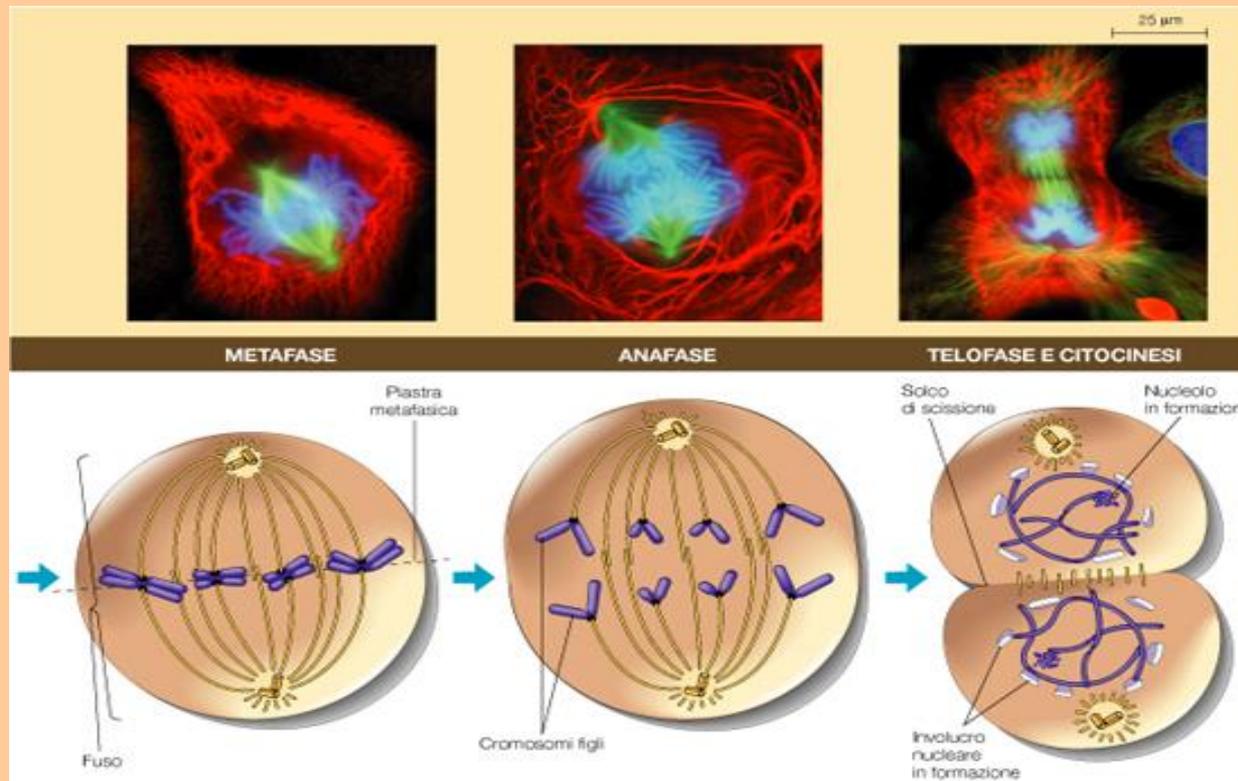


# 1. MITOSI

# 2. MEIOSI

# 3. CICLO CELLULARE





# 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



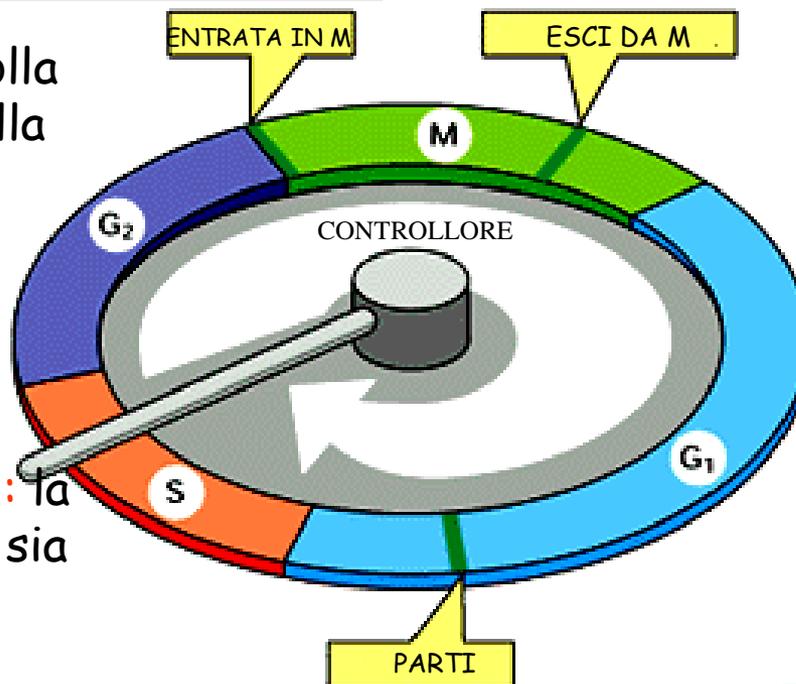
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE: Punto di regolazione in G1

## Punto di regolazione in G1:

Punto di controllo più utilizzato nelle cellule. 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.

PUNTO DI CONTROLLO IN G<sub>2</sub>      PUNTO DI CONTROLLO METAFASICO



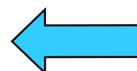
PUNTO DI CONTROLLO IN G<sub>1</sub> **crescita cellulare**

la cellula è abbastanza grande ?

l'ambiente è favorevole ?

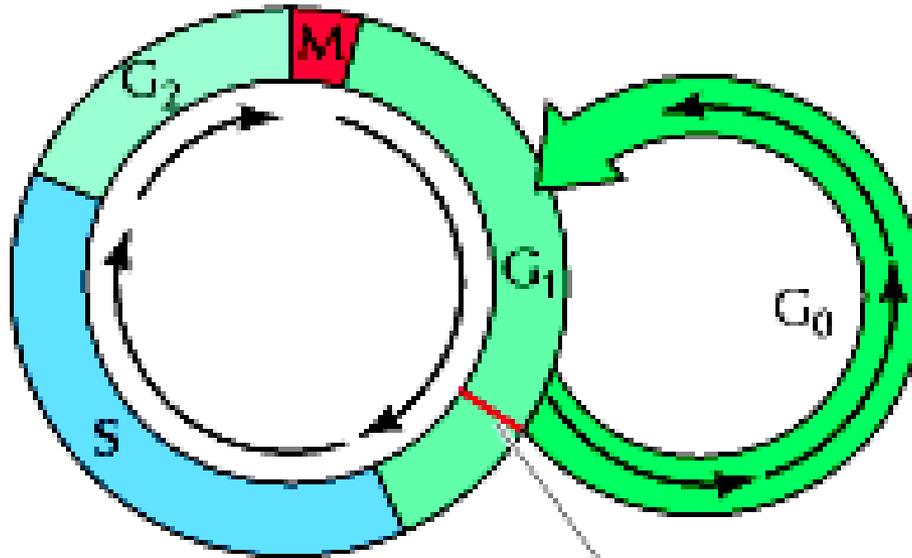
Il DNA è integro ?

**ambiente**



# 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

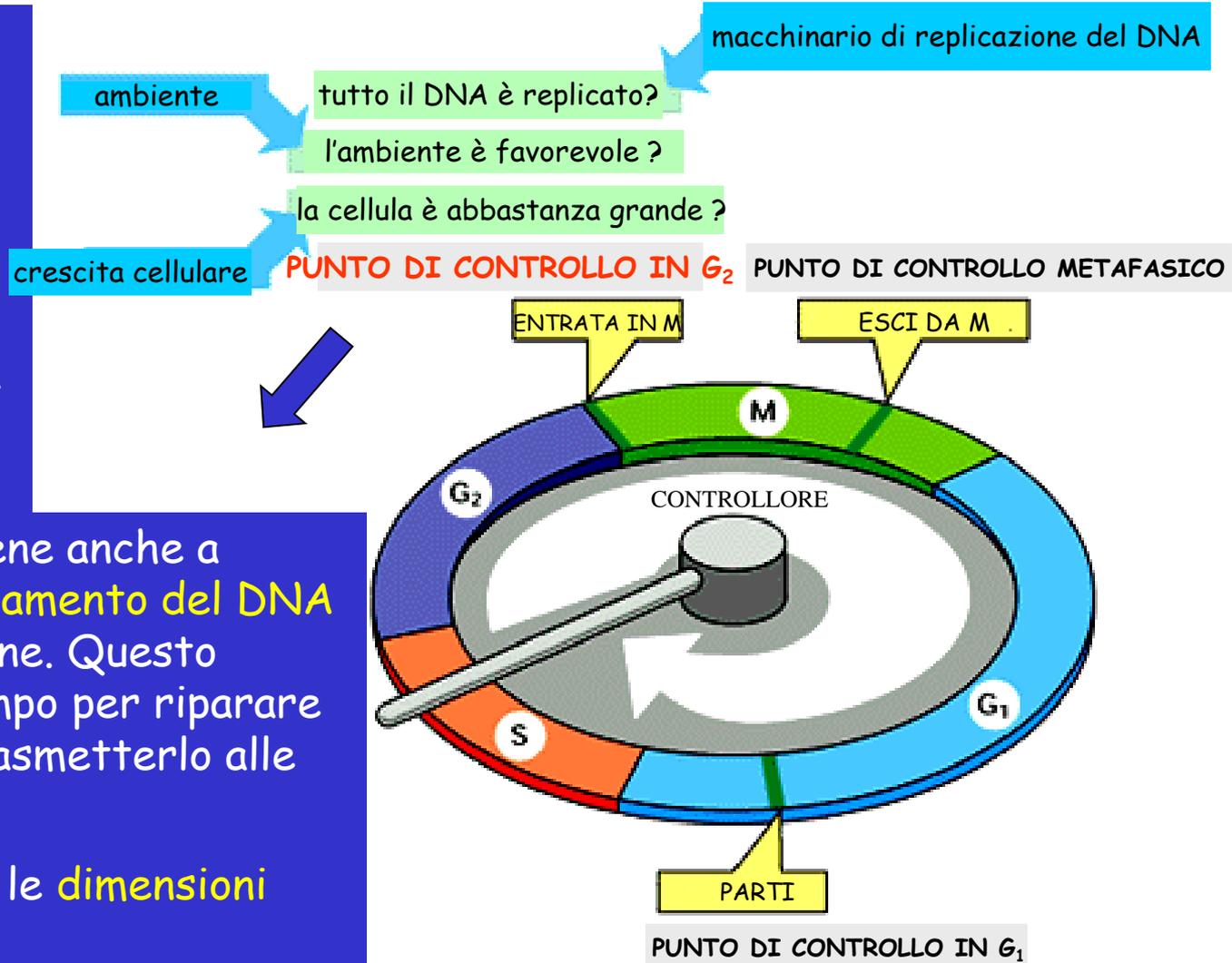
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE: Punto di regolazione in G<sub>2</sub>

## Punto di controllo in G<sub>2</sub>:

Impedisce l'inizio della mitosi prima del **completamento della replicazione** del genoma, così che le cellule restano in G<sub>2</sub> fino a che tutto il genoma non è replicato.

1. L'arresto in G<sub>2</sub> 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 G<sub>2</sub> di eseguire un **nuovo ciclo di replicazione** prima che avvenga la mitosi



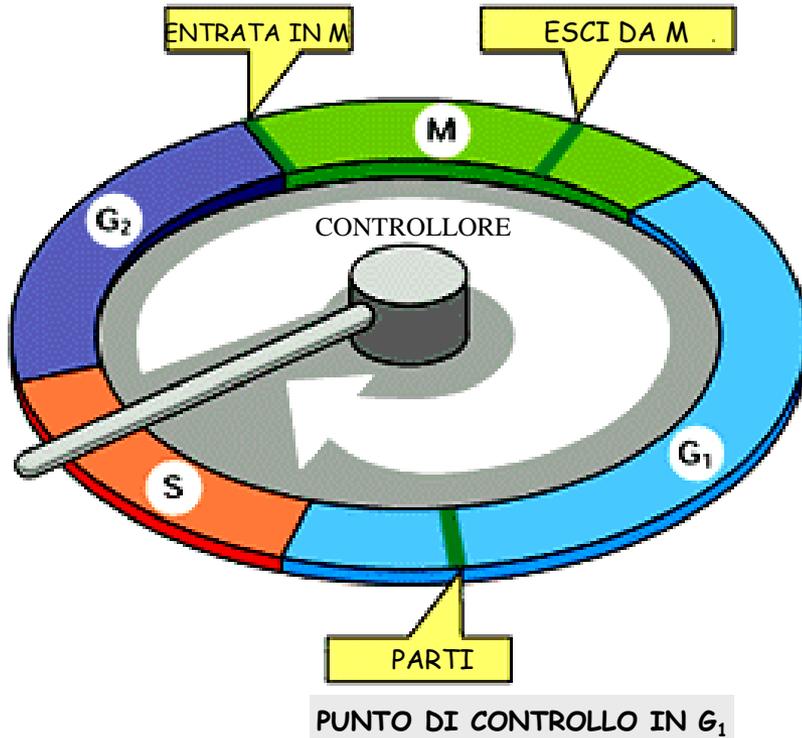
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

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:

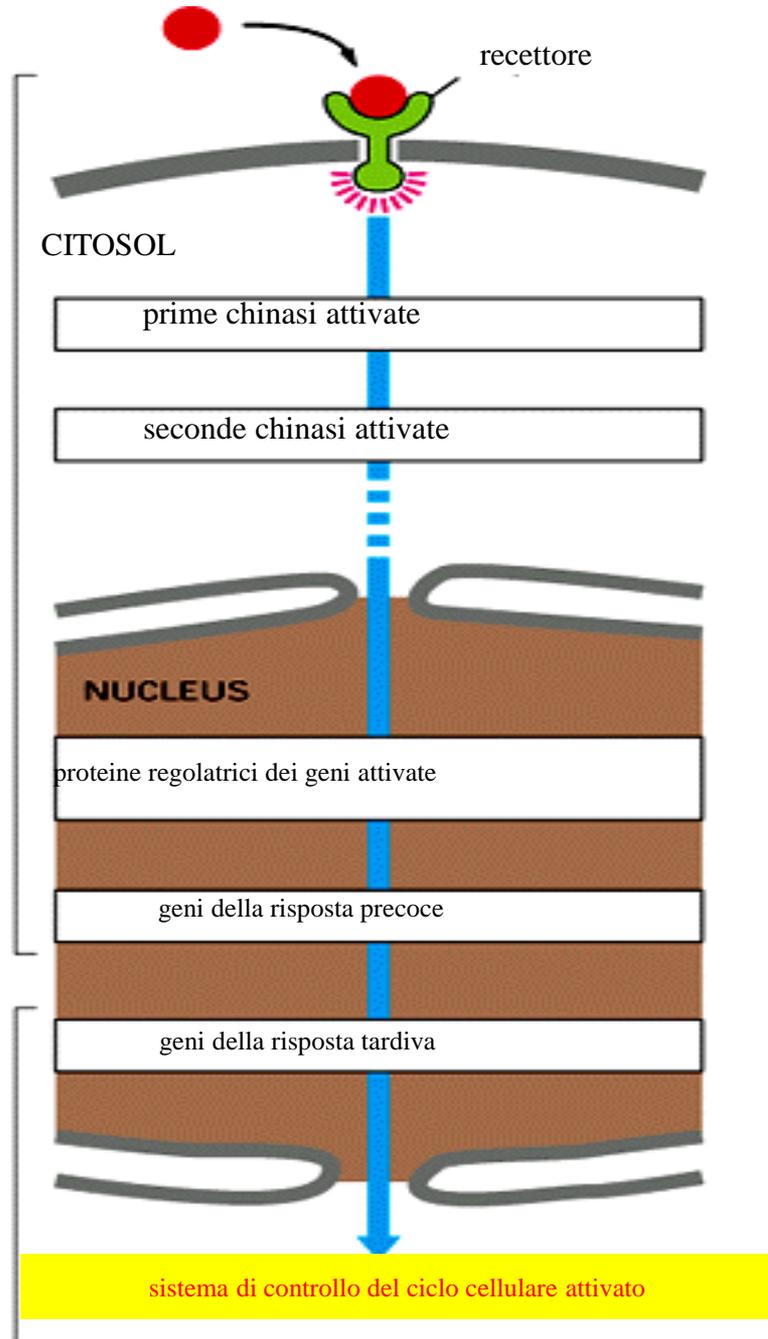
Controlla che la  
segregazione cromosomica  
non cominci prima che i  
cromosomi abbiano  
stabilito un legame saldo  
con il fuso mitotico per  
assicurare una giusta  
distribuzione dei  
cromosomi alle cellule  
figlie

## Proprietà di alcuni fattori di crescita i cui geni/RNA<sub>m</sub> corrispondenti sono stati clonati

<i>Nome</i>	<i>Struttura</i>	<i>Proprietà biologiche</i>
PDGF (derivato dalle piastrine)	2 catene polip. unite da ponti disolfuro	mitogeno per cellule mesenchimali in coltura; riparaz. in vivo sist. vascolare
EGF (epidermico)	53 aminoacidi	mitogeno per cellule ecto e mesodermiche; in vivo, ruolo nelle fasi precoci sviluppo
TGF- $\alpha$ (trasformante)	50 aminoacidi; omologia con EGF	mitogeno simile a EGF, ma può far crescere le cellule normali in agar; si lega ai recettori di EGF; è presente a livelli elevati in alcune cellule cancerose
TGF- $\beta$ (trasformante)	omodimero con PM= 25.000	mitogeno per alcune cellule, inibitore della crescita per altre; stimola la crescita in agar; sinergistico con TGF- $\alpha$
NGF (nervoso)	2 catene identiche di 118 aminoacidi	sviluppo e mantenimento dei neuroni simpatici ed embrionali
IGF-I (insulino simile-I)	70 aminoacidi; omologia del 45% con l'insulina	intermedio nell'azione dell'ormone della crescita; crescita scheletrica; mitogeno per le cellule in vitro
IGF-II (insulino simile-II)	67 aminoacidi; omologia con l'insulina	incerto il suo ruolo in vivo
GH (crescita)	191 aminoacidi	sintetizzato nella parte anteriore della ghiandola pituitaria; stimola il fegato a produrre somatomedine
GHRF (rilascio ormone crescita)	44 aminoacidi	peptide ipotalamico; regola la sintesi dell'ormone della crescita nella ghiandola pituitaria
Insulina	2 catene polip. unite da ponti disolfuro;	stimola l'assunzione di glucosio; la sintesi proteica e quella dei lipidi; può essere confuso in vitro con un fattore di crescita

fattore di crescita

# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE



Il ciclo cellulare può essere regolato da segnali extracellulari come per esempio i **fattori di crescita** che innescano tipiche vie di segnalazione che portano alla stimolazione della proliferazione cellulare.

Queste vie di segnalazione sono costituite da **cascate di segnali intracellulari** che conducono a fattori di trascrizione che modulano l'espressione genica

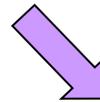
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

## CICLINE E CDK

Il sistema di controllo del ciclo cellulare governa gli apparati **attivando e disattivando ciclicamente 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

Le molecole responsabili del controllo del ciclo cellulare sono di 2 tipi:



### Cicline

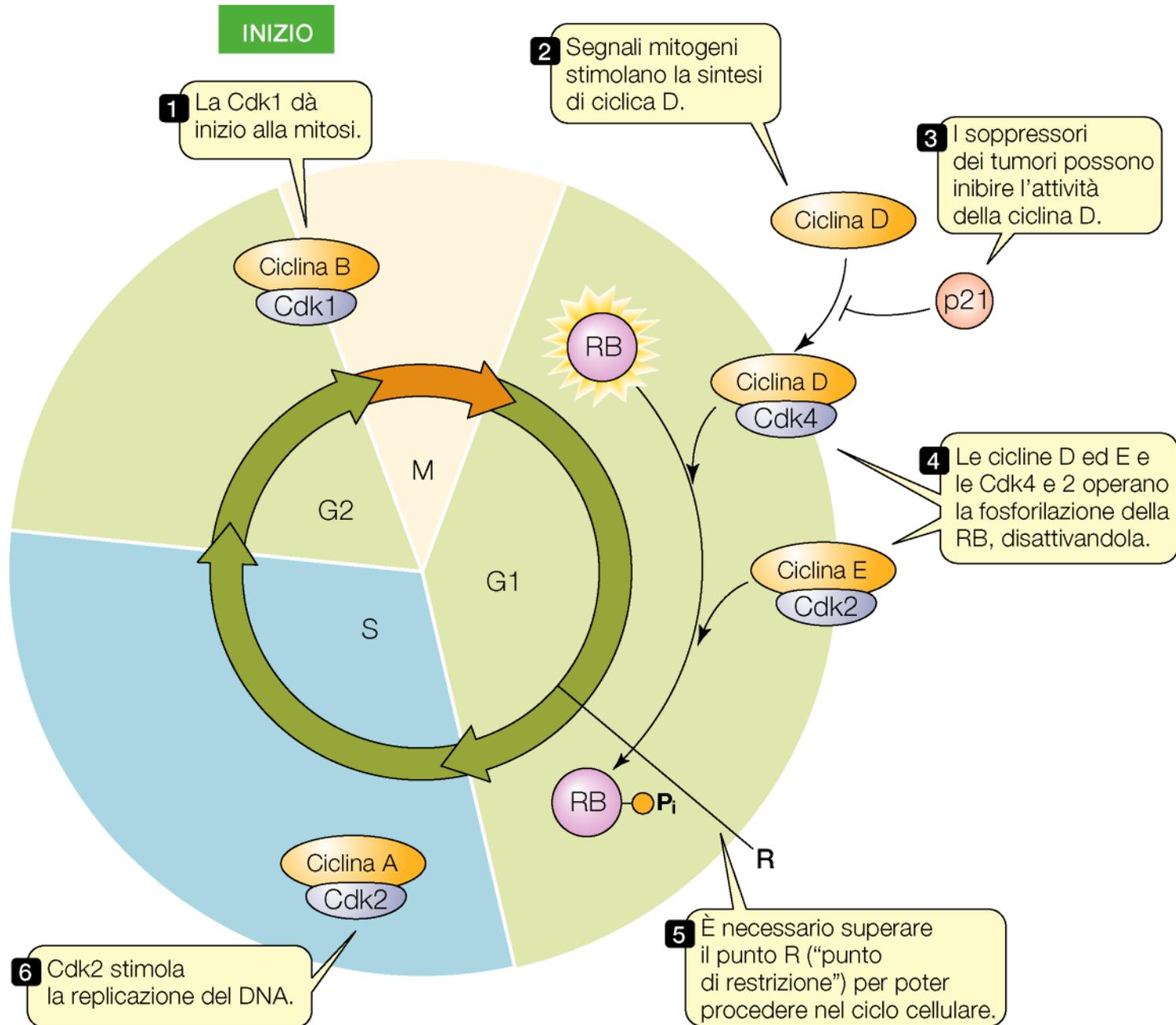
La **concentrazione delle cicline varia** periodicamente nel corso del ciclo cellulare

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.

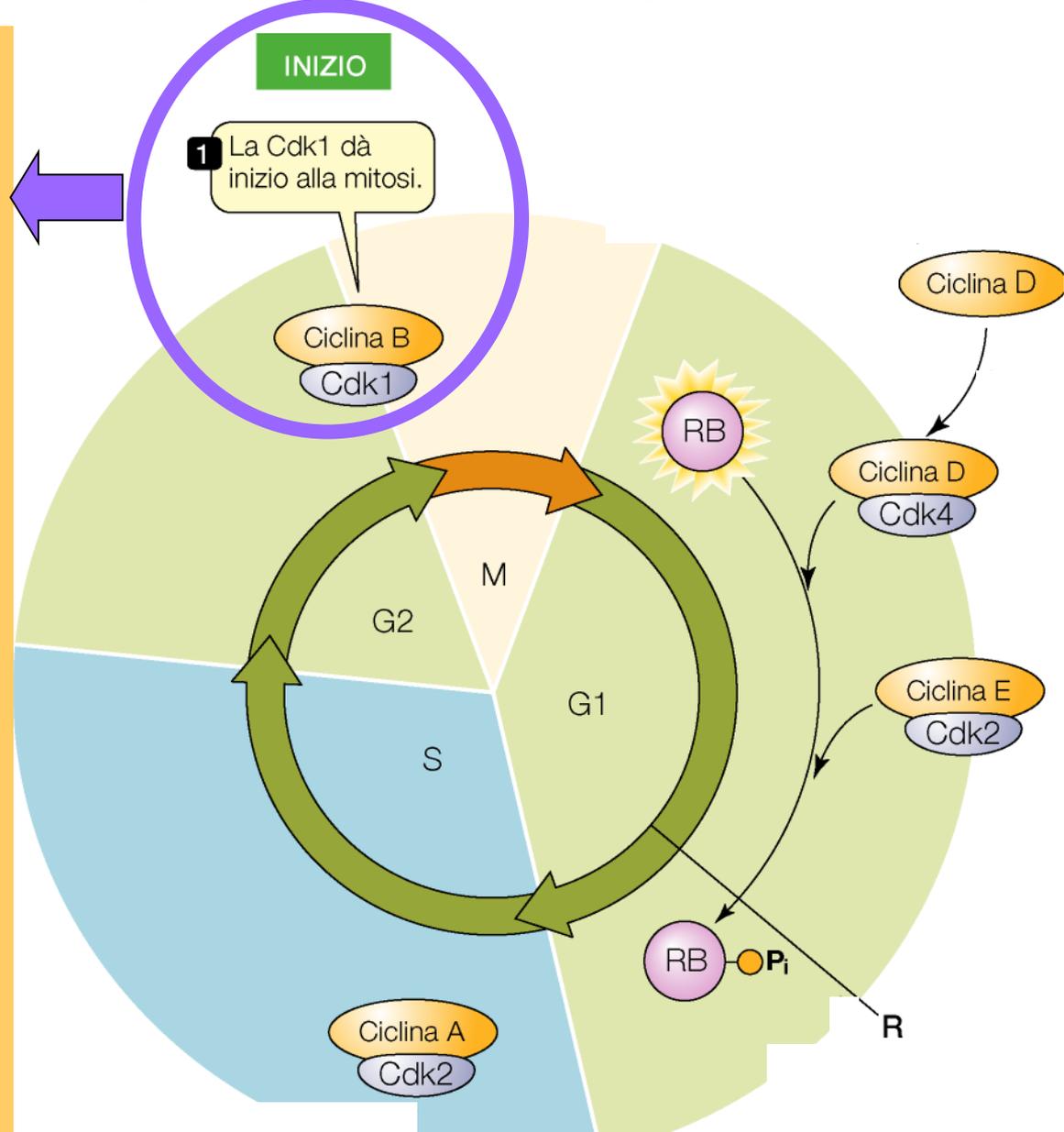
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINE E CDK



# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINA B

La ciclina che contribuisce a spingere le cellule in fase M si chiama **ciclina B** e il complesso attivo che forma con la sua Cdk si chiama **MPF (fattore di promozione della maturazione)**

La sintesi della ciclina B **inizia** subito dopo la divisione cellulare, rimanendo poi costante per tutta l'interfase. La ciclina così **si accumula** salendo gradualmente di concentrazione e grazie alla collaborazione di altre chinasi **determina l'attivazione** rapida, quasi istantanea, e non graduale della **Cdk** formando il **MPF attivo** che agisce su **diversi substrati** determinando il momento della mitosi.



L'eliminazione rapida della ciclina B promuove infine l'uscita dalla mitosi

# Bersagli dell'MPF

MPF

Ciclina M (o ciclina B)

associandosi con la sua Cdk

forma il complesso attivo che si chiama M-Cdk (o MPF: fattore di promozione della maturazione)

L'MPF induce numerosi cambiamenti nucleari e citoplasmatici che conducono all'inizio della fase M



condensazione della cromatina

Fosforilazione dell'istone HI

demolizione dell'involucro nucleare

Fosforilazione delle lamine

frammentazione di Golgi e RE

formazione del fuso

Cascata di pk che fosforilano pt associate ai microtubuli interfasicci che si disassemblano e sono sostituiti dai microtubuli del fuso che si irradiano dai centrosomi

# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINA D

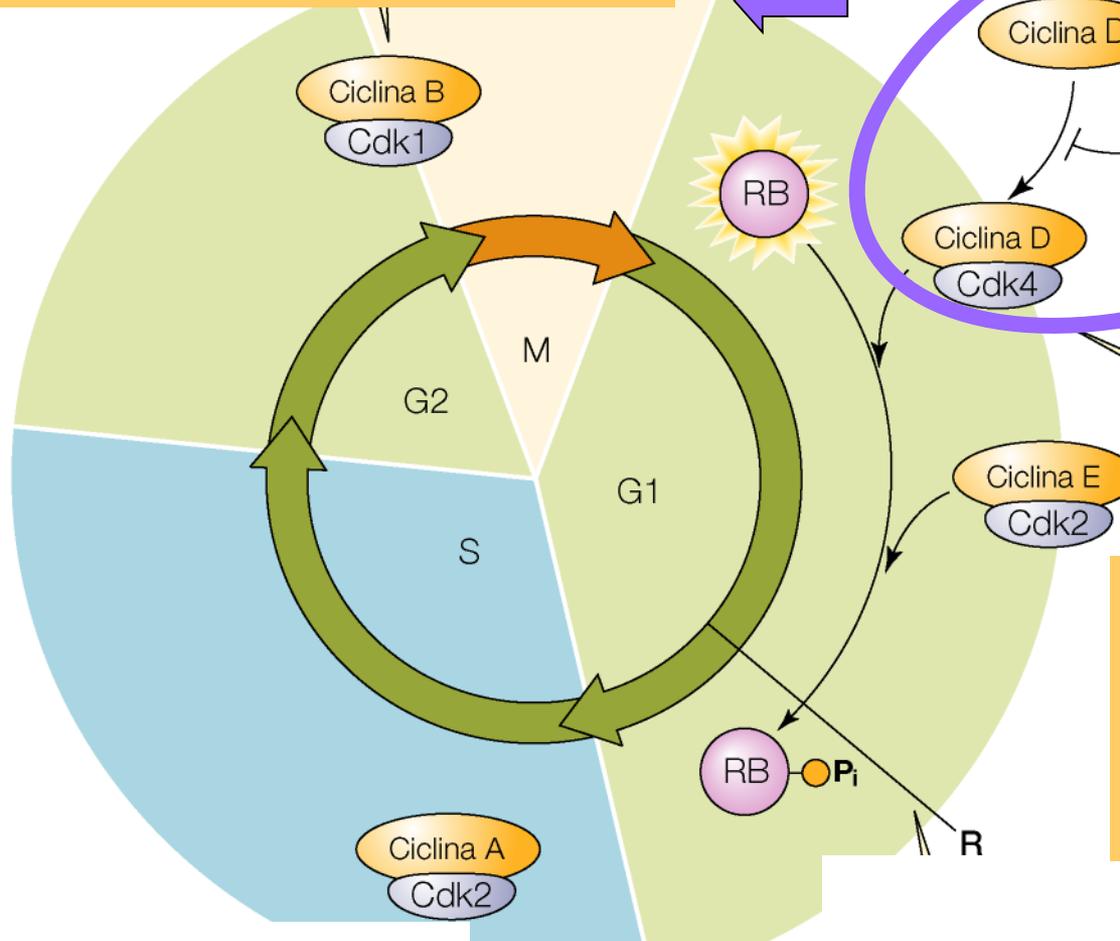
Ciclina D lega la sua Cdk formando il complesso cdk4-ciclina D indirizzano la cellula verso la fase S.

2 Segnali mitogeni stimolano la sintesi di ciclina D.

3 I soppressori dei tumori possono inibire l'attività della ciclina D.

4 Le ciclina D ed E e le Cdk4 e 2 operano la fosforilazione della RB, disattivandola.

La formazione di questi complessi dipende da fattori di crescita che stimolano la cellula a dividersi

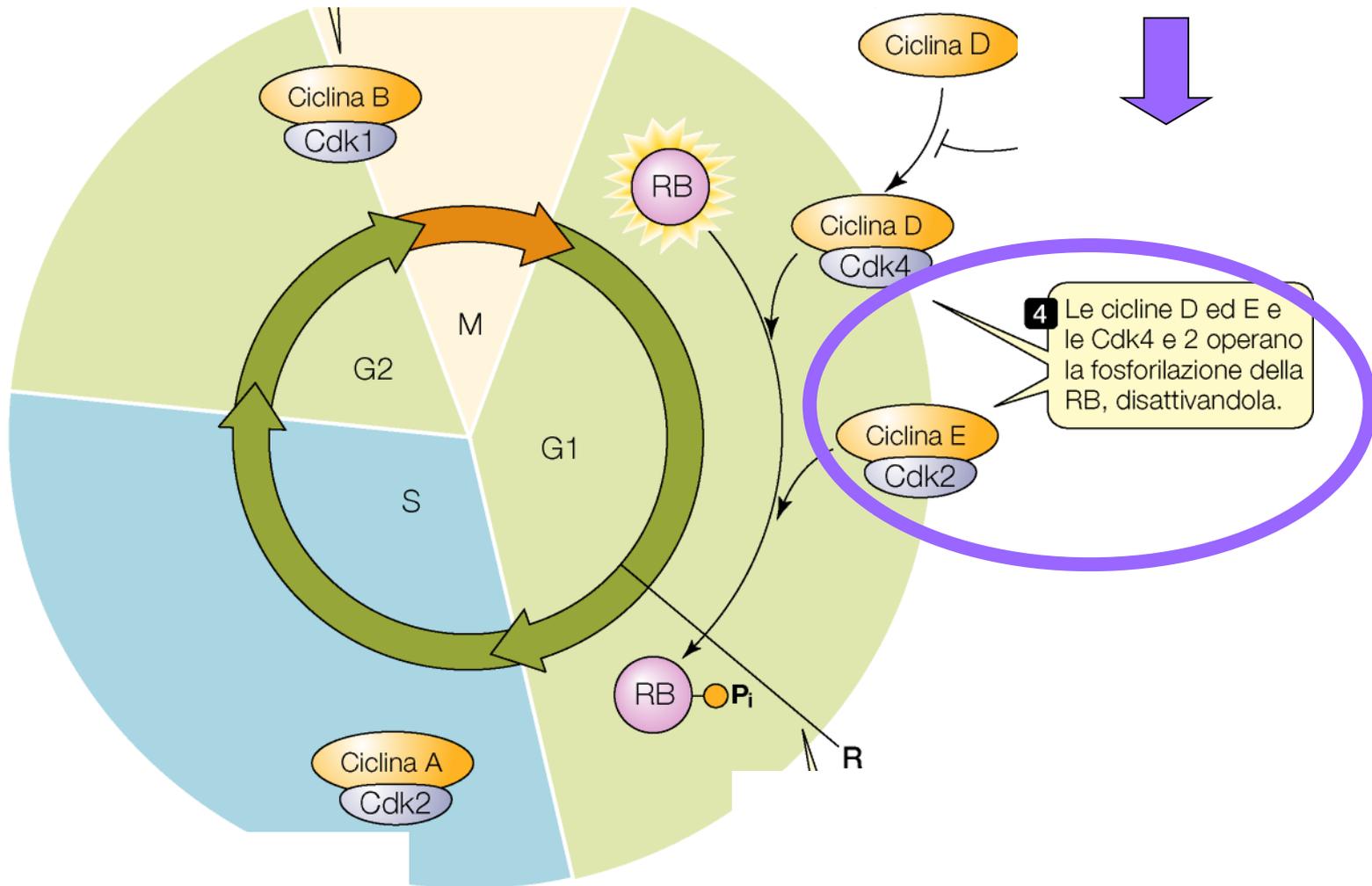


Le ciclina D sono prodotte in risposta a fattori di crescita e vengono degradate rapidamente perciò scompaiono non appena sono rimossi i fattori di crescita

Quindi in G1: fattori di crescita: complessi cdk4-ciclina D: spingono le cellule attraverso il punto di restrizione ed entrano in fase S. Se i fattori di crescita sono rimossi prima del punto di restrizione le cellule entrano in G0

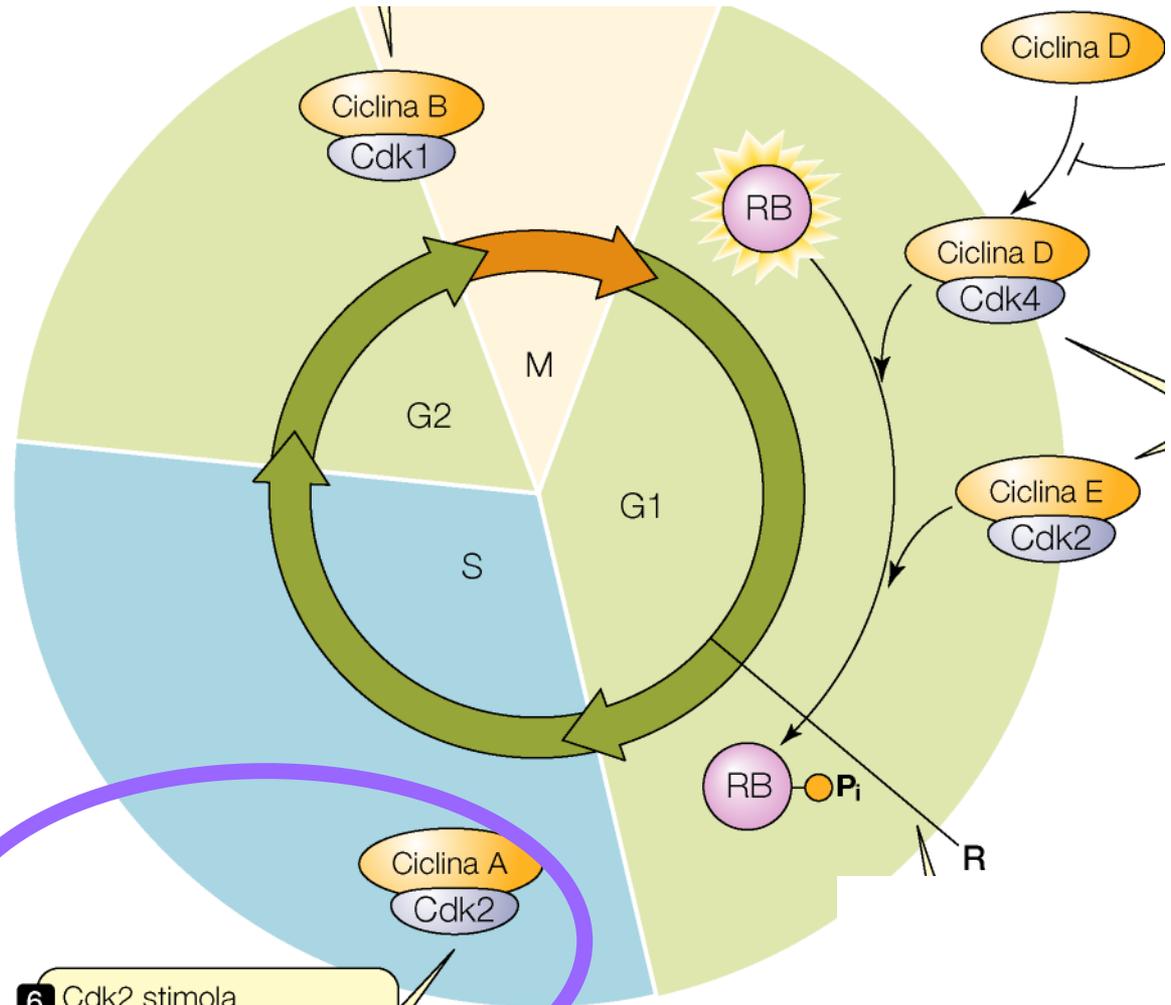
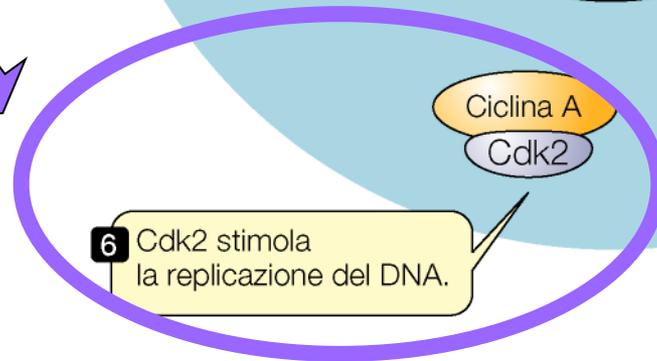
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINA E

Ciclina E lega la sua Cdk formando il complesso **Ciclina E-Cdk** che induce la cellula ad entrare in fase S



# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINA A

**Ciclina A** lega la sua Cdk formando il complesso **Ciclina A-Cdk** inducono la cellula ad iniziare la replicazione del DNA



# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINE E CDK

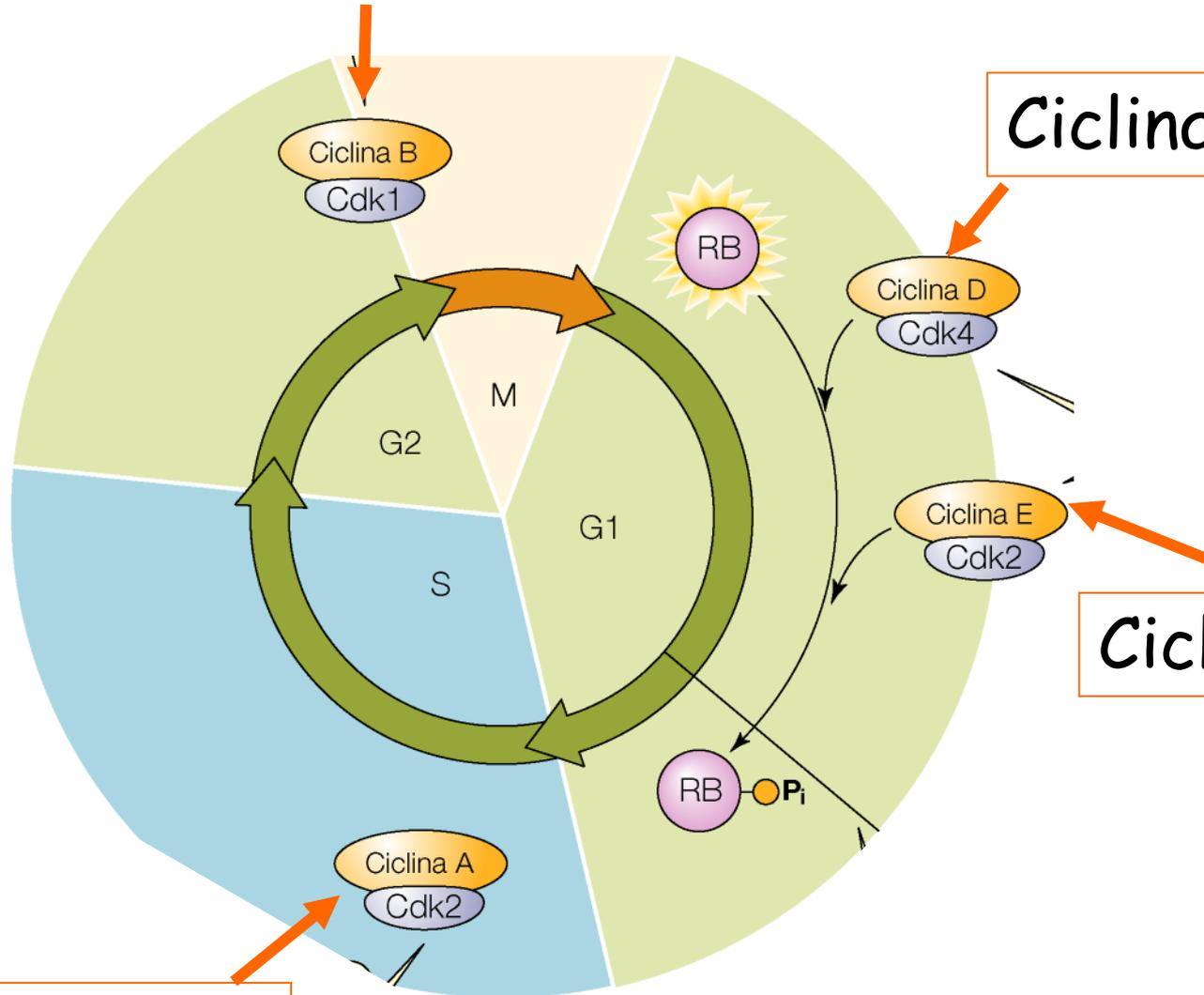
Ciclina M

...diverse nomenclature...

Ciclina G1

Ciclina G1/S

Ciclina S



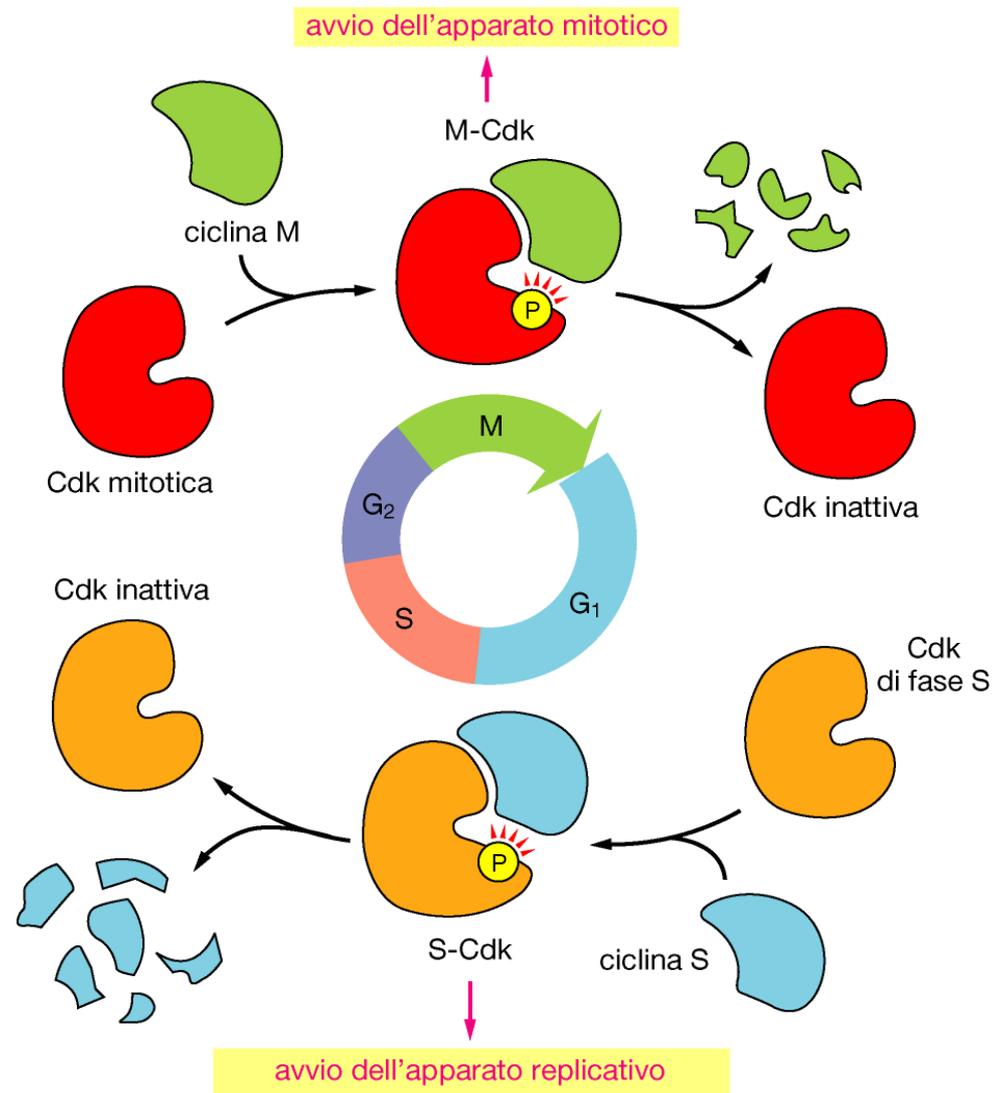
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINE E CDK

La **concentrazione** delle cicline di vario tipo **sale e poi crolla** improvvisamente in momenti specifici del ciclo cellulare

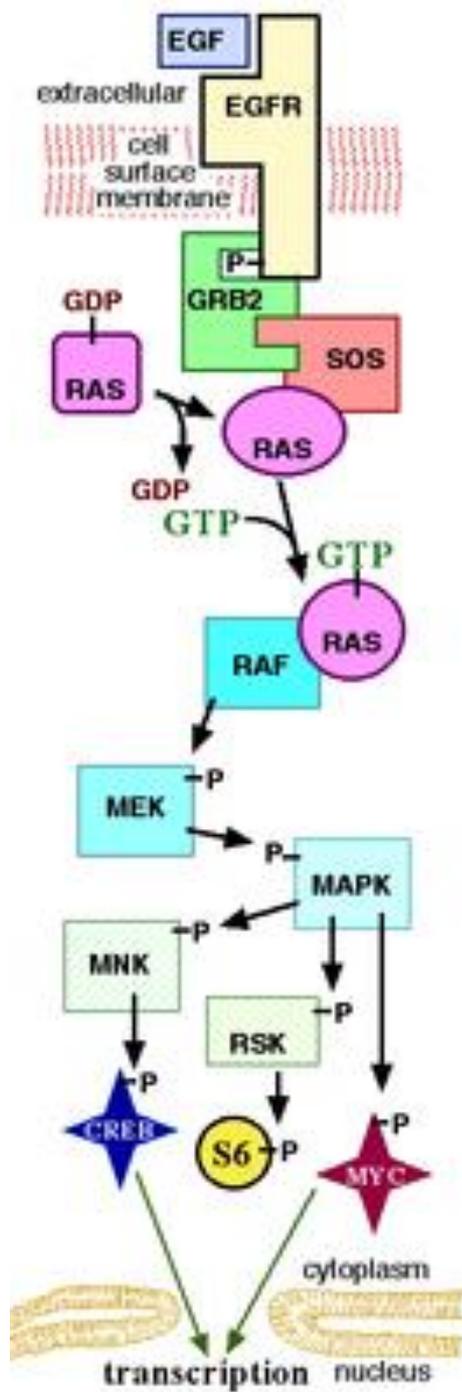
Le cicline aumentano di concentrazione, **attivano la Cdk** corrispondente e la riportano allo stato inattivo con la loro brusca caduta

Ogni diversa Cdk deve esser **fosforilata e defosforilata** opportunamente per funzionare

Ogni complesso ciclina-Cdk ha poi il suo gruppo di proteine bersaglio su cui agire



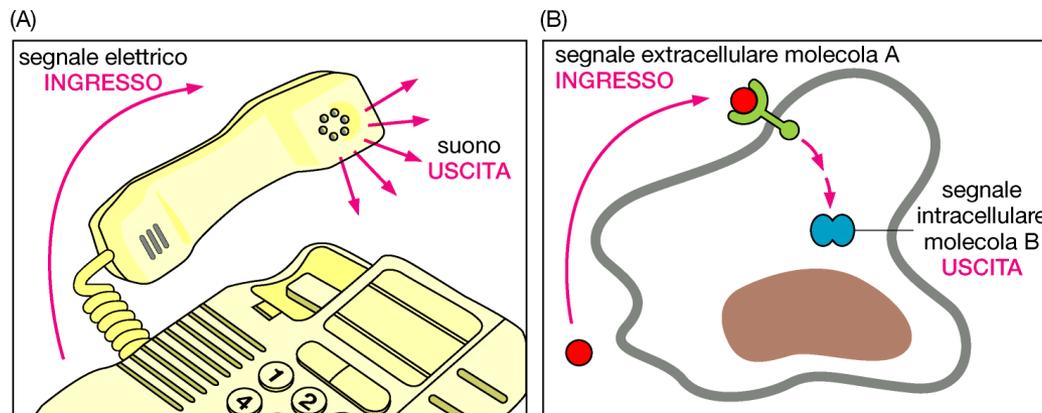




## I meccanismi di segnalazione cellulare

# I meccanismi di segnalazione cellulare

Negli organismi multicellulari le cellule non sono entità isolate, ma hanno un comportamento "sociale", cioè comunicano tra di loro con un processo definito **segnalazione cellulare**



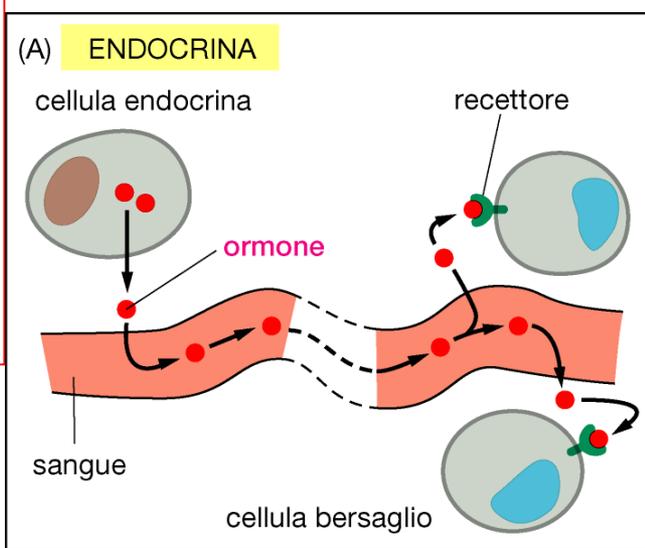
La **cellula segnalatrice**, produce un tipo particolare di **molecola segnale**, che viene individuata da un'altra cellula, la **cellula bersaglio**, per mezzo di una **proteina recettore**, capace di riconoscere la molecola segnale e **rispondere** in modo specifico.

La **trasduzione del segnale** inizia quando la proteina recettore della cellula bersaglio riceve un segnale **extracellulare** in arrivo e ne ricava segnali **intracellulari** che modificano il comportamento della cellula.

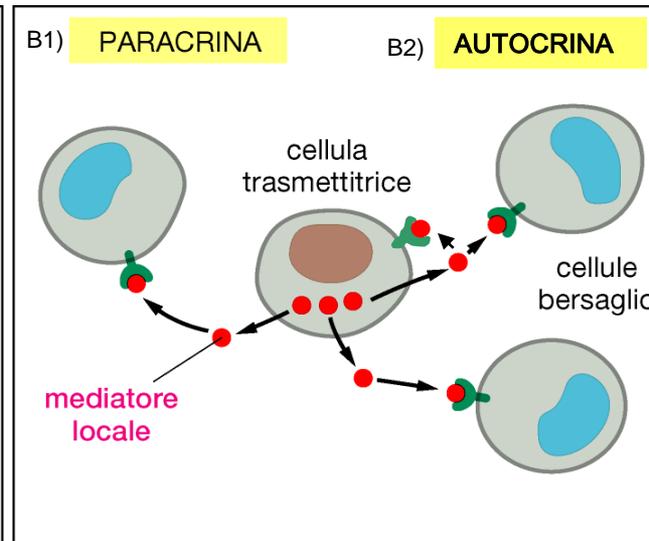
# I meccanismi di segnalazione cellulare

**Endocrina:** Rilascio di fattori solubili nel flusso circolatorio permettendo di

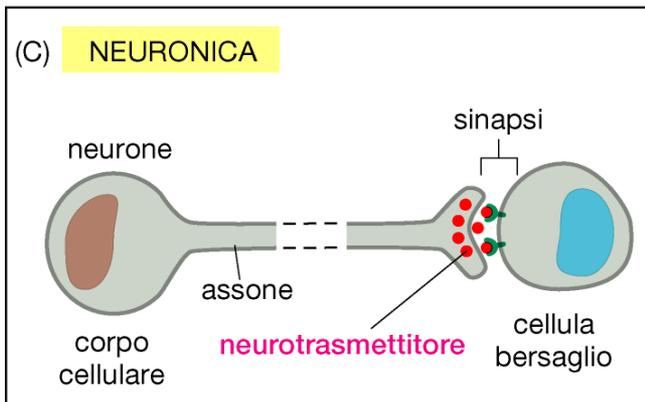
raggiungere cellule bersaglio anche molto distanti dalla sede di sintesi



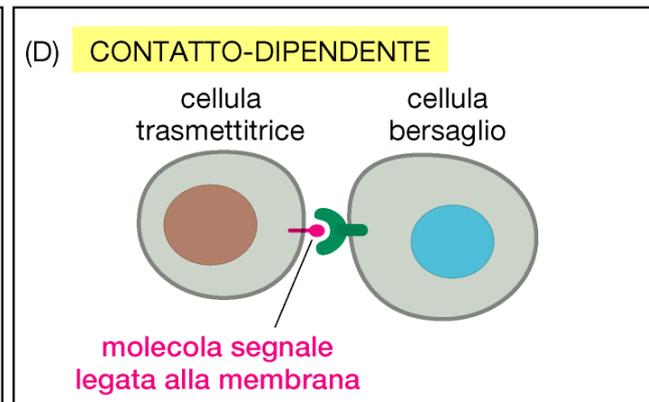
**Paracrina:** Comunicazione a breve raggio tra cellule diverse



**Autocrina:** La molecola segnale solubile agisce sulla stessa cellula che l'ha prodotta



**Nuronica:** Il neurone manda impulsi elettrici che arrivati al terminale assonico vengono tradotti in forma chimica: il neurotrasmettitore



**Contatto-dipendente:** Non intervengono fattori solubili, ma semplicemente il contatto fra singole cellule o tra cellule e le strutture della matrice extracellulare

# I meccanismi di segnalazione cellulare

Le principali molecole responsabili dello scambio di informazioni tra le cellule sono fattori solubili, quali

**Neurotrasmettitori** (natura aminoacidica),

**Ormoni** (natura lipidica)

**Fattori di crescita** (natura proteica)

**Citochine** (natura proteica)

....ma ora li chiameremo tutti con il termine generico di **ligando**:  
esercita la propria azione attraverso specifici recettori:

# I recettori

**Recettore:** proteina che, a seguito dell'interazione con il ligando funziona come interruttore molecolare, determinando l'accensione di particolari vie metaboliche che possono modificare le funzioni cellulari.

Esiste una **selettiva specificità** di legame tra i recettori e i ligandi, quindi la capacità di una cellula di rispondere a determinati stimoli è definita dal corredo di recettori presenti

Caratteristiche del recettore nei confronti del ligando:

**1. Specificità:** Il recettore ed il suo ligando si riconoscono attraverso un **specificità sterica**: nella struttura tridimensionale del ligando è presente una regione complementare al **sito di legame**, rappresentato a sua volta anch'esso da una porzione del recettore scaturita dalla sua conformazione tridimensionale

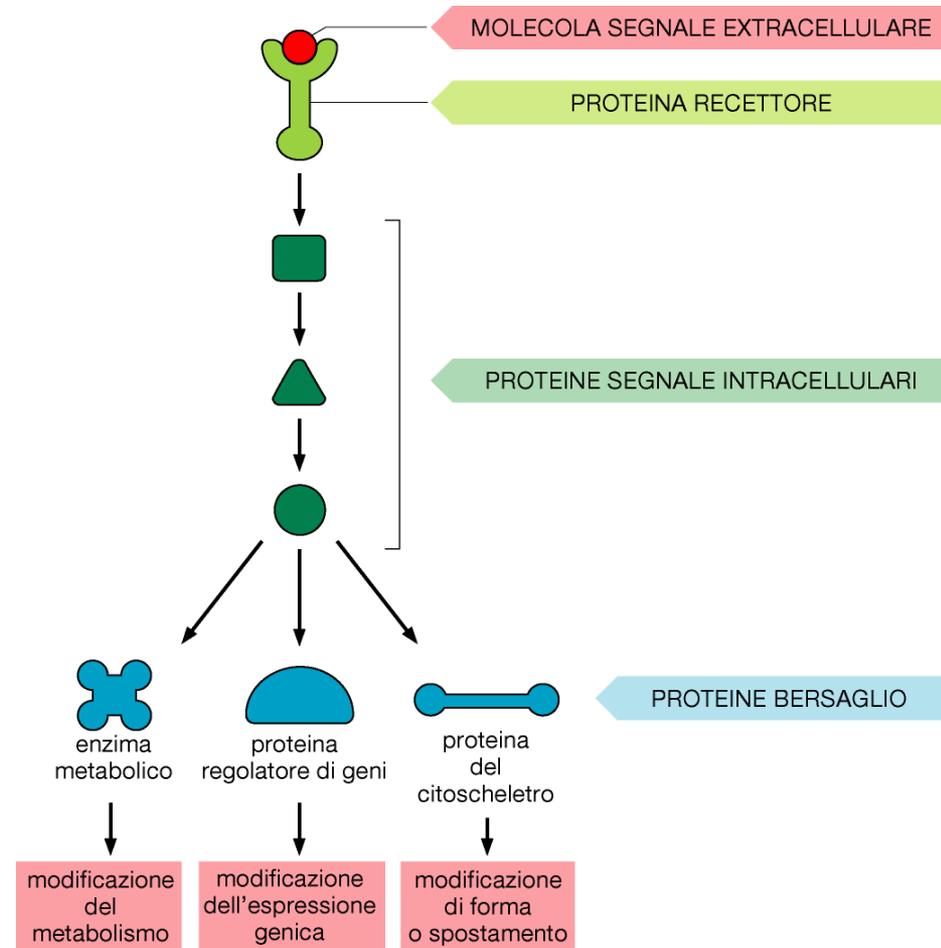
**2. Affinità di legame:** definisce le concentrazioni di ligando necessarie per formare il complesso recettore-ligando. Ligando e recettore si legano con un diverso numero di **interazioni deboli**: più elevato è il loro numero e più elevata è l'affinità

# Cascata del segnale

Quando un recettore si lega al suo ligando, esso effettua la **trasduzione primaria**:

riceve il segnale esterno e in risposta **ne genera uno nuovo interno**. Questo è il primo evento di una **serie di processi trasduttivi** interni nei quali il messaggio passa da una molecola segnale intracellulare all'altra, ciascuna attivando la successiva o inducendone la produzione

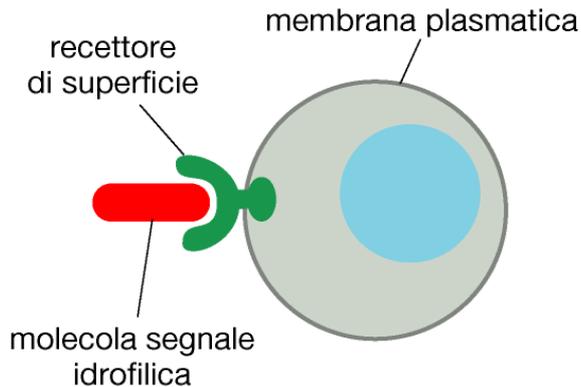
finchè entra in gioco un enzima metabolico o comincia ad esprimersi un gene



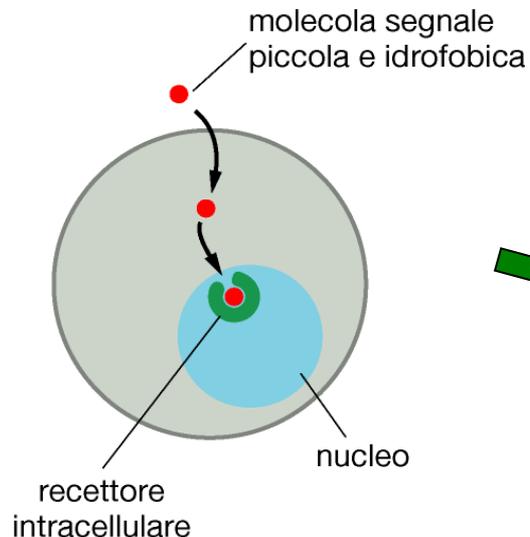
**l'esito finale è la risposta cellulare**

# Recettori di membrana e recettori intracellulari

## (A) RECETTORI DI SUPERFICIE



## (B) RECETTORI INTRACELLULARI



La maggior parte dei ligandi non è in grado di passare direttamente attraverso le membrane cellulari a causa dell'idrofilicità e dell'alto PM. Pertanto devono trasdurre i segnali all'interno del citoplasma senza penetrare all'interno della cellula, ma riconoscendo e legando

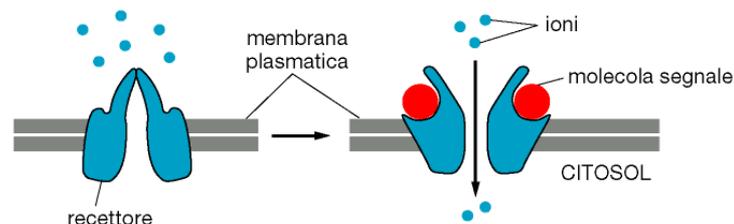
**recettori di membrana:**

proteine intrinseche che attraversano il doppio strato lipidico quindi la molecola idrofilica resta all'esterno della cellula e il recettore attiva una cascata del segnale all'interno della cellula

Alcuni ligandi sono di natura lipidica e sono in grado di attraversare il doppio strato lipidico, quindi un volta giunti nel citoplasma legano **recettori proteici intracellulari**

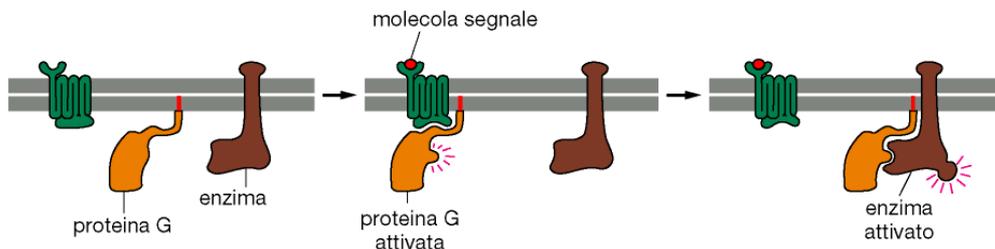
# I recettori di membrana appartengono a 3 classi principali

(A) RECETTORE ANNESSO A CANALI IONICI



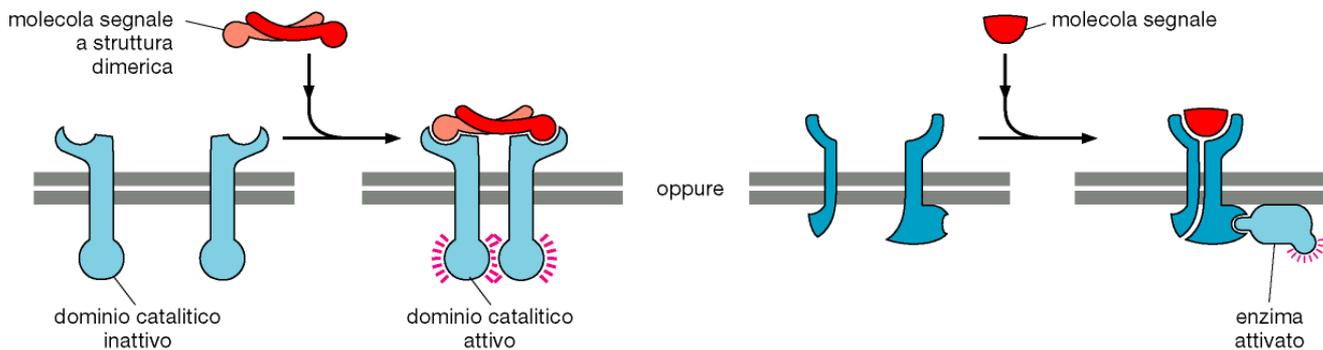
1. Recettori annessi ai canali ionici: consentono il passaggio di un flusso di ioni, che produce una corrente elettrica

(B) RECETTORE ACCOPPIATO A UNA PROTEINA G



2. Recettori accoppiati a proteina G

(C) RECETTORI LEGATI A ENZIMI



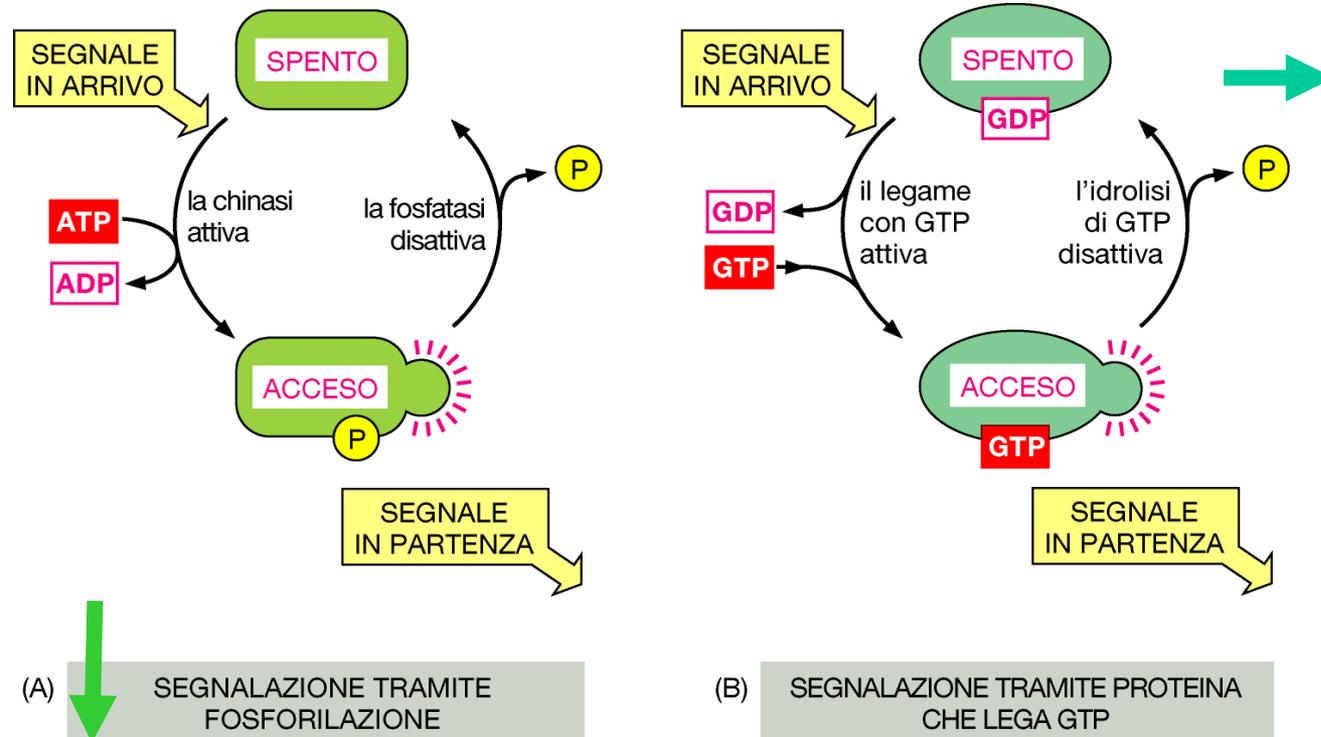
3. Recettori legati agli enzimi

attivandosi agiscono essi stessi da enzimi o attivano enzimi cui sono associati sul lato citoplasmatico della membrana.

L'innesco di questa attività enzimatica genera una serie di segnali ulteriori, liberando nel citosol molecole di piccole dimensioni

# Interruttori molecolari

I segnali pervenuti tramite recettori legati a enzimi o associati a proteine G passano a complicati sistemi di trasmissione formati da serie ordinate di molecole segnale intracellulari che si comportano quasi tutte come **interruttori molecolari**: ricevendo un segnale passano dallo **stato inattivo** allo **stato attivato**, facendo entrare in funzione altre proteine della rete di trasmissione e continuando ad agire finchè qualche altro processo non le disattiva.



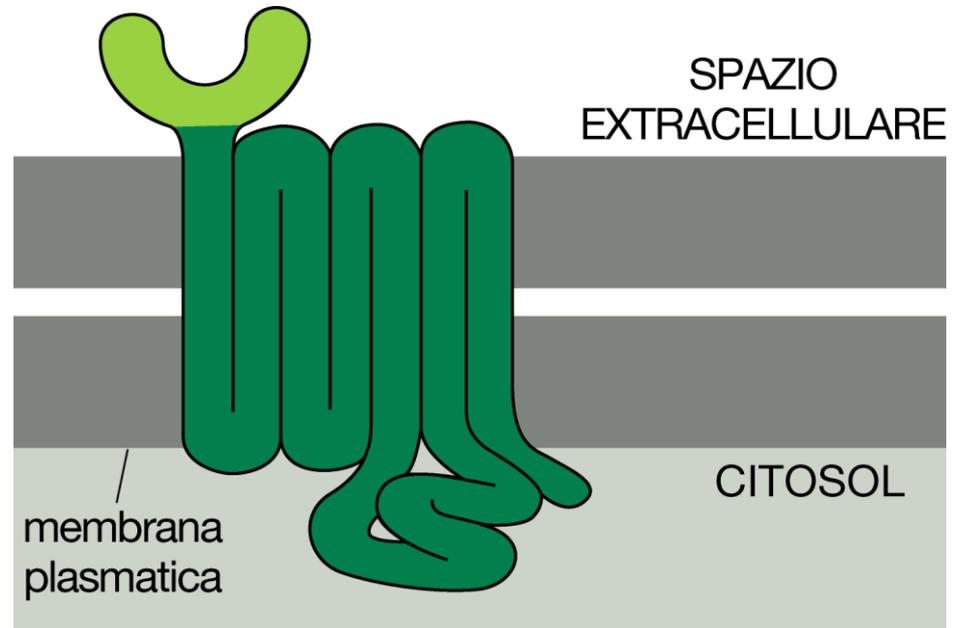
Una proteina segnale che lega il **GTP**: viene indotta a scambiare il suo **GDP** legato con un **GTP**, che la rende attiva; la proteina viene disattivata con l'idrolisi del **GTP** a **GDP**

Alcune si attivano per aggiunta di un **gruppo fosfato** (proteine-chinasi: trasferisce alla proteina il gruppo terminale dell'ATP) e si disattivano per rimozione del **P** (proteine-fosfatasi)

# Recettori accoppiati a Proteina G

Costituiscono la **più grande famiglia di recettori di superficie** per i quali passa la risposta a un'immensa varietà di molecole segnale extracellulari:

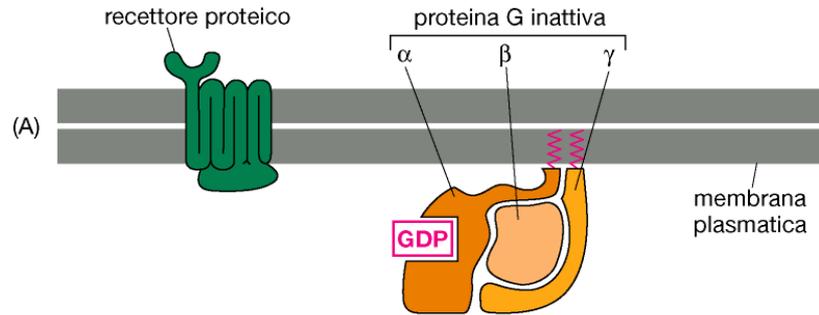
- ormoni
- mediatori locali
- neurotrasmettitori



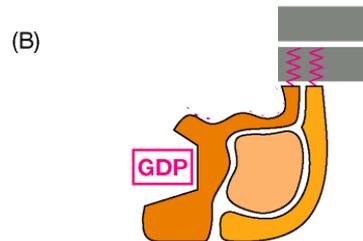
Hanno tutti una struttura simile:

1. Un **dominio extracellulare** che lega il ligando
2. Una **catena polipeptidica unica che attraversa 7** volte avanti e indietro il doppio strato fosfolipidico
3. Una **regione citoplasmatica** che ha il compito di legare la proteina G dentro la cellula

# Recettori accoppiati a Proteina G



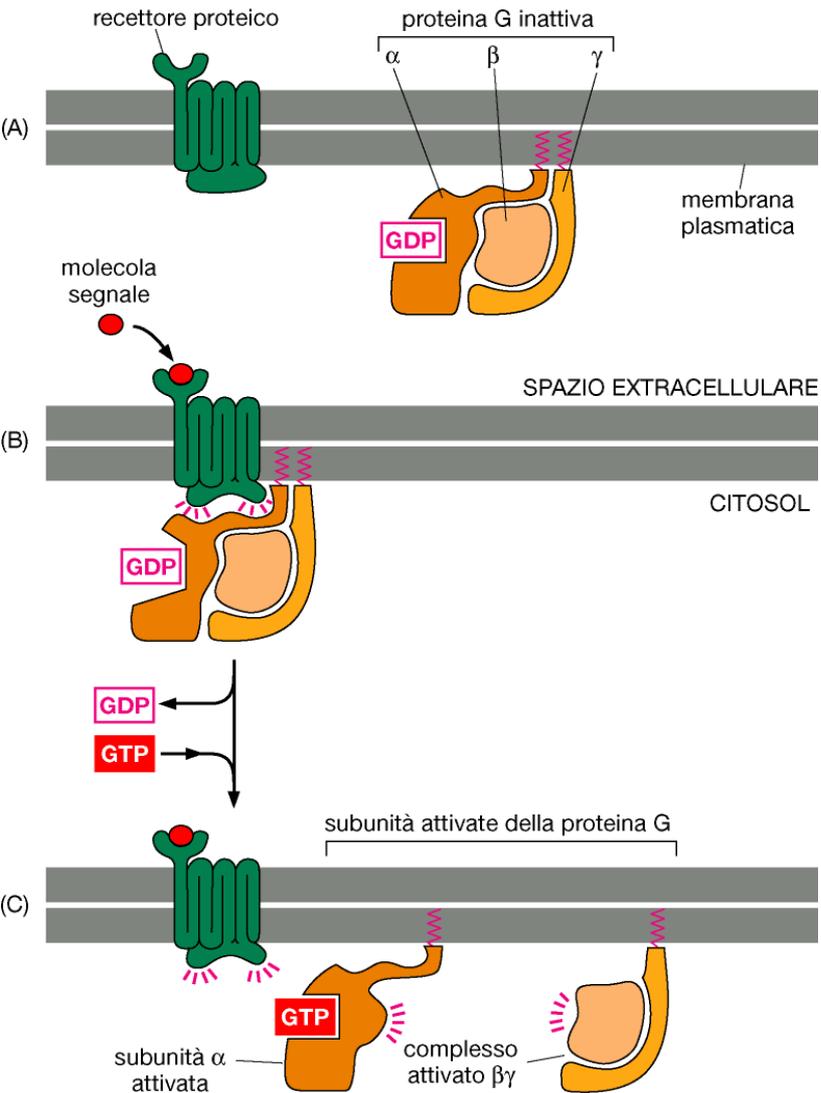
Prima della stimolazione  
Recettore e Proteina G  
sono inattivi



**Proteina G:** ne esistono **diverse**, ognuna specifica per un certo gruppo di recettori e per una certa serie di proteine bersaglio però hanno tutte una **struttura base** ed operano in modo analogo:

3 subunità proteiche  $\alpha$   $\beta$   $\gamma$ , due delle quali agganciate alla membrana mediante una breve coda lipidica. Prima della stimolazione la subunità  $\alpha$  porta legato un GDP e la pt G rimane in stato di riposo

# Recettori accoppiati a Proteina G



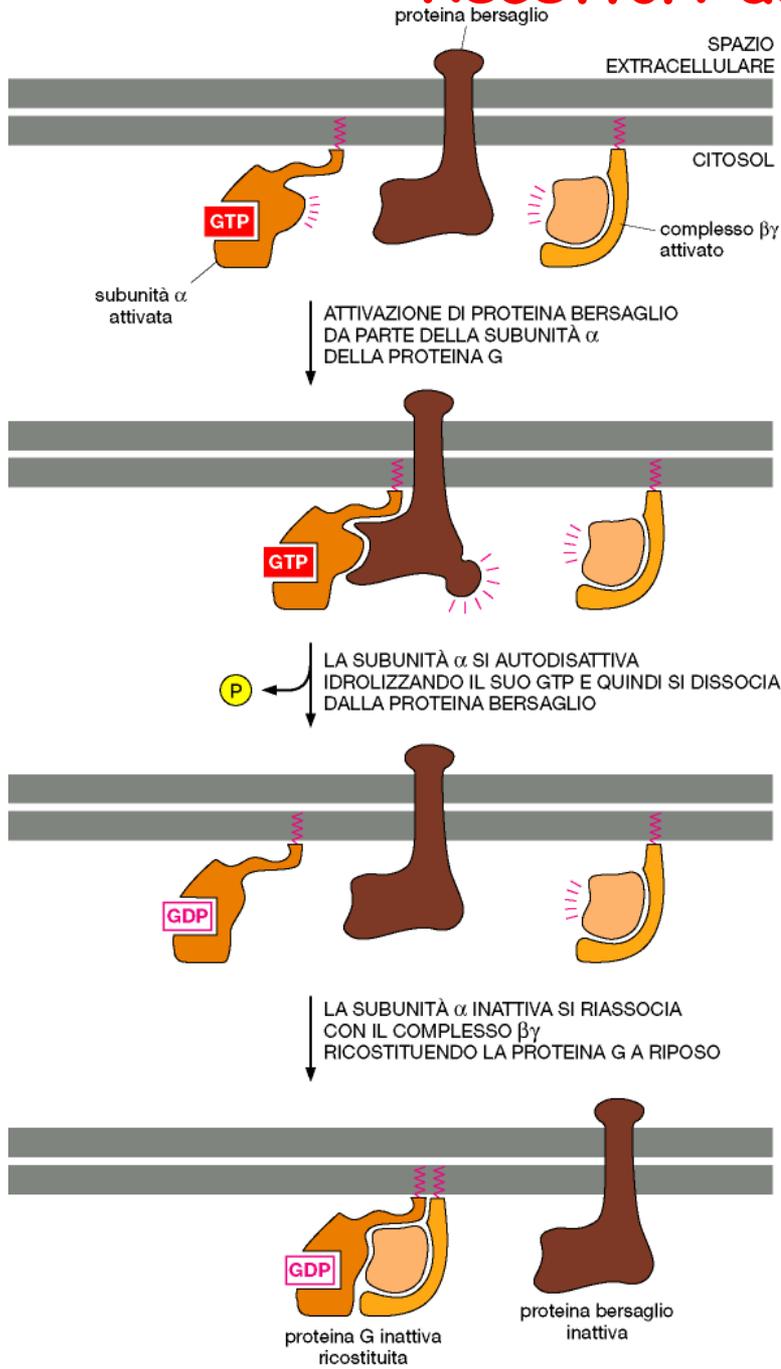
1. Legame del ligando al recettore
2. Cambiamento di conformazione: interagisce con una proteina G posta sul lato citosolico della mp
3. Il recettore si associa a pt G e la attiva: la subunità  $\alpha$  sostituisce il GDP con GTP

4. La ptG si frammenta in:

- $\alpha + \text{GTP}$
- complesso  $\beta\gamma$

Questi 2 complessi sono liberi e indipendenti e diffondono lungo la membrana e sono pronti ad attivare substrati di diverso tipo

# Recettori accoppiati a Proteina G



Quando una subunità  $\alpha$  attivata incontra la sua proteina bersaglio e vi si unisce, la attiva

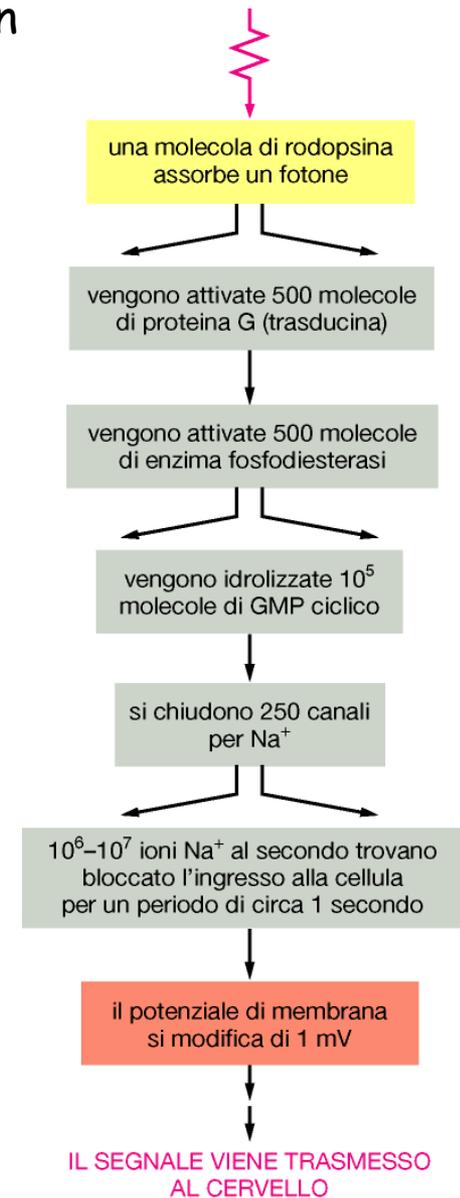
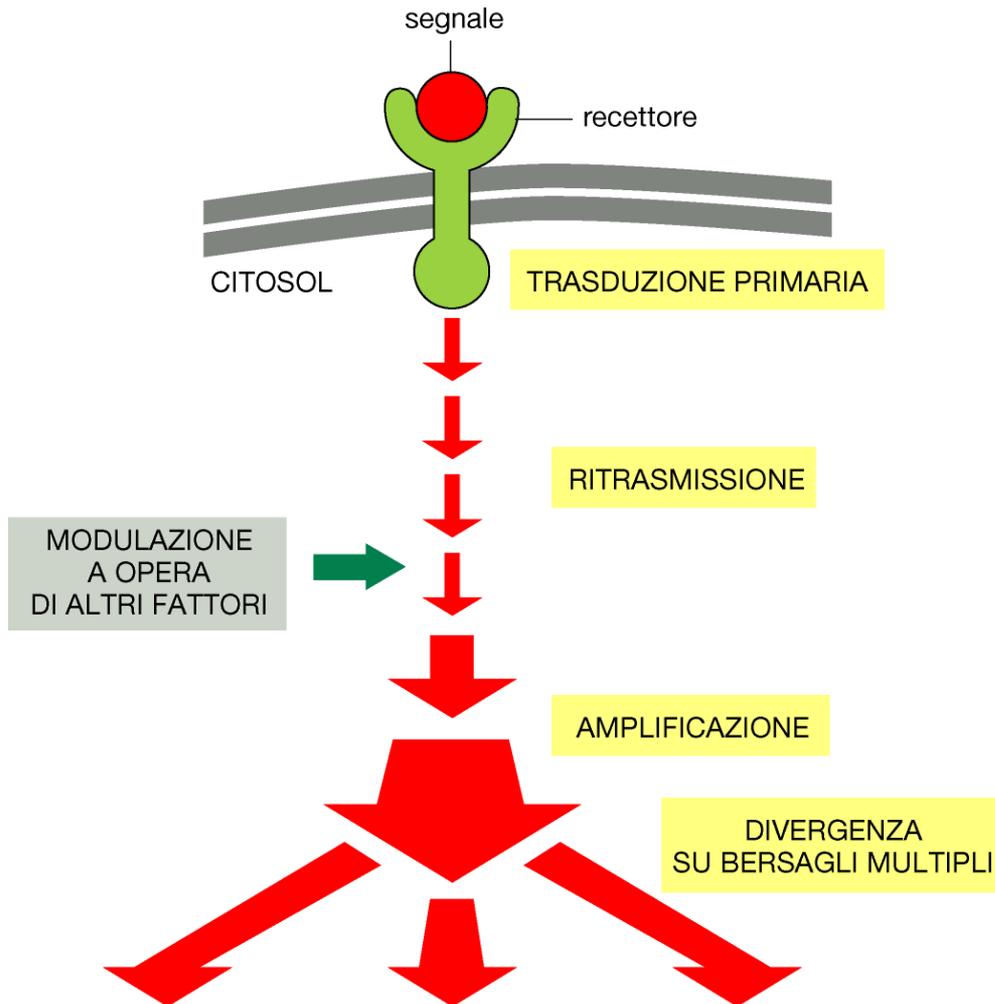
Dopo qualche secondo il GTP viene idrolizzato dall'attività GTPasica della subunità  $\alpha$  stessa quindi si riassocia al complesso  $\beta\gamma$  e il segnale viene interrotto

La proteina G ricostituita è pronta per essere riattivata da un'altro recettore

# Cascata del segnale

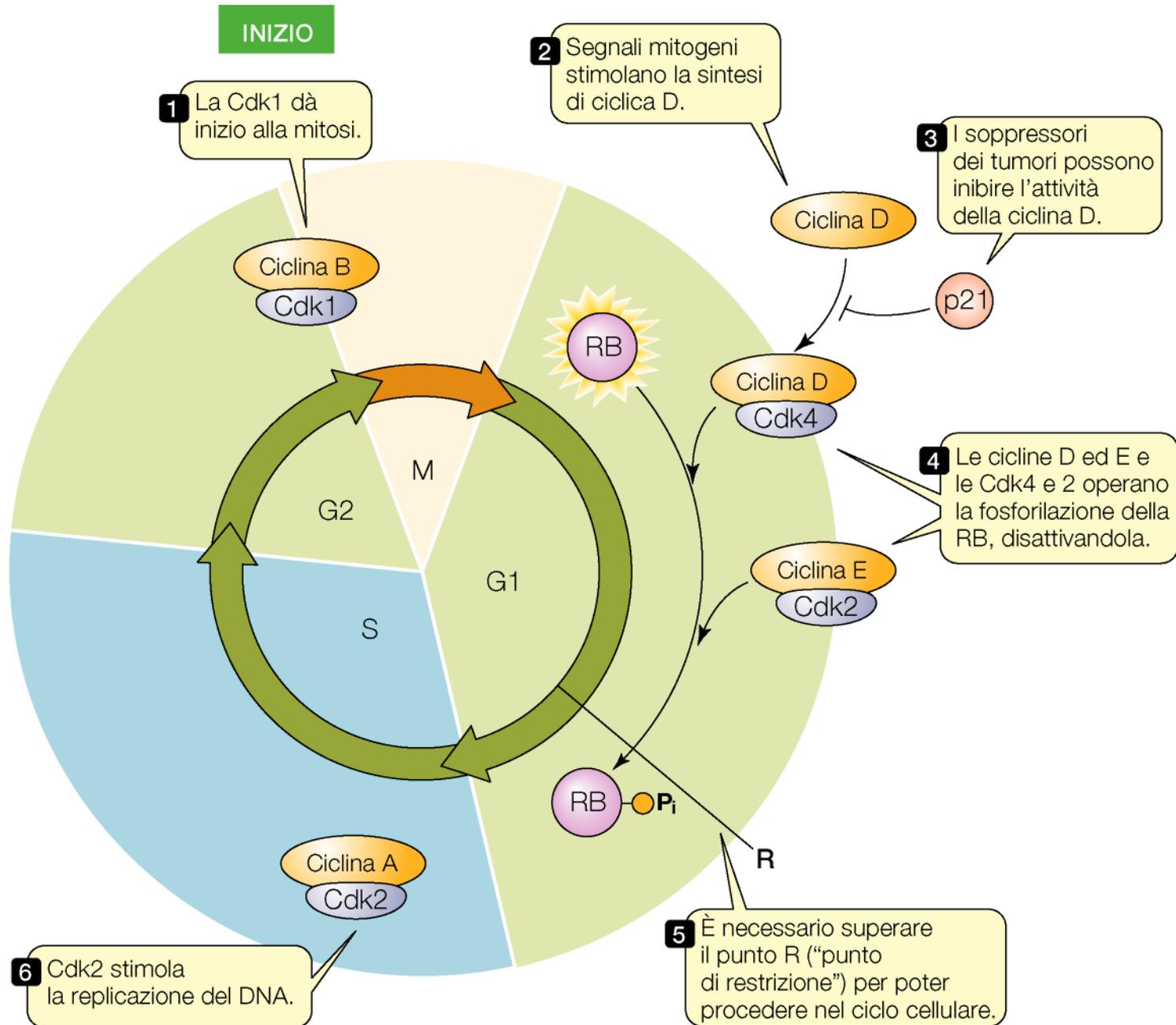
Il processo a cascata indotto dall'attivazione di un recettore da parte di un ligando conduce ad una enorme

**amplificazione del segnale**





# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE - CICLINE E CDK



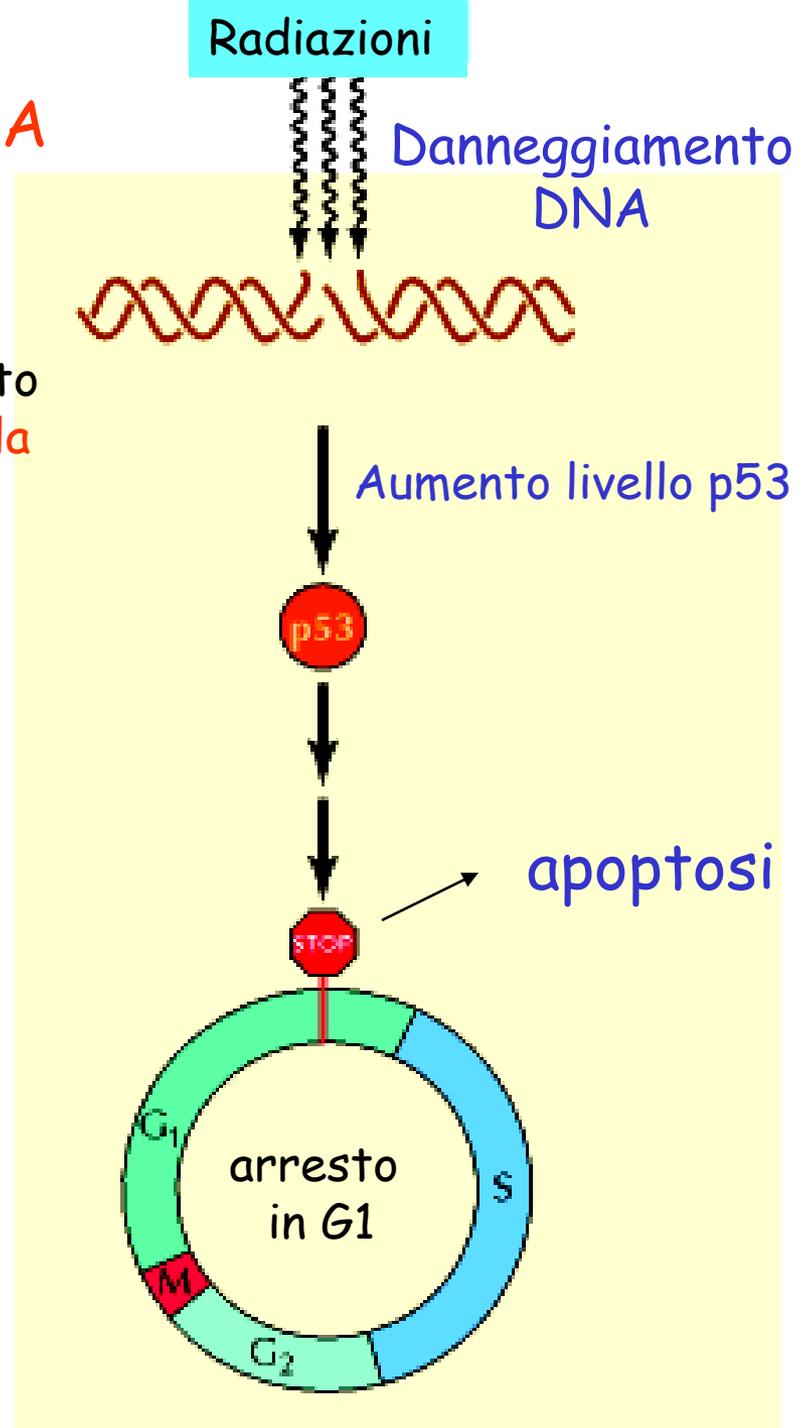
# Ruolo della p53 nell'arresto in G1 indotto da danneggiamento del DNA

L'arresto al **punto di controllo in G1** è mediato dalla **p53** che risulta essere un **inibitore della progressione del ciclo cellulare**

La p53 è indotta rapidamente in **risposta al DNA danneggiato**

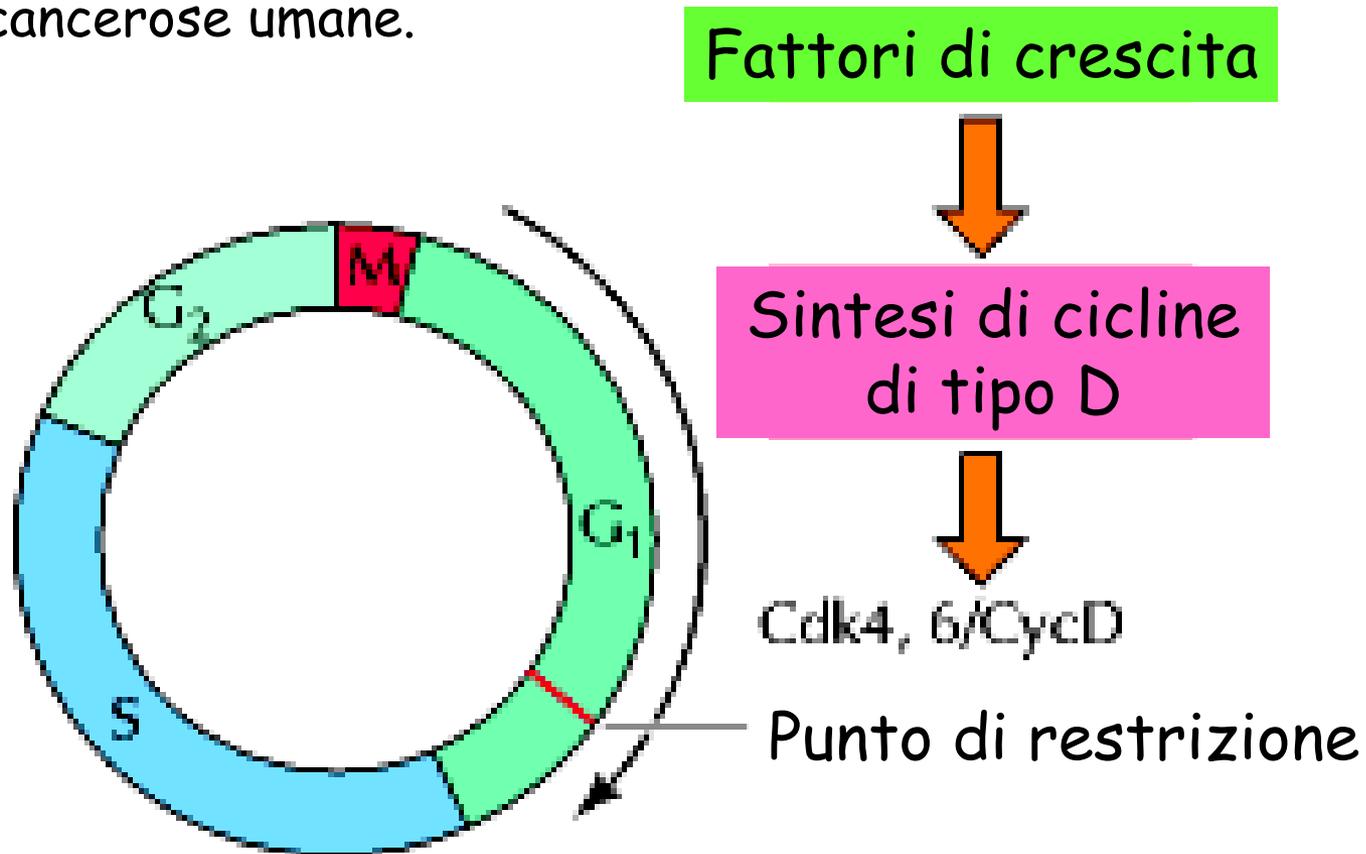
La p53 è spesso mutata nei **cancri umani**

Se il danno non è riparabile la cellula viene indotta ad autodistruggersi (**apoptosi**).



## Induzione di cicline di tipo D

Mutazioni che portano alla sovraespressione della ciclina D contribuiscono allo sviluppo di molti cancro umani come linfomi e tumori della mammella. Allo stesso modo mutazioni che inattivano gli inibitori delle Cdk (es p16) che si legano ai complessi Cdk/ciclina si trovano spesso in cellule cancerose umane.



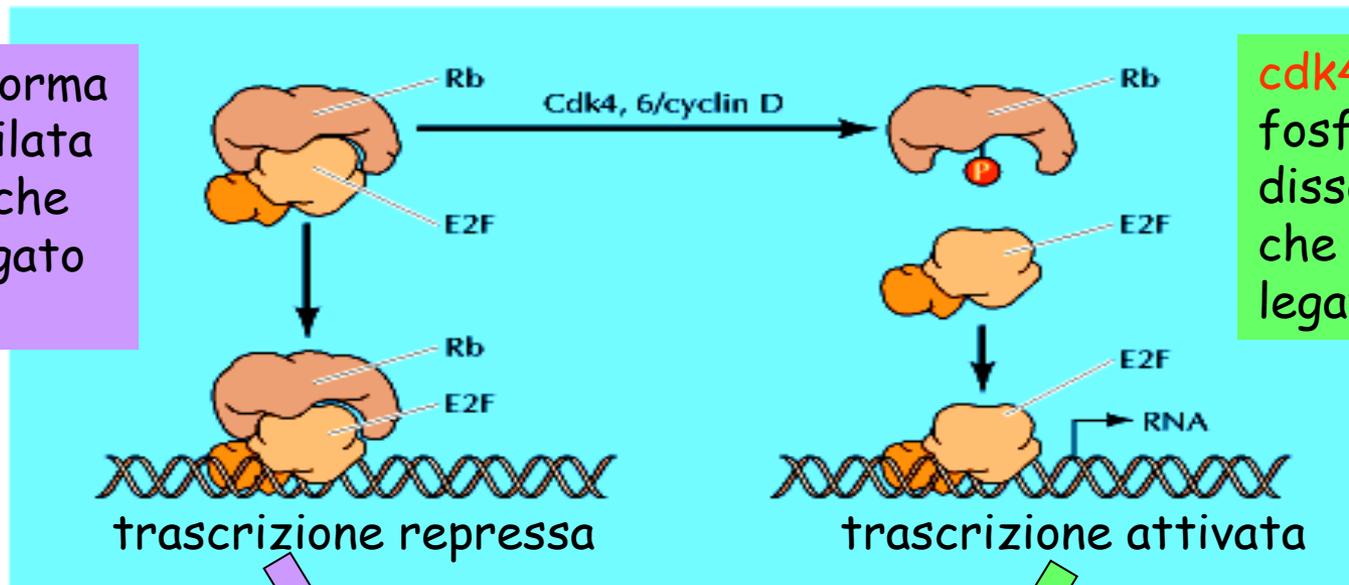
Mutazioni nelle cicline D: bersagli critici della segnalazione da parte di fattori di crescita: perdita di regolazione del ciclo cellulare: cancro

# Regolazione durante il ciclo cellulare di pRb e E2F

**Proteina Rb** (identificata nel retinoblastoma): prototipo di un gene soppressore dei tumori: un gene la cui inattivazione porta allo sviluppo di tumori: rallentano la progressione del ciclo cellulare

Rb lega fattori di trascrizione E2F che regolano geni coinvolti nella progressione del ciclo cellulare

Rb nella forma ipofosforilata lega E2F che rimane legato al DNA



**cdk4-ciclina D** fosforila Rb e lo dissocia da E2F che rimane legato al DNA

Geni per progressione del ciclo cellulare, replicazione, sintesi dNTPs

**Rb: interruttore molecolare** che converte E2F da repressore ad attivatore

Il controllo di Rb tramite fosforilazione da parte di Cdk4/ciclina D accoppia a sua volta questa regolazione critica dell'espressione genica alla disponibilità di fattori di crescita in G1

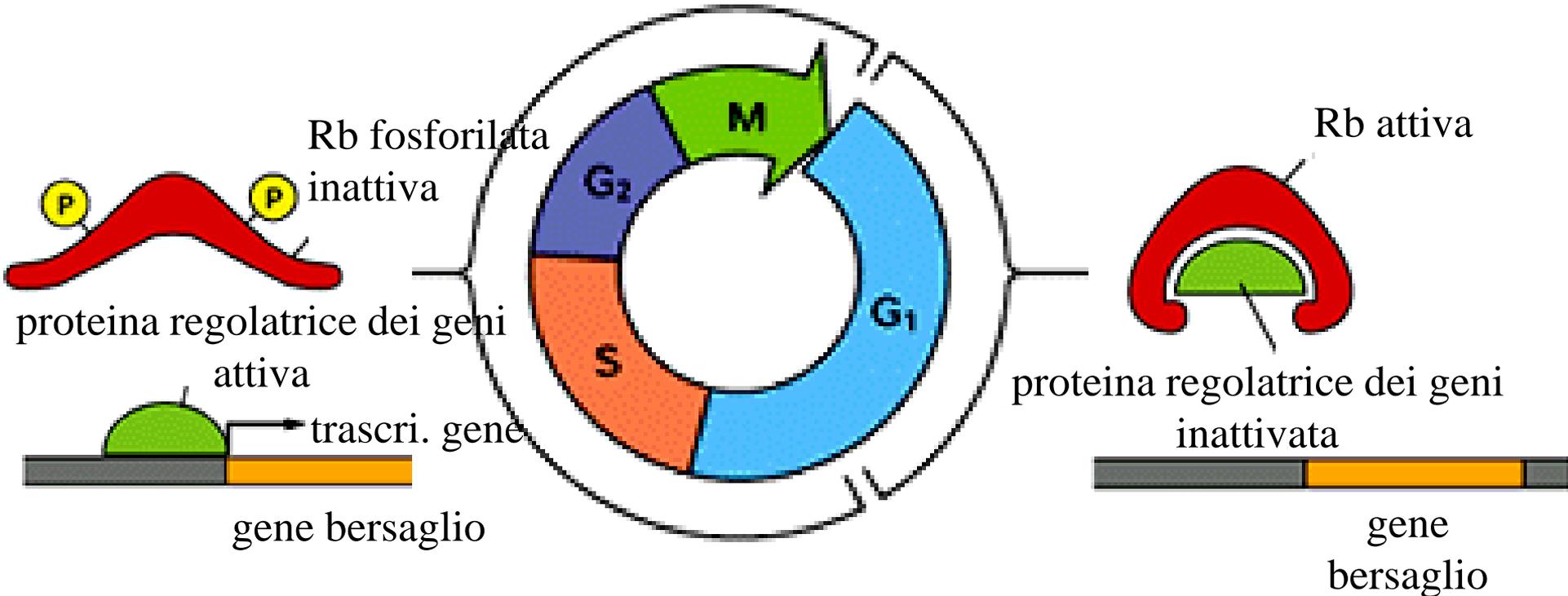
# CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

## I FATTORI CHE REGOLANO IL CICLO CELLULARE

LA PROTEINA DEL RETINOBLASTOMA (pRb) AGISCE PER  
TENERE BLOCCATA LA PROLIFERAZIONE

CELLULA CHE PROLIFERA

CELLULA IN  $G_0$



# Inibitori della progressione del ciclo cellulare

La proliferazione cellulare è regolata non soltanto da fattori di crescita ma anche da proteine inibitrici che fanno parte della famiglia delle **CKI** (inibitori delle Cdk), che legano complessi ciclina-cdk

## Induzione della p21 in seguito al danneggiamento del DNA:

- Danno al DNA
- innalzamento intracellulare della p53
- attiva la trascrizione del gene p21
- inibizione delle Cdk
- Inoltre, p21 può inibire direttamente la sintesi del DNA legandosi alla PCNA che è una subunità della DNA polimerasi  $\delta$ .

