G, et al. DNA polymerase η mutational signatures are found in a variety of different types of cancer. *Cell Cycle* [Internet]. 2018;17(3):348–55. Available from: <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1404208>
28. Acharya N, Manohar K, Peroumal D, Khandagale P, Patel SK, Sahu SR, et al. Multifaceted activities of DNA polymerase η : beyond translesion DNA synthesis. *Current Genetics* [Internet]. 2019;65(3):649–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00294-018-0918-5>
29. Chung J, Maruvka YE, Sudhaman S, Kelly J, Haradhvala NJ, Bianchi V, et al. DNA polymerase and mismatch repair exert distinct microsatellite instability signatures in normal and malignant human cells. *Cancer Discovery.* 2021;11(5):1176–91.
30. Gartner A, Engebrecht J. DNA repair, recombination, and damage signaling. *Genetics.* 2022 Feb 1;220(2).
31. Schrempp A, Slyskova J, Loizou JI. Targeting the DNA Repair Enzyme Polymerase θ in Cancer Therapy. Vol. 7, *Trends in Cancer.* Cell Press; 2021. p. 98–111.
32. Fuchs J, Cheblal A, Gasser SM. Underappreciated Roles of DNA Polymerase δ in Replication Stress Survival. *Trends in Genetics* [Internet]. 2021;37(5):476–87. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.12.003>
33. Brambati A, Barry RM, Sfeir A. DNA polymerase theta (Pol θ) – an error-prone polymerase necessary for genome stability. *Current Opinion in Genetics and Development* [Internet]. 2020;60:119–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2020.02.017>
34. Zurita-Leal A, Schwebs M, Briggs E, Weisert N, Reis H, Lemgruber L, et al. Genome maintenance functions of a putative Trypanosoma brucei translesion DNA polymerase include telomere association and a role in antigenic variation. *Nucleic Acids Research* [Internet]. 2020 Sep 25;48(17):9660–80. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article/48/17/9660/5901969>
35. Rahman S, Copeland WC. POLG-related disorders and their neurological manifestations. *Nature Reviews Neurology.* 2019;15(1):40–52