

Dogma Centrale

Il flusso dell'informazione genica

trascrizione

traduzione

DNA → RNA → Proteine



Replicazione

Replicazione del DNA

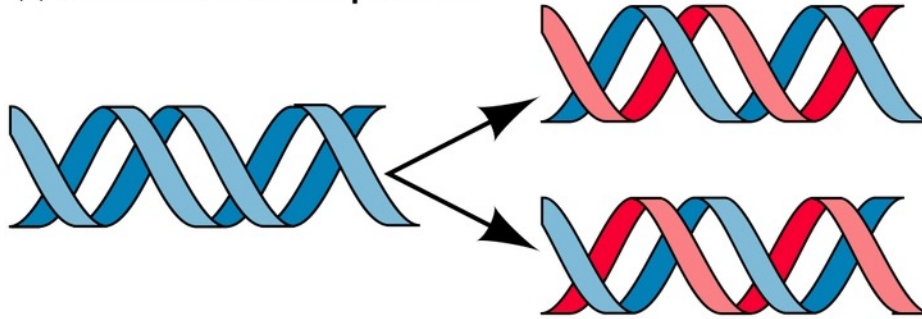
Tre ipotesi per spiegare il modello di replicazione del DNA:

- CONSERVATIVA
- SEMICONSERVATIVA
- DISPERSIVA

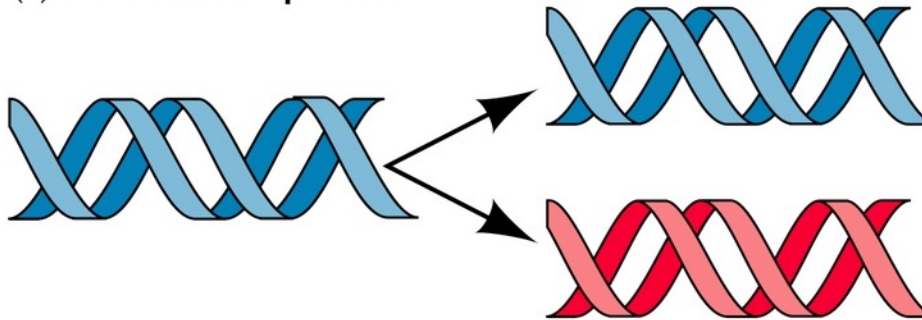
Original DNA

After one round of replication

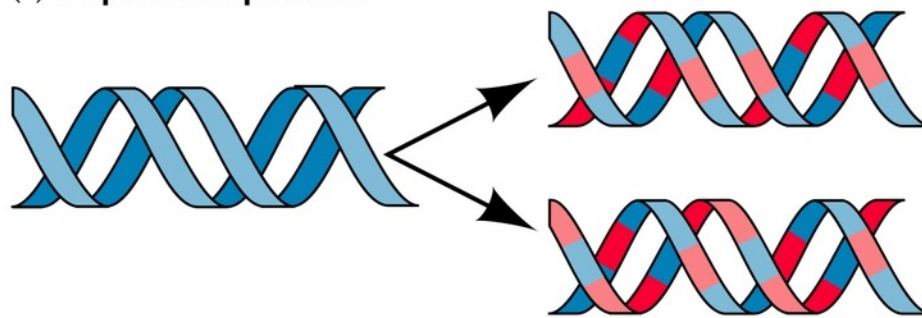
(a) Semiconservative replication



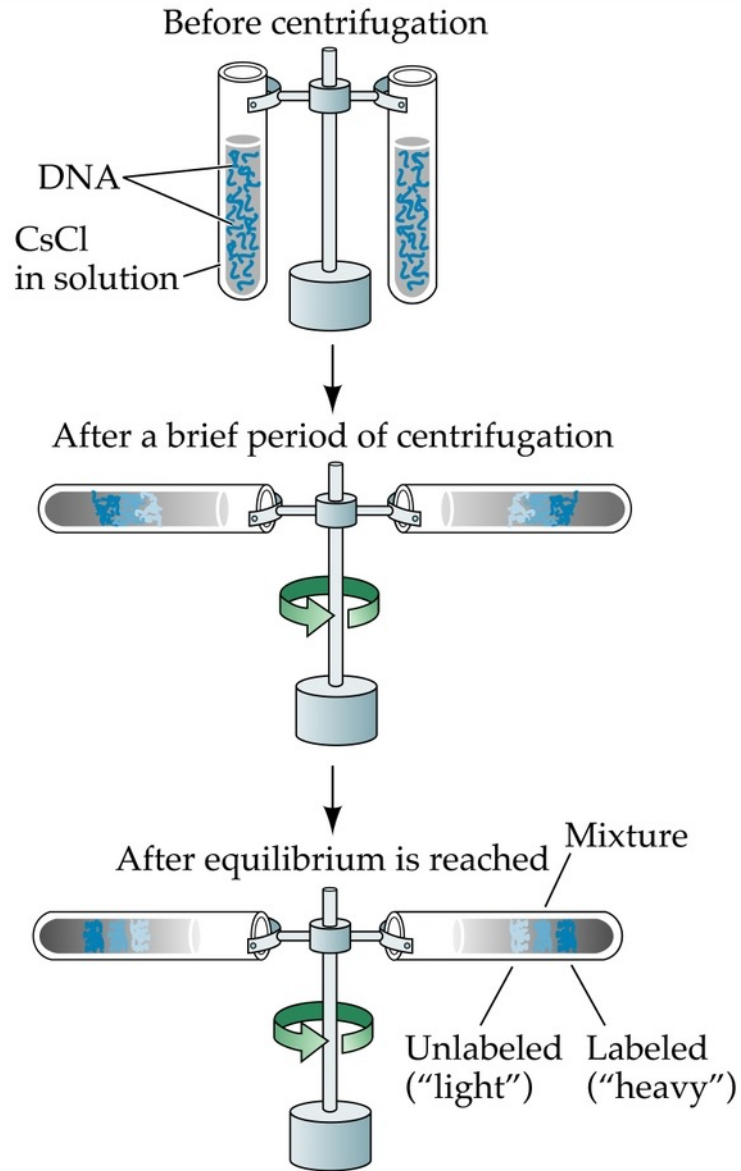
(b) Conservative replication



(c) Dispersive replication



RESEARCH METHOD



© 2000 Sinauer Associates, Inc.



FIGURE 9-3. (Left) Matthew Meselson (b. 1930). (Right) Franklin W. Stahl (b. 1929). [Courtesy of M. Meselson.]

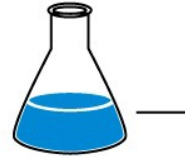
Esperimento di Meselson e Stahl

- Meselson e Stahl fecero crescere dei batteri *Escherichia coli* in un terreno di coltura ricco dell'isotopo pesante ^{15}N . Questi microorganismi metabolizzarono l' ^{15}N che quindi venne ad essere introdotto in molte molecole biologiche; tra queste molecole bisogna ricordare le basi azotate del DNA.
- In questo modo il DNA presente nei batteri era un "DNA pesante", poiché inglobava atomi di azoto più pesanti della norma.
- I due scienziati si assicurarono di mantenere i batteri in questo terreno di coltura per un tempo tale da garantire che tutto il DNA fosse effettivamente pesante.

EXPERIMENT

Question: Does DNA replicate semiconservatively, or by some other mechanism?

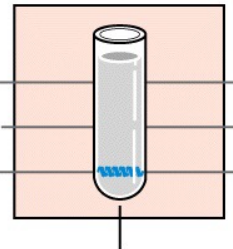
METHOD



Sample at
0 minutes

RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (light) DNA
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (intermediate) DNA
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (heavy) DNA

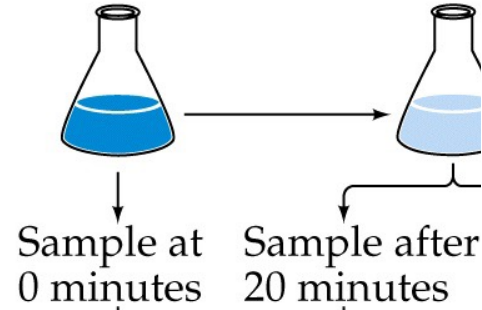


- A questo punto alcuni batteri furono trasferiti dal primo terreno di coltura in un nuovo terreno "standard", in cui cioè era presente **14N anziché 15N**. I microorganismi metabolizzarono l'azoto includendolo nelle basi azotate dei nucleotidi che andranno a formare (tra le altre cose) le nuove eliche di DNA.
- Trascorsi venti minuti, ovvero il tempo necessario per la formazione di una nuova generazione di batteri (ovvero replicazione del DNA), alcuni batteri furono prelevati dal terreno "standard", furono lisati e venne estratto il DNA. In seguito ad una centrifugazione in gradiente di densità si ottenne un'unica banda posta in posizione superiore rispetto a quella del caso precedente: il DNA era quindi **più leggero**.

EXPERIMENT

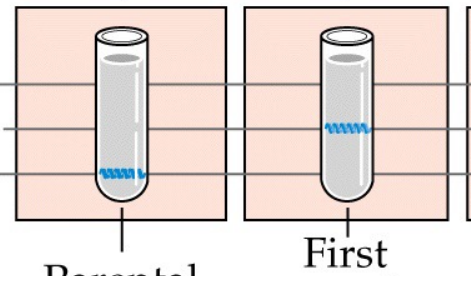
Question: Does DNA replicate semiconservatively, or by some other mechanism?

METHOD



RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (light) DNA
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (intermediate) DNA
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (heavy) DNA



I

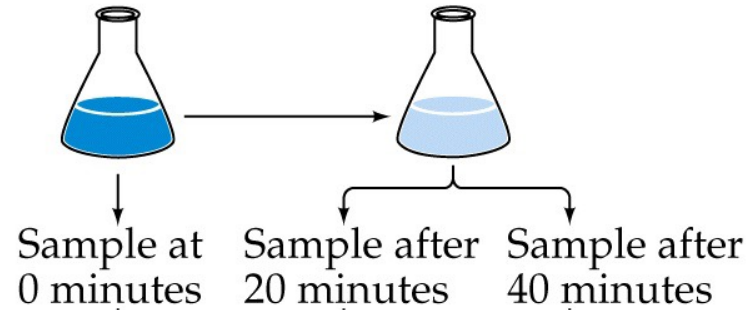
- Questi risultati esclusero subito la possibilità della replicazione conservativa, poiché, per confermare questo modello, a seguito dell'esperimento avrebbero dovuto formarsi due catene molto diverse l'una dall'altra (che avrebbero formato due bande e non una, come invece accadde): una più in basso, quindi pesante, identica a quella di partenza, e una in alto nella provetta, leggera, fatta solo dai filamenti di nuova sintesi. Tuttavia non poteva ancora essere escluso il modello **dispersivo**, poiché il peso intermedio del nuovo filamento poteva essere dovuto all'alternanza sulle eliche del DNA di zone con l'azoto leggero e zone con l'azoto pesante.

Trascorso il tempo necessario per la successiva replicazione del DNA, venne ripetuta la suddetta procedura. **In questo caso si ottennero due bande:** la prima in posizione nettamente superiore a quelle ottenute nei casi precedenti, la seconda nella stessa posizione di quella dell'esperimento precedente.

EXPERIMENT

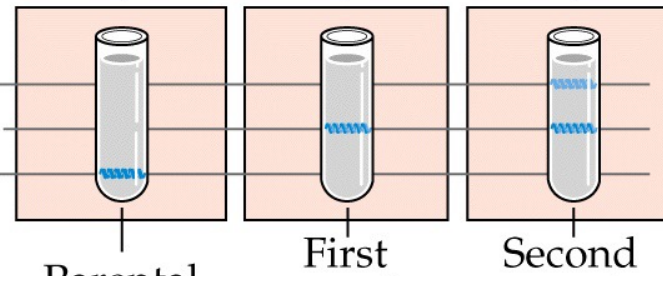
Question: Does DNA replicate semiconservatively, or by some other mechanism?

METHOD



RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (light) DNA
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (intermediate) DNA
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (heavy) DNA



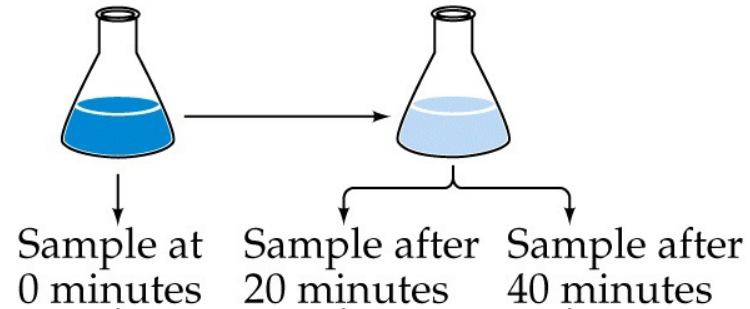
I

Questo risultato escludeva, dunque, il modello dispersivo: la formazione di due bande distinte dimostrava che non vi era un rimescolamento casuale di parti di DNA leggero e parti di DNA pesante, infatti in questo caso si sarebbe formata solamente una banda che, di generazione in generazione, si sarebbe depositata sempre più in alto, fino a raggiungere la zona corrispondente alla densità del 14N (poiché il terreno di coltura era sempre il 14N , leggero). Invece la formazione di due bande nette dimostrava che il filamento pesante si andava conservando sempre uguale (appaiato sempre ad un filamento leggero) per cui la molecola di DNA col filamento pesante si depositava sempre nello stesso punto. Di generazione in generazione, la banda di DNA leggero si inspessiva (perché si continuava a far riprodurre i batteri nell'azoto leggero), ma la banda di DNA intermedio si conservava sempre.

EXPERIMENT

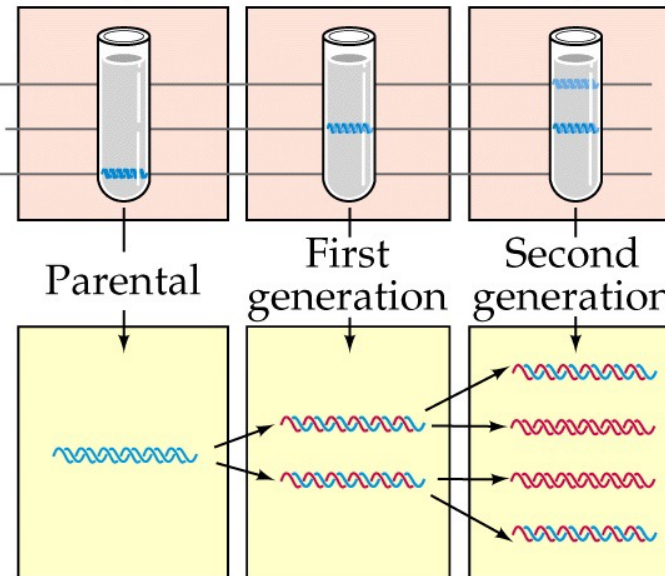
Question: Does DNA replicate semiconservatively, or by some other mechanism?

METHOD



RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (light) DNA
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (intermediate) DNA
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (heavy) DNA



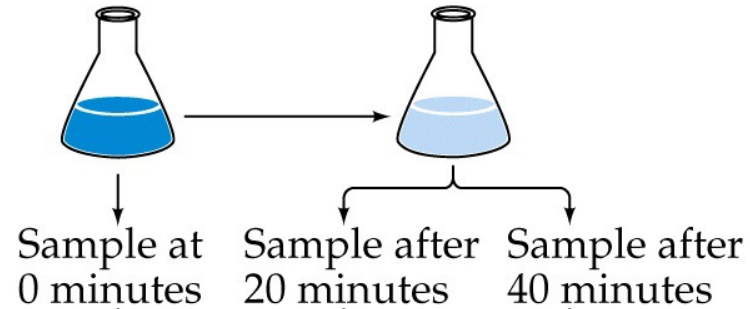
INTERPRETATION

Conclusion: DNA replication is semiconservative.

EXPERIMENT

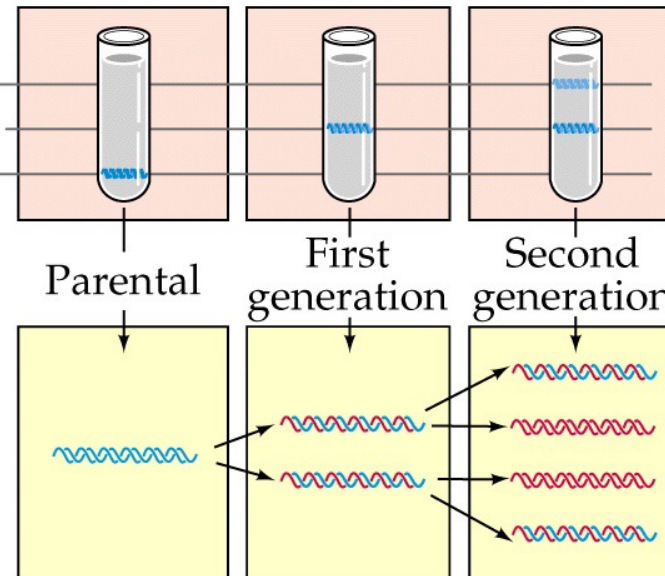
Question: Does DNA replicate semiconservatively, or by some other mechanism?

METHOD



RESULTS

$^{14}\text{N}/^{14}\text{N}$ (light) DNA
 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ (intermediate) DNA
 $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}$ (heavy) DNA



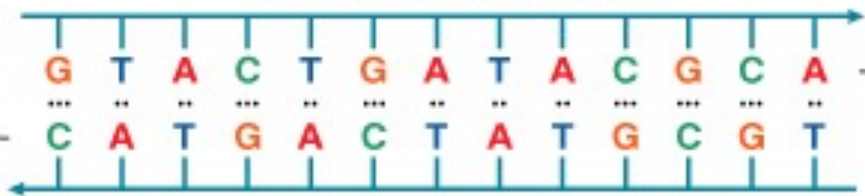
INTERPRETATION

Conclusion: DNA replication is semiconservative.

La replicazione del DNA

- L'esperimento di Meselson e Stahl ha provato che la replicazione del DNA avviene mediante il meccanismo definito semiconservativo.
- Un filamento parentale è utilizzato come stampo per la sintesi di un nuovo filamento.
- Le due eliche di DNA di nuova sintesi contengono ciascuna un filamento parentale e un filamento neosintetizzato.

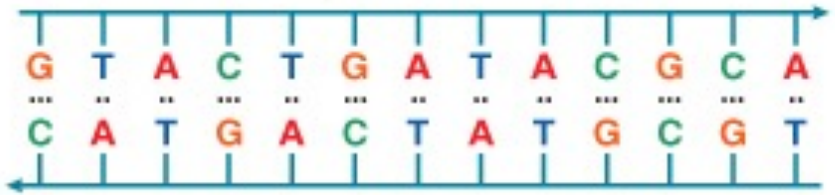
Parental DNA molecule



1 Separation of parental strands



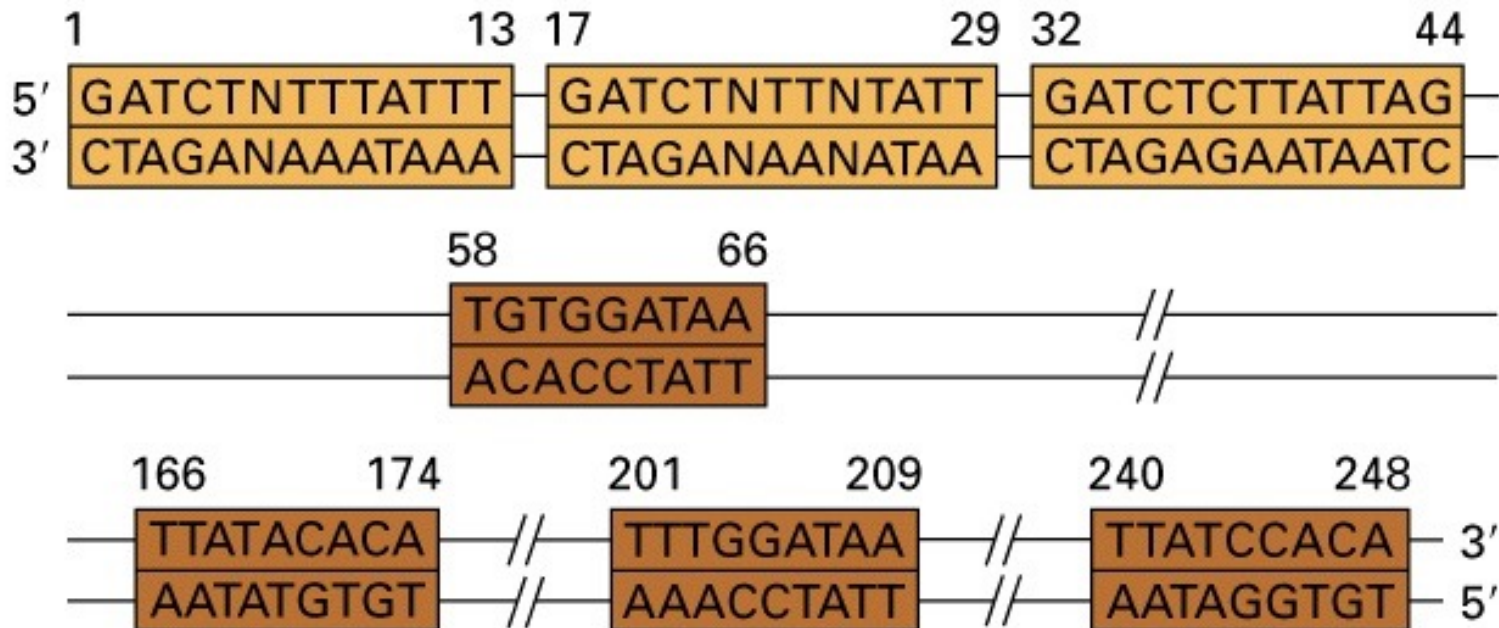
2 Synthesis of new complementary strands



**Two progeny DNA molecules
identical to the parental DNA molecule**

La replicazione del DNA comincia in siti specifici chiamati origini di replicazione

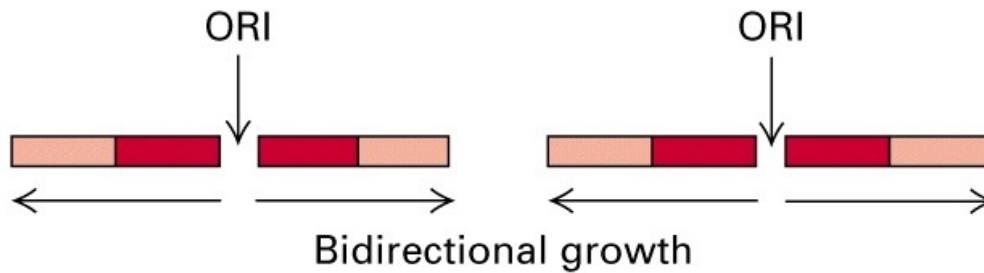
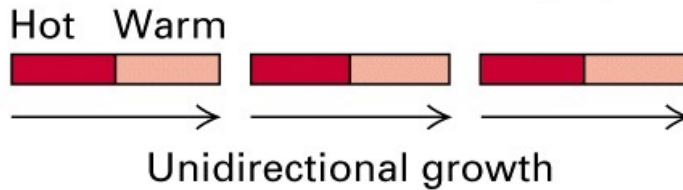
Sequenza consenso relativa all'origine di replicazione batterica



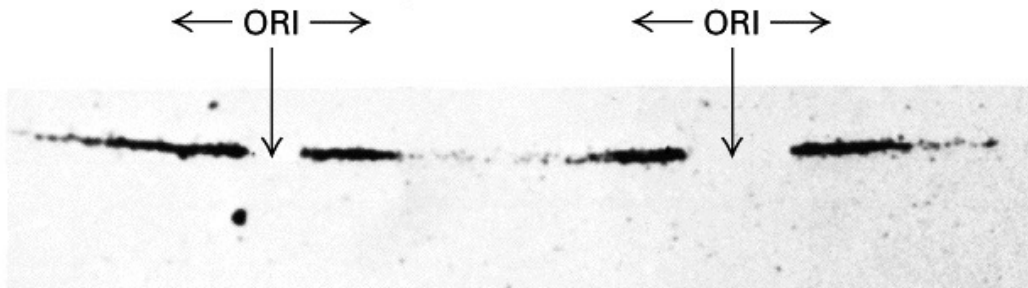
Le origini di replicazione, indipendentemente dall'organismo, sono: (1) segmenti di DNA unici di corte sequenze ripetute, (2) riconosciute da proteine specifiche e (3) solitamente ricche in AT

Per lo più la replicazione del DNA è bidirezionale

(a) Predicted fiber autoradiographic pattern



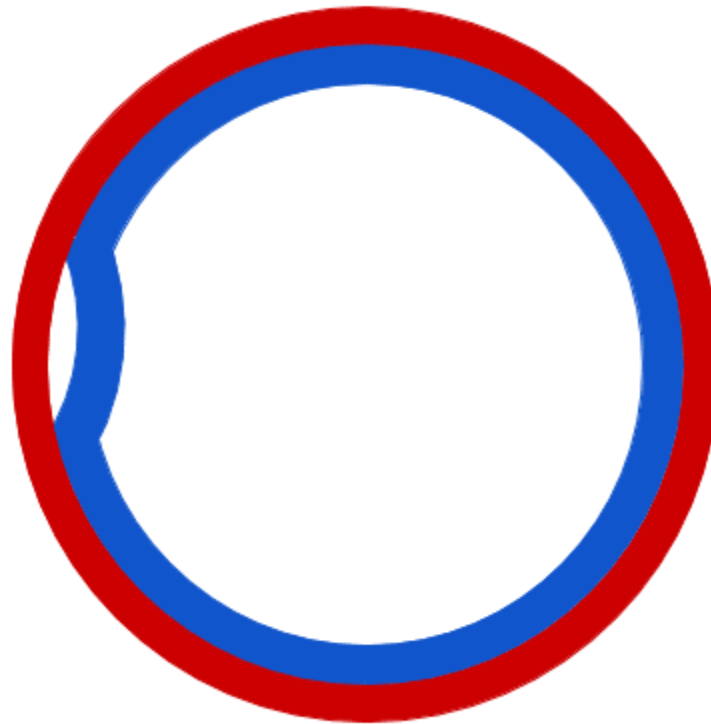
(b) Actual fiber autoradiographic pattern

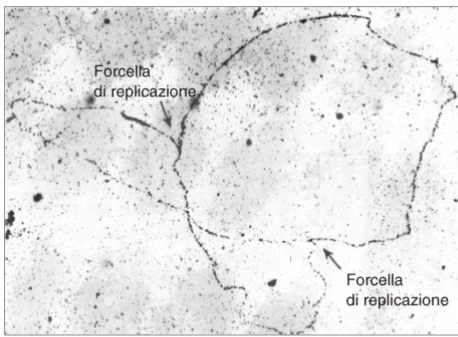


Il meccanismo di replicazione del DNA

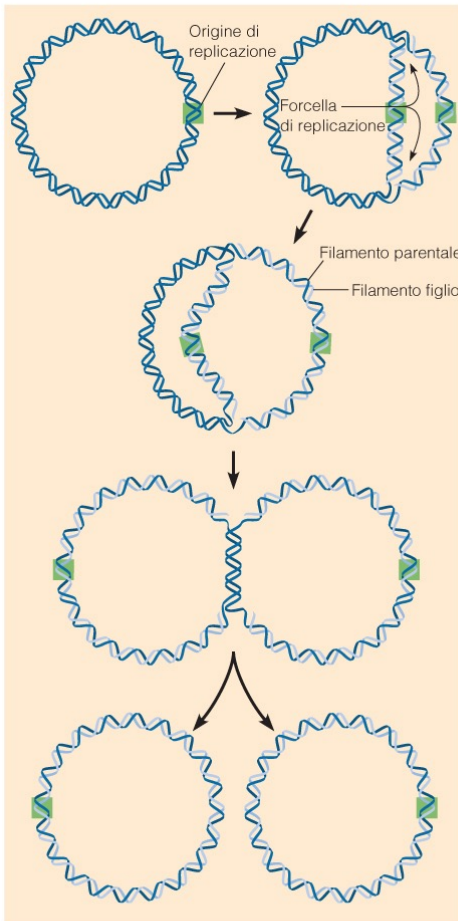
- I procarioti hanno una sola origine di replicazione; gli eucarioti ne hanno molte.
- In ogni origine la replicazione procede in entrambe le direzioni.

Replicazione bidirezionale nel cromosoma batterico





(a) Autoradiografia della replicazione del DNA in *E. coli* 0,25 μ m

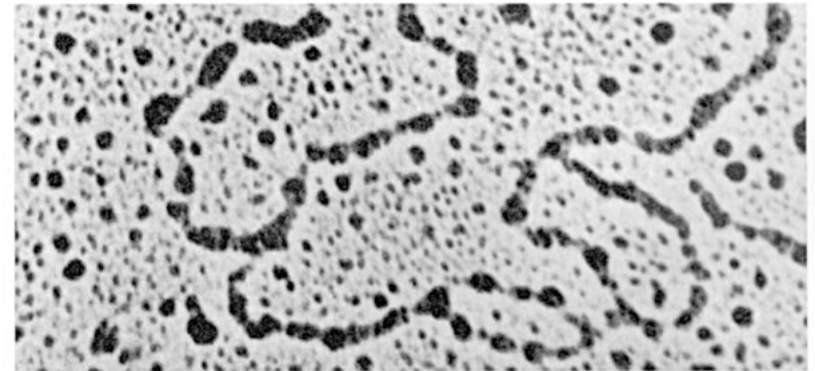
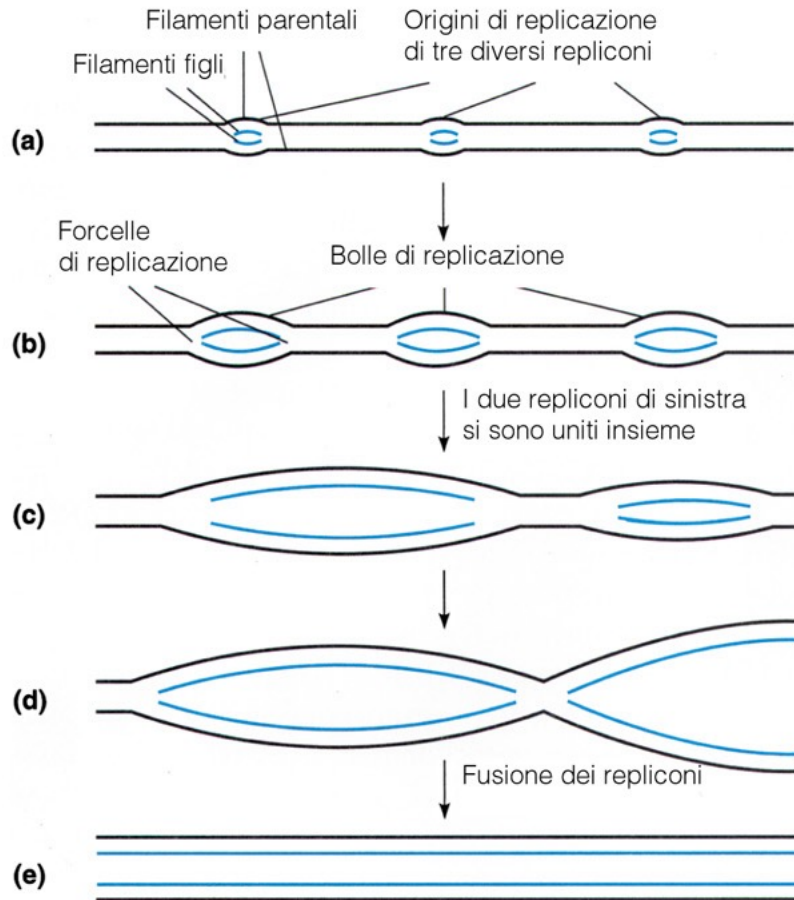


(b) Replicazione del DNA circolare

Figura 19-5 Replicazione del DNA circolare. (a) Questa autoradiografia mostra una molecola di DNA di *E. coli* colta nel momento della replicazione. Per poter visualizzare il DNA con l'autoradiografia, il batterio da cui proviene la molecola di DNA è stato fatto crescere in terreno contenente ^3H -timidina. Le frecce indicano le forcelle di replicazione. (b) La replicazione di una molecola di DNA circolare inizia da una singola origine e procede in modo bidirezionale lungo il DNA circolare, mentre le due forcelle di replicazione si muovono in direzioni opposte. I nuovi filamenti sono colorati in blu chiaro. Durante il processo di replicazione si generano delle strutture intermedie che assomigliano alla lettera greca theta (θ), da cui il nome di questo tipo di replicazione.

I procarioti
hanno un solo
replicone

Repliconi multipli nel DNA eucariotico



0,25 μm

Figura 17-6

Tabella 3.3 Confronto tra i repliconi dei batteri e degli eucarioti

Organismo	N° di repliconi	Lunghezza media	Movimento della forca
Batterio (<i>E. coli</i>)	1	4200 kb	50.000 bp/min
Lievito (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	500	40 kb	3600 bp/min
Moscerino (<i>Drosophila melanogaster</i>)	3500	40 kb	2600 bp/min
Rana (<i>Xenopus laevis</i>)	15.000	2000 kb	500 bp/min
Topo (<i>Mus musculus</i>)	25.000	150 kb	2200 bp/min
Pianta (<i>Vicia faba</i>)	35.000	300 kb	n.d. ^a

^a n.d.- valore non disponibile

GLI INGREDIENTI NECESSARI ALLA DUPLICAZIONE DEL DNA SONO:

- 1) LE ELICASI
- 2) LE PROTEINE CHE DESTABILIZZANO LA DOPPIA ELICA
- 3) LE TOPOISOMERASI
- 4) LO STAMPO
- 5) UN INNESCO
- 6) LA PRIMASI
- 7) LE DNA POLIMERASI
- 8) LE LIGASI
- 9) I QUATTRO DESOSSIRIBONUCLEOSIDI TRIFOSFATI

I Complessi Proteici Necessari Alla Duplicazione del DNA in *E. coli* Sono:

DnaA

ELICASI (DnaB, DnaC) = ESAMERO 300 kD

Proteine SSB = TETRAMERO 74 kD

PROTEINA PriA (fago PhiX174) = 82 kD

PRIMASI (DnaG) = MONOMERO 60 kD

TOPOISOMERASI (GIRASI)

DNA POLIMERASI = OLOENZIMA 900 kD

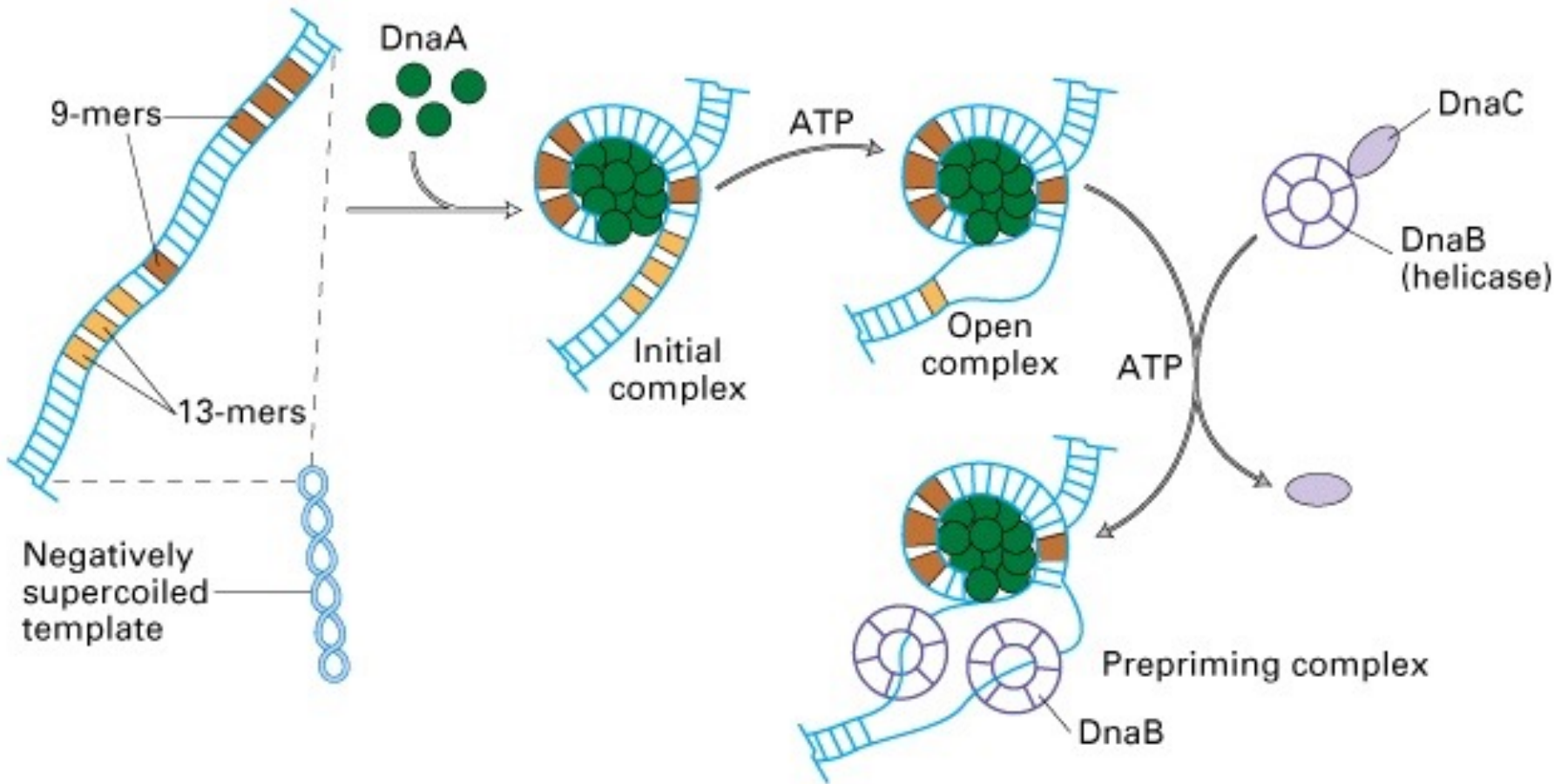
- subunità α = complesso catalitico
- subunità τ = lega 2 complessi catalitici
- subunità β = mantiene la polimerasi sul DNA
- subunità γ = mantiene subunità β sul DNA

LIGASI

Ci sono vari “problemi” che devono essere superati dalla DNA polimerasi per copiare il DNA

- La DNA polimerasi è incapace di aprire il DNA a doppia elica al fine di separare i due filamenti che devono essere copiati
- Tutte le DNA polimerasi note possono solo allungare un filamento di DNA o RNA preesistente (il primer) e sono incapaci di iniziare la catena
- I due filamenti nella doppia elica del DNA hanno polarità opposta, ma tutte le DNA polimerasi catalizzano l'aggiunta di nucleotidi solo all'estremità 3'-OH della catena nascente, così che il filamento può crescere soltanto nella direzione 5' -> 3': abbiamo quindi un filamento che cresce nella direzione dell'apertura della forca replicativa (**leading strand**) e un filamento che cresce in direzione opposta (**lagging strand**)

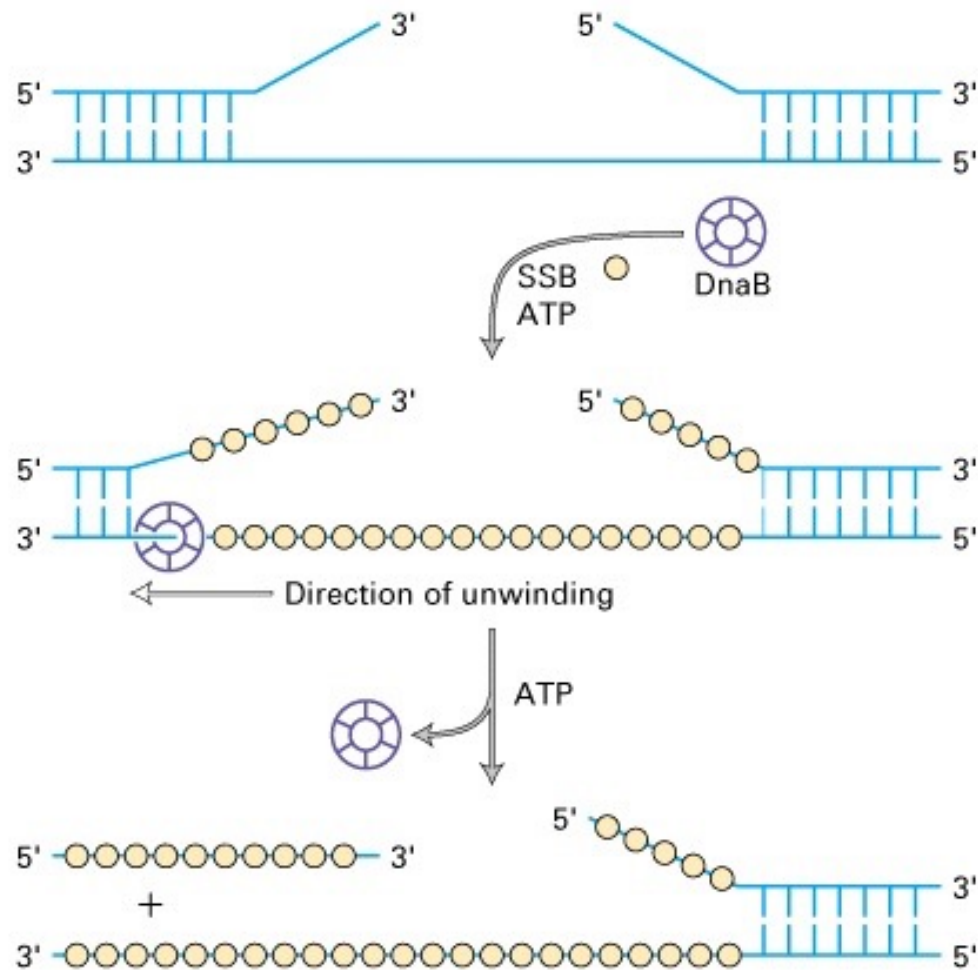
La proteina DnaA è responsabile dell'inizio della replicazione in *E. coli*

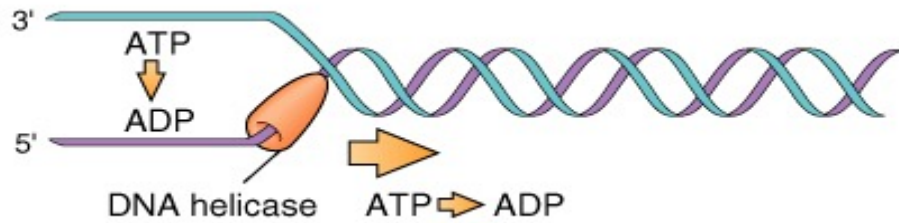


Il meccanismo di replicazione del DNA

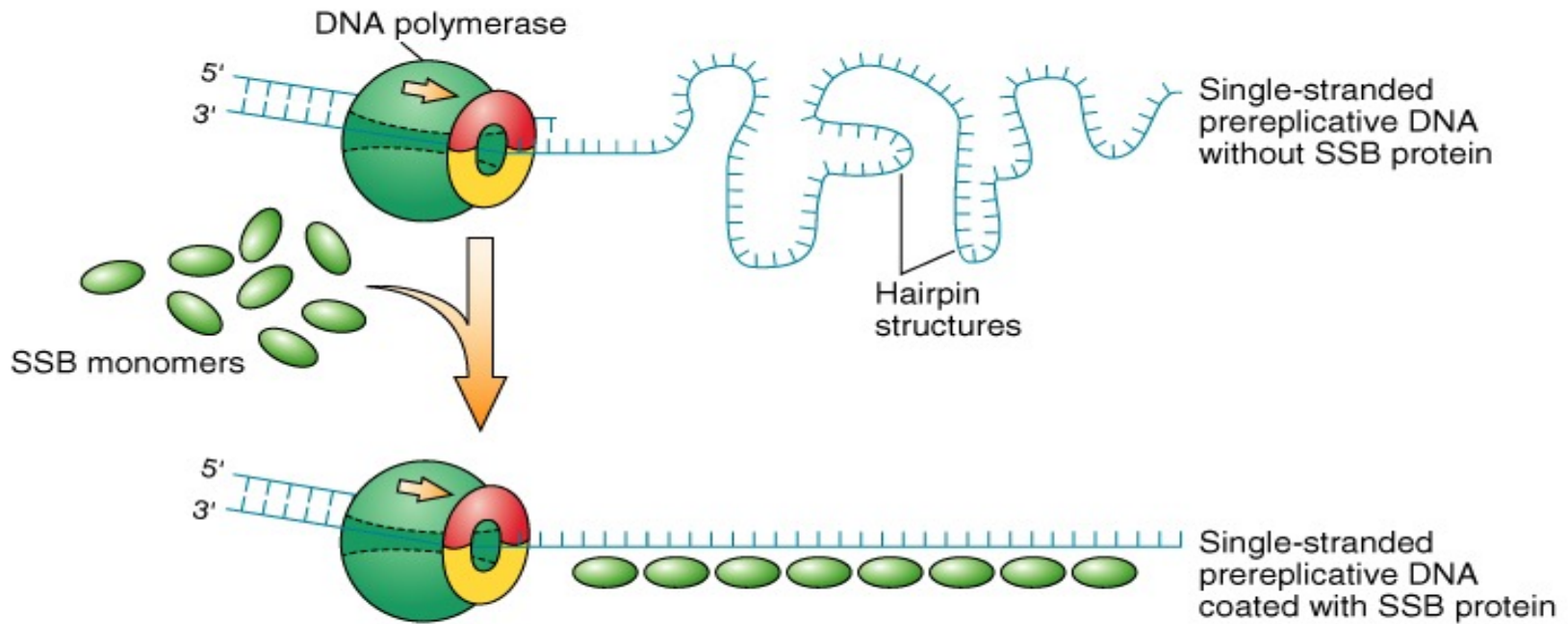
- Le DNA elicasi srotolano la doppia elica;
- i filamenti stampo vengono stabilizzati da proteine (ssbp single strand binding proteins).

La proteina DnaB è una elicasi di *E. coli* che apre il doppio filamento di DNA





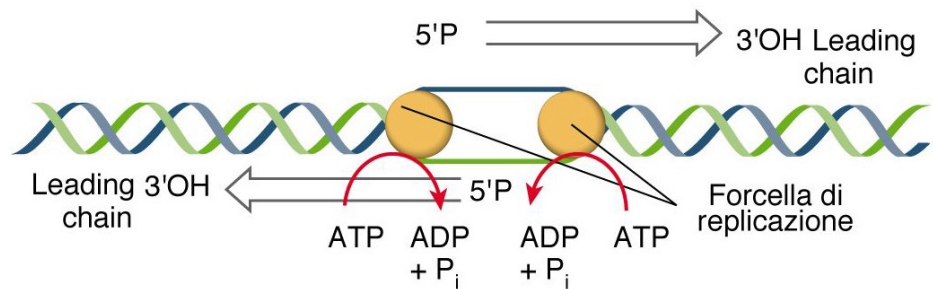
(a) DNA helicase catalyzes the unwinding of the parental double helix.



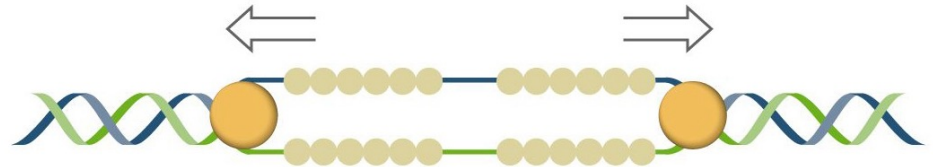
(b) Single-stranded DNA-binding (SSB) proteins keep the unwound strands in an extended form for replication.



Attacco delle elicasi alla doppia elica



1 molecola di ATP/giro d'elica



Attacco delle proteine ai filamenti singoli per mantenerli separati




-  Elicasi, proteine che si attaccano alla doppia elica e la aprono
-  Proteine di srotolamento, che destabilizzano l'elica dopo essersi attaccate ai filamenti singoli
-  Direzione di avanzamento

FIGURA 4.5 Apertura della doppia elica e mantenimento dei filamenti separati nella formazione della bolla di replicazione.

Forcella di replicazione

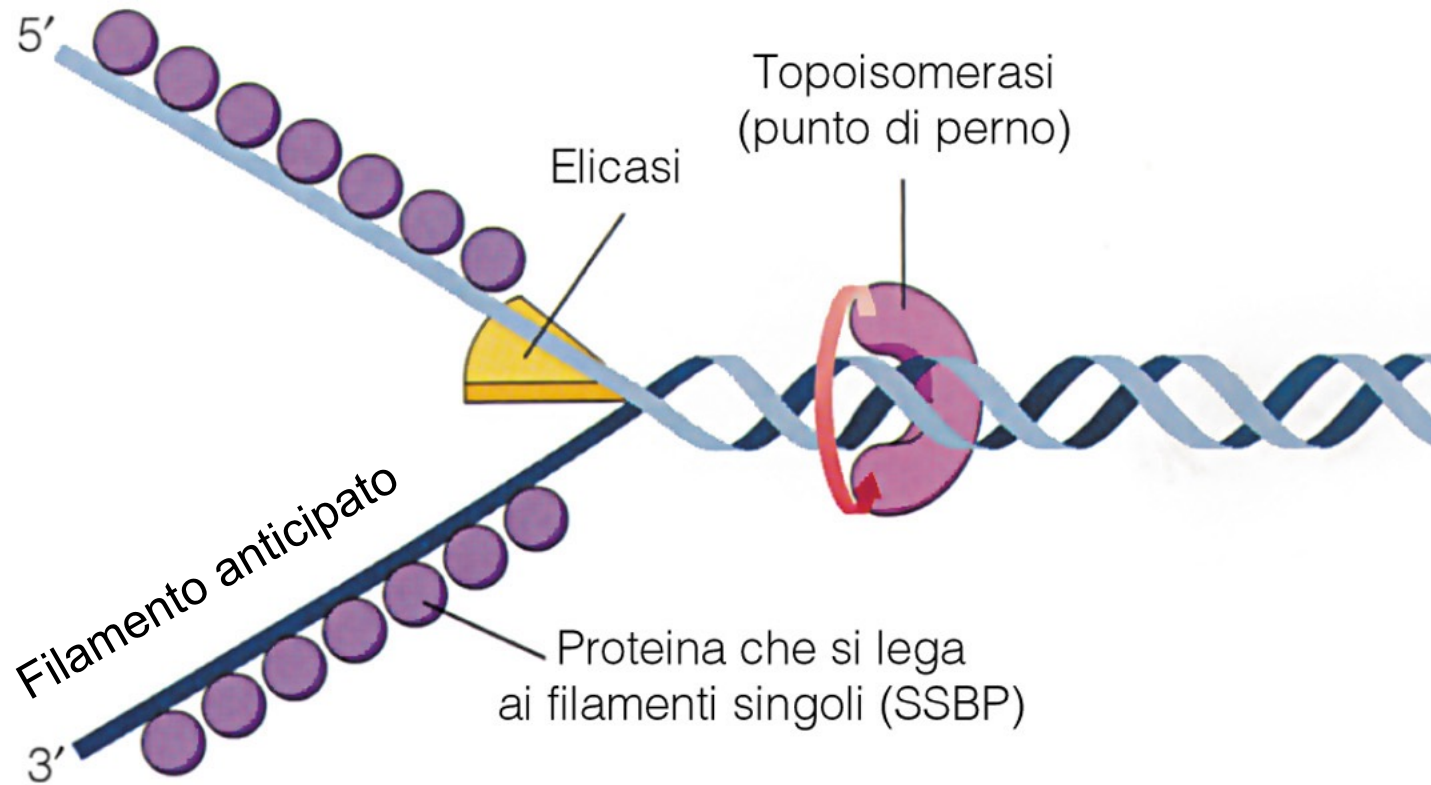
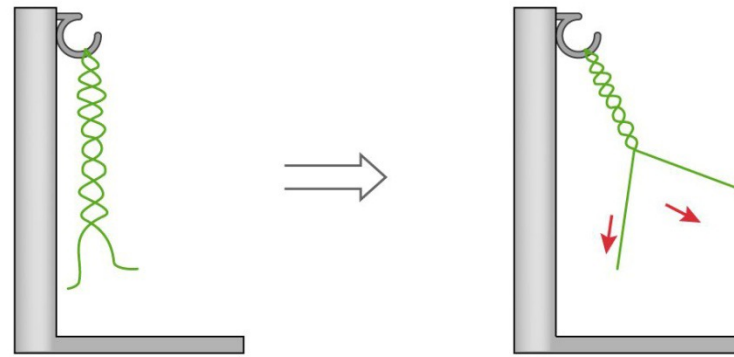
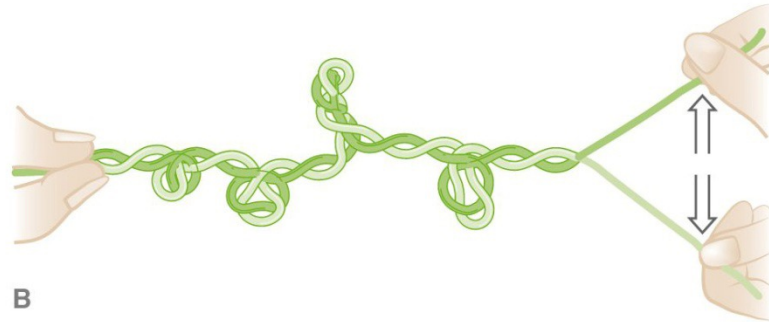
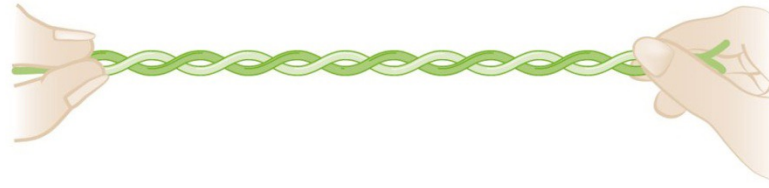


Figura 17-12



A



B

FIGURA 4.6 Il procedere della forcella di replicazione **(A)** provoca un movimento di torsione della molecola del DNA e quindi il suo superavvolgimento, **(B)** come quando si vuole svolgere una corda a due capi con una delle estremità attaccata ad un uncino.

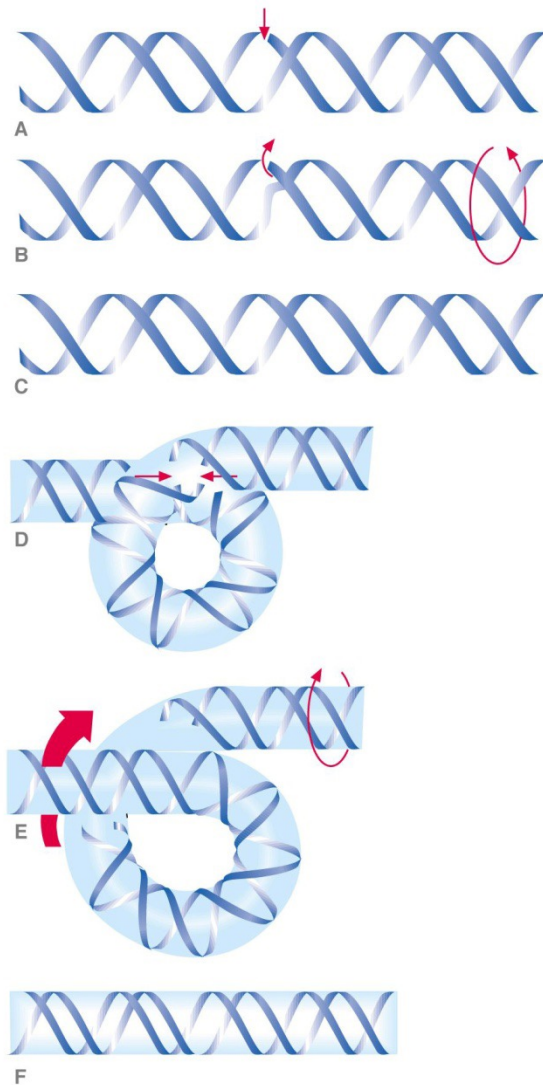


FIGURA 4.7 (A-B-C) L'azione della topoisomerasi I: l'enzima introduce un singolo taglio; in seguito la molecola viene risaldata. **(D-E-F)** L'azione della topoisomerasi II: l'enzima introduce una rottura in entrambi i filamenti; in seguito la molecola viene risaldata.

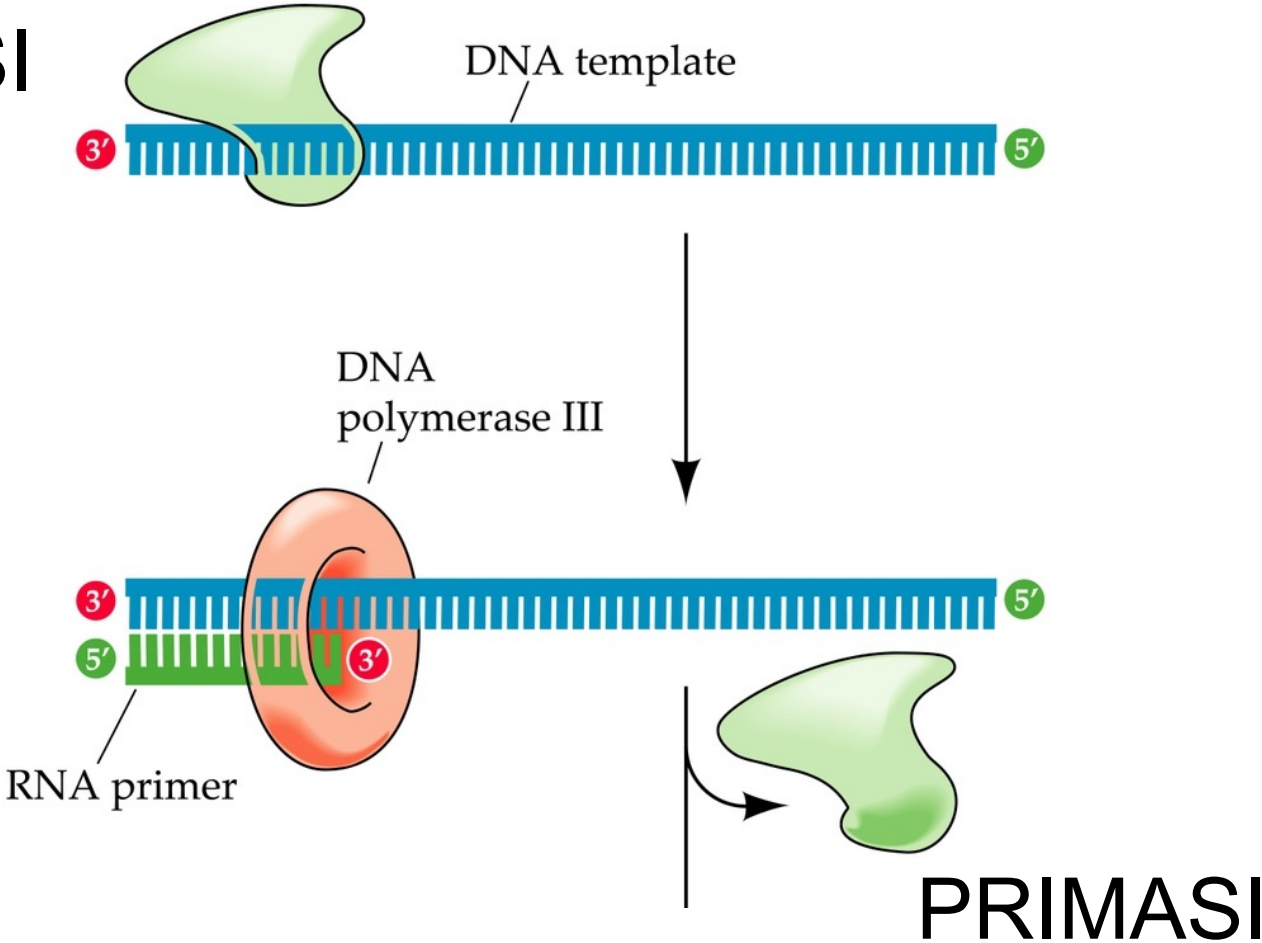
La DNA girasi o topoisomerasi di tipo II

- L'enzima rilassa il superavvolgimento positivo che si origina con il parziale srotolamento della doppia elica;
- può anche promuovere l'introduzione di superavvolgimenti negativi che favoriscono la separazione dei due filamenti, facilitando l'interazione con altre proteine coinvolte nella replicazione del DNA.

Il meccanismo di replicazione del DNA

- Una RNA primasi (DNA G in E.coli) catalizza la sintesi di corti RNA primers, ai quali verranno poi aggiunti i nucleotidi dalla DNA polimerasi.

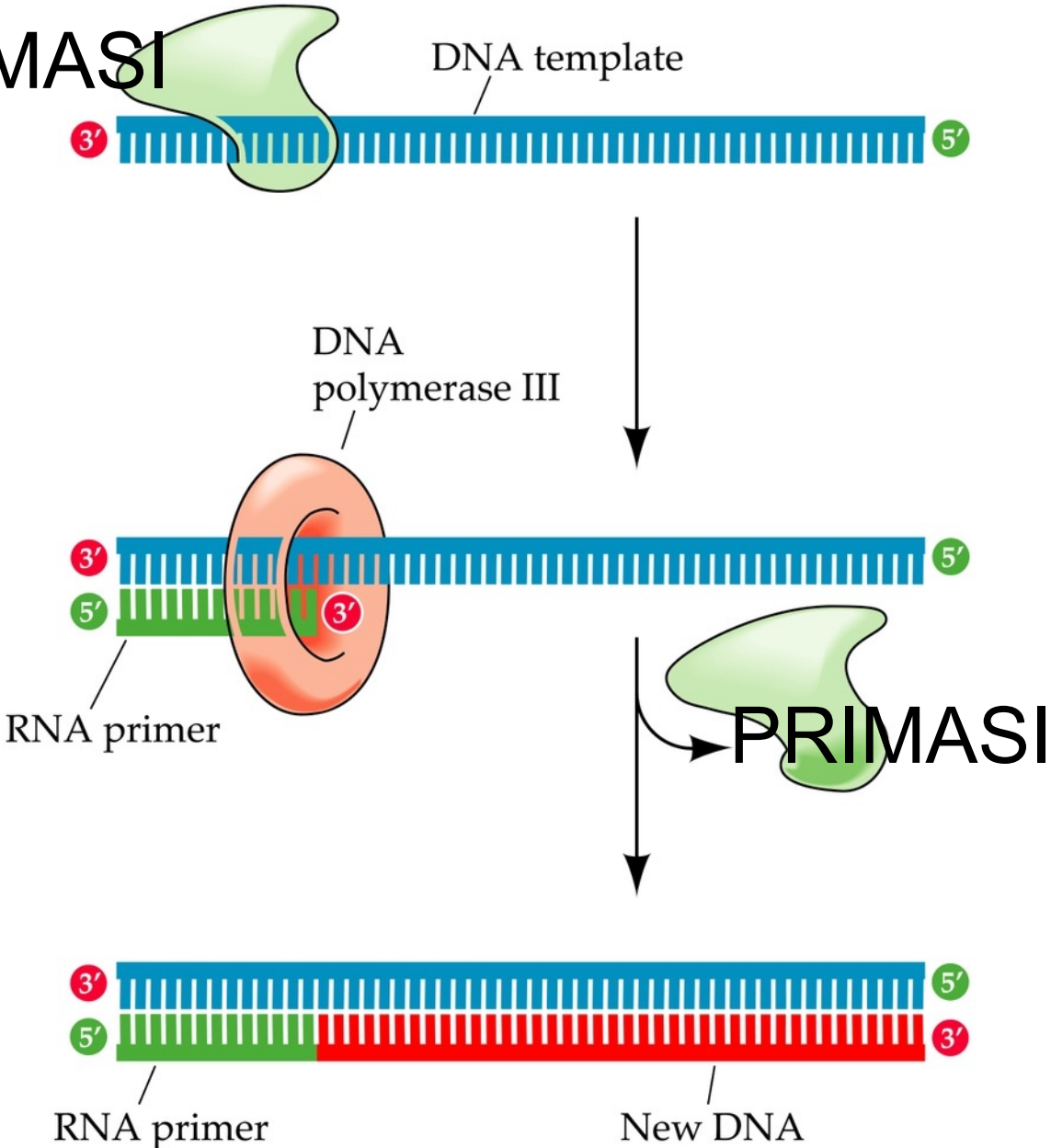
PRIMASI

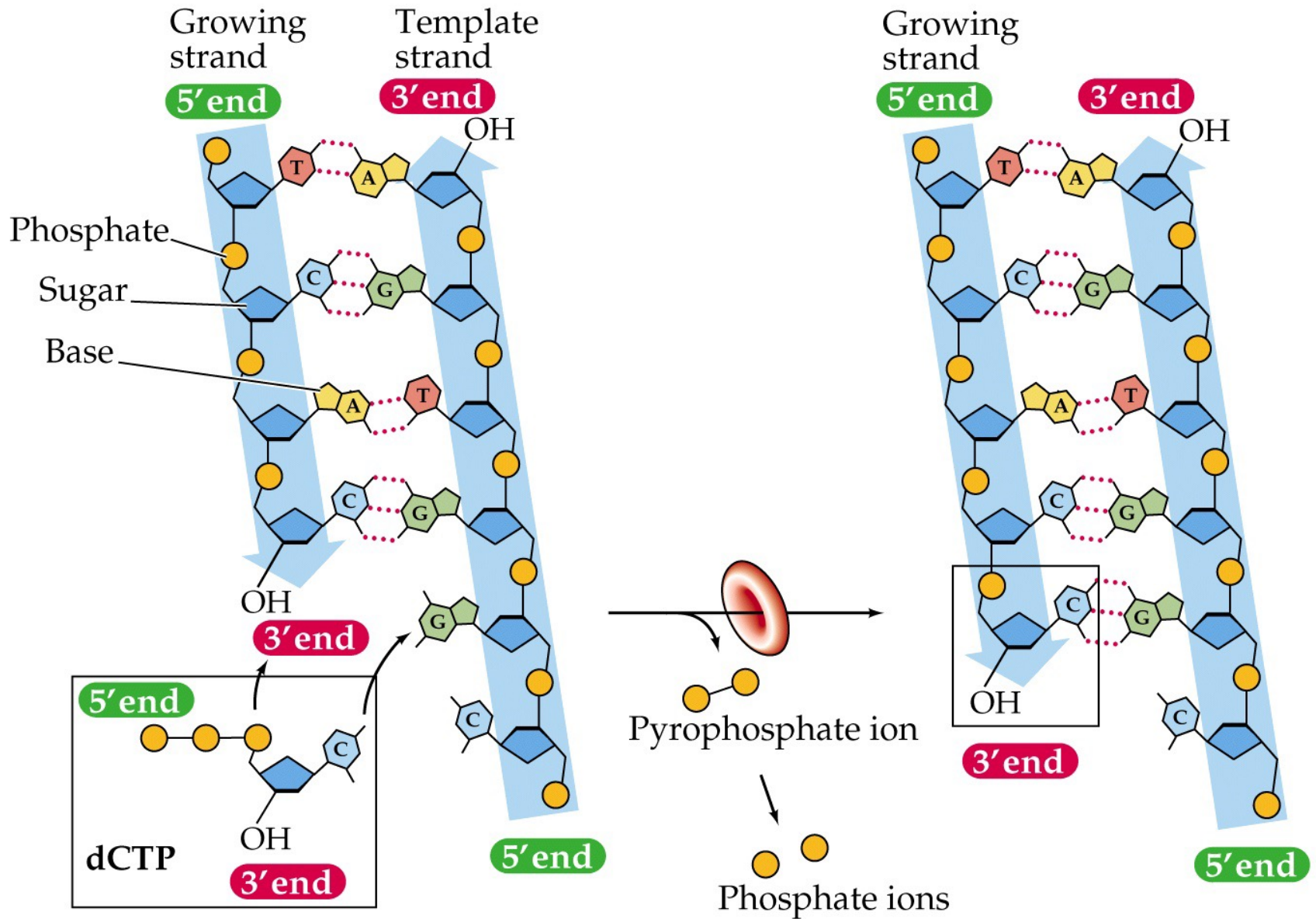


Il meccanismo di replicazione del DNA

- La DNA polimerasi catalizza nucleotidi all'estremità 3'. I nucleotidi sono aggiunti per complementarità delle basi con il filamento stampo.
- I substrati, i **deossiribonucleosidi trifosfati**, sono idrolizzati, rilasciando energia per la sintesi del DNA.

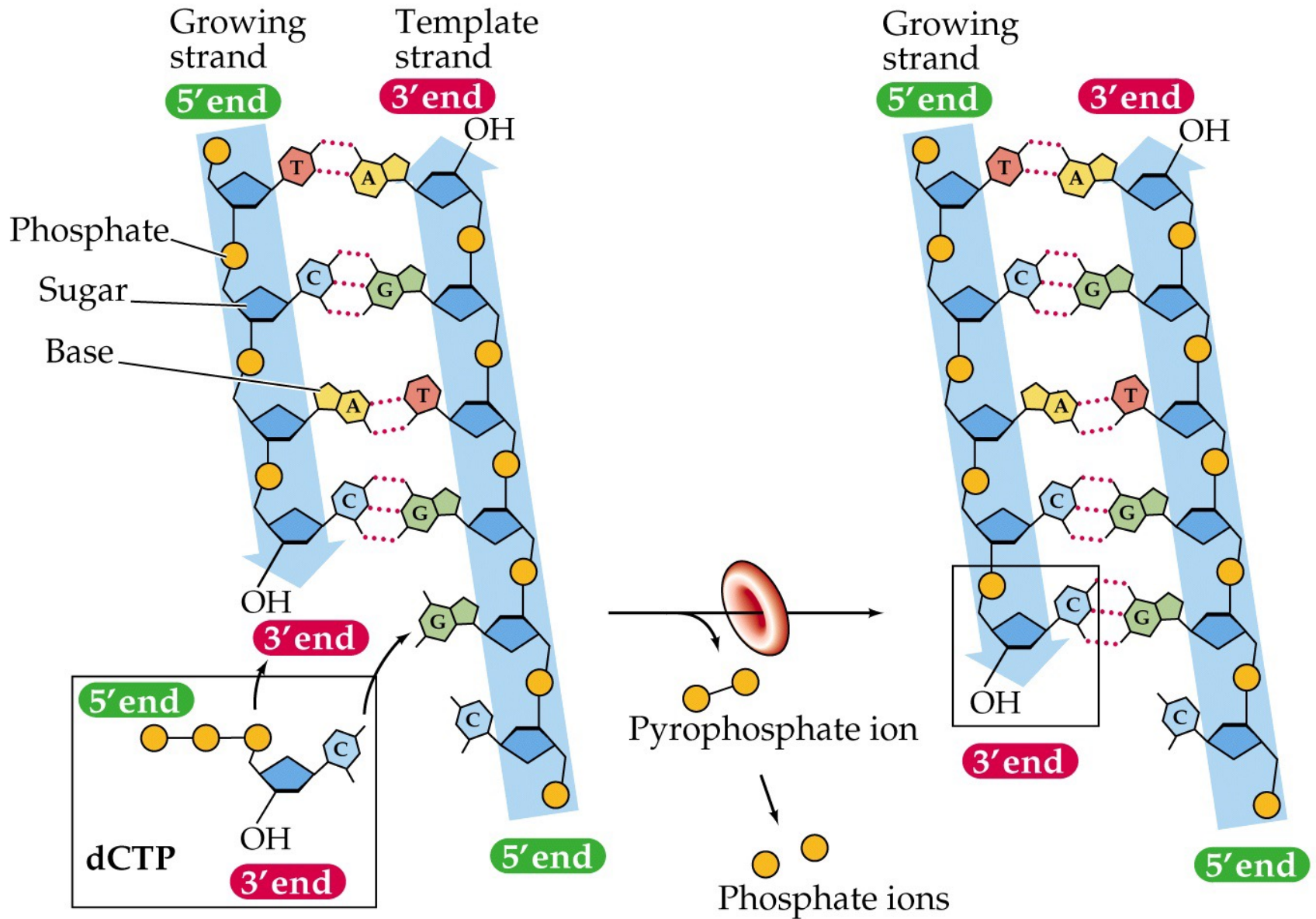
PRIMASI





DNA POLIMERASI

- Polimerizza un nuovo filamento di DNA utilizzando come stampo un filamento di DNA complementare già esistente
- Scinde il gruppo pirofosfato di un deossiribonucleoside trifosfato e utilizzando l'energia liberata forma il legame fosfodiesterico tra il gruppo OH libero (3') dell'ultimo nucleotide e il gruppo fosforico al 5' del nuovo nucleotide
- Può funzionare solo se esiste un innesco
- Nei procarioti è la polimerasi III, negli eucarioti la polimerasi δ



Il meccanismo di replicazione del DNA

- L'azione della DNA polimerasi determina la crescita del filamento Veloce (o leading) nella direzione 5'-3' fino alla fine del replicone.
- Il primer di RNA viene quindi degradato e rimpiazzato con DNA.

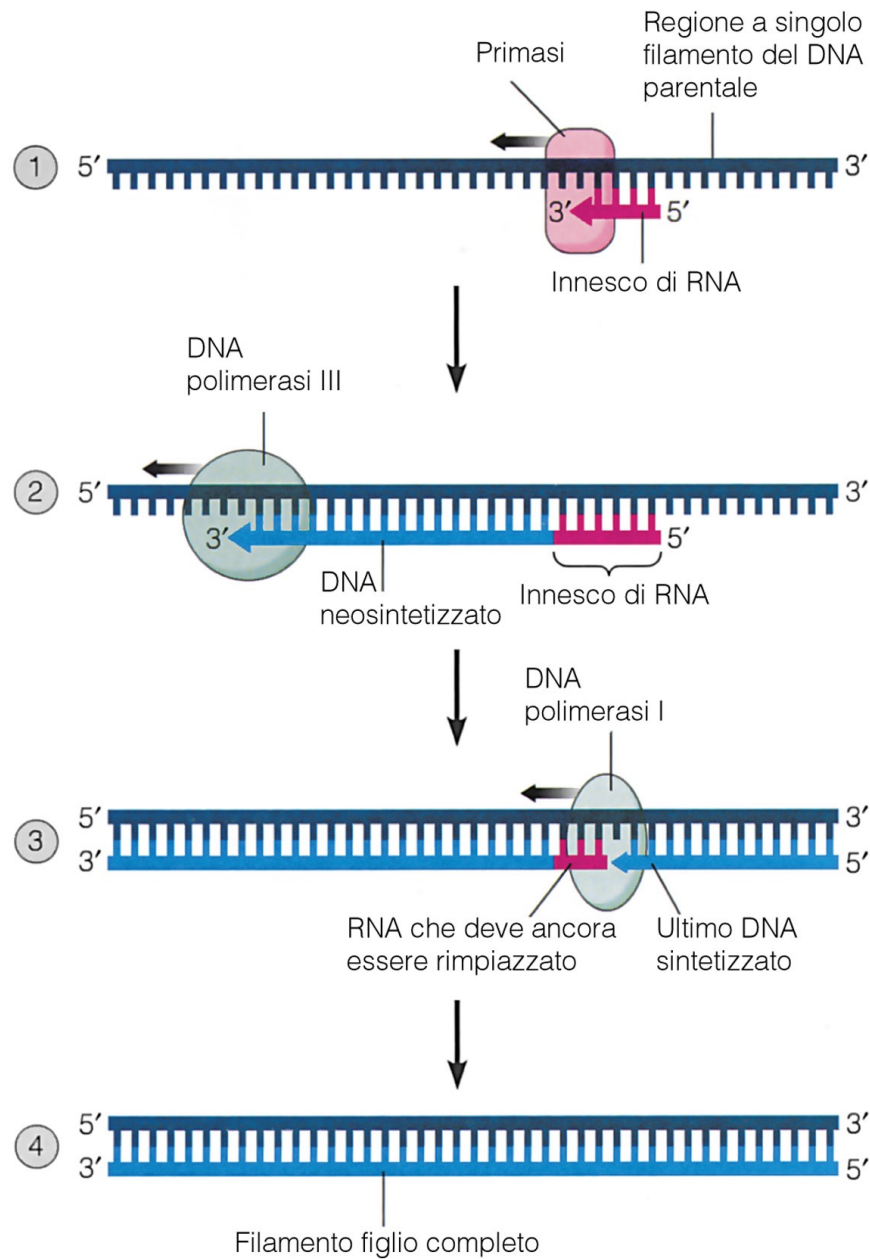
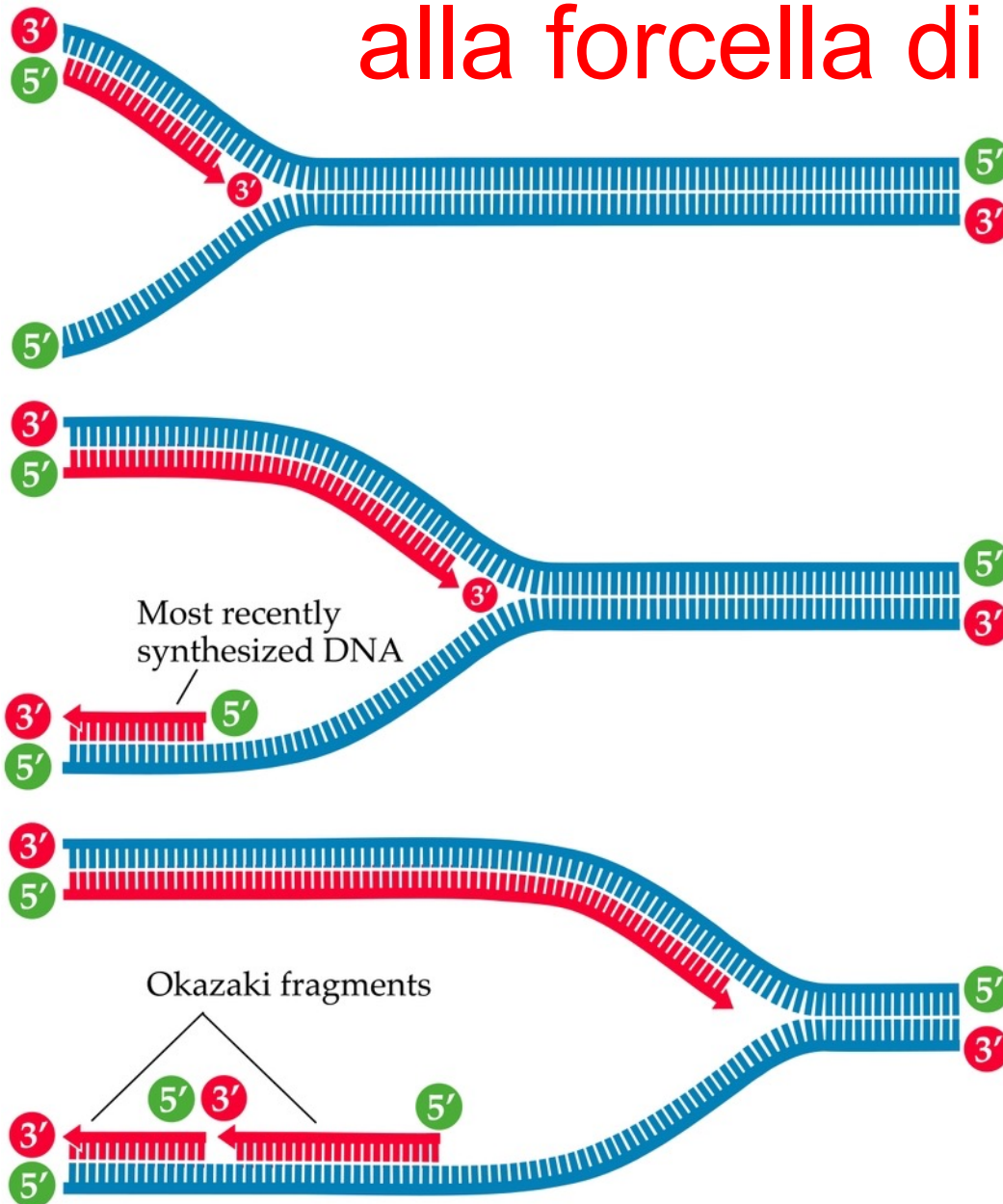


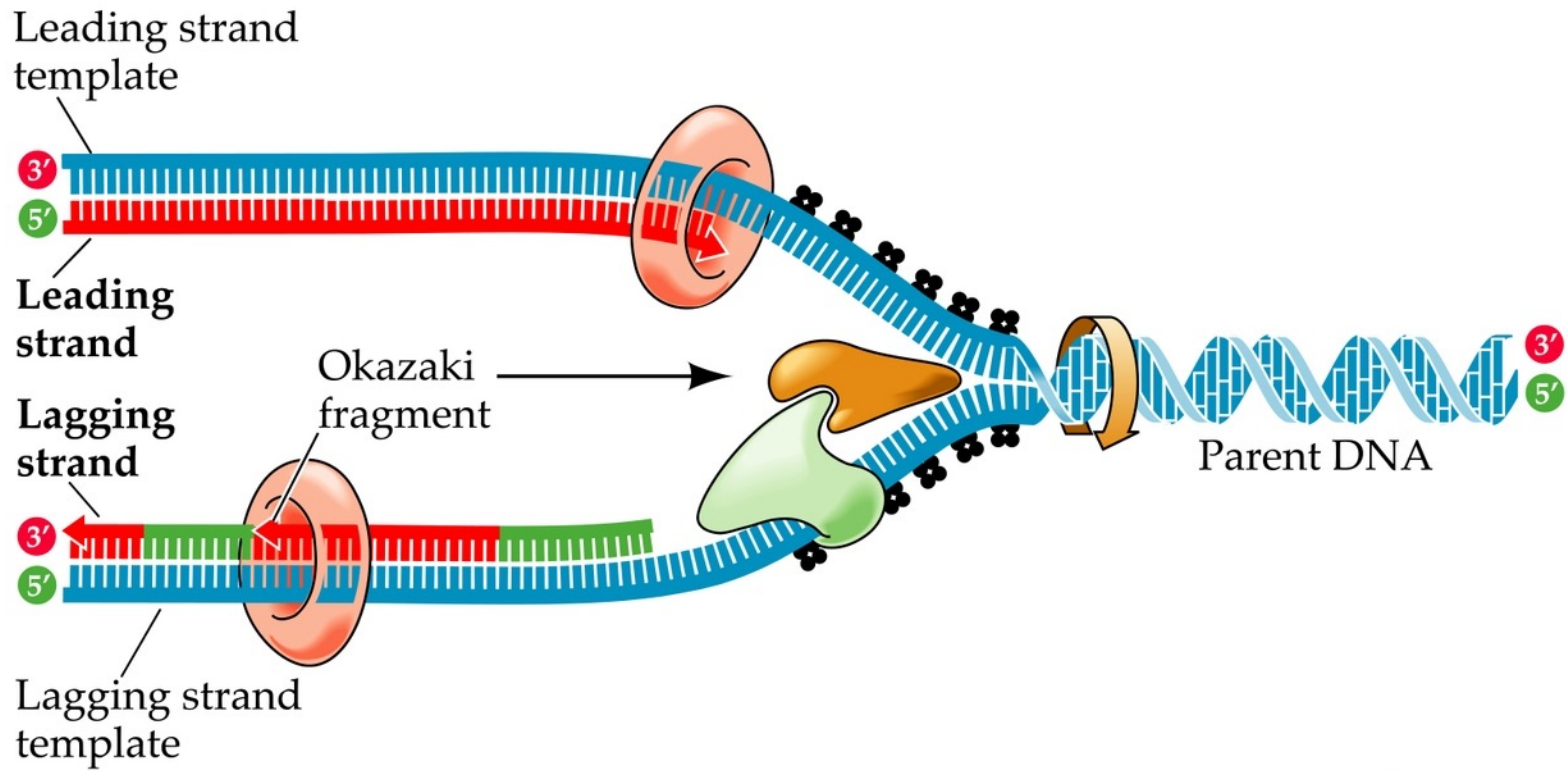
Figura 17-11

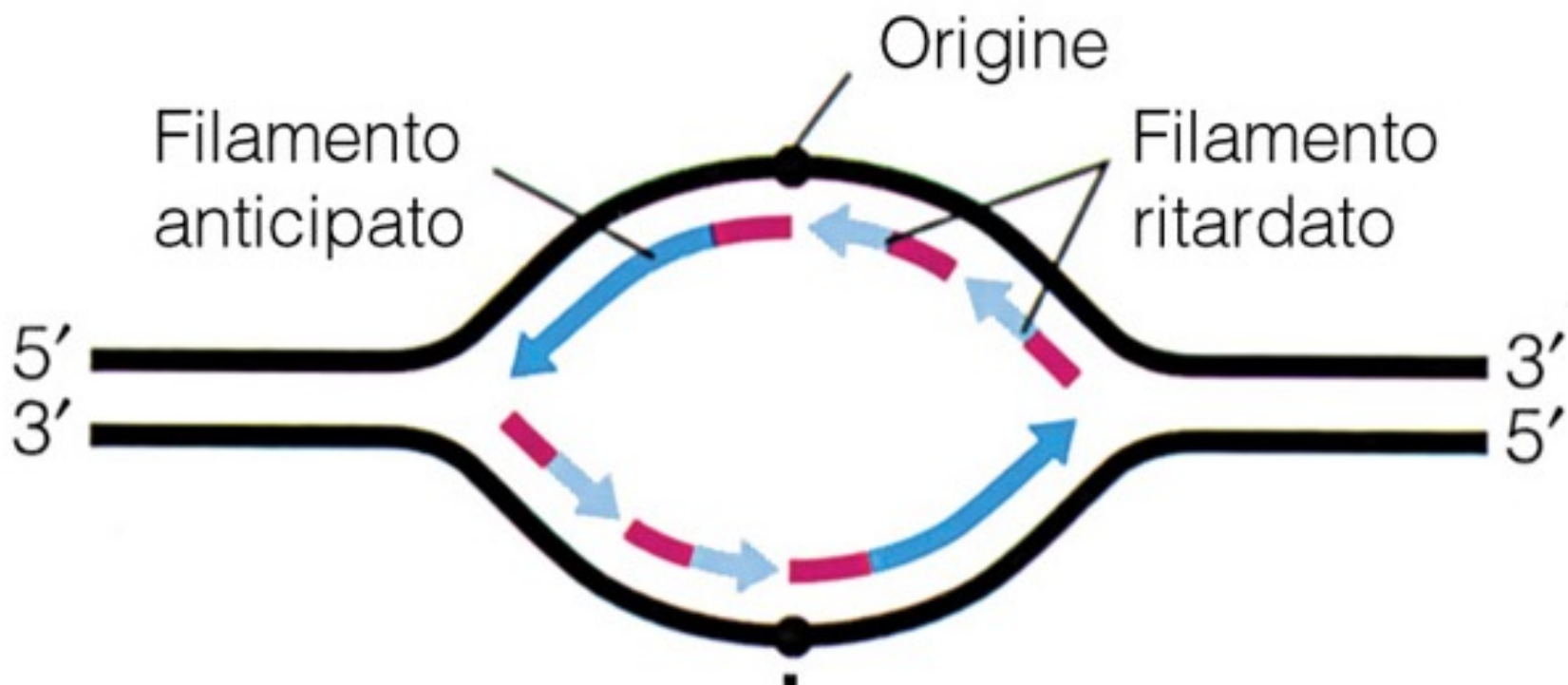
Il Meccanismo della replicazione del DNA: il filamento ritardato

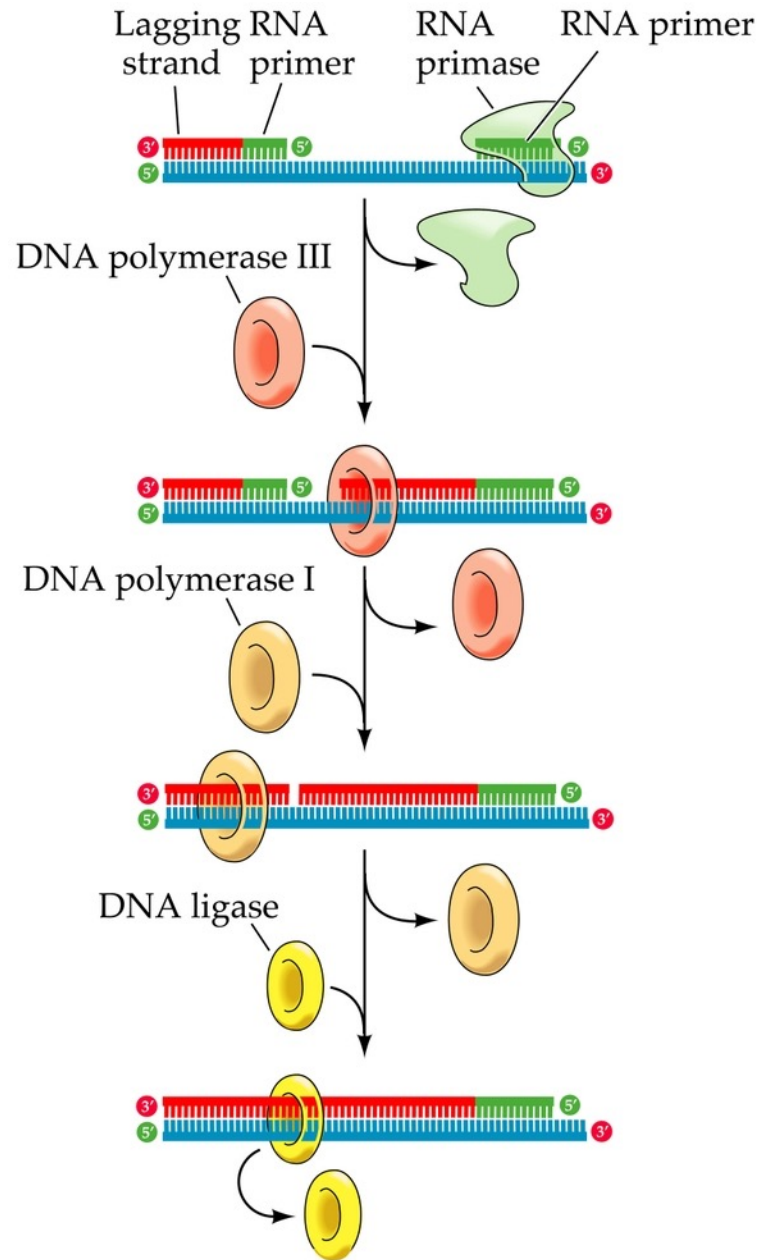
- Sul filamento ritardato (lagging strand), che cresce nella direzione opposta, il DNA è comunque sintetizzato in direzione 5'-3' ma la sintesi è discontinua: le basi vengono aggiunte a corti frammenti detti primers, ogni volta la DNA polimerasi “salta indietro” per fare un nuovo frammento.

Direzione della sintesi del DNA alla forcella di replicazione



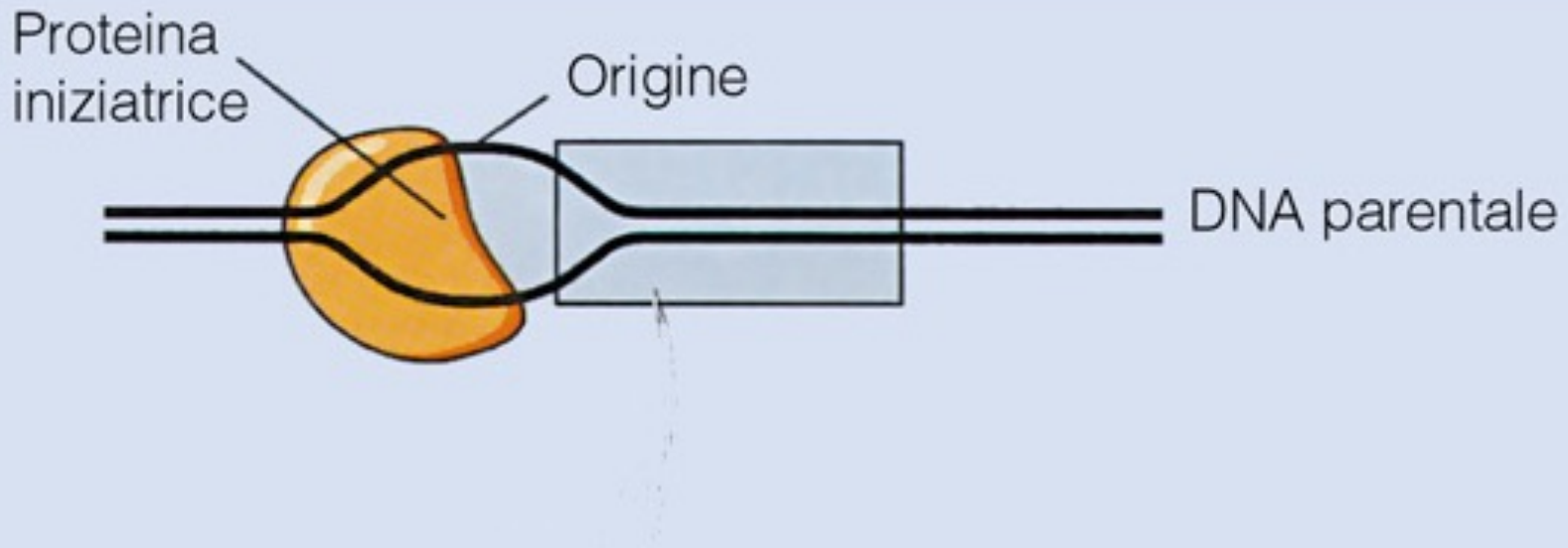




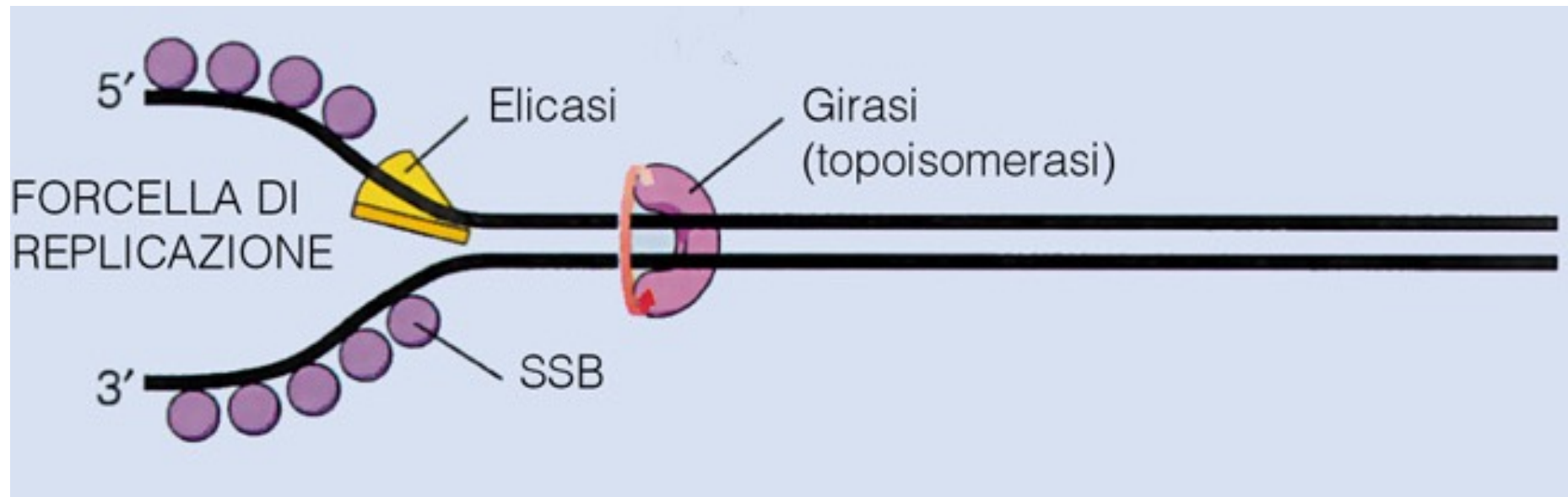


- <https://www.jove.com/embed/player?id=11550&t=1&s=1&fpv=1>

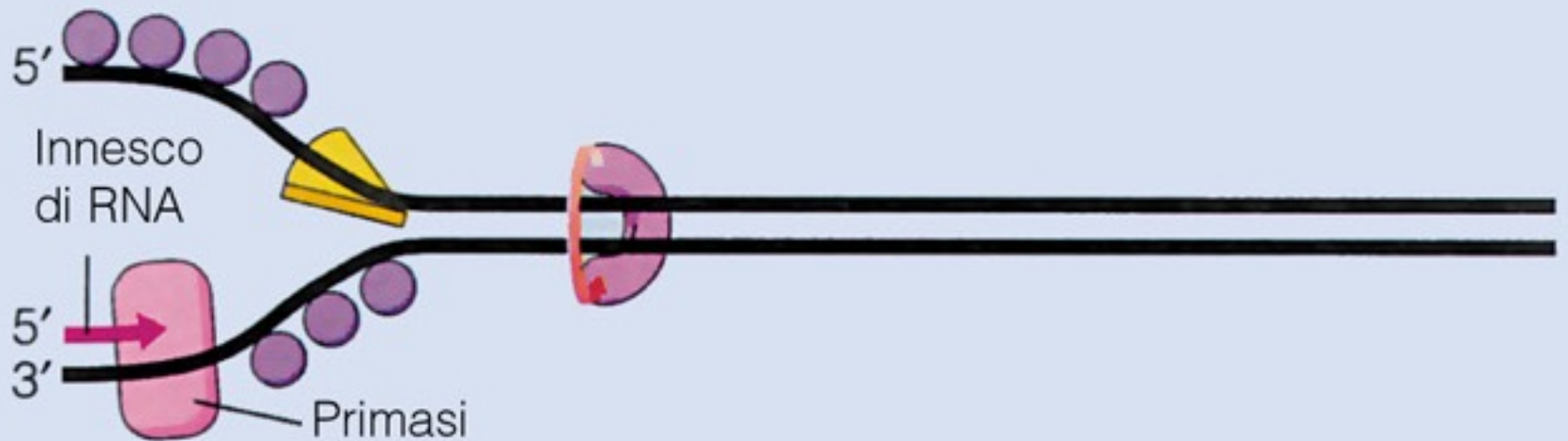
Riassunto della replicazione nei batteri



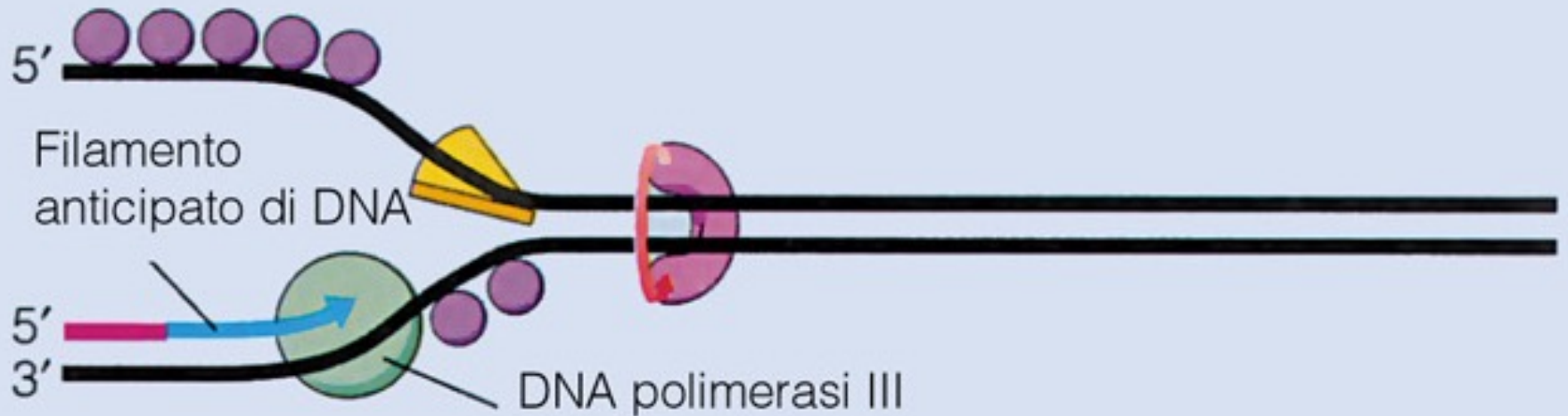
- 1 La proteina iniziatrice si lega al DNA a doppia elica nel punto di origine della replicazione e, utilizzando l'energia derivata dall'ATP, inizia ad aprire il DNA.



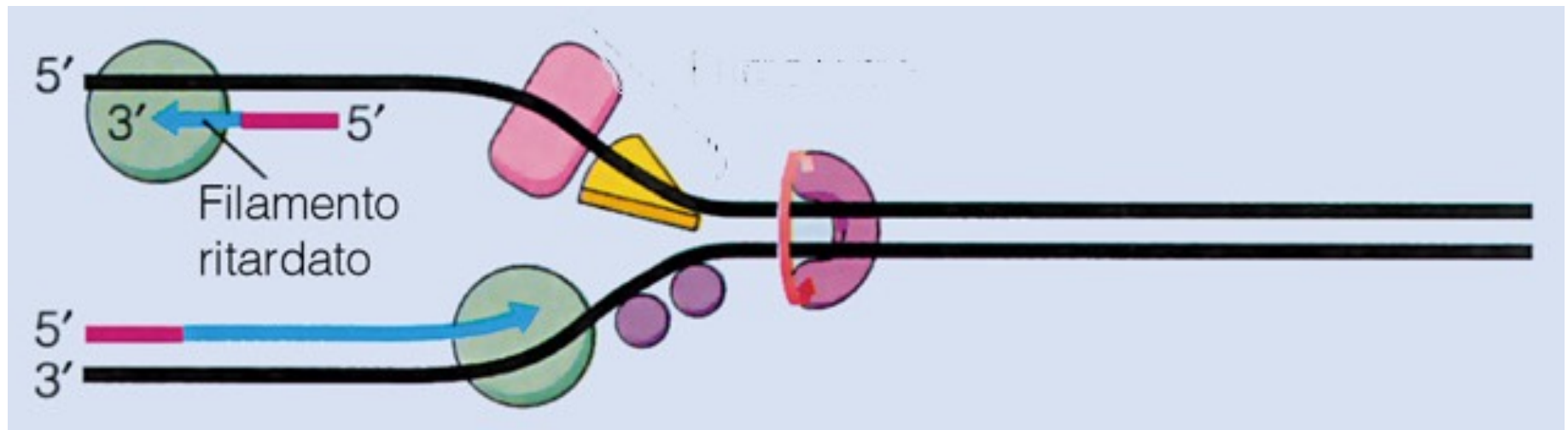
- ② L'elicasi si attacca al DNA aperto e continua a svolgerlo. Intanto, una topoisomerasi, la DNA girasi, facilita la separazione dei filamenti introducendo superavvolgimenti negativi a monte dell'elicasi. I filamenti sono tenuti separati da proteine che si legano ai filamenti singoli (SSBP) che, legandosi alla regione aperta del DNA, permettono ai filamenti separati di fare da stampo.



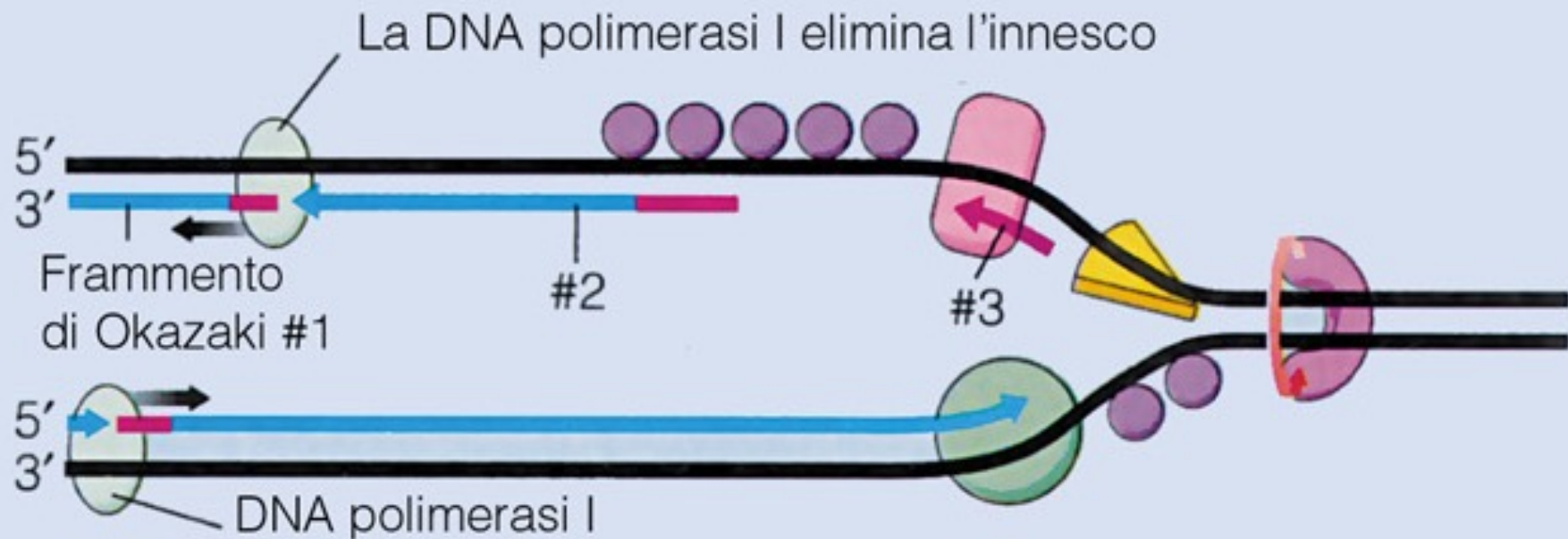
- 3 La primasi si lega sullo stampo del filamento anticipato e sintetizza un corto innesco di RNA complementare al DNA stampo.



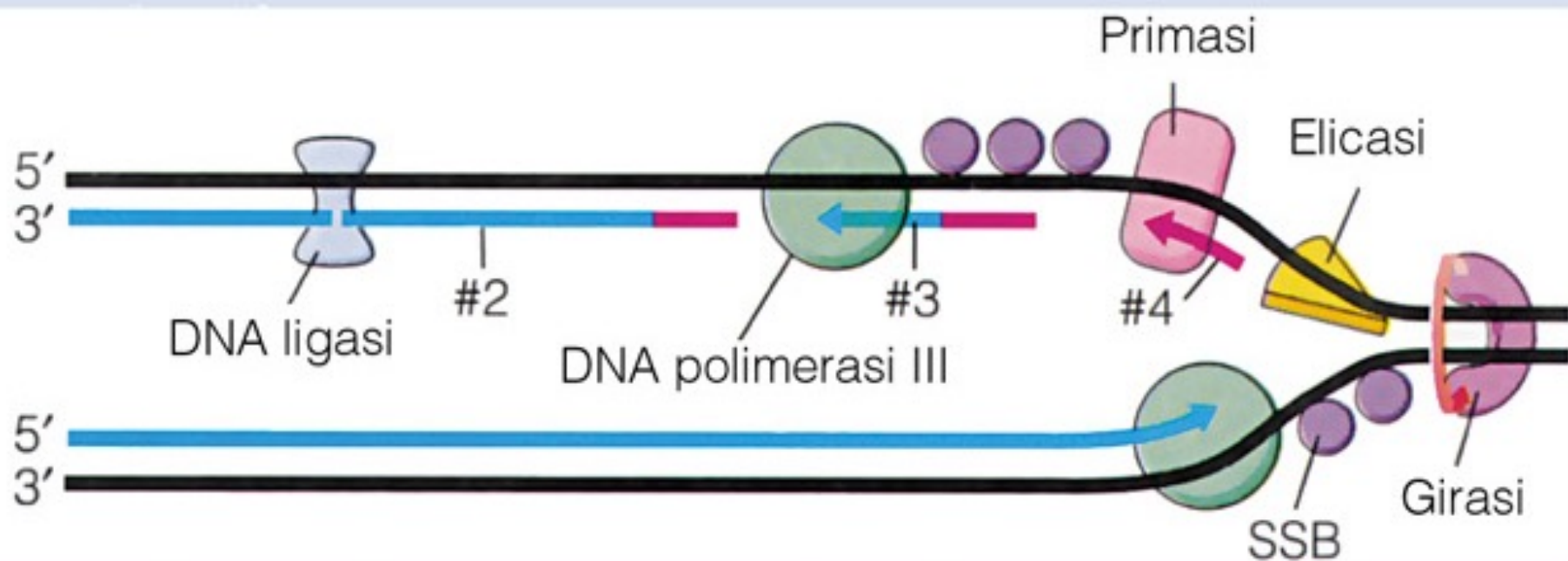
- ④ La DNA polimerasi III (polimerasi δ negli eucarioti) usa questo innesco per iniziare a sintetizzare il DNA e aggiunge desossiribonucleotidi alla sua estremità 3'. Per il filamento anticipato è sufficiente un solo innesco perché poi la sintesi può procedere in modo continuo in direzione 5' \rightarrow 3'.



- 5 Viene sintetizzato un innesco di RNA per il filamento ritardato dalla cui estremità 3' la DNA polimerasi III (polimerasi α negli eucarioti) estende la sintesi.

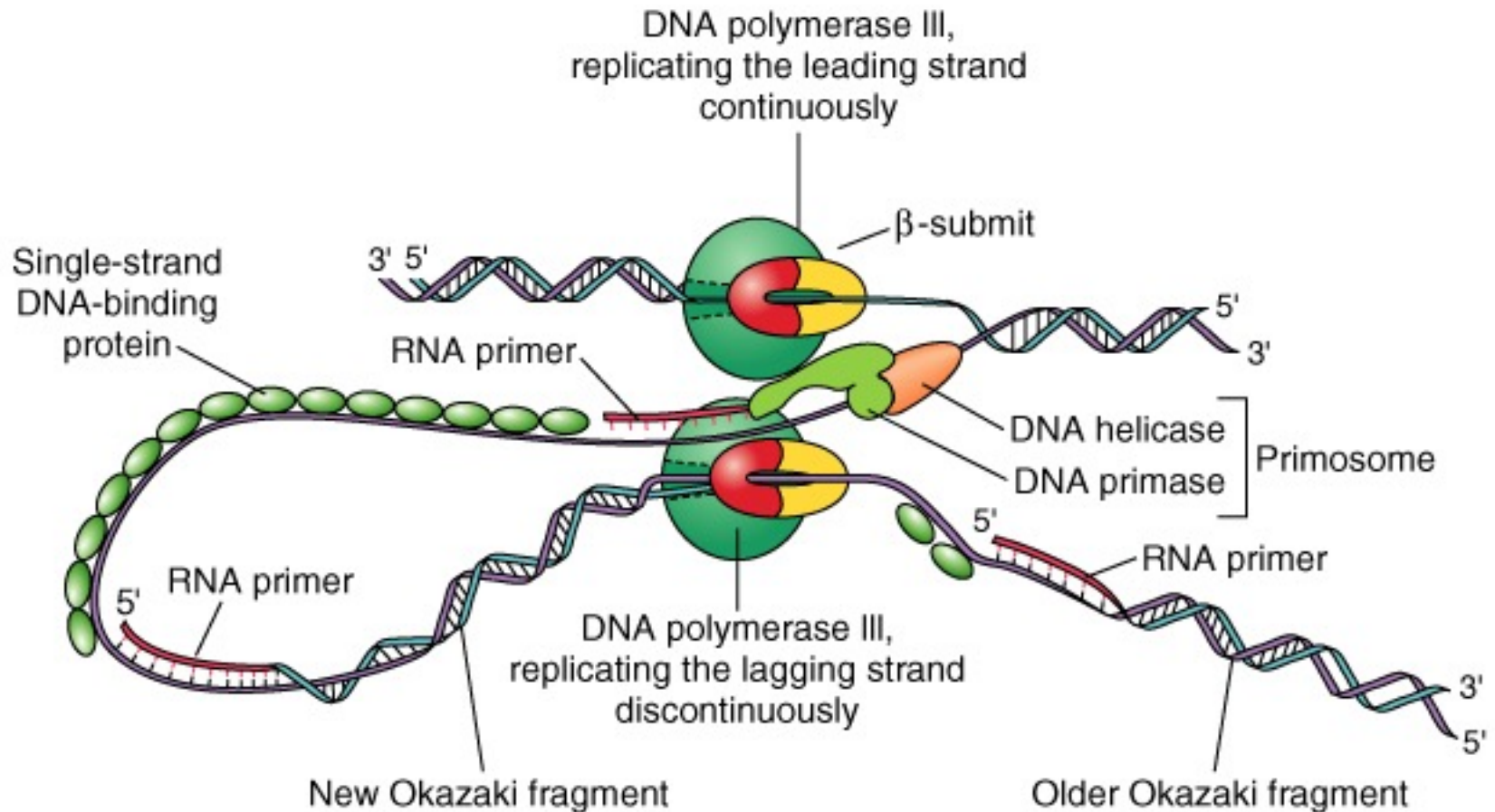


- ⑥ Sul filamento ritardato la sintesi del DNA è discontinua e richiede una serie di inneschi di RNA. La sintesi del DNA procede a partire dalla estremità 3'-OH di ogni innesco; si forma un frammento di Okazaki che si allunga fino a che non incontra il frammento adiacente. A questo punto l'innescio di RNA viene eliminato dall'azione 5' → 3' esonucleasica della DNA polimerasi I e sostituito con DNA dall'attività polimerasica dello stesso enzima.

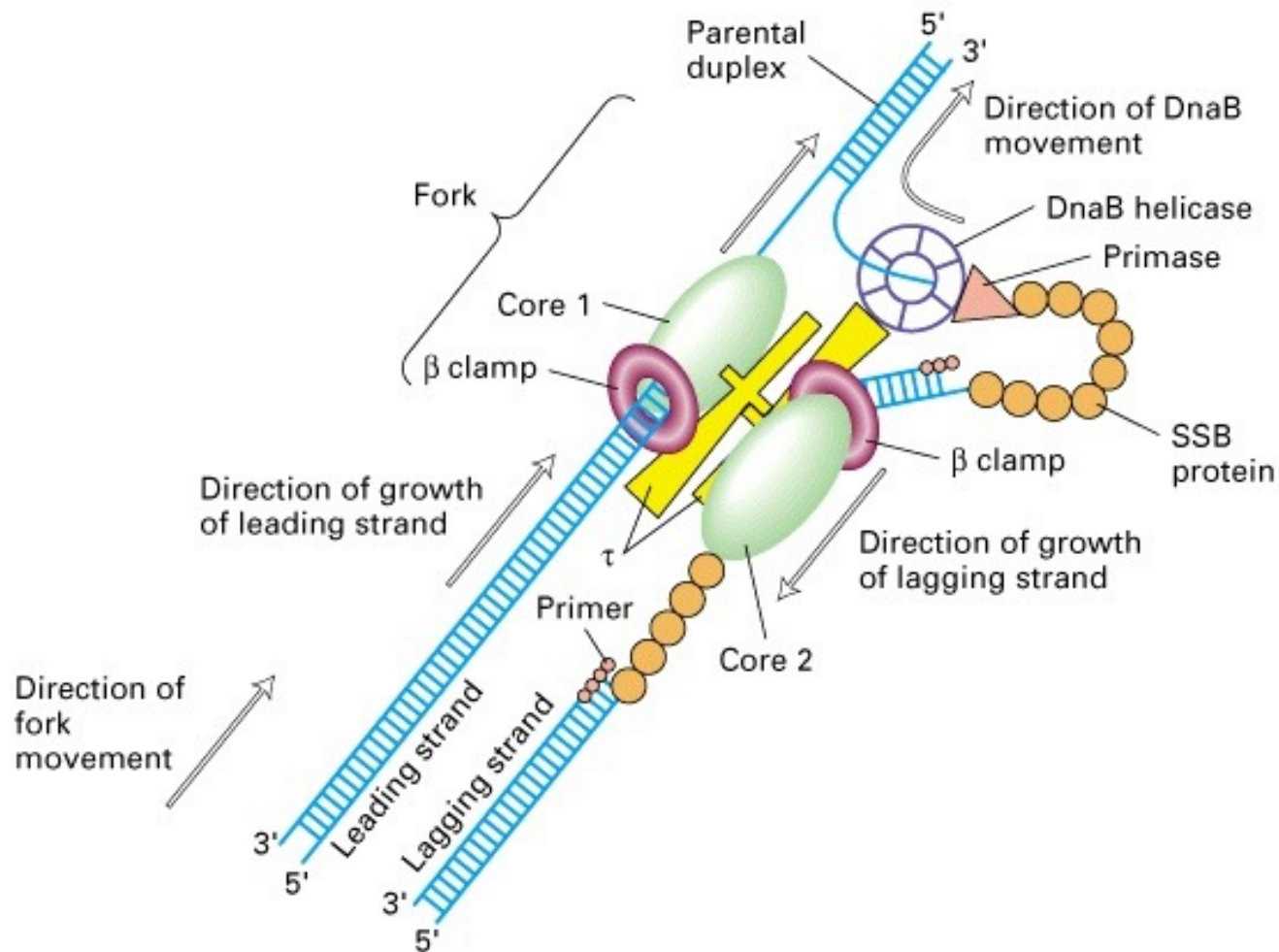


- 7 La DNA ligasi unisce i frammenti di Okazaki adiacenti formando legami covalenti fosfodiesterici. Nelle vicinanze della forcella di replicazione, quindi, lavorano contemporaneamente la DNA ligasi, la polimerasi I, la polimerasi III, la primasi, l'elicasi e la girasi.

La duplicazione in E.coli



I filamenti leading e lagging sono sintetizzati in modo sincrono



Le DNA polimerasi di *E. coli*

TABLE 12-1 Properties of DNA Polymerases

<i>E. coli</i>	I	II	III
Polymerization: 5' → 3'	+	+	+
Exonuclease activity:			
3' → 5'	+	+	+
5' → 3'	+	-	-
Synthesis from:			
Intact DNA	-	-	-
Primed single strands	+	-	-
Primed single strands plus single-strand-binding protein	+	-	+
In vitro chain elongation rate (nucleotides per minute)	600	?	30,000
Molecules present per cell	400	?	10-20
Mutation lethal?	+	-	+

La duplicazione negli eucarioti

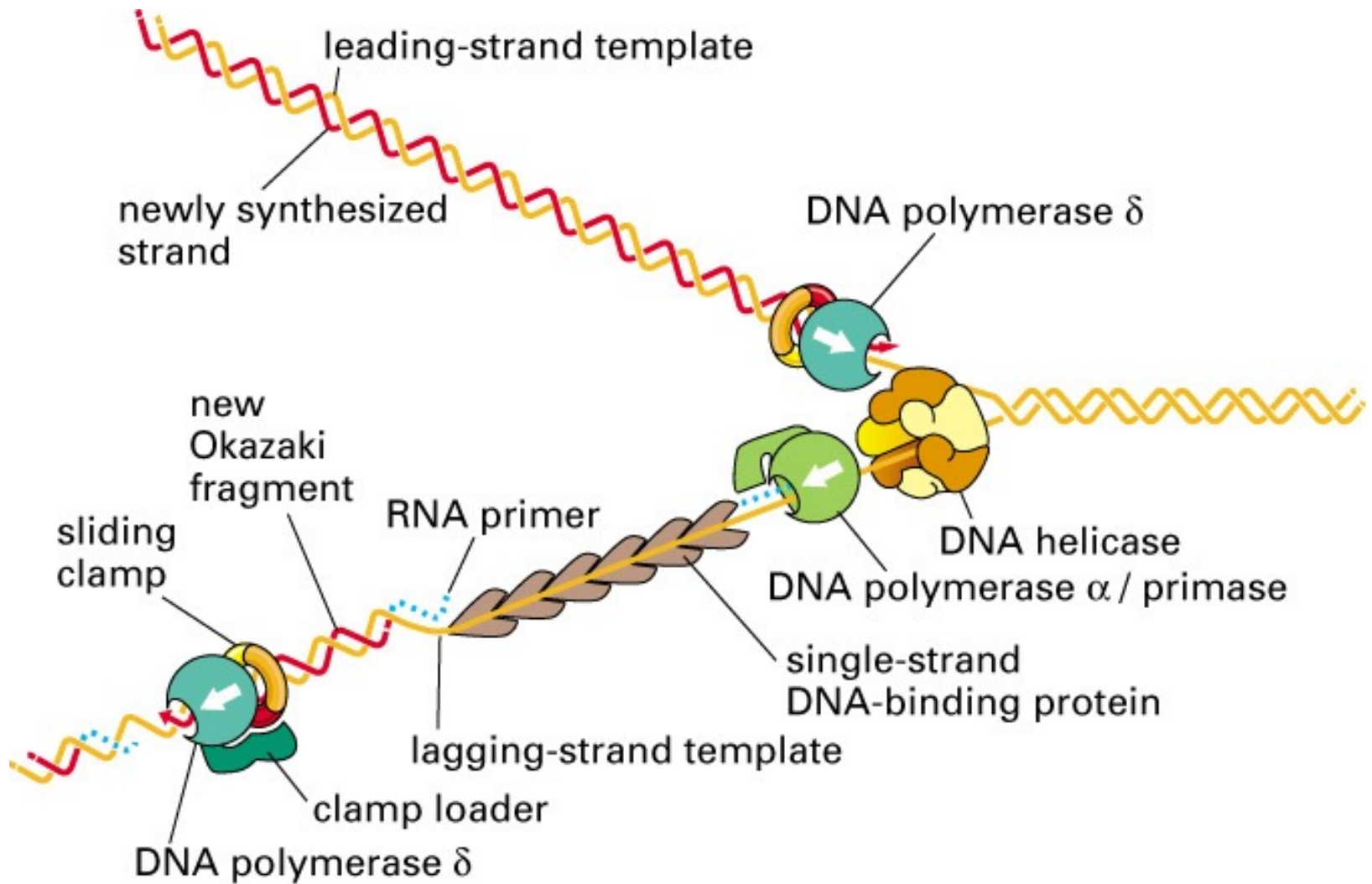


Figure 5-28. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

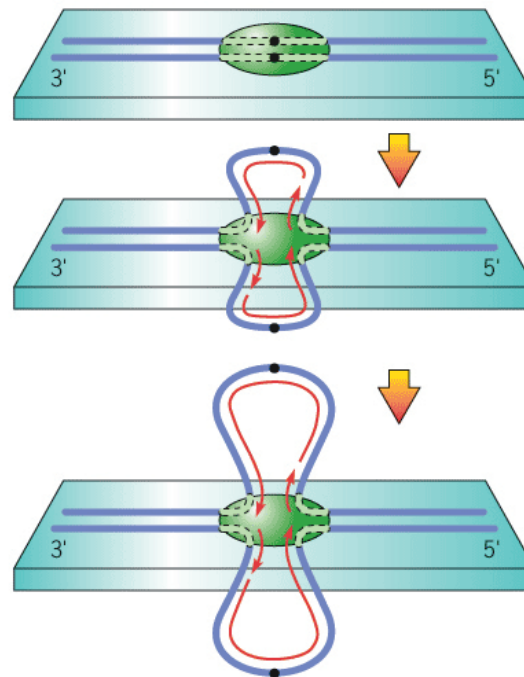


FIGURA 13.22 Coinvolgimento della matrice nucleare nella replicazione del DNA. Le origini di replicazione sono indicate dai cerchi neri e le frecce indicano la direzione di allungamento dei filamenti crescenti. In accordo con questo modello schematico, non è il macchinario di replicazione che si muove lungo il DNA stazionario, ma è il DNA che viene spinto attraverso il macchinario di replicazione, fermamente ancorato alla matrice nucleare.

Proteine in E.coli	Proteine negli eucarioti	Funzione
DnaA	Proteine ORC	Riconoscimento dell'origine di replicazione
Girasi	Topoisomerasi I/II	Elimina i superavvolgimenti
DnaB	Mcm	DNA elicasi che srotola il duplex parentale
DnaC	?	Carica l'elicasi sul DNA
SSB	RPA	Mantiene il DNA nello stato di singolo filamento
Complesso- γ	RFC	Subunità dell'oloenzima DNA polimerasi che carica la pinza sul DNA
Core pol III	Pol δ/ϵ	Principale enzima della replicazione;
Pinza β	PCNA	Subunità dell'oloenzima DNA polimerasi a forma di anello che lega la polimerasi replicativa al DNA; agisce unitamente a pol III in coli e a pol δ o ϵ negli eucarioti
Primasi	Primasi	Sintetizza gli RNA primer
	Pol α	Sintetizza brevi oligonucleotidi di DNA come parte del primer RNA-DNA
DNA ligasi	DNA ligasi	Unisce i frammenti di Okazaki in un filamento continuo
Pol I	FEN-1	Rimuove i primer di RNA; pol I riempie con DNA le lacune

Le DNA polimerasi di Mammifero

TABLE 12-1 Properties of DNA Polymerases

Mammalian Cells*	α	β^\dagger	γ	δ	ϵ
Polymerization: $5' \rightarrow 3'$	+	+	+	+	+
Exonuclease proofreading activity: [‡] $3 \rightarrow 5'$	-	-	+	+	+
Synthesis from:					
RNA primer	+	-	-	+	?
DNA primer	+	+	+	+	+
Associated DNA primase	+	-	-	-	-
Sensitive to aphidicolin (inhibitor of cell DNA synthesis)	+	-	-	+	+
Cell location:					
Nuclei	+	+	-	+	+
Mitochondria	-	-	+	-	-

*Yeast DNA polymerase I, II, and III are equivalent to polymerase α , β , and δ , respectively. I and III are essential for cell viability.

[†]Polymerase β is most active on DNA molecules with gaps of about 20 nucleotides and is thought to play a role in DNA repair.

[‡]FEN1 is the eukaryotic $5' \rightarrow 3'$ exonuclease that removes RNA primers; it is similar in structure and function to the domain of E. coli polymerase I that contains the $5' \rightarrow 3'$ exonuclease activity.

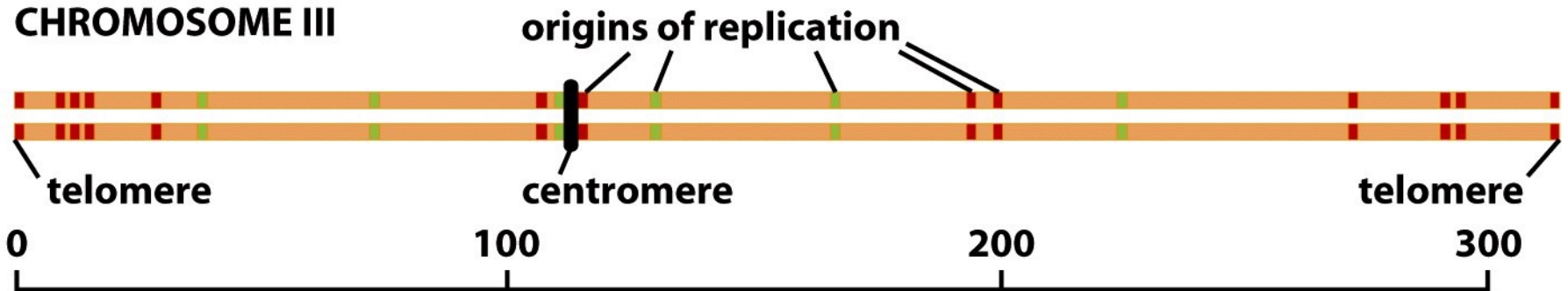


Figure 5-34 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

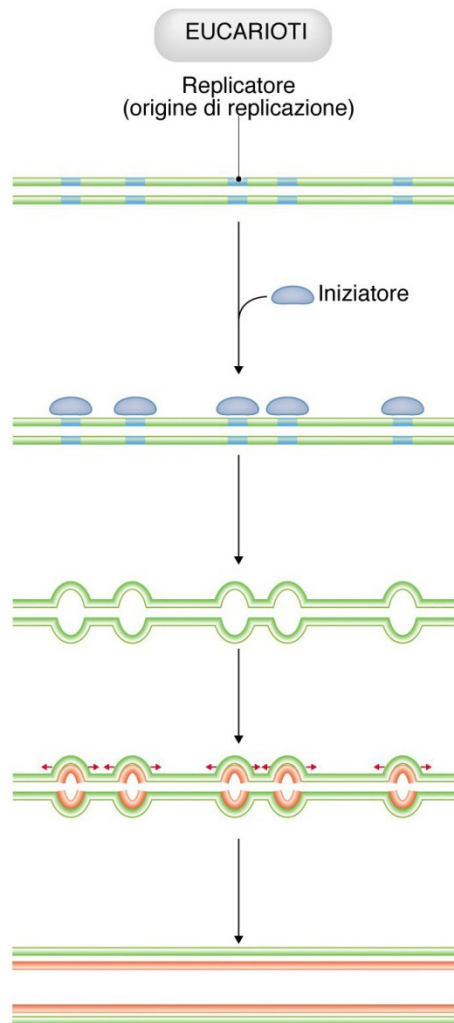


FIGURA 4.14 Replicazione del cromosoma degli eucarioti mediante molteplici siti di inizio della replicazione e molteplici forcelle di replicazione. In punti diversi del cromosoma, distanti circa 30.000-40.000 paia di basi, in corrispondenza delle origini di replicazione si aprono i due filamenti, formando le “bolle di replicazione”.

Il problema della replicazione delle estremità dei cromosomi lineari

- 1 La replicazione del DNA ha inizio al punto di origine; la bolla di replicazione cresce mentre le due forcelle di replicazione si allontanano in direzione opposta
- 2 Alla fine su ogni molecola di DNA figlia rimane solamente un innesco (rosa)
- 3 Quando gli ultimi inneschi sono rimossi dalla attività esonucleasica 5' → 3', nessuna DNA polimerasi è in grado di riempire gli spazi vuoti perché non ci sono estremità 3'-OH libere a cui possano essere aggiunti i nucleotidi.
- 4 Ad ogni ciclo di replicazione si generano molecole di DNA figlie sempre più corte.

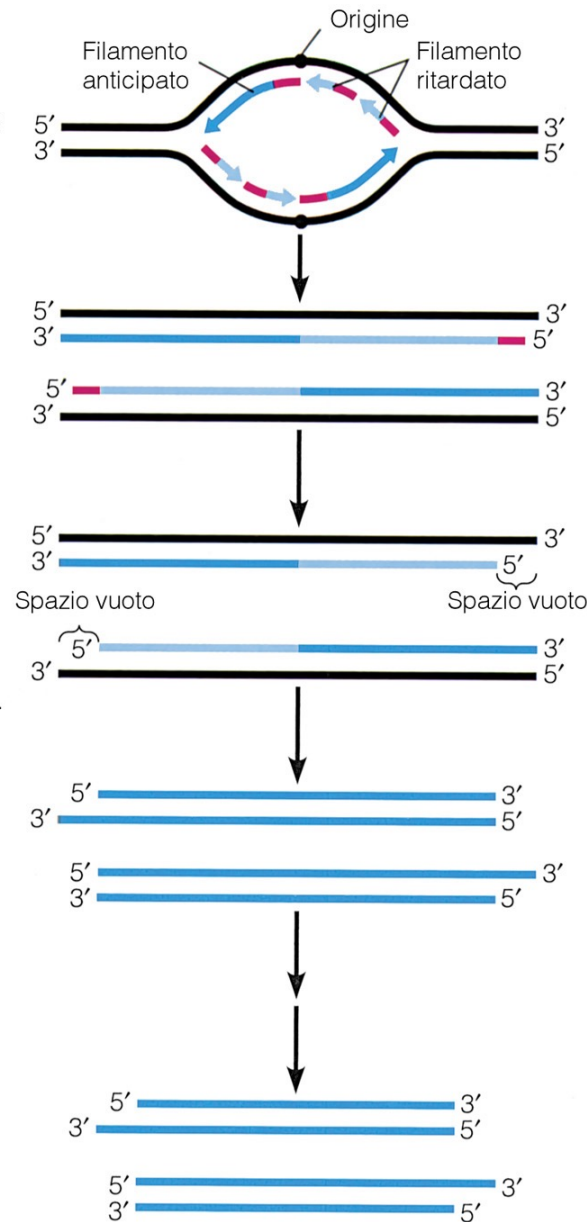


Figura 17-14

All'estremità dei cromosomi, la replicazione incontra un problema

- La sintesi sul filamento anticipato è OK su entrambe le terminazioni cromosomiche
- La sintesi sul filamento ritardato si blocca prima di raggiungere le terminazioni, perché quando il 3' end è vicino, non vi è spazio per piazzare la polimerasi- α (la primasi), e sintetizzare un RNA
- Ne risulta che, ad ogni ciclo di replicazione i cromosomi si accorciano
- Questo problema è risolto dalla "Telomerasi"

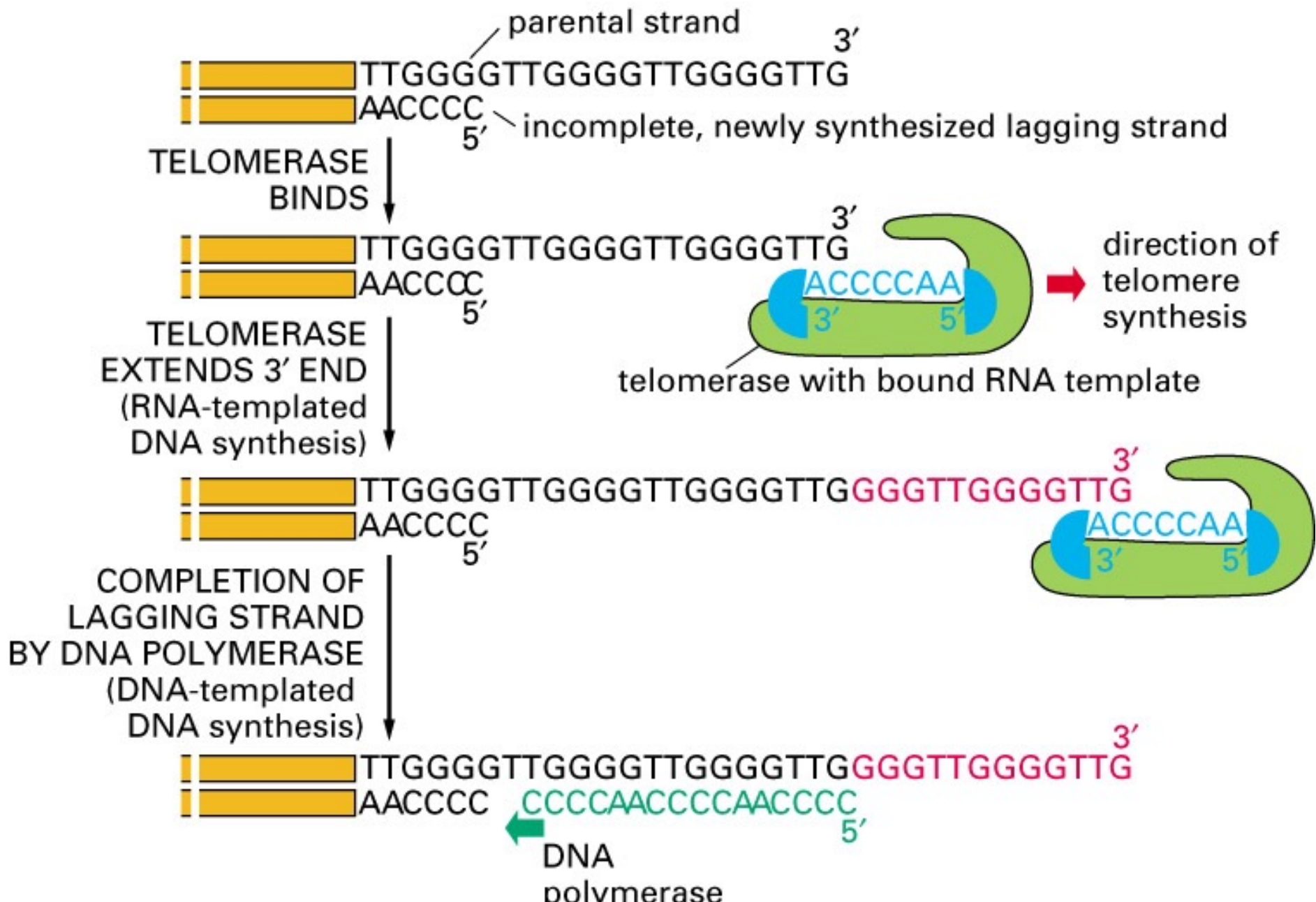
TELOMERI

- Mantengono l'integrità strutturale del cromosoma
- Assicurano la replicazione completa delle porzioni finali delle estremità cromosomiche
- Cooperano nella determinazione strutturale del nucleo

Nell'uomo sono costituiti da sequenze $TTAGGG_n$ ripetute per alcune kilobasi (variazioni da cellula a cellula e da cromosoma a cromosoma)

La replicazione dell'estremità dei cromosomi avviene mediante l'estensione del filamento guida attraverso la telomerasi

Estensione dei telomeri



Estensione dei telomeri da parte della telomerasi

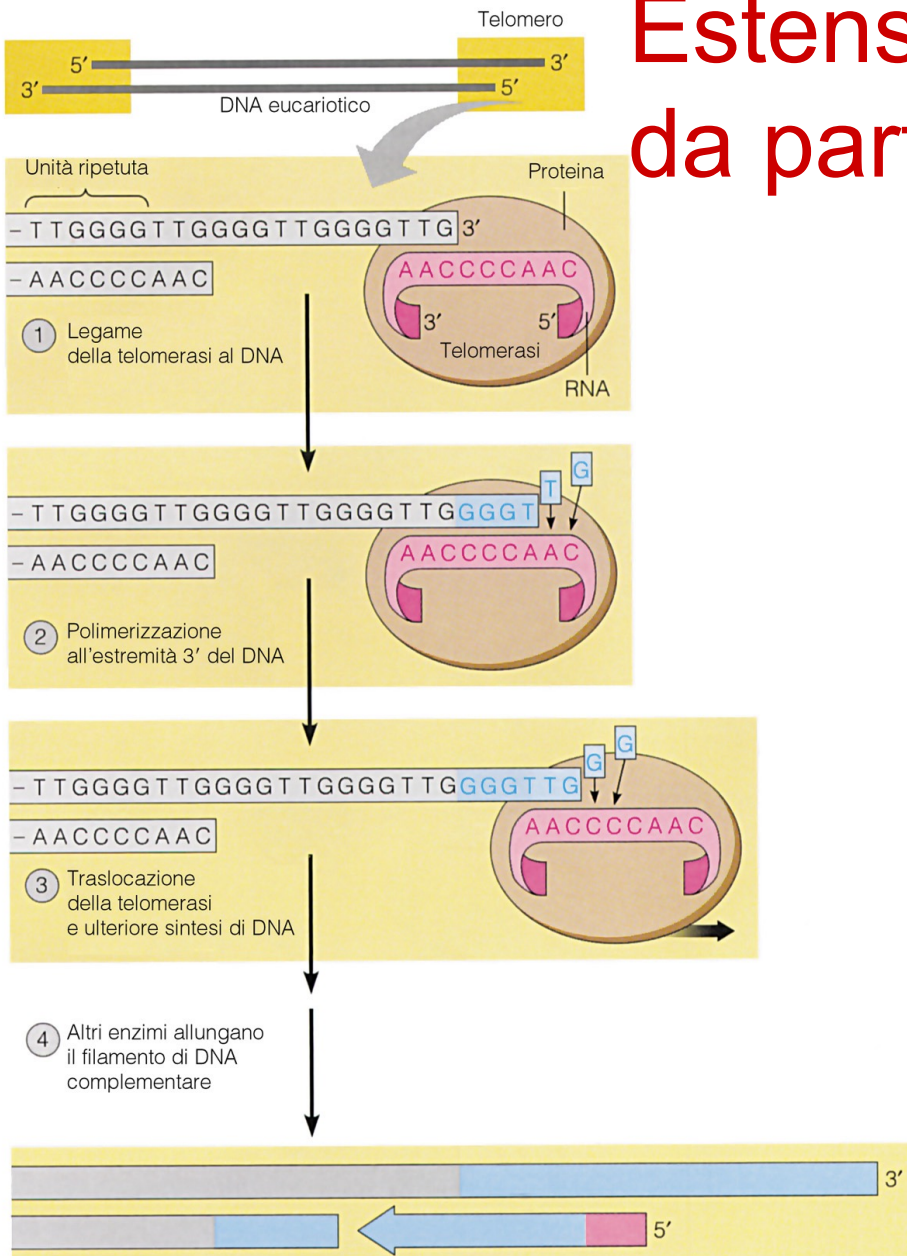
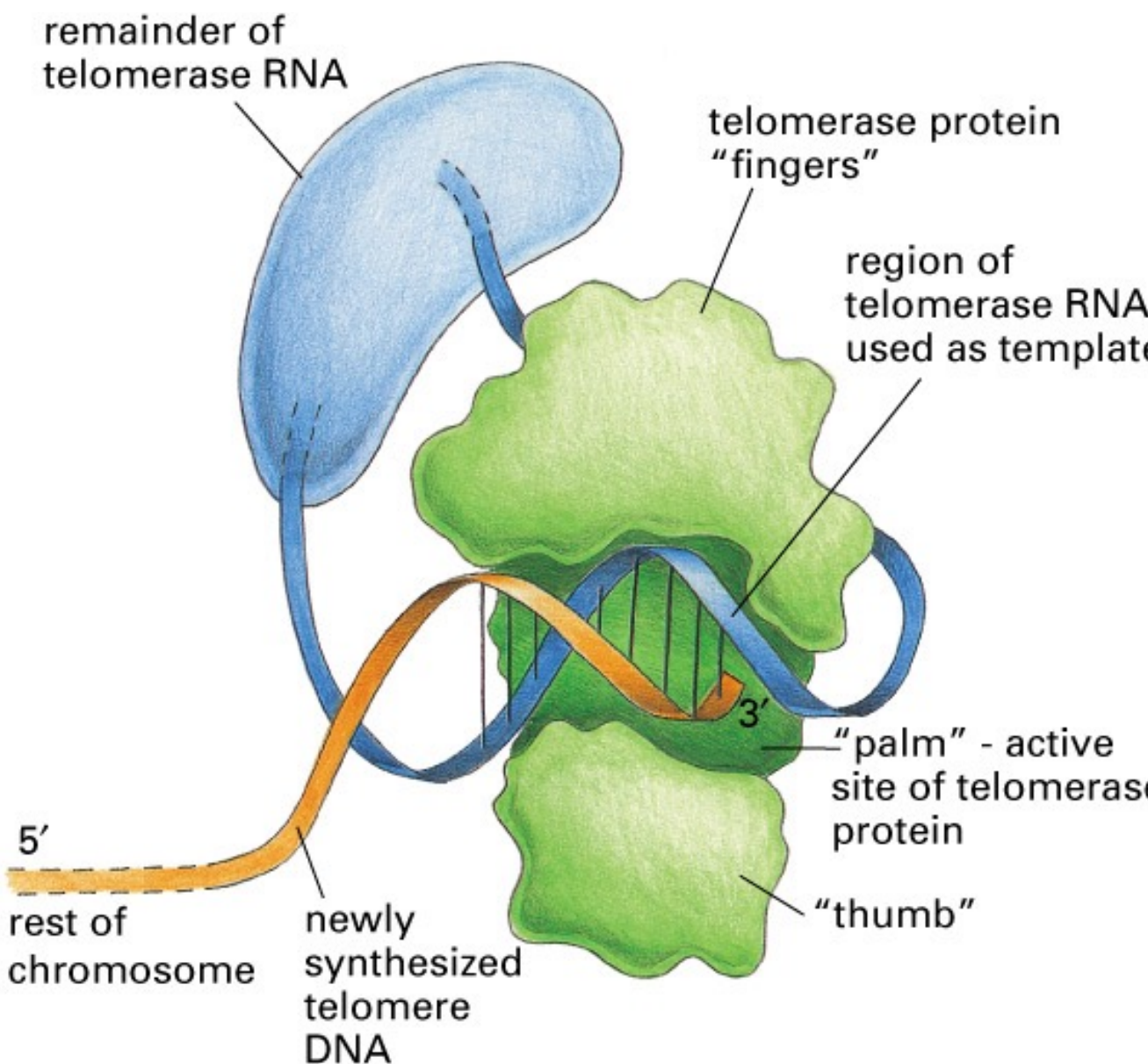


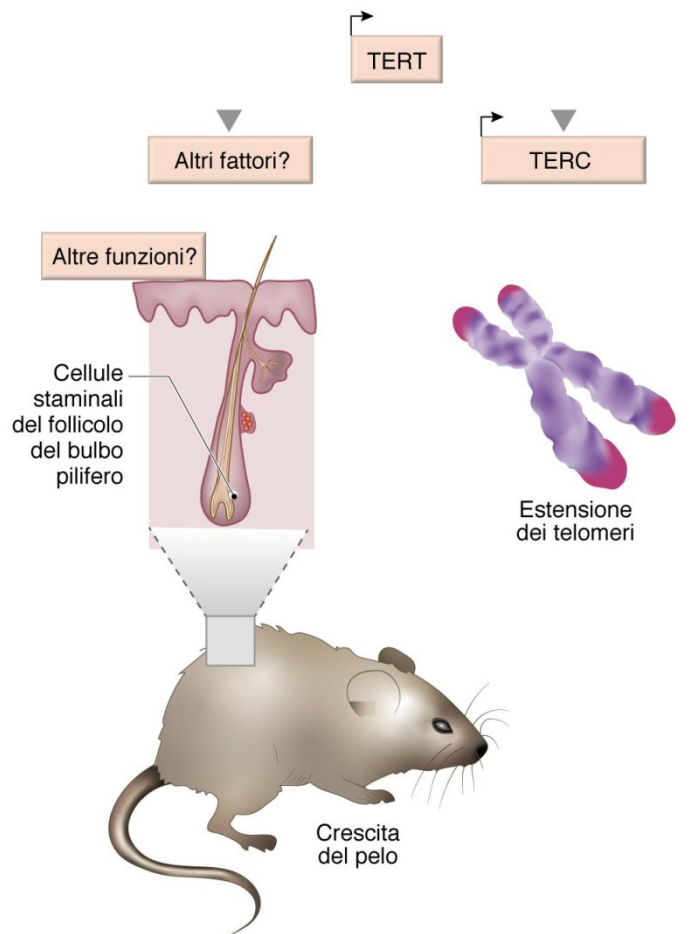
Figura 17-15

Telomerase is an RNA-containing, multi-subunit enzyme that works as a reverse transcriptase to add stereotyped DNA sequences to the DNA's 3' end.



Quando la telomerasi è assente, i cromosomi si accorciano ad ogni ciclo di duplicazione del DNA

- Molte cellule somatiche non esprimono telomerasi, così i loro cromosomi si accorciano.
- Quando hanno raggiunto un certo accorciamento non hanno più sufficienti sequenze di DNA per legare le proteine telomero-specifiche, di conseguenza le estremità dei cromosomi diventano “appiccicose” e ricombinogeniche.
- Le estremità “appiccicose” sono causa di unioni terminali illegittime oltre di altri seri danni al DNA.



- La telomerasi è assente nelle cellule somatiche (senescenza)
- La telomerasi è presente nelle cellule germinali
- La telomerasi si riattiva nelle cellule cancerose
- Il numero di divisioni di una cellula normale dipende dalla lunghezza dei telomeri
- La componente TERT può avere attività autonome (non telomerasiche): ad es. promuove la formazione dei bulbi piliferi

FIGURA 4.20 La telomerasi.

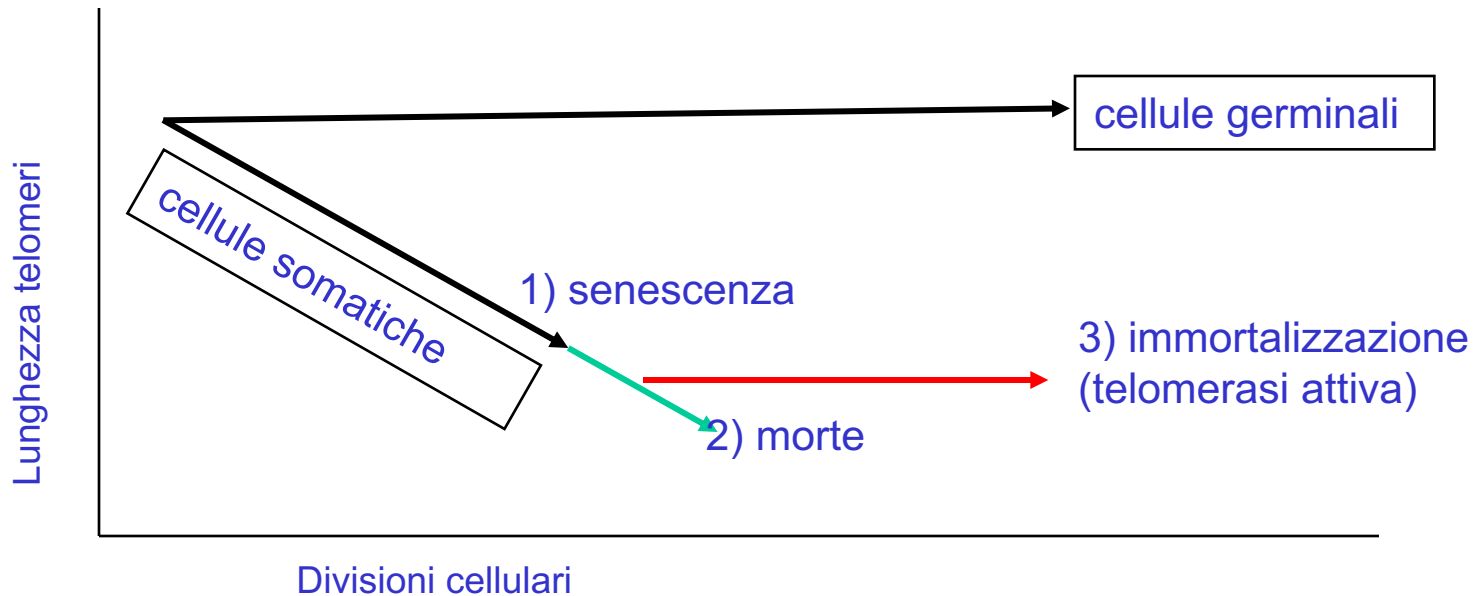
Nelle cellule germinali i telomeri non si accorciano (la telomerasi è attiva). In molte cellule somatiche non vi è attività telomerasica, i telomeri si accorciano ad ogni divisione cellulare;

1) dopo un numero finito di divisioni le cellule entrano nella fase di senescenza (metabolicamente attive ma incapaci di duplicarsi)

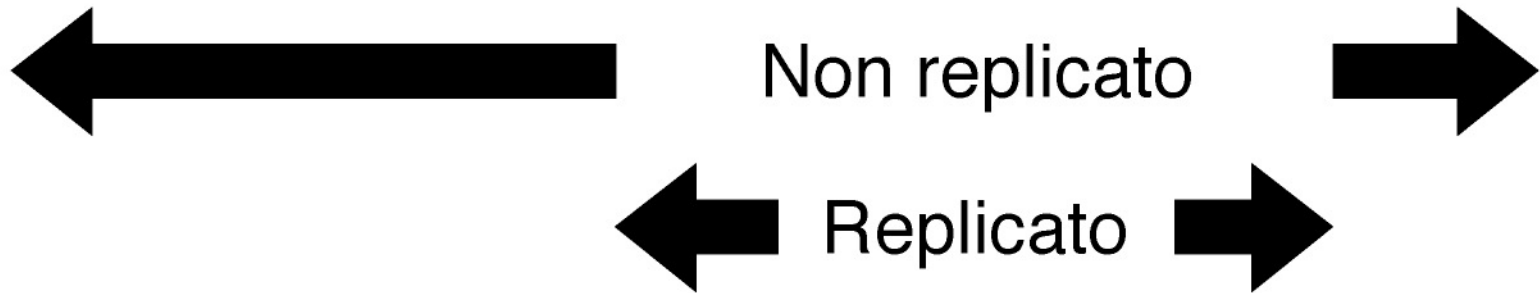
2) eventi particolari (attivazione oncogeni) possono fare riprendere la fase replicativa, i telomeri però continuano ad accorciarsi, fino a provocare la morte cellulare;

Quando hanno raggiunto un certo accorciamento i telomeri non hanno più sufficienti sequenze di DNA per legare le proteine telomero-specifiche, di conseguenza le estremità dei cromosomi diventano “appiccicose” e ricombinogeniche. Le estremità “appiccicose” sono causa di unioni terminali illegittime oltre di altri seri danni al DNA.

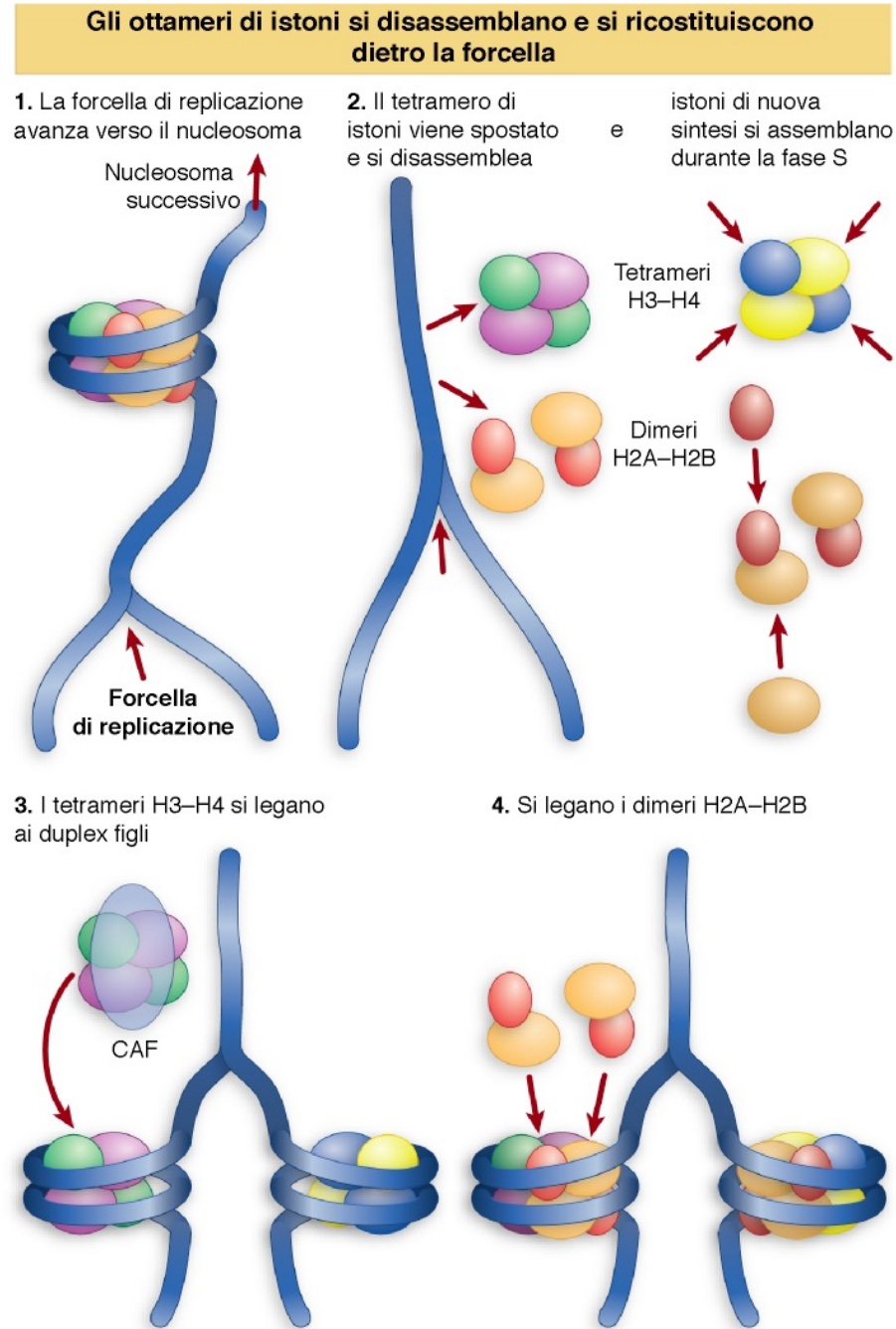
3) rare cellule riacquistano l'attività telomerasica e si immortalizzano



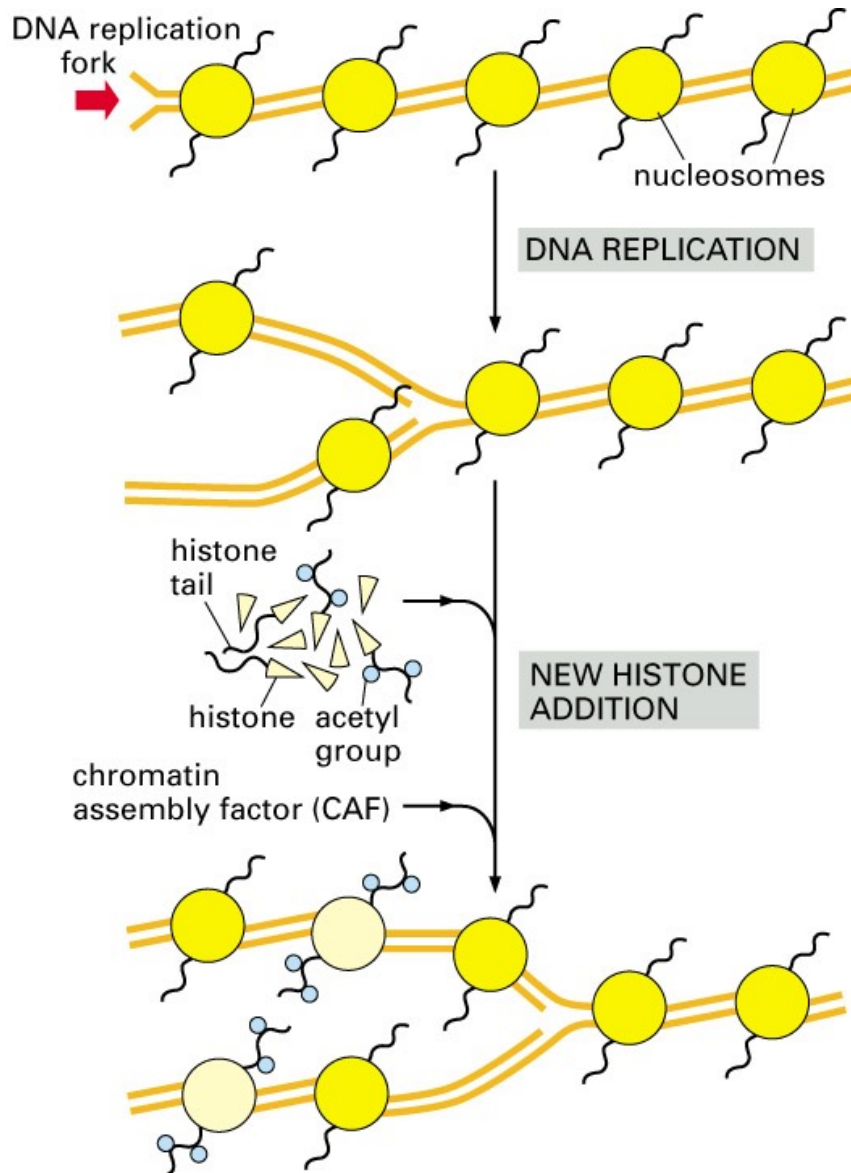
I nucleosomi si formano immediatamente dopo la replicazione



Il passaggio della forcella di replicazione sposta dal DNA gli ottameri di istoni che si disassemblano in tetrameri H3-H4 e in dimeri H2A-H2B. Gli istoni di nuova sintesi si assemblano in tetrameri H3-H4 e in dimeri H2A-H2B. I tetrameri e i dimeri vecchi e nuovi si riassemblano a caso con l'aiuto della proteina CAF-1, in nuovi nucleosomi immediatamente dietro la forcella di replicazione.



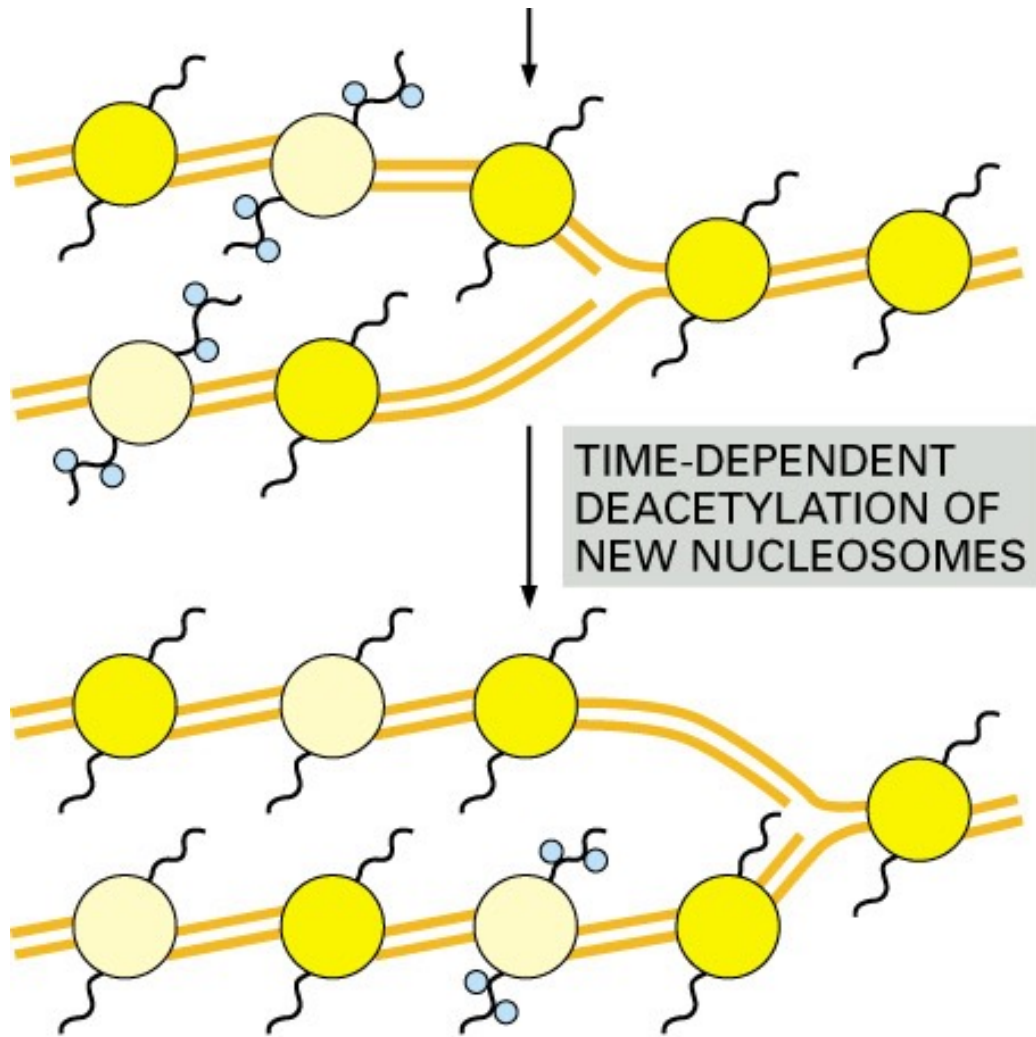
Le caratteristiche di acetilazione/deacetilazione, sono ereditate



Region with deacetylated histones

Existing histones partition evenly between the newly formed daughter strands

The newly deposited histones have an acetylation pattern on their tails associated with deposition



The newly deposited nucleosomes adopt the modification pattern of the preexisting nucleosomes

This allows the stable inheritance of particular chromatin organizations

Figure 5-41 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Il mantenimento della metilazione di CpG avviene grazie a metilasi specifiche che riconoscono le sequenze emi-metilate (Dmt-1)

