

Viernes 18 de agosto
Hora 11:30 am
Auditorio General
Dra. María Eugenia Sánchez Sandoval
Reconstitución de un replisoma *in vitro*

Un replisoma es un complejo proteico involucrado en la replicación del ADN. Los replisomas más pequeños que han sido descritos son el del bacteriófago T7 y del sistema mitocondrial humano. Los componentes fundamentales son una ADN polimerasa, una primasa, una helicasa y una proteína de unión a ADN de cadena sencilla. En la replicación mitocondrial de *Saccharomyces cerevisiae* solamente se han relacionado una ADN polimerasa (Mip1), una ARN polimerasa (Rpo41), un factor de transcripción (Mtf1) y una proteína de unión a ADN de cadena sencilla (Rim1). Curiosamente no se ha encontrado una helicasa replicativa o una primasa. Mip1 es una proteína con función de polimerasa y exonucleasa. Además Mip1 tiene una extensión en el carboxilo terminal relacionado con la regulación del equilibrio polimerasa-exonucleasa o con una interacción proteína-proteína en el sistema replicativo. Rpo41 es capaz de sintetizar iniciadores de ARN de manera semejante a la ARN polimerasa mitocondrial humana, y requiere de Mtf1 como cofactor para la apertura del ADN de cadena doble. Rim1 evita la formación de estructuras secundarias durante la replicación del ADN, también presenta un C-terminal ácido parecido a otras SSBs, el cual es capaz de estimular a otras proteínas mediante interacción física con este fragmento ácido. Las similitudes entre los componentes replicativos de *S. cerevisiae* con los del bacteriófago T7 y las proteínas mitocondriales humanas, indican semejanza entre estos sistemas. En este trabajo demostramos que Rpo41 sintetiza fragmentos cortos de ARN con ADN de cadena sencilla y doble como templado. Mip1 utiliza los iniciadores sintetizados por Rpo41, los cuales deben tener una longitud mínima de 10 nt, pero Mtf1 es dispensable para la síntesis de iniciadores y para su extensión por Mip1. Estos resultados muestran que Rpo41 funciona como primasa para la cadena sencilla y retardada usando secuencias promotoras y de orígenes de replicación como templado para el mantenimiento eficiente del genoma mitocondrial. Los componentes mínimos necesarios requeridos para la replicación son Mip1 y Rpo41, utilizando a Mtf1 y a Rim1 como proteínas reguladoras mediante interacciones con el replisoma mitocondrial de *S. cerevisiae* y así obtener un proceso de replicación exitoso.