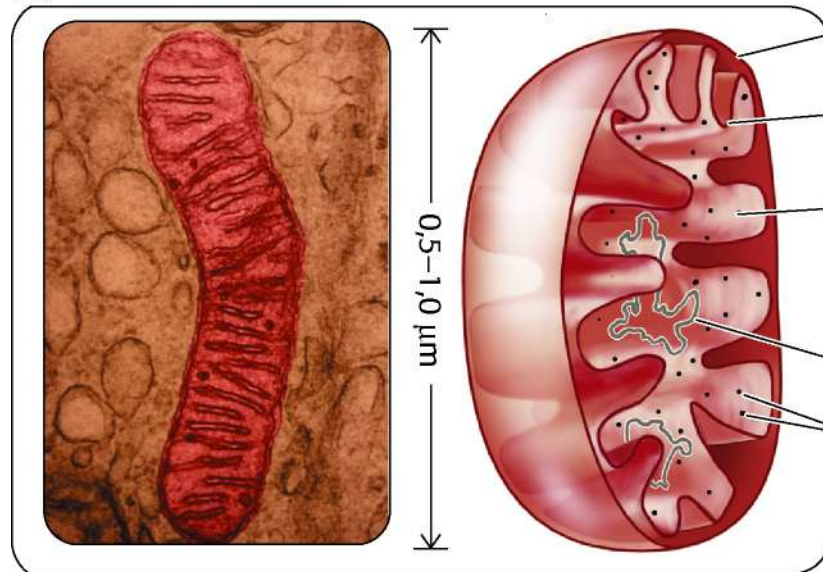
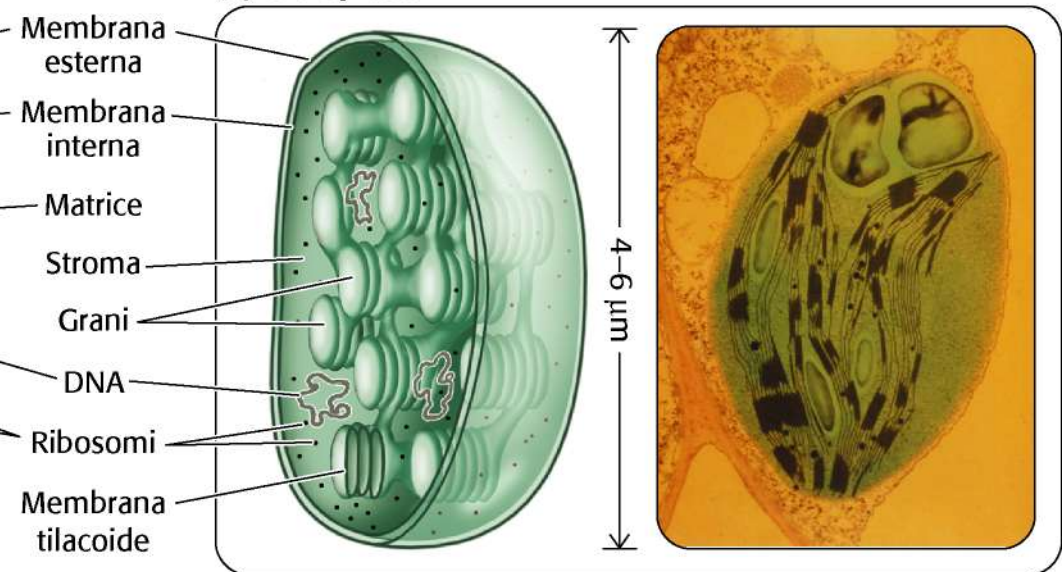


Mitocondri ed eredità citoplasmatica

(a) Mitocondrio

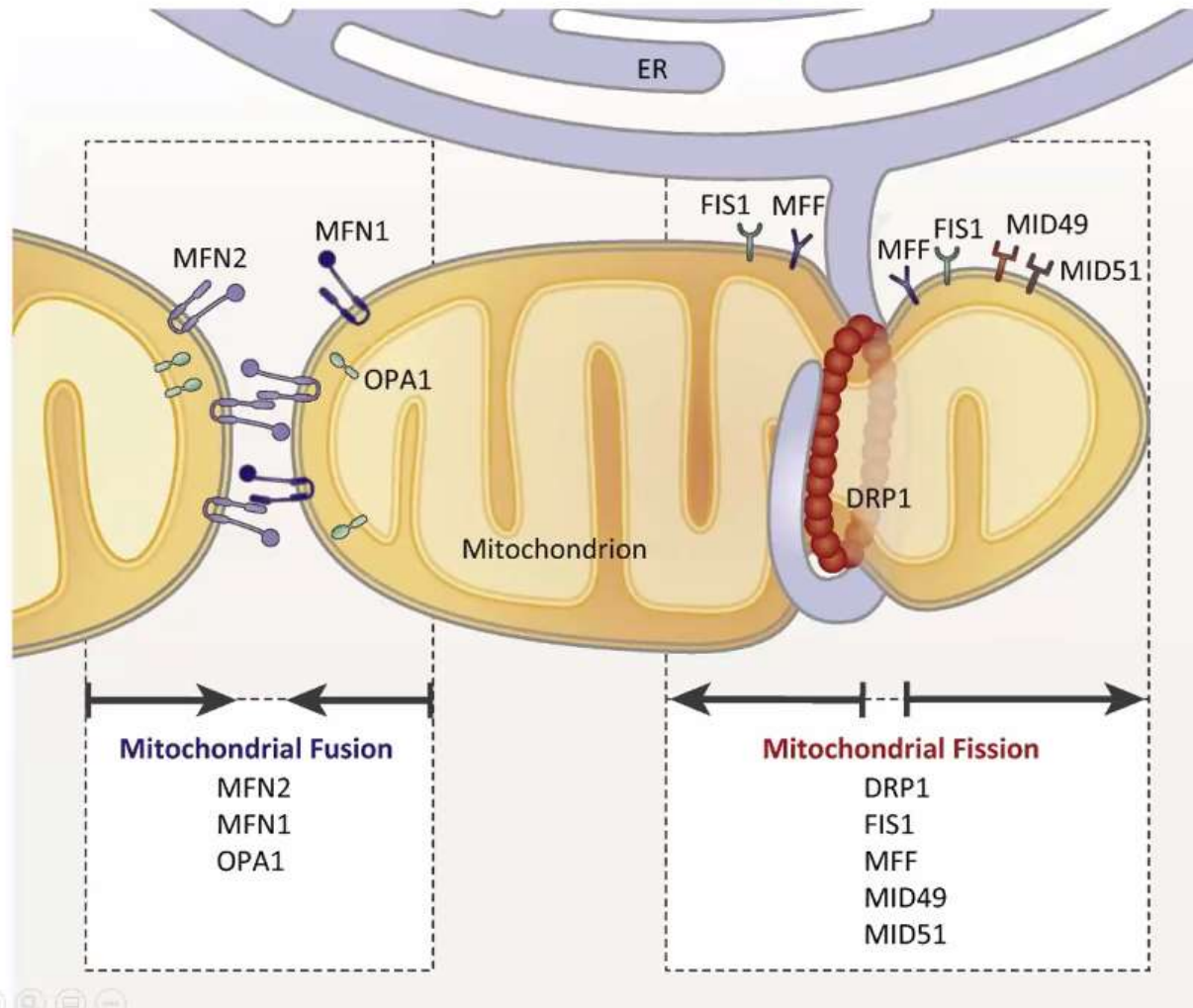


(b) Cloroplasto



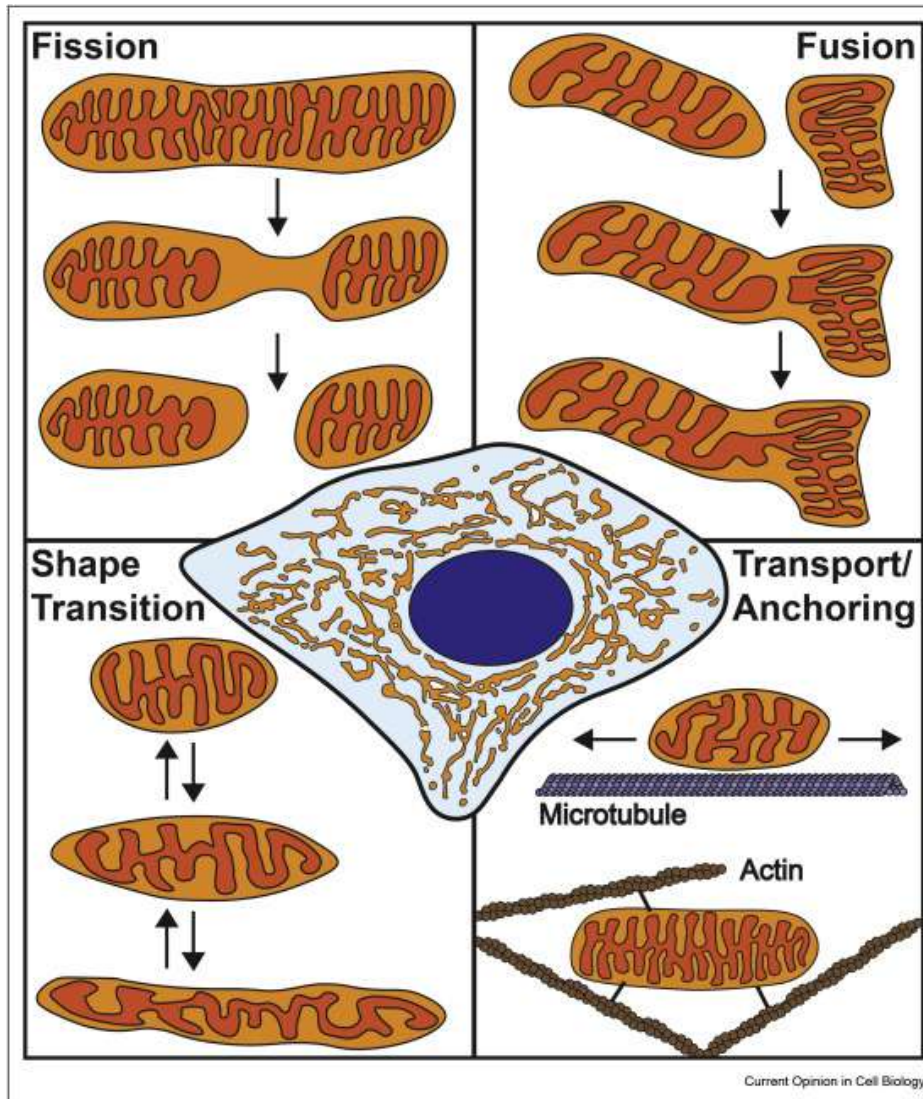
- Membrana esterna
- Membrana interna
- Matrice
- Stroma
- Grani
- DNA
- Ribosomi
- Membrana tilacoide

Mitochondrial dynamics

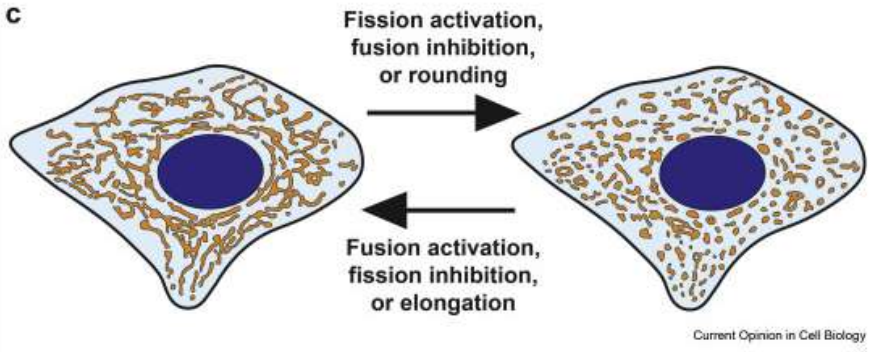


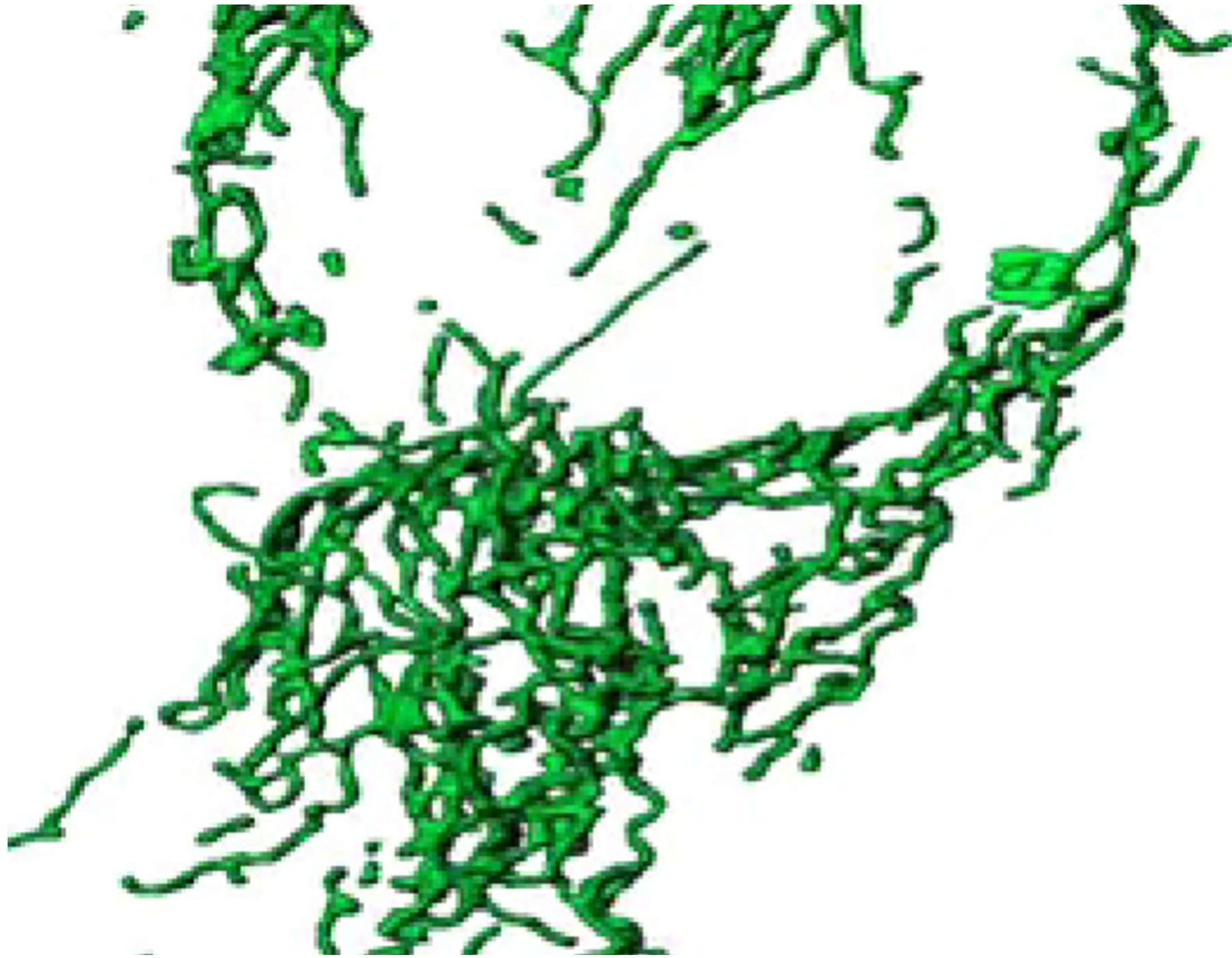
Conv

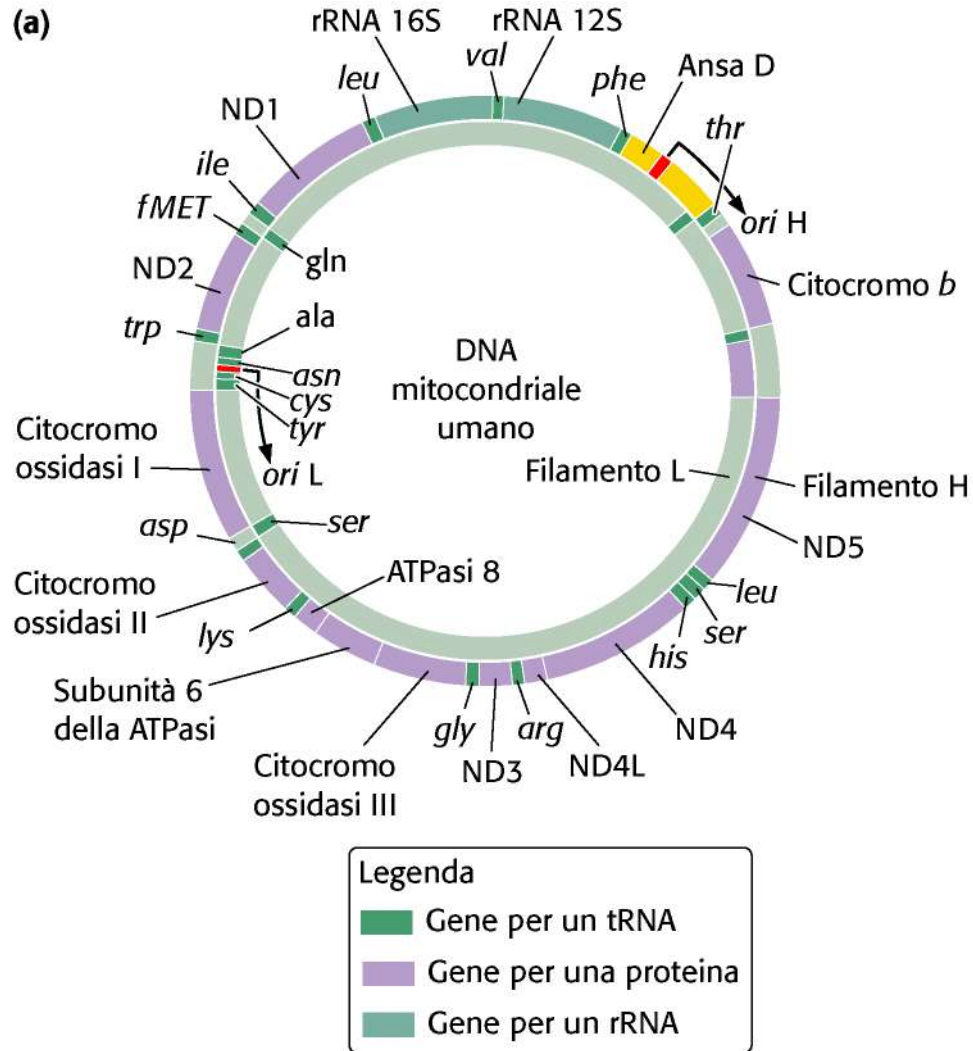




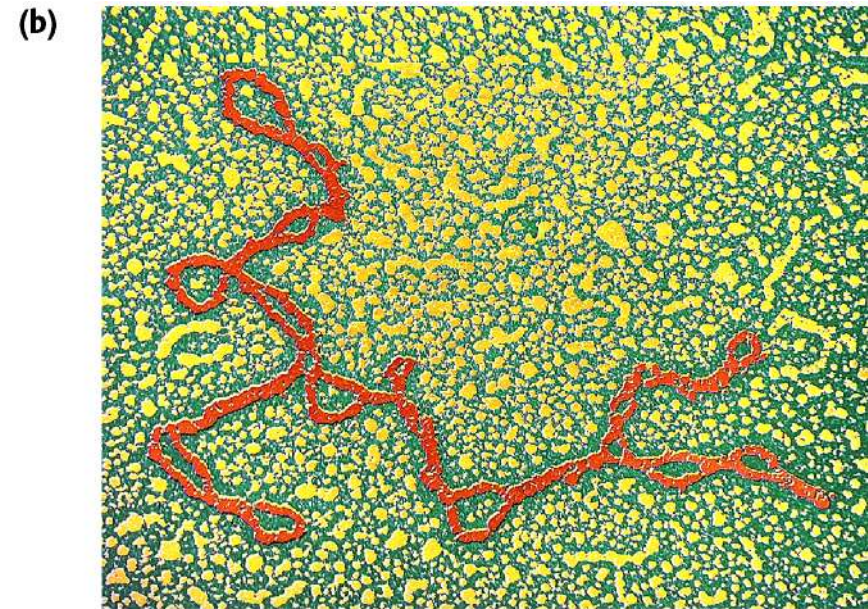
c







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

Filamento pesante(H) e leggero (L)

2 origini di replicazione (ansa D per H)

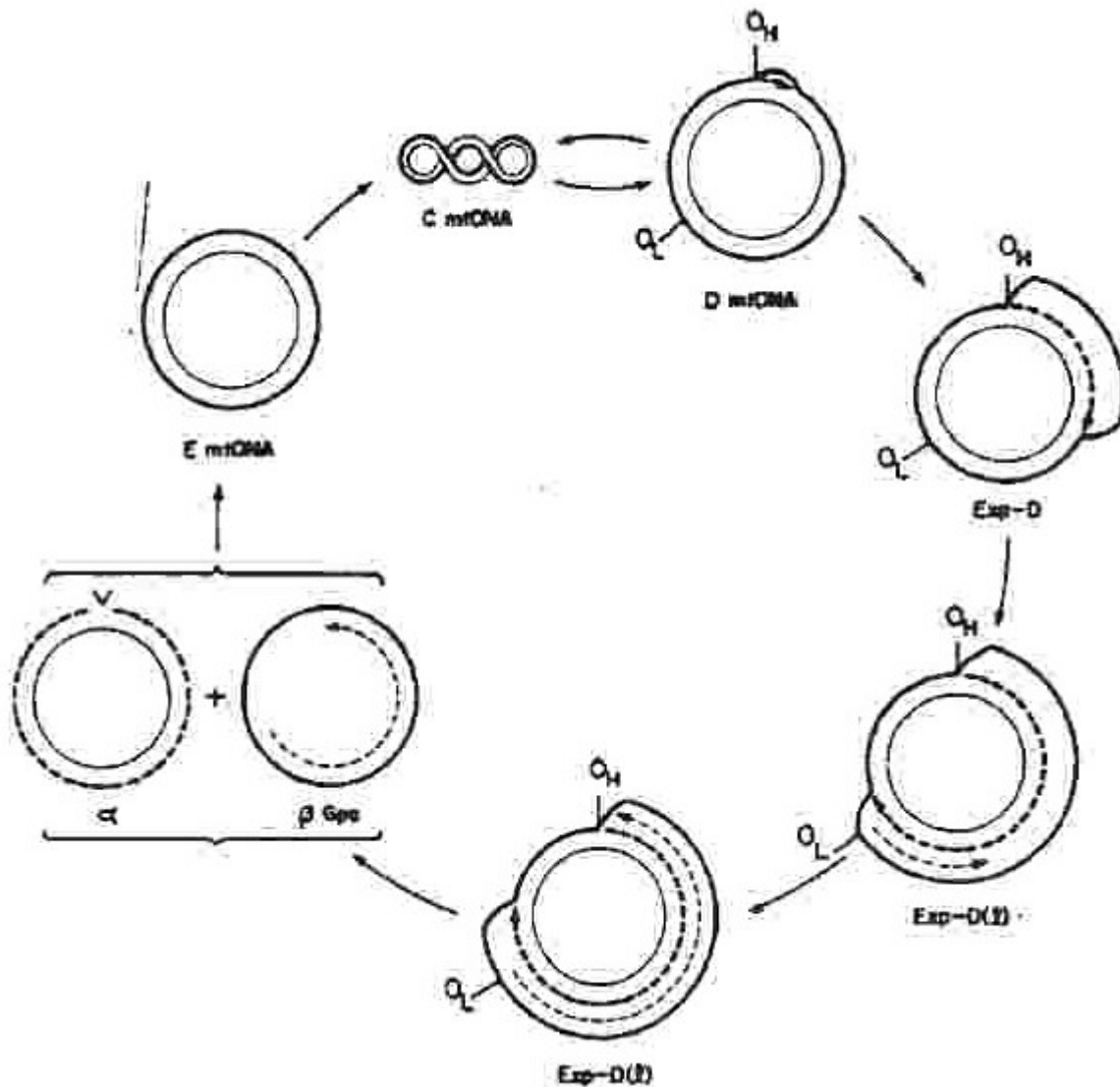
Entrambi i filamenti codificanti

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 dell' mtDNA

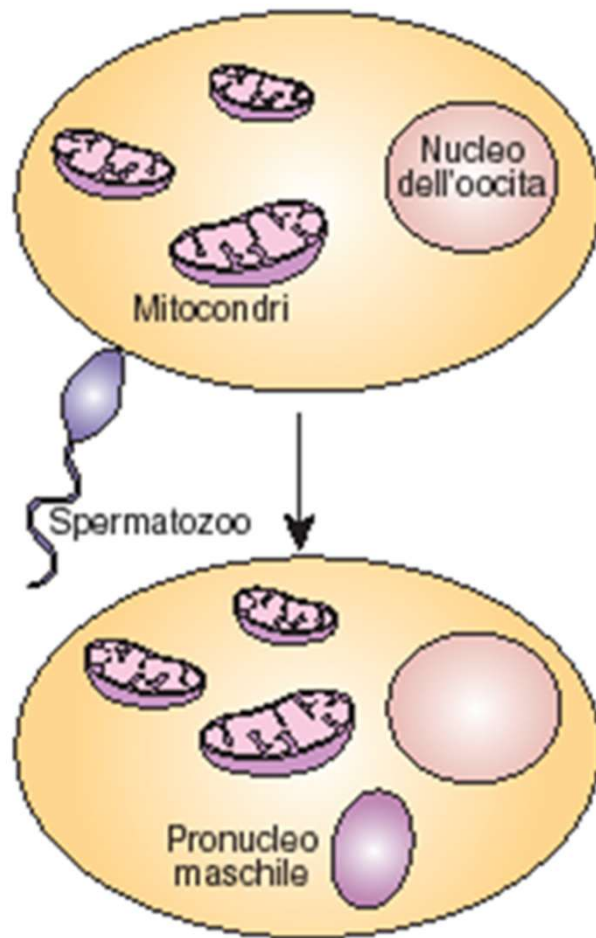


La sintesi è effettuata dalla DNA pol. γ e inizia a livello dell' **ansa D**, per il filamento H, e di una seconda ORI, per il filamento L: replicazione **asincrona** dei due filamenti.

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



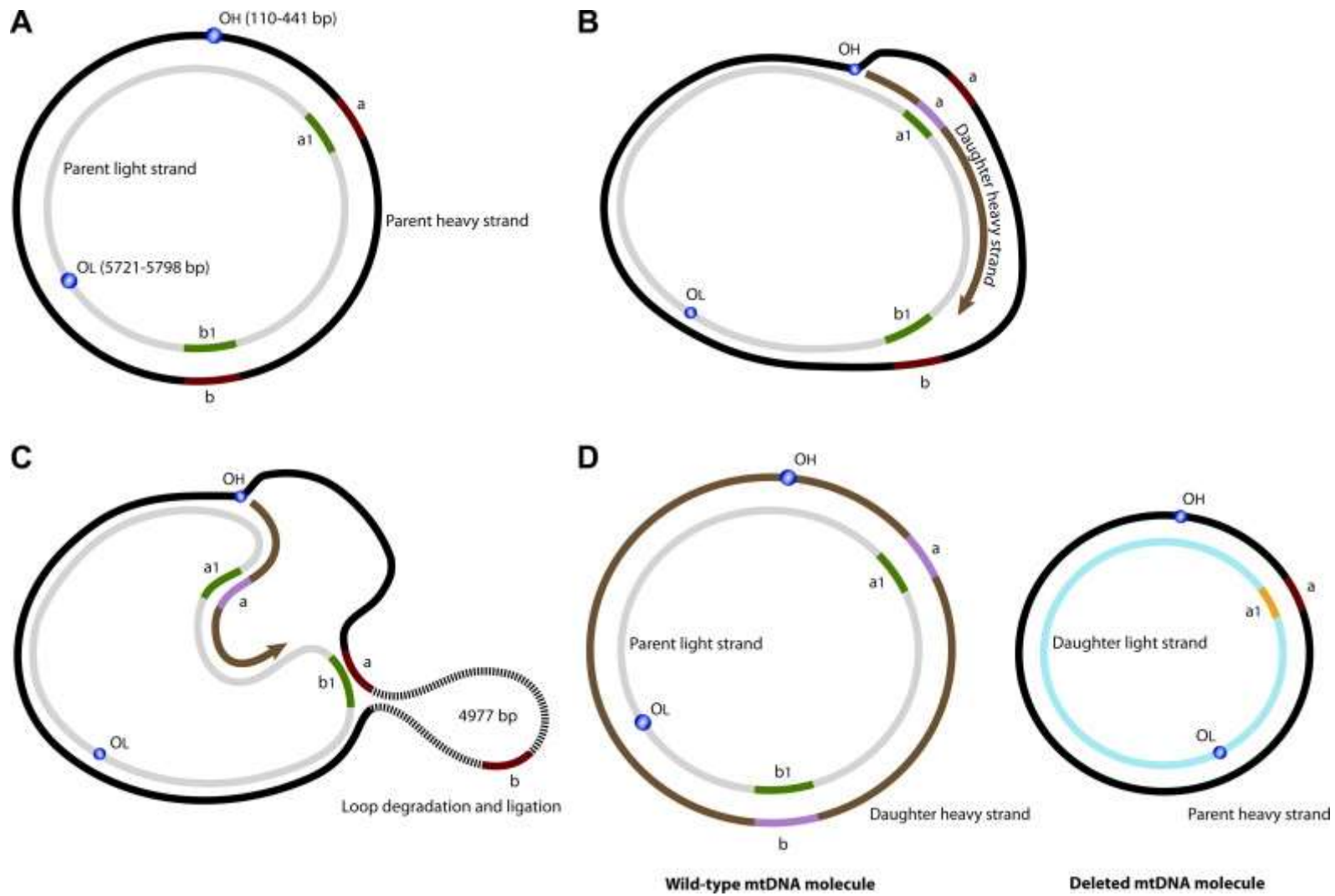
Solo occasionale è la trasmissione di DNA mitocondriale per via paterna

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

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

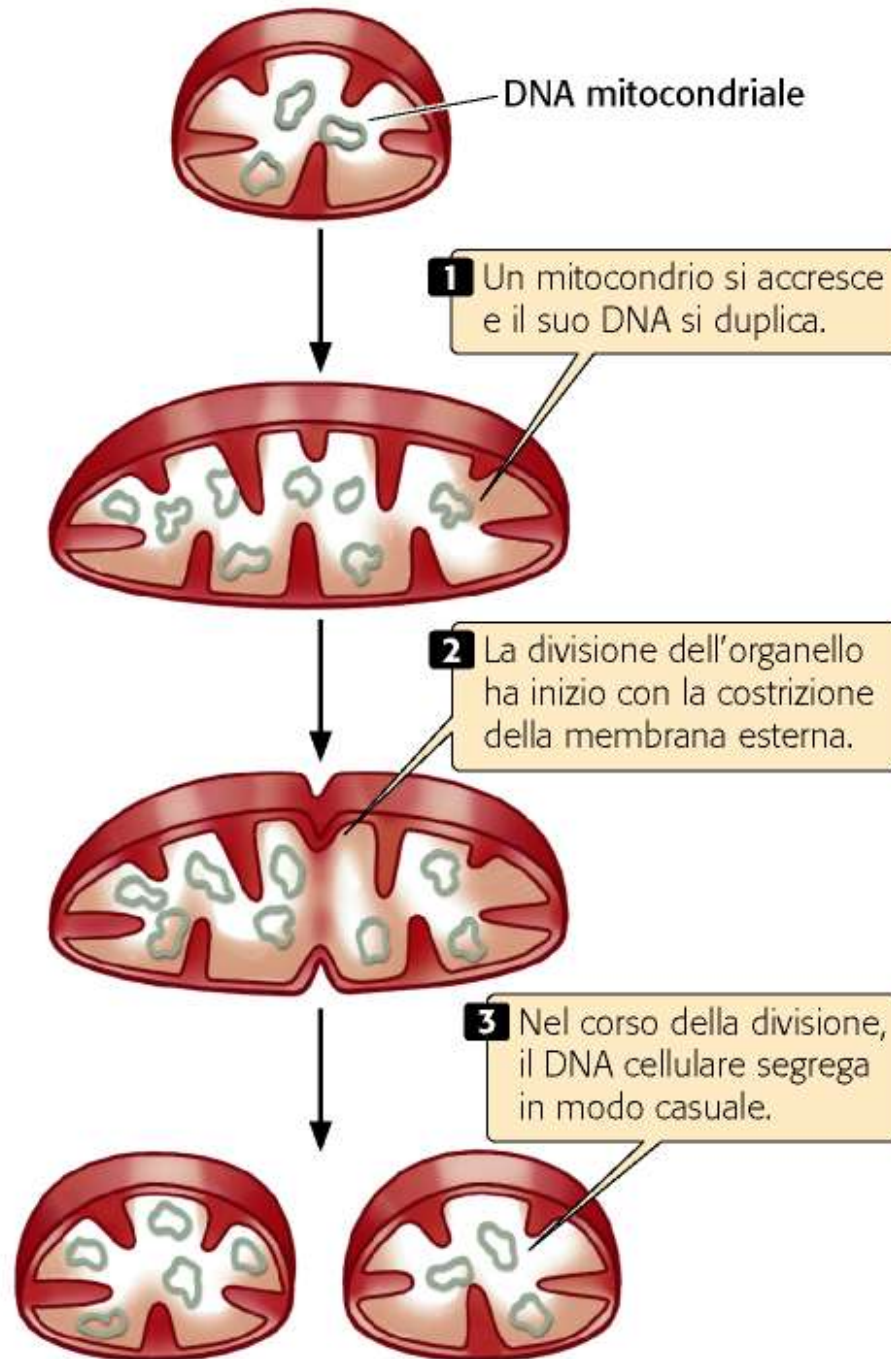
Alcune mutazioni avvengono con maggiore frequenza.

Una di queste è una delezione che interessa una zona compresa tra due sequenze ripetute

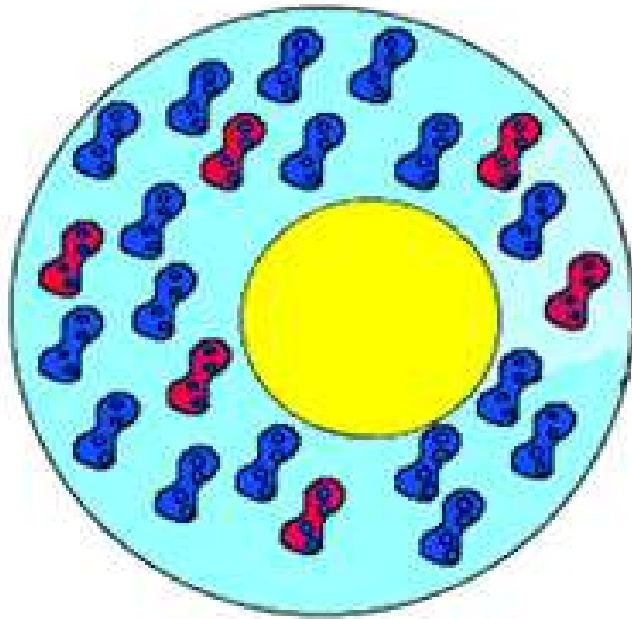


(a)

Mitocondrio



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



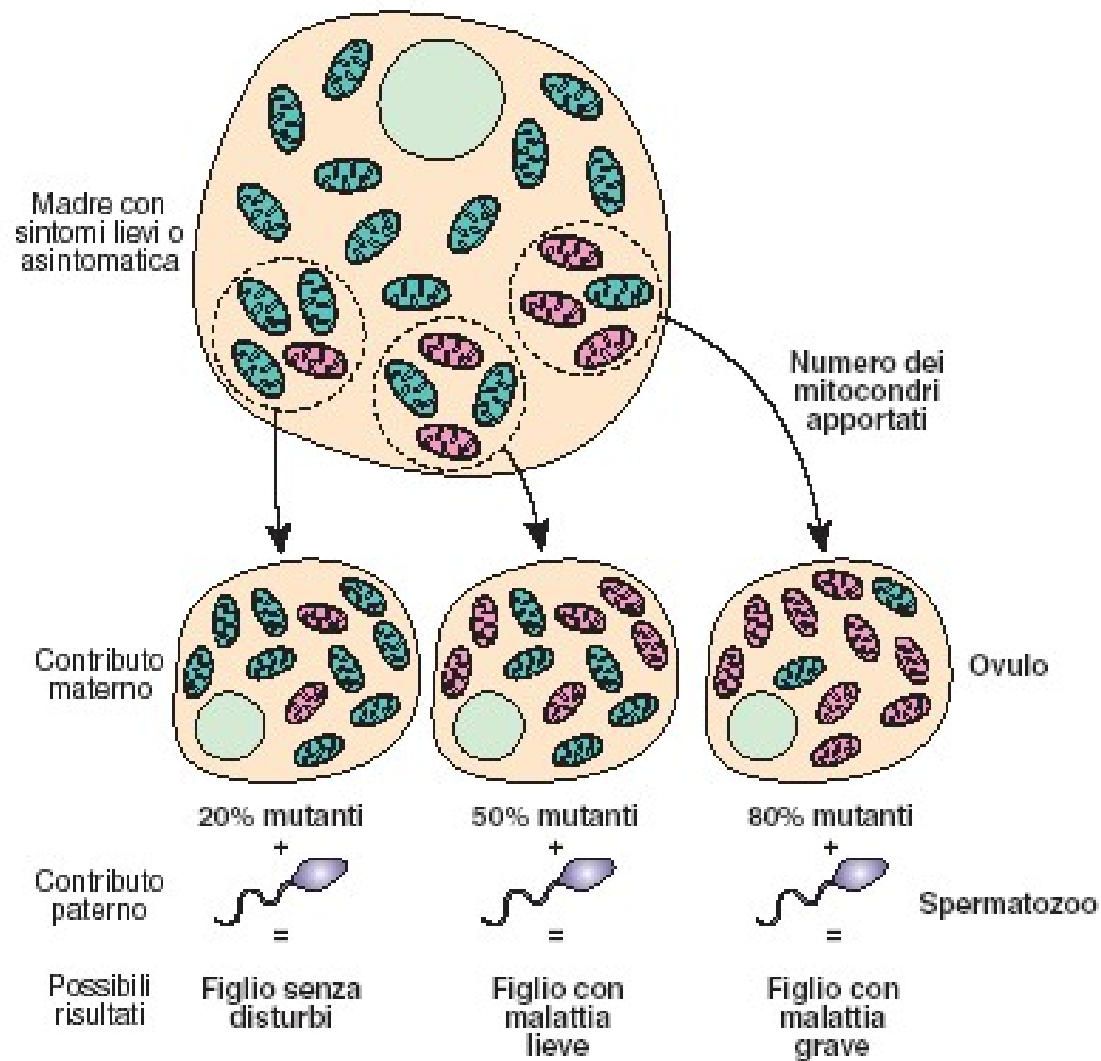
ETEROPLASMIA

A A A A C C
T



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.



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

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

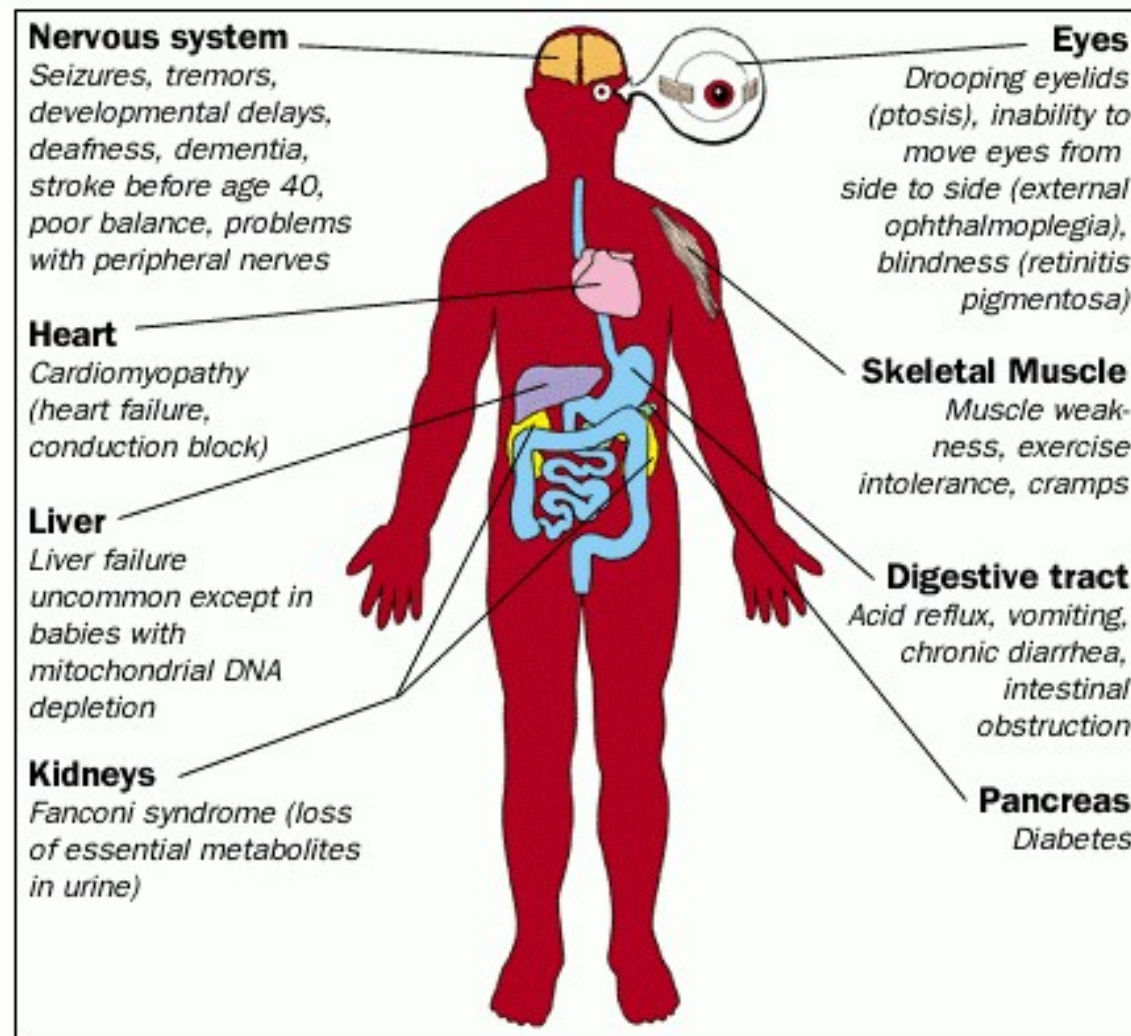


Figura 5. Principali organi e tessuti colpiti dalle malattie mitocondriali

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).

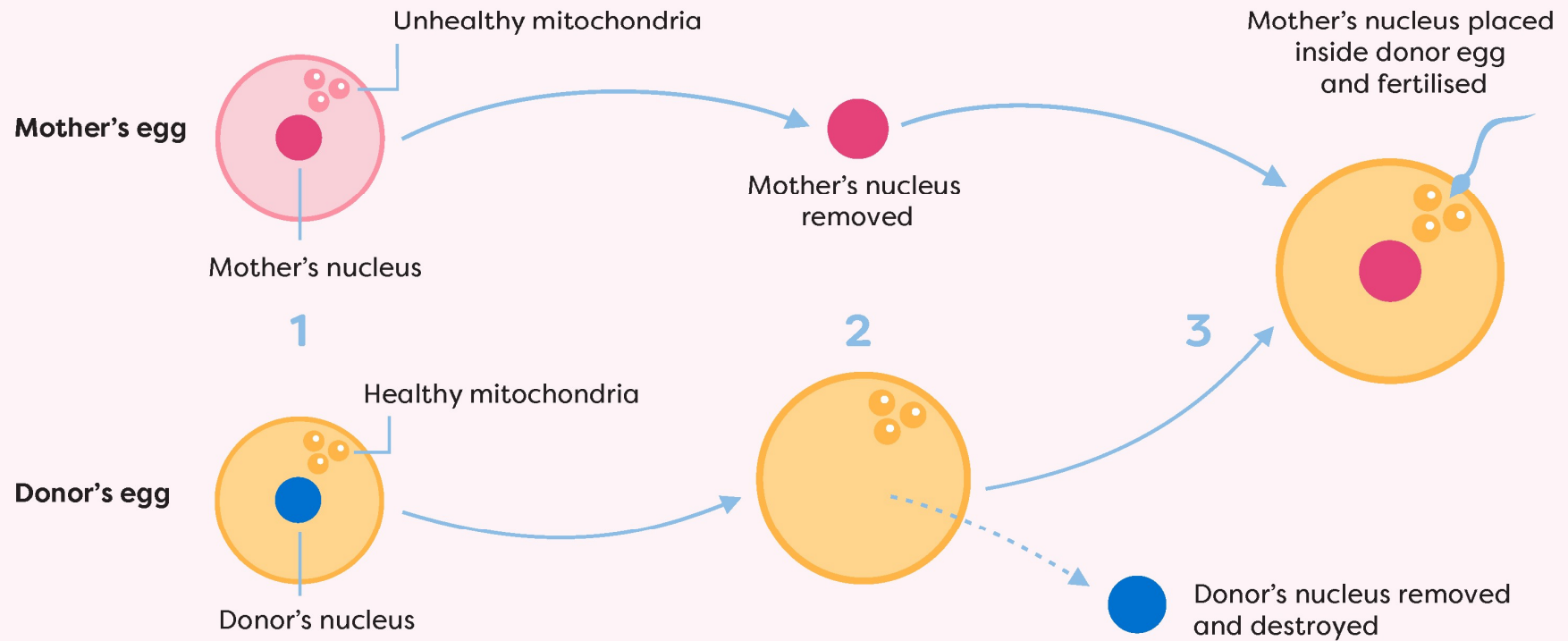
Fibre muscolari con mitocondri con forma anomala contenenti strutture paracristalline.

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

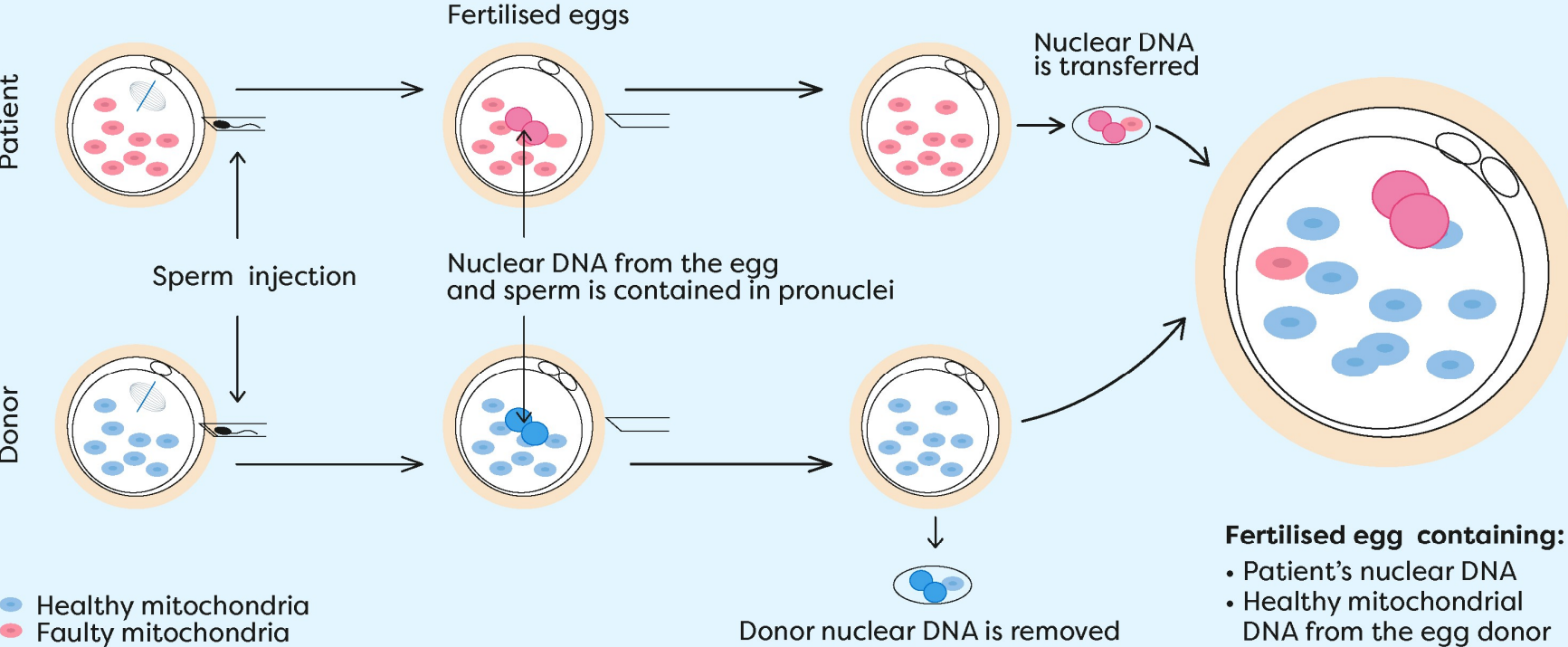
La diagnostica di queste mutazioni si avvale sempre delle stesse tecniche utilizzate per il DNA nucleare, complicata dal fatto che bisogna esaminare piu' tessuti perche' alcuni, a causa dell'eteroplasmia, potrebbero non avere mitocondri mutati o averne pochissimi.

Perle mutazioni mitocondriali non e' possibile eseguire diagnosi prenatale

Spindle transfer



Pronuclear transfer

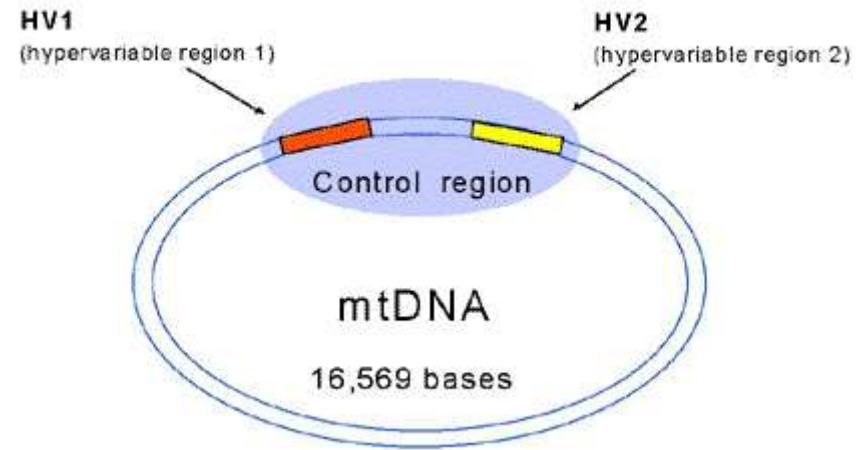


UTILIZZO IN GENETICA FORENSE DEL DNA MITOCONDRIALE

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.