

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA UNIDAD FUNDAMENTAL DE REPLICACIÓN DEL DNA (EL REPLICÓN) EN EUCARIONTES

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 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. A pesar del descubrimiento de diversos factores moleculares involucrados en la replicación y de los distintos pasos requeridos para su inicio, elongación y terminación, aún no se conocen los factores estructurales que establecen las unidades de replicación en los organismos pluricelulares. En este artículo se discuten las evidencias experimentales a favor y en contra de la generalización del modelo del replicón a los metazoarios. Además, se propone un modelo en el cual la organización topológica del dna en el interior del núcleo celular constituye el soporte estructural de la replicación y por lo tanto determina la distribución funcional de las unidades de replicación en los eucariontes superiores. En este modelo el replicón es una molécula circular de dna 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. Poco después de la identificación de los elementos del replicón en bacterias se realizó el ensayo de replicación autónoma en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, uno de los organismos más estudiados como modelo de los eucariontes. Las arss de la levadura se conforman por tres o cuatro repeticiones de una secuencia consenso acs y varios elementos

«B». La secuencia acs es rica en a-t y consiste en 11 pb , mientras que los elementos b son secuencias conservadas que probablemente contribuyen al desenrollamiento de la doble hélice en el inicio de la replicación, al funcionar como secuencias de fácil desenrollamiento denominadas elementos due: dna Unwinding. 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. Además, se observó que al integrarse el plásmido transfectado de manera estable en cromosomas endógenos la replicación puede iniciar de manera aleatoria dentro de la secuencia del plásmido. Estas evidencias sugieren que la determinación del sitio de inicio de la replicación en el genoma de los metazoarios no depende de secuencias específicas. Más tarde se realizaron observaciones que iniciaron una

controversia sobre la necesidad de secuencias específicas para el replicador metazoario. El análisis de la replicación de una región amplificada en una línea celular derivada de células de ovario de hámster , logró establecer que el inicio de la replicación podía localizarse en sitios discretos sugiriendo la existencia de secuencias específicas que funcionan como replicadores en los mamíferos. El locus del gen que codifica para la dihidro folatoredutasa es uno de ellos y se ha estudiado en una cepa peculiar de las células cho. Estas células se han seleccionado por su resistencia al metotrexato, conferida por la amplificación de uno de los alelos de la dhfr que se conforma por 1 000 copias arregladas en tándem. 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-

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. Las primeras evidencias que indicaban que la polimerización del dna se lleva a cabo en sitios fijos provinieron de una línea de investigación diferente. 1940 mostraron la existencia de una estructura que aparentemente era la responsable de mantener la forma y el volumen nuclear. Sin embargo, fue hasta 1974 que se denominó matriz nuclear a la estructura que se obtenía al lisar las células utilizando detergentes, sales y nucleasas. Casi al mismo tiempo, estudios independientes demostraron que la cromatina presenta un comportamiento helicoidal similar al de las moléculas circulares de dna , es decir, que el dna humano está dividido en subunidades superenrolladas en forma de asas o bucles. Este comportamiento sugirió que el dna está formando bucles anclados a la mn, lo que es consistente con las observaciones por microscopía de fluorescencia de nucleoides.