

Riparazione del DNA

Il mantenimento della stabilità genetica di cui un organismo ha bisogno per la sua sopravvivenza richiede non soltanto un meccanismo estremamente accurato per replicare il DNA, ma anche meccanismi per riparare le molte lesioni accidentali che avvengono continuamente nel DNA. Questi cambiamenti spontanei nel DNA sono per la maggior parte temporanei perché vengono immediatamente corretti da una serie di processi noti collettivamente come **riparazione del DNA**. L'importanza della riparazione del DNA è resa evidente da grande investimento che le cellule fanno in enzimi di riparazione del DNA. L'importanza della riparazione del DNA è dimostrata anche dall'aumentata frequenza di mutazioni che segue l'inattivazione di un gene di riparazione del DNA. Molte proteine di riparazione del DNA e i geni che le codificano sono stati identificati originariamente nei batteri mediante l'isolamento e la caratterizzazione dei mutanti che mostravano una frequenza superiore di mutazioni o un'aumentata sensibilità ad agenti che danneggiano il DNA. Difetti in un gene umano che normalmente serve per riparare le coppie di basi male appaiate nel DNA prodotte da errori di replicazione possono portare ad una predisposizione ereditaria al cancro al colon e di alcuni altri organi, in conseguenza di una frequenza aumentata di mutazioni. In un'altra malattia umana, lo xeroderma pigmentoso (XP) gli individui hanno un'estrema sensibilità alle radiazioni ultraviolette perché non sono capaci di riparare alcuni fotoprodotti del DNA. Questo difetto di riparazione porta a una frequenza maggiore di mutazioni che provoca gravi lesioni della pelle e una aumentata suscettibilità a certi tipi di cancro. La causa che comporta la nascita di tale anomalia è l'alterazione del meccanismo di riparazione del DNA quando vi è la creazione di un legame (dimero) fra molecole di timina, durante le quattro fasi addette alla ricostruzione. Questo si verifica per carenza di endonucleasi. Lo xeroderma pigmentoso mostra un'elevata variabilità clinica correlata sia al gene mutato che al tipo di mutazione presente. I pazienti del gruppo A tendono a sviluppare problemi neurologici nella prima infanzia mentre quelli di gruppo D nella tarda infanzia. I pazienti di gruppo C invece non sviluppano problemi di questo tipo. I sintomi e i segni clinici presentano una fotosensibilità estrema, cheratosi, gran numero di lentiggini, comparsa di tumori della cute. Nel gruppo D si mostrano bambini di bassa statura, capelli fragili, gran numero di lentiggini e scarsa intelligenza, nel gruppo C si arriva all'atassia. Sebbene il DNA sia un materiale molto stabile, come è necessario per la conservazione dell'informazione genetica, è una molecola organica complessa che è suscettibile, anche in condizioni cellulari normali, di cambiamenti spontanei che porterebbero a mutazioni e non venissero riparati. Per esempio, circa 5000 basi puriniche (adenina e guanina) vengono perse ogni giorno dal DNA di ciascuna cellula umana perché si idrolizzano i loro legami N-glicosilici al deossiribosio, una reazione spontanea chiamata **depurinazione**. In modo simile, una **deaminazione** spontanea della citosina a uracile avviene nel DNA ad un ritmo di circa 100 basi per cellula ogni giorno. Le basi del DNA vengono anche occasionalmente danneggiate da un incontro con metaboliti reattivi prodotti della cellula, o per esposizione a sostanze chimiche presenti nell'ambiente. In modo simile le radiazioni UV del sole possono produrre un legame covalente fra due pirimidine adiacenti nel DNA formando, per esempio, dimeri di timina. Se non vengono corretti quando il DNA è replicato, la maggior parte di questi cambiamenti porterebbe o alla delezione di una o più coppie di basi o a una sostituzione di una coppia di basi nella catena figlia di DNA. Le mutazioni verrebbero quindi propagate attraverso le successive generazioni cellulari. Una frequenza così alta di cambiamenti casuali nella sequenza del DNA avrebbe conseguenze disastrose per un organismo.

La replicazione del DNA prevede la possibilità di errori (**mutazioni**) che garantiscono la diversità genetica che è alla base dei processi evolutivi. Le mutazioni sono variazioni permanenti della sequenza di DNA causate da errori nei processi replicativi e riparativi o da danno al DNA provocato da agenti chimici, fisici e biologici. L'**anemia falciforme** è una malattia genetica del sangue dovuta ad una mutazione del gene che dirige la sintesi di **emoglobina**, una proteina che cattura l'ossigeno dai polmoni e lo trasporta ai vari tessuti. Ogni molecola di emoglobina presenta, nella sua struttura quaternaria, 4 subunità, di cui due catene α identiche di 141 aminoacidi e due catene β identiche di 146 aminoacidi. La mutazione nell'anemia falciforme interessa una singola base nucleotidica del gene che codifica per la subunità β . Questa mutazione, un'adenina rimpiazza una timina, provoca la sostituzione dell'**acido glutammico** con la **valina**.

La DNA polimerasi ha la funzione di **autocorrezione**, se ad un filamento in allungamento si aggiunge un nucleotide sbagliato, la polimerasi lo riconosce e lo sostituisce con uno giusto prima di continuare la sintesi del DNA. Il **riparo** del DNA può essere suddiviso in più fasi:

1. Il riconoscimento del danno
2. La escissione (esonucleasi)
3. La risintesi (DNA polimerasi)
4. La saldatura (DNA ligasi)

Il DNA è una molecola organica complessa suscettibile, anche in condizioni cellulari normali, di cambiamenti spontanei che porterebbero a mutazioni se non venissero riparati. Circa 18.000 basi puriniche (Adenina e Guanina) vengono perse ogni giorno dal DNA di ciascuna cellula umana perché i loro legami N-glicosidici si idrolizzano a deossiribosio, una reazione spontanea chiamata **depurinazione**. In modo simile, una **deamminazione** spontanea della citosina a gracile avviene nel DNA a un ritmo di circa 100 basi per cellula al giorno. Le basi del DNA vengono anche danneggiate da un incontro con metaboliti reattivi prodotti nella cellula. Queste due reazioni sono le più frequenti reazioni chimiche spontanee note che creano gravi danni al DNA nelle cellule. La depurinazione può rilasciare guanina o adenina dal DNA.

Il tipo principale di deamminazione converte la citosina in una base alterata del DNA, l'uracile, ma la deamminazione avviene anche in altre basi. Queste reazioni avvengono normalmente su DNA a doppia elica. La deamminazione della citosina, se non corretta, porta alla sostituzione di una base con un'altra quando il DNA viene replicato. La deamminazione della citosina produce uracile. L'uracile differisce dalla citosina per le sue proprietà di appaiamento e si accoppia di preferenza con l'adenina. Il macchinario di replicazione del DNA perciò aggiunge un'adenina quando incontra un uracile sul filamento stampo. La depurinazione può portare alla perdita di una coppia di nucleotidi. Quando il macchinario di replicazione incontra una purina mancante sul filamento stampo, può saltare al nucleotide completo successivo, producendo una delezione di un nucleotide nel filamento di nuova sintesi. Molti altri tipi di danno al DNA, se non vengono corretti, producono anche sei mutazioni quando il DNA viene replicato.

La struttura a doppia elica del DNA è ideale per la riparazione perché ha due coppie separate di tutta l'informazione genetica, una in ciascuno dei suoi due filamenti. Così, quando un filamento danneggiato, il filamento complementare mantiene una copia intatta della stessa informazione, questa coppia è generalmente usata per ripristinare le sequenze nucleotidiche corrette nel filamento danneggiato.

Le cellule possiedono vie multiple per la riparazione del DNA e queste usano enzimi diversi che agiscono su tipi diversi di lesioni. In entrambe il danno viene **escisso**, la sequenza originale di DNA viene ripristinata da una DNA polimerasi che usa il filamento non danneggiato come stampo e la rottura che rimane nella doppia elica viene saldata da una DNA ligasi. Le due vie differiscono nel modo in cui il danno è rimosso dal DNA. La prima via, chiamata **riparazione per escissione delle basi**, coinvolge una batteria di enzimi chiamati **DNA glicosidasi**, ciascuno dei quali può riconoscere un tipo specifico di base alterata e ne catalizza la rimozione idrolitica. La base alterata viene riconosciuta attraverso un passaggio chiave, che è il "giramento" all'esterno dell'elica mediato da enzimi del nucleotide alterato, che permette all'enzima di sondare tutte le facce della base per rivelare un danno. Una volta che un enzima ha riconosciuto una base danneggiata, rimuove la base dallo zucchero. Questa base mancante creata dall'azione della DNA glicosidasi è riconosciuta da un enzima chiamato **AP endonucleasi**, che taglia l'ossatura fosfodiesterica; il danno viene poi rimosso e l'interruzione riparata. La **riparazione per escissione delle basi** inizia con una DNA glicosidasi che rimuove una citosina deamminata accidentalmente nel DNA. Dopo l'azione della glicosidasi, lo zucchero fosfato della base mancante viene rimosso dall'azione sequenziale dell'endonucleasi AP e di una fosfodiesterasi.

L'intervallo di un singolo nucleotide è riempito dalla DNA polimerasi e dalla DNA ligasi. Il risultato netto è che l'uracile che era stato creato per deaminazione accidentale viene riconvertito in citosina. L'endonucleasi AP deriva il suo nome dal fatto che riconosce qualunque sito nel DNA che contiene uno zucchero deossiribosio senza una base, questi siti si creano per perdita di una purina (siti apurinici) o per la perdita di una pirimidina (siti apirimidinici).

La seconda via principale di riparazione si chiama **riparazione per escissione dei nucleotidi**. Questo meccanismo può riparare il danno causato da quasi tutti i grossi cambiamenti della struttura della doppia elica del DNA. Queste lesioni voluminose includono quelle create dalla reazione covante delle basi del DNA con idrocarburi, oltre che i vari dimeri della pirimidina provocati dalla luce solare. In questa via un grande complesso multienzimatico esegue una scansione del DNA cercando una distorsione nella doppia elica, piuttosto che un cambiamento specifico. Una volta che è stata trovata una lesione voluminosa, l'ossatura fosfodiesterica del filamento anormale viene tagliata su entrambi i lati della distorsione e un oligonucleotide a singolo filamento che contiene la lesione viene eliminato dalla doppia elica del DNA da una DNA elicasi. La grossa interruzione prodotta nell'elica del DNA viene poi riparata dalla DNA polimerasi e dalla DNA ligasi.

La **riparazione per escissione dei nucleotidi**, nei batteri dopo che un complesso multienzimatico ha riconosciuto una lesione voluminosa come un dimero di pirimidina, viene fatto un taglio su ciascun lato della lesione e una DNA elicasi associata rimuove quindi l'intera porzione del filamento danneggiato.

Il macchinario della riparazione per escissione nei batteri lascia l'interruzione mostrata di 12 nucleotidi. Negli esseri umani, una volta che il DNA danneggiato è stato riconosciuto, viene reclutata un'elicasi, che svolge localmente il DNA. Quindi entra la nucleasi di escissione, che taglia su entrambi i lati del danno, lasciando un'interruzione di circa 30 nucleotidi. Il macchinario di escissione dei nucleotidi può riconoscere e riparare molti tipi diversi di danno al DNA sia nei batteri che negli esseri umani.

I sistemi di riparazione per escissione nucleotidica agiscono attraverso un meccanismo di taglio e riparazione che rimuove grandi lesioni come dimeri di pirimidina o nucleotidi ai quali si sono attaccati dei gruppi chimici. La riparazione per escissione nucleotidica può percorrere due vie:

1. Una **via accoppiata alla trascrizione** in cui viene riparato il filamento stampo che contiene geni che vengono attivamente trascritti. La riparazione del filamento stampo avviene contemporaneamente alla trascrizione del DNA e che la segnalazione della lesione avvenga attraverso il blocco dell'RNA polimerasi. Questa via della riparazione assicura che i geni di maggiore importanza per la cellula, ossia i geni che la cellula trascrive attivamente ricevano la tabella di marcia della riparazione.
2. Una **via genomica globale**, più lenta e meno efficiente che corregge i filamenti di DNA nel resto del genoma.

Tutto il DNA di una cellula è sotto sorveglianza costante e i meccanismi di riparazione agiscono su tutte le parti del genoma. Tuttavia le cellule hanno un modo di dirigere la riparazione del DNA verso le sequenze di DNA che sono più urgentemente necessarie. Questo meccanismo si basa sul collegamento fra la RNA polimerasi, l'enzima che trascrive il DNA in RNA come primo passaggio dell'espressione genica, e la riparazione del danno al DNA.

La RNA polimerasi si blocca a livello delle lesioni del DNA e, tramite l'uso di proteine accoppiatrici, dirige il macchinario di riparazione verso questi siti. Nei batteri, in cui i geni sono relativamente brevi, la RNA polimerasi bloccata può dissociarsi dal DNA, il DNA viene riparato e il gene viene di nuovo trascritto dall'inizio. Negli eucarioti, in cui i geni possono essere enormemente lunghi, si usa una reazione più complessa per fare arretrare la RNA polimerasi, riparare il danno e quindi fare ripartire la polimerasi.

La riparazione accoppiata alla trascrizione funziona con l'escissione delle basi, con l'escissione dei nucleotidi e con altri macchinari di riparazione per dirigere la riparazione immediatamente alle sequenze di DNA più importanti per la cellula, quelle cioè che sono espresse quando si verifica il danno.

È notevole che questo tipo di riparazione sia specifico per il filamento stampo del DNA trascritto; l'altro filamento è riparato alla stessa velocità ed efficienza del DNA che non è trascritto del tutto.

La doppia elica del DNA sembra costruita in modo ottimale per essere riparata. Come osservato sopra, contiene una copia di back-up di tutta l'informazione genetica. Anche la natura delle quattro basi del DNA rende chiara la distinzione fra basi danneggiate e non danneggiate. Per esempio, ogni possibile evento di deaminazione nel DNA produce una base "non naturale" che può perciò essere riconosciuta direttamente e rimossa da una DNA glicosidasi specifica. L'ipoxantina, per esempio, è la base purinica più semplice capace di appaiarsi specificamente con C, ma l'ipoxantina è il prodotto diretto dalla deaminazione di A. L'aggiunta di un secondo gruppo amminico all'ipoxantina produce G, che non si può formare da A per deaminazione spontanea e il cui prodotto di deaminazione (xantina) è allo stesso modo unico.

La deaminazione rappresenta la fuoriuscita da una molecola di un gruppo amminico con conseguente produzione di una molecola di ammoniaca. La reazione necessita di una molecola d'acqua per avvenire ed è detta anche deaminazione ossidativa, in quanto ossida il carbonio su cui era legato il gruppo amminico, sostituendovi un gruppo carbonilico.

RIPARAZIONE DEGLI APPAIAMENTI ERRATI

Le cellule sono capaci di rimuovere le basi appaiate in modo errato, incorporate dalla DNA polimerasi e sfuggite al meccanismo esonucleasico di correzione di bozze dell'enzima. Questo meccanismo è chiamato **riparazione degli appaiamenti errati (MMR)**. Una coppia di basi appaiate in modo errato provoca nella doppia elica una distorsione che può essere riconosciuta da un enzima di riparazione. Affinché un appaiamento scorretto venga riparato è fondamentale che il sistema di riparazione sia in grado di distinguere il filamento neosintetizzato che contiene il nucleotide sbagliato dal filamento parentale che contiene il nucleotide corretto. In E. Coli i due filamenti si possono distinguere per la presenza di residui di adenosina metilati sul filamento parentale. Negli eucarioti sembra che il sistema MMR non utilizzi la metilazione del DNA e non è noto il meccanismo utilizzato per identificare la nuova sintesi.

DNA POLIMERASI SPECIALI SONO USATE PER RIPARARE IL DNA IN SITUAZIONI DI EMERGENZA

Se il DNA di una cellula è fortemente danneggiato, i meccanismi di riparazione che abbiamo discusso sono spesso insufficienti a far fronte al danno. In questi casi entra in gioco una strategia diversa, che comporta un certo rischio per la cellula. Le DNA polimerasi replicative altamente accurate si bloccano quando incontrano DNA danneggiato e durante un'emergenza le cellule impiegano polimerasi di backup versatili ma meno accurate per replicare attraverso il danno al DNA. Le cellule umane contengono più di 10 di queste polimerasi, alcune delle quali possono riconoscere un tipo preciso di danno al DNA e aggiungere specificamente il nucleotide richiesto per ripristinare la sequenza iniziale. Altre fanno soltanto una "buona congettura", specialmente quando la base dello stampo è stata estesamente danneggiata. Questi enzimi non sono accurati quanto le normali polimerasi replicative quando copiano una sequenza normale di DNA. Per prima cosa le polimerasi di backup sono prive di attività di correzione esonucleolitica delle bozze e, inoltre, molte hanno un potere di discriminazione molto minore delle polimerasi replicative nella scelta del nucleotide che incorporano inizialmente. Presumibilmente per questa ragione a ciascuna di queste polimerasi viene data la possibilità di aggiungere pochi nucleotidi o uno soltanto. Sebbene i dettagli di queste reazioni affascinanti siano ancora allo studio, forniscono una testimonianza elegante della cura con cui gli organismi mantengono l'integrità del loro DNA.

LE ROTTURE A DOPPIO FILAMENTO SONO RIPARATE IN MODO EFFICIENTE

Un tipo particolarmente pericoloso di danno al DNA si verifica quando sono rotti entrambi i filamenti della doppia elica, senza che vi sia un filamento stampo intatto per permettere una riparazione accurata. Le rotture di questo tipo sono causate da radiazioni ionizzanti, agenti ossidanti, errori di replicazione e altri prodotti metabolici nella cellula. Se queste lesioni non venissero riparate, porterebbero rapidamente alla demolizione dei cromosomi in frammenti più piccoli e alla perdita di geni quando la cellula si divide. Ma due meccanismi distinti si sono evoluti per eliminare il danno potenziale. Il più facile da comprendere è l'unione non omologa delle estremità, in cui le estremità rotte sono semplicemente portate insieme e riunite da una legatura nel DNA, generalmente con la perdita di uno o più nucleotidi al sito di unione. Questo meccanismo di unione delle estremità, che può essere visto come una soluzione veloce al problema della riparazione di rotture a doppio filamento, è comune nelle cellule somatiche dei mammiferi. Sebbene ci sia un cambiamento nella sequenza del DNA al sito di rottura, la quantità del genoma dei mammiferi che codifica per proteine è così piccola che questo meccanismo è apparentemente una soluzione accettabile al problema di riunire i cromosomi rotti. In un essere umano di 70 anni una tipica cellula somatica contiene più di 2000 di queste "cicatrici" sparse in tutto il genoma, che rappresentano i punti in cui il DNA è stato riparato in modo non accurato dall'unione non omologa delle estremità. Come osservato in precedenza, la struttura specializzata dei telomeri impedisce alle estremità naturali dei cromosomi di essere scambiate per DNA rotto e di essere riparate. Un tipo molto più efficace di riparazione delle rotture a doppio filamento avviene nel DNA appena replicato. In questo caso il DNA è riparato usando il cromatide fratello come stampo.

Questa reazione è un esempio di ricombinazione omologa. La maggior parte degli organismi impiega sia l'unione non omologa delle estremità che la ricombinazione omologa per riparare le rotture a doppio filamento del DNA. L'unione non omologa delle estremità predomina negli esseri umani; la ricombinazione omologa è usata soltanto durante la replicazione del DNA e immediatamente dopo, quando i cromatidi fratelli sono disponibili per servire da stampo.

RICAPITOLAZIONE GENERALE SULLA RIPARAZIONE DEL DNA

La riparazione del DNA è un processo che opera costantemente nelle cellule; essa è essenziale alla sopravvivenza in quanto protegge il genoma da danni e mutazioni nocive. Nelle cellule umane, sia le normali attività metaboliche che i fattori ambientali (quali i raggi UV) possono causare danno al DNA, determinando almeno 500000 singole lesioni molecolari per cellula al giorno. Tali lesioni provocano danno strutturale alla molecola di DNA, e possono alterare in maniera drammatica il modo in cui la cellula legge le informazioni contenute nei suoi geni. Di conseguenza, il processo di riparazione del DNA deve lavorare in continuazione, per correggere qualsiasi danno nella struttura del DNA.

Quando la cellula invecchia, tuttavia, la velocità di riparazione del DNA decresce fino a che non può tenere più il passo con la creazione del danno al DNA. A quel punto la cellula va incontro ad uno dei tre possibili destini:

1. Uno stato di dormiente irreversibile detto senescenza.
2. Il suicidio della cellula chiamato apoptosi o morte cellulare programmata.
3. La carcinogenesi, cioè la formazione del cancro.

La maggior parte delle cellule del corpo diviene inizialmente senescente. Poi, dopo un danno irreparabile al DNA, va incontro ad apoptosi. In tal caso, l'apoptosi rappresenta un meccanismo di ultima istanza per prevenire la trasformazione carcinogenica di una cellula, pericolosa per l'organismo. Quando le cellule divengono senescenti, le alterazioni nella biosintesi e nel turnover determinano una minore efficienza nel loro funzionamento, causando inevitabilmente malattia.

La capacità di riparazione del DNA in una cellula è vitale per l'integrità del suo genoma e quindi per il normale funzionamento della cellula stessa e di tutto l'organismo. Molti geni, originariamente ritenuti capaci di influenzare la durata della vita, si sono dimostrati coinvolti nella riparazione e nella protezione dal danno al DNA. Errori nella correzione delle lesioni in cellule che producono gameti danno origine ad una progenie mutata e quindi possono influenzare la velocità di evoluzione.

Le cellule non possono tollerare un danno al DNA che comprometta l'integrità e l'accessibilità di informazioni essenziali nel genoma (tuttavia le cellule restano superficialmente funzionali quando i cosiddetti geni "non essenziali" mancano o sono danneggiati). Una varietà di strategie di riparo si è evoluta per ripristinare l'informazione perduta, secondo il tipo di danno inflitto alla struttura a doppia elica del DNA. Le cellule utilizzano, come stampo per il ripristino, il filamento complementare non modificato di DNA, oppure il cromosoma fratello. In mancanza di un accesso all'informazione dello stampo, il riparo del DNA è soggetto ad errori.

Il danno al DNA altera la configurazione spaziale dell'elica e tali alterazioni possono essere rilevate dalla cellula. Una volta che il danno è stato localizzato, molecole specifiche di riparo del DNA sono reclutate e vanno a legarsi su o presso il sito di lesione, inducendo altre molecole a legarsi fino a formare un complesso che rende possibile il riparo. I tipi di molecole coinvolte ed il meccanismo di riparo che viene attivato dipendono:

1. Dal tipo di danno al DNA;
2. Dal fatto che la cellula sia entrata o no in uno stadio di senescenza;
3. Dalla fase del ciclo in cui si trova la cellula.

ROTTURE DEL DOPPIO FILAMENTO

Un tipo particolarmente pericoloso di danno al DNA per le cellule in divisione è la rottura di entrambi i filamenti della doppia elica. Esistono due meccanismi capaci di riparare questo danno. Essi sono generalmente conosciuti come 'Non-Homologous End-Joining' (saldatura delle estremità non omologhe) e 'riparazione per ricombinazione' (o riparazione assistita da stampo, o ricombinazione omologa). La riparazione per ricombinazione richiede la presenza di una sequenza identica (o quasi) che possa essere usata come stampo per la riparazione di una rottura. Il macchinario enzimatico responsabile per questo processo è praticamente identico al macchinario responsabile del crossingover nelle cellule germinali durante la meiosi. Il meccanismo di riparazione per ricombinazione è usato in maniera predominante durante le fasi del ciclo cellulare in cui il DNA si sta replicando o ha completato la duplicazione. Ciò permette ad un cromosoma danneggiato di essere riparato con l'impiego, come stampo, di un cromatide fratello neosintetizzato, come una copia identica che è, per di più, ordinatamente appaiata alla regione danneggiata. Molti geni nel genoma umano sono presenti in copie multiple fornendo diverse possibili fonti di sequenze identiche. Ma la riparazione per ricombinazione che si basa su queste copie come stampi reciproci è problematico dal momento che porta a traslocazioni cromosomiche e ad altri tipi di riarrangiamento cromosomico. Il Non-Homologous End-Joining (NHEJ) riunisce le due estremità della rottura in assenza di una sequenza che possa fungere da stampo. Tuttavia può esserci una perdita di sequenza durante questo processo e quindi tale riparo può essere mutagenico. Il NHEJ può verificarsi a tutti gli stadi del ciclo cellulare, ma nelle cellule di mammifero è il principale meccanismo fino a quando la replicazione del DNA non rende possibile la riparazione per ricombinazione con impiego del cromatide fratello come stampo. Dal momento che la grande maggioranza del genoma negli umani e negli altri organismi pluricellulari è fatta di DNA che non contiene geni, il cosiddetto "junk DNA" o "DNA spazzatura", un NHEJ mutagenico è probabilmente meno pericoloso di una riparazione assistita da stampo costituito da sequenze presenti in copia multipla, dato che in quest'ultimo caso si produrrebbero riarrangiamenti cromosomici indesiderati. Il macchinario enzimatico usato per il NHEJ è anche utilizzato nelle cellule B per riunire rotture generate dalle proteine RAG durante la ricombinazione VDJ, passo cruciale nella produzione della diversità degli anticorpi da parte del sistema immunitario.