



DNA e replicazione del DNA-3

Principi di Biologia e Genetica
Scienze Motorie
a.a 2021-22
Dott. ssa Mazzoni Elisa, PhD



Panoramica sulla replicazione del DNA

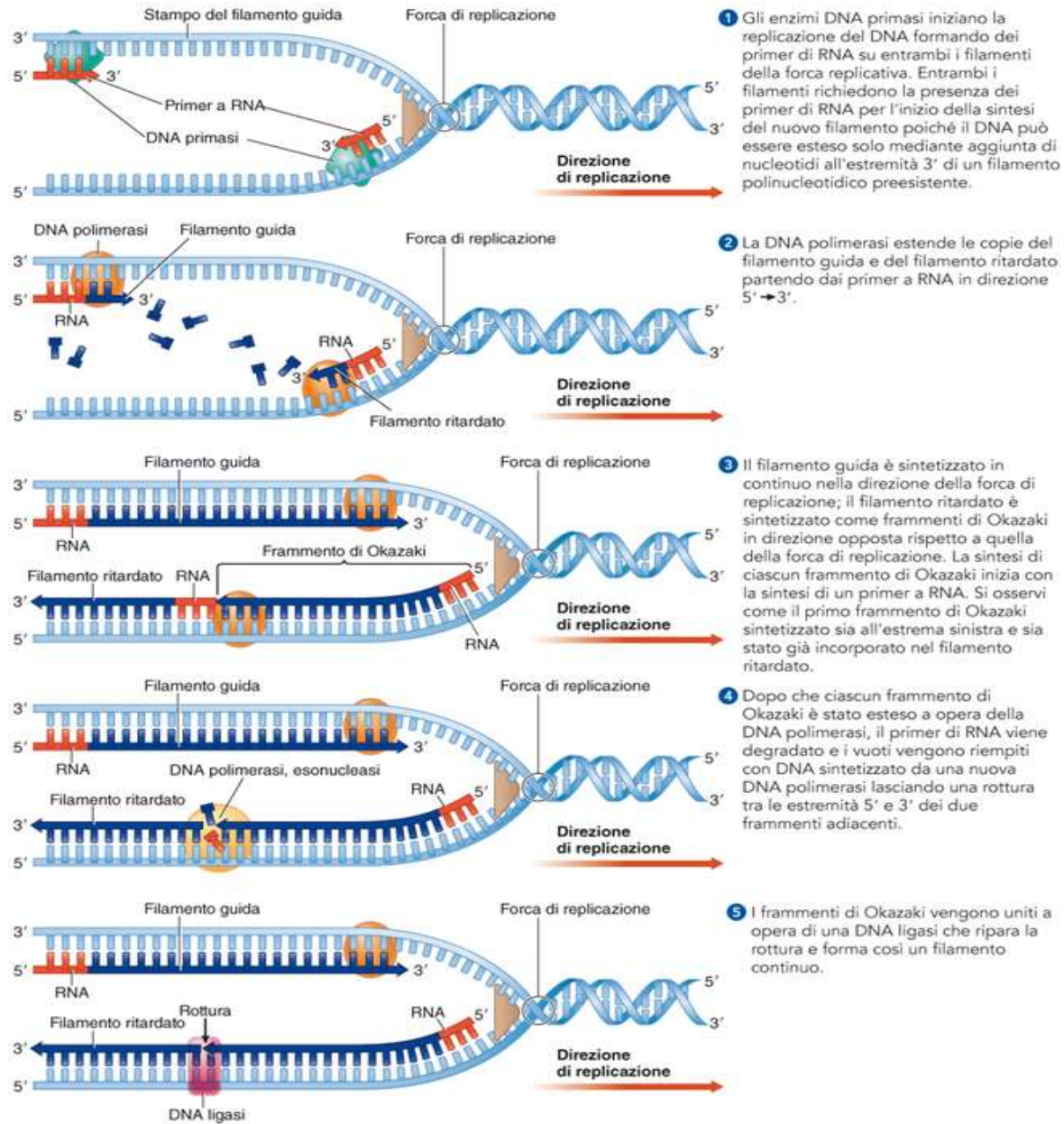
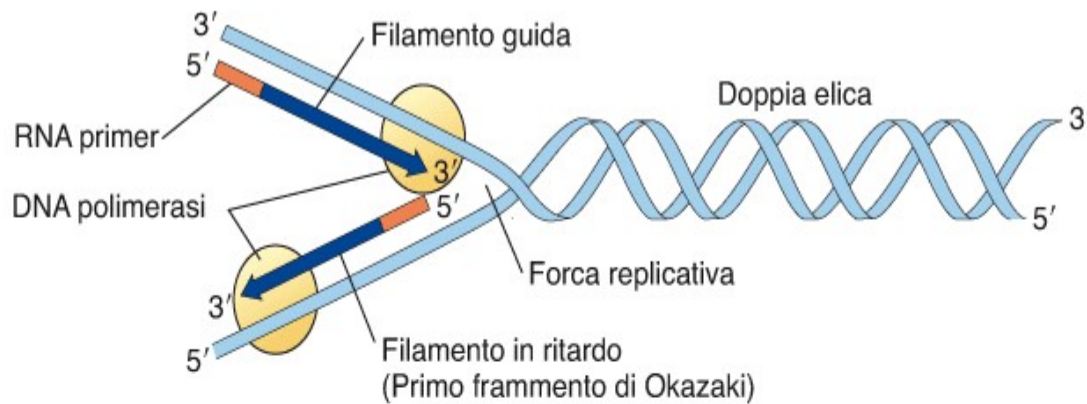
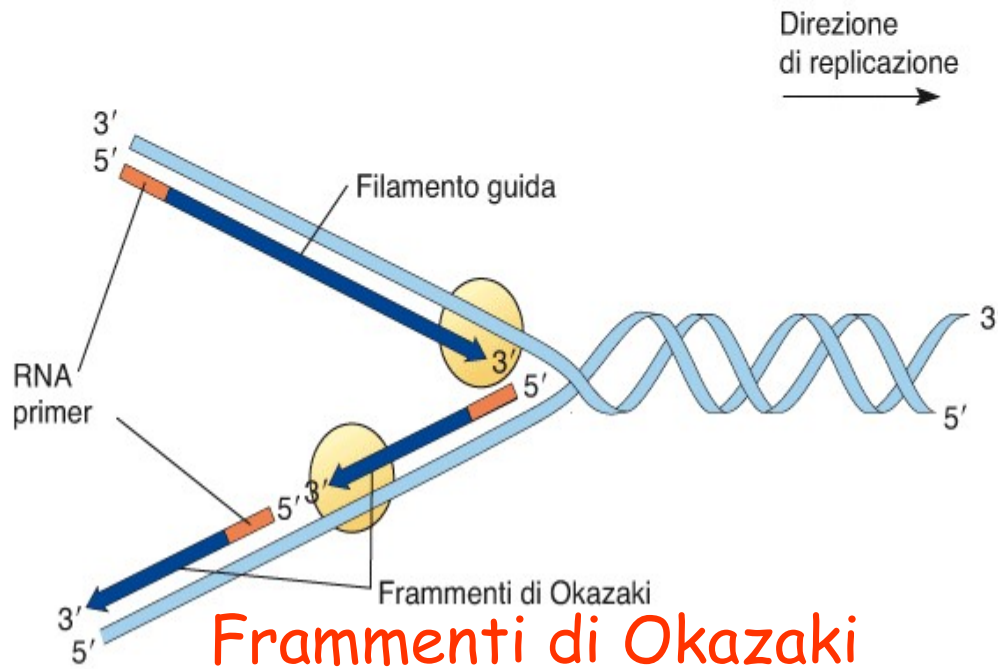


Figura 12-15 Panoramica sulla replicazione del DNA





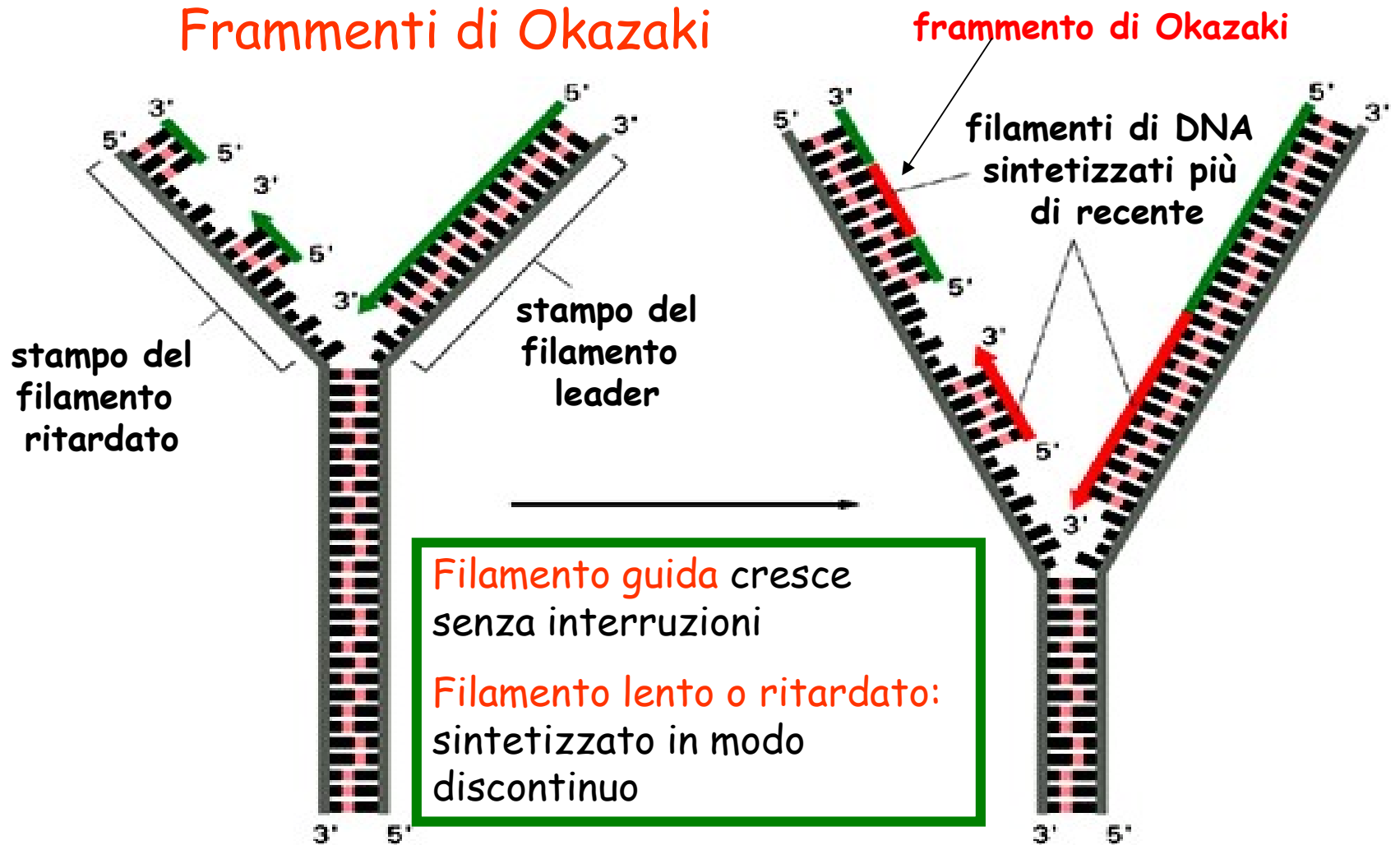
1 Il filamento guida (leading) è sintetizzato senza interruzione nella direzione della forza di replicazione, mentre il filamento in ritardo (lagging) è sintetizzato in direzione opposta alla forza di replicazione. L'inizio della sintesi per entrambi i filamenti richiede un primer di RNA poiché il DNA può essere allungato solo per aggiunta di nucleotidi all'estremità 3' di un filamento polinucleotidico già esistente.



2 Il filamento in ritardo è sintetizzato come una serie di corti frammenti, chiamati frammenti di Okazaki. La sintesi di ogni frammento di Okazaki inizia con la sintesi di un primer di RNA. Notare che il primo frammento di Okazaki sintetizzato è ora quello più lontano dalla forza di replicazione.



Frammenti di Okazaki



Il filamento di DNA che deve allungarsi all'estremità 5' viene **sintetizzato in modo discontinuo**, in brevi tronconi successivi dalla DNA polimerasi che si muove all'indietro rispetto alla forcella, quindi **in direzione 5'-3'** per ogni troncone

Questi pezzi detti **frammenti di Okazaki**, vengono **ricuciti** in seguito formando un filamento nuovo continuo



5. Rimozione del primer e unione dei frammenti di Okazaki

Per trasformare in un filamento continuo tutti i frammenti separati costruiti sul filamento lento, intervengono altri 3 enzimi:

1. **Nucleasi:** degrada gli inneschi a RNA
2. **Polimerasi riparativa:** sostituisce DNA all'RNA, usando come innesco il frammento di Okazaki adiacente
3. **DNA ligasi:** unisce il P in 5' di un frammento con l'OH in 3' del seguente. Richiede ATP o NADH

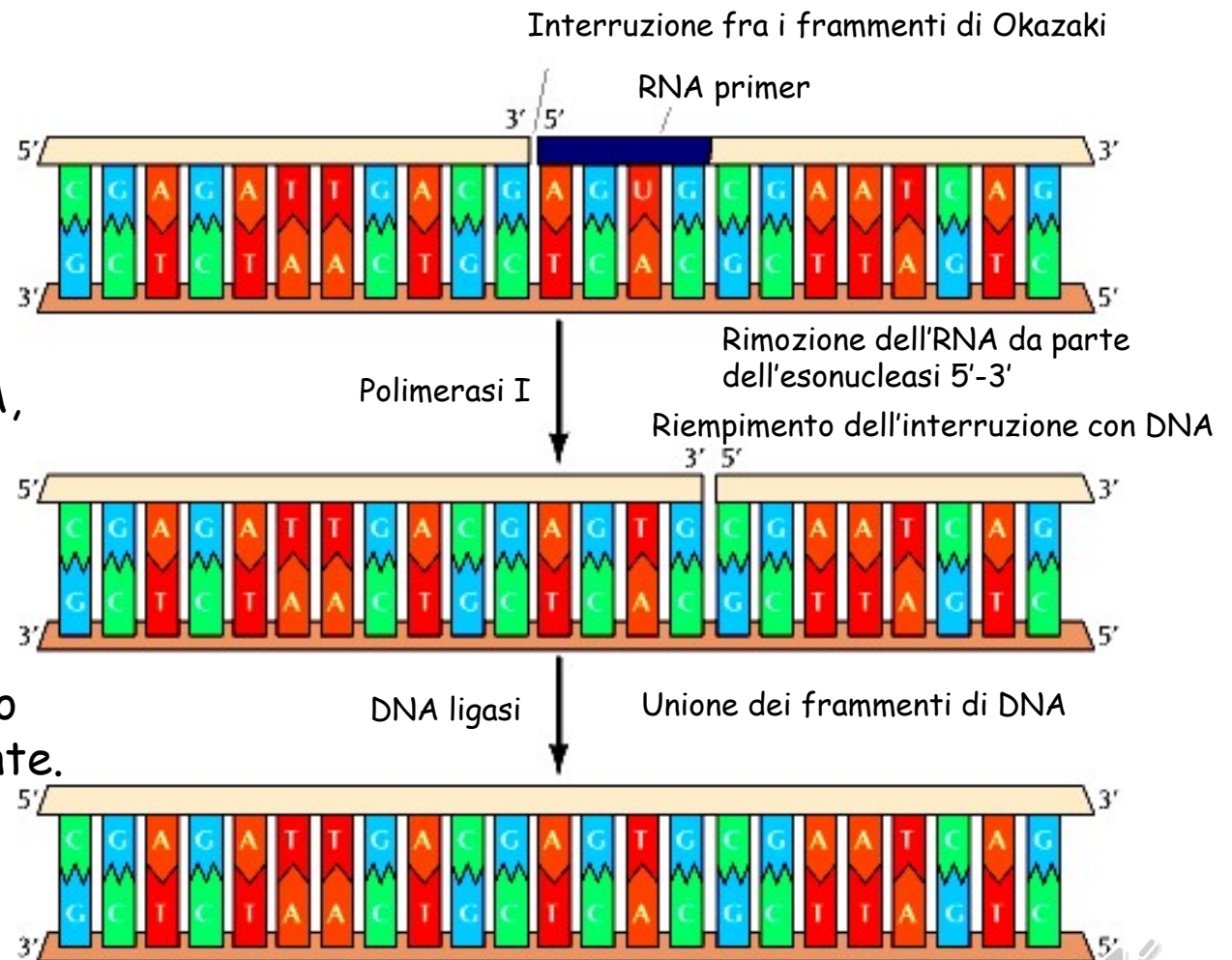


Figura 13.15 La storia del filamento ritardato Nei batteri, la DNA polimerasi I e la DNA ligasi cooperano con la DNA polimerasi III per portare a termine il compito complesso di sintetizzare il filamento ritardato.

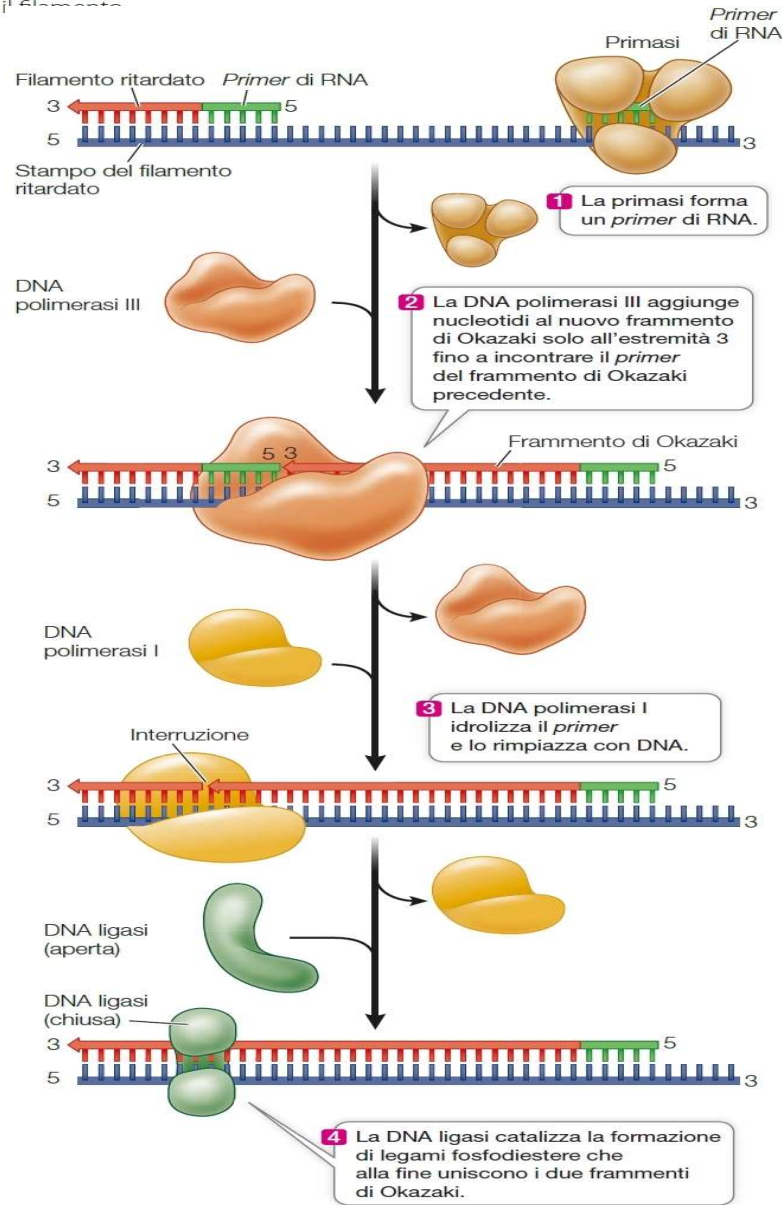


Figura 13.15 La storia del filamento ritardato Nei batteri, la DNA polimerasi I e la DNA ligasi cooperano con la DNA polimerasi III per portare a termine il compito complesso di sintetizzare il filamento ritardato.



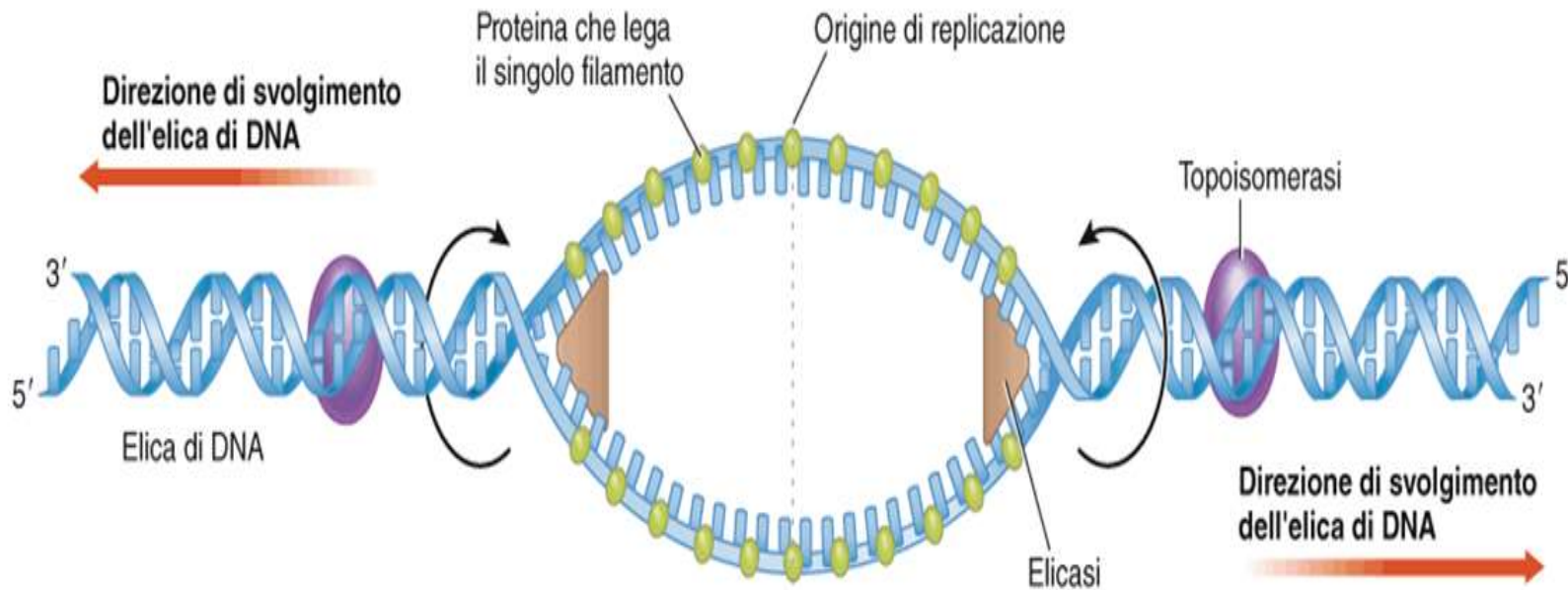


Figura 12-13 La separazione dei filamenti di DNA durante la replicazione

I filamenti di DNA si separano a livello dell'origine di replicazione grazie all'azione di una DNA elicasi ATP-dipendente che crea una "bolla di replicazione" con una forca di replicazione a forma di Y a ognuna delle due estremità della bolla. Le proteine che legano il singolo filamento si dispongono sui due filamenti singoli per evitare la riformazione dell'elica. Lo svolgimento dei filamenti determina la formazione di superavvolgimenti a valle della forca replicativa. Gli enzimi topoisomerasi eliminano questi superavvolgimenti operando tagli, svolgimenti e rigiunzioni dei filamenti appaiati.



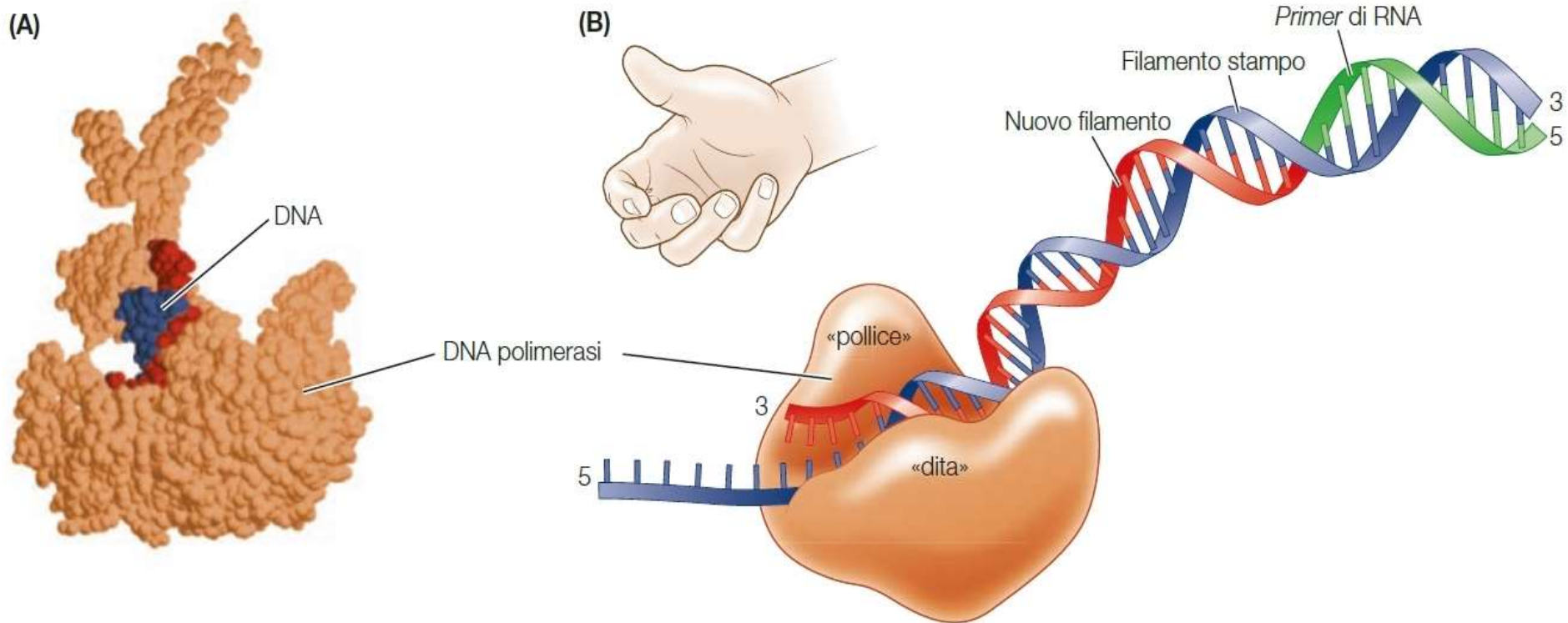


Figura 13.12 La DNA polimerasi si lega al filamento stampo

(A) L'enzima DNA polimerasi (in chiaro) è molto più grande della molecola di DNA (rossa e blu). (B) La DNA polimerasi è fatta

a forma di mano, e da questo punto di vista, le sue «dita» possono essere immaginate avvolgersi attorno al DNA. Queste «dita» possono riconoscere le diverse forme delle quattro basi azotate.



▶ FIGURA CHIAVE

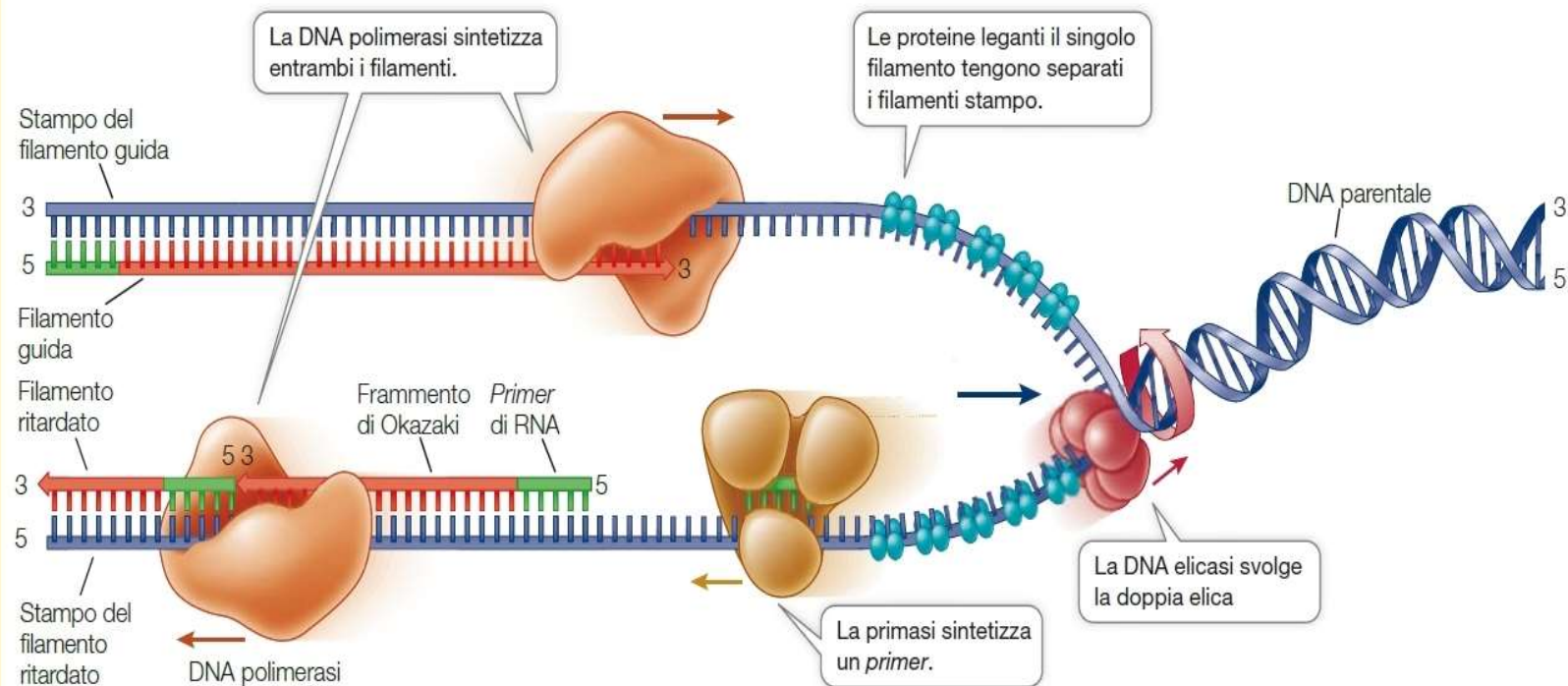


Figura 13.13 Molte proteine collaborano nel complesso di replicazione Diverse proteine, oltre alla DNA polimerasi, sono implicate nella replicazione del DNA. Le due molecole di DNA polimerasi mostrate qui sono infatti parte dello stesso complesso.

? Nella replicazione bidirezionale da un singolo punto di partenza, con le due forcelle di replicazione che si muovono lungo versi opposti, i singoli filamenti di DNA saranno *leading* o *lagging*?

▶ Attività 13.1 **Il complesso di replicazione**
The Replication Complex



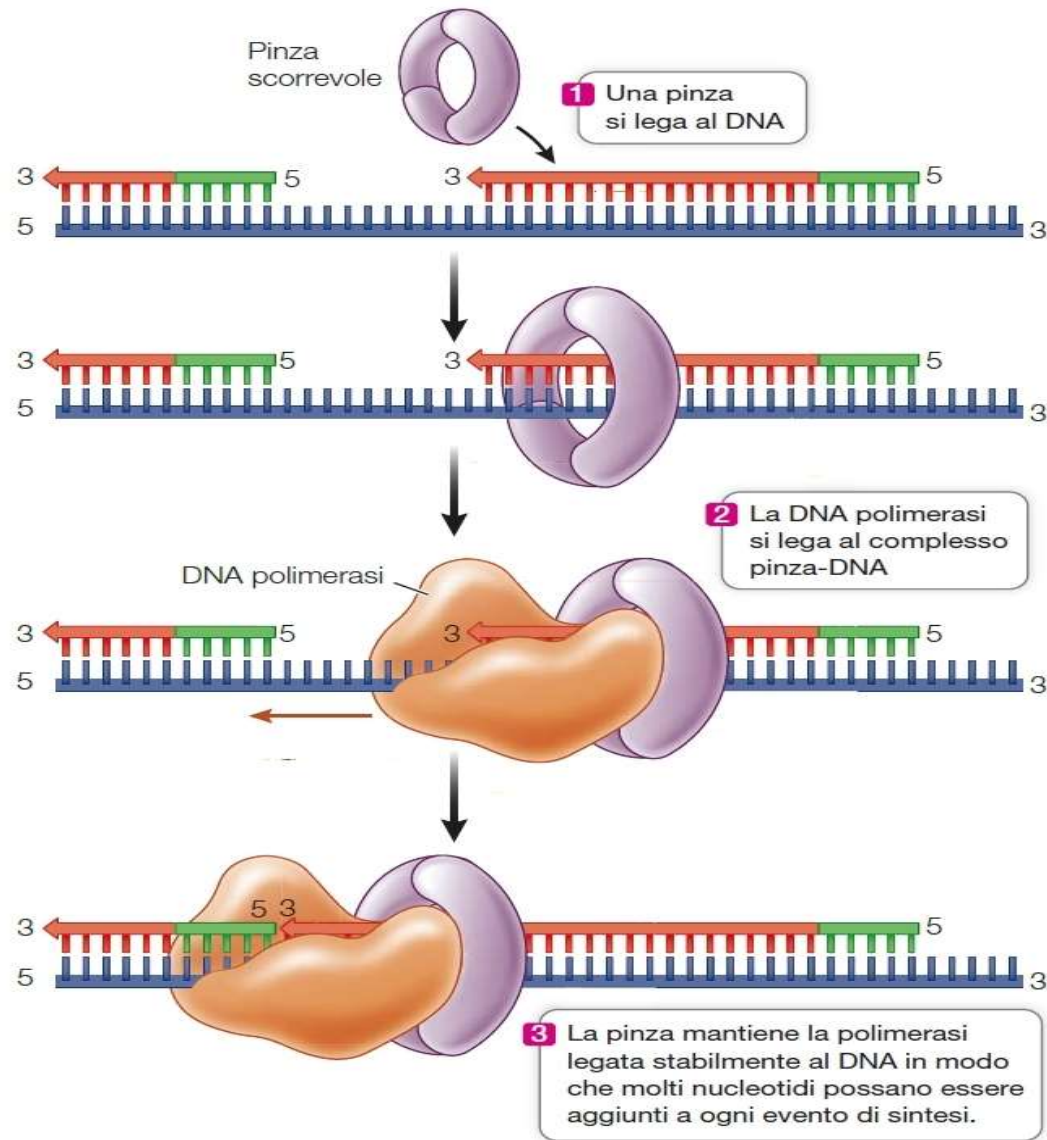


Figura 13.16 Una pinza scorrevole aumenta l'efficienza della polimerizzazione del DNA La pinza aumenta l'efficienza di polimerizzazione mantenendo l'enzima legato al suo substrato, in modo che l'enzima non si debba ripetutamente legare al DNA stampo e al substrato.



La replicazione del DNA: DNA polimerasi

Sia le cellule procariotiche che eucariotiche contengono parecchie DNA polimerasi diverse che hanno ruoli distinti nella replicazione e nella riparazione del DNA

Enzimi	Direzione della sintesi	Attività esonucleasica	Funzioni possibili
Procariotici			
Polimerasi I	5' → 3'	5' → 3' 3' → 5'	riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; riparazione del DNA
Polimerasi II	5' → 3'	3' → 5'	riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; riparazione del DNA
<u>Polimerasi III</u>	5' → 3'	3' → 5'	enzima principale della replicazione
Eucariotici			
<u>Polimerasi α</u>	5' → 3'	5' → 3'	enzima principale della replicazione (con la Polimerasi δ); riparazione del DNA
Polimerasi β	5' → 3'	nessuna	riparazione del DNA
Polimerasi γ	5' → 3'	3' → 5'	enzima principale della repl. nei mitocondri e cloroplasti
<u>Polimerasi δ</u>	5' → 3'	3' → 5'	enzima principale della replicazione (con la Polimerasi α)
Polimerasi ε	5' → 3'	3' → 5'	riparazione del DNA; può cooperare con le Polimerasi α e δ nei meccanismi principali della replicazione



**TABELLA 12-3****Le proteine coinvolte nella replicazione del DNA****ENZIMA****FUNZIONE****Elicasi**

Svolge la doppia elica in corrispondenza delle forche di replicazione rompendo i legami a idrogeno che tengono insieme i due filamenti.

Proteina che lega il singolo filamento (SSB)

Si lega ai singoli filamenti di DNA e impedisce la riformazione della doppia elica prima che i singoli filamenti siano stati utilizzati come stampo per la replicazione.

Topoisomerasi

Taglia uno o entrambi i filamenti di DNA, evitando l'eccessivo avvolgimento durante la replicazione, e li risalda in una configurazione più rilassata.

DNA polimerasi

Lega le subunità nucleotidiche tra loro per formare un nuovo filamento di DNA a partire da un filamento di DNA stampo.

DNA primasi

Sintetizza corti tratti di RNA (primer) sul filamento in ritardo. Avvia la replicazione del filamento guida DNA ligasi.

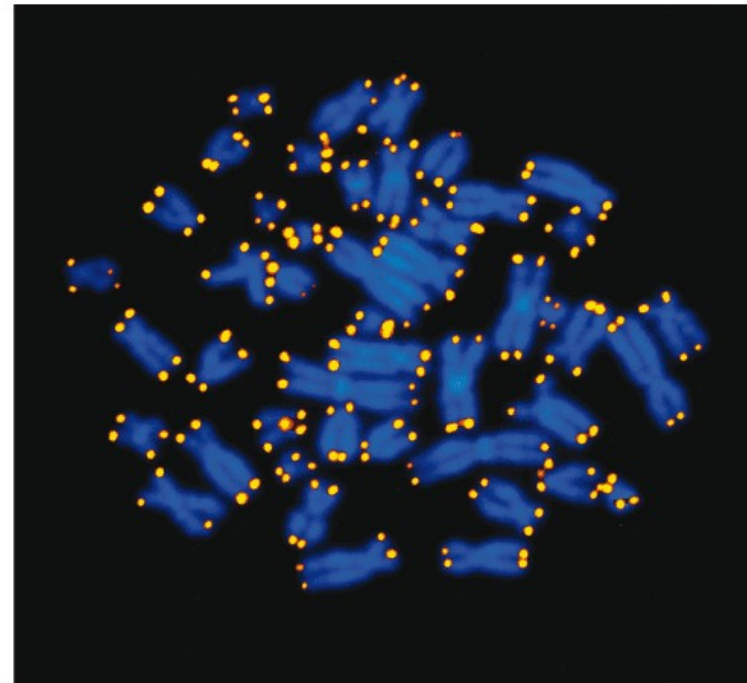
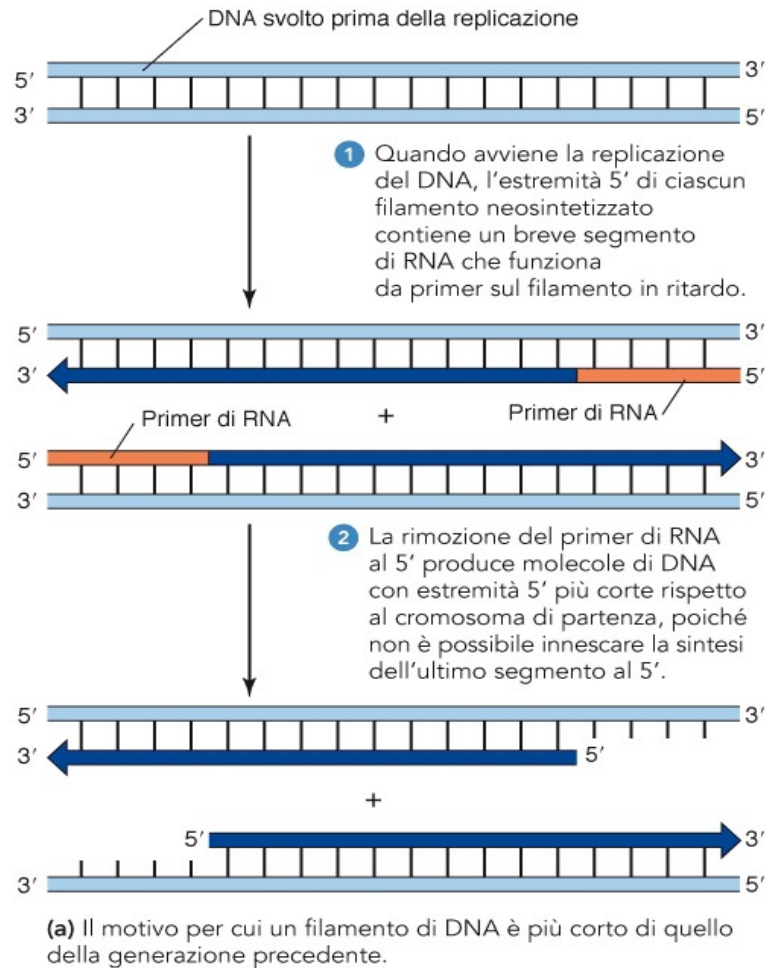
DNA ligasi

Lega tra loro i frammenti di Okazaki unendo l'estremità 3' del nuovo frammento di DNA all'estremità 5' del tratto di DNA adiacente.



6. La telomerasi

la **telomerasi**, aggiunge copie multiple della stessa sequenza di DNA in fondo al cromosoma, producendo un tratto di DNA supplementare e consentendo di completare il filamento lento



(b) Immagine al microscopio ottico di cromosomi umani con i telomeri marcati con traccianti fluorescenti (giallo).

FIGURA 12-18 I telomeri



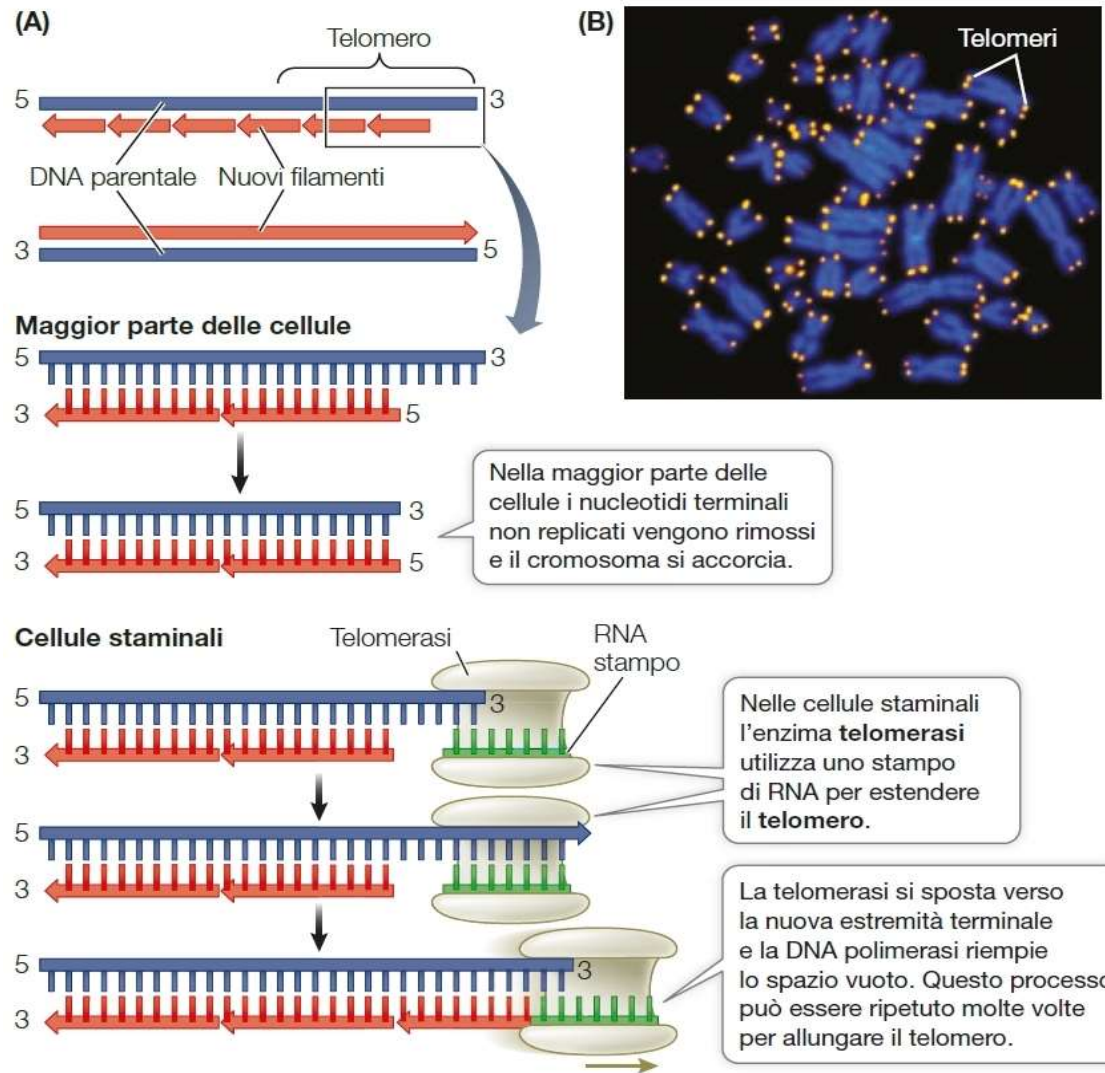
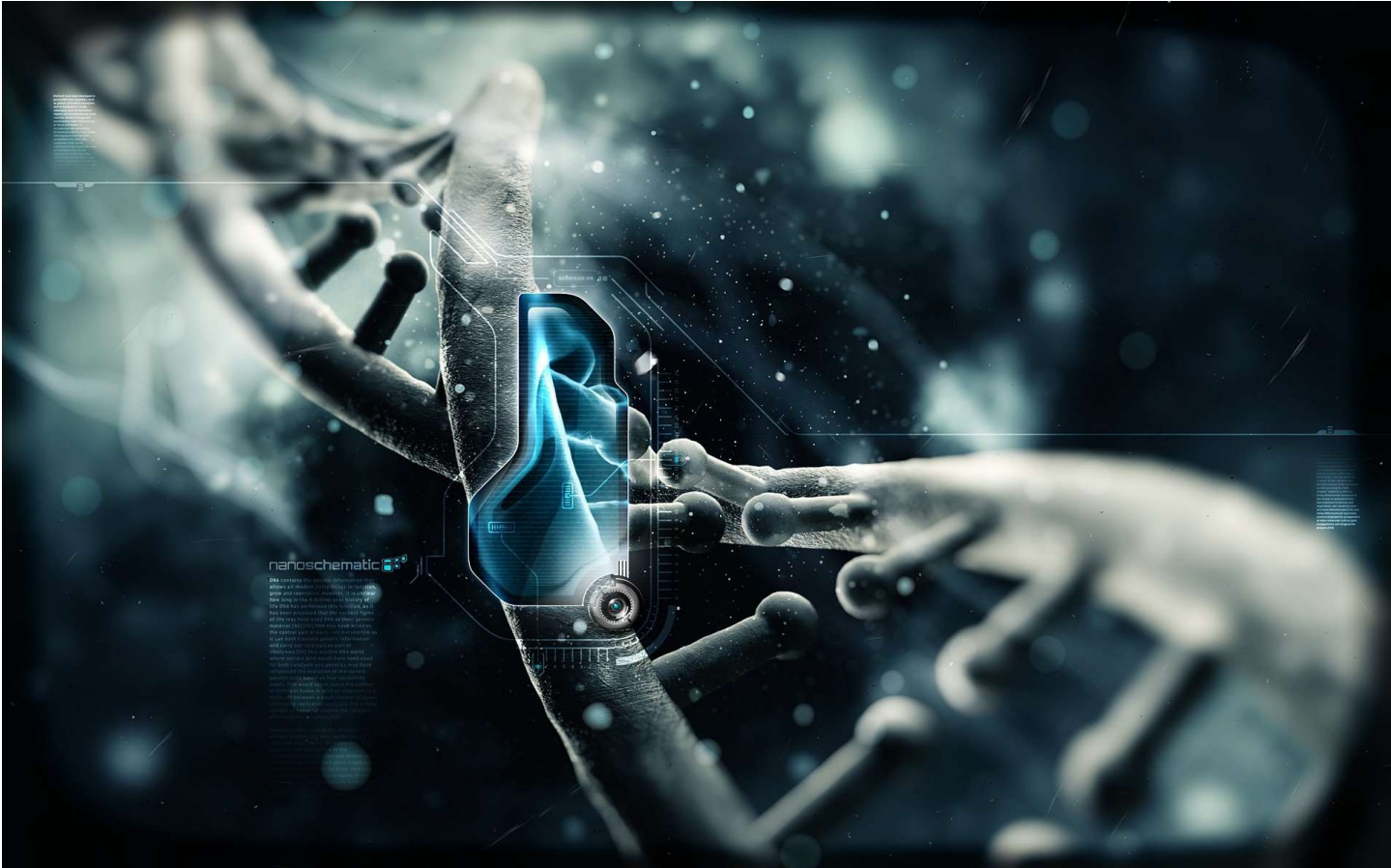


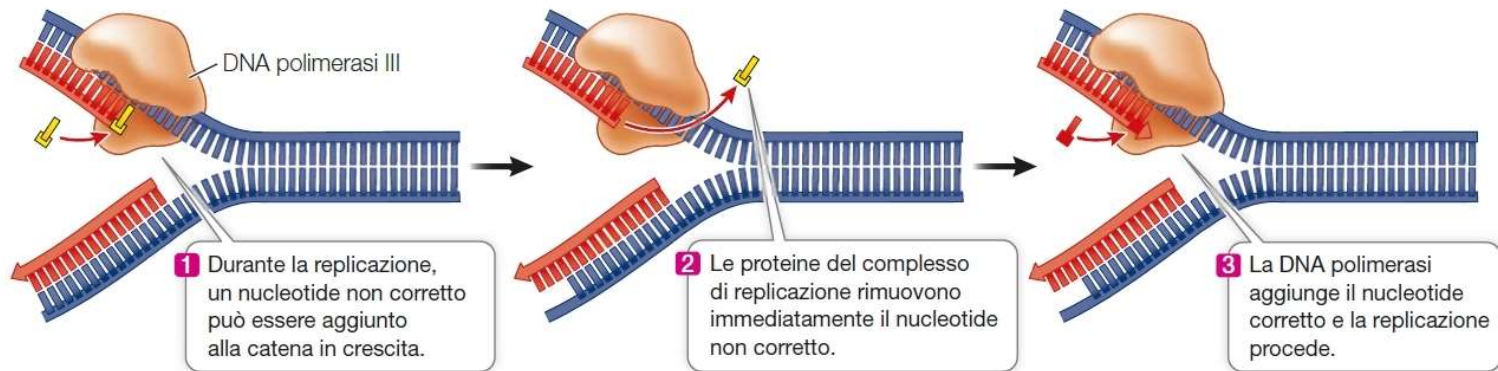
Figura 13.17 Telomeri e telomerasi (A) Nella maggior parte delle cellule, i cromosomi si accorciano a ogni replicazione perché il DNA del filamento stampo non replicato all'estremità 3' viene rimosso. Tuttavia, nelle cellule staminali, le telomerasi utilizzano degli RNA stampo per estendere il telomero e così impedire l'accorciamento del cromosoma. (B) Marcature luminose fluorescenti marcano le regioni telomeriche di questi cromosomi umani colorati in blu.



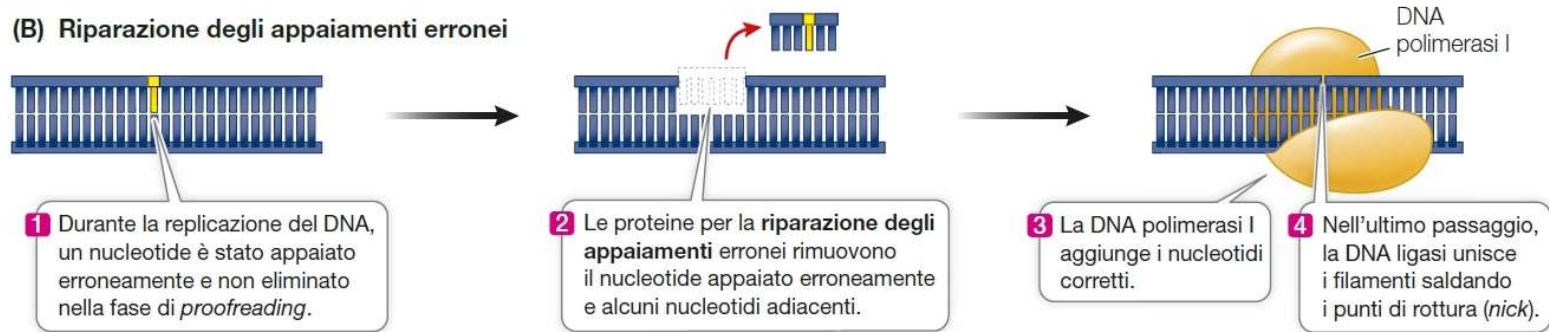
Riparazione del DNA



(A) Correzione di bozze



(B) Riparazione degli appaiamenti erranei



(C) Riparazione per escissione



Figura 13.18 Meccanismi di riparazione del DNA Le proteine del complesso di replicazione fungono anche da meccanismo di riparazione del DNA, riducendo così la quantità di errori nel DNA replicato. Un altro meccanismo (riparazione per escissione) ripara danni a molecole di DNA già esistenti.



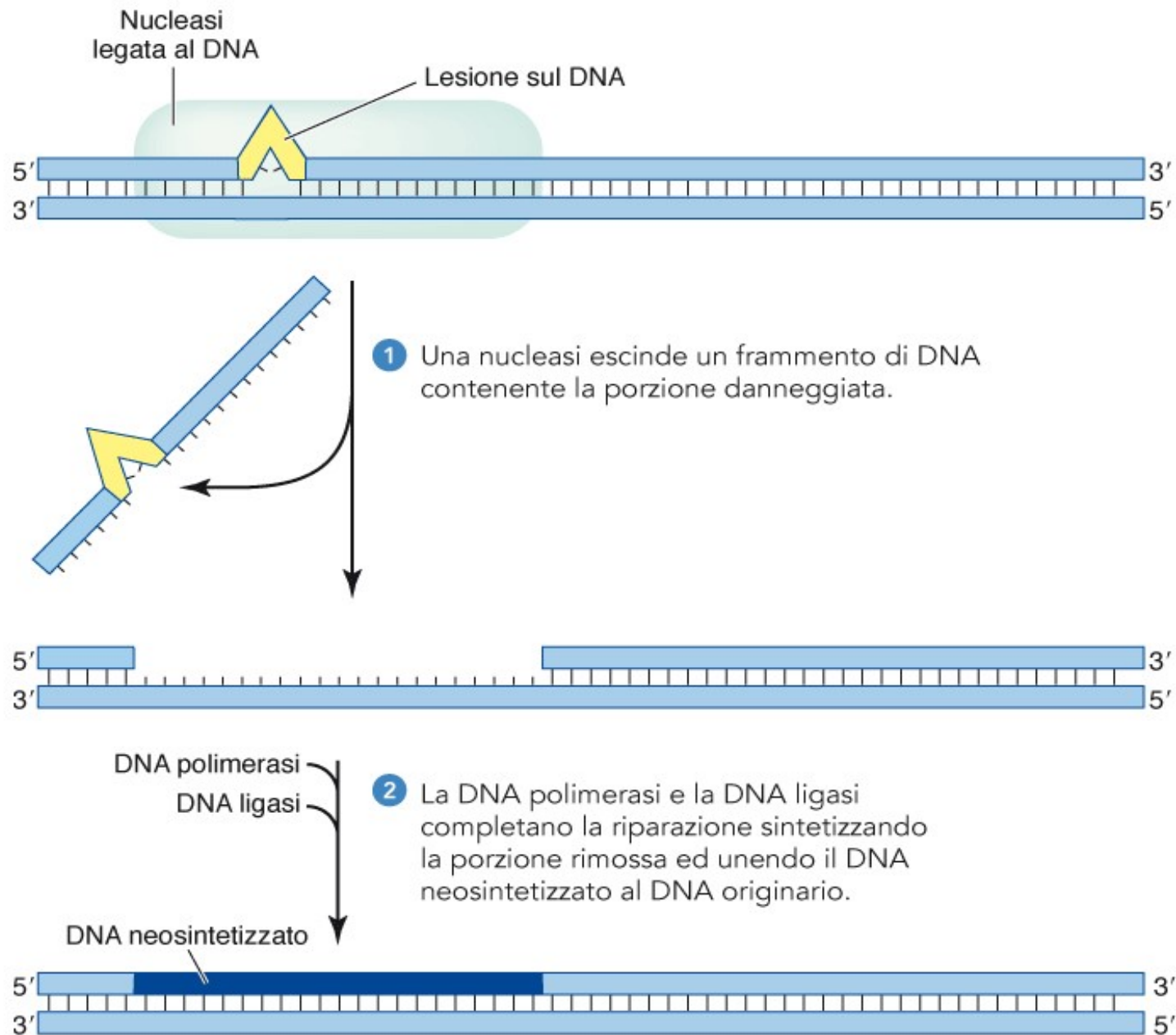


FIGURA 12-17 Riparazione per escissione nucleotidica del DNA danneggiato



Grazie dell'attenzione

