

I meccanismi dell'imprinting

DA: Imprinting in Prader-Willi and Angelmann syndrome

Robert D. Nicholls, Shinji Saitoh & Bernard Horsthemke

Trends in Genetics Vol. 14 n. 5 194-200

Centro di imprinting e meccanismo dell'imprinting

[In questo articolo che riporto solo in parte viene data la definizione di epigenotipo che ritengo utile segnalare: per epigenotipo si intende l'informazione in grado di alterare il fenotipo della progenie, ma che non e' specificatamente codificata nella sequenza primaria del DNA del gene].

Poiche' tutti i geni imprintati sono associati con metilazione differenziale del DNA, alcuni modelli attribuiscono alla metilazione un ruolo chiave nel regolare l'imprinting. Il fondamento di questi modelli e' che la metilazione costituisca un punto di riferimento gametico che viene ereditato e fornisce l'informazione allelica materna o paterna alle cellule dell'embrione e dell'adulto. Il topo privo di DNA-metiltrasferasi perde completamente l'espressione dei loci imprintati, fornendo la prova di un coinvolgimento essenziale della metilazione nell'imprinting. Tuttavia questi esperimenti non sono in grado di distinguere fra il mantenimento e l'instaurarsi del fenomeno [\[probabilmente la metilazione gioca un ruolo chiave nel mantenimento clonale dello stato di inattivazione\]](#).

Il gene *SNRPN* e' finemente regolato dall'imprinting mostrando una esclusiva espressione dell'allele paterno e una metilazione differenziale al livello del promotore in tutti i tessuti. Esso contiene due regioni con metilazione differenziale: la regione dell'esone 1, sottometilata nell'allele paterno espresso, e una regione nell'introne 7 che viceversa risulta metilata nell'allele paterno e sottometilata in quello materno. Entrambe le regioni presentano questo imprinting nei gameti (spermatozoi e oociti), suggerendo che uno o entrambi i siti possano costituire "la marcatura" gametica di questo gene. Percio', un repressore potrebbe legarsi all'allele che e' differenzialmente sottometilato, inattivandolo e bloccandolo nello stato inattivato.

Un'ipotesi di azione e' quella illustrata da Dittrich [\[cfr imprinting concetti generali\]](#). Un altro modello prevede nel maschio il legame di un fattore di trascrizione (TF) all'allele materno metilato che inizia la trascrizione a partire dal promotore di *SNRPN*. Questo legame e' l'inizio della trascrizione potrebbero iniziare la conversione dell'imprinting, dal momento che l'imprinting paterno prevede l'attivazione del gene. La trascrizione nelle cellule germinali potrebbe essere accompagnata dalla demetilazione del promotore e la metilazione dell'esone 7, IC poi trasmetterebbe il segnale in cis in entrambe le direzioni fino ad oltre 2Mb.

Un altro modello non completamente alternativo identifica nell'esone 1 di *SNRPN* una struttura che consenta la condensazione e la decondensazione della cromatina, che diventa accessibile grazie al trascritto di IC. Un meccanismo di questo tipo e' stato ipotizzato *Xist* che costituisce il prodotto del centro di inattivazione del crom. X e per spiegare il pattern di espressione durante le divisioni somatiche in *Drosophila*; l'attivazione e l'inattivazione in questo caso coinvolge una struttura cromatinica con un piu' alto ordine di organizzazione. I fattori del gruppo Poly-comb (Pc-G) interagiscono con alcuni elementi sensibili inducendo la formazione di strutture simili all'eterocromatina a loro volta contrastate dai fattori del gruppo trithorax (trx-G). Percio' le regioni coinvolte nel controllo dell'imprinting come la regione promotore/esone 1 di *SNRPN* potrebbero contenere un elemento in grado di reagire con Pc-G/trx-G e potrebbero essere testate nelle mosche transgeniche poiche' la cromatina controllata da Pc-G puo' inattivare un gene reporter inibendo l'accessibilita' di un fattore che agisce in trans al suo DNA target. Con questo sistema e' stato indotta un'inattivazione molto forte in un costrutto contenente la regione di 200pb a monte e 500 pb a valle dell'esone 1 di *SNRPN*. Il silenziamento si estendeva nelle due direzioni ad una regione di oltre 1kb. Questi dati suggeriscono la partecipazione di un elemento silenziatore alla repressione somatica dell'allele materno di *SNRPN* o alla regolazione lungo raggio del dominio in 15q11-q13; in questo ultimo caso devono esserci ulteriori siti di reazione. L'abolizione di questa struttura cromatinica inattiva nelle cellule germinali primordiali dovrebbe quindi richiedere un fattore di attivazione che interagisca con il silenziatore allontanando le proteine coinvolte. Una delezione di origine materna di questa sequenza target, osservata nei padri di pazienti PWS per mutazioni da imprinting, dovrebbe provocare la mancanza dell'abolizione dell'imprinting nella linea germinale maschile e di conseguenza la trasmissione del cromosoma paterno con un imprint della nonna materna. Al contrario l'elemento che controlla la conversione pat>mat mutato nei pazienti AS con mutazioni dell'imprinting, potrebbe essere richiesto per cancellare l'imprinting paterno nella linea germinale femminile per ristabilire il silenziamento.

Conservazione evolutiva dell'imprinting

I geni della regione 15q11-13 umana hanno i loro omologhi nella regione murina 7C [n. b. nel topo i cromosomi non sono suddivisi in bande numerate come nell'uomo, ma in regioni identificate dal numero del cromosoma e le lettere]. La possibilita' di creare ceppi portatori di riarrangiamenti cromosomici ha permesso di originare topi portatori di UPD per la regione centrale della regione 7C materna, che manifestano un fenotipo imprintato. L'UPD materna costituisce un modello animale per PWS, ma i topi non riescano a sopravvivere, questo potrebbe essere la conseguenza dell'incapacita' di nutrirsi e dell'ipotonia, presenti anche nei neonati PWS [n. b. l'incapacita' di nutrirsi dei neonati PWS li porta ad avere difetti di accrescimento, il che e' un paradosso se si considera l'incapacita' di controllare l'appetito e le conseguente obesita' che compare dopo il periodo neonatale]. Al contrario il topo con UPD paterno ha delle somiglianze con il fenotipo AS [n. b. ricordo che grazie ai topi con fenotipo AS e' stato possibile testare il coinvolgimento di UBE3A nella patogenesi di AS e dimostrare l'inattivazione preferenziale di questo gene in alcune zone del cervello].

E' stato dimostrato recentemente che negli ibridi somatici uomo-topo l'espressione e la metilazione dei geni imprintati della regione 15q11-q13 sono mantenute anche in queste colture cellulari, questo indicherebbe che i segnali di imprinting somatici sono riconosciuti anche quando il DNA cromosomico umano e' stato ricompattato grazie alle proteine di origine murina. Inoltre, poiche' i geni imprintati umani e murini che mappano rispettivamente in 15q11-q13 e in 7C, hanno conservato sia la posizione cromosomica relativa, che la struttura del gene, la sequenza e lo stato di imprinting , e' probabile che il meccanismo dell'imprinting si e' conservato nel tempo intercorso dalla separazione di queste due specie.

Il ciclo vitale molecolare dell'imprinting

Il meccanismo attraverso il quale l'imprinting e' attuato nella cellule germinali, mantenuto nell'embriogenesi e lo sviluppo postnatale e successivamente di nuovo modificato nelle cellule germinali e' quasi completamente sconosciuto. Tuttavia basandosi sugli studi della metilazione gene specifica e sulla attivita' di un IC coinvolto nel commutare l'imprinting nella linea germinale di un dominio di oltre 2 Mb, e' possibile formulare un modello per la regolazione dell'imprinting nel ciclo vitale dei mammiferi.

- 1- IC e' in grado di dare inizio alla commutazione dell'imprinting nella linea germinale
- 2- questo innesco e' seguito dalla diffusione bidirezionale del segnale di IC attraverso una regione imprintata di almeno 2 Mb e dal riconoscimento del segnale da parte di tutti i geni target coinvolti
- 3- si insatura la metilazione gene specifica che e' caratteristica della linea germinale maschile e femminile.
- 4- Dopo la fecondazione, nella fase precoce preimpianto alcuni geni vengono regolati dall'imprinting gametico, mentre altri geni trasferiscono il segnale della metilazione gametica al 'body' del gene
- 5- si instaura la metilazione del promotore per bloccare il gene nello stato appropriato che stabilisce l'espressione monoallelica del gene.

Naturalmente sono ipotesi, che ancora necessitano di conferma sperimentale, il modello murino pur con i limiti che la differenza fra le due specie comporta si sta rivelando estremamente utile per chiarire le relazioni fra i geni presenti in questa regione. Potete fare riferimento ai due articoli usciti successivamente a questo che sono stati riportati e commentati.