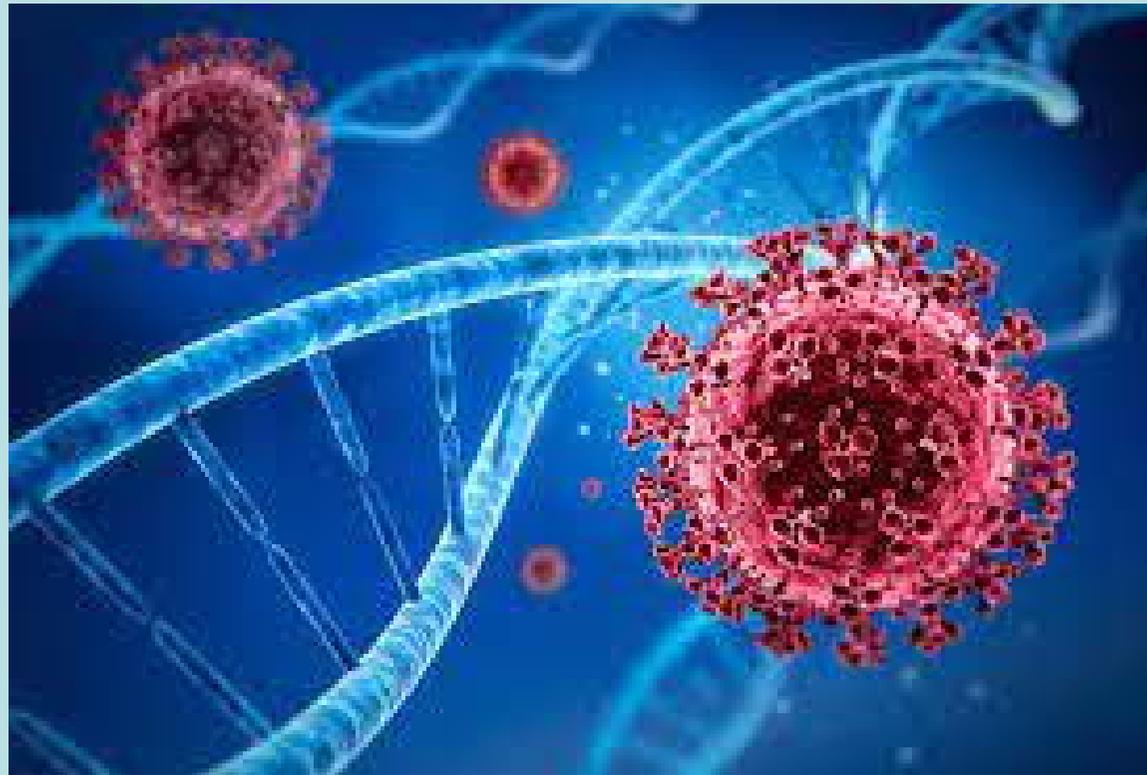


# Genetica 5

Cosa c'è di nuovo in genetica?



Rita Dougan 2022

Si possono ringiovanire le  
cellule?

# Ringiovanire le cellule

Il processo richiede la conoscenza di:

meccanismi epigenetici

orologi biologici

fattori di trascrizione

# Epigenetica

L'epigenetica si riferisce ai cambiamenti che influenzano il fenotipo senza alterare il genotipo.

Permette interpretazioni diverse del codice genetico, letture diverse a seconda delle condizioni.

# Epigenetica

E' lo studio delle modificazioni chimiche che influiscono su:

- accensione e spegnimento dei geni
- anziché sulla successione delle loro lettere

# Modificazioni epigenetiche

Le **modificazioni epigenetiche** sono dovute all'interazione dell'individuo con l'ambiente che lo circonda, compresi per esempio i suoi stili di vita e la sua alimentazione

# Meccanismi epigenetici

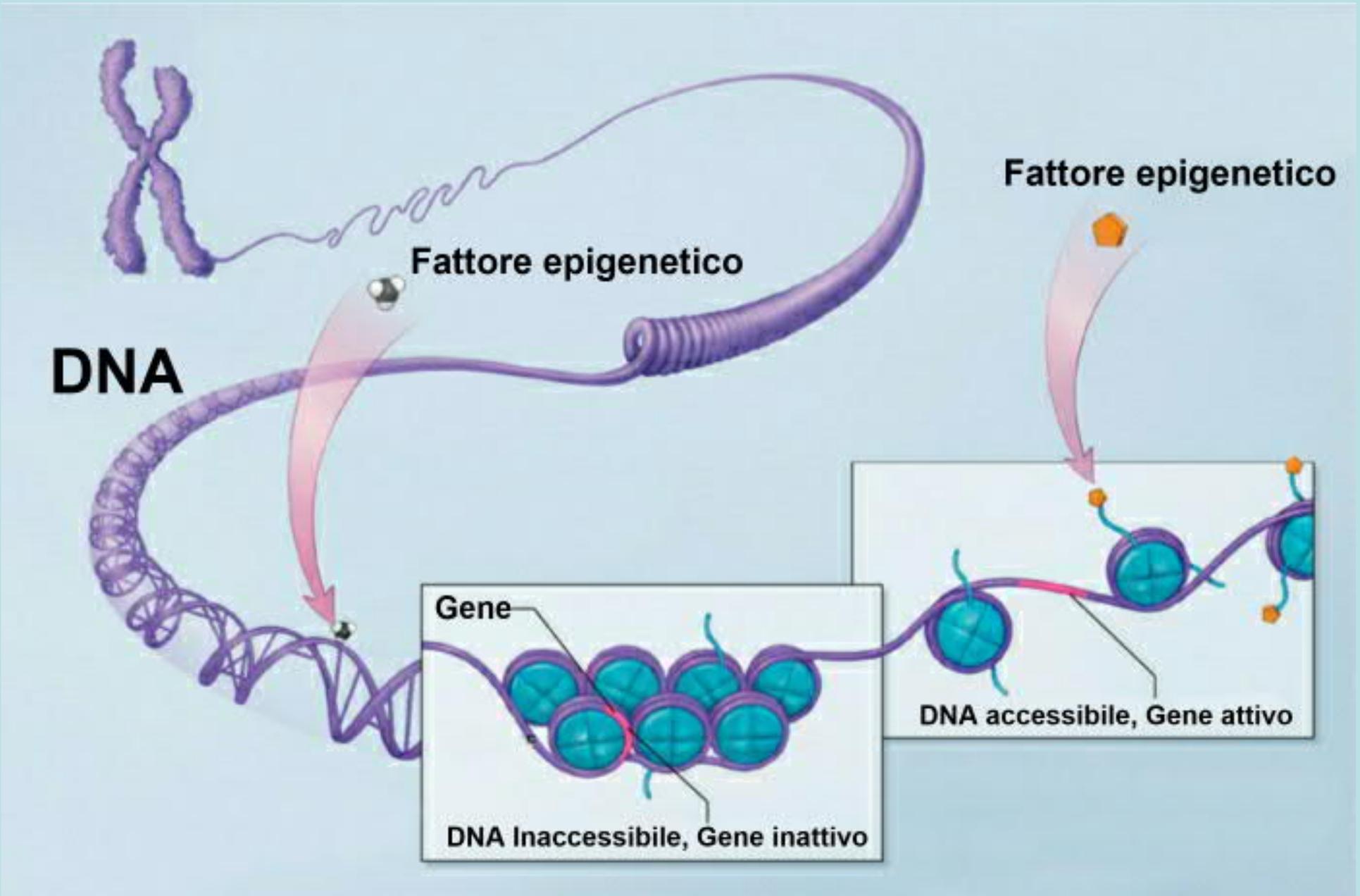
I meccanismi epigenetici responsabili dell'espressione genica agiscono attraverso modificazioni istoniche:

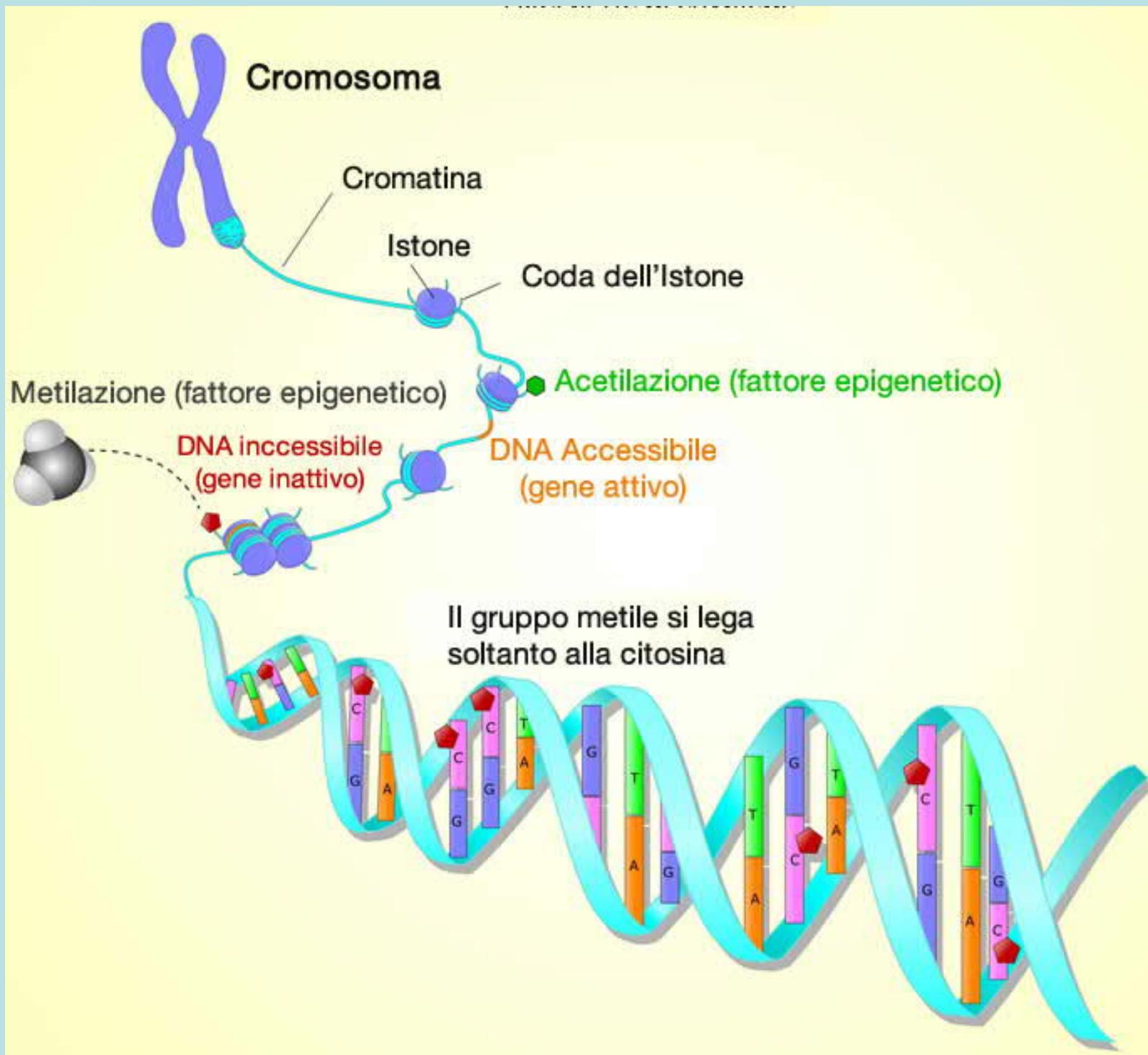
- metilazione del DNA
- acetilazione del DNA
- micro RNA
- inattivazione del cromosoma X
- fenomeni di imprinting
- silenziamento genico.

# Metilazione del DNA

La metilazione è un semplice processo chimico in cui un gruppo metile - un atomo di carbonio e tre atomi di idrogeno ( $\text{CH}_3-$ ) - si lega ad altre molecole.

La metilazione del DNA inibisce l'espressione genica







CHROMOSOME

### EPIGENETIC MECHANISMS

are affected by these factors and processes:

- Development (in utero, childhood)
- Environmental chemicals
- Drugs/Pharmaceuticals
- Aging
- Diet

### HEALTH ENDPOINTS

- Cancer
- Autoimmune disease
- Mental disorders
- Diabetes

CHROMATIN

METHYL GROUP

DNA

#### DNA methylation

Methyl group (an epigenetic factor found in some dietary sources) can tag DNA and activate or repress genes.

EPIGENETIC FACTOR

HISTONE TAIL

GENE

HISTONE TAIL

HISTONE

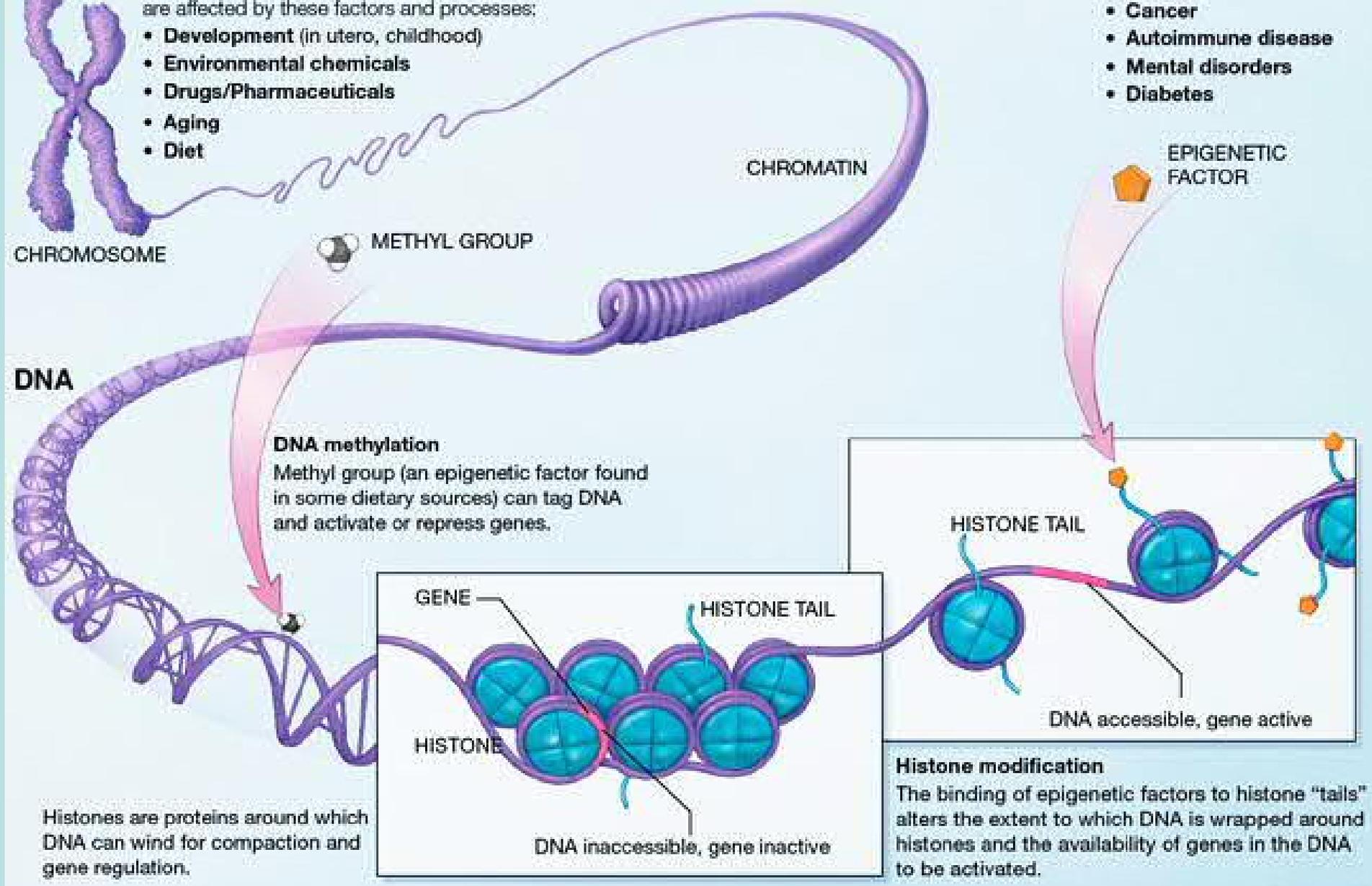
DNA inaccessible, gene inactive

DNA accessible, gene active

#### Histone modification

The binding of epigenetic factors to histone "tails" alters the extent to which DNA is wrapped around histones and the availability of genes in the DNA to be activated.

Histones are proteins around which DNA can wind for compaction and gene regulation.



# Orologio biologico

L'**orologio biologico** del nostro corpo indica il processo di **invecchiamento effettivo** delle nostre cellule

# L'età

**Età cronologica** (data di nascita) riflette semplicemente il numero di mesi o anni che una persona ha vissuto. E' una misura inaffidabile del processo di invecchiamento

**Età biologica** a volte chiamata **età fenotipica**, fornisce una misura dello stato fisiologico e funzionale di una persona

L' **età biologica** o **epigenetica** può essere maggiore o minore dell'età cronologica a causa di fattori interni ed esterni.

Fattori interni: processi fisiologici e genetica.

Fattori esterni: stile di vita, ambiente (dieta, cattive abitudini, ecologia)

# Orologio epigenetico di Horvath

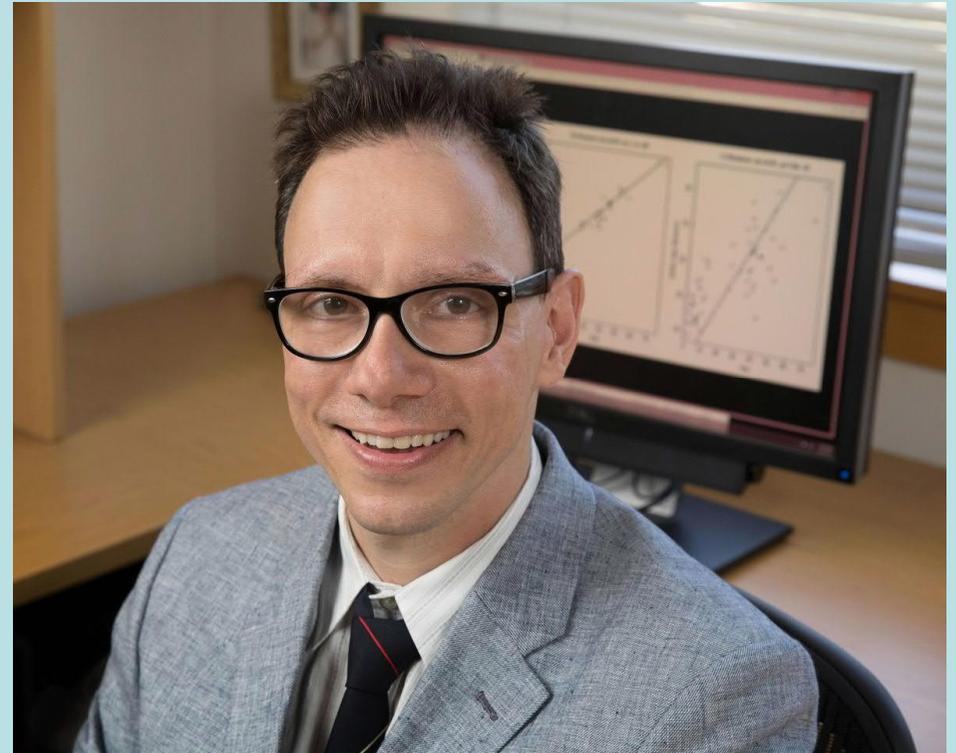
L' **orologio epigenetico** originale di **Horvath**, creato dal Dr. Stephen Horvath, predice l'età in base alla **metilazione** in 353 punti nel DNA di 51 tipi di tessuto e cellule.

Questo orologio calcola l'**età epigenetica** collegando lo **stato di metilazione del DNA** dei tessuti, che varia costantemente con l'età, con un algoritmo matematico.

L'orologio può determinare l'età epigenetica di una persona con una precisione del 96% e un errore di 4 anni.

# Steve Horvath

Steve Horvath  
(Francoforte,  
25 ottobre 1967), fa  
ricerca su genetica,  
invecchiamento e  
biostatistica. E'  
professore  
all'Università della  
California di Los  
Angeles.



# Età epigenetica

L'età epigenetica si basa sul profilo di metilazione del DNA di una persona, un processo naturale che modifica chimicamente il DNA, variando costantemente con l'età

Questa età di una persona è fortemente correlata alla sua età cronologica.

Ci sono alcune eccezioni: l'età epigenetica dei super centenari (persone che vivono fino a 105-109 anni) è notevolmente inferiore alla loro età cronologica

# Tessuti con età diverse

L'orologio di Horvath dimostra che molti tessuti sani hanno la stessa età del corpo, alcuni invece sono più giovani o più vecchi.

L'"età" dei tessuti malati varia enormemente, perché alcuni sono decine di anni più anziani di quelli sani di una stessa persona.

La scoperta di questo meccanismo potrebbe aiutare a mettere a punto **farmaci** per **rallentare l'invecchiamento**.

# Accelerazione dell'età

La differenza tra l'età epigenetica (eAge) e l'età cronologica (chAge) è associato a diverse condizioni: ad esempio, i pazienti con obesità, sindrome di Down, malattia di Huntington tendono a mostrare una maggiore accelerazione dell'età

L'eAge è anche collegata alla forma fisica e cognitiva.

Le persone che hanno buoni valori per la vitamina D hanno una minore accelerazione eAge e telomeri leucocitari più lunghi.

Il fumo è stato collegato a un'elevata accelerazione: nelle cellule delle vie aeree e nel tessuto polmonare (rispettivamente di +4,9 e +4,3 anni).

# Una frase di Steve Horvath

“Sarebbe davvero straordinario mettere a punto interventi terapeutici per ‘resettare’ l’orologio e magari mantenerci giovani”

# Ringiovanire le cellule

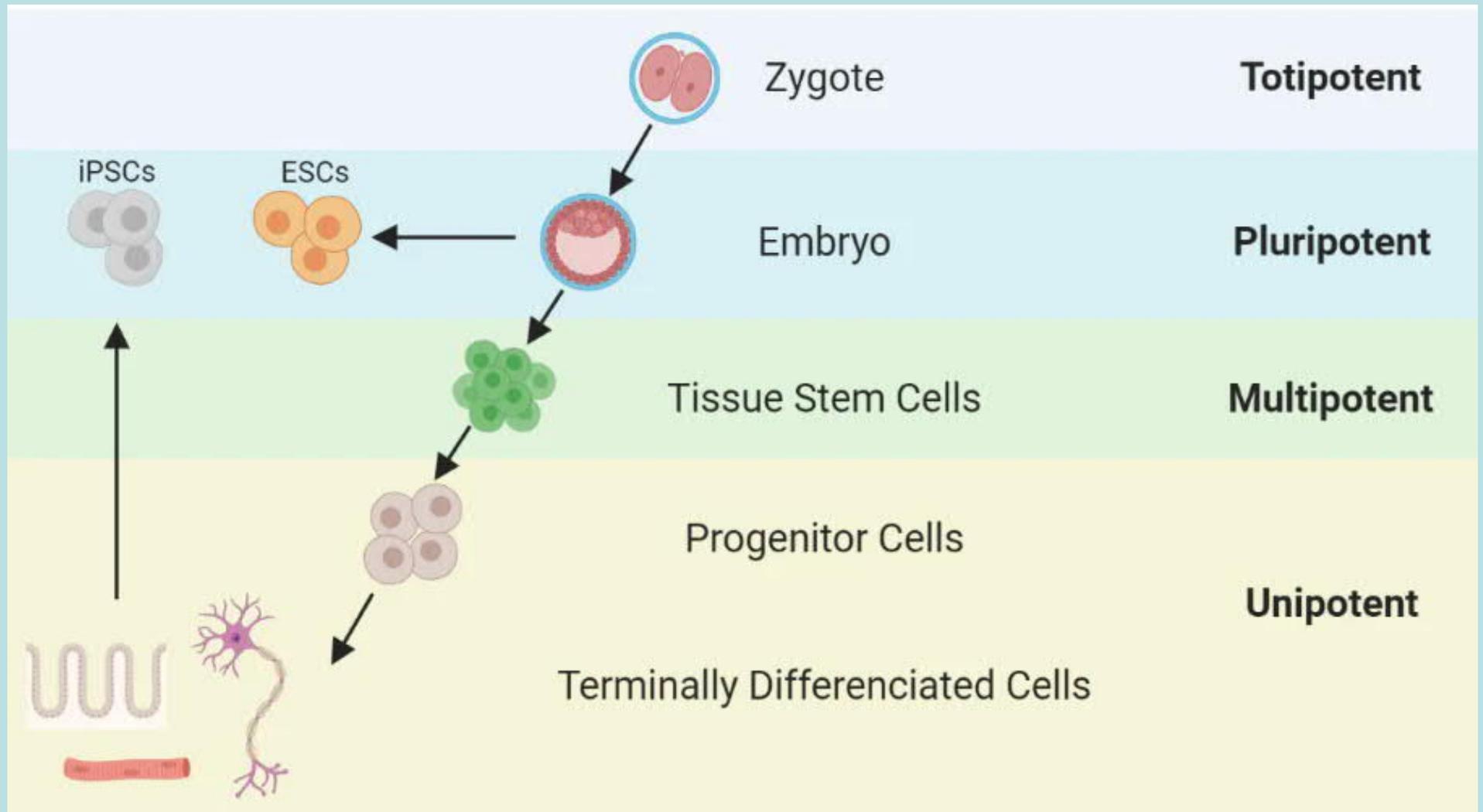
Lo scienziato giapponese Shinya Yamanaka intervenendo su meccanismi epigenetici, è riuscito, con il suo gruppo di ricerca, a riportare

una **cellula somatica adulta**

allo stadio di **cellula staminale totipotente,**

quindi allo **stato embrionale**

# Cellule staminali



# Yamanaka: la ricerca

Nel 2006 Yamanaka, dimostrò che erano necessari solo 4 fattori (denominati successivamente **Yamanaka factors**) per 'riprogrammare' una cellula adulta.

Il processo di riprogrammazione consiste nella modificazione di quattro geni del genoma di una cellula adulta al fine di ripristinare la potenzialità staminale.

Sono state così generate le

"Induced Pluripotent Stem Cell" (iPSC).

"Cellule staminali pluripotenti indotte"

Al contrario delle staminali adulte ed embrionali, le iPSC non esistono in natura, ma sono generate artificialmente in laboratorio.

# Applicazioni pratiche

Sostituzione di cellule e tessuti:

- cellule corrette rimpiazzano il tessuto danneggiato
- possibilità di curare malattie genetiche e degenerative

Vantaggi:

- uso di iPSC derivanti dallo stesso paziente previene il rigetto da parte dell'organismo
- eliminazione dell'uso di immunosoppressivi

# Shin'ya Yamanaka

Shin'ya Yamanaka  
(Higashiōsaka, 4  
settembre 1962) è un  
medico giapponese,  
professore  
all'Università di Kyoto,  
specializzato nei campi  
di studio della biologia  
dello sviluppo e delle  
cellule staminali  
pluripotenti indotte,  
Premio Nobel per la  
medicina nel 2012.



# I ipotesi di lavoro

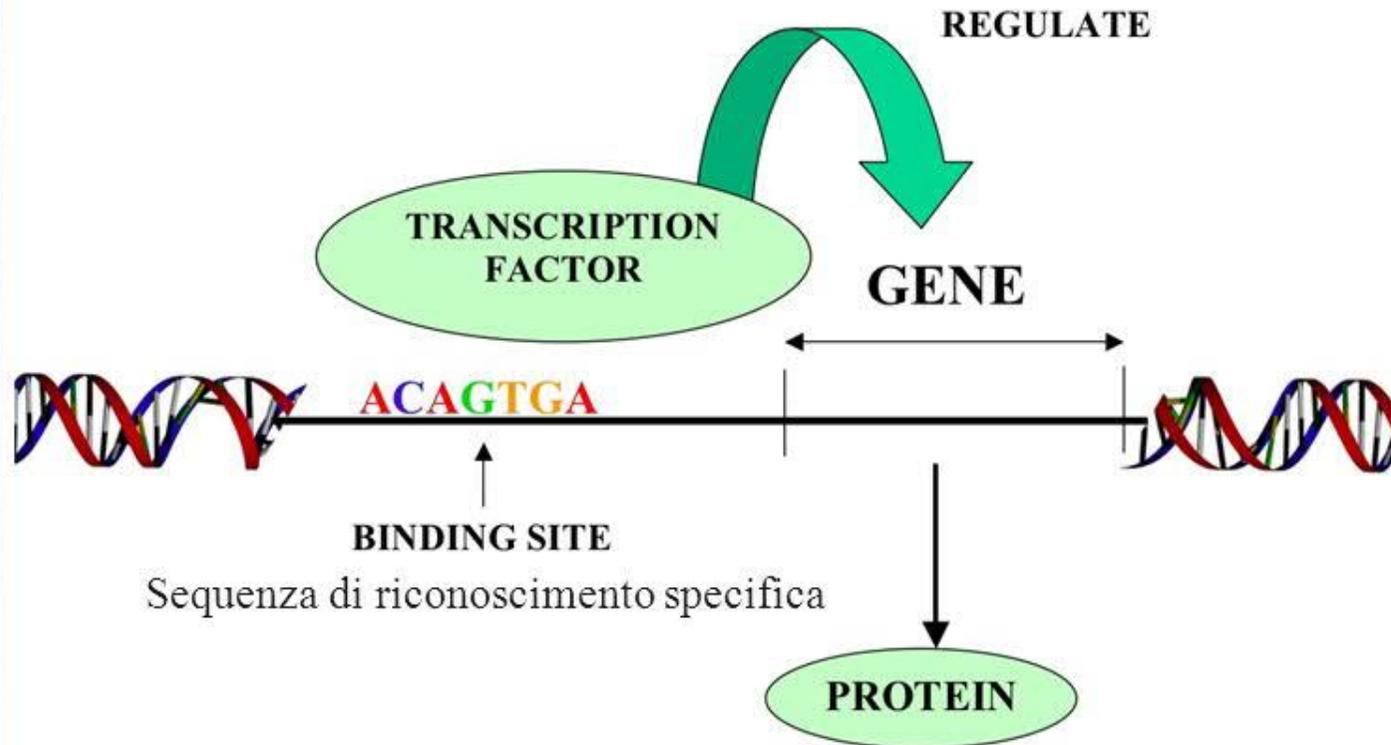
L'ipotesi alla base della ricerca è che i  
**fattori di trascrizione**

che contribuiscono al mantenimento dell'identità  
di una cellula staminale giochino un  
ruolo fondamentale

nell'**induzione di pluripotenza** nelle cellule  
somatiche.

# Fattori di trascrizione: meccanismo d'azione

Legend: A transcription factor molecule binds to the DNA at its binding site, and thereby regulates the production of a protein from a gene.



# Fattore di trascrizione

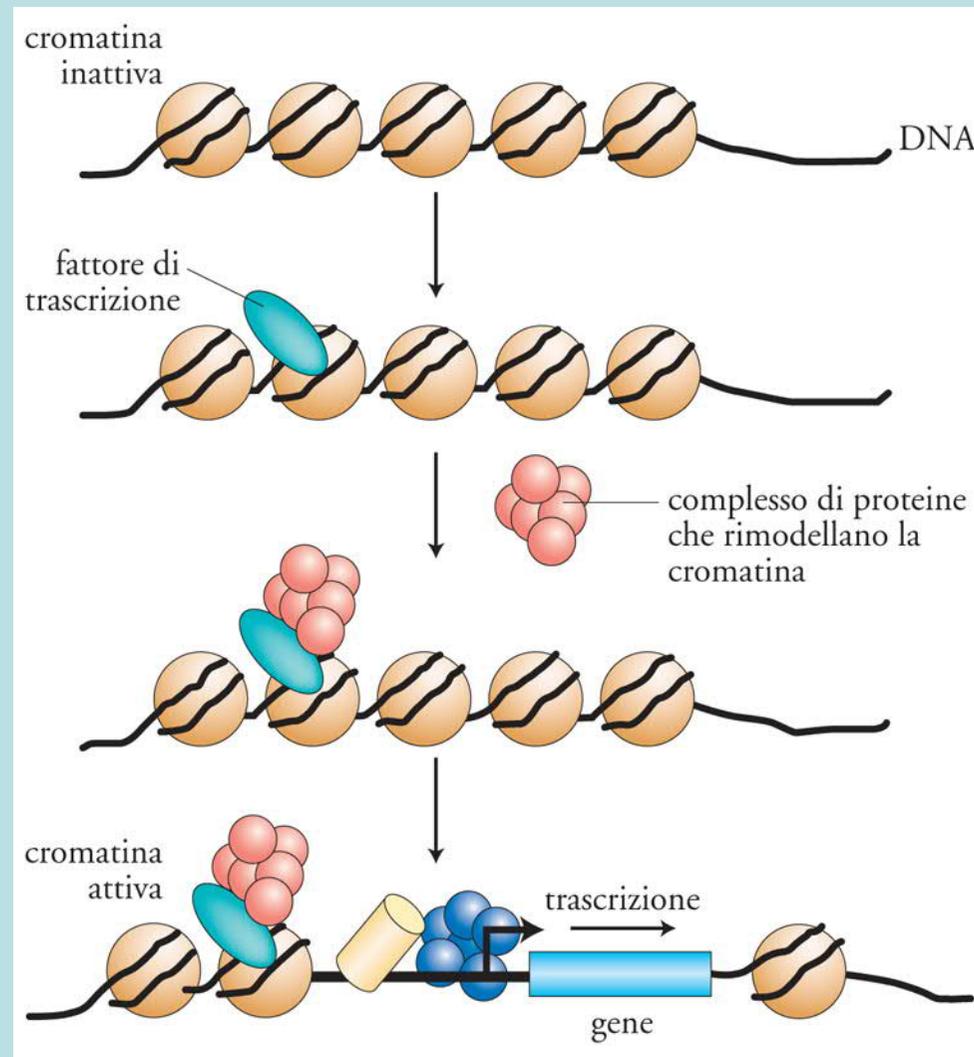
Un **fattore di trascrizione** è una proteina che si lega con specifiche sequenze di DNA

↓  
regola la trascrizione di un gene

↓  
enzima RNA-polimerasi I I

↓  
RNA messaggero .

# Fattore di trascrizione



# Fattore di trascrizione

Nel DNA vi sono alcune brevi sequenze di nucleotidi, **i promotori**, che costituiscono il sito di riconoscimento per questo enzima;

i **fattori di trascrizione** hanno il compito di regolare il legame tra promotori e RNA-polimerasi II, **iniziando o reprimendo la trascrizione** a seconda delle esigenze che ha la cellula di produrre determinate proteine.

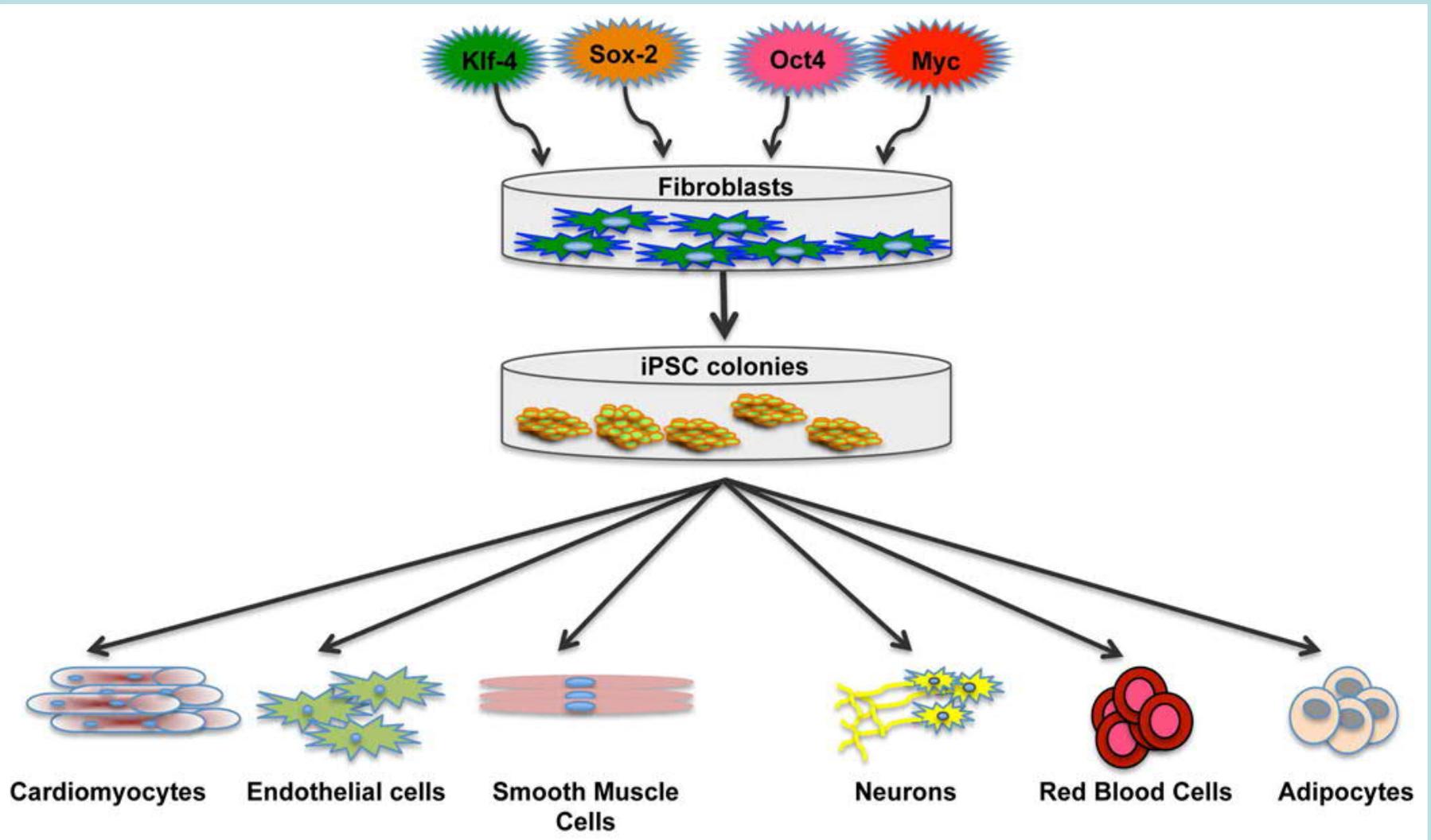
# Metodologia

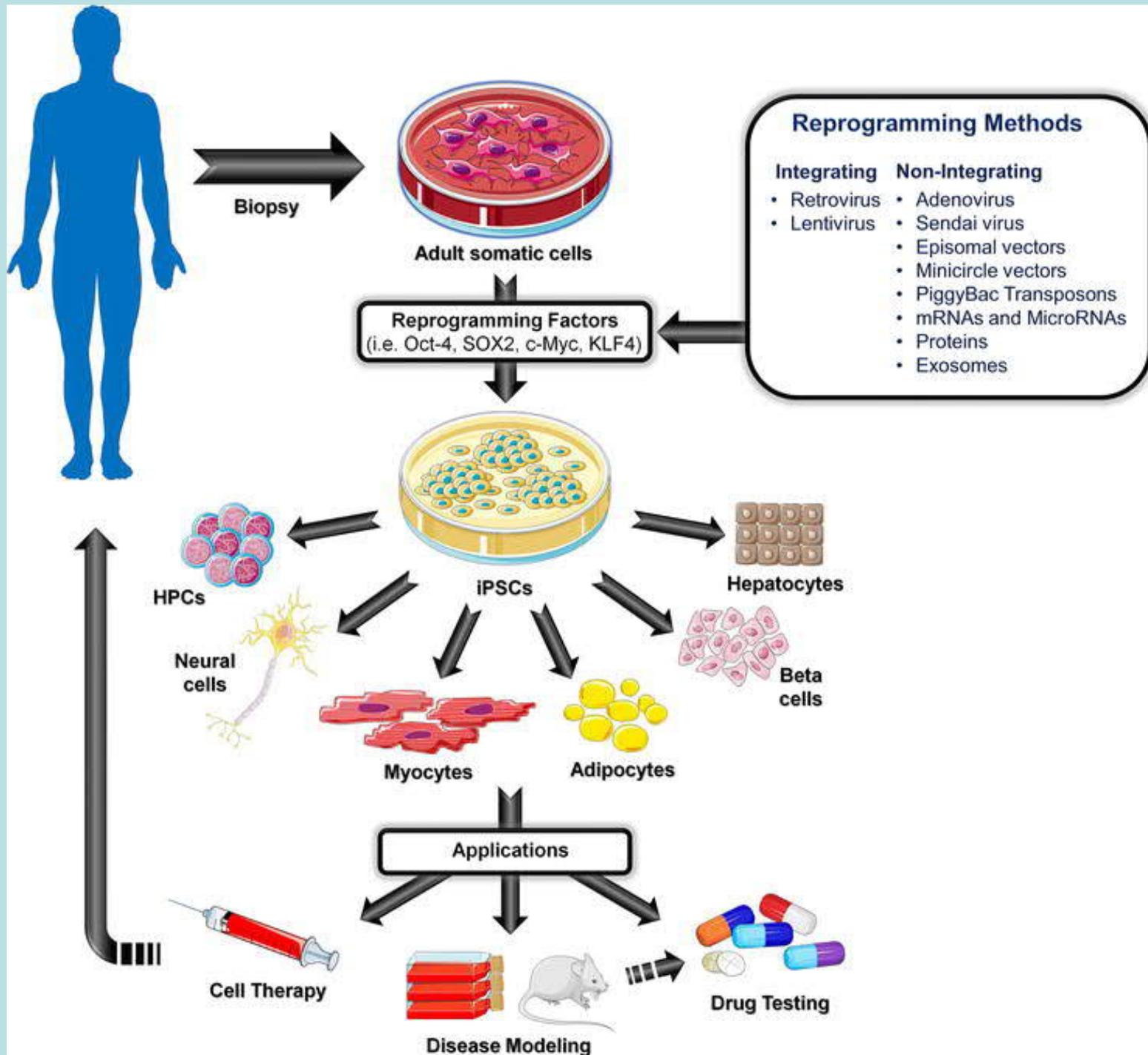
Si parte da una qualsiasi cellula, generalmente una cellula che si può isolare dalla cute, il fibroblasto:

si inseriscono 4 geni:

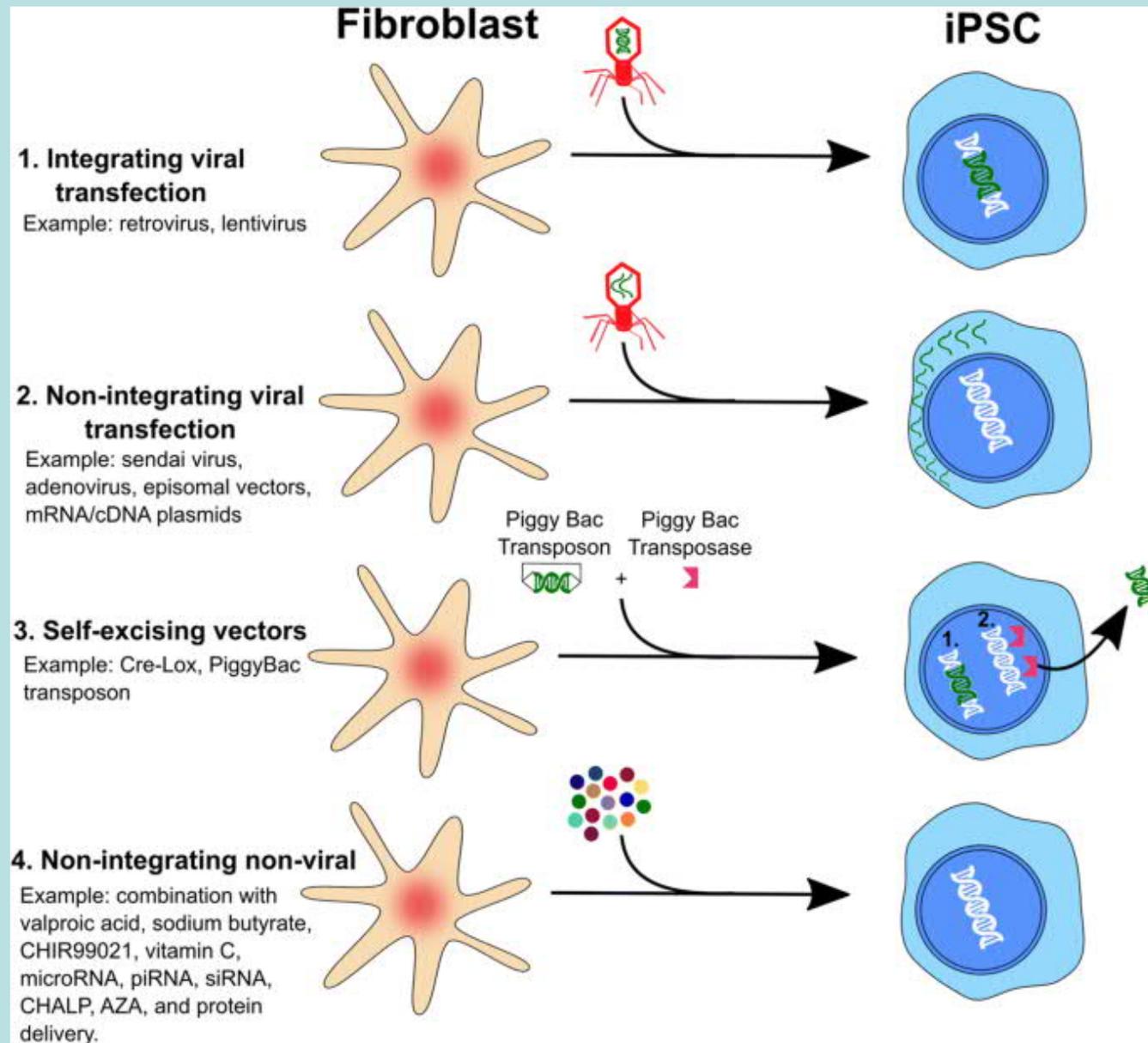
Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc

e la cellula si trasforma in una cellula staminale pluripotente sostanzialmente identica ad una cellule staminale embrionale da cui si possono ricavare cellule specializzate con il vantaggio che non producono una reazione di rigetto.

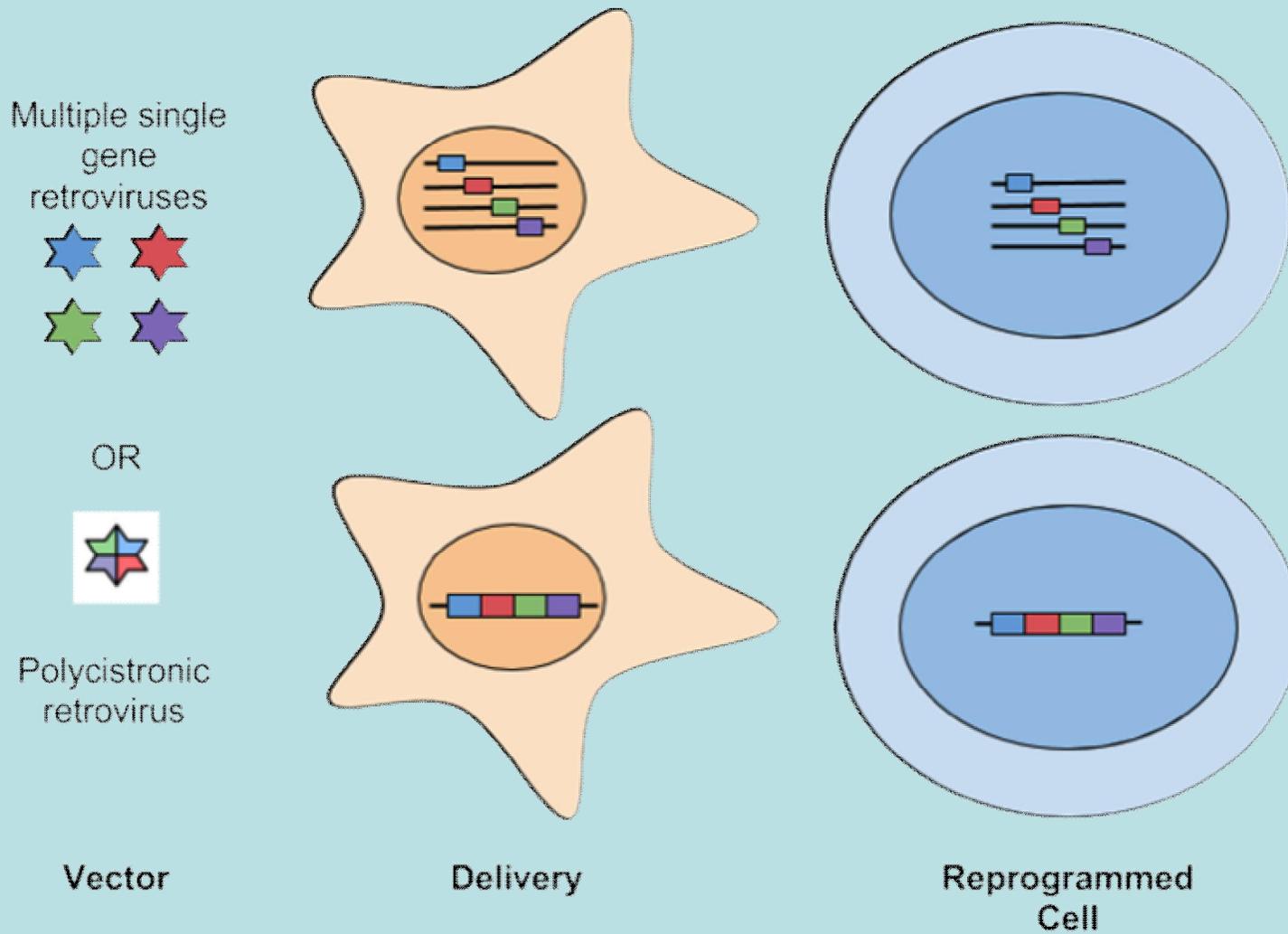




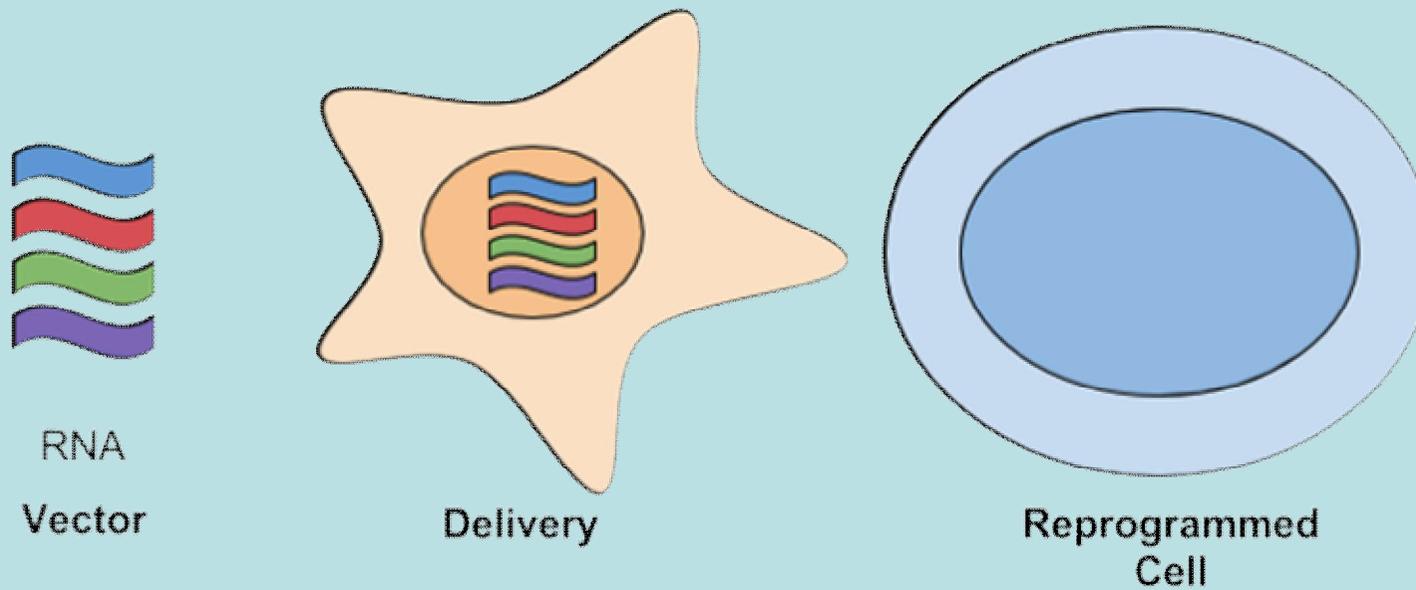
# Trasferimento dei fattori



# Trasferimento dei fattori



# Trasferimento dei fattori



# Cellule umane riprogrammate coi fattori Yamanaka

I ricercatori del laboratorio Reik presso il Babraham Institute a Cambridge hanno messo a punto un nuovo metodo per riprogrammare le cellule umane con fattori Yamanaka

Utilizzando i **quattro fattori** di riprogrammazione Yamanaka (**OSKM**) hanno ringiovanito epigeneticamente le cellule umane di 30 anni.

# Cellule umane riprogrammate coi fattori Yamanaka

Precedenti esperimenti avevano fallito perchè mentre l'esposizione delle cellule umane ai fattori Yamanaka le ringiovanisce, induce la pluripotenza a trasformarle in cellule staminali, facendo perdere loro le identità cellulari (e quindi la funzione)

Serve esporre le cellule a questi fattori abbastanza a lungo da ottenere il ringiovanimento, ma consentendo loro di conservare la propria identità.

I ricercatori chiamano questo nuovo metodo come **riprogrammazione transitoria in fase di maturazione (MPTR)**.

## Cellule umane:

10 giorni sono pochi, 17 sono troppi

L'esposizione di cellule umane ai fattori Yamanaka OSKM è stata controllata anche nelle forme di dosaggio.

10 giorni di esposizione non hanno ringiovanito epigeneticamente le cellule,

troppa esposizione (15 e 17 giorni) ha portato a stress cellulari che hanno invecchiato nuovamente l'epigenoma.

# Primi risultati

Il **metodo MPTR** ha avuto risultati positivi sostanziali.

Secondo l'orologio multi-tessuto di Horvath, dopo 13 giorni di riprogrammazione

le cellule umane di **60 anni** sono diventate epigeneticamente equivalenti a cellule che avevano circa **25 anni**.

Un altro test nato nel 2018, l'orologio epigenetico della pelle e del sangue, ha mostrato che le cellule che avevano circa **40 anni** sono state riportate epigeneticamente a quelle di un **25enne**.

La tecnica ha sostanzialmente ringiovanito anche il trascrittoma, la raccolta di proteine prodotte dai geni.

# Genetica 5



Grazie

Rita Dougan 2022