



Resumen

Alumna: Zabdi Rodríguez Hernández

Bioquímica II

La generación de nuevas células, desde los organismos procariontes hasta los humanos, requiere de mecanismos que dupliquen con exactitud el material genético antes de cada división celular. La replicación es el proceso mediante el cual se copia el genoma, constituido fundamentalmente por el ácido desoxirribonucleico (dna) y consiste en una serie de pasos regulados durante el ciclo celular. Con el propósito de comprender los mecanismos de duplicación del genoma en las bacterias se propuso el modelo del replicón. Este modelo plantea la existencia de unidades funcionales de replicación, las cuales están reguladas por elementos proteicos y secuencias de dna específicas que determinan los sitios de arranque de la síntesis del dna.

El modelo del replicón

Diez años después del descubrimiento de la estructura del dna y poco después de sugerir los mecanismos de control de la expresión génica en procariontes (Jacob y Monod, 1961), Jacob y colaboradores propusieron el modelo del replicón (Jacob et al., 1964; Jacob, 1993); el cual trataba de explicar los mecanismos de regulación de la síntesis del dna en las bacterias. En este modelo el replicón es una molécula circular de dna (como los cromosomas bacterianos) que contiene dos elementos específicos determinados genéticamente. El primero se expresa a partir de un gen estructural y es un componente que difunde y regula el inicio de la polimerización: el iniciador, el cual interactúa con el segundo elemento, que es una secuencia específica de nucleótidos en el dna que determina el sitio en el que comienza la síntesis: el replicador.

El replicón de los metazoarios

Al demostrar que las predicciones del modelo del replicón se cumplían en eucariontes inferiores, como la levadura, las investigaciones se enfocaron en la búsqueda del replicador y del iniciador de los metazoarios. Sin embargo, el ensayo de replicación autónoma no produjo los resultados esperados, ya que durante el desarrollo de *Drosophila melanogaster* existen múltiples orígenes de replicación que no dependen de secuencia específica (Blumenthal et al., 1974); asimismo, los primeros experimentos realizados en ovocitos de *Xenopus laevis* demostraron que cualquier secuencia podría funcionar como origen de replicación, incluso secuencias de origen bacteriano.

El iniciador

A pesar de las dificultades para caracterizar el replicador de los metazoarios, parece que la estructura y función del iniciador están conservadas en todos los eucariontes. Se han

encontrado homólogos del *orc* de levadura que son necesarios para la iniciación de la replicación en *X*. En la levadura, además del *orc*, existen cerca de 20 proteínas involucradas en la regulación del inicio de la replicación y hasta ahora se han identificado homólogos para la mayoría de éstas en eucariontes superiores. Mediante mutaciones genéticas se ha demostrado que los homólogos son requeridos para iniciar la replicación en todos los eucariontes analizado.

La búsqueda del replicador metazoario

Al fallar el ensayo de replicación autónoma, surgió la necesidad de desarrollar nuevas herramientas para llevar a cabo el mapeo de los orígenes de replicación en metazoarios (DePamphilis, 1993). Sin embargo, los resultados infructuosos en la búsqueda de *ars* parecían indicar de manera clara que el replicador de eucariontes superiores no depende de una secuencia particular y que la elección del sitio de arranque de la replicación es al azar. Una de las primeras técnicas utilizadas para detectar los sitios de arranque de la replicación fue la identificación del *dna* recién sintetizado en un locus de interés (de secuencia conocida), asumiendo que el replicador debe estar cerca de estas regiones. Para ello, las células se cultivan en presencia de análogos radioactivos de nucleótidos, el *dna* purificado es digerido con enzimas de restricción y posteriormente se analiza por autoradiografía cuáles fragmentos incorporaron el marcaje.

El descubrimiento del iniciador de *S. cerevisiae* y de sus homólogos en eucariontes superiores, desde la mosca *D. melanogaster* hasta el humano, proporcionó una prometedora estrategia para identificar al replicador de los metazoarios al analizar las secuencias a las que el *orc* se une. Así, surgieron evidencias que mostraban una asociación preferencial del *orc* con ciertas secuencias en *D*.

Replicadores en mamíferos

A pesar de la intensa búsqueda del replicador de los metazoarios, hasta ahora sólo se han logrado caracterizar unos cuantos sitios de inicio de la replicación relativamente específicos. El locus del gen que codifica para la dihidrofolato reductasa (*dhfr*) es uno de ellos y se ha estudiado en una cepa peculiar de las células *cho*.

La caracterización de esta región a nivel de secuencia permitió el análisis de los sitios de inicio de la síntesis del *dna*. Así, se ha identificado una zona de 55 kb en la cual comienza la polimerización de manera deslocalizada, pero con tres sitios más frecuentes de arranque de la replicación que se han denominado *ori-β*, *ori-β'* y *ori-γ*.

El contexto de la replicación

El proceso de la replicación en los organismos vivos no ocurre como en el tubo de ensaye. Las bacterias tienen que replicar su cromosoma de una manera coordinada al crecimiento de la membrana y la pared celular para poder segregarse el genoma duplicado de manera adecuada en la siguiente generación. En los eucariontes la replicación tiene lugar sobre un templado que está muy organizado en el interior del núcleo; más aun, la interacción del dna con el octámero de histonas debe removerse conforme avanza la polimerización, lo cual reduce notablemente la tasa de replicación.

La replicación en los eucariontes

Las primeras evidencias que indicaban que la polimerización del dna se lleva a cabo en sitios fijos provinieron de una línea de investigación diferente. Estudios de la década de 1940 mostraron la existencia de una estructura que aparentemente era la responsable de mantener la forma y el volumen nuclear. La mn está constituida por las láminas nucleares, complejos residuales del poro, una red interna de ribonucleoproteínas y el nucleolo residual.