La cromatina e il nucleosoma

Nella cellula (procarioti, eucarioti) e nei virus il DNA è associato a proteine -> cromatina.
Protezione da possibili danni, trasmesso efficientemente alle cellule figlie, organizzazione strutturale superiore, condensazione del DNA.

Negli eucarioti proteine istoniche e non-istoniche

DNA + istoni = nucleosoma

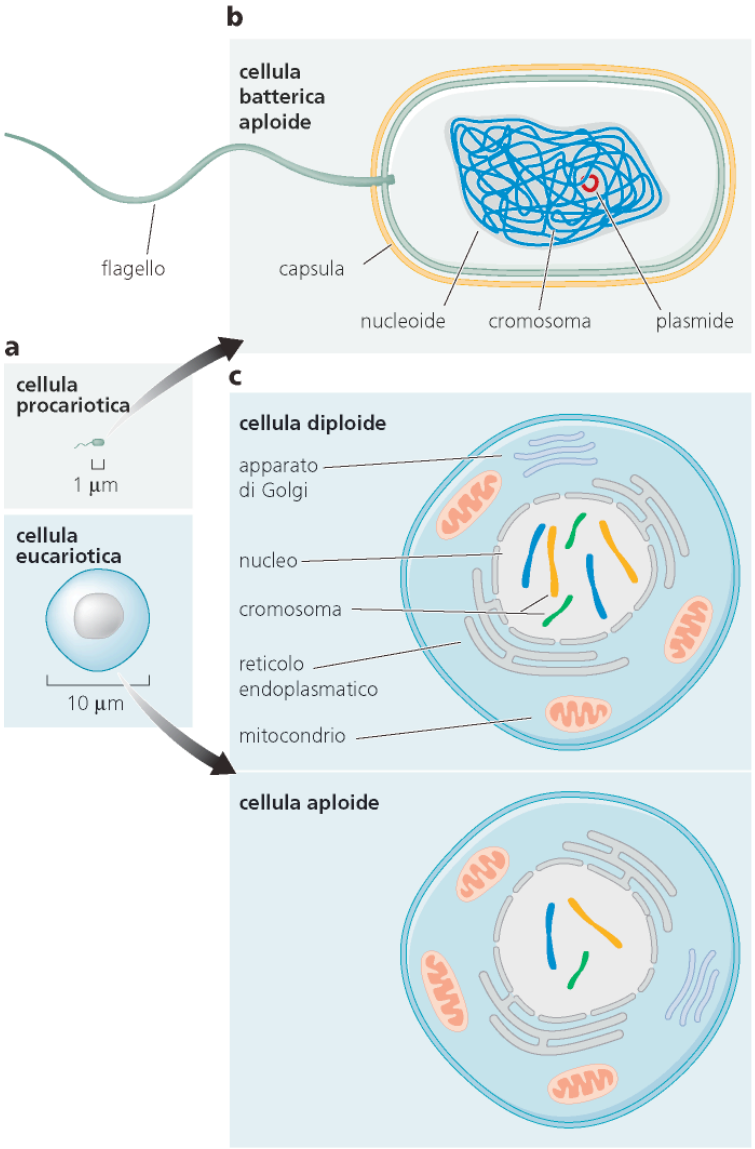
Cellula aploide umana 3 x 10^9 pb -> 1 m!!!!! (3 x 10^9 x 3,4 Å).
Una cellula diploide **2 m** di **DNA** in un **nucleo** di **10-15µm**.

Il cromosoma può essere circolare o lineare

TABELLA 8.1 Variazioni delle caratteristiche dei cromosomi in differenti organismi

Specie	Numero di cromosomi	Numero di copie di cromosomi	Forma del cromosoma	Grandezza del genoma (Mb)
Procarioti				
Mycoplasma genitalium	1	1	circolare	0,58
Escherichia coli K-12	1	1	circolare	4,6
Agrobacterium tumefaciens	4	1	3 circolari 1 lineare	5,67
Sinorhizobium meliloti	3	1	circolare	6,7
Eucarioti				
Saccharomyces cerevisiae (lievito che si riproduce per gemmazione)	16	1 o 2	lineare	12,1
Schizosaccharomyces pombe (lievito che si riproduce per fissione)	3	1 o 2	lineare	12,5
Caenorhabditis elegans (verme nematode)	6	2	lineare	97
Arabidopsis thaliana (pianta)	5	2	lineare	125
Drosophila melanogaster (moscerino della frutta)	4	2	lineare	180
Tetrahymena thermophilus (protozoo)				
Micronucleo	5	2	lineare	125
Macronucleo	225	10-10 000	lineare	
Fugu rubripes (pesce)	22	2	lineare	393
Mus musculus (topo)	19 + X e Y	2	lineare	2600
Homo sapiens	22 + X e Y	2	lineare	3200

Cellula procariotica ed eucariotica

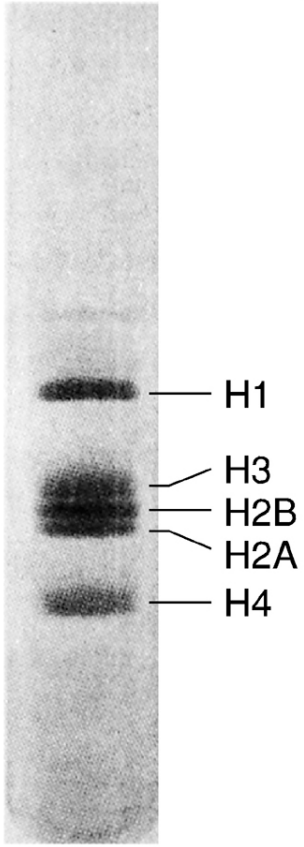


Watson et al., BIOLOGIA MOLECOLARE DEL GENE, 6/E, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2009

ISTONI

- 5 tipi: H1,H2A,H2B, H3, H4.
- Proteine BASICHE (Arg, Lys 20%, a pH neutro sono cariche positivamente).
- Proteine altamente conservate
  - H1 è il più variabile
  - H4 è il più conservato

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(Source: Panyim and Chalkley. *Archives of Biochem. & Biophys.* 130, 1969, f. 6A, p. 343. Reprinted with permission of Academic Press.)

Tabella 13.1 Proprietà generali degli istoni

Tipo di istone	Istone	Peso molecolare (M_r)	Grado di conservazione
Istoni core— possono assemblare il DNA in particelle	H3	15 400	Altamente conservato
	H4	11 340	Altamente conservato
Istoni core— più periferici	H2A	14 000	Variazioni moderate tra i tessuti e tra le specie
	H2B	13 770	Variazioni moderate tra i tessuti e tra le specie
Istoni di tipo H1	H1	21 500	Varia notevolmente tra i tessuti e tra le specie
	H1°	~21 500	Variabile, prevalentemente presente in cellule non replicanti
	H5	21 500	Molto variabile, presente solo in cellule trascrizionalmente inattive di alcune specie

(Da: Butler, P.J.C., The folding of chromatin. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 15[1983]58. Copyright © CRC Press, Boca Raton, Florida. Riproduzione autorizzata.)

Sono eterogenei !!!

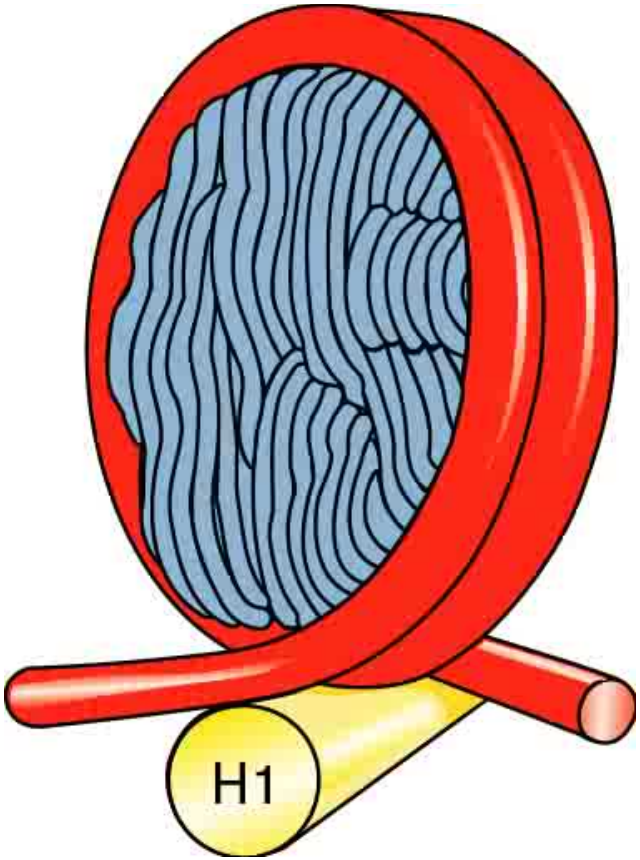
C'e' varietà per ciascun tipo di istone:

i geni relativi sono presenti in più copie (10-20 nel topo),

modificazioni post-traduzionali

NUCLEOSOMI

- DNA + istoni in egual misura.
- Sono un accorgimento per **ridurre lo spazio** occupato dal DNA all'interno del nucleo.
- Le unità istoniche, eccetto H1, sono presenti in **duplice copia** formando un ottamero con un nucleo centrale.
- 200 pb di DNA sono avvolte attorno al "rocchetto" istonico.
- Un blando trattamento con nucleasi fornisce segmenti di 200 pb, un trattamento più drastico riduce la lunghezza a 146pb (1,65x).
- Il DNA accumula superelicità negativa



https://www.rcsb.org/structure/3AFA

Richmond e coll. nel 1997 determinarono la struttura ai raggi X di un core nucleosomale (146 pb a istoni clonati)

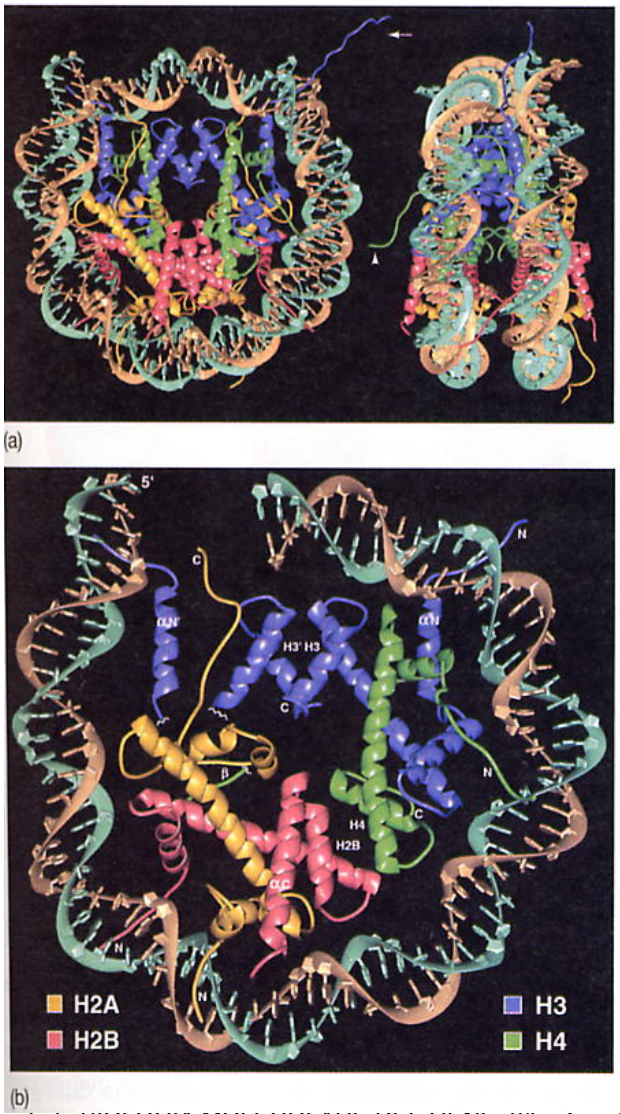
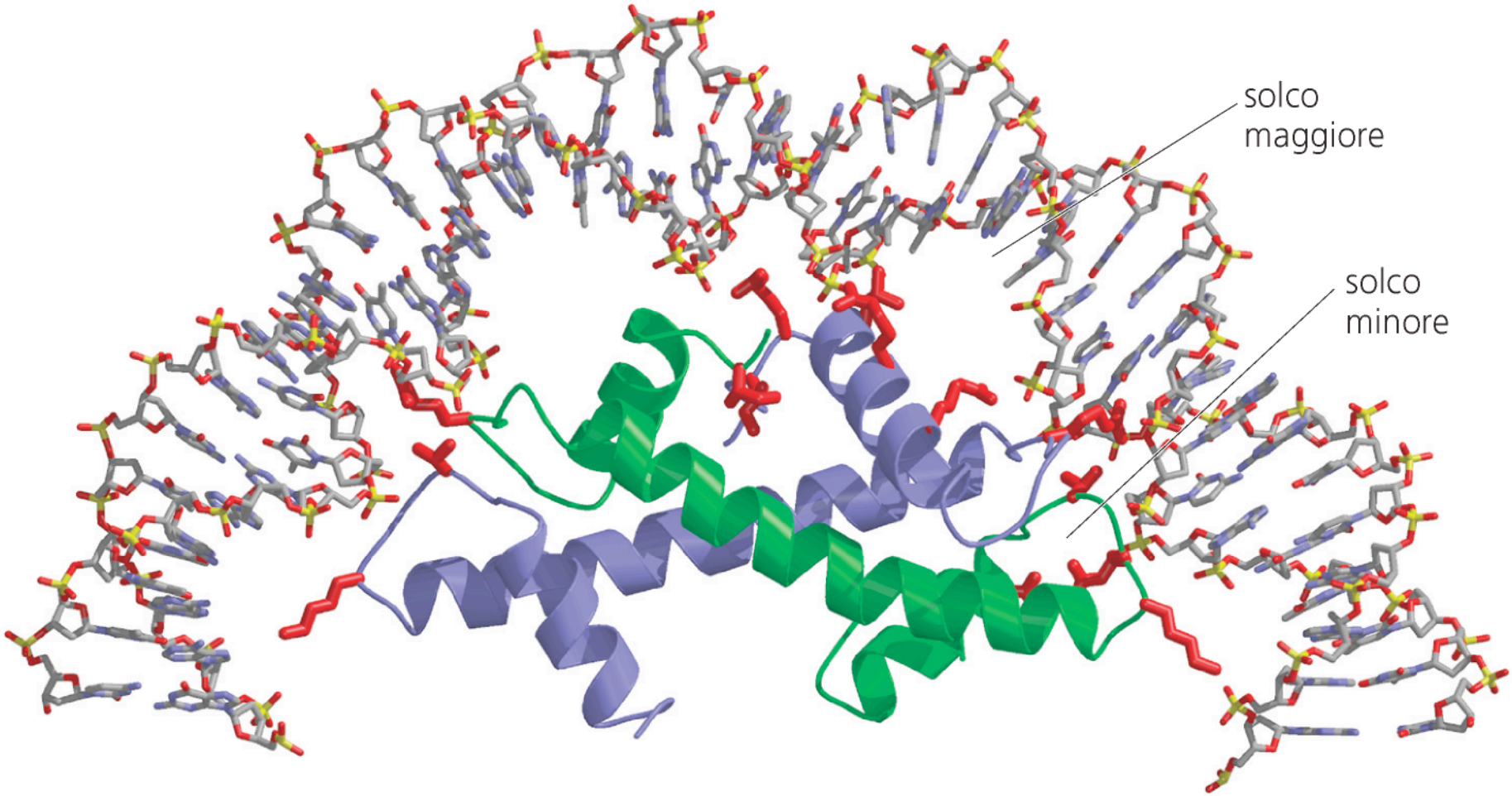


Figura 13.4 Struttura cristallografica del core di una particella nucleosomale. Richmond e collaboratori cristallizzarono un core nucleosomale formato da un tratto di DNA di 146 bp e di istoni core clonati, determinandone poi la sua struttura cristallografica. **(a)** Due vedute della particella core, di fronte (sinistra) e di lato (destra). Il DNA all'esterno è colorato in marrone e verde. Gli istoni del core sono rappresentati come segue: H2A, giallo; H2B, rosso; H3, viola e H4, verde. È da notare che la coda di H3 (freccia) si estende attraverso la fenditura tra i solchi minori di due avvolgimenti adiacenti di DNA intorno alla particella core. **(b)** Metà della particella core, che mostra 73 bp di DNA più almeno una molecola di ciascuno degli istoni del core. **(c)** Particella core priva di DNA. (Da: (*a-b*) Luger, K., A.W. Mäder, R.K. Richmond, D.F. Sargent e T.J. Richmond, Crystal

- Ripiegamento istonico (3 alfa eliche unite da due giri)
- Riduce la lunghezza di 6-7 volte
- La coda basica di H4 può interagire con la regione acida di un dimero H2A-H2B di un nucleosoma adiacente

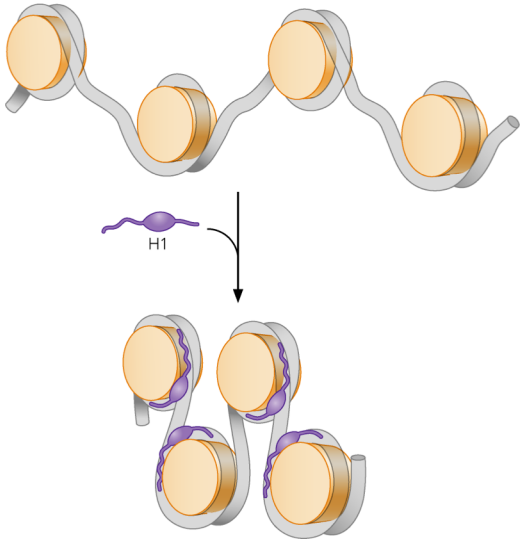
et al., BIOLOGIA MOLECOLARE DEL GENE, 6/E, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2009

I siti di contatto fra istoni e DNA coinvolgono il solco minore e i fosfati dei legami fosfodiesterici (interazione sequenza non specifica)



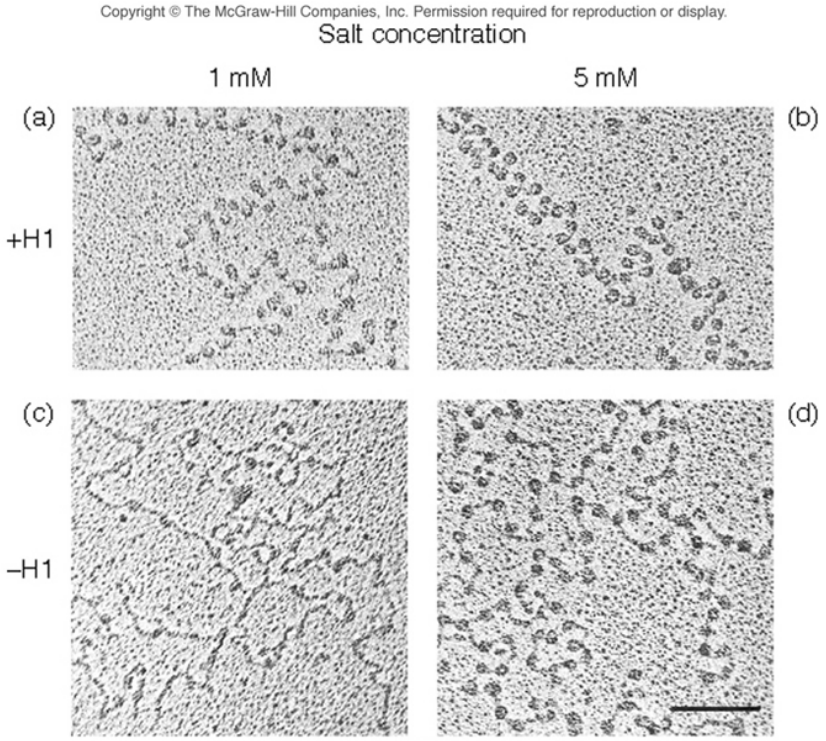
Struttura del filo di perle

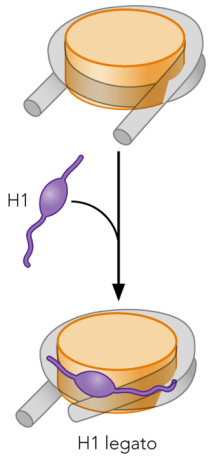
L'istone **H1** lega contemporaneamente il **DNA linker** ed il DNA nella parte **mediana** del nucleosoma inducendo un più stretto avvolgimento del DNA sul nucleosoma -> **struttura a filo di perle**



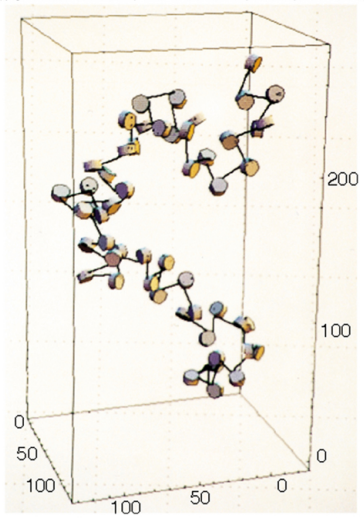
L'andamento del filo di perle è a zig-zag (tridimensionale).

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.





Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



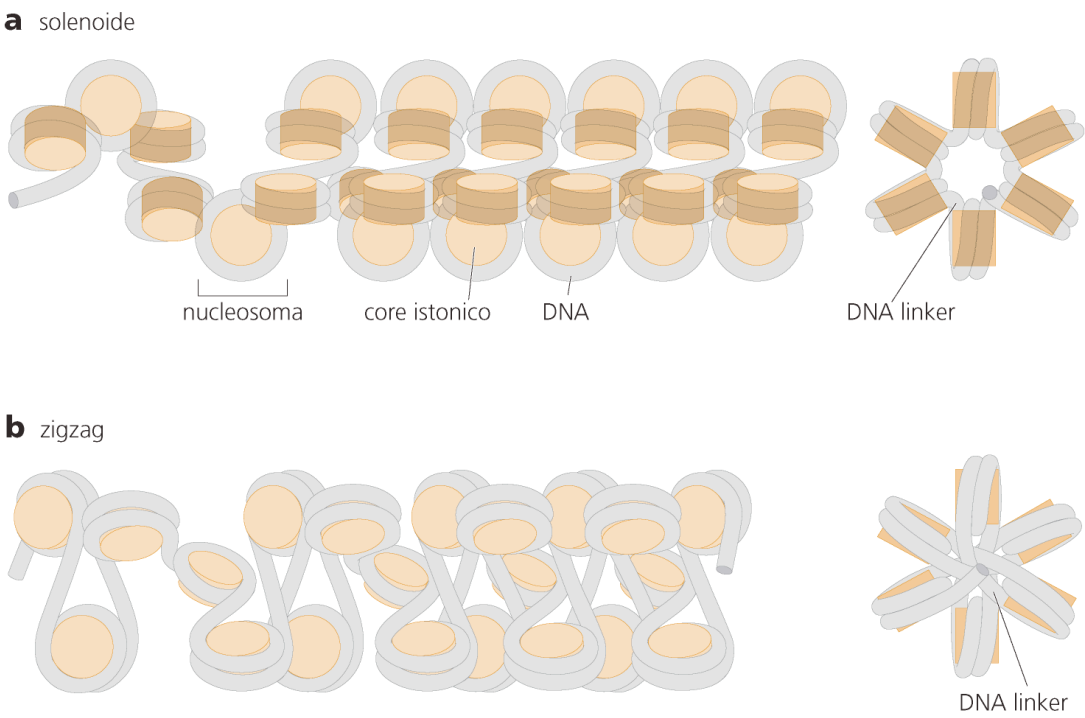
p.A. Copyright © 2009

La fibra da 30 nm

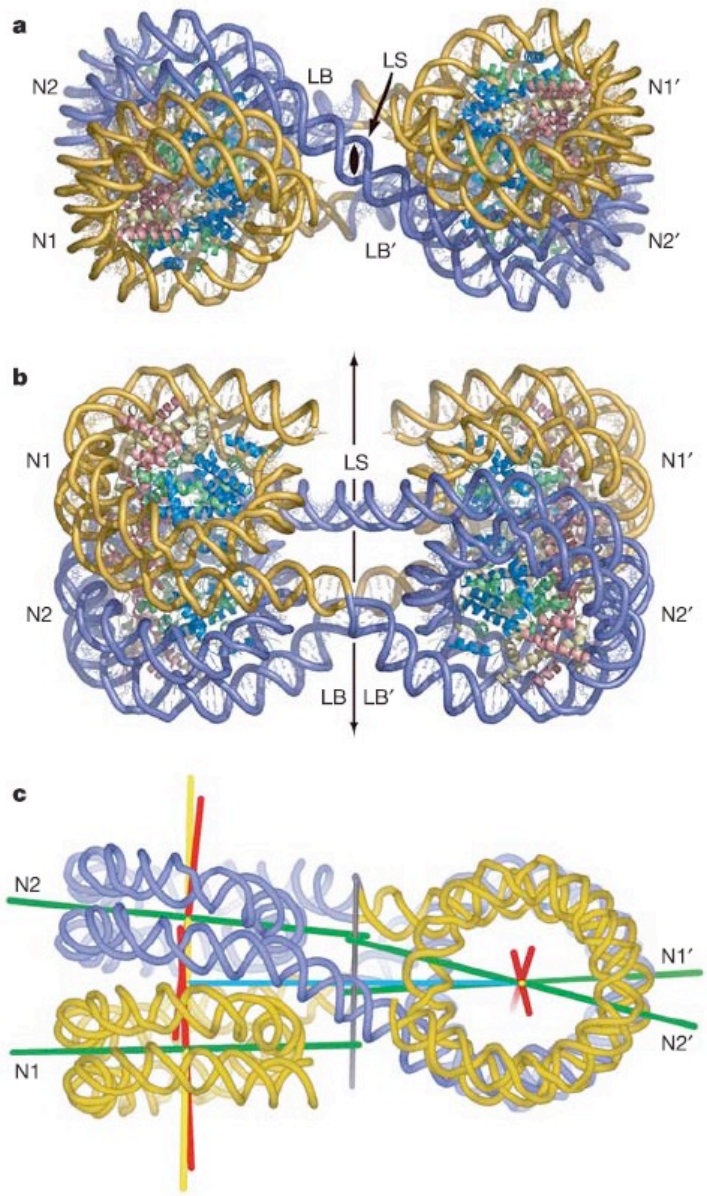
Il nucleosoma è stato cristallizzato.

Strutture di ordine superiore -> solo informazioni dal m.e.

- Il **filo di perle** si organizza (con l'aumento della forza ionica) a formare la **fibra da 30nm**
- La condensazione aumenta di 6-7X
- La struttura è detta anche **solenoide**
- I nucleosomi su un giro contattano quelli sul giro successivo attraverso le code istoniche
- Alcuni autori ritengono plausibile la forma a **zigzag** piuttosto del **solenoide**.
- E' la struttura di base della cromatina del nucleo interfasico



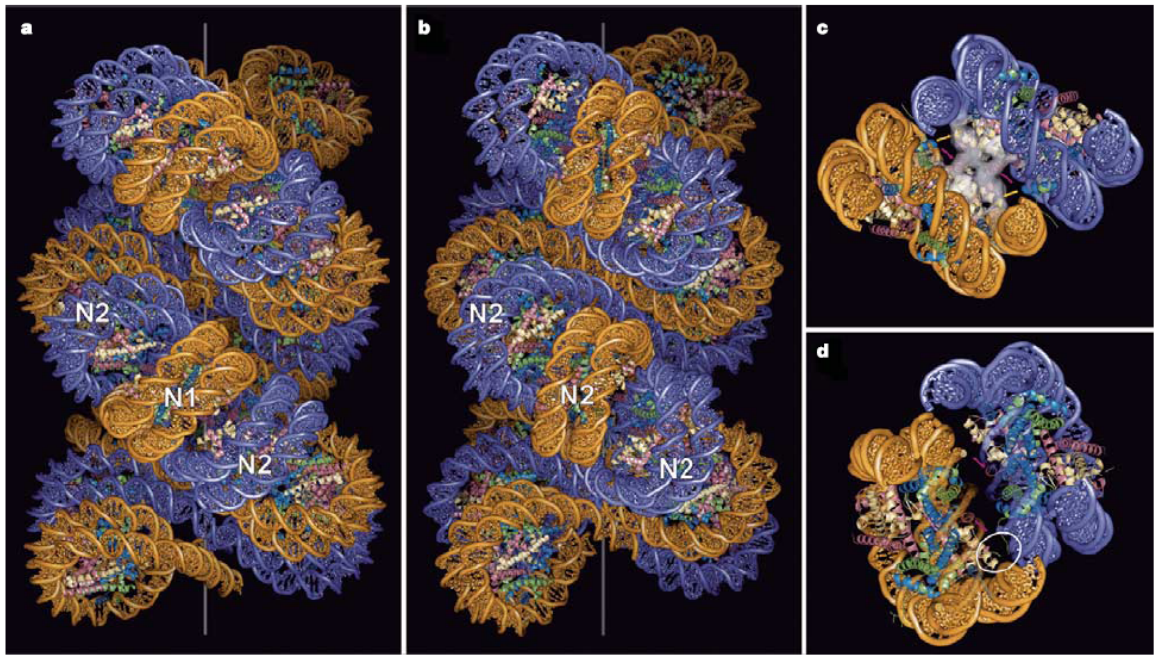
Struttura del tetranucleosoma



Richmond e coll., Nature 2005

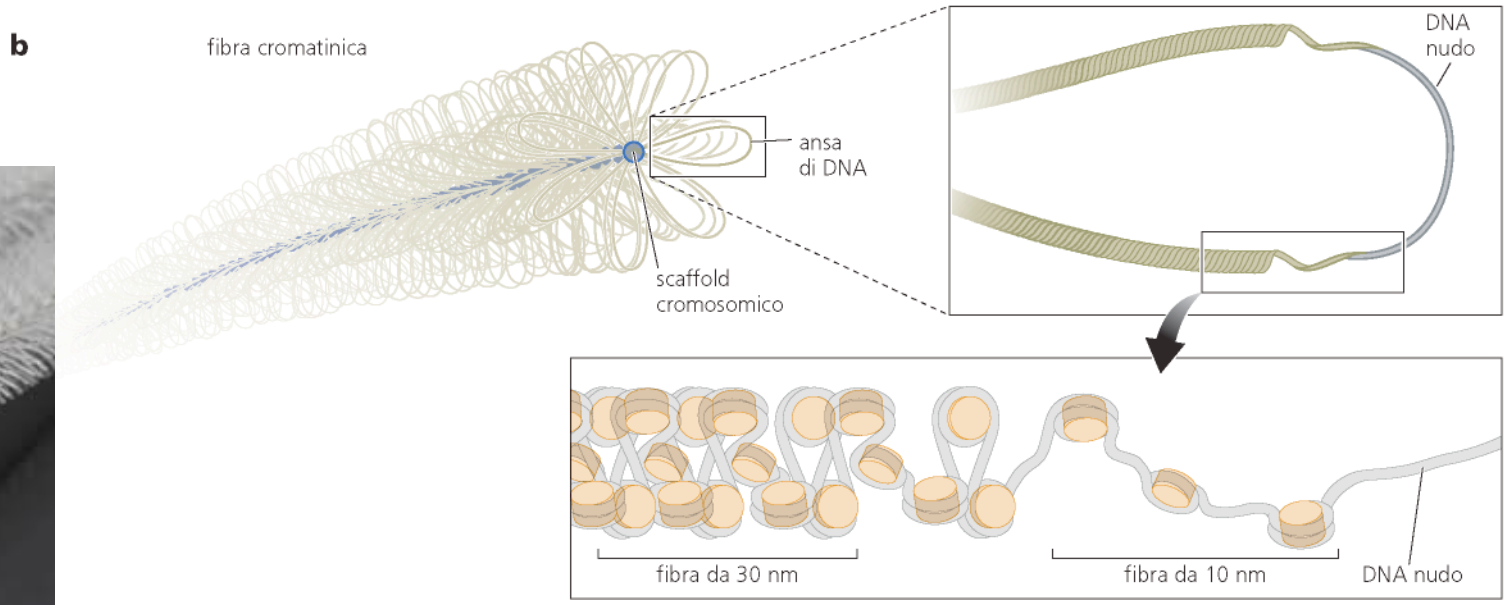
Modello di fibra cromatinica basato sulla struttura del tetranucleosoma a zigzag.

(**ATTENZIONE**: il tetranucleosoma non è un intermedio!!!!!)



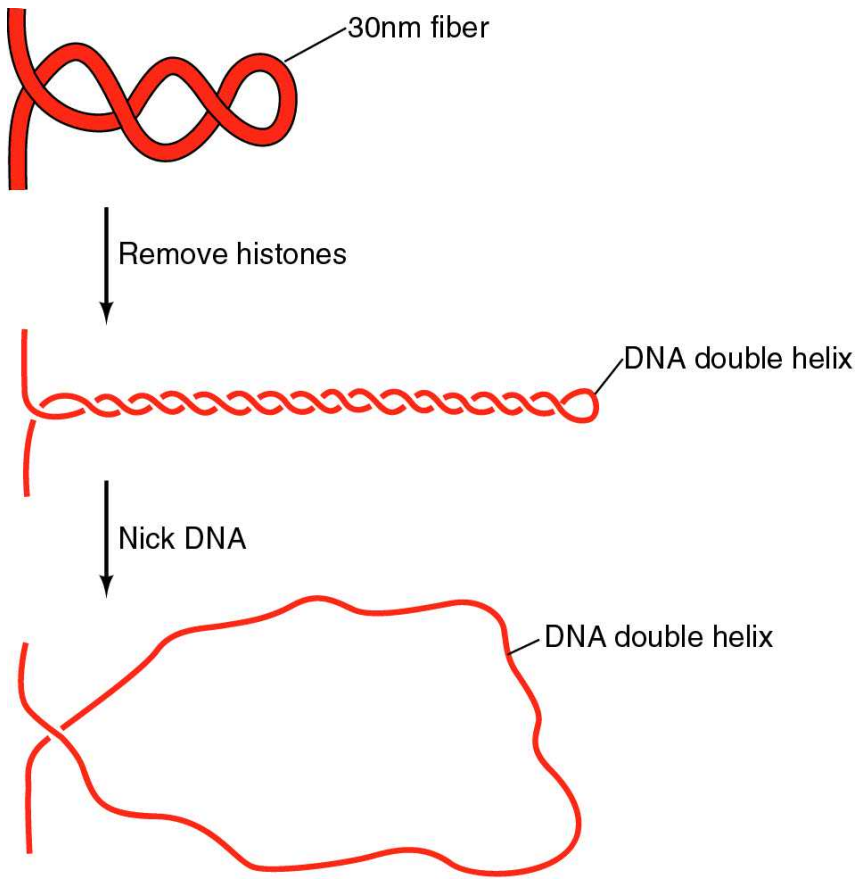
Ripiegamento superiore della cromatina: l'ansa radiale

- Un modello per rappresentare l'ordine superiore di organizzazione della cromatina.
- La fibra da 30 nm forma delle **anse** (35-85 Kb) ancorate a una impalcatura proteica centrale costituita da topo**II**, proteine di **M**antenimento della **S**truttura del **C**romosoma (**SMC**): coesine e condensine e altre.
- L'avvolgimento del DNA intorno agli istoni creerebbe una tensione tale da premettere il superavvolgimento.

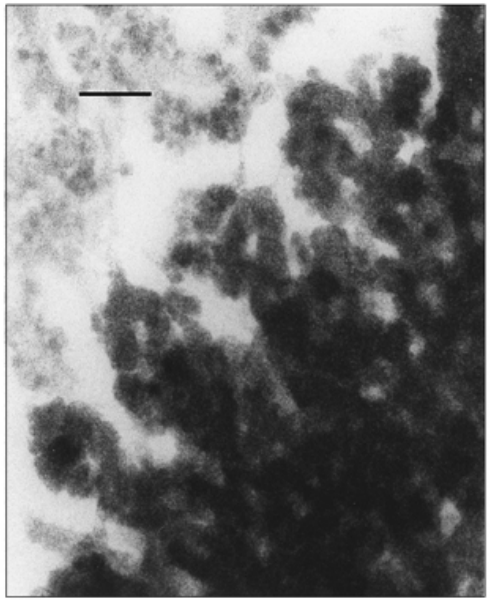


Rilassamento del superavvolgimento delle anse cromatiniche

- Ipotetica ansa di cromatina formata dalla fibra da 30 nm con alcuni giri di superelica.
- La rimozione degli istoni lascia il DNA superavvolto.
- Il taglio a singolo filamento rilassa il DNA creando un'ansa di dimensioni maggiori.



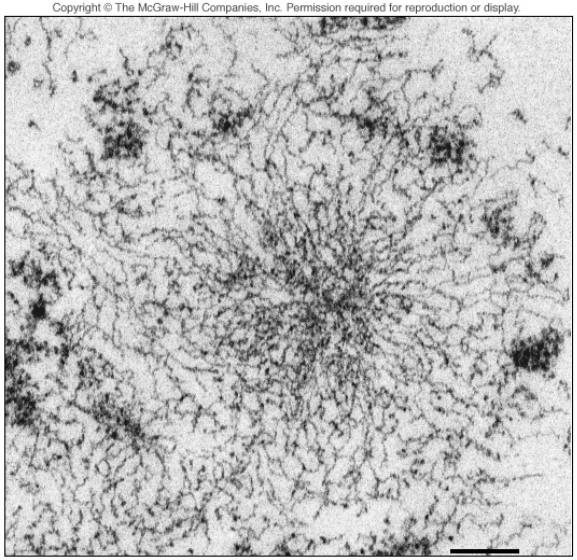
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(Source: Marsden, M.P.F. and U.K. Laemmli, Metaphase chromosome structure: Evidence for a radial loop model. *Cell* 17 (Aug 1979) f. 6, p. 856. Reprinted by permission of Elsevier Science.)

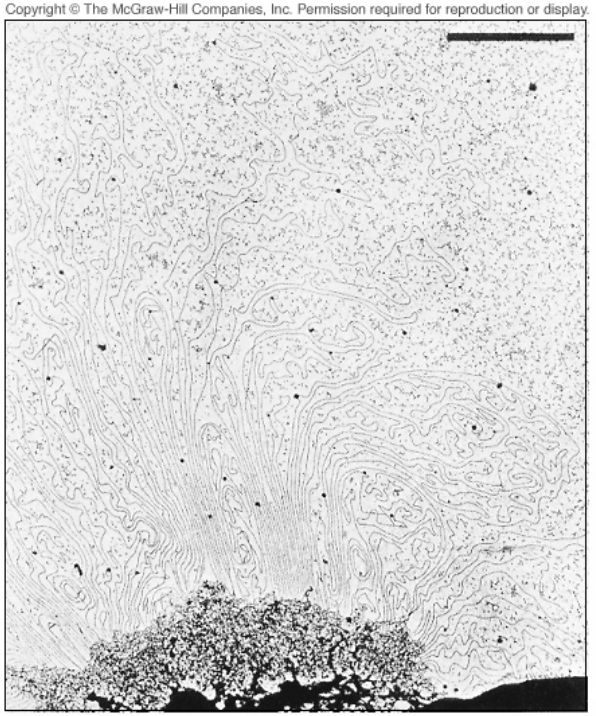
- Bordo cromosoma
- Sezione trasversale cromosoma
- Cromosoma umano deproteinizzato

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



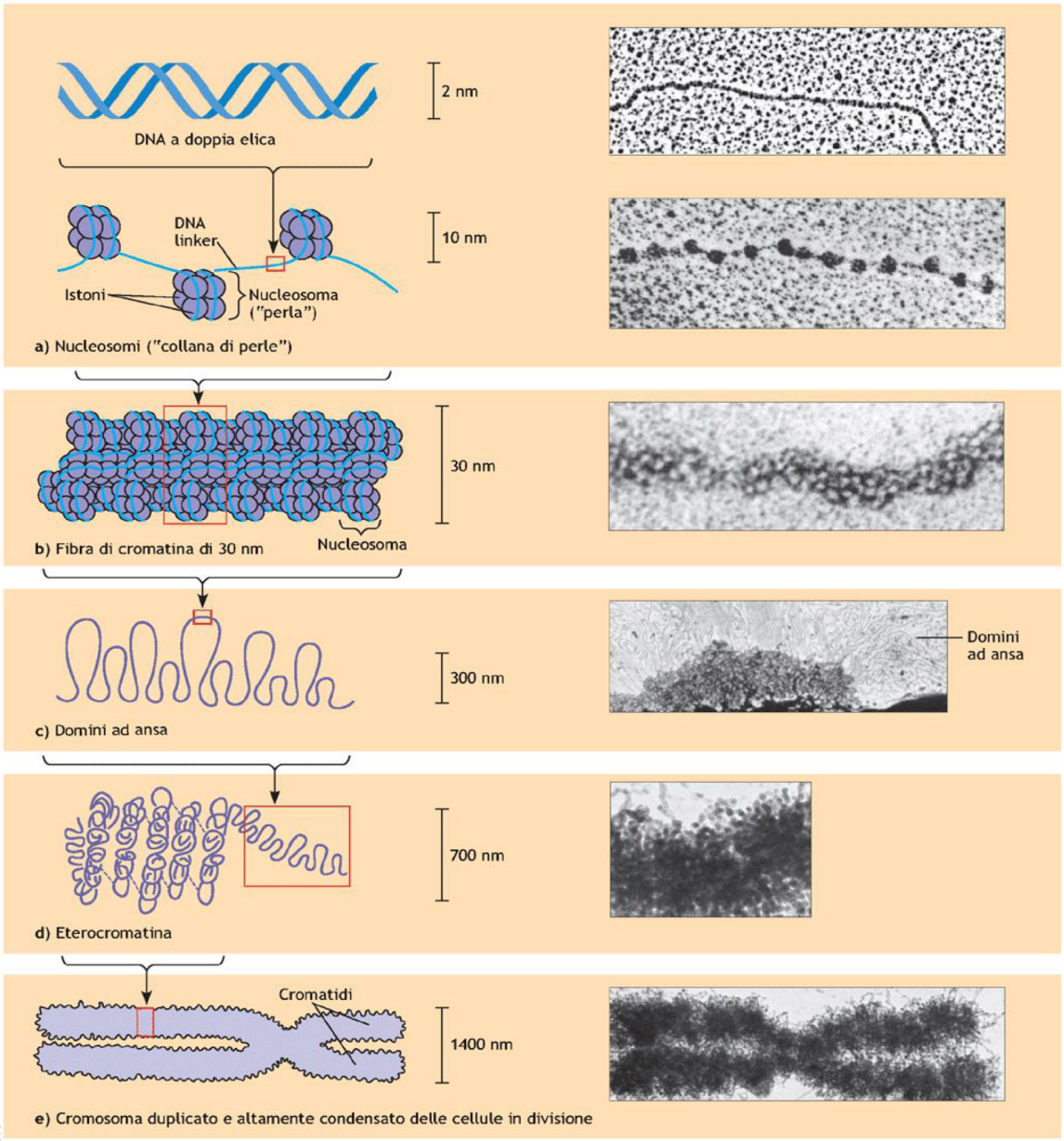
(Source: Marsden and Laemmli, *Cell* 17 (Aug 1979) f. 1, p. 851. Reprinted by permission of Elsevier Science.)

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(Source: Paulson, J.R. and U.K. Laemmli, The structure of histone-depleted metaphase chromosomes. *Cell* 12 (1977) f. 5, p. 823. Reprinted by permission of Elsevier Science.)

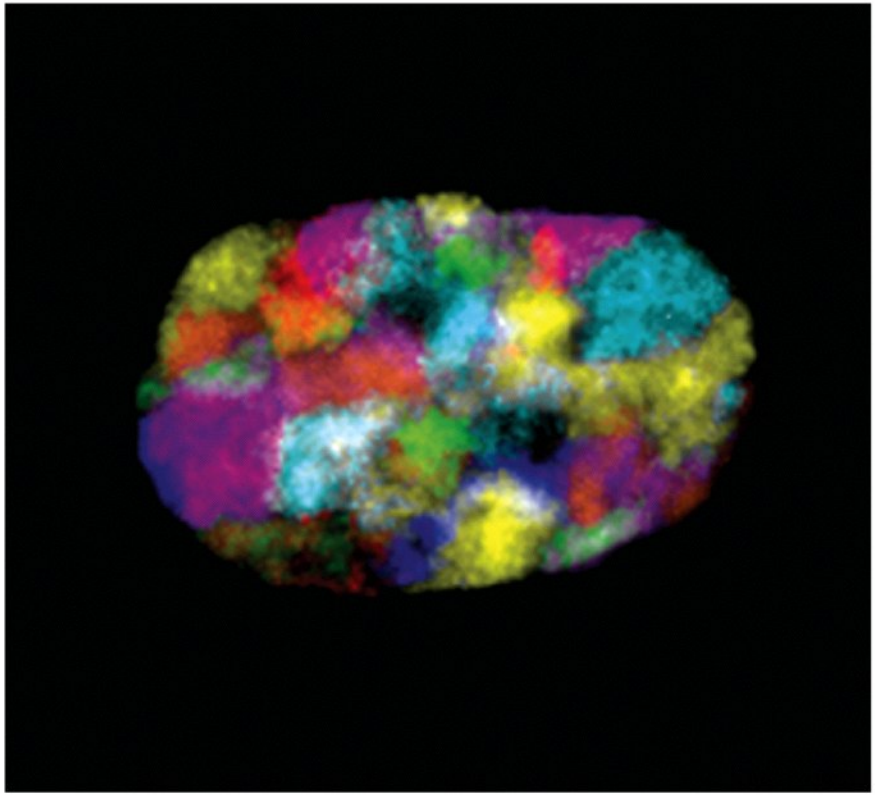
Struttura della cromatina

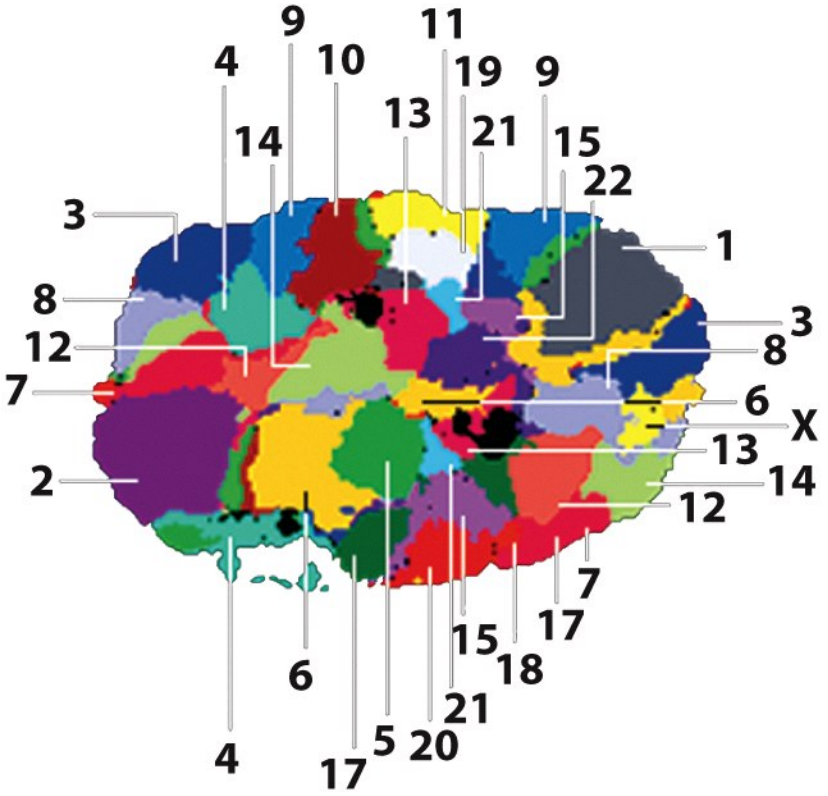


interfase

fase M

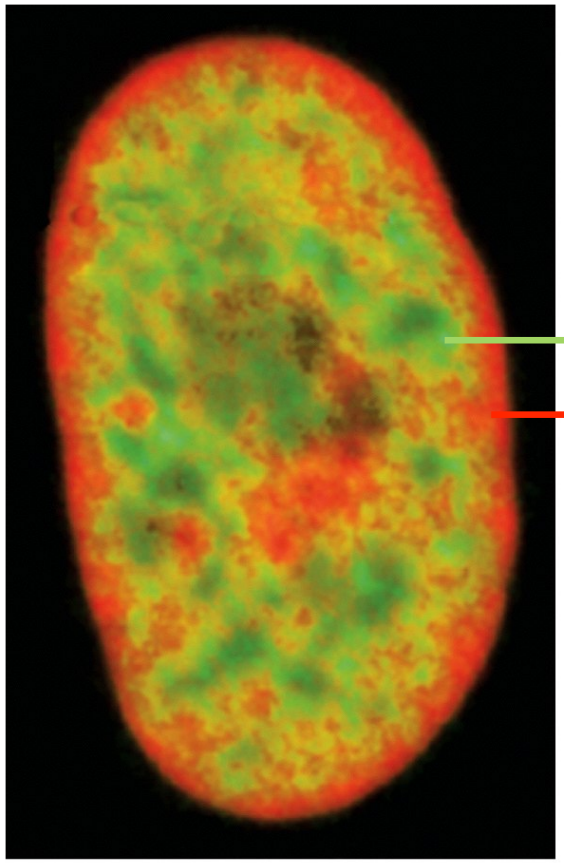
Territori cromosomici





La distribuzione della cromatina non è casuale nei nuclei interfasici

Territori cromatinici



L’eucromatina è distribuita in tutto il nucleo mentre **l’eterocromatina** è associata all’involucro nucleare e al nuleolo.

Distribuzione della cromatina

I domini ad ansa di eterocromatinna trascrizionalmente **inattiva** sono generalmente associati alla lamina (**LAD**) o al nucleolo (**NAD**).

I domini trascrizionalmente **attivi** sono invece localizzati all'interno del nucleo.

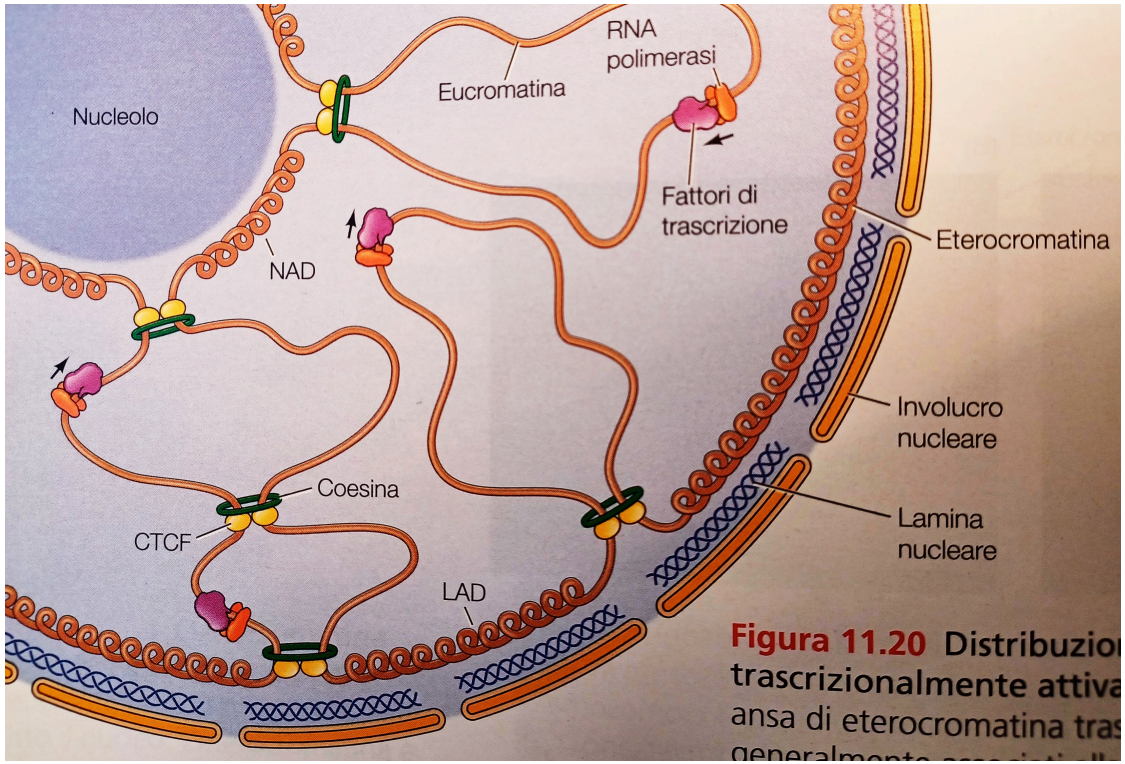
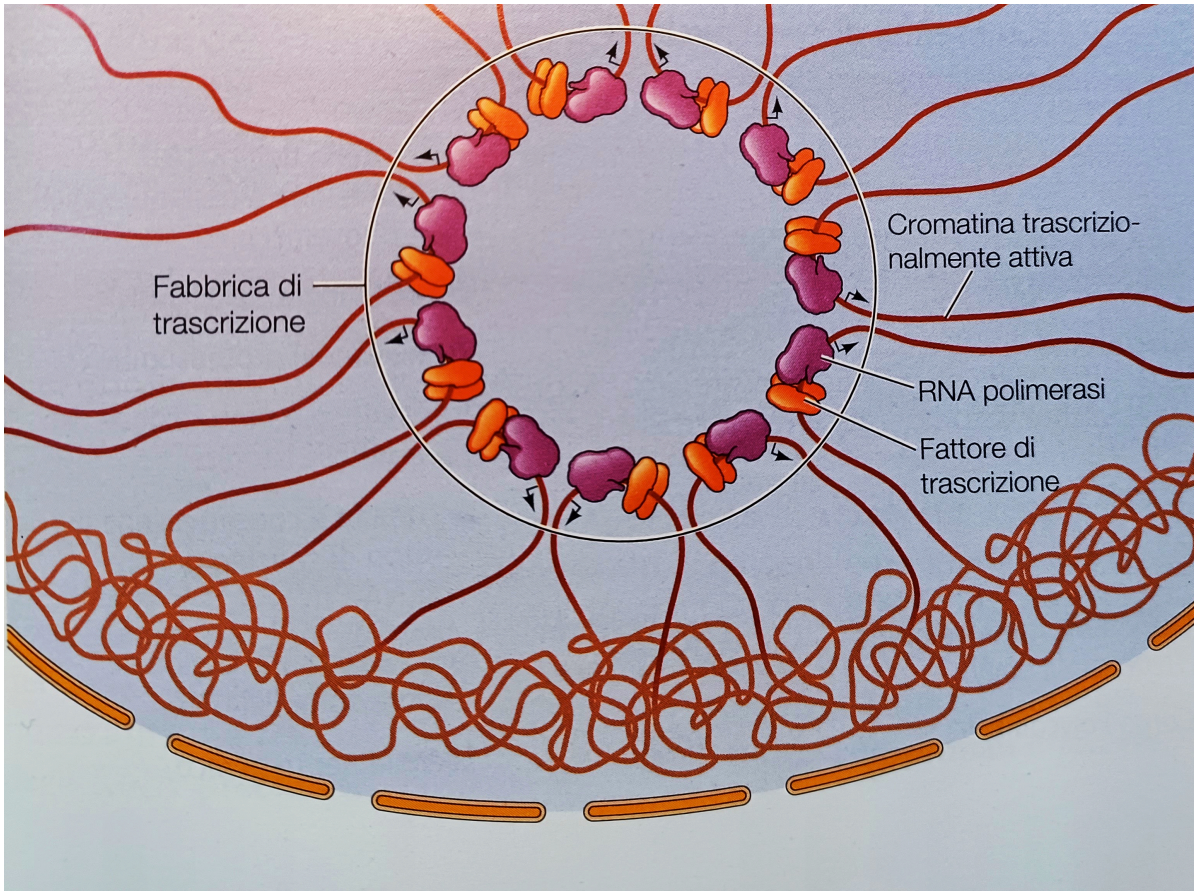


Figura 11.20 Distribuzio
trascrizionalmente attiva
ansa di eterocromatina tra

Fabbriche di trascrizione

Le **fabbriche di trascrizione** sono siti raggruppati di RNA polimerasi e fattori di trascrizione in cui vengono trascritti più domini di cromatina attiva.

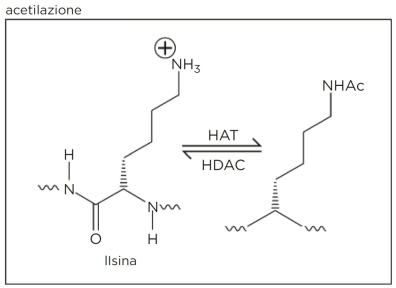


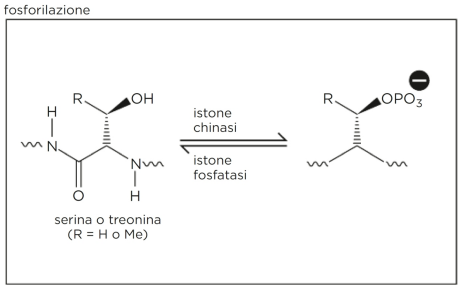
Regolazione della struttura della cromatina

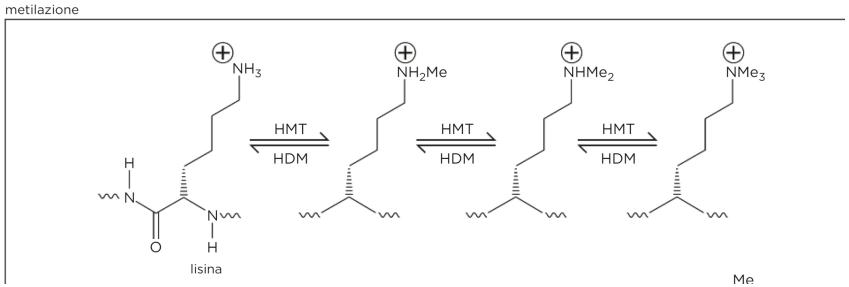
L'interazione del DNA con l'ottamero istonico è dinamica. I **complessi di rimodellamento** possono facilitare il movimento dei nucleosomi. Le modificazioni sulle code istoniche possono:

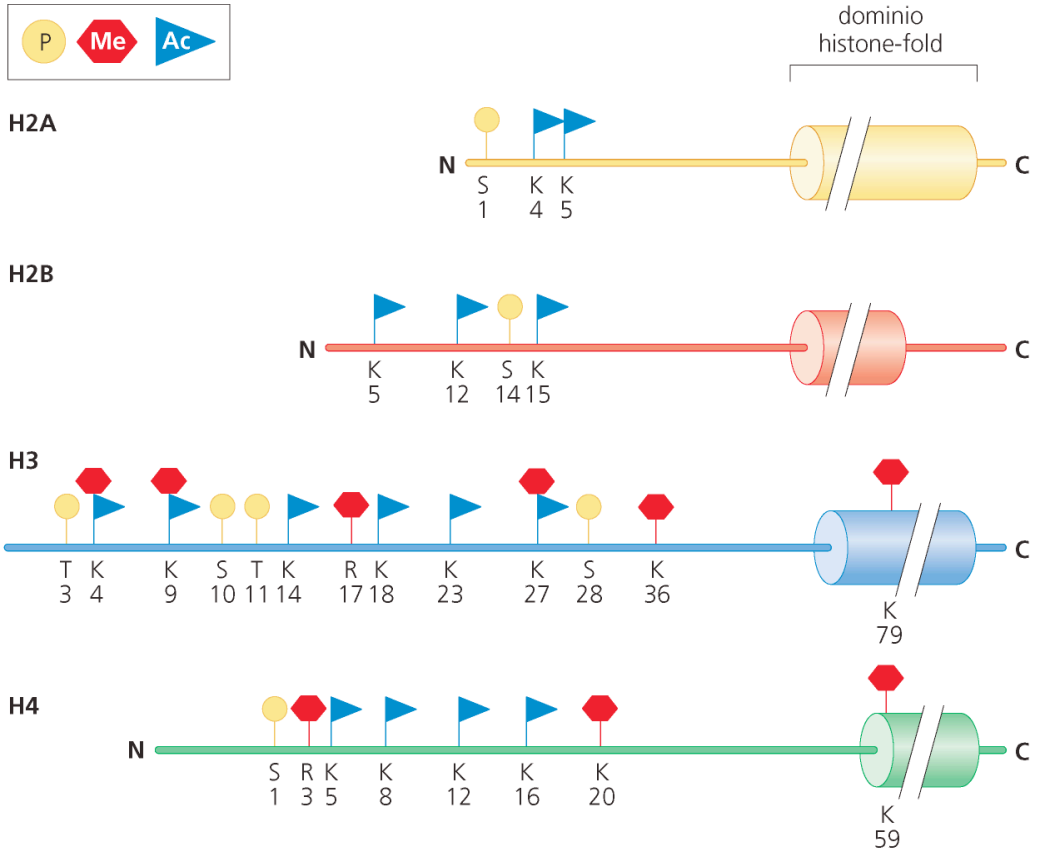
1) modificare la **carica** degli istoni (non sempre) e
2) venir**"lette"**dai complessi di rimodellamento e di modificazione dei nucleosomi

-> **modulano l'accessibilità della cromatina**









Rimodellamento della cromatina

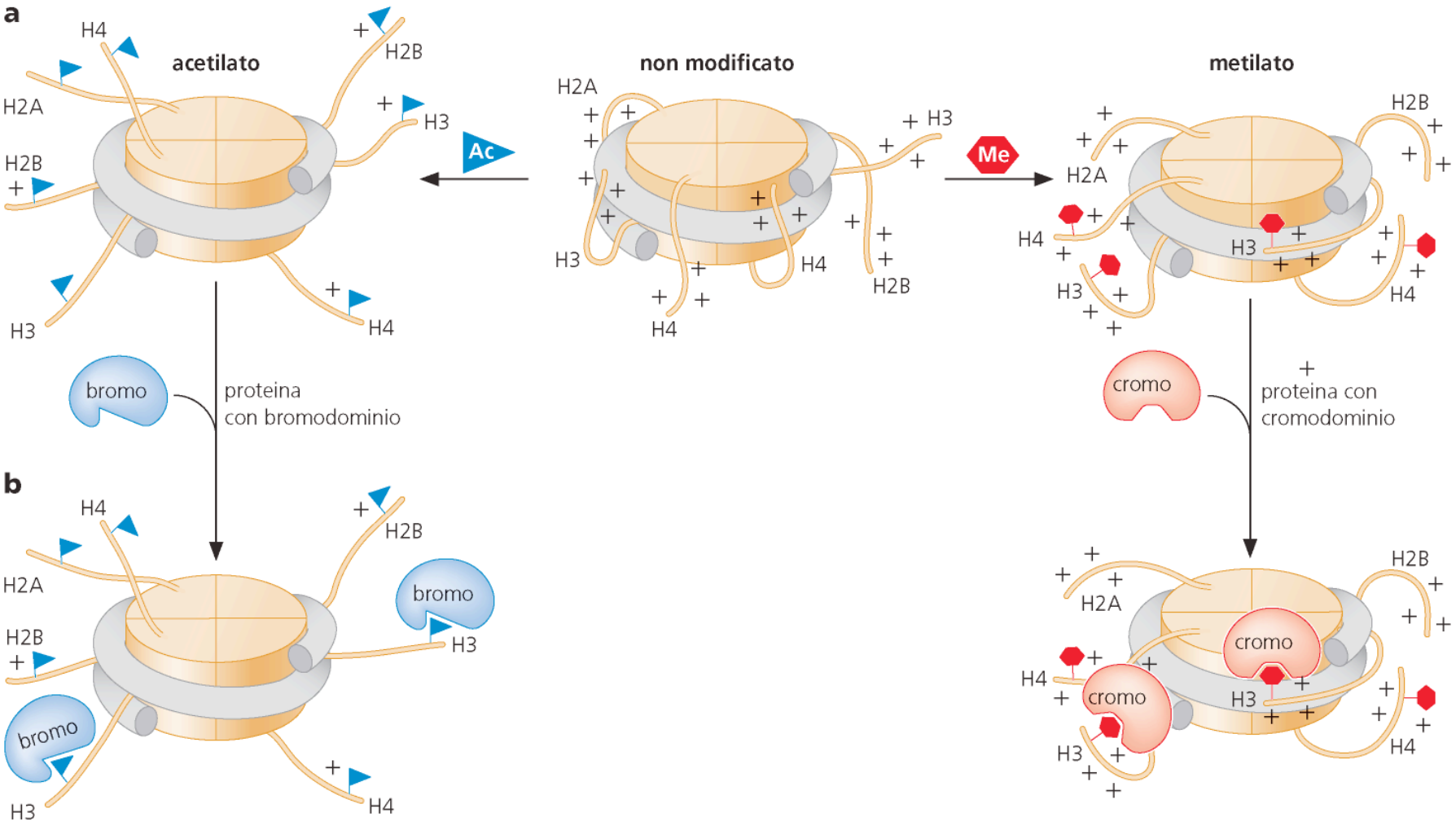


TABELLA 8.7 Enzimi che modificano gli istoni

Complessi istone acetiltransferasi

Tipo	Numero di subunità	Subunità catalitica	Domini di legame agli istoni	Istoni bersaglio
SAGA	15	Gcn5	Bromodominio, cromodominio	H3 e H2B
PCAF	11	PCAF	Bromodominio	H3 e H4
NuA3	5	Sas3	PHD finger	H3
NuA4	6	Esa1	Cromodominio, dominio SANT, PHD finger	H4 e H2A
P300/CBP	1	P300/CBP	Bromodominio, PHD finger	H2A, H2B, H3 e H4

Complessi istone deacetilasi

Tipo	Numero di subunità	Subunità catalitica(che)	Domini di legame agli istoni
NuRD	9	HDAC1/HDAC2	Cromodominio, PHD finger
Complesso SIR2	3	Sir2	Nessuno
Rpd3 grande	12	Rpd3	PHD finger
Rpd3 piccolo	5	Rpd3	Cromodominio, PHD finger

Istone metiltransferasi

Nome	Domini di legame agli istoni	Istone bersaglio
SET1	Nessuno	H3 (lisina 4)
SUV39/CLR4	Cromodominio	H3 (lisina 9)
SET2	Nessuno	H3 (lisina 36)
DOT1	Nessuno	H3 (lisina 79)
PRMT	Nessuno	H3 (arginina 3)
SET9/SUV4-20	Nessuno	H4 (lisina 20)

Istone demetilasi

Nome	Domini di legame agli istoni	Istone metilato bersaglio
LSD1	PHD finger, dominio SANT	H3 (lisina 4)
JHDM1	PHD finger	H3 (lisina 36)
JHDM3	PHD finger, dominio TUDOR	H3 (lisine 9 e 36)

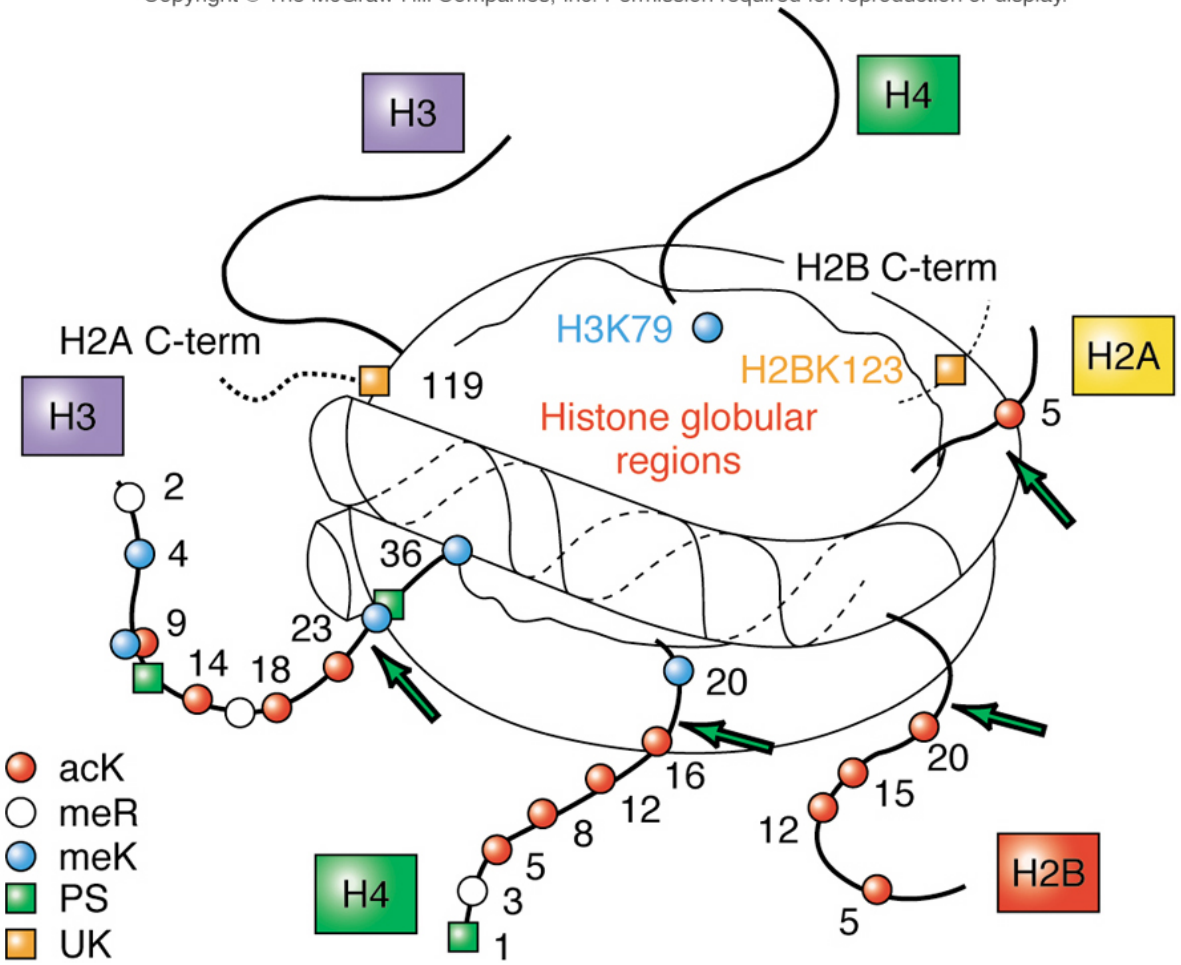
TABELLA 8.6 Complessi di rimodellamento dei nucleosomi ATP-dipendenti

Tipo	Numero di subunità	Dominio di legame degli istoni	Scivolamento	Trasferimento
SWI/SNF	8-14	Bromodominio	Sì	Sì
ISWI	2-4	Bromodominio, dominio SANT, PHD finger	Sì	No
CHD	1-10	Cromodominio, PHD finger, dominio SANT	Sì	Sì
INO80	10-16	Bromodominio	Sì	nd

nd, non determinato.

Metilazione, acetilazione, deacetilazione, fosforilazione, ubiquitinazione: **codice istonico**

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



È la somma di questi eventi in combinazione variabile che determina quali geni risulteranno attivi e quali repressi.

Video my Zanichelli

Nucleosoma

http://online.universita.zanichelli.it/watson-7e/xstudx-animazioni/xstudx-nucleosome-assembly/

Struttura della cromatina

https://online.universita.zanichelli.it/watson8e/xstudx-video/xstudx-video-capitoli-3-7/