

8. novembre

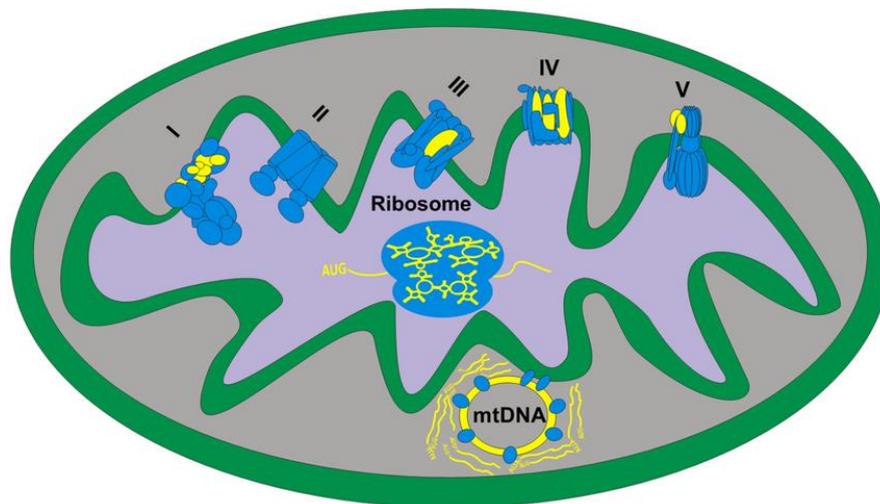
## Le mutazioni patogene del DNA mitocondriale inibiscono le metastasi del melanoma

*Il gene salta di corpo in corpo lungo le generazioni,  
manipolando corpo dopo corpo a modo suo e per i suoi scopi,  
abbandonando una successione di corpi mortali prima che questi invecchino e muoiano*

Richard Dawkins

Da il gene egoista

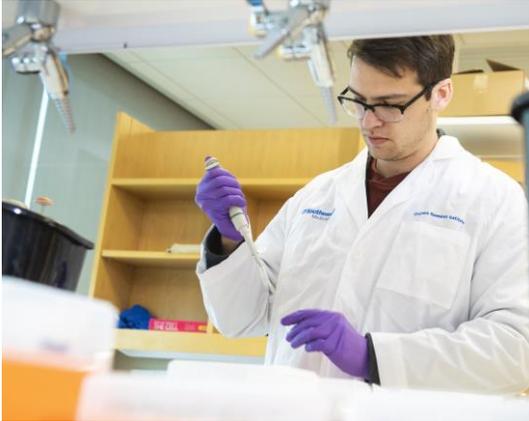
Le mutazioni patogene all'interno del DNA mitocondriale (mtDNA) sono ampiamente riconosciute come causali di malattie ereditarie, ma il loro ruolo nella patologia delle malattie acquisite è in gran parte sconosciuto. Le mutazioni somatiche del mtDNA si verificano comunemente nei tumori umani, con un tasso di incidenza superiore al 50% (4 – 6).



I sistemi mitocondriali umani richiedono la cooperazione di fattori codificati da nDNA e mtDNA: un'illustrazione di un singolo mitocondrio. Sono mostrati i cinque complessi OXPHOS, il ribosoma mitocondriale e il mtDNA con le sue proteine adiacenti e i prodotti RNA, che rappresentano i sistemi di replicazione e trascrizione. Oggetti blu: proteine codificate da nDNA che vengono importate nei mitocondri. Oggetti gialli: elementi codificati da mtDNA tra cui il mtDNA stesso, gli RNA mitocondriali e le subunità dei complessi OXPHOS codificati da mtDNA. I–V: complessi proteici OXPHOS. La posizione fisica del mtDNA e della "nuvola" di mRNA sintetizzato si basa sulla nostra interpretazione della recente indagine microscopica ad alta risoluzione del nucleotide mitocondriale, ovvero la struttura mtDNA-proteina che comprende i macchinari di replicazione e trascrizione (Brown et al., 2011).

Alcuni tipi di tumore come i tumori del colon-retto, della tiroide e renali presentano un'incidenza sproporzionatamente elevata e un carico allelico di mutazioni deleterie del mtDNA, e sono tipicamente associati a cambiamenti "oncocitici" secondari a un accumulo mitocondriale eccessivo. Tuttavia, le mutazioni deleterie alleliche elevate del mtDNA sono atipiche nella maggior parte dei tumori e la maggior parte dei tumori mantiene le mutazioni somatiche del mtDNA a una bassa frequenza allelica.

Inoltre, è stato suggerito che la maggior parte dei tipi di cancro favorisce il mtDNA funzionale, come indicato da una frequenza allelica inferiore di mutazioni deleterie rispetto alle varianti non patogene.



Il team del Children's Medical Center Research Institute, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas diretta da **Spencer Shelton SD**

*Shelton SD et al.*

**Pathogenic mitochondrial DNA mutations  
inhibit melanoma metastasis. bioRxiv  
[Preprint]. 2023 Sep 5:2023.09.01.555986.**

Per valutare funzionalmente l'impatto delle varianti del mtDNA sulla crescita del tumore e sulle metastasi, **abbiamo sviluppato** un protocollo di generazione di ibridi citoplasmatici (cibridi) potenziati e stabilito linee di cibridi di melanoma umano isogenico con mtDNA di tipo selvatico o mutazioni del mtDNA patogeno con perdita parziale o completa della funzione ossidativa mitocondriale.

I cibridi con livelli omoplasmatici di mtDNA patogeno hanno stabilito in modo affidabile i tumori nonostante la fosforilazione ossidativa disfunzionale.

Tuttavia, queste varianti del mtDNA hanno interrotto le metastasi spontanee dai tumori primari e ridotto l'abbondanza di cellule tumorali circolanti. La migrazione e l'invasione delle cellule tumorali sono state ridotte, indicando che l'ingresso in circolazione è un collo di bottiglia per le metastasi in mezzo alla disfunzione del mtDNA.

Il mtDNA patogeno non ha inibito la colonizzazione dell'organo dopo l'iniezione endovenosa. Nei tumori cibridi eteroplasmatici, le analisi delle singole cellule hanno rivelato una selezione contro il mtDNA patogeno durante la crescita del melanoma.

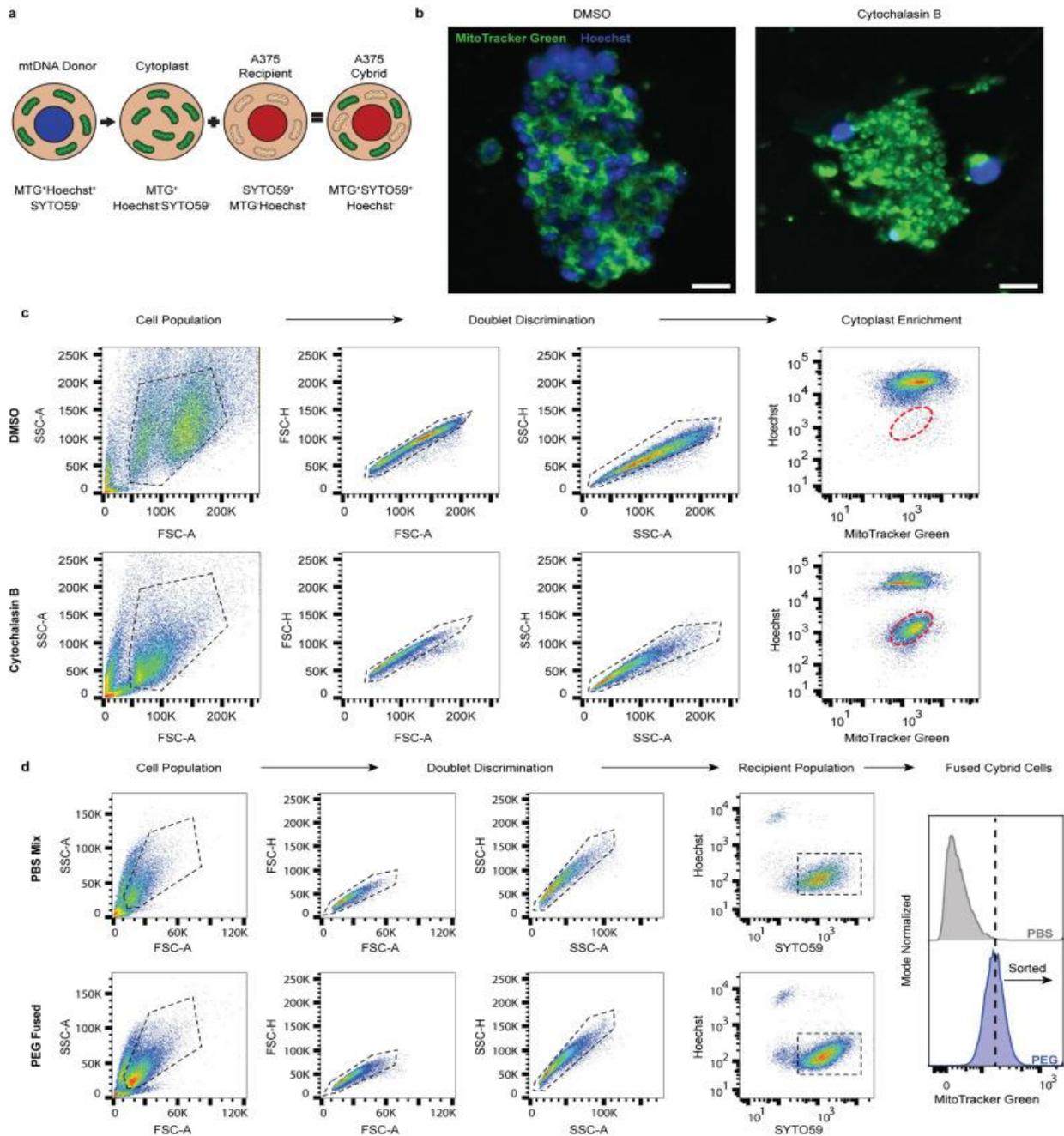
Nel complesso, questi risultati dimostrano sperimentalmente che il mtDNA funzionale è favorito durante la crescita del melanoma e supporta l'ingresso metastatico nel sangue.

Questi tumori mutanti di mtDNA hanno dimostrato una riduzione pronunciata delle metastasi spontanee, che abbiamo isolato in uno specifico difetto nell'invasione del flusso sanguigno all'interno dell'ambiente interstiziale del tumore. In linea con ciò, il trattamento a breve termine dei melanomi funzionali a mtDNA con un inibitore del complesso I ha eliminato la presenza di cellule tumorali circolanti.

Abbiamo ulteriormente sfruttato il nostro protocollo di generazione di cibridi per la valutazione delle pressioni selettive esercitate sul genoma mitocondriale in una serie di linee di cibridi

eteroplasmatici, rivelando che la crescita del melanoma in vivo seleziona contro le varianti patogene del mtDNA.

Questi risultati forniscono la prima verifica sperimentale diretta in vivo della selezione del mtDNA durante la crescita del tumore e dimostrano che il mtDNA funzionale promuove l'ingresso metastatico delle cellule del melanoma nel sangue.



**a**, Illustrazione del frazionamento cellulare e della colorazione utilizzati durante la generazione di ibridi A375. Le linee di mtDNA del donatore sono state colorate con MitoTracker Green e Hoechst prima della generazione del citoplasto. I citoplasti sono stati generati, arricchiti tramite citometria a flusso e quindi fusi con cellule p0 A375 impoverite di mtDNA che erano state pre-colorate con SYTO59. Le cellule ibride di successo sono state ulteriormente arricchite in base alla presenza del segnale SYTO59, del segnale MitoTracker Green e dell'assenza del segnale Hoechst.

**b** , Immagini rappresentative di epifluorescenza di cellule <sup>mtDNA</sup> Wildtype <sup>nucleari</sup> del donatore di mtDNA 143B colorate dopo trattamento con veicolo DMSO (sinistra) e citocalasina B (destra) e centrifugazione per generare citoplasti. Barre di scala, 25 µm.

**c** , Arricchimento dei citoplasti in seguito a centrifugazione differenziale con trattamento di DMSO (in alto) o citocalasina B (in basso). Le popolazioni di gating cellulare sono visualizzate con linee tratteggiate nere e la popolazione di citoplasti ordinata è mostrata con linee tratteggiate rosse.

**d** , Arricchimento citofluorimetrico di cellule cibrice PBS miste (in alto) e fuse con PEG (in basso). Le popolazioni di gating cellulare sono visualizzate con linee tratteggiate nere. Le popolazioni positive alla fusione sono state ordinate per un arricchimento di MitoTracker Green nelle cellule cibrice fuse con PEG rispetto alle cellule miste PBS.

## LIGNOSAT



Il primo satellite al mondo rivestito in legno è stato lanciato nello spazio per testare l'idoneità del legname come materiale da costruzione rinnovabile per le future esplorazioni di destinazioni come la Luna e Marte. Realizzato da ricercatori in Giappone, il piccolo satellite che pesa appena 900 g è diretto alla Stazione Spaziale Internazionale in una missione SpaceX. Verrà poi rilasciato in orbita sopra la Terra. Denominati **LignoSat**, dal termine latino che significa legno, i suoi pannelli sono stati realizzati con un tipo di albero di magnolia, utilizzando una tecnica tradizionale che non prevede viti né colla.

I ricercatori dell'Università di Kyoto che l'hanno sviluppato sperano che in futuro sarà possibile sostituire alcuni metalli impiegati nell'esplorazione spaziale con il legno.

*"Il legno è più resistente nello spazio che sulla Terra perché non c'è acqua o ossigeno che potrebbero farlo marcire o infiammarlo"*, ha detto all'agenzia di stampa Reuters Koji Murata, professore di scienze forestali presso l'Università di Kyoto .

*"Gli aerei dei primi anni del 1900 erano fatti di legno"*, ha detto il Prof. Murata. *"Anche un satellite in legno dovrebbe essere fattibile"*. Se un giorno si riuscisse a piantare alberi sulla Luna o su Marte, il legno potrebbe fornire materiale per colonie nello spazio in futuro, sperano i ricercatori.

Oltre ai suoi pannelli in legno, LignoSat incorpora anche strutture tradizionali in alluminio e componenti elettronici. Ha sensori a bordo per monitorare come il suo legno reagisce all'ambiente estremo dello spazio durante i sei mesi in cui orbiterà attorno alla Terra.

Il dott. Simeon Barber, ricercatore spaziale presso l'Open University nel Regno Unito, ha affermato: *"Dobbiamo essere chiari sul fatto che questo non è un satellite fatto completamente di legno... ma la premessa di base alla base dell'idea è davvero interessante. "Da un punto di vista della sostenibilità, il legno è un materiale che può essere coltivato ed è quindi rinnovabile", ha detto alla BBC. "L'idea che si possa far crescere il legno su un altro pianeta per esplorare lo spazio o costruire ripari: gli esploratori hanno sempre utilizzato il legno per costruire ripari quando andavano in una nuova terra."* Il dottor Barber ha affermato che non è la prima volta che il legno viene utilizzato nelle astronavi.

*"Utilizziamo il legno (sughero) per il rivestimento esterno dei contenitori delle astronavi, per aiutarle a sopravvivere al rientro nell'atmosfera terrestre."*

I moduli lunari russi e sovietici utilizzavano il sughero per dare maggiore aderenza al rover durante la discesa verso la superficie, ha aggiunto.

*"Non c'è niente di sbagliato nell'utilizzare il legno nello spazio: si tratta semplicemente di utilizzare il materiale giusto per il compito giusto."*

Ha sottolineato che il legno ha proprietà difficili da controllare.

*"Quindi, da un punto di vista ingegneristico, è un materiale piuttosto difficile da lavorare... Penso che il legno avrà sempre problemi nel realizzare strutture critiche come parti di veicoli spaziali, per le quali è necessario prevedere quanto sarà resistente."*

I ricercatori dell'Università di Kyoto sperano che l'uso del legno nella costruzione dei veicoli spaziali possa essere molto meno inquinante di quelli in metallo, quando questi ultimi bruceranno durante il rientro alla fine del loro ciclo di vita.

