Lezione 4

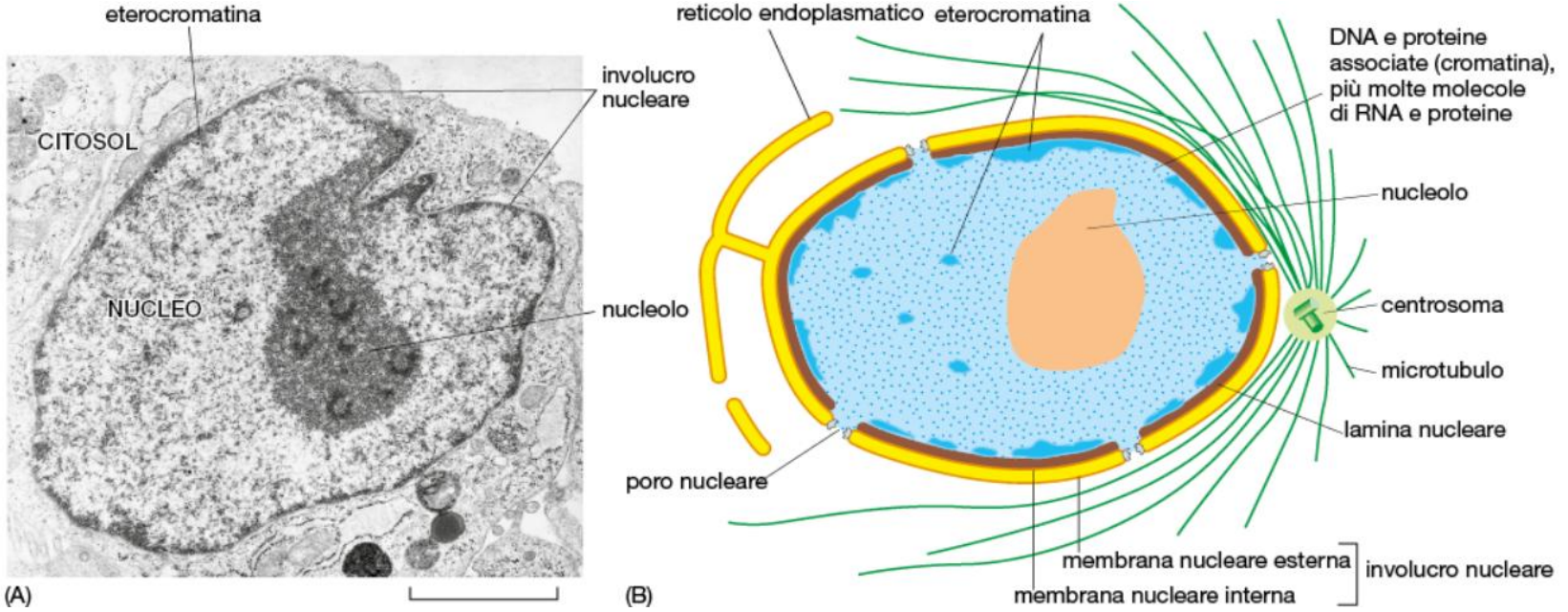
Il Nucleo e il Genoma delle Cellule Eucariotiche
I cromosomi lineari delle cellule eucariotiche.
Il cariotipo nell'uomo.
La diploidia e i cromosomi omologhi.
Organizzazione minimale di un cromosoma eucariotico.
Il DNA centromerico e telomerico

Il Genoma Umano

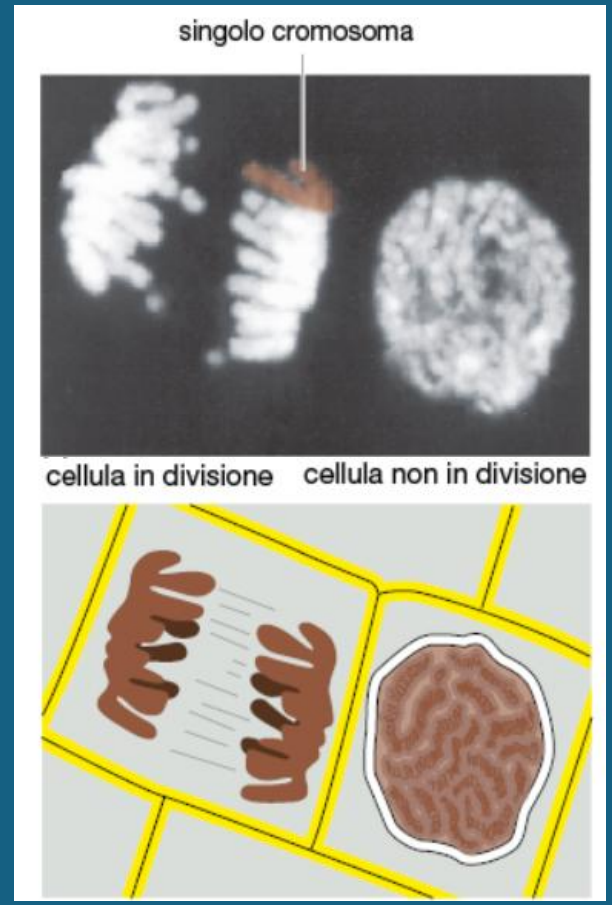
- Cenni sull'organizzazione e caratteristiche delle sequenze che lo compongono.
- Sequenze singole, famiglie geniche (globine, RNA ribosomiali), sequenze ripetute, sequenze ripetute in tandem (minisatelliti, microsatelliti), sequenze ripetute intersperse (LINE, SINE e retrovirus endogeni).
- Gli elementi mobili del DNA.

Il Nucleo e il Genoma delle Cellule Eucariotiche

- Quasi tutto il DNA di una cellula eucariotica è confinato nel **nucleo**.
- Il nucleo occupa circa **10% del volume cellulare totale**.
- È delimitato da un **involucro nucleare**: due membrane lipidiche concentriche, attraversate da **pori nucleari** che regolano lo scambio nucleo ↔ citoplasma.
- La **membrana nucleare esterna** è in continuità con il **reticolo endoplasmatico**

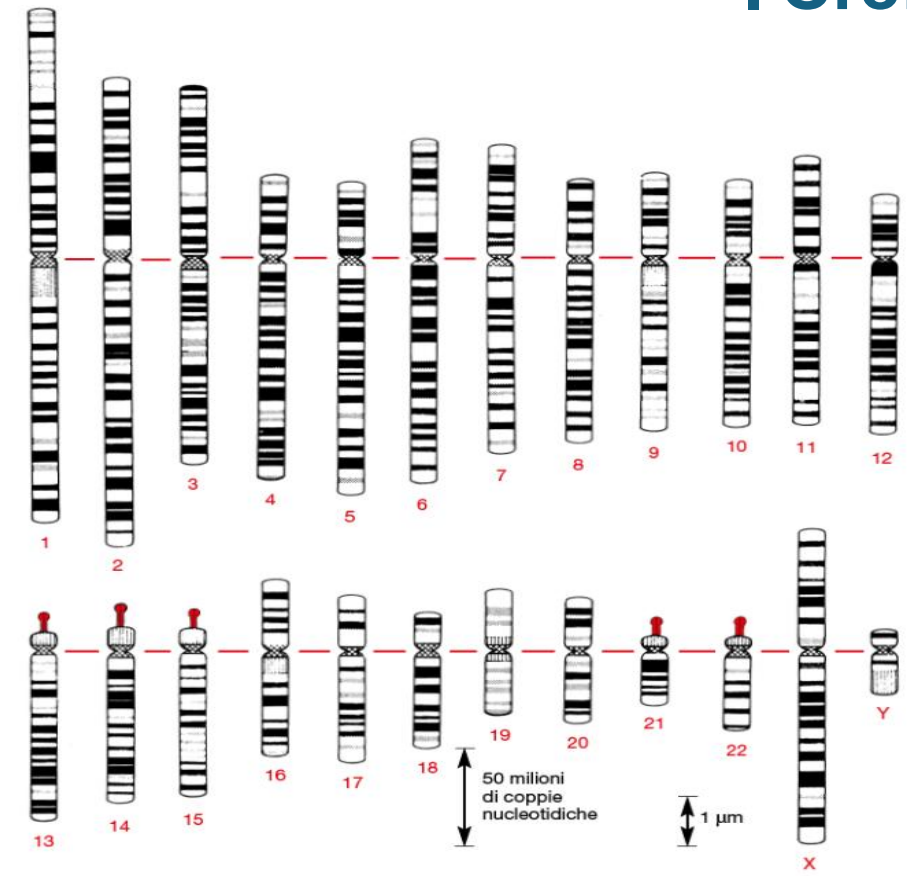


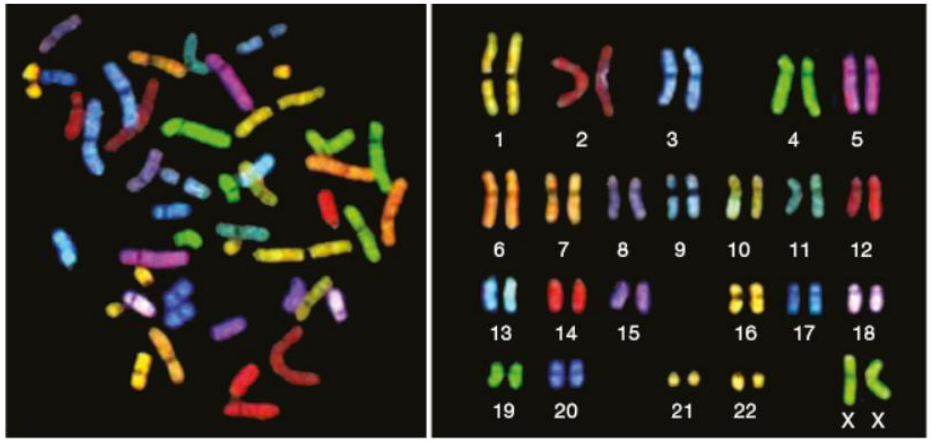
Il DNA cromosomico



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

I Cromosomi e Cariotipo





- I cromosomi 1-22 sono **numerati in ordine** approssimativo **di grandezza**.
- Una tipica cellula umana contiene **due di questi cromosomi (44)**, più due cromosomi sessuali: XX o XY
- I cromosomi usati per queste mappe sono stati colorati (**Giemsa**) **in interfase**, quando i cromosomi **non sono compattati completamente**.
- La ***linea orizzontale rossa*** rappresenta la posizione del **centromero** che appare come una strozzatura sui cromosomi mitotici.
- **I pomoli rossi** sui cromosomi **13, 14, 15, 21 e 22** indicano le posizioni dei **geni** che codificano i grandi **RNA ribosomiali** e formano il nucleolo

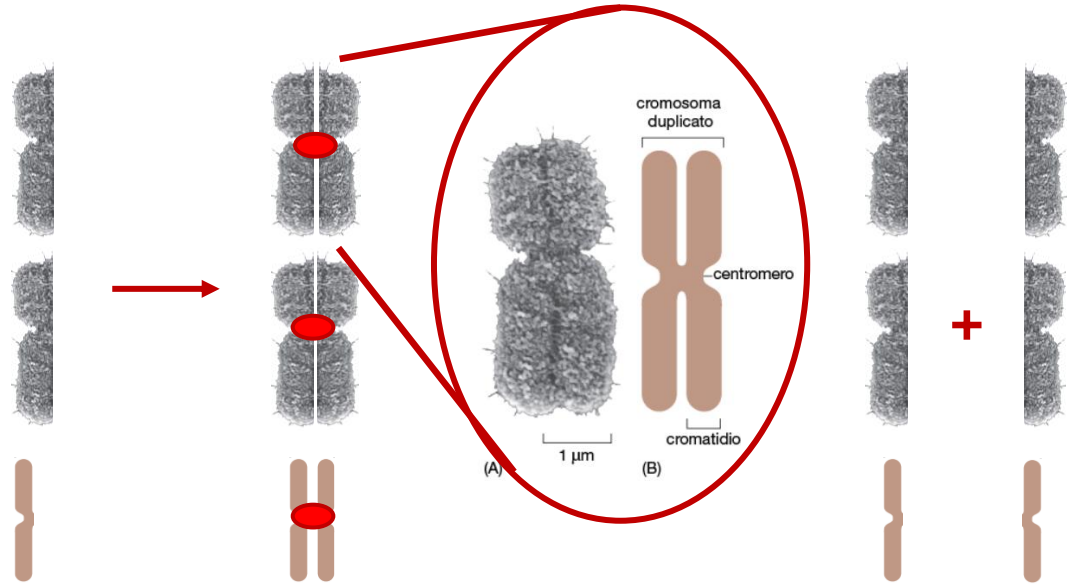
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

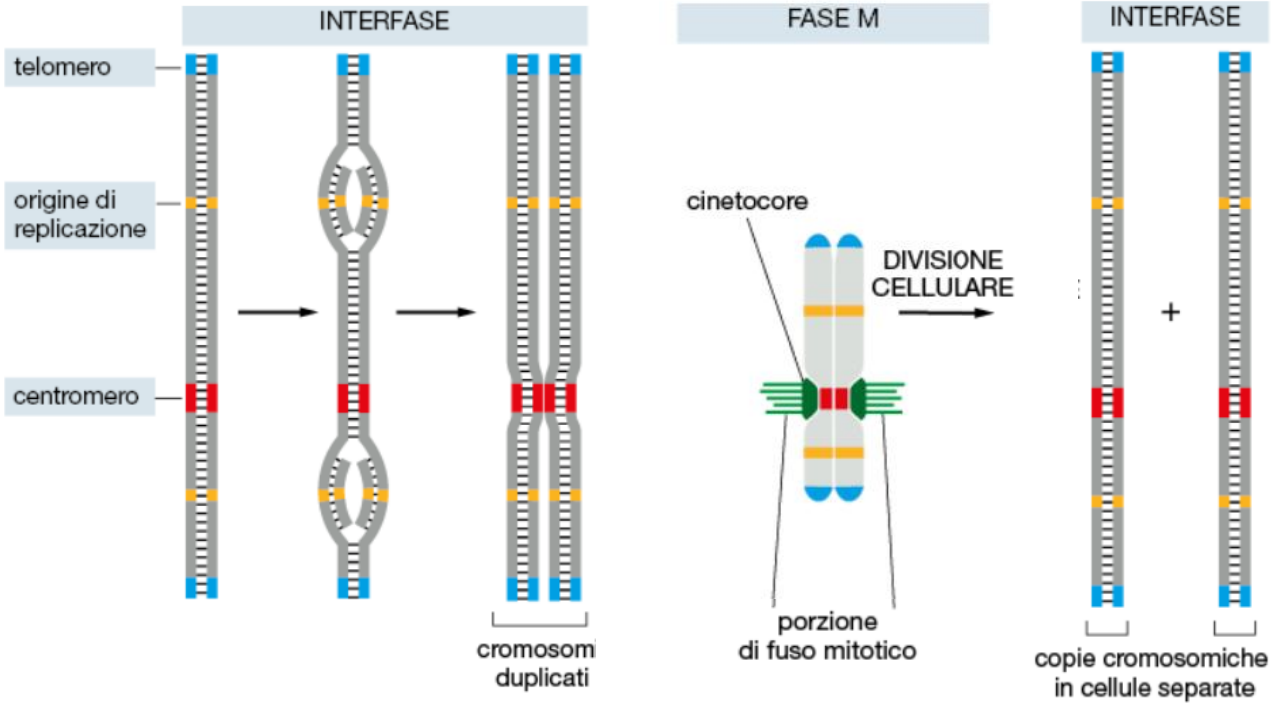
Struttura dei Cromosomi

- Negli eucarioti, il **DNA nucleare è diviso** in un **set di cromosomi**.
- **Ogni cromosoma** contiene **una molecola di DNA molto lunga**.

Tre sequenze specializzate permettono ai cromosomi di essere duplicati e trasmessi correttamente:

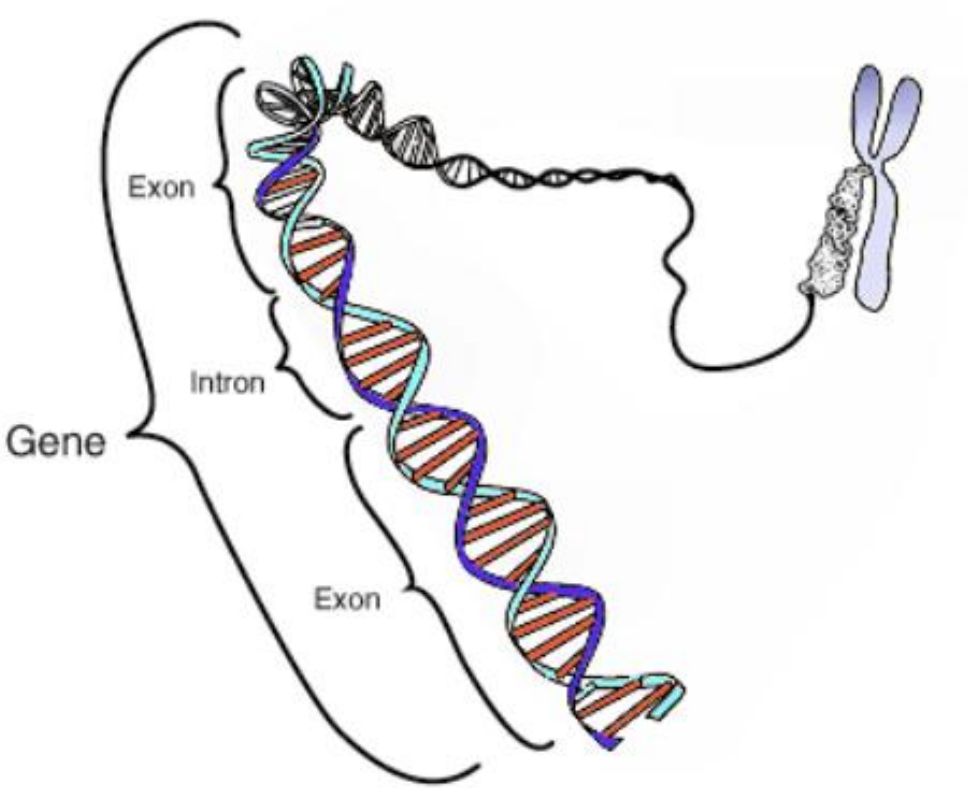
- **Origini di replicazione → punto di avvio** della duplicazione del DNA (**più origini per cromosoma**).
- **Centromero → sito di attacco** al **fuso mitotico** tramite il **cinetocore** → garantisce la separazione dei cromatidi.
- **Telomeri →** estremità cromosomiche con **sequenze ripetute** che: consentono la **replicazione efficiente delle estremità**, **proteggono i cromosomi** dal riconoscimento come DNA danneggiato.





B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Definizione di Gene: Evoluzione del Concetto



- **Definizione classica (Mendeliana):** unità ereditaria che controlla un carattere fenotipico e si trasmette da una generazione all'altra.

- **Definizione moderna (molecolare):** unità funzionale di DNA che produce elementi necessari alla cellula:
  - **Proteine** (catene polipeptidiche)
  - **RNA funzionali non codificanti** (tRNA, rRNA, RNA interferenti)

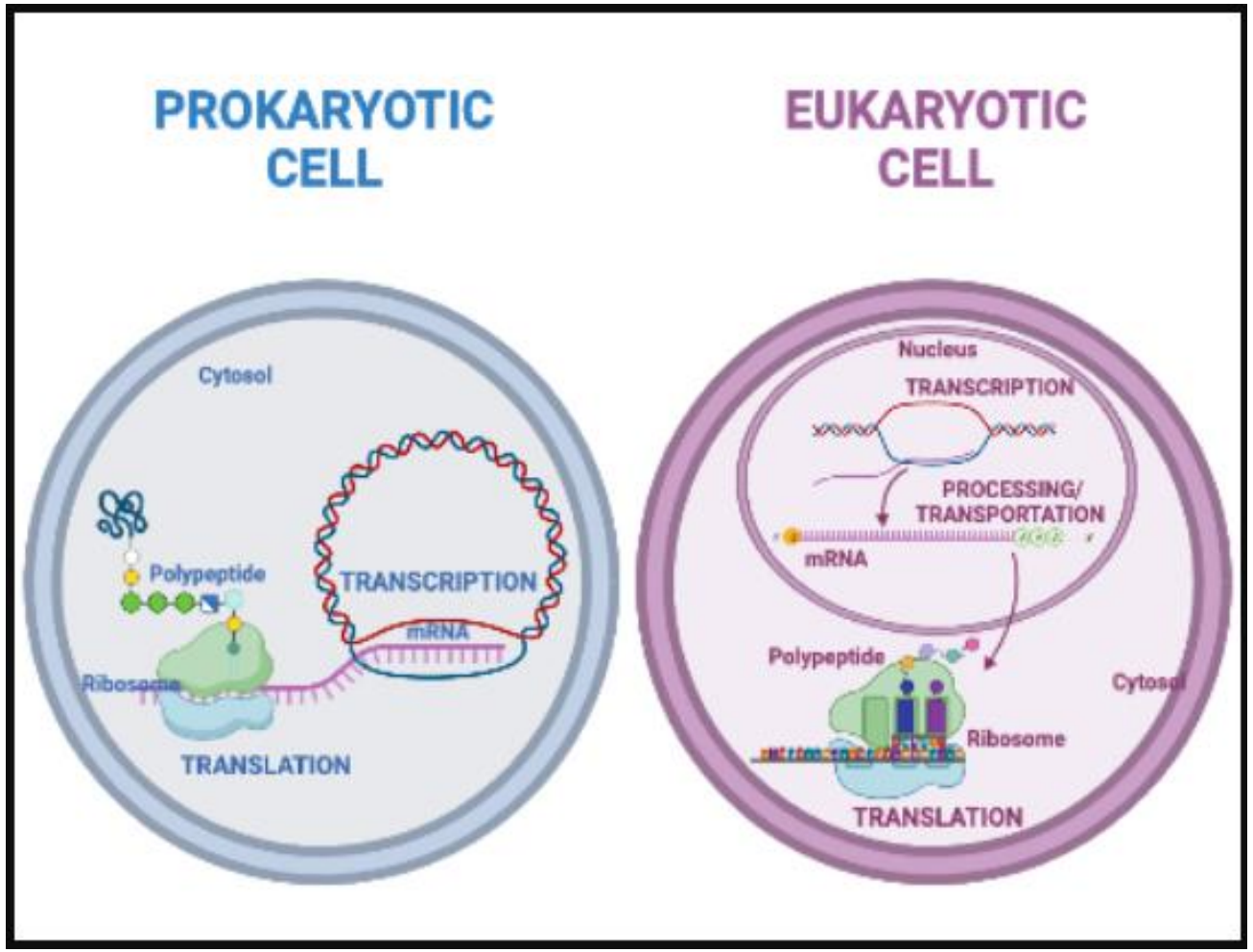
- **Struttura funzionale di un gene**:
  - Sequenze regolatorie
  - Sito di inizio trascrizione
  - Sequenza trascritta
  - Segnale di terminazione trascrizione

- I geni occupano **posizioni specifiche** sui cromosomi (**loci**) ed **esistono in diverse forme** (**alleli**).

- L'attività genica è modulata da **elementi regolatori** che ne **controllano l'accensione/spegnimento e l'intensità**.

Fonte: https://it.wikipedia.org/wiki/Gene

Differenze principali tra geni eucarioti e procarioti



Eucarioti:

- **Trascritti monocistronici** (un gene → un trascritto).
- Trascrizione nel nucleo, traduzione nel citoplasma.
- **L'mRNA subisce modifiche post-trascrizionali** (capping, splicing, poliadenilazione).

Procarioti:

- **Trascritti policistronici** (più geni trascritti insieme → un unico mRNA).
- **Trascrizione e traduzione simultanee**, senza modifiche post-trascrizionali.

Nota: queste differenze riflettono la diversa organizzazione genomica e cellulare.

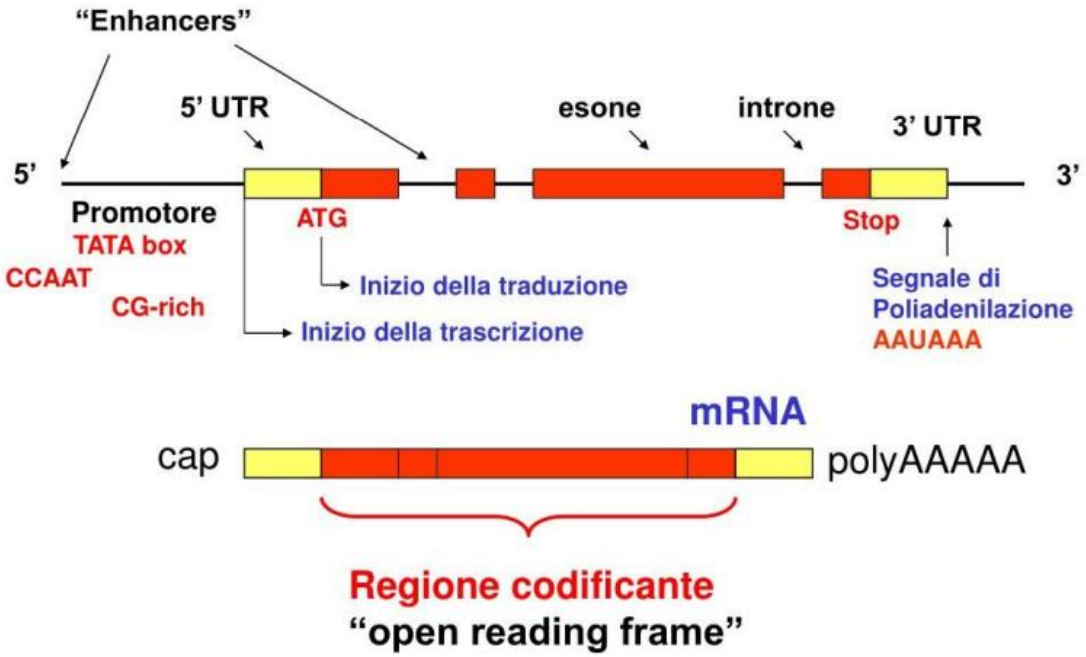
Fonte: https://study.com/skill/practice/contrasting-the-regulation-of-gene-expression-in-prokaryotic-eukaryotic-organisms-questions.html

Struttura Tipica di un Gene Eucariote

- **Enhancer/Silencer:** sequenze regolatorie che aumentano o riducono la trascrizione; possono trovarsi lontane dal gene ma agire tramite ripiegamenti del DNA.
- **Promotore:** regione di legame per RNA polimerasi e fattori di trascrizione; contiene sequenze caratteristiche (es. **TATA box**, **CAAT box**).
- **UTR (5' e 3'):** regioni trascritte ma non tradotte, fondamentali per regolazione e stabilità dell'mRNA.
- **Esone:** porzioni mantenute nell'RNA maturo → codificano per proteine o sequenze funzionali.
- **Introne:** porzioni trascritte ma rimosse tramite **splicing**; mutazioni qui possono influenzare la maturazione dell'mRNA.
- **Sito di poliadenilazione:** segnale che indica la fine della trascrizione e dove verrà aggiunta la coda poliA

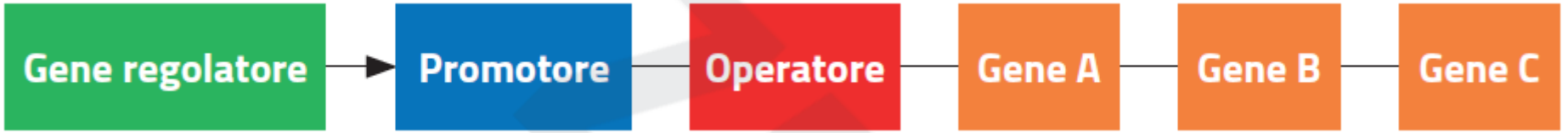
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Regolatori in Cis (Sequenze Cis-Regolatrici)



- **Sequenze di DNA non codificanti** sullo **stesso cromosoma** del gene regolato.
- Posizione: possono trovarsi **molto distanti** dal promotore, **dentro introni** o **a valle del gene**.
- Funzione: determinano **quando, dove e con quale intensità** un gene viene trascritto.
- Riconosciute da **fattori di trascrizione/regolatori trascrizionali**, che si legano tramite legami deboli ma stabili.
- Azione: possono promuovere o inibire la trascrizione reclutando:
  - **Coattivatori**
  - **Corepressori**
  - **Complessi che modificano la cromatina**.
- Spesso agiscono come **dimeri** (omodimeri o eterodimeri), aumentando la versatilità del controllo genico.

Struttura di un Gene Procariote: L'Operone Procariote

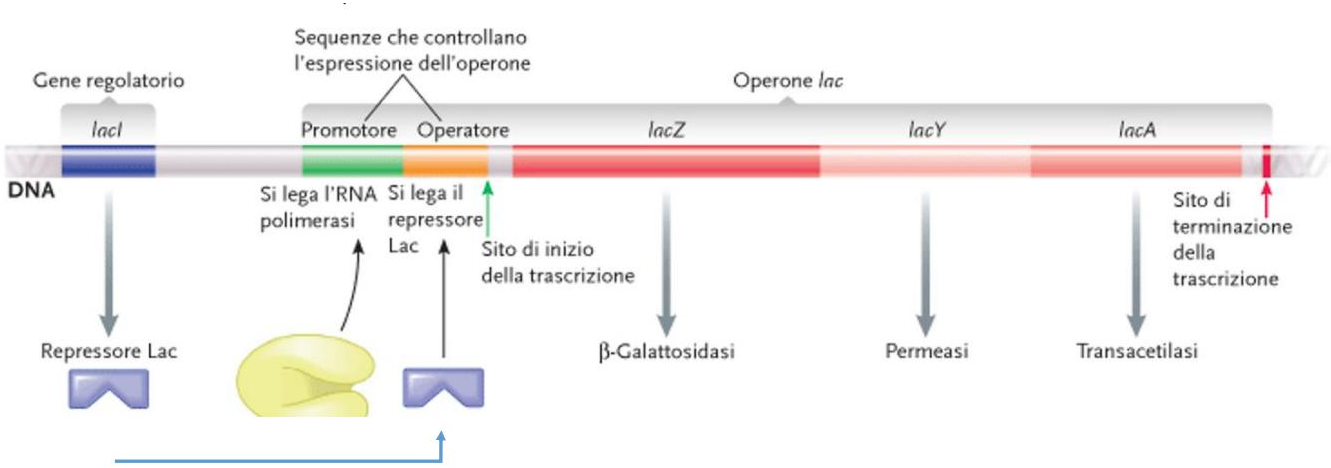


- Struttura:
  - **Promotore:** contiene sito di legame per RNA polimerasi + sequenza consenso.
  - **Operatore:** sequenza a cui si lega un repressore per accendere/spegnere la trascrizione.
  - **Geni strutturali:** codificano proteine spesso coinvolte nello stesso processo biochimico.

- Controllato da un **gene regolatore esterno**, che produce repressori o attivatori.

Principali differenze:

- Diverso sistema di regolazione.
- Nessuna modifica post-trascrizionale del trascritto.
- Assenza di introni.
- Presenza di sequenze specifiche per inizio traduzione (**Shine-Dalgarno**).
- Organizzazione **policistronica** in **operoni**.



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Stephen L. Wolfe
Elementi di Genetica
EdiSES

PROKARYOTIC GENE EXPRESSION VERSUS EUKARYOTIC GENE EXPRESSION

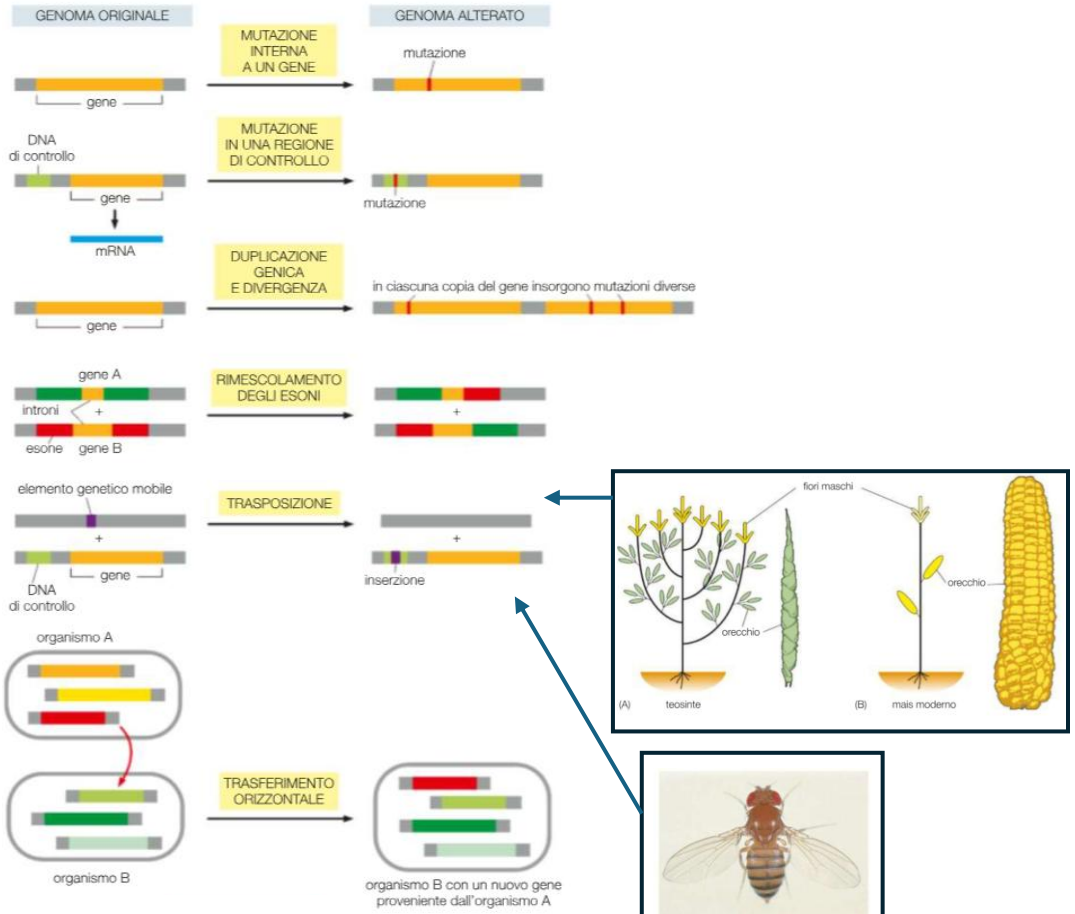
PROKARYOTIC GENE EXPRESSION	EUKARYOTIC GENE EXPRESSION
Process by which information from the prokaryotic genes is used in the synthesis of a functional gene product	Process by which information from eukaryotic genes is used in the synthesis of a functional gene product
Occurs in the cytoplasm	Transcription occurs inside the nucleus and translation occurs in the cytoplasm
Transcription and translation occur simultaneously	Transcription and translation are temporally segregated
Prokaryotic DNA is not in permanently condensed form	Eukaryotic DNA forms a stable, condensed complex with histones
Prokaryotes contain three promoter elements: one upstream to the gene, second 10 nucleotides downstream to it, and the third 35 nucleotides downstream to it	Eukaryotes contain a much larger set of promoter elements including the TATA box
Transcription initiation factors do not assemble with the initiation complex	Transcription initiation factors assemble with the initiation complex
Introns do not interrupt the open reading frame	Introns interrupt the open reading frame
Has a single type of RNA polymerase	Has three RNA polymerases
Several functionally-related genes occur in clusters called operons	Eukaryotic genes occur individually
Results in polycistronic mRNA	Results in monocistronic mRNA
Does not include post-transcriptional modifications	Includes post-transcriptional modifications
Prokaryotes contain 70S ribosomes	Eukaryotes contain 80S ribosomes
Regulation occurs at the transcriptional level	Regulation can occur at epigenetic level, transcriptional level, post-transcriptional level, translational level, and post-translational level

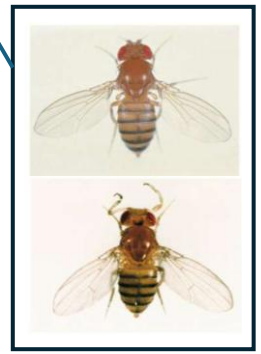
Visit www.PEDIAA.com

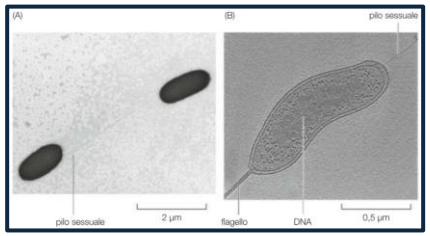
Fonte: https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-prokaryotic-and-eukaryotic-gene-expression/

L'origine della variabilità genetica

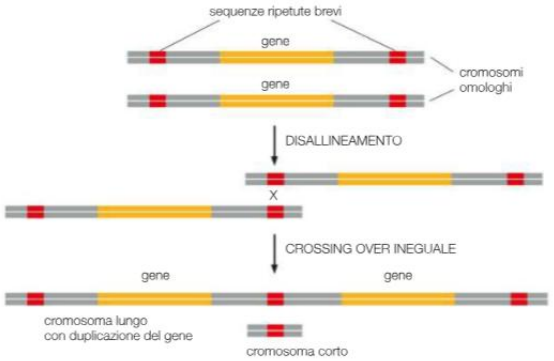
Meccanismi di modificazione dei genomi



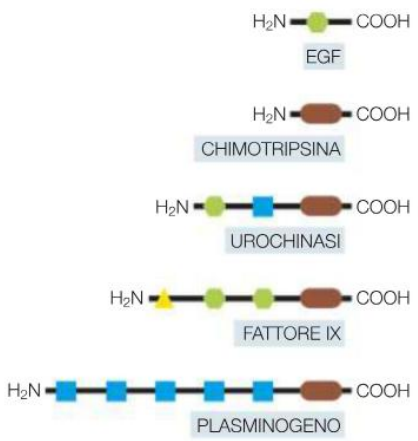




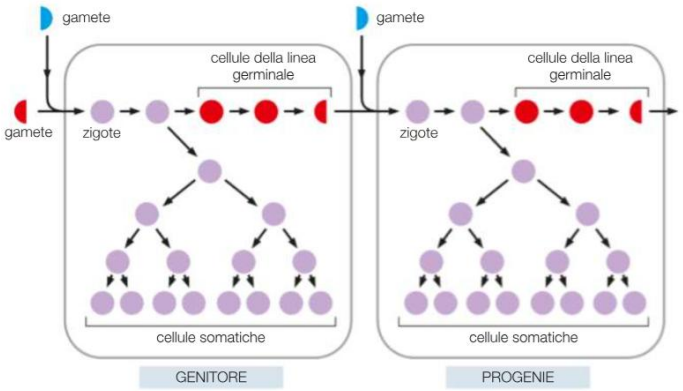
Eventi di duplicazione



Rimescolamento degli esoni



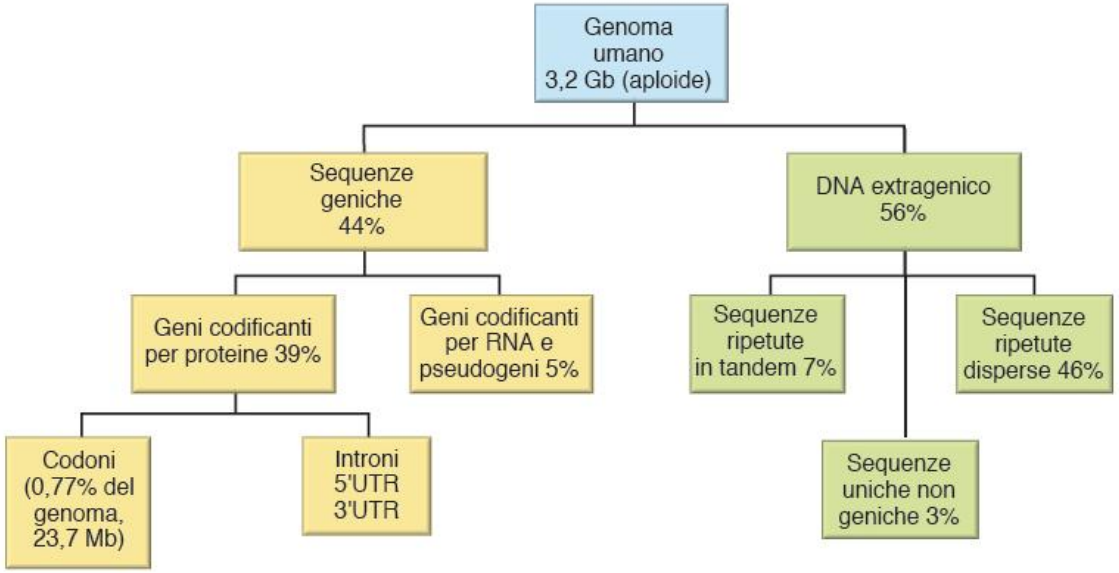
Meccanismi di trasferimento dell'informazione genica



Struttura e Composizione del Genoma

TABELLA 4.1 Statistiche vitali del genoma umano	
Lunghezza del DNA	$3{,}1 \cdot 10^9$ coppie di nucleotidi*
Numero di geni che codificano proteine	approssimativamente 20 000 (19 116 più centinaia di geni che codificano proteine di 50 amminoacidi o meno)**
Gene più grande che codifica proteine	$2{,}5 \cdot 10^6$ coppie di nucleotidi
Dimensioni medie di un gene che codifica proteine	26 000 coppie di nucleotidi
Dimensioni medie di RNA messaggeri (incluse le regioni 5′ e 3′ non tradotte)	2938 nucleotidi
Dimensioni medie per la codifica di amminoacidi nelle sequenze di RNA messaggero	1290 nucleotidi
Caratteristiche dei geni che codificano proteine	
Dimensioni medie delle proteine prodotte	430 amminoacidi
Numero più piccolo di esoni per gene	1 (1068 sono i geni che non hanno subito splicing)
Numero più alto di esoni per gene	363
Numero medio di esoni per gene	9,0
Dimensioni medie di un esone	131 coppie di nucleotidi
Dimensioni medie di un introne	1747 coppie di nucleotidi
Numero di geni a RNA non codificanti	circa 5000, di cui 4849 annotati***
Numero di pseudogeni	più di 20 000****
Percentuale di sequenze di DNA che codificano proteine (negli esoni)	1%
Percentuale di DNA trascritto (geni codificanti proteine e geni per RNA annotati non codificanti)	45%
Percentuale di DNA in altre sequenze altamente conservate	3,5%
Percentuale di DNA in elementi altamente ripetuti	circa 50%

B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli



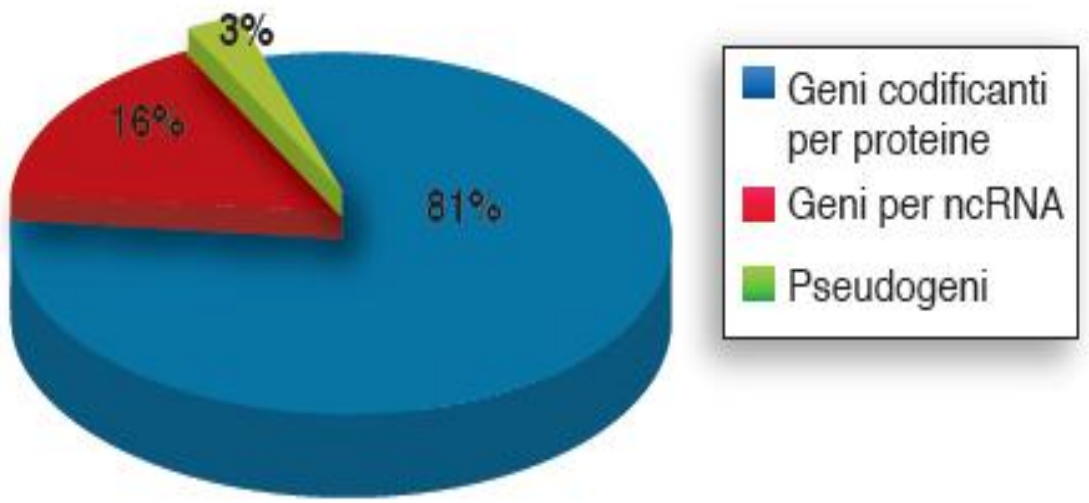
R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

- **Definizione operativa (biologia molecolare):** una sequenza di DNA che può essere **trascritta in RNA**.

- Comprende:
  - **esoni, introni, 5′UTR e 3′UTR** del trascritto,
  - **sequenze regolatorie** (promotori, enhancer).

- Estensione del gene = dalla base più a monte trascritta a quella più a valle dello stesso locus.

Numero e Distribuzione dei Geni umani



Ogni cellula somatica diploide ha **2 copie di ciascun gene** autosomico (su cromosomi omologhi).

Ci sono circa **22.500 geni totali**, di cui:

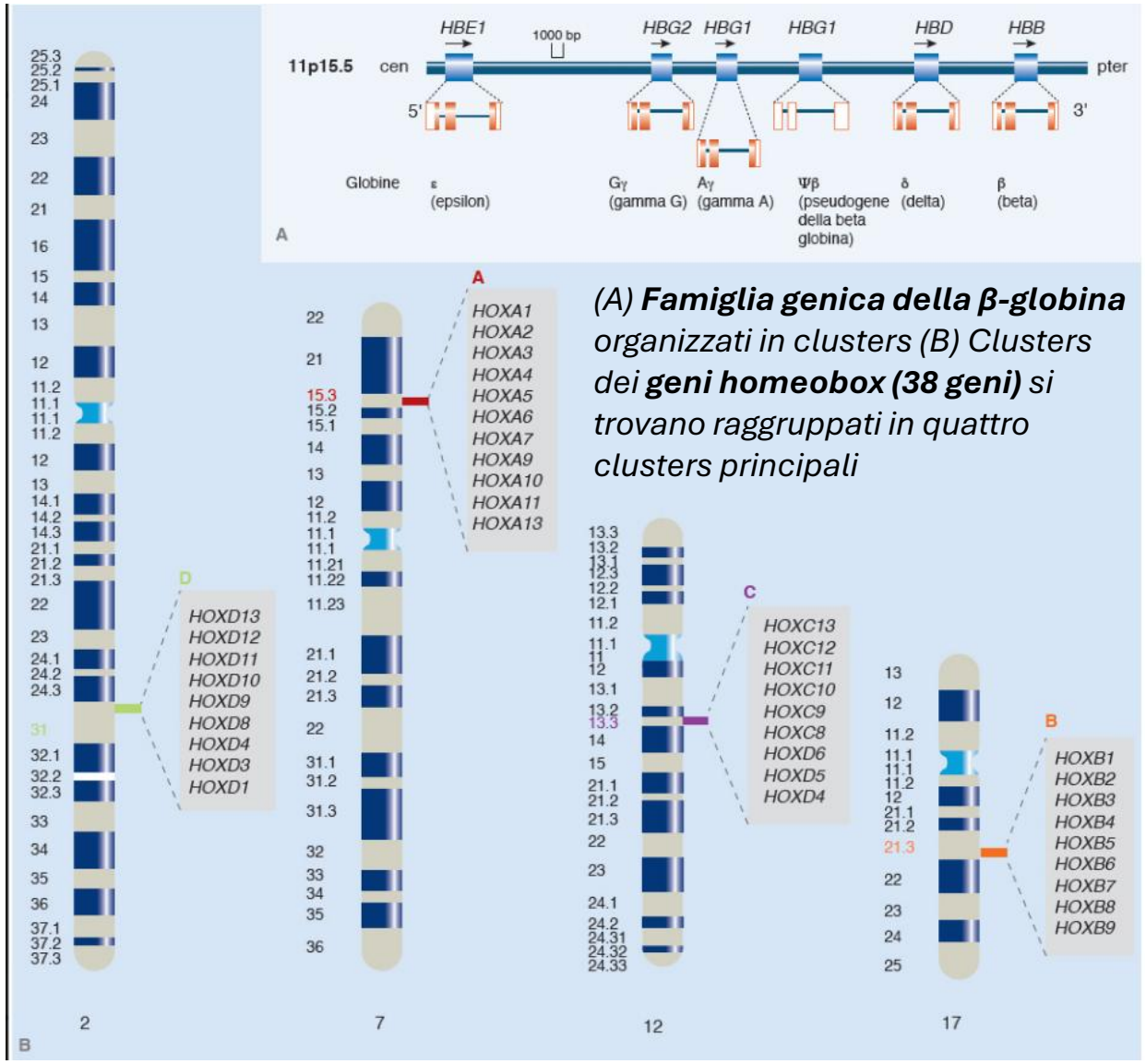
- **19.116 geni codificanti proteine** (~81%),
- **16% geni non codificanti RNA** (rRNA, tRNA, snRNA, snoRNA, ncRNA regolatori)
- **~3% pseudogeni trascritti**.

Distribuzione dei geni nel genoma non è uniforme:

- **regioni ricche di geni** ↔ **deserti genici** (spesso con enhancer).
- **Sullo stesso cromosoma** possono coesistere **geni con funzioni diverse**.
- **Raramente sullo stesso cromosoma** si trovano **geni della stessa via biologica (cluster genici)** → derivanti da duplicazioni

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;



(A) ***Famiglia genica della β-globina*** *organizzati in clusters (B) Clusters dei* ***geni homeobox (38 geni)*** *si trovano raggruppati in quattro clusters principali*

Famiglie Geniche

- **Membri di una famiglia genica** = geni con **sequenze simili** → derivano da eventi di **duplicazione**.

- **Meccanismi principali**
  → **errori di duplicazione** del DNA, **crossing-over ineguale**.

1. CCATTGACGT
2. CCATGGATGT (80%)
3. CCCCCGATAG (40%)

Localizzazione:

- **clusters (duplicazioni recenti, in tandem)**

- **dispersi (interspersed) (duplicazioni antiche → separati da traslocazioni / inversioni)**.

1) **Famiglie classiche** → **alta somiglianza nella sequenza codificante** (**Globine**).
2) **Famiglie con domini conservati** → **solo specifiche regioni simili** (**HOX,** dominio homeobox DNA-binding).
3) **Famiglie con motivi proteici brevi** → **piccole sequenze aa conservate** (**elicasi RNA DEAD-box**)

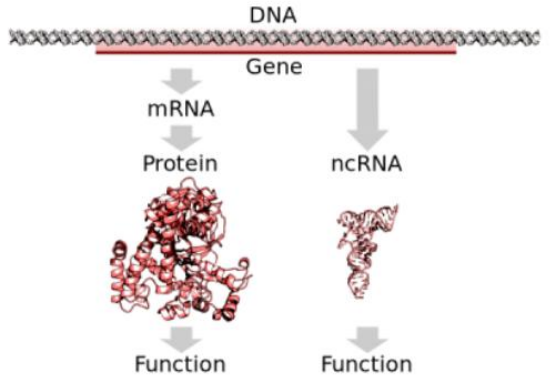
RNA non codificanti (ncRNA)

Lunghezza media ~ 30 kb; range (da 33 bp fino a > 1 Mb)

TABELLA A.5.3.1 Descrizione delle principali classi di ncRNA presenti nelle cellule umane.

Classi di ncRNA	Principali famiglie di ncRNA	Funzioni
RNA ribosomale (rRNA)	rRNA 28S, 18S, 5,8S, 5S	Traduzione
RNA transfer (tRNA)	48 tRNA con diversi anticodoni	Traduzione
Altri ncRNA		
Corti ncRNA	snRNA (small nuclear RNA)	Splicing
	snoRNA (small nucleolar RNA)	Maturazione degli rRNA
	scaRNA (small Cajal body RNA)	Maturazione dei snRNA
	miRNA (microRNA)	Regolazione della espressione genica (regolazione post-traduzionale sequenza-specifica)
	piRNA (piWi protein-interacting RNA)	Limitano la possibilità di mobilizzazione dei trasposoni nelle linee germinali
	siRNA (small interfering RNA)	Limitano la possibilità di mobilizzazione dei trasposoni nelle linee germinali
Lunghi ncRNA	lncRNA (long non-coding RNA) nucleari	Regolazione della espressione genica (regolazione pre-trascrizionale, in particolare controllo della conformazione della cromatina; regolazione trascrizionale)
	lncRNA citoplasmatici	Regolazione dell'espressione genica (regolazione traduzionale, produzione della proteina; regolazione post-traduzionale, controllo della localizzazione della proteina o della sua attività)

Hombach S. et al. Adv Exp Med Biol. 2016; 937: 3-17. doi: 10.1007/978-3-319-42059-2_1. Non-coding RNAs: Classification, Biology and Functioning.



ncRNA: conteggi e incertezza

Includendo predetti non validati:

- **geni codificanti**: ~18.255 → **20.909** (varia poco)
- **ncRNA**: **3.528 → 18.882** (varia molto)

- Se i predetti ncRNA saranno confermati, la quota di **genoma trascritto** potrebbe passare da **~39%** a **~80%**.

- Perché è difficile predirli?
  - spesso **poco conservati** rispetto ai geni proteici;
  - funzioni regolative anche **senza** appaiamento perfetto
  - **validazioni sperimentali** indispensabili.

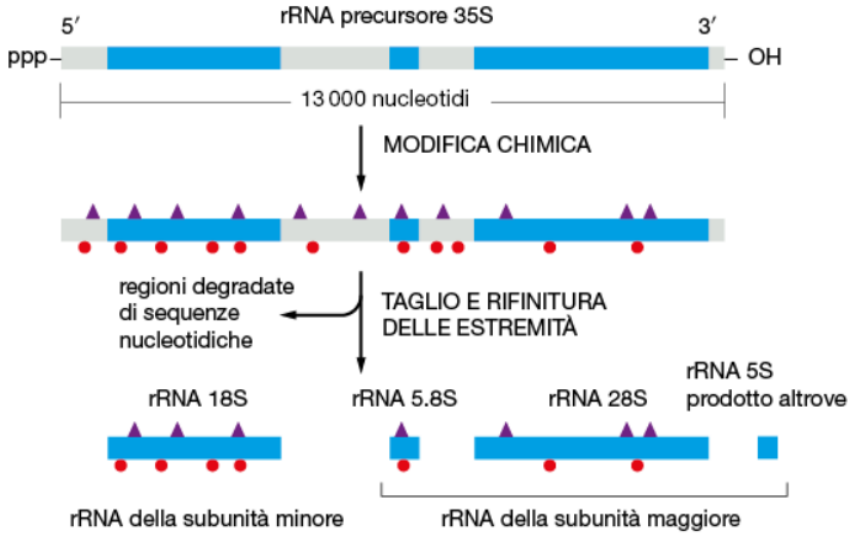
R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

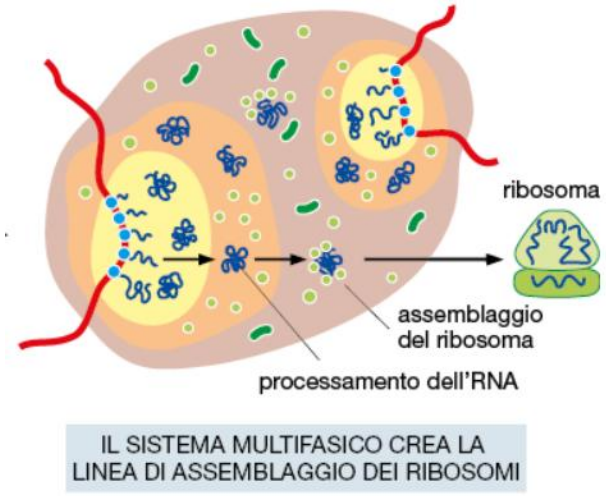
Fonte immagine: https://www.biopills.net/gene-proteine-assioma-biologia-molecolare/

RNA ribosomiali (rRNA)

- Gli **rRNA** = circa **80% dell'RNA totale** in cellule in rapida divisione. Formano il **core del ribosoma**
- Negli eucarioti: sintetizzati da **RNA polimerasi I** (simile alla Pol II, ma priva di coda C-terminale → trascritti **senza cappuccio e senza poliA**).
- Necessità enormi: una cellula di mammifero in crescita deve sintetizzare **~10 milioni di copie di ciascun rRNA per generazione cellulare**.
- Possibile solo grazie a **copie multiple (200 nell'uomo) dei geni per rRNA** (in **10 gruppi** sui bracci corti dei **5 cromosomi acrocentrici 13, 14, 15, 21, 22**)
- **La sintesi, la modifica degli rRNA e l'assemblaggio** dei ribosomi **avviene nel nucleolo**

- Precursore: **rDNA ~13.000 nt**
- **Modifiche chimiche** estese **prima del taglio (**metilazioni; conversioni uridina → pseudouridina**).**
- **I trascritti nascenti si assemblano già con le proteine ribosomiali.**



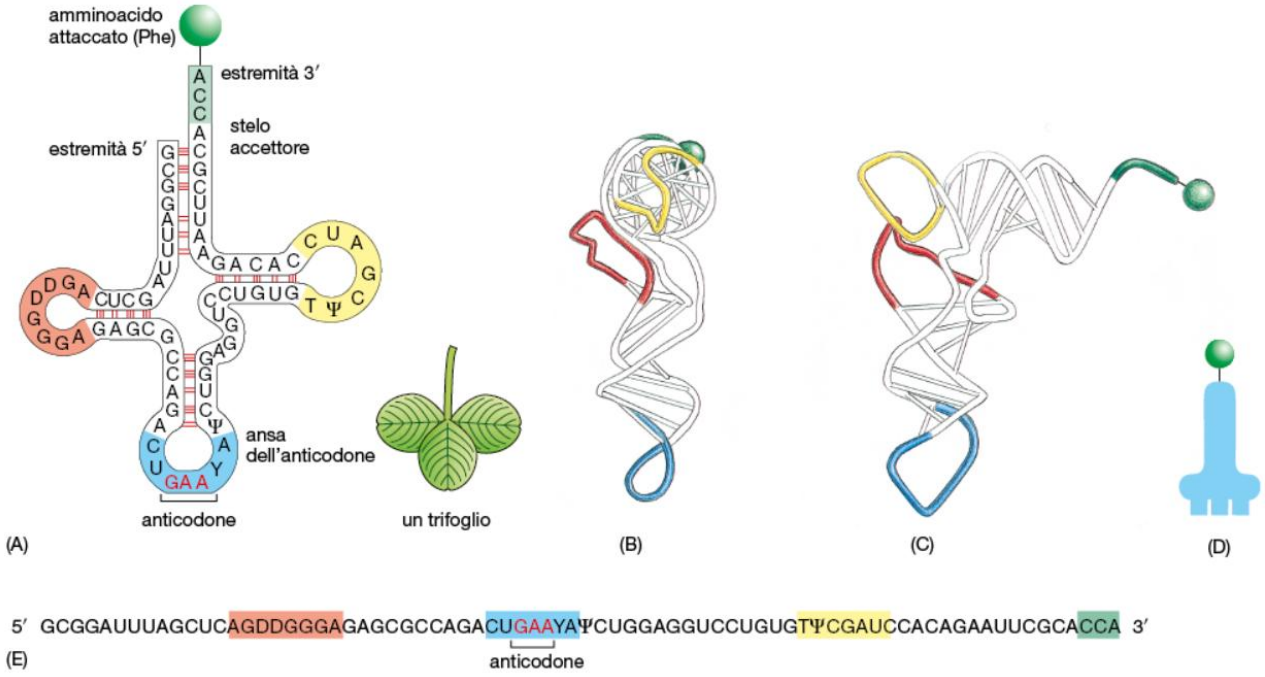


B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

RNA transfer (tRNA)

- I geni per RNA transfer = **tDNA**.
- I **tRNA** hanno una struttura a **trifoglio**:
- **Anticodone** → riconosce i codoni sull'mRNA (complementarità di basi).
- **Estremità 3′** → trasporta lo specifico amminoacido corrispondente.
- Funzione: ponte essenziale per tradurre l'**informazione nucleotidica** in sequenza **amminoacidica** (proteine).

- Nelle cellule umane: **49 classi di tRNA**.
- Capacità di riconoscere **64 codoni** → grazie al fenomeno di **oscillazione** ("wobble pairing").
- Uno stesso anticodone può legare più codoni sinonimi (→ stesso amminoacido).zz



- Numero stimato di geni per tRNA (**tDNA**) = **~450**.
- Distribuzione: su **tutti i cromosomi** tranne **21 e Y**.
- Organizzati in **clusters** → il più grande:
- Cromosoma 6 → **140 geni tDNA** in una regione di soli 140 Mb → codificano per 36 diversi tRNA.

B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

non-coding RNA corti (ncRNA corti)

I geni per altri non-coding RNA. I ncRNA che non siano tRNA e rRNA possono essere arbitrariamente suddivisi in due categorie: **ncRNA corti (fino a 200 nucleotidi)** e **ncRNA lunghi (> 200 nt)**

ncRNA corti le principali famiglie:

- **small nuclear RNA (snRNA)**, che sono coinvolti nel processo di splicing;
- **small nucleolar RNA (snoRNA)**, che sono importanti nel processo di maturazione degli rRNA;
- **small Cajal body RNA (scaRNA)**, che sono coinvolti nel processo di maturazione dei snRNA;
- **microRNA (miRNA)**, che modulano la regolazione della espressione di geni bersaglio (Tabella A.5.3.2), mediante un meccanismo basato sulla complementarità di basi con il trascritto bersaglio. Quest'ultimo viene conseguentemente degradato, o ne viene impedita la lettura da parte dei ribosomi, quindi non avverrà la traduzione (vedi meccanismo dei miRNA);
- **piWi protein-interacting RNA (piRNA)**, che sono coinvolti in meccanismi di "difesa", in particolare limitando la possibilità di mobilizzazione dei trasposoni nelle linee germinali;
- **small interfering RNA (siRNA)**, che sono coinvolti in meccanismi analoghi a quelli dei piRNA

" La scienza ci insegna a non trascurare niente, a non disdegnare gli inizi modesti, in quanto nel piccolo sono sempre presenti i principi del grande, come nel grande è contenuto il piccolo."
Michael Faraday

non-coding RNA lunghi (ncRNA lunghi)

I **ncRNA lunghi** possono essere suddivisi in:

- **long non-coding RNA (lncRNA) nucleari** (vengono inclusi in questa categoria anche i **trascritti antisenso**). Sono coinvolti nella regolazione di specifici geni bersaglio agendo come regolatori della conformazione cromatinica (es. XIST coinvolto nella formazione del corpo di Barr) o a livello di regolazione della trascrizione;

- **lncRNA citoplasmatici**, sono coinvolti nella regolazione dell'espressione genica a livello traduzionale (produzione della proteina) oppure modulano la localizzazione della proteina o la sua attività (regolazione post-traduzionale).

"Il vero viaggio di una scoperta non consiste nel cercare nuove terre, ma nell'avere nuovi occhi."
Marcel Proust

Pseudogeni

- **Definizione**: copie non funzionali di geni → elevata omologia con geni (soprattutto codificanti proteine), ma rese inattive da mutazioni accumulate durante l'evoluzione.
- **Numero stimato**: ≥15.000 pseudogeni nel genoma umano (maggio 2018) (Pseudogene.org)
- **Funzionalità residua**: generalmente non trascritti/tradotti, ma alcuni pseudogeni producono **ncRNA regolatori**.

Gli pseudogeni originano da eventi di duplicazione ancestrali e **si dividono in**:

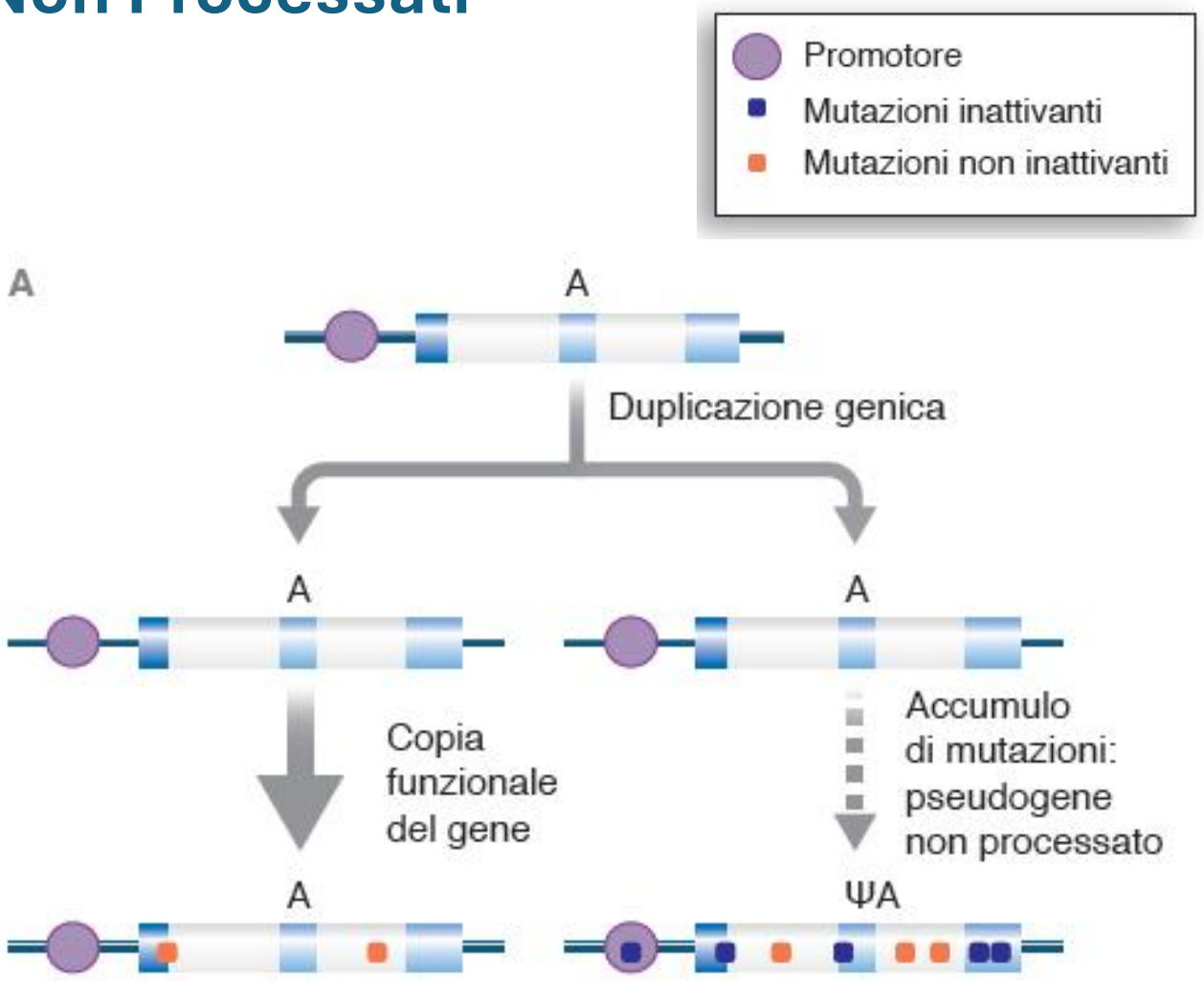
1. **Non Processati**
2. **Procesati**
3. **Unitari**

- Gli pseudogeni, sebbene inattivi, hanno **potenziale regolatorio**:
- Possono generare **ncRNA** con ruolo in reti di regolazione trascrizionale/post-trascrizionale.
- Alcuni possono agire come **spugne di miRNA** o modulare espressione di geni omologhi.
- Fonte di **variabilità genomica** e, talvolta, di **nuovi elementi funzionali**.

Pseudogeni Non Processati

Non processati (~25%)

- Origine: **duplicazioni genomiche in tandem**.
- Localizzazione: **vicini al gene funzionale** originario.
- Caratteristiche: **contengono introni + promotore**.
- **Generalmente non funzionali** →
- **Accumulano mutazioni** che lo inattivano, specialmente frequenti **nelle sequenze regolatorie**.



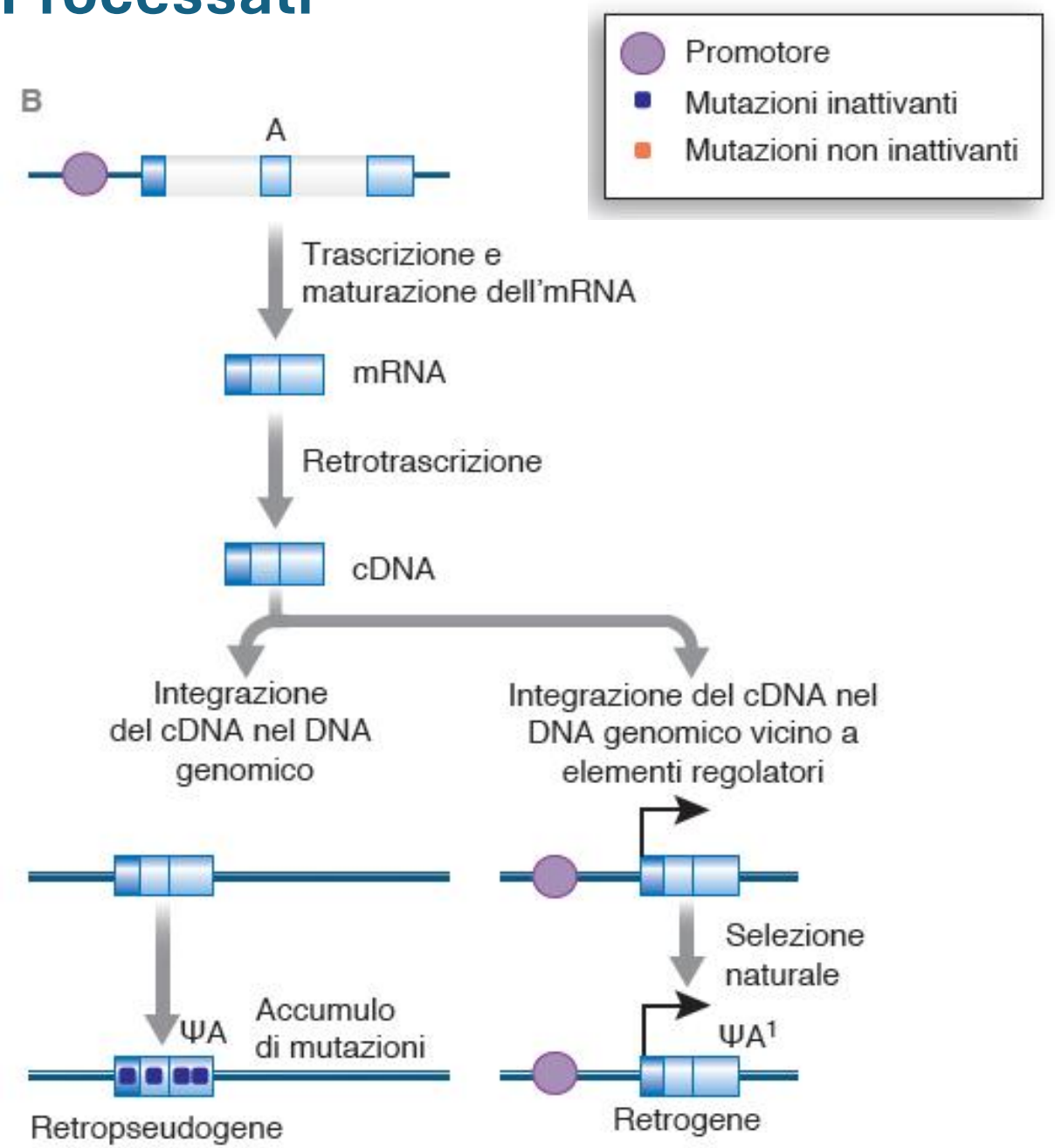
Esempio PTENP1 (Pseudogene Funzionante):
- trascritto omologo a **PTEN** → regola positivamente l'oncosoppressore.
- In alcuni tumori: perdita del locus **PTENP1** → ↓ espressione PTEN → proliferazione incontrollata.

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

Pseudogeni Processati

Processati (~75%)

- Origine: **retrotrascrizione di un mRNA maturo** → **cDNA integrato** nel genoma.
- **Privi di introni e promotore** → di norma **non funzionali** (non trascritte e non tradotte)
- Nel tempo hanno accumulato mutazioni → **retropseudogeni**.
- Se **integrati vicino a promotori attivi** → Possibile acquisizione di funzioni → **retrogeni funzionali** (trascritti e **non accumulano mutazioni**).



R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

Pseudogeni Unitari

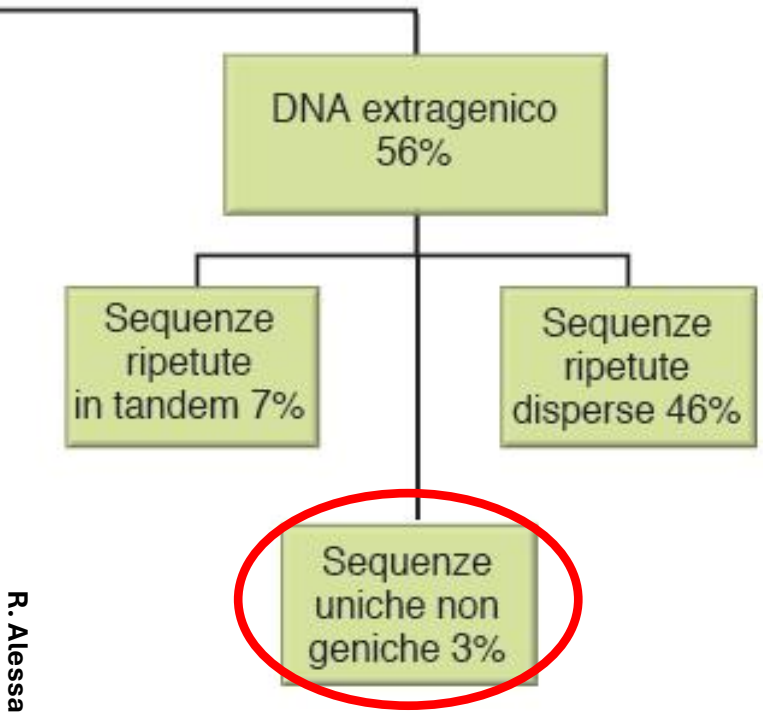
- Origine: **geni ancestrali persi durante l'evoluzione**.
- Non derivano da duplicazione ma da **inattivazione diretta causata da un accumulo di mutazioni** che li hanno resi non funzionanti.
- Funzionano come "**fossili genomici**".
- **Esempio GULOP (cromosoma 8 umano)**: ortologo funzionale (GULO) presente in altri Vertebrati → codifica per L-gulonolattone ossidasi (biosintesi Vit. C).
- Nell'uomo: sequenza degenerata → incapacità di sintetizzare Vit. C → necessità di assunzione con la dieta.

Si definiscono **geni omologhi** quelli che si sono originati per divergenza da un **gene ancestrale comune**.

Geni **ortologhi** sono geni omologhi che si trovano in ***specie diverse***, che codificano per proteine che hanno le **stesse funzioni (o molto simili)** e che si sono separati in seguito a eventi di speciazione (separazione della specie)

Geni **paraloghi** sono geni omologhi derivati da duplicazione di un gene ancestrale che, in ***specie diverse,*** hanno subito **mutazioni** che hanno prodotto geni diversi da quelli originari, codificanti per proteine con strutture e **funzioni diverse**

Sequenze Ripetute: Sequenze Uniche Non Geniche



La maggior parte del genoma è il cosiddetto **DNA extragenico/intergenico** = una porzione non genica del genoma **formata** essenzialmente da **sequenze ripetute**, ovvero **che si ripresentano più volte nel genoma**.

Una parte è costituito da **sequenze uniche non geniche**, ovvero sono sequenze che sono **presenti in singola copia nel genoma**

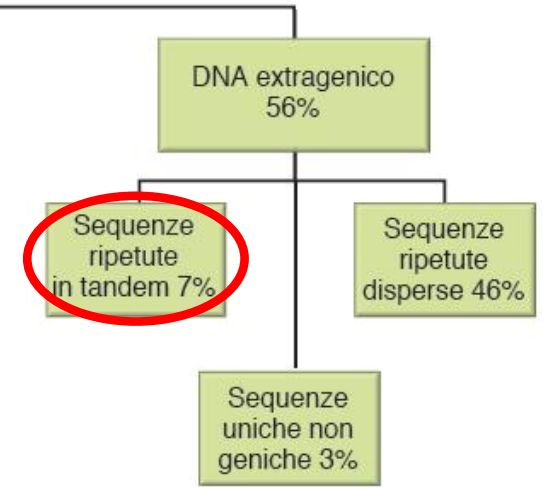
Ce ne sono di **due tipi**:

1. **Conserved Non-coding sequence Elements (CNE)**

2. **Sequenze non conservate**: Sequenze **derivate da trasposoni molto mutati** da non essere più riconducibili ad un elemento specifico nel genoma

Sequenze conservate sono **porzioni del DNA** che rimangono sostanzialmente **invariate nel corso dell'evoluzione**, tra specie diverse, perché sono essenziali per la funzione biologica e **svolgono ruoli critici**, come la codifica di proteine **funzionali**, la **regolazione** genica o il **mantenimento della struttura** cromosomica

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;



Sequenze Ripetute: Sequenze Ripetute in Tandem

- **Struttura**: corte unità ripetute affiancate (array).
- Localizzazione: centromeri e altre regioni di **eterocromatina costitutiva** (che rimane altamente condensate durante il ciclo cellulare).
- Classi principali: **DNA satelittelite**, **DNA minisatellite**, **DNA microsatellite** (suddivise **in base alla lunghezza** deli blocchi di ripetizioni)

TABELLA 5.4 Principali classi e sottoclassi di sequenze ripetute in tandem.

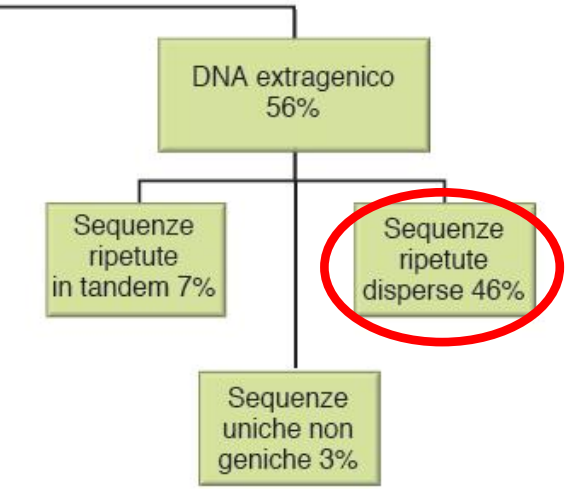
Classi e sottoclassi	Dimensione o sequenza della unità ripetuta	Principali localizzazioni cromosomiche
DNA SATELLITE ("blocco" > 100 kb)		
α satellite	171 bp	Eterocromatina centromerica di tutti i cromosomi
β satellite	68 bp	Eterocromatina centromerica dei cromosomi 1, 9, Y e dei cinque cromosomi acrocentrici (13, 14, 15, 21, 22)
Satellite 1	25-48 bp (sequenza ricca in AT)	Eterocromatina centromerica della maggior parte dei cromosomi e altre regioni eterocromatiniche
Satellite 2	Forme divergenti da ATTCC/GGAAT	Tutti i cromosomi
Satellite 3	ATTCC/GGAAT	Bracci corti dei cinque cromosomi acrocentrici e eterocromatina dei cromosomi 1q, 9q e Yq12
DNA MINISATELLITE ("blocco" 0,1-20 kb)		
Minisatellite telomerico	TTAGGG	Tutti i telomeri
Minisatelliti ipervariabili	9-64 bp	Regioni sub-telomeriche eucromatiniche di tutti i cromosomi
DNA MICROSATELLITE ("blocco" < 100 bp)		
–	1-4 bp	Disperse lungo tutto i cromosomi

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

DNA satellite: blocchi >100 kb, unità da 5–170 nt;
- Es. **satellite α** (centromeri → sito di legame per la proteina centromerica CENPB).

DNA minisatellite (0,1–20 kb): telomeri,
- Es. **minisatellite ipervariabile (VNTR, Variable Number Tandem Repeats)** → **elevata variabilità inter-individuale**.
- Usati come **marcatori genetici**, studi di linkage, **test forensi**.
- **Instabilità** → **rischio mutazioni** (es. **Huntington, espansione CAG nel gene HTT**).

DNA microsatellite (SSR, Simple Sequence Repeats o STR, Short Tandem Repeats): unità brevi (1–4 nt), **diffuse in tutto il genoma**.



Sequenze Ripetute: Sequenze Ripetute Disperse

Derivano da **trasposoni** (**elementi mobili del genoma**), in grado di migrare da una regione all'altra del genoma e che costituiscono il **46% del genoma umano**.

Tipi di trasposoni:

- **Autonomi**: codificano retrotrascrittasi/endonucleasi (trasposizione autonoma).
- **Non autonomi**: sfruttano enzimi codificati da elementi autonomi.

TABELLA 5.4 Tre classi principali di elementi trasponibili

Descrizione e struttura della classe	Enzimi specializzati richiesti per il movimento	Modalità di movimento	Esempi
Trasposoni a solo DNA			
Brevi ripetizioni invertite a ciascuna estremità	Trasposasi	Si muove come il DNA, o con un meccanismo di taglia e cuci o seguendo una via replicativa	Elemento P (*D. melanogaster*), Ac-Ds (mais), Tn3 (*E. coli*), Tam3 (bocca di leone), Helraiser (pipistrello)
Retrotrasposoni simil-retrovirali			
Lunghe ripetizioni terminali dirette (LTR) a ciascuna estremità	Trascrittasi inversa e integrasi	Si muove tramite un RNA intermedio prodotto da un promotore nell'LTR	Copia e Gypsy (*D. melanogaster*), Ty1 (lievito), HERVK (*H. sapiens*), Bs1 (mais), EVADE (*Arabidopsis thaliana*)
Retrotrasposoni non retrovirali			
PoliA all'estremità 3′ del trascritto di RNA; l'estremità 5′ è spesso tronca	Trascrittasi inversa ed endonucleasi	Si muove tramite un intermedio a RNA che è spesso prodotto da un promotore nelle vicinanze	Elemento I (*D. melanogaster*), L1 (*H. sapiens*), Cin4 (mais), Karma (riso)

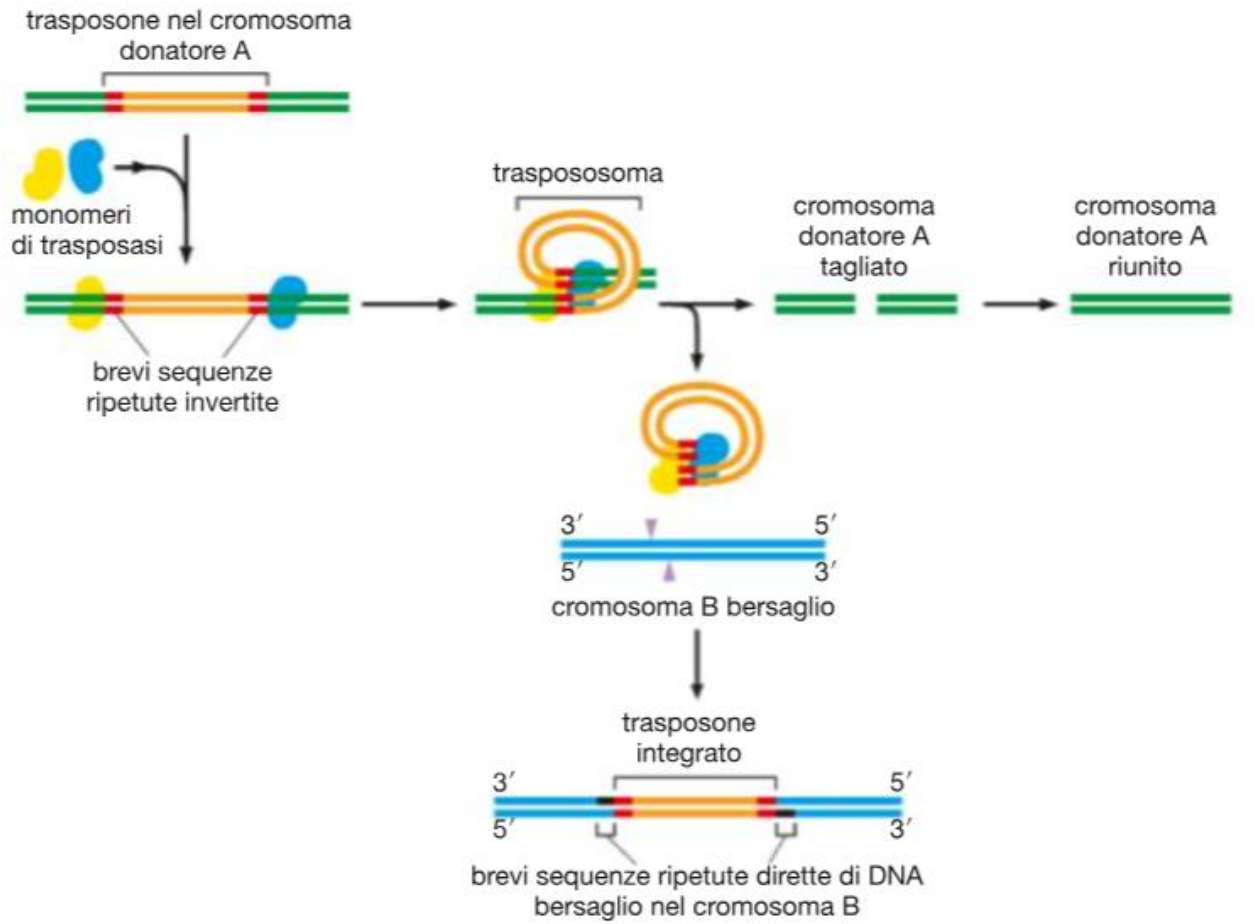
Classificazione per origine:

- **Trasposoni a DNA** (Origine Batterica)
- **Retrotrasposoni simil-retrovirali**
- **Retrotrasposoni non retrovirali**

R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises; B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Trasposoni a solo DNA

Descrizione e struttura della classe	Enzimi specializzati richiesti per il movimento	Modalità di movimento	Esempi
Trasposoni a solo DNA			
Brevi ripetizioni invertite a ciascuna estremità	Trasposasi	Si muove come il DNA, o con un meccanismo di taglia e cuci o seguendo una via replicativa	Elemento P (*D. melanogaster*), Ac-Ds (mais), Tn3 (*E. coli*), Tam3 (bocca di leone), Helraiser (pipistrello)



- **Riconoscimento iniziale**

•Trasposoni individuati grazie a **sequenze ripetute invertite** di DNA (**~20 nt**) poste alle estremità.
•Riconoscimento operato dalla **trasposasi** specifica.

- **Formazione dell'ansa**

•La trasposasi unisce **le due sequenze invertite** → si forma un'ansa di DNA.

- **Inserzione nel DNA bersaglio**

•La trasposasi catalizza l'inserzione in un sito **casuale** del cromosoma bersaglio.
•Avviene mediante **rotture sfalsate** sul DNA bersaglio (→ *triangolini viola*).

- **Riparazione del sito bersaglio**

•Le interruzioni a singolo filamento vengono riparate da:
  - **DNA polimerasi**
  - **DNA ligasi** (*nero*)

•Risultato: nel sito di inserzione compare una **breve ripetizione diretta** della sequenza target.

- **Conseguenze sul DNA donatore**

•Il sito originario viene risaldato (**verde**).
•Possibile **mutazione residua** → **sequenza alterata** senza più l'elemento trasponibile.

B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Retrotrasposoni non-retrovirali

Descrizione e struttura della classe	Enzimi specializzati richiesti per il movimento	Modalità di movimento	Esempi
Retrotrasposoni non retrovirali			
PoliA all'estremità 3′ del trascritto di RNA; l'estremità 5′ è spesso tronca	Trascrittasi inversa ed endonucleasi	Si muove tramite un intermedio a RNA che è spesso prodotto da un promotore nelle vicinanze	Elemento I (*D. melanogaster*), L1 (*H. sapiens*), Cin4 (mais), Karma (riso)

I retrotrasposoni non-retrovirali (senza LTR) sono più semplici ed efficienti. **l'RNA viene retrotrascritto direttamente nel sito di inserzione nel DNA**, grazie al meccanismo TPRT (Target-Primed Reverse Transcription).

Struttura: **Promotore interno – ORF1 (RNA-binding) – ORF2 (endonucleasi + RT)**

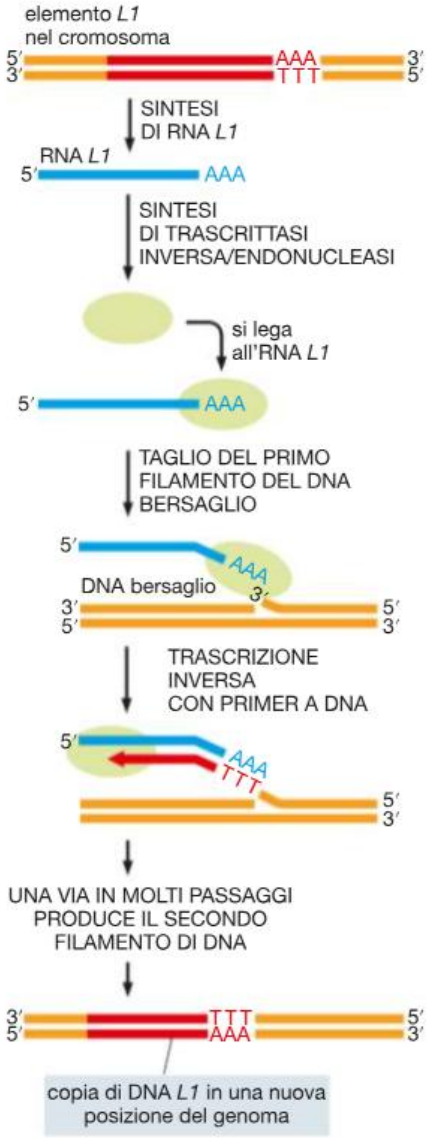
LINE (Long Interspersed Nuclear Elements) 6 kb;

- Principali elementi autonomi (L1 trascrittasi inversa + endonucleasi).
- Famiglie LINE-1, -2, -3.

SINE (Short Interspersed Nuclear Elements)

- <400 nt, non autonomi → sfruttano LINE.
- **Sequenze Alu** = le più abbondanti nei Mammiferi

- **Meccanismo di trasposizione L1 (LINE-1)**
  1.Complesso endonucleasi + trascrittasi inversa L1 (verde) si lega all'estremità 3' dell'RNA L1 (blu).
  2.L'endonucleasi taglia il DNA bersaglio → genera un'estremità 3'-OH libera.
  3.La 3'-OH funge da primer per la **trascrizione inversa** → sintesi di una copia di DNA a singolo filamento (L1 rosso).
  4.Successiva elaborazione → formazione di una **nuova copia a doppio filamento** di L1.
  5.Inserimento della nuova copia nel sito del taglio iniziale.



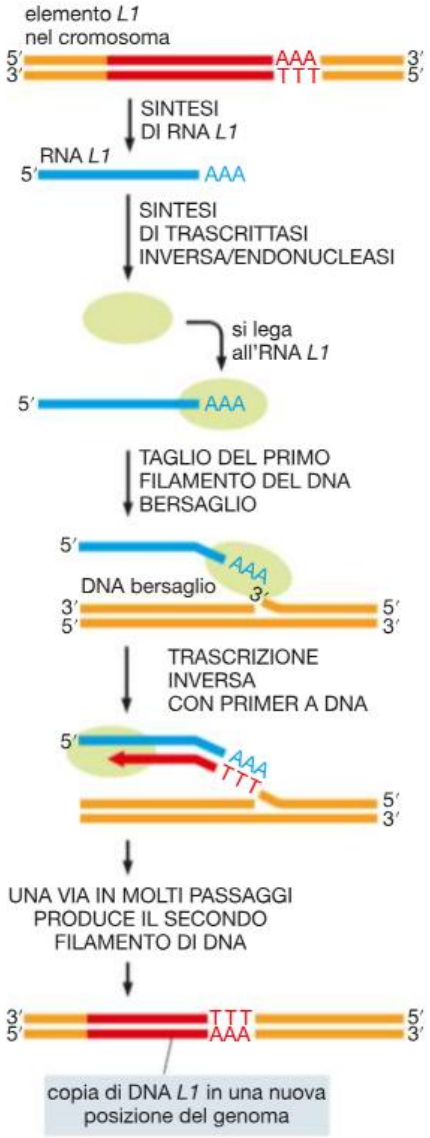
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Retrotrasposoni non-retrovirali

Descrizione e struttura della classe	Enzimi specializzati richiesti per il movimento	Modalità di movimento	Esempi
Retrotrasposoni non retrovirali			
PoliA all'estremità 3′ del trascritto di RNA; l'estremità 5′ è spesso tronca	Trascrittasi inversa ed endonucleasi	Si muove tramite un intermedio a RNA che è spesso prodotto da un promotore nelle vicinanze	Elemento I (*D. melanogaster*), L1 (*H. sapiens*), Cin4 (mais), Karma (riso)

Atri Retrotrasposoni non LTR: Sequenze SVA (SINE-R-VNTR-Alu):
Sono elementi mobili del genoma umano che si traspongono sfruttando enzimi codificati da altri trasposoni autonomi.
Sono costituite da tre componenti:

- **Una Ripetizione SINE-R:** un dominio associato a un retrovirus endogeno
- **VNTR (Variable Number Tandem Repeat):** una regione con un numero variabile di ripetizioni
- **Una sequenza Alu:** una sequenza di DNA di origine derivata dall'RNA 7SL, componente di un complesso di riconoscimento del segnale



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Descrizione e struttura della classe	Enzimi specializzati richiesti per il movimento	Modalità di movimento	Esempi
Retrotrasposoni simil-retrovirali			
Lunghe ripetizioni terminali dirette (LTR) a ciascuna estremità	Trascrittasi inversa e integrasi	Si muove tramite un RNA intermedio prodotto da un promotore nell'LTR	Copia e Gypsy (*D. melanogaster*), Ty1 (lievito), HERVK (*H. sapiens*), Bs1 (mais), EVADE (*Arabidopsis thaliana*)

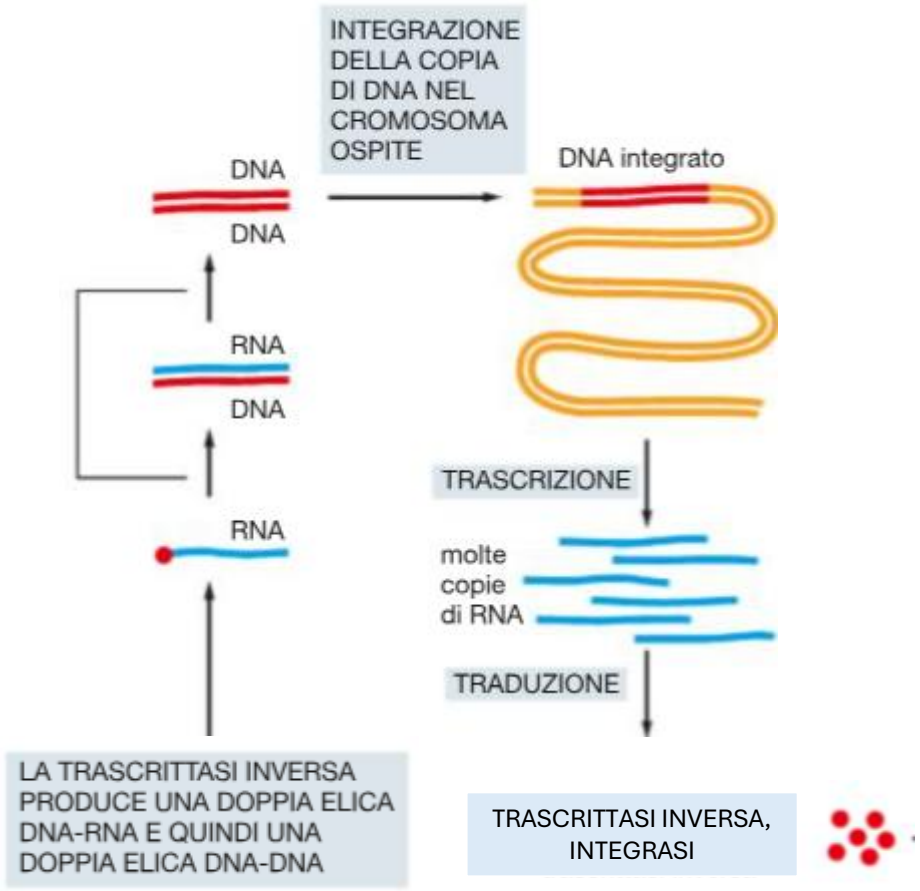
Retrotrasposoni simil-retrovirali

Retrotrasposoni LTR (Long Terminal Repeats):
Simili ai retrovirus, possiedono sequenze ripetute alle estremità e codificano per gli enzimi necessari alla trasposizione, inclusa la trascrittasi inversa

- Struttura: 5'LTR – **gag – pol** – (a volte **env**) – 3'LTR (il promotore è nelle LTR)
- I **retrotrasposoni con LTR** sono i "discendenti addomesticati" dei retrovirus
- **producono particelle**, **retrotrascrivono il loro RNA in cDNA** al loro niterno direttamente **nel citoplasma e poi** lo **reintegrano** nel nucleo all'**interno del genoma**.
- **non infettano altre cellule**.
- Sono quindi **simil-retrovirali** e agiscono nel citoplasma.

Tra i più noti ci sono:

- **HERV (Human Endogenous Retroviruses)**: residui di infezioni retrovirali antiche, possegono genoma virale (gag, pol).
- **Elementi LTR**: HERV tronchi, mantengono solo le ripetizioni terminali.

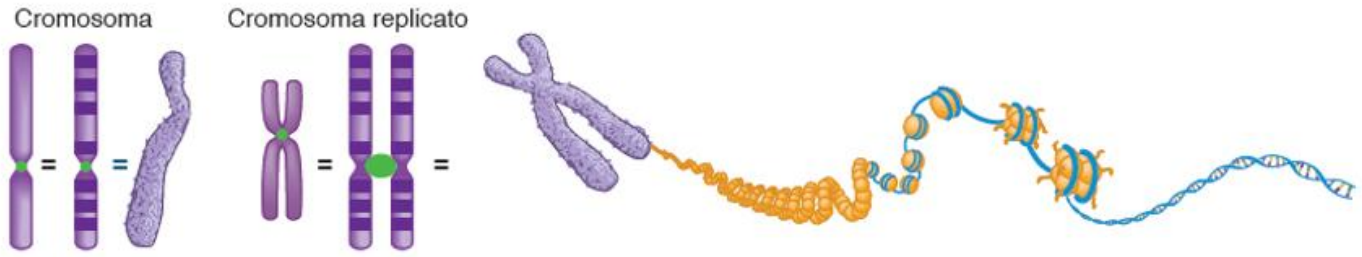


B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Lezione 5

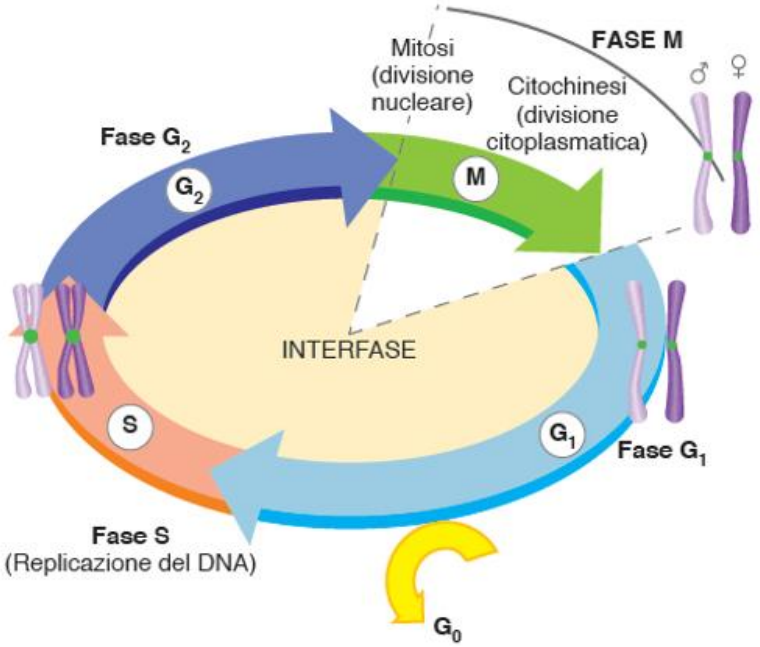
La Cromatina
I nucleosomi.
L'impaccamento del DNA e le proteine istoniche.
L'istone H1 e la fibra di 30 nm.
L'eucromatina e l'eterocromatina, la metilazione del DNA (Lezione 8).
Il rimodellamento della cromatina.
Le modificazioni post-traduzionali degli istoni e l'epigenetica (l'esempio dell'acetilazione).
Le condensine e il ripiegamento della cromatina.

La Cromatina

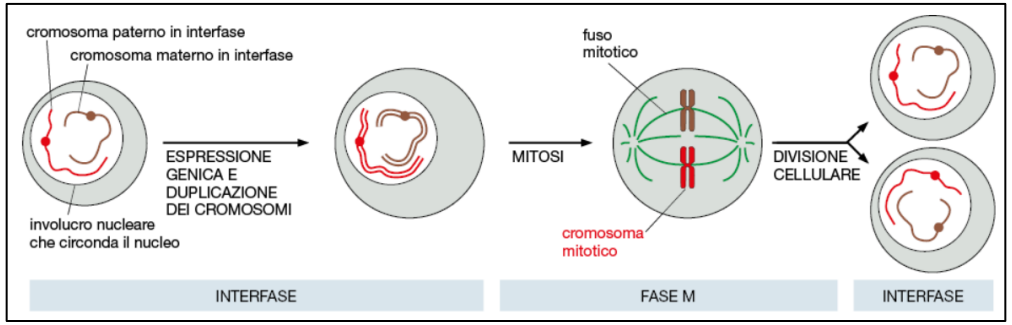


Se disteso, **il DNA** dei **46 cromosomi** umani misurerebbero **~2 metri (48 x 10^6 bp)**.

Il **nucleo** che le contiene ha diametro di soli **~6 µm (un cromosoma ~2 µm)**.



- **La compattazione** è resa possibile da **proteine specializzate (DNA+Proteine = Cromatina)** che:
  - legano e ripiegano il DNA,
  - creano avvolgimenti e anse ordinate,
  - rendono il DNA compatto ma **accessibile** per replicazione, riparazione ed espressione genica.
- Anche durante l'interfase il DNA rimane compatto ma dinamico:
  - si **decondensa** per espressione genica, replicazione e riparazione **(Eucromatina)**
  - si **ricondensa** quando i processi sono completati **(Eterocromatina)**.



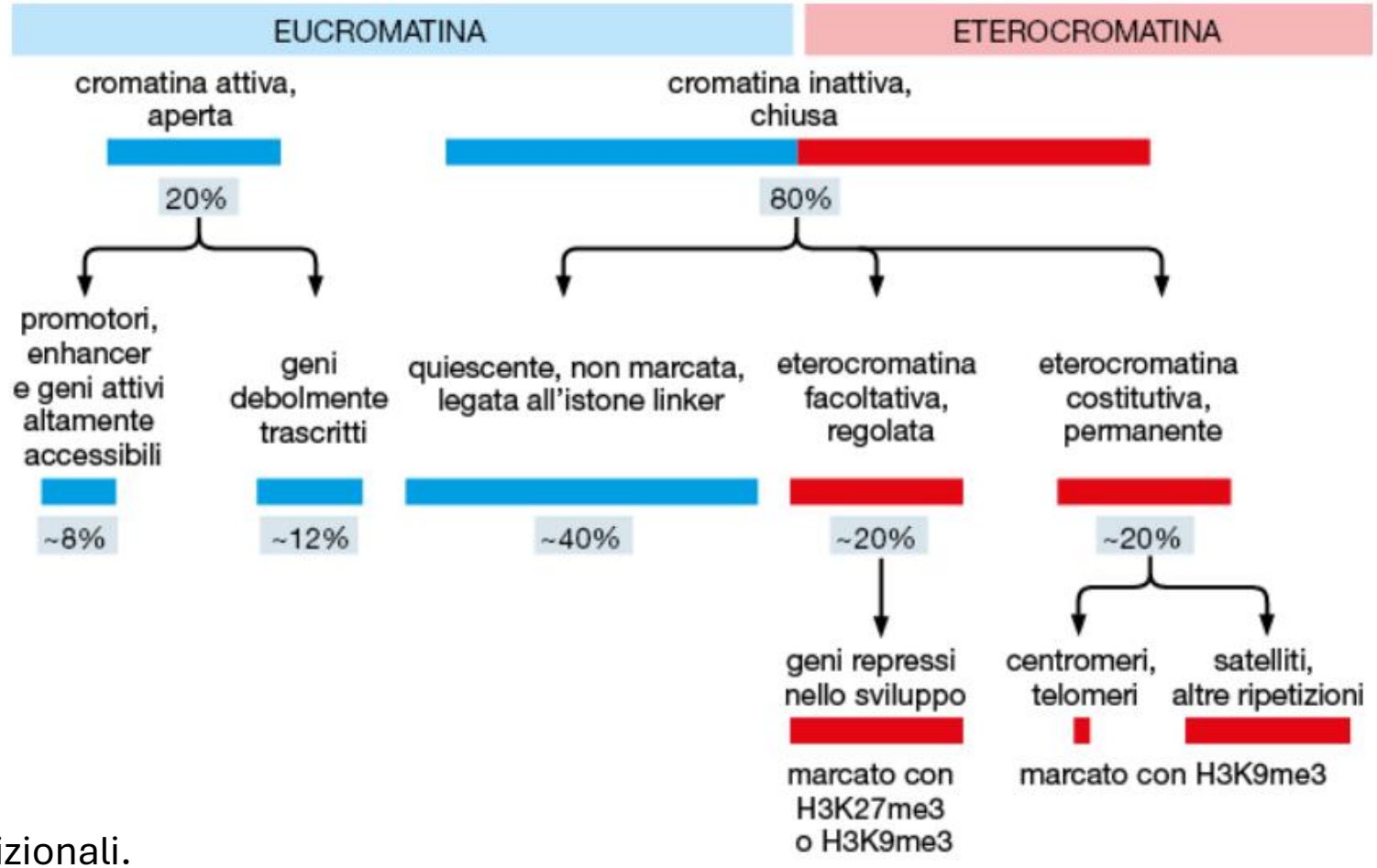
R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

Struttura della Cromatina e Funzione del DNA

- **Cromatina "aperta" e attiva** (~20% genoma, geni espressi)

- **Cromatina "chiusa"** (~80% genoma):
  - metà = **eucromatina quiescente** (non trascritta ma meno condensata)
  - metà = **eterocromatina compatta**

    - **Costitutiva** → sempre presente (centromeri, telomeri).
    - **Facoltativa** → variabile, regolabile in base allo stato di espressione.



Funzioni:
- Mantiene il silenziamento genico
- Stabilizza il genoma
- Controlla l'accessibilità ai fattori trascrizionali.

Modifiche tipiche:
- **H3K9me3** (lisina 9 trimetilata su H3)
- **H3K27me3** (lisina 27 trimetilata su H3).

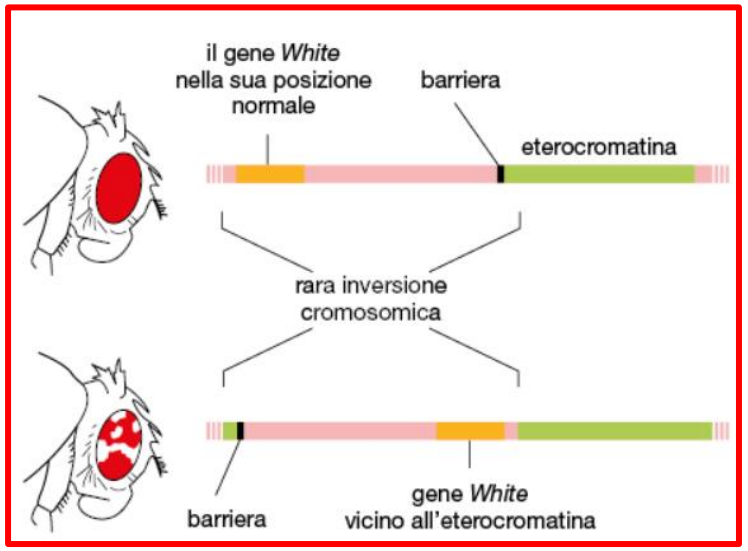
Alcuni stati cromatinici possono essere **ereditati** → memoria cellulare non basata sul DNA → **epigenetica** ("epi-" = sopra).

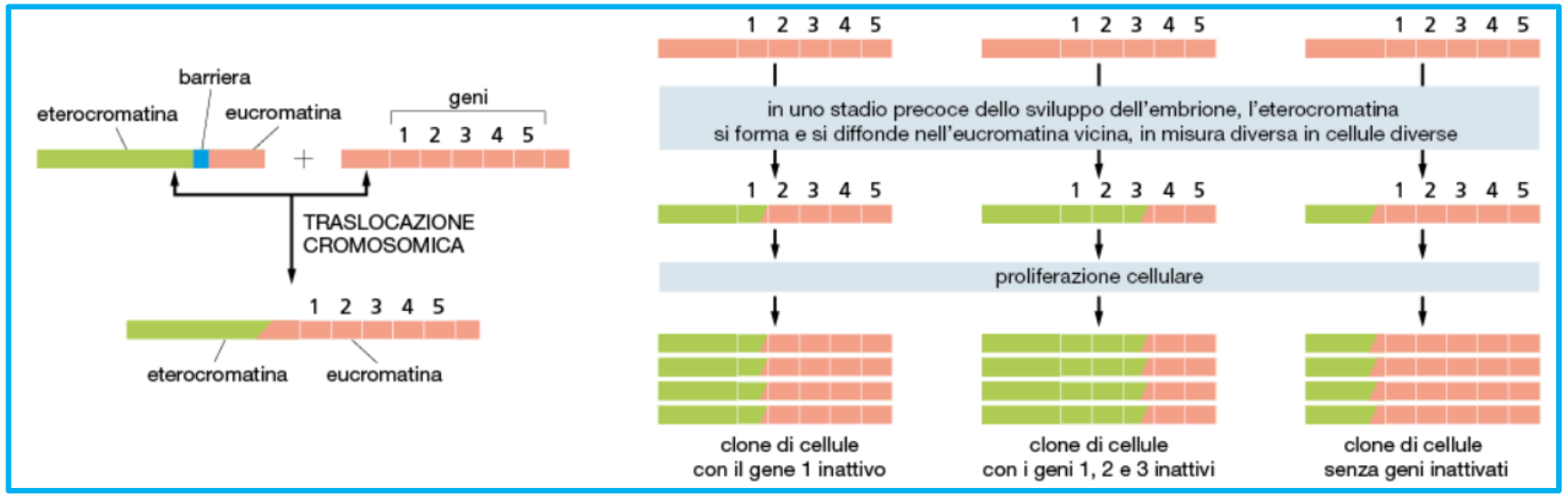
Effetto di posizione e variegatura

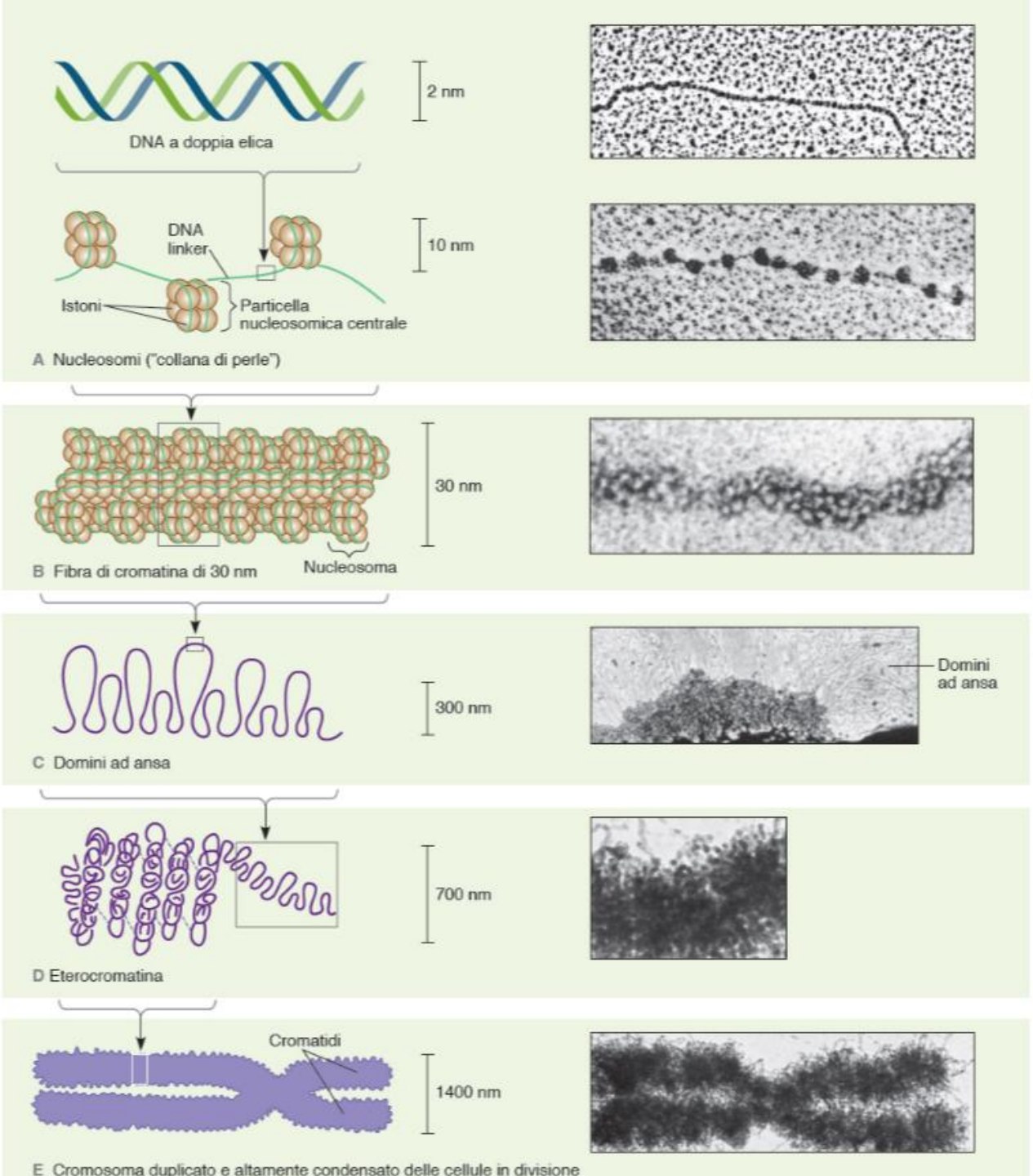
- **Effetto di posizione**: un gene attivo traslocato vicino all'eterocromatina → può venire **silenziato**.
- Nomralmente questi meccanismi sono inbiti dalla presenza di sequenze che bloccano l'espansione della eterocromatina (regioni barriera)

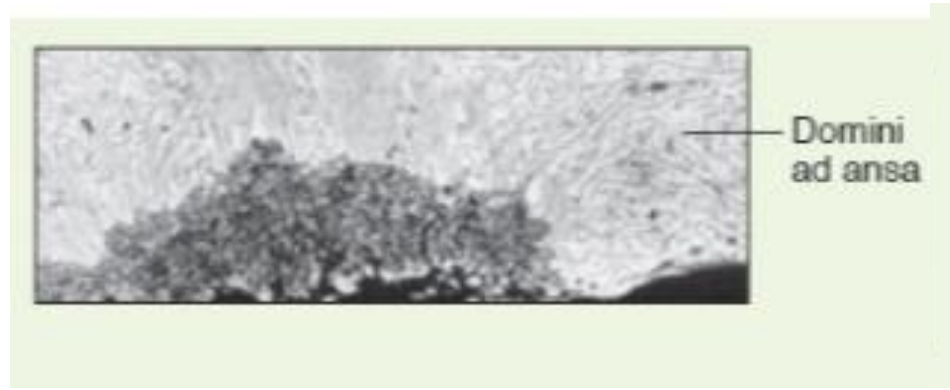
- **Variegatura da effetto di posizione** (Drosophila); Gene *White* (pigmento occhi):
  - White(wild type) → occhi rossi
  - White (mutato) → occhi bianchi
  - Gene White vicino all'eterocromatina → occhi "marezzati" (chiazze rosse/bianche).

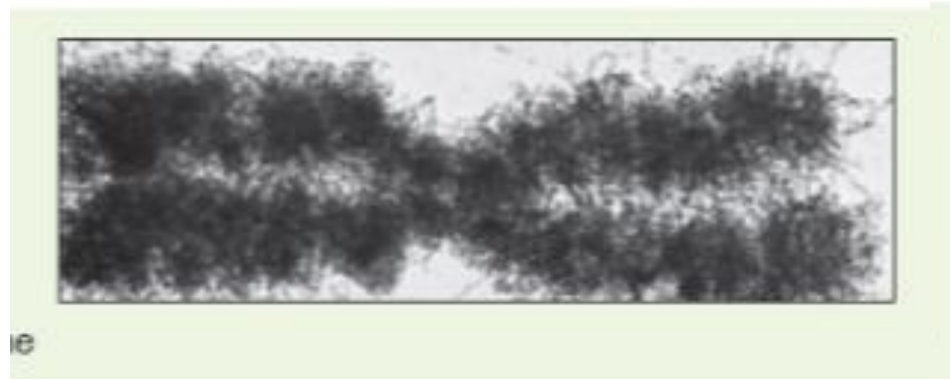
- Meccanismo: L'eterocromatina **si diffonde** in regioni adiacenti di eucromatina. Lo stato di compattamento viene **ereditato stabilmente** dalle cellule figlie.






2 nm
DNA a doppia elica
DNA linker
10 nm
Istoni
Particella nucleosomica centrale
A Nucleosomi ("collana di perle")
30 nm
B Fibra di cromatina di 30 nm
Nucleosoma
300 nm
Domini ad ansa
C Domini ad ansa
700 nm
D Eterocromatina
Cromatidi
1400 nm
E Cromosoma duplicato e altamente condensato delle cellule in divisione


Domini ad ansa

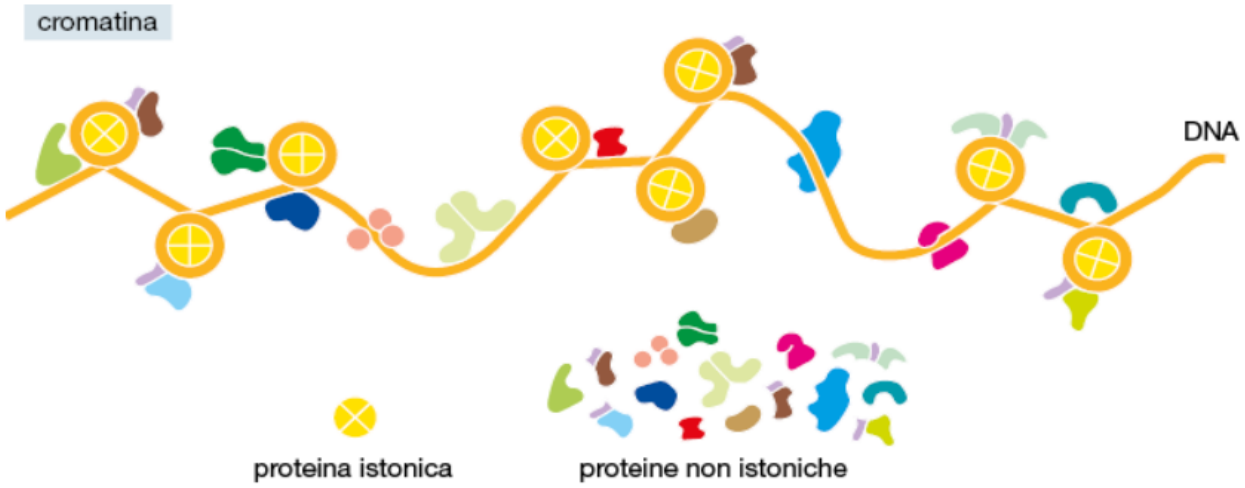


I Nucleosomi

Cromatina: complesso di DNA + proteine nucleari

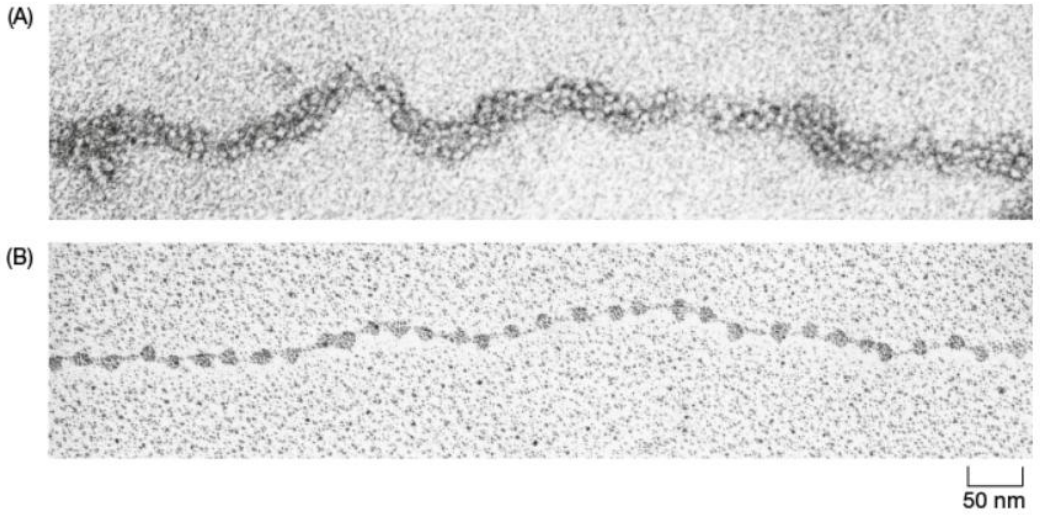
- **Istone**: proteine basiche, molto conservate → organizzazione primaria del DNA
- **Non istoniche**: numerose e varie, regolano struttura e funzione
- Massa cromosoma: 1/3 DNA, 2/3 proteine

Gli **istoni** compongono il primo livello di organizzazione del DNA.
DNA + Istoni = Nucleosoma



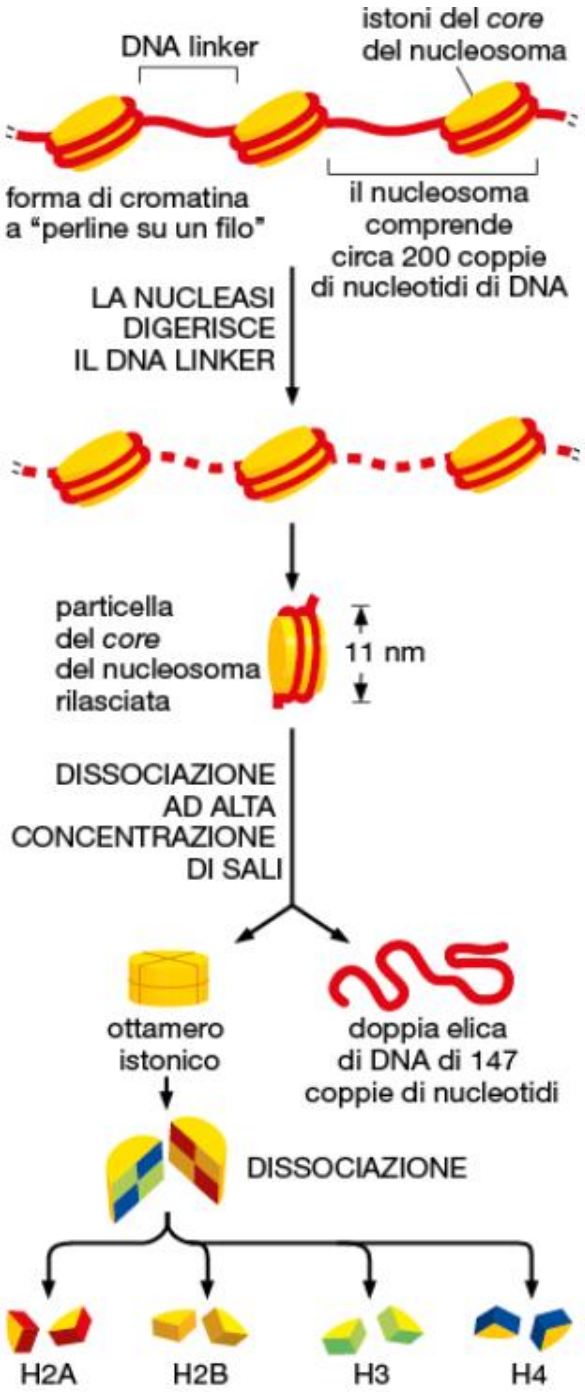
Microscopio elettronico: la cromatina appare come:

- **Fibra compatta** (nucleo interfasico)
- Dopo trattamento → struttura "**perline su un filo**":
  - Filo = DNA
  - Perline = nucleosomi



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

I Nucleosomi: Struttura Base



Ogni **particella del core** nucleosomico è costituita da:

- **147 bp** di DNA a doppio filamento
- Avvolte **1,7 volte in senso sinistrorso**
- Attorno a un **ottamero istonico** (2 × H2A, H2B, H3, H4)

- Tra un nucleosoma e l'altro → **DNA linker** (da pochi nt fino a ~80 nt)
- In media, i nucleosomi si ripetono ogni **~200 bp**
- Una cellula umana diploide contiene **~30 milioni di nucleosomi**

Gli istoni sono tra le proteine più **conservate** negli eucarioti:

- Istoni H3 e H4 altamente conservati
- Esempio: H4 di pisello e uomo differiscono solo in 2 aa su 102
- Insieme a numerose modifiche covalenti → consentono la formazione di **diverse strutture di cromatina** e la regolazione fine delle funzioni genomiche

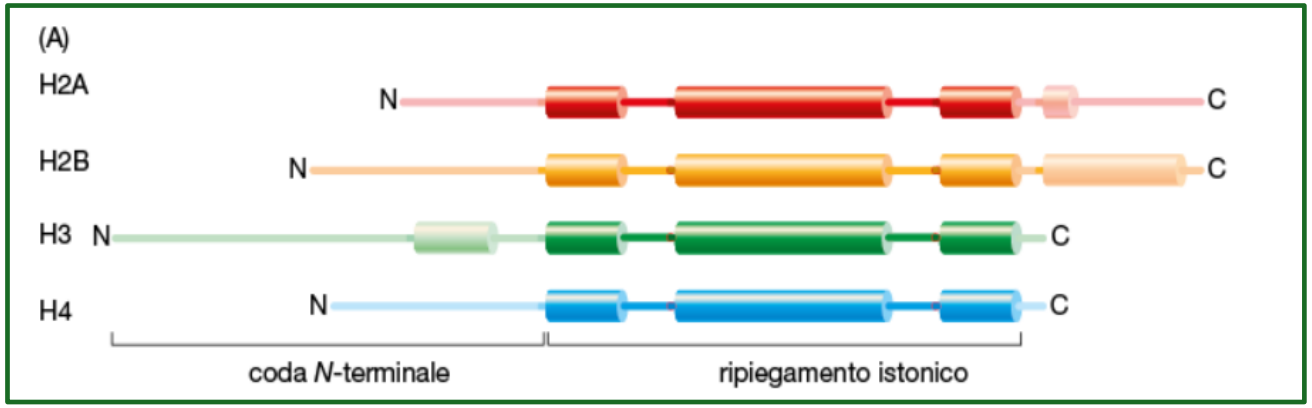
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

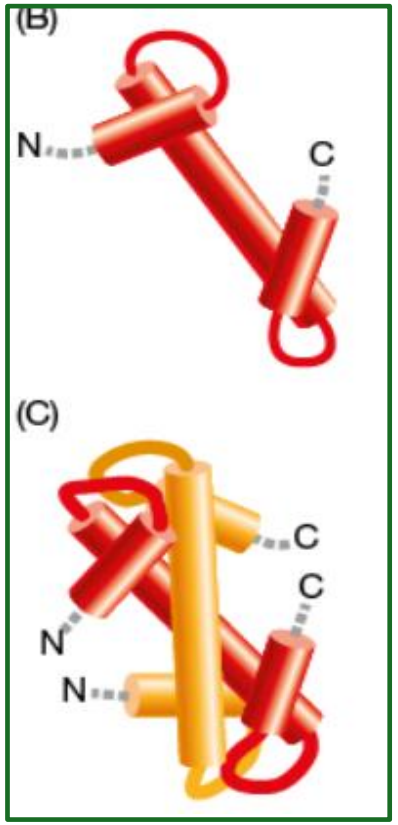
I Nucleosomi: Assemblaggio del Core Istonico

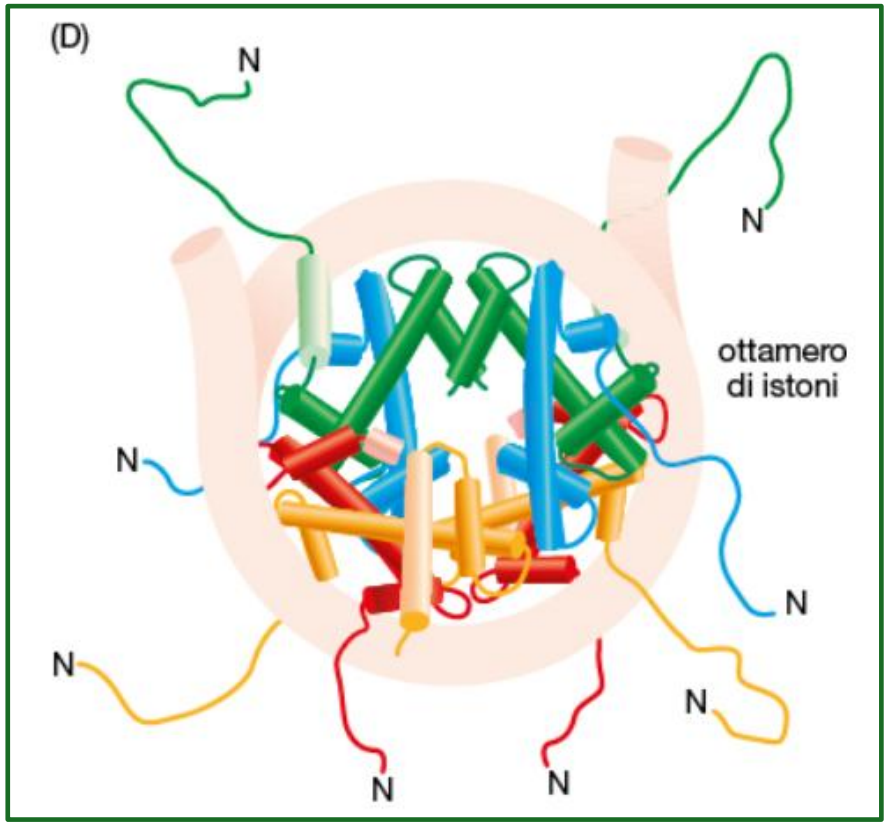
Tutti gli istoni presentano un **ripiegamento istonico** (3 α-eliche collegate da 2 anse)

Formazione progressiva:
- Dimeri **H3-H4** e **H2A-H2B**
- Tetramero H3-H4 + 2 dimeri H2A-H2B → **ottamero compatto**

Le **code N-terminali** degli istoni:
- Sono flessibili e **protrudono all'esterno**
- Subiscono **modifiche covalenti** (acetilazione, metilazione, fosforilazione)
- Fungono da **siti di legame per altre proteine** regolatorie

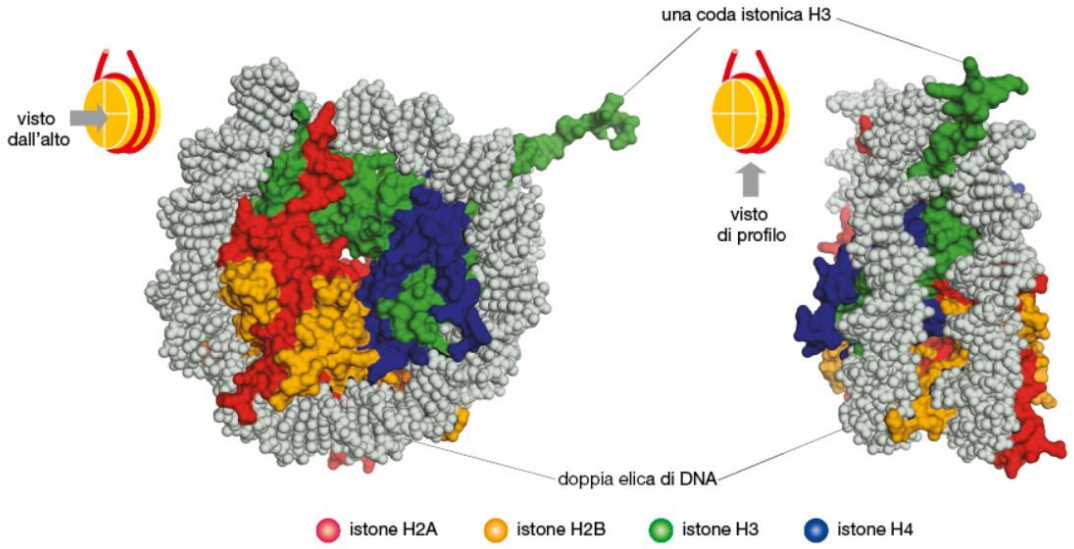


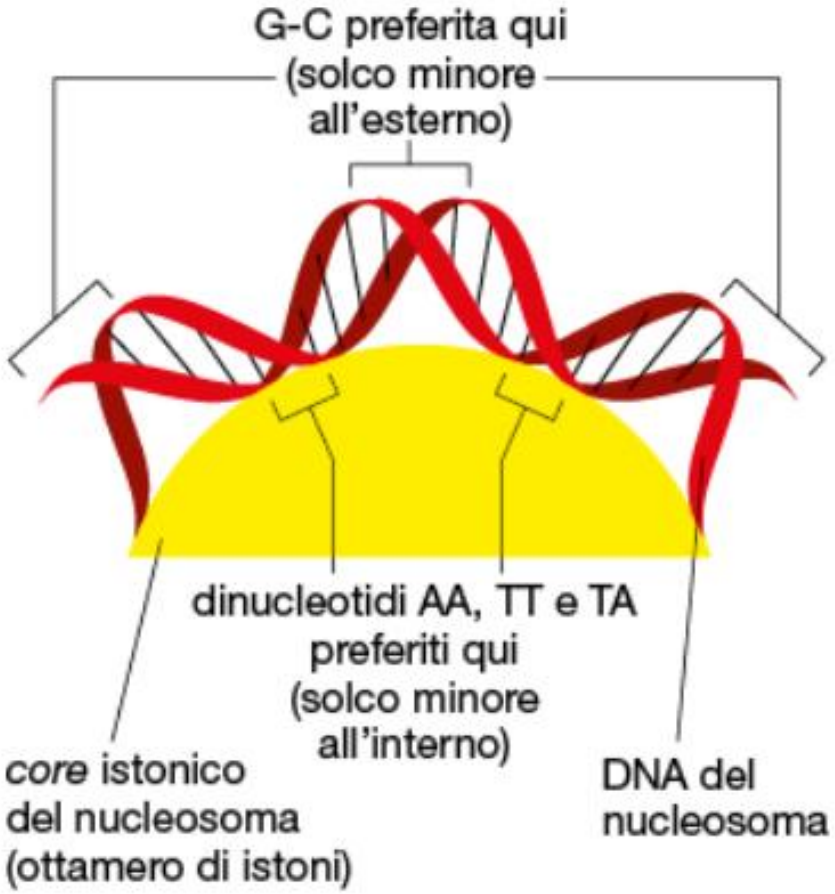




I Nucleosomi: Interazioni DNA-Istoni

- In un nucleosoma si stabiliscono **~142 legami idrogeno** tra DNA e core istonico
- Molte interazioni avvengono tra:
- Scheletro fosfodiesterico (DNA, carico -)
- Lisina e arginina (istoni, cariche +)
- Queste interazioni spiegano la stabilità e la compattezza del nucleosoma
- Alcune sequenze nucleotidiche nel solco minore (AA, AT, TT) si piegano più facilmente → **posizionamento preferenziale dei nucleosomi**





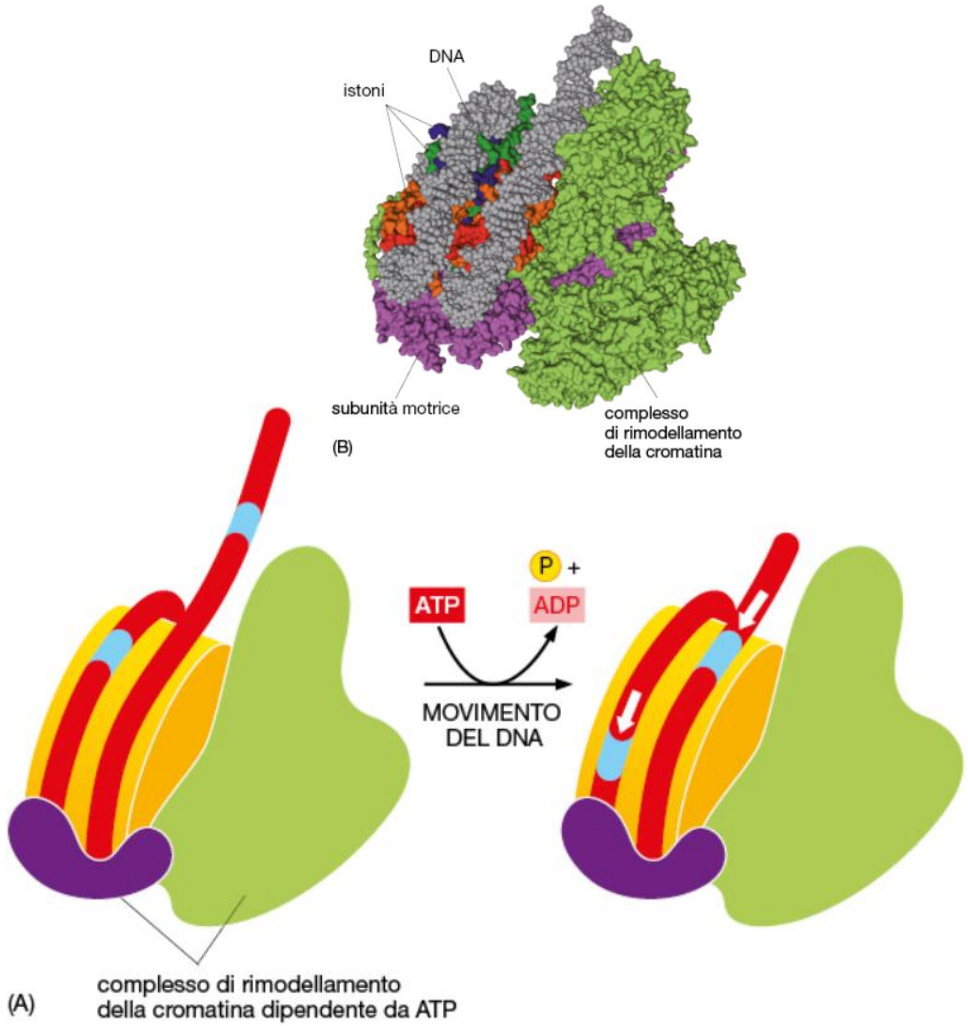
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Dinamica dei Nucleosomi

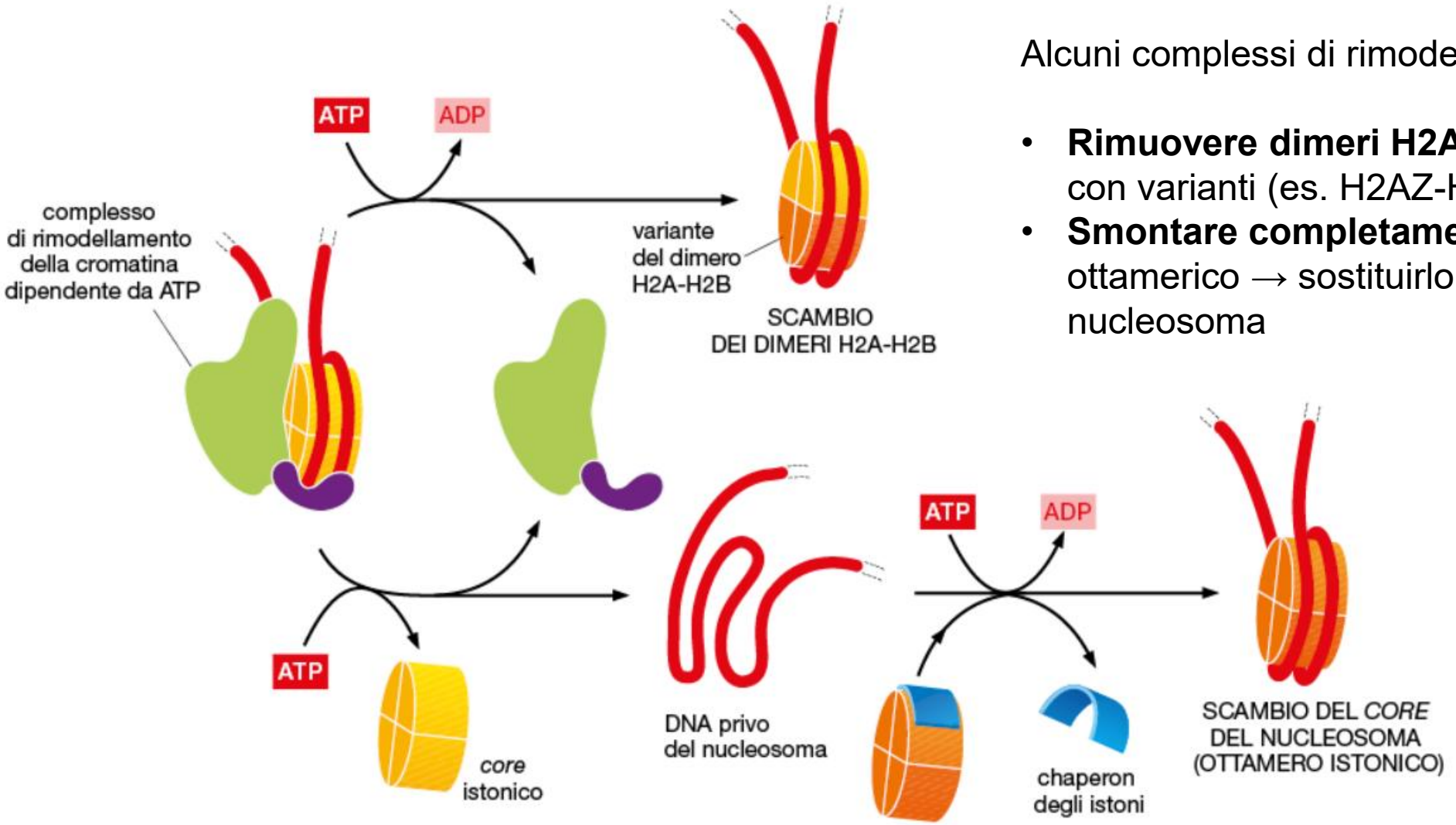
- Per anni si pensava che i nucleosomi fossero **statici** → ostacolo a trascrizione e replicazione.
- Il DNA si svolge spontaneamente **~4 volte/sec (una sorta di respiro!)** Resta esposto per **10–50 ms** prima di richiudersi - Risultato: gran parte del DNA è **accessibile a proteine regolatorie** anche senza rimodellamento.

- Le cellule eucariote possiedono numerosi **complessi proteici di rimodellamento ATP-dipendenti.**
  - **Scorrimento dei nucleosomi** lungo il DNA
  - **Allentamento** dei contatti DNA-istoni
  - **Rimozione o sostituzione** di istoni (es. scambio H2A-H2B con varianti)
  - Frequenza: un nucleosoma tipico viene **sostituito ogni 1–2 ore**.

- L'ATPasi si lega al **core istonico** e al DNA avvolto.
- Ogni ciclo di idrolisi ATP → spostamento di **~2 bp** lungo l'ottamero.
- Dopo molti cicli → **slittamento del nucleosoma**
- Tutte le sequenze del DNA cromatinico diventano **potenzialmente accessibili**.



Rimozione degli Istoni



Alcuni complessi di rimodellamento possono:

- **Rimuovere dimeri H2A-H2B** → sostituiti con varianti (es. H2AZ-H2B)
- **Smontare completamente** il core ottamerico → sostituirlo con un nuovo nucleosoma

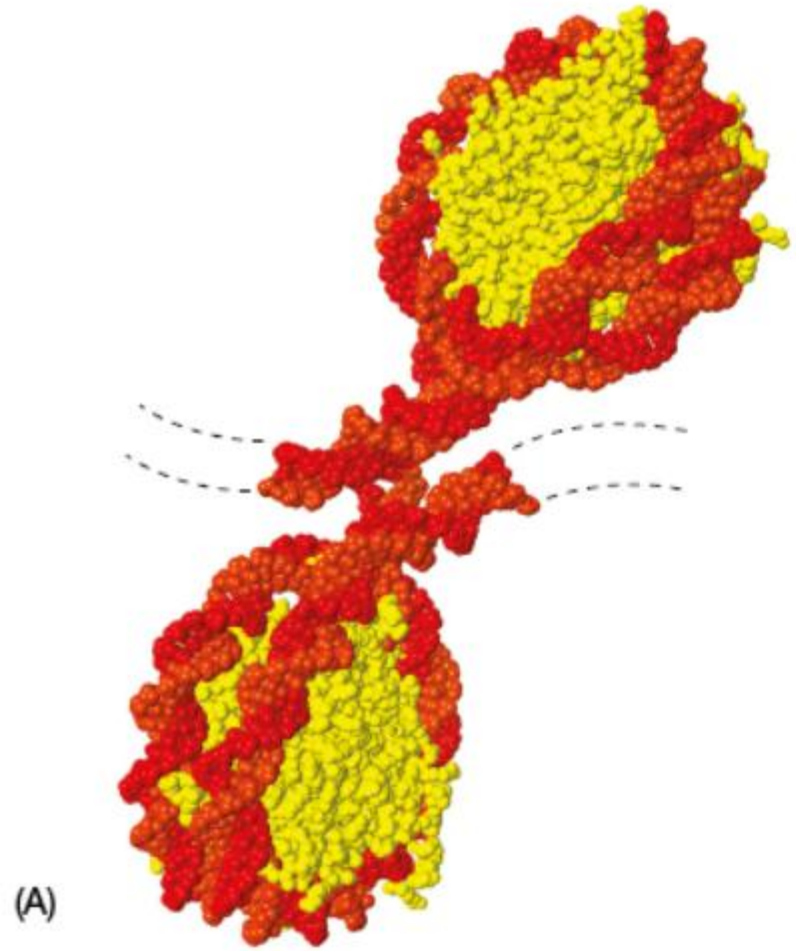
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Compattamento della Cromatina

- In vivo, la cromatina **non appare come perline su un filo**.
- I nucleosomi si impilano → formazione di una **fibra condensata (~30 nm)**.

Modelli proposti sono due:

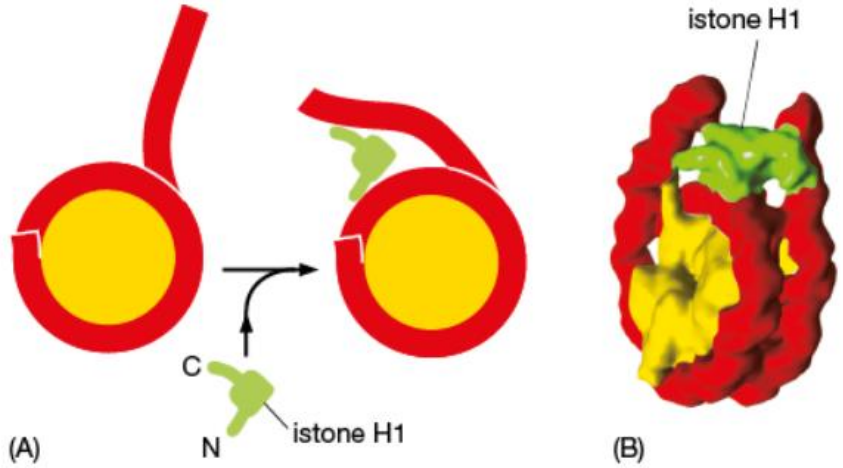
- **Zigzag** (cristallografia su tetranucleosoma) – il quarto nucleosoma nella figura è parzialmente coperto dal nucleosoma in basso.
- **Struttura meno regolare** (osservata in criomicroscopia) – La maggior parte del DNA non ha sempre una struttura così regolare e.

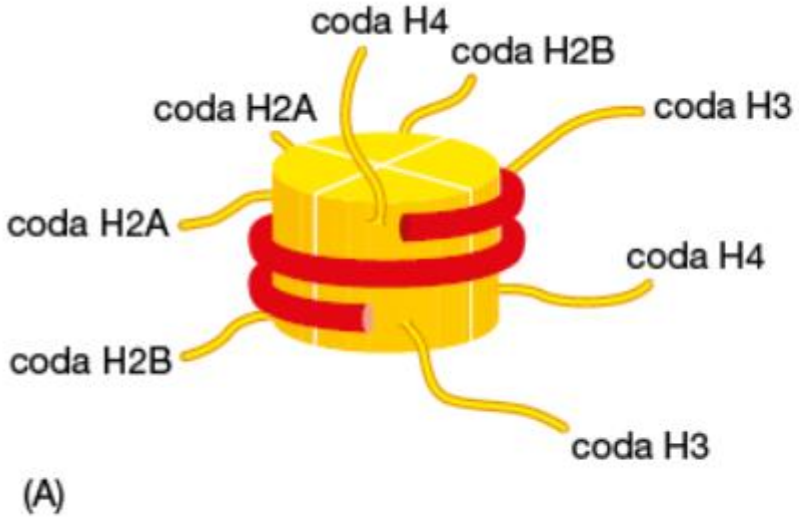


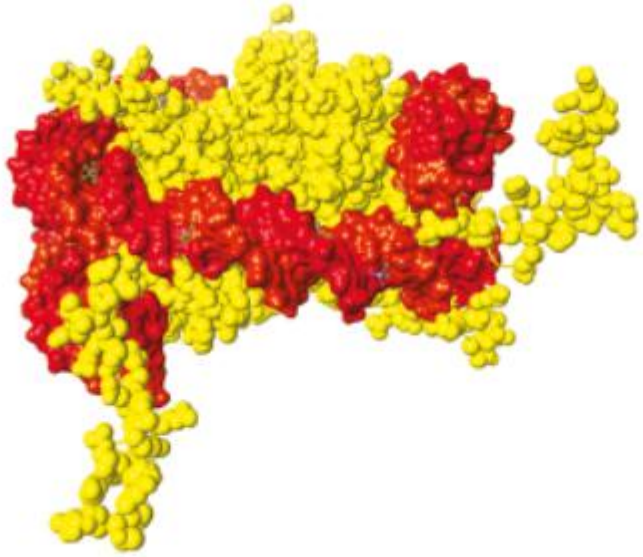
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

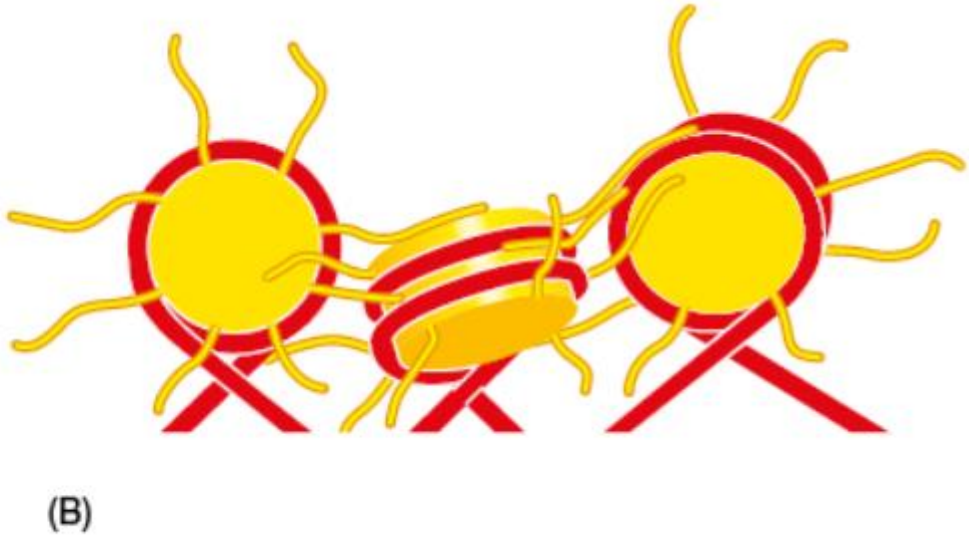
L’Istone H1

- Le **code N-terminali** degli istoni:
  - Sono flessibili, poco strutturate.
  - Mediano **interazioni tra nucleosomi vicini** (es. coda di H4).
- L’**istone H1** (istone linker):
  - Presente in rapporto ~1:1 con i core nucleosomici.
  - Si lega al DNA all’uscita dal nucleosoma + all’ottamero.
  - **Modifica l’angolo di uscita del DNA**, favorendo **ulteriore compattamento.**









B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Modifiche covalenti degli istoni

Gli **istoni del core** (H2A, H2B, H3, H4) subiscono molte modifiche chimiche **reversibili**:

Modifiche più comuni:

- **Acetilazione** (Lisina, K)
- **Metilazione** (Lisina/Arginina → mono-, di-, trimetilazione)
- **Fosforilazione** (Serina/Treonina)
- **Ubiquitinazione, SUMOilazione, biotinilazione** (Lisina)**, ADP-ribosilazione** (Glutammina)**.**

La maggior parte avviene sulle **code N-terminali** degli istoni → regioni flessibili e accessibili.

Enzimi Coinvolti nelle Modificazioni

Acetilazione:

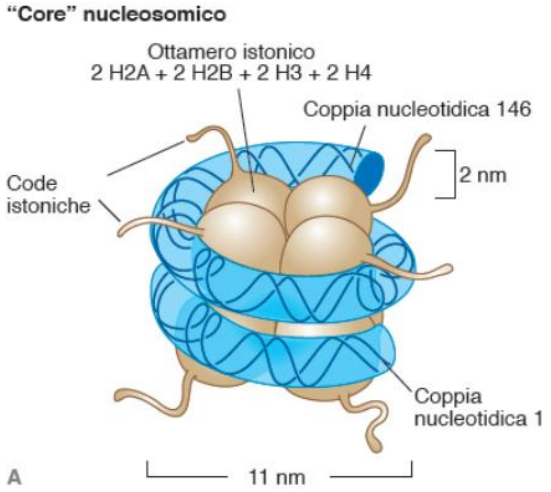
- **HAT** (Histone AcetylTransferase) → aggiungono acetili
- **HDAC** (Histone DeAcetylase Complex) → li rimuovono

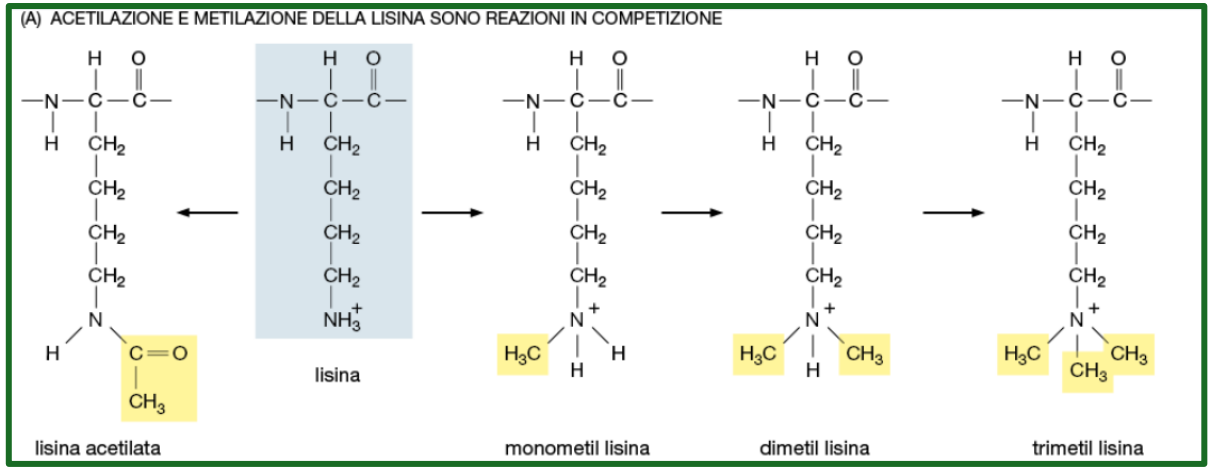
Metilazione:

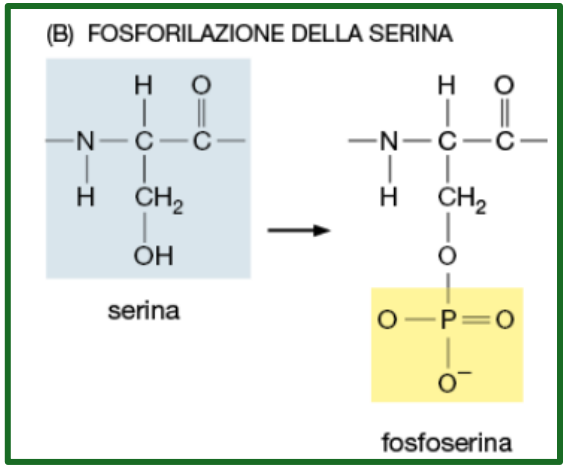
- **HMT** (Histone MethylTransferase)
- **HDM** (Histone DeMethylase)

Fosforilazioni: **chinasi** ↔ fosfatasi

- Reclutati in siti specifici tramite **fattori di trascrizione** legati al DNA.







R. Alessandro et al., Biologia e Genetica, Edises;

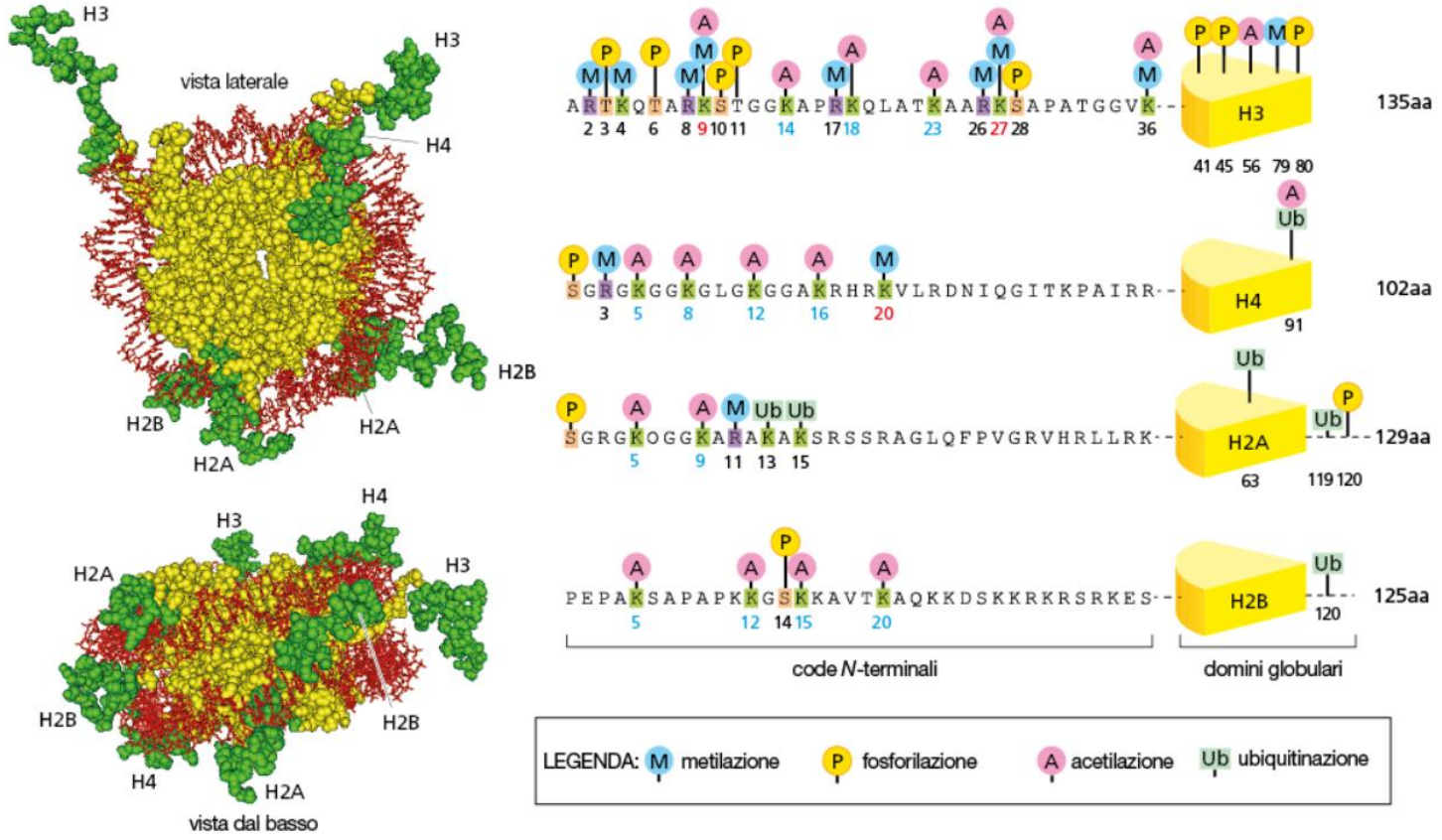
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Proprietà delle Modifiche Istoniche e il Codice Istonico

- **Mutuamente esclusive**: es. acetilazione ↔ metilazione sulla stessa Lisina.

- **Effetti chimici diretti**:
  - **Acetilazione** → **rimuove carica +** della Lisina → riduce interazione DNA-istone → cromatina più aperta.
  - **Fosforilazione** → **aggiunge carica –** → influenza compattamento.

- **Effetti indiretti (più rilevanti)**:
  - Reclutano **proteine lettrici** (con domini specifici, es. bromodomini, cromodomini) che riconoscono la modifica.
  - Determinano lo stato funzionale della cromatina (attiva vs silenziata).



Oltre 20 siti di modificazione noti anche nel **core globulare**

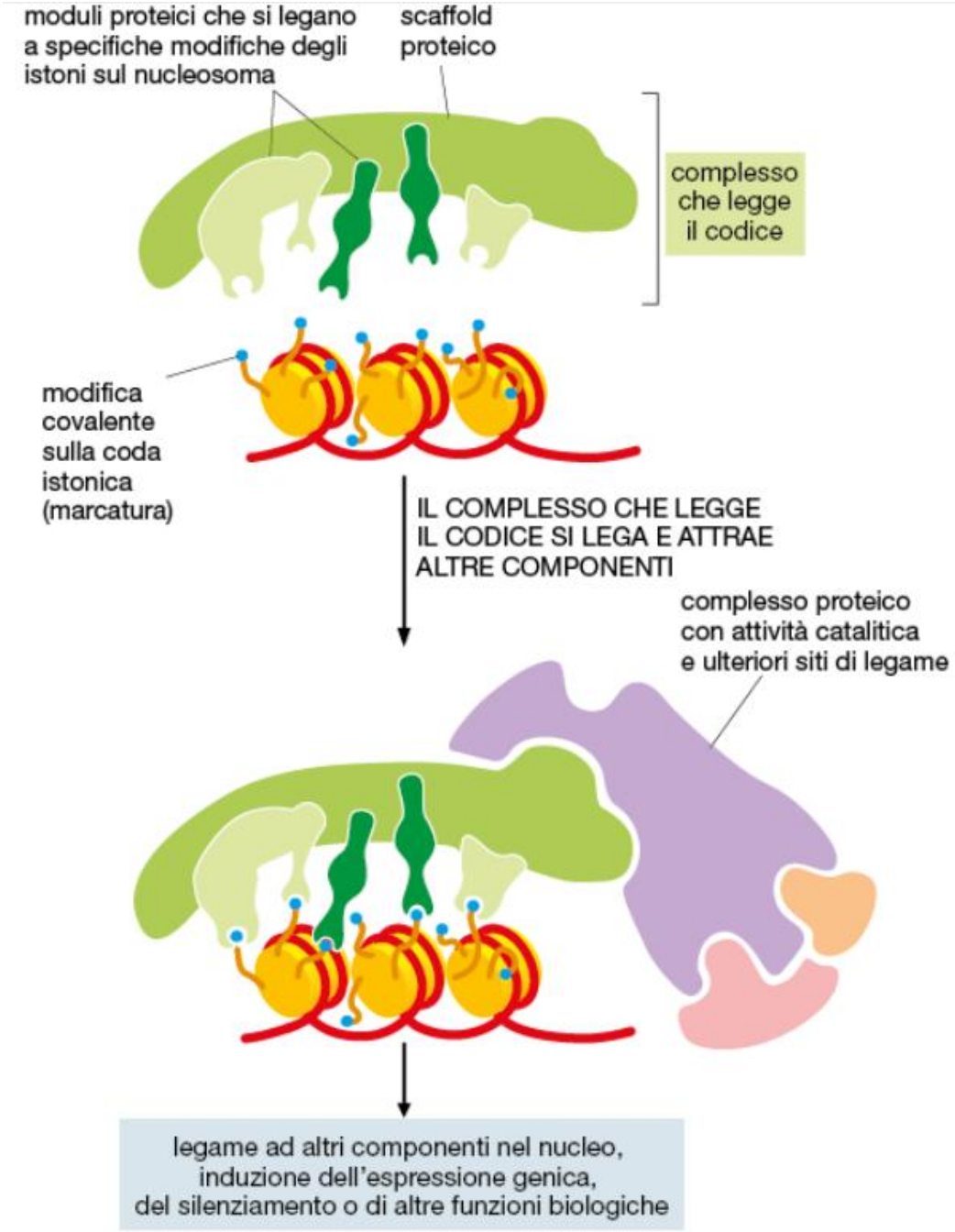
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Codice istonico

- La combinazione di modifiche su un nucleosoma genera un **“codice istonico”**.

- Questo codice viene **letto da proteine effettori**, che traducono le modifiche in:
  - Attivazione genica
  - Repressione genica
  - Riparazione DNA
  - Ricombinazione cromosomica
- Diversi schemi di modifiche = **diversi stati funzionali della cromatina**.

Modifica istonica	Tipo di cromatina a cui è associata	Espressione genica	Abbondanza (%)
H3K4me3	Cromatina aperta, altamente accessibile	Accesa	1
H3K9ac	Cromatina aperta, altamente accessibile	Accesa	1
H3K9me3	Eterocromatina (costitutiva o facoltativa)	Spenta	25
H3K27me3	Eterocromatina facoltativa	Spenta	13



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

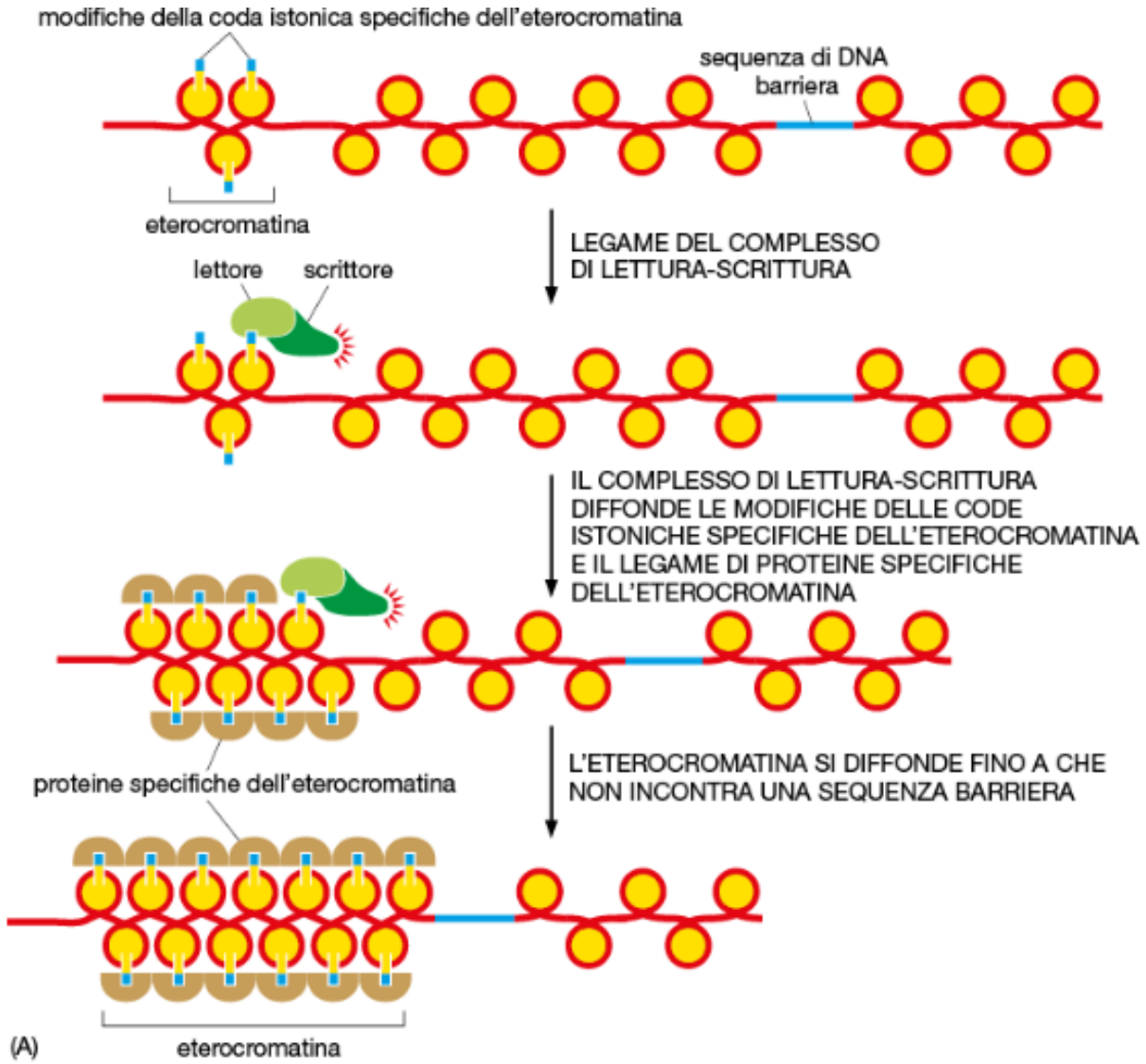
Complessi Lettura e Scrittura del Codice

- Le modifiche istoniche possono **diffondersi lungo il DNA** tramite complessi proteici
- **(Fenomeno di Variegatura da Effetto di Posizione)**:

  1. Una proteina **scrittore** (es. metiltransferasi) modifica un istone.
  2. Una proteina **lettore** riconosce la modifica e si lega al nucleosoma.
  3. Il lettore **attiva allostericamente** lo scrittore, che modifica il nucleosoma adiacente.

- **Reclutati inizialmente da proteine regolatrici** della trascrizione. Possono generare:
  - **Onde di condensazione** → diffusione dell'eterocromatina (silenziante).
  - **Oppure modifiche di tipo attivante** in regioni trascrizionalmente attive.

- Il processo può coinvolgere anche:
  - **Complessi di rimodellamento ATP-dipendenti**
  - Più lettori, scrittori e cancellatori nello stesso complesso.



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Complessi Lettura e Cancellazione del Codice

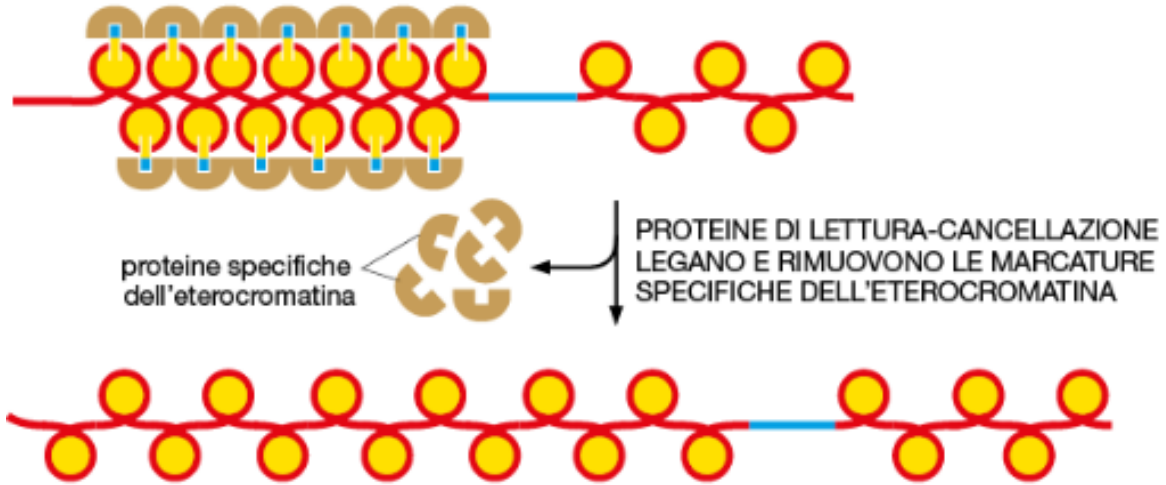
Oltre ai complessi lettura-scrittura, esistono complessi che **rimuovono modifiche**. Meccanismo:

1. Una proteina **lettore** riconosce la marcatura.

2. Recluta un **cancellatore** (es. deacetilasi o demetilasi).

3. Si innesca un ciclo che **elimina la modifica** da nucleosoma a nucleosoma.

- **Risultato: ritorno a cromatina più accessibile** o riorganizzazione locale.



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Due classi Principali di Eterocromatina

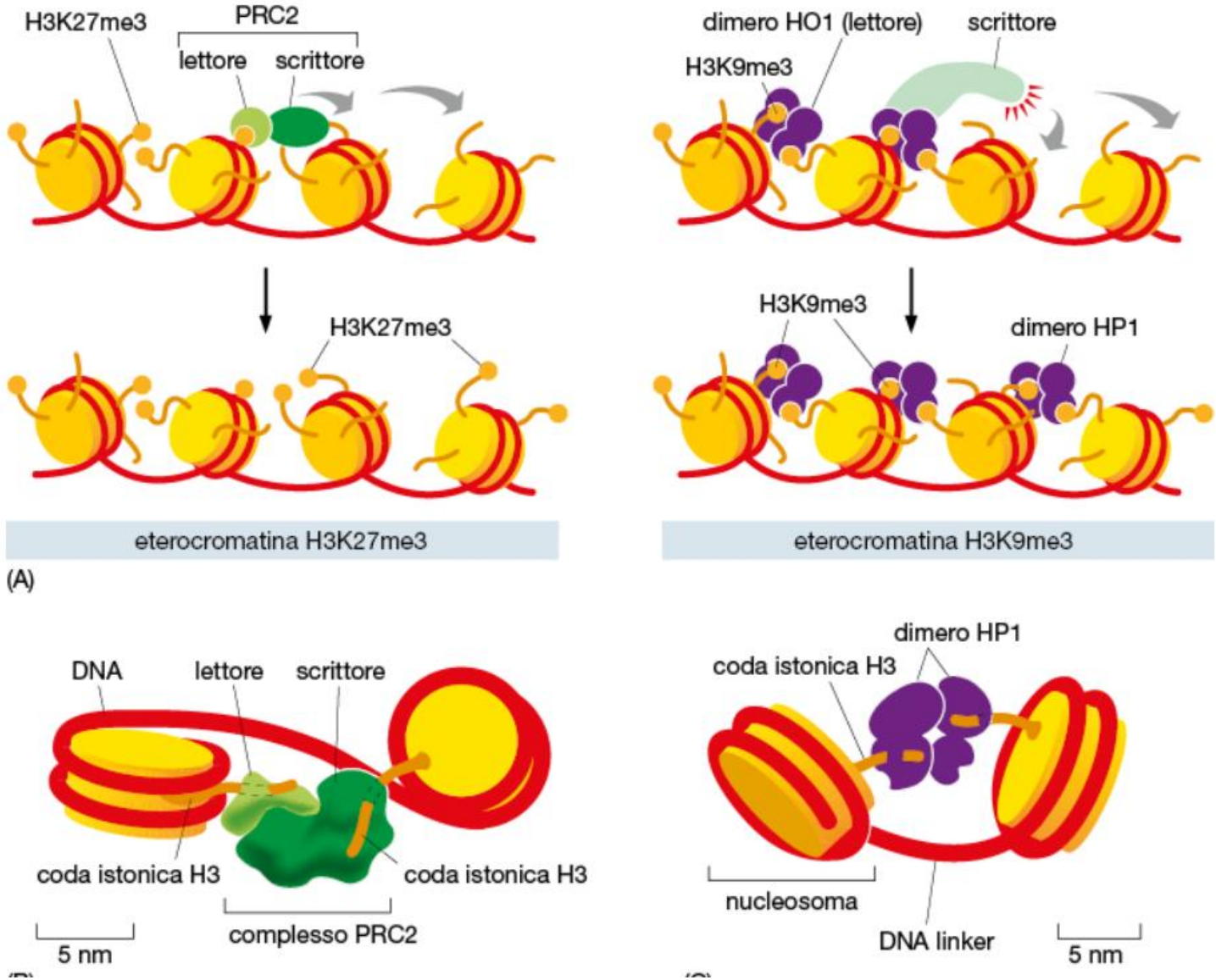
H3K27me3 (eterocromatina facoltativa):

- Generata dal **complesso Polycomb (PRC)**
- **PRC1** crea la marcatura, **PRC2** la diffonde
- Ruolo: **repressione genica regolabile** (es. geni sviluppo embrionale).

H3K9me3 (eterocromatina costitutiva, ma in parte reversibile):

- Recluta la proteina **HP1**
- Forma **dimeri**, ognuno con due siti di legame H3K9me3.
- **Ponte tra nucleosomi adiacenti**, facilitando il compattamento.

- **Struttura del centromero**
- **Silenziamento di elementi ripetitivi** e "DNA egoista"
- Prevenzione di ricombinazioni indesiderate.



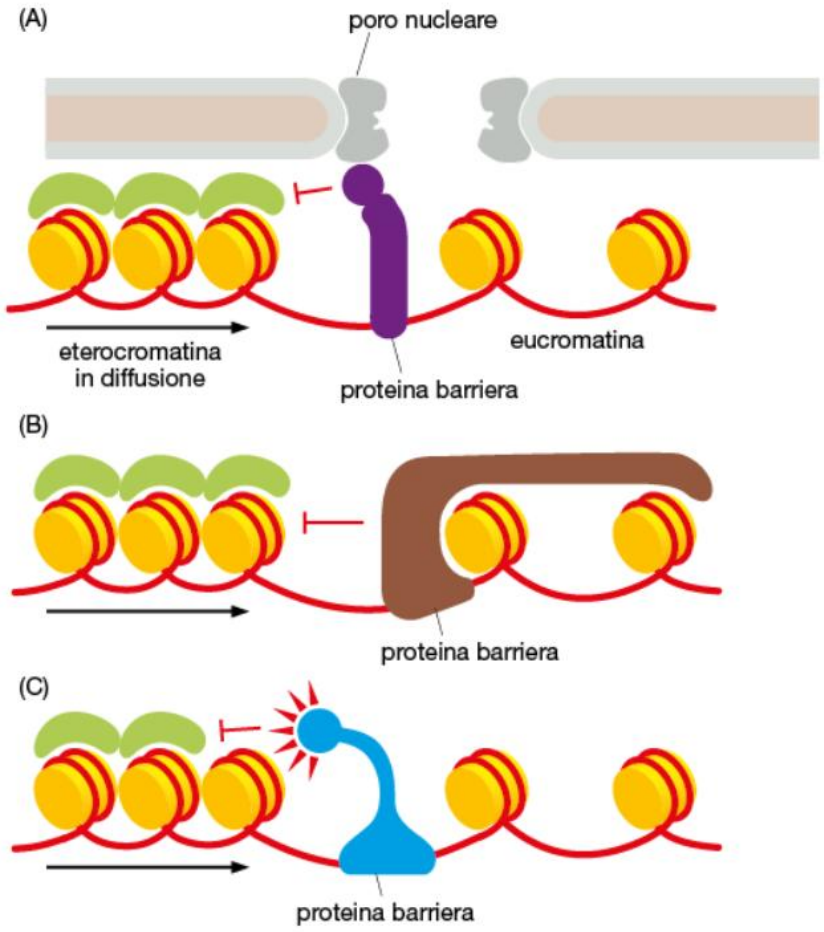
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Barriere Cromatiniche

- Problema: i complessi **lettura-scrittura** possono diffondere modifiche lungo l'intero DNA.
- Rischio: **confusione tra domini cromatinici adiacenti** (eterocromatina ↔ eucromatina).
- Soluzione: esistenza di **barriere DNA-proteine** che separano i domini.

Meccanismi. Barriere = sequenze di DNA + proteine che vi si legano.

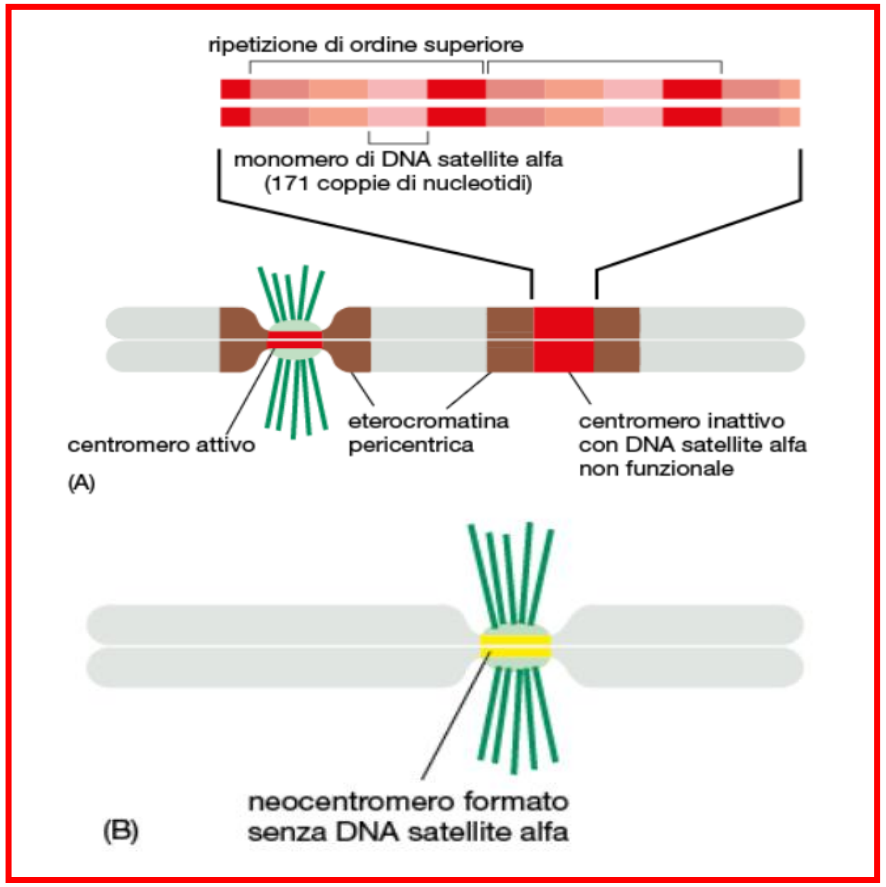
- **Ancoraggio fisico** della cromatina a strutture nucleari (es. poro nucleare).
- **Competizione sterica**: proteine barriera si legano ai nucleosomi e impediscono la diffusione.
- **Attività enzimatica locale**: reclutamento di HAT o demetilasi che:
  - Acetilano H3K9 → competono con H3K9me3 → impediscono legame HP1.
  - Cancellano modifiche tipiche dell'eterocromatina.



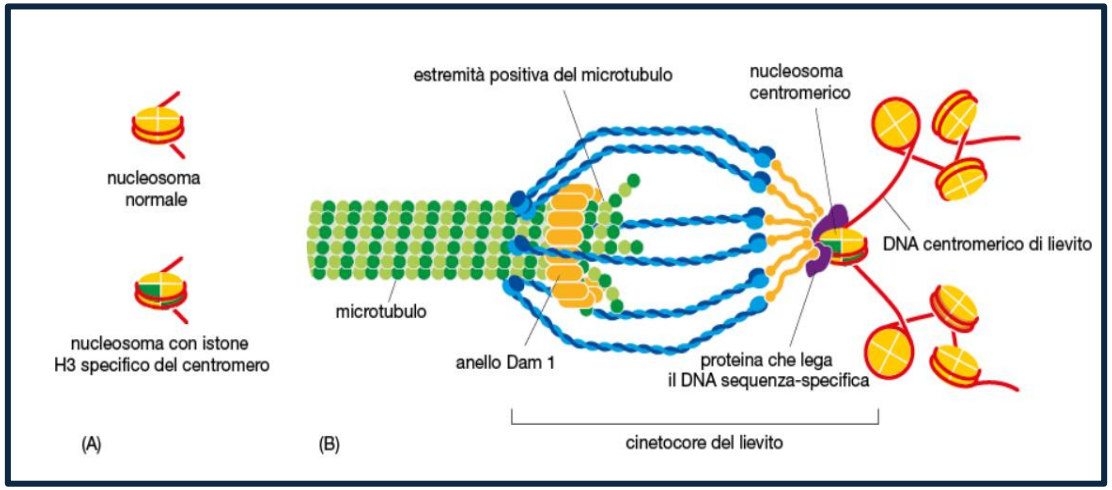
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

I Centromeri

- Regione essenziale (estesa per **milioni di** bp) per **l'attacco ordinato dei cromosomi al fuso mitotico** immersa in eterocromatina che permane anche in interfase (**eterocromatina costitutiva**).
- Contengono **DNA satellite alfa** (sequenze ripetute AT), che **non esclusive dei centromeri**; **e non sufficienti a definire il centromere** (Neocentromeri: possono formarsi spontaneamente in regioni eucromatiche prive di DNA satellite).
- Forma il **cinetocore**, struttura proteica per l'aggancio ai microtubule (legano **~20 microtubuli** per cromosoma).

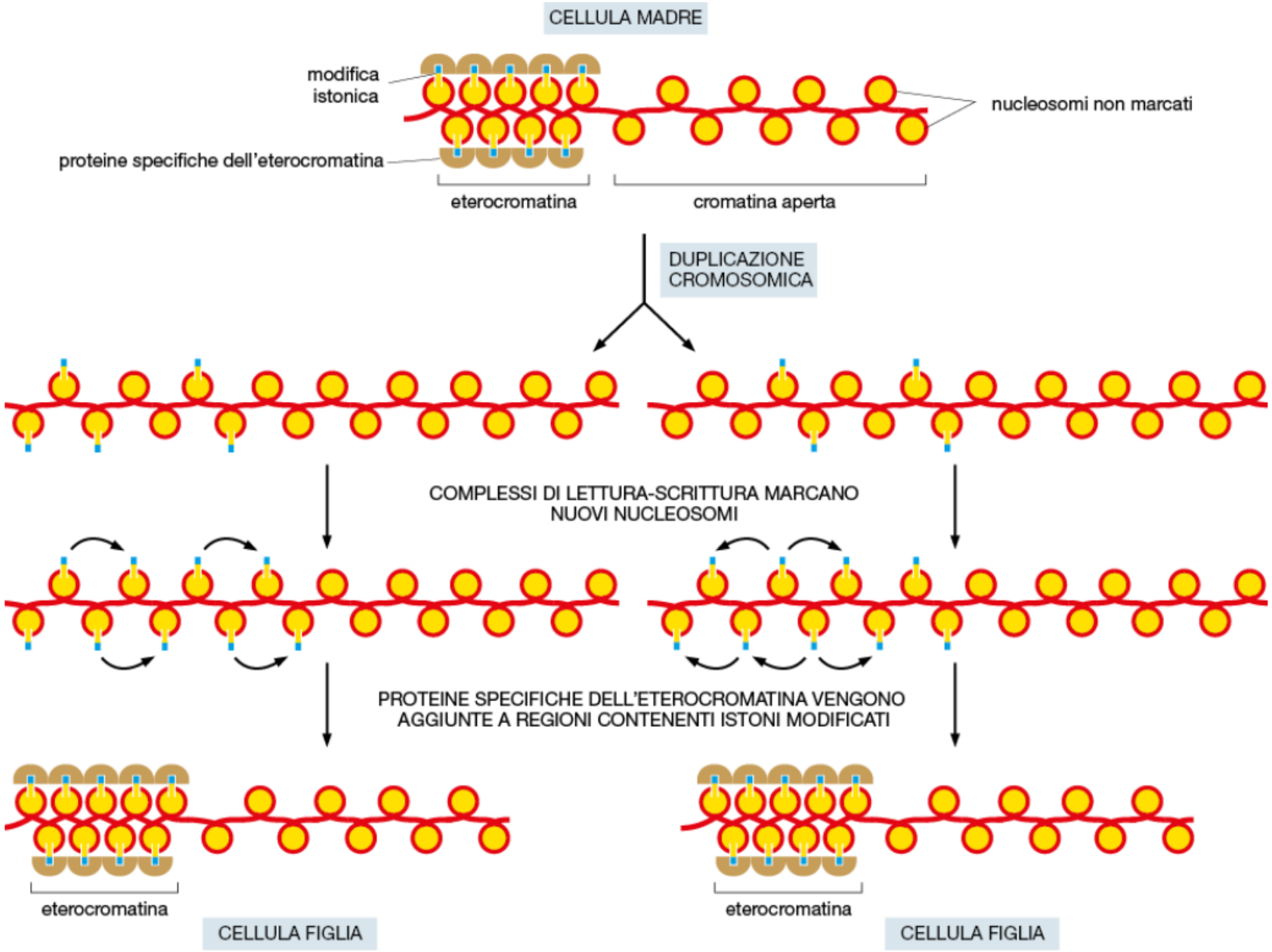


- Contengono una **variante specifica dell'istone H3**: **CENP-A**. I nucleosomi con CENP-A permettono il **reclutamento di proteine addizionali** → compattazione densa e **formazione del cinetocore**.
- Nei vertebrati complessi, **non è la sequenza di DNA** a definire il centromero, ma l'**epigenetica proteica (CENP-A e complessi associati)** che ne mantiene stabilità ed ereditarietà.



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

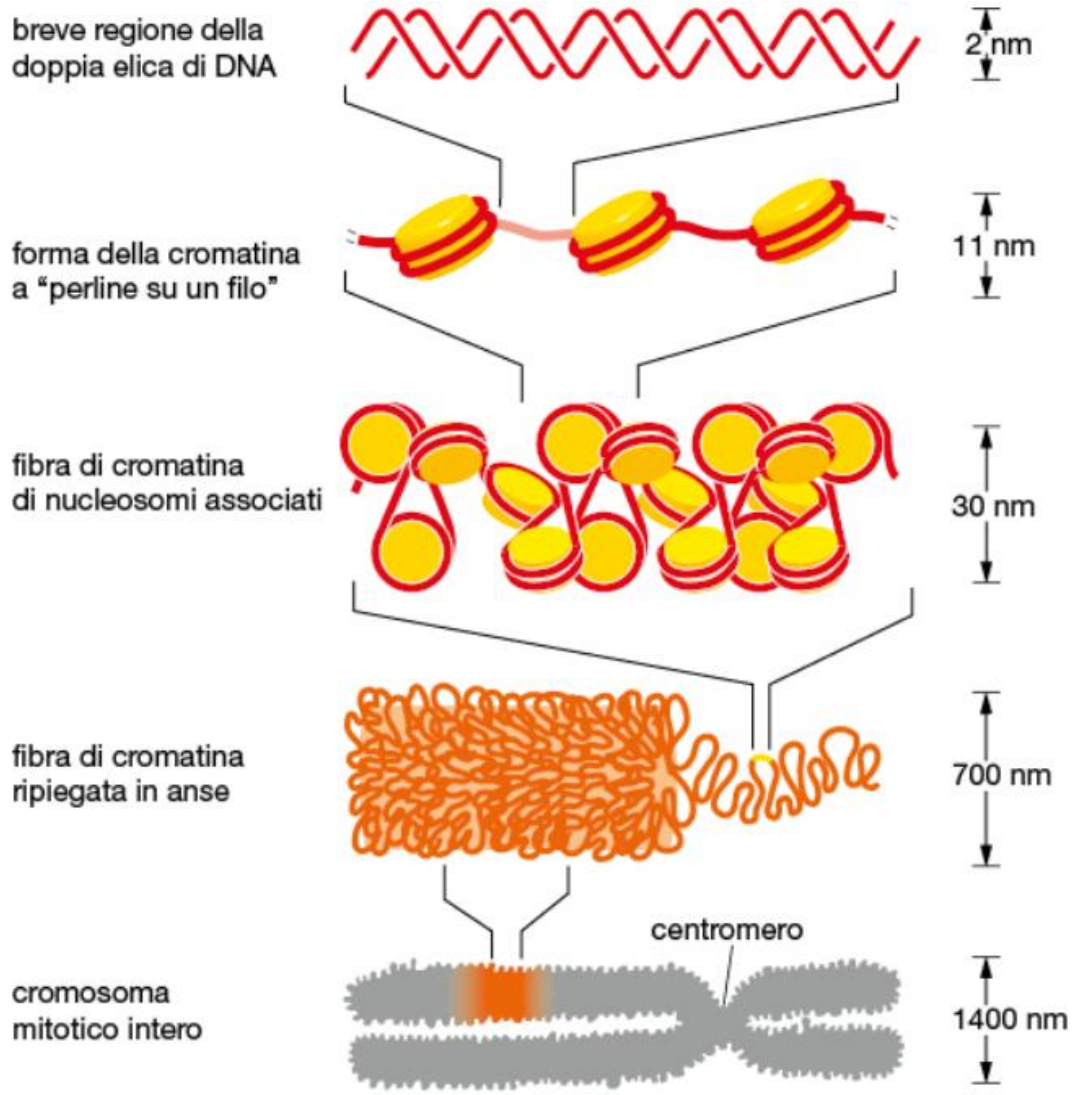
Alcune Forme di Cromatina Sono Ereditate Direttamente



B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Ulteriori Livello di Compattamento

- Dopo nucleosomi e cromatina, i cromosomi richiedono **ulteriori livelli di compattamento**.
- Un tipico cromosoma umano impaccato nei nucleosomi sarebbe abbastanza lungo da attraversare il nucleo **centinaia di volte**.
- È necessario un **compattamento di ordine superiore**:
  - Ripiegamento in **grandi anse di cromatina**
  - Processo catalizzato da complessi proteici **SMC** (Structural Maintenance of Chromosomes), tra cui **Coesine** e **Condensine**



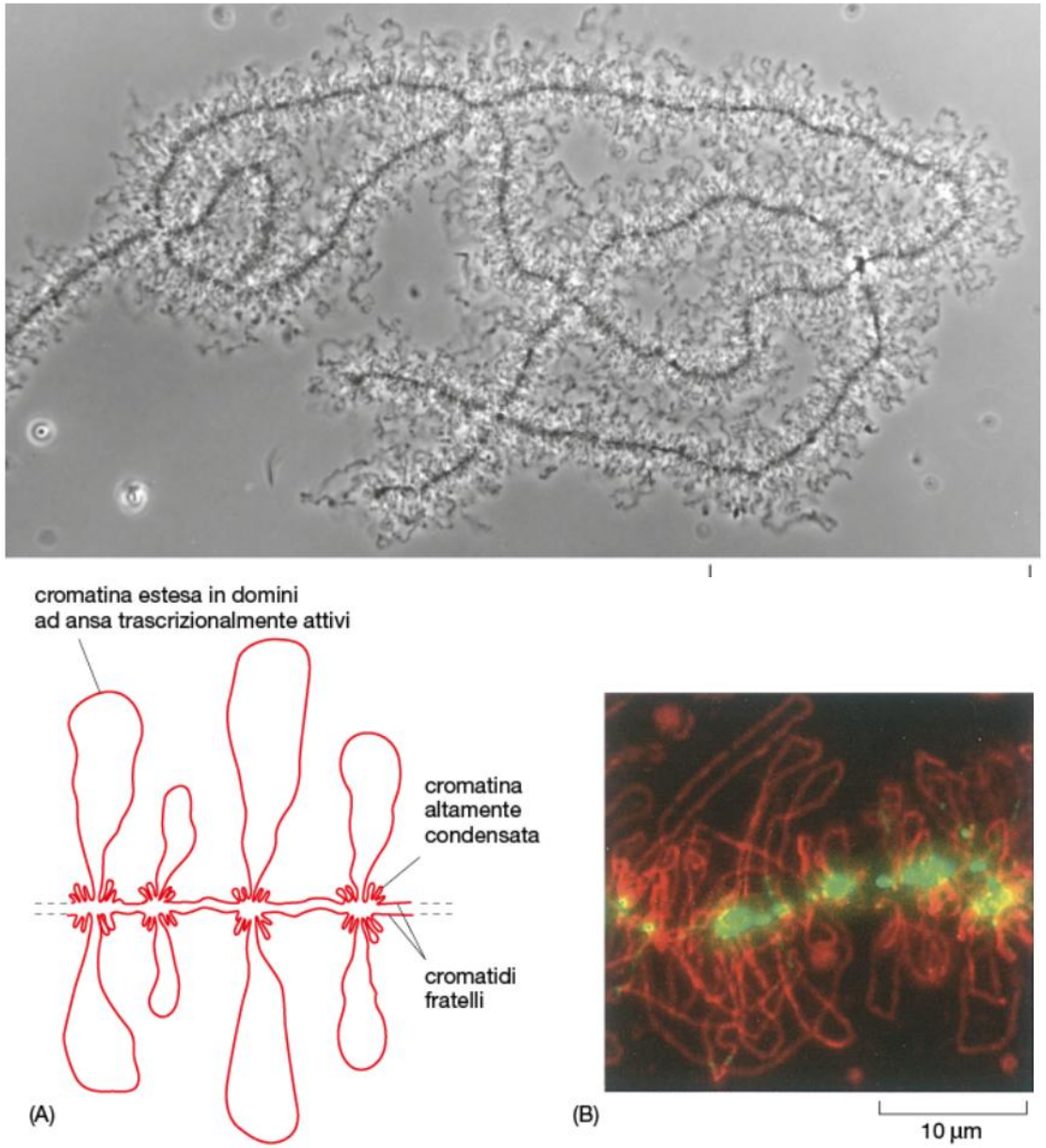
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Struttura Dinamica dei Cromosomi: Cromosomi a spazzola

- Struttura osservata in oociti di anfibi e in cromosomi meiotici di molti vertebrati.
- **Caratteristiche**:
  - Due **cromatidi fratelli** uniti lungo un asse centrale.
  - **DNA condensato** vicino all'asse → cromatina trascrizionalmente inerte.
  - **Anse di cromatina** altamente trascritte si estendono radialmente dall'asse.
- Le anse variano in lunghezza: da **decine a centinaia di migliaia di bp**.

- Le regioni in ansa sono **fortemente trascritte**:
  - RNA polimerasi distribuite ogni ~100 bp → trascrizione insolitamente intensa.
  - Le anse appaiono rigide ed estese proprio per l'attività trascrizionale elevata.

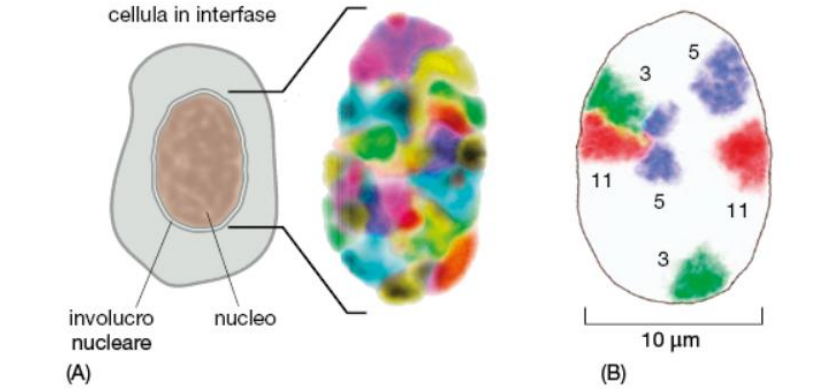
- La maggior parte del DNA rimane **condensata** all'asse, inattiva dal punto di vista trascrizionale.

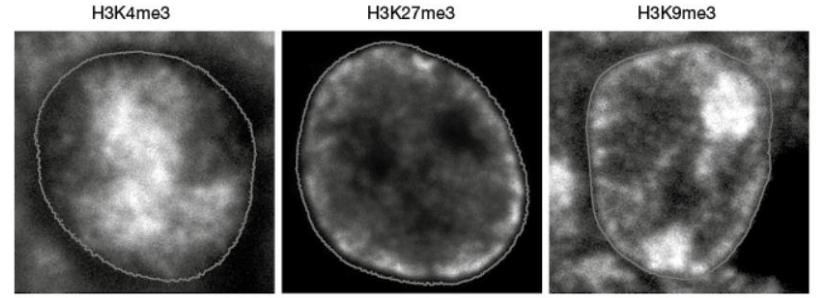


B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Cromosomi Interfasici dei Mammiferi e Territori Nucleari

- Nei mammiferi, durante l'interfase:
  - Ogni cromosoma occupa un **territorio distinto** nel nucleo → non sono aggrovigliati in massa casuale.
  - **Eterocromatina**: localizzata preferenzialmente alla periferia, associata all'involucro nucleare.
  - **Eucromatina attiva**: tende a espandersi nel nucleoplasma, lontano dall'involucro.
- L'organizzazione 3D della cromatina riflette lo stato funzionale dei geni. Le anse cromatiniche:
  - **Decondensano** → espressione genica.
  - **Condensano** → silenziamento.
- I cromosomi interfasici sono quindi:
  - **Dinamici**, in costante riorganizzazione.
  - **Modulari**, con territori ben distinti ma comunicanti con compartimenti nucleari.





H3K4me3 – Eucromatina;
H3K27m3 + H3K9m3 - Eterocromatina

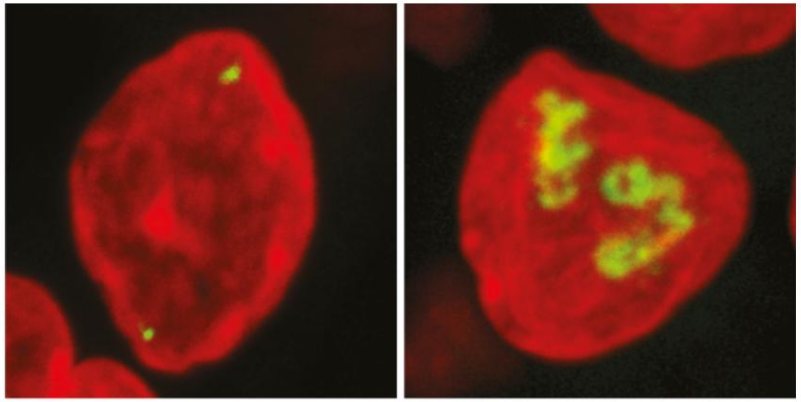


Figura 4.52 Un gene di grandi dimensioni forma un'ansa cromosomica molto estesa quando è altamente espresso in una cellula umana in interfase. Il gene della tireoglobulina codifica la proteina extracellulare

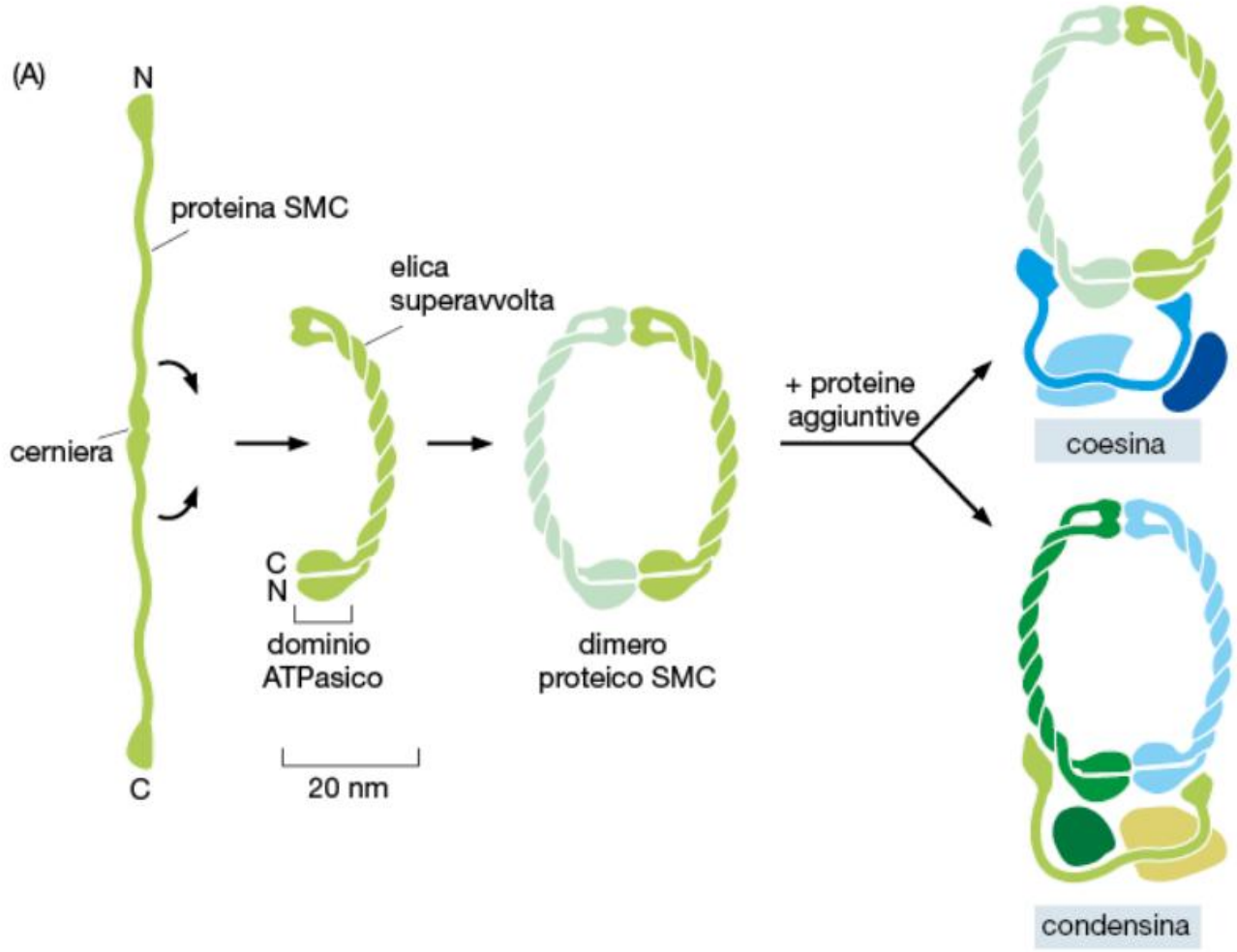
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Proteine SMC aiutano il Ripiegamento ad anse del DNA cromosomico

- **Ripiegamento in anse** del DNA mediato da **complessi SMC** (Structural Maintenance of Chromosomes).
- Struttura: grandi anelli proteici che circondano la doppia elica e la trattengono.

- Ogni SMC forma un **anello** con:
  - **Testa globulare ATPasica** (idrolisi ATP = energia per il movimento).
  - **Cerniera flessibile** all'estremità opposta.
  - Associati ad altre subunità → formano complessi funzionali

- **Coesina** (interfase, organizzazione delle anse).
- **Condensina** (mitosi, compattamento cromosomico).

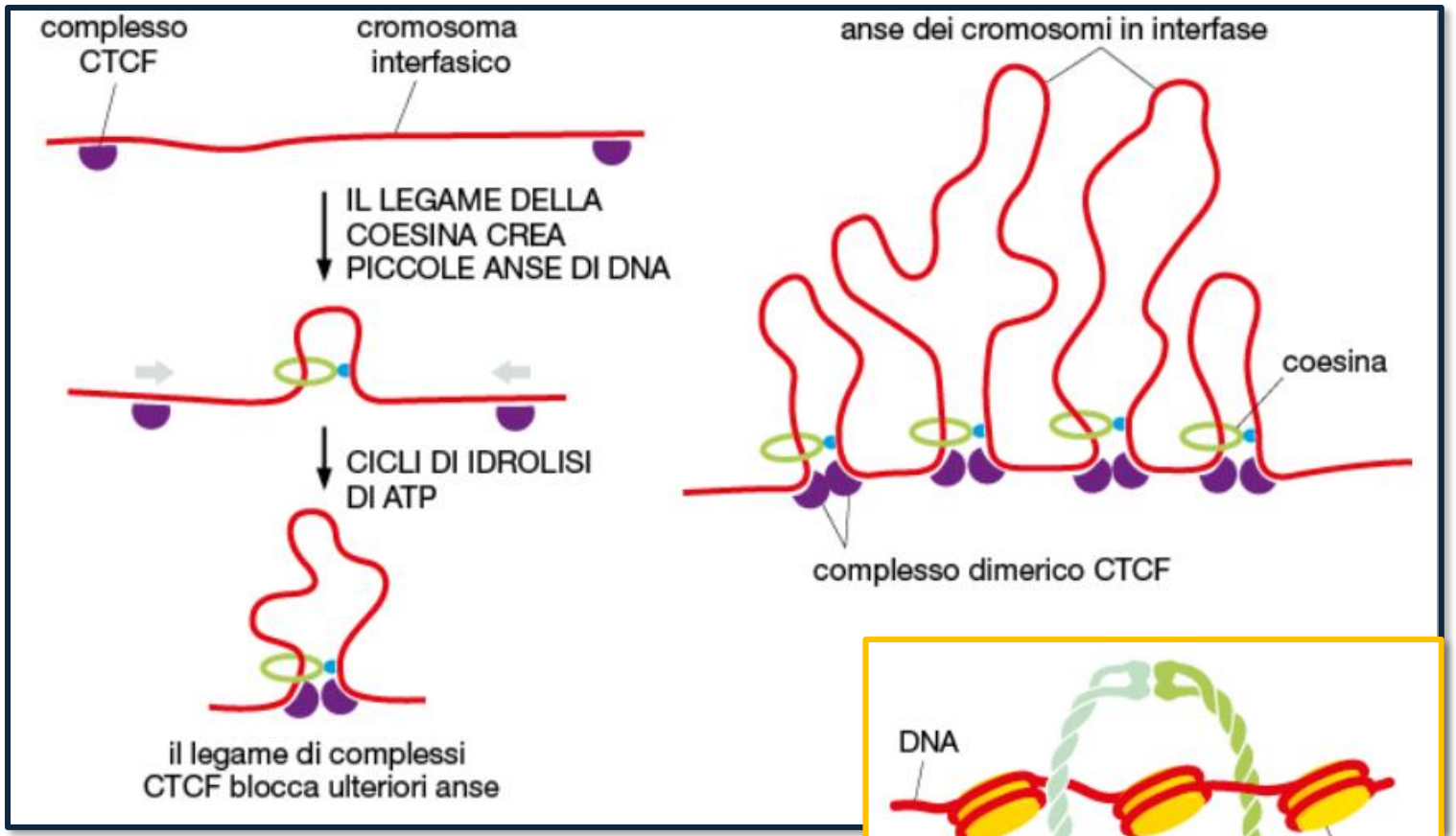


B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

Proteine SMC: Coesina

- **Coesina** durante l'interfase:
  - Caricata in vari punti lungo il cromosoma.
  - Allarga progressivamente le anse grazie all'ATP.
  - Si arresta su **siti barriera specifici** (proteina CTCF).

- **CTCF** = proteina sequenza-specifica che si lega al DNA.
  - Blocca l'avanzamento della coesina → definisce la base dell'ansa.
  - Forma **domini topologici (TADs)**, unità fondamentali dell'organizzazione cromosomica.
  - Agisce come barriera per impedire la diffusione di modifiche cromatiniche.



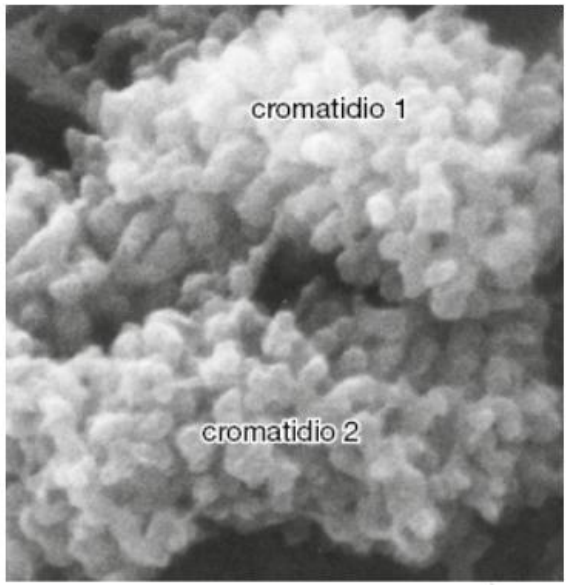
B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli

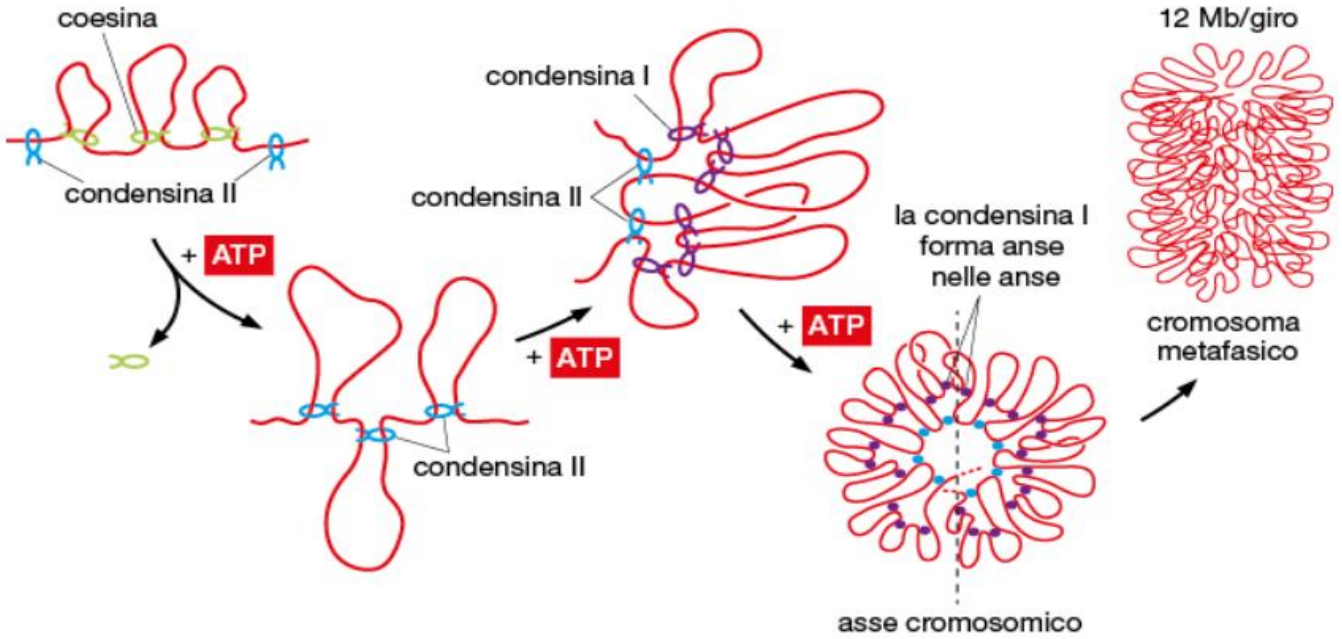
- Un cromosoma in interfase = sequenza di **domini ad ansa**. Può includere ulteriori **anse annidate** ("loop dentro loop")
- Le anse si formano in siti preferenziali. Ma le posizioni possono **fluttuare rapidamente**

Proteine SMC: Condensina

- In mitosi i cromosomi diventano visibili perché la cromatina si condensa **10x più dell'interfase**.
- Ogni cromosoma replicato = due **cromatidi fratelli** uniti al **centromero**.
- Struttura: anse di cromatina organizzate attorno a un **asse proteico centrale**

- In mitosi, le **coesine interfasiche** vengono sostituite da **condensine**:
  - **Condensina II**: inizia la formazione di grandi anse radiali.
  - **Condensina I**: inserisce ulteriori anse all'interno delle prime → organizzazione "**loop-nelle-loop**".
- **Topoisomerasi II** collabora con le condensine per sciogliere e riannodare i filamenti, garantendo compattamento e separazione.





B. Alberts et al., Biologia molecolare della cellula, 7e - Zanichelli