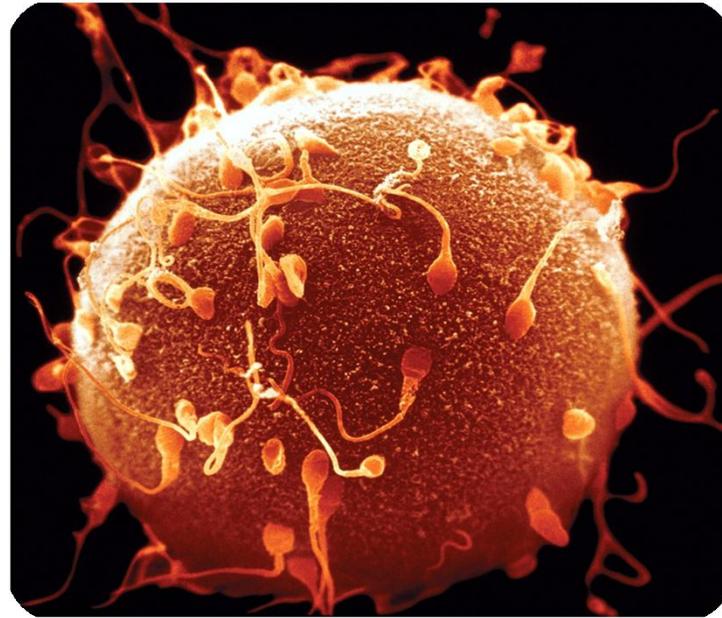


## *LEZIONE II*

- *Riproduzione umana*
- *Mutazioni del DNA*
- *Meccanismi di riparo*

# MECCANISMI DELLA RIPRODUZIONE UMANA



# Forma e sostanza



*Di pari passo con lo sviluppo delle conoscenze genetiche sono andati avanti gli studi sulla procreazione.*

**Aristotele** (384-322 AC). Il ***De generatione animalium*** si occupa del modo in cui gli animali si riproducono. In quest'opera la generazione viene interpretata come **trasmissione della forma** (di cui è portatore il seme maschile) **alla materia** (rappresentata dal sangue mestruale femminile) cioè alla **sostanza** dalla quale si formano i tessuti e gli organi dell'embrione

# Dottrina dei due semi



**Claudio Galeno** (130-200 DC): la femmina elabora il proprio seme nei testicoli femminili; attraverso gli ovidotti il seme giunge all'**utero**, dove avviene la **commistione dei due semi**.

# Teoria dell'aura seminale

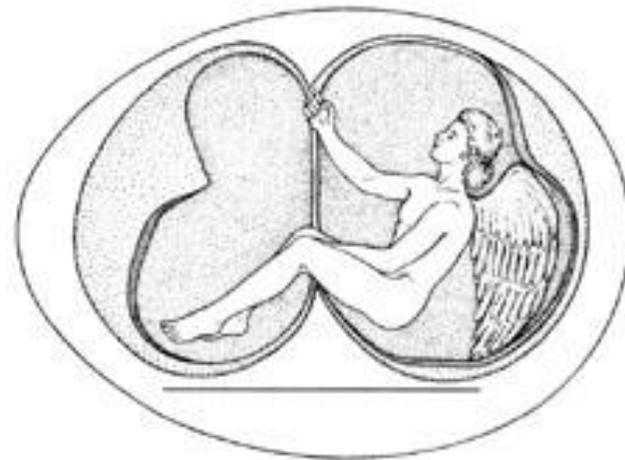
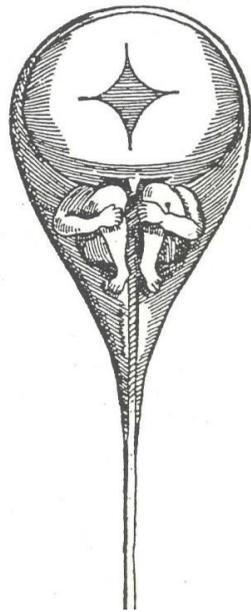


William Harvey (1578-1657)

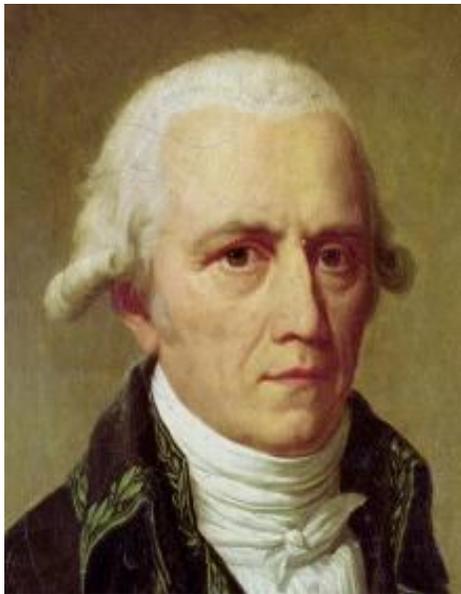
- *"tutti gli animali si producono in qualche maniera dalle **uova**...Gli uni e gli altri animali (ovipari o vivipari) traggono origine da un uovo o almeno **da qualcosa che per analogia si definisce tale**"*
- ***Uovo euterio**, entità biologica prodotta dalla femmina capace di svilupparsi per effetto del rapporto sessuale fecondante*
- *La creazione di un nuovo organismo avviene sotto l'influenza del seme maschile (**aura seminale**) e **non coinvolge necessariamente il trasferimento di materiale***

# Teoria del preformismo

- l'**homunculus** di *Nicolaus Harsoeker* (1694)
- l'**ovismo** di *Albrech von Haller* (1708-1777) e *Charles Bonnet* (1720-1793)



# Teoria della “pangenesi”

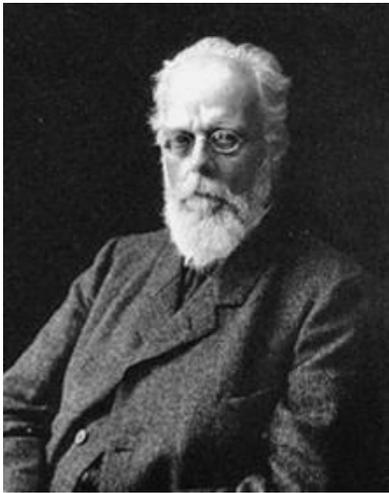


## *Jean Baptiste de Lamarck (1744-1829)*

Il circolo sanguigno trasporta negli organi della riproduzione, e di qui ai gameti, copie molto piccole e invisibili (**gemmule**) di ogni organo e componente dell'organismo. Le cellule germinali dei genitori riceverebbero da tutto (dal greco “pan”) l'organismo le gemmule, che una volta confluite, contribuirebbero, nella genesi della prole, alla trasmissione ereditaria dei caratteri acquisiti durante la vita dall'organismo.

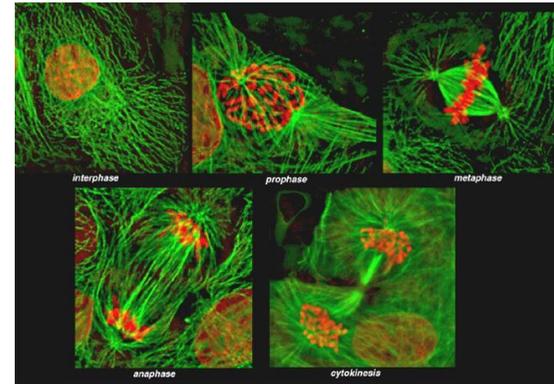
# Teoria del “plasma seminale”

*August Weismann (1834-1914)*



Gli organismi pluricellulari danno origine a due tipi di tessuto

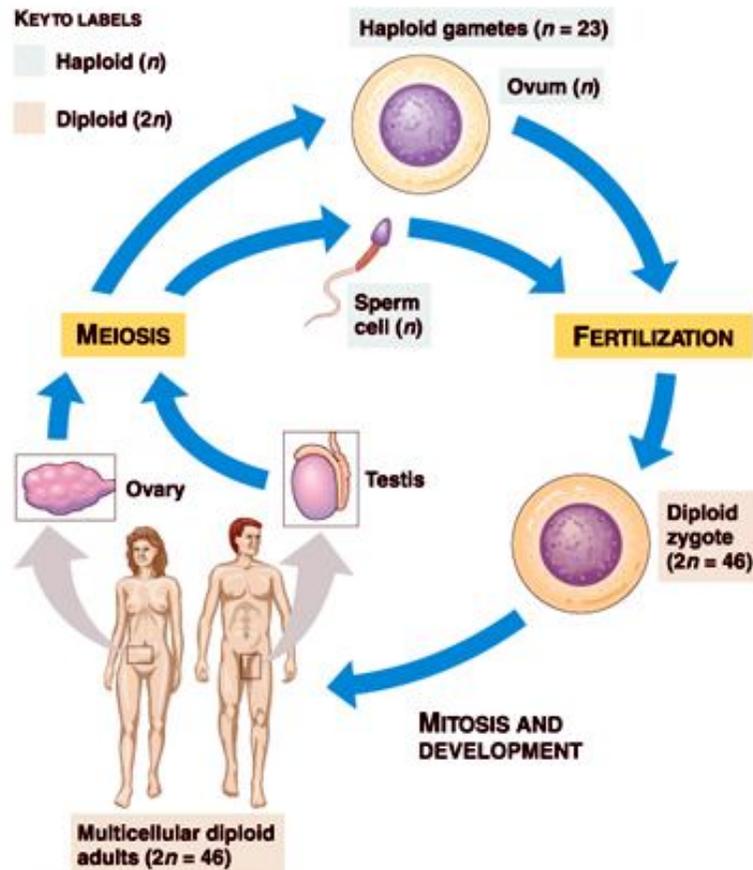
- il **plasma somatico** o somatoplasma (*tessuti essenziali per il funzionamento dell'organismo*)
- il **plasma germinale** (*essenziale per le funzioni riproduttive*).



# Le conoscenze attuali

- Il ciclo cellulare*
- La mitosi*
- La meiosi*
- La gametogenesi maschile*
- La gametogenesi femminile*

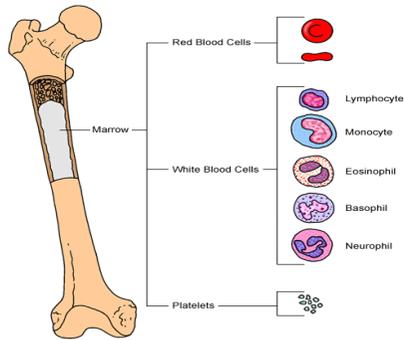
# Il ciclo vitale



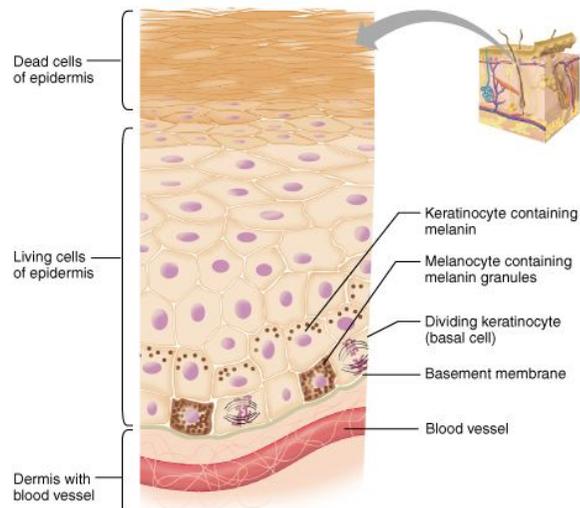
©1999 Addison Wesley Longman, Inc.

- Un organismo multicellulare comincia la sua vita come una **cellula singola**
- **ripetute divisioni** cellulari producono le innumerevoli cellule del suo corpo
- alcune cellule negli organi riproduttivi si dividono e formano **cellule riproduttive** che danno origine alla generazione successiva

# Cellule che normalmente si dividono



*per rimpiazzare quelle  
che muoiono per usura  
(sangue, rivestimento  
del tubo digerente,  
pelle)*



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

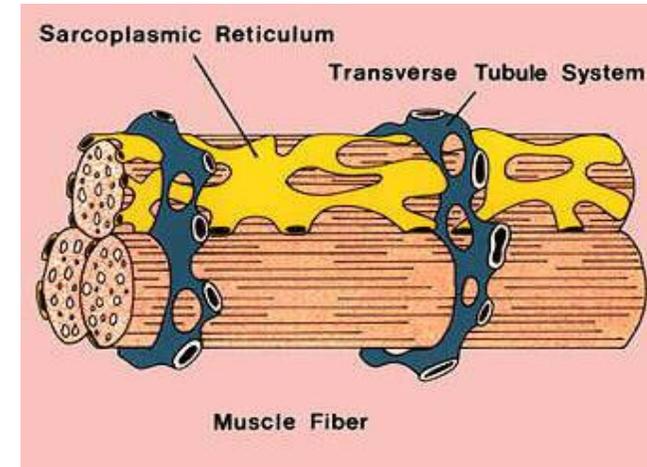
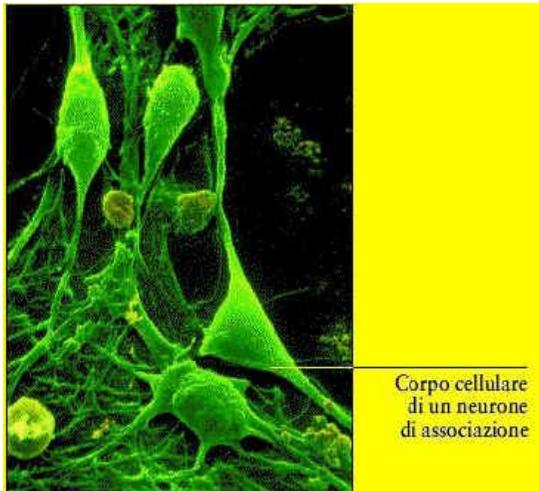
# Cellule che si dividono dopo stimolo



Cellule che si dividono solo a seguito di **stimoli particolari** come la richiesta di nuove cellule in seguito a traumi (**la maggior parte delle cellule**)



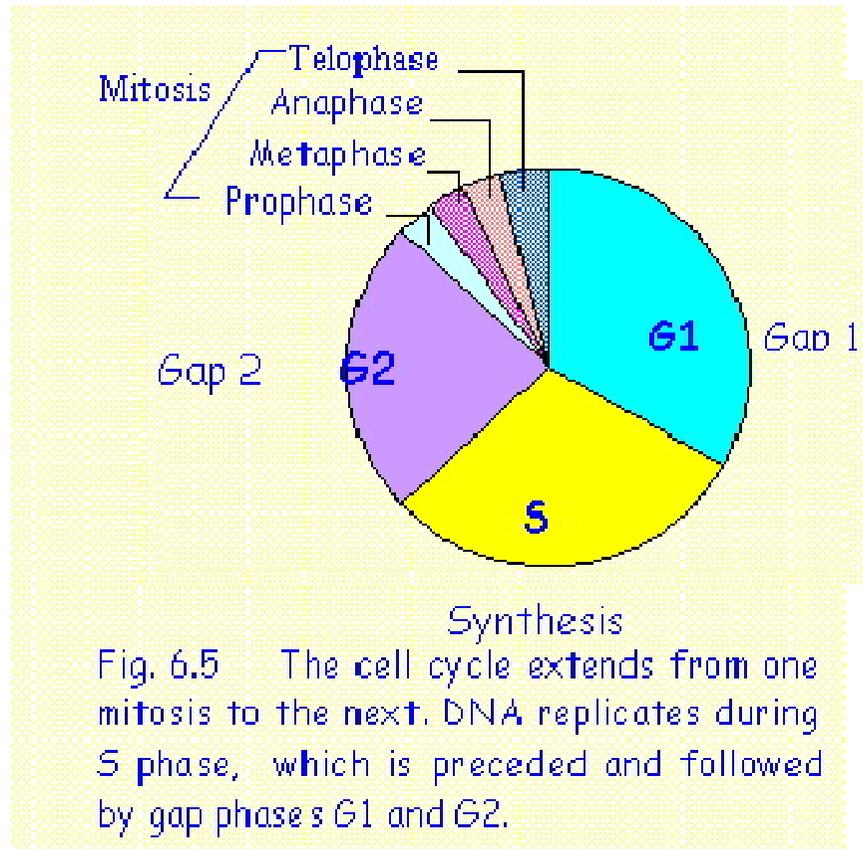
# Cellule che non si dividono



Cellule che non si dividono più dopo la fase dello sviluppo e dell'accrescimento (**cellule nervose, cellule muscolari striate, globuli rossi**)

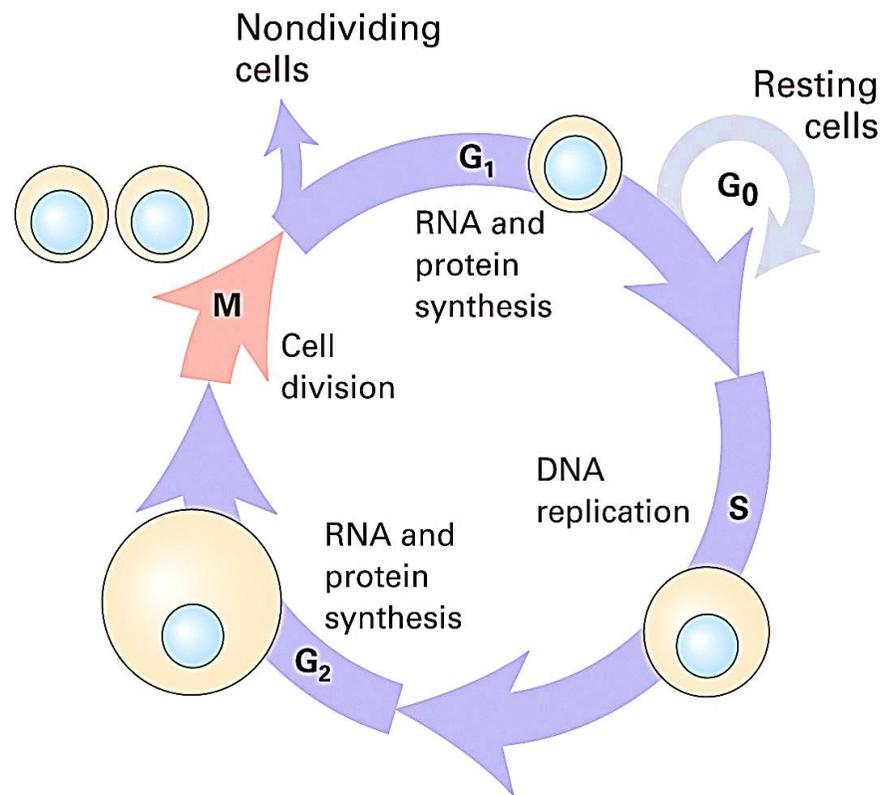


# Ciclo cellulare



Le cellule che possono dividersi hanno un tipico ciclico vitale detto **ciclo cellulare** che dura da quando una cellula si forma fino a che non si divide a sua volta (**da una mitosi alla successiva**)

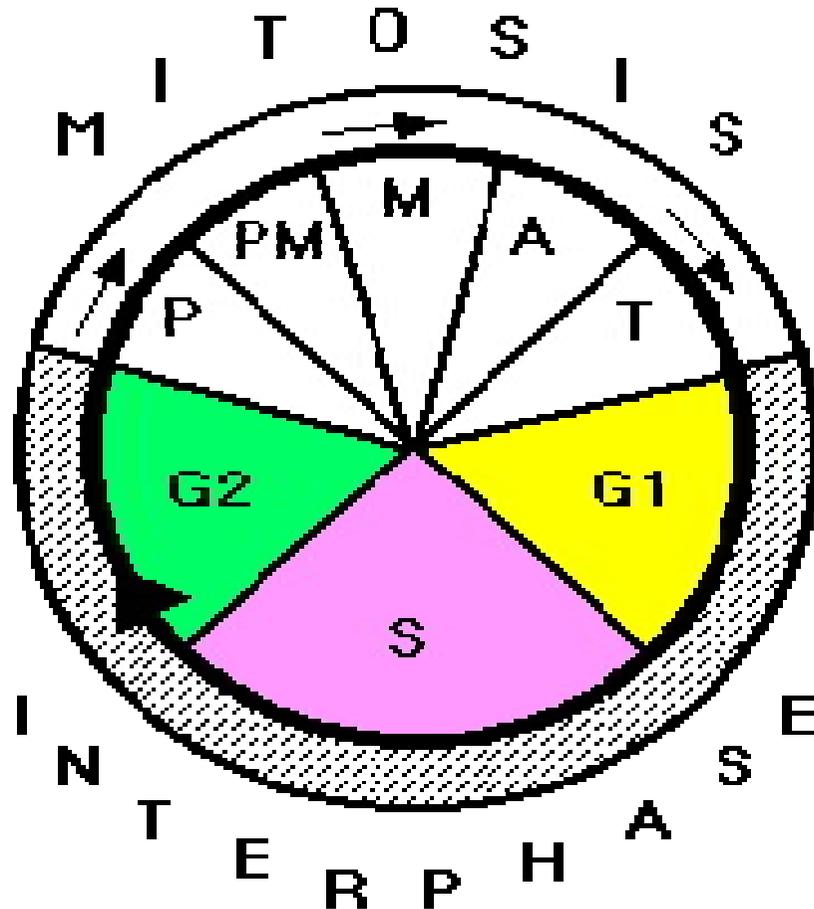
# Fasi del ciclo cellulare



Il ciclo cellulare ha **4 fasi** distinte:

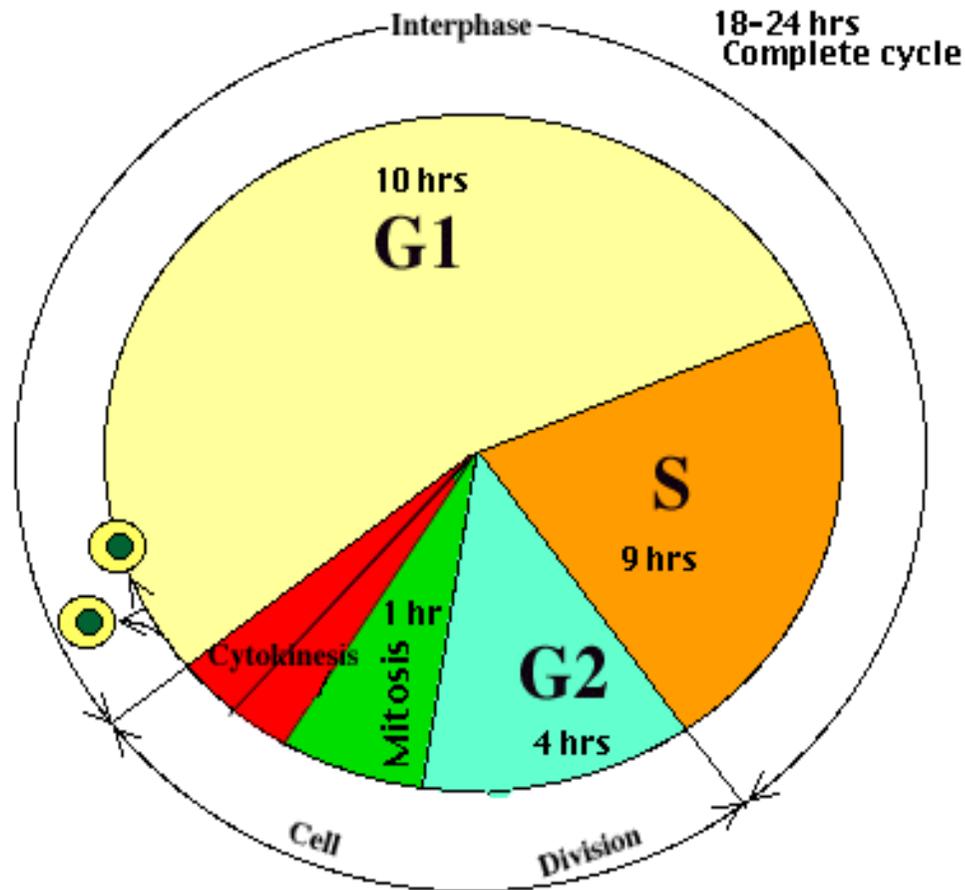
1. **G<sub>1</sub>** (= Gap): vengono sintetizzati gli enzimi necessari alla duplicazione del DNA; la cellula raddoppia la sua taglia ed il numero degli organuli)
2. **S** (= synthesis) viene duplicato l'intero genoma
3. **G<sub>2</sub>** (inizia la condensazione dei cromosomi e continua la sintesi di proteine)
4. **M** (la cellula si divide formando due cellule figlie)

# Interfase e mitosi



- Durante il periodo di **mitosi**, il nucleo ed il citoplasma si dividono e formano due nuove cellule
- il resto del ciclo cellulare, conosciuto come **interfase**, è suddiviso nei rimanenti 3 periodi

# Durata del ciclo cellulare



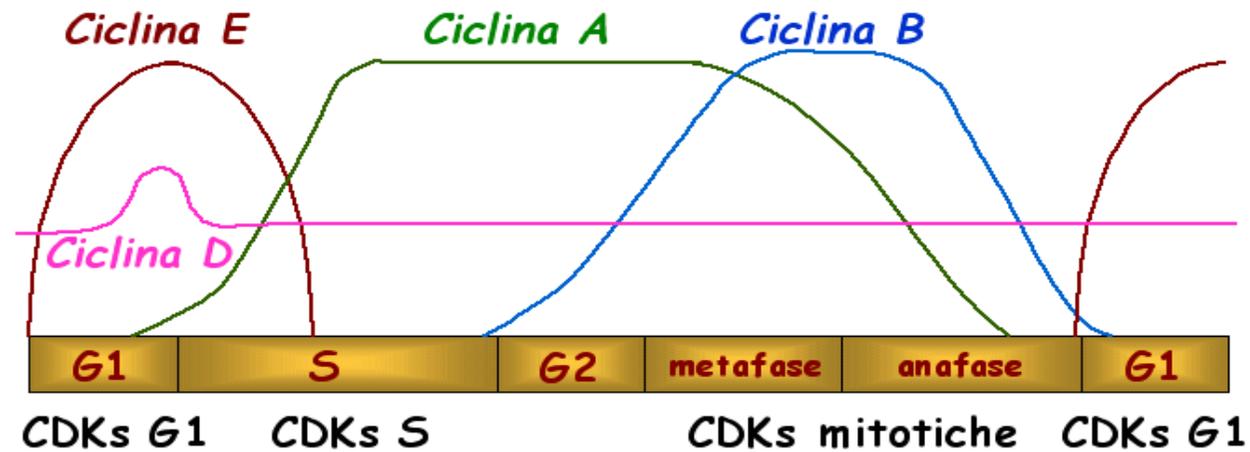
La durata del ciclo cellulare è variabile e dipende dalla **lunghezza della fase G1**.

La fase G1 può durare ore, giorni o settimane o più a lungo in funzione del tipo cellulare (le cellule embrionali si dividono più rapidamente).

Quando la fase G1 si protrae a lungo, si parla di **G0**, una fase stazionaria di attesa.

L'ingresso da G0 a G1 e da G1 a S richiede la presenza di messaggi ambientali chiamati **mitogeni o fattori di crescita**.

# Controllo del ciclo cellulare

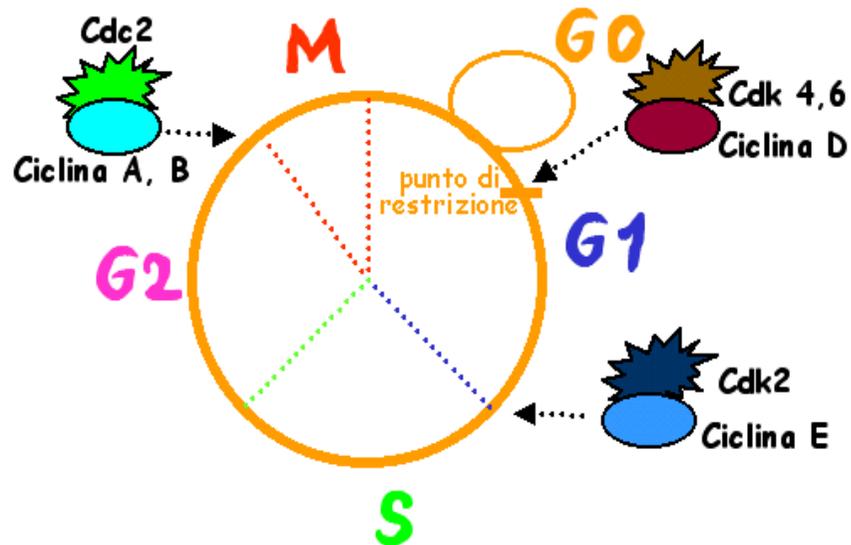


La capacità di una cellula di scattare dal  $G_1$  alla fase S dipende dall'avere:

1. Sufficienti **nutrienti**
2. Giusta combinazione di **fattori di crescita**

Queste condizioni controllano l'accumulo di una proteina: la **ciclina**

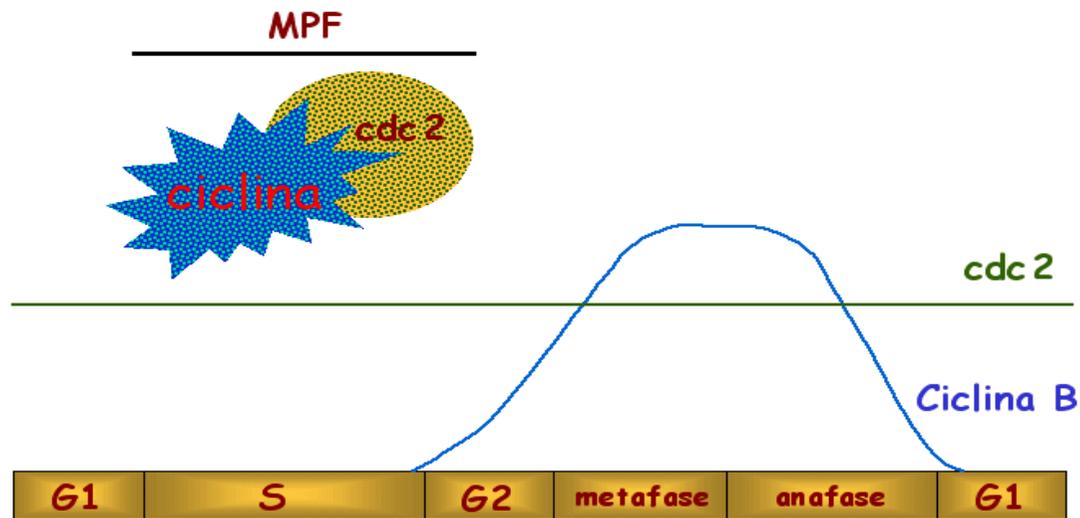
# Ciclina



La ciclina si combina con l'enzima **chinasi ciclina-dipendente**: questo legame consente il passaggio da G<sub>0</sub> a G<sub>1</sub>, da G<sub>1</sub> a S o da G<sub>2</sub> a M attivando delle proteine tramite **fosforilazione**.

Dalla fase G<sub>2</sub> ad M si attivano proteine che sono responsabili della spiralizzazione dei cromosomi, della formazione del fuso mitotico e del dissolvimento della membrana nucleare.

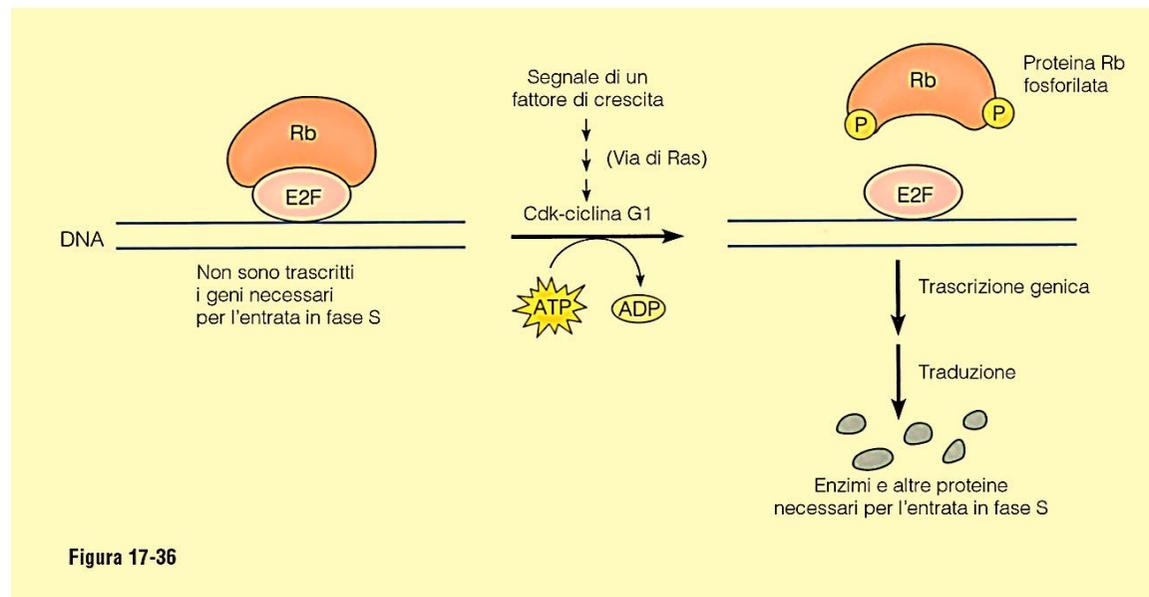
# La fine del ciclo cellulare



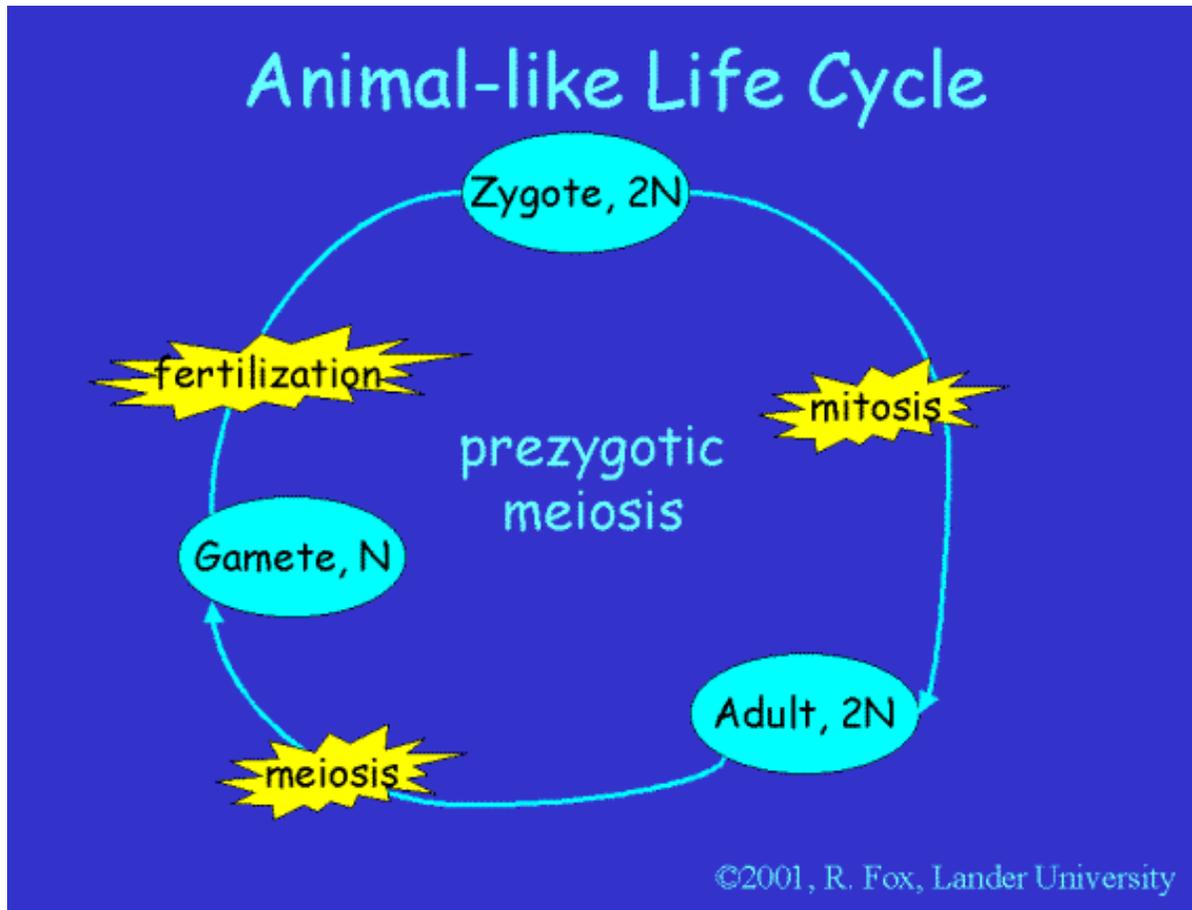
L'ultima chinasi attiva anche degli **enzimi che distruggono la ciclina**, perciò lo stesso complesso chinasi, facendo terminare la mitosi

# Controlli negativi del ciclo

Il ciclo cellulare è controllato da **segnali positivi**, cioè attivazione di geni, produzione di cicline, ecc...Ma esistono anche dei **controlli negativi** della progressione nel ciclo, che devono essere rimossi. Un esempio è la **proteina del retinoblastoma** (Rb), che in G<sub>0</sub> è associata al fattore trascrizionale **E2F**, inattivandolo. Nella transizione G<sub>1</sub>-S, le Cdk fosforilano Rb, che di conseguenza si stacca da E2F attivandolo e permettendogli di funzionare come fattore trascrizionale.



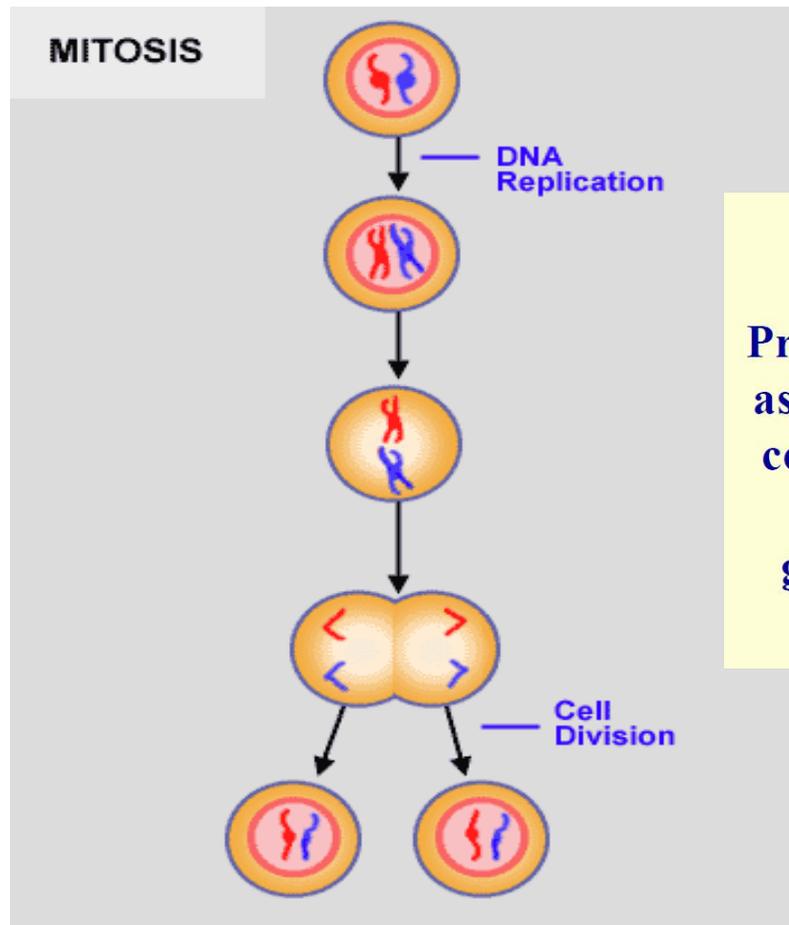
# Tipologie di divisioni cellulari



❑ **Mitosi:** interessa sia le cellule somatiche che quelle germinali

❑ **Meiosi:** riguarda solo le cellule germinali

# Mitosi



## MITOSI (Flemming, 1882)

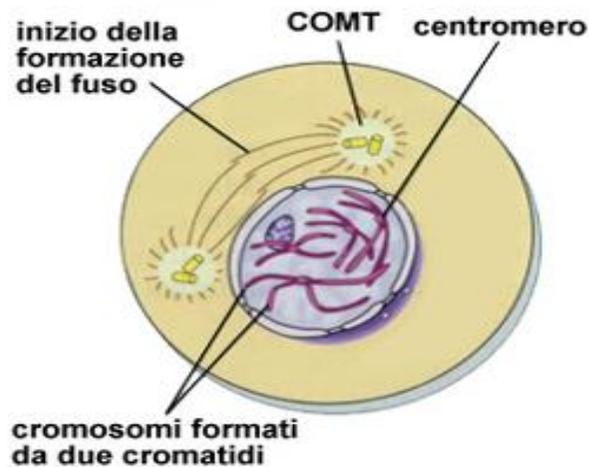
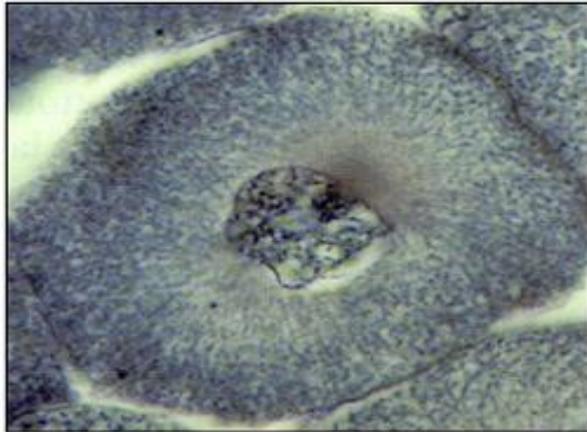
Processo cellulare mediante il quale è assicurata la precisa distribuzione di copie esatte del materiale genetico a due cellule figlie che risultano geneticamente identiche tra loro e rispetto alla cellula madre

# Fasi della mitosi

La mitosi è un processo continuo, ma, per semplicità, suddiviso in **cinque tappe** (a secondo dell'aspetto dei cromosomi al MO):

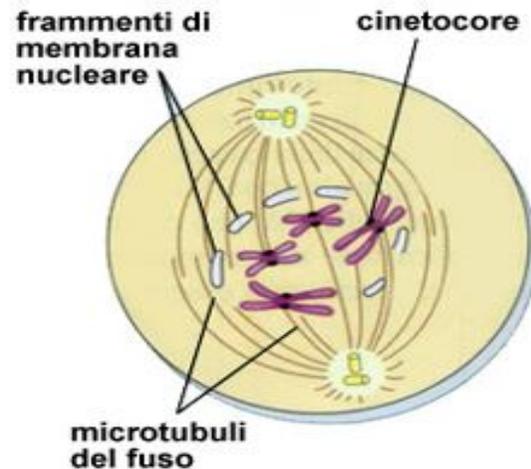
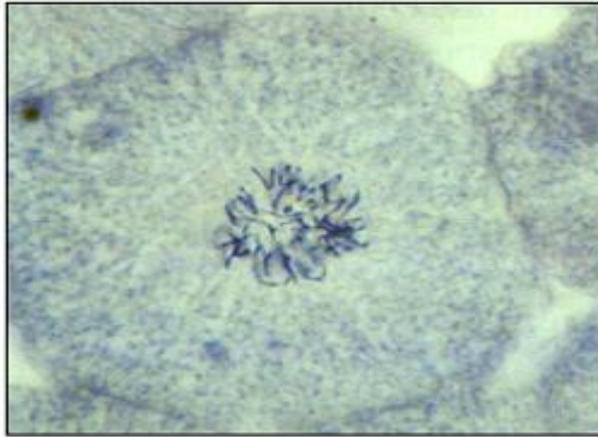
- Profase
- Prometafase
- Metafase
- Anafase
- Telofase e citodieresi

# Profase



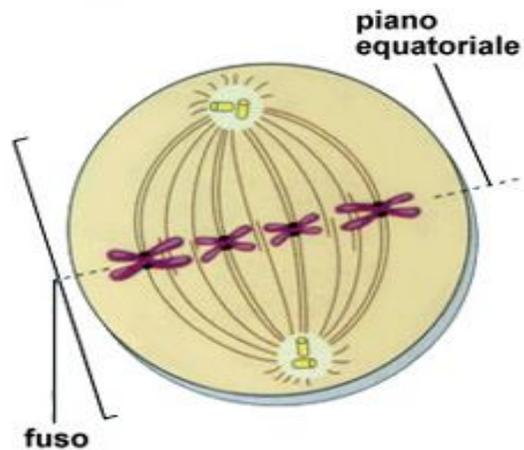
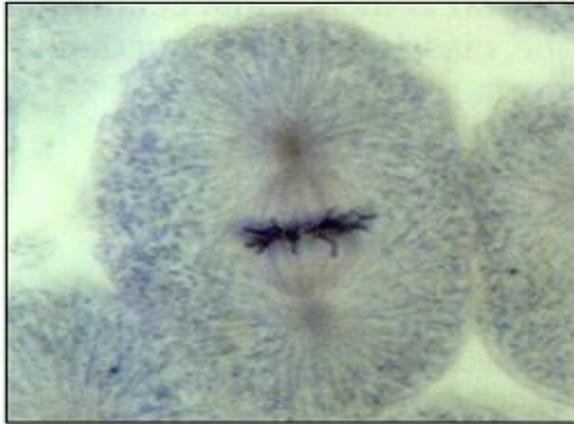
- la massa despiralizzata della **cromatina si condensa** in cromosomi distinti, sotto forma di **cromatidi fratelli** (durante la fase S ogni cromosoma viene duplicato ed ogni cromatide fratello resta unito all'altro attraverso il centromero fino alla fase M)
- il **nucleolo scompare**
- inizio della **formazione del fuso mitotico** (le fibre del fuso originano dalle molecole di tubulina derivate dalla disgregazione del citoscheletro)
- presenza di **due centrosomi** (duplicati nella fase S) ai poli del fuso

# Prometafase



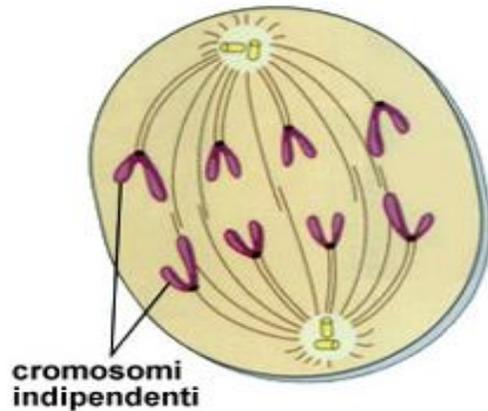
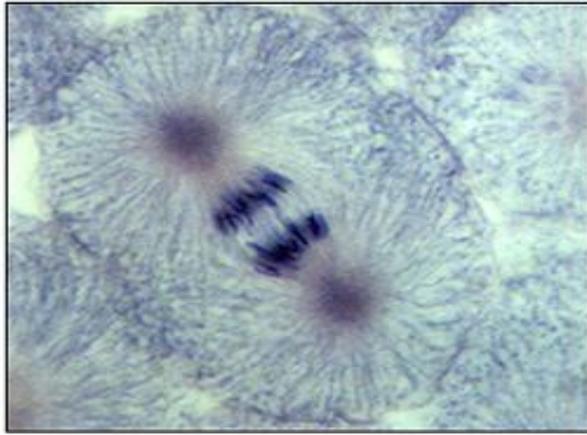
- la **membrana nucleare scompare** (presenza di piccole vescicole da cui si riforma dopo la mitosi)
- un complesso proteico (**cinetocore**) si assembla su ciascun cromatidio, in corrispondenza della superficie esterna della regione centromerica
- le fibre del fuso prendono contatto con i cinetocori (i due cinetocori dei cromatidi fratelli includono le fibre che derivano da poli opposti)

# Metafase



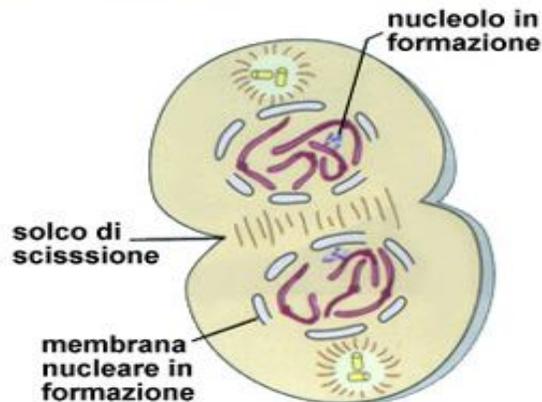
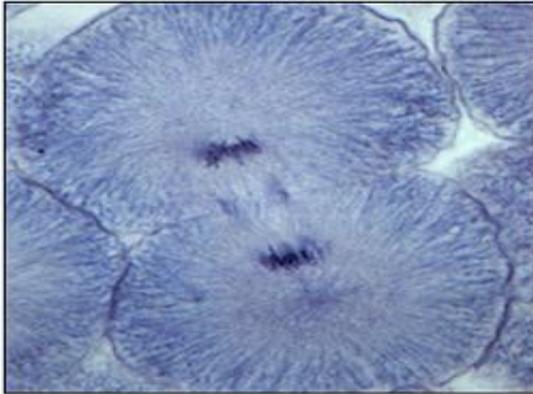
- ciascun cinetocore viene attratto verso il polo a cui sono dirette le sue fibre
- tutte le coppie di cromatidi fratelli si trovano allineati su di un immaginario piano equatoriale del fuso (**allineamento metafasico**) mantenuti fermi dalle tensioni delle due spinte uguali ed opposte

# Anafase



- ciascuna coppia di cromatidi fratelli si separa in **due cromosomi indipendenti** che vengono sospinti ai poli opposti del fuso
- ogni cromosoma finisce vicino ad uno dei due poli del fuso mitotico, mentre il suo fratello è vicino al polo opposto
- la cellula risulta più allungata

# Telofase e citodieresi



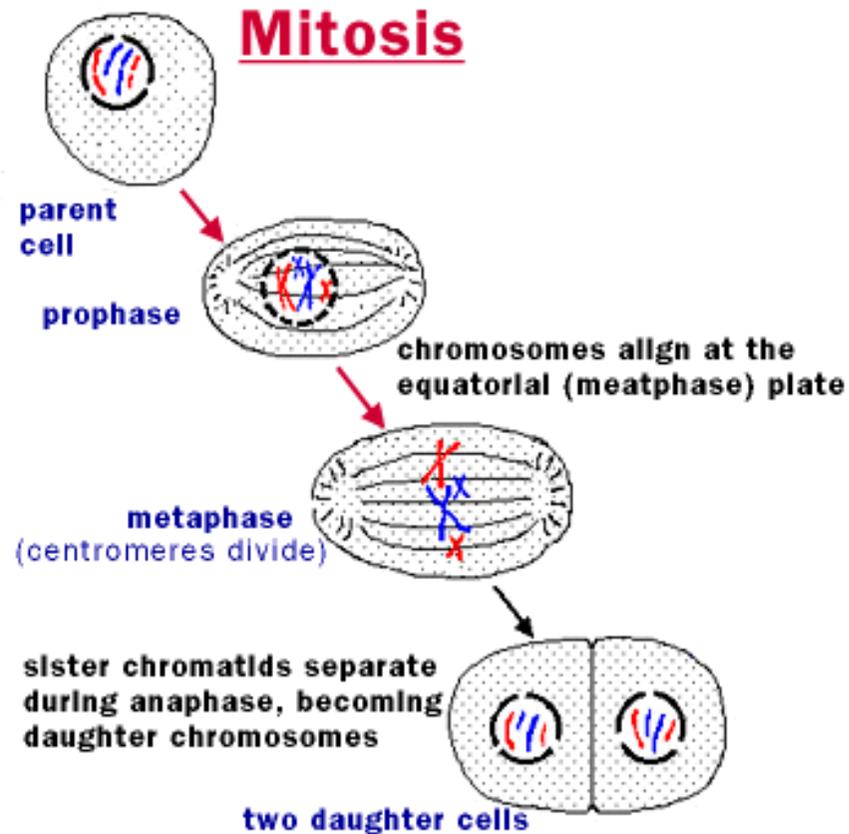
## *TELOFASE*

- **i cromosomi si despiralizzano** e formano due masserelle di cromatina
- si forma **un nuovo involucro nucleare** intorno a ciascun gruppo di cromosomi
- si riformano i nucleoli

## *CITODIERESI*

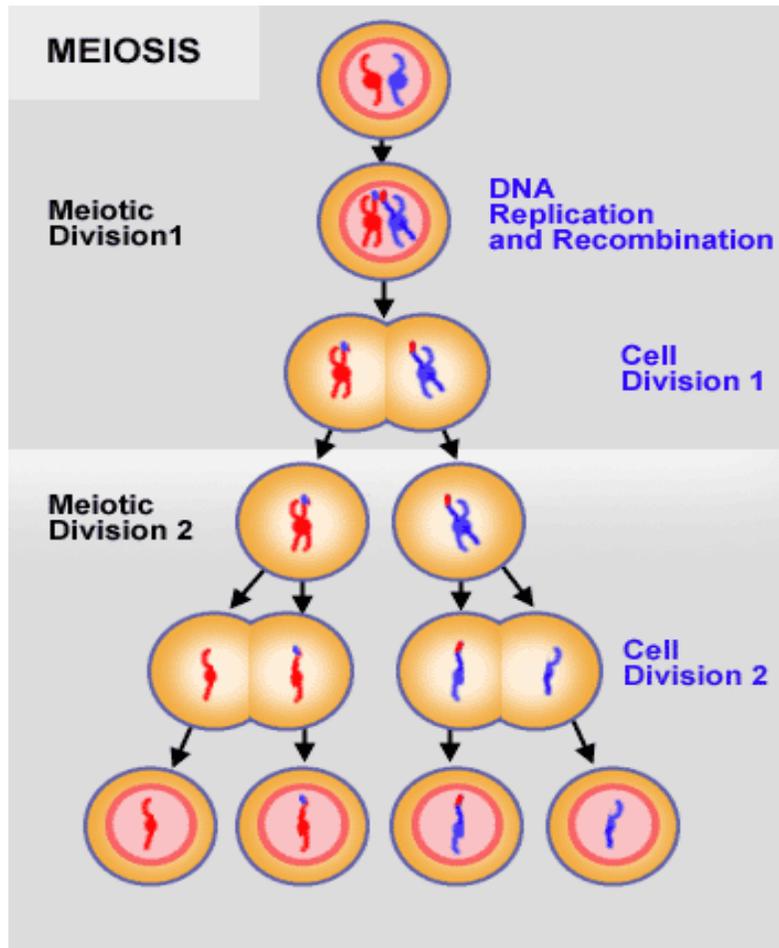
- processo attraverso il quale il citoplasma della cellula di partenza viene diviso per formare due nuove cellule
- comincia durante l'anafase con la comparsa di **microfilamenti** (actina e miosina) al di sotto della membrana citoplasmatica, formando un solco di segmentazione in corrispondenza dell'equatore del fuso
- vengono **ripartite equamente** le varie strutture che si trovano nel citoplasma

# Risultato della mitosi



Da una cellula madre diploide ( $2N$ ) si ottengono **due cellule figlie diploidi** ( $2N$ ) uguali

# Meiosi



La Meiosi è il processo per mezzo del quale le **cellule germinali** si dividono dimezzando il loro corredo cromosomico.

- I cromosomi duplicati durante la fase S, vengono segregati in quattro cellule
- La meiosi è costituita da due divisioni successive

1. **Meiosi I**

2. **Meiosi II**

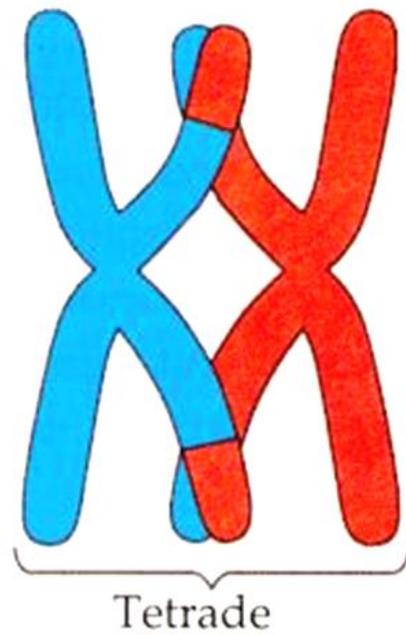
# Profase I



tarda profase I

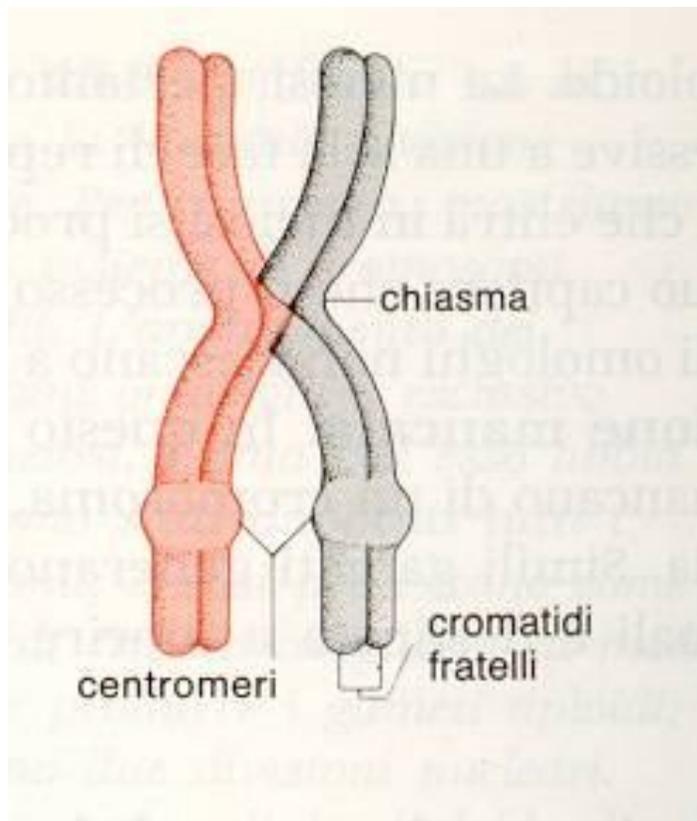
- Appaiamento dei cromosomi omologhi (**sinapsi**) con formazione delle **tetradi** (due coppie di cromatidi fratelli)
- Scambio di segmenti di cromosomi omologhi (**crossing-over**)
- La profase I è convenzionalmente suddivisa in funzione dello stato di spiralizzazione dei cromosomi in: Leptotene, Zygotene, Pachytene, Diplotene e Diacinesi

# Particolare di una tetrate



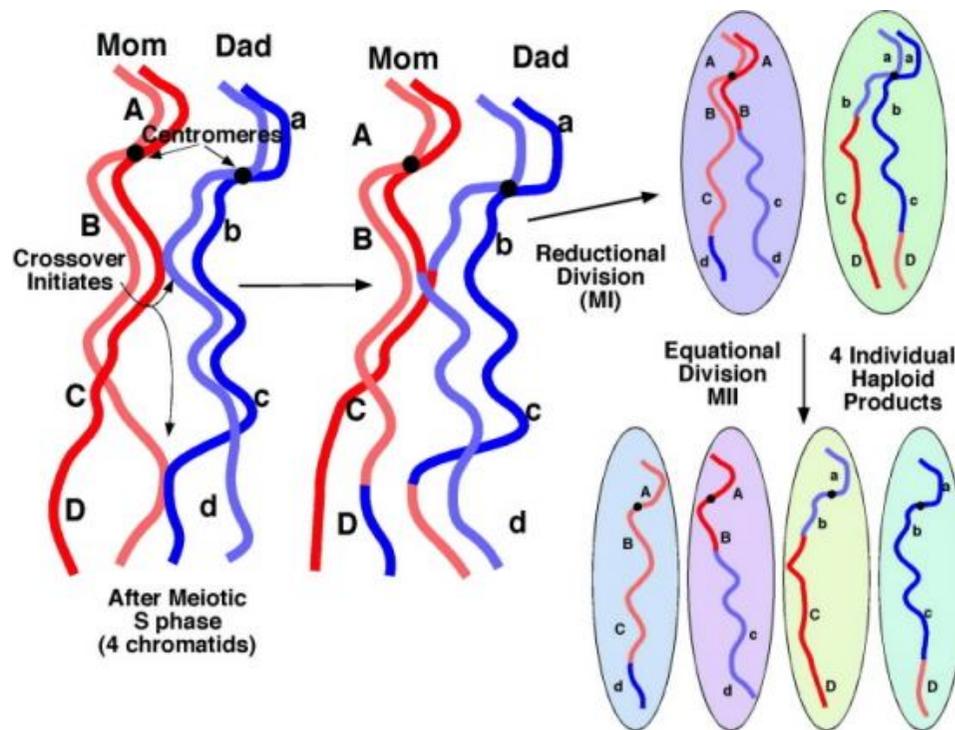
d)

# Chiasma



E' la **formazione di uno scambio** (sito di ricombinazione) a filamenti incrociati tra due eliche di DNA omologhe, però di cromatidi non fratelli. Mediamente, ogni cromosoma va in contro a due o tre eventi di ricombinazione.

# Effetto del crossing-over



□ Per effetto del crossing-over, le 4 cellule risultanti dalla meiosi avranno **4 cromatidi diversi**

□ Uno dei modi con cui la meiosi produce il **riassortimento genetico** è il crossing-over

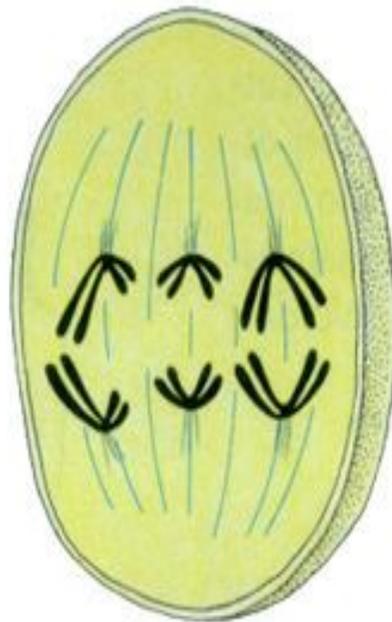
# Metafase I



metafase I

- le tetradi si **allineano sul piano equatoriale del fuso**
- il centromero di **ogni coppia di cromatidi fratelli ha un cinetocore** attaccato alle fibre del fuso di un polo

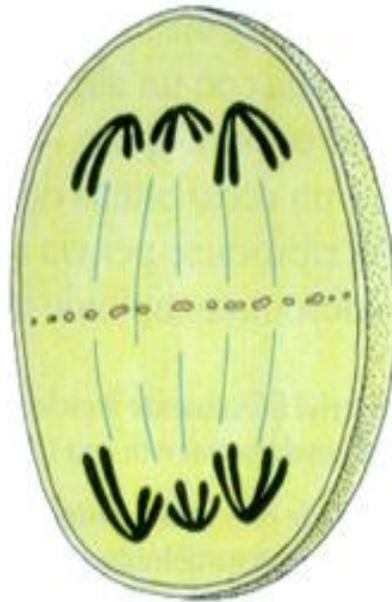
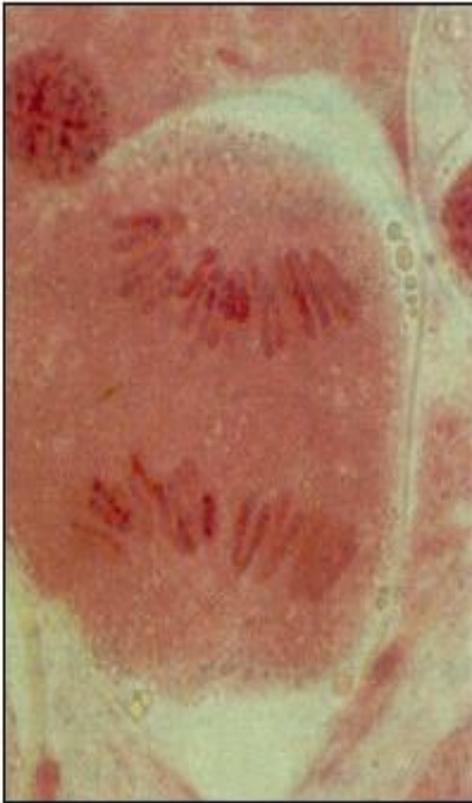
# Anafase I



anafase I

ciascuna **coppia di cromatidi fratelli** si muove verso uno dei due poli del fuso, mentre l'omologa si sposta verso il polo opposto

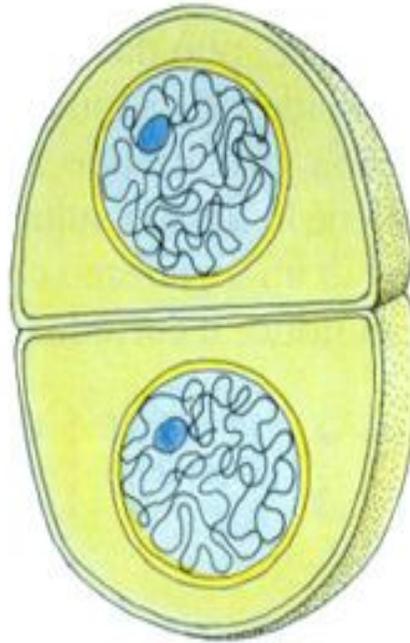
# Telofase I



telofase I

il gruppo di cromosomi presso  
ciascun polo viene **riorganizzato**  
**in un nuovo nucleo**

# Interfase II



interfase II

- è di durata molto breve (a volte inesistente)
- **non viene sintetizzato nuovo DNA**

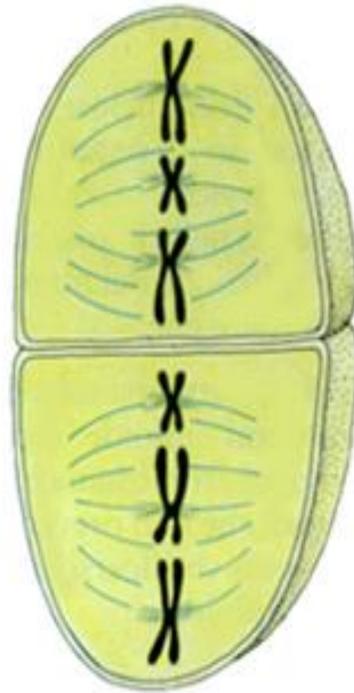
# Profase II



profase II

- si forma il **fuso in ognuna delle due nuove cellule**
- i cinetocori dei cromatidi fratelli si attaccano a fibre del fuso provenienti da poli opposti

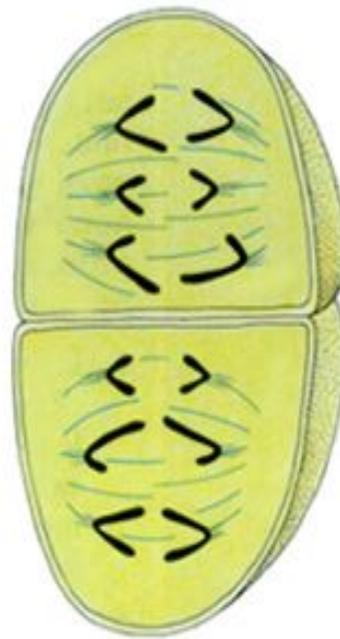
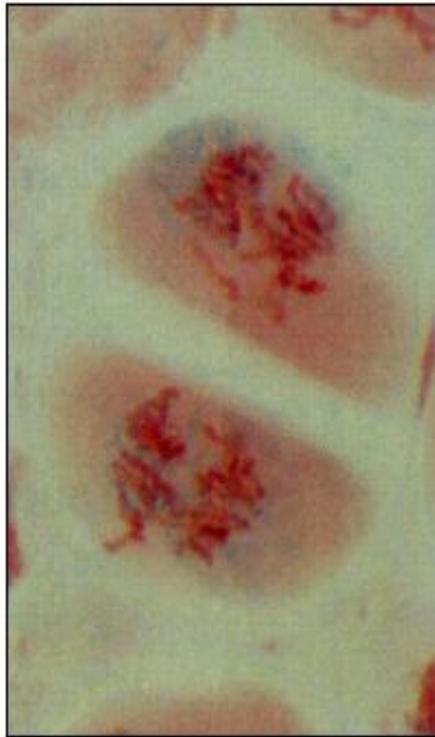
# Metafase II



metafase II

- le fibre del fuso sospingono tutte le coppie di cromatidi fratelli nella posizione di **allineamento metafasico all'equatore del fuso**

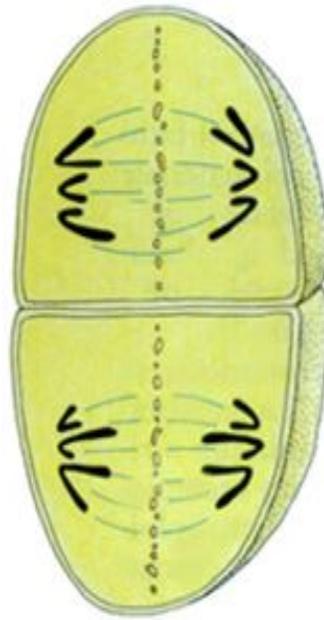
# Anafase II



anafase II

- i centromeri si separano liberando i cromatidi fratelli sotto forma di **cromosomi singoli**
- i cromosomi si separano in due gruppi

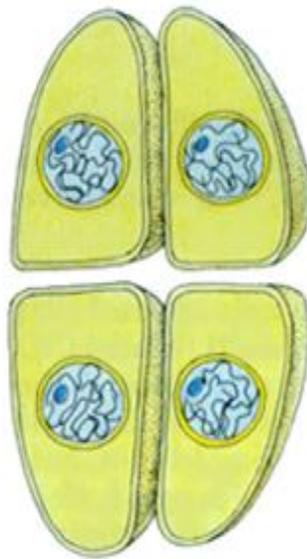
# Telofase II



telofase II

- i cromosomi si organizzano in **due nuclei aploidi**

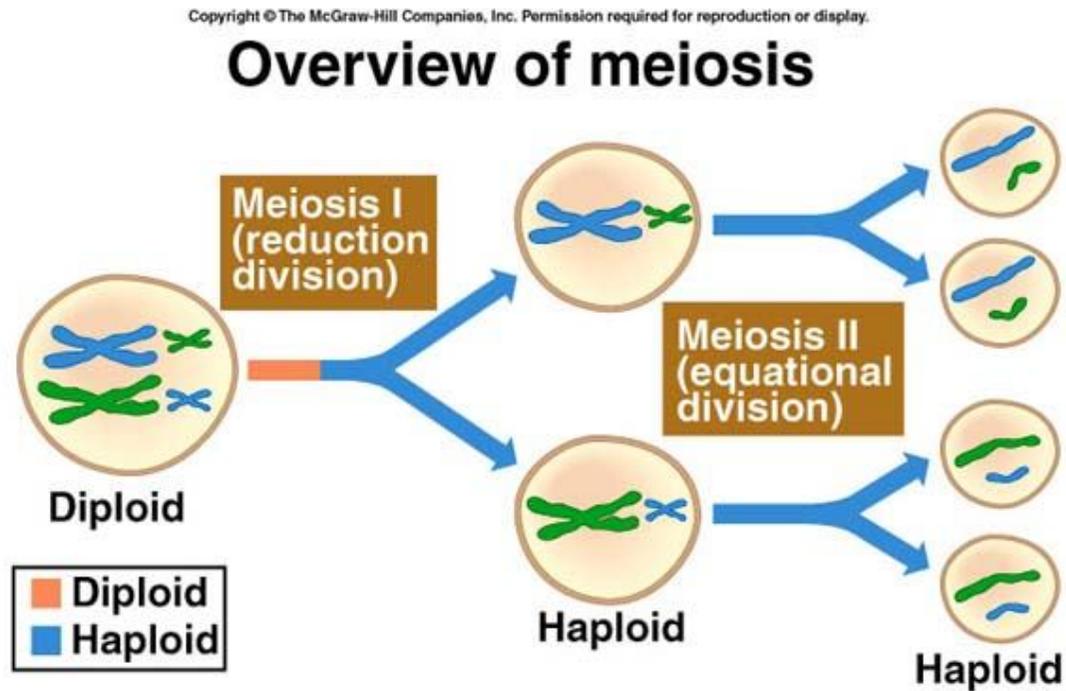
# Citodieresi



citodieresi

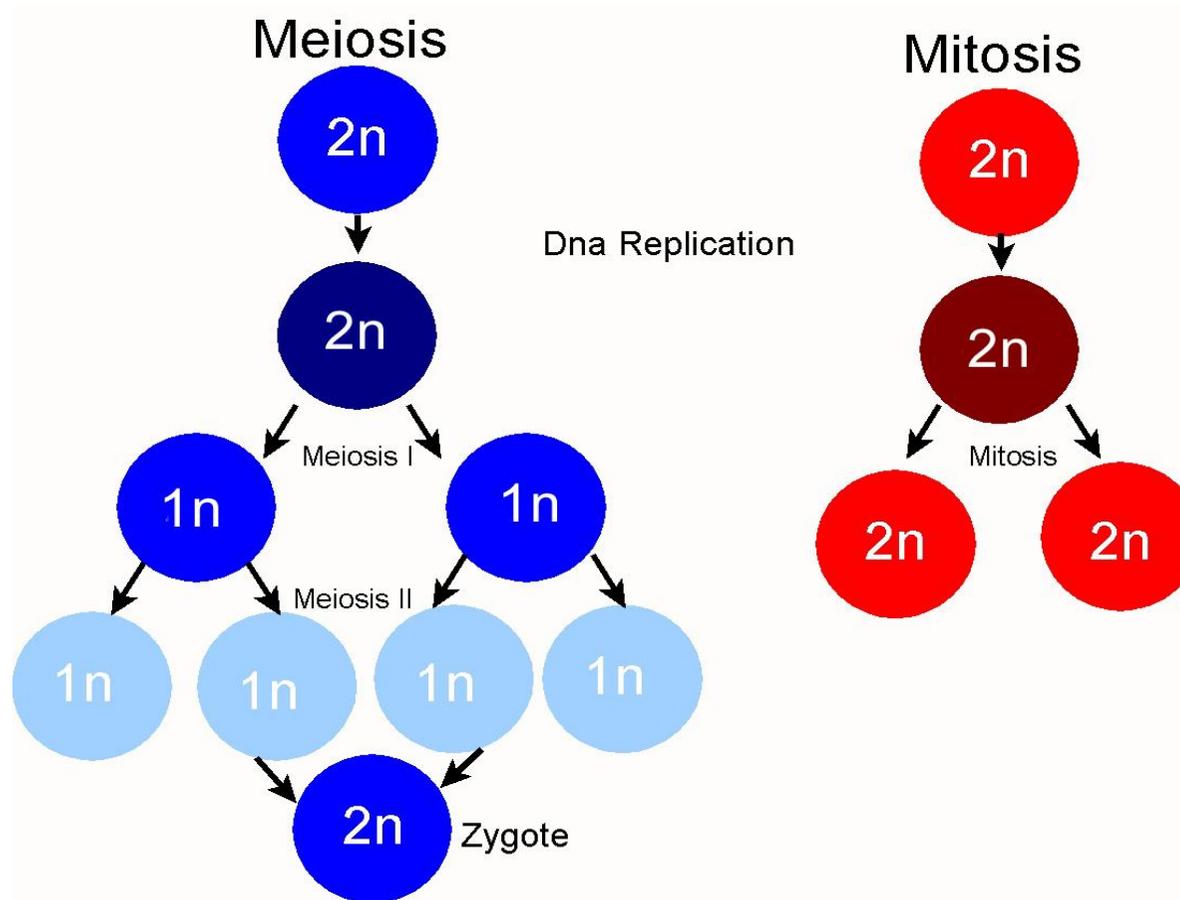
ripartizione del contenuto  
citoplasmatico in **quattro cellule figlie**

# Risultato della meiosi



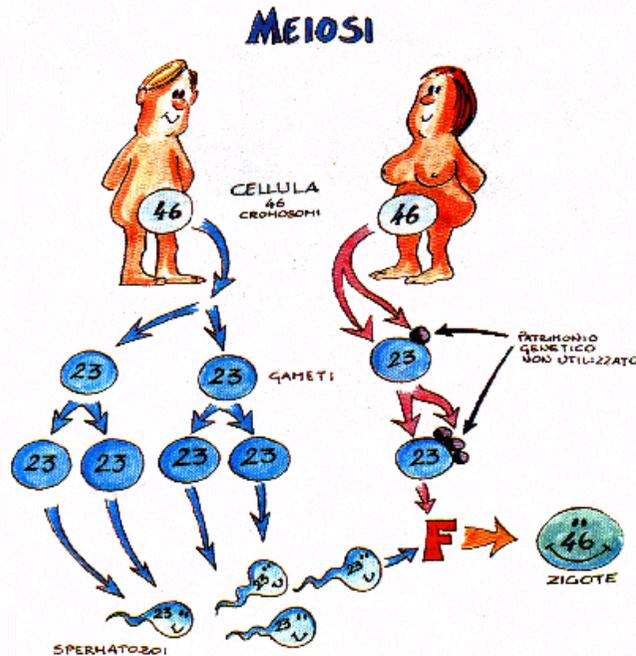
da un cellula madre diploide ( $2N$ )  
si ottengono **quattro cellule**  
**figlie aploidi** ( $N$ ) non uguali

# Meiosi versus mitosi



# Meccanismo della riproduzione

## MECCANISMO DELLA RIPRODUZIONE



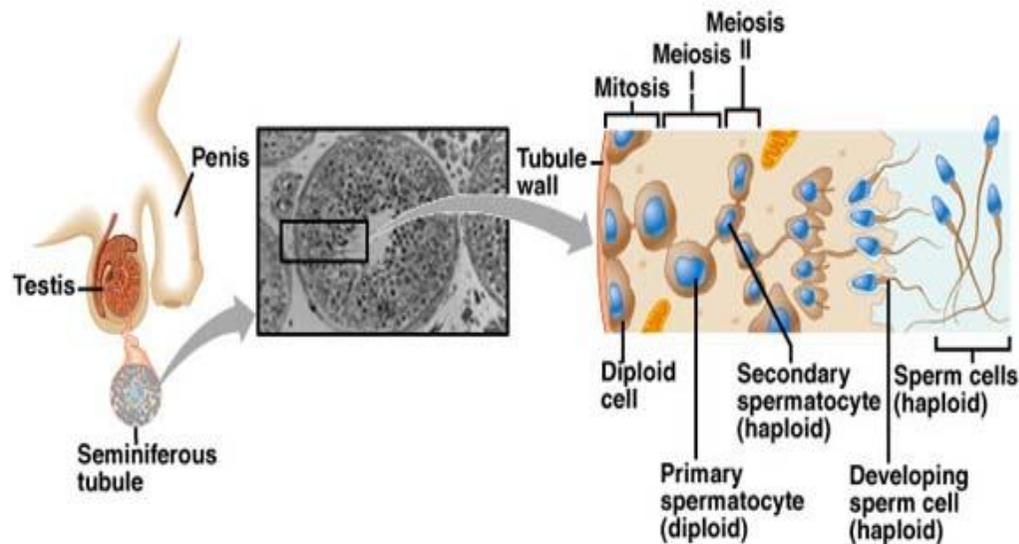
Attraverso la meiosi si formano i **gameti maturi** (spermatozoo e cellula uovo) dalla cui unione avrà origine la prima cellula di un nuovo individuo (**zigote**)

*Formazione dei gameti e loro fusione nella fecondazione (F), per formare la prima cellula di un individuo, lo Zigote.*

# Gametogenesi maschile

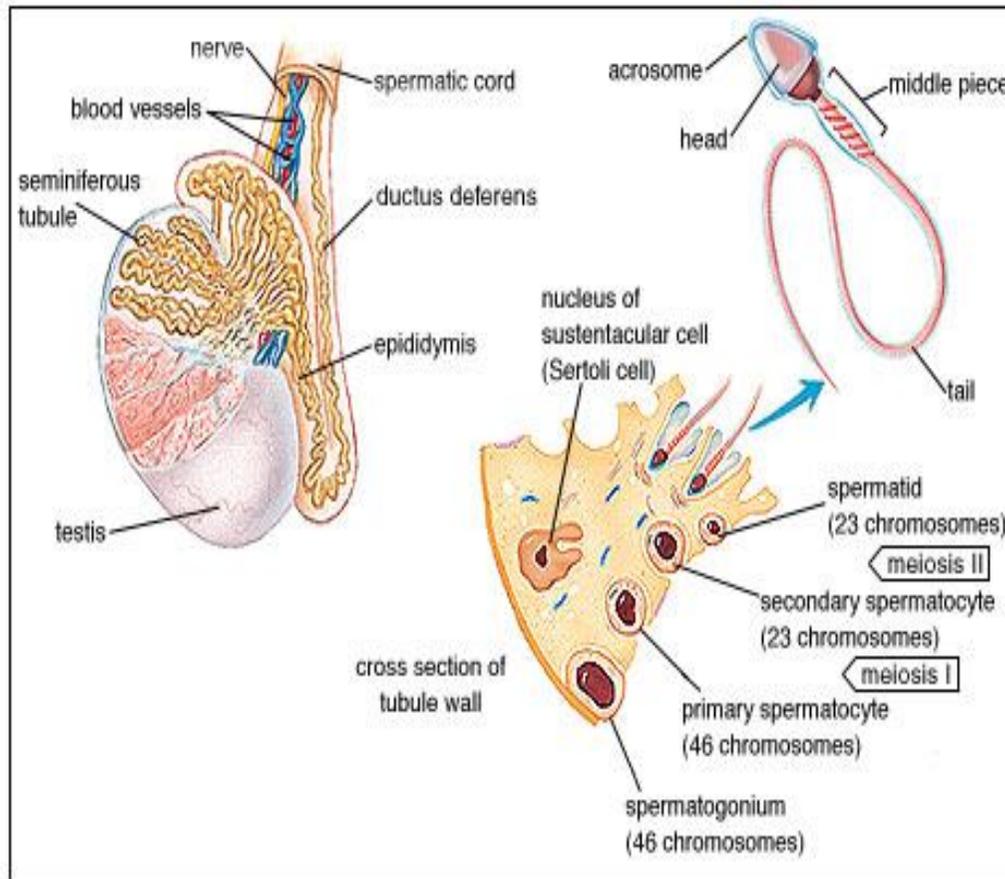
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

## Meiosis produces sperm cells



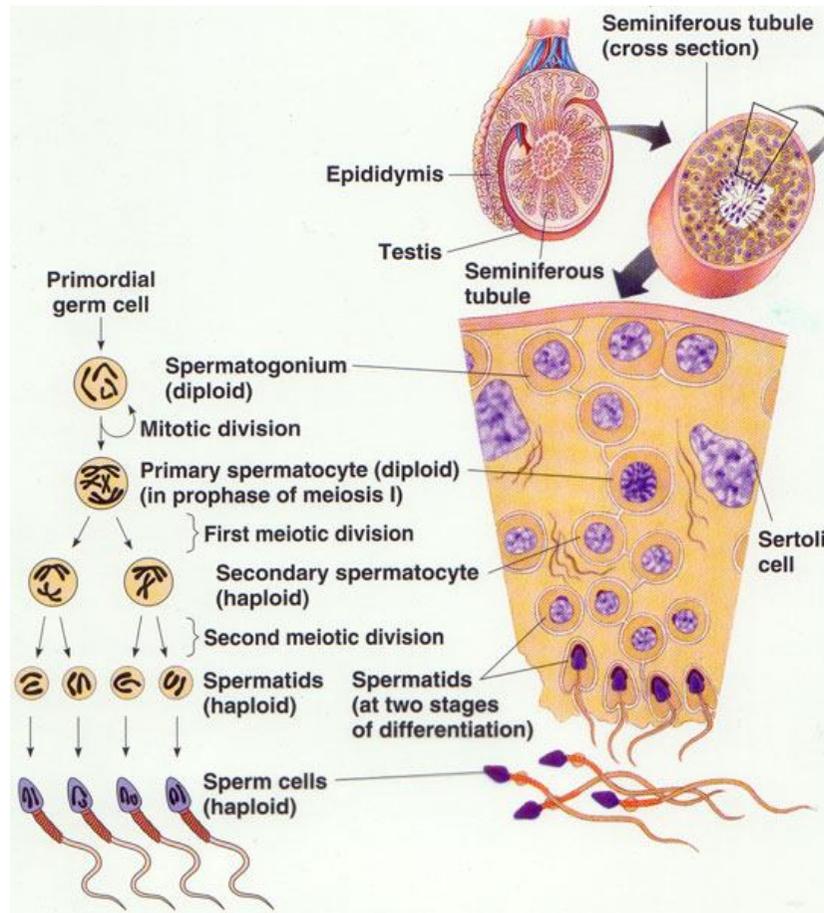
Gli spermatozoi vengono prodotti nei testicoli con il processo della **spermatogenesi**

# Gametogenesi maschile



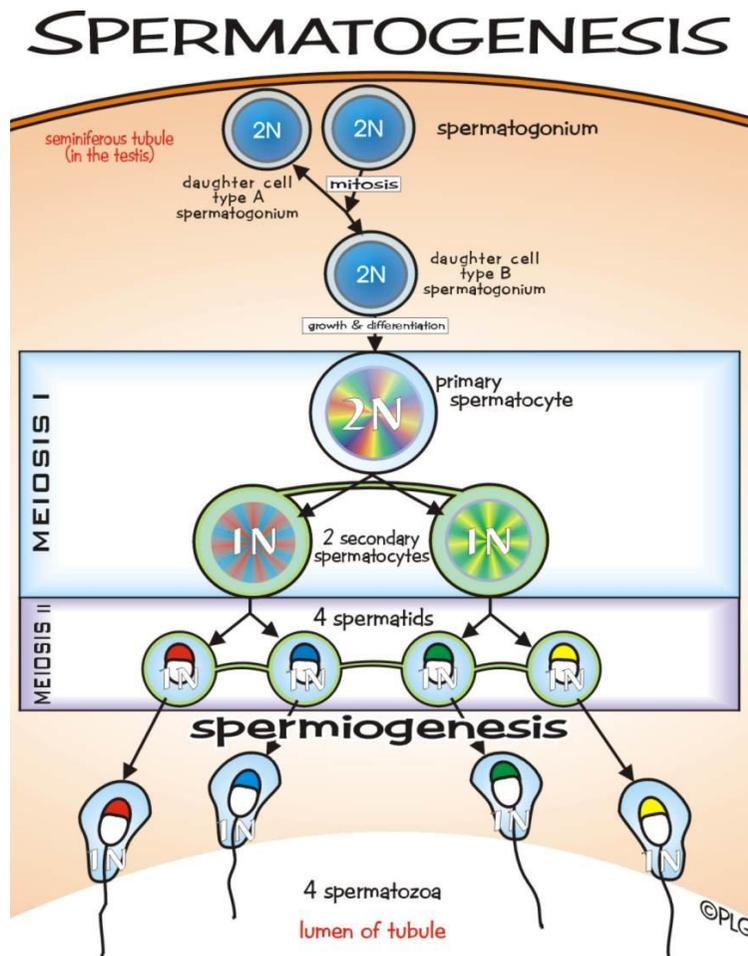
- Ciascun testicolo consiste in una massa di piccoli tubi, i **tubuli seminiferi**
- Gli stadi della spermatogenesi avvengono in una precisa sequenza nelle **cellule che rivestono questi tubuli**

# Gametogenesi maschile



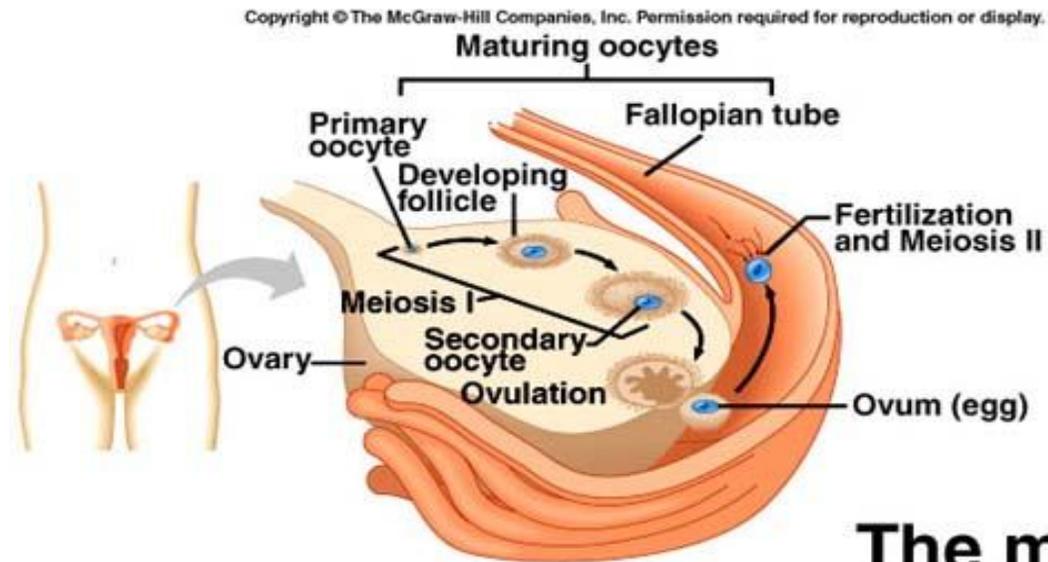
- Gli **spermatogoni** (cellule germinative diploidi) sono posti presso la periferia dei tubuli
- gli elementi più maturi si incontrano procedendo verso il lume dei tubuli

# Spermatogenesis



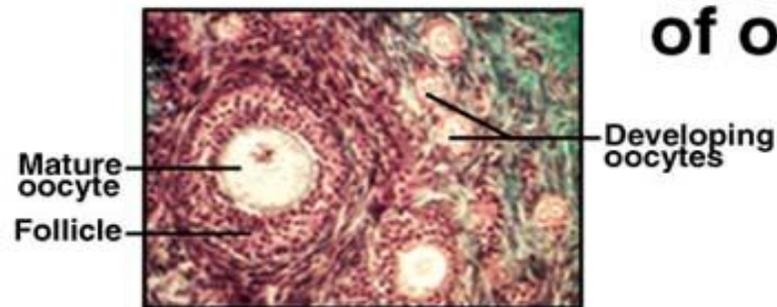
- **Lo spermatogonio** (2N), allo stadio di adulto, si divide per mitosi producendo altri spermatogoni e spermatociti primari
- gli **spermatociti primari** (2N) vanno incontro a meiosi I, originando due spermatociti secondari (N)
- gli **spermatociti secondari** vanno incontro a meiosi II, originando quattro spermatidi
- **gli spermatidi** si differenziano in quattro spermatozoi (perdono molto citoplasma, acquistano il flagello)
- Risultato: **4 gameti maturi**

# Gametogenesi femminile

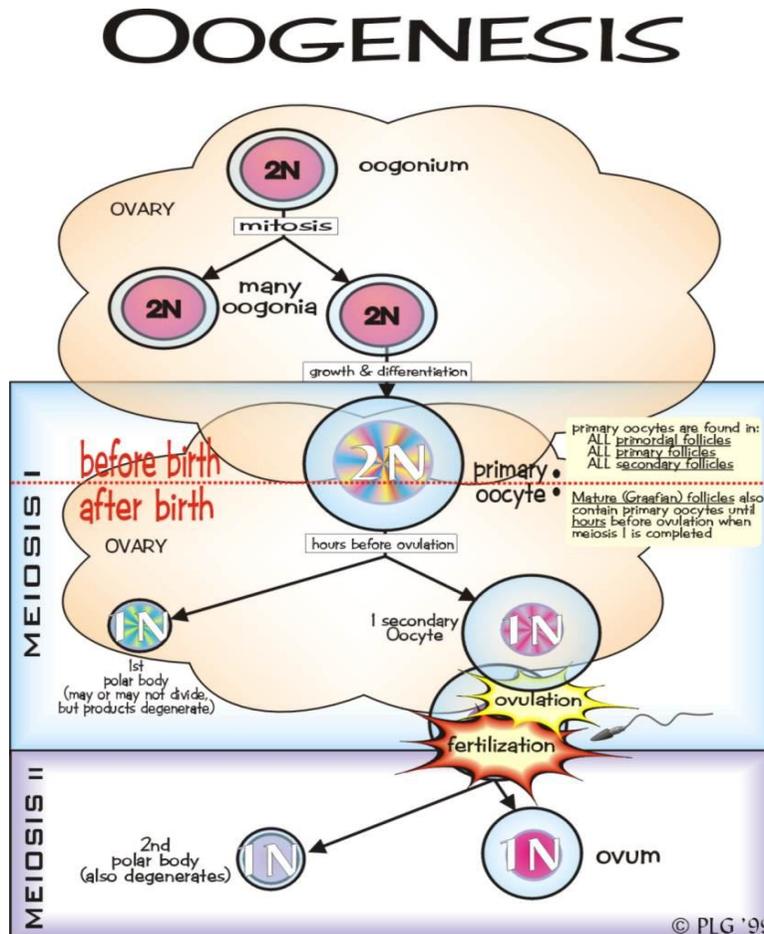


La cellula uovo viene prodotta nell'ovaio attraverso il meccanismo dell'**oogenesi**

## The making of oocytes



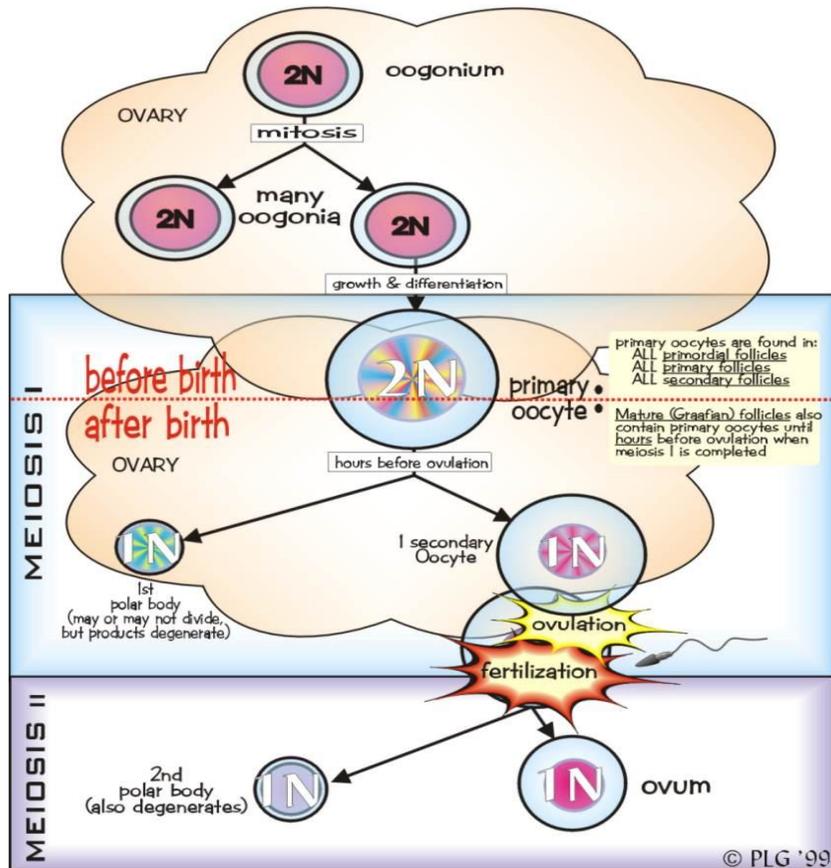
# Oogenesi



- gli **oogoni** (2N) si dividono per mitosi e si differenziano in oociti primari (2N)
- gli **oociti primari** entrano in profase I (tutto ciò avviene già allo stadio embrionale)
- **la meiosi si arresta alla profase I** e si riavvia al raggiungimento della maturità sessuale
- alla maturità sessuale una o più cellule uovo maturano ad intervalli regolari

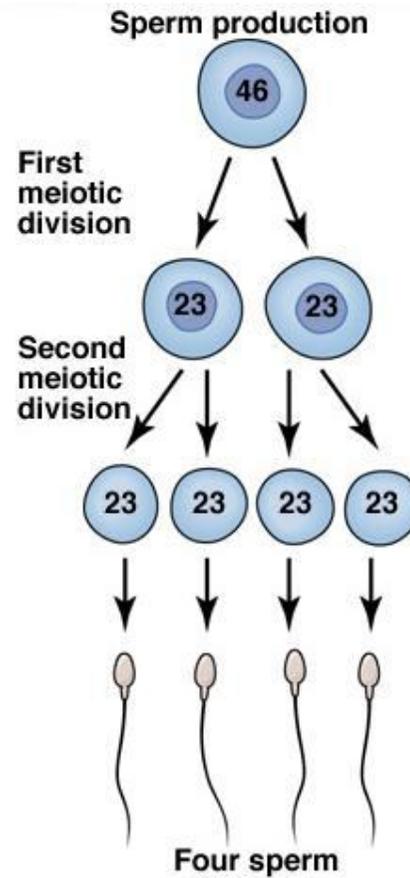
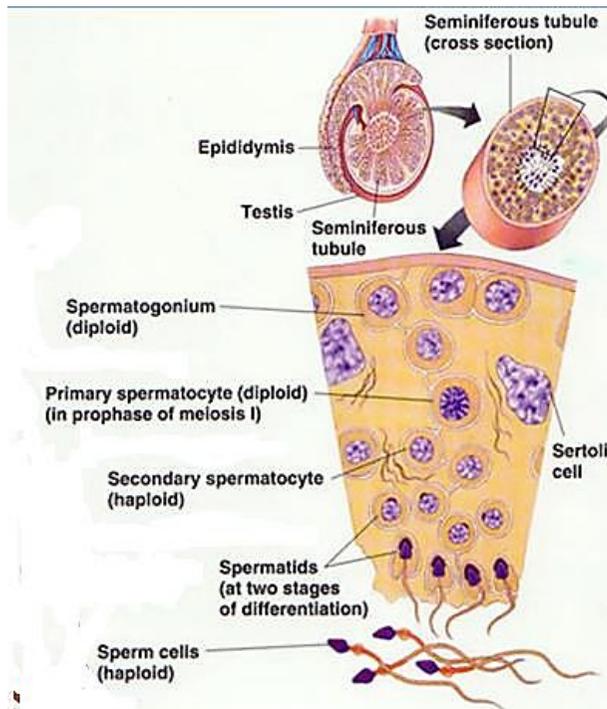
# Oogenesi

## O O G E N E S I S



- nella meiosi I, i cromosomi si separano nel modo usuale mentre il citoplasma si ripartisce in modo disuguale: formazione di un **primo globulo polare** (N) e di un **oocito secondario** (N)
- l'oocito secondario abbandona l'ovaio (ovulazione) e affronta la meiosi II **solo se si verifica la fecondazione**, il cui risultato sarà un secondo globulo polare ed una cellula uovo
- Anche il primo globulo polare affronta la meiosi II
- Risultato: **un gamete maturo e tre globuli polari** che degenerano

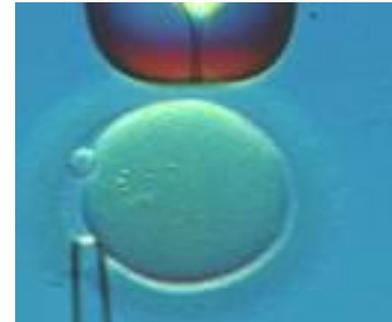
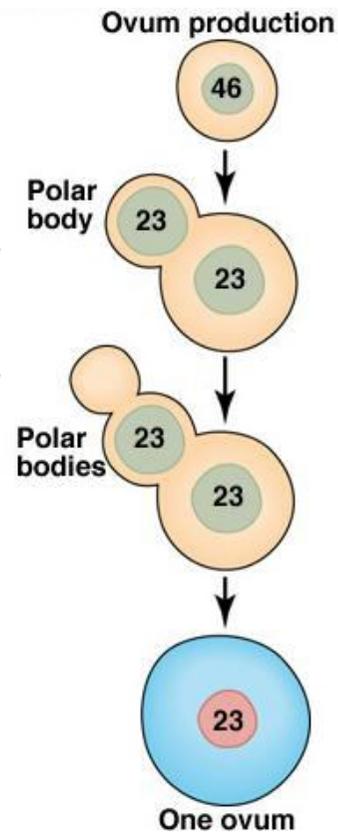
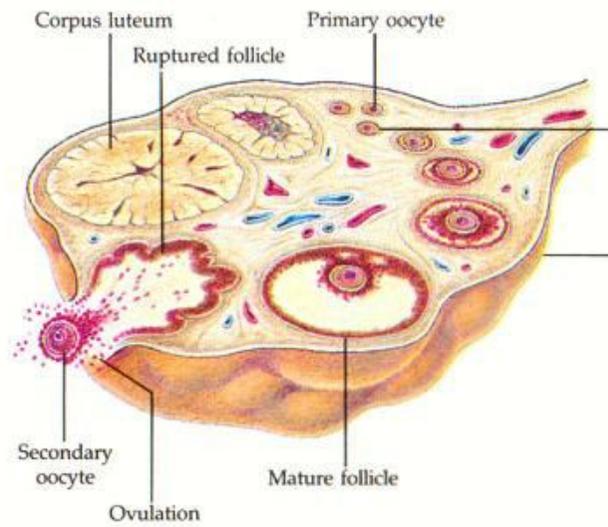
# Meiosi maschile



**Divisioni cellulari precedenti la meiosi nella spermatogenesi**

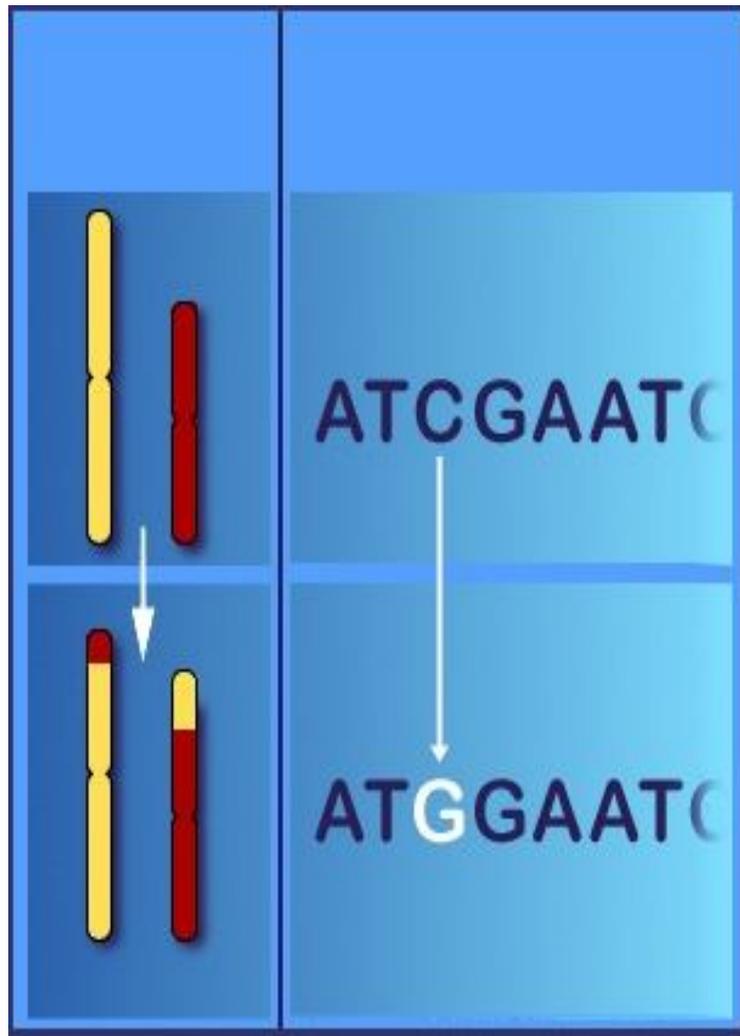
Dall'embrione alla pubertà	~ 30
A 28 anni	~ 380
A 35 anni	~ 540

# Meiosi femminile



# MUTAZIONI DEL DNA

# Cosa sono le mutazioni ?



## *Cambiamenti nella sequenza del DNA*

Tipi di mutazioni:

- Mutazioni di piccole dimensioni (**DNA**) geniche o puntiformi:
  - Sostituzioni, delezioni o inserzioni di basi
- Mutazioni di grandi dimensioni (**cromosomi**):
  - Acquisizione/perdita di regioni cromosomiche
  - Traslocazioni di tratti di un cromosoma

# Mutazioni geniche

- Le mutazioni geniche o puntiformi sono dovute in gran parte alla **sostituzione** di una singola base nucleotidica del DNA con un'altra base.
- Altri tipi di mutazione si originano in seguito alla perdita (**delezione**) o alla **inserzione** di una base nel filamento del DNA

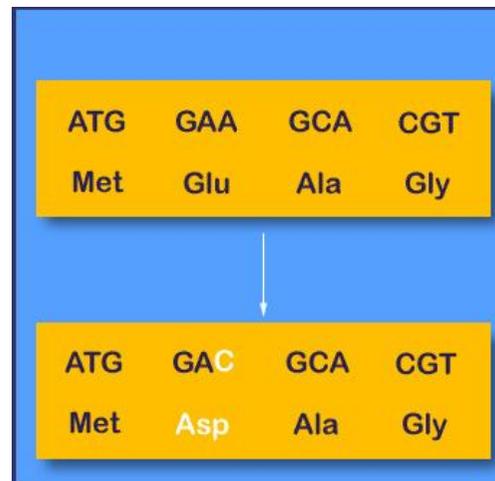
# Mutazioni geniche: sostituzione

La sostituzione di una base può avere conseguenze più o meno grandi sul prodotto finale (la proteina specificata da quel gene). **In base alle conseguenze** se ne distinguono tre tipi:

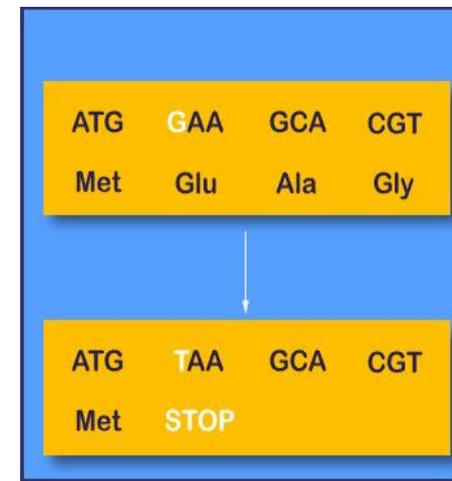
## Mutazioni silenti



## Mutazioni di senso

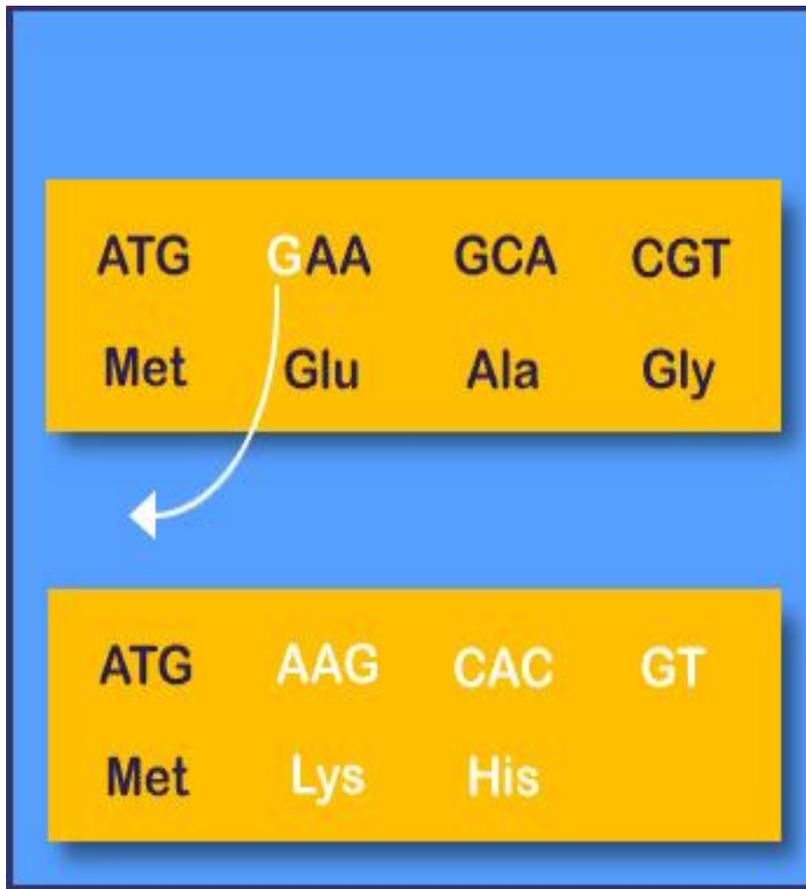


## Mutazioni non senso



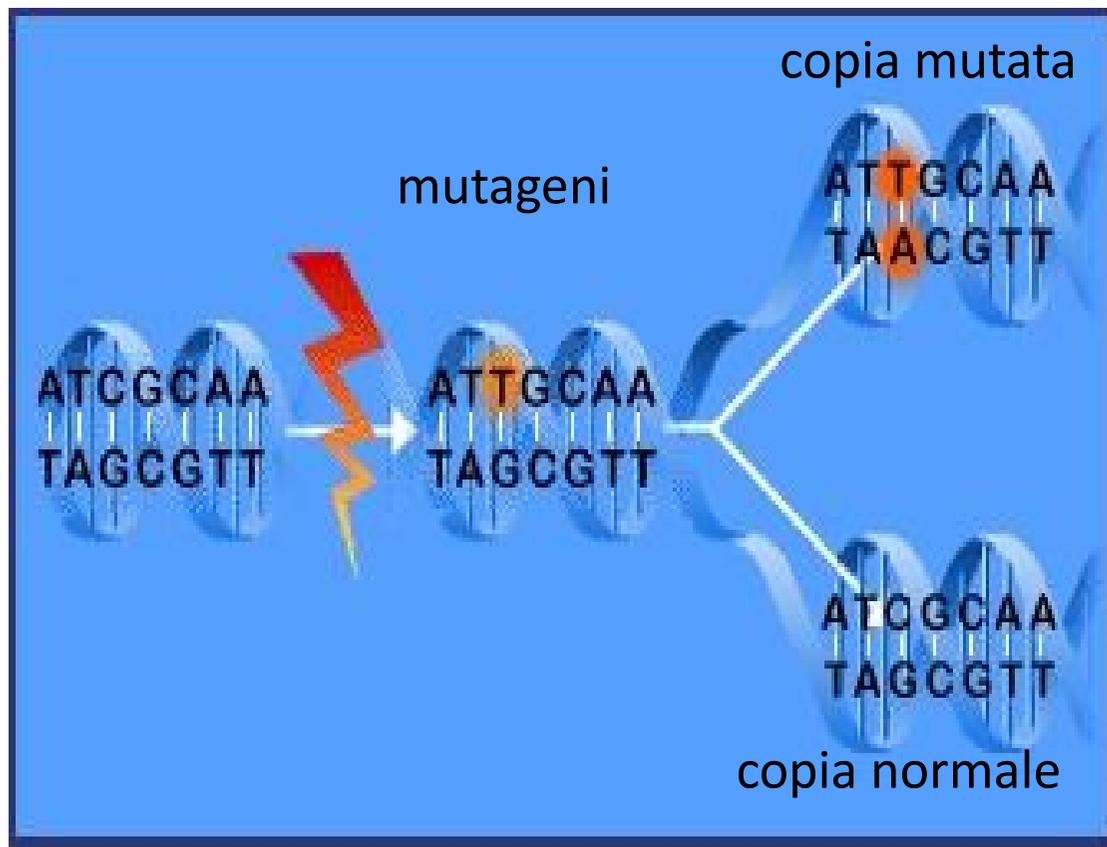
- Mutazioni silenti: se in seguito alla sostituzione di una base si ottiene una tripletta che specifica per lo stesso aminoacido, la proteina prodotta sarà la stessa
- Mutazioni di senso: la nuova tripletta codifica per un diverso aminoacido
- Mutazioni nonsenso: il nuovo codone che si forma dalla sostituzione codifica per il segnale di stop

## Mutazioni geniche: mutazioni frameshift



- Talvolta l'errore consiste nell'inserire (**inserzione**) una base in più nella sequenza del DNA. Altre volte durante la replicazione o durante la riparazione del DNA si ha la perdita (**delezione**) di una base
- In ogni caso si verifica lo spostamento della griglia di lettura di ciò che segue (**frameshift**)

# Quando avvengono le mutazioni ?



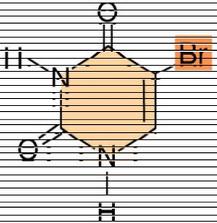
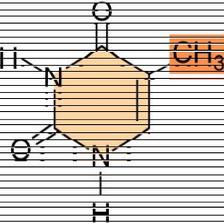
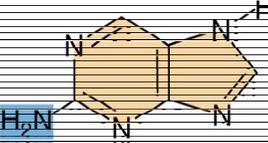
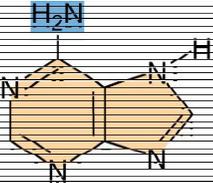
Le mutazioni possono essere:

❑ **spontanee**: non sono prodotte da agenti mutageni conosciuti (es. un errore nell'incorporazione di una base sbagliata durante la replicazione del DNA); se ne verifica una ogni  $10^6$ - $10^8$  nucleotidi però sono le più importanti nel processo evolutivo.

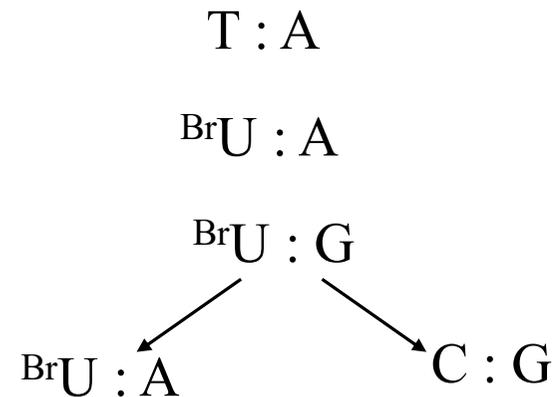
❑ **indotte da mutageni** chimici o fisici

# Mutageni chimici: analoghi delle basi

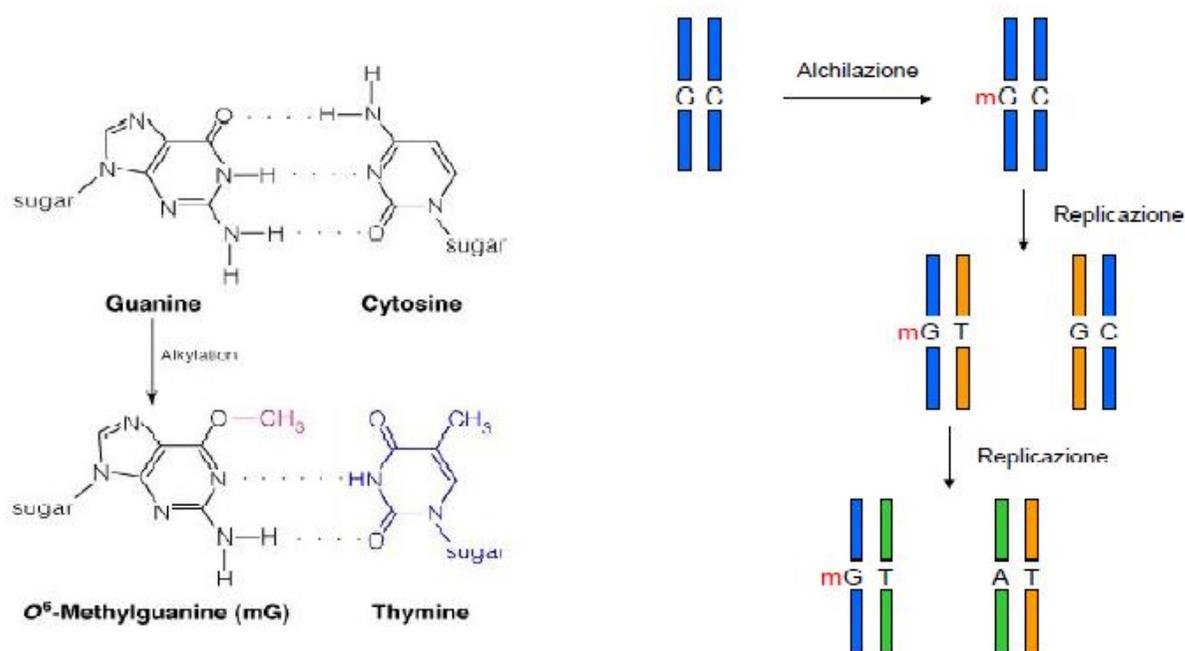
Simili nella struttura a purine e pirimidine del DNA ma difettosi nell'appaiamento

Analog	Substitutes for
 5-Bromouracil	 Thymine
 2-Aminopurine	 Adenine

Il più delle volte la replicazione avviene normalmente ma occasionalmente può verificarsi un errore che verrà fissato come mutazione nel successivo ciclo di replicazione



# Mutageni chimici: agenti alchilanti

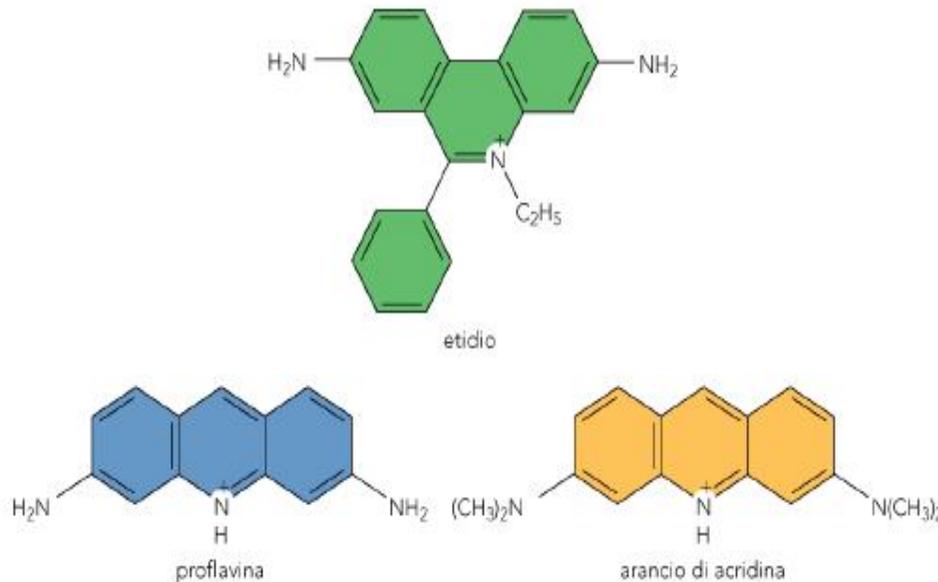


**Nitrosoguanidina, Acido nitroso, Idrossilamina** sono responsabili di reazioni di metilazione, deaminazione, ecc.

Mutageni molto potenti e inducono mutazioni ad alta frequenza rispetto agli analoghi delle basi.

Reagendo sul DNA sono in grado di introdurre **cambiamenti anche in assenza di replicazione**

# Mutageni chimici: agenti intercalanti

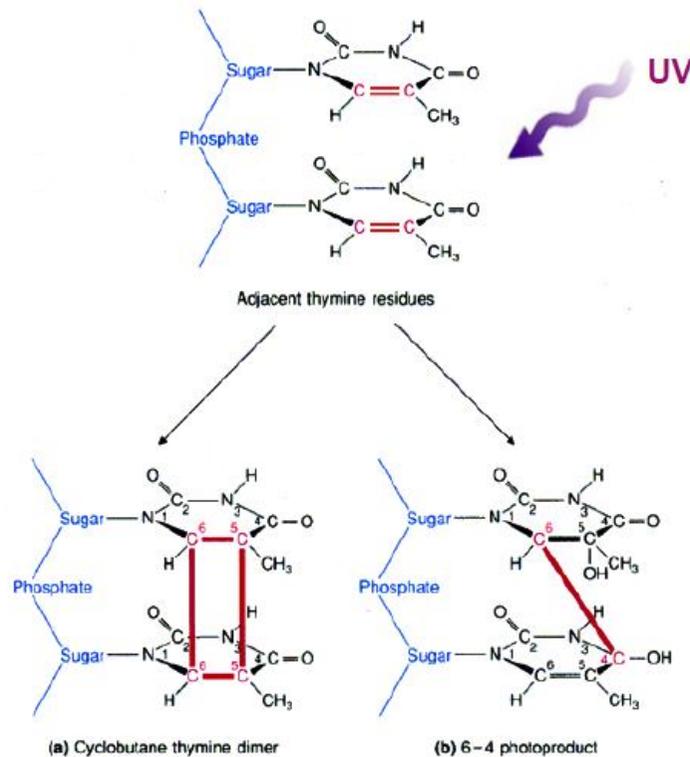


Acridine (**arancio di acridina**, **proflavina**): sono molecole planari che si inseriscono tra due basi del DNA, separandole.

Questa conformazione anormale può portare a **microinserzioni** e **microdelezioni** durante la replicazione.

# Mutageni fisici: raggi UV

Le radiazioni UV inducono la formazione di dimeri di timina

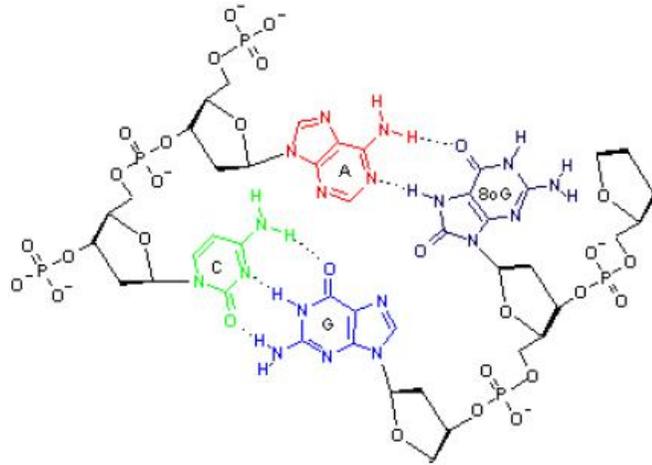
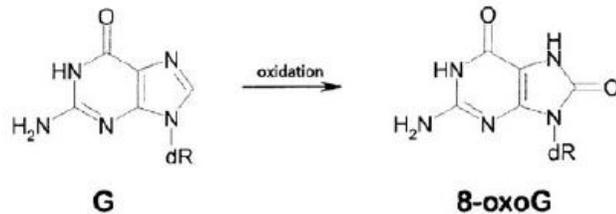


□ Il loro effetto più conosciuto sul DNA è la formazione di **dimeri di pirimidine** (due C o T adiacenti vengono legate covalentemente tra loro).

□ La presenza di dimeri aumenta la probabilità che la DNA polimerasi inserisca in questa posizione un **nucleotide errato**.

# Mutageni fisici: radiazioni ionizzanti

Le radiazioni ionizzanti generano forme di ossigeno reattive ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH\cdot$ ) che ossidano la Guanina con formazione di Oxo-Guanina



- ❑ Sono radiazioni a lunghezza d'onda corta (**raggi X, gamma, raggi cosmici**). Più potenti dei raggi UV e altamente penetranti.
- ❑ Causano la ionizzazione dell'acqua e di altre sostanze con la produzione di **radicali liberi** come lo ione ossidrile ( $OH\cdot$ )
- ❑ La loro azione mutagena è indiretta in quanto il danno è prodotto dai radicali liberi.

# Quali sono le conseguenze delle mutazioni ?

35



CNVs:  
the major force shaping  
both genetic and phenotypic  
interindividual diversity

- ❑ le mutazioni causano **polimorfismo** nei nostri genomi; il numero di polimorfismi è  $\sim 1 \text{ bp}/500\text{-}1000 \text{ bp}$ , quindi  $\sim 6 \times 10^6$  coppie di basi sono differenti in genomi di individui diversi  
**I genomi di individui sani sono identici al 99,9%**; la differenza dello 0.1% è dovuta al cambiamento di singole paia di basi sparse nell'intero genoma
- ❑ Le mutazioni sono anche causa di **malattie**

# Distribuzione genomica delle mutazioni

Le mutazioni **non sono distribuite casualmente** ed uniformemente nel genoma.

**L'incidenza** delle mutazioni nei diversi loci dipende da diversi fattori:

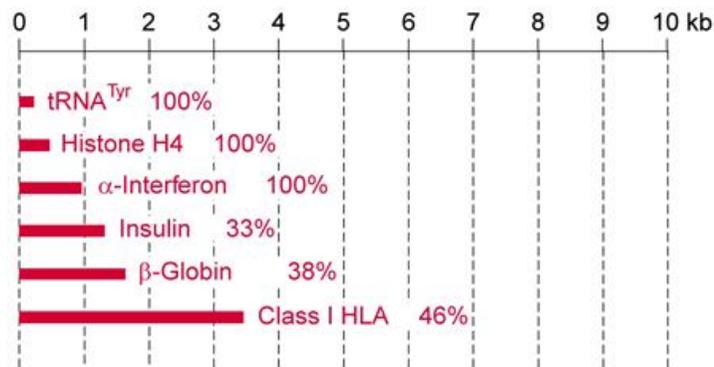
- **dimensione** del locus considerato
- **capacità** codificante o meno
- **caratteristiche** di sequenza.



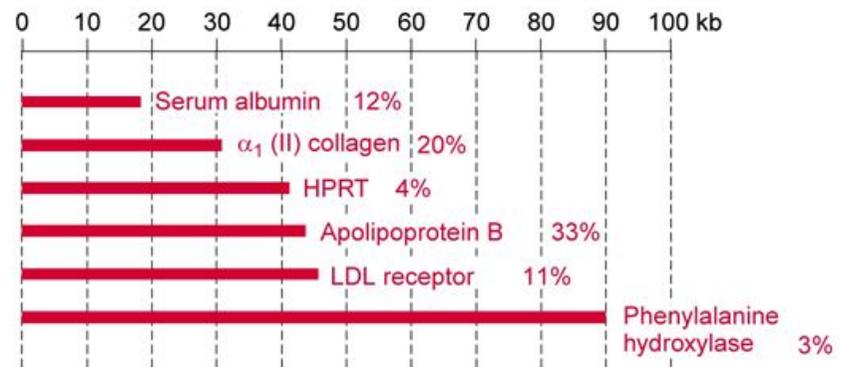
**Zone calde di variabilità  
(hot spot mutazionali)**

# Grandezza di alcuni geni

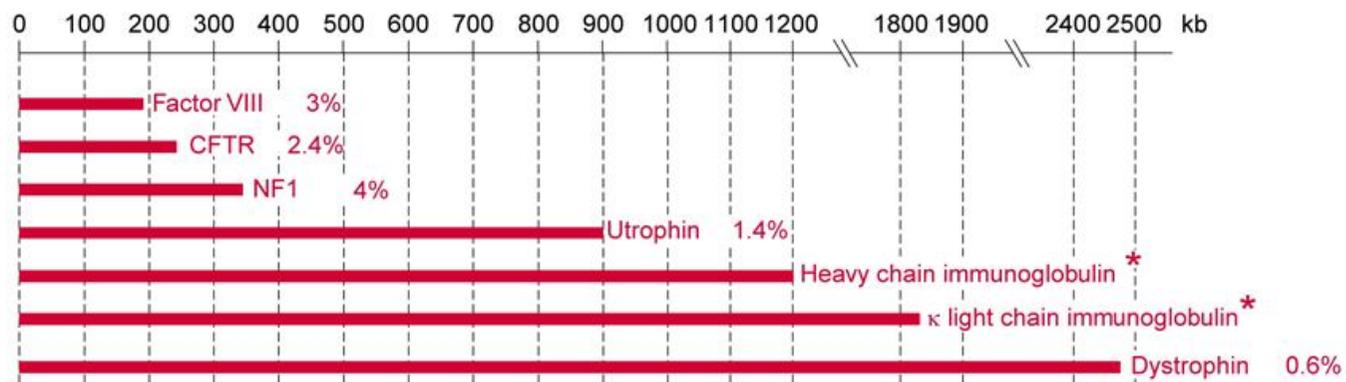
(A) Less than 10 kb



(B) Less than 100 kb



(C) More than 100 kb

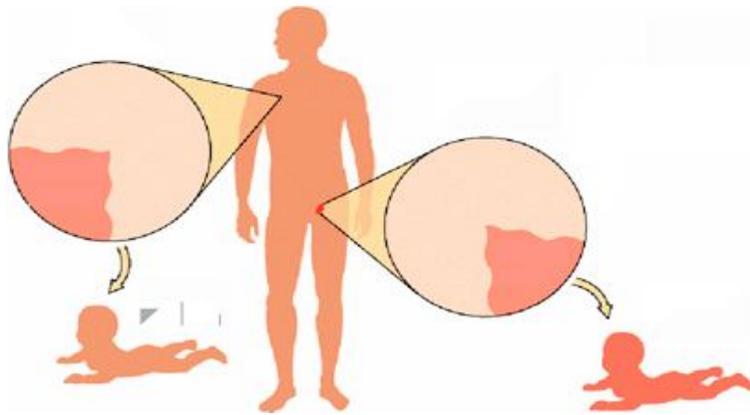


# Frequenza di mutazione di alcuni geni

Gene	Nuove mutazioni per $10^6$ gameti
Emofilia B	2 – 3
Aniridia	2 – 5
Retinoblastoma	5 – 12
Acondroplasia	6 – 40
Emofilia A	32 – 57
Distrofia muscolare di Duchenne	43 – 105
Neurofibromatosi	44 – 100
Rene policistico	60 – 120

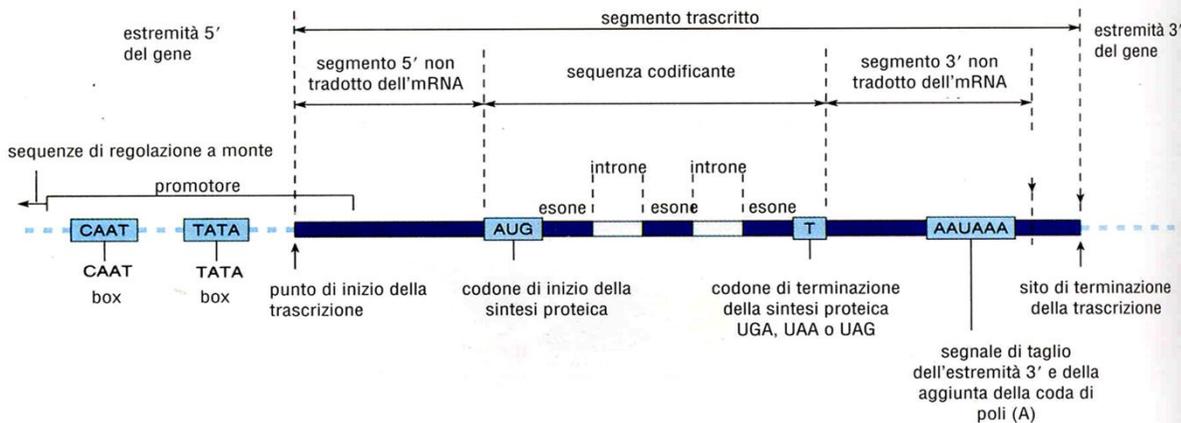
La frequenza di mutazione (mutazione / gene / divisione cellulare) può variare da  $10^{-4}$  a  $10^{-7}$  a seconda della grandezza del gene e del fatto che vi siano “hot spots” mutazionali (la frequenza in molti loci è compresa tra  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ ).

# Patogenicità di una mutazione



- E' influenzata dal **tipo e numero delle cellule** in cui l'allele mutante e' espresso
- Una mutazione non letale nella linea germinale viene trasmessa alla progenie (**mutazione germinale**)
- Una mutazione nelle cellule somatiche avrà una conseguenza solo per la cellula che subisce la mutazione o se avviene nelle prime fasi dello sviluppo potrà coinvolgere più cellule (**mutazione somatica**).

# Mutazioni in posizioni diverse dello stesso gene

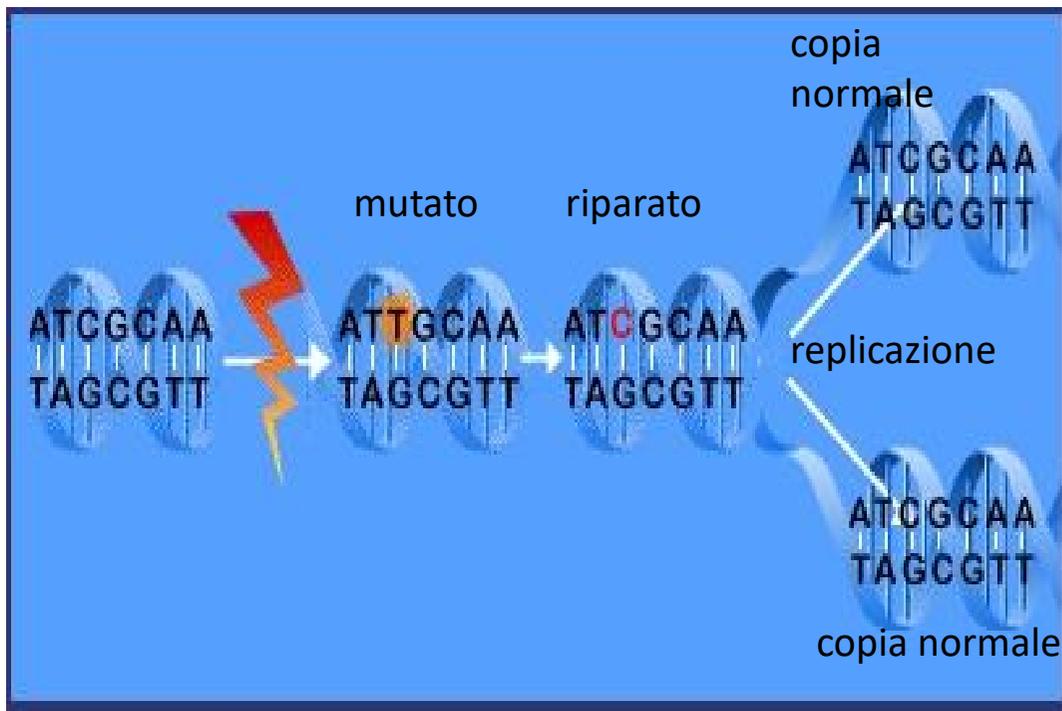


**FIGURA 6.15**

L'organizzazione degli elementi che costituiscono i geni codificanti per gli mRNA negli eucarioti (vedi testo).

- Possono determinare **fenotipi diversi** mutazioni:
- Nella sequenza codificante (sostituzioni di basi, frame-shift)
- Nelle sequenze non codificanti intrageniche
- Nelle sequenze di regolazione esterne ai geni

# Meccanismi di riparazione del DNA



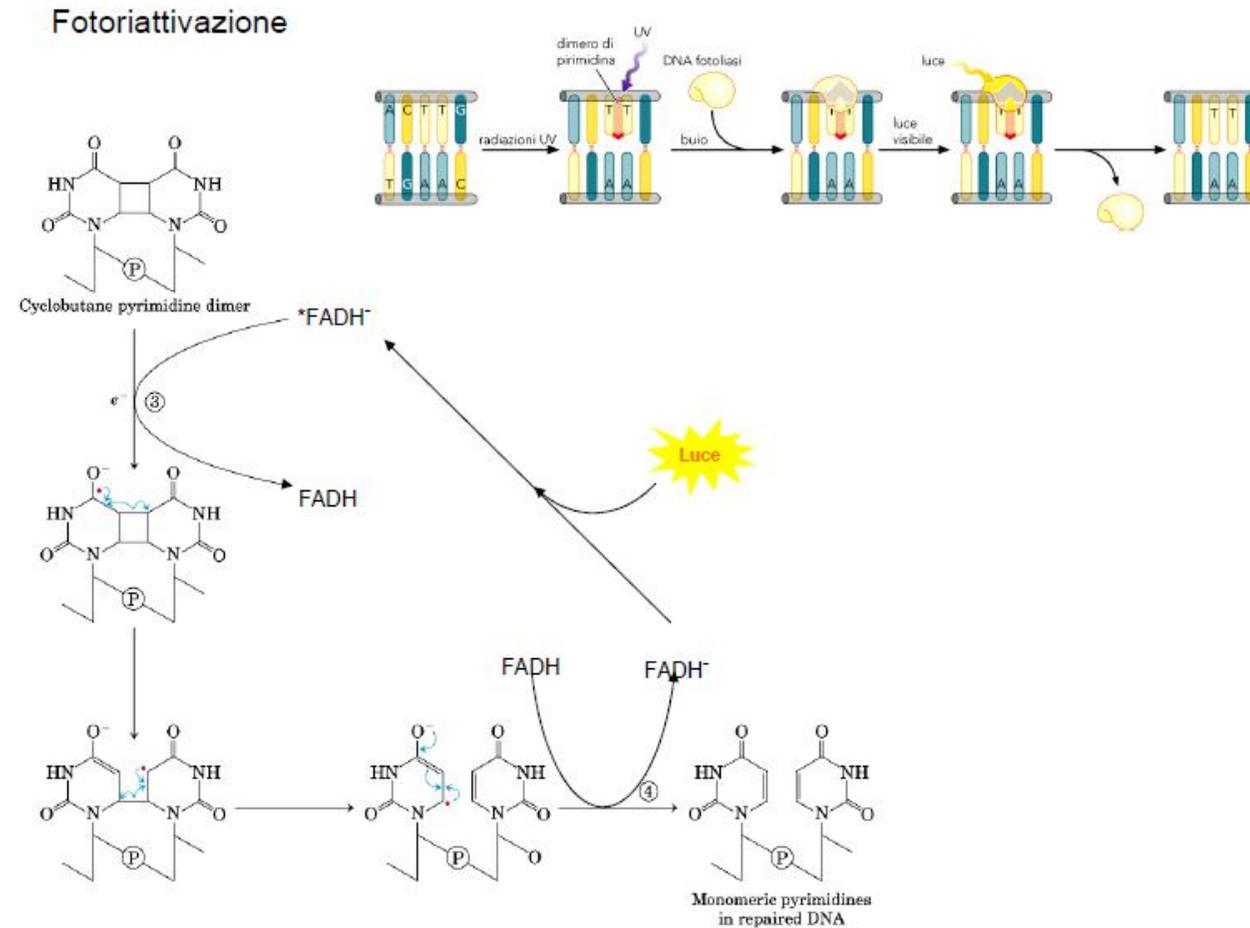
Ogni giorno il DNA di ciascuna cellula subisce almeno 50.000 lesioni ma un complesso meccanismo di riparazione molto efficiente (**oltre 20 enzimi diversi**) previene l'accumulo e la propagazione di numerose mutazioni.

# Sistemi di riparazione

Tabella dei sistemi di riparazione del DNA

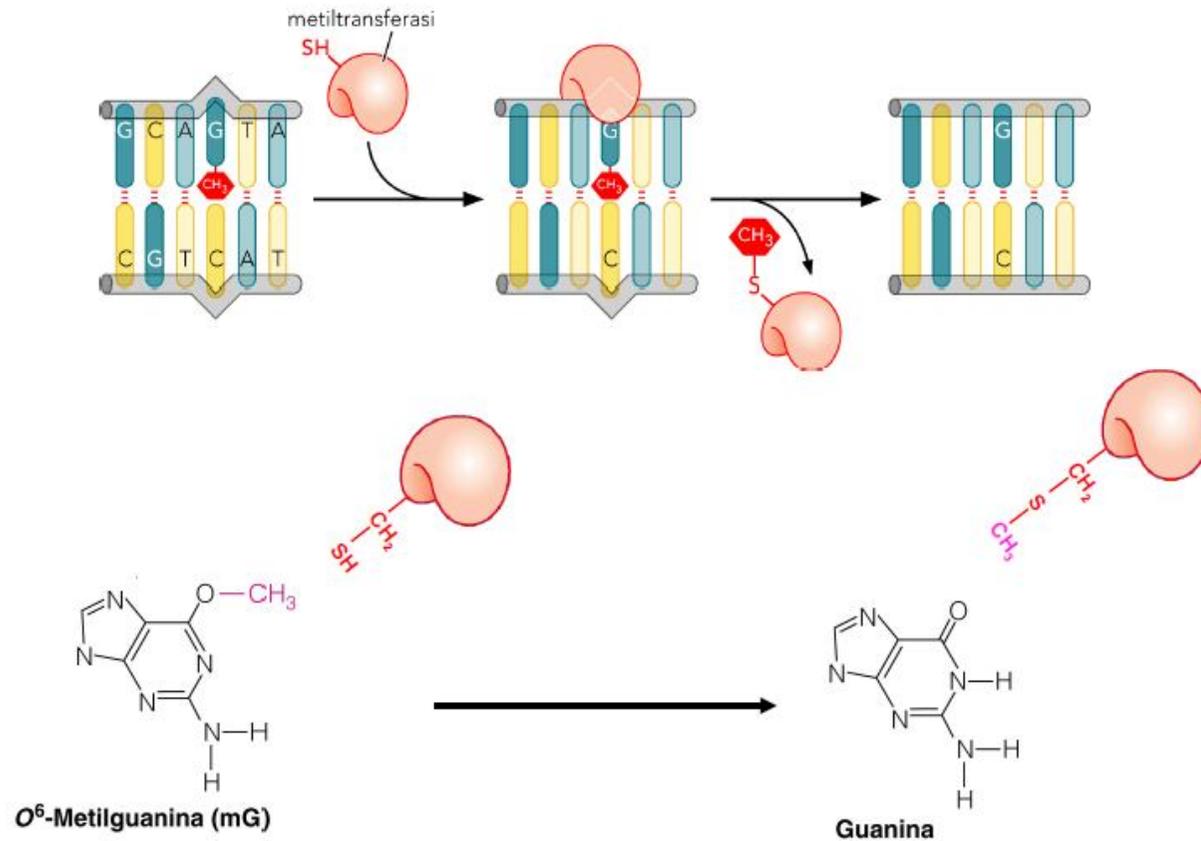
Tipo	Danno	Enzimi
Riparazione dei mismatch	Errori di replicazione	MutS, MutL e MutH in <i>E. coli</i> MSH, MLH e PMS in uomo
Fotoriattivazione	Dimeri di pirimidina	DNA fotoliasi
Riparazione per escissione di basi	Basi danneggiate	DNA glicosidasi
Riparazione per escissione nucleotidica	Dimeri di pirimidina Grossi addotti alle basi	UvrA, UvrB, UvrC e UvrD in <i>E. coli</i> XPC, XPA, XPD, ERCCI-XPF e XPG in uomo
Riparazione di rotture a doppio filamento	Rotture a doppio filamento	RecA e recBCD in <i>E. coli</i>
Sintesi del DNA per translesione	Dimeri di pirimidina o siti apurinici	DNA pol tipo Y (UmuC in <i>E. coli</i> )

# Riparazione mediante: fotoriattivazione



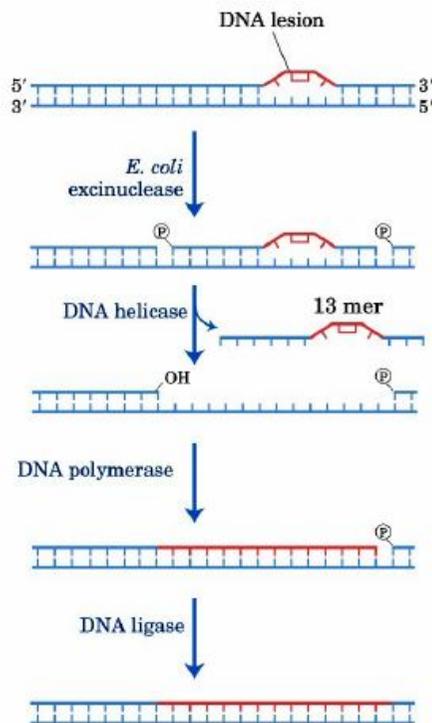
# Riparazione mediante: demetilazione

Rimozione di un gruppo metilico dalla Guanina



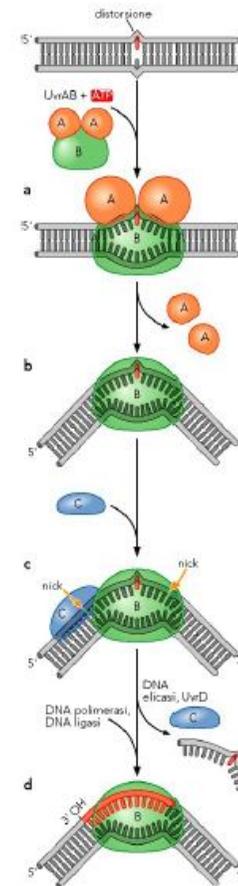
# Riparazione mediante: escissione

Riparazione per escissione di nucleotidi



Enzimi

UvrA  
UvrB  
UvrC  
UvrD  
DNA polimerasi  
DNA ligasi



# Patologie dovute ad un difetto dei meccanismi di riparo del DNA

- Xeroderma pigmentoso
- Sindrome di Bloom
- Anemia di Fanconi
- Atassia teleangectasia
- Sindrome di Werner
- Sindrome di Nijmegen

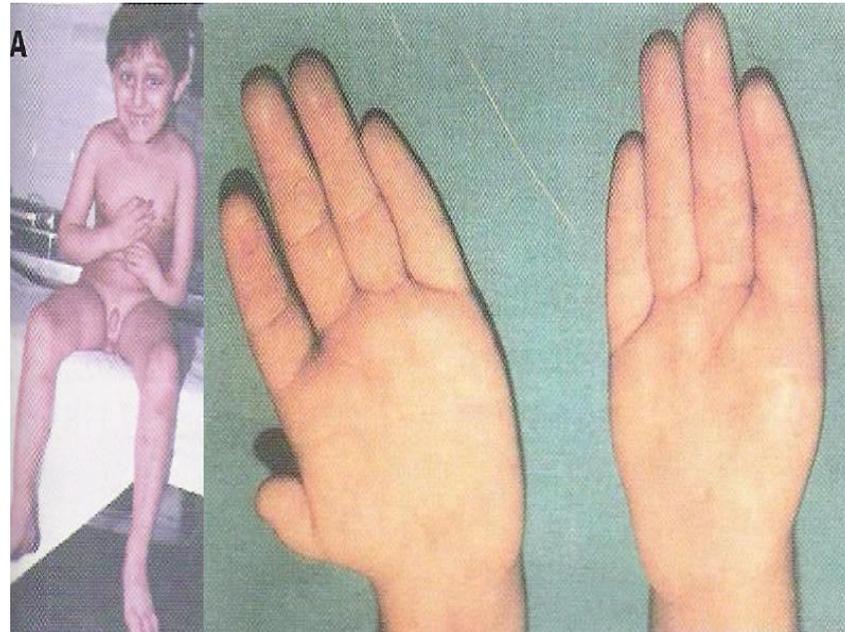
# Sindrome di Bloom

- ❑ microsomia
- ❑ padiglioni auricolari prominenti
- ❑ lesioni eritematose e teleangectasiche sul viso
- ❑ **neoplasie** (leucemie, linfomi, sarcomi, carcinomi della lingua e del tubo digerente)
- ❑ instabilità cromosomica con elevata frequenza di SCE
- ❑ **mutazione omozigote del gene BLM, che codifica per un DNA elicasi 3'-5'**, un membro della famiglia RecQ. La proteina BLM ha un ruolo nel **mantenimento della stabilità genomica durante la replicazione, la ricombinazione e la riparazione del DNA**. La frequenza della BS nella popolazione non è nota, soprattutto per l'estrema rarità della malattia. Tra gli ebrei Ashkenaziti la frequenza della BS è di circa 1/48.000. Questo è dovuto a un effetto fondatore, in quanto l'1% degli ebrei Ashkenaziti è eterozigote per la mutazione BLM<sup>Ash</sup>. Non è disponibile una terapia risolutiva per la BS. Tuttavia, la presa in carico dei pazienti con BS deve essere accurata, per assicurare la diagnosi precoce di cancro.



# Anemia di Fanconi

- microcefalia
- ipogonadismo
- agenesia del pollice
- macchie cutanee
- pancitopenia (anemia)
- neoplasie** (leucemie)
- instabilità cromosomica
- con rotture cromatidiche
- mutazioni dei **geni implicati nella riparazione del DNA e nella stabilità genomica**. Sono stati identificati **15 geni**, che rappresentano 15 gruppi di complementazione.



# Xeroderma pigmentoso

❑ Lo xeroderma pigmentoso (XP) è una genodermatosi rara da **elevata sensibilità alle radiazioni ultraviolette (UV)**, associata ad **alterazioni cutanee e oculari e a carcinomi cutanei multipli**.

❑ La prevalenza è 1/1.000.000 negli Stati Uniti e in Europa ed è più elevata in altri paesi (Giappone, Nord Africa e Pakistan), in particolare nelle **comunità ad elevato grado di consanguineità**.

