

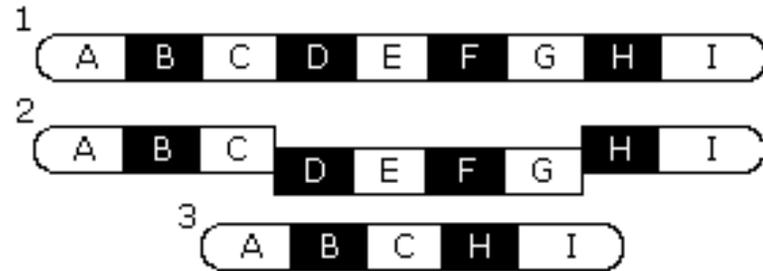
Riparazione del DNA

Processo attraverso il quale il materiale genetico cellulare che ha subito un'alterazione (spontanea o indotta) viene ripristinato nella sua integrità.

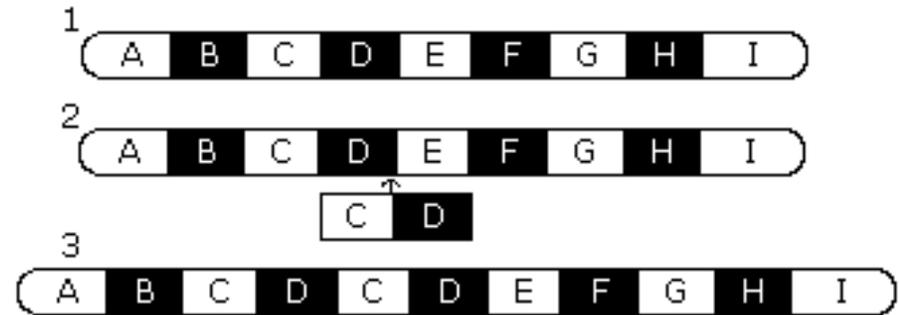
Mutazione: cambiamento permanente nella sequenza nucleotidica del DNA che viene trasmesso alle successive generazioni cellulari.

MUTAZIONI CROMOSOMICHE

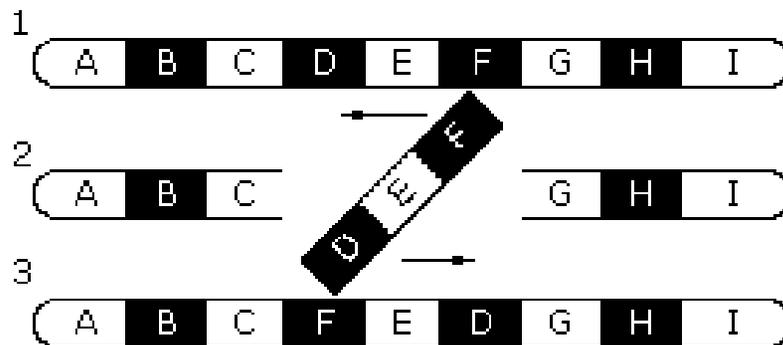
Delezione



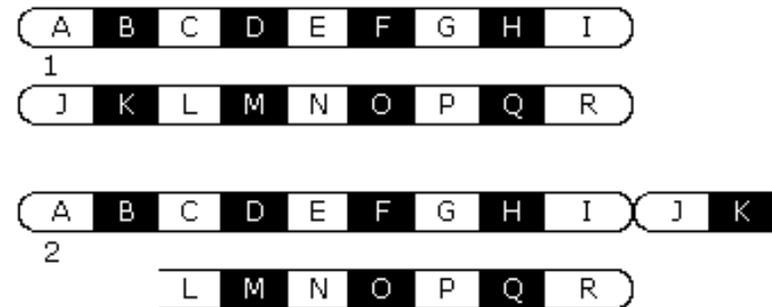
Duplicazione



Inversione



Traslocazione



Mutazioni del DNA

Mutazioni Silenti: non alterano la sequenza aminoacidica (es.: CGC, CGA e AGG specificano tutti per l'AA Arginina)

Mutazioni Non-senso: mutazioni puntiformi che introducono un codone di stop, che produce la prematura interruzione della sequenza aminoacidica.

Mutazioni Missenso: mutazioni puntiformi che causano sostituzioni aminoacidiche e spesso perdita o compromissione della funzione della proteina

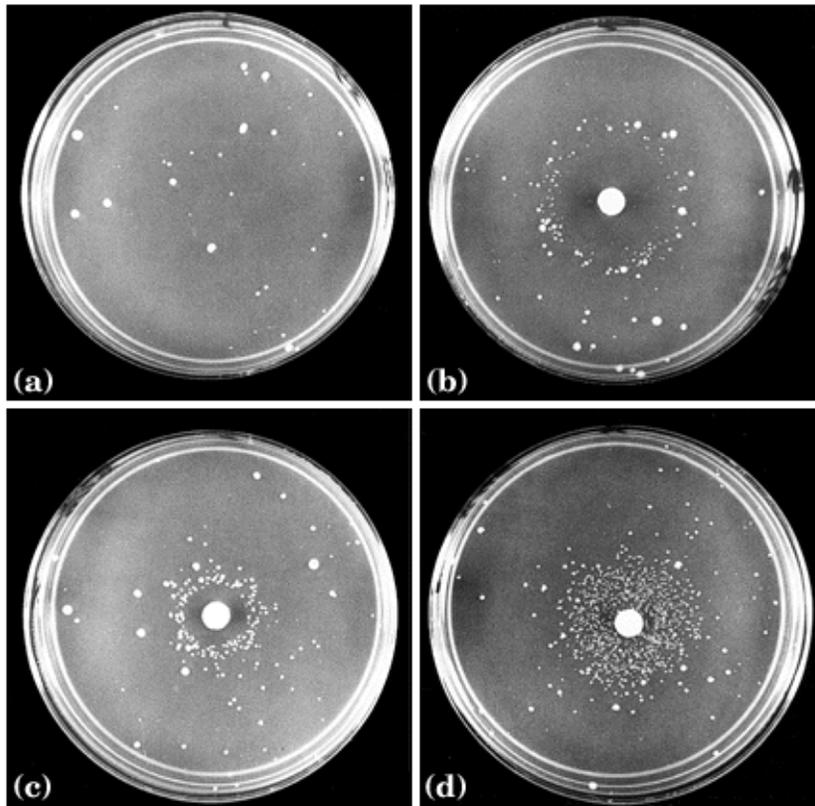
Delezioni (in frame): producono un accorciamento del gene cui corrisponde generalmente una forte compromissione della funzione della proteina

Inserzioni, Duplicazioni: producono un allungamento del gene; anche in questo caso ne deriva generalmente una forte compromissione della funzione della proteina

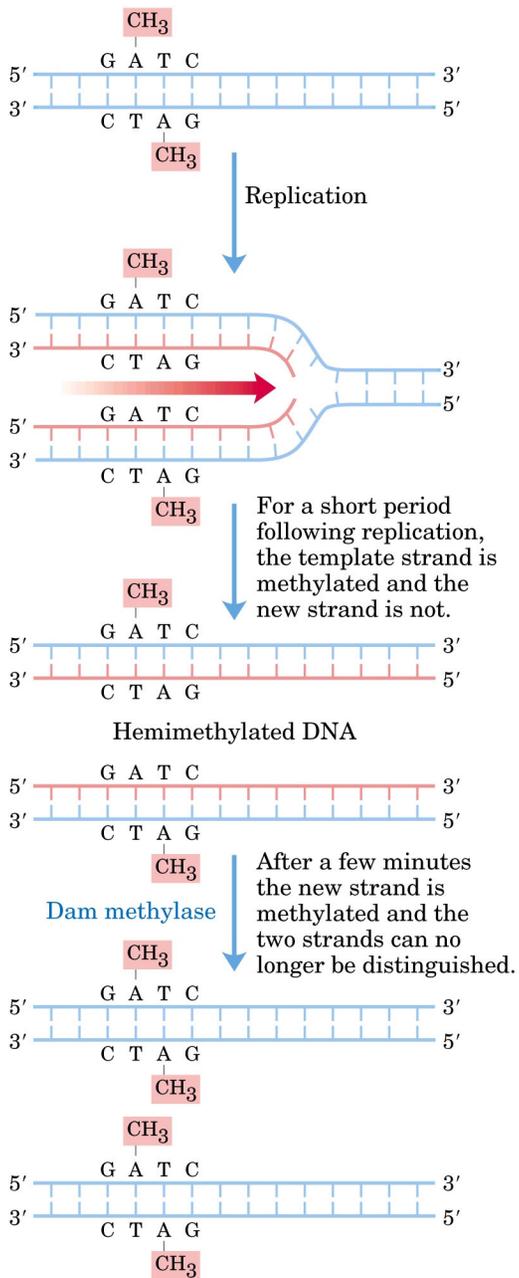
Test di Ames per gli Agenti Cancerogeni

Misura la capacità di un dato composto di promuovere certe mutazioni facilmente determinabili in un ceppo batterico specializzato.

Cellule di *Salmonella typhimurium* che possiedono una mutazione che inattiva un enzima della via biosintetica dell'istidina vengono poste su piastre contenenti un terreno privo di istidina. La maggior parte delle cellule non può crescere.



- a) Colonie con mutazione che ripristina la via biosintetica dell'istidina
- b -d) L'aggiunta di un disco contenente concentrazioni progressivamente più basse di un mutageno che fa aumentare la frequenza di retromutazione (ristabilendo la capacità di sintetizzare istidina), produce un numero progressivamente maggiore di colonie. Nell'area chiara attorno al disco la concentrazione del mutageno è così elevata da risultare letale.



Metilazione e riparazione degli errori per appaiamento di basi

La metilazione delle catene di DNA è un sistema attraverso il quale la cellula può distinguere le catene parentali (stampo) da quelle neosintetizzate.

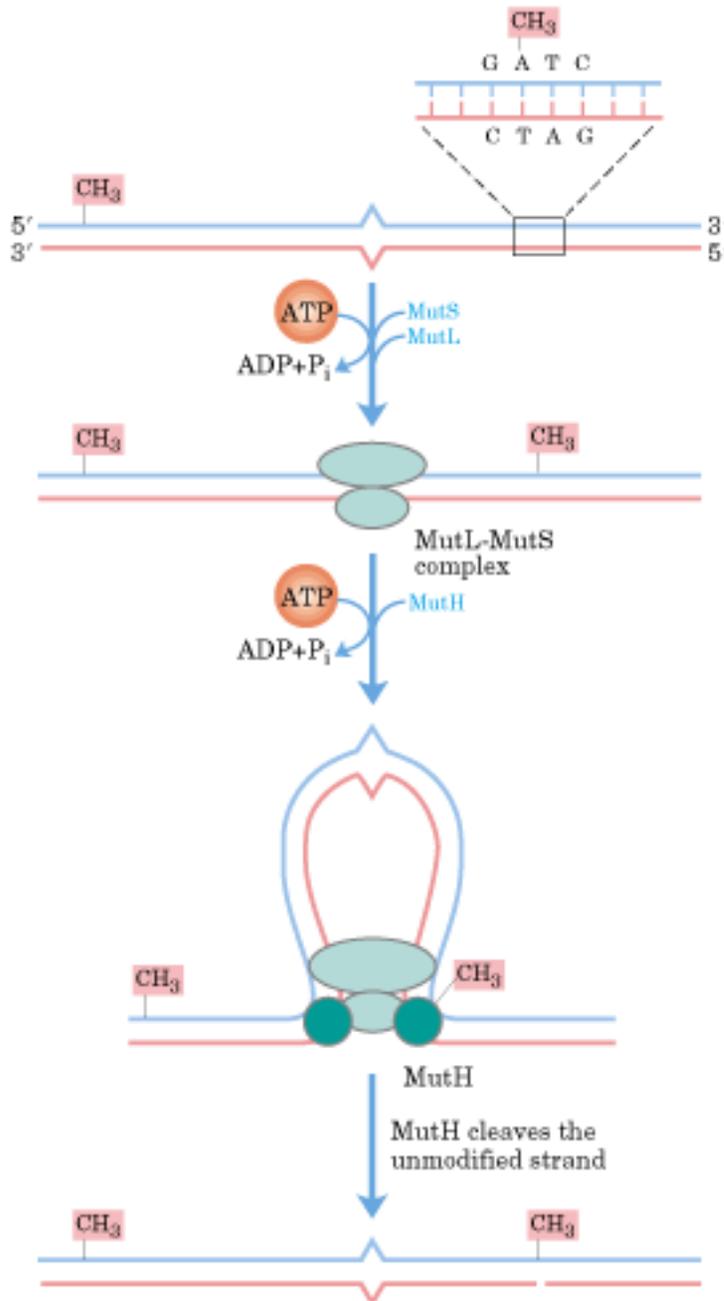
La discriminazione si basa su un enzima, *Dam metilasi*, che metila il DNA nella posizione 6N di tutte le adenine presenti nelle sequenze GATC.

Subito dopo il passaggio della forcella di replicazione, esiste un breve intervallo durante il quale una sola catene è metilata. La mancata metilazione delle sequenze GATC nel filamento neosintetizzato permette la discriminazione delle due catene.

Gli errori di appaiamento vicini alle sequenze GATC emimetilate vengono riparati secondo l'informazione contenuta nella catena parentale metilata.

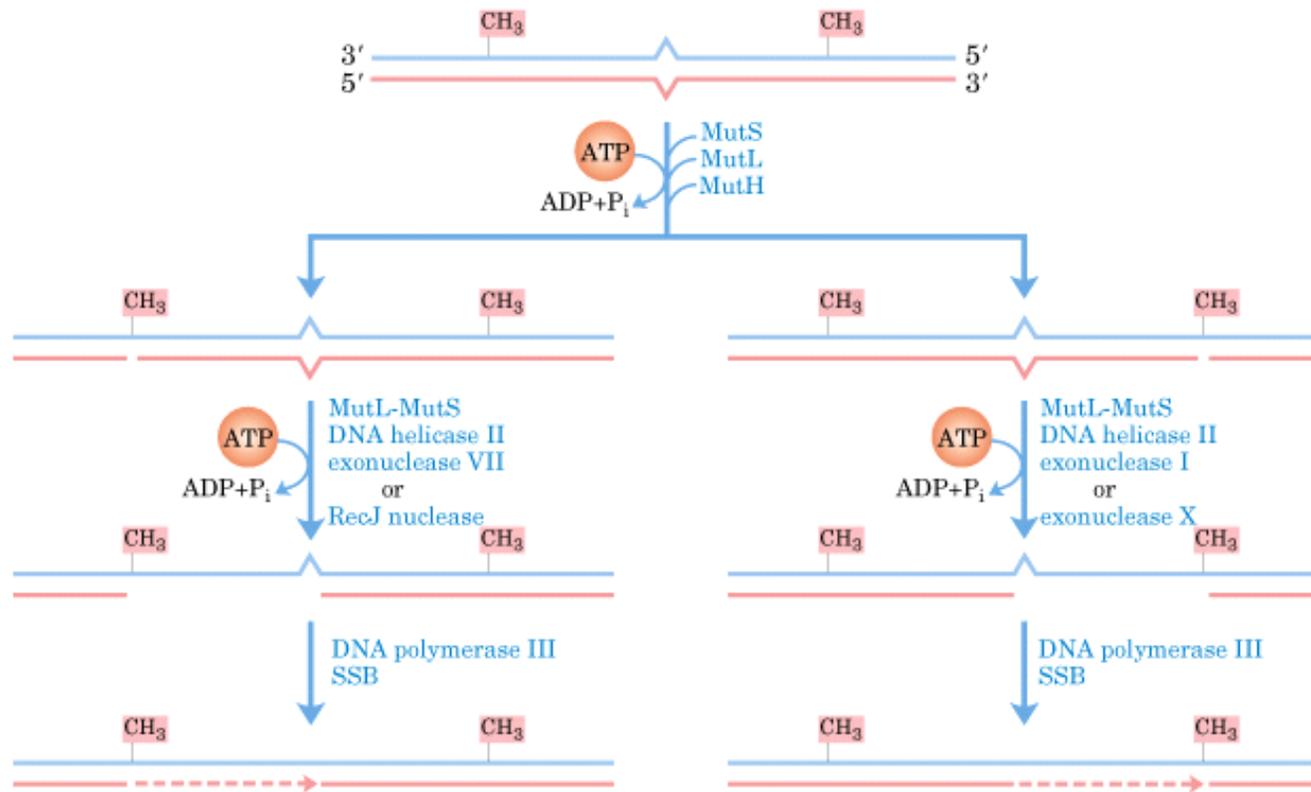
table 25–5

Types of DNA Repair Systems in <i>E. coli</i>	
Enzymes/proteins	Type of damage
Mismatch repair	
Dam methylase	Mismatches
MutH, MutL, MutS proteins	
DNA helicase II	
SSB	
DNA polymerase III	
Exonuclease I	
Exonuclease VII	
RecJ nuclease	
Exonuclease X	
DNA ligase	
Base-excision repair	
DNA glycosylases	Abnormal bases (uracil, hypoxanthine, xanthine); alkylated bases; pyrimidine dimers in some other organisms
AP endonucleases	
DNA polymerase I	
DNA ligase	
Nucleotide-excision repair	
ABC excinuclease	DNA lesions that cause large structural changes (e.g., pyrimidine dimers)
DNA polymerase I	
DNA ligase	
Direct repair	
DNA photolyases	Pyrimidine dimers
<i>O</i> ⁶ -Methylguanine-DNA methyltransferase	<i>O</i> ⁶ -Methylguanine

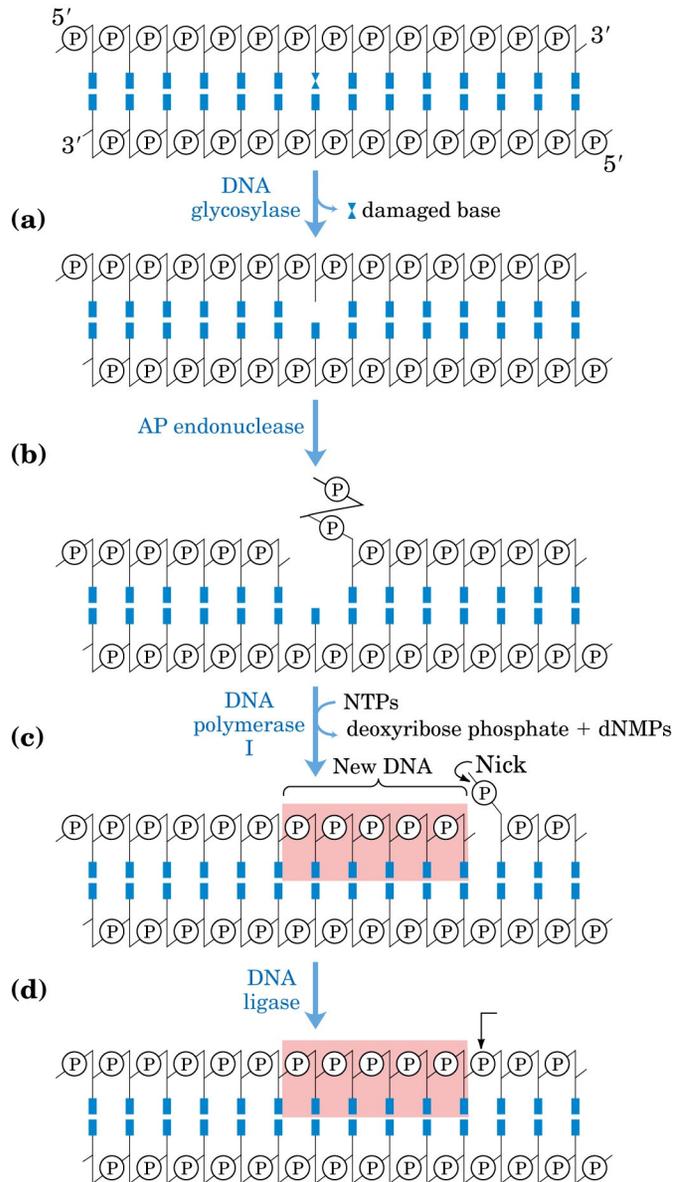


Modello di riparazione degli errori di appaiamento mediante metilazione

- La proteina *MutL* forma un complesso con la proteina *MutS* in corrispondenza dell'errore.
- A questo punto la proteina *MutH* si lega a *MutL* ed alle sequenze GATC incontrate dal complesso *MutL-MutS*.
- Il DNA su entrambi i lati dell'errore di appaiamento viene modificato dal complesso *MutL-MutS*, creando un anello di DNA; il movimento dei filamenti dell'anello sul complesso avviene simultaneamente a quello del complesso sul DNA.
- La proteina *MutH* funziona come una endonucleasi sito-specifica ed è inattiva fino a quando il complesso non incontra una sequenza GATC emimetilata. A questo punto *MutH* taglia la catena non metilata al 5' della G della sequenza GATC, contraddistinguendo in tal modo la catena da riparare.



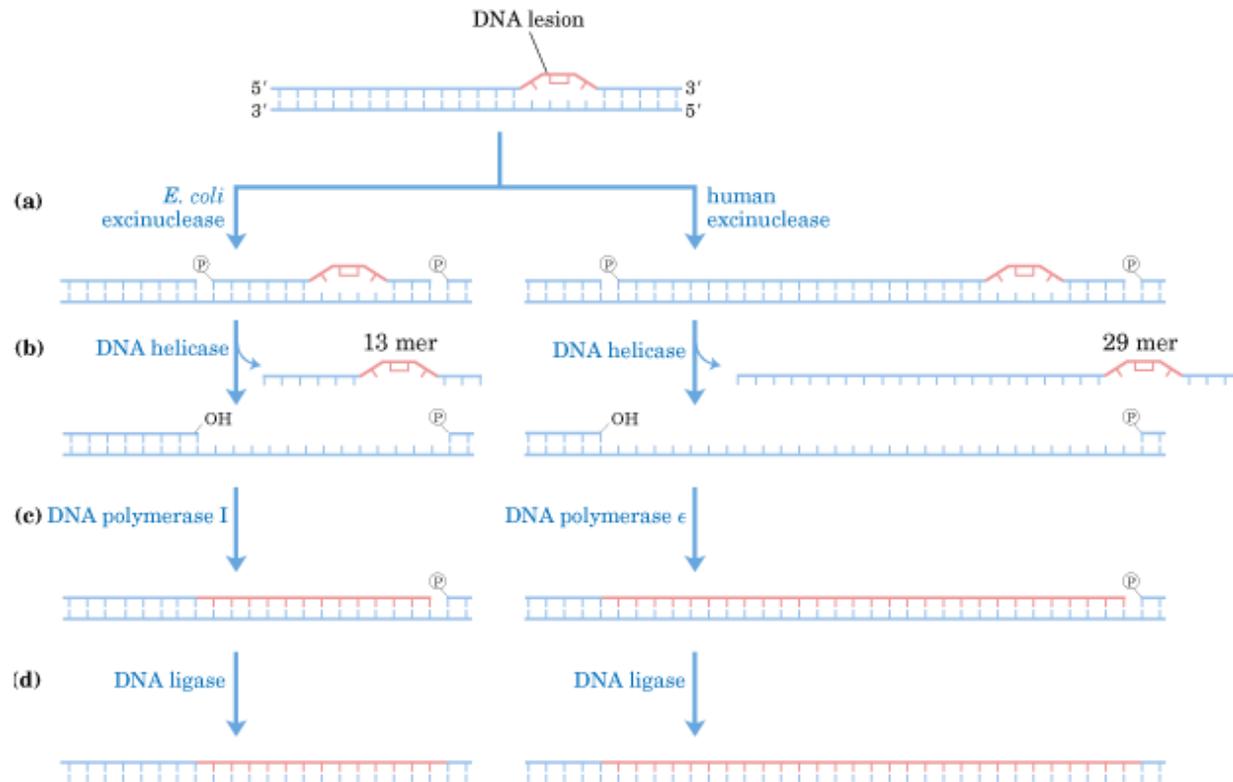
Durante le ultime fasi della riparazione degli errori di appaiamento mediante metilazione, l'azione combinata di **DNA elicasi II**, **SSB**, **esonucleasi I** o **esonucleasi X**, **DNA polimerasi III** e **DNA ligasi** determina la rimozione di un segmento nella catena neosintetizzata fra il punto del taglio operato da MutH e ed un punto situato subito dopo l'errore di appaiamento. L'interruzione viene quindi riempita dalla DNA polimerasi III e sigillata dalla DNA ligasi.



Riparazione del DNA per escissione di basi

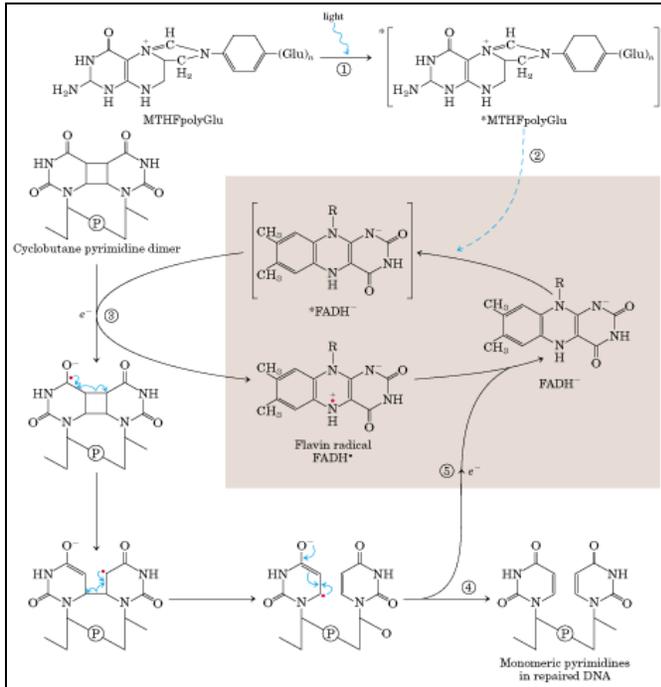
- La **DNA glicosilasi** riconosce la base danneggiata ed effettua un taglio fra desossiribosio e scheletro carbonioso, determinando così la creazione di un sito apurinico o apirimidinico (**sito abasico o AP**).
- Un altro enzima, la **AP endonucleasi**, rompe lo scheletro fosfodiesterico accanto al sito AP.
- La **DNA polimerasi I** avvia la riparazione a partire dal gruppo 3'-OH libero rimuovendo una porzione della catena danneggiata (mediante l'attività 5'->3' esonucleasica) e sostituendola con DNA neosintetizzato.
- L'interruzione rimasta dopo la dissociazione della DNA polimerasi I viene riparata dalla **DNA ligasi**.

Riparazione per escissione di nucleotidi in *E. Coli* e nell'uomo

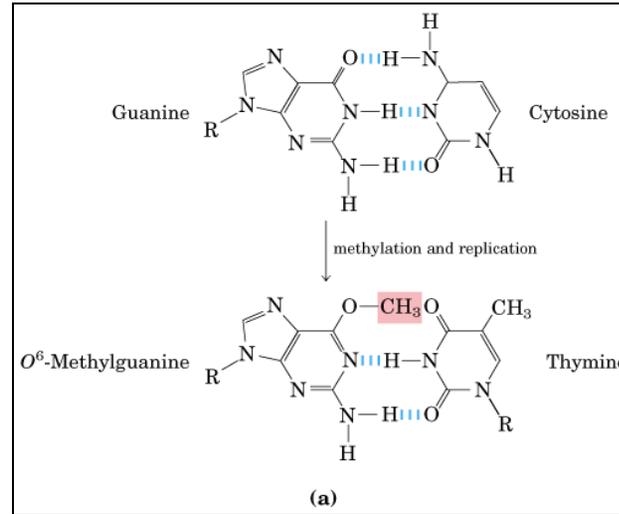


- Una **nucleasi di escissione** si lega al DNA nei pressi della lesione
- La nucleasi taglia l'elica in entrambi i punti ai lati della lesione ed il frammento viene rimosso dalla **DNA elicasi**.
- Il segmento mancante viene colmato dalla **DNA polimerasi** e
- successivamente sigillato dalla **DNA ligasi**

Riparazione diretta



Riparazione di dimeri di pirimidina da parte della DNA fotolitasi



Riparazione della ⁶O-metilguanina
(se non riparato, l'errore comporta la sostituzione di una coppia G-C con una coppia A-T)

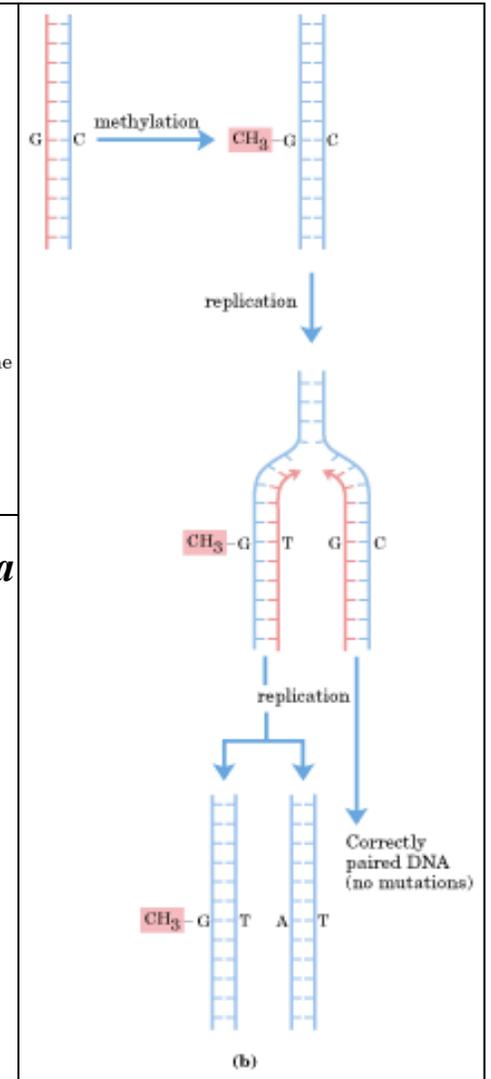


table 25-6

Genes Induced as Part of the SOS Response in <i>E. coli</i>	
Gene name	Protein encoded and/or role in DNA repair
Genes of known function	
<i>polB</i> (<i>dinA</i>)	Encodes polymerization subunit of DNA polymerase II, required for replication restart in recombinational DNA repair
<i>uvrA</i> }	Encode ABC excinuclease subunits UvrA and UvrB
<i>uvrB</i> }	
<i>umuC</i> }	Encode DNA polymerase V
<i>umuD</i> }	
<i>sulA</i>	Encodes protein that inhibits cell division, possibly to allow time for DNA repair
<i>recA</i>	Encodes RecA protein required for error-prone repair and recombinational repair
<i>dinB</i>	Encodes DNA polymerase IV
Genes involved in DNA metabolism, but role in DNA repair unknown	
<i>ssb</i>	Encodes single-stranded DNA-binding protein (SSB)
<i>uvrD</i>	Encodes DNA helicase II (DNA-unwinding protein)
<i>himA</i>	Encodes subunit of integration host factor, involved in site-specific recombination, replication, transposition, regulation of gene expression
<i>recN</i>	Required for recombinational repair
Genes of unknown function	
<i>dinD</i>	
<i>dinF</i>	

Note: Some of these genes and their functions are further discussed in Chapter 28.

Alcune delle proteine della risposta SOS (UvrA, UvrB) sono normalmente presenti a livello cellulare, ma la loro espressione viene significativamente indotta durante questo meccanismo di riparazione.

Altre, invece, sono espresse solo in questa occasione.