



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

QUADRUPLI DI GUANOSINA E IL LORO RUOLO REGOLATORIO IN BIOLOGIA
G-QUADRUPLI AND THEIR REGULATORY ROLES IN BIOLOGY

Tesi di Laurea di:

LINDA MASCIONE

Docente Referente
Chiar.mo Prof.

PAOLO MARIANI

Sessione AUTUNNALE

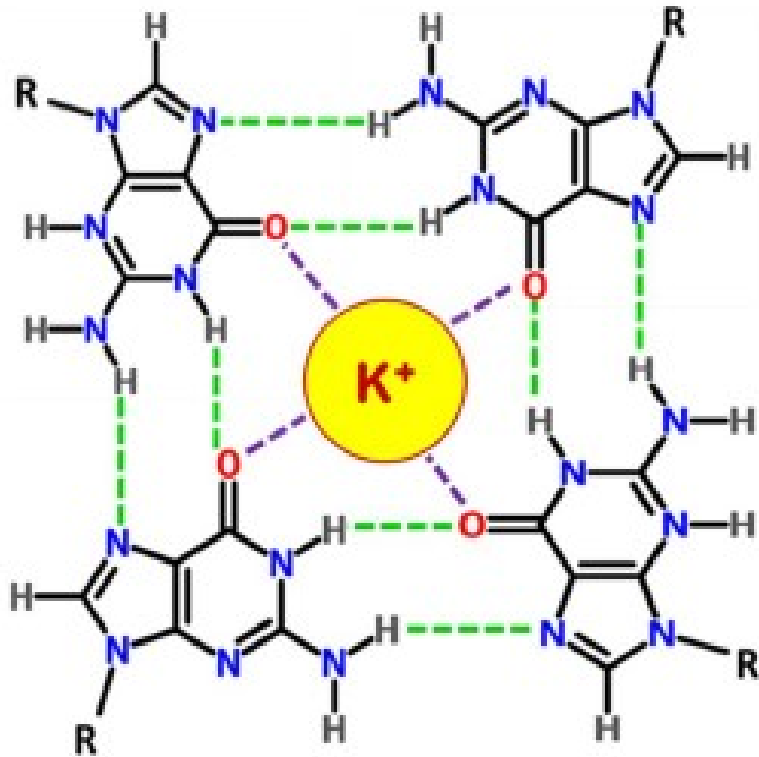
Anno Accademico 2020-2021

I quadruplessi di guanosina sono delle strutture elicoidali a quattro filamenti non canoniche formate da questo acido nucleico; hanno destato grande curiosità poichè sono coinvolte nella regolazione di molteplici processi biologici. Dal sequenziamento di numerosi genomi è emerso che sono formate da specifiche sequenze di DNA o RNA e che la loro collocazione non è casuale bensì correlata a regioni genomiche funzionalmente importanti, nello specifico, *in vivo*, si ritrovano in meccanismi quali la replicazione del DNA, l'espressione genica e l'omeostasi della struttura dei telomeri.

La conoscenza della struttura in 3D è importante per disegnare i ligandi stabilizzanti i G4, usati per identificare le conseguenze della stabilizzazione dei quadruplessi nei processi sopra elencati ma anche come chemioterapici aventi come target i quadruplessi nei promotori degli oncogeni e nei telomeri.

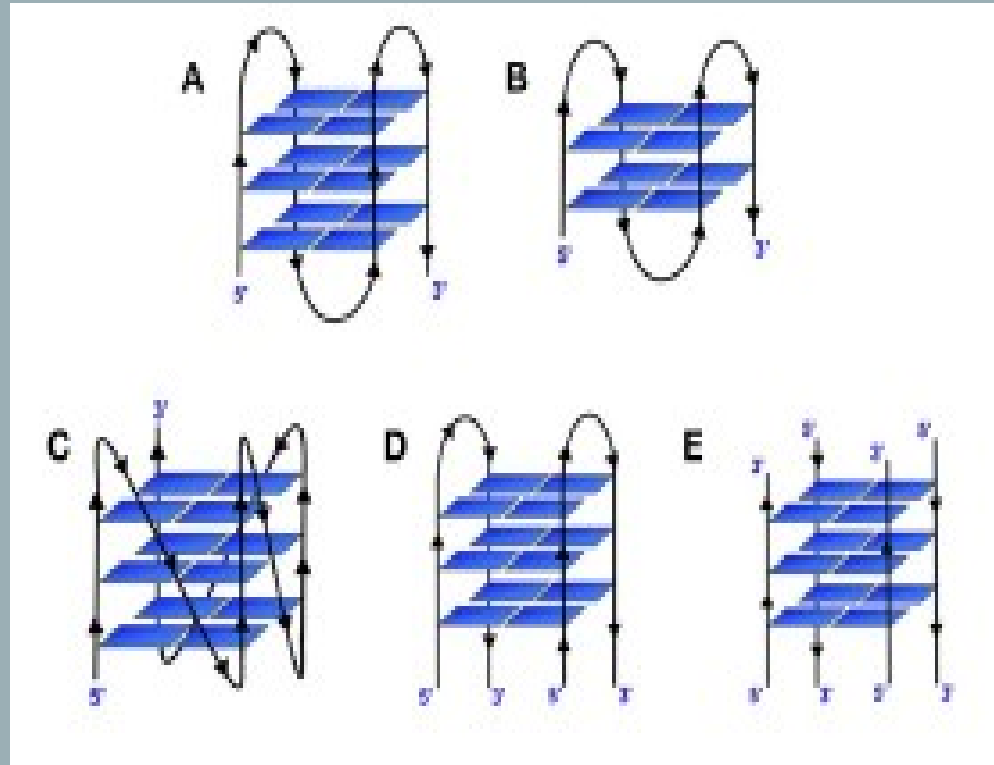
REFERENCES:

- BHATTACHARYYA D, MIRIHANA ARACHCHILAGE G AND BASU S (2016) METAL CATIONS IN G-QUADRUPLEX FOLDING AND STABILITY. FRONT. CHEM. 4:38. DOI: 10.3389/FCHEM.2016.00038
- NUCLEIC ACIDS RESEARCH, 2015, VOL. 43, NO. 18 8627-8637
- ACS OMEGA 2018, 3, 2230-2241



Quattro guanosine sono legate all'idrogeno (trattini verdi) da coppie di basi di Hoogsteen e il catione monovalente K^+ interagisce con gli atomi di O6 (in rosso).

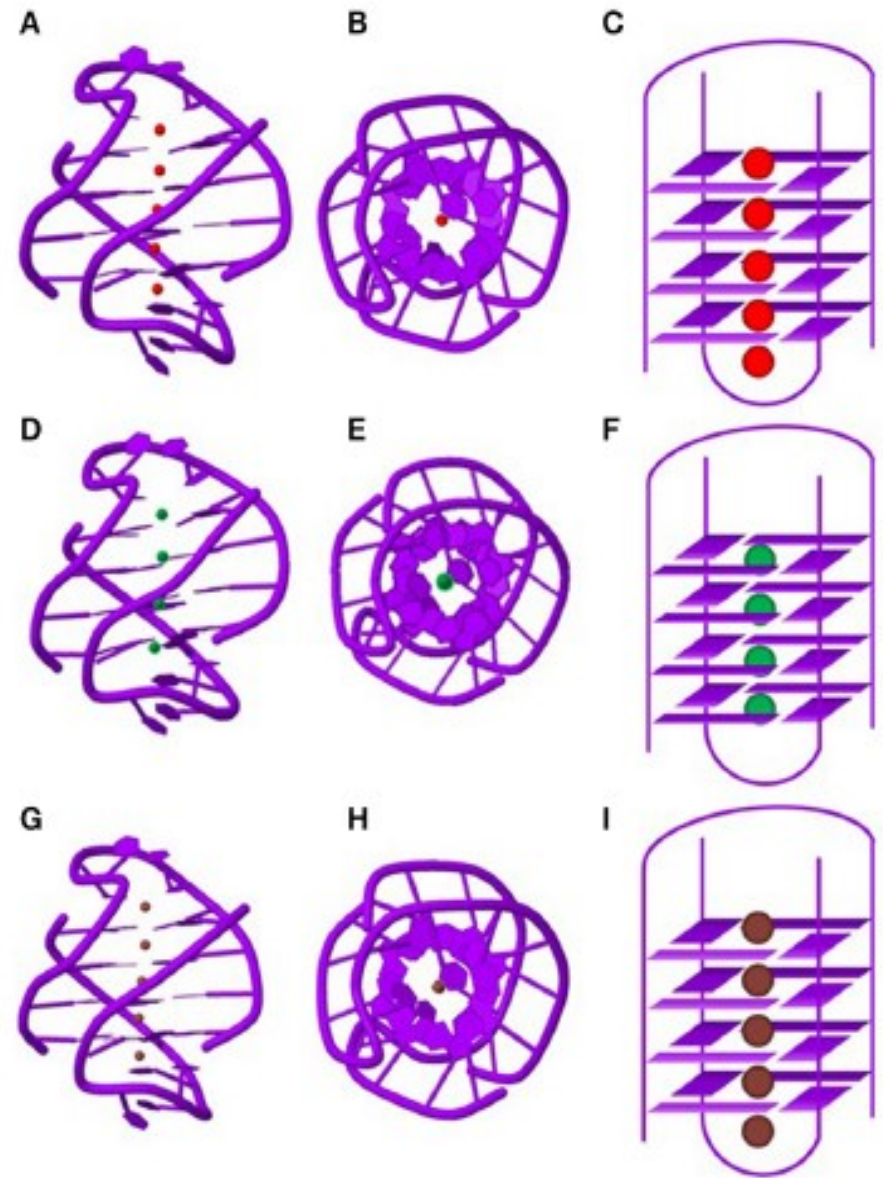
Diverse varianti topologiche di G-quadruplex



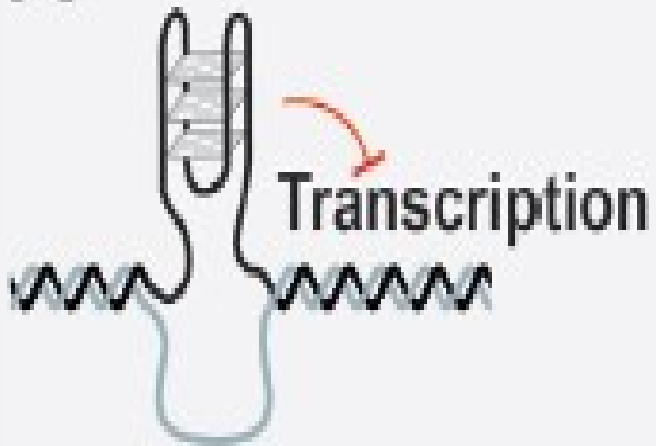
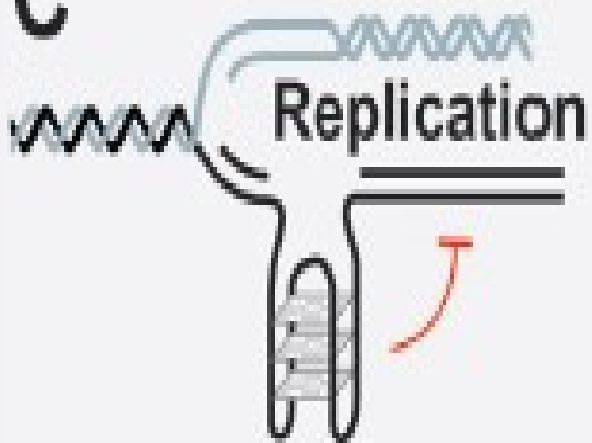
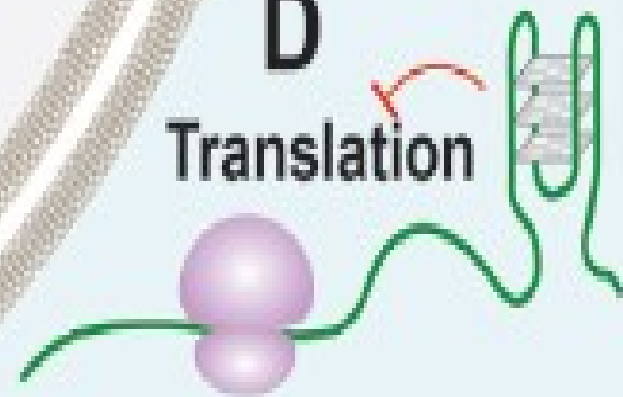
GQ a 3 livelli antiparallelo intramolecolare (A); GQ a 2 livelli antiparallelo intramolecolare (B); GQ a 3 livelli paralleli intramolecolari (C); GQ bimolecolare antiparallelo a 3 livelli (D) e GQ tetramolecolare antiparallelo a 3 livelli (E).

Gli ioni metallici che si trovano nel canale centrale dei G-quadruplex giocano un ruolo fondamentale in quanto contribuiscono direttamente alla stabilità di tali strutture.

Le posizioni degli ioni possono essere lungo il piano del quartetto o tra i piani del quartetto a seconda dello ione e della struttura del GQ.



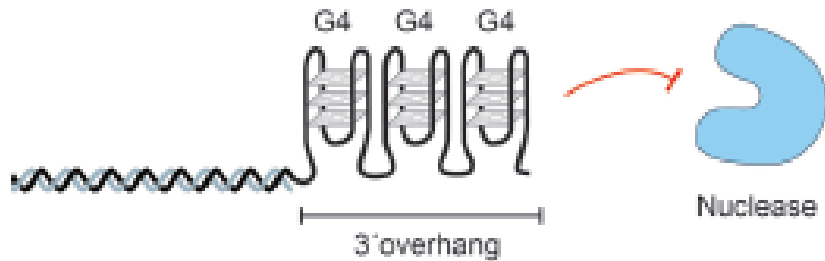
Tre diversi esempi di struttura del DNA telomerico di *Oxytricha Nova* in presenza di diversi cationi monovalenti. Lo ione K⁺(A,B,C), Na⁺(D,E,F) e Tl⁺(G,H,I).

A**B****C****D**

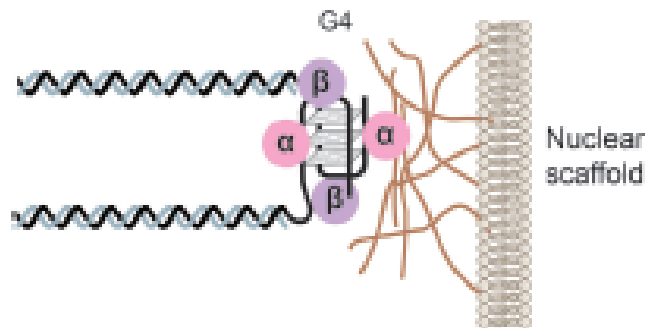
Nucleus

Cytoplasm

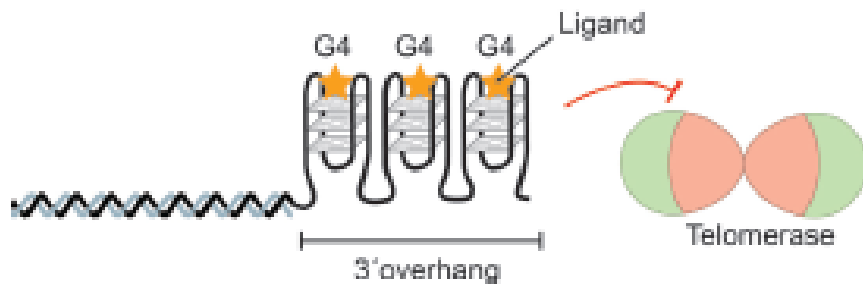
A Protection of telomeres



B Organization of ciliate telomeres



C Binding of ligands to telomeric G4

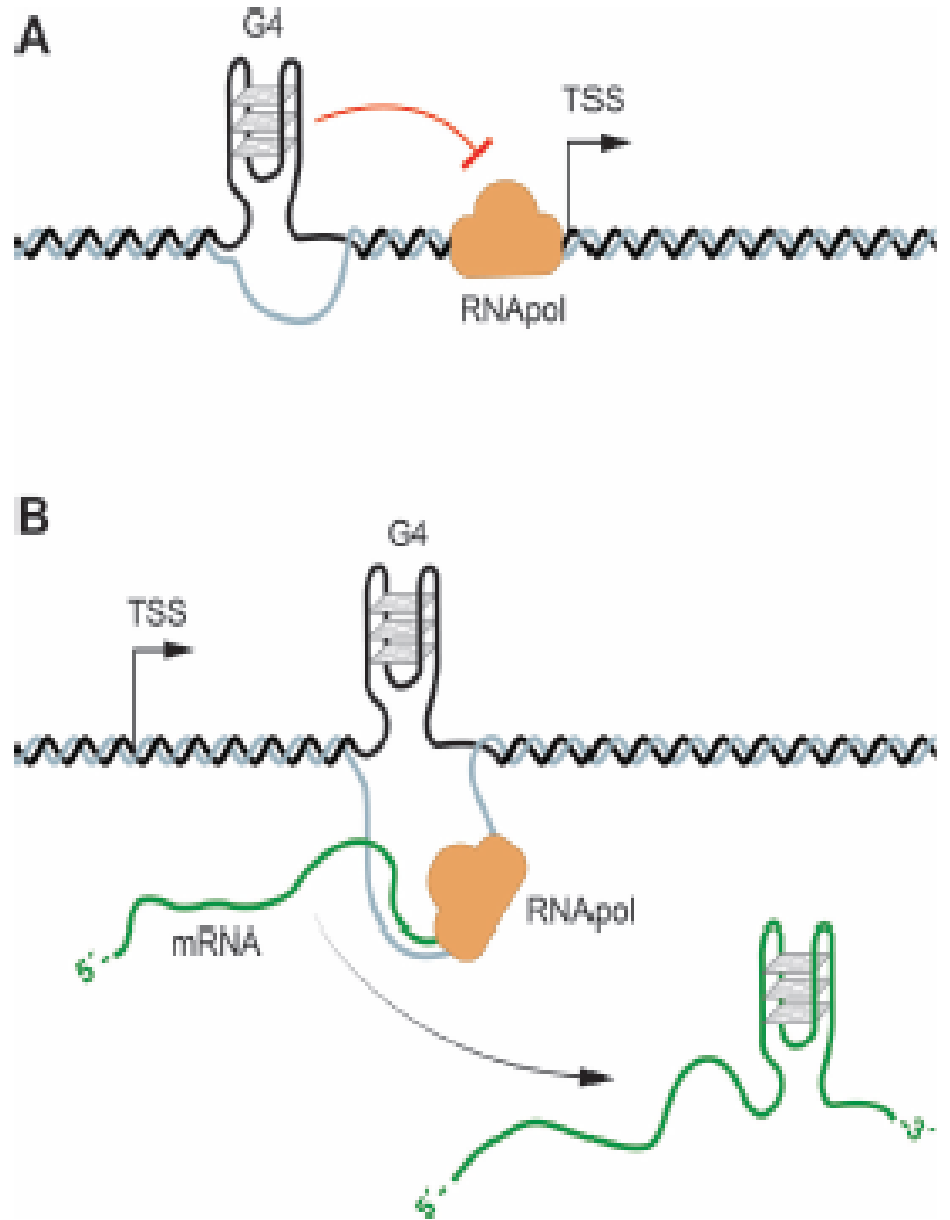


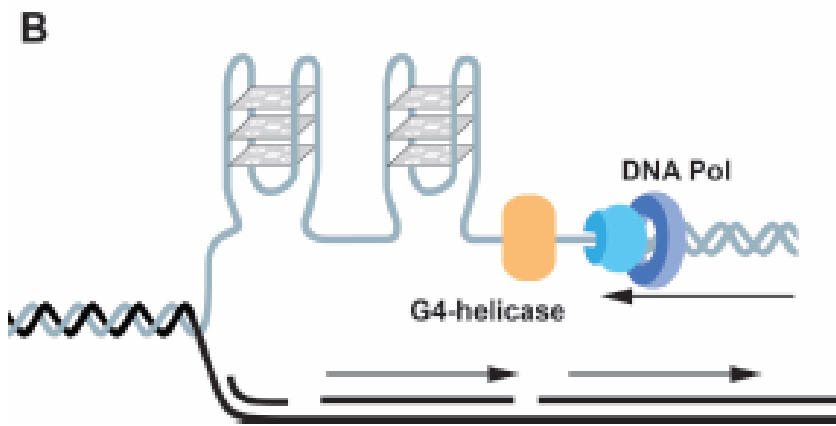
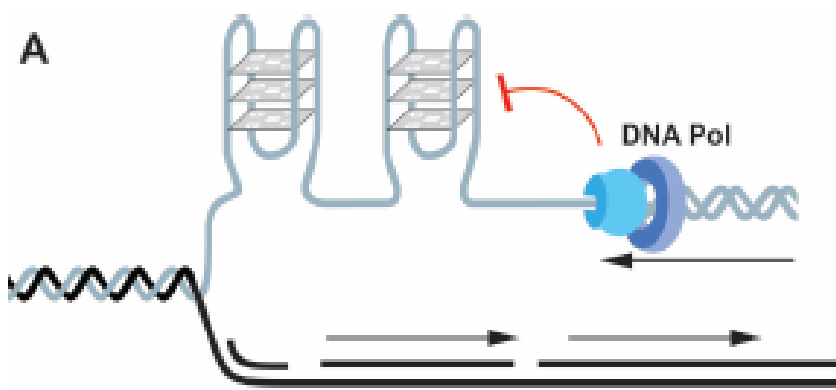
(A) La lunga sporgenza umana ricca di G può formare stringhe G-quadruplex piegate intramolecolarmente che possono offrire protezione finale contro le nucleasi o regolare l'attività della telomerasi.

(B) I telomeri ciliati formano strutture G-quadruplex intermolecolari che coinvolgono due telomeri, promossi dalla proteina TEBP- β che lega l'estremità del telomero. I telomeri sono attaccati a una struttura subnucleare tramite un'interazione della proteina TEBP- α che lega l'estremità dei telomeri.

(C) La stabilizzazione dei G-quadruplex da parte dei ligandi (stelle gialle) compromette la sintesi della ripetizione dei telomeri da parte dell'enzima telomerasi e porta al loro accorciamento.

- ❖ pG4 sono più frequenti negli oncogeni o nei geni regolatori che nei geni house keeping o nei geni oncosoppressori.
- ❖ la prima prova che i pG4 nei promotori hanno un effetto sull'espressione genica proviene da studi sull'oncogene c-MYC, per i quali è stato dimostrato che le mutazioni del pG4 o l'aggiunta di un ligando stabilizzante G-quadruplex influiscono sulla trascrizione *in vivo*.
- ❖ le pG4 potrebbero sia influenzare la deposizione di proteine regolatorie e/o alterare la struttura e la stabilità della cromatina.



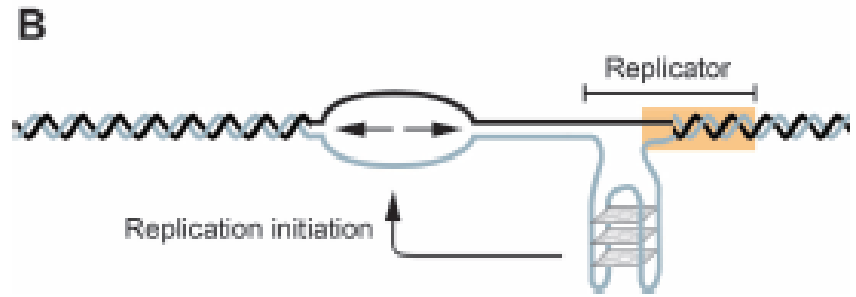
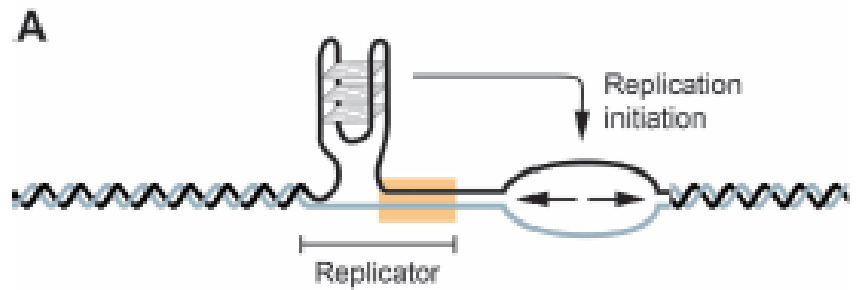


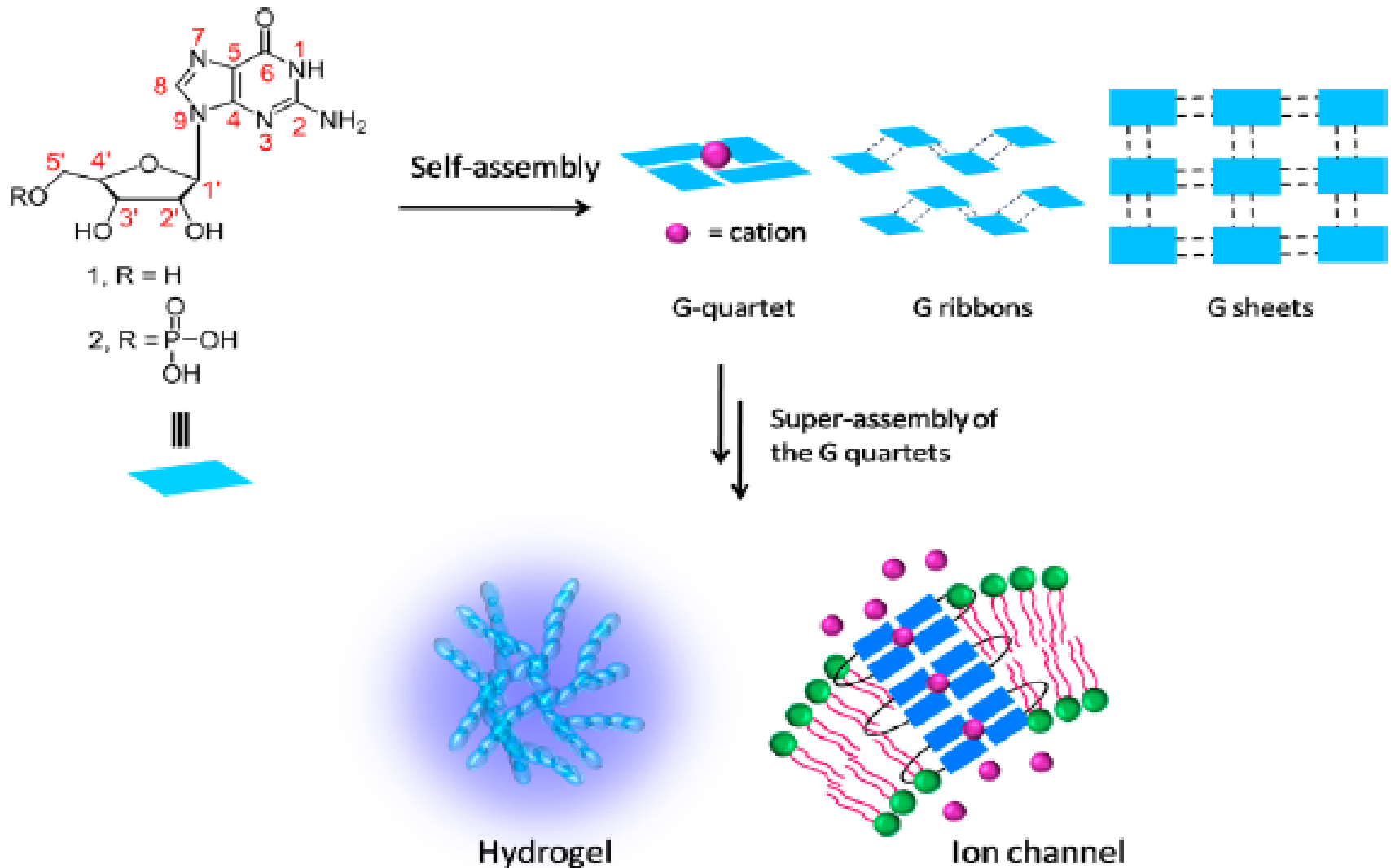
I DNA G-quadruplex sembrano avere un **duplice** ruolo nella regolazione della replicazione del DNA:

- ❖ come impedimenti alla replicazione che portano all'instabilità del genoma

- ❖ come componenti delle origini della replicazione dei metazoi.

Replication origins





La guanosina è un elemento importante per gli idrogel grazie alle sue proprietà uniche di autoassemblaggio.

I quadruplessi di guanosina hanno destato grande curiosità per quanto mi riguarda per la loro potenzialità all'interno delle cellule, l'evidenza infatti suggerisce che la loro formazione può svolgere ruoli sia benefici che regolatori e in particolar modo ci sono dati che dimostrano che possono avere un impatto sulla scienza applicata consentendo la costruzione di vettori a replicazione autonoma da utilizzare nella terapia genica e con cellule staminali.

Un altro punto che mi ha particolarmente colpito è l'ampio spettro di utilizzo degli idrogel, questi materiali che dovranno ancora essere studiati a lungo ma che potranno migliorare di gran lunga la nostra quotidianità, in campi come l'ingegneria tissutale, il farmaceutico per aumentare la potenza dei vaccini e di immunoterapici del cancro, nell'optoelettronica e nella costruzione di biomateriali funzionali avanzati.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE!