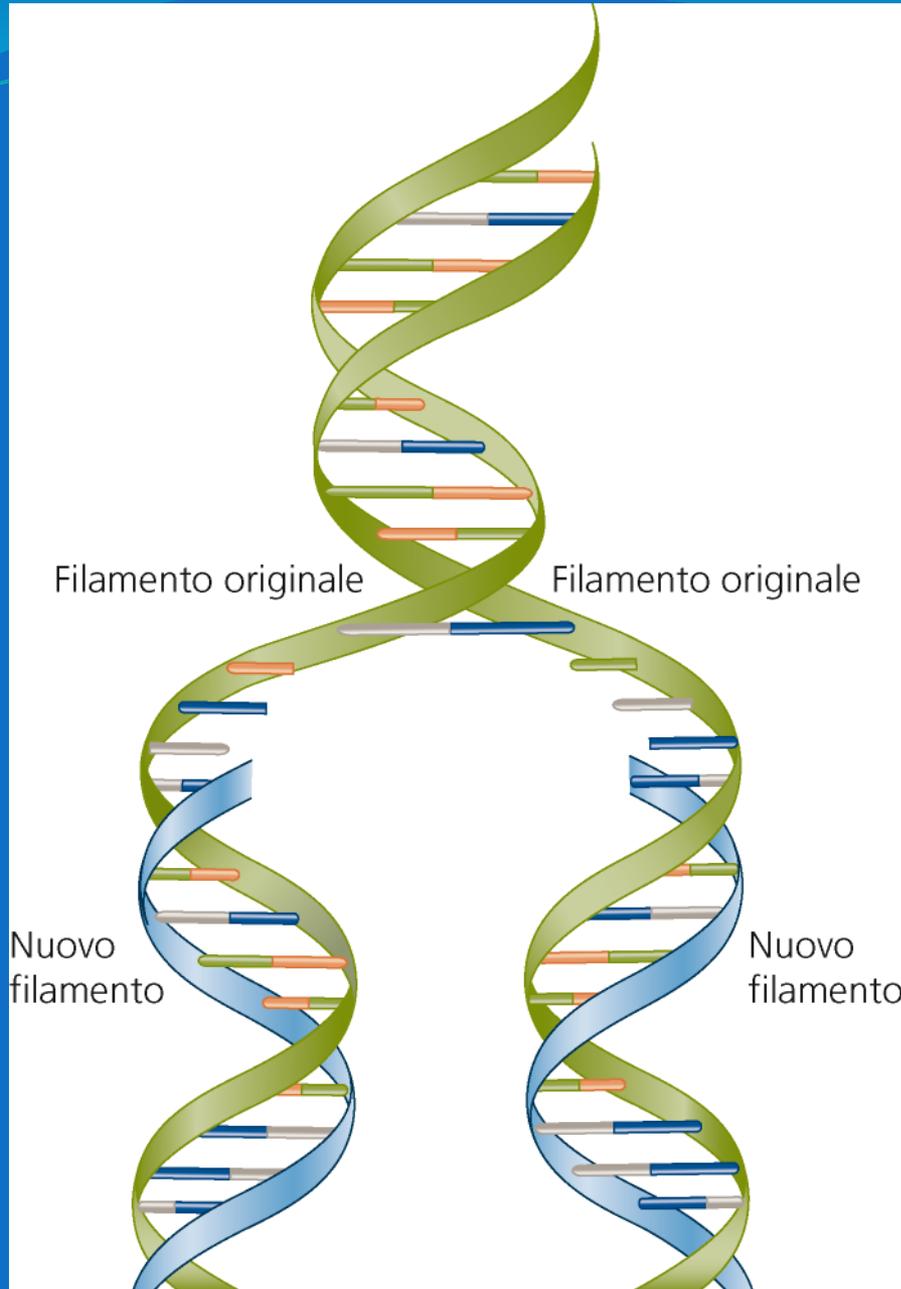


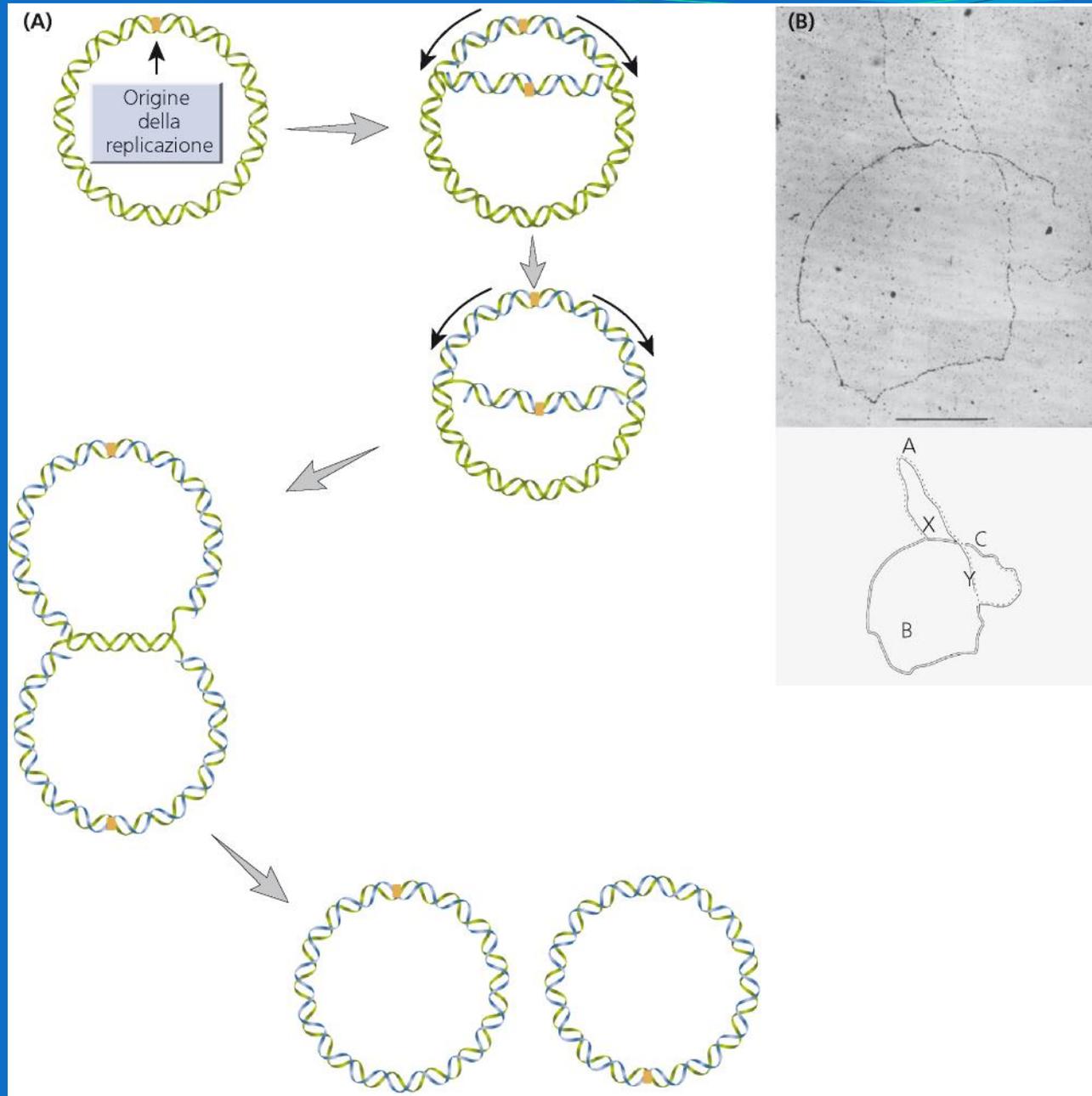
La replicazione del DNA

Replicazione Semiconservativa

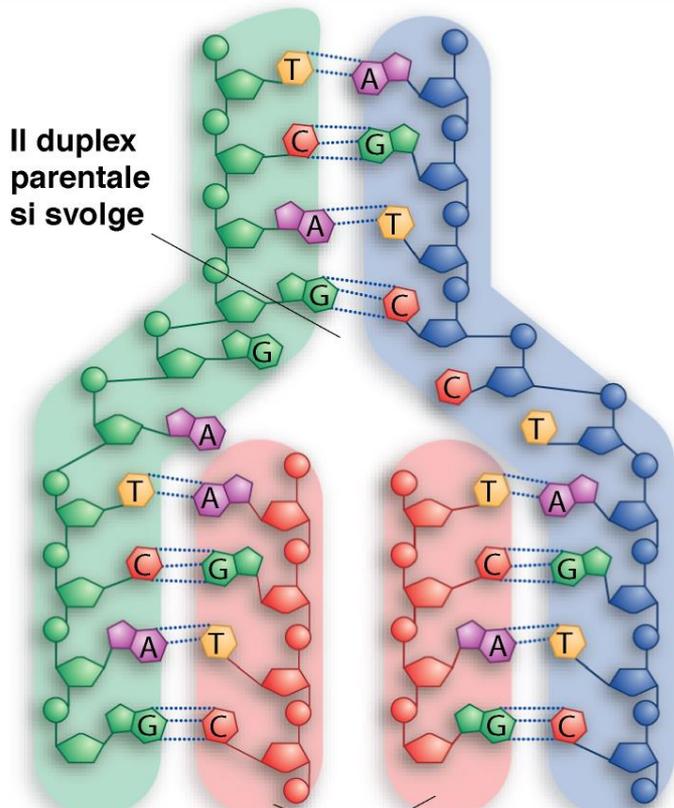


La doppia elica del DNA dopo la replicazione contiene una elica parentale ed una elica figlia di nuova sintesi

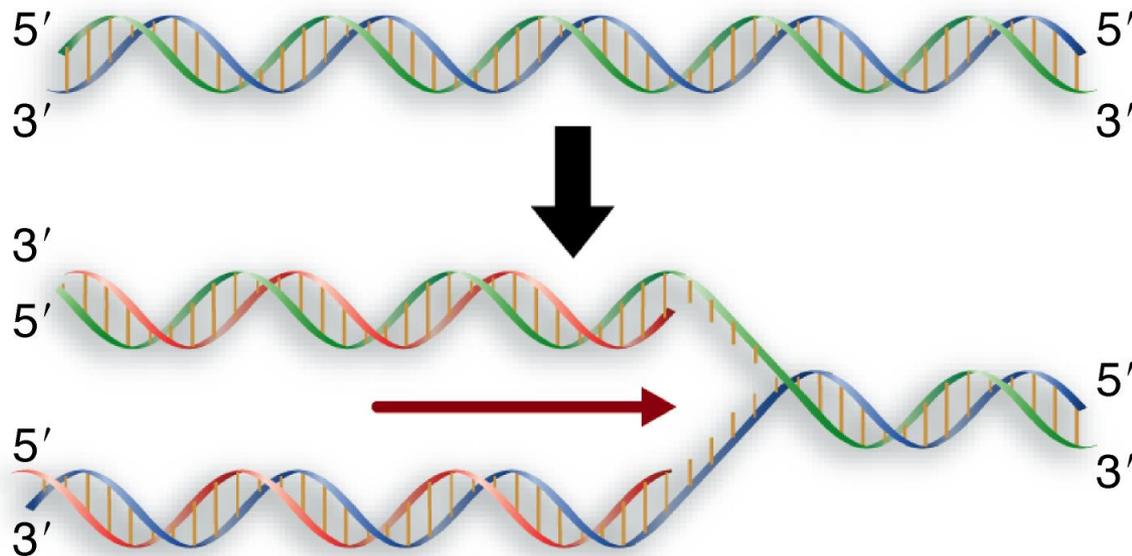
La replicazione in E.coli (Cairns 1963)



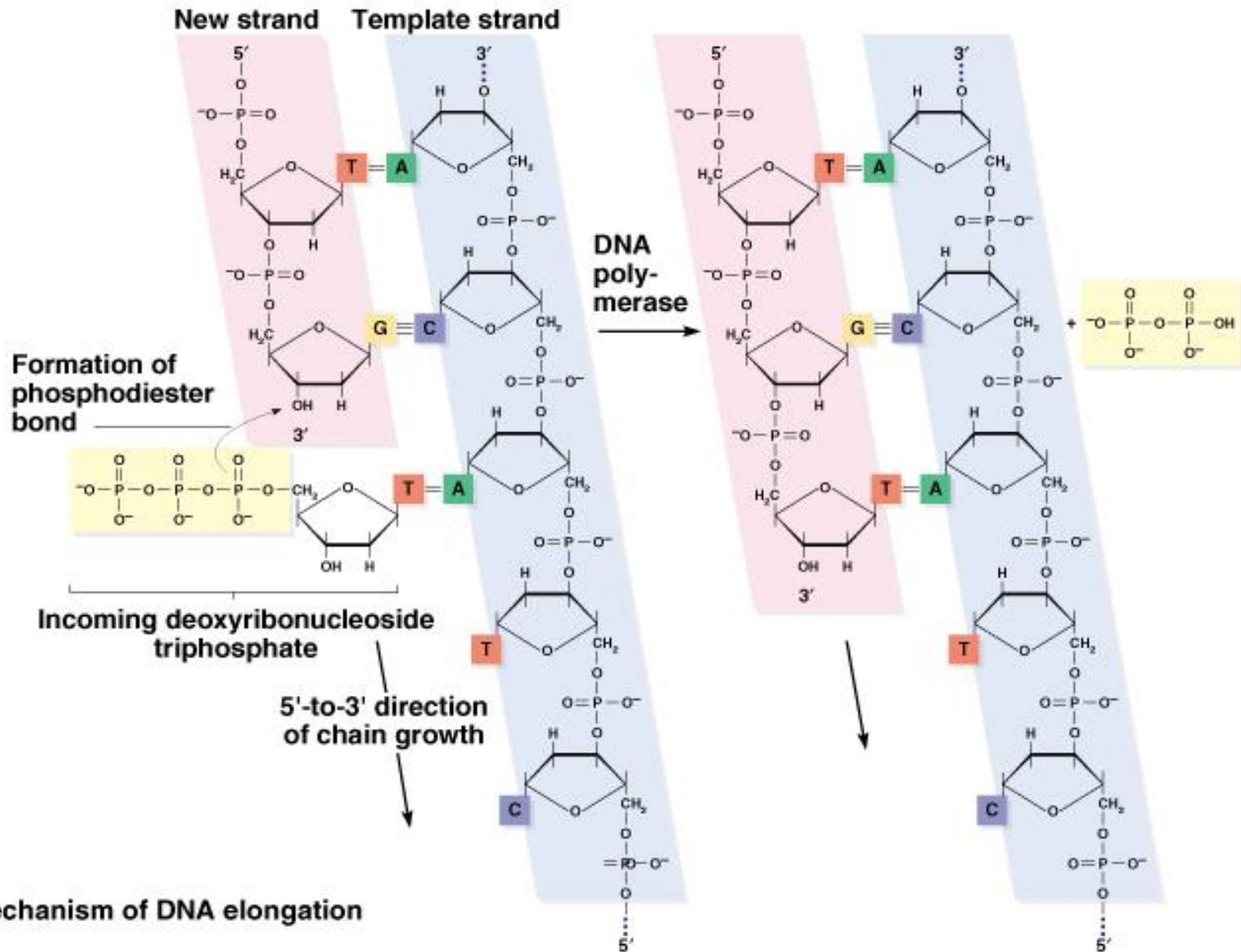
L'appaiamento delle basi spiega
la specificità della replicazione



Ciascun filamento del DNA parentale
funziona da stampo



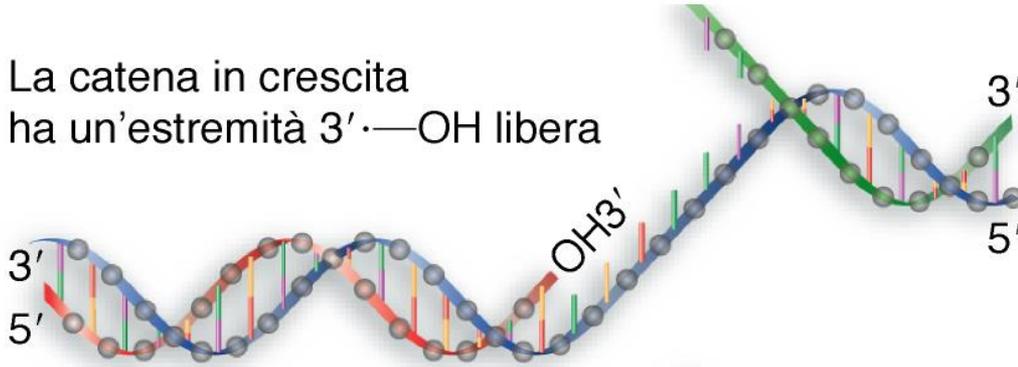
La sintesi avviene in direzione 3' → 5'



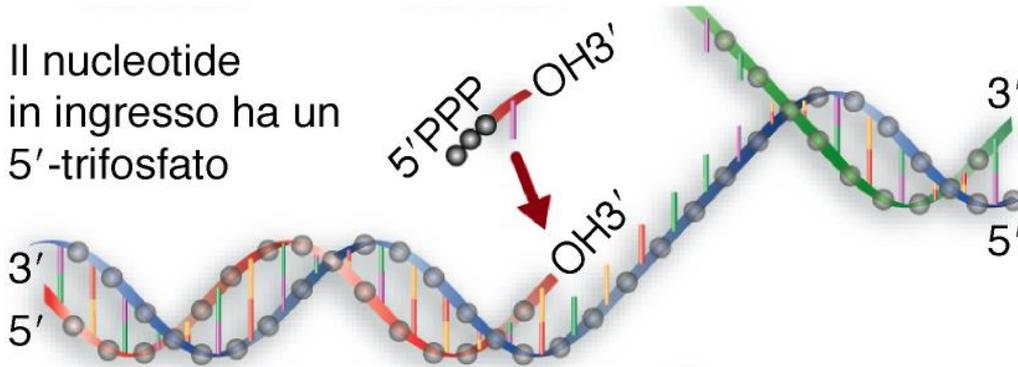
a) Mechanism of DNA elongation

La sintesi degli acidi nucleici procede in direzione $5' \rightarrow 3'$

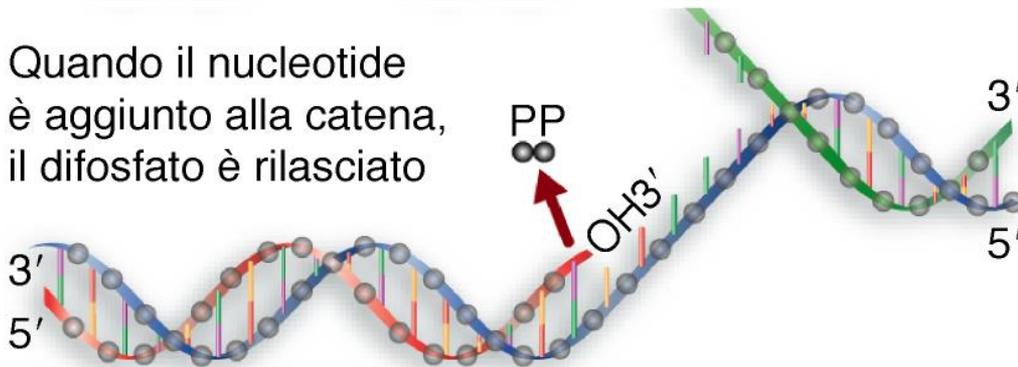
La catena in crescita ha un'estremità $3'$ —OH libera



Il nucleotide in ingresso ha un $5'$ -trifosfato



Quando il nucleotide è aggiunto alla catena, il difosfato è rilasciato



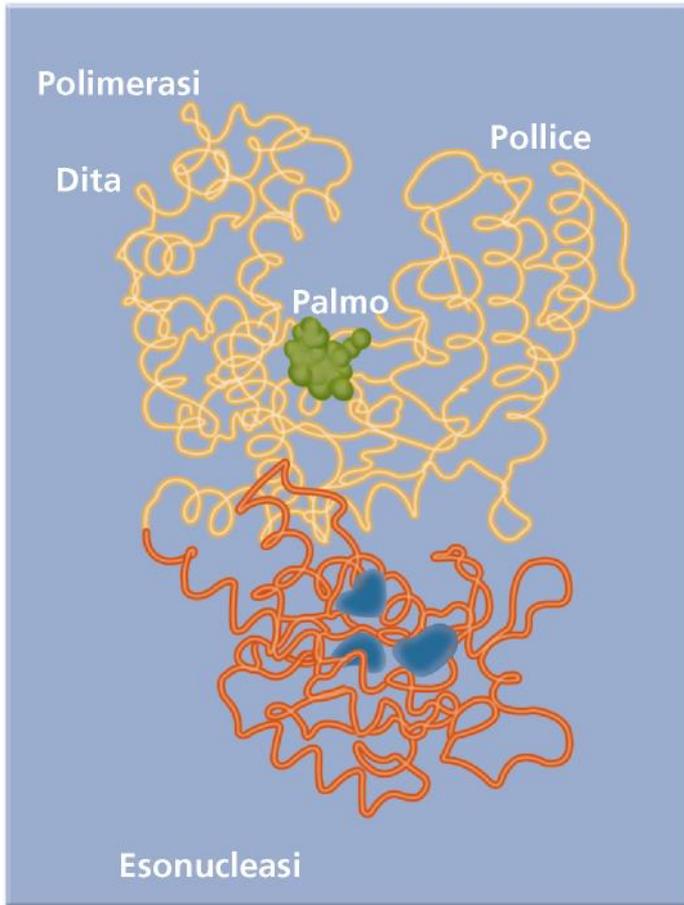
L'energia per la formazione del legame è portata dal nucleotide entrante e non dalla catena in crescita

Importante per la correzione degli errori

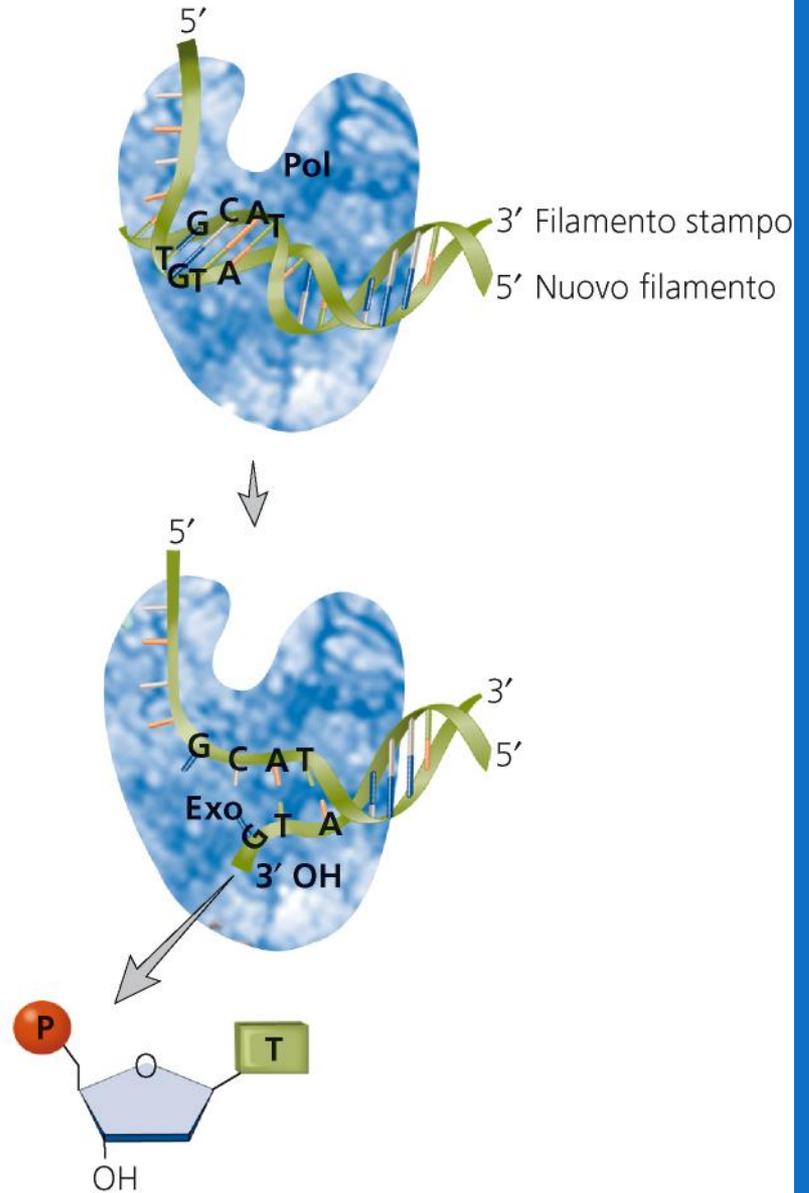
La DNA polimerasi I

La DNA polimerasi I

(A)

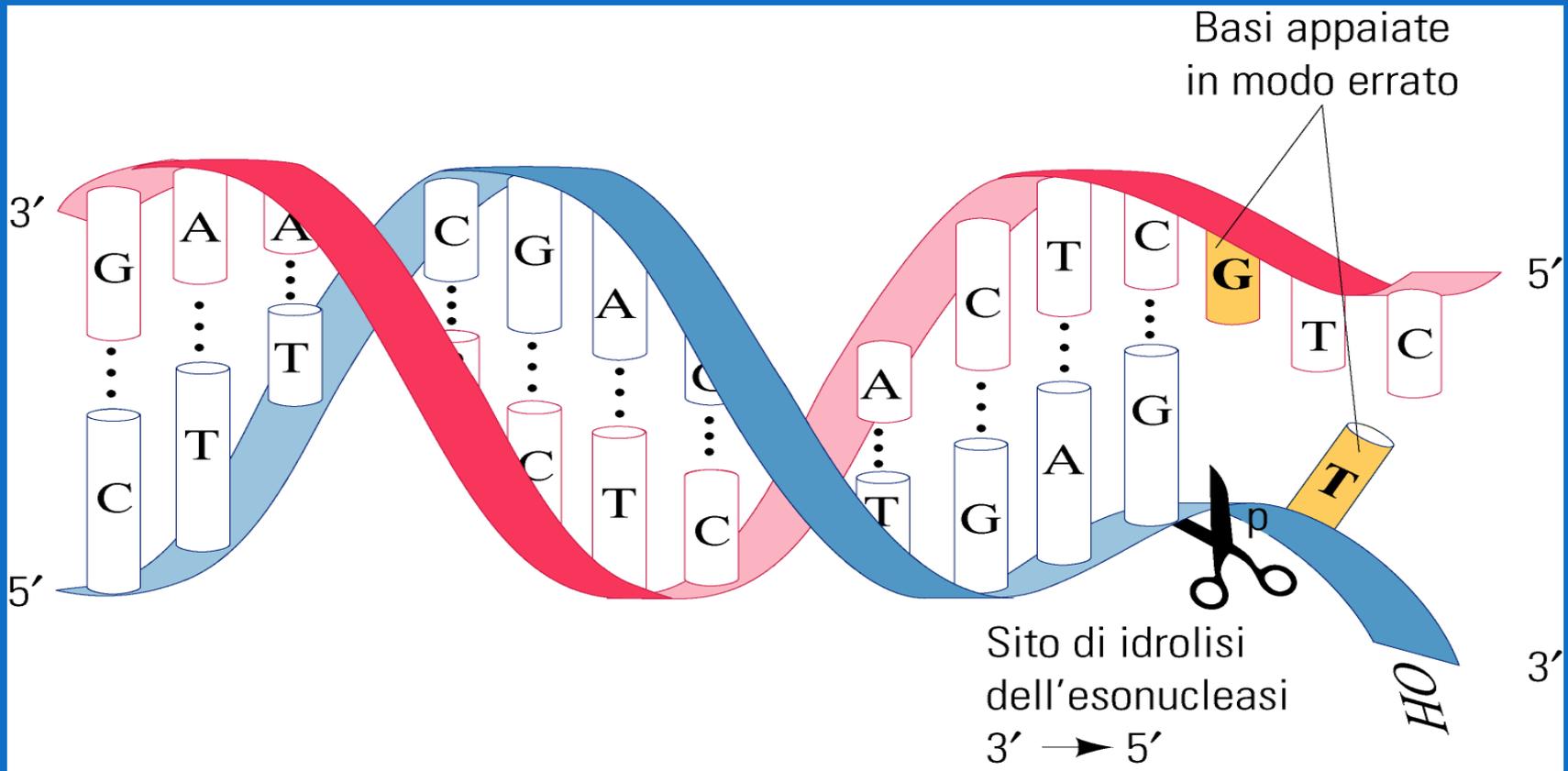


(B)



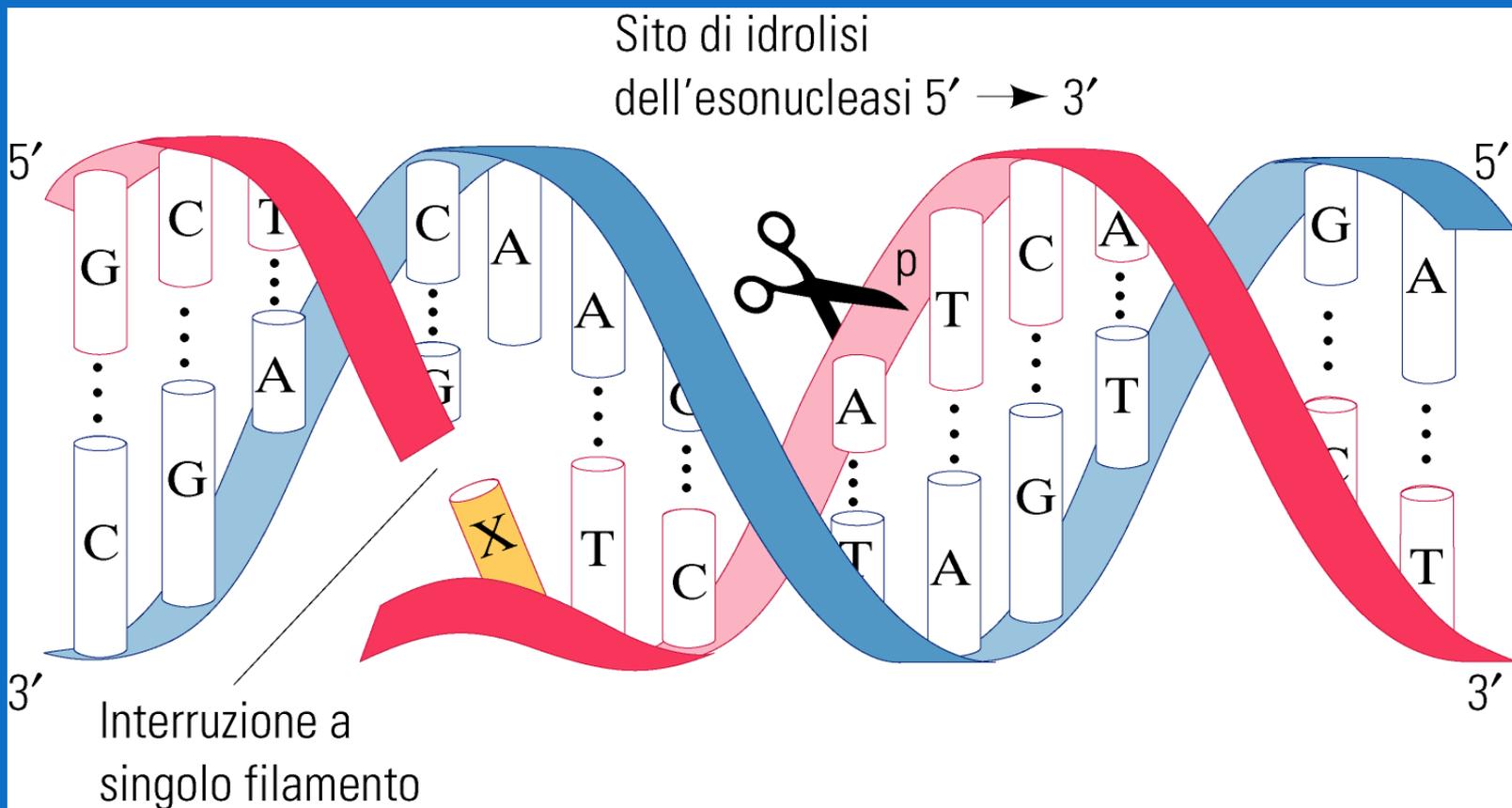
Attività esonucleasiche della DNA pol I

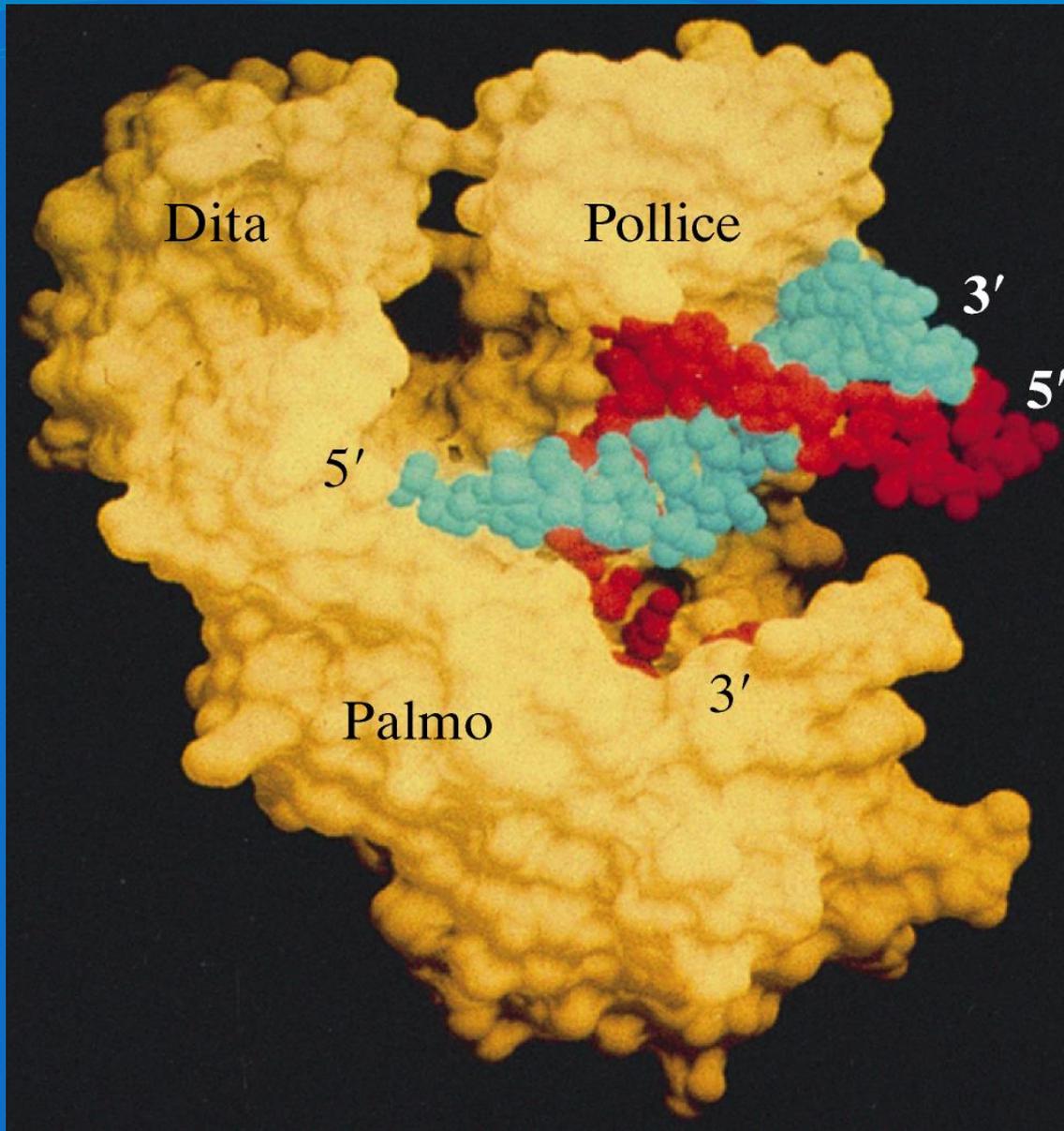
Esonucleasi 3'→5' proofreading
o correttore di bozze



Attività esonucleasiche della DNA pol I

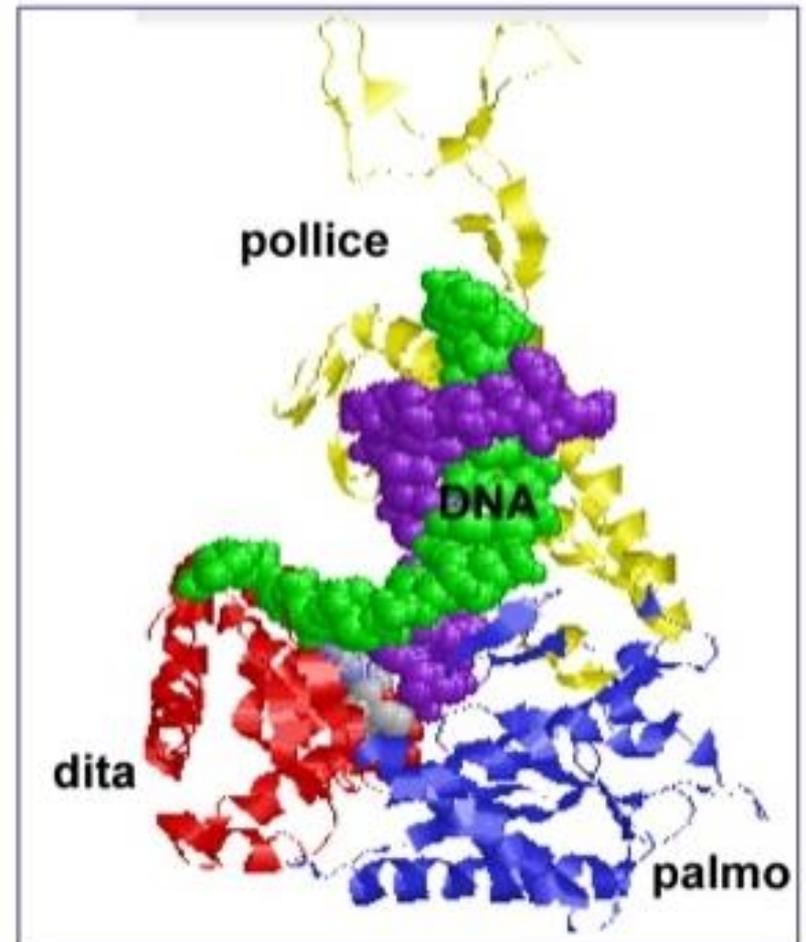
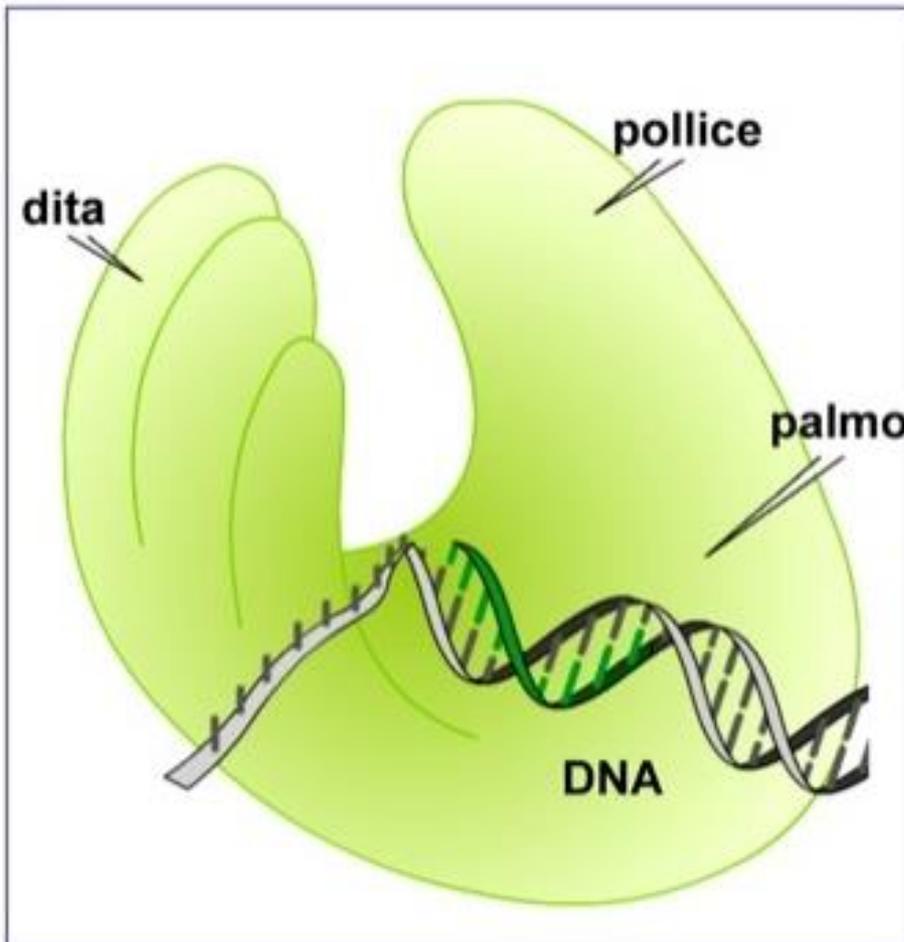
Esonucleasi 5' → 3' sintesi di riparo

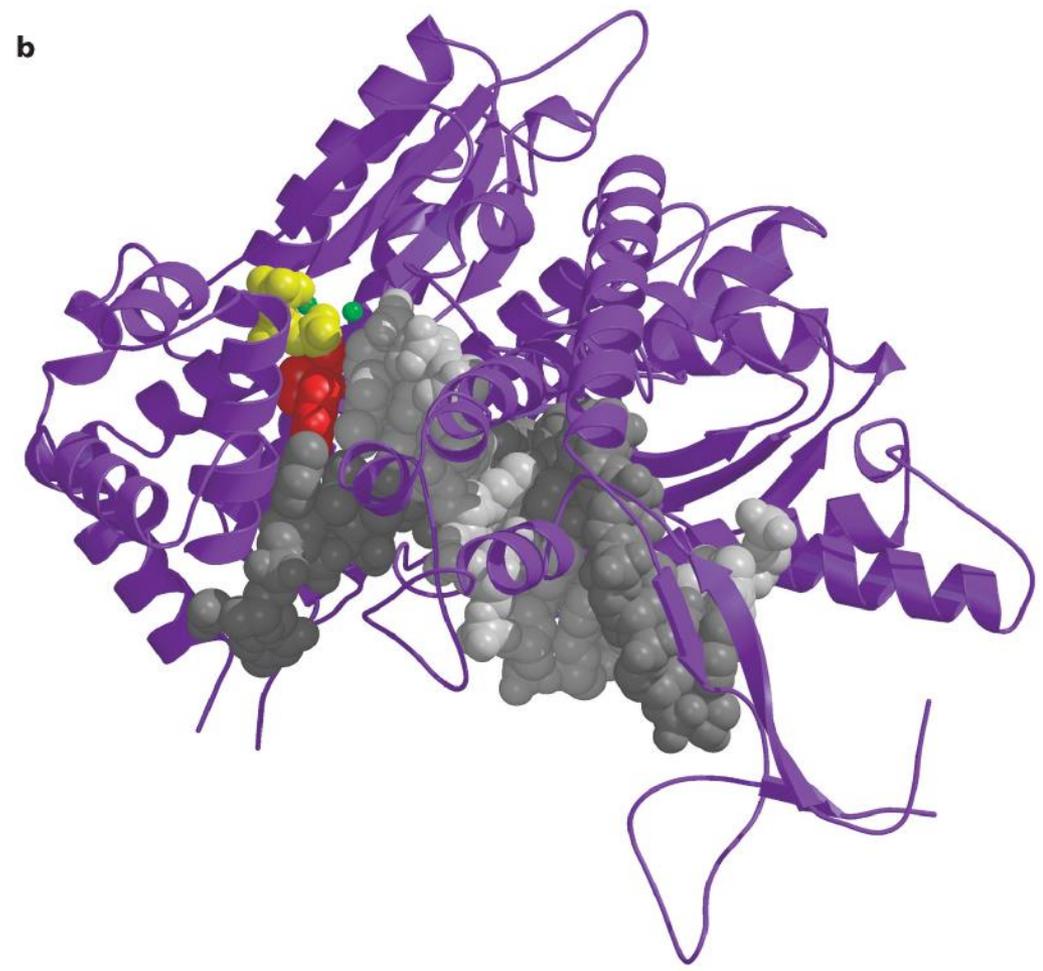
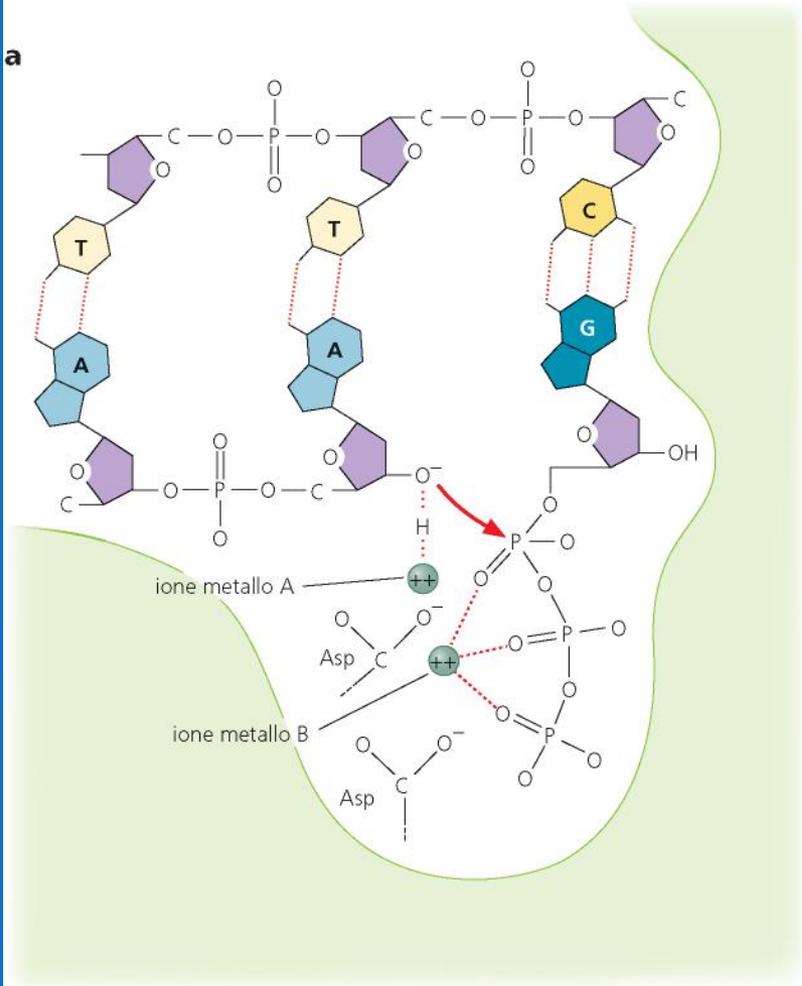




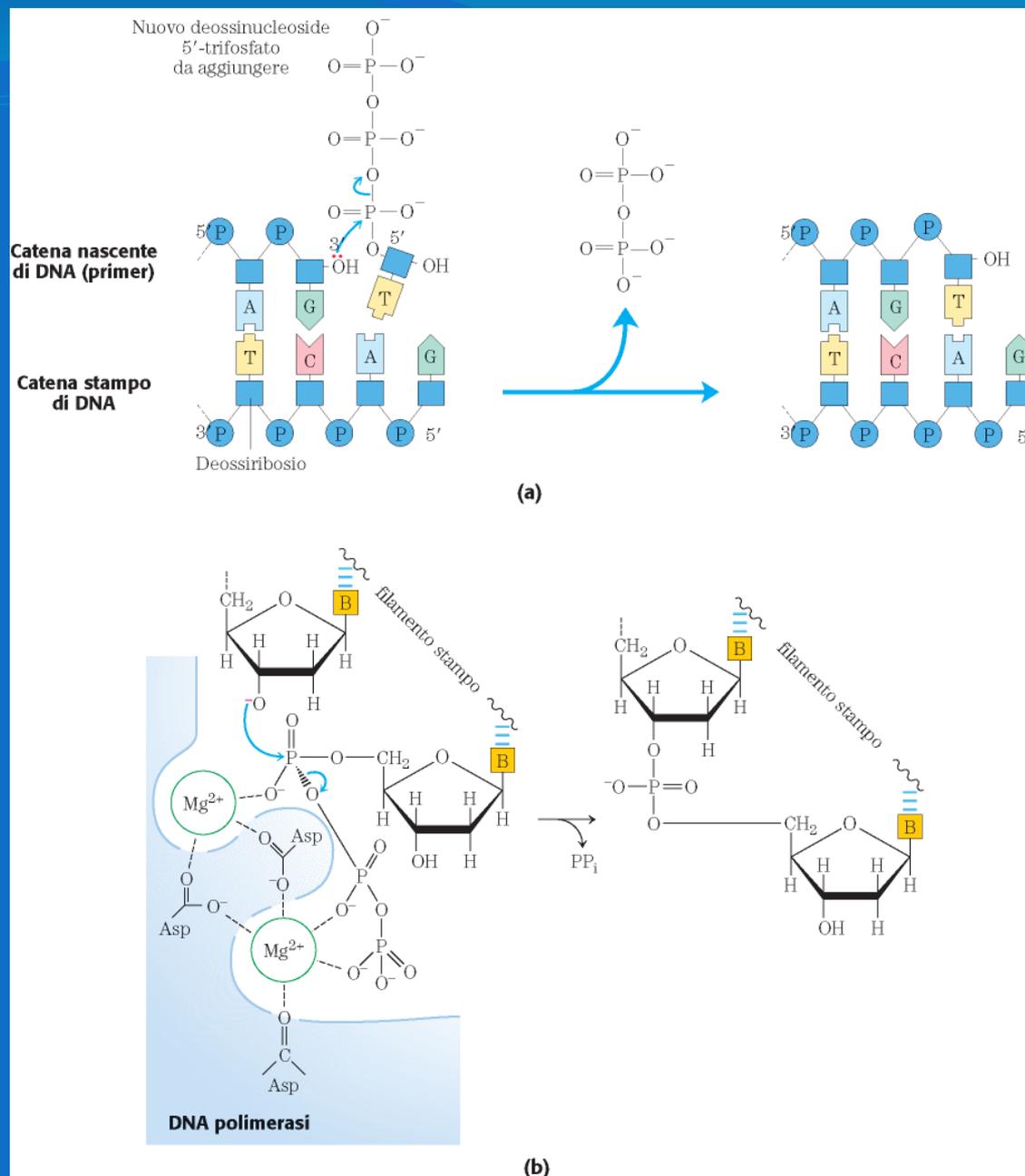
Struttura ai raggi X del frammento di Klenow della DNA-poll di *E.coli*

La DNA polimerasi I



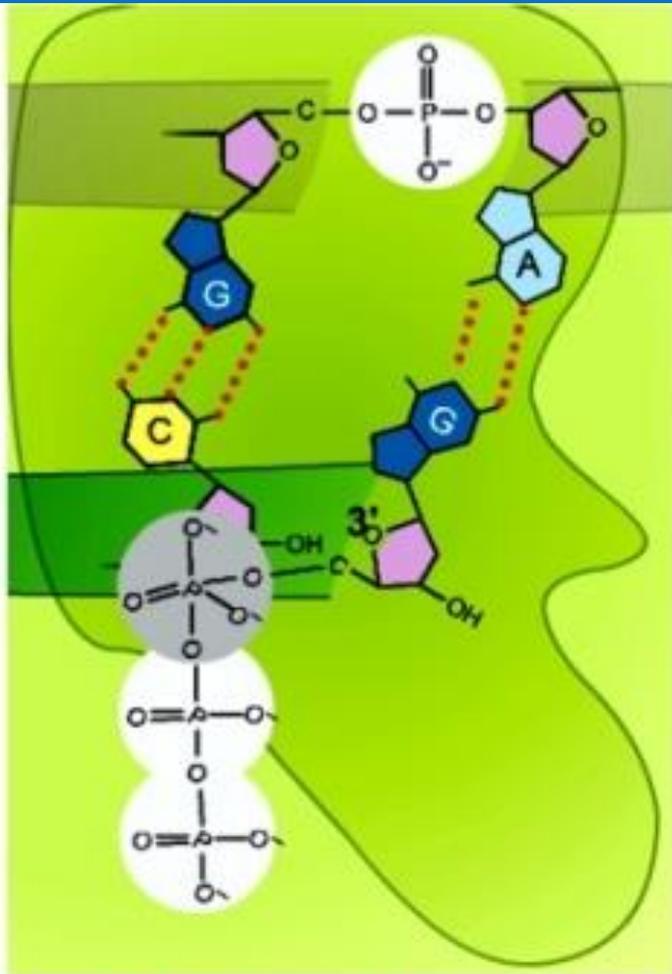


Lo stesso sito attivo per i 4 dNTP

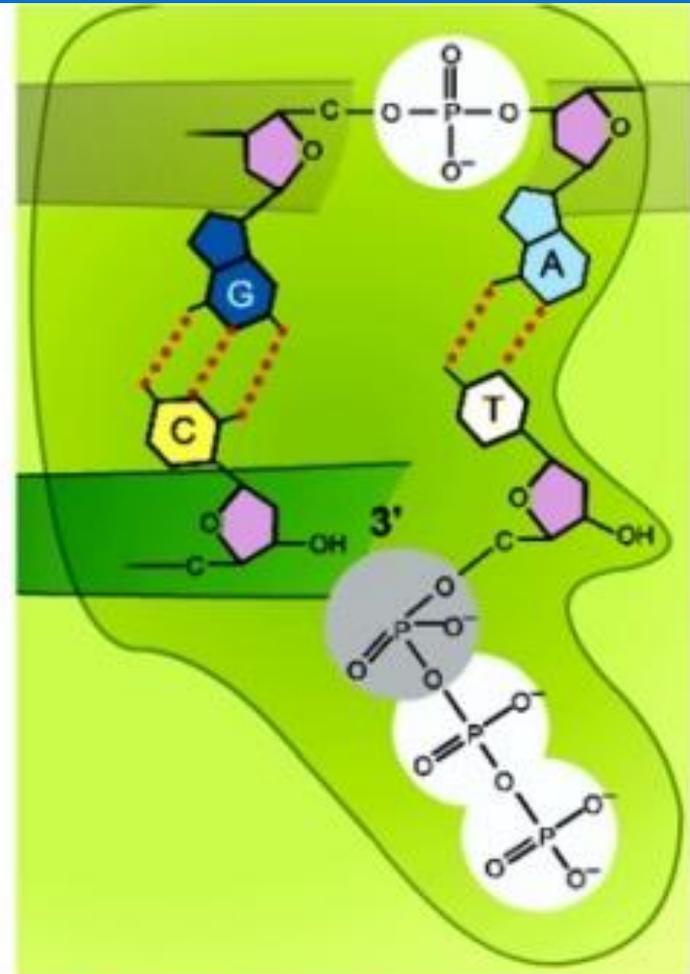


Gli ioni Mg stabilizzano la struttura dello stato di transizione pentacovalente

La DNA polimerasi I



Appaiamento errato

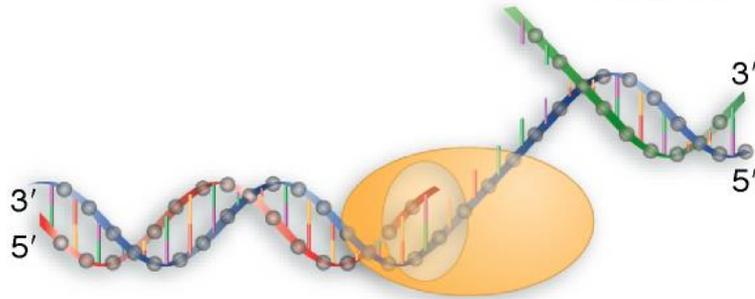
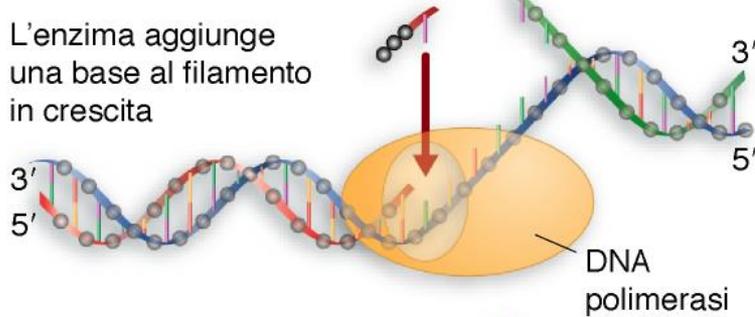


Appaiamento corretto

Incorporazione di un nucleotide errato 10000 volte più lenta

Le DNA polimerasi hanno attività esonucleasica

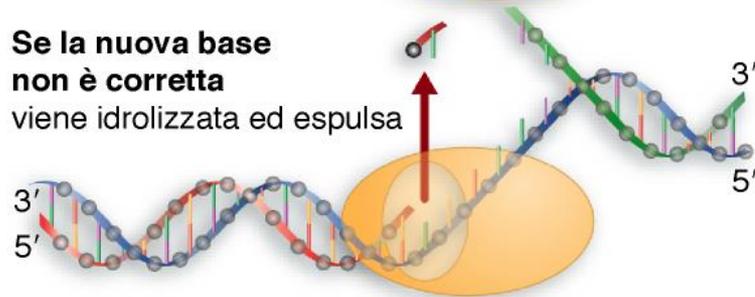
L'enzima aggiunge una base al filamento in crescita



Se la nuova base è corretta
l'enzima si sposta in avanti

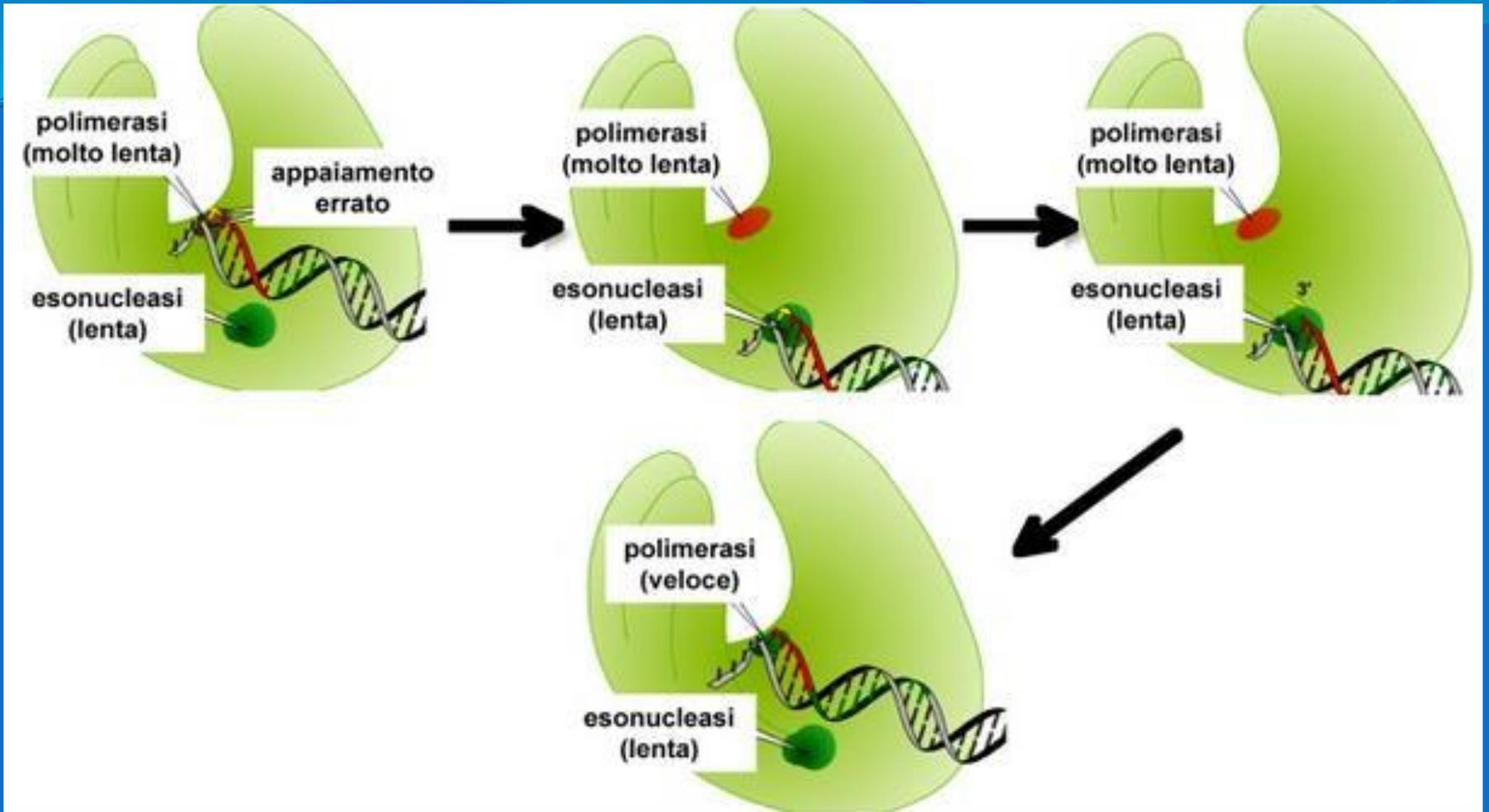


Se la nuova base non è corretta
viene idrolizzata ed espulsa



- cambio conformazionale della DNA pol I prima della formazione del legame covalente
- attività esonucleasica per correggere l'errore

L'energia per la formazione del legame è portata dai nucleotidi entranti e non dalla catena in crescita



Meccanismo di proofreading

Correzione della incorporazione errata di nucleotidi
(forme tautomeriche dei nucleotidi)

When mismatched base pair is added:

- ▶ Palm domain cannot make contacts in minor groove
- ▶ Replication slows
- ▶ Primer:template junction able to slide into exonuclease site
- ▶ Exonuclease site removes incorrect bases
- ▶ Primer:template junction slides back to DNA polymerase site
- ▶ Replication continues



DNA synthesis:

- ▶ 3' OH of primer attacks α -phosphoryl group of dNTP
- ▶ Pyrophosphate hydrolysis provides additional free energy to drive reaction

Palm domain:

- ▶ Active site in palm domain can distinguish between rNTPs and dNTPs
- ▶ Divalent metal ions are crucial for DNA polymerization activity

Finger domain:

- ▶ Lys and Arg residues stabilize pyrophosphate
- ▶ Tyr residue helps hold dNTP in place
- ▶ Introduces a $\sim 90^\circ$ turn in the template strand

Thumb domain:

- ▶ Holds primer:template junction in place and reduces dissociation rate

When mismatched base pair is added:

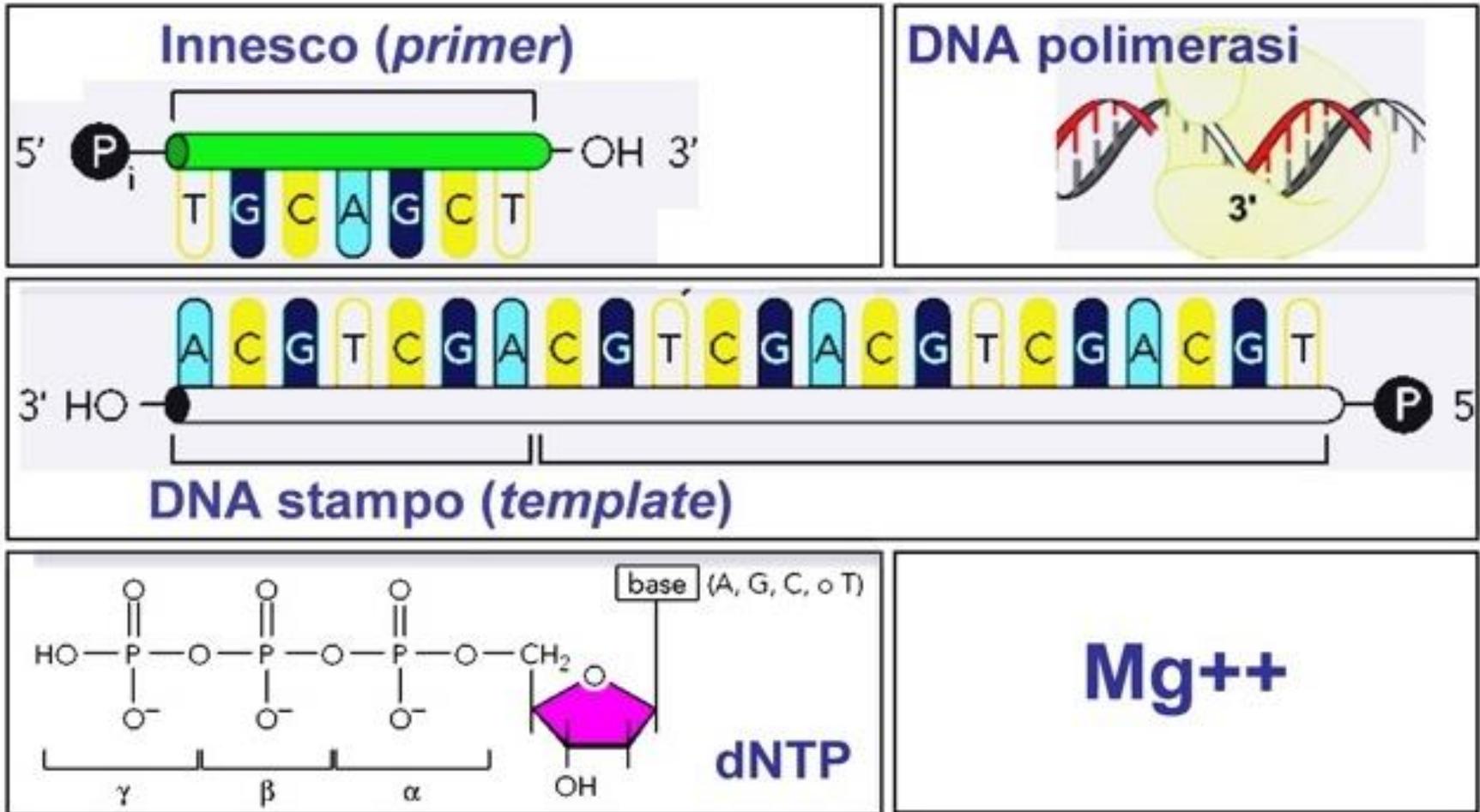
- ▶ Palm domain cannot make contacts in minor groove
- ▶ Replication slows
- ▶ Primer:template junction able to slide into exonuclease site
- ▶ Exonuclease site removes incorrect bases
- ▶ Primer:template junction slides back to DNA polymerase site



		<i>Frequenza di errori</i>	
<i>Enzima</i>	<i>subunità</i>	<i>senza proofreading</i>	<i>con proofreading</i>
E.coli DNA Pol I	singola	10^{-5}	5×10^{-7}
E.coli DNA Pol III	multiple	7×10^{-6}	5×10^{-9}
T4 DNA Pol	singola	5×10^{-5}	10^{-7}
T7 DNA Pol	singola	10^{-5}	10^{-6}
Trascrittasi Inversa	singola	10^{-5}	--

La DNA polimerasi richiede un innesco

Estremità 3'-OH libera



DNA polimerasi Procariotiche: I batteri hanno 5 DNA polimerasi :

Pol I: riparo del DNA; att. esonucleasiche 5'->3' (Nick translation) e 3'->5' (Proofreading).

Pol II: replicazione del DNA danneggiato.

Pol III: principale DNA polimerasi nella replicazione del genoma batterico. Molto processiva.

Pol IV: replicazione "translesionale".

Pol V: replicazione "translesionale", componente del "mutasoma".

DNA polimerasi Eucariotiche: gli eucarioti hanno almeno 15 DNA polimerasi:

Pol α : primasi, estende il primer con nNTP. Dopo circa 20 nt è sostituita da **Pol δ** o da **Pol ϵ** .

Pol β : riparo del DNA.

Pol γ : replicazione del DNA mitocondriale.

Pol δ : principale DNA polimerasi nella replicazione del filamento *lagging*. Molto processiva.

Pol ϵ : principale DNA polimerasi nella replicazione del filamento *leading*. Molto processiva.

Pol η , ι , κ , Rev1 e Pol ζ : replicazione "translesionale", componenti del "mutasoma".

Pol θ , λ , ϕ , σ , e μ . ed altre. Ancora non ben caratterizzate.

Nessuna delle DNA polimerasi eucariotiche può rimuovere i primers (5'->3' esonucleasi).

Solo le polimerasi γ , δ ed ϵ hanno attività di proofreading (3'->5' esonucleasi).

La replicazione del DNA

La Replicazione necessita di un apparato enzimatico complesso:

- DNA Polimerasi
- Proteine iniziatrici
- Primasi e Elicasi;
- Proteine che stabilizzano il DNAss e lo proteggono dalla degradazione;
- Proteine che stimolano le DNA polimerasi.
- Topoisomerasi che eliminano i superavvolgimenti
- Ligasi

Le DNA polimerasi sono incapaci di separare le due eliche del DNA:

Soluzione ==> ELICASI

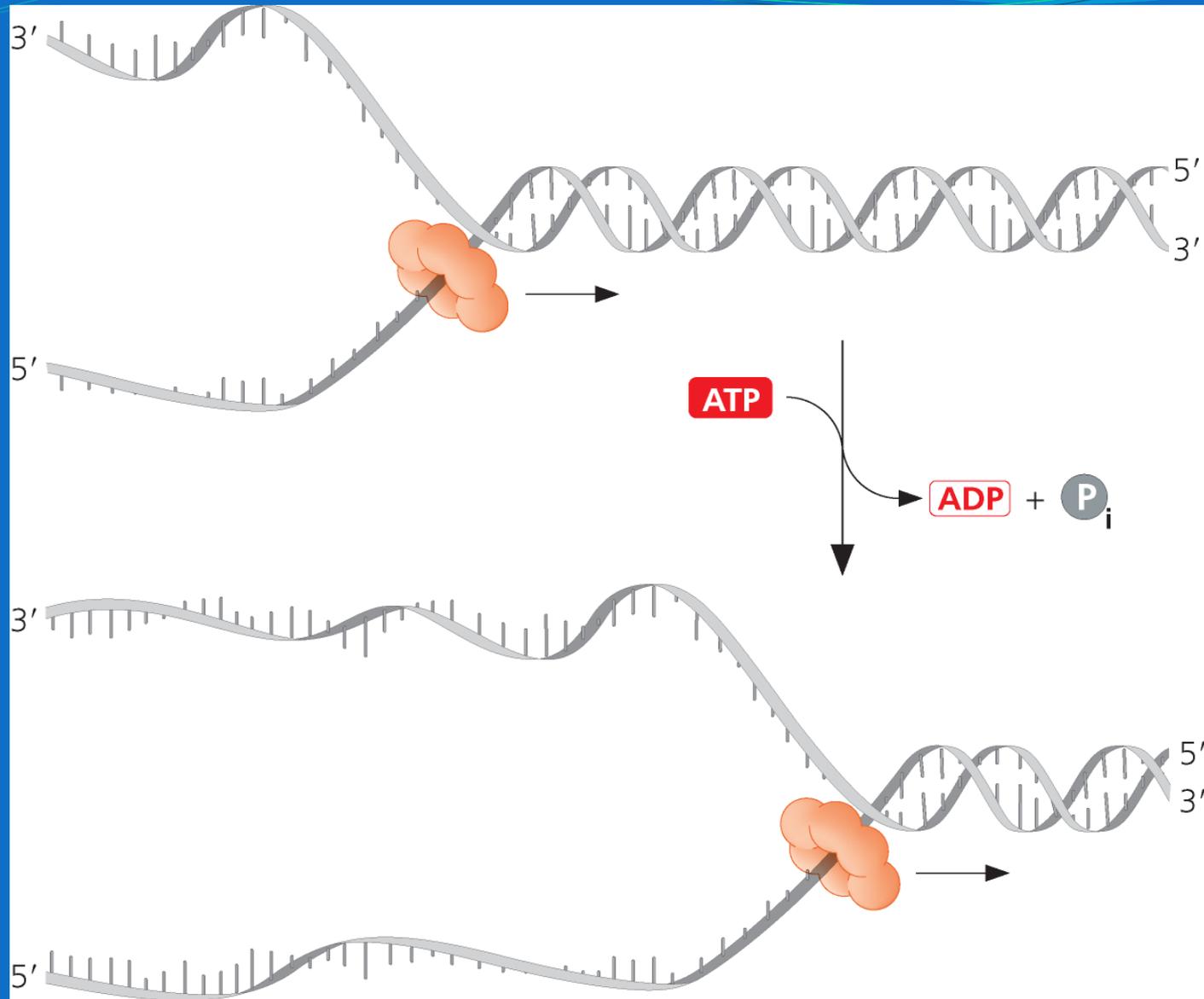
Le DNA polimerasi sono incapaci di iniziare la sintesi di DNA "ex novo", ma richiedono un "innesco" (*primer*) di DNA o RNA:

Soluzione ==> PRIMASI

Le due eliche del DNA duplex sono antiparallele, ma le DNA polimerasi sintetizzano in DNA solo in direzione 5'→3':

Soluzione ==> REPLICAZ. DISCONTINUA

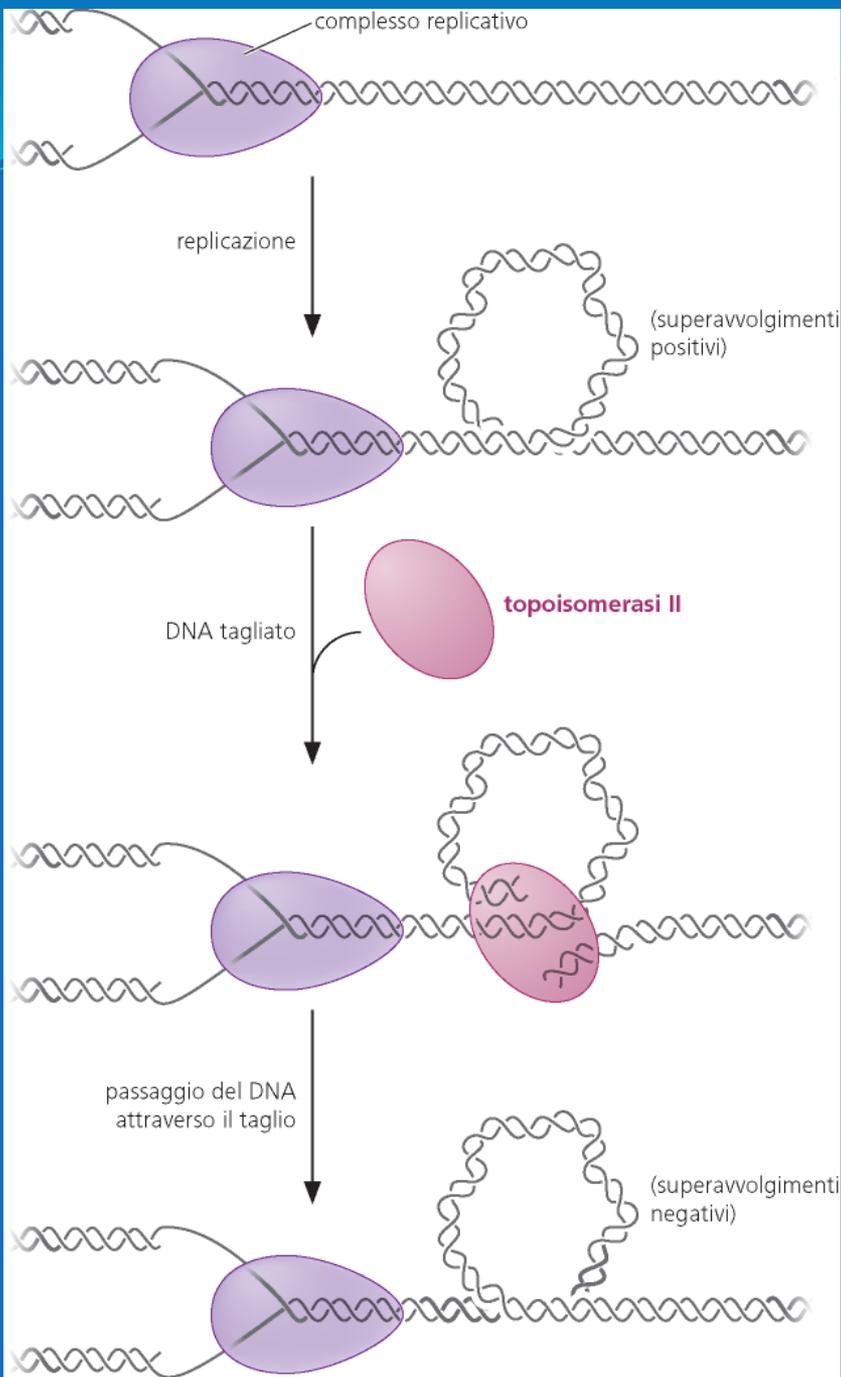
DNA elicasi



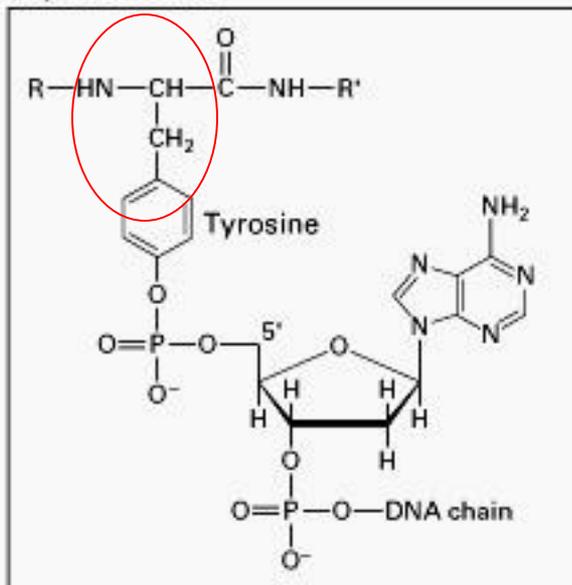
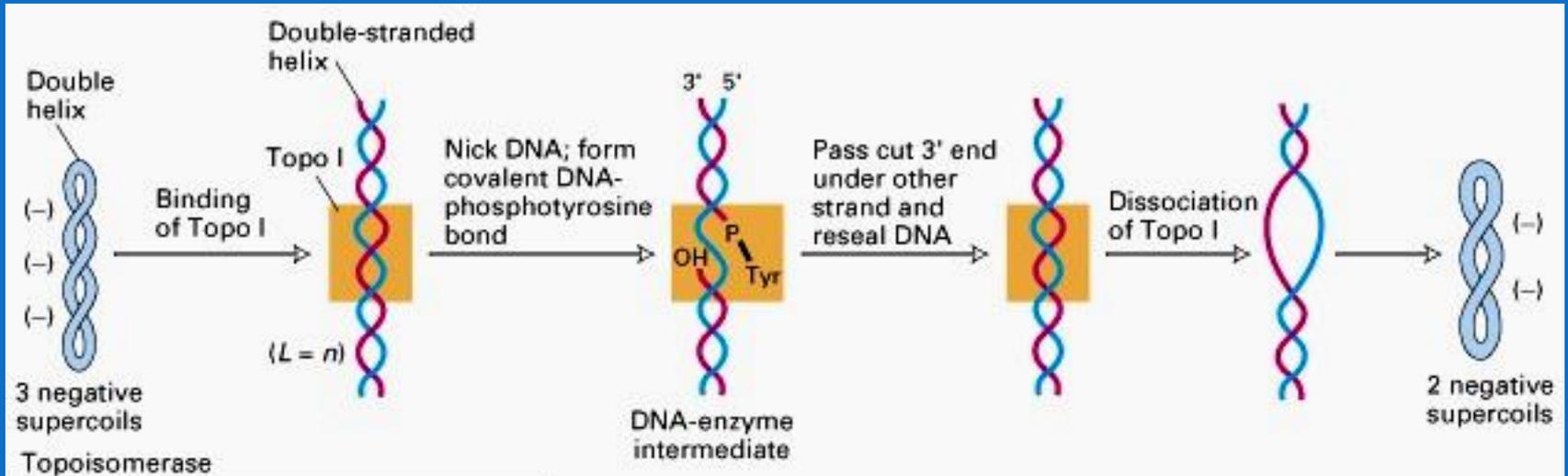
DNA elicasi-proteine esameriche processive aprono la doppia elica

DNA topoisomerasi

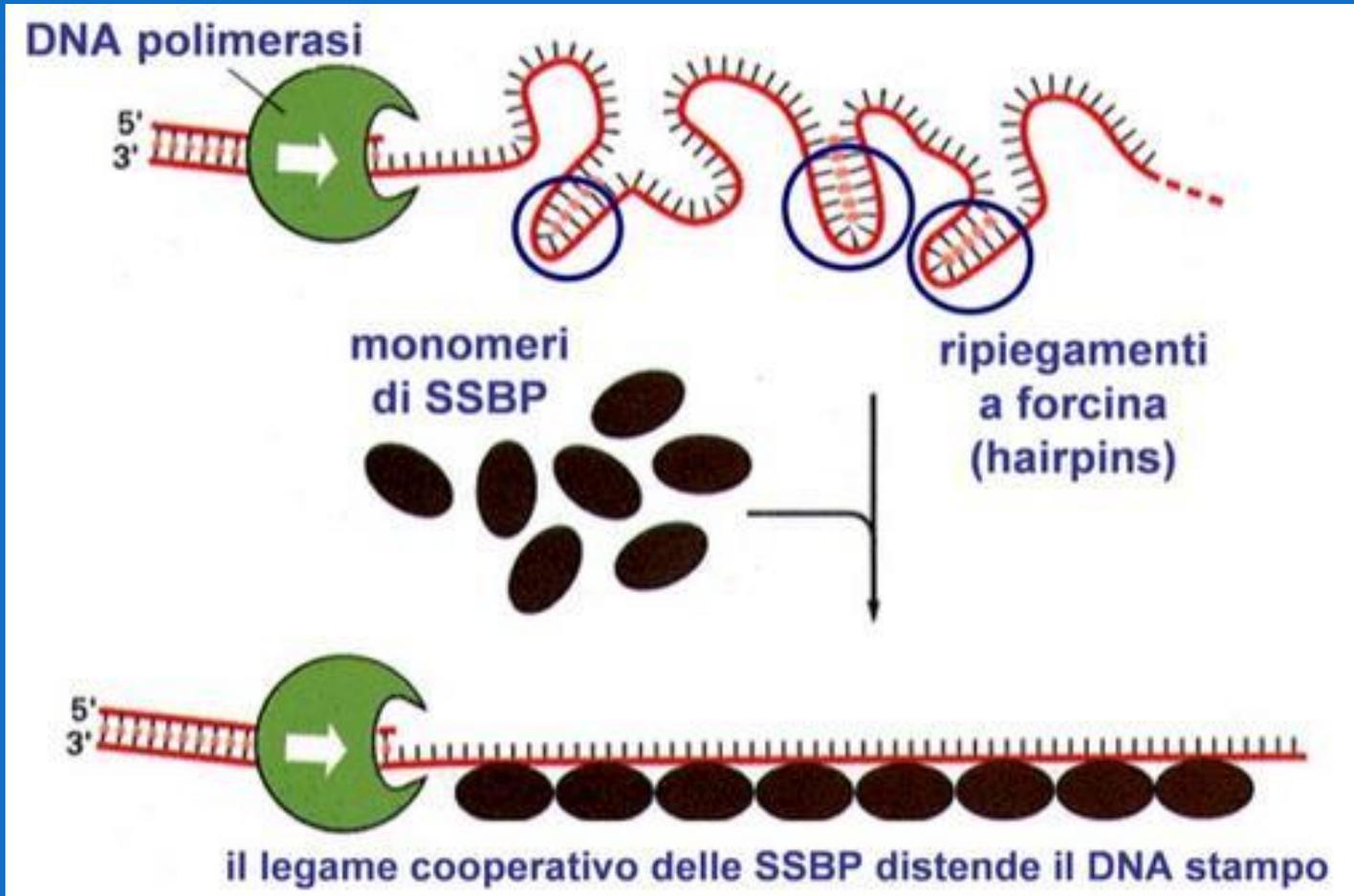
Topoisomerasi rimuovono i superavvolgimenti introdotti dall'azione delle elicasi



DNA topoisomerasi



Single strand DNA binding proteins (SSBP)



Le DNA polimerasi sono incapaci di separare le due eliche del DNA:

Soluzione ==> ELICASI

Le DNA polimerasi sono incapaci di iniziare la sintesi di DNA "ex novo", ma richiedono un "innesco" (*primer*) di DNA o RNA:

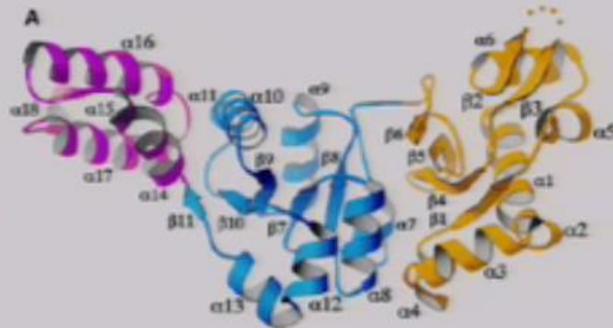
Soluzione ==> PRIMASI

Le due eliche del DNA duplex sono antiparallele, ma le DNA polimerasi sintetizzano in DNA solo in direzione 5'→3':

Soluzione ==> REPLICAZ. DISCONTINUA

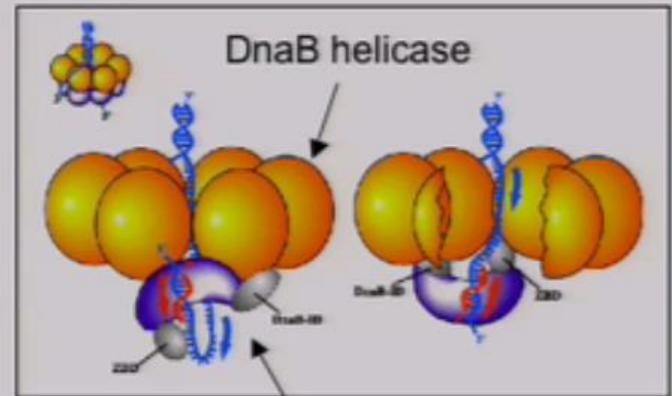
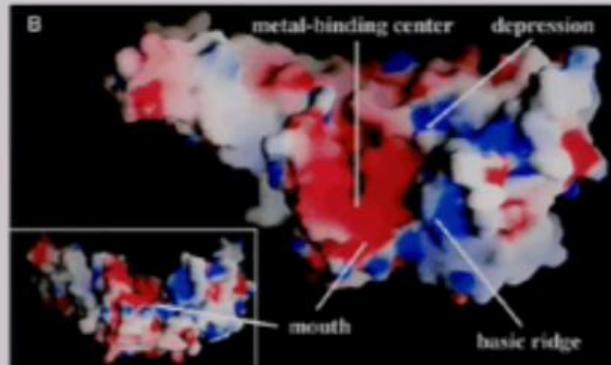
DnaG primase defines a distinct polymerase family (DNA dependent RNA pol)

Ribbon diagram



Model of the "primosome":
DnaB helicase +
DnaG primase

Map of surface charge



DnaG primase

Le DNA polimerasi sono incapaci di separare le due eliche del DNA:

Soluzione ==> ELICASI

Le DNA polimerasi sono incapaci di iniziare la sintesi di DNA "ex novo", ma richiedono un "innesco" (*primer*) di DNA o RNA:

Soluzione ==> PRIMASI

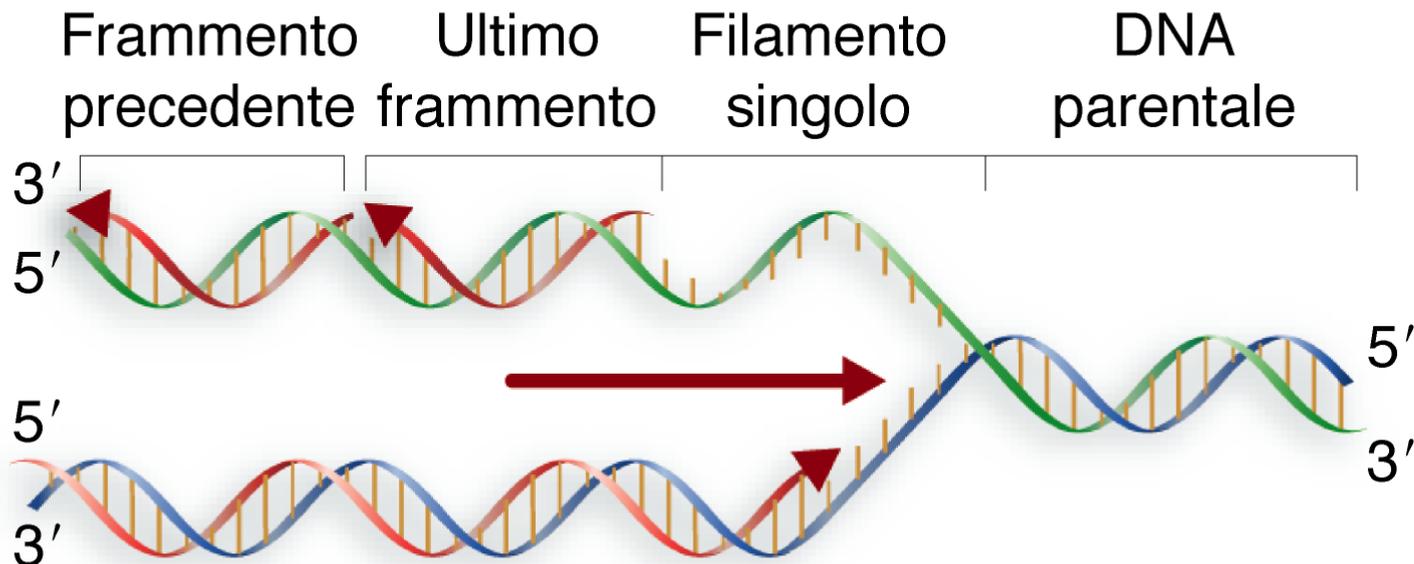
Le due eliche del DNA duplex sono antiparallele, ma le DNA polimerasi sintetizzano in DNA solo in direzione 5'→3':

Soluzione ==> REPLICAZ. DISCONTINUA

Filamento leader e filamento ritardato

**I due nuovi filamenti del DNA
hanno caratteristiche diverse**

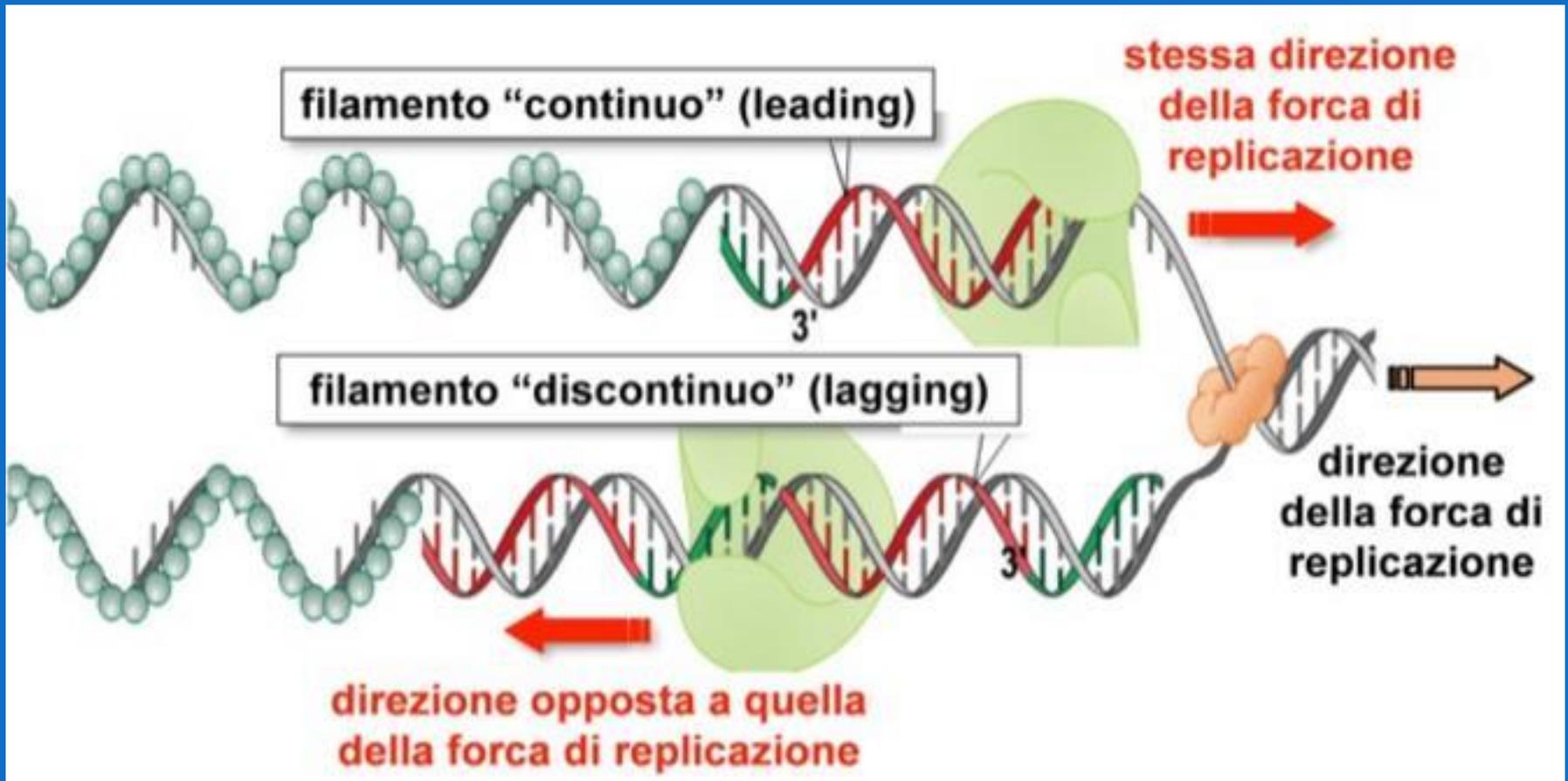
Sintesi del filamento ritardato



Sintesi del filamento leader

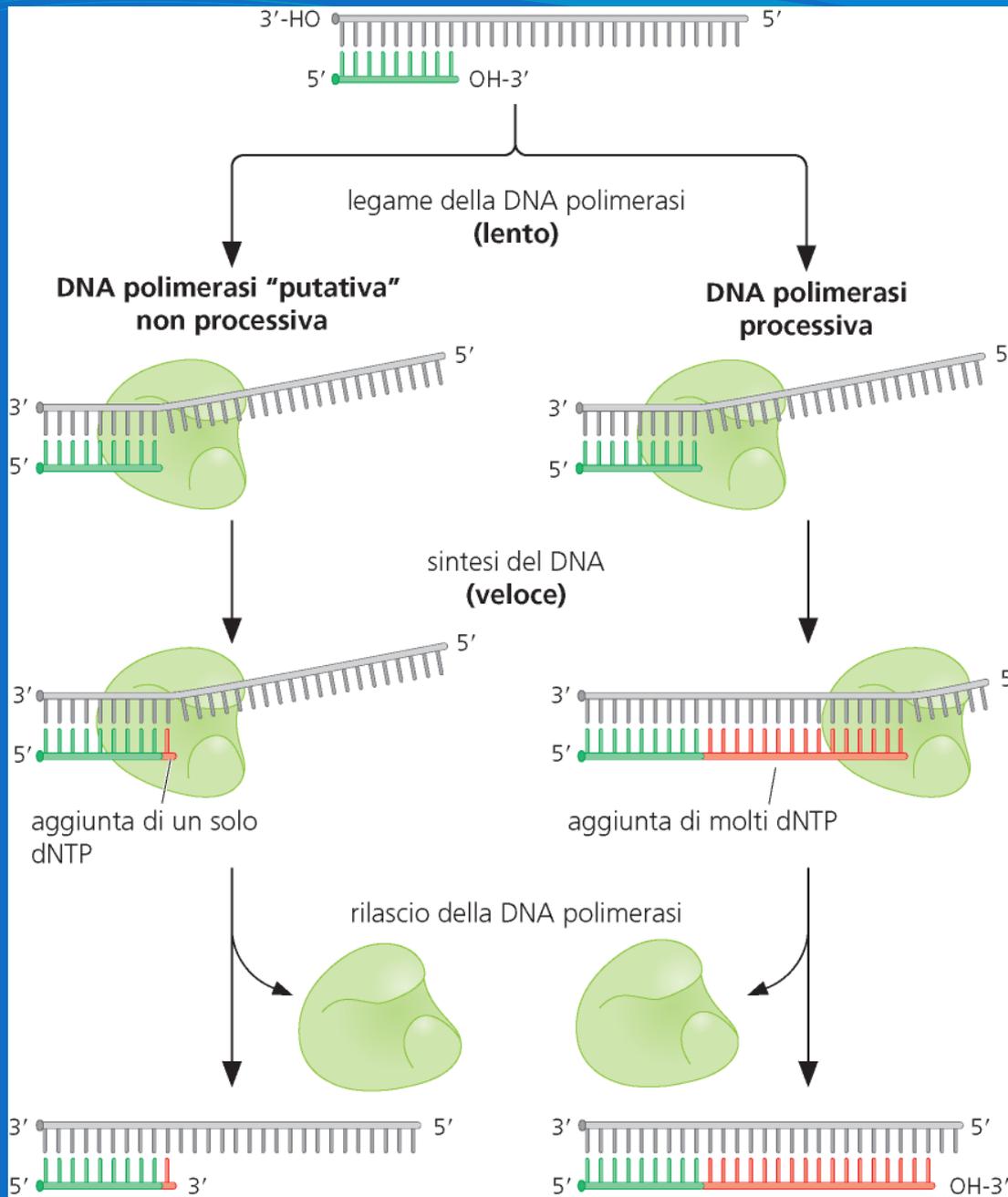
Aggiunta continua di nucleotidi all'estremità 3'

Leading strand e lagging strand



Frammenti di Okazaki

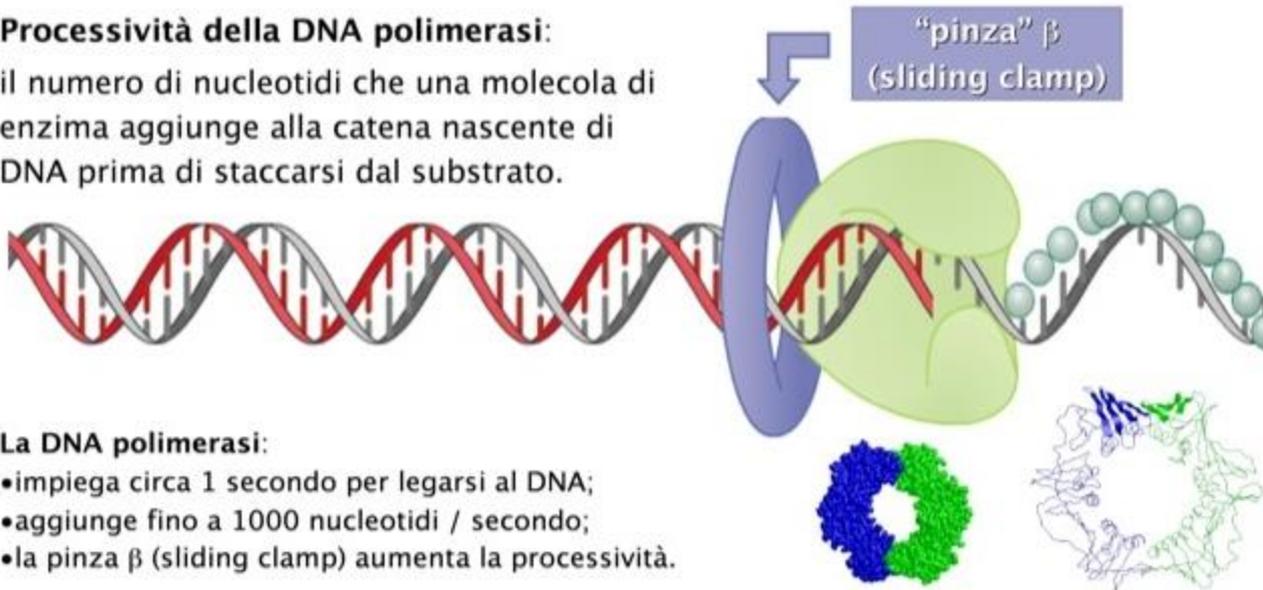
Processività



Processività

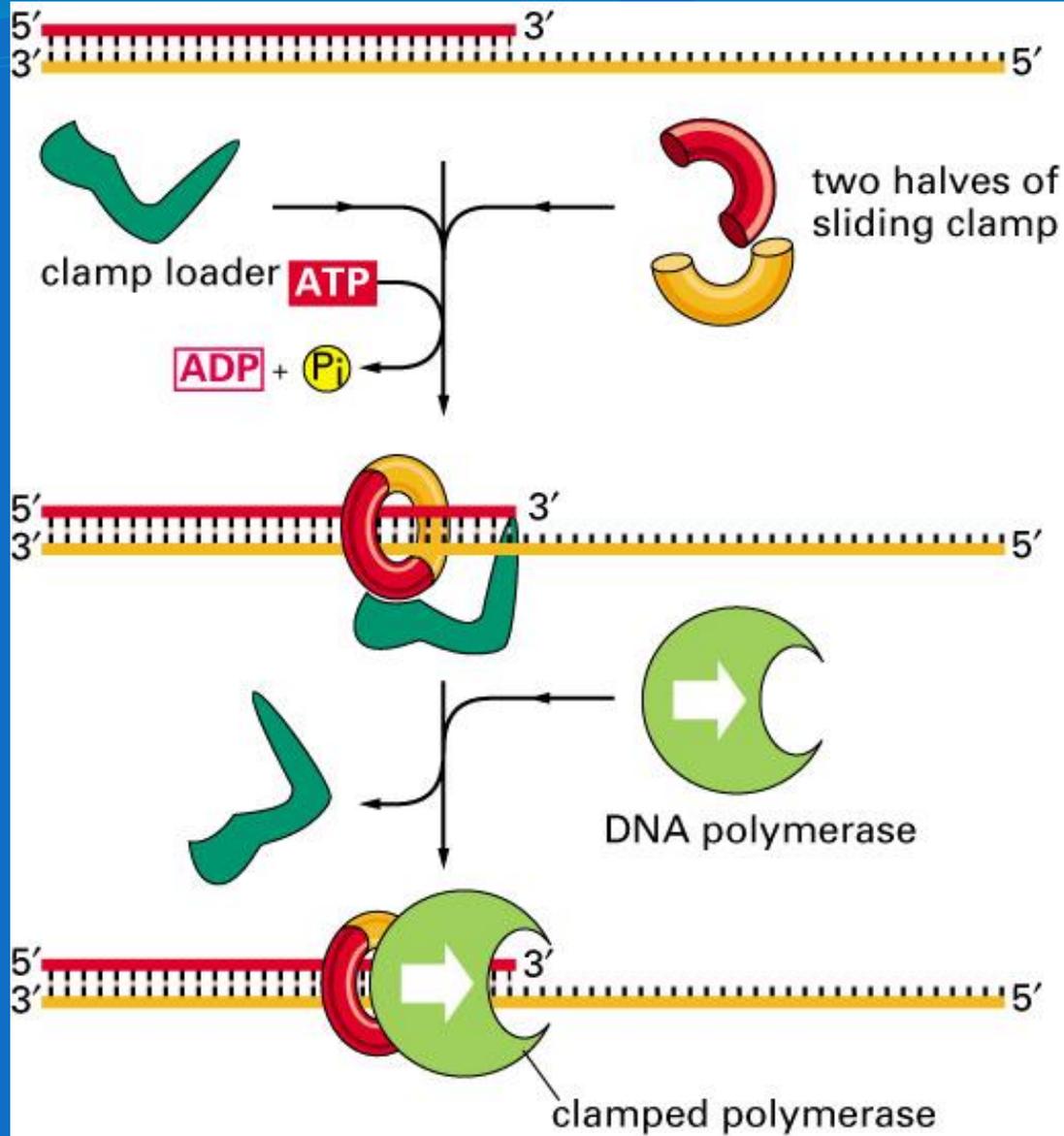
Processività della DNA polimerasi:

il numero di nucleotidi che una molecola di enzima aggiunge alla catena nascente di DNA prima di staccarsi dal substrato.



La DNA polimerasi:

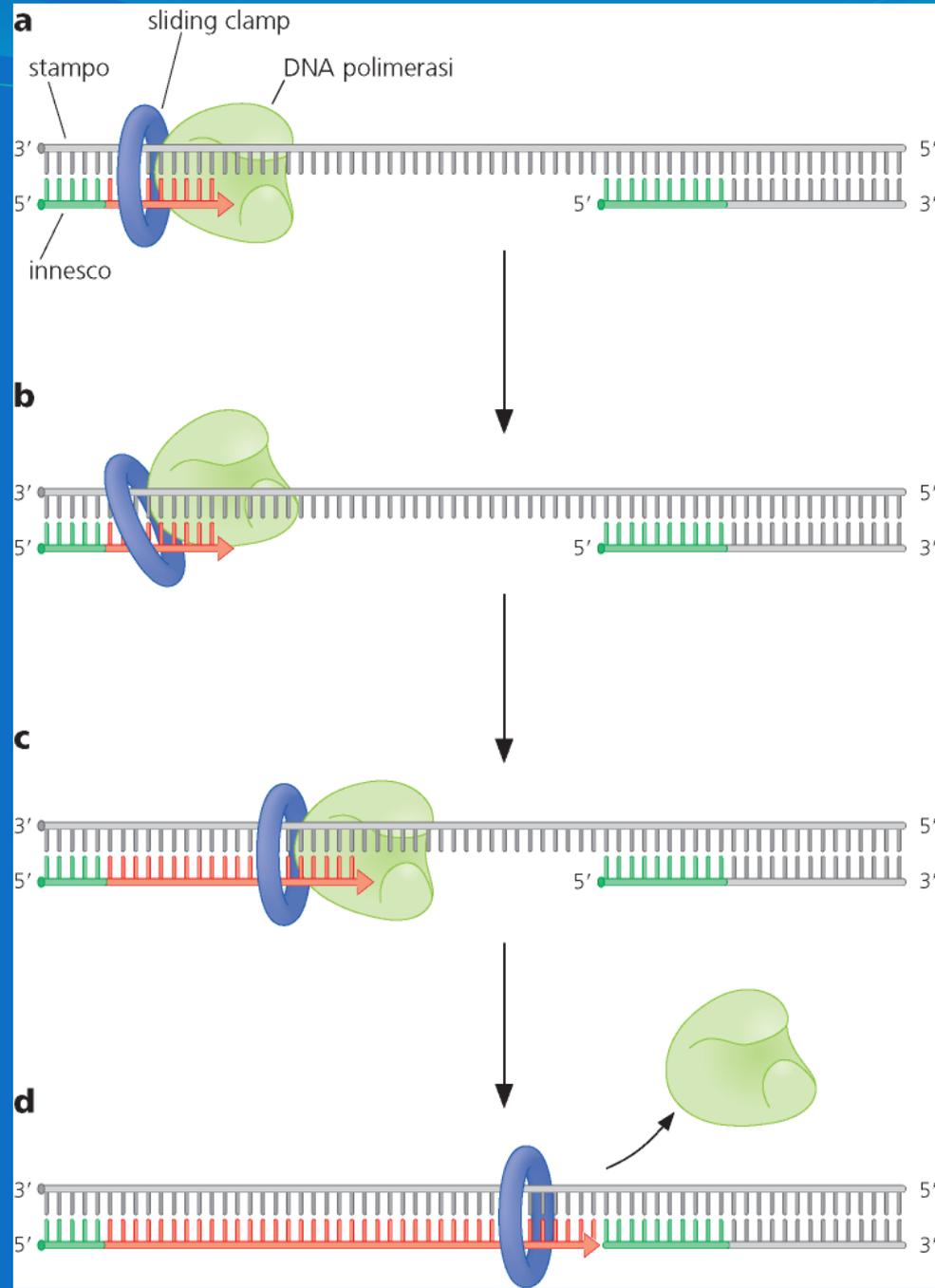
- impiega circa 1 secondo per legarsi al DNA;
- aggiunge fino a 1000 nucleotidi / secondo;
- la pinza β (sliding clamp) aumenta la processività.



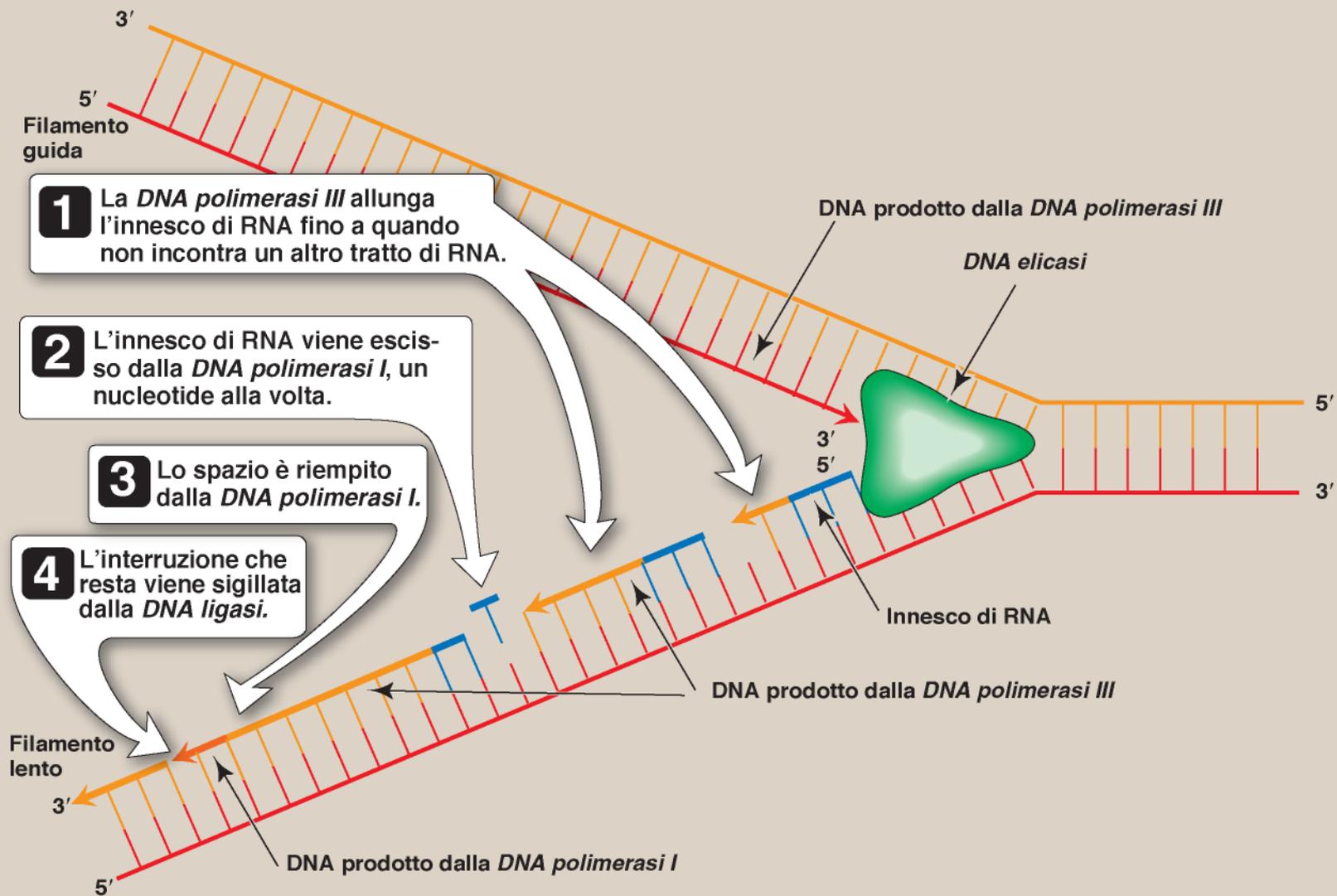
(C)

Figure 5-19 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Sliding clamp:
proteine con struttura esagonale
conservate nell'evoluzione
(PCNA negli eucarioti)



Fasi della replicazione



1 La *DNA polimerasi III* allunga l'innesco di RNA fino a quando non incontra un altro tratto di RNA.

2 L'innesco di RNA viene esciso dalla *DNA polimerasi I*, un nucleotide alla volta.

3 Lo spazio è riempito dalla *DNA polimerasi I*.

4 L'interruzione che resta viene sigillata dalla *DNA ligasi*.

DNA prodotto dalla *DNA polimerasi III*

DNA elicasi

Innesco di RNA

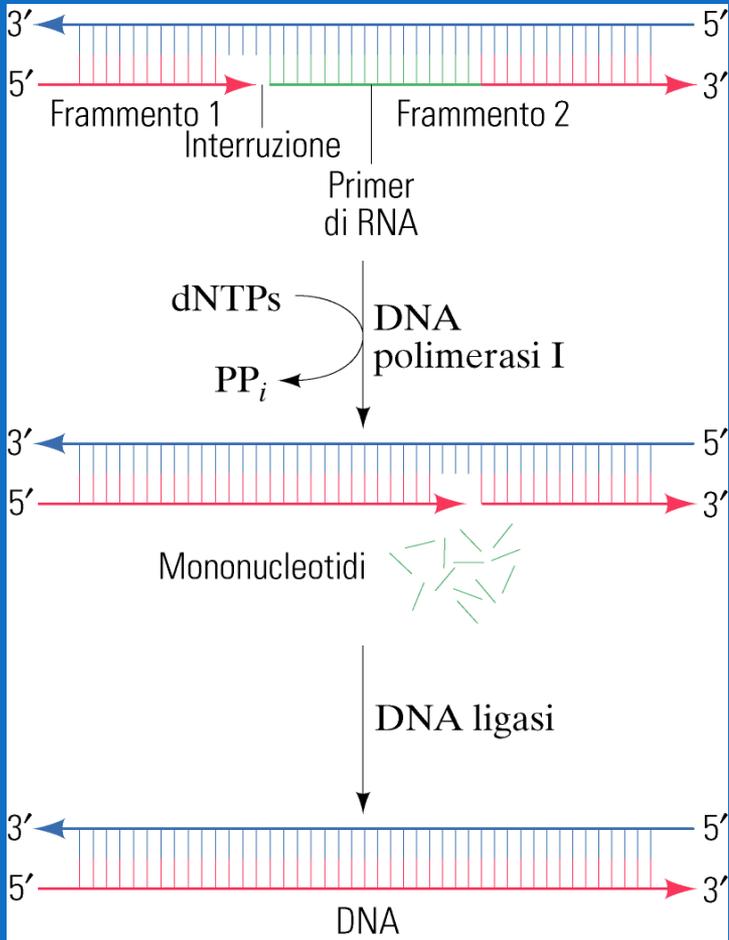
DNA prodotto dalla *DNA polimerasi III*

DNA prodotto dalla *DNA polimerasi I*

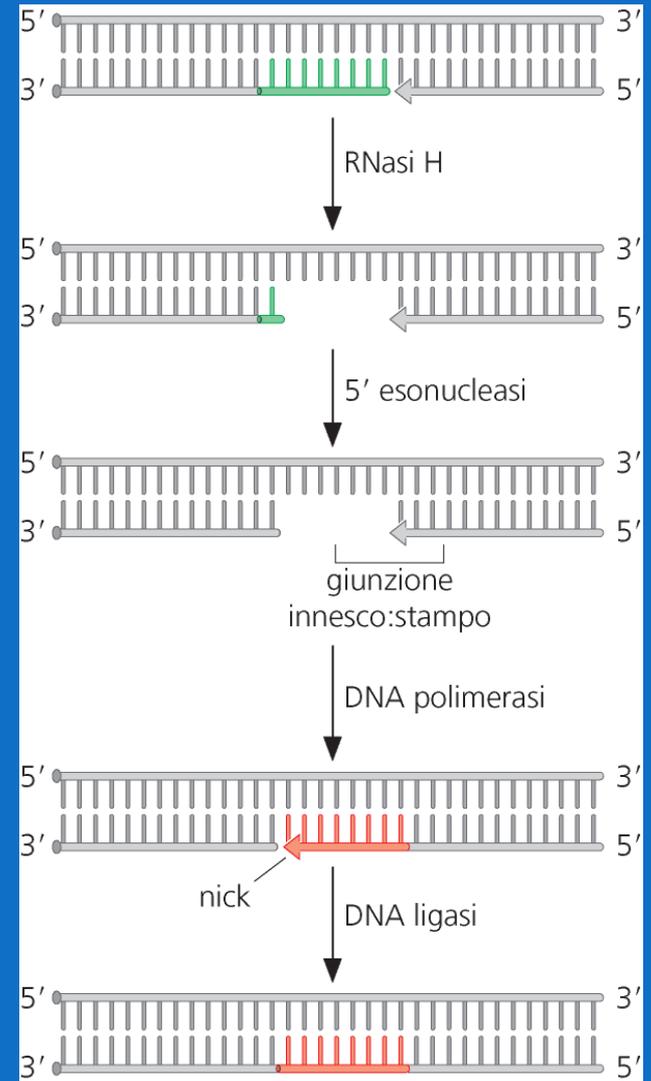
Filamento guida

Filamento lento

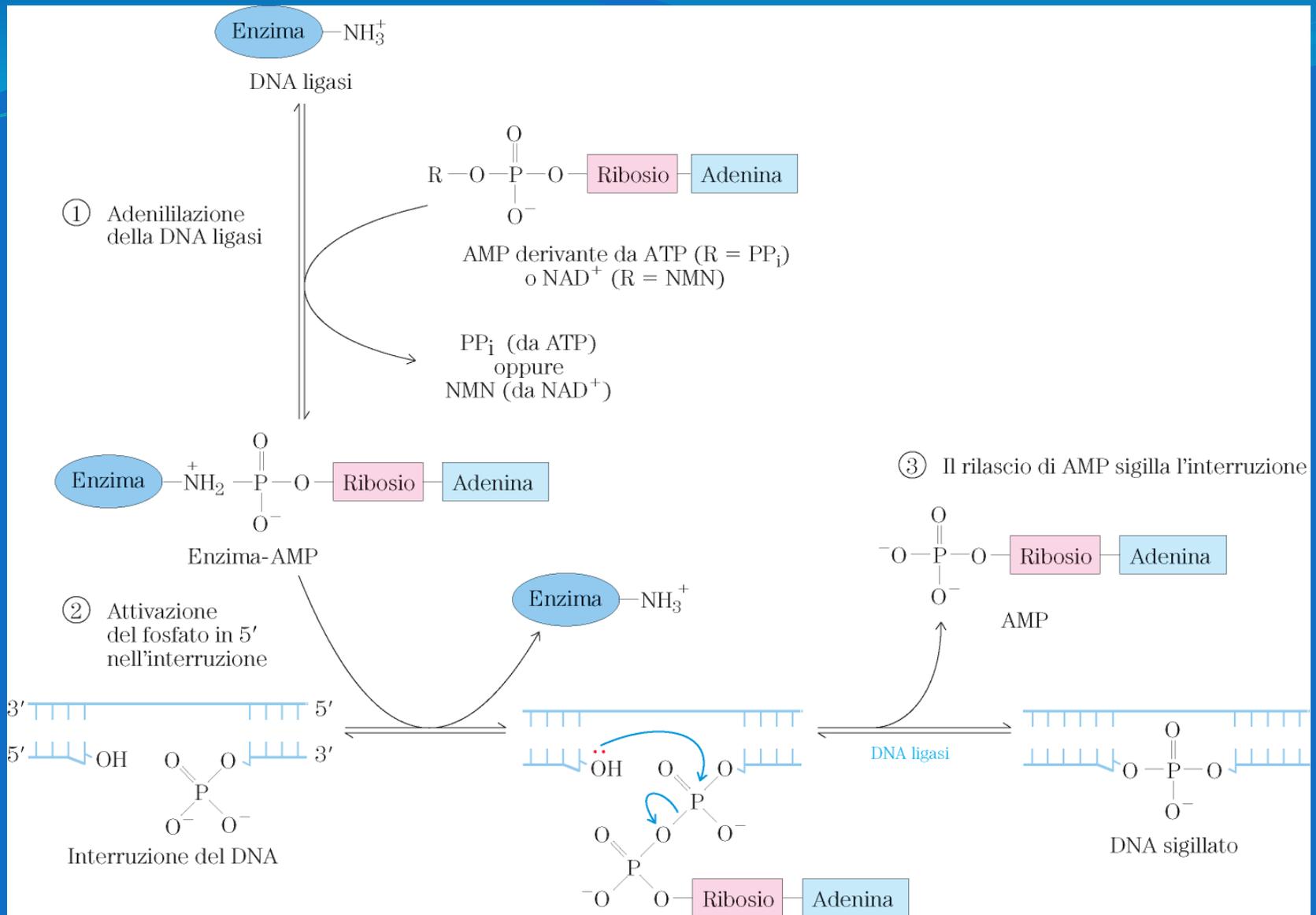
Eliminazione del primer



procarioti



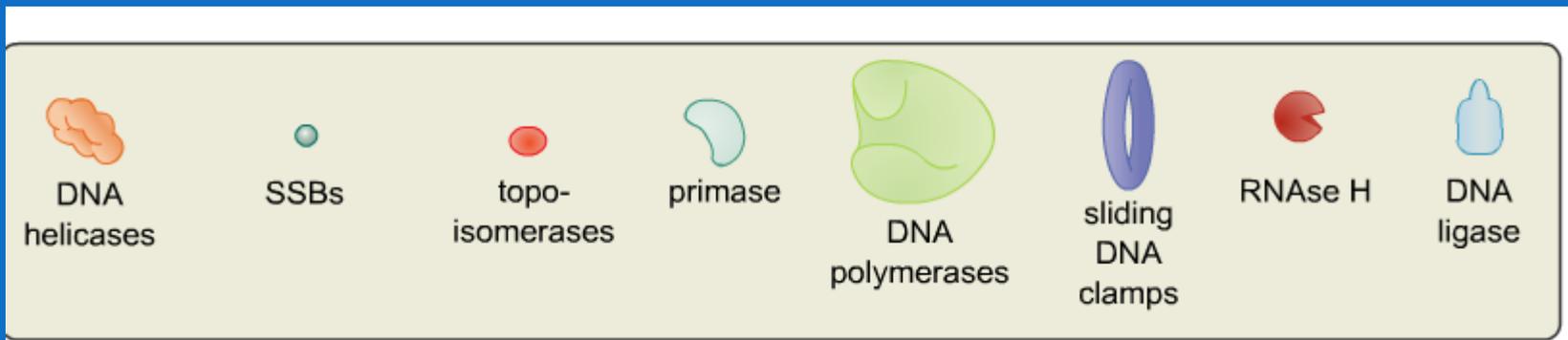
eucarioti



Reazioni catalizzate dalla DNA ligasi in E.coli.

Negli eucarioti NAD⁺ è rimpiazzato da ATP

- ▶ DNA helicases couple ATP hydrolysis to strand separation
- ▶ SSBs bind to and stabilize ssDNA
- ▶ Topoisomerases remove positive supercoils
- ▶ Primase makes short RNA primers using ssDNA as a template
- ▶ DNA polymerases catalyze DNA synthesis at the 3' end of a polynucleotide
- ▶ Sliding DNA clamps increase processivity
- ▶ RNase H degrades RNA base paired with DNA
- ▶ DNA ligase repairs the remaining nicks



LA REPLICAZIONE DEL DNA

Meccanismi comuni tra procarioti ed eucarioti

DNA molecola a doppia elica

Ogni elica funziona da stampo

Elica parentale

Sintesi elica complementare

Sintesi del DNA 5'→3'

DNA-polimerasi

Richiesta di inneschi o primer

RNA-polimerasi

Forca di replicazione

Replicazione bidirezionale

Elica parentale 3'→5'
(leading strand)

Replicazione continua

Elica parentale 5'→3'
(lagging strand)

Replicazione discontinua

Frammenti di Okazaki

100-1000 nt

DNA-POL NEI PROCARIOTI

DNA-polimerasi I - Riparo, rimozione primer, solo su doppia elica

(3 attività catalitiche)

DNA-polimerasi

Esonucleasi (3'→5')

Esonucleasi (5'→3') Scissione proteolitica produce due frammenti

Frammento piccolo (1-323) attività 5'→3' Esonucleasi

Frammento di Klenow (324-928) attività polimerasi e 3'→5' esonucleasi

dominio 324-517 3'→5' esonucleasi

dominio 517-928 DNA-polimerasi (scissura profonda)

DNA-polimerasi II – Riparo

(2 attività catalitiche)

DNA-polimerasi

Esonucleasi (3'→5')

DNA-polimerasi III – Replicazione

(2 attività catalitiche)

DNA-polimerasi

Esonucleasi (3'→5') (proofreading)

Cosituita da varie subunità ed un CORE catalitico composto da:

Subunità α (Gene polC di E.Coli) Attività polimerasi

Subunità ϵ

Attività 3'→5' esonucleasi

Subunità θ

REPLICAZIONE IN E.Coli

Inizio della replicazione nel locus OriC (~250bp AT-rich)

La proteina DnaA si lega ad OriC (richiesto ATP)

Si associa la proteina DnaB (elicasi) esamerica → unwinding (richiesto ATP)

DNA-girasi (topoII) elimina supercoiling

SSB proteins mantengono il DNA a singola elica

Sintesi dei primers o inneschi

Sintesi primer a RNA sulle leading e lagging strands

Primosome (600 kDa contiene DnaB-elicasi e DnaG-primasi)

Sintesi del DNA

La sintesi è catalizzata dalla DNApol-III

Replisoma (2 DNA-pol-III una per leading ed una per lagging strand)

2 subunità β formano un anello che scorre lungo il DNA

La leading strand viene duplicata in maniera continua (1000 nt/sec)

La lagging strand forma un loop e richiede un nuovo primer ogni 1000 nt
frammenti di Okazaki

Rimozione dei primers

DNA-pol-I rimuove i primers e sintetizza il DNA

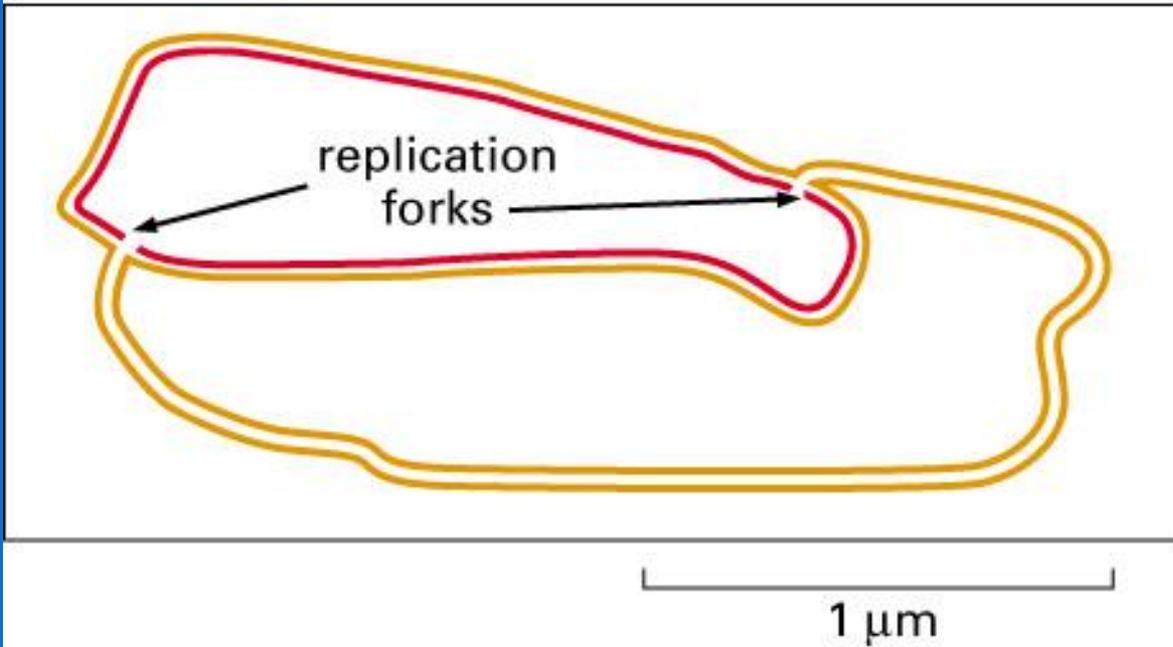
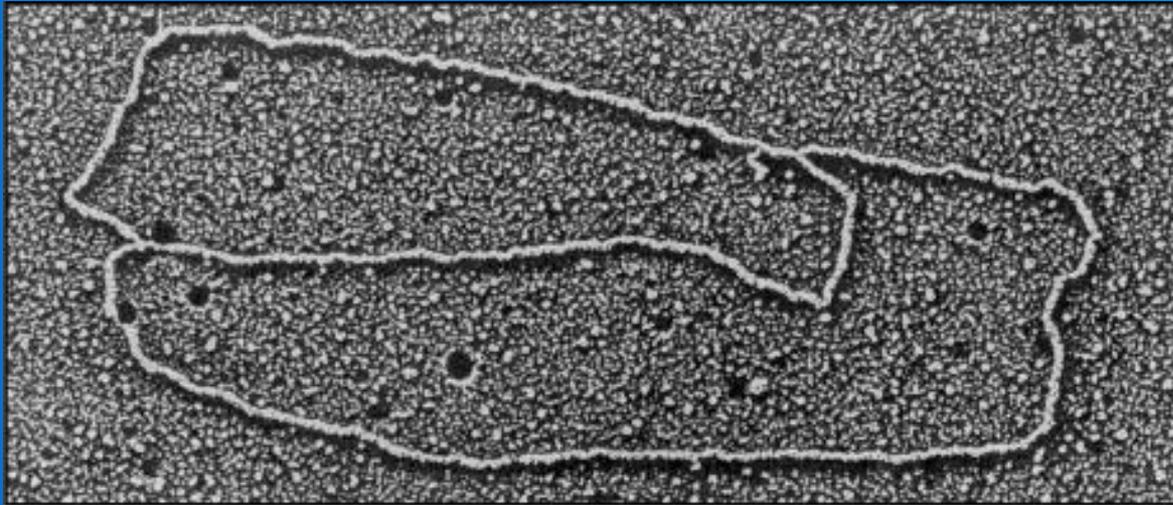
Unione dei frammenti

DNA-ligasi unisce le interruzioni

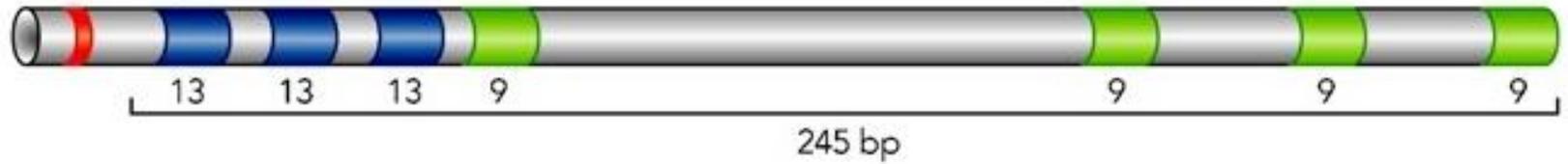
Termine della replicazione

Regione terminatore, opposta a OriC (sequenze terminatrici TerE-F)

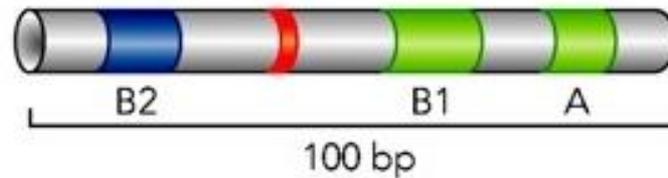
Proteine Tus si legano ai siti Ter impedendo l'apertura dell'elica del DNA



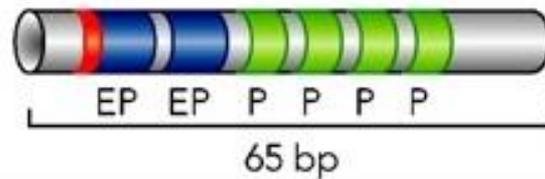
oriC (*E. coli*)



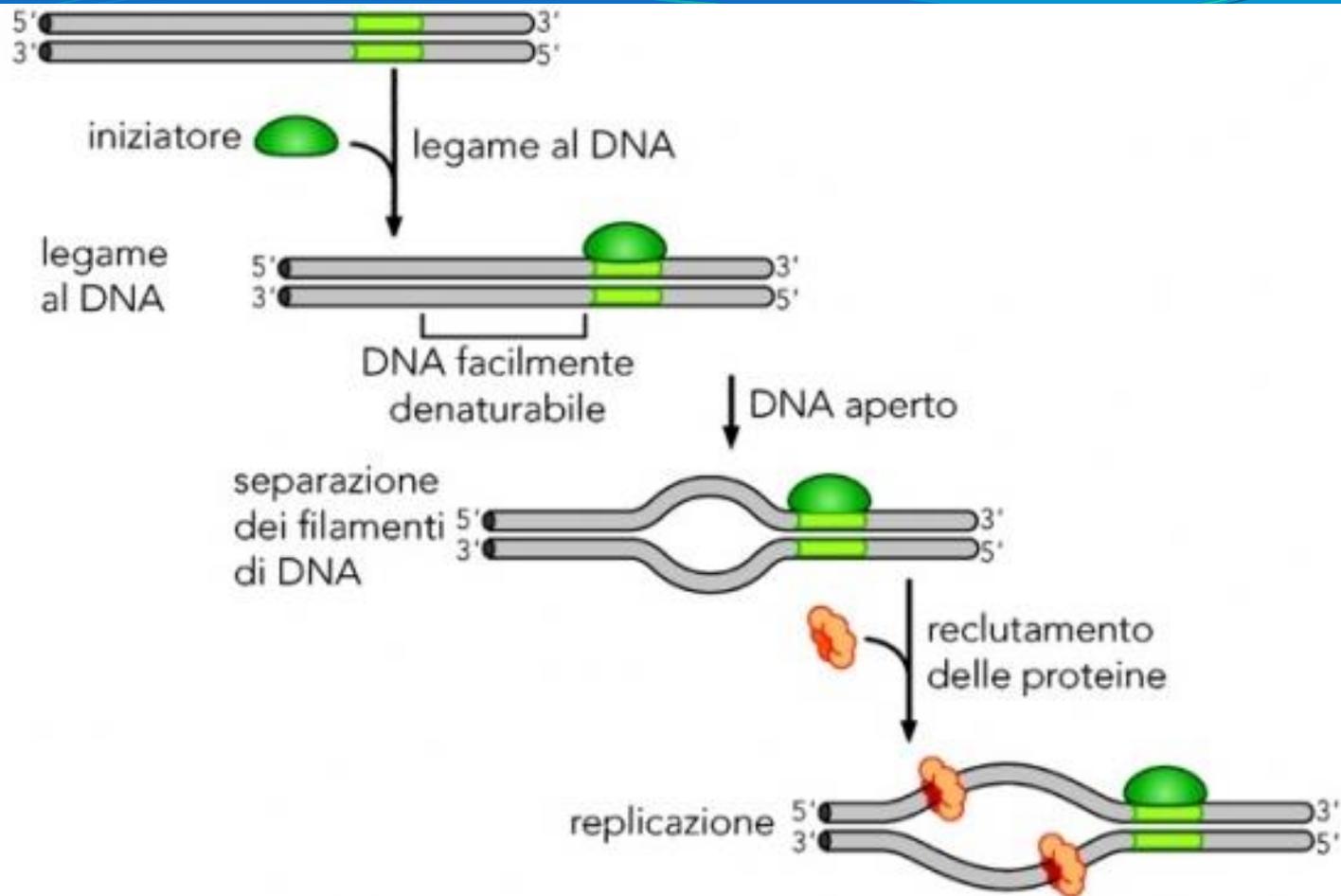
S. cerevisiae



SV40

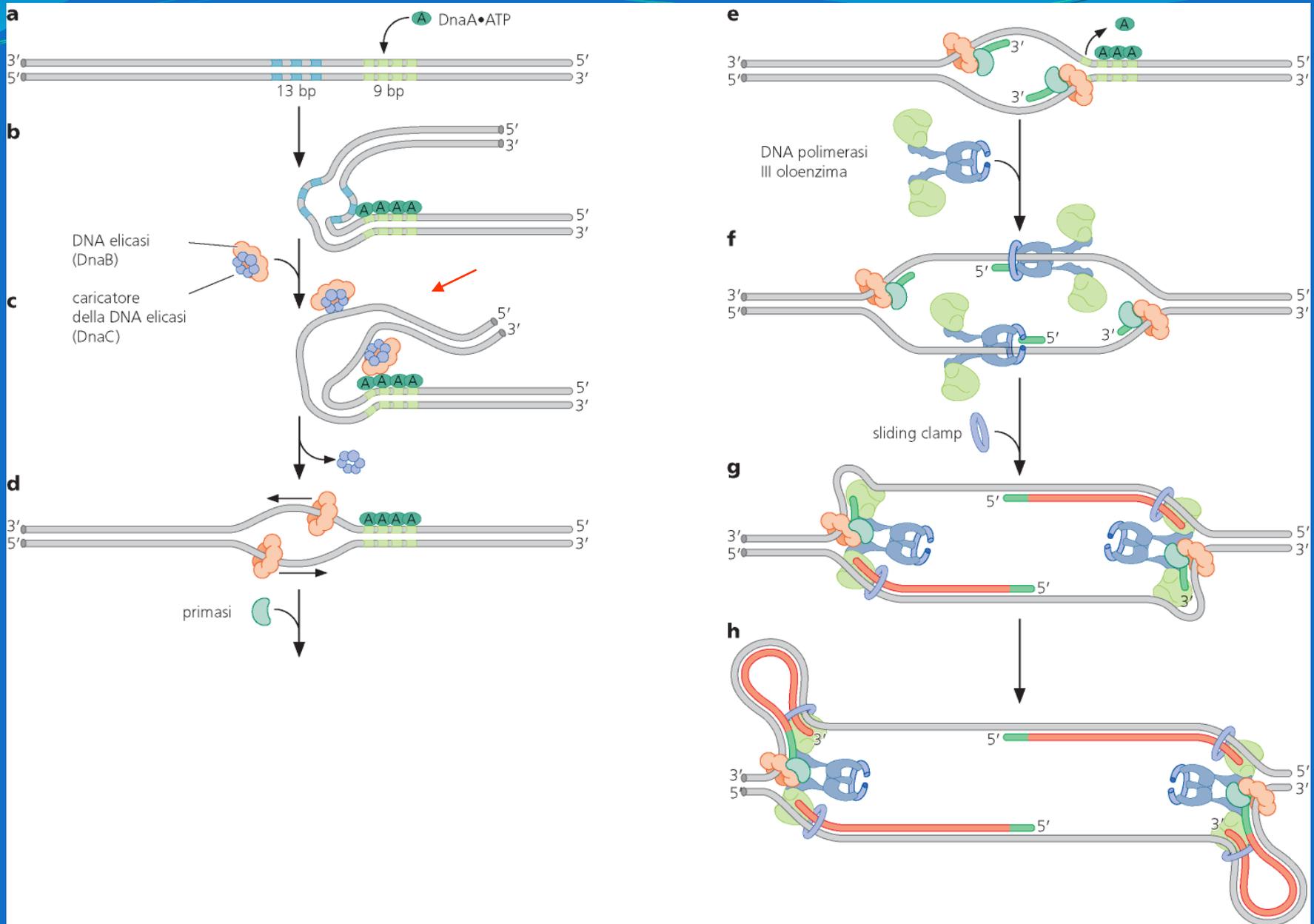


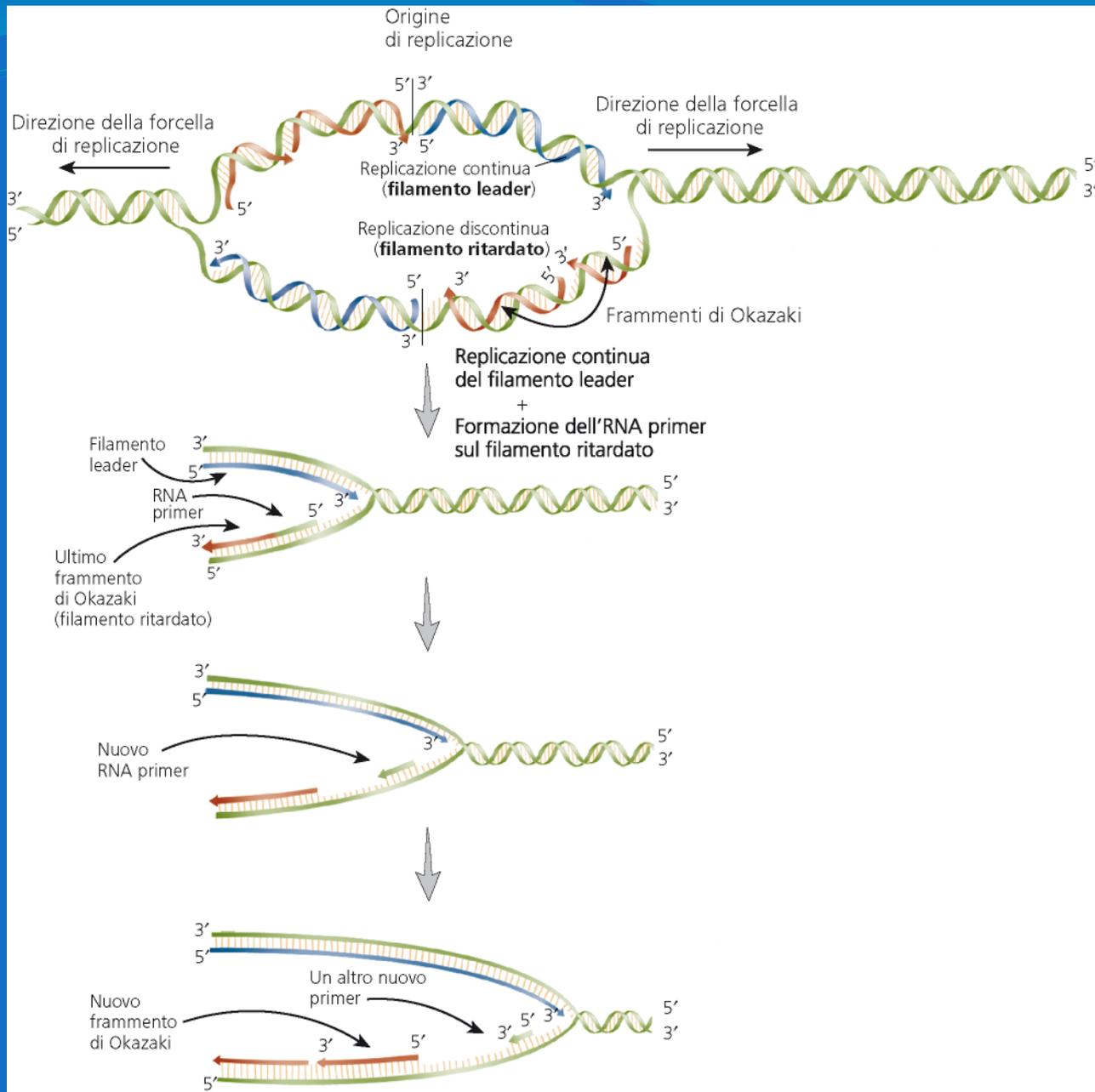
replicatore: sequenze agenti in *cis* ricche in AT
verde: siti di legame dell'inziatore
blu: elementi di apertura della doppia elica



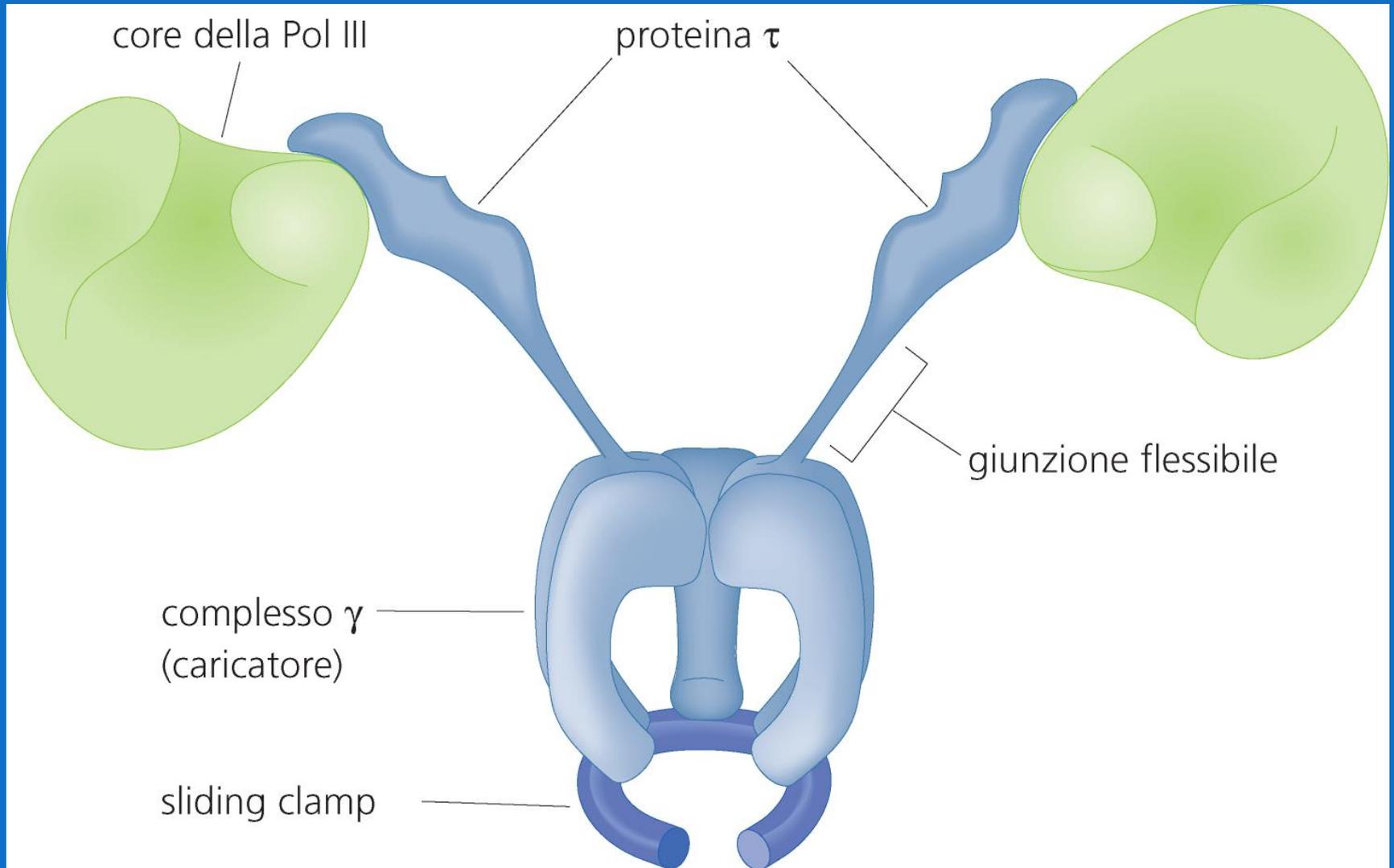
l'inziatore di *E.coli*, la proteina DnaA, è regolata da ATP e da SeqA
 Inziatore interagisce con il DNA e altri fattori

Inizio della replicazione in *E.coli*

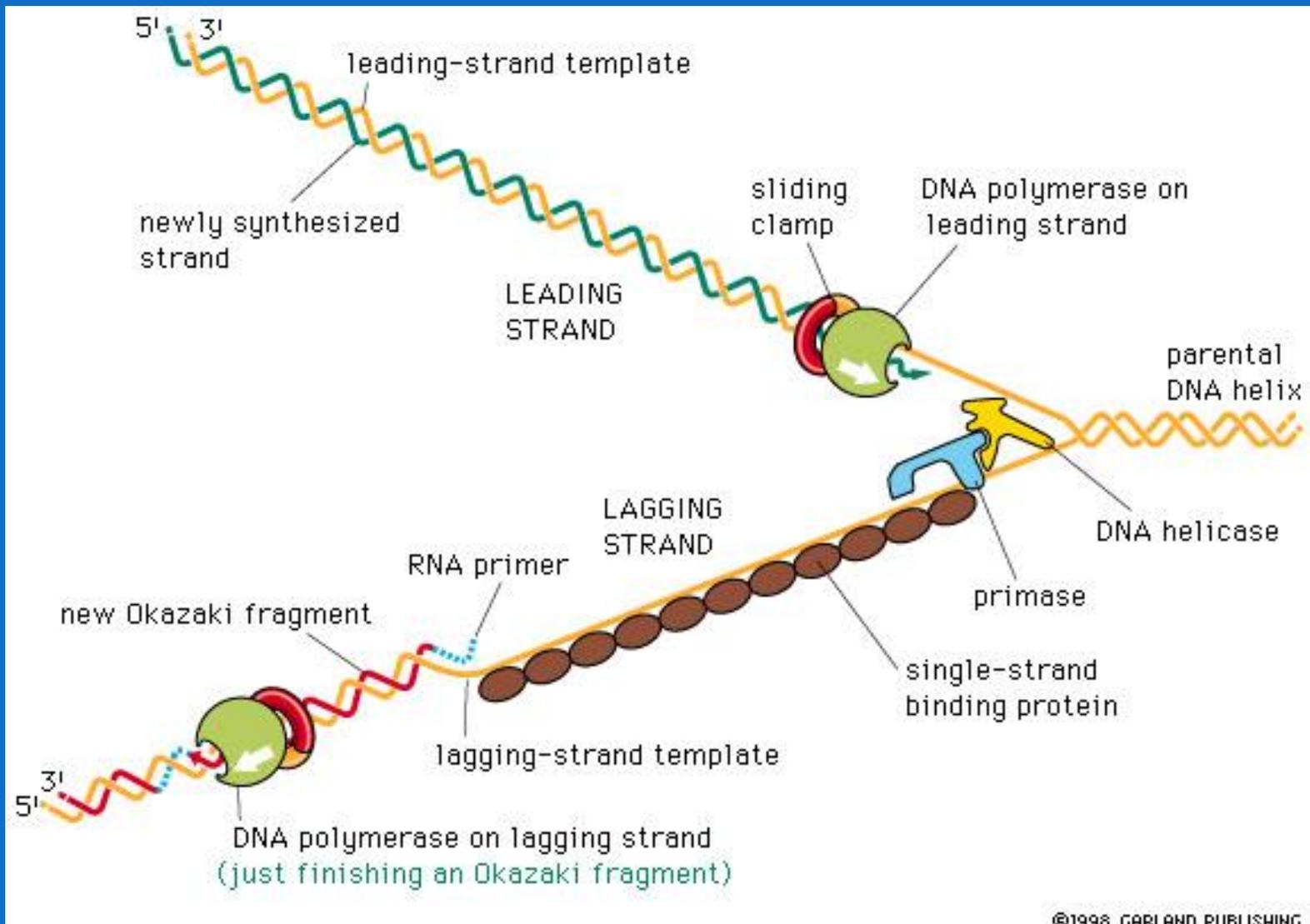




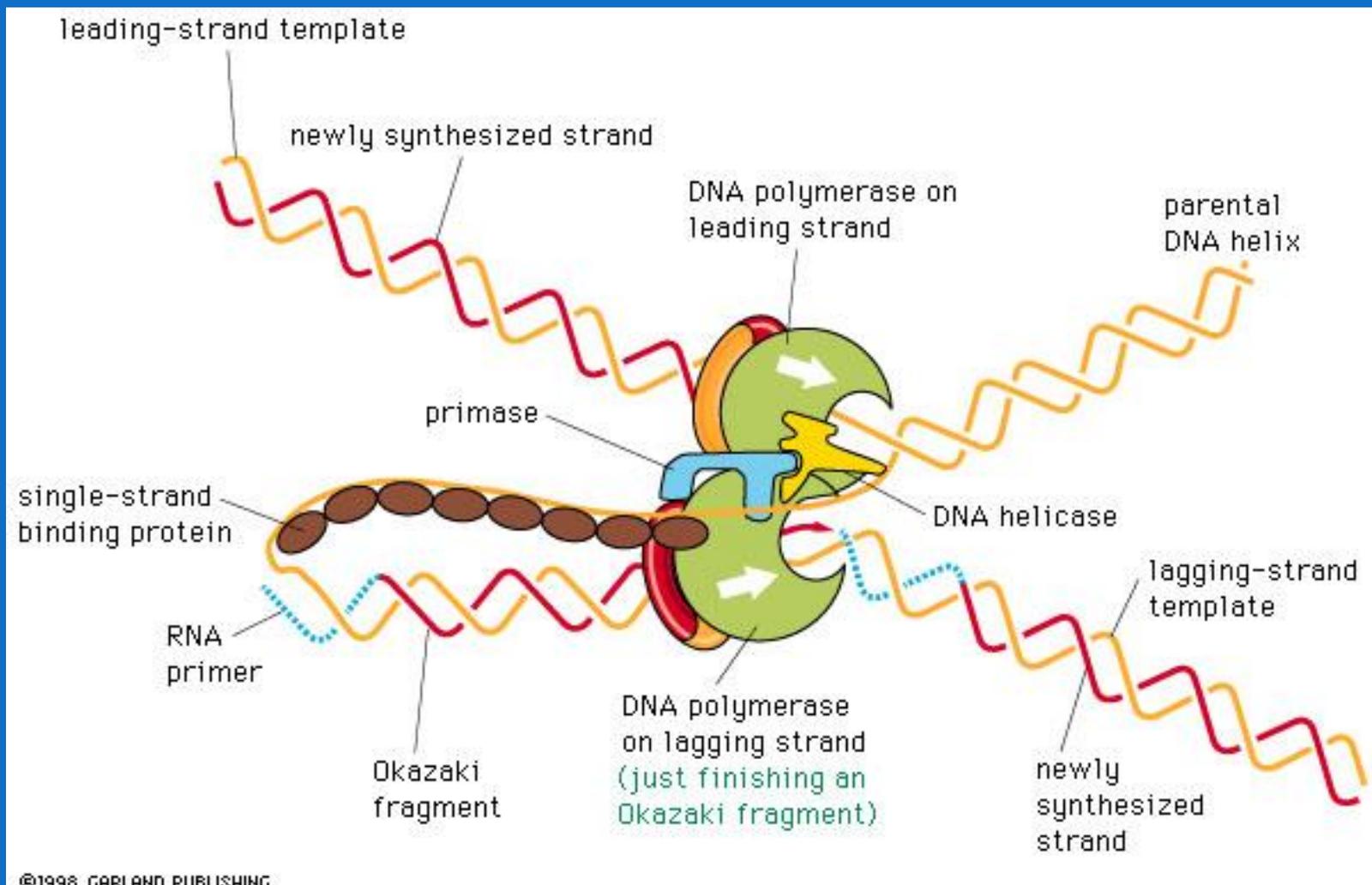
Oloenzima della DNA pol III



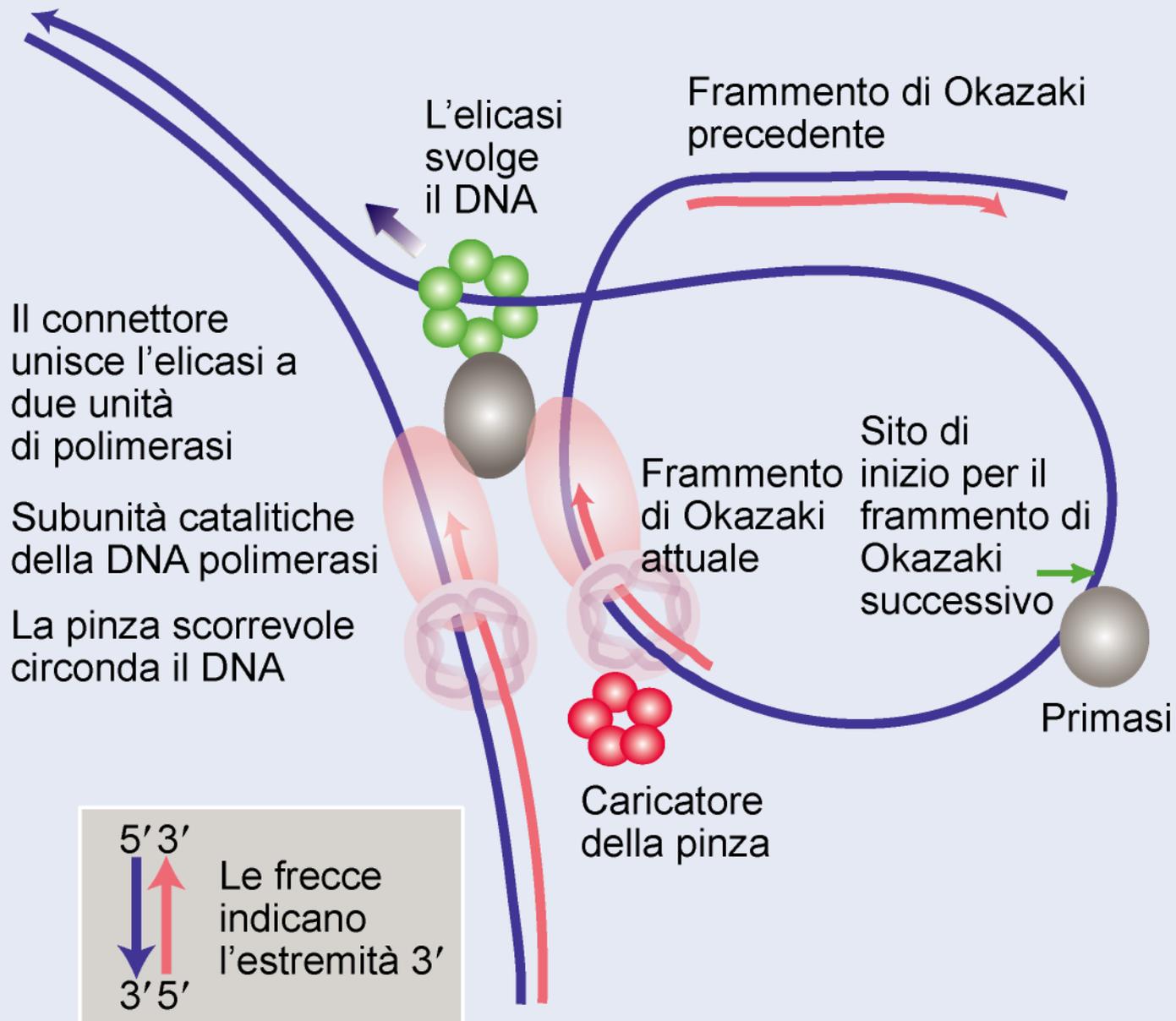
REPLICAZIONE IN E.Coli



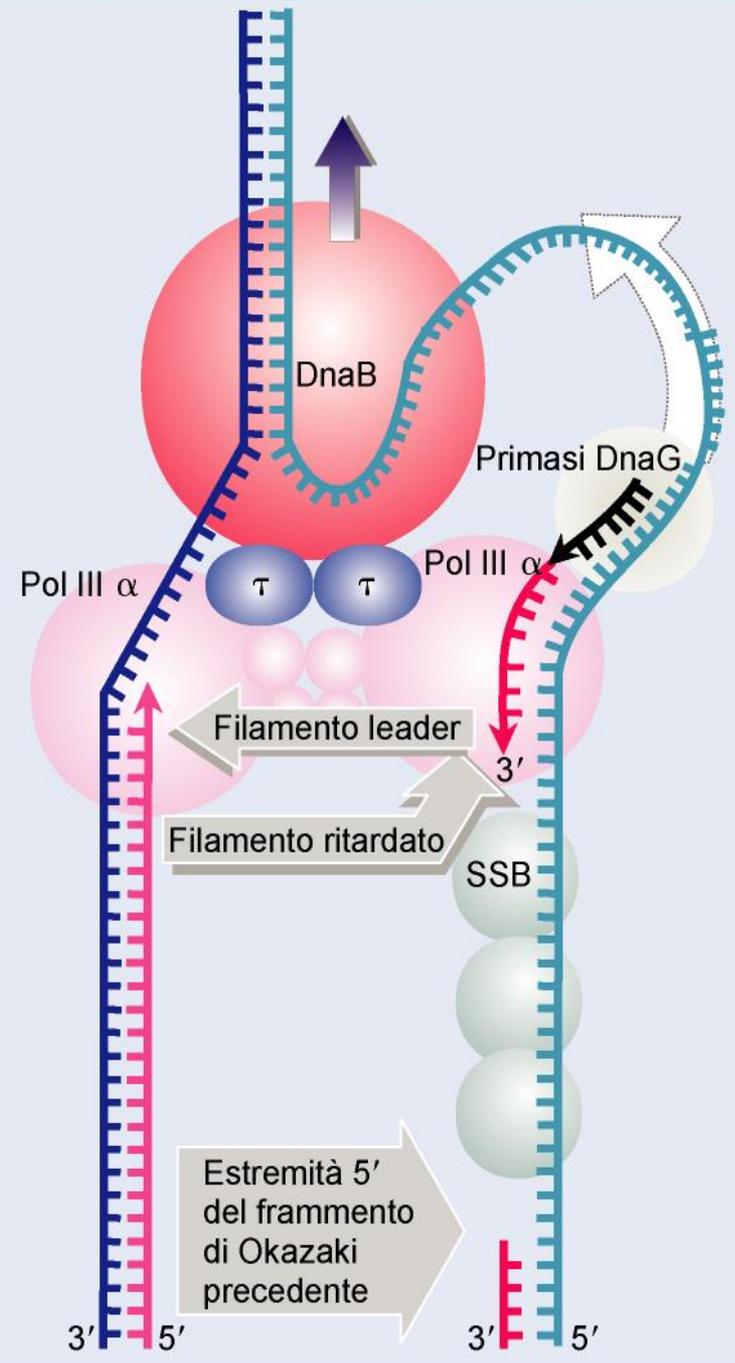
REPLICAZIONE IN E.Coli



Le DNA replicasi hanno una serie di funzioni in comune

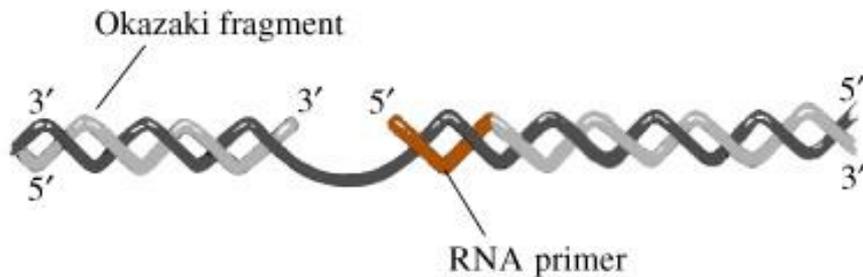


Il filamento leader e quello ritardato sono coordinati

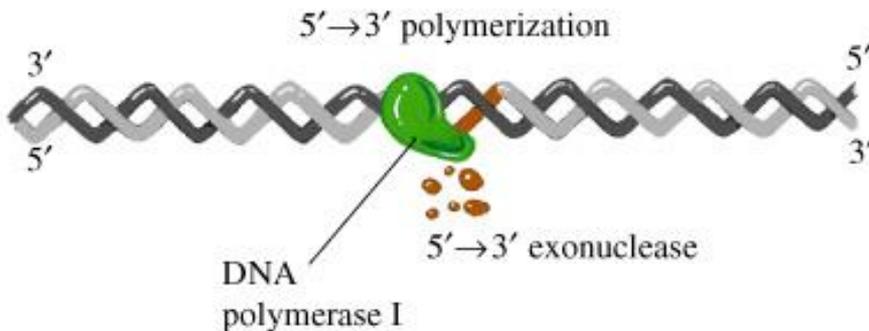


Rimozione dei primer e completamento delle interruzioni

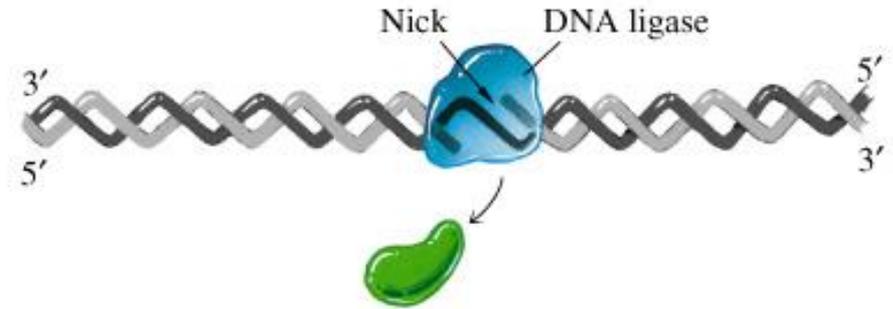
(a) Completion of Okazaki fragment synthesis leaves a nick between the Okazaki fragment and the preceding RNA primer on the lagging strand.



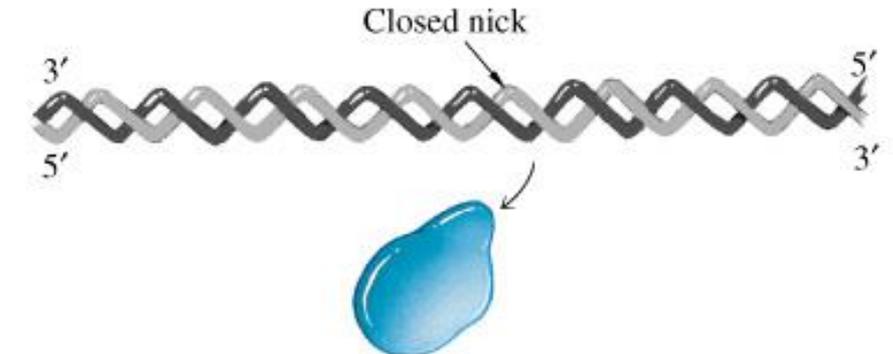
(b) DNA polymerase I extends the Okazaki fragment while its 5' → 3' exonuclease activity removes the RNA primer. This process, called nick translation, results in movement of the nick along the lagging strand.



(c) DNA polymerase I dissociates after extending the Okazaki fragment 10–12 nucleotides. DNA ligase binds to the nick.

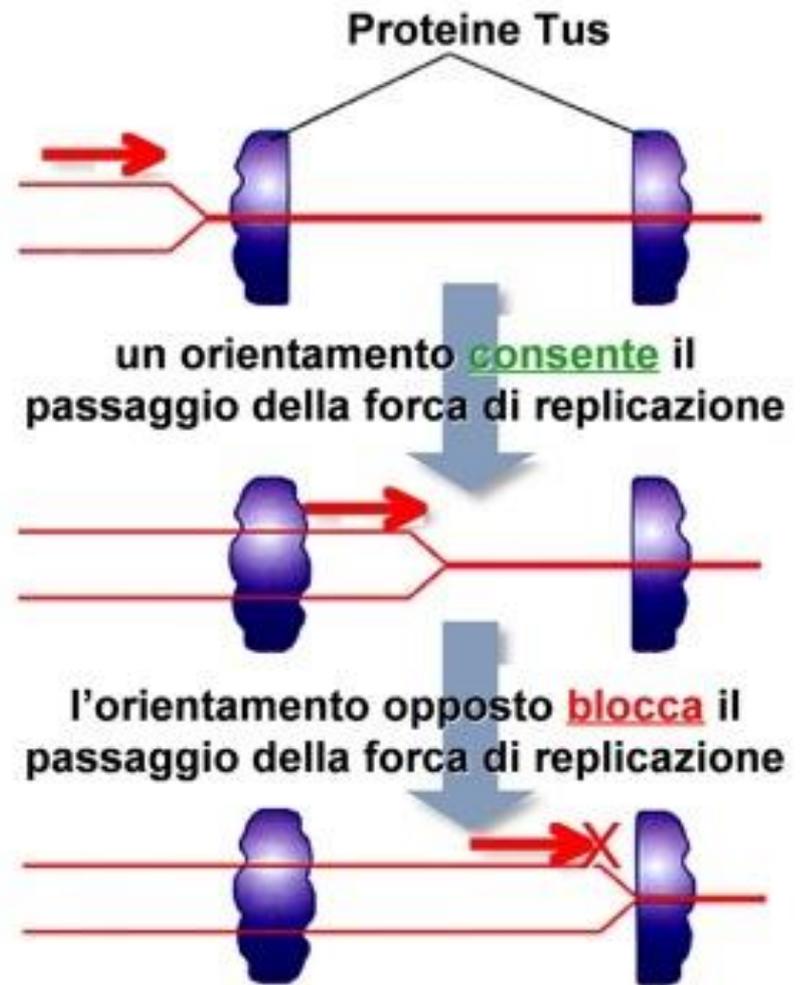
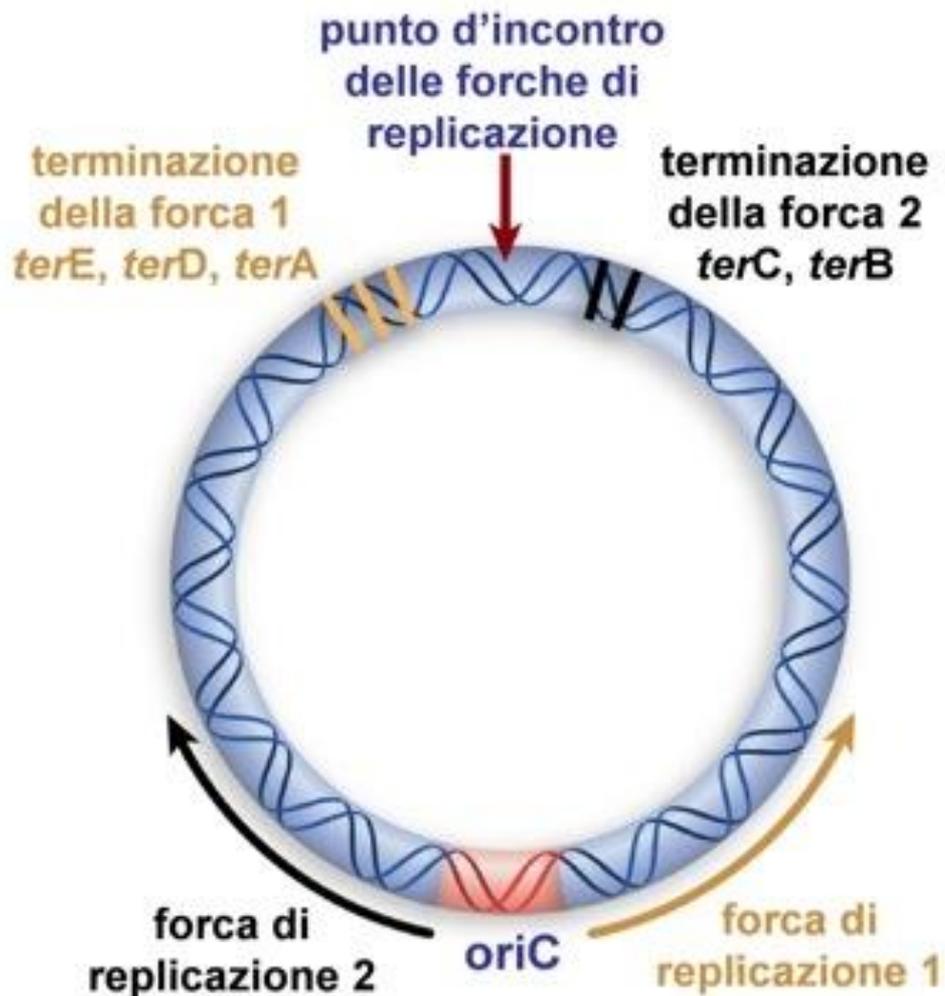


(d) DNA ligase catalyzes formation of a phosphodiester linkage, which seals the nick, creating a continuous lagging strand. The enzyme then dissociates from the DNA.

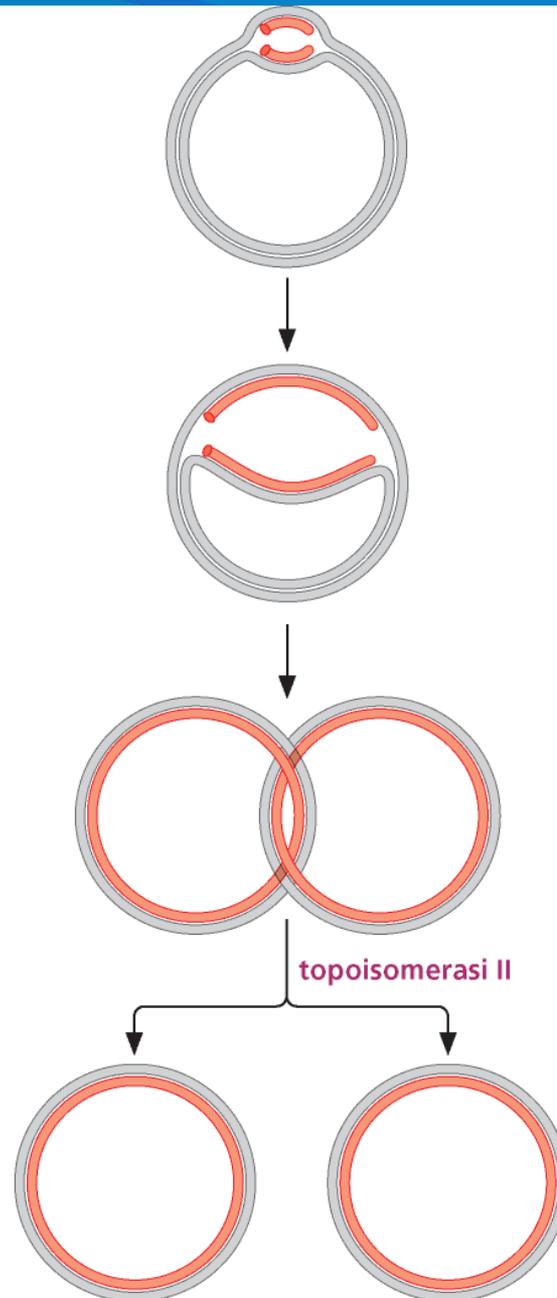


Termine della replicazione

- Il termine della replicazione avviene a livello della regione *ter* del cromosoma di *E. coli*
- La regione *ter* è ricca in G e T e segnala il termine della replicazione
- La regione terminatore *ter* è specificamente legata dal fattore Tus
- Tus impedisce il passaggio della forca di replicazione inibendo l'attività elicastica



Terminazione della replicazione in E.coli
 Proteina Tus-terminator utilization substance



Un sommario della replicazione del DNA nei procarioti

1. La sintesi di DNA è bidirezionale. Due forcelle di replicazione avanzano in direzioni opposte da un'origine di replicazione.
2. La direzione di sintesi del DNA è dall'estremità 5' a quella 3' del filamento neosintetizzato. Un filamento (il filamento guida) si genera in maniera continua, mentre l'altro filamento (il filamento lento) si forma in maniera discontinua. Sul filamento lento, piccoli frammenti di DNA (frammenti di Okazaki) sono successivamente riuniti.
3. In *E. coli* sono state isolate cinque DNA polimerasi. La polimerasi III è responsabile principalmente della sintesi di nuovi filamenti. Il primo enzima identificato, la polimerasi I, è coinvolto nella sintesi, nel proofreading e nel riparo. Le funzioni delle polimerasi II, IV e V consistono nel riparo in particolari condizioni.
4. La DNA girasi introduce un punto di snodo in anticipo rispetto al movimento della forcella di replicazione. Una proteina che destabilizza l'elica, un'elicasi, si lega alla forcella di replicazione e promuove lo svolgimento. Le regioni esposte a singolo filamento dello stampo sono stabilizzate da una proteina che lega il DNA.
5. La primasi catalizza la sintesi di un innesco di RNA.
6. La sintesi dei nuovi filamenti è catalizzata dalla Pol III. L'innesco è rimosso da Pol I, che lo sostituisce con deossinucleotidi. La DNA ligasi sigilla le interruzioni (nick) residue.

DNA-POL NEGLI EUCARIOTI

DNA polimerasi α : NUCLEARE

Attività primasi

Attività esonucleasica assente (no proofreading)

Processività moderata: 100 nt/sec

Coinvolta nella replicazione -> Replicazione lagging strand

DNA polimerasi β : NUCLEARE

Partecipa al riparo del DNA

DNA polimerasi γ : MITOCONDRIALE

Simile nei cloroplasti -> Replicazione DNA non-nucleare

DNA polimerasi δ : NUCLEARE

Priva di attività primasi

Solo attività 3'→5' esonucleasi

Processività elevata specie se associata a PCNA

PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTIGEN (PCNA)

3 subunità a forma di anello

Simile alla subunità β della DNAPol-III

Complesso PCNA-DNAPol δ -> Replicazione lagging/leading strand

DNA polimerasi ϵ : NUCLEARE

Elevata processività anche in assenza di PCNA

Solo attività 3'→5' esonucleasi

Riparo danni da radiazioni UV (Replicazione lagging strand)

REPLICAZIONE NEGLI EUCARIOTI

Inizio della replicazione

Siti di origine multipli (ogni 3-300 kb)

Replicazione non simultanea in tutte le origini

Unità di replicazione -> REPLICON con una origine

Attivazione sequenziale di gruppi costituiti da 20-80 replicons adiacenti

Meccanismo non completamente noto

Nel lievito:

Inizio replicazione -> ARS (Autonomously replicating sequences)

Sequenze di 11bp adiacenti a regioni di DNA facilmente denaturabili

Richiesta attività elicasi (MCM)

Problemi correlati alla replicazione del DNA eucariotico

Sincronizzazione della replicazione

Sincronizzazione con il ciclo cellulare

Struttura cromatina

DNA eucariotico organizzato in livelli strutturali

Primo livello -> nucleosomi

Disassemblaggio nucleosomi prima dell'apertura della doppia elica

Riassemblaggio dei nucleosomi dopo la duplicazione

Replicazione estremità 5'

Incompleta duplicazione estremità 5' terminali

Telomeri (sequenze ripetitive)

Telomerasi -> duplicazione estremità terminali

Differenze nella replicazione del DNA tra procarioti ed eucarioti

Procarioti

Cinque polimerasi (I, II, III, IV, V)

Funzioni delle polimerasi:

I è coinvolta in sintesi, proofreading, riparo e rimozione degli inneschi di RNA

II è anch'essa un enzima del riparo

III è il principale enzima di polimerizzazione

IV, V sono enzimi del riparo in condizioni eccezionali

Le polimerasi sono anche esonucleasi

Singola origine di replicazione

Frammenti di Okazaki lunghi 1000-2000 residui

Non ci sono proteine legate al DNA

Eucarioti

Cinque polimerasi (α , β , γ , δ , ϵ)

Funzioni delle polimerasi:

α : è un enzima polimerizzante

β : è un enzima del riparo

γ : sintesi di DNA mitocondriale

δ : principale enzima di polimerizzazione

ϵ : " "

Non tutte le polimerasi sono esonucleasi

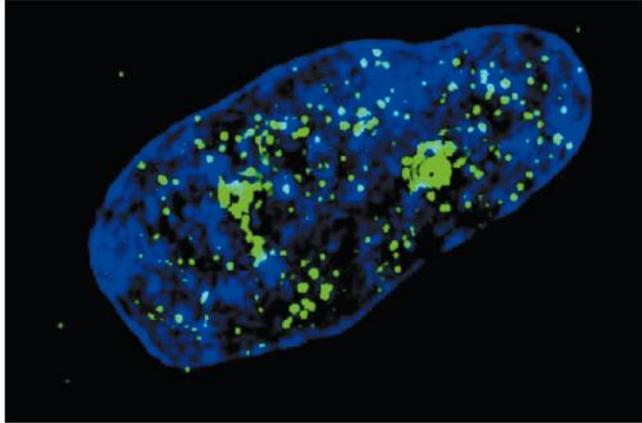
Molte origini di replicazione

Frammenti di Okazaki lunghi 150-200 residui

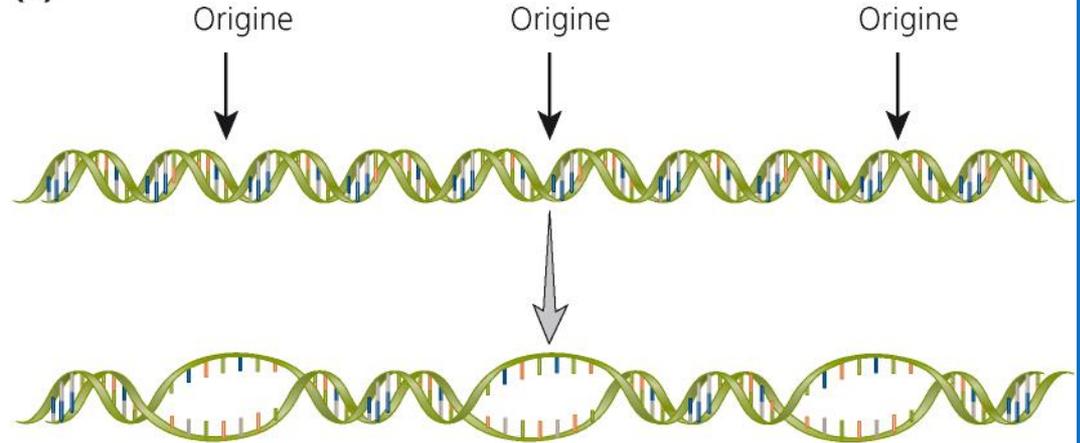
Istoni legati al DNA

Origini di replicazione multiple negli eucarioti ogni 30000 300000 nucleotidi (10.000 100.000 ori nell'uomo)

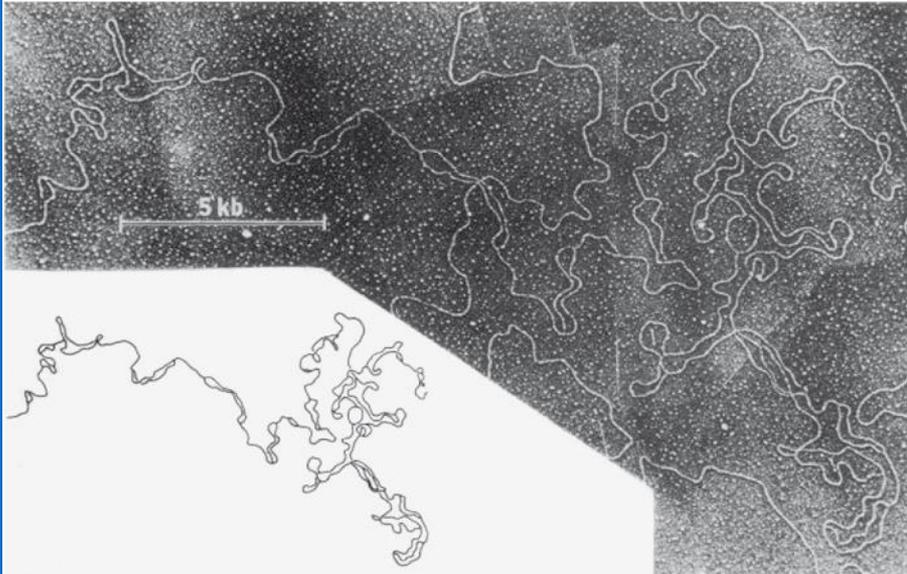
(A)



(B)

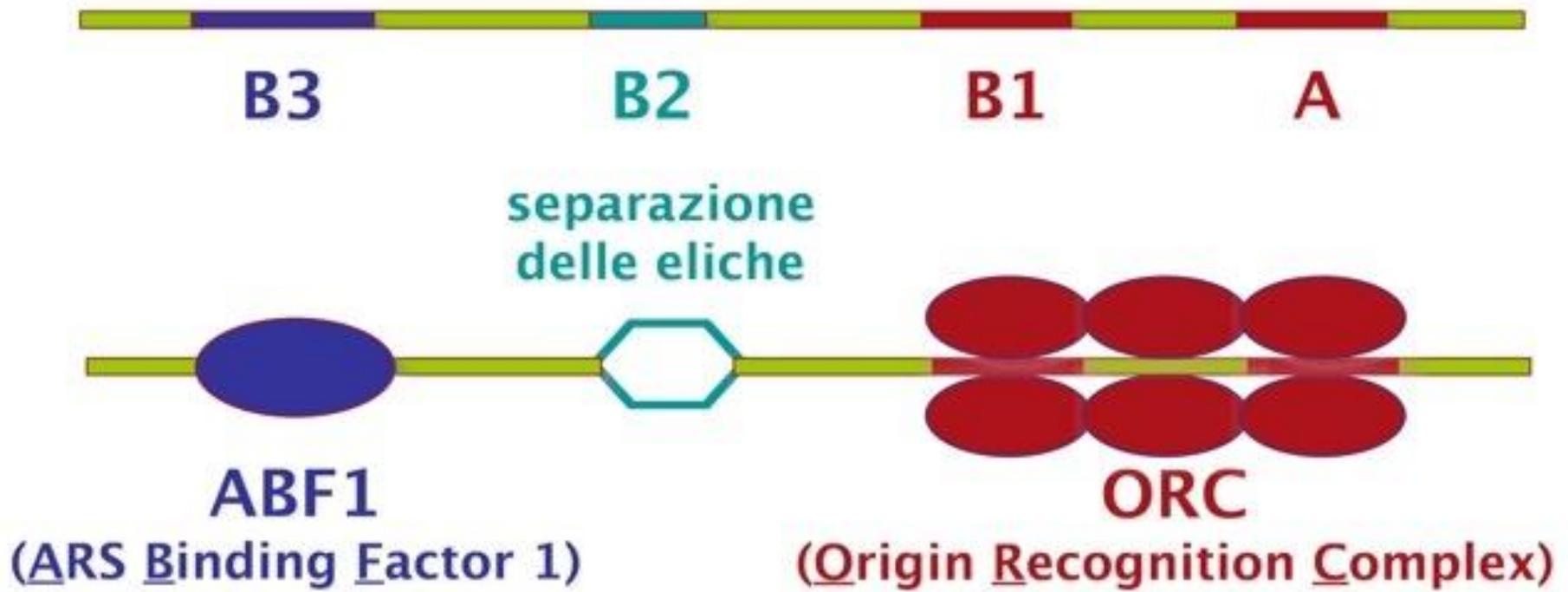


(C)



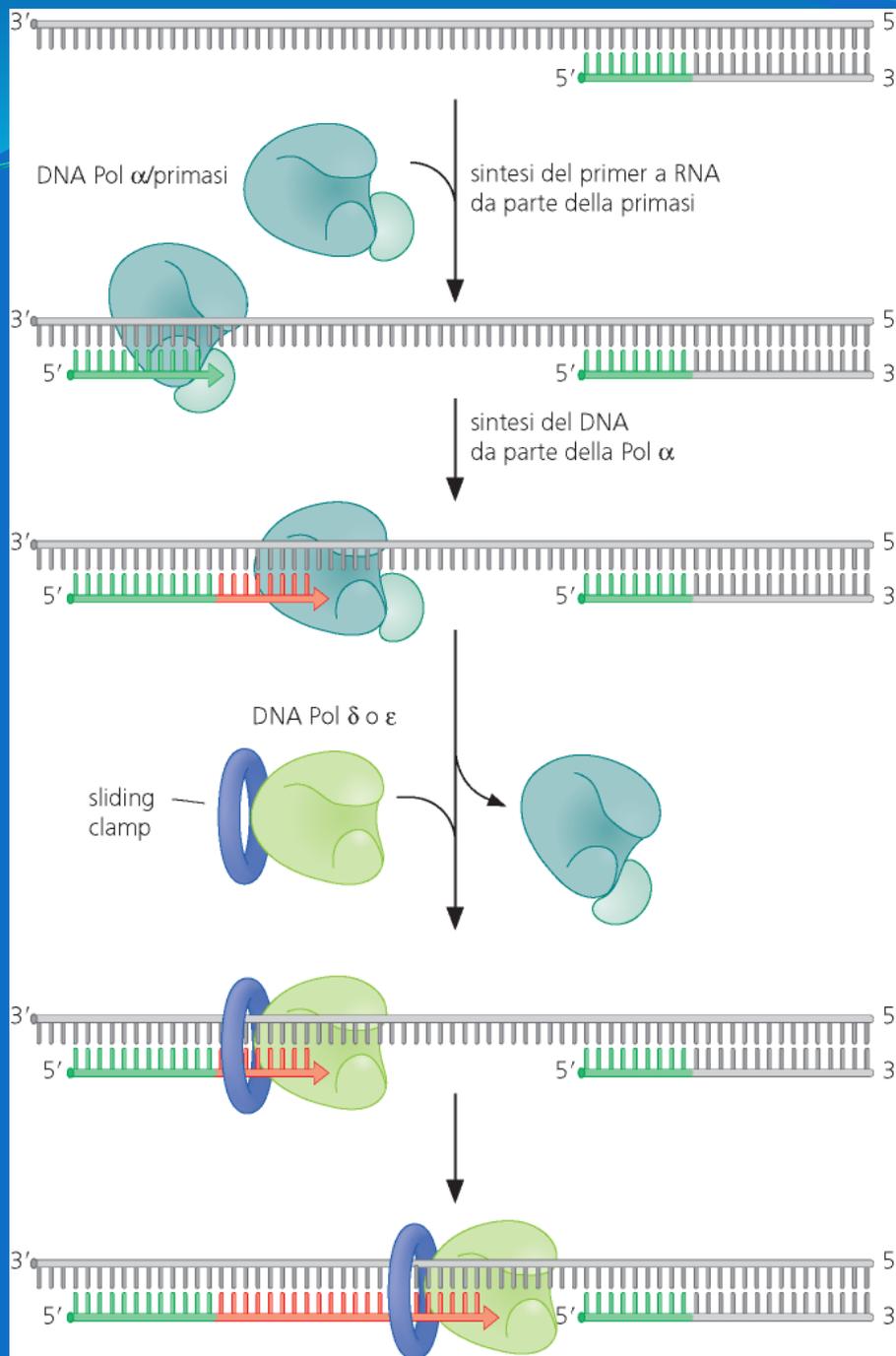
ORC lega e idrolizza ATP

ARS (Autonomous Replicating Sequences)

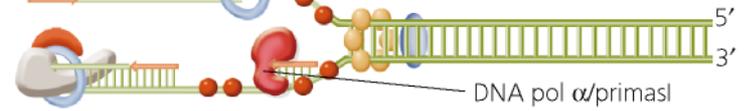


Sintesi del primer negli eucarioti

switching della polimerasi

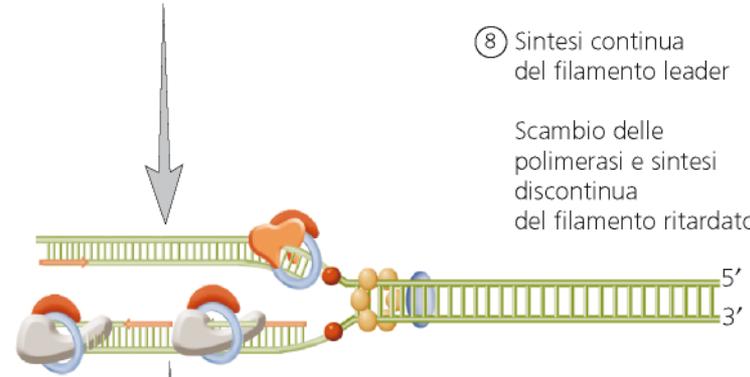


⑦ Allungamento del filamento leader e del filamento ritardato

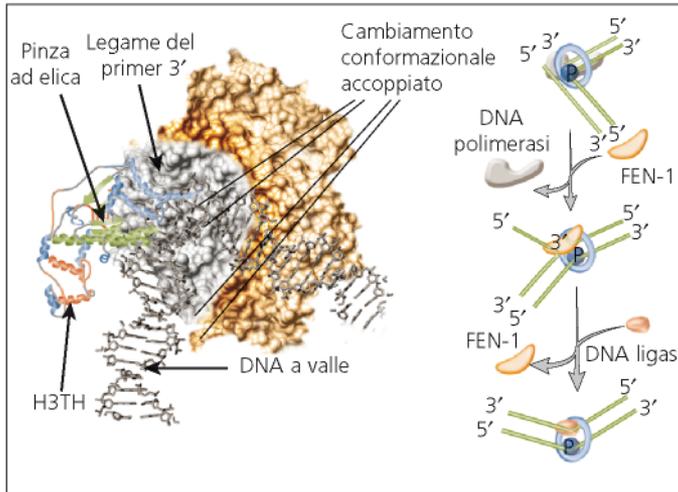
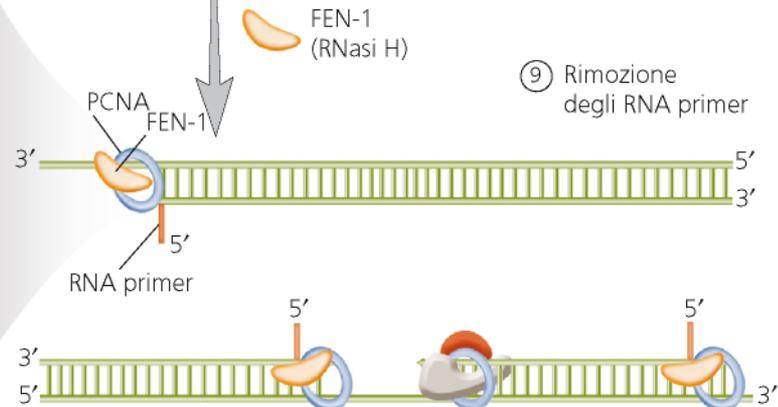


⑧ Sintesi continua del filamento leader

Scambio delle polimerasi e sintesi discontinua del filamento ritardato



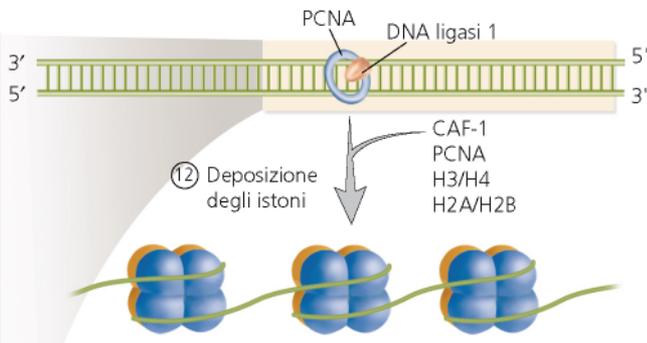
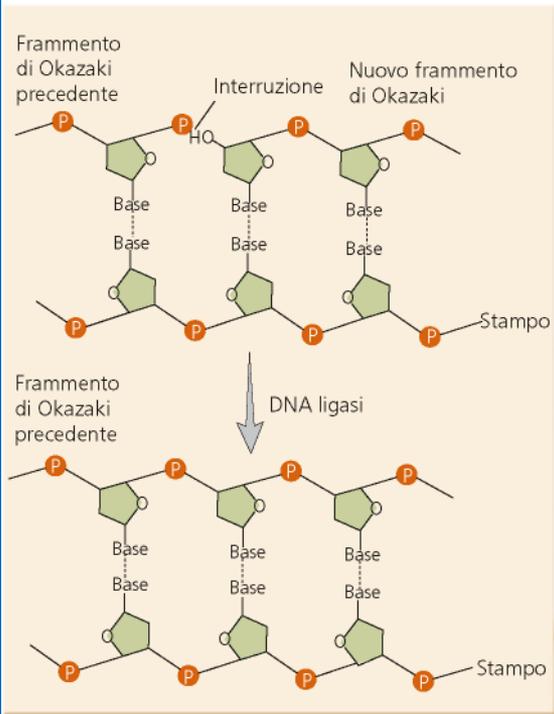
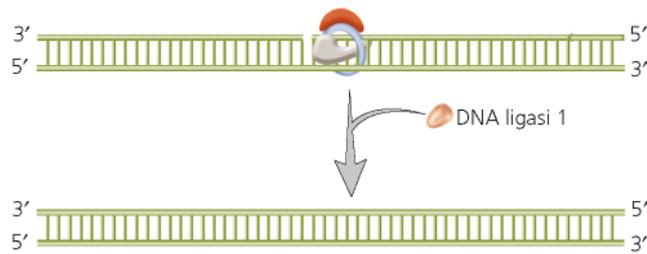
⑨ Rimozione degli RNA primer



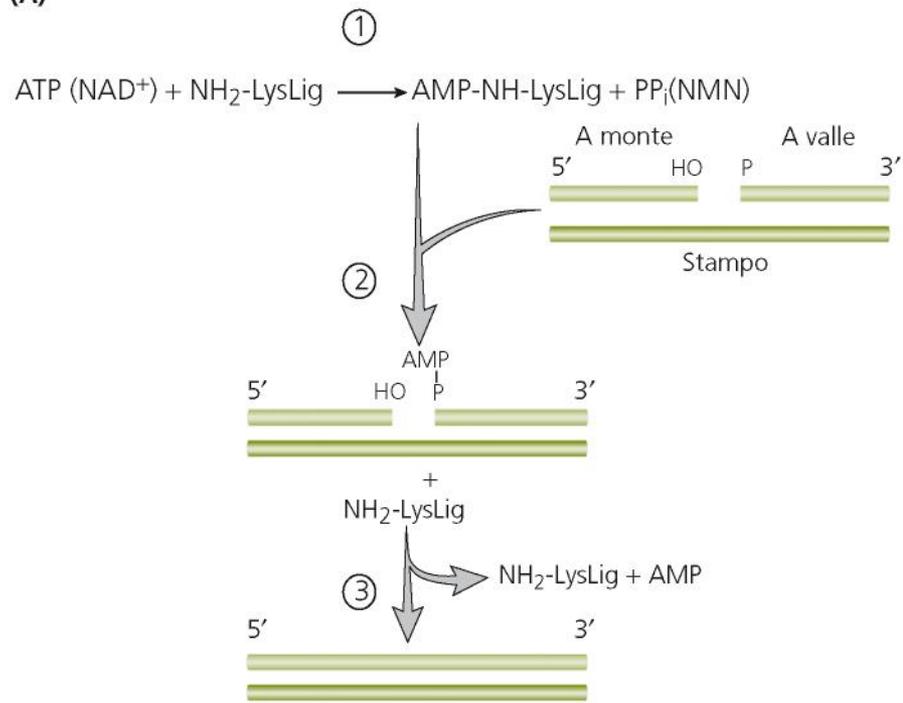
⑩ Riempimento delle interruzioni da parte della DNA pol & e (Riempimento da parte di una polimerasi di un'altra forcella di replicazione)



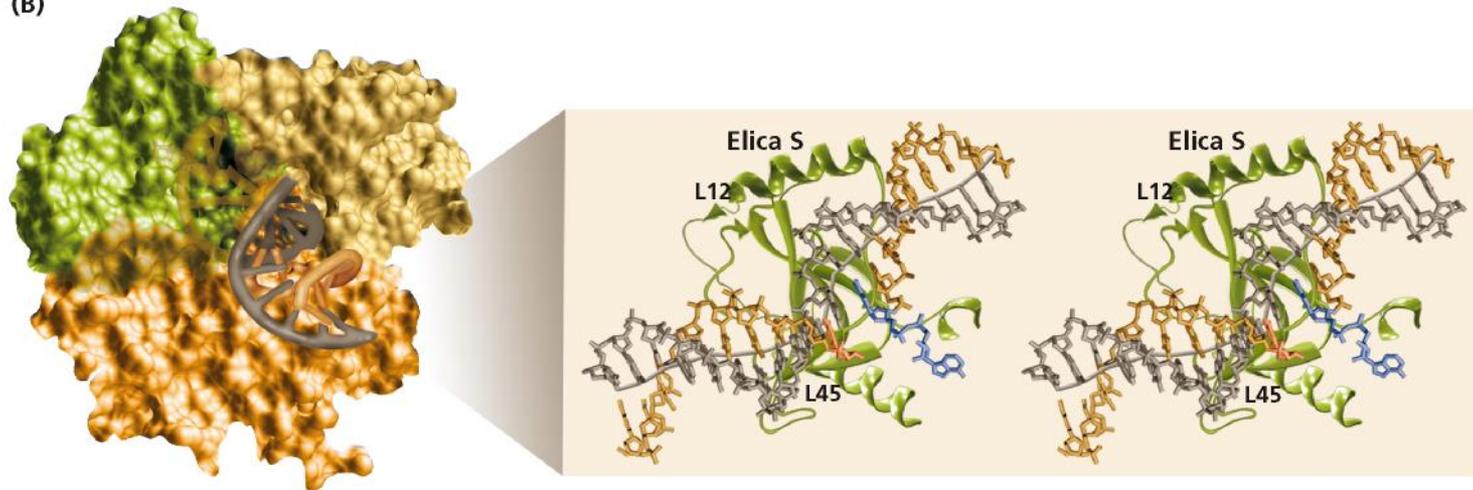
⑪ Unione dei frammenti di Okazaki



(A)



(B)



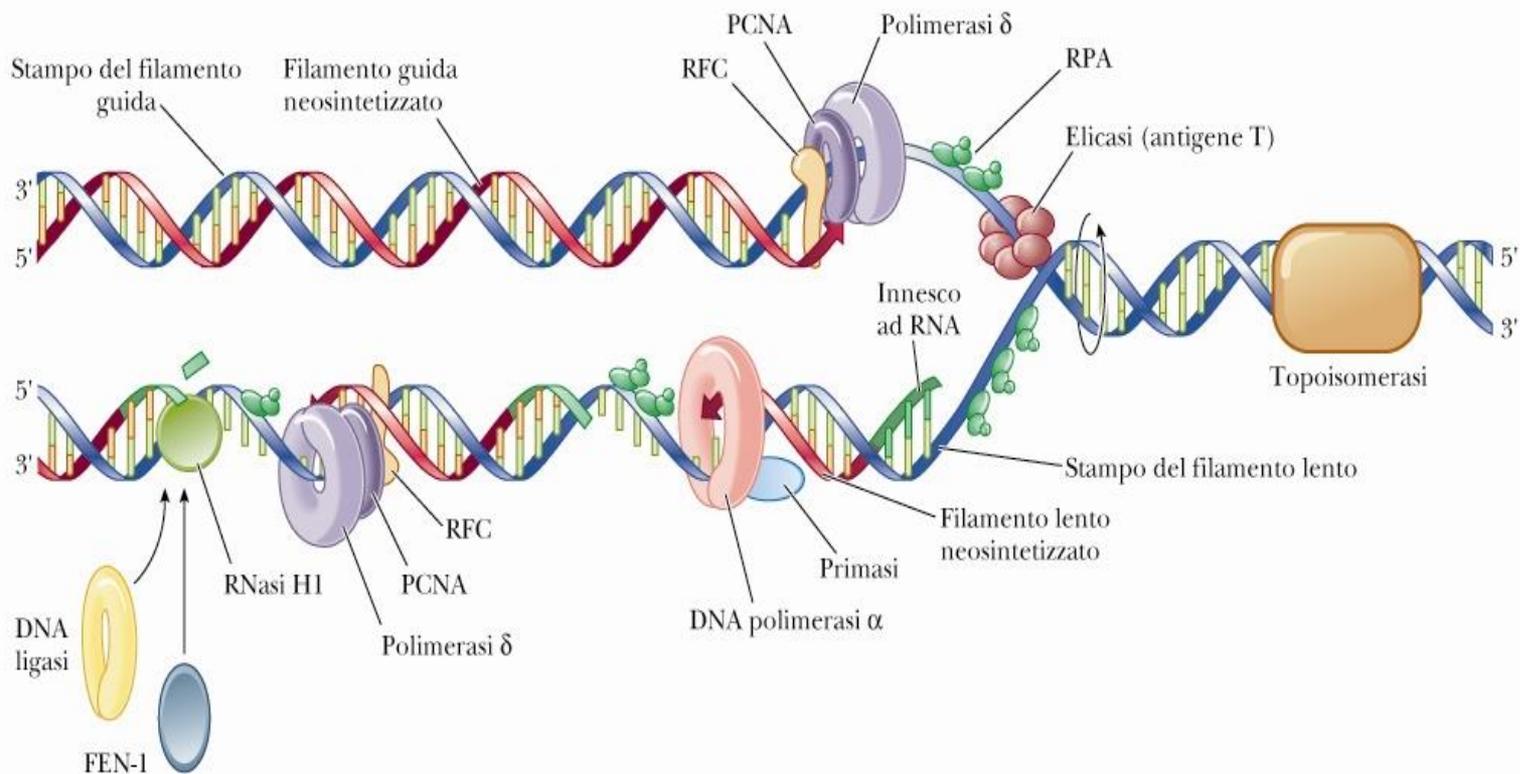
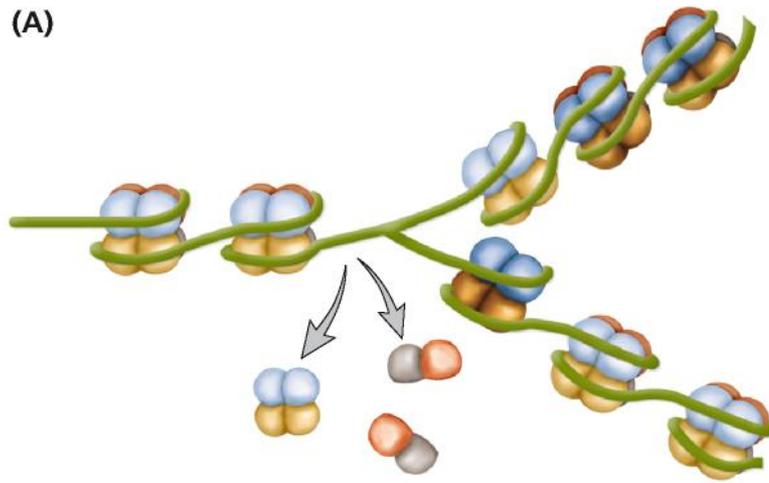


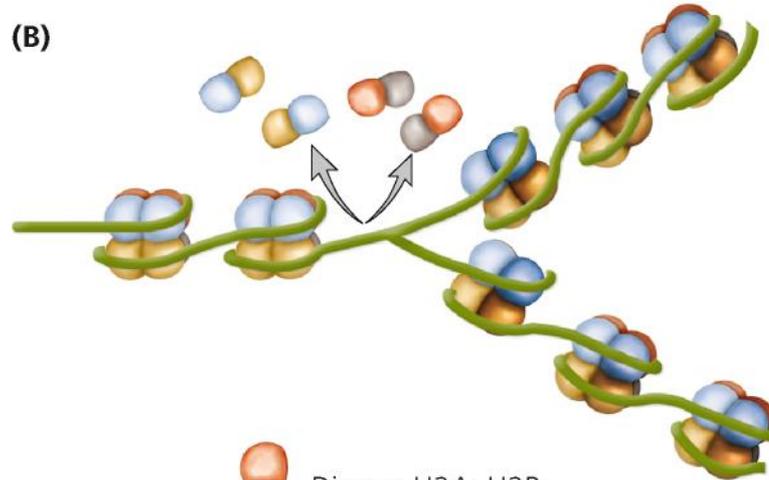
FIGURA 10.21 Gli elementi fondamentali della forcella di replicazione eucariotica. L'attività primasica è associata alla DNA polimerasi α. Successivamente all'incorporazione di alcuni nucleotidi, la DNA polimerasi δ, con le sue proteine associate PCNA ed RFC, si lega e realizza la maggior parte della sintesi. Gli enzimi FEN-1 e RNasi HI degradano gli inneschi di RNA nella replicazione eucariotica. (Da Cellular and Molecular Biology by Karp, Figure 13-22. Per gent. conc. di John Wiley & Sons, Inc.)

I nucleosomi durante la replicazione

(A)



(B)



 Dimero H2A, H2B

 H3
H4 H3-H4 parentale

 H3
H4 H3-H4 di nuova sintesi

Telomerasi

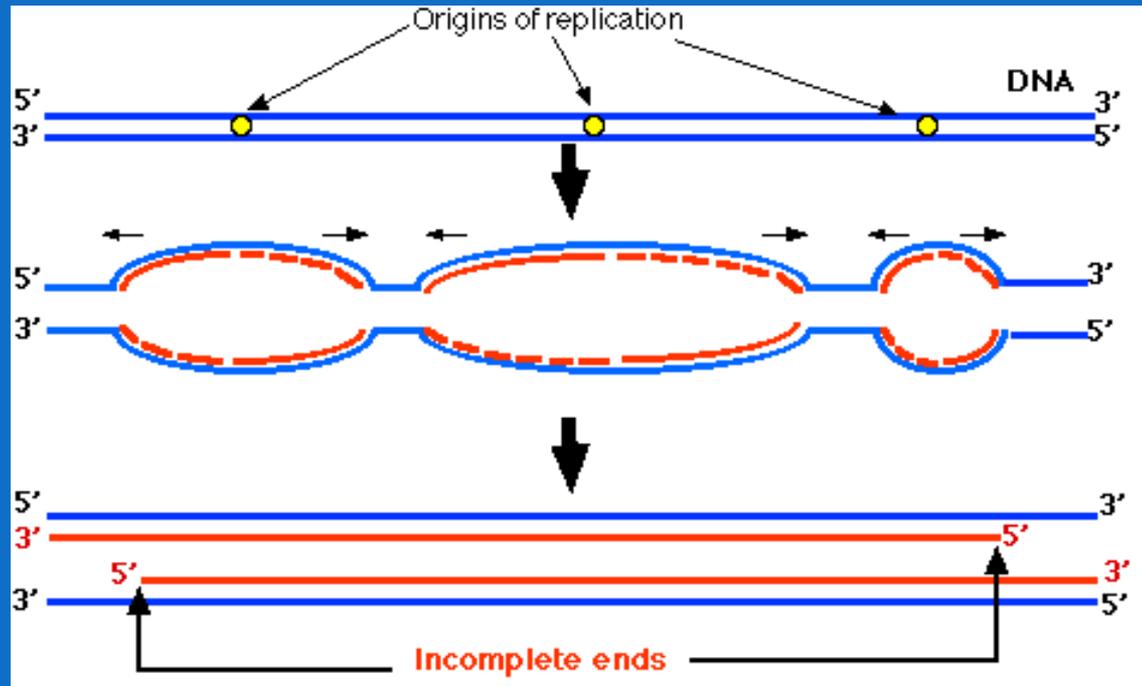
I TELOMERI

Replicazione estremità 5' del lagging strand

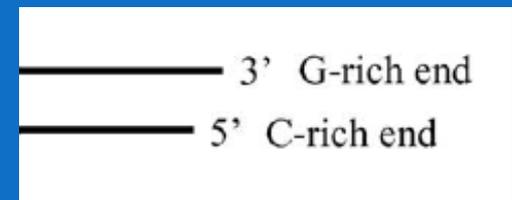
L'ultimo primer utilizzato non può essere rimosso

Accorciamento del DNA alle estremità

TELOMERI: Estremità di ciascun cromosoma



- costituiti da ~1000 ripetizioni di una piccola sequenza G-RICH (GGGGTTA) estensione a singola elica di 12–16 nucleotidi all'estremità 3' (G-tail)
- G-tail funziona da stampo per il primer che inizia l'ultimo frammento di Okazaki della lagging strand

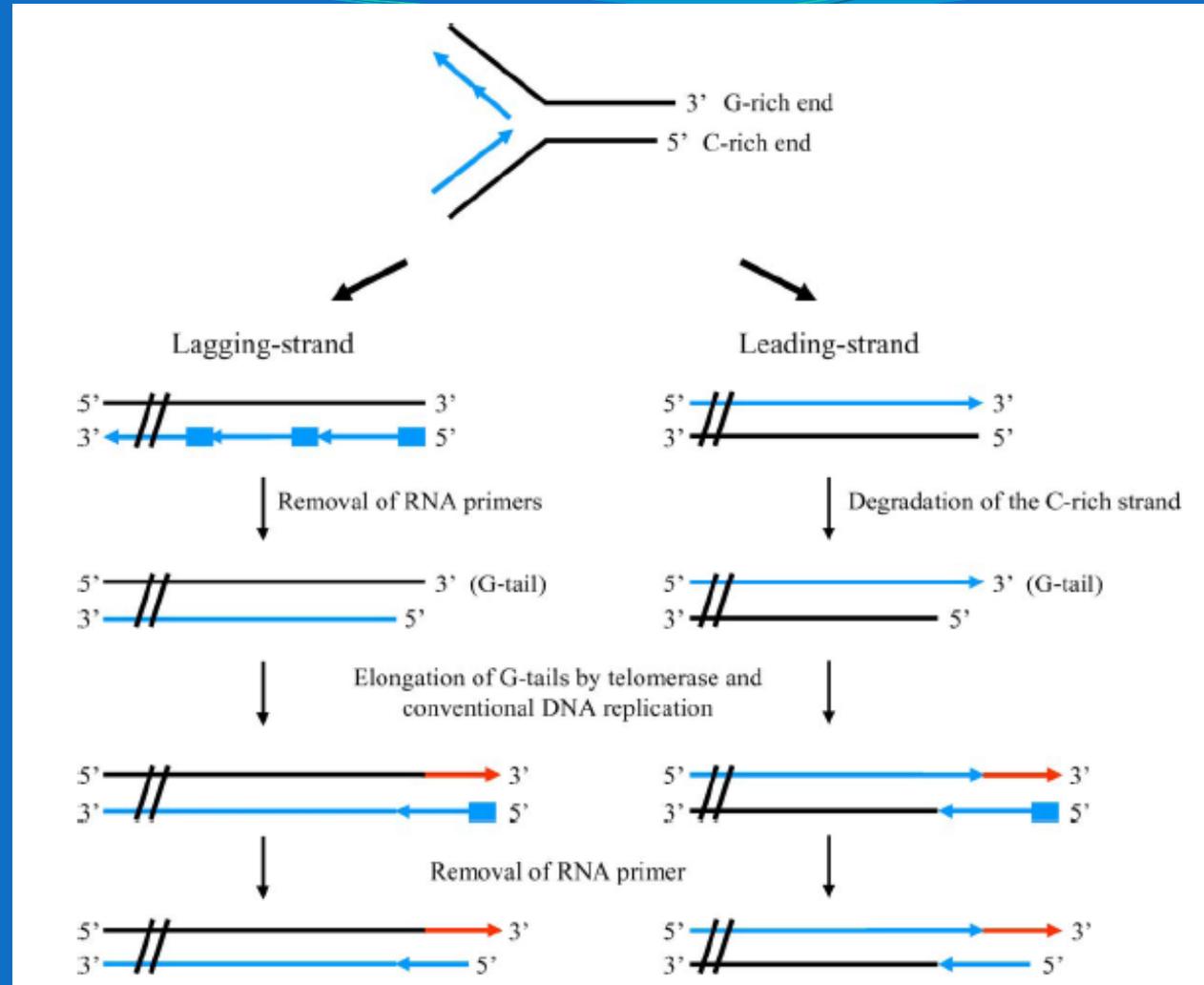


REPLICAZIONE TELOMERICA

Mentre la forca di replicazione si muove verso l'estremità del cromosoma la replicazione della lagging C-strand genera un DNA con una estremità 3'-sporgente a singolo filamento detta G-tail come risultato della eliminazione del primer di RNA dell'ultimo frammento di Okazaki.

La replicazione della leading G-strand può duplicare completamente il DNA lasciando una estremità piatta che però non è substrato della Telomerasi. In questo caso l'estremità 3-sporgente (G-tail) viene generata mediante degradazione esonucleasica della C-strand

La telomerasi estende la G-strand mentre la DNA-polimerasi completa la sua duplicazione (attraverso il meccanismo convenzionale)



Le frecce indicano le estremità 3'

Le linee azzurre indicano la replicazione della leading e lagging strands

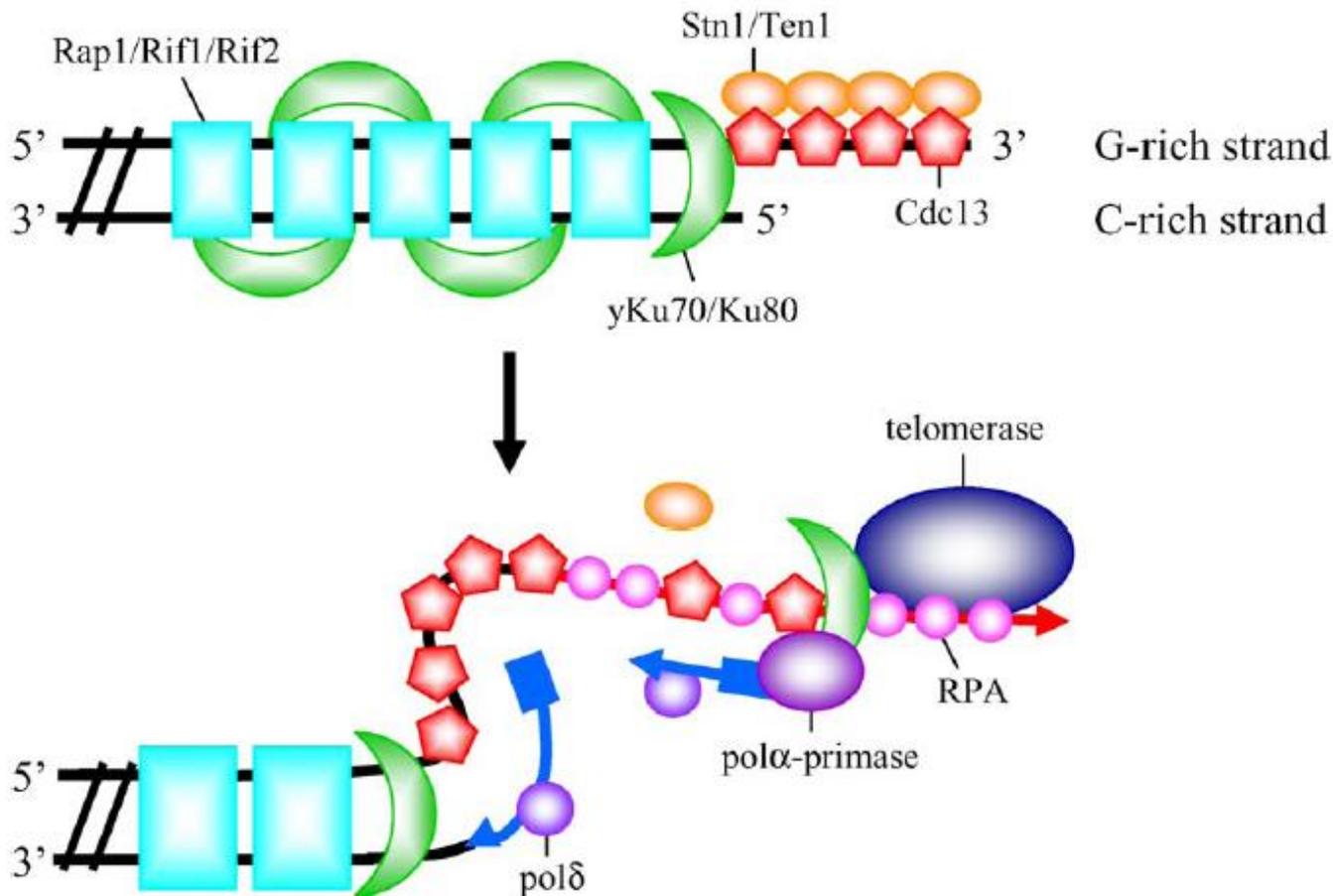
Le barre azzurre rappresentano i primers di RNA

Le linee rosse indicano l'allungamento prodotto dalla telomerasi

LA TELOMERASI

Sintetizza e mantiene il DNA telomerico

- È una ribonucleoproteina
- La molecola di RNA contiene una sequenza (UAACCCC nei mammiferi) complementare all'unità ripetitiva telomerica (GGGGTTA nei mammiferi)
- La subunità TERT ("TElomere Reverse Transcriptase") possiede l'attività catalitica
- La telomerasi è una trascrittasi inversa (sintetizza DNA su stampo di RNA)

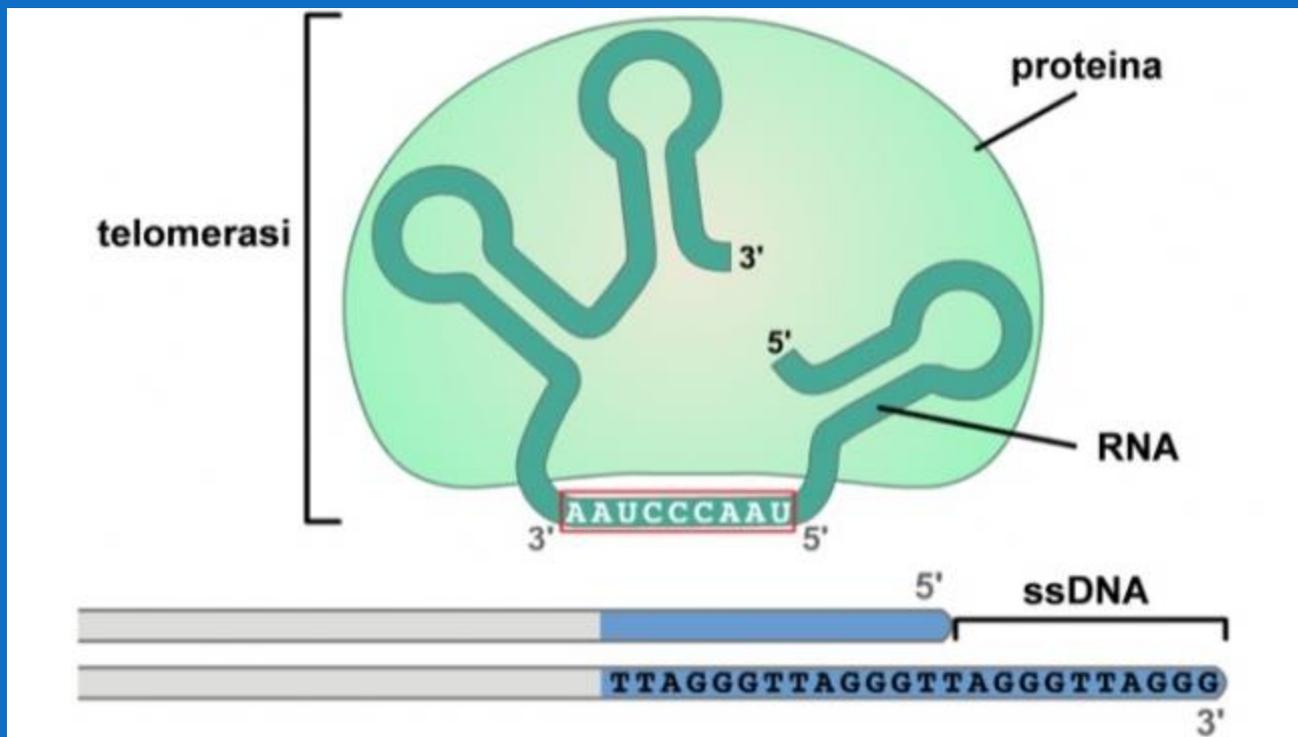


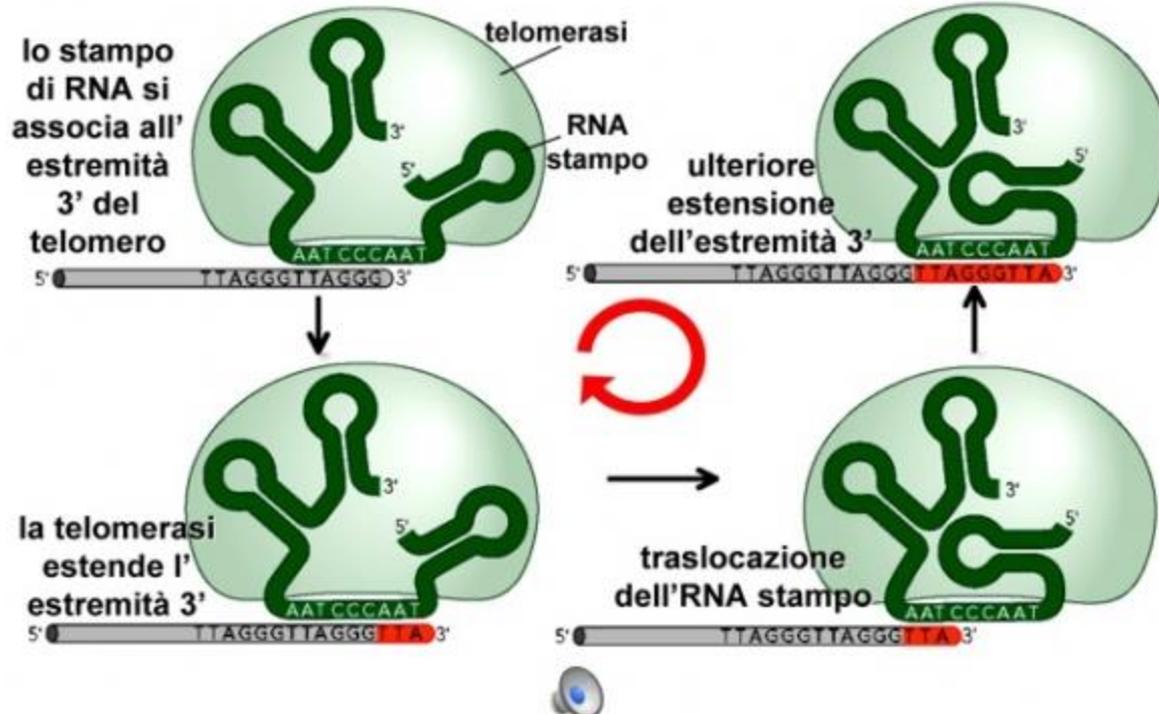
Mantenimento del DNA telomerico:

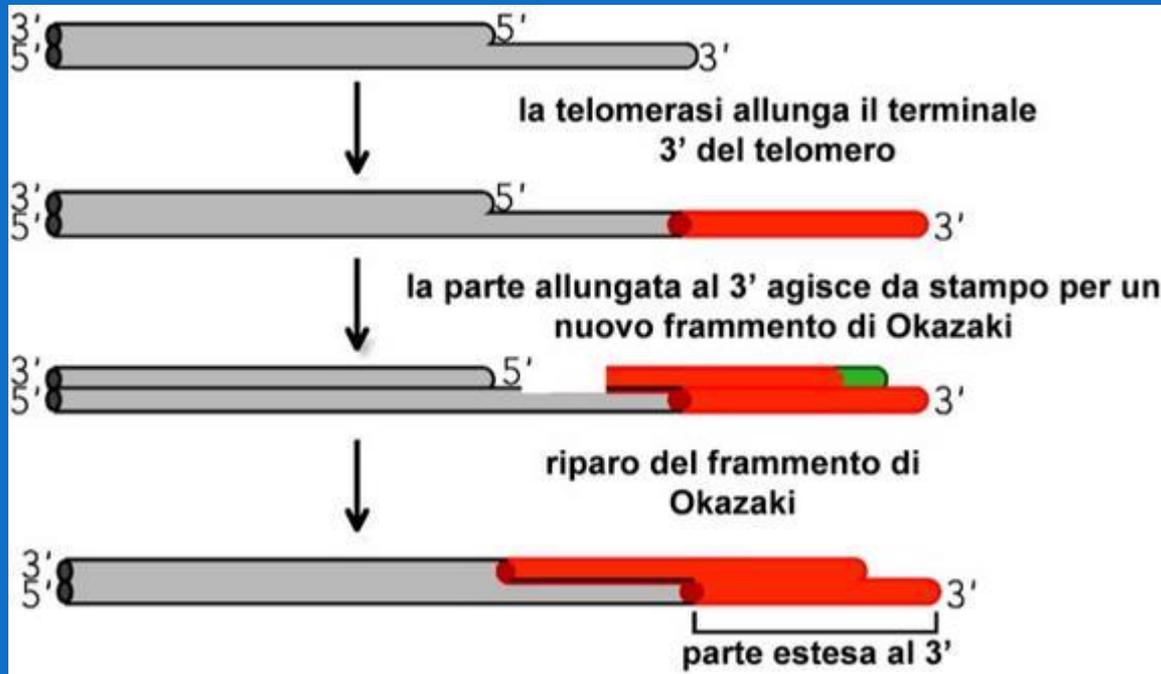
- G-rich strand
Telomerasi
- C-rich strand
DNA-polimerasi

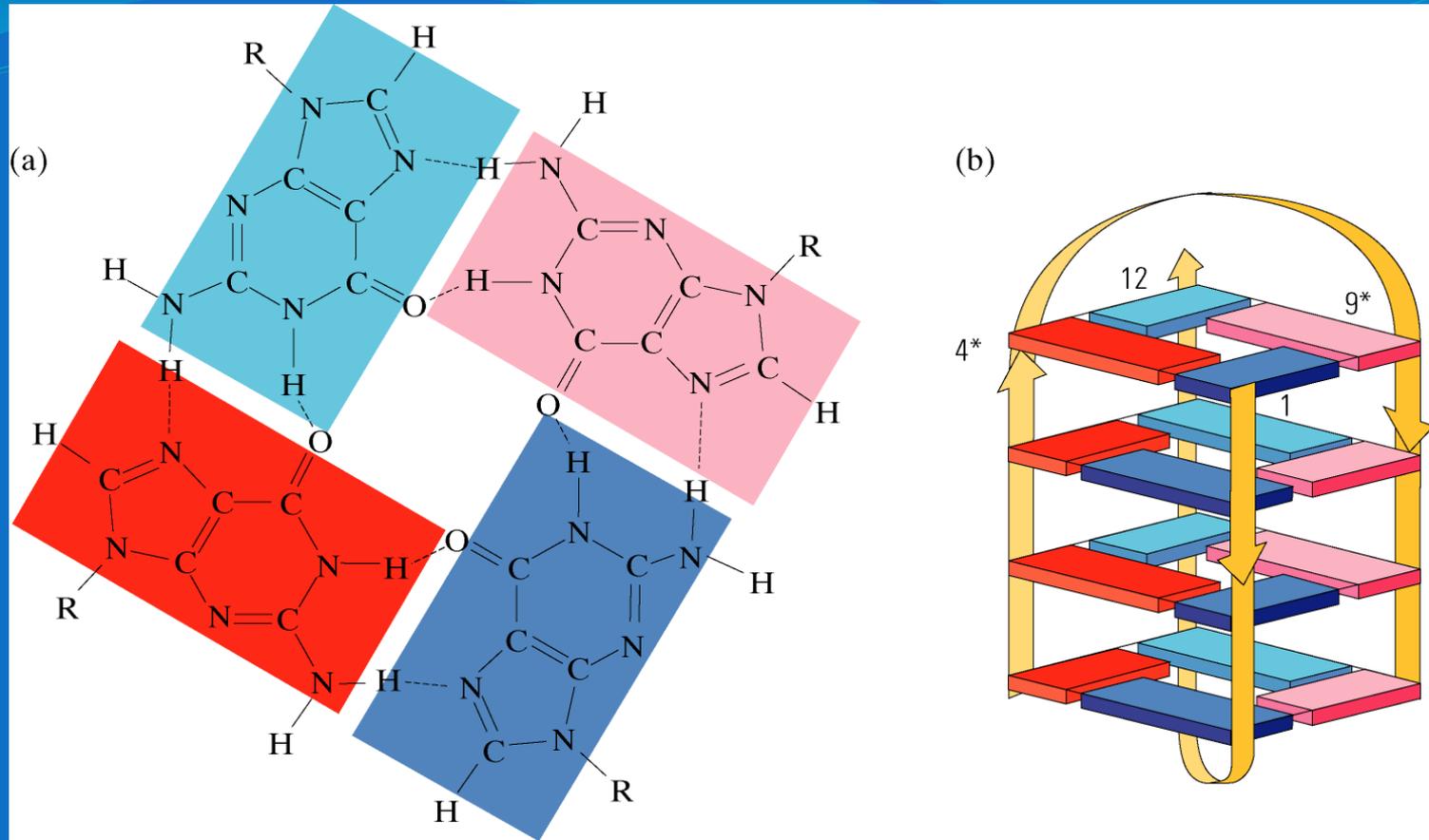
Cdc13 e **Stn1**
G-tail binding
proteins

Rap1/TRF1
Sequence specific
dsDNA binding
protein









Struttura dell'oligonucleotide telomerico detto "quartetto G"

La lunghezza dei telomeri può essere implicata nella senescenza e nel cancro

- E' funzionante in stadi precoci dello sviluppo embrionale e nelle cellule staminali
- Sembra che ci sia una correlazione fra accorciamento dei telomeri e senescenza cellulare
- In cellule tumorali l'assenza di senescenza è associata al mantenimento dell'attività della telomerasi