

Acidi nucleici e replicazione del DNA

- Derivati degli amminoacidi, ammine biologiche

Gli AA sono precursori di moltissime molecole; come l'eme, le ammine biologiche ed i neurotrasmettitori, nonché alcuni nucleotidi.

In particolare dalla glicina otteniamo l'eme, dall'arginina e dalla glicina la creatina; da glutammato, cisteina e glicina produciamo glutatione (importante nella difesa dai ROS). Dal glutammato si ottiene l'acido gamma aminobutirrico, ovvero il GABA (neurotrasmettitori inibitorio); dal triptofano si ottiene serotonina; dall'istidina istamina e dall'arginina il NO (monossido di azoto, importante nel controllo vasale e come neurotrasmettitori).

La più importante delle vie di derivati degli amminoacidi è quella che porta alle catecolammine. A partire dalla tirosina otteniamo infatti prima dopa, poi L-dopa, poi dopamina, ed infine noradrenalina ed adrenalina, ovvero le catecolammine vere e proprie, con funzioni di ormoni.

- Replicazione e riparazione del DNA: meccanismi a confronto in eucarioti e procarioti

La duplicazione è semiconservativa, ha un'origine e procede bidirezionalmente, è semidiscontinua, e l'attore principale del processo è la DNA polimerasi, e dovete saperne bene le proprietà. Quali sono? Essa è quella che aggiunge nucleotidi alla catena in crescita, è un enzima unidirezionale 5'-3' (direzione di crescita) ed aggiunge un nucleotide fosfato che impegna nel legame il suo 5' lasciando libero il proprio 3'. Quando si disegna il DNA alla lavagna, il 3'OH è sempre l'estremità che sta alla destra, perché è quella che può crescere. Non è sufficiente dire che ha un'azione unidirezionale: l'azione della polimerasi è irreversibile e non è capace di staccare il nucleotide; se lo fa usa un'altra attività enzimatica (nucleasi). Questo è fondamentale nella polimerizzazione del DNA, altrimenti sarebbe troppo lunga e incompleta.

Si hanno così due filamenti, un filamento veloce, che ha direzione di sintesi 5'→3' e un filamento lento, che va nel senso inverso. A causa di questo senso inverso tale filamento va prodotto in piccoli frammenti detti frammenti di okazaki.

Le polimerasi sono molte, anche se le differenze nel meccanismo catalitico sono minime, quindi quello che si dice per la duplicazione dei procarioti vale per gli eucarioti; la differenza sta nel controllo della duplicazione. Nei procarioti le differenze stanno in velocità e processività (nt aggiunti prima del distacco):

-polI → gene a, attività di proofreading e di polimerasi al contrario, 16-20 nt/s, proc 200 nt (collabora con polIII)

-polII → gene b, attività di proofreading, 16-20 nt/s

- polIII → gene c, attività di proofreading, 1000 nt/s, proc 500.000 nt (aggiunge i nt), più di 10 sub

-polIV → riparo

-polV → riparo

La polIII ha molte subunità, di cui la sub α ha attività polimerasica e la ϵ di correzione.

La polimerasi però non può fare la duplicazione da sola, ma servono una serie di proteine accessorie che sono strettamente legate all'origine della duplicazione e per tenere insieme il complesso della duplicazione (polIII, polII, primasi, elicasi, ligasi...).

La fedeltà delle DNA polimerasi è data dal numero di errori che può commettere ed ha un valore pari ad 1 errore su 10^9 - 10^{10} paia di basi. E' garantita da un insieme di fattori a diversi stadi.

- Forche replicative aperte solo in risposta ad un segnale esterno ben preciso.
- Le concentrazioni di nucleotidi in entrata nel suo sito attivo sono equimolari in modo che nessuno prevalga e rimanga di più nel sito di aggancio solo perché ve ne è in maggior quantità.
- Meccanismo catalitico basato sull'appaiamento Watson e Crick.
- Attività di proofreading, prima che venga aggiunto il nucleotide successivo viene controllato che quello appena agganciato sia corretto.

Di base la fedeltà però ammonta ad 1 errore ogni 10^6 - 10^7 nucleotidi, ma si passa ad una molto maggiore grazie agli ATTIVI SISTEMI DI RIPARO DEL DNA. Questi meccanismi di controllo entrano in funzione a DOPO LA SINTESI controllando che tutto ciò che è avvenuto sia corretto. Se vi sono stati errori questi causano una deformità dell'elica, un cambiamento nella geometria delle coppie e proprio la geometria non corretta viene riconosciuta. Appurato che vi è un errore nell'appaiamento di una coppia di basi, come facciamo a capire su quale catena è l'errore? Il meccanismo è stato spiegato nei batteri, ma rimane ancora oscuro per gli eucarioti. nei batteri si va a controllare il grado di metilazione, evento post sintesi del DNA. Le adenine vengono metilate, ma il filamento nuovo non presenta ancora delle metilazioni e quindi le adenine metilate marcano il filamento parentale. Una volta individuato l'errore, si sostituisce il nucleotide errato tagliando un'intera porzione di DNA vicino al nucleotide grazie ad esonucleasi. Dopodiché interviene la DNA polimerasi III che ricostruisce il segmento e la ligasi che forma l'ultimo legame fosfodiesterico. Anche noi possediamo simili meccanismi di riparo perché le nostre proteine hanno un'altissima omologia con quelle batteriche, ma le nostre adenine non sono metilate. Si può riconoscere il filamento nuovo in ritardo perché appena dopo la fine della sintesi ci sono ancora frammenti di Okazaki che non sono ancora stati saldati tra loro, ma il problema persiste per il filamento leading.

La fedeltà della polimerasi sono date quindi da proprietà cinetiche e dalle condizioni che la cellula stabilisce.