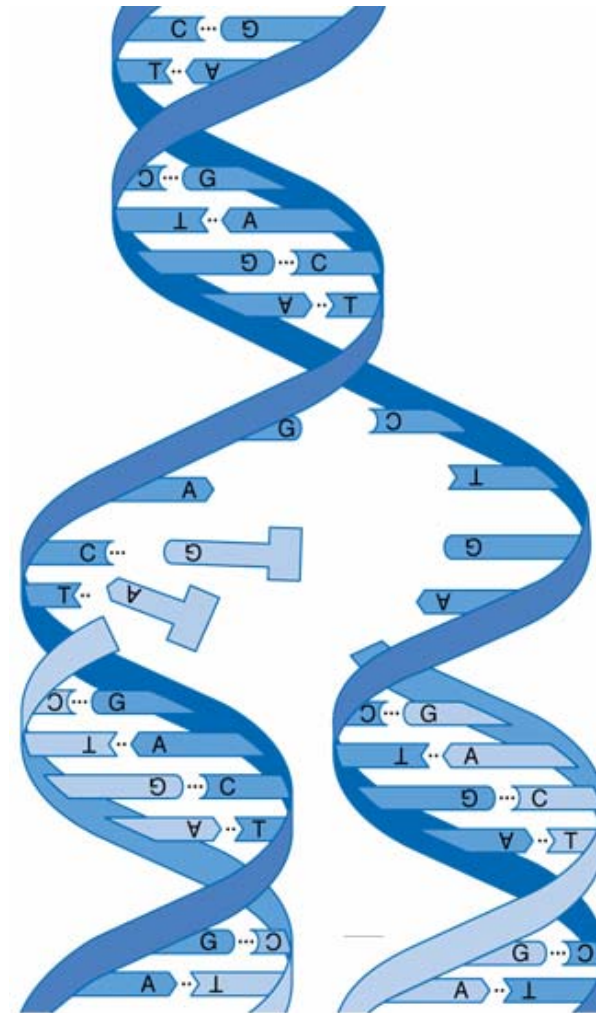


www.fisiokinesiterapia.biz

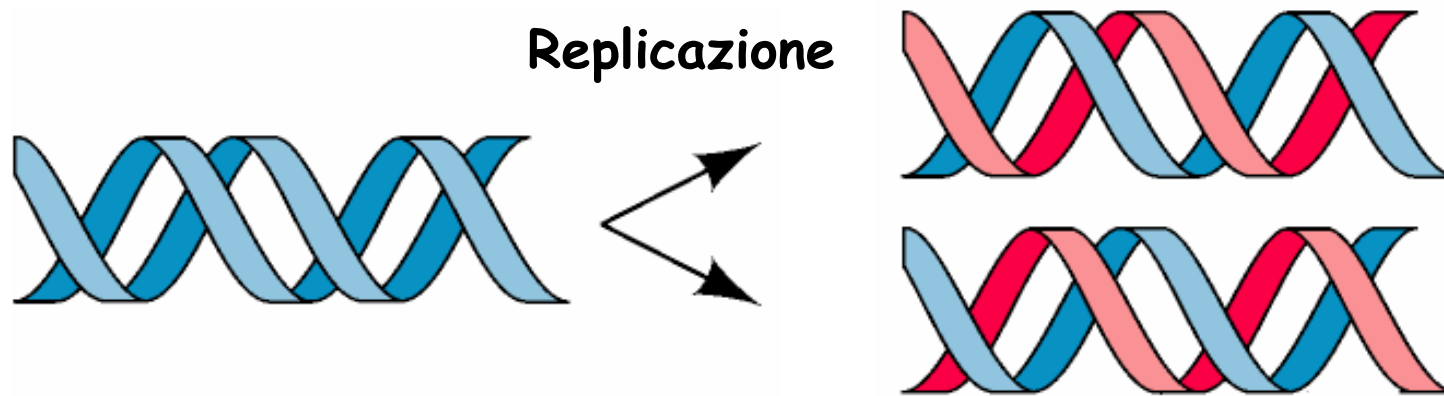
LA REPLICAZIONE DEL DNA

REPLICAZIONE DEL DNA

Durante il processo di replicazione la doppia elica del DNA si srotola e ciascuno dei due filamenti funziona da stampo per un nuovo filamento, che viene sintetizzato in base al principio della complementarietà delle basi

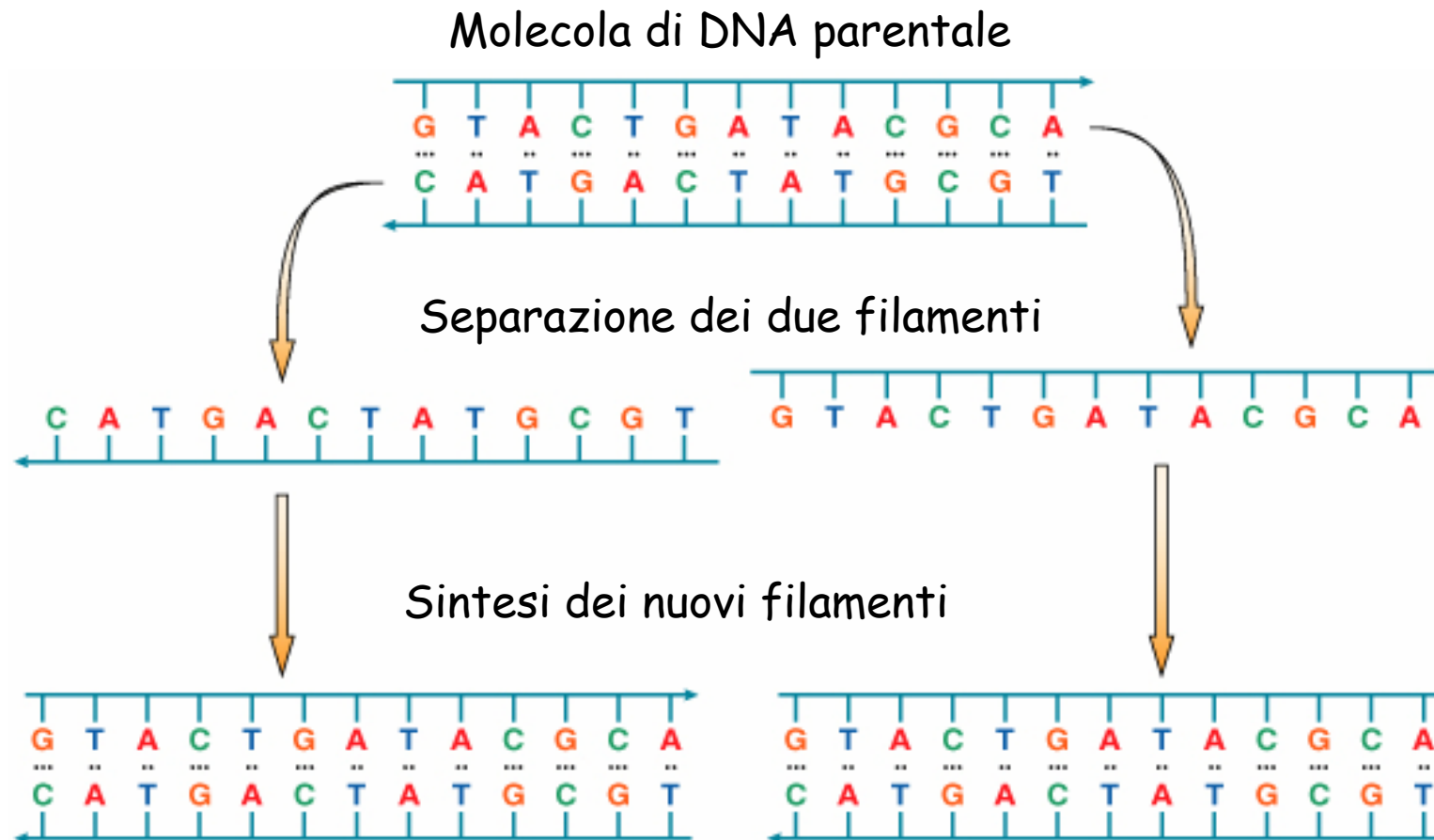


LA REPLICAZIONE DEL DNA E' SEMICONSERVATIVA



Ciascuna delle due molecole figlie è formata da un filamento di DNA parentale (vecchio) e da uno complementare di nuova sintesi

LE DUE MOLECOLE FIGLIE SONO IDENTICHE ALLA MOLECOLA DI DNA PARENTALE

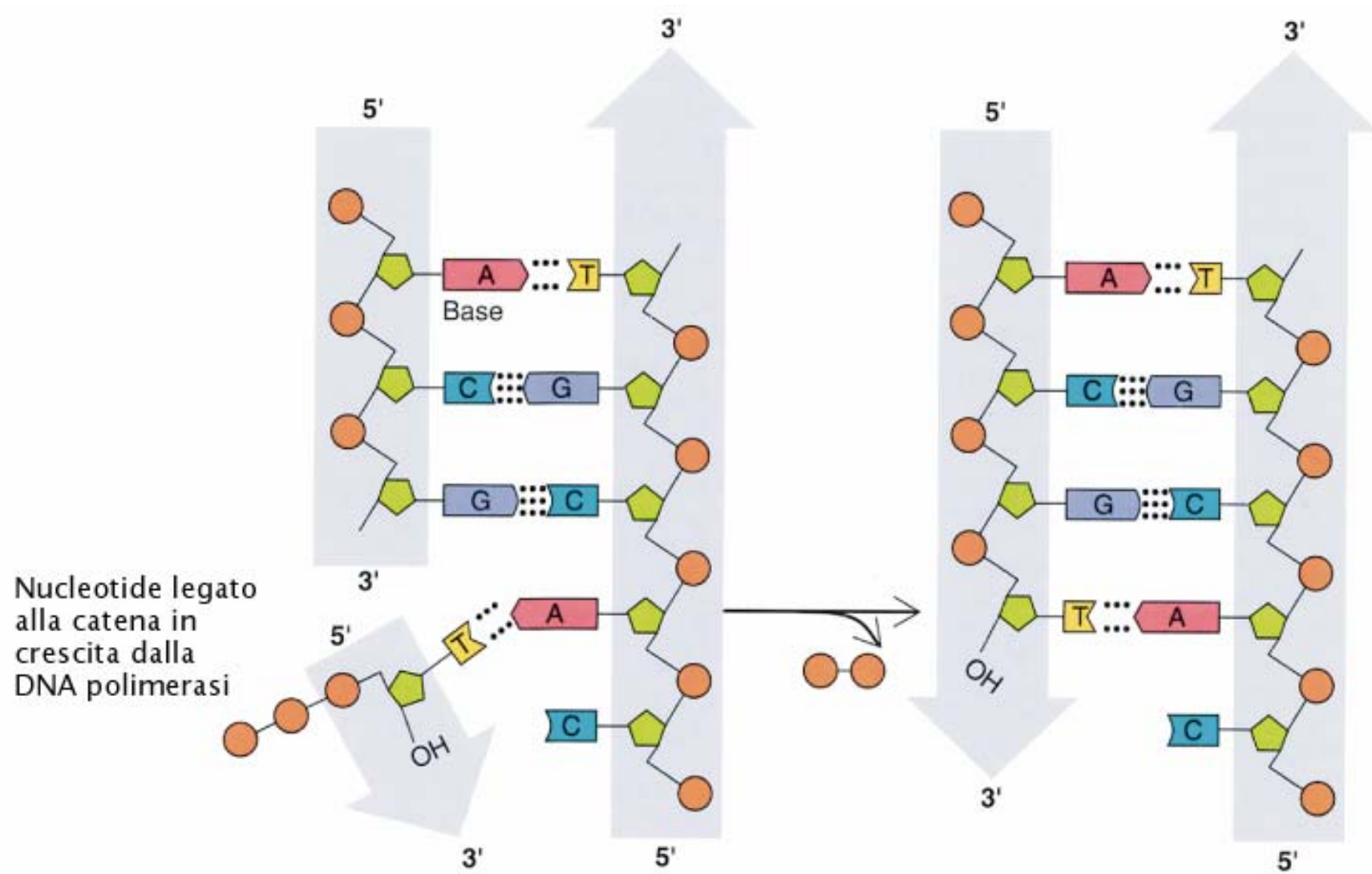


SINTESI DEL NUOVO FILAMENTO

E' catalizzata dalle **DNA polimerasi**, enzimi che:

- polimerizzano un nuovo filamento sullo stampo fornito dal vecchio filamento
- inseriscono un nucleotide alla volta, utilizzando come substrato **deossiribonucleosidi trifosfato (dNTP)**
- catalizzano la formazione del legame fosfodiesterico tra il gruppo OH libero al 3' dell'ultimo nucleotide della catena e il gruppo fosforico al 5' del nuovo nucleotide
- la sintesi del DNA procede quindi in direzione 5'→3'

SINTESI DEL DNA



Il nuovo filamento cresce sempre dal 5' al 3'

DNA POLIMERASI

Nelle cellule ci sono diversi tipi di DNA polimerasi (Pol)

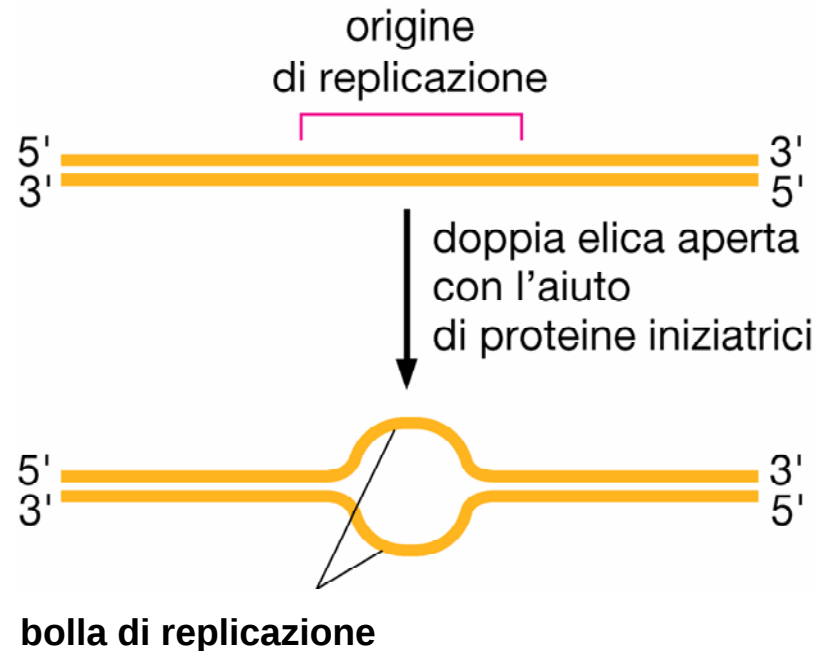
Nei Procarioti tre tipi: Pol I, Pol II, Pol III

Enzima principale della replicazione: Pol III

Negli Eucarioti almeno cinque tipi: Pol α , Pol β , Pol λ ,
Pol δ , Pol ϵ .

Enzimi principali della replicazione: Pol α e Pol δ

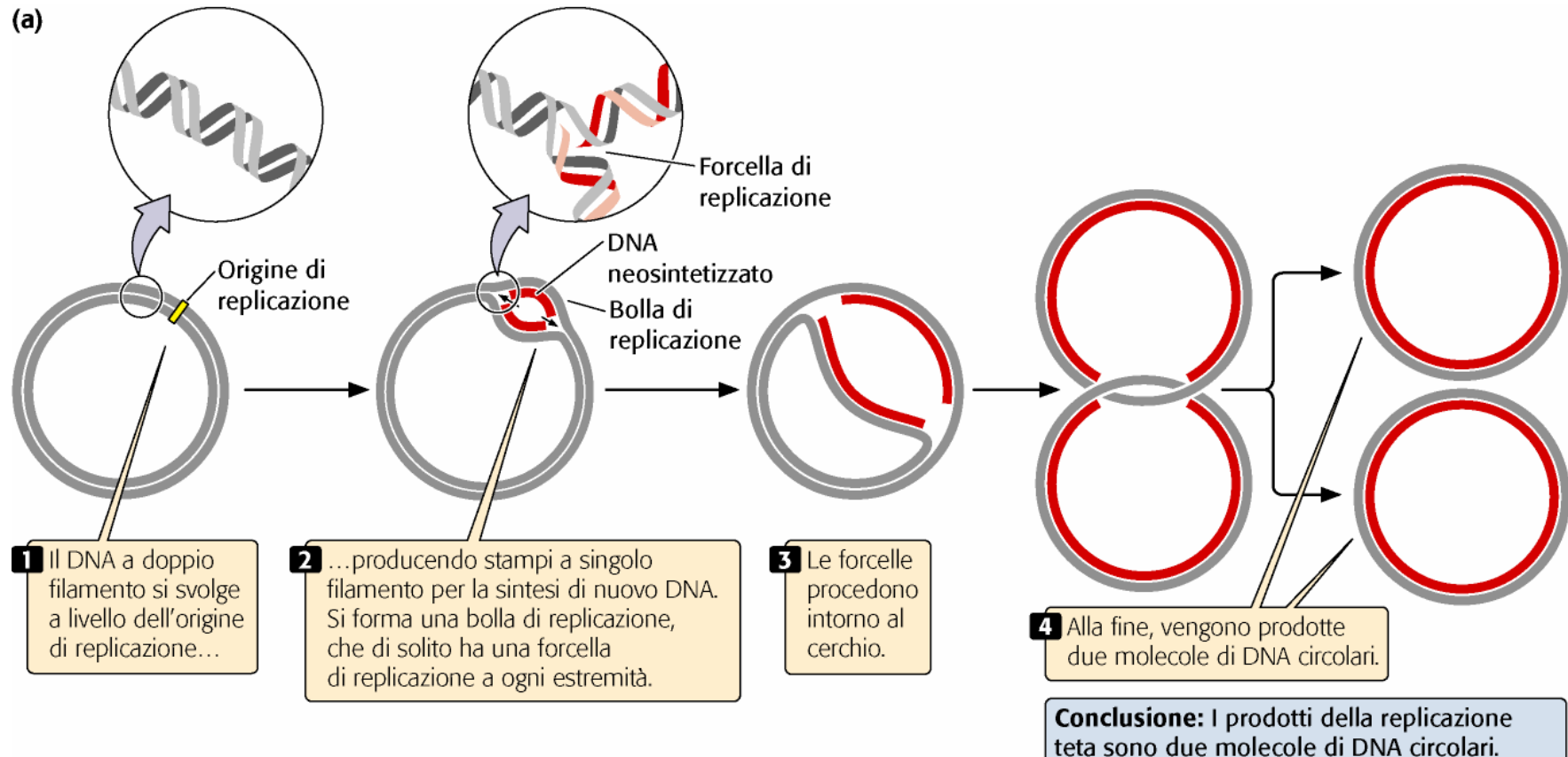
LA REPLICAZIONE PARTE DA REGIONI SPECIFICHE DEL CROMOSOMA DETTE ORIGINI DI REPLICAZIONE



origini di replicazione: brevi sequenze di DNA ricche in AT riconosciute da proteine particolari, dette proteine iniziatrici

REPLICAZIONE NEI PROCARIOTI

Cromosoma circolare con un'unica origine di replicazione



Forcella di replicazione: biforcazione ad Y che corrisponde alla zona in cui avanza la replicazione

FORMAZIONE BOLLA DI REPLICAZIONE

Alle proteine iniziatrici si lega la **DNA elicasi**, un enzima che rompe i ponti H tra le basi complementari e poi avanza srotolando progressivamente l'elica

Le **proteine SSBP** (single strand binding protein) stabilizzano il singolo filamento



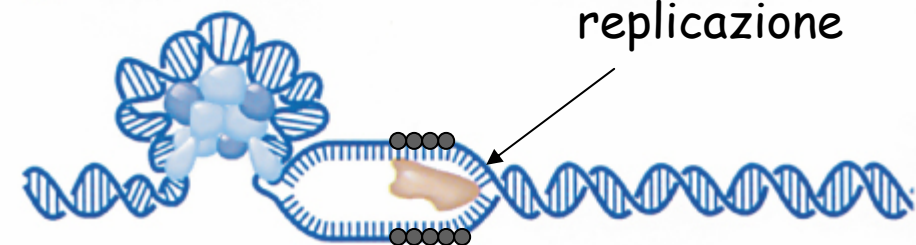
1 La proteina iniziatrice si lega all'origine di replicazione



2 La DNA elicasi si lega alla proteina iniziatrice



3 L'elicasi si porta sul DNA

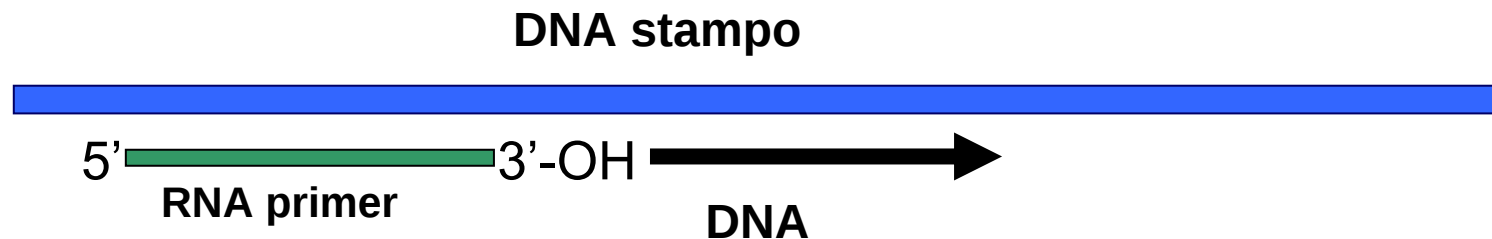


4 L'elicasi denatura l'elica

PER INIZIARE LA SINTESI LA DNA POLIMERASI NECESSITA DI UN PRIMER DI RNA

Le DNA polimerasi non possono iniziare la sintesi del DNA perché possono aggiungere nucleotidi solo a un filamento preesistente

L'innesco è fornito da un primer di RNA (≈ 10 nucleotidi) sintetizzato dall'enzima **primasi**

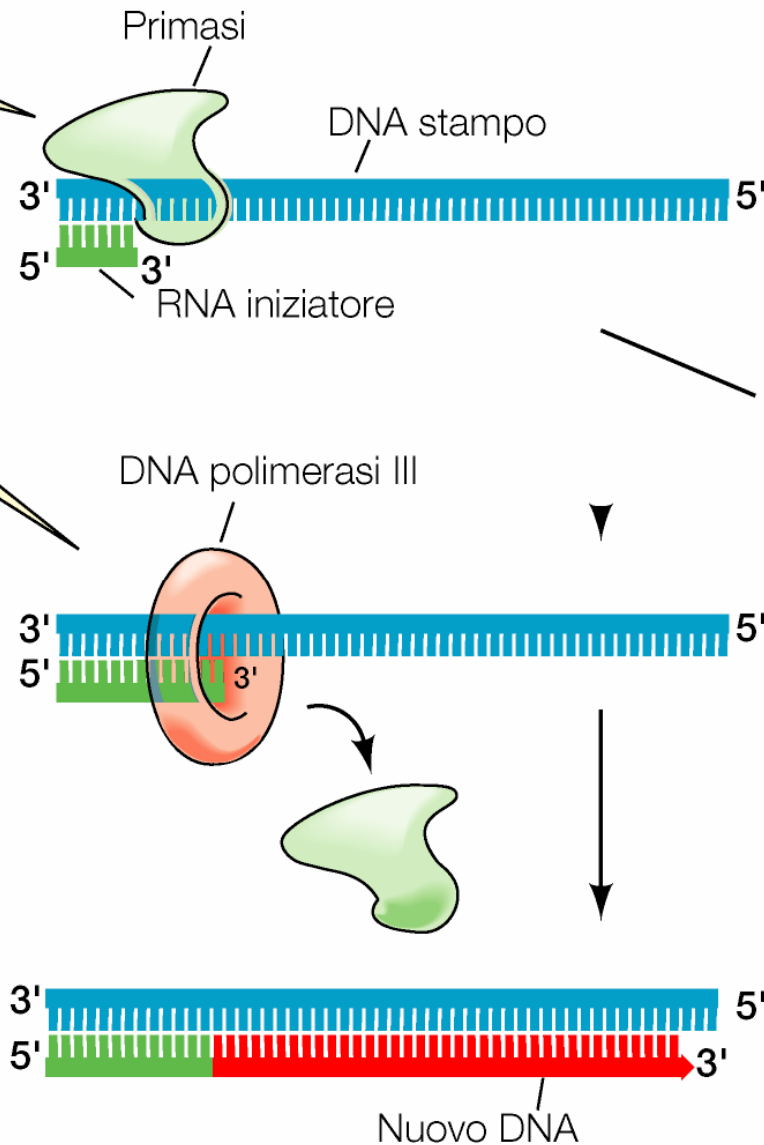


I primer di RNA sono poi rimossi e sostituiti con DNA dalla DNA polimerasi I (enzima che ha sia attività esonucleotidica che polimerasica)

INIZIO SINTESI DNA

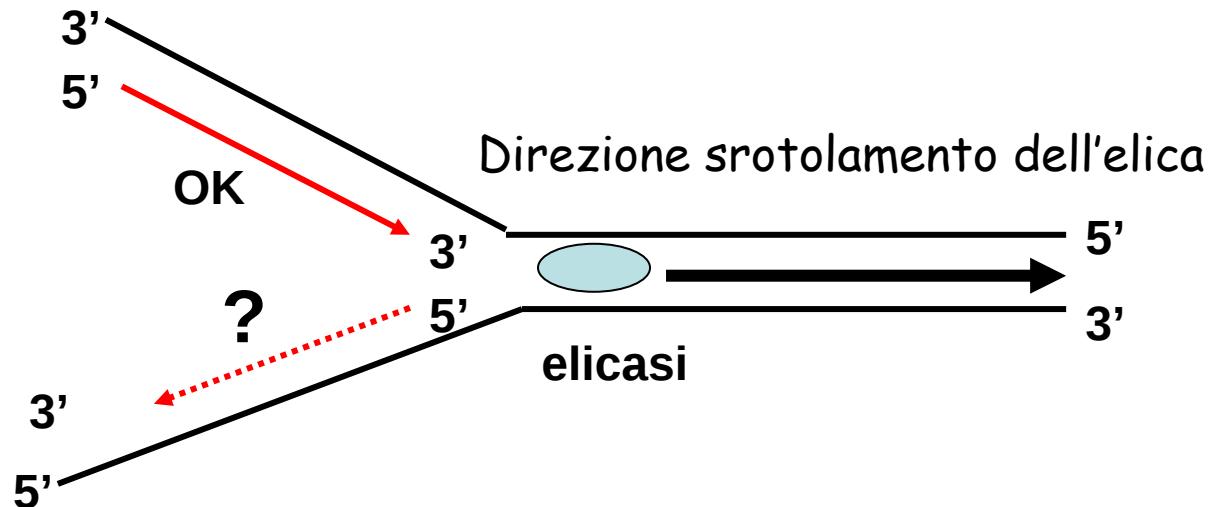
1 La primasi si lega al filamento stampo e sintetizza un RNA iniziatore.

2 Quando l'iniziatore è stato completato, la primasi viene rilasciata. La DNA polimerasi si lega e inizia a catalizzare la sintesi di nuovo DNA.



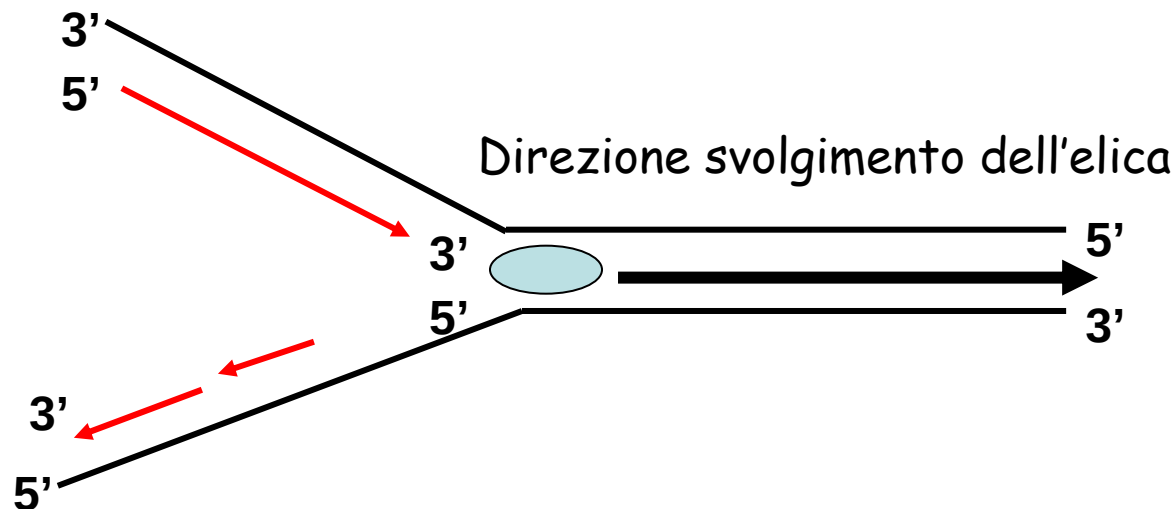
IL PROBLEMA DELLA DIREZIONE DI SINTESI DEL DNA RISPETTO ALLA DIREZIONE DI APERTURA DELL'ELICA

Tutte le DNA polimerasi catalizzano la sintesi del DNA soltanto in direzione $5' \rightarrow 3'$. Quindi un filamento può crescere nella direzione di srotolamento della doppia elica, mentre l'altro filamento dovrebbe crescere in direzione opposta



LA SINTESI DEI DUE FILAMENTI AVVIENE IN MODO DIVERSO

La sintesi è continua su un filamento (filamento anticipato o guida) e discontinua sull'altro (filamento in ritardo).

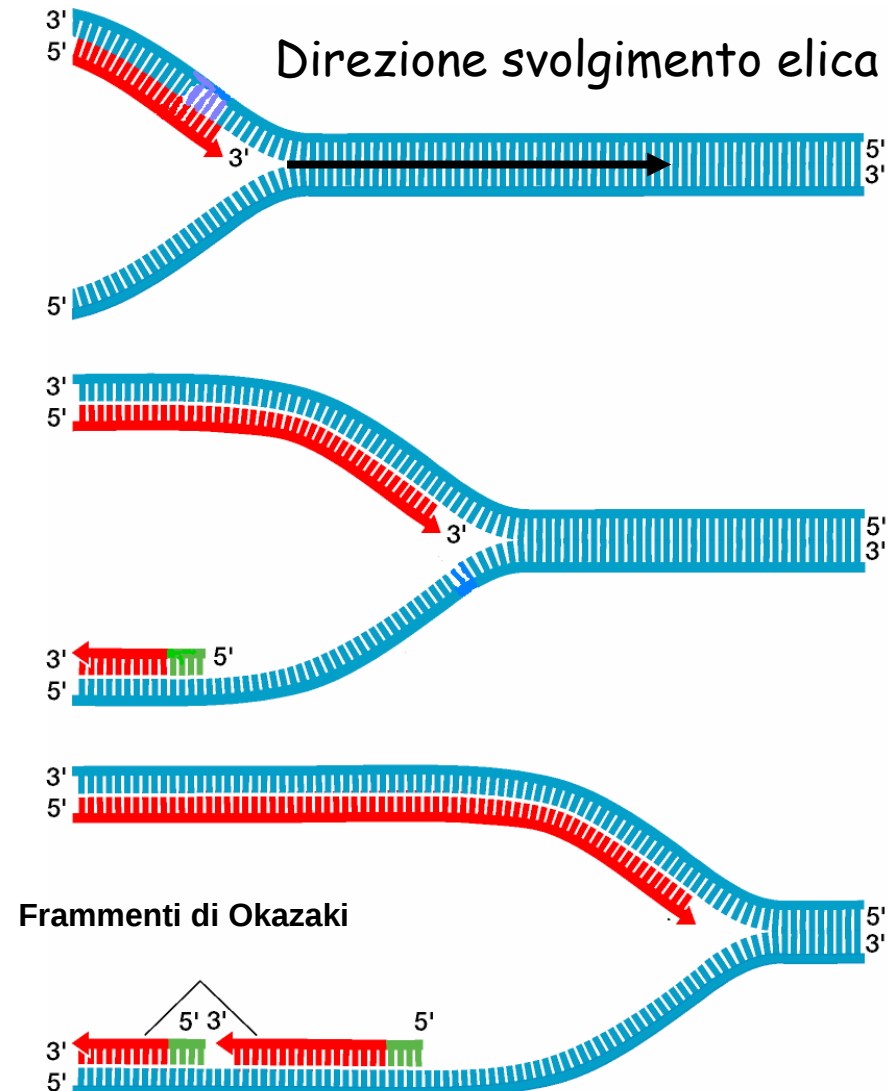


Il filamento in ritardo cresce mediante sintesi progressiva e a ritroso di brevi frammenti, detti **frammenti di Okazaki**, (1000-2000 nt nei batteri, 100-200 nt negli eucarioti), ciascuno dei quali è polimerizzato in direzione 5' → 3'. I frammenti sono poi uniti dalla DNA ligasi

LE DIVERSE MODALITA' DI SINTESI DEI DUE FILAMENTI

Sul filamento anticipato la
sintesi è continua

Sul filamento in ritardo
la sintesi è discontinua
e avviene "a ritroso"
mediante sintesi dei
frammenti di Okazaki

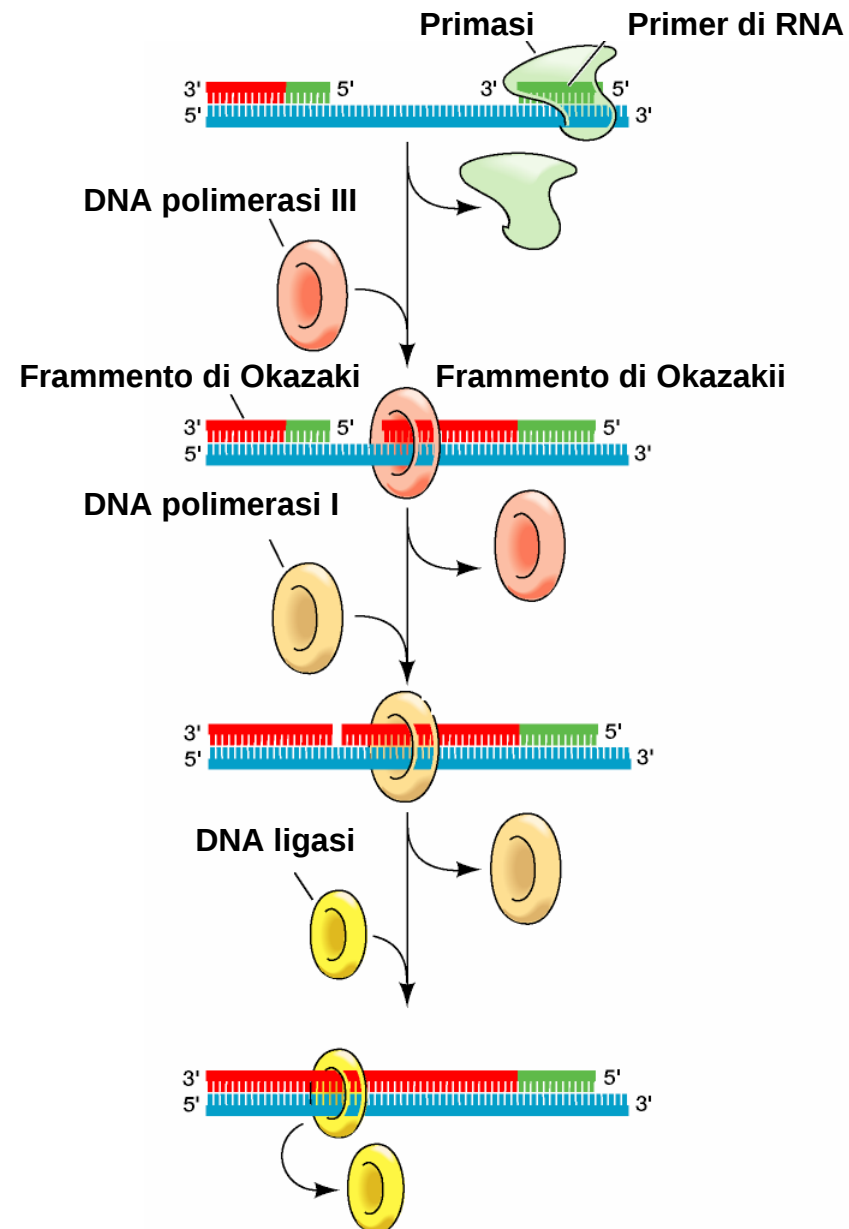


LA SINTESI DEL FILAMENTO IN RITARDO

La DNA polimerasi III, a partire da un primer di RNA, sintetizza un frammento di Okazaki. Si ferma quando incontra il primer di RNA di un altro frammento di Okazaki

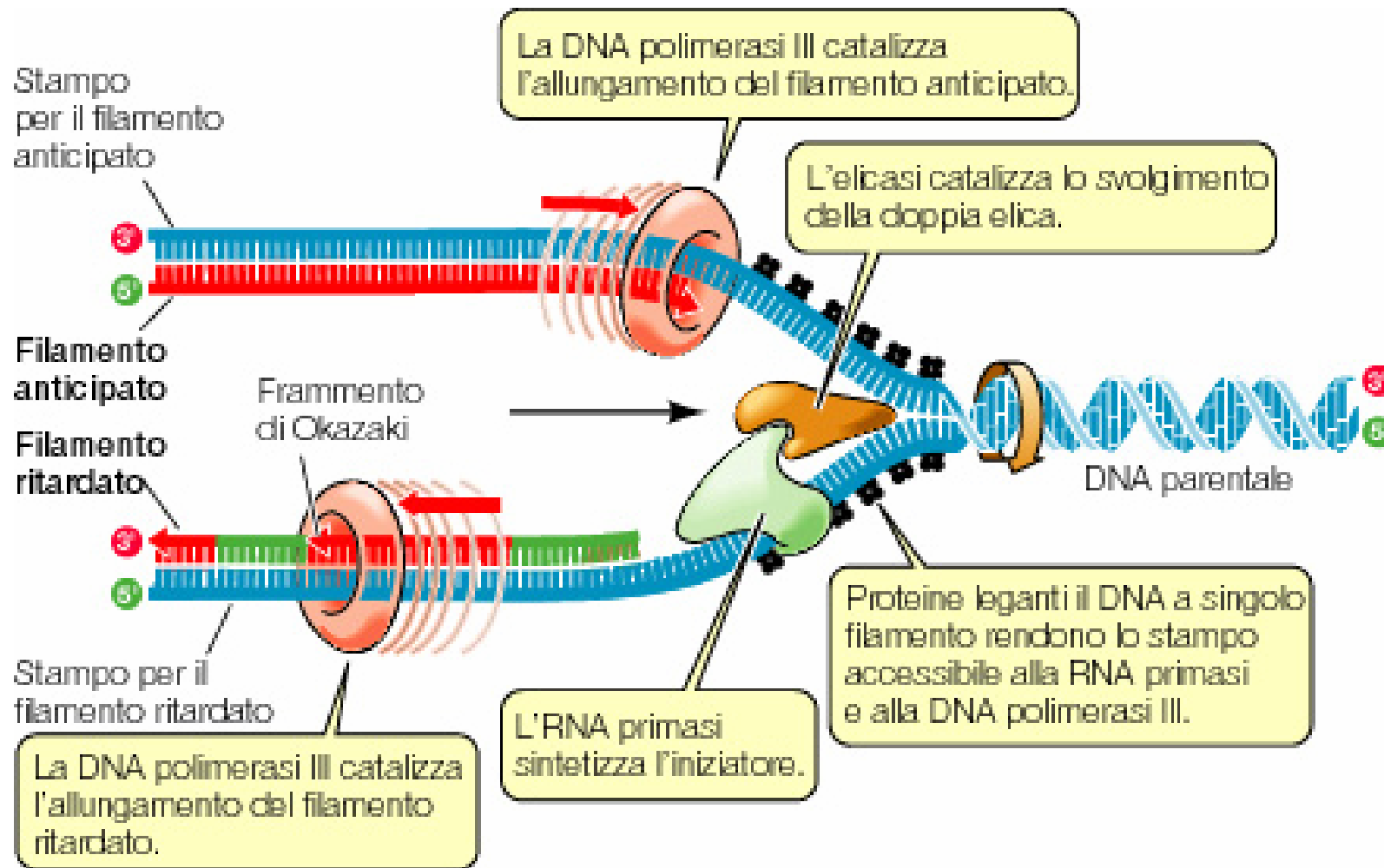
La DNA polimerasi I idrolizza il primer di RNA e lo sostituisce con DNA

La DNA ligasi unisce i frammenti di Okazaki



Cosa succede alla forcella di replicazione

Riassumendo.....



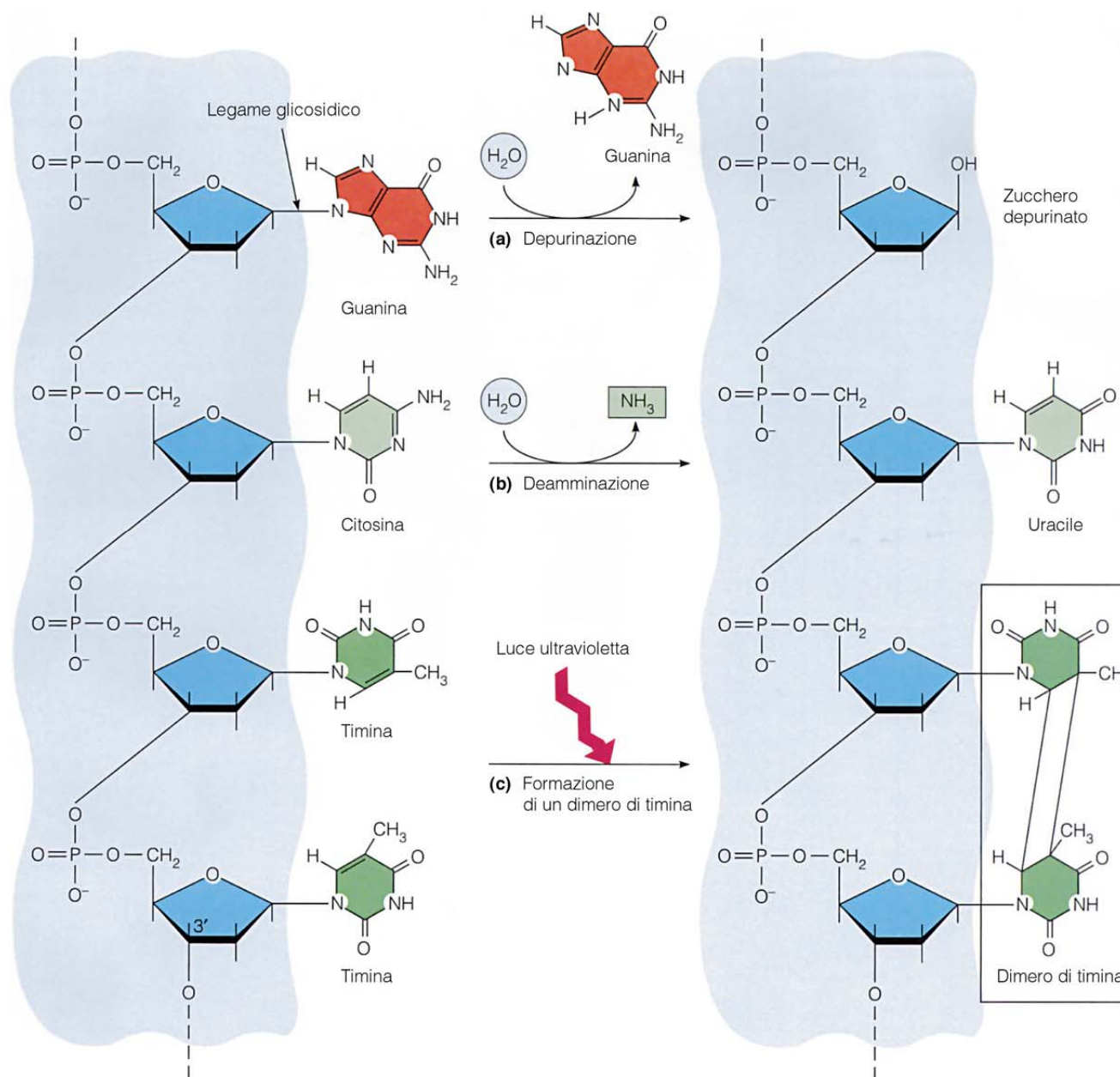
CORREZIONE E RIPARAZIONE DEL DNA

- La sequenza del DNA deve essere mantenuta costante di generazione in generazione
- Modificazioni della sequenza (mutazioni) possono essere dannose per la cellula e per l'intero organismo
- L'accumulo di mutazioni nelle cellule somatiche è alla base della insorgenza del cancro
- Mutazioni che insorgono nelle cellule germinali possono venire trasmesse alla progenie e causare malattie genetiche

CORREZIONE E RIPARAZIONE DEL DNA

- Sebbene la replicazione sia un processo estremamente accurato possono verificarsi **errori di incorporazione** (ad es. quando in corrispondenza di una A viene inserita una C invece di una T). La frequenza media di questi errori e' di 1 ogni 10^6 nucleotidi incorporati
- Inoltre, dopo la replicazione, il DNA può andare incontro a **lesioni spontanee** (perdita di basi puriniche, deaminazione) o **danni indotti da agenti mutageni**, chimici (benzene, nitrati,...) o fisici (raggi UV, raggi X, ecc)

Alcuni danni del DNA

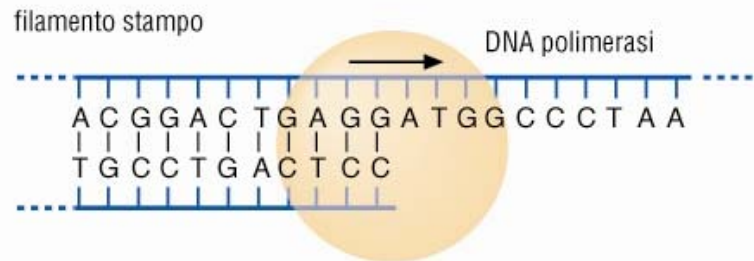


CORREZIONE E RIPARAZIONE DEL DNA

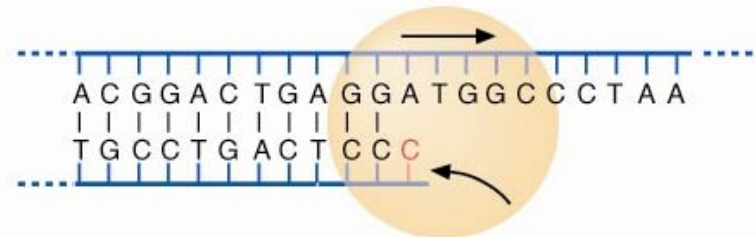
- Le cellule possiedono diversi meccanismi che correggono e riparano il DNA
- Un meccanismo, detto di correzione delle bozze, corregge immediatamente gli errori che si verificano durante la replicazione, riducendone la frequenza da 10^{-6} a 10^{-9}

MECCANISMO DI CORREZIONE DELLE BOZZE

L'attività di "correzione delle bozze" è svolta dall'attività esonucleasica (degradativa) delle DNA polimerasi, enzimi che sono in grado sia di catalizzare la formazione del legame fosfodiesterico in direzione 5'-3' che di scinderlo in direzione 3'-5'

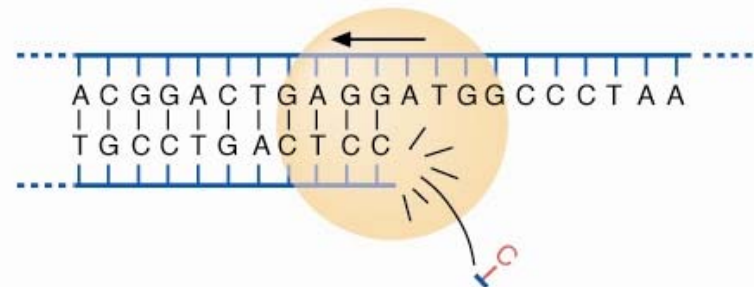


l'enzima sintetizza in direzione 5'→3' sino a quando l'ultimo nucleotide aggiunto risulta appaiato correttamente
a)

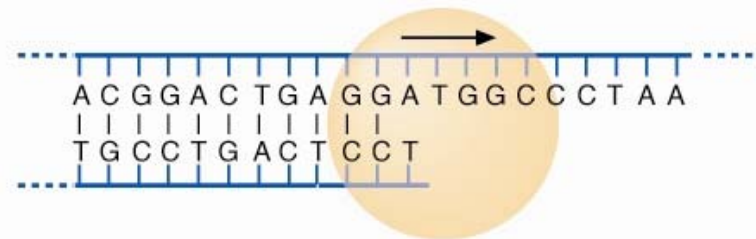


l'enzima aggiunge un nucleotide errato

b)



l'enzima agisce come esonucleasi in direzione 3'→5' per rimuovere il nucleotide errato
c)

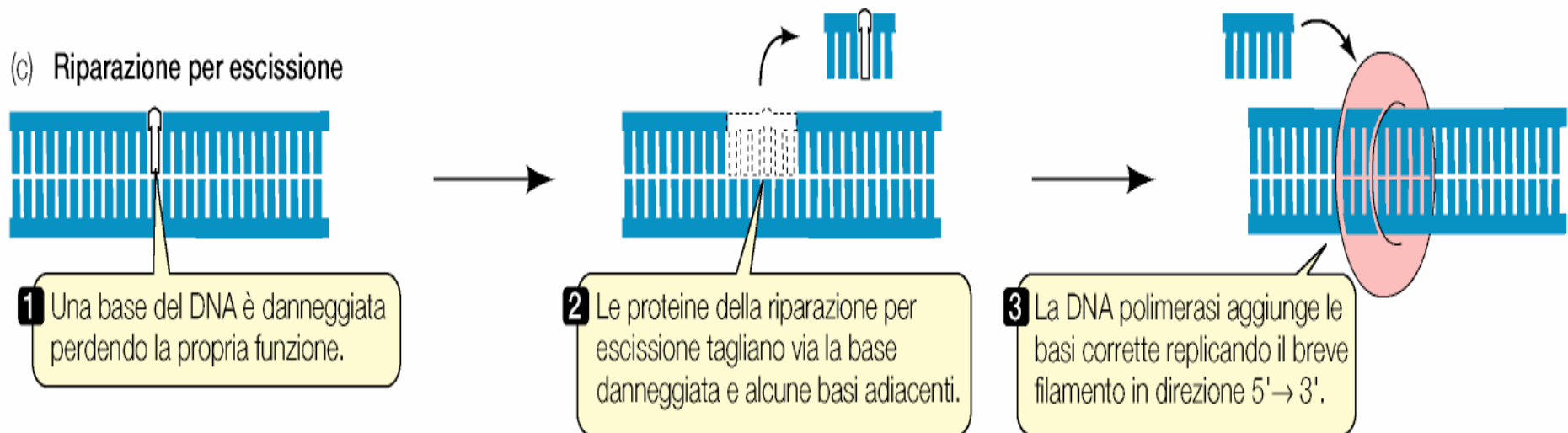


l'enzima riprende la sua attività come polimerasi in direzione 5'→3'
d)

PROCESSI DI RIPARO DEL DNA

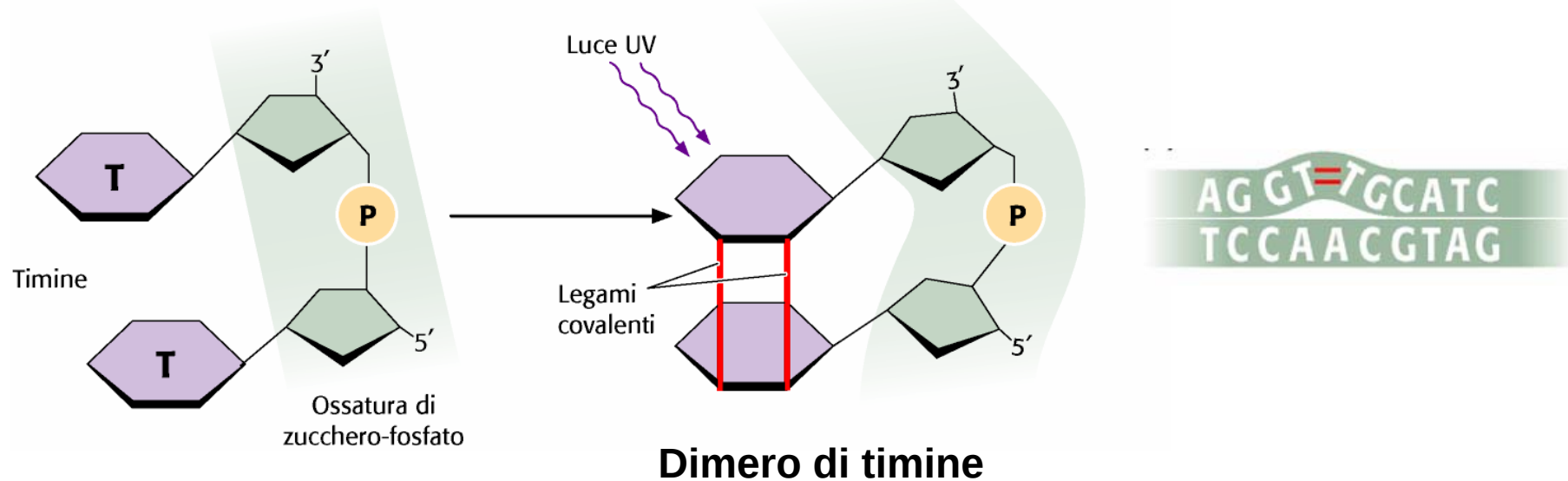
Gli errori sfuggiti all'attività di correzione delle bozze, e le lesioni del DNA che si verificano dopo la replicazione possono essere eliminati da altri meccanismi

Esempio: meccanismo di riparazione per escissione (ripara i danni del DNA, ad es. quelli indotti dai raggi UV)



I DANNI INDOTTI DALLA LUCE UV

(a)



I raggi UV inducono la formazione di dimeri di timina

Questi dimeri provocano una distorsione della doppia elica, che può bloccare o interferire con la replicazione del DNA, facilitando l'insorgenza di mutazioni e portando anche alla morte delle cellule

Per questo motivo i raggi UV possono causare il cancro della pelle



Individuo affetto da Xeroderma pigmentoso, una malattia genetica causata da un difetto nei geni del sistema di riparazione per escissione del DNA danneggiato da UV