

Organizzazione del materiale genetico

IMPACCHETTAMENTO DEL GENOMA

Problema di spazio:

dimensione della cellula
o del compartimento
che contiene il materiale genetico



lunghezza DNA/RNA

Tabella 4.1 Caratteristiche del materiale genetico di diversi organismi.

	Struttura contenitore		Genoma		
	Forma	Dimensioni	Acido nucleico*	Lunghezza	
TMV	Filamento	0,30 × 0,02 μm	1 RNA sf	2 μm	6,4 kb
Fago fd	Filamento	0,88 × 0,01 μm	1 DNA sf	2 μm	6 kb
Adenovirus	Icosaedrico	0,09 × 0,09 μm	1 DNA de	12 μm	35 kb
Fago T4	Icosaedrico	0,20 × 0,09 μm	1 DNA de	57 μm	170 kb
Escherichia coli	Cilindrico	1,7 × 0,65 μm	1 DNA de	1,5 mm	4,2 × 10 ³ kb
Nucleo cellula umana	Sferico	6,00 × 6,00 μm	46 crom., DNA de	2,2 m	6 × 10 ⁶ kb

* sf = singolo filamento; de = doppia elica

Organizzazione genomi virali



Organizzazione genomi virali

Dal punto di vista del materiale genetico



Dal punto di vista strutturale della capsida
contenente il materiale genetico

Virus FILAMENTOSI

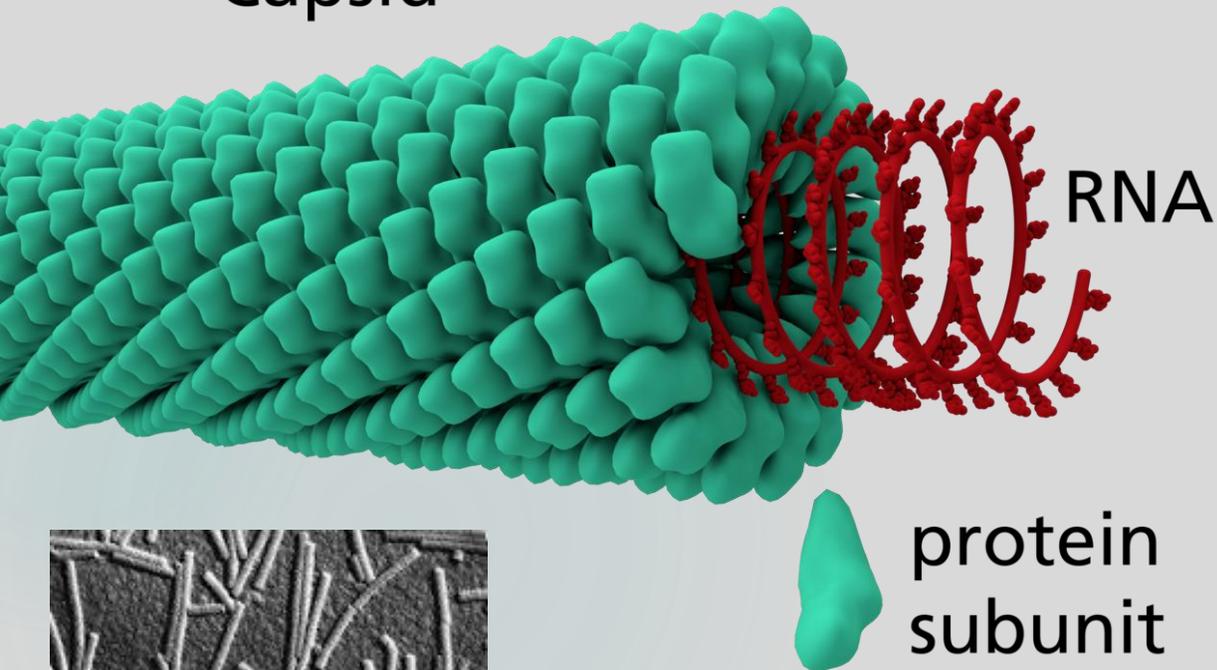
Virus ICOSAEDRICI

Organizzazione genomi virali

Virus FILAMENTOSI: Virus del Mosaico del Tabacco

6.4 kb RNA singolo filamento -- lunghezza 2 μ m --- capsid: 0.30 x 0.02 μ m

Capsid



Sulla molecola di RNA si assemblano, mediante interazioni proteina – RNA e in maniera progressiva delle subunità proteiche identiche .

Da dove comincia l'assemblaggio?

Da una struttura a forcina del RNA che funge da centro di nucleazione. Da questo punto la capsid si estende in ambedue le direzioni fino a l'estremità del RNA.

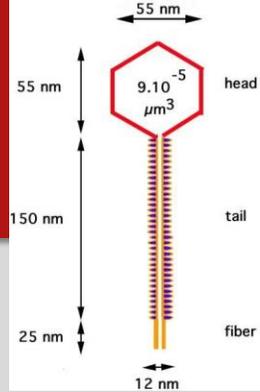
Le subunità proteiche si dispongono in elica (17 subunità/giro). Il RNA si avvolge elicoidalmente in contatto con la faccia interna dell'involucro proteico

Organizzazione genomi virali

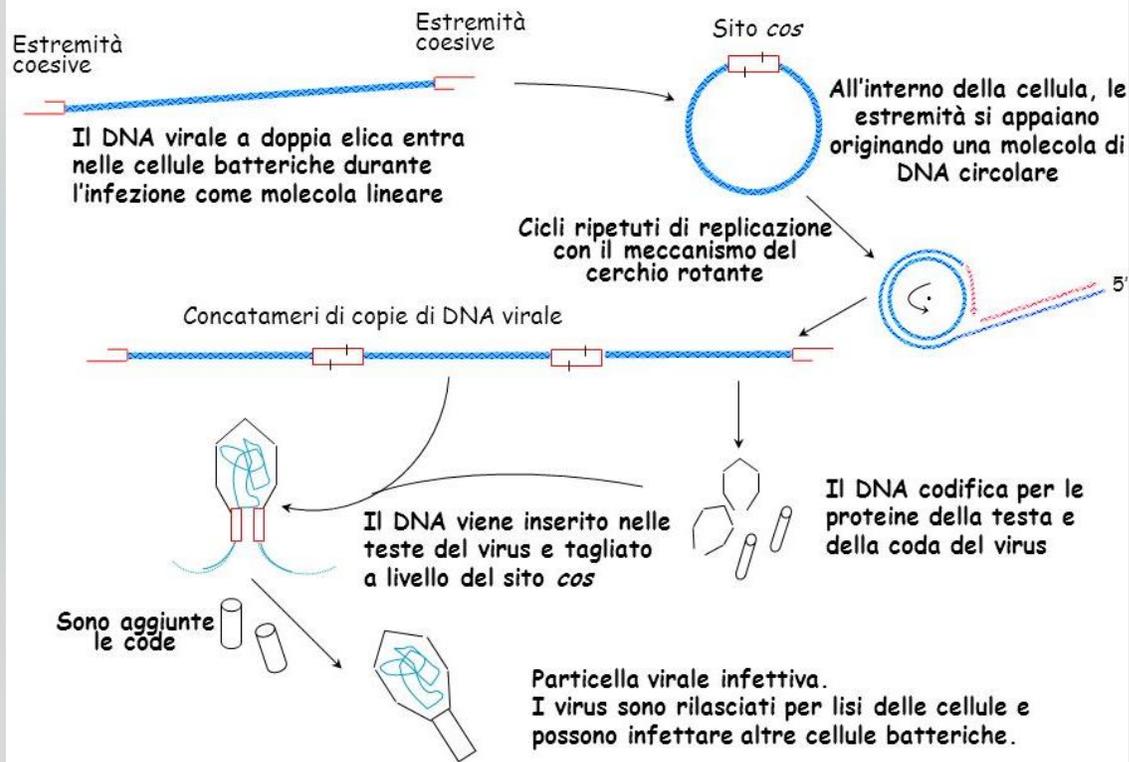
Virus ICOSAEDRICI: Fago Lambda (λ)

48 kb DNA doppio filamento circolare chiuso -- lunghezza $20\mu\text{m}$ --- capsid: $0.05 \times 0.05 \mu\text{m}$

Soriano ME



IMPACCHETTAMENTO del DNA VIRALE



Il fago inietta il suo **DNA circolare a doppia elica** nella cellula ospite dove si replica mediante il «**meccanismo di cerchio rotante**» dando luogo ad una lunga molecola lineare contenendo molte copie del genoma che rimangono unite.

Contemporaneamente, i **geni del fago si esprimono** sintetizzando i componenti proteici del virus, che si assemblano separatamente dando luogo alla **testa e alla coda del fago**.

Con la struttura della testa in formazione comincia la **traslocazione** del DNA al suo interno. Per questo viene tagliato da enzimi che riconoscono punti specifici del genoma del fago chiamati « cohesive end sites » (**cos sites**) che delimitano un genoma completo del fago. Il taglio creato dagli enzimi forma estremi asimmetrici e appiccicosi che portano alla **condensazione** del genoma una volta all'interno della capsid

Organizzazione genomi virali

Virus ICOSAEDRICI: Fago Lambda (λ)

- ▶ La traslocazione del DNA a doppia elica (conformazione più rigida di quella del singolo filamento) all'interno della capsida richiede energia: **è ATP- dipendente**
- ▶ Non è chiaro se il meccanismo di traslocazione sia :
 - ▶ Di **spinta** verso l'interno mediato dagli enzimi che tagliano i « *cos sites* »
 - ▶ Di **traina** mediato da proteine che sono all'interno della capsida

L'impacchettamento non richiede la presenza di sequenze specifiche oltre ai « *cos site* » che delimitano la lunghezza della molecola.



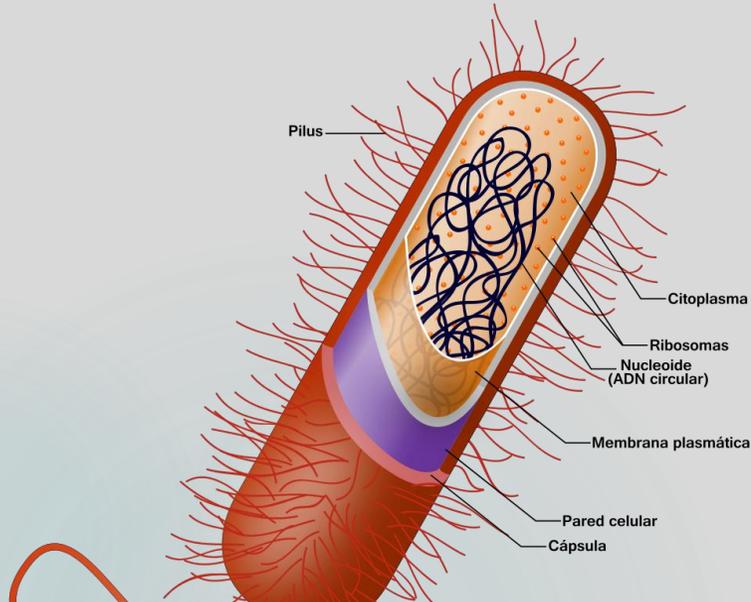


Organizzazione e genoma batterico

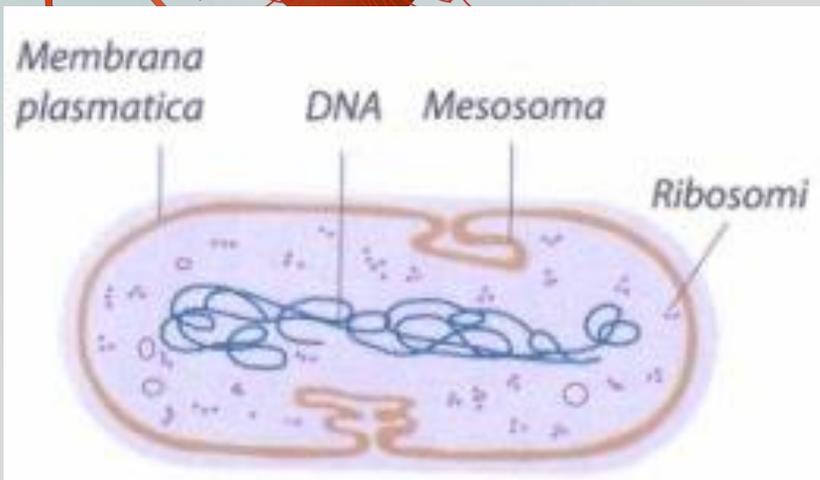
Soriano ME

Organizzazione genoma batterico

4,2 x 10³ kb DNA doppio filamento circolare chiuso -- lunghezza 1.5mm --- dimensione: 1.7 x 0.65 μm



- DNA in batteria è compatatto tramite la formazione di diverse strutture tipo loops, piegamenti e giri – contorsioni
- Il DNA si trova abbastanza compatto formando strutture nucleo-proteiche chiamate **NUCLEOIDI** (i cromosomi procariotici) liberi nel citoplasma cellulare (no membrana nucleare).
- Ogni cellula contiene 1 o più nucleoidi ancorati ad invaginazioni della membrana interna noti come **mesosomi**
- L'ancoraggio media la segregazione dei cromosomi figli dopo la replicazione. La segregazione avviene come risultato della crescita della membrana e successiva fissione.

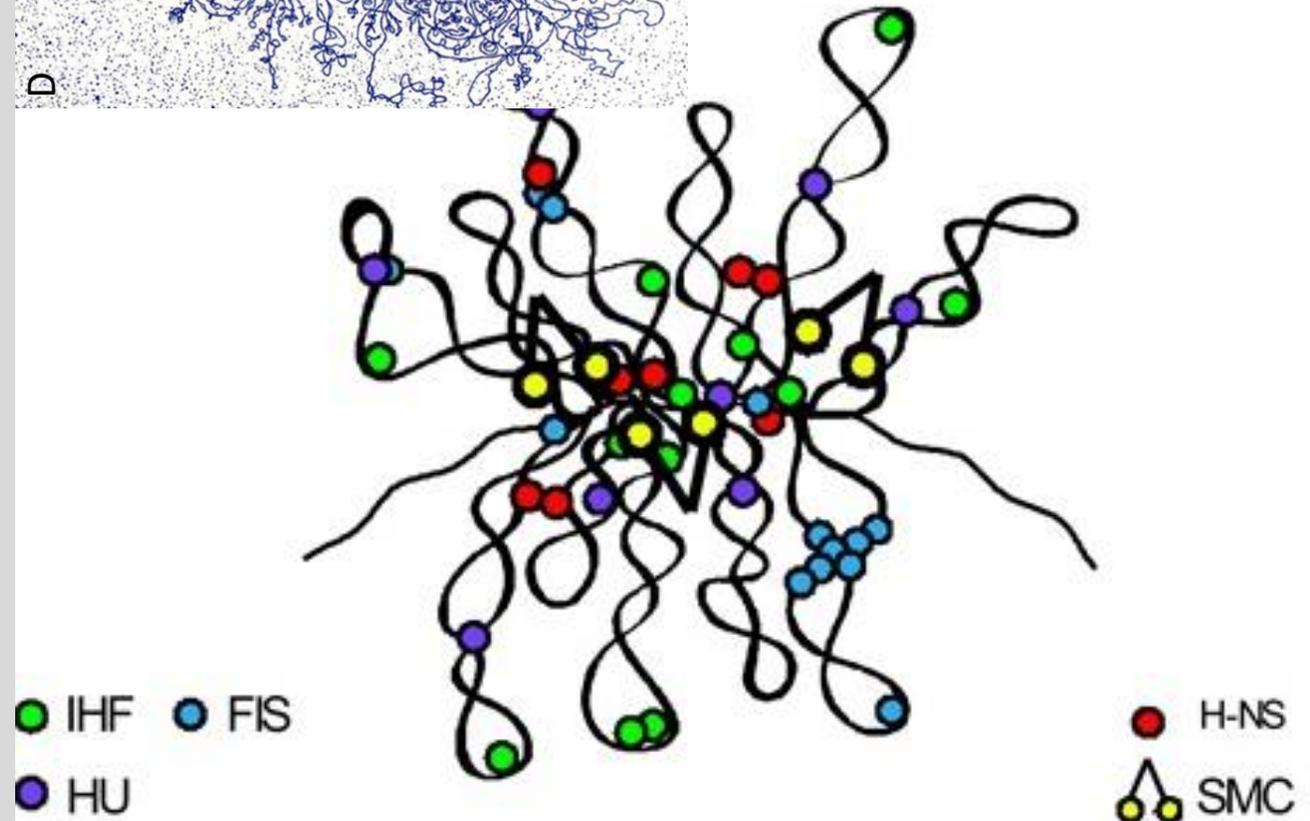
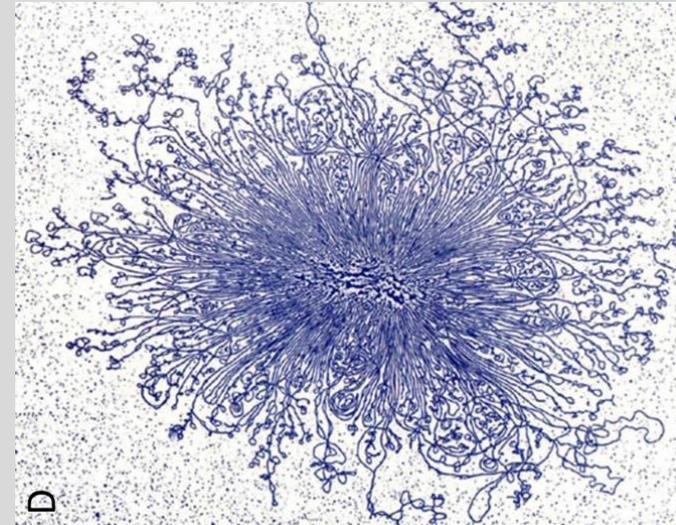


Organizzazione genoma batterico

Nucleoide

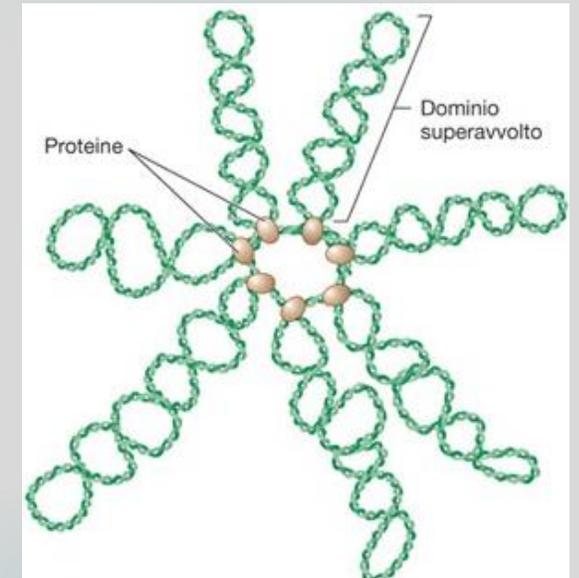
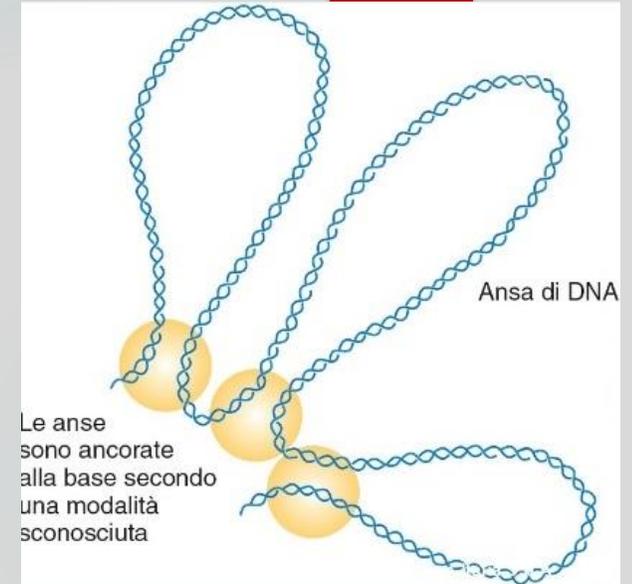
- ▶ **80% DNA – 20% Proteina +RNA**
- ▶ sono implicate nella **replicazione, trascrizione e ricombinazione del DNA.**
- ▶ Le Proteine Associate al Nucleoide (**NAPs: nucleoid associated proteins**) sono implicate nella organizzazione del cromosoma
- ▶ Queste proteine legano il DNA regolando la sua organizzazione come fanno l'istone negli eucarioti.

Struttura-conformazione DNA/RNA ↔ Attività-funzione DNA/RNA



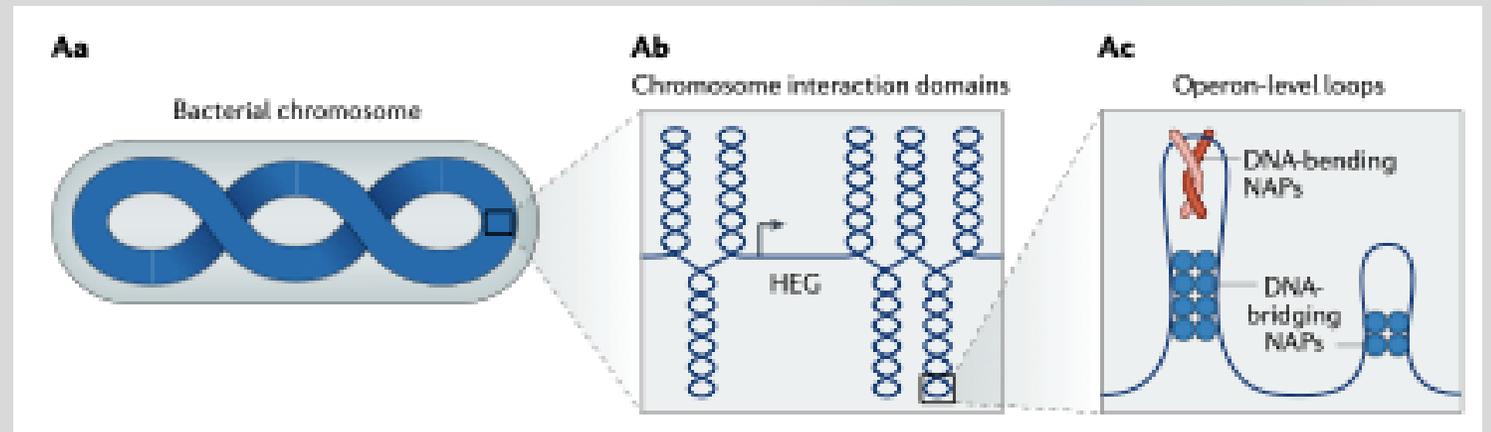
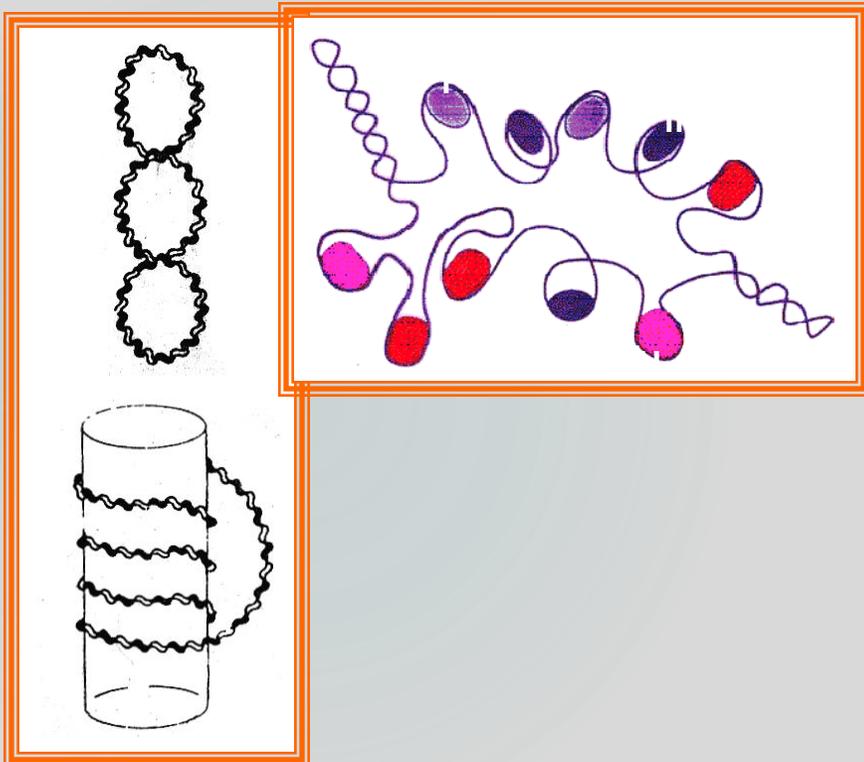
Organizzazione genoma batterico

- ▶ Il cromosoma batterico (o Nucleoide) forma delle **anse** della lunghezza media intorno ai 40kb ciascuna.
- ▶ Ogni ansa **si stabilizza alla base** ad una struttura non ben definita, probabilmente di tipo **proteico**, diventando ogni ansa un **dominio indipendente dal punto di vista topologico**.
- ▶ Infatti ogni ansa può presentare delle **topologia diverse che non si propaga**, con dei gradi di superavvolgimento diversi **regolando così la espressione genica e anche il compattamento della molecola**.



Organizzazione genoma batterico

Il cromosoma batterico può presentare simultaneamente, in anse diverse, dei **superavvolgimenti plectonemici o toroidali**



Organizzazione genoma batterico

↓
Nucleoide

↓
NAPs: Proteine associate al Nucleoide

▶ HU:

Proteina considerata un istone batterico.

Compatta il DNA e induce la sua curvatura (induce superavvolgimenti negativi). Legando il DNA lo curva dando luogo ad una conformazione toroidale.

Proteina periferica che si ipotizza leghi anche il RNA, suggerendo un suo ruolo nella trascrizione e traduzione del mRNA.



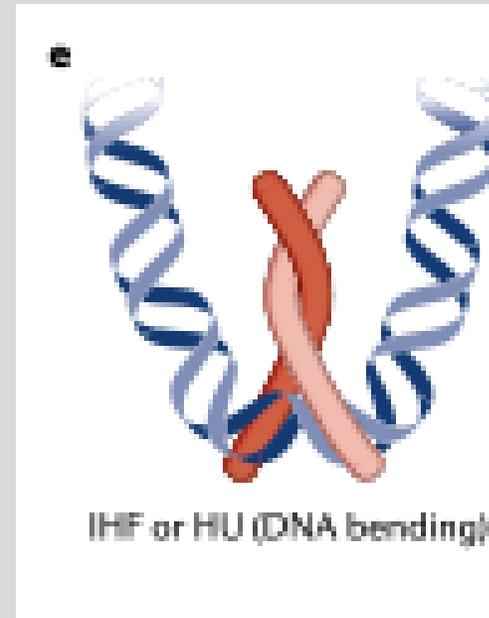
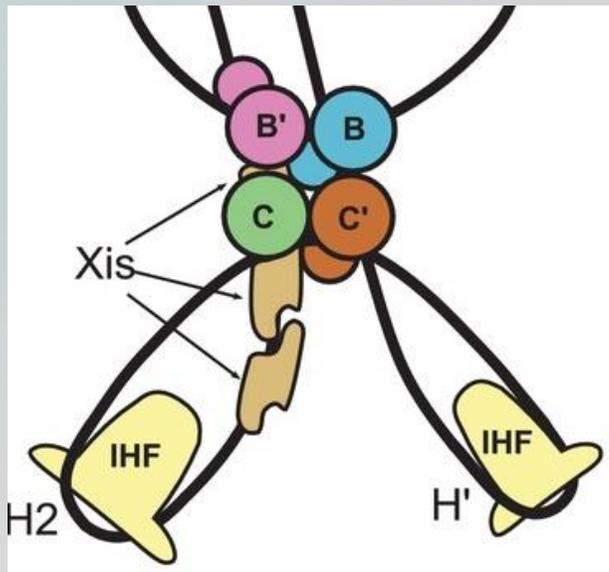
NAPs: Proteine associate al Nucleoide

▶ IHF:

Induce una forte curvatura del DNA (fino a 140°) legandosi a sequenze specifiche della molecola.

Interviene in eventi di ricombinazione e trasposizione.

Facilita la interazione di siti distanti nella molecola



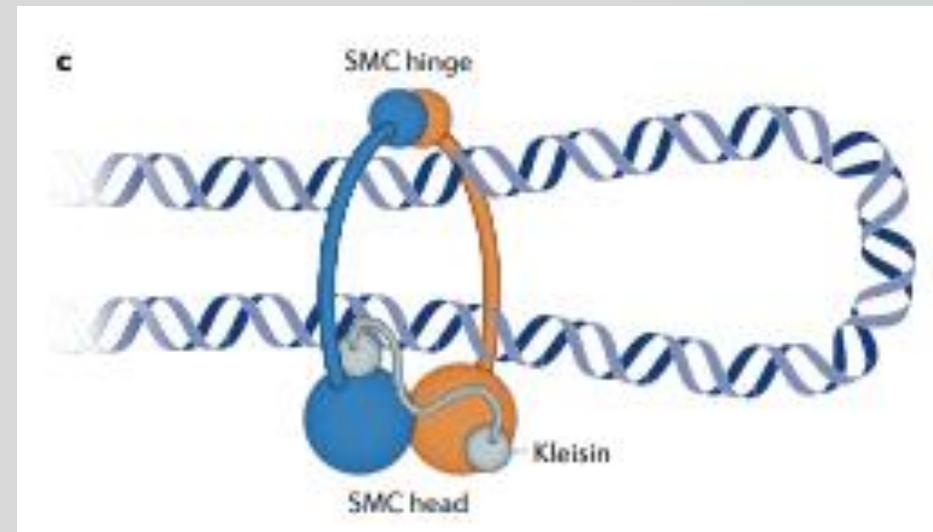
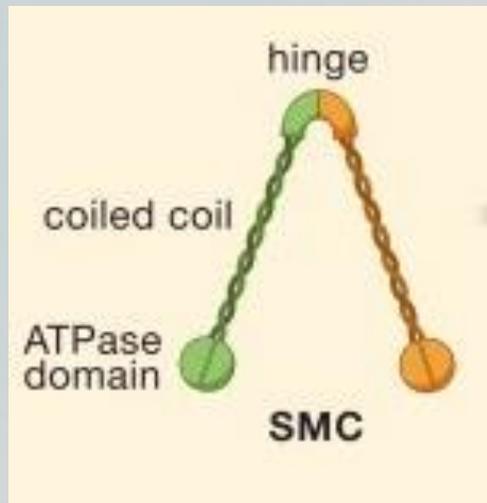
NAPs: Proteine associate al Nucleoide

▶ SMC like (Structural Maintenance of chromosome)

Contengono dei domini ATPase che formano dimeri antiparalleli.

Presentano dei domini coiled-coil che separano terminazioni globulari che legano DNA.

Recentemente si è visto che sono fondamentali per la condensazione e segregazione del cromosoma regolando la progressione del ciclo cellulare in batteri.



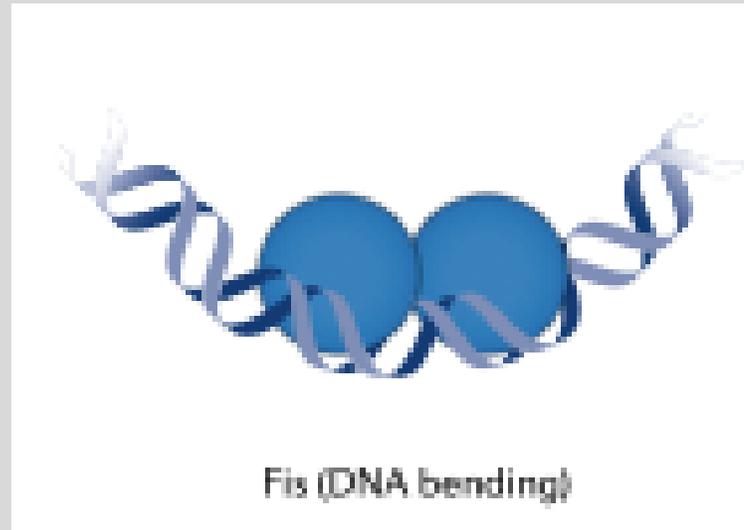
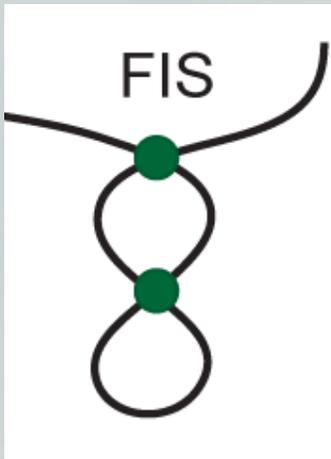
NAPs: Proteine associate al Nucleoide

▶ FIS

Induce curvatura del DNA di 90° alterando la sua morfologia

Partecipa nella ricombinazione, trasposizione e replicazione del DNA

Si lega al DNA in sequenze specifiche



Organizzazione genoma batterico

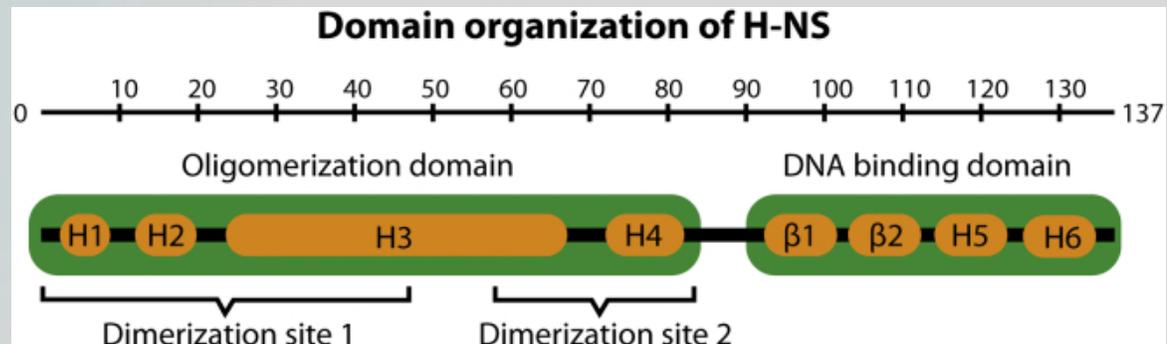
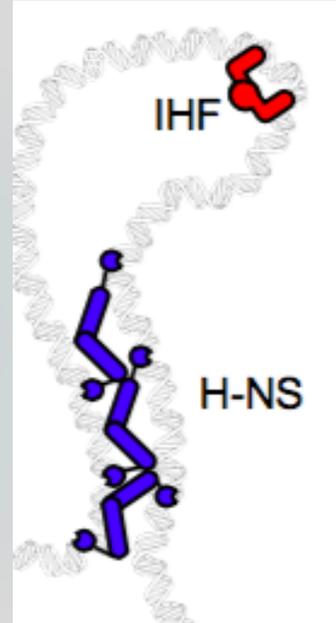
↓
Nucleoide

↓
NAPs: Proteine associate al Nucleoide

▶ H-NS (H1)

Si lega a DNA curvo.

Regola la trascrizione mediante la repressione o attivazione di certi geni, legandosi in molti casi ai promotori genici



A microscopic image of a karyotype showing numerous chromosomes stained in shades of purple and blue. The chromosomes are arranged in a somewhat organized manner, with some appearing as distinct X-shaped structures. A dark grey rectangular box is overlaid on the center of the image, containing the title text. In the top right corner, there is a solid red vertical bar.

Organizzazione DNA eucariotico

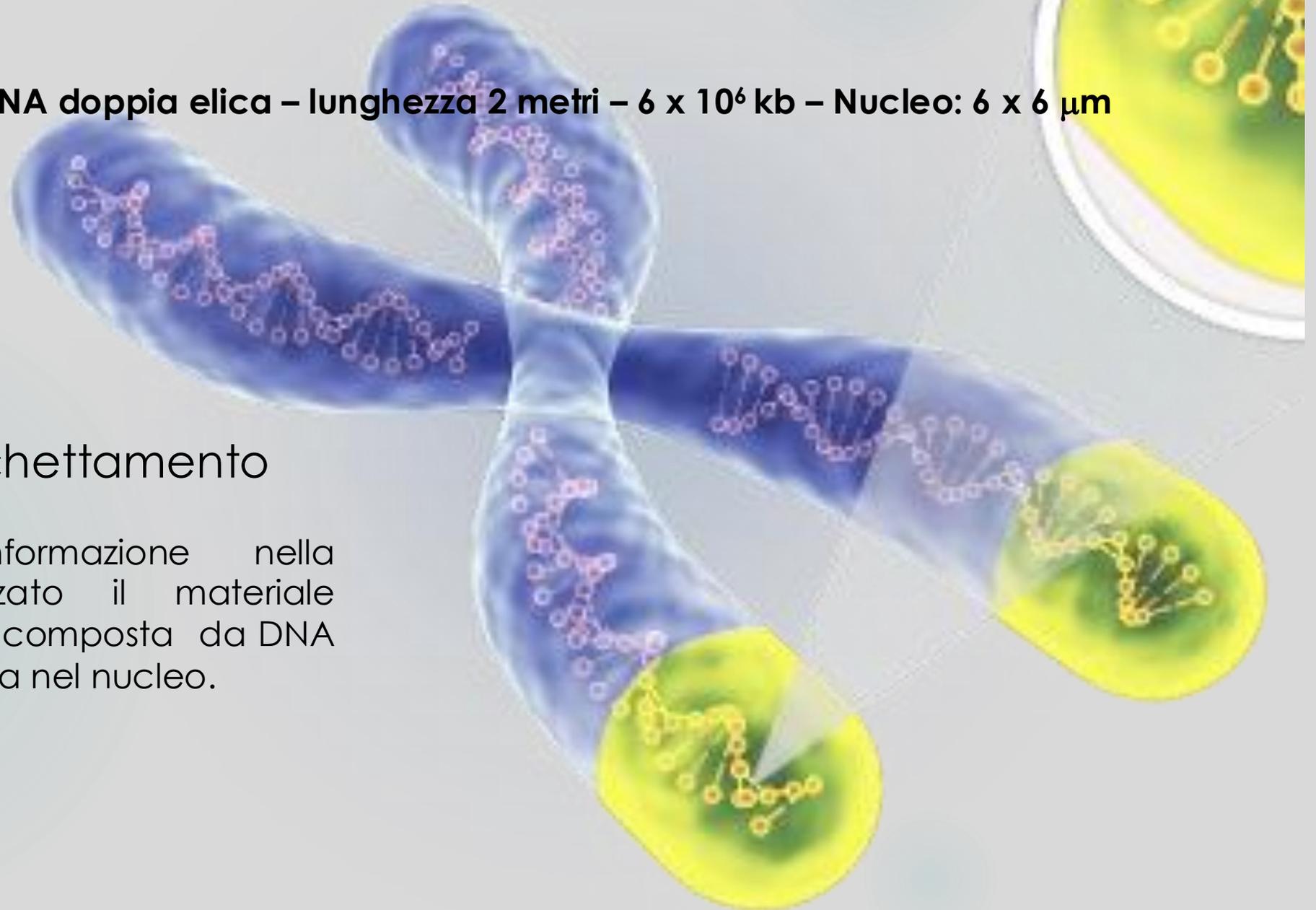
Soriano ME

Organizzazione DNA eucariotico

46 cromosomi: DNA doppia elica – lunghezza 2 metri – 6×10^6 kb – Nucleo: $6 \times 6 \mu\text{m}$

Esistono diversi
livelli di impacchettamento

CROMATINA: Conformazione nella quale è organizzato il materiale genetico eucariote, composta da DNA e proteine, localizzata nel nucleo.

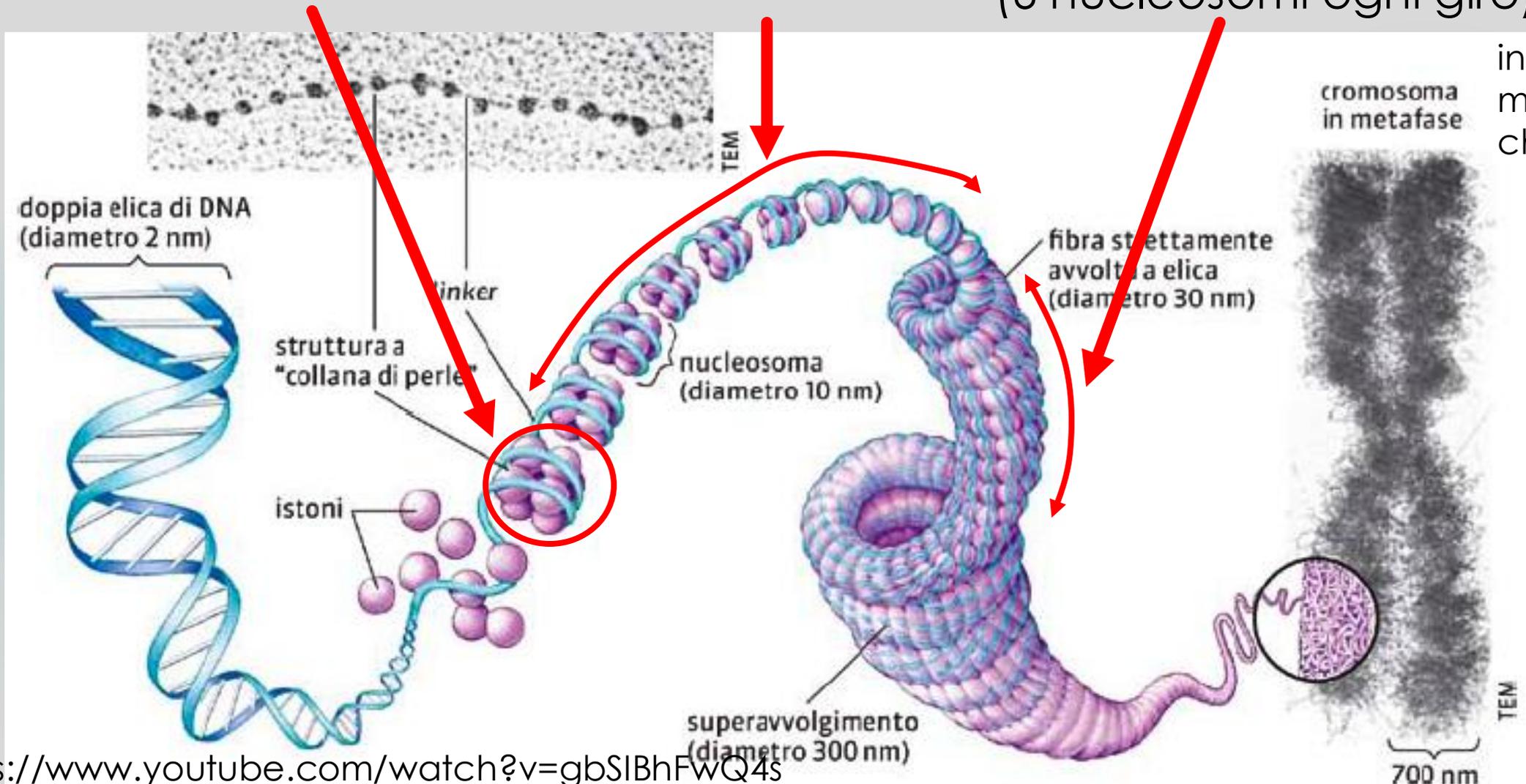


DNA eucariotico: Livelli di impacchettamento

Nucleosoma

Collana di perle o
Fibra da 10 nm

Solenioide o
Fibra da 30 nm
(6 nucleosomi ogni giro)

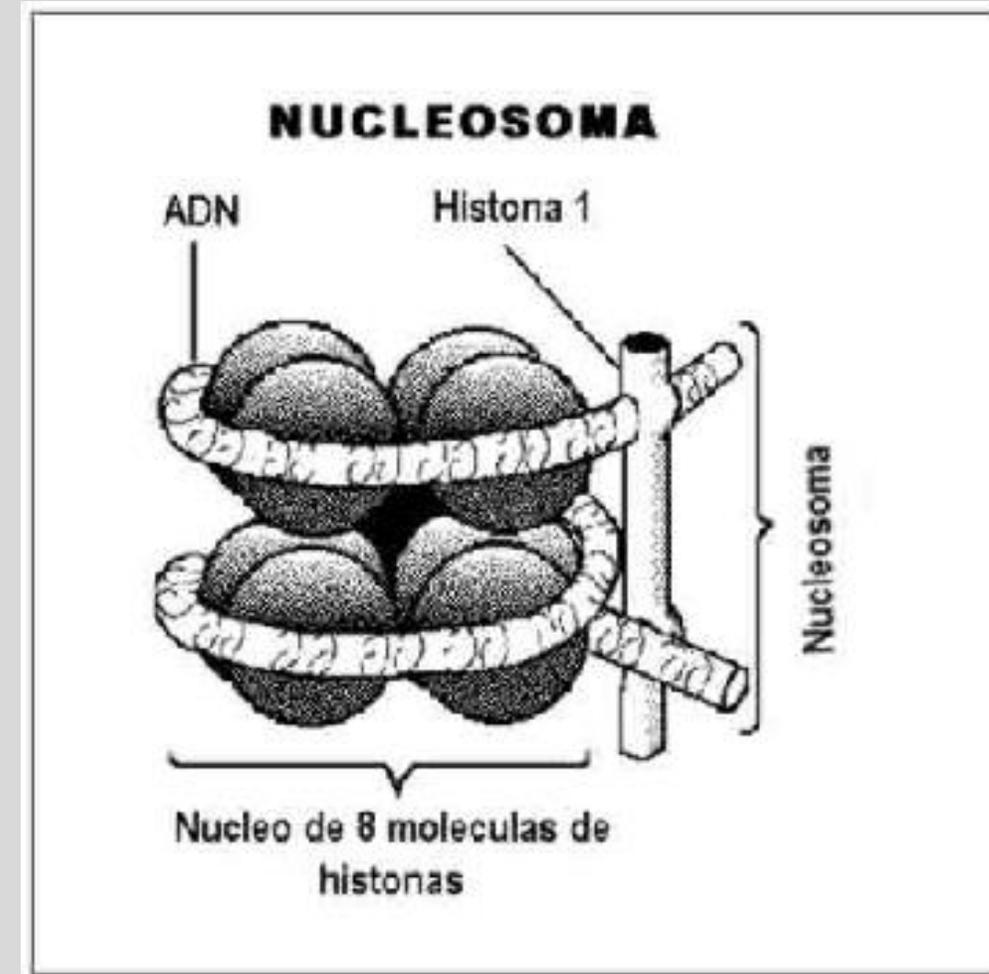
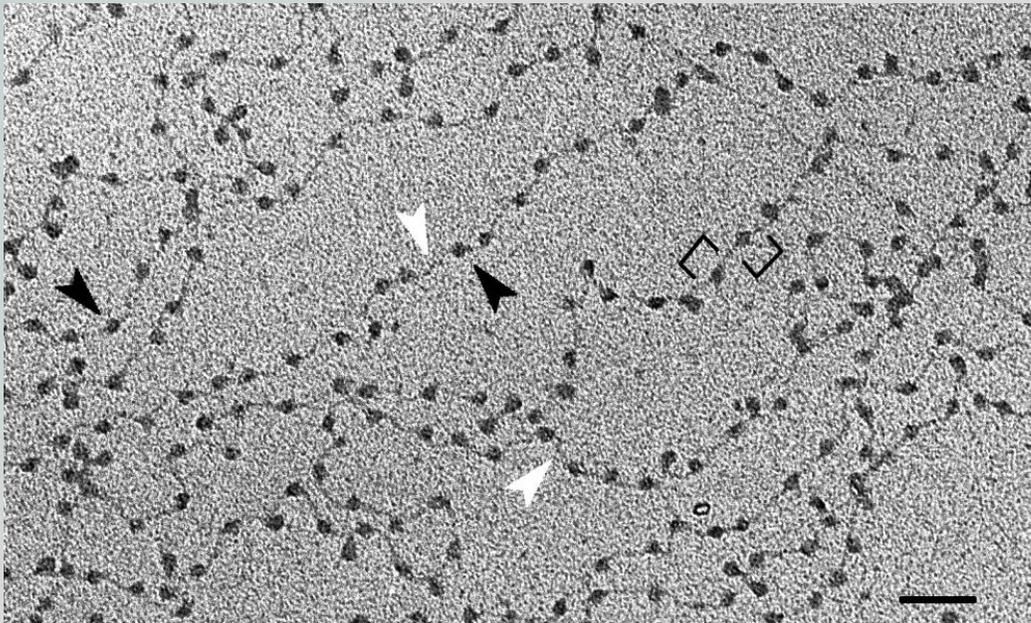


interphase and
metaphase
chromosomes.

DNA eucariotico: Livelli di impacchettamento

Nucleosoma

- ▶ Il compattamento del DNA dipende dalla quantità di interazione della doppia elica con delle proteine chiamate **ISTONI** (costituiscono il 80-90% delle proteine che formano la cromatina).
- ▶ La struttura che si forma è il primo livello di complessità del genoma eucariotico, il **NUCLEOSOMA**



DNA eucariotico: Istoni

- ▶ Polipeptidi con **carica positiva** data dalla presenza di **amminoacidi (aa) basici** nella loro sequenza (lisina ed arginina).
- ▶ Le loro sequenze amminoacidiche sono **molto conservate**, variando solo da qualche aa.
- ▶ dimensione piuttosto limitata (il loro peso molecolare (11-28kDa))

Gli istoni sono suddivisi in 5 classi: **H1**, **H2A**, **H2B**, **H3** e **H4**

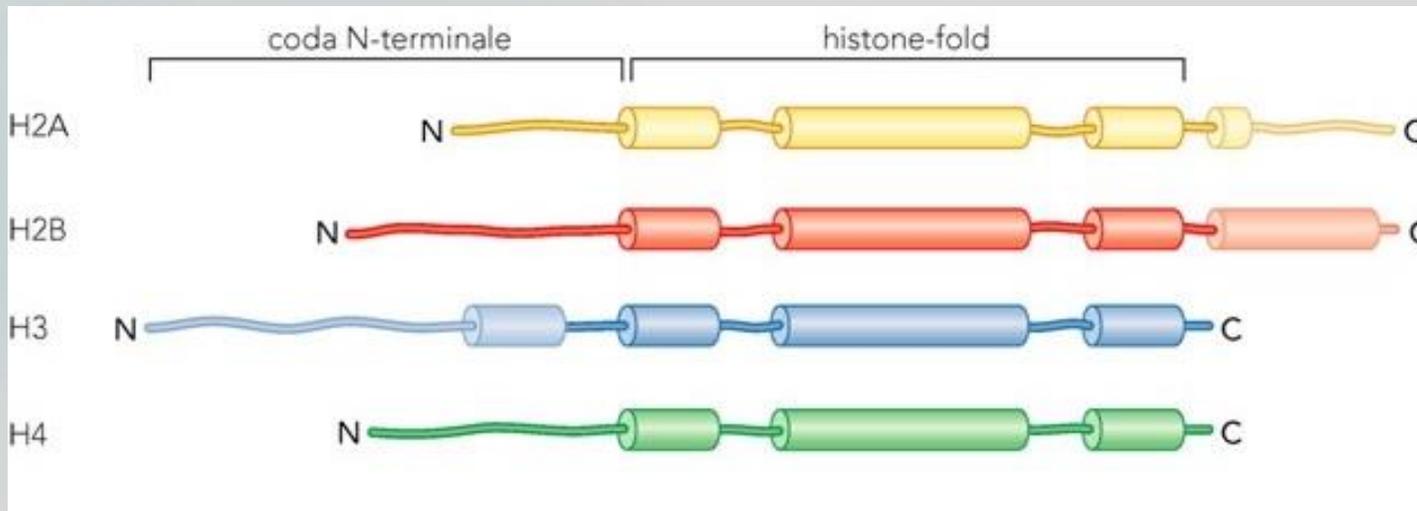
<i>Tipo di istone</i>	<i>Peso molecolare (kDa)</i>	<i>Numero di amminoacidi</i>	<i>Contenuto in amminoacidi basici</i>
H1	17-28	200-265	27% lisina, 2% arginina
H2A	13,9	129	11% lisina, 9% arginina
H2B	13,8	125	16% lisina, 6% arginina
H3	15,3	135	10% lisina, 15% arginina
H4	11,3	102	11% lisina, 4% arginina

DNA eucariotico: Istoni

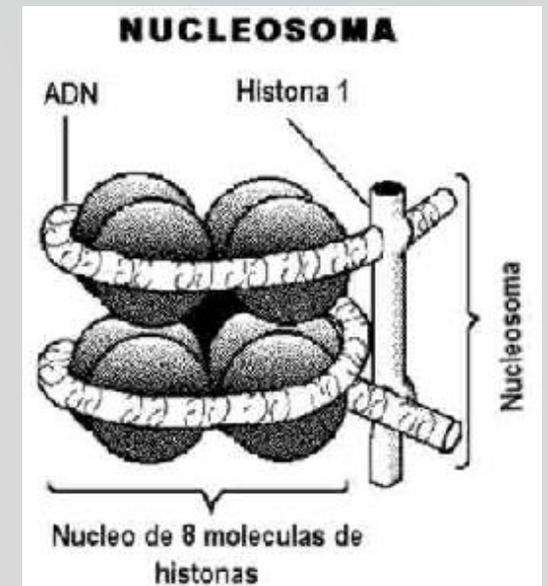
Gli istoni delle classi **H2A**, **H2B**, **H3** e **H4** sono noti anche come istoni del **core del nucleosoma**, mentre la classe **H1** è l'**istone linker**.

Tutti gli istoni della particella core presentano un motivo strutturale centrale comune chiamato **ripiegamento istonico** o « **histone fold domain** », e delle **code N-terminali** molto variabili in sequenza e meno conservate

Il **ripiegamento istonico** è costituito da **3 alpha-eliche** separate da 2 regioni di legame

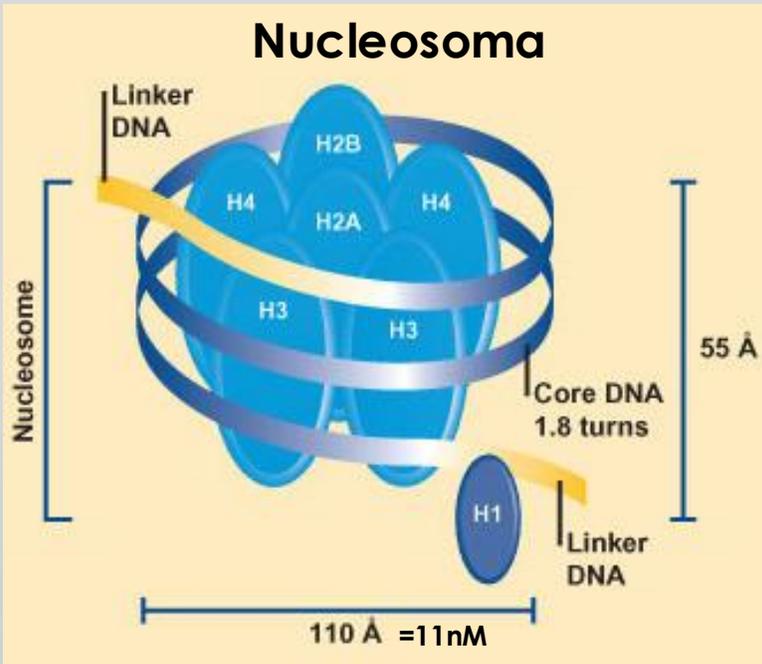


Amaldi F et al. Biologia Molecolare, 2° Edizione 2014, Ambrosiana



E' interessante notare che altre proteine che interagiscono con il DNA contengono anche il « histone fold domain »

Ottamero Istoni-DNA



Il nucleosoma è costituito da un tratto di DNA di circa 200pb associato all'ottamero di proteine istoniche (Core Istonico) costituito da:

2 x H2A

2 x H2B

2 x H3

2 x H4

} Molto conservate:
probabilmente molto importanti

Il DNA lungo 200 pb gira quasi 2 volte (1.8) intorno all'ottamero

Associato **esternamente al core** si trova una molecola dell'istone **H1**, proteina questa ultima meno conservata rispetto agli altri istoni

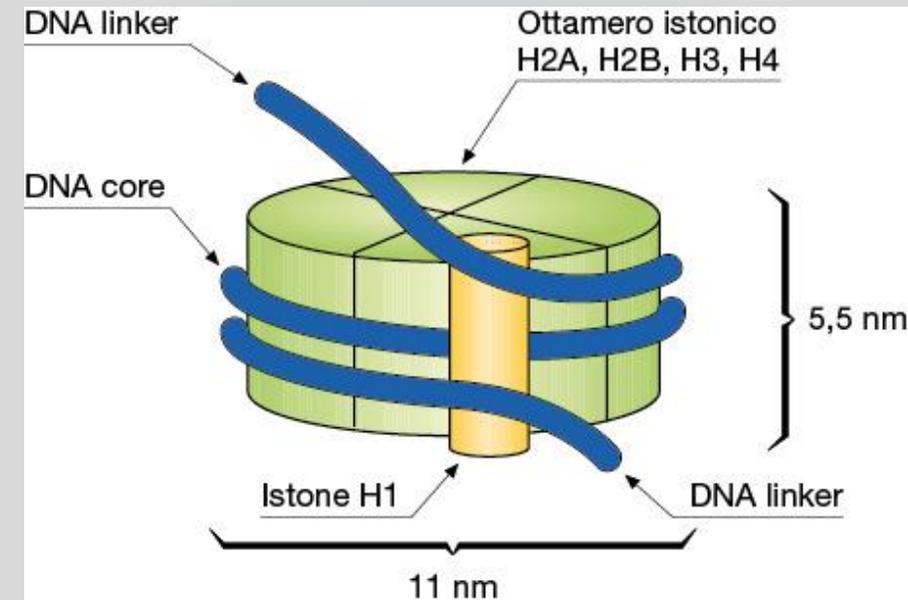


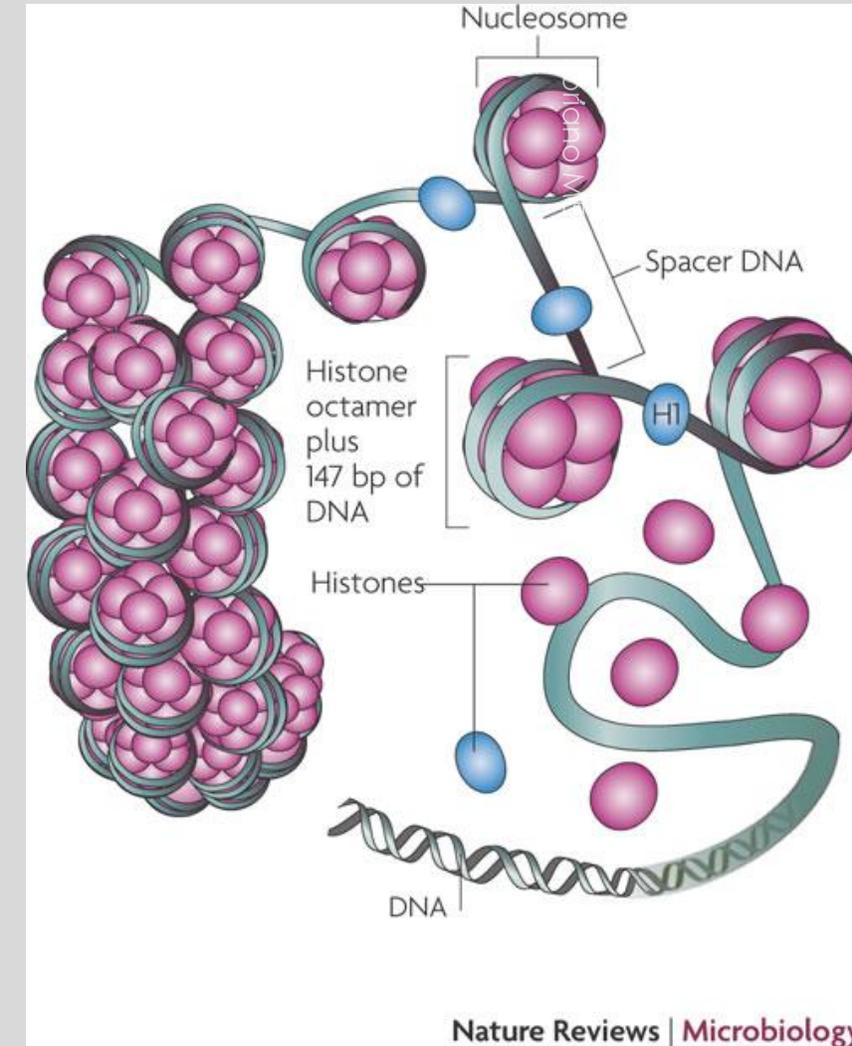
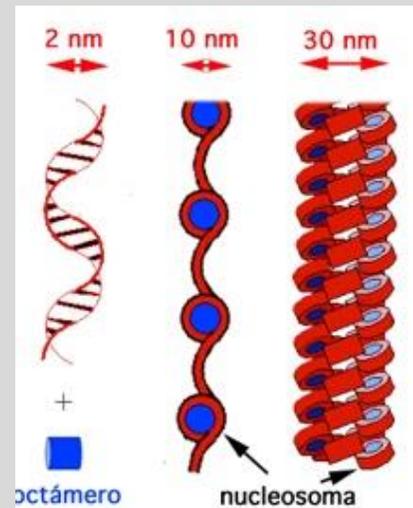
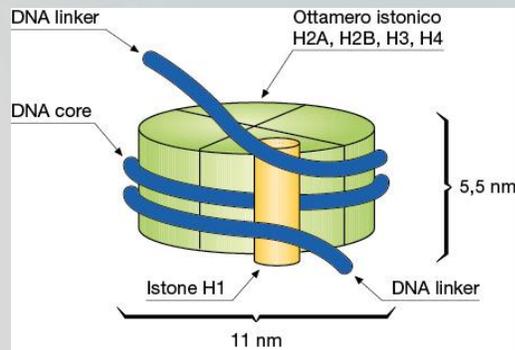
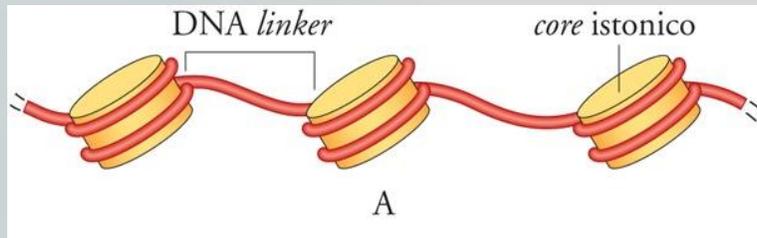
Figura 4.17B Struttura del nucleosoma.

Assemblaggio Nucleosoma

Delle 200 pb del DNA che girano intorno all'ottamero, **140-150 pb sono strettamente associate al nucleosoma**, mentre **50 pb** separano un nucleosoma dall'altro (**DNA linker**), segmento che si associa all'istone H1.

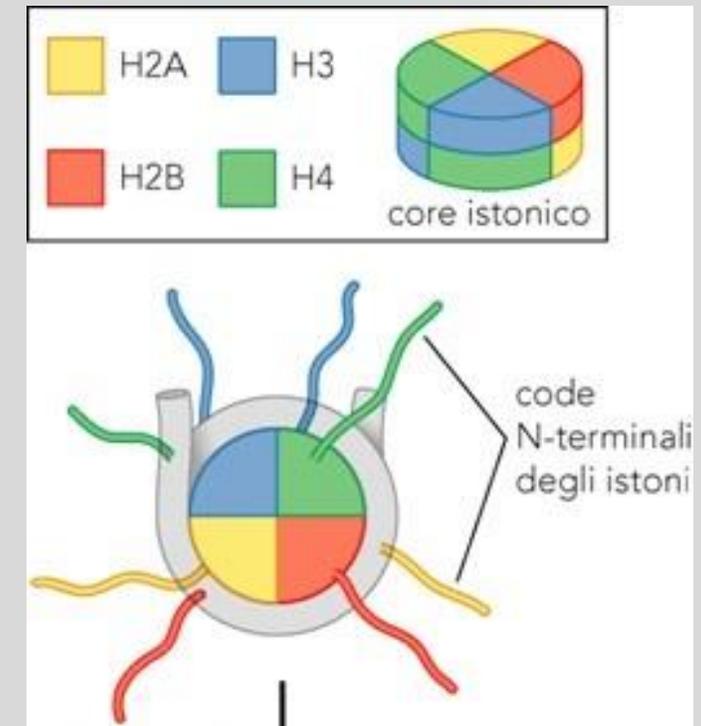
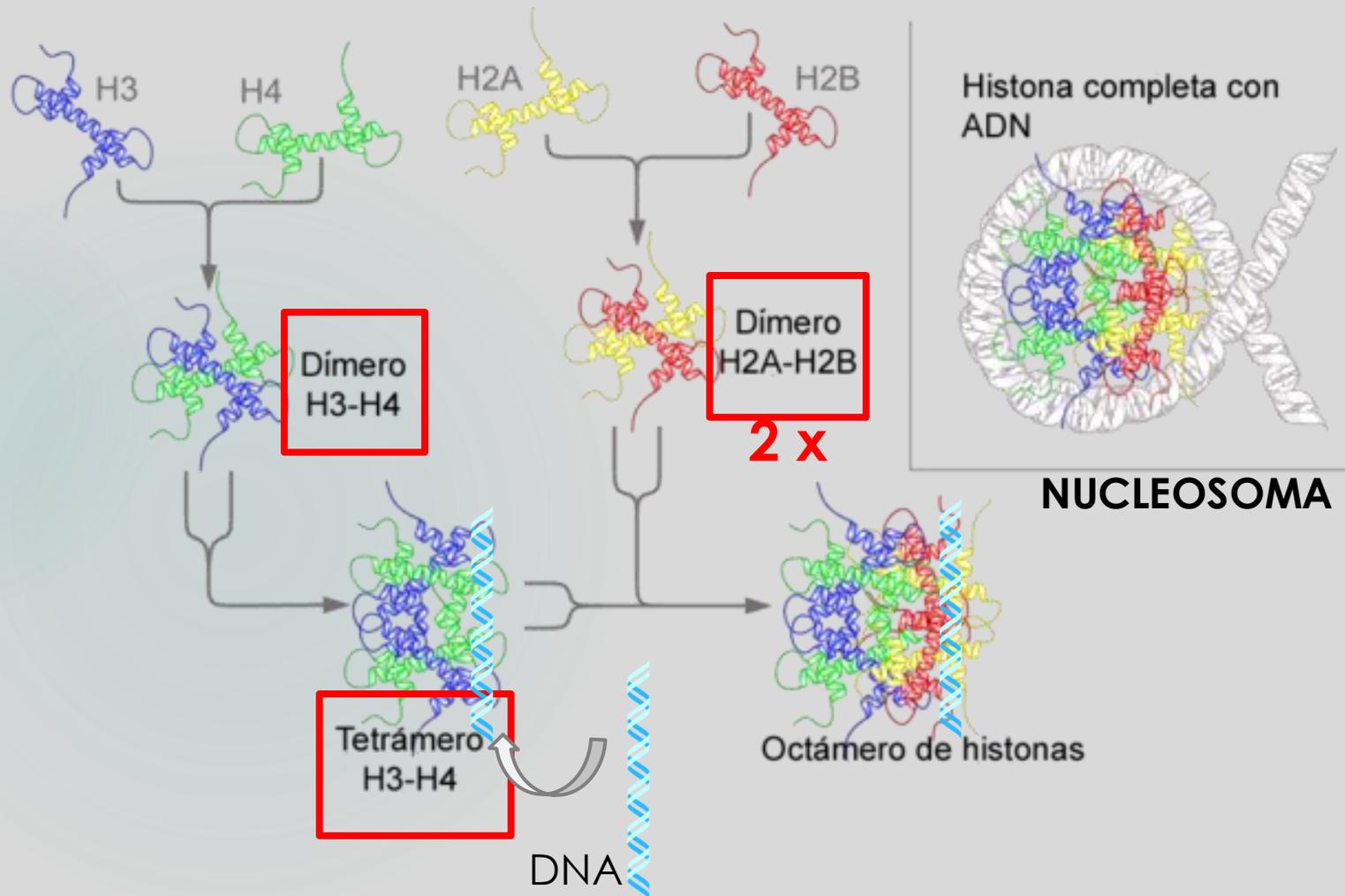
L'istone **H1** contribuisce alla struttura e compattamento della cromatina in 2 modi:

1. interagisce con il tratto di DNA tra due nucleosomi (DNA linker)
2. provoca un'ulteriore adesione con una regione mediana dei 140-150 pb che girano intorno all'ottamero, inducendo una maggiore adesione del DNA all'ottamero istonico.



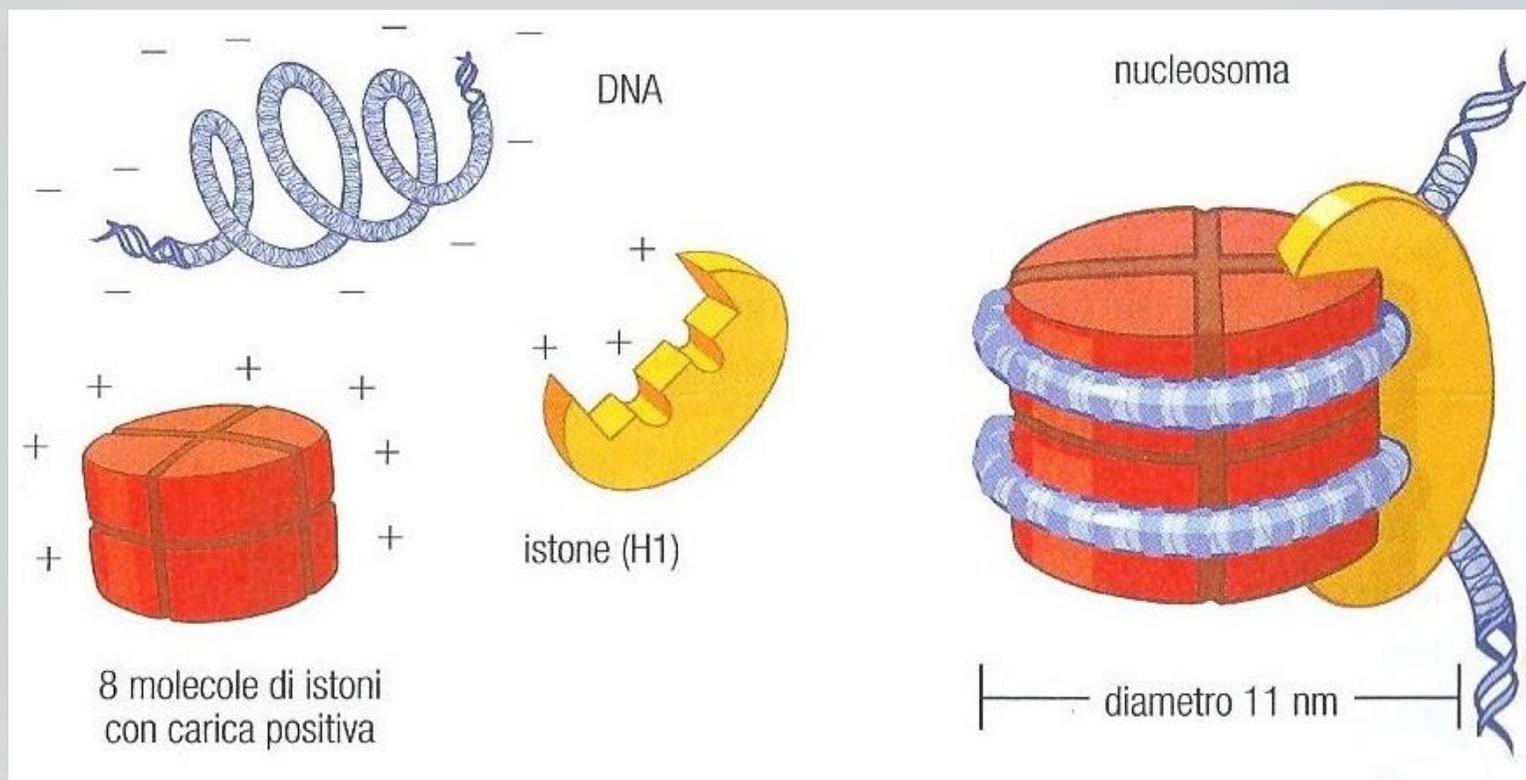
Assemblaggio degli Istoni e formazione dell'ottamero istonico

Il dominio **ripiegamento istonico (histone fold domain)** media la formazione delle copie eterodimeriche dell'istoni, il cui assemblaggio porta alla formazione del NUCLEOSOMA:



Istoni-DNA

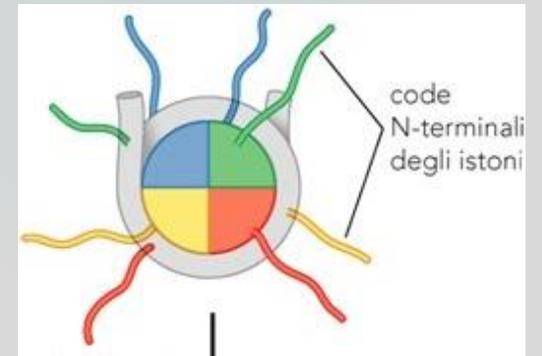
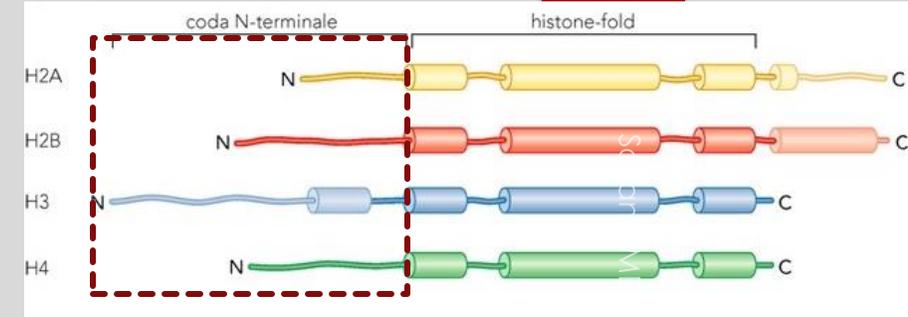
- L'interazione DNA-istoni avviene attraverso la formazione di **legami ionici** tra le cariche negative dei gruppi fosfato dei filamenti del DNA e le cariche positive dei residui di Lisina ed Arginina degli istoni. (L'interazione per tanto non è sequenza specifica)



Assemblaggio Nucleosoma

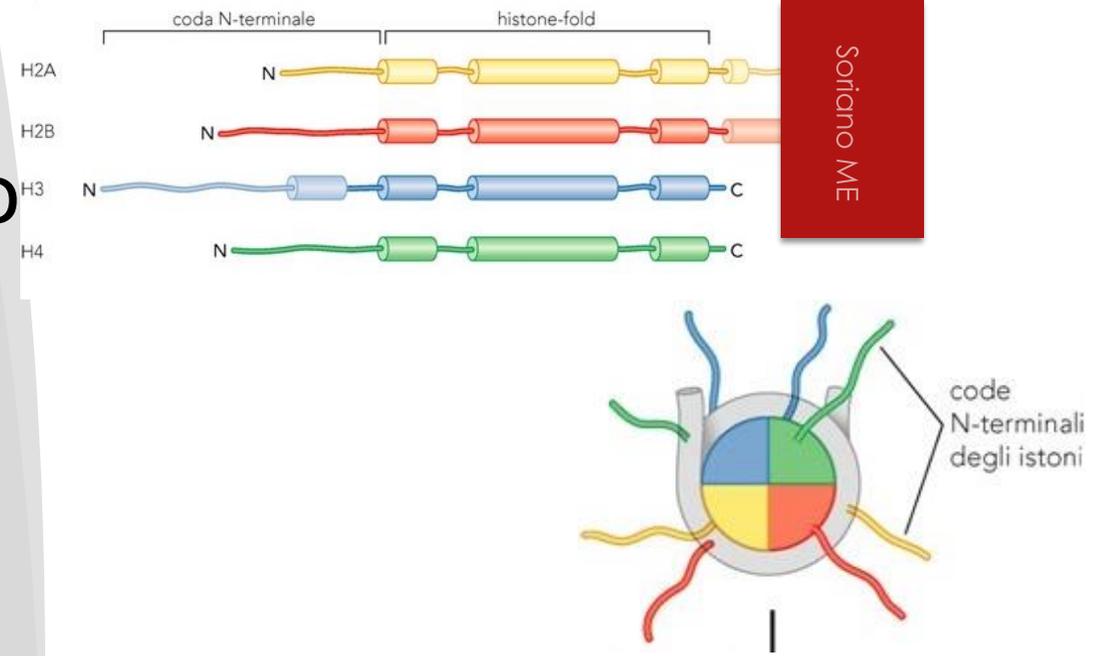
Le **code N-terminali** di ogni core istonico sono molto **variabili e non strutturate**, ma particolarmente **ricche in residui di lisina e arginina** che le rendono estremamente basiche.

Le code N-terminali contengono **20-35 residui** che sporgono **all'esterno del nucleosoma** dove sono bersaglio di **modificazioni chimiche**



Le numerose **modificazioni post-traduzionali** alterano l'affinità degli istoni per il **DNA** modificando l'accessibilità del DNA e le interazioni proteina/proteina con il nucleosoma. Queste **modificazioni sono importanti nella replicazione e trascrizione**, così come nella **regolazione epigenetica della espressione genica**.

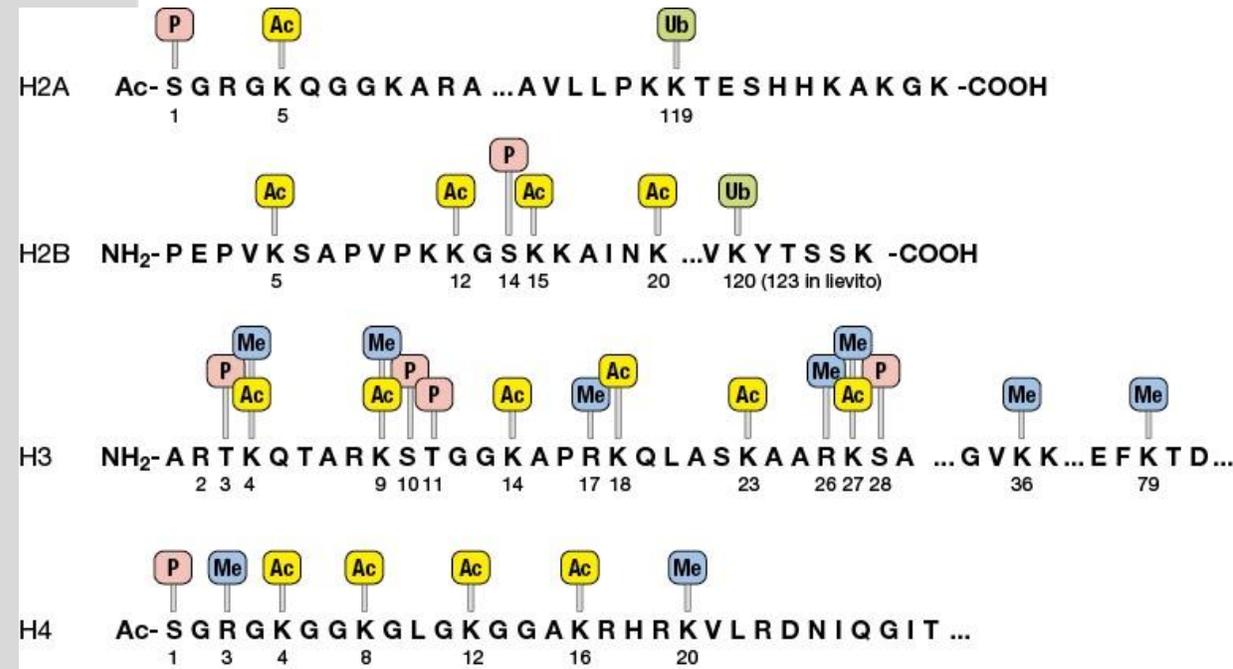
Trascrizione: Modificazioni post-traduzionali degli Istoni dell'ottamero



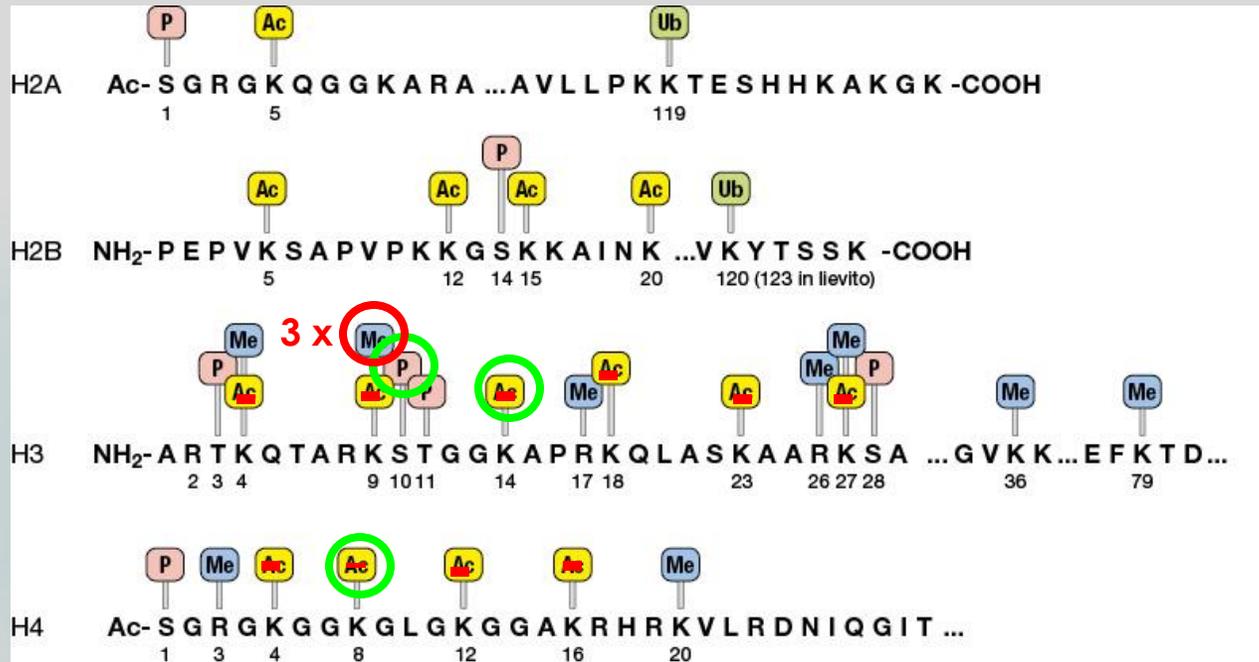
Le modificazioni post-traduzionali delle code N-terminali degli istoni **regolano la struttura e funzionalità della cromatina (espressione genica)**.

Modificazioni:

- ▶ Acetilazioni (Lisine K + arginine R)_rilassa cromatina
- ▶ Metilazioni (Lisine K + arginine R)_regola legame di altre proteine che regolano la condensazione della cromatina (effetto context-dependent)
- ▶ Fosforilazioni (Serine S + treonine T): imp. Per condensazione in certi momenti del ciclo cellulare.
- ▶ Ubiquitinazione (Lisine K). Negli istoni non è associato a degradazione: attiva trascrizione e allenta il nucleosoma.
- ▶ Sumoilazione (Lisine K) di tutti gli istoni regolando negativamente la trascrizione



Trascrizione: Modificazioni post-traduzionali degli Istoni



○ Attiva trascrizione - ○ Trascrizione repressa
 (..+ altre)

Codice Istonico

Specifici assortimenti di modificazioni istoniche che possono attivare o reprimere la trascrizione reclutando complessi proteici di modificazione o rimodellamento della cromatina

Le code modificate possono legarsi a proteine con specifici domini strutturali:

Cromodomini: domini proteici che riconoscono Lisine metilate

Bromodomini: domini proteici che riconoscono Lisine acetilate

Enzimi responsabili

Acetil trasferasi : HAT

Deacetilasi : HDAC,

Metil trasferasi: HMT

Deametilasi

Chinasi e fosfatasi residuo specifiche

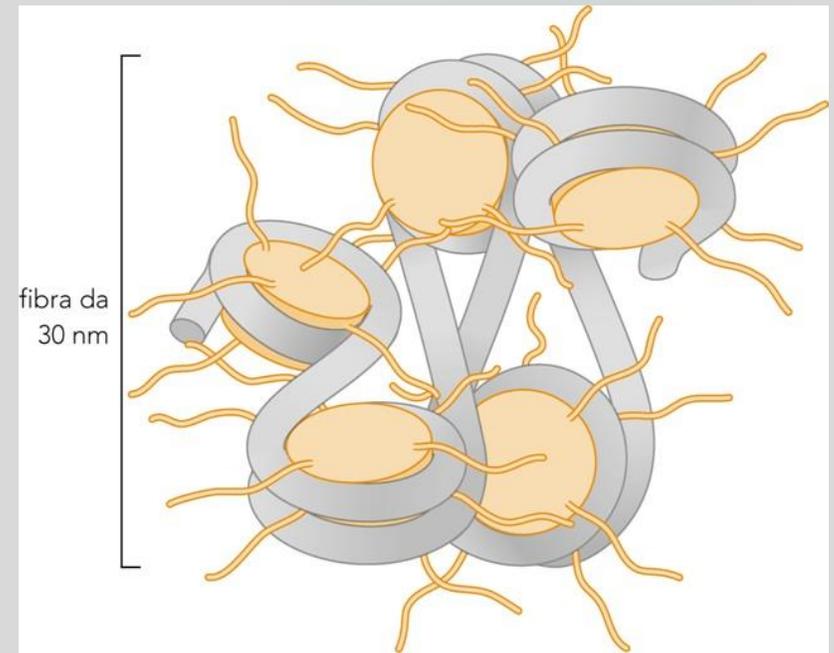
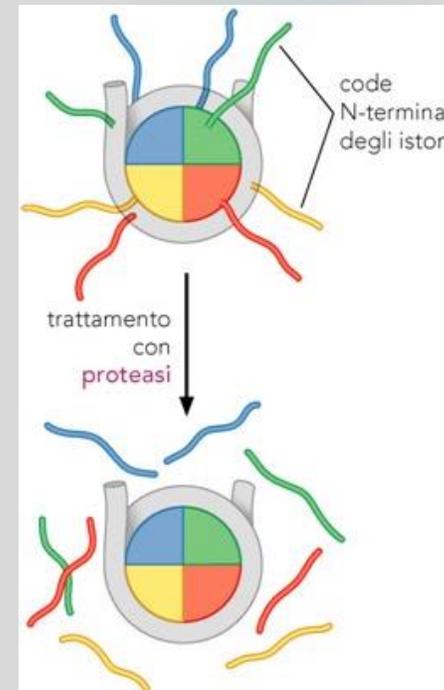
Assemblaggio Nucleosoma

Dal punto di vista esclusivamente strutturale, le **code non sono necessarie per il mantenimento dell'ottamero istonico**, già che dopo digestione con una proteasi l'ottamero rimane assemblato.

Contrariamente, le code contribuiscono alla formazione della **fibra di 30 nm o solenoide** mediando interazioni tipo legami di idrogeno tra nucleosomi adiacenti.

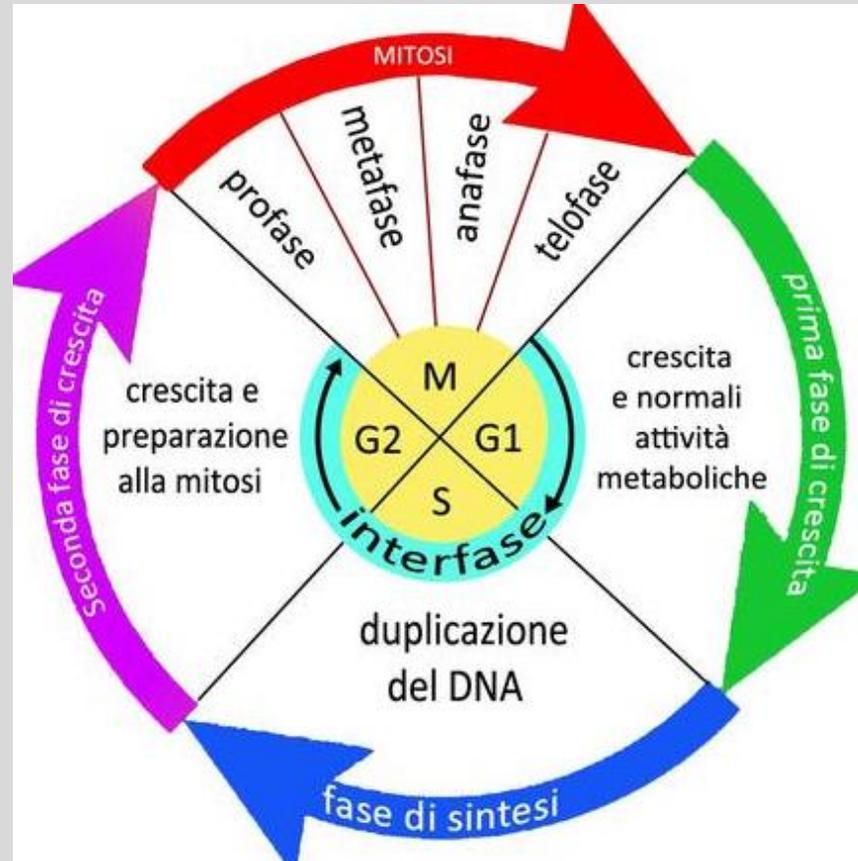
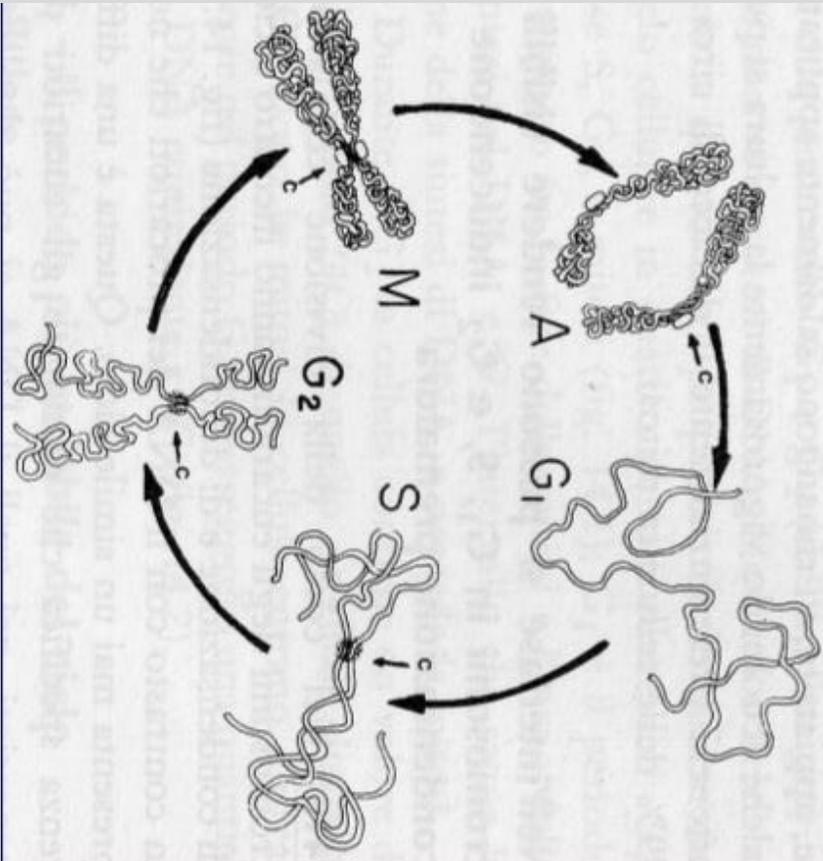
Dopo trattamento con la proteasi non si forma il solenoide.

- ▶ Gli Istoni hanno **funzioni strutturali** nell'**impaccamento** del DNA, nella **replicazione**, e nella **regolazione dell'attività trascrizionale**



DNA eucariotico: Livelli di impacchettamento

- ▶ Il livello di compattamento del materiale genetico eucariotico o cromatina (DNA + proteine) cambia nel corso del ciclo cellulare



Mitosi: Il DNA è ormai replicato e deve essere segregato nelle cellule figlie. In questa fase si formano i cromosomi mitotici

Interfase: Fibre cromatiniche sono disperse nel nucleo. Il DNA è in attiva trascrizione e replicazione

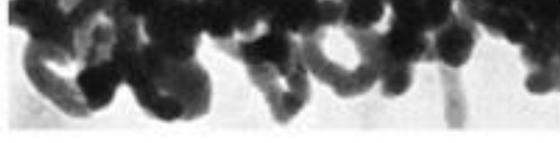
DNA eucariotico: Livelli di impacchettamento

L'impacchettamento ottenuto nella formazione della fibra da 30nm non basta per compattare tutto il DNA all'interno del nucleo.

Successivi livelli di compattamento (**anse cromosomiche** e **cromosomi mitotici**) richiedono il reclutamento di ulteriori componenti proteici:

MATRICE NUCLEARE INTERFASICA o IMPALCATURA DEL CROMOSOMA

Rapporto
impacchettamento

Struttura	Rap. Imp.	
Fibra da 10 nm "collana di perle"	6 1m ->16 cm	
Fibra da 30 nm "solenoidale"	40	
Anse cromosomiche da 100-400 nm	1000	
Cromosomi mitotici	10 000	

DNA eucariotico: Livelli di impacchettamento

▶ Matrice nucleare interfascica

Struttura filamentosa sulla quale si ancorano anse di DNA (solenioide) (30-100kbp)

Le anse costituiscono domini topologici che possono superavvolgersi

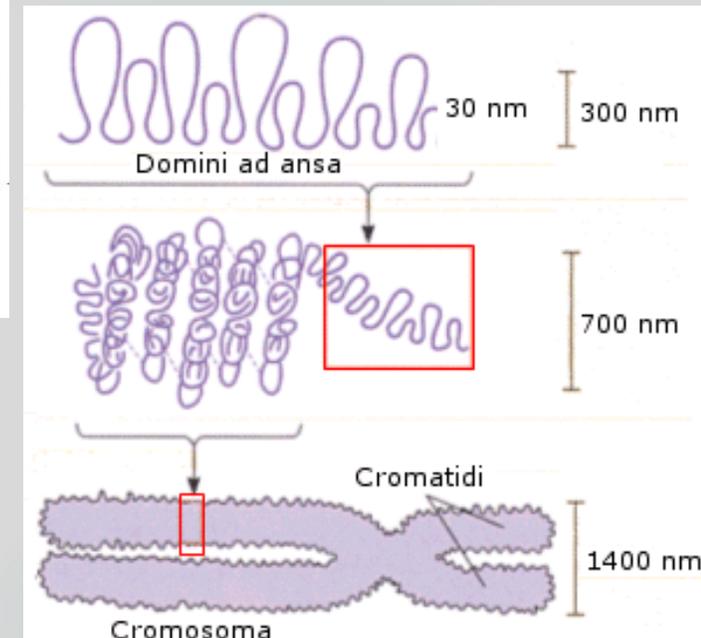
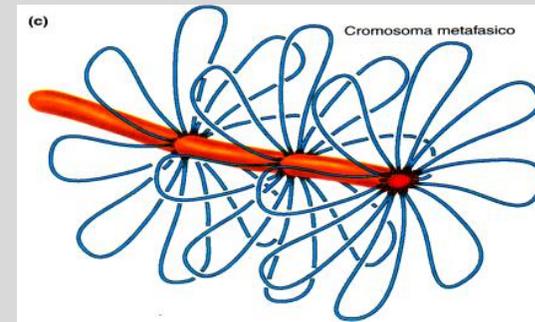
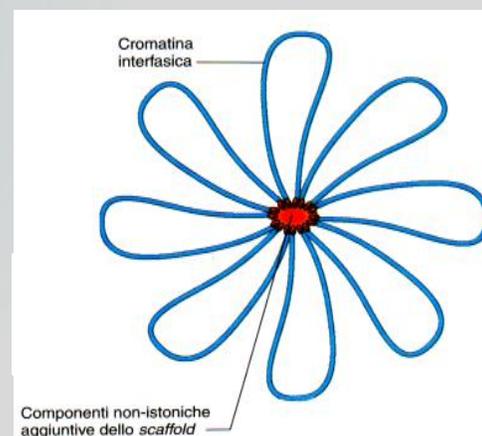
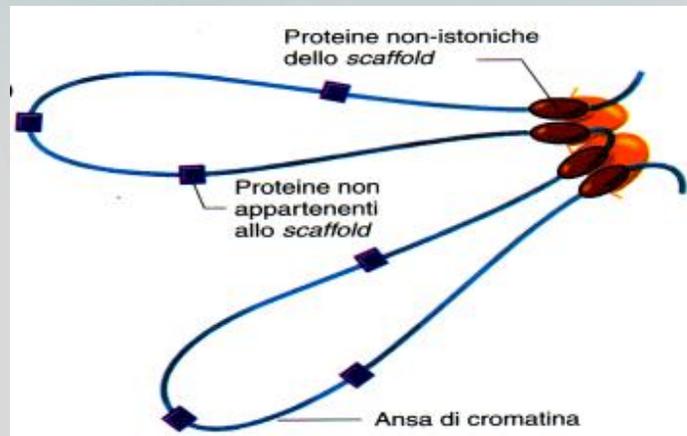
Si ancorano attraverso **sequenze MAR (Matrix Attachment Region)**: regioni del DNA ricche in A/T che legano la matrice durante l'interfase

Il cromatina in questo stato è in attiva trascrizione e replicazione

▶ Impalcatura del cromosoma

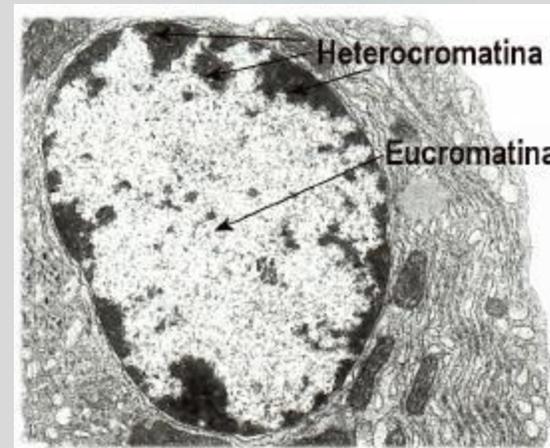
Punti sui quali si ancorano delle anse (30-100 kbp) nello stato di compattamento di cromosoma

Si ancorano **attraverso sequenze SAR (Scaffold Attachment Region)**: regioni del DNA che si legano alla impalcatura del cromosoma mitotico



Components:
Proteine SMC (structural maintenance of chromosome) and Topo II

Conformazione Cromatina dal punto di vista funzionale



INTERFASE

- **Eucromatina:**

Cromatina dispersa nel nucleo occupando la gran parte dello spazio nucleare. In questa condizione il DNA è attivamente trascritto

- **Eterocromatina**

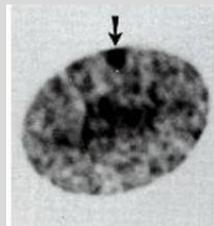
Cromatina che durante l'interfase rimane compatta in alcune regioni nucleari (10%), è inattiva dal punto di vista trascrizionale . Normalmente è associata all'involucro nucleare o distribuita a foci in altre zone

- Eterocromatina costitutiva: resta sempre compatta ed è costituita di regioni non codificanti del genoma, suggerendo una funzione strutturale. Es: **DNA satellite (nei centromeri e telomeri)**

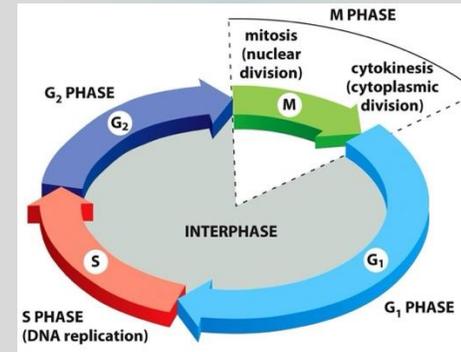
- Eterocromatina facoltativa: rimane compatta solo in certe condizioni.

Es.1: nelle femmine di mammifero una delle 2 copie del cromosoma X di mammiferi si mantiene inattiva come eterocromatina mentre l'altra copia eucromatica è attiva

Es.2: delle regioni che si esprimono in maniera tessuto specifica

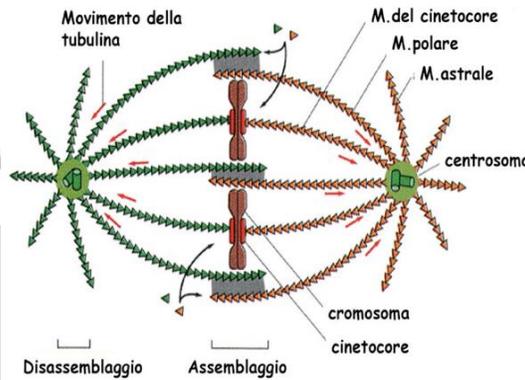
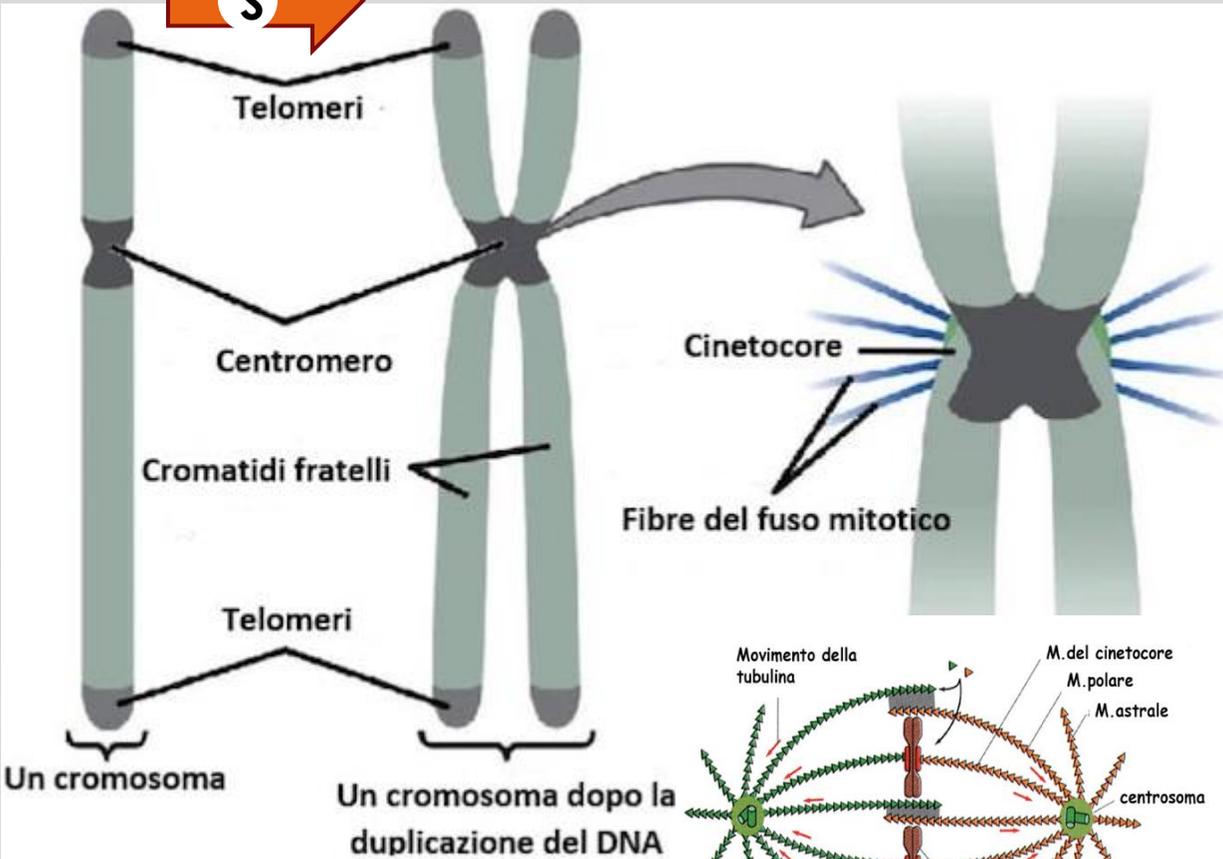


Eterocromatina Costitutiva: Centromeri



MITOSI

S



Centromero

- Regione del cromosoma con specifica sequenza di DNA e dimensione e complessità variabile a seconda del organismo (120 pb- Mbp). Eterocromatina.
- Il centromero è essenziale per la corretta segregazione dei 2 cromatidi fratelli. Sul centromero, in particolare sulla regione chiamata **cinetocore**, si lega l'estremità di un microtubulo. La estremità opposta sarà sul centrosoma che permetterà la migrazione dei cromosomi durante l'anafase

Eterocromatina Costitutiva: Centromeri

Nei **centromeri di lievito** la regione centromerica del DNA (CEN) è 120 pb composta da 3 elementi :

CDE-II (Centromere DNA Element) : 90pb, molto ricco di coppie di basi A-T.

E' fiancheggiato delle sequenze CDE-I e CDE-III

CDE-I e CDE-III : 9 - 11pb, sequenze molto conservate



La regione centromerica è avvolta intorno ad un complesso proteico formato da:

Cse4p: interagisce con CDE-II

CBF1 (Centromeric binding factor 1): interagisce con CDE-I

CBF-3 (Centromeric binding factor 3): è un complesso multiproteico che interagisce con CDE-III

Ctf19, Mcm21 e Okp1 sono state identificate come proteine del cinetocore, e necessitano della interazione CBF3 e CDEIII per la loro localizzazione al centromero

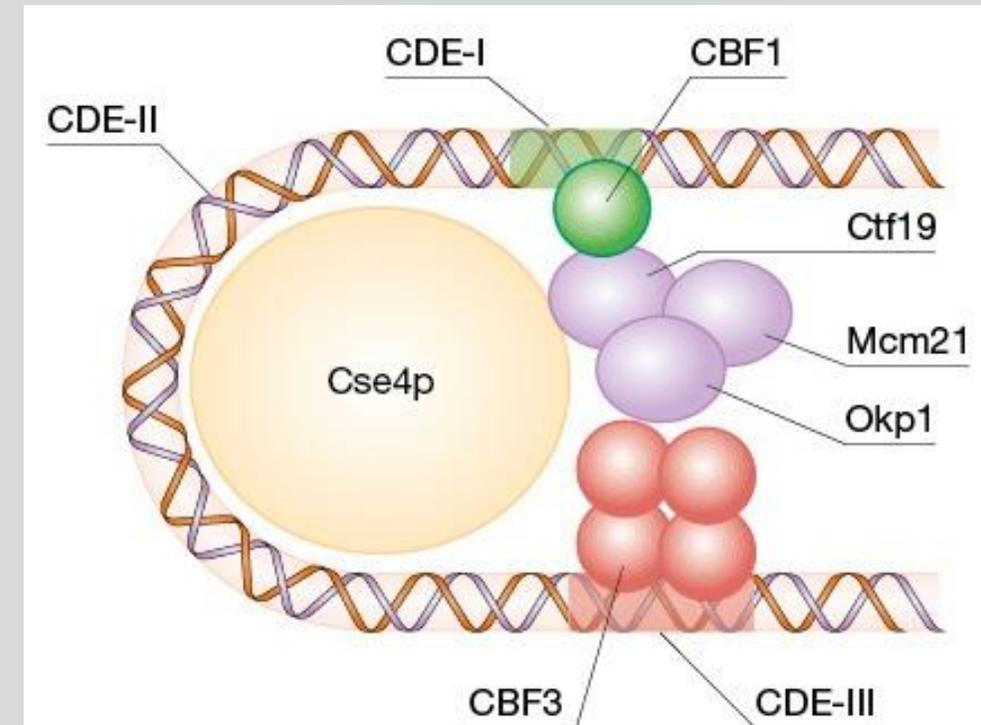


Figura 4.11

Amaldi F et al. *Biologia Molecolare*, 2° Edizione 2014, Ambrosiana

Eterocromatina Costitutiva: Centromeri

In altri organismi i centromeri sono più complessi.

La loro sequenza non è conservata ma è caratterizzata dalla presenza di brevi sequenze di DNA ripetitivo (chiamato **DNA satellite**), che costituiscono zone di **eterocromatina costitutiva**. Si è identificata la presenza di anche sequenze invertite che possono favorire eventi di ricombinazione.

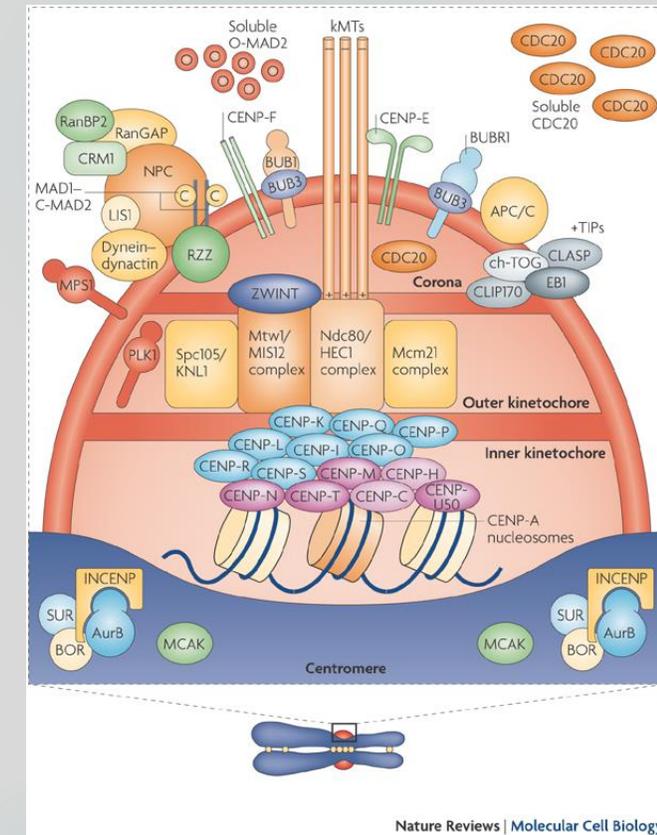
In *Schizosaccharomyces pombe* : 50-100kpb di regioni ripetitive

In *Drosophila*: 200-600kpb di regioni ripetitive

Mus musculus (topo): sequenza di 234 pb ripetuta molte volte in tandem, che proviene di una sequenza di 9pb duplicata e mutata

Nell'uomo: sequenza di 171 pb ripetuta in tandem estesa per Mbp

Non è chiaro se sia il DNA satellite o sequenze intercalate a queste le responsabili a svolgere la funzione centromerica



Eterocromatina Costitutiva: TELOMERI

sequenza e struttura ?

I telomeri sono i **segmenti di DNA (eterocromatina) alla fine delle molecole lineari a doppio filamento** dei cromosomi eucariotici

I telomeri sono formati da **brevi sequenze nucleotidiche ripetute in tandem (DNA satellite)** che cambiano a seconda del organismo (5'-TTAGGG-3' nell'uomo, ripetuta fino a 2500 volte).

I telomeri **variano in lunghezza** da poche decine di coppie di basi, a decine di migliaia di coppie di basi e rappresentano delle **regioni di DNA non codificanti (eterocromatina)**.

La loro importanza risiede nella **capacità di proteggere regioni codificanti e dare stabilità al DNA**, evitando che i cromosomi si avvolgano su se stessi o si ricombinino in corrispondenza delle estremità.

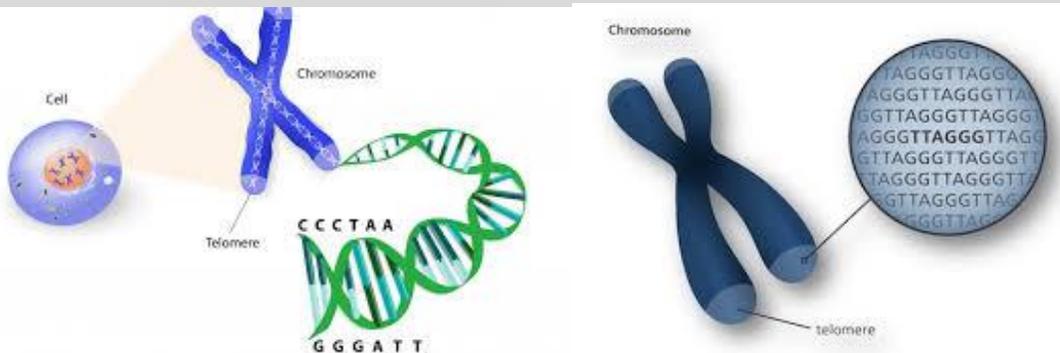
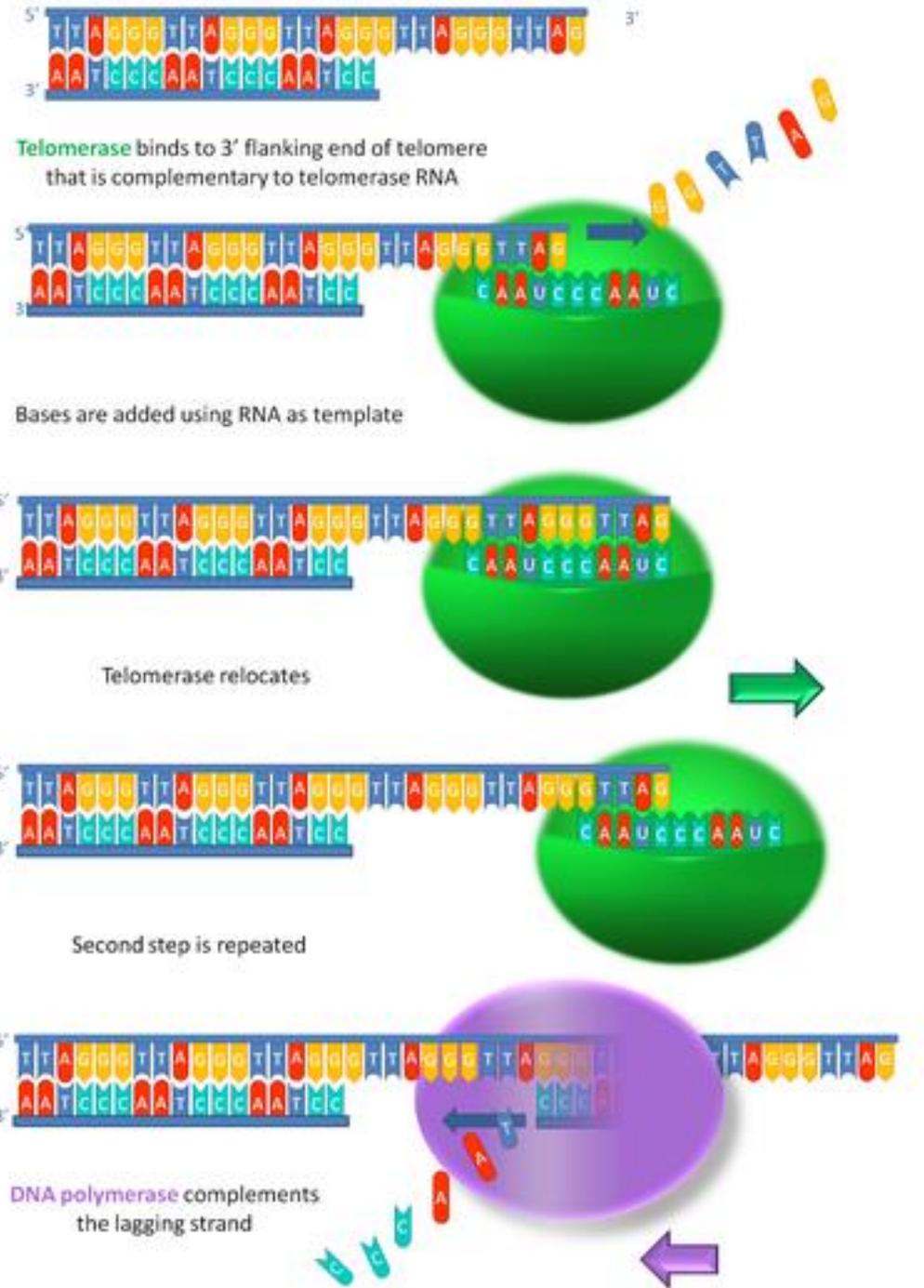


Tabella 4.2 Unità ripetute delle sequenze telomeriche in diversi organismi.

Tipo di organismo	Nome scientifico	Ripetizione telomerica (direzione 5'→3')
Vertebrati	Homo sapiens, Mus musculus, Xenopus laevis	TTAGGG
Funghi	Neurospora crassa, Physarum, Didymium	TTAGGG
Protisti	Dictyostelium discoideum	AG(1-8)
Kinetoplastea (protozoi)	Trypanosoma, Crithidia	TTAGGG
Protozoi ciliati	Tetrahymena, Glaucoma	TTGGGG
	Paramecium	TTGGG(T/G)
	Oxytricha, Stylonychia, Euplotes	TTTTGGGG
Apicomplexa	Plasmodium	TTAGGG(T/G)
Piante superiori	Arabidopsis thaliana	TTTAGGG
Alghe verdi	Chlamydomonas	TTTTAGG
Insetti	Bombyx mori	TTAGG
Anellidi	Ascaris lumbricoides	TTAGGC
Lieviti a scissione binaria	Schizosaccharomyces pombe	TTAC(A)(C)G(1-8)
Lieviti gemmanti	Saccharomyces cerevisiae	TGTGGGTGTGGTG
	Candida glabrata	GGGGTCTGGGTGCTG

TELOMERI: come conferiscono stabilità?



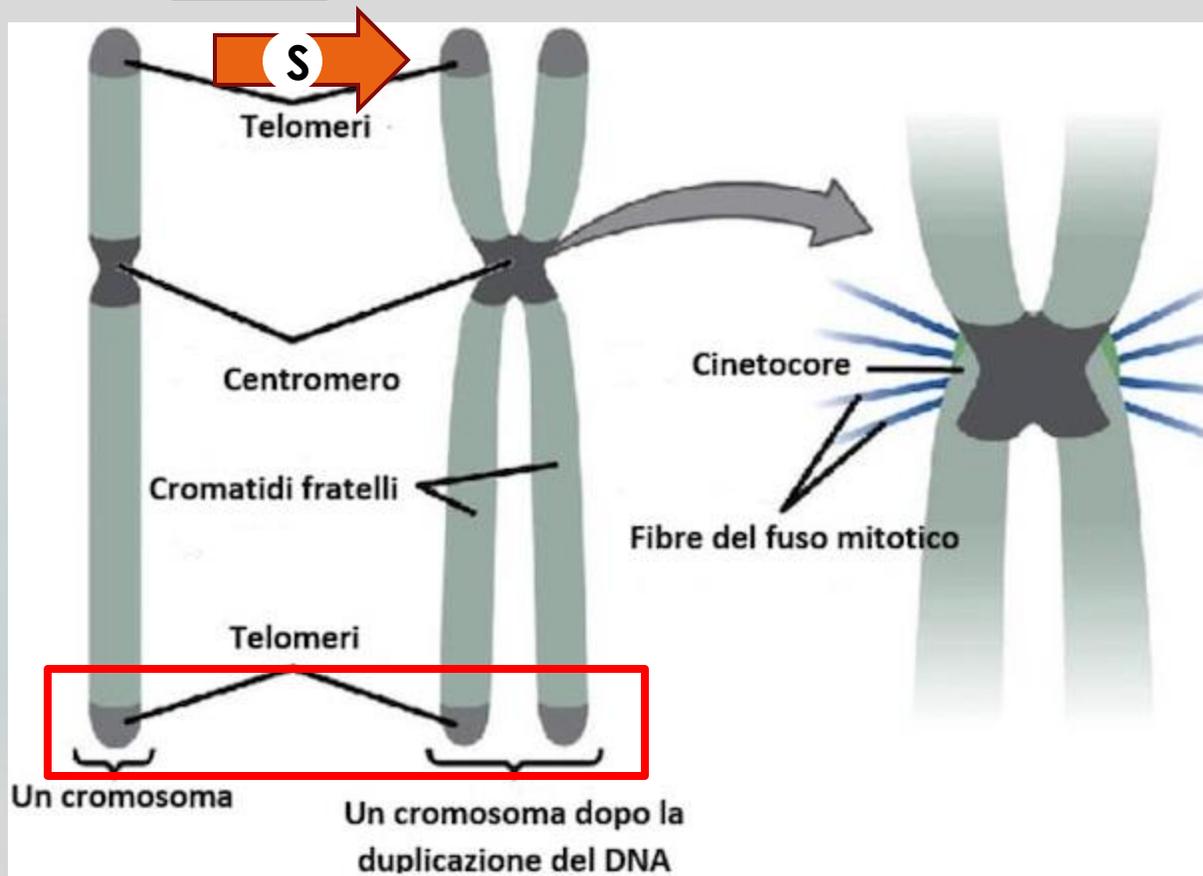
► Dinamica accorciamento- addizione di nucleotidi tramite l'enzima TELOMERASA:

I telomeri mostrano un filamento più lungo dell'altro, rimanendo una breve sequenza a singolo filamento nella estremità del cromosoma. Questo è conseguenza del meccanismo di replicazione

Per questa caratteristica la lunghezza del Telomero non è costante a causa di eventi che portano all'**accorciamento della sequenza telomerica** che è compensato da un allungamento continuo grazie all'**adizione di nuove ripetizioni telomeriche**.

Estremità libere o TELOMERI

MITOSI



L'estremità a singolo filamento presente all'estremità dei telomeri sono **molto instabili**.

Perché?

1. Sensibili alle **esonucleasi**, enzimi che degradano il DNA iniziando da una estremità libera
2. **Impossibilità di replicare** i primi nucleotidi perché manca l'innesco (iniziatore o frammento di RNA che offre alla DNA polimerasi lo stampo-iniziatore per replicare)
3. **L'estremità tende a legare** con altre molecole di DNA
4. Attivano sistemi di riconoscimento di rotture del DNA che **innescano meccanismi di morte cellulare programmata** (apoptosi)

Come aumentare la stabilità nelle estremità dei cromosomi?

TELOMERI: come conferiscono stabilità?

- Ci sono delle **proteine che legandosi al Telomero** modificano la conformazione dell'estremità formando il **T-Loop** che la stabilizza

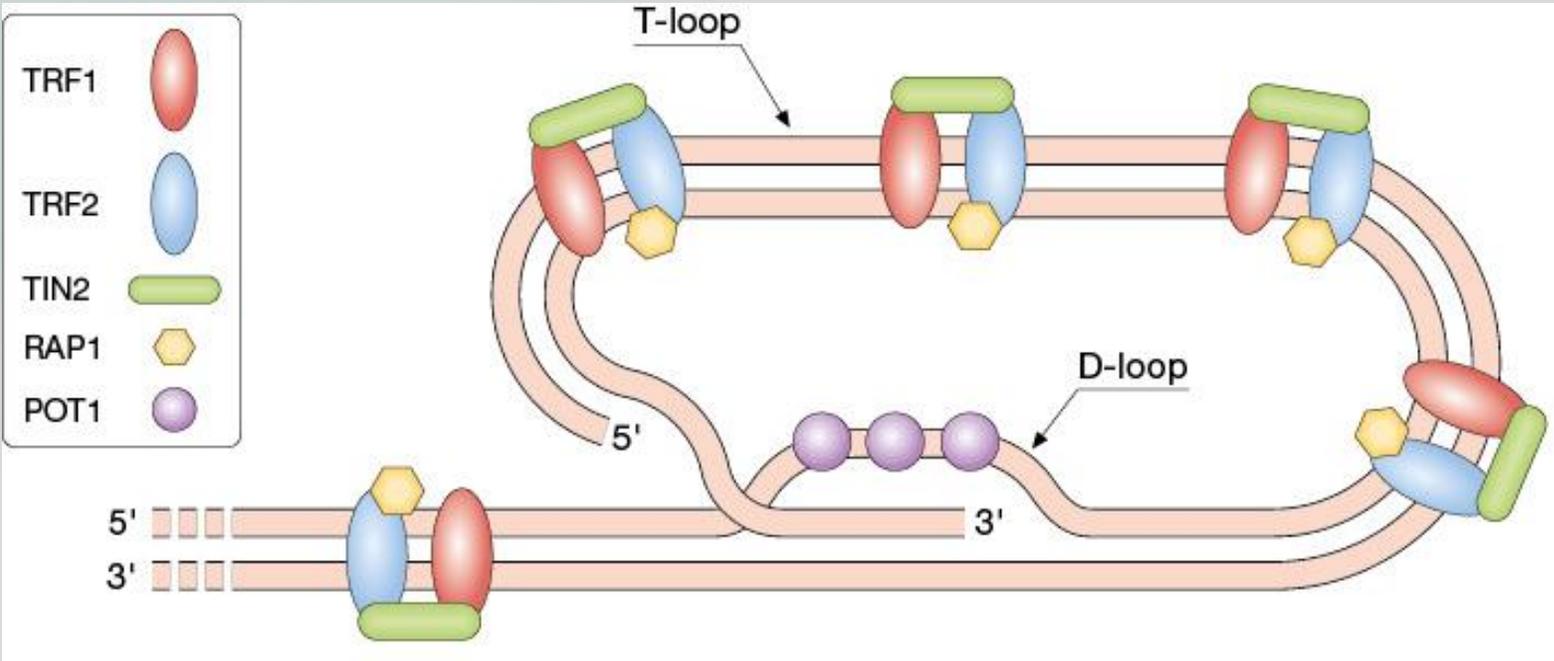
TRF1: *TTAGGG Repeat binding Factor 1*

TRF2: *TTAGGG Repeat binding Factor 2*

} Legano la sequenza telomerica



Il **T-Loop** si forma come conseguenza del appaiamento tra le sequenze TTAGGG dell'estremità 3' che protrude a singolo filamento e il filamento complementare in un breve tratto denaturato nella regione complementare adiacente. Questa conformazione si stabilizza grazie alla presenza di proteine con funzione telomerica e/o protezione



TELOMERI: come conferiscono stabilità?

Conformazioni a **quartetto G** possono partecipare alla stabilizzazione dei telomeri: 5'-TTAGGG-3' (nell'uomo)

I tratti di acido nucleico contenenti G si affiancano formando una struttura a 4 filamenti (quadruplex) stabilizzata da legami idrogeno non canonici (appaiamenti di Hoogsteen) tra le G.

