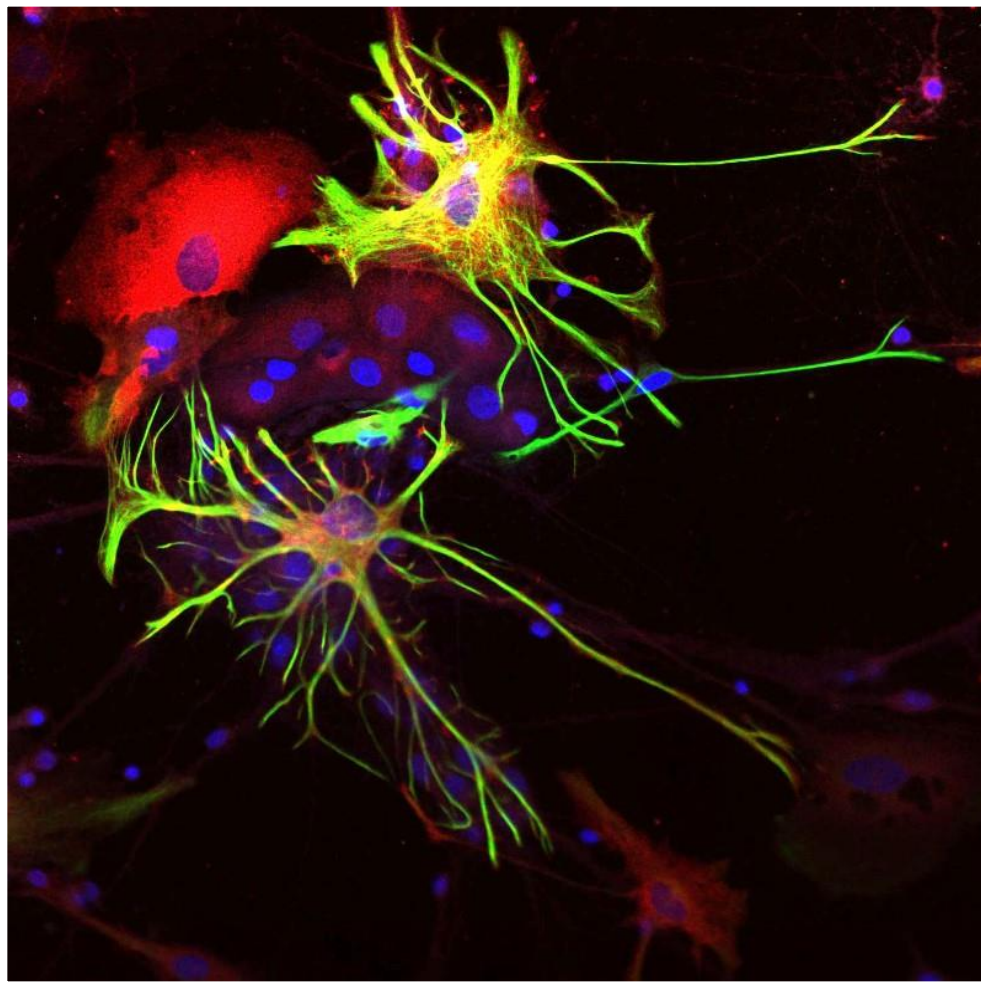
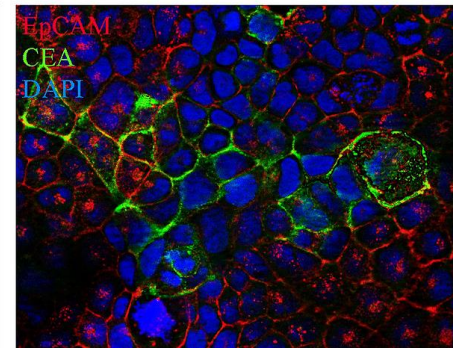
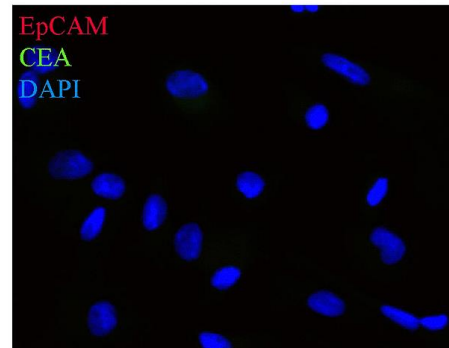
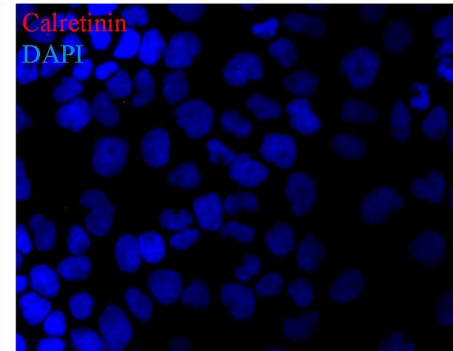
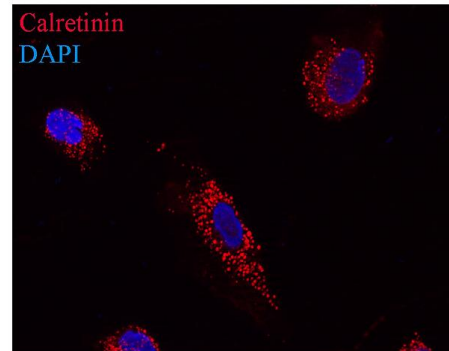
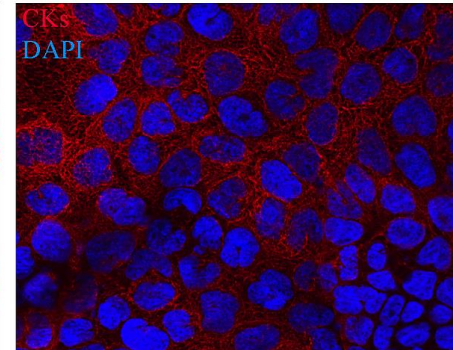
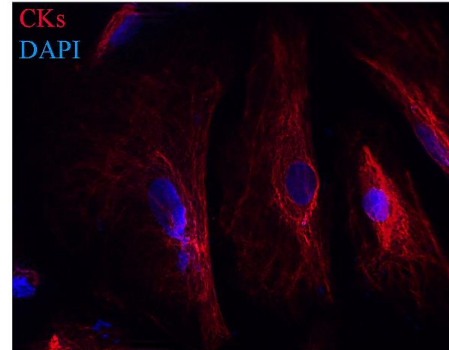
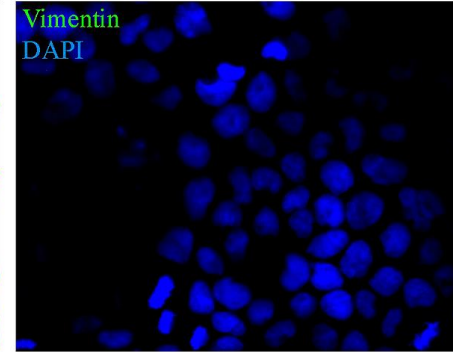
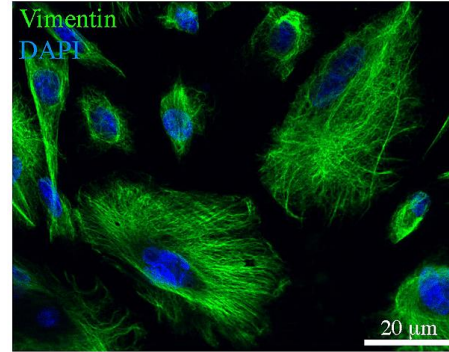


Nucleo



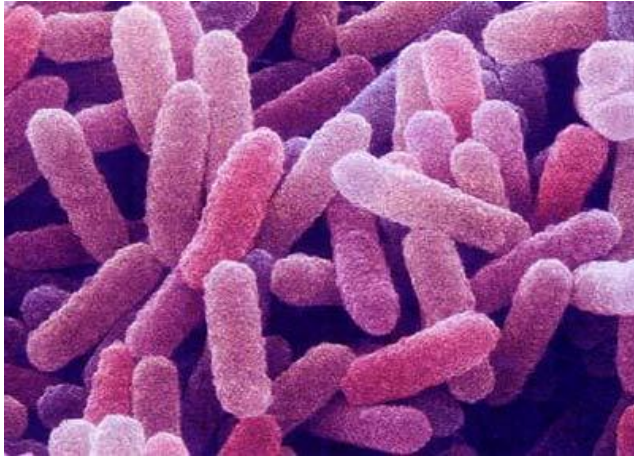
L'unità fondamentale di tutti gli esseri viventi è la **CELLULA**.

Condividono tre elementi:

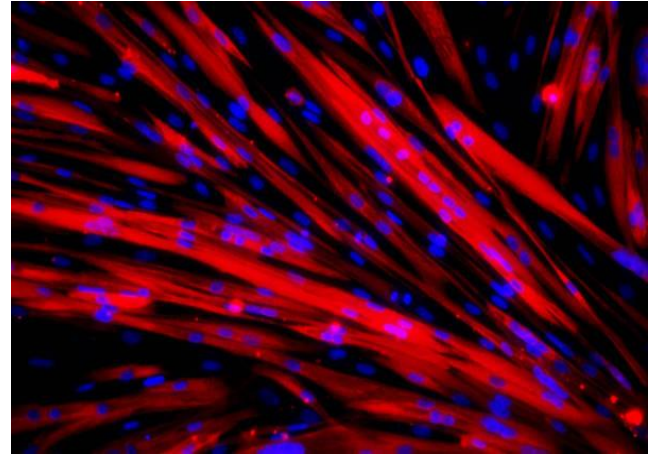
1. Citoplasma
2. Materiale Genetico
3. Membrana Plasmatica

Differiscono tra loro per:

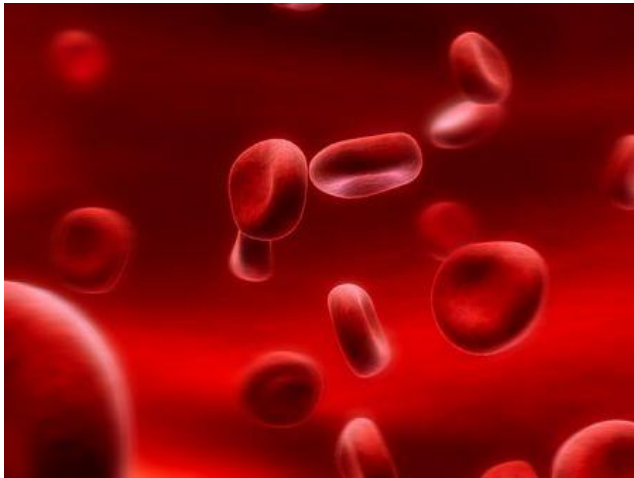
Forma
Dimensione
Funzione
Sostanze sintetizzate e/o utilizzate



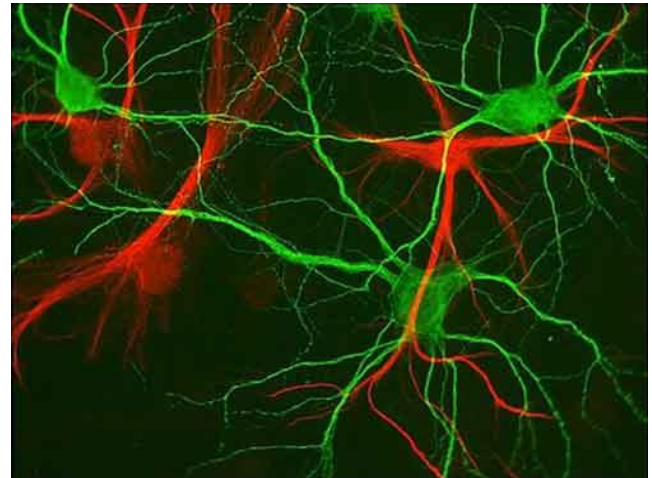
Batteri



Cellule muscolari



Globuli rossi



Neuroni

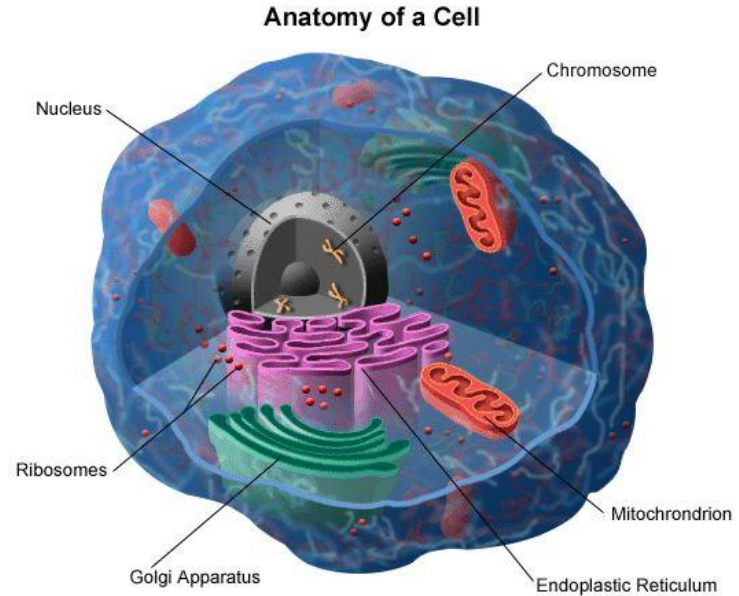
COMPONENTI COMUNI

MEMBRANA PLASMATICA (PLASMALEMMMA)

Struttura che circonda la cellula, racchiudendone il contenuto e definendo i confini. È composta da un doppio strato fosfolipidico e proteine, spessa 5-10 nm.

CITOPLASMA

Corpo cellulare contenente il nucleo e gli organuli.



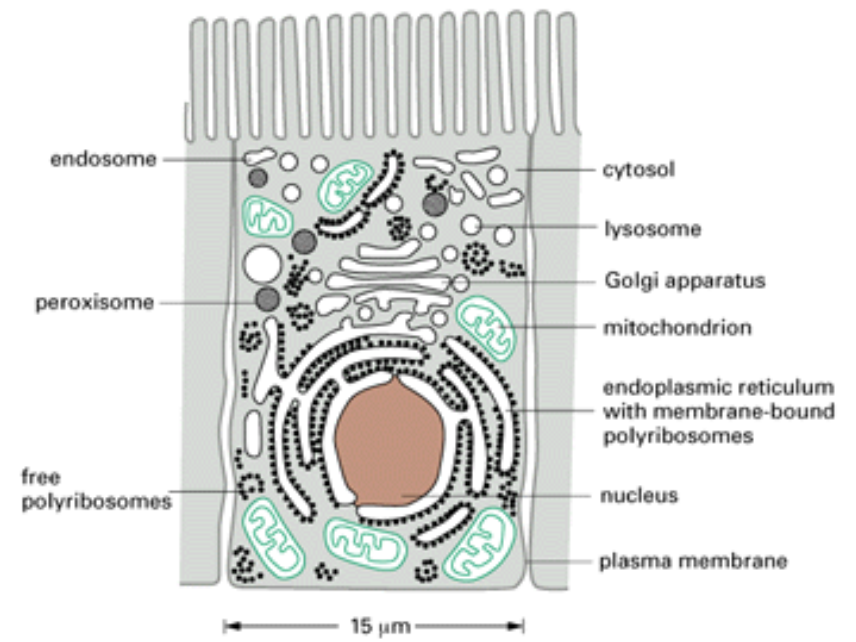
MATERIALE GENETICO

Nella cellula eucariote è contenuto nel **nucleo**.
Il suo interno è definito come **NUCLEOPLASMA**.

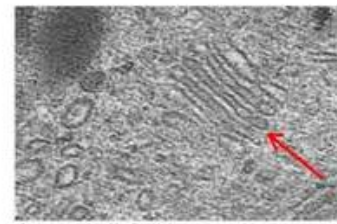
Nella cellula procariote non è presente il nucleo.
Unica molecola del DNA localizzata nel **NUCLEOIDE**.

La **COMPARTIMENTAZIONE** cellulare prevede strutture delimitate da membrane dentro le quali possono avvenire molti processi chimici in modo simultaneo ma indipendente.

Gli **ORGANULI** hanno funzioni e strutture specifiche.

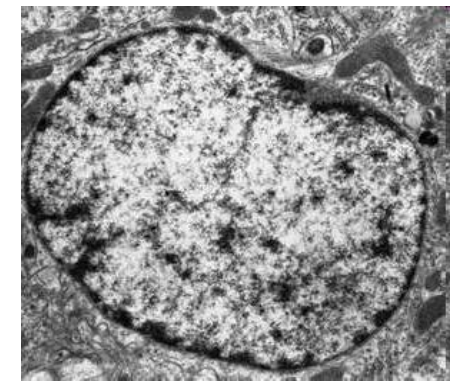


MITOCONDRIO



Apparato di Golgi. L'immagine mostra la tipica morfologia dell'apparato di Golgi in un'immagine di microscopia elettronica. La freccia indica le cisterne ovoidali delimitate da membrana.

GOLGI



NUCLEO

IL NUCLEO

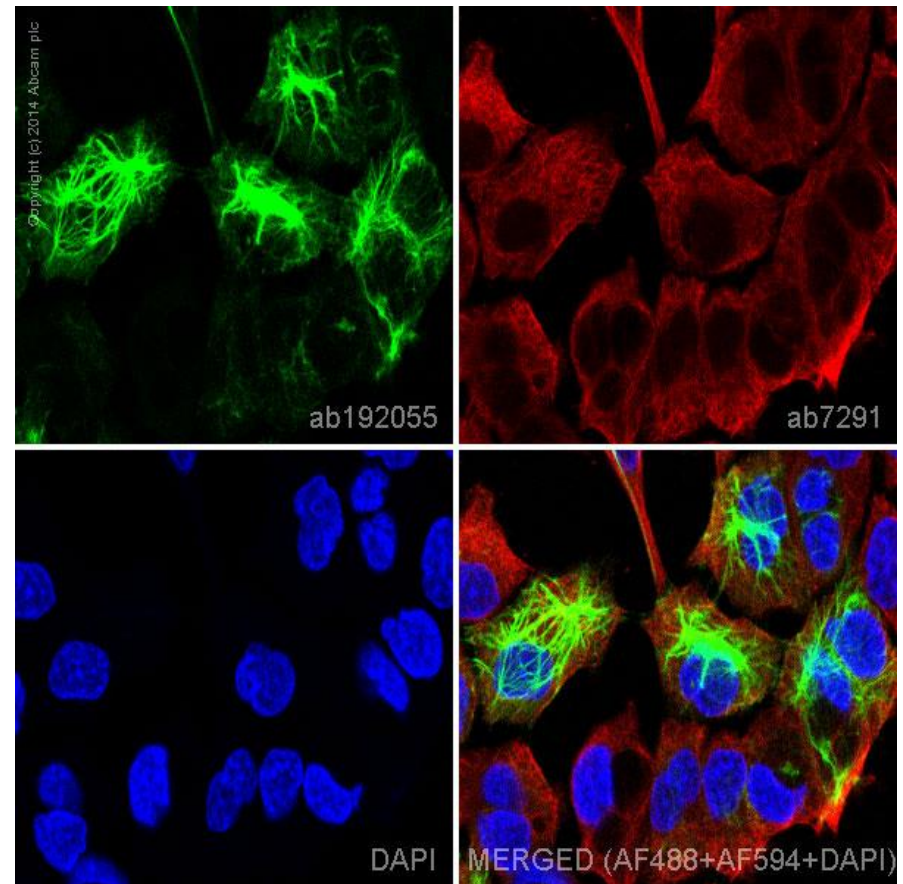
Dal latino ***Nucis*** = Nocciolo

1831: botanico Robert Brown

E' un organulo dotato di **membrana** contenente la maggior parte del **patrimonio genetico**

Sede di **meccanismi** indispensabili alla **riproduzione cellulare** e alla **sintesi proteica**

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



IL NUCLEO

Normalmente le cellule eucariote sono mononucleate.

CELLULE POLINUCLEATE:

- **Ciliati** → presenti più nuclei ma uno solo (*micronucleo*) garantisce l'ininterrotta continuità del genoma, mentre i *macronuclei* sono delle "copie di lavoro" il cui genoma non si replica con accuratezza
- **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**

IL NUCLEO

FORMA

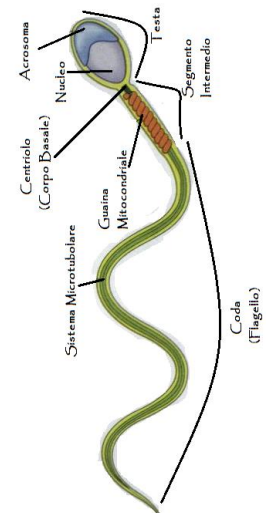
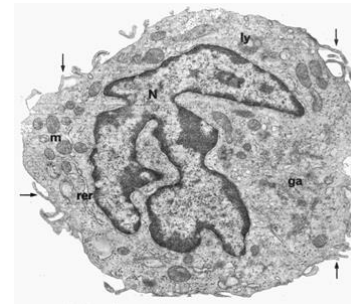
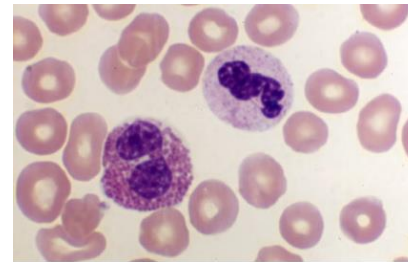
- Correlata con quella della cellula

- ✓ Sferico
- ✓ Ellittico
- ✓ Lobulato



- Talvolta completamente irregolare

- ✓ Leucociti polimorfonucleati
- ✓ Spermatozoi



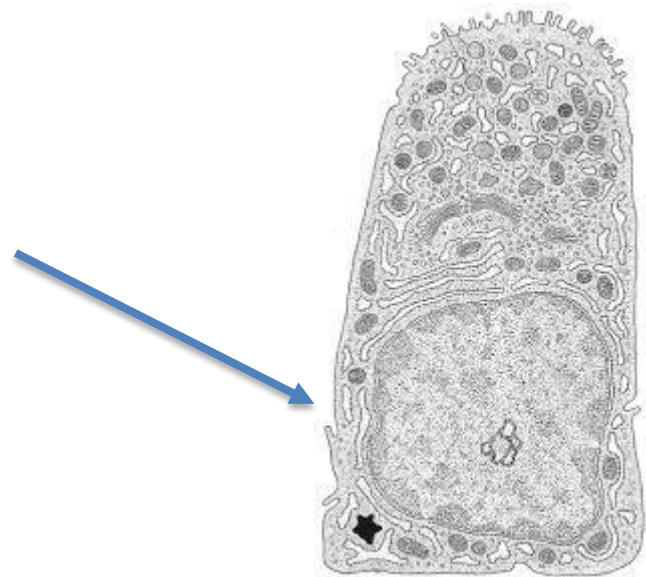
IL NUCLEO

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

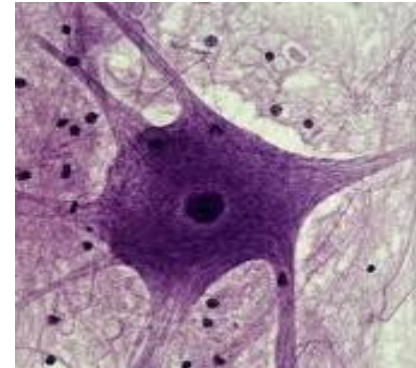


IL NUCLEO

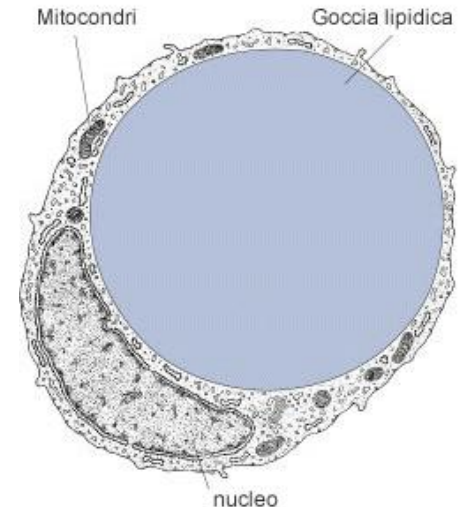
POSIZIONE

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'**epatocita** verso la periferia

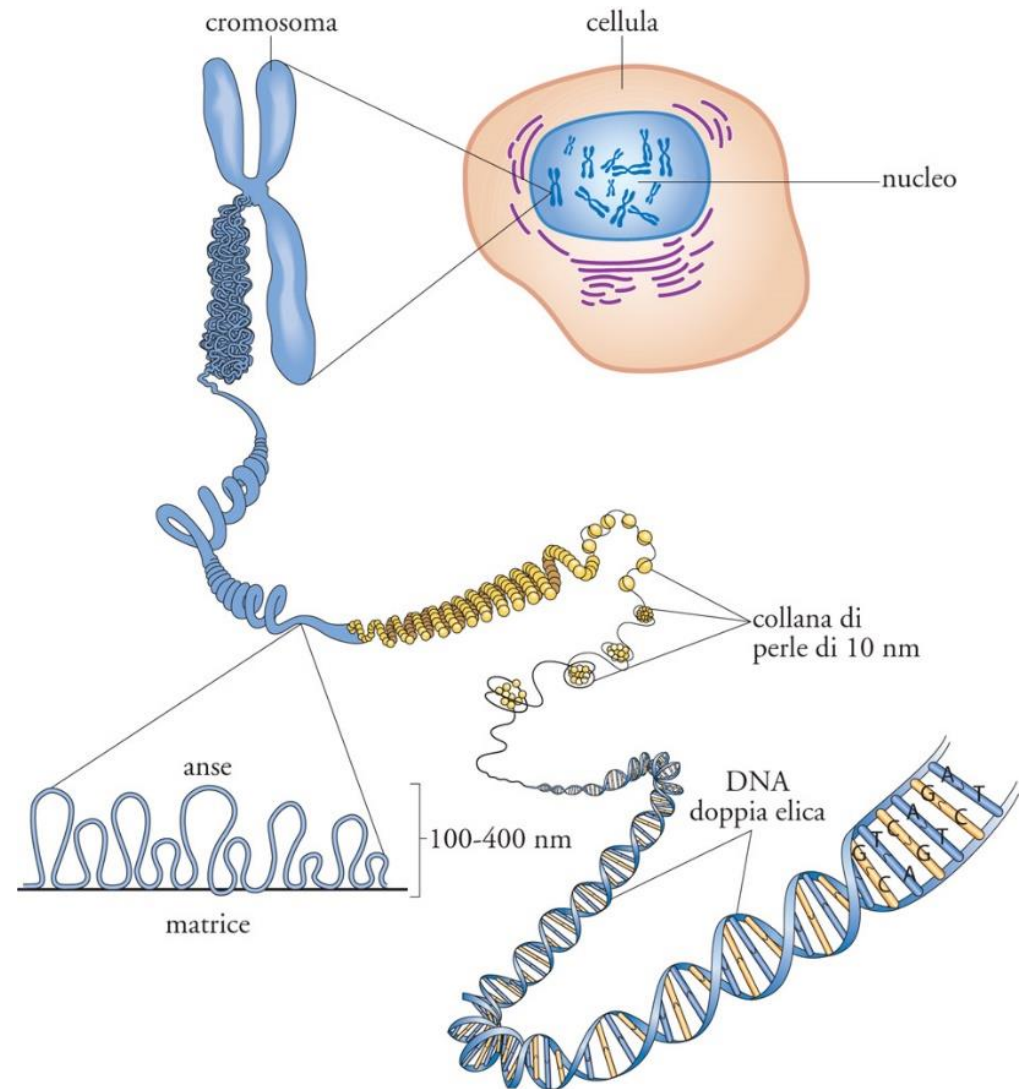


IL NUCLEO

Costituisce la sede dell'informazione genetica

Cromatina: DNA + proteine

La cromatina si ricompatta formando i cromosomi

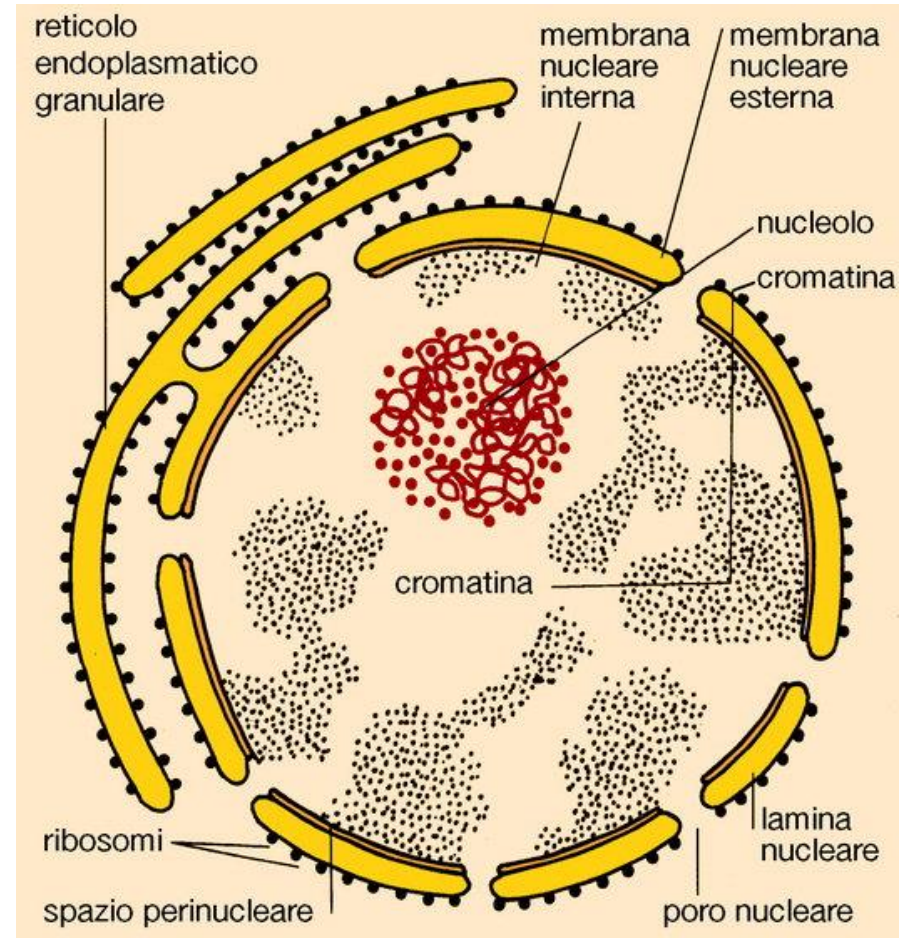


IL NUCLEO

Pool vario di molecole (proteine, enzimi, RNA) coinvolte nei processi di **duplicazione del DNA**, **sintesi di RNA** e loro **processamento**

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



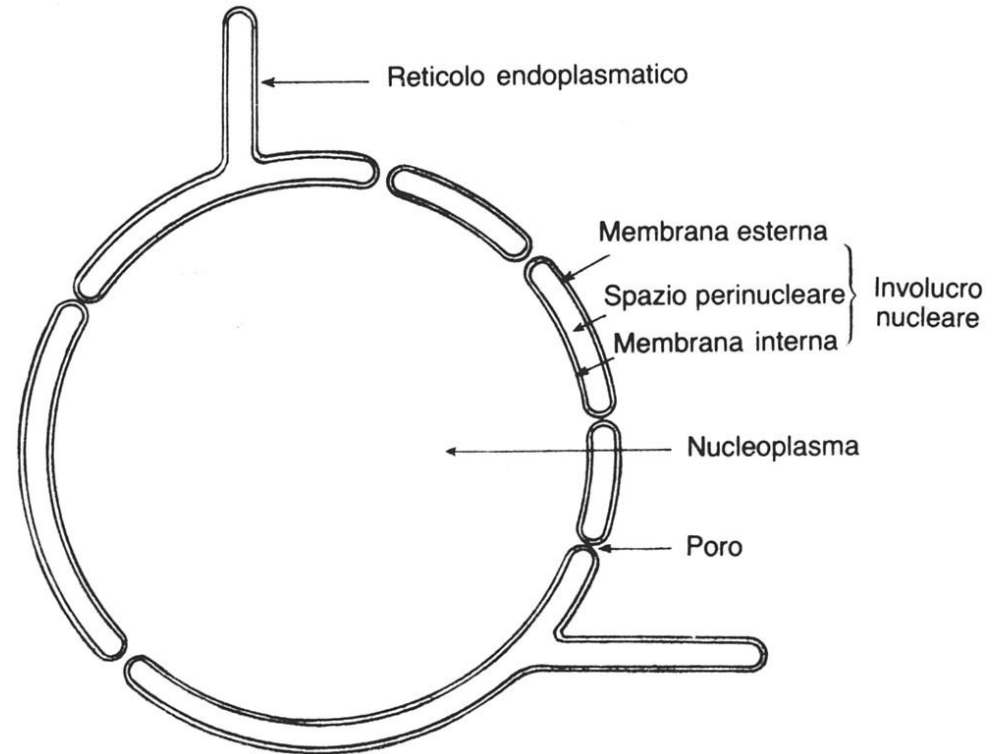
INVOLUCRO NUCLEARE

Doppia membrana che racchiude il
NUCLEOPLASMA

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

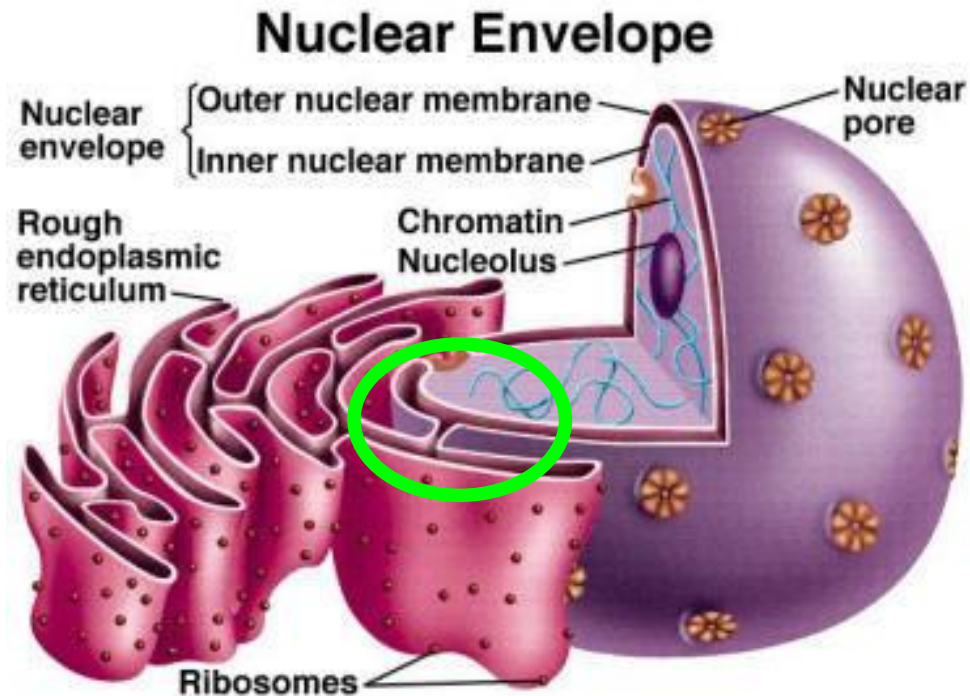
La *membrana esterna* è continua con
il sistema di membrane interno al
citoplasma (**RE**)

Involutro nucleare non è continuo →
PORI NUCLEARI



INVOLUCRO NUCLEARE

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



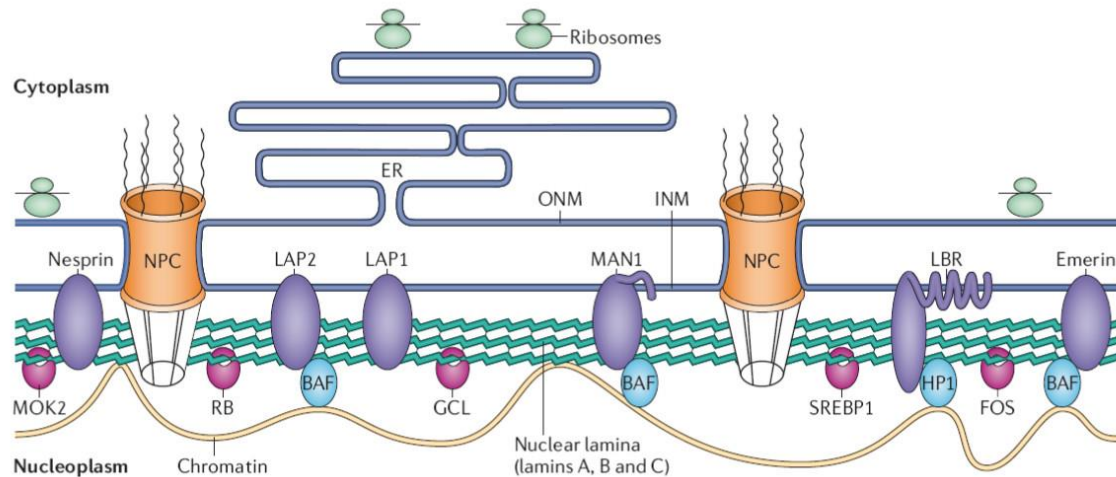
LAMINA NUCLEARE

La *superficie interna* dell'involucro nucleare delle cellule animali è legata mediante proteine integrali di membrana ad un sottile rete fibrillare chiamata **LAMINA NUCLEARE**.

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

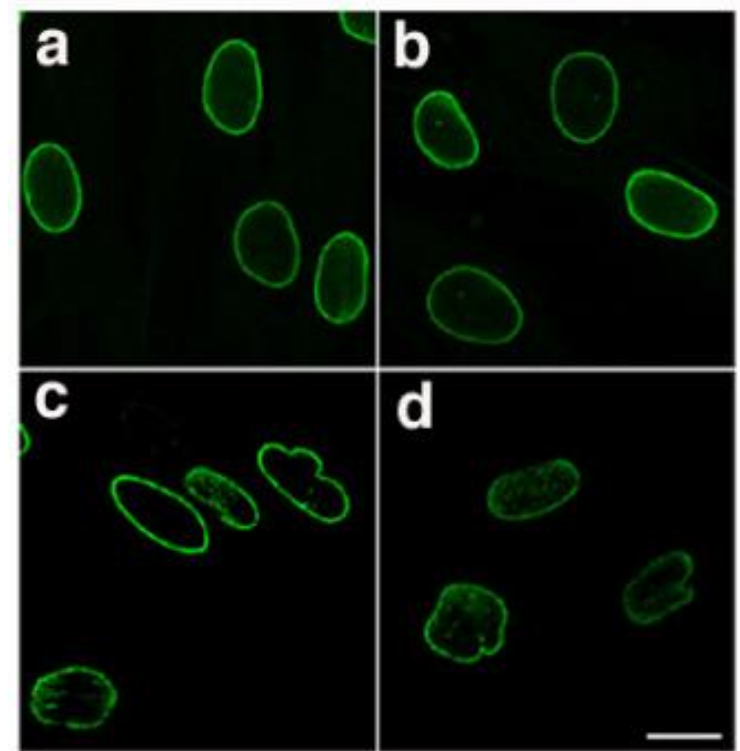
I filamenti della lamina nucleare hanno diametro di circa 10 nm.
Composti da polipeptidi chiamati **lamine**.



LAMINA NUCLEARE

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

- Rara forma di distrofia muscolare (EDMD2)
- Sindrome della progeria di Hutchinson-Gilford (HGPS)

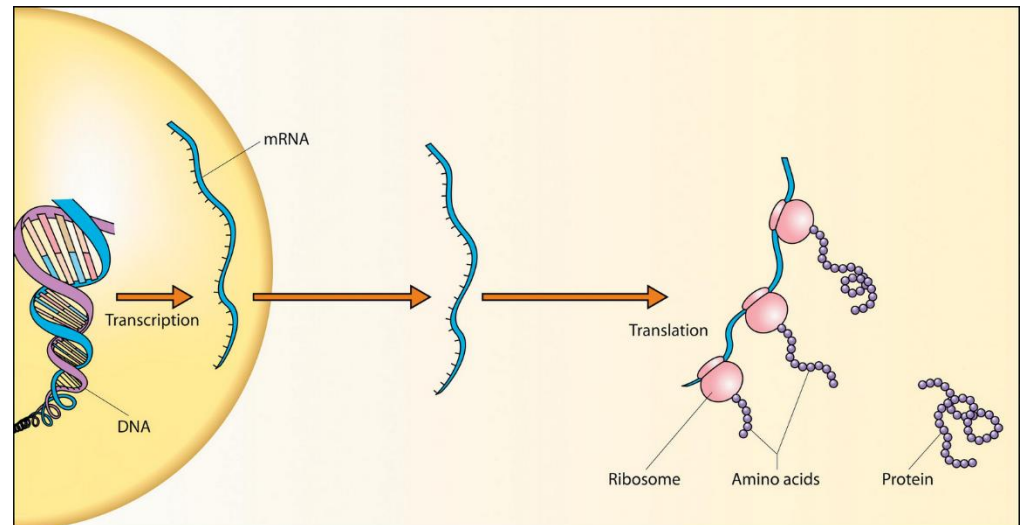
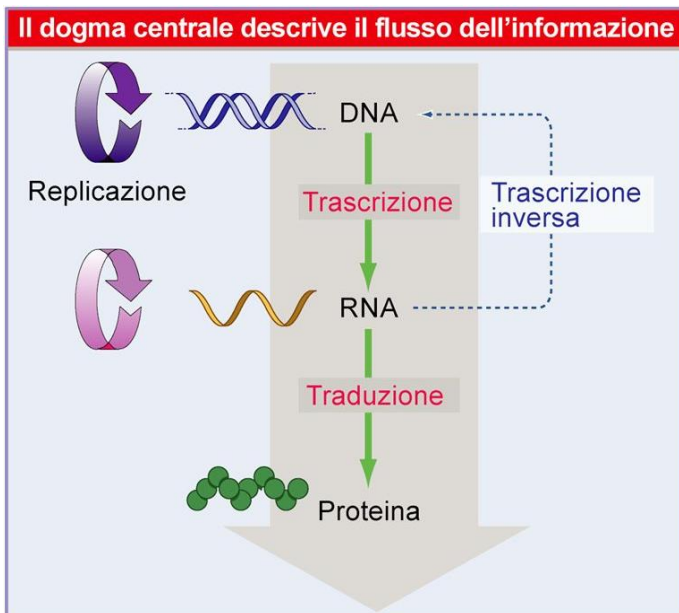


PORO NUCLEARE

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

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.

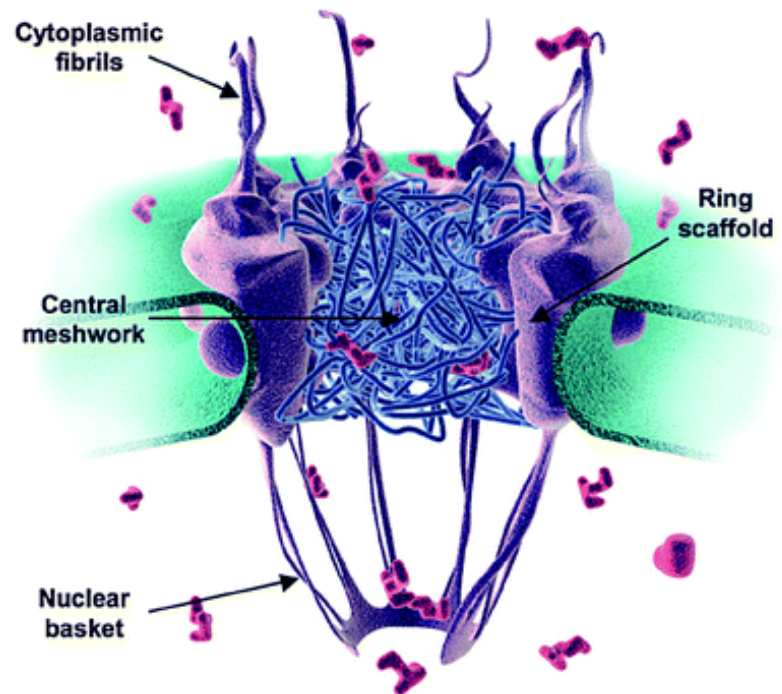
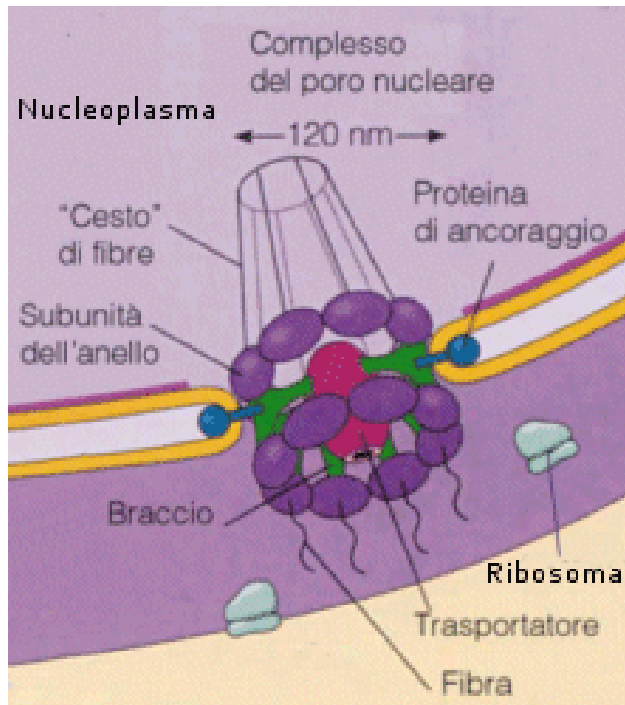


PORO NUCLEARE

Diametro 70-80 nm

In ciascun poro è presente una struttura organizzata e complessa, di origine proteica

COMPLESSO DEL PORO NUCLEARE (CPN)



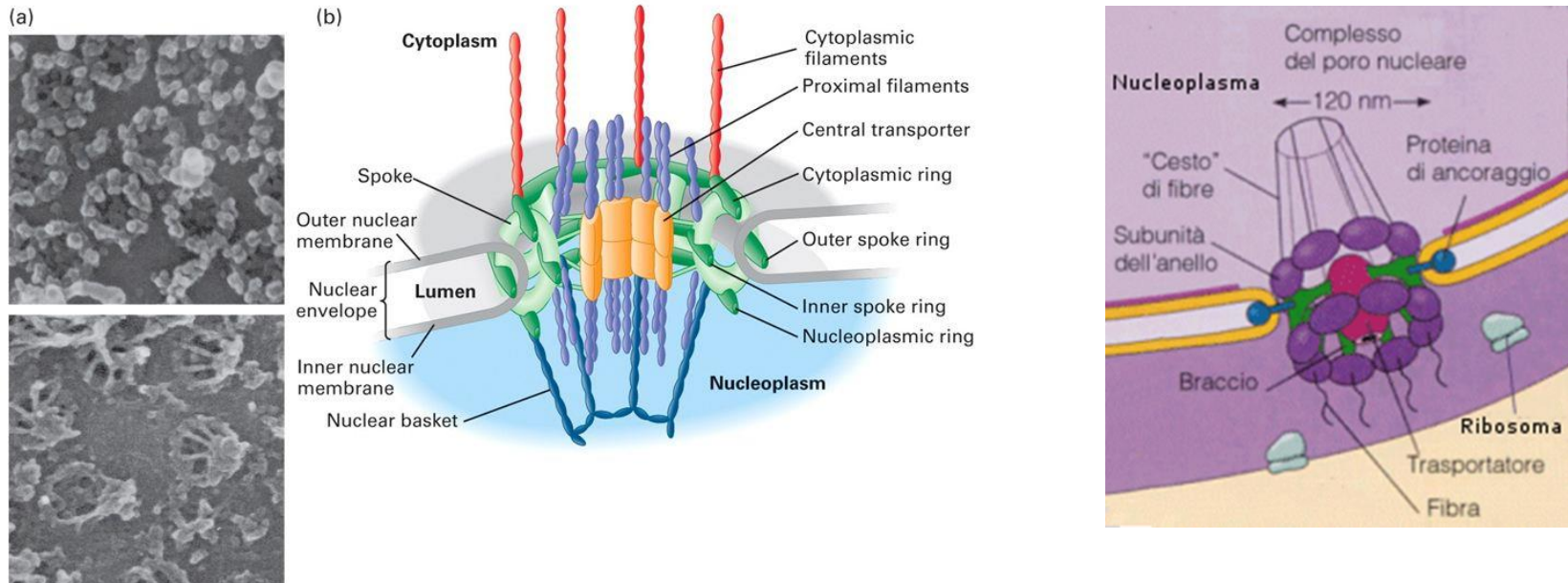
CPN

Organizzazione ottagonale → otto proteine alle due estremità del poro.

Dalle otto proteine partono dei raggi che si uniscono al **TRASPORTATORE**.

Otto fibre si estendono verso l'interno e formano un "**CESTO**" unite da un **anello fibroso**.

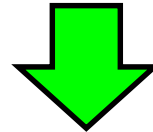
Otto fibre si estendono verso il citosol.



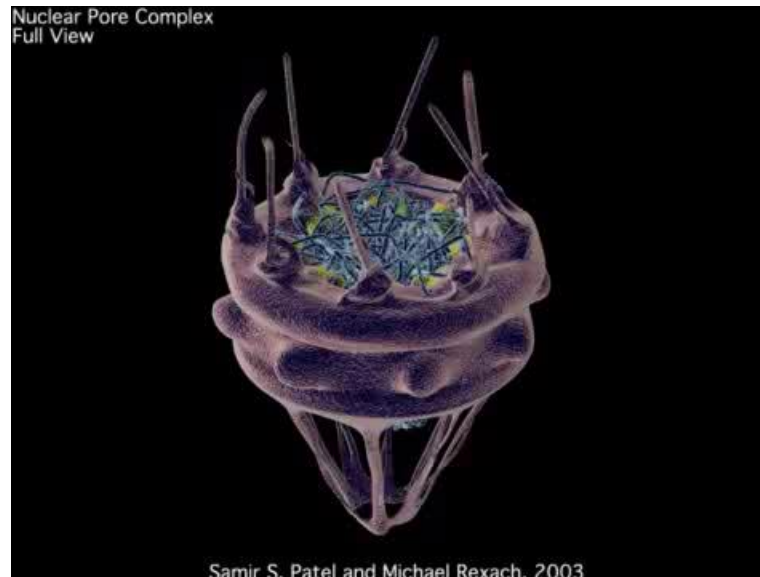
CPN

Non è una struttura statica, ma le proteine (nucleoporine) vengono sostituite da nuove copie in pochi secondi.

Nucleoplasmina → contiene un breve segmento aavicino all'estremità C-terminale che agisce da **SEGNALE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE (SLN)**



Consente ad una proteina di passare attraverso i pori nucleari ed entrare nel nucleo.

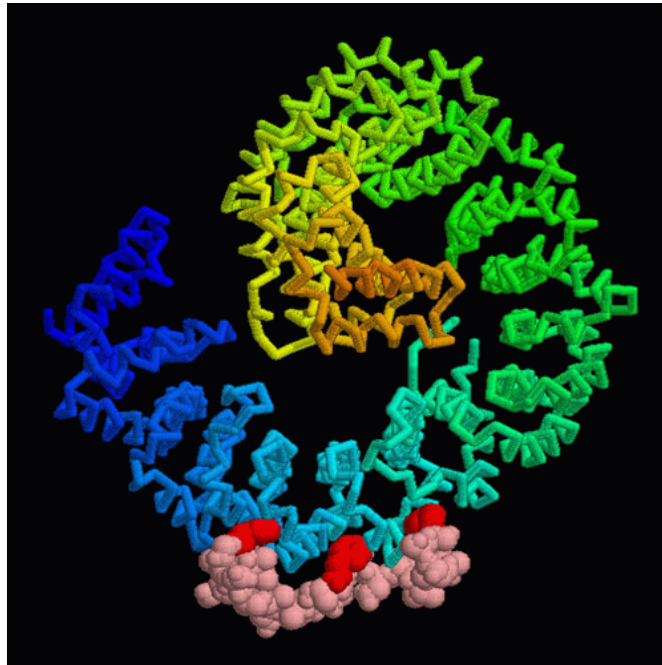


TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE

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 ulteriormente (fino a 26 nm) per permetterne il passaggio.

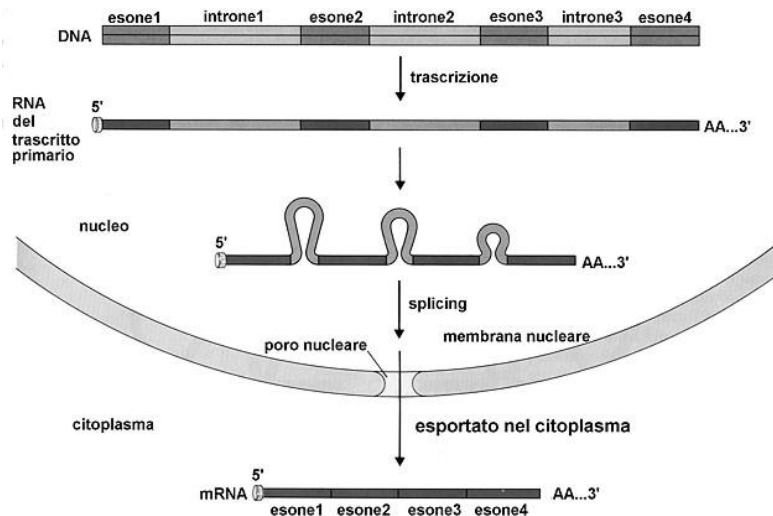
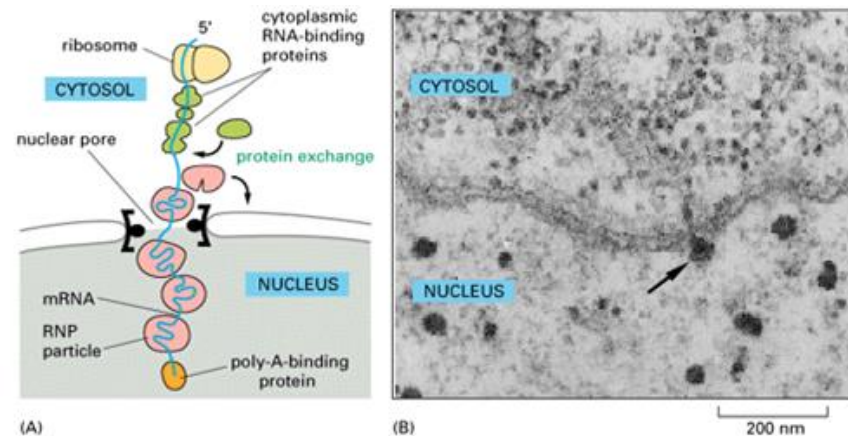


TRASPORTO di RNA

La maggior parte del traffico nucleare è rappresentato da molecole di RNA (mRNA – rRNA – tRNA – miRNA)

RNA viene sintetizzato nel nucleo ed esce come **ribinucleoproteina (RNP)**

Recettori che guidano i complessi RNP attraverso i pori nucleari.



Pre-mRNA → mRNA maturo

Solo mRNA maturi possono uscire dal nucleo.

CROMOSOMI E CROMATINA

Cosa sono gli acidi nucleici?

Polimeri a funzione di “*stampo*” per l’assemblaggio delle proteine.

Ne esistono due tipi:

DNA

Acido DeossiriboNucleico

Materiale genetico ereditabile, costituito da geni codificanti la sequenza di amminoacidi per la composizione delle proteine.

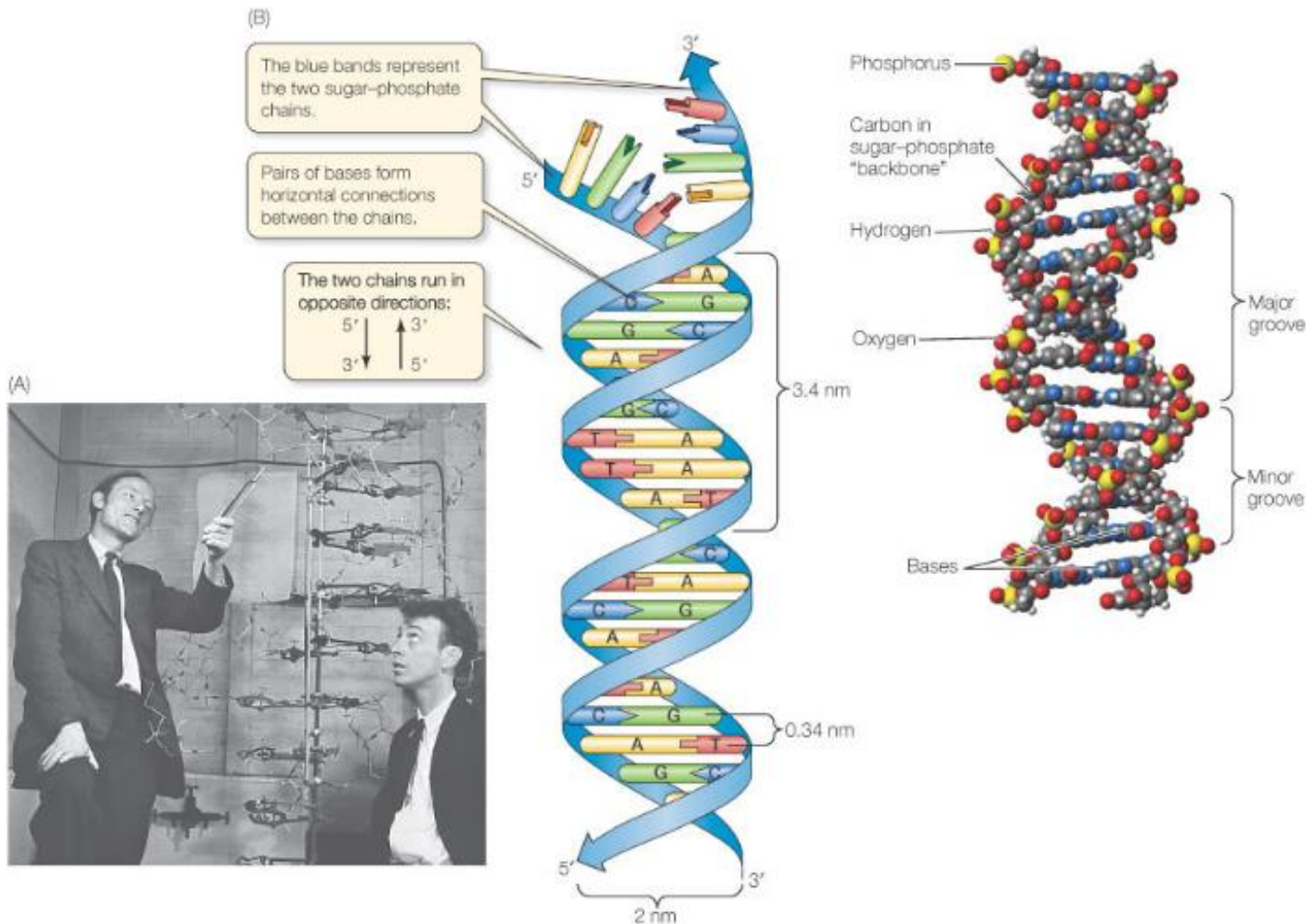
RNA

Acido RiboNucleico

Materiale genetico derivante dalla trascrizione di informazioni del DNA; la traduzione determina la struttura primaria della proteina.

CROMOSOMI E CROMATINA

La sua **struttura** è stata determinata da **Watson e Crick** nel 1953.



CROMOSOMI E CROMATINA

NUCLEOTIDI

Componenti fondamentali degli acidi nucleici.

Costituiti da 3 parti:

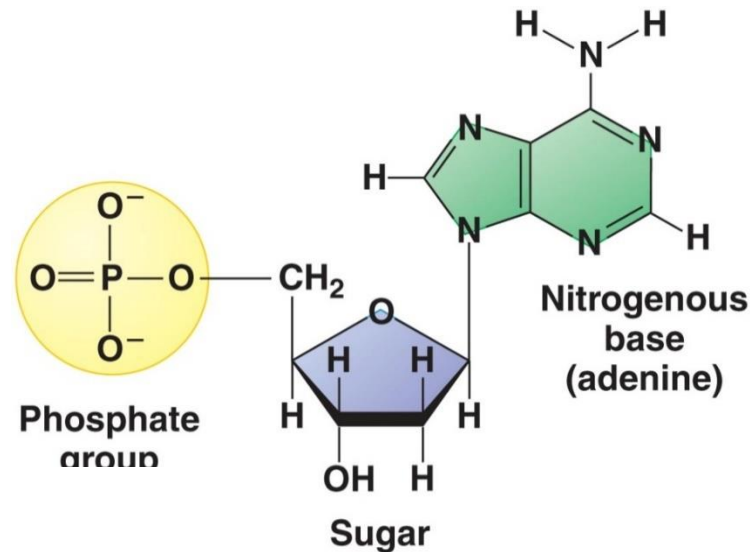
1. Uno **zucchero** a 5 atomi di C: nel DNA è il deossiribosio; nell'RNA è il ribosio.
2. Uno/due/tre **gruppi fosfato** (PO_4^{2-}).
3. Una **base azotata**

→ Le basi azotate per il DNA sono 4:
Adenina Timina Citosina Guanina.

→ Per l'RNA al posto della Timina c'è l'**Uracile**.

CROMOSOMI E CROMATINA

NUCLEOTIDI



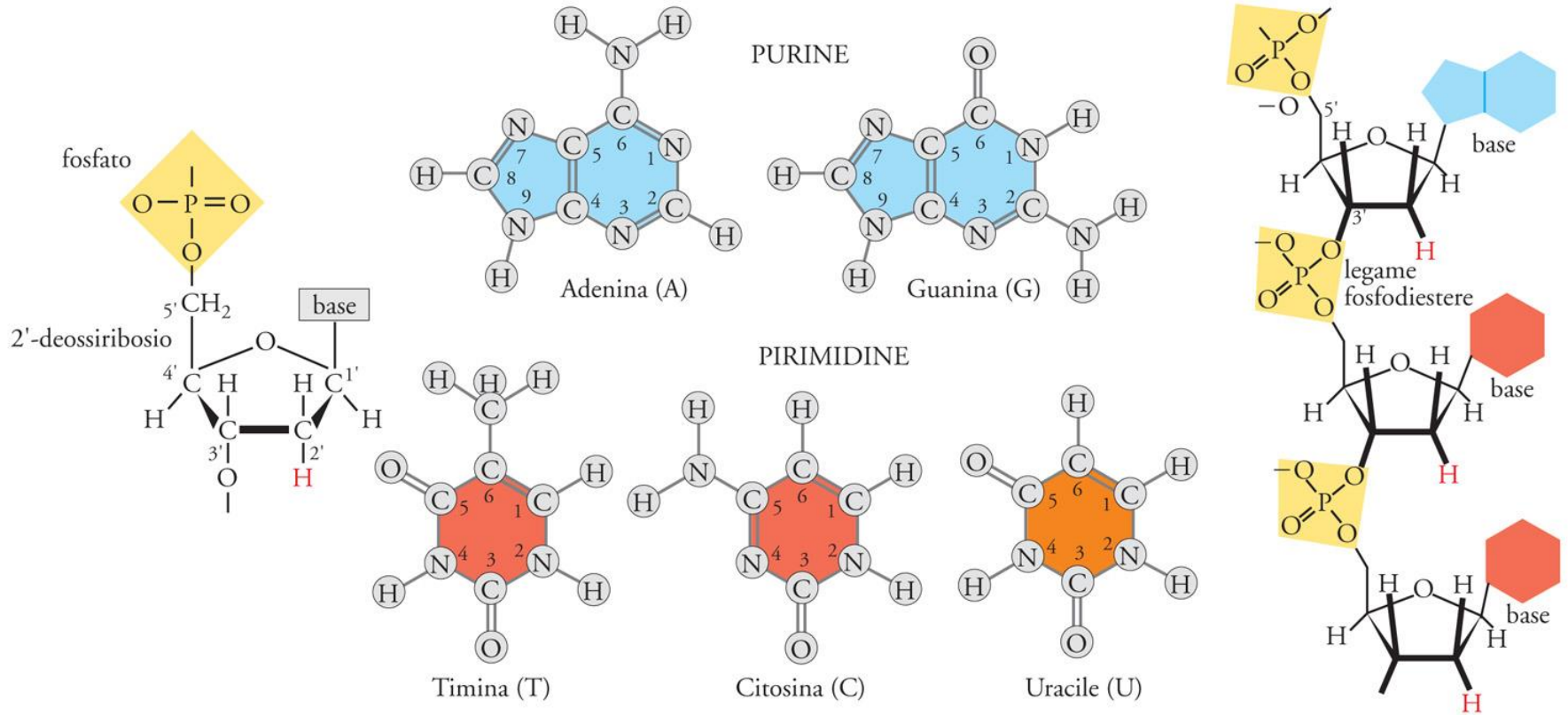
Un gruppo fosfato → Nucleotide Monofosfato

Due gruppi fosfato → Nucleotide Difosfato

Tre gruppi fosfato → Nucleotide Trifosfato

CROMOSOMI E CROMATINA

BASI AZotate



CROMOSOMI E CROMATINA

- L'**RNA** è costituito da un unico filamento polinucleotidico.
- Il **DNA** è una doppia elica, nella quale i due polinucleotidi si avvolgono a spirale uno sull'altro
→ Legami a idrogeno

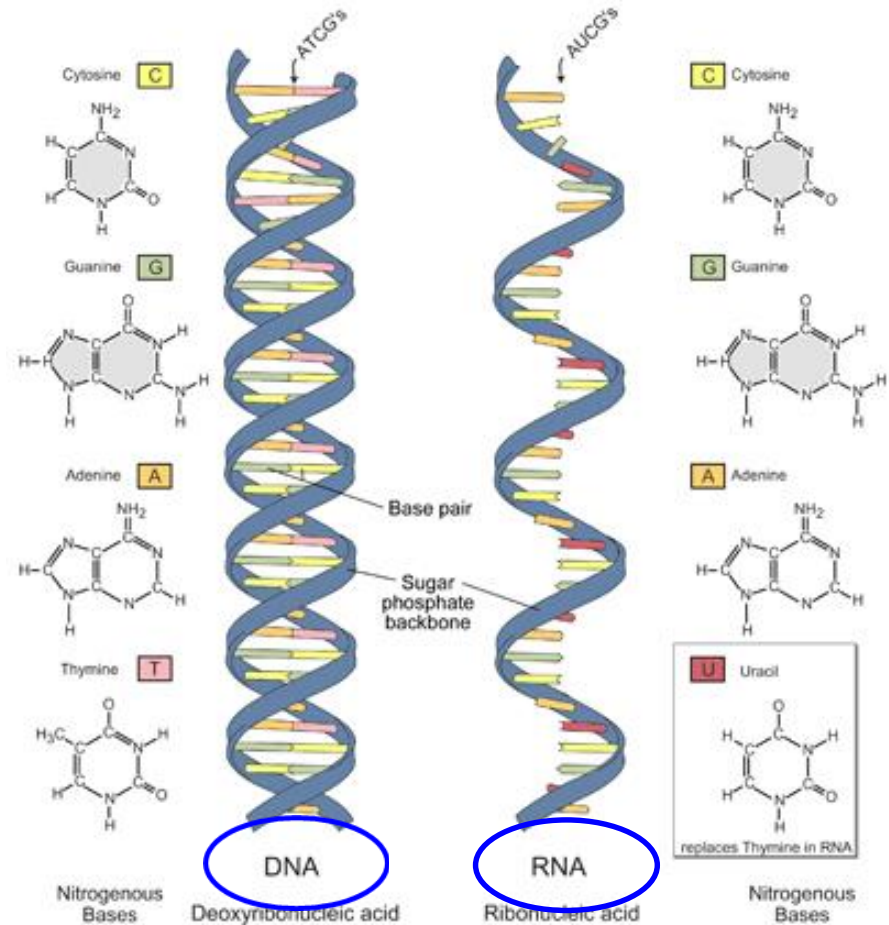
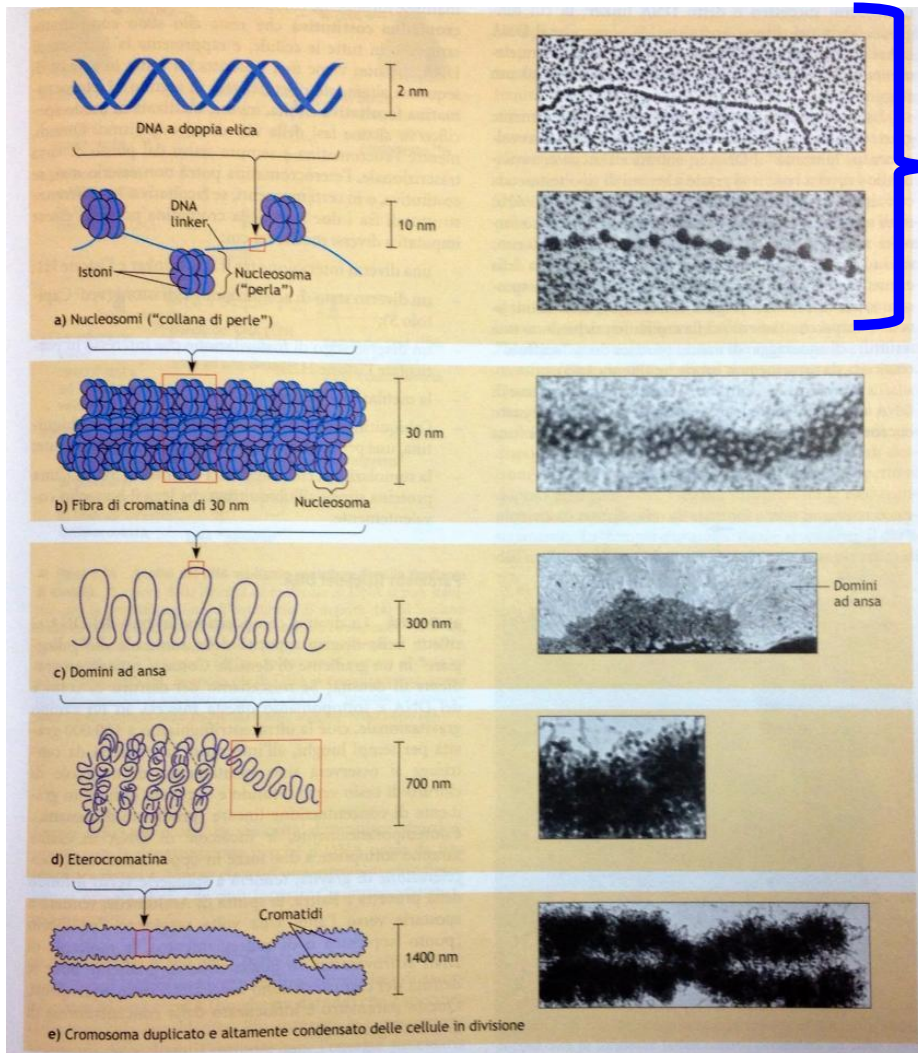


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

CROMOSOMI E CROMATINA

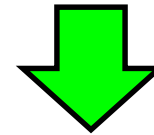


6,4 miliardi coppie di basi

46 cromosomi (corredo diploide)

Ogni cromosoma contiene una molecola di DNA

Il DNA all'interno del nucleo è *superavvolto*



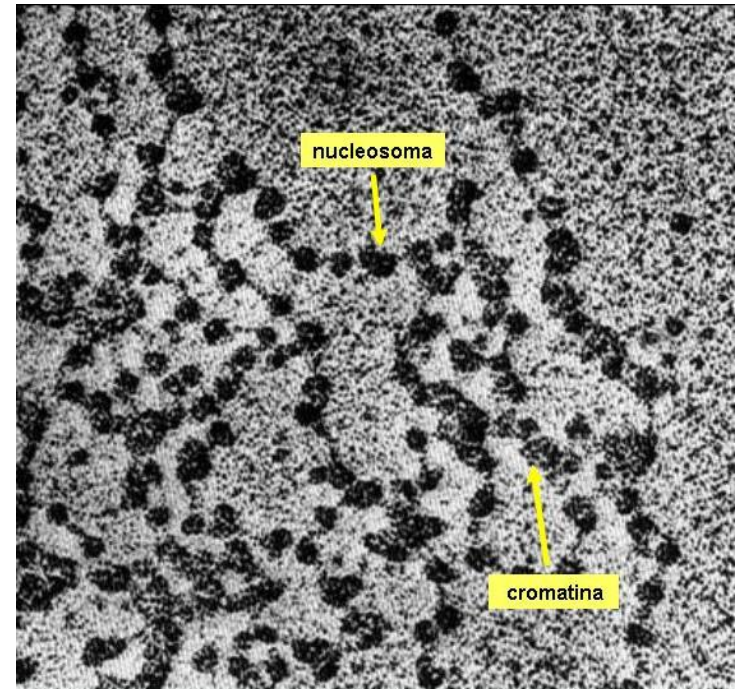
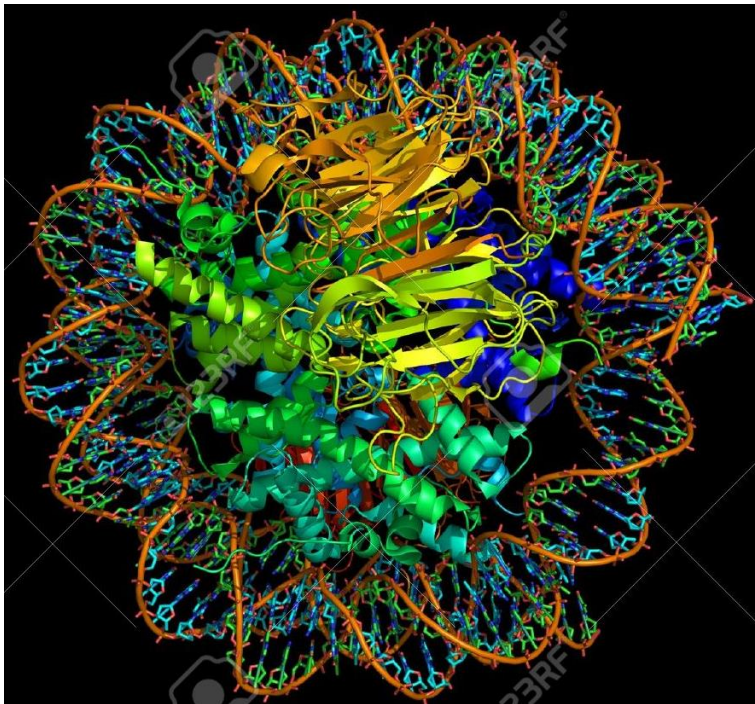
Primo livello di organizzazione dei cromosomi → **NUCLEOSOMI**

CROMOSOMI E CROMATINA

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

DNA + proteine = cromatina

Tale organizzazione è ben visibile nel cromosoma condensato.



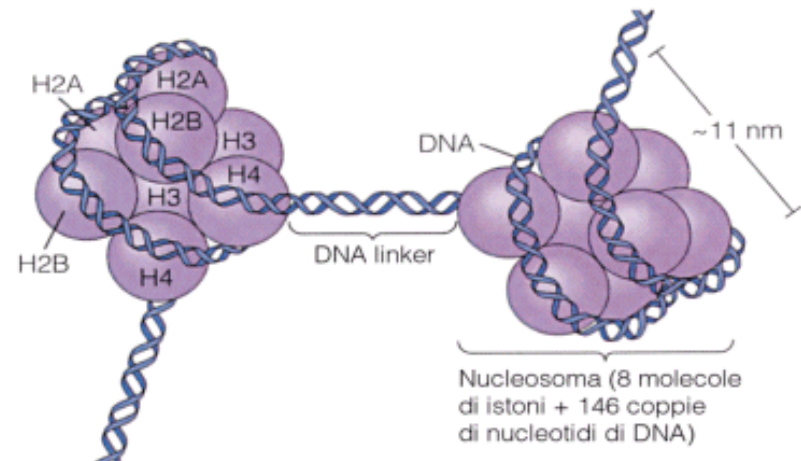
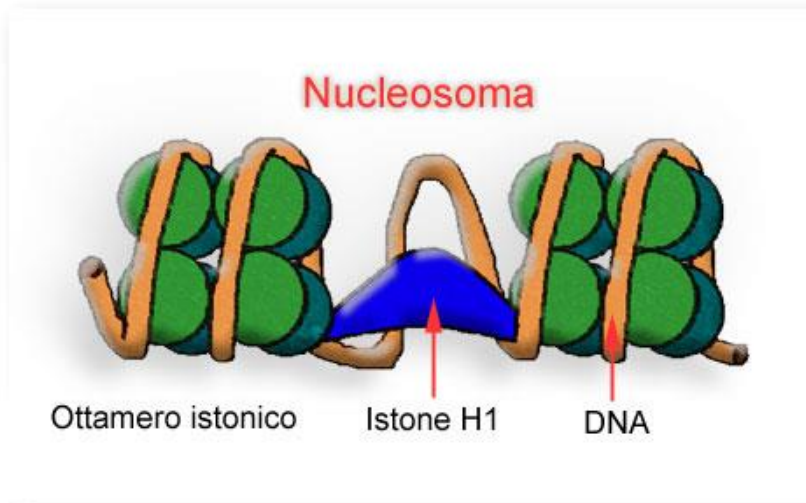
CROMOSOMI E CROMATINA

ISTONI

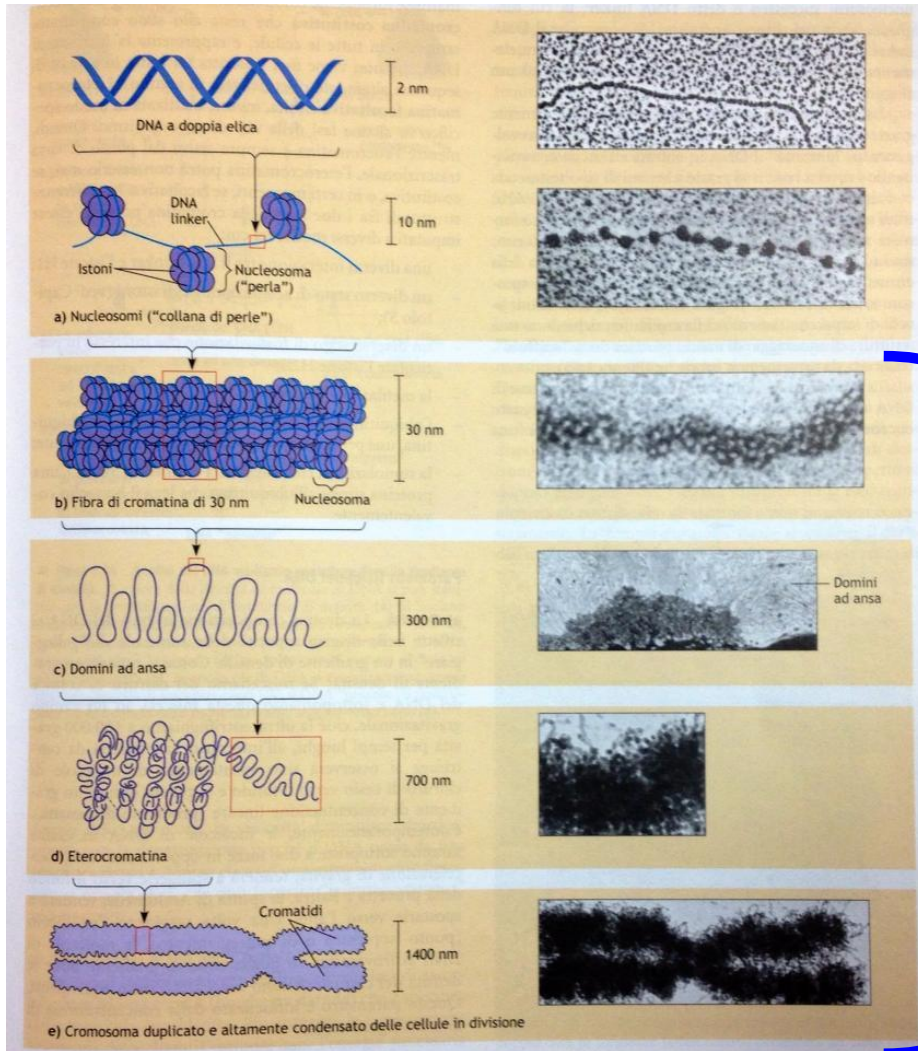
Oggi sappiamo che ciascun nucleosoma contiene una particella centrale (**CORE**) formata da 146 coppie di basi di DNA superavvolto che gira per quasi due volte intorno ad un complesso a forma di disco formato da otto **ISTONI**.

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

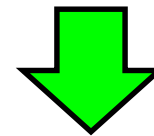
L'istone **H1** è posizionato fuori dal core (**ISTONE DI CONNESSIONE**)
→ lega il DNA di connessione (*DNA-linker*) che unisce due cori.



CROMOSOMI E CROMATINA



Livelli superiori di organizzazione della cromatina



Fibra di cromatina di 30 nm

Domini ad ansa

Eterocromatina

Cromosoma

CROMOSOMI E CROMATINA



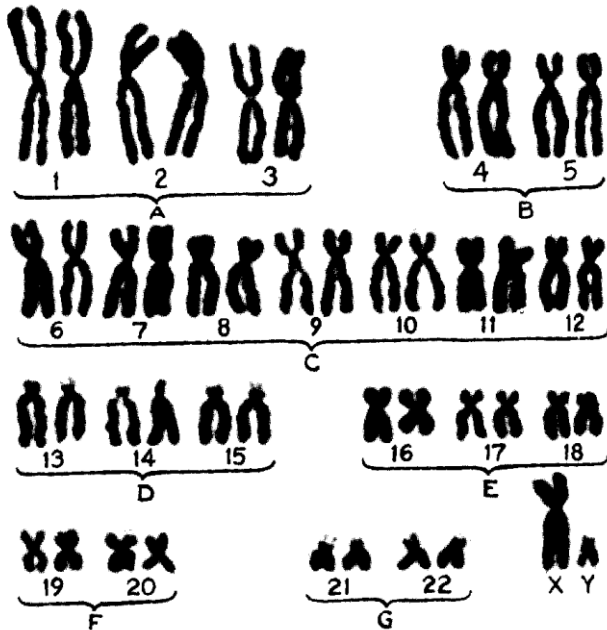
www.dnalc.org

CROMOSOMI E CROMATINA

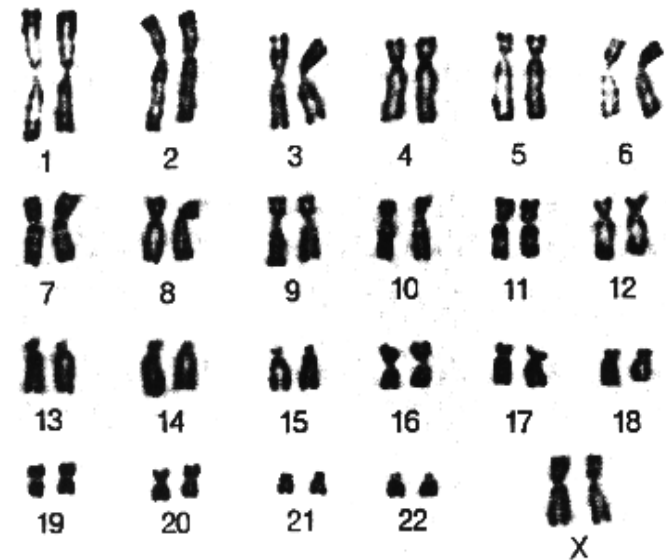
CARIOTIPO: corredo cromosomico caratteristico di ogni specie. E' definito dalle dimensioni, dalla forma e dal numero di cromosomi presenti nella cellula.

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:

44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi

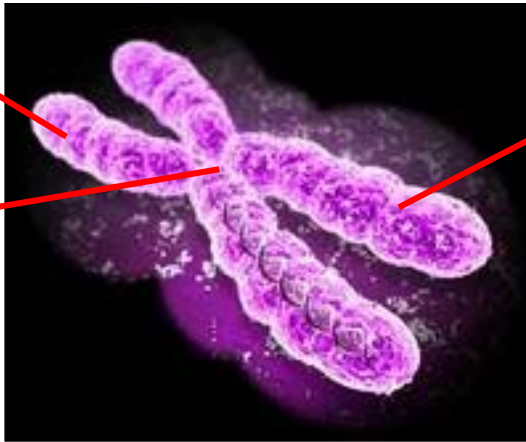
2 cromosomi sessuali

CROMOSOMI E CROMATINA

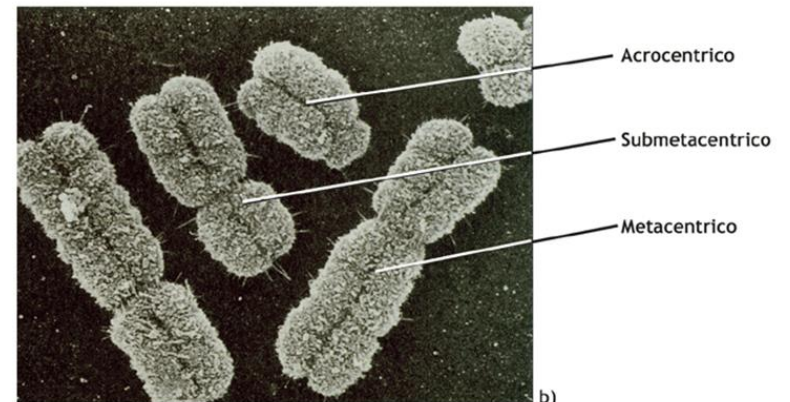
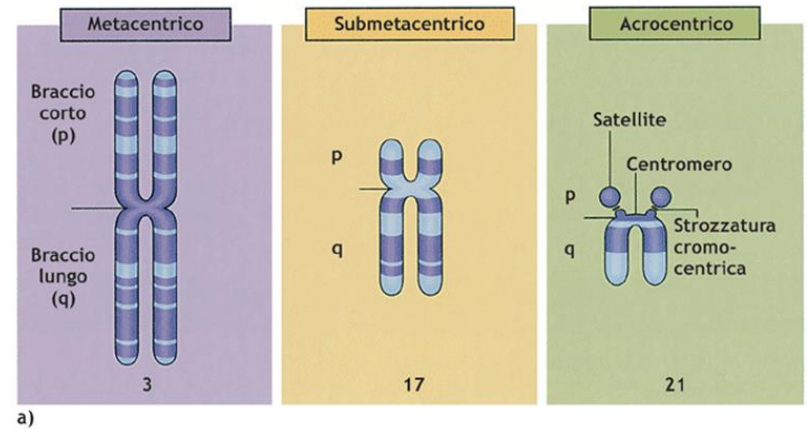
CROMOSOMA

cromatidio

centromero

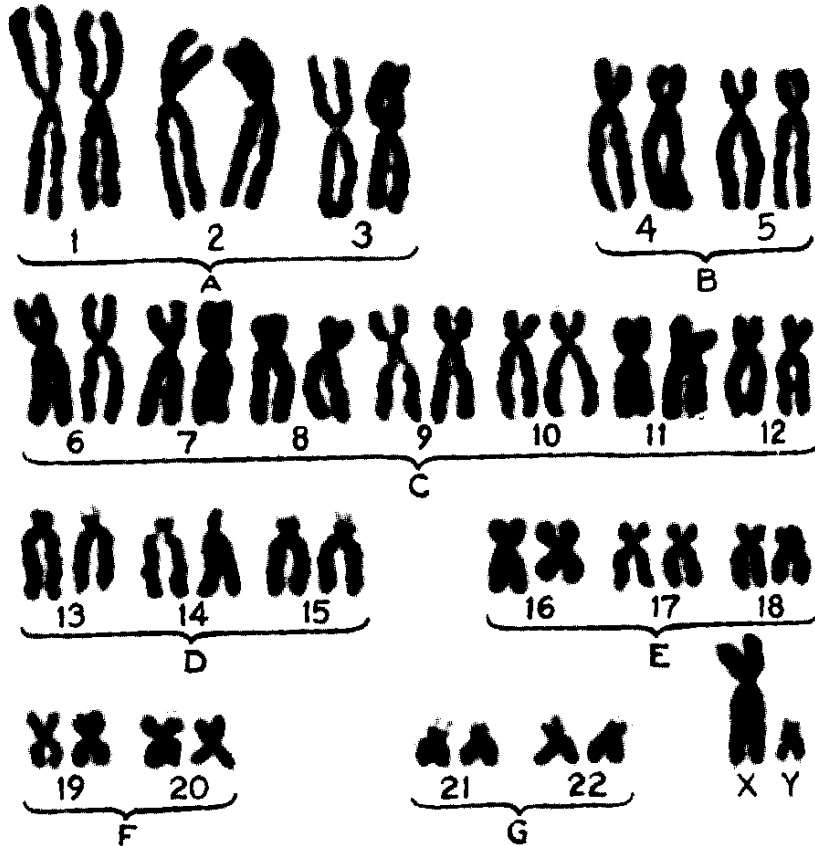


cromatidio



■ **Figura 10.49** Classificazione generale dei cromosomi basata sulla posizione del centromero. (a) Rappresentazione schematica dei tre tipi di cromosoma; (b) immagine microscopica di una piastra metafase che mostra gli stessi tipi di cromosomi.

CROMOSOMI E CROMATINA



Gruppo	Numerazione	Caratteristiche distintive
A	da 1 a 3	Grandi metacentrici
B	4 e 5	Grandi submetacentrici
C	da 6 a 12 più l'X	Medi submetacentrici
D	da 13 a 15	grandi acrocentrici
E	da 16 a 18	corti submetacentrici, più piccoli del gruppo C
F	19 e 20	corti metacentrici
G	21 e 22 più Y	corti acrocentrici

NUCLEOLO

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

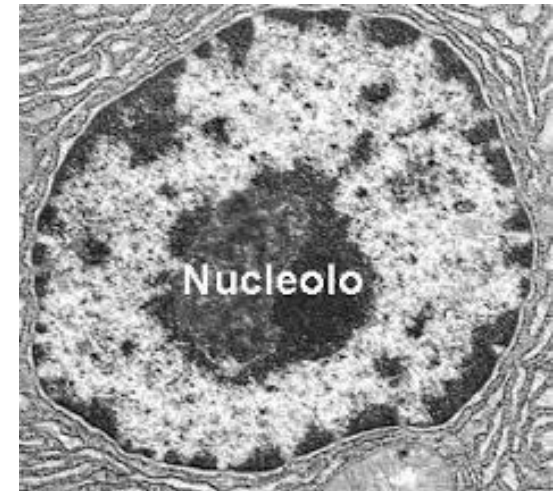
E' una regione densa di materiale genetico e proteico

Al microscopio ottico → - granulo rotondeggiante
- non delimitato da membrana
- circondato da cromatina condensata

È costituito da → - tratti di DNA che codificano per l'rRNA
- filamenti di rRNA nascenti
- proteine.

Il nucleolo è → presente durante le fasi **G1**, **S** e **G2** del ciclo cellulare
scompare durante la **mitosi**
ricompare quando la cellula ha completato la divisione cellulare e riprende la sua attività di sintesi

Il nucleolo è tenuto insieme da una struttura proteica chiamata matrice nucleare



A microscopic view of plant cells, likely onion skin cells, showing their characteristic rectangular shape and overlapping structure. The cells are stained with a light blue or cyan dye, making their cell walls and internal structures visible. Several large, dark brown, oval-shaped structures, possibly nuclei or other organelles, are scattered throughout the field of view. The background is black, which makes the stained cells stand out prominently.

CICLO CELLULARE

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 la determinazione, 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**.

Negli eucarioti: - cellule somatiche si dividono per mitosi
- cellule della linea germinale si dividono per meiosi

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.

Meiosi → il patrimonio genetico risulta dimezzato, da diploide ($2n$) ad aploide (n).
Inoltre attraverso processi di ricombinazione omologa aumenta la variabilità del patrimonio genetico

CICLO CELLULARE

Il **ciclo cellulare** ha come compito fondamentale la duplicazione del DNA contenuto nei cromosomi e la distribuzione precisa delle due copie in due cellule figlie identiche.

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**.

La durata del ciclo cellulare varia da un tipo cellulare all'altro:

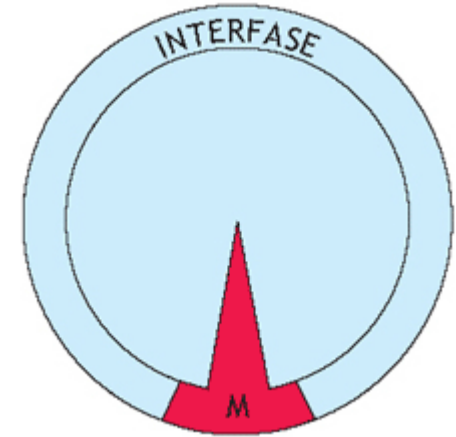
- lievito unicellulare si divide ogni 90-120 minuti
- cellula epatica di mammifero si divide non più di una volta all'anno.

Mediamente si dice che una cellula di mammifero si divide ogni 24 ore, quindi ha un ciclo cellulare che dura 24 ore.

CICLO CELLULARE

Durante il ciclo cellulare la cellula svolge molte attività:

- si muove
- cresce in dimensioni
- produce ATP
- sintetizza lipidi e proteine
- ripara il DNA
- Ecc..



Tre eventi sono fondamentali affinché la cellula possa dividersi:

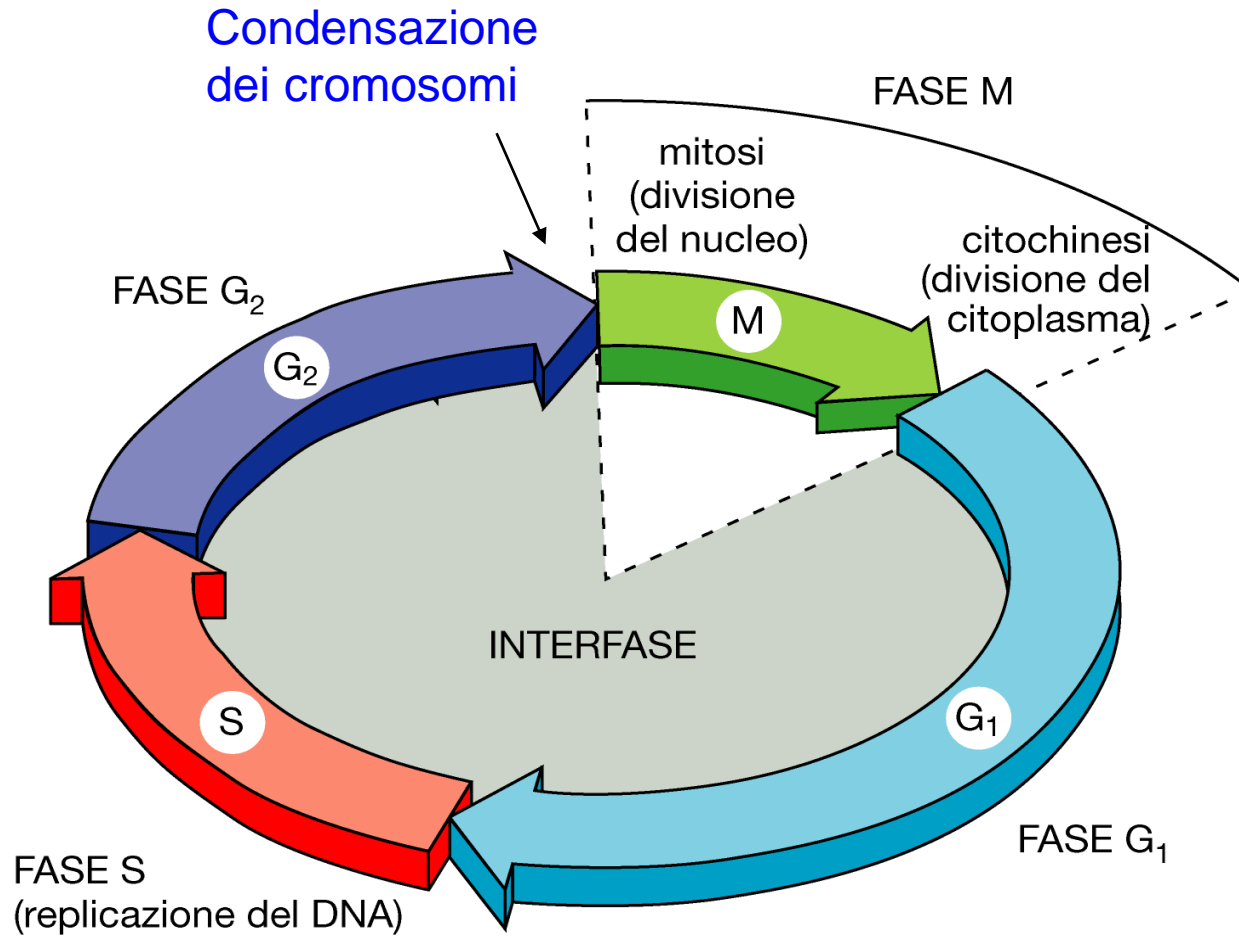
- Replicazione il DNA
- Preparazione alla divisione, modificando gli organuli ed il genoma
- Separazione fisicamente in due parti il citoplasma (**CITODIERESI**)

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

CICLO CELLULARE



S= sintesi

G= gap o intervallo

CICLO CELLULARE

Interfase è divisa in:

- ✓ **Fase G₁** (9-11 ore) è l'intervallo compreso tra il completamento della fase M e l'inizio della fase S.
- ✓ **Fase S** (8-10 ore) dove avviene la **duplicazione del DNA**.
- ✓ **Fase G₂** (4 ore) è l'intervallo tra la fine della fase S e l'inizio della fase M.

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

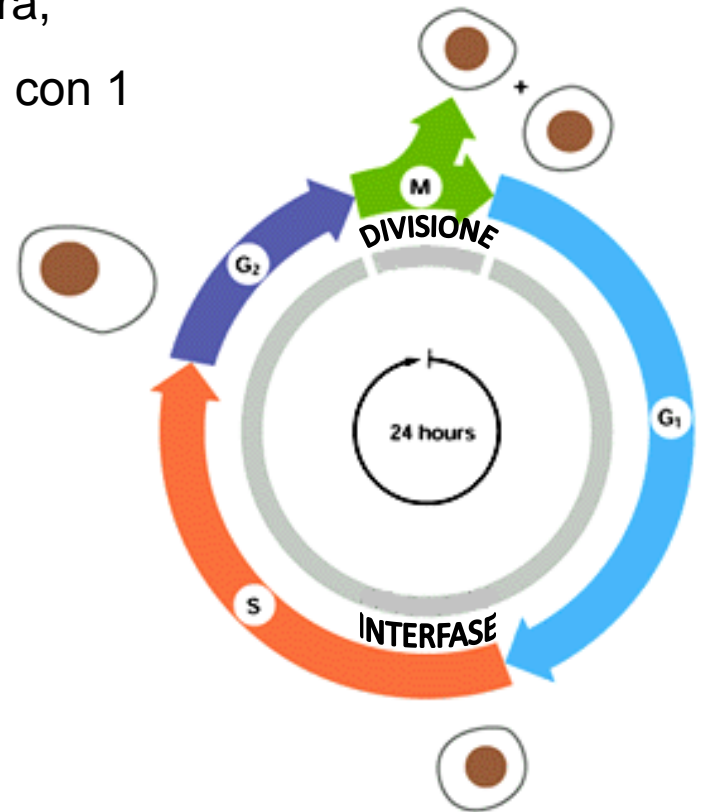
Durante l'interfase la cellula sintetizza proteine, trascrive geni incrementa la sua massa.

Il segno più visibile che la cellula sta entrando nella fase M è la condensazione dei cromosomi che si sono replicati in fase S. La condensazione dei cromosomi segnala la fine della fase G₂

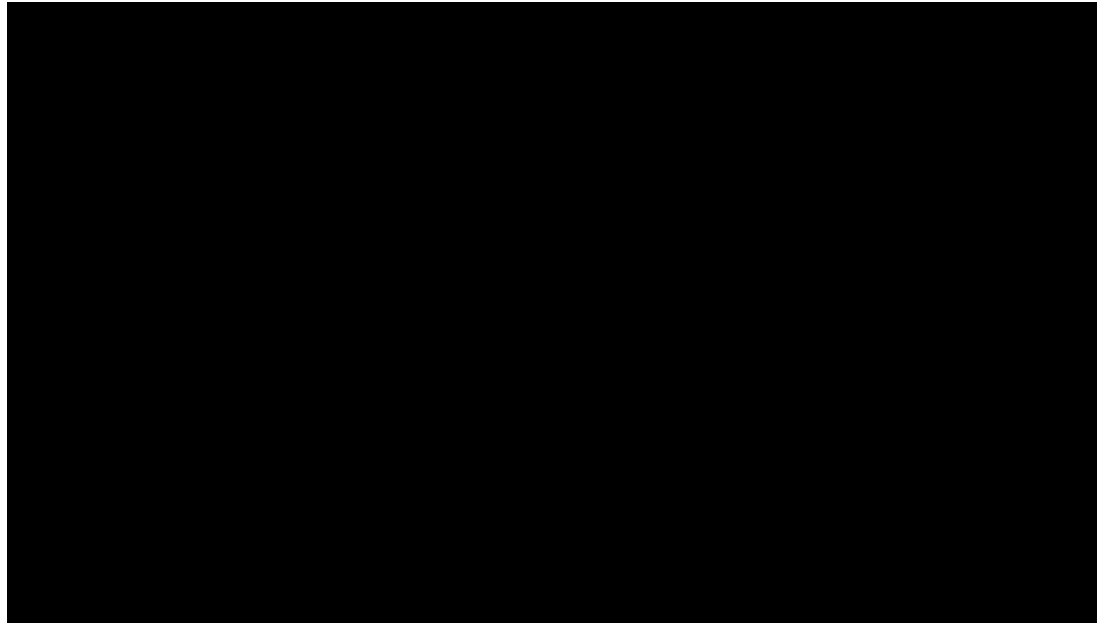
CICLO CELLULARE

LE QUATTRO FASI DI UN CICLO CELLULARE

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.

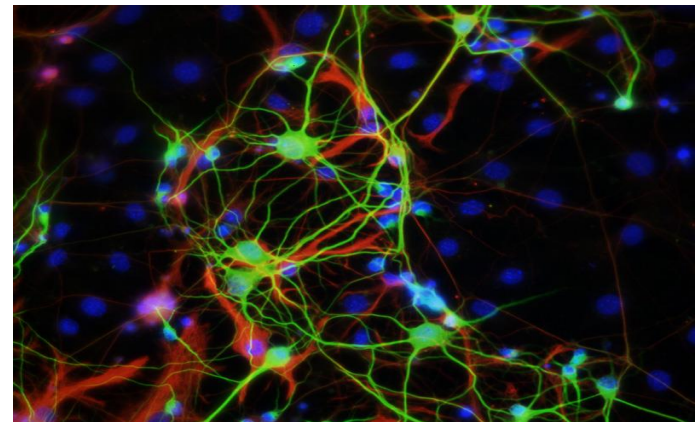
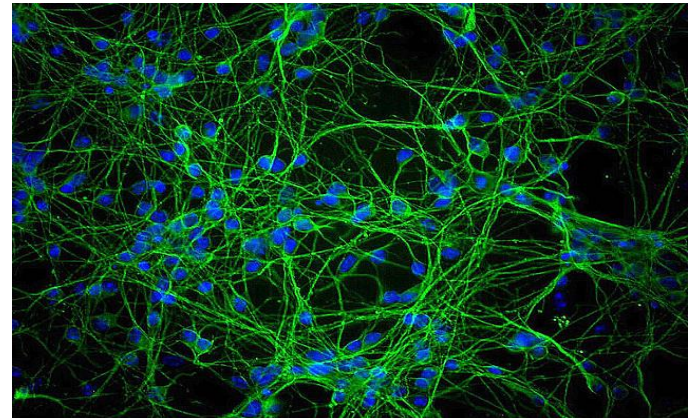
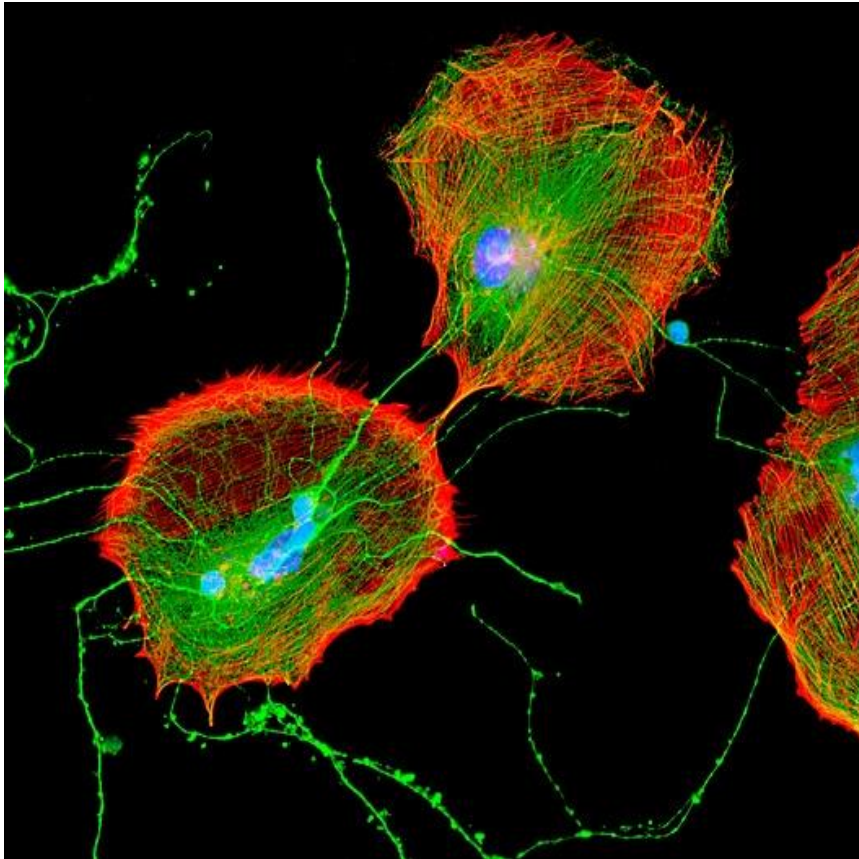


CICLO CELLULARE



APPROCCIO SPERIMETALE

IMMUNOFLUORESCENZA



IMMUNOFLUORESCENZA

Immunofluorescenza (IF) = tecnica per rilevare in un certo campione la presenza di specifici antigeni od anticorpi ignoti la cui controparte nota (Ag e Ab) è legata ad un marcatore.

Marcatore → **fluorocromo**, ovvero un colorante che assorbendo onde ad alta frequenza (ultravioletti) emette nel visibile.

IF DIRETTA

Ricerca di un antigene: fissare con apposite metodiche l'antigene al vetrino (o pozzetto), mettere a contatto i presunti anticorpi specifici marcati con fluorocromo.

IF INDIRETTA

Usata per ricercare un antigene (Ag) od un anticorpo (Ab).

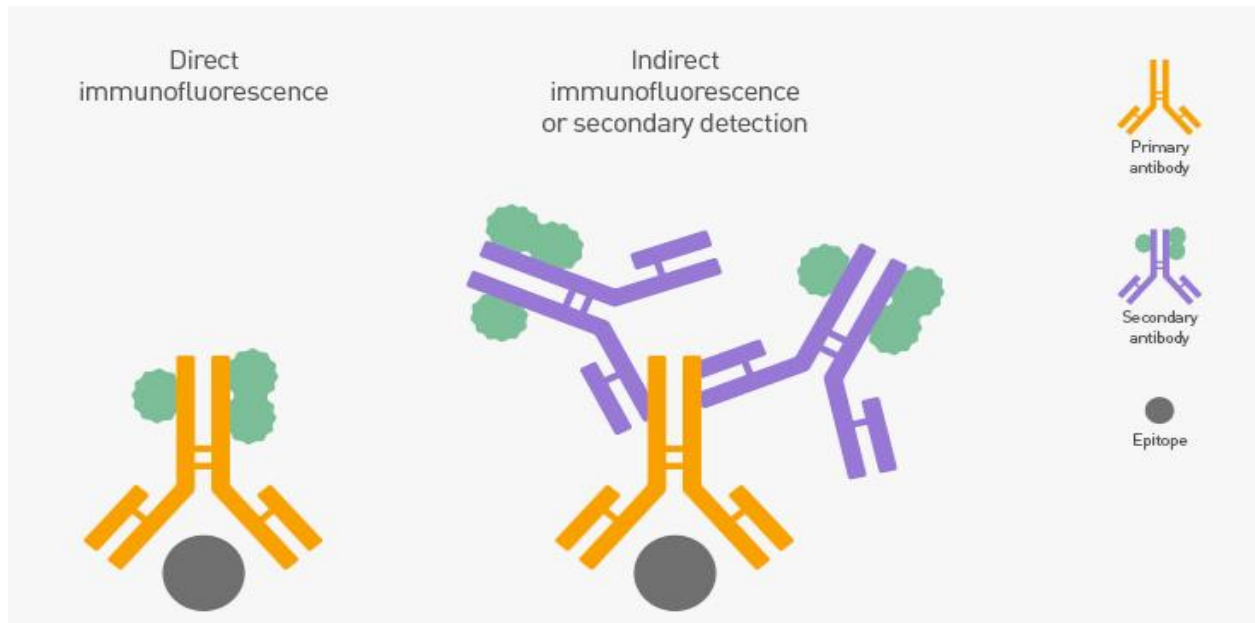
Ag →

- Mettere il campione a contatto con un Ab I non marcato
- formazione immunocomplesso primario
- aggiunta AbII marcato con fluorocromo
- formazione immunocomplesso secondario

Ab →

- Mettere il siero in esame a contatto con antigeni noti (Ag) fissati ad un vetrino.
- formazione immunocoplesso primario
- aggiunta AbII marcato con fluoresceina
- formazione di un immunocomplesso secondario

IMMUNOFLUORESCENZA



IF DIRETTA

Ricerca di un antigene, fissiamo con apposite metodiche l'antigene al vetrino (o pozzetto), mettere a contatto i presunti anticorpi specifici marcati con fluorocromo.

IF INDIRETTA

Usata per ricercare un antigene (Ag) od un anticorpo (Ab).

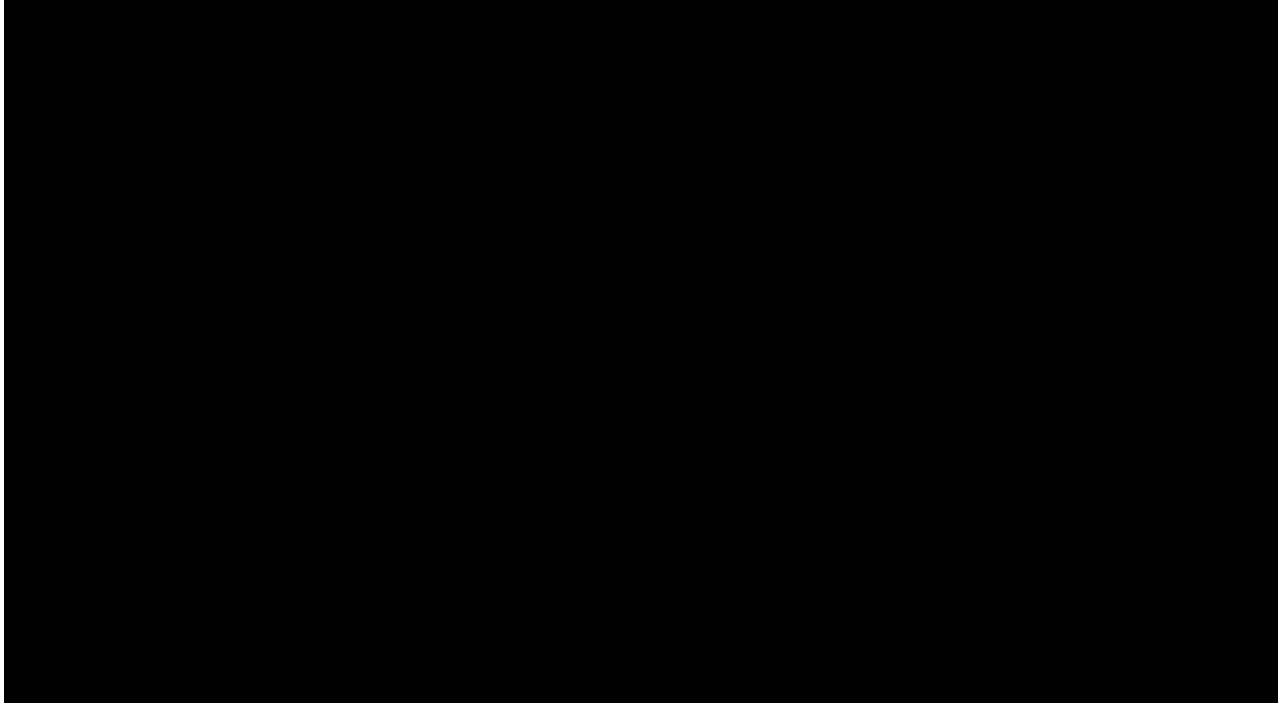
Ag →

- Mettere il campione a contatto con un Ab I non marcato
- formazione immunocomplesso primario
- aggiunta AbII marcato con fluorocromo
- formazione immunocomplesso secondario

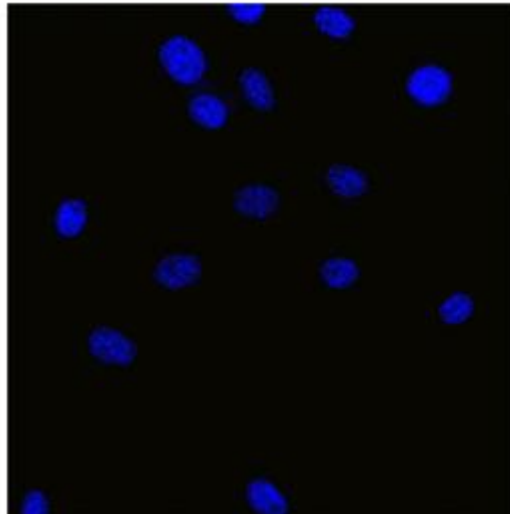
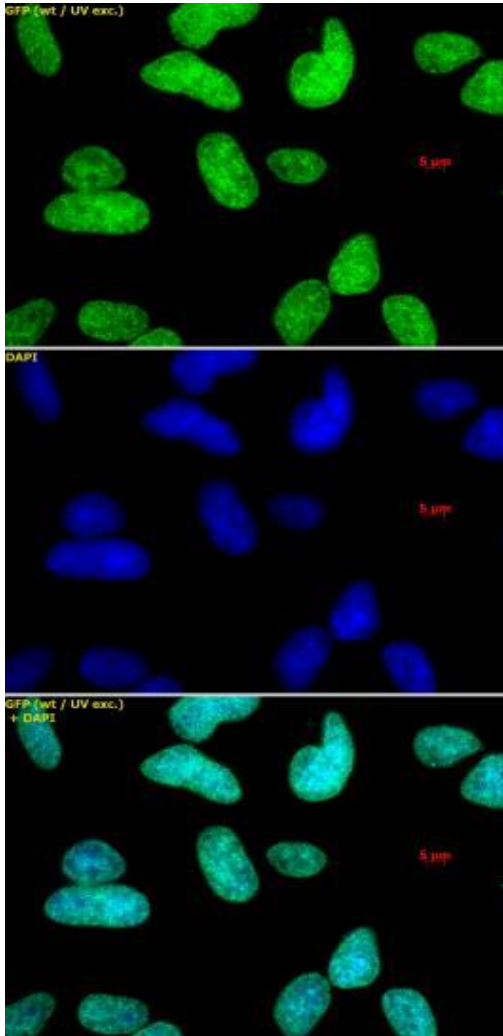
Ab →

- Mettere il siero in esame a contatto con antigeni noti (Ag) fissati ad un vetrino.
- formazione immunocplesso primario
- aggiunta AbII marcato con fluoresceina
- formazione di un immunocomplesso secondario

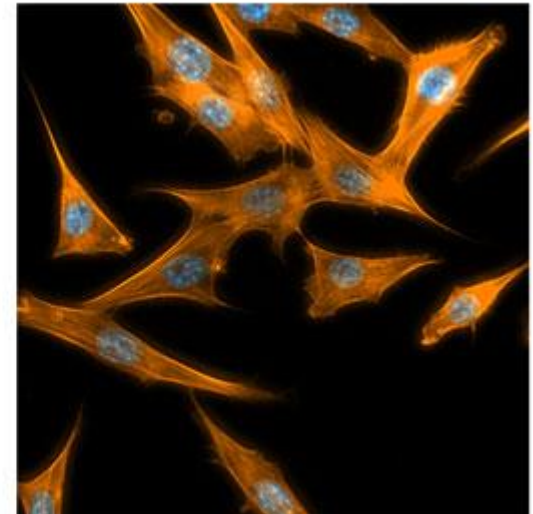
IMMUNOFLUORESCENZA



IMMUNOFLUORESCENZA



DAPI



DAPI + Phalloidin

DAPI o **4',6-diamidin-2-fenilindolo**
è un colorante organico fluorescente che
lega fortemente regioni del DNA ricche
in sequenze A-T