

## LA DUPLICAZIONE DEL DNA

Il processo di duplicazione del DNA ha inizio in particolari siti, detti punti di origine della duplicazione (Ori), che sono tratti di DNA con una caratteristica sequenza di nucleotidi, in corrispondenza dei quali gli enzimi si attaccano all'acido nucleico e separano i filamenti della doppia elica. La duplicazione procede quindi in entrambe le direzioni, dando origine a bolle di duplicazione: i filamenti del DNA originario si dividono a mano a mano che i filamenti di nuova sintesi si allungano su entrambi i lati di ogni bolla. All'estremità di ogni bolla si trova una forcella di duplicazione, ossia un primo tratto di DNA, a forma di Y, con i due filamenti originali separati. Nella duplicazione del DNA quindi entrano in gioco numerosi enzimi e altre proteine: si parla di complesso di duplicazione. Inizialmente, diversi tipi di proteine coinvolte allo svolgimento della doppia elica. L'elicasi è una proteina in grado di svolgere e aprire la doppia elica in corrispondenza della forcella di duplicazione, utilizzando energia (proveniente dall'ATP) e rompendo i legami idrogeno tra le basi appaiate. Per facilitare che, a seguito del taglio, i due filamenti si ricongiungano, intervengono le proteine destabilizzatrici dell'elica, che si staccano distaccati i due filamenti. Questo origina una torsione nei filamenti a monte della forcella, che aumenta mano a mano che avanza l'elicasi. Quindi, entrano in gioco gli enzimi topoisomerasi, che tagliano i filamenti di DNA forcella, in modo che possono ruotare su se stessi, rimuovendo la torsione; in seguito, i filamenti sono ricuciti da altri enzimi. Tuttavia, gli enzimi che sintetizzano il DNA (chiamati DNA polimerasi) non sono in grado di dare inizio alla sintesi di un filamento, ma possono soltanto allungare un filamento esistente. Per questo motivo un altro enzima, la primasi, sintetizza il cosiddetto innesco (o primer), un piccolo frammento di RNA costruito aggiungendo una alla volta 5-10 ribonucleotidi al filamento stampo di DNA. Il Primer verrà eliminato e sostituito con DNA al termine della duplicazione. Esaminiamo da vicino che cosa accade più in corrispondenza di una delle due Forcelle di duplicazione di una bolla, una volta avviato il processo. La duplicazione del filamento è che ha le

estremità 3' libera rivolta alla forcella di duplicazione (il filamento veloce) procede senza interruzioni partendo da un solo primer di RNA. La duplicazione del filamento antiparallelo (il filamento lento) procede a ritroso e in modo discontinuo, per piccoli frammenti isolati, ciascuno dei quali necessita di un primer. Mentre la forcella si apre, l'estremità 3' dell'altro filamento, invece, si allontana dal punto di biforcazione, creando uno spazio non duplicato sempre più esteso. Per ovviare a questo, un'altra polimerasi del complesso di duplicazione sintetizza, una alla volta, piccoli frammenti di DNA detti frammenti di Okazaki; al termine del processo, un altro enzima, detto DNA ligasi, unirà i frammenti l'uno all'altro, generando un'unica catena di DNA. I frammenti di Okazaki sono sintetizzati aggiungendo un nuovo nucleotide all'estremità 3' del nuovo filamento, come accade nel filamento veloce. La primasi sintetizza sul filamento lento più primer di RNA, ai quali la DNA polimerasi si lega per sintetizzare ciascun frammento di Okazaki. Un'altra polimerasi rimuove i primer sostituendoli con nuovo DNA e lasciando un'interruzione tra due frammenti di Okazaki adiacenti; sarà poi la ligasi a legare a due a due le estremità adiacenti, e terminare così la sintesi del filamento lento.