



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO di SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea  
Scienze Biologiche (L-13)

Turritopsis dohrnii: la medusa immortale

Turritopsis dohrnii: the immortal Jellyfish

Tesi di Laurea di:  
Giorgia Antonelli

Docente Referente:  
Prof. Marco Barucca

Sessione di laurea estiva  
Anno Accademico 2022/2023

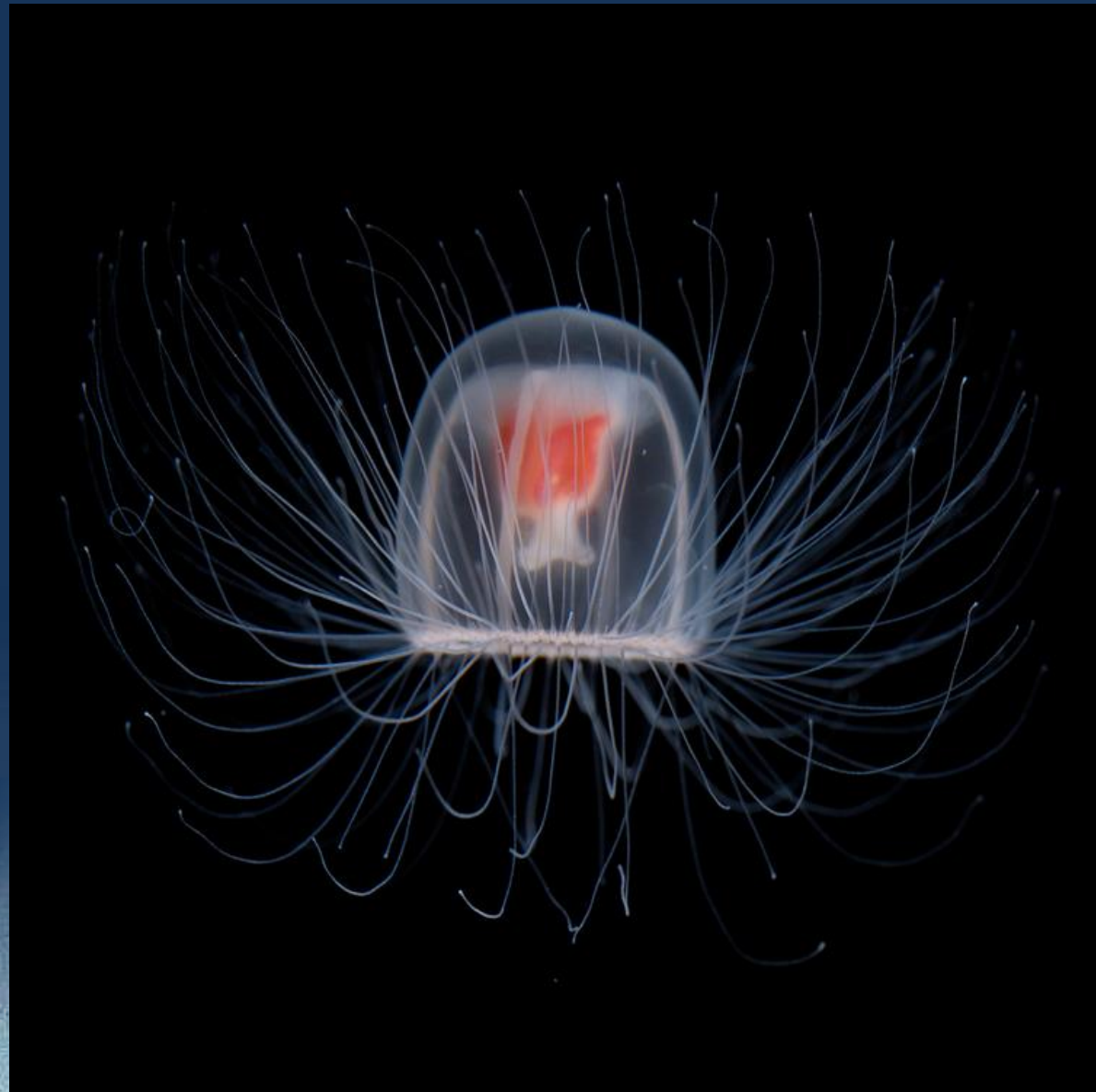
# Abstract

---

In questo studio, vengono presentati e confrontati gli assemblaggi dell'intero genoma di *Turritopsis dohrnii* (immortale) e di *Turritopsis rubra* (non immortale) e il trascrittoma del processo di inversione del ciclo di vita (LCR) di *T. dohrnii*. Sono state identificate varianti ed espansioni di geni associati alla replicazione, alla riparazione del DNA, al mantenimento dei telomeri, all'ambiente redox, alla popolazione di cellule staminali e alla comunicazione intercellulare. Inoltre, è stato osservato il silenziamento dei bersagli del complesso repressivo 2 policombe e l'attivazione dei bersagli di pluripotenza durante la LCR, che indica questi fattori di trascrizione come induttori della pluripotenza in *T. dohrnii*. Di conseguenza, vengono proposti questi fattori come elementi chiave nella capacità di *T. dohrnii* di sottoporsi a ringiovanimento.

# Introduzione

---



## SUBJECT

*Turritopsis Dohrnii* (Weismann, 1883), un idrozoo appartenente al phylum Cnidaria in grado di invertire il proprio ciclo vitale (LCR)

## ELABORAZIONE

Confronto degli assemblaggi dell'intero genoma di *T. dohrnii*, di *T. rubra* (specie congenerica non immortale) e altre 11 specie cnidarie, nonché il trascrittoma dell'LCR di *T. dohrnii*



## OBIETTIVO

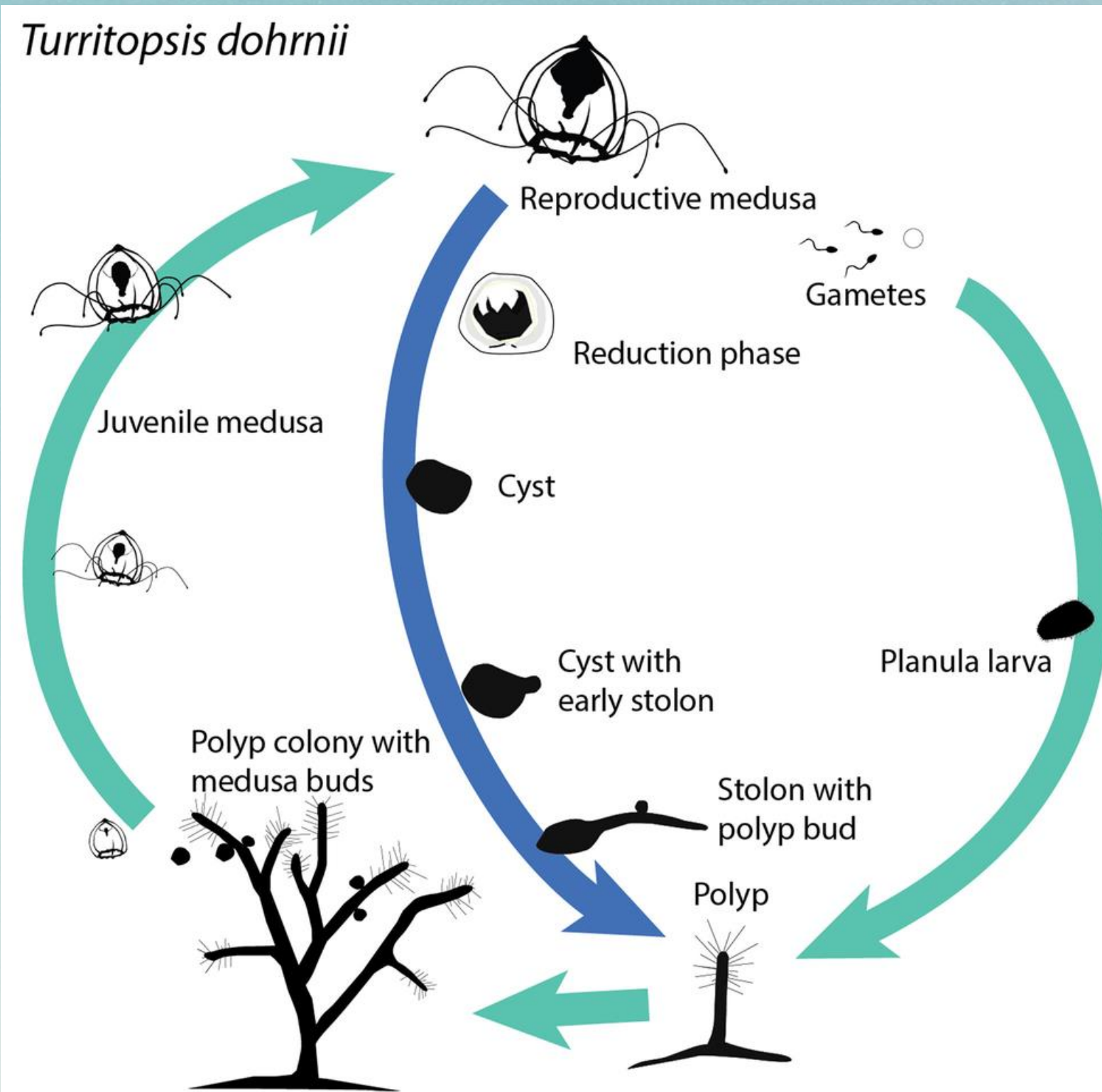
Comprendere gli elementi chiave che conferiscono a *Turritopsis Dohrnii* questa innata capacità



# LCR : "Life Cycle Reversal"

Il ciclo vitale tipico di un idrozoo prevede l'alternanza di una fase sessuata o medusoide e una a sessuata o polipoide. *T. Dohrnii*, allo stadio di medusa, può tornare allo stadio di polipo attraverso lo stadio intermedio della cisti.

In *T. Dohrnii*, tale inversione ontogena, è stata indotta mediante incubazione in cloruro di cesio (CsCl)



# Raccolta ed elaborazione dei campioni

Santa Caterina (Lecce)



Isola di Hokkaido  
(Giappone)



Le colonie di *T. dohrnii* e *T. rubra* sono state prelevate rispettivamente a Santa Caterina (Lecce) e nell'isola di Hokkaido (Giappone), sono state separate dallo stolone ottenendo circa 1000 idranti e 60 meduse immature.

Gli esemplari sono stati conservati in RNA (4 °C) e in acqua di mare (25 °C) per le dovute analisi

# MATERIALI E METODI

## Sequenziamento

Metodo Illumina  
Dimensione stimata dei genomi: 390 mb per *T. dohrnii* (cop. 78.88%) e 210 mb per *T. rubra* (cop. 88,78%)

## Annotazione

Automatica (MAKER) e manuale (BATI)

## Estrazione DNA-RNA

DNA: Protocollo Fenolo-Cloroformio  
RNA: Trizol (*T. dohrnii*);  
Trizol + RNeasy mini (*T. rubra*)

## Assemblaggio

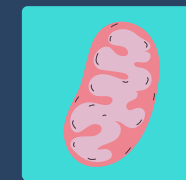
Platanus (*T. rubra*) e  
Platanus-allee (*T. dohrnii*)

# RISULTATI E DISCUSSIONE

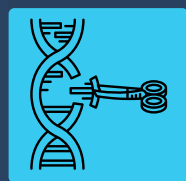
I meccanismi molecolari e cellulari alla base del processo di invecchiamento sono stati classificati in una serie di segni distintivi dell'invecchiamento, ad essi sono correlati alcuni dei possibili geni responsabili del fenotipo immortale di *T. dohrnii*.



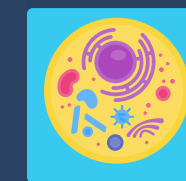
INSTABILITÀ GENOMICA  
E LOGORAMENTO DEI  
TELOMERI



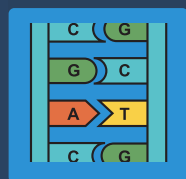
DISFUNZIONE  
MITOCONDRIALE



ALTERAZIONI  
EPIGENETICHE



SENESCENZA  
CELLULARE



REGOLAZIONE  
TRASCRIZIONALE



ESAURIMENTO CELLULE  
STAMINALI



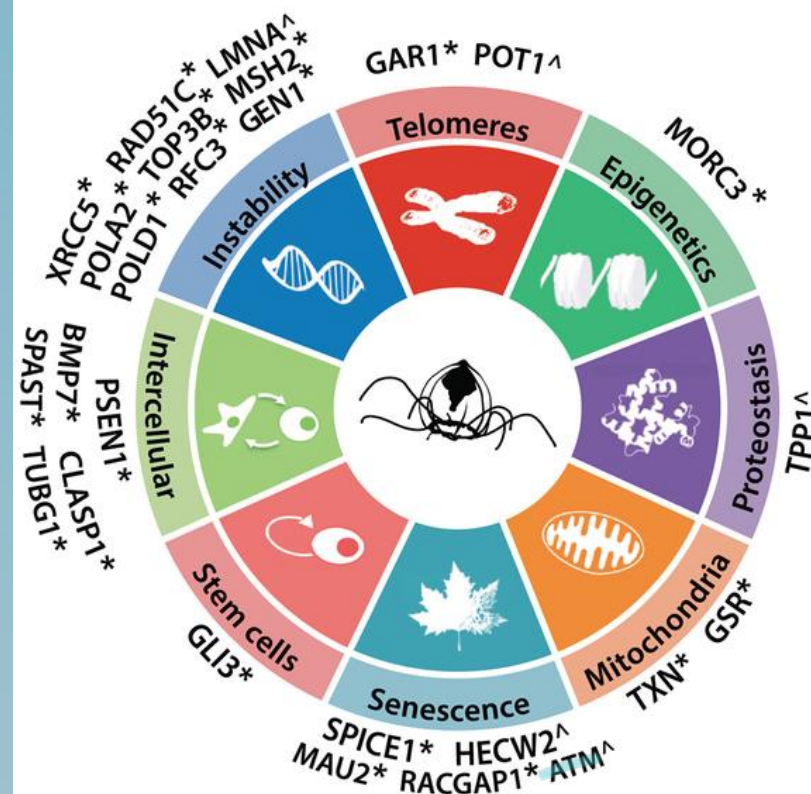
PERDITA PROTEOSTASI



COMUNICAZIONE  
INTERCELLULARE  
ALTERATA

# Varianti Puntiformi

*Turritopsis dohrnii*



Sono state identificate 10 varianti uniche (<sup>Δ</sup>) in *T. dohrnii* e *T. rubra*, la maggior parte delle quali potenzialmente dannose per l'uomo (punteggio PolyPhen > 0.85).

**LMNA** (*lamina A/C*): p. G523A (*T. dohrnii*) e p. E82Q (*T. rubra*)

**ERCC4** (*Excision Repair 4*): p.V59L (*T. rubra*)

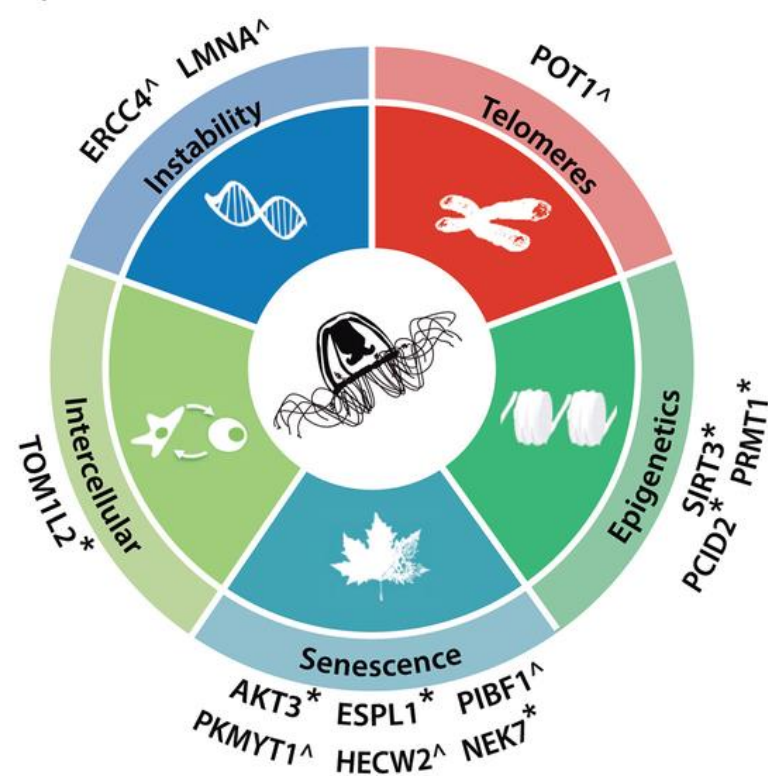
**TPP1** (*Tripeptidil Peptidasi 1*): p. V518I (*T. dohrnii*)

**ATM** (*Serina/treonina chinasi*): p. P2553Y e p. H2555Q (*T. dohrnii*)

**HECW2** (*Ubiquitina ligasi*): p. Q1362R (*T. dohrnii*) e p. Q1362H (*T. rubra*)

**POT1** (*Protection of Telomeres 1*): p. G272N (*T. dohrnii*) e p.G272R (*T. rubra*)

*Turritopsis rubra*

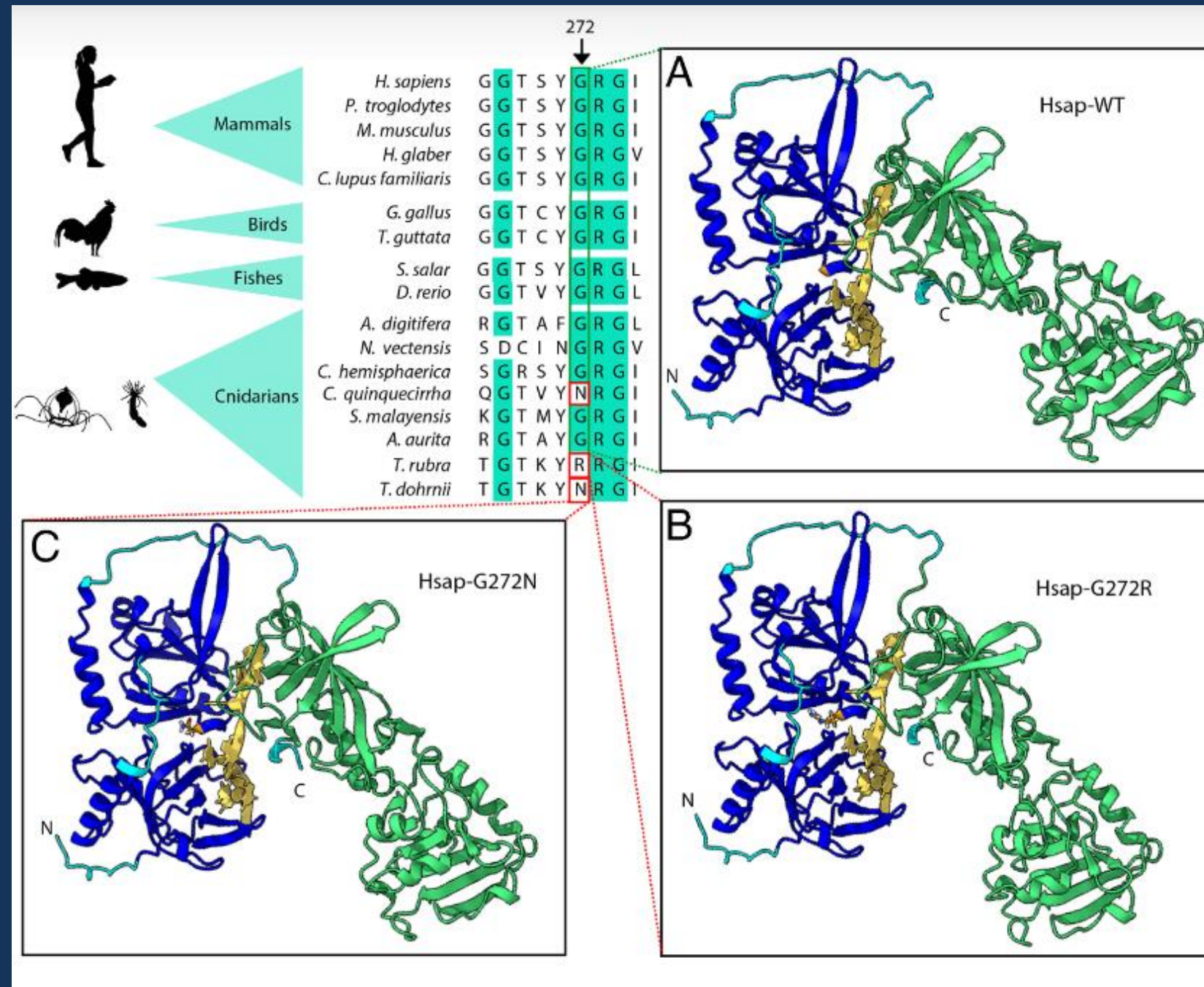


Nel complesso, si è ipotizzato che tali varianti possano rallentare il ciclo cellulare e permettere di preservare la lunghezza dei telomeri



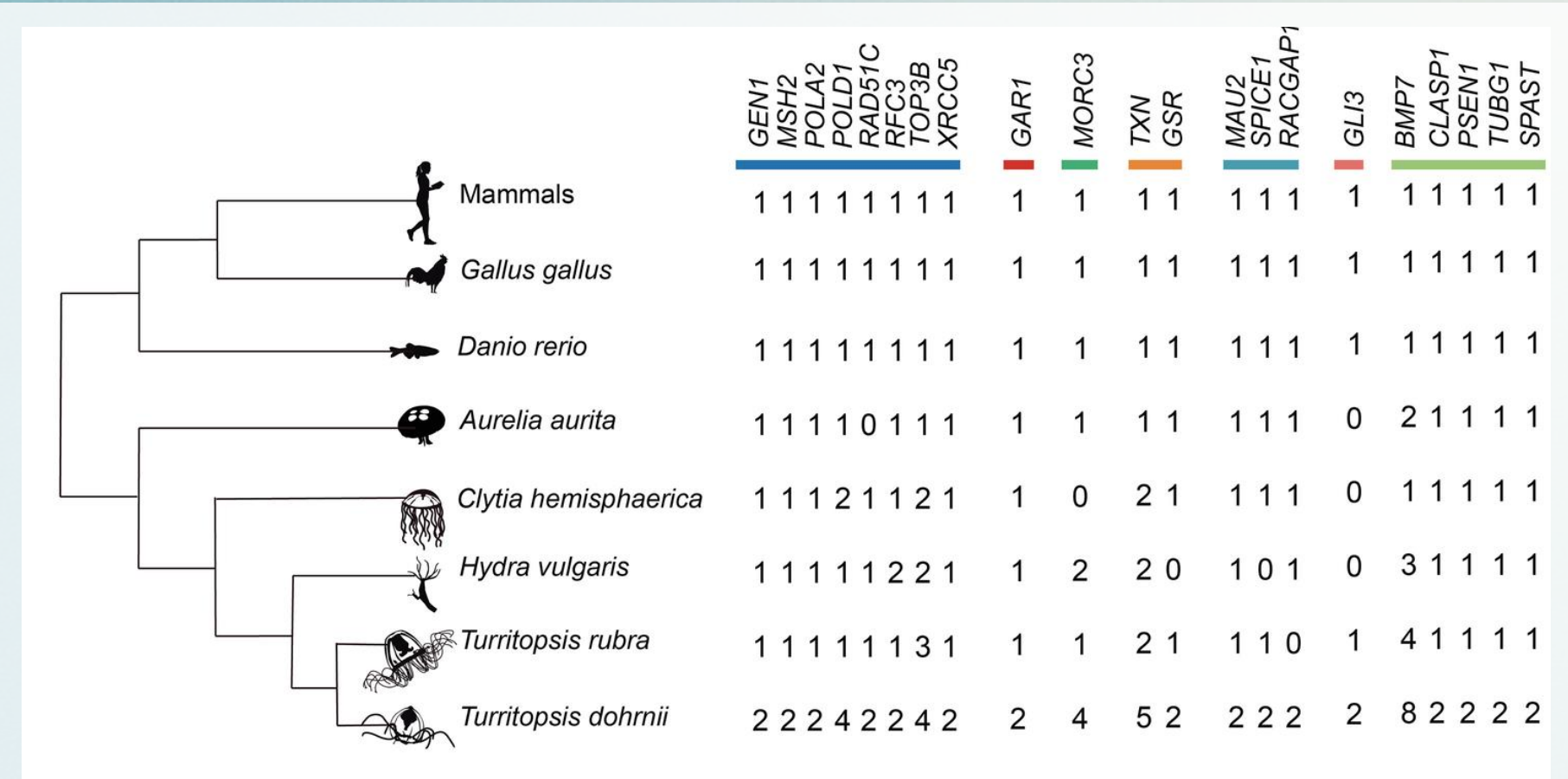
POT1 (Protection of Telomeres 1) codifica per una proteina facente parte del complesso shelterin, fondamentale per la stabilità dei telomeri.

Saggi di legame tra la proteina codificata da POT1 e sonde oligonucleotidiche (con 3 ripetizioni simili a quelle telomeriche) hanno evidenziato una riduzione di affinità tra le varianti di *Turritopsis* e la sonda tra le proteine umane, suggerendo un impatto nella sua capacità di legare i telomeri nell'uomo.

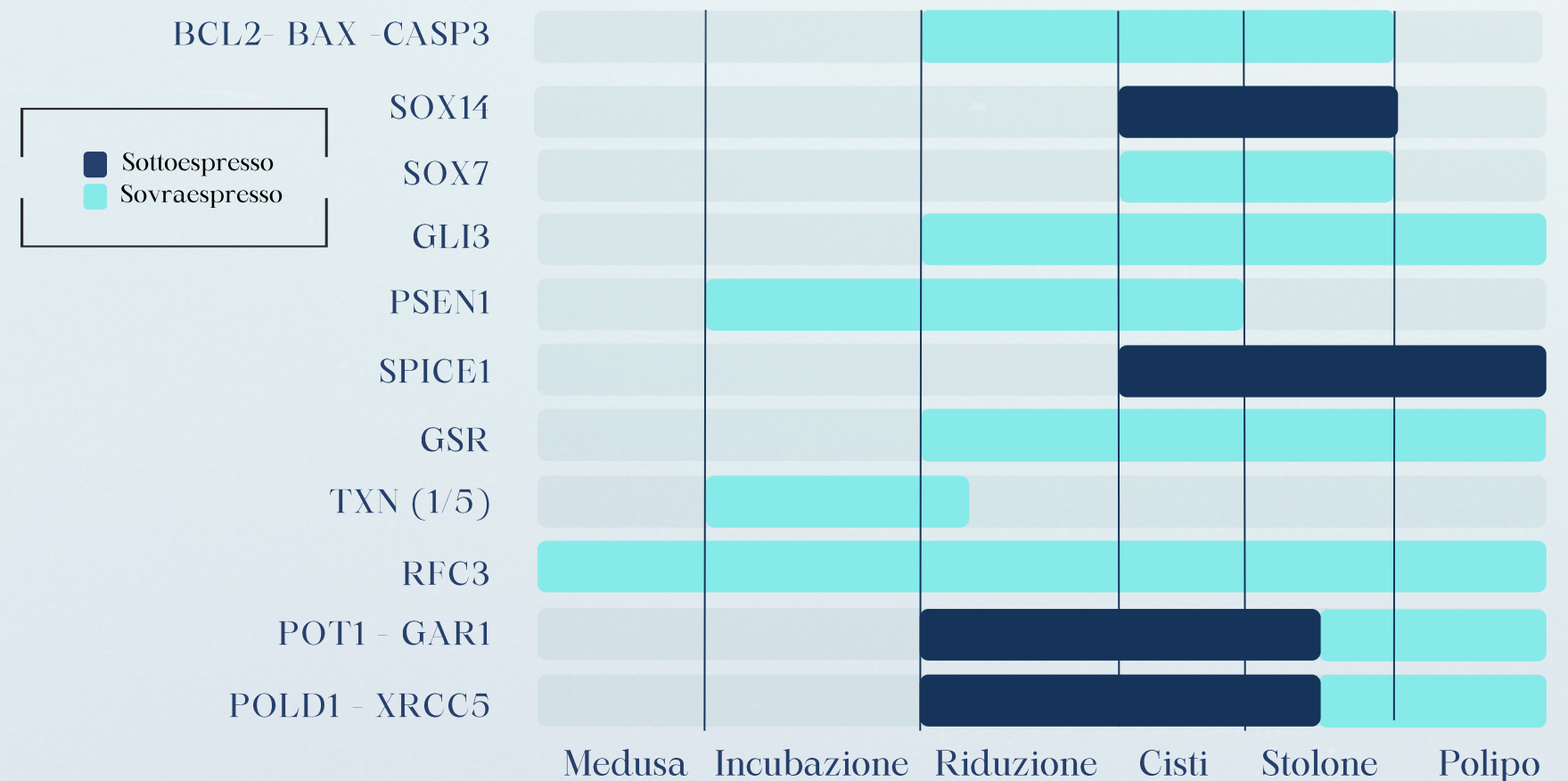


# Variazioni del numero di copie

Sono state identificate 28 variazioni del numero di copie in *T. dohrnii* e *T. rubra*. Gran parte dei geni duplicati sono coinvolti in processi di riparazione e replicazione del DNA, suggerendo una potenziata capacità replicativa e di riparazione.

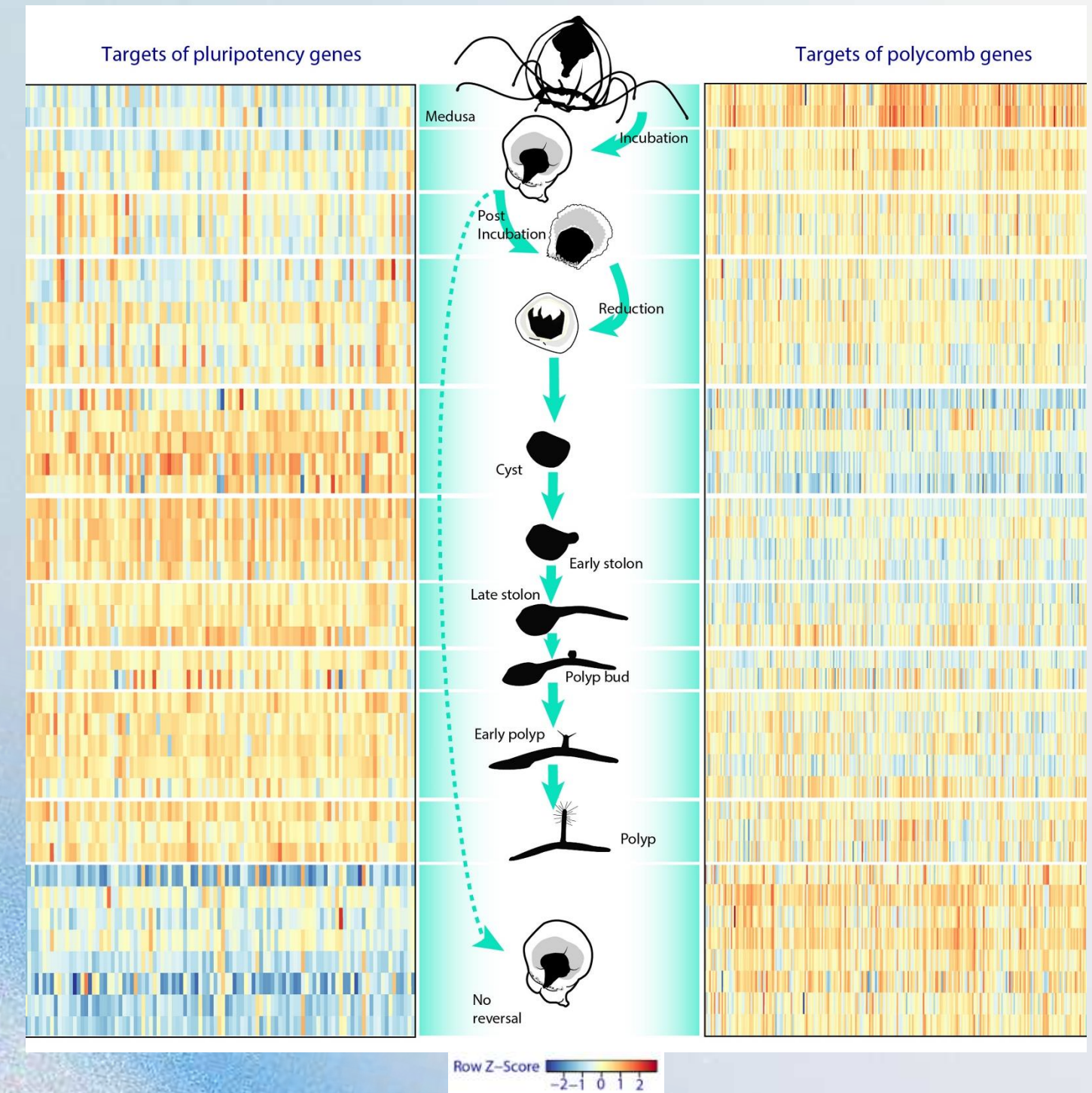


Espressione differenziale durante LCR in *T. dohrnii*



# Mediatori fondamentali del ringiovanimento ciclico

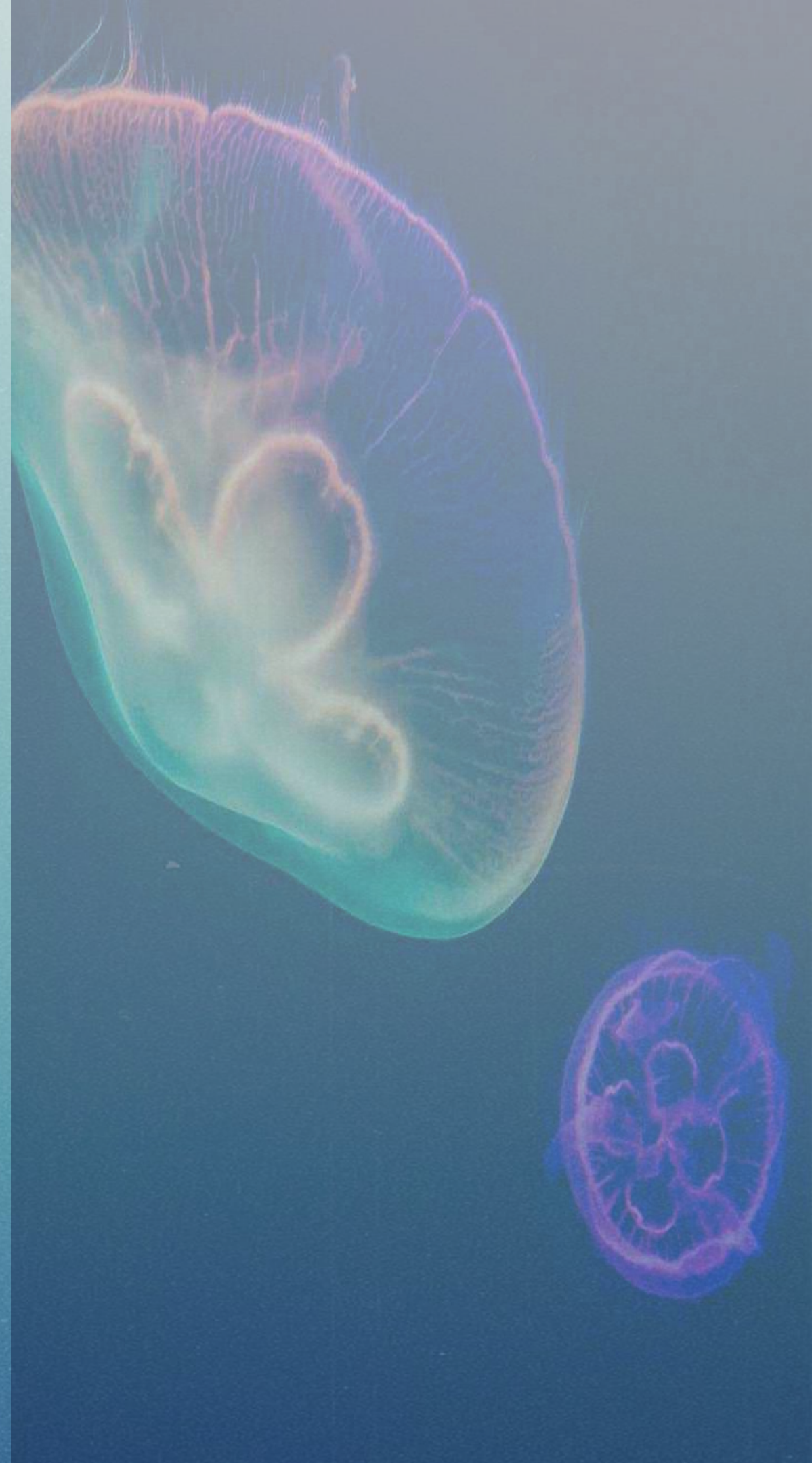
- PCR2 (polycomb repressive complex 2) è coinvolto nella regolazione dell'espressione genica attraverso la metilazione dell'istone H3 a livello della Lys 27. In questo modo determina il silenziamento di uno specifico set genico coinvolto nello sviluppo, allo scopo di mantenere la pluripotenza nelle cellule staminali embrionali. Tale silenziamento è stato osservato soprattutto allo stadio di cisti (GSEA).
- La sovraespressione dei geni associati alla pluripotenza è stata osservata allo stadio di cisti e stolone, la maggior parte dei geni risultano essere correlati ad omeostasi proteica, riparazione e replicazione del DNA, apoptosi, resistenza allo stress ossidativo.  
I geni SOX7, SOX14 e MYC sono proposti come fattori coinvolti nell'induzione della pluripotenza.



# Conclusioni

---

- Le espansioni geniche e le varianti osservate in *Turritopsis dohrnii* vengono proposte come responsabili della maggior capacità di mantenere l'ambiente redox, la proteostasi, l'integrità del DNA e la comunicazione cellulare, in risposta allo stress chimico, soprattutto nelle prime fasi dell'LCR.
- La regolazione della senescenza cellulare potrebbe potenziare la plasticità e le capacità di rigenerazione in entrambe le specie di *Turritopsis*
- Il silenziamento dei bersagli PRC2 e l'attivazione dei bersagli di pluripotenza possono essere proposti come possibili candidati a mediare l'attivazione della segnalazione di pluripotenza



---

Grazie per l'attenzione!

---

# Bibliografia

---

Comparative genomics of mortal and immortal cnidarians unveils novel keys behind rejuvenation  
PNAS; [Vol. 119 | N° 36](#)

M. Pascual-Tornera, D. Carrero, J. G. Perez-Silva, D. Alvarez-Puente, D. Roiz-Vallea, G. Bretones, D. Rodriguez, D. Maeso, E. Mateo-Gonzalez, Y. Espanol, G. Marino, J. Luis Acuna, V. Quesada, and C. Lopez-Otin

Edited by Vera Gorbunova, University of Rochester; received October 13, 2021; accepted July 6, 2022  
by Editorial Board Member Helen M. Blau

Il Giornale dei Biologi - N.10 Published on Oct 31, 2022

Foto:

<https://www.valeriorosso.com/>

<https://www.tuvsud.com/it-it/chi-siamo/i-laboratori-ph>

<https://unsplash.com/it/foto/qdjTnJtlCWQ>