



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Evoluzione del mitocondrio e disordini mitocondriali

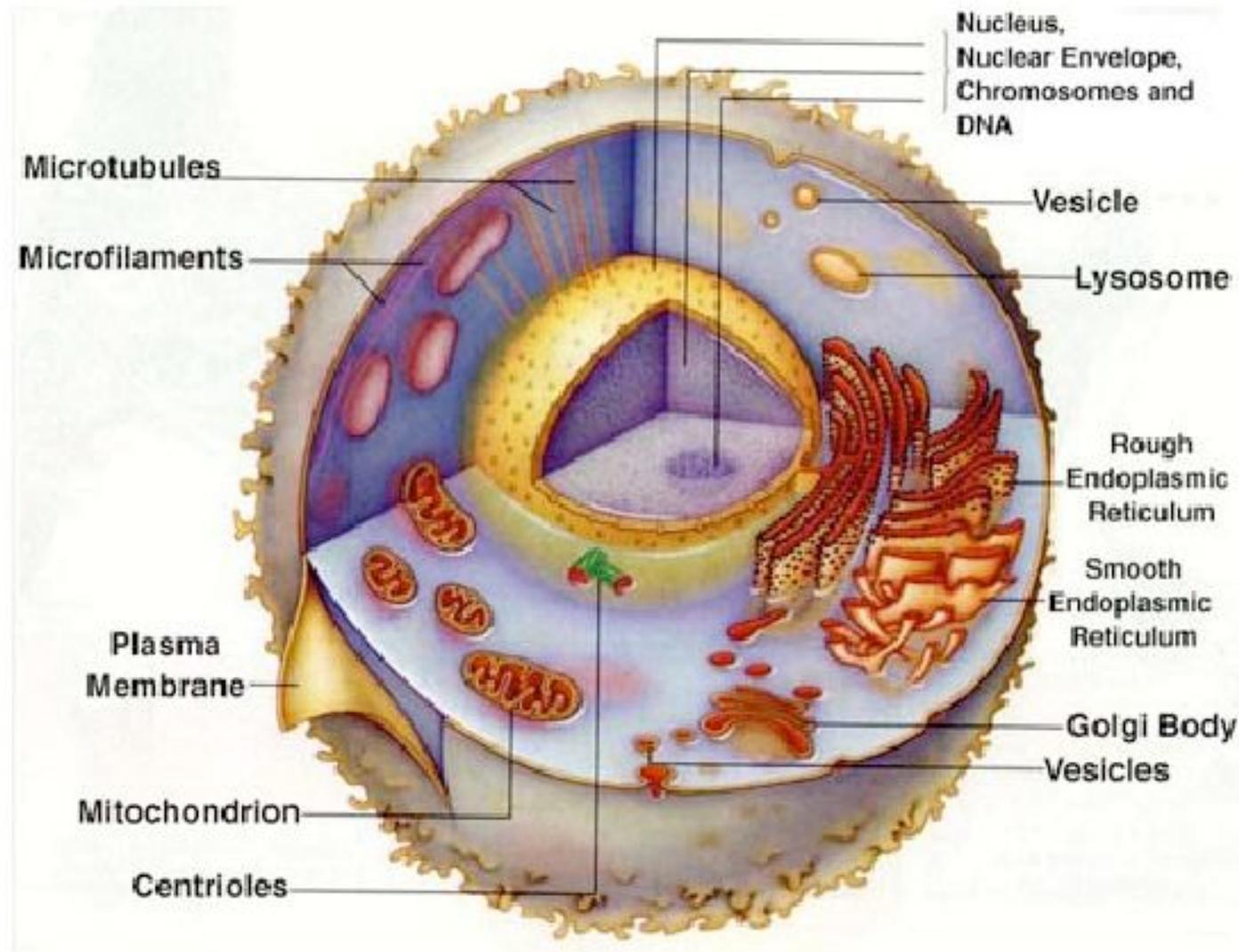


Lezione 20



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

La cellula





LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Il mitocondrio

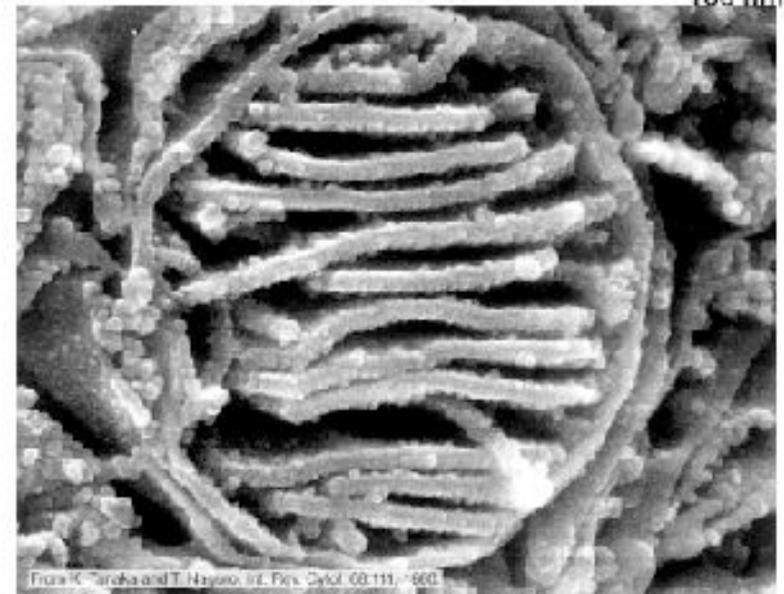
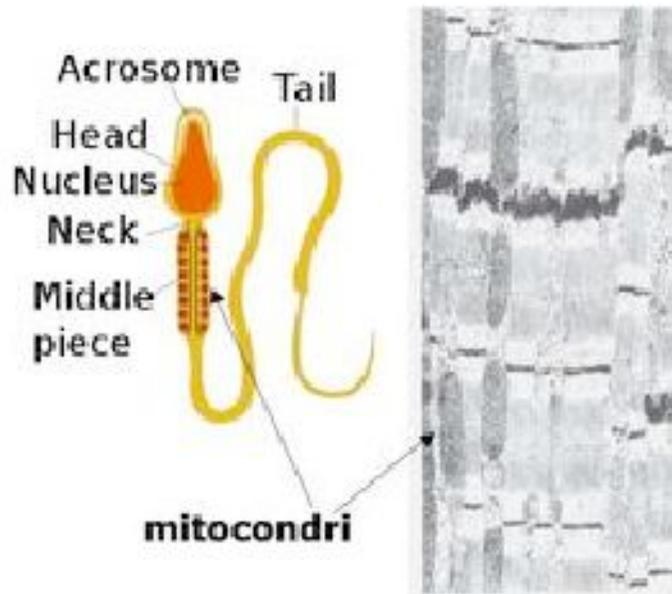
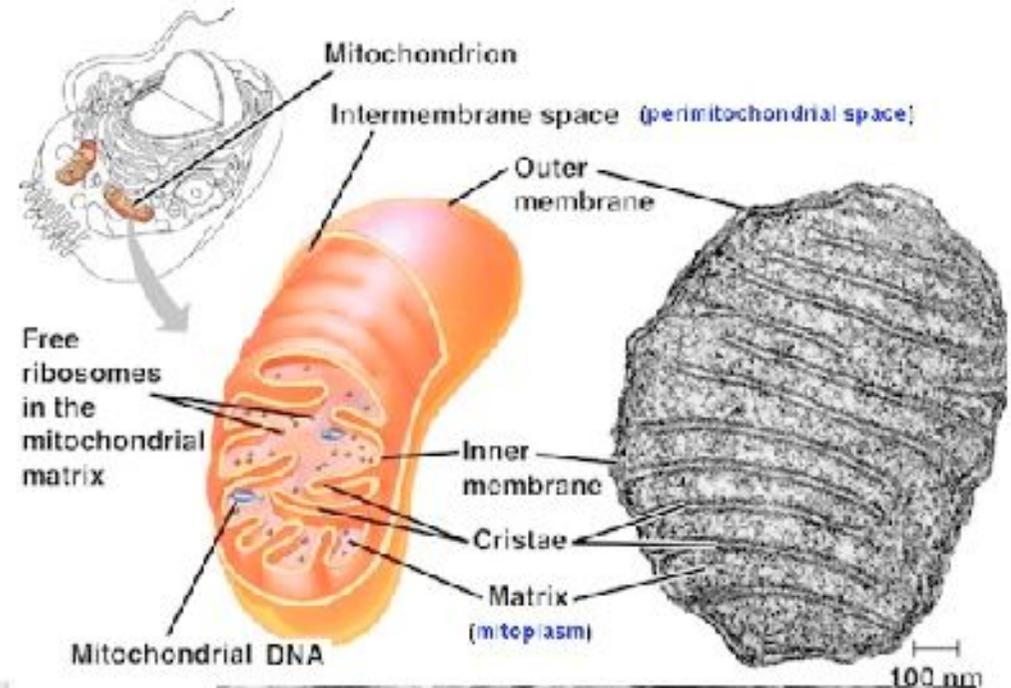
Mitocondri : Furono descritti da Altmann nel 1884.

I **mitocondri** sono presenti in tutte le cellule eucariotiche, ad eccezione dei globuli rossi dei mammiferi. Costituiscono la maggiore **fonte dell'energia intracellulare** .

Hanno forma ovoidale di 1 - 6 μm x 0,2 - 1 μm

Il numero dei mitocondri/cellula varia da 1.000 a 2.000, fino a 30.000 negli ovociti.

Nelle cellule i mitocondri si concentrano maggiormente nelle zone a più elevata attività metabolica, ovvero dove è richiesto una maggiore quantità di energia: negli spermatozoi i mitocondri sono disposti a spirale nella porzione centrale della coda. Nella fibra muscolare striata cardiaca i mitocondri sono disposti parallelamente alle miofibrille



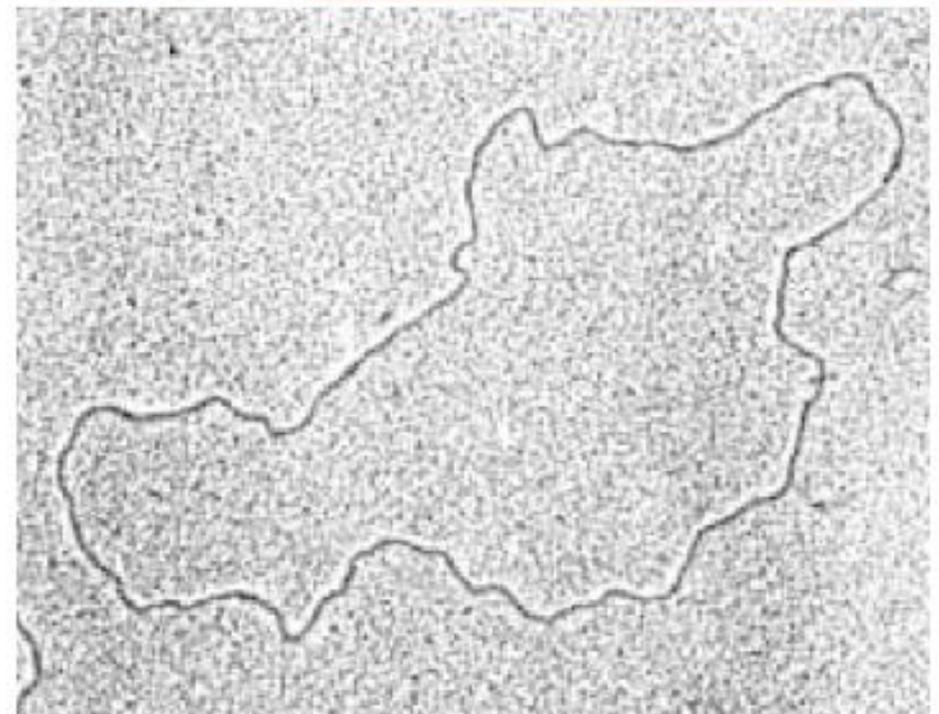
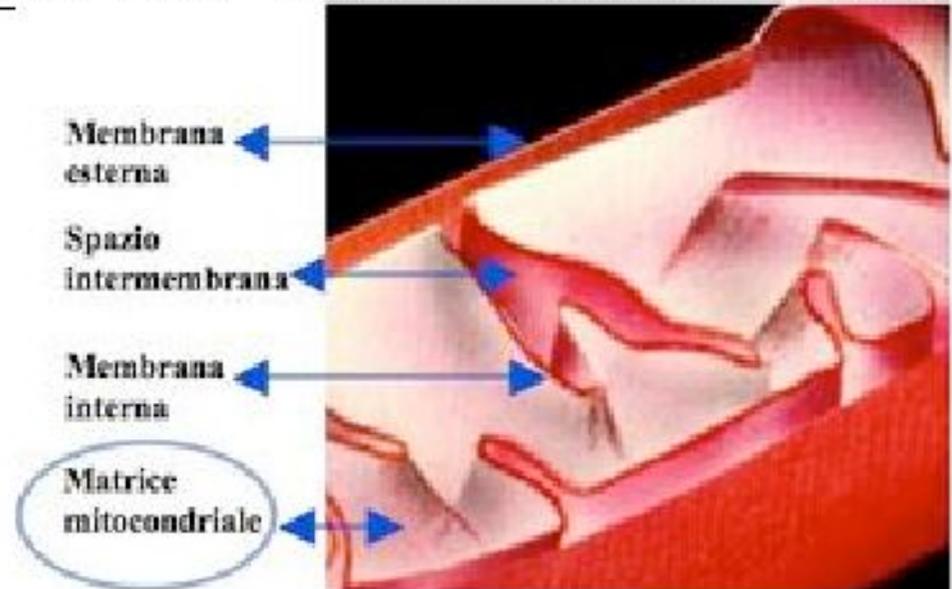


LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Il mitocondrio

La matrice mitocondriale ha una consistenza gelatinosa a causa della elevata concentrazione di proteine e di altre molecole idrosolubili. Sono presenti:

- ? gli enzimi del ciclo di Krebs;
- ? enzimi per l'ossidazione degli acidi grassi (nei mammiferi);
- ? enzimi per l'ossidazione del piruvato.
- ? molecole DNA:
- ? mRNA, rRNA, tRNA;
- ? Ribosomi mitocondriali (con caratteristiche più simili ai ribosomi batterici che a quelli citoplasmatici);
- ? DNA e RNA polimerasi;
- ? NAD⁺ e FAD e loro forme ridotte (NADH e FADH₂);
- ? ioni calcio e magnesio.

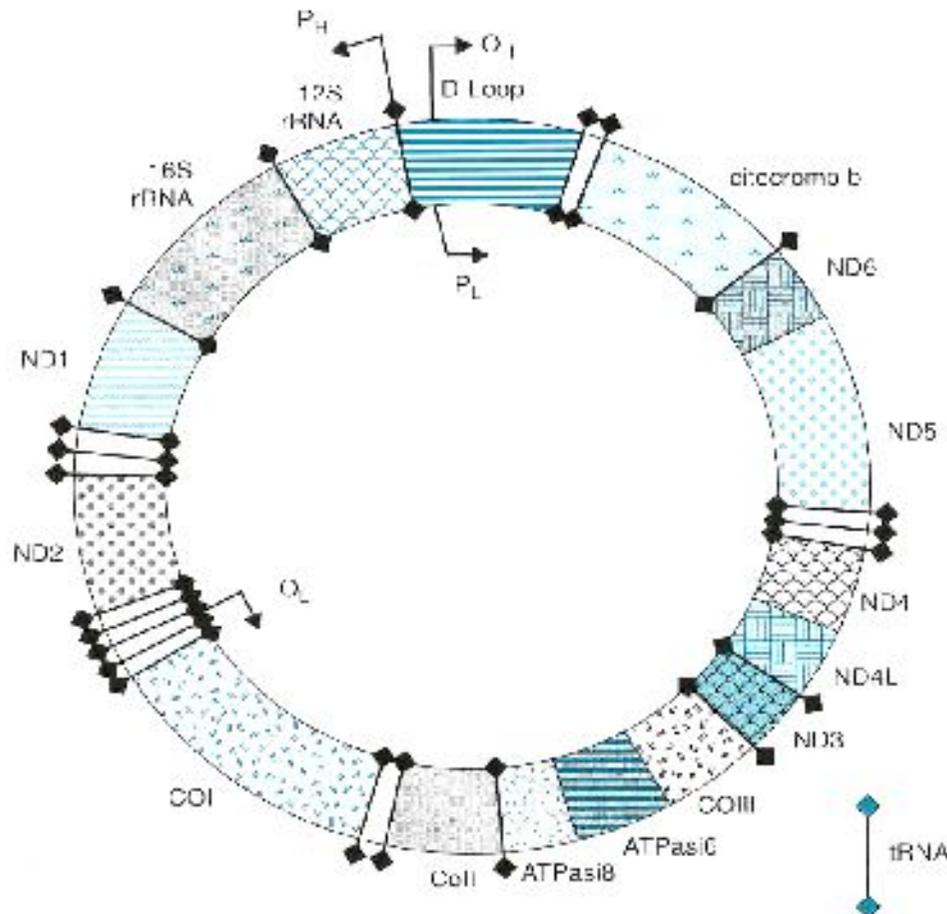




LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Il DNA mitocondriale

0.0005% del genoma umano



➤ la struttura del genoma mitocondriale mostra una maggiore somiglianza con i genomi procariotici che con quelli eucariotici: i geni sono privi di introni e vengono trascritti come mRNA policistronici a partire da due promotori

➤ su ciascun filamento della doppia elica c'è un sito di inizio della sintesi di DNA

➤ le sequenze di DNA poste tra i geni codificanti per proteine codificano per i tRNA

* il DNA mitocondriale codifica 13 peptidi, che costituiscono subunità di proteine necessarie per la fosforilazione ossidativa, 22 tRNA e 2 rRNA. Nella matrice mitocondriale sono presenti un numero variabile, in genere da 5 a 10



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

* la fosforilazione ossidativa richiede piu' di 60 proteine, la maggior parte di esse codificate nel nucleo (in verde) e trasportate nel mitocondrio ciò comporta l'esistenza di un sistema o di sistemi che coordinano la sintesi proteica mitocondriale e nucleare.

* sebbene la maggior parte delle proteine mitocondriali siano codificate da geni nucleari, alcune di esse sono codificate da geni mitocondriali (in rosso) e le mutazioni a loro carico possono condurre a difetti del metabolismo energetico

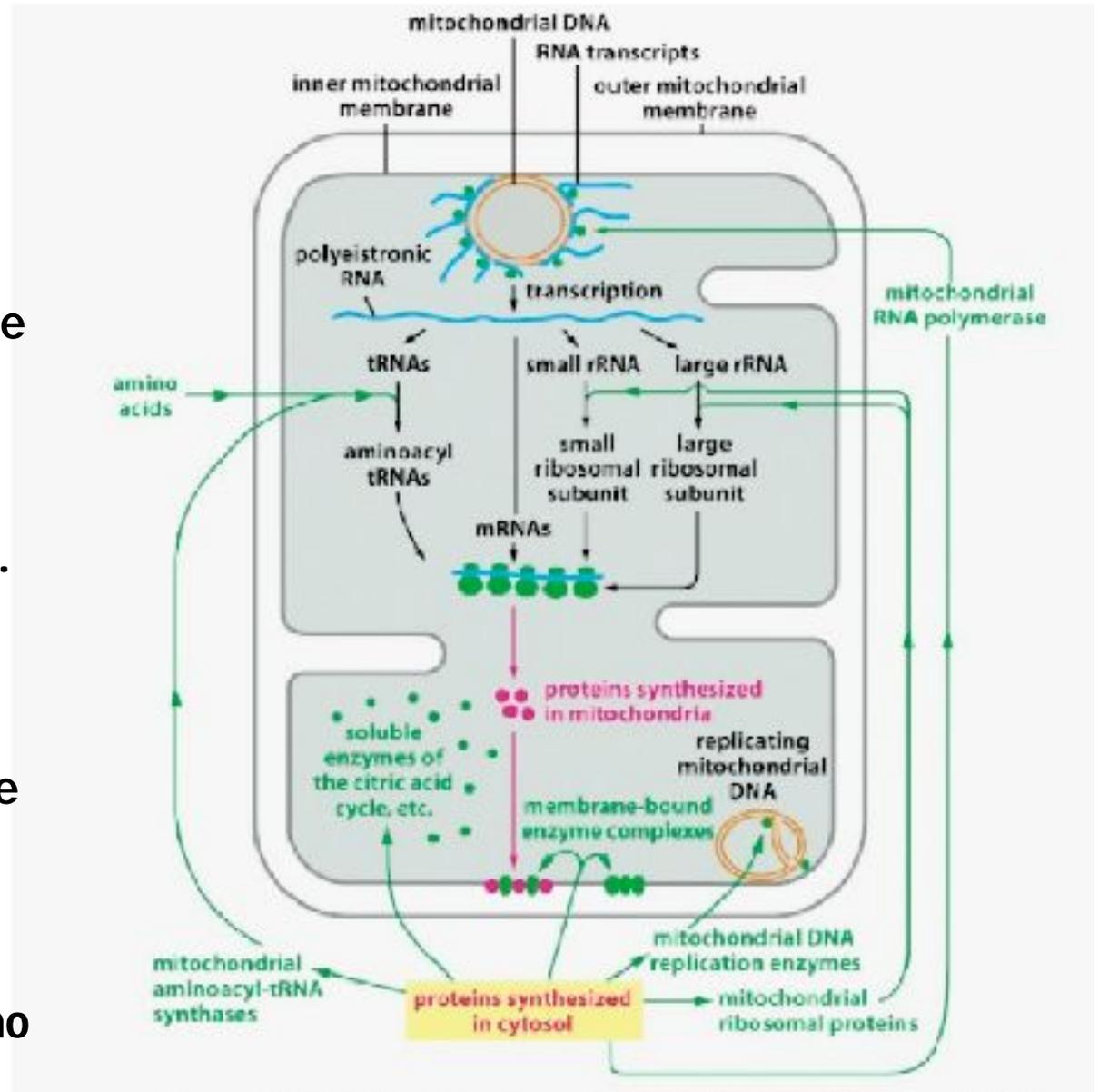


Figure 14-66 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

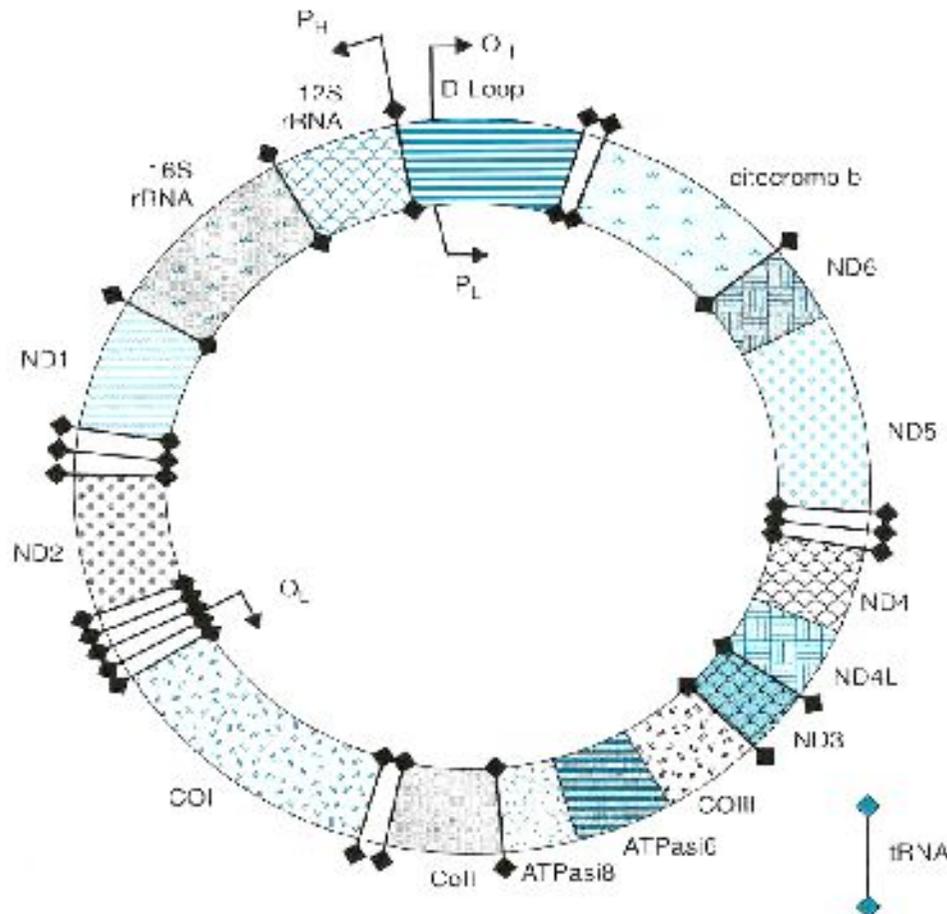
| | Prokaryotes | Eukaryotes | Mitochondria of Eukaryotic cells | Chloroplasts of Photosynthetic eukaryotes |
|---------------------------------|--|---|---|---|
| DNA | 1 single, circular chromosome | Multiple linear chromosomes compartmentalized in a nucleus | 1 single, circular chromosome | 1 single, circular chromosome |
| Replication | Binary Fission (1 cell splits into 2) | Mitosis | Binary Fission (1 cell splits into 2) | Binary Fission (1 cell splits into 2) |
| Ribosomes | "70 S" | "80 S" | "70 S" | "70 S" |
| Electron Transport Chain | Found in the plasma membrane around cell | Not found in the plasma membrane around cell (found only in the cell's mitochondria and chloroplasts) | Found in the plasma membrane around mitochondrion | Found in the plasma membrane around chloroplast |
| Size (approximate) | ~1-10 microns | ~50 - 500 microns | ~1-10 microns | ~1-10 microns |
| Appearance on Earth | Anaerobic bacteria: ~3.8 Billion years ago Photosynthetic bacteria: ~3.2 Billion years ago Aerobic bacteria: ~2.5 Billion years ago | ~1.5 billion years ago | ~1.5 billion years ago | ~1.5 billion years ago |



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Il DNA mitocondriale

0.0005% del genoma umano



➤ la struttura del genoma mitocondriale mostra una maggiore somiglianza con i genomi procariotici che con quelli eucariotici: i geni sono privi di introni e vengono trascritti come mRNA policistronici a partire da due promotori

➤ su ciascun filamento della doppia elica c'è un sito di inizio della sintesi di DNA

➤ le sequenze di DNA poste tra i geni codificanti per proteine codificano per i tRNA

* il DNA mitocondriale codifica 13 peptidi, che costituiscono subunita' di proteine necessarie per la fosforilazione ossidativa, 22 tRNA e 2 rRNA Nella matrice mitocondriale sono presenti un numero variabile, in genere da 5 a 10



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Attenzione

molte delle molecole che garantiscono la funzione mitocondriale sono codificate dal DNA nucleare. Quindi alcune patologie mitocondriali sono dovute a mutazioni patogenetiche del DNA nucleare e, seguendo le leggi di Mendel nella loro trasmissione, possono essere studiate e diagnosticate come tutte le altre. In questi casi il mitocondrio non è altro che una delle tante strutture della cellula che dipende dal nucleo per la propria funzione.

La funzione "produzione di energia" può, quindi, venir compromessa per due ragioni: 1. **mutazione dei geni nucleari**

2. **mutazione dei geni mitocondriali**

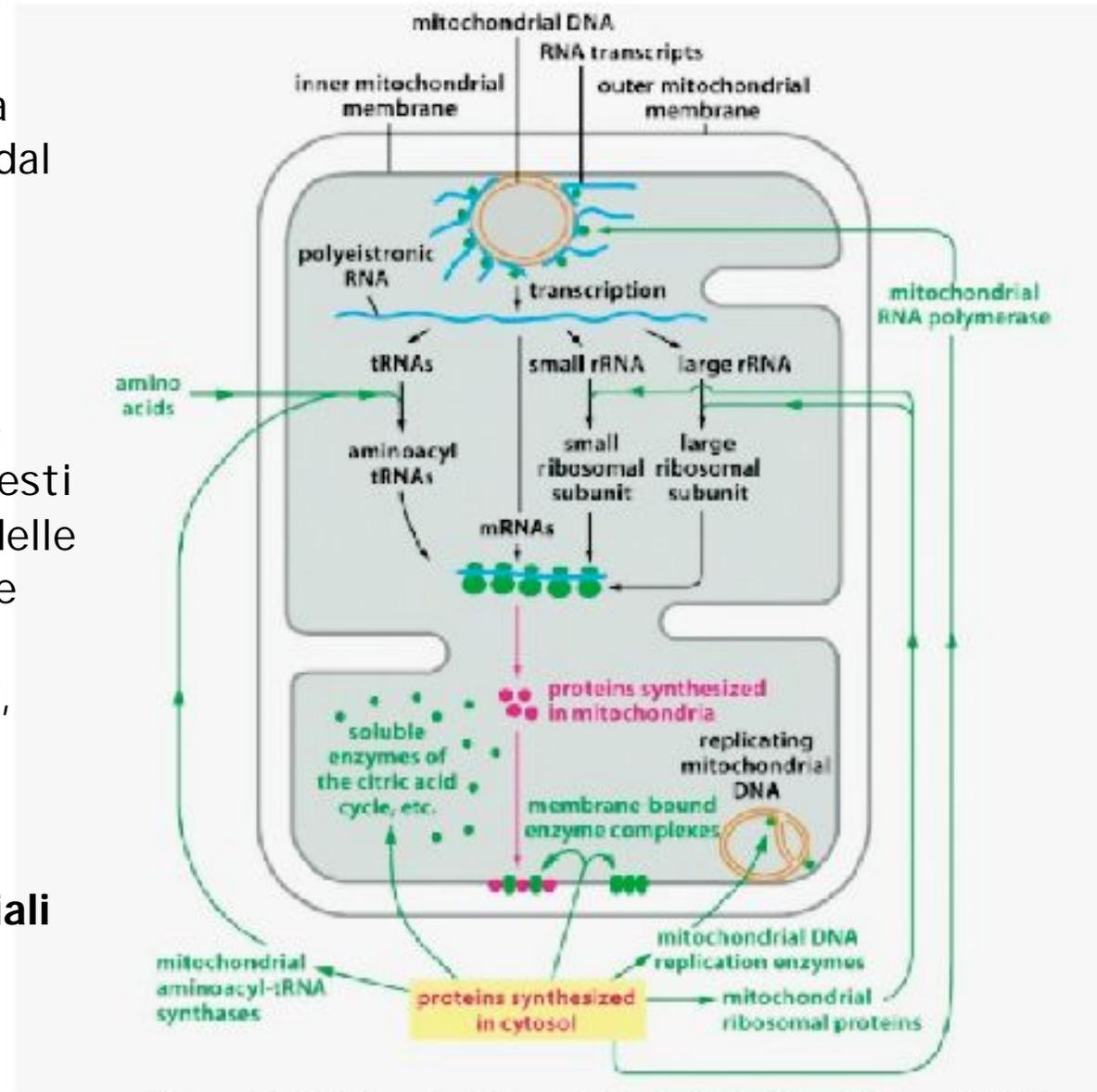


Figure 14-66 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Freuenza dei disordini mitocondriali

Recent epidemiological studies confirm that pathogenic mitochondrial DNA (mtDNA) mutations are a major cause of human disease, affecting at least 1 in 5000 of the population. Pathogenic A LLELES are present in > 1 in 200 live births, and occur de novo at least every 1000 births.

The inheritance of pathogenic mitochondrial DNA mutations

L.M. Cree, D.C. Samuels, and P.F. Chinnerya Biochim Biophys Acta . 2009 December ; 1792(12): 1097 -1102.

il 93% del DNA mitocondriale e' codificante

☹️ ha una struttura cromatinica diversa: non e' protetto dagli istoni

☹️ andando incontro a numerosissimi cicli di replicazioni e' piu' soggetto agli errori della macchina replicativa (fonte di mutazioni anche nel nucleare)

☹️ i meccanismi di riparo sono meno efficienti rispetto al DNA nucleare.



Tutto cio' fa si che un certo numero di patologie genetiche siano originate da alterazioni della funzione mitocondriale (produzione di energia). Le malattie "mitocondriali" si manifestano in quei distretti dell'organismo in cui e' richiesta una piu' alta produzione di energia: sistema nervoso, muscolo, occhi, fegato.... e hanno un'elevata variabilita' clinica anche all'interno della stessa famiglia.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Disordini mitocondriali

Da: MITOCHONDRIAL DNA
MUTATIONS IN HUMAN
DISEASE
Robert W. Taylor and Doug M.
Turnbull
NATURE REVIEWS | GENETICS
VOLUME 6 | MAY 2005 | 389-
402

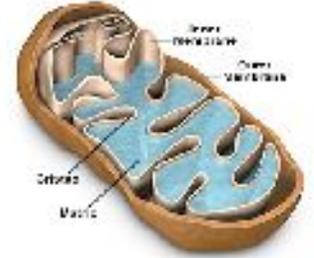
Table 2 | Clinical disorders that are caused by mutations in mitochondrial DNA

| Mitochondrial DNA disorder | Clinical phenotype | mtDNA genotype | Gene | Status | Inheritance | Reference |
|---|---|--|-----------------------|--|----------------------------------|------------------|
| Keams–Sayre syndrome | Progressive myopathy, ophthalmoplegia, cardiomyopathy | A single, large-scale deletion | Several deleted genes | Heteroplasmic | Usually sporadic | 61,158 |
| CPEO | Ophthalmoplegia | A single, large-scale deletion | Several deleted genes | Heteroplasmic | Usually sporadic | 61, 64 |
| Pearson syndrome | Pancytopenia, lactic acidosis | A single, large-scale deletion | Several deleted genes | Heteroplasmic | Usually sporadic | 65 |
| MELAS | Myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes | 3243A>G; 3271T>C Individual mutations | TRNL1 ND1 and ND5 | Heteroplasmic Heteroplasmic | Maternal Maternal | 159 160, 161 |
| MERRF | Myoclonic epilepsy, myopathy | 8344A>G; 8358T>C | TRNK | Heteroplasmic | Maternal | 162 |
| NARP | Neuropathy, ataxia, retinitis pigmentosa | 8993T>G | ATP6 | Heteroplasmic | Maternal | 163 |
| MILS | Progressive brain-stem disorder | 8993T>C | ATP6 | Heteroplasmic | Maternal | 67 |
| MIDD | Diabetes, deafness | 3243A>G | TRNL1 | Heteroplasmic | Maternal | 164 |
| LHON | Optic neuropathy | 3460G>A; 11778G>A; 14484T>C | ND1 ND4 ND6 | Hetero- or homoplasmic Hetero- or homoplasmic Hetero- or homoplasmic | Maternal Maternal Maternal | 166 62 168 |
| Myopathy and diabetes | Myopathy, weakness, diabetes | 14709T>C | TTM | Hetero- or homoplasmic | Maternal | 167,168 |
| Sensorineural hearing loss | Deafness | 1565A>G Individual mutations | RNR1 TRNS1 | Homoplasmic Hetero- or homoplasmic | Maternal Maternal | 66 169,170 |
| Exerolite intolerance | Fatigue, muscle weakness | Individual mutations | CYB | Heteroplasmic | Sporadic | 68 |
| Fata, infantile encephalopathy; Leigh/Leigh-like syndrome | Encephalopathy, lactic acidosis | 10158T>C; 10161T>C | ND3 | Heteroplasmic | Sporadic | 68 |

ATP6, ATPase 6; CPEO, chronic progressive external ophthalmoplegia; CYB, cytochrome b; LHON, Leber hereditary optic neuropathy; MELAS, mitochondria myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes; MERRF, myoclonic epilepsy and ragged-red fibres; MIDD, maternally-inherited diabetes and deafness; MILS, maternally-inherited Leigh syndrome; ND1,3-6, ND1= NADH dehydrogenase subunit 1; RNR1, 12S ribosome; TRM, TRNK, TRNL1, TRNS1, mitochondrial tRNAs.



Eredita' matroclina

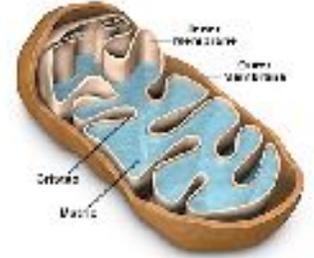


- * sia geni nucleari che mitocondriali possono dare origine a difetti del metabolismo energetico e le modalita' di trasmissione genetica possono essere autosomiche o materne; quando si parla di malattie mitocondriali si intendono quelle legate a mutazioni del mtDNA
- * soltanto le femmine trasmettono il carattere
- * la madre puo' trasmettere il carattere a tutti i propri figli tuttavia e' impossibile prevedere il livello di gravita' della malattia di un figlio.
- ? la segregazione casuale dei mitocondri fa si che le cellule figlie non possiedano la stessa quantita' di mitocondri mutati (eteroplasmia) e quindi il fenotipo puo' essere diverso da soggetto a soggetto anche all'interno della stessa famiglia. Solo poche malattie da alterazioni del DNA mitocondriale sono caratterizzate dalla presenza della stessa mutazione in tutte le cellule (omoplasmia). (LHON)



Eredita' matroclina nella LHON

Da: MITOCHONDRIAL DNA
MUTATIONS IN HUMAN DISEASE
Robert W. Taylor and Doug M. Turnbull
NATURE REVIEW GENETICS VOLUME 6 | MAY 2005 | 389-402

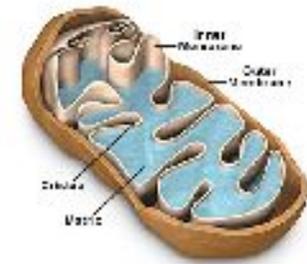
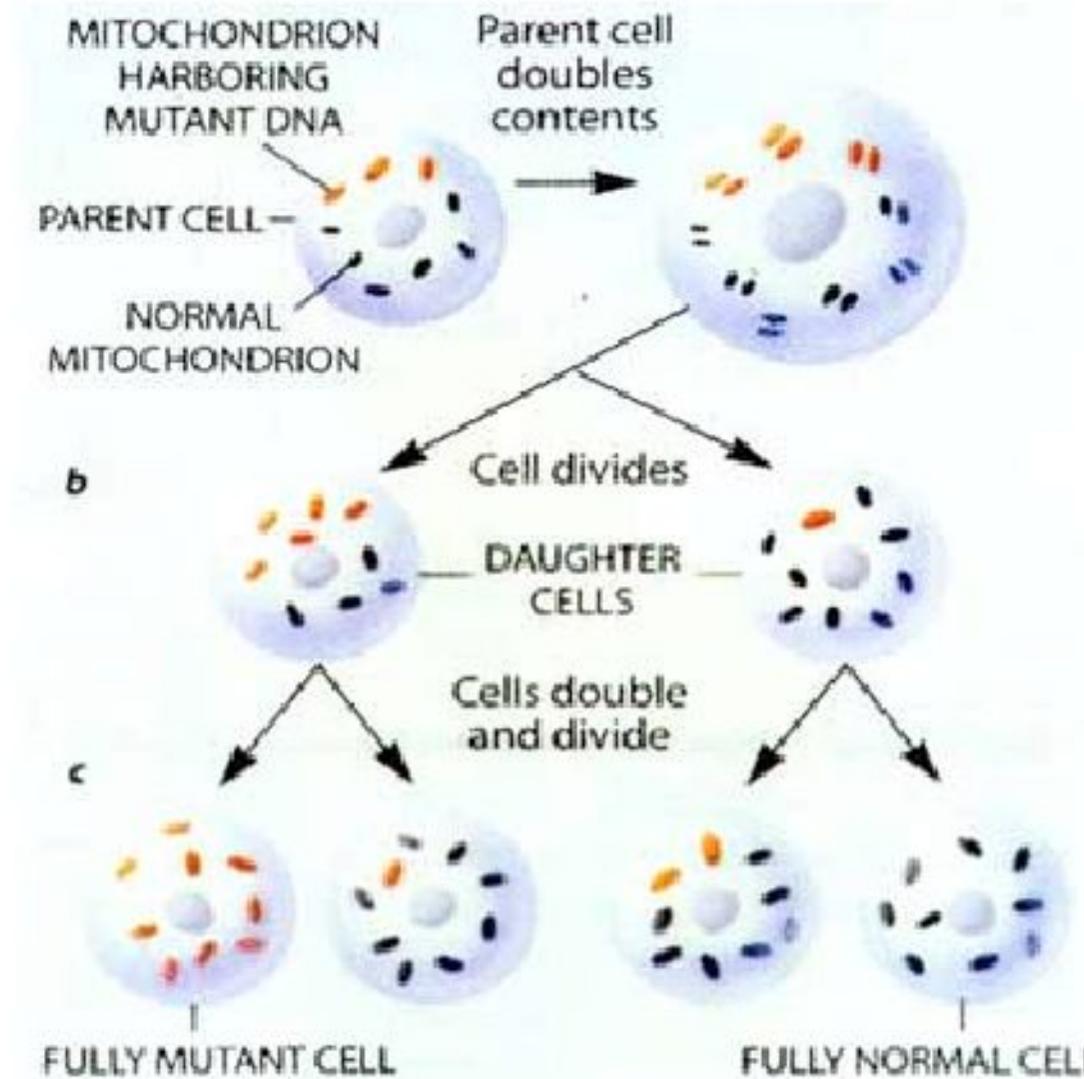


Although all offspring inherit the mutation, only some will develop the disease. Approximately 50% of males, but only 10% of females, develop impaired vision, which certainly indicates that nuclear genetic factors are important in the expression of the disease. Another homoplasmic mtDNA mutation, the 1555A>G 12 S ribosomal RNA (RNR1) mutation⁵⁵, is an important cause of post-lingual deafness. Its clinical expression depends on the administration of aminoglycoside antibiotics, which highlights the importance of environmental factors in the expression of homoplasmic mtDNA disease.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Eteroplasmia





Eteroplasmia



/ L'eteroplasmia contribuisce notevolmente alla spiegazione della variabilità clinica

/ Le quantità relative di mitocondri normali e mutanti possono variare da tessuto a tessuto e questo spiega in parte le differenze nell'espressione

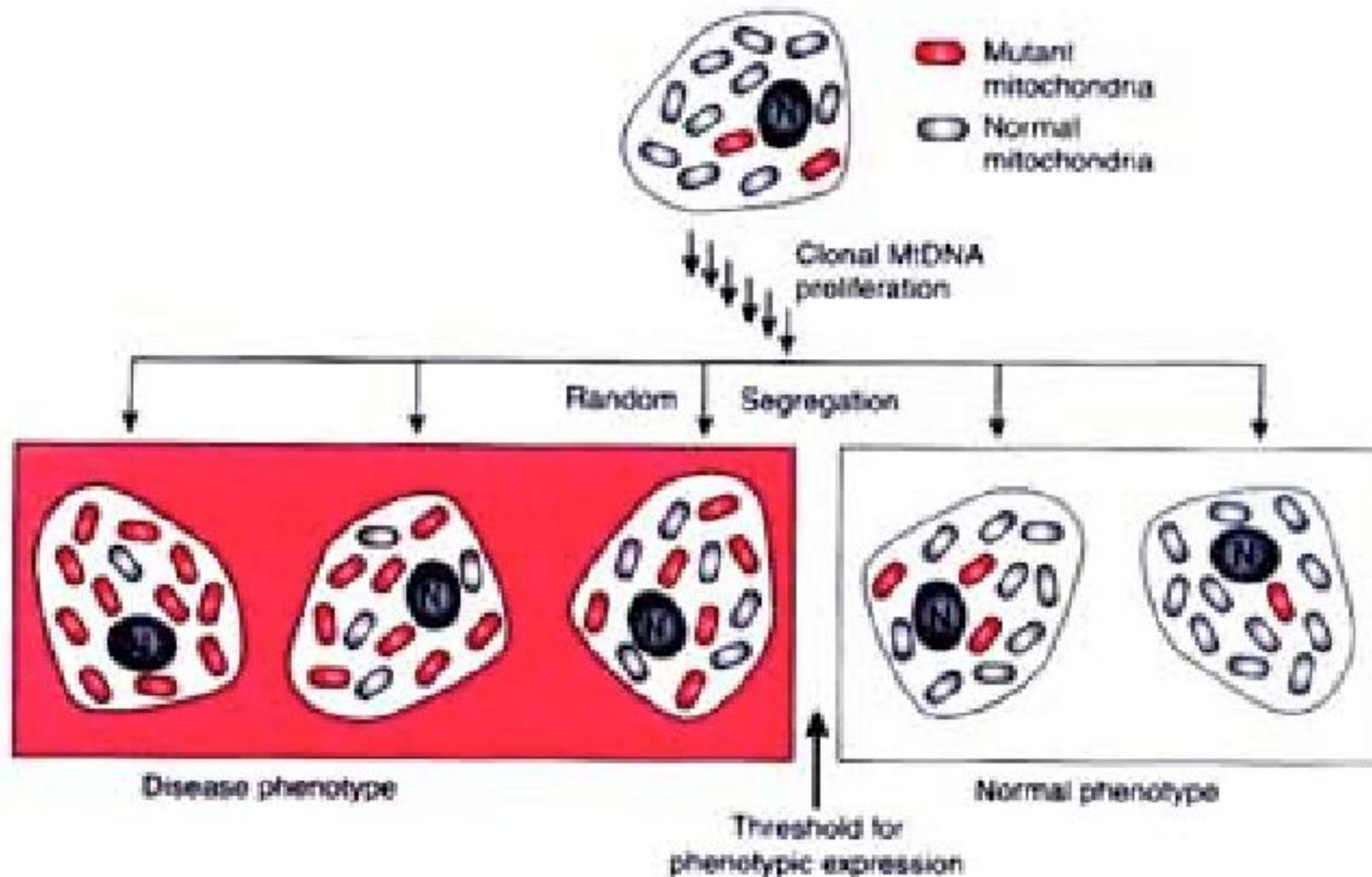
/ Inoltre non è detto che una donna portatrice di una mutazione mitocondriale debba per forza trasmettere alla prole sia mitocondri mutanti che normali, perché ciò può non avvenire o può essere difficile da dimostrare.

Va considerato tuttavia che la funzione che viene persa è sempre la stessa: produzione di energia. La vasta gamma di deficit nelle proteine mitocondriali nelle malattie mitocondriali è legata (oltre all'eteroplasmia che giustifica la diversa gravità) al fatto che dei 37 geni presenti, 22 codificano per tRNA e 2 per rRNA, necessari per la sintesi dei 13 polipeptidi codificati dai restanti geni.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

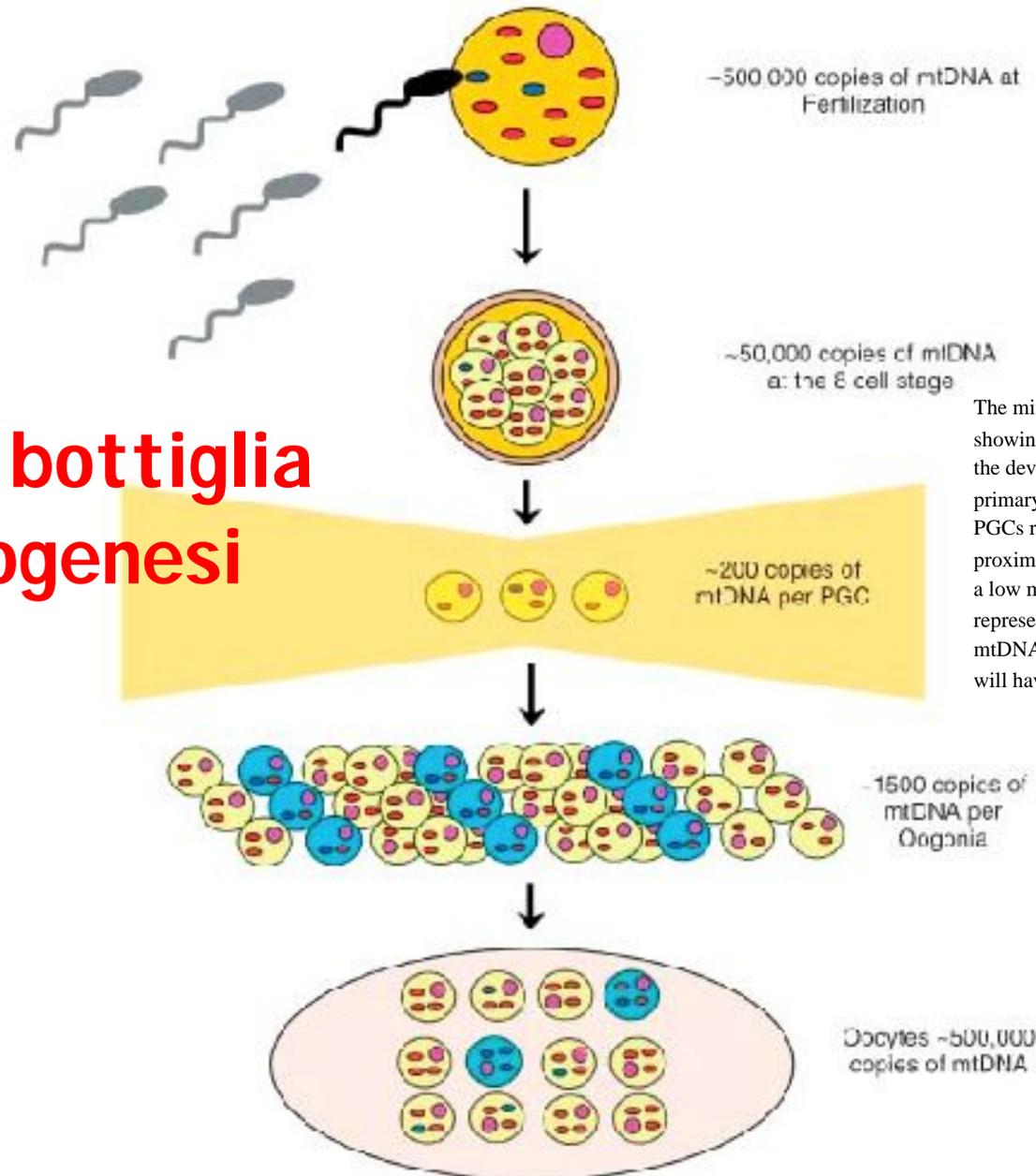
Effetto soglia





LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

**collo di bottiglia
nell'oogenesi**



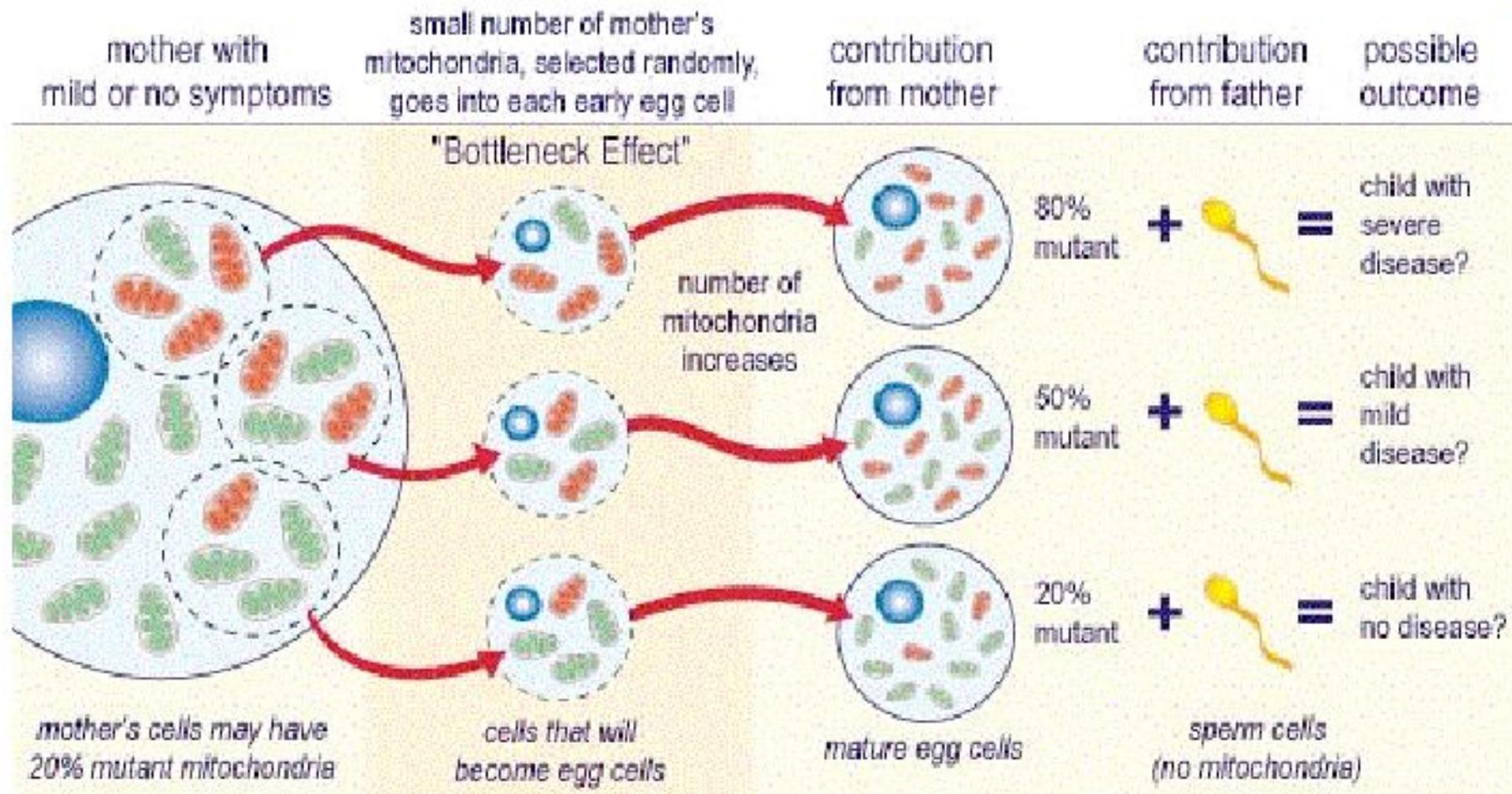
primordial
germ cell
(PGC)

The mitochondrial genetic bottleneck. Schematic diagram showing a heteroplasmic oocyte being fertilized followed by the development of the embryo. During this development primary oocytes develop from a founder population of 40 PGCs recruited by induction from the epiblast in the posterior proximal embryonic pole.¹⁴⁴ The PGCs are believed to have a low mitochondrial number of around 200. The red circles represent wild -type mtDNA, blue circles represent mutant mtDNA; cells with mutant mtDNA having passed a threshold will have a biochemical defect and are shown in blue.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Eteroplasmia





LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

patologie mitocondriali



TABELLA 7.1 Principali sindromi associate a mutazioni nel DNA mitocondriale

| Sindrome | Caratteristiche cliniche |
|---|--|
| Kearns-Sayre | Oftalmoplegia esterna, retinopatia pigmentosa, blocco cardiaco, atassia, aumento delle proteine del liquido cerebrospinale |
| MERRF | Epilessia mioclonica, miopatia, demenza |
| MELAS | Acidosi lattica, episodi tipo ictus, miopatia, attacchi epilettici, demenza |
| Neuropatia ottica ereditaria di Leber | Cecità, difetti della conduzione cardiaca |
| Sindrome di Leigh | Atassia, discinesia respiratoria, regressione psichica |
| Altre (diabete mellito familiare, encefalomiopatie infantili) | Varie |

* Possono essere causate da mutazioni puntiformi, delezioni o riarrangiamenti di vaste proporzioni.

* Le prime sono di origine materna, mentre le seconde si verificano sporadicamente.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

Polimorfismi del DNA mitocondriale



- * si calcola che la velocità di accumulo delle alterazioni a carico del DNA sia per i mitocondri dalle 5 alle 10 volte maggiore di quella del DNA nucleare
- * l'assenza di ricombinazione rende più semplice seguire l'eredità dei polimorfismi mitocondriali

Applicazioni

antropologia



l'origine della variazione del DNA mitocondriale umano risale a 150000 anni fa in Africa

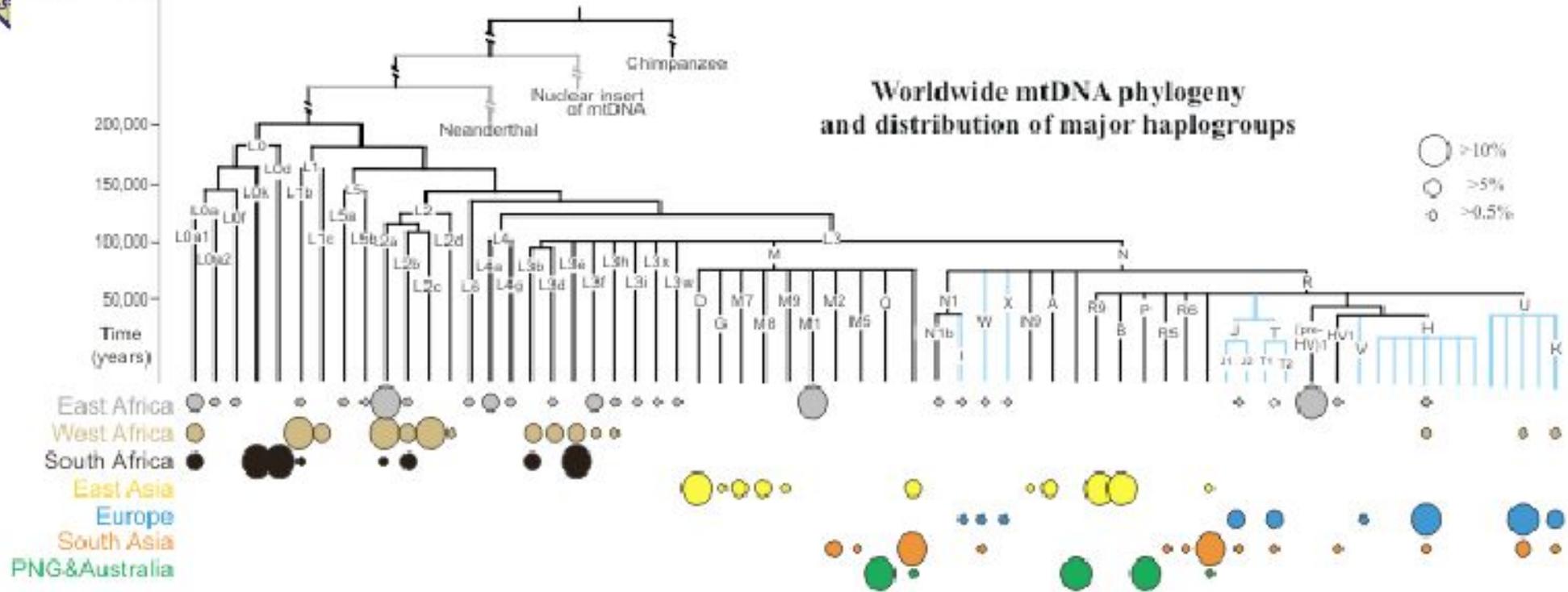
medicina legale



i marcatori genetici sono usati per confrontare il genotipo dei sospetti con gli elementi trovati sul luogo del delitto



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014



Uno standard comune per la nomenclatura degli aplogruppi mitocondriali è stato stabilito negli anni novanta, quando gli aplogruppi A, B, C e D furono caratterizzati per primi nei Nativi Americani (Torroni et al. 1993). Studi successivi iniziarono a delineare la struttura degli aplogruppi anche nelle popolazioni degli altri continenti e nel contempo venne determinato, a livello filogenetico, l'ordine gerarchico dei vari aplogruppi e sottoaplogruppi (Richards et al. 1998, 2000). Tutti questi studi furono condotti mediante analisi di restrizione ad alta risoluzione (utilizzando 14 enzimi) e/o sequenziando la regione di controllo dell' mtDNA. A partire dal 2000, con il miglioramento tecnologico delle metodiche di sequenziamento del DNA, un numero sempre crescente di studi ha cominciato a produrre sequenze mitocondriali complete. Questi lavori basati su sequenze complete hanno permesso di definire meglio la struttura complessiva della filogenesi mondiale dell' mtDNA umano e la distribuzione etnico -geografica degli aplogruppi più comuni.



LM Sc. Biosanitarie Genetica Umana 2013-2014

