

Riparazione degli errori di appaiamento (MMR)

Elimina le singole basi misappaiate ed i loop di inserzione-delezione che si formano durante la replicazione in presenza di brevi sequenze ripetute

Ripara il DNA con un'efficienza pari al 99,9%

Riconosce e ripara solo l'elica neosintetizzata che contiene i nucleotidi errati

E' compiuta da un sistema multiproteico che comprende almeno 6 elementi diversi

MSH2 forma un eterodimero con **MSH6** (misappaiamento) o **MSH3** (loop di inserzione-delezione) e si lega al DNA segnalando l'elica templato

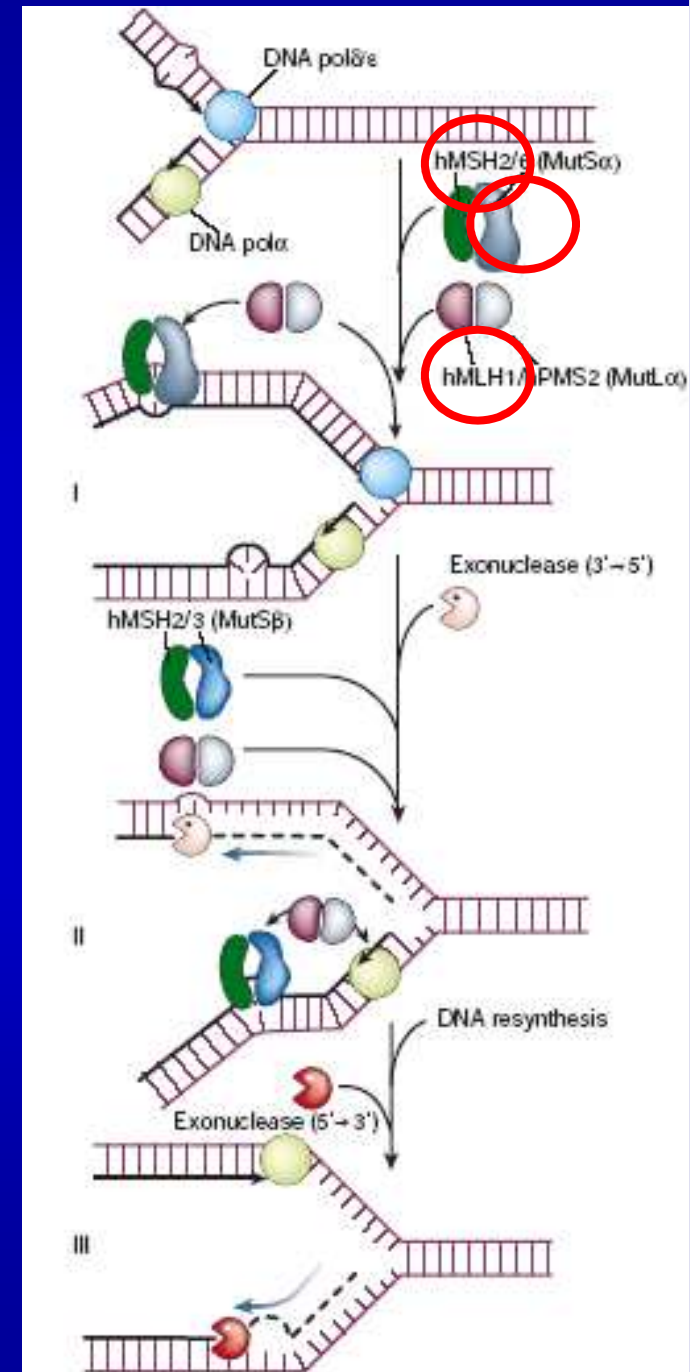


L'eterodimero **MLH1-PMS2**, talvolta legato anche a **PMS1**, coordina il legame con l'esonucleasi **EXO1** 3'-5' ed una o più elicasi



EXO1 rimuove le basi errate e il gap è riempito da **DNA polimerasi** e **ligasi**

MSH2, MSH3 e MSH6 sono omologhi a **mutS** di E.coli; **MLH1, PMS1 e PMS2** sono omologhi a **mutL** di E.coli



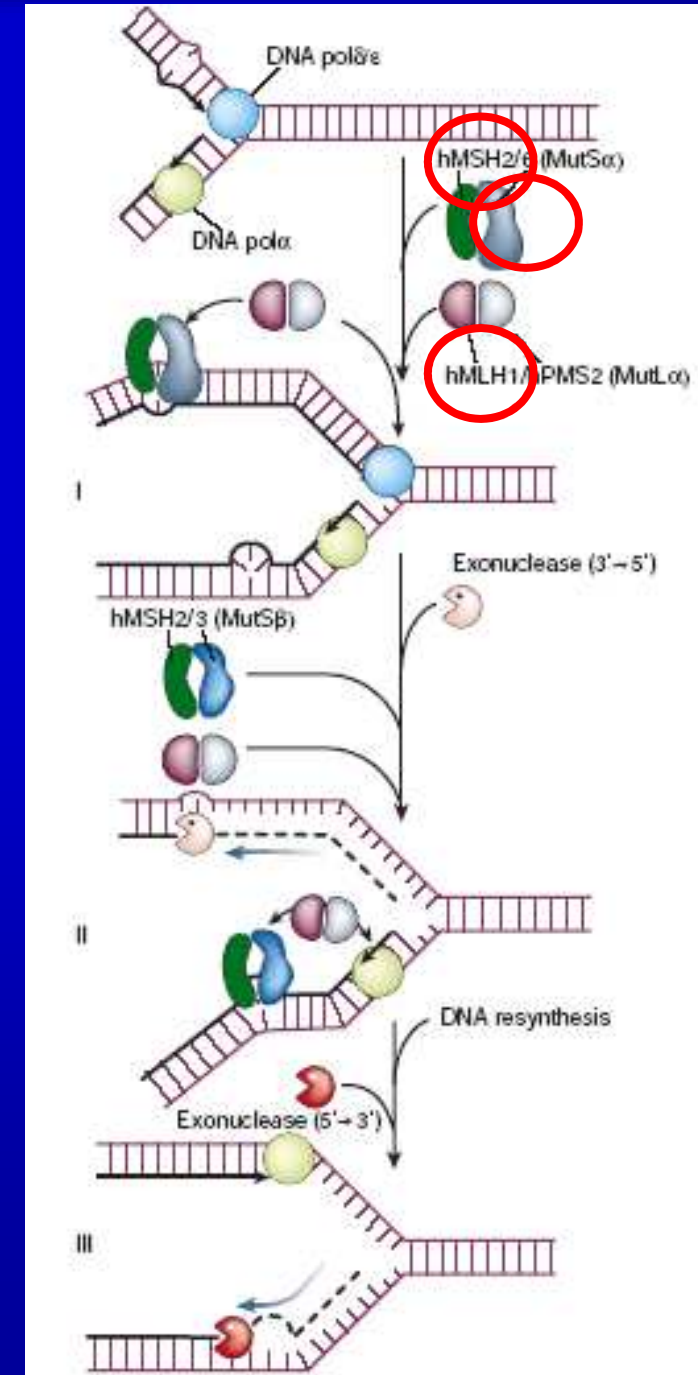
HNPPC

cancro colon-rettale ereditario non poliposico

hMLH1: 50% delle mutazioni

hMSH2: 35%

hMSH6: 10%



Mutazioni in un gene del MMR □ predisposizione a **HNPCC** (cancro colon-rettale ereditario non poliposico), patologia frequente (1/200), aumento 100-1000X del tasso generale di mutazione, rischio di tumori al colon-retto

hMLH1: 50% delle mutazioni in HNPCC

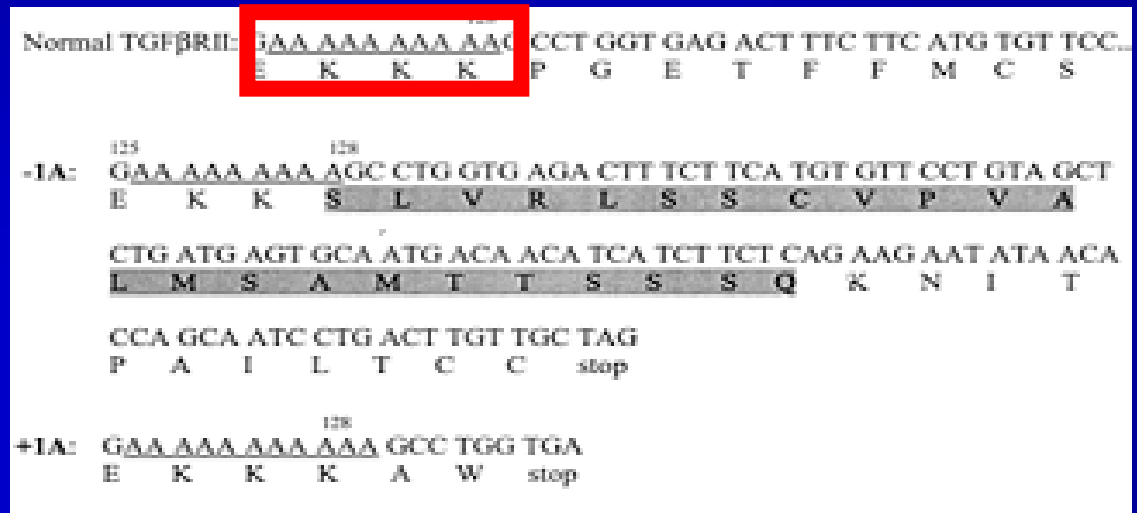
hMSH2: 35%

hMSH6: 10%

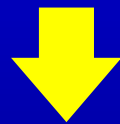
Le sostanze chimiche in grado di indurre mutazioni sono contenute soprattutto nel cibo o sono prodotte dal metabolismo alimentare □ maggiori probabilità di colpire la mucosa della zona colon-rettale, dove il cibo permane 24-36 ore

L'alterazione del MMR aumenta l'insorgenza di mutazioni nel gene codificante per il recettore di tipo II per il TGF β (TGF β è un inibitore della proliferazione cellulare)

Tale gene contiene una fila di 10 Adenine dove si ha frequente "slittamento" della DNA polimerasi sequenze con 9 o 11 A, corrette da MMR

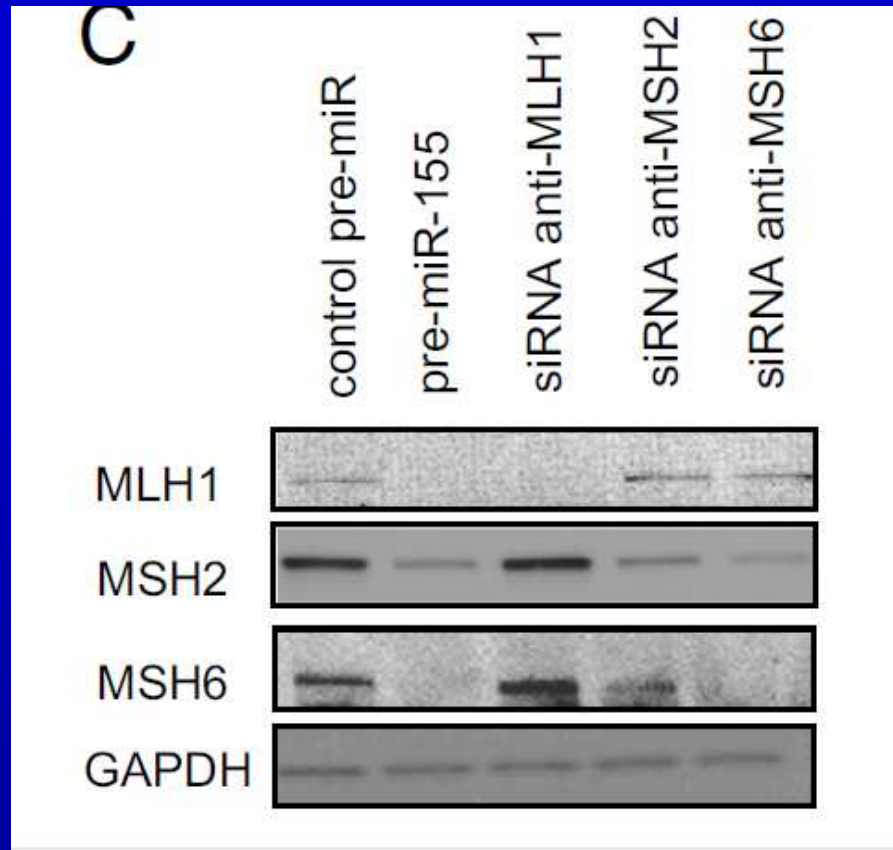


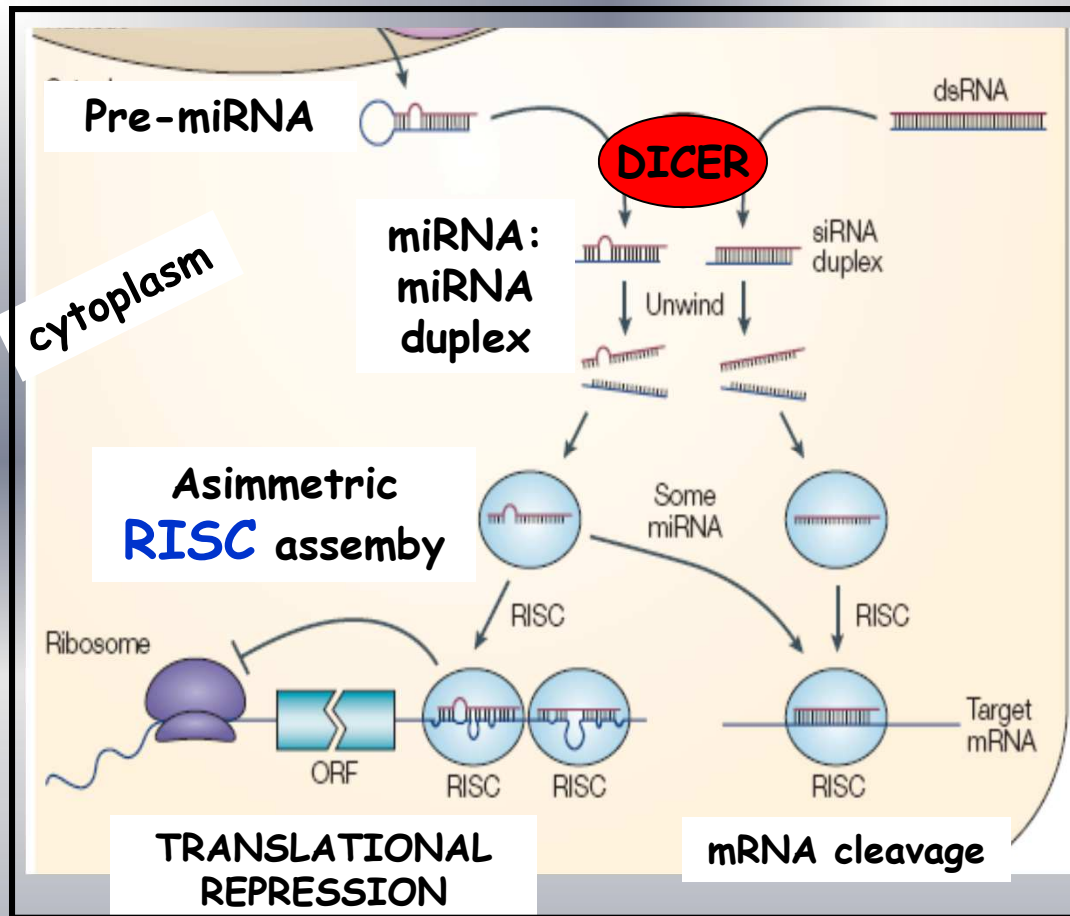
Pazienti con alterazioni del MMR: l'errore permane
recettore per TGF β non funzionale



La mutazione rende le cellule insensibili alla inibizione della crescita indotta da TGF β sviluppo incontrollato caratteristico dei tumori

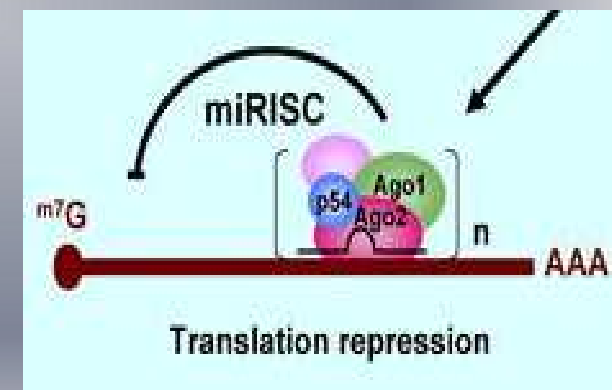
Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in CRC cells





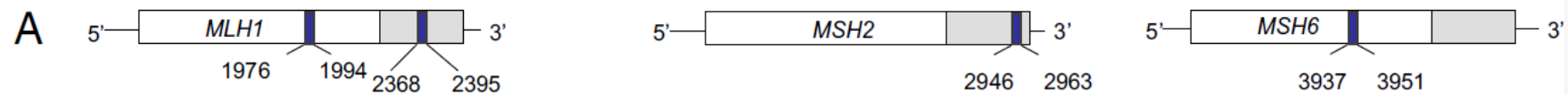
miRNAs enter the Ago-containing microribonucleoprotein (miRNP) complex = **RISC** that repress target gene expression

Argonaute domain is the catalytic core of **RISC**

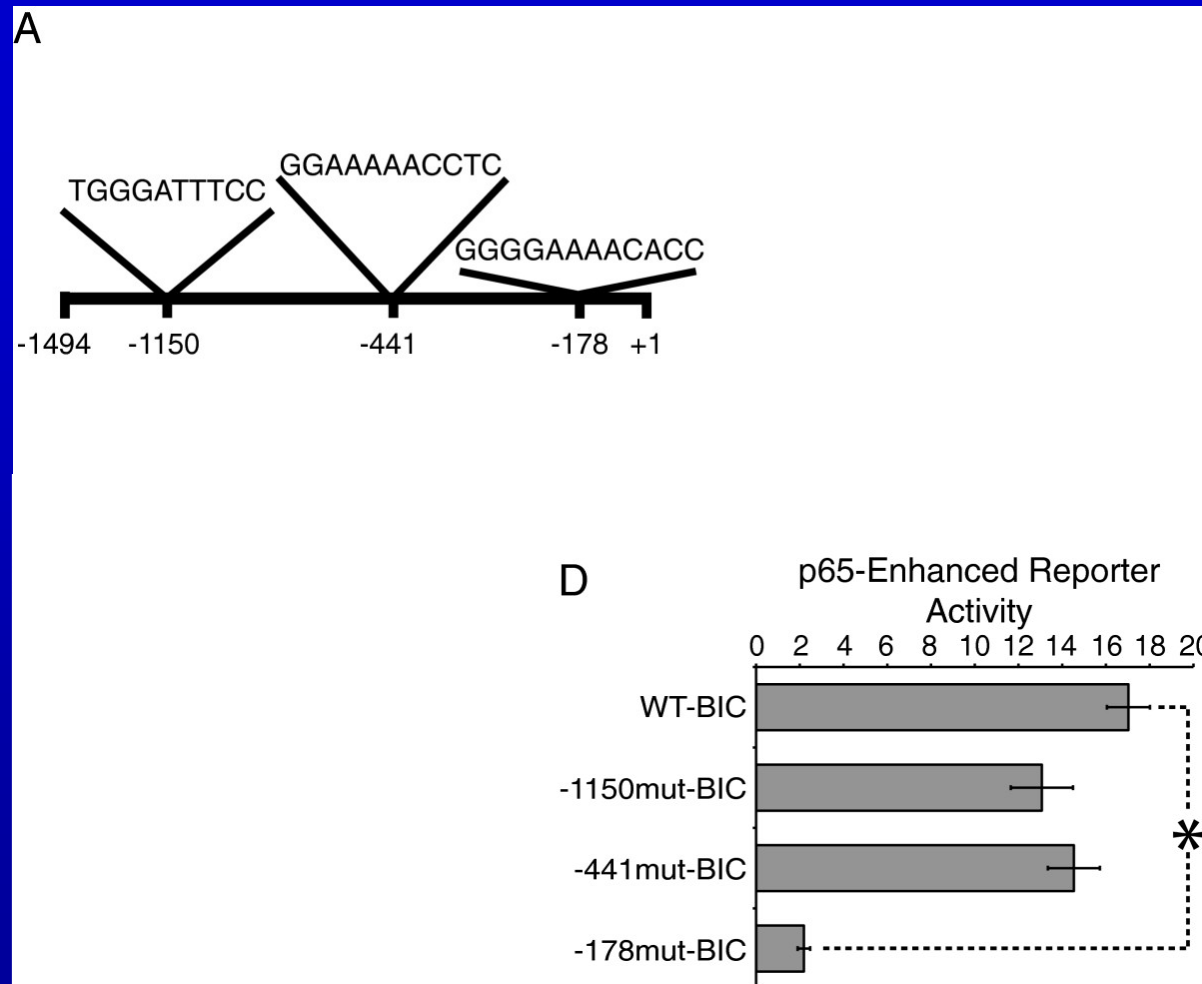


Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in ColoRectal Cancer cells

- hMLH1, hMSH2, and hMSH6 are direct targets of miR-155. (A) Locations of the target sites of miR-155 in the 3' UTRs and/or the CDS of the indicated genes

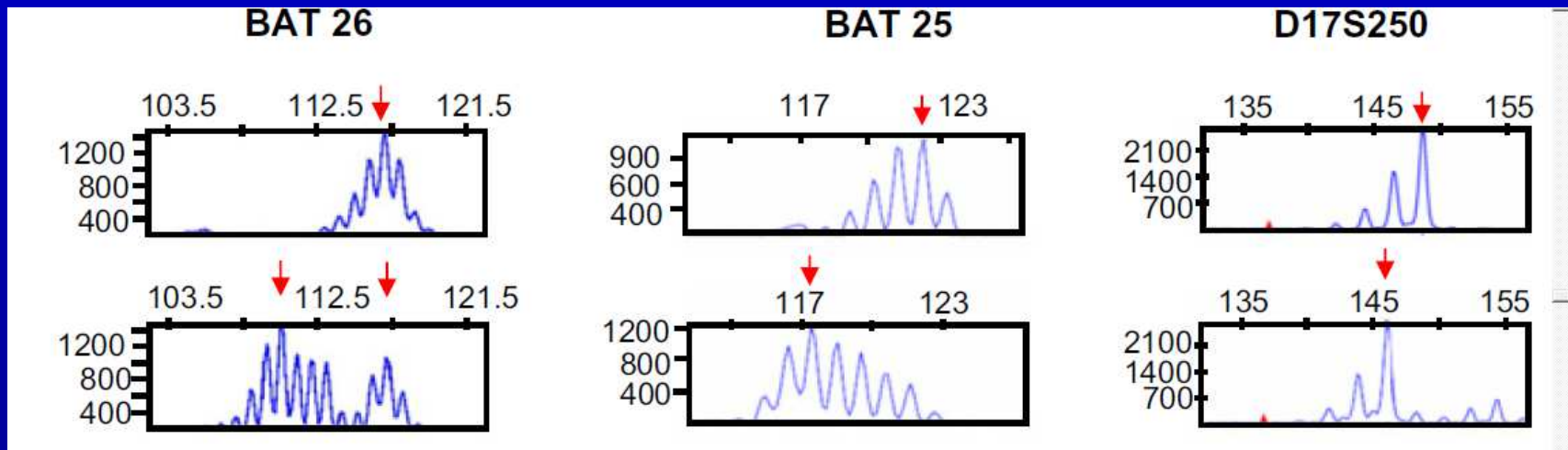


NF- κ B p65 up-regulates expression from the MIR155HG promoter through an NF- κ B binding site located upstream of the transcription start site BMC Molecular Biology 2013 14:24

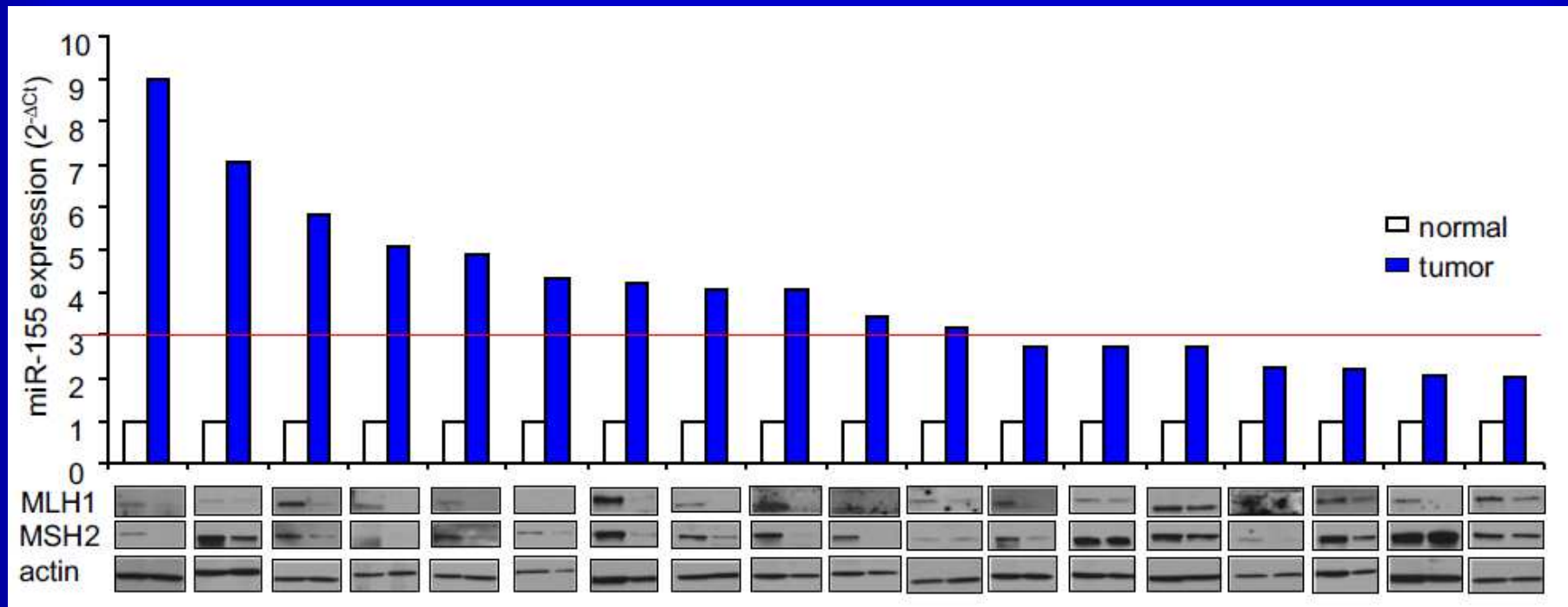


Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in CRC cells

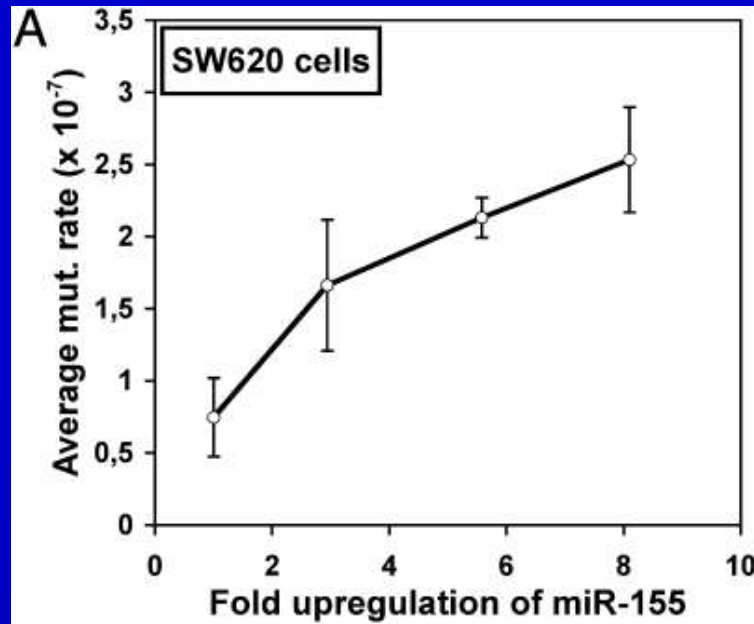
- Microsatellite analysis of Colo 155 (+) overexpression of miR-155) and (-) cells
- BAT-26 and BAT 25 (mononucleotide repeats)
- D17S250 (dinucleotide repeat)



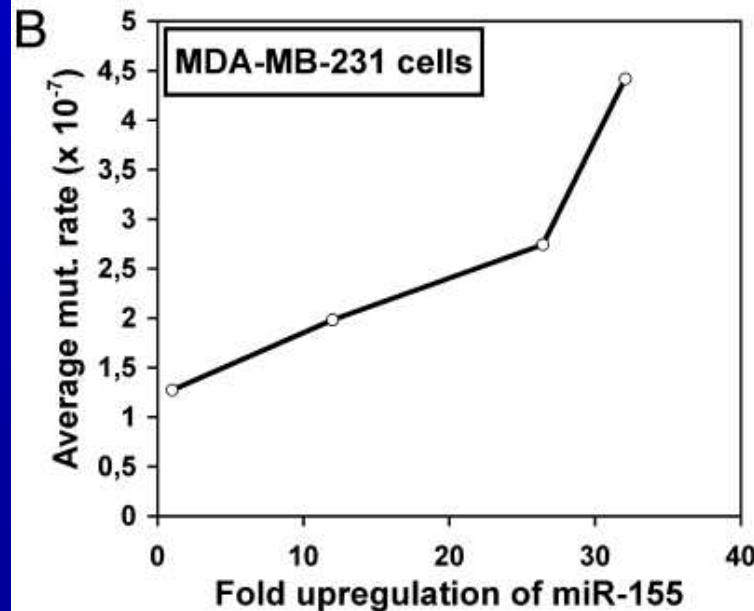
miR-155 expression is inversely related to MLH1 and MSH2 in CRC tissues



colorectal adenocarcinoma cells



breast adenocarcinoma cells



miR-155 under the control of an inducible system

DSB

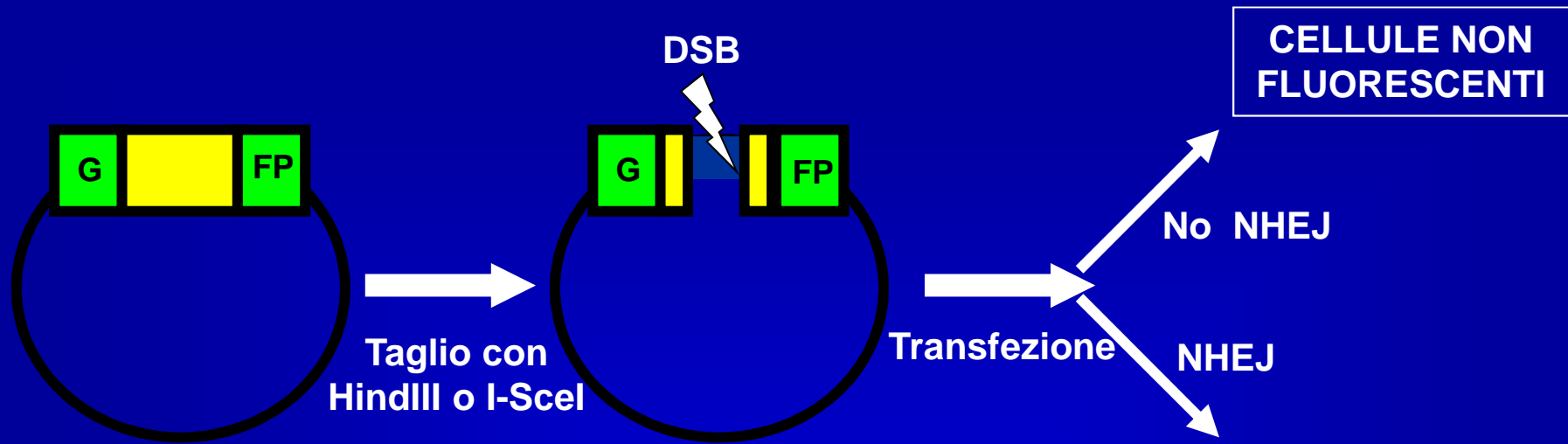
Double-Strand Breaks

causate da

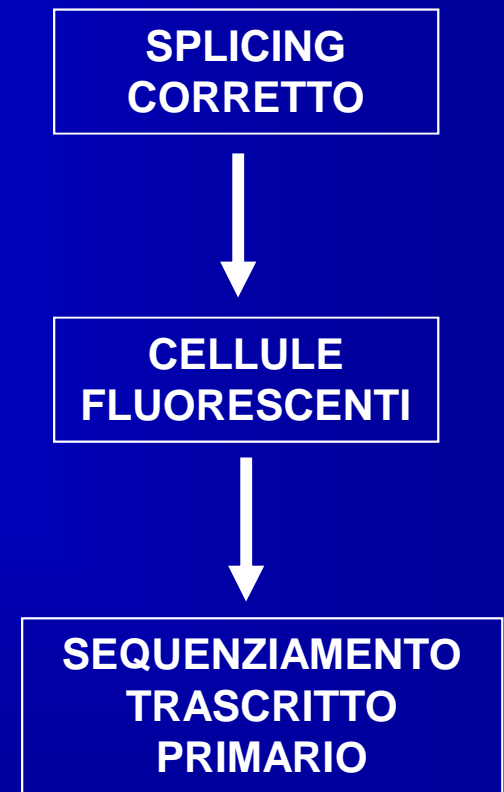
radiazioni

stress ossidativo

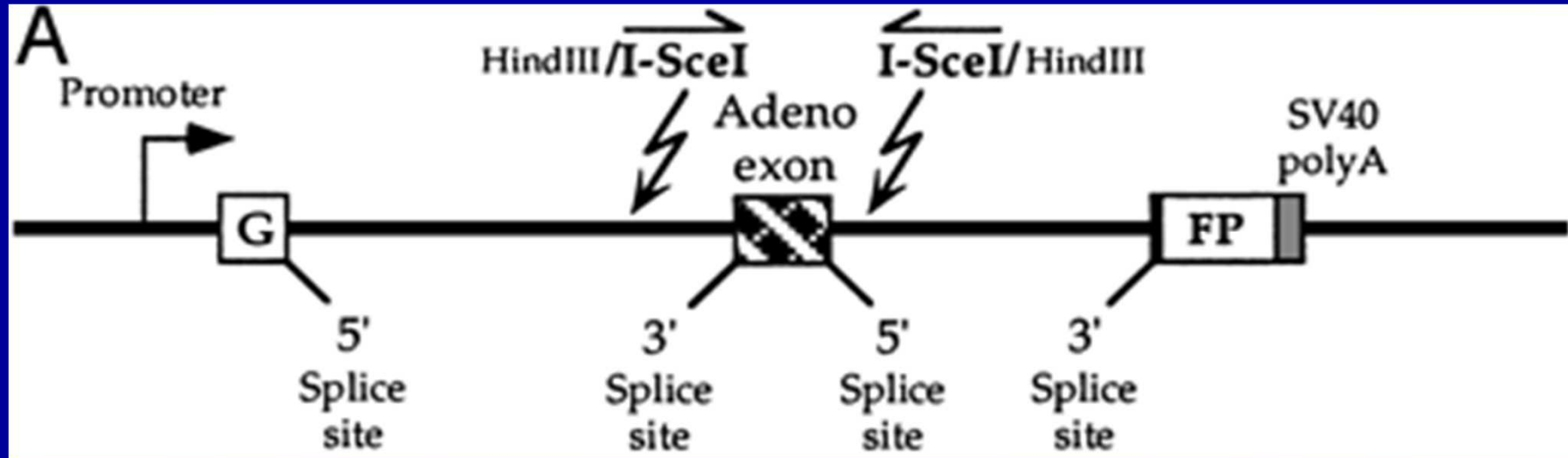
farmaci



Cellule fluorescenti □ indicano che il sistema NHEJ ha riparato la DSB □ sequenziamento dei trascritti primari per verificare quanto materiale genetico è andato perso nel formare la giunzione e il rispetto della microomologia

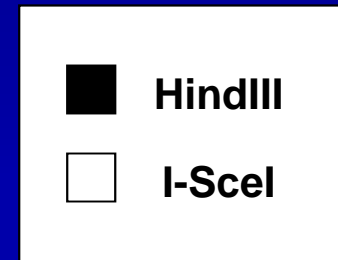
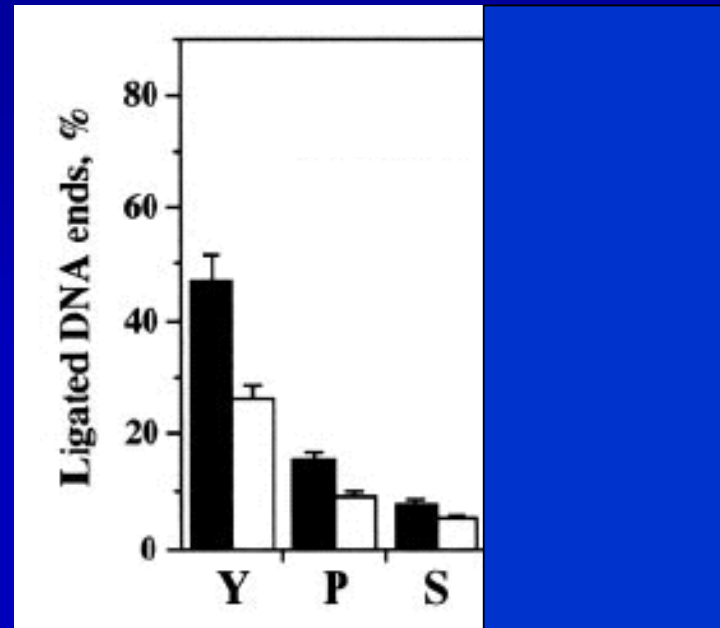


Dati sperimentali: Seluanov et al, 2004

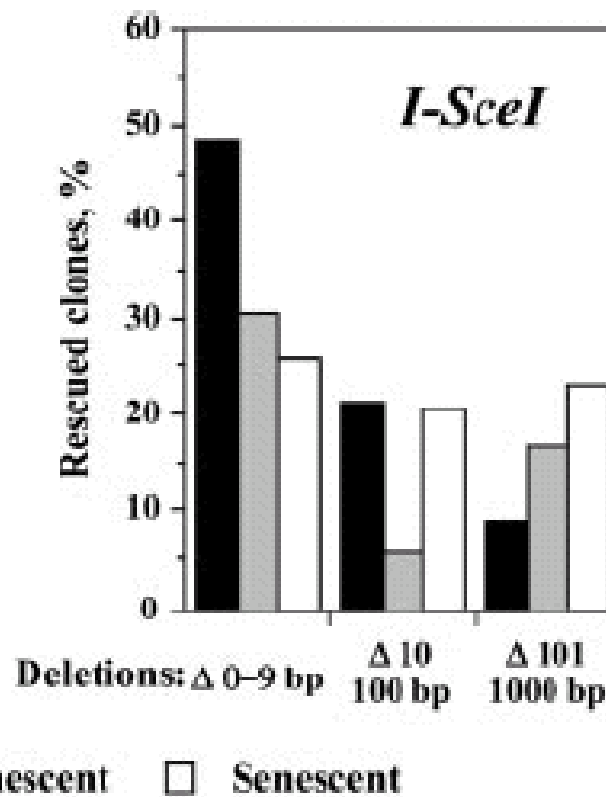


Taglio con HindIII o I-SceI □ mima DSB □ transfezione in:

- cellule giovani (Y)
- cellule presenescenti (P)
- cellule senescenti (S)



La percentuale di cellule in cui è avvenuto NHEJ è nettamente minore tra le presenescenti (P) e senescenti (S) rispetto alle cellule giovani (Y)



La dimensione delle delezioni è maggiore nelle cellule presenescenti e senescenti rispetto alle giovani;

le senescenti hanno delezioni più grandi rispetto alle giovani