

# Imprinting

Meccanismo **epigenetico** di controllo della espressione genica.

**Metilazione**                      repressione della trascrizione  
   espressione mono-allelica

Esistono determinati geni in cui l'espressione di un allele parentale (quello di origine materna o paterna) è normalmente repressa. E' una forma di **esclusione allelica**.

## Diploidia uniparentale sperimentale

In ovociti fertilizzati di topo è possibile rimuovere, e sostituire, uno dei due pronuclei.

- Ginogenoti (o partenogenoti) hanno tutti i cromosomi di origine materna
- Androgenoti hanno tutti i cromosomi di origine paterna

Gli embrioni non si sviluppano. I ginogenoti mostrano gravi carenze nello sviluppo degli annessi embrionali. Gli androgenoti mostrano gravi carenze nello sviluppo dello embrione.

## Diploidia uniparentale naturale

Si manifesta come:

- Teratomi ovarici: massa di tessuti adulti ben differenziati, ma disorganizzati, con mancanza di strutture extra-embryonali. Dovuti ad attivazione di un ovocita non fecondato.
- Mola idatiforme: iperplasia del trofoblasto, con assenza di parti fetali. Dovuta a duplicazione genomica di un singolo spermatozoo (omozigosi completa).

## Disomia uniparentale

Coinvolge una coppia di cromosomi. Può esserci:

- **Eterodisomia** Entrambi gli omologhi derivano da un unico genitore. Correzione di una trisomia?
- **Isodisomia** Entrambi gli omologhi sono identici. Correzione di una monosomia?

46,XX o 46,XY che ereditano entrambe le copie del cromosoma 15 dal padre sviluppano la sindrome di Angelman.

46,XX o 46,XY che ereditano entrambe le copie del cromosoma 15 dalla madre sviluppano la sindrome di Prader-Willi.

## Box 16.6: Molecular pathology of Prader–Willi and Angelman

Prader–Willi syndrome (PWS) and Angelman syndrome (AS) are both caused by problems with differentially imprinted genes at 15q11-q13. They exemplify the complicated molecular pathology associated with clusters of imprinted genes (Nicholls and Knepper, 2001).

- ▶ **PWS** (MIM 176260: mental retardation, hypotonia, gross obesity, male hypogonadism) is caused by lack of function of genes that are expressed only from the paternal chromosome.
- ▶ **AS** (MIM 105830: mental retardation, lack of speech, growth retardation, hyperactivity, inappropriate laughter) is due to lack of function of a closely linked gene that is expressed only from the maternal chromosome. Some children with AS will have two functional copies of the PWS genes, and vice versa, but this overexpression does not appear to have any phenotypic effect.

46,XX o 46,XY che ereditano entrambe le copie del cromosoma 15 dal padre sviluppano la sindrome di Angelman.

46,XX o 46,XY che ereditano entrambe le copie del cromosoma 15 dalla madre sviluppano la sindrome di Prader-Willi.

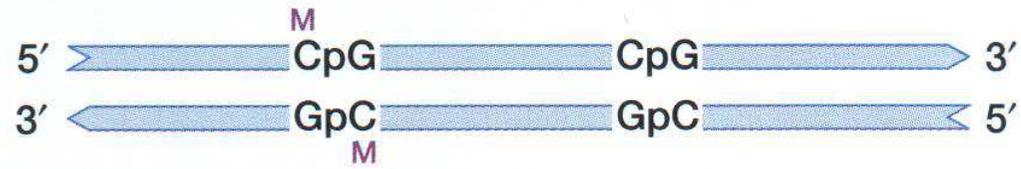
Delezioni nella regione 15q11-q13 del cromosoma di origine paterna causano la sindrome di Prader-Willi, mentre delezioni nella regione 15q11-q13 del cromosoma di origine materna causano la sindrome di Angelman.

Circa 60 geni sono regolati da imprinting. Tali geni sono coinvolti:

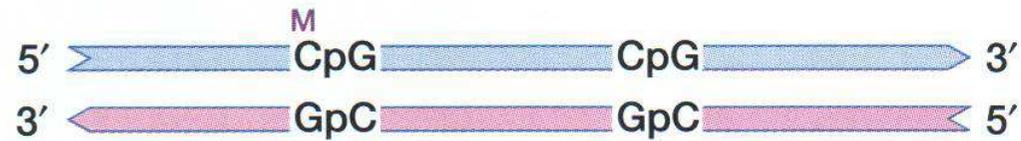
- Nella regolazione della crescita
- Nel comportamento

Il fenomeno dell'imprinting è stato evidenziato nelle regioni:

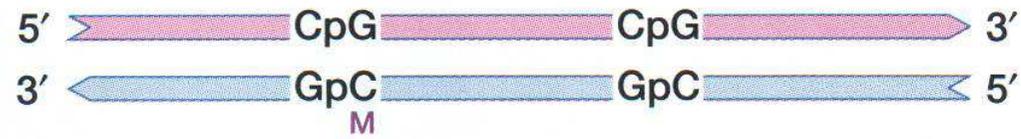
- 11p15.5
- 15q11-q13
- X (?)



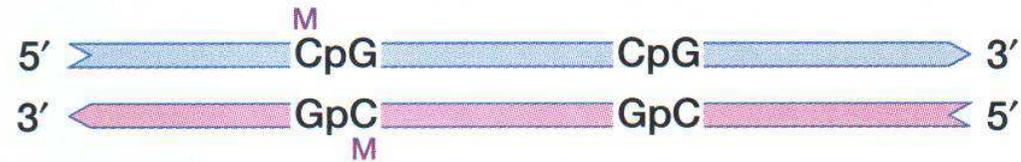
DNA duplication



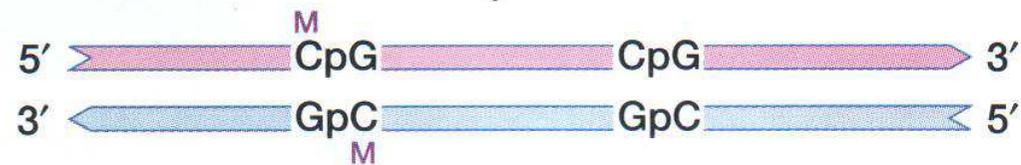
+

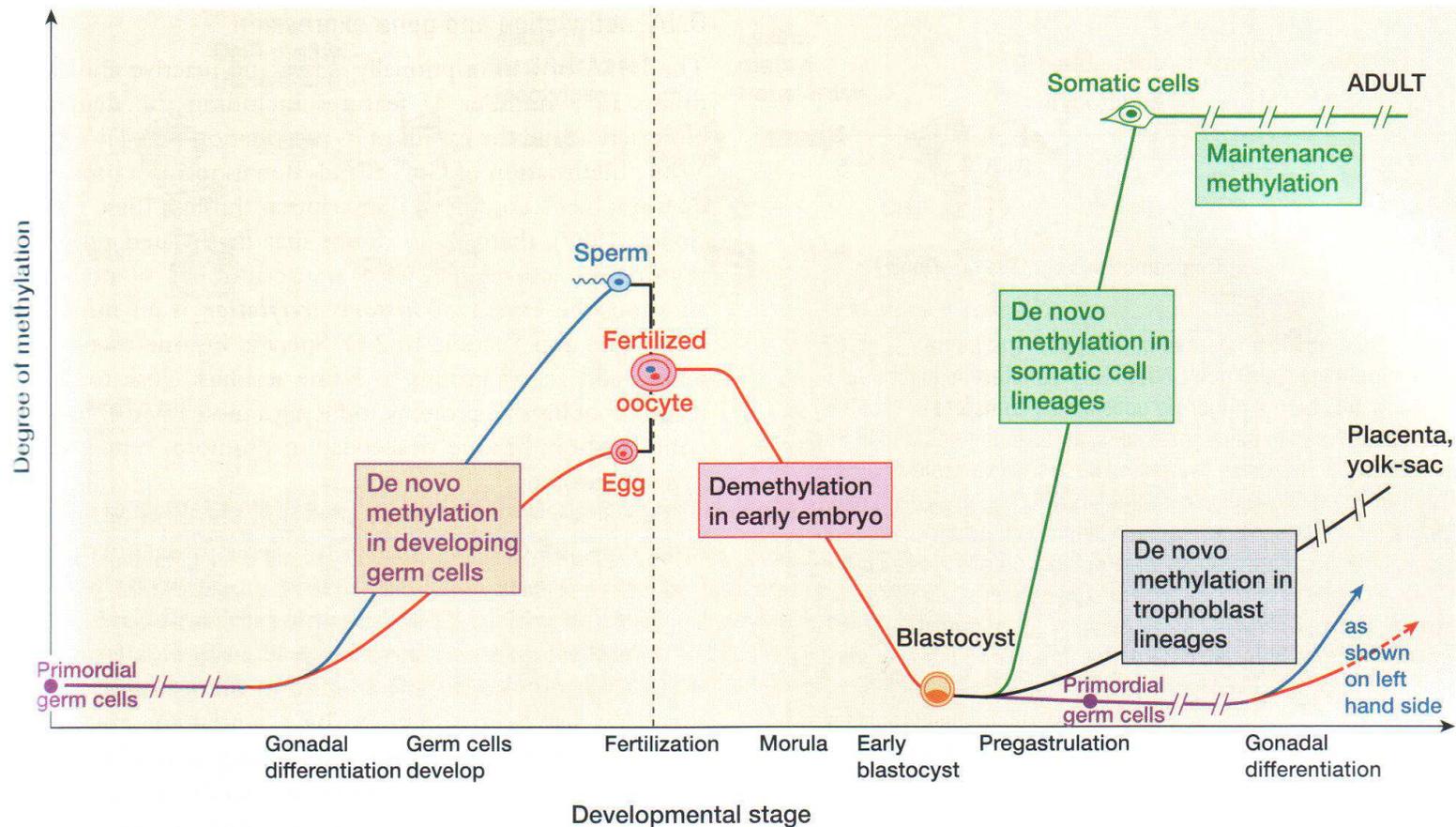


maintenance  
methylase



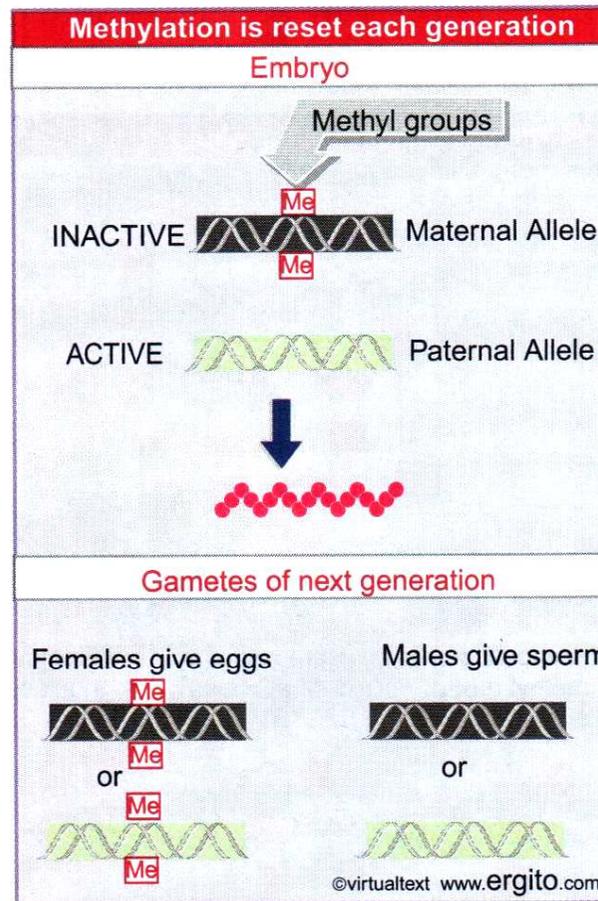
+



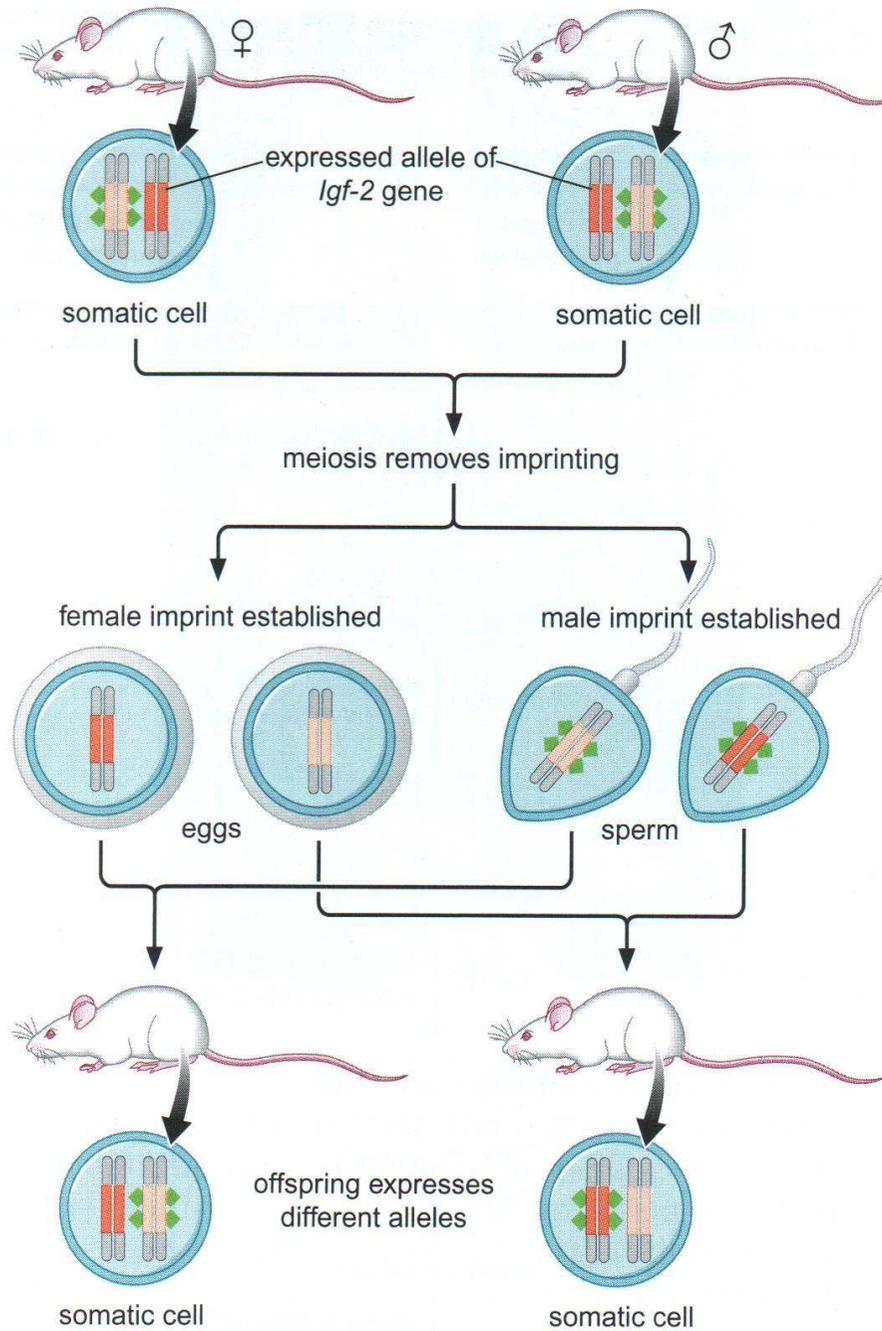


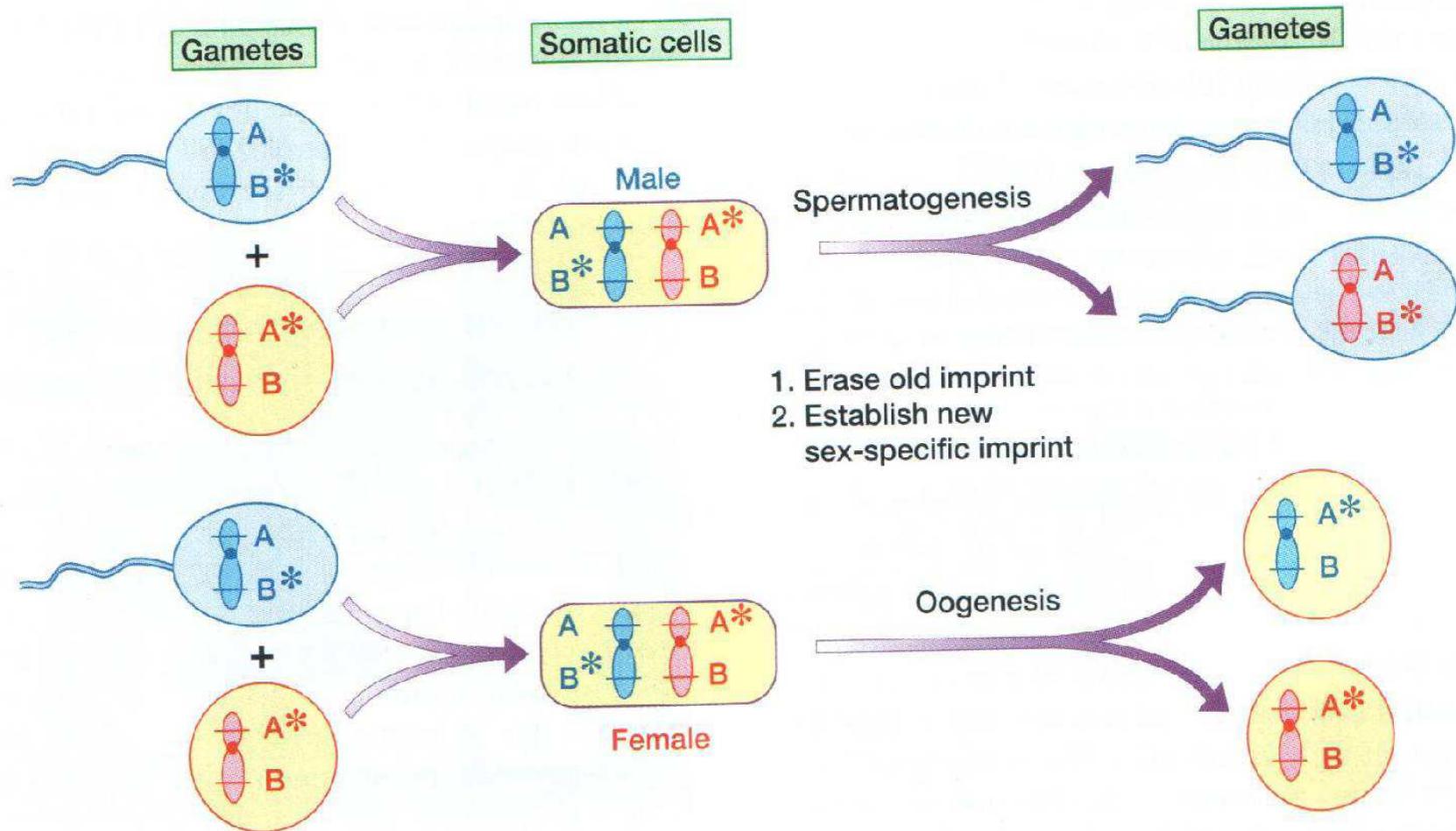
**Figure 10.19: Changes in DNA methylation during mammalian development.**

Developmental stages for gametogenesis and early embryo development are expanded for clarity; those for later development are contracted, as indicated by double slashes. **Note** the very rapid changes in DNA methylation during: (i) **gametogenesis** – *de novo* methylation gives rise to substantially methylated genomes in the sperm and egg (albeit with differences in both the overall level of methylation and the *pattern of methylation in these genomes* – see text); and in (ii) **the early embryo** where a wave of genome-wide demethylation occurs at the preimplantation stage (morula and early blastula), and is succeeded shortly afterwards by large-scale *de novo* methylation beginning at the pre-gastrulation stage. The latter is particularly pronounced in somatic lineages, and to a lesser extent in trophoblast lineages giving rise to placenta and yolk sac, *but does not occur in the primordial germ cells* (the cells of the embryo which will eventually give rise to sperm and egg cells).



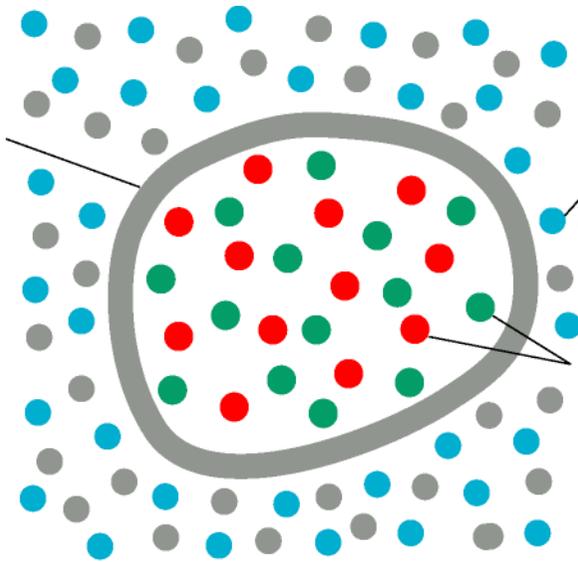
**Figure 23.39** The typical pattern for imprinting is that a methylated locus is inactive. If this is the maternal allele, only the paternal allele is active, and will be essential for viability. The methylation pattern is reset when gametes are formed, so that all sperm have the paternal type, and all oocytes have the maternal type.





# Protein Sorting

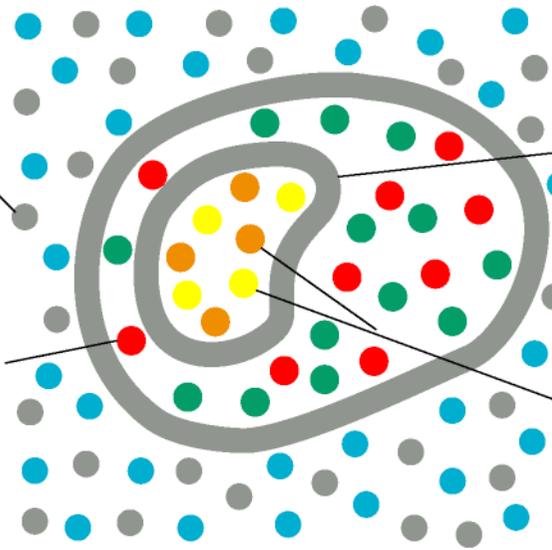
membrana plasmatica che racchiude la cellula



(A)

molecole fuori dalla cellula

molecole dentro la cellula



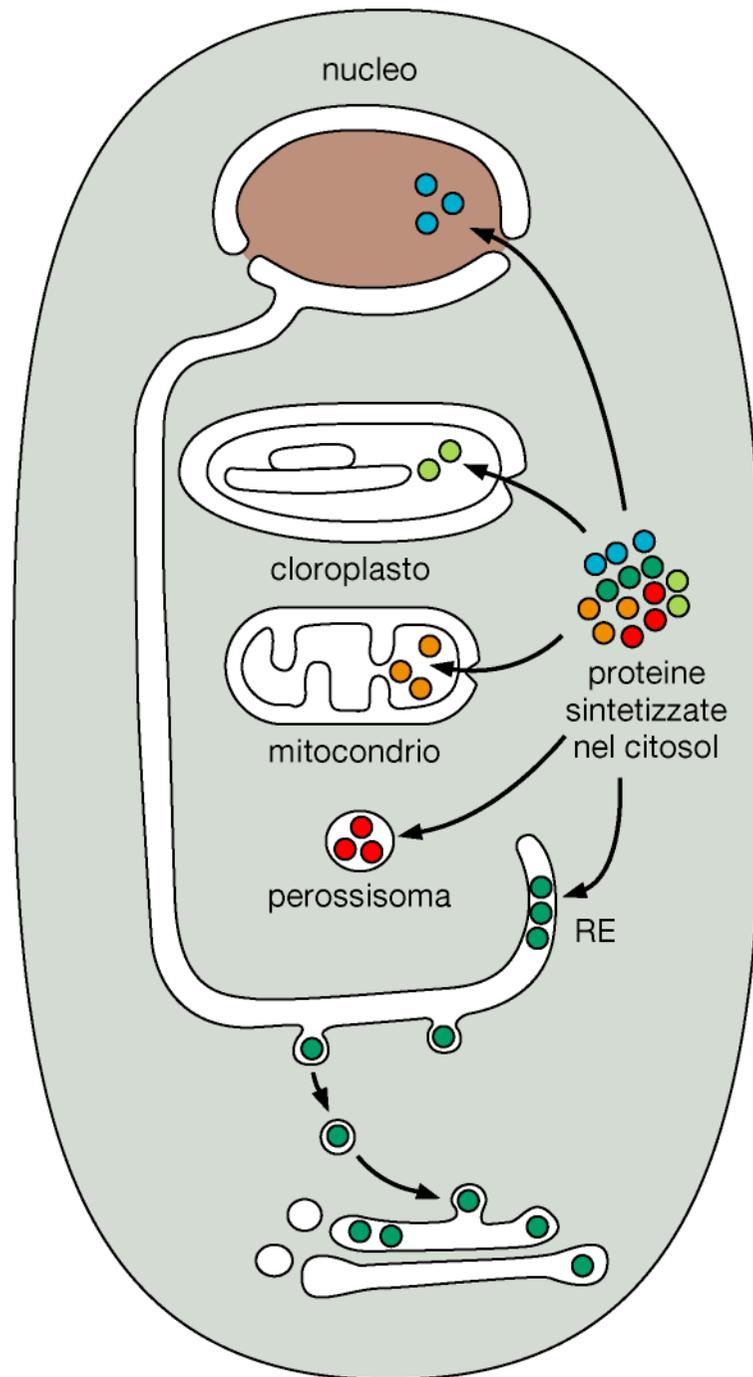
(B)

membrana interna che delimita un comparto intracellulare

molecole dentro il comparto intracellulare

**Table 15–1 The Main Functions of the Membrane-enclosed Compartments of a Eucaryotic Cell**

COMPARTMENT	MAIN FUNCTION
Cytosol	contains many metabolic pathways (Chapters 3 and 13); protein synthesis (Chapter 7)
Nucleus	contains main genome (Chapter 5); DNA and RNA synthesis (Chapters 6 and 7)
Endoplasmic reticulum (ER)	synthesis of most lipids (Chapter 11); synthesis of proteins for distribution to many organelles and to the plasma membrane (this chapter)
Golgi apparatus	modification, sorting, and packaging of proteins and lipids for either secretion or delivery to another organelle (this chapter)
Lysosomes	intracellular degradation (this chapter)
Endosomes	sorting of endocytosed material (this chapter)
Mitochondria	ATP synthesis by oxidative phosphorylation (Chapter 14)
Chloroplasts (in plant cells)	ATP synthesis and carbon fixation by photosynthesis (Chapter 14)
Peroxisomes	oxidation of toxic molecules



①

TRASPORTO  
ATTRAVERSO  
I PORI NUCLEARI

②

TRASPORTO  
ATTRAVERSO  
LE MEMBRANE

③

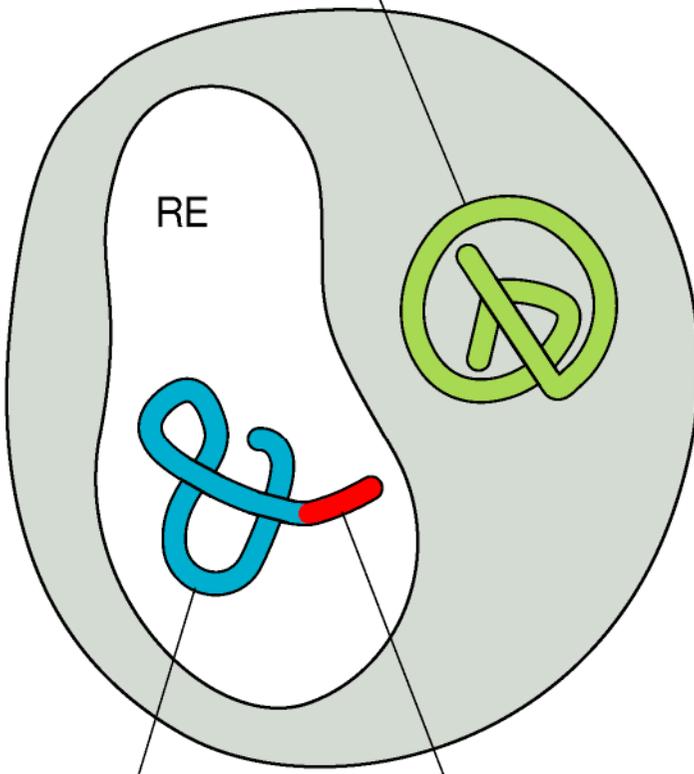
TRASPORTO  
PER MEZZO  
DI VESICOLE

**Table 15–3 Some Typical Signal Sequences**

FUNCTION OF SIGNAL	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retention in lumen of ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-

Positively charged amino acids are shown in *red*, and negatively charged amino acids in *blue*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box. +H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus. The ER retention signal is commonly referred to by its single-letter amino acid abbreviation, KDEL.

proteina citosolica  
(nessuna sequenza segnale)



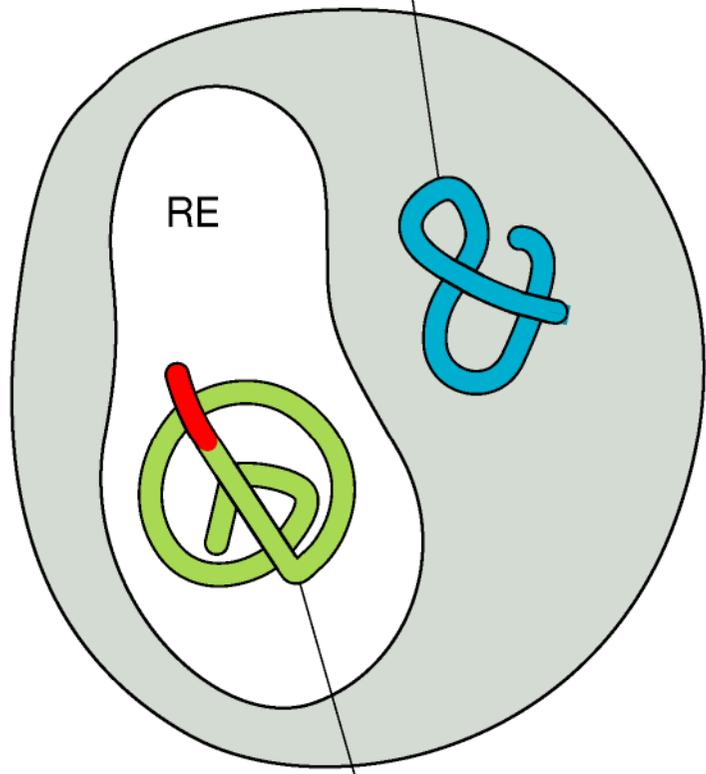
proteina RE      sequenza segnale  
per l'RE

(A) NORMALE

la sequenza segnale  
per l'RE  
viene attaccata  
alla proteina  
citosolica

→

proteina dell'RE cui è stata tolta  
la sequenza segnale



proteina citosolica con la sequenza  
segnale per l'RE

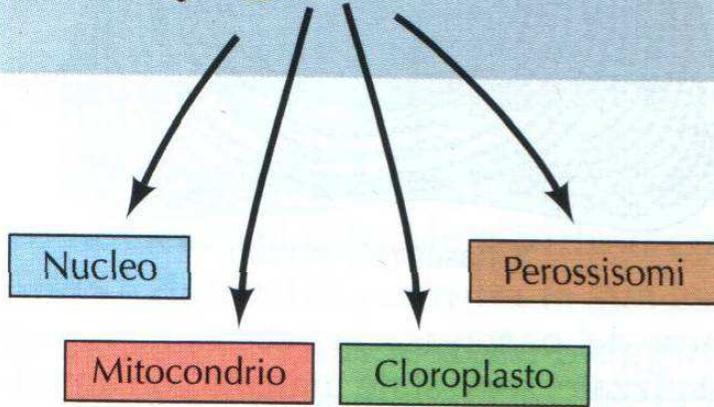
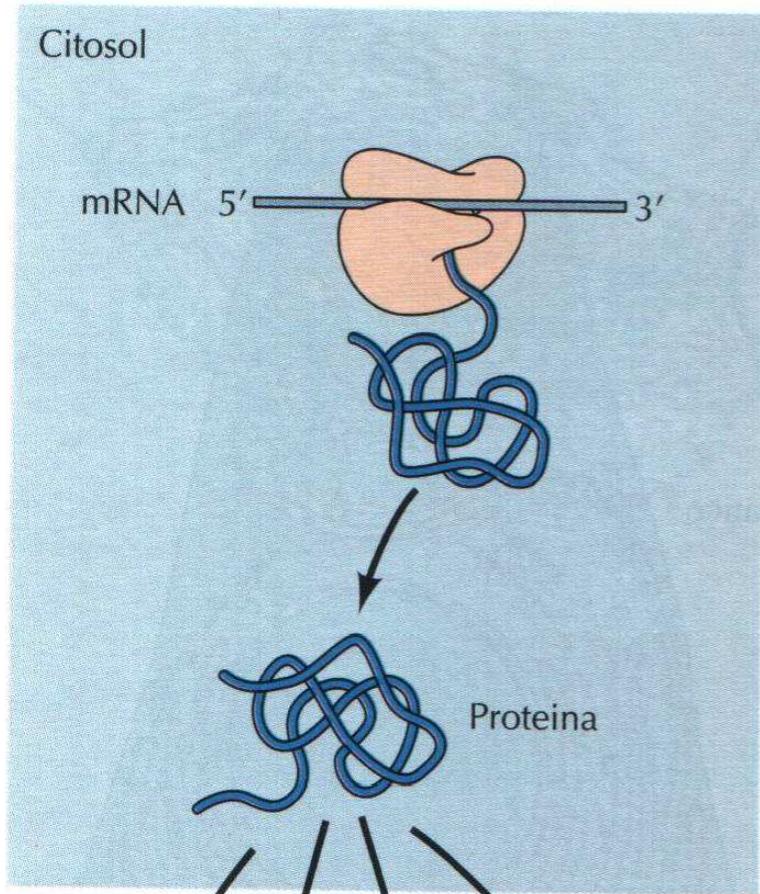
(B) SEQUENZE SEGNALE SCAMBIATE

La sintesi di **tutte** le proteine ha inizio sui ribosomi liberi, localizzati nel citoplasma.

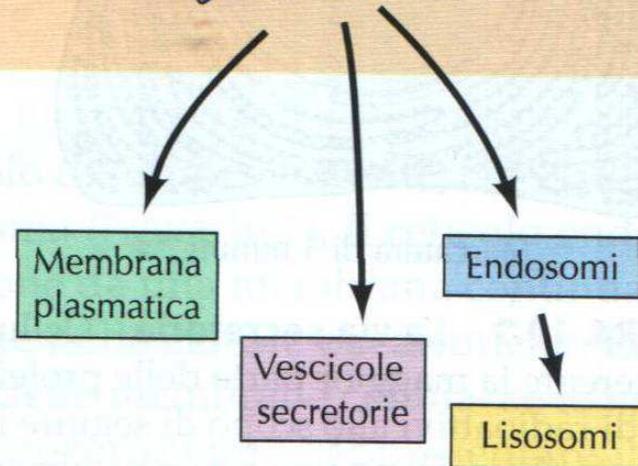
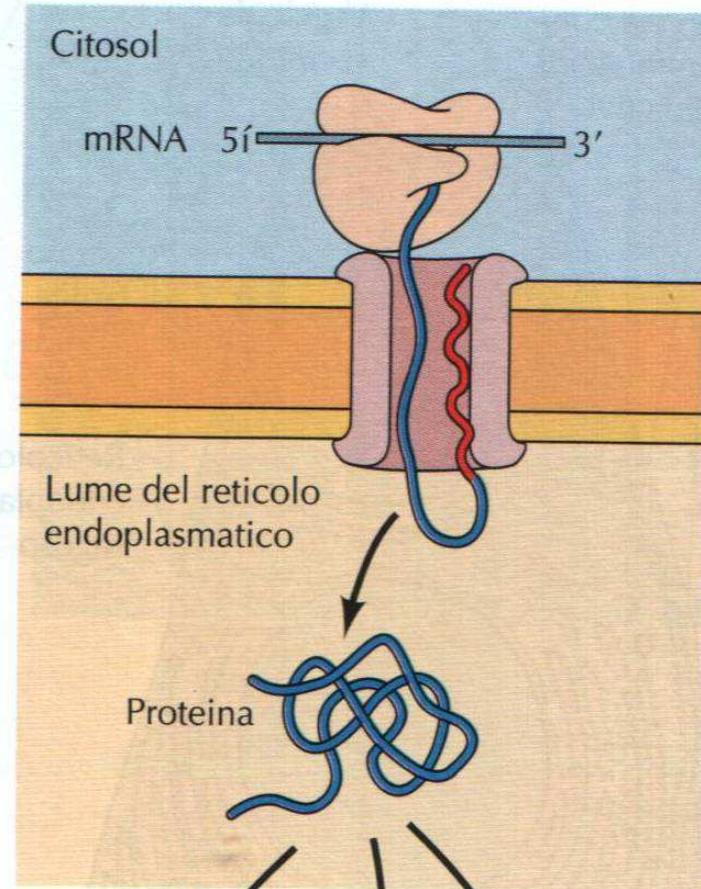
A seconda delle istruzioni contenute nella sequenza aminoacidica presente nel peptide in via di sintesi:

- Si completa la traduzione della proteina che viene poi liberata nel citoplasma
- Si interrompe la traduzione della proteina. La proteina migra nel reticolo endoplasmatico, dove la traduzione riprende

## Ribosomi liberi nel citosol



## Ribosomi legati alla membrana



Le proteine tradotte nel citoplasma posseggono delle **sequenze segnale** che sono riconosciute da proteine che, a loro volta interagiscono, con specifiche **proteine di attracco**, presenti sulla membrana esterna dell'organello appropriato:

- Nucleo
- Mitocondrio

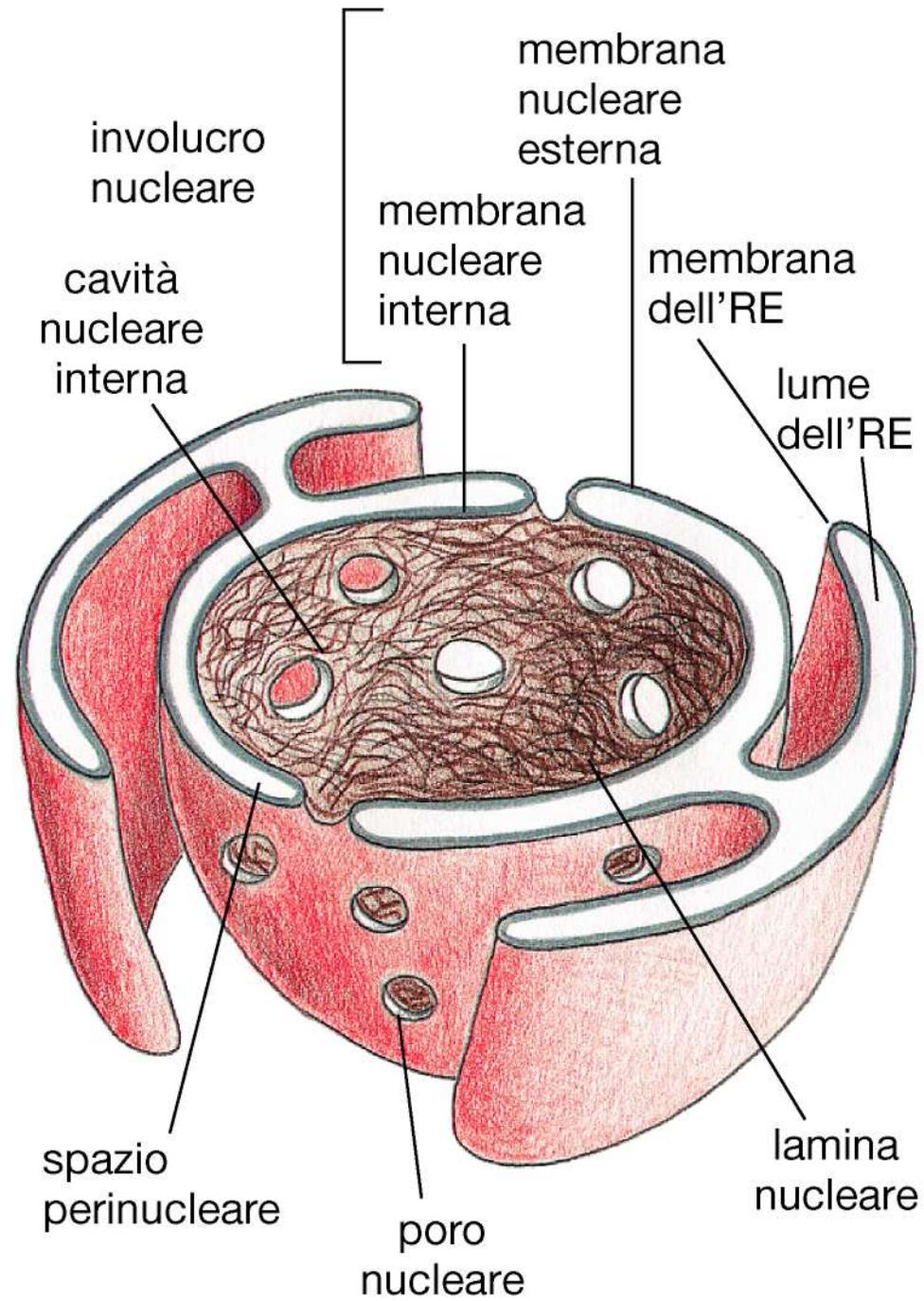
In assenza di una sequenza segnale, la proteina rimane nel citosol.

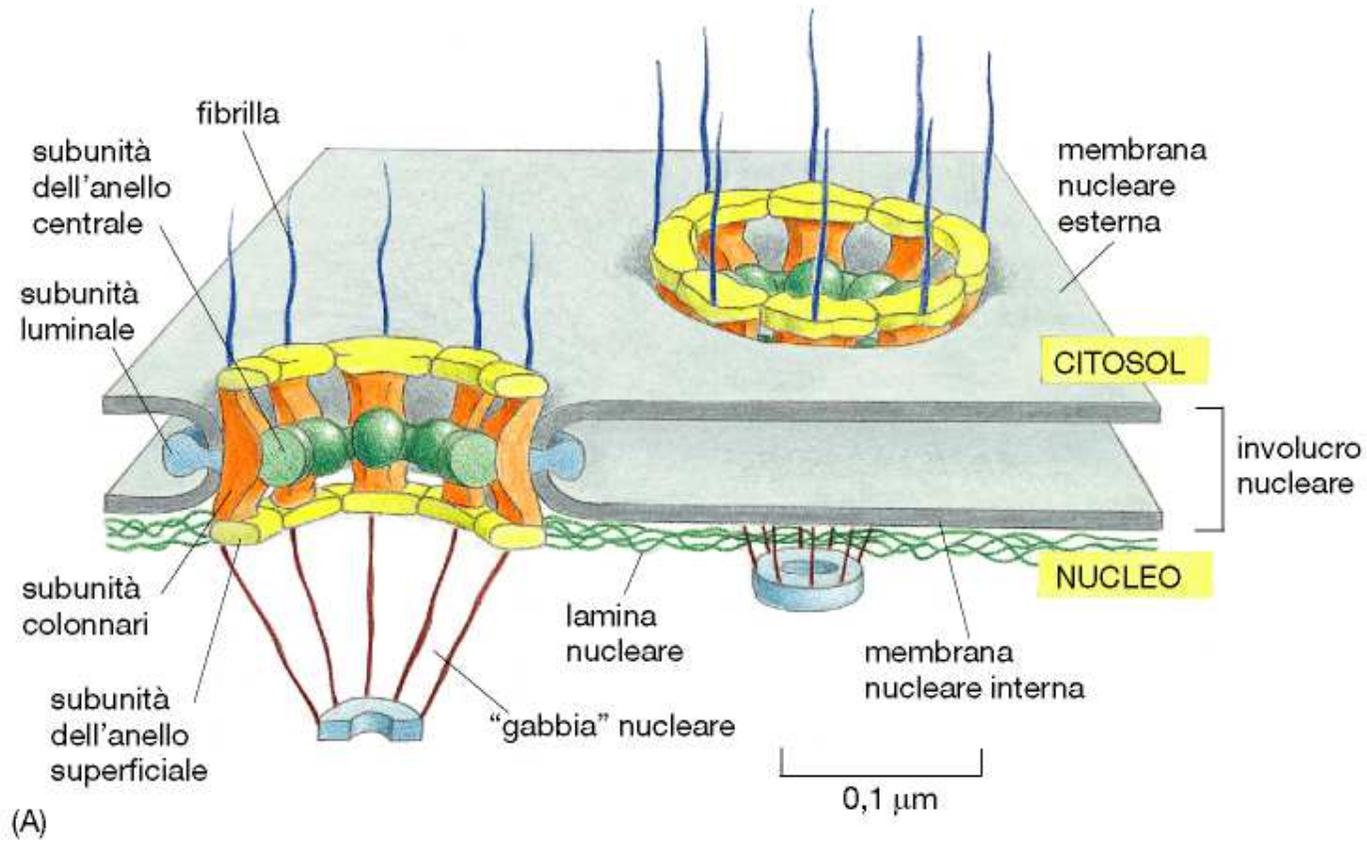
**Destinazione: Nucleo**

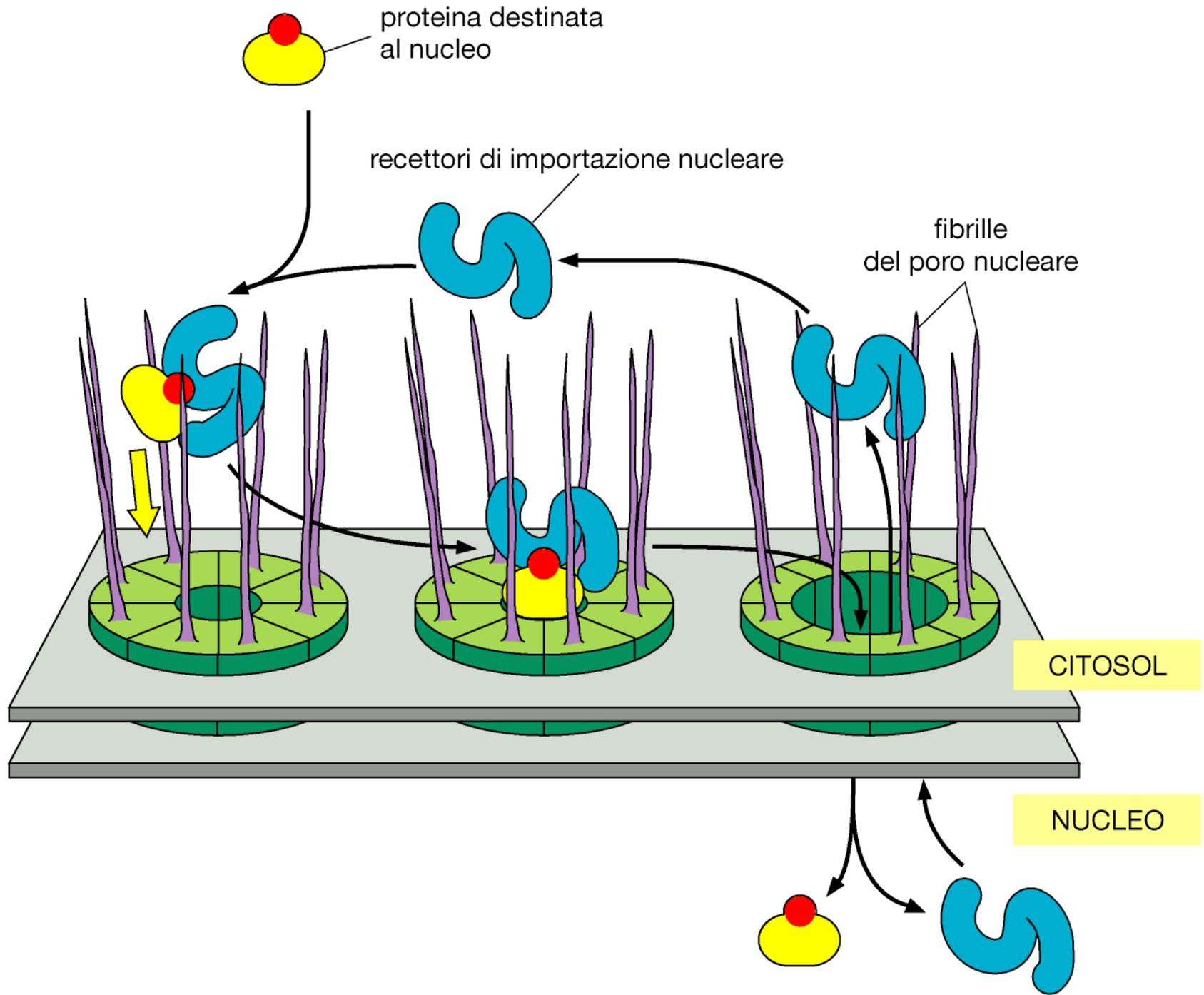
**Table 15–3 Some Typical Signal Sequences**

FUNCTION OF SIGNAL	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retention in lumen of ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-

Positively charged amino acids are shown in *red*, and negatively charged amino acids in *blue*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box. +H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus. The ER retention signal is commonly referred to by its single-letter amino acid abbreviation, KDEL.







I pori della membrana nucleare sono usati sia per importare nel nucleo (es: istoni, proteine ribosomali), sia per esportare dal nucleo (es: mRNA, subunità ribosomali).

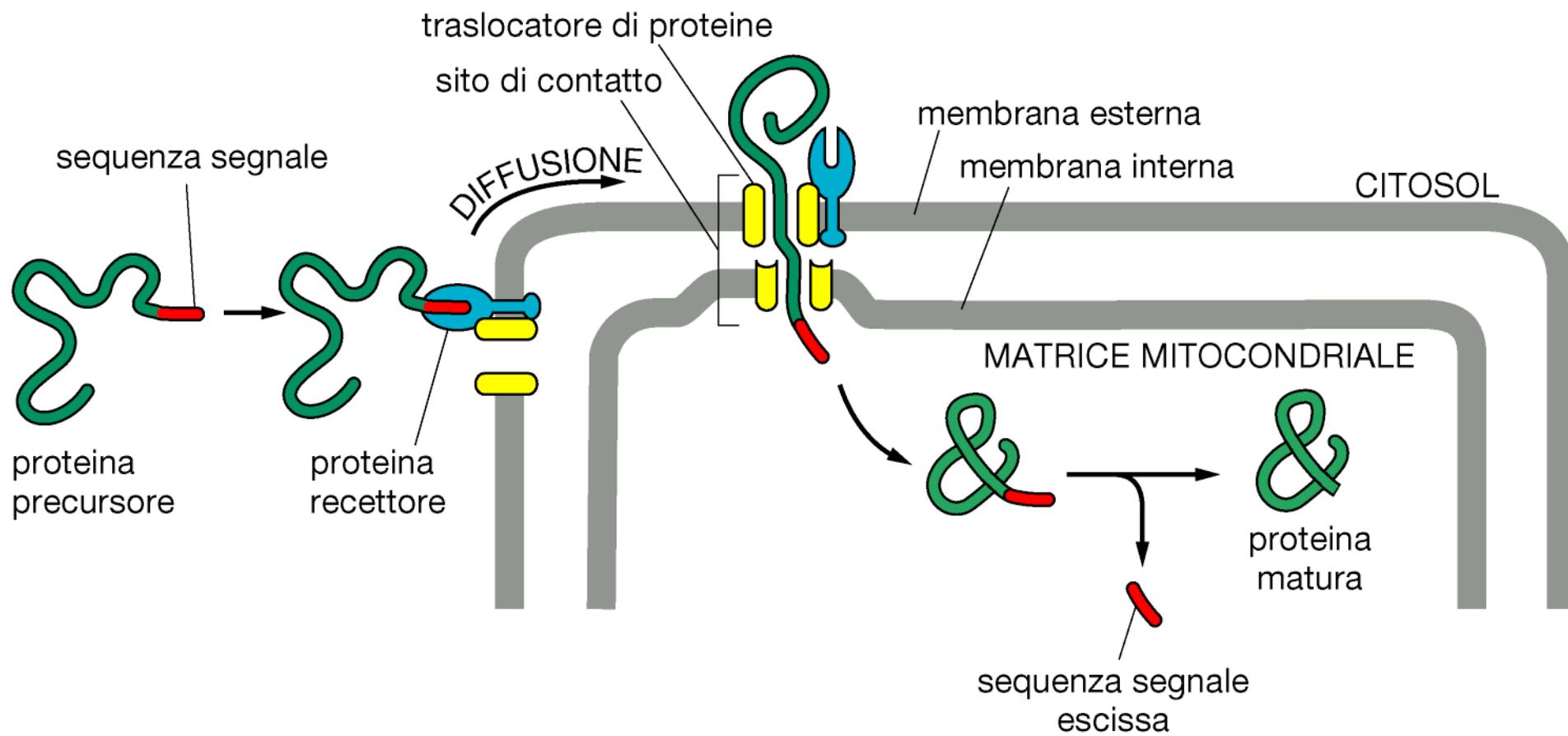
Le proteine sono trasportate mantenendo la loro configurazione tridimensionale.

**Destinazione: Mitocondrio**

**Table 15–3 Some Typical Signal Sequences**

FUNCTION OF SIGNAL	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retention in lumen of ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-

Positively charged amino acids are shown in *red*, and negatively charged amino acids in *blue*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box. +H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus. The ER retention signal is commonly referred to by its single-letter amino acid abbreviation, KDEL.



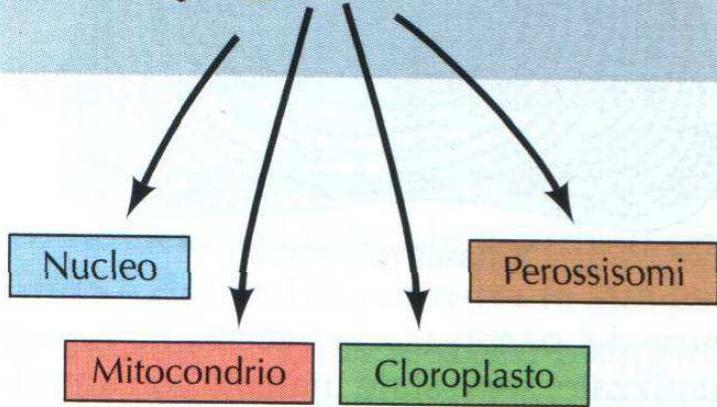
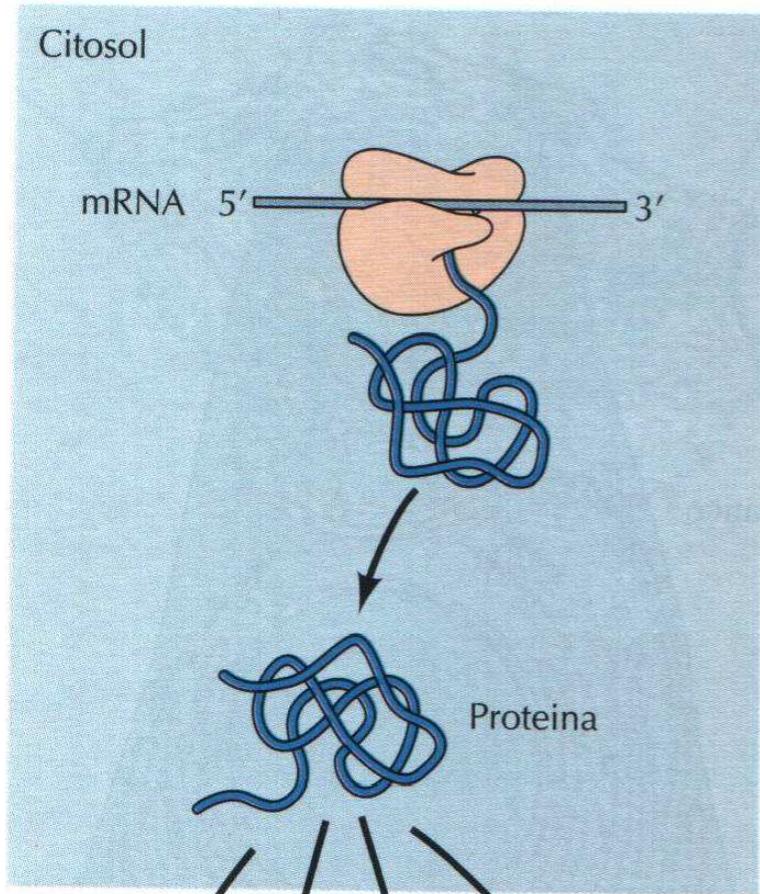
Le proteine dirette al mitocondrio presentano una sequenza segnale nella regione N-terminale.

Durante il trasporto, la proteina perde la conformazione.

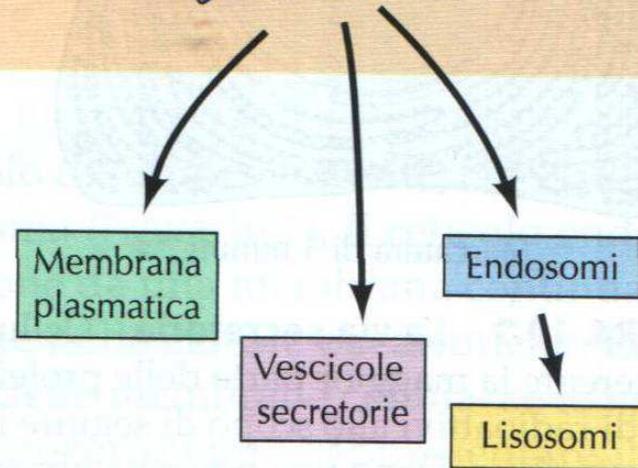
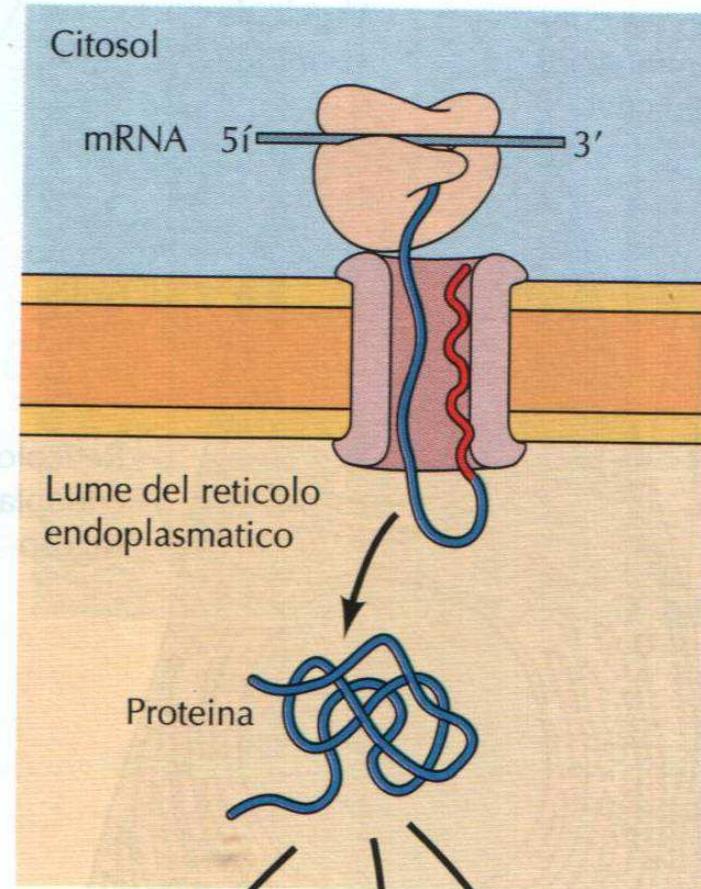
Particolari proteine, le **chaperonine**, aiutano le proteine a passare la doppia membrana e a far riassumere la loro conformazione.

La sequenza segnale, dopo la avvenuta traslocazione, viene di solito tagliata.

## Ribosomi liberi nel citosol



## Ribosomi legati alla membrana

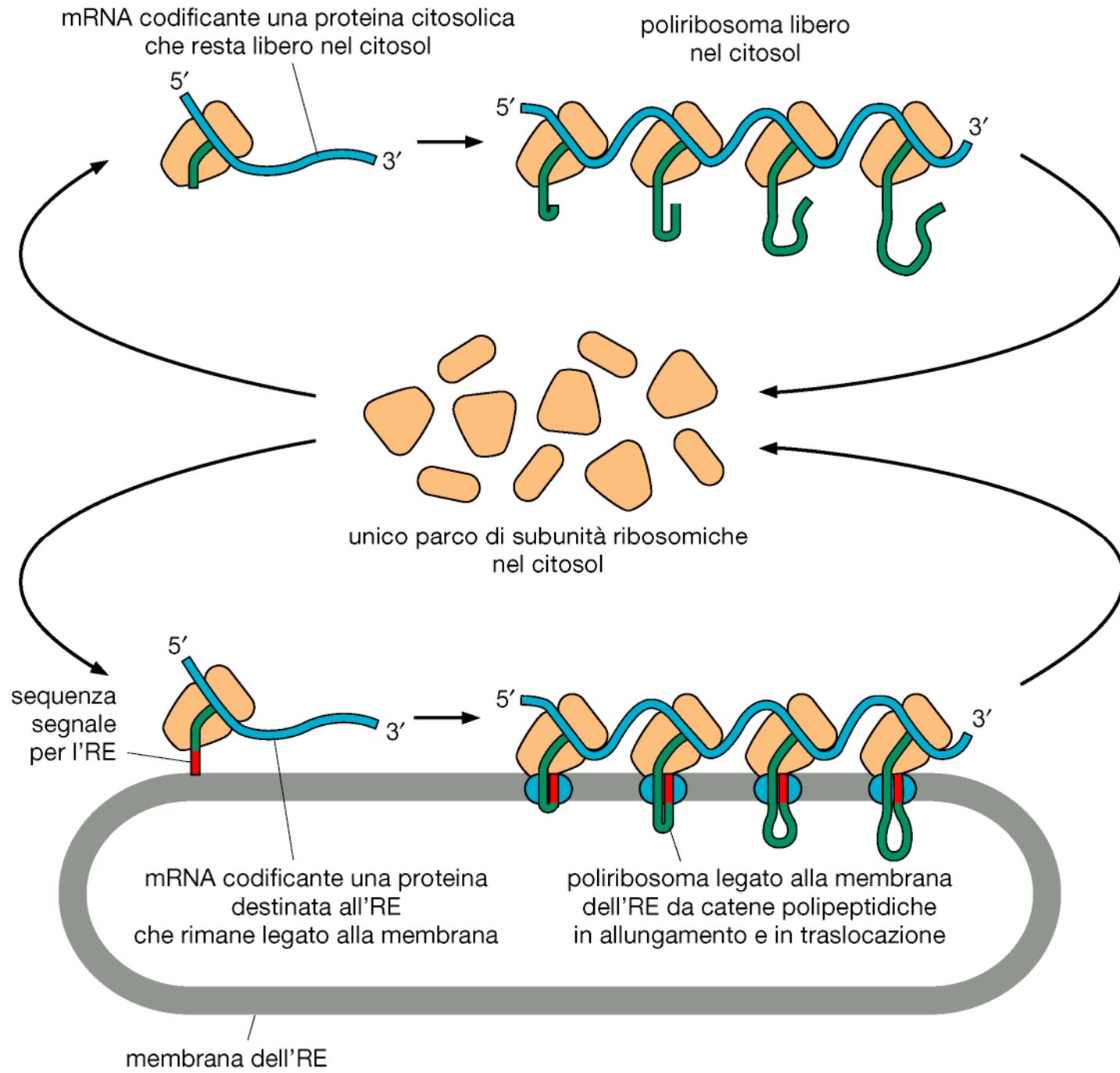


**Destinazione: Reticolo  
Endoplasmatico**

**Table 15–3 Some Typical Signal Sequences**

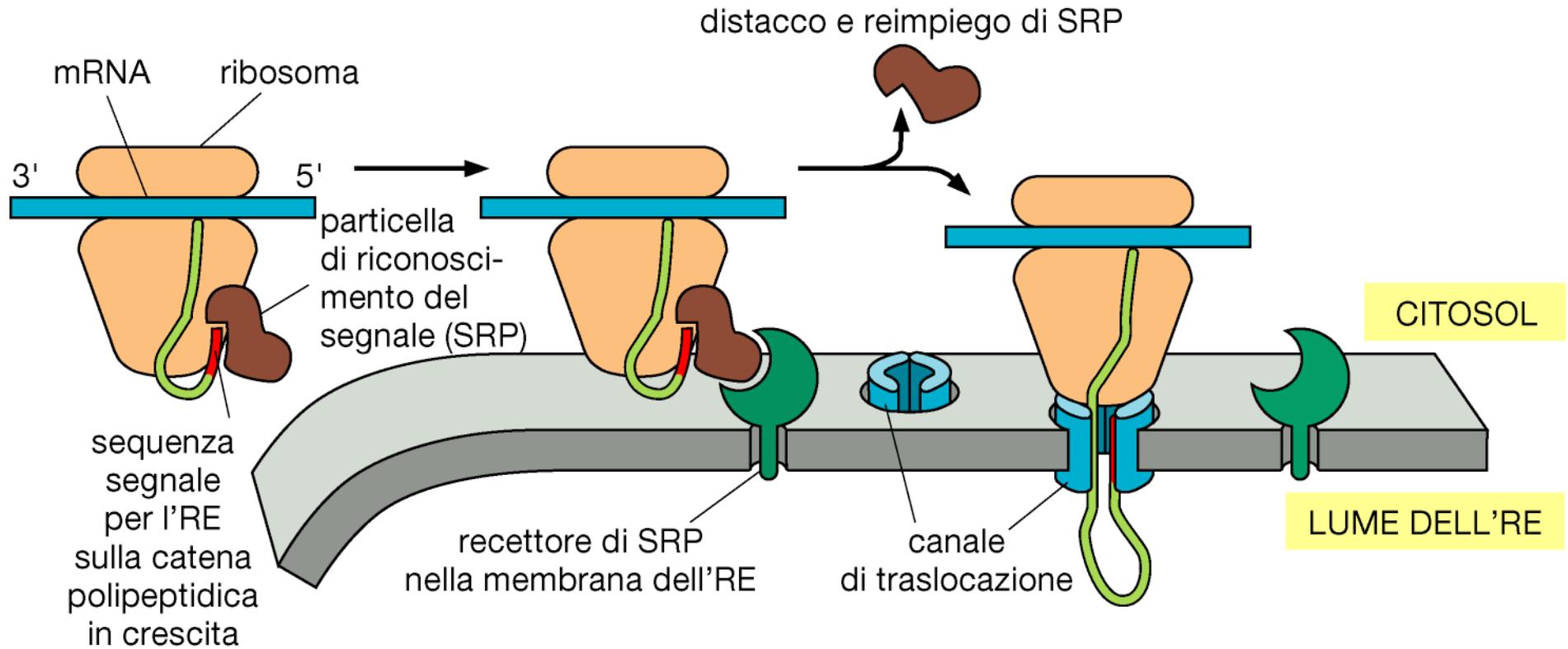
FUNCTION OF SIGNAL	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retention in lumen of ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-

Positively charged amino acids are shown in *red*, and negatively charged amino acids in *blue*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box. +H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus. The ER retention signal is commonly referred to by its single-letter amino acid abbreviation, KDEL.

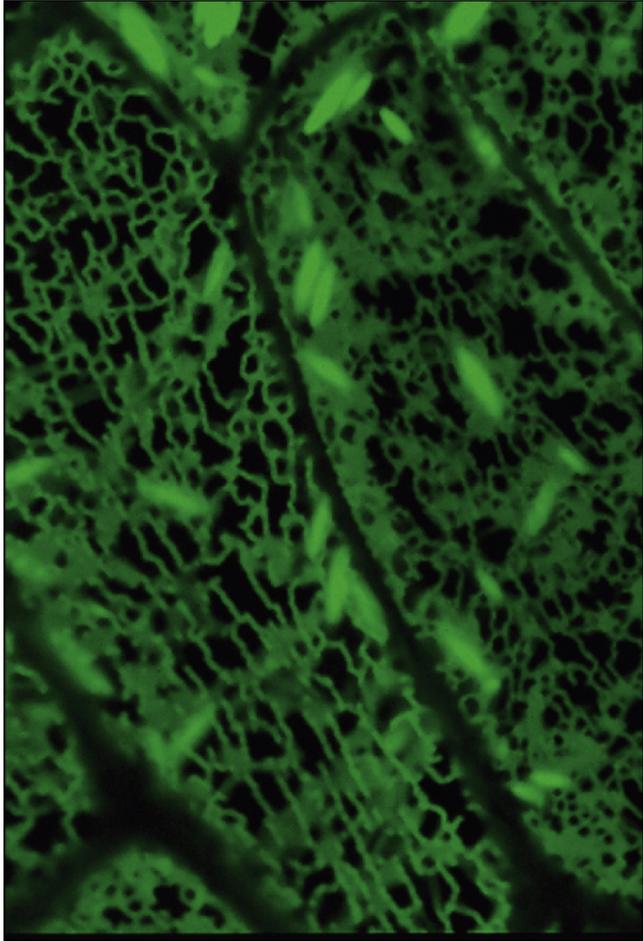


Le proteine si associano al RE grazie a due componenti:

- Una particella che riconosce il segnale (SRP), localizzata nel citosol
- Un recettore, localizzato sulla membrana del RE, che riconosce la particella SRP

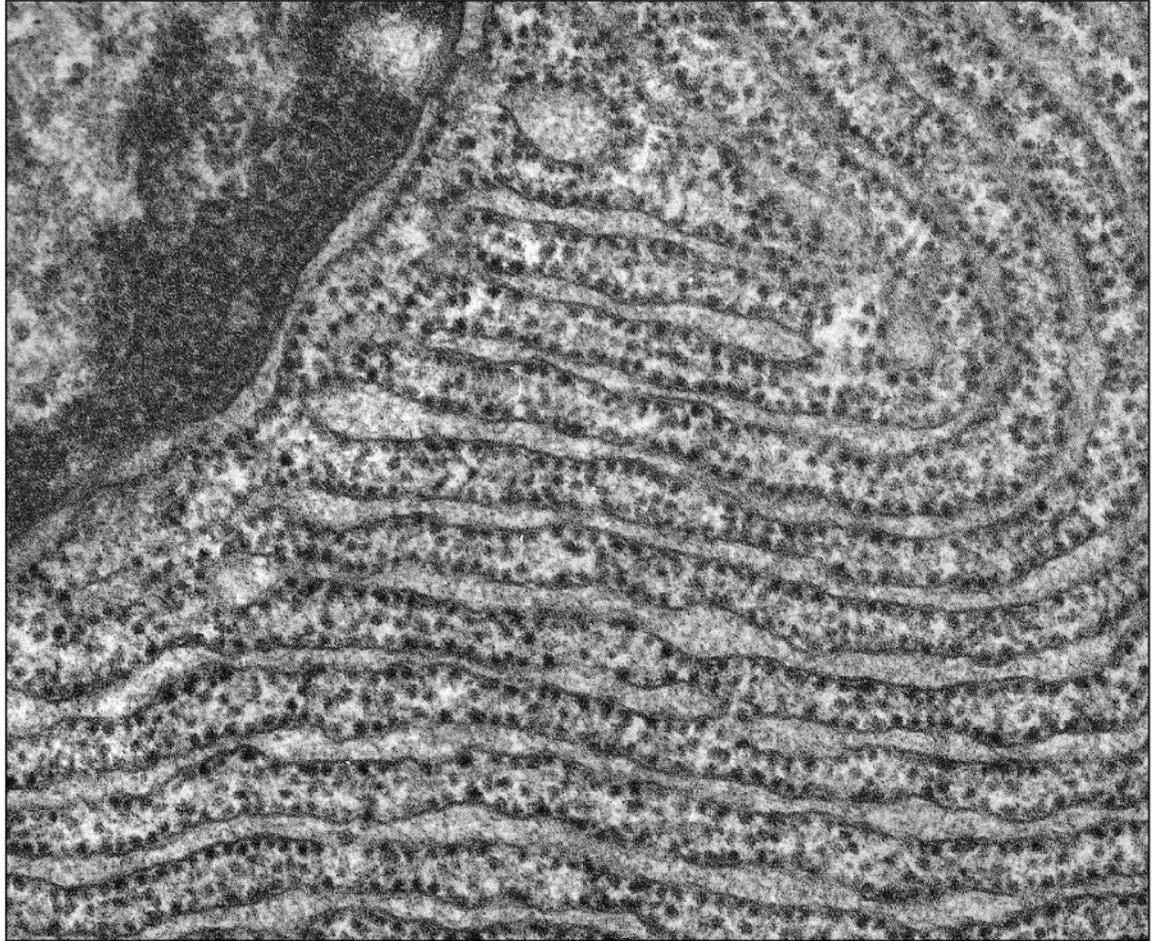


Il legame tra SRP e sequenza segnale causa il momentaneo arresto della sintesi della proteina. Dopo il legame, SRP viene rilasciata e la sintesi riprende.



(A)

10 μm

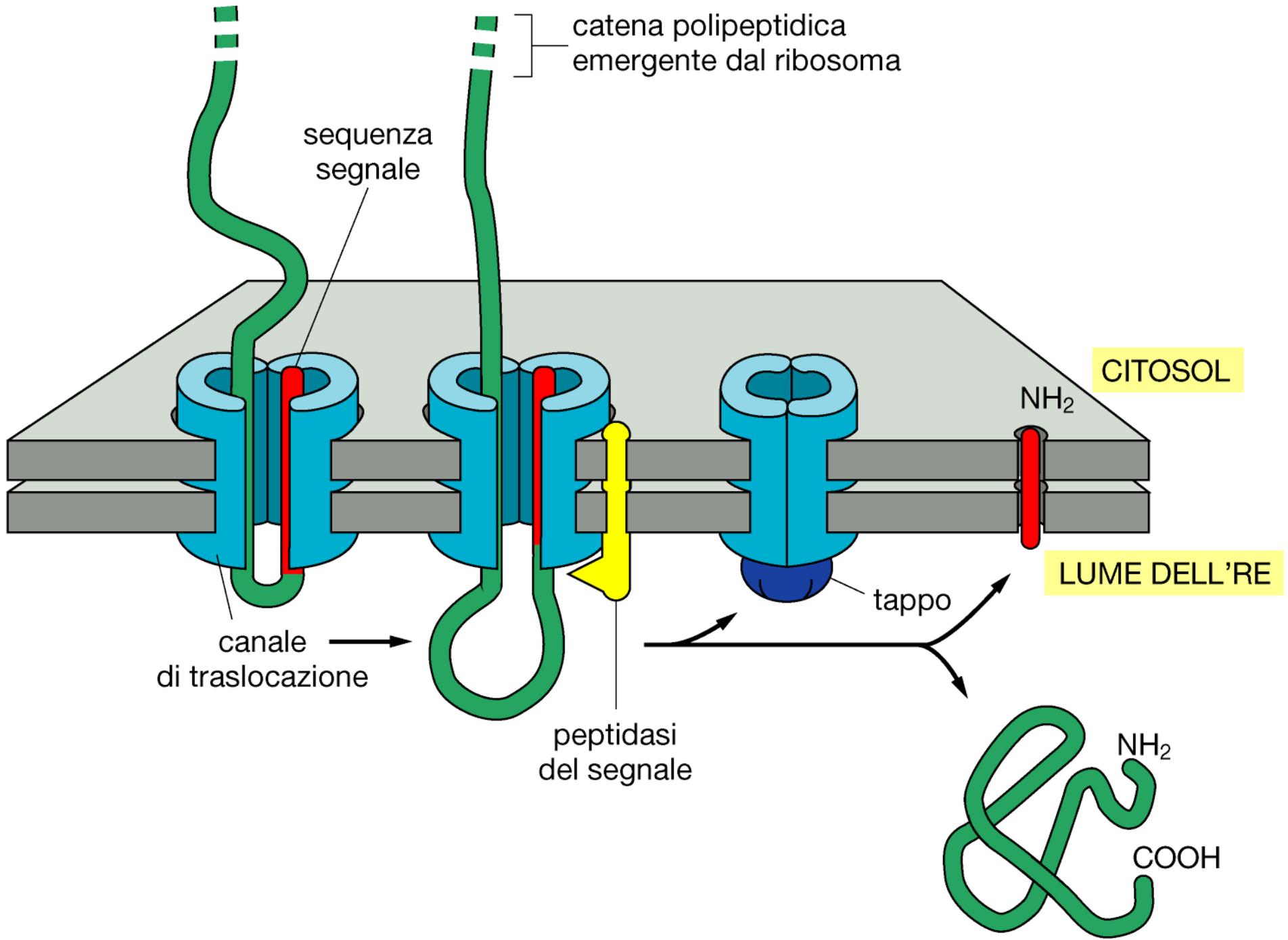


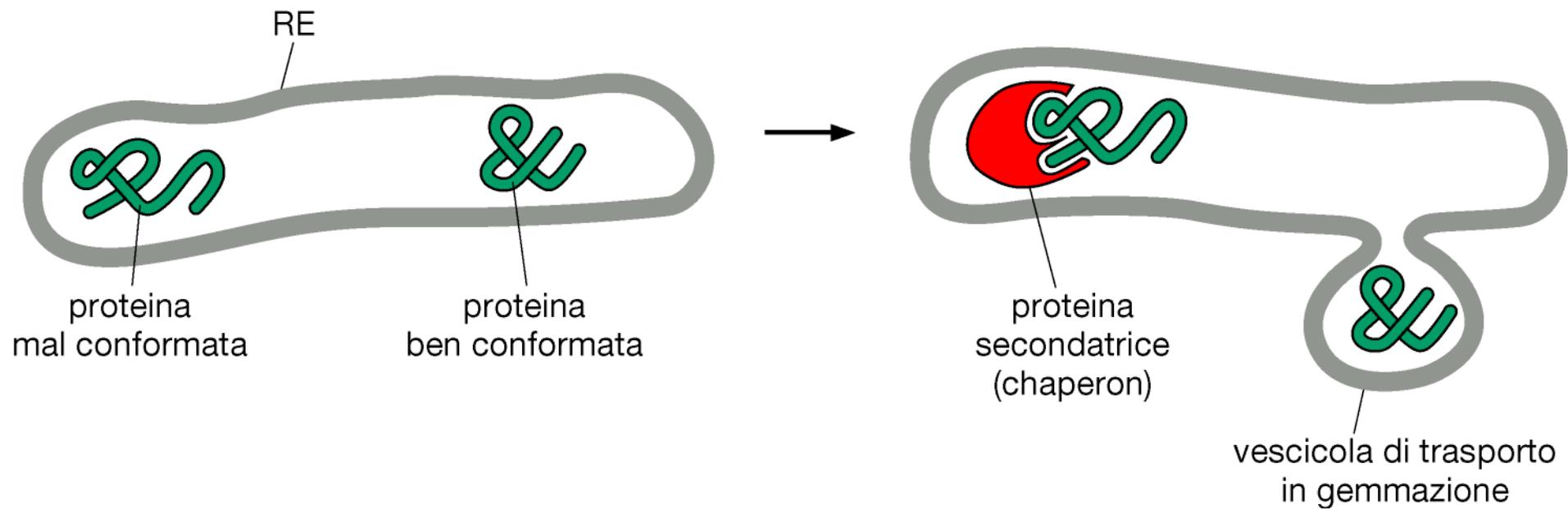
(B)

200 nm

Due tipi di proteine sono trasferite dal citosol al RE:

- Proteine che vengono rilasciate nel lume
- Proteine che rimangono nella membrana del RE





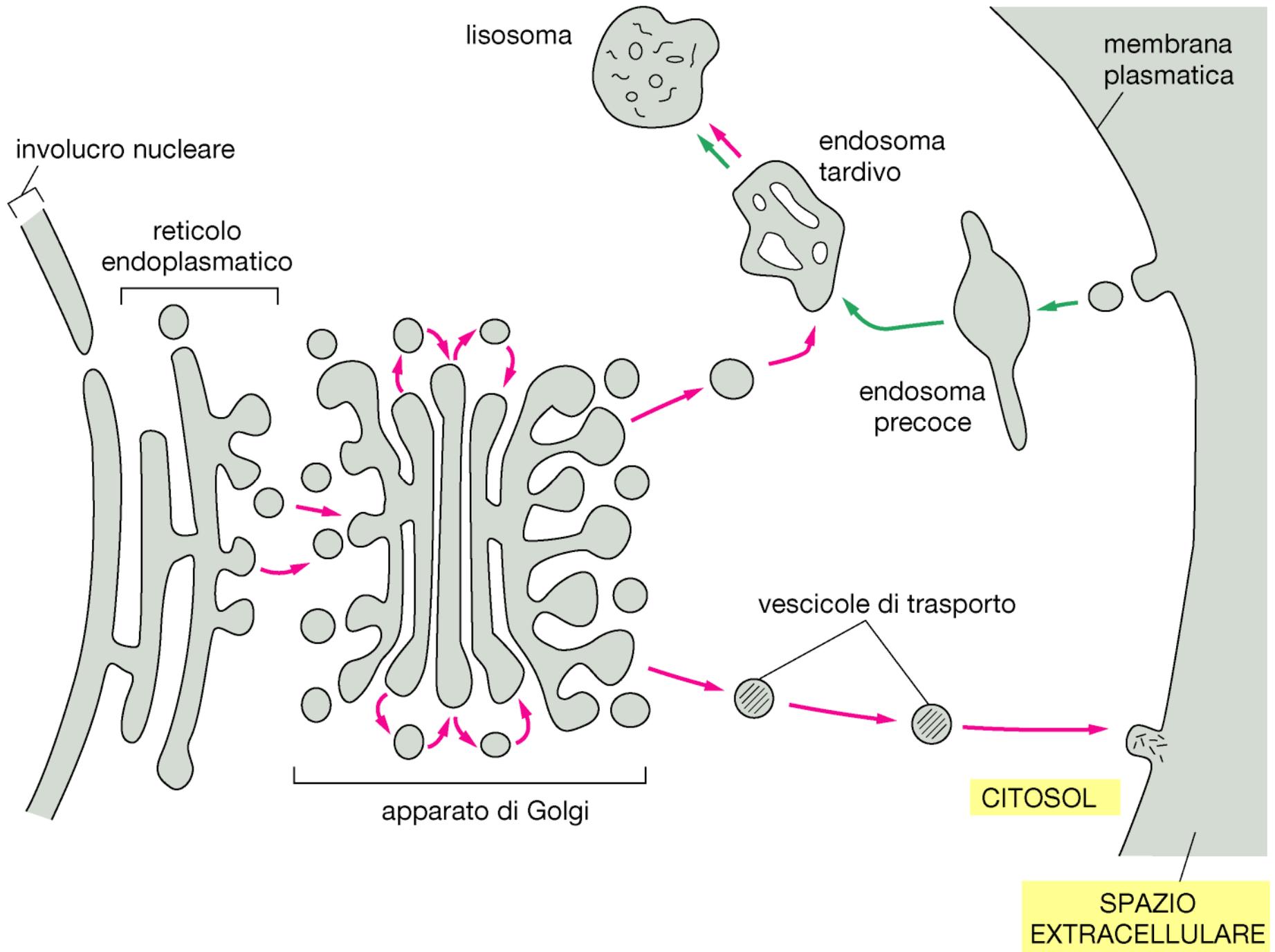
Molte proteine subiscono modificazioni (post-traduzionali) nel RE. Esempi di modificazioni sono:

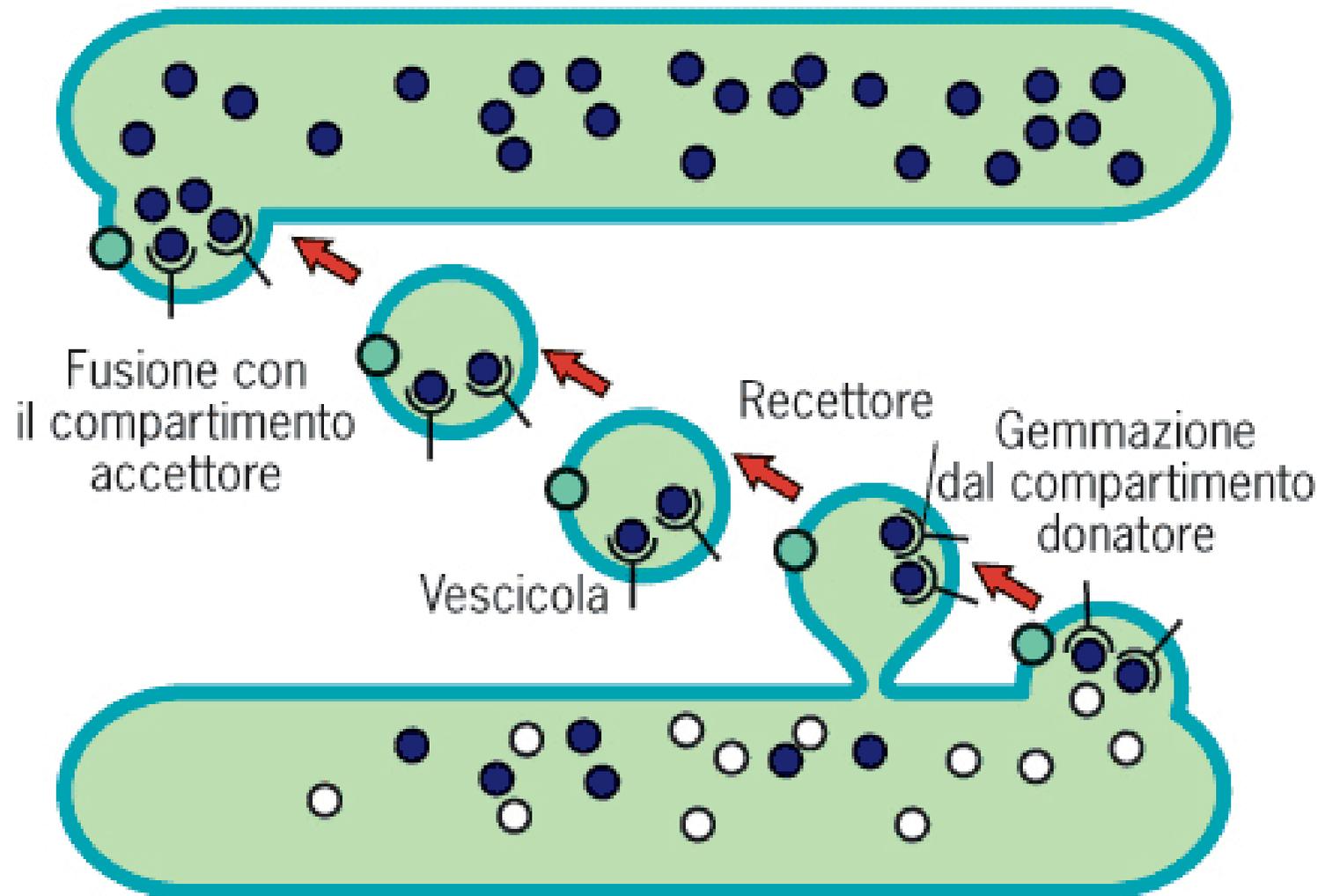
- Formazione di ponti di-zolfo
- Glicosilazione



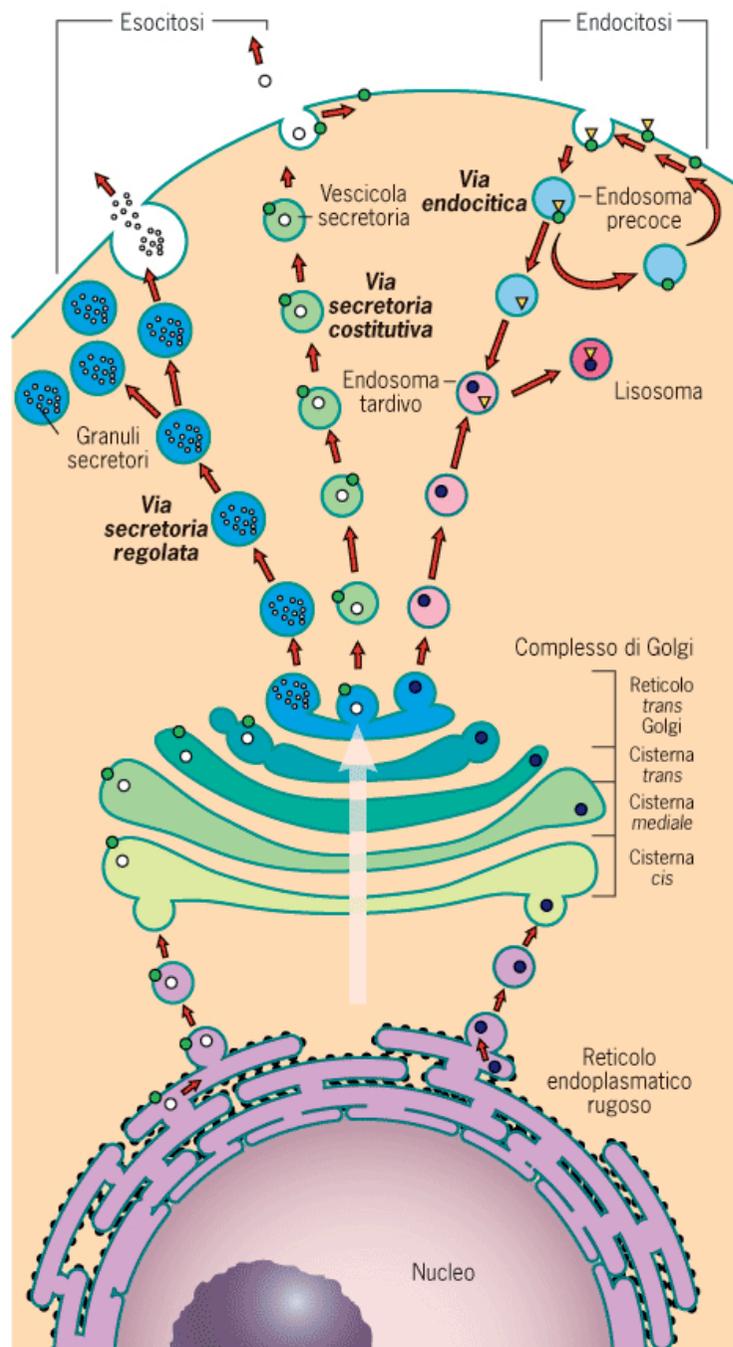
Alcune proteine sintetizzate nel RE vi rimangono e svolgono lì le loro funzioni.

Molte proteine invece hanno altre destinazioni. Queste vengono trasportate, tramite vescicole di trasporto, all'apparato del Golgi.



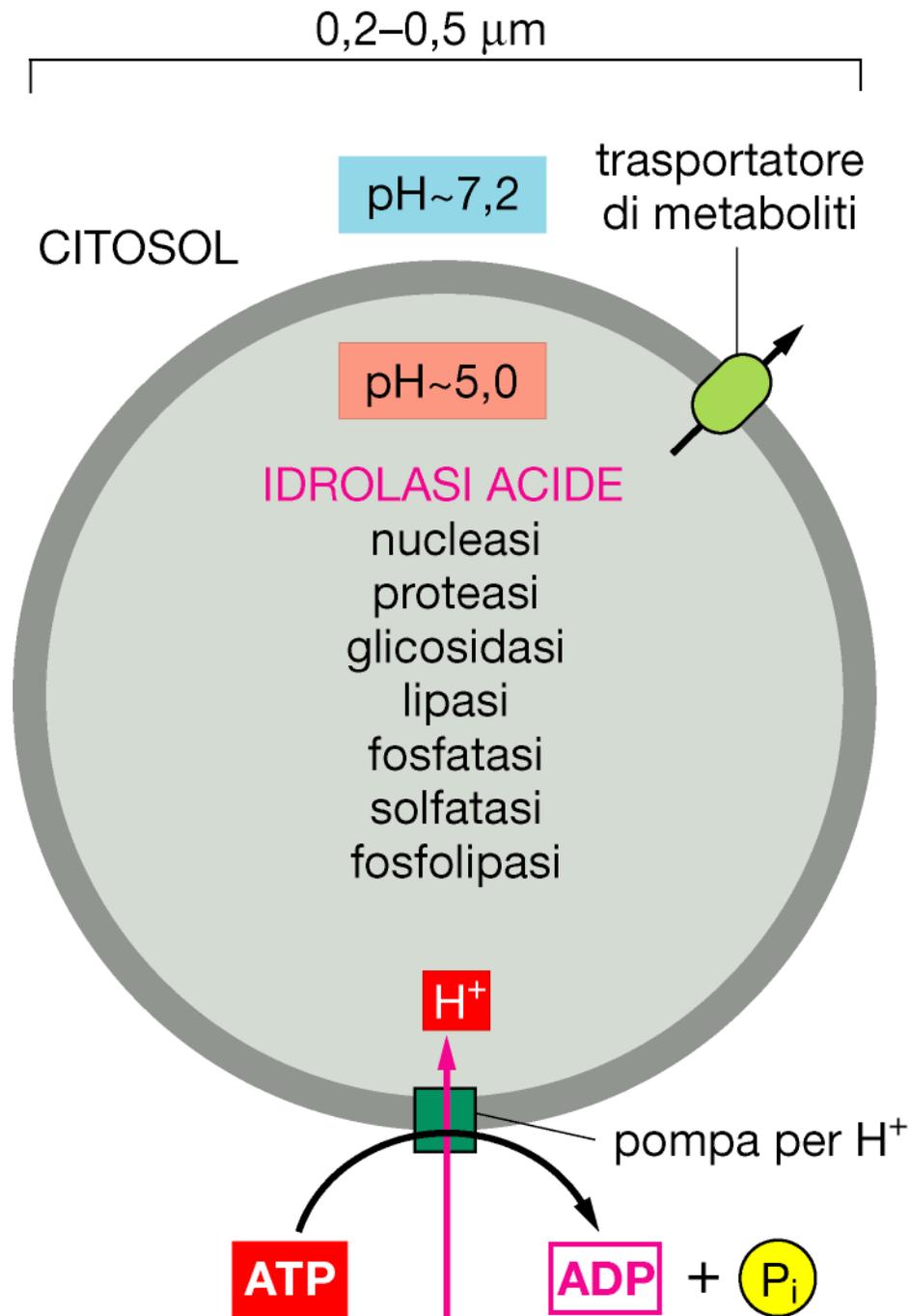


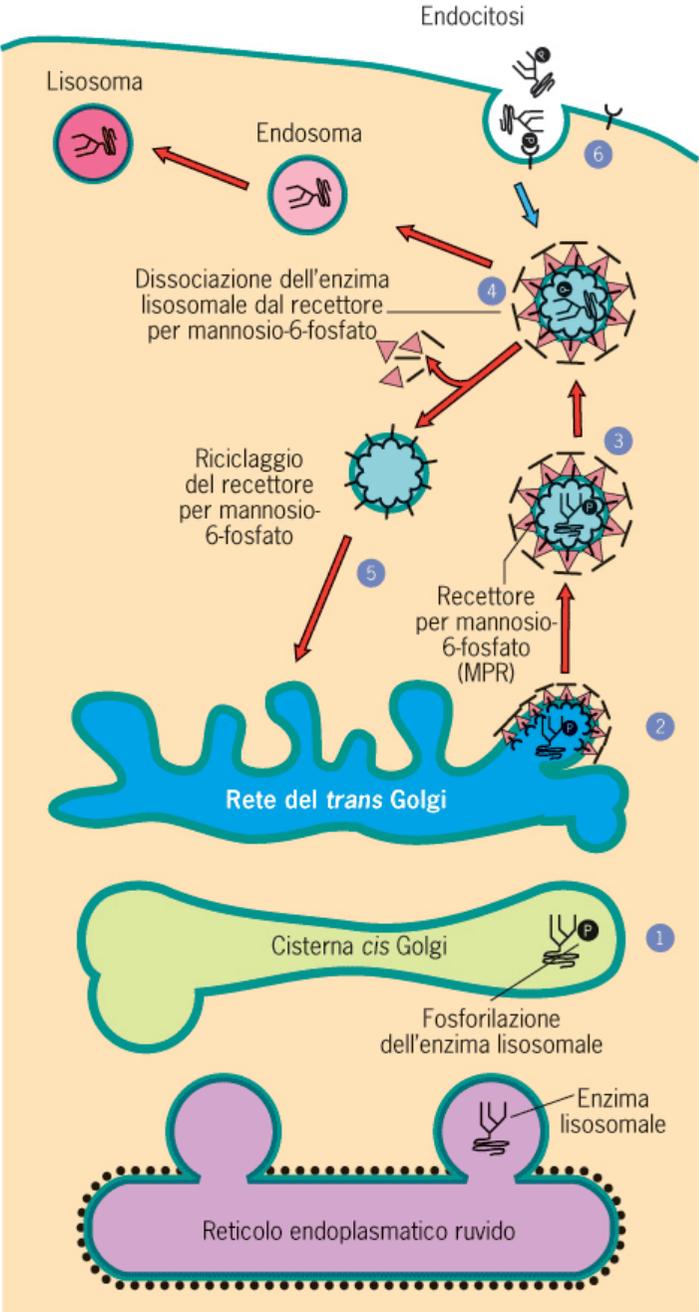
(a)

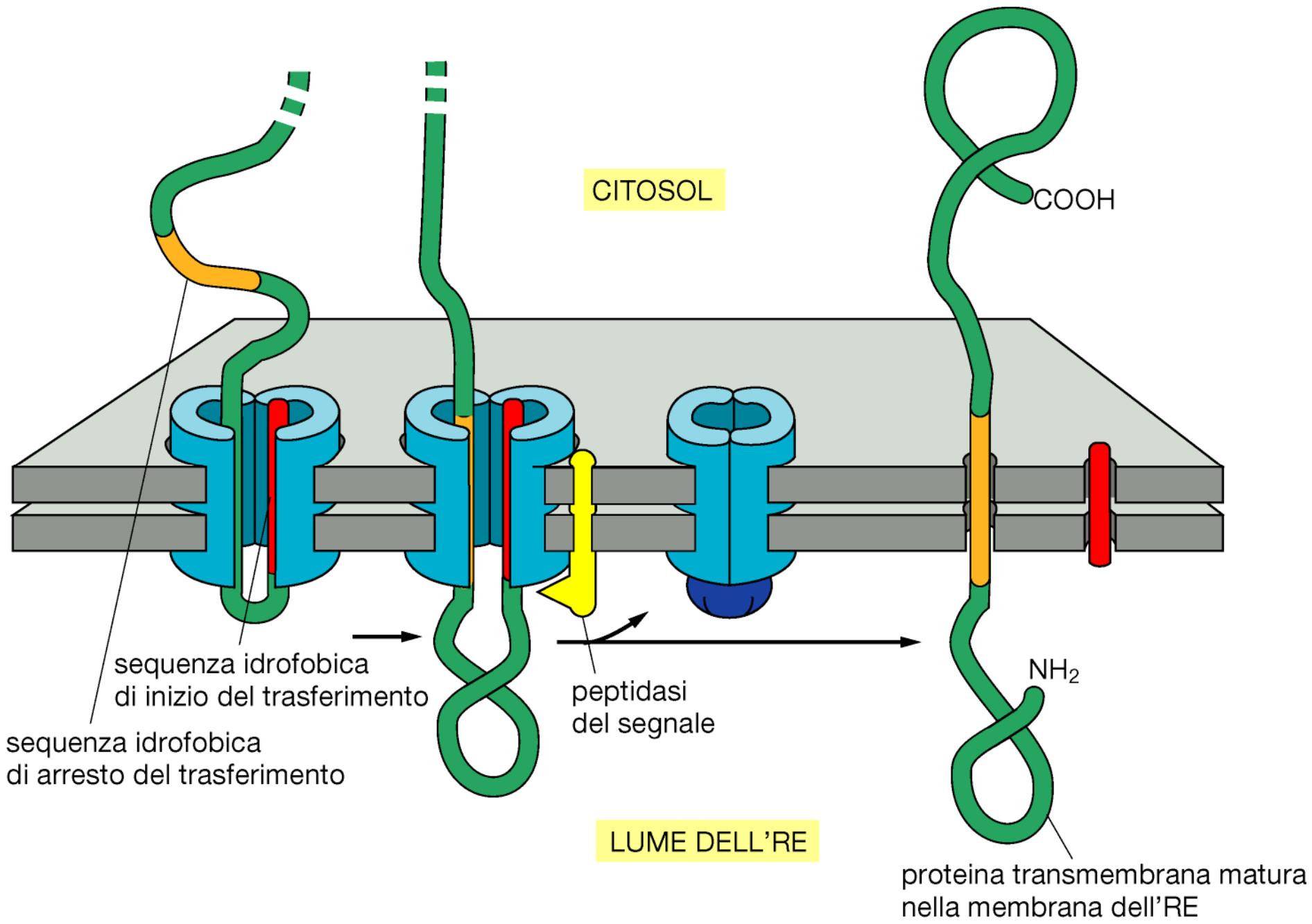


Gli enzimi digestivi e le proteine di membrana dei lisosomi sono sintetizzati nel RE e trasportati al Golgi.

Gli enzimi ricevono una ulteriore modifica: aggiunta di **mannosio 6 fosfato**. Questo segnale, riconosciuto da uno specifico recettore, consente agli enzimi di essere impacchettati in vescicole di trasporto che versano il contenuto nei lisosomi.



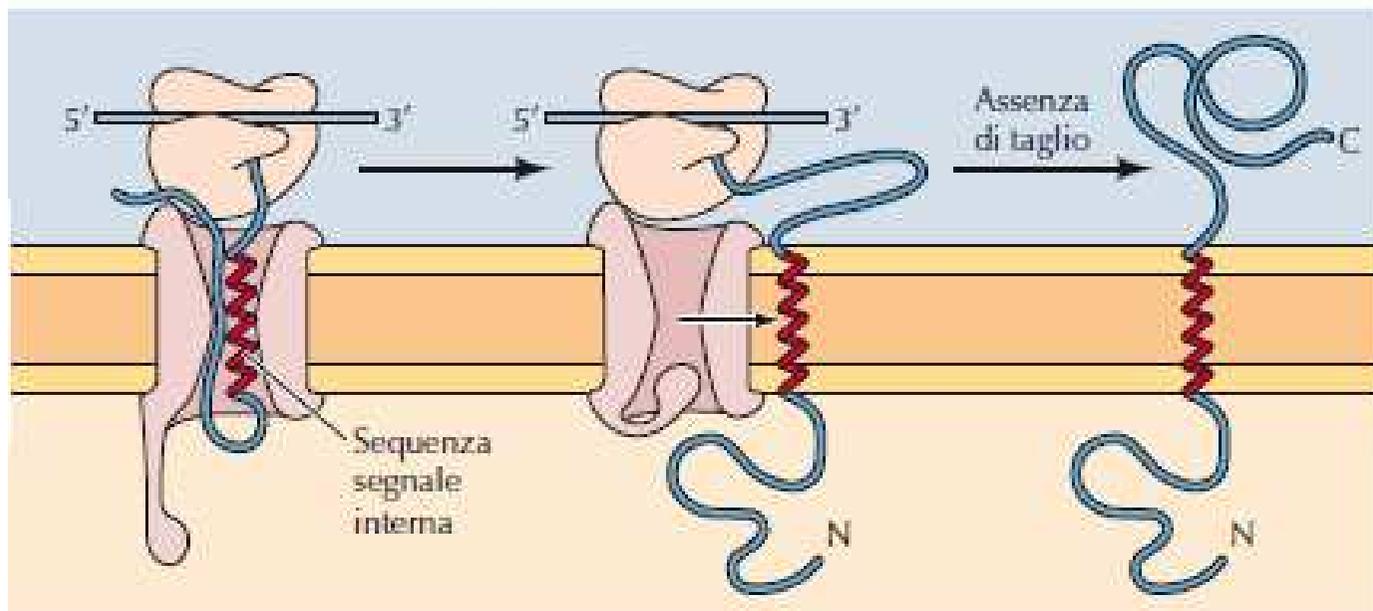
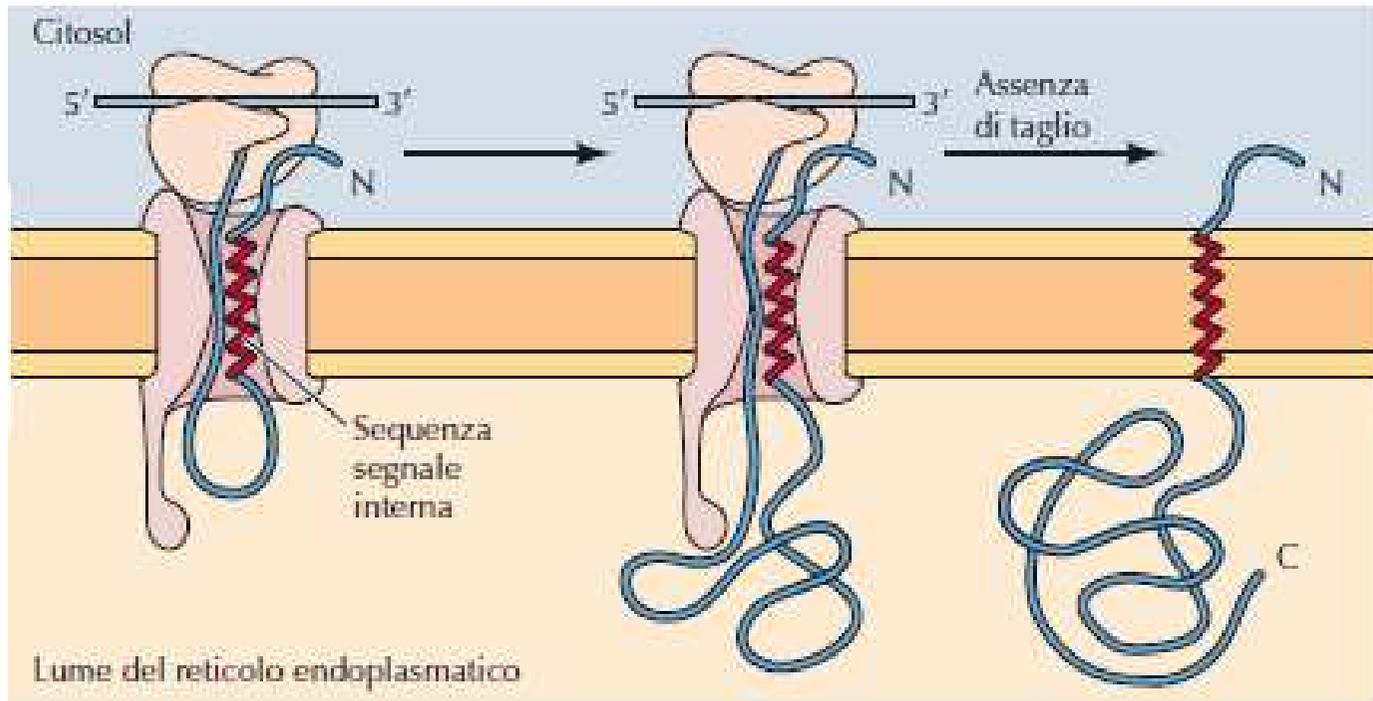


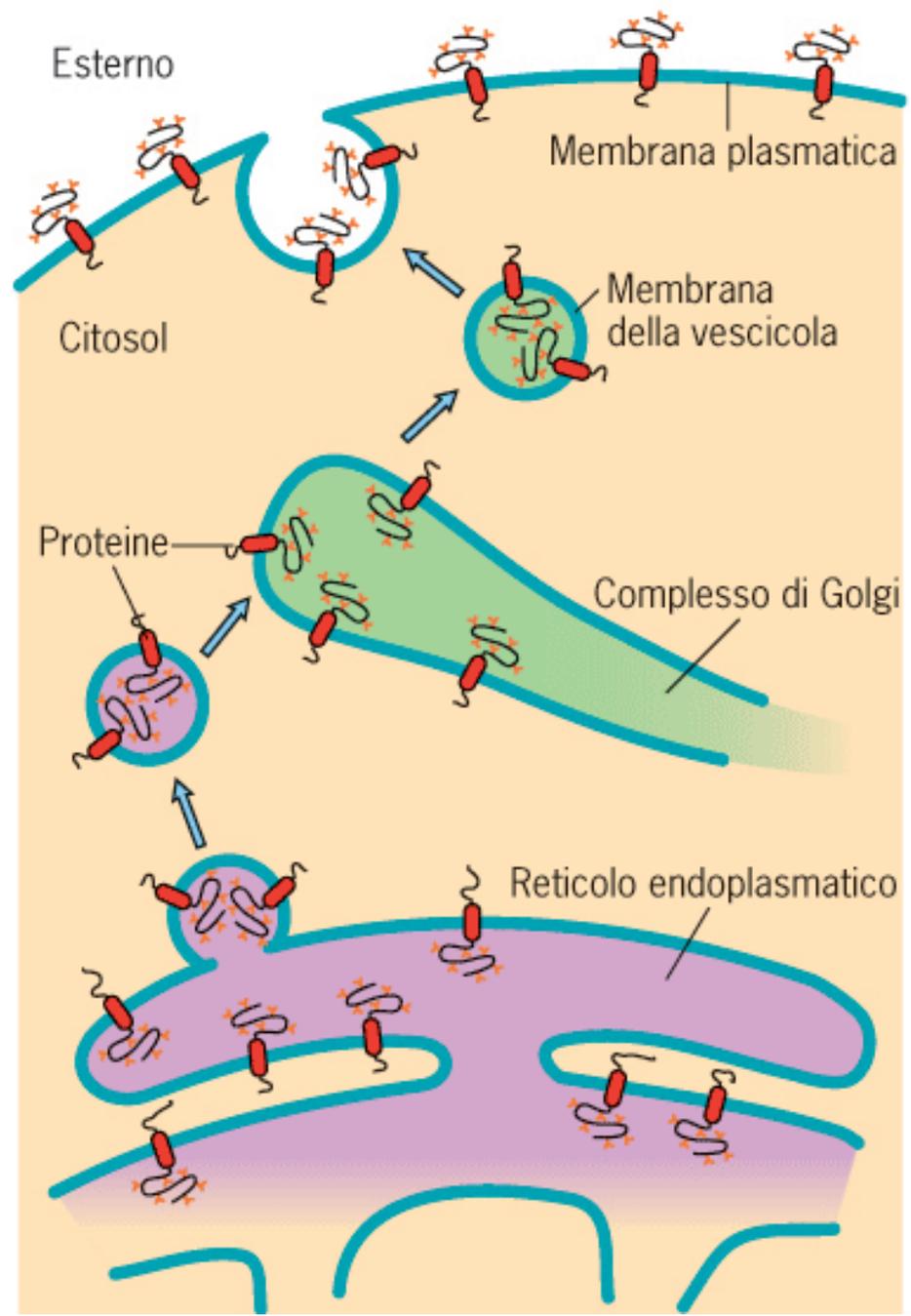


Nelle proteine trans-membrana che attraversano la membrana una volta sola la sequenza segnale, localizzata al N-terminale, comincia la traslocazione.

Un'altra sequenza di aminoacidi idrofobici funziona da segnale di stop per la traslocazione. Tale sequenza si troverà nello strato fosfolipidico.

Dopo il taglio della sequenza segnale, la proteina si troverà con un preciso orientamento: l'estremità  $\text{NH}_2$  nel lume e l'estremità  $\text{COOH}$  nel citosol.





Nelle proteine trans-membrana che attraversano la membrana più volte, la sequenza segnale, localizzata all'interno, comincia la traslocazione.

La traslocazione si arresta quando si raggiunge una sequenza idrofobica che funge da segnale di stop per la traslocazione.

Più coppie di sequenze di start e di stop della traslocazione spiegano le proteine multipass.

