

# 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

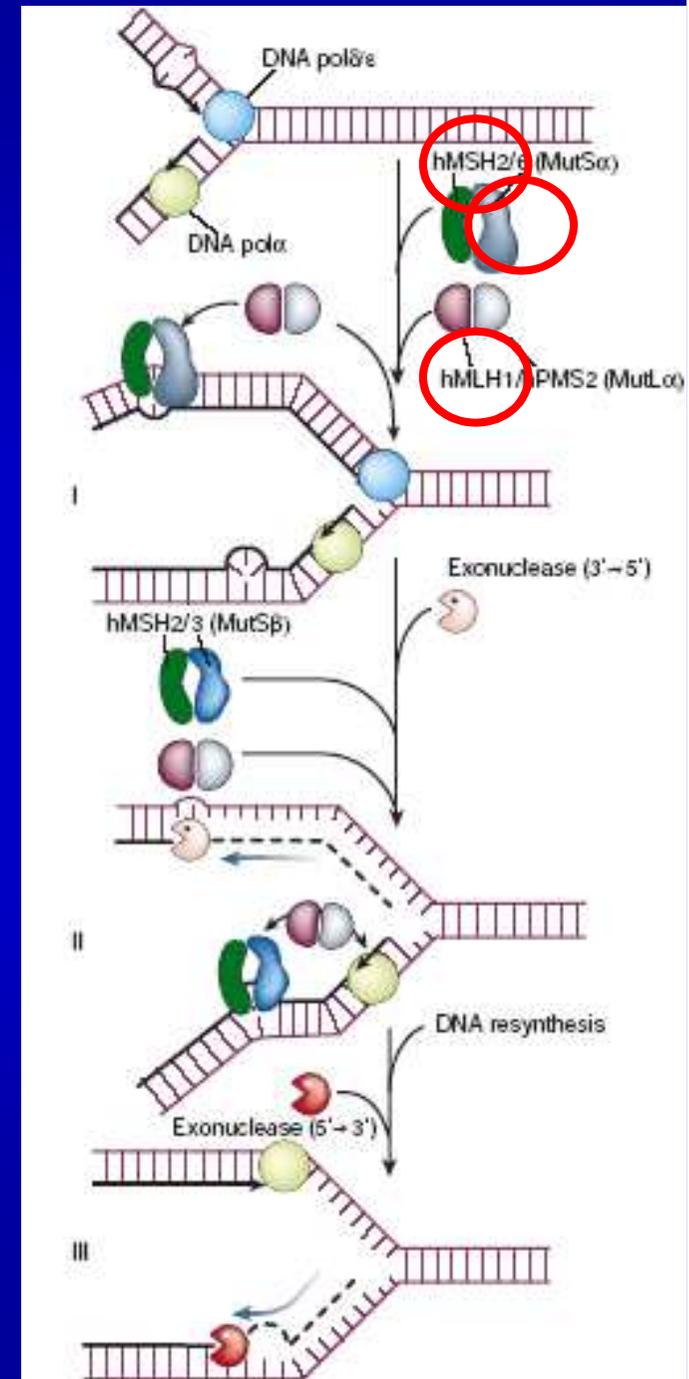


L'eterodimero **MLH1-PMS2**, talvolta legato anche a **PMS1**, coordina il legame con l'esonucleasi **EXO1** 3'-5' ed una o più elicasi



**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



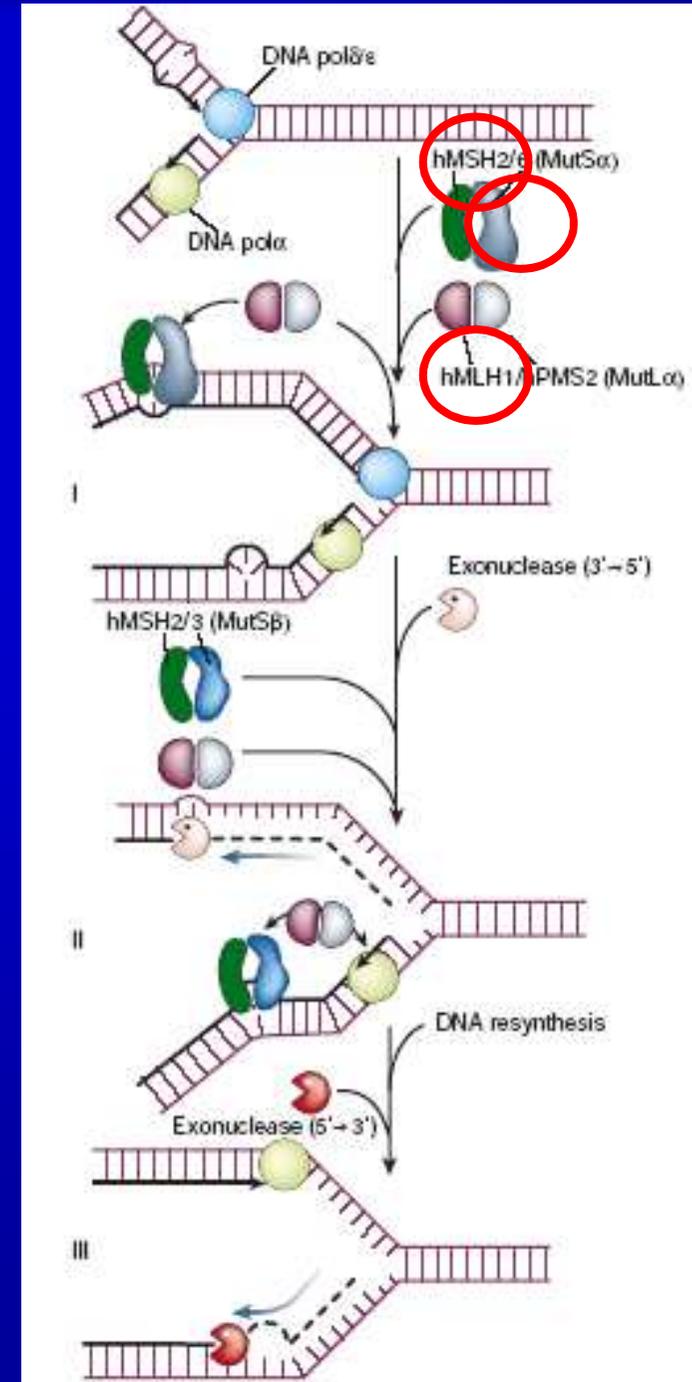
# HNPPC

## canco 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

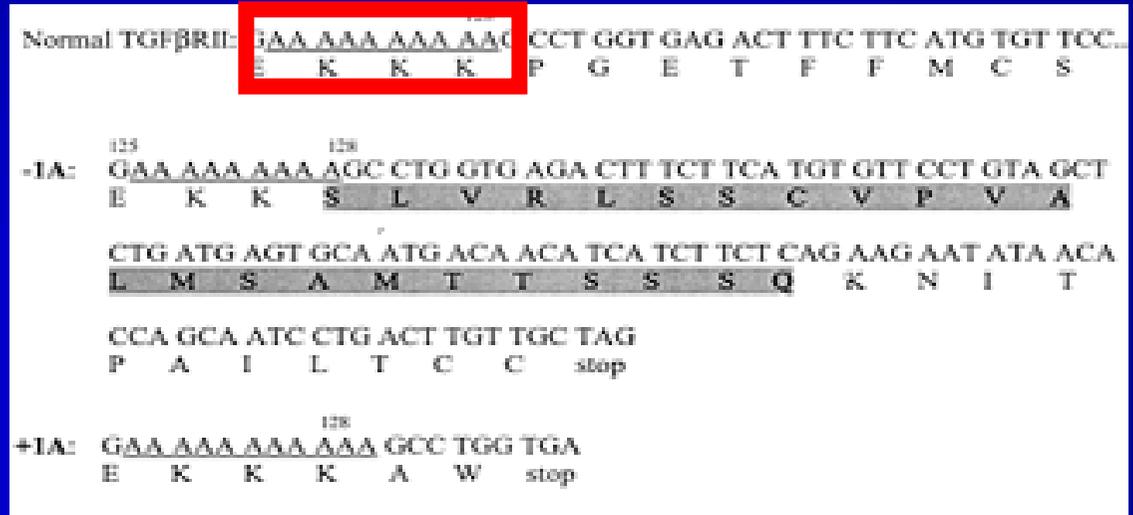
**hMSH2:** 35%

**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 $\beta$  (TGF $\beta$  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

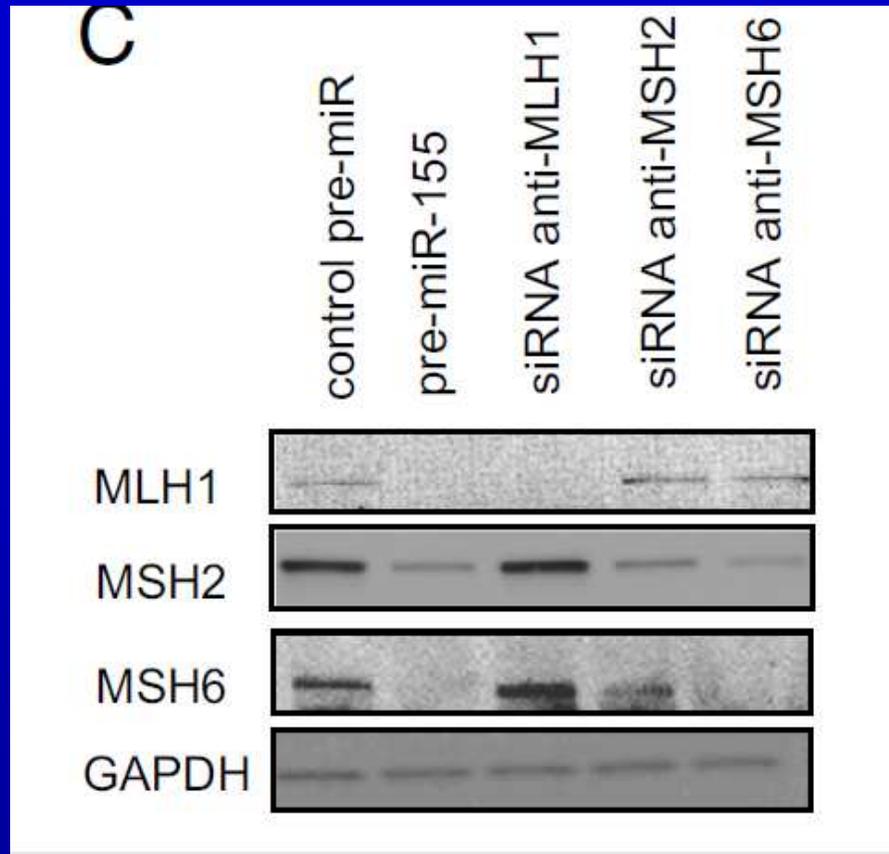


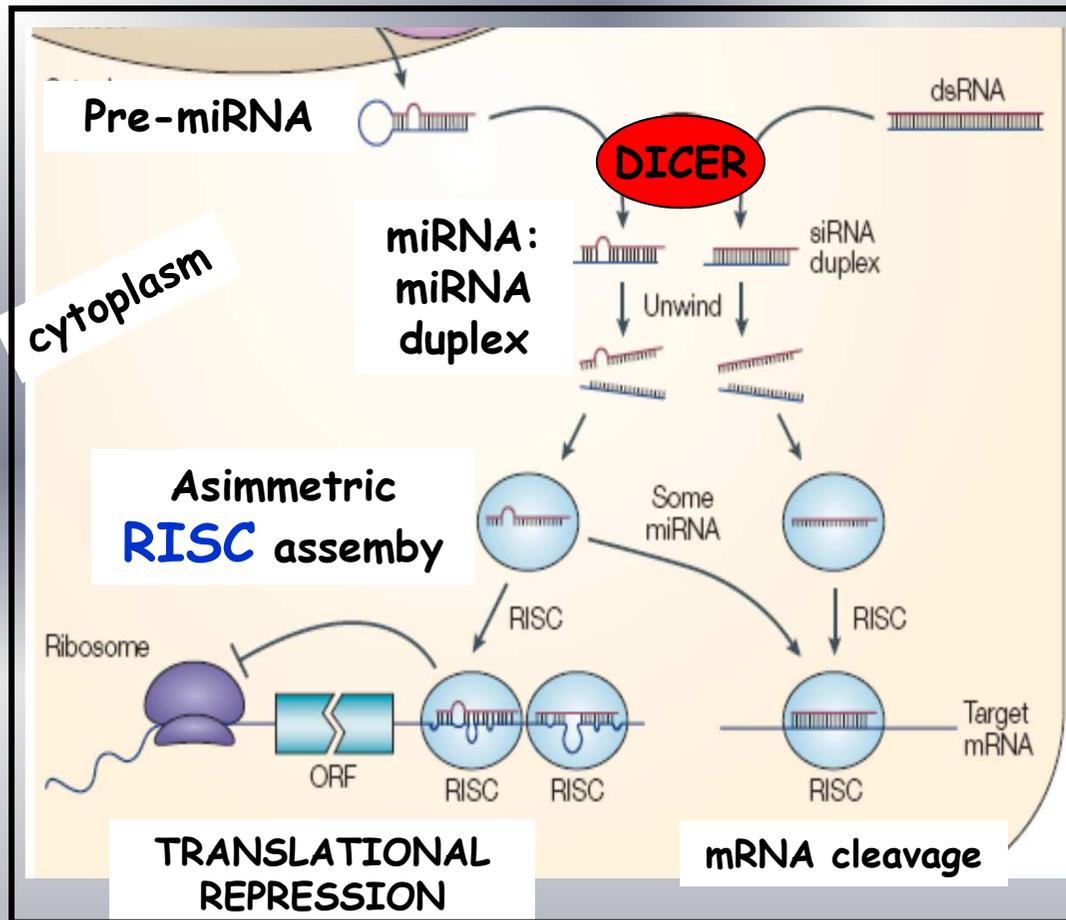
Pazienti con alterazioni del MMR: l'errore permane   
recettore per TGF $\beta$  non funzionale



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

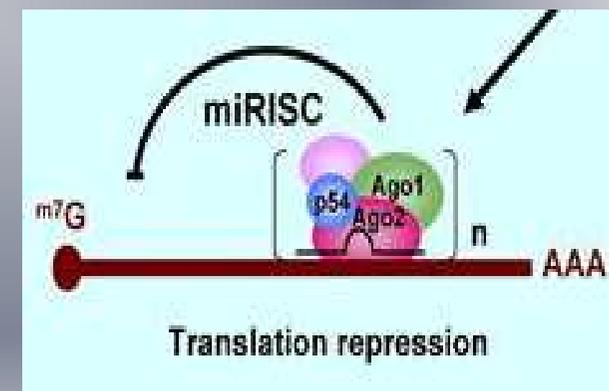
# Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in CRC cells





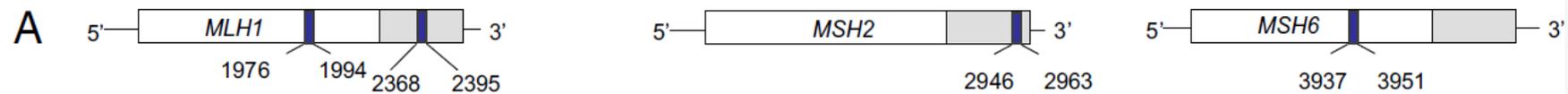
miRNAs enter the Ago-containing microribonucleoprotein (miRNP) complex = **RISC** that repress target gene expression

Argonaute domain is the catalytic core of RISC

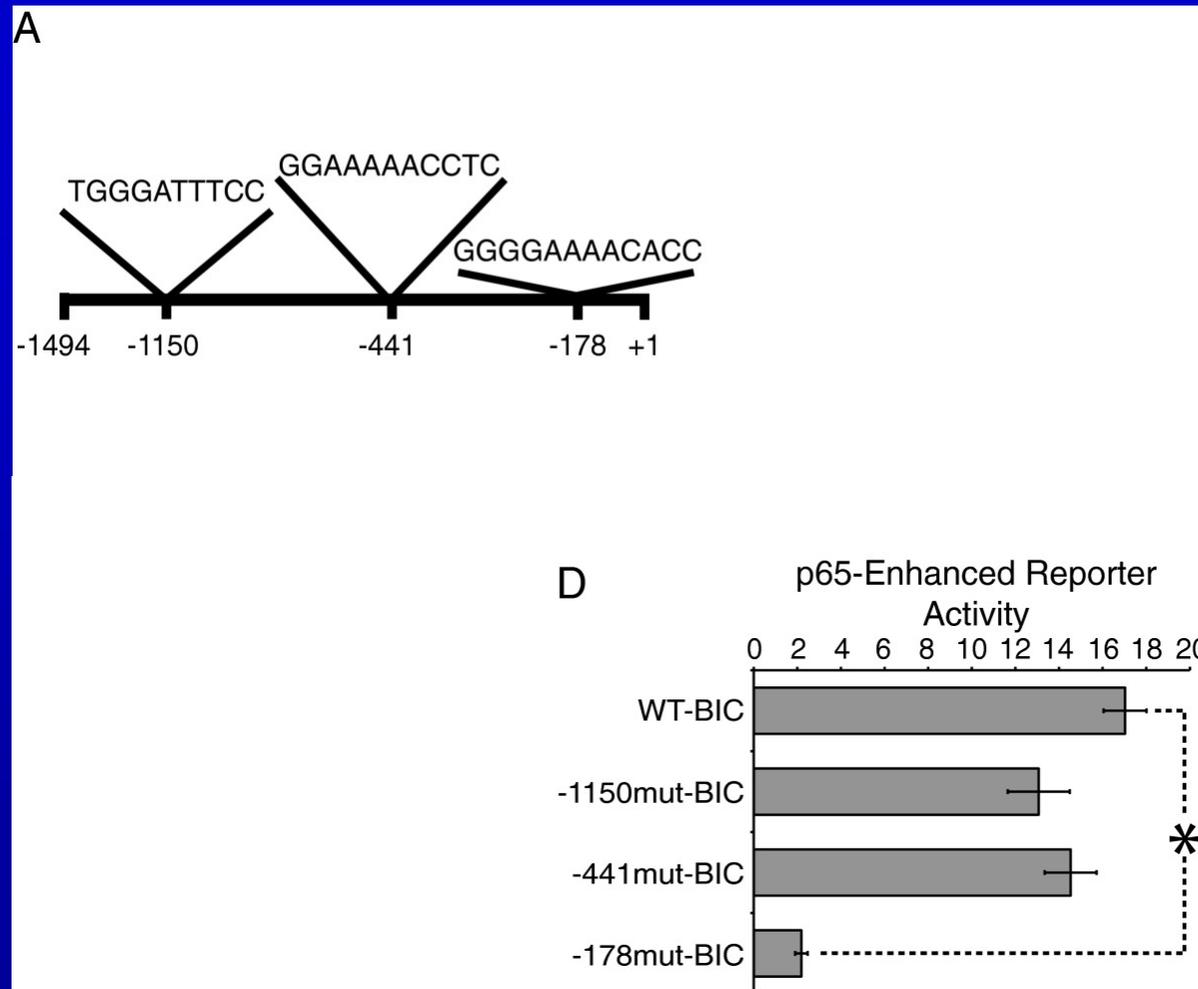


# Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in ColoRectal Cancer cells

- 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

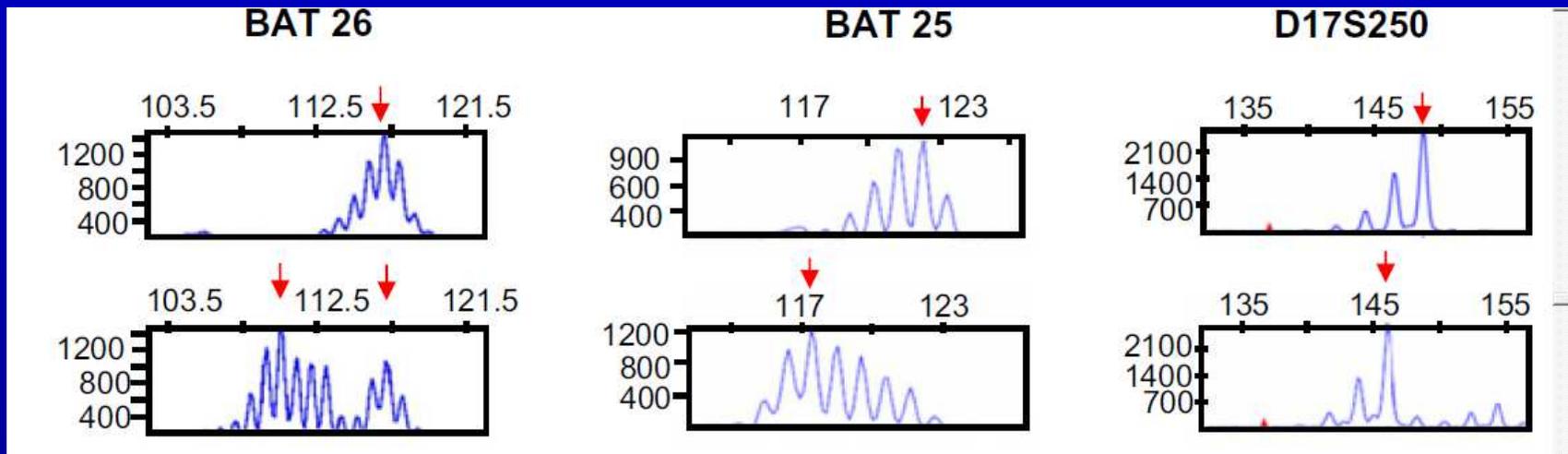


NF- $\kappa$ B p65 up-regulates expression from the MIR155HG promoter through an NF- $\kappa$ B binding site located upstream of the transcription start site BMC Molecular Biology 2013 14:24

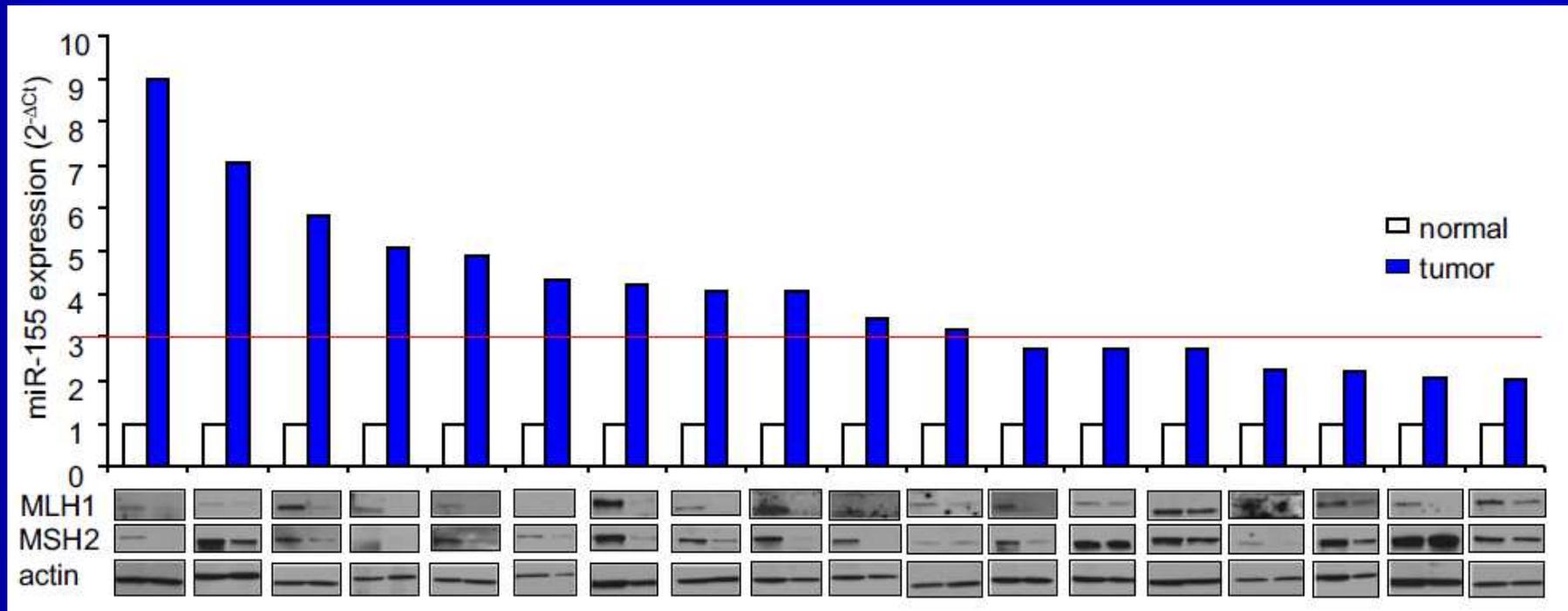


# Overexpression of miR-155 decreases the expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in CRC cells

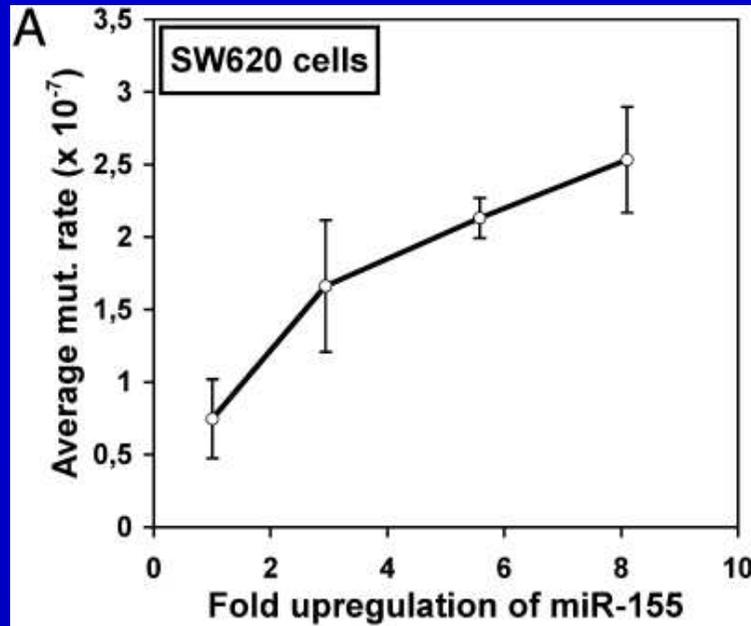
- Microsatellite analysis of Colo 155 (+) overexpression of miR-155) and (-) cells
- BAT-26 and BAT 25 (mononucleotide repeats)
- D17S250 (dinucleotide repeat)



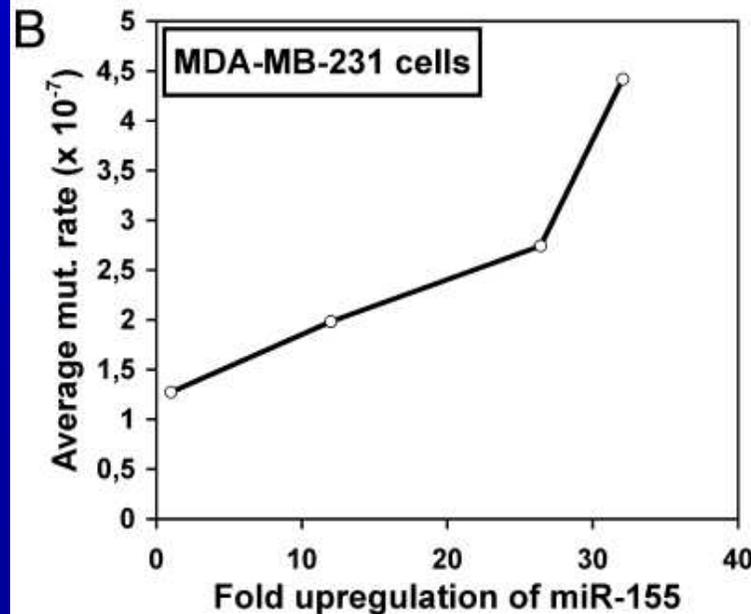
# miR-155 expression is inversely related to MLH1 and MSH2 in CRC tissues



colorectal adenocarcinoma cells



breast adenocarcinoma cells



*miR-155* under the control of an inducible system

# **DSB**

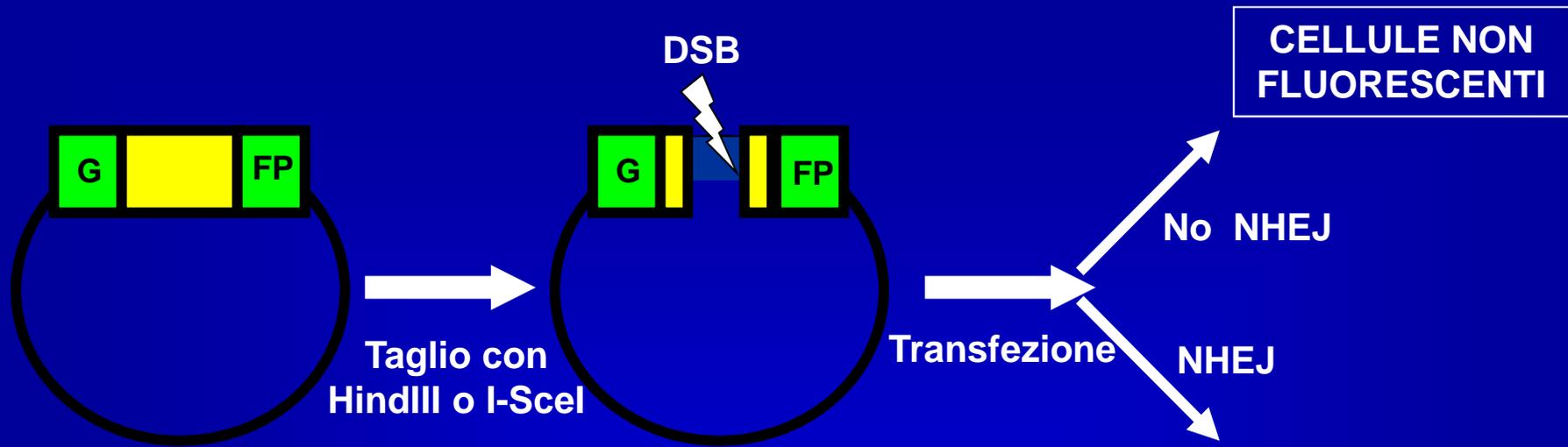
**Double-Strand Breaks**

**causate da**

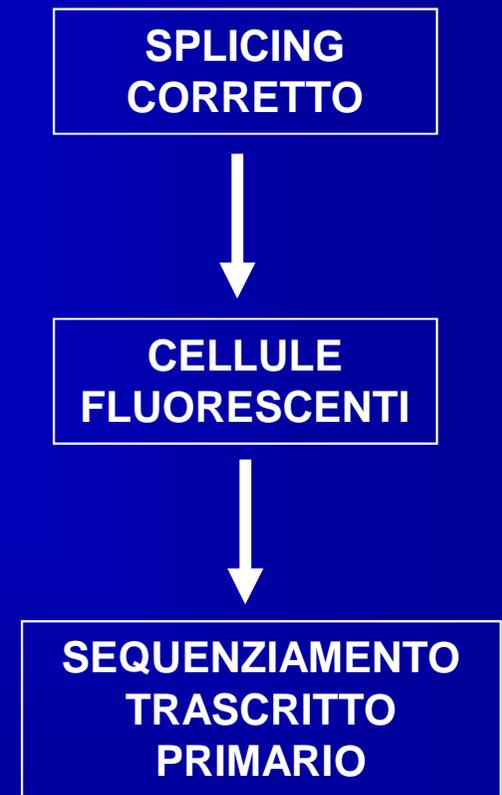
**radiazioni**

**stress ossidativo**

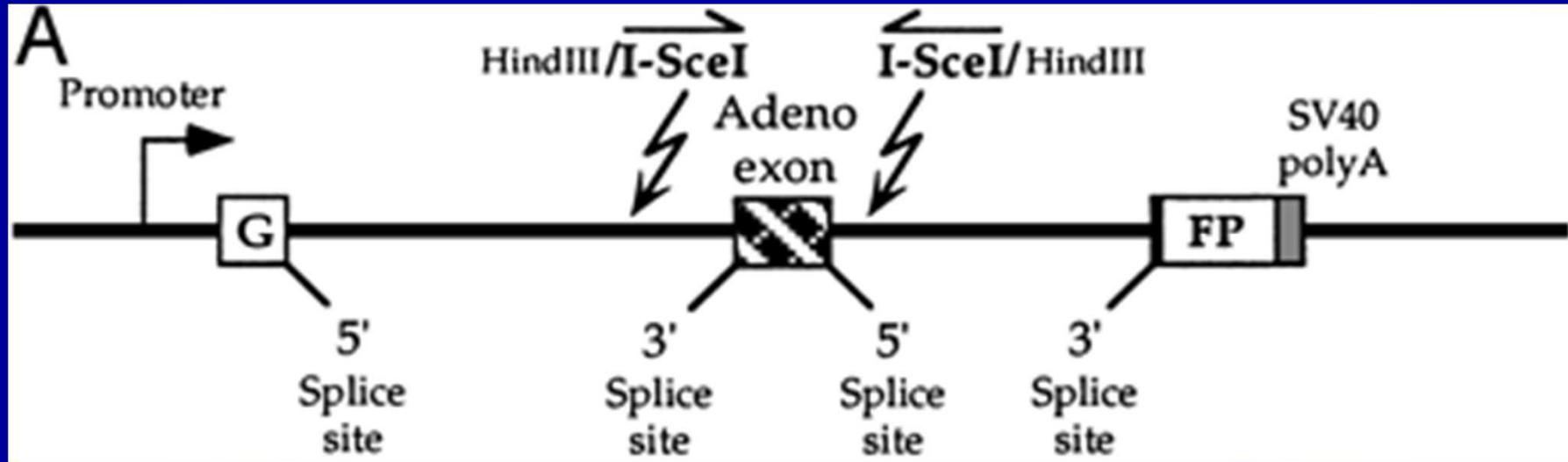
**farmaci**



Cellule fluorescente □ 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

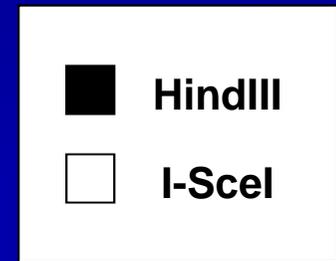
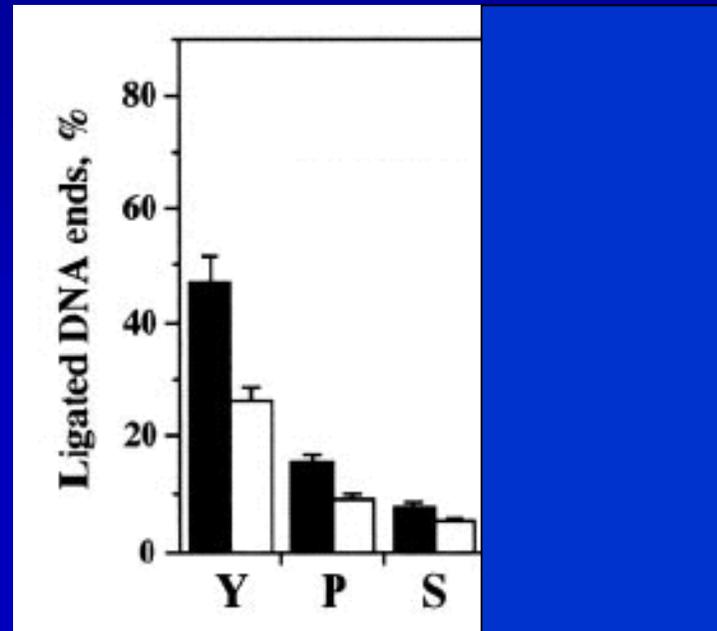


## Dati sperimentali: Seluanov et al, 2004

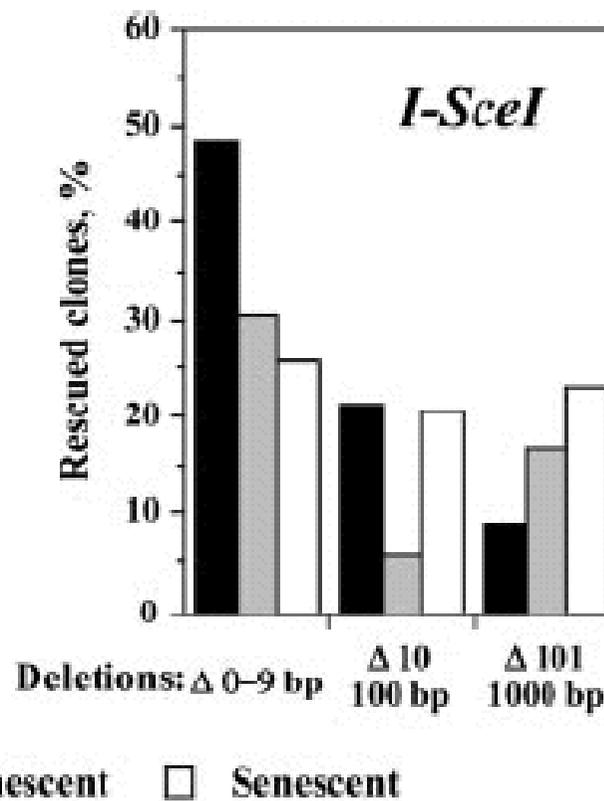


Taglio con HindIII o I-SceI □ mima DSB □ transfezione in:

- 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**