

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA

CORSO INTEGRATO: FISICA, CHIMICA
E PROPEDEUTICA BIOCHIMICA (10 CFU)

MODULO:
PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED ELEMENTI DI
BIOLOGIA MOLECOLARE (4 CFU)

Roberto Giacomini Stuffer

IL MODULO

"PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED ELEMENTI DI
BIOLOGIA MOLECOLARE" (4 CFU)

È SUDDIVISO IN DUE UNITÀ DIDATTICHE:

A) UNITÀ DIDATTICA

"PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" (2 CFU)

B) UNITÀ DIDATTICA

"BIOLOGIA MOLECOLARE" (2 CFU)

L'UNITÀ DIDATTICA "PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" COMPRENDE:

- 1) I LIPIDI
- 2) I CARBOIDRATI
- 3) GLI AMMINOACIDI E LE PROTEINE
- 4) LE PROTEINE DEL CONNETTIVO
- 5) LA MIOGLOBINA E L'EMOGLOBINA

L'UNITÀ DIDATTICA "BIOLOGIA MOLECOLARE" COMPRENDE:

- 6) LE MEMBRANE BIOLOGICHE
- 7) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI (A)
- 8) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI (B)
- 9) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI
- 10) LA TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE

UNITÀ DIDATTICA
"BIOLOGIA MOLECOLARE" (2 CFU)

VET.
UNITÀ DIDATTICA "BIOLOGIA MOLECOLARE"

LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI (I PARTE)

Roberto Giacomini Stuffer

1. Gli acidi nucleici
2. La replicazione del DNA
3. Le mutazioni

GLI ACIDI NUCLEICI

GLI ACIDI NUCLEICI

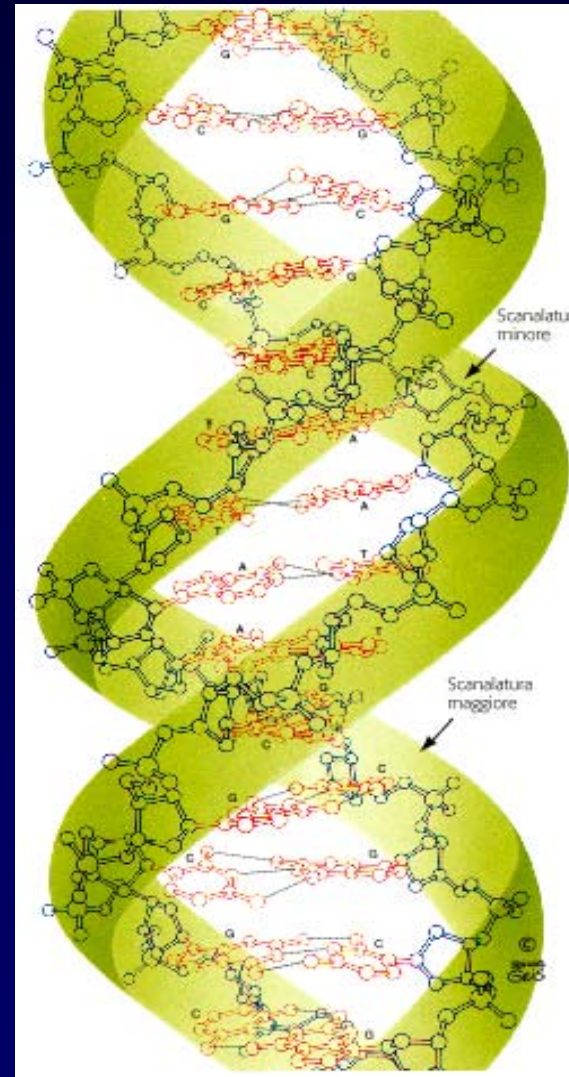
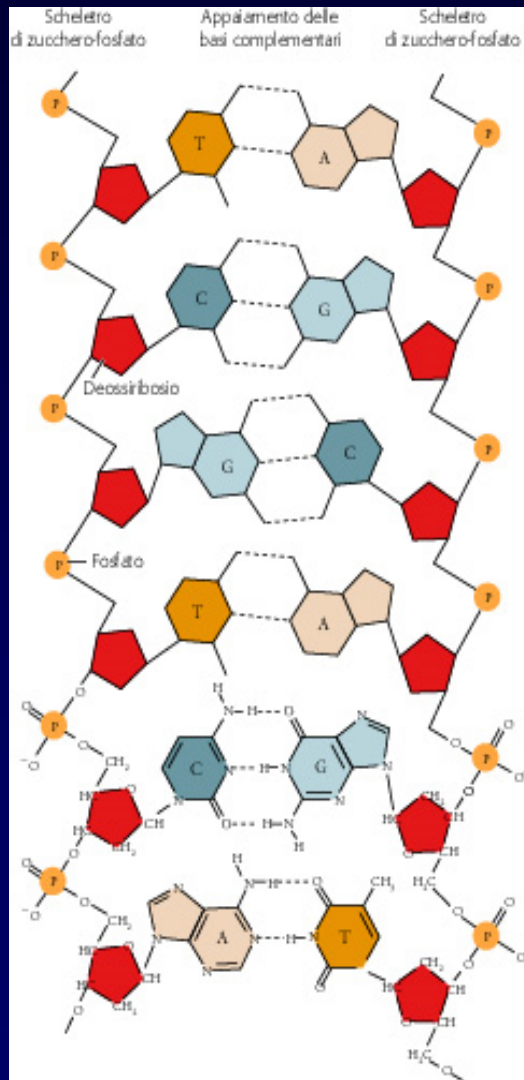
Sono i costituenti più fondamentali e importanti delle cellule viventi,

custodiscono e trasferiscono l'informazione genetica nelle cellule, nei tessuti e negli organismi,

regolano la produzione di proteine e le loro funzioni;

il progetto completo di un organismo é codificato nel suo acido nucleico.

LA STRUTTURA DEL DNA



GLI ACIDI NUCLEICI

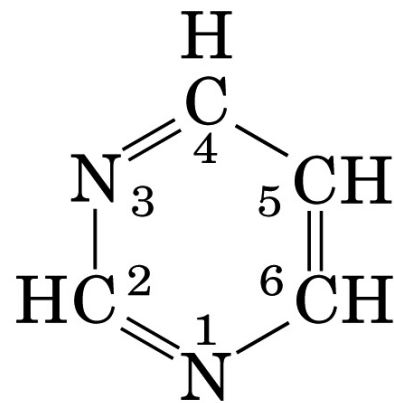
Esistono due tipi di acidi nucleici:
l'acido ribonucleico (RNA),
l'acido deossiribonucleico (DNA);

ciascuno di essi è una catena polimerica con unità monomeriche simili, unite da legami covalenti,

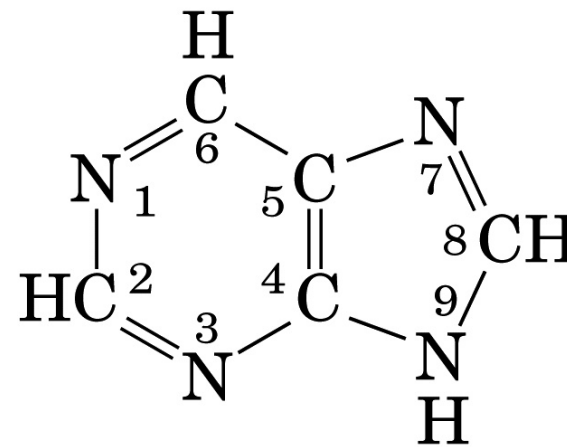
l'RNA ha come zucchero il ribosio,
il DNA ha il 2-deossiribosio;

le basi azotate degli acidi nucleici sono di due tipi: le purine e le pirimidine.

LE BASI AZOTATE



Pyrimidine

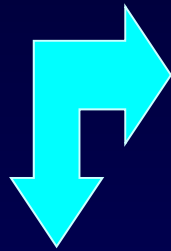


Purine

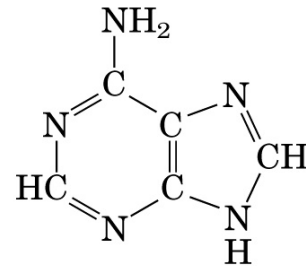
(b)

Le basi azotate portano l'informazione genetica.

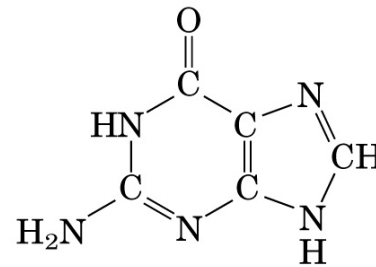
LE BASI AZOTATE



Le purine:
Adenina
Guanina.

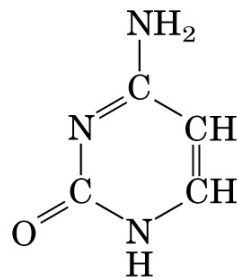


Adenine

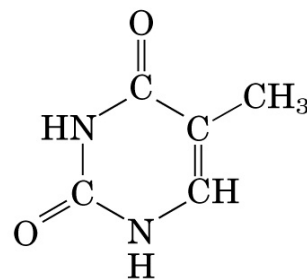


Guanine

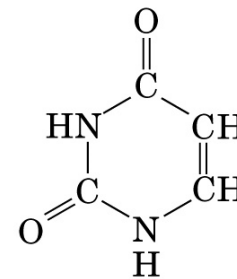
Purines



Cytosine



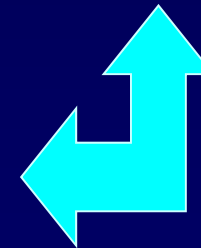
Thymine
(DNA)



Uracil
(RNA)

Pyrimidines

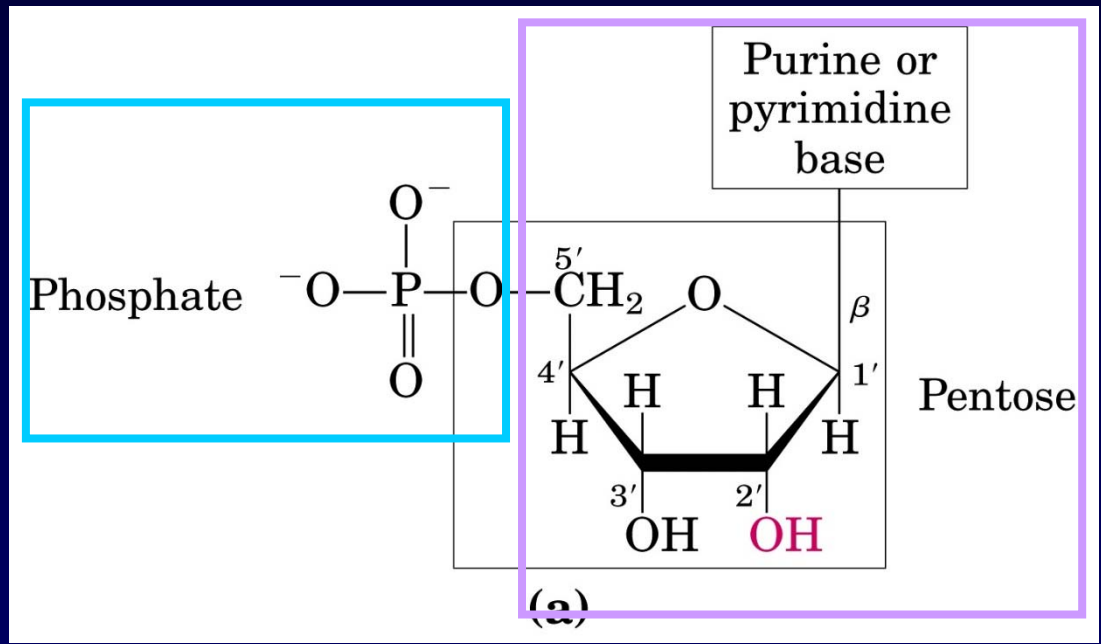
Le pirimidine:
Citosina
Timina
Uracile.



I NUCLEOSIDI



base azotata + zucchero



I NUCLEOTIDI



base azotata + zucchero + fosfato

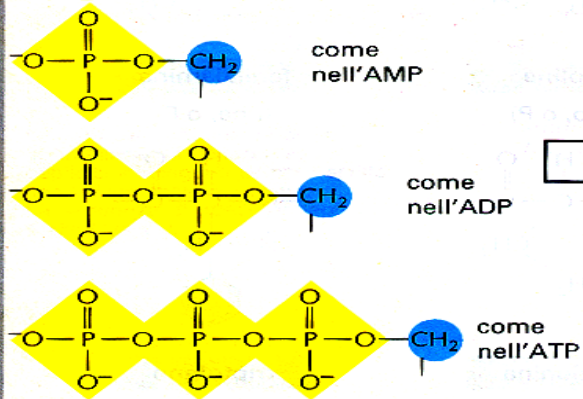
NUCLEOSIDI E NUCLEOTIDI

- Un nucleoside é formato da una base azotata e da uno zucchero,
- un nucleotide é un estere fosforico di un nucleoside,
- il composto si chiama nucleoside 5-fosfato o 5' nucleotide;
- gli zuccheri ed i gruppi fosfato hanno un ruolo strutturale,
- le basi azotate portano l'informazione genetica.

NUCLEOSIDI E NUCLEOTIDI

FOSFATI

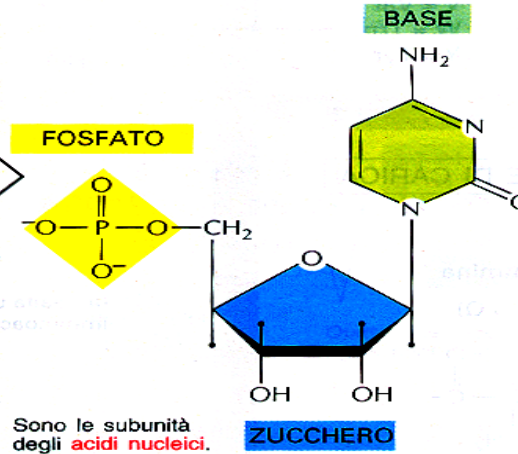
I fosfati sono normalmente uniti al gruppo ossidrilico in C5 del ribosio o del deossiribosio. Sono comuni i mono-, i di- e i trifosfati.



Il fosfato rende un nucleotide carico negativamente.

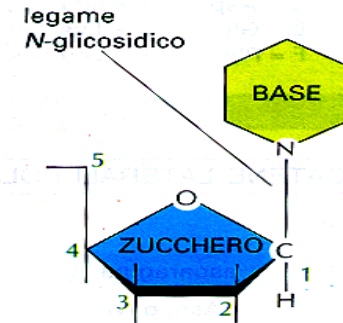
NUCLEOTIDI

Un nucleotide consiste di una base contenente azoto, uno zucchero a 5 atomi di carbonio e uno o più gruppi fosfato.



Sono le subunità degli **acidi nucleici**.

LEGAME FRA BASE E ZUCCHERO

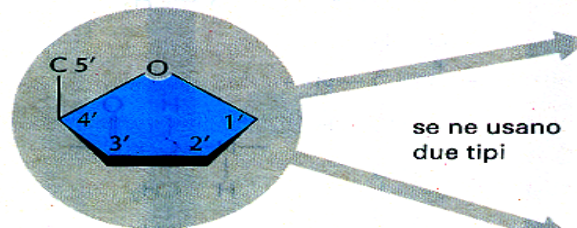


La base è legata allo stesso atomo di carbonio (C1) usato nei legami zucchero-zucchero.

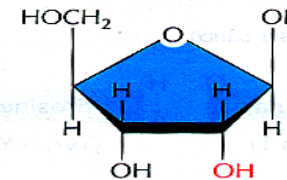
ZUCCHERI

PENTOSIO

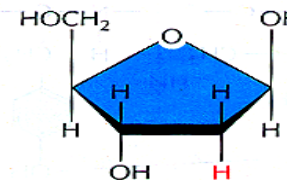
uno zucchero a 5 atomi di carbonio



se ne usano due tipi



β-D-RIBOSIO
usato nell'acido ribonucleico



β-D-2-DEOSSIRIBOSIO
usato nell'acido deossiribonucleico

Ciascun carbonio numerato dello zucchero di un nucleotide è seguito da un segno primo ('); si parla quindi di «carbonio 5 primo» ecc.

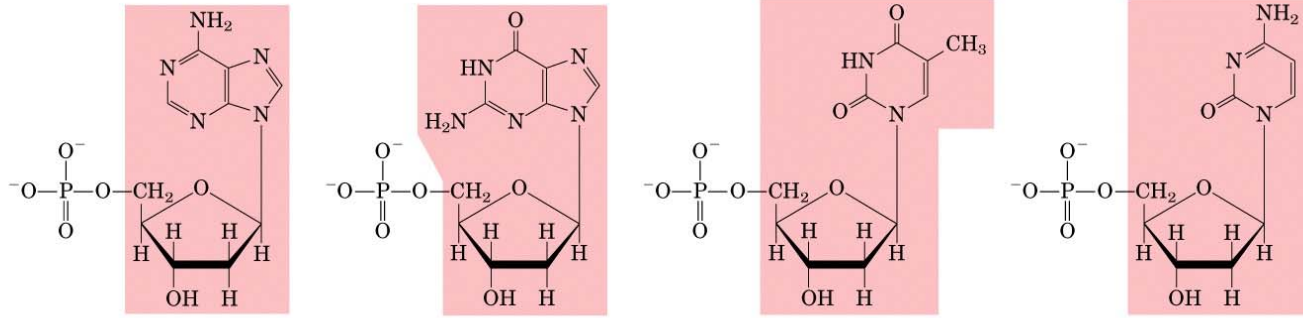
NUCLEOSIDI E NUCLEOTIDI

table 10–1

Nucleotide and Nucleic Acid Nomenclature			
Base	Nucleoside*	Nucleotide*	Nucleic acid
Purines			
Adenine	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
Guanine	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
Thymine	Thymidine or deoxythymidine	Thymidylate or deoxythymidylate	DNA
Uracil	Uridine	Uridylate	RNA

* *Nucleoside* and *nucleotide* are generic terms that include both ribo- and deoxyribo- forms. Note that here ribonucleosides and ribonucleotides are designated simply as nucleosides and nucleotides (e.g., riboadenosine as adenosine), and deoxyribonucleosides and deoxyribonucleotides as deoxynucleosides and deoxynucleotides (e.g., deoxyriboadenosine as deoxyadenosine). Both forms of naming are acceptable, but the shortened names are more commonly used. Thymine is an exception; the name ribothymidine is used to describe its unusual occurrence in RNA.

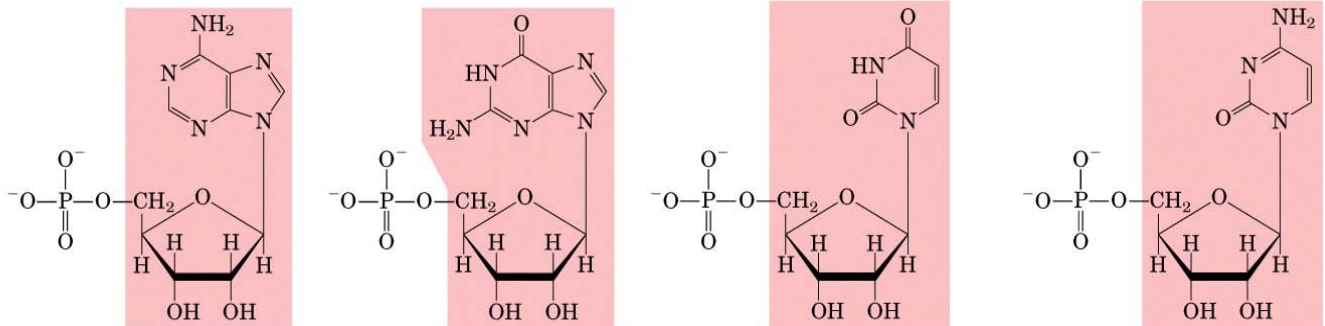
DNA: I DEOSSIRIBONUCLEOTIDI



Nucleotide:	Deoxyadenylate (deoxyadenosine 5'-monophosphate)	Deoxyguanylate (deoxyguanosine 5'-monophosphate)	Deoxythymidylate (deoxythymidine 5'-monophosphate)	Deoxycytidylate (deoxycytidine 5'-monophosphate)
Symbols:	A, dA, dAMP	G, dG, dGMP	T, dT, dTMP	C, dC, dCMP
Nucleoside:	Deoxyadenosine	Deoxyguanosine	Deoxythymidine	Deoxycytidine

(a) Deoxyribonucleotides

RNA: I RIBONUCLEOTIDI

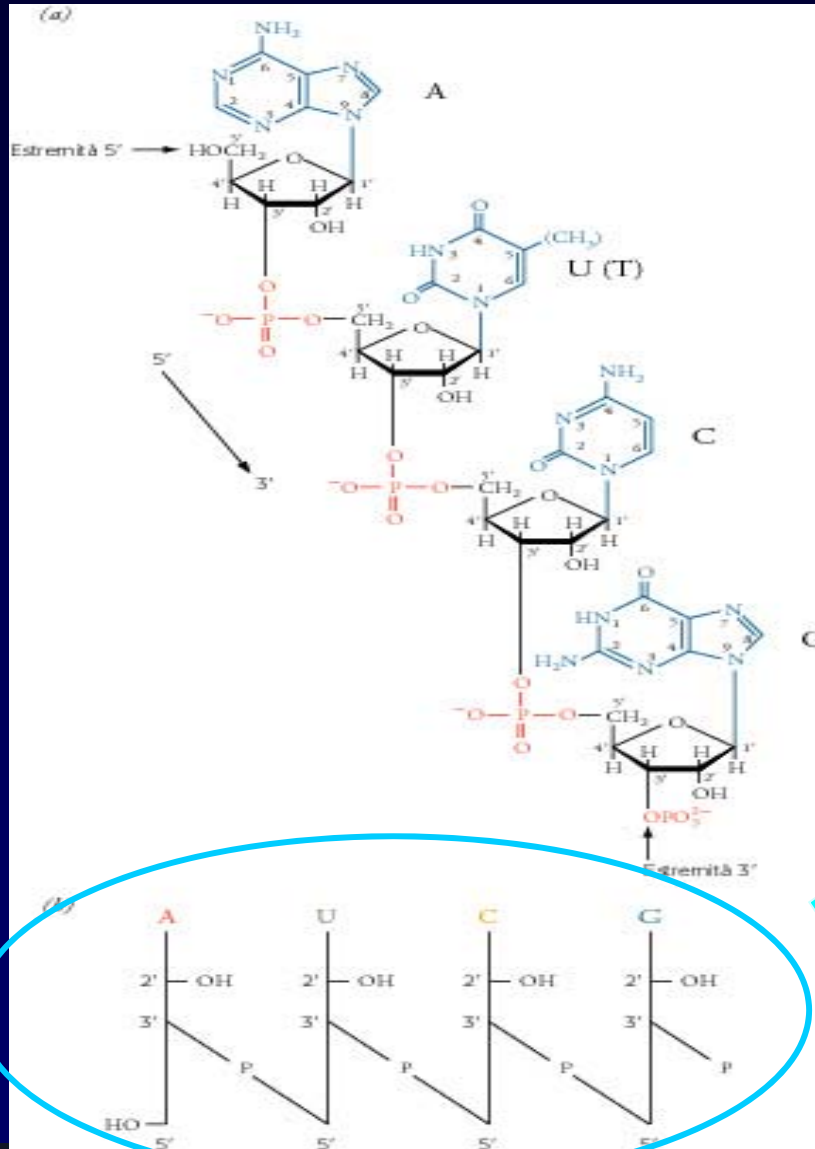


Nucleotide:	Adenylate (adenosine 5'-monophosphate)	Guanylate (guanosine 5'-monophosphate)	Uridylate (uridine 5'-monophosphate)	Cytidylate (cytidine 5'-monophosphate)
Symbols:	A, AMP	G, GMP	U, UMP	C, CMP
Nucleoside:	Adenosine	Guanosine	Uridine	Cytidine

(b) Ribonucleotides



LA RAPPRESENTAZIONE DELLA SEQUENZA NUCLEOTIDICA



La catena ha una polarità.

La linea nera verticale indica lo zucchero,

A, G, T, C indicano le basi azotate,

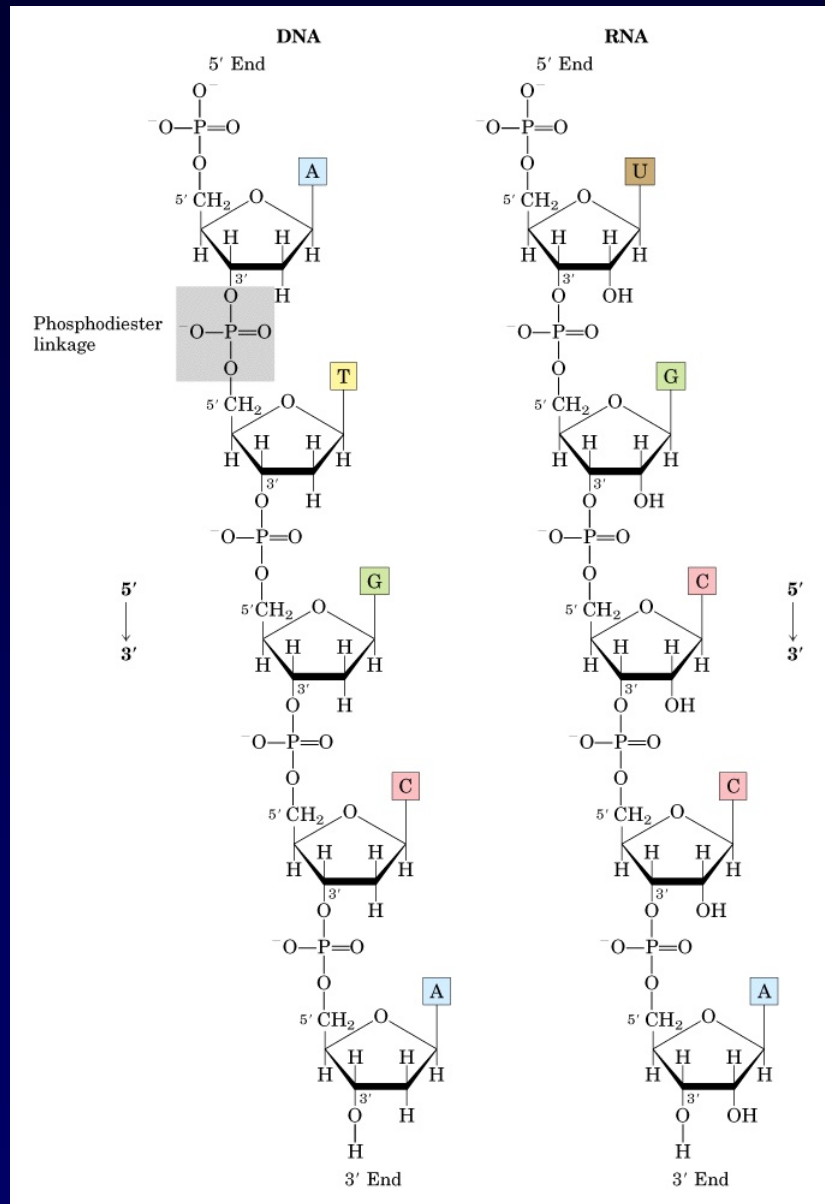
P, nella linea diagonale, indica il legame fosfodiester.

DNA ed RNA

Nel DNA e nell'RNA i ponti fosfodiesterici legano le unità nucleotidiche,

lo scheletro covalente (pentosi e gruppi fosforici), ha caratteristiche fortemente polari,

le basi azotate sono non polari ed idrofobiche.



GLI ESPERIMENTI DIMOSTRANTI CHE I GENI SONO COSTITUITI DA DNA

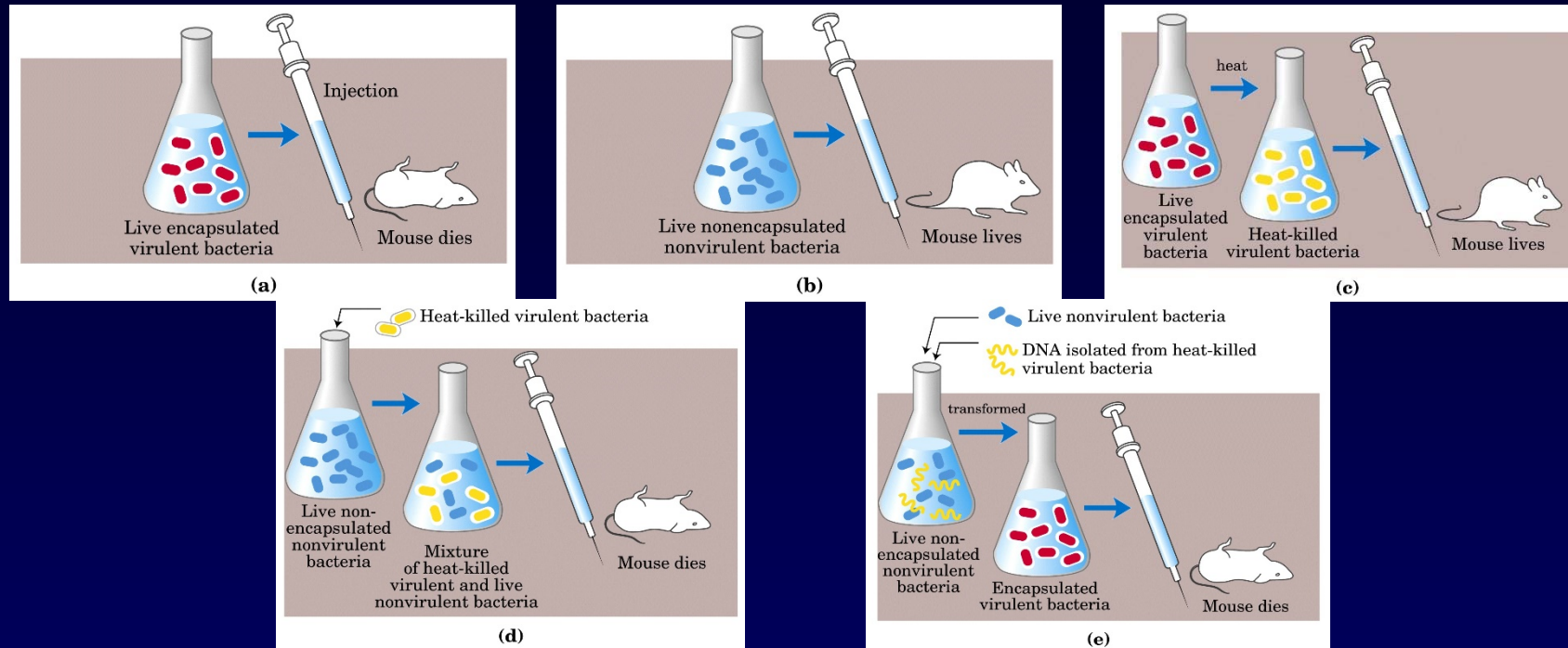
-1944-

Esperimento di Avery-MacLeod-McCarty

-1952-

Esperimento di Hershey-Chase

L'ESPERIMENTO DI AVERY-MacLEOD-McCARTY



a) Iniezione di un ceppo di pneumococchi incapsulati, virulenti, vivi: il topo muore.

b) Iniezione di batteri non incapsulati, non virulenti, vivi: il topo vive.

c) Iniezione di batteri virulenti uccisi con il calore: il topo vive.

d) Iniezione di una miscela di batteri virulenti, uccisi con il calore e di non virulenti vivi: il topo muore.

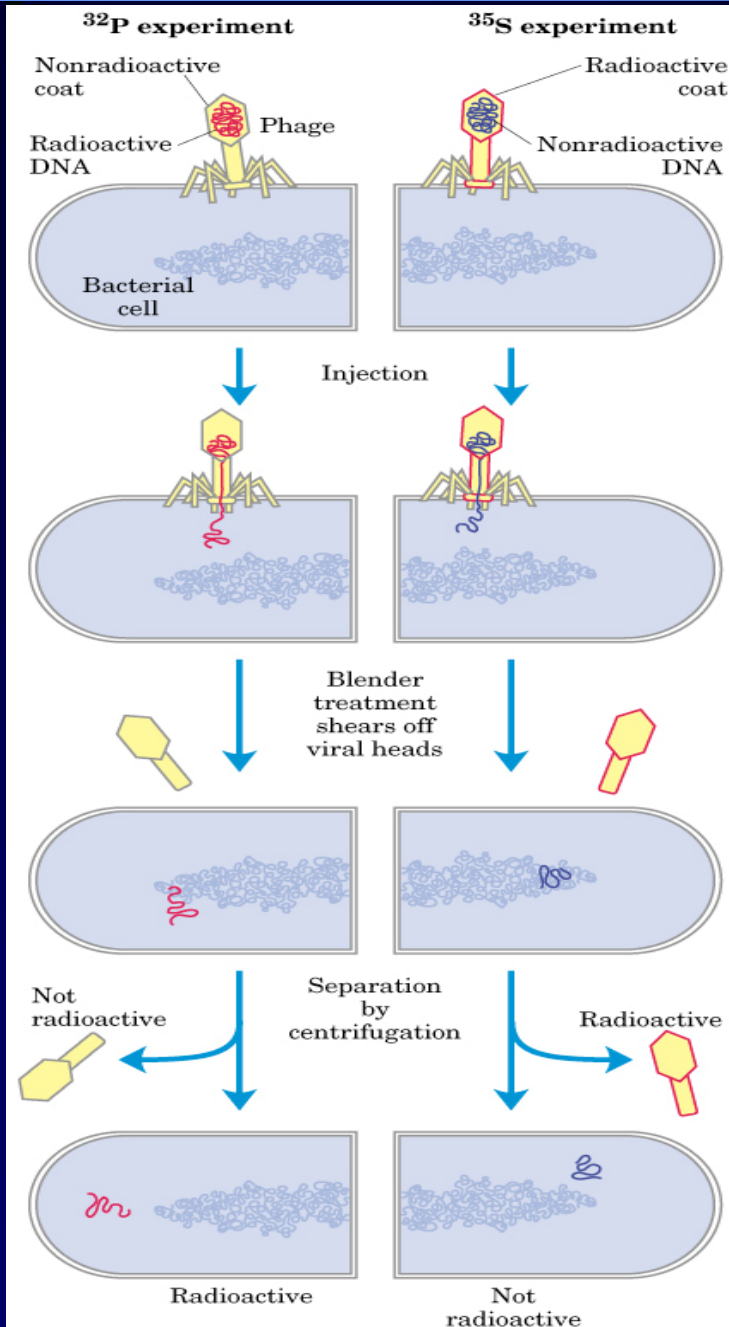
e) Iniezione di una miscela di batteri non incapsulati vivi e DNA di batteri virulenti: il topo muore.

L'SPERIMENTO DI AVERY-MacLEOD-McCARTY

-LE CONCLUSIONI-

La trasformazione degli pneumococchi ad opera del DNA indica che i geni sono costituiti da DNA.

Il DNA si inserisce nelle cellule non patogene, i geni per la virulenza e la formazione della capsula vengono incorporati nei cromosomi delle cellule non patogene.



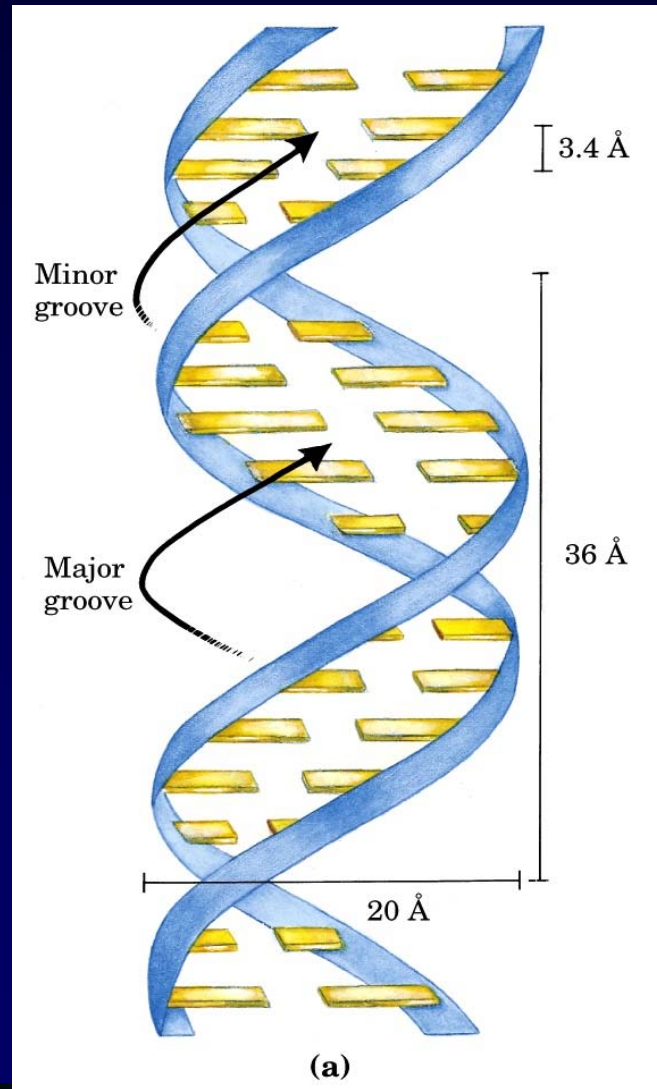
L'ESPERIMENTO DI HERSHEY-CHASE

L'esperimento é stato condotto impiegando due gruppi di batteriofagi T2 marcati con radioisotopi differenti;

le conclusioni:

poiché in entrambi i casi si ritrovano particelle di virus figlie, se ne deduce che il messaggio genetico per la loro replicazione viene introdotto dal DNA virale (che entra nella cellula batterica), non dalla proteina virale.

LA STRUTTURA DEL DNA: IL MODELLO DI WATSON E CRICK (1953)



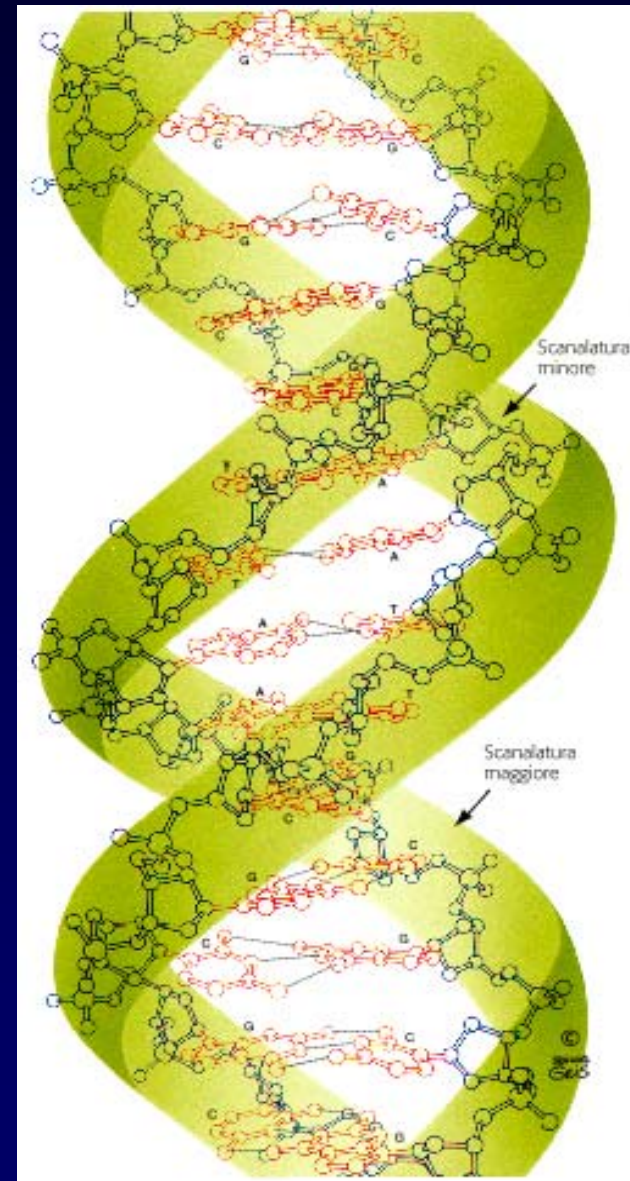
Il DNA è una doppia elica con due filamenti antiparalleli,

ogni giro di elica è costituito da 10 coppie di basi,

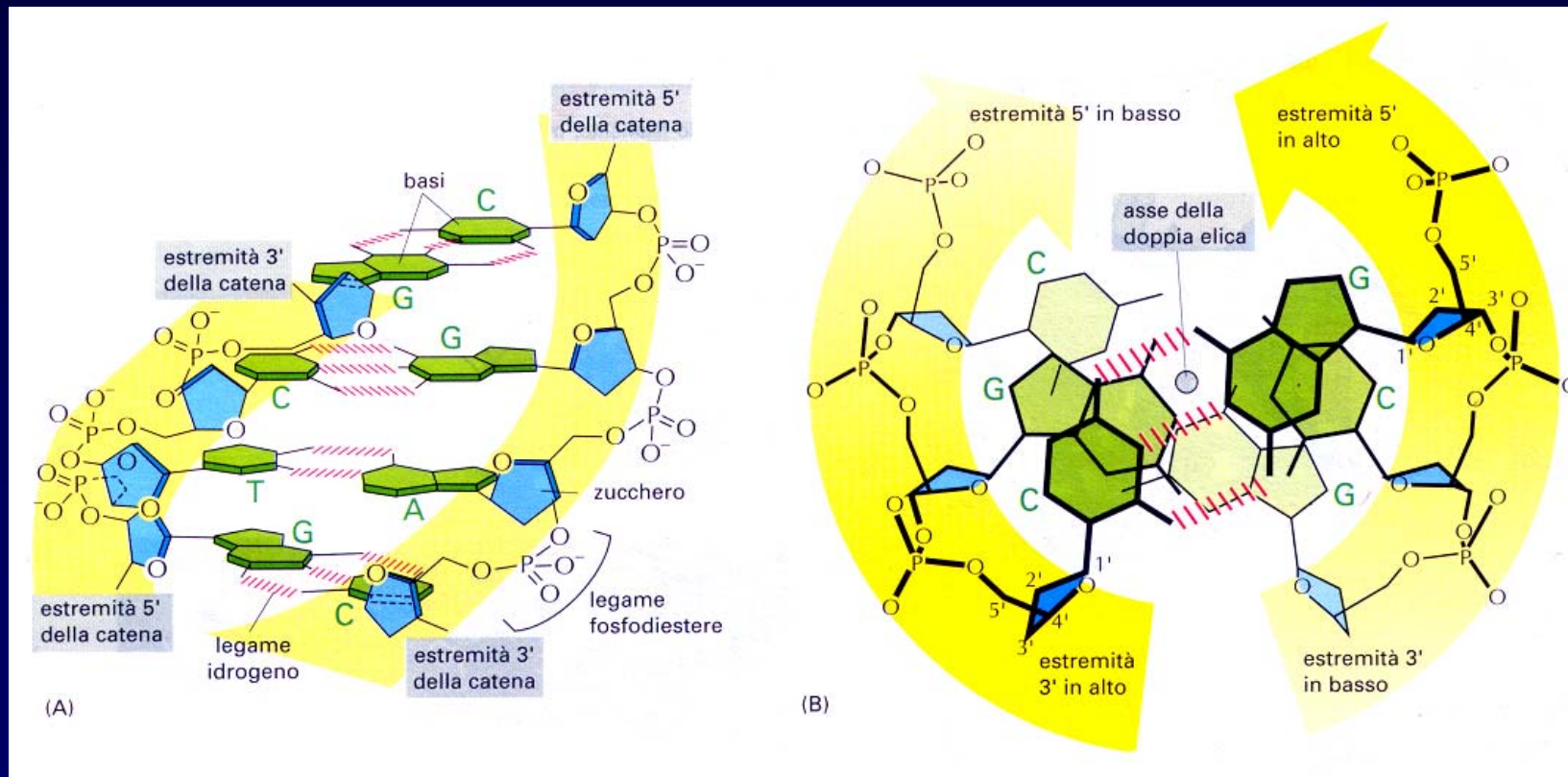
le due catene sono complementari l'una all'altra.

LA STRUTTURA DEL DNA

Il DNA contiene due tipi di scanalature chiamate **scanalatura principale** (o scanalatura maggiore) e **scanalatura secondaria** (o scanalatura minore), che si formano in quanto i legami glicosidici di una coppia di basi azotate non sono diametralmente opposti.

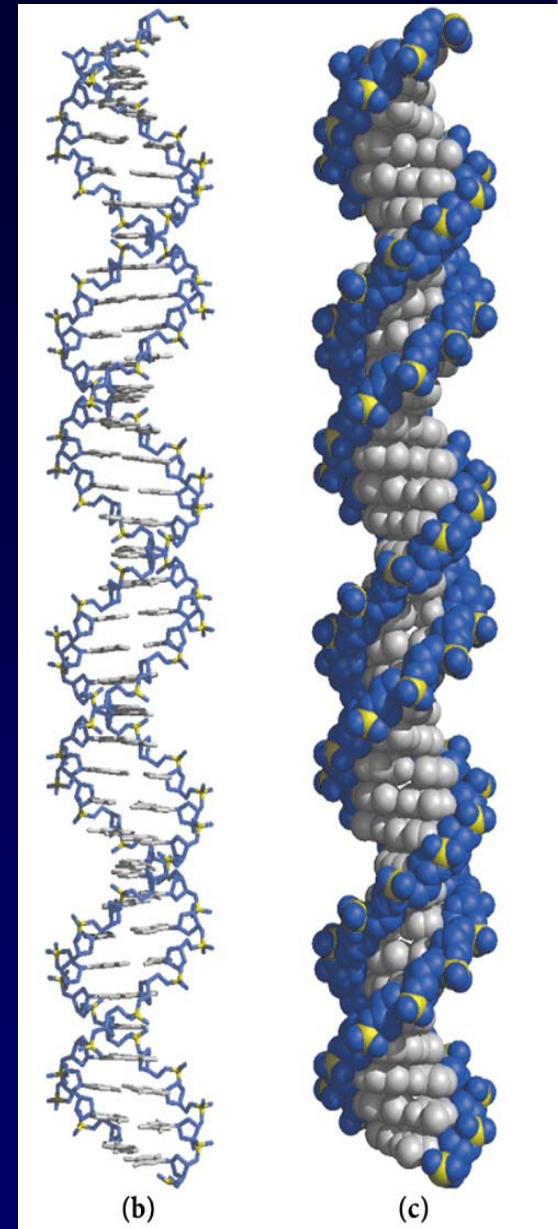


LE BASI AZOTATE SI TROVANO ALL'INTERNO DELLA ELICA, MENTRE I FOSFATI SONO ALL'ESTERNO; IL PIANO DEGLI ZUCCHERI È QUASI PERPENDICOLARE A QUELLO DELLE BASI AZOTATE.

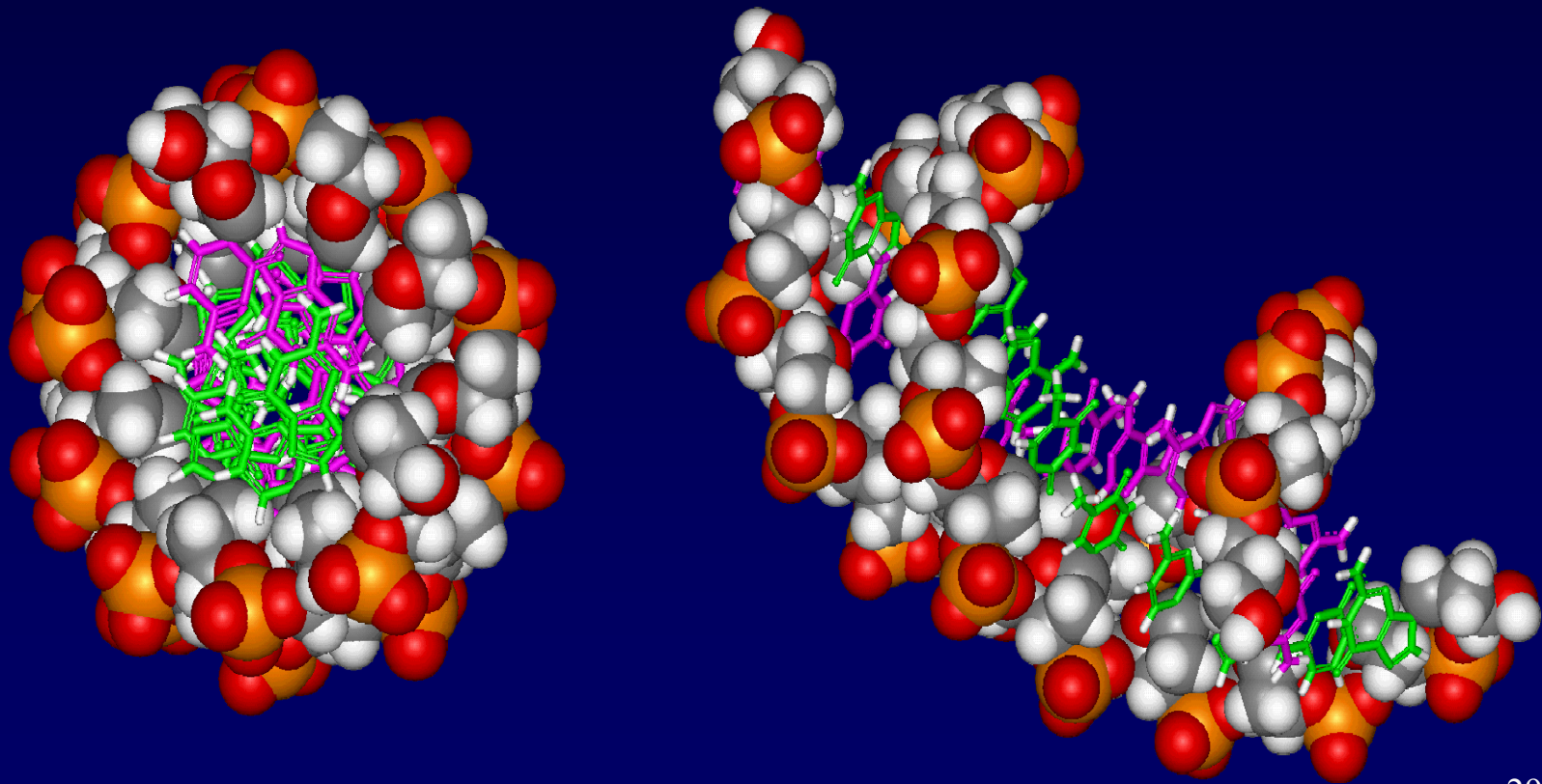


LA STRUTTURA DEL DNA

- 1) Le due eliche sono avvolte attorno ad un asse comune e le catene corrono in direzioni opposte,
- 2) Il piano delle basi azotate è perpendicolare all'asse dell'elica,
- 3) Le basi azotate adiacenti formano un angolo tra loro di 36° ,
- 4) I legami glicosidici di una coppia di basi azotate sono sempre distanti tra loro 10.8 \AA ,
- 5) Il diametro del DNA è di 20 \AA ,
- 6) Le catene sono unite da legami H,
- 7) La doppia elica è destrorsa.

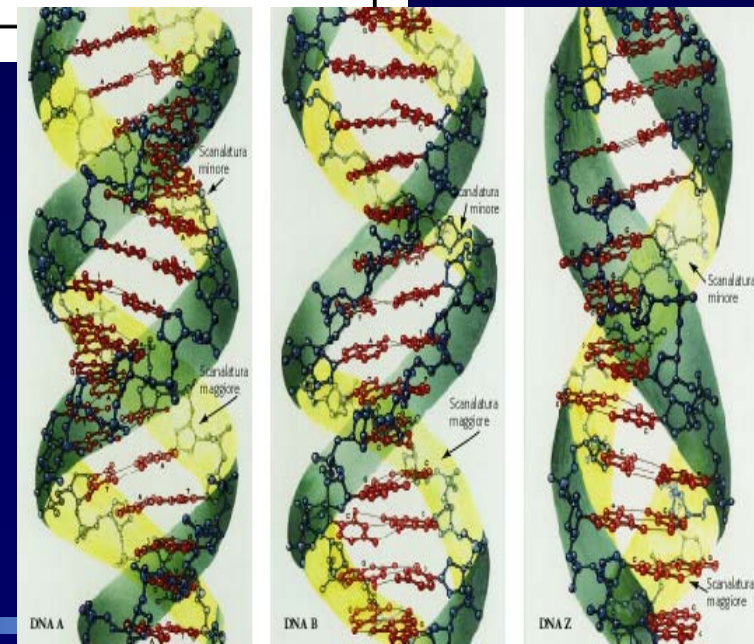


STRUTTURA DEL DNA (DNA B) WATSON AND CRICK 1953



LE DIVERSE STRUTTURE DEL DNA

	A form	B form	Z form
Helical sense	Right handed	Right handed	Left handed
Diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Base pairs per helical turn	11	10.5	12
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Sugar pucker conformation	C-3' endo	C-2' endo	C-2' endo for pyrimidines; C-3' endo for purines
Glycosyl bond conformation	Anti	Anti	Anti for pyrimidines;



LE ALTRE STRUTTURE DEL DNA

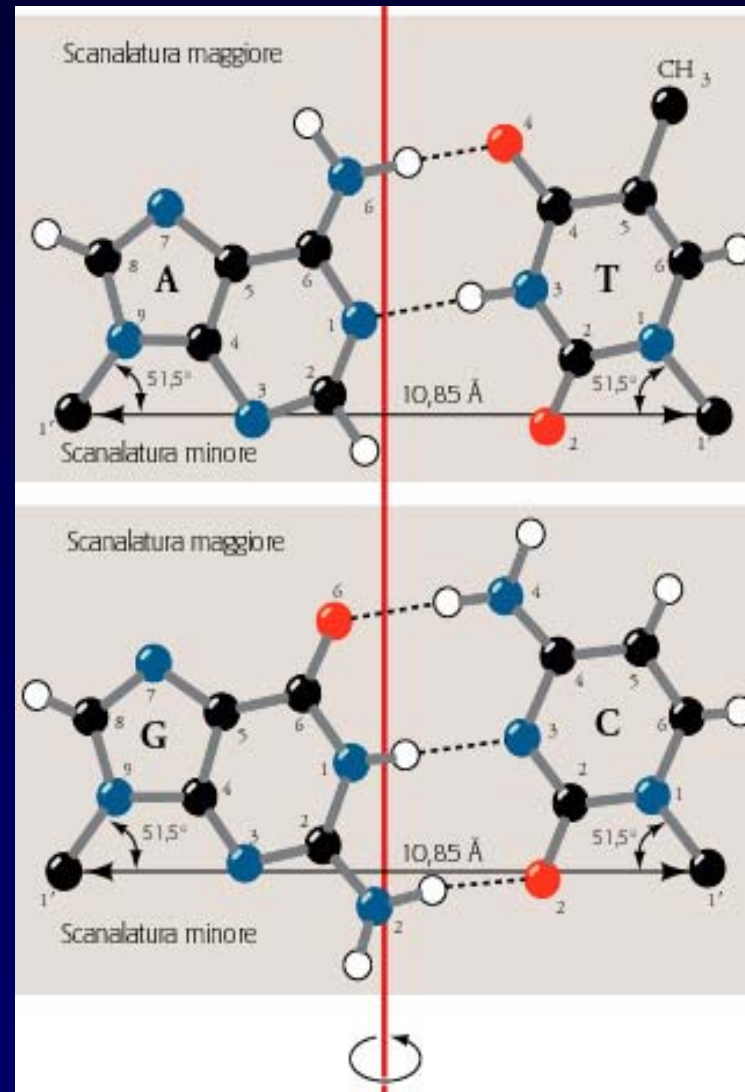
- Il **DNA A** compare quando l'umidità relativa scende sotto il 75%, in regioni a doppio filamento di RNA o in eliche ibride RNA/DNA, in questo caso l'elica è sempre destrorsa ma più larga e più corta dell'elica B;
- il **DNA Z** forma eliche sinistrorse e può formarsi con polinucleotidi complementari, con un'alternanza di purine e pirimidine ed in presenza di elevate concentrazioni di sali.

Property	A-Form	B-Form	Z-Form
Helical sense	Right-handed	Right-handed	Left-handed
Repeating helix unit	1 base pair	1 base pair	2 base pairs
Rotation/base pair (degrees)	33.6	35.9 +/- 4.2	-60/2
Mean base pairs/turn	10.7	10.0 +/- 1.2	12
Inclination of base normals to helix axis (degrees)	+19	-1.2 +/- 4.1	-9
Rise/base pair along helix axis (Å)	2.3	3.32 +/- 0.19	3.8
Pitch/turn of helix (Å)	24.6	33.2	45.6
Mean propeller twist (degrees)	+18	+16 +/- 7	~0
Glycosyl angle conformation	anti	anti	anti at C, syn at G
Sugar pucker conformation	C3'-endo	O1'-endo to C2'-endo	C2'-endo at C, C2'-exo to C1'-exo at G

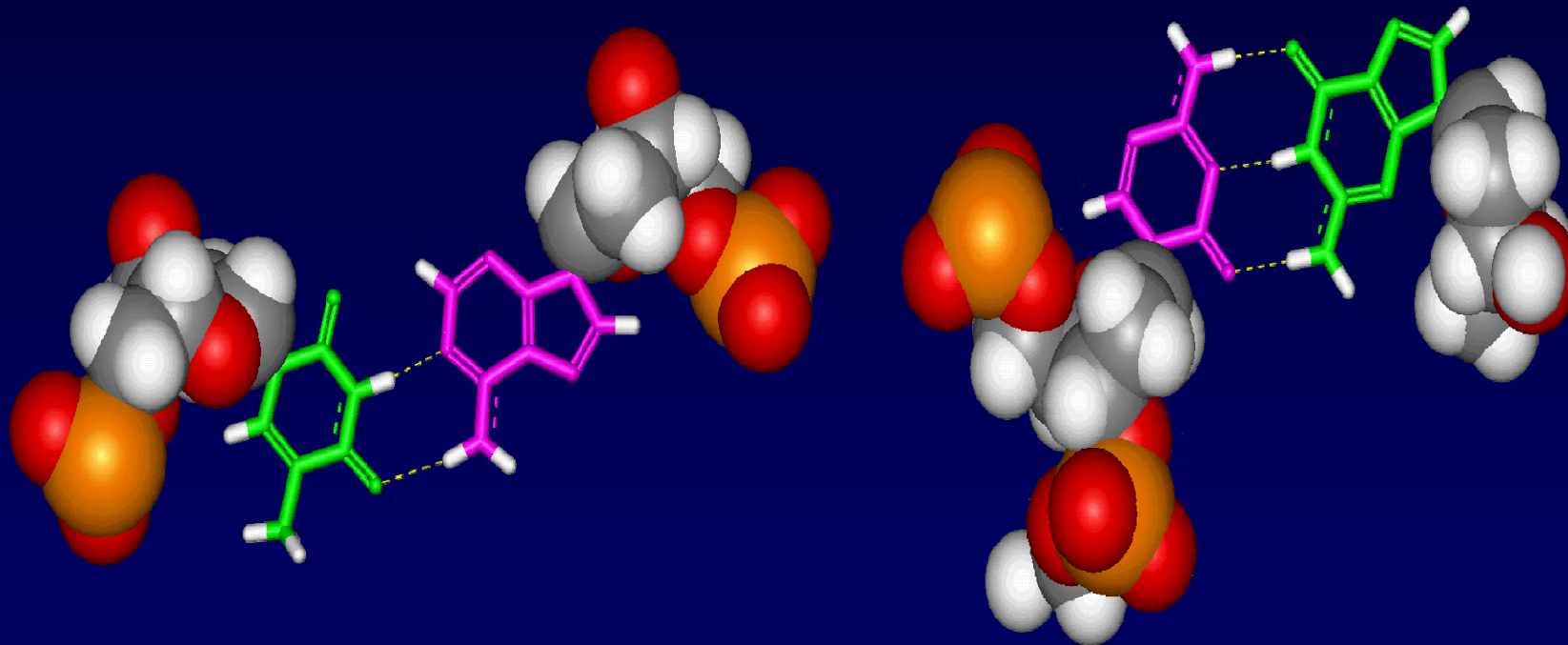
I LEGAMI H TRA LE BASI AZotate

adenina-timina:
2 legami H

citosina-guanina:
3 legami H



L'APPAIAMENTO DELLE BASI AZOTATE



A-T

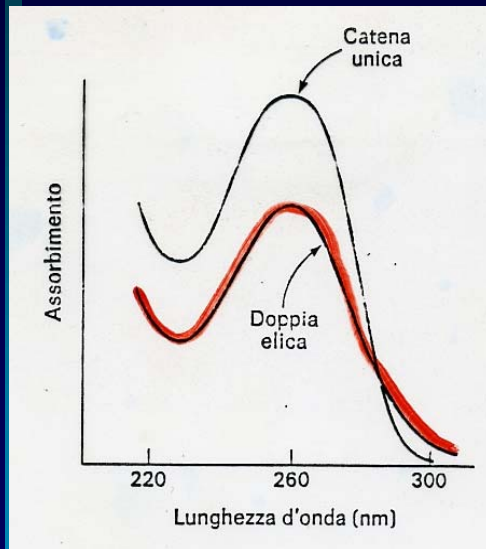
G-C

LE REGOLE DI CHARGAFF

- 1) I campioni di DNA isolati da tessuti diversi della stessa specie hanno la stessa composizione in basi,
- 2) La composizione in basi azotate del DNA varia da una specie all'altra,
- 3) La composizione in basi del DNA in una data specie non cambia con l'età dell'organismo, il suo stato nutrizionale o in seguito a variazioni del suo ambiente di vita,
- 4) In tutti i DNA $A = T$ e $C = G$, quindi $A+G = T+C$, la somma dei residui di purine é uguale alla somma dei residui di pirimidine.

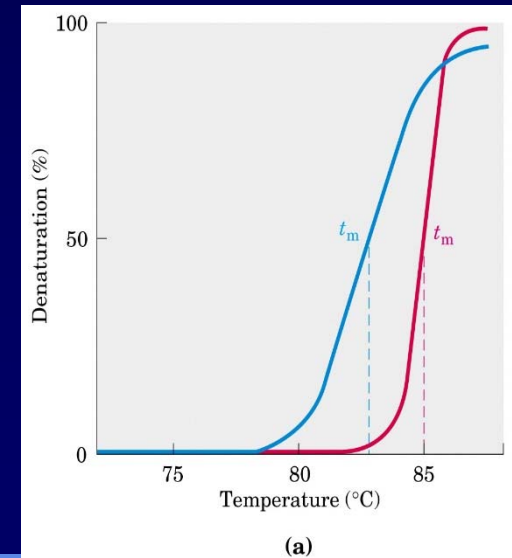
LA DOPPIA ELICA PUO' FONDERE REVERSIBILMENTE

L'EFFETTO IPERCROMICO



L'assorbimento della luce a 260 nm di una soluzione di DNA aumenta quando la doppia elica fonde in filamenti singoli, per rottura dell'impilamento delle coppie di basi azotate.

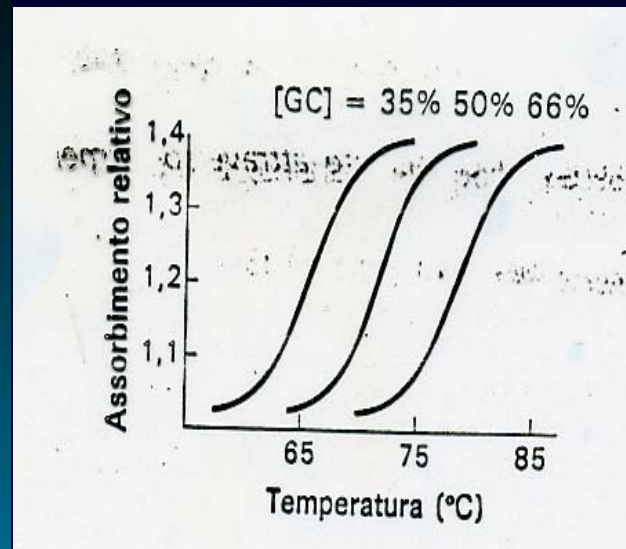
La temperatura di fusione (T_m) è la temperatura alla quale la metà del DNA è denaturato.



LE CURVE DI FUSIONE DEL DNA

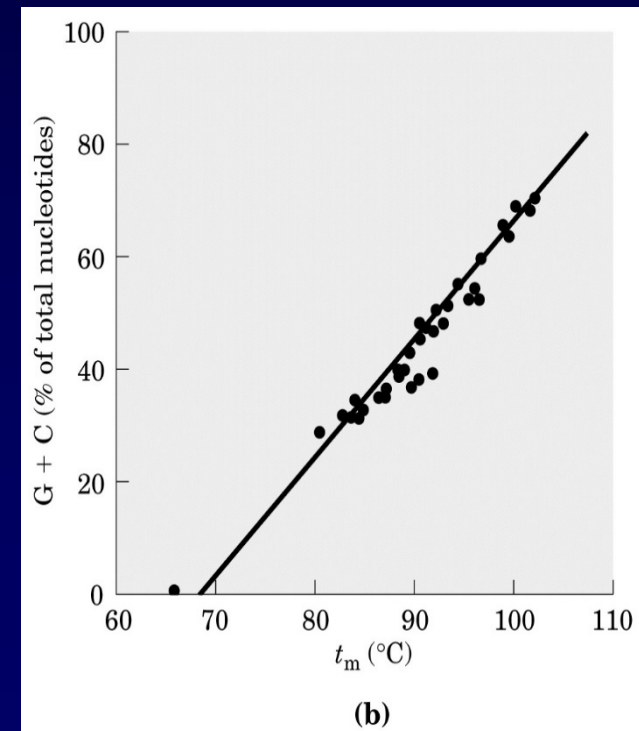
La temperatura di fusione di una molecola di DNA dipende dalla sua composizione in basi azotate;

la T_m aumenta, infatti, in proporzione alla % di GC presente nella molecola.



Le coppie GC sono più stabili delle coppie AT, poiché formano **tre** legami H e non **due**;

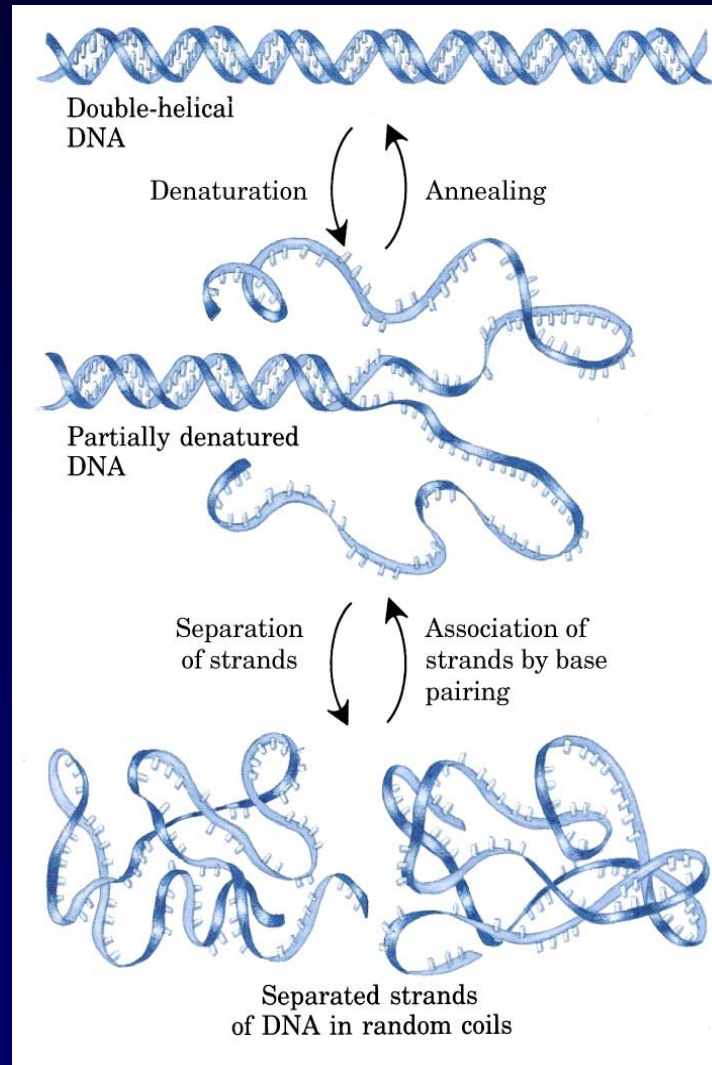
la **transizione** avviene bruscamente, perché la doppia elica è una struttura altamente cooperativa.



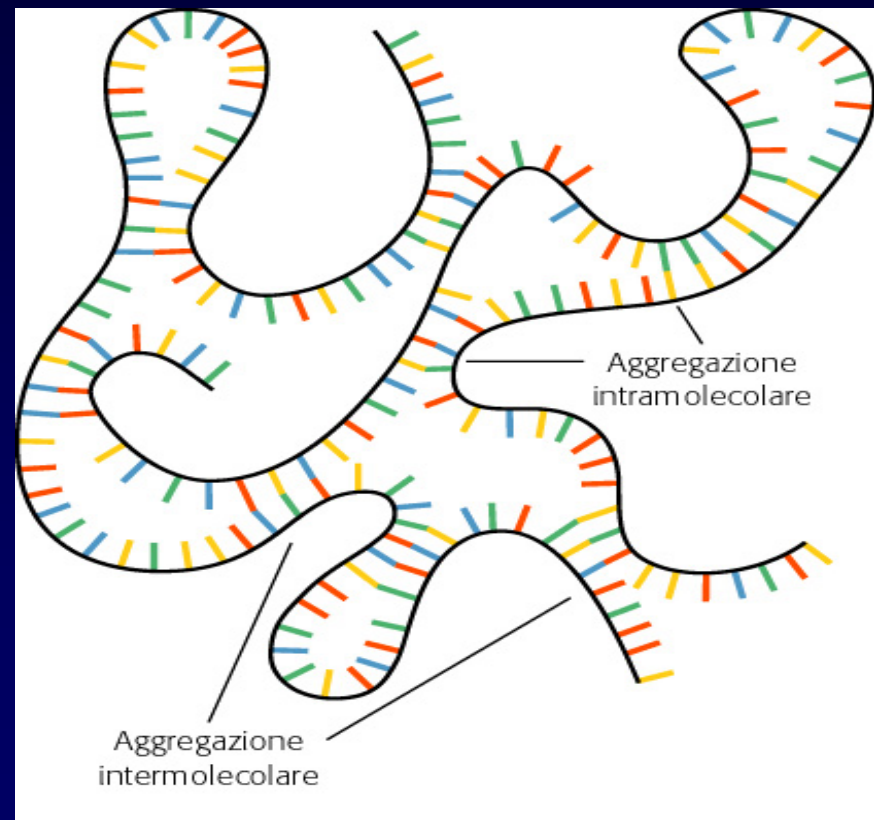
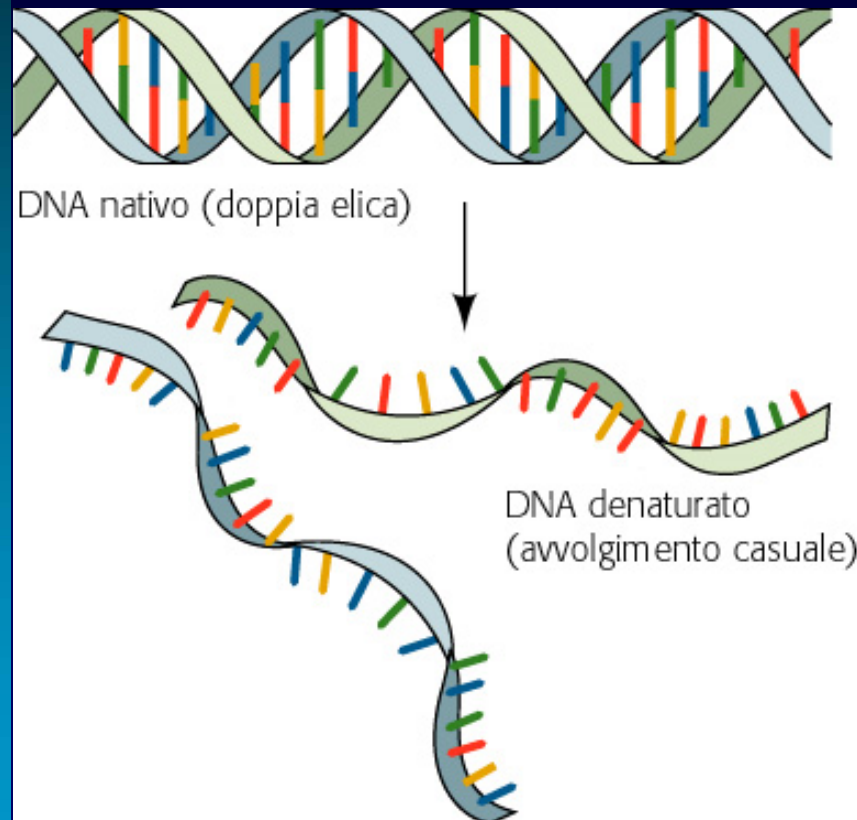
La T_m del DNA

La T_m del DNA di molte specie varia linearmente con il contenuto in GC, passando da 77°C a 100°C, per un aumento delle coppie GC dal 20% al 78%.

GLI STADI DELLA DENATURAZIONE (SVOLGIMENTO) REVERSIBILE DEL DNA E DELLA SUA RINATURAZIONE (ANNEALING)



LA DENATURAZIONE E LA PARZIALE RINATURAZIONE DEL DNA



IL DNA DENATURATO PUÒ ESSERE RINATURATO

Se le due catene sono ancora unite da un segmento a doppia elica di 12 o più residui, la rinaturazione del DNA è un processo rapido composto da una singola tappa, quando la temperatura o il pH vengono portati vicino ai valori fisiologici.

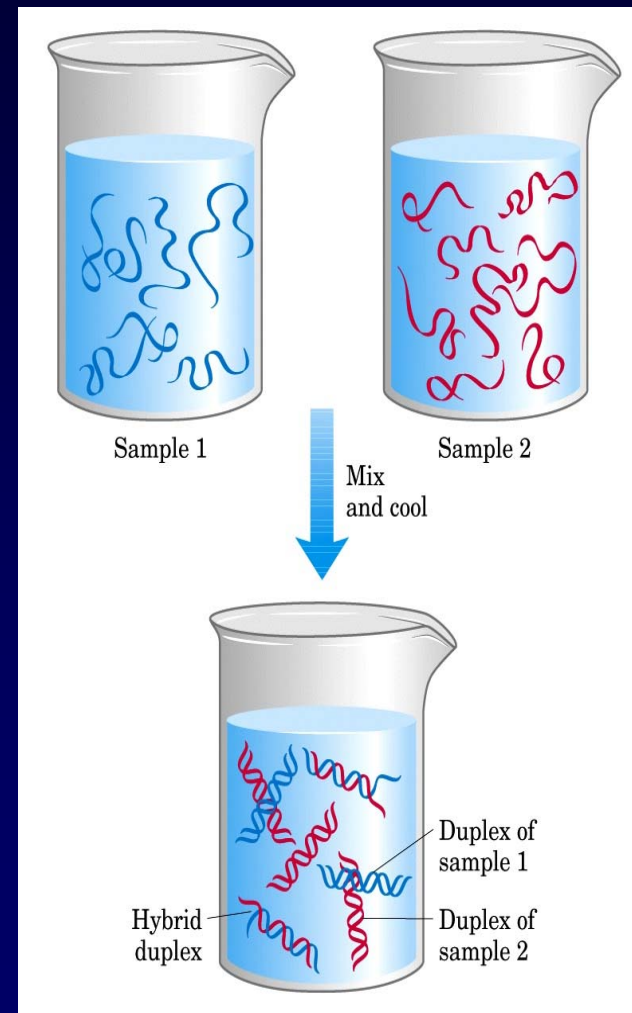
Se le due catene sono completamente separate, la rinaturazione avviene in due tappe: la prima, relativamente lenta, nella quale le due catene devono «trovarsi» e la seconda, molto più rapida, in cui le coppie di basi azotate ancora non appaiate entrano facilmente in contatto fra loro.

IL TEST DI IBRIDIZZAZIONE

Principio:

più sono correlate strettamente due specie, più i loro DNA ibridizzeranno formando accoppiamenti parziali;

di solito, uno dei due campioni viene marcato con radioisotopi per rendere le misurazioni più semplici.



LE MOLECOLE DI DNA SONO MOLTO LUNGHE ANCHE NELLE CELLULE PIÙ SEMPLICI, PERCHÉ DEVONO CODIFICARE UN GRANDE NUMERO DI PROTEINE.

Dimensioni di molecole di DNA

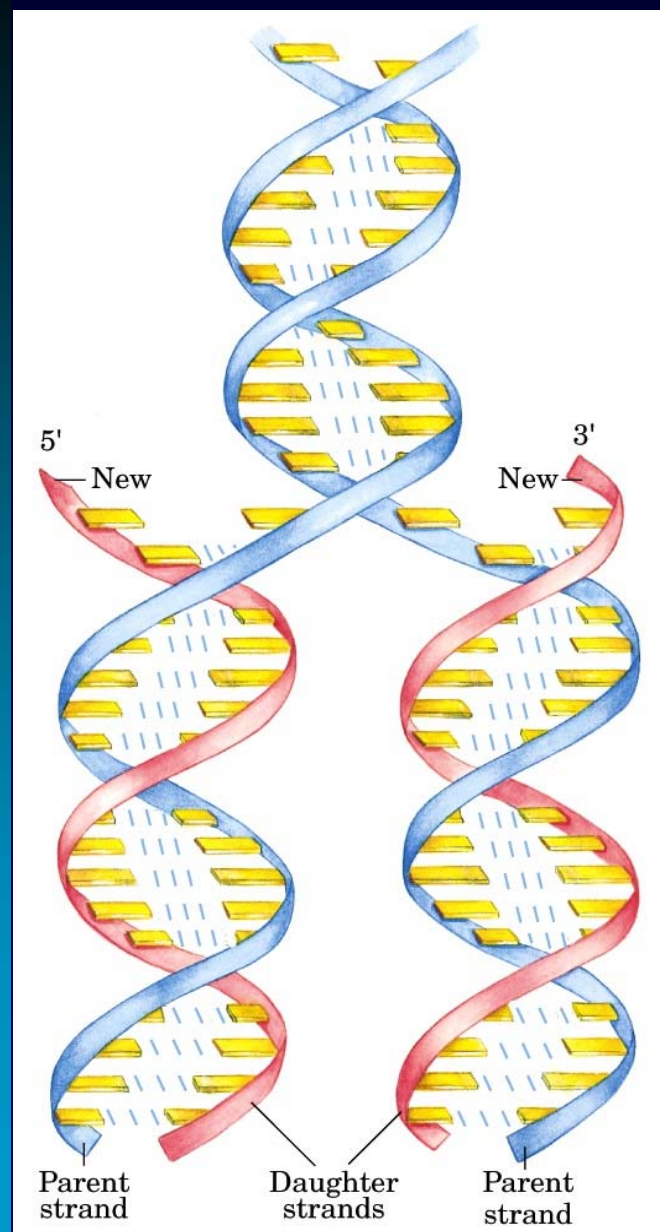
<i>Organismo</i>	<i>Coppie di basi (in migliaia, o kb)</i>	<i>Lunghezza (μm)</i>
Virus		
Polioma o SV40	5,1	1,7
Fago λ	48,6	17
Fago T2	166	56
Virus vaccinico	190	65
Batteri		
Micoplasma	760	260
<i>E. coli</i>	4000	1360
Eucarioti		
Lievito	13500	4600
<i>Drosophila</i>	165000	56000
Uomo	2900000	990000

LA REPLICAZIONE DEL DNA SUGGERITA DA WATSON E CRICK

La natura semiconservativa della
replicazione del DNA.

Ciascun filamento funge da stampo per
un nuovo filamento complementare;
quando la replicazione è completata, ci
saranno due molecole figlie di DNA a
doppia elica, ciascuna identica nella sua
sequenza alla molecola parentale.

Meselson e Stahl dimostrarono che il DNA si
replica in modo semiconservativo.

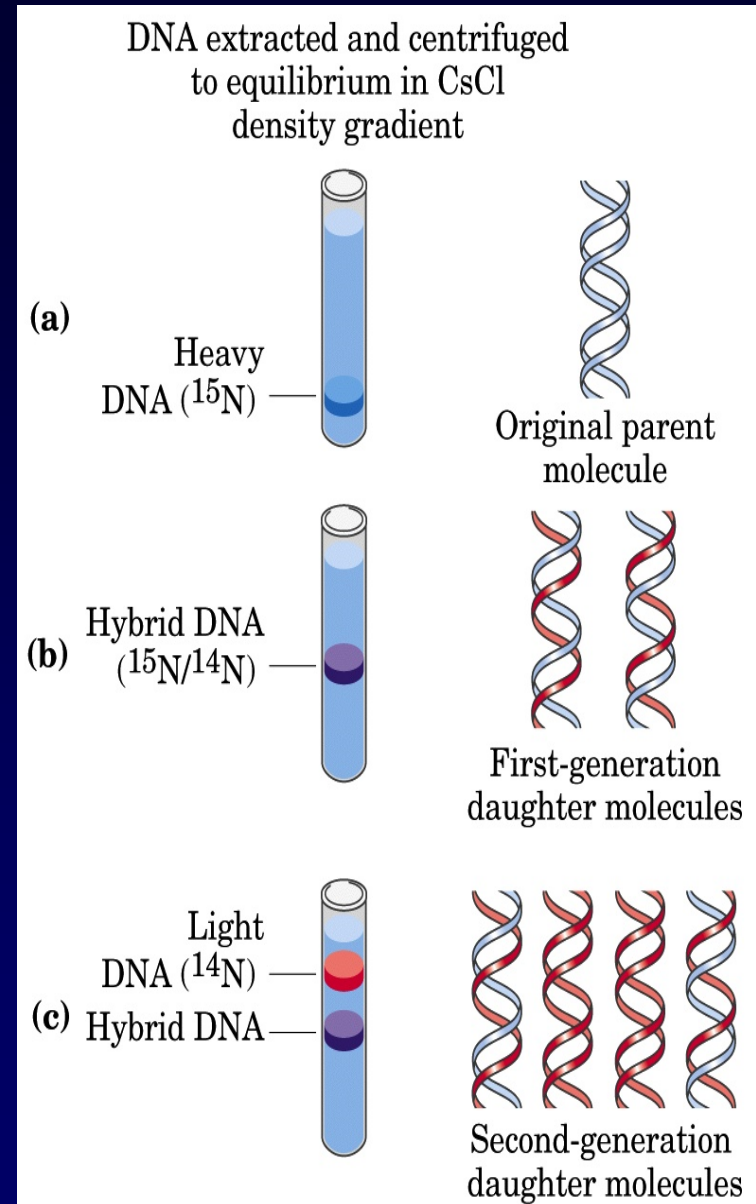


IL PRINCIPIO DELL'ESPERIMENTO DI MESELSON-STHAL

E' possibile separare mediante centrifugazione una
mistura di DNA pesante (^{15}N) e di DNA leggero (^{14}N) in
una soluzione concentrata di cloruro di cesio.

L'ESPERIMENTO DI MESELSON-STHAL (1957)

- Si coltivano le cellule per varie generazioni in un terreno contenente solo azoto pesante,
- si trasferiscono in un terreno contenente solo azoto leggero,
- continuando la replicazione, si ottengono ibridi con azoto leggero e pesante.



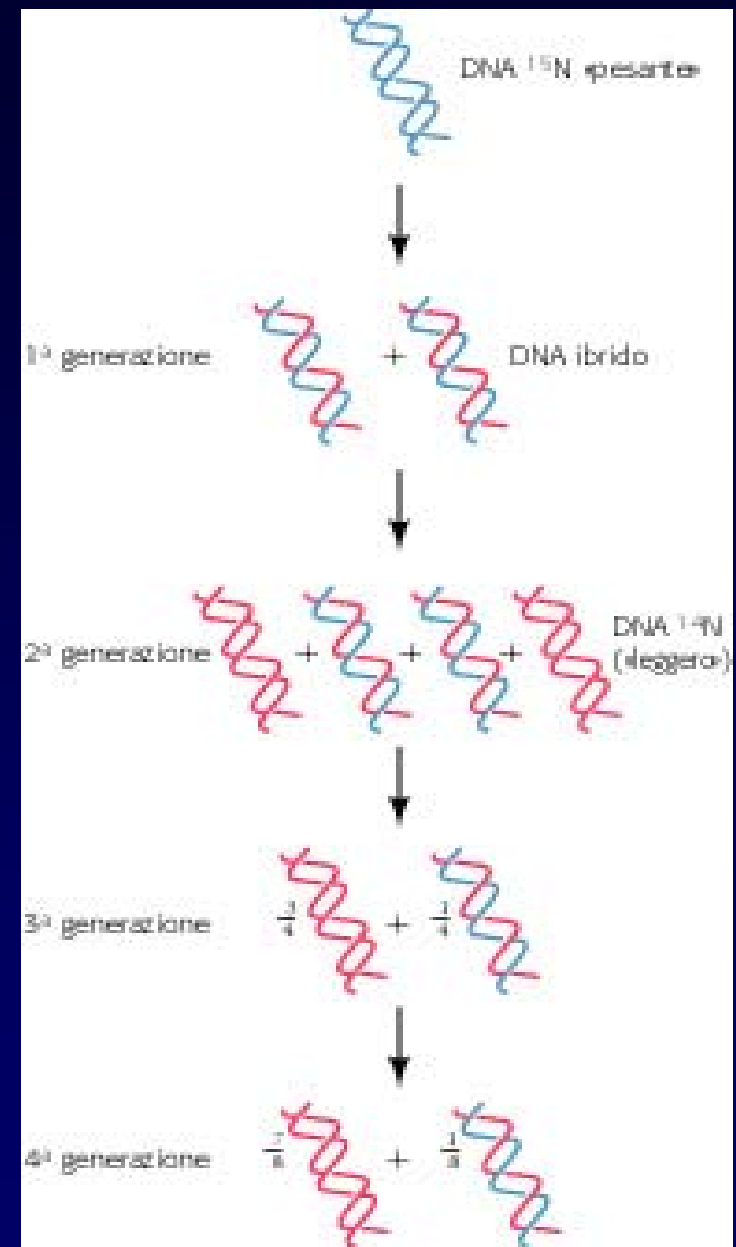
L'ESPERIMENTO DI MESELSON-STHAL (1957)

- I risultati -

Nella **prima generazione**, entrambi i DNA contengono una catena leggera ed una pesante.

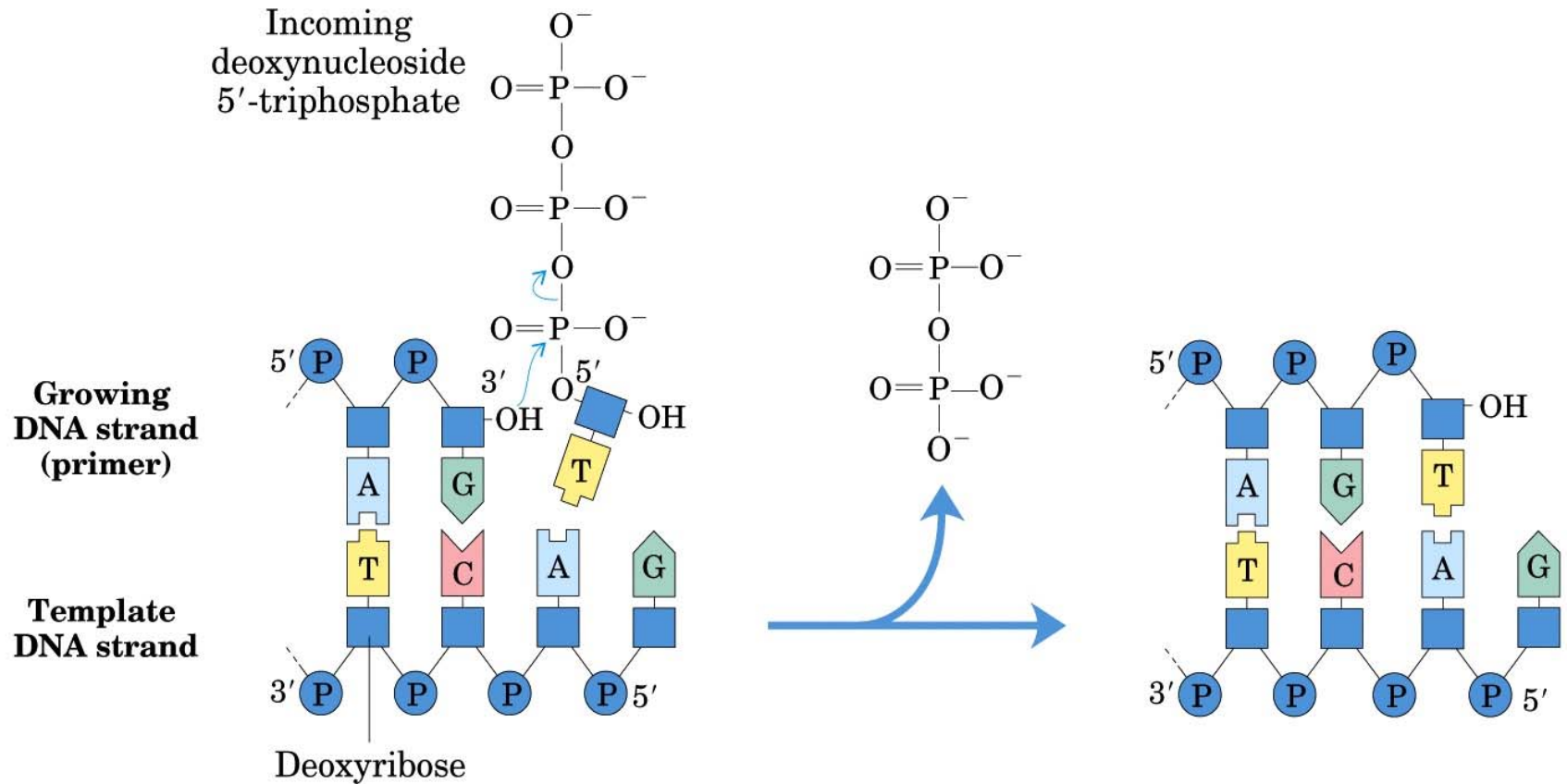
Nella **seconda generazione**, si ottengono due DNA ibridi e due DNA leggeri,

quindi
la replicazione è semiconservativa.



LA SINTESI DEL DNA

Kornberg - 1958



La reazione di allungamento del DNA è catalizzata dalle DNA polimerasi.

LA SINTESI DEL DNA

Le DNA polimerasi

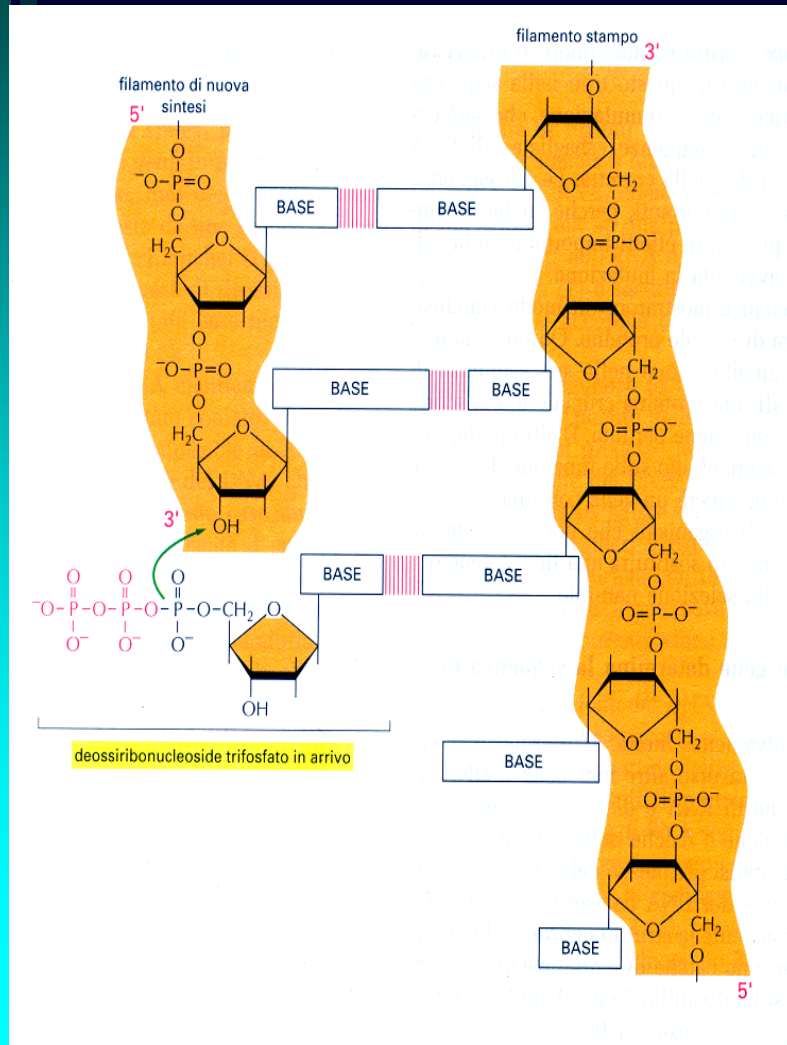
catalizzano la reazione di sintesi in direzione 5'→3',

necessitano per la reazione di:

quattro deossiribonucleosidi 5'-trifosfati,
ioni magnesio (Mg^{2+}),
una catena primer (iniziatrice) con un gruppo 3'-OH libero,
uno stampo di DNA;

é aggiunto un **singolo** deossiribonucleotide alla catena, **per volta**.

LA SINTESI DEL DNA



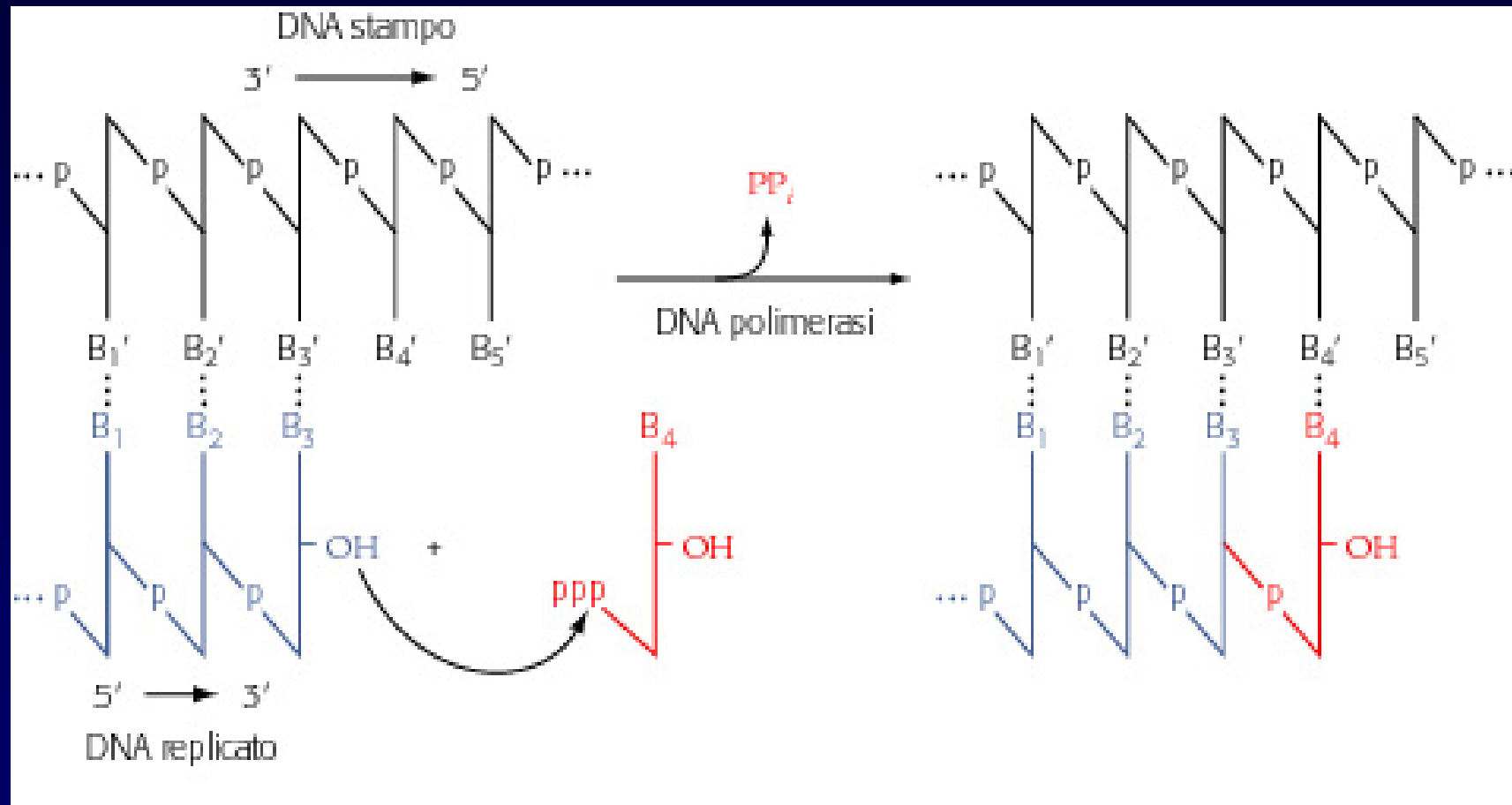
La reazione catalizzata consiste nell'unione nucleofila del terminale 3-OH' del primer all'atomo di fosforo più interno di un deossiribonucleoside trifosfato, per formare un ponte fosfodiesterico con rilascio di PP_i.

L'allungamento della catena di DNA procede in direzione 5'→3'.

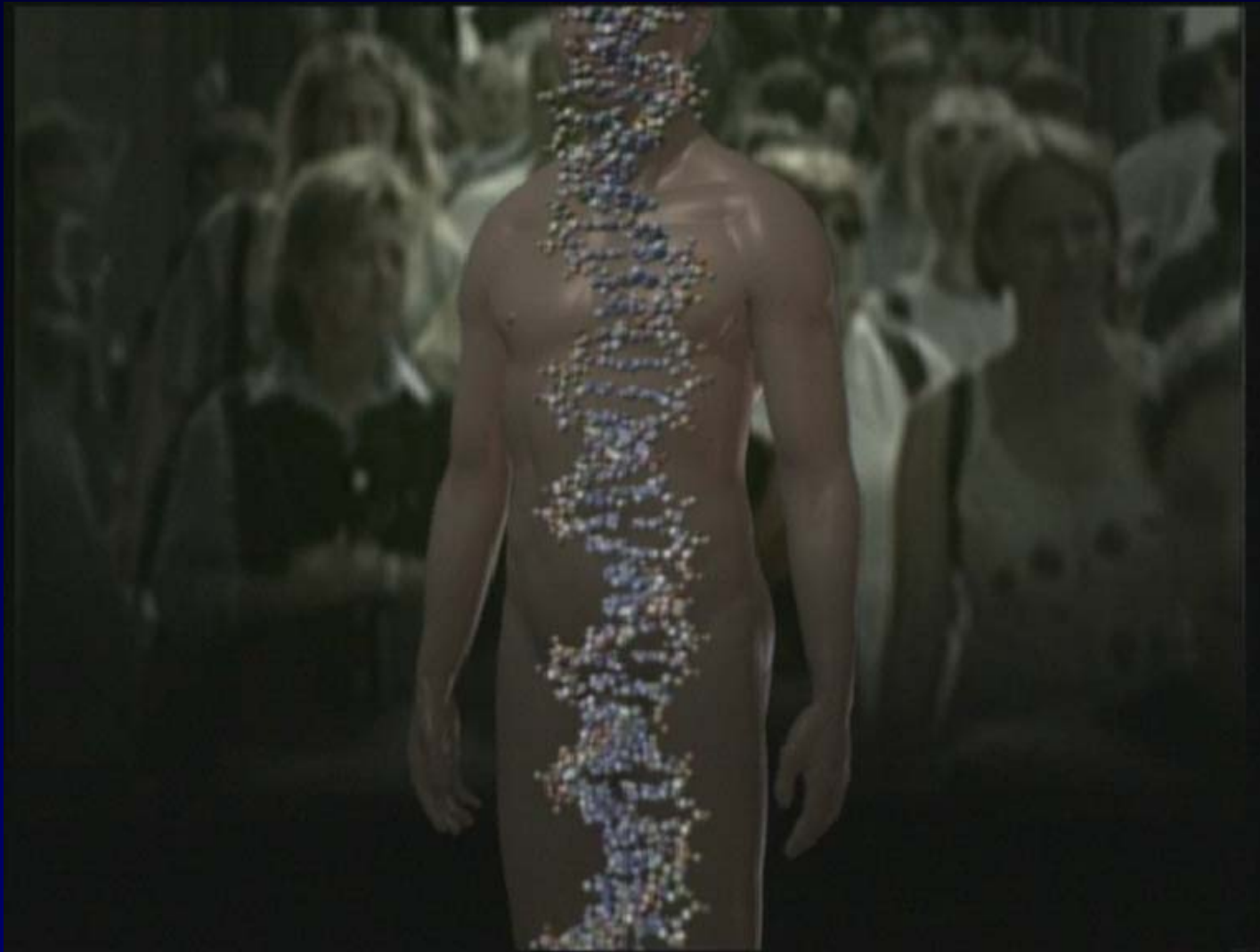
La sintesi avviene solo dopo l'appaiamento complementare delle basi azotate (enzima diretto dallo stampo).

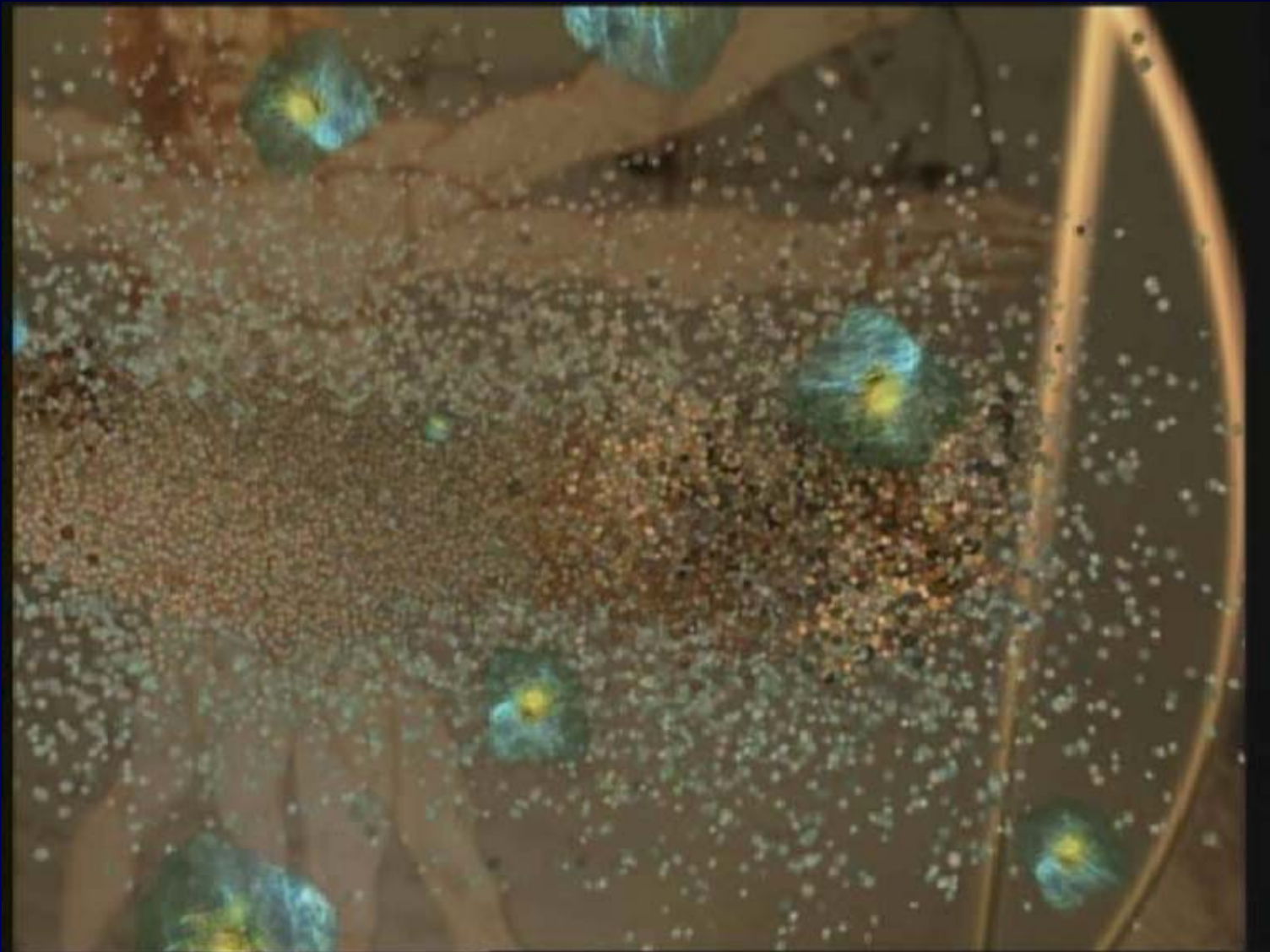
La reazione è spinta da una pirofosfatasi inorganica.

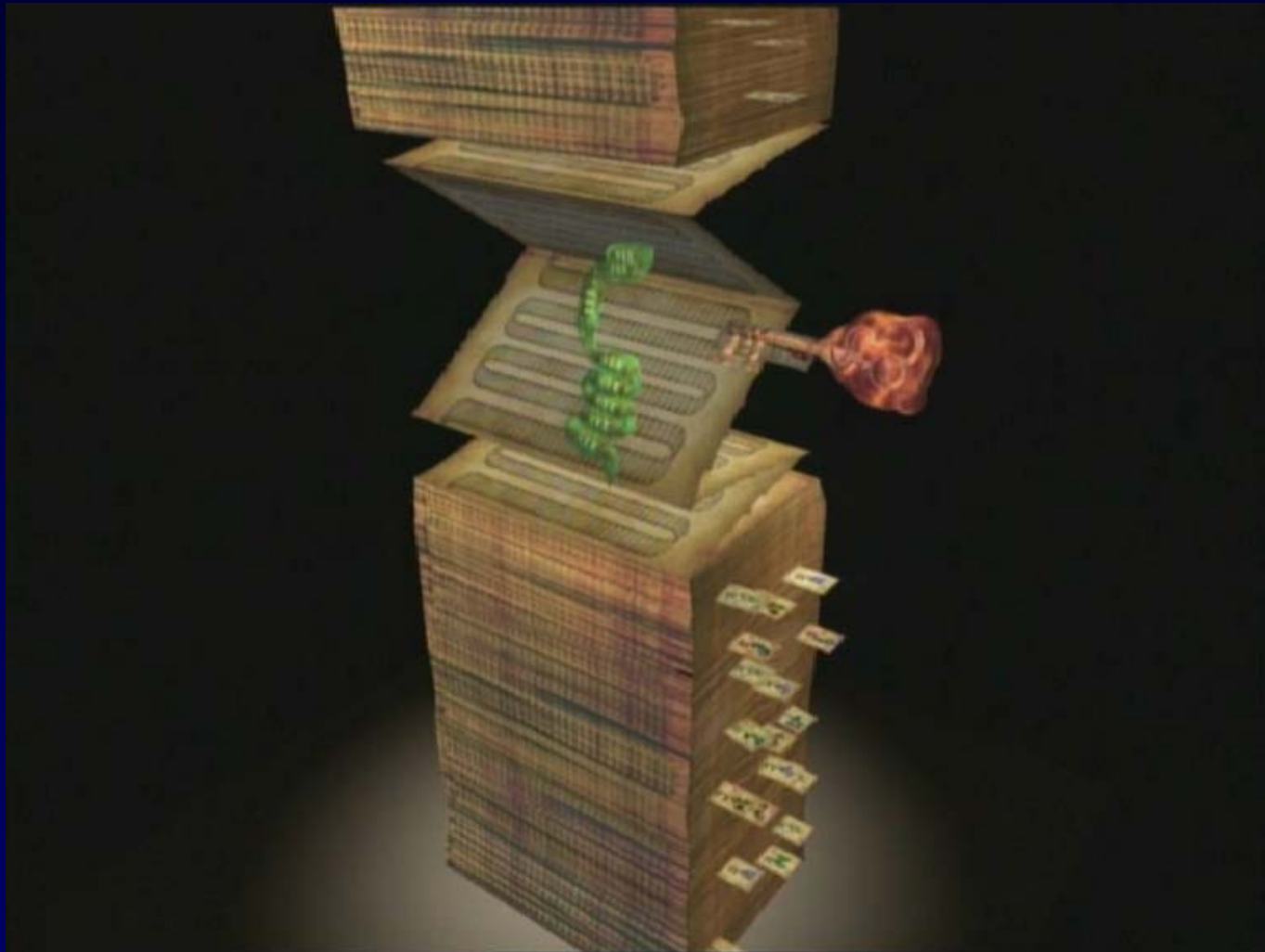
LA SINTESI DEL DNA



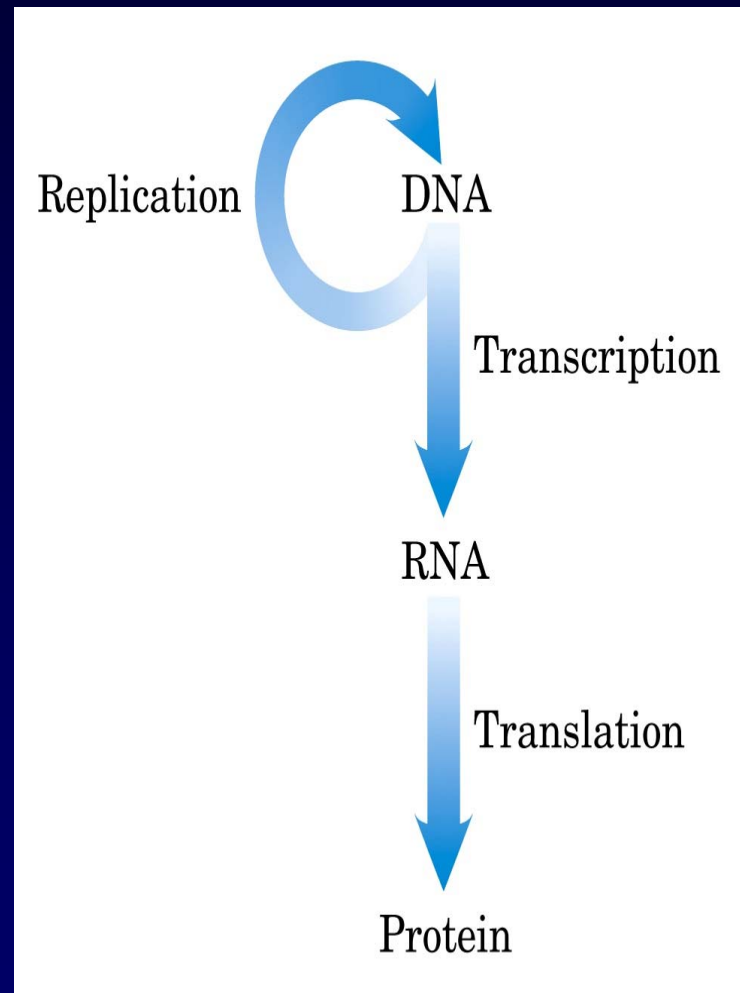
IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA







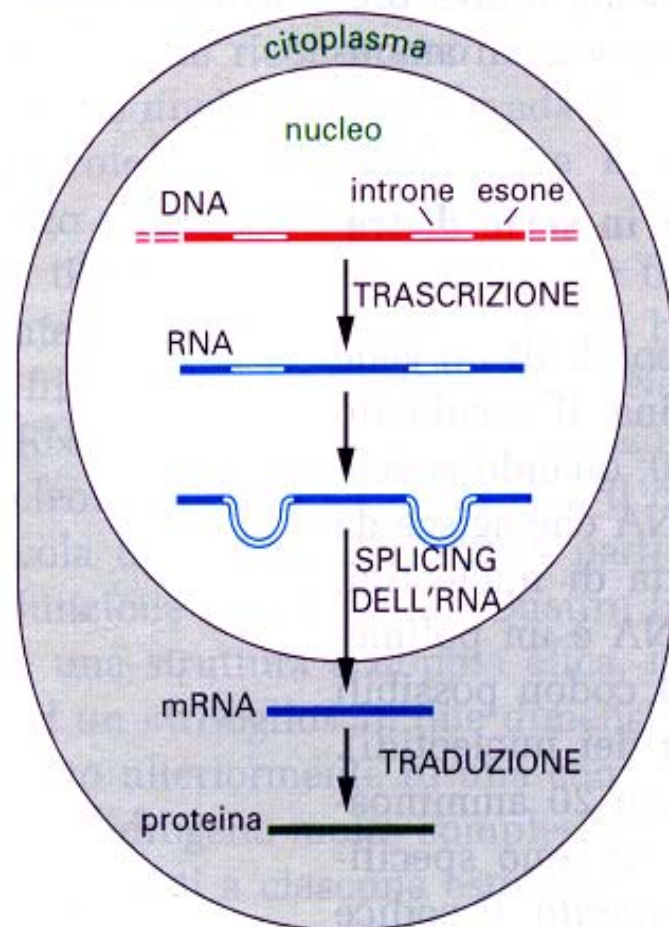
IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA



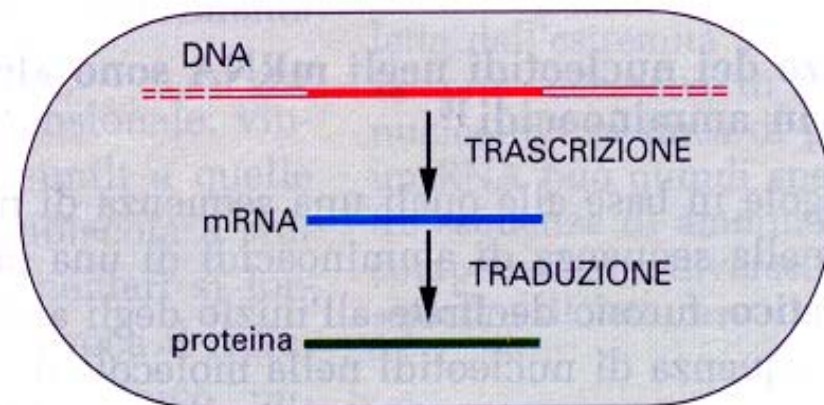
Il DNA conserva e trasmette l'informazione genetica.

Il DNA non è lo stampo diretto per la sintesi proteica, che utilizza invece stampi di RNA.

EUCARIOTI

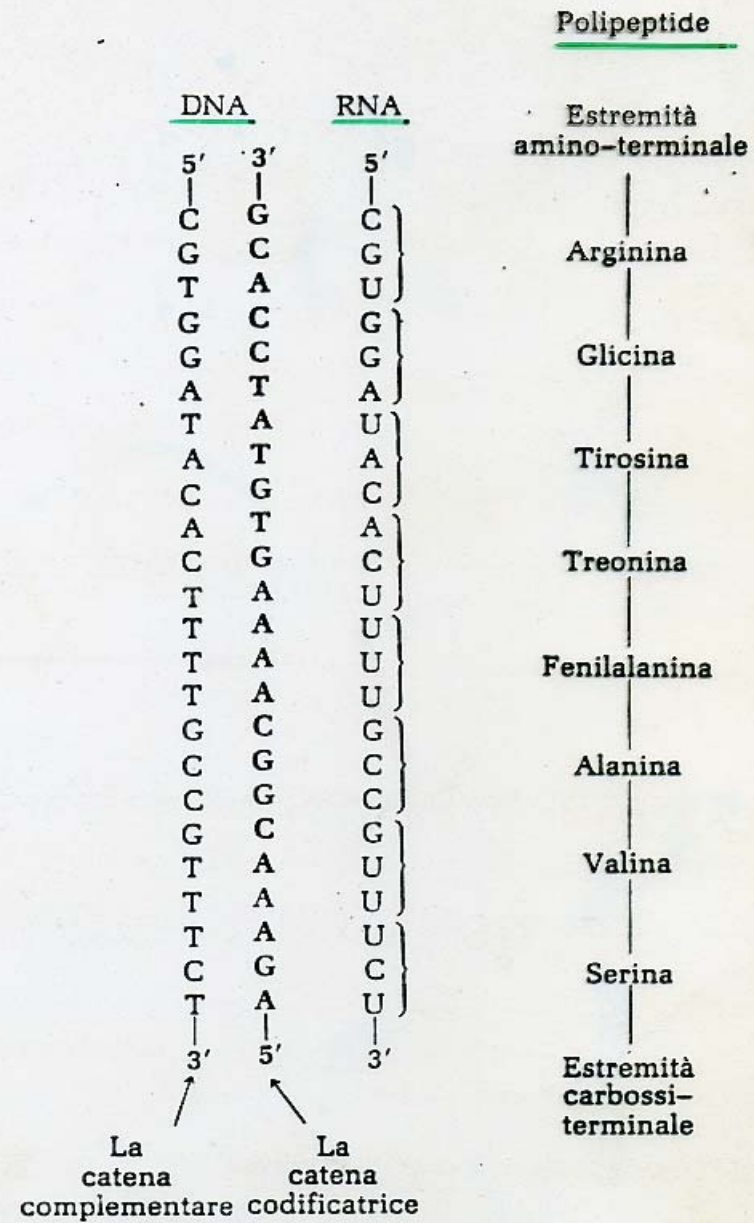


PROCARIOTI



IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

LA RELAZIONE TRA LA SEQUENZA DI BASI NEL DNA, IL TRASCRITTO DI mRNA E LA SEQUENZA DI AMMINOACIDI DI UNA PROTEINA.



IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

Esiste una relazione tra la sequenza di basi azotate del DNA (e del trascritto di mRNA) e la sequenza degli aminoacidi in una proteina,

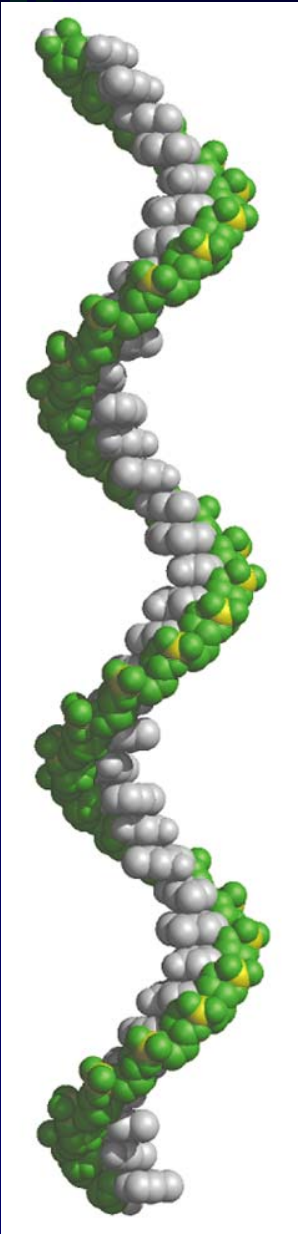
una sequenza di tre basi azotate (**codon**) codifica per un aminoacido,

i codon vengono letti sequenzialmente sull'mRNA da molecole di **tRNA**, che servono da adattatori nella sintesi proteica,

la sintesi delle proteine avviene a livello dei **ribosomi**.

IL CODICE GENETICO

		Second letter of codon							
		U		C		A		G	
First letter of codon (5' end)	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	



L'RNA

Le molecole di RNA sono generalmente a singolo filamento, ma molte contengono regioni a doppia elica (ripiegamento a forcina),

nelle cellule di E.coli esistono tre classi principali di RNA:

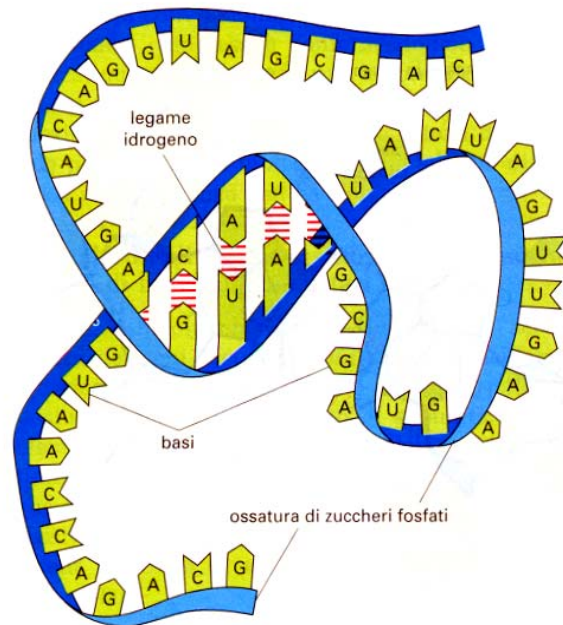
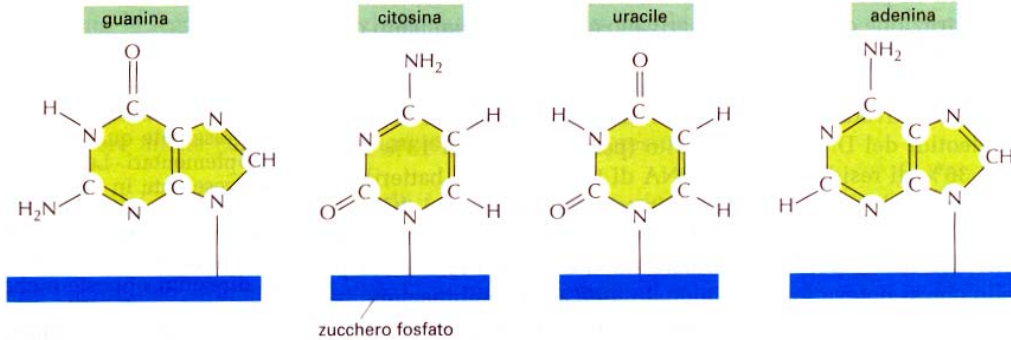
- RNA messaggero (mRNA),
- RNA ribosomiale (rRNA) (23S, 16S, 5S),
- RNA transfer (tRNA),

lo zucchero ribosio é al posto del deossiribosio (DNA),
la base azotata uracile é al posto della base azotata timina (DNA).

LE MOLECOLE DI RNA IN E.COLI

<i>Tipo</i>	<i>Quantità relativa (%)</i>	<i>Coefficiente di sedimen- tazione (S)</i>	<i>Massa (kd)</i>	<i>Numero di nucleotidi</i>
RNA ribosomiale (rRNA)	80	23	$1,2 \times 10^3$	3700
		16	$0,55 \times 10^3$	1700
		5	$3,6 \times 10^1$	120
RNA transfer (tRNA)	15	4	$2,5 \times 10^1$	75
RNA messaggero (mRNA)	5		Eterogeneo	

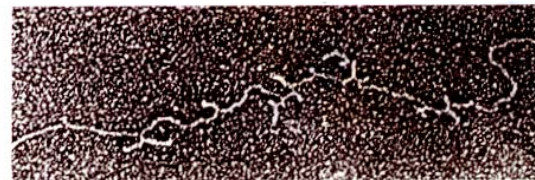
L'RNA



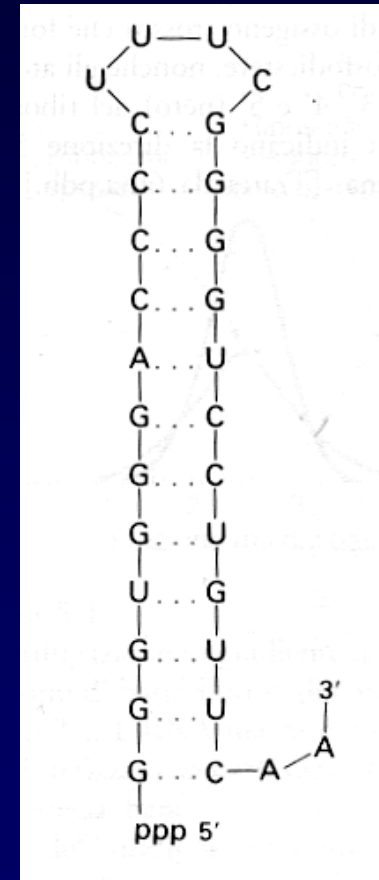
SINGOLO FILAMENTO DI RNA

L'RNA è a singolo filamento, ma contiene piccole regioni locali in cui le basi si accoppiano in modo complementare per un processo di ripiegamento casuale. Le regioni in cui le basi sono accoppiate si possono vedere al microscopio elettronico come ramificazioni della catena.

FOTOGRAFIA AL MICROSCOPIO ELETTRONICO DELL'RNA

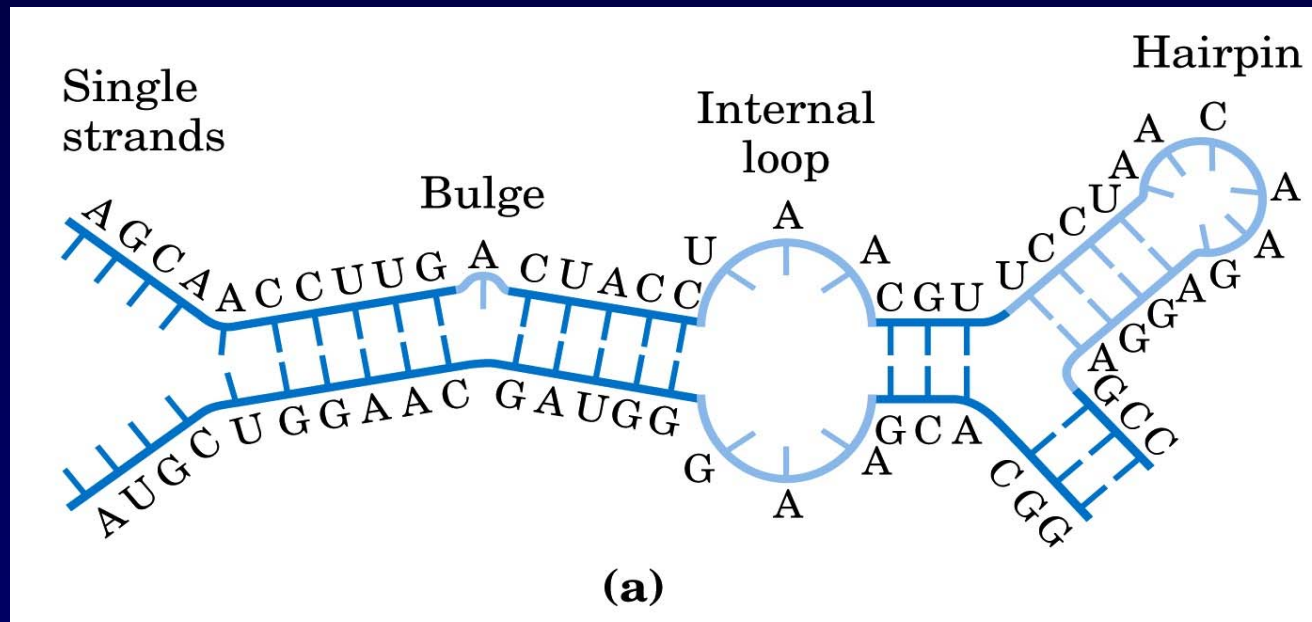


(Fornita da Peter Wellauer.)



L'RNA DEI PROCARIOTI

Tutte le forme di RNA cellulare sono sintetizzate da una RNA polimerasi, che prende istruzioni da stampi di DNA (trascrizione).



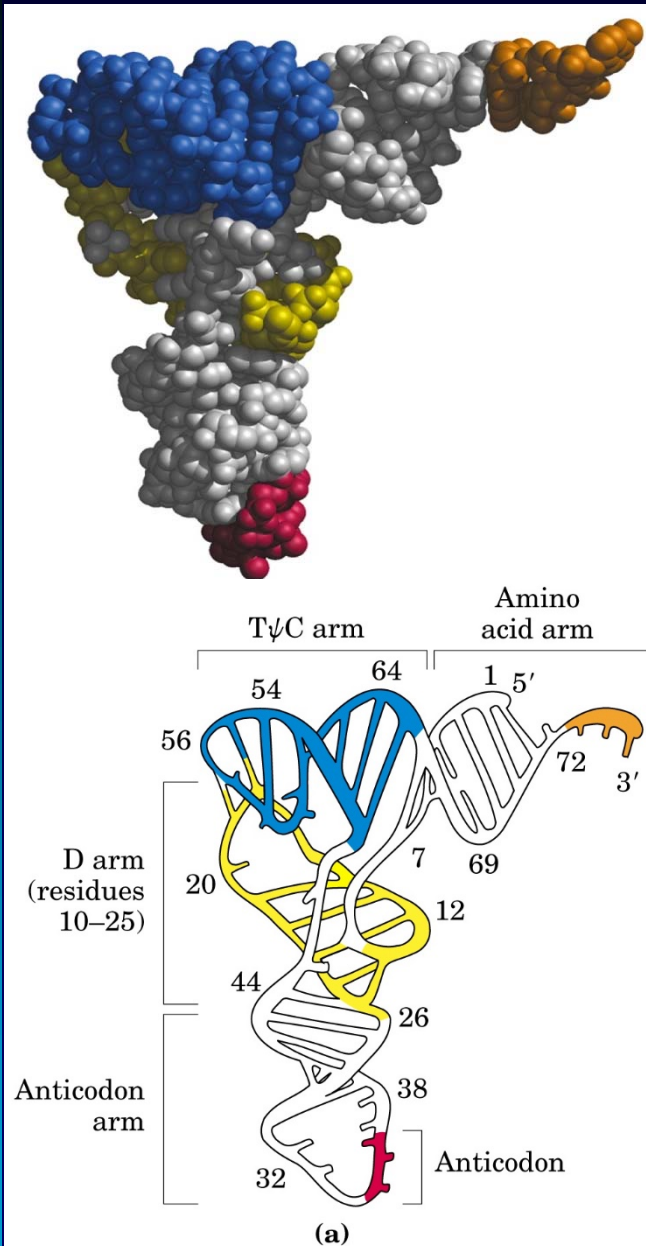
L'RNA TRANSFER (tRNA)

Il tRNA porta la forma attivata degli aminoacidi ai ribosomi, nella sequenza determinata dallo stampo di mRNA.

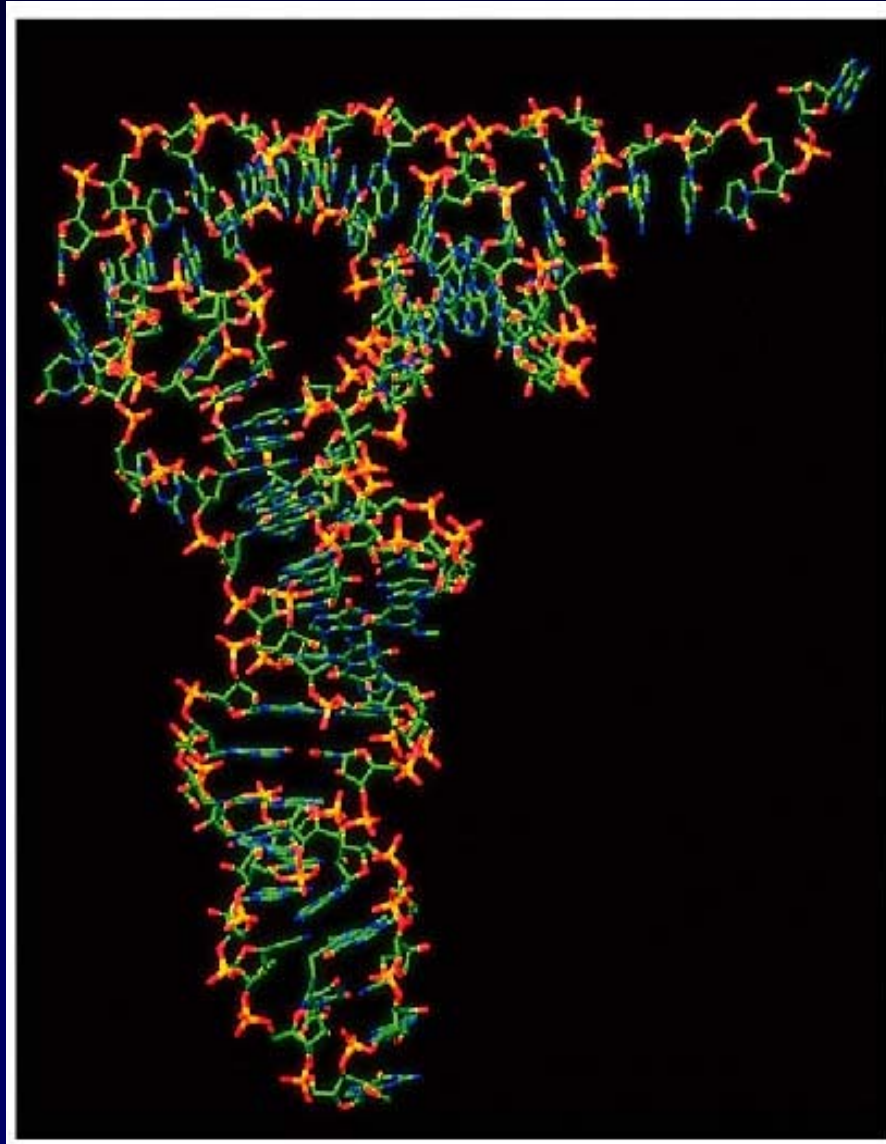
Il tRNA è la più piccola molecola di RNA (~25kDa).

Esiste almeno un tRNA per ciascuno dei 20 aminoacidi.

Il tRNA per l'alanina del lievito è costituito da circa 75 nucleotidi.



LA STRUTTURA AI RAGGI X Di UN tRNA



L'RNA MESSAGGERO (mRNA)

(Jacob e Monod 1961)

L'mRNA é un polinucleotide,

la composizione in basi azotate riflette la composizione del DNA che lo specifica,

é molto eterogeneo nelle dimensioni,

si associa in modo transitorio ai ribosomi, siti della sintesi proteica,

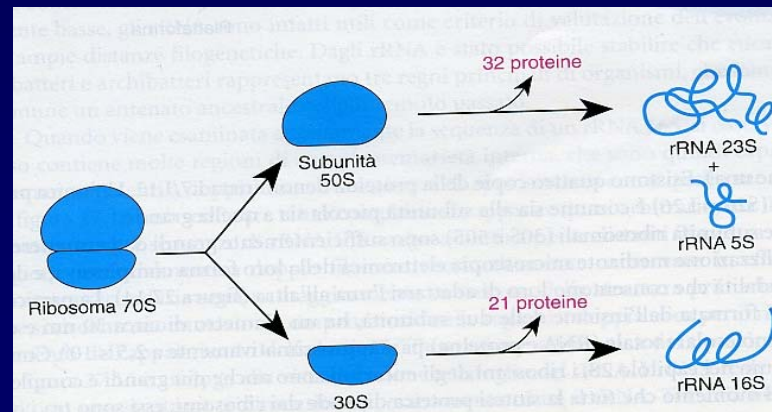
viene sintetizzato e degradato molto rapidamente.

L'RNA RIBOSOMIALE (rRNA)

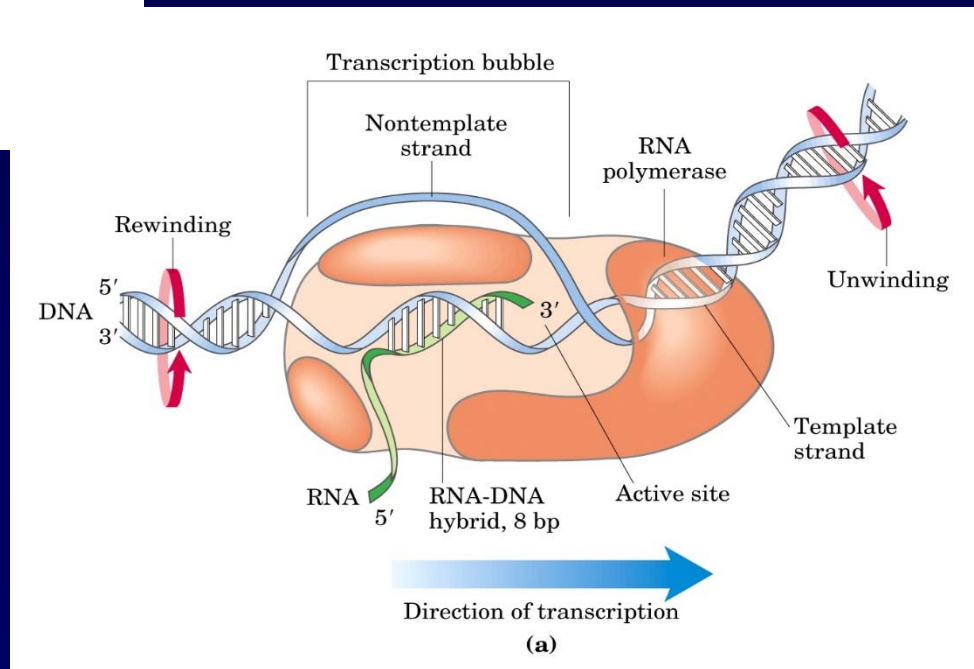
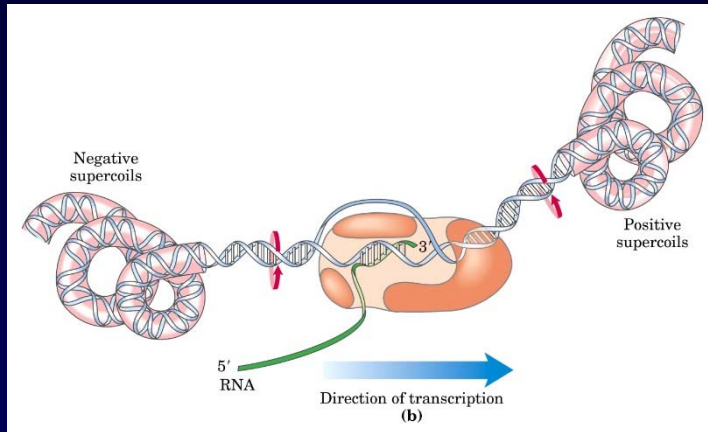
L'rRNA è il componente principale dei ribosomi e svolge un ruolo sia catalitico sia strutturale nella sintesi proteica.

I ribosomi sono strutture dove si sintetizzano le proteine dettate dagli mRNA, con i quali si trovano associati.

L'mRNA è il trasportatore dell'informazione che collega i geni alle proteine.



LA SINTESI DELL'RNA

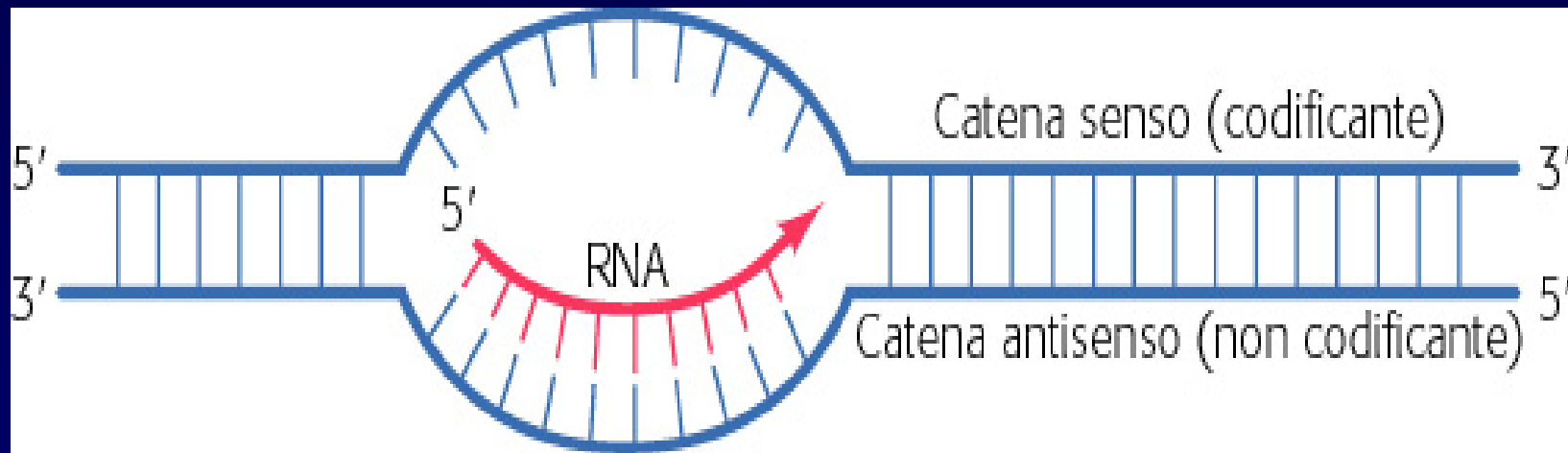


LA SINTESI DELL'RNA

La RNA polimerasi

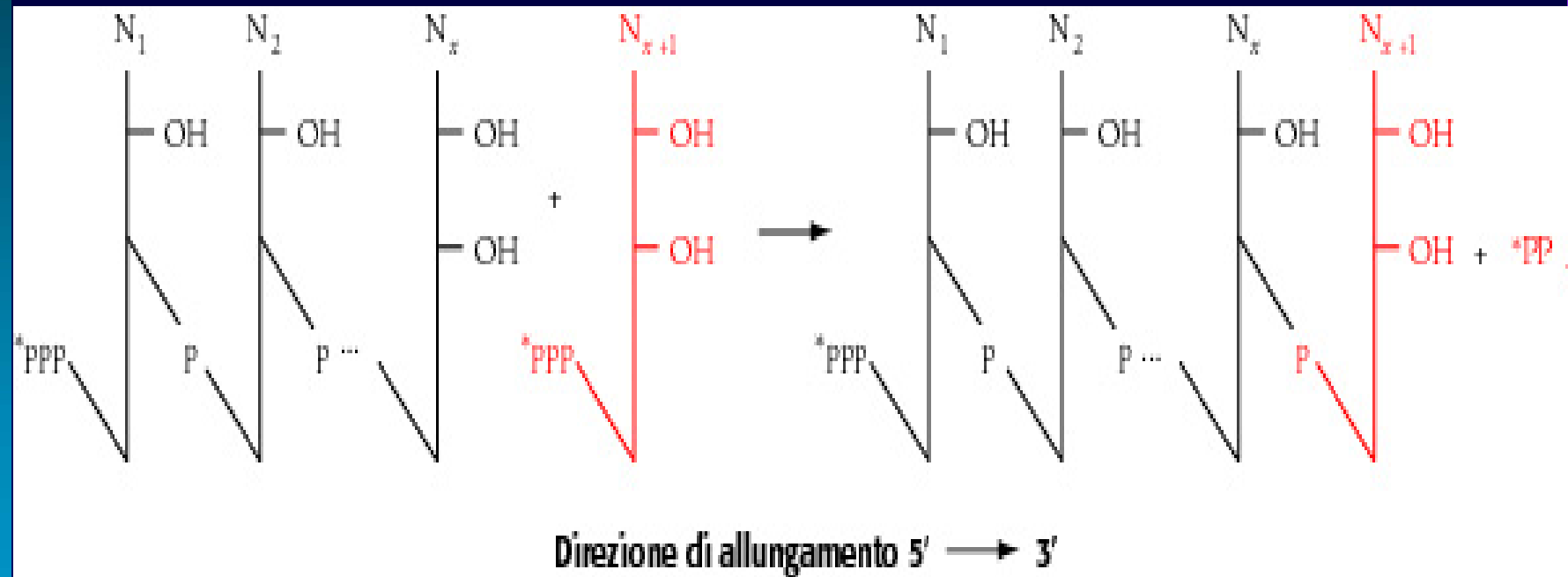
catalizza la reazione di sintesi in direzione $5' \rightarrow 3'$;
necessita per la reazione di:

- quattro ribonucleosidi 5'-trifosfato,
- ioni bivalenti (Mg^{2+} , Mn^{2+}),
- uno stampo di DNA.



La RNA polimerasi non richiede un primer.

LA SINTESI DELL'RNA

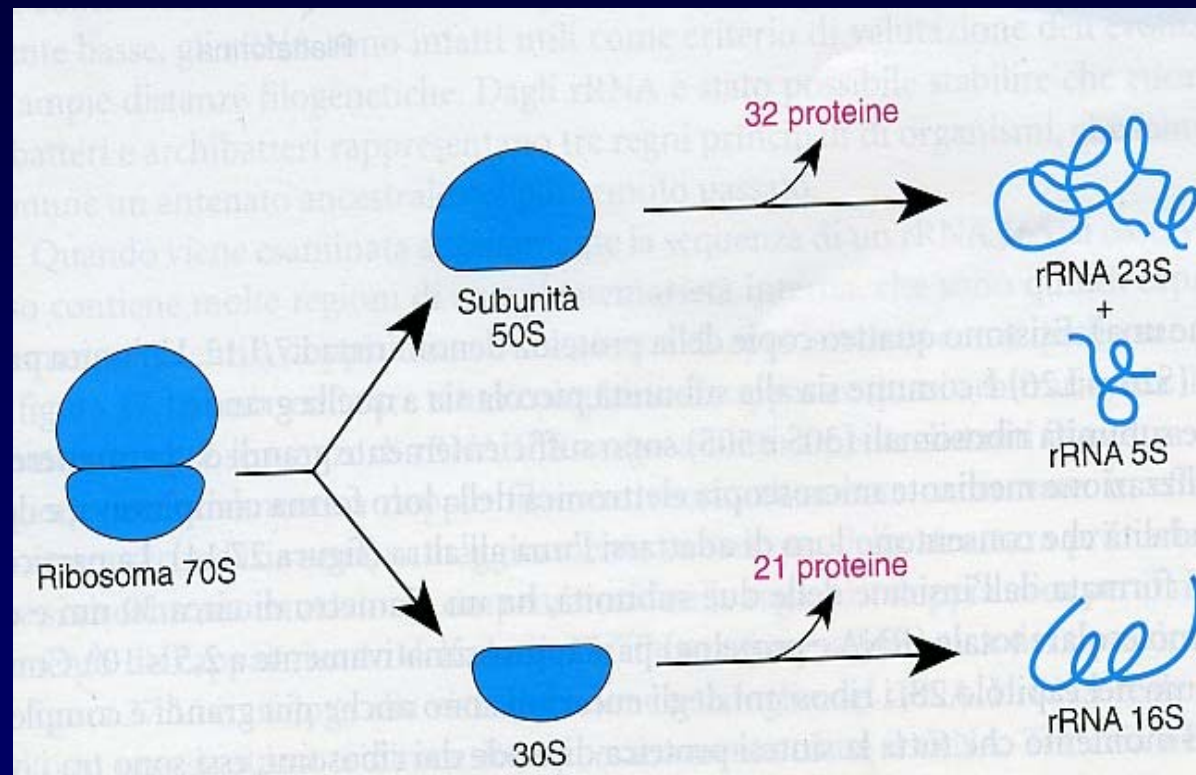


LA SINTESI DELL'RNA

In E.coli tutti gli RNA cellulari (mRNA, tRNA e rRNA) sono sintetizzati dalla stessa RNA polimerasi,

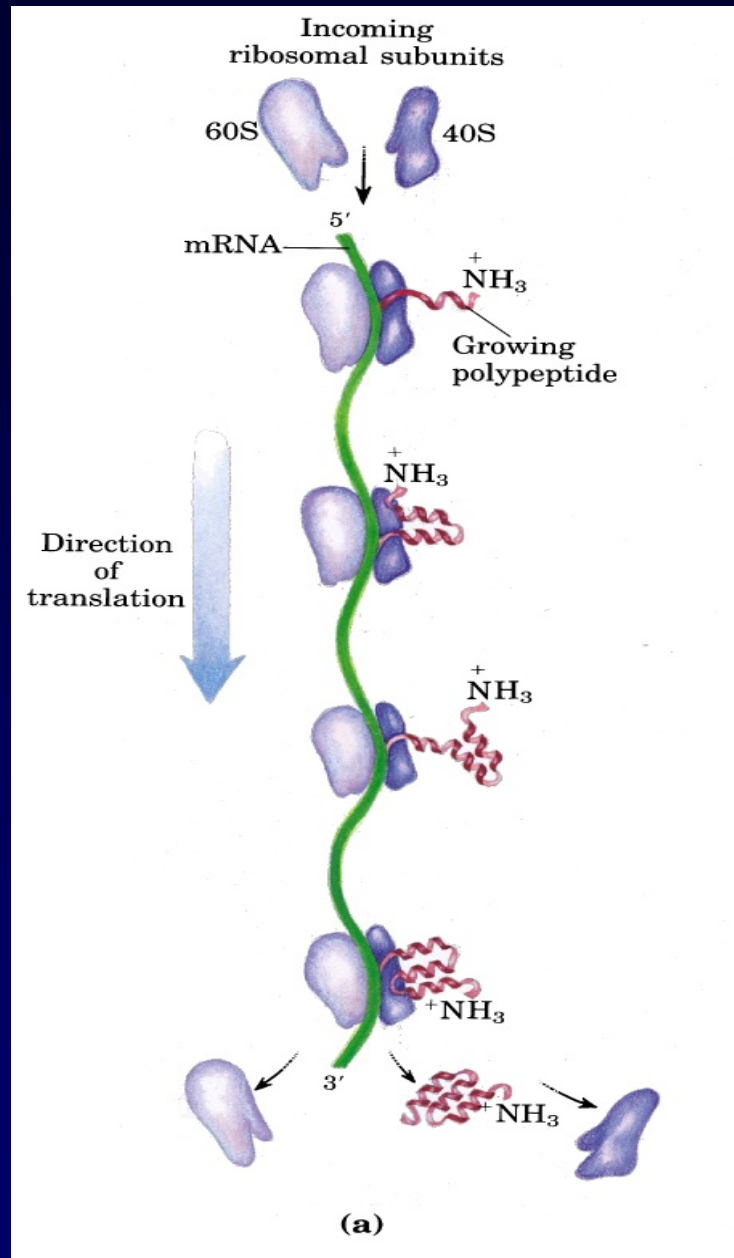
la trascrizione é la copiatura del filamento di DNA in una molecola complementare di RNA.

LA SINTESI PROTEICA AVVIENE NEI RIBOSOMI



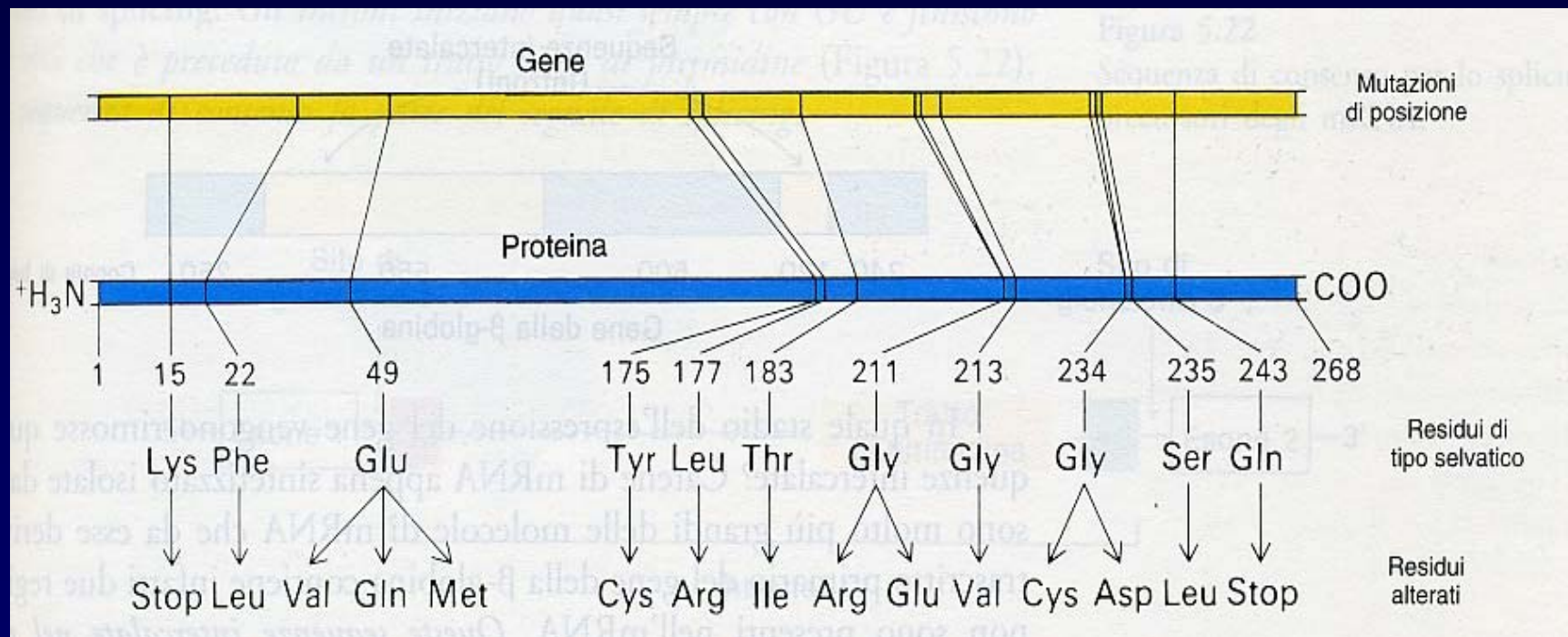
I POLIRIBOSOMI

MOLTI RIBOSOMI
TRADUCONO
SIMULTANEAMENTE UNA
MOLECOLA DI mRNA



C'È COLINEARITÀ (CORRISPONDENZA LINEARE) TRA UN GENE ED IL SUO PRODOTTO POLIPEPTIDICO

Uno studio dei mutanti di E.coli che possedevano delle mutazioni nel gene della catena α della triptofano sintetasi (Yanofsky 1967) mostra



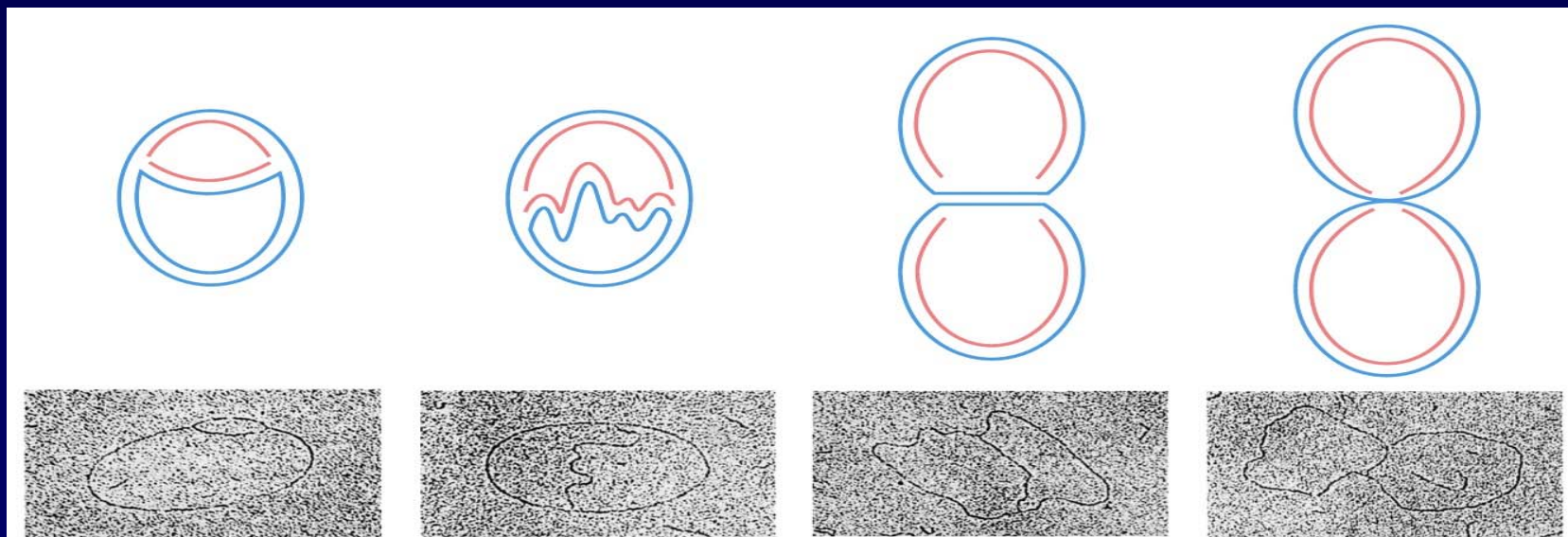
che l'ordine dei mutanti sulla mappa genetica è identico a quello delle corrispondenti sostituzioni nella sequenza degli amminoacidi nella proteina corrispondente.

LA REPLICAZIONE DEL DNA NEI PROCARIOTI

IL DNA DEI BATTERI E DI MOLTI VIRUS A DNA É UNA DOPPIA ELICA CIRCOLARE

La replicazione avviene in modo bidirezionale: si formano due forcelle di replicazione che prendono origine dallo stesso punto e si allontanano da esso in entrambe le direzioni, contemporaneamente, fino ad incontrarsi;

le due molecole figlie si separano ed ognuna di esse contiene una catena vecchia ed una nuova.



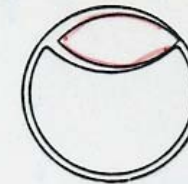
(a)

LA REPLICAZIONE DEL DNA IN E. COLI

La replicazione inizia nel sito **oriC**.

Le due forcelle di replicazione si muovono contemporaneamente, in senso contrario, fino ad incontrarsi nel punto opposto (punto 3).

REPLICAZIONE DEL CROMOSOMA DI E. COLI



Disegno schematico di un DNA circolare in fase di replicazione (le nuove catene sono colorate).

(a)

Modello unidirezionale

Origine



Iniziale

Movimento della forcella



Durante la replicazione

Modello bidirezionale

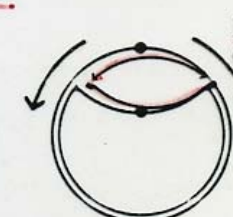
Origine

ORIC



Iniziale

Movimenti delle forcelle

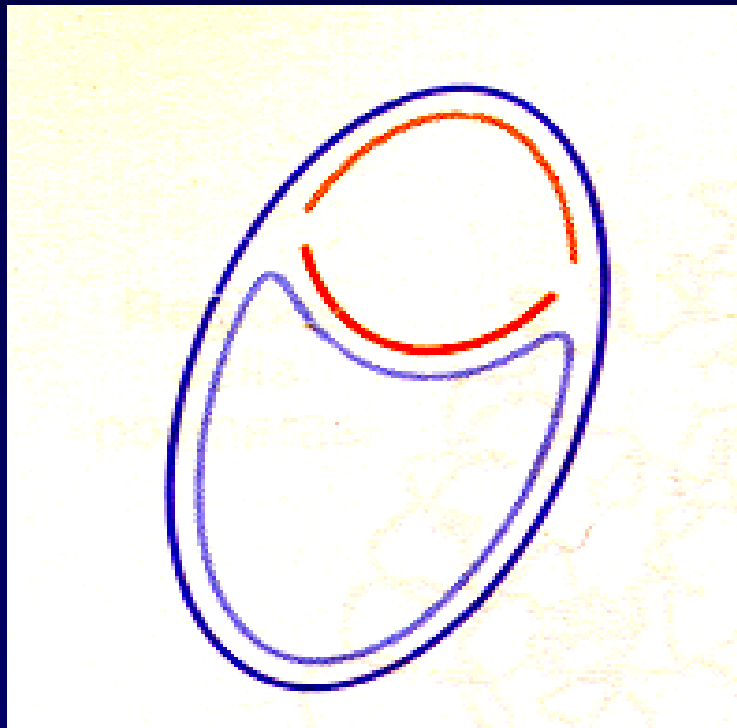


Durante la replicazione.

(b)

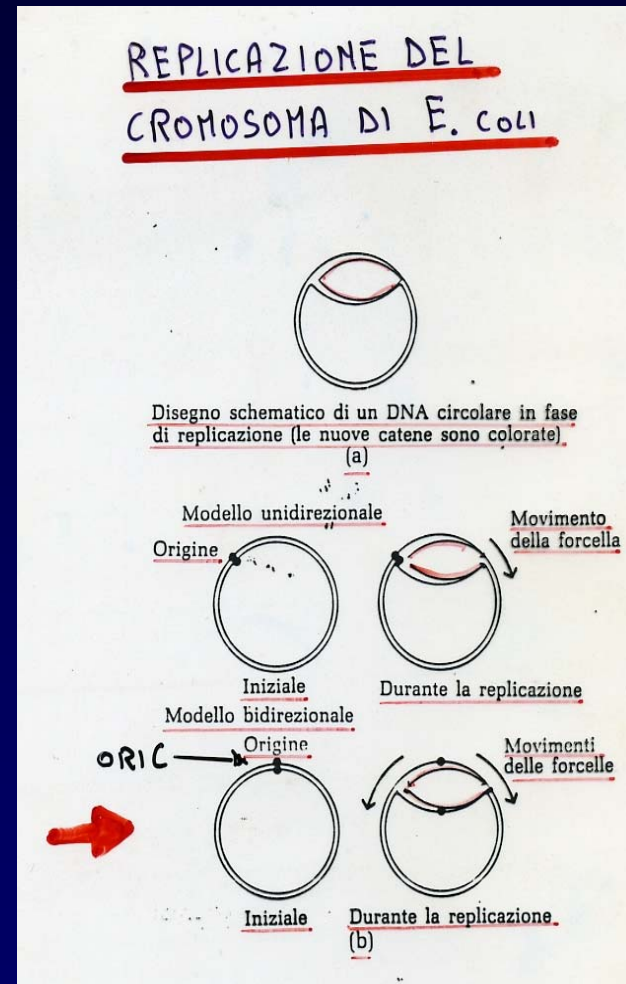
LA STRUTTURA THETA (θ)

Essa é una forma che assume la molecola circolare di DNA durante la duplicazione.

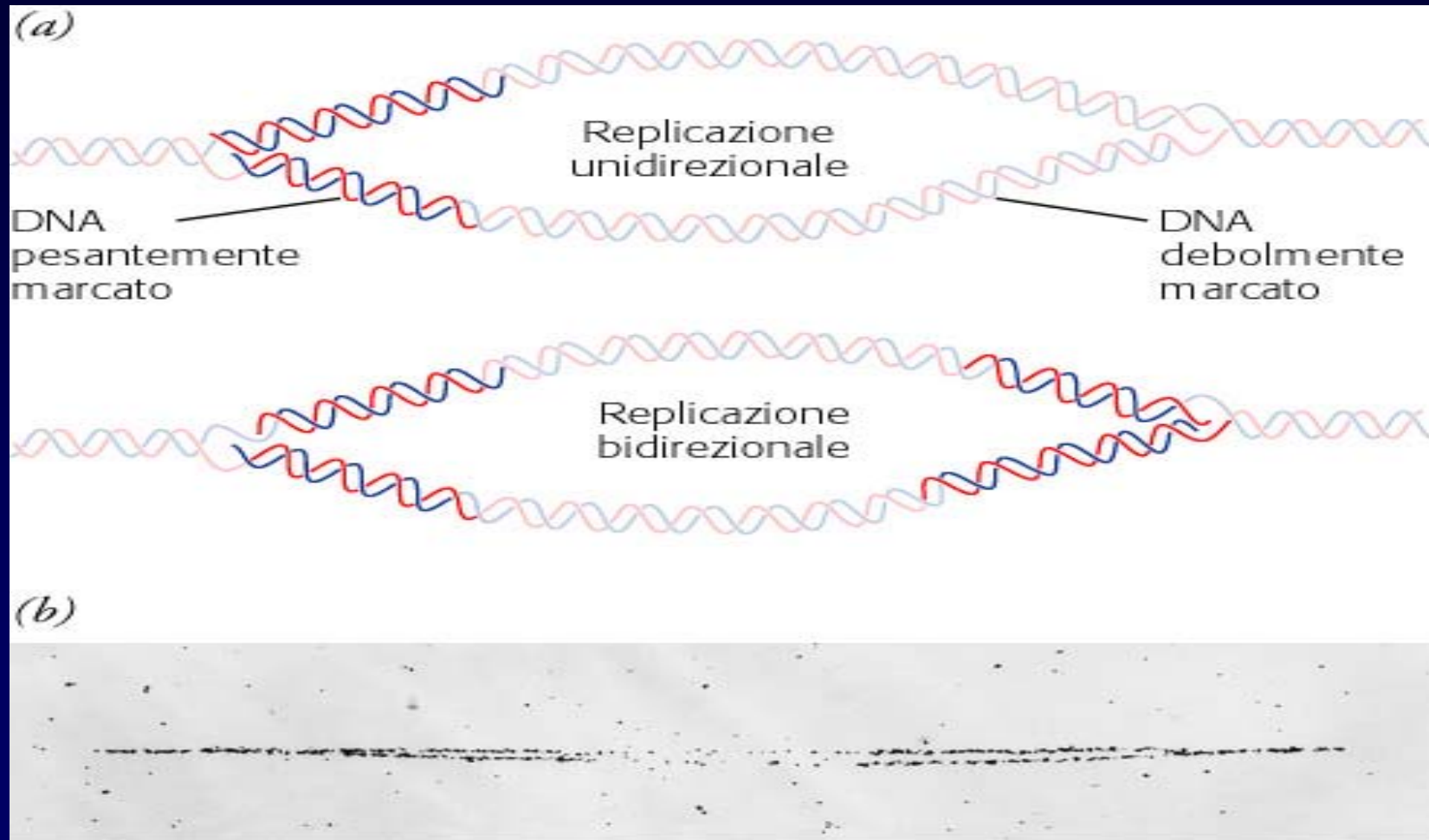


IL SITO *oriC*

- L'origine è una sequenza specifica di nucleotidi di 100 (fino a oltre 200) coppie di basi azotate, senza la quale il DNA non può essere replicato,
- l'origine viene riconosciuta da proteine specifiche cellulari,
- questo processo d'inizio è sotto regolazione cellulare.

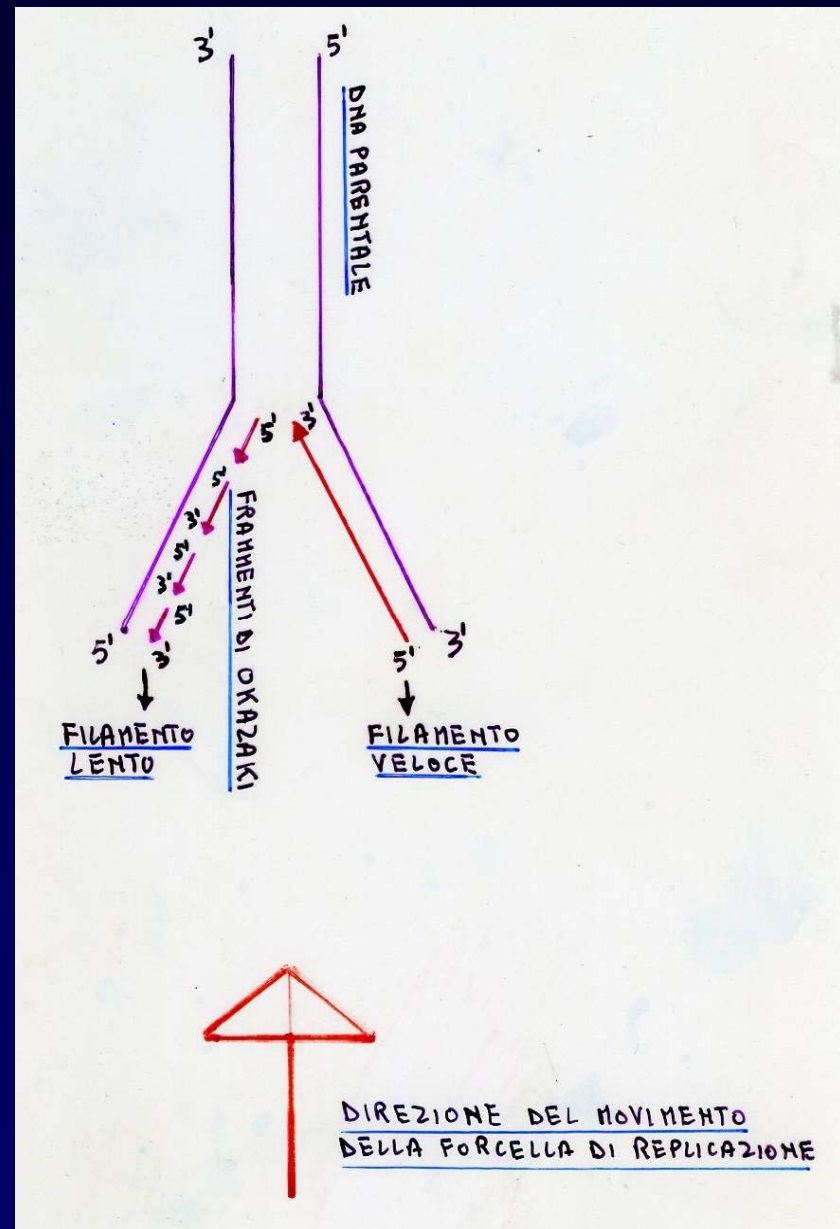


LA REPLICAZIONE DEL DNA IN E. COLI

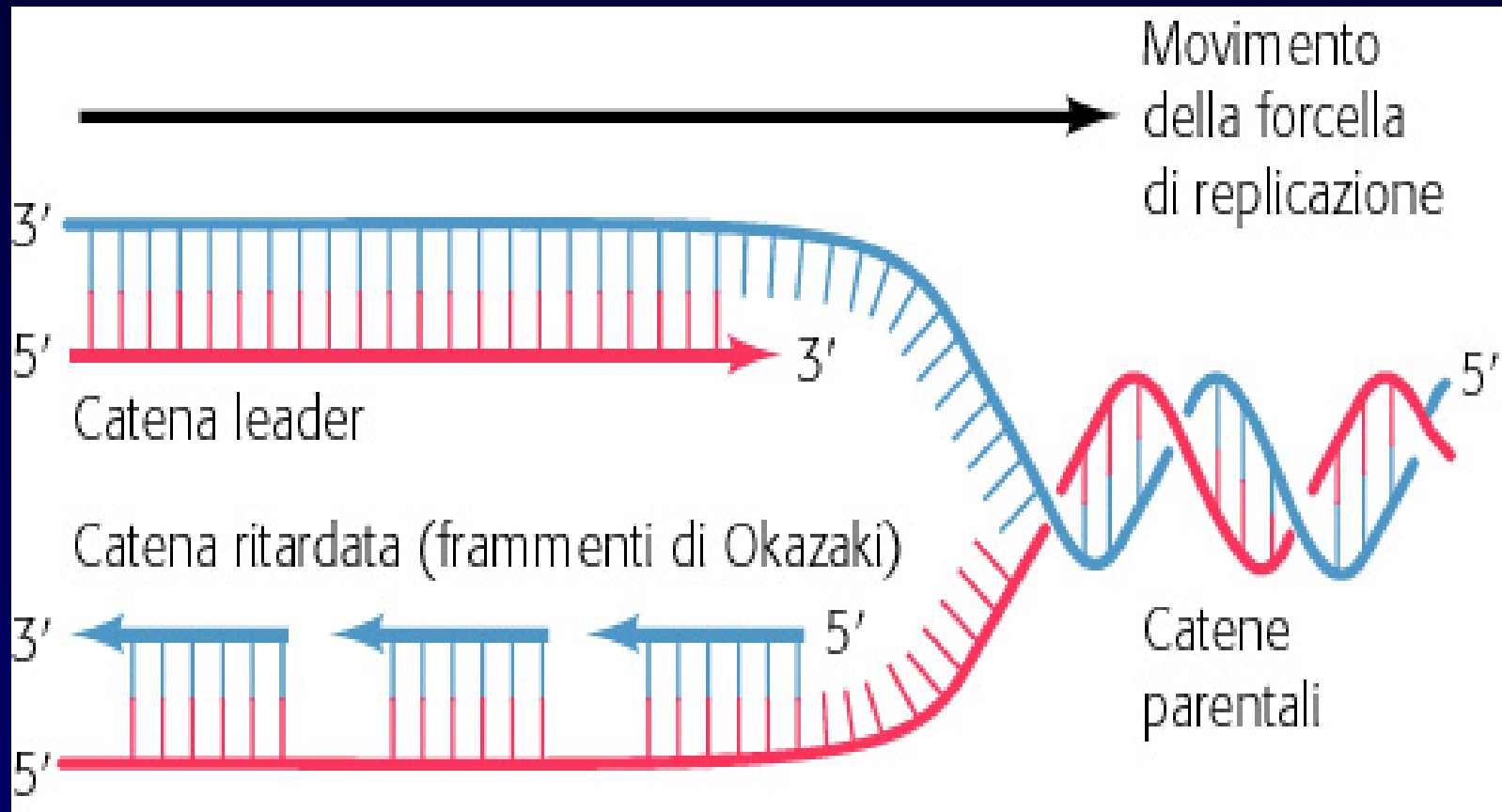


LA REPLICAZIONE DEL DNA IN E. COLI

- La sintesi del nuovo DNA è strettamente accoppiata allo svolgimento del DNA parentale.
- Un sito di svolgimento e di sintesi simultanea si chiama forcella di replicazione.



LA RAPPRESENTAZIONE SCHEMATICA DI UNA FORCELLA DI REPLICAZIONE (SITO DI SVOLGIMENTO E SINTESI SIMULTANEI)

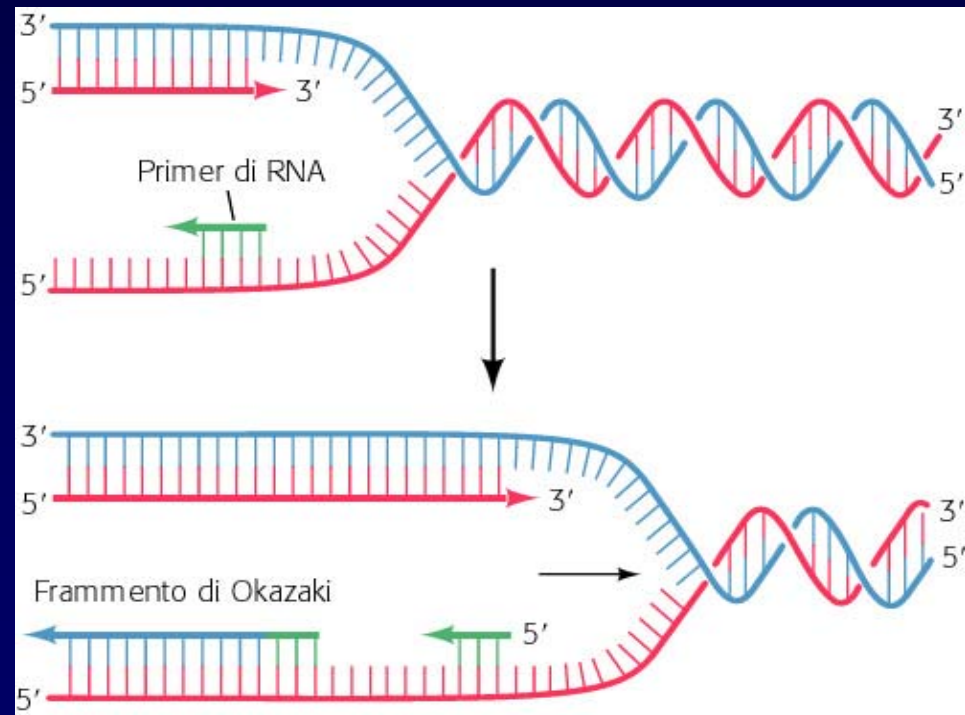


LA REPLICAZIONE DEL DNA

La sintesi del DNA è discontinua:
un filamento viene sintetizzato in frammenti ed uno in modo continuo.

La catena di comando viene
sintetizzata in modo continuo.

La catena lenta viene
sintetizzata in direzione
opposta alla direzione della
forcella come insieme di
frammenti (frammenti di Okazaki)
lungi 1000-2000 nucleotidi, che
successivamente vengono uniti.



LE DNA POLIMERASI IN E. COLI

Caratteristiche	Polimerasi I	Polimerasi II	Polimerasi III
Gene strutturale	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC</i>
Peso molecolare	103 000	90 000	130 000
Numero di molecole per cellula	400	100	10
V_{max} , nucleotidi/secondo	16-20	2-5	250-1000
3' esonucleasi	Sì	Sì	No ^a
5' esonucleasi	Sì	No	No
Processività	3-200	10 000	500 000
Fenotipo mutante	UV ^s MMS ^s	No	<i>dna^{ts}</i>
Funzione biologica	Riparazione del DNA, excisione degli inneschi di RNA	Riparazione SOS del DNA?	Allungamento replicativo della catena

LE DNA POLIMERASI IN *E. COLI*

table 25-1

Comparison of DNA Polymerases of *E. coli*

	DNA polymerase		
	I	II	III
Structural gene*	<i>polA</i>	<i>polB</i>	<i>polC (dnaE)</i>
Subunits (number of different types)	1	≥4	≥10
M_r	103,000	88,000 [†]	830,000
3'→5' Exonuclease (proofreading)	Yes	Yes	Yes
5'→3' Exonuclease	Yes	No	No
Polymerization rate (nucleotides/sec)	16-20	40	250-1,000
Processivity (nucleotides added before polymerase dissociates)	3-200	1,500	≥500,000

*For enzymes with more than one subunit, the gene listed here encodes the subunit with polymerization activity. Note that *dnaE* is an earlier designation of the gene now referred to as *polC*.

[†]Polymerization subunit only. DNA polymerase II shares several subunits with DNA polymerase III, including the β , γ , δ , δ' , χ , and ψ subunits (see Table 25-2).

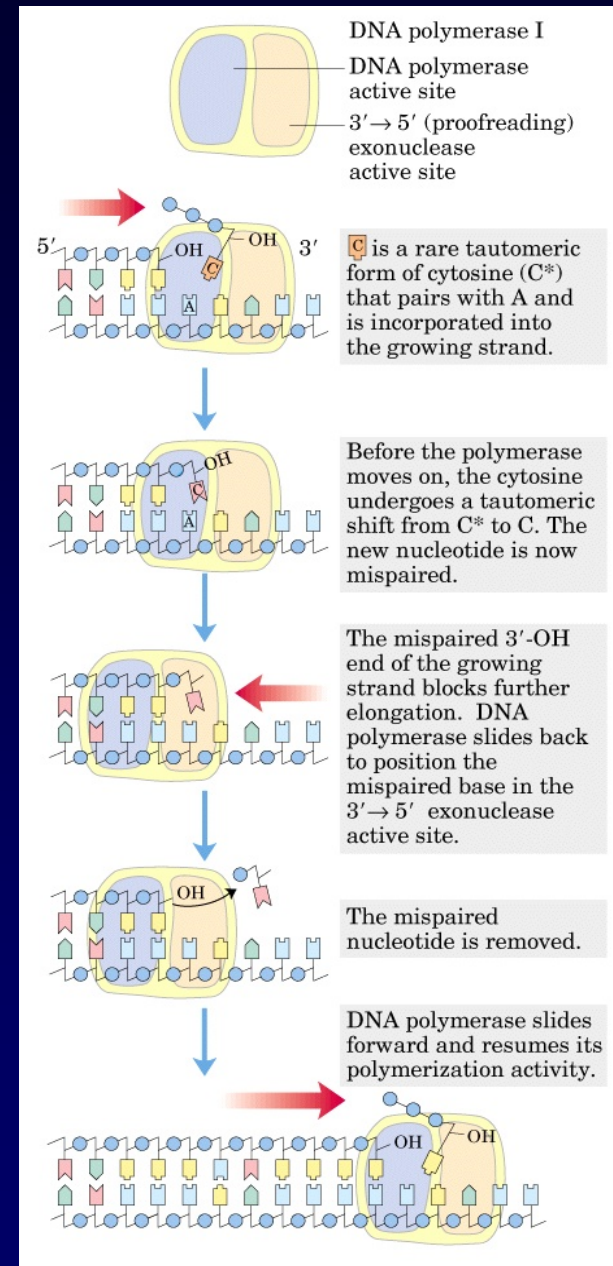
LA DNA POLIMERASI I

E' un enzima monomero di 103 kD.

Ha un ruolo critico nella duplicazione e riparazione del DNA;

é moderatamente processivo (~20 passaggi di polim. prima di dissociarsi), forse per il suo dominio a forma di cavità, che rallenterebbe la dissociazione dal DNA durante la polimerizzazione.

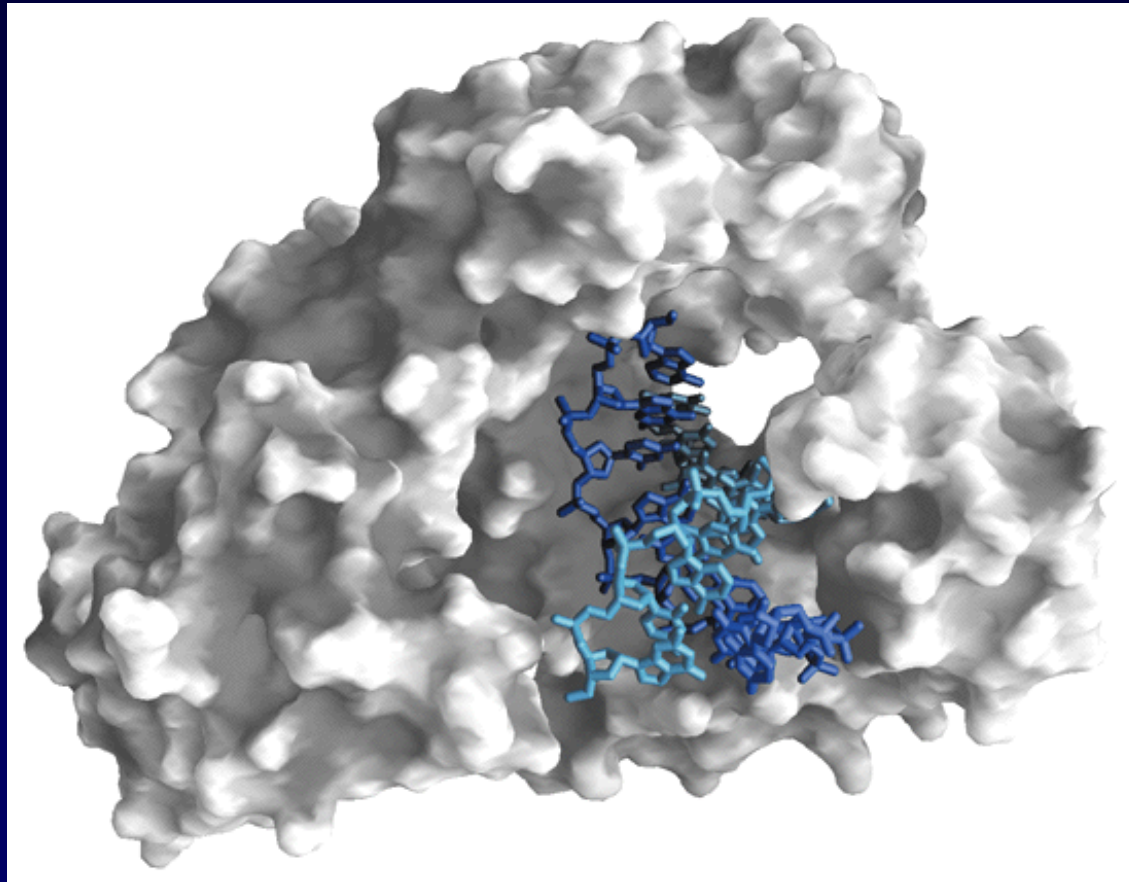
Ha un'alta fedeltà.



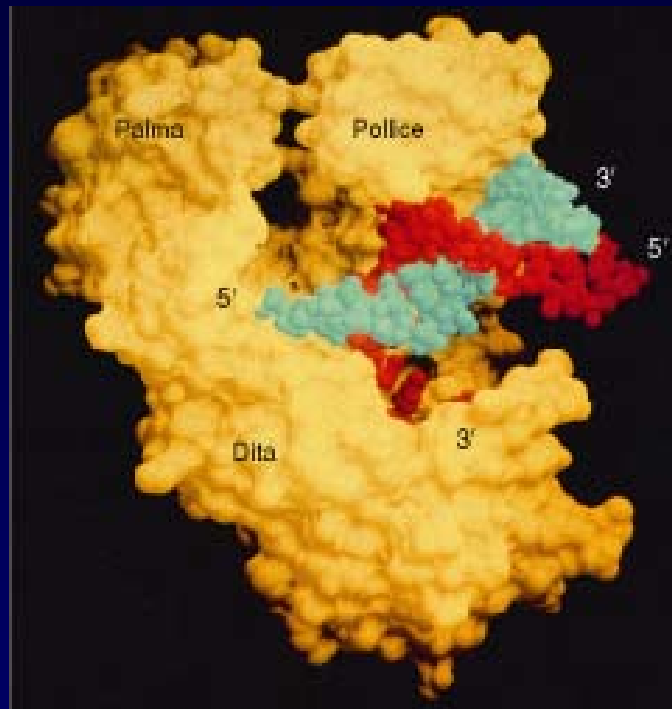
LA DNA POLIM. I HA TRE ATTIVITA' ENZIMATICHE
(TRE SITI ATTIVI)
IN UNA SINGOLA CATENA POLIPEPTIDICA

- 5'→3' ESONUCLEASI (FRAMMENTO PICCOLO DI 36KD)
- 3'→5' ESONUCLEASI E
- 5'→3' POLIMERASI (FRAMMENTO DI KLENOW DI 67KD)

IL FRAMMENTO DI KLENOW DELLA DNA POL I



IL FRAMMENTO DI KLENOW DELLA DNA POL I

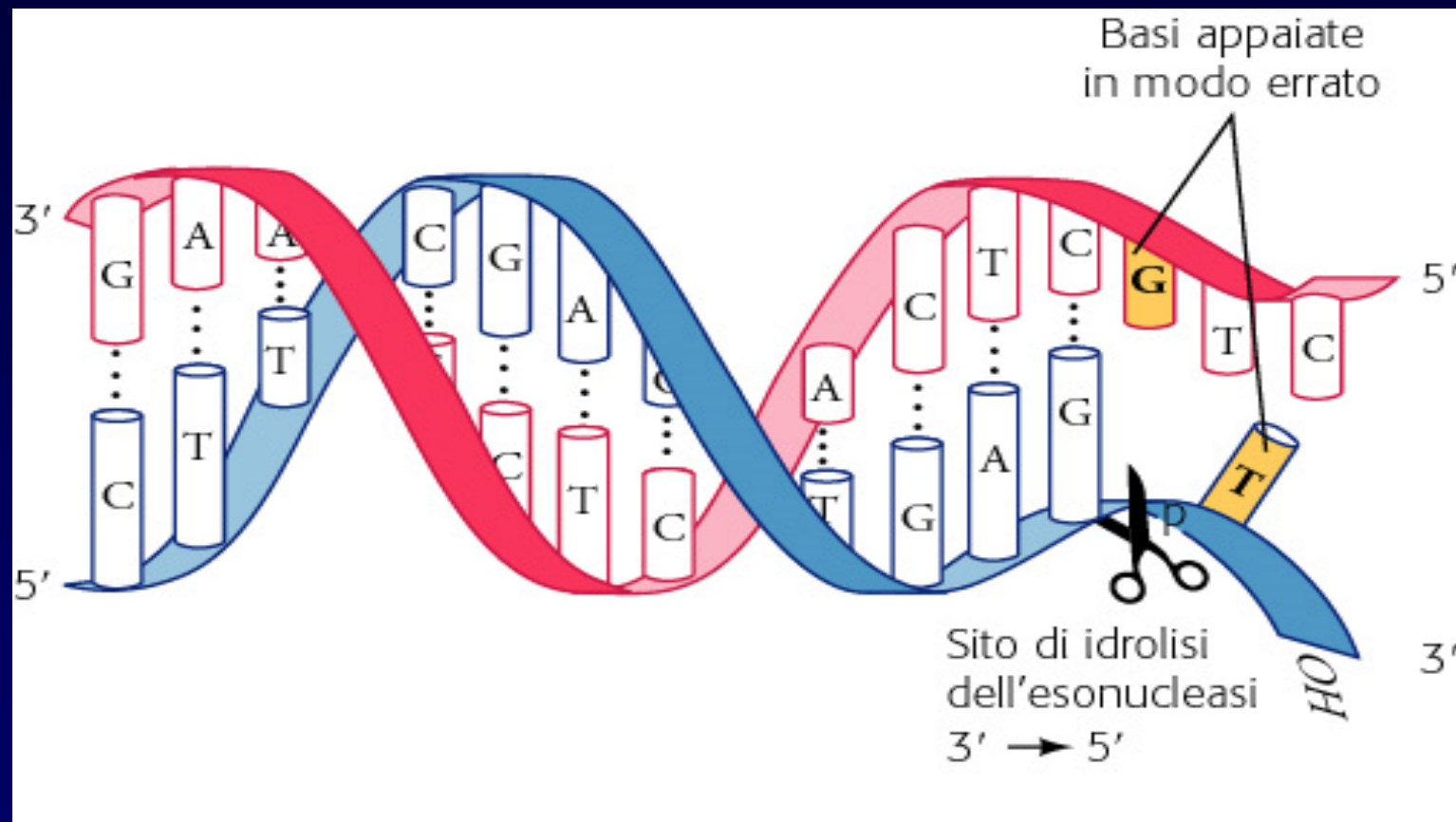


(a)

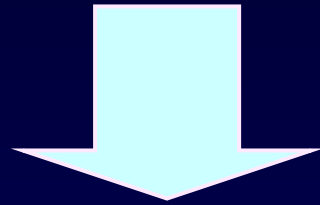


(b)

L'ATTIVITA' ESONUCLEASICA 3'→5' DELLA DNA POLIMERASI I



L'ATTIVITÀ ESONUCLEASICA 3'→5'



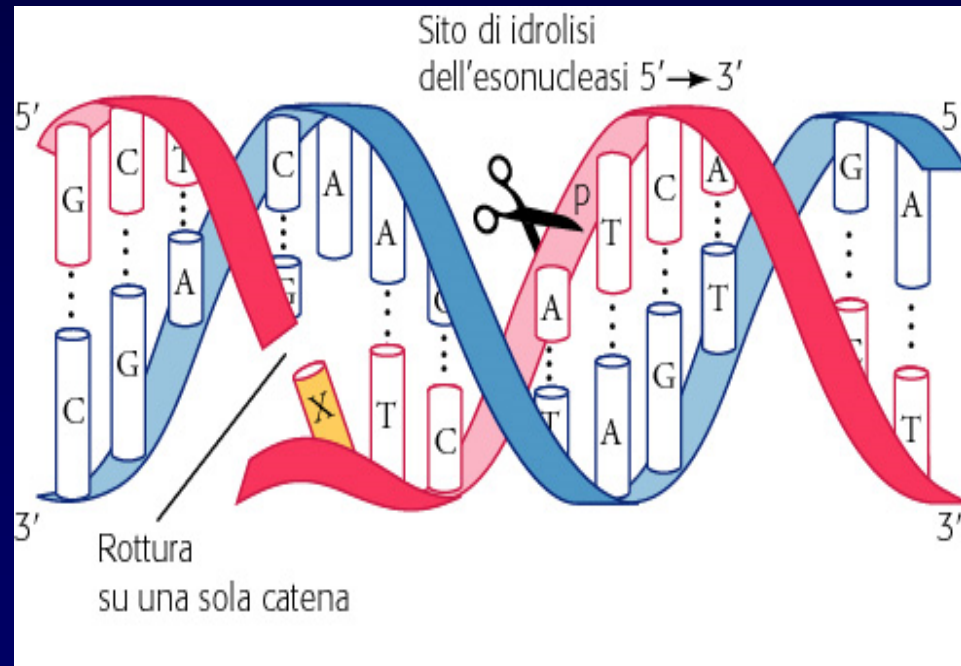
Questa attività di correzione aumenta molto l'accuratezza della replicazione.

Per poter essere rimosso, un nucleotide deve avere un terminale 3'-OH libero e non deve far parte di una doppia elica.

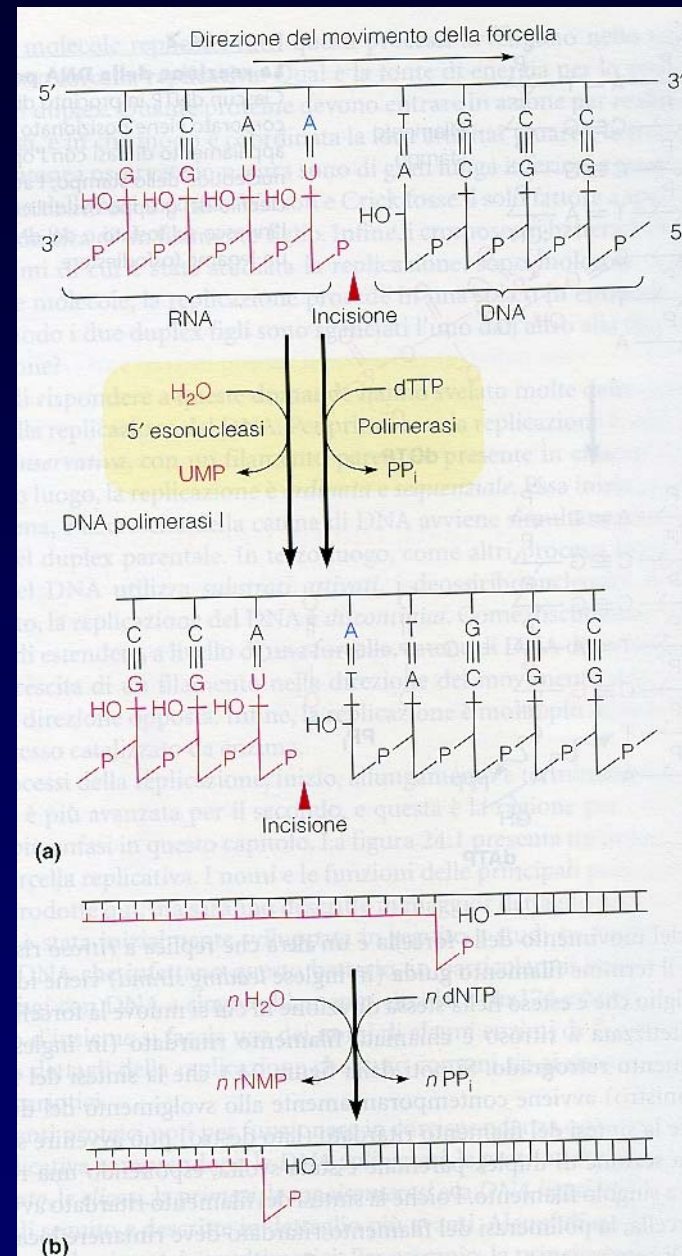
L'ATTIVITA' ESONUCLEASICA 5'→3' DELLA DNA POLIMERASI I

L'attività esonucleasica 5'→3' è aumentata dalla sintesi concomitante di DNA.

Tale attività rimuove l'RNA primer e partecipa alla rimozione di dimeri di pirimidina formati dall'esposizione del DNA alla luce ultravioletta.



L'ATTIVITA' ESONUCLEASICA 5'→3' DELLA DNA POLIMERASI I RIMUOVE L'RNA PRIMER.



LA DNA POLIMERASI III

Ha un ruolo fondamentale nell'allungamento delle catene di comando e lenta (frammenti di Okazaki),

il complesso della DNA polimerasi III ha:

processività (molte migliaia di legami fosfodiesteri),

potere catalitico (1000 nucleotidi al secondo),

fedeltà;

l'oloenzima è un dimero asimmetrico, perché le due catene di DNA sono sintetizzate in maniera differente.

LA DNA POLIMERASI III

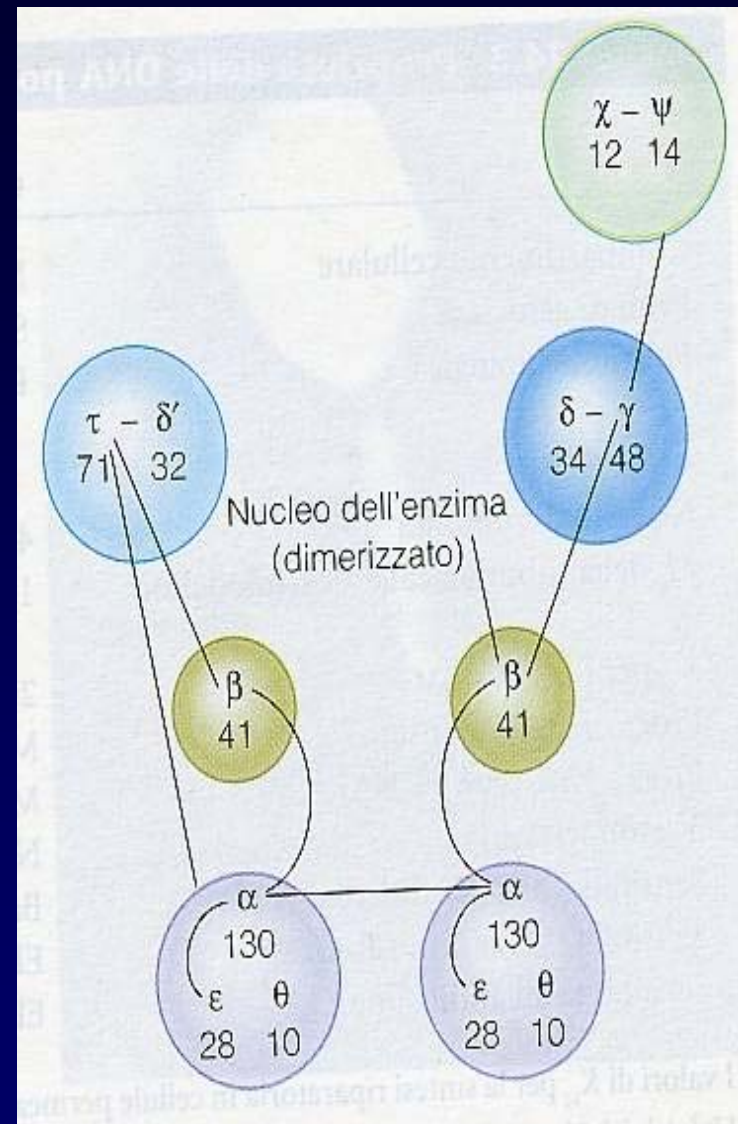
Essa (~900Kd) ha dieci tipi di catene polipeptidiche.

Le subunità α, ϵ, θ formano un nucleo cataliticamente attivo ma non processivo.

La subunità α ha attività catalitica,

la subunità ϵ ha attività $3' \rightarrow 5'$ esonucleasica,

la subunità β contribuisce all'alto grado di processività, forse agganciando il nucleo allo stampo, assieme alla subunità τ .



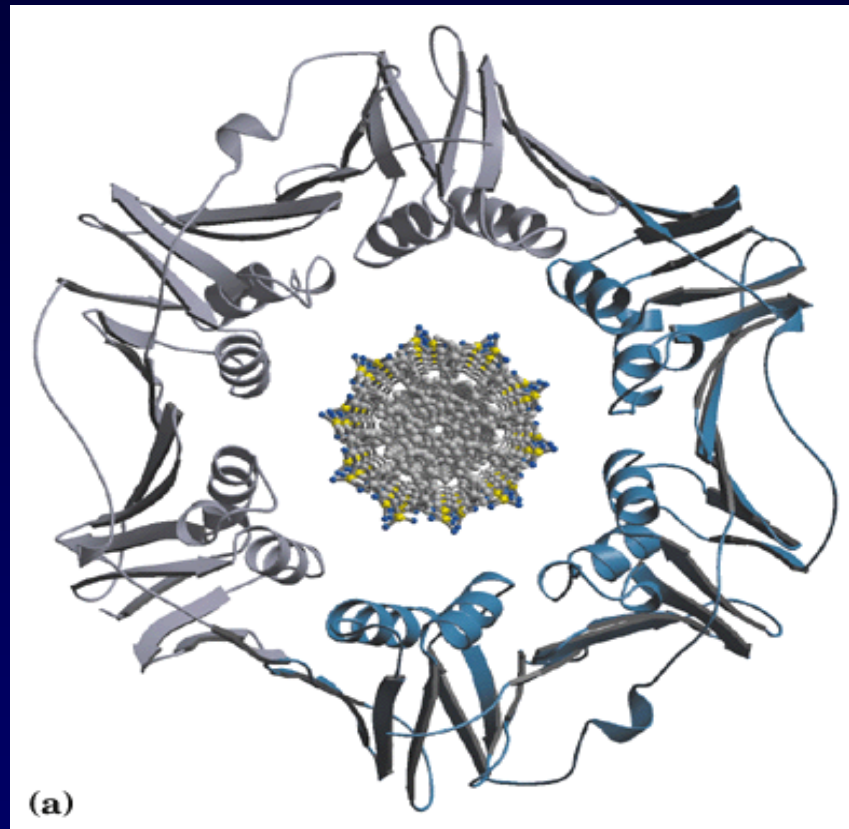
LA DNA POLIMERASI III

Subunità della DNA polimerasi III di *E. coli*

Subunità	Numero di subunità per oloenzima	M_r delle subunità	Gene	Funzione della subunità
α	2	132 000	<i>polC (dnaE)</i>	Attività polimerasica
ϵ	2	27 000	<i>dnaQ (mutD)</i>	3' → 5' (proofreading) esonucleasica
θ	2	10 000	<i>holE</i>	Legame stabile allo stampo; dimerizzazione delle subunità centrali
τ	2	71 000	<i>dnaX</i>	
γ	2	52 000	<i>dnaX*</i>	Complesso che lega la pinza, costituito dalle subunità β sul filamento lento per ogni frammento di Okazaki
δ	1	35 000	<i>holA</i>	
δ'	1	33 000	<i>holB</i>	
χ	1	15 000	<i>holC</i>	
ψ	1	12 000	<i>holD</i>	
β	4	37 000	<i>dnaN</i>	Funziona come una pinza scorrevole per ottimizzare la processività

Nucleo della polimerasi

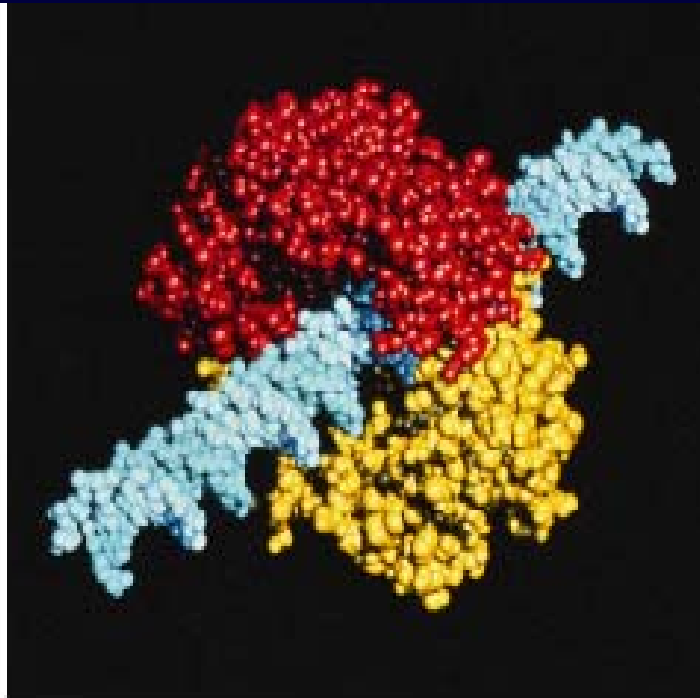
LA SUBUNITÀ β DELLA DNA POLIMERASI III



LA SUBUNITÀ β DELLA DNA POLIMERASI III



(a)



(b)

GLI ASPETTI COMUNI DELLE DNA POLIMERASI I, II E III

Catalizzano la sintesi di DNA a partire da dNTPs,

necessitano di uno stampo e di un innesco con 3'-OH libero,

dirigono la sintesi in direzione 5'→3',

hanno attività esonucleasica 3'→5'.

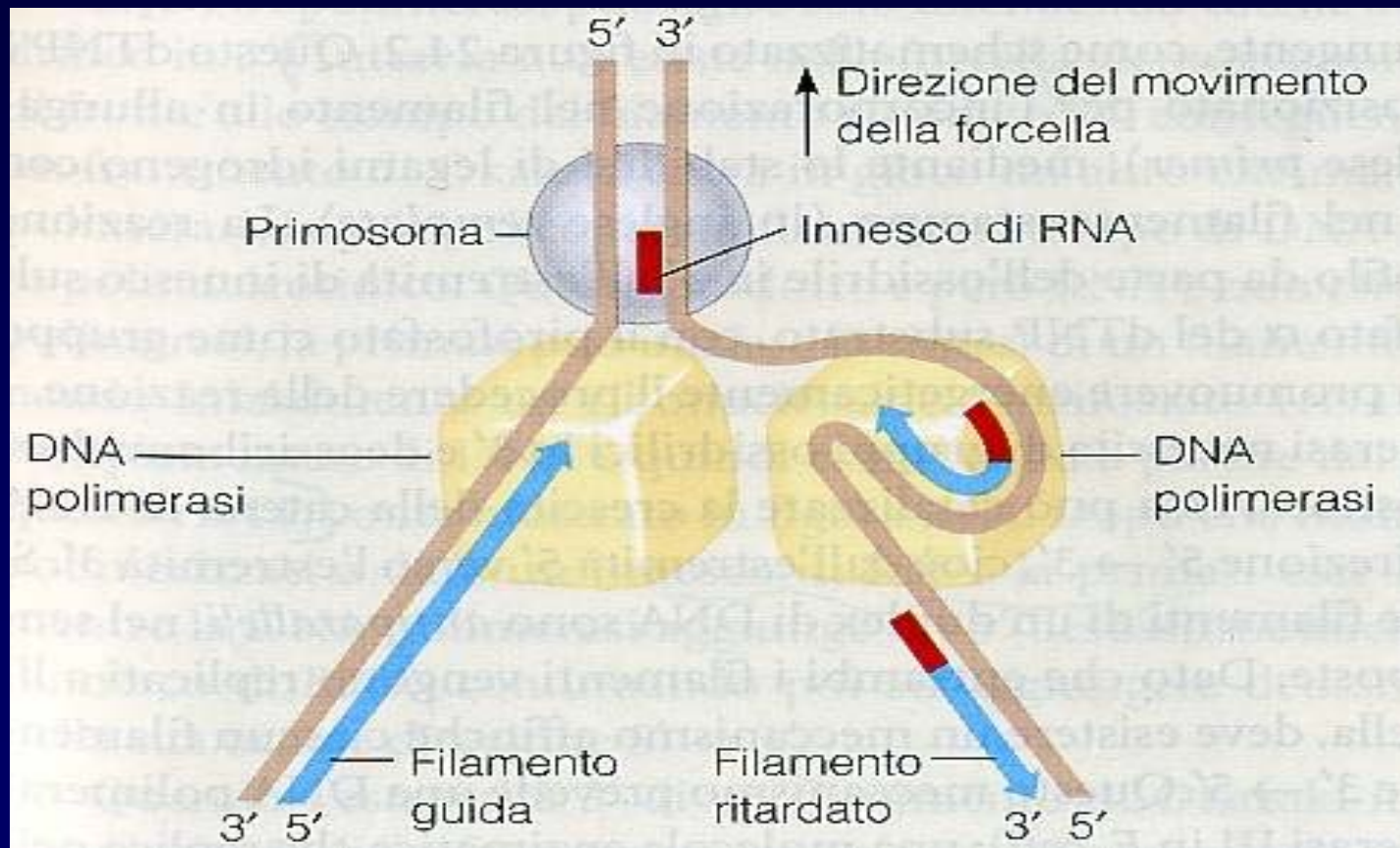
LE DNA POLIMERASI I, II E III

La DNA pol III sintetizza la maggior parte del nuovo DNA,

la DNA pol I elimina il primer e riempie le interruzioni,

la DNA pol II partecipa alla riparazione del DNA, ma non è necessaria per la replicazione.

LE FASI PRINCIPALI DELLA REPLICAZIONE DEL DNA



LE FASI DELLA REPLICAZIONE

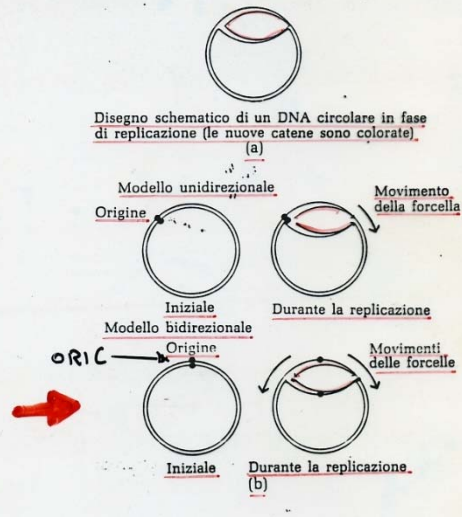
1. **INIZIO:** apertura dello stampo e sintesi del primer
2. **ALLUNGAMENTO:** sintesi
3. **TERMINAZIONE.**

LE PROTEINE NECESSARIE PER LA REPLICAZIONE IN *E. COLI*

Proteine necessarie per iniziare la replicazione all'origine di *E. coli*

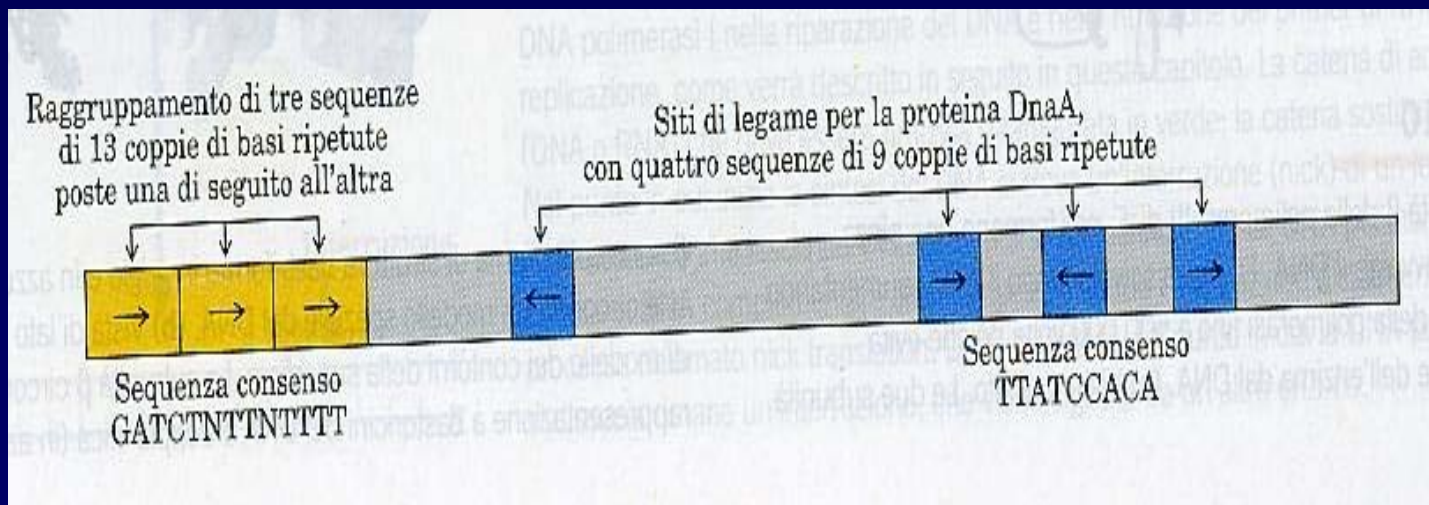
Proteina	M _r	Numero di subunità	Funzione
Proteina DnaA	52 000	1	Riconosce l'origine della sequenza; apre il duplex in siti specifici all'origine
Proteina DnaB (elicasi)	300 000	6*	Disavvolge il DNA
Proteina DnaC	29 000	1	Necessaria per il legame di DnaB all'origine
HU	19 000	2	Proteina istone-simile; proteina che apre il DNA; promuove l'inizio
Primasi (proteina DnaG)	60 000	1	Sintetizza i primer di RNA
Proteina che si lega al DNA a catena singola (SSB)	75 600	4*	Si lega al DNA a singola elica
RNA polimerasi	454 000	5	Facilita l'attività della DnaA
DNA topoisomerasi II (DNA girasi)	400 000	4	Rilascia la tensione torsionale generata dallo svolgimento del DNA
Dam metilasi	32 000	1	Metila le sequenze (5')GATC in <i>oriC</i>

REPLICAZIONE DEL
CROMOSOMA DI E. coli



L'INIZIO

La replicazione inizia con l'apertura del sito **ori C** (245 coppie di basi) e l'attacco della **Dna A**.

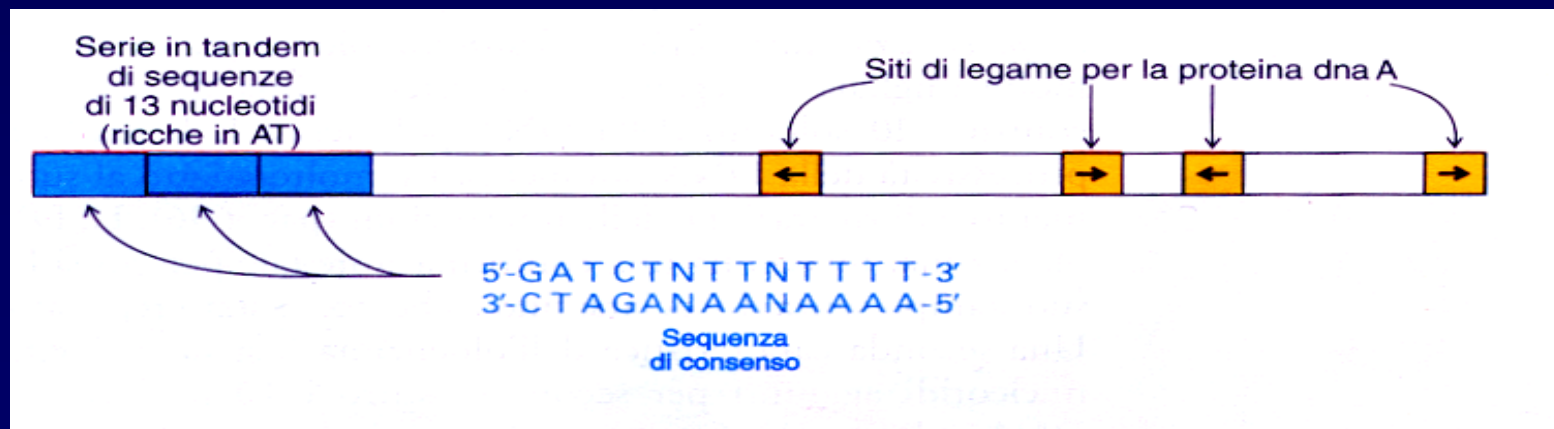


IL SITO oriC

E' costituito da una disposizione in tandem di **tre** sequenze di tredici basi azotate quasi identiche. Questi frammenti sono ricchi di appaiamenti AT che facilitano la separazione dell'elica,

ciascuna sequenza inizia con **GATC** e presenta una metilazione a livello dell'adenina (importante per controllare il momento dell'inizio della replicazione),

il legame della proteina **dnaA** a quattro siti su oriC, vicino alle tre sequenze, dà inizio all'apertura dello stampo di DNA ed alla sintesi di un primer.



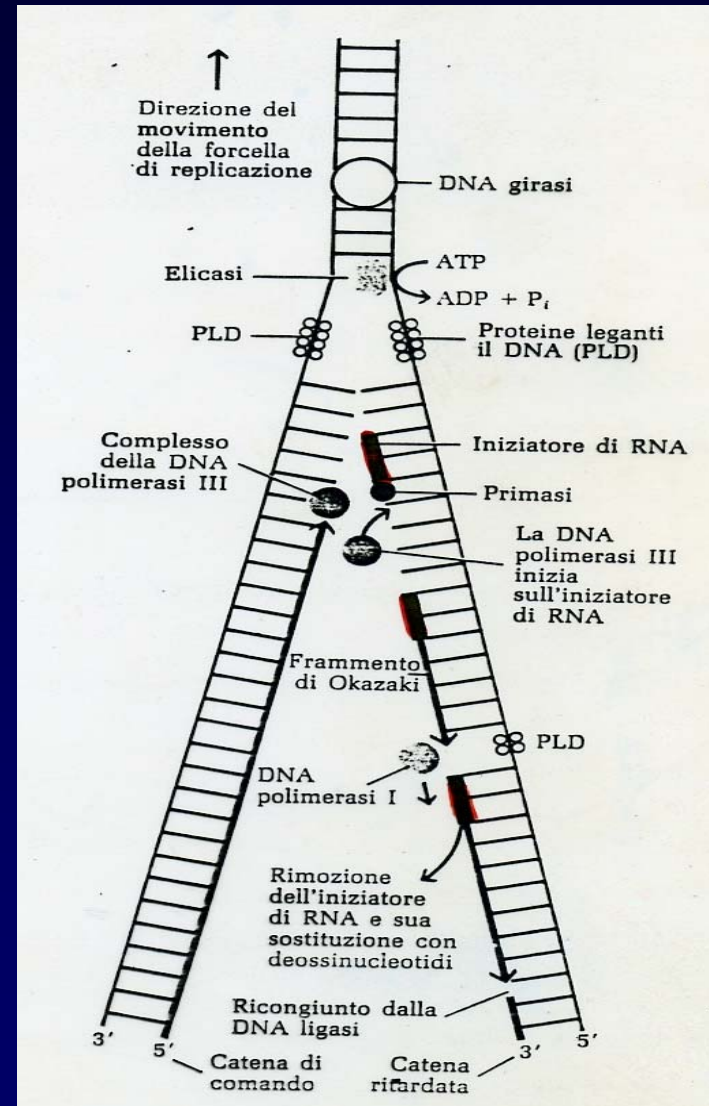
L'INIZIO

Il complesso **Dna A, B, C** apre la doppia elica,
in particolare, la **Dna B** (elicasi) catalizza
la sua apertura (favorita da **ATP**),

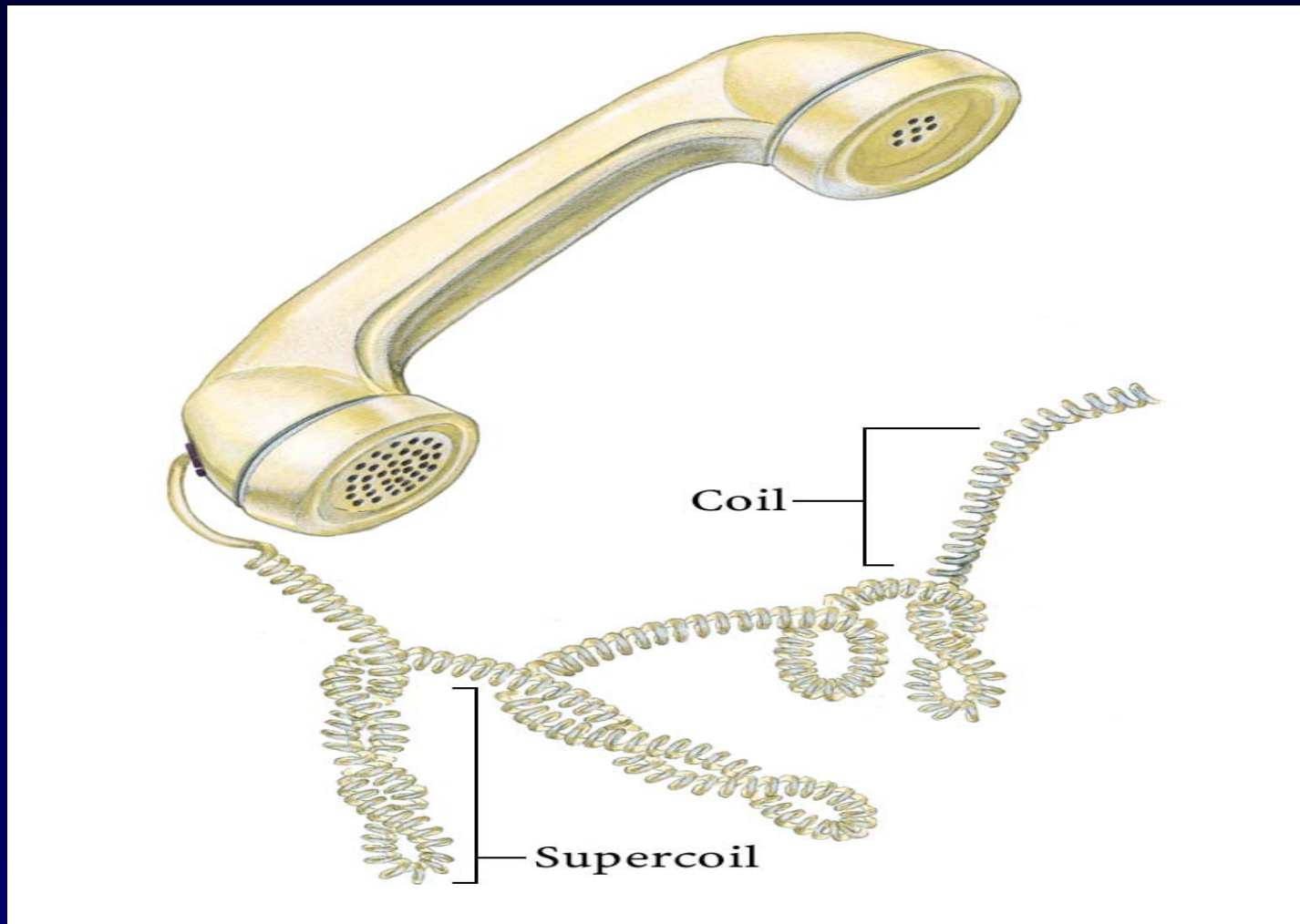
la **proteina SSB** stabilizza la porzione di
DNA a singolo filamento svolta,

l'apertura del DNA all'origine porterebbe
a un superavvolgimento positivo del DNA
circolare; questo é impedito della **DNA
girasi**, che introduce superavvolgimenti
negativi;

viene sintetizzato il **primer di RNA**.

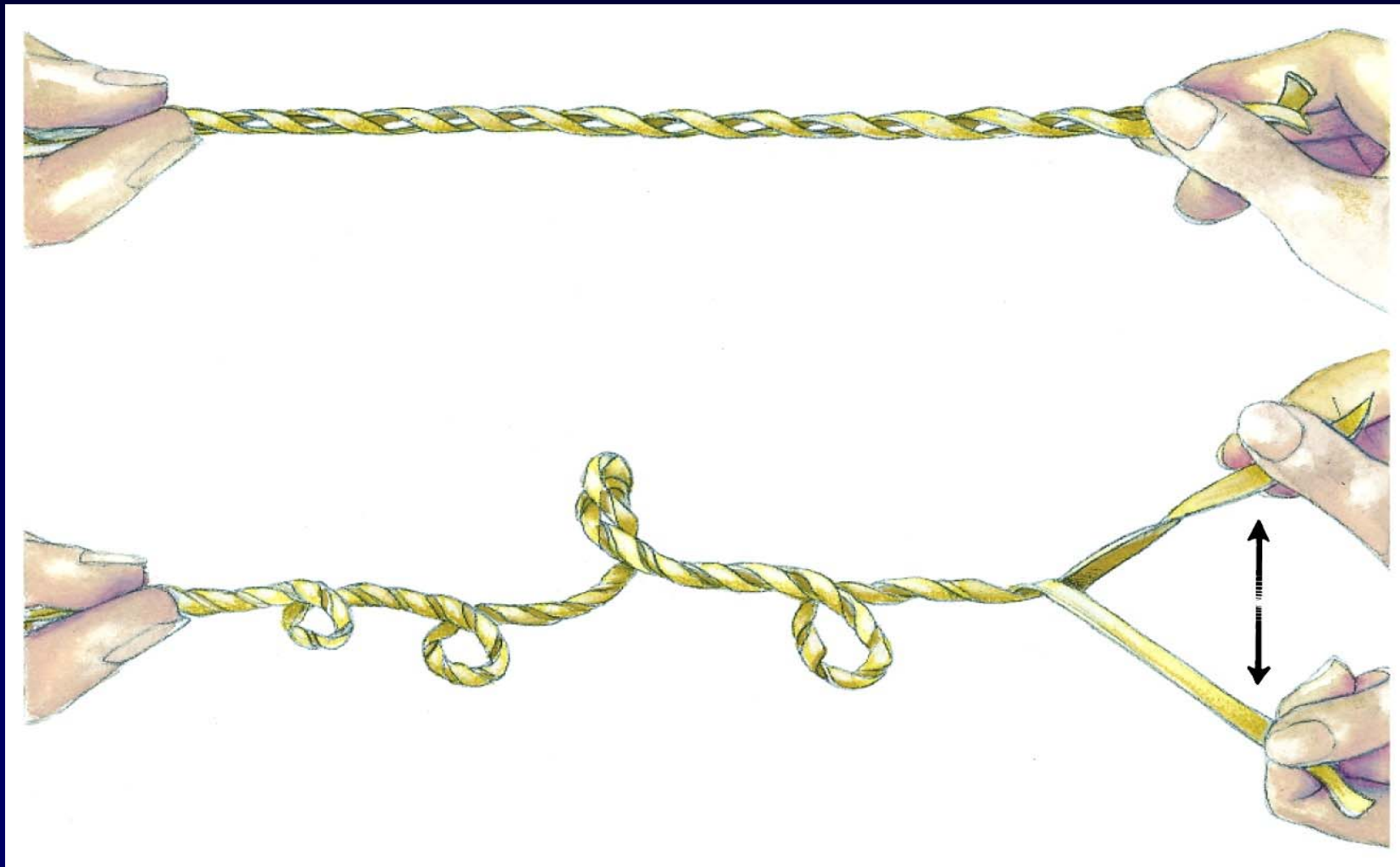


I SUPERAVVOLGIMENTI



I SUPERAVVOLGIMENTI

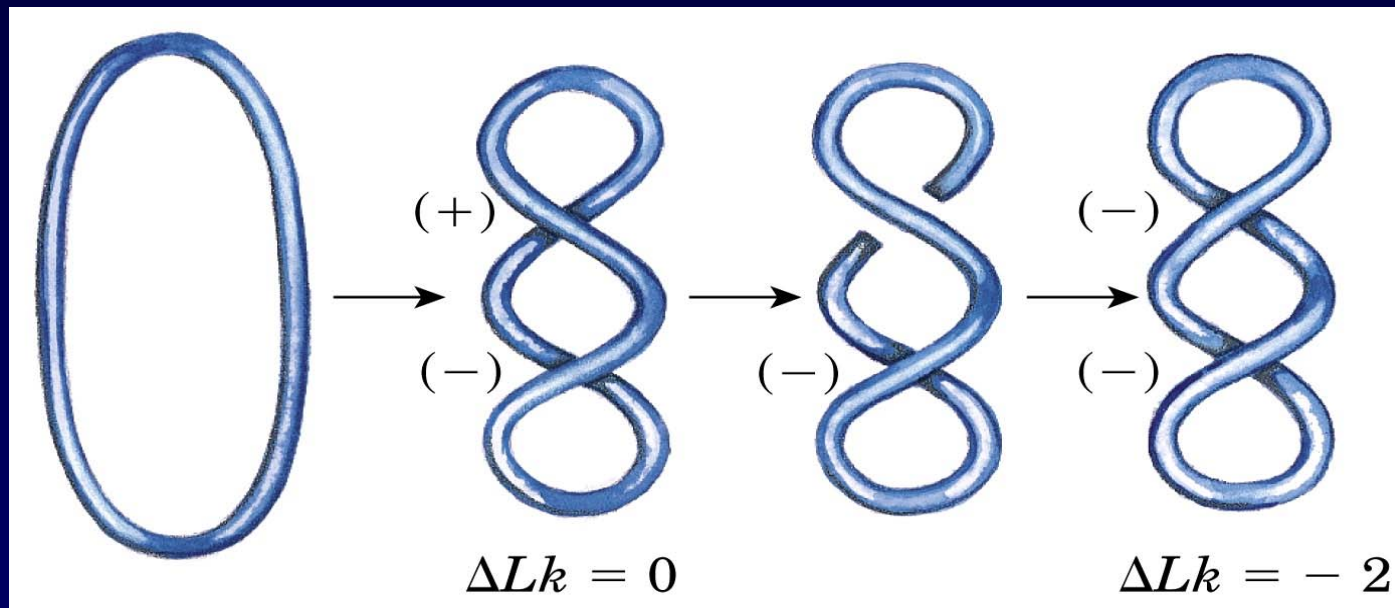
Superavvolgimento significa avvolgimento di qualcosa già avvolto



LA DNA GIRASI

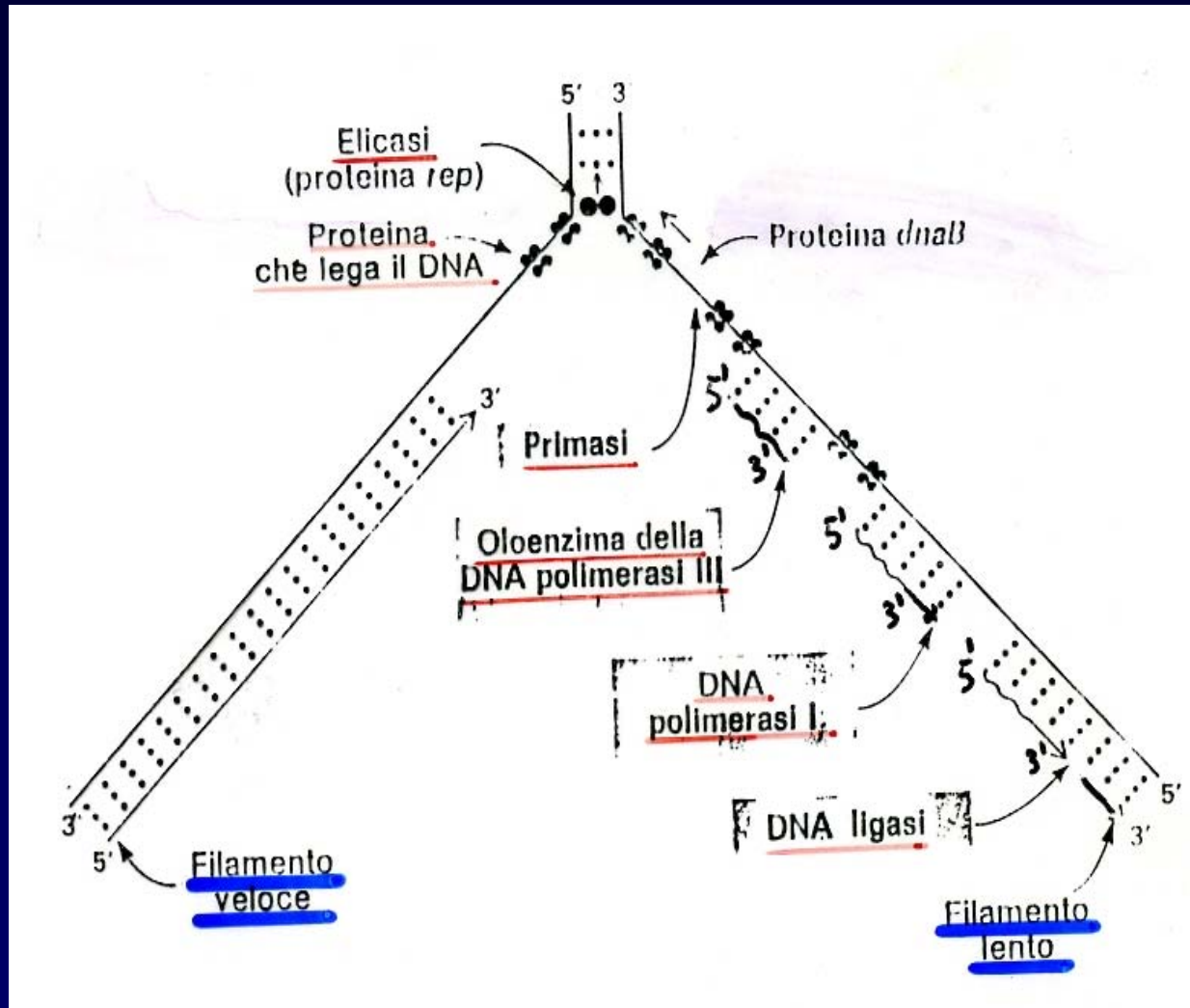
(TOPOISOMERASI DI TIPO II)

L'enzima riduce la tensione a monte della forcella (azione compensatoria), rompendo temporaneamente i due filamenti di DNA, rilassando la struttura, con rotazione dei filamenti di DNA e successiva risaldatura,



altrimenti lo svolgimento dei filamenti diventerebbe energeticamente impossibile.

LO SCHEMA DEGLI EVENTI ENZIMATICI A LIVELLO DELLA FORCELLA DI REPLICAZIONE



LE PROTEINE NECESSARIE PER LA REPLICAZIONE IN E.COLI

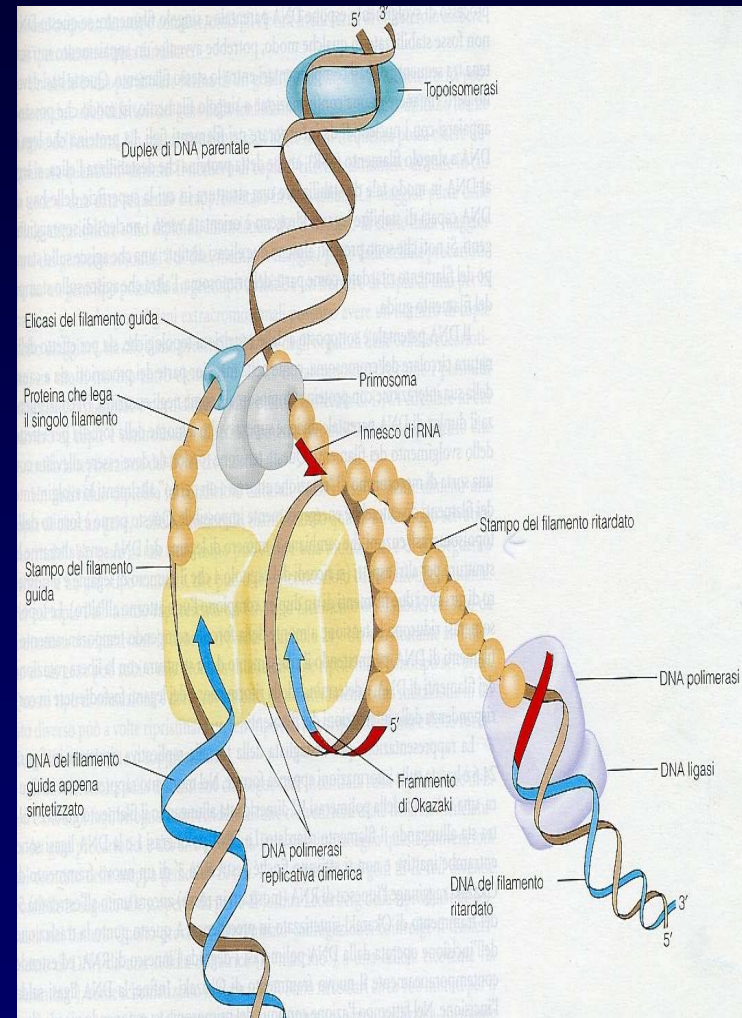
<i>Proteina</i>	<i>Ruolo</i>	<i>Dimensioni (kd)</i>	<i>Molecole per cellula</i>
Elicasi (proteina dnaB)	Inizia lo svolgimento della doppia elica	300	20
Primasi	Sintetizza gli RNA primer	60	50
SSB	Stabilizza regioni a singolo filamento	74	300
DNA girasi	Introduce superavvolgimenti negativi	400	250
DNA polimerasi III oloenzima	Sintetizza il DNA	~ 900	20
DNA polimerasi I	Rimuove il primer e riempie le interruzioni	103	300
DNA ligasi	Unisce le estremità del DNA	74	300

L'ALLUNGAMENTO

- Le **RNA polimerasi** possono iniziare le catene senza primer, perché non esaminano la coppia di basi azotate precedente;

L'RNA primer é a bassa fedeltá, perché **manca** dell'attivitá **3'→5'** esonucleasica,

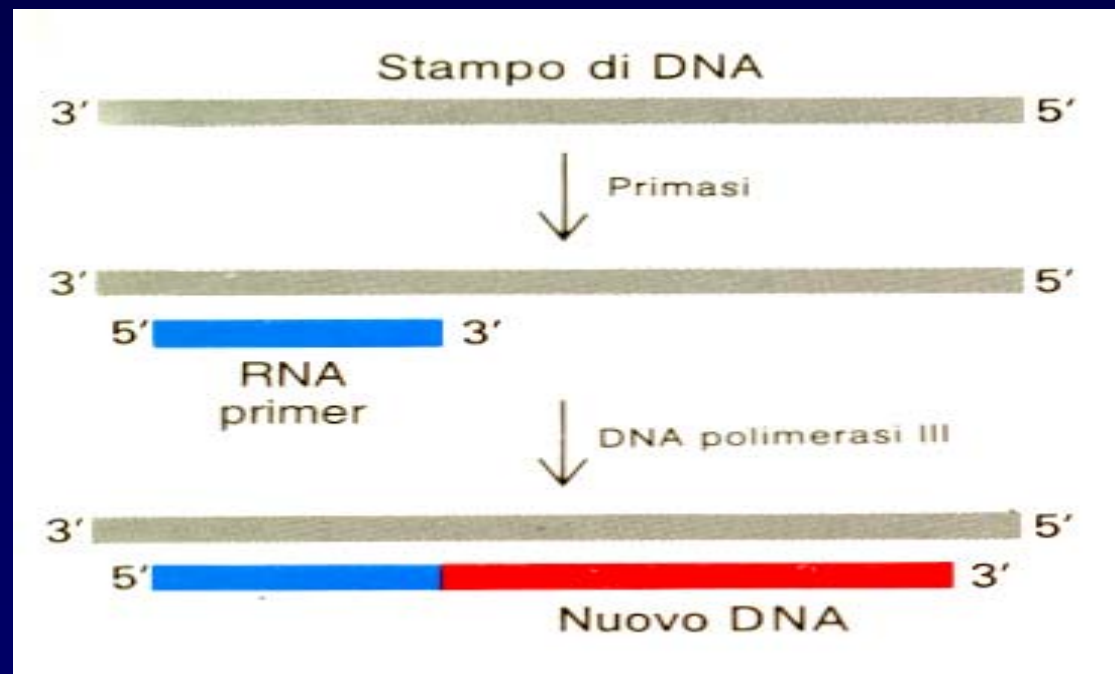
dopo che alcuni (~5) ribonucleotidi sono stati polimerizzati per dare un innesco di RNA (primer), la **primasi** esce di scena.



L'ALLUNGAMENTO

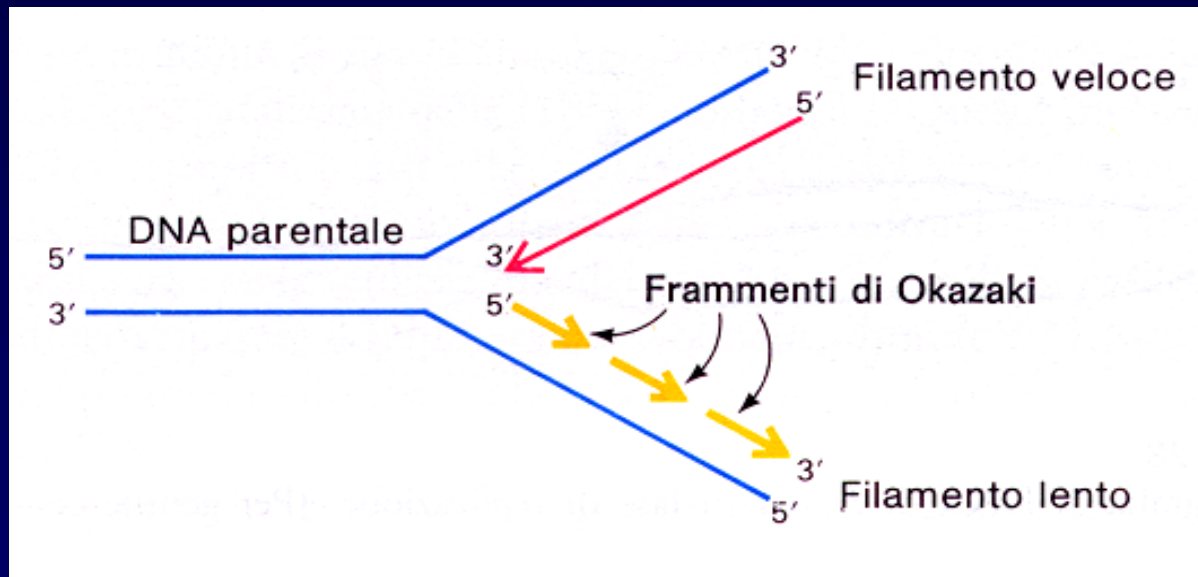
Ora, la DNA polimerasi III inizia a sintetizzare il DNA, aggiungendo 5'-deossiribonucleotidi all'estremità 3' dell'innesco,

l'RNA primer viene rimosso dalla attività 5' → 3' esonucleasica della DNA polim. I.



L'ALLUNGAMENTO

Il **filamento lento** viene sintetizzato in frammenti, mentre il **filamento guida** viene sintetizzato in continuo dalla **DNA polimerasi III** che non si stacca, se non al termine della duplicazione.

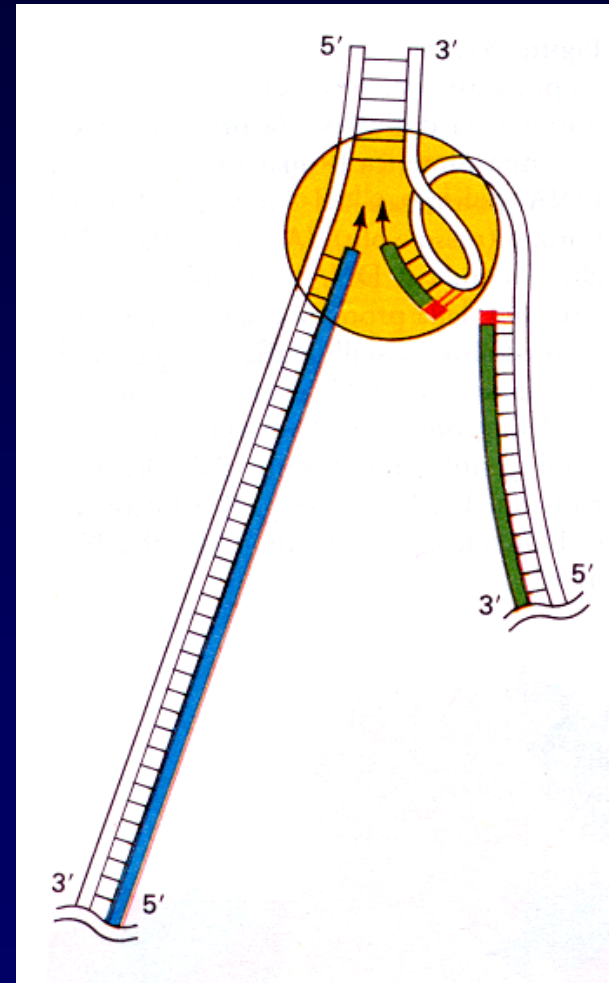


LA SINTESI CONTEMPORANEA DEL FILAMENTO LENTO E DEL FILAMENTO VELOCE DA PARTE DELLA DNA POLIMERASI III

La sintesi del filamento lento avviene con la formazione di un **anello** del filamento stampo che lo sintetizza,

in questo modo il filamento stampo passa attraverso una delle due subunità catalitiche α , con l'orientamento corretto per la polimerizzazione;

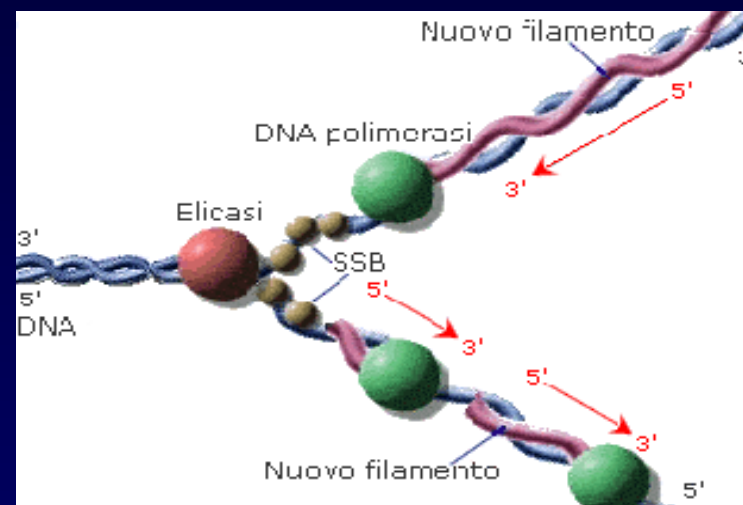
la sintesi discontinua del filamento lento permette una crescita effettiva della catena in direzione $3' \rightarrow 5'$.



LA SINTESI DEL FILAMENTO LENTO

La DNA polimerasi III si stacca dallo stampo, dopo aver sintetizzato circa 1000 nucleotidi, completando quindi la sintesi di un frammento di Okazaki;

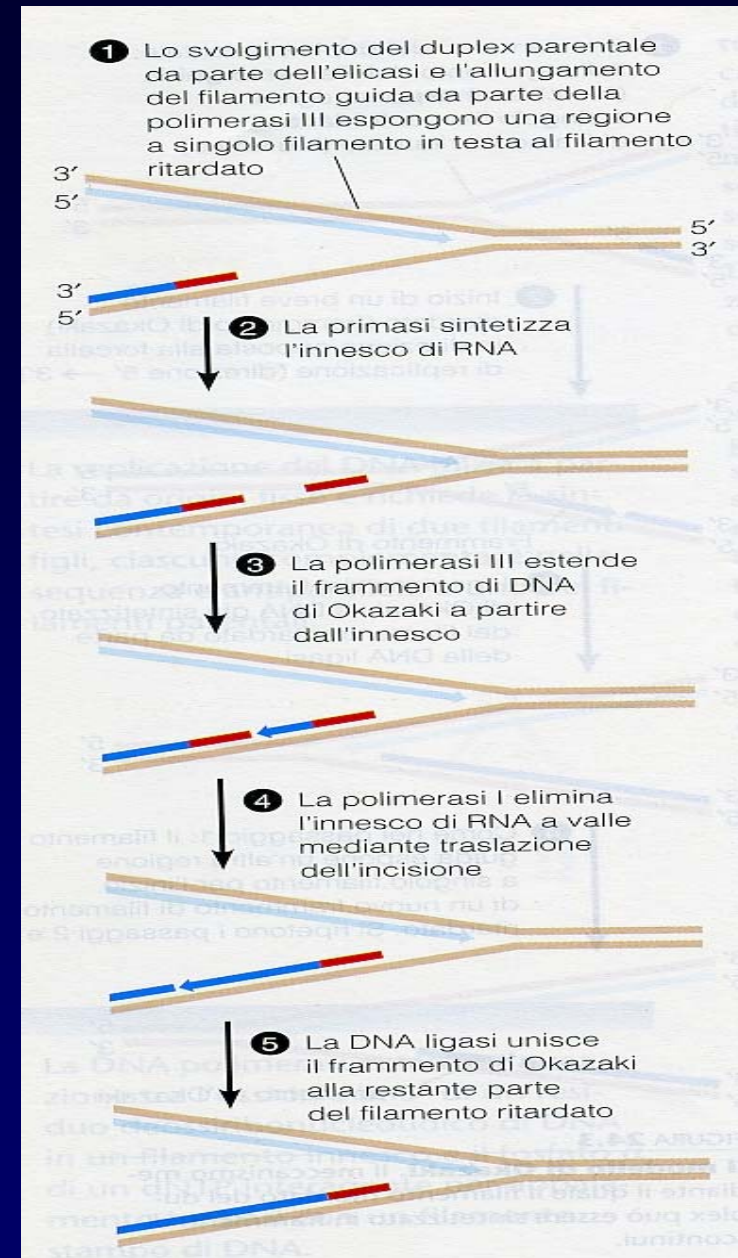
permette la formazione di un nuovo anello, dove la primasi sintetizzerà un altro primer, per iniziare la formazione di un altro frammento di Okazaki.



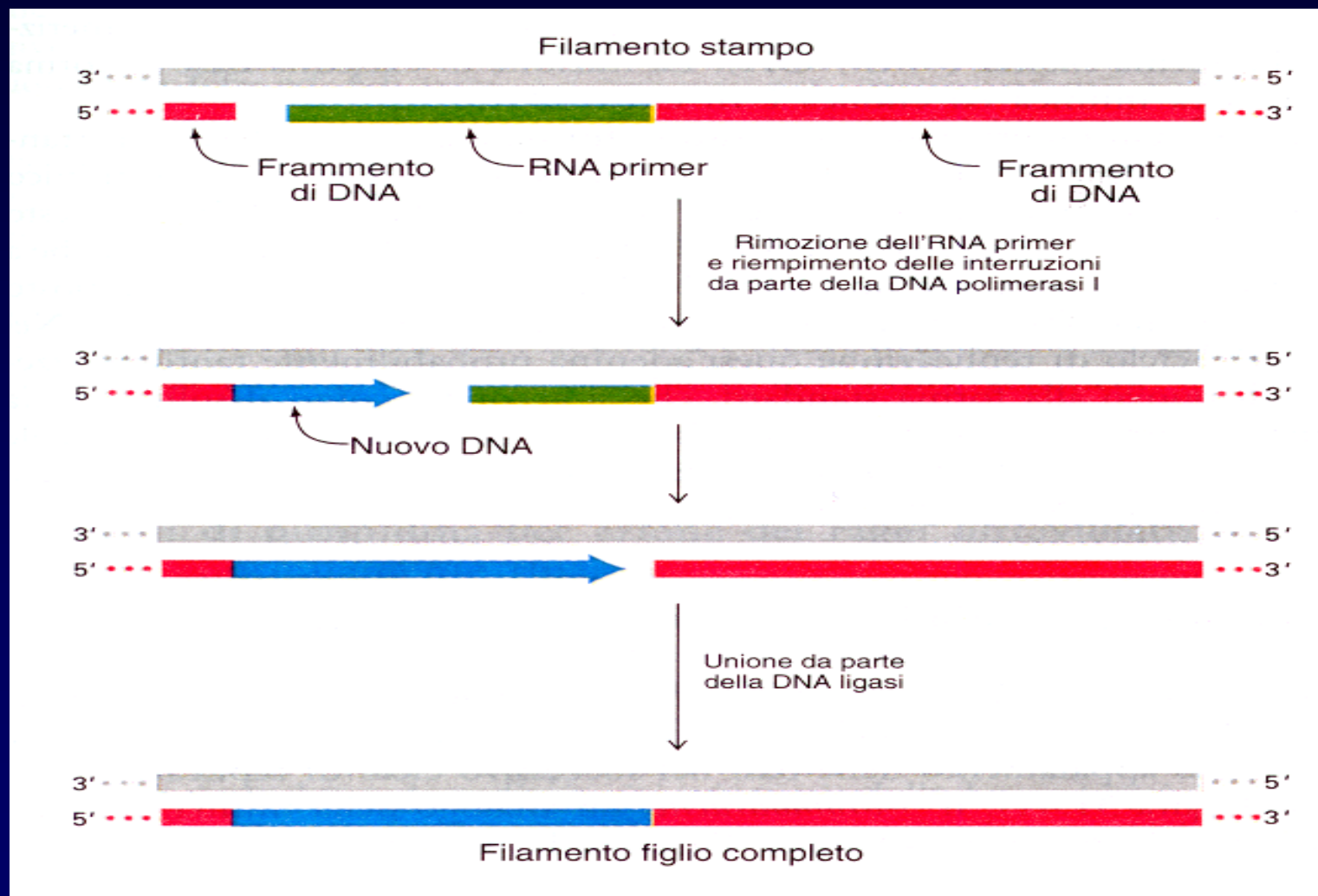
IL MECCANISMO DI SINTESI DEL FILAMENTO LENTO

IL MODELLO DI OKAZAKI

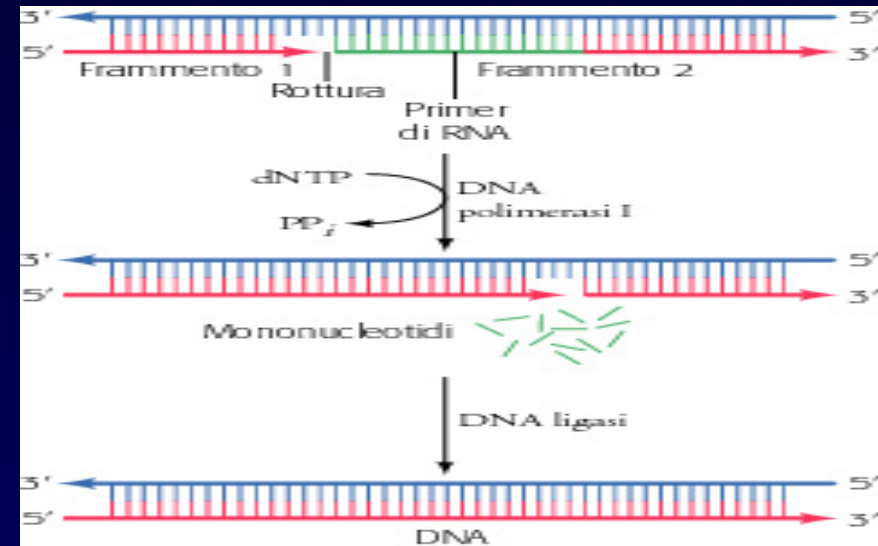
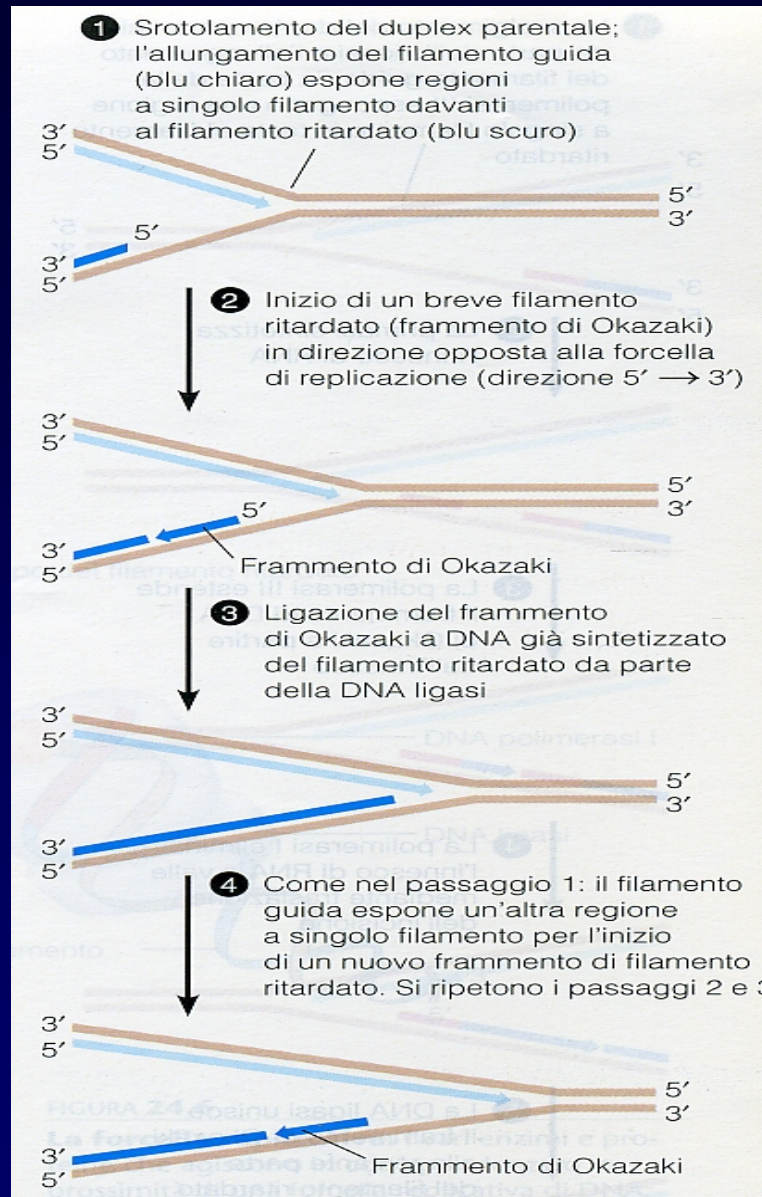
La sintesi di ciascun frammento di Okazaki del filamento ritardato é iniziata dalla sintesi di un corto innesco di RNA, che viene quindi esteso dalla DNA polimerasi III.



IL MECCANISMO DI SINTESI DEL FILAMENTO LENTO



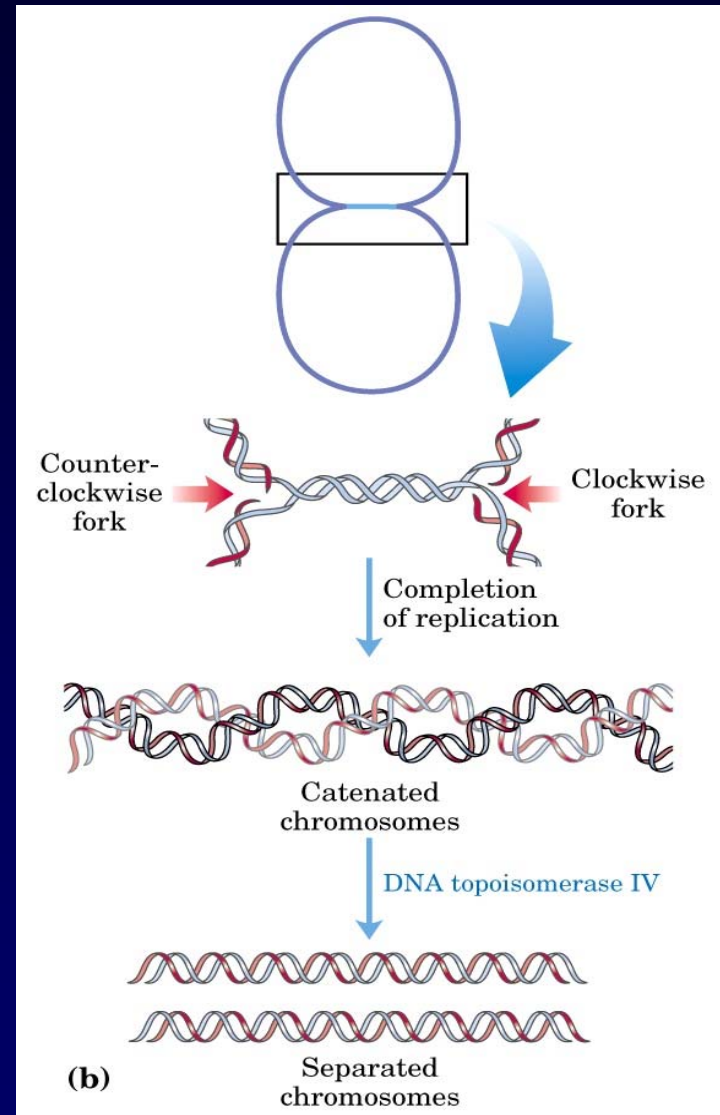
IL MECCANISMO DI SINTESI DEL FILAMENTO LENTO



Sostituzione dei primer di RNA con DNA durante la sintesi della catena ritardata.

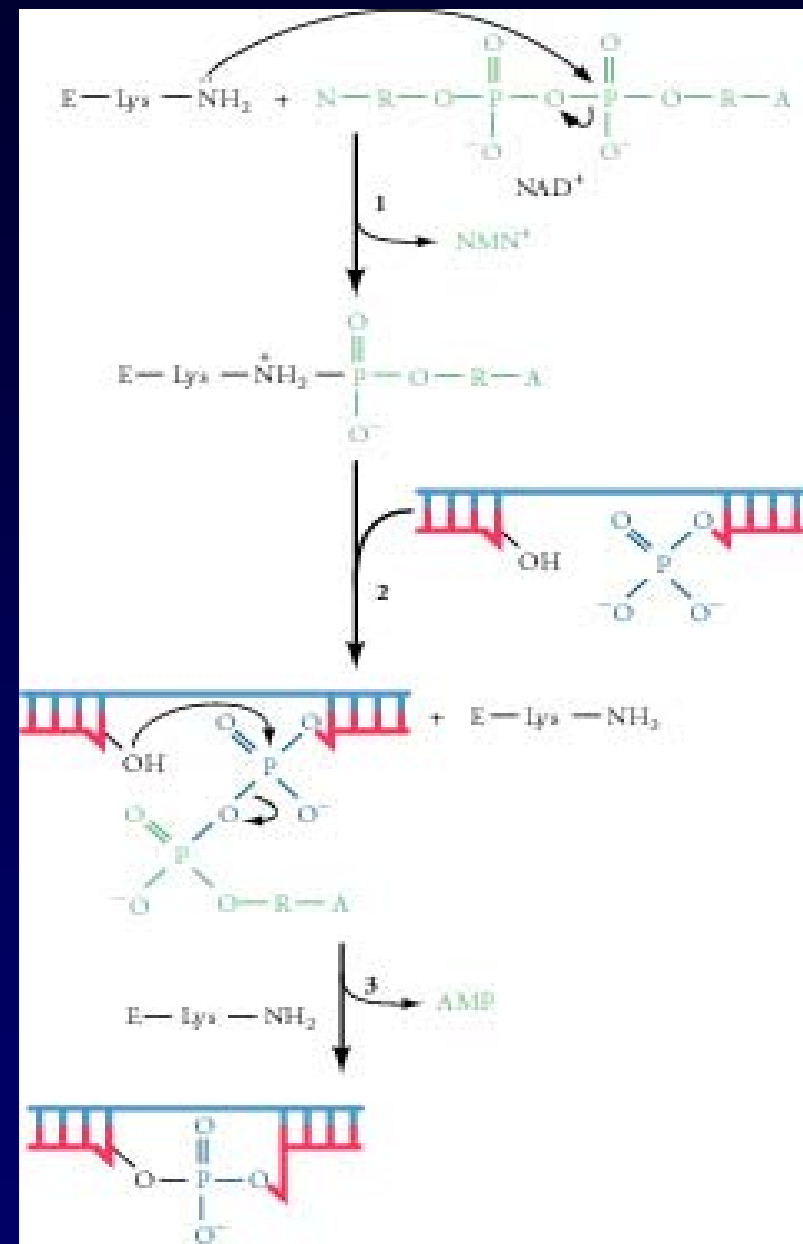
LE FASI DELLA REPLICAZIONE

LA TERMINAZIONE



LA TERMINAZIONE

La **DNA ligasi** di *E.coli* unisce i frammenti del filamento lento del DNA, che diventa continuo, chiudendo le incisioni che presentano le estremità con gruppi 3' ossidrilici e 5' fosfato nel DNA a doppia elica.



LE MUTAZIONI

LA TEORIA EVOLUTIVA DELLA CELLULA

Essa afferma che "tutti gli organismi e tutte le cellule che li costituiscono sono derivati da una cellula progenitrice in seguito ad una **evoluzione per selezione naturale**",

ciò richiede la presenza di due processi essenziali:

il verificarsi di una variazione (**mutazione**) casuale nell'informazione genetica, trasmessa da un individuo ai suoi discendenti,

una **selezione** che favorisce quell'informazione genetica variata che aiuta chi la possiede a sopravvivere ed a propagarsi;

l'**evoluzione** è un principio fondamentale per descrivere scientificamente la grande varietà degli organismi viventi.

LE MUTAZIONI

LE SOSTITUZIONI

LE DELEZIONI

LE INSERZIONI

LE MUTAZIONI

La **sostituzione** è il più comune tipo di mutazione.

Essa si distingue in:

TRANSIZIONE

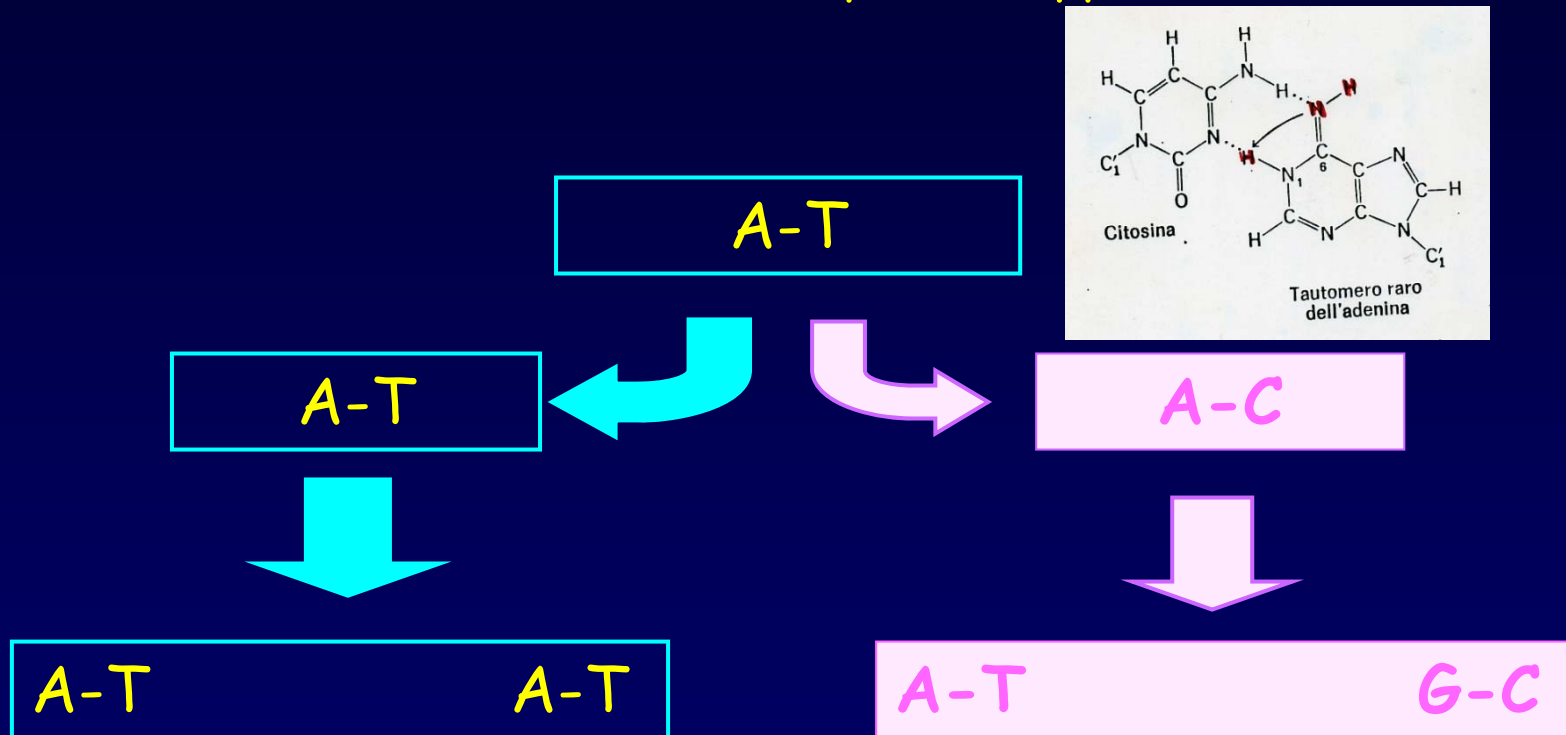
sostituzione di una purina con un'altra purina o di una pirimidina con un'altra pirimidina,

TRASVERSIONE

sostituzione di una purina con una pirimidina o di una pirimidina con una purina.

LE MUTAZIONI LE TRANSIZIONI SPONTANEE

Il tautomero imminico dell'adenina si può accoppiare con la citosina



LE MUTAZIONI

L'**alterazione** in un'unica coppia di basi azotate può determinare una mutazione puntiforme;

una **delezione** o **inserzione** può determinare una mutazione dello schema di lettura.

L'ALTERAZIONE DI UN'UNICA COPPIA DI BASI AZOTATE CAUSA LE MUTAZIONI PUNTIFORMI.

Tabella 30.1. Effetti di alcune ipotetiche mutazioni di singole basi sulla attività biologica dei prodotti proteici che ne risultano.

Mutazione	Stampo di DNA Codon di RNA Aminoacido	Tripletta di DNA originale (non mutata)	Tripletta mutata
Una sostituzione di unica base che non causa alcun cambiamento nella sequenza aminoacidica; una mutazione silente		(3')-GGT-(5') (5')-CCA-(3') -Pro-	-GGA- -CCU- -Pro-
Una mutazione di unica base che risulti in un cambiamento di aminoacido che può non alterare l'attività biologica della proteina in quanto la sostituzione dell'aminoacido si trova in una posizione non critica e l'aminoacido sostituito è inoltre simile a quello normale; altro esempio di mutazione silente		(3')-TAA-(5') (5')-AUU-(3') -Ile-	-GAA- -CUU- -Leu-
Una mutazione letale di unica base in cui un residuo di serina essenziale per l'attività dell'enzima viene rimpiazzato da fenilalanina producendo una molecola enzimaticamente inattiva		(3')-AGA-(5') (5')-UCU-(3') -Ser-	-AAA- -UUU- -Phe-
Una mutazione «leaky» nella quale lo scambio di aminoacido risulta in una proteina che conserva almeno parte della sua attività normale		(3')-CGT-(5') (5')-GCA-(3') -Ala-	-CCT- -GGA- -Gly-
Una ipotetica mutazione favorevole, nella quale la sostituzione di aminoacido produce una proteina con attività biologica migliorata, fornendo all'organismo mutato un vantaggio; non è possibile prevedere sostituzioni vantaggiose di aminoacidi		(3')-TTC-(5') (5')-AAG-(3') -Lys-	-TCC- -AGG- -Arg-

LE MUTAZIONI DELLO SCHEMA DI LETTURA SONO CAUSATE DALLA INSERZIONE O DALLA DELEZIONE DI UNA BASE AZOTATA.

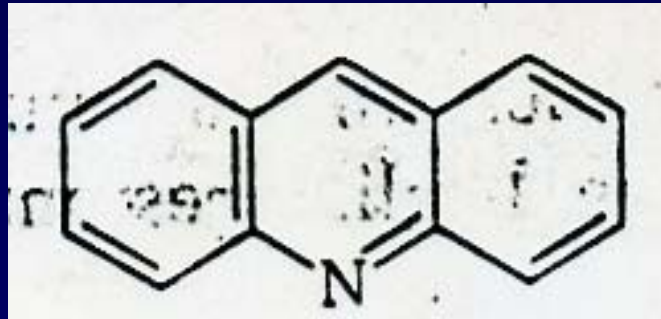
Correlazione di codificazione senza mutazioni

Triplette di DNA	Sequenza aminoacidica (Estremità aminica)	Effetto della delezione di una base	Effetto della inserzione di una base
T		T	T
C	Ser	C	C
G		G	G
A	Ser	A	A
G		G	G
A	Ala	A	A
C		C	C
G	Gln	G	G
C		C	C
T	Asn	T	T
C		C	C
T	Arg	T	T
A		A	A
G	Lys	G	G
C		C	C
G	Tyr	G	G
T		T	T
T	Thr	T	T
A		A	A
T	Ile	T	T
G		G	G
T	Lys	T	T
A		A	A
G	Val	G	G
C		C	C
T	Glu	T	T
C		C	C
C	Val	C	C
A		A	A
C		C	C
5'	(Estremità carbossilica)		

LE INSERZIONI

Un esempio é l'**acridina** che si intercala tra due coppie di basi azotate di DNA,

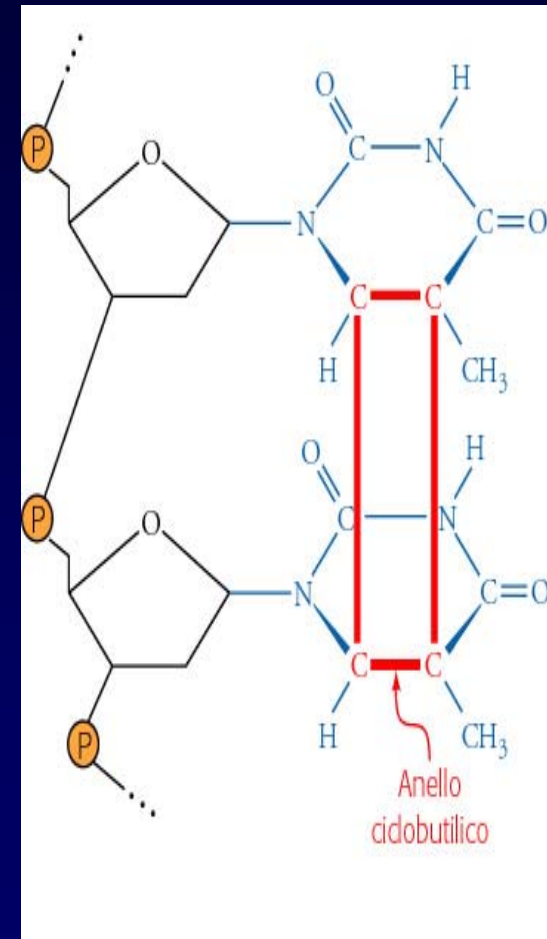
Essa è un agente mutageno simile ad una base purinica.



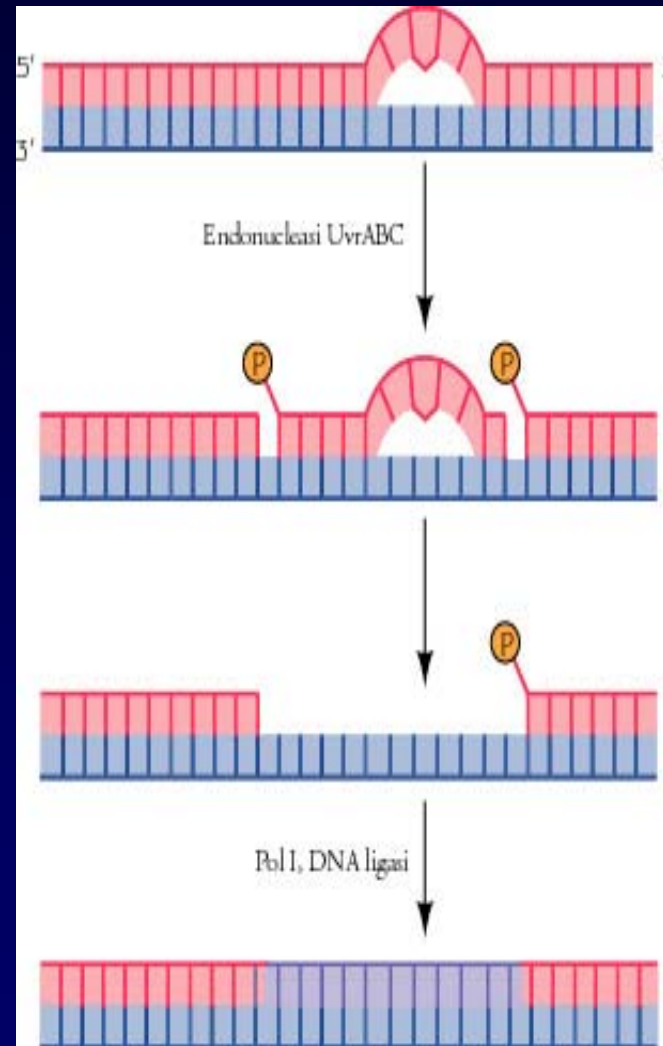
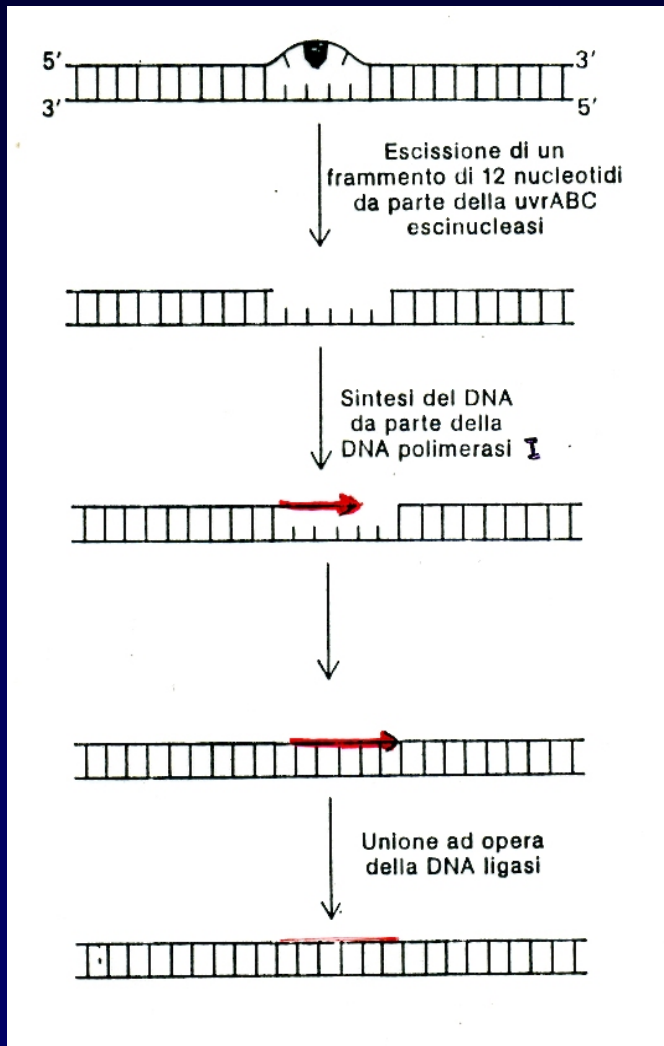
I DIMERI DI TIMINA

In seguito ad irradiazione ultravioletta (200-400 nm), si possono formare i dimeri di pirimidina.

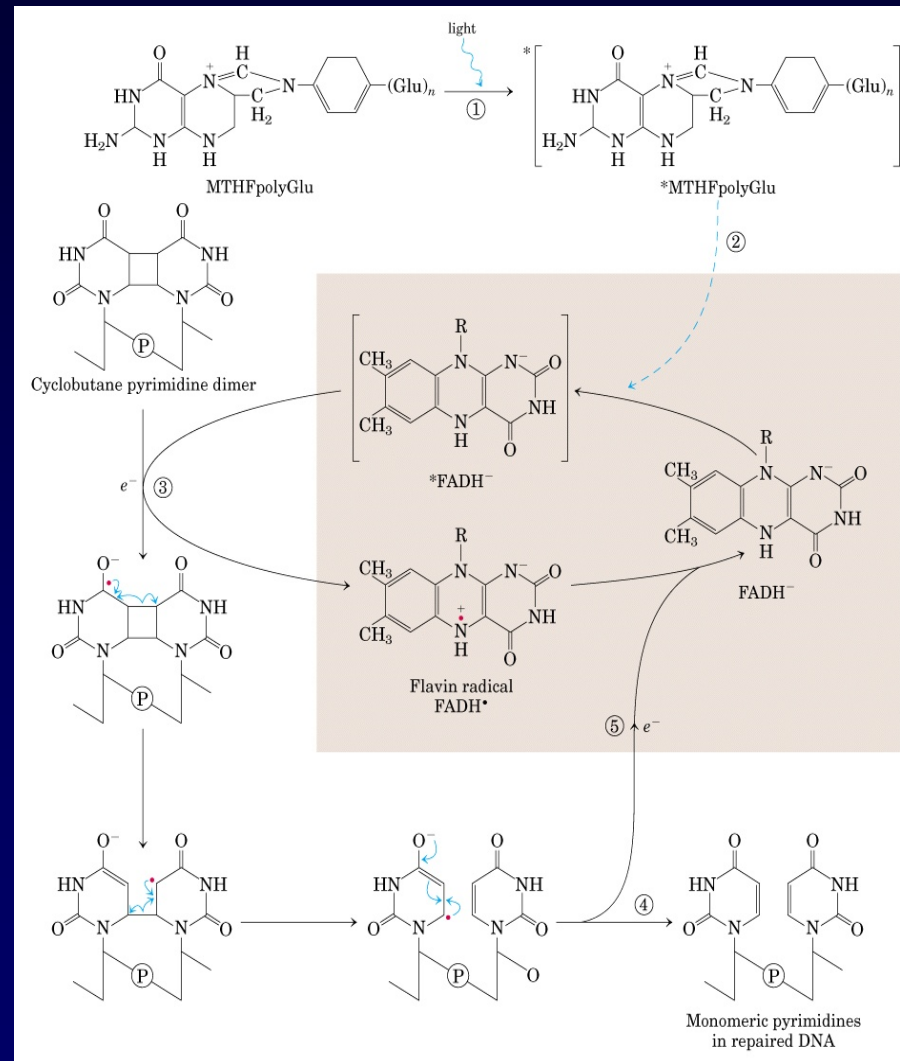
Le lesioni che si producono nel DNA vengono continuamente riparate, sia nei batteri irradiati con UV, sia nelle cellule cutanee di soggetti esposti senza protezione alla luce solare.



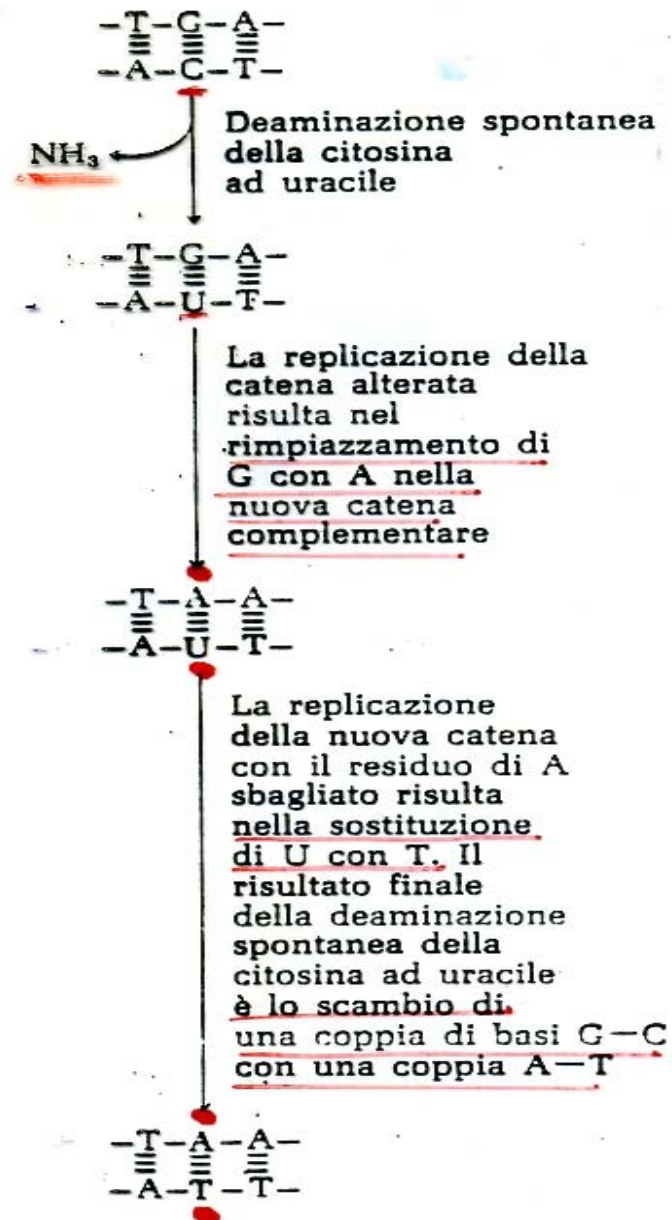
LA RIPARAZIONE DI UNA REGIONE DI DNA CONTENENTE UN DIMERO DI TIMINA



LA RIPARAZIONE DEI DIMERI DI PIRIMIDINA DA PARTE DELLA FOTOLIASI

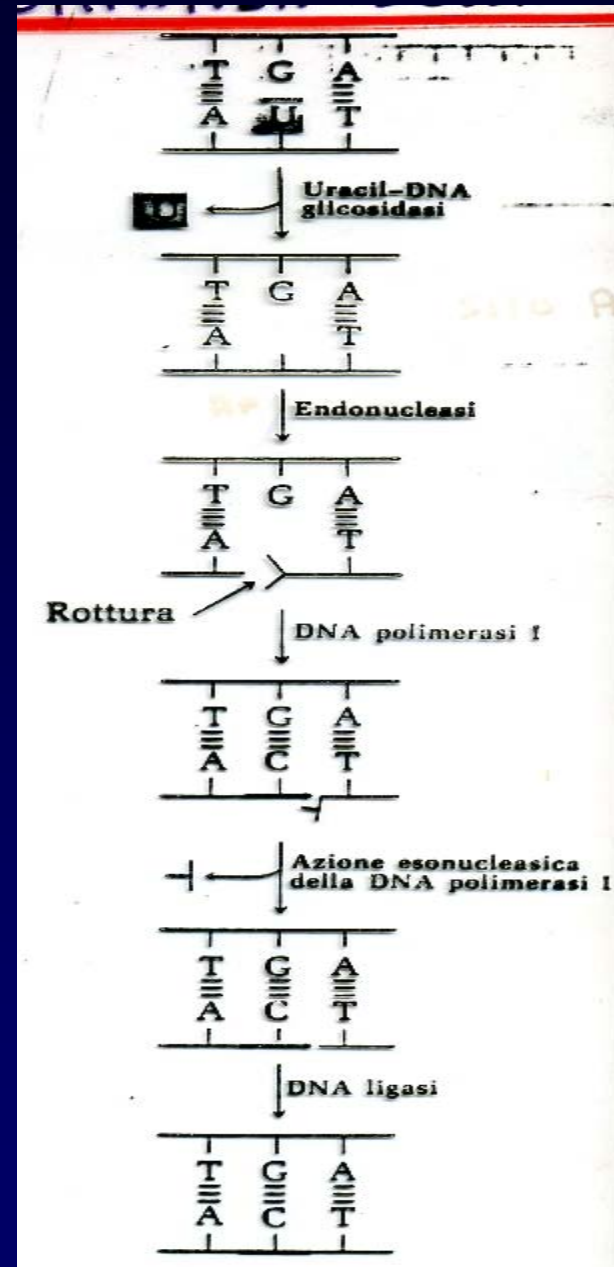


La decomposizione spontanea di un residuo di **citocina** del DNA ad **uracile** può provocare una **mutazione** se non viene riparata.

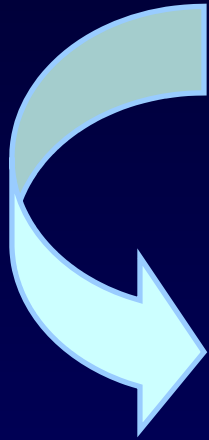


LA RIPARAZIONE DI UNA CONVERSIONE SPONTANEA DELLA CITOSINA AD URACILE

Il DNA contiene **timina** invece di **uracile**,
per permettere la riparazione della
citosina deaminata.



I MUTAGENI



Sono agenti chimici che possono alterare la struttura delle basi puriniche o pirimidiniche del DNA e i loro effetti sfuggono alla correzione.

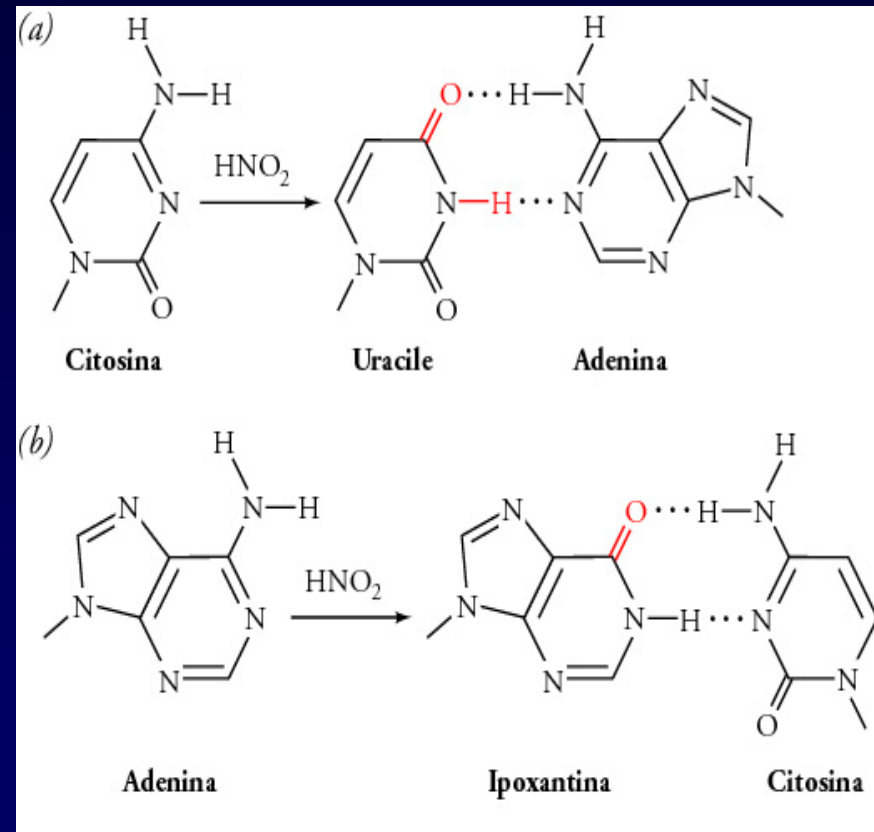
L'ACIDO NITROSO

L'acido nitroso determina la deaminazione delle basi azotate, quindi:

Citosina → Uracile

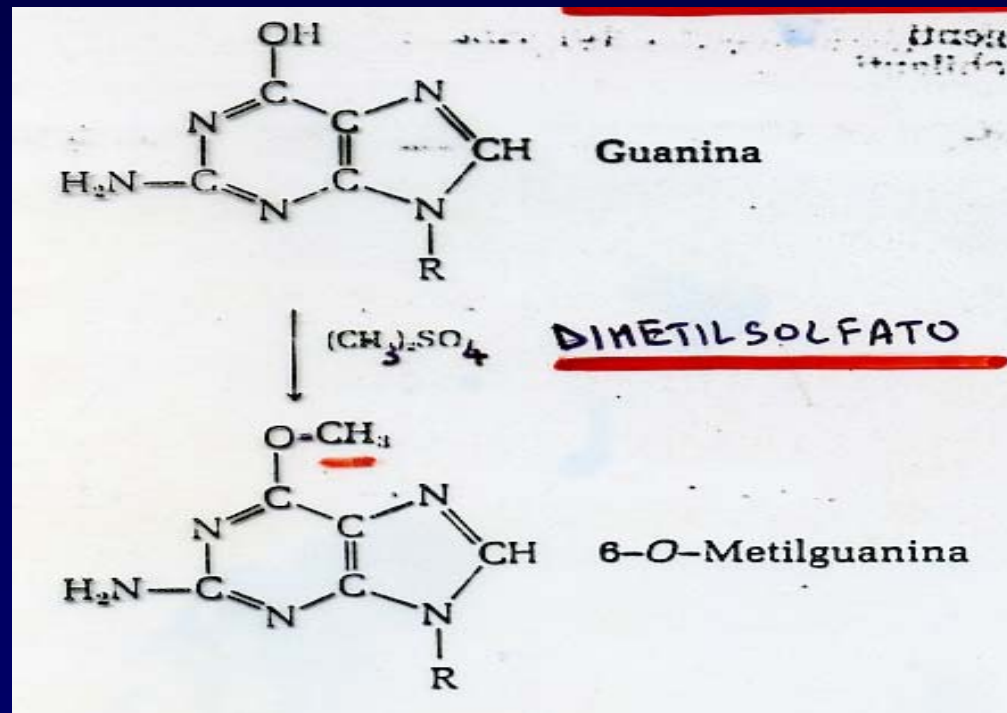
Adenina → Ipoxantina

Guanina → Xantina



GLI AGENTI ALCHILANTI

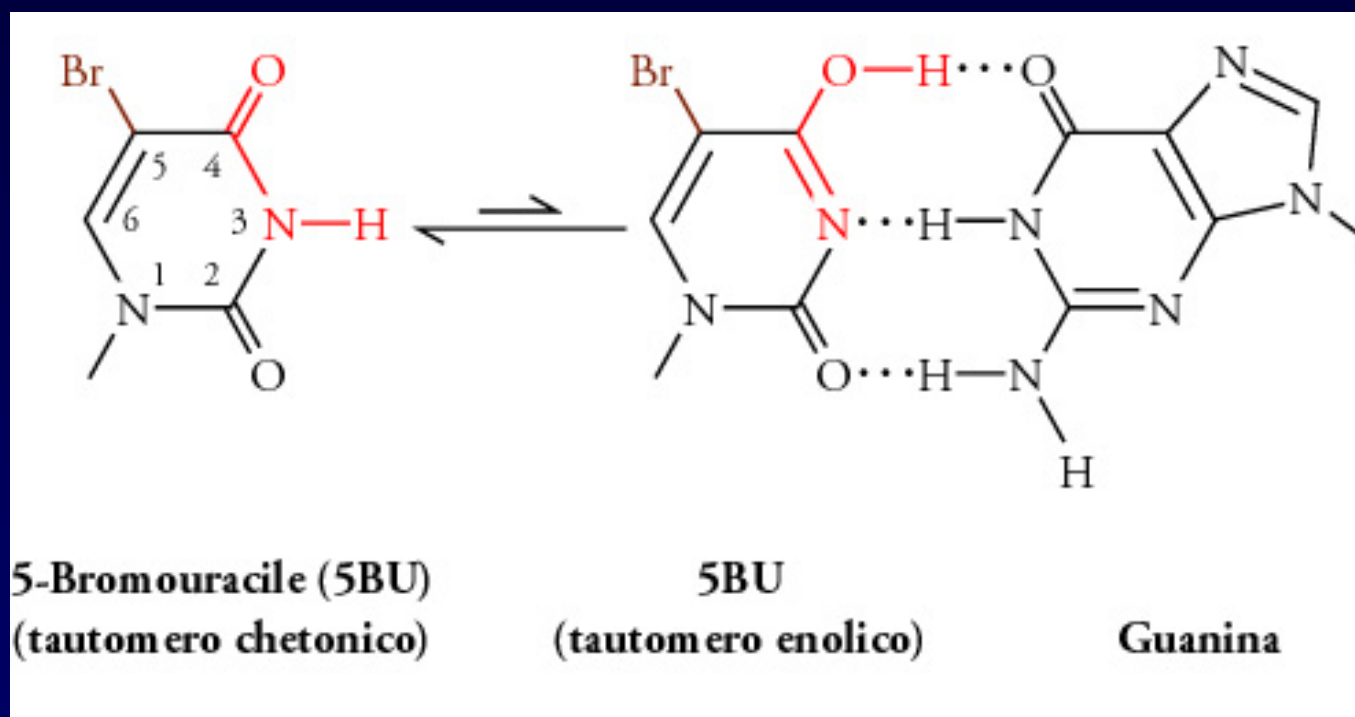
La metilazione della guanina (forma enolica) da parte di un agente metilante (es. il **dimetilsolfato**) ha come conseguenza l'incapacità di formare coppie di basi azotate con la citosina.



GLI ANALOGHI DELLE BASI

il **Bromouracile** è l'analogo della timina,
il tautomero enolico si accoppia con la guanina

AT→GC



la **2-Aminopurina** di norma si accoppia con la timina,
il suo tautomero si accoppia con la citosina

AT→GC

L'EFFETTO DI UN DANNO AL DNA SULLA REPLICAZIONE

