

## BIOCHIMICA

ALUNNO: .....

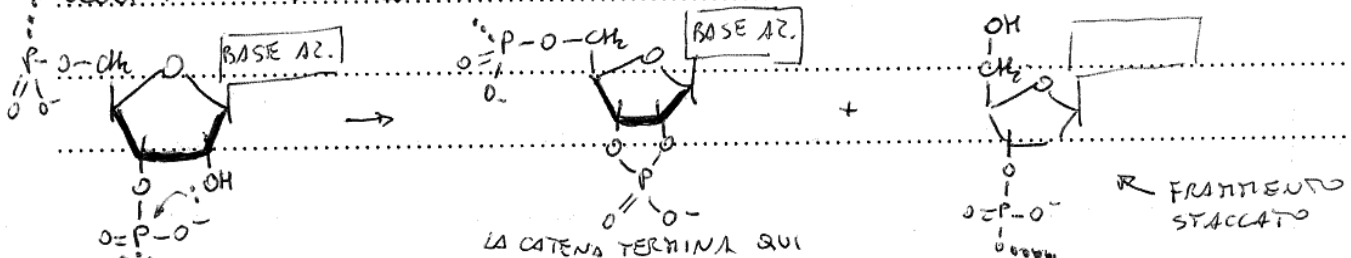
## 1. Come funziona la DNA polimerasi

La DNA polimerasi è l'enzima che sintetizza una nuova catena di DNA usando come stampo una catena vecchia. Ci sono due tipi di DNA polimerasi: DNA pol I e DNA pol III. La DNA pol III sintetizza il DNA partendo da un primer (un innesco) di RNA e così forma i tratti lunghi delle catene di DNA. La DNA pol I interviene nelle sintesi delle catene lente: usa come primer il DNA già formato del frammento di Okazaki e partendo da questo, fa due cose: 1) elimina sovranti e len, un nucleotide alla volta, il primer di RNA delle catene successive di Okazaki, 2) sintetizza nuovo DNA allungando il frammento di Okazaki fino a colmare il breve tratto del primer eliminato. L'unione dei due frammenti di Okazaki viene realizzato, poi, da una Ligasi. Le DNA pol I e III hanno, inoltre, un sito di exonucleasi 3'-5' che serve a sistemare il DNA appena sintetizzato (5'-3') e il sito è incorporato un nucleotide errato. Queste operazioni di correzione degli errori aumentano molto la affidabilità delle sintesi di DNA.

## 2. Perché il patrimonio genetico è affidato al DNA e non all'RNA

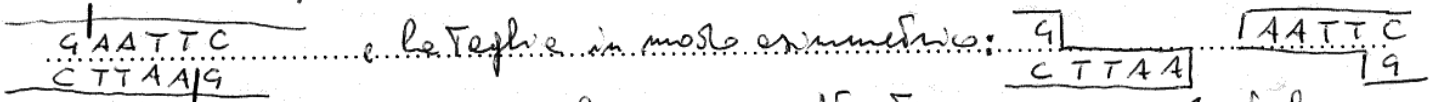
La catena di DNA è molto più stabile, chimicamente, di quelle di RNA, per questo è più adatta a conservare le informazioni genetiche mantenendole immutate di generazione in generazione. La differenza chimica tra le due catene, e parte il fatto che nel DNA c'è TIMINA al posto di URACILE, è tutta nelle zuccheri: nel DNA questo è DEOSSIRIBOSIO, nell'RNA c'è normale RIBOSIO. È proprio l'ossigeno in posizione 2' di

rende inattivo l'RNA, e da un'altra parte, è proprio quell'OH che lo rende attivo chimicamente e gli dà la capacità di catalizzare come RIBOSIMA. Qui sotto mostra la reazione di istolisi insieme dell'RNA che lo rende inattivo.



3. Descrivi cosa sono gli enzimi di restrizione e a cosa servono nella tecnica del DNA ricombinante

Gli enzimi di restrizione sono delle endonucleasi dei batteri, utilizzati per difendersi dai virus. Questi modi in ingegneria genetica riconoscono una particolare sequenza palindroma e operano un taglio al suo interno. Il taglio può essere netto e allora si formano due frammenti con terminazioni "piatte" cioè con tutte le basi azotate accoppiate. Oppure può essere sfalsato formando terminazioni "appiccicate" con qualche nucleotide mancante, come nell'esempio di ECORI che riconosce la sequenza



Queste terminazioni possono legarsi con altre terminazioni identiche, proprio come lo stesso enzima di restrizione: in questo modo si possono unire due DNA diversi ottenendo DNA RICOMBINANTE. Per esempio si può introdurre un gene in un vettore di clonaggio come un plasmide, così il plasmide contenente il gene si inserisce e un gene di resistenza ad un antibiotico può essere introdotto in un batterio e clonato, così si possono ottenere milioni di copie perché il batterio si moltiplica, producendo una colonia batterica nella quale ogni batterio contiene il gene si inserisce.