

MECCANISMI DI RIPARAZIONE DEL DNA

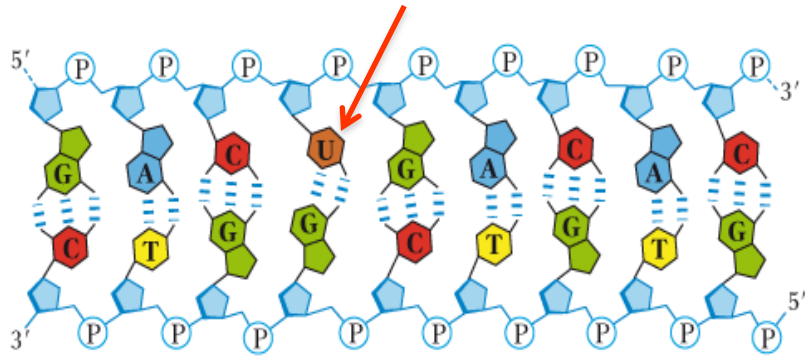
- Escissione di basi
- Escissione di nucleotidi
- Correzione diretta
- Riparazione dei mismatch
- Riparazione per ricombinazione

I MECCANISMI RIPARATIVI PRINCIPALI

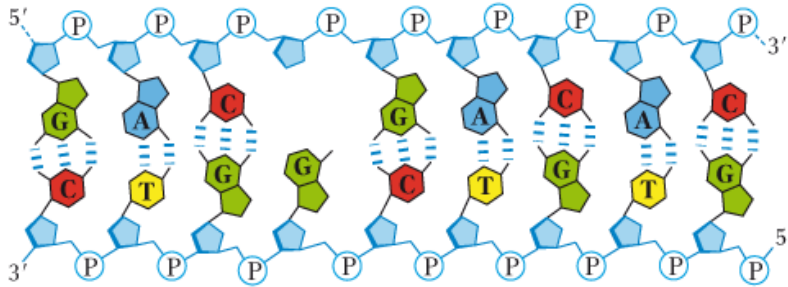
Comprendono le fasi di:

- ESCISSIONE
- RISINTESI
- SALDATURA

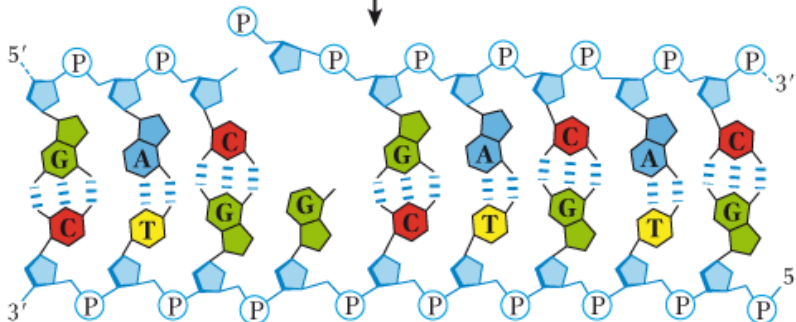
RIPARAZIONE PER ESCISSIONE DI BASI basi modificate, deamminate, alchilate etc



DNA glicosilasi
(uracil glicosilasi)

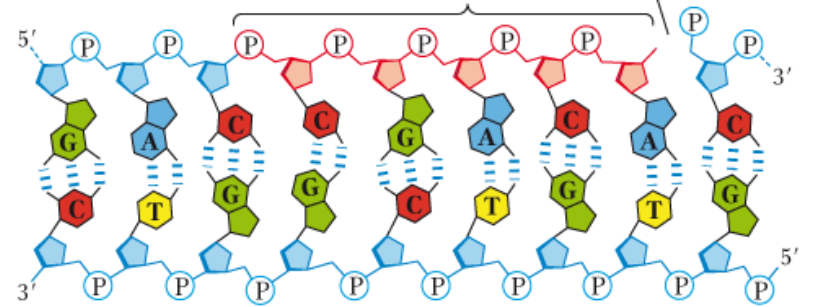


Endonucleasi AP

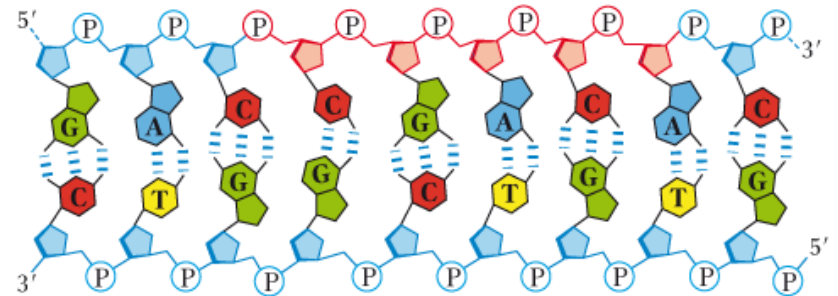


DNA polimerasi I

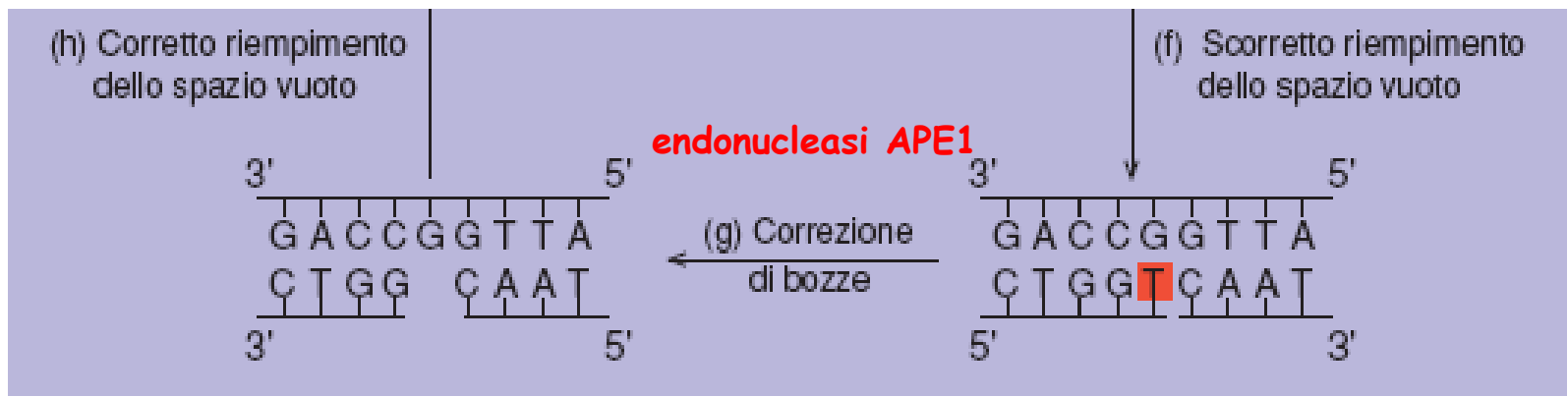
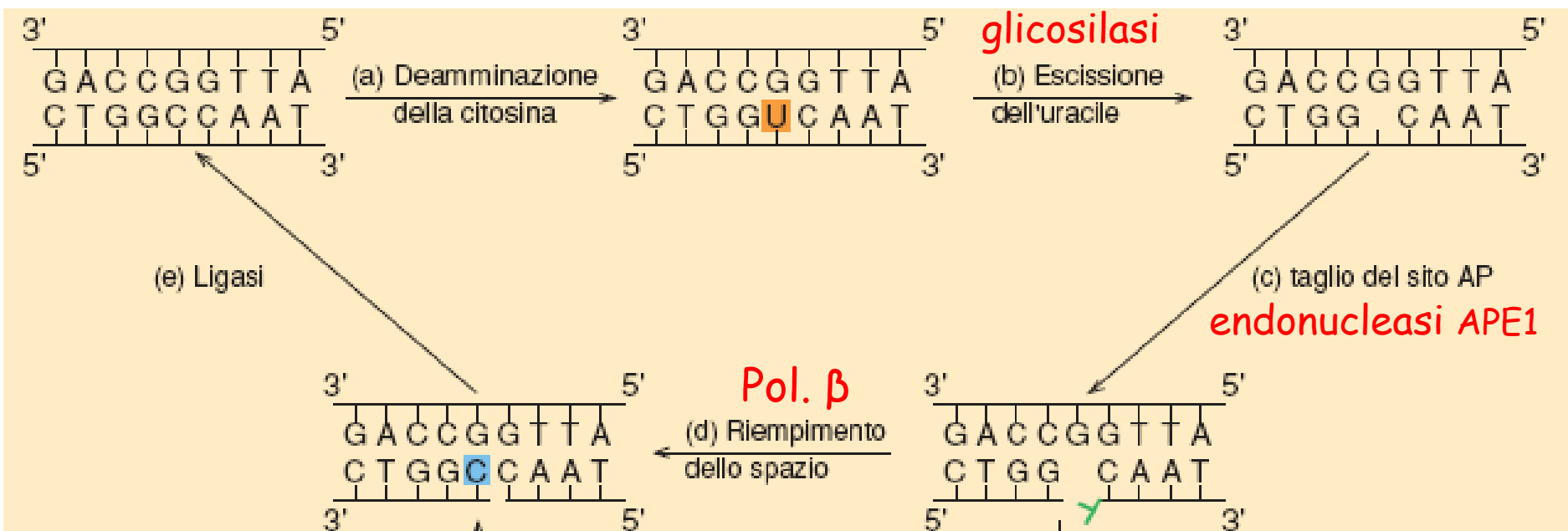
3 NTP
DNA polimerasi I
Deossiribosio fosfato + dNMP
Nuovo frammento di DNA
Interruzione



DNA ligasi

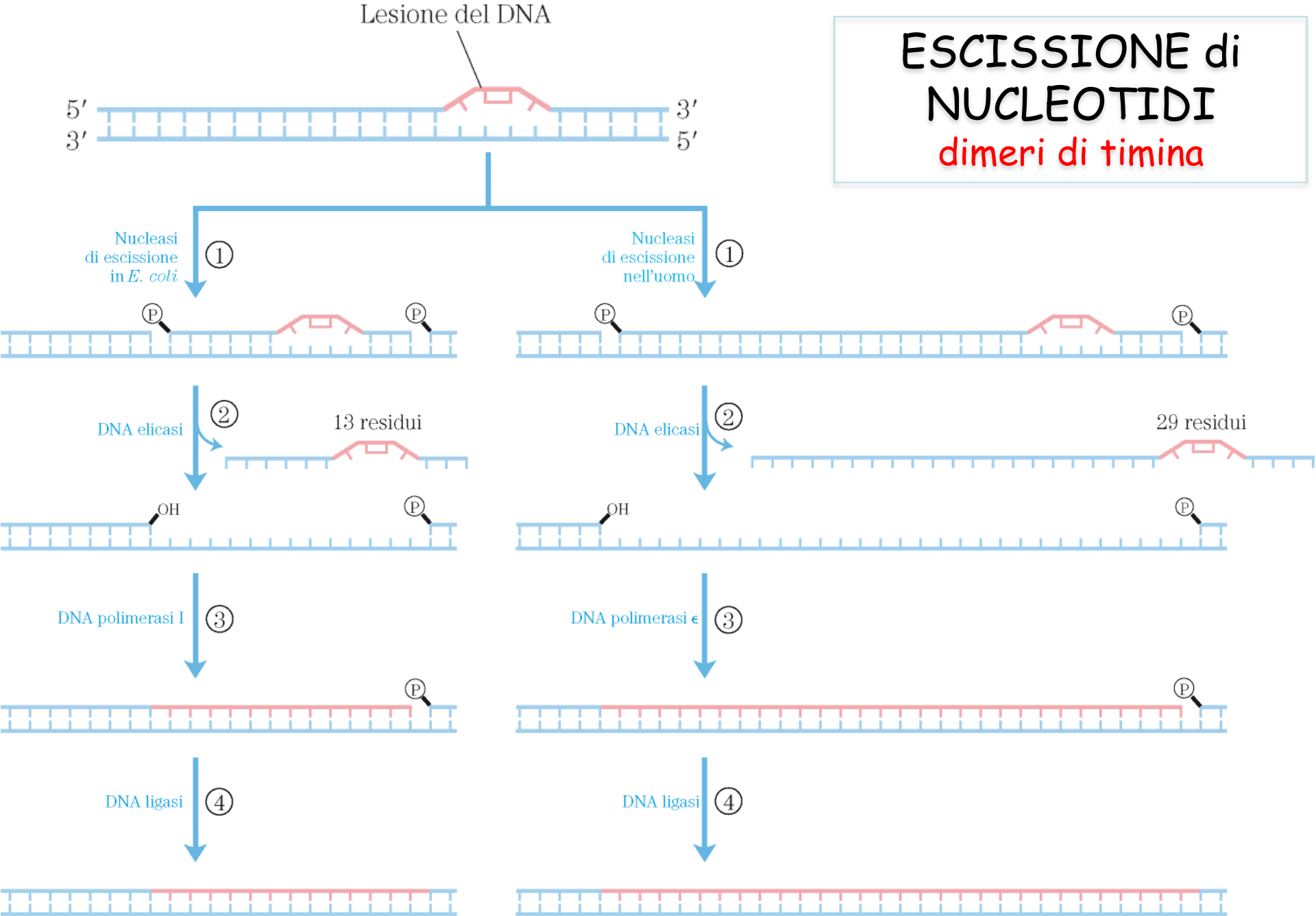


Riparo per escissione della base in Eucarioti (C deamminate ad U, oxo-G)



L'endonucleasi APE1 ha anche attività esonucleasica 3'→5'

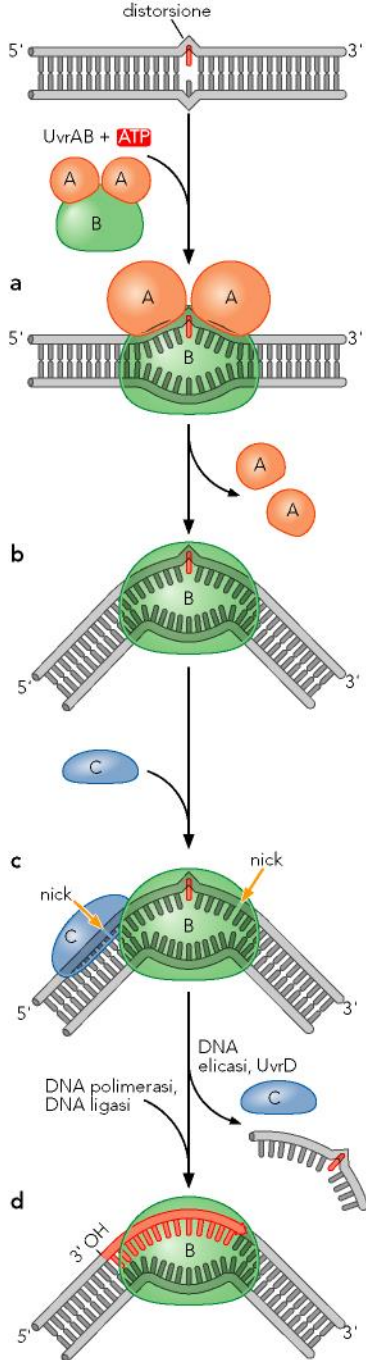
ESCISSIONE di NUCLEOTIDI dimeri di timina



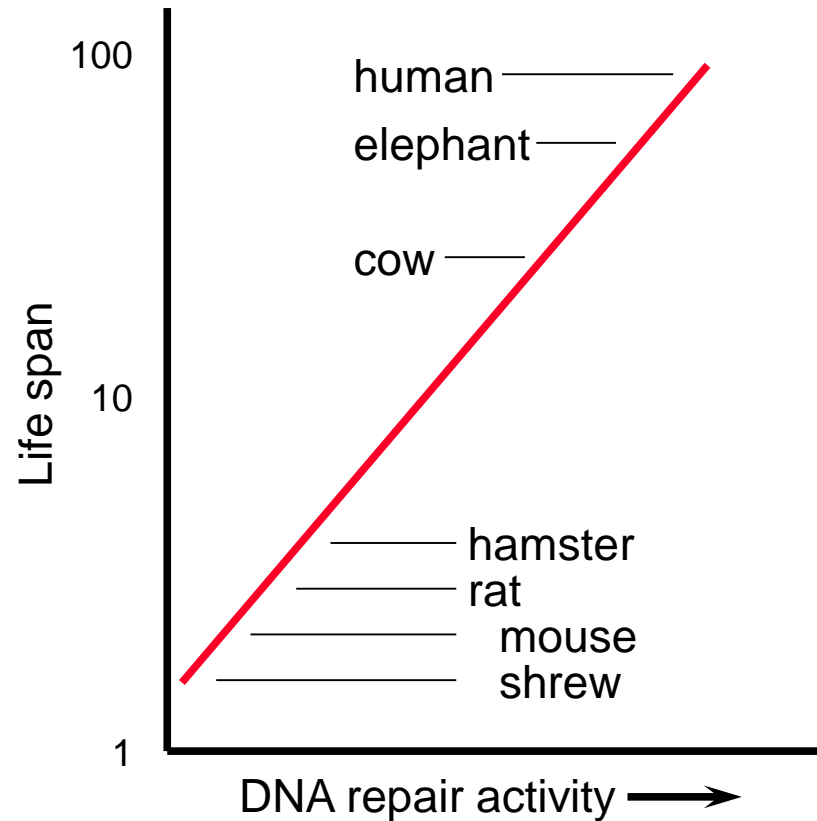
Meccanismo di escissione di nucleotidi

In *E. coli* proteine **UvrA**, -B, -C e -D

- UvrA-UvrB **cercano distorsioni** del DNA.
- UvrB **apre la doppia elica** del DNA e
- recluta UvrC che **taglia il DNA** 8 nt a monte e 4 nt a valle.
- L'**elicasi** UvrD toglie il frammento tagliato
- Poi: DNA Pol I, ligasi



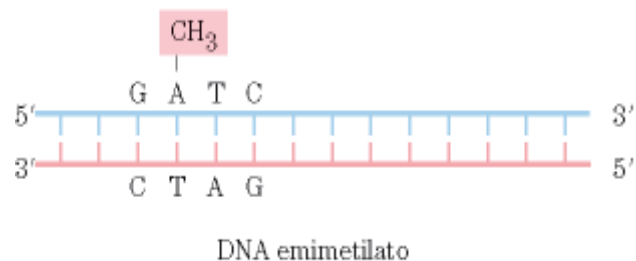
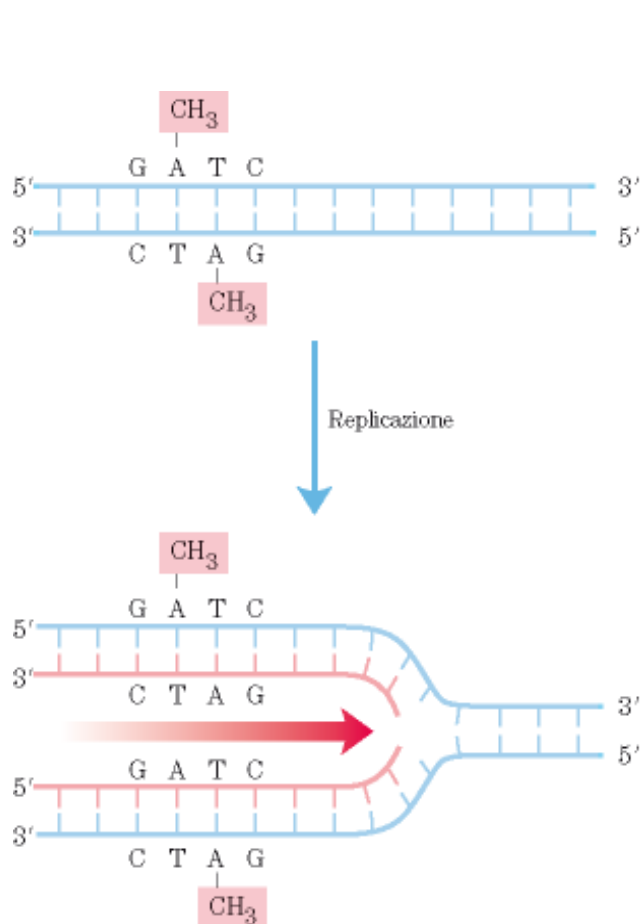
CORRELATION BETWEEN DNA REPAIR ACTIVITY IN FIBROBLAST CELLS FROM VARIOUS MAMMALIAN SPECIES AND THE LIFE SPAN OF THE ORGANISM



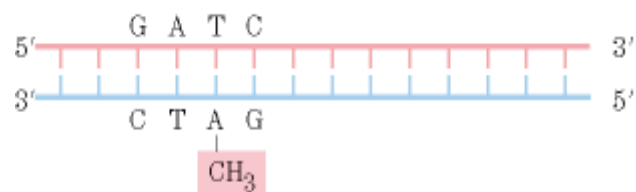
Riparazione degli errori di appaiamenti di basi

- Il sistema di correzione degli errori di appaiamento (es. T-G, A-C) deve essere in grado di **riconoscere quale dei due filamenti deve essere riparato**.
- La **discriminazione tra il filamento parentale e quello di nuova sintesi** (errato) si basa sullo stato di **metilazione** dei due filamenti

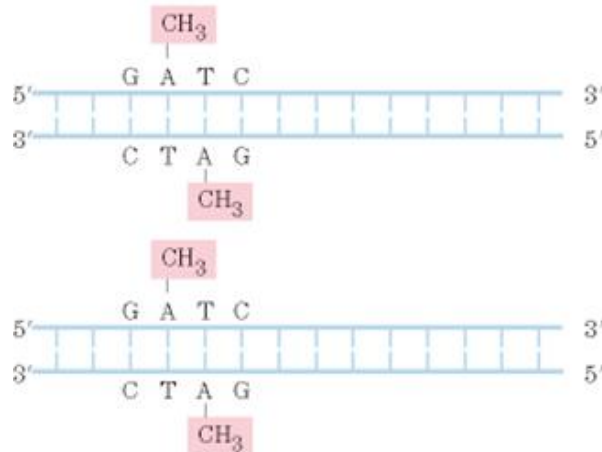
Lo stato di **metilazione** a livello della sequenza **GATC** permette di **distinguere il filamento parentale da quello di nuova sintesi**



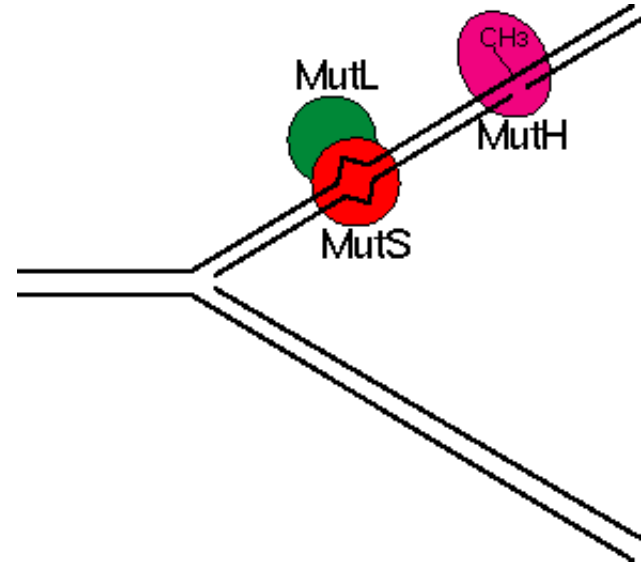
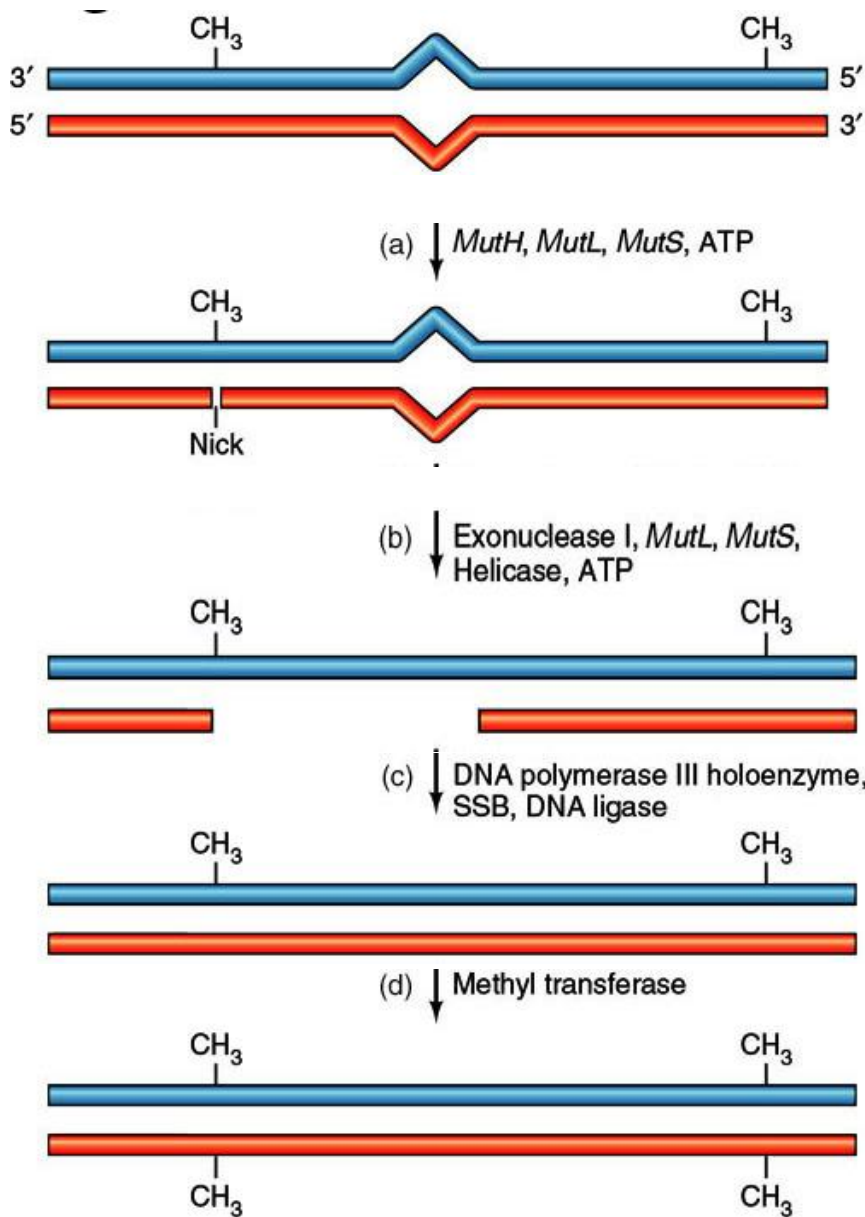
*



Dopo pochi minuti anche la nuova catena viene metilata, rendendo le due catene non più distinguibili



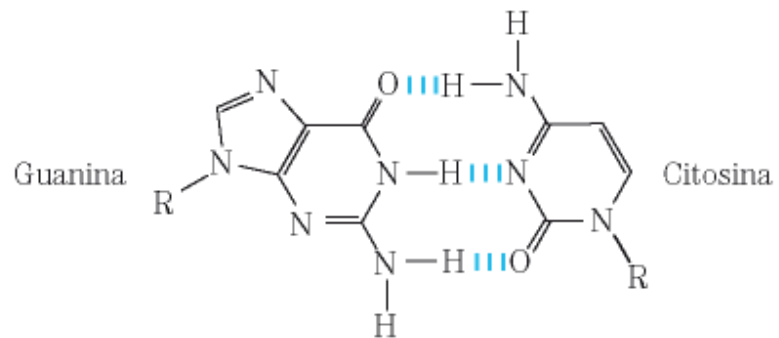
Riparazione degli errori di appaiamento



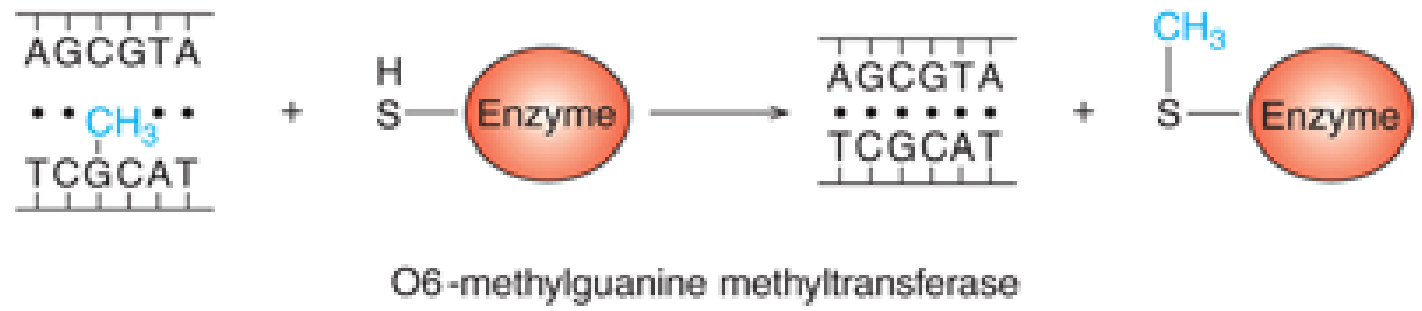
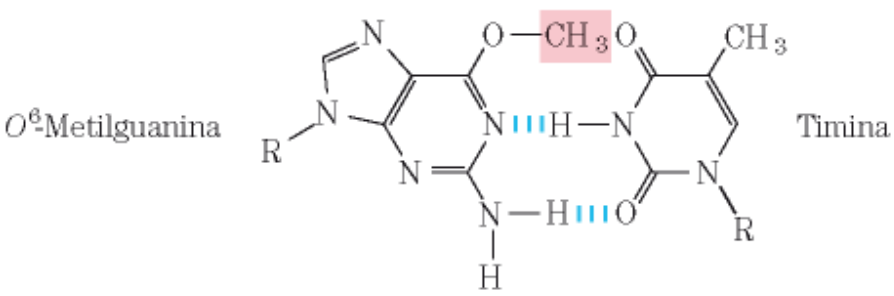
MISMATCH REPAIR NEGLI EUCARIOTI

- Gli eucarioti hanno omologhi di MutS (hMSH2, hMSH3 e hMSH6) e MutL (hMLH1 e PMS1).
- Mutazioni nei geni hMSH2 e hMLH1 sono associate a forme ereditarie di tumore al colon non poliposico (HNPCC).
- Gli eucarioti non hanno Dam Metilasi, come avviene il riconoscimento del filamento di ultima sintesi ?

a)



metilazione e replicazione



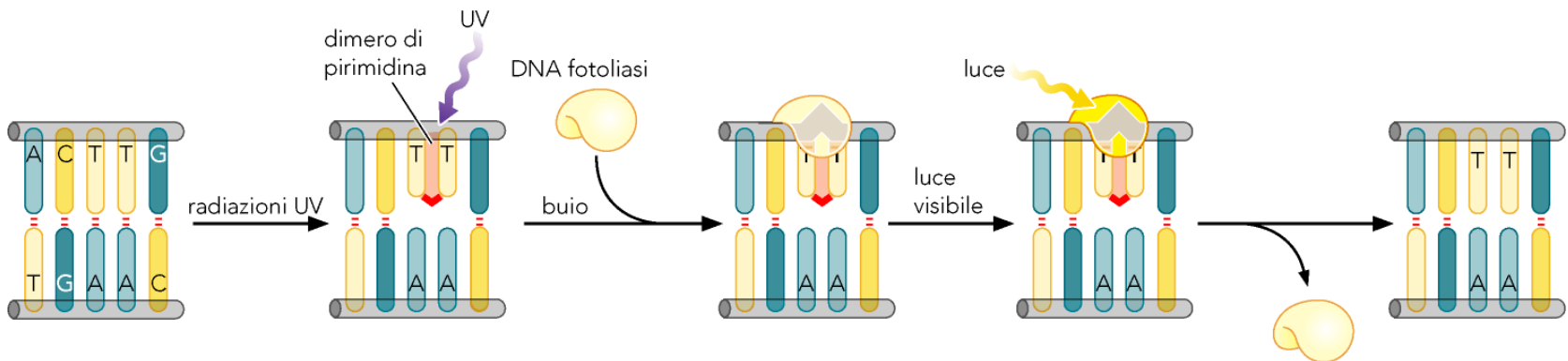
RIPARAZIONE DIRETTA di O⁶-metilguanina

Suicide enzyme: irreversibly inactivated

RIPARAZIONE DIRETTA

RIPARAZIONE DEI DIMERI DI TIMINA: FOTORIATTIVAZIONE

- La DNA **fotoliasi** è attivata dalla luce e rompe i legami covalenti che uniscono le pirimidine. L'enzima utilizza due cofattori, un cromoforo (metenil-tetraidrofolato) e il FADH₂



Connessione

tra sistemi di **RIPARAZIONE** del DNA negli eucarioti e:

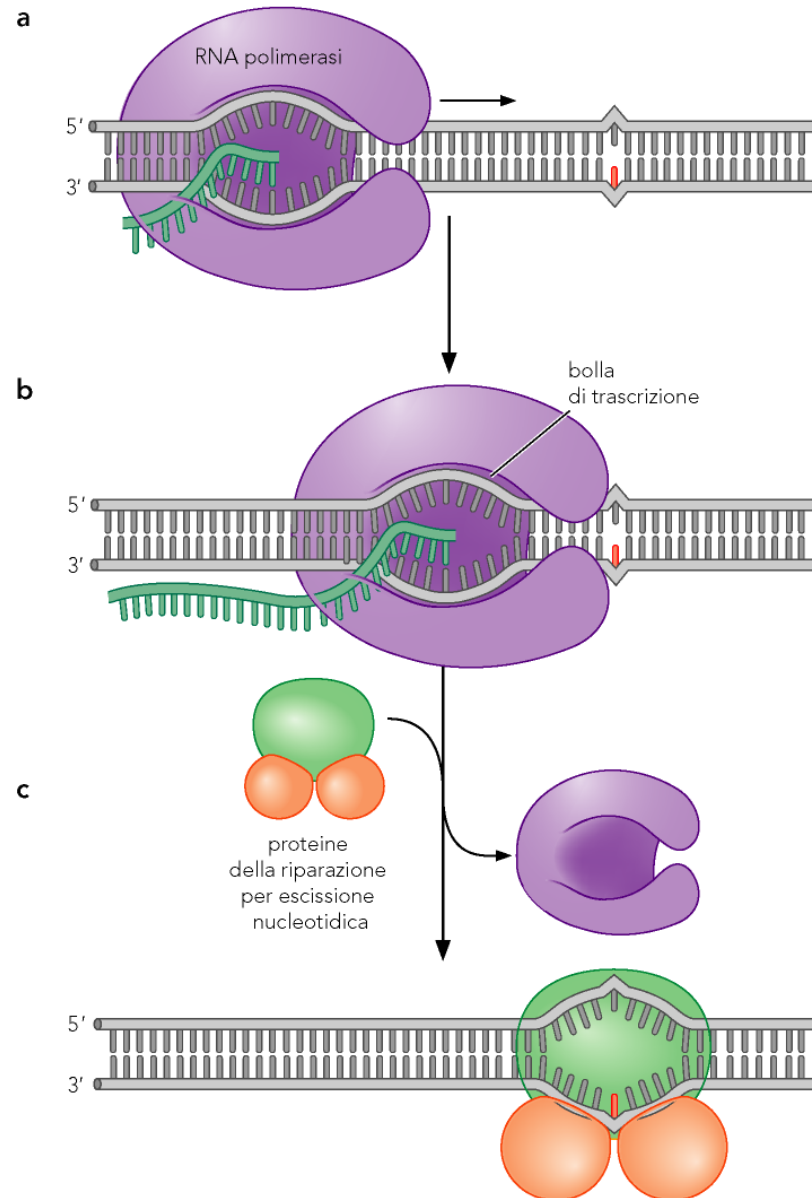
Trascrizione

- Geni più attivi dal punto di vista trascrizionale vengono riparati in modo preferenziale.
- Connessione meccanica tra trascrizione (RNA polimerasi II) e apparato di riparazione.
- Il fattore di trascrizione **TFII H** svolge attività sia nel processo di trascrizione (attività elicastica e chinastica) che in quello di riparazione (escissione di nucleotidi).

Ciclo cellulare

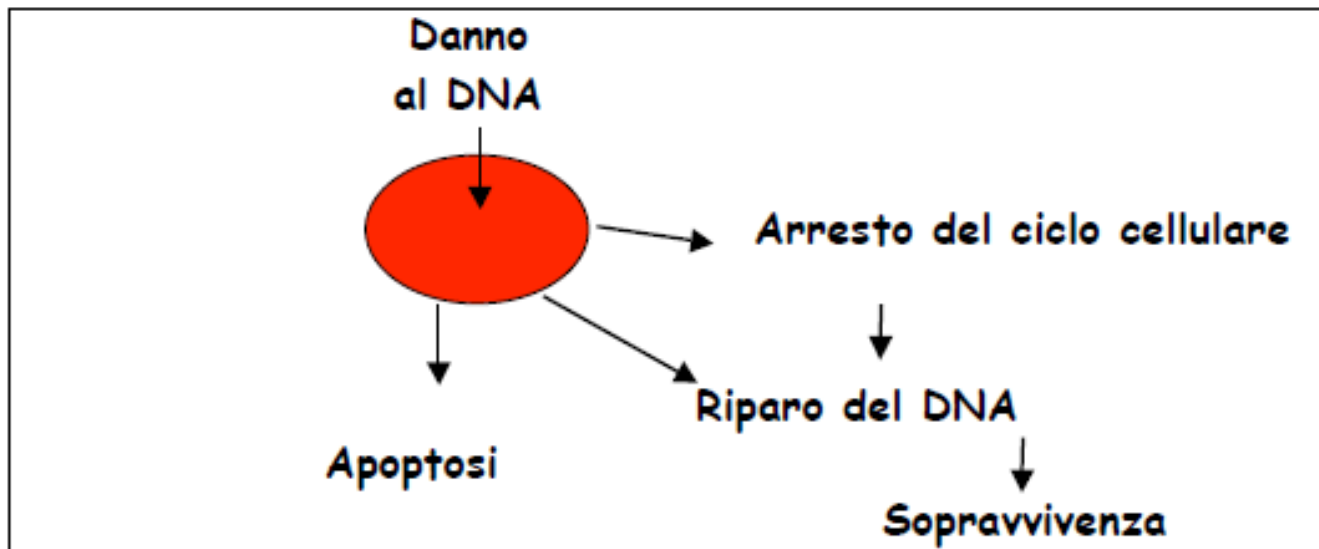
Arresto temporaneo del ciclo cellulare prima della replicazione del DNA quando siano presenti alti livelli di danneggiamento.

Transcription-Coupled NER



Risposta al danno del DNA «DNA damage response»

Scopo principale della risposta di danno al DNA:
prevenire la replicazione del DNA in presenza di un
danno del DNA e la conseguente instabilità genomica



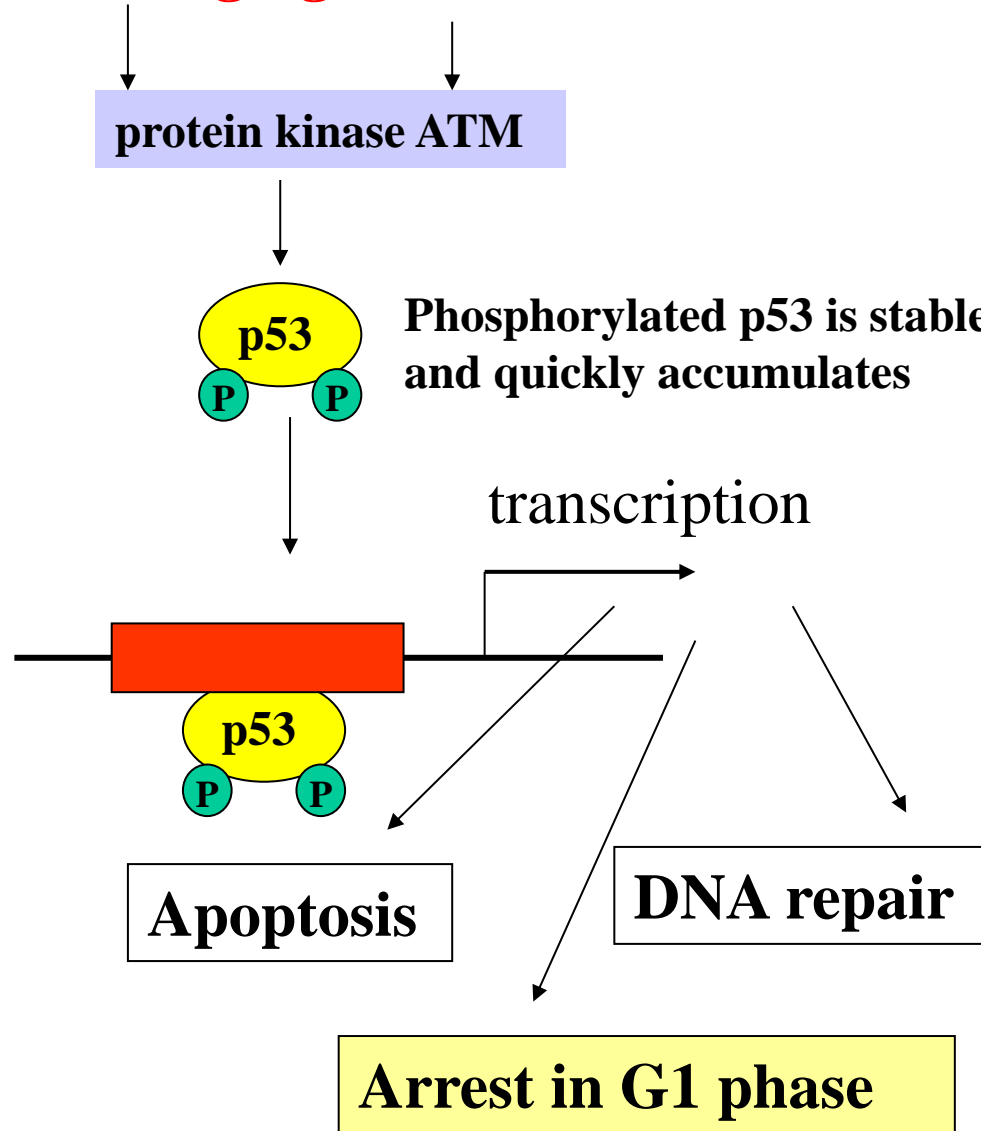
- 1) Attivazione dei checkpoint cellulari per arrestare il ciclo cellulare
- 2) Attivazione dei meccanismi di riparo del DNA
- 3) Riparo del danno e ripresa del ciclo cellulare... oppure...il danno non è riparabile e si attiva la risposta apoptotica

Risposta al danno del DNA (rottture a doppio filamento)

In seguito al **Double Strand Breaks (DSBs)** il complesso proteico **MRN** viene reclutato ai siti di rottura del DNA, dove media a sua volta il reclutamento e l'attivazione della Ser/Thr chinasi **ATM** e altre due Ser/Thr chinasi, **ATR** e **DNA-PK**.

In pochi minuti dalla formazione di DSBs **ATM**, **ATR** e **DNA-PK** si attivano e **fosforilano** a loro volta altri trasduttori ed effettori necessari sia ad attivare il riparo del DNA che ad attivare i checkpoints cellulari.

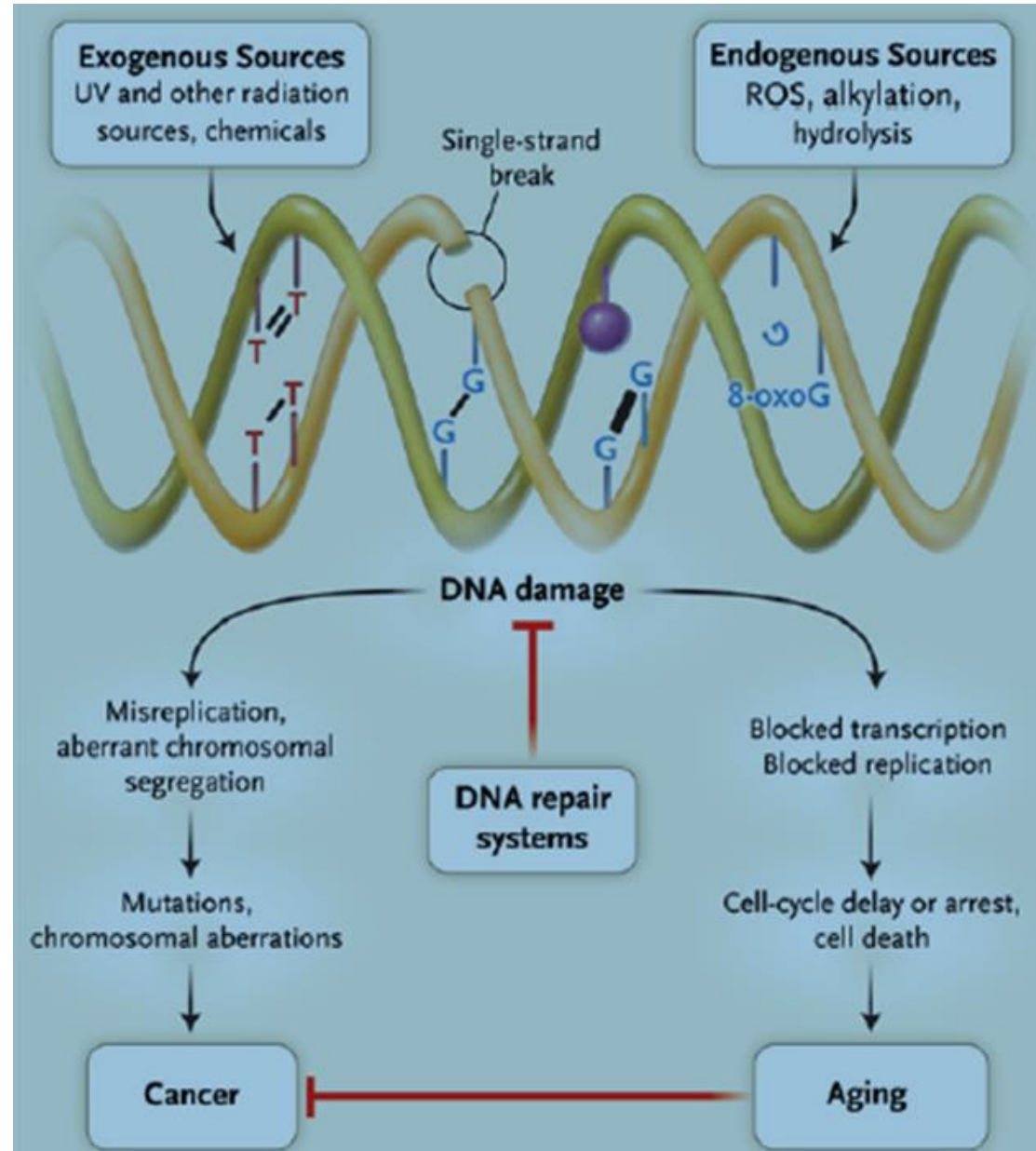
DNA-damaging conditions (rotture a doppio filamento)



ATM= ataxia telangiectasia mutata

NEI MAMMIFERI C' E'
UNA STRETTA
CORRELAZIONE TRA
ACCUMULO DI
MUTAZIONI
e:

- invecchiamento
- carcinogenesi



Defects in DNA repair or replication

All are associated with a high frequency of chromosome and gene (base pair) mutations; most are also associated with a predisposition to cancer, particularly leukemias

• Xeroderma pigmentosum

- caused by mutations in genes involved in nucleotide excision repair
- associated with a >1000-fold increase of sunlight-induced skin cancer and with other types of cancer such as melanoma

• Ataxia telangiectasia

- caused by mutation in the gene ATM that detects DNA damage
- increased risk of X-ray
- movement disorder associated with increased leukemia, cancers

• Fanconi anemia

- caused by a gene involved in DNA repair
- bone marrow failure; increased risk of X-ray and sensitivity to sunlight

• Bloom syndrome

- caused by mutations in a a DNA helicase gene
- increased risk of X-ray
- sensitivity to sunlight

• Cockayne syndrome

- caused by a defect in transcription-linked DNA repair
- sensitivity to sunlight

• Werner's syndrome

- caused by mutations in a DNA helicase gene
- premature aging



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Molecular and Cellular Cardiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yjmcc



Review article

The role of DNA damage and repair in atherosclerosis: A review ☆☆☆☆



Nikunj R. Shah ^{a,*}, Michael Mahmoudi ^{a,b}

^a Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford GU2 7XH, UK

^b St. Peter's Hospital, Guildford Road, Chertsey, Surrey KT16 0PZ, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 April 2015

Received in revised form 20 June 2015

Accepted 8 July 2015

Available online 26 July 2015

Keywords:

Deoxyribonucleic acid

Atherosclerosis

Repair enzymes

ABSTRACT

The global burden of cardiovascular disease is increasing despite therapeutic advances in medication and interventional technologies. Accumulated deoxyribonucleic acid (DNA) damage and subsequent repair pathways are now increasingly recognised as a causal factor in the initiation and progression of atherosclerosis. These molecular alterations have been shown to occur within affected vasculature, plaque microenvironment as well as in circulating cells. The DNA damage response (DDR) pathway is reliant on post-translational modification of sensing proteins which activate a signalling cascade to repair, if possible, DNA damaged sites in response to various environmental and physiological insults. This review summarises the current evidence for DNA damage in atherosclerosis, the key steps involved in the DDR pathway, DNA repair and their subsequent effects on atherosclerotic plaques, as well as the therapeutic options in managing DNA damage-induced atherosclerosis.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

ACCUMULO DI MUTAZIONI-CARCINOGENESI

- ~ l'80% dei **tumori** nell'uomo sembra essere causato da **carcinogeni che danneggiano il DNA** o interferiscono con i processi di riparazione o replicazione.

L'evento primario nella cancerogenesi e' spesso un **danno** alla struttura chimica **del DNA**

Gli agenti cancerogeni e i mutageni attaccano il DNA: alcuni agiscono in modo diretto, altri dopo attivazione metabolica.

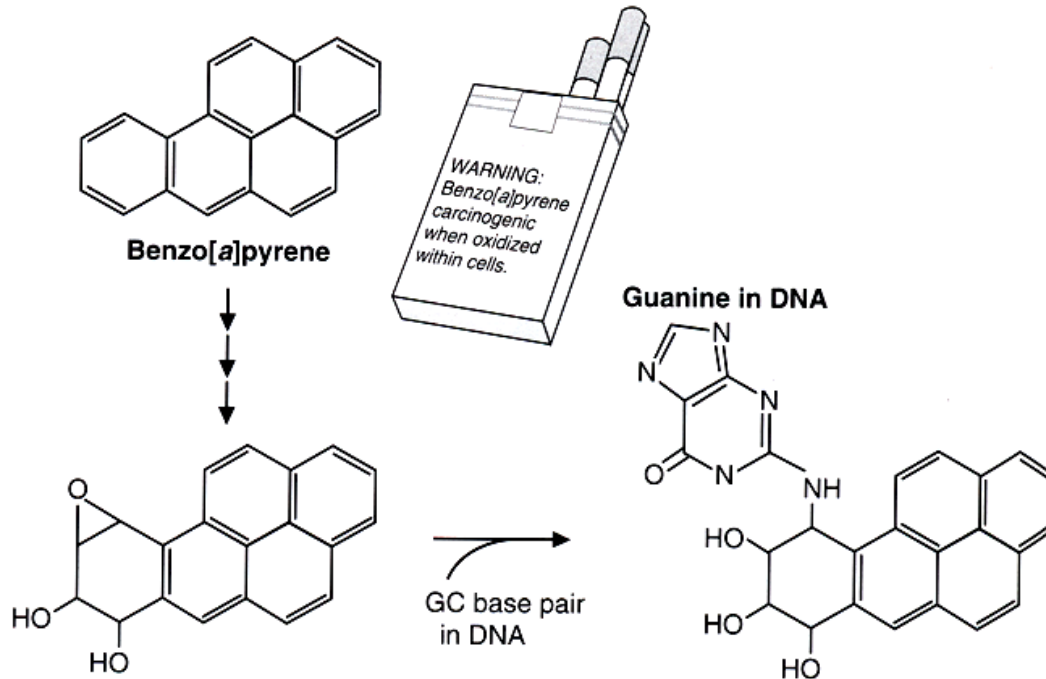


Fig. 12.10. Oxidation of benzo[a]pyrene and covalent binding to DNA. Benzo[a]pyrene is not carcinogenic until it is oxidized within cells. Then it can covalently bind to guanine residues in DNA, interrupting hydrogen bonding in G-C base pairs and producing distortions of the helix.

Es. attivazione metabolica del benzopirene da parte del citocromo P450 epatico.

Test di mutagenicità-Test di Ames

(Ames, B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1973; 70: 782-6)

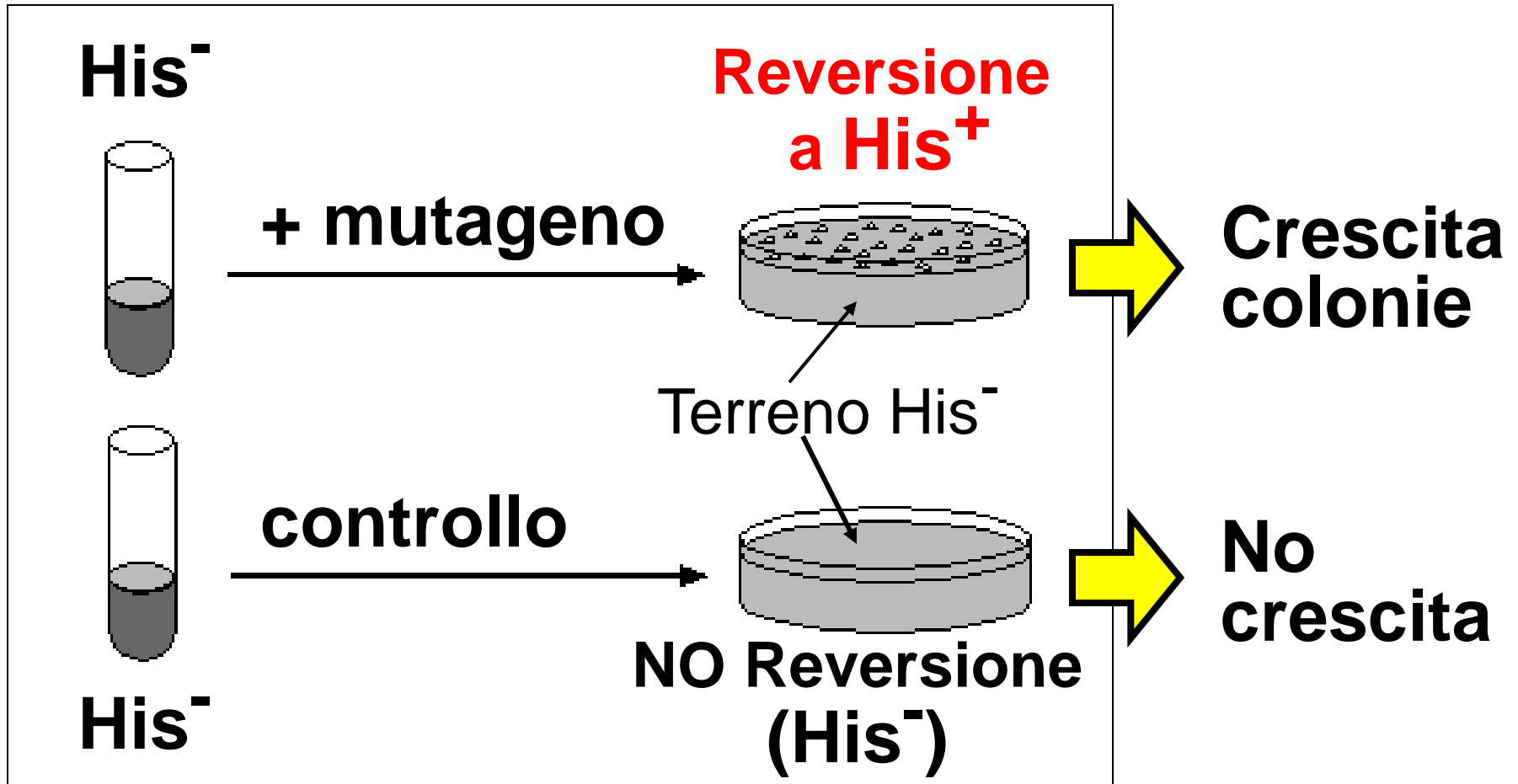
misura la capacità di un composto di indurre
mutazioni

Test indiretto di mutagenicità basato sulla reversione di mutazione nell'operone dell'His di *Salmonella typhimurium*;

I **mutanti His⁻** non sono in grado di crescere in un terreno **senza istidina**

Il test misura **la capacità di una sostanza di revertire un mutante His⁻ a His⁺**, che si riflette a livello di fenotipo nella capacità di crescere in terreno senza istidina.

Test di Ames: principio



Il numero di colonie è proporzionale all'efficienza dell'agente mutageno nel revertire la mutazione originale dell'operone per l'istidina