



Cromatina e cromosomi

a cura di Antonio Incandela

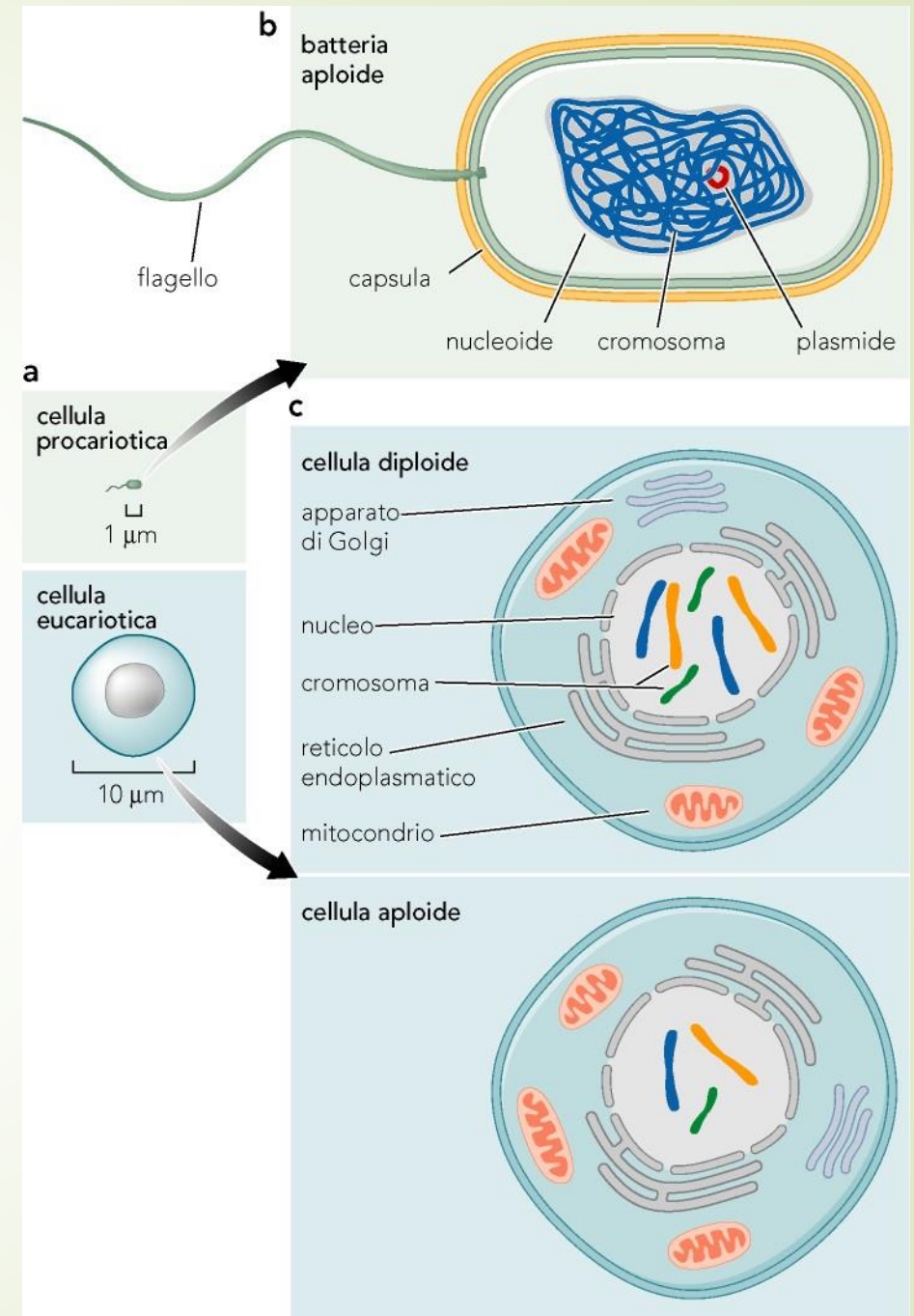
Confronto fra cellula eucariotica e procariotica

I procarioti hanno una copia unica del cromosoma, organizzata in una struttura detta **nucleoide**.

Spesso contengono una o più molecole di DNA piccole e circolari, dette **plasmidi**, che portano geni non essenziali.

La maggior parte delle cellule eucariotiche è diploide (coppie di cromosomi omologhi, ognuno da un genitore, nel nucleo). Le cellule coinvolte nella riproduzione sessuale (gameti) sono aploidi (una sola copia di ciascun cromosoma), altre sono poliploidi (più copie, fino a migliaia).

Nell'uomo sono tetraploidi (92 cromosomi) le cellule del fegato
I megacariociti hanno in media 128 copie di ciascun cromosoma, producono migliaia di piastrine, componenti essenziali del sangue.



Compattamento del DNA nei cromosomi

Il DNA cellulare e virale è associato a proteine in complessi detti cromosomi.

Il compattamento è essenziale per vari motivi:

- a) contenimento nel ristretto spazio cellulare (o virale)
- b) protezione da possibili danni
- c) maggiore stabilità per una corretta espressione dell'informazione
- d) efficiente trasmissione alle cellule figlie

Cromosoma eucariotico: metà DNA e metà proteine, la maggior parte sono istoni.

Le proteine non istoniche regolano replicazione, trascrizione, riparo, ricombinazione.

Le proteine della cromatina possono compattare DNA ≈ 10.000 volte (da cm a μm).

Il compattamento avviene in stadi successivi: 1) associazione DNA- istoni \Rightarrow nucleosomi, 2) associazione fra nucleosomi vicini, e così via.

La competizione spazio-temporale fra compattamento e accesso di proteine a diverse regioni del cromosoma è alla base della regolazione dell'espressione genica che, in ultima analisi, dipende da modificazioni enzimatiche più o meno reversibili dei nucleosomi.

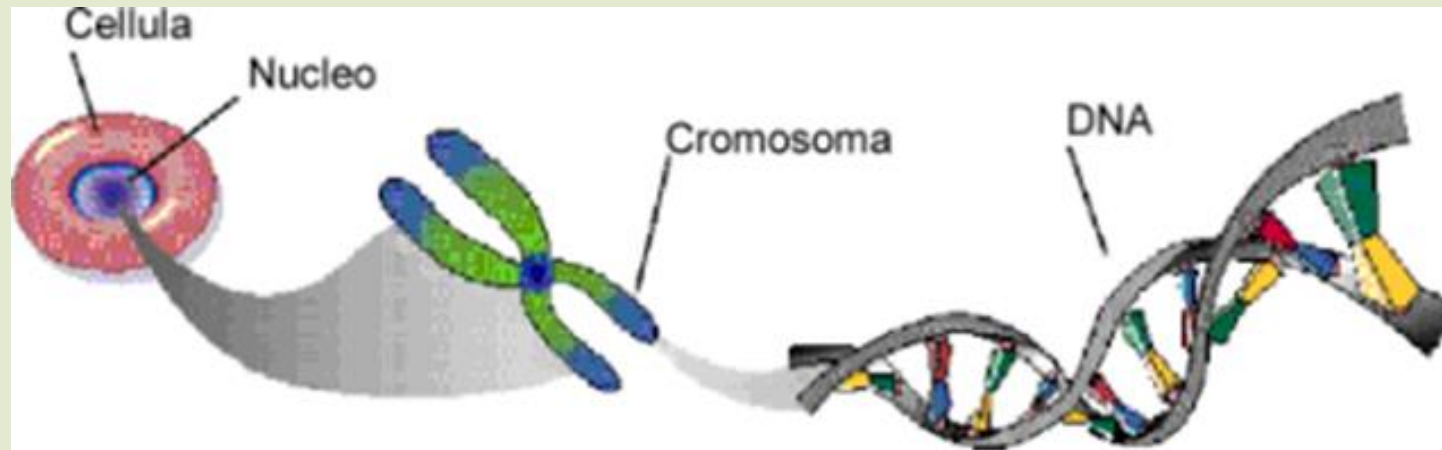
Il compattamento del DNA nei procarioti è mediata da proteine istone-simili, che non formano nucleosomi

Il DNA, insieme a diverse proteine si organizza in una struttura che è detta CROMOSOMA. I cromosomi sono costituiti da **cromatina**, che consiste di fibre contenenti DNA e proteine. Quando una cellula non è in divisione, la cromatina si trova sotto forma di lunghi filamenti.

La cromatina è quindi un complesso sovramolecolare di acidi nucleici (DNA e proteine)

Caratteristiche:

- struttura altamente dinamica il cui **grado di organizzazione o compattazione o “condensazione” varia** da cellula a cellula, durante il ciclo vitale della cellula, tra zone diverse dei nuclei interfasic

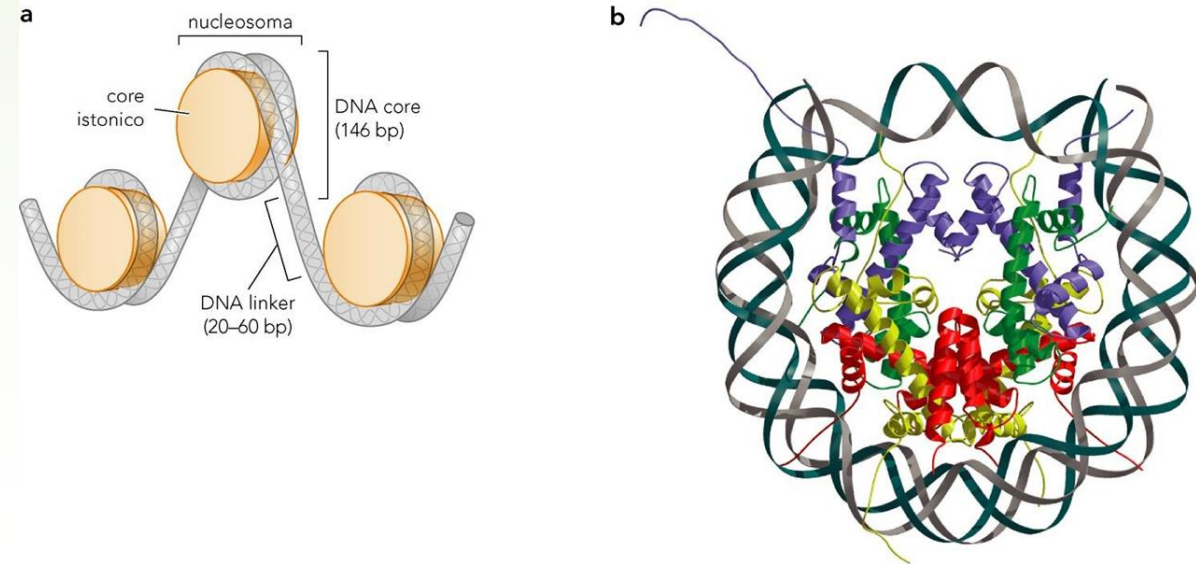


Durante la divisione le fibre di cromatina si condensano e si rendono visibili come strutture distinte: i cromosomi.

Nelle cellule umane i cromosomi si possono osservare durante la divisione cellulare e distinguere per forma e dimensioni.

Impacchettamento del DNA nei cromosomi

- **E. coli ha un cromosoma circolare di circa 4×10^6 b.p. che sarebbe lungo 1,35 mm (1000 volte più dell'intero batterio) se non fosse impacchettato con le proteine.**
- **Una cellula eucariotica (spermatozoo) ha 3×10^9 b.p. e questo DNA sarebbe lungo circa 1m e deve stare in 5-10 μm**
- **Il DNA è compattato grazie a proteine basiche (istoni e istoni-simili e proteine non istoniche)**



- **Gli istoni sono Proteine cariche positivamente (ricche in Arg, Lys, His) e si legano ai gruppi fosfato del DNA formando i nucleosomi**
- **Il ruolo degli istoni è strutturale e funzionale (influenzano anche l'attività del DNA a cui sono associati)**
- **Il nucleosoma: è una "perla" costituita da 147 b.p avvolte su un nucleo di 8 istoni (2 x 4 tipi).**
- **I nucleosomi sono uniti da DNA linker**

Impacchettamento del DNA eucarotico nei nucleosomi

Il nucleosoma è composto da un nucleo di 8 proteine istoniche attorno a cui è avvolto il DNA.

Il DNA associato ai nucleosomi (DNA core) è avvolto ~ 1.7 volte attorno all'ottamero (147 bp in tutte le cellule eucariotiche).

Il DNA linker invece è variabile (20-60 bp), con una lunghezza tipica per ogni organismo, che si riflette in una diversità di strutture di ordine superiore della cromatina.

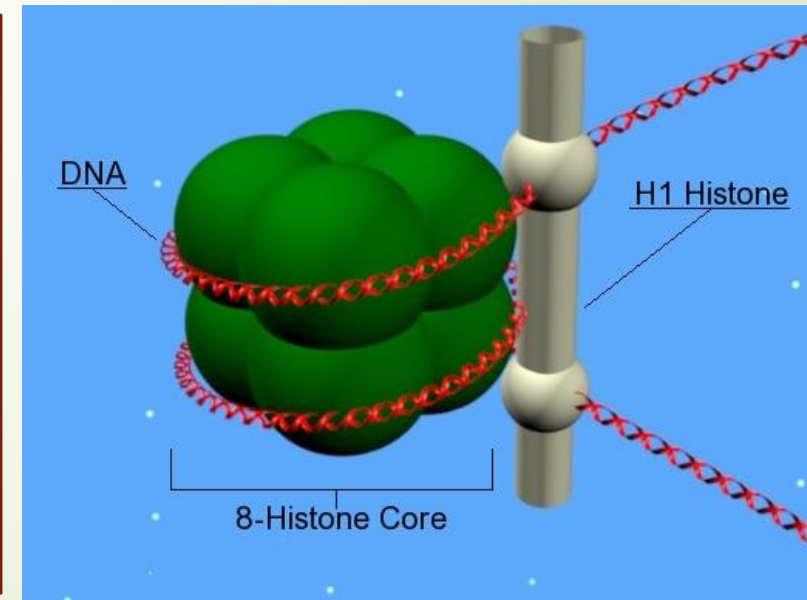
Le zone di DNA non organizzate in nucleosomi sono impegnate nell'espressione genica, replicazione o ricombinazione.

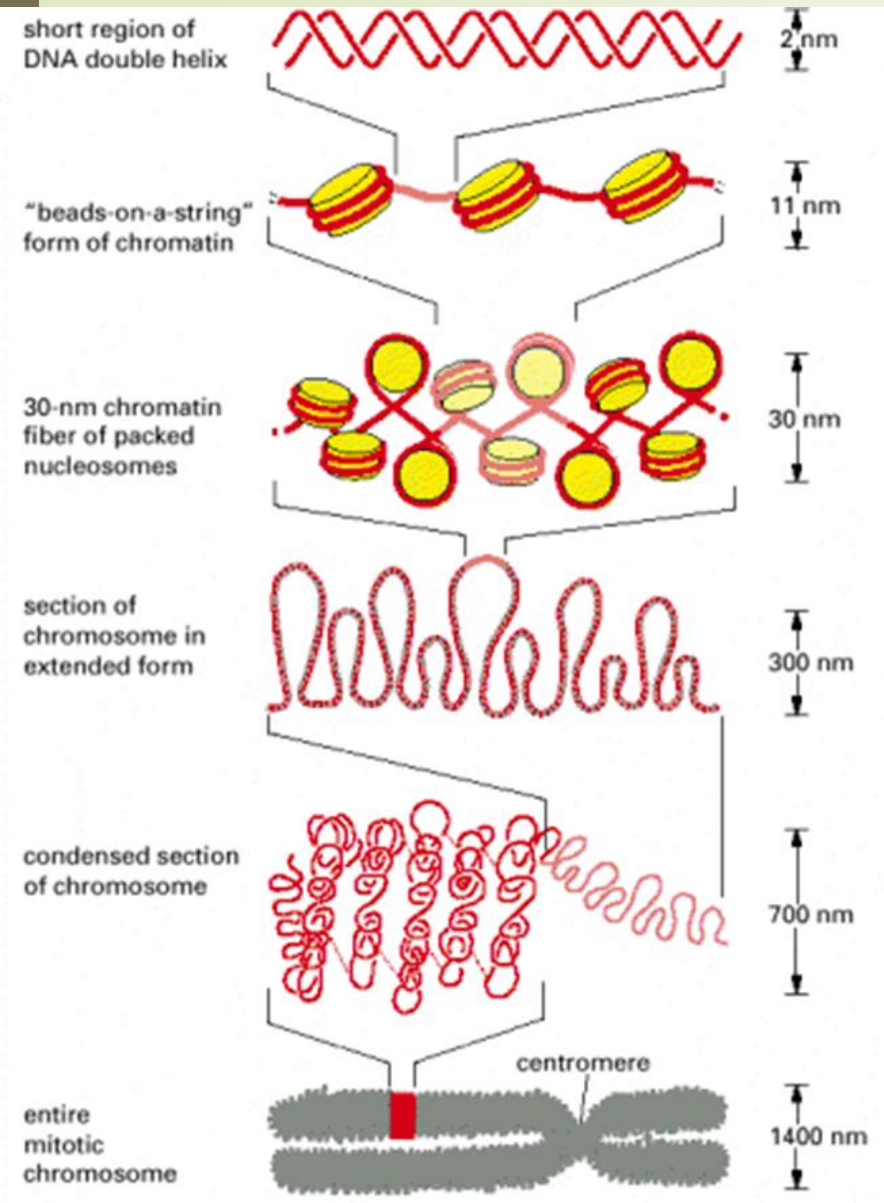
Gli istoni

Sono le proteine più abbondanti associate al DNA eucariotico. Sono di 5 tipi: H2A, H2B, H3, H4 (formano il core) e H1 (lega il DNA linker fra 2 nucleosomi). I primi 4 sono presenti in quantità uguali nella cellula, mentre H1 è metà (1 nucleosoma).

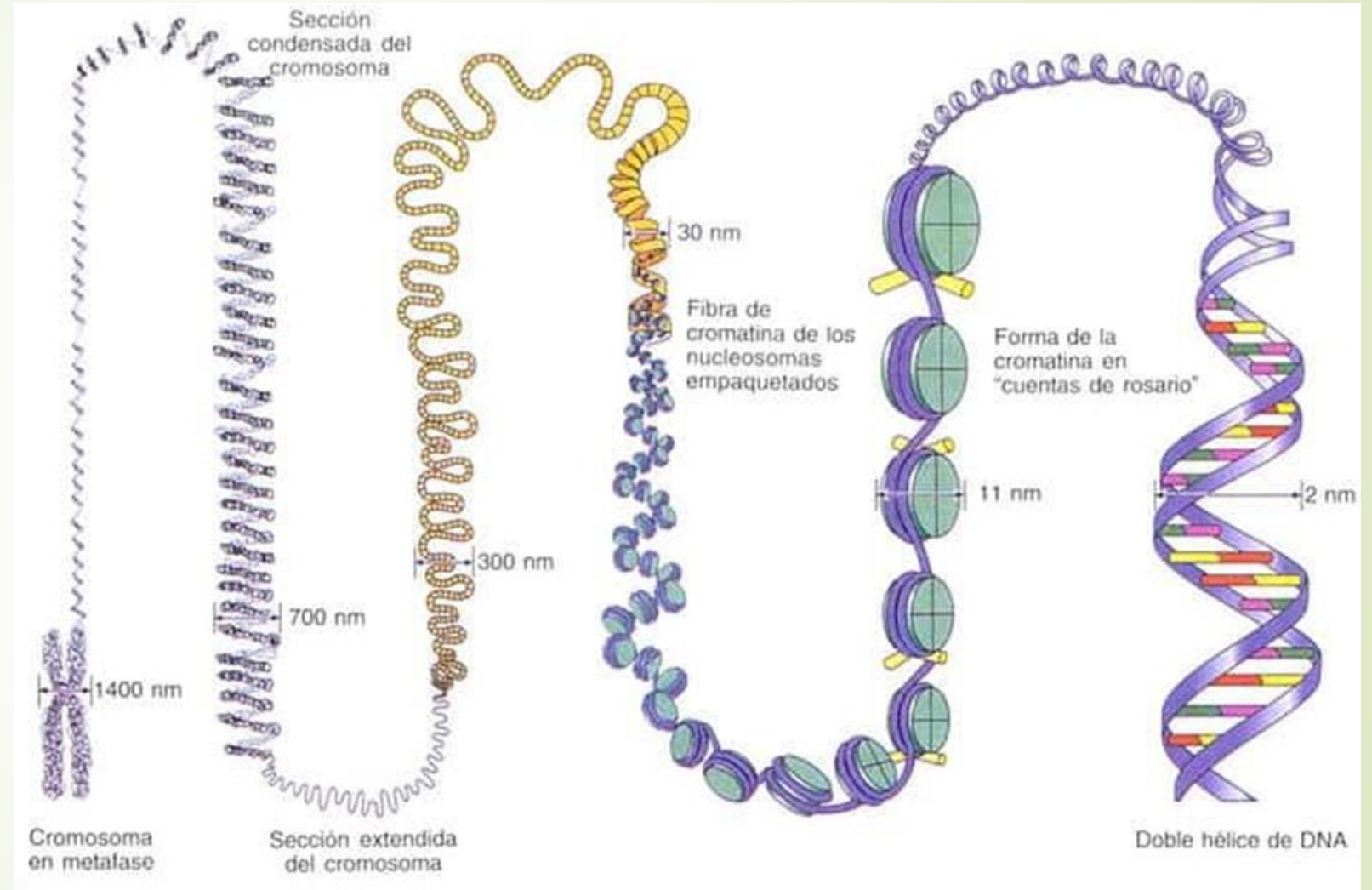
Gli istoni sono proteine basiche, cioè cariche positivamente (> 20% di lisina e arginina).

Il core si assembla solo in presenza di DNA, mentre da soli in soluzione formano complessi intermedi.



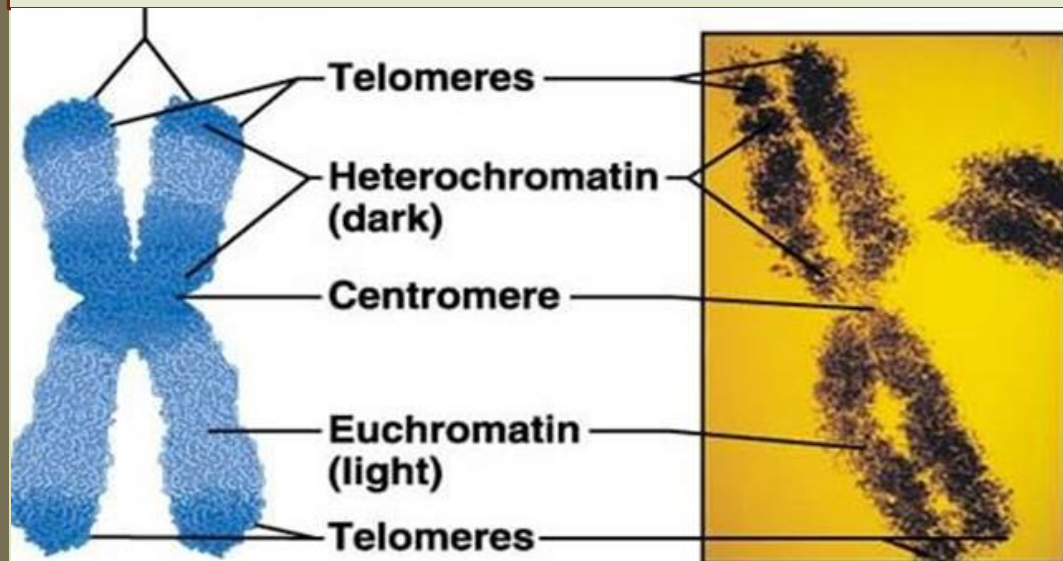


NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH



Cromatina

- La cromatina è formata da DNA, avvolto su gruppi di istoni (proteine basiche), formando un nucleosoma, e da proteine non-istoniche (proteine neutre o acide); essa è poi ripiegata in vario modo.
- Il grado di condensazione del DNA del cromosoma eucariote si osserva mediante la colorazione della cromatina.
- Si rilevano due tipi di cromatina: l'EUCROMATINA e l'ETEROCROMATINA.



L'**euromatina** a differenza dell'eterocromatina, contiene una quantità maggiore di proteine non istoniche ed è costituita da DNA scarsamente ripetitivo ed attivamente trascritto.

L'euromatina è ben evidenziabile durante la metafase con i coloranti basici mentre al di fuori della mitosi è dispersa nel nucleo cellulare, divenendo scarsamente colorabile.

L'**eterocromatina** rappresenta il materiale cromosomico densamente impacchettato composto prevalentemente di sequenze ripetitive, più scuro all'interno del nucleo eucariotico che rimane condensato durante l'intero ciclo cellulare, a differenza dell'euromatina, che è più lucente e che invece appare diffusa in interfase.

L'eterocromatina può essere:

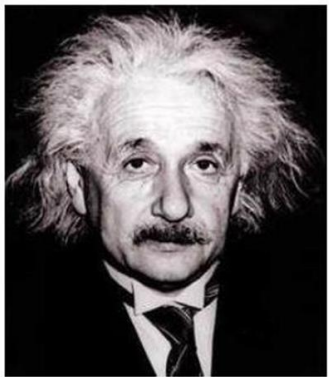
- a) **costitutiva** (come quella dei centromeri), che è permanentemente non espressa e si presenta costantemente in un dato organismo, indipendentemente dal tipo di cellula e dal livello di attività trascrizionale di questa;
- b) **facoltativa**, che può acquisire i caratteri dell'euromatina a seconda del tipo di cellula e dello stadio di differenziamento di questa.

Organizzazione genoma Umano

Il contenuto di DNA per cellula aploide è detto **valore C**, esprimibile in peso o in coppie di basi. Tale **valore C** è una costante per ciascuna specie vivente e la caratterizza.

PARADOSSO DEL VALORE C

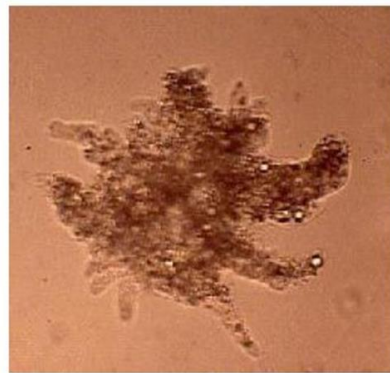
NON C'E' CORRELAZIONE TRA LA DIMENSIONE DI UN GENOMA E LA COMPLESSITA' DI UN ORGANISMO
NON C'E' CORRELAZIONE TRA NUMERO DI GENI E LA COMPLESSITA' DI UN ORGANISMO



3.4×10^9 bp
Homo sapiens



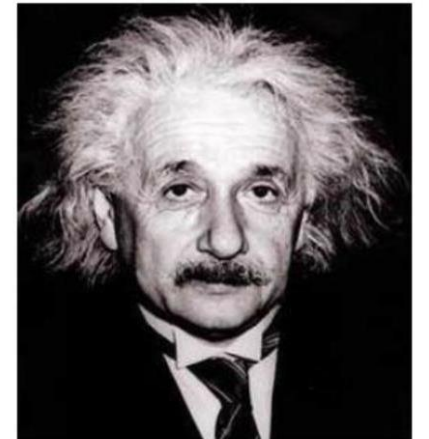
1.5×10^{10} bp
Allium cepa



6.8×10^{11} bp
Amoeba dubia



~60000 geni



~21000 geni

Genoma nucleare umano

23 paia di cromosomi

3 miliardi di paia di basi, circa 20.000-25.000 geni

- Non si conosce la funzione di circa la metà dei geni scoperti

La **porzione codificante** rappresenta l'**1-2% del genoma** (geni codificanti per proteine).

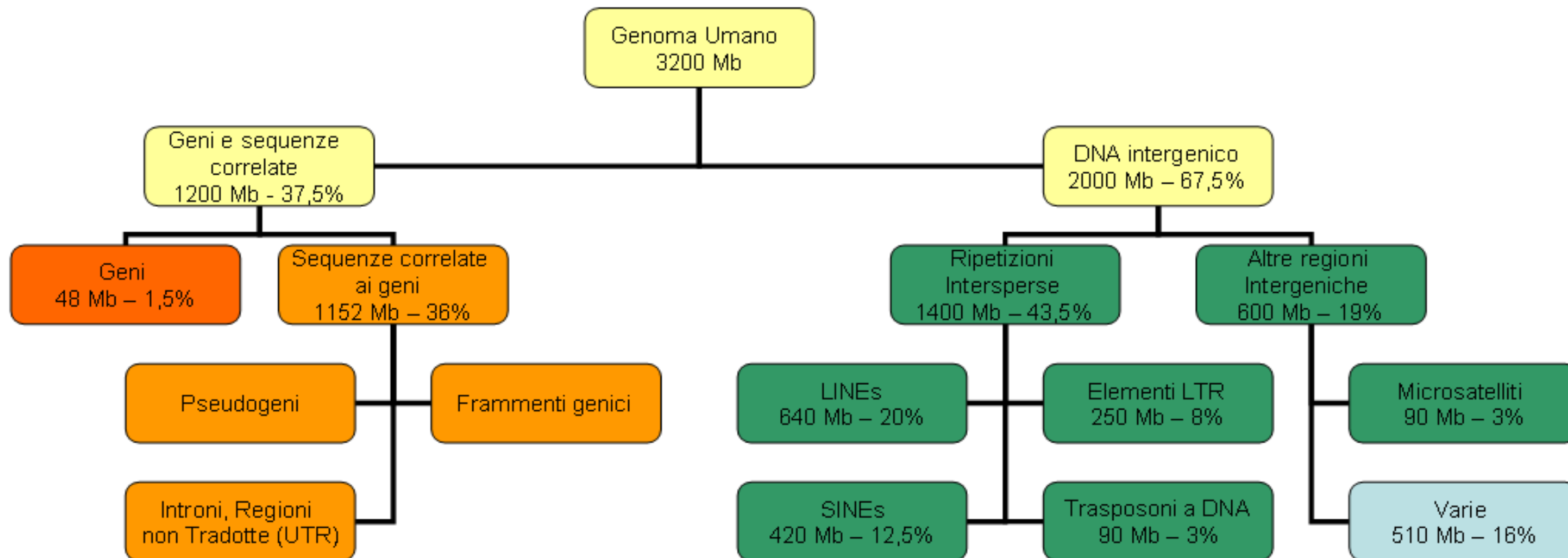
La **porzione non-codificante** è costituita da **sequenze uniche** e **sequenze ripetute**.

Più del 60% del genoma è costituito da **sequenze ripetute** con funzione sconosciuta

ripetizioni intersperse (LINEs, SINEs, trasposoni a DNA)

ripetizioni in tandem (blocchi ripetuti in tandem dei centromeri e dei telomeri, micro- e mini satelliti).

Alcuni cromosomi contengono anche il 90% di DNA **non codificante**



Le sequenze correlate ai geni includono regioni funzionali come promotori, esoni, introni e sequenze regolatrici (UTR), oltre a elementi non codificanti ma associati, come pseudogeni e famiglie geniche.

Costituiscono circa il 38% del DNA umano, organizzate in loci specifici che includono il gene stesso e il suo contesto strutturale.

Struttura dei Geni eucariotici codificanti

- I geni codificanti sono quelli che vengono trascritti in mRNA.
- Contengono una parte realmente codificante, che specifica la sequenza degli aminoacidi che costituiranno la proteina, ed una parte non codificante.
- A monte della sequenza che verrà trascritta in mRNA vi sono le sequenze regolatrici.
- La sequenza trascritta è costituita da due tipi di elementi, detti esoni ed introni.
- Solo gli esoni contengono informazioni per la sintesi della proteina.

Utilità degli introni

- Attraverso lo splicing alternativo, nel quale sequenze introniche sono conservate o eliminate, aumenta considerevolmente il numero di proteine codificabili per ogni gene
- Laboratori di sperimentazione per nuove proteine : Una mutazione può portare vantaggi per l'organismo ospitante: la vecchia proteina è sempre conservata ma c'è la possibilità di crearne una nuova, che, se utile, può essere conservata.
- Funzione di regolazione : Recenti studi hanno mostrato che gli introni non vengono immediatamente riciclati dopo essere stati rimossi dall'RNA

In media un gene umano presenta 9 esoni e 7 introni

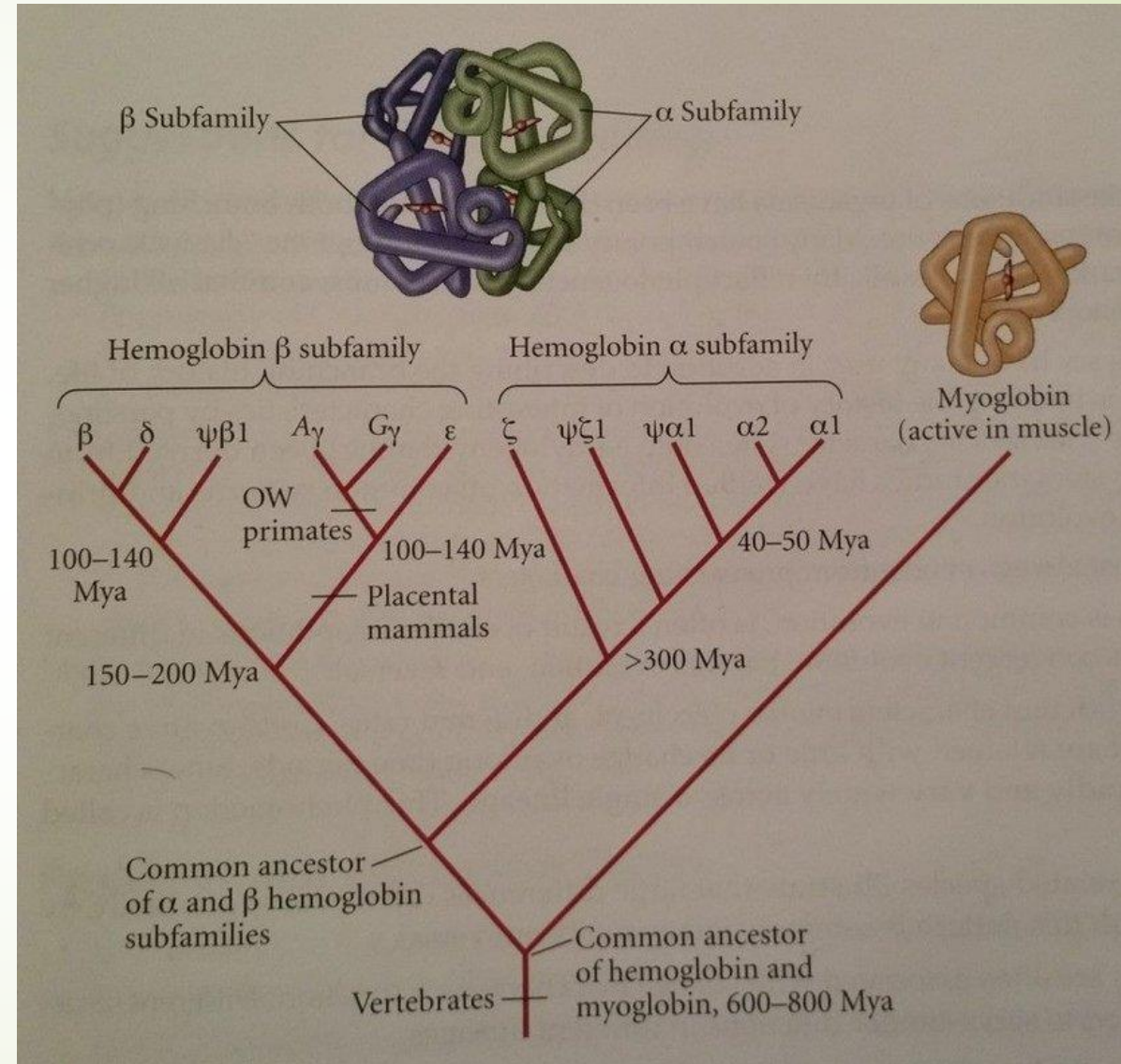
Le famiglie geniche negli eucarioti sono gruppi di geni che hanno una sequenza di DNA simile e spesso svolgono funzioni simili. Questi geni sono generalmente il risultato di eventi di duplicazione genica nel corso dell'evoluzione.

Numero di Famiglie Geniche

Il numero di famiglie geniche in un organismo eucariotico può variare notevolmente. Non esiste un numero fisso come 10, 100 o 500. Il numero esatto dipende da vari fattori, tra cui la complessità dell'organismo e la sua storia evolutiva. Ad esempio, gli esseri umani hanno migliaia di famiglie geniche.

Caratteristiche delle Famiglie Geniche

Le famiglie geniche possono includere geni che sono fisicamente vicini l'uno all'altro sul cromosoma (chiamati "cluster genici") o geni che sono sparsi in tutto il genoma. I membri di una famiglia genica possono avere funzioni molto simili, o possono aver sviluppato funzioni leggermente diverse nel corso dell'evoluzione. Le famiglie geniche sono un importante meccanismo di evoluzione, poiché permettono agli organismi di sviluppare nuove funzioni senza perdere le funzioni esistenti.



DNA INTERGENICO

Quasi la metà del genoma umano è composto di sequenze di DNA che sono ripetute molte volte. Ci sono generalmente due classi di DNA ripetuto: **DNA microsatellite** e **DNA altamente ripetuto**.

Il **DNA microsatellite** è formato da sequenze molto corte (meno di 13 paia di basi, più precisamente 2-4 bp) ripetute in tandem. Presente in tratti non codificanti del cromosoma e importante marcatore genetico in quanto altamente variabile tra individui diversi rendendoli, di fatto, unici.

Le **sequenze altamente ripetute**, invece, sono molto più grandi rispetto ai microsatelliti e, nei casi più comuni, essi formano elementi trasponibili (che vanno a costituire il DNA moderatamente ripetitivo). Questi sono sequenze che possono spostarsi da una parte all'altra del genoma e a volte, lasciare una propria copia nel punto precedente, in modo tale da accumularsi e moltiplicarsi nel genoma tramite un meccanismo chiamato trasposizione.

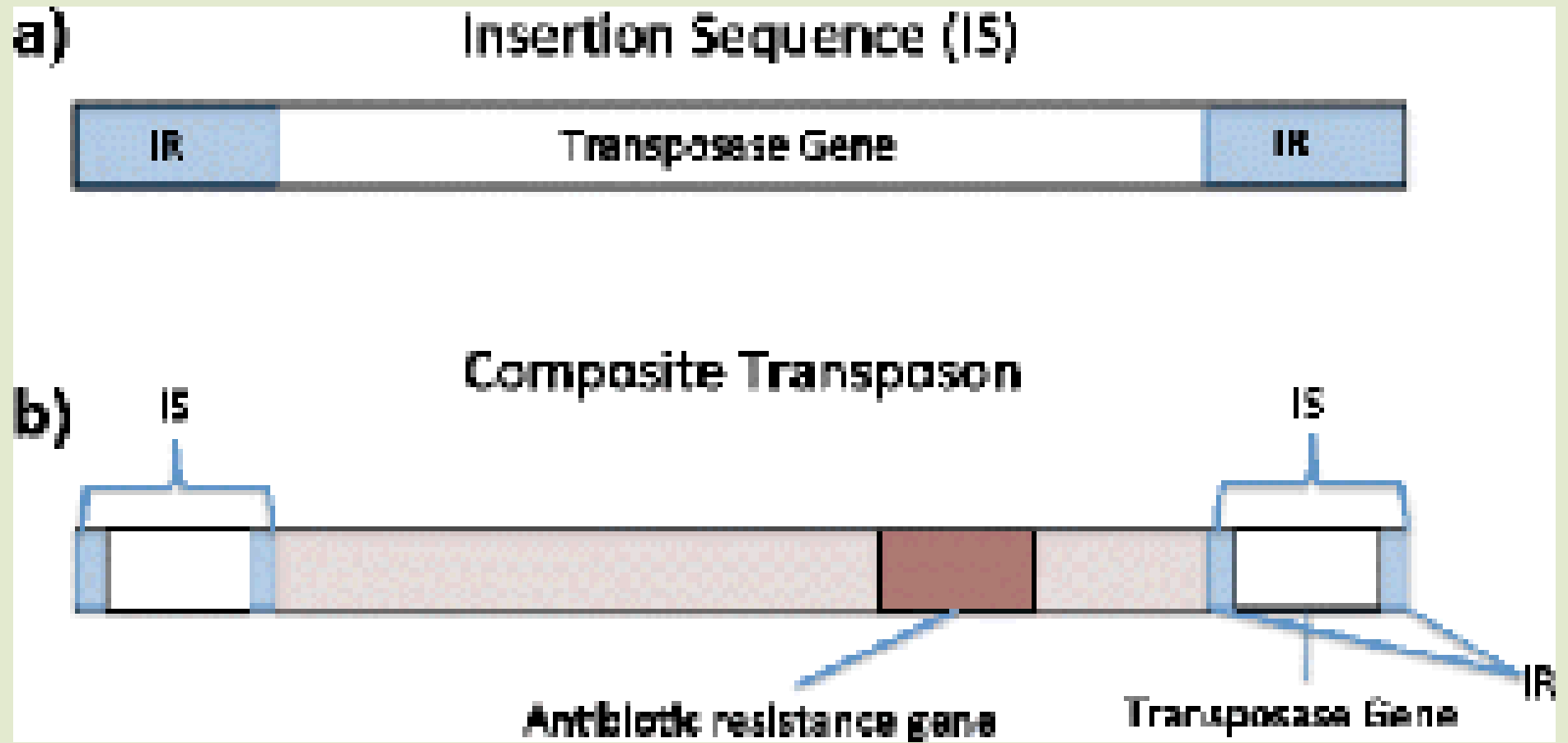
Esistono diversi tipi di elementi trasponibili, tra i quali i **trasposoni** e i **retrotrasposoni**.

I **trasposoni** sono elementi genetici capaci di spostarsi autonomamente da una posizione all'altra del genoma. In particolare nei procarioti essi possono spostarsi in posizioni nuove del medesimo cromosoma (poiché unico), mentre negli eucarioti essi possono spostarsi sia in posizioni diverse sullo stesso cromosoma, sia su cromosomi differenti.

I **retrotrasposoni** traspongono copiandosi prima in un intermedio a RNA e successivamente revertendo in DNA (tramite la trascrittasi inversa) integrandosi in una nuova posizione all'interno del genoma. Ne rimane sempre una copia nella posizione originaria.

Questo meccanismo permette ai trasposoni di incrementare il numero di copie all'interno del genoma, aumentando di conseguenza anche la grandezza del genoma stesso.

Trasposoni semplici (elementi IS), che contengono solo i geni per la loro trasposizione (trasposasi) fiancheggiati da sequenze ripetute, e **Trasposoni complessi** (o composti), che portano geni extra (es. resistenza agli antibiotici) tra due elementi.



Distinguiamo due classi di retrotrasposoni:

-RETROTRASPOSONI LTR, che contengono alle estremità delle lunghe sequenze ripetute terminali

-RETROTRASPOSONI non-LTR, non presentano sequenze ripetute alle estremità.

LINE (Long Interspersed Nuclear Elements) e **SINE** (Short Interspersed Nuclear Elements) sono le due classi principali di retrotrasposoni non-LTR, elementi genetici mobili che costituiscono una gran parte del genoma umano (oltre il 21% le LINE, circa il 13% le SINE/Alu).

Tali elementi traspongono attraverso un meccanismo "copia e incolla" basato su RNA, potendo causare mutazioni o malattie.

LINE (Long Interspersed Nuclear Elements)

Lunghe sequenze di DNA (oltre 5000-6000 coppie di basi).

Sono autonome, poiché codificano per la trascrittasi inversa necessaria per la loro retrotrasposizione.

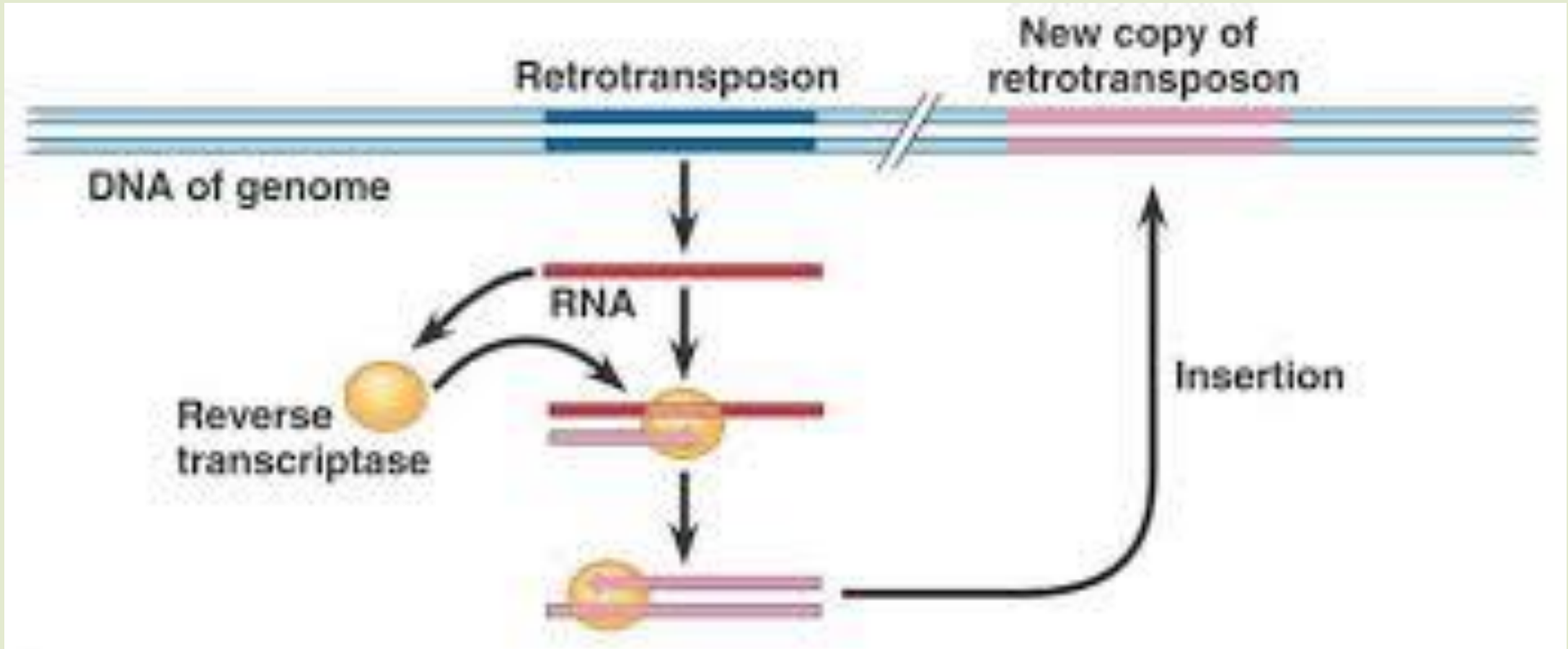
Esempio: L1 (LINE-1) è il principale retrotrasposone attivo negli esseri umani.

SINE (Short Interspersed Nuclear Elements)

Brevi sequenze di DNA (meno di 500 coppie di basi, tipicamente ~300).

Non sono autonome, non codificando per le proteine necessarie alla trasposizione e "parassitano" la trascrittasi inversa prodotta dalle LINE.

Esempio: La famiglia [Alu] è la più comune nei primati e nell'uomo, coinvolta in più malattie genetiche e forme cancerose.



Cosa ancora non sappiamo..... (e speriamo in voi....)

- Esatto numero dei geni, localizzazione e funzione
- Regolazione dei geni
- Tipi di DNA non-codificante, distribuzione, che tipo di informazione contengono e relativa funzione
- Struttura e funzione di molte proteine
- Correlazione tra variazioni di sequenza tra singoli individui con la salute e la malattia (predizione della suscettibilita' a specifiche malattie a secondo della variabilita' individuale)
- Geni coinvolti nelle malattie complesse