

La struttura a doppia elica del DNA è essenziale per la sua funzione

- Il materiale genetico immagazzina l'informazione genetica di un organismo
- Il materiale genetico è suscettibile a mutazione nell'informazione che codifica.
- Il materiale genetico è replicato con precisione nel ciclo cellulare
- Il materiale genetico è espresso come fenotipo

LA REPLICAZIONE DEL DNA

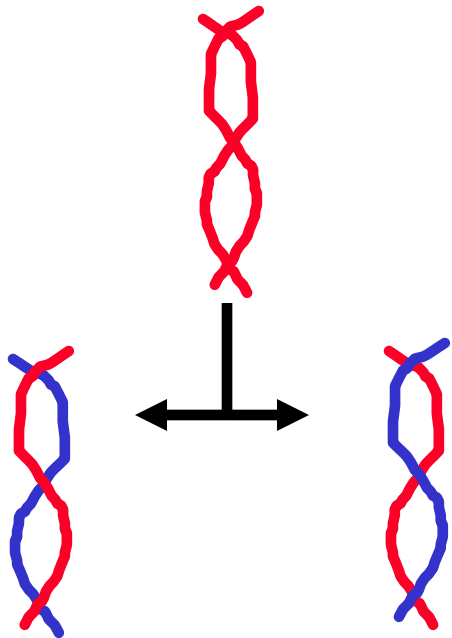
COSA SERVE?

- I deossinucleosidi trifosfato dATP, dCTP, dGTP e dTTP;
- Le molecole di DNA di una specifica sequenza che servono da stampo (template) per specificare la sequenza dei nucleotidi nel nuovo filamento;
- Un enzima, la DNA polimerasi, per catalizzare la reazione di polimerizzazione;
- Sali e un tampone a pH noto, per creare le condizioni appropriate per la DNA polimerasi

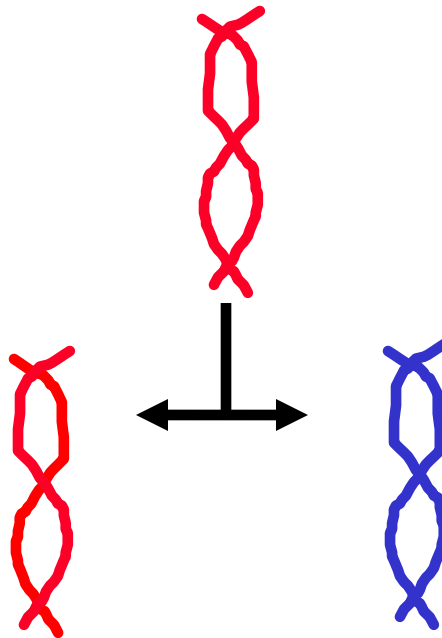
La molecola di DNA contiene tutte le informazioni necessarie per la sua stessa replicazione.

REPLICAZIONE DEL DNA E' SEMICONSERVATIVA

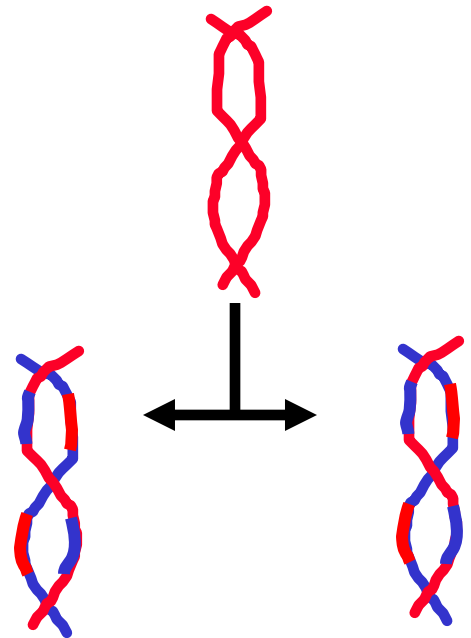
SEMICONSERVATIVA



CONSERVATIVA



DISPERSIVA



ESPERIMENTO DI STAHL

IPOTESI

Il DNA si replica in maniera semiconservativa.

METODO

1 Si allestiscono colture batteriche in un terreno contenente ^{15}N (azoto pesante).

2 Si trasferiscono alcuni batteri in un terreno contenente ^{14}N (leggero); la crescita batterica continua.



4 Si estrae il DNA dai batteri e lo si inserisce in una soluzione.

Campione a 0 minuti

Campione dopo 20 minuti

Campione dopo 40 minuti

3 Si raccolgono campioni dopo 0 minuti, 20 minuti (dopo un ciclo di replicazione) e 40 minuti (dopo due cicli di replicazione)

RISULTATI

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ DNA (leggero)

$^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ DNA (intermedio)

$^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ DNA (pesante)

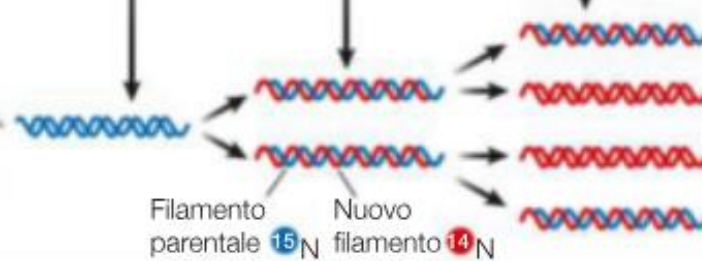
Parentale (tutto pesante)

Prima generazione (tutto intermedio)

Seconda generazione (metà intermedio, metà leggero)

INTERPRETAZIONE

Prima che i batteri si riproducano per la prima volta nel substrato leggero (a 0 minuti), tutto il DNA (parentale) è pesante.

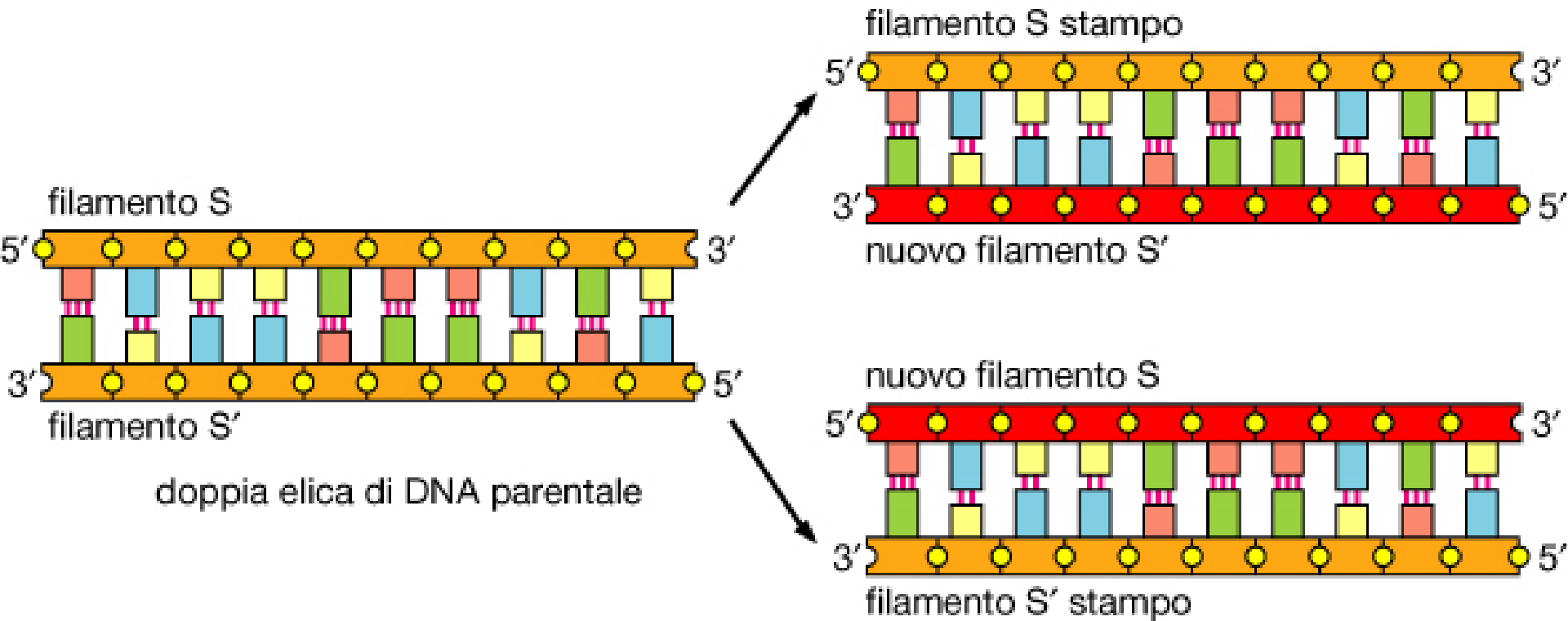


Dopo due generazioni, metà del DNA è intermedio e metà leggero; non è più presente DNA pesante.

The Meselson–Stahl Experiment

© Sinauer Associates, Inc.

LA REPLICAZIONE DEL DNA E' SEMICONSERVATIVA

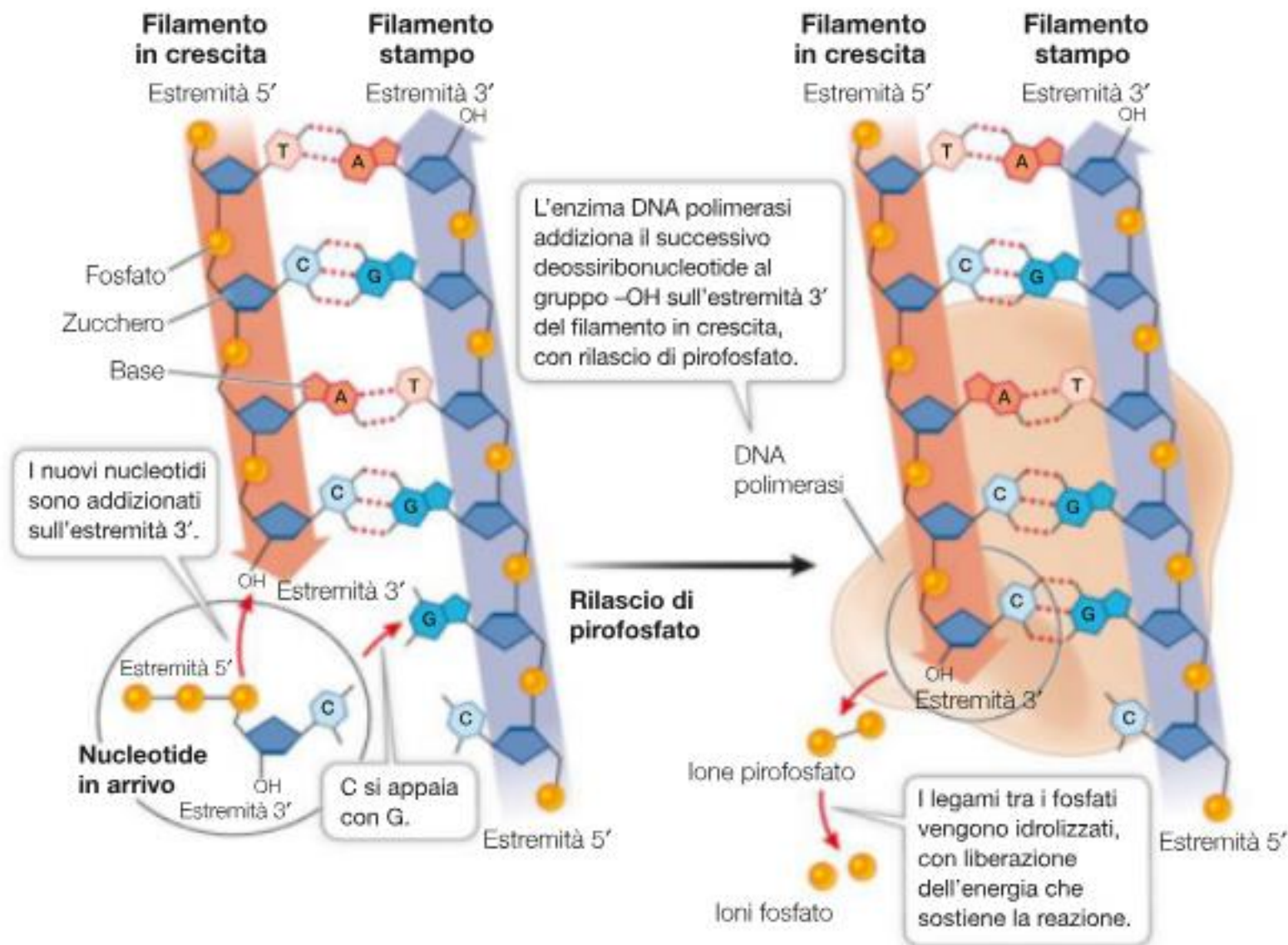


IL MECCANISMO MOLECOLARE DI REPLICAZIONE DEL DNA

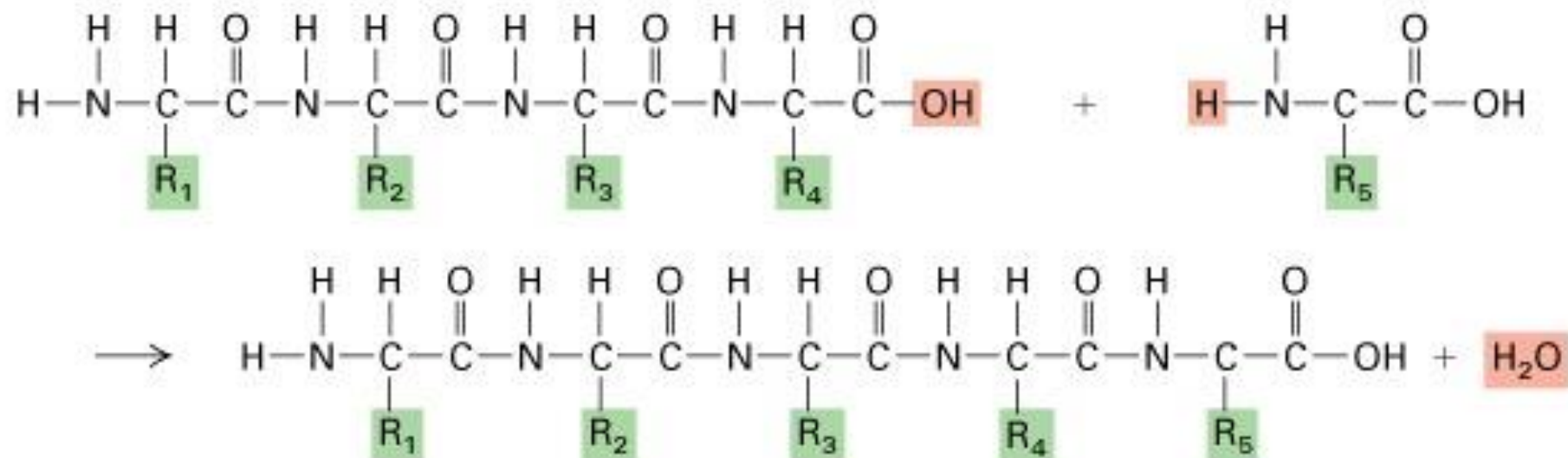
LE DUE ELICHE SI SEPARANO E CIASCUNA FUNGE
DA **STAMPO** PER LA SINTESI DI UNA NUOVA ELICA
COMPLEMENTARE

OGNI NUOVO NUCLEOTIDE VIENE LEGATO
AL 3' -OH DEL NUCLEOTIDE PRECEDENTE

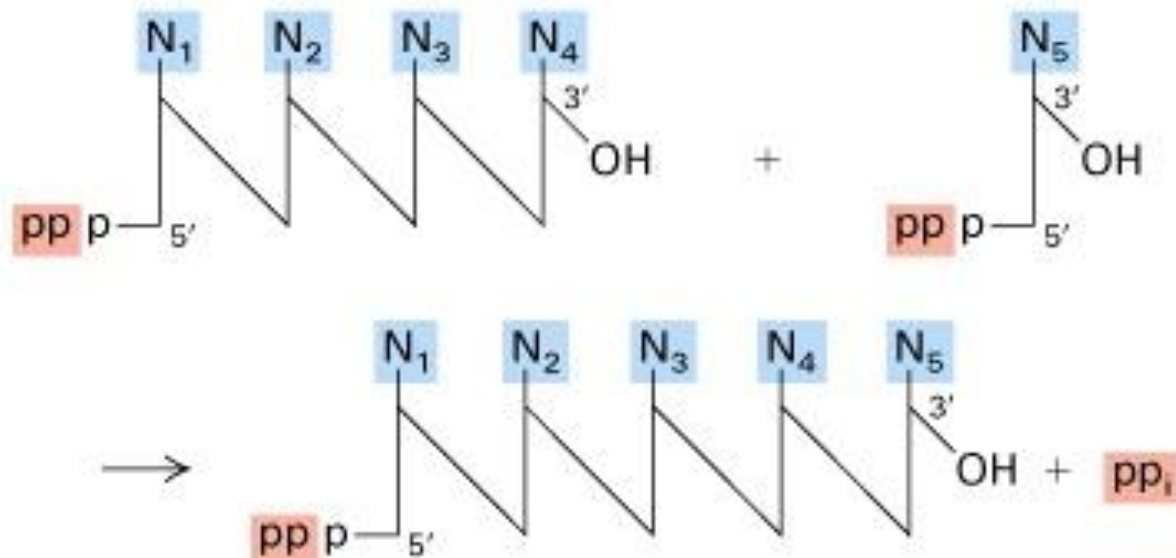
LA DIREZIONE DI SINTESI COMPLESSIVA E' :
5' - 3'

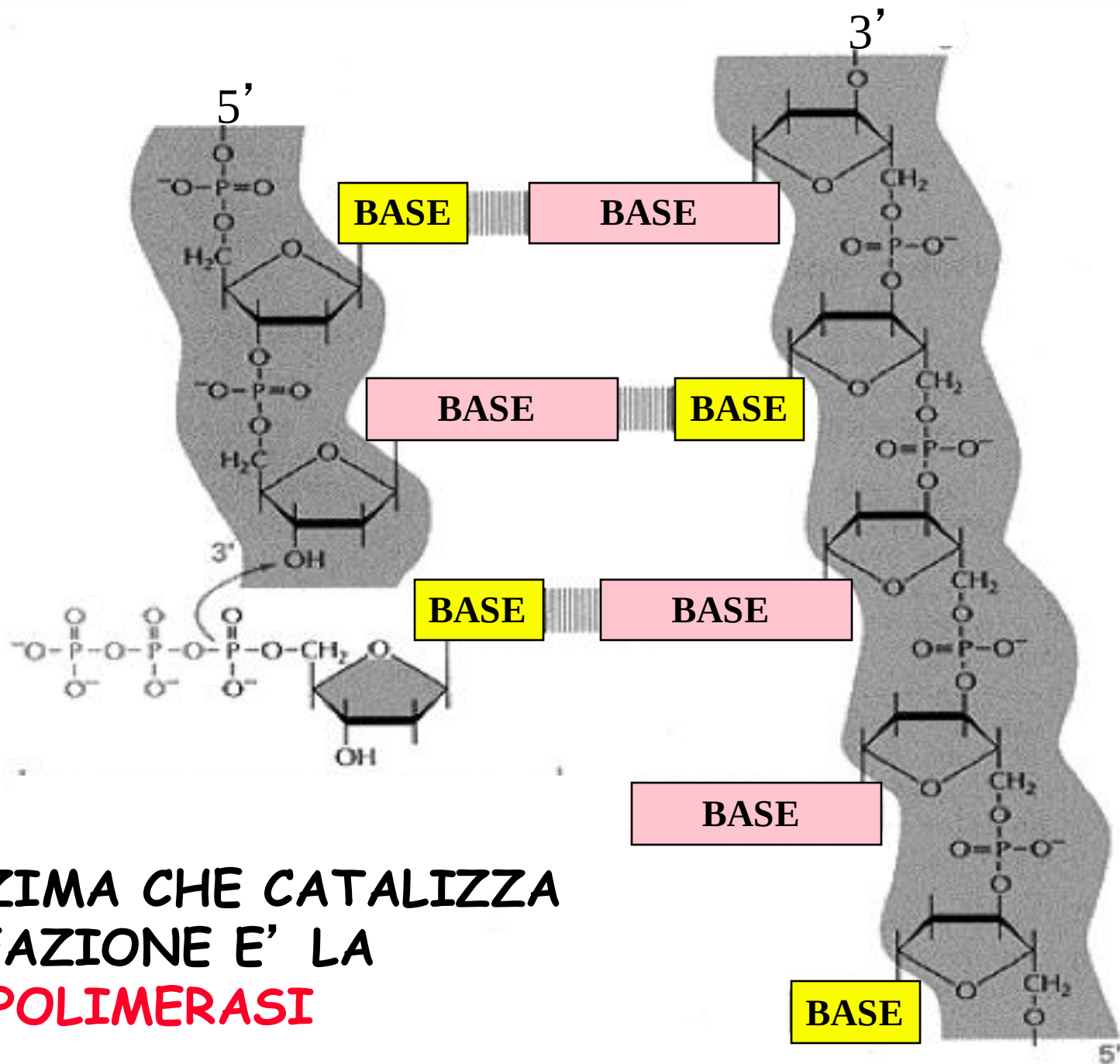


Growth of a polypeptide



Growth of a nucleic acid





**L'ENZIMA CHE CATALIZZA
LA REAZIONE E' LA
DNA POLIMERASI**

QUELLA SPORCA DOZZINA

ORC (ORIGIN REPLICATION COMPLEX)

ELICASI

SSB (SINGLE STRAND BINDING)

TOPOISOMERASI

DNA POLIMERASI α /PRIMASI

PCNA

RFC

DNA POLIMERASI δ

MF1 (ESONUCLEASI)

DNA POLIMERASI

LIGASI

TELOMERASI

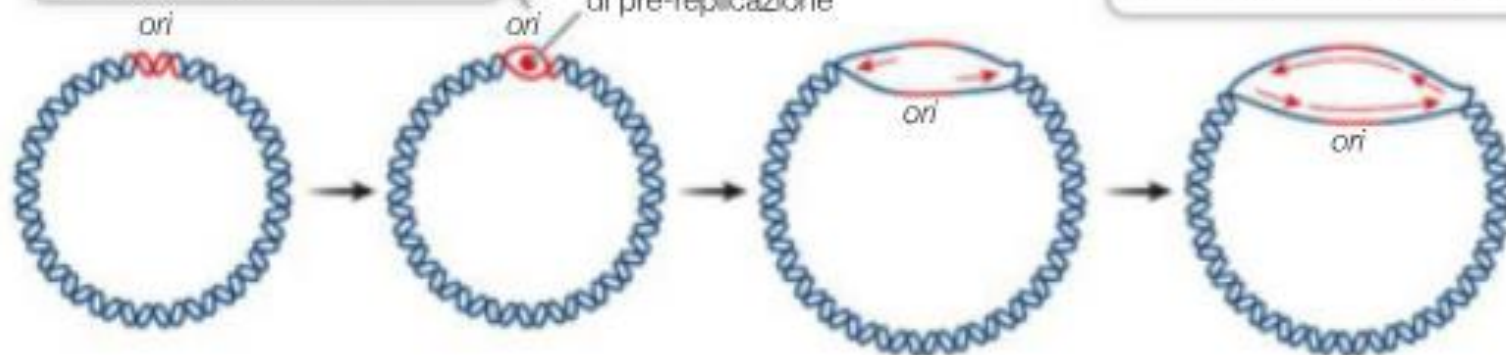
Origini della replicazione

(A) *ori* singolo nel cromosoma procariotico

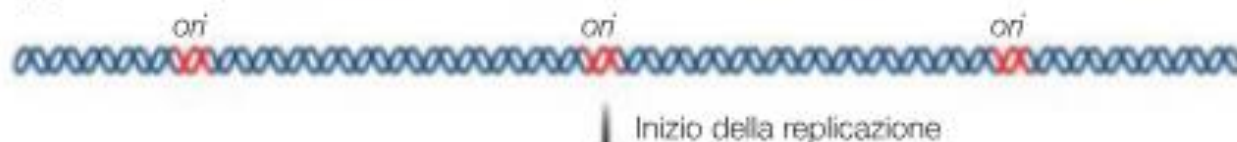
1 La sequenza *ori* lega il complesso che avvia la replicazione.

Complesso di pre-replicazione

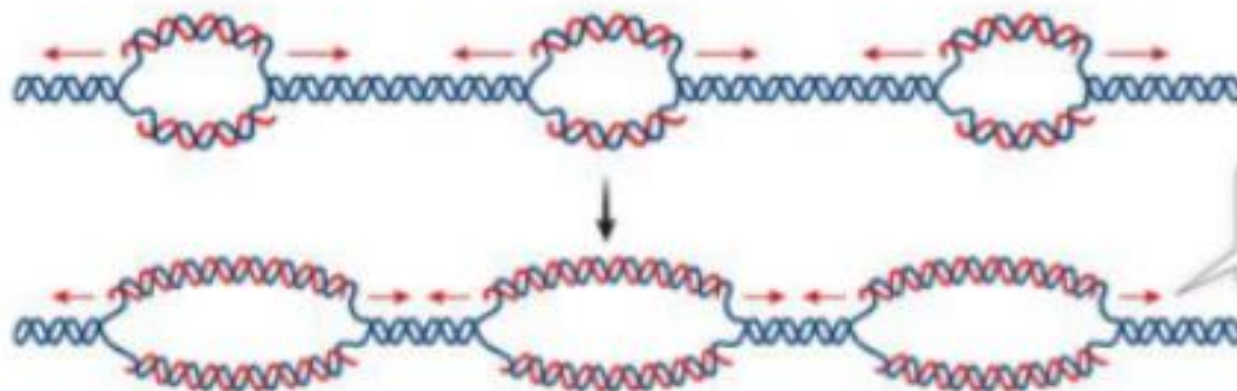
2 Due forcelle di replicazione avanzano in direzioni opposte, allontanandosi l'una dall'altra.



(B) *ori* multipli nel cromosoma eucariotico

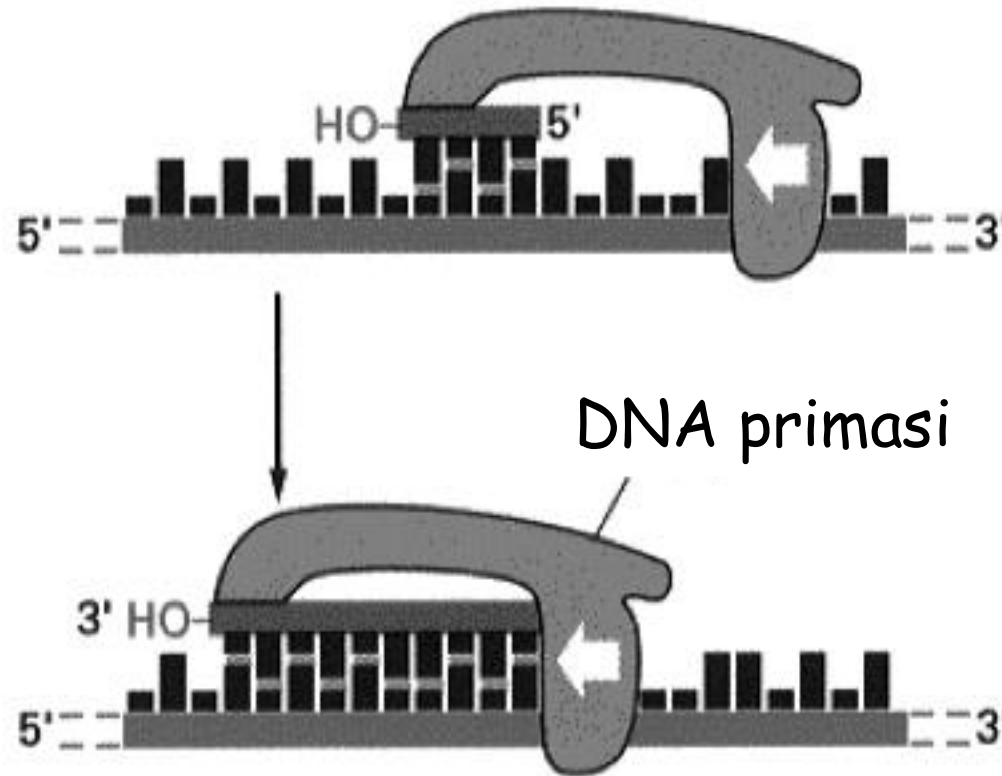


Contengono origini di replicazione multiple.

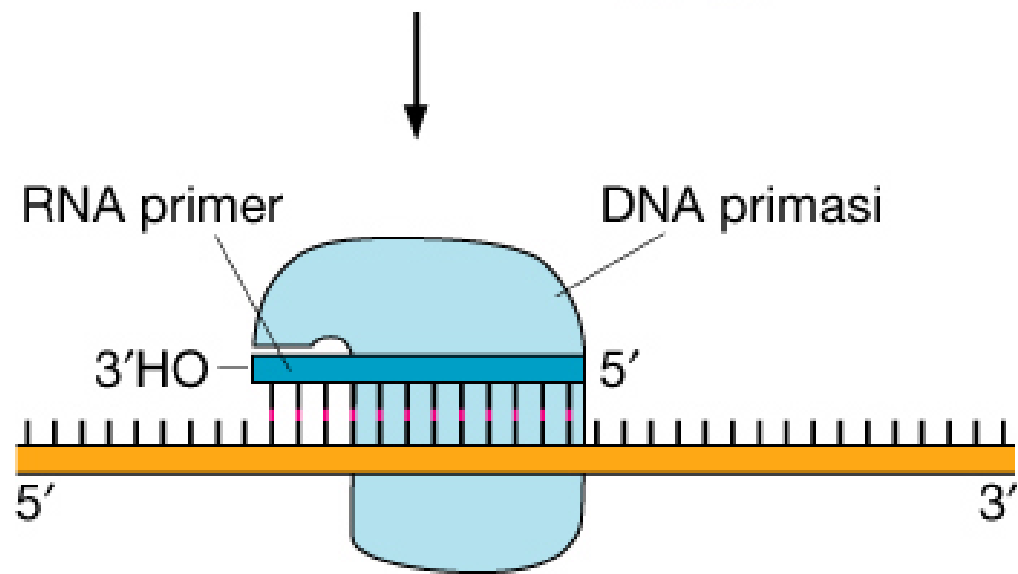
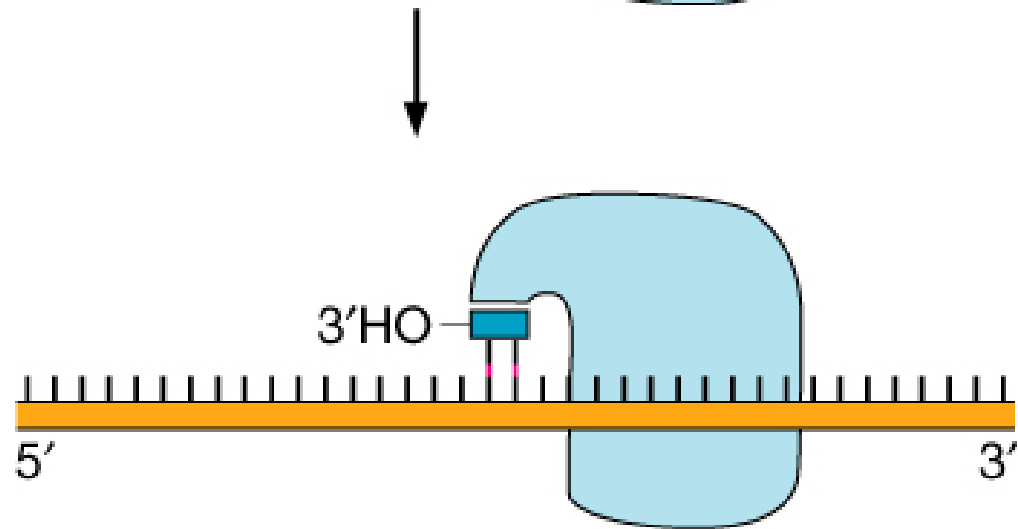
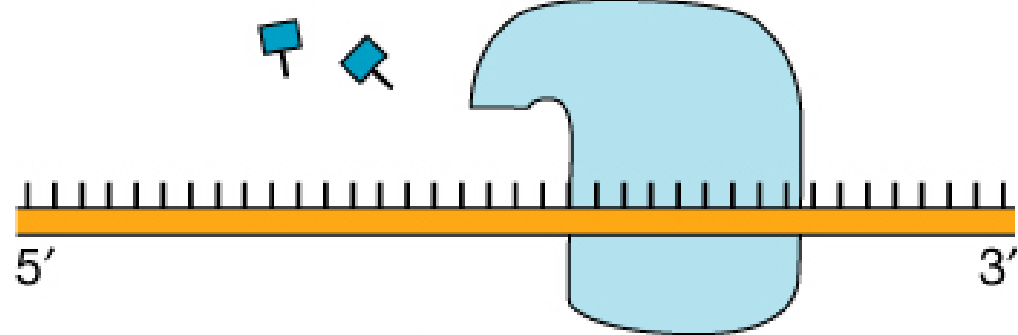


Le forcelle si muovono in direzioni opposte.

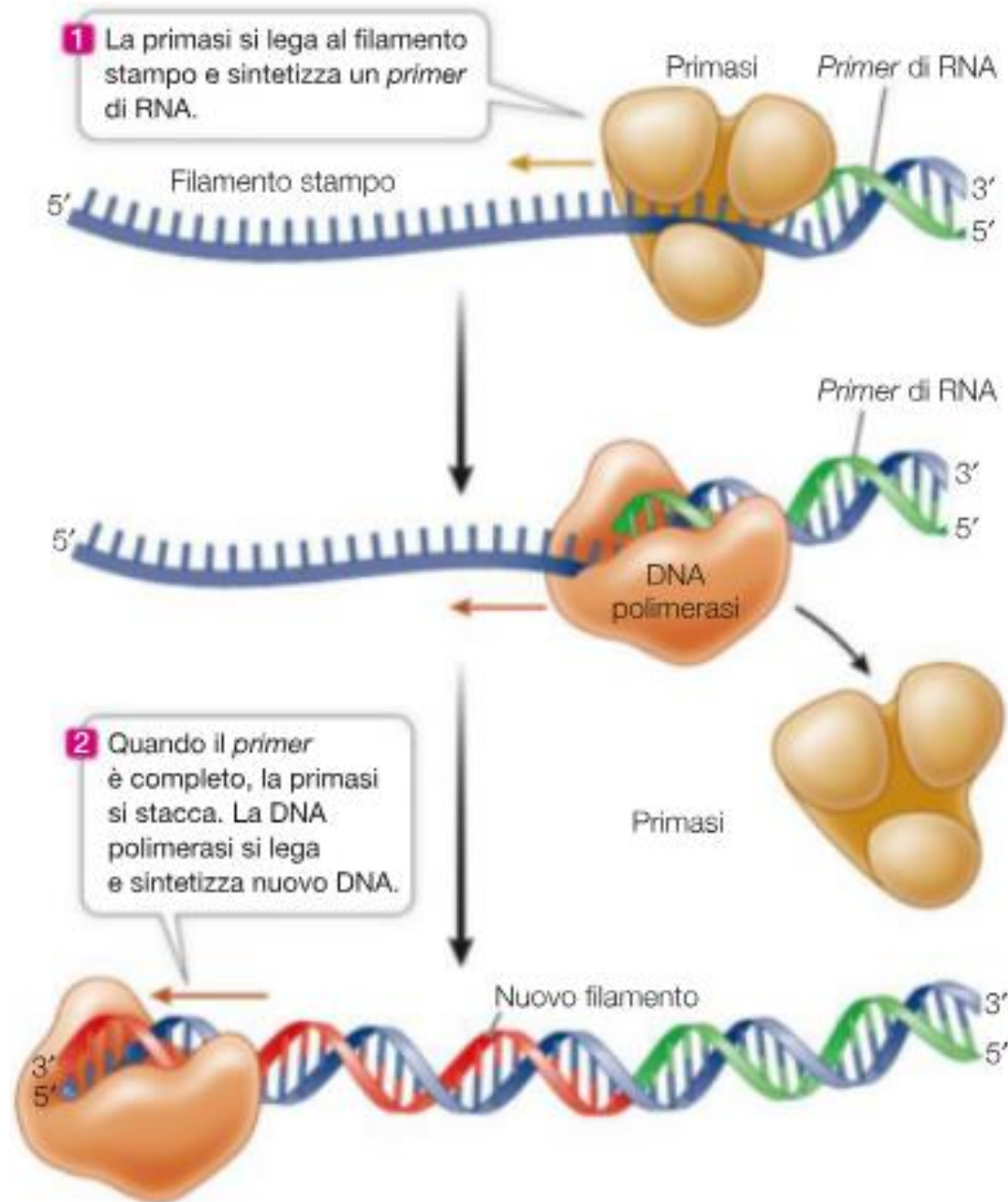
LA DNA POLIMERASI E' INCAPACE DI INIZIARE SINTESI EX NOVO



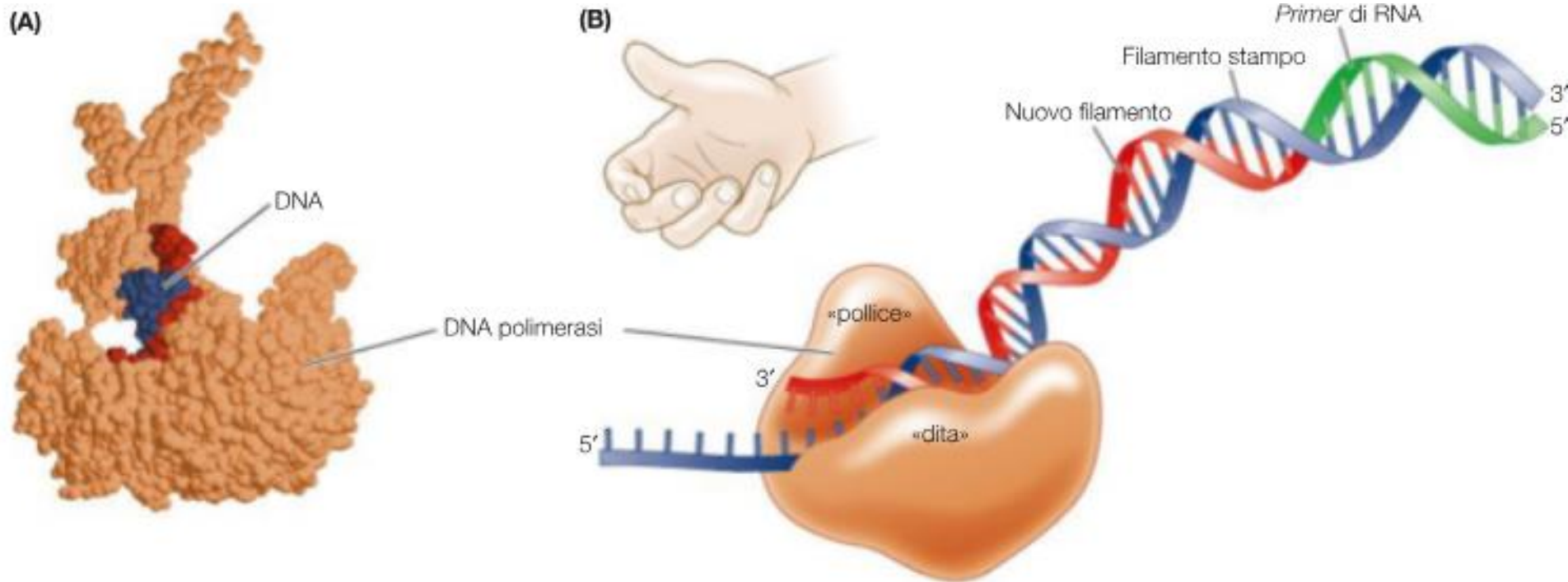
UNA PRIMASI SINTETIZZA I PRIMERS



Primer



DNA POLIMERASI



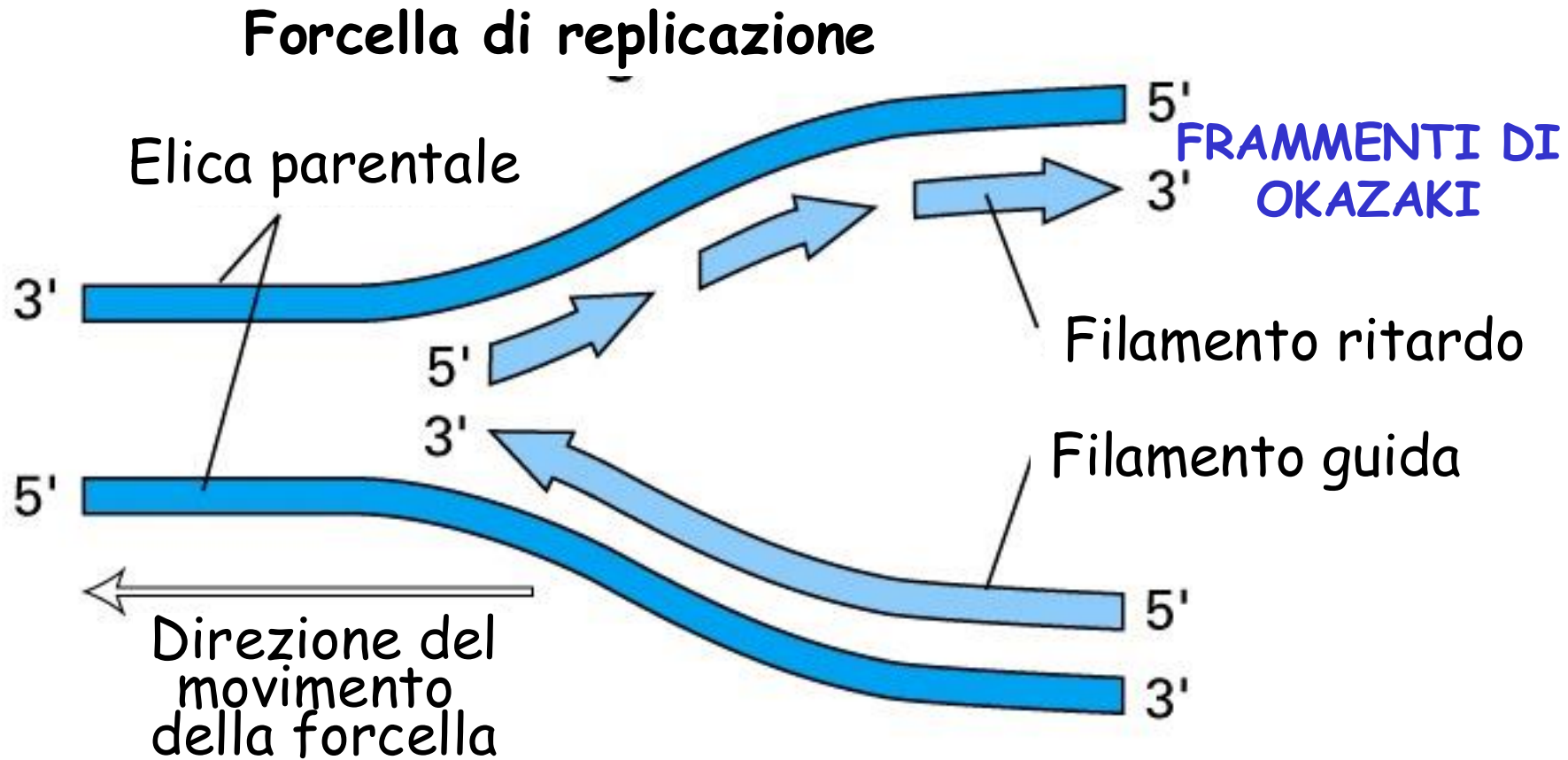
L' ENZIMA SINTETIZZA SOLO IN DIREZIONE 5' -3'

LE DUE ELICHE SONO ANTIPARALLELE

**L' ENZIMA SI MUOVE IN UN VERSO SU UN' ELICA E
NELL' ALTRO VERSO SULL' ALTRA ELICA**

**SINTETIZZA UN FILAMENTO CONTINUO SULLO
STAMPO DELL' ELICA 3' -5' , FRAMMENTI SULLO
STAMPO DI QUELLA 5' -3'**

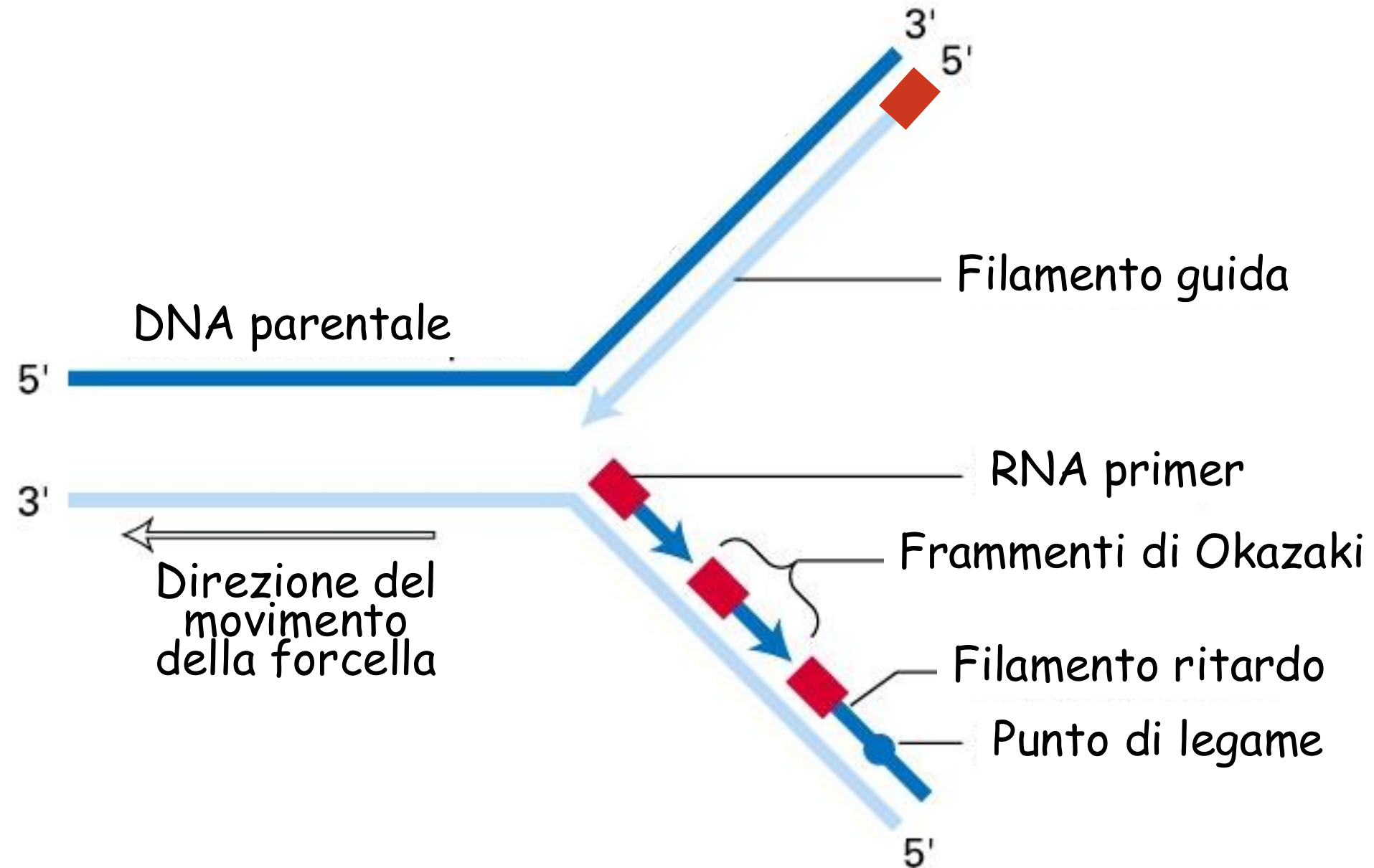
LA REPLICAZIONE PROCEDE CON UN FILAMENTO GUIDA ED UNO RITARDO



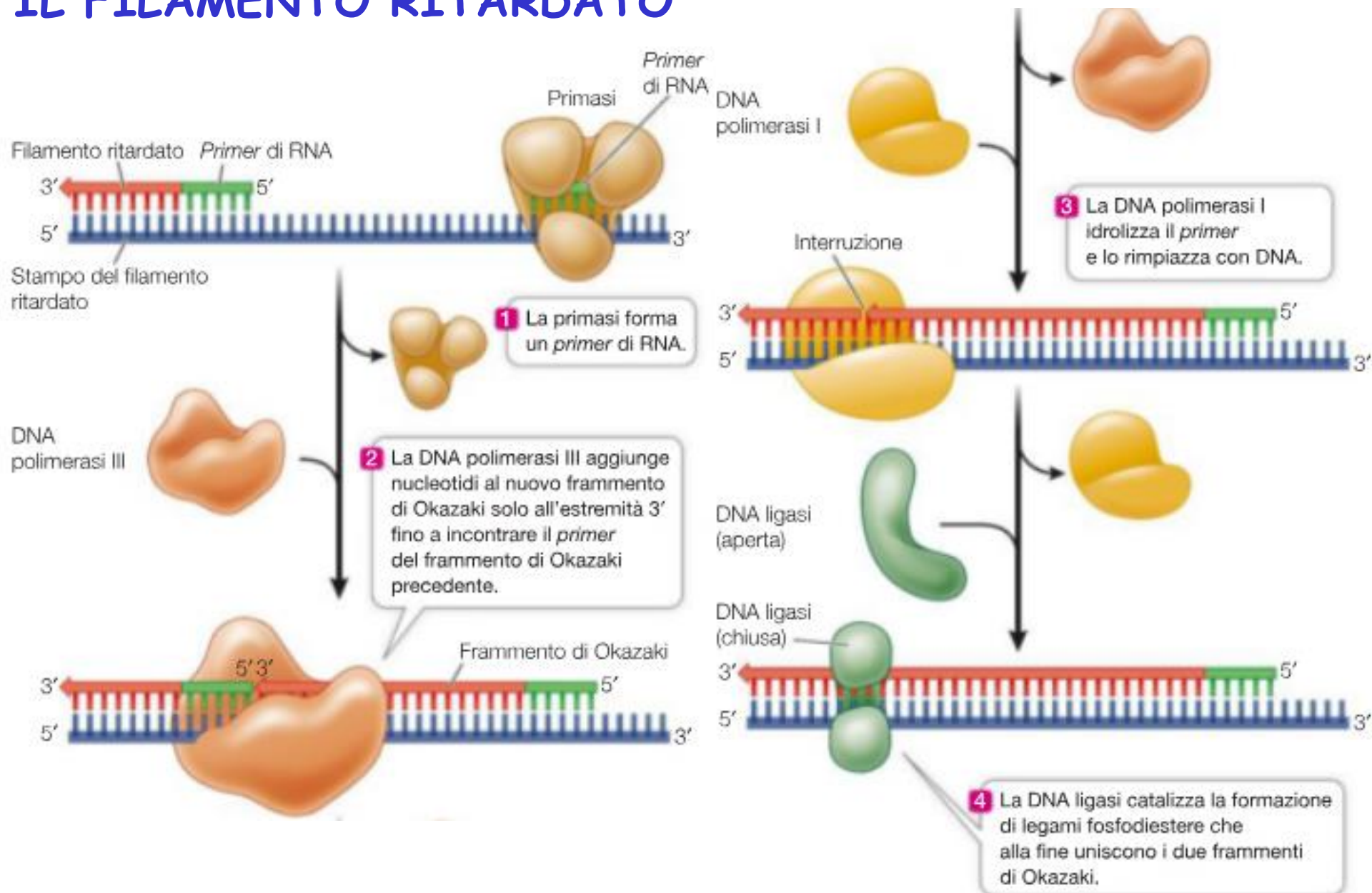
Leading and Lagging Strand Synthesis

© Sinauer Associates, Inc.

UN PRIMER E' NECESSARIO PER OGNI FRAMMENTO DI OKAZAKI

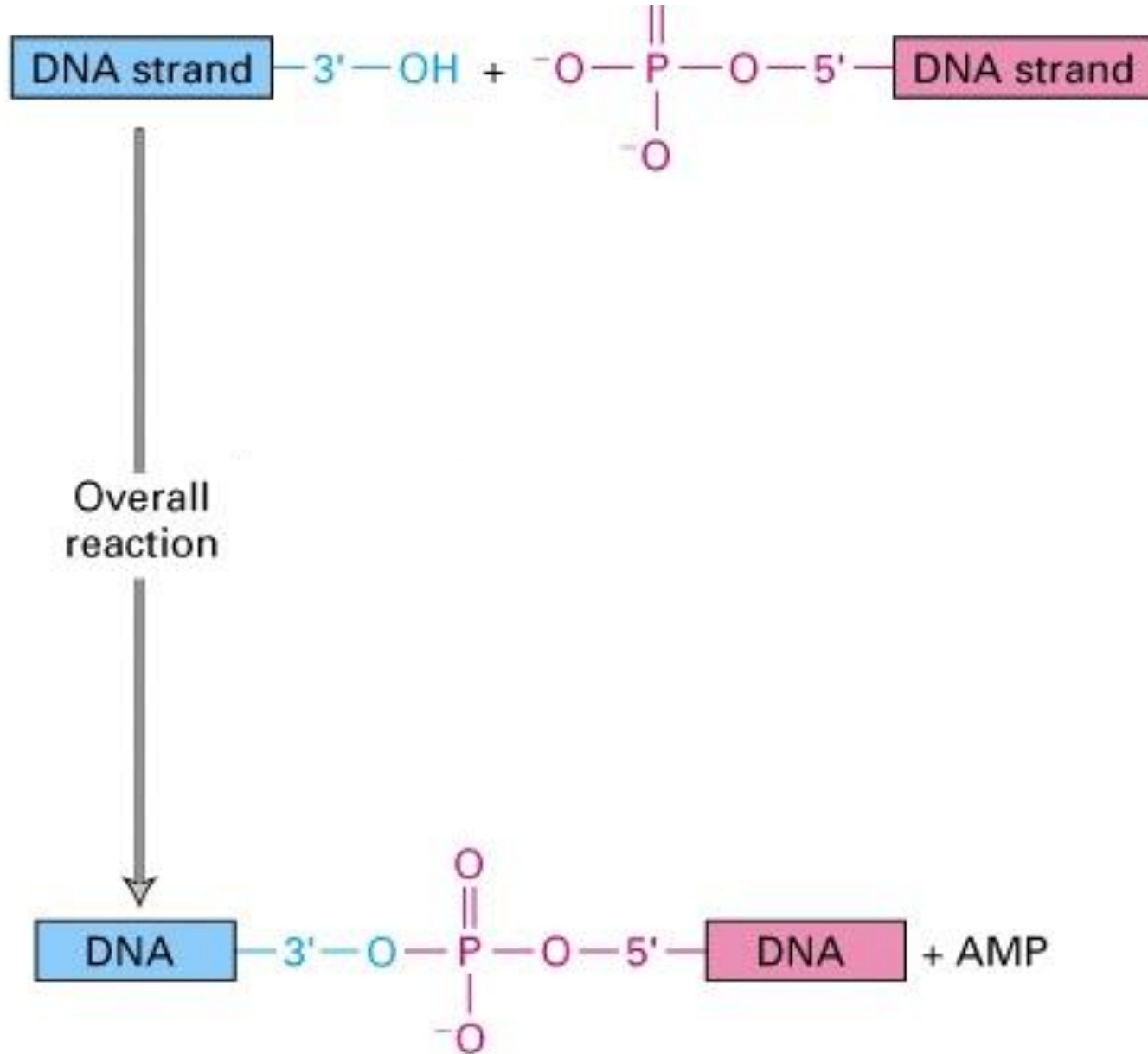


IL FILAMENTO RITARDATO



COME SI LEGANO TRA LORO I FRAMMENTI DI OKAZAKI?

LIGASI

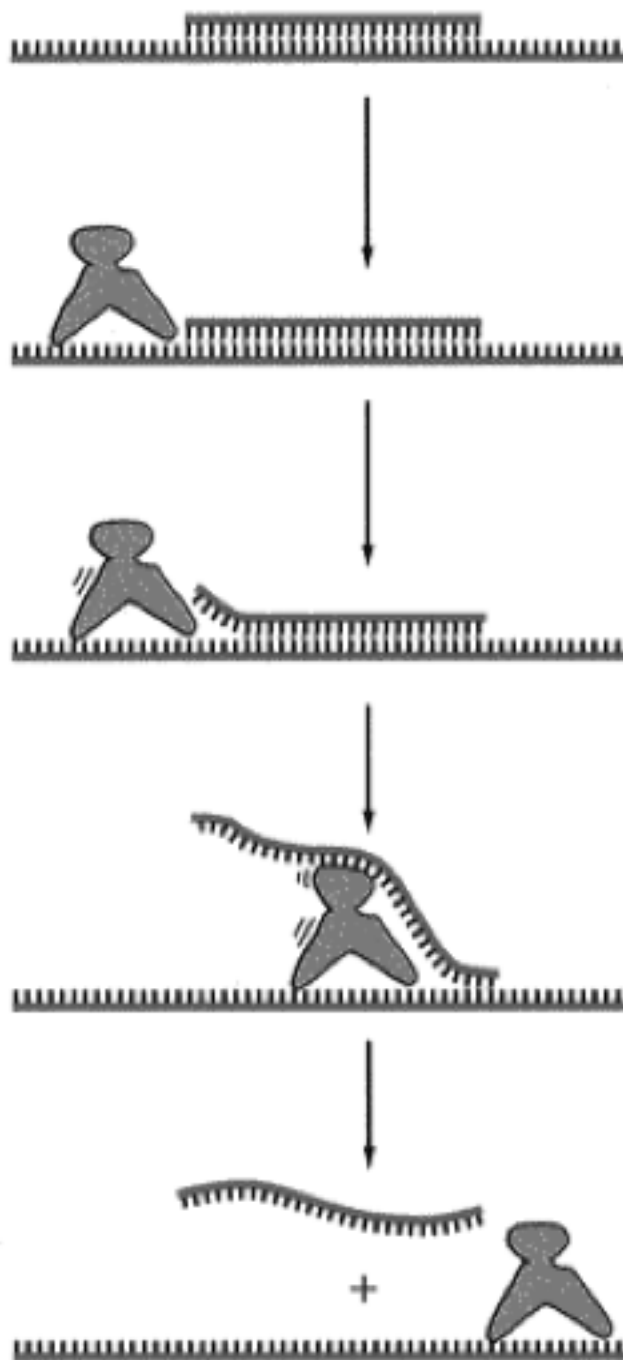


DNA Replication and Polymerization

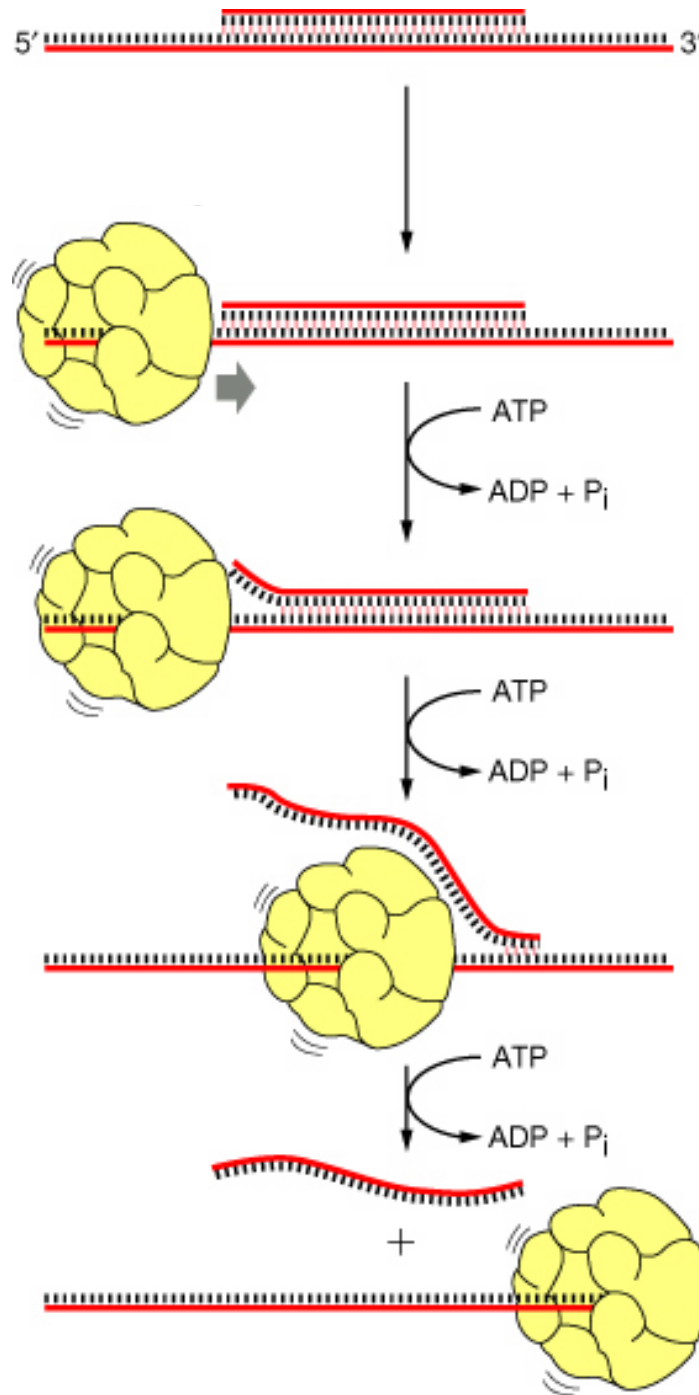
© Sinauer Associates, Inc.

COME SI SEPARANO LE
DUE ELICHE?

L'ELICASI
PROMUOVE
LO
SROTOLA-
MENTO
DELLA
DOPPIA
ELICA



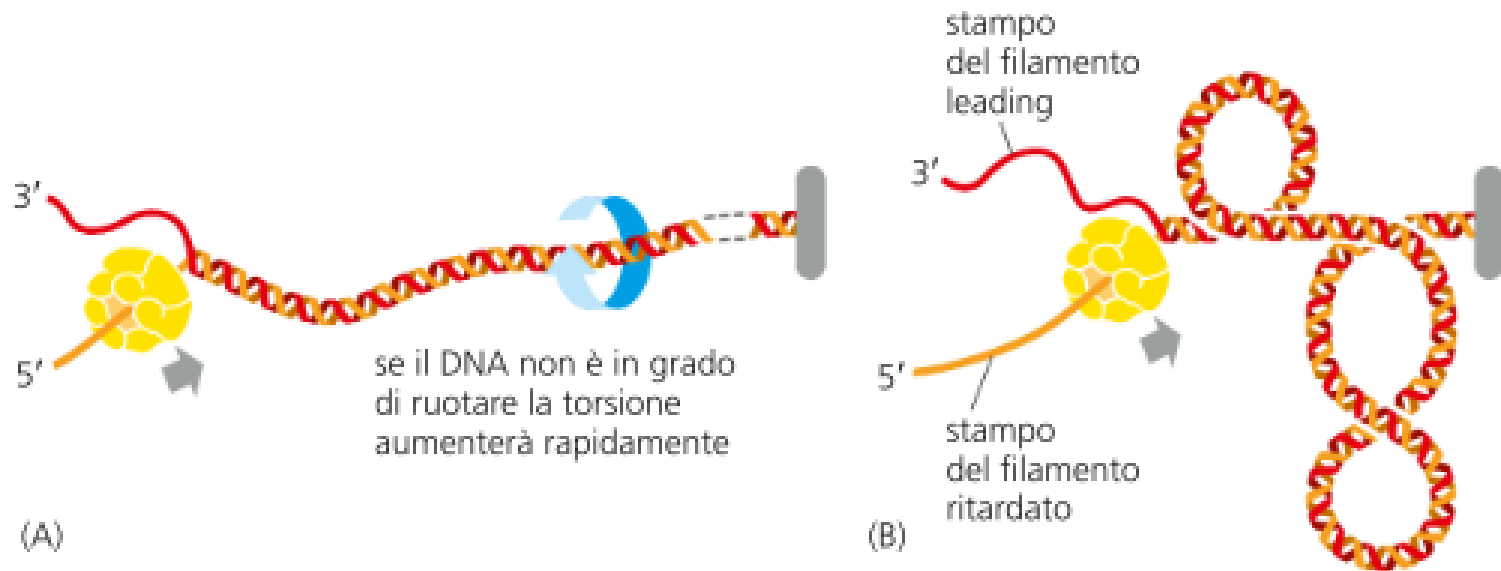
L'ELICASI
PROMUOVE
LO
SROTOLA-
MENTO
DELLA
DOPPIA
ELICA



LO
SROTOLAMENTO
DELLA
DOPPIA ELICA
DETERMINA
SUPERAVVOLGI-
MENTO.



LO SROTOLAMENTO DELLA DOPPIA ELICA DETERMINA SUPERAVVOLGIMENTO.



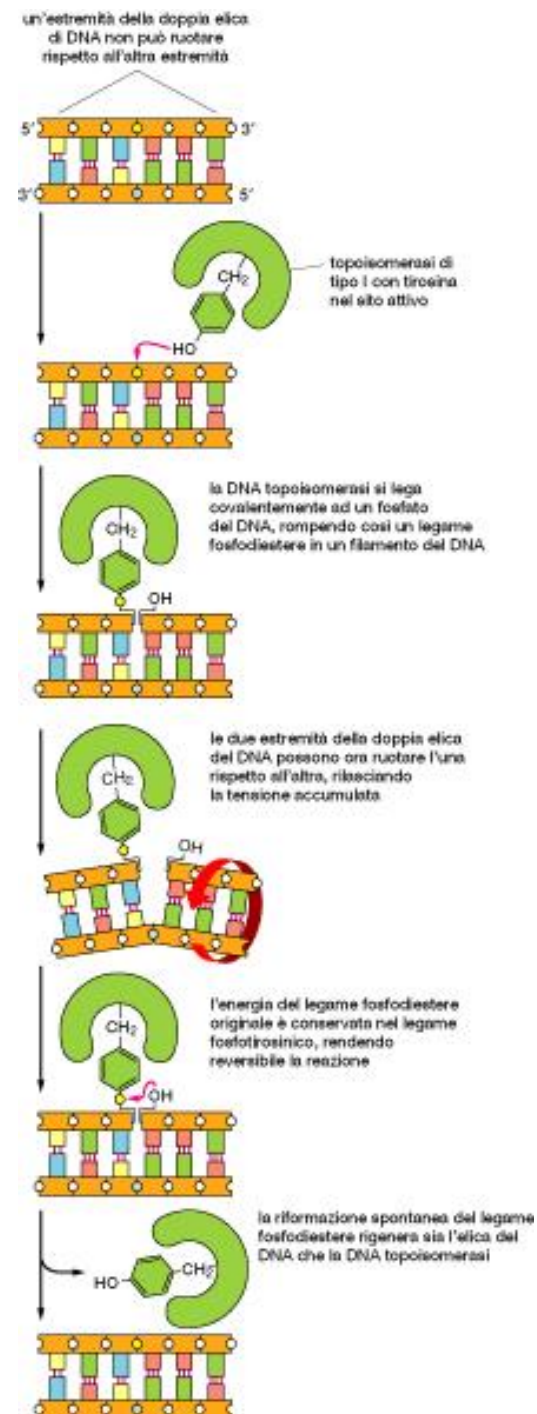
COME VIENE EVITATO IL SUPERAVVOLGIMENTO?

TOPOISOMERASI

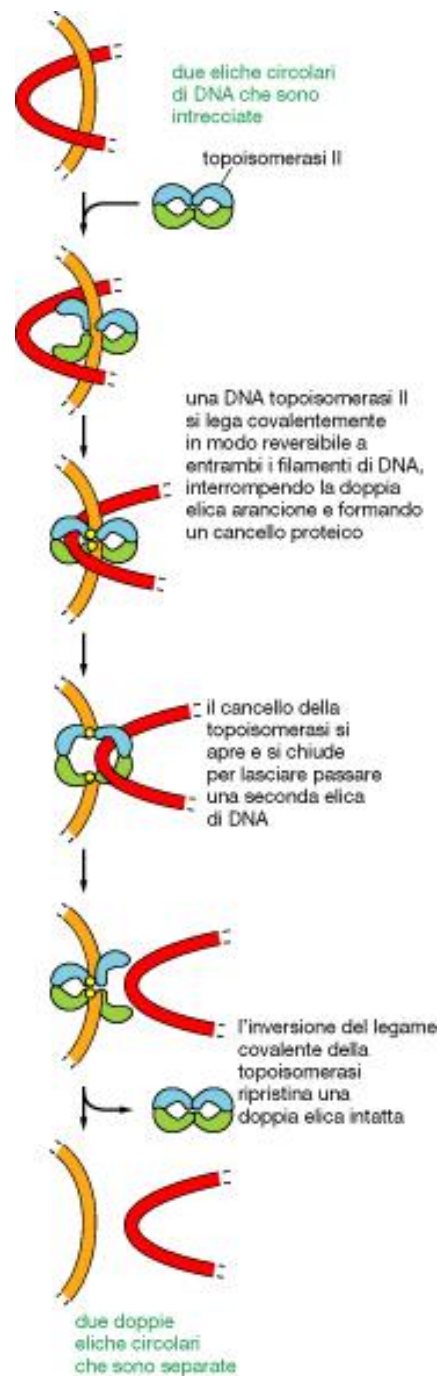
LA TIPO I TAGLIA UNO DEI DUE
FILAMENTI E GLI CONSENTE DI
RUOTARE INTORNO ALL' ALTRO

LA TIPO II TAGLIA ENTRAMBI I
FILAMENTI E LI RIUNISCE DOPO
LA ROTAZIONE

LA REAZIONE DELLA TOPOISOMERASI I



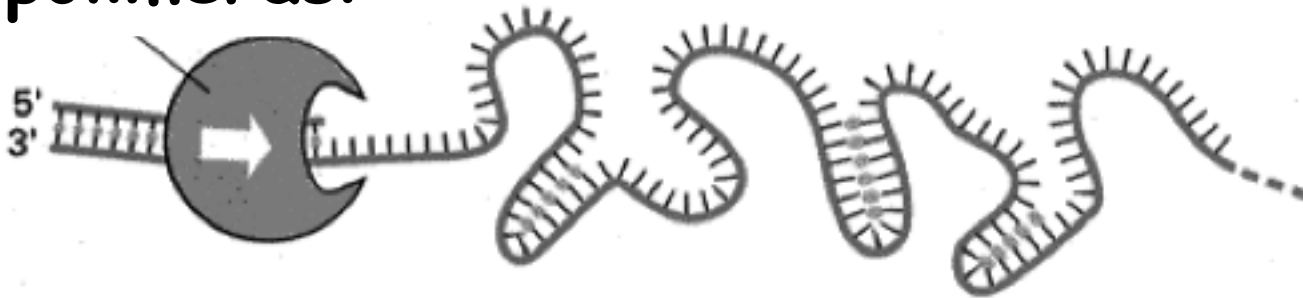
LA REAZIONE DELLA TOPOISOMERASI II



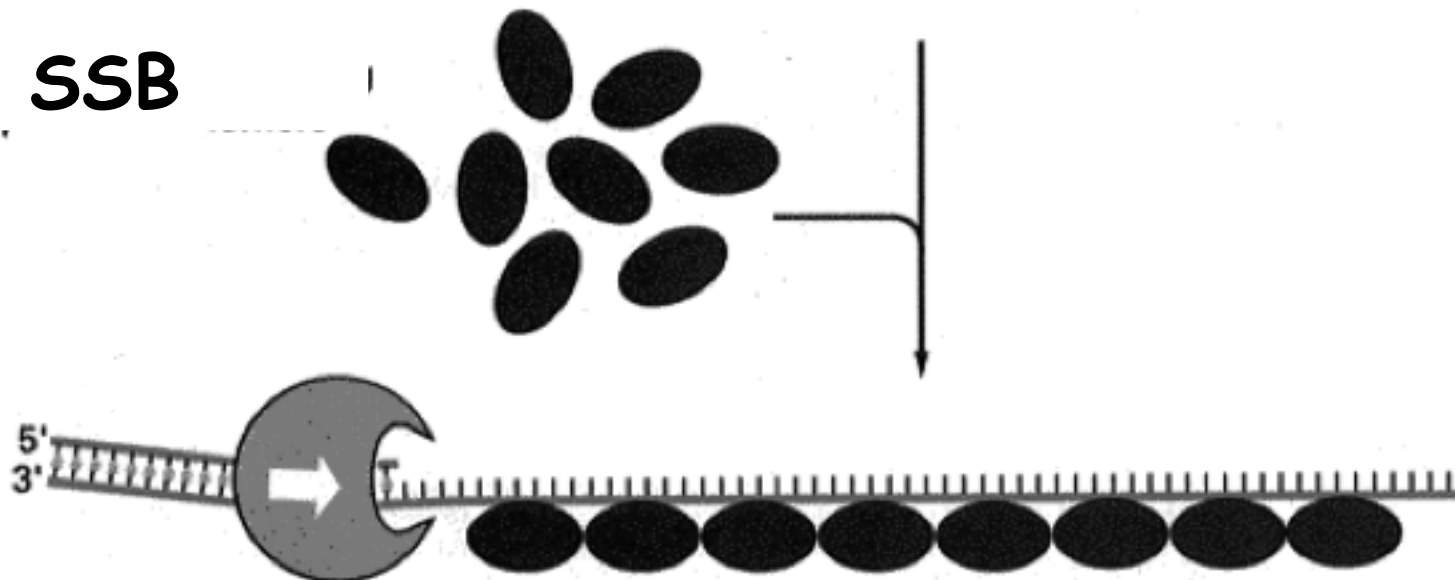
COME VIENE IMPEDITO CHE LE
DUE ELICHE SI RIPIEGHINO
SU SE STESSA?

IL LEGAME AL DNA DELLE PROTEINE SSB E' COOPERATIVO.

polimerasi

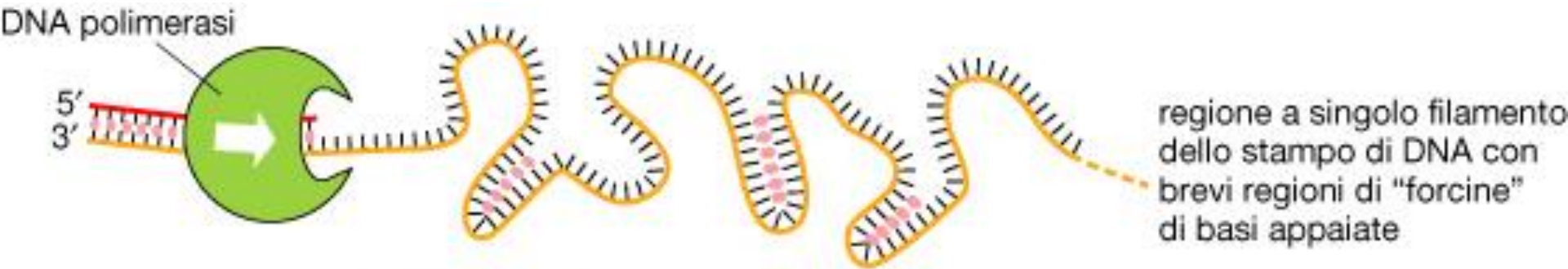


SSB

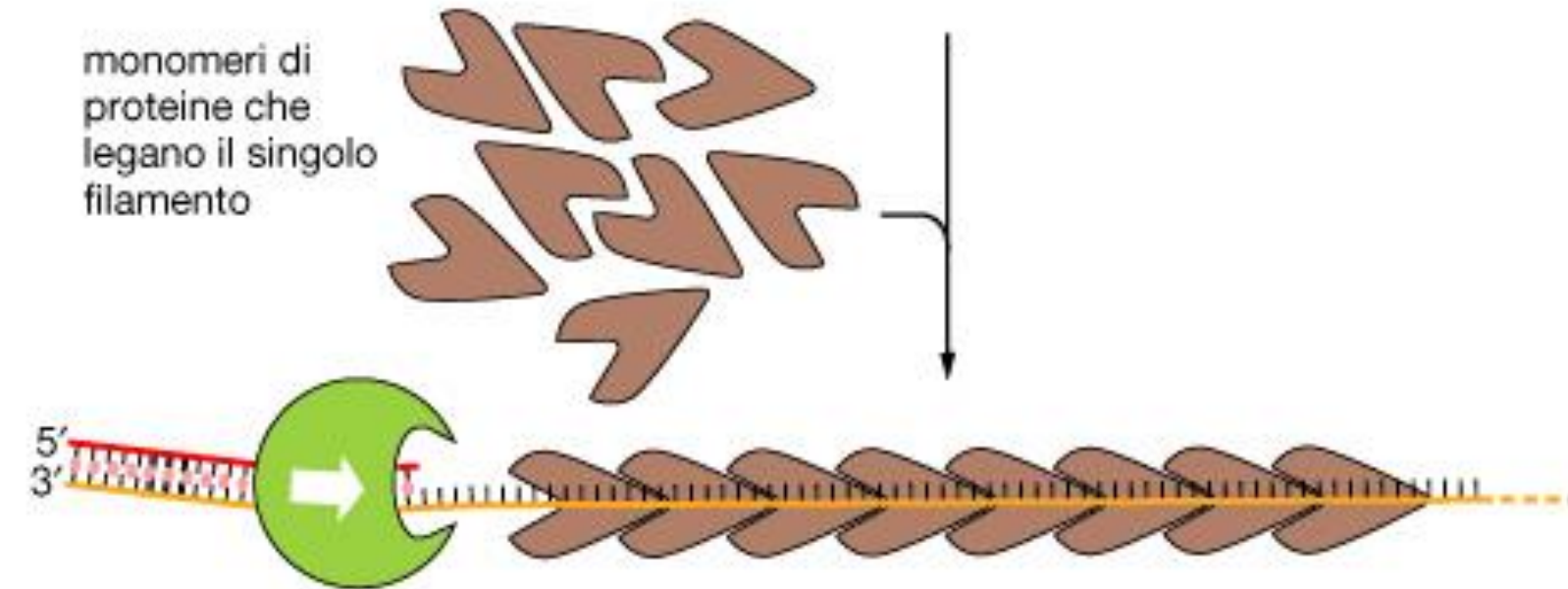


IL LEGAME AL DNA DELLE PROTEINE SSB E' COOPERATIVO.

DNA polimerasi



monomeri di proteine che legano il singolo filamento



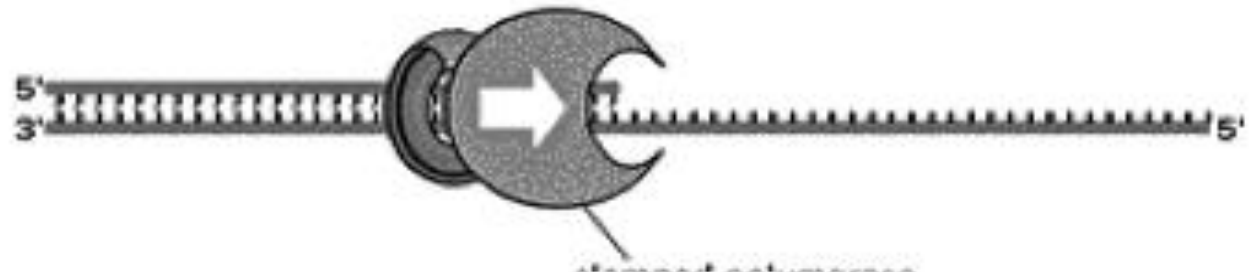
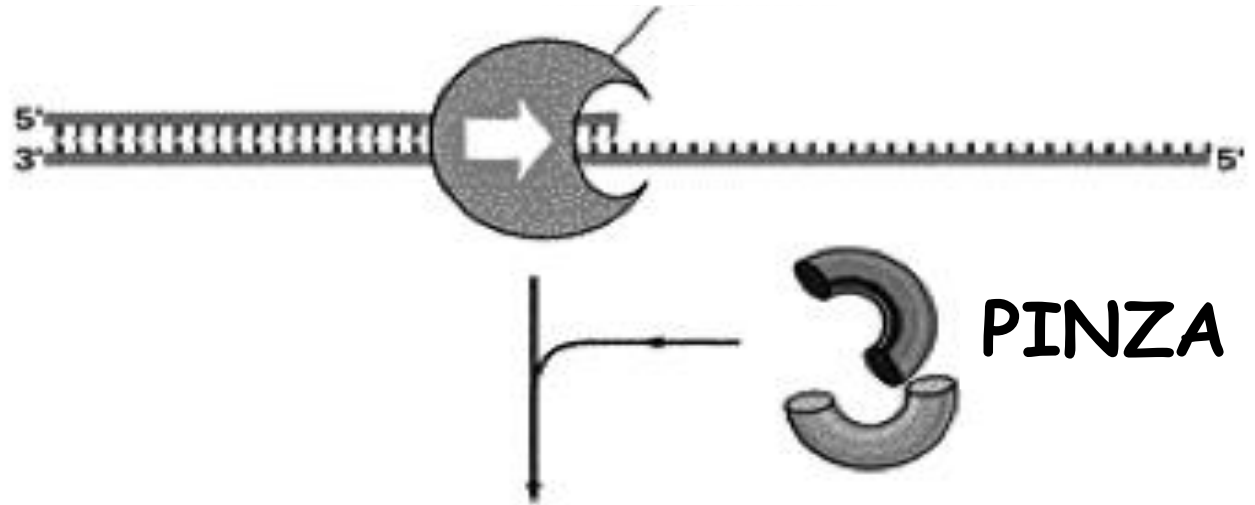
il legame cooperativo delle proteine raddrizza la regione della catena

LA DNA POLIMERASI TENDE
A STACCARSI DAL DNA.

COME VIENE IMPEDITO CHE
CIO' AVVENGA?

DNA POLIMERASI

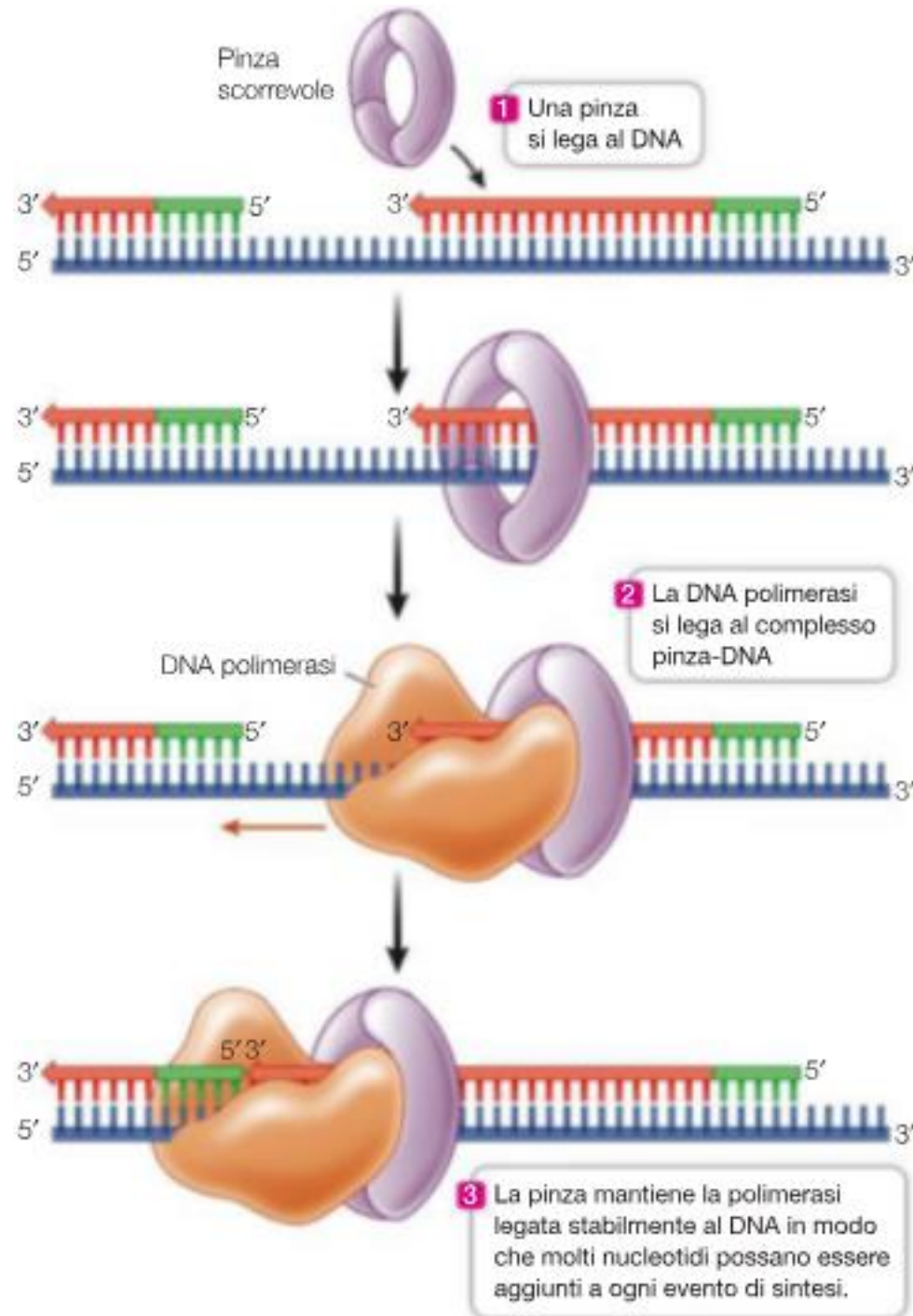
PCNA
RFC



(B)

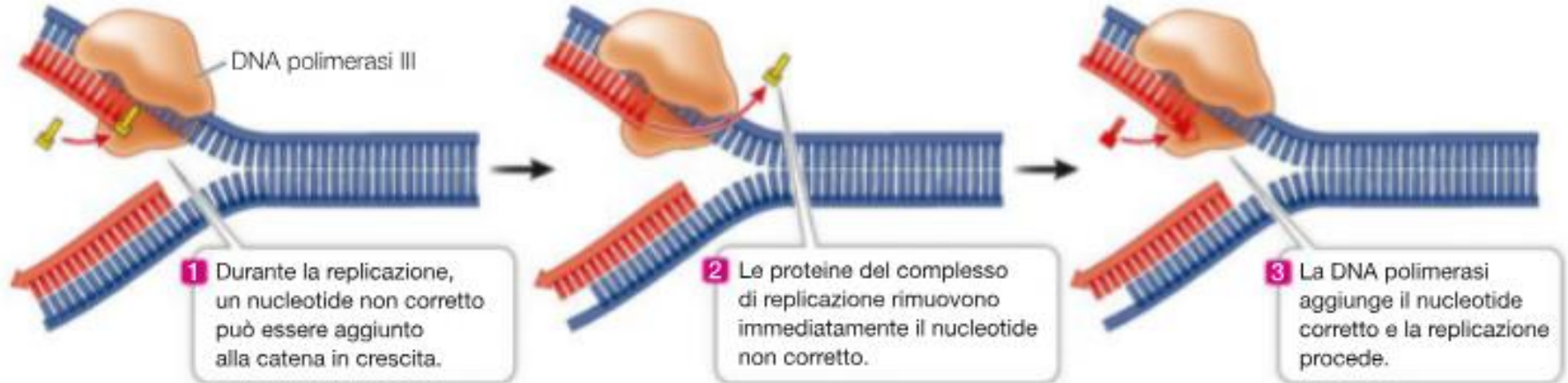
DNA POLIMERASI
BLOCCATA

LA PINZA SCORREVOLE

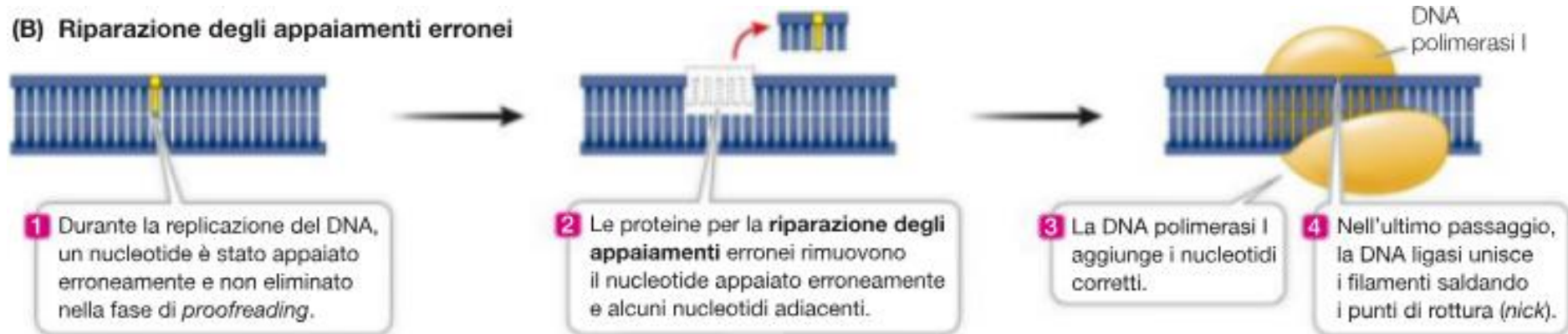


ERRORI NEL DNA POSSONO ESSERE CORRETTI

(A) Correzione di bozze



(B) Riparazione degli appaiamenti erranei



ERRORI NEL DNA POSSONO ESSERE CORRETTI

(C) Riparazione per escissione

