

a.a. 2016-17

CORSO DI LAUREA IN INFERMIERISTICA

Dott.ssa Marilena Greco

Biologia applicata

Mitosi e Meiosi

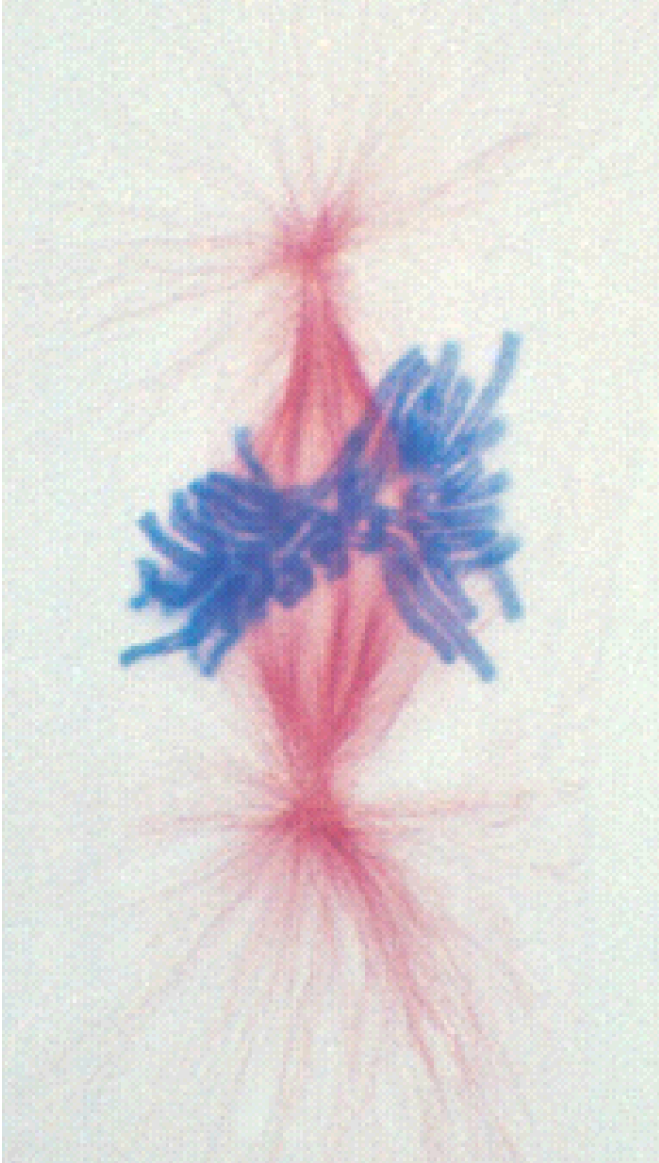
Quando le cellule raggiungono una certa dimensione devono arrestare l'accrescimento o dividersi.

La divisione cellulare eucariotica coinvolge due principali processi la **mitosi** e la **citocinesi**.

La MITOSI è un processo complesso che interessa il nucleo e assicura che ogni nuovo nucleo riceva lo stesso numero e gli stessi tipi di cromosomi che erano presenti nel nucleo di origine.

La CITOCINESI consiste nella divisione del citoplasma della cellula per formare due cellule figlie.

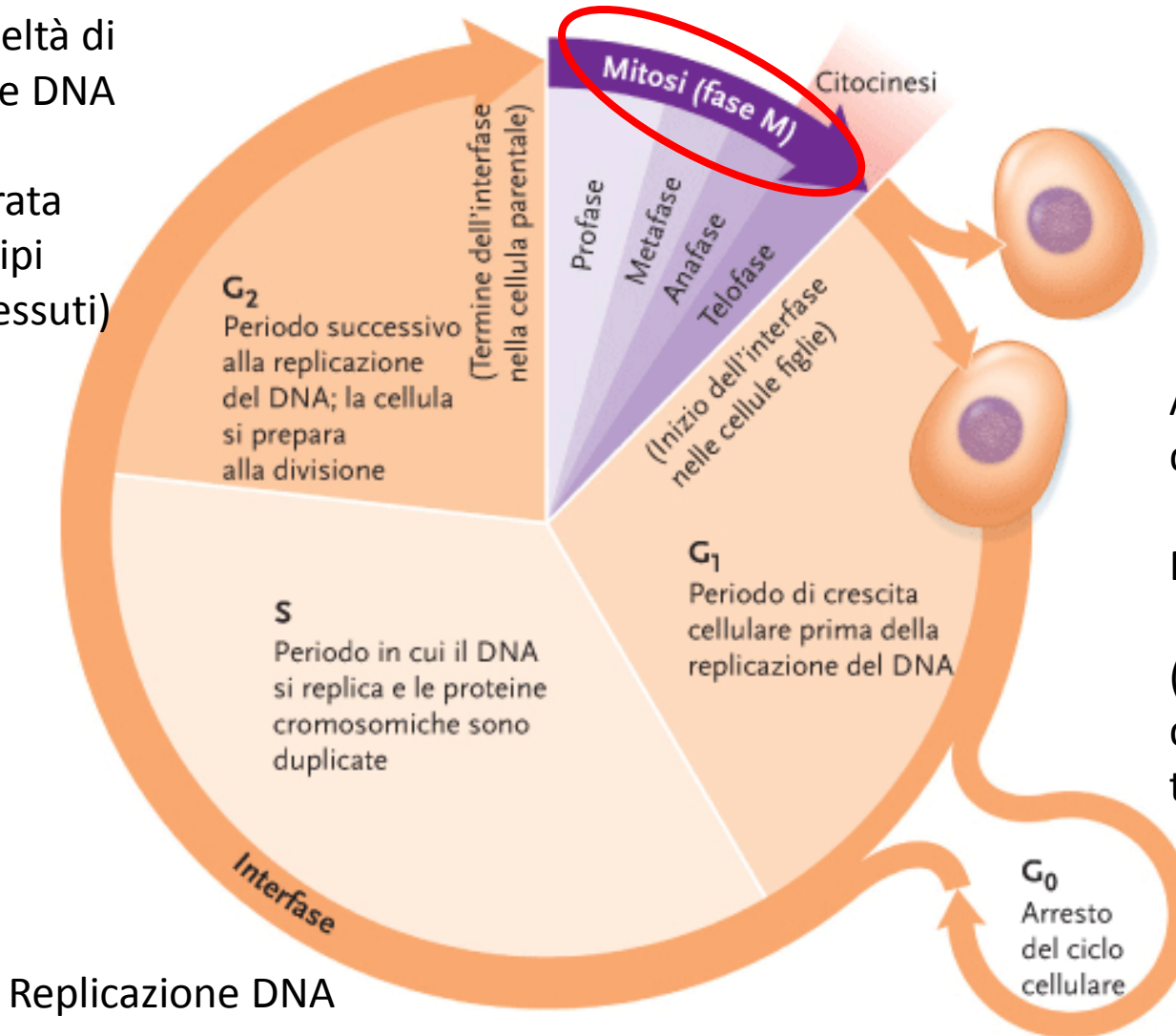
Tutte le cellule di un organismo pluricellulare derivano da un'unica cellula- lo zigote o cellula uovo fecondata. Successivamente la cellula si accresce e si divide a sua volta (*ciclo cellulare*). Le cellule figlie si specializzano a formare i vari tessuti dell'organismo (*differenziamento cellulare*)



- il ciclo cellulare è un'alternanza di mitosi ed interfase

Verifica fedeltà di replicazione DNA

(diversa durata nei diversi tipi cellulari e tessuti)



Accrescimento di dimensioni

Fattori di crescita

(diversa durata nei diversi tipi cellulari e tessuti)

MITOSI

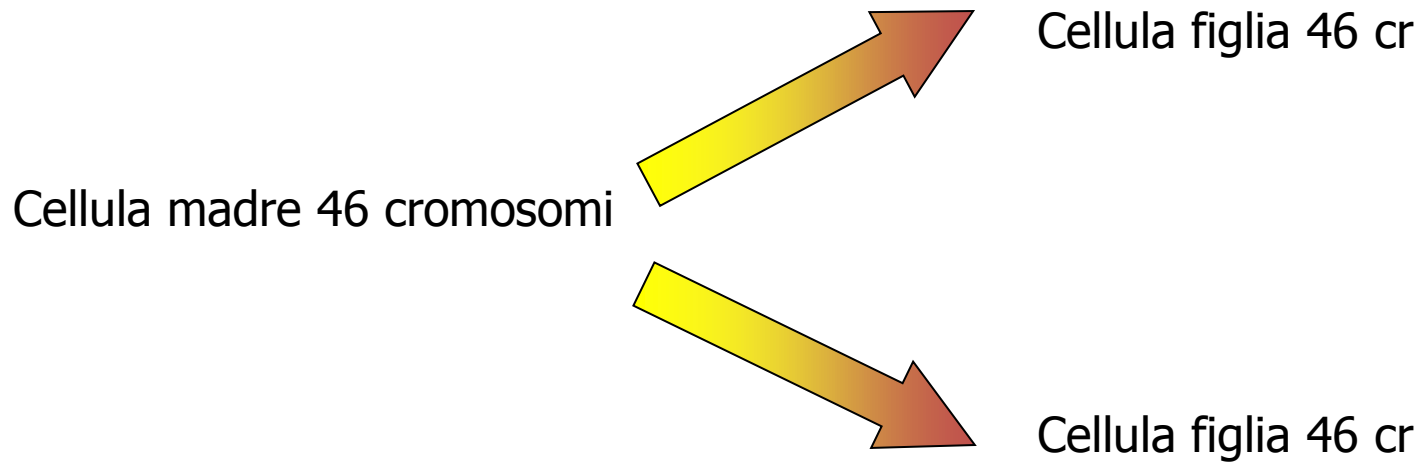
PROCESSO DI DIVISIONE CELLULARE CHE GARANTISCE LA CONSERVAZIONE E LA DISTRIBUZIONE DELLO STESSO NUMERO DI CROMOSOMI DA UNA CELLULA MADRE ALLE DUE CELLULE FIGLIE.

IL MATERIALE CROMOSOMICO SI RADDOPPIA **UNA** VOLTA E LA CELLULA SI DIVIDE **UNA** VOLTA.

La mitosi produce sempre due cellule geneticamente identiche alla cellula madre.
ASSEGNAZIONE OMOGENEA DEI COMPONENTI CELLULARI.

Il patrimonio genetico delle cellule figlie è DIPLOIDE ($2n$) : n coppie di cromosomi omologhi.

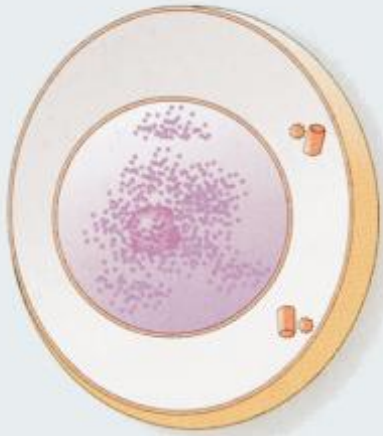
PLOIDIA = indica il numero delle serie di cromosomi delle cellule di un organismo



Fasi della Mitosi:

1. Profase
2. Metafase
3. Anafase
4. Telofase

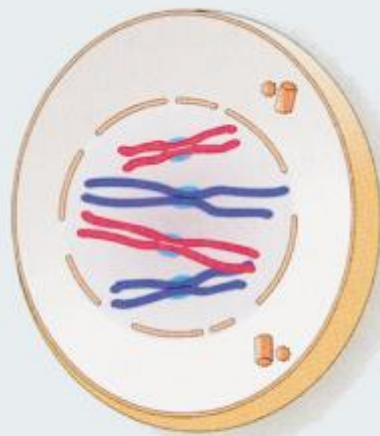
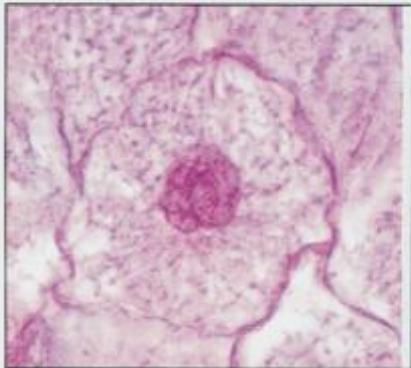
Profase-Metafase



INTERFASE

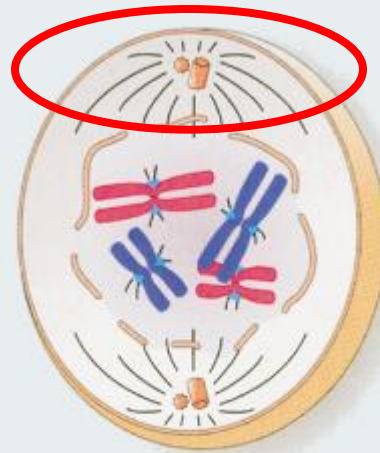
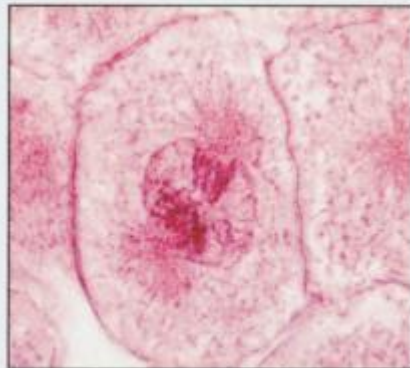
La cellula svolge le sue normali funzioni vitali. I cromosomi si duplicano.

Animali



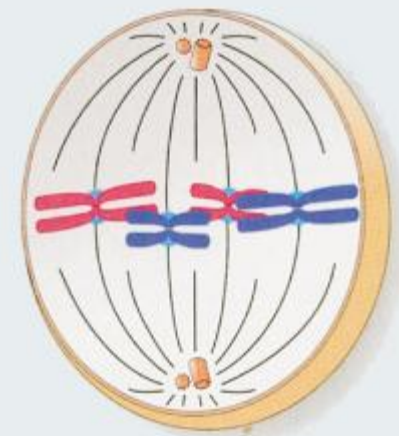
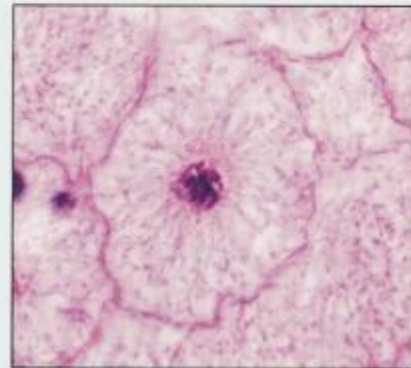
PROFASE INIZIALE

L'involucro nucleare e il nucleolo scompaiono. Divengono evidenti lunghi filamenti di cromatina che cominciano a condensarsi in forma di cromosomi.



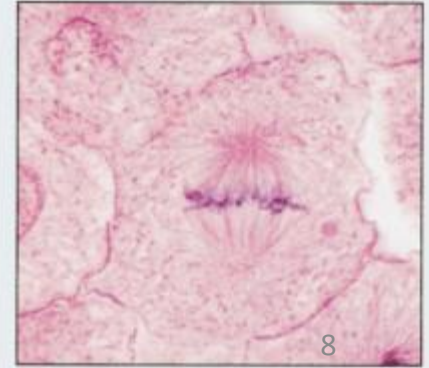
TARDA PROFASE

I cromosomi continuano ad accorciarsi e ad ispessirsi. Si forma il fuso tra i centrioli che si sono portati ai poli della cellula.



METAFASE

Le fibre del fuso si attaccano ai cinetocori dei cromosomi. I cromosomi si allineano lungo il piano equatoriale della cellula.

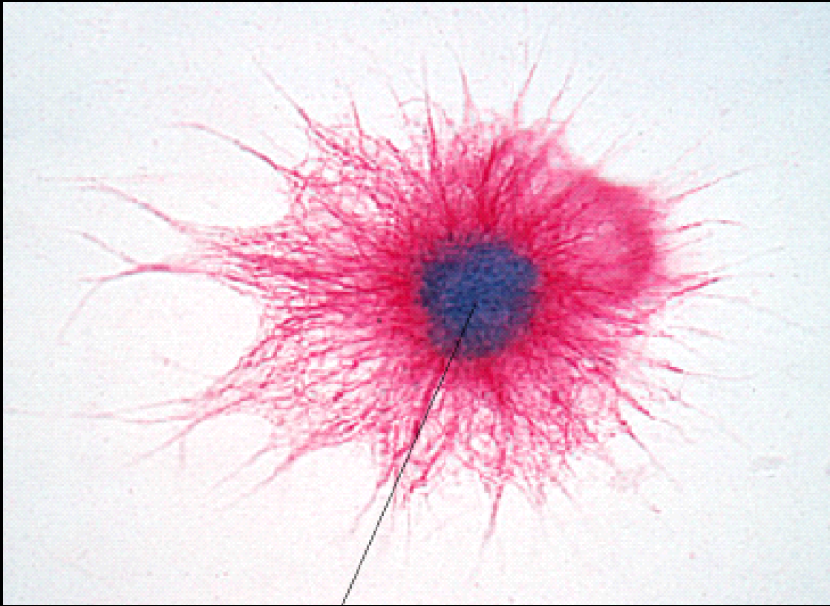


Stadi della Mitosi

Interfase: (G2)

segue la duplicazione del DNA avvenuta in fase S

I cromosomi con il cromatide fratello appaiono dispersi e i centrioli duplicati



Profase precoce:

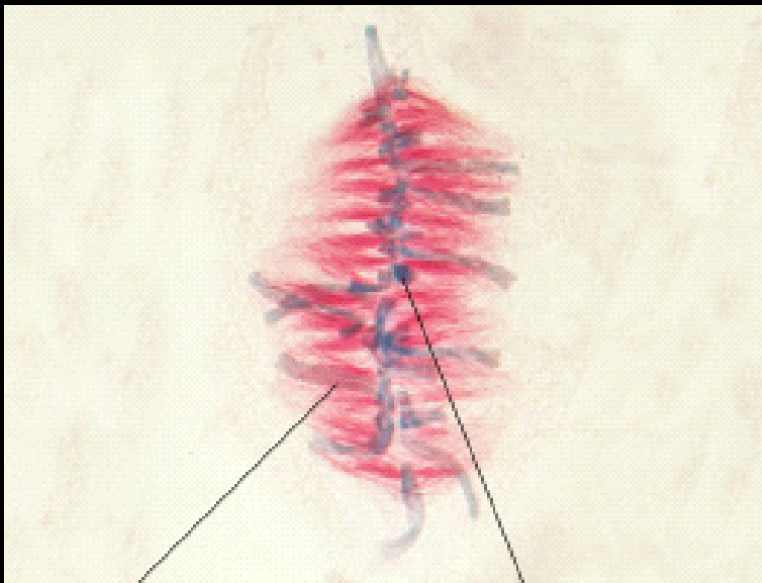
I centrosomi, con i centrioli figli, si muovono ai poli opposti. I cromosomi sono visibili e la membrana nucleare si disgrega in piccole vescicole



Stadi della Mitosi

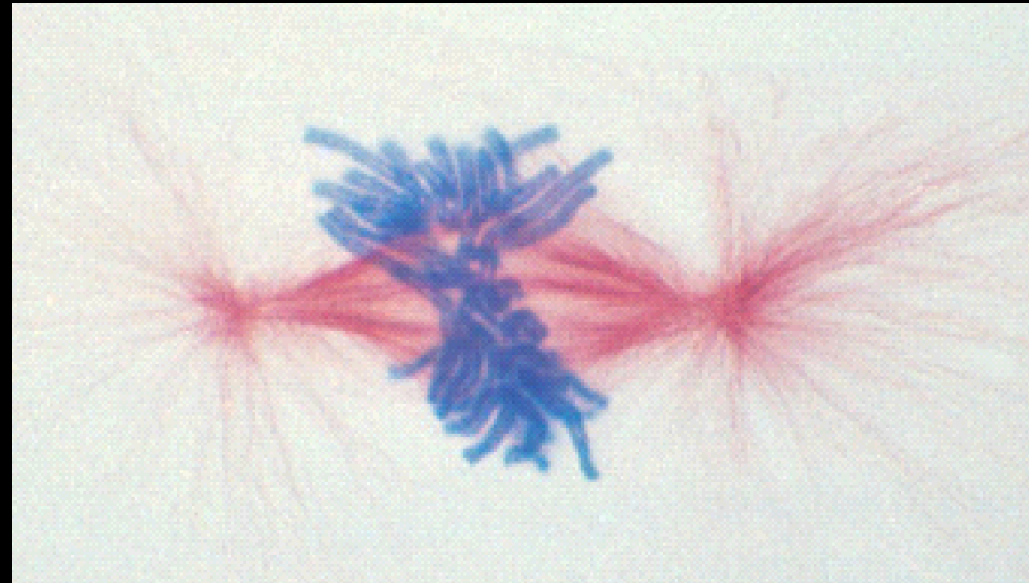
Profase centrale e tardiva:

La condensazione dei cromosomi completa;
cromatidi fratelli uniti ai centromeri.
I MT del fuso agganciano i cinetocore



Metafase:

I cromosomi muovono verso l'equatore
e si allineano.
I cromatidi fratelli sono ancora uniti



Stadi della Mitosi

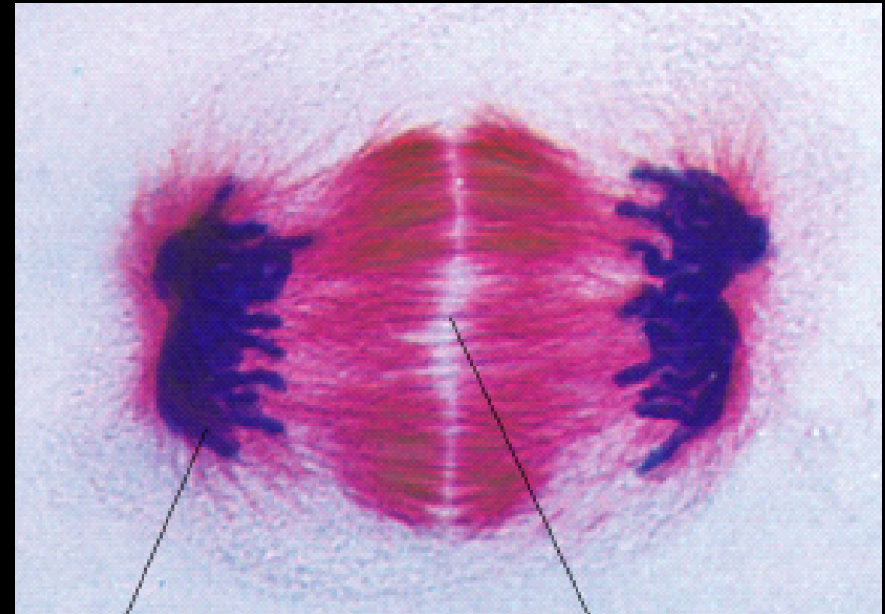
Anafase:

I cromatidi si separano come cromosomi indipendenti.

La cellula si allunga e così anche il fuso. Comincia la citodieresi e si comincia a formare il solco di divisione

Telofase:

Si riformano le membrane nucleari; i cromosomi si despiralizzano; riappare il nucleolo. CITODIERESI è quasi completa e i MT del fuso depolimerizzano. Termina la citodieresi



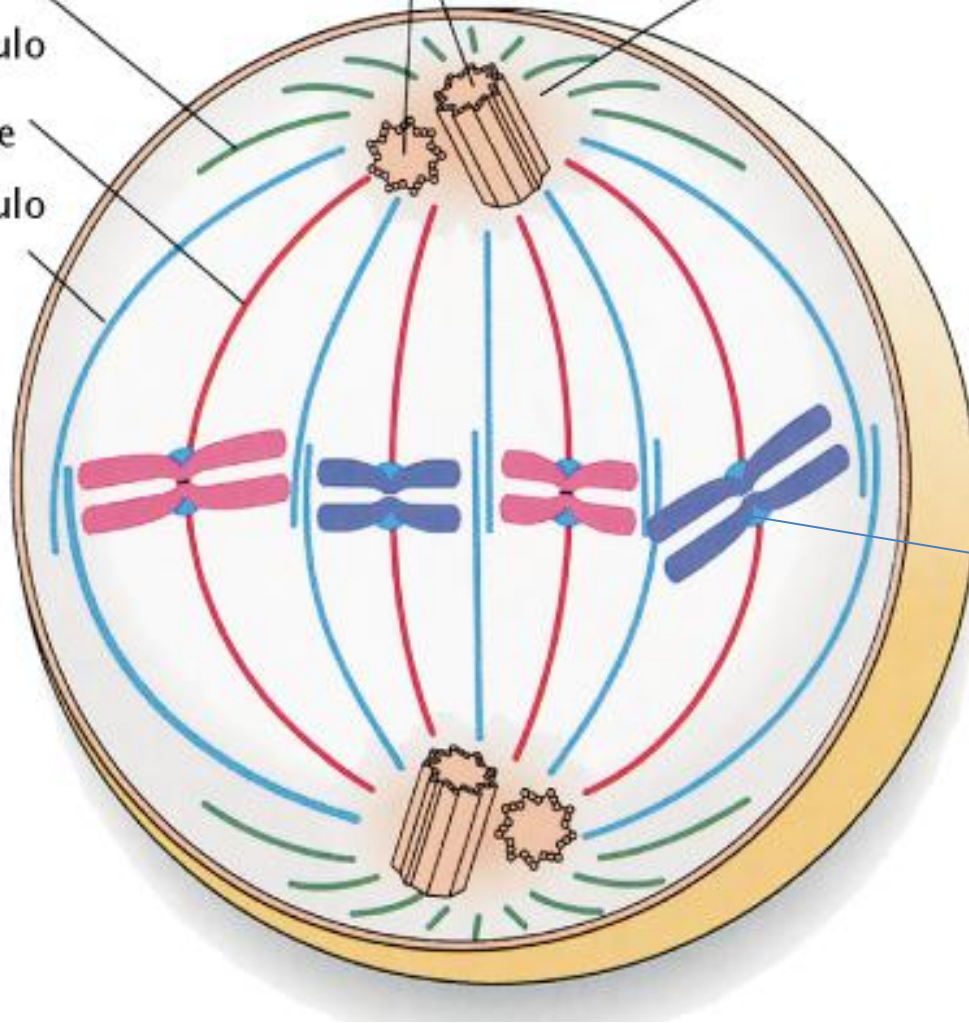
Microtubulo
astrale

Centrioli

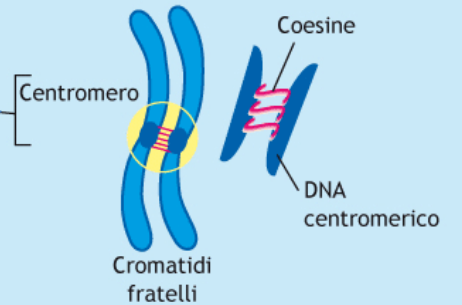
Materiale
pericentriolare

Microtubulo
del
cinetocore

Microtubulo
polare



PROFASE



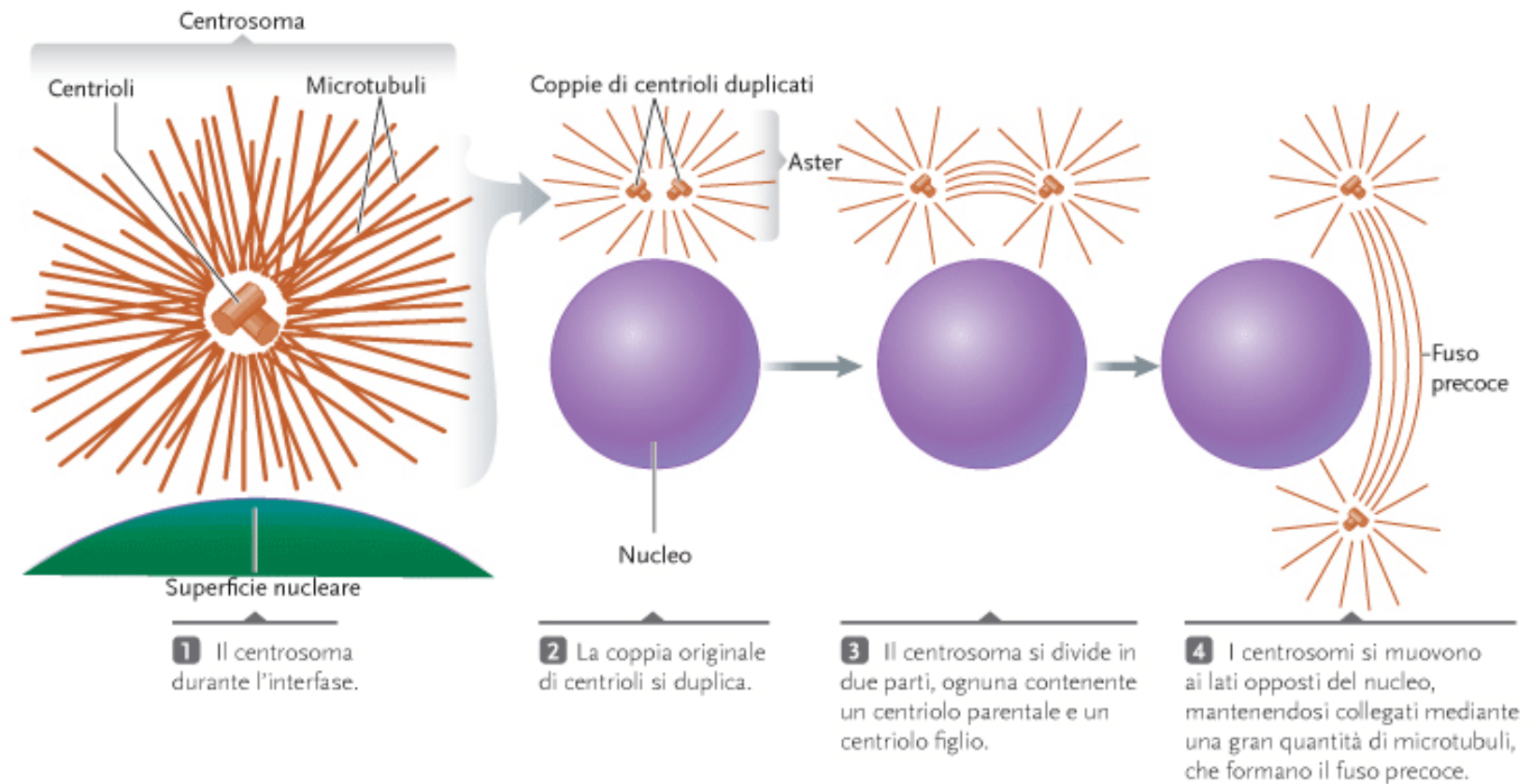
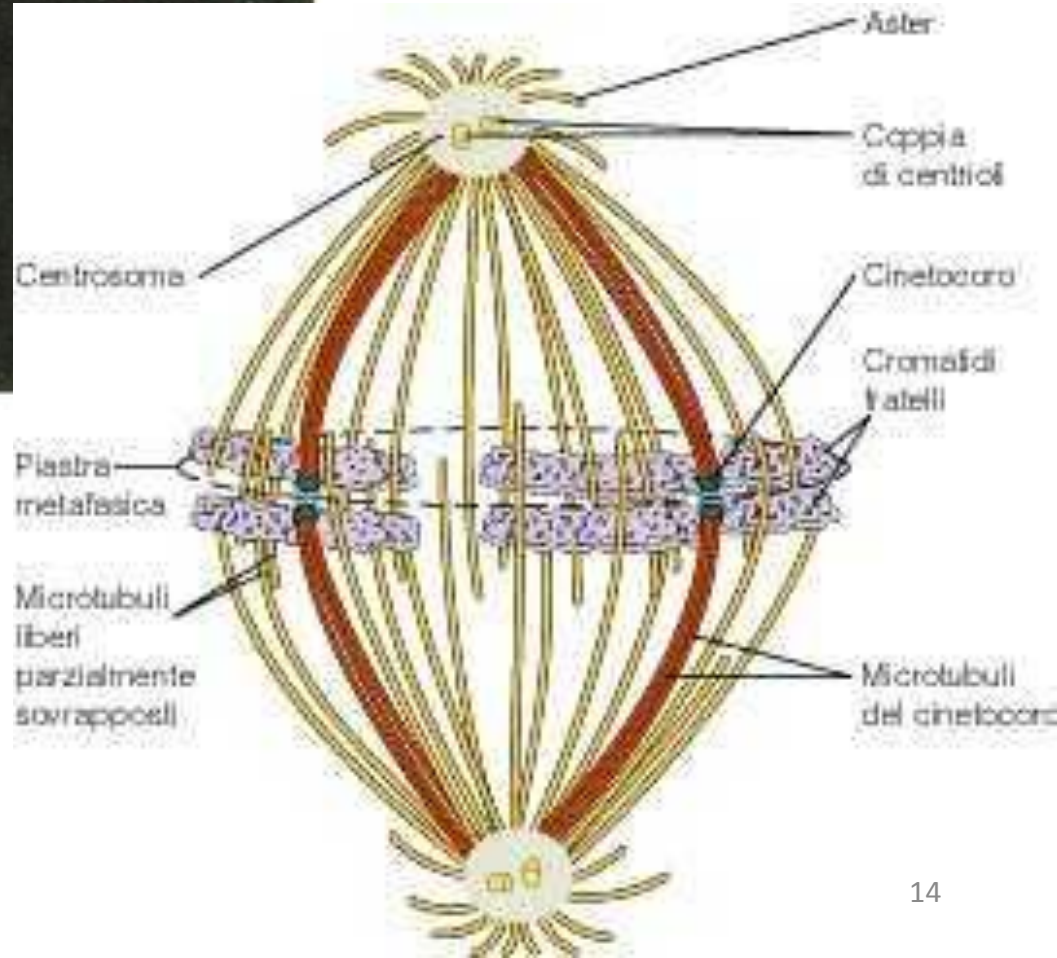
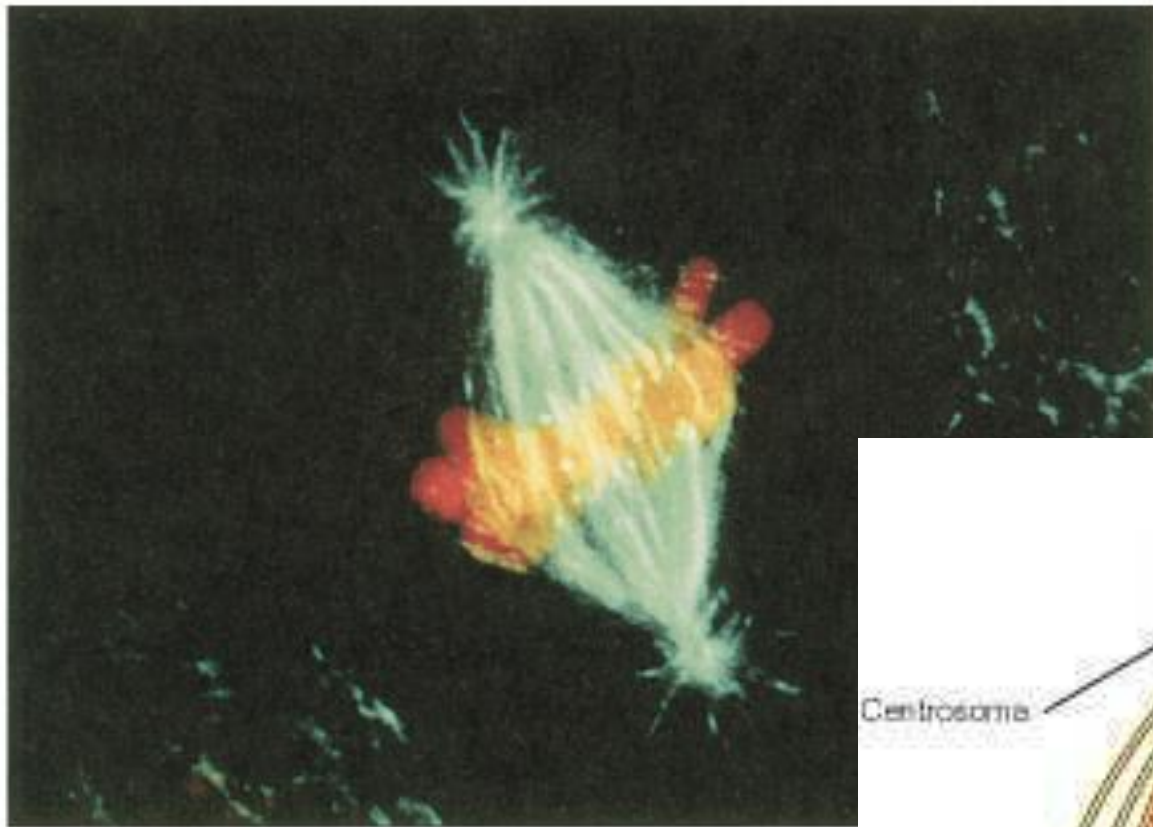
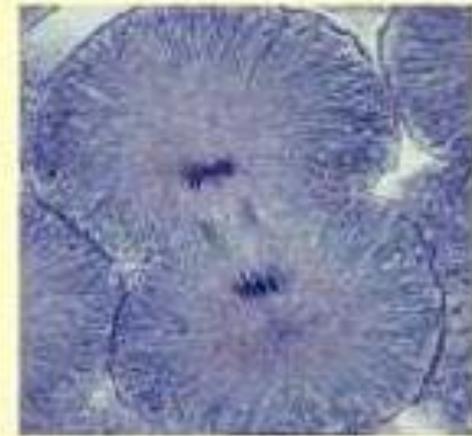
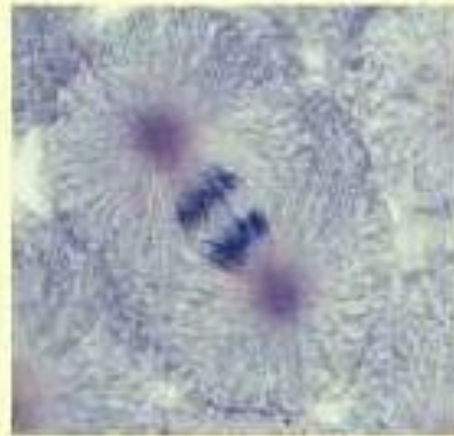
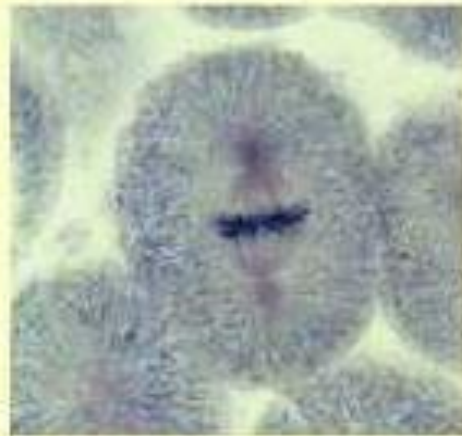
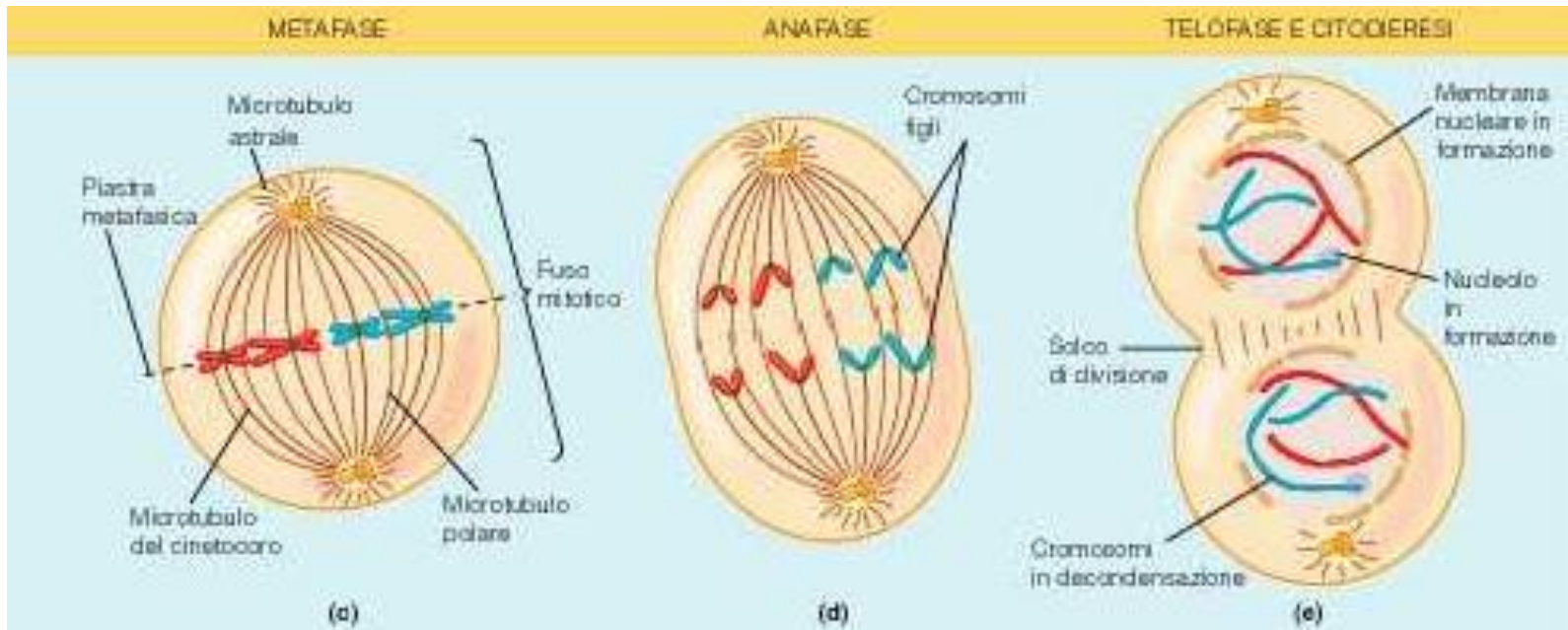


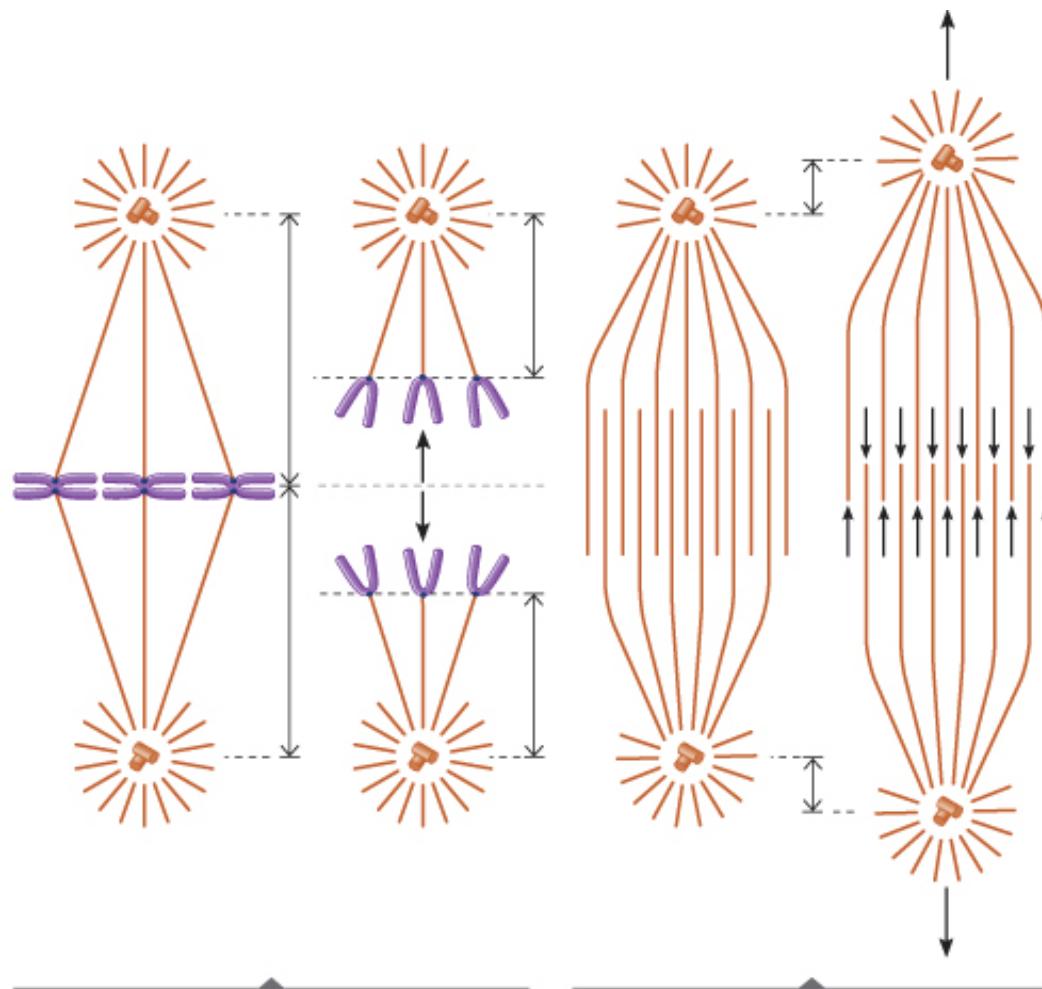
Figura 10.10
Il centrosoma e il suo ruolo nella formazione del fuso.



Metafase-Anafase-Telofase



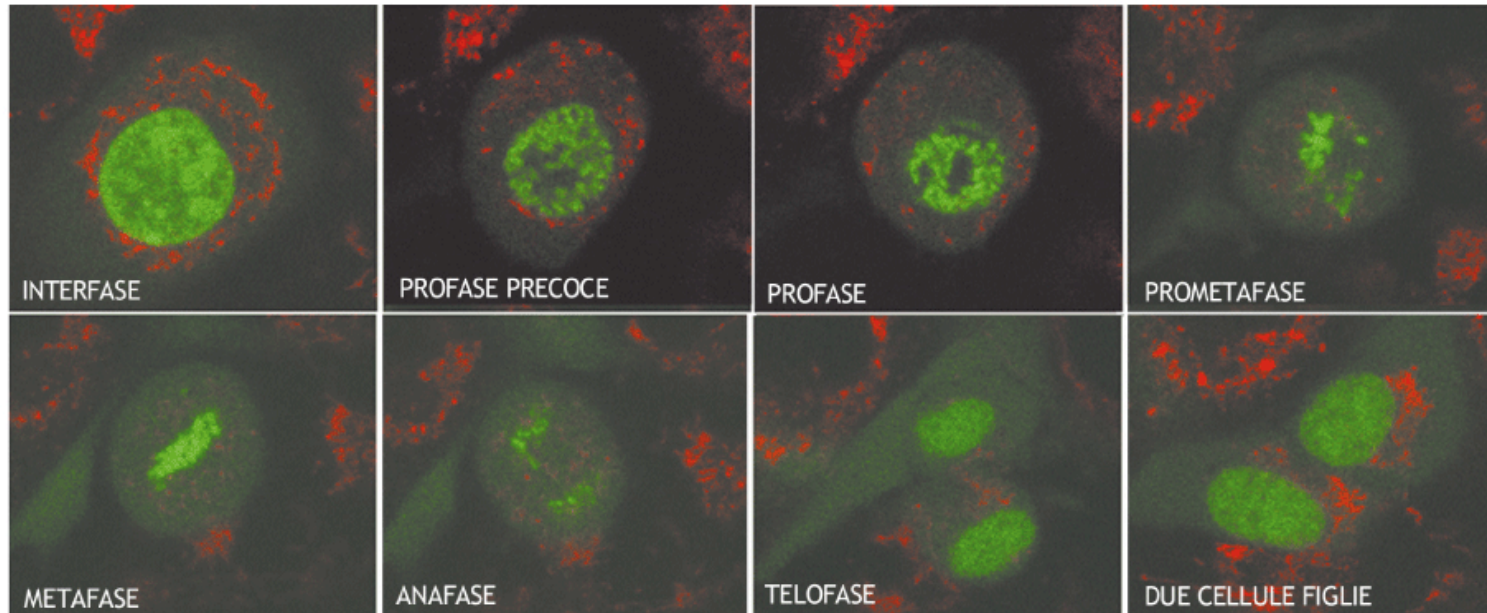
25 μ m



a. I microtubuli del cinetocore, collegati ai cinetocori dei cromosomi, diventano più corti riducendo la distanza tra i cromosomi e i poli.

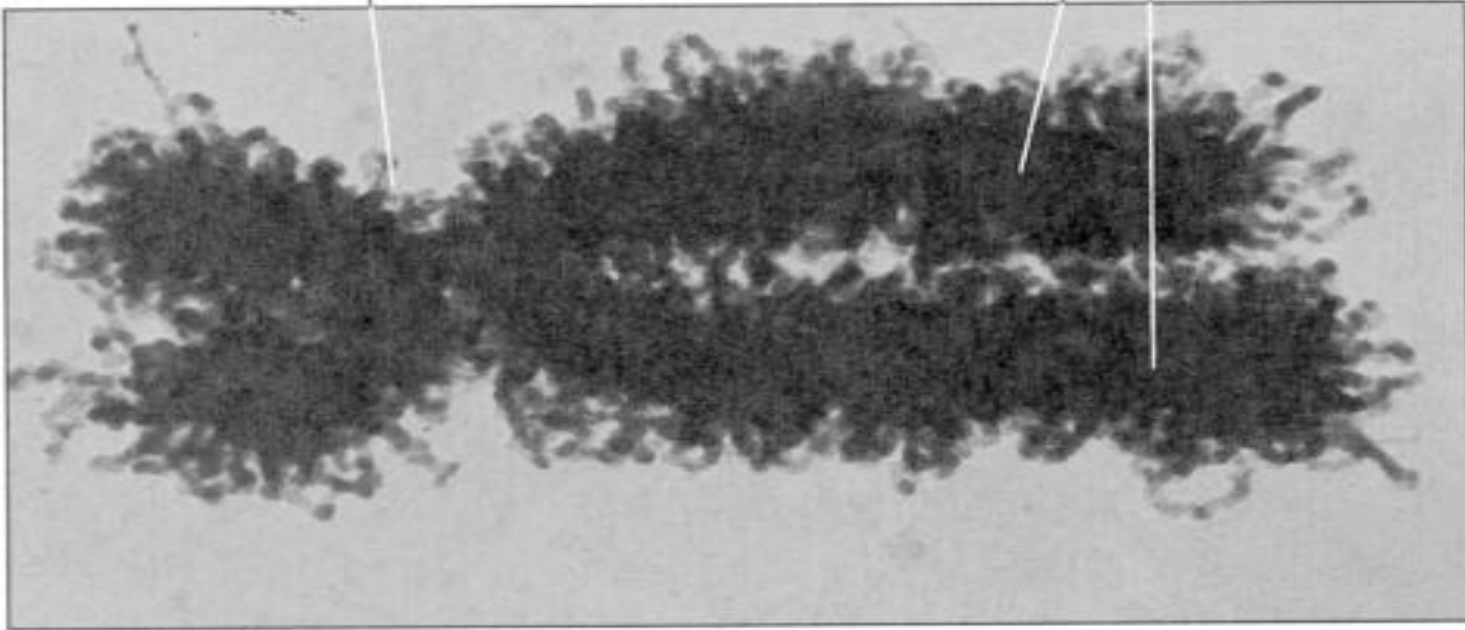
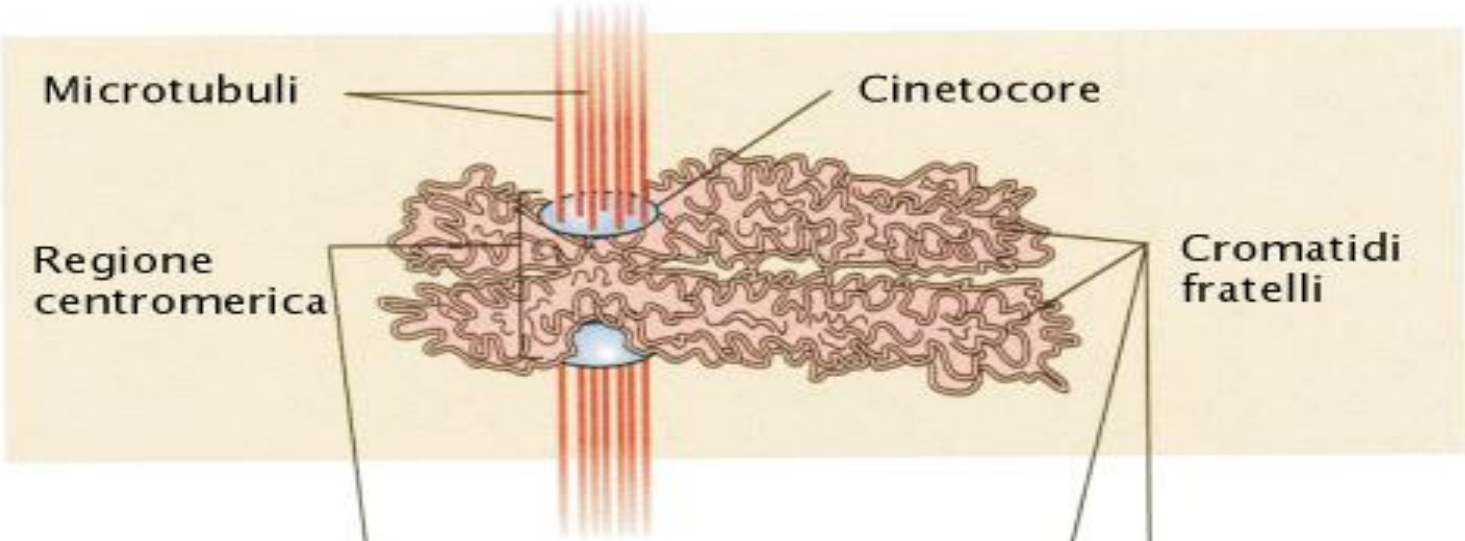
b. Lo scivolamento dei microtubuli non associati al cinetocore nella regione di sovrapposizione nella porzione mediana del fuso spinge i poli ad allontanarsi ulteriormente e aumenta la lunghezza totale del fuso.

Fasi mitotiche – microscopia confocale a fluorescenza



IN VERDE : nucleo della cellula evidenziato dalla proteina istonica H1 fusa alla Green Fluorescent Protein GFP che si lega al DNA

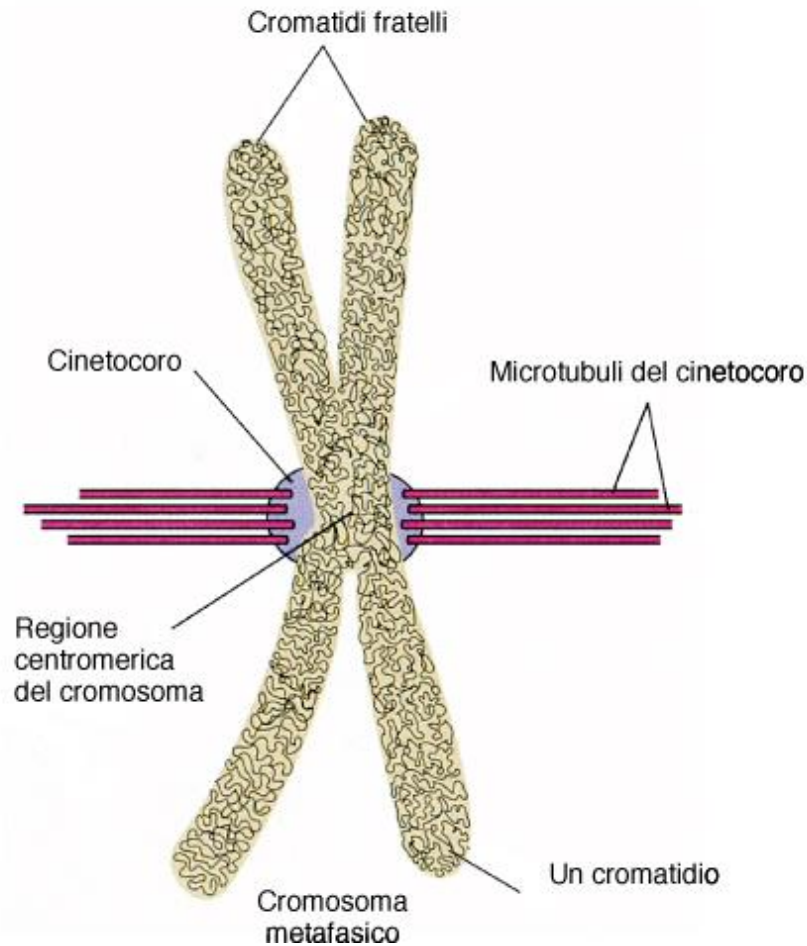
IN ROSSO: la tetra metil rodamina TMRM evidenzia i mitocondri nel citoplasma cellulare.



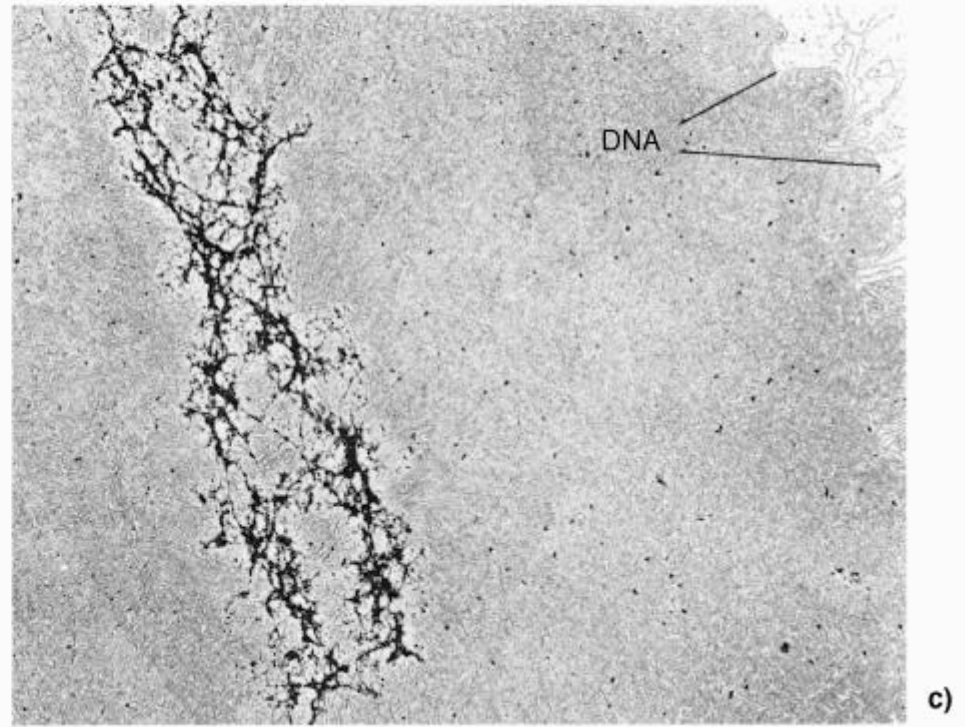
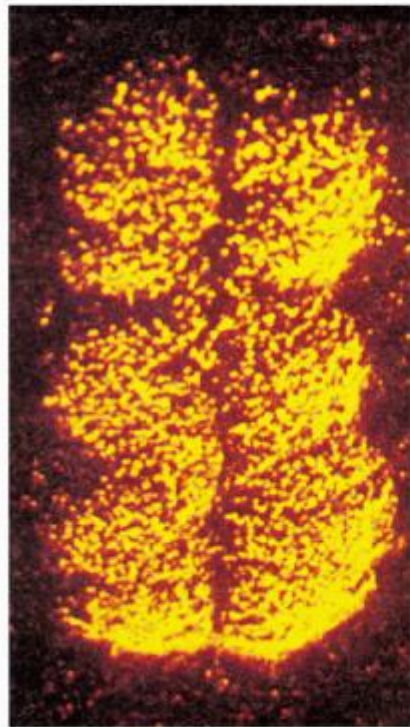
una

Metafase:

i cromosomi sono allineati lungo il piano equatoriale della cellula (piastra metafasica) e prendono contatto con i microtubuli.



Cromosoma umano metafasico. (a) Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione di un cromosoma intatto. (b) Fotografia colorata al microscopio elettronico a scansione di un cromosoma intatto. (c) Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione di un cromosoma privato della maggior parte delle proteine; i filamenti di DNA si sono svolti.



Anafase:

ha inizio quando le forze che tengono uniti i cromatidi fratelli in corrispondenza dei loro centromeri si allentano. Ogni **cromatide** è ora considerato come un cromosoma indipendente.

I cromosomi disgiunti migrano lentamente ai poli opposti grazie ai cinetocori, ancora uniti ai microtubuli del fuso, che ne guidano il cammino.

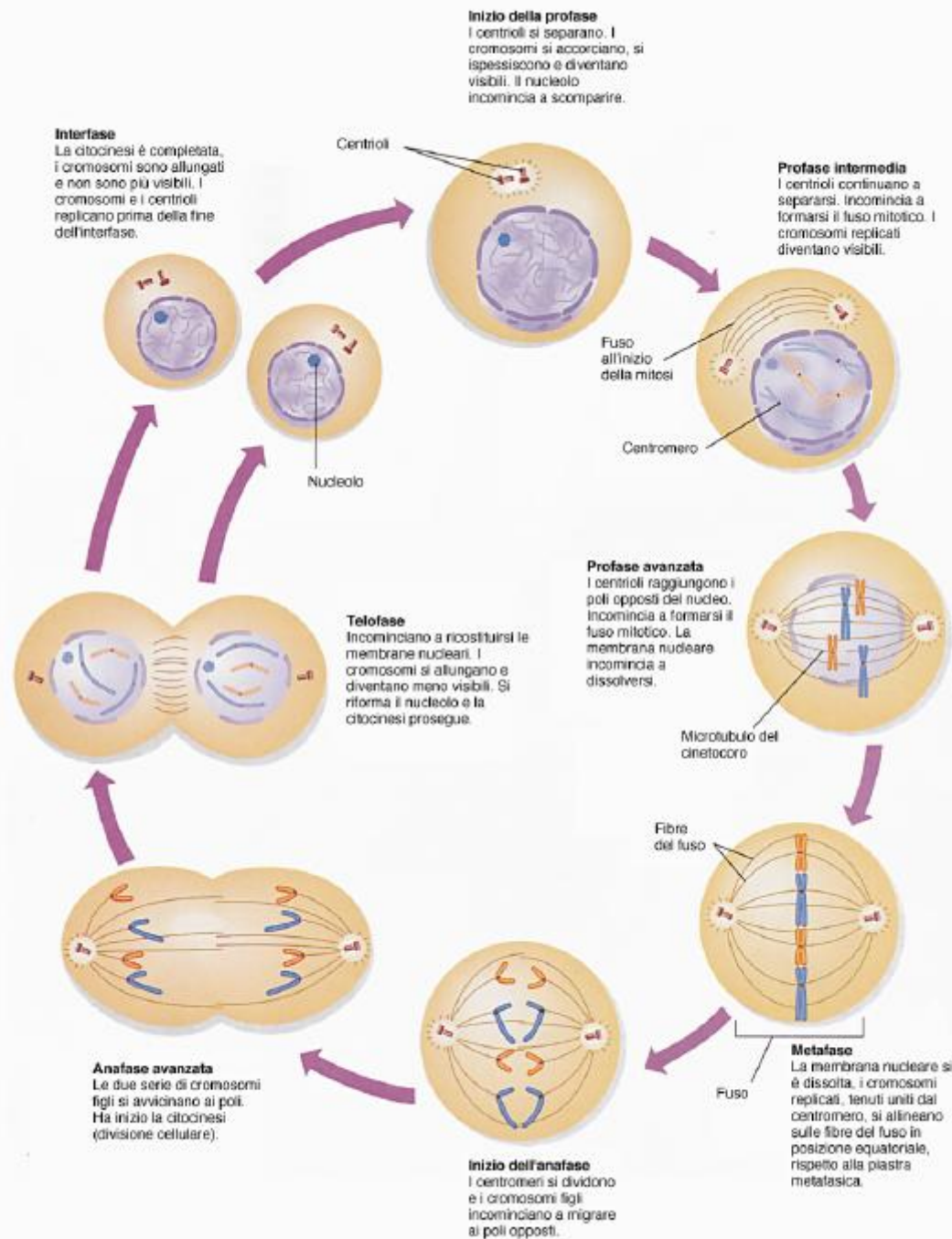
L'anafase termina quando tutti i cromosomi hanno raggiunto i poli.

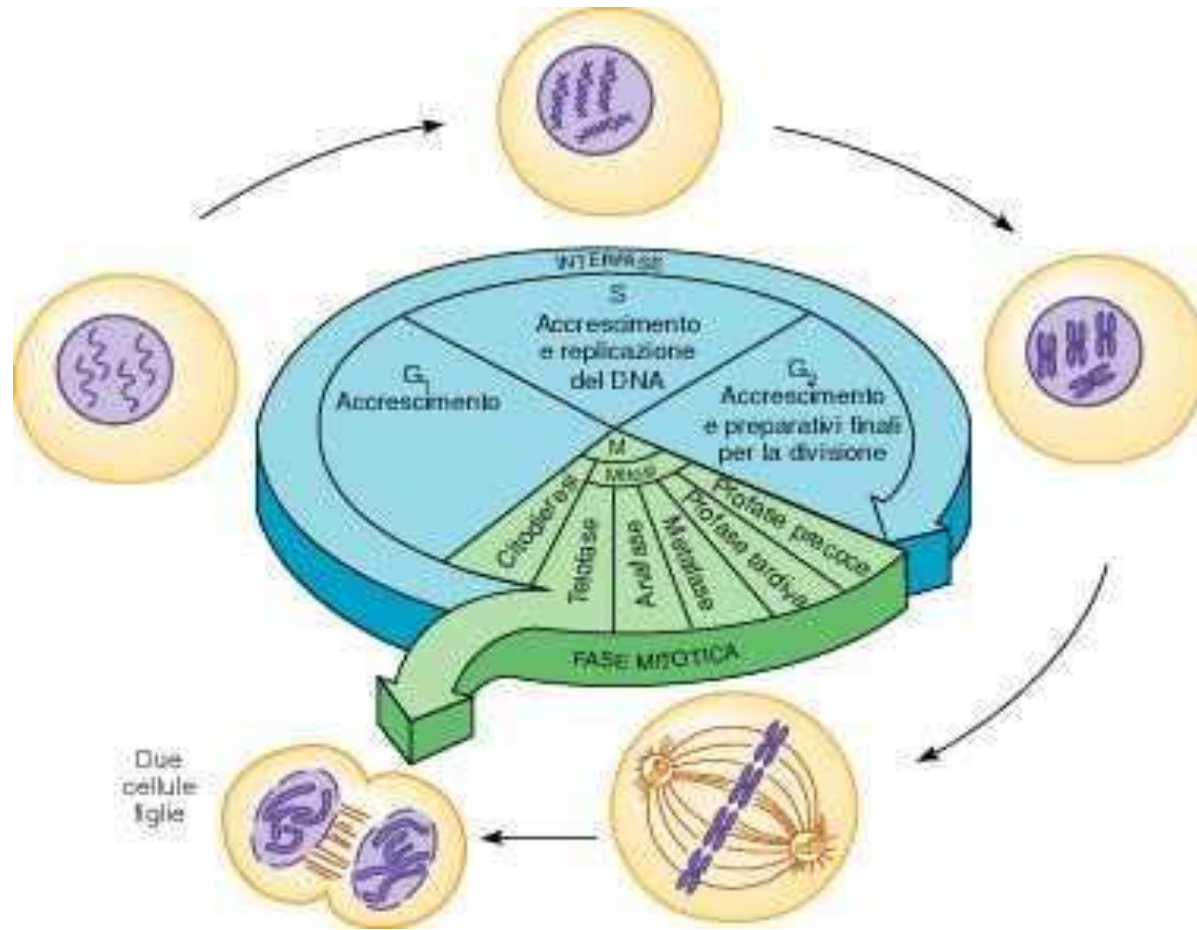
Telofase:

è lo stadio finale della mitosi, caratterizzato dal ritorno ad una condizione simile a quella di interfase.

I cromosomi si decondensano srotolandosi.

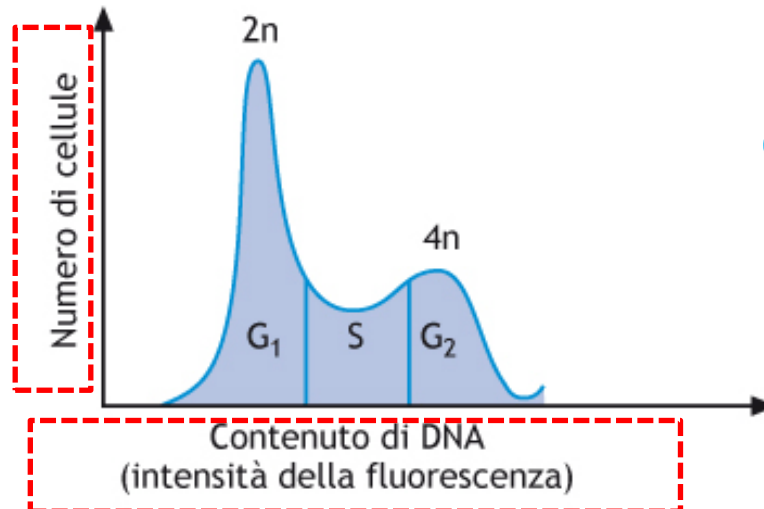
Attorno ad ogni serie di cromosomi si sviluppa un involucro nucleare.





Le cellule attraversano una serie di stadi chiamati fasi G1, S, G2 e M. La cellula diploide di partenza aveva due coppie di cromosomi, per un totale di 4 cromosomi. Durante la fase S questi si sono replicati per dare 8 cromatidi fratelli. Al termine della mitosi vi sono 2 cellule figlie, ciascuna delle quali contiene 4 cromosomi.

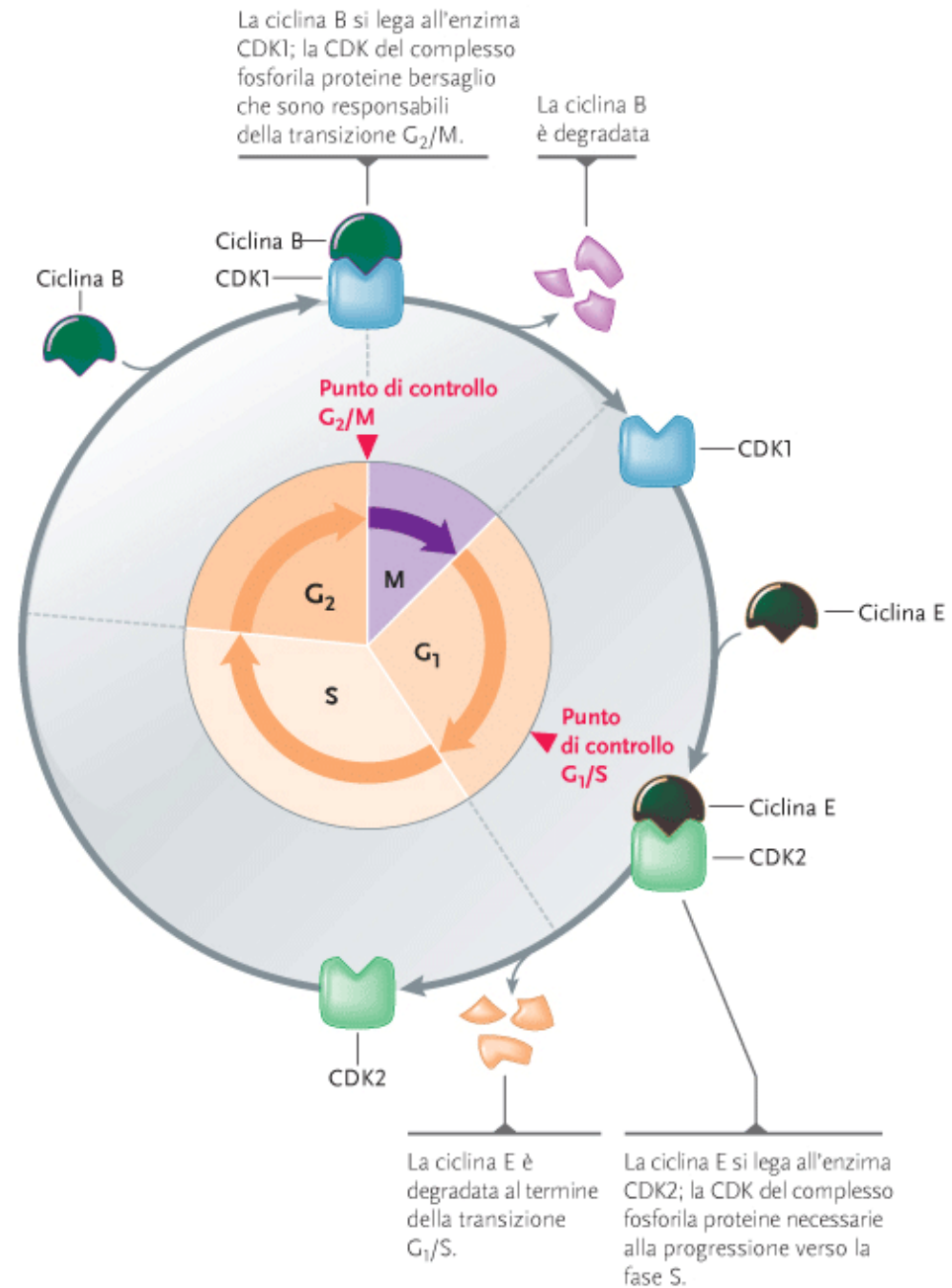
Metodiche per l'analisi del ciclo cellulare: Citofluorimetria



nella fase G₁ le cellule sono diploidi (2n), nella fase S si ha una situazione eterogenea, nella fase G₂ il contenuto di DNA è raddoppiato (4n)

Figura 7.6 Analisi della quantità (n) di DNA in una popolazione cellulare mediante citofluorimetria dopo colorazione con ioduro di propidio. In ascissa è rappresentato il contenuto di DNA, mentre in ordinata il numero di cellule. Nella fase G₁ la quantità di DNA è pari a 2n, in G₂ è pari a 4n, mentre in S è eterogenea variando da 2n a 4n.

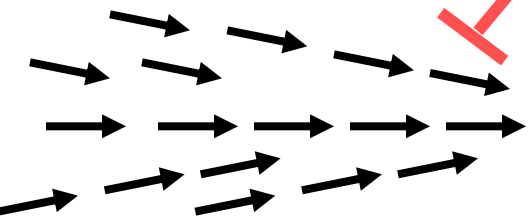
Figura 10.15
 Il controllo ciclina/CDK
 delle transizioni G_1/S e
 G_2/M del ciclo cellulare.



Il ciclo cellulare - panoramica

Stimoli proliferativi

Inibizione da contatto



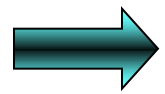
Stimoli anti-proliferativi



G0



G1



Danni al DNA



S



G2



Danni alle strutture di replicazione



Cromosomi non allineati

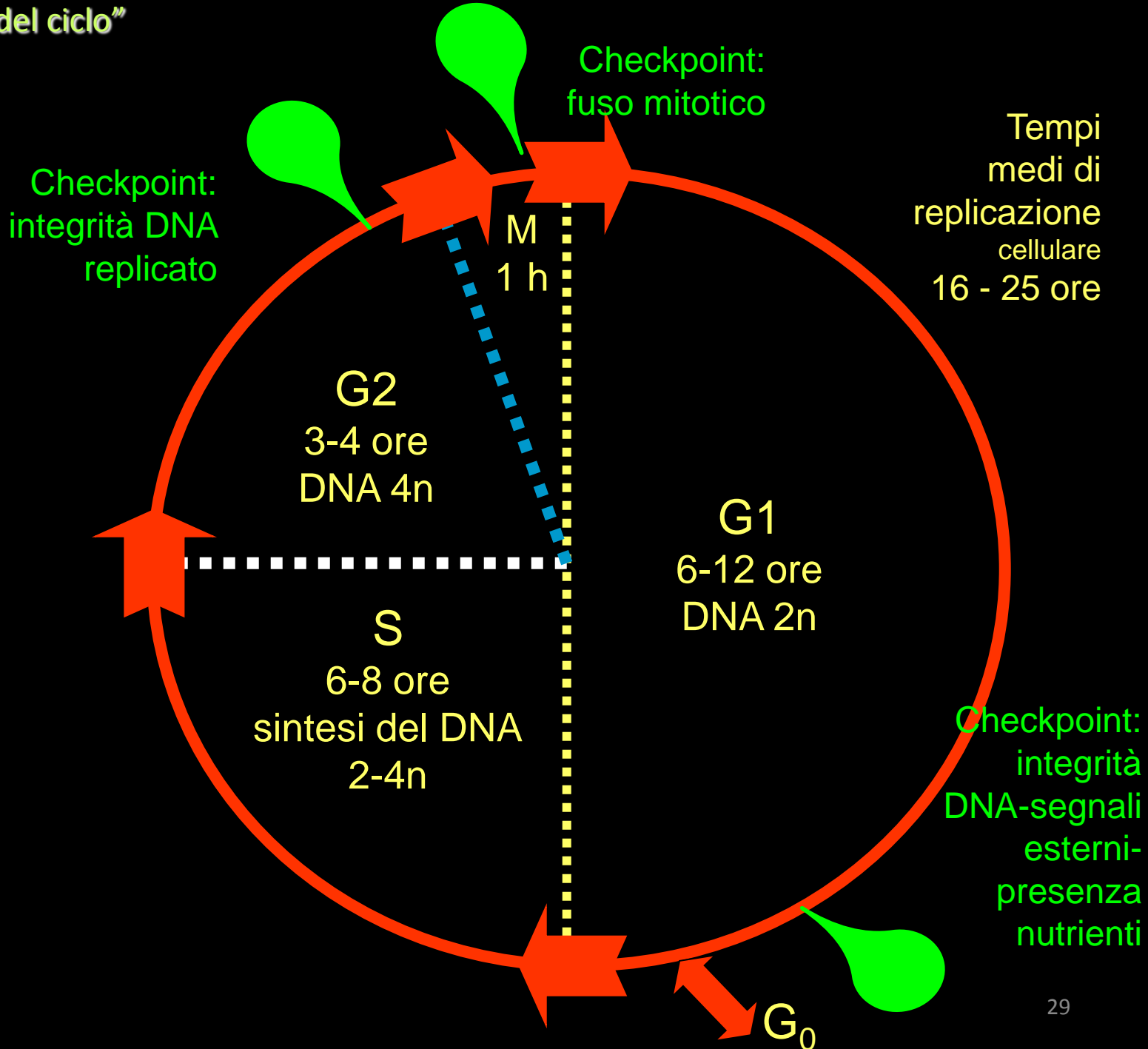


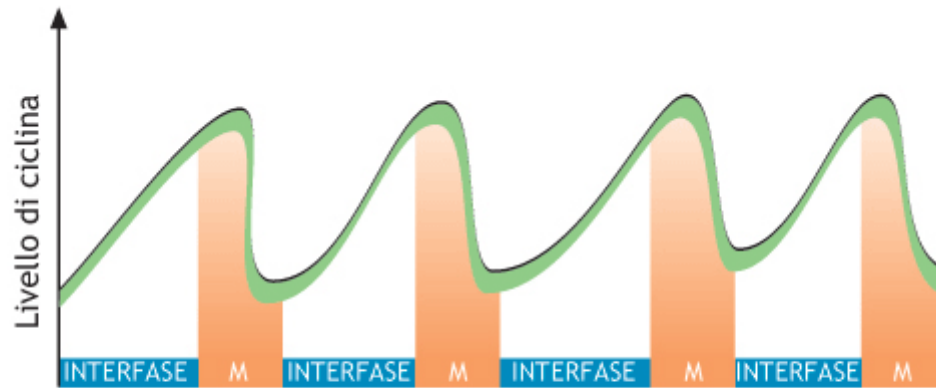
ANAFASE



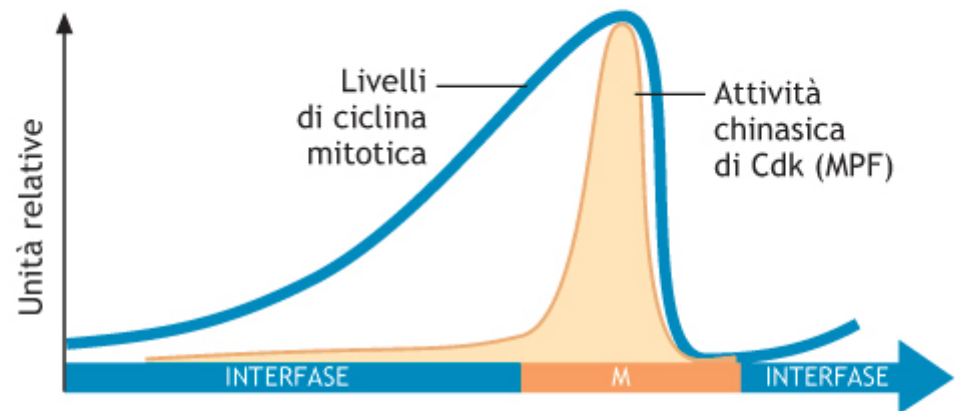
Cinetore non attaccati

"l'orologio del ciclo"



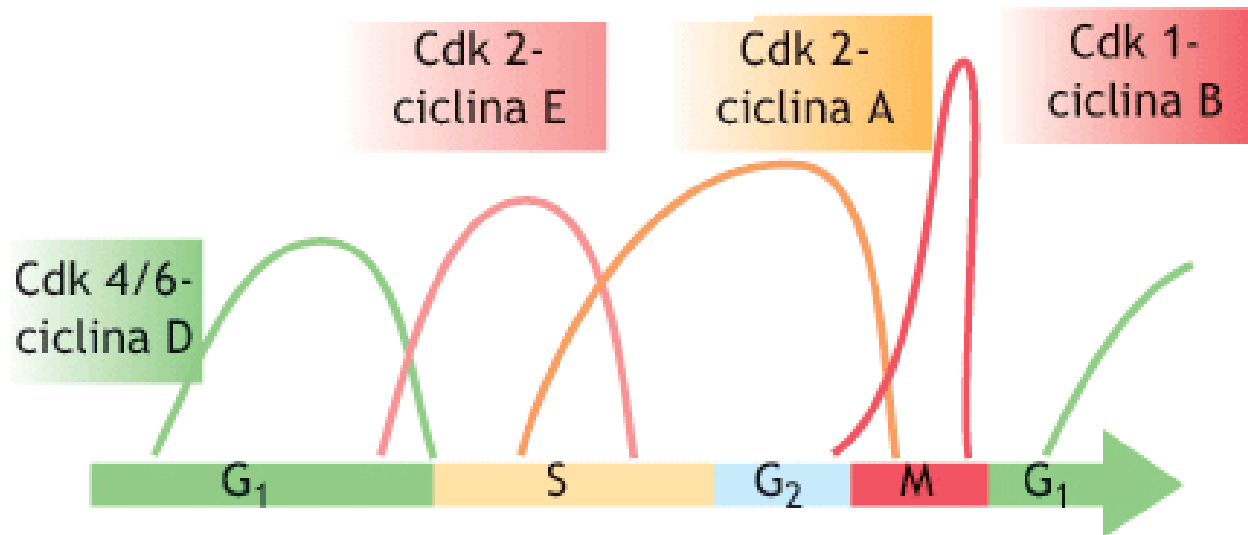


■ **FIGURA 7.11** **Variazione nei livelli della ciclina mitotica durante il ciclo cellulare.** La ciclina si accumula durante l'interfase, raggiunge i suoi livelli più alti all'inizio della mitosi e poi scompare durante la mitosi.



■ **FIGURA 7.12** **Analisi comparativa dei livelli della ciclina B (mitotica) e dell'attività di Cdk nel corso del ciclo cellulare.** All'accumulo progressivo di ciclina durante l'interfase non corrisponde un'attivazione progressiva dell'attività chinasi, la quale invece si manifesta repentinamente solo alla transizione $G_2 \rightarrow M$.

Il ciclo cellulare –
ESISTONO DIVERSE CDK E DIVERSE CICLINE
NELLE DIFFERENTI FASI DEL CICLO



■ **FIGURA 7.16** **Espressione delle diverse cicline durante le diverse fasi del ciclo cellulare.** Le linee colorate indicano l'attività chinasi dei diversi complessi Cdk-ciclina durante le differenti fasi del ciclo nei mammiferi. Le attività dei diversi complessi identificano bene le differenti fasi del ciclo cellulare.

MEIOSI

Gli organismi superiori si riproducono mediante l'unione di due cellule sessuali specializzate, i **gameti** (aploidi) che si uniscono a formare un'unica cellula chiamata **zigote** (diploide).

I gameti sono prodotti nelle gonadi (testicolo e ovaio) a partire dalle **cellule germinali**

Se i gameti (cellule uovo e spermatozoi) avessero lo stesso numero di cromosomi delle cellule del genitore che lo produce, allora lo zigote avrebbe un n° doppio di cromosomi e questo raddoppiamento si verificherebbe ad ogni generazione.

Il mantenimento di un numero costante di cromosomi è assicurato mediante un tipo particolare di divisione cellulare "riduzionale" chiamato **meiosi**.

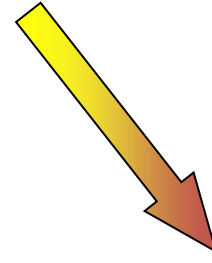
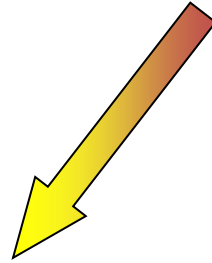
MEIOSI

PROCESSO DI DIVISIONE CELLULARE CHE PORTA ALLA PRODUZIONE DI CELLULE **APLOIDI**.

IL MATERIALE CROMOSOMICO SI RADDOPPIA **UNA** VOLTA E LA CELLULA SI DIVIDE **DUE** VOLTE.

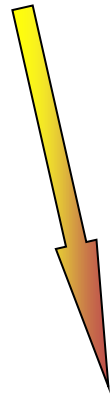
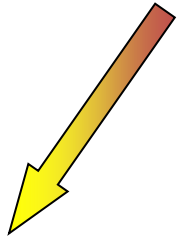
E' UN PROCESSO FONDAMENTALE PER GARANTIRE LA CONSERVAZIONE DELLO STESSO NUMERO DI CROMOSOMI ALL'INTERNO DI OGNI SPECIE.

Cellula madre 46 cromosomi



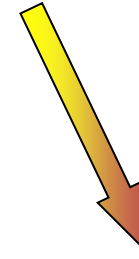
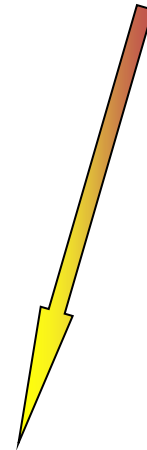
Cellula figlia 46 cromosomi

Cellula figlia 46 cromosomi



Cellula figlia 23 cromosomi

Cellula figlia 23 cromosomi



Cellula figlia 23 cromosomi

Cellula figlia 23 cromosomi

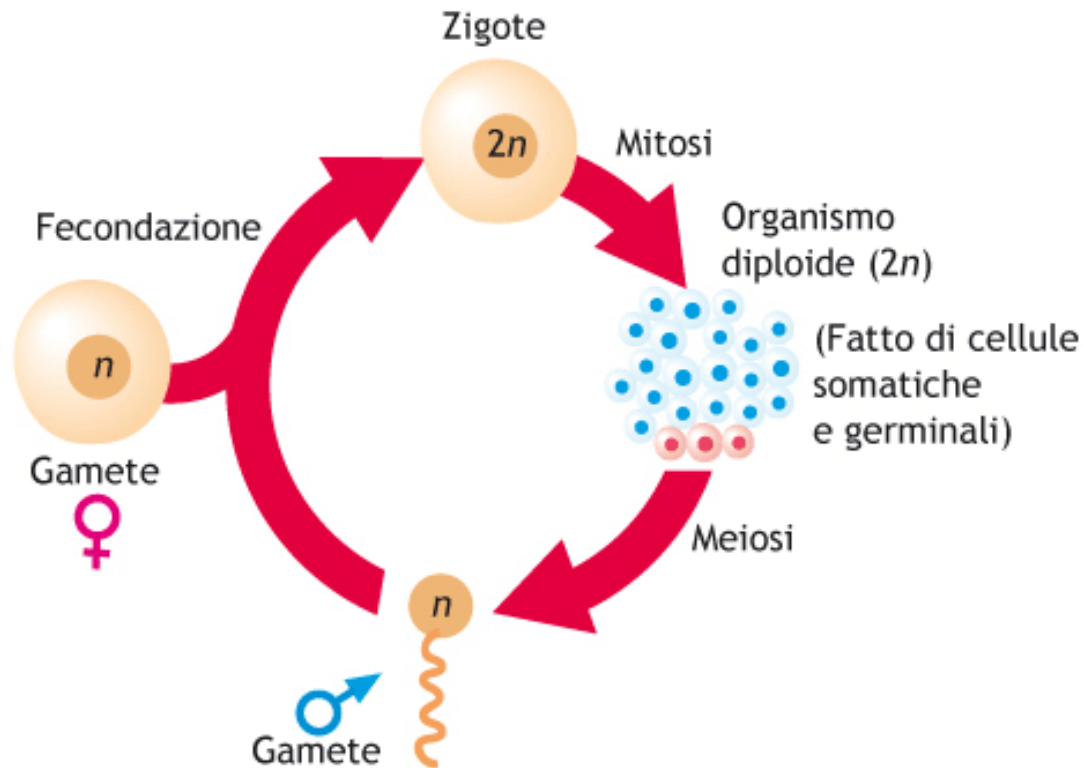


Figura 7.33 La meiosi negli organismi pluricellulari svolge il suo ruolo alla fine del differenziamento delle cellule germinali per produrre i gameti (maschili o femminili) caratterizzati da un genoma aploide (n). Con la fecondazione, l'unione del gamete maschile con il gamete femminile ristabilisce una cellula (lo zigote) con un genoma diploide ($2n$). Scopo della meiosi è dimezzare il corredo cromosomico e generare variabilità genetica. Le cellule somatiche, invece, mantengono sempre un genoma diploide e si dividono per mitosi.

Il termine *meiosi* significa infatti “rendere più piccolo”, in riferimento al fatto che il numero dei cromosomi viene dimezzato.

Durante la meiosi una cellula **diploide** va incontro a 2 divisioni cellulari, producendo potenzialmente 4 cellule **aploidi**.

La meiosi consiste di due divisioni nucleari e citoplasmatiche denominate prima e seconda divisione meiotica.

Meiosi 1: i membri di ogni coppia di cromosomi omologhi prima si uniscono, poi si separano e vengono distribuiti in nuclei distinti.

Meiosi 2: i cromatidi che costituiscono ciascun cromosoma omologo si separano e vengono distribuiti ai nuclei delle cellule figlie

Fasi della Meiosi

DIVISIONE RIDUTTIVA

PROFASE I

1. leptotene
2. zigotene (sinapsi)
3. pachitene (crossing-over; tetrad)
4. diplotene (chiasmi)
5. diacinesi

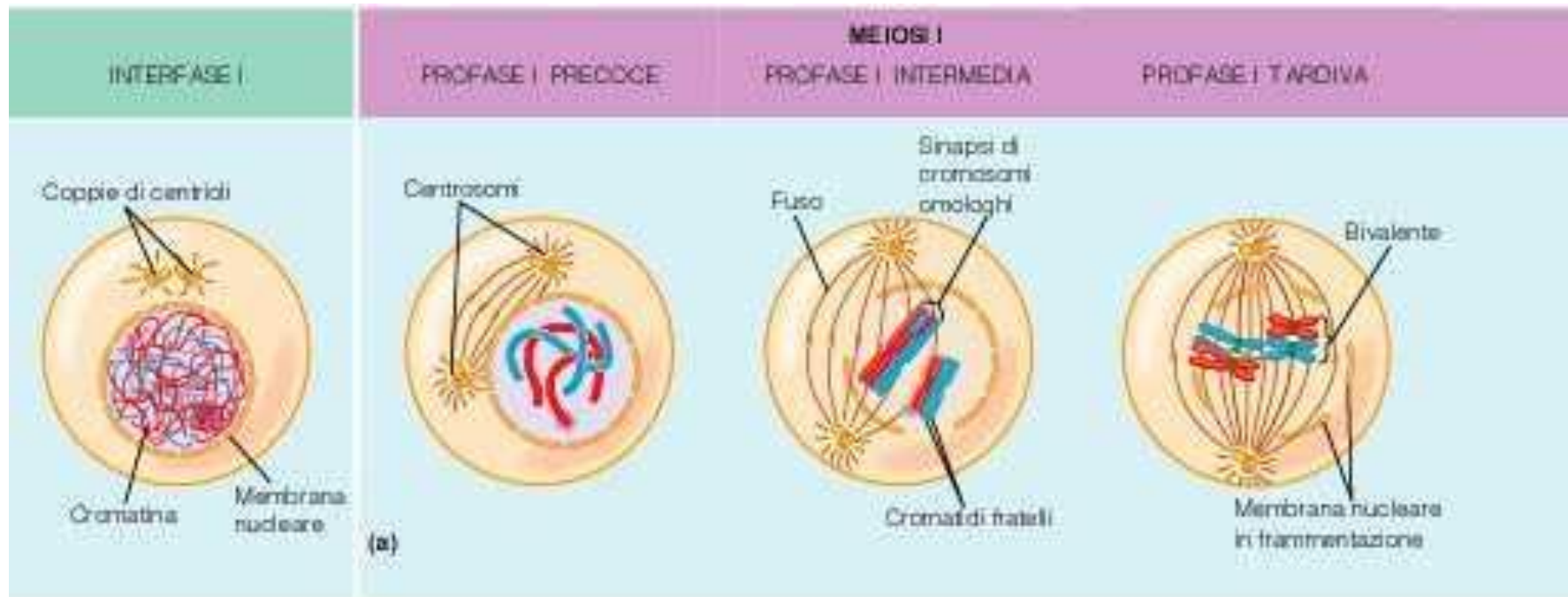
- **METAFASE I**

- **ANAFASE I:** i componenti di una coppia di cromosomi omologhi si dirigono verso i poli opposti; i centromeri non si sono divisi quindi i cromosomi sono composti da due cromatidi e sono detti diade

- **TELOFASE I:** 2 cellule figlie con meta' dei cromosomi formati ciascuno da due cromatidi

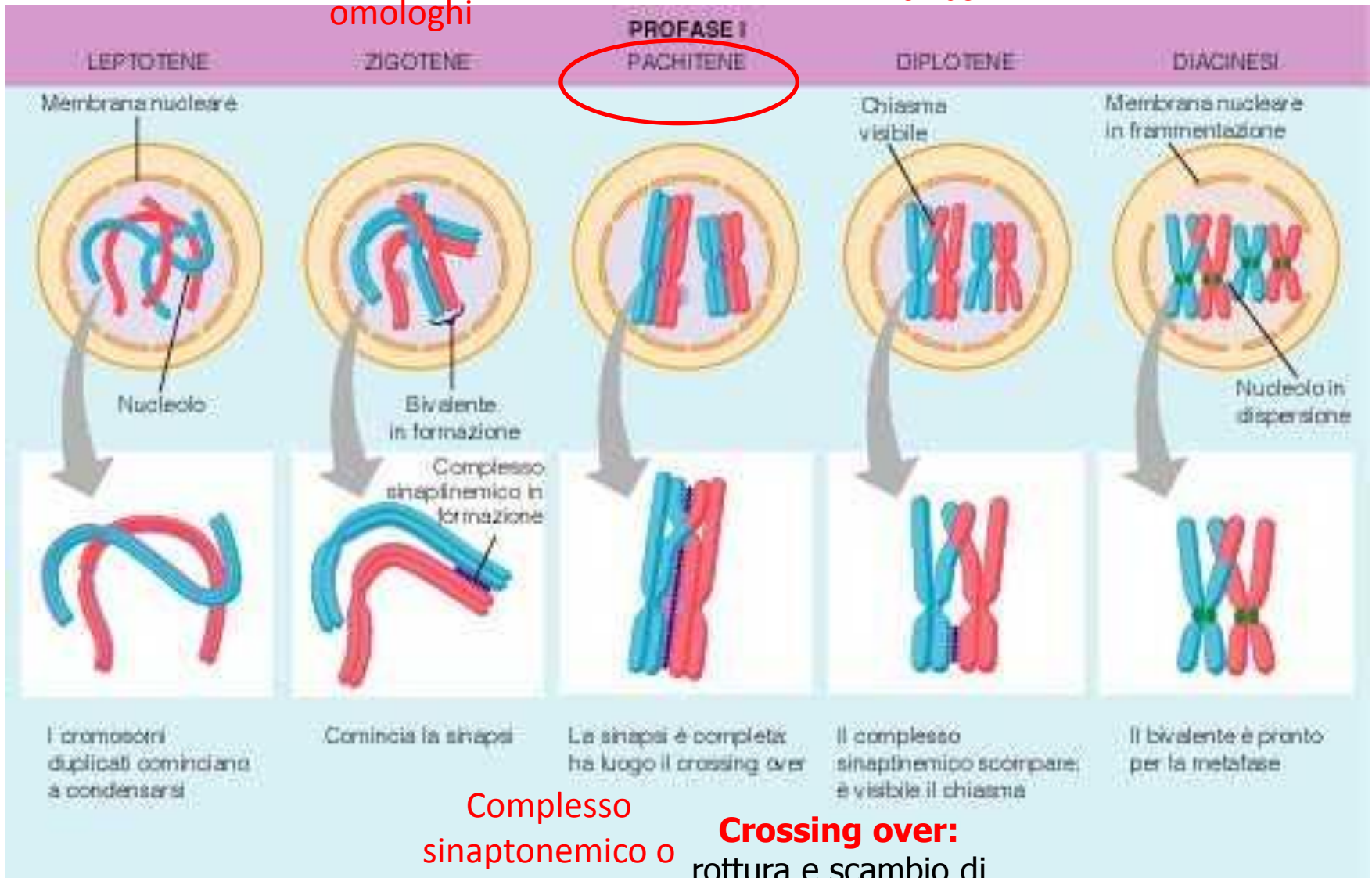
DIVISIONE MEIOTICA

- PROFASE II
- METAFASE II
- ANAFASE II: si dividono i cromatidi di ciascun cromosoma
- TELOFASE II: citocinesi → 4 cellule con metà numero dei cromosomi formati ciascuno da un cromatide



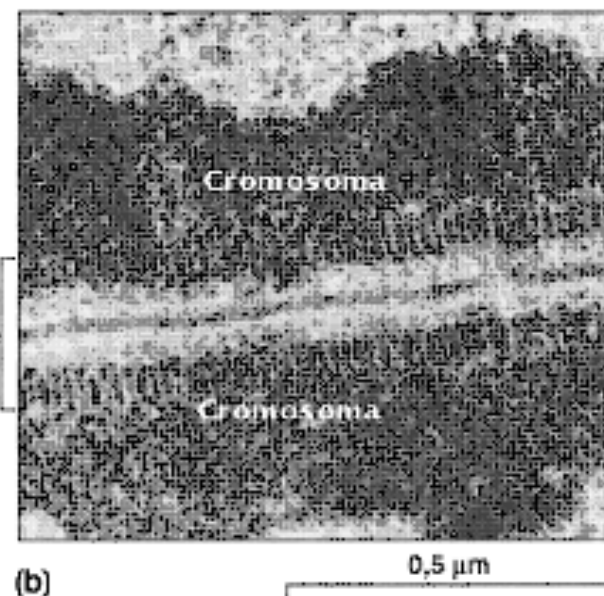
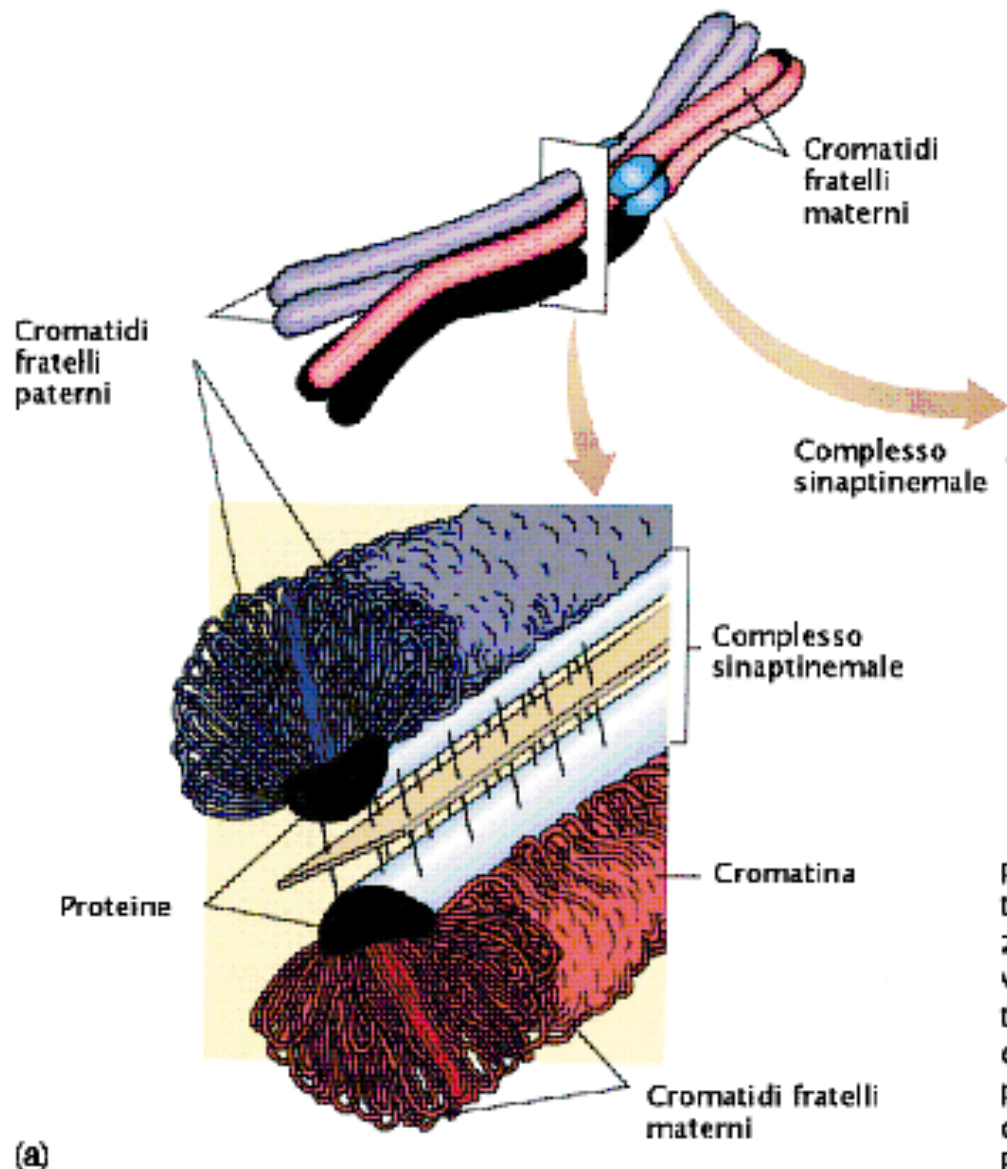
TETRADI
cromosomi
omologhi

chiasmi



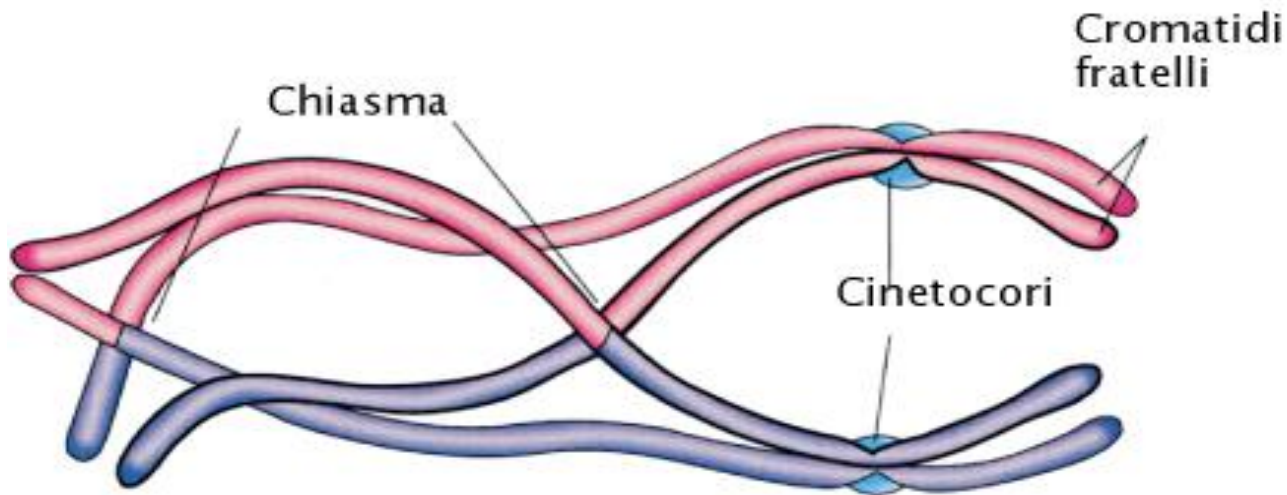
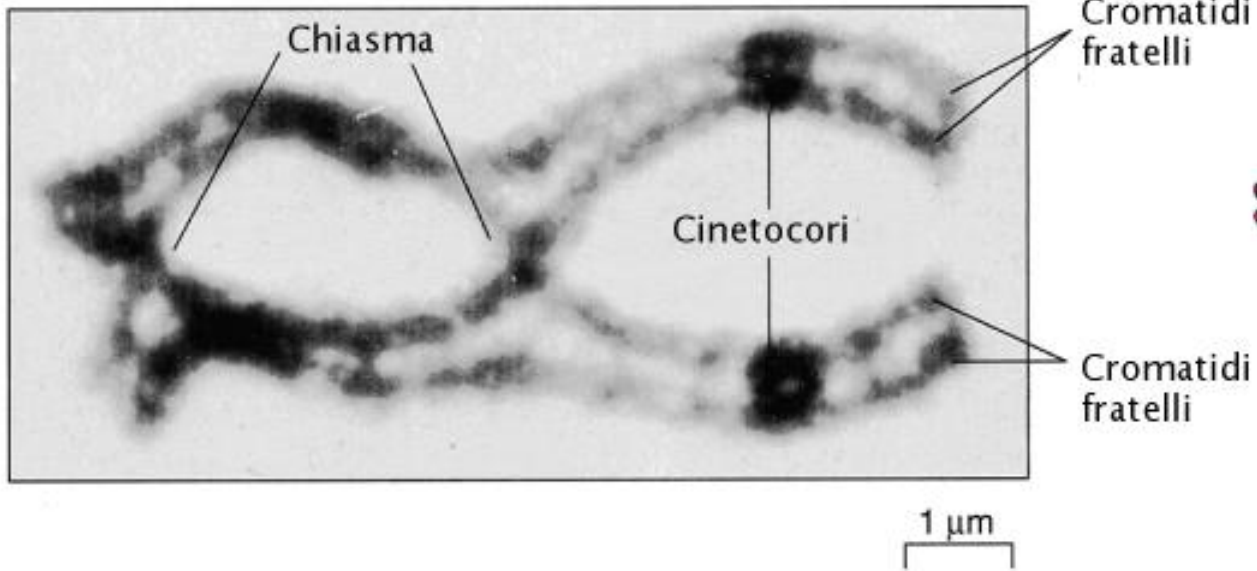
Complesso
sinaptonemico o
sinaptonemiale
tra cromosomi

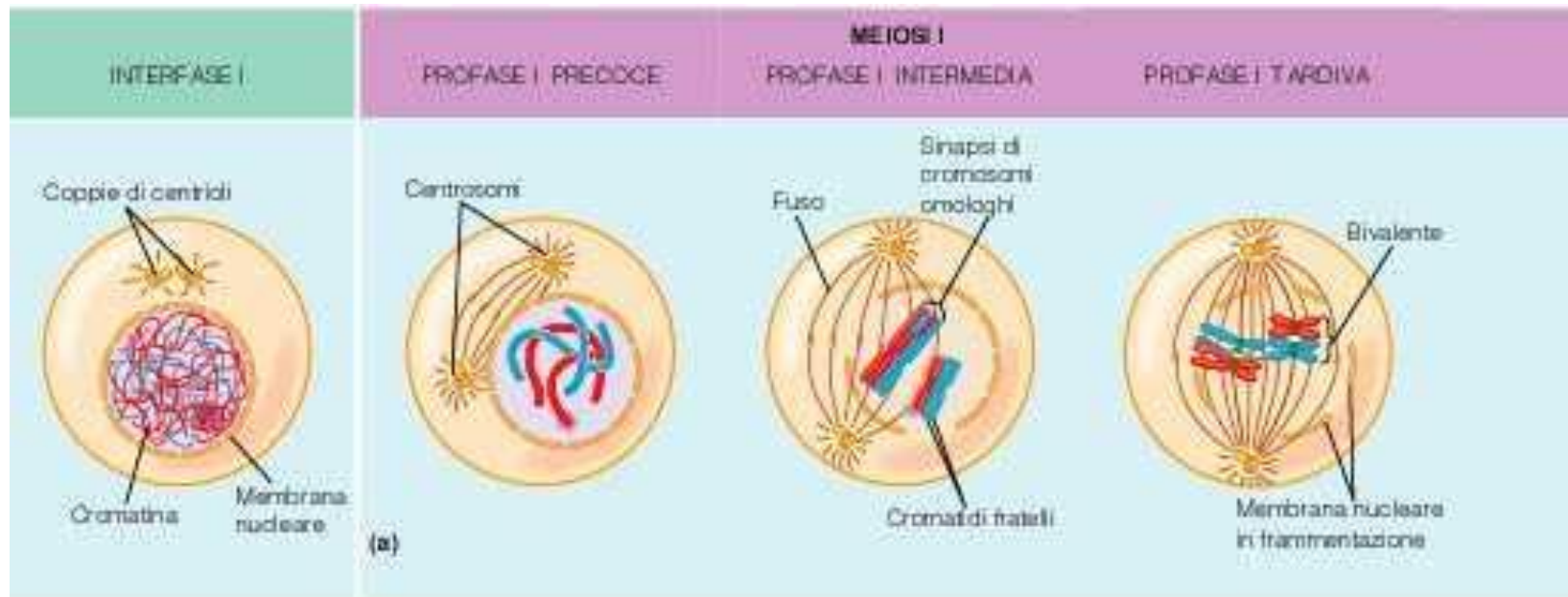
Crossing over:
rottura e scambio di
parti di cromatidi e
loro successiva
ricongiunzione.



Complesso sinaptonemiale. Nella profase meiotica I, questi cromosomi in sinapsi sono tenuti insieme da un complesso sinaptonemiale, essenzialmente costituito da proteine. Oltre ad essere coinvolti nel crossing-over, i complessi sinaptonemali potrebbero svolgere anche altre funzioni. (a) Modello tridimensionale di tetrade una volta completato il complesso sinaptonemiale. (b) Microfotografia elettronica di un complesso sinaptonemiale.. (b, D. Von Wettstein, Proceedings of National Academy of Science, Vol. 68, 1971, pp. 851-855)

TETRADE



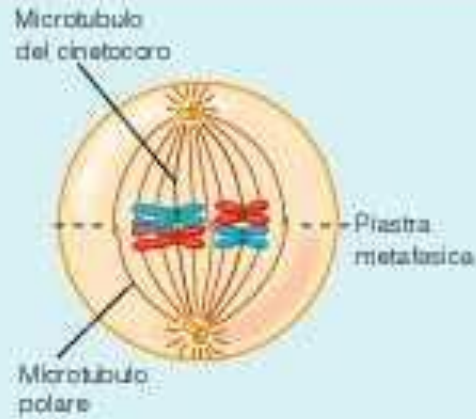


I cromosomi omologhi rimangono uniti attraverso i chiasmi, basilari per il successivo allineamento dei cr. Omologhi in metafase

Solo un centromero per ogni cromatidio fratello lega le fibre del cinetocore, diversamente dalla mitosi

Le coesine che tengono uniti i cromatidi fratelli non vengono degradate

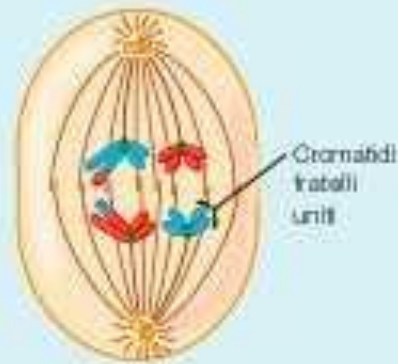
METAFASE I



(b)

MEIOSI I (continuazione)

ANAFASE I



(c)

TELOFASE I E CITODIERESI



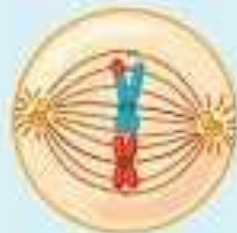
(d)

PROFASE II



(e)

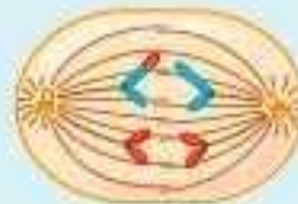
METAFASE II



(f)

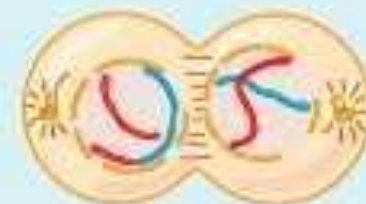
MEIOSI II

ANAFASE II



(g)

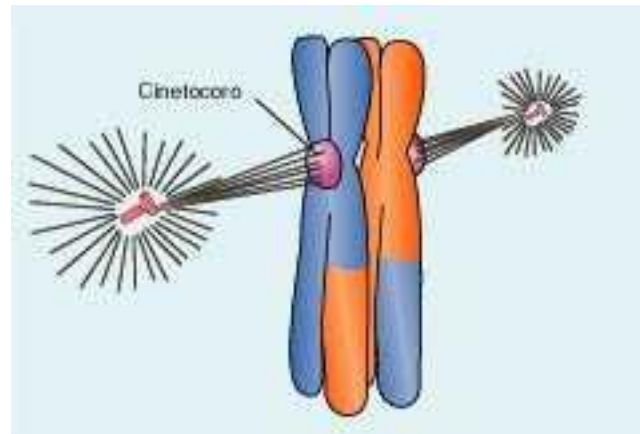
TELOFASE II E CITODIERESI

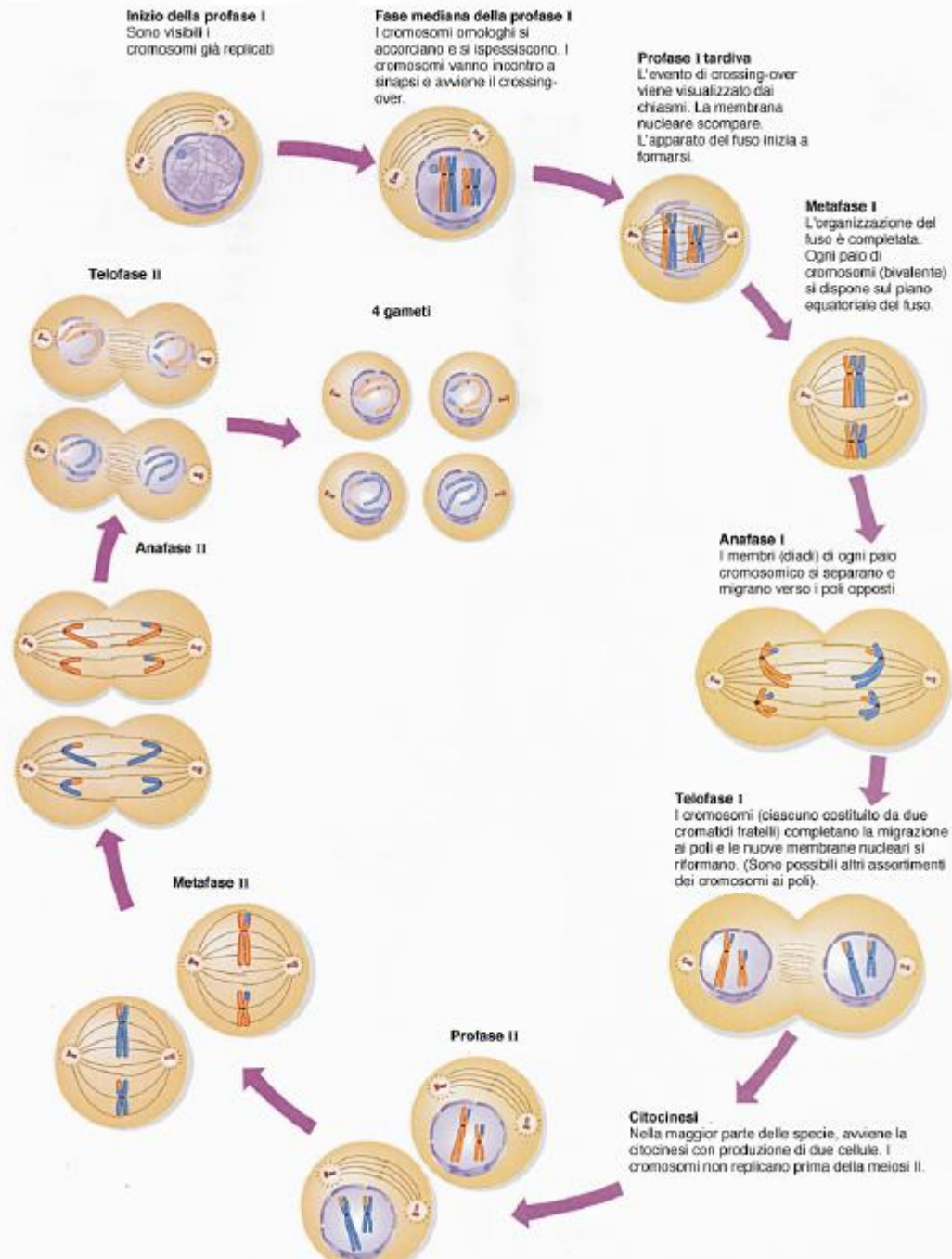


(h)

Cellule figlie aploidi

Come nella Mitosi si può osservare la connessione dei microtubuli del cinetocoro ai cromosomi replicati durante la meiosi.





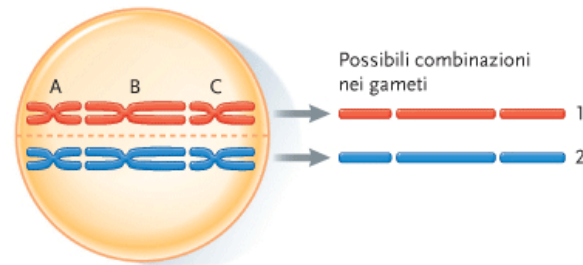
PUNTI IMPORTANTI NELLA MEIOSI:

1. Produzione di cellule aploidi
2. CROSSING-OVER: nella profase I durante l'appaiamento tra i cromosomi omologhi (tetradi) può avvenire uno scambio reciproco di parti tra cromosomi omologhi
3. ASSORTIMENTO CASUALE dei cromosomi omologhi (I divisione) e dei cromatidi fratelli (II divisione) con formazione di nuove combinazioni. All'anafase I gli omologhi si disgiungono e migrano ai due poli della cellula in modo indipendente per ogni paio, allo stesso modo si comportano i cromatidi fratelli all'anafase II

1+2 → RIMESCOLAMENTO DEL PATRIMONIO GENETICO

LA MEIOSI GENERA LE DIVERSITA'

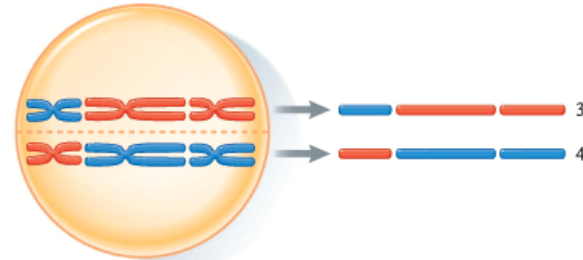
LA MITOSI E' UN PROCESSO CONSERVATIVO



Possibili combinazioni nei gameti

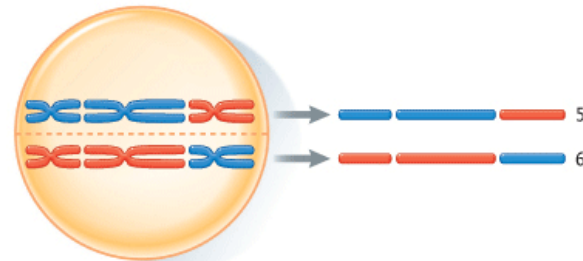
1
2

o



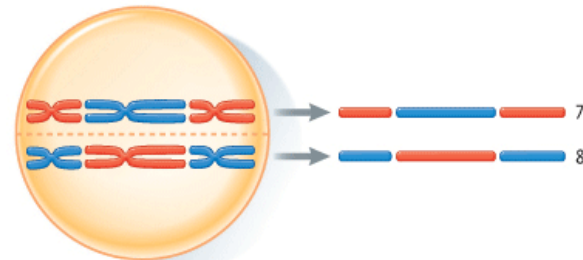
3
4

o



5
6

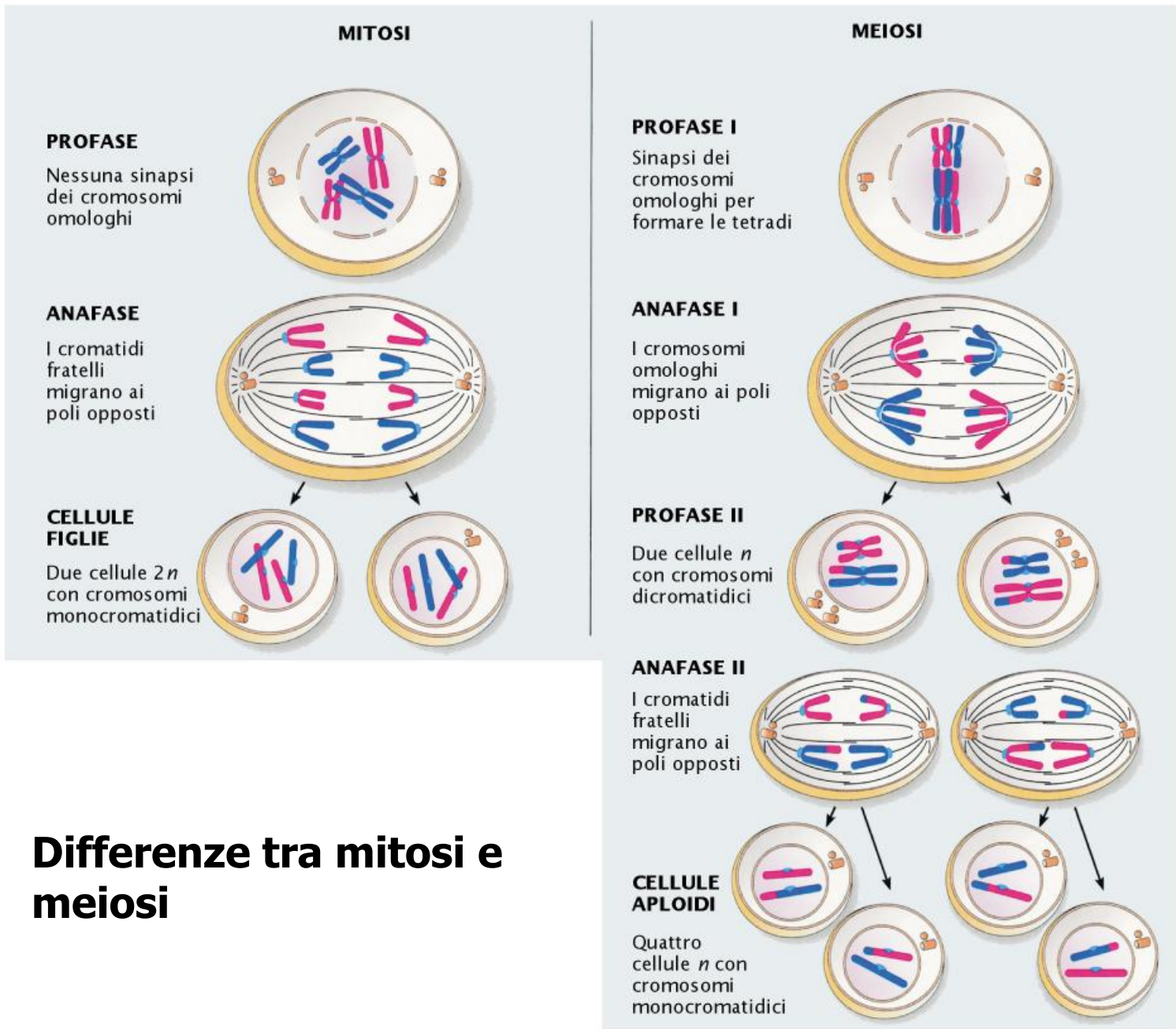
o



7
8

Attacco casuale alle fibre del fuso e separazione nei gameti :

8 diverse combinazioni



Differenze tra mitosi e meiosi

I processi di base della meiosi sono simili a quelli della mitosi, ma presentano 4 importanti **differenze**:

1. La meiosi comporta 2 successive divisioni nucleari e citoplasmatiche con potenziale produzione di 4 cellule.
2. Nonostante le due divisioni, il DNA subisce una sola duplicazione durante l'interfase che precede la div. meiotica
3. Ognuna delle 4 cellule prodotte contiene un n° aploide di cromosomi, cioè solo un esemplare di ogni coppia di omologhi.
4. Durante la meiosi l'informazione genetica che proviene da entrambi i genitori viene mescolata, così che ogni cellula possiede una combinazione di geni potenzialmente unica.

Breviario:

IL NUMERO DEI CROMOSOMI E' CARATTERISTICO DI CIASCUNA SPECIE. **NELL'UOMO 46 CROMOSOMI** DIVISI IN COPPIE DI OMOLOGHI : **CORREDO CROMOSOMICO DIPLOIDE**

OGNI COPPIA DI CROMOSOMI CONTIENE UN CROMOSOMA DI ORIGINE PATERNA E UN CROMOSOMA DI ORIGINE MATERNA

PRODUZIONE DI CELLULE APLOIDI → **GAMETI** (SPERMATOZOI E CELLULE UOVO)

LA FUSIONE DI 2 GAMETI (APLOIDI) DURANTE LA FECONDAZIONE PORTA ALLA FORMAZIONE DI UN NUOVO INDIVIDUO (DIPLOIDE) DETTO **ZIGOTE**

I GAMETI SONO PRODOTTI NELLE GONADI (TESTICOLO, OVAIO) A PARTIRE DALLE **CELLULE GERMINALI** TRAMITE UNA DIVISIONE CELLULARE RIDUZIONALE: **MEIOSI**

TUTTE LE ALTRE CELLULE DELL'ORGANISMO SONO DETTE **CELLULE SOMATICHE**, SONO DIPLOIDI E SI DIVIDONO TRAMITE UNA DIVISIONE CELLULARE: **MITOSI**

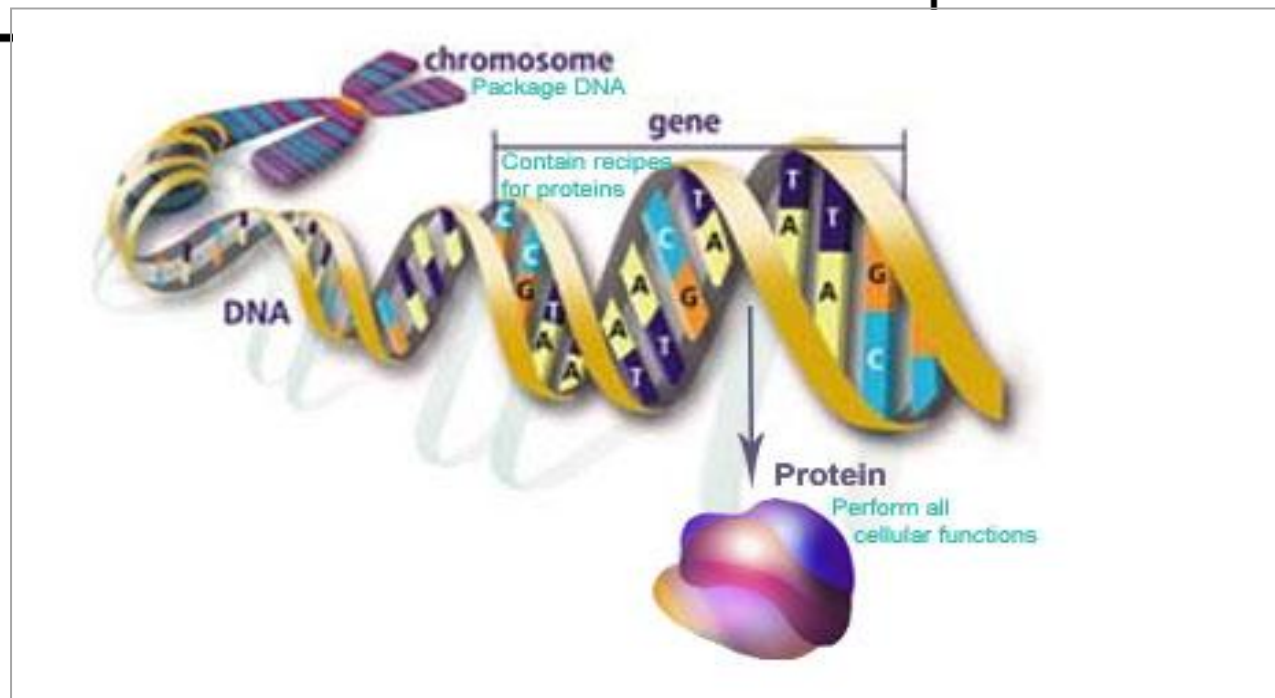
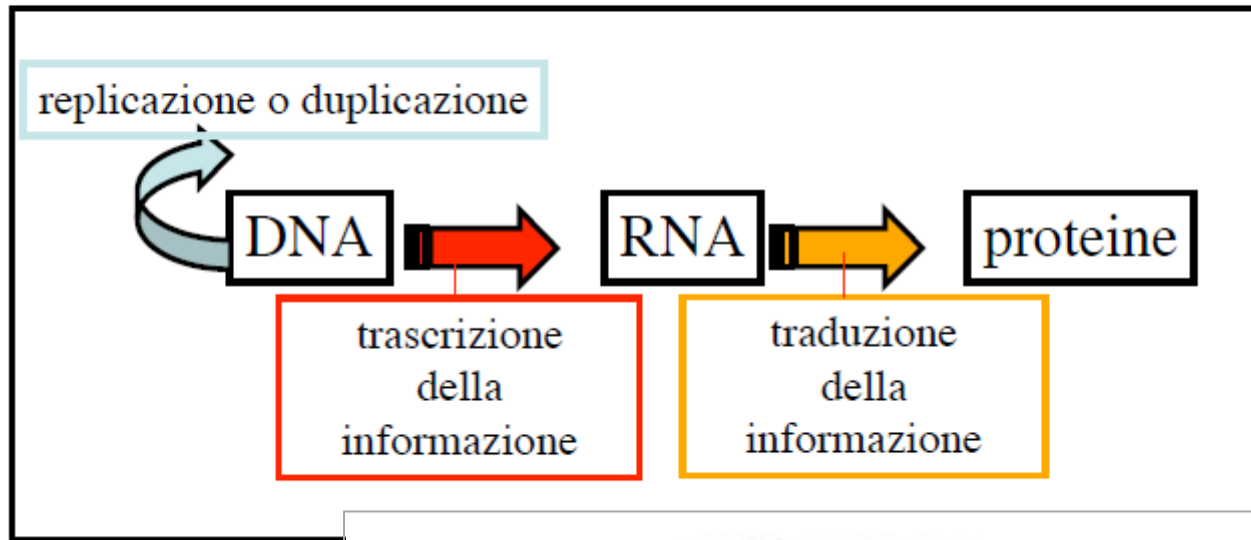
informazione genica

ACIDI NUCLEICI (DNA, RNA)

- Gli acidi nucleici trasmettono il patrimonio genetico e determinano la sintesi proteica, quindi la struttura e le funzioni cellulari.
- DNA: acido desossiribonucleico
- RNA: acido ribonucleico



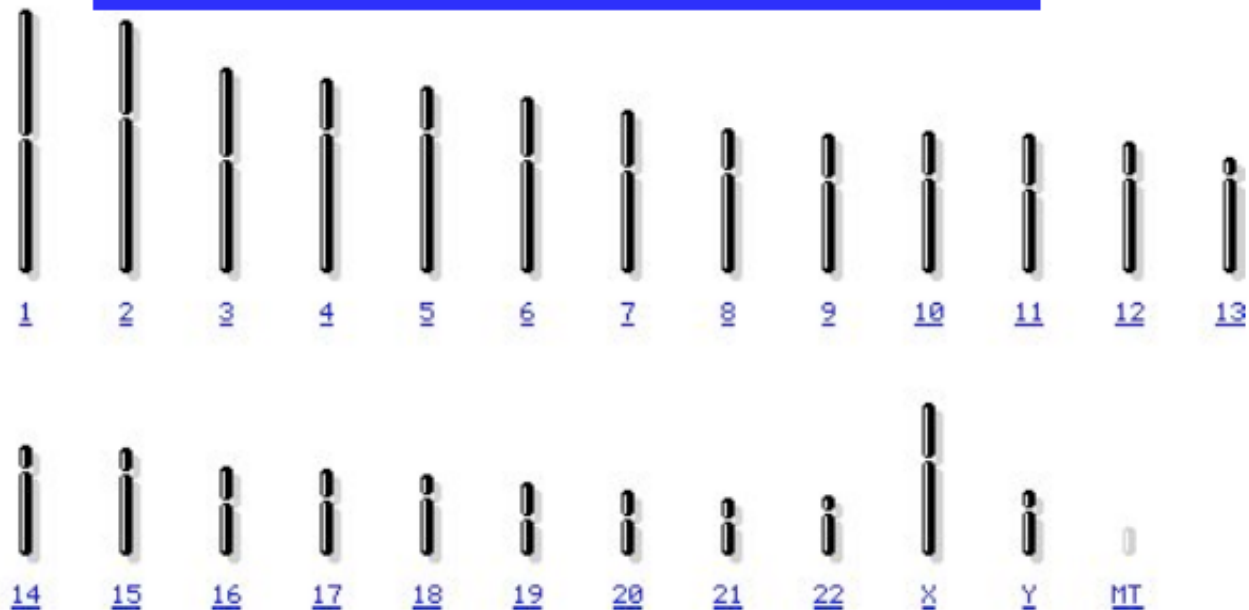
Esemplificazione del **flusso di informazione genetica**:



Definizione di genoma

- **il complesso dell'informazione genetica di una cellula**
- **la massa totale del DNA cellulare**
- **il patrimonio ereditario dell'organismo a cui appartiene**

Organizzazione generale - genoma umano



Il **genoma umano** è distribuito in molecole di DNA che costituiscono i **cromosomi**:

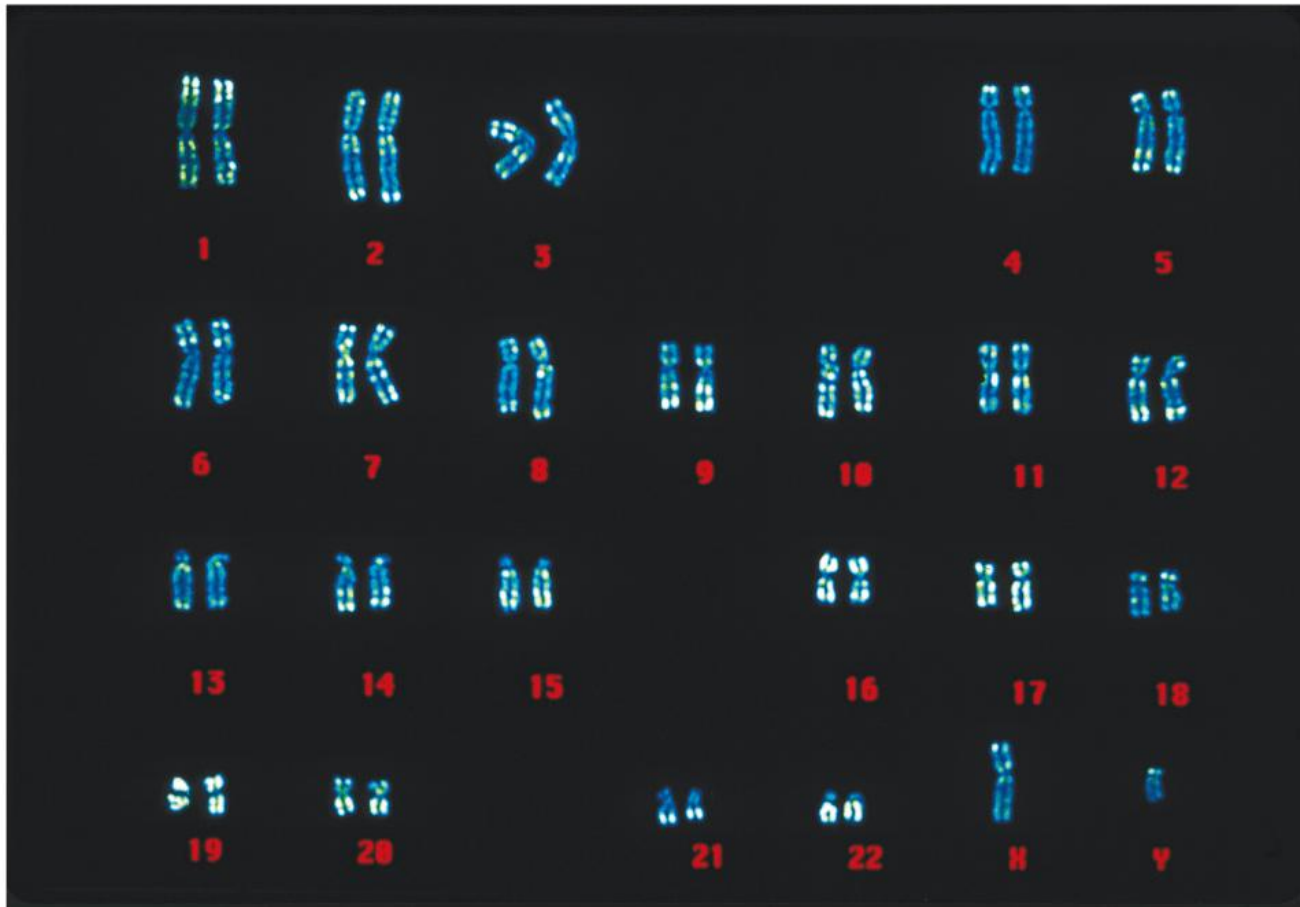
22 tipi di AUTOSOMI

2 tipi di ETEROCROMOSOMI (X e Y)

Corredo aploide 3.200.000.000 bp ovvero 3,2 Gbp

Contenenti, si stima, circa 23.000 geni

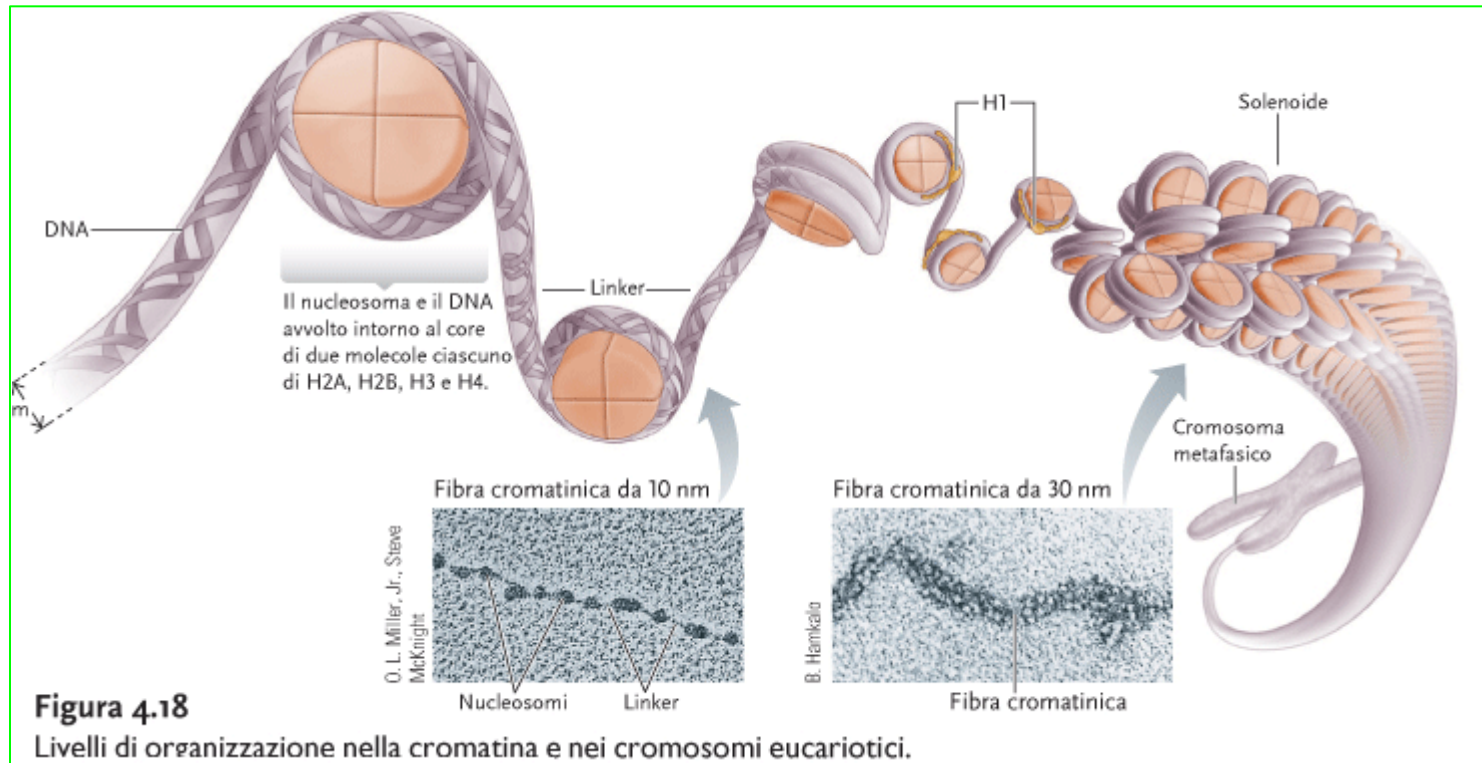
Cariotipo umano



lunghezza DNA UMANO: 1,7m

Diametro medio del nucleo: 5 micron

ISTONI: PROTEINE BASICHE CHE PERMETTONO IL COMPATTAMENTO DEL DNA

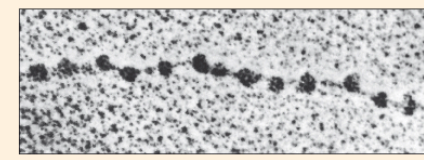
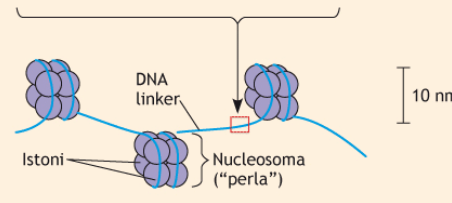
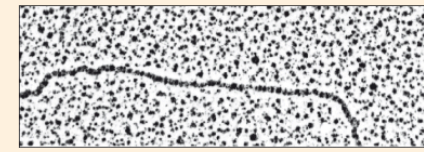


DUE CLASSI DI ISTONI:

H2A, H2B H3, H4_si organizzano in strutture ottametriche su cui si avvolge il DNA, formando il **NUCLEOSOMA** l'unità fondamentale della cromatina

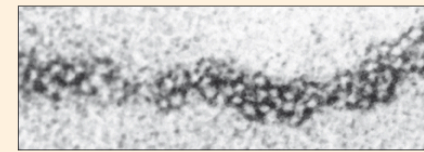
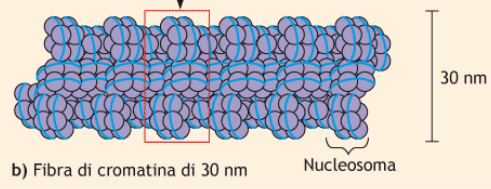
H1_consente l'avvicinamento dei nucleosomi mediante un legame testa-coda tra altri istoni **H1**, formando il **SOLENOIDE**

**Collana di perle:
nucleosoma 146 bp,
DNA linker 50bp**



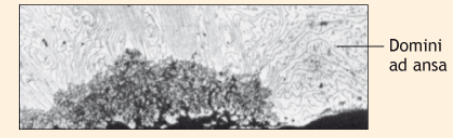
a) Nucleosomi ("collana di perle")

**solenoide: spessore
30nm**



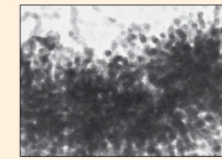
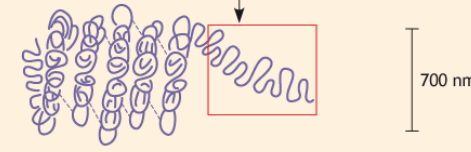
b) Fibra di cromatina di 30 nm Nucleosoma

**Anse: spessore
300nm**



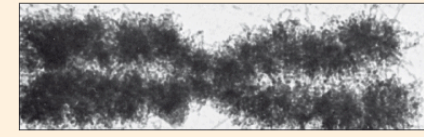
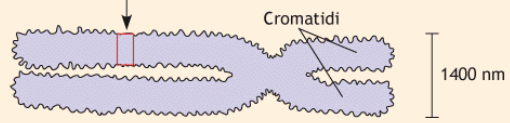
c) Domini ad ansa

Superanse: 700nm



d) Eterocromatina

**Cromosoma
metafasico:
1400nm, massima
compattazione della
cromatina**



e) Cromosoma duplicato e altamente condensato delle cellule in divisione

Figura 1.62 Le diverse fasi di compattamento del DNA negli eucarioti. Disegni ed immagini al ME mostrano come a partire da DNA nudo si arrivi al cromosoma metafasico. **(a)** la doppia elica del DNA e la successiva formazione della "collana di perle"; **(b)** la fibra cromatinica di 30 nm; **(c)** domini ad ansa; **(d)** formazione di superanse; **(e)** il cromosoma metafasico, duplicato ed altamente compattato.

- **Eucromatina:**
 - Forma lassamente compattata di DNA, è la forma sempre **trascrizionalmente attiva**

- **Eterocromatina**
 - Forma compattata del DNA
 - **ETEROCROMATINA COSTITUTIVA:** non viene mai trascritta, DNA sempre compattato in tutte le cell (es. sequenze altamente ripetute)
 - **ETEROCROMATINA FACOLTATIVA:** inattivata in modo specifico in alcune fasi della vita di un organismo

DNA genomico:


32% DNA genico

68% DNA extragenico

... .. *Ma cosa sono i geni?*

Il gene è una delle tante **istruzioni** contenute in ogni cellula, istruzioni utili a realizzare le **strutture** e le **proprietà cellulari**

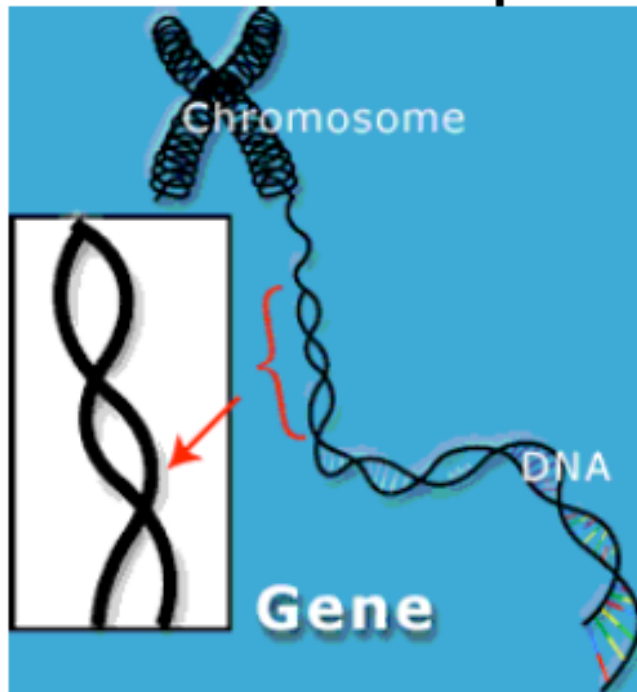
FUNZIONI DEI GENI



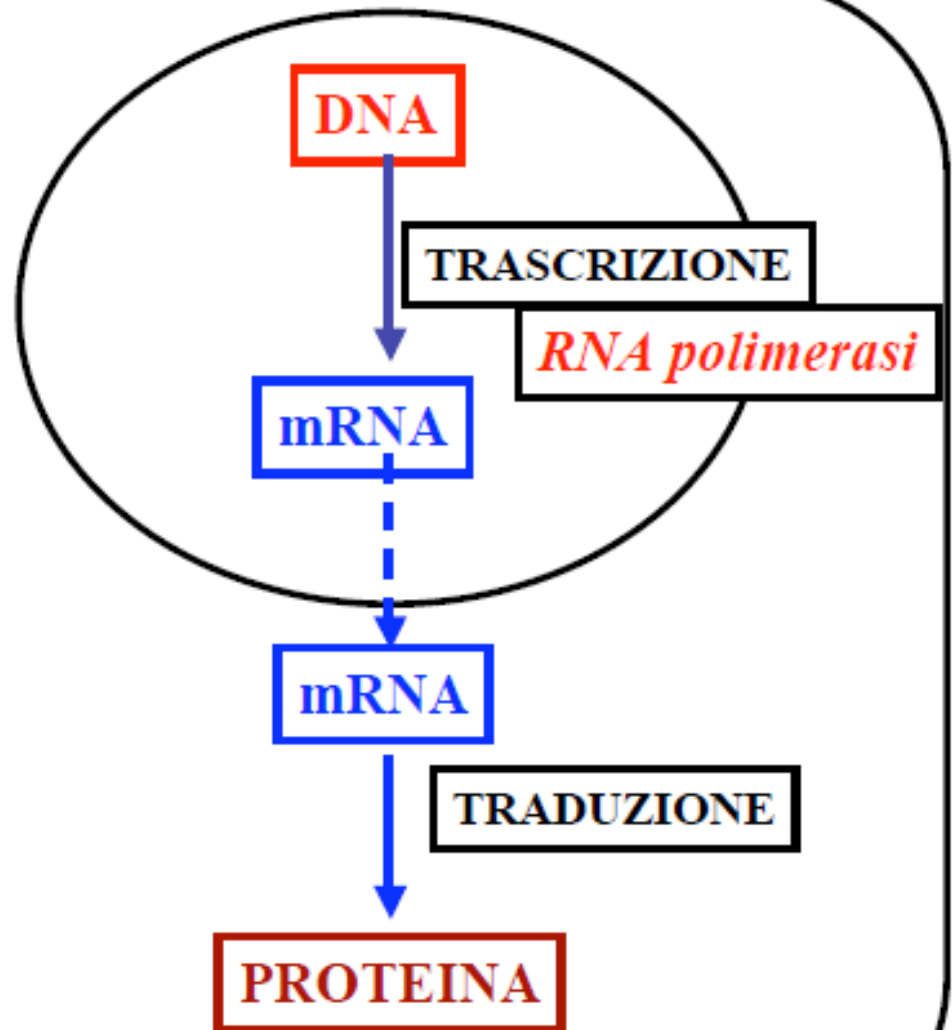
METABOLISMO	22%
INFORMAZIONE GENETICA	25%
STRUTTURA	21%
SEGNALI	12%
FUNZIONI TESSUTO-SPECIFICHE	20%

GENI PER RNA NON TRADOTTI
(rRNA **85%**, tRNA **10%**, RNA non-codificanti
(ncRNA))

Il gene è
una *regione* di DNA
trascritta che contiene
istruzioni per la sintesi
di una proteina, di un
RNA o ignota



ESPRESSIONE GENICA



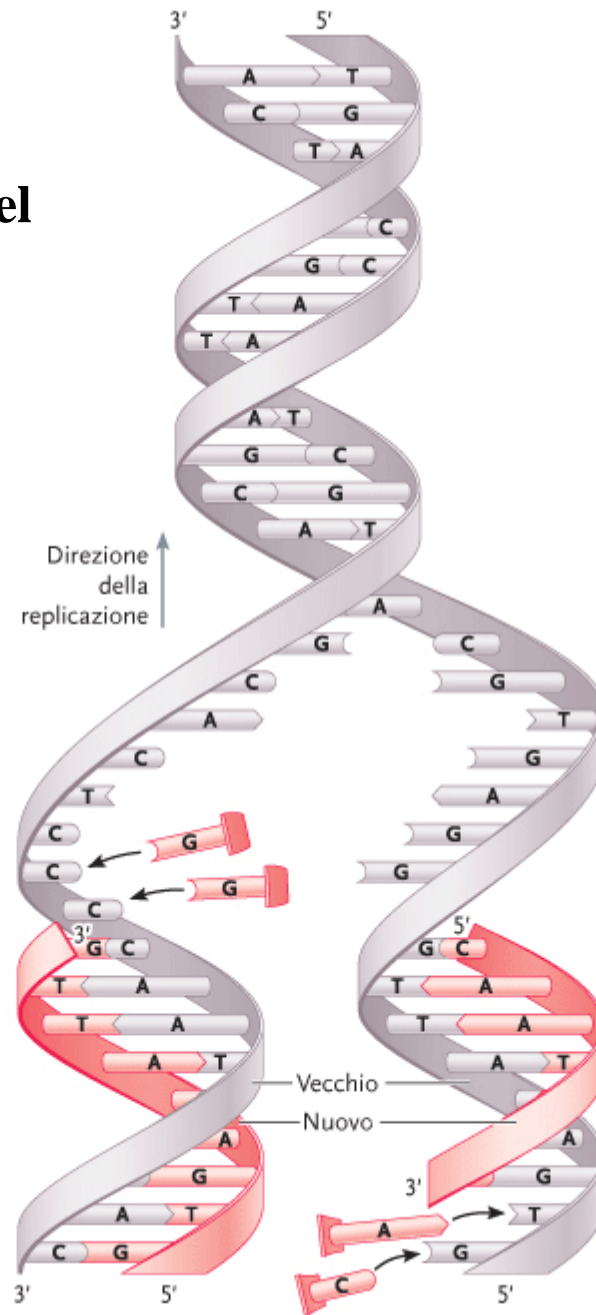
- Ad ogni divisione cellulare il DNA viene **replicato** e ciascuna cellula figlia contiene una copia completa del genoma

- **1953: Watson e Crick propongono il primo modello strutturale del DNA.**

Regola Chargaff

A=T e G=C

Nel DNA si formano legami a idrogeno fra adenina e timina e fra guanina e citosina tra catene anti-parallele.



Appaiamento tra basi complementari nella doppia elica di DNA: A si appaia con T, G con C.

I due filamenti si svolgono e si separano

Ciascun filamento "vecchio" è uno stampo per l'aggiunta di basi secondo le regole dell'appaiamento tra basi

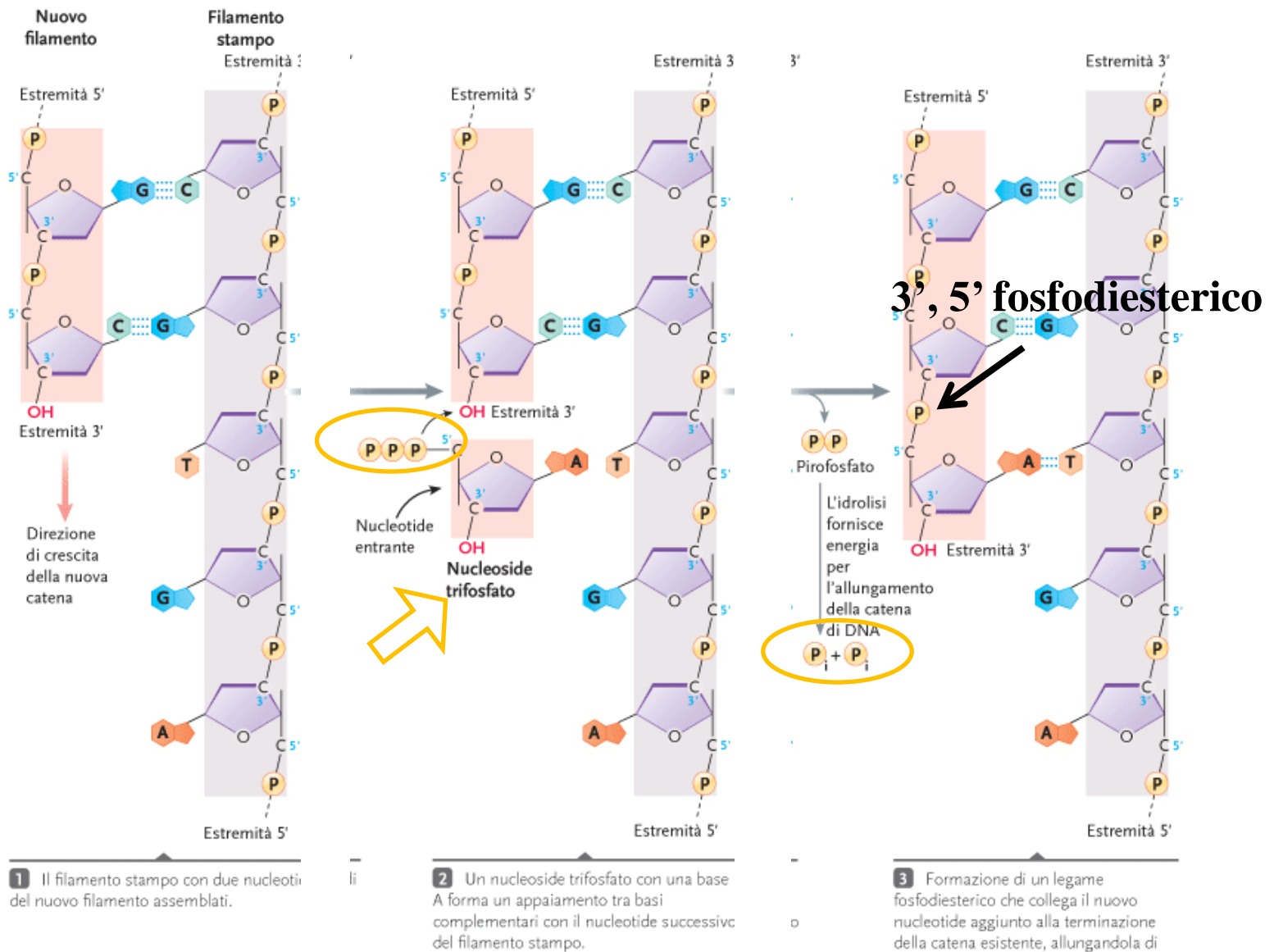
Il risultato sono due doppie eliche di DNA che sono copie esatte della molecola di DNA parentale con una catena "vecchia" e una catena "nuova".

La duplicazione del DNA si esplica attraverso il meccanismo della replicazione.

I step: separazione dei filamenti complementari di DNA mediante l'intervento della **DNA elicasi**.

II step: l'intervento delle **proteine destabilizzatrici dell'elica** e della **DNA polimerasi**.

III step: le **topoisomerasi** operano il “taglia e cuci”

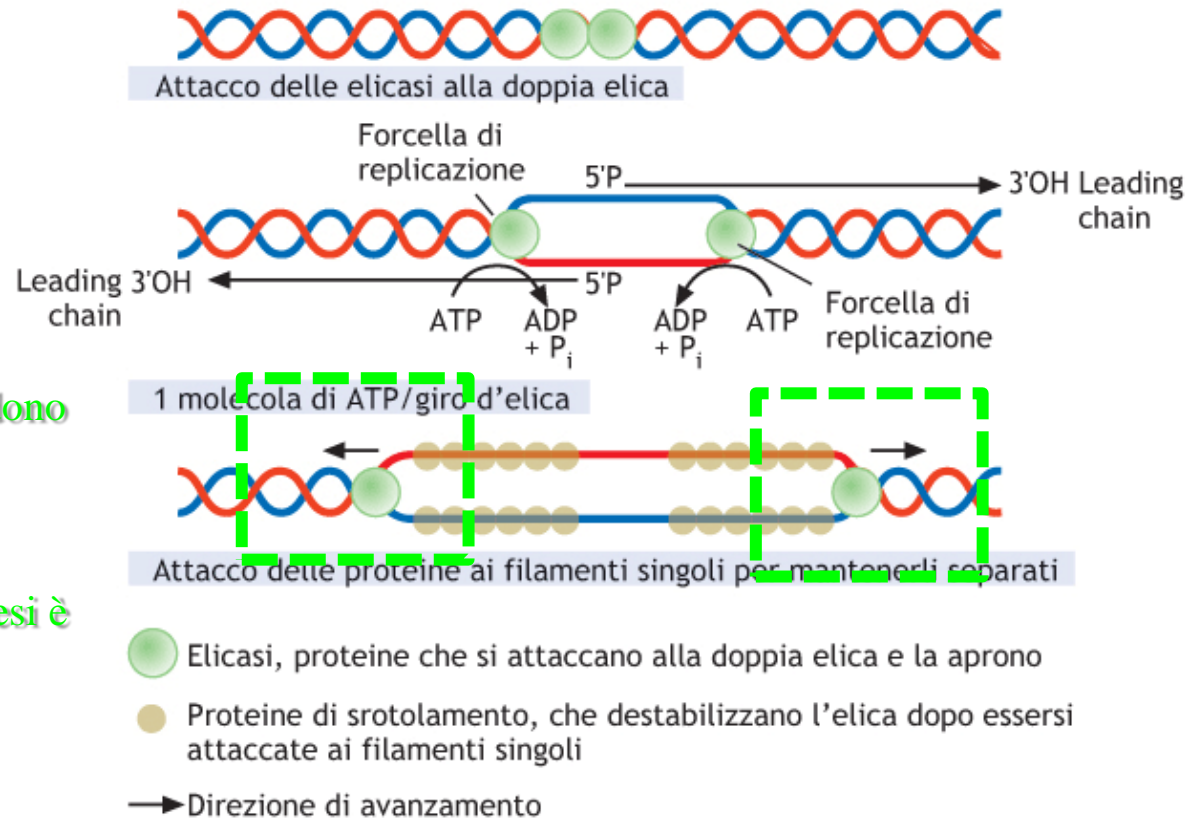


La sintesi del DNA procede sempre in **direzione 5'-> 3'**, un nucleotide alla volta viene aggiunto all'estremità 3' della catena nascente ad opera della **DNA POLIMERASI**

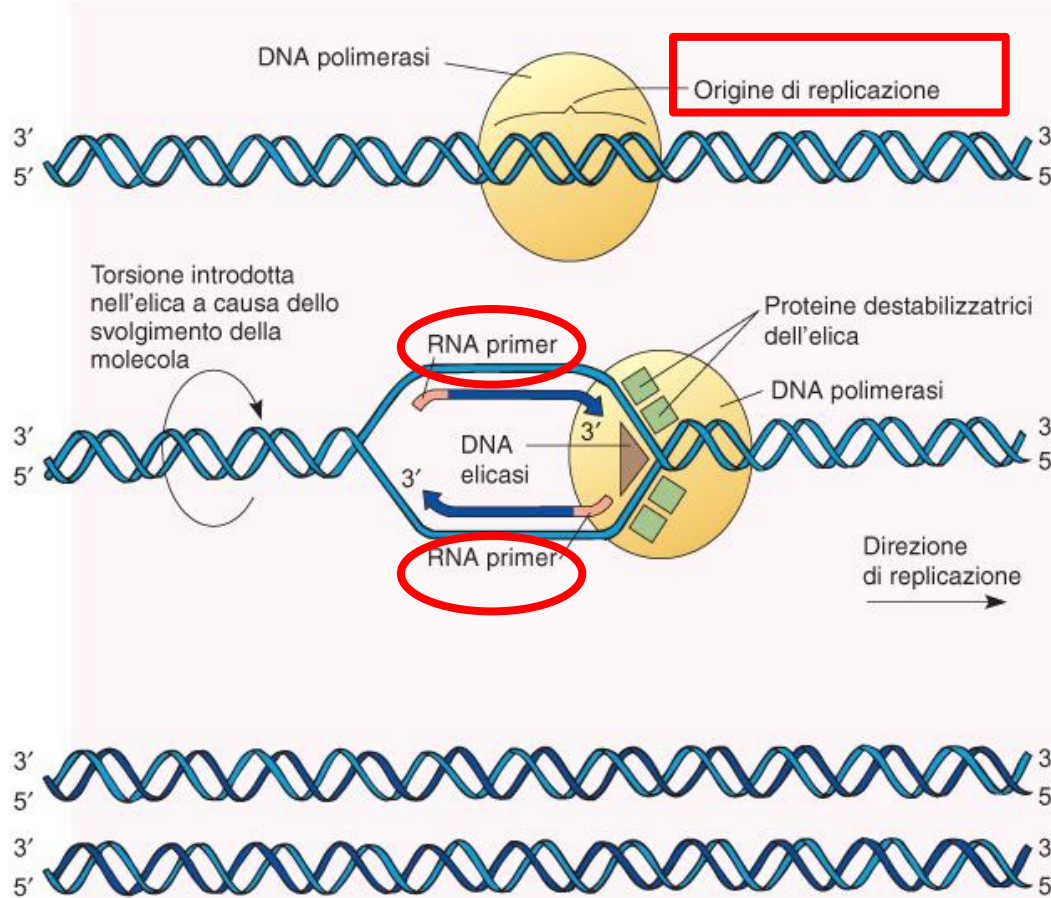
FORCELLA DI REPLICAZIONE

Due forcelle di replicazione procedono in entrambe le direzioni a partire dall'origine

In ogni forcella la direzione di sintesi è $5' \rightarrow 3'$



- **La sintesi di DNA necessita di un “iniziatore” o “primer” :**



① La sintesi del DNA inizia in corrispondenza di una origine di replicazione.

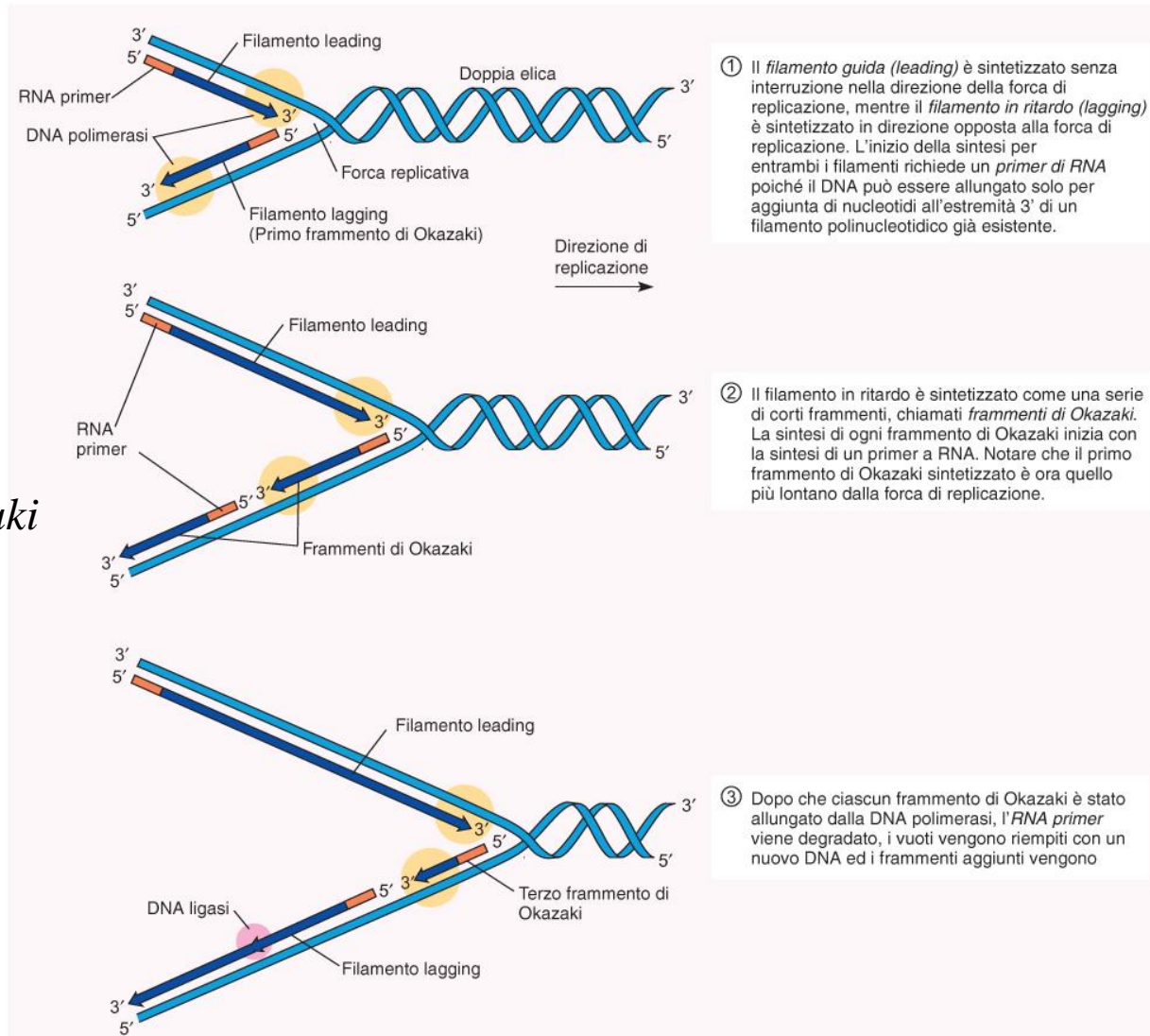
② I filamenti vengono separati nel punto di origine e svolti dalla DNA elicasi che “cammina” lungo la molecola di DNA precedendo gli enzimi deputati alla sintesi. Proteine destabilizzatrici dell'elica si legano al DNA a singolo filamento, impedendo che possa riappaiarsi. La zona di attiva sintesi del DNA corrisponde alla “forca di replicazione” che si è formata nel punto di congiunzione tra i tratti di DNA a singolo filamento e la regione a doppia elica. La sintesi procede su ciascun filamento singolo in prossimità della forca in direzione 5' → 3'.

③ Al termine della replicazione si ottengono due molecole figlie, ognuna delle quali possiede un filamento vecchio ed uno di nuova sintesi. Ogni doppia elica rappresenta un cromatide di un cromosoma duplicato.

-e procede in due direzioni opposte.

filamento guida

frammenti di okazaki



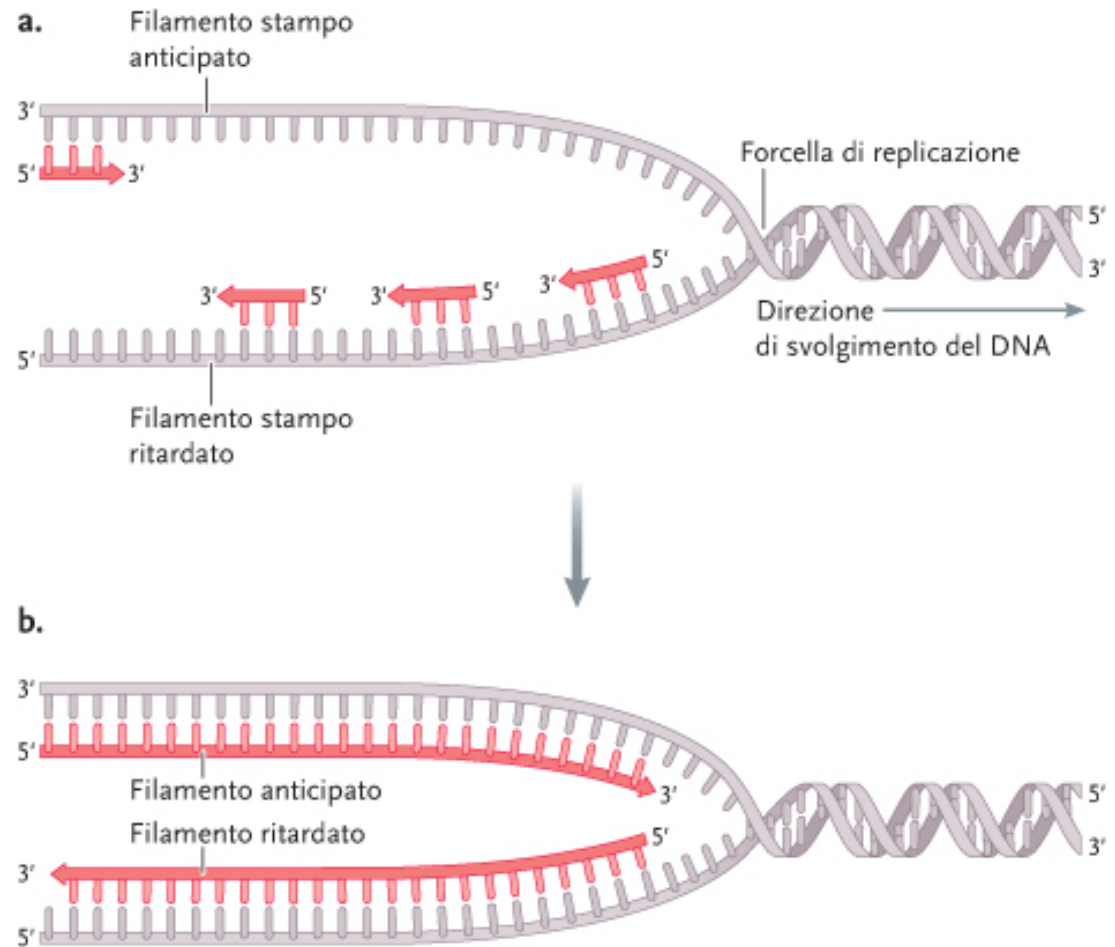
① Il *filamento guida* (leading) è sintetizzato senza interruzione nella direzione della forca di replicazione, mentre il *filamento in ritardo* (lagging) è sintetizzato in direzione opposta alla forca di replicazione. L'inizio della sintesi per entrambi i filamenti richiede un *primer di RNA* poiché il DNA può essere allungato solo per aggiunta di nucleotidi all'estremità 3' di un filamento polinucleotidico già esistente.

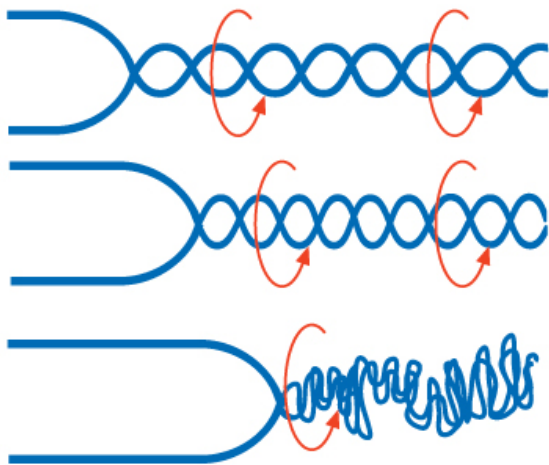
② Il filamento in ritardo è sintetizzato come una serie di corti frammenti, chiamati *frammenti di Okazaki*. La sintesi di ogni frammento di Okazaki inizia con la sintesi di un primer a RNA. Notare che il primo frammento di Okazaki sintetizzato è ora quello più lontano dalla forca di replicazione.

③ Dopo che ciascun frammento di Okazaki è stato allungato dalla DNA polimerasi, l'*RNA primer* viene degradato, i vuoti vengono riempiti con un nuovo DNA ed i frammenti aggiunti vengono

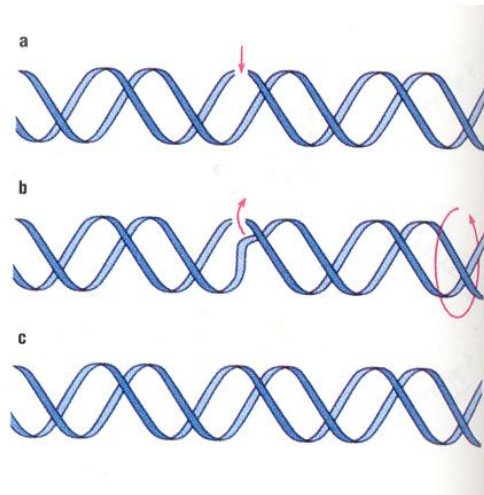
Figura 4.11

Come sono replicati i filamenti stampo antiparalleli a livello di una forcella di replicazione. Il filamento stampo che si presenta alla DNA polimerasi nella direzione $5' \rightarrow 3'$ "errata" – il filamento in basso in **(a)** – è copiato in corti pezzi orientati in direzione opposta al movimento della forcella. I brevi frammenti sono poi legati in una catena continua **(b)**. L'effetto complessivo è la sintesi di entrambi i filamenti nella direzione del movimento della forcella.

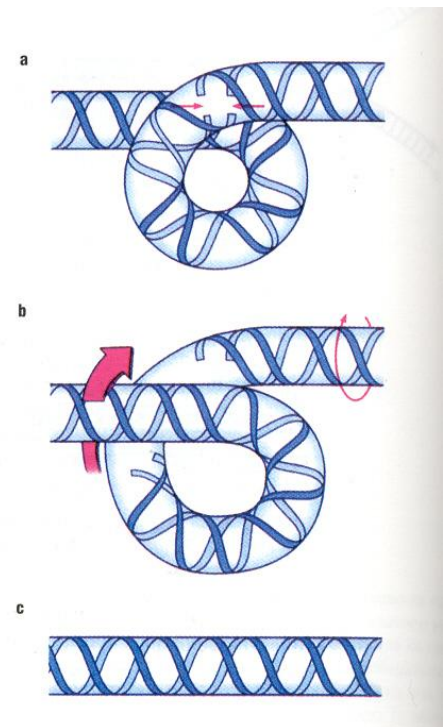




Azione della topoisomerasi I e II



Topoisomerasi I



Topoisomerasi II

Enzimi della replicazione del DNA

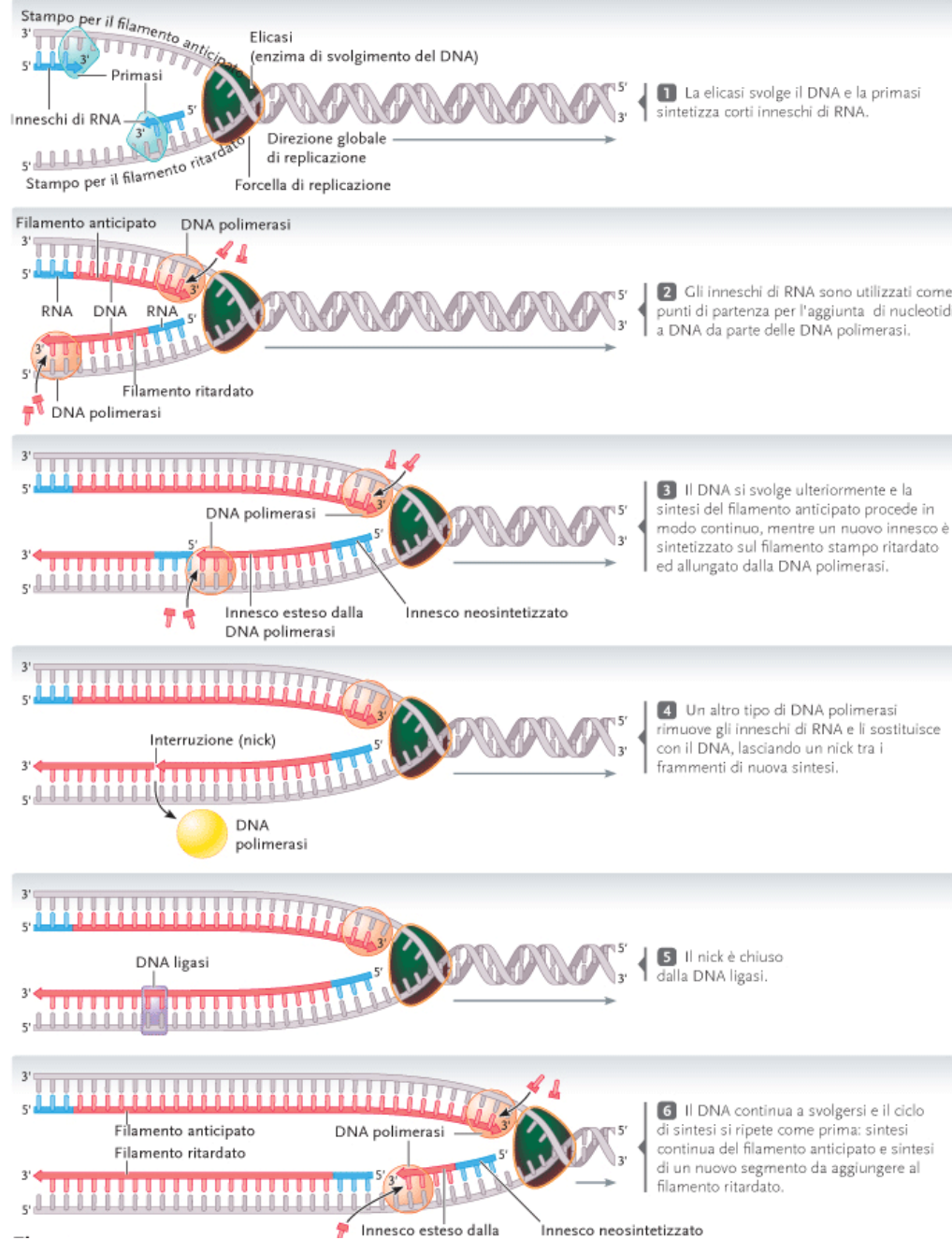
Enzimi	Funzione
Elicasi	Svolge l'elica del DNA
Proteine che legano il DNA a singolo filamento	Stabilizzano il DNA nella configurazione a singolo filamento
Primasi	Assembla gli inneschi di RNA
DNA polimerasi	Sintetizzano le catene di DNA a partire dagli inneschi; eliminano gli inneschi e simultaneamente sostituiscono i nucleotidi degli inneschi con i nucleotidi a DNA
DNA ligasi	Chiude i nick lasciati dopo la sostituzione degli inneschi di RNA con il DNA
Topoisomerasi	Eliminano i superavvolgimenti e le tensioni del DNA davanti alla forcella di replicazione (nel DNA circolare)

DNA polimerasi

DNA polimerasi procariotiche ed eucariotiche

Enzimi	Direzione della sintesi	Attività esonucleasica	Funzioni possibili
<i>Procariotici</i>			
Polimerasi I	5' → 3'	3' → 5' 5' → 3'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; riparazione del DNA
Polimerasi II	5' → 3'	3' → 5'	Riempimento dei "gap" lasciati dalla rimozione dell'innesco; riparazione del DNA
Polimerasi III	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione
Polimerasi IV	5' → 3'	?	Enzimi che polimerizzano nonostante esista un danneggiamento del DNA
Polimerasi V	5' → 3'	?	
<i>Eucariotici</i>			
Polimerasi α	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione (assieme alla polimerasi δ); riparazione del DNA
Polimerasi β	5' → 3'	Nessuna	Riparazione del DNA
Polimerasi γ	5' → 3'	3' → 5'	Enzima della replicazione dei mitocondri
Polimerasi δ	5' → 3'	3' → 5'	Enzima principale della replicazione (assieme alla polimerasi α)
Polimerasi ε	5' → 3'	3' → 5'	Riparazione del DNA
Polimerasi ζ	5' → 3'	?	Enzimi che polimerizzano nonostante esista un danneggiamento del DNA
Polimerasi η	5' → 3'	?	

REPLICAZIONE DEL DNA



elicasi
primasi

DNApol.

ligasi

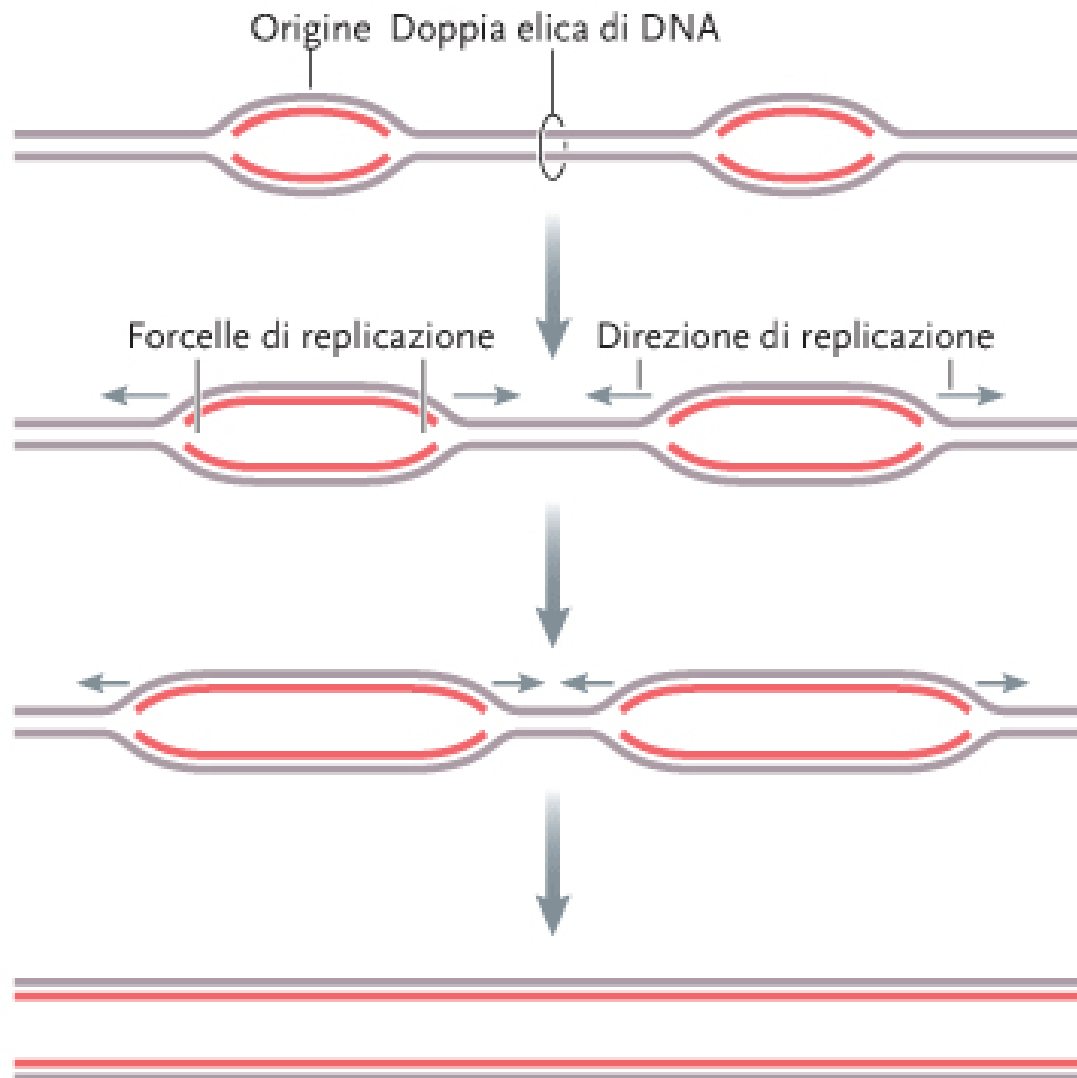
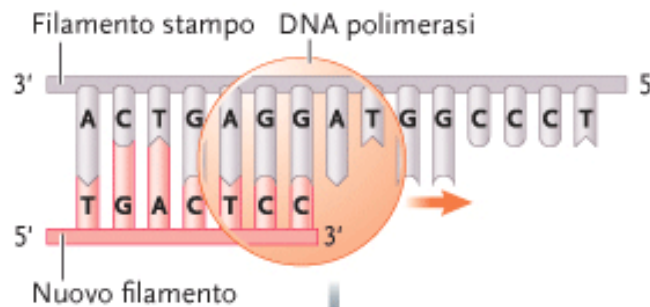


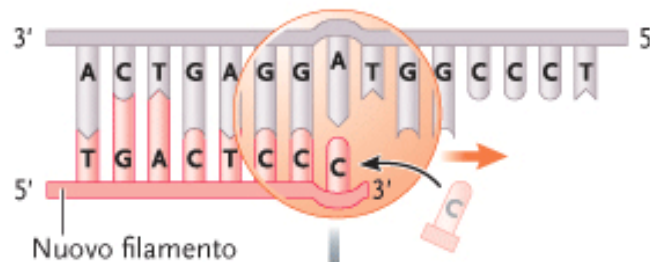
Figura 4.15
Replicazione da origini multiple nei cromosomi eucariotici.

Figura 41-6

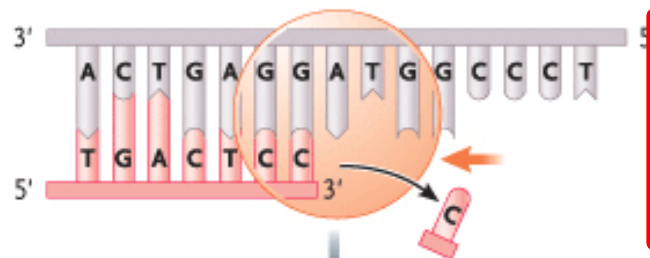
L'attività di correzione di bozze di una DNA polimerasi.



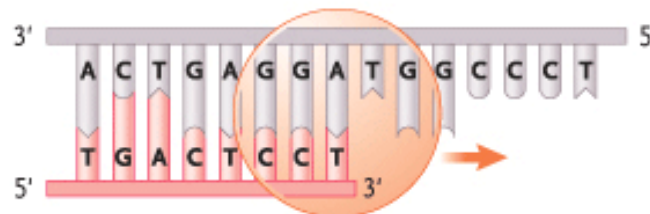
1 L'enzima continua l'attività in avanti come DNA polimerasi fino a quando il nucleotide più recentemente aggiunto è appaiato correttamente.



2 L'enzima aggiunge un nucleotide appaiato in modo sbagliato.



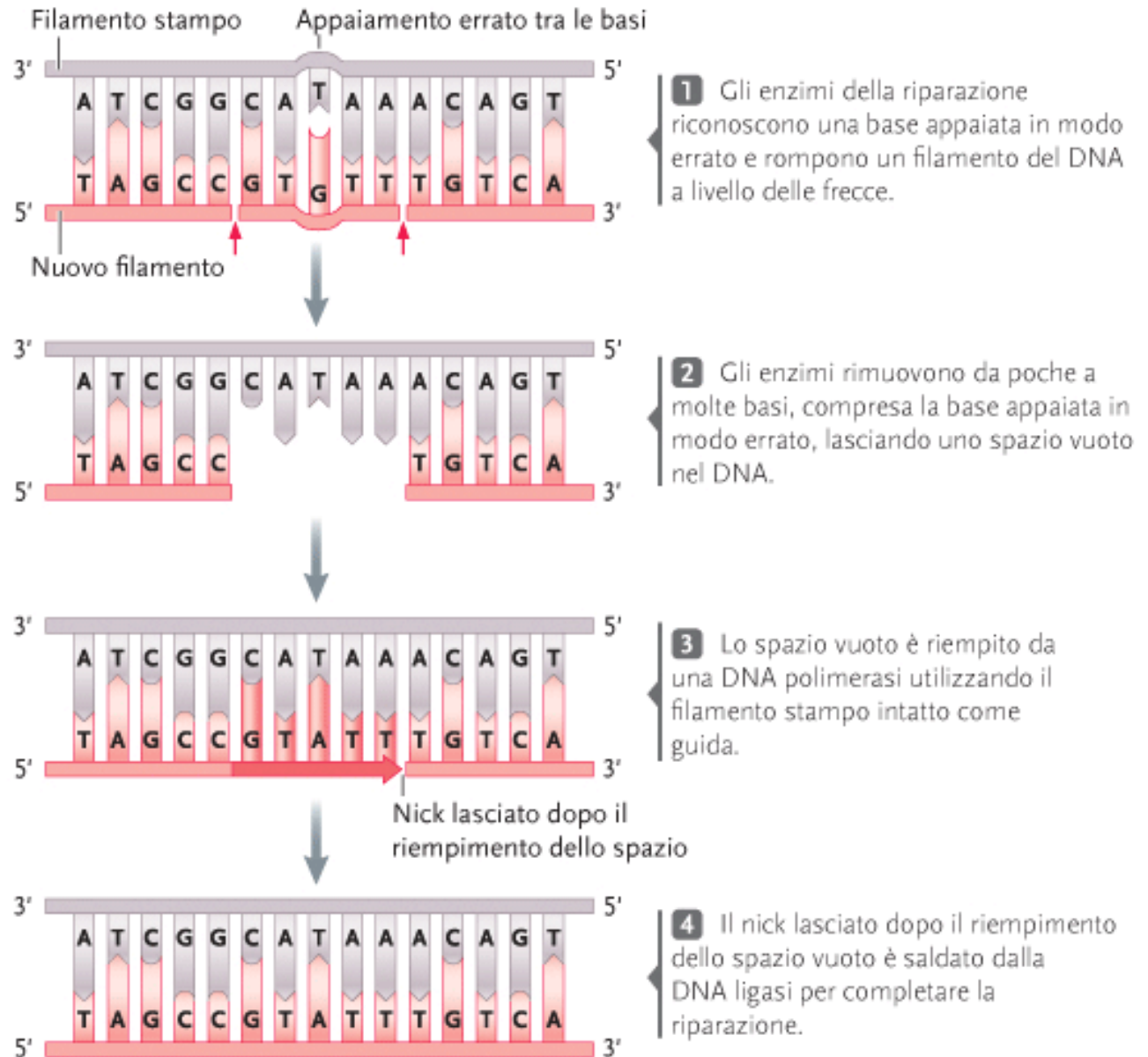
3 L'enzima fa marcia indietro, agendo come una desossiribonucleasi per rimuovere il nucleotide appaiato in modo sbagliato.



4 L'enzima riprende l'attività in avanti come DNA polimerasi.

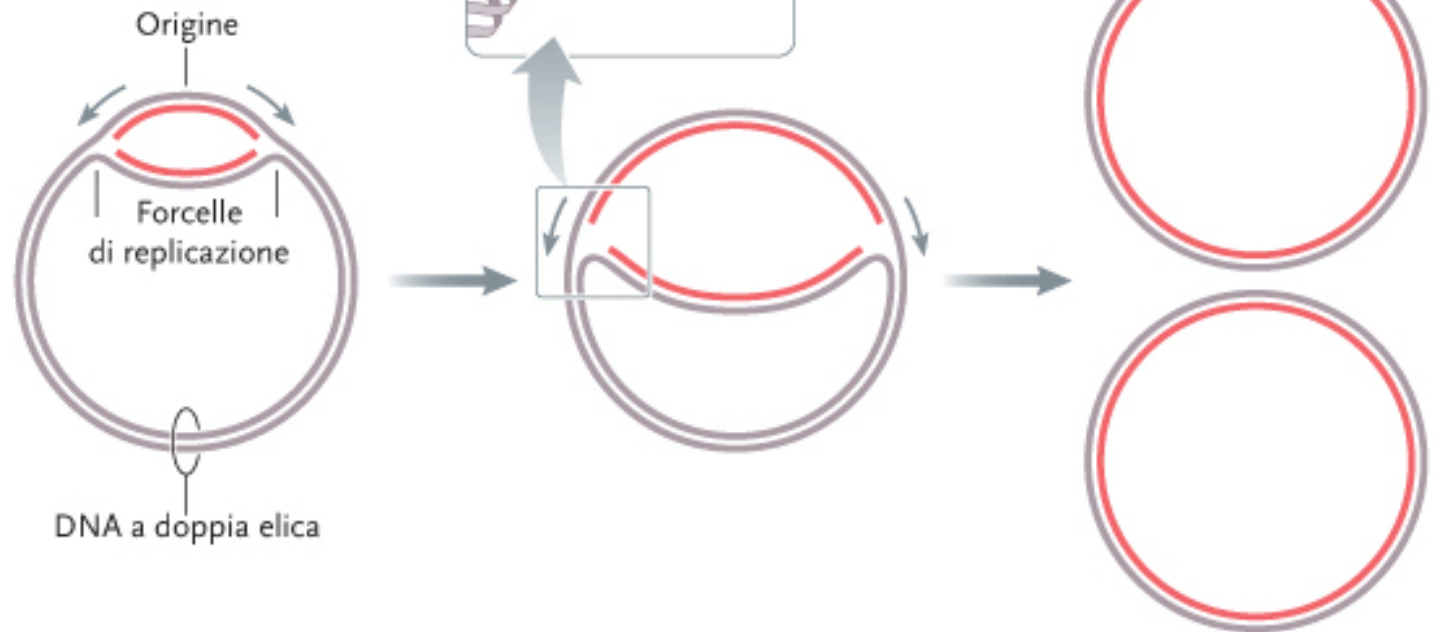
Figura 4.17

Riparazione di basi appaiate in modo errato nel DNA replicato.

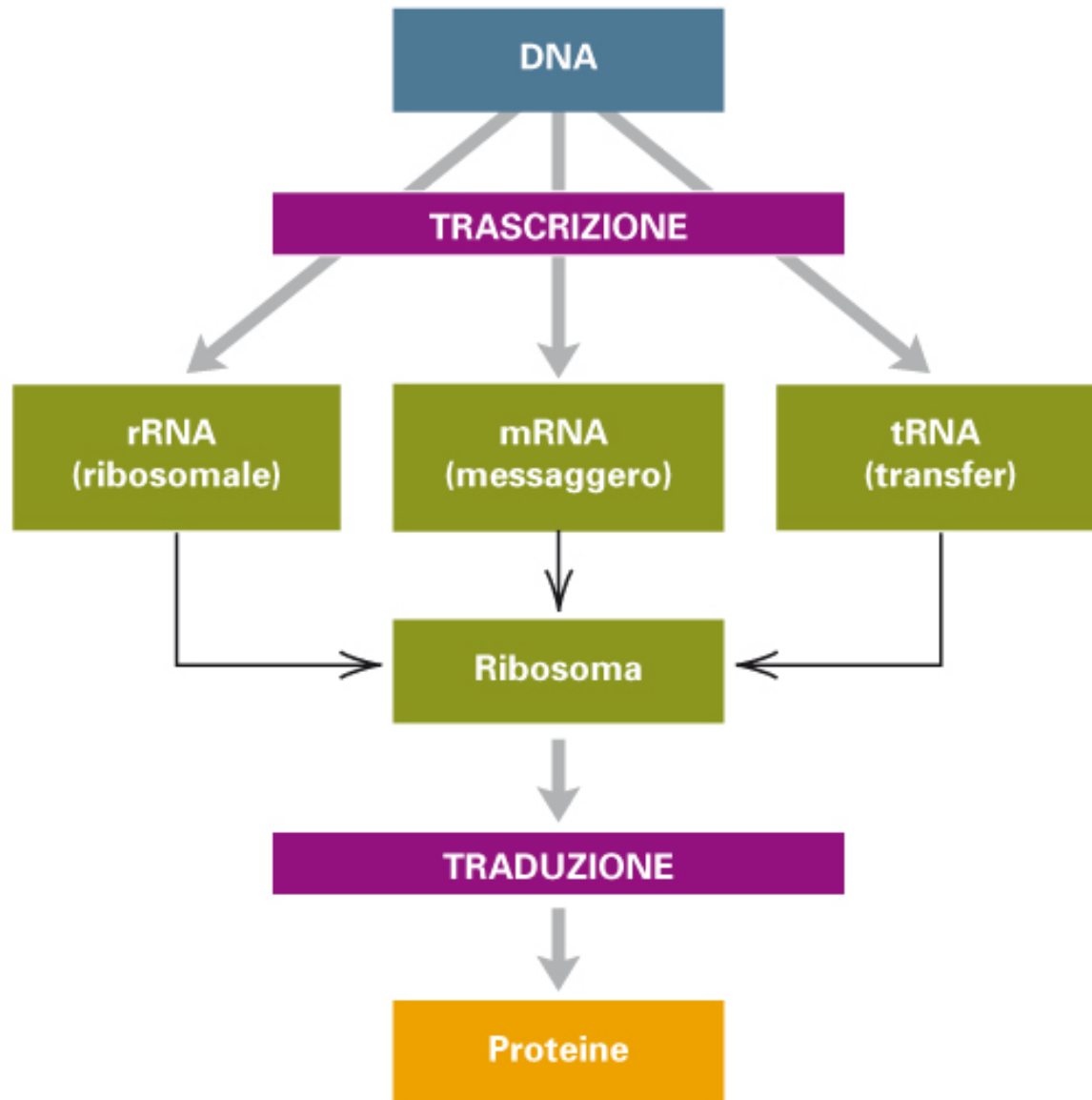


Procarioti

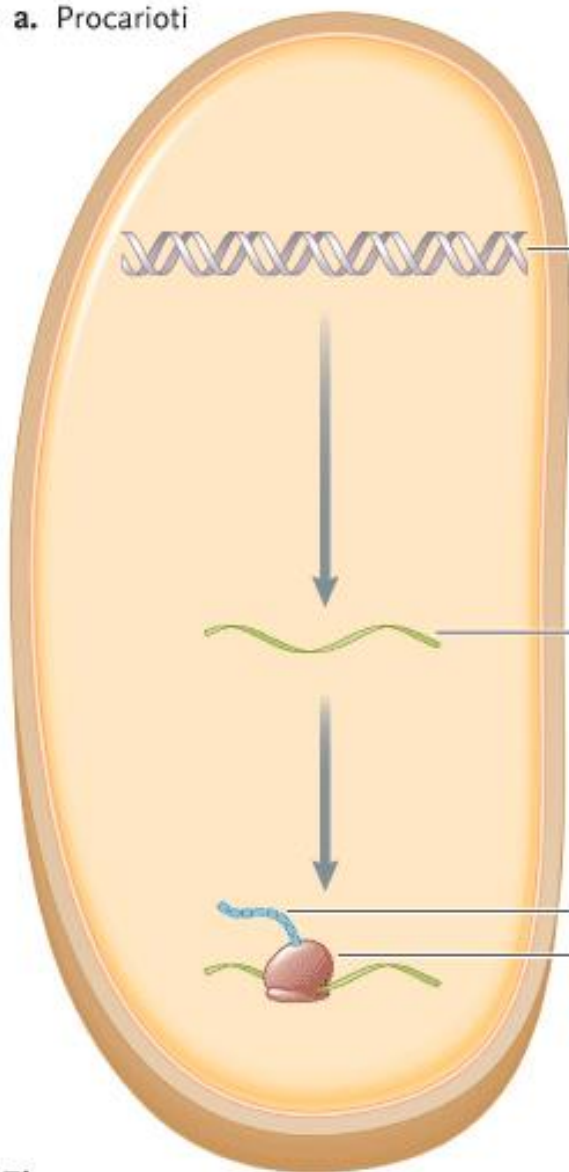
La replicazione da una singola origine nel DNA circolare dei procarioti.



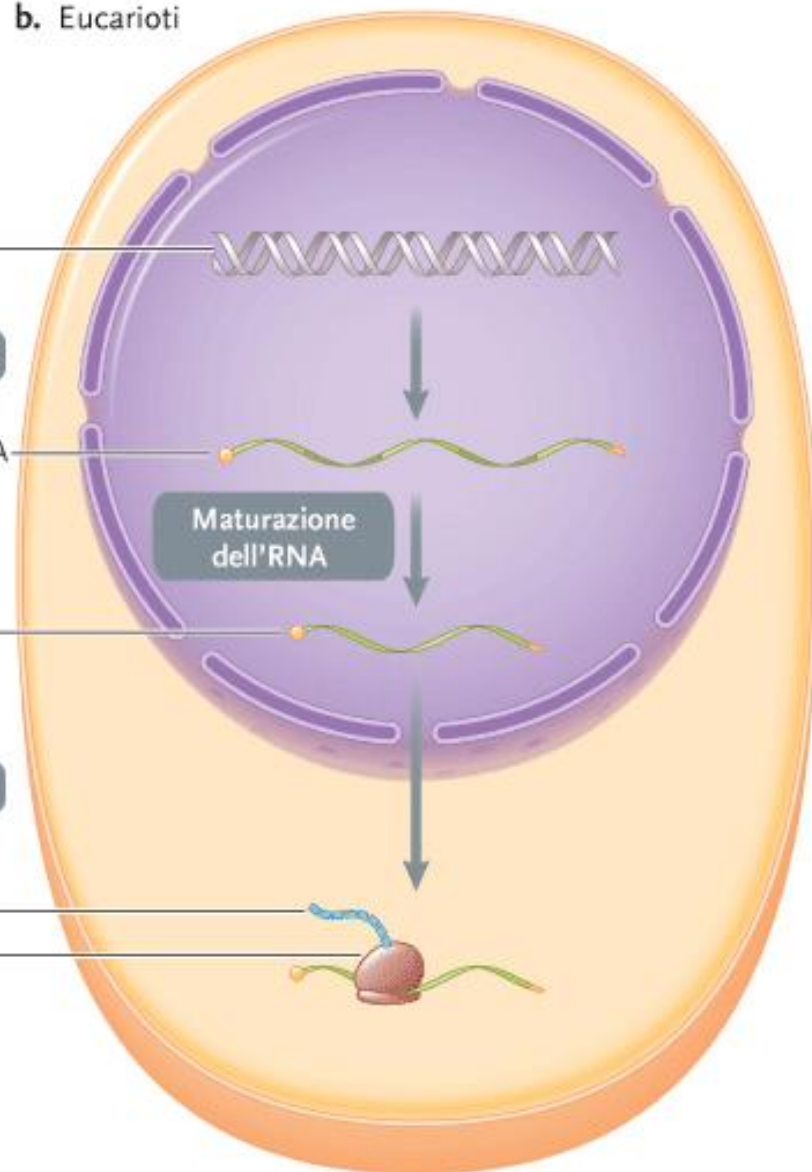
espressione genica



a. Procarioti



b. Eucarioti



Trascrizione

Pre-mRNA

mRNA

Traduzione

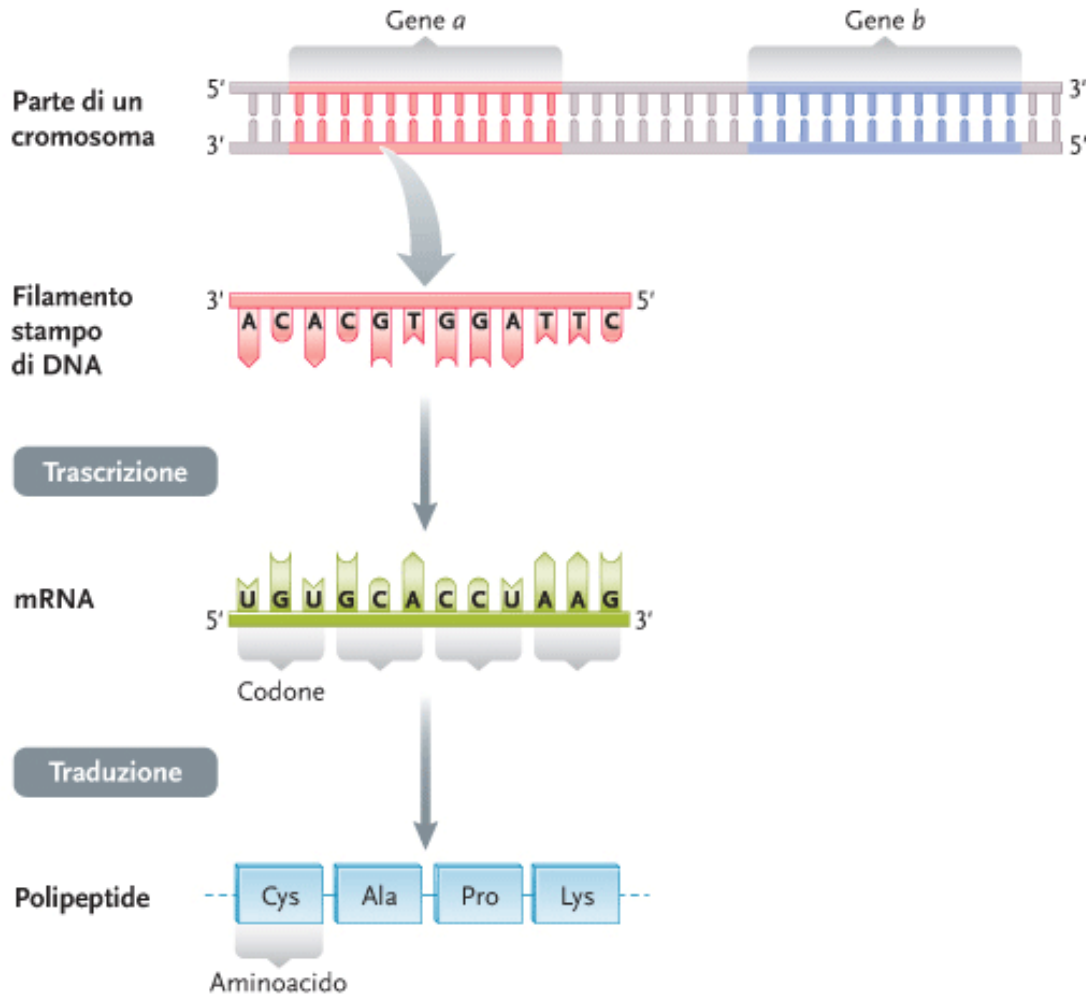
Polipeptide

Ribosoma

DNA

DNA

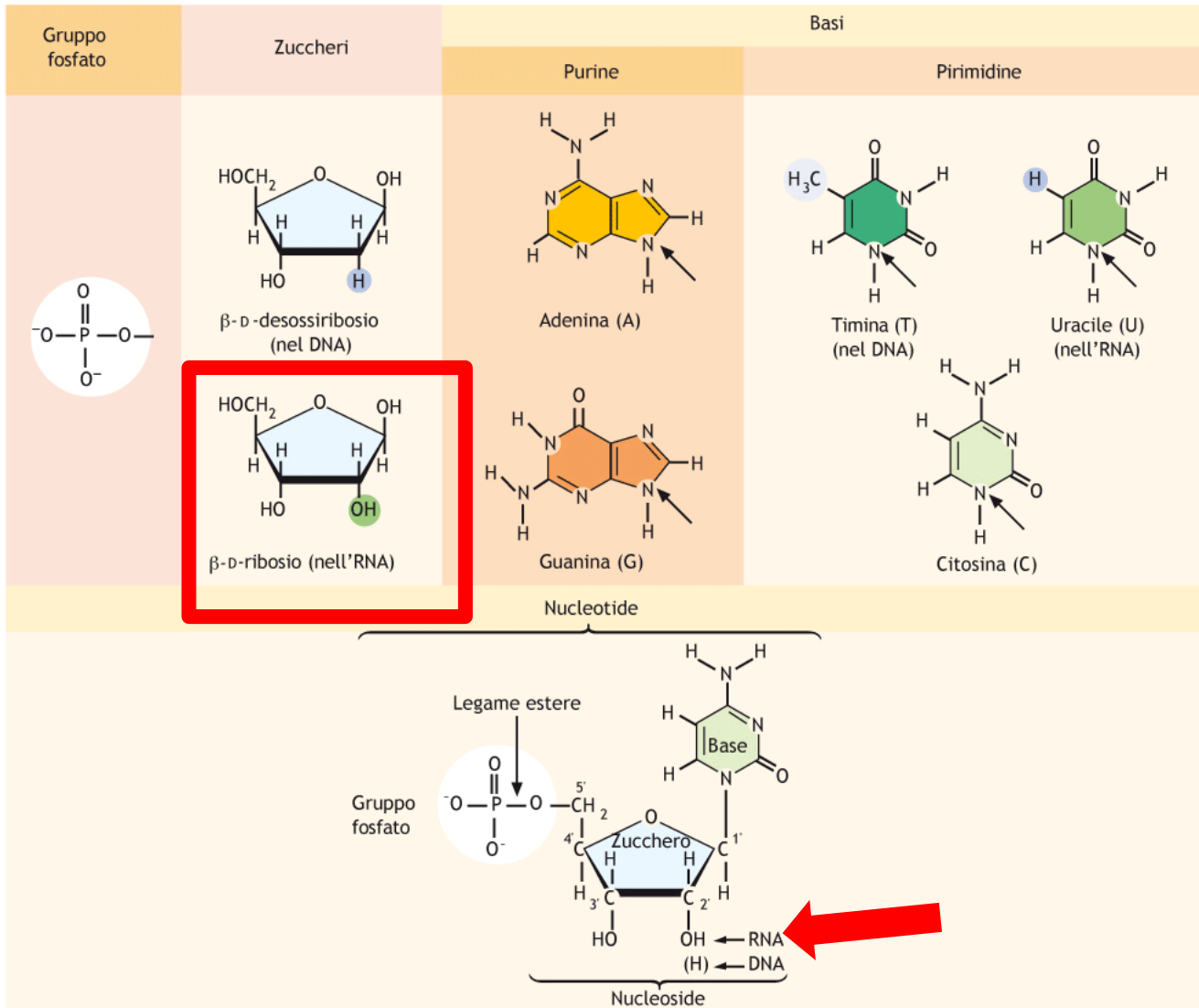
Maturazione
dell'RNA



LEGENDA

Cys = cisteina Pro = prolina
 Ala = alanina Lys = lisina

**PROCESSO DI TRASCRIZIONE E TRADUZIONE
 DELL'INFORMAZIONE GENETICA**



RNA

costituito dai **ribonucleotidi**:
 D-ribosio, base azotata, residuo di acido fosforico

IL CODICE GENETICO_ nell'RNA la Timina è sostituita dall'Uracile

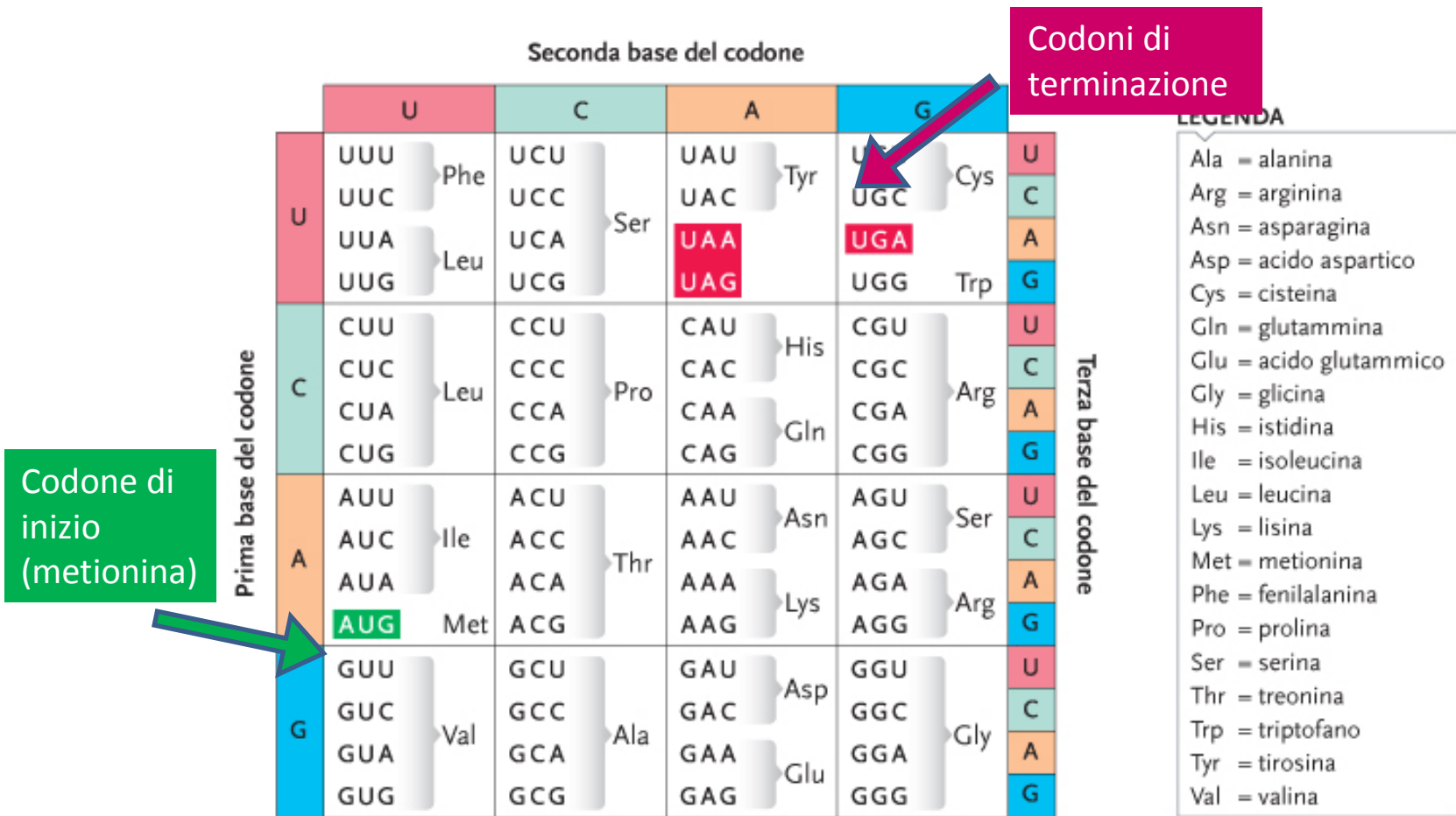


Figura 5.5

Il codice genetico scritto nella forma in cui i codoni appaiono nell'mRNA. In verde è mostrato il codone di inizio AUG che codifica per la metionina; i 3 codoni di terminazione sono riquadrati in rosso.

La trascrizione genera diversi tipi di RNA:

rRNA o RNA ribosomiale

sintesi delle proteine, funzione strutturale e catalitica

tRNA o RNA transfer o RNA di trasporto

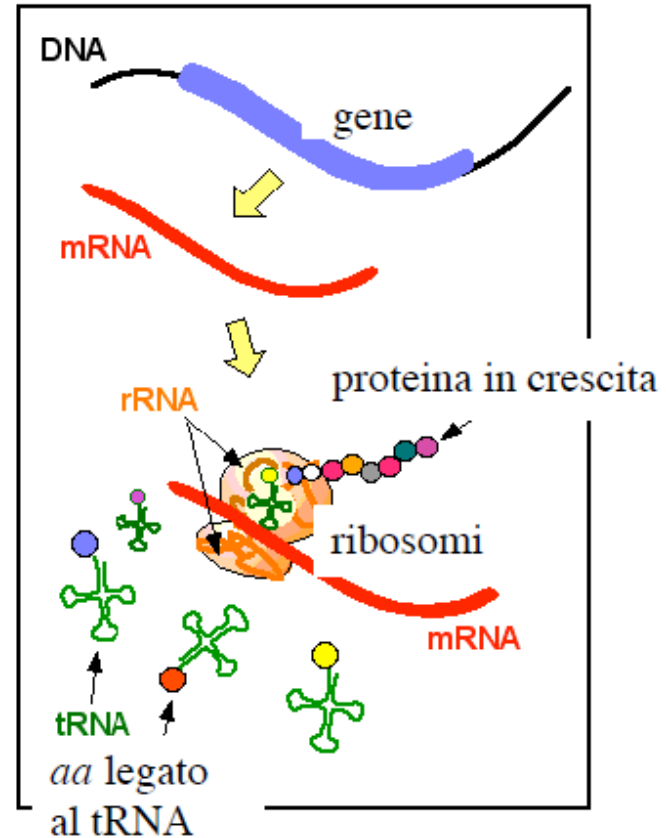
“adattatore” nella traduzione delle sequenze di nucleotidi in *aa* ovvero trasporta gli *aa* per la sintesi (traduttore)

mRNA o RNA messaggero

trasferimento informazione da DNA a citoplasma

Trascritto primario o pre-mRNA o HnRNA o RNA eterogeneo nucleare
mRNA immaturo degli eucarioti

ncRNA o RNA non codificanti
cooperano alla regolazione genica



Il processo è realizzato da **enzimi** chiamati

RNA polimerasi DNA-dipendenti



l'enzima si lega ad una sequenza sul DNA detta **promotore**

Negli **eucarioti**:

RNA polimerasi I → rRNA

RNA polimerasi II → Trascritto primario e mRNA

RNA polimerasi III → tRNA e altri piccoli RNA dei ribosomi e coinvolti nella maturazione dell'mRNA