



Universidad del Sureste
Campus Tuxtla Gutiérrez
“Estructura y función de la unidad fundamental
de replicación del DNA”
Biología Molecular
Dr. Jose Miguel Culebro Ricaldi
Br. Viridiana Merida Ortiz
Estudiante de Medicina
4to Semestre
14 de mayo de 2021, Tuxtla Gutiérrez Chiapas

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

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

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. Además de observar múltiples sitios de arranque de la replicación (orígenes de replicación) a lo largo del DNA extendido, se encontró que la duplicación del genoma eucarionte se lleva a cabo por horquillas de replicación adyacentes que progresan de manera bidireccional.

El replicón de la levadura

Se realizó el ensayo de replicación autónoma en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, uno de los organismos más estudiados como modelo de los eucariontes. Así, se obtuvo la clonación de secuencias autónomas replicantes. Los elementos ARS, además de permitir la replicación de los plásmidos, dependen de secuencias específicas y funcionan como sitios de inicio de la síntesis del DNA su contexto nativo por lo que constituyen los replicadores de la levadura. Una vez caracterizado el replicador de la levadura, las investigaciones se enfocaron en la identificación del

iniciador. Así, se descubrió un complejo proteico que se une de manera específica a la secuencia ACS y que fue denominado complejo de reconocimiento del origen de replicación, ORC.

El replicón de los metazoarios

Los primeros experimentos realizados en ovocitos de *Xenopus laevis* demostraron que cualquier secuencia podría funcionar como origen de replicación, incluso secuencias de origen bacteriano. En el caso de los mamíferos se observó una escasa actividad de replicación en los plásmidos transfectados que era poco reproducible. 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

Replicadores en mamíferos

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 dihidrofolatoreductasa (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 . Otro de los sitios de arranque de la replicación identificados en mamíferos se encuentra en el locus de la β -globina humana, el cual consiste en cinco genes de expresión eritroide específica.

El contexto de la replicación

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 aun, la interacción del DNA con el octámero de histonas debe removerse conforme avanza la polimerización, lo cual reduce notablemente la tasa

de replicación. Desde que se propuso el modelo original del replicón de las bacterias se sugirió que las DNA polimerasas debían estar fijadas, probablemente unidas a la membrana, para facilitar el control de la iniciación de la polimerización y la distribución de las copias del genoma en las nuevas células.

La replicación en los eucariontes

Los orígenes de replicación los sitios de anclaje a la MN no muestran una secuencia consenso, son regiones ricas en nucleótidos A y T y se unen específicamente a MN aisladas. Así, se han denominado regiones de anclaje a la matriz (MARS) a todas aquellas secuencias que tienen el potencial de unirse a la MN. Los orígenes de replicación están en una región del bucle que se une a la MN en la fase G1 tardía y que es liberada después de la síntesis del DNA. Además, al utilizar el ori-b de la DDHFR que replica en la fase S temprana y el origen de replicación de la b-globina que se dispara en la fase S tardía (en células no-eritroides) se demostró que los orígenes se asocian con la MN antes de que inicien la replicación (fase G1 tardía) y se separan después de que se han activado (fase S temprana para el ori-b y S tardía para el origen de la b-globina). La replicación del DNA se puede llevar a cabo in vitro utilizando preparaciones de MN y medios suplementados con nucleótidos. Actualmente se han identificado diversos factores que están asociados a las fábricas de replicación como el PCNA, la proteína de replicación A (RPA), las DNA polimerasas α y ϵ , DNAoisomerasa $\text{ii-}\alpha$, metiltransferasas, desacetilasas de histonas y otros factores relacionados con el inicio de la fase s. Finalmente, evidencias experimentales con elementos de las fábricas de replicación fusionados a proteínas fluorescentes, demuestran que estos complejos se ensamblan y desensamblan durante la fase s.