

Estructura y balance energético durante la replicación del ADN

Víctor Martínez¹, Hernando Maldonado¹, María José Fernández-Nestosa¹, Pablo Hernández², Dora B. Krimer², Jorge B. Schwartzman²

¹ Grupo de Bioinformática, Facultad Politécnica, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay

² Laboratorio de Biología Molecular de los Cromosomas, Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid, España

PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD ASOCIATIVO – CONVOCATORIA 2013 - PROYECTO 14-INV-062

RESUMEN

La energía es necesaria para todos los procesos vitales. En este trabajo analizamos la distribución de la energía potencial elástica durante la replicación del ADN y la función reguladora de las topoisomerasas a lo largo de este proceso. Hemos implementado el modelo de conocido como *wormlike chain* para simular moléculas de ADN parcialmente replicadas con distintos niveles de complejidad topológica en las regiones ya replicada y no replicada. Con el fin de identificar las características conformacionales de moléculas parcialmente replicadas en el equilibrio termodinámico se utilizó un abordaje matemático, basado en la determinación del ángulo de deformación de cada segmento de la molécula, para calcular la energía potencial elástica de las regiones ya replicada y no replicada. Los resultados confirman el equilibrio continuo de energía entre ambas regiones, apoyando la evidencia obtenida *in vivo* para todos los configuraciones analizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tarea 1. Se construyó un **modelo de Intermediario de Replicación** en el que la región no replicada se une mediante dos horquillas de replicación a dos moléculas circulares, que representan las cadenas nacientes de la región ya replicada. En las simulaciones se representa una molécula plasmídica de 4440 pb que ha alcanzado un 50% de la replicación. Por lo tanto, cada porción, la no replicada y ambas nacientes, está conformada por 180 segmentos de igual longitud.

Tarea 2. Para la **simulación del balance energético** se tuvieron en cuenta dos componentes: la energía elástica de doblado, E_b y la energía elástica de torsión, E_t . Para una molécula de DNA compuesta con N segmentos rectos, la energía de doblado está dada por:

$$E_b = k_B T \alpha \sum_{i=1}^N \theta_{i,i+1}^2 \quad (1)$$

donde k_B es la constante de Boltzman, T es la temperatura absoluta (297 K), θ_i es el desplazamiento angular (en radianes) del segmento i relativo al segmento $i + 1$ y α es la constante de rigidez de doblado (3.248). La energía de torsión, es una función cuadrática de la variación del *Twist* (ΔTw) de la doble hélice respecto a la configuración de la molécula relajada. Para una cadena cerrada el ΔTw puede ser calculado utilizando el Teorema de Calugareanu: $\Delta Tw = \Delta Lk - \Delta Wr$. Así la energía elástica de torsión puede ser expresada como:

$$E_t = \frac{2\pi^2 C}{L} (\Delta Lk - Wr)^2 \quad (2)$$

donde C es la constante de torsión de la molécula y L es su longitud total. con un determinado valor de ΔLk , es necesario conocer el valor de su Wr para cada conformación de prueba.

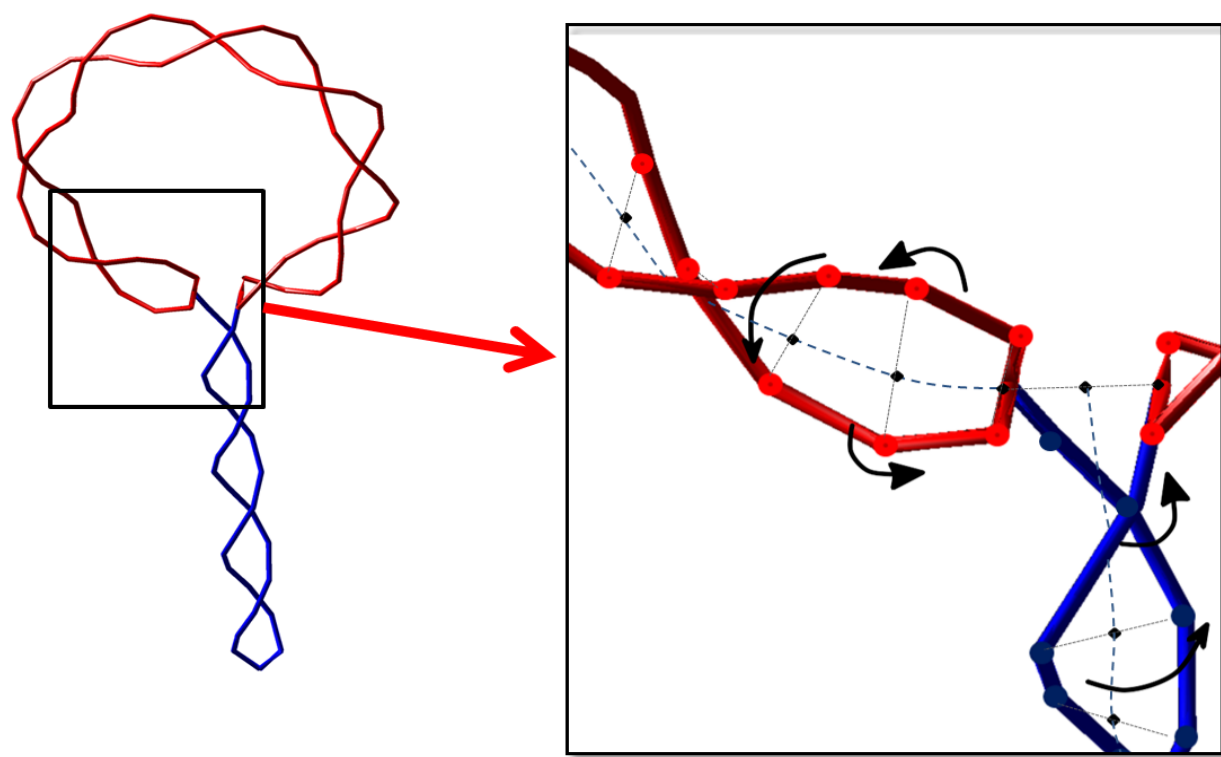


Figura 1: Modelado del giro de la horquilla de replicación. Se consideran dos puntos, cada uno en una curva distinta, opuestos respecto al eje central de la doble hélice, capaces de girar ángulos iguales respecto a su punto medio. Repitiendo las rotaciones a lo largo de las dos curvas se puede representar la rotación de ambas curvas, una en torno a la otra. De esta manera, se puede representar el encadenamiento o desencadenamiento de la región ya replicada. Mientras que para la región no replicada, se puede simular la rotación respecto a sí misma para cambiar el superenrollamiento, enrollando o desenrollando el plectonema.

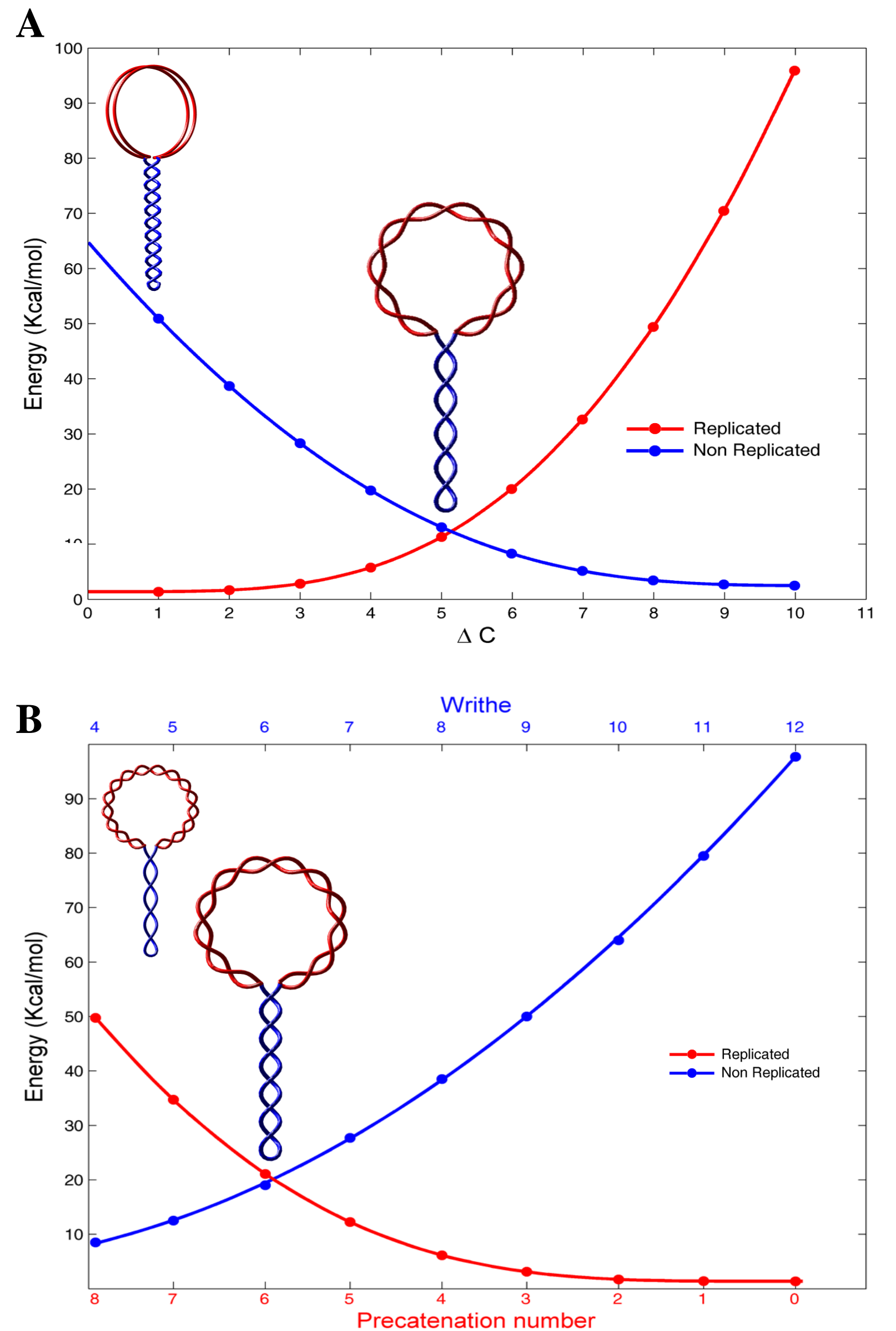


Figura 2: Efecto de la complejidad topológica sobre el equilibrio termodinámico entre las regiones no replicada y ya replicada. Cada giro de la horquilla de replicación equivale a un cambio en un cruce dextrógiro (RH) en la región plectonémica y dos cruces (un pre-encadenamiento) levógiros (LH) en la región ya replicada. Se representa la energía potencial elástica de ambas regiones después de cada giro de la horquilla en función de la complejidad topológica (ΔC), número de pre-encadenamiento en la región ya replicada y número de superenrollamientos en la no replicada. Para cada simulación se representan tanto la configuración de partida (izquierda) como la conformación de equilibrio (centro). **A)** Simulación de un RI con 10 superenrollamientos negativos (RH) en la región no replicada. La horquilla de replicación gira hasta permitir la difusión de todo el superenrollamiento hacia la región ya replicada, dando lugar a la formación de pre-encadenados. **B)** Simulación de un RI con 4 superenrollamientos negativos (RH) en la región no replicada y 8 pre-encadenamientos LH en la región ya replicada. Todos los pre-encadenados LH de la porción ya replicada difunden a la región no replicada en forma de y superenrollamiento. Los círculos azules corresponden a cambios en el número de superenrollamientos de la región no replicada y los círculos rojos corresponden a cambios en el número de pre-encadenados de la región ya replicada.

CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos demuestran que en el equilibrio termodinámico la configuración adoptada por el intermediario de replicación es aquella en la cual el número de superenrollamientos de la región plectonémica es igual al número de pre-encadenamientos de las cromátidas hermanas de la región ya replicada.
- La conformación de equilibrio es independiente la distribución inicial de la tensión torsional entre las regiones no replicada y ya replicada.
- La formación de pre-encadenados en el ADN es una consecuencia del balance energético entre las regiones no replicada y ya replicada.