



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche

**CHIMICA NELLA BIOLOGIA DEI TELOMERI UMANI
CHEMISTRY IN HUMAN TELOMERE BIOLOGY**

Tesi di Laurea di:

LORENZO MAINETTI

Docente Referente
Chiar.mo Prof.

PAOLO MARIANI

Sessione autunnale

Anno Accademico 2021-2022

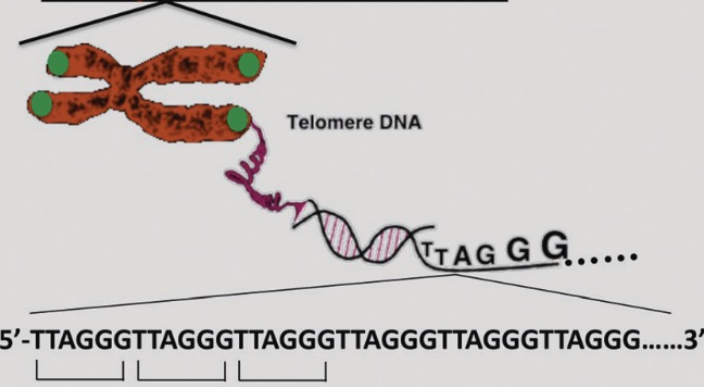
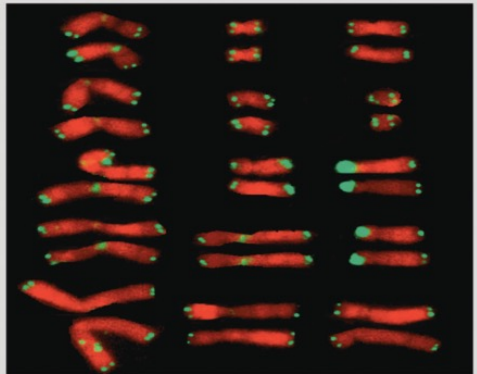
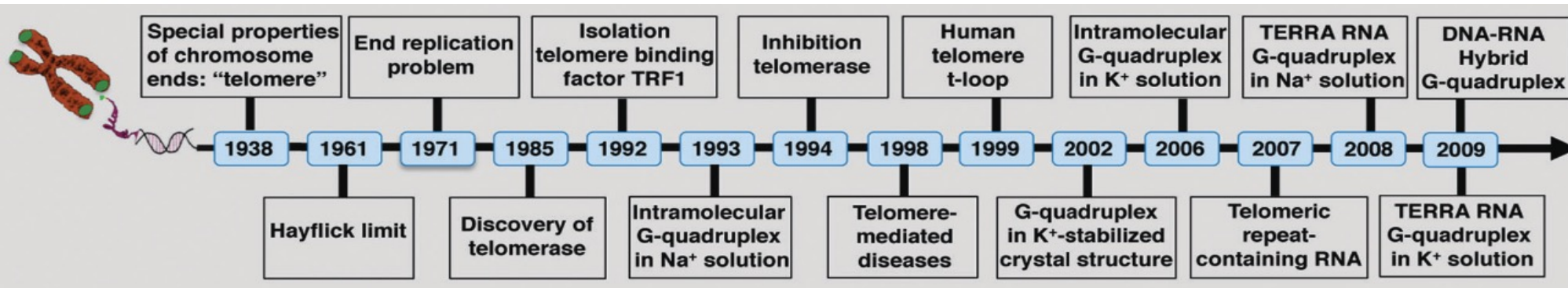


CHIMICA NELLA BIOLOGIA DEI TELOMERI UMANI

I telomeri sono presenti all'estremità di tutti i cromosomi eucariotici. Negli umani giocano un ruolo fondamentale in processi critici che riguardano la stabilità del genoma, invecchiamento e neoplasia; la loro importanza è stata riconosciuta con l'assegnazione del premio Nobel per la fisiologia o medicina nel 2009. La chimica ha fornito ampi contributi nello studio della biologia dei telomeri. Qui si evidenziano tali sforzi, ed il conseguente sviluppo delle attuali conoscenze riguardo questa importante componente del DNA. Prima si fornisce una panoramica dei passi in avanti nella comprensione della struttura e funzione dei telomeri umani; poi ci concentriamo sugli attuali tentativi di sviluppo di vari approcci chimici per selezionare i telomeri e la telomerasi per il trattamento del cancro. Infine si fornisce un focus dettagliato riguardante gli studi sulle ripetizioni di RNA contenute nei telomeri, di recente scoperta; e sulle sfide future che si prospettano in campo chimico e biologico.



LINEA DEL TEMPO DEGLI STUDI SUI TELOMERI



- La FISH (fluorescence in situ hybridization) mostra i telomeri umani, al termine dei cromosomi.
- Due strutture del singolo filamento sporgente al 3' sono state proposte:
 1. Una suggerisce la formazione dei G-quadruplex
 2. L'altra propone la presenza di un T-loop

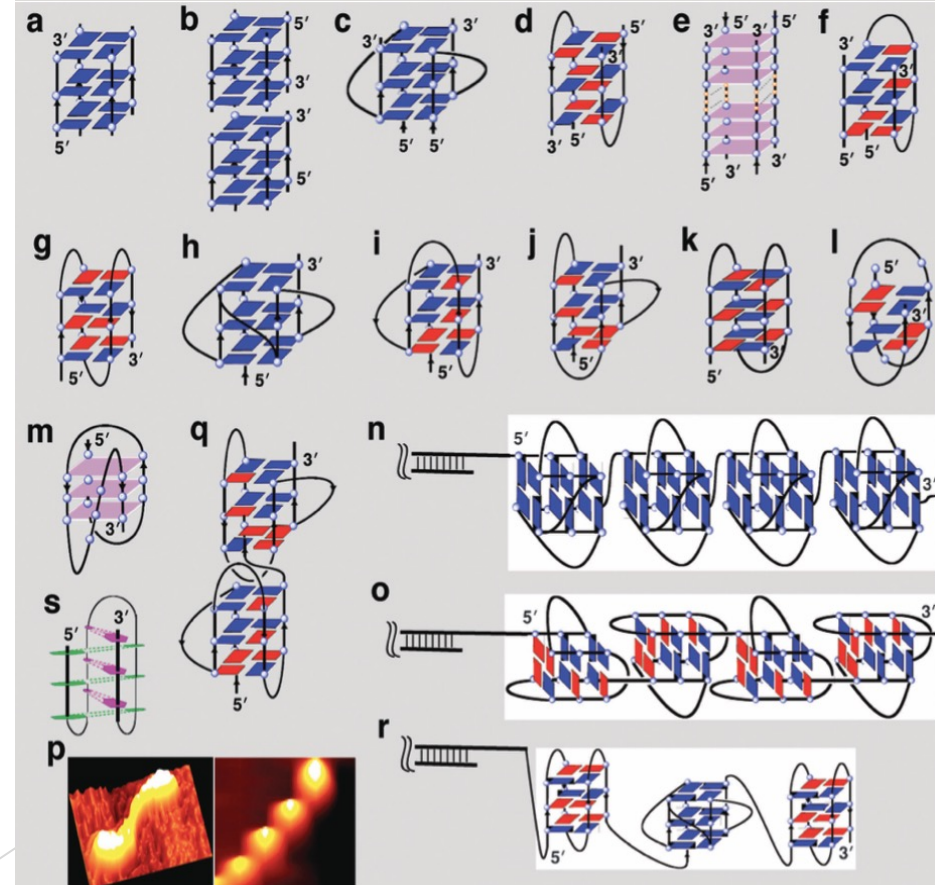
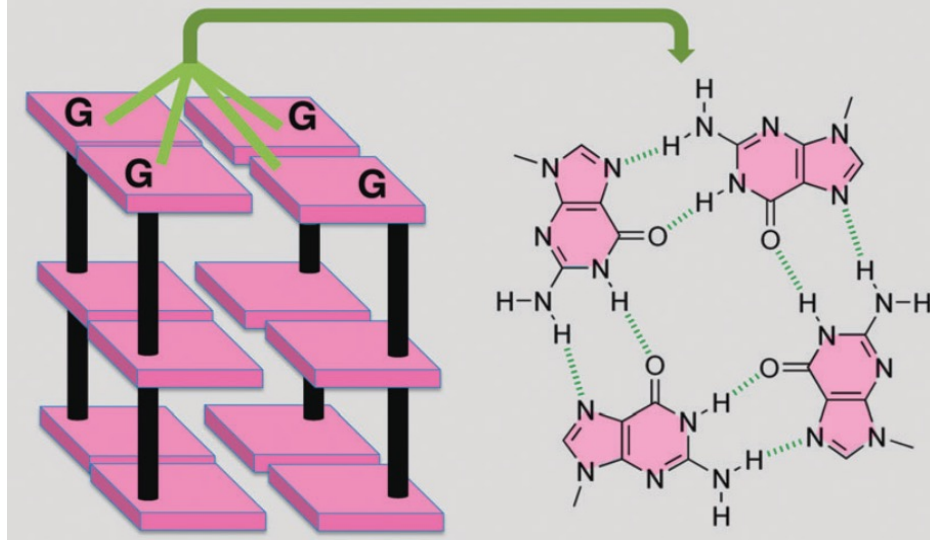


G-QUADRUPLEX

- 4 Guanine sono arrangiate in un piano per formare la G-tetrade tramite legami H. I G-quadruplex sono formati dall'accumulo di varie G tetradi.

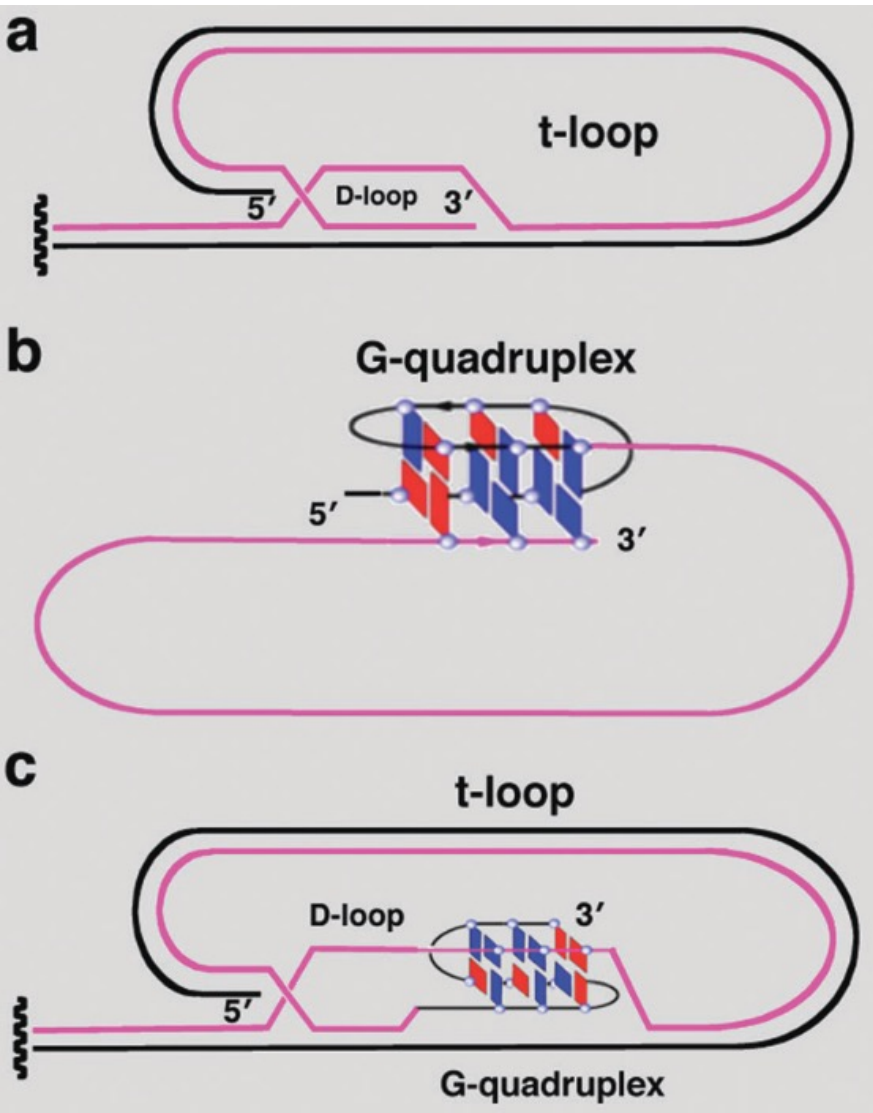
Un grande numero di diverse strutture è stato osservato nei telomeri umani. La differente topologia dei G-quadruplex potrebbe essere associata a degli aspetti relativi:

1. La conformazione syn/anti dei residui di guanina
2. L'orientazione relativa del core del G-quadruplex
3. Il tipo del loop di legame
4. La sequenza e la lunghezza del telomero
5. La natura dei cationi metallici associati





T-LOOP



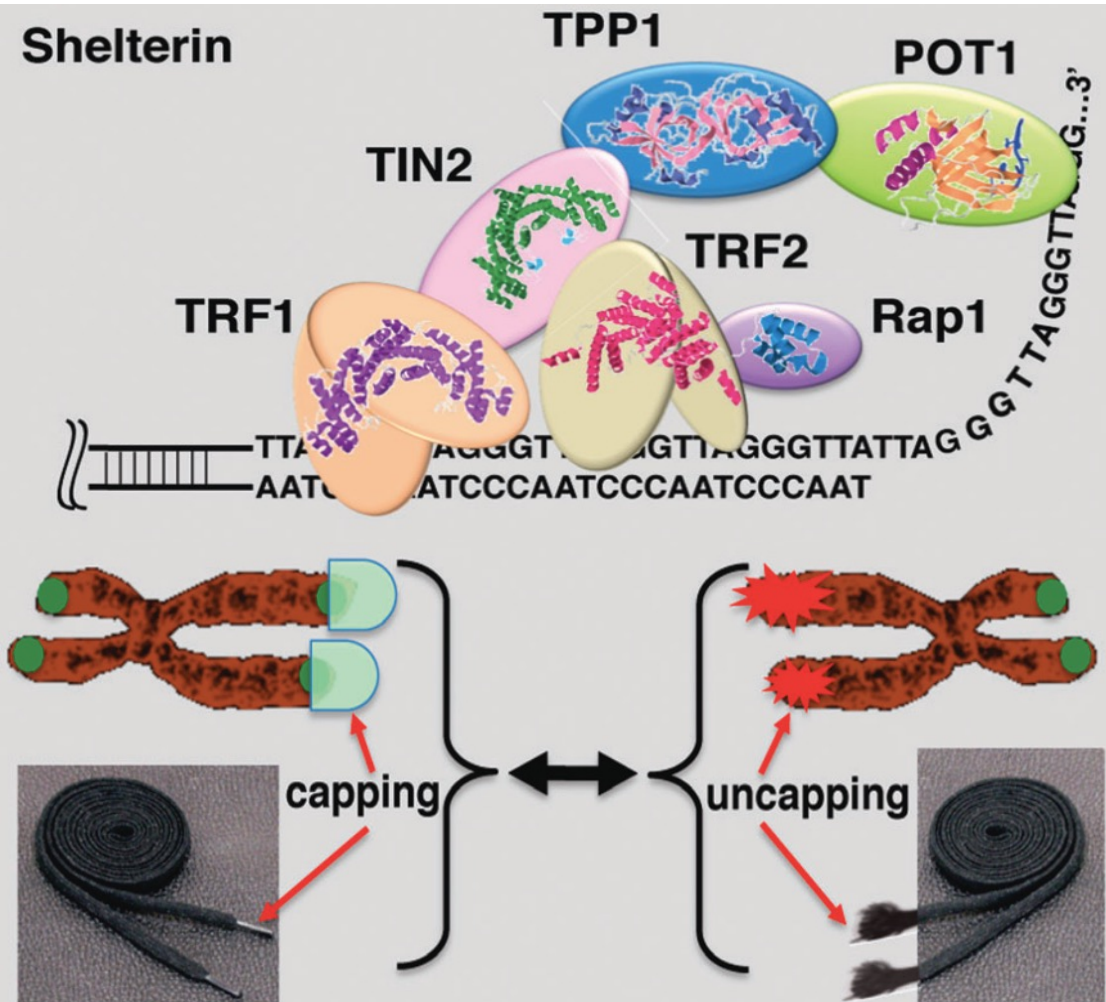
- I telomeri possono formare un T-loop:
Una struttura nella quale il filamento sporgente al 3' invade la regione a doppio filamento del telomero, attraverso l'appaiamento con le sue basi.

- Senza un approccio chimico adeguato erano osservati con una frequenza inferiore al 5%



COMPLESSO SHELTERIN E CAPPING

- Le ripetizioni TTAGGG dei telomeri umani si associano al complesso shelterin, di sei proteine.



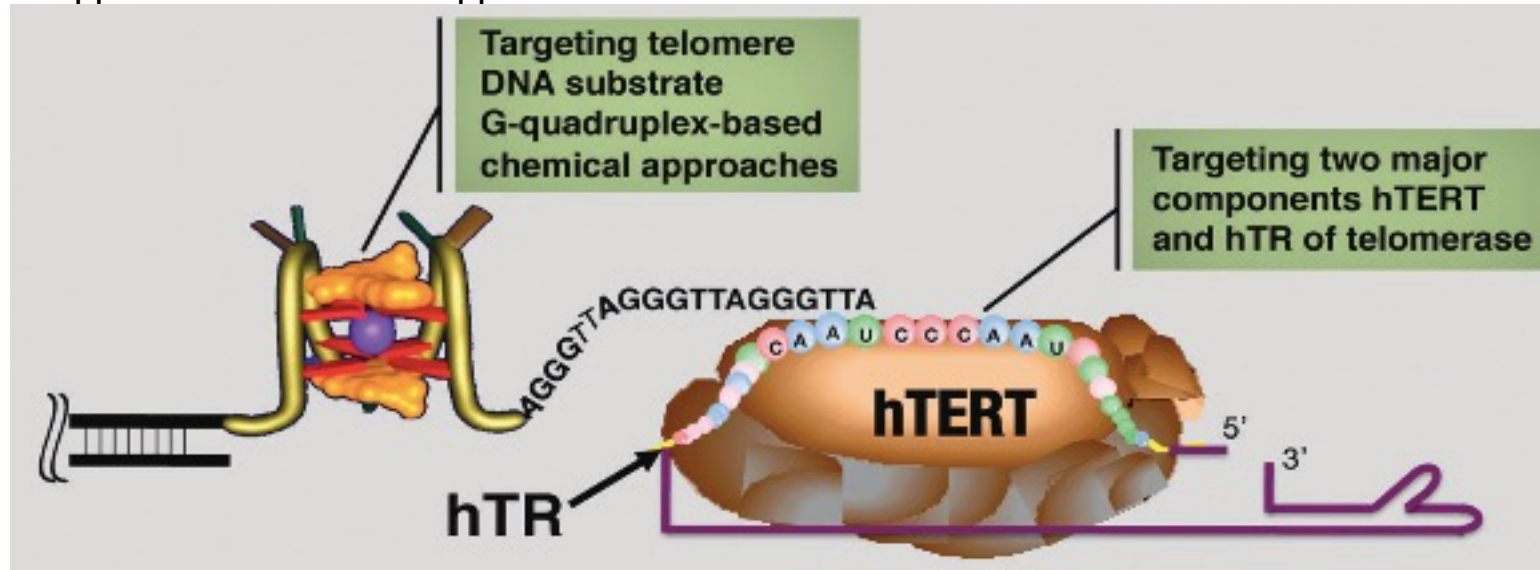
Tre di queste: TRF1, TRF2 e POT1; riconoscono direttamente le sequenze telomeriche, e sono interconnesse attraverso tre proteine shelterin aggiuntive: TIN2, TPP1, Rap1.

- I telomeri devono svolgere il cruciale ruolo di proteggere i cromosomi da risposte al danno cellulare, degradazione e fusione. Non è chiaro come il 3' sporgente fornisca protezione, probabilmente T-loop e G-quadruplex provvedono al possibile stato di capping.



AGENTI CHIMICI CONTRO IL CANCRO

La telomerasi è attiva in circa l'80-90% delle cellule tumorali; questo la rende un ottimo bersaglio nelle terapie contro il cancro; numerosi approcci sono stati sviluppati.



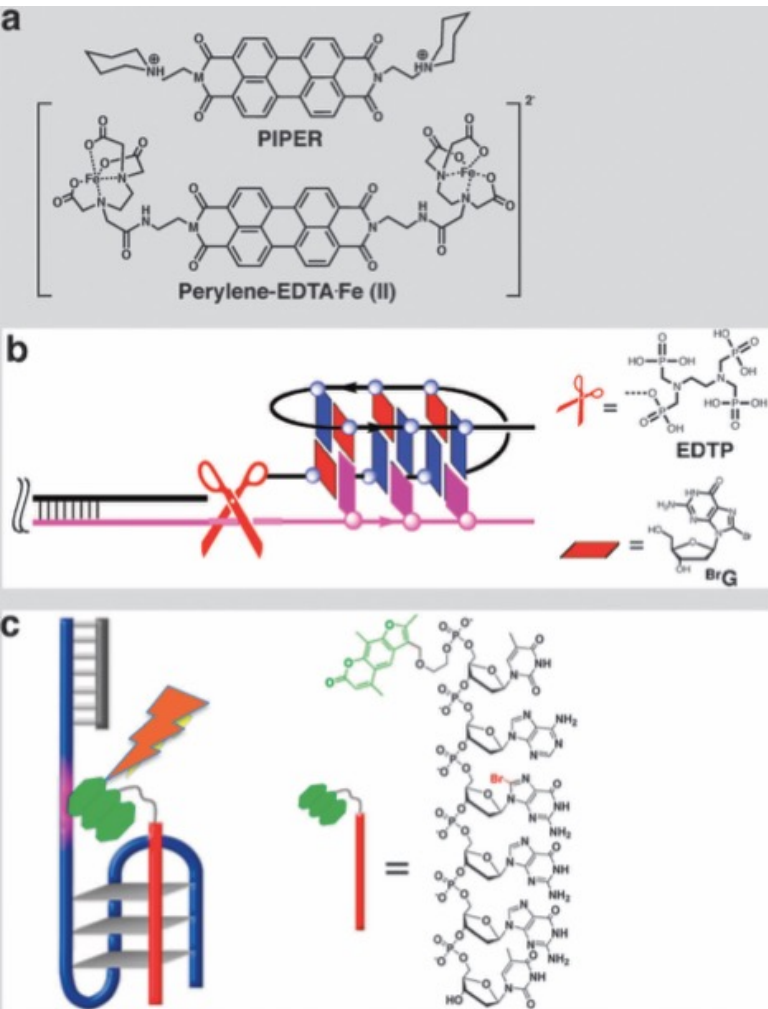
C'è un'ampia varietà di agenti in grado di interagire con le subunità della telomerasi, come:

1. Piccole molecole, in grado di interagire con la componente hTERT;
2. Analoghi di nucleotidi, agiscono come inibitori terminatori di catena di hTERT, quando incorporati dalla telomerasi;
3. Derivati di oligonucleotidi, diretti sull'RNA della telomerasi hTR;
4. Peptidi e proteine sintetizzati chimicamente, usati in immunoterapie.



AGENTI CHIMICI CONTRO IL CANCRO

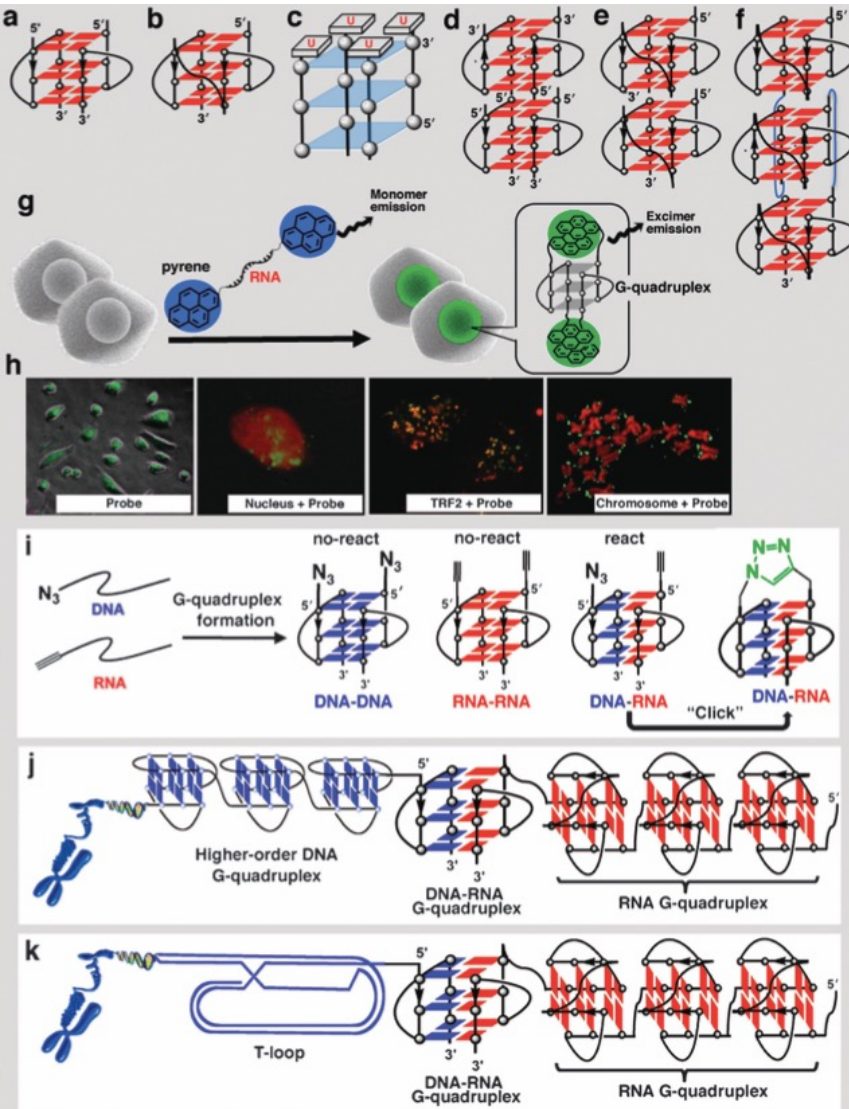
Le strutture G-quadruplex rappresentano una nuova classe di bersagli molecolari per i composti che interagiscono col DNA, così in grado di inibire l'attività della telomerasi bloccando il substrato in conformazione inattiva.



- Uno dei diversi nuovi metodi sfrutta la capacità del ligando perilene-EDTA Fe(II), di riconoscere e tagliare specificamente la sequenza telomerica umana, tramite formazione di G-quadruplex.



TELOMERI A RNA

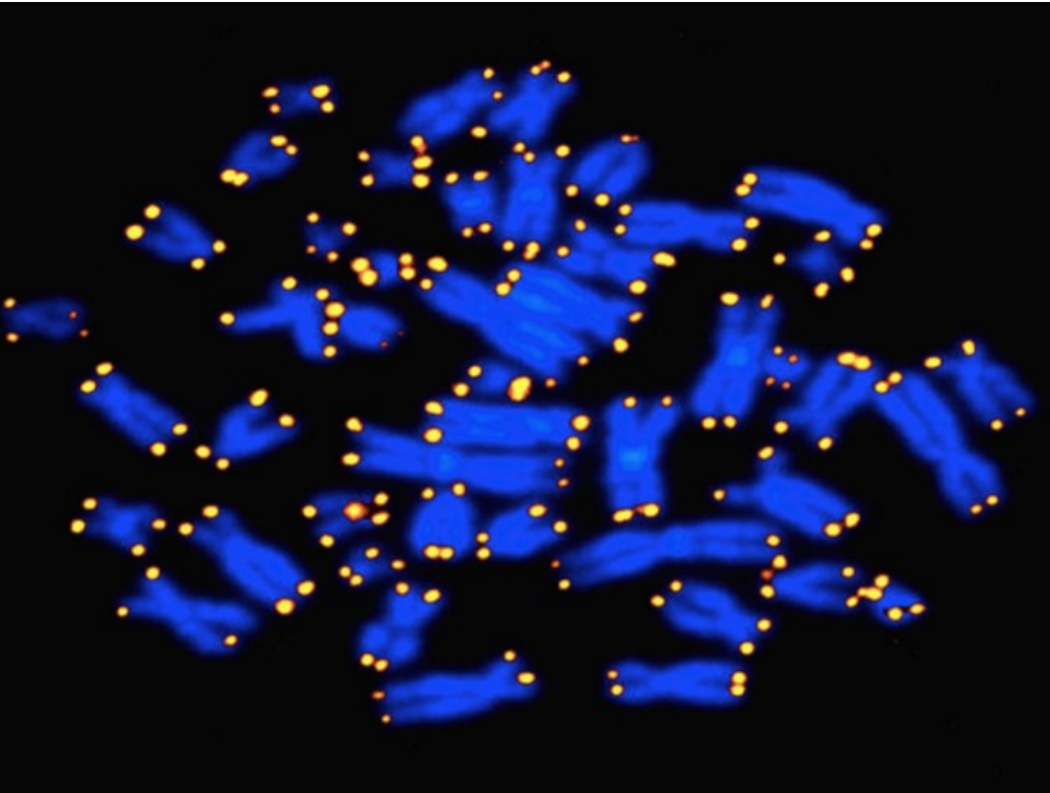


- Una recente scoperta ha dimostrato che il DNA telomerico è trascritto in ripetizioni telomeriche contenenti RNA (**TERRA**), identificate in diverse linee cellulari di mammiferi.
- La loro esistenza potrebbe rivelare un nuovo livello di regolazione e protezione delle estremità cromosomiche che potrebbe fornire indicazioni su processi biologici fondamentali come cancro e invecchiamento.
- Una possibile associazione tra RNA e DNA telomerici potrebbe esserci attraverso la formazione di un G-quadruplex DNA-RNA intermolecolare. La tecnica di Click Chemistry ha permesso lo studio di tali strutture.



CONCLUSIONI E PROSPETTI FUTURI

- Sebbene le nostre conoscenze riguardo le componenti molecolari dei telomeri, come il singolo e doppio filamento di DNA terminale, proteine shelterin e telomerasi, abbiano compiuto enormi passi in avanti dagli anni 70'; ancora oggi permangono domande chiave riguardo la funzione biologica di determinate strutture
- Per quanto riguarda il design di farmaci, ancora rimangono molte lacune nella comprensione della regolazione telomerica e specificità della protezione in vie di riparazione del DNA



- Inoltre la recente scoperta degli RNA TERRA apre la porta a una migliore comprensione del ruolo biologico essenziale dei telomeri; c'è un chiaro bisogno di rivisitare i meccanismi strutturali e funzionali, accompagnandoli alla presenza di RNA

Lo sviluppo di nuovi approcci chimici potrebbe fornire un grande contributo nella risposta a questi interrogativi.

Fonte: Chem Soc Rev 5 2011, Yang Xu
Chemistry in human telomere biology: structure, function and targeting of telomere DNA/RNA