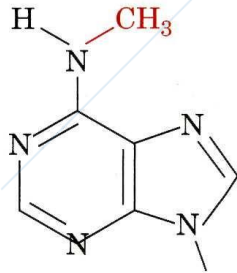


## METILAZIONE DEL DNA ED EREDITARIETA' EPIGENETICA

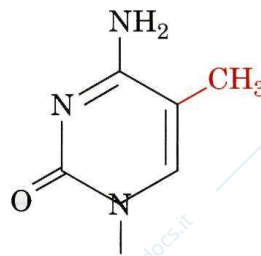
L'**epigenetica** ("epi" significa "fuori da", "oltre a") si occupa dello studio dei cambiamenti dell'espressione genica ereditabili attraverso la mitosi e, in misura minore, anche attraverso la meiosi senza che si verifichino modificazioni della sequenza dei nucleotidi del DNA (mutazioni).

Le basi del DNA possono essere metilate ad opera di metiltransferasi.

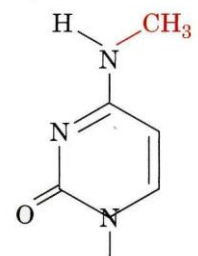
Nei procarioti la metilazione riguarda soprattutto l'Adenina e la Citosina.



**Residuo di  
N<sup>6</sup>-metiladenina (m<sup>6</sup>A)**



**Residuo di  
5-metilcitosina (m<sup>5</sup>C)**



**Residuo di  
N<sup>4</sup>-metilcitosina (m<sup>4</sup>C)**

I gruppi metilici si proiettano all'interno del solco maggiore del DNA B dove possono interagire con le proteine che legano il DNA.

Nei procarioti la metilazione funge soprattutto da marcatore del DNA parenterale nella riparazione di coppie di basi appaiate in modo errato.

Negli eucarioti (principalmente nei mammiferi) la metilazione del DNA si verifica soprattutto a livello della cromatina trascrizionalmente silente.

Viene metilata quasi esclusivamente la Citosina a formare la 5-metilcitosina.

Questa metilazione avviene in larga misura nel dinucleotide CG di varie sequenze palindromiche.

CG è raro nel genoma dei vertebrati in generale ma è abbondante nelle regioni 5' a monte di numerosi geni (queste zone vengono dette **isole CpG**).

Le isole CpG sono piccole regioni di DNA (1-2 kb) ricche di CG. Nel genoma umano se ne contano circa 50.000 di solito associate con il promotore dei geni.

La metilazione del DNA spegne l'espressione genica nei mammiferi in particolare quando si verifica nelle regioni dei promotori a monte della sequenza trascritta di un gene (a livello delle isole CpG).

Questa repressione dell'espressione genica avviene mediante due meccanismi:

- La metilazione a livello del sito di legame di un fattore di trascrizione può bloccare il legame del fattore stesso.
- La metilazione può causare il legame di repressori prescrivionali specifici.

La metilazione del DNA induce anche modificazioni degli istoni connesse con la formazione di eterocromatina (ad esempio metilazione dell'istone H3).

La metilazione di un filamento di DNA parenterale determina la metilazione del filamento figlio (una sequenza CG metilata impone a una metiltransferasi di metilare la sequenza CG ad essa complementare).

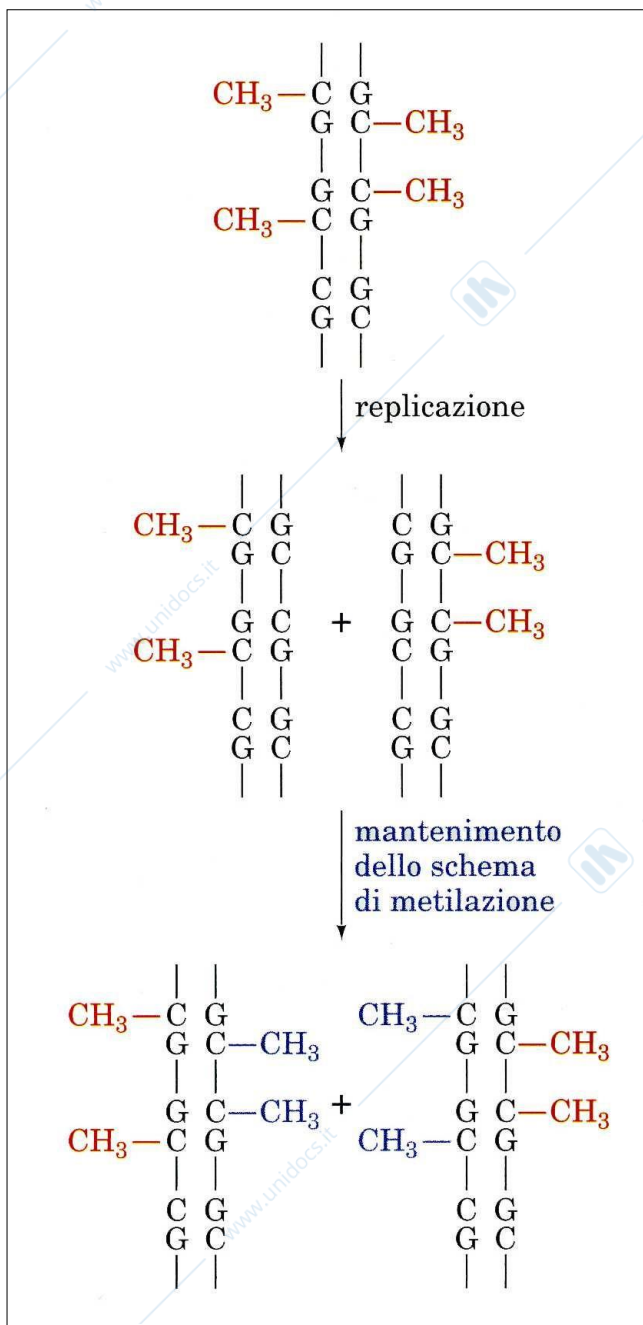
→ La modalità di metilazione del DNA di una cellula si trasmette alle cellule figlie, che quindi manterranno lo stesso fenotipo della cellula madre.

Il mantenimento dello schema di metilazione del DNA durante la duplicazione cellulare permette l'ereditarietà del pattern di espressione di molti geni.

Questo importante fenomeno è alla base dell'ereditarietà **EPIGENETICA**.

La metilazione del DNA negli eucarioti è catalizzata dalle **DNA metiltransferasi** (DNA MTasi) che utilizzano SAM come donatore di gruppi metilici.

Le cellule contengono anche **demetilasi** che rimuovono il metile dalla 5-metilcitosina secondo la reazione:



La natura palindromica dei siti di metilazione del DNA permette allo schema di metilazione di un filamento originario di DNA di originare lo stesso schema nel filamento duplicato.

Il mantenimento dello schema di metilazione determina una "ereditarietà" dell'espressione di determinati geni in diverse linee cellulari.

Questi cambiamenti del genoma sono detti **epigenetici** in quanto forniscono un ulteriore livello di informazione che regola quando e dove parti specifiche del genoma devono essere espresse.

Nei mammiferi il mantenimento dello schema di metilazione del DNA durante la mitosi è mediato principalmente dalla **DNA metiltransferasi 1** (DNMT1) che metila soprattutto filamenti di DNA già emimetilati.

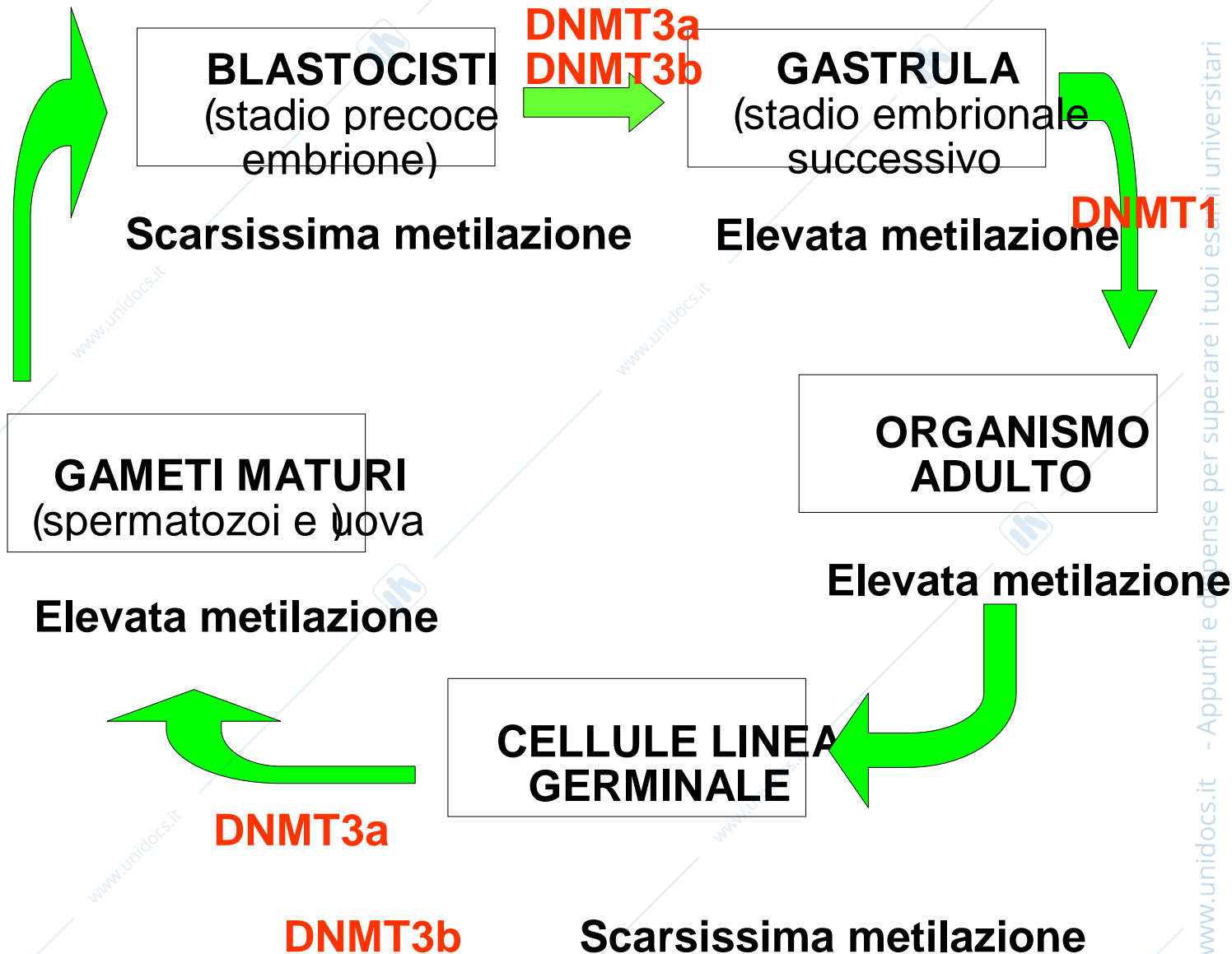
Per questo DNMT1 è definita una metiltransferasi di mantenimento (o di "perpetuazione") perché agisce soltanto su siti emimetilati per convertirli in siti completamente metilati.

Negli organismi a riproduzione sessuata maggior parte delle modificazioni epigenetiche (cioè lo schema di metilazione del DNA) vengono cancellate nei gameti (in concomitanza con la meiosi) e sono poi ripristinate in fasi successive dello sviluppo embrionale. Questo

fenomeno prende il nome di **Riprogrammazione Epigenetica**.

Vi sono però anche alcune modificazioni epigenetiche che vengono mantenute durante la meiosi e sono così trasmesse ai figli (*Imprinting genomico*).

## Riprogrammazione Epigenetica



I livelli di metilazione del DNA dalla gastrula in poi sono mantenuti dalla DNMT1 che mantiene inalterato lo schema di metilazione.

Nelle cellule della linea germinale dell'adulto e nelle cellule della blastocisti la metilazione è rimossa dalle demetilasi.

La metilazione *de novo* del DNA che si verifica nei gameti maturi (spermatozoi e cellule uovo) e nelle cellule della gastrula è operata da 2 diverse metiltransferasi (DNMT3a e DNMT3b) che riconoscono dei siti specifici nel DNA non metilato.

Il cambiamento dei livelli di metilazione del DNA durante lo sviluppo embrionale ("*riprogrammazione epigenetica*") permette:

- La trasmissione fedele delle isole CpG alla generazione successiva. Infatti la 5-metilcitosina (a differenza della Citosina) tende facilmente a deaminarsi trasformandosi in una Timina (mutazione che le cellule hanno difficoltà a riparare).
- Espressione genica differente negli stadi embrionali precoci rispetto all'embrione più sviluppato e all'adulto.

Il diverso grado di metilazione del DNA nelle cellule dell'embrione rispetto a quelle dell'adulto spiegherebbe anche l'elevata percentuale di insuccessi nei tentativi di clonazione dei mammiferi (pecora, topi, bovini) tramite trasferimento del nucleo di una cellula adulta in un oocita (uovo immaturo) privato del nucleo.

Tra i mammiferi clonati con questa tecnica, solo l'1% sopravvive e comunque presenta fenotipi alterati (dimensioni maggiori, invecchiamento precoce).

Alcune modificazioni epigenetiche si mantengono anche durante la meiosi.

Normalmente le cellule hanno due copie (alleli) di ciascun gene, uno per ciascuno dei due cromosomi omologhi. Un allele è di origine materna e uno di origine paterna.

Nella maggior parte dei casi entrambi i geni sono espressi nella cellula. Alcuni geni, invece, sono espressi "monoallelicamente", cioè solo uno dei due alleli viene trascritto. In questo caso, di solito la scelta di quale allele trascrivere è puramente casuale.

Ci sono però alcuni geni (ca. 80 nei mammiferi) per i quali la scelta dell'allele non è casuale ma è dovuto ad istruzioni epigenetiche derivanti dai genitori (*imprinting genomico*).

E' noto, infatti, che vi sono differenze tra l'eredità paterna e quella materna. Ad esempio, il mulo (nato da una cavalla e un asino) è diverso dal bardotto (nato da un cavallo e un'asina).

Questo fenomeno (detto *imprinting genomico*) avviene esclusivamente nei mammiferi ed è dovuto al fatto che determinati geni di origine materna o paterna sono espressi in modo diverso.

E' stato dimostrato che i geni soggetti a imprinting genomico sono metilati in modo diverso nei due genitori durante la gametogenesi e questi schemi di metilazione resistono alla demetilazione che si verifica nella blastocisti.

Un imprinting genomico errato può causare gravi malattie.

Nella **Sindrome di Prader-Willi** (PWS, caratterizzata dalla mancanza di sviluppo durante l'infanzia, obesità, mani e piedi piccoli, ritardo mentale) si verifica la perdita di un tratto di ca 5000 kb (kilo basi) del cromosoma 15 di origine paterna. Evidentemente i geni corrispondenti sul cromosoma 15 materno presentano una metilazione diversa e quindi non riescono a sopperire alla perdita dei geni paterni.

Se, invece, viene persa la stessa regione del cromosoma 15 ma di origine materna si ha la **Sindrome di Angelman** (AS, caratterizzata da grave ritardo mentale, incoordinazione dei movimenti, scoppi di risa). Anche in questo caso, evidentemente, alcuni geni paterni metilati differentemente non riescono a sopperire alla mancanza dei geni materni.