



RESUMEN: EL REPLICON

Biología Molecular – Dr. Jose Miguel Ricaldi



**21 DE MAYO DE 2021
UNIVERSIDAD DEL SURESTE
Oscar Adalberto Zebadua Lopez**

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 segregar 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 aún, la interacción del dna con el octámero de histonas debe removerse conforme avanza la polimerización, lo cual reduce notablemente la tasa de replicación. Además, el genoma de los eucariontes se replica siguiendo un patrón temporal regulado durante la fase S del ciclo celular; esta fase puede dividirse al menos en dos períodos, durante la primera mitad se replican las regiones ricas en genes que normalmente son regiones abiertas de la cromatina (eucromatina), mientras que la heterocromatina se replica en la fase S tardía.

Por otro lado, se ha planteado que el modelo comúnmente aceptado del mecanismo de replicación implica problemas topológicos para las cadenas recién sintetizadas; esto debido a que involucra el movimiento de las polimerasas sobre el templado. Sin embargo, ello generaría estrés torsional en el templado en ambos lados de la horquilla que podría generar que las cadenas resultantes se enredaran entre sí siendo imposible separarlas.

No obstante, el movimiento de una maquinaria de replicación de enorme tamaño implicaría un elevado gasto energético, más aún si se consideran dos maquinarias por horquilla sintetizando en direcciones opuestas sobre el templado. Por ello se sugiere que las enzimas de copiado permanecen inmóviles en grandes complejos macromoleculares denominados fábricas de replicación, mientras que el dna es el que se mueve hacia estas fábricas de manera progresiva y las abandona conforme va siendo duplicado.

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. Una de las evidencias más notable que sugiere que la replicación tiene lugar en sitios fijos sobre la mn es el descubrimiento de las fábricas de replicación en el interior del núcleo.

En un principio los experimentos se enfocaron en determinar la estructura espacial de los agrupamientos de replicones que se observaron al analizar las fibras de dna replicado extendidas en laminillas; para ello se marcó el dna recién sintetizado con análogos de nucleótidos, los cuales podían analizarse con anticuerpos fluorescentes; así se observó que la replicación ocurre en cientos de pequeños focos discretos, cuyo número permanece constante pero su tamaño e intensidad fluorescente se incrementa conforme progresa la replicación.

Existen diferentes tipos de focos de replicación en función del patrón temporal en el que se activan. Al marcar el dna recién sintetizado en la fase S temprana se observan numerosos focos de replicación, que son pequeños y están distribuidos por todo el núcleo celular (a excepción del nucléolo y regiones de heterocromatina). A la mitad de esta fase S y en el periodo tardío se observan mucho menos focos, pero de mayor tamaño asociados a la periferia nuclear y a la heterocromatina.

Hacia un modelo del replicón metazoario.

A pesar de que el *orc* no muestra una preferencia por secuencias específicas, los esfuerzos por sostener el paradigma del replicón en su propuesta original han llevado a sugerir que son otras proteínas las que dirigen al *orc* a sitios definidos. Esto se ha fundamentado en algunas evidencias de proteínas que interactúan con el *orc* y que parecen tener influencia sobre la eficiencia del inicio de la replicación.

Debido a la extensa discrepancia en las evidencias experimentales, sobre todo en cuanto a la necesidad de secuencias específicas que determinen el sitio de arranque de la replicación, es necesario desarrollar nuevos esquemas que permitan comprender los mecanismos de duplicación del genoma de los metazoarios y el establecimiento de las unidades de replicación. De esta manera, tomando en cuenta la evidencia experimental disponible hasta ahora, proponemos un modelo en el que la organización de la cromatina con respecto a la *mn* constituye la base estructural sobre la que se llevan a cabo los mecanismos de duplicación del genoma.

Durante la interfase, el *dna* se organiza en bucles anclados a la *mn*, agrupamientos de bucles relajados (eucromatina) pueden constituir un foco de replicación temprana, mientras que los agrupamientos de heterocromatina forman focos de replicación de la fase S tardía. Secuencias ricas en *a-t* están en múltiples sitios a lo largo de cada bucle de *dna*. Cada una de las secuencias ricas en *a-t* tienen el potencial de unirse a la *mn* y al *orc*, por lo que todas estas secuencias son sitios potenciales de anclaje a la *mn* y a su vez oris potenciales. Sin embargo, los anclajes actuales a la *mn* (*lars*) sólo son un subconjunto de los anclajes potenciales.

La replicación del material genético de los metazoarios.

Requiere la subdivisión del genoma en subunidades estables e involucra la organización de la maquinaria de replicación en dominios funcionales dentro del núcleo celular. De acuerdo con las evidencias experimentales, se sugiere que la organización topológica del *dna* en forma de bucles anclados a la *mn* es el factor que establece las unidades de replicación de los metazoarios.

De esta manera se propone un modelo del replicón metazoario en el cual el iniciador (*orc*) se une de manera inespecífica al *dna*, con cierta preferencia a secuencias ricas en *at* ubicadas en regiones con hiperenrollamiento negativo y así es relocalizado a regiones cercanas a los sitios de anclaje a la *mn* (*lars*) donde inicia la replicación de manera bidireccional. De esta manera, se propone que a diferencia de los procariontes en los metazoarios no existe un replicador que determine el sitio de inicio de la replicación.

Asimismo, se plantea que el establecimiento del tiempo de replicación depende del grado de condensación de la cromatina, el cual a su vez puede establecerse a partir de modificaciones epigenéticas preexistentes. Sin embargo, la validez del modelo depende del análisis de la replicación en conjunto con el establecimiento de los patrones de asociación del *dna* con la *mn*, de hecho, el modelo parte de un patrón de organización preestablecido, por lo que surge la incógnita de cómo es que se establecen los patrones diferenciales de organización de la cromatina que determinarían los sitios de inicio de la replicación, el tamaño de los replicones y el tiempo en el que se replica cada región del genoma.