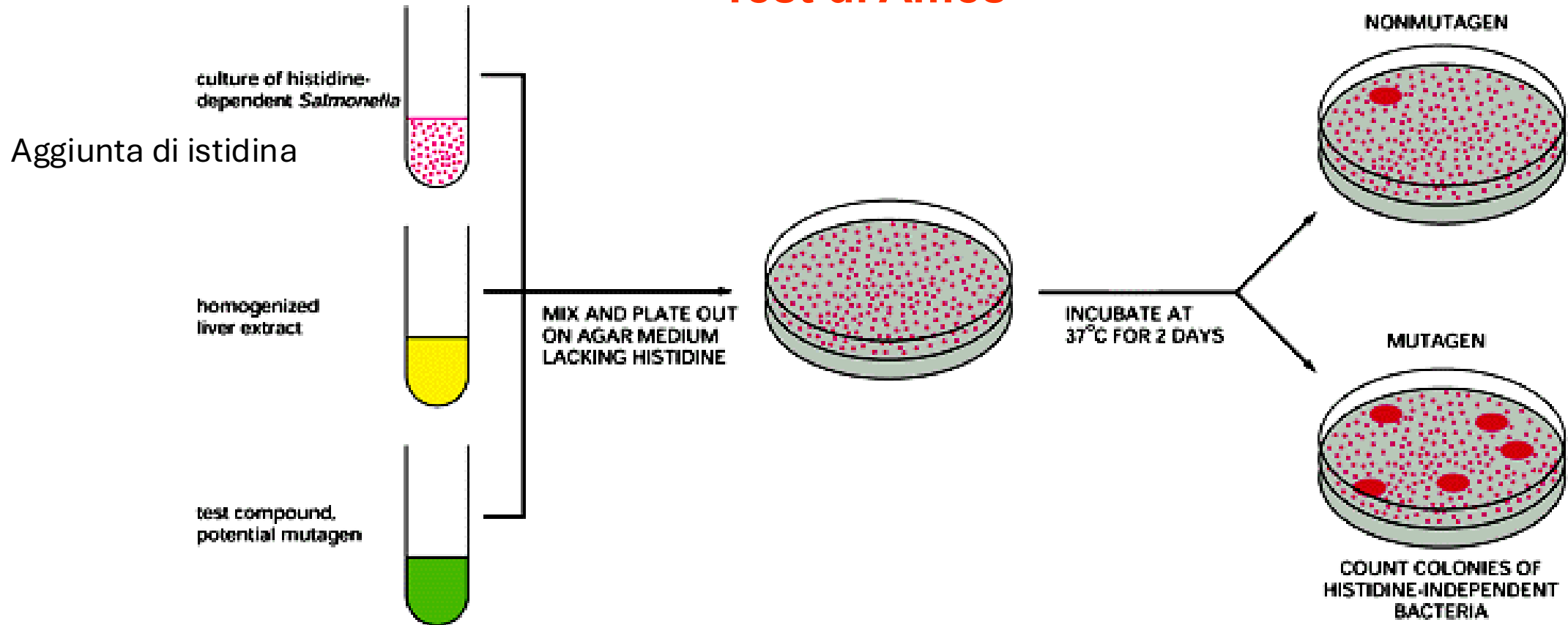


Geni oncosoppressori e cause di mutazioni (parte 2)



Test di Ames

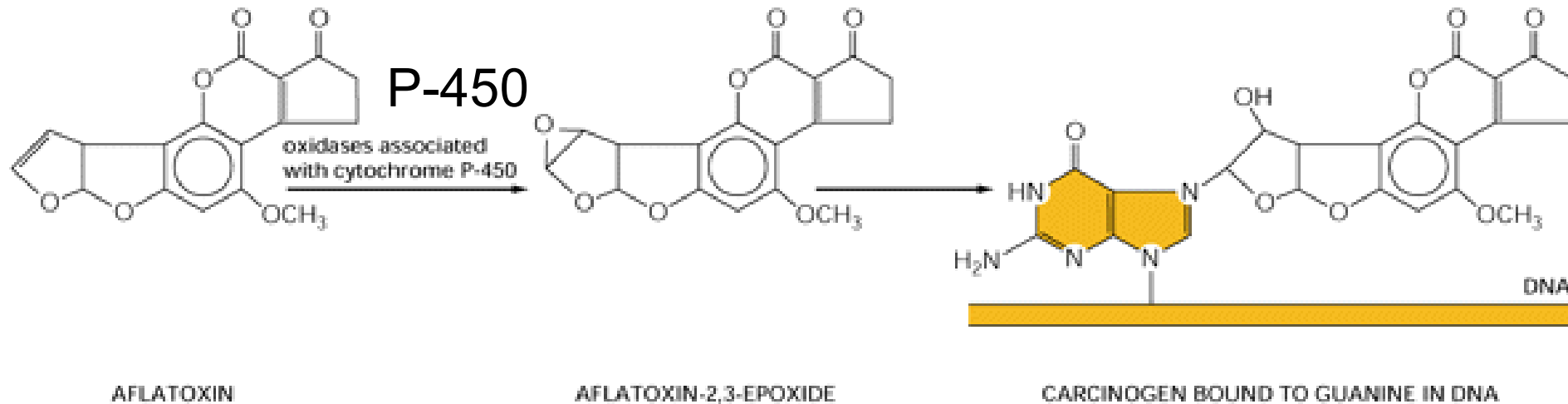


Non tutte le sostanze sono direttamente in grado di indurre mutazioni, infatti alcuni sono cancerogeni indiretti e vengono definiti pro-cancerogeni, si tratta di composti che sono in grado di indurre tumori se subiscono modificazioni ad opera del metabolismo cellulare. Ecco perchè viene introdotto nel terreno di coltura un estratto di fegato di ratto. In modo tale da poter favorire la metabolizzazione e la trasformazione di sostanze pro-carcinogene in carcinogene, trasformazione che avviene ad opera degli enzimi del fegato.



Attivazione metabolica di un carcinogeno.

Alcuni carcinogeni agiscono direttamente sul DNA, altri devono essere modificati per dare origine a composti più reattivi. E' il caso del gruppo di enzimi intracellulari noto come **citocromo P-450** ossidasi che normalmente convertono le tossine ingerite e i materiali estranei in componenti non nocivi e facilmente eliminabili ma in alcuni casi falliscono in questa impresa e convertono alcune in carcinogeni.



AFLATOSSINA B1 (tossina derivante da una muffa: *aspergillus flavus orzae*. Cresce su cereali e arachidi.
2,3 EPOSSIDO DI AFLATOSSINA associato al cancro del fegato nei tropici).

La conversione avviene anche per il benzo[a]-pirene, un composto chimico che provoca il cancro, presente nel carbone e nel fumo di tabacco.



Mutazioni nel DNA : agenti fisici

I **raggi X**, i raggi gamma (γ) e la luce ultravioletta (uv) sono mutageni ampiamente usati che determinano un vasto spettro di lesioni nel DNA.

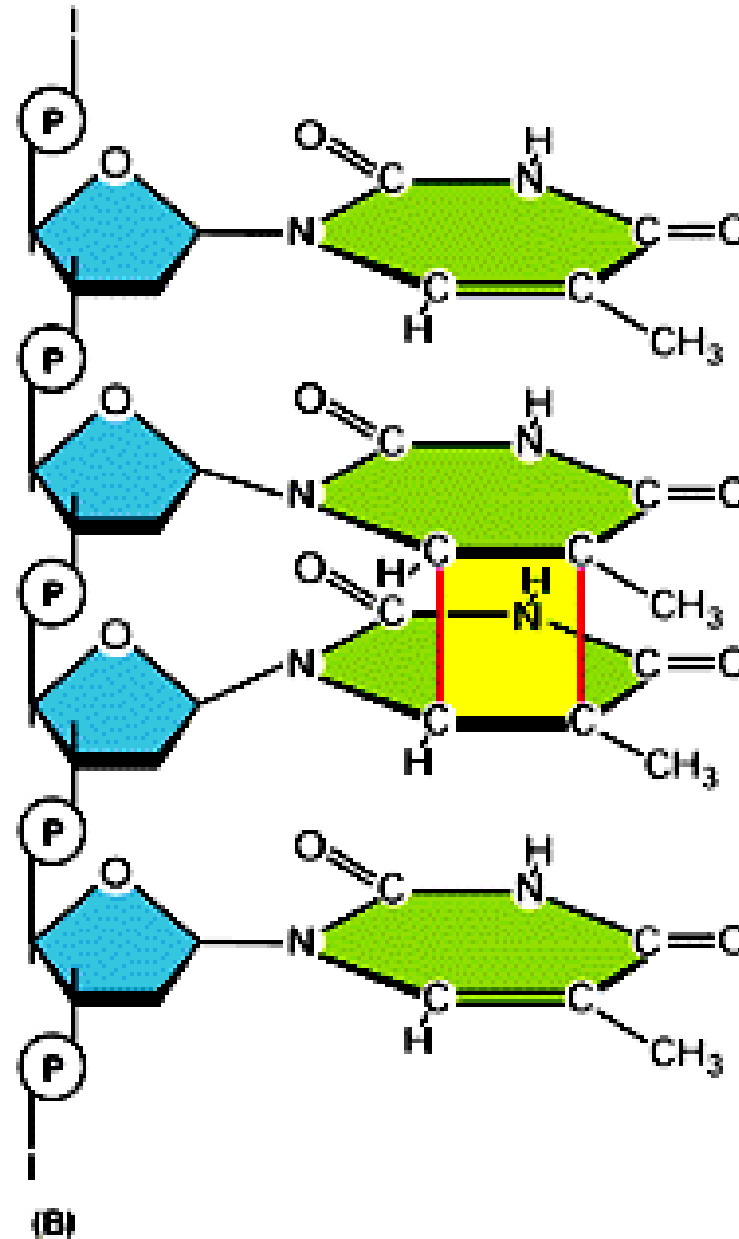
I raggi X, ad esempio, inducono la formazione intracellulare di **radicali liberi** (molecole contenenti un atomo con un elettrone libero), specialmente in presenza di ossigeno. Questi composti altamente reattivi possono determinare numerosi cambiamenti chimici a livello delle singole basi oppure possono danneggiare addirittura la struttura cromosomica, provocando rotture in uno o in entrambi i filamenti del DNA. I segmenti spezzati possono riavvolgersi in modo sbagliato dando origine a deficienze o a duplicazioni; alternativamente frammenti di cromosomi eterologhi possono riunirsi originando delle traslocazioni.

L'effetto mutageno dei raggi X è direttamente proporzionale alla dose somministrata (misurata in **unità roentgen, r**) per lo meno per quanto riguarda l'ambito delle dosi basse. Il dosaggio dei raggi X è cumulativo nel senso che l'esposizione a parecchie dosi basse per un lungo periodo produce lo stesso effetto mutageno di una singola esposizione ad una dose più elevata. È per questo motivo che deve essere evitata ogni esposizione non necessaria ai raggi X.



Mutazioni nel DNA: agenti fisici

DIMERI DI TIMINA INDOTTI DAI RAGGI U.V



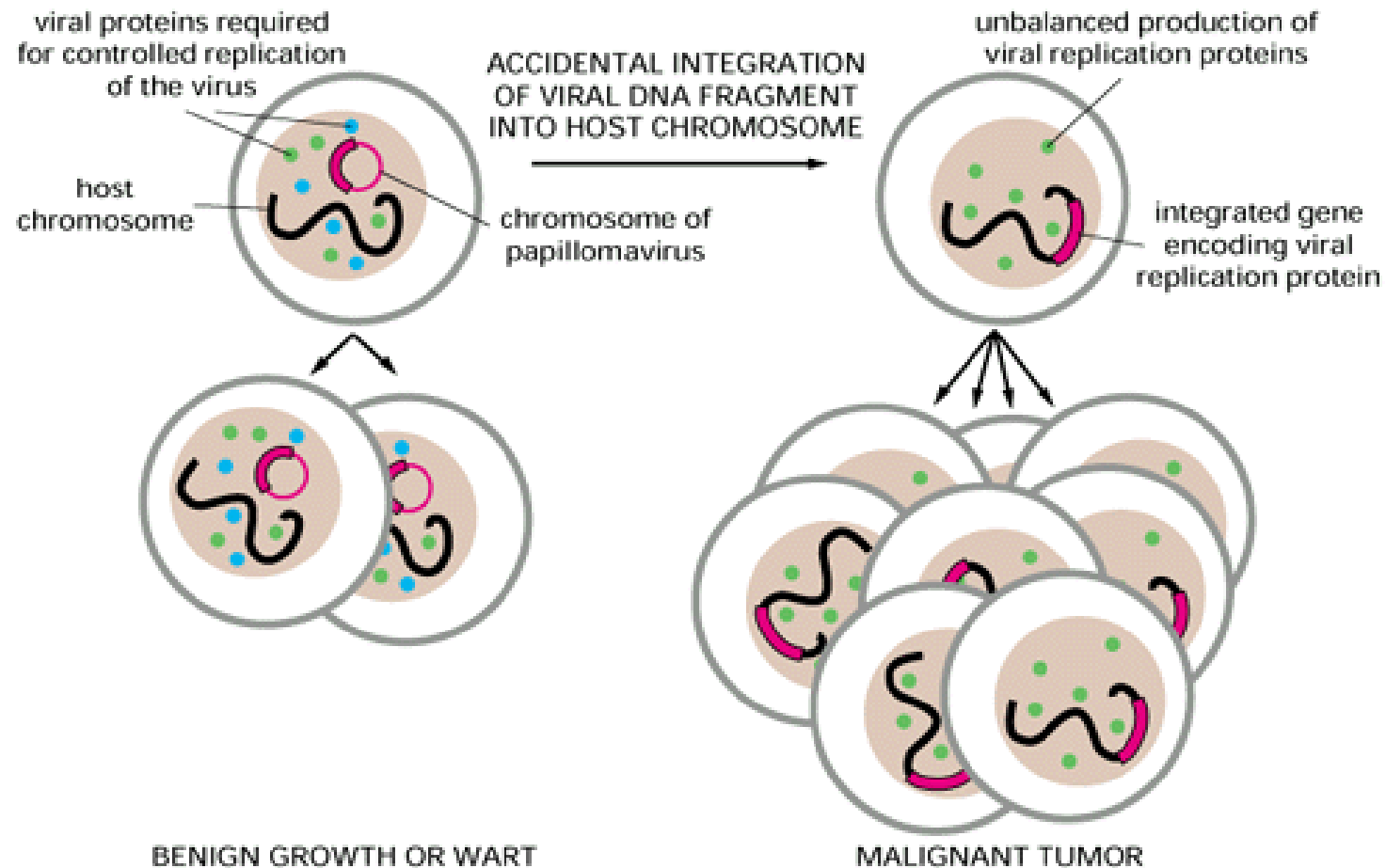
Virus tumorali

Famiglia del virus	Tumori umani	Dimensioni genoma (Kb)
Virus tumorali a DNA		
Virus dell'epatite B	Cancro del fegato	3
Papillomavirus	Carcinoma cervicale	8
Herpesvirus	Linfoma di Burkitt, carcinoma nasofaringeo	100-200
Virus tumorali ad RNA		
Retrovirus	Leucemia T dell'adulto	9



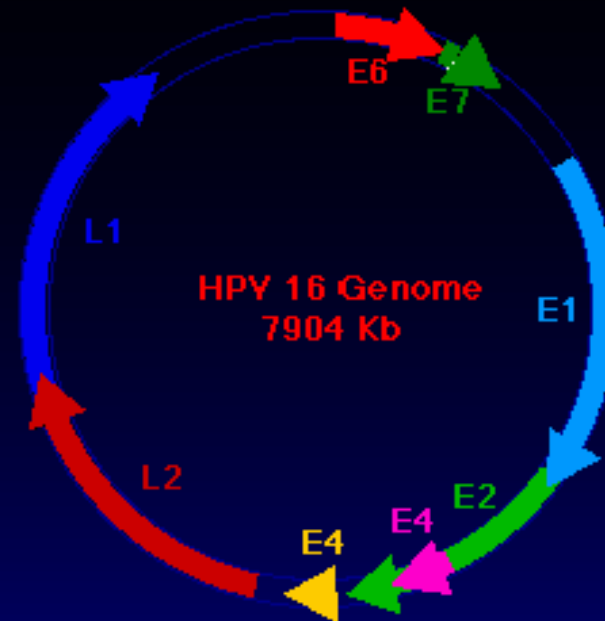


Virus a DNA
Papillomavirus (HPV) può
causare tumori benigni o cancro della
cervice uterina



Virus tumorali a DNA

Human Papillomavirus Genome



La trasformazione cellulare deriva dall'espressione di due geni della regione precoce, E6 e E7. E7 sequestra pRb mentre E6 degrada p53.



II RETROVIRUS

RNA Parentale

Trascrittasi Inversa

Ibrido RNA/DNA

Trascrittasi inversa

Duplex DNA/DNA Lineare

DNA Duplex Circolare

Integrasi

Integrazione

DNA polimerasi dell'ospite

Replicazione (genoma a DNA nella cellula)

RNA pol II dell'ospite

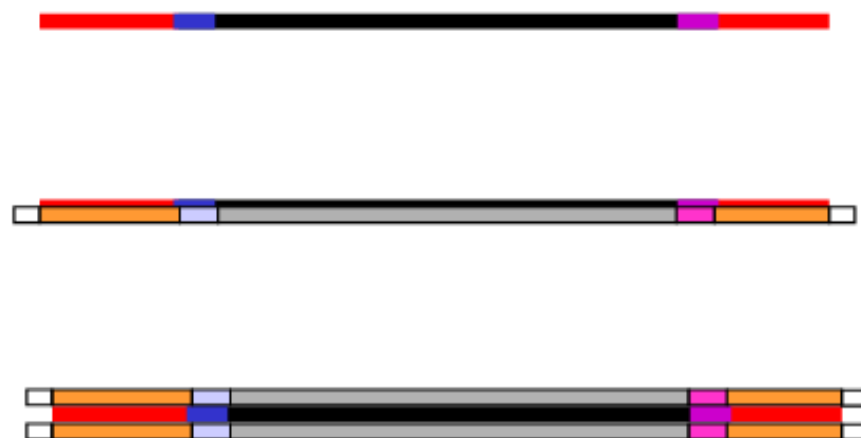
enzimi di splicing dell'ospite

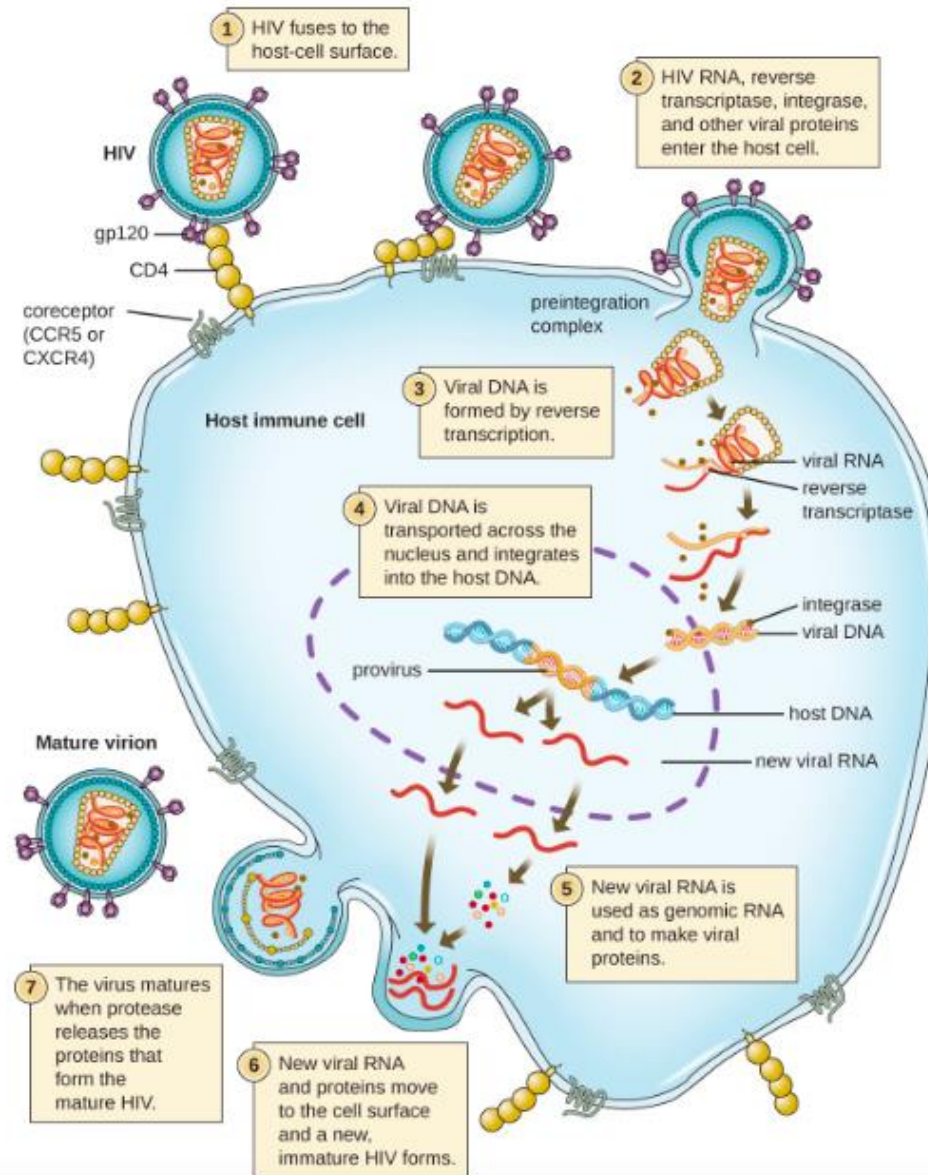
Trascrizione

Genoma Virale a RNA

mRNA

proteine



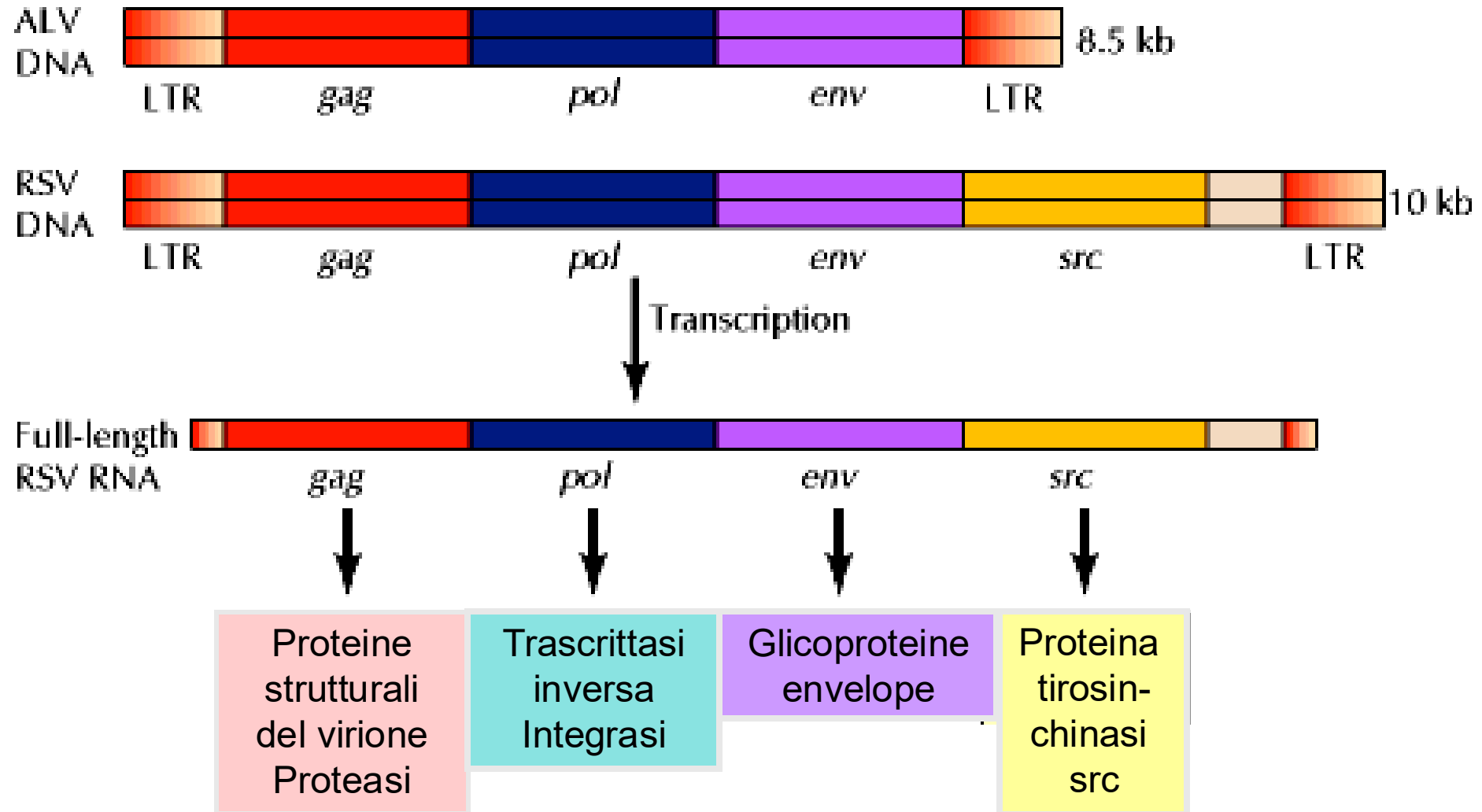


<https://courses.lumenlearning.com/suny-microbiology/chapter/the-viral-life-cycle/>



Oncogeni retrovirali

Il genoma di RSV (virus sarcoma Rous) contiene un gene addizionale, *src*, che non è presente in ALV (Avian sarcoma leukosis virus) e codifica la proteina-tirosina chinasi Src (60 kd).



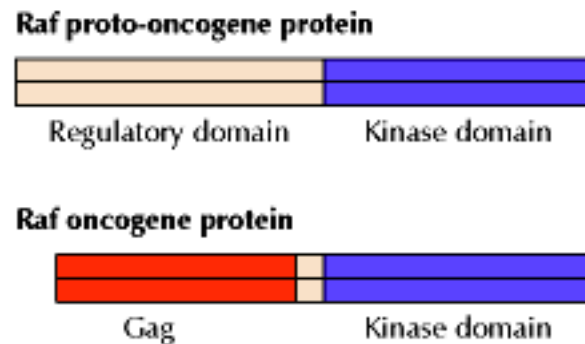
Attivazione di protooncogeni-oncogeni virali

Un oncogene incorporato in un genoma retrovirale differisce sotto parecchi aspetti dal corrispondente protooncogene.

1. **L'oncogene virale è trascritto sotto il controllo del promotore e dell'enhancer virale invece di essere controllato dalle normali sequenze regolatrici della trascrizione del protooncogene.**

Di conseguenza gli oncogeni virali sono espressi a livelli molto più elevati dei protooncogeni e sono talvolta espressi in tipi cellulari non appropriati

2. **Molti oncogeni come *raf* sono espressi come proteine di fusione** con sequenze virali al terminale amminico. Eventi di ricombinazione che portano alla formazione di queste proteine di fusione avvengono durante la cattura dei protooncogeni da parte dei retrovirus e sequenze di entrambi i terminali amminici e carbossilici di protooncogeni sono spesso delete durante il processo. Queste delezioni possono portare alla perdita di domini regolatori che controllano l'attività della proteina, generando così proteine oncogene che funzionano in modo sregolato



The first Raf gene, v-Raf was found in 1983.

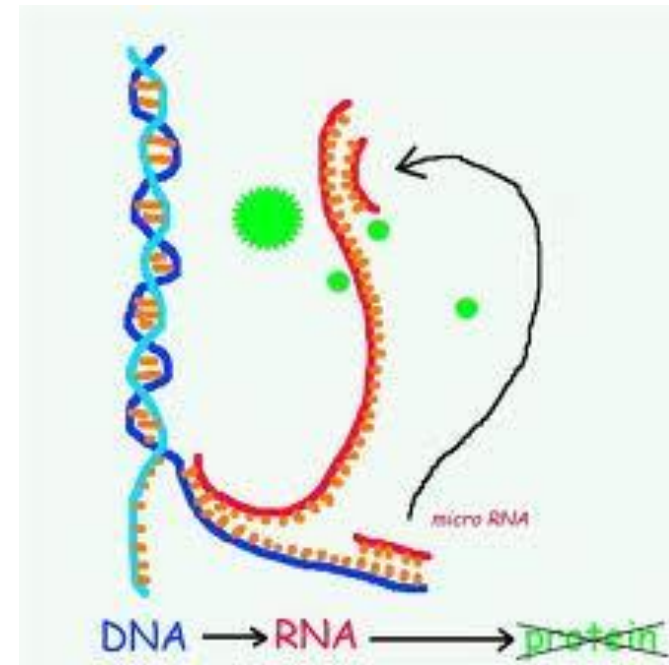
It was soon demonstrated to be capable to transform rodent fibroblasts to cancerous cell lines , so this gene was given the name Virus-induced Rapidly Accelerated Fibrosarcoma (V-RAF)

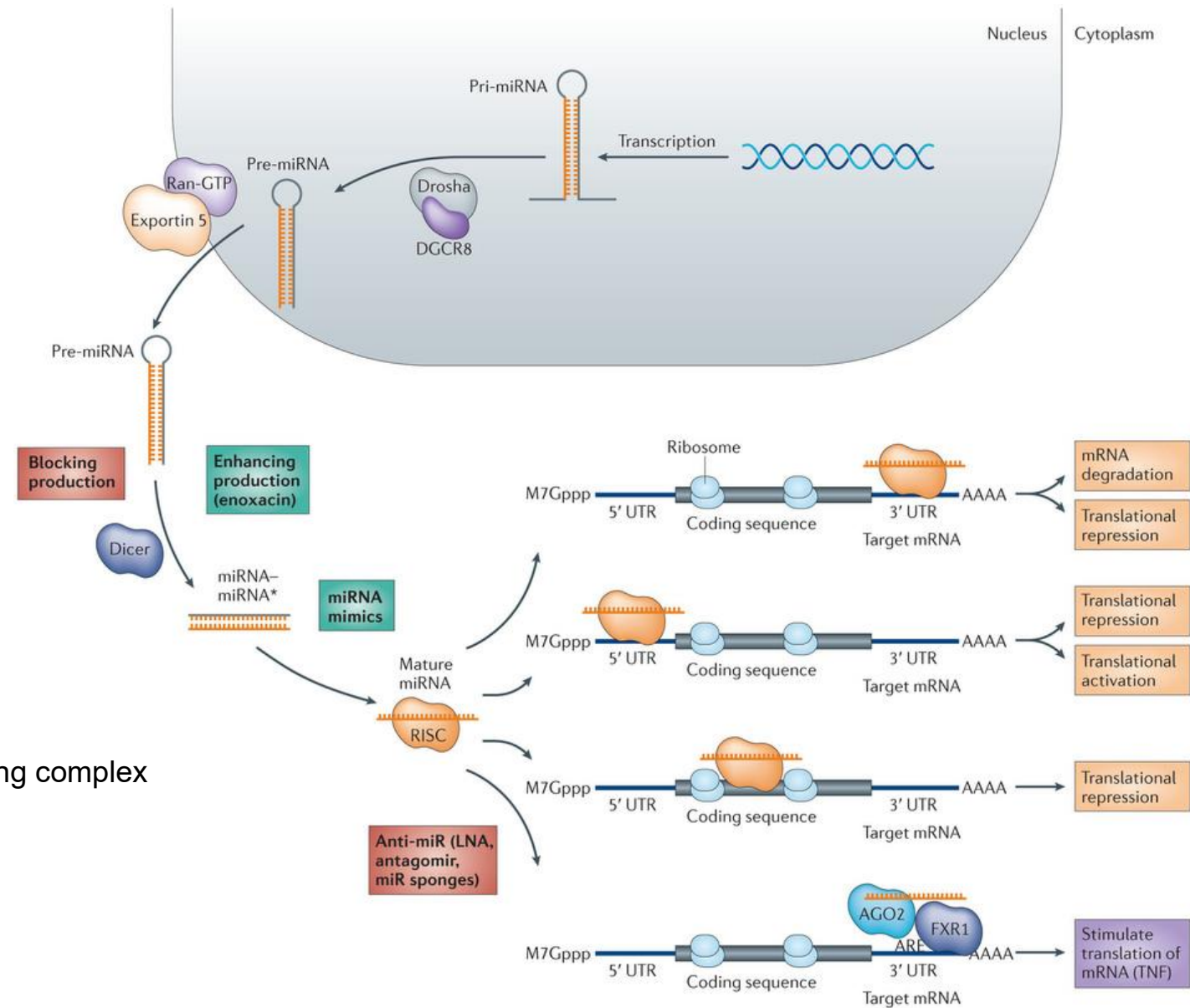
3. **Molti altri oncogeni differiscono dai corrispondenti protooncogeni per mutazioni puntiformi** che portano a sostituzioni di singoli aminoacidi nei prodotti dell'oncogene. Un esempio di queste mutazioni è fornito dall'oncogene *ras*. (HRAS and KRAS, were identified from studies of two cancer-causing viruses, the Harvey sarcoma virus and Kirsten sarcoma virus, by Edward M. Scolnick and colleagues at the National Institutes of Health (NIH).



Regolatori dell'espressione genica: microRNA (miRNA)

- RNA a singola elica lunghi 19-30 nucleotidi
- Regolatori negativi dell'espressione genica
- Regolano anche geni che controllano la proliferazione e la sopravvivenza cellulare
- Attualmente, 3012 miRNA umani unici sono stati riconosciuti e archiviati nel database miRTarBase, con una vasta capacità stimata di 4.475.477 potenziali interazioni miRNA–bersaglio (Huang 2020 doi: 10.1093/nar/gkz896)





RNA-induced silencing complex

Ling, H., Fabbri, M. & Calin, G. *Nat Rev Drug Discov* **12**, 847–865 (2013).



Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia

George Adrian Calin*, Calin Dan Dumitru*, Masayoshi Shimizu*, Roberta Bichi*, Simona Zupo[†], Evan Noch*, Hansjuerg Aldler*, Sashi Rattan*, Michael Keating[‡], Kanti Rai[§], Laura Rassenti[¶], Thomas Klipps[¶], Massimo Negrini*, Florenca Bullrich*, and Carlo M. Croce*^{||}

*Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA 19107; [†]Clinical Immunology, National Institute for Research on Cancer, 16132 Genoa, Italy; [‡]Department of Leukemia, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Houston, TX 77030; [§]Long Island Jewish Medical Center, New Hyde Park, NY 11040; and [¶]Department of Medicine, University of California at San Diego, La Jolla, CA 92093

Contributed by Carlo M. Croce, October 7, 2002

Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common

Research Consortium institutions. Briefly, peripheral blood was obtained from CLL patients, and mononuclear cells were isolated through Ficoll/Hypaque gradient centrifugation (Amersham Pharmacia Biotech) and then processed for RNA and DNA extraction according to standard protocols (14). As normal controls for LOH studies, we used DNA from buccal mucosa from the corresponding patients included on small (1–2 mm²) pieces of paper.

We also used 30 human cell lines: AS283, BL2, Bla, BJAB, CA46, Namalva, P3HRI, PAPB 682, PABm, and Raji (Burkitt's lymphoma); Dell1, SKDHL, and ST486 (T cell lymphoma); JM (immunoblastic B cell lymphoma); MC116 (undifferentiated lymphoma); Mch2 and Sout 11 (CLL); T266 (multiple myeloma);



MiRNA	Locus genico	Istotipo tumorale associato	Funzione	Bersaglio
miR-15a miR-16-1	Cromosoma 13q14	Frequentemente deletato o down-regolato nella leucemia linfocitica cronica delle cellule B	Oncosoppressore	Bcl-2
miR-21	Cromosoma 17q23.2	Over-espresso nei glioblastomi e nel cancro alla mammella	Oncogene	SerpinB5 PDCD4 PTEN TIMP3
miR-143 miR-145	Cromosoma 5q32-33	Più bassa espressione in carcinomi colon-rettali, down-regolato in linee tumorali di prostata, mammella, cervice	Oncosoppressore	
Componenti della famiglia let-7	Loci multipli	Regola negativamente l'oncogene ras; frequentemente down-regolato in carcinomi polmonari	Oncosoppressore	RAS
miR-142	Cromosoma 17q22	Forme molto aggressive di leucemia delle cellule B	Oncogene	MYC
miR-29c	Cromosoma 1q32.2	Down-regolato nei carcinomi nasofaringei	Oncosoppressore	Collagen Laminina
miR-122	Cromosoma 18q21.31	Carcinomi epatocellulari	Oncosoppressore	Ciclina G1
miR-155	Cromosoma 21q21	Over-espresso in numerosi tumori solidi, leucemie e linfomi	Oncogene	RHOA

Tabella I.13.1.1 MicroRNA associati al cancro nell'uomo.



G. De Leo, S. Fasano, E. Ginelli
Biologia e Genetica III Ed.
Edises

