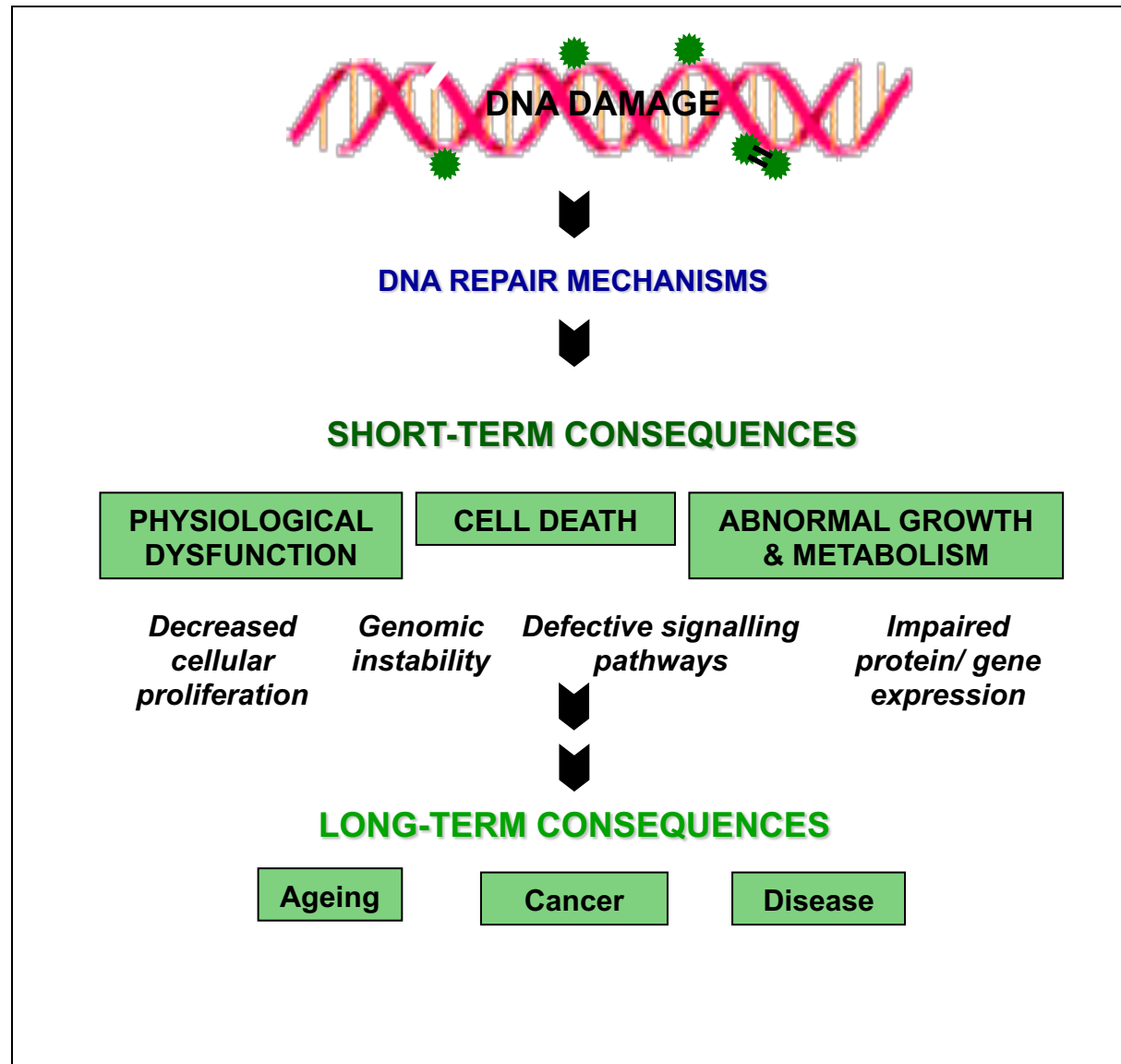


# Meccanismi di riparo del DNA

# Meccanismi di danno e riparo del DNA

- Una sequenza di DNA può subire una modificazione quando vengono copiati errori introdotti dalla DNA polimerasi durante la replicazione o da agenti ambientali quali mutageni chimici o radiazioni:
- **Variazioni della sequenza del DNA causano mutazioni nei nostri genomi**
- Se non vengono corretti, questi cambiamenti possono interferire con le funzioni della cellula
- I danni al DNA possono essere riparati da diversi meccanismi
- I sistemi di riparazione procariotici ed eucariotici sono analoghi

# Consequences of DNA damage



# COSA CAUSA il DANNO AL DNA?

## Eventi spontanee:

### **Duplicazione.**

3 miliardi di coppie di basi devono essere replicate ad ogni divisione cellulare, in un periodo di 2-3 ore.

**Con una velocità di circa 100.000 bp/sec.**

Avvengono casualmente degli errori

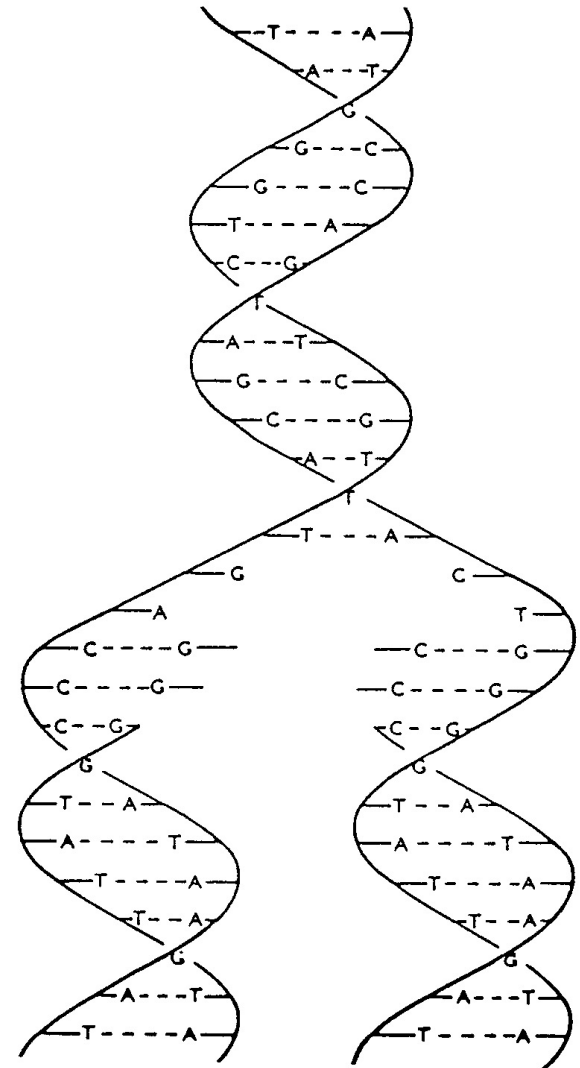
### **Ricombinazione.**

Processo fondamentale per generare “diversità biologica”, a causa della struttura di particolari regioni genomiche, è un'altra fonte di possibili errori.

### **Segregazione.**

Processo finale della mitosi e della meiosi.

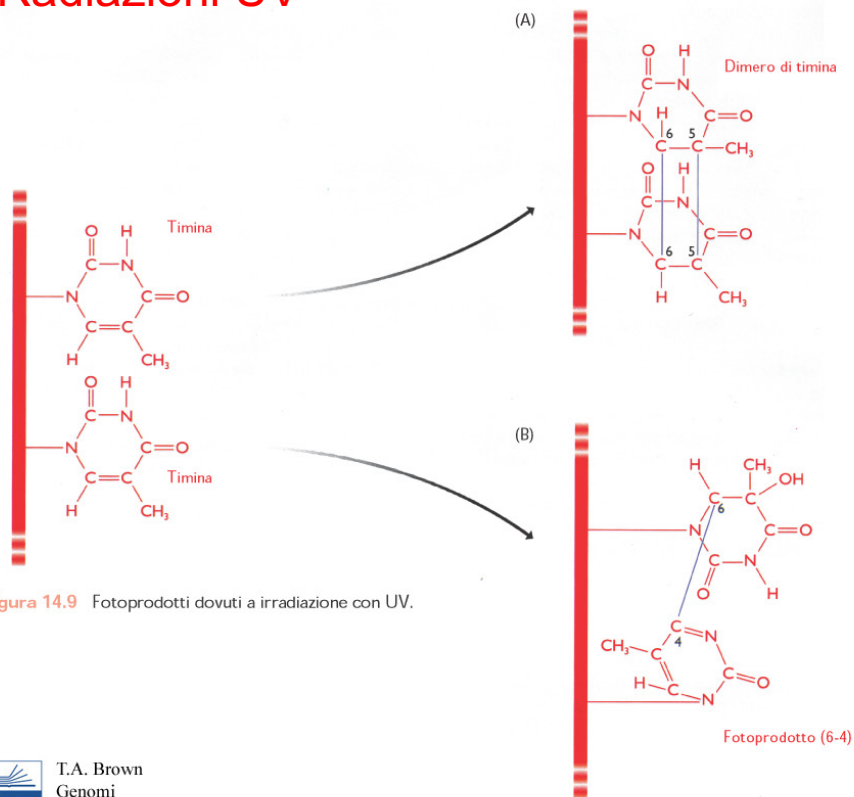
Avvengono casualmente degli errori che portano ad una errata ripartizione dei cromosomi nelle cellule figlie.



# DANNI indotti:

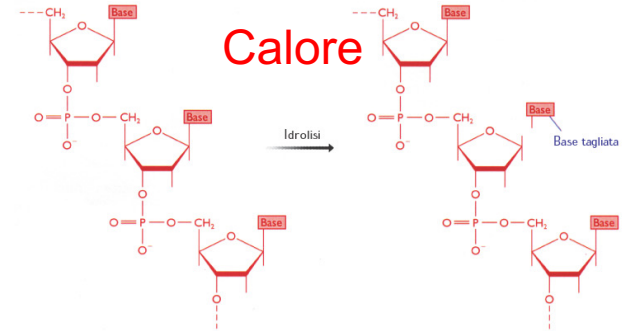
fattori esogeni (mutageni chimici, ionizzanti e irradiazione UV, calore)

## Radiazioni UV



Il risultato è generalmente una delezione.

(A) Idrolisi indotta da calore di un legame β-N-glicosidico



(B) Effetto dell'idrolisi su un DNA a doppio filamento

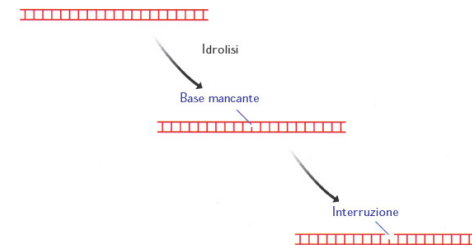


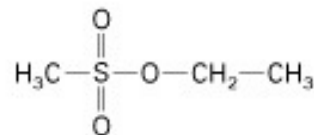
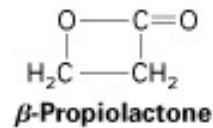
Figura 14.10 Effetto mutageno del calore.

Il calore provoca idrolisi dei legami β-N-glicosidici, creando un sito senza base. Lo zucchero-fosfato rimanenti vengono facilmente persi lasciando così un "buco".

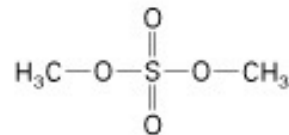
# Agenti mutageni: carcinogeni chimici che reagiscono con il DNA direttamente o dopo attivazione

- Analoghi delle basi
- Agenti modificatori delle basi
- Agenti intercalanti

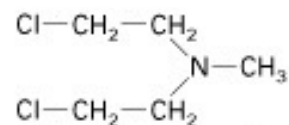
## DIRECT-ACTING CARCINOGENS



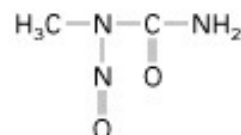
Ethylmethane sulfonate (EMS)



Dimethyl sulfate (DMS)



Nitrogen mustard

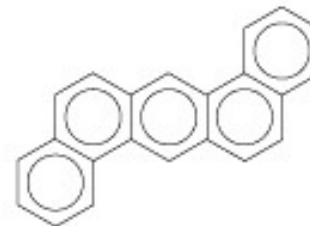


Methyl nitrosourea (MNU)

## INDIRECT-ACTING CARCINOGENS



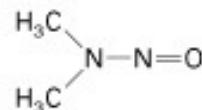
Benzo(a)pyrene  
(3,4-benzopyrene)



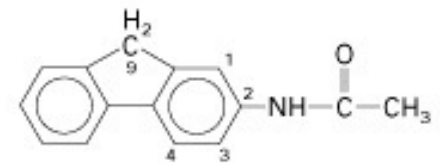
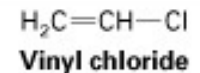
Dibenz(a,h)anthracene



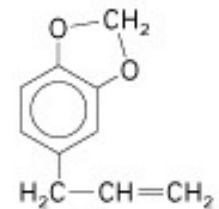
2-Naphthylamine



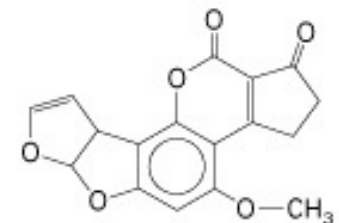
Dimethylnitrosamine



2-Acetylaminofluorene



Safrole  
(sassafras)



Aflatoxin B<sub>1</sub>  
(*Aspergillus flavus*)

# Tipi di danno al DNA

**BASE SINGOLA** - Viene modificata la sequenza del DNA (conversione), ma non la sua struttura

Il danno si manifesta nelle generazioni future.

Es. Deaminazione citosina -> mismatch U:G

Errore durante la replicazione -> mismatch A:G

**DISTORSIONI STRUTTURALI** - Causano un impedimento fisico alla replicazione o alla trascrizione

Il danno è causato dalla formazione di legami covalenti tra basi adiacenti.

Es. radiazioni UV -> dimero di pirimidine (T-T)

Inserimento di gr. metile -> distorsione del DNA

Rottura (nick) della singola elica -> sintesi di DNA/RNA bloccata

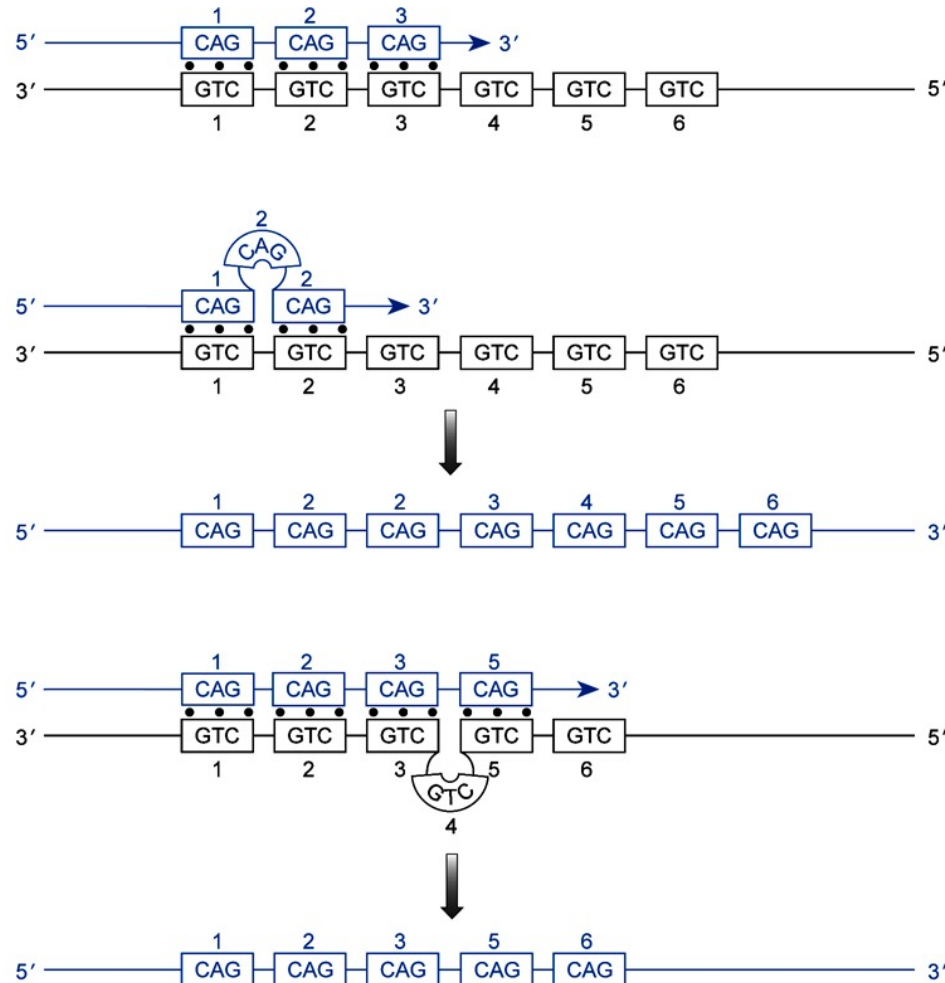
Rimozione di una base ->

“

“

## Inserzione/delezione di poche basi

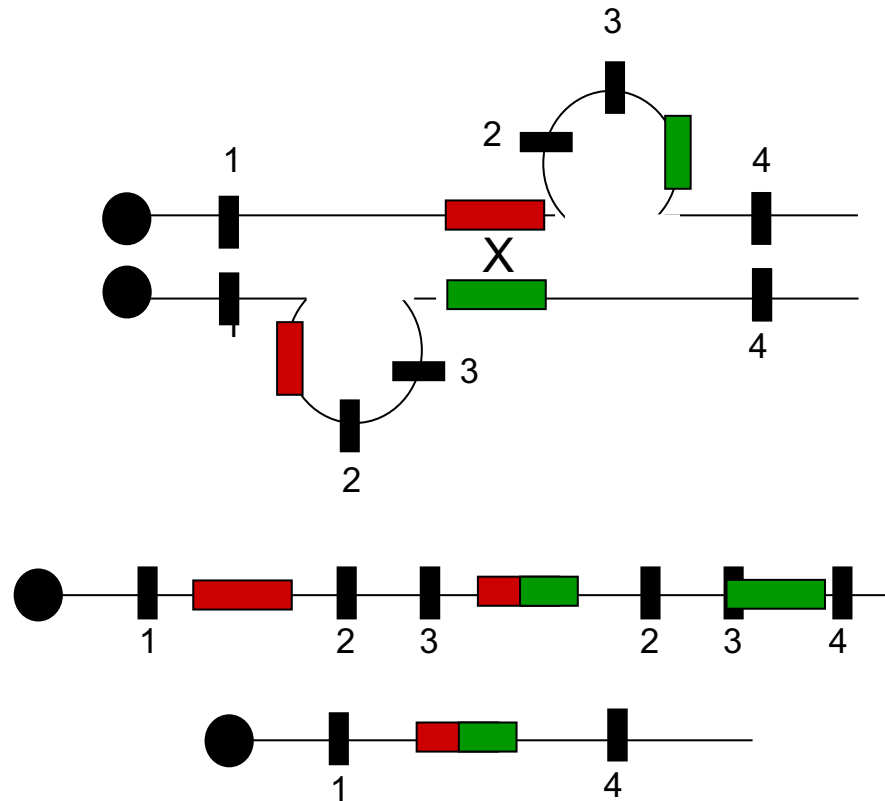
**Il fenomeno dello slittamento della forca replicativa è spesso la causa di brevi inserzioni/delezioni**





## Inserzione/delezione di grandi regioni

Inserzioni/delezioni estese sono causate da **ricombinazione omologa ineguale** (sequenze omologhe non alleliche) o **ricombinazione non omologa** (sequenze non omologhe o solo parzialmente omologhe, intersperse nel genoma).



**Tabella 13.2****Anomalie cromosomiche**

<b>Tipo di anomalia</b>	<b>Definizione</b>
Poliploidia	Set di cromosomi extra
Aneuploidia	Un cromosoma in più o in meno
Monosomia	Un cromosoma assente
Trisomia	Un cromosoma in più
Delezione	Parte di un cromosoma mancante
Duplicazione	Parte di un cromosoma presente in duplice copia
Traslocazione	Scambio di tratti (regioni) tra due cromosomi
Inversione	Un cromosoma con un segmento invertito
Isocromosoma	Un cromosoma con due bracci identici
Cromosoma ad anello	Un cromosoma che forma un anello dovuto alla delezione dei telomeri che permettono l'adesione delle due estremità

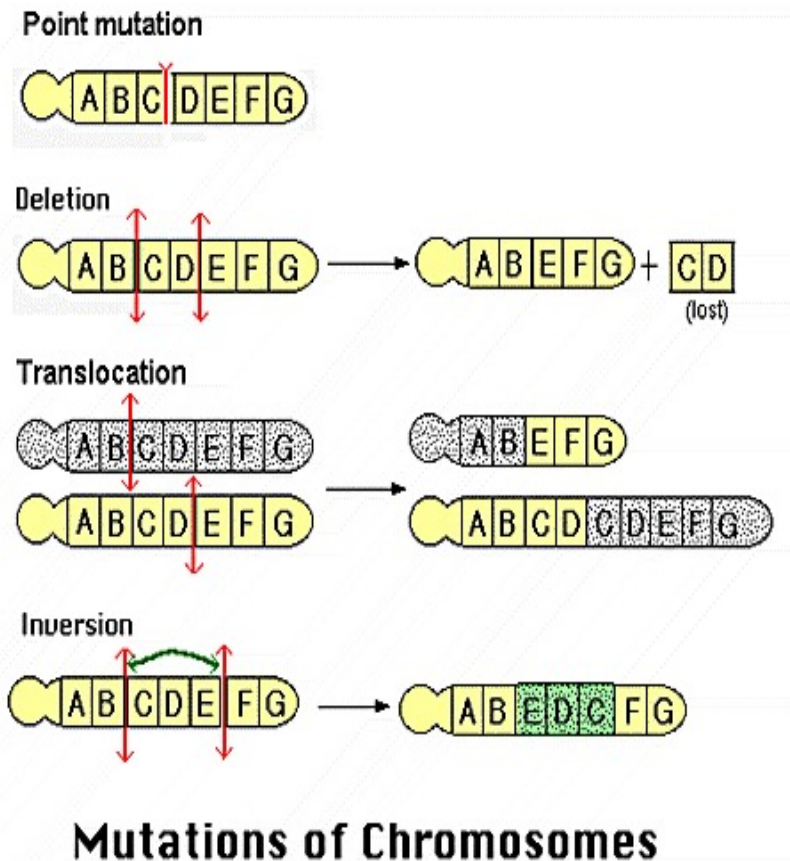
# Alterazioni cromosomiche

## Numeriche

- trisomie
- monosomie
- triploidie
- tetraploidie

## Strutturali

- traslocazioni
- inversioni
- delezioni
- duplicazioni



## Monosomie e trisomie

46, XX                    cariotipo normale femminile

46, XY                    cariotipo normale maschile

Anomalie di numero    45, X  
                                  47, XX +21  
                                  47, XXX

Le uniche trisomie compatibili con uno sviluppo completo sono quelle a carico dei cromosomi 13, 18 e 21

<b>Tabella 13.4</b>		<b>Confronti e differenze tra le trisomie 13, 18, e 21</b>
<b>Tipo di trisomia</b>	<b>Incidenza alla nascita</b>	<b>Percentuale di concepimenti che sopravvivono un anno dopo la nascita</b>
13 (Patau)	1/12.500–1/21.700	<5%
18 (Edward)	1/6000–1/10.000	<5%
21 (Down)	1/800–1/826	85%

# ANOMALIE CROMOSOMICHE DI STRUTTURA

**necessitano di rotture dei cromosomi**

**una rottura su un cromosoma**

**delezione terminale  
inversione paracentrica**

**due rotture su un cromosoma**

**delezione interstiziale  
inversione para- o pericentrica  
cromosoma ad anello**

**due rotture su cromosomi diversi**

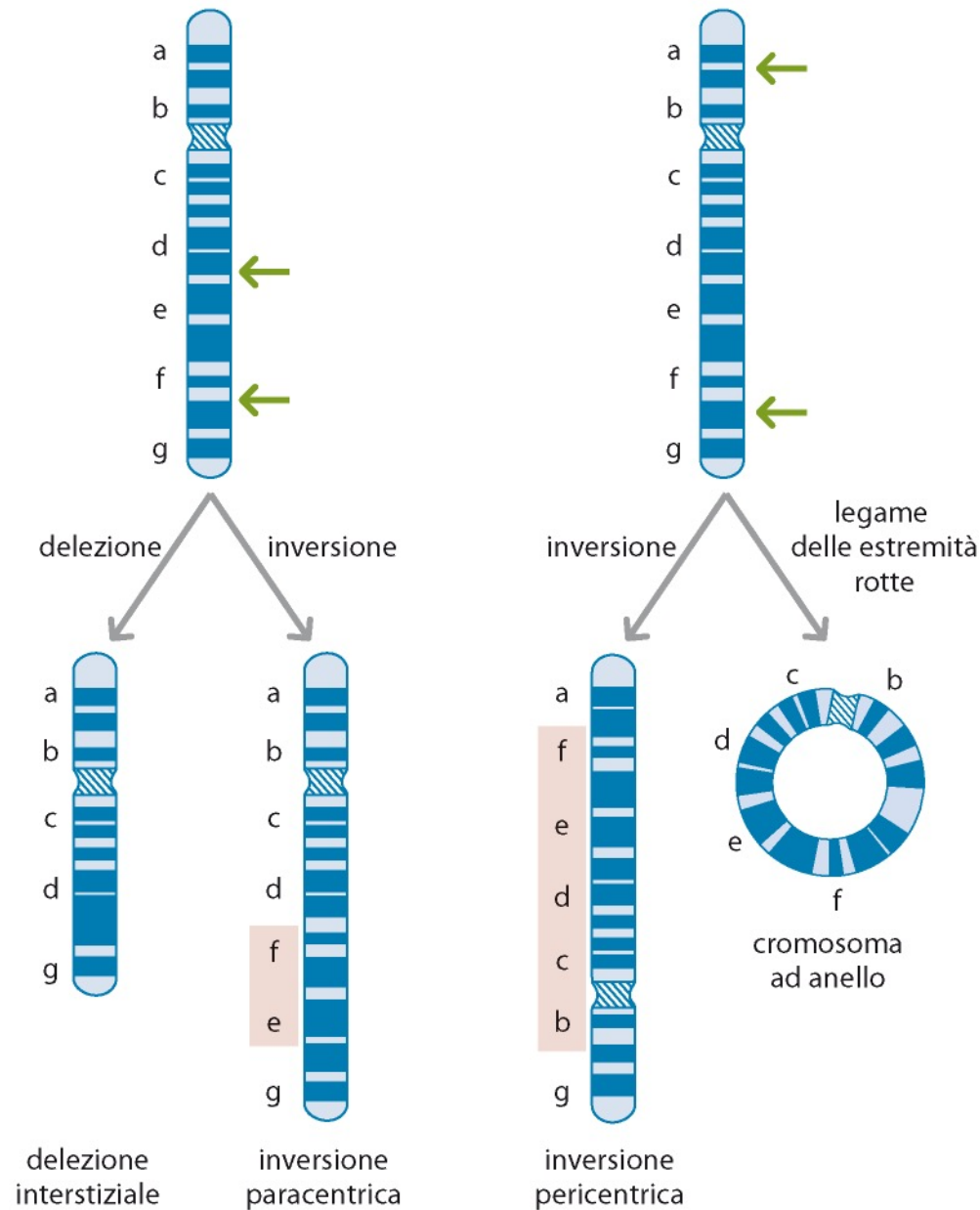
**traslocazione reciproca  
traslocazione centrica**

**tre rotture di cui 2 almeno  
sullo stesso cromosoma**

**traslocazione con inserzione**

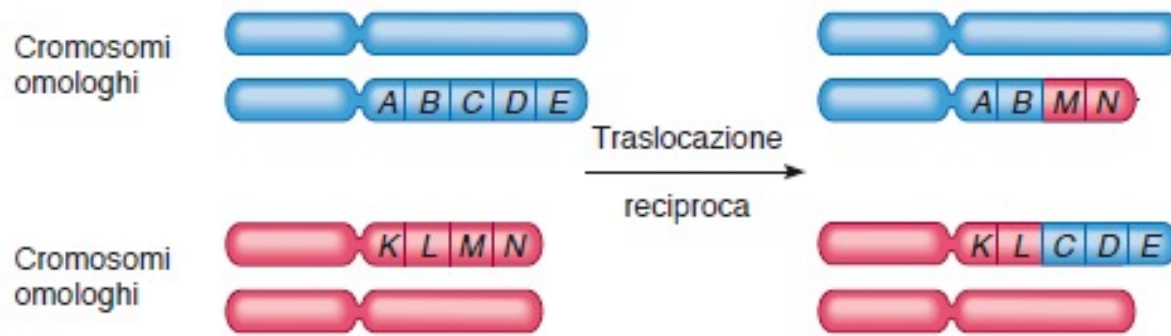
(A) due rotture nello stesso braccio

(B) due rotture in bracci diversi

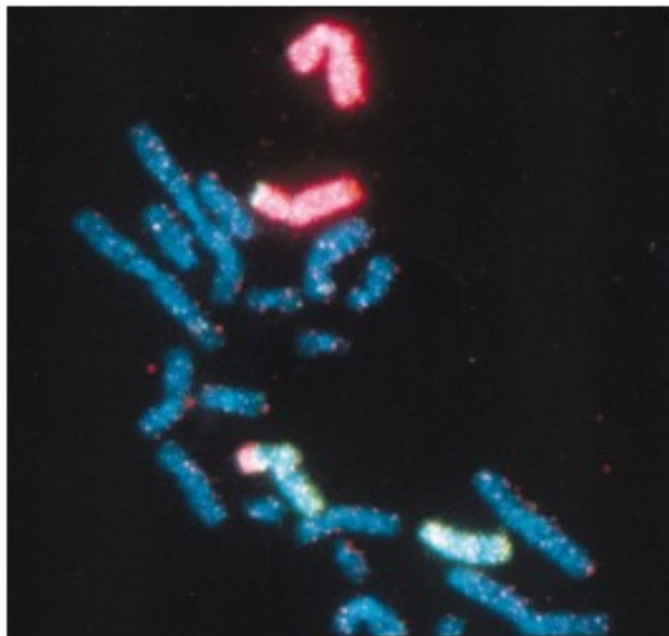


Due rotture sullo stesso cromosoma possono originare cromosomi con:

- ✓ Delezione interstiziale o doppia terminale
- ✓ Inversione (paracentrica o pericentrica)
- ✓ Ad anello



a.





# Alcuni dei più comuni danni al DNA

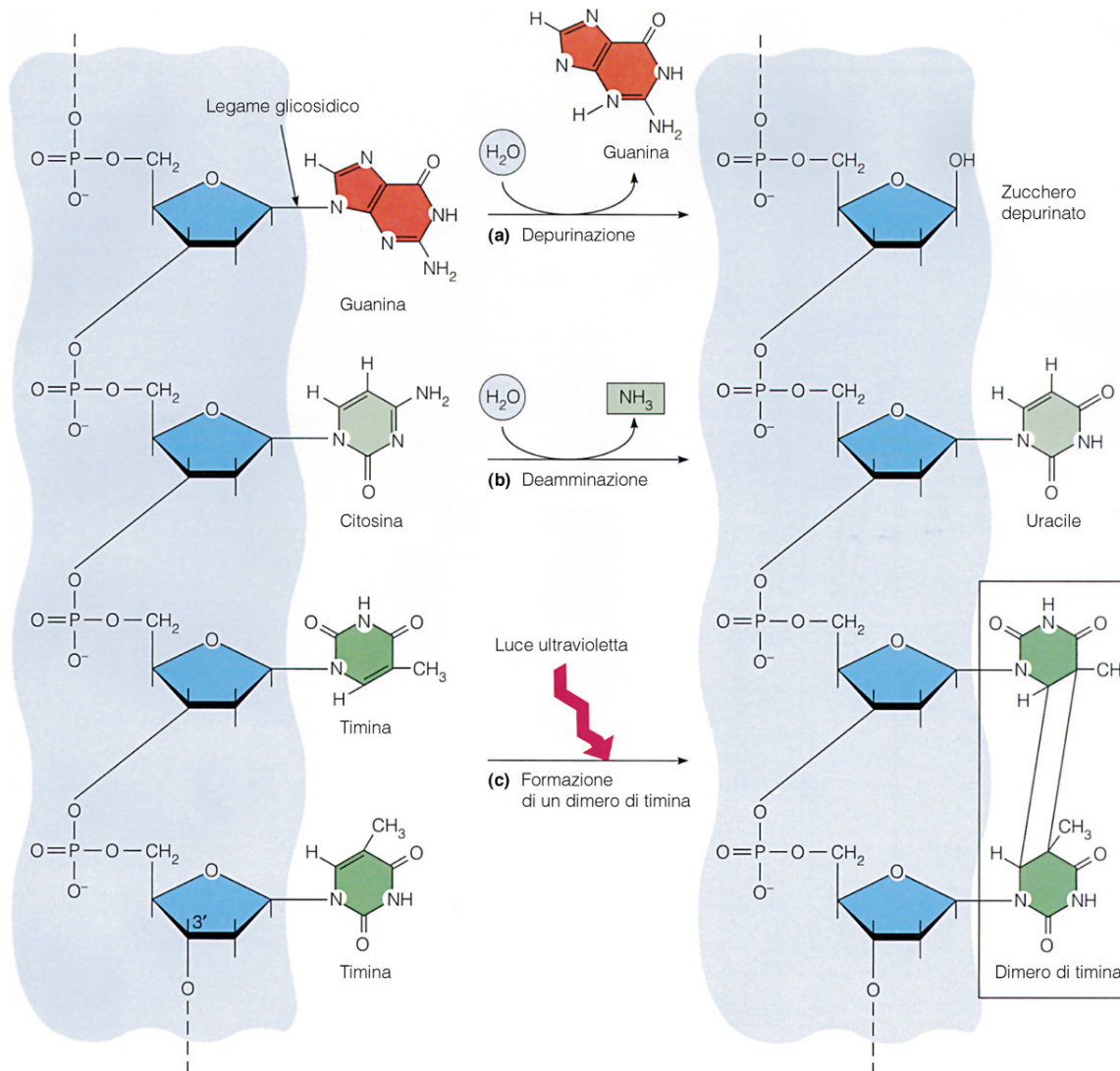
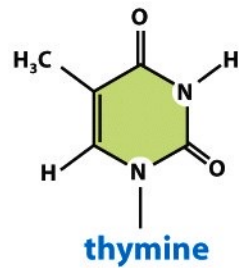
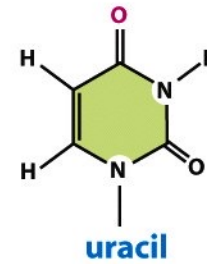
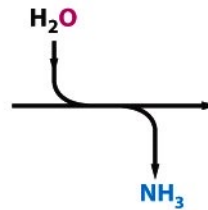
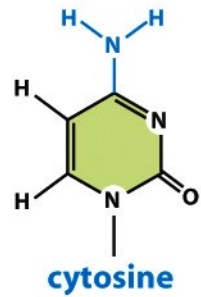
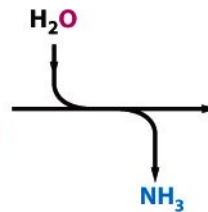
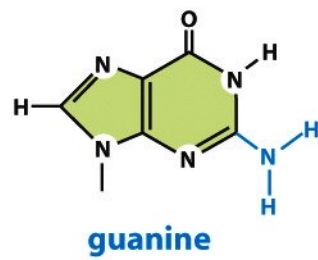
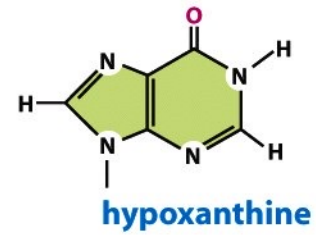
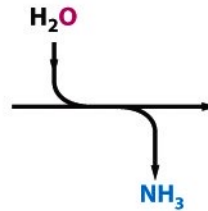
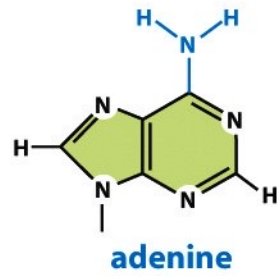


Figura 17-16

**NATURAL DNA BASES**

**UNNATURAL DNA BASES**



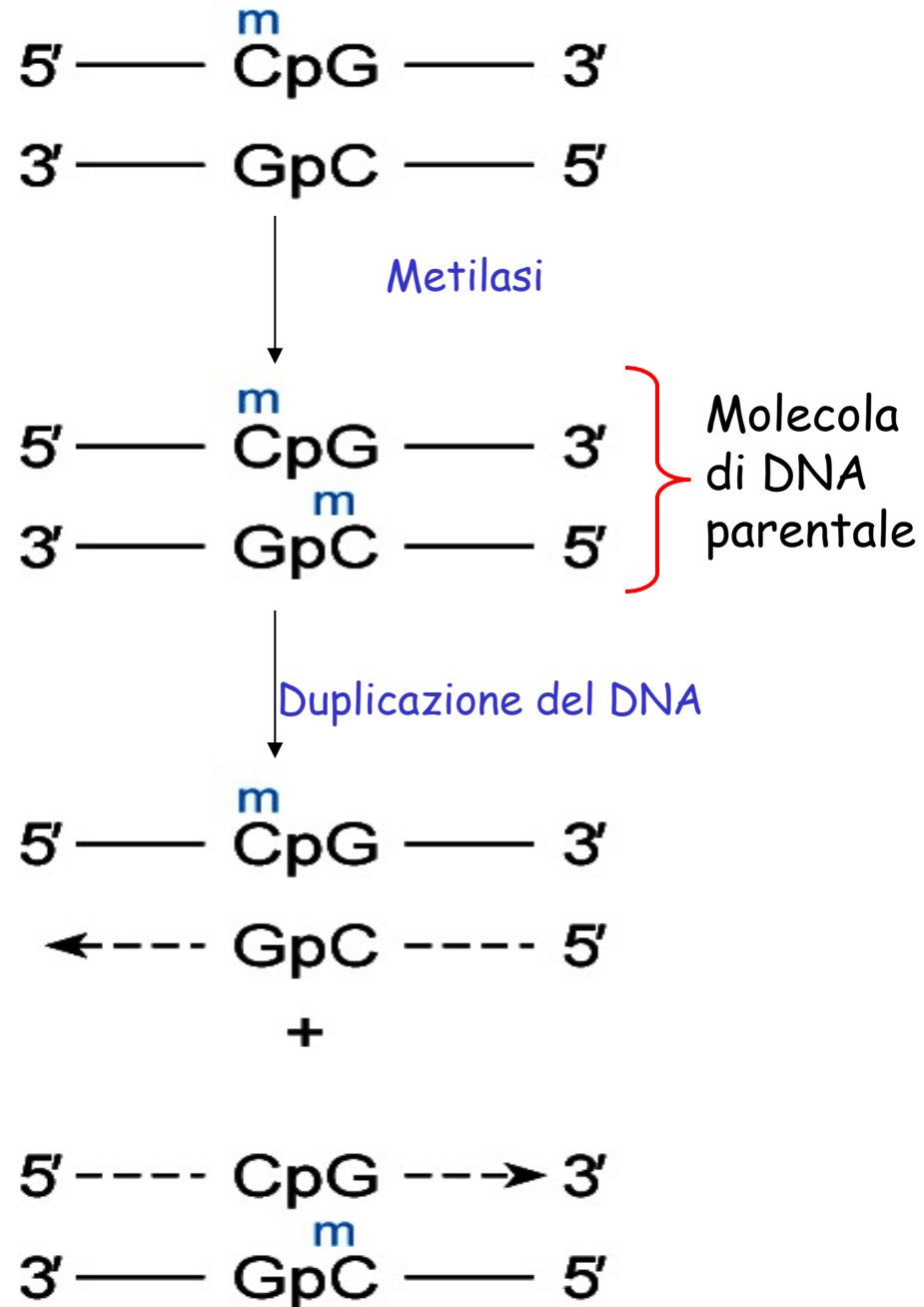
NO DEAMINATION

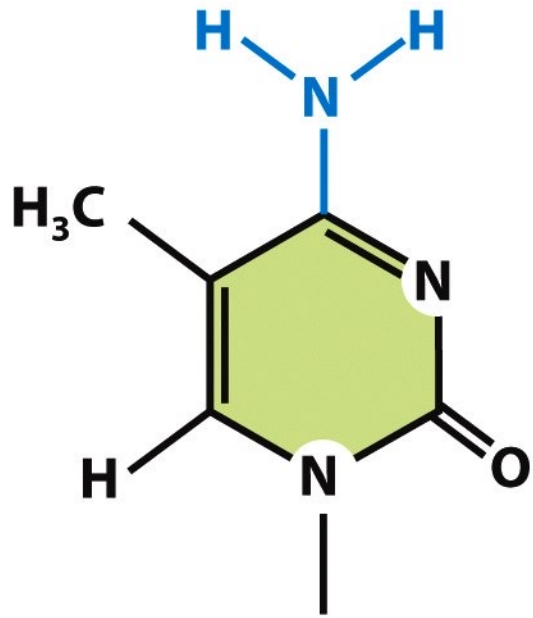
Figure 5-50a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Nel genoma dei mammiferi un certo numero di C sono metilate. In particolare C che fanno parte della sequenza CpG.

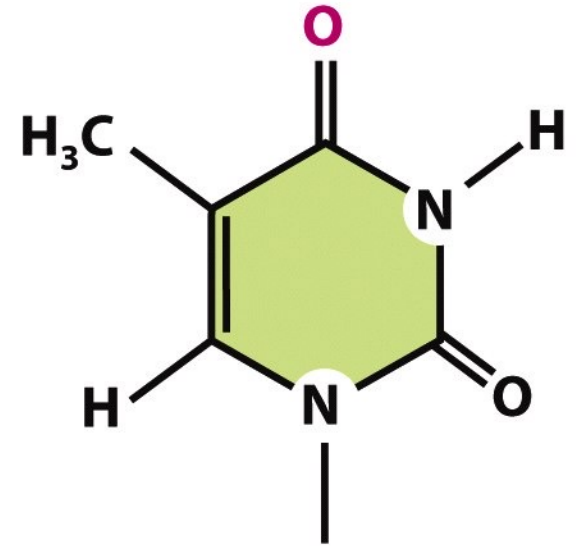
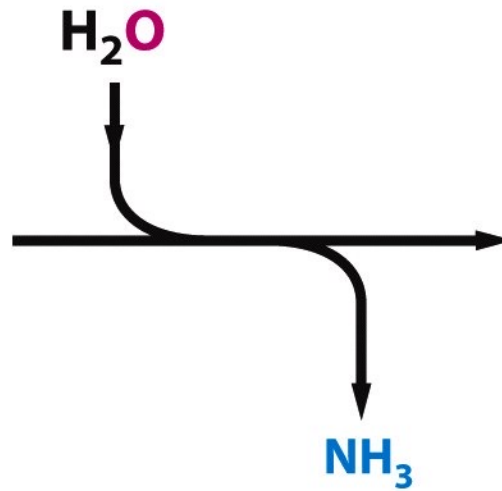
Dopo la duplicazione si ha la presenza di molecole emimetilate.

Delle specifiche metilasi (Dmt-1) riconoscono, dopo la duplicazione del DNA, le sequenze emi-metilate e quindi metilano le citosine del filamento complementare.



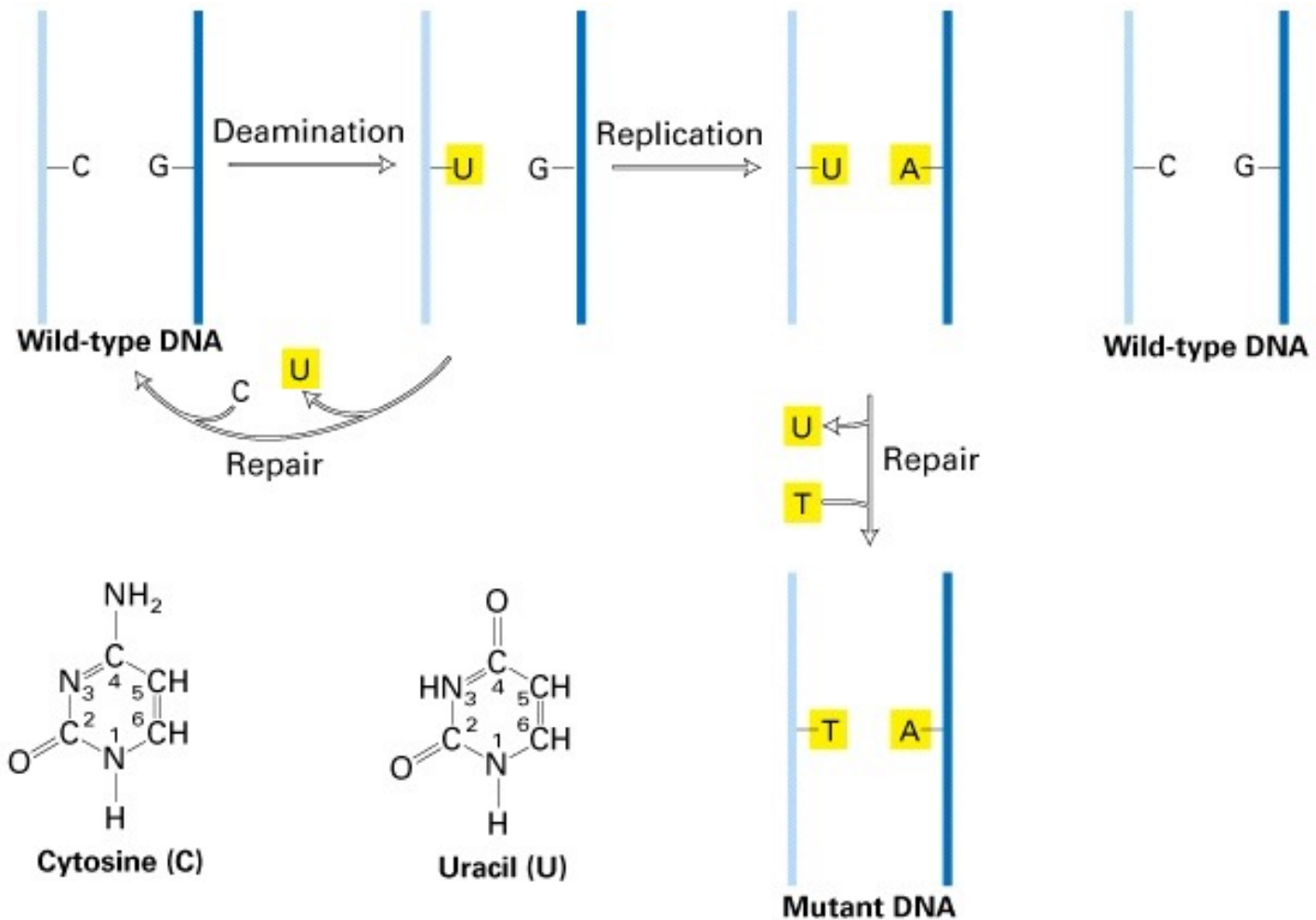


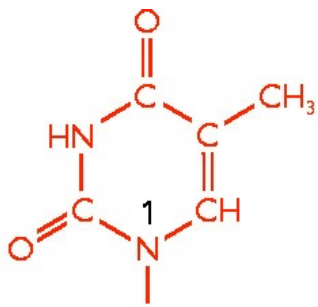
**5-methyl cytosine**



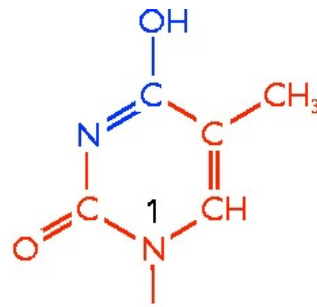
**thymine**

# La deaminazione di una base è responsabile di mutazioni puntiformi





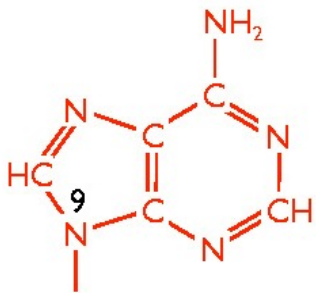
keto-thymine



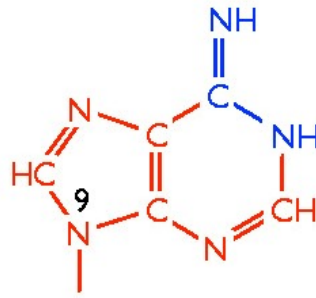
enol-thymine

• Tautomeria delle basi azotate:  
Presenza di isomeri strutturali in  
equilibrio dinamico

Si appaia con  
**G** e non con **A**

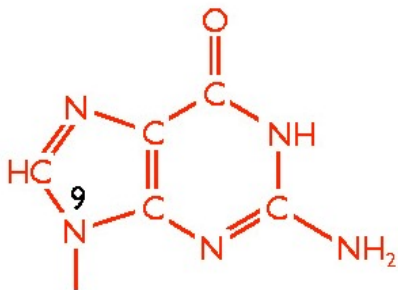


amino-adenine

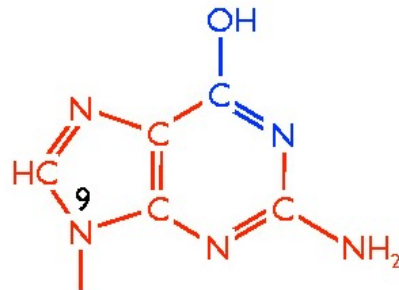


imino-adenine

Si appaia con **C** e  
non con **T**



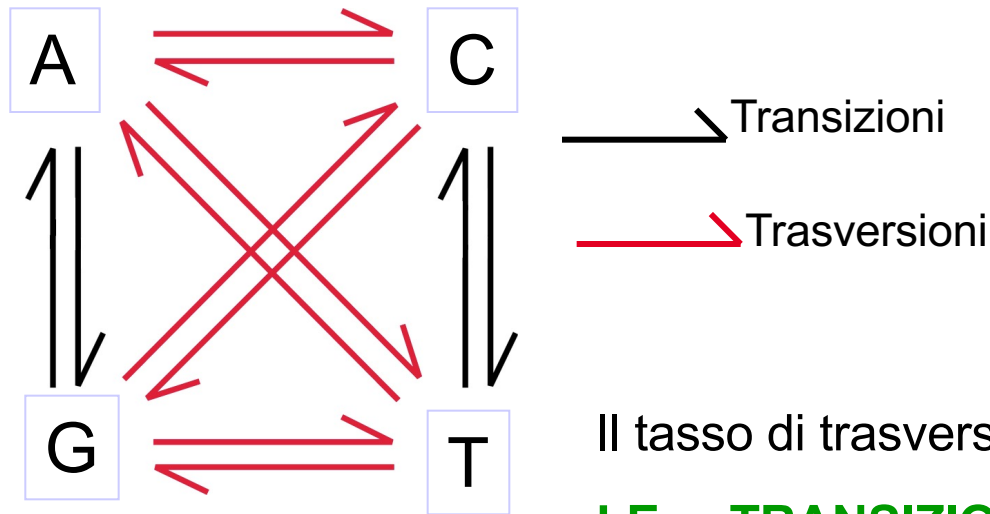
keto-guanine



enol-guanine

Si appaia con **T** e  
non con **C**

# Sostituzioni di basi



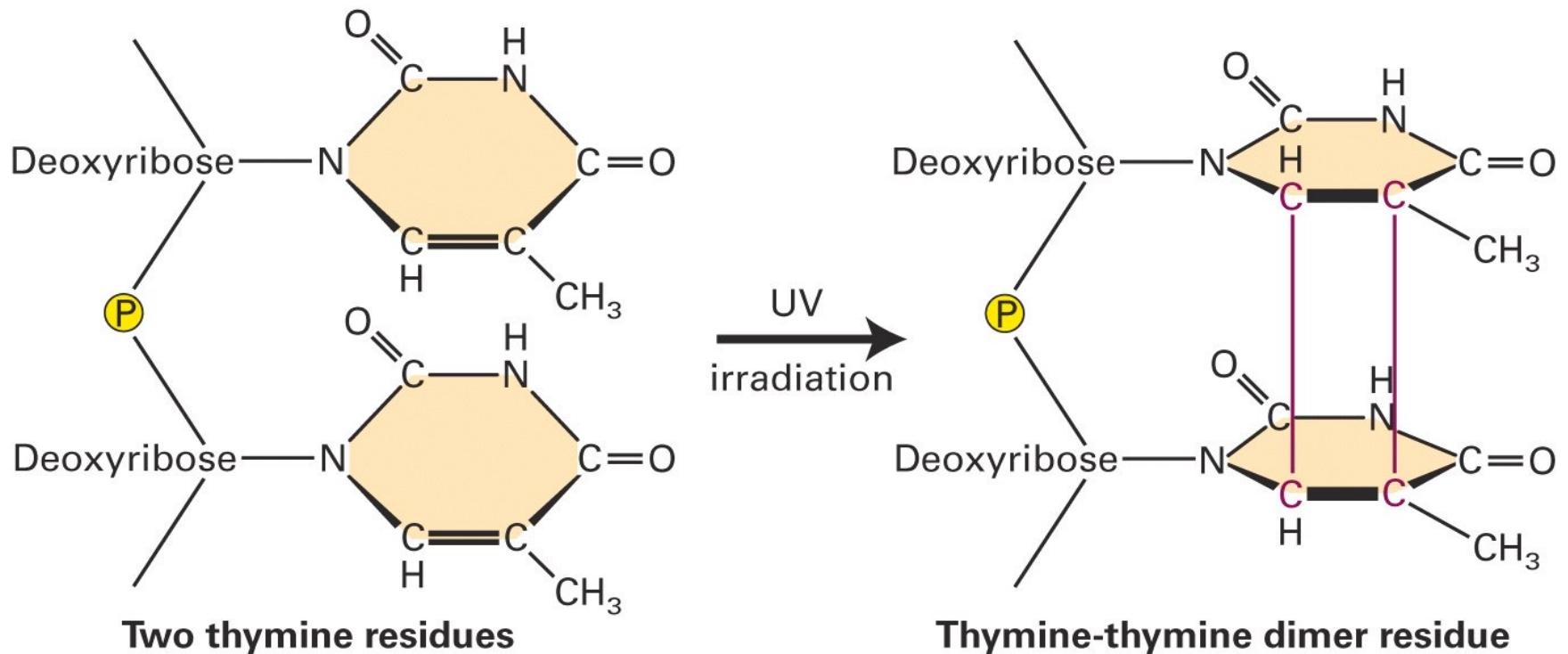
Il tasso di trasversione è minore dell'atteso

**LE TRANSIZIONI SONO MAGGIORMENTE FAVORITE RISPETTO ALLE TRASVERSIONI**

- 1) nel DNA codificante le transizioni determinano maggiore conservazione della catena polipeptidica
- 2) > frequenza della transizione C→T per l'instabilità di C presente in CpG

Le mutazioni possono essere indotte anche da vari tipi di radiazioni. La radiazione solare è una importante fonte di radiazioni ultraviolette.

## Formazione di dimeri di pirimidina





# Vari meccanismi di riparazione

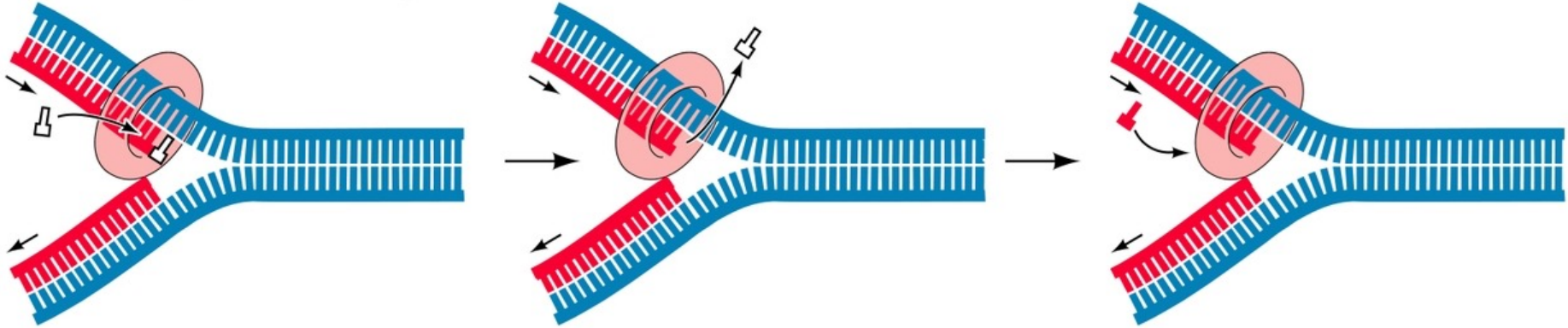
- **Aumento dell'attività proofreading**
- **I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri**
- **Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:**
  - 1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers**
  - 2. Base excision repair (BER)**
  - 3. Nucleotide excision repair (NER)**
  - 4. Mismatch excision repair**
  - 5. Double-strand break repair and recombination**

# Proofreading e Riparo del DNA

- Benché energeticamente costosi e in qualche modo ridondanti, i meccanismi di riparo sono cruciali per la sopravvivenza della cellula.
- Durante la replicazione del DNA viene commesso circa un errore ogni  $10^6$  nucleotidi aggiunti;
- questi errori vengono riparati da meccanismi diversi quali: proofreading, mismatch repair, e excision repair.
- In generale i meccanismi di riparo abbassano il tasso di errore a circa una base ogni  $10^9$ .

# Proofreading

(a) DNA proofreading



# Correzione di bozze da parte della attività esonucleasica 3'-->5'

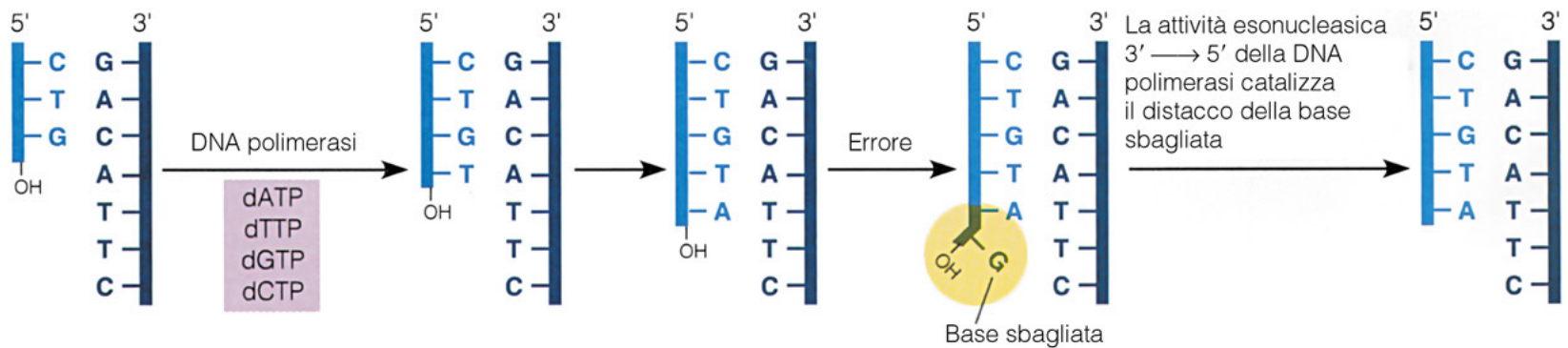
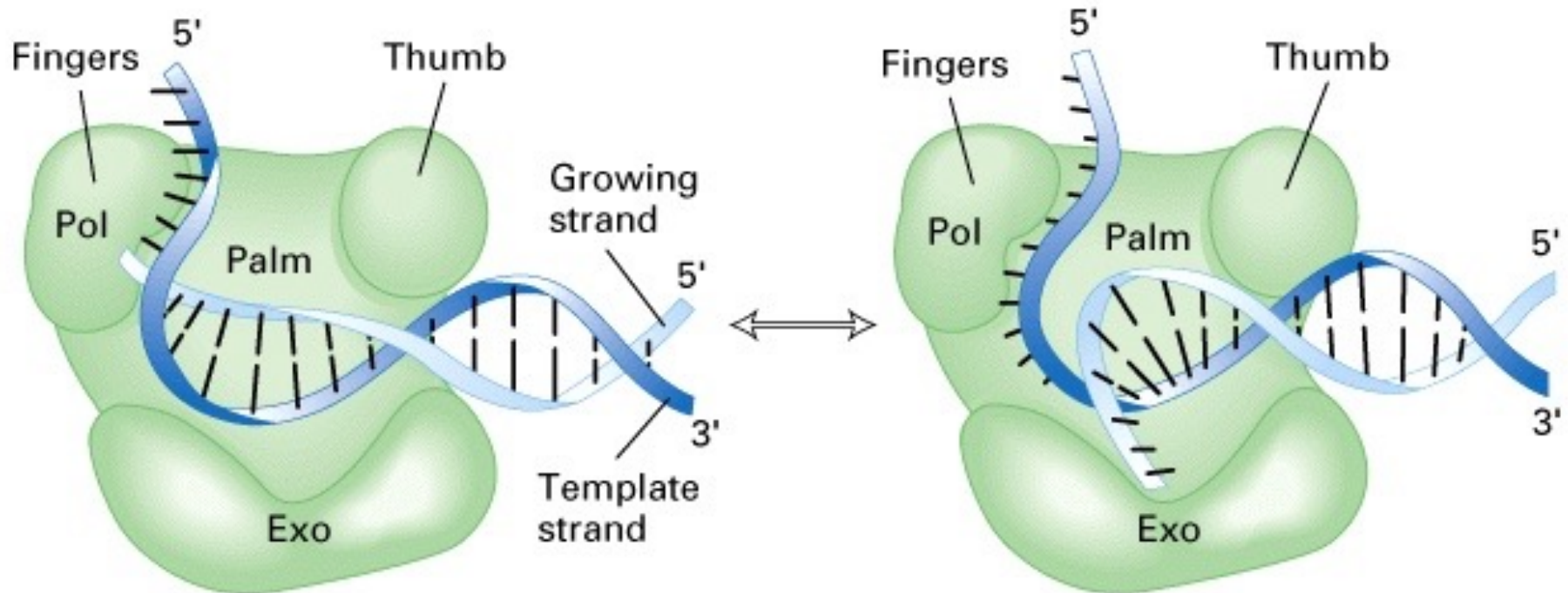


Figura 17-10

# Modello schematico dell'attività proofreading della DNA polimerasi



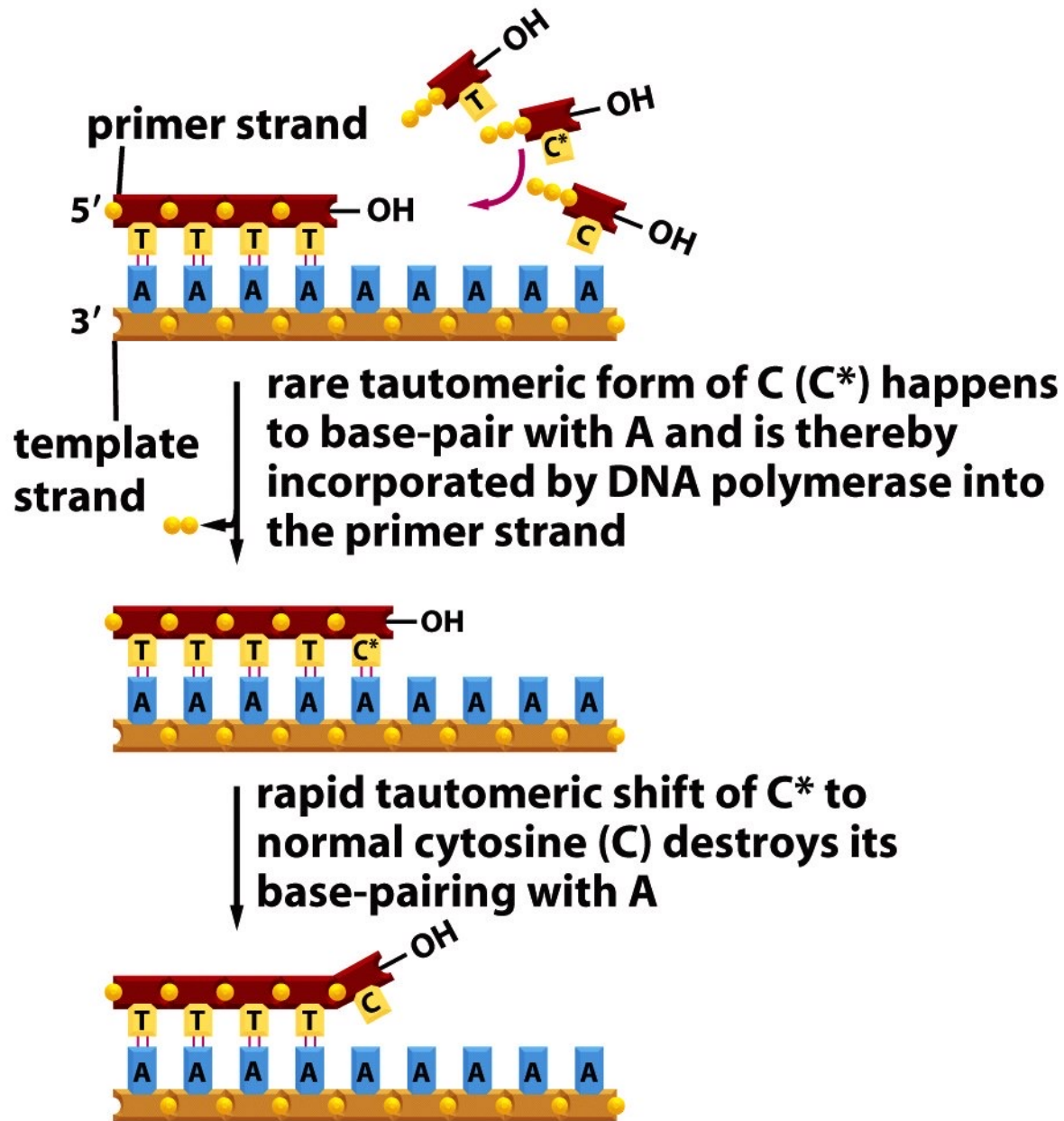


Figure 5-8 (part 1 of 2) *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

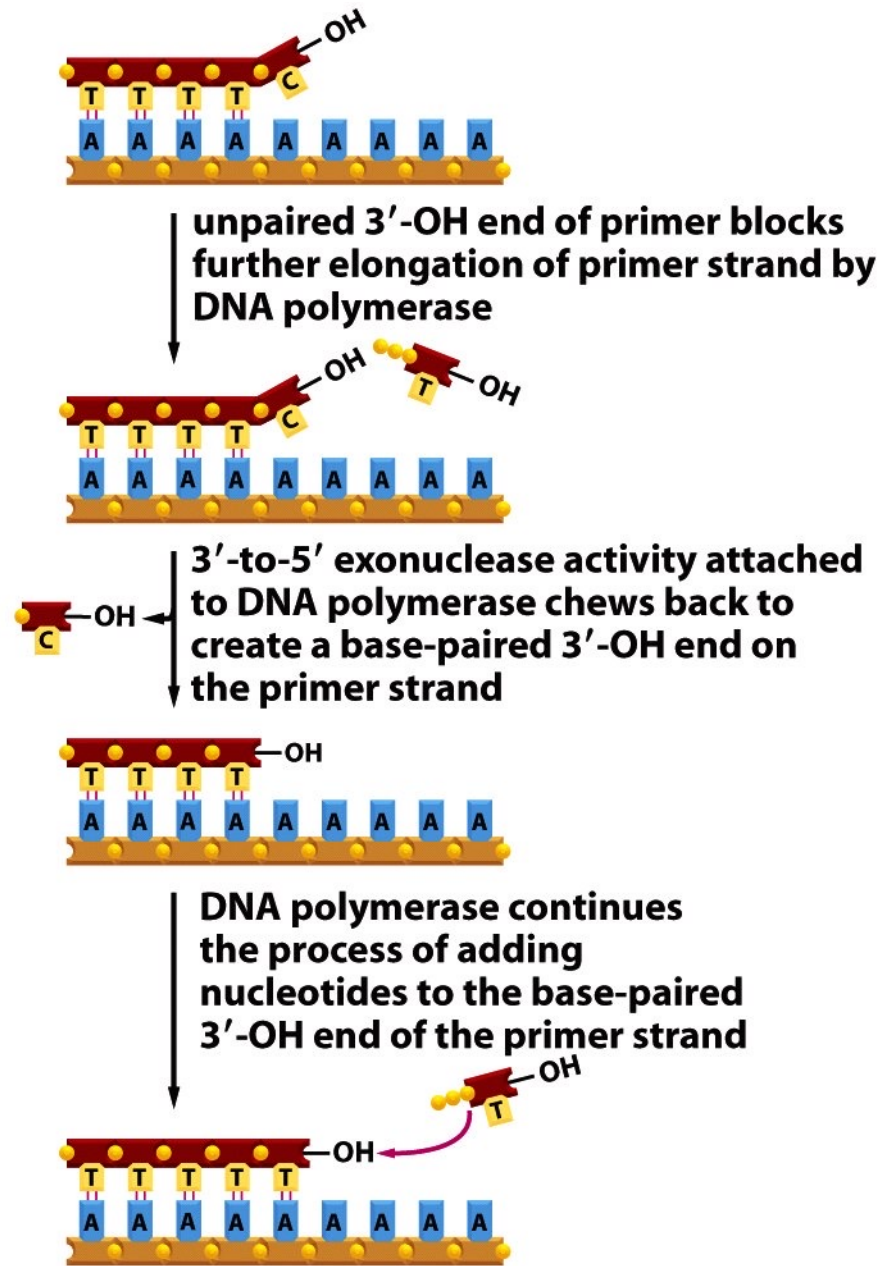


Figure 5-8 (part 2 of 2) *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

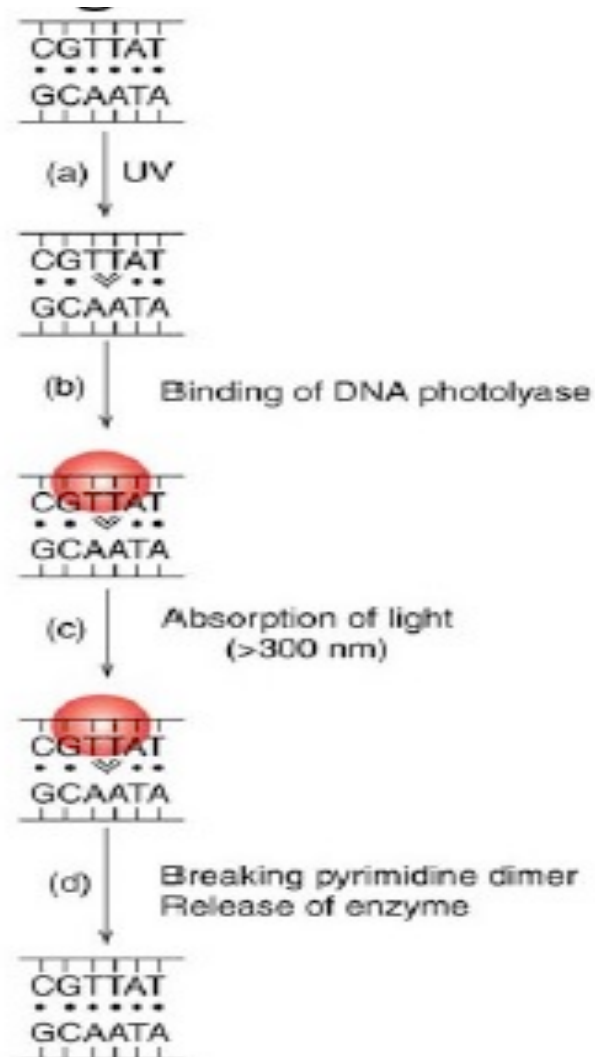
# Vari meccanismi di riparazione

- Aumento dell'attività proofreading
- I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri
- Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:
  1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers
  2. Base excision repair (BER)
  3. Nucleotide excision repair (NER)
  4. Mismatch excision repair
  5. Double-strand break repair and recombination



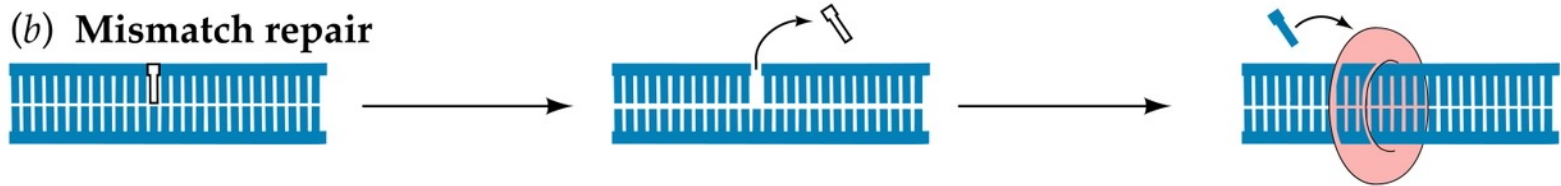
# Fotoriattivazione (DNA fotoliasi)

## CPD photolyases

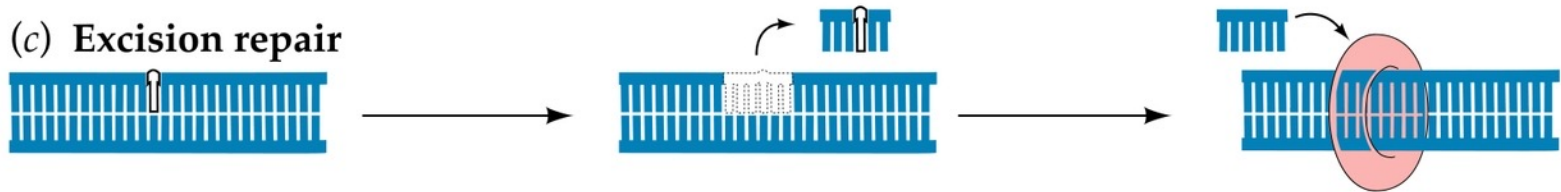


# Meccanismi di riparo postreplicativi

(b) Mismatch repair



(c) Excision repair

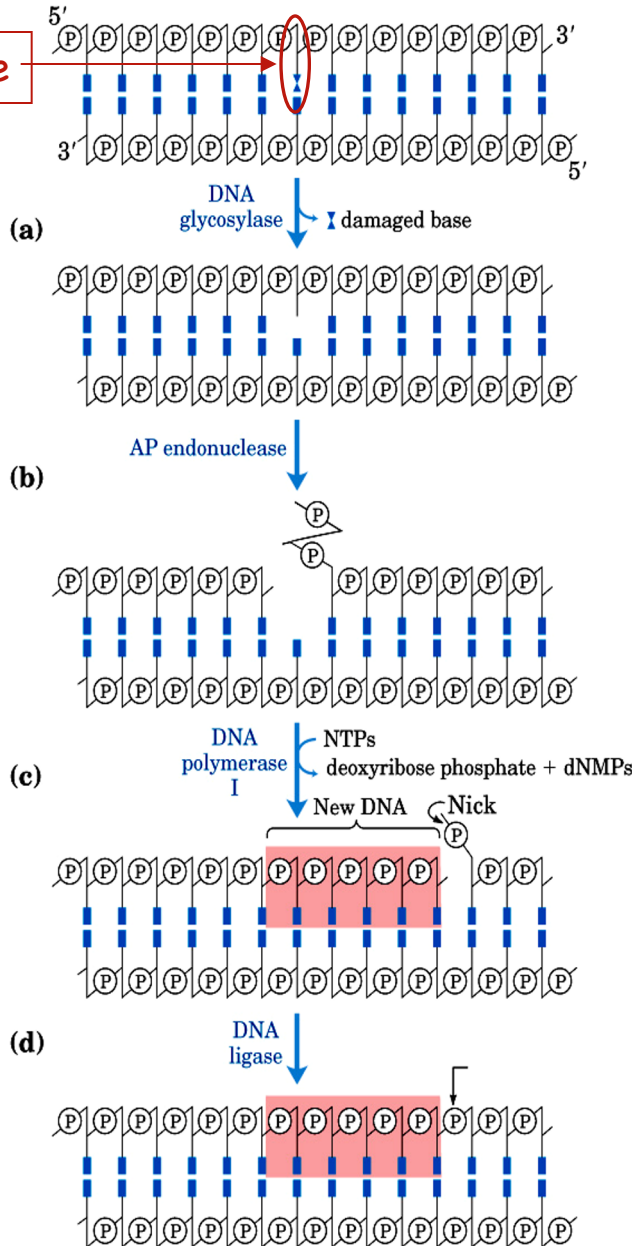


# Vari meccanismi di riparazione

- Aumento dell'attività proofreading
- I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri
- Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:
  1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers
  2. Base excision repair (BER)
  3. Nucleotide excision repair (NER)
  4. Mismatch excision repair
  5. Double-strand break repair and recombination

# Base excision repair (BER)

Damaged base



Base excision repair pathway (BER).

(a) A DNA glycosylase recognizes a damaged base and cleaves between the base and deoxyribose in the backbone.

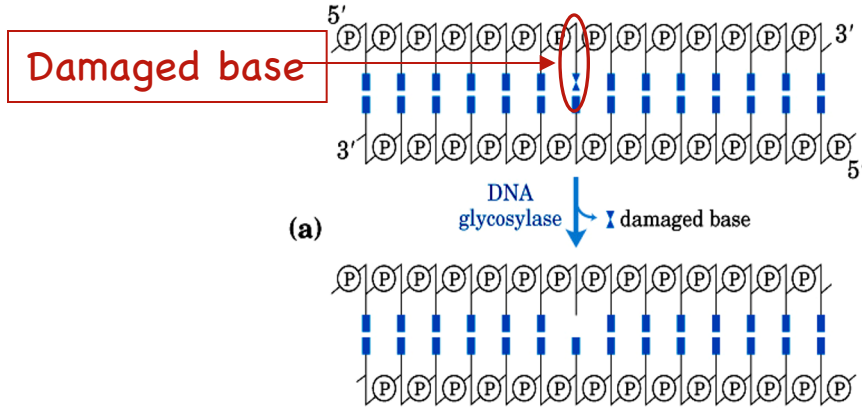
(b) An AP endonuclease cleaves the phosphodiester backbone near the AP site.

(c) DNA polymerase I initiates repair synthesis from the free 3' OH at the nick, removing a portion of the damaged strand (with its 5' → 3' exonuclease activity) and replacing it with undamaged DNA.

(d) The nick remaining after DNA polymerase I has dissociated is sealed by DNA ligase.

AP=apurinic or apyrimidinic  
(a=without)

# A DNA glycosylase initiates base excision repair



## Examples of bases cleaved by DNA glycosylases:

Uracil (deamination of C)

8-oxoG paired with C (oxidation of G)

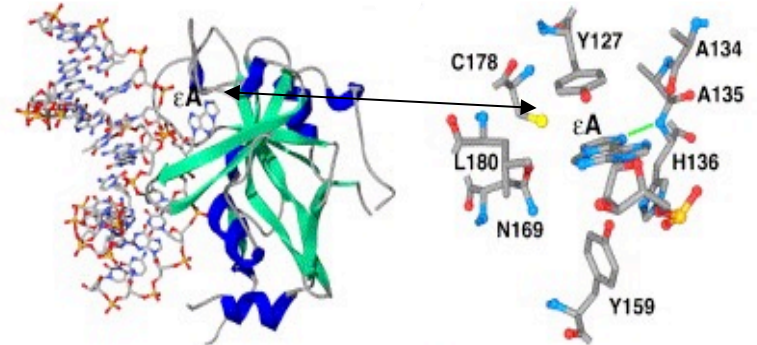
Adenine across from 8-oxoG (misincorporation)

Thymine across from G (5-meC deamination)

Alkyl-adenine (3-meA, 7-meG, hypoxanthine)

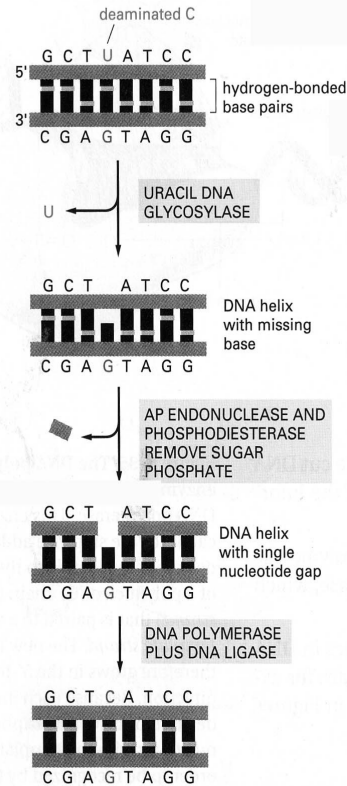
## Human alkyl-adenine DNA glycosylase

DNA bent & modified base flipped out of duplex -- "Non-Watson-Crick" structure

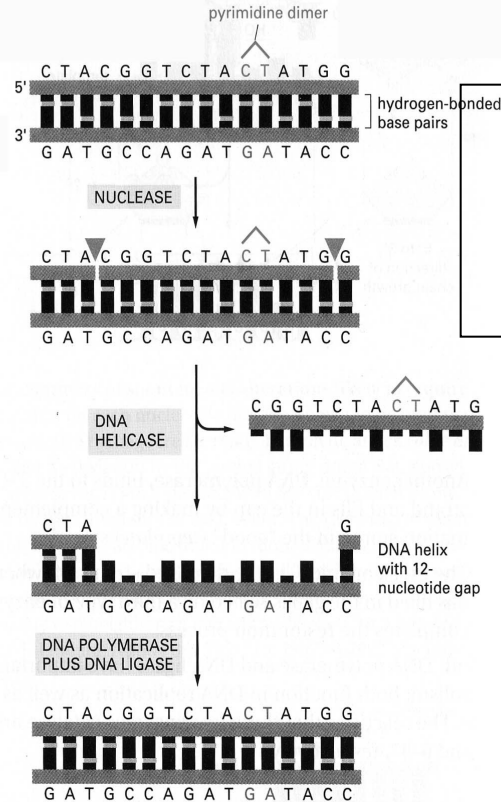


# Two pathways of increasing complexity

## Base Excision repair



## Nucleotide Excision repair



**Comparison of two major DNA repair pathways.** (A) *Base excision repair.* This pathway starts with a DNA glycosylase. Here the enzyme uracil DNA glycosylase removes an accidentally deaminated cytosine in DNA. After the action of this glycosylase (or another DNA glycosylase that recognizes a different kind of damage) the sugar phosphate with the missing base is cut out by the sequential action of AP endonuclease and a phosphodiesterase, the same enzymes that initiate the repair of depurinated sites. The gap of a single nucleotide is then filled by DNA polymerase and DNA ligase. The net result is that the U that was created by accidental deamination is restored to a C. The AP endonuclease derives its name from the fact that it recognizes any site in the DNA helix that contains a deoxyribose sugar with a missing base; such sites can arise either by the loss of a purine (*apurinic sites*) or by the loss of a pyrimidine (*apyriminic sites*). (B) *Nucleotide excision repair.* After a multienzyme complex recognizes a bulky lesion such as a pyrimidine dimer (see Figure 6-34B), one cut is made on each side of the lesion, and an associated DNA helicase then removes the entire portion of the damaged strand. The multienzyme complex in bacteria leaves the gap of 12 nucleotides shown; the gap produced in human DNA is more than twice this size.

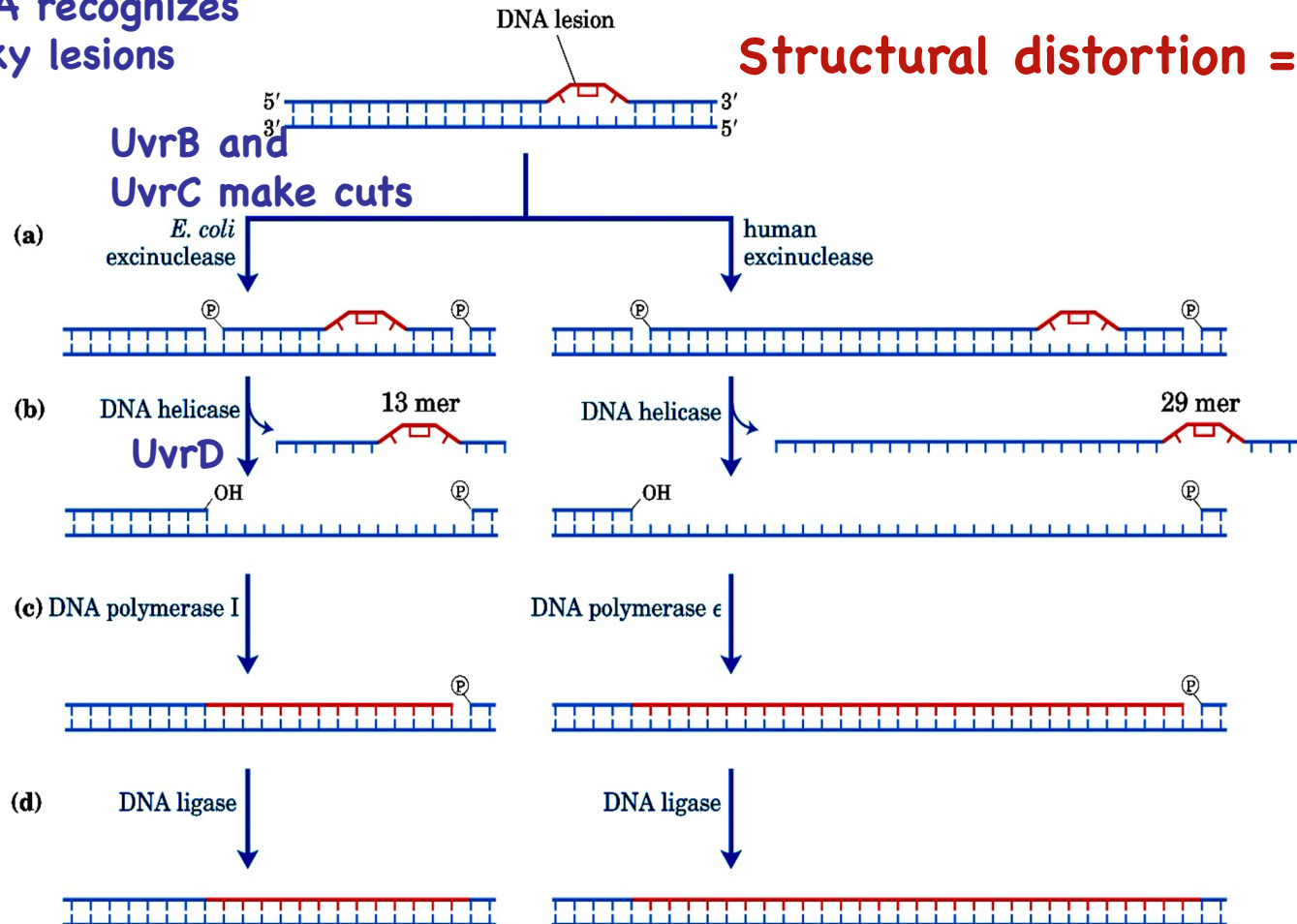
# Vari meccanismi di riparazione

- Aumento dell'attività proofreading
- I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri
- Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:
  1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers
  2. Base excision repair (BER)
  3. Nucleotide excision repair (NER)
  4. Mismatch excision repair
  5. Double-strand break repair and recombination

# Nucleotide excision repair

UvrA recognizes bulky lesions

Structural distortion = signal

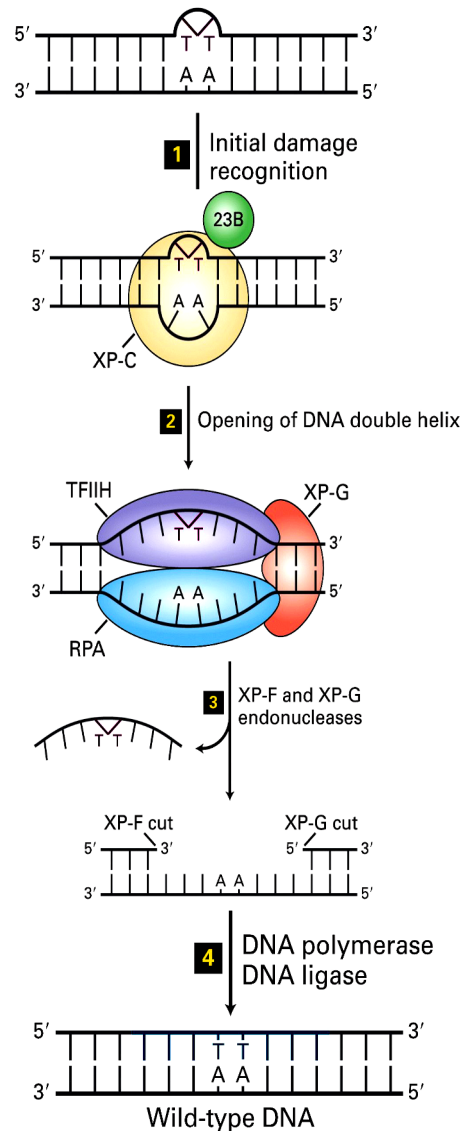


(a) Two excinucleases (excision endonucleases) bind DNA at the site of bulky lesion. (b) One cleaves the 5' side and the other cleaves the 3' side of the lesion, and the DNA segment is removed by a helicase. (c) DNA polymerase fills in the gap and (d) DNA ligase seals the nick.

<https://www.jove.com/embed/player?id=11563&t=1&s=1&fpv=1>



# Nucleotide excision repair -- eukaryotes



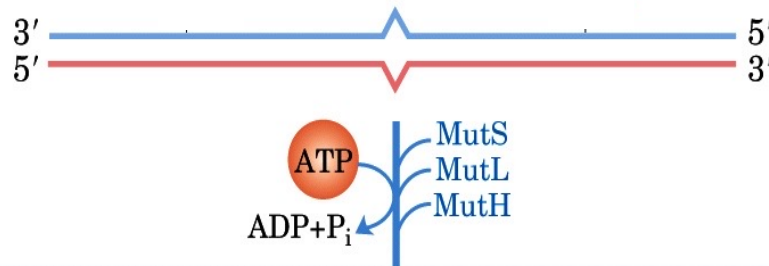
Mutations in any of at least seven genes, *XP-A* through *XP-G*, cause an inherited sensitivity to UV-induced skin cancer called xeroderma pigmentosum. The **XP** proteins are among >30 required for **nucleotide excision repair**.

# Vari meccanismi di riparazione

- Aumento dell'attività proofreading
- I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri
- Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:
  1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers
  2. Base excision repair (BER)
  3. Nucleotide excision repair (NER)
  4. Mismatch excision repair
  5. Double-strand break repair and recombination

# Mismatch repair

Which strand is new and which is the parent?



**Mut S binds mismatch**

**Mut L links S to H**

**Mut H recognizes the parental strand**

# Mismatch repair

Which strand is new and which is the parent? The mutation is in the new strand!

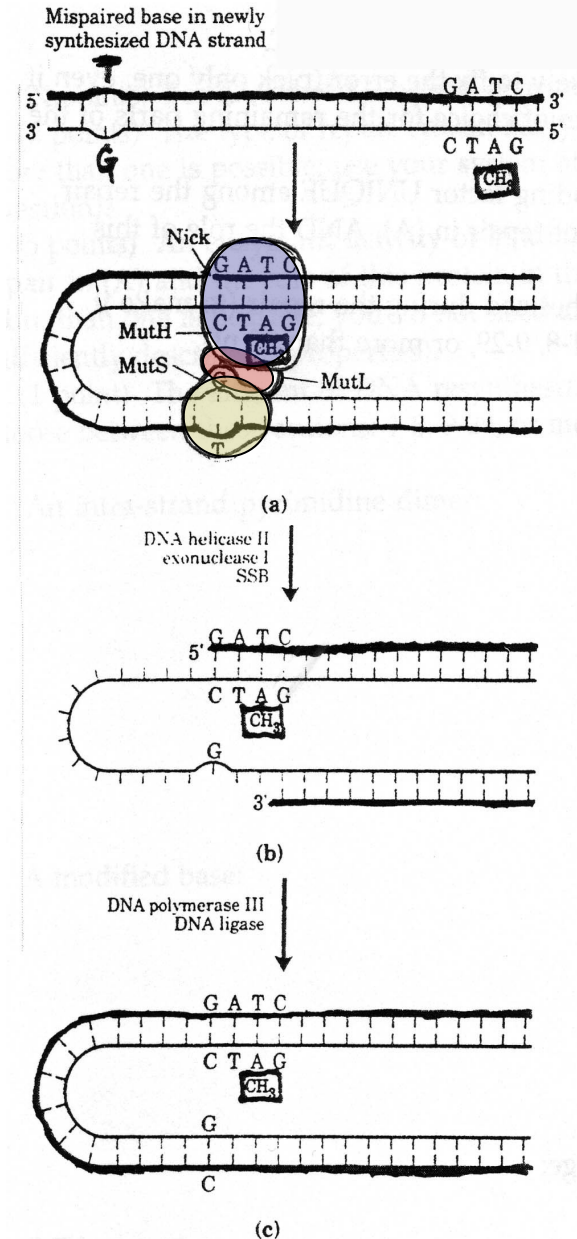
-CH<sub>3</sub> marks the parental strand!

A model for methyl-directed mismatch repair. The proteins involved in this process in *E. coli* have been purified (see Table 24-5). Recognition of the sequence GATC and of the mismatch are specialized functions of the MutH and MutS proteins, respectively. (a) The MutL protein links the MutH and MutS proteins together in a complex. The MutH protein cleaves the unmethylated strand on the 5' side of the G in the GATC sequence. (b) The combined action of DNA helicase II, exonuclease I, and SSB then removes a segment of the new strand between the cleavage site and a point just beyond the mismatch. (c) The resulting gap is filled in by DNA polymerase III, and the nick is sealed by DNA ligase.

**MutH** - Binds 7-meGATC

**MutS** - Binds mismatch

**MutL** - links MutH and MutS



# Mismatch repair -- Recognition

Which strand is new and which is the parent? The mutation is in the new strand!

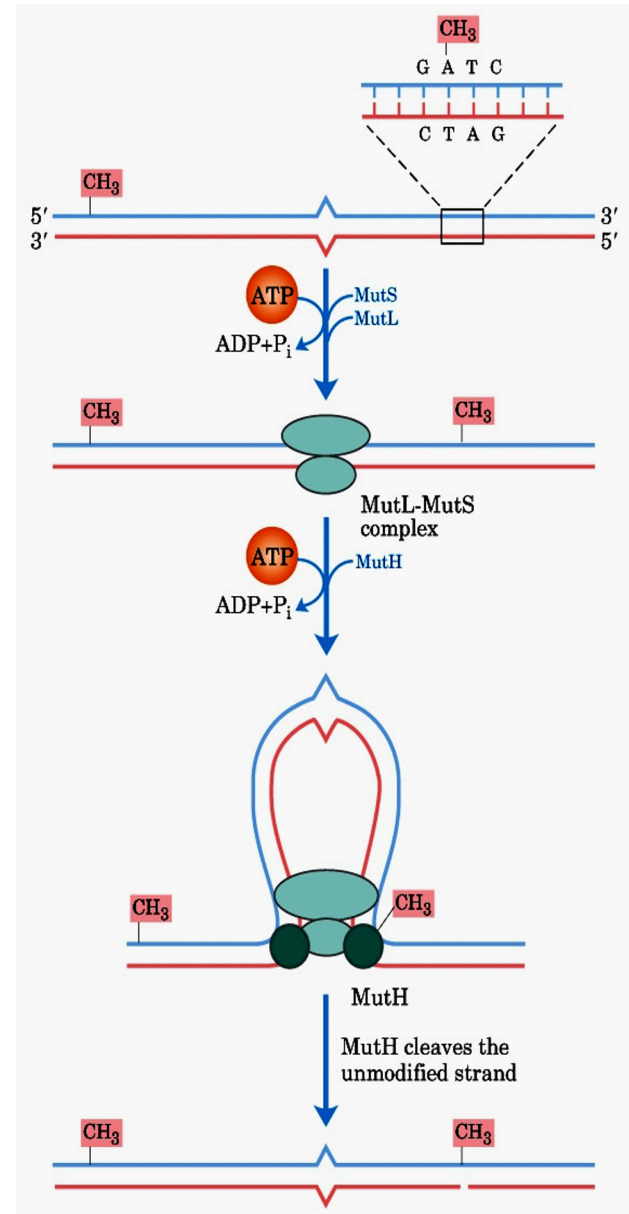
A-CH<sub>3</sub> marks the parental strand!

MutS - Binds mismatch

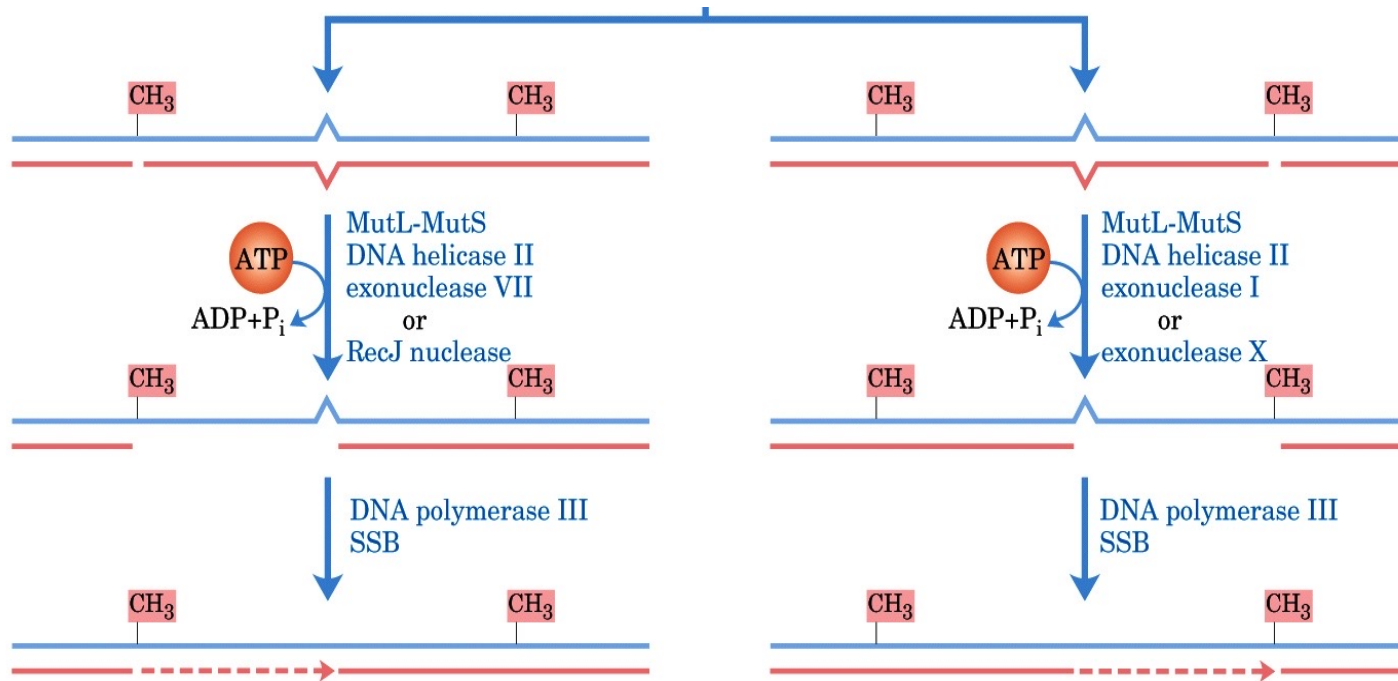
MutL - links MutH and MutS

MutH - Binds G<sup>me</sup>ATC

DNA is threaded through the MutS/MutL complex. The complex moves simultaneously in both directions along the DNA until it encounters a MutH protein bound at a hemimethylated GATC sequence. MutH cleaves the unmethylated strand on the 5' side of the G in the GATC sequence.



# Mismatch repair -- Resolution



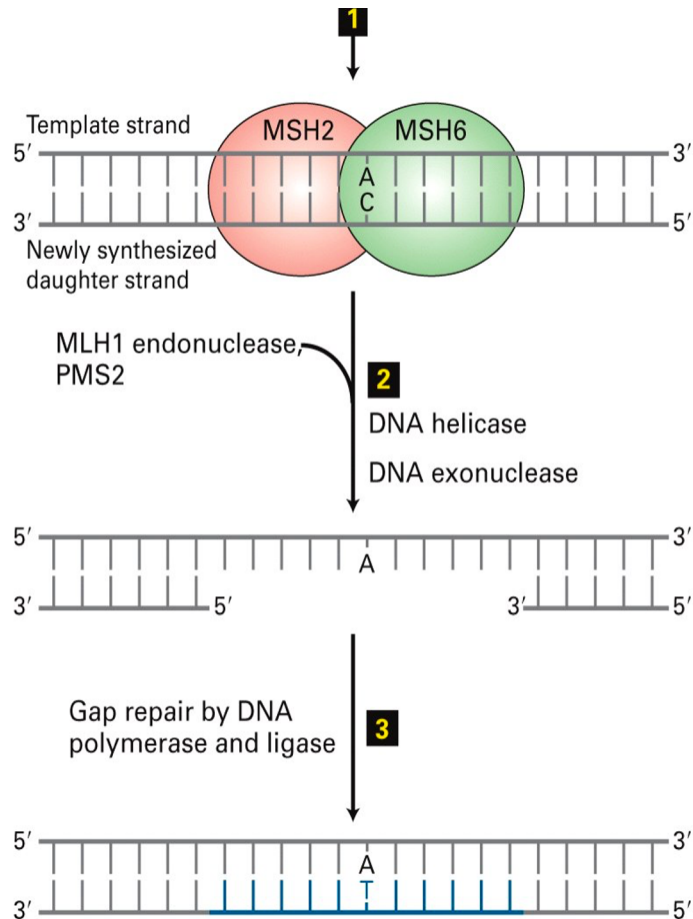
1. The combined action of DNA helicase II, SSB, and one of many different exonucleases (only two are labeled) removes a segment of the new strand between the MutH cleavage site and a point just beyond the mismatch.
2. The resulting gap is filled in by DNA polymerase III, and the nick is sealed by DNA ligase.

# Mismatch repair -- Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer (HNPCC) gene (Humans)

HNPCC results from mutations in genes involved  
in DNA mismatch repair, including:

- several different MutS homologs
- Mut L homolog
- other proteins: perhaps they play the role of MutH, but not by recognizing hemi-methylated DNA (no 6meA GATC methylation in humans, no dam methylase)

# Mismatch repair -- **MSH proteins** -- eukaryotes



Defects in mismatch excision repair lead to colon and other cancers.

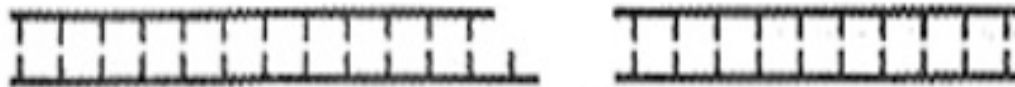
1. MSH2:MSH6 complex binds the mismatch and identifies newly synthesized strand.
2. MLH1 endonuclease and other factors such as PMS2 bind, recruiting a helicase and exonuclease, which together remove several nucleotides including the lesion.
3. The gap is filled by Pol  $\delta$  and sealed by DNA ligase.



# Vari meccanismi di riparazione

- Aumento dell'attività proofreading
- I meccanismi sono più caratterizzati nei batteri
- Meccanismi generali presenti anche negli eucarioti:
  1. Direct repair, e.g. pyrimidine dimers
  2. Base excision repair (BER)
  3. Nucleotide excision repair (NER)
  4. Mismatch excision repair
  5. Double-strand break repair and recombination

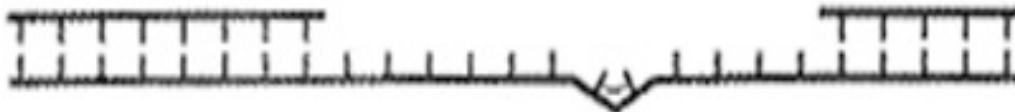
# Double-strand break repair



Double-strand break



Double-strand cross-link



Lesion in single strand

**NO TEMPLATE FOR  
REPAIR!!**

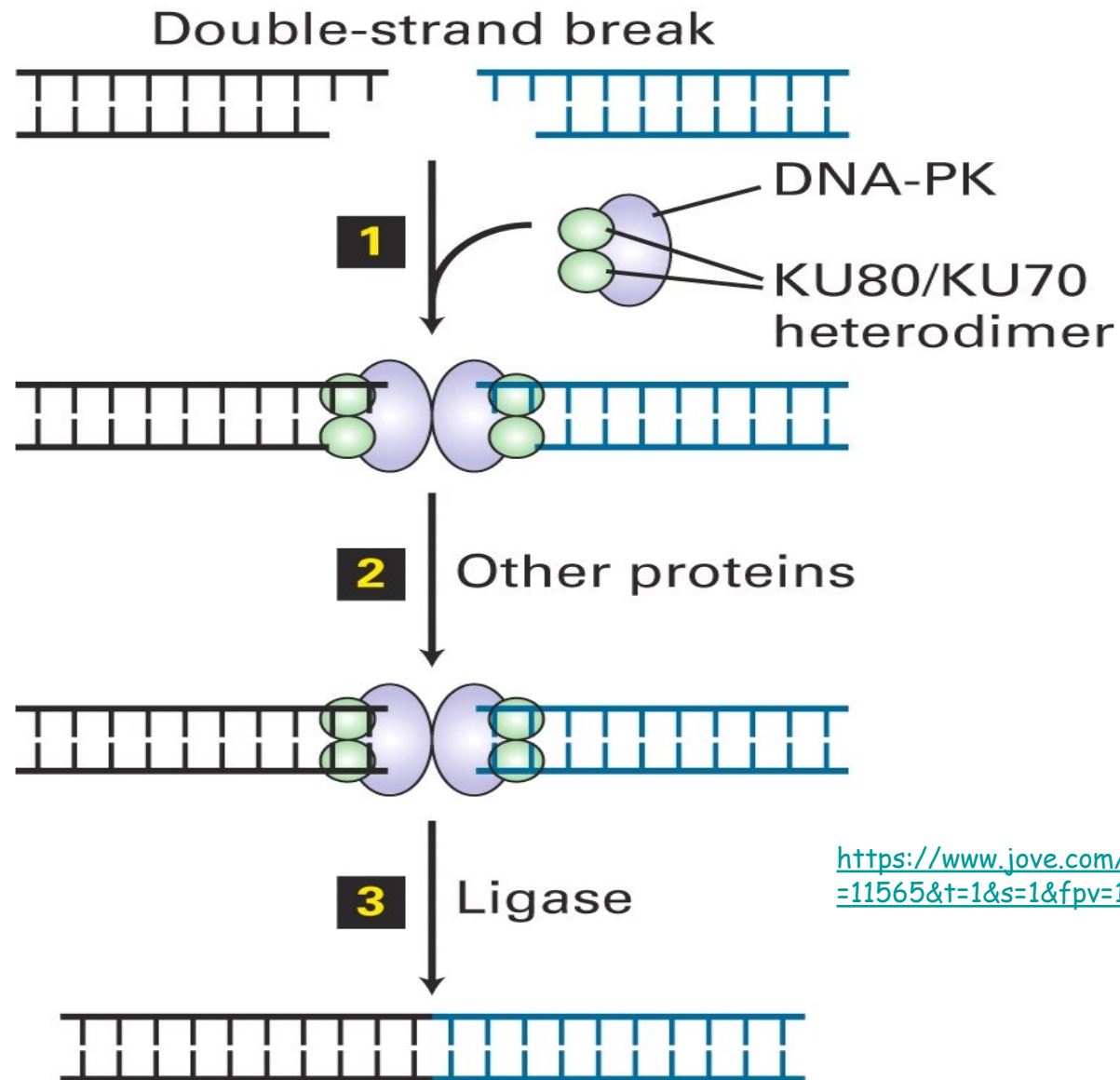
# Double-strand break repair

Two basic mechanisms: **End-joining** and **Recombination**

The **end-joining** pathway of ds break repair is **mutagenic**, because it removes several base pairs at the break site.

Mediated by Ku proteins.

# End-joining repair of nonhomologous DNA



<https://www.jove.com/embed/player?id=11565&t=1&s=1&fpv=1>

# Rotture a doppia elica

Possono essere causate da errori durante la ricombinazione o per danno da radiazione.

MECCANISMO DI RIPARO:

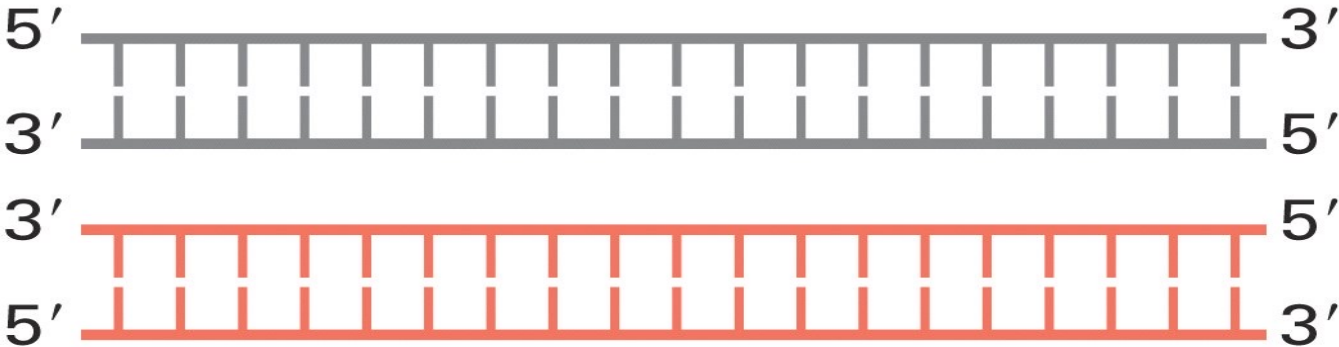
Non-homologous end joining (NHEJ)

- Ku70-Ku80 (dimero: lega dsDNA)
- DNA-PKcs (protein kinasi)
- DNA ligasi IV + Pr. XRCC4

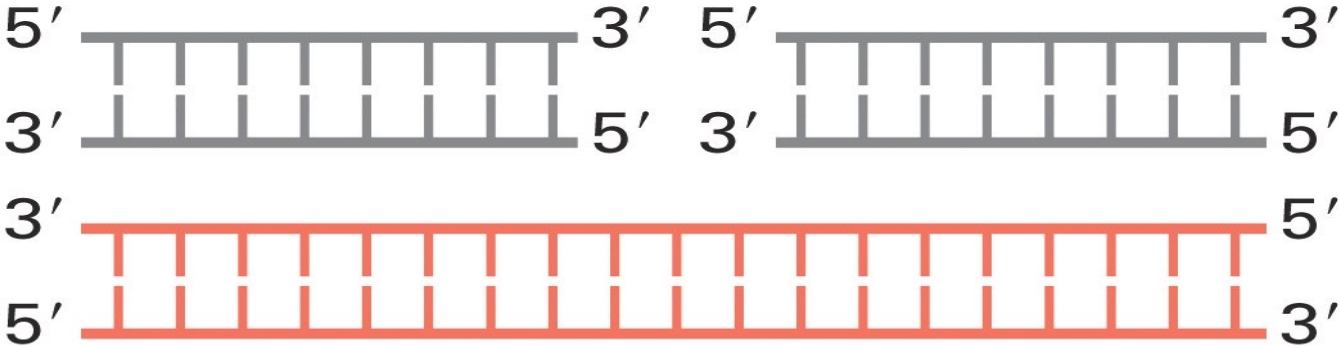
SINDROME DI BLOOM: aberrazioni cromosomiche, sister-chromatid exchange (SCE)

<https://www.jove.com/embed/player?id=11565&t=1&s=1&fpv=1>

# Lievito



**1** ↓ **Double-strand break**



# Lievito

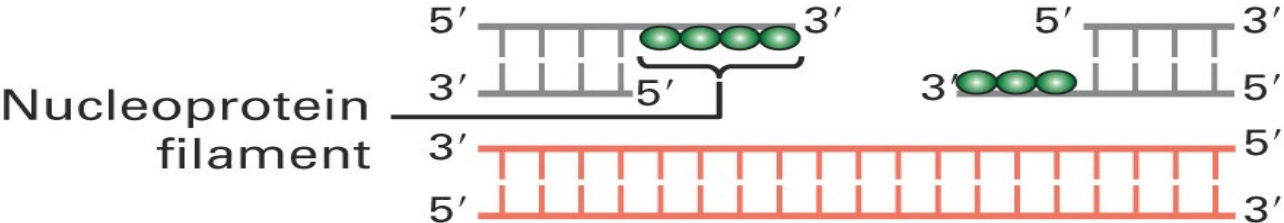
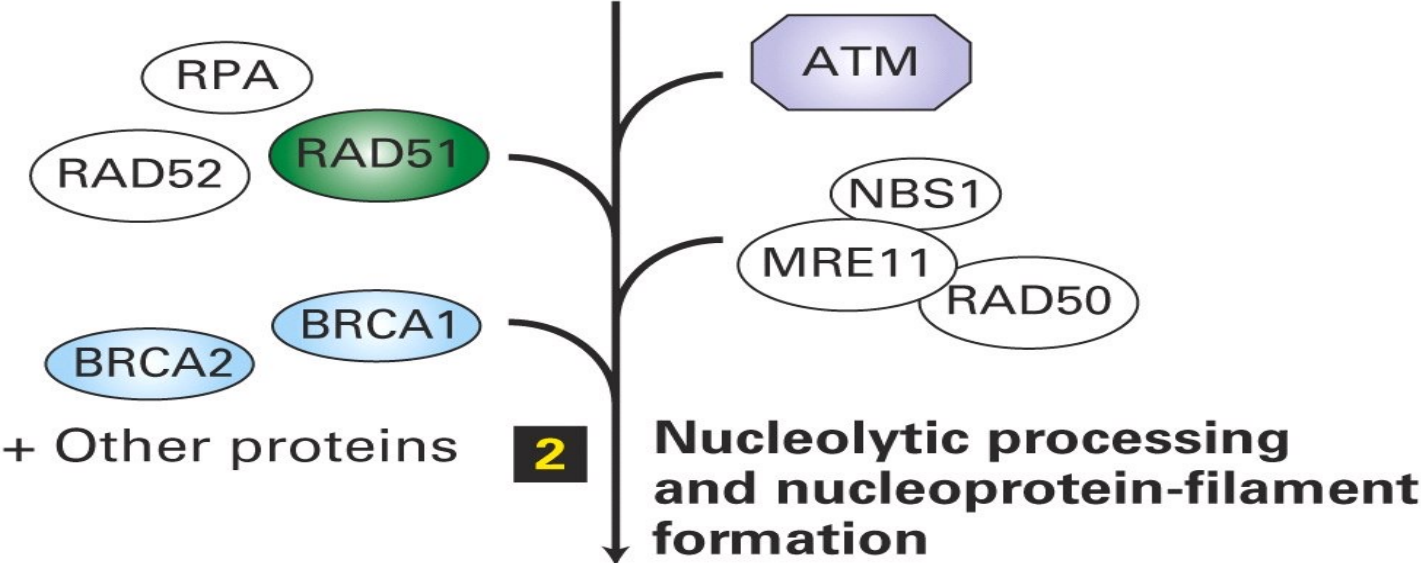
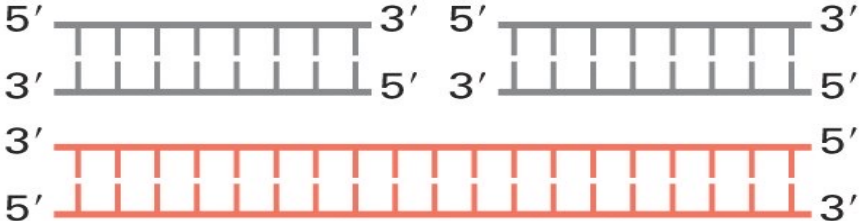
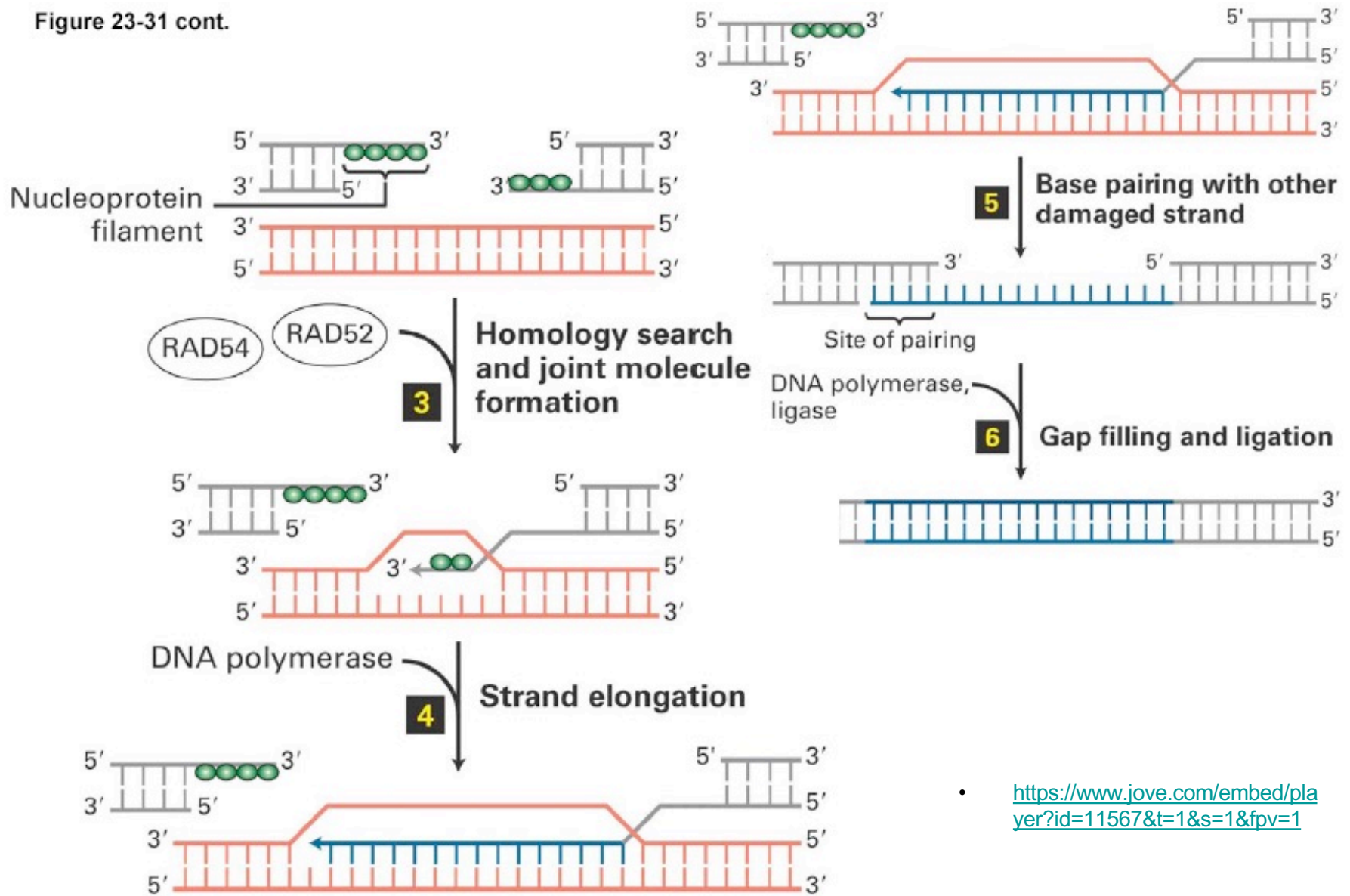


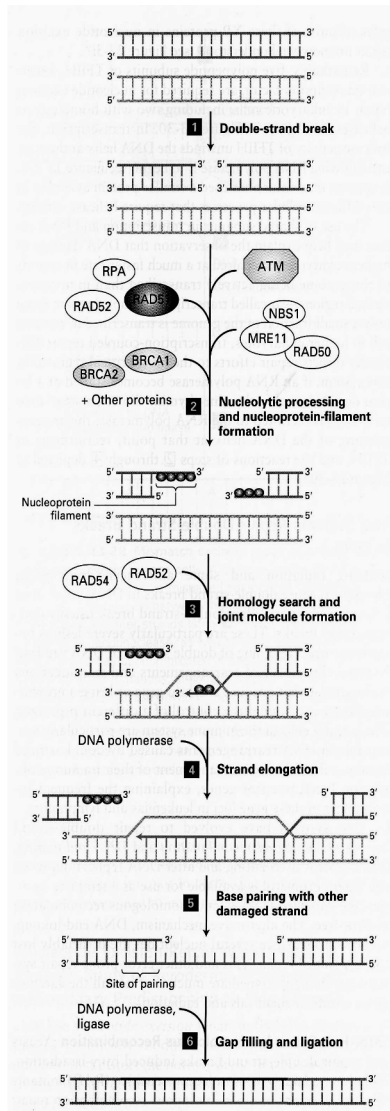
Figure 23-31 cont.



- <https://www.jove.com/embed/player?id=11567&t=1&s=1&fpv=1>



# Double-strand break repair -- Homologous recombination in eukaryotes



1. Ds break

2. dsDNA activates ATM kinase, which activates exo-nucleases that create ss 3' ends. In a reaction that depends on BRCA 1 & 2, Rad51 coats the ss 3' ends.

3. Rad51 and friends pair the 3' end with the sister chromatid.

4. DNA polymerase elongates.

5. Pairing of the new DNA bridges the gap.

6. The gap is filled and ligated.

<https://www.jove.com/embed/player?id=11567&t=1&s=1&fpv=1>

## Riparo del DNA in E.Coli

- Fotoriattivazione (gene phr = fotoliasi)
- Excision Repair
  - Nucleotide excision repair (NER) - UvrABC - UvrD + polA
  - AP repair (gene ung = uracil DNA glicosilasi)
  - Mismatch Repair (99% dei meccanismi di riparo)
    - 3' ->5' exonuclease - proofreading
    - Mismatch Repair (geni mutHLSU)
- Sistemi di recupero - postreplicative repair recA/LexA
- Sistema SOS

## Riparo del DNA in eucarioti

- Lievito: i geni coinvolti nel riparo del DNA sono coinvolti nella sensibilità alle radiazioni.
- Geni RAD:
  - RAD3 (Excision Repair)
  - RAD6 (Post-replication Repair)
  - RAD52 (Replication-like mechanisms)
- Geni MSH:
  - MSH2
  - MSH3
  - MSH6

I geni coinvolti nella trascrizione vengono riparati in modo preferenziale.

# La risposta SOS nei batteri

I raggi UV sono mutagenici.

La risposta SOS si osserva in coincidenza con danni massicci da raggi UV, non riparabili dai normali sistemi - consente la sopravvivenza della cellula, ma causa mutazioni.

Il sistema SOS (RecA/LexA) comprende molti geni in grado di inibire la divisione cellulare per permettere alla cellula di riparare i danni.

Attivazione RecA (ssDNA + ATP) > taglio di LexA (rep.) > espressione di uvrABC, umuDC, sulAB (div. cell.), ssb

Disattivazione RecA > accumulo LexA > sistema SOS off

# La risposta SOS nei batteri

<i>Nome del gene</i>	<i>Ruolo nella riparazione del DNA</i>
<b>Geni con funzione nota</b>	
<i>polB (dinA)</i>	Codifica la subunità polimerasica della DNA polimerasi II, necessaria per la riparazione soggetta ad errori
<i>uvrA</i> } <i>uvrB</i> } <i>uvrC</i> }	Codificano la ABC nucleasi di escissione
<i>umuC</i> } <i>umuD</i> }	Codificano proteine necessarie per la riparazione soggetta ad errori
<i>sulA</i>	Codifica una proteina che inibisce la divisione cellulare, probabilmente per permettere la riparazione del DNA
<i>recA</i>	Codifica la proteina RecA necessaria per la riparazione soggetta ad errori e quella ricombinativa
<b>Geni coinvolti nel metabolismo del DNA, ma con ruolo nella riparazione sconosciuto</b>	
<i>ssb</i>	Codifica la proteina che lega il DNA a singola elica (SSB)
<i>uvrD</i>	Codifica la DNA elicasi II (proteina che svolge il DNA)
<i>himA</i>	Codifica una subunità del fattore di integrazione dell'ospite, coinvolto nella ricombinazione sito-specifica, replicazione, trasposizione, regolazione dell'espressione di alcuni geni
<i>recN</i>	Coinvolto nella riparazione ricombinativa

# ***MALATTIE DELL'UOMO CAUSATE NOTORIAMENTE O IPOTETICAMENTE DA DIFETTI NELLA RIPARAZIONE DEL DNA***

## **Malattia**

## **Caratteristiche**

- Ataxia-telangiectasia Disordini neurologici; deficienze immunologiche; elevato rischio di sviluppo di linfomi.
- Sindrome di Cockayne Sensibilità della pelle alla luce solare; nanismo; ritardo mentale; invecchiamento precoce.
- Retinoblastoma ereditario Elevato rischio di sviluppo di tumore agli occhi.
- Xeroderma-pigmentosum Elevato rischio di sviluppo di cancro a pelle, occhi e lingua in seguito ad esposizione a luce solare.

# Riparazione del DNA nell'uomo

***Xeroderma pigmentosum***: malattia autosomica recessiva, estrema sensibilità della pelle ai raggi UV ed elevata incidenza di carcinomi della pelle e melanomi.

**Causa**: incapacità di riparare i danni al DNA provocati dai raggi UV per l'inabilità ad operare il taglio iniziale che porta alla eliminazione del dimero di timina ed alla sua riparazione.

6/11 geni sono omologhi ai geni RAD di lievito.

**TABLE 23-1** Some Human Hereditary Diseases and Cancers Associated with DNA-Repair Defects

Disease	DNA-Repair System Affected	Sensitivity	Cancer Susceptibility	Symptoms
PREVENTION OF POINT MUTATIONS, INSERTIONS, AND DELETIONS				
Hereditary nonpolyposis colorectal cancer	DNA mismatch repair	UV irradiation, chemical mutagens	Colon, ovary	Early development of tumors
Xeroderma pigmentosum	Nucleotide excision repair	UV irradiation, point mutations	Skin carcinomas, melanomas	Skin and eye photosensitivity, keratoses
REPAIR OF DOUBLE-STRAND BREAKS				
Bloom's syndrome	Repair of double-strand breaks by homologous recombination	Mild alkylating agents	Carcinomas, leukemias, lymphomas	Photosensitivity, facial telangiectases, chromosome alterations
Fanconi anemia	Repair of double-strand breaks by homologous recombination	DNA cross-linking agents, reactive oxidant chemicals	Acute myeloid leukemia, squamous-cell carcinomas	Developmental abnormalities including infertility and deformities of the skeleton; anemia
Hereditary breast cancer, BRCA-1 and BRCA-2 deficiency	Repair of double-strand breaks by homologous recombination		Breast and ovarian cancer	Breast and ovarian cancer

SOURCES: Modified from A. Kornberg and T. Baker, 1992, *DNA Replication*, 2d ed., W. H. Freeman and Company, p. 788; J. Hoeijmakers, 2001, *Nature* 411:366; and L. Thompson and D. Schild, 2002, *Mutation Res.* 509:49.

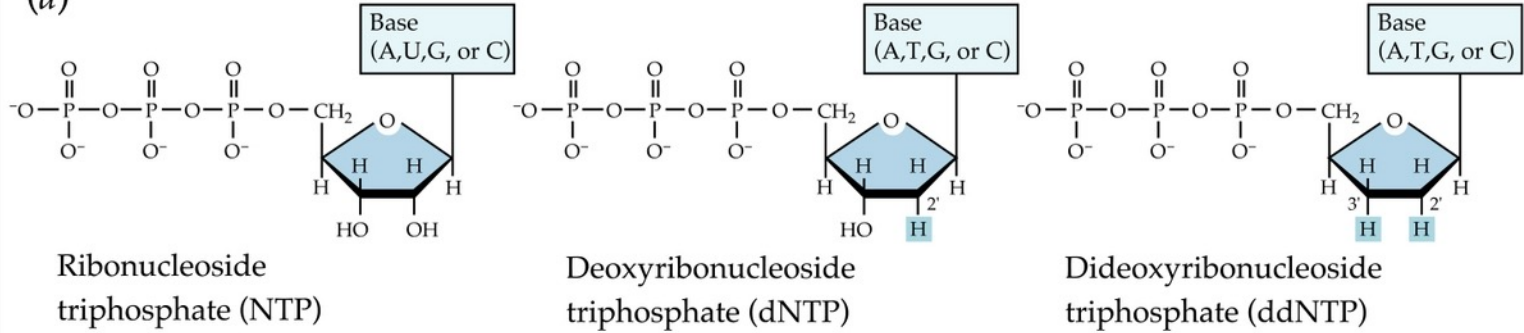


# Applicazioni pratiche della replicazione del DNA

- I principi della replicazione del DNA possono essere utilizzati per determinare la sequenza nucleotidica del DNA.

# RESEARCH METHOD

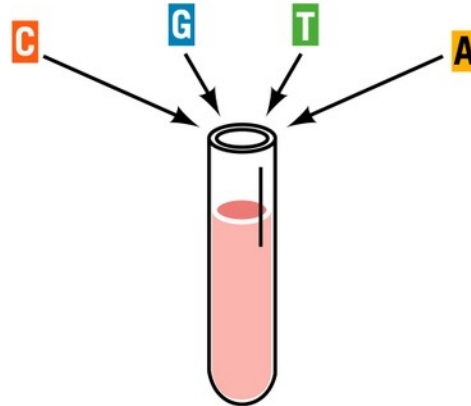
(a)

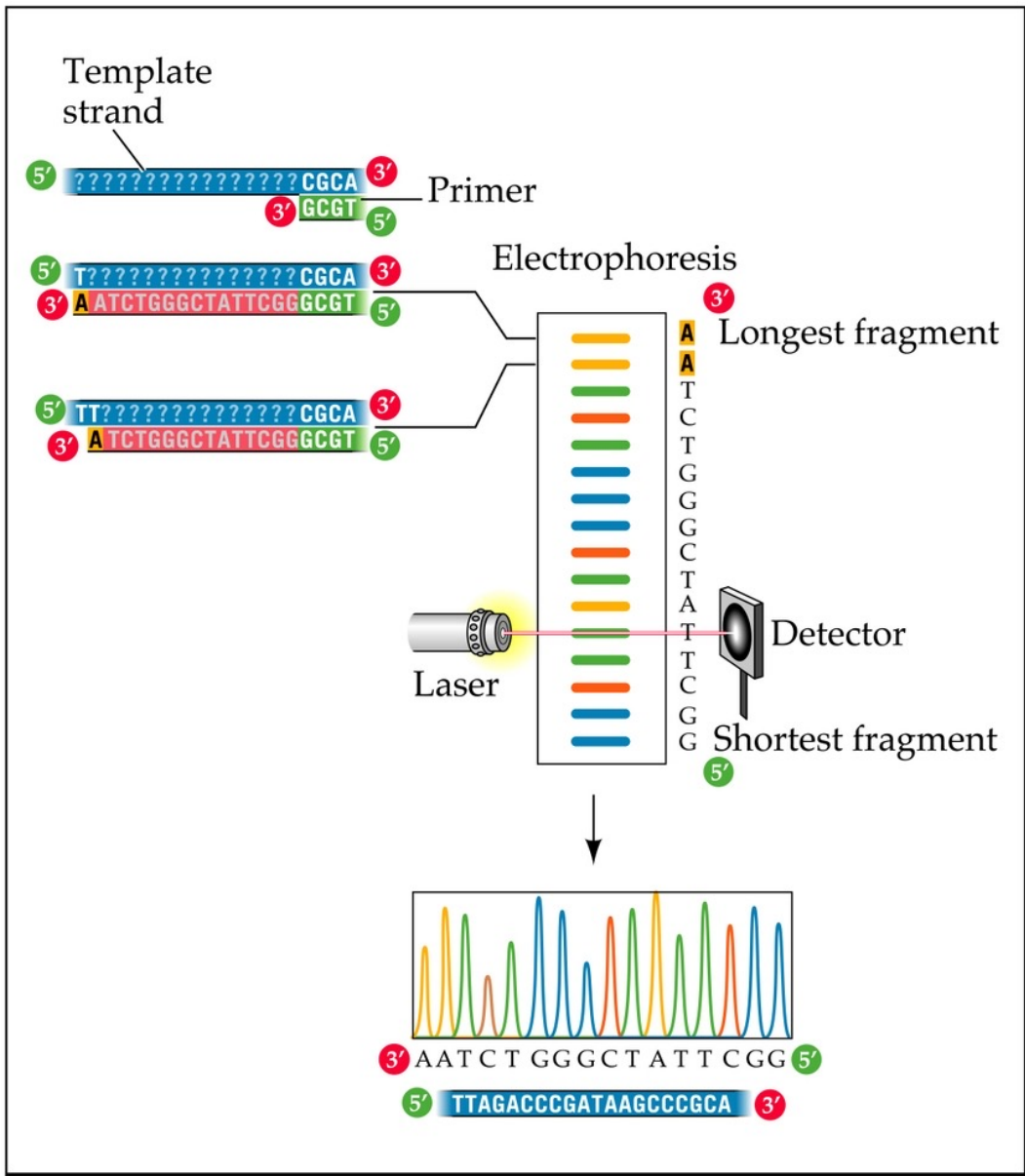


(b)



ddCTP ddGTP ddTTP ddATP





# Applicazioni pratiche della replicazione del DNA

- La tecnica della reazione a catena della polimerasi (polymerase chain reaction PCR) usa la DNA polimerasi per replicare ripetutamente il DNA in provetta.

# RESEARCH METHOD

