



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

TESI DI LAUREA

in

SCIENZE BIOLOGICHE

Cause e conseguenze del posizionamento dei geni nel nucleo.

Causes and consequences of nuclear gene positioning.

Shachar S. and Misteli T. (2017). *Journal of Cell Science*.130: 1501-1508

Tesi di Laura di:
MAREK WOZNY

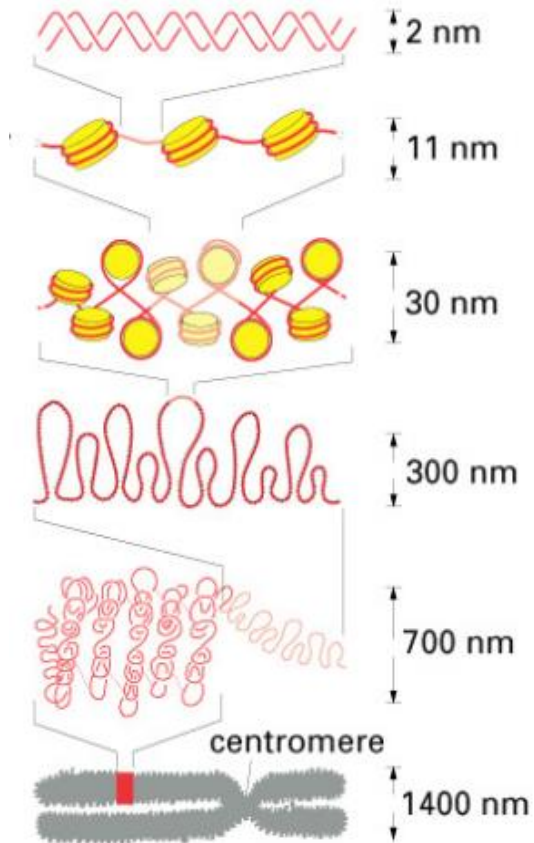
Docente Relatore:
ADRIANA CANAPA

Sessione autunnale 2019

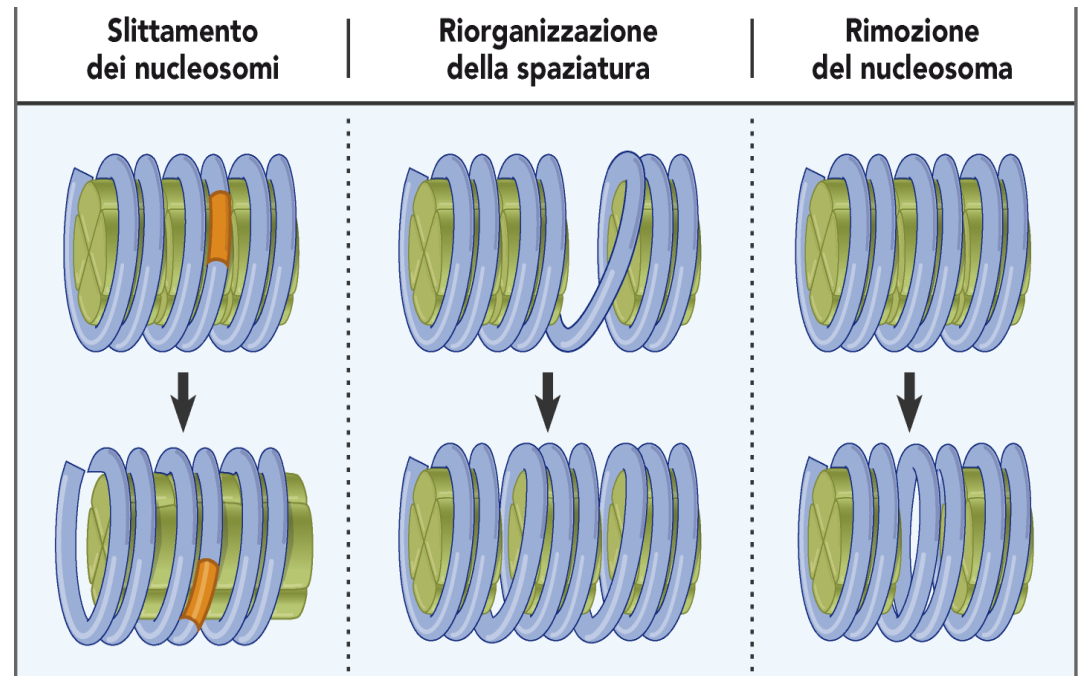
Anno accademico 2018/2019

COMPATTAZIONE DEL DNA

Permette di contenere il materiale genetico nello spazio confinato del nucleo cellulare....



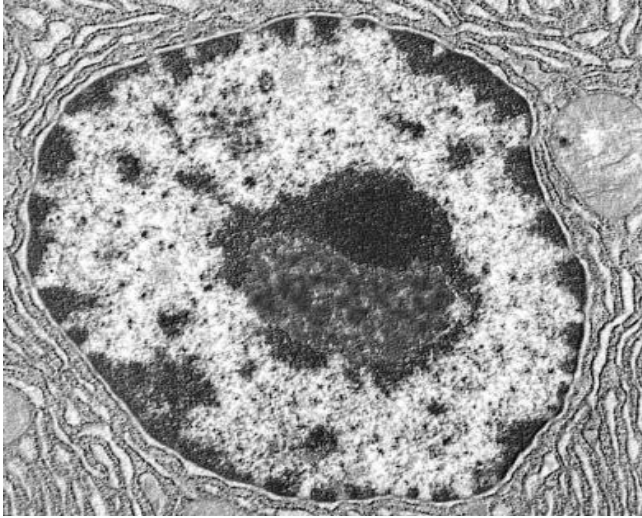
...ma allo stesso tempo permette di compiere le funzioni fisiologiche attraverso la riorganizzazione della cromatina.



FATTORI CHE ORGANIZZANO IL NUCLEO INTERFASICO

Il genoma per il 90% del tempo si trova nel nucleo interfase all'interno del quale la sua organizzazione è ben precisa.

Nucleo in interfase



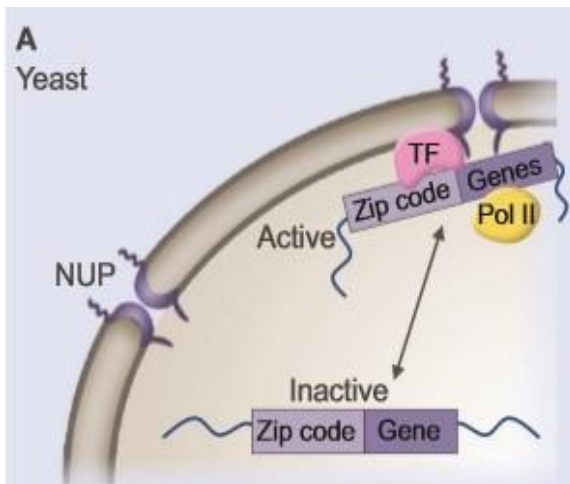
- Due sono gli approcci che hanno permesso di identificare i fattori che organizzano il nucleo interfase: 1) Candidate approaches; 2) Unbiased screening.

- 1) Con i candidate approaches vengono testati specifici fattori cellulari per la loro capacità di influenzare la posizione dei singoli geni;
- 2) Con gli unbiased screening vengono identificate nuove componenti e pathways.

Esempi...

LIEVITI:

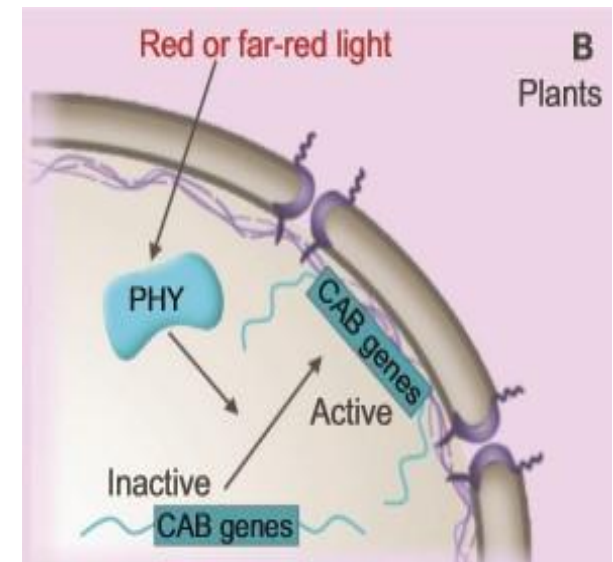
- alcuni geni inducibili sono indirizzati alla periferia nucleare al momento della loro attivazione. Il reclutamento di questi geni nella periferia nucleare è mediata dall'interazione di specifiche sequenze presenti nella regione del promotore (INO1,GAL1,TSA2) con il complesso del poro (NPC).



CELLULE VEGETALI

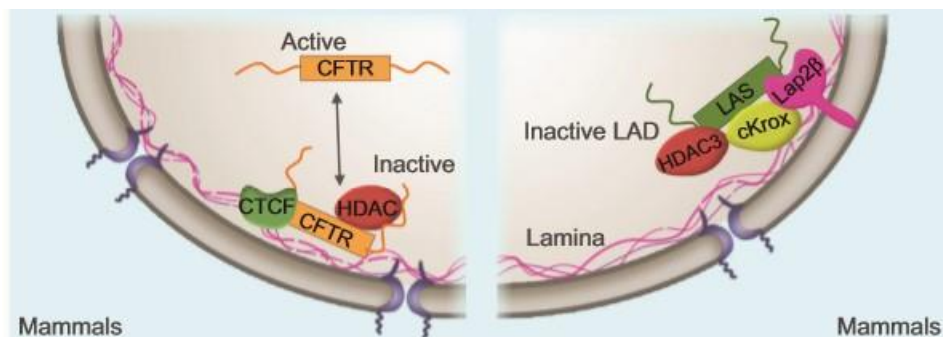
(*Arabidopsis Italiana*):

- il locus genico di *chlorophyll a/b-binding protein* (CAB) contiene un cluster di geni che al buio sono repressi e fisicamente riposizionati nella parte centrale del nucleo da parte di repressori dei fattori fotosintetici; alla luce avviene un rapido riposizionamento del locus alla periferia mediato dai fotorecettori del fitocromo nel rosso e rosso-lontano (PHY).
- notare che una trascrizione elevata dei geni CAB è evidente poche ore dopo il loro riposizionamento alla periferia, suggerendo prima il posizionamento e poi all'attivazione.



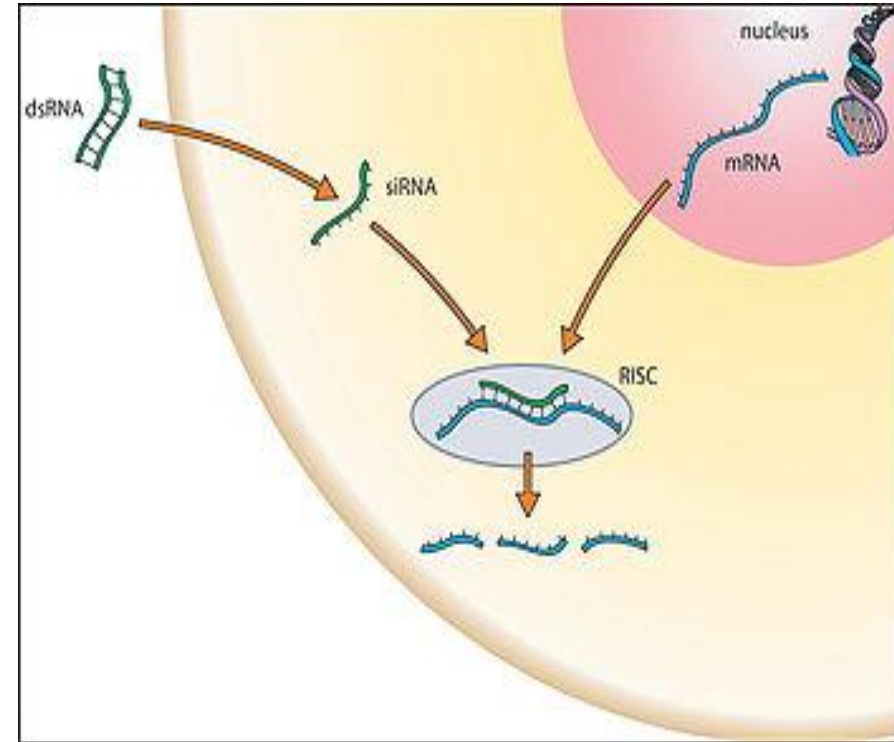
MAMMIFERI:

- Il cluster genico del regolatore di conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR) contiene tre geni che quando sono trascrizionalmente inattivi nelle cellule del neuroblastoma sono localizzati nella periferia del nucleo e associati con l'eterocromatina e la proteina LAP2 β ; quando invece sono trascritti attivamente nelle cellule dell'adenocarcinoma, occupano una posizione centrale e uniti all'eucromatina.
- È interessante come nelle cellule del adenocarcinoma, se trattati con l'inibitore di trascrizione dichloro-ribofuranosylbenzimidazolo (DRB), il gene CFTR si ricolloca nella periferia con una riduzione del 50% della trascrizione. Lo stato trascrizionale di CFTR non è alterato attraverso il trattamento delle cellule con un inibitore dell'istone deacetilasi HDAC nonostante induca variazione nella posizione.
- Questi risultati propongono che l'attività trascrizionale di questi geni non dipende unicamente dalla loro posizione, ma anche dall'ambiente della cromatina, modificazioni degli istoni e l'interazione con altri elementi del DNA.



FATTORI DI POSIZIONAMENTO GENICO

Un approccio per caratterizzare i fattori e i percorsi che organizzano spazialmente il genoma sono screen basati RNA interference (RNAi). Le strategie di screening utilizzano metodi FISH ad alto rendimento in cui è possibile sondare la posizione di un gran numero di geni.



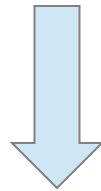
C.Elegans:

Attraverso uno screen di RNAi a livello del genoma sono stati identificati due fattori cellulari importanti sia per il tethering che per il silenziamento alla periferia. 1) S-adenosilmetionina se inibito causa una riduzione della metilazione dell'istone H3, l'array silenziato viene completamente rilasciato dalla periferia, la sua interazione con la lamina viene ridotta e l'espressione del gene reporter viene aumentata; 2) CEC-4, responsabile dell'ancoraggio dell'eterocromatina alla periferia, la cui perdita porta al distacco di sequenze cromosomiche specifiche dalla periferia e alla sovraregolazione di un singolo gene (srw-85), dimostrando che CEC4 serve principalmente a posizionare la cromatina alla periferia e non a silenziare i geni.

HIPMap



Metodo in cui *FISH* automatizzato ad alta velocità e analisi delle immagini vengono utilizzate per determinare la posizione di più loci



E' stata identificato un importante gruppo di fattori cellulari

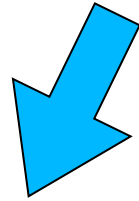


Le proteine di replicazione del DNA.



I complessi di rimodellamento della cromatina.

Esiste inoltre una correlazione tra posizione e funzione genica?



Esempi di diversi organismi e sistemi biologici mostrano che i modelli di espressione dei geni cambiano quando cambia la loro posizione nucleare.

Esempio: il complesso di differenziazione epidermica

- 1) Nei cheratinociti quando è attivo è spesso posizionato al di fuori del suo territorio cromosomico;
- 2) Nei linfoblasti acquisisce una posizione più interna in concomitanza con il silenziamento genico.



Al contrario, alcuni loci cambiano posizione senza alcun effetto sulla loro attività

Esempio: nelle cellule mammarie umane

non vi è alcuna correlazione tra posizionamento del locus ed espressione genica.

Per testare direttamente se l'associazione di un locus alla periferia influenza l'attività genica, diversi studi hanno legato un locus genomico alla periferia usando una proteina chimerica che lega sia una specifica sequenza di DNA che una proteina periferica .

QUINDI..

