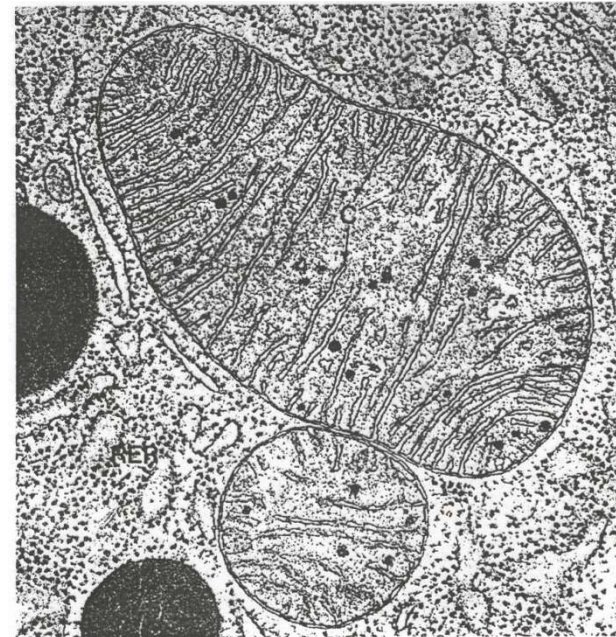
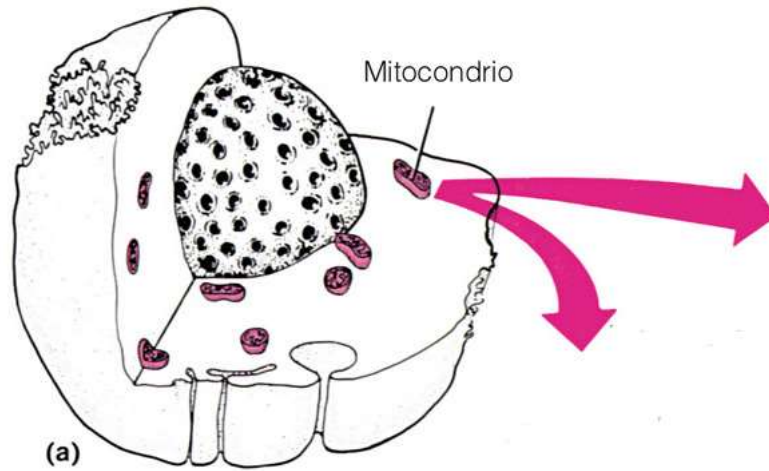
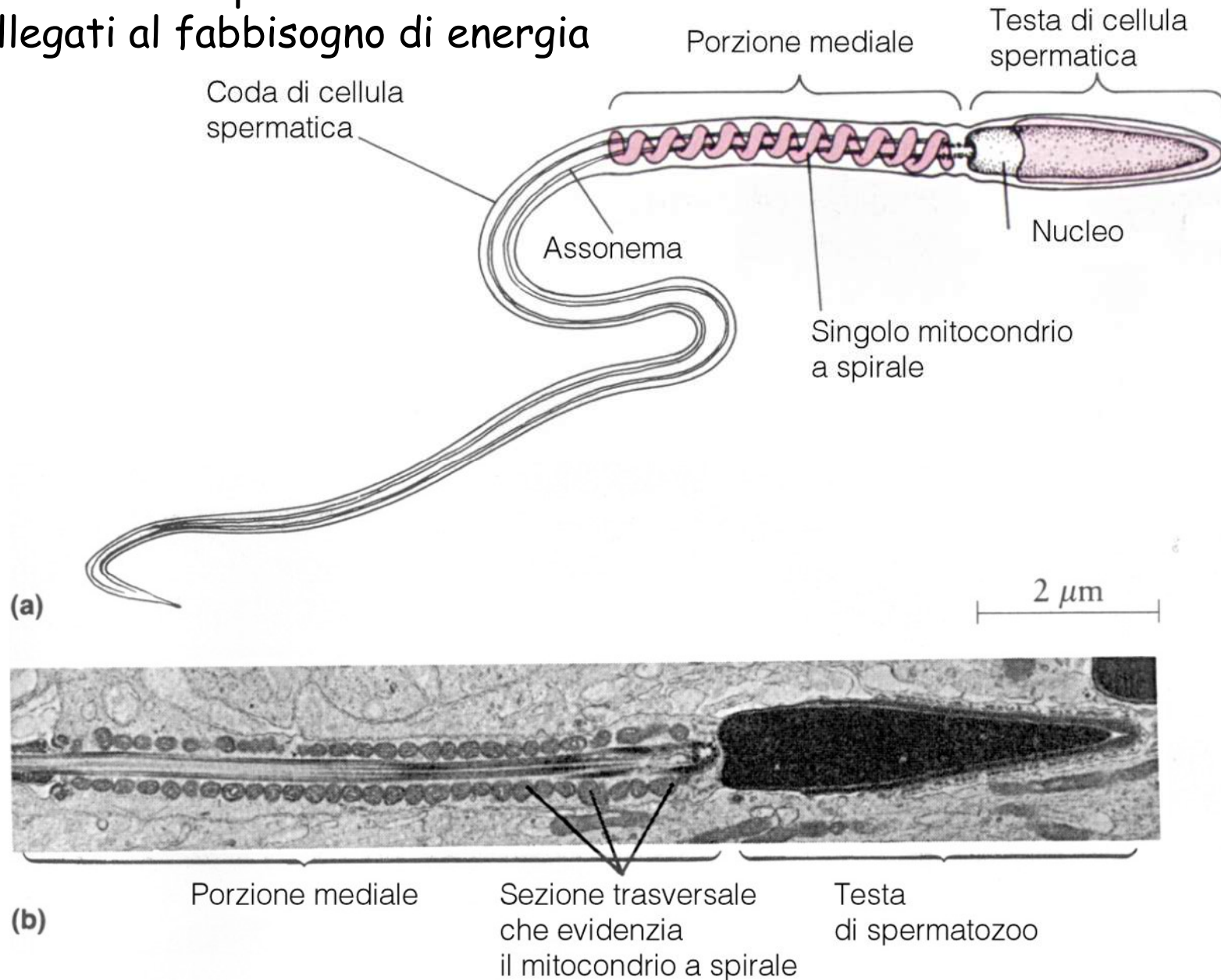


I mitocondri



Vietate copia riproduzione e modifiche

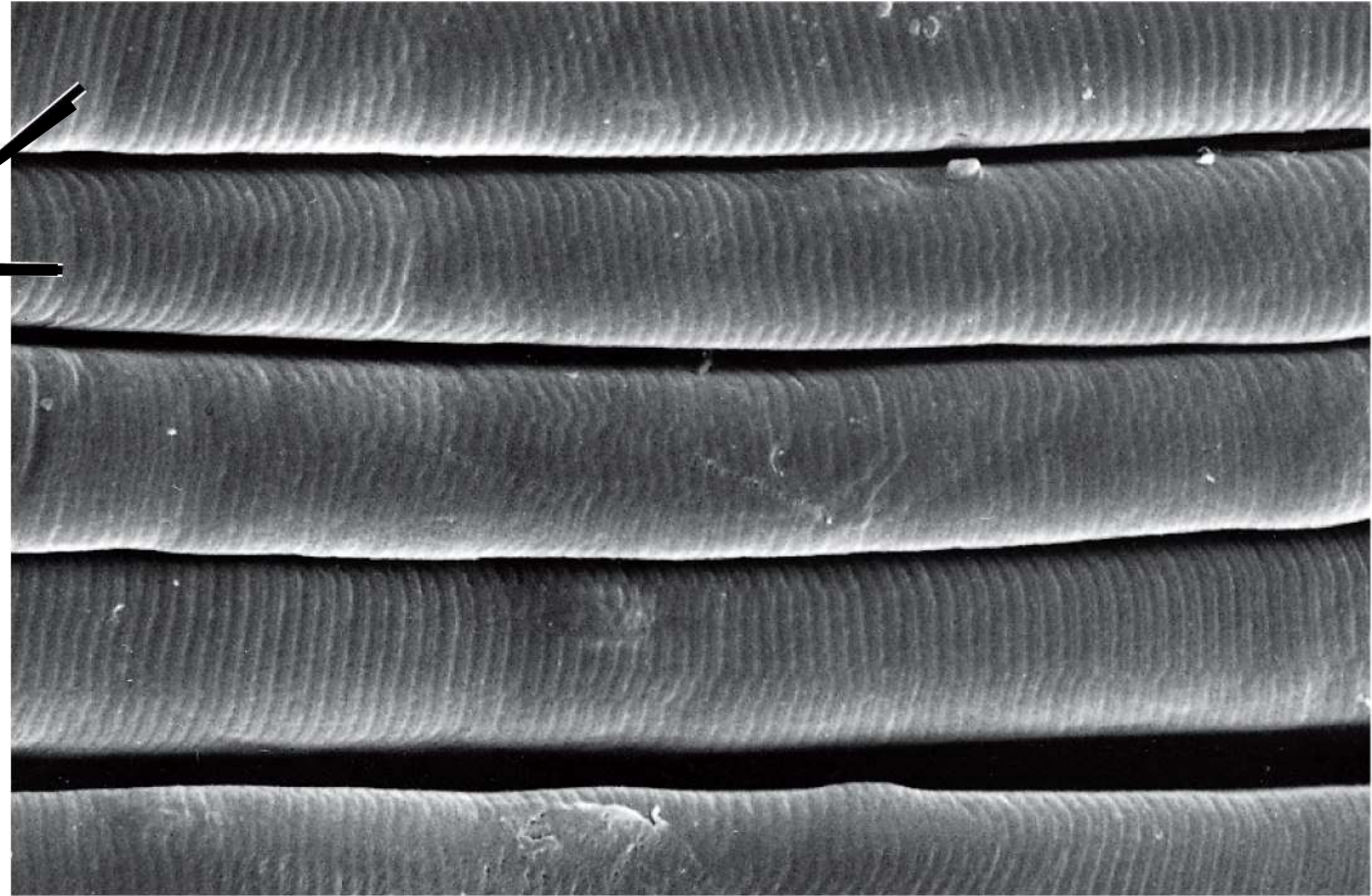
Il numero e la posizione dei mitocondri all'interno della cellula sono collegati al fabbisogno di energia



Vietate copia riproduzione e modifiche

Il numero e la posizione dei mitocondri all'interno della cellula sono collegati al fabbisogno di energia

**Fibre
di muscolo
scheletrico**

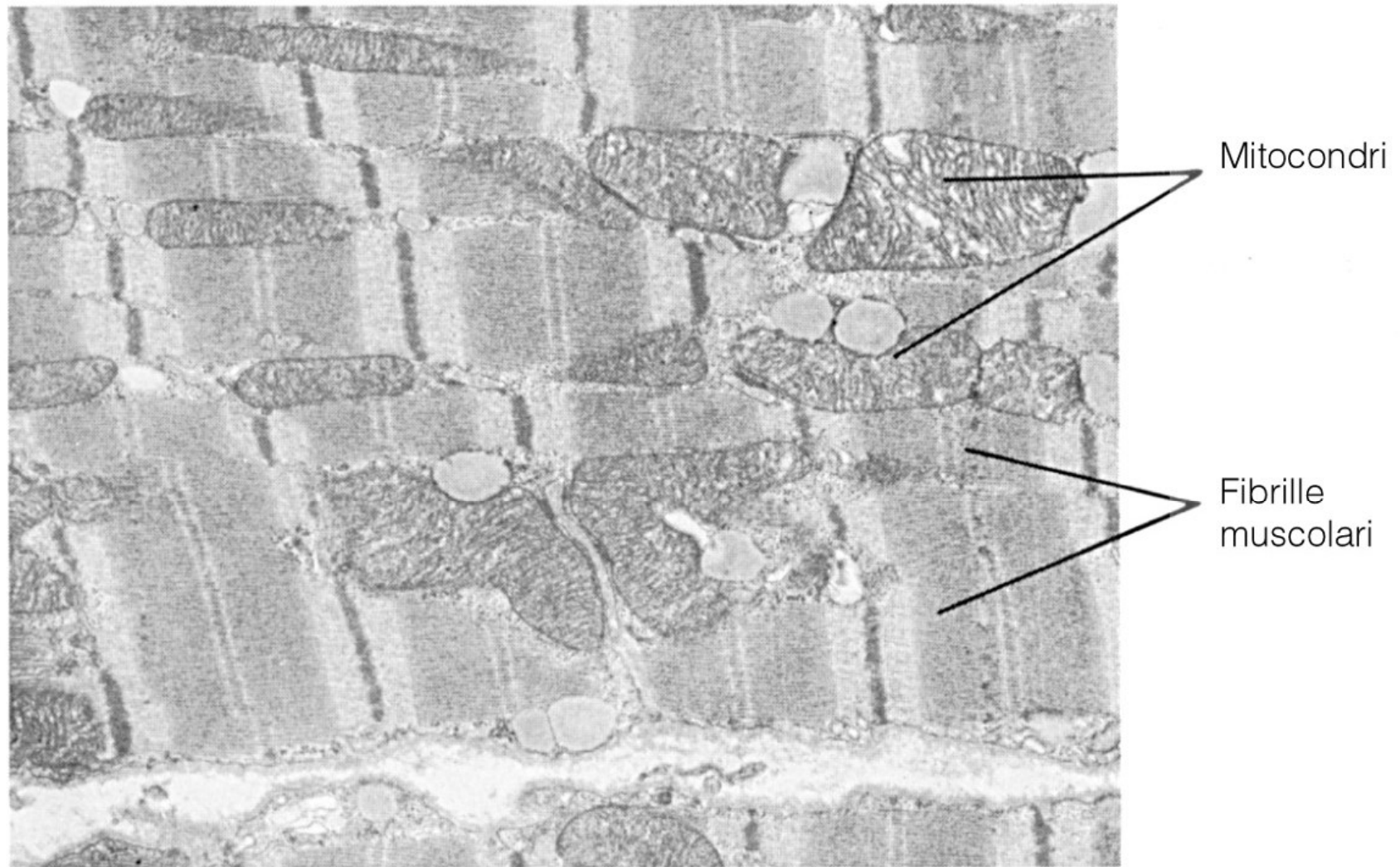


10 μm

Figure 23-47b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Vietate copia riproduzione e modifiche

Il numero e la posizione dei mitocondri all'interno della cellula sono collegati al fabbisogno di energia

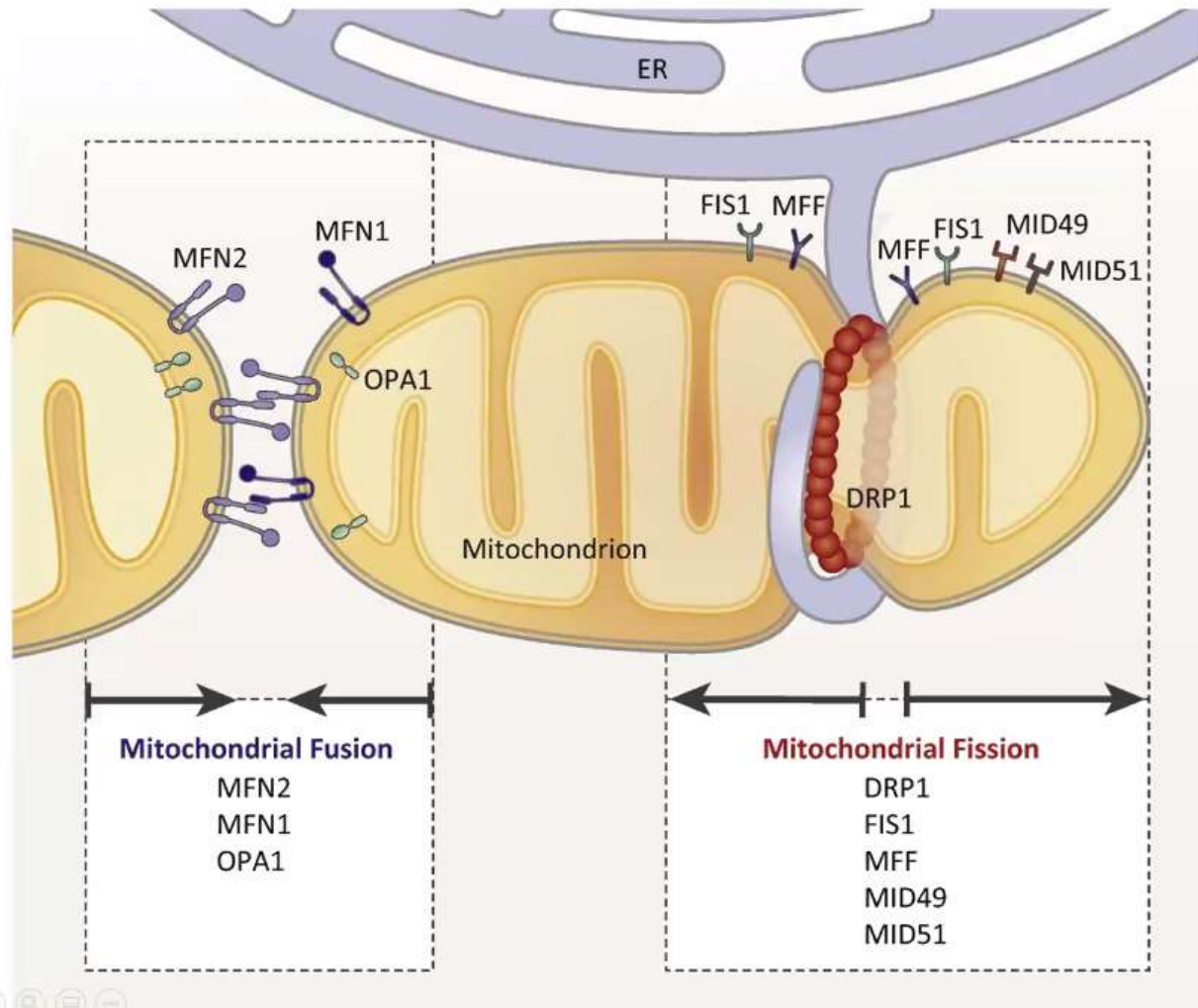


Localizzazione dei mitocondri all'interno di una cellula muscolare

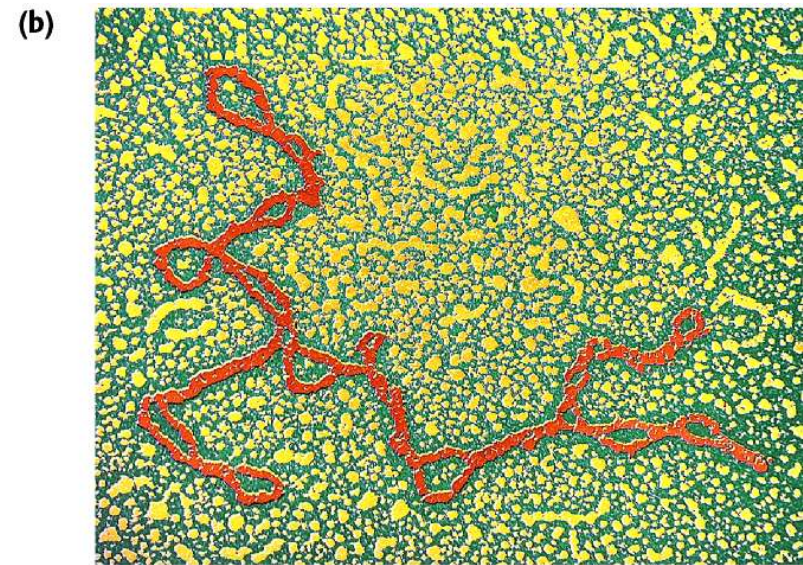
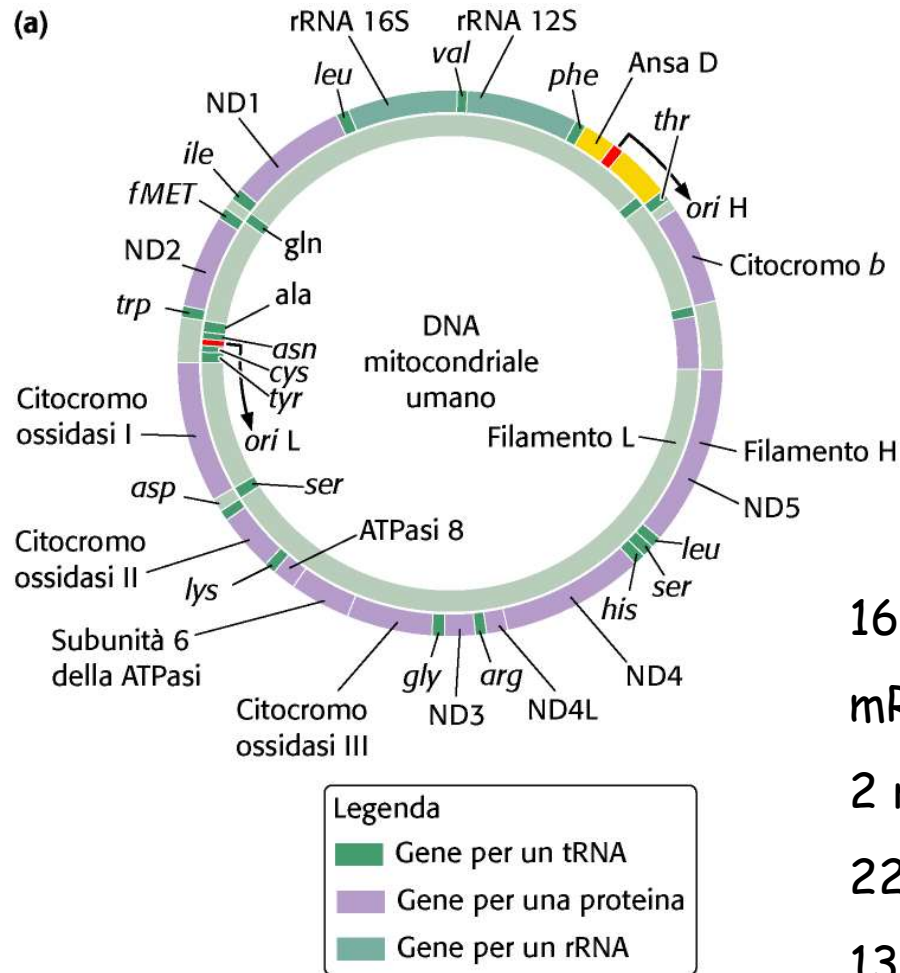
2,5 μm

Vietate copia riproduzione e modifiche

Mitochondrial dynamics



Vietate copia riproduzione e modifiche



f. pesante H è ricco di residui guaninici, quello **leggero L** in residui citosinici.

16.569 bp, no istoni, no DNA ripetitivo
mRNA no 5' e 3' non tradotte

2 rRNA

22 tRNA

13 proteine (+1 peptide codificato da un rRNA)

Filamento pesante(H) e leggero (L)

2 origini di replicazione (ansa D per H)

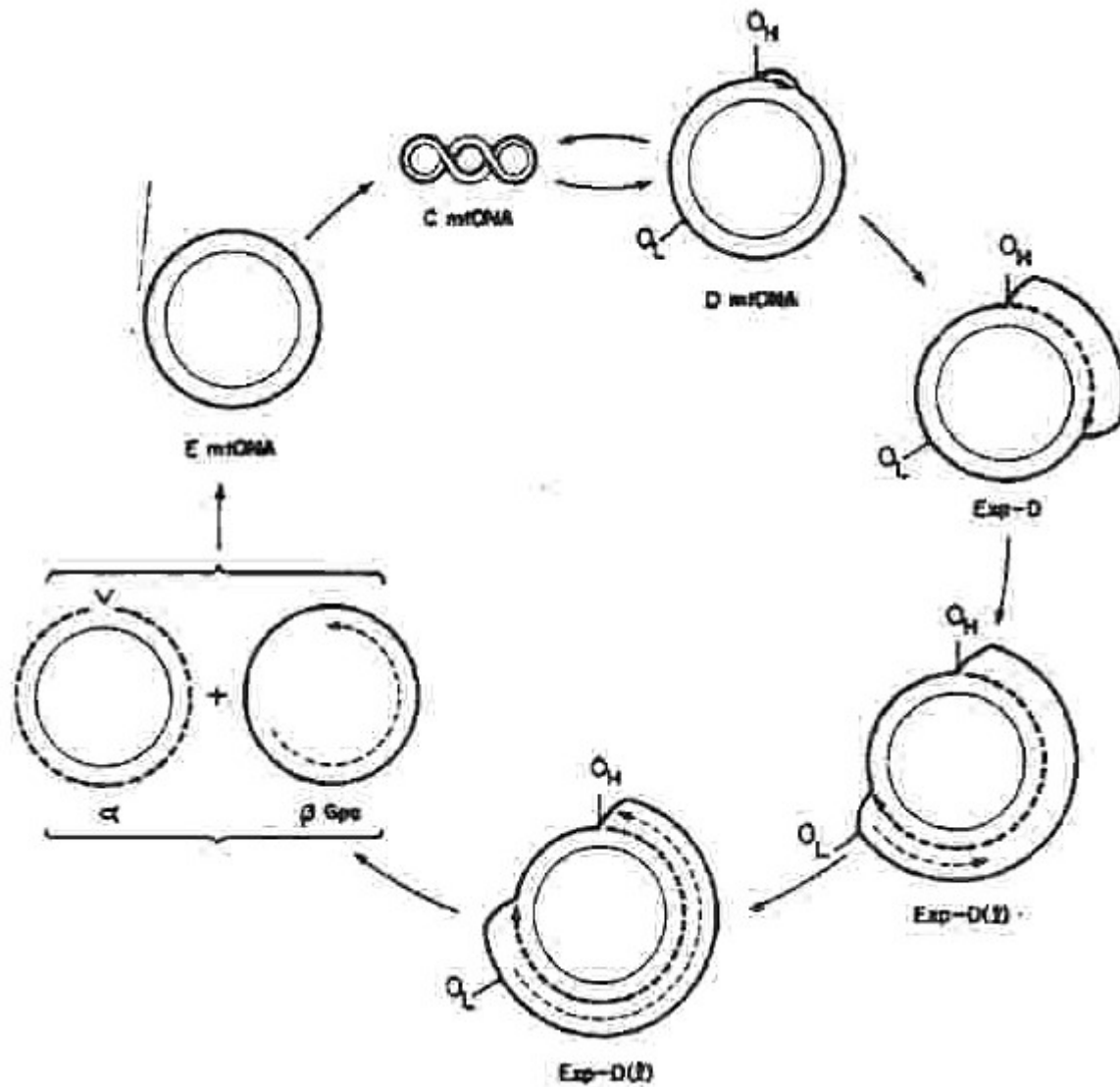
Entrambi i filamenti codificanti

Vietate copia riproduzione e modifiche
2 promotori (ansa D), 2 lunghi RNA

Confronto tra il genoma nucleare (universale) e alcuni codici del DNA mitocondriale per 5 triplette a livello delle quali i codici non sono uguali

	<u>TGA</u>	<u>ATA</u>	<u>AGA</u>	<u>AGG</u>	<u>AAA</u>
Nucleare	Stop	Ile	Arg	Arg	Lys
Mitocondriale Mammiferi	Trp	Met	Stop	Stop	Lys
Mitocondriale echinodermi	Trp	Ile	Ser	Ser	Asn

Replicazione del mtDNA

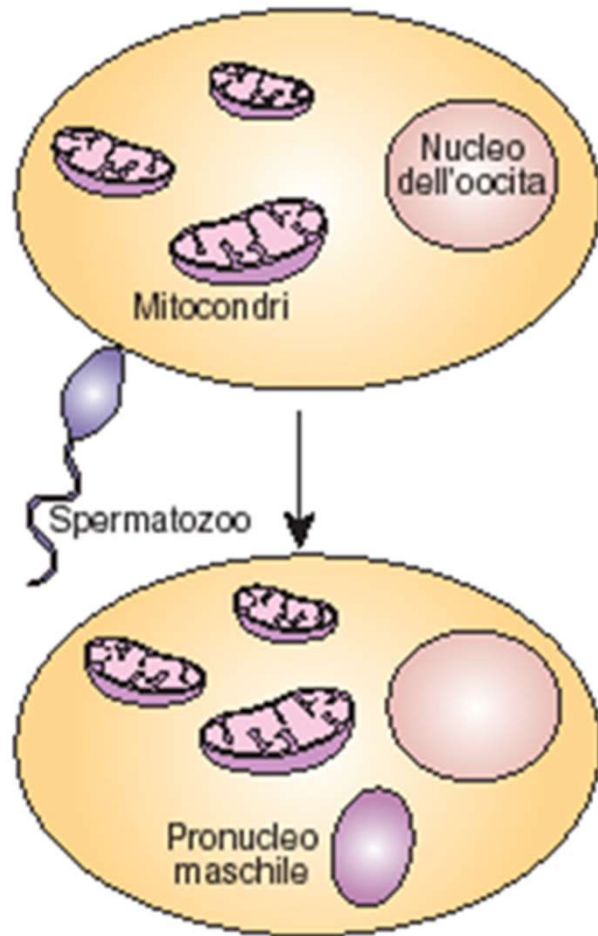


La sintesi è effettuata dalla DNA pol. γ e inizia a livello dell' **ansa D**, per il filamento H, e di una seconda ORI, per il filamento L: replicazione **asincrona** dei due filamenti.

Nell'ansa D risiedono **due promotori**, uno per ciascun filamento, da cui inizia la trascrizione di due RNA precursori giganti che verranno tagliati in rRNA, tRNA e mRNA.

All'interno dello stesso mitocondrio non tutti i genomi replicano o replicano **insieme**.

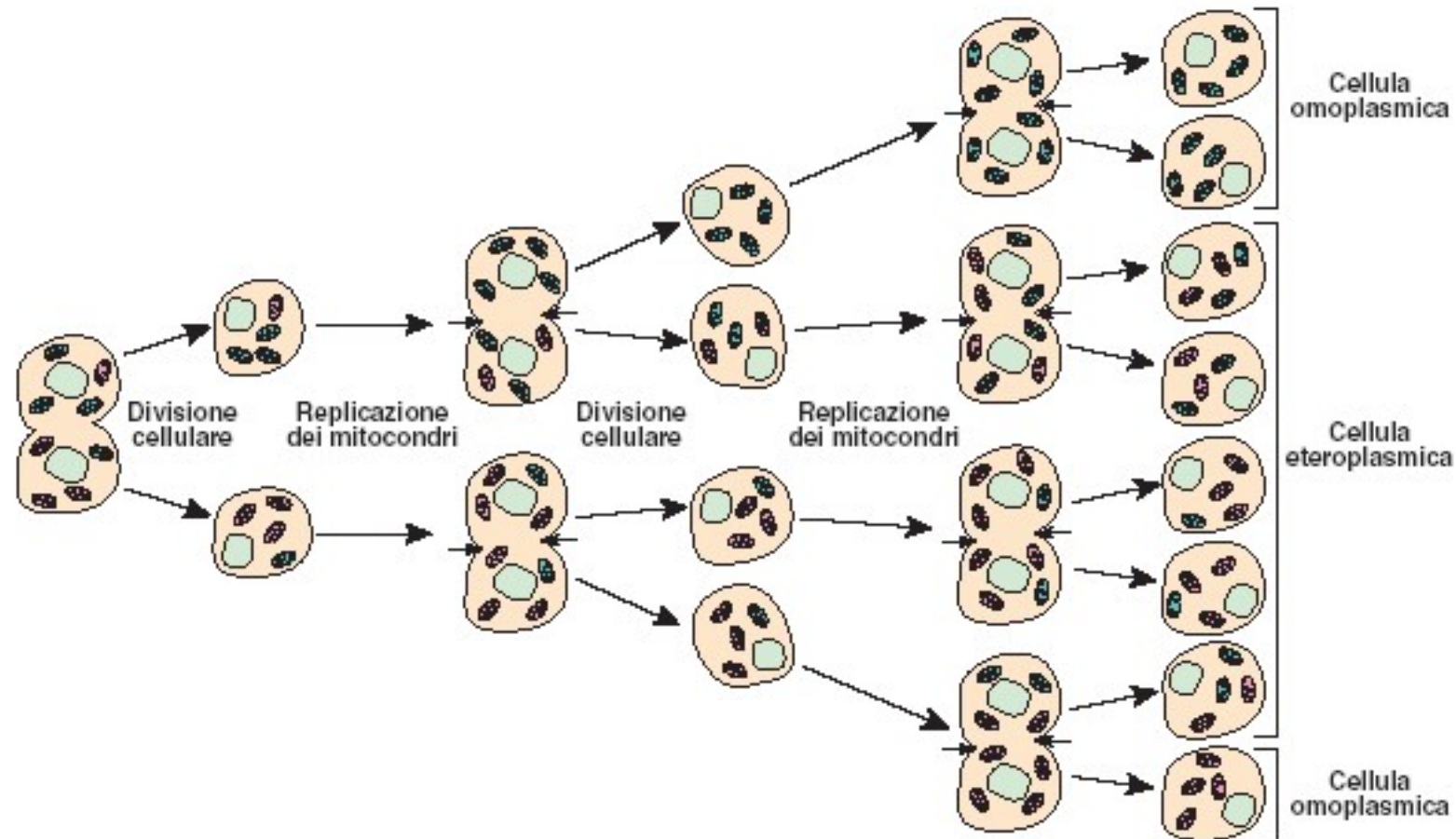
Eredità uniparentale dei mitocondri



Solo occasionale è la trasmissione di DNA mitocondriale per via paterna

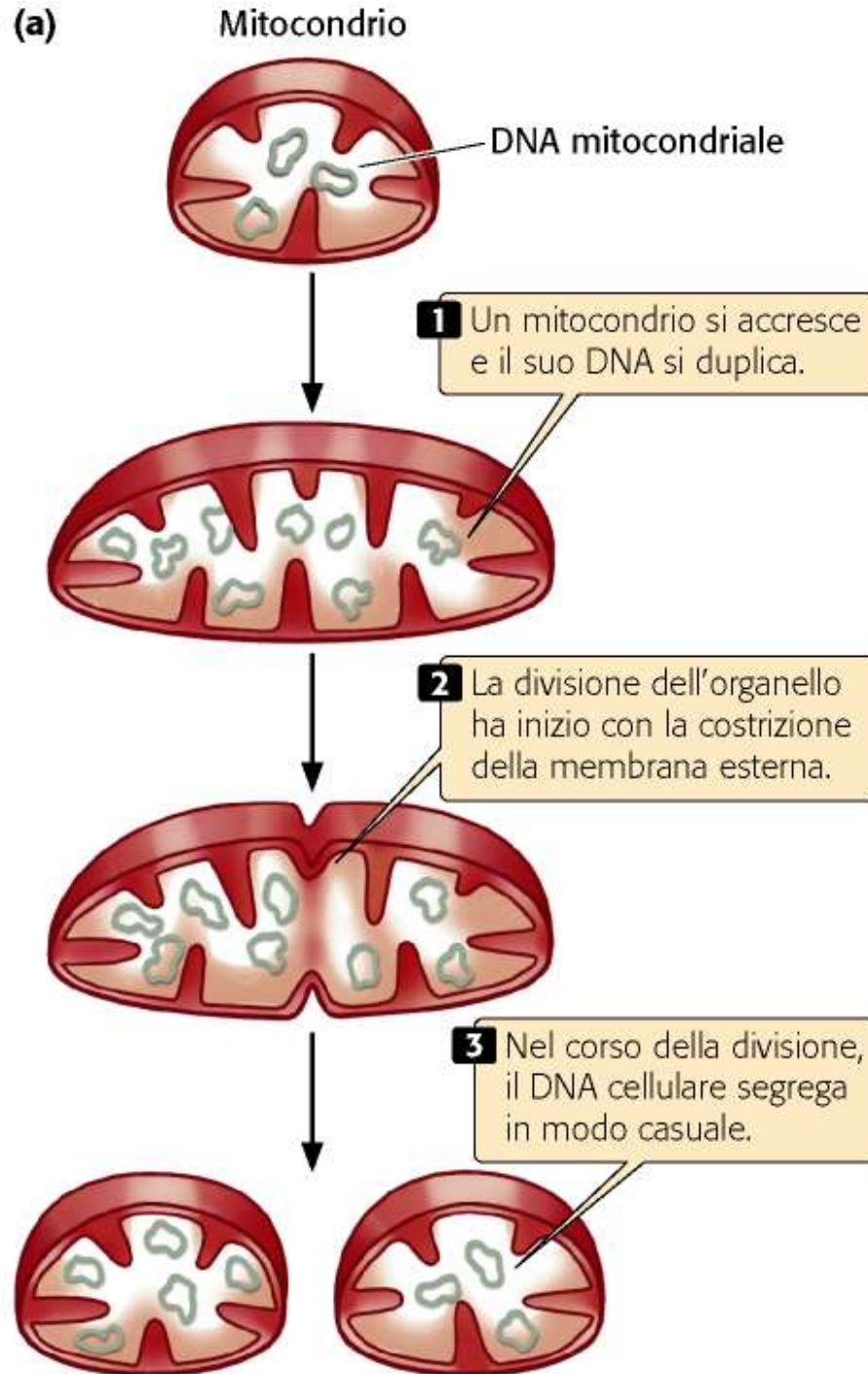
Le singole cellule contengono da decine a migliaia di mitocondri, ciascuno con svariate copie del genoma = da centinaia a decine di migliaia di genomi mitocondriali per cellula

Una mutazione del mtDNA creerà all'interno della cellula una mescolanza di genomi wt e genomi mutati= **ETEROPLASMIA**

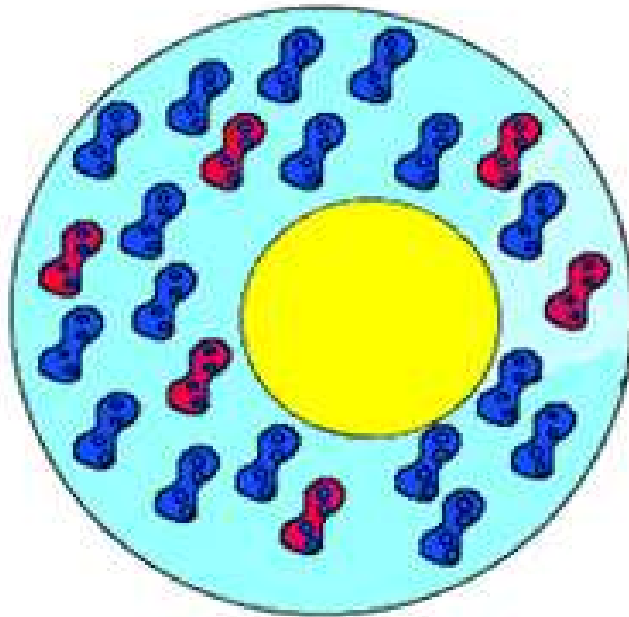


Quando una cellula eteroplasmica si divide, i mt segregano casualmente = **eteroplasmia, omoplasmia wt (rara), omoplasmia mut (rara)**. Produzione e modifiche

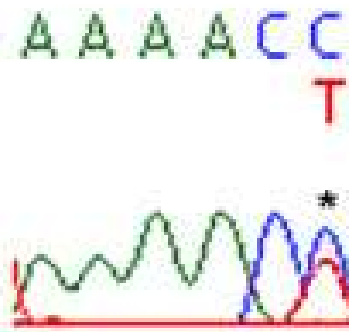
(a)



Da considerare inoltre che gli stessi mitocondri duplicano ed anche durante questa divisione i genomi segregano in maniera casuale



ETEROPLASMIA

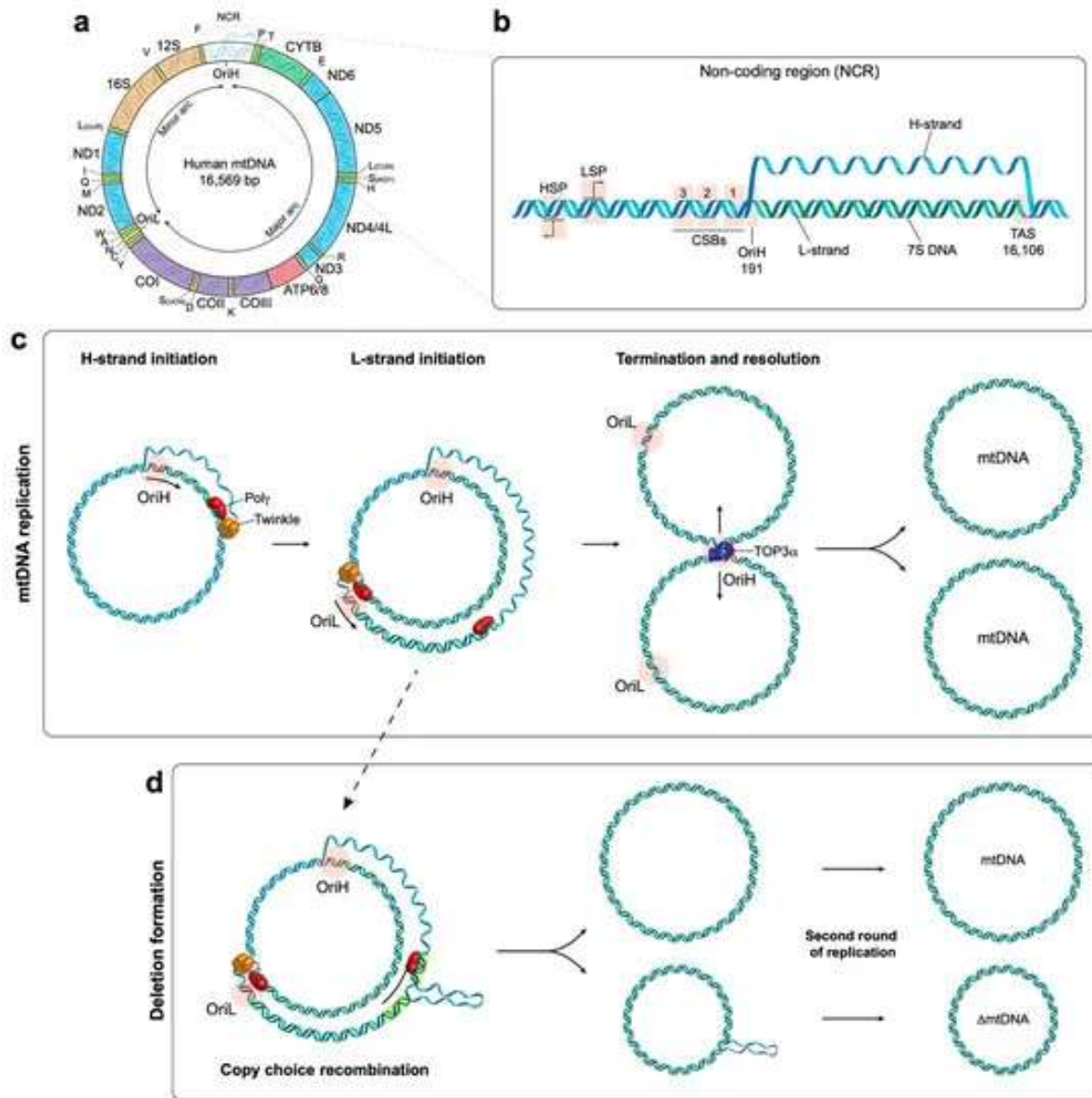


Il genoma mitocondriale ha un **TASSO DI MUTAZIONI** 10 volte superiore a quello del genoma nucleare.

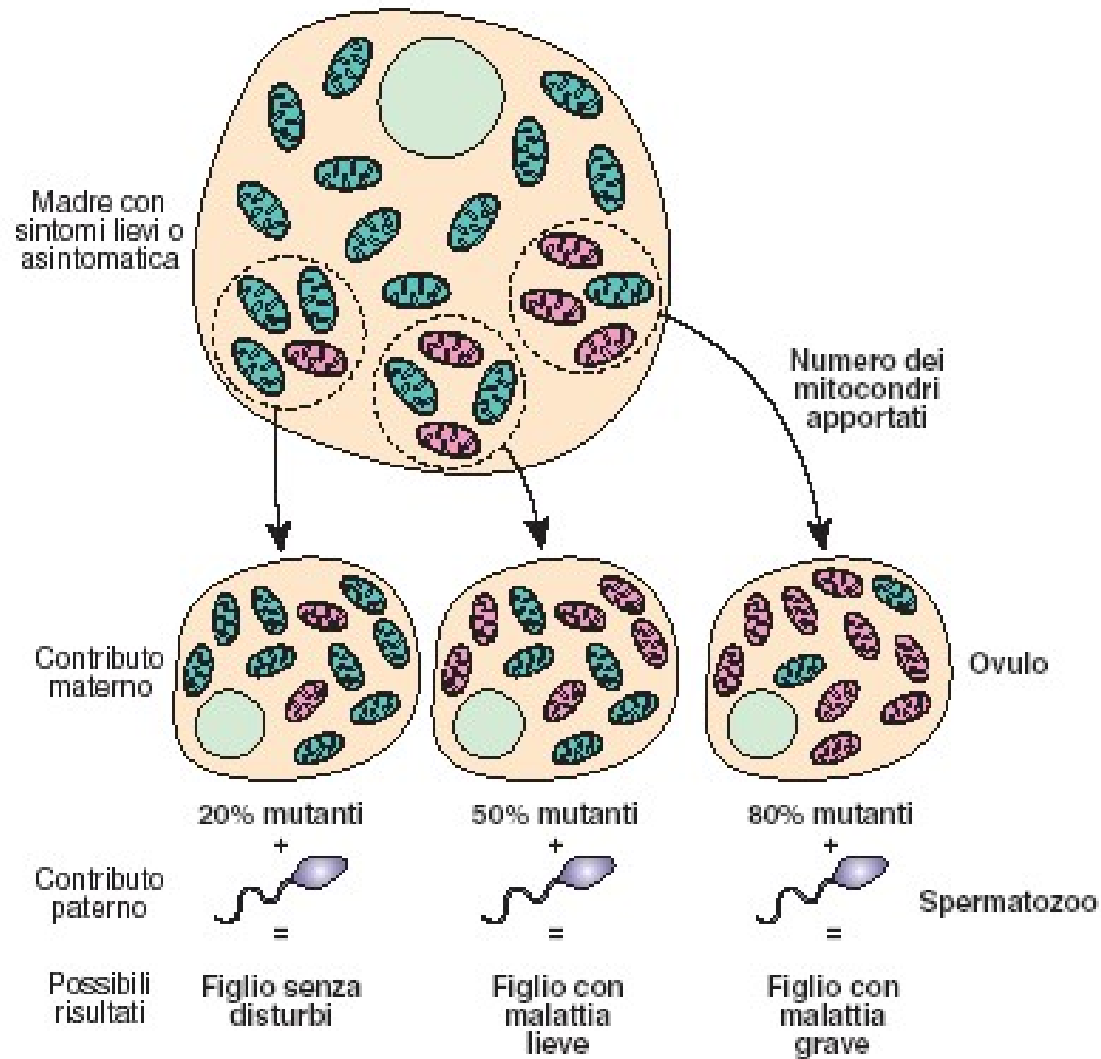
Perché la mutazione diventi patogenetica la percentuale di molecole di mtDNA mutato deve superare una certa soglia = **EFFETTO SOGLIA**

La soglia può essere diversa da tessuto a tessuto a seconda delle specifiche esigenze ossidative dei tessuti stessi.

Formazione di mtDNA deleto



riproduzione e modifiche



Superata la soglia l'intensità dei sintomi sarà correlata alla quantità di genomi mutati

Vietate copia riproduzione e modifiche

Malattie causate da anomalie dei mitocondri

Possono essere affetti da queste patologie sia gli individui di sesso maschile che quelli di sesso femminile ma solo la madre trasmetterà alla progenie la patologia

Il quadro clinico è estremamente variabile per intensità dei sintomi.

Anche la **segregazione dei genomi mitocondriali nelle mitosi postzigotiche** è importante: si possono generare tessuti con percentuali diverse di genomi mt mutati.

Il quadro clinico è estremamente variabile per i tessuti che possono essere colpiti il che dipende sia dal numero di genomi mutati che dalle esigenze energetiche del tessuto

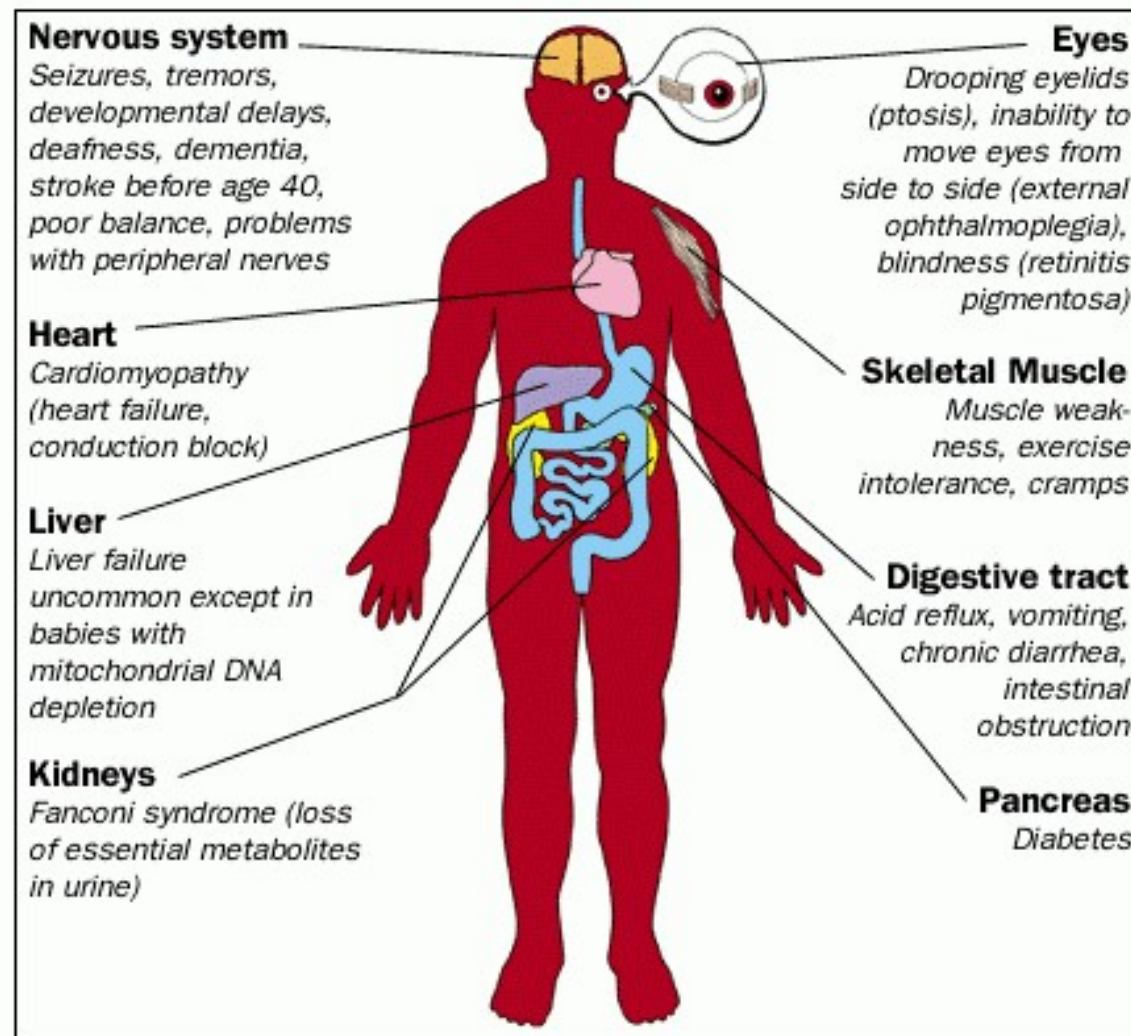


Figura 5. Principali organi e tessuti colpiti dalle malattie mitocondriali

Vietate copia riproduzione e modifiche

La neuropatia ottica ereditaria di Leber

Rapida perdita della vista che si manifesta durante l'adolescenza e può portare a cecità totale dovuta a morte del nervo ottico.

Sintomi meno comuni: demenza mite, atassia, spasticità, neuropatia periferica e difetti di conduzione del cuore.

Tre mutazioni patogenetiche diverse ricorrono nel 96% dei casi.

Le mutazioni sono responsabili di alterazione della funzione delle proteine del trasporto degli elettroni

Sindrome di Leigh

Miopatia infantile spesso letale per lenta e progressiva degenerazione delle facoltà visive, uditive e motorie.

Diverse mutazioni patogenetiche alcune delle quali possono risiedere nel DNA nucleare. Comunque interessano geni importanti per la **fosforilazione ossidativa**.

Sindrome di NARP (neuropatia, atassia, retinite pigmentosa)

Neuropatia sensoriale e motoria, atassia cerebellare e cecità notturna

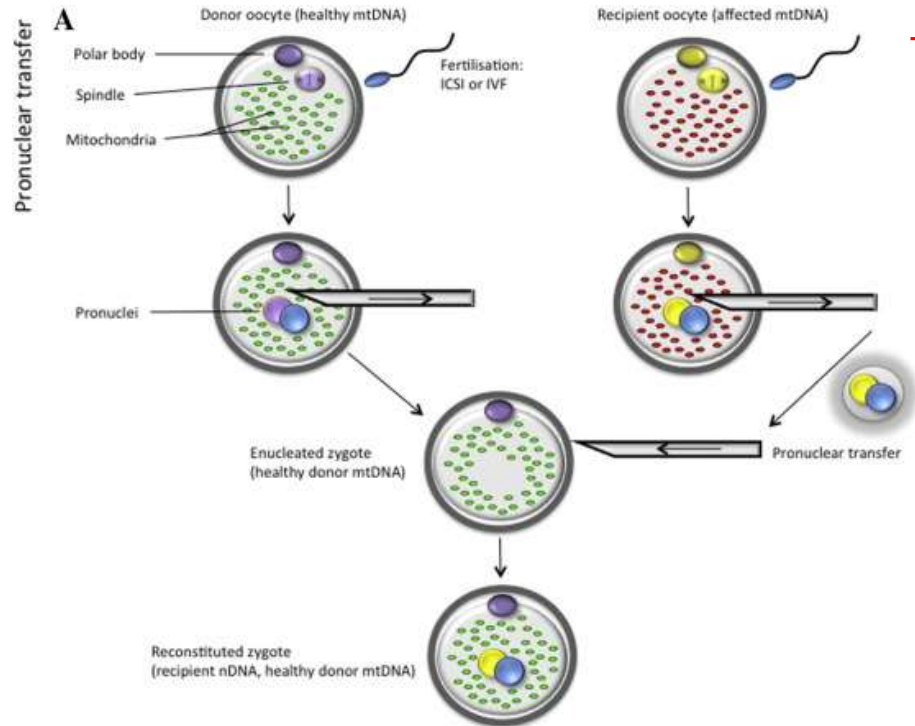
La mutazione patogenetica più frequente altera la funzione di una subunità della ATPasi.

Sindrome di MERRF(epilessia mioclonica associata a fibre rosse sfilacciate)

Scatti muscolari incontrollati (miocloni).

Fibre muscolari con mitocondri con forma anomala contenenti strutture paracristalline.

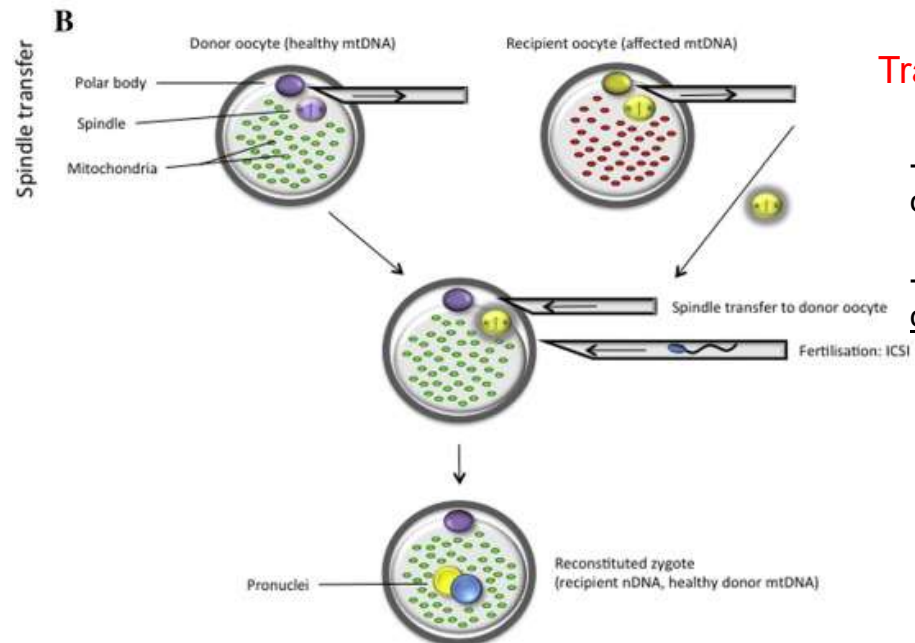
Le mutazioni patogenetiche interessano il gene che codifica per il leucil-tRNA



Trasferimento del pronucleo: utilizza ovociti fecondati

-Ovocita donatore e ovocita malato vengono fecondati con spermatozoi del padre

-Il nucleo prezigotico della cellula donatrice viene eliminato e sostituito dal nucleo prezigotico della cellula malata.



Trasferimento del fuso mitotico: utilizza ovociti non fecondati

-L'ovocita donatore enucleato riceve il fuso mitotico (con i cromosomi allineati) di un ovocita malato

-Il nuovo ovocita sarà poi fecondato con iniezione citoplasmatica dello spermatozoo

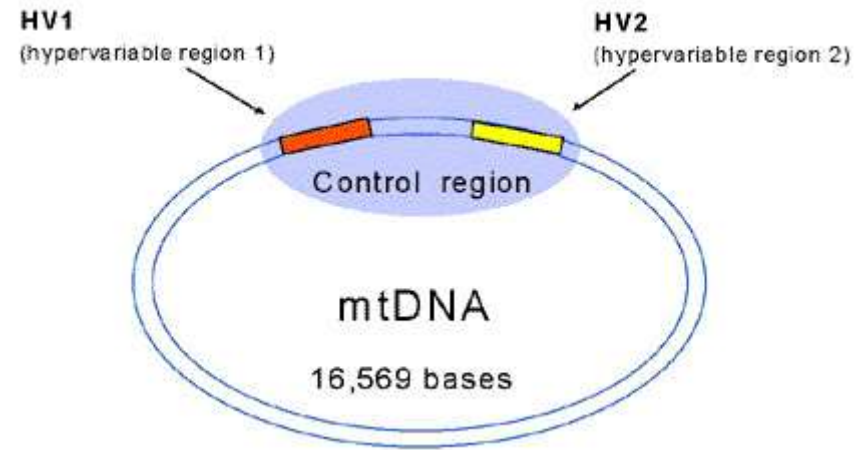
Vietate copia riproduzione e modifiche

UTILIZZO IN GENETICA FORENSE DEL DNA MITOCONDRIALE

Per le sue caratteristiche, il DNA mitocondriale è particolarmente adatto nei seguenti casi:

-Campioni biologici in cui il DNA è scarso o degradato: capelli, denti, ossa, reperti fossili.

-L'unico DNA di riferimento è quello parentale*. In questo caso l'identificazione è supportata dall'identità del DNA mitocondriale nei parenti per linea materna.



Nelle scienze forensi si utilizzano due regioni polimorfiche, (HV1 e HV2) costituenti il cosiddetto D-loop mitocondriale, lunghe complessivamente circa 600 bp.

La frequenza stimata di mutazioni è di 1 su 50 generazioni (Gill et al. 1996), il che rende queste regioni confrontabili in un ampio intervallo di generazioni.