



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente
Corso di laurea in Scienze Biologiche

A. A. 2019/20

p53 e il controllo dei trasposoni e dell'oncogenesi

“p53 and the control of
transposons
and oncogenesis”

Referente: Dott. Marco Barucca

Studente: Lorena Casieri

Struttura

La proteina p53, deve il suo nome alla massa molecolare di 53kDa.

È formata da 393 aa;

È possibile distinguere 3 domini:

- N- terminale è il dominio di trascrizione – attivazione (TAD);
- Core è il dominio con Zn^{+} e residui di Arg
- C- terminale è il dominio di oligomerizzazione ;

Le regioni che hanno più mutazioni sono: il core e la regione N – terminale.

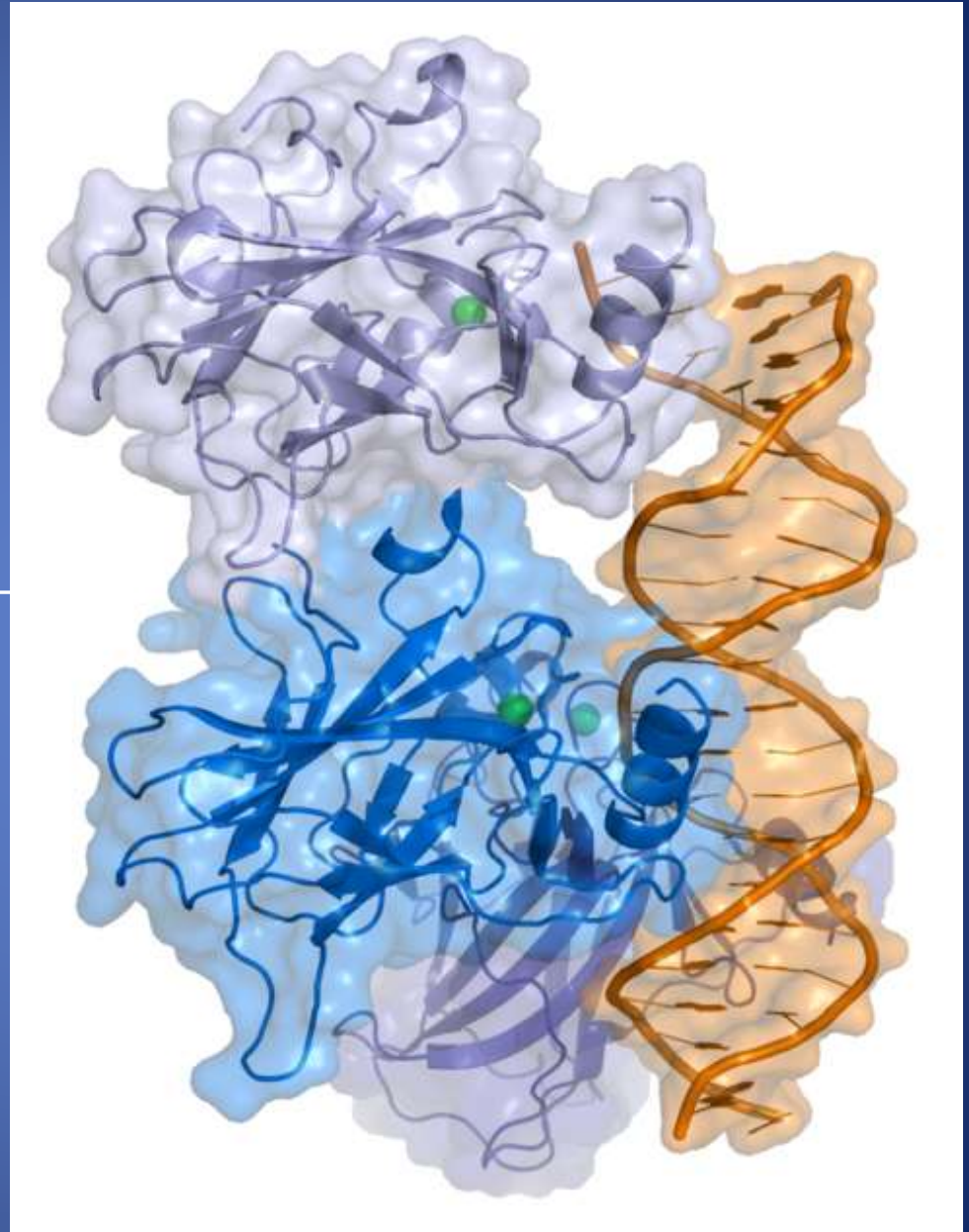


Fig. 1

p53 = Proteina tumorale

TP53 è un gene soppressore del tumore, quindi è associato allo sviluppo di diversi tumori.

Il gene TP53 codifica la proteina p53, nella cellula ha la funzione di monitorare il danno al DNA e spinge la cellula a rispondere in modo appropriato.

Quando il DNA è danneggiato, p53 arresta il ciclo cellulare e le cellule entrano in uno stato di “riparazione”.

Se la riparazione non è efficace, p53 induce l’apoptosi.

Così impedisce la trasmissione del danno del DNA durante la divisione cellulare, inoltre riduce il rischio di cancro.

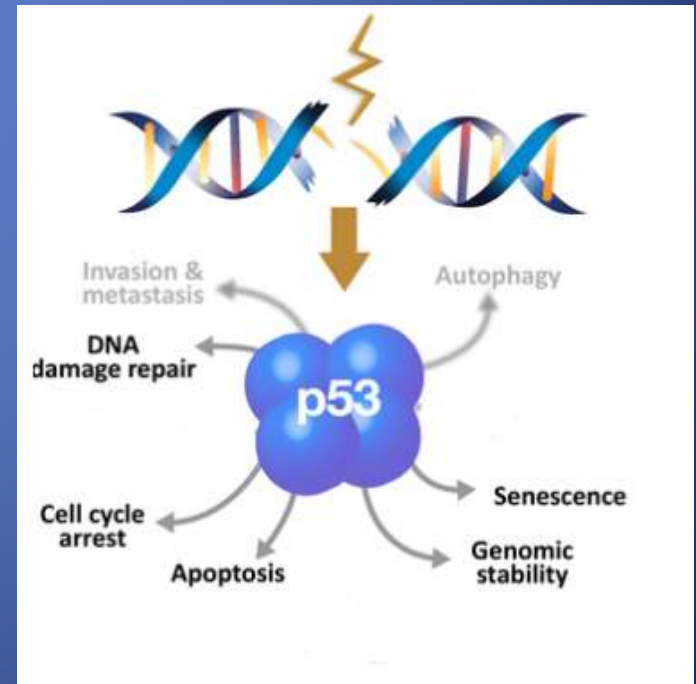


Fig. 2

P53 interviene nell'attività tumorigenica

Le mutazioni nel gene PT53 inducono la perdita della propria funzione, causando una proliferazione anomala che corrisponde alla progressione tumorale.

Nel 1990 è stato dimostrato che alcuni virus (Adenovirus e Papovavirus), producono delle proteine che bloccano p53, determinando un'attività tumorigenica.

p53 controllano i trasposoni agendo sul controllo della proliferazione tumorale.

ZEBRAFISH

È stato effettuato un test per dimostrare che p53 trattiene gli elementi trasponibili. Il test misura la Retrotrasposizione de novo.

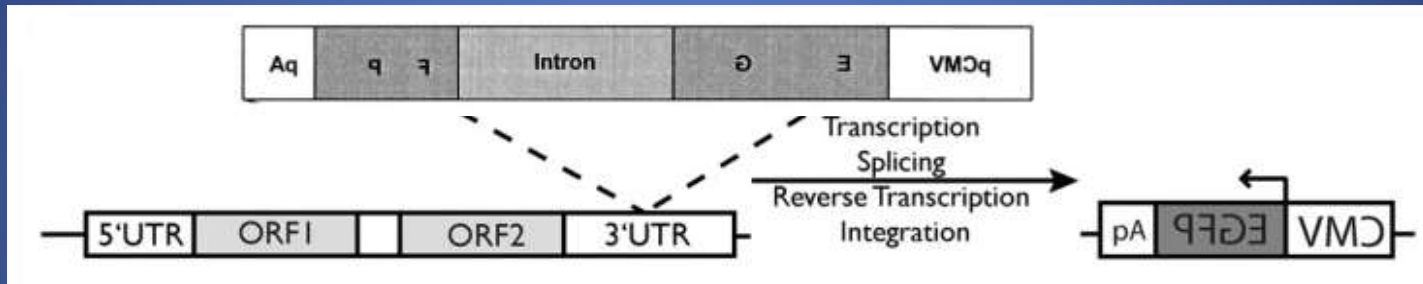


Fig. 3: pLRE3 - mEGFP1

(IM. In basso a sinistra) *Costrutto LRE3*

(IM. In alto) *cassetta dell'indicatore di retrotrasposizione* con gene EGFP, promotore CMV, segnali di poliA e introne artificiale che interrompe EGFP con orientamento opposto.

È stato utilizzato un costrutto = LRE3 che corrisponde a LINE-1 umano competente per la retrotrasposizione.

Nella regione 3'UTR del costrutto, è stato inserito un indicatore di retrotrasposizione contenente il gene EGFP, che codifica per una proteina fluorescente verde.

La cellula esprime EGFP solo quando il trascritto di LINE-1 con il marcatore antisense è sottoposto a trascrittasi inversa, splicing e integrazione nel DNA.

È utilizzato un anticorpo (α -ORF1p) che rileva la proteina umana codificata da ORF1, quindi è possibile osservare l'espressione di LRE3.

Una volta iniettato il costrutto in embrioni wild - type e in embrioni con p53^{-/-}

Dopo 11 ore dalla fecondazione

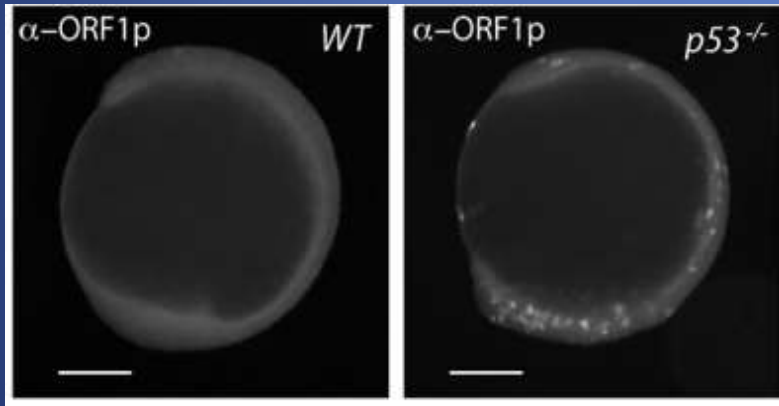


Fig. 4

Risultati immunoistochimici mostrano:

- Nessun segnale negli embrioni wild – type
- Elevata espressione di ORF1 in embrioni con p53^{-/-}

p53 agisce limitando l'espressione dei retroelementi

Per capire se l'attività riattivata della LINE-1 in gameti p53^{-/-}
predice integrazioni "de novo"

È stato iniettato un anticorpo (α -EGFP)

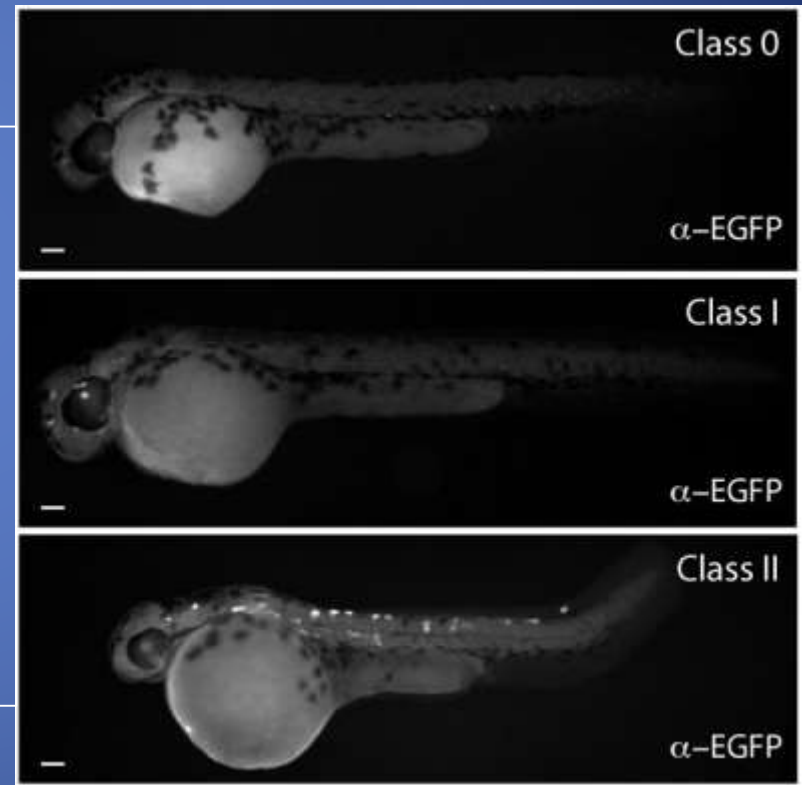
I risultati immunostochimici mostrano:

Classe 0 = embrioni senza EGFP⁺

Classe I = embrioni con <13 EGFP⁺

Classe II = embrioni con ≥ 13 EGFP⁺

Dopo 48 ore dalla fecondazione



Anche in questo caso abbiamo dei risultati coerenti con quelli precedenti

Fig. 5

Per avere ulteriore conferma che le cellule EGFP⁺ influiscono sui retrotrasposoni

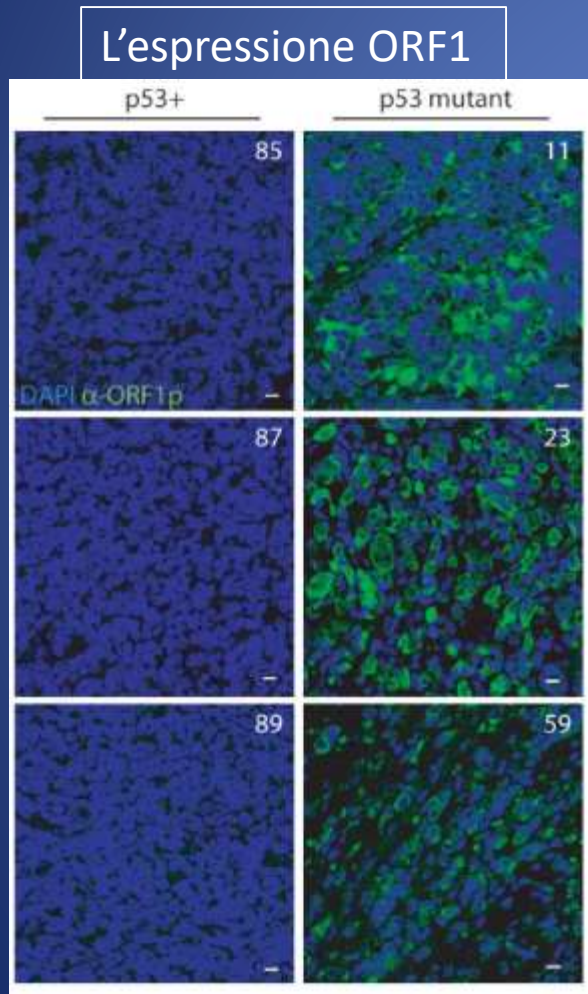
È stato iniettato un indicatore di controllo pLRE3H230A – mEGFP1, questo ha una mutazione *missenso* nei confronti di un endonucleasi della pLRE3 codificata da ORF2.

In questo caso il controllo non produce cellule EGFP⁺ negli embrioni, nonostante l'espressione di LINE-1 nell'embrione con p53^{-/-}

Questo dimostra che p53 reprime i retroelementi a monte dell'integrazione e regola l'attività dei retrotrasposoni.

UOMO

In tumori umani l'elevata attività di retrotrasposoni è correlata allo stato di p53?



Per capire se c'era associazione con p53, è stato utilizzato un anticorpo per osservare l'espressione di LINE-1 in tumori di Wilms.

p53 mutato elevata espressione
p53⁺ espressione nulla

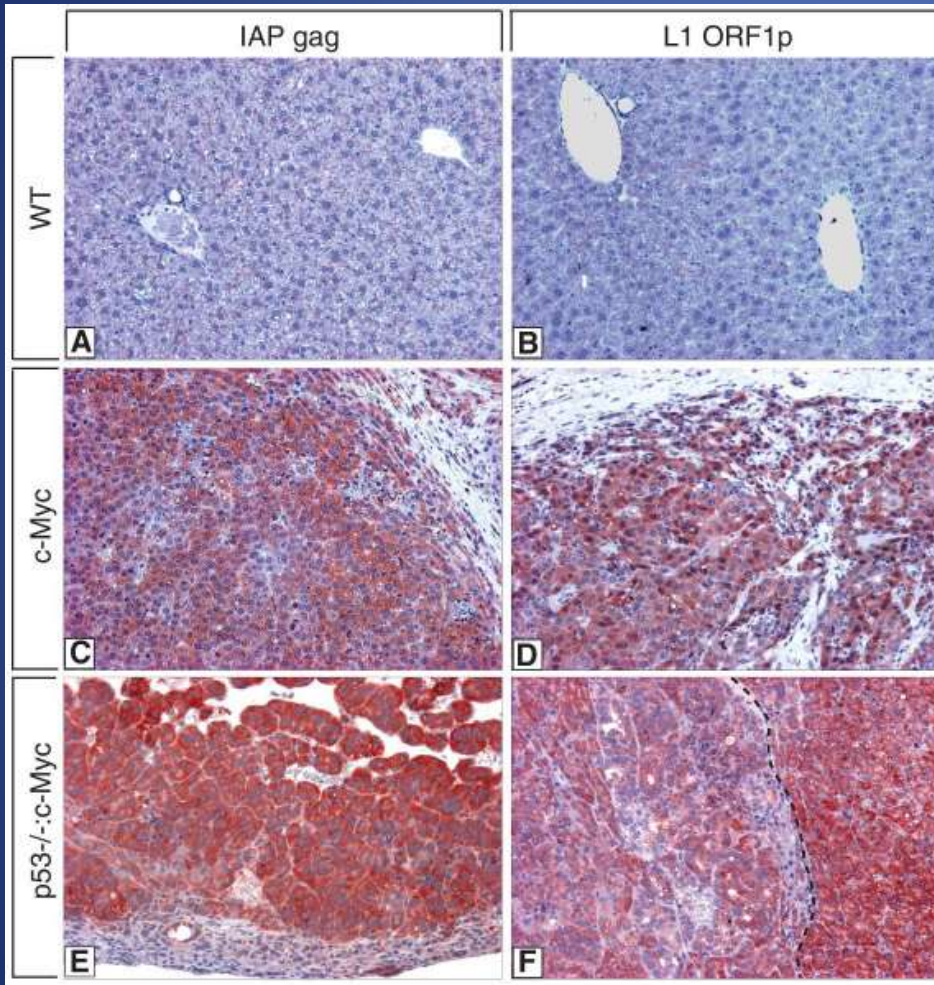
C'è associazione tra p53 e
l'espressione sregolata di
LINE

Fig. 6

TOPO

Esaminati retrotrasposoni in tumori epatici

utilizzando anticorpi per i retroelementi IAP e LINE-1



Nessuna espressione in tessuto epatico di tipo selvatico

Elevata espressione in tessuto epatico guidato da Myc

Elevatissima espressione in tessuto epatico guidato da Myc ma con la p53 mutata

Fig. 7

(linea tratteggiata indica il confine tra tumore con modesta espressione di LINE-1 ORF-1p e l'altro lato esprime alti livelli).

IAP= intracisternal A particle

CONCLUSIONI

P53 umano codifica sempre per quest'attività genoprotettiva?

Da questi esperimenti è stato dimostrato che il contenimento degli elementi trasponibili è una funzione conservativa della p53; soprattutto nei modelli a breve durata.

Poi successivamente è stato anche dimostrato che la soppressione dei trasposoni è una proprietà generale dei p53, che si estende oltre la breve durata, quindi include anche l'uomo.

RIASSUNTO

La p53 può intervenire in diverse funzioni, una di queste è quella di controllare il contenimento dei trasposoni che in alcuni casi sono in grado di innescare processi di cancerogenesi.

Ciò è stato dimostrato attraverso una serie di esperimenti, utilizzando come modelli: zebrafish, topo, mosche e non solo.

Il contenimento degli elementi trasponibili è una funzione ampiamente conservata di p53, che probabilmente costituisce un meccanismo chiave per la prevenzione del cancro da parte di questo soppressore tumorale.

BIBLIOGRAFIA

- Strachan T, Read AP. (2004). Human Molecular Genetics 3. Ch. 17, Cancer Genetics
- Wylie A, Jones AE, D'Brot A, Lu WJ, et al. 2016 p53 genes function to restrain mobile elements.. *Geni Dev* 30 : 64–77.
- Wylie A et al. (2016) p53 in the game of transposons. *Saggi biografici* 38 (11), 1111–1116.
- B. Vogelstein, D. Lane, A.J. Levine (2000): Surfing the p53 network. *Nature* 408, pp. 307-310.
- Tiwari B, Jones E.A, Abrams J.M. (2018): Transposons, p53 and genome security. 34 (11), 846-855.
- IM. 1
Strachan T, Read AP. (2004). Human Molecular Genetics 3. Ch. 17, Cancer Genetics
- IM. 2
Tiwari B, Jones E.A, Abrams J.M. (2018): Transposons, p53 and genome security. 34 (11), 846-855.
- IM. da 3 a 7
Wylie A, Jones AE, D'Brot A, Lu WJ, et al. 2016 p53 genes function to restrain mobile elements. *Geni Dev* 30 : 64–77.

Gracie