

Corso di Biologia Applicata

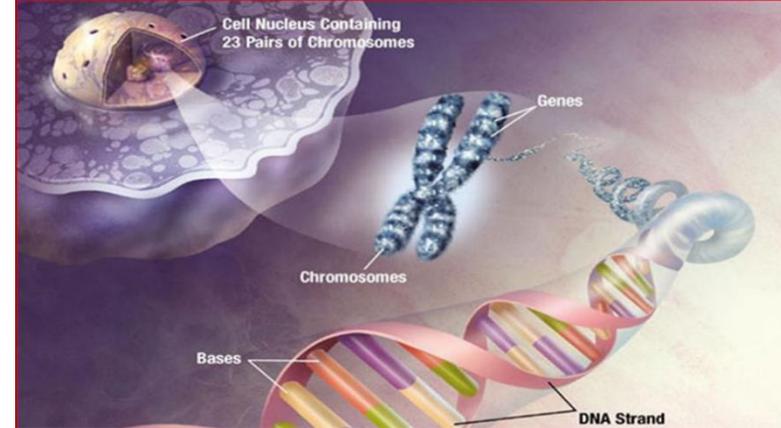
Anno Accademico 2016/2017

Corso di Laurea in Scienze Motorie

**NUCLEO
E
CICLO CELLULARE**

Dott.ssa Frontini Francesca

IL NUCLEO



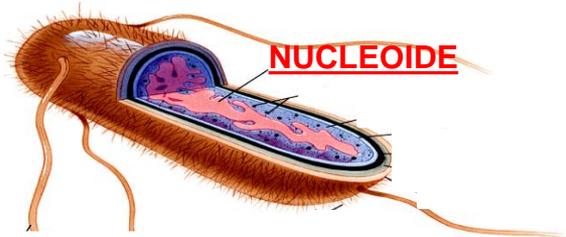
- Può essere considerato **il centro di comando** da cui partono tutti gli ordini che regolano la vita della cellula.
- Costituisce la **sede dell'informazione genetica**; contiene la maggior parte del **patrimonio genetico**.
- Al suo interno è conservato il DNA sotto forma di cromatina ed hanno luogo la **replicazione del DNA** nucleare e la sua **trascrizione ad RNA**.
- Sede di **meccanismi** indispensabili all'**espressione genica** e alla **duplicazione cellulare**.
- Considerato il ruolo e la valenza del DNA, il nucleo può essere considerato come il **«coordinatore»** ed il **«controllore»** delle attività che si svolgono nella cellula.

Le cellule si dividono in due classi principali, definite in prima istanza in base alla presenza o meno del nucleo:

Cellule procariotiche

(batteri)

- *Pro* = Prima
- *Carion* = Nucleo o nocciolo
- “DNA in un area non delimitata”
- sono prive di nucleo (e quindi di una membrana nucleare).
- Il materiale genetico è localizzato in una regione del citoplasma definita NUCLEOIDE

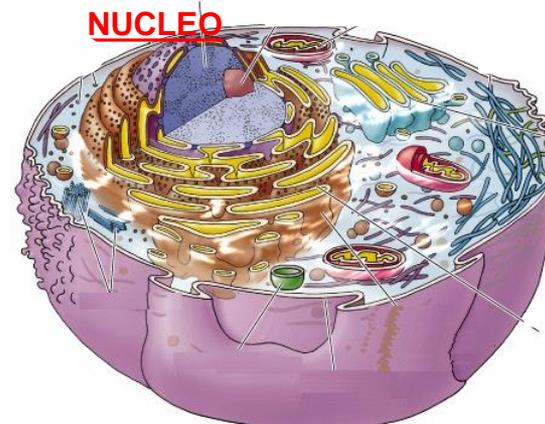


Cellula procariotica

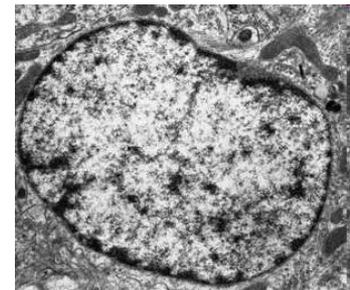
Cellule eucariotiche

(protisti, piante, funghi e animali)

- *Eu* = Bene o vero
- *Carion* = Nucleo o nocciolo
- “DNA all'interno di nucleo ben delimitato”
- hanno un NUCLEO in cui il materiale genetico resta separato dal citoplasma grazie alla presenza della membrana nucleare

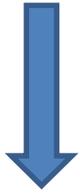


Cellula eucariotica



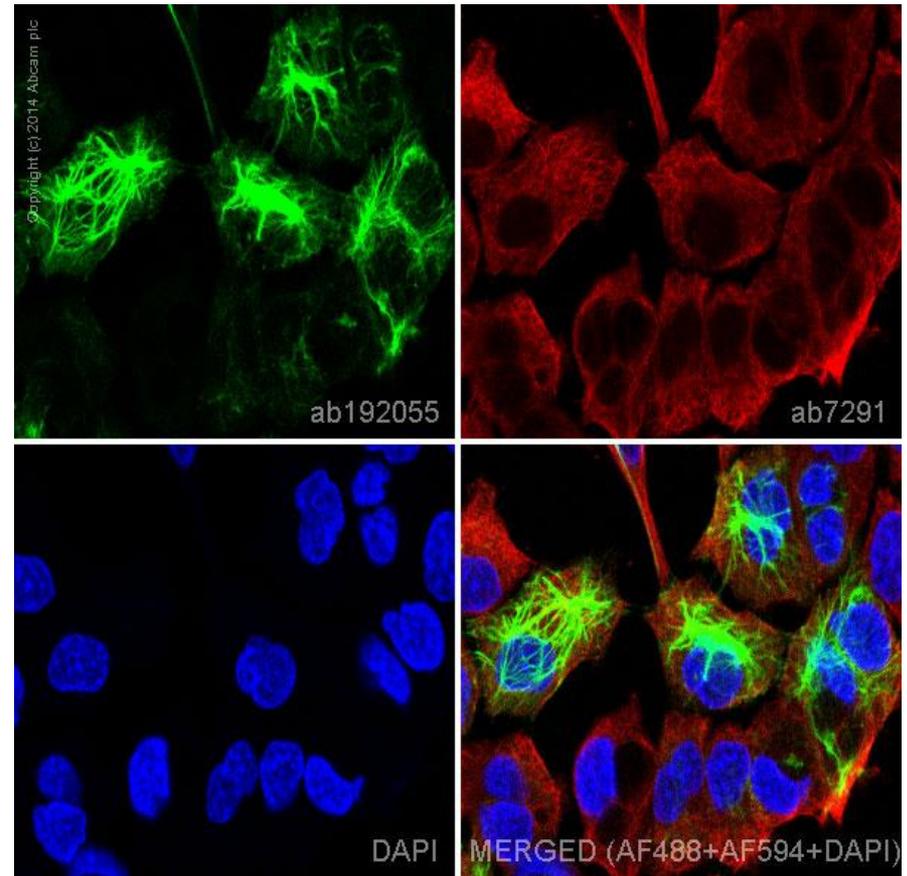
NUCLEO: approccio sperimentale

- Organulo più ampio e facilmente evidenziabile all'interno della cellula (DAPI)



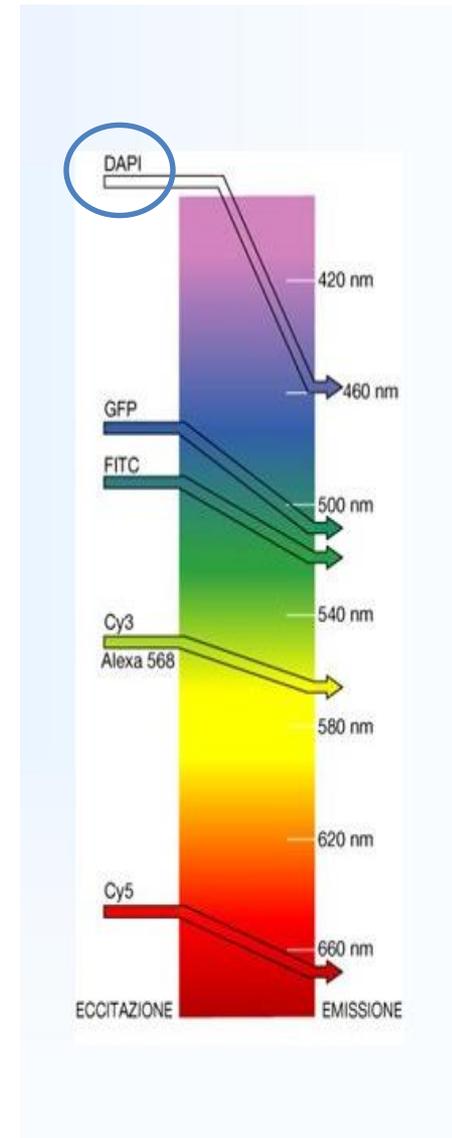
DAPI o **4',6-diamidin-2-fenilindolo**

è un colorante organico fluorescente che lega fortemente regioni del DNA ricche in sequenze A-T



Microscopio a fluorescenza

- è in grado di rivelare e localizzare molecole autofluorescenti o rese fluorescenti mediante l'impiego di fluorocromi (si usa un composto fluorescente per marcare la molecola d'interesse, sia in cellule fissate che in cellule vive).
- Una sostanza è definita *fluorescente* quando, assorbendo luce ad una determinata lunghezza d'onda la emette ad una lunghezza d'onda maggiore, nello spettro visibile.
- Il campione viene colpito da luce UV

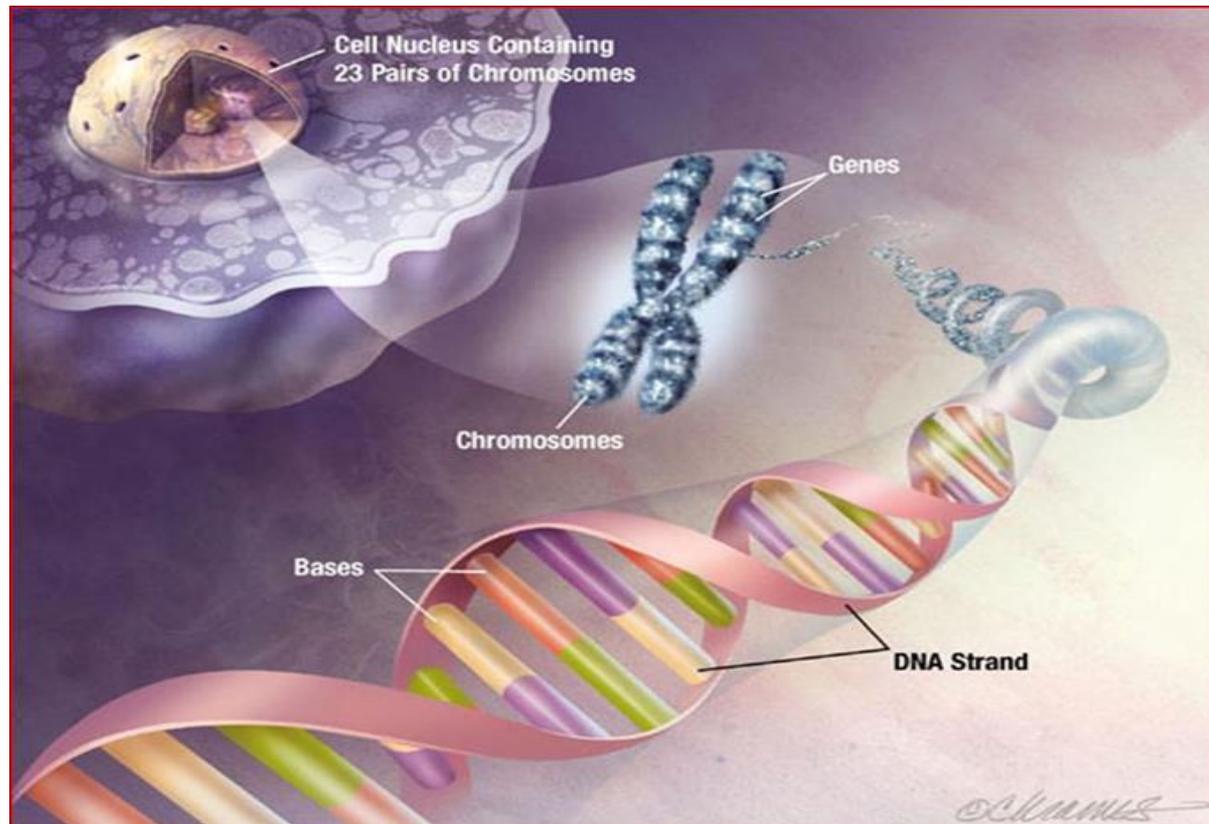


NUCLEO

➤ ALCUNE CARATTERISTICHE GENERALI

➤ STRUTTURA

➤ FUNZIONI



NUCLEO:

alcune caratteristiche

E' generalmente di forma rotondeggiante (dal latino *nucis*, nocciolo) e, nelle cellule animali, è frequentemente localizzato nella regione centrale del citoplasma, sebbene numerose e variegata possano essere:

1. La morfologia
2. La dimensione
3. La posizione nella cellula
4. Il numero di nuclei

NUCLEO

FORMA

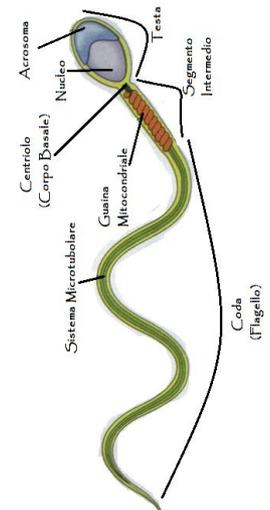
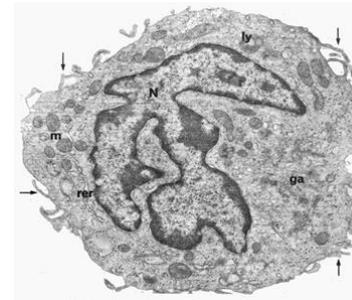
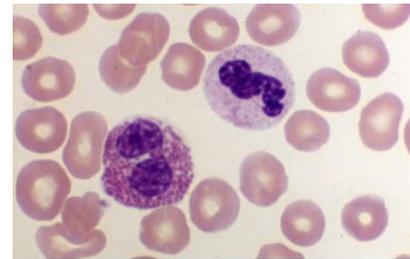
➤ Correlata con quella della cellula

- Sferico
- Ellittico
- Lobulato



➤ Talvolta completamente irregolare

- Leucociti polimorfonucleati
- Spermatozoi



NUCLEO

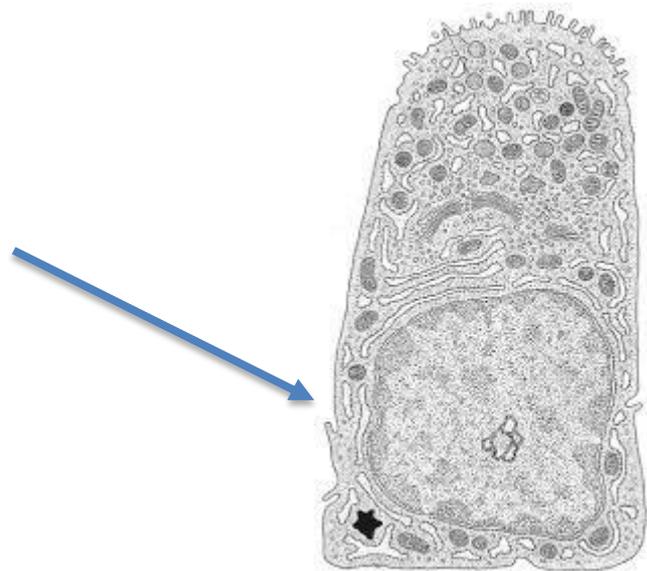
DIMENSIONI

- Variabili, ma spesso proporzionali a quelle della cellula

POSIZIONE

- Variabile ma caratteristica di ogni tipo cellulare

- per esempio:
 - Cellule embrionali: nucleo centrale
 - Cellule secernenti: nucleo eccentrico

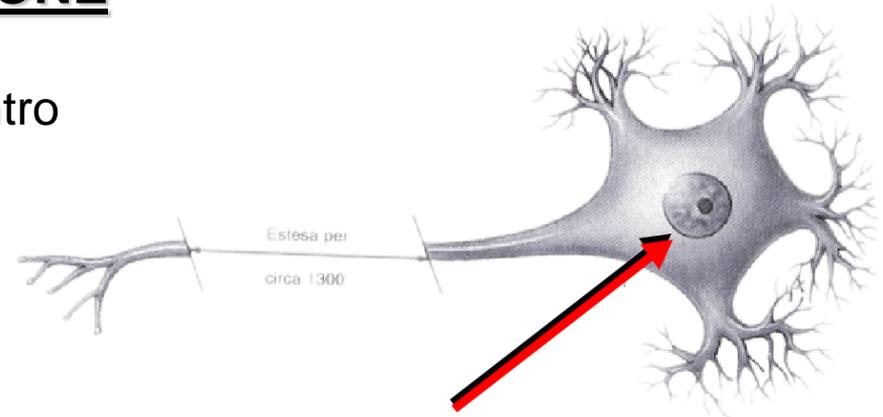


NUCLEO

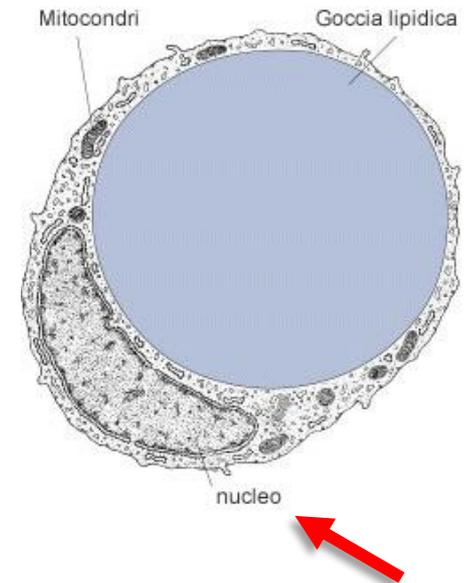
POSIZIONE

In questo **neurone** il nucleo si trova al centro rispetto al corpo cellulare

Il citoscheletro forma un'impalcatura che mantiene stabile la posizione del nucleo



La goccia lipidica spinge il nucleo dell'**adipocita** verso la periferia



NUCLEO

Normalmente le cellule eucariote sono mononucleate.

➤ **CELLULE POLINUCLEATE:**

- **Sincizi** → fusione di cellule
- **Plasmodi** → cellule in cui le divisioni nucleari non sono state seguite dalla divisione cellulare.

➤ **CELLULE PRIVE DI NUCLEO:**

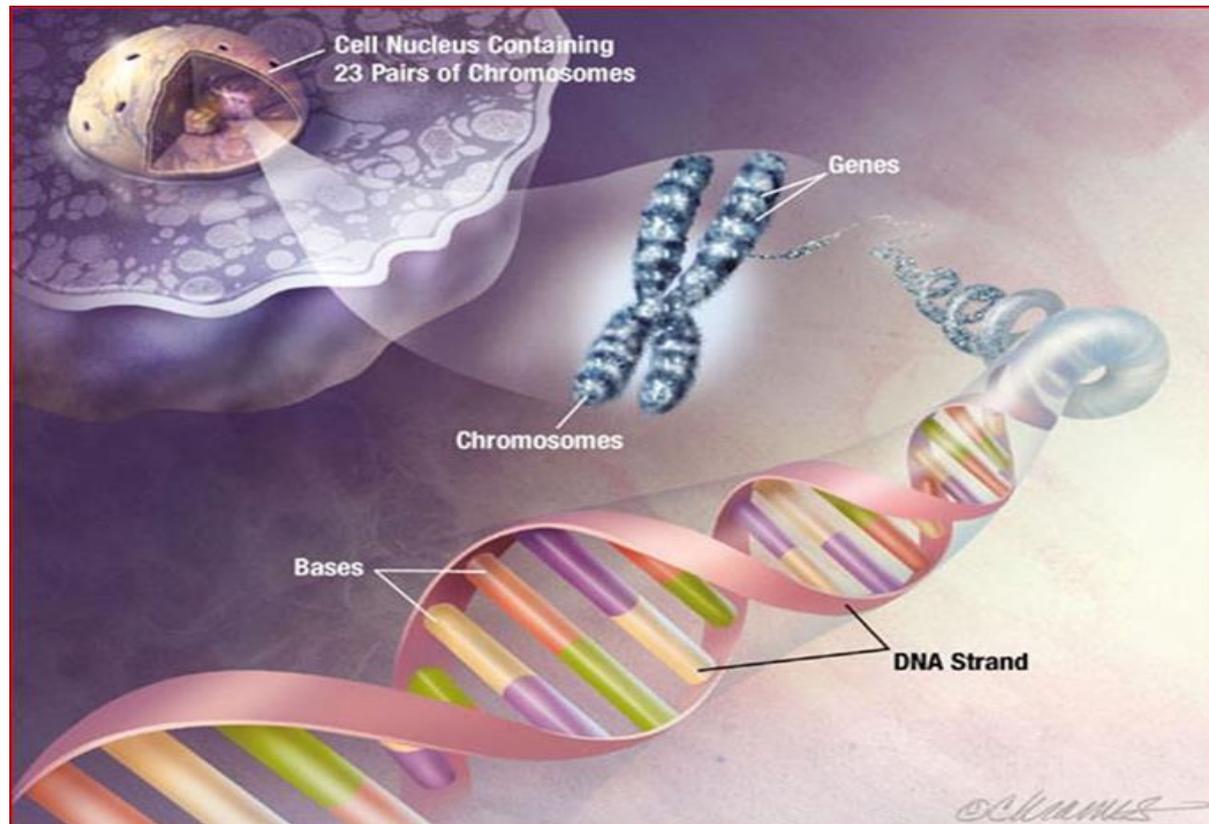
- **Globuli rossi** dei mammiferi perdono il nucleo in seguito al loro differenziamento, infatti il loro unico scopo è quello di trasportare i gas coinvolti nella respirazione
- **Piastrine**
- **Squame cornee della pelle**

NUCLEO

➤ ALCUNE CARATTERISTICHE GENERALI

➤ STRUTTURA

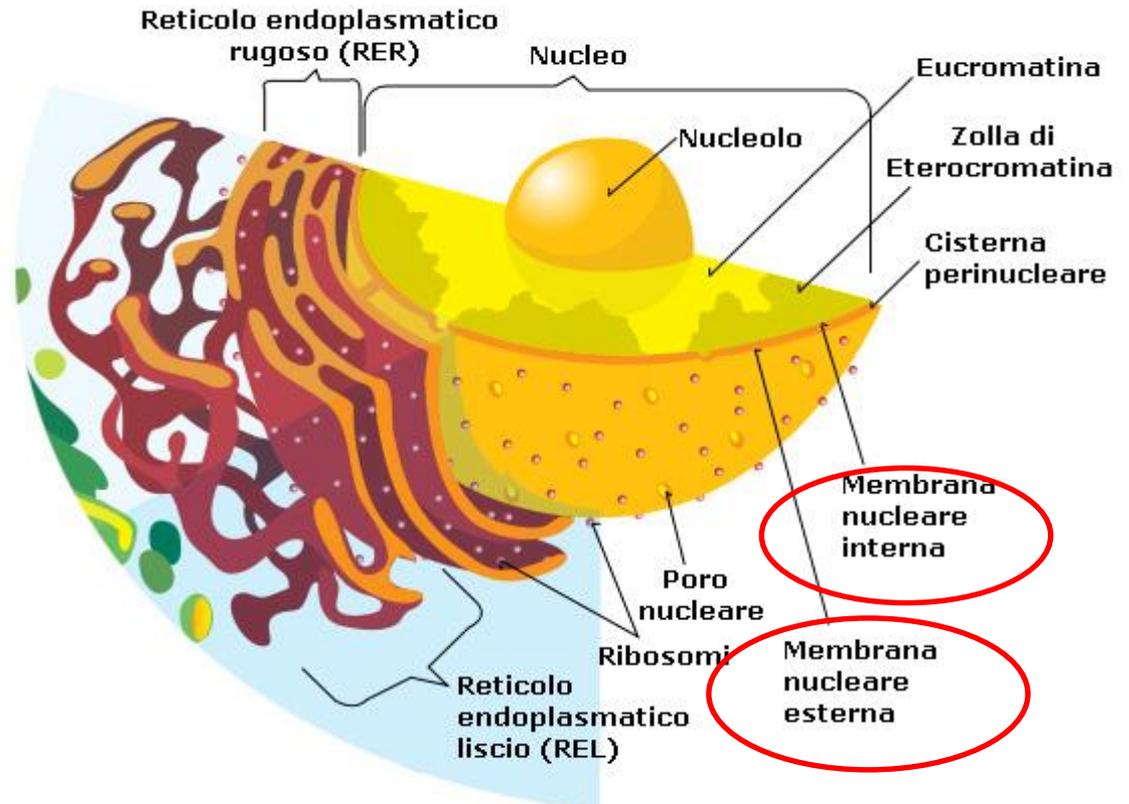
➤ FUNZIONI



NUCLEO: struttura

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
3. Cromatina
4. Nucleolo



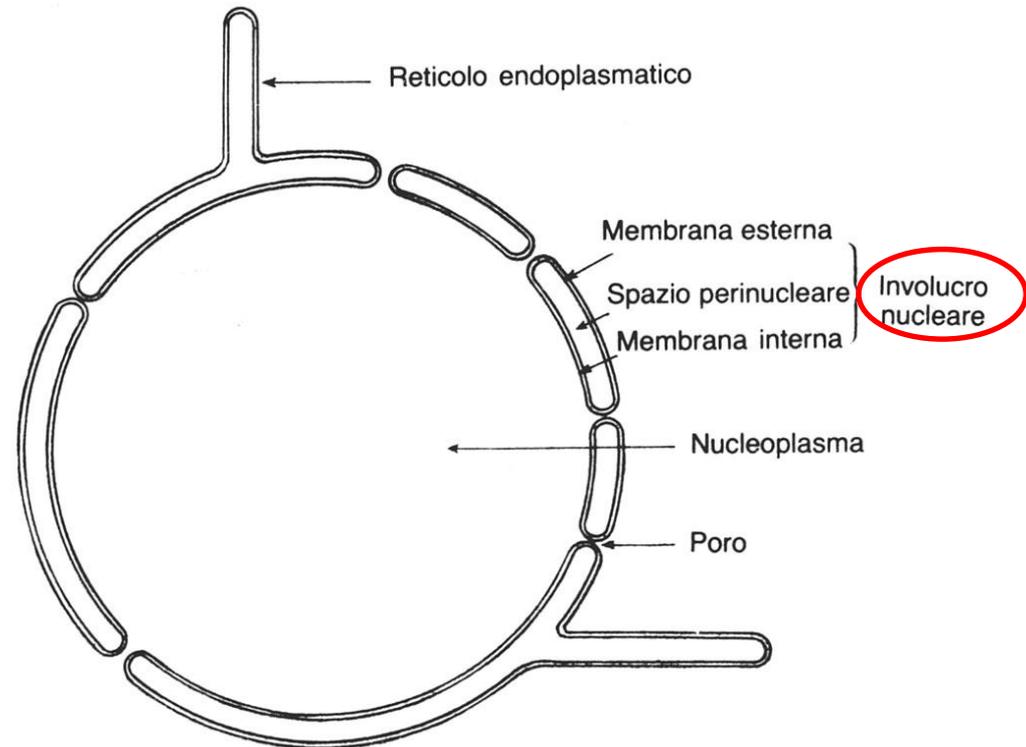
INVOLUCRO NUCLEARE

Al microscopio elettronico a trasmissione, il nucleo appare delimitato da una doppia membrana, l'involucro nucleare, o carioteca, che racchiude il **NUCLEOPLASMA**

Ciascuna delle due membrane è costituita da un doppio strato fosfolipidico

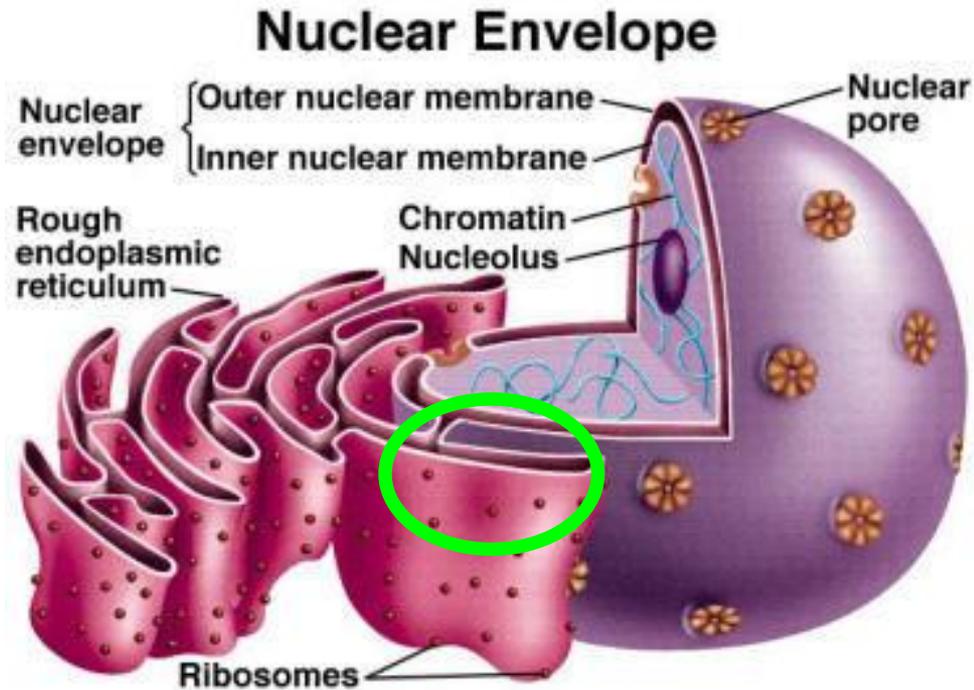
Membrana esterna e interna separate dallo
SPAZIO PERINUCLEARE
(30 nm)

La membrana esterna è continua con il sistema di membrane interno al citoplasma



INVOLUCRO NUCLEARE

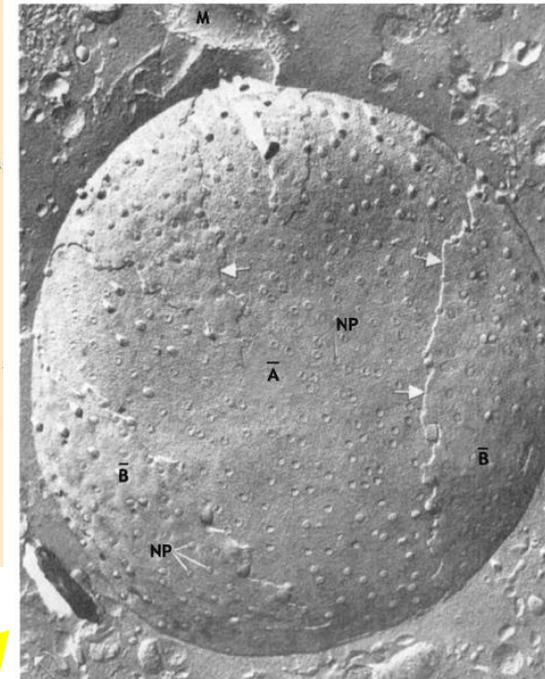
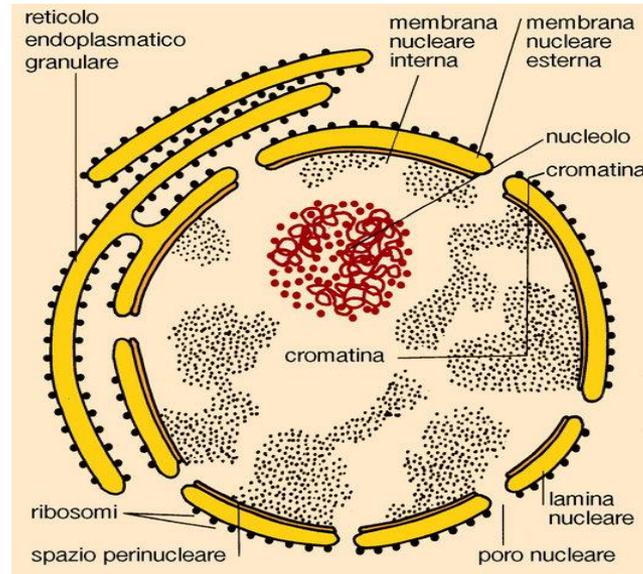
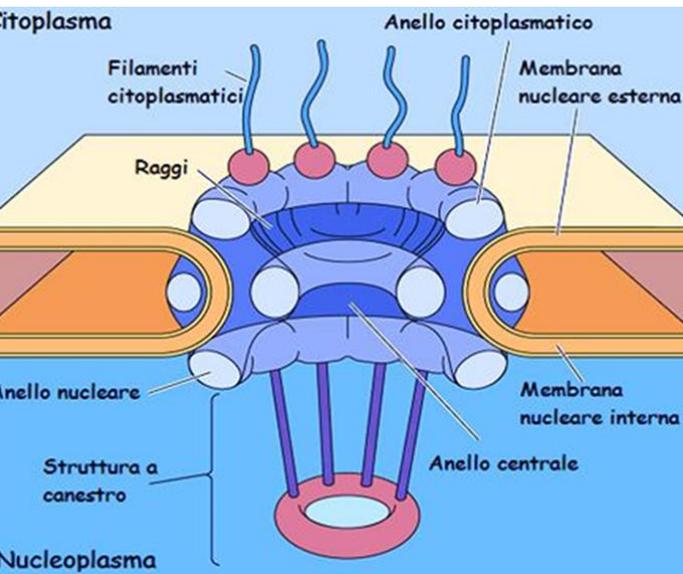
La *membrana esterna* è continua con il sistema di membrane interno al citoplasma, il **RETICOLO ENDOPLASMATICO**



Involutro nucleare non è continuo → **PORI NUCLEARI**

PORO NUCLEARE

I pori nucleari sono interruzioni dell'involucro nucleare che non è un limite continuo perchè **le 2 membrane si fondono** in alcuni punti determinando dei passaggi che assumono la forma di **canali**.

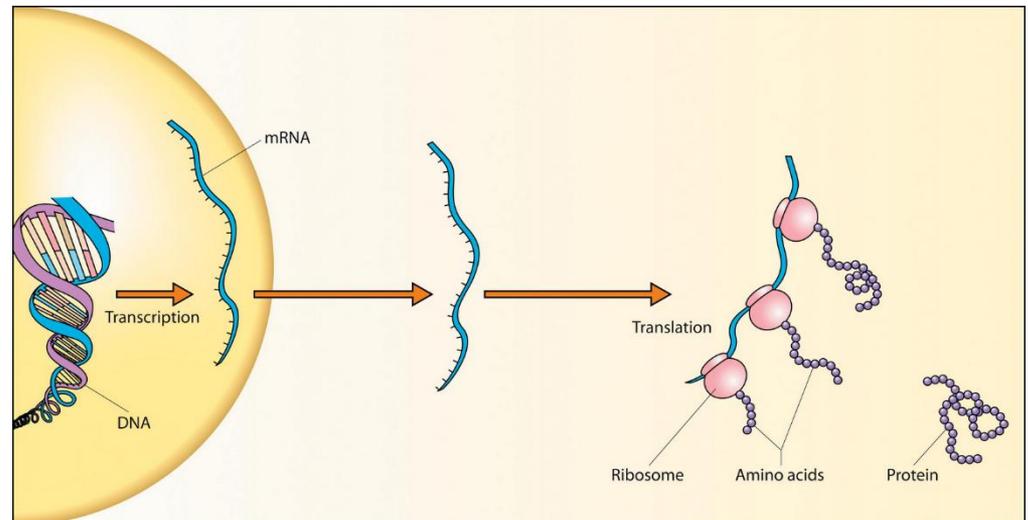
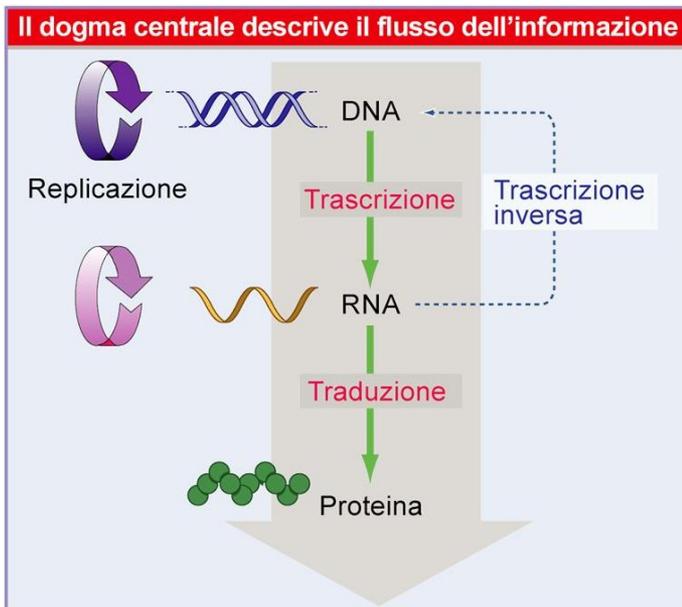


- L'involucro nucleare è la barriera fra il nucleo e il citoplasma.
- I pori nucleari sono le vie di passaggio.

La superficie dell'involucro nucleare risulta costellata di tali interruzioni

PORO NUCLEARE

- Replicazione e trascrizione del DNA avvengono nel nucleo e richiedono l'intervento di proteine sintetizzate nel citoplasma → trasportate **nel nucleo** attraverso i pori.
- tRNA, mRNA e subunità dei ribosomi vengono prodotti nel nucleo → trasportati **nel citoplasma** attraverso i pori.



PORO NUCLEARE

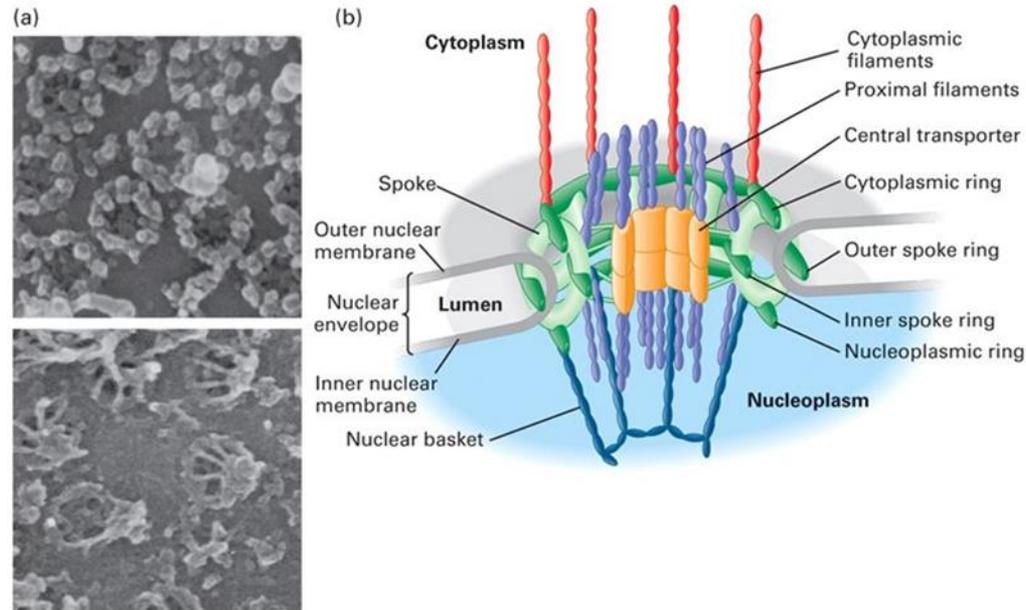
Si assiste ad un continuo passaggio di molecole dal nucleo al citoplasma e viceversa.

Questi passaggi devono sempre essere controllati, non possono avvenire spontaneamente o per semplice diffusione

Infatti

Il poro nucleare non è un semplice canale, ma contiene una struttura altamente organizzata e complessa, di natura proteica

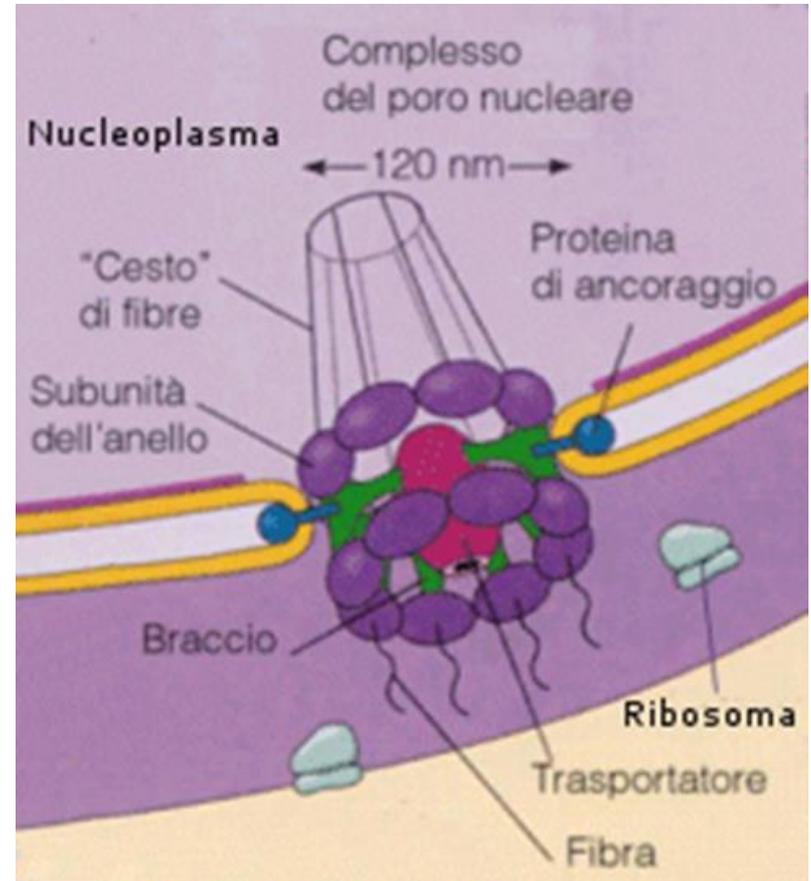
COMPLESSO DEL PORO NUCLEARE (CPN)



PORO NUCLEARE

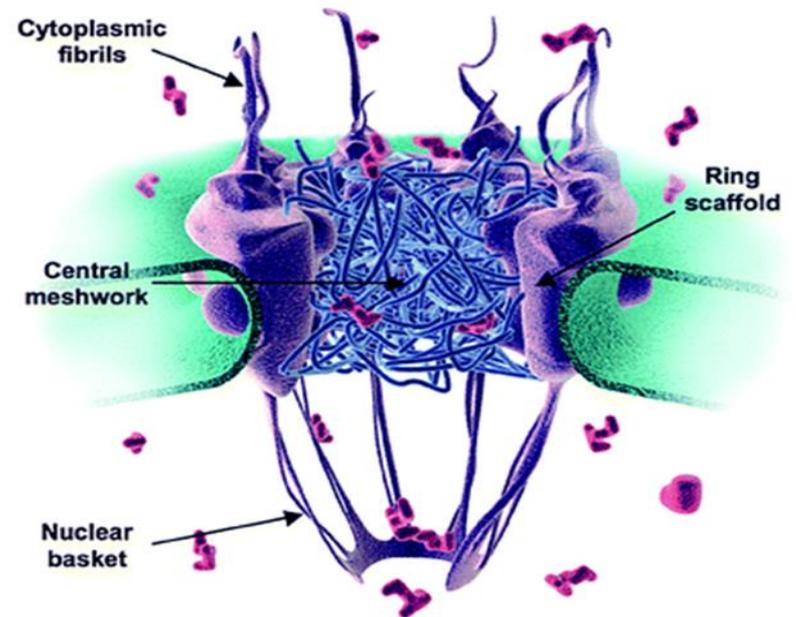
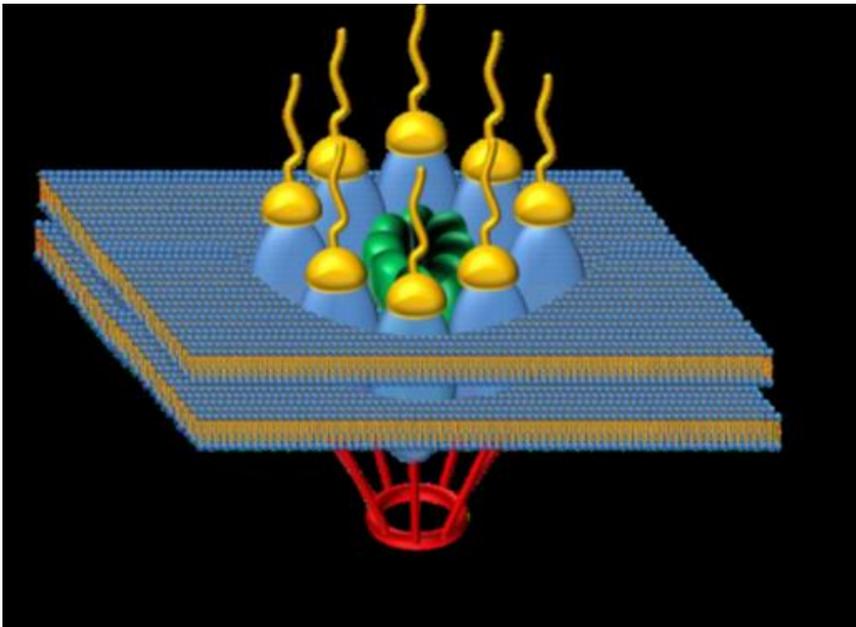
Organizzazione ottagonale:

- **8 proteine** poste in maniera simmetrica attorno al poro e che protrudono sia sul versante citoplasmatico che nucleoplasmatico e formano **2 anelli concentrici** appoggiati alle 2 membrane
- altre proteine formano **8 raggi** che dipartendosi dagli anelli si dirigono verso il centro del poro raggiungendo un'unità denominata **trasportatore**
- Ci sono poi proteine che si estendono dal bordo verso lo spazio perinucleare e si ritiene che possano fungere da ancoraggio per tutto il complesso.
- Inoltre **8 fibre** si estendono dagli anelli sia verso il citosol sia verso il nucleoplasma. Quelle protrudenti all'interno del nucleo formano una sorta di **cesto (basket nucleare)** in quanto unite alle loro estremità da un anello fibroso.



PORO NUCLEARE

- Il complesso del poro nucleare contiene molteplici copie di circa 30 proteine diverse: **nucleoporine** (la classe più abbondante di proteine del poro)



TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE

- **ioni, i piccoli metaboliti e le proteine globulari fino a circa 40 kDa** possono diffondere passivamente attraverso la regione centrale acquosa del canale del poro.
- **le proteine di grandi dimensioni e i complessi ribonucleoproteici** non possono diffondere verso o fuori dal nucleo.
Queste molecole vengono trasportate attivamente attraverso il NPC con la collaborazione di proteine di trasporto solubili che si legano alle macromolecole e inoltre interagiscono con le nucleoporine.

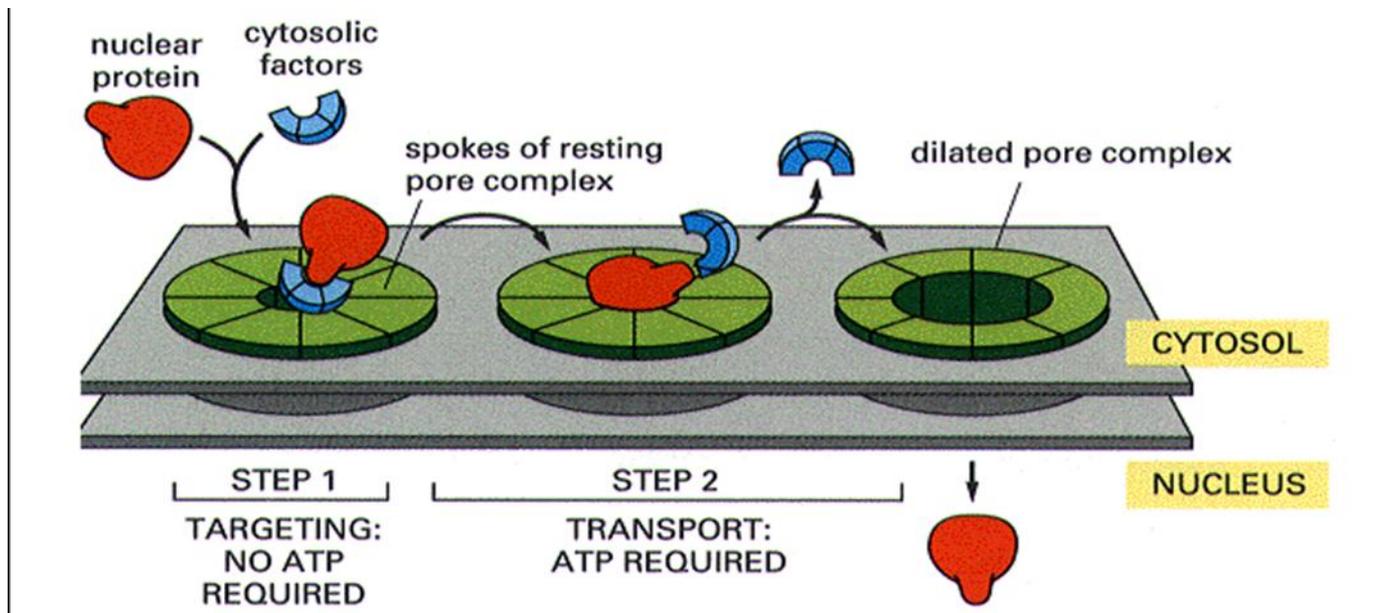
Le molecole più grandi, sia per entrare che per uscire dal nucleo, hanno bisogno di particolari recettori proteici:

RECETTORI DI IMPORTAZIONE NUCLEARE (IMPORTINE)
RECETTORI DI ESPORTAZIONE NUCLEARE (ESPORTINE)

che indicano al poro di allargarsi per permetterne il passaggio.

Ad esempio, le proteine nucleari importate contengono sequenze aminoacidiche specifiche di indirizzamento: SEQUENZE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE (NLS)

- Proteine solubili (**IMPORTINE**) riconoscono le **NLS**
- Il complesso IMPORTINA-PROTEINA NUCLEARE si lega alle proteine del poro
- Il poro si dilata e la proteina lo attraversa
- l'importina si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel citosol



In maniera analoga:

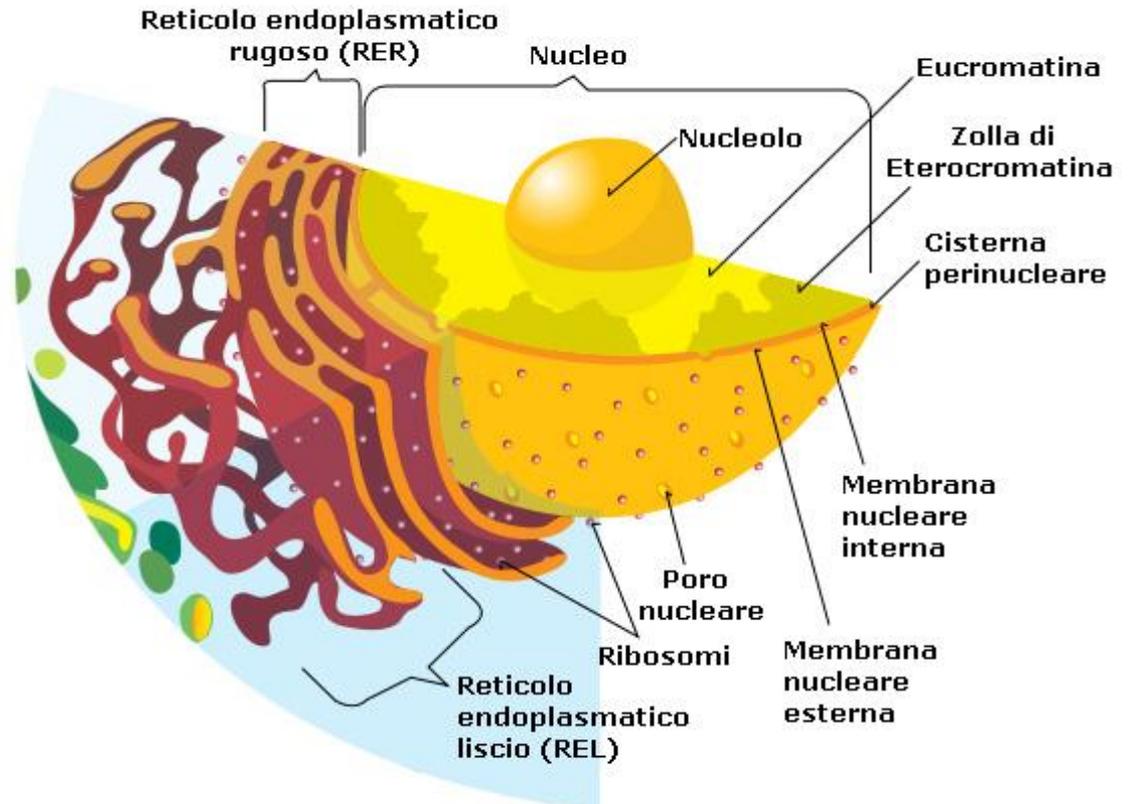
- Proteine solubili (**ESPORTINE**) riconoscono le **NES** (Nuclear Export Signals)
- Il complesso ESPORTINA-PROTEINA NUCLEARE si lega al poro
- Il complesso attraversa il poro
- l'esportina si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel nucleo

NUCLEO

STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

1. Membrana nucleare o involucro nucleare
- 2. Nucleoscheletro**
3. Cromatina
4. Nucleolo



NUCLEOSCHELETRO: matrice nucleare e lamina nucleare

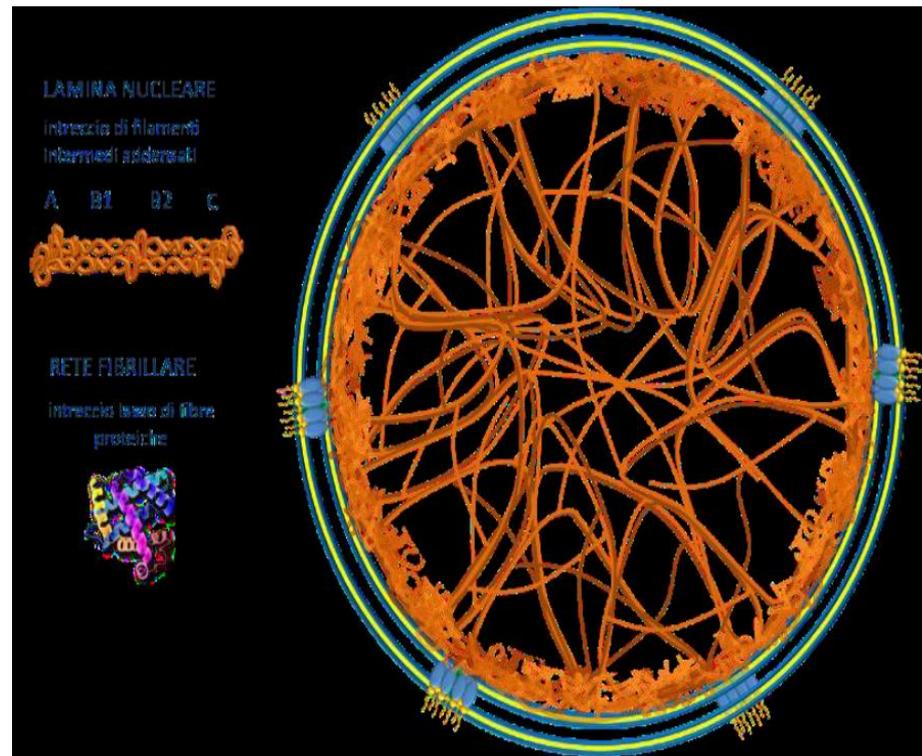
l`amina nucleare:

sottile e densa rete di proteine, altamente insolubili, adesa al versante nucleoplasmatico della membrana interna dell' involucro nucleare.

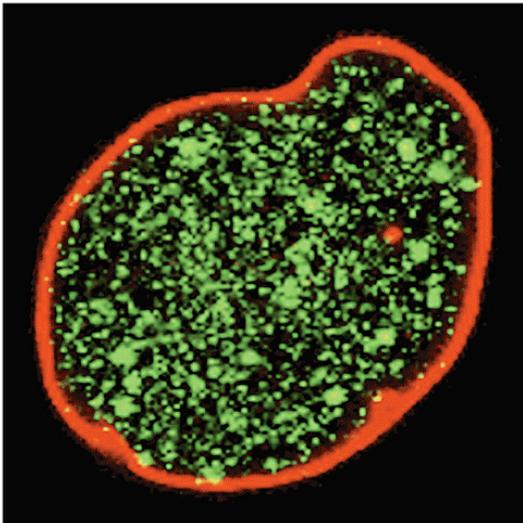
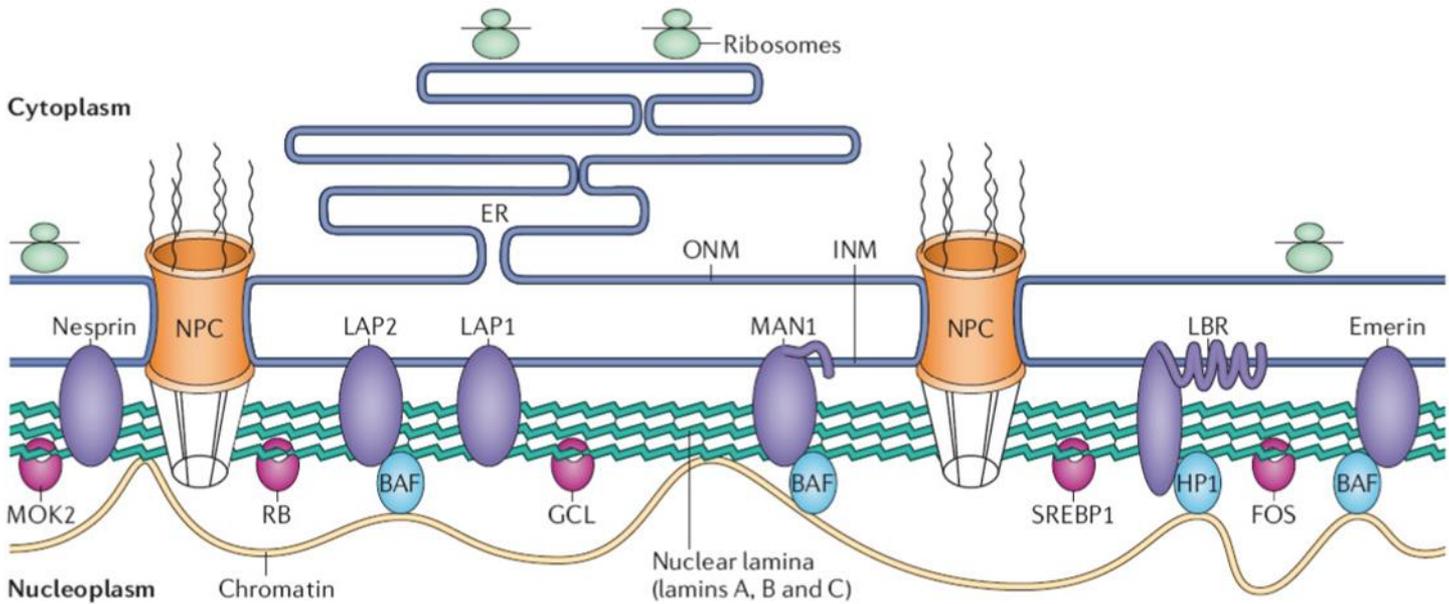
- Spessa 30-80 nm
- Composta da quattro tipi di polipeptidi definiti lamìne nucleari (A, B1, B2, C)
- Le lamìne A e C sono omologhe ai **filamenti intermedi** del citoscheletro
- La lamina B differisce dalle altre due ed è strettamente associata alla membrana interna dell'involucro nucleare

matrice nucleare:

estesa matrice fibrogranulare insolubile sembra costituire un nucleoscheletro che partecipa a mantenere la forma del nucleo.



Lamina nucleare



Nucleo di una cellula umana in coltura trattata con un anticorpo marcato con coloranti fluorescenti che rivelano la presenza della lamina nucleare (rosso) adiacente alla membrana nucleare interna.

Lamina nucleare

Principali funzioni:

- Supporto strutturale per l'involucro nucleare
- Sito di attacco per fibre di cromatina alla periferia del nucleo
- Ha un ruolo ancora poco chiaro nella replicazione e nella trascrizione del DNA e nella regolazione dell'espressione genica.

Matrice nucleare

Principali funzioni:

- Impalcatura cui si associano strettamente le fibre di cromatina per la propria organizzazione strutturale
- Sistema di ancoraggio per alcuni complessi molecolari coinvolti nella duplicazione e nella trascrizione.

LAMINA NUCLEARE

Mutazioni in uno dei geni della lamina sono responsabili di **molte malattie**, es:

- Rara forma di distrofia muscolare
- Sindrome della progeria (invecchiamento precoce) di Hutchinson-Gilford

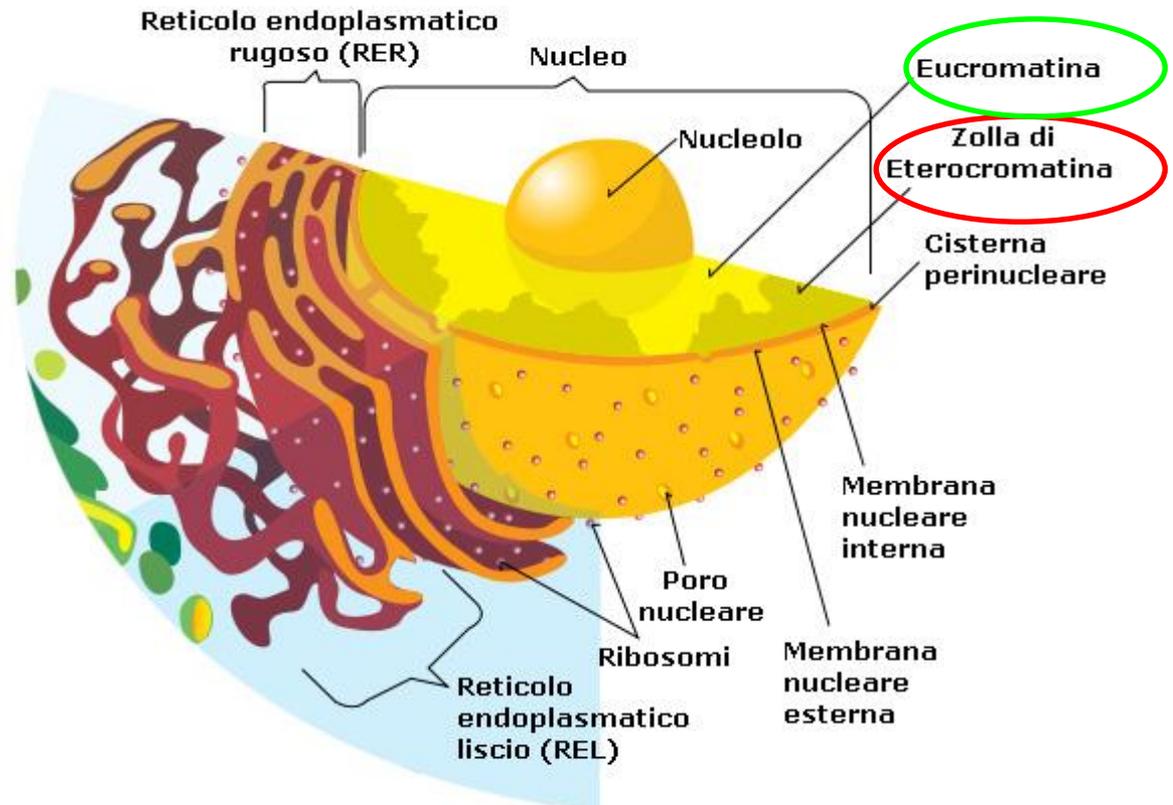


NUCLEO

STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

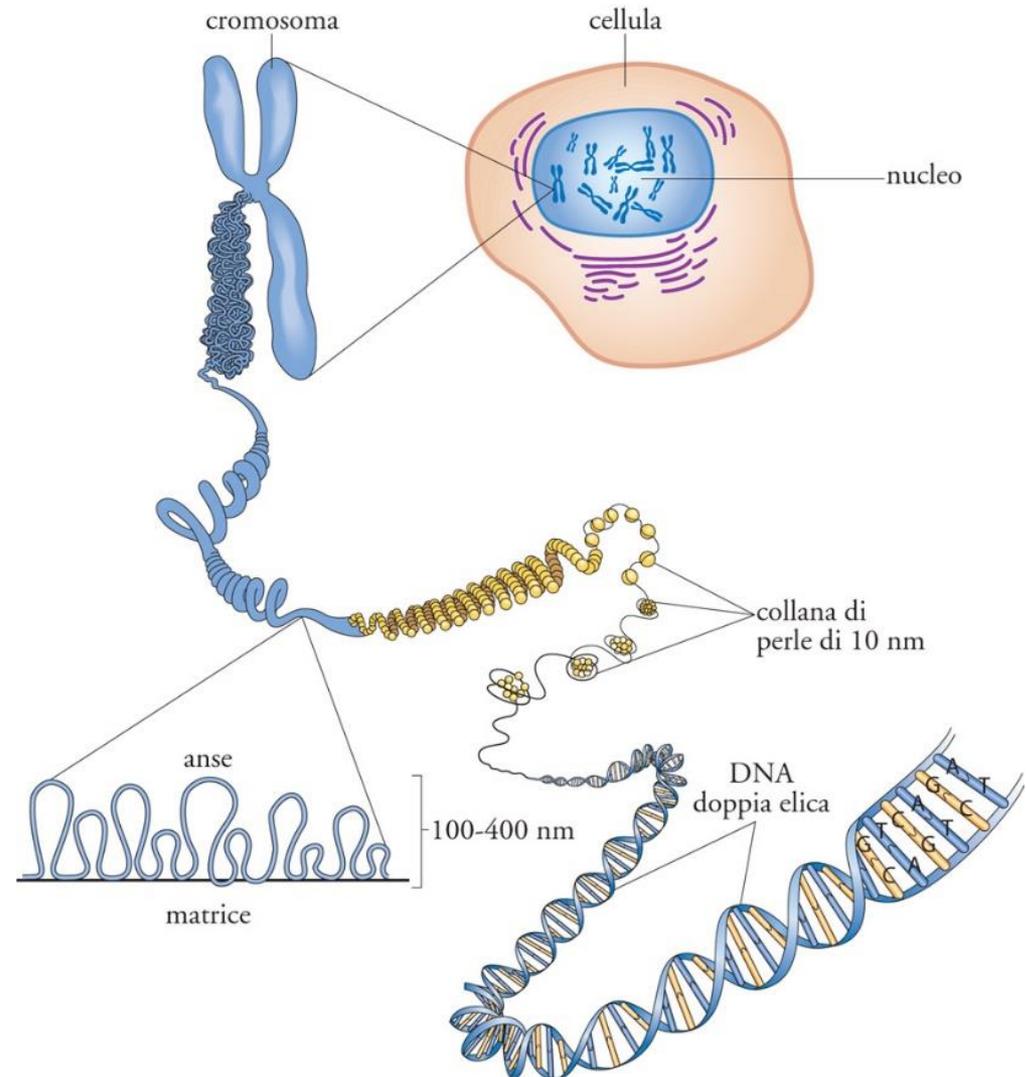
1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
- 3. Cromatina**
4. Nucleolo



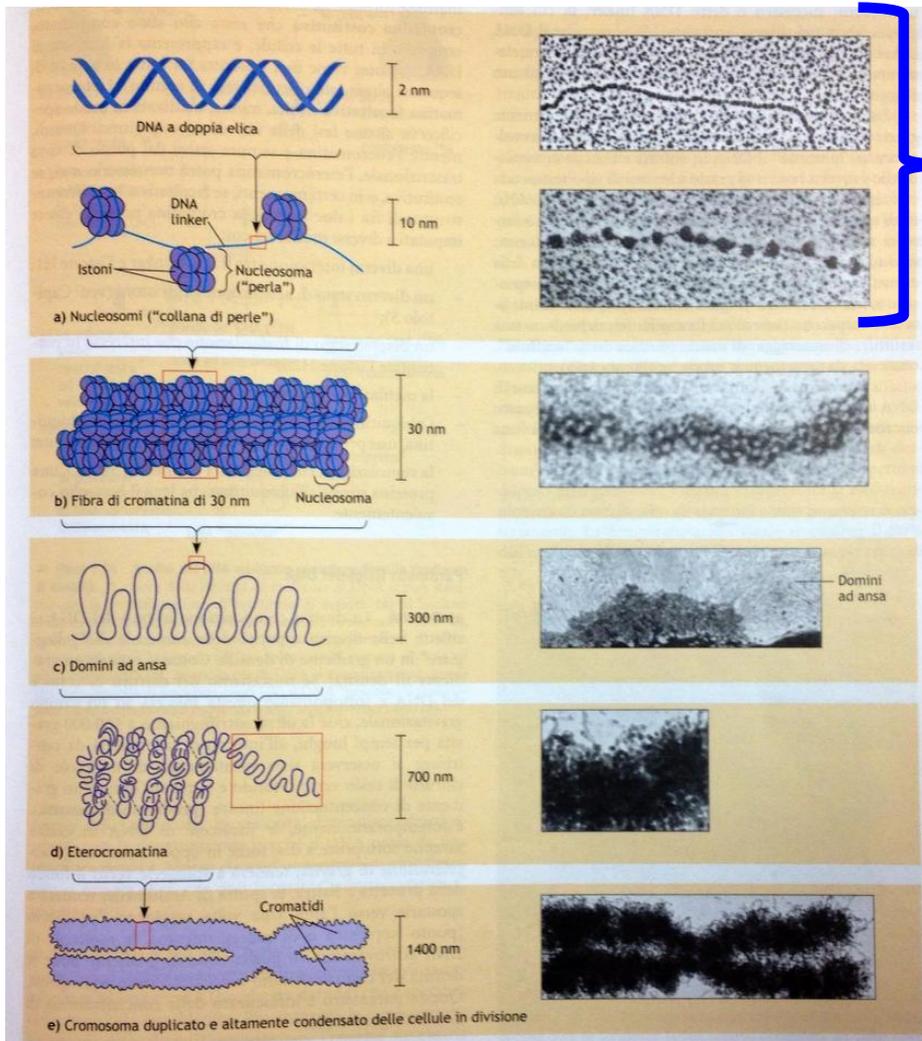
CROMATINA

Cromatina: DNA(eucariotico) + proteine

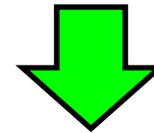
- Si tratta di una sostanza basofila che occupa gran parte del nucleo.
- È costituita da DNA e proteine che ne permettono la spiralizzazione.
- la struttura della cromatina è dinamica, cioè cambia stato di condensazione
- Si ricompatta formando i cromosomi



CROMATINA E CROMOSOMI



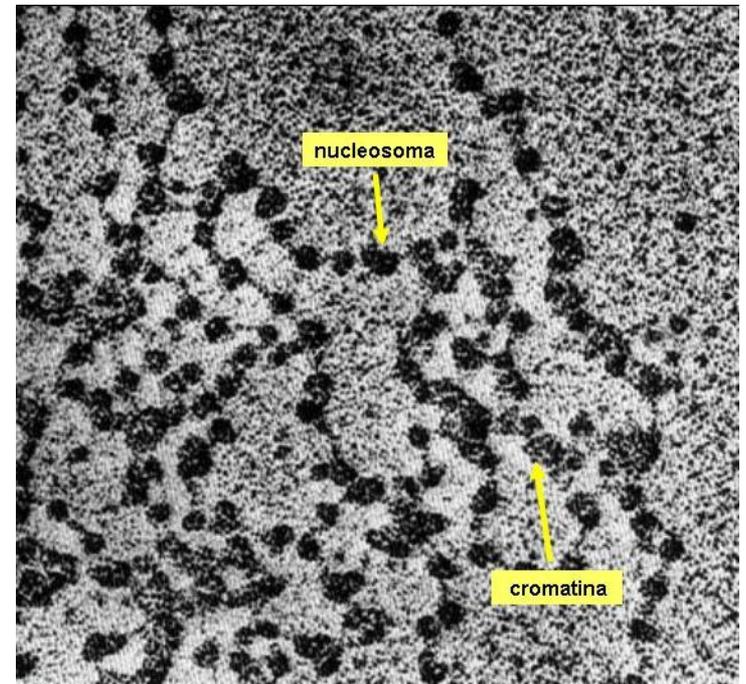
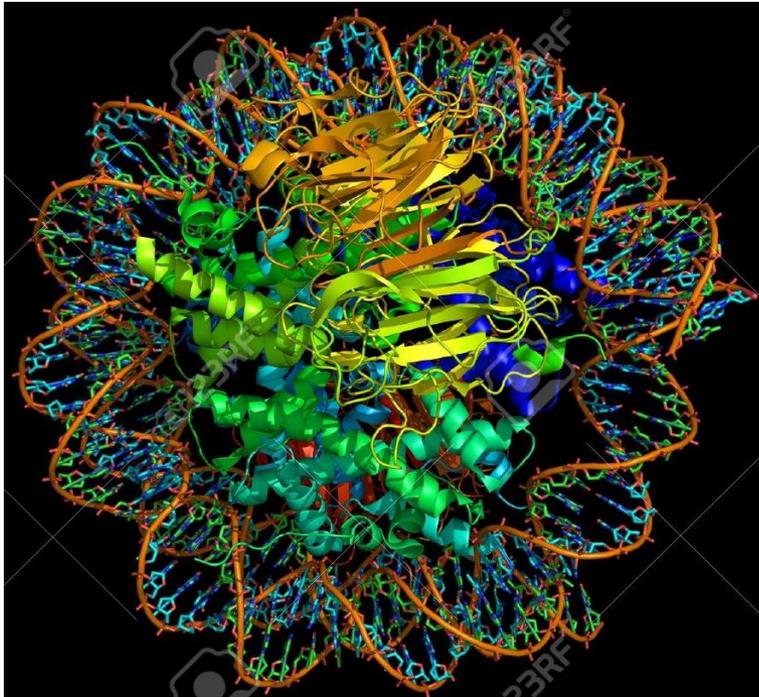
Il DNA all'interno del nucleo è
superavvolto

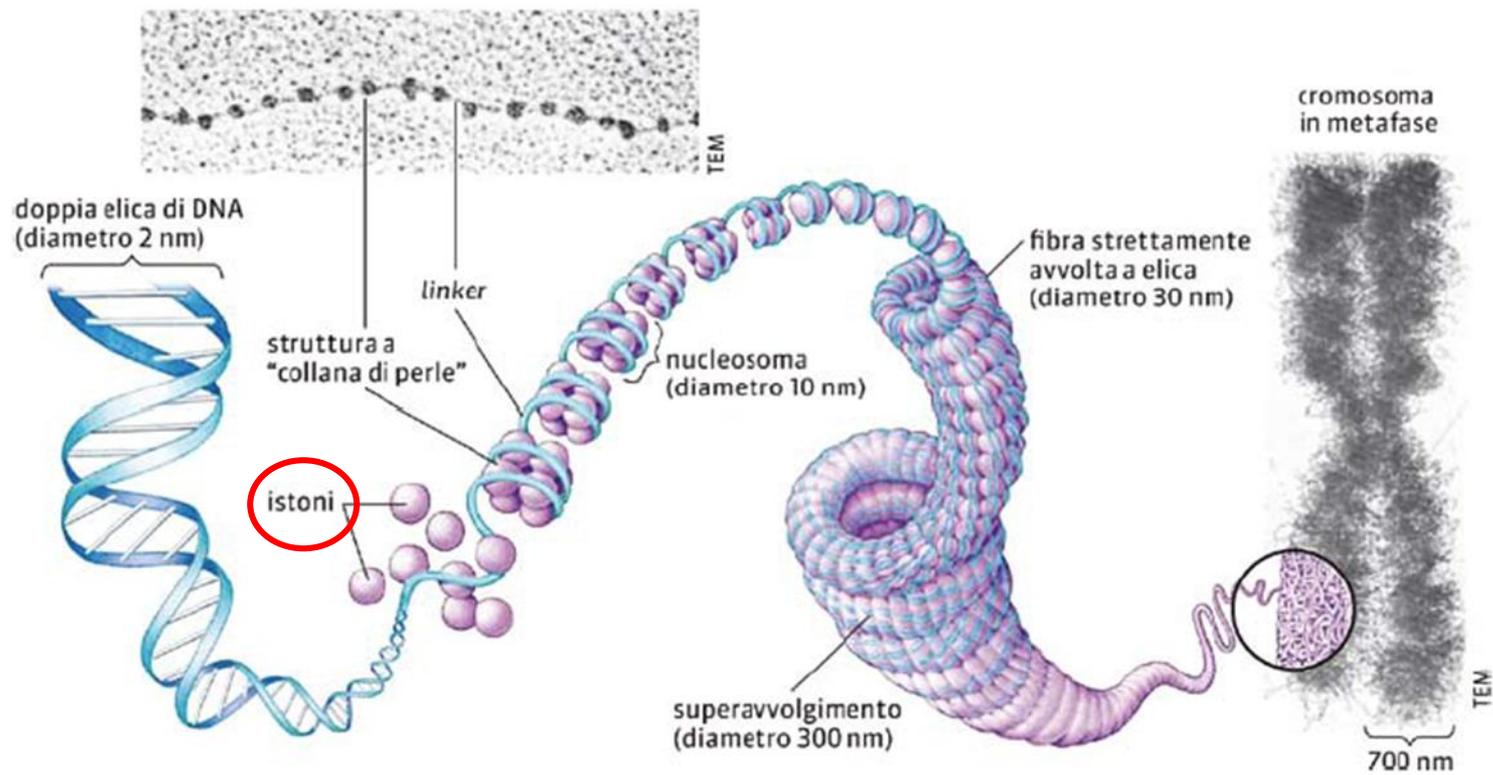


Primo livello di organizzazione della
cromatina → **NUCLEOSOMI**

CROMATINA E CROMOSOMI

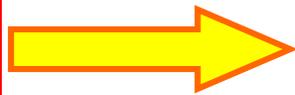
La doppia elica di DNA è avvolta attorno a proteine (**ISTONI**) a formare i **NUCLEOSOMI**, che interagiscono tra loro avvolgendosi a spirale.





ISTONI: sono le proteine principali della cromatina

H1
H2A
H2B
H3
H4



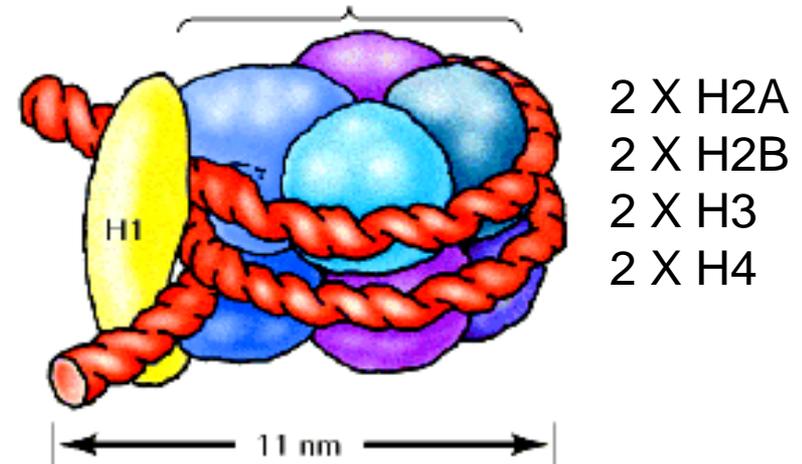
Alta % di aminoacidi basici,
Lys e Arg: facilitano il legame alla molecola di DNA carica negativamente

Nucleosoma

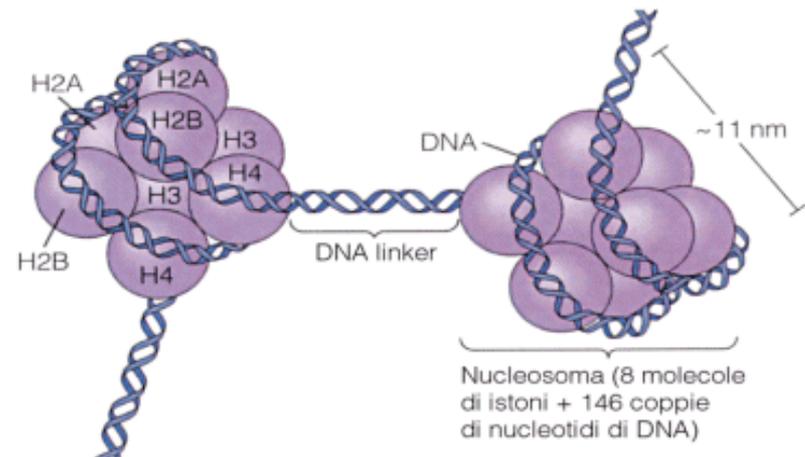
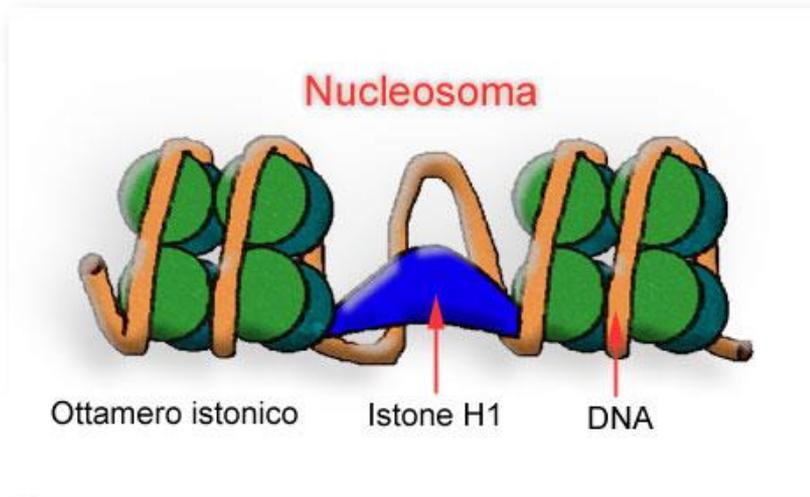
Ciascun nucleosoma contiene una particella centrale (**CORE**) formata da 146 coppie di basi di DNA superavvolto che gira per quasi due volte intorno ad un complesso a forma di disco formato da otto **ISTONI**.

Tale complesso consiste di due molecole degli istoni **H2A, H2B, H3 e H4** assemblati in un ottamero.

L'istone **H1** è posizionato fuori dal core (**ISTONE DI CONNESSIONE**)
→ lega il DNA di connessione (*DNA-linker*) che unisce due cori.

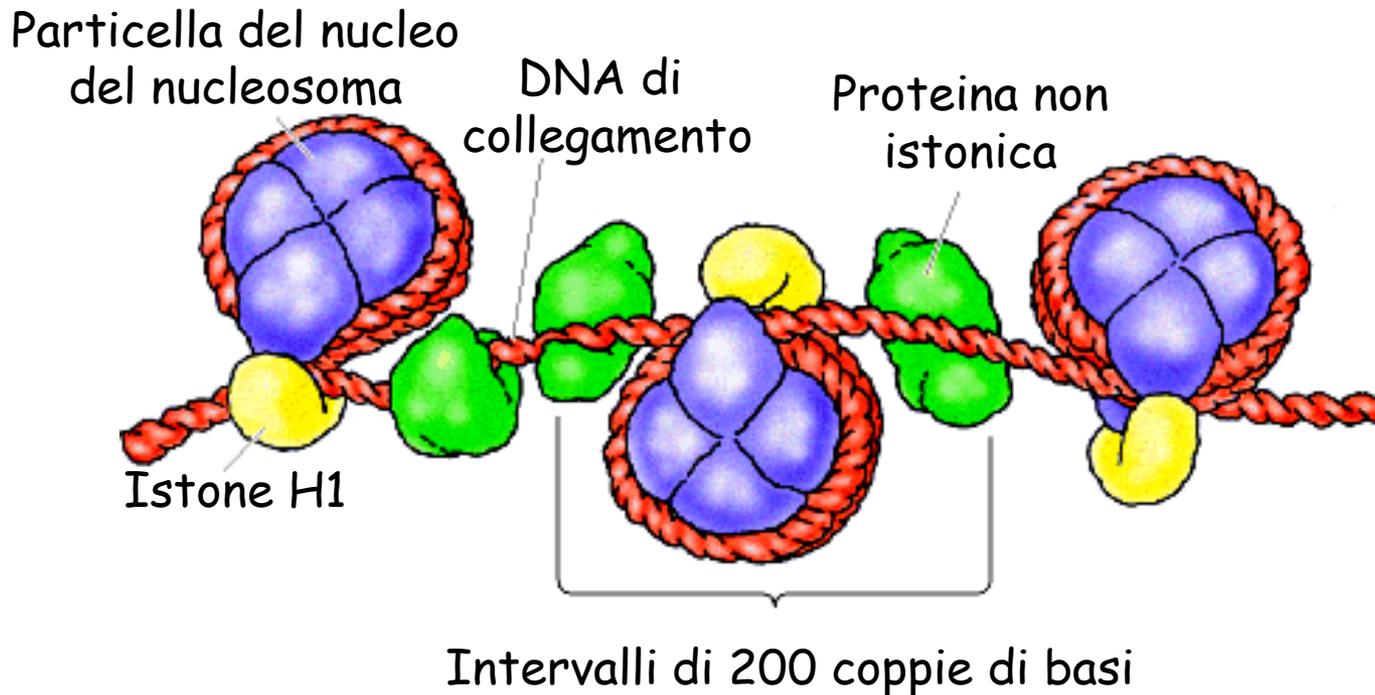


Una molecola di istone H1 tiene bloccati in posizione due giri di DNA sul nucleosoma

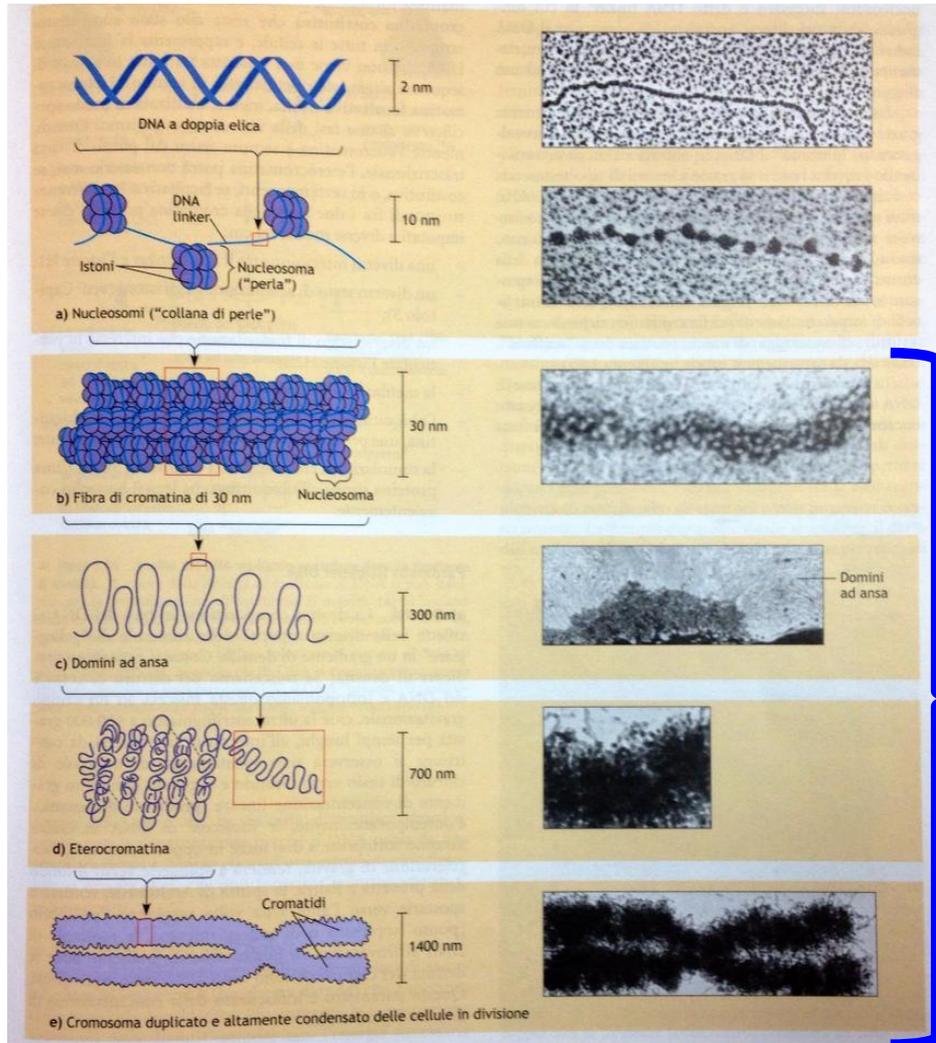


Cromatina e proteine non istoniche

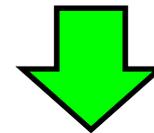
Il DNA è avvolto intorno agli istoni a formare i nucleosomi e sigillato dall'istone H1. **Proteine non istoniche** si legano al DNA di collegamento fra i vari nucleosomi. Infatti la cromatina contiene una massa approssimativamente uguale di una varietà di proteine cromosomiche non istoniche. Esistono più di mille tipi diversi di queste proteine, che sono coinvolte in un gamma di attività, comprese **replicazione** del DNA ed **espressione** genica.



CROMATINA E CROMOSOMI



Livelli superiori di organizzazione della cromatina



Fibra di cromatina di 30 nm

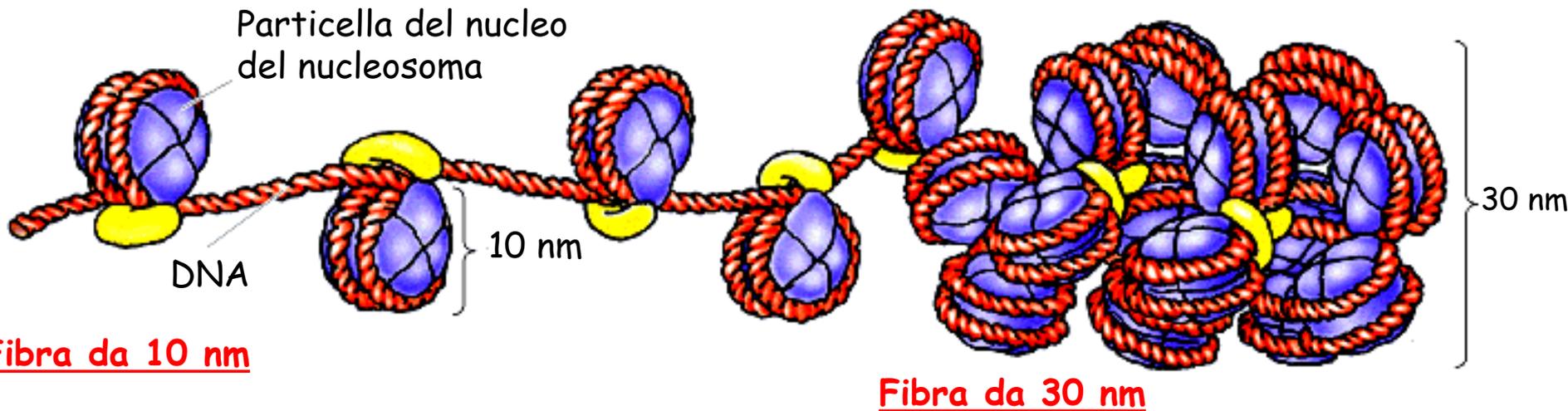
Domini ad ansa

Eterocromatina

Cromosoma

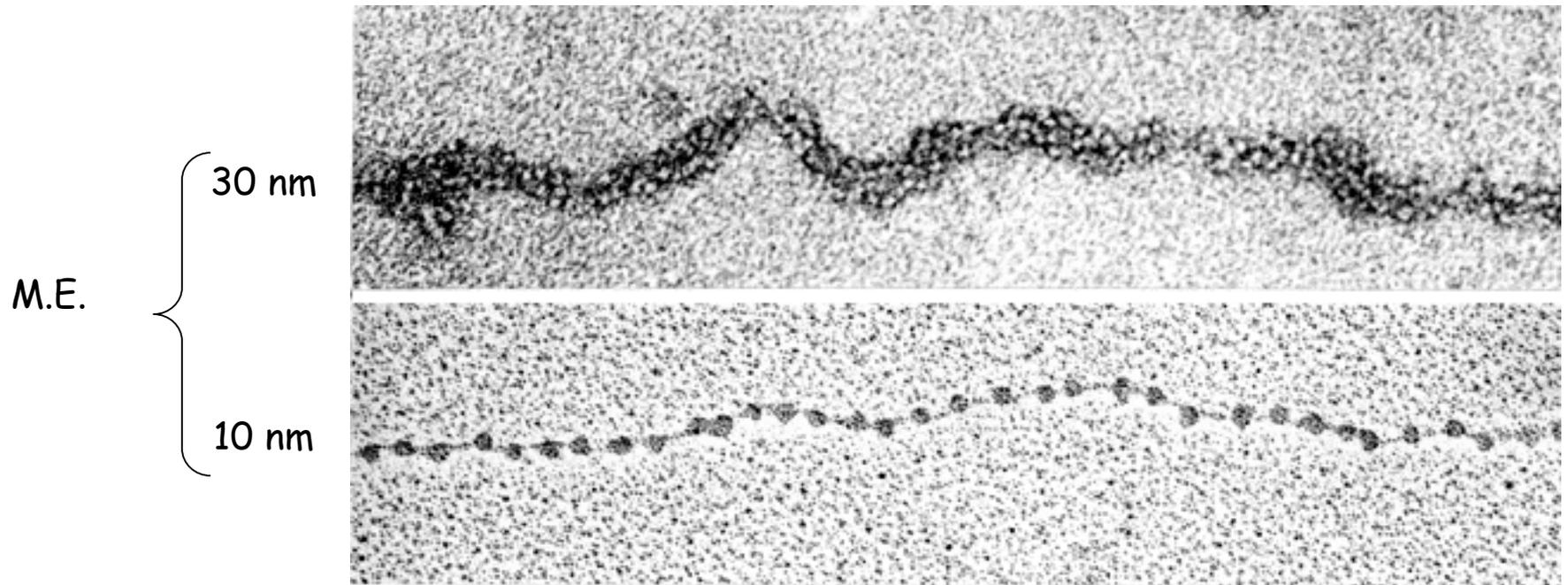
Cromatina

La cromatina può poi essere ulteriormente condensata da un avvolgimento in fibre di 30 nm la cui struttura rimane ancora da determinare.



Cromatina

Fotografie al microscopio elettronico delle fibre di cromatina da 30 nm e da 10 nm.

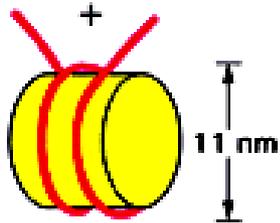


Cromatina

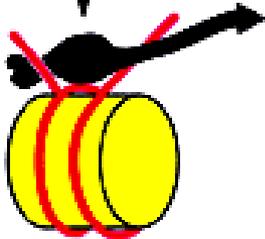
Istone H1



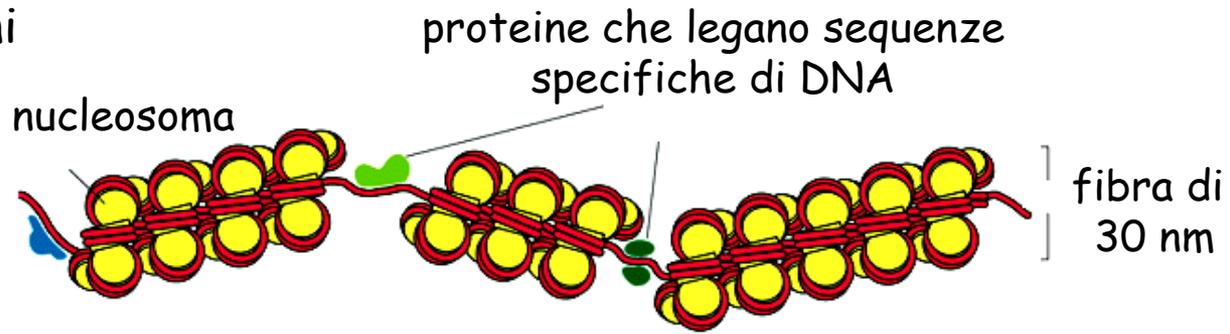
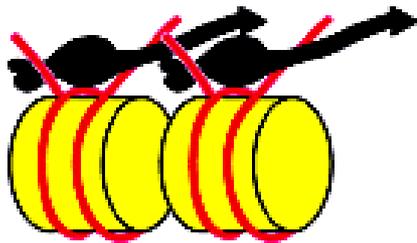
Le interazioni fra le molecole dell'istone H1 sembrano importanti per il compattamento della cromatina a fibra di 30 nm.



H1 si lega a regioni specifiche del nucleosoma



I nucleosomi sono compattati



Cromatina e cromosomi

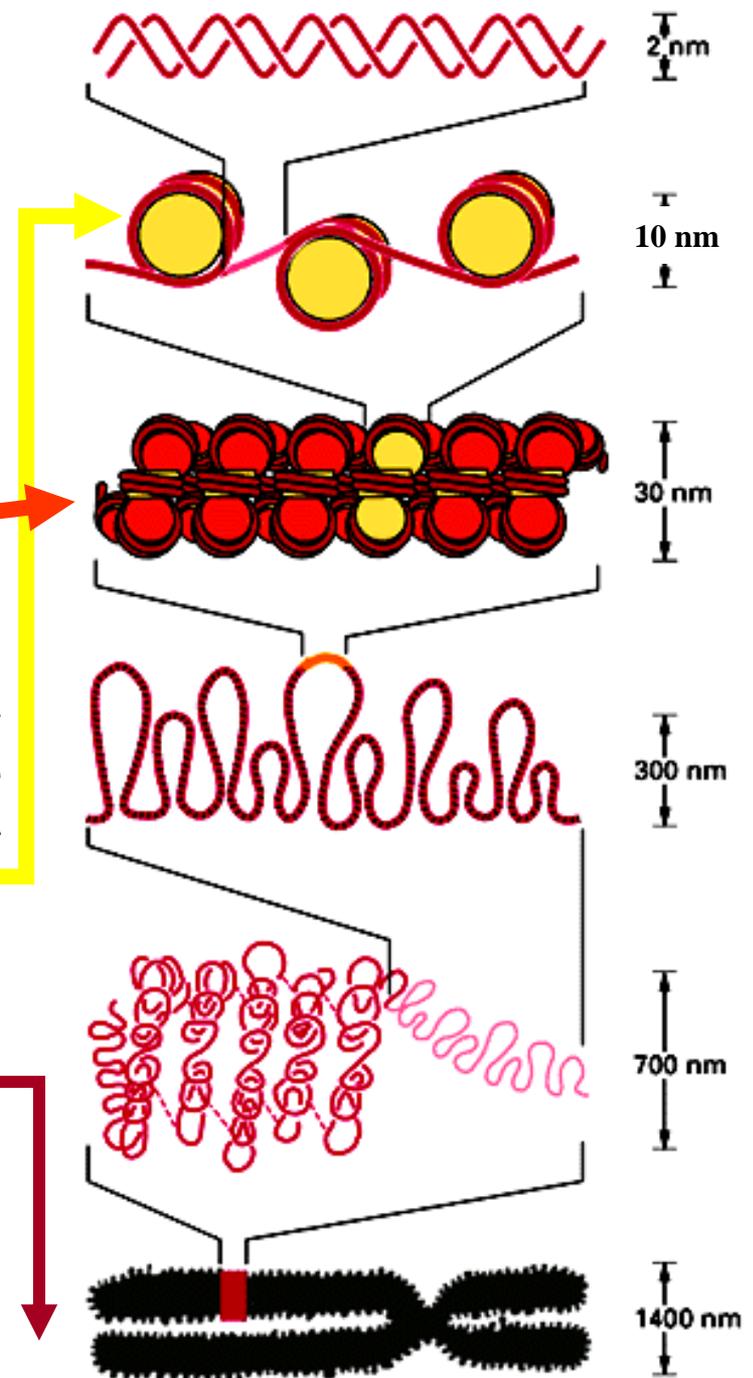
Il grado di condensazione della cromatina varia durante il ciclo vitale della cellula. In **cellule in interfase**:

Eucromatina

- la maggior parte della cromatina (ca. 90%)
- relativamente decondensata e distribuita in tutto il nucleo
- sotto forma di **fibre da 30 nm** organizzate in grandi anse (80%)
 - Circa il 10% della eucromatina, contenente i geni che sono trascritti attivamente, è in uno stato più decondensato che permette la trascrizione: **struttura di 10 nm**

Eterocromatina

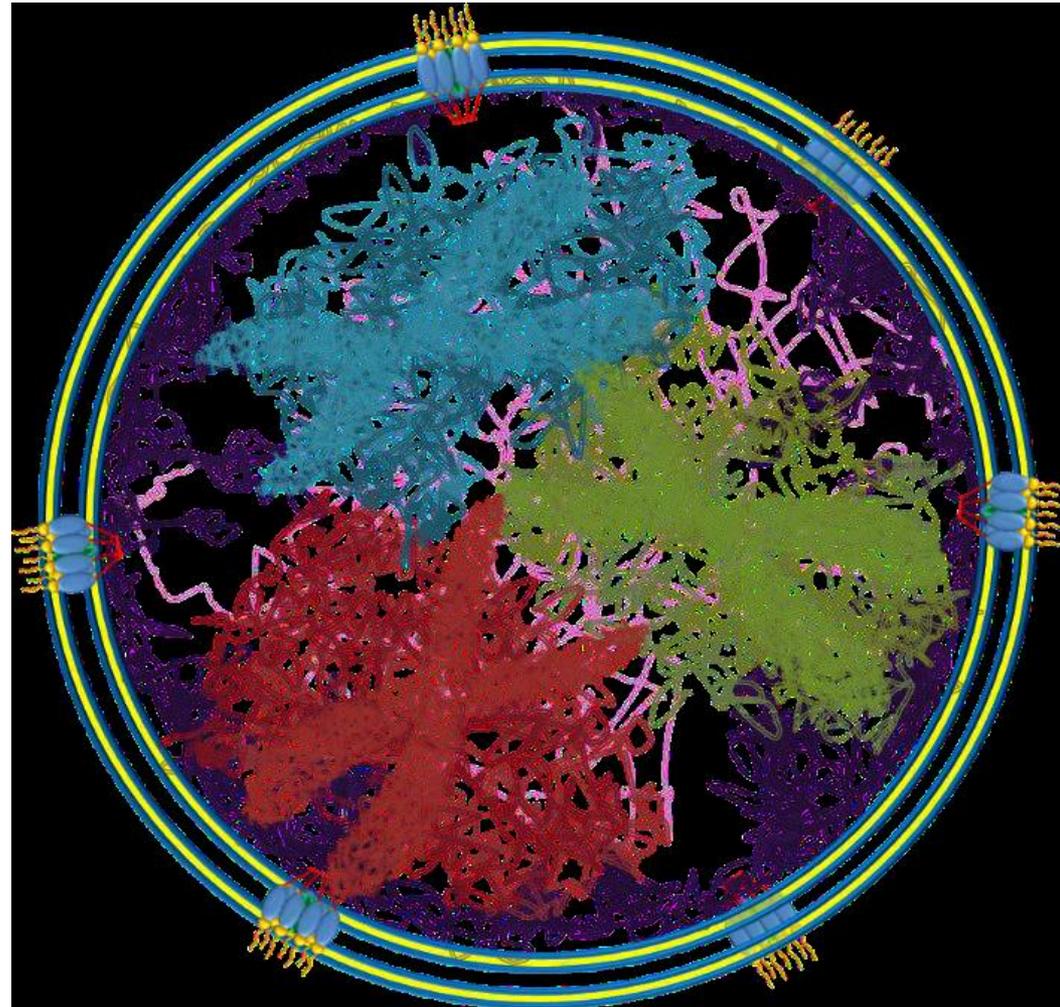
- Circa il 10% della cromatina interfascica
- **stato molto condensato** che assomiglia alla cromatina delle cellule che attraversano la mitosi
- è inattiva dal punto di vista della trascrizione
- contiene sequenze di DNA altamente ripetuto, come quelle presenti in centromeri e telomeri.

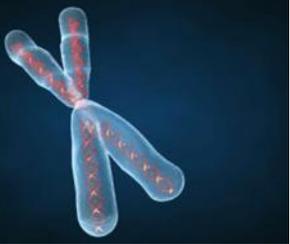


CROMATINA e CROMOSOMI

La cromatina si compatta in unità strutturali distinte, dette cromosomi → **organizzazione superelicoidale del DNA**

- I cromosomi si rendono evidenti durante la mitosi (quando sono condensati).
- In realtà, essi esistono come entità distinte anche nell'interfase (fase in cui la cellula non si divide).
- Sono organizzati in territori: ogni cromosoma occupa una regione ben precisa del nucleo.
- Tale territorio viene conservato anche dopo la mitosi e si trasmette alle cellule figlie.



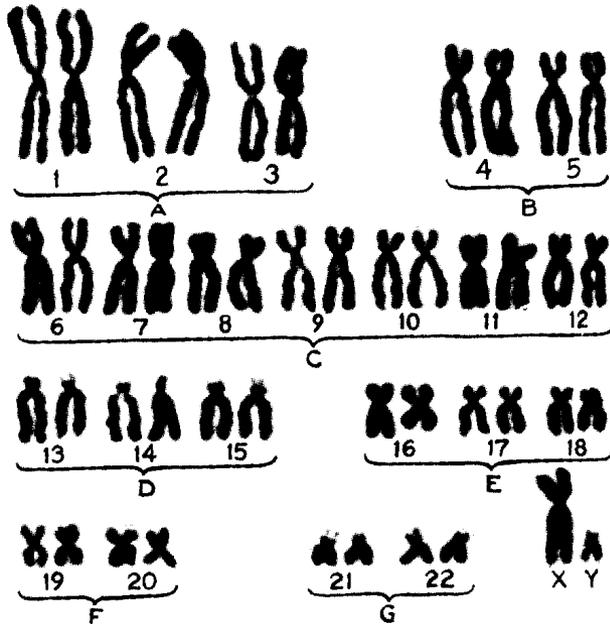


CROMOSOMI

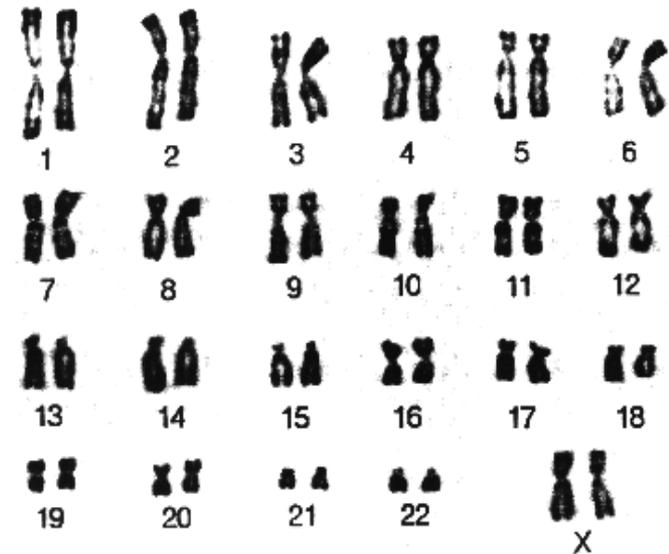
CARIOTIPO: corredo cromosomico caratteristico di ogni specie. E' definito dalle dimensioni, dalla forma e dal numero di cromosomi presenti nella cellula.

I cromosomi metafasici sono così altamente condensati che la loro morfologia può essere studiata mediante il microscopio ottico.

Il cariotipo normale di un maschio



Il cariotipo normale di una femmina



46 cromosomi (corredo diploide):

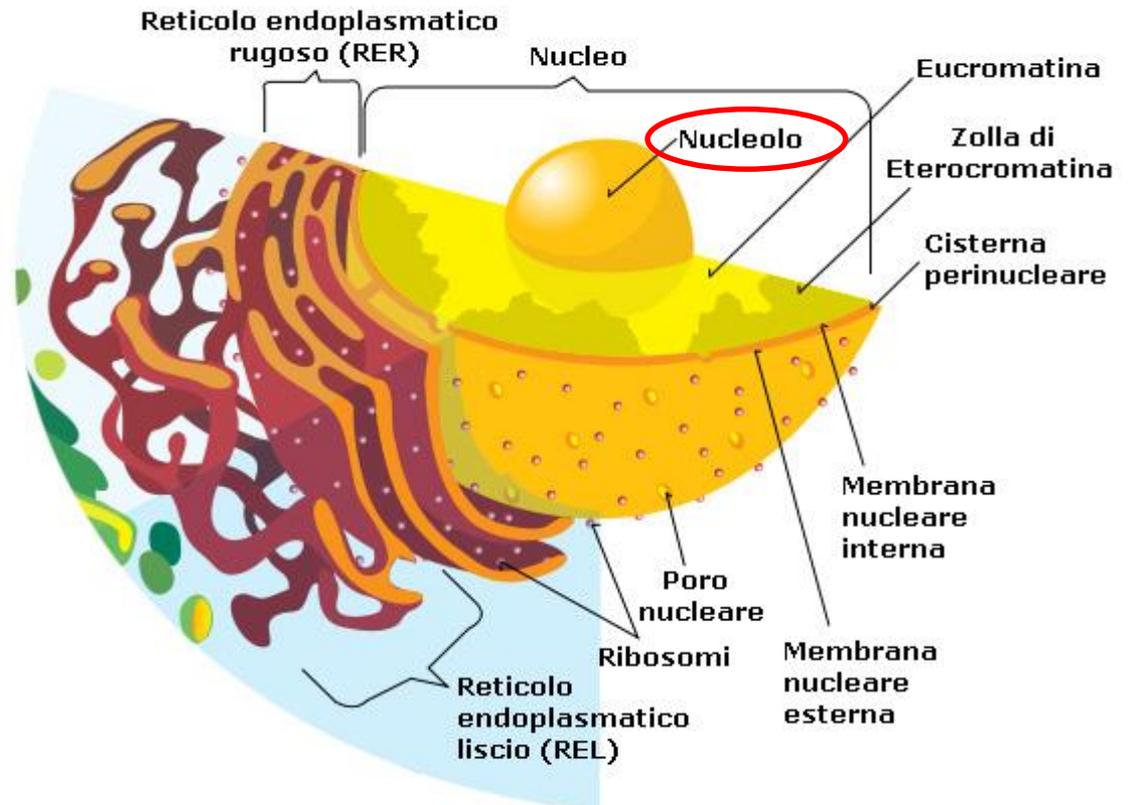
- 44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi
- 2 cromosomi sessuali

NUCLEO

STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
3. Cromatina
4. **Nucleolo**



NUCLEOLO

Il nucleolo è una regione del nucleo responsabile della sintesi dell'RNA ribosomiale (**rRNA**).

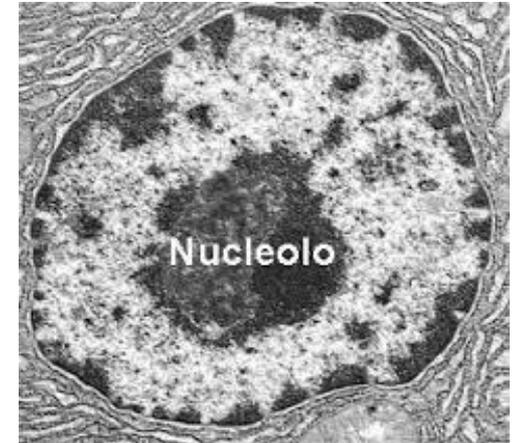
E' una regione densa di materiale genetico e proteico

Al microscopio elettronico a trasmissione appare come:

- granulo rotondeggiante
- non delimitato da membrana
- circondato da cromatina condensata (cromatina perinucleolare)
- Formato da due regioni morfologicamente distinte: una fibrillare e una granulare

Il nucleolo è:

- presente durante le fasi **G1**, **S** e **G2** del ciclo cellulare
- scompare durante la **mitosi** (durante la profase si ha la dissoluzione del nucleolo)
- ricompare quando la cellula ha completato la divisione cellulare e riprende la sua attività di sintesi.



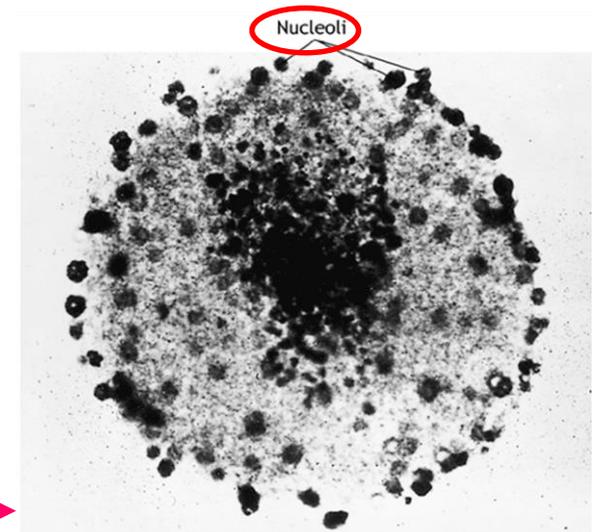
NUCLEOLO

1. Morfologia: variabile; struttura rotondeggiante od ovale.
2. Posizione: spesso attaccato alla membrana nucleare o comunque in posizione eccentrica rispetto al nucleo.
3. Numero: variabile, solitamente da 1 a 6
4. Dimensioni: dimensioni variabili.

Il numero e la dimensione dei nucleoli varia in funzione del tipo di cellula e della sua attività funzionale.

I nucleoli sono di dimensioni rilevanti nelle cellule metabolicamente attive in cui avviene un elevato livello di sintesi proteica.

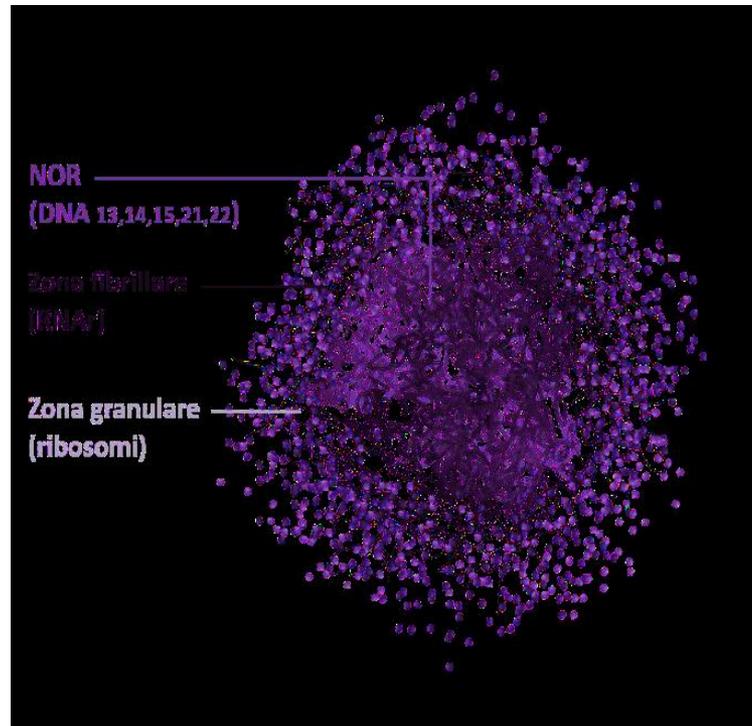
Oocita dell'anfibio *Xenopus* 



NUCLEOLO

Struttura specializzata in cui si distinguono:

- **Zona organizzatrice del nucleolo** che contiene le sequenze di DNA che codificano per gli rRNA.
- **Zona fibrillare densa**, dove ci sono sottili fibrille (di 3-5 nm). Essa è formata dagli RNA appena trascritti.
- **Zona granulare**, così chiamata per la presenza di piccoli granuli (di 15 nm). È essenzialmente costituita dalle subunità dei ribosomi in via di maturazione.



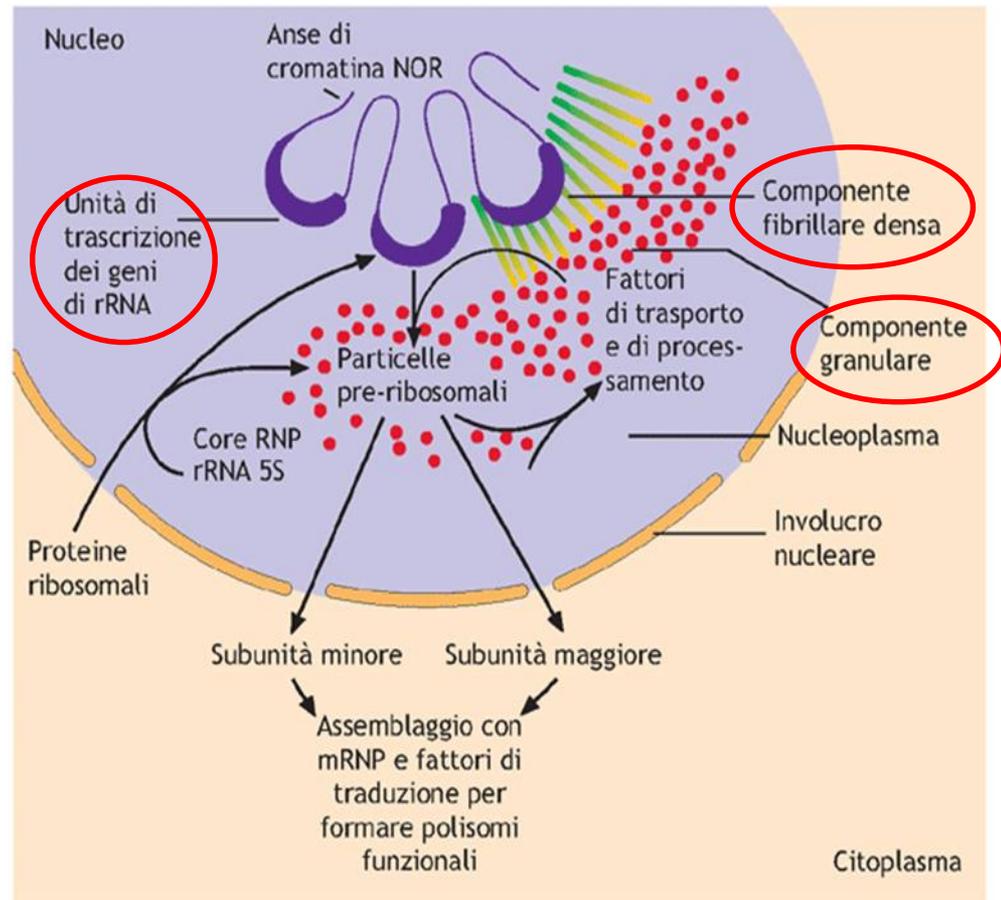
NUCLEOLO

Contiene particelle ribosomiali a vari stadi di assemblaggio, infatti il nucleolo è sede della biogenesi dei ribosomi.

Biogenesi dei ribosomi nel nucleolo:

Le proteine ribosomiali che sono state prodotte nel citoplasma, attraversando la membrana nucleare, arrivano al nucleoplasma e costituiscono parte del nucleolo ove si associano agli rRNA neosintetizzati.

Dal nucleolo, le unità ribosomiali, dopo il loro assemblaggio, vengono esportate nel citoplasma attraverso i pori nucleari.

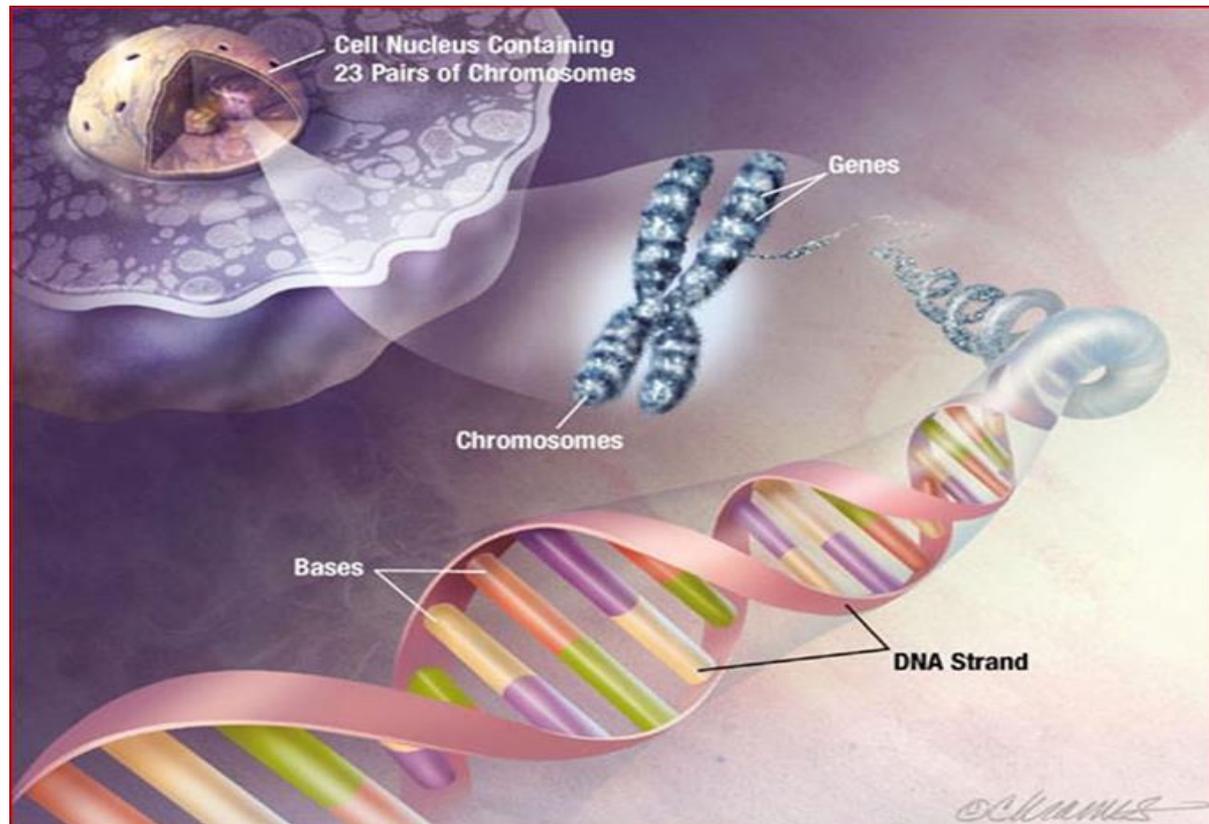


NUCLEO

➤ ALCUNE CARATTERISTICHE GENERALI

➤ STRUTTURA

➤ FUNZIONI



NUCLEO

Le principali funzioni del nucleo sono:

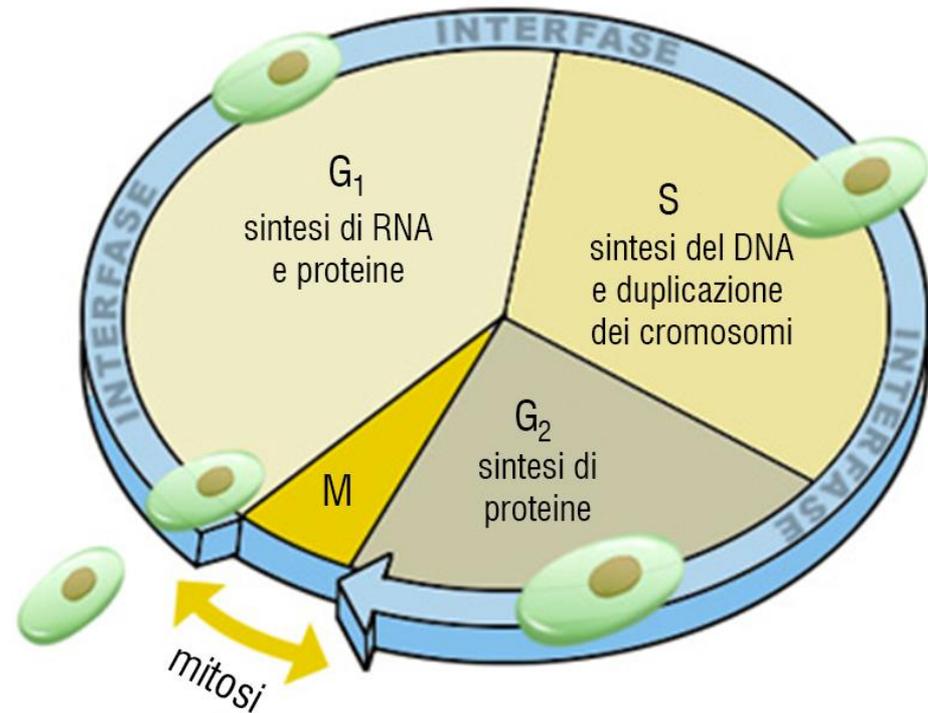
- Conservare le informazioni genetiche ereditarie;
- Duplicare il materiale genetico e dividerlo nelle cellule figlie;
- Gestire i processi metabolici delle cellule.

A microscopic image showing several plant cells with a glowing cyan outline. Inside the cells, there are brown, oval-shaped structures, likely chloroplasts. The background is black. The text 'CICLO CELLULARE' is written in a bold, red, sans-serif font across the center of the image.

CICLO CELLULARE

CICLO CELLULARE

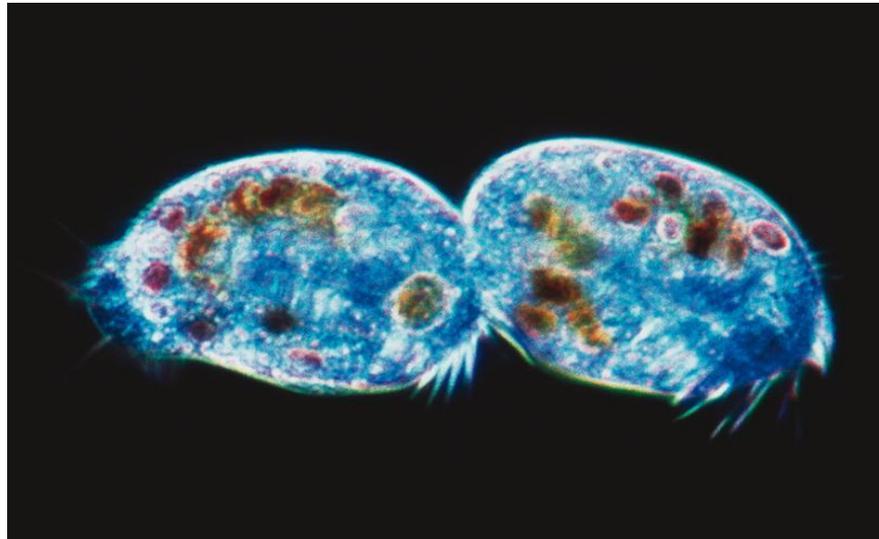
- Il ciclo vitale di una cellula, o **ciclo cellulare**, è quel periodo di tempo che inizia con la comparsa della cellula e termina con la sua divisione.
- Consiste in una serie ciclica di modificazioni biochimiche che preparano la cellula alla divisione mitotica e quindi riportano ognuna delle due cellule prodotte da questa nelle condizioni idonee a una nuova divisione, e così via.
- È una serie ordinata di eventi che, invariabilmente, ad ogni divisione cellulare, si ripetono con la medesima sequenza e termineranno, nella maggior parte dei casi, con una mitosi o, nel caso delle cellule germinali, con una meiosi.
- Tale ordine è stato rigorosamente conservato nel corso dell'evoluzione.



CICLO CELLULARE e DIVISIONE CELLULARE

La **divisione cellulare** è il processo attraverso cui da una cellula madre si ottengono due cellule figlie identiche.

- Alcune cellule del nostro organismo, come quelle dell'epidermide o delle mucose, si riproducono frequentemente;
- altre, come quelle del fegato, più raramente



DIVISIONE CELLULARE

DIFFERENZE TRA EUCARIOTI e PROCARIOTI

1. procarioti → in genere hanno un solo *cromosoma* circolare
eucarioti → di solito ne hanno molti; pertanto, i processi di duplicazione e divisione risultano più complicati.
2. Le cellule eucariotiche possiedono un nucleo ben definito, che si deve dividere in due nuovi nuclei. Perciò negli eucarioti la ripartizione del materiale genetico è un evento separato dalla *citodieresi*, che può avvenire soltanto dopo che il nucleo si è interamente duplicato.
3. A differenza dei procarioti, le cellule eucariotiche non si dividono in continuazione; anzi, una volta che si sono specializzate, si dividono raramente.

DIVISIONE CELLULARE

Organismi unicellulari → divisione cellulare corrisponde alla riproduzione dell'intero organismo.

I procarioti si dividono per **SCISSIONE** (processo rapido che può durare anche meno di 30 minuti).

Organismi pluricellulari → divisione cellulare è prerogativa per l'accrescimento e l'omeostasi dei diversi tessuti.

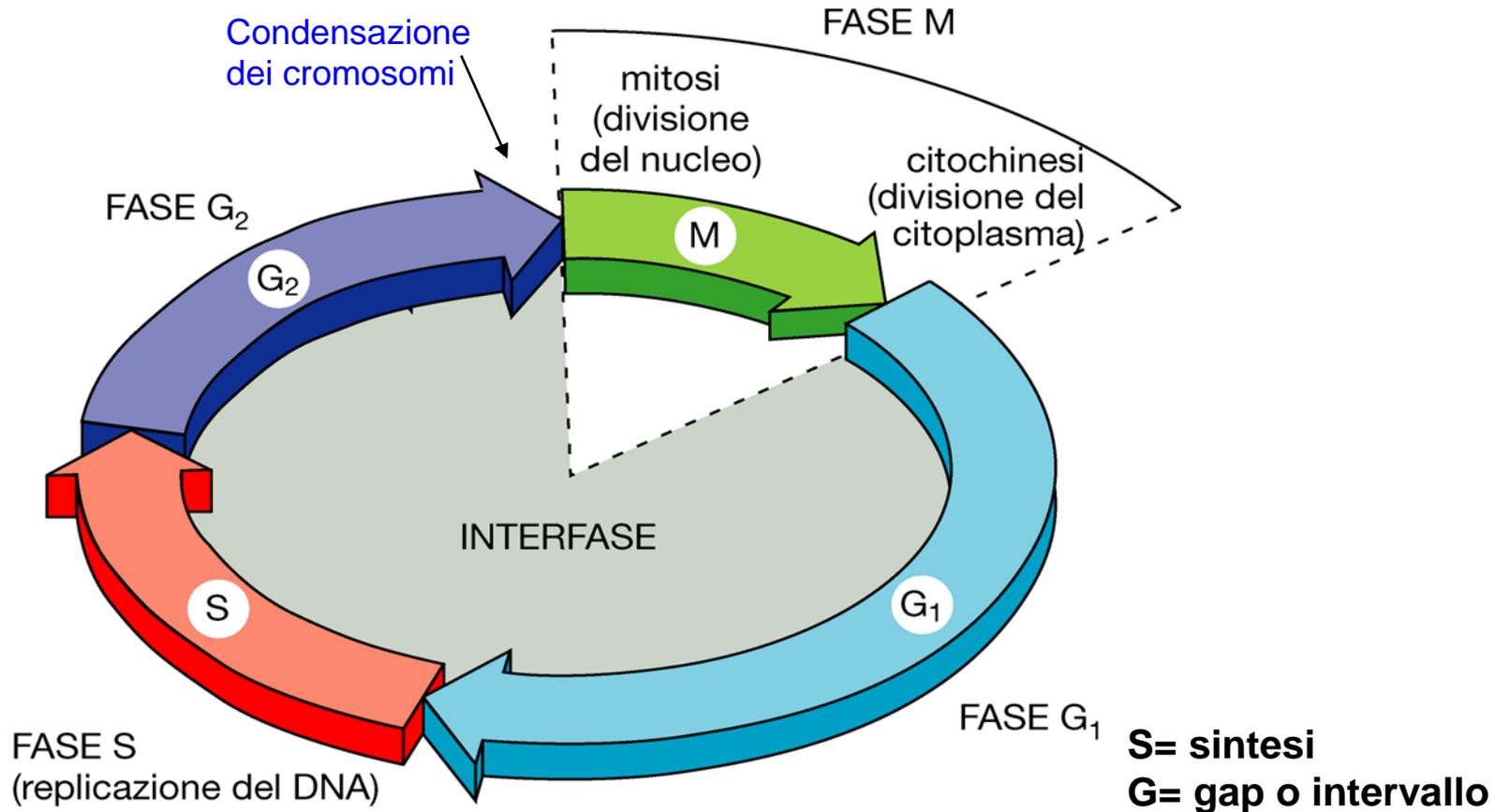
Negli eucarioti la divisione cellulare è più complessa e ne esistono di due tipi: **MITOSI** e **MEIOSI**.

1.MITOSI: ➤ fondamentale per la formazione dei tessuti e per l'omeostasi tissutale. Il patrimonio genetico diploide ($2n$) viene fedelmente replicato ed equamente distribuito nelle cellule figlie.
➤ cellule somatiche si dividono per mitosi

2.MEIOSI: ➤ il patrimonio genetico risulta dimezzato, da diploide ($2n$) ad aploide (n).
➤ cellule della linea germinale si dividono per meiosi

CICLO CELLULARE

- Il **ciclo cellulare** ha come scopo fondamentale la duplicazione del DNA contenuto nei cromosomi e la distribuzione precisa delle due copie in due cellule figlie identiche.
- All'interno di questo ciclo vitale, la divisione cellulare rappresenta soltanto un breve momento della vita di una cellula.
- **Nell'intervallo tra due divisioni cellulari**, ovvero per la maggior parte del suo ciclo vitale, la cellula eucariotica si trova in una condizione nota come **interfase**.



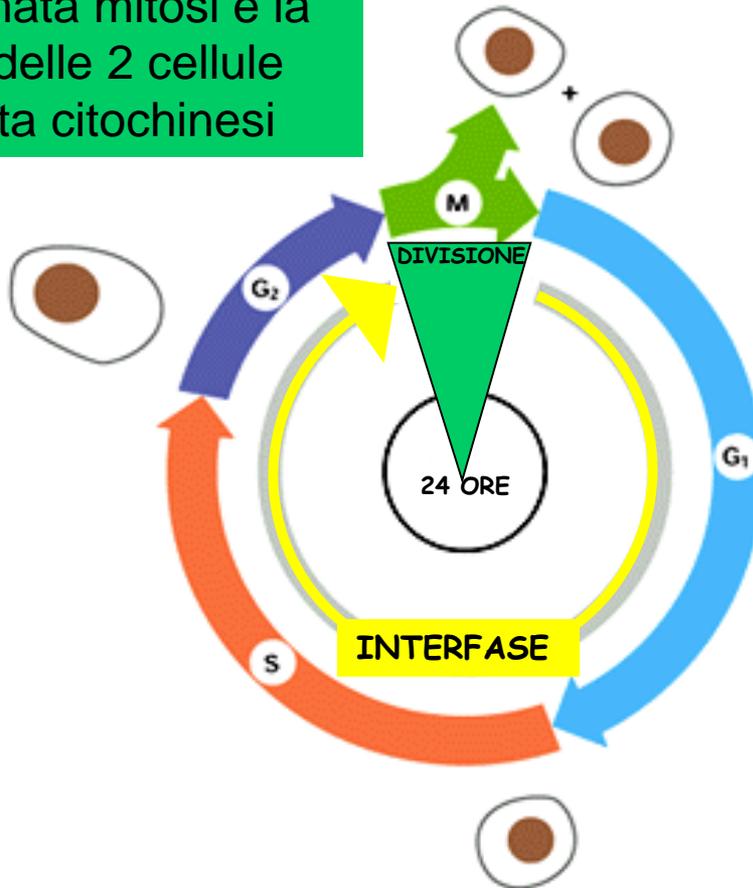
LE QUATTRO FASI DEL CICLO CELLULARE

Il ciclo cellulare si divide in 2 fasi: la **mitosi** e l'**interfase**.

Quest'ultima fase può essere ulteriormente suddivisa in altre 3 fasi: fase G₁, S e G₂.

Fase M:

Avviene la divisione del nucleo, chiamata mitosi e la separazione delle 2 cellule figlie, chiamata citochinesi



Fase S:

La cellula replica il suo DNA nucleare

Fase G₁ e G₂:

La cellula continua a crescere ed effettua un monitoraggio dell'ambiente interno ed esterno per accertarsi che le condizioni siano adatte e i preparativi terminati prima di impegnarsi nel pesante compito della fase S e della mitosi.

Le fasi G sono necessarie per la crescita cellulare e la duplicazione degli organelli citoplasmatici

Ciclo cellulare

è formato da

interfase

divisione cellulare

è suddivisa in

è suddivisa in

fase G1

fase S

fase G2

Mitosi

citodieresi

avviene

avviene

avviene

raddoppia il volume della cellula
raddoppiano gli organuli

sintesi DNA
e proteine istoniche

la spiralizzazione del DNA
e la formazione dei cromosomi

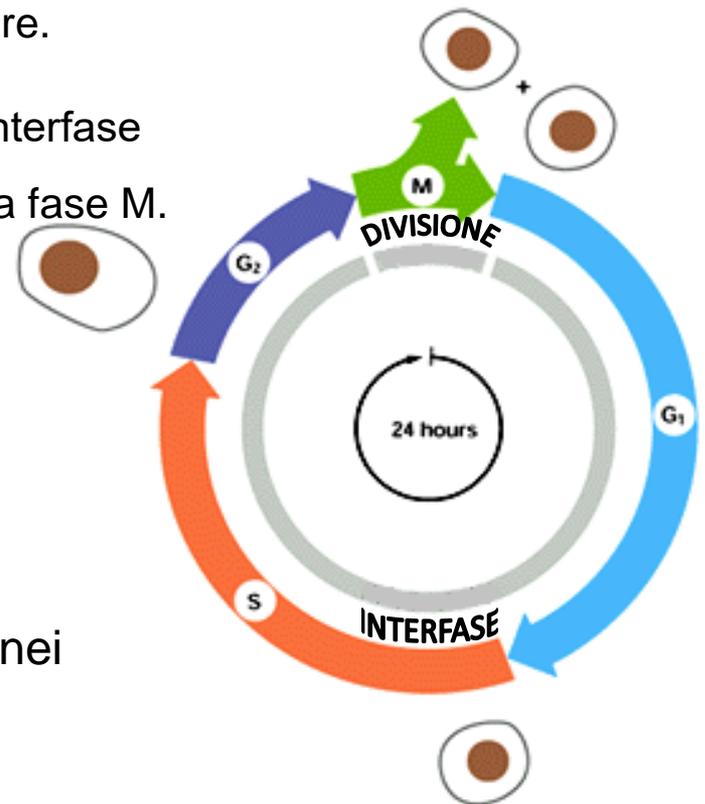
CICLO CELLULARE

- La **durata del ciclo cellulare** varia da un tipo cellulare all'altro:
 - lievito unicellulare si divide ogni 90-120 minuti
 - cellula epatica di mammifero si divide non più di una volta all'anno.
- Le cellule umane più comunemente usate per lo studio del ciclo cellulare sono stati i fibroblasti, il cui ciclo dura approssimativamente 24 ore.
- In una tipica cellula umana che prolifera in coltura, l'interfase può occupare 23 ore di un ciclo di 24, con 1 ora per la fase M.

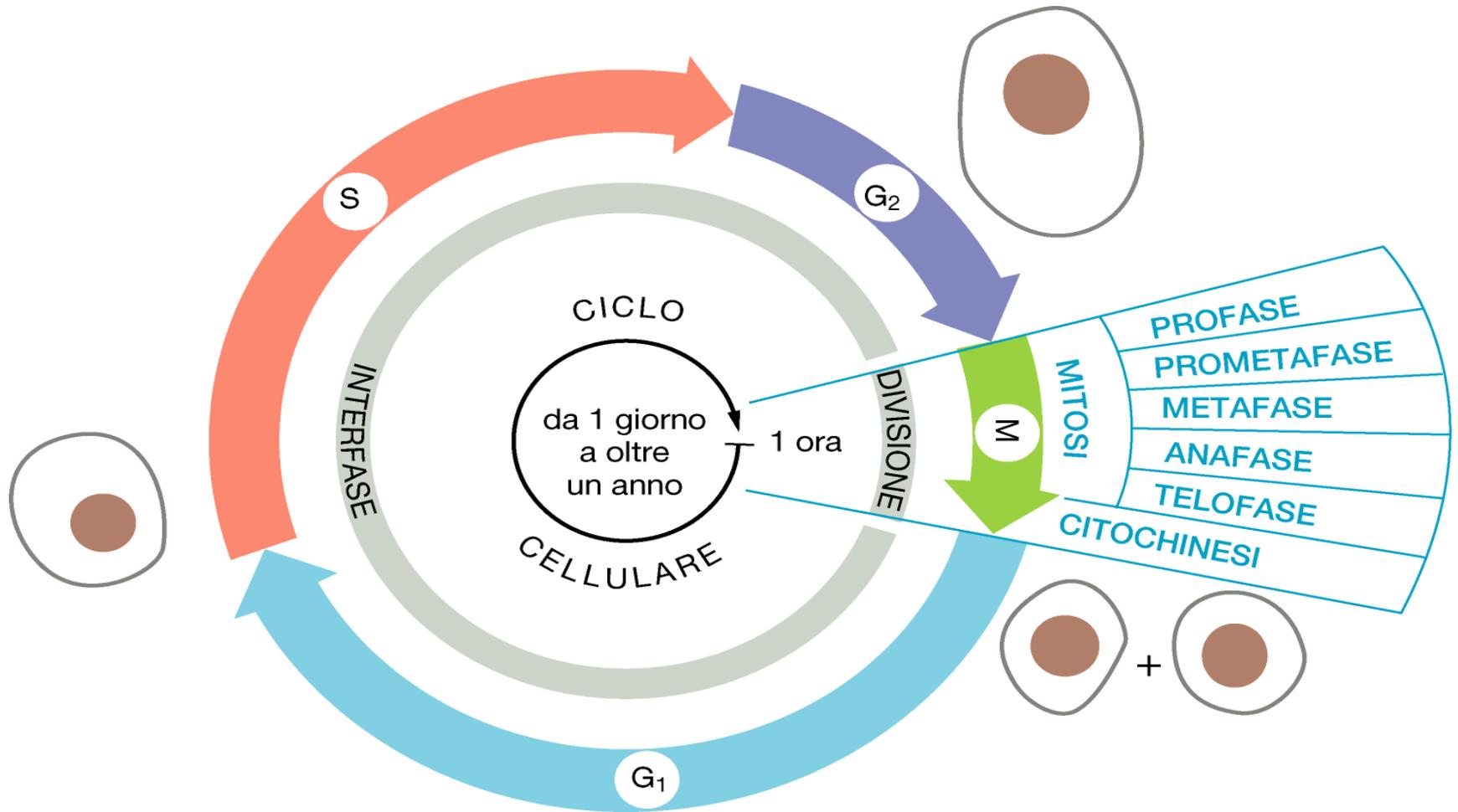
Interfase:

- **Fase G₁** (9-11 ore)
- **Fase S** (8-10 ore)
- **Fase G₂** (4 ore)

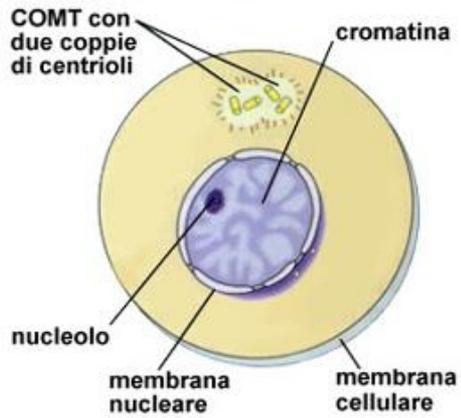
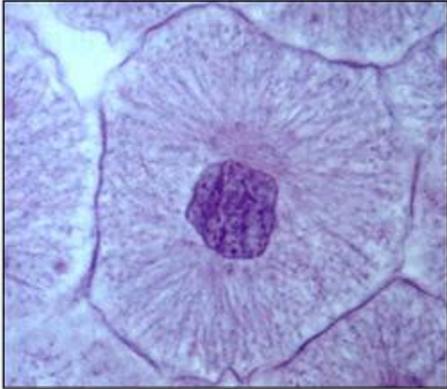
- La **durata delle fasi** può variare notevolmente nei diversi tipi cellulari.



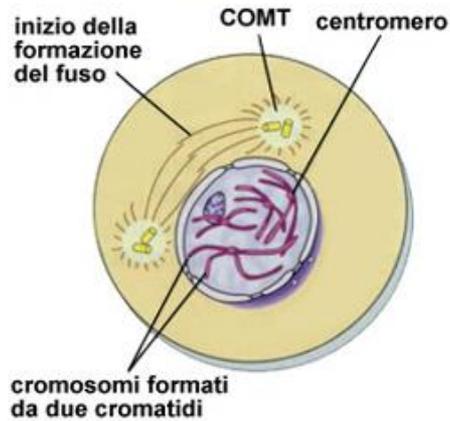
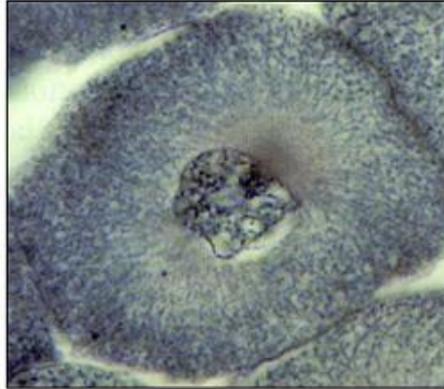
CICLO CELLULARE: fasi della mitosi



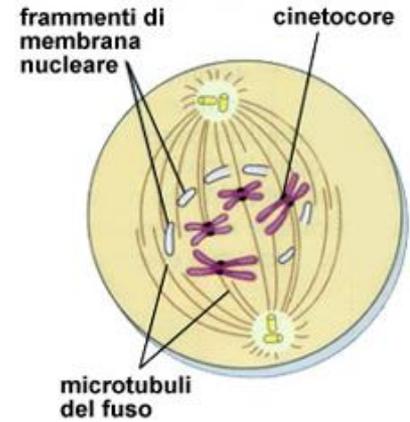
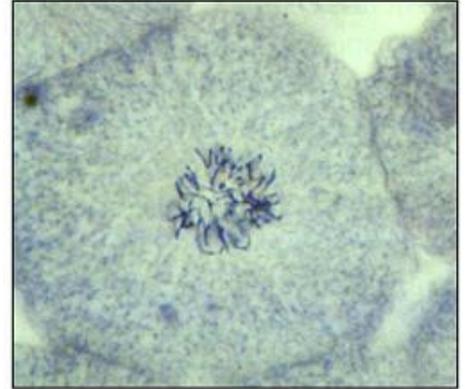
Durante la **mitosi** le cellule osservate al microscopio cambiano aspetto. I filamenti di cromatina che durante l'interfase avevano l'aspetto di una matassa indistinta si avvolgono più strettamente (spiralizzazione): il DNA diventa così visibile in forma di **cromosomi filiformi**. Il nome del processo, mitosi, deriva proprio dalla parola greca *mitos*, che significa "filo".



INTERFASE



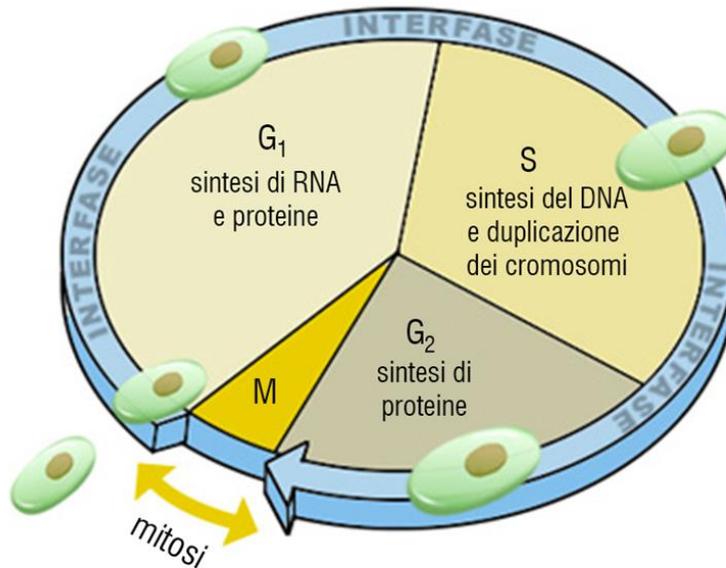
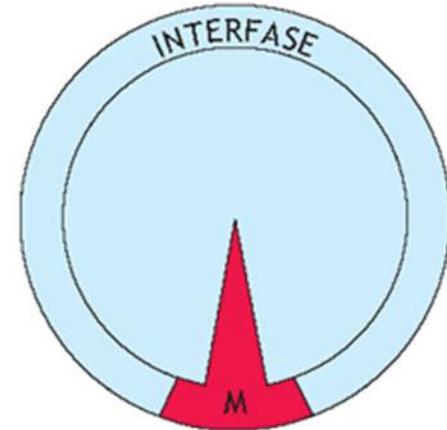
**PROFASE
precoce**



**PROFASE
fine**

CICLO CELLULARE: l'interfase

- Il periodo che separa una mitosi (fase M) dalla successiva è chiamato **INTERFASE**.
- Durante l'interfase la cellula:
 - cresce
 - replica il DNA
 - controlla l'integrità del genoma...



- In particolari punti di **G₁** e **G₂** la cellula può decidere se procedere alla fase successiva o meno.

In che modo la cellula decide qual è il momento giusto per entrare nelle fasi S oppure M?

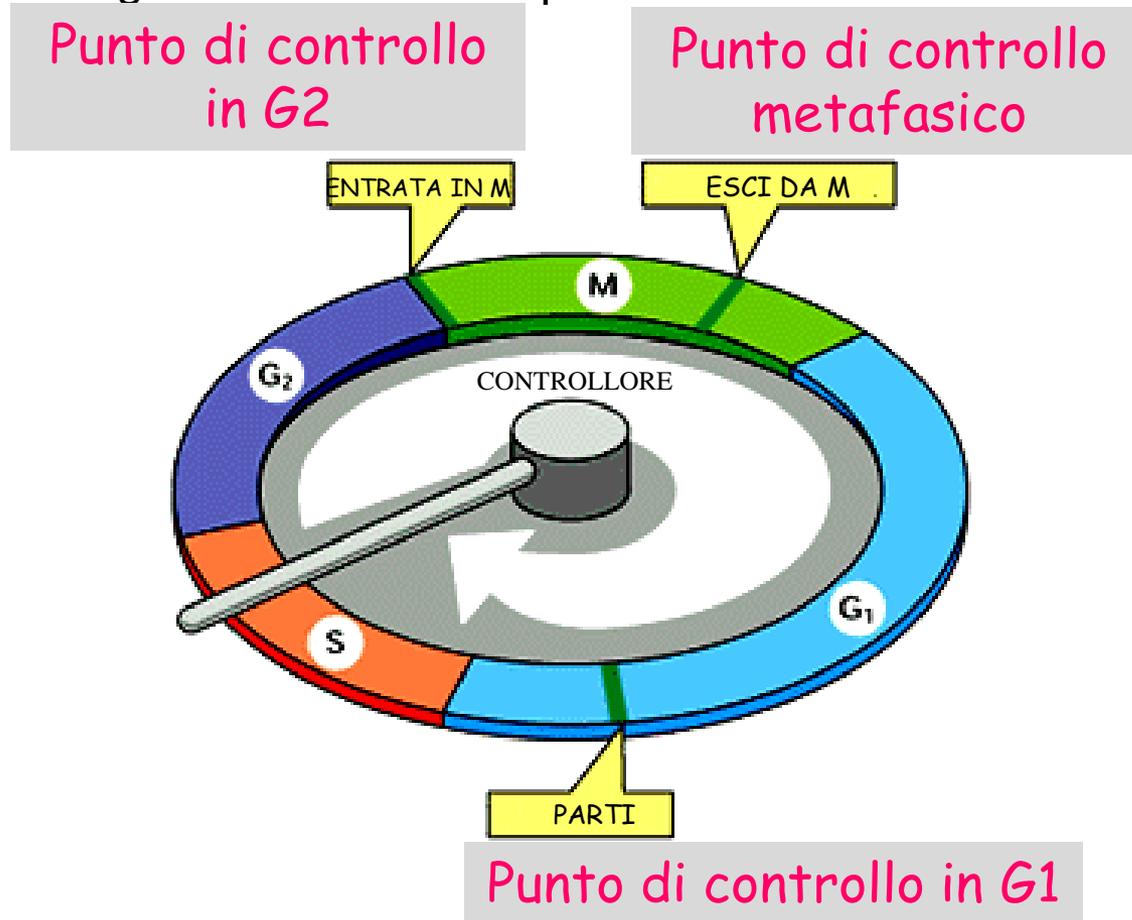


Gli esperimenti effettuati sui mammiferi dimostrano l'esistenza di diverse sostanze e complessi proteici che controllano questi passaggi.

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

La crescita della cellula, la replicazione e la mitosi devono essere tutti coordinati durante la progressione del ciclo cellulare. Ciò viene compiuto da una serie di **punti di controllo** che:

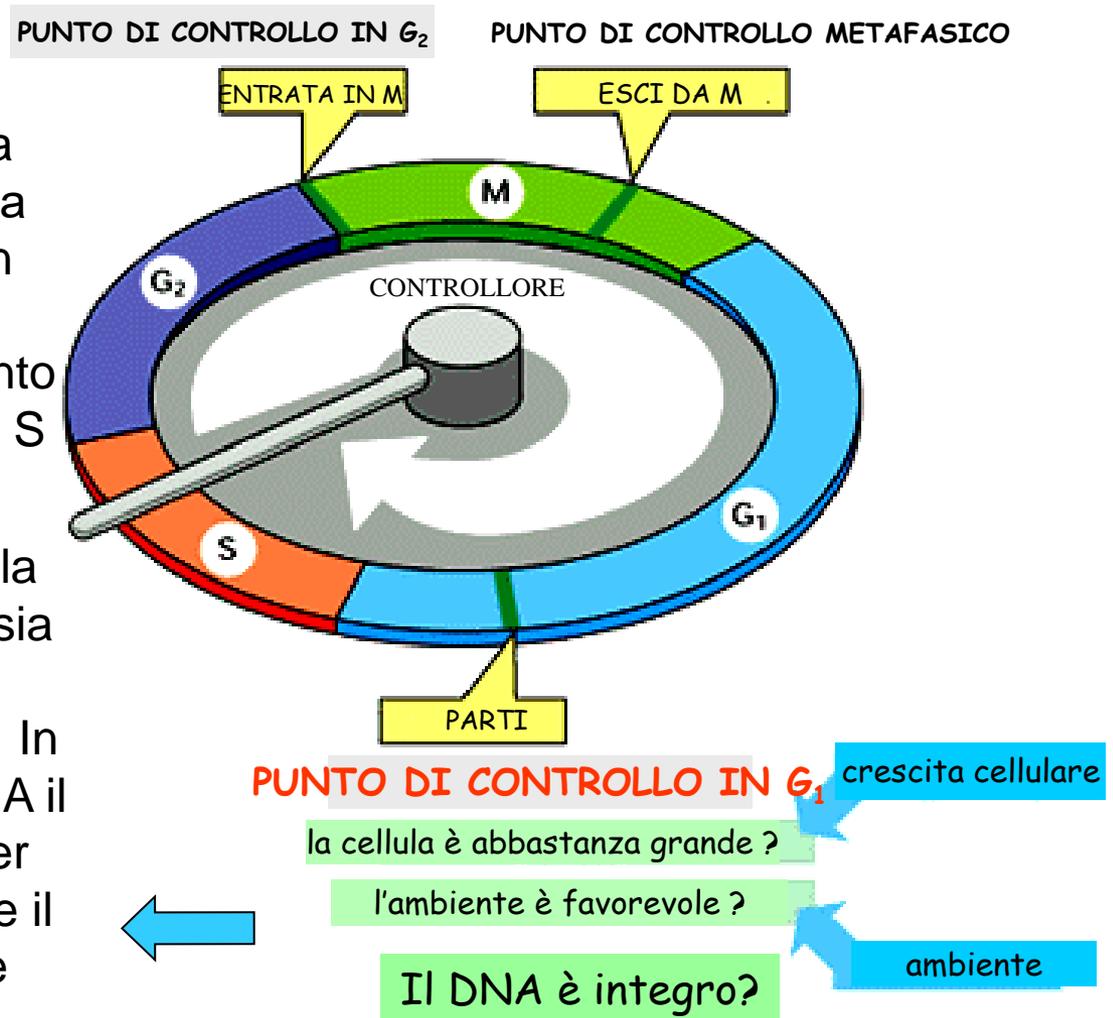
1. **regolano la progressione** attraverso le varie fasi del ciclo cellulare
2. **impediscono l'ingresso nella fase successiva** del ciclo cellulare prima del completamento degli eventi della fase precedente



CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE: Punto di regolazione in G1

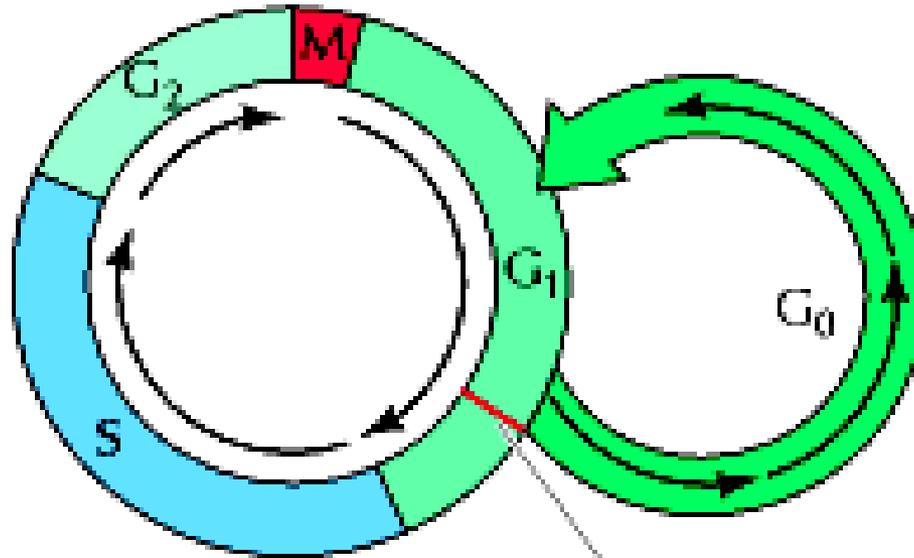
Verso la fine di G1 controlla la progressione in S. Denominato **punto di restrizione**.
Esegue due tipi di controllo:

- 1. Controllo dell'ambiente extracellulare:** la cellula controlla che l'ambiente sia favorevole alla proliferazione cellulare. In presenza dei **fattori di crescita** appropriati la cellula passa il punto di restrizione ed entra nella fase S
- 2. Controllo dell'integrità del DNA:** la cellula controlla che il suo DNA sia in buone condizioni, prima di imbarcarsi nella fase S. In caso di danneggiamento del DNA il ciclo cellulare si arresta in G1 per permettere alla cellula di riparare il DNA prima di entrare in fase S e replicarlo.



Regolazione del ciclo cellulare da parte di fattori di crescita

La disponibilità di **fattori di crescita** controlla il ciclo delle cellule animali in un punto verso la fine di G_1 chiamato punto di restrizione. Se non sono disponibili fattori di crescita durante G_1 , le cellule entrano in una **fase quiescente** del ciclo chiamata G_0 . Per altri tipi di cellule (neuroni) lo stato di G_0 rappresenta il differenziamento terminale.



Nella fase quiescente chiamata G_0 le cellule rimangono **metabolicamente attive** ma **non proliferano**

Punto di restrizione

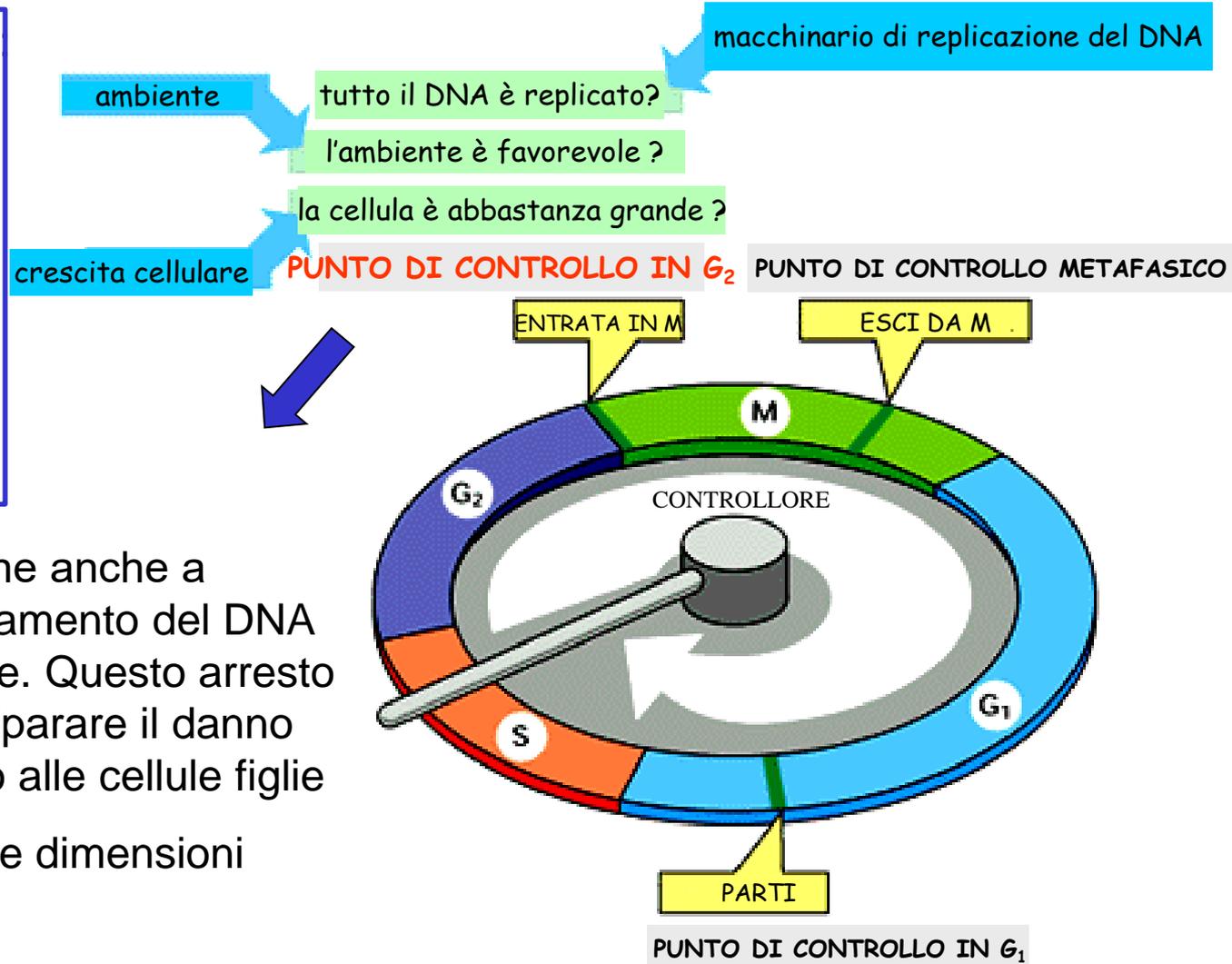
Fattori di crescita

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE: Punto di regolazione in G2

Punto di controllo in G2

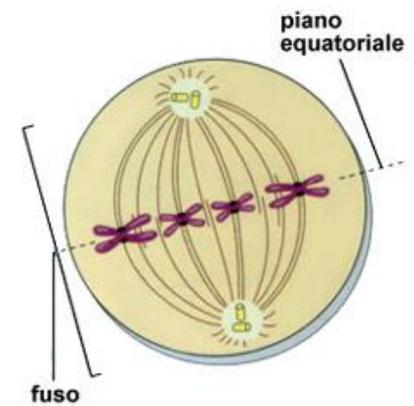
Impedisce l'inizio della mitosi prima del **completamento della replicazione del genoma**, così che le cellule restano in G2 fino a che tutto il genoma non è replicato.

1. L'arresto in G2 avviene anche a seguito del danneggiamento del DNA dovuto ad irradiazione. Questo arresto concede tempo per riparare il danno invece di trasmetterlo alle cellule figlie
2. Vengono controllate le dimensioni cellulari e
3. La disponibilità di sostanze nutrienti



Ulteriori controlli impediscono anche alla cellula in G2 di eseguire un nuovo ciclo di replicazione prima che avvenga la mitosi

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

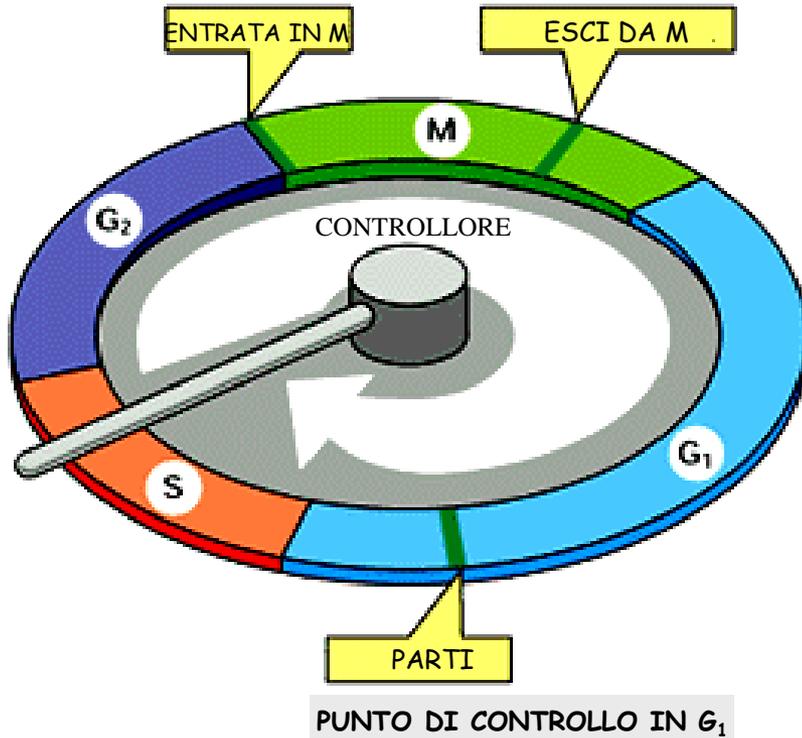


tutti i cromosomi
sono allineati
sul fuso ?

macchinario della mitosi

PUNTO DI CONTROLLO IN G_2

PUNTO DI CONTROLLO METAFASICO



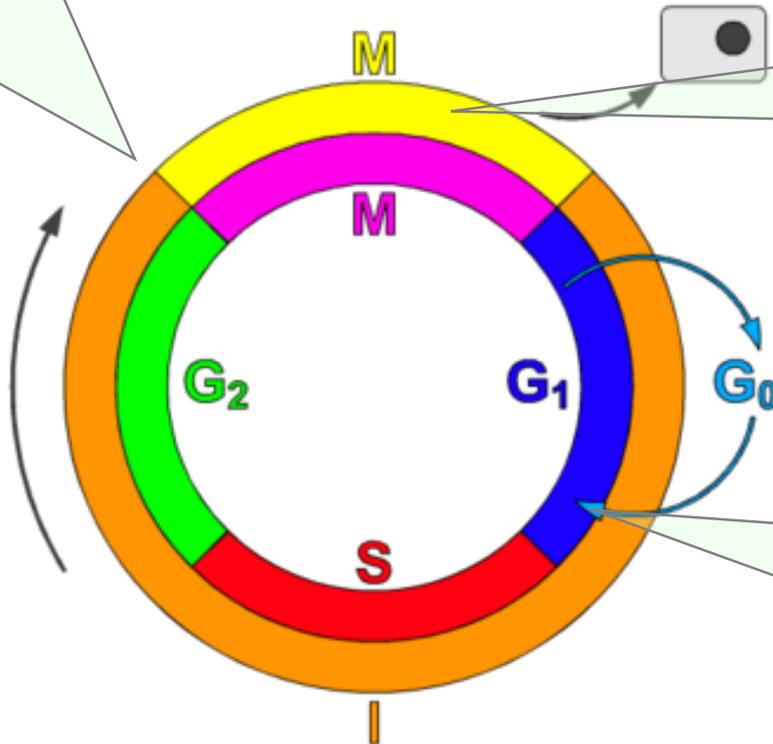
Punto di controllo alla fine della mitosi:

Controlla che la segregazione cromosomica non cominci prima che i **cromosomi abbiano stabilito un legame saldo con il fuso mitotico** per assicurare una giusta distribuzione dei cromosomi alle cellule figlie

Ciclo cellulare: checkpoints

G2 checkpoint:

dimensioni cellulari, presenza di nutrienti, duplicazione DNA completa? danni al DNA? (riparazione del danno o... apoptosi)



M checkpoint:

Cromosomi allineati sulla piastra del fuso? sono attaccati alle fibre del fuso?

G1 checkpoint:

dimensioni cellulari, presenza di nutrienti, presenza di fattori di crescita, presenza di danni al DNA.

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

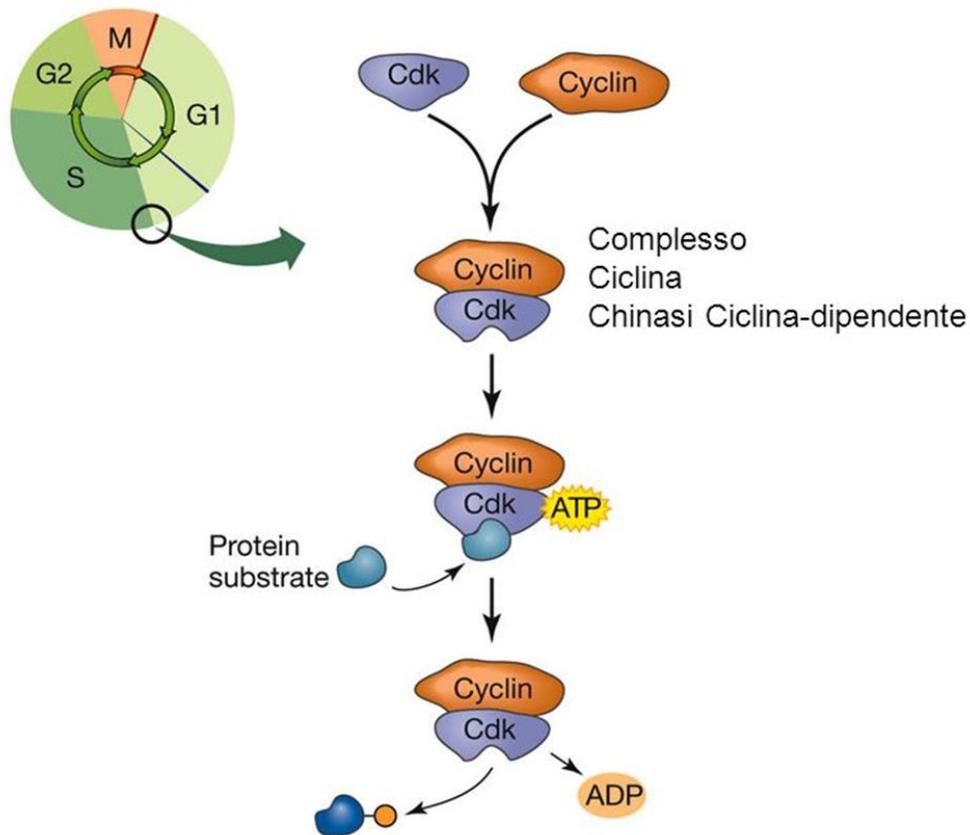
- Il sistema di controllo del ciclo cellulare si basa sull' **attivazione e disattivazione ciclica di proteine** e complessi proteici chiave che innescano o regolano la replicazione del DNA, la mitosi e la citochinesi.
- Per attivare o disattivare le **proteine di controllo** vengono utilizzati come strumenti:
 - **Fosforilazione** ad opera di protein-chinasi e
 - **defosforilazione** ad opera di protein fosfatasi

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

CICLINE E CDK

Il ciclo cellulare è regolato da **complesse reti di segnalazione intracellulare** in cui svolgono un ruolo centrale:

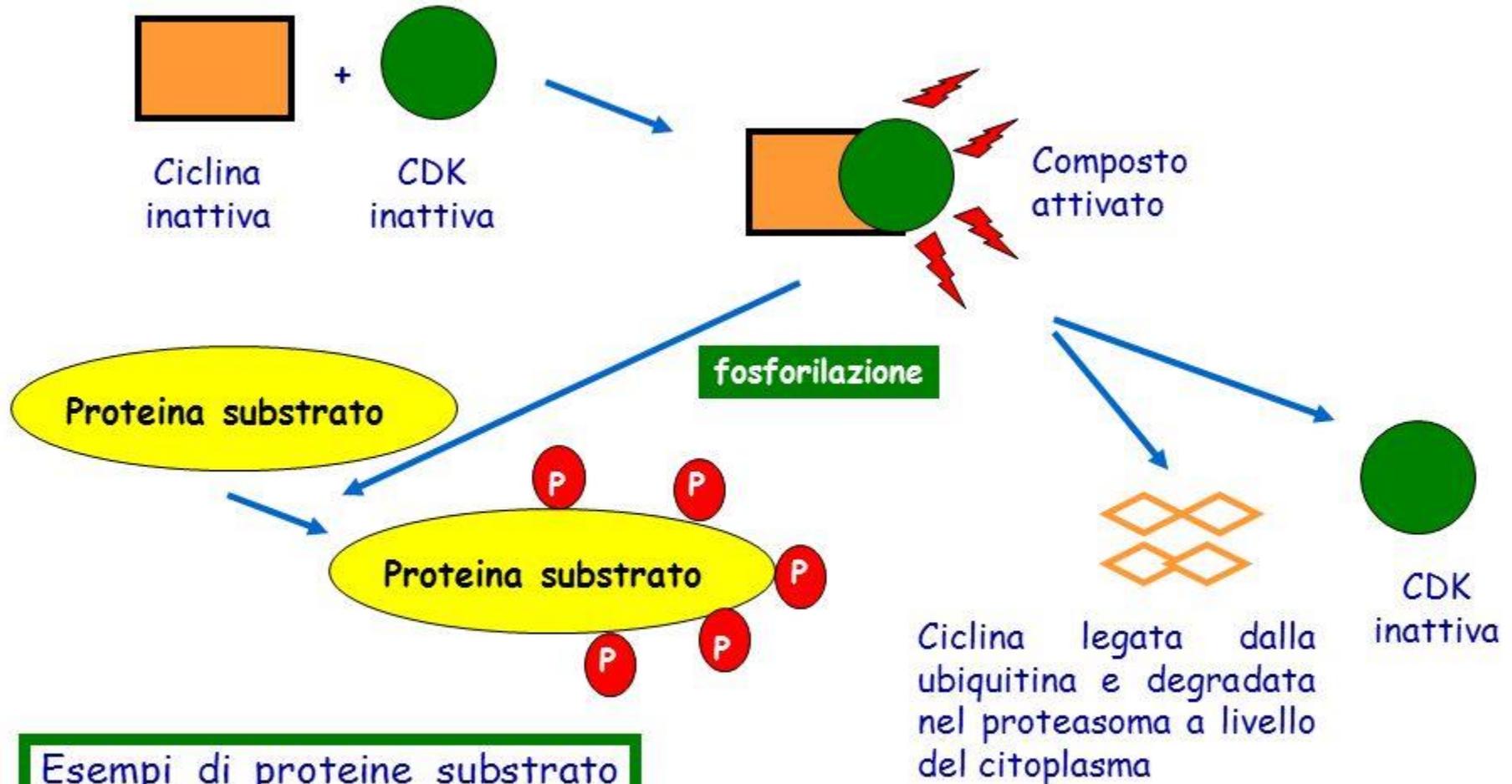
- le Chinasi ciclina-dipendenti (Cdk) e le cicline che le attivano,
- Meccanismi controllati di sintesi e proteolisi di queste



Il legame con la ciclina attiva gli enzimi Cdk

Il legame con una ciclina cambia la struttura tridimensionale di una molecola Cdk inattiva, trasformandola in una proteina chinasi.

Come i complessi CDK-ciclina promuovono la progressione del ciclo cellulare?



Esempi di proteine substrato che vengono fosforilate: lamina nucleare, proteine istoniche, proteina Rb...

Cicline

La **concentrazione delle cicline varia** periodicamente nel corso del ciclo cellulare

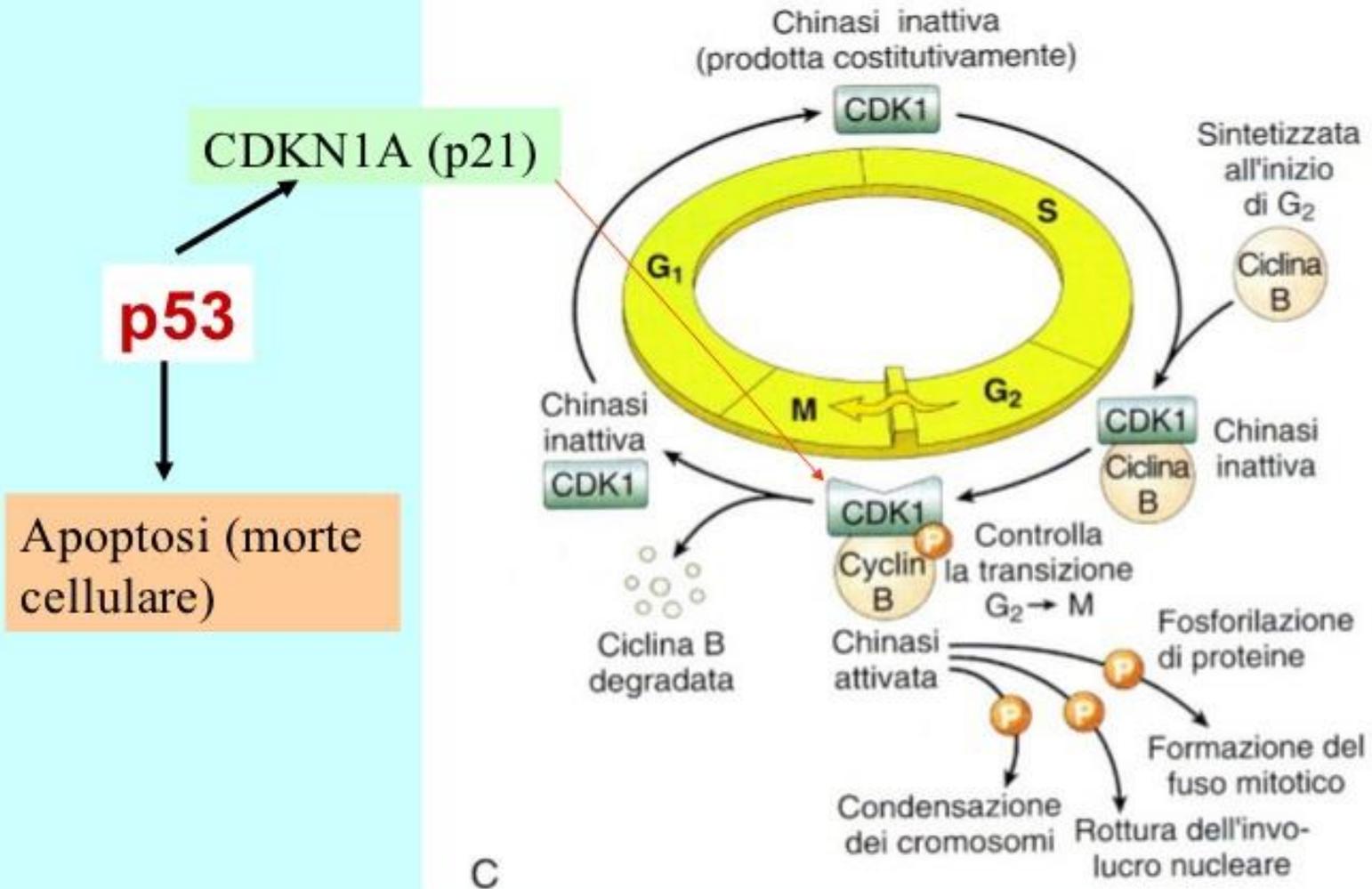
Funzione: **accensione** e **spegnimento** delle **protein-chinasi**

Cdk: chinasi–ciclina-dipendenti

Le **protein chinasi** presenti in tutte le fasi, ma vengono attivate dalle cicline solo in momenti ben definiti del ciclo, per essere disattivate rapidamente subito dopo. Quindi l'**attività** (ma non la concentrazione!) di queste chinasi **sale e scende** con una certa periodicità.

- È il **complesso ciclina-Cdk** ad agire da **proteina-chinasi** e ad indurre la progressione del ciclo cellulare (ad es. il passaggio dalla sottofase G1 alla sottofase S).
- Poi la ciclina si dissocia e Cdk torna ad essere inattivo.
- In altre parole, i complessi ciclina-Cdk funzionano da «**posti di blocco**»: qui avviene il controllo dell'avanzamento del ciclo cellulare per stabilire se si può passare alla tappa successiva. Esistono posti di blocco in diversi altri punti del ciclo cellulare.

- Il cancro è il risultato di una divisione cellulare anomala; pertanto, è abbastanza normale che nelle cellule tumorali i controlli del tipo ciclina-Cdk risultino danneggiati.
- Per esempio, in alcune forme di tumore alla mammella a crescita rapida si riscontra **un'eccessiva quantità di** una specifica ciclina, la **ciclina D**, che stimola eccessivamente i Cdk attivando **la divisione cellulare**.
- Al contrario un'altra proteina, chiamata p53, impedisce la divisione nelle cellule normali stimolando la **sintesi di un inibitore di Cdk chiamato p21**. Oltre la metà dei tumori umani presenta un **p53 difettoso**, da cui deriva la **mancanza di controlli nel ciclo cellulare**.
- Le proteine che, come p21 e p53, bloccano il ciclo cellulare prendono il nome di soppressori tumorali.



Regolazione dell'attività chinassica CDK1 da parte della ciclina B nella transizione G₂ → M

VIDEO:
**Regolazione del
ciclo cellulare**

**GRAZIE
PER
L'ATTENZIONE**