1 credito: 12 ore	1. Fisioterapia 2. Logopedia 3. Ortottica 4. Tecnici della Riabilitazione Psichiatrica

Lauree Triennali Professioni Sanitarie

Programma del corso comune di Biologia Applicata

(AA 2017-2018)

Data	Ore di lezione	Argomenti
Mercoledì 11 Ottobre 2017 ore 14,30-16,30 Aula Acquario	2	Origine della cellula; Differenze procarioti ed eucarioti; Componenti chimici della cellula Macromolecole: zuccheri, lipidi
Venerdì 13 Ottobre 2017 ore 16,30-18,30 Aula Acquario	2	Macromolecole: proteine Macromolecole: acidi nucleici Organuli
Venerdì 20 Ottobre 2017 ore 14,30-18,30 Aula Canani	4	Replicazione Trascrizione
Mercoledì 25 Ottobre 2017 ore 16,30-18,30 Aula Acquario	2	Traduzione
Venerdì 10 Novembre 2017 ore 14,30-18,30 (scambio) Aula Acquario	2	Mitosi Meiosi
TOTALE ORE	12	

Dott.ssa Ilaria Bononi

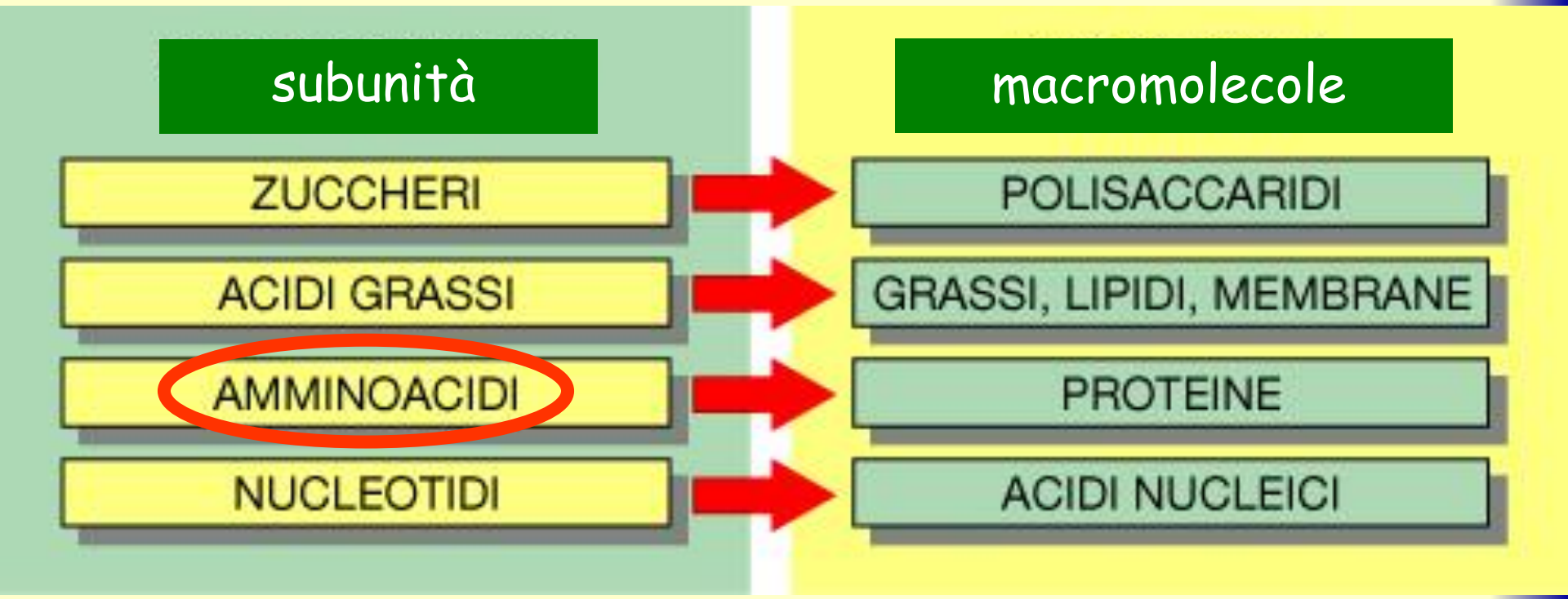
LEZIONE 2 – PARTE 1

- COMPOSTI DEL CARBONIO: MACROMOLECOLE:
  - ZUCCHERI
  - ACIDI GRASSI

  } (oggetto della lezione precedente)
  - PROTEINE
  - NUCLEOTIDI
- COMPATTAMENTO DEL DNA

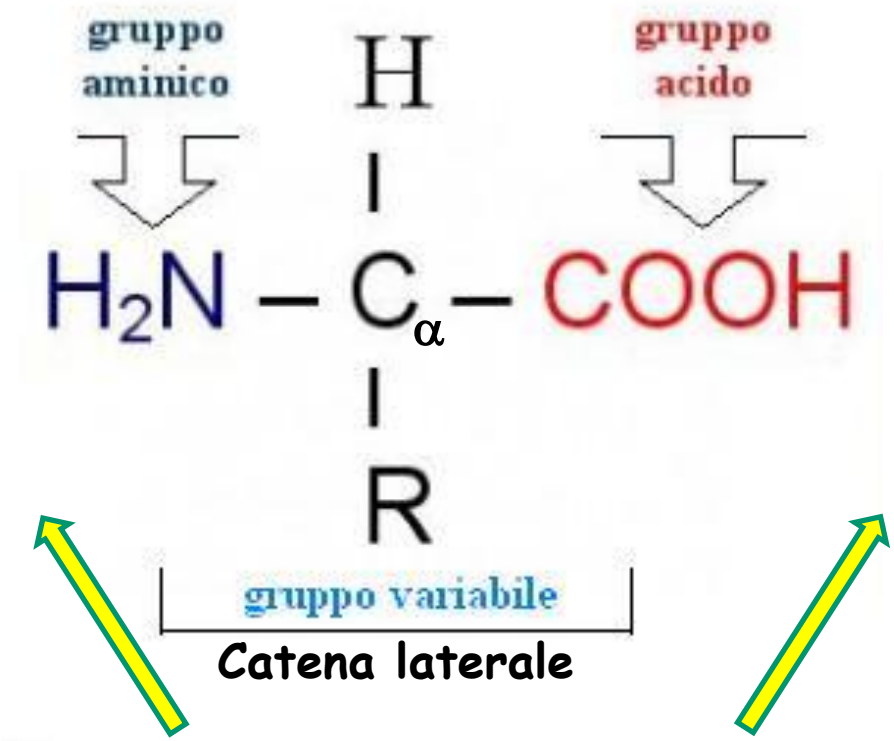
I componenti chimici di una cellula

Le cellule contengono 4 famiglie principali di piccole molecole organiche:



Struttura degli aminoacidi

Gli amminoacidi sono una variegata classe di molecole che hanno alcune proprietà in comune e si distinguono solamente in base alla catena laterale:



Gruppo amminico

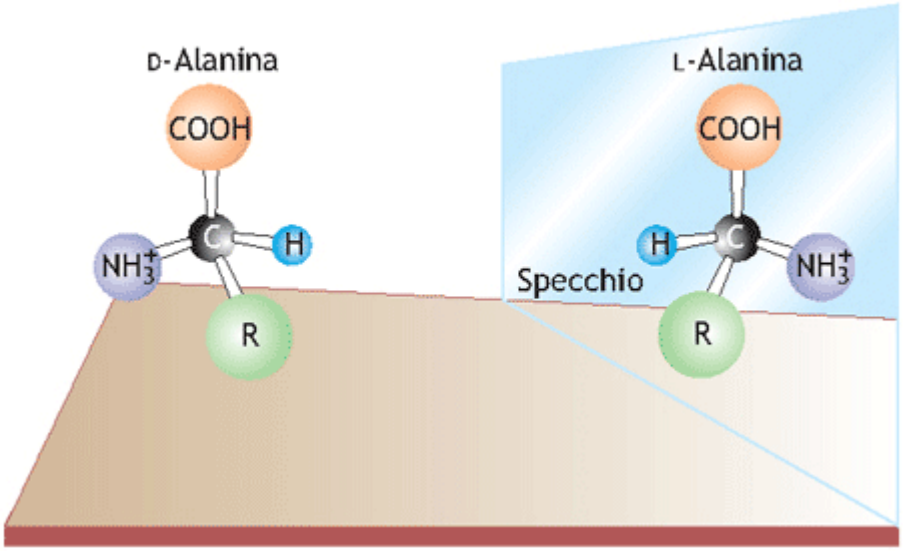
$^{+}H_3N$-

Gruppo carbossilico

-COO^-

A pH fisiologico COOH ed NH_2 sono ionizzati

Stereochimica degli amminoacidi



Il Cα è legato a 4 diversi sostituenti, pertanto è un atomo di C asimmetrico; ciò fa sì che ciascun amminoacido esista in 2 forme isomeriche (stereoisomeri) che possono essere orientate nello spazio secondo 2 conformazioni: L e D, l'una immagine speculare dell'altra (eccezione: la Gly)

Gli aa presenti nelle proteine sono tutti della serie L

Gli amminoacidi costituenti le proteine vengono classificati in 3 gruppi sulla base delle proprietà chimico-fisiche del loro radicale:

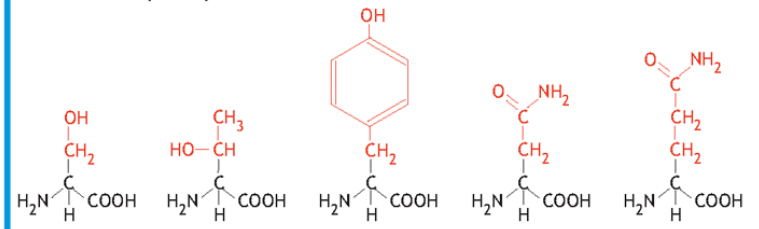
Polari ma privi di carica

Apolari

Ionizzabili:

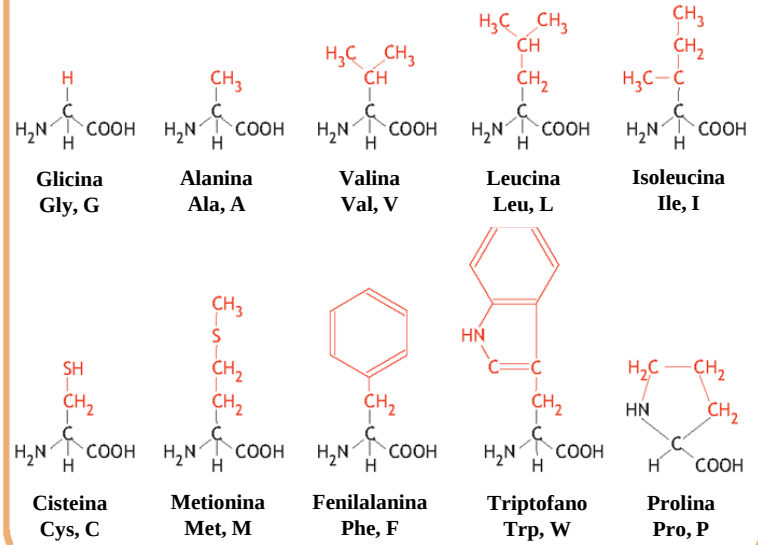
acidi o basici

Amminoacidi polari privi di carica



Serina Ser, S | Treonina Thr, T | Tirosina Tyr, Y | Asparagina Asn, N | Glutammina Gln, Q

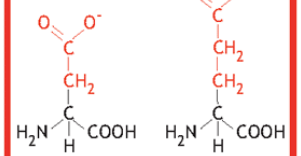
Amminoacidi apolari



Glicina Gly, G | Alanina Ala, A | Valina Val, V | Leucina Leu, L | Isoleucina Ile, I

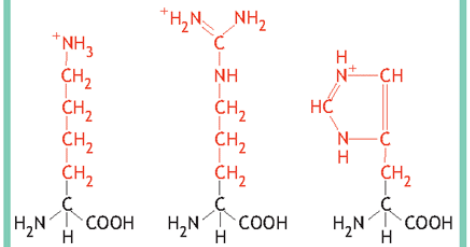
Cisteina Cys, C | Metionina Met, M | Fenilalanina Phe, F | Triptofano Trp, W | Prolina Pro, P

Amminoacidi acidi (carichi negativamente)



Acido Aspartico Asp, D | Acido Glutammico Glu, E

Amminoacidi basici (carichi positivamente)



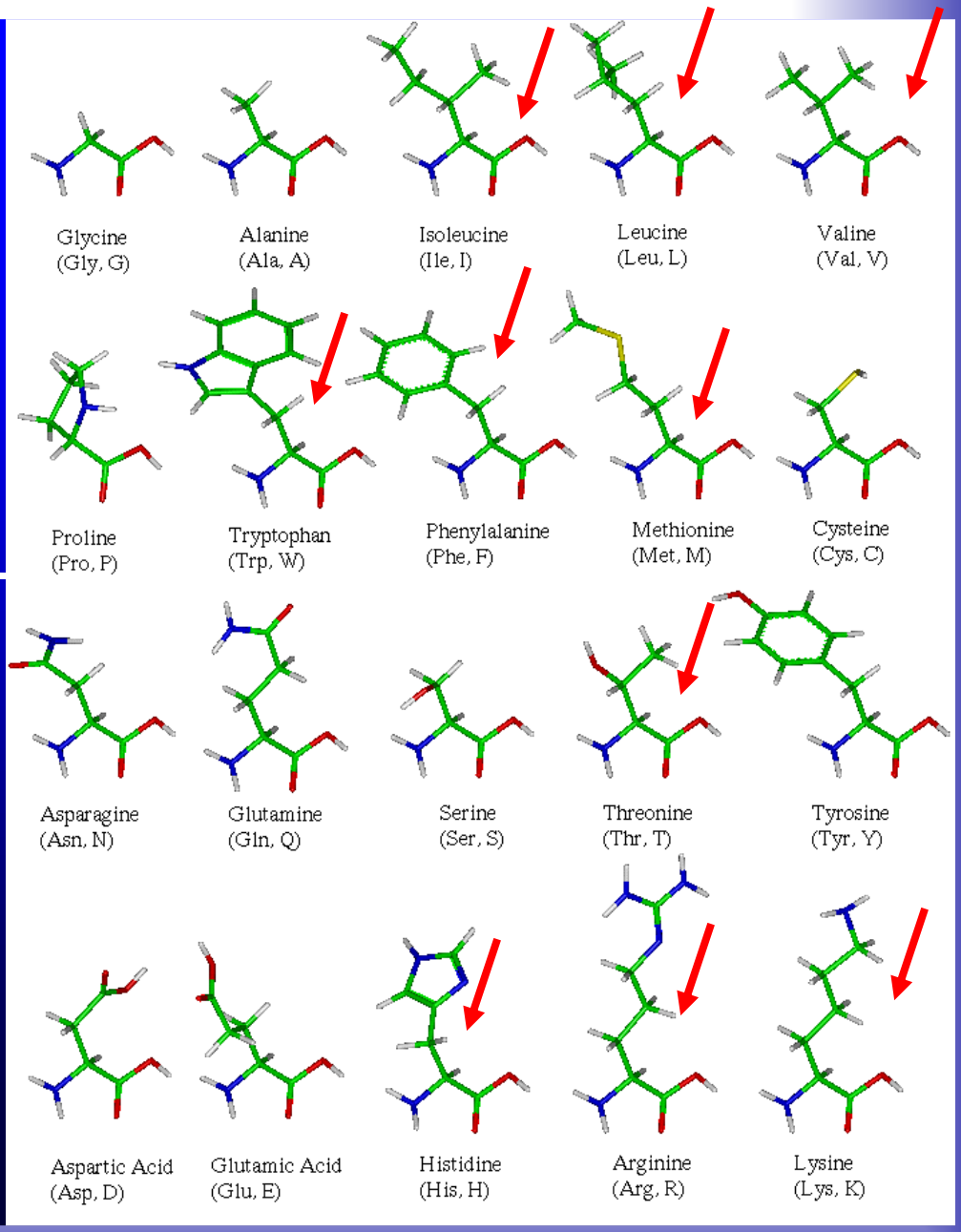
Lisina Lys, K | Arginina Arg, R | Istidina His, H

aminoacidi

Le cellule umane e animali partendo da sostanze semplici possono sintetizzarne solo alcuni. Quelli che invece devono essere introdotti con la dieta si chiamano aminoacidi essenziali

questi sono i 20 aminoacidi che si trovano nell'organismo umano e che costituiscono le…

PROTEINE



Amminoacidi essenziali e non essenziali

L'organismo non è in grado di immagazzinare aa
Le cellule traggono elementi necessari alla sintesi di nuove proteine attingendo ad un pool di amminoacidi liberi che provengono da:

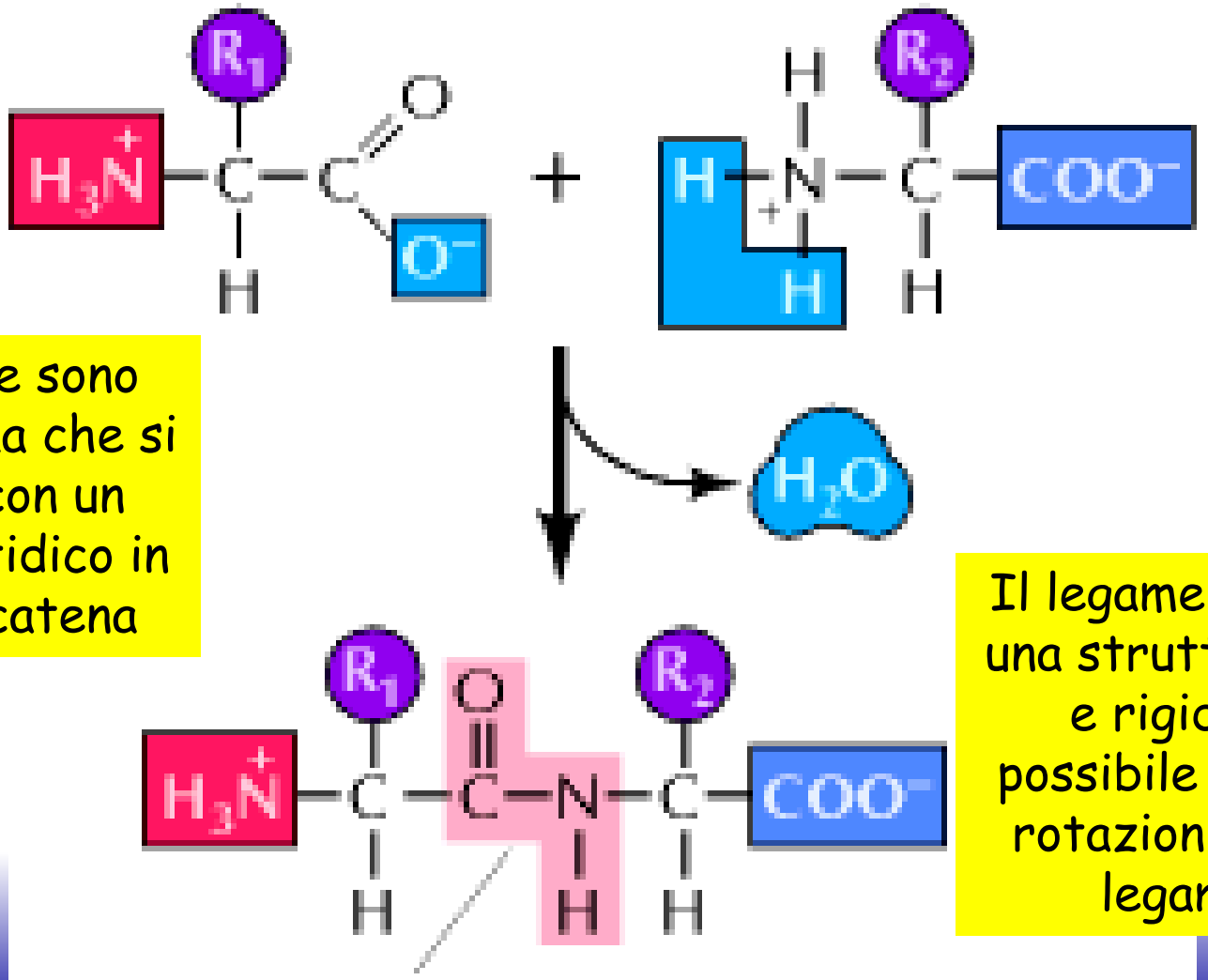
1. sintesi (aa non essenziali)
2. processi di assorbimento (aa essenziali: devono essere introdotti con la dieta)
3. dalla demolizione di proteine (riciclaggio)

Essenziali	Non essenziali
Istidina	Alanina
Isoleucina	Arginina[a]
Leucina	Asparagina
Lisina	Aspartato
Metionina	Cisteina
Fenilalanina	Glutammato
Treonina	Glutammina
Triptofano	Glicina
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

[a]Arg: non essenziale, ma i bambini in crescita ne devono assumere anche con la dieta

Il legame peptidico

La reazione di condensazione che si realizza tra gli aa per formare i peptidi avviene tra il gruppo COOH del primo aa ed il gruppo NH_2 di quello seguente con perdita di H_2O

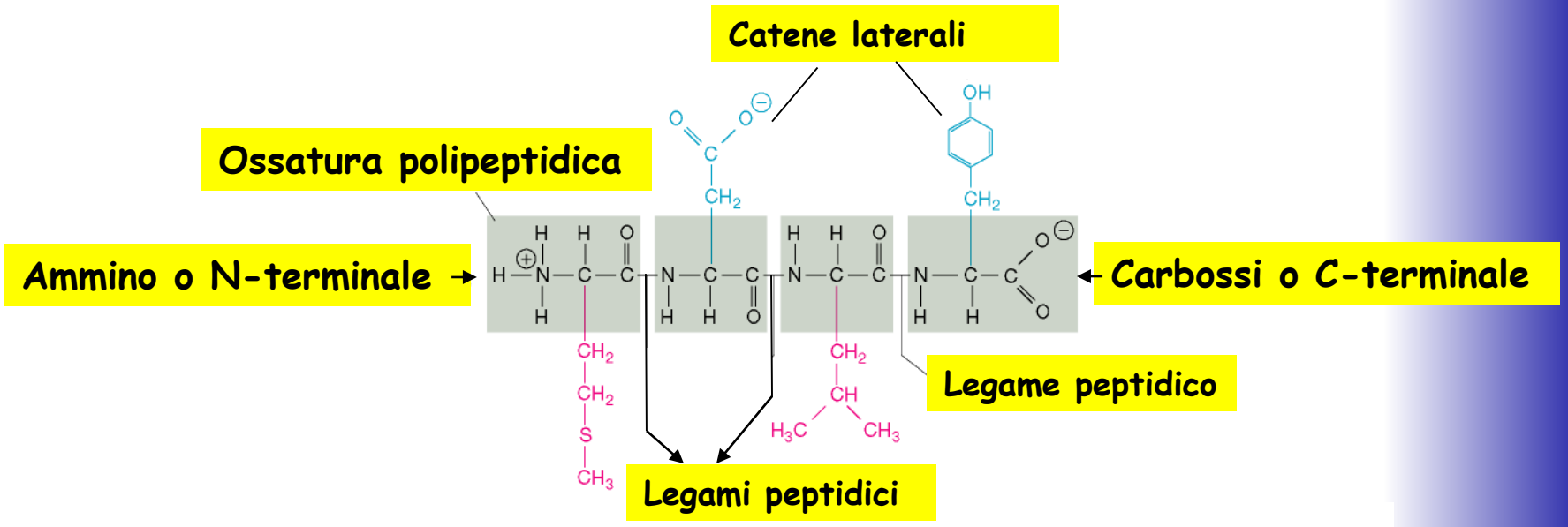


Le proteine sono polimeri di aa che si uniscono con un legame peptidico in una lunga catena

Il legame peptidico è una struttura planare e rigida: non è possibile effettuare rotazioni introno al legame C-N

Struttura delle proteine

I polipeptidi hanno una precisa direzionalità, cioè una polarità strutturale:



- I polipeptidi sono sintetizzati dall'N-term al C-term
- la seq degli aa viene scritta nello stesso ordine

Organizzazione tridimensionale delle proteine

Le proteine sono polimeri di aa che si uniscono con un legame peptidico in una lunga catena che non rimane filamentosa, ma si ripiegano assumendo una struttura tridimensionale di tipo globulare che presenta una caratteristica conformazione per ognuna di esse.

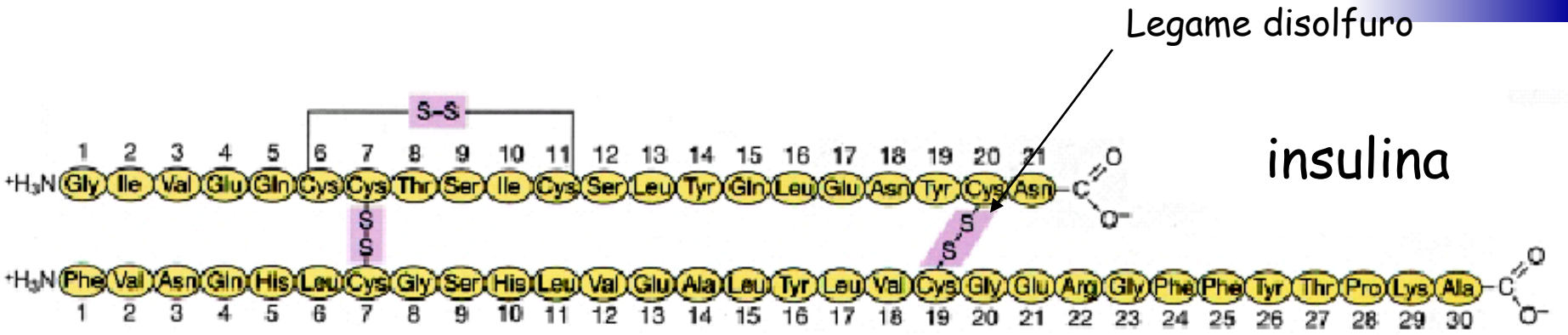
Le proteine si dispongono in modo da stabilire il maggior numero di interazioni con il mezzo circostante, con atomi o gruppi appartenenti alla molecola stessa (interazioni intramolecolari) o a molecole circostanti (interazioni intermolecolari).
Legami deboli: legami H, interazioni elettrostatiche e forze di Van der Waals

La struttura tridimensionale delle proteine è stata semplificata e scomposta in vari livelli di organizzazione:

Struttura primaria
Struttura secondaria
Struttura terziaria
Struttura quaternaria

La struttura primaria delle proteine

è data dalla successione degli aminoacidi che compongono la proteina



La sequenza aa è unica per ogni tipo di proteina, e in ogni molecola di quella proteina la seq è rigorosamente la stessa

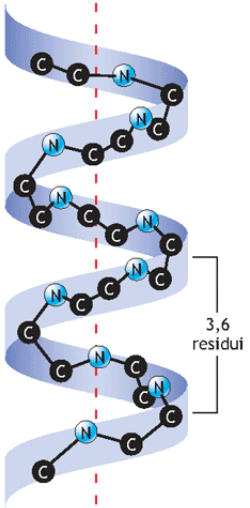
Sono state identificate molte migliaia di proteine diverse: ognuna ha una sua propria seq aa

Possono esistere infinite proteine con identica composizione aa, ma con diversa sequenza: sono pt diverse

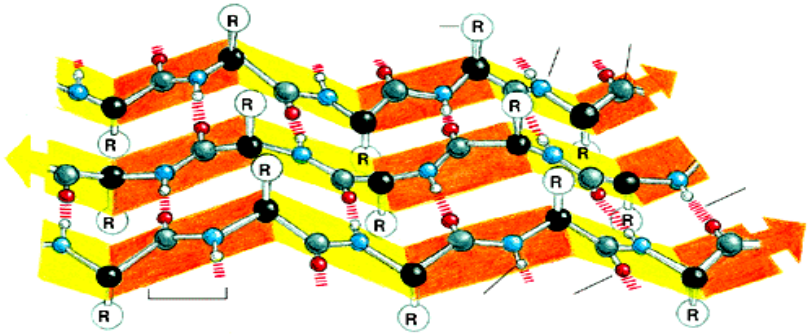
La struttura secondaria delle proteine

Interessa tratti più o meno lunghi di una catena polipeptidica, che assumono un ripiegamento regolare e ripetitivo

Alfa elica



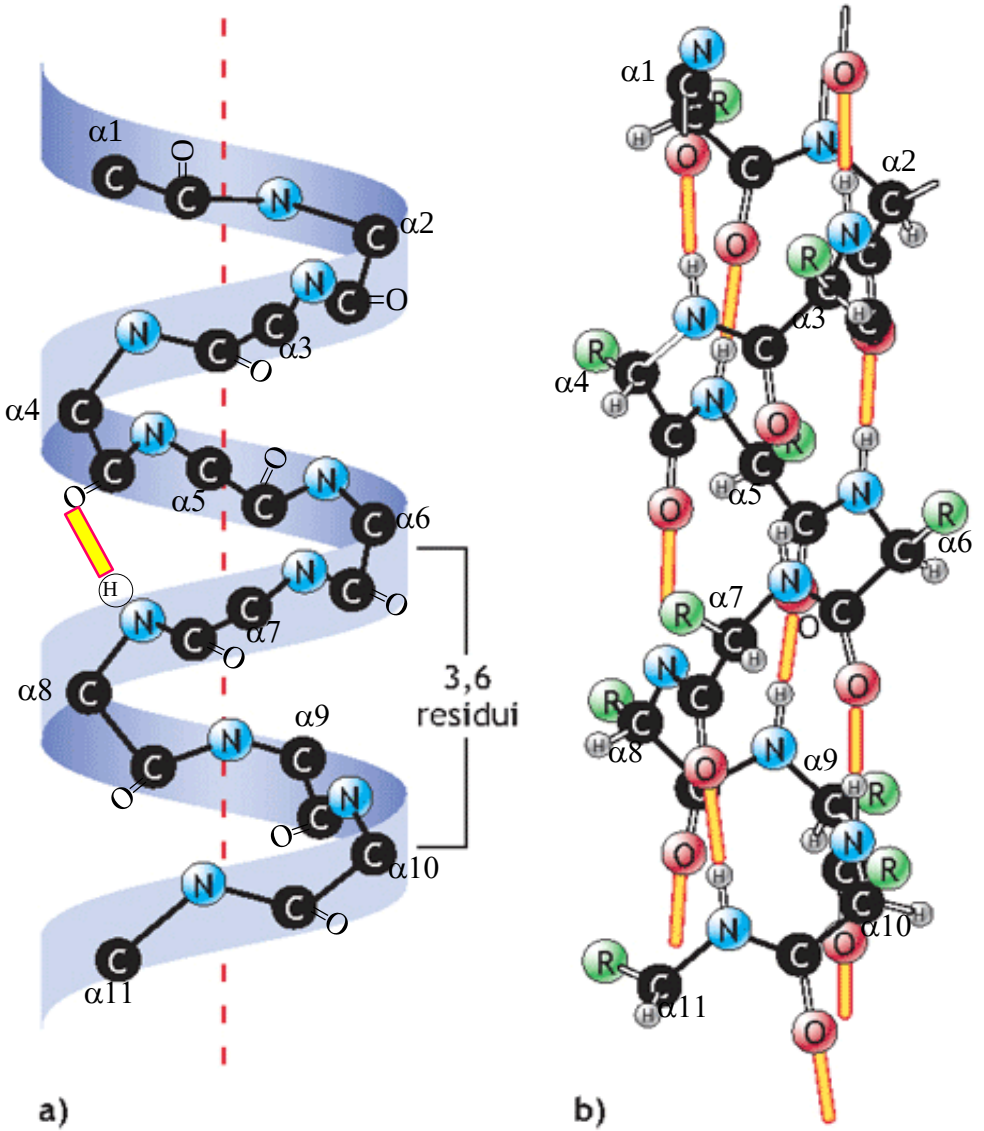
Beta foglietto



Entrambe queste strutture secondarie sono tenute insieme da legami idrogeno fra gruppi NH e CO dei legami peptidici

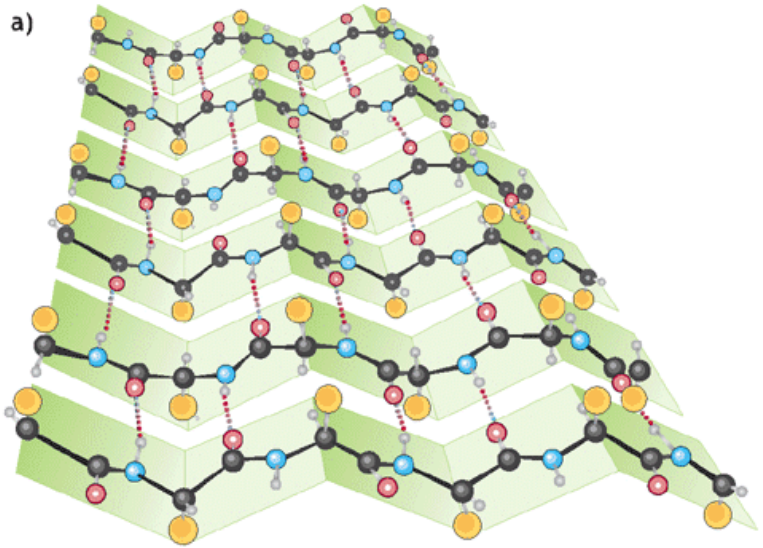
La struttura secondaria delle proteine: Struttura alfa-elica

Un'α-elica si forma quando una regione di una catena polipeptidica si avvolge su se stessa, con il gruppo CO di un legame peptidico che forma un legame idrogeno con il gruppo NH di un legame peptidico posto 4 residui più a valle nella catena polipeptidica lineare



La struttura secondaria delle proteine: Struttura beta-foglietto

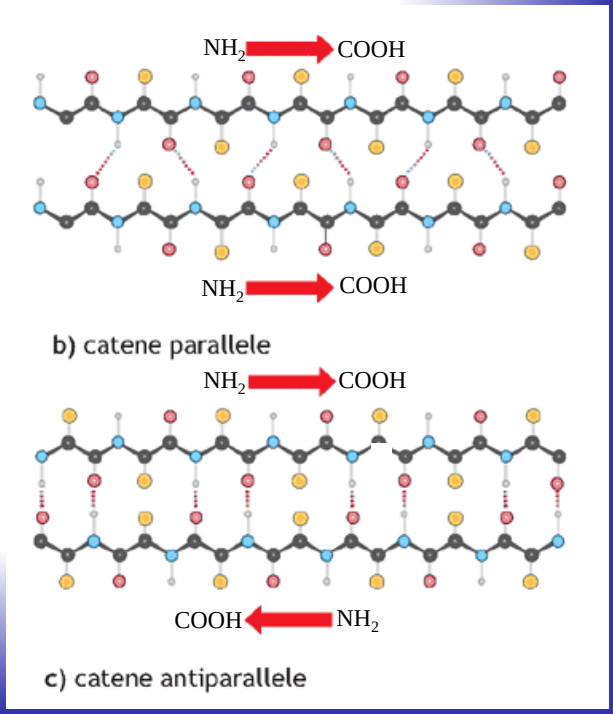
Si forma quando diversi filamenti di una catena polipeptidica si dispongono parallelamente gli uni agli altri. In ciascun filamento il gruppo NH e CO dei legami peptidici sono rivolti perpendicolarmente rispetto alla direzione della catena e formano legami-H con i gruppi NH e CO dei legami peptidici della catena affiancata. Ogni legame peptidico forma 2 legami-H



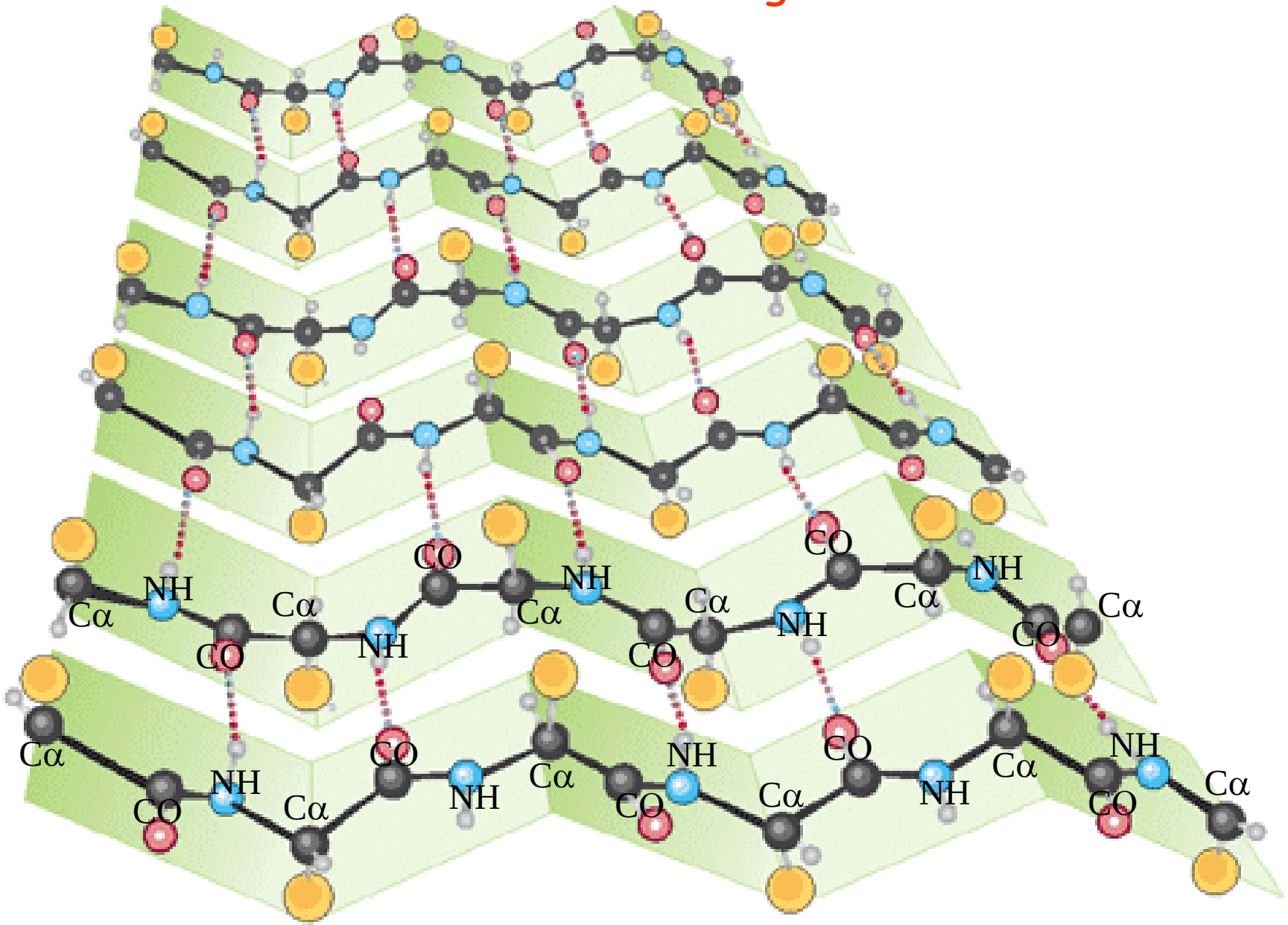
Le catene laterali degli aa sporgono al di sopra o al di sotto delle catene affiancate

Il β-foglietto si può formare fra parecchi filamenti polipeptidici, che possono essere:

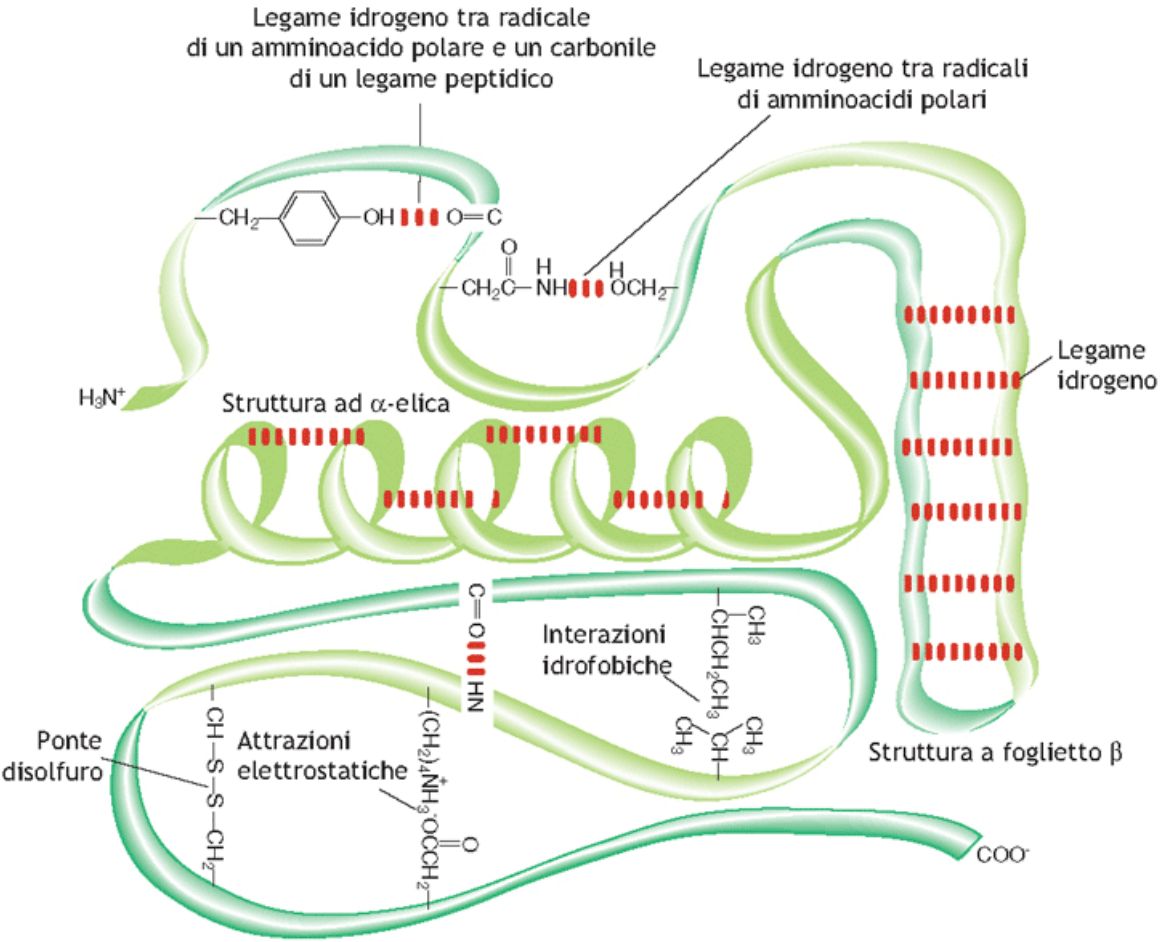
- paralleli
- antiparalleli



La struttura secondaria delle proteine: Struttura beta-foglietto



La struttura terziaria delle proteine:



Legami deboli (o ponti disolfuro) fra catene laterali di aa che si trovano in regioni diverse della stessa seq primaria

Domini: strutture globulari compatte: unità base della struttura terziaria: combinazioni di α-elica e β-foglietto, connesse da regioni ad ansa: unità funzionali e strutturali della pt.

Pt con funzioni simili hanno domini simili

Il ripiegamento della pt non è casuale, è dettato dalla struttura primaria e dall'ambiente esterno:

aa apolari nella parte interna (forze di van der Waals)

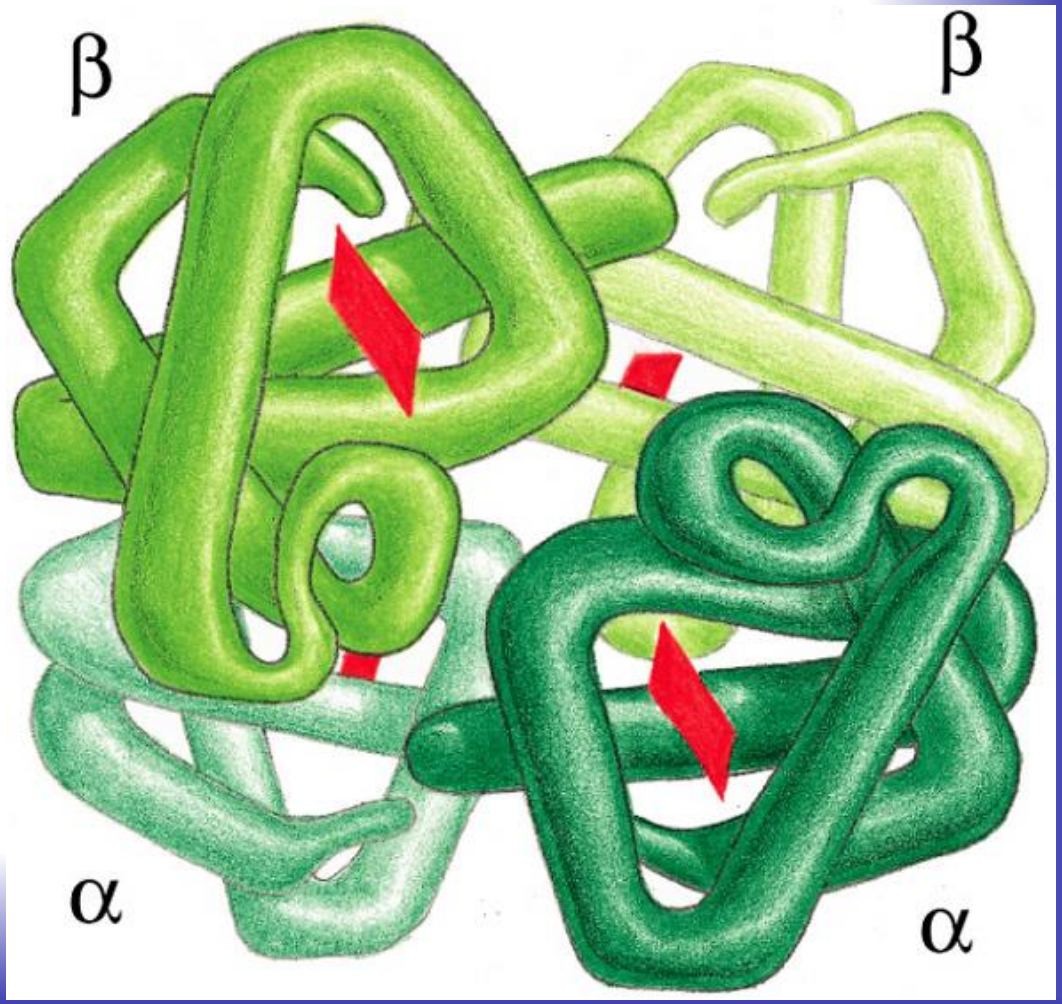
aa polari esposti alla superficie (interazioni con H_2O)

Contrario per le proteine di membrana

La struttura quaternaria delle proteine

La struttura quaternaria consiste nelle interazioni fra catene polipeptidiche diverse in proteine composte da più di un polipeptide. L'associazione delle diverse catene è guidata dalla stessa logica che ha consentito il raggomitolamento nella struttura terziaria:

- legami deboli
- ponti disolfuro
- aa apolari e aa polari



Emoglobina:

Eterodimero costituito dall'aggregazione di 4 subunità uguali a 2 a 2.

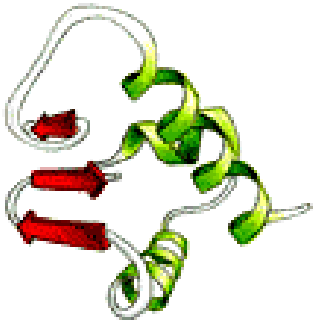
La struttura delle proteine

I TRE LIVELLI DI ORGANIZZAZIONE DI UNA PROTEINA

DOMINIO PROTEICO:
è l'unità strutturale base di una proteina. Il nucleo di ciascun dominio è composto in gran parte da una serie di foglietti β o α eliche o da un misto delle due a strutture.

α-elica

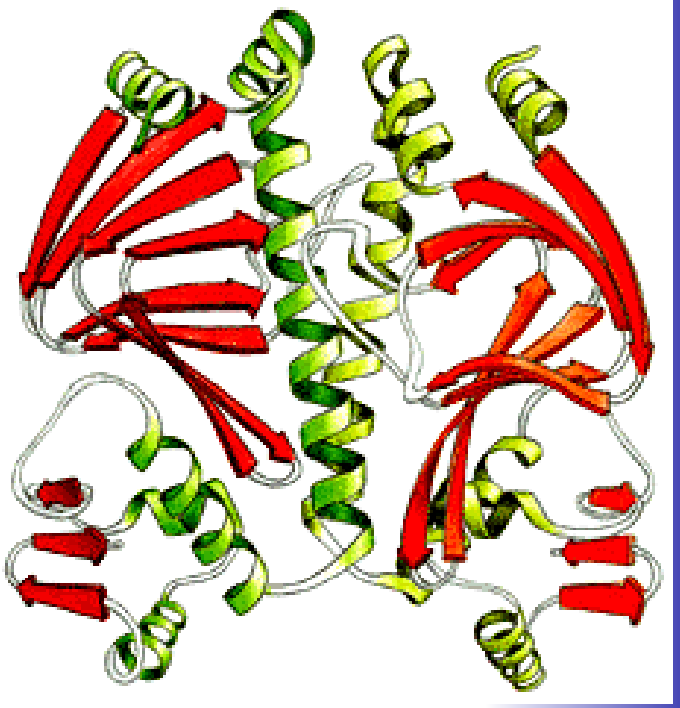
foglietto β



dominio

proteina CAP

subunità proteica (monomero)

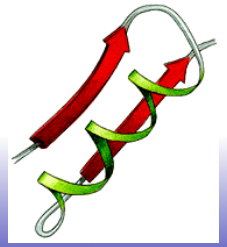


molecola proteica (dimero)

struttura secondaria | **struttura terziaria** | **struttura quaternaria**

MOTIVI COMUNI NELLE PROTEINE

motivo a forcina beta



motivo beta-alfa-beta

Denaturazione e rinaturazione di una proteina

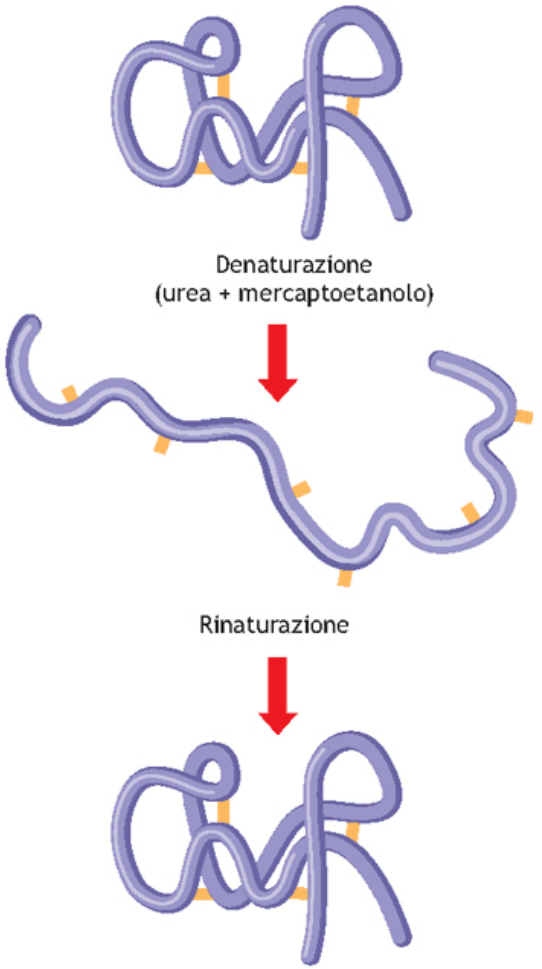
Il riscaldamento e il trattamento con un riducente disgregano la conformazione nativa denaturando la proteina

Agenti denaturanti:
- Fisici: calore, radiazioni
- Chimici: pH, urea, guanidina, ecc

Rompono i legami che stabilizzano le strutture secondaria, terziaria e quaternaria: si modifica la struttura tridimensionale senza modificare la seq aa

La denaturazione causa la scomparsa dell'attività biologica della proteina, ciò evidenza chiaramente il legame tra attività biologica e struttura tridimensionale

La rinaturazione si accompagna alla ricomparsa di tutte le proprietà della proteina nativa, compresa l'attività biologica

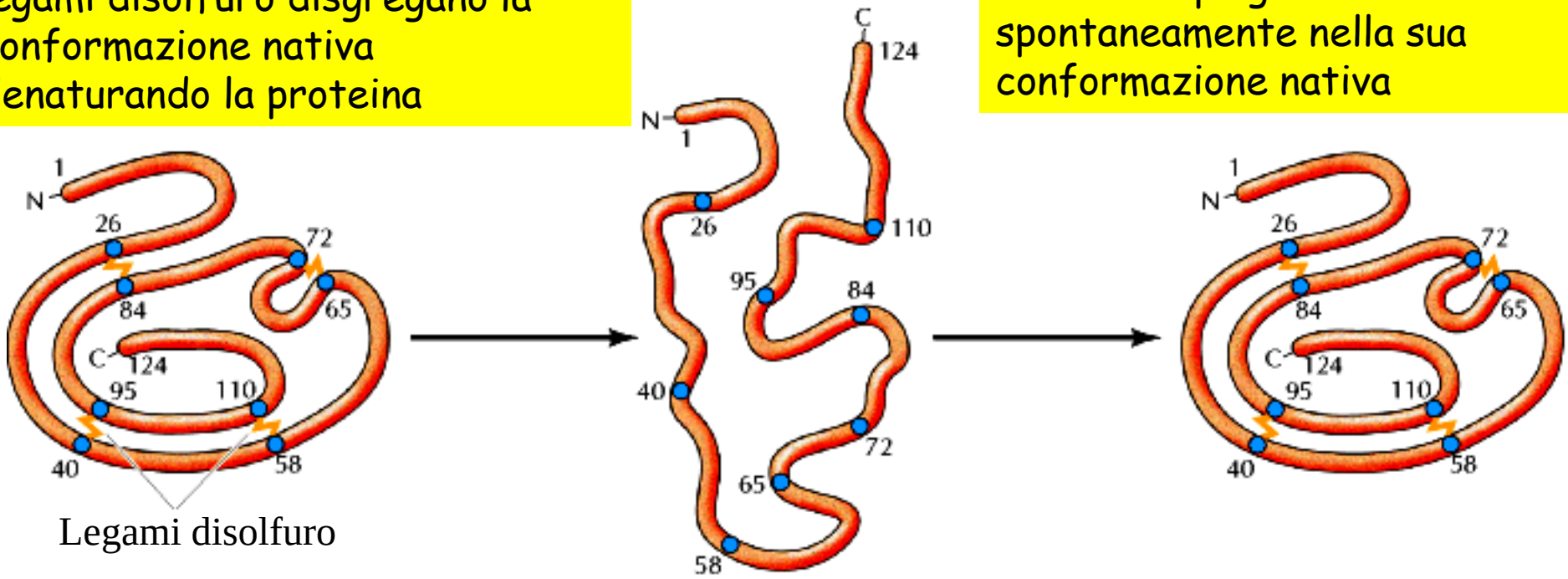


Le proteine

Rinaturazione e ripiegamento delle proteine

Il riscaldamento e il trattamento con un riducente che rompe i legami disolfuro disgregano la conformazione nativa denaturando la proteina

Se la Rnasi denaturata viene poi riportata in condizioni native si ripiega spontaneamente nella sua conformazione nativa



RNasi nativa

RNasi denaturata

RNasi nativa

La ribonucleasi (Rnasi)

FUNZIONI DELLE PROTEINE *(proteios = di primaria importanza)*

Le cellule sono sostanzialmente formate da elementi proteici che costituiscono la maggior parte della loro massa, insieme all'acqua

Tuttavia le proteine non danno solo la forma e la struttura della cellula, ma eseguono anche quasi tutte le sue funzioni

1. **Enzimi** — catalizzatori che accelerano la velocità delle reazioni chimiche
2. **Proteine strutturali** — pt del citoscheletro, collagene, elastina, cheratina ecc.
3. **Carriers** — proteine di trasporto inserite nella membrana citoplasmatica
4. **Proteine contrattili** — assicurano la motilità delle cellule e degli organismi
5. **Ormoni proteici** — es. ormoni ipotalamici, ipofisari, PTH, CT, insulina, glucagone
6. **Proteine di trasporto** — es emoglobina del sangue
7. **Anticorpi** — principale sistema di difesa degli organismi
8. **Proteine di deposito** — deposito di materia o di energia (es, ovalbumina, caseina) o di particolari sostanze (la ferritina, deposito di ferro).
9. **Tossine**

Le proteine costituiscono lo *hardware* delle cellule.

Le macromolecole - proteine

Tra le 4 famiglie principali di piccole molecole organiche contenute nelle cellule, ora trattiamo gli amminoacidi.

Unendo semplicemente gli amminoacidi con legami peptidici (covalenti) in lunghe catene si formano le macromolecole cellulari denominate proteine

Le reazioni chimiche con cui vengono aggiunti gli amminoacidi alle proteine presentano importanti caratteristiche comuni alla polimerizzazione delle altre macromolecole (polisaccaridi, acidi nucleici).

La proteina si allunga applicando un nuovo amminoacido all'estremità di una catena polimerica in crescita mediante una reazione di condensazione, in cui una molecola di H_2O viene eliminata per ogni aminoacido aggiunto

In tutti i casi la reazione è catalizzata da enzimi che garantiscono l'incorporazione esclusiva dell'amminoacido del tipo giusto

Le macromolecole - proteine

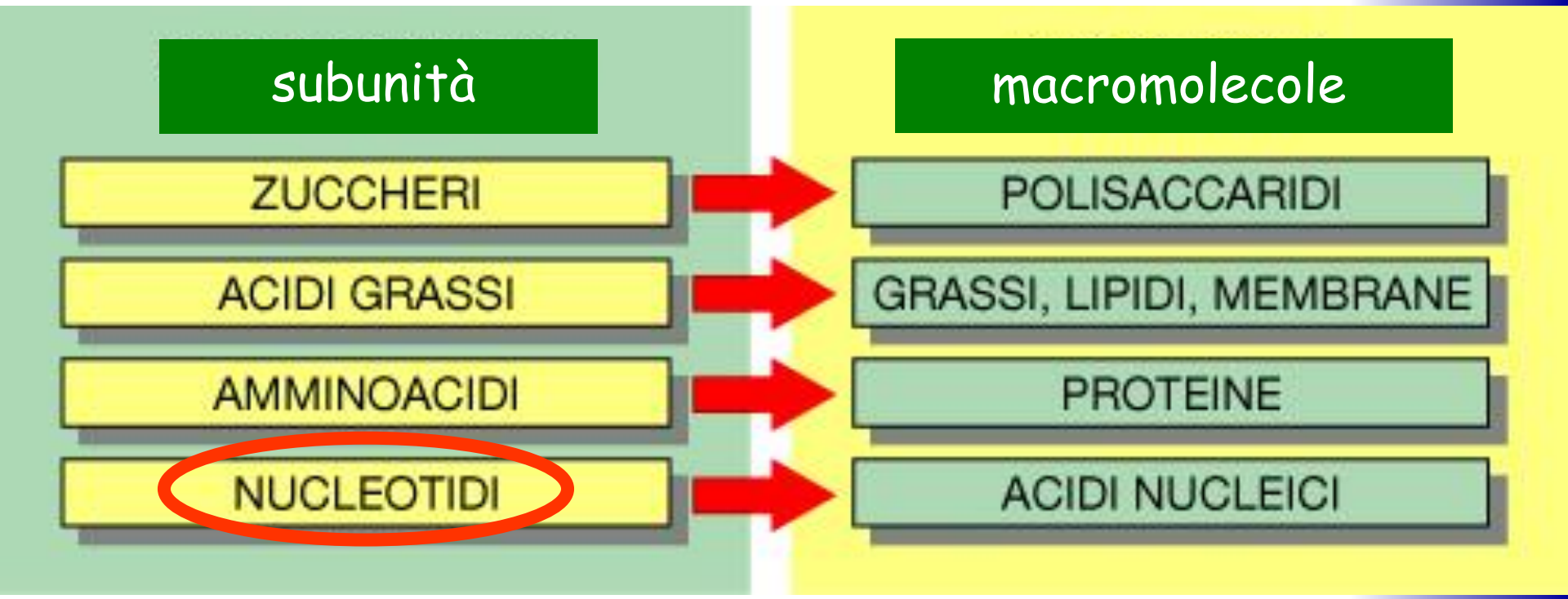
La polimerizzazione, un amminoacido alla volta, in una catena lunga è un procedimento semplice per fabbricare una molecola grande e complessa, dato che ogni elemento viene ad aggiungersi grazie alla stessa reazione eseguita ripetutamente dalla stessa batteria enzimatica

Le proteine vengono sintetizzate impiegando 20 amminoacidi leggermente diversi tra loro; inoltre nella catena polimerica le subunità non vengono montate a caso, ma in un ordine particolare: la sequenza amminoacidica

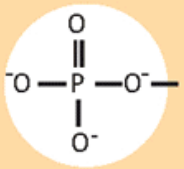
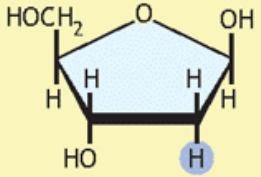
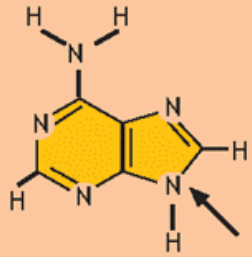
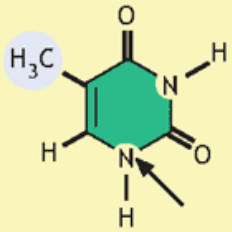
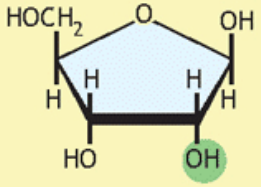
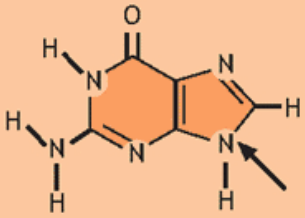
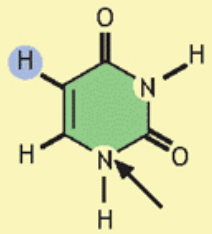
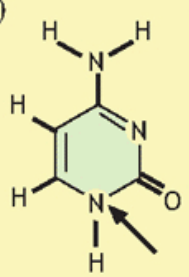
La funzione biologica delle proteine dipende rigidamente dalla specifica sequenza delle subunità nella catena lineare. Per questo l'apparato che polimerizza deve sottostare a un controllo molto fine e determinare con esattezza la subunità da collocare volta per volta nel polimero in crescita

I componenti chimici di una cellula

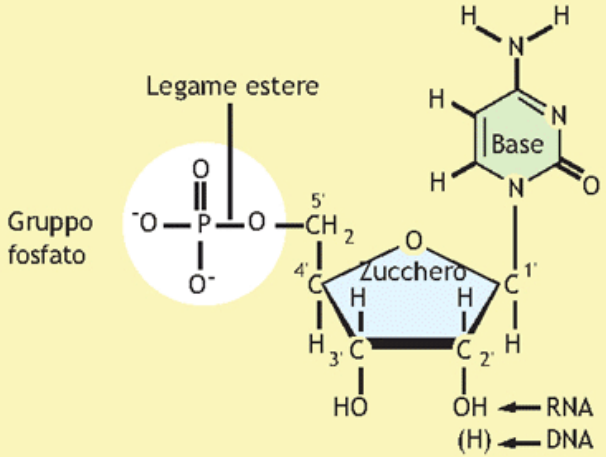
Le cellule contengono 4 famiglie principali di piccole molecole organiche:



Il nucleotide

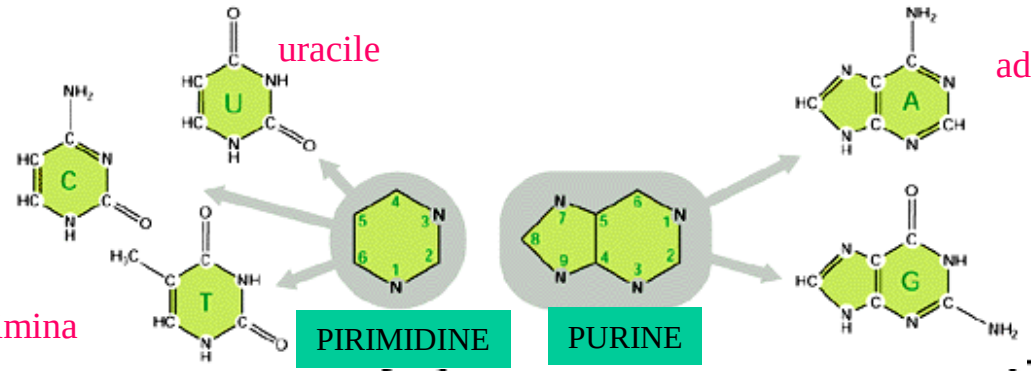
Gruppo fosfato	Zuccheri	Basi	
		Purine	Pirimidine
	 β-D-desossiribosio (nel DNA)	 Adenina (A)	 Timina (T) (nel DNA)
	 β-D-ribosio (nell'RNA)	 Guanina (G)	 Uracile (U) (nell'RNA)
			 Citosina (C)

Nucleotide



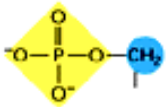
BASI

Le basi sono composti ad anello che contengono azoto, o purine o pirimidine



FOSFATI

Sono normalmente uniti al gruppo OH in C5 de ribosio o desossiribosio.



monofosfato o AMP

difosfato o ADP

trifosfato o ATP

Il fosfato rende un nucleotide carico -

NUCLEOTIDI

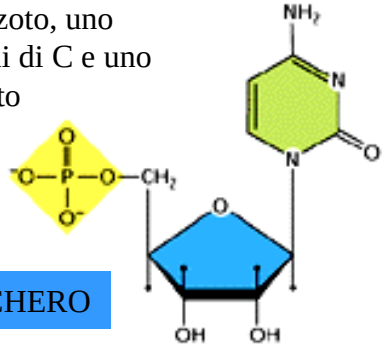
Le subunità degli acidi nucleici.

Un nucleotide consiste di una base contenente azoto, uno zucchero a 5 atomi di C e uno o più gruppi fosfato

BASE

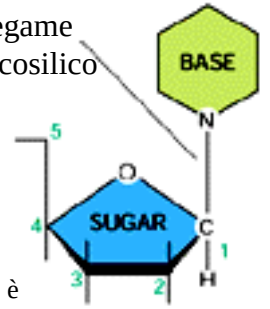
FOSFATO

ZUCCHERO



LEGAME FRA BASE E ZUCCHERO

legame *N*-glicosilico



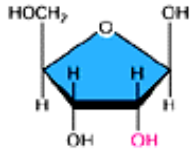
La base è legata allo stesso atomo di C (C1) usato nei legami zucchero-zucchero

ZUCCHERI

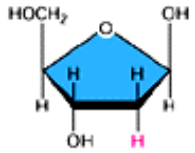
PENTOSO

uno zucchero a 5 atomi di C

se ne usano due tipi



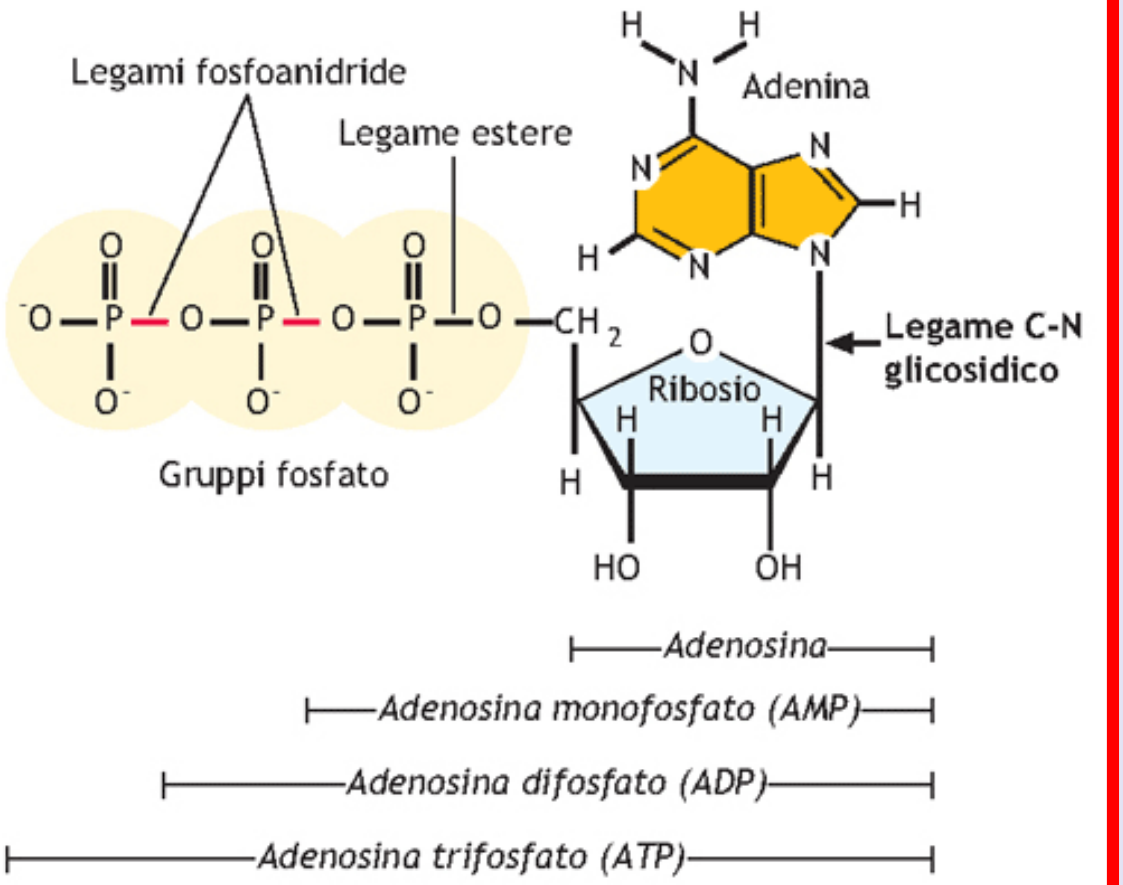
β-D-RIBOSIO
usato nell'acido ribonucleico



β-D-2-DEOSSIRIBOSIO
usato nell'acido deossiribonucleico

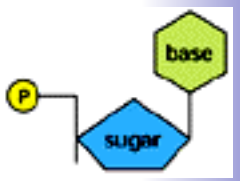
Ciascun C numerato dello zucchero di un nucleotide è seguito da un segno primo (‘); si parla quindi di “C 5 primo” ecc.

NOMENCLATURA



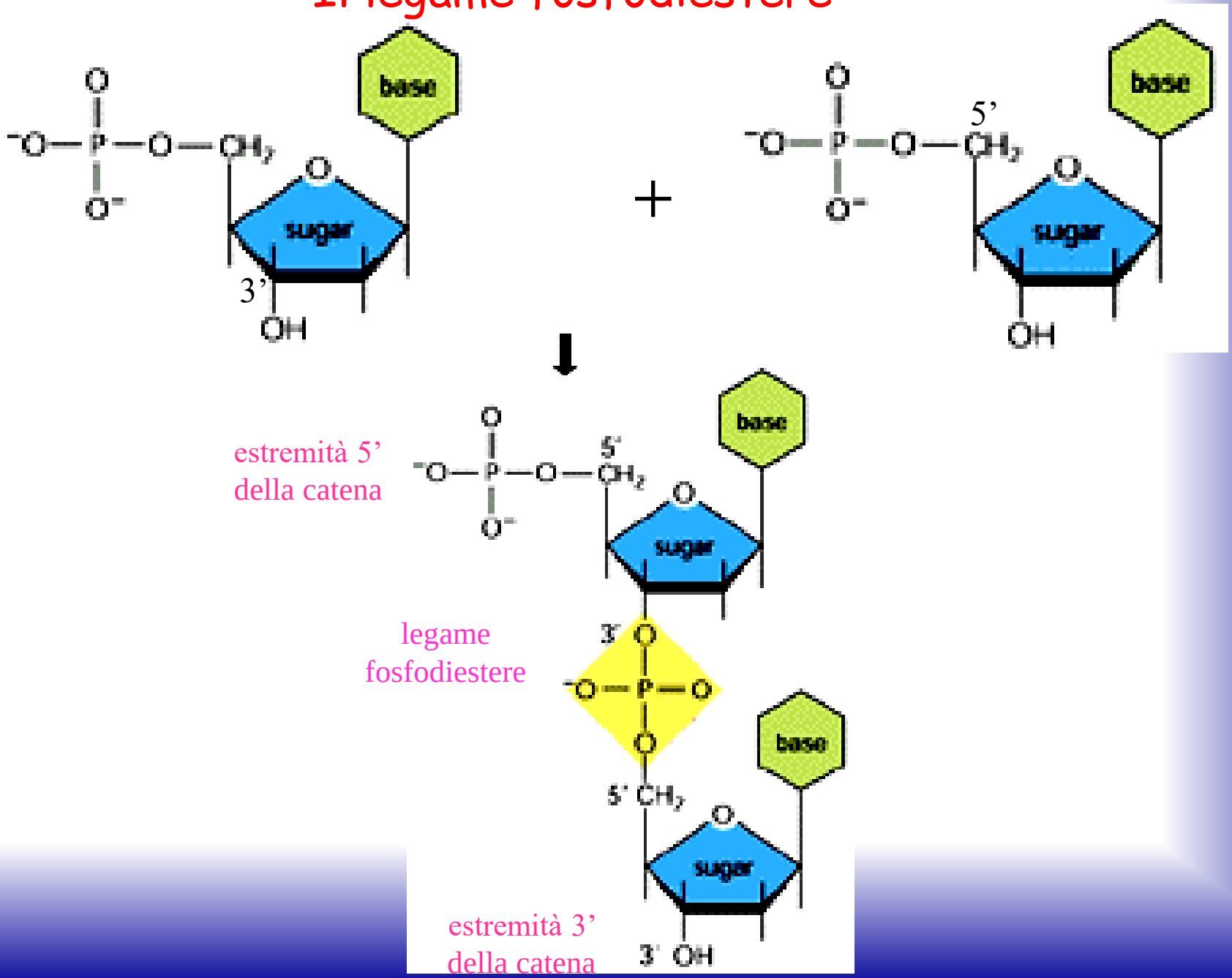
BASE	NUCLEOSIDE	ABBR.
adenina	adenosina	A
guanina	guanosina	G
citosina	citidina	C
uracile	uridina	U
timina	timidina	T

BASE + ZUCCHERO = NUCLEOSIDE

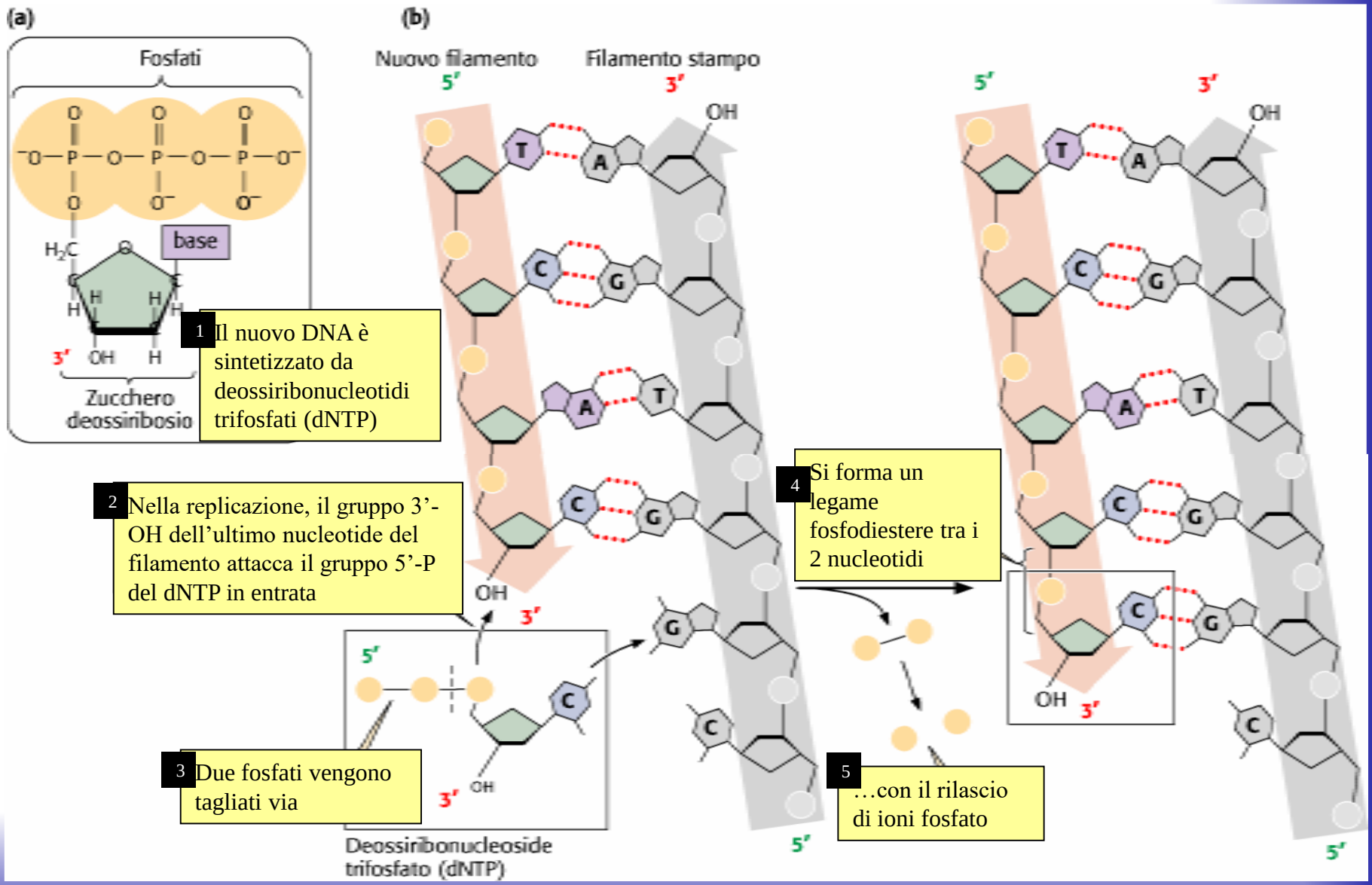


BASE + ZUCCHERO + FOSFATO = NUCLEOTIDE

Il legame fosfodiestere



Il legame fosfodiestere



Il legame fosfodiestere

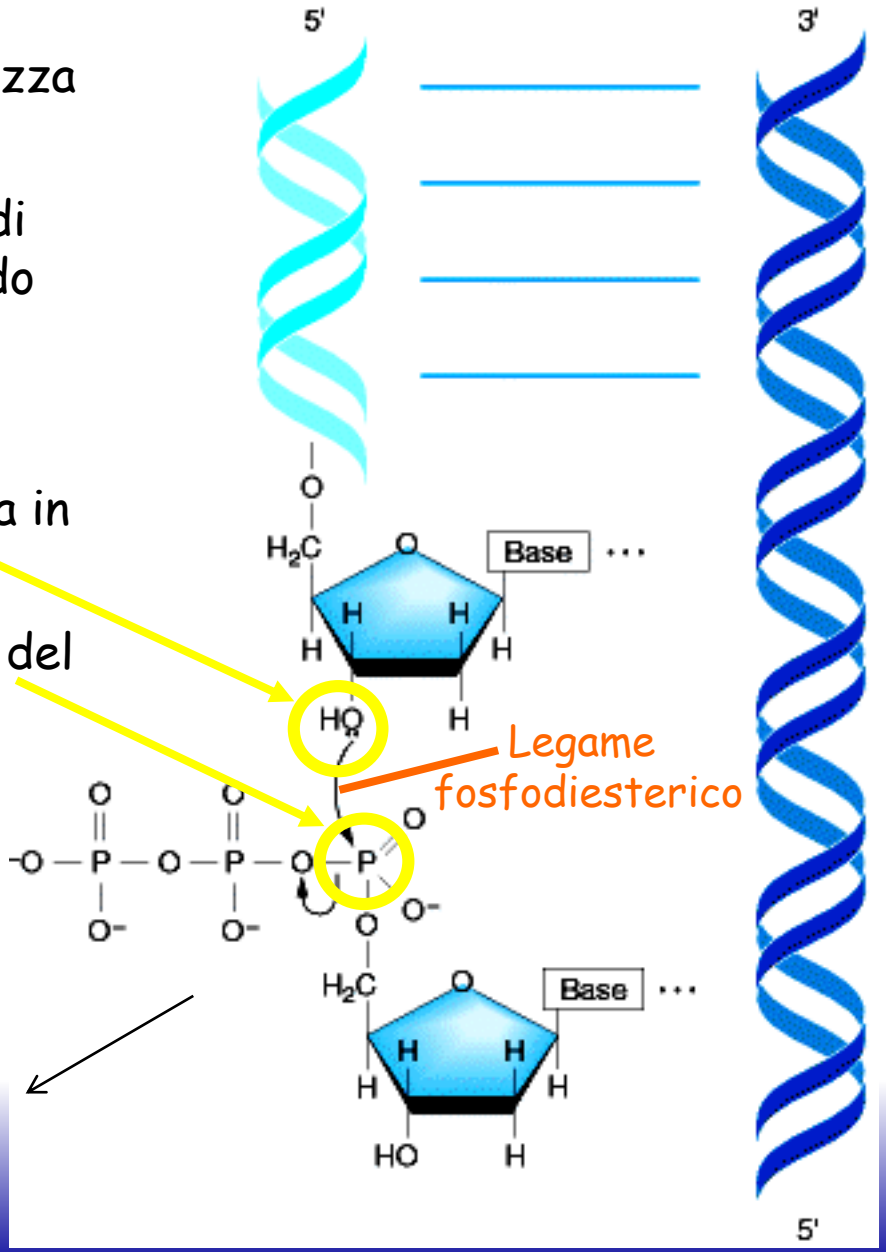
Il complesso enzimatico catalizza l'aggiunta di nucleotidi

all'estremità 3' di una catena di DNA in allungamento, formando

legami fosfodiestere tra

l'OH legato al C3' dell'ultimo nucleotide già unito alla catena in allungamento e

il gruppo fosfato legato al C5' del nucleotide aggiuntivo



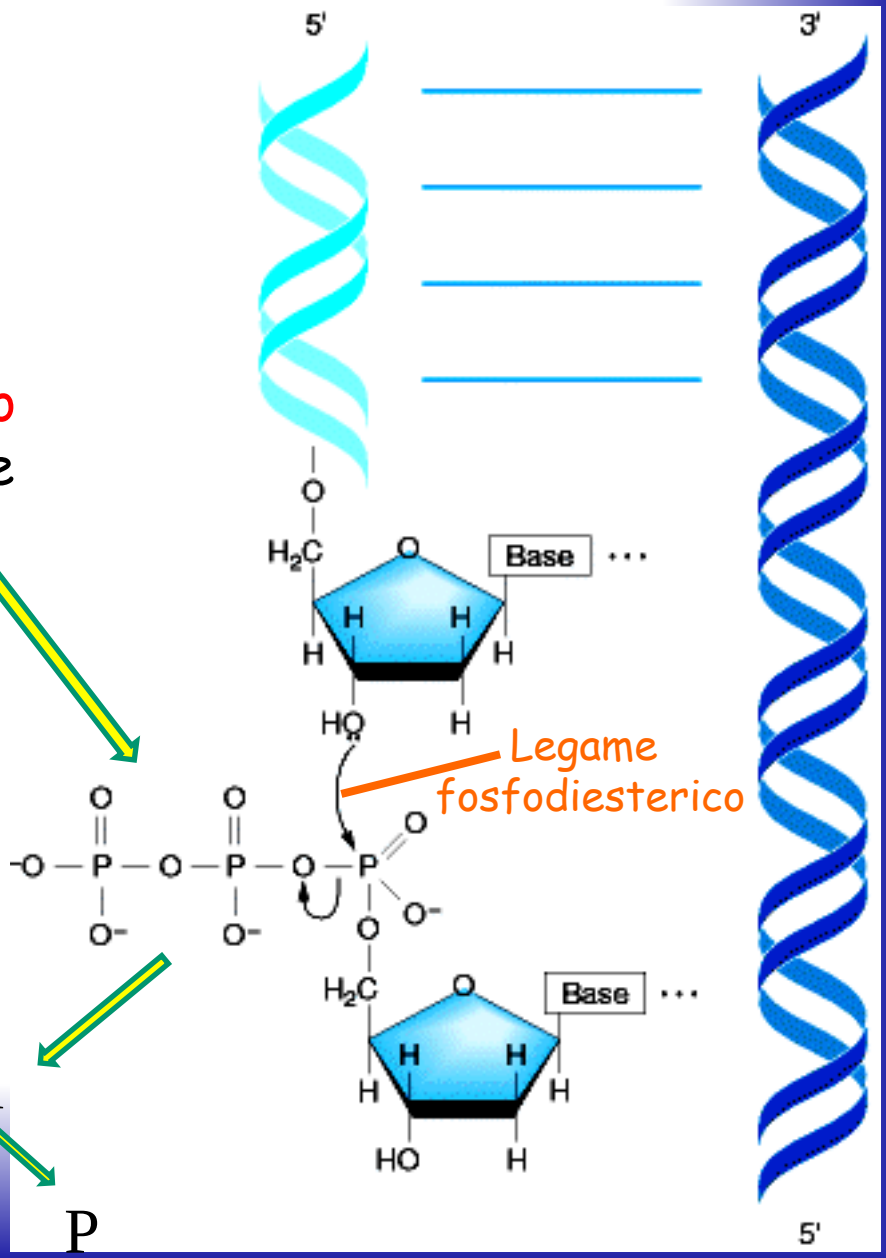
Ppi

Il legame fosfodiestere

L'aggiunta dei nucleotidi all'elica nascente richiede ovviamente energia che viene fornita dai nucleotidi stessi.

Nella reazione di polimerizzazione sono utilizzati nucleosidi trifosfato i quali liberano l'energia sufficiente per la formazione del ponte fosfodiesterico in seguito alla rottura del legame ad alta energia esistente tra il primo P e gli altri 2

La successiva idrolisi del gruppo Pi-Pi (pirofosfato) rende la reazione irreversibile.

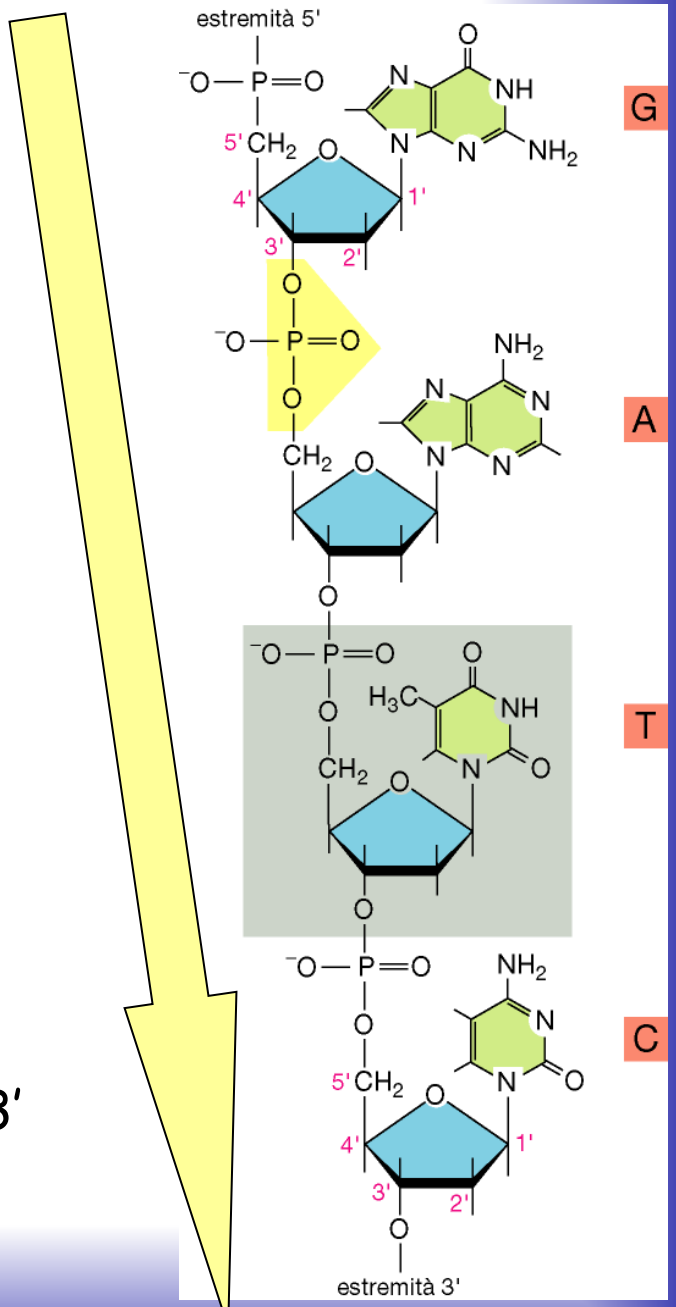


Ppi

P P

Il legame fosfodiestere

Le catene di acido nucleico vengono sintetizzate a partire da nucleotidi trifosfato ricchi di energia, tramite una reazione di condensazione che libera pirofosfato inorganico, mentre si forma il legame fosfodiestere



Molecole direzionali

Gli acidi nucleici hanno una precisa direzionalità, cioè una polarità strutturale:

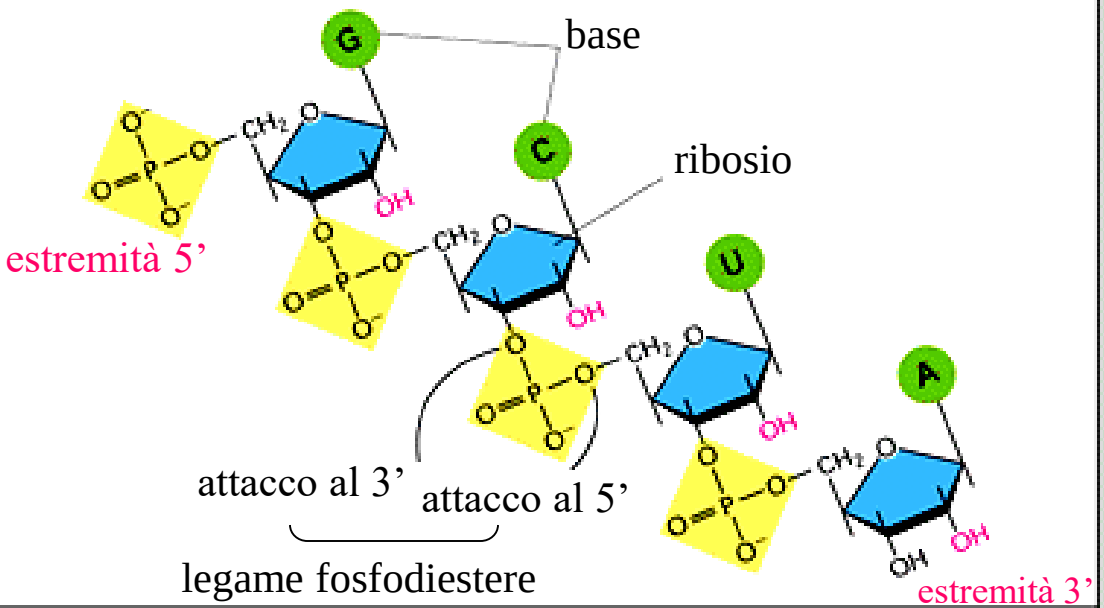
- Gli acidi nucleici sono sintetizzati dal 5' al 3'
- la sequenza nucleotidica viene scritta nello stesso ordine

RNA

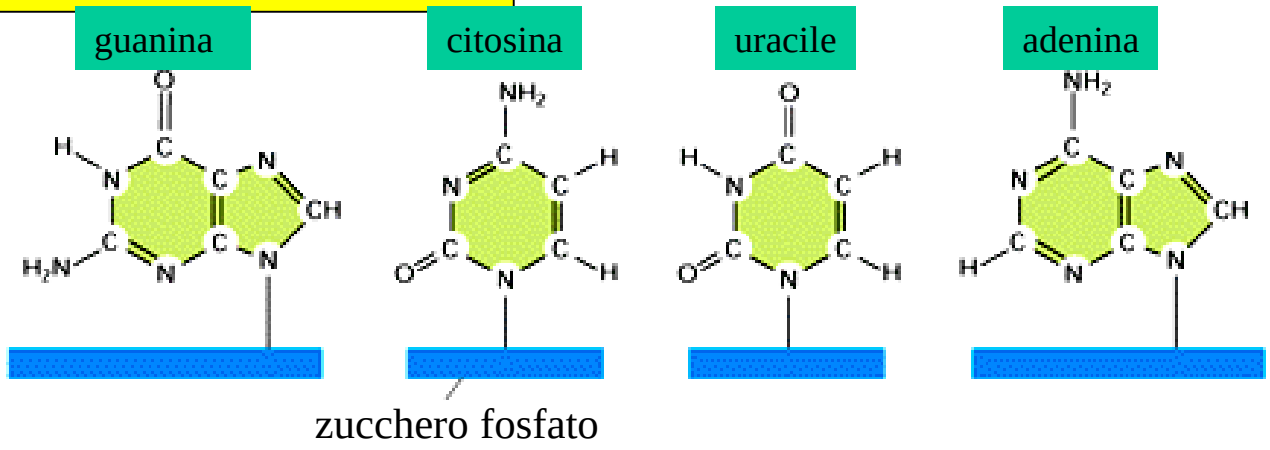
DNA e RNA

Entrambi sono polimeri lineari di nucleotidi.
L'RNA differisce dal DNA in tre modi:
1. contiene ribosio invece di desossiribosio
2. contiene la base uracile (U) al posto della timidina (T)
3. esiste come filamento singolo e non doppio.

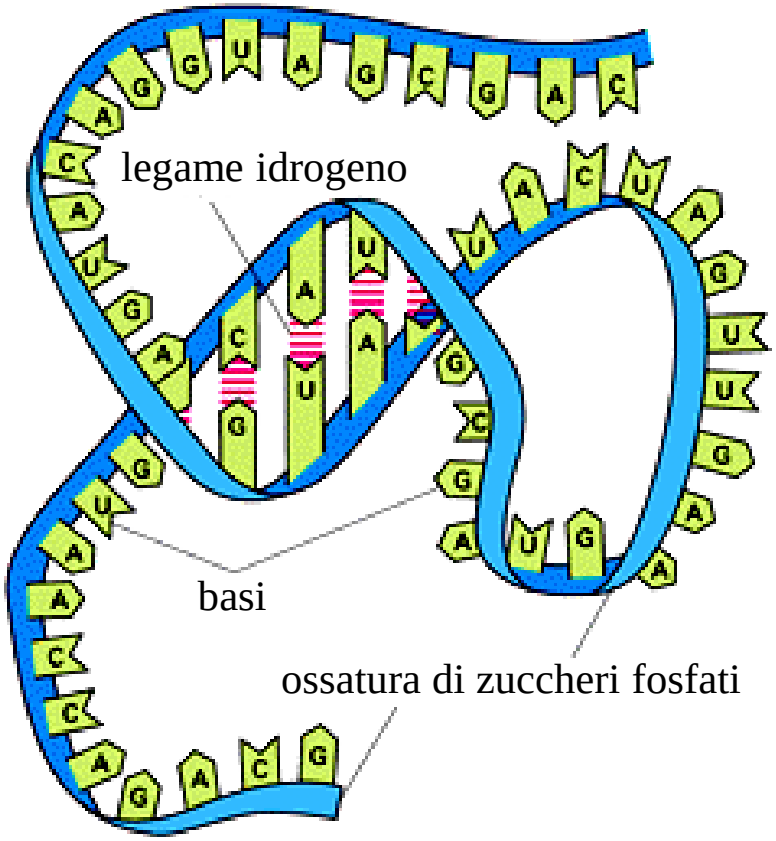
OSSATURA DI ZUCCHERI FOSAFATI DELL'RNA



LE QUATTRO BASI DELL'RNA



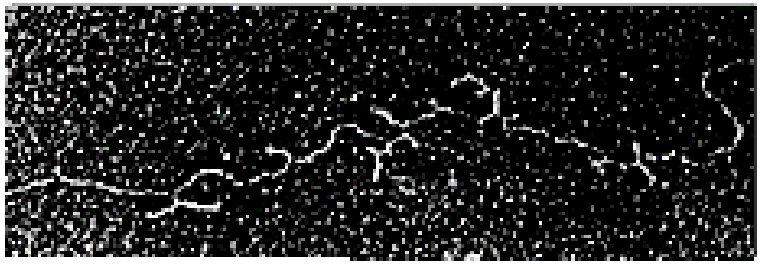
RNA



SINGOLO FILAMENTO DI RNA

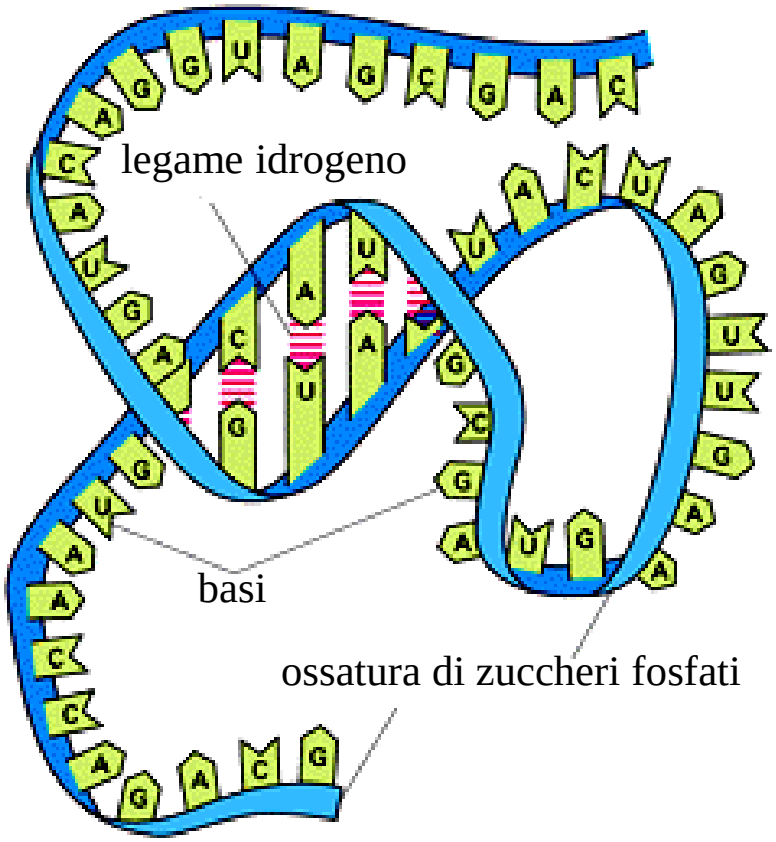
L'RNA è a singolo filamento, ma contiene piccole regioni locali in cui le basi si accoppiano in modo complementare per un processo di ripiegamento casuale. Le regioni in cui le basi sono accoppiate si possono vedere al microscopio elettronico come ramificazioni della catena.

FOTOGRAFIA AL MICROSCOPIO ELETTRONICO DELL'RNA



RNA

Molecola di RNA: una singola elica che può assumere una struttura di ordine superiore formando dei tratti a doppio filamento grazie alla formazione di legami idrogeno intraelica fra le basi complementari



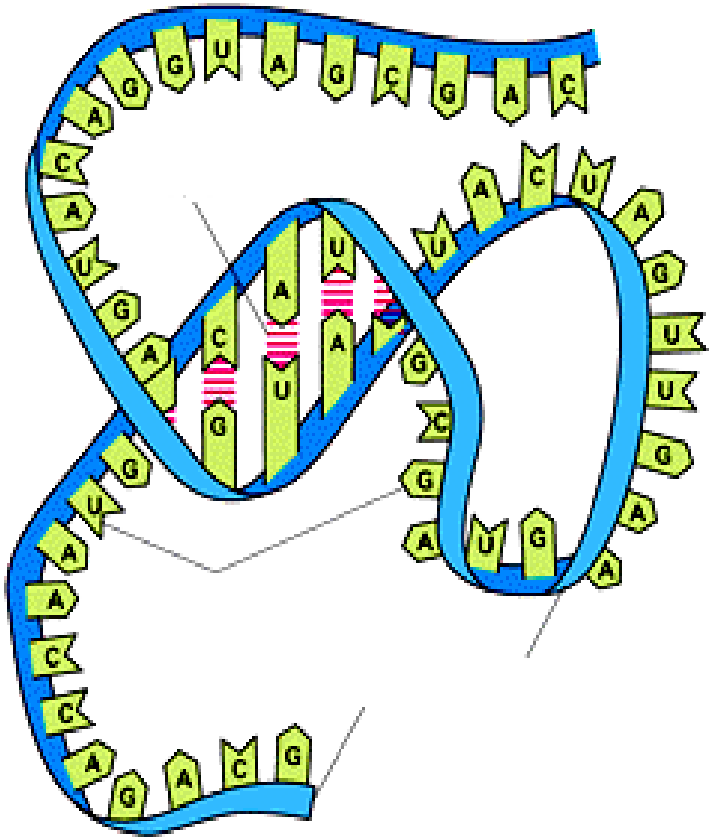
Distinguiamo diversi tipi di RNA:

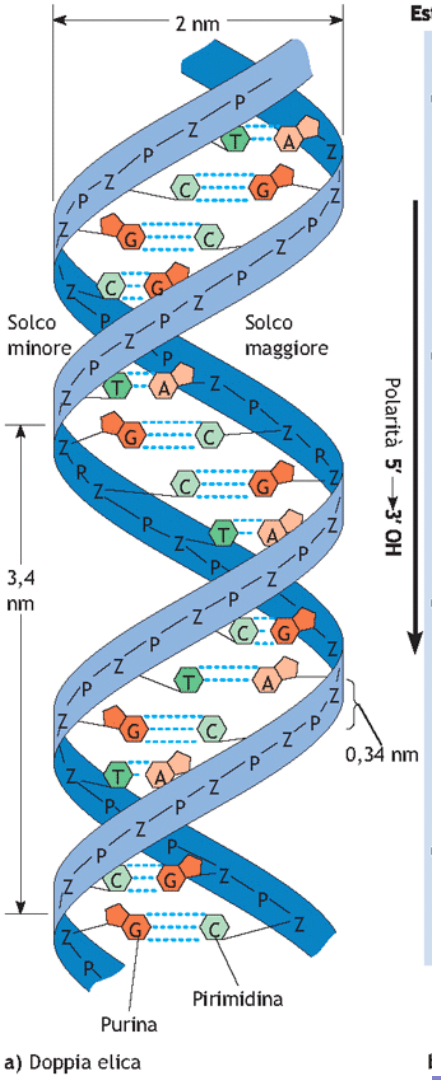
1. rRNA: sintesi proteica
2. mRNA: porta l'informazione
3. tRNA: trasporto degli aa sul mRNA
4. scRNA: piccoli RNA citoplasmatici: componenti di ribonucleoproteine: es. SRP
5. snRNA: splicing
6. snoRNA: matuazione dell'rRNA
7. microRNA (miRNA): regolazione dell'espressione genica

Struttura degli acidi nucleici

RNA

DNA

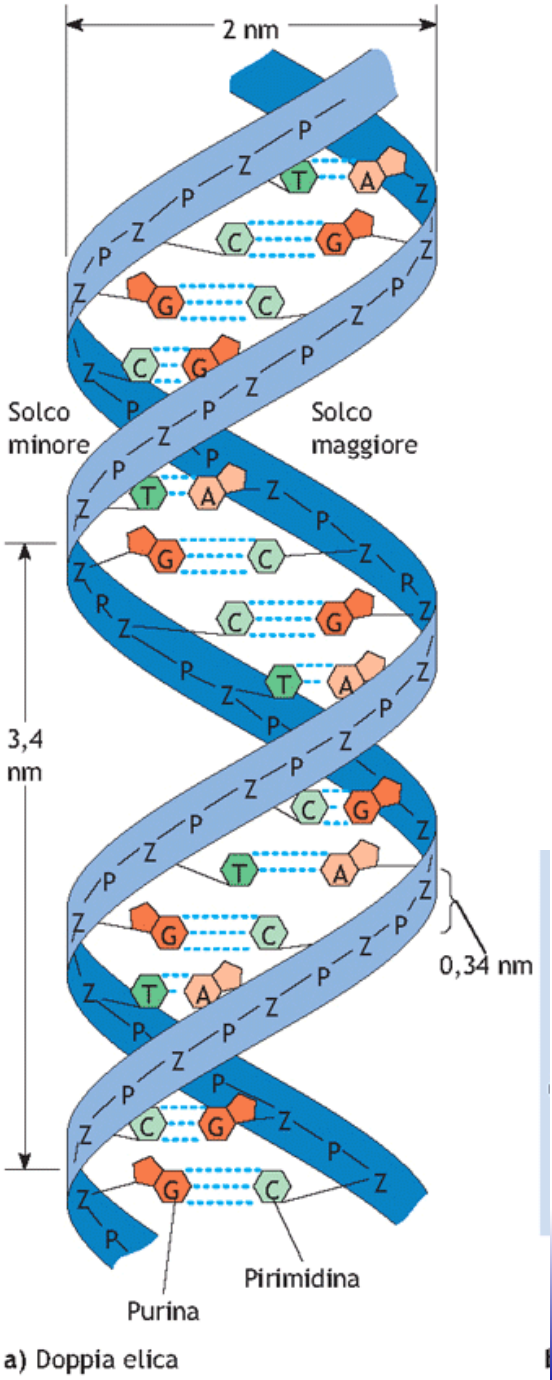




Singola catena

Doppia catena

Struttura del DNA



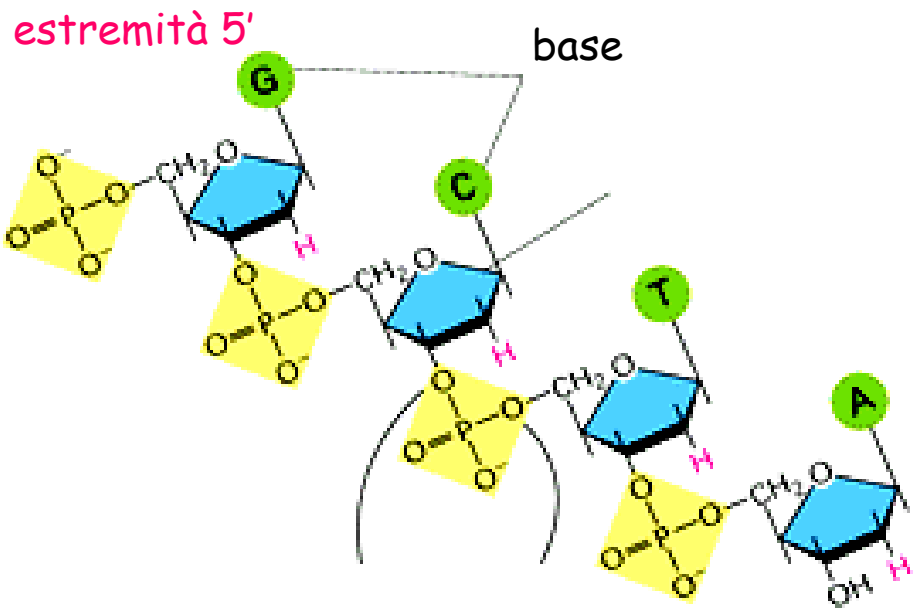
Il DNA è costituito da 2 catene (eliche) polinucleotidiche che sono fra loro complementari ed antparallele.

Questa doppia elica presenta 2 montanti zuccheri-fosfato con carica negativa

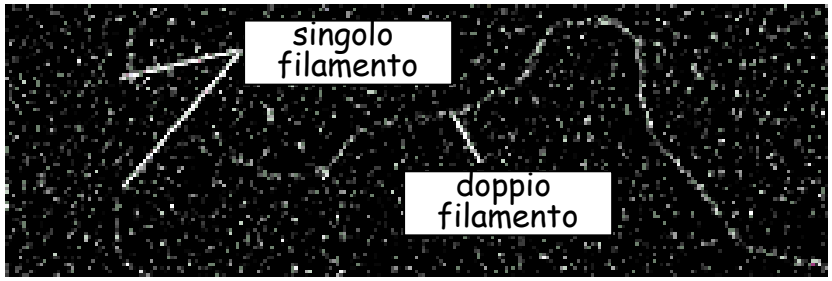
uniti dalle basi azotate che si legano con legami idrogeno secondo le rigide regole dell'appaiamento della basi

GLI ACIDI NUCLEICI - STRUTTURA DEL DNA

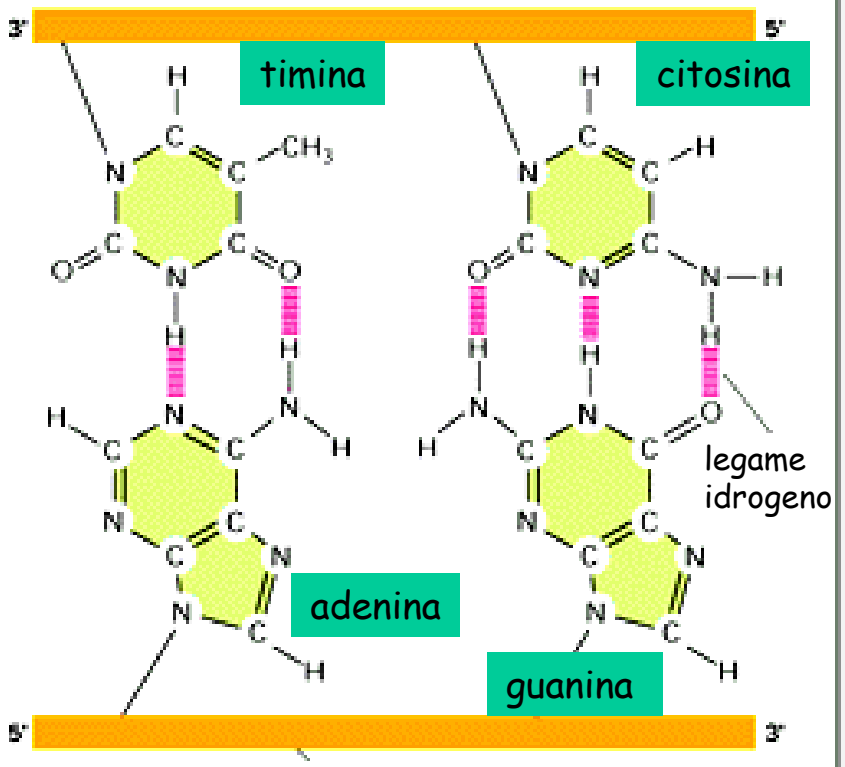
OSSATURA DI ZUCCHERI FOSFATI DEL DNA



IL DNA AL MICROSCOPIO ELETTRONICO

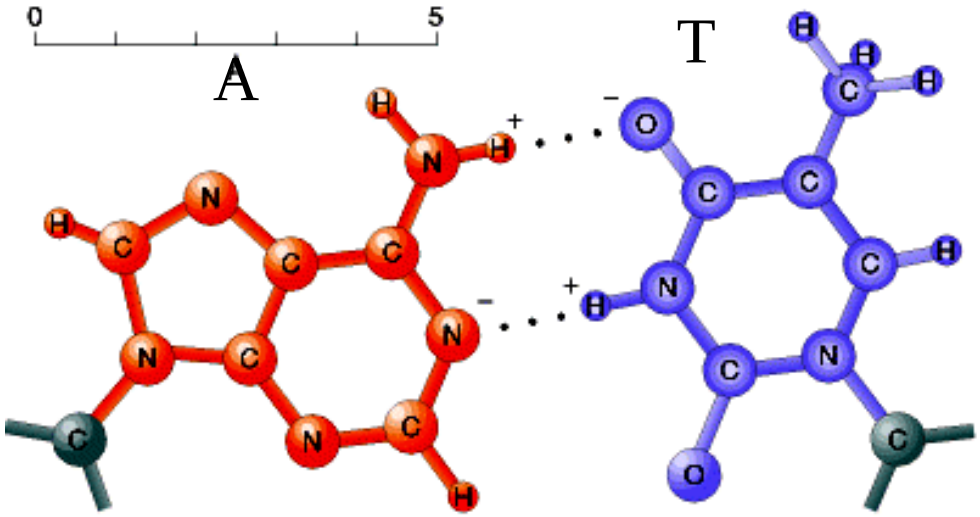


LE QUATTRO BASI DEL DNA ACCOPPIATE



zucchero fosfato

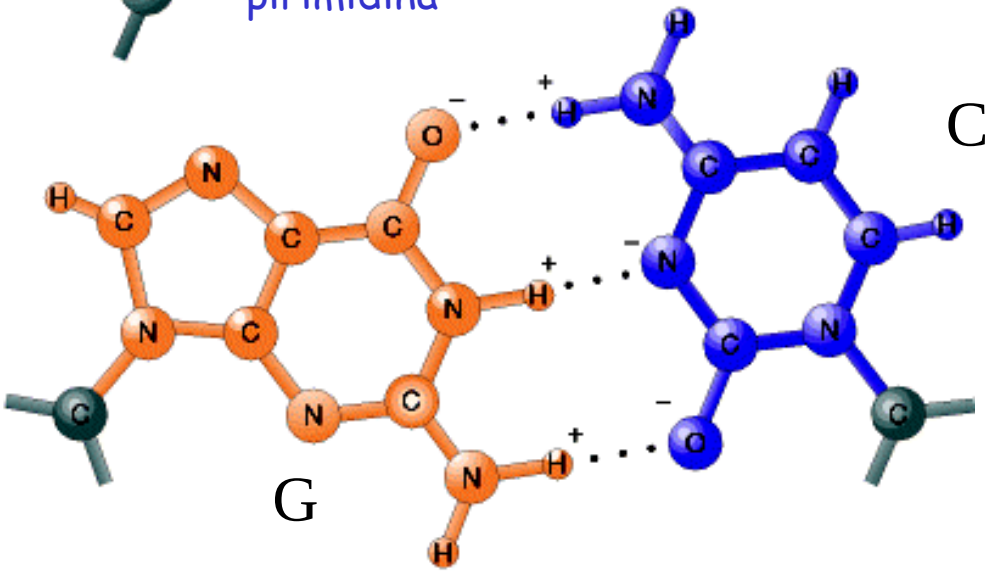
La struttura del DNA: appaiamento della basi



I due filamenti di DNA sono tenuti insieme nella doppia elica da legami H tra le basi dei 2 filamenti opposti: pertanto tutte le basi (elementi aromatici con scarsa affinità per l'acqua) sono rivolte verso l'interno dell'elica, mentre l'ossatura Z-P rimane all'esterno

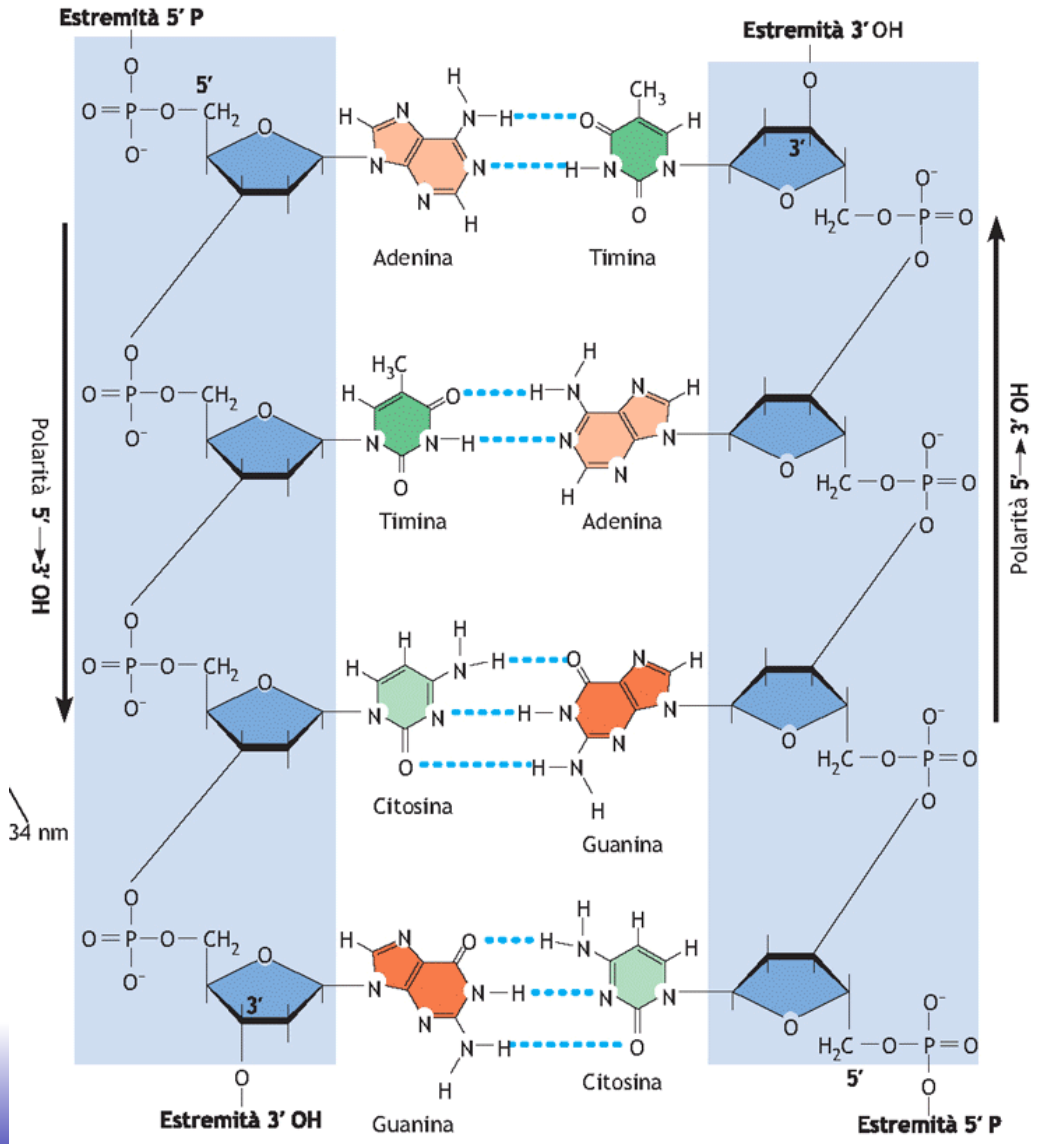
A appaia con T e G con C. In entrambi i casi una purina si appaia con una pirimidina

In questa disposizione ogni coppia ha lo stesso ingombro e le due ossature Z-P riescono a mantenere tra loro una distanza costante



Come conseguenza di queste rigide regole di appaiamento, ogni catena di DNA contiene una sequenza nucleotidica esattamente complementare alla sequenza nucleotidica della catena cui si lega: questo fatto ha un'importanza fondamentale per la copiatura del DNA

DNA: eliche antiparallele

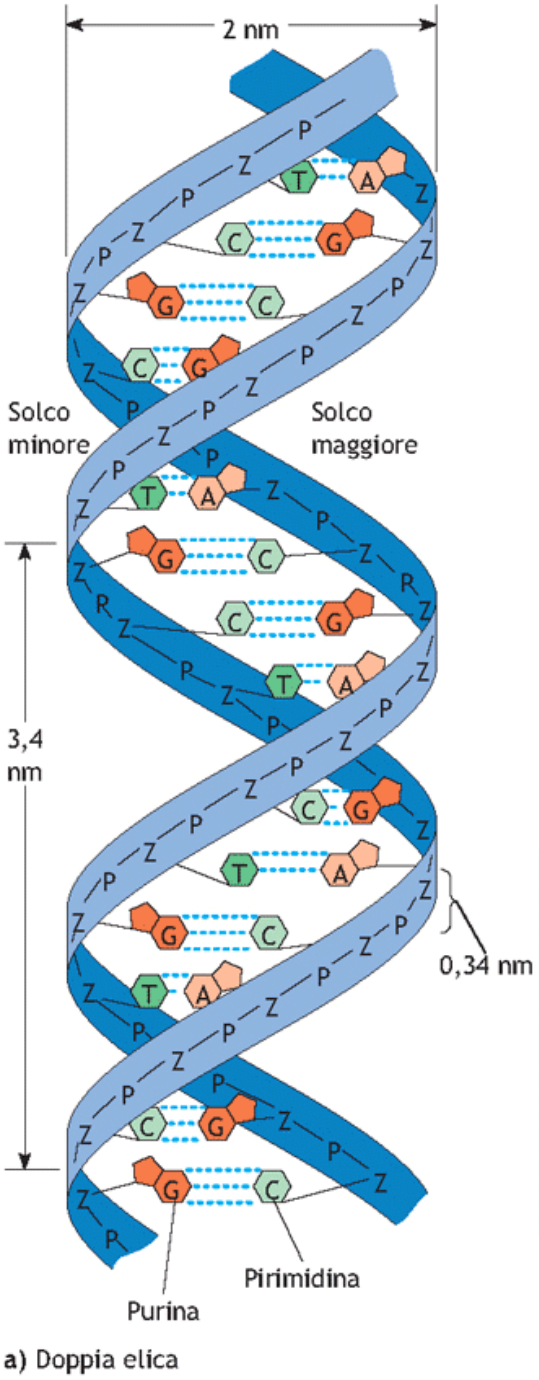


b) Orientamento antiparallelo dei filamenti e complementarietà delle basi

Le 2 singole eliche sono antiparallele, questo significa che le eliche corrono in direzioni opposte avendo entrambe la stessa polarità:

5′P ⟶ 3′OH

Struttura del DNA



DNA:
2 catene polinucleotidiche complementari ed antparallele

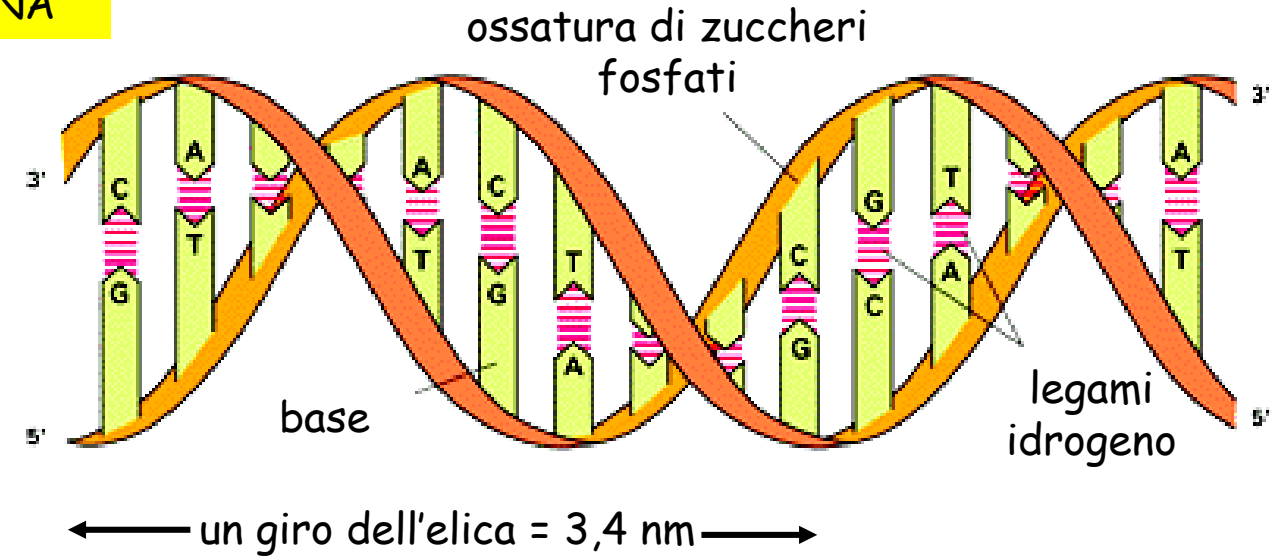
sono avvolte nello spazio, intorno ad un'asse virtuale in modo da formare un'elica avvolta in senso destrorso

Diametro dell'elica: 2 nm
Per rispettare la distanza del diametro tra le due eliche complementari se su un'elica è presente una purina su quella complementare ci deve essere una pirimidina.
Non possono affrontarsi 2 purine o due pirimidine quindi il numero delle purine è uguale al numero delle pirimidine.
Coppie canoniche: T-A (2 legami-H)
G-C (3 legami-H)

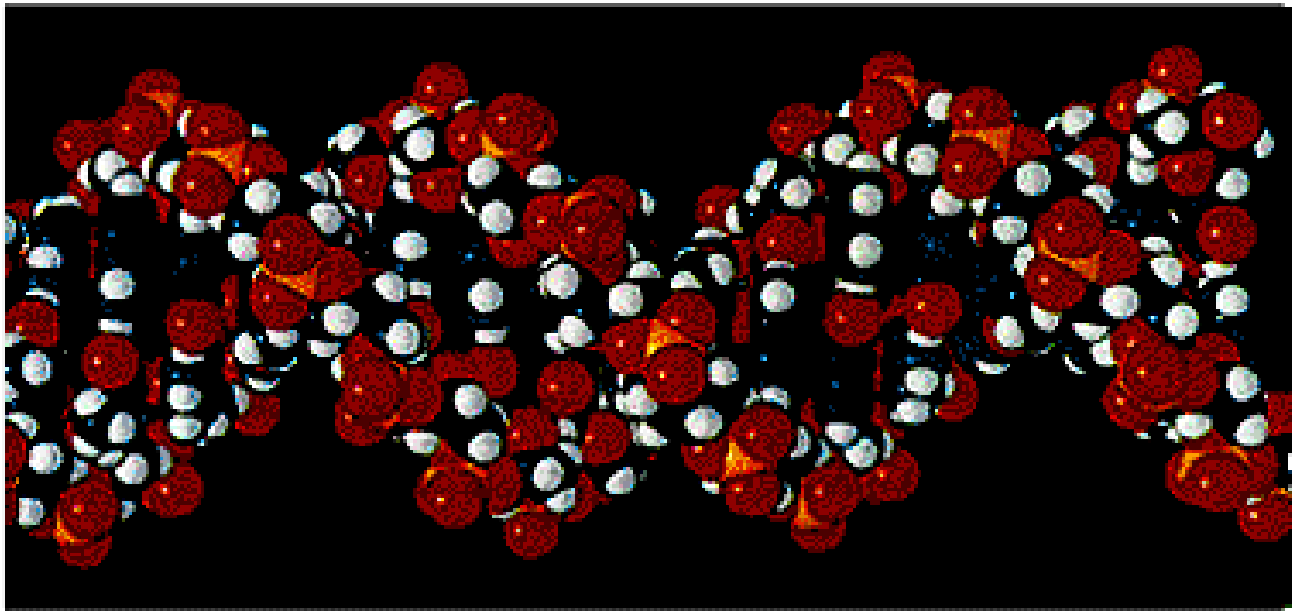
GLI ACIDI NUCLEICI - STRUTTURA DEL DNA

LA DOPPIA ELICA DEL DNA

In una molecola di DNA due filamenti antiparalleli con sequenza nucleotidica complementare sono accoppiati in una doppia elica destrogira con circa 10 nucleotidi per giro.

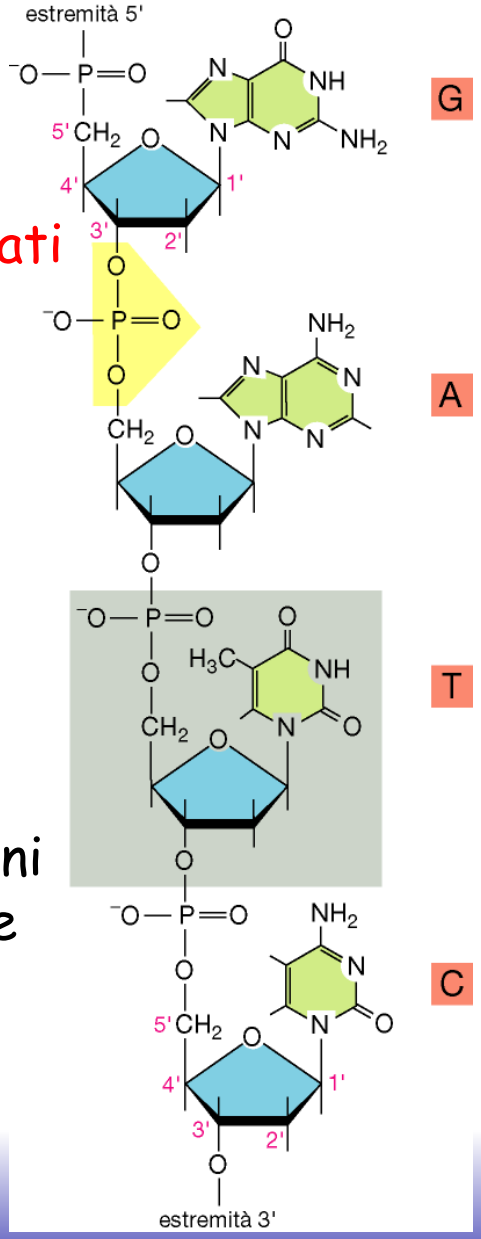


Modello a spazio pieno del DNA.



Acidi nucleici: le basi azotate contengono l'informazione genetica

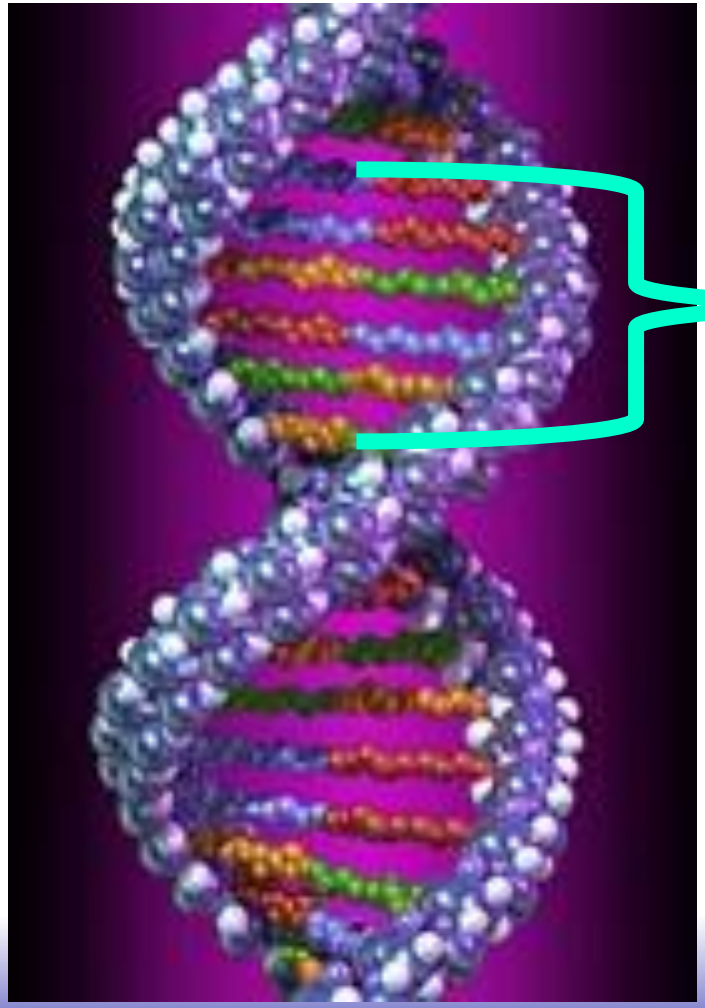
In una singola catena si identifica uno scheletro di zuccheri e fosfati
Da questo scheletro sporgono le basi azotate



E' proprio nella sequenza delle basi azotate che è contenuta l'informazione genetica ovvero tutte le informazioni necessarie per costruire le proteine che saranno utilizzate per la vita della cellula e dell'intero organismo

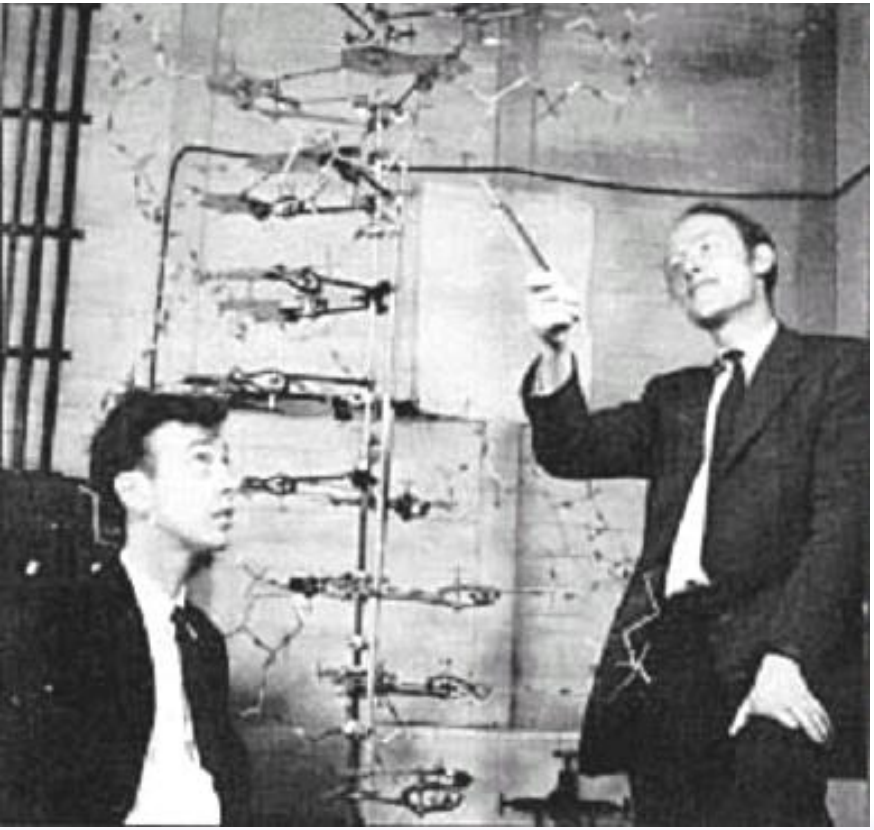
Ruolo più importante dei nucleotidi: immagazzinare e rendere disponibile l'informazione genetica

La sequenza di un gene e' data dalla sequenza delle 4 basi azotate all'interno della doppia elica



Timina
Timina
Guanina
Citosina
Adenina
Guanina

La struttura del DNA



La scoperta della struttura del DNA avvenne alla Cambridge University nel 1953, da parte dell'americano James D. Watson, ed un inglese, Francis H. Crick.
Il loro modello per la struttura del DNA era principalmente basato su studi di diffrazione dei raggi X, ottenuti da da Maurice Wilkins e Rosalind Franklin.

La struttura del DNA

DNA: struttura a spirale. I 2 filamenti avvolgendosi uno sull'altro determinano 2 solchi nell'elica

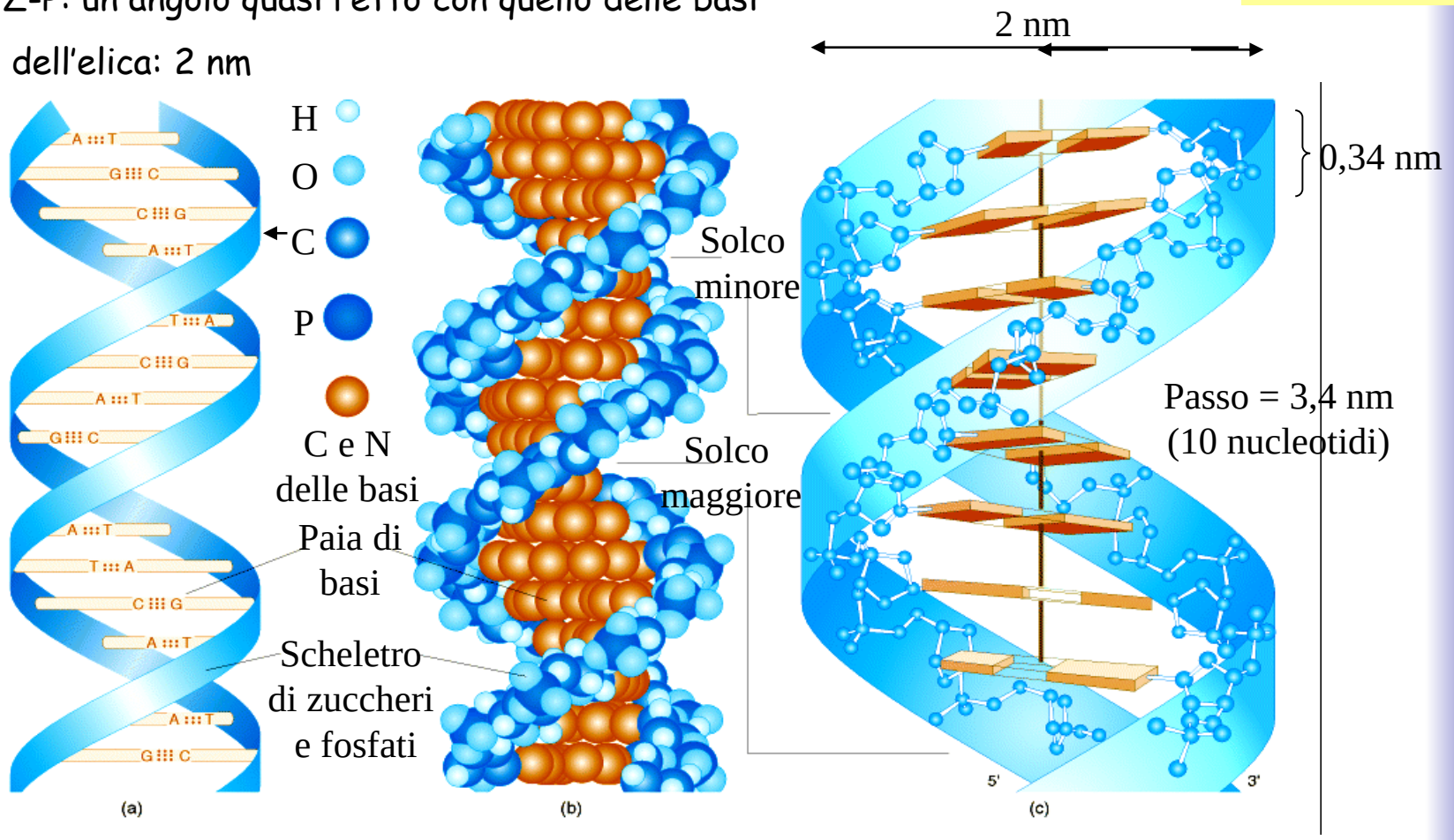
Basi all'interno: Z-P all'esterno

Il piano delle basi è perpendicolare all'asse dell'elica

Piano dei Z-P: un angolo quasi retto con quello delle basi

Diametro dell'elica: 2 nm

1 nm = 10 Å



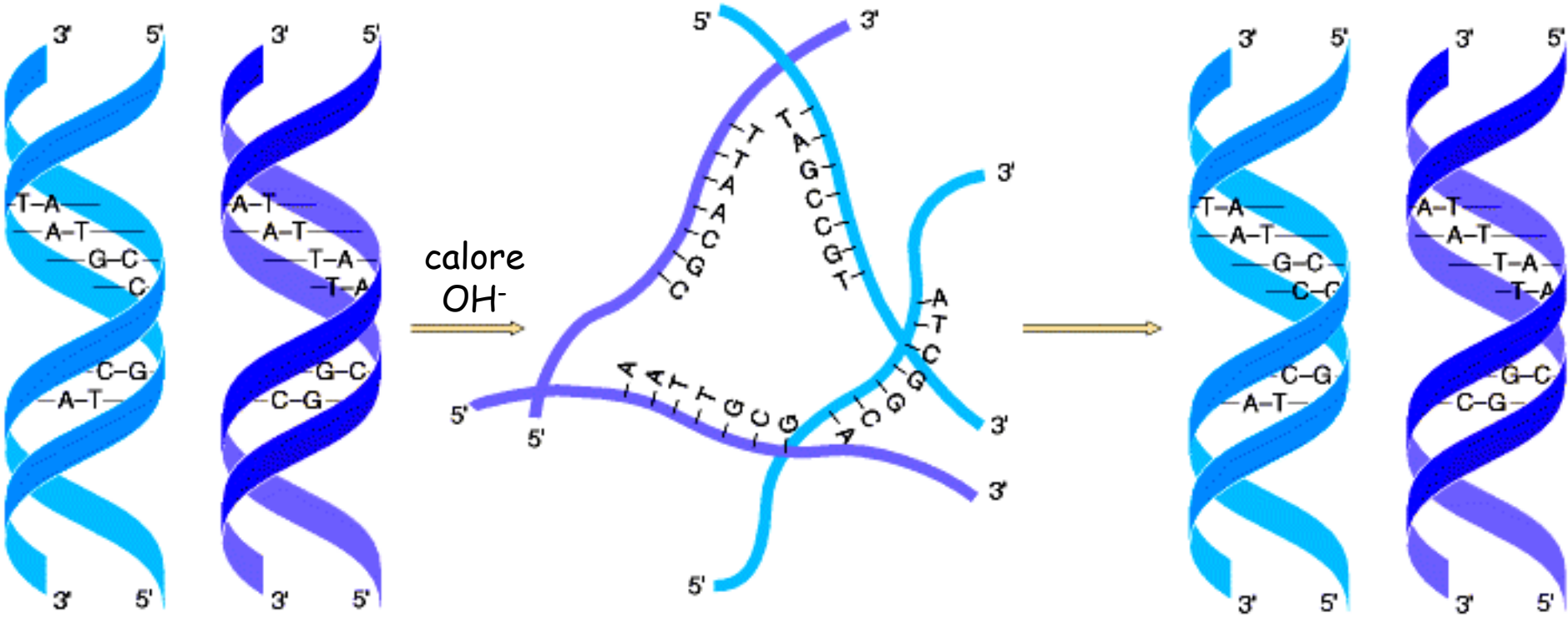
Basi adiacenti sono separate da 0,34 nm lungo l'asse dell'elica e formano tra loro un angolo di 36°. La struttura dell'elica si ripete quindi dopo 10 residui di ciascuna catena.

Le proprietà fisiche del DNA

3. Denaturazione e rinaturauzione

A 100°C tutti i legami idrogeno si rompono e il DNA diventa singolo a filamento.

DENATURAZIONE RINATURAZIONE



STATO NATIVO STATO DENATURATO STATO RINATURATO

Se il DNA è lasciato a raffreddare lentamente le due emieliche si riappaiano di nuovo correttamente.

Le macromolecole – acidi nucleici

Tra le 4 famiglie principali di piccole molecole organiche contenute nelle cellule, ora trattiamo i nucleotidi.

I nucleotidi si possono associare in lunghe catene formando gli acidi nucleici.

Unendo semplicemente i nucleotidi con legami legami fosfodiesterici in lunghe catene si formano le macromolecole cellulari: gli acidi nucleici

Le reazioni chimiche con cui vengono aggiunti i nucleotidi agli acidi nucleici presentano importanti caratteristiche comuni alla polimerizzazione delle altre macromolecole (polisaccaridi, proteine).
L'acido nucleico si allunga applicando un nuovo nucleotide all'estremità di una catena polimerica in crescita mediante una reazione di condensazione
In tutti i casi la reazione è catalizzata da enzimi che garantiscono l'incorporazione esclusiva del nucleotide del tipo giusto

Le macromolecole – acidi nucleici

La polimerizzazione, un nucleotide alla volta, in una catena lunga è un procedimento semplice per fabbricare una molecola grande e complessa, dato che ogni elemento viene ad aggiungersi grazie alla stessa reazione eseguita ripetutamente dalla stessa batteria enzimatica

Gli acidi nucleici vengono sintetizzati impiegando 4 nucleotidi leggermente diversi tra loro; inoltre nella catena polimerica le subunità non vengono montate a caso, ma in un ordine particolare: la sequenza nucleotidica

La funzione biologica degli acidi nucleici dipende rigidamente dalla specifica sequenza delle subunità nella catena lineare. Per questo l'apparato che polimerizza deve sottostare a un controllo molto fine e determinare con esattezza la subunità da collocare volta per volta nel polimero in crescita

FINE…parte 1

LEZIONE 2 – PARTE 2

Compattamento del DNA:

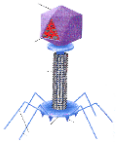
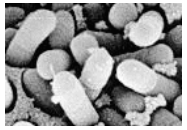
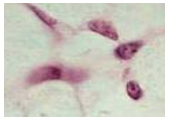
Cromosomi

Cromatina

Telomeri e centomero

ORGANIZZAZIONE SUPERELICOIDALE DEL DNA: I CROMOSOMI

Discrepanza tra la lunghezza del DNA di una cellula e lo spazio estremamente limitato in cui tale DNA deve essere accolto:

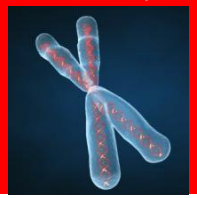
Cellula	Dimensioni del materiale genetico (mm)	Dimensioni della cellula (mm)	Riduzione
Batteriofago T4 	0,06	0,00008	ridotto di 750 volte
Escherichia coli 	1	0,004	250 volte più lungo della cellula che lo contiene
Nucleo di una cellula aploide umana 	3×10^9 nucleotidi (in forma completamente distesa: 1,7 metri = 1700 mm)	0,005	350.000 volte superiore al diametro del suo contenitore

ORGANIZZAZIONE SUPERELICOIDALE DEL DNA: I CROMOSOMI

La superspiralizzazione della doppia elica intorno al proprio asse è la soluzione universalmente adottata per concentrare il materiale genetico in un volume relativamente limitato

Le strutture tridimensionali, di diversa grandezza e complessità, generate dalla organizzazione superelicoidale della doppia elica e/o dalla associazione del DNA con proteine che fungono da "rocchetti" di avvolgimento della doppia elica, sono definite

CROMOSOMI

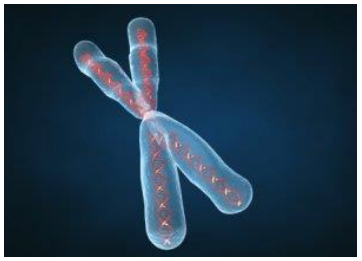


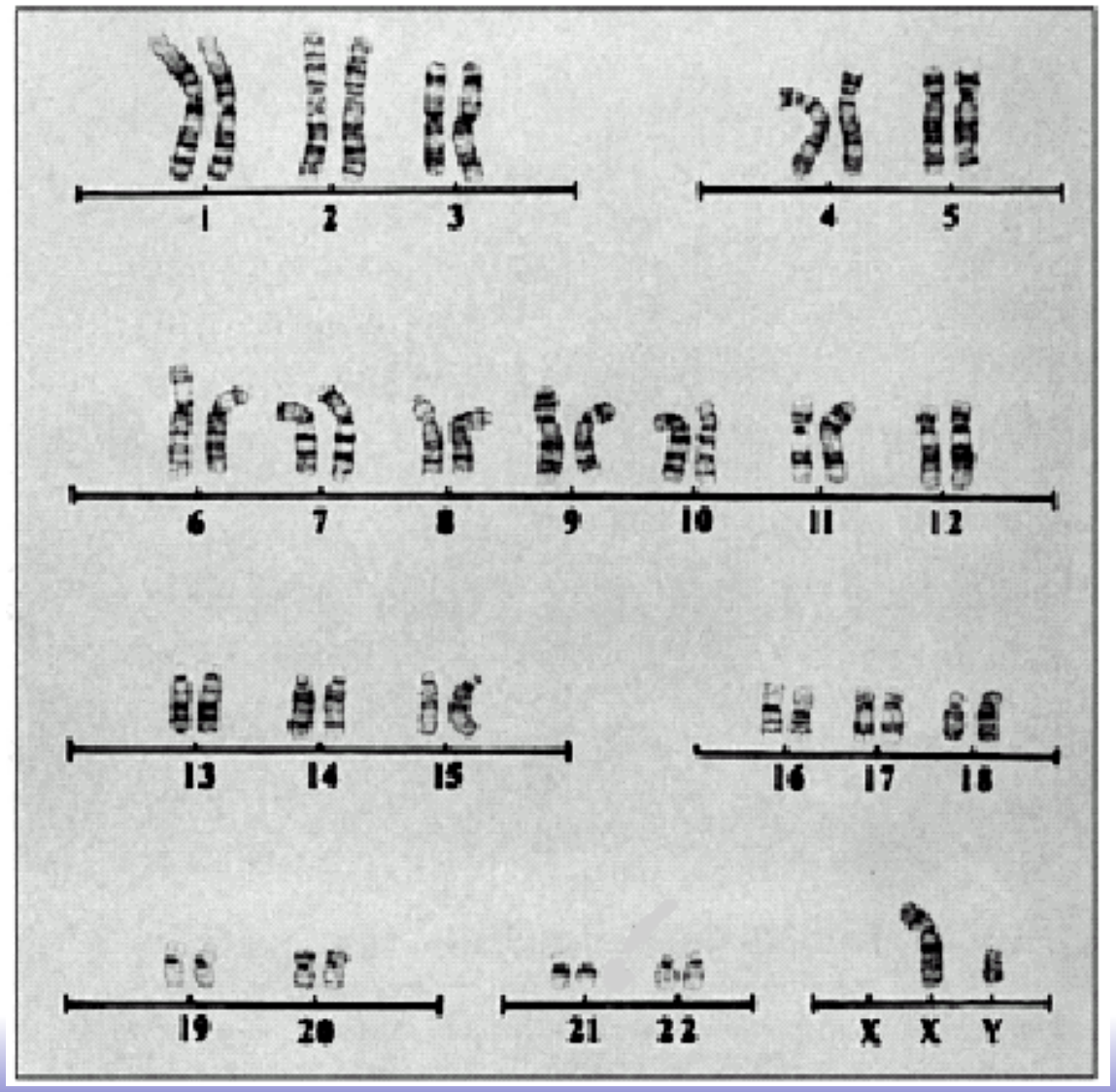
1. Cellule procariotiche e organelli citoplasmatici delle cellule eucariotiche (mitocondri, cloroplasti) hanno un singolo cromosoma

2. Le cellule procariote possono contenere, oltre al cromosoma principale, una o più copie di piccoli cromosomi accessori definiti plasmidi che sono implicati nei fenomeni di resistenza agli antibiotici e di sessualità

3. Il patrimonio genetico delle cellule eucariotiche è ripartito in un numero definito e costante di cromosomi uguali a due a due, detto numero cromosomico diploide

I cromosomi umani. Il cariogramma

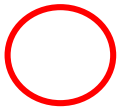


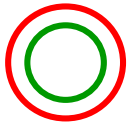


L'organizzazione superelicoidale del DNA: i cromosomi

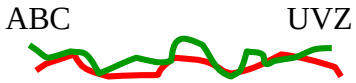
Il DNA dei cromosomi dei virus e dei plasmidi

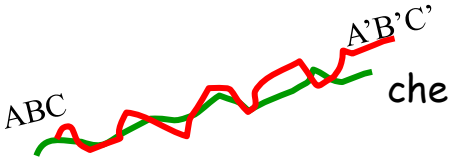
I **cromosomi virali** hanno una notevole eterogeneità per quanto riguarda forma e dimensioni del DNA. In rapporto alla forma del DNA i cromosomi possono essere distinti in alcune classi principali:

1. Cromosomi circolari a filamento unico  dove gli estremi 5′ e 3′ sono saldati covalentemente.

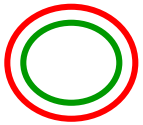
2. Cromosomi circolari a doppia elica  in cui le estremità 5′ e 3′ di ciascuno dei due filamenti sono saldate ad anello chiuso.

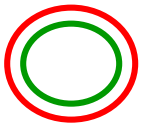
3. Cromosomi lineari a filamento unico

4. Cromosomi lineari a doppia elica ad estremità tronche 

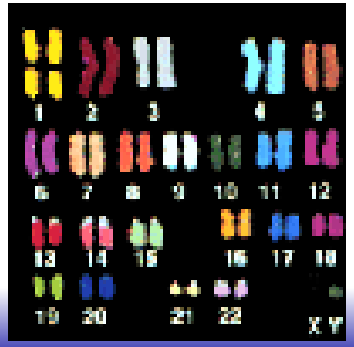
5. Cromosomi lineari a doppia elica ad estremità coesive 

che possono circolarizzare

Il DNA dei ***cromosomi batterici***  circolari a doppia elica

Il DNA dei ***cromosomi mitocondriali e cloroplastici*** 
circolari a doppia elica

Il DNA dei ***cromosomi degli eucarioti***
numero definito e costante di cromosomi uguali a due a due, detto numero cromosomico diploide



Cromatina

Il complesso tra DNA eucariotico e proteine si chiama cromatina.

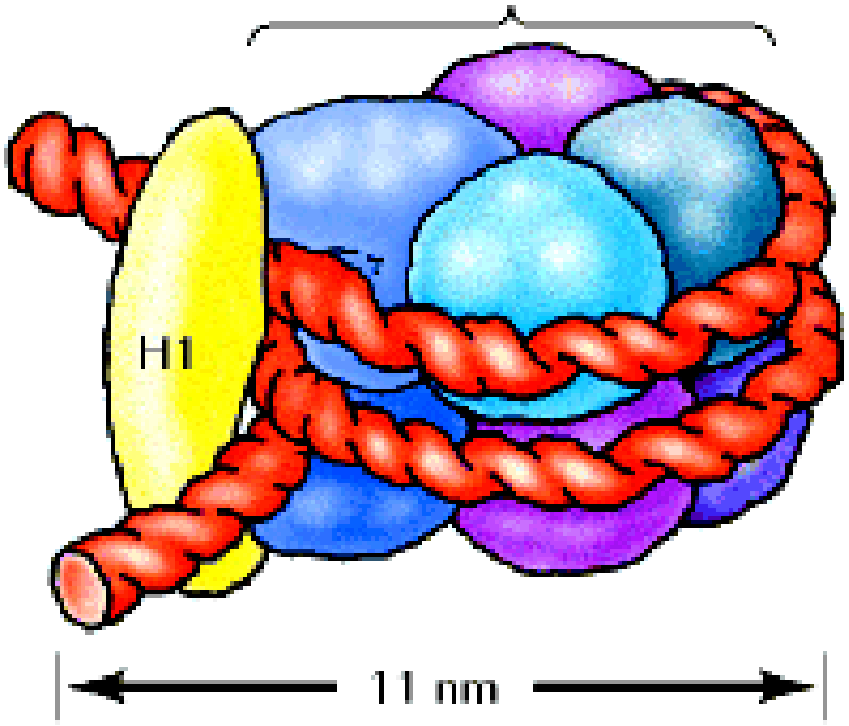
Le proteine principali della cromatina sono gli istoni.

1. H1
2. H2A
3. H2B
4. H3
5. H4

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

Legami tra DNA e istoni: idrogeno, ionico, forze di Van der Waals.

Cromatina

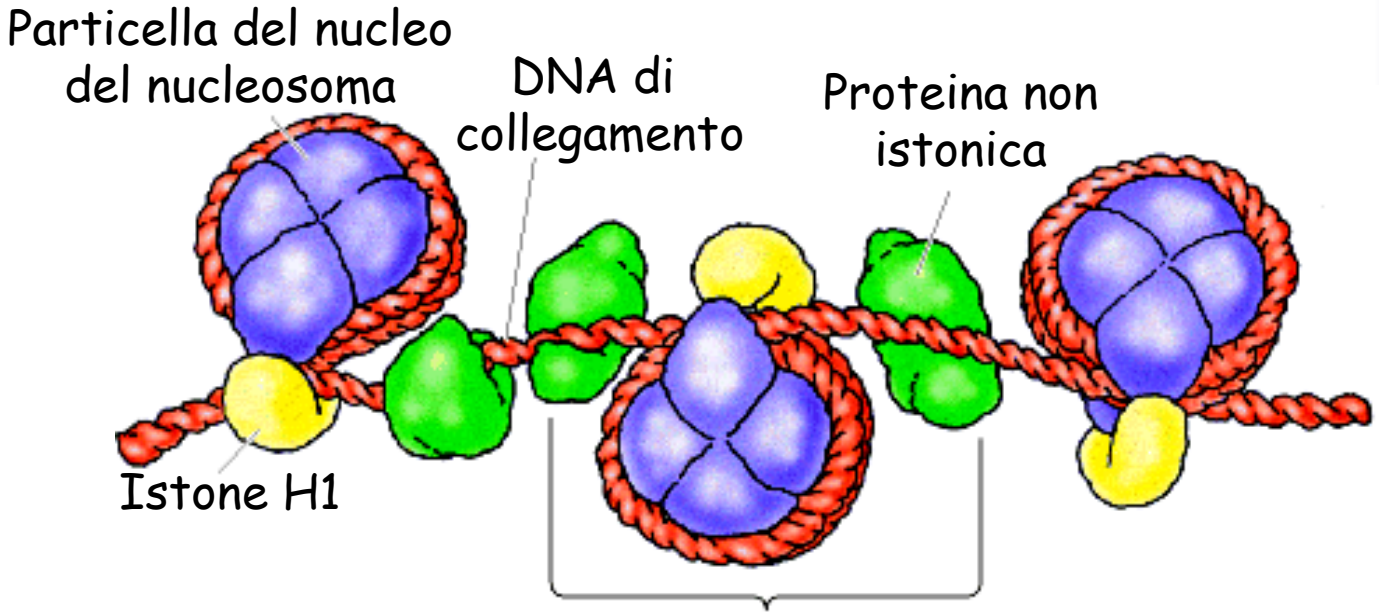


Nucleosoma: L'unità strutturale base della cromatina:
2 X H2A
2 X H2B
2 X H3
2 X H4
Su questo ottamero di proteine istoniche si avvolgono 146 pb di DNA (1,75 volte)

Cromatosoma: Nucleosoma + una molecola di istone H1 che tiene bloccati in posizione due giri completi di DNA (166 pb) sul nucleosoma

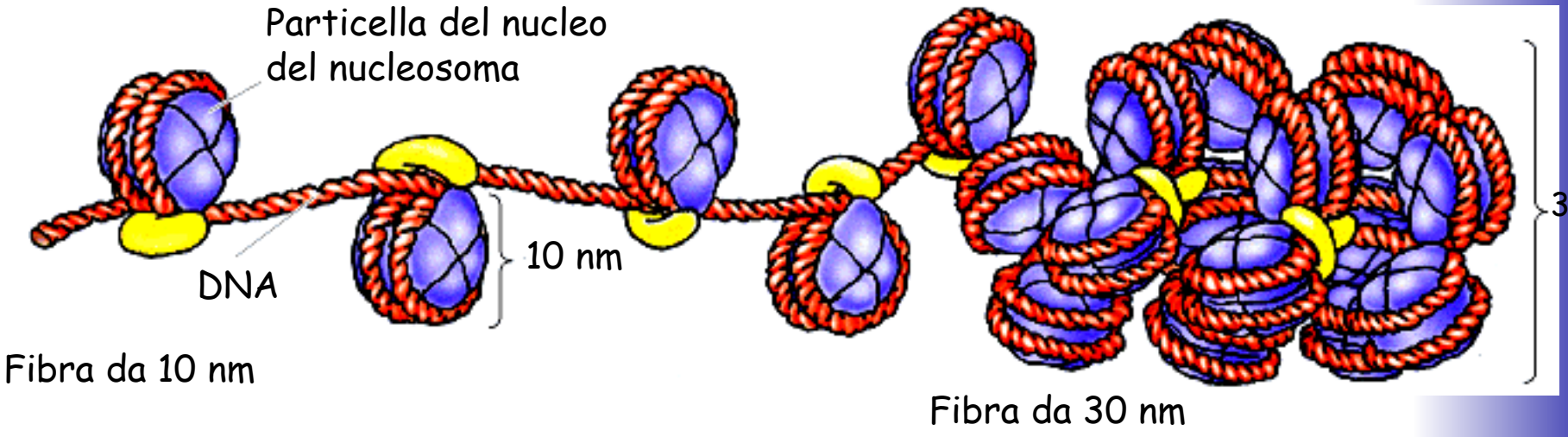
Cromatina

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 le particelle del nucleo dei nucleosomi.



Cromatina

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



Le fibre di cromatina da 30 nm contengono circa 6 nucleosomi per giro.

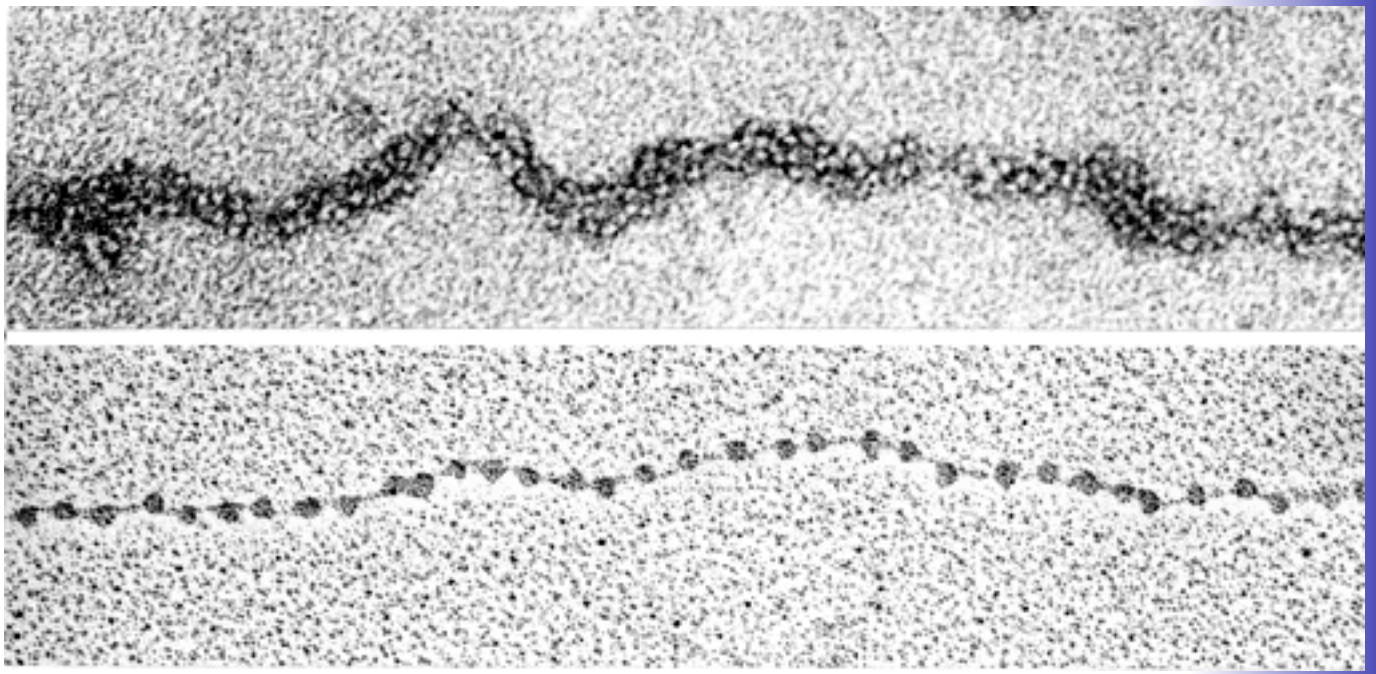
Cromatina

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

M.E.

30 nm

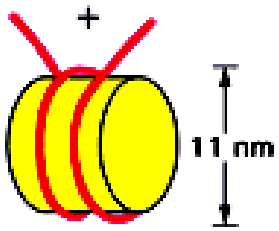
10 nm



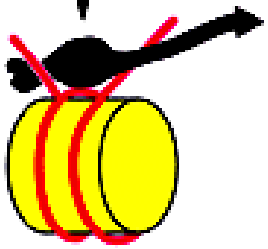
Cromatina

Istone H1

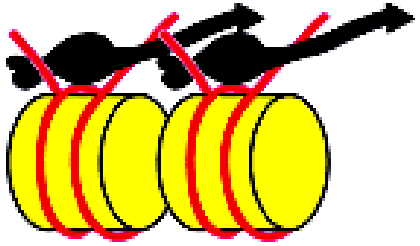
Le interazioni fra le molecole dell'istone H1 sembrano importanti per il compattamento della cromatina a fibra di 30 nm.



H1 si lega a regioni specifiche del nucleosoma

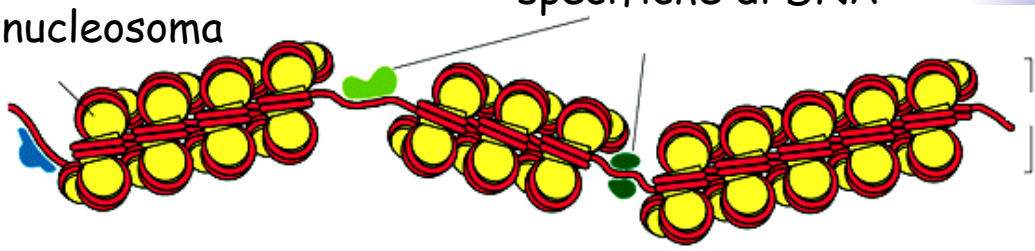


I nucleosomi sono compattati



proteine che legano sequenze specifiche di DNA

nucleosoma



fibra di 30 nm

Cromatina e cromosomi

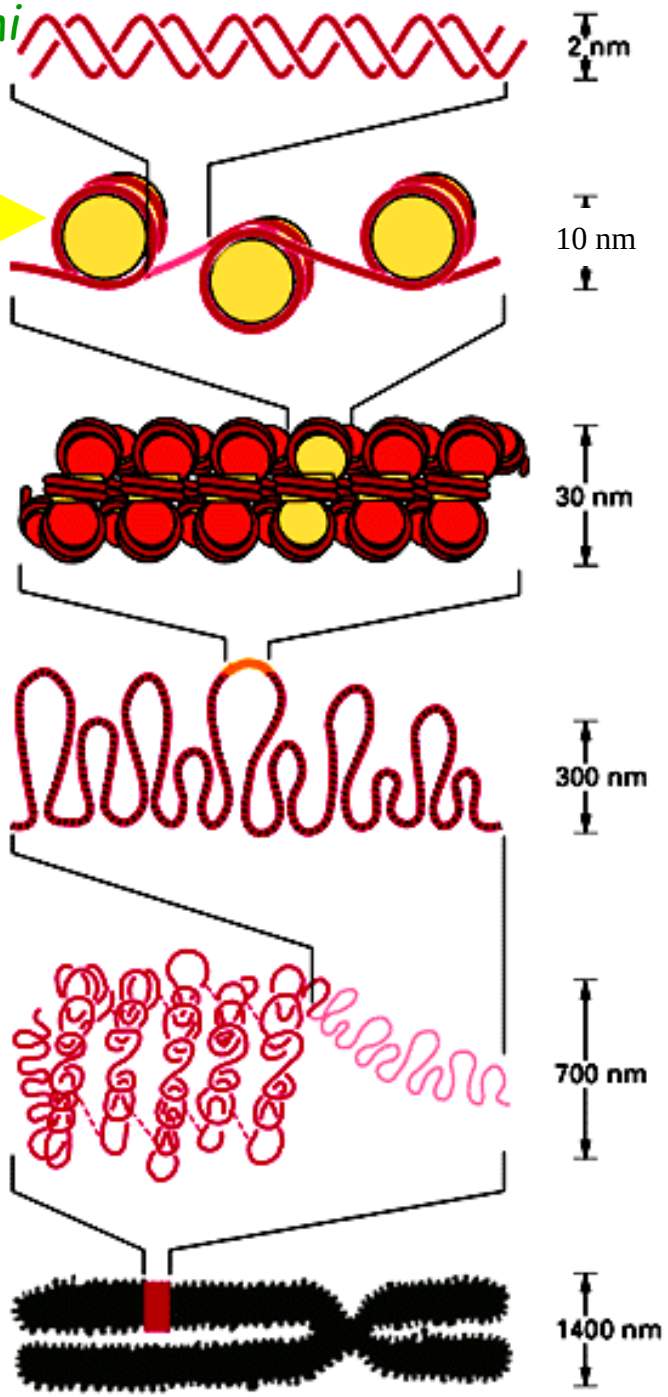
Il grado di condensazione della cromatina varia durante il ciclo vitale della cellula. In cellule in interfase:

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

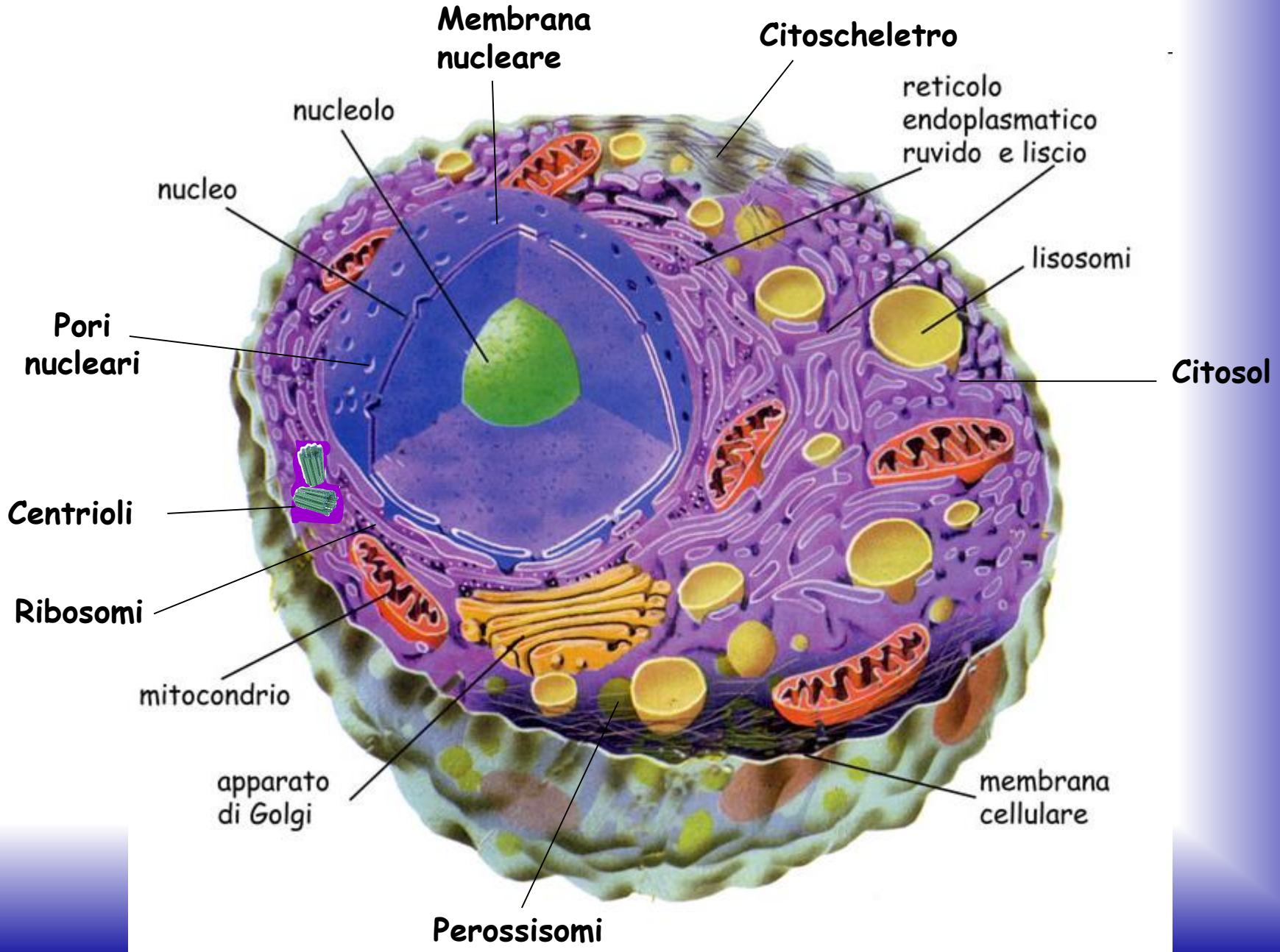
Eterocromatina

- Circa il 10% della cromatina interfasica
- 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.



FINE…parte 2

Lezione 2 – PARTE 3 - La cellula eucariotica ed i suoi organuli

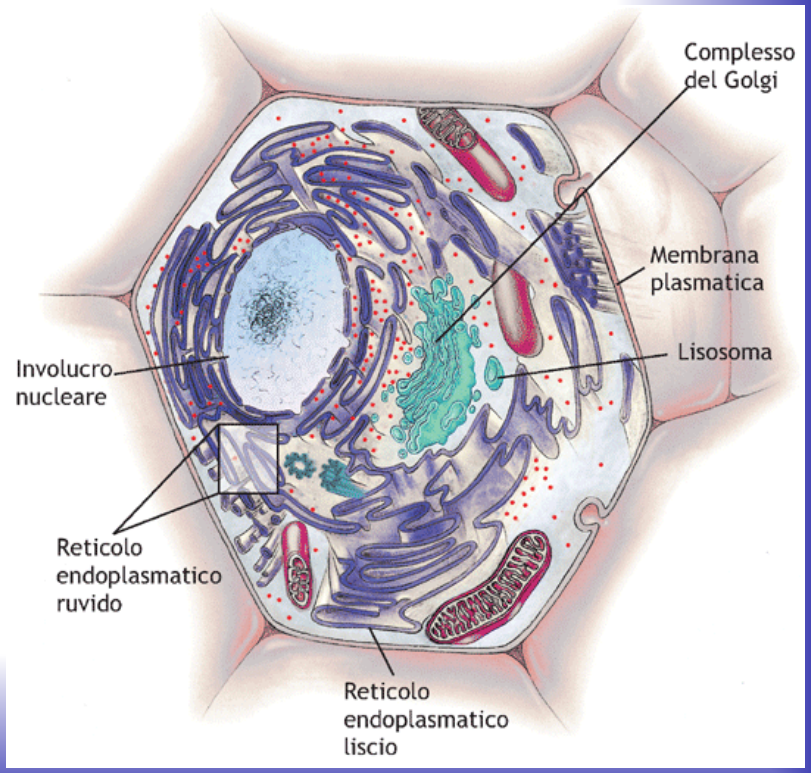


Vantaggi della compartimentalizzazione:

1. Creazione di un microambiente nel quale enzimi, substrati e cofattori sono concentrati: aumenta il numero di interazioni

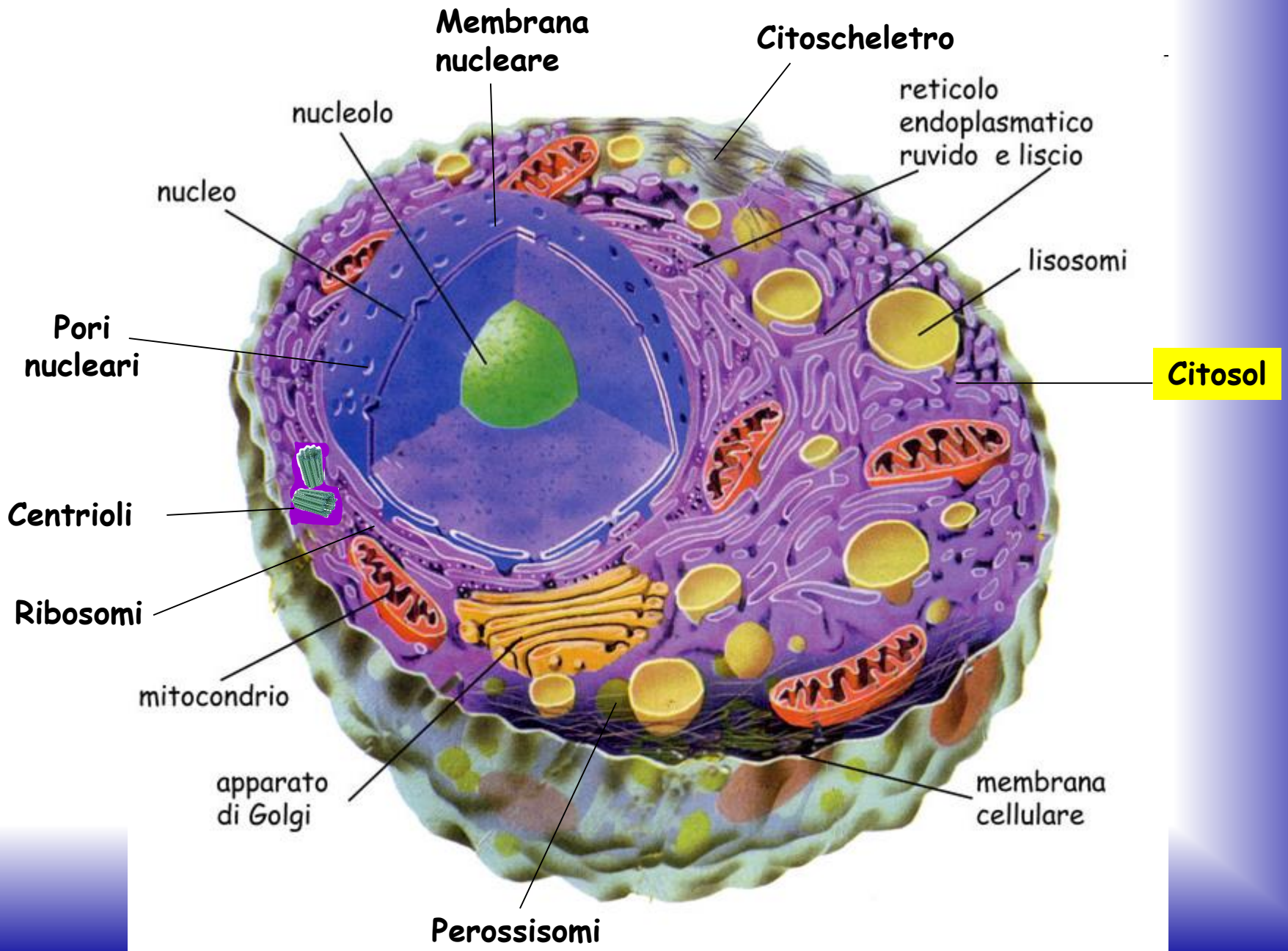
2. Controllo degli ambienti chimici: pH, conc. ioni, ecc

3. Attività pericolose sono sequestrate in organuli adeguati



La cellula eucariotica

5-100 μm

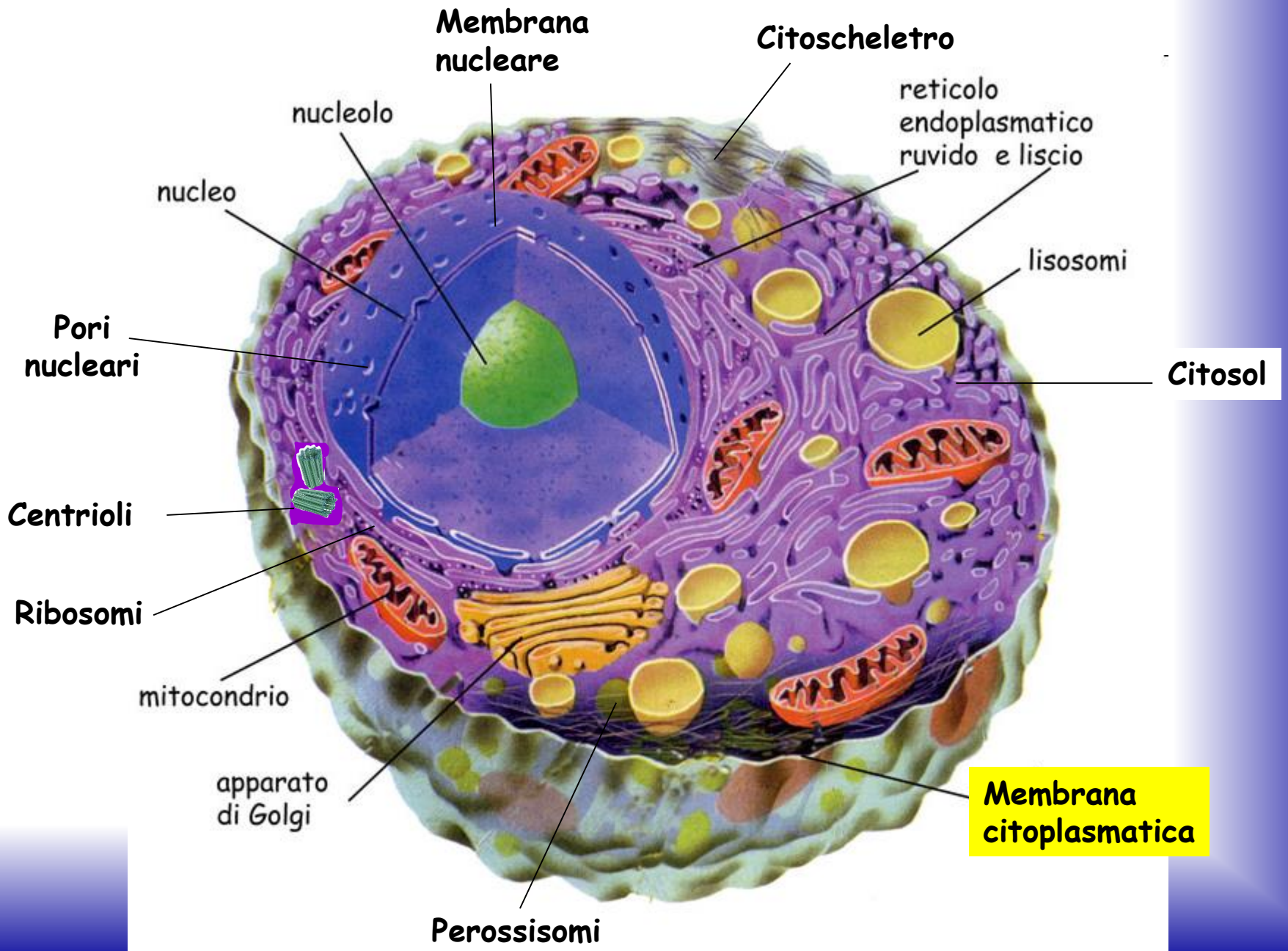


Citosol

- Sostanza semifluida che occupa metà dello spazio totale interno
- Alcune attività cellulari si svolgono nel citosol
- Contiene tanti soluti:
  - Ioni inorganici
  - Componenti elementari e precursori delle molecole organiche
  - Carboidrati
  - Lipidi
  - Proteine (alta concentrazione)

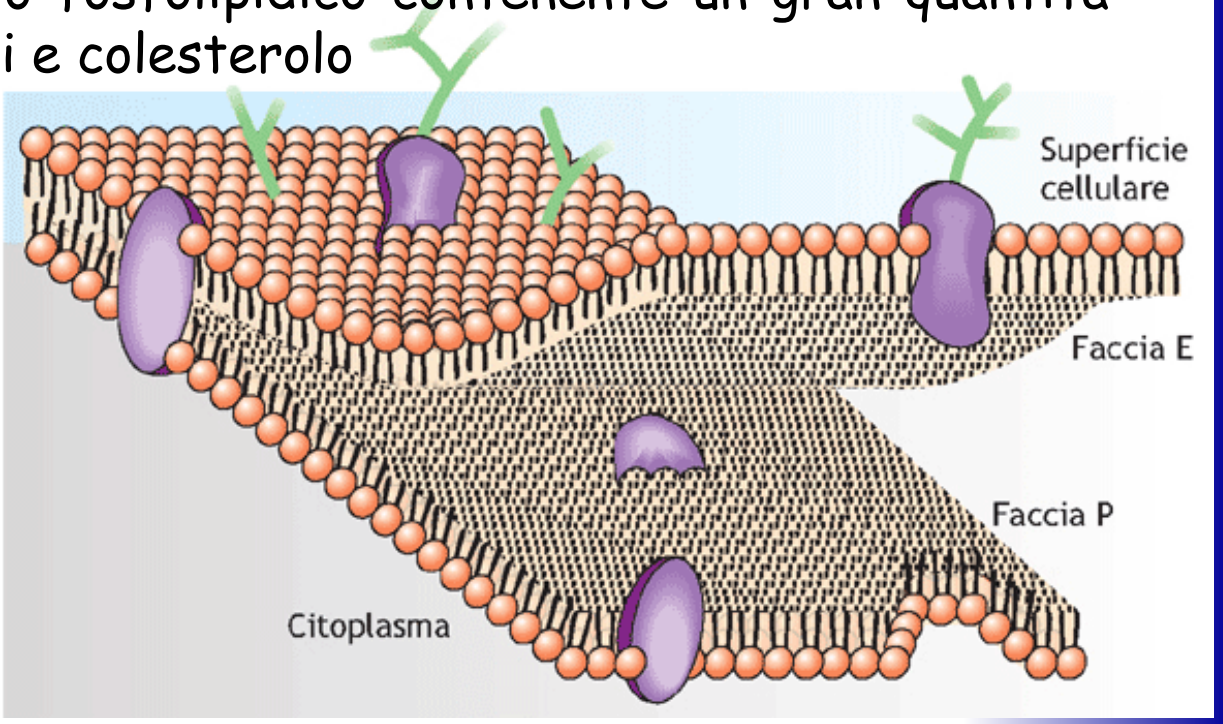
La cellula eucariotica

5-100 μm



Membrana plasmatica

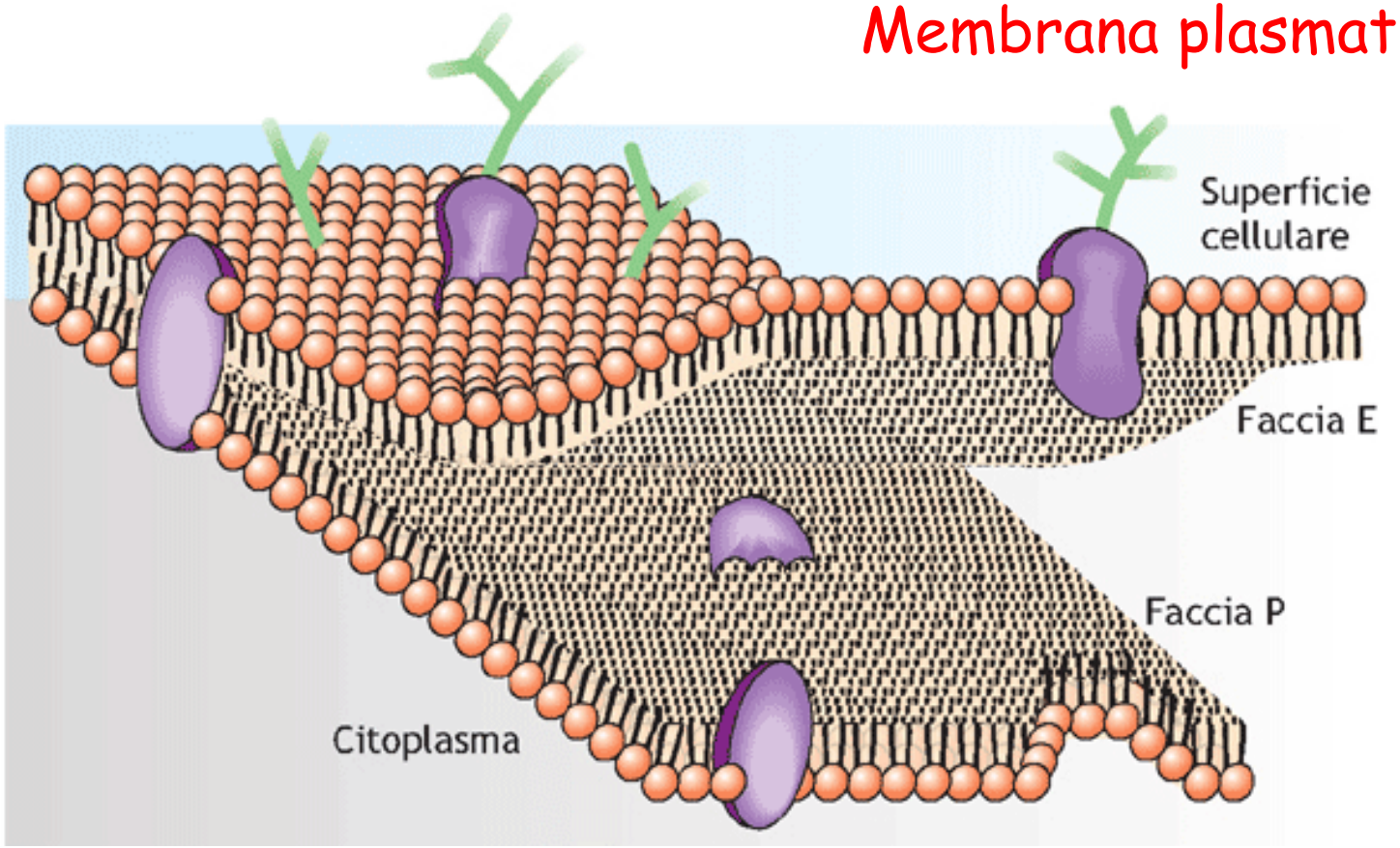
Struttura: Doppio strato fosfolipidico contenente un gran quantità di proteine, alcuni glucidi e colesterolo



Funzioni:

1. Delimita esternamente la cellula separando compartimento intracellulare ed extracellulare
2. Mantiene l'omeostasi cellulare
3. Regola il trasporto di sostanze
4. Controlla il trasferimento di informazioni tra ambiente extra ed intracellulare
5. Permette l'interazione fisica con le altre cellule e le strutture extracellulari circostanti

Membrana plasmatica

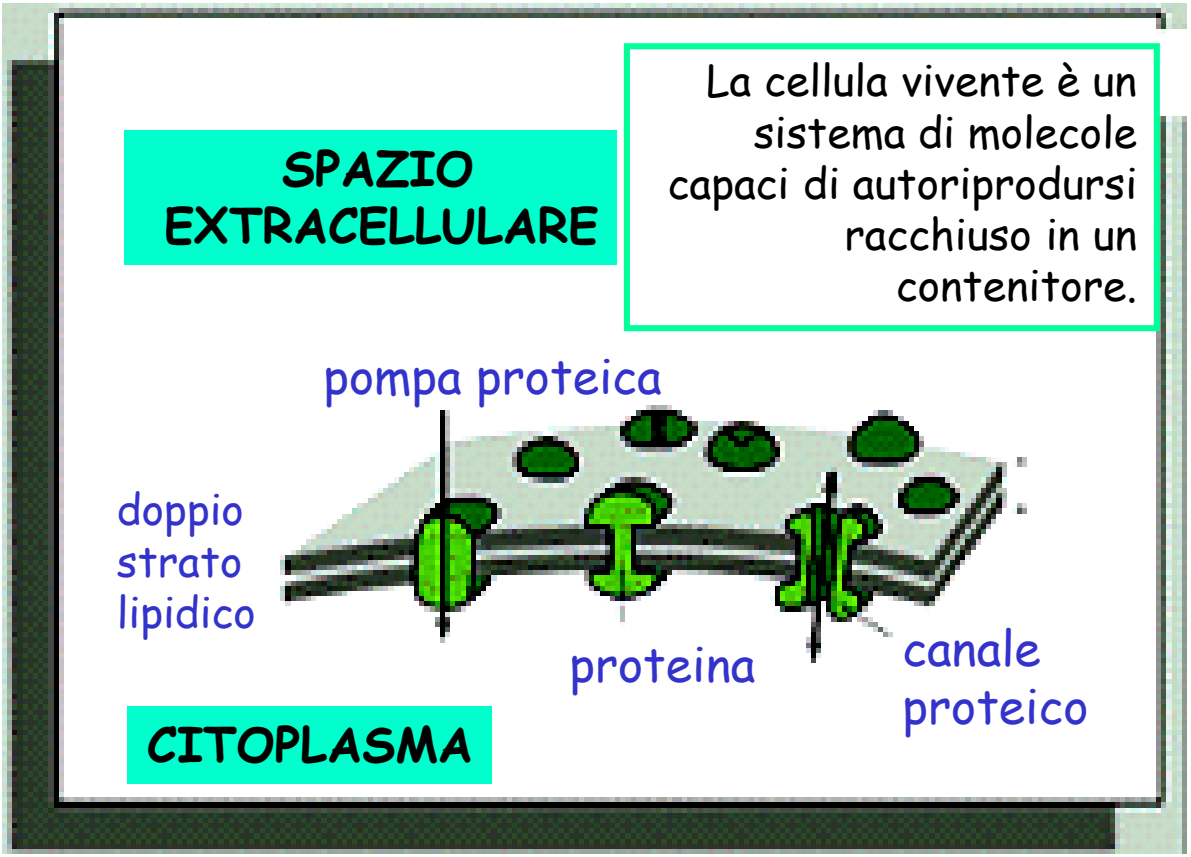


Tutte le membrane cellulari: Membrana plasmatica + membrane intracellulari che delimitano i vari compartimenti: RE, Golgi, mitocondri, nucleo

Hanno in comune: struttura e alcune funzioni

Differenze: fini differenze strutturali soprattutto in riferimento alla componente proteica, che conferisce ad ogni organulo prerogative funzionali

MEMBRANA PLASMATICA



- molecole lipidiche disposte in 2 strati vicini e giustapposti, il doppio strato lipidico: struttura base
- Le proteine mediano quasi tutte le altre funzioni e conferiscono le caratteristiche individuali a ogni tipo di membrana

Membrana citoplasmatica

Doppio strato fosfolipidico in cui le proteine sono incluse come unità globulari individuali e discrete

Lipidi di membrana:

1. Fosfolipidi
2. Sfingolipidi:
3. Steroidi

→ Sf-lpd che contengono P

→ Sf-lpd che non contengono P

Le proteine di membrana assicurano la specificità funzionale delle membrane:

1. Proteine integrali o intrinseche
2. Proteine periferiche o estrinseche
3. Proteine ancorate ai lipidi

Carboidrati di membrana

Fosfolipidi

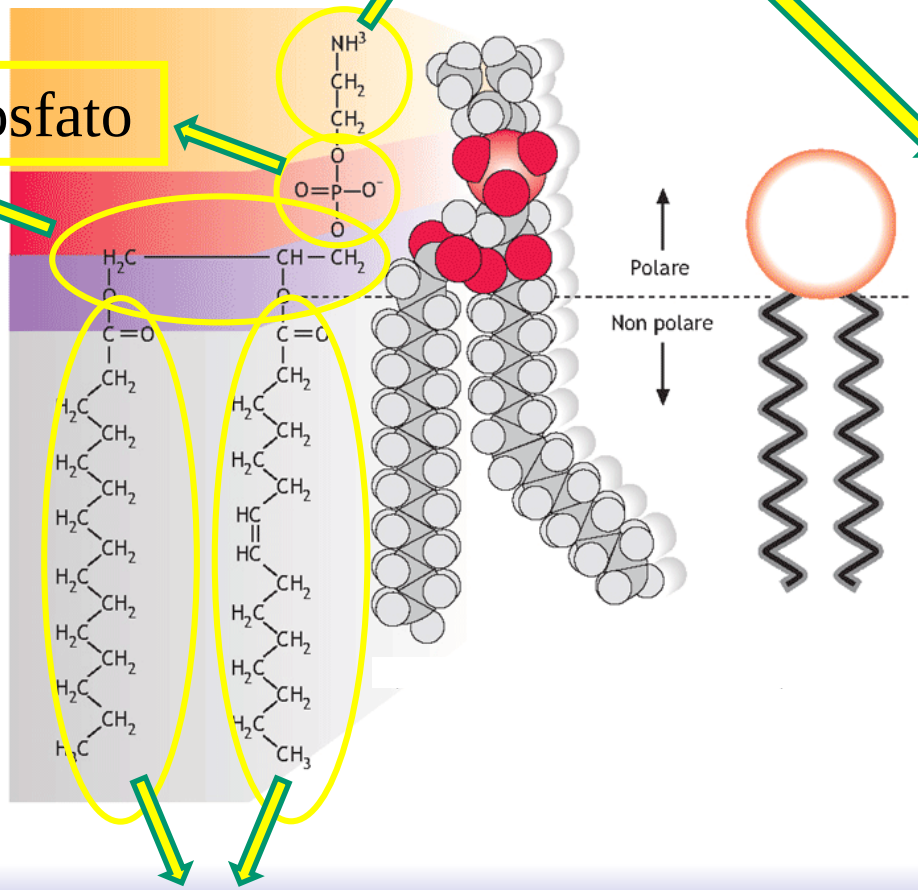
Gruppo polare

Composto alcolico:
- Colina
- Etanolammina
- Glicerolo
- Inositolo

Amminoacido:
- Serina
- Treonina

fosfato

glicerolo

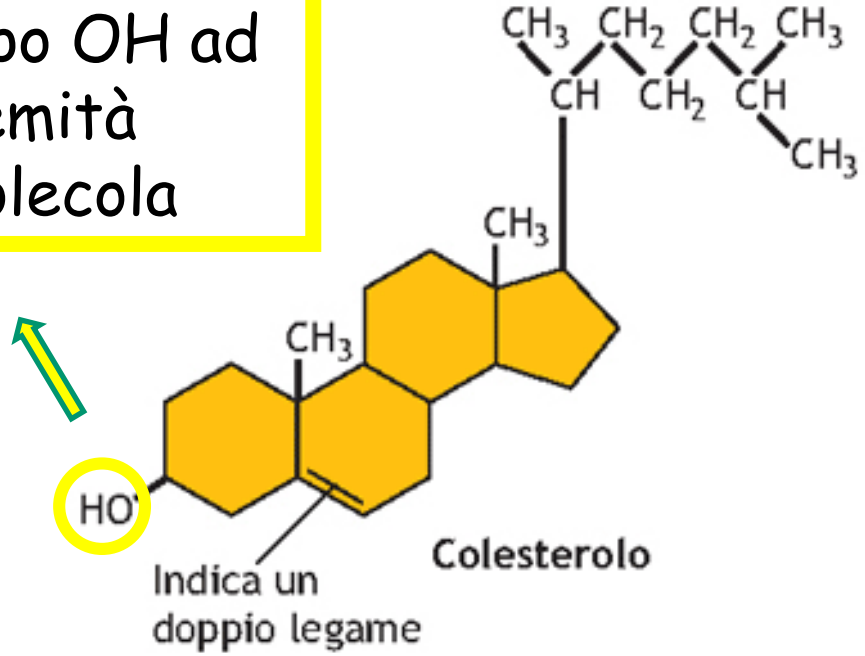


2 acidi grassi

Steroidi

Il principale componente di natura steroidea della membrana è il colesterolo

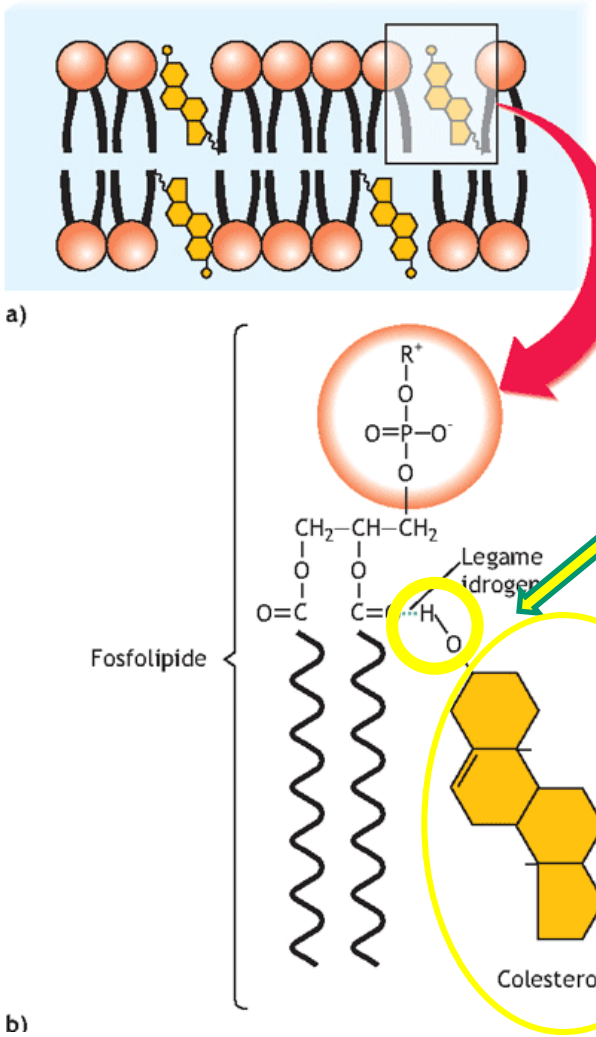
Piccola porzione polare
un gruppo OH ad un'estremità della molecola



Regione apolare
4 anelli idrocarburici più una catena laterale

Molecola meno anfipatica dei fosfolipidi

Il colesterolo si trova completamente immerso nel doppio strato



porzione polare del colesterolo è rivolta verso le superfici esterna ed interna della cellula

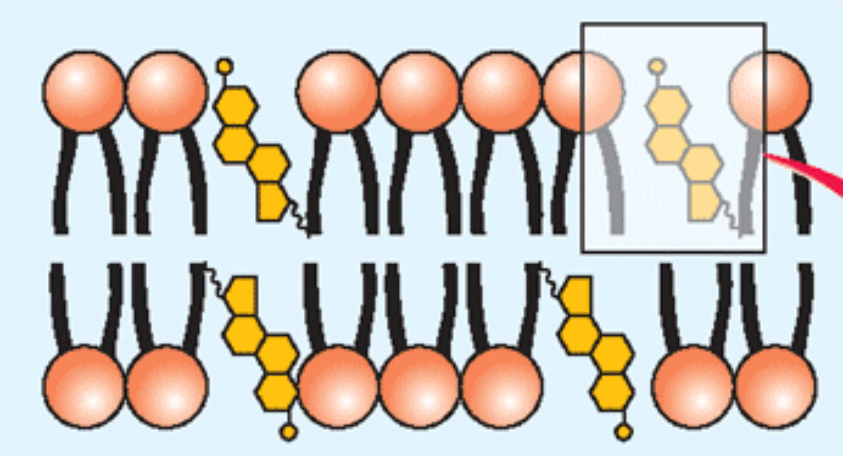
L'OH si posiziona nei pressi della testa polare dei fosfolipidi con la quale stabilisce dei legami -H

porzione apolare si dispone parallelamente alle code degli acidi grassi

interagisce con le code idrocarburiche dei fosfolipidi adiacenti

Effetti della presenza di colesterolo:

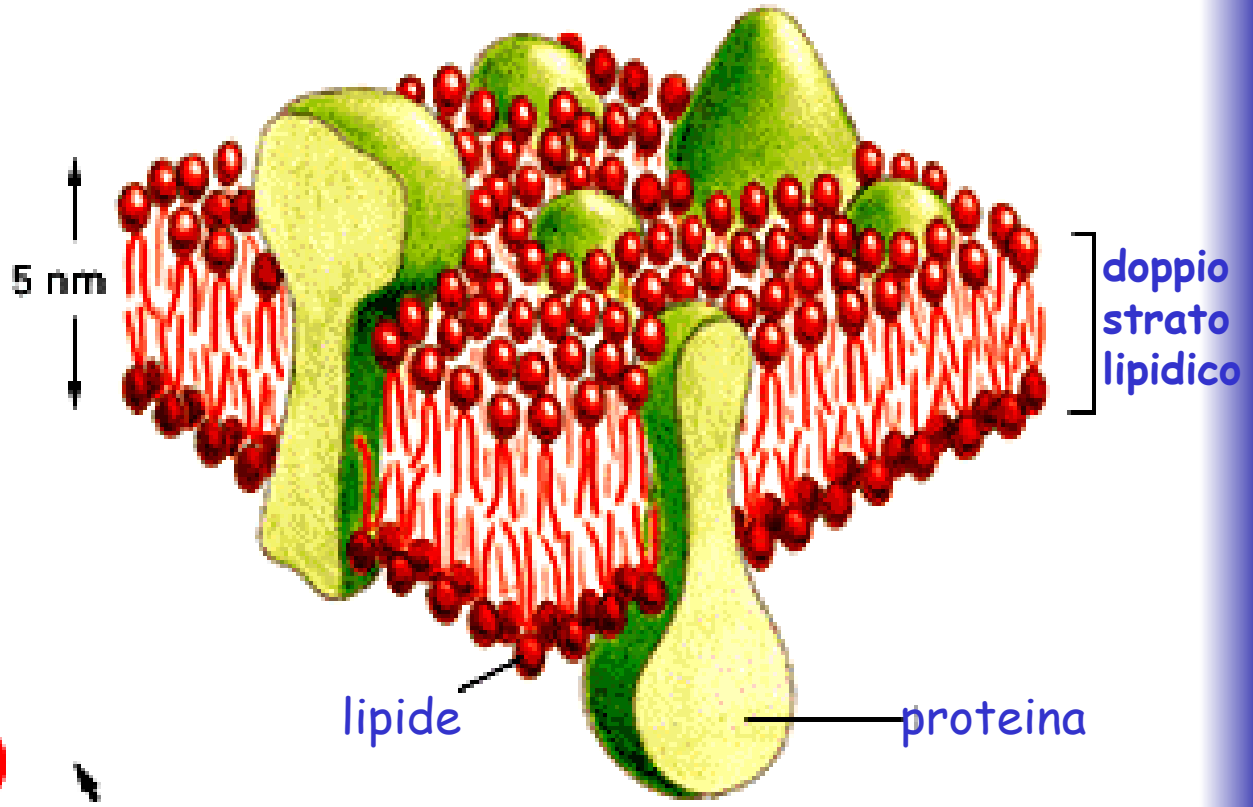
interferisce con l'eccessivo compattamento delle code di acidi grassi dei fosfolipidi, consentendo alle membrane di mantenere una certa fluidità.

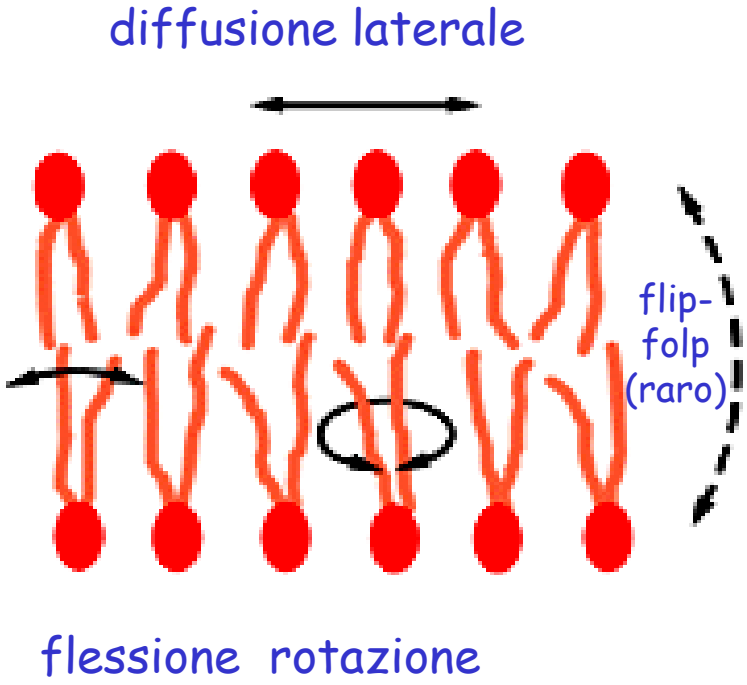


La cellula eucariotica animale - MEMBRANA PLASMATICA

MODELLO A MOSAICO FLUIDO

I lipidi di membrana possono spostarsi e scambiarsi di posto tra loro nell'ambito del doppio strato





Consente:

Diffusione proteine e lipidi (per segnalazione o dopo la sintesi)

Fusione di membrane tra loro

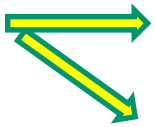
Miscelazione molecole x equa distribuzione

Membrana citoplasmatica

Doppio strato fosfolipidico in cui le proteine sono incluse come unità globulari individuali e discrete

Lipidi di membrana:

1. Fosfolipidi
2. Sfingolipidi:
3. Steroidi



Sf-lpd che contengono P

Sf-lpd che non contengono P

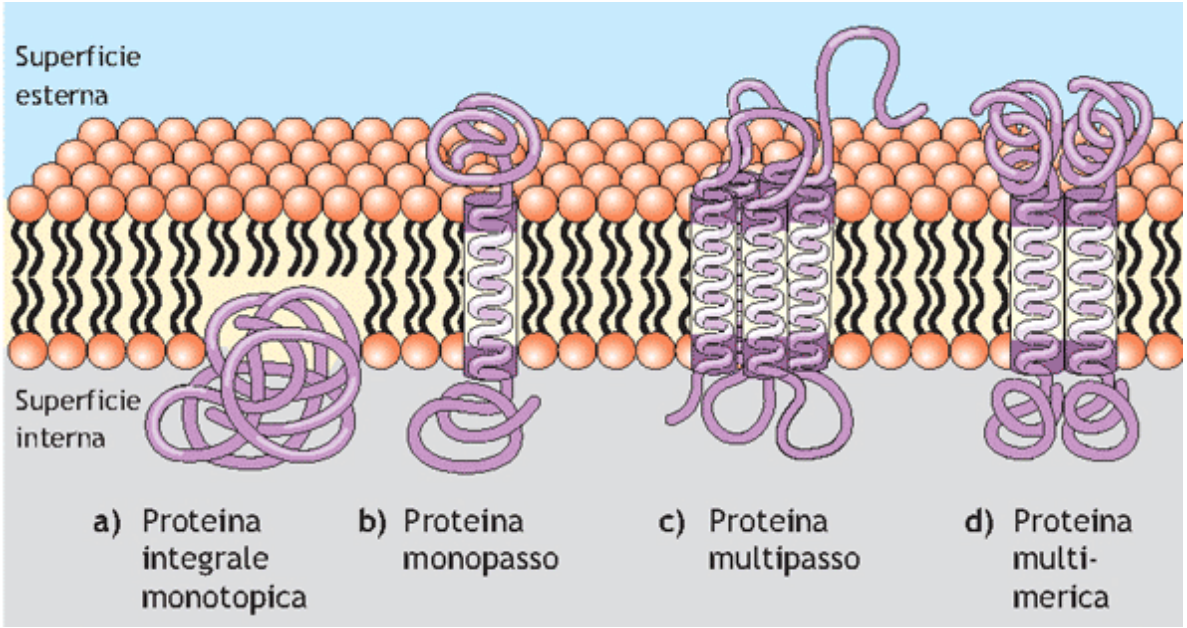
Le proteine di membrana assicurano la specificità funzionale delle membrane:

1. Proteine integrali o intrinseche
2. Proteine periferiche o estrinseche
3. Proteine ancorate ai lipidi

Carboidrati di membrana

Proteine integrali o intrinseche

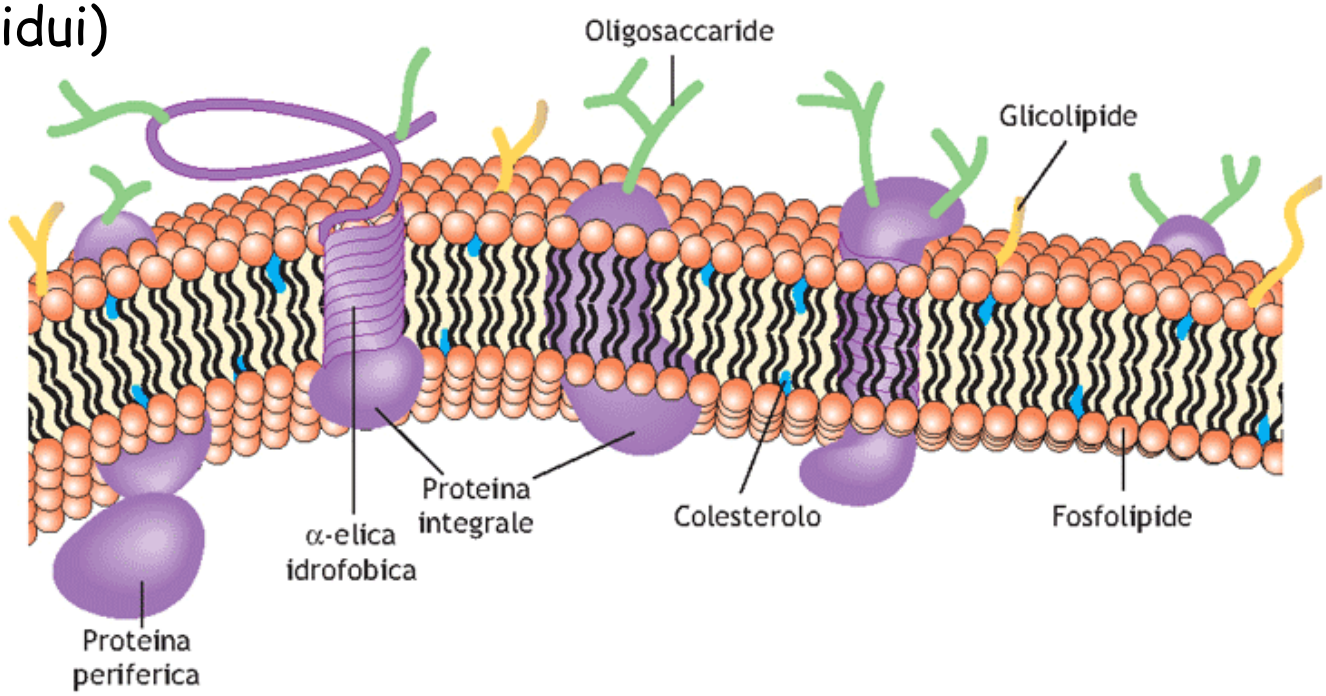
Presentano una o più regioni immerse e strettamente associate con il doppio strato fosfolipidico



Aa idrofobici: interagiscono con gli acidi grassi dei fosfolipidi ancorando la pt alla membrana stessa
Poche sono localizzate solo su un versante

La maggior parte sono transmembrana: attraversano completamente il doppio strato ed hanno domini idrofilici che si estendono sia su un versante che sull'altro

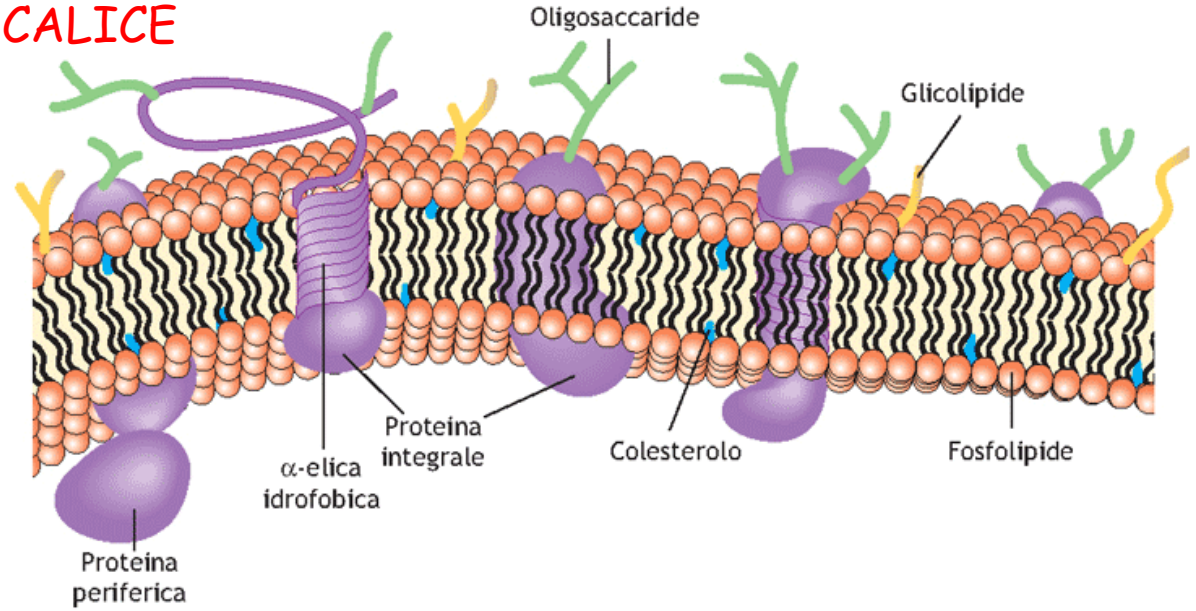
Carboidrati di membrana: catene oligosaccaridiche ramificate o lineari (2-60 residui)



La superficie esterna della membrana è caratterizzata dalla presenza di gruppi glucidici
Questi carboidrati si legano sia alle proteine che ai lipidi della superficie esterna della membrana
Membrane cellulari interne hanno catene oligosaccaridiche esposte sul versante opposto a quello citoplasmatico

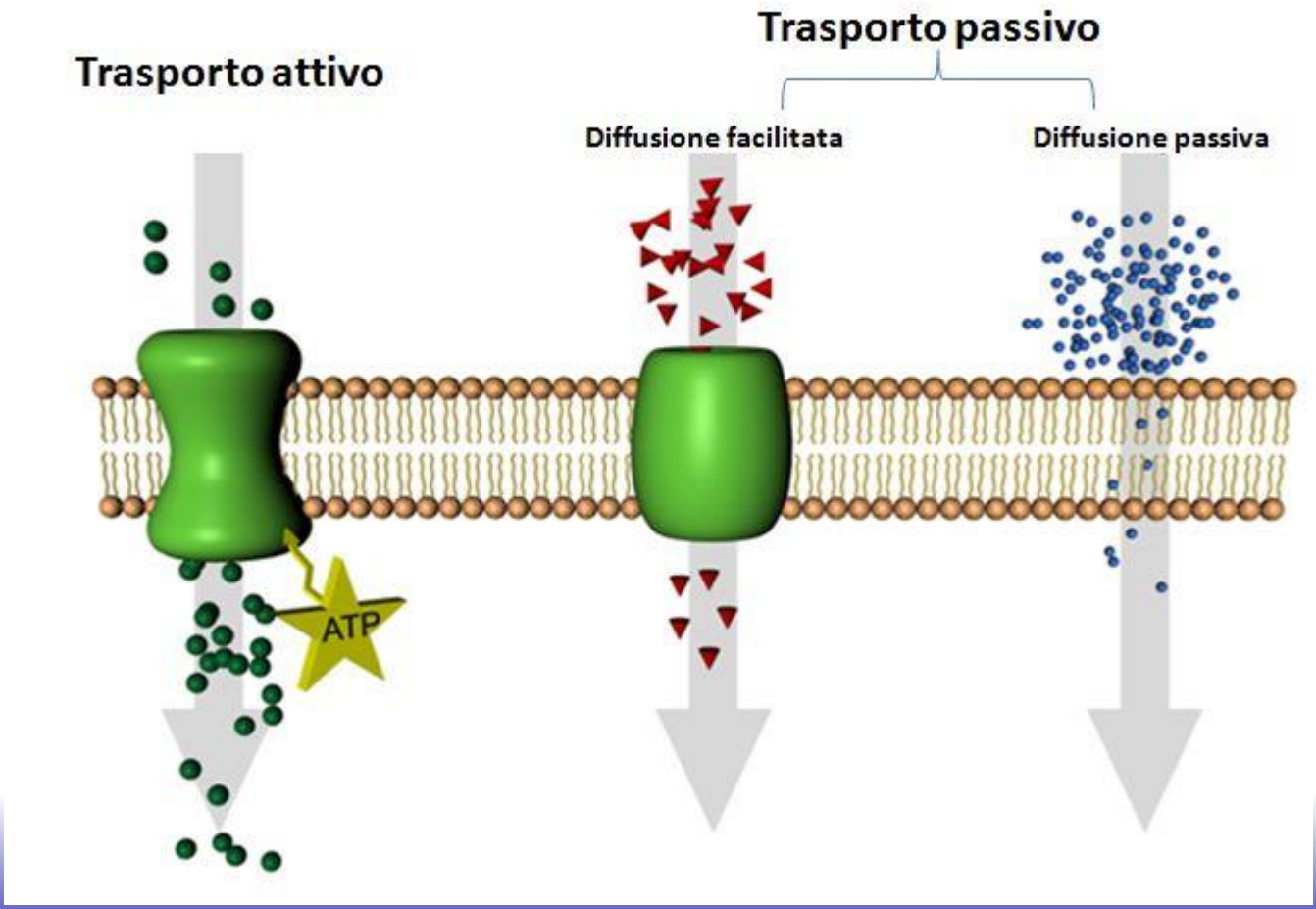
MEMBRANA PLASMATICA: il GLICOCALICE (strato a glucidi)

•Glicoproteine: glucidi legati con legami covalenti a proteine
•Glicolipidi: glucidi legati con legami covalenti a lipidi
Glicoproteine e glicolipidi sono talmente abbondanti sulla superficie esterna della membrana che la cellula risulta ricoperta da una sorta di rivestimento glucidico, detto GLICOCALICE



Funzioni dei glicolipidi e delle glicoproteine che costituiscono il glicocalice:
1. funzione meccanica (protezione della superficie cellulare)
2. riconoscimento recettore- ligando
3. interazione cellula-cellula
4. ruolo antigenico
5. siti di riconoscimento e legame per diversi virus e batteri
6. Assorbendo acqua rende la superficie scivolosa (es. leucociti)

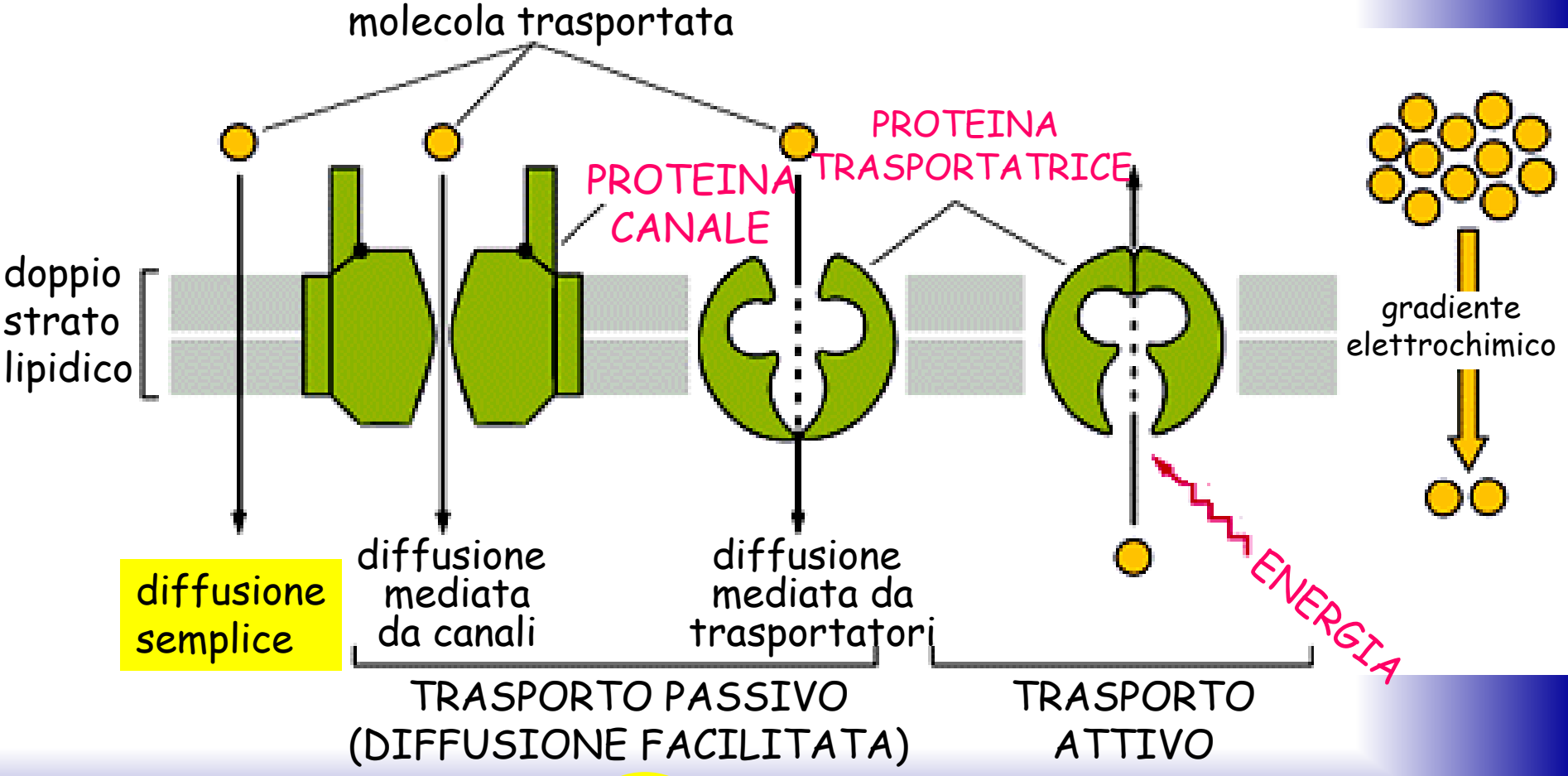
IL TRASPORTO DI MEMBRANA



IL TRASPORTO DI MEMBRANA

Le cellule vivono e crescono scambiando molecole con il loro ambiente e la membrana plasmatica agisce da barriera, controllando il transito delle molecole che entrano ed escono dalla cellula

PROTEINE DI TRASPORTO DI MEMBRANA



IL TRASPORTO DI MEMBRANA

diffusione semplice

1

MOLECOLE IDROFOBICHE

O_2
CO_2
N_2
benzene

PICCOLE MOLECOLE POLARI PRIVE DI CARICA

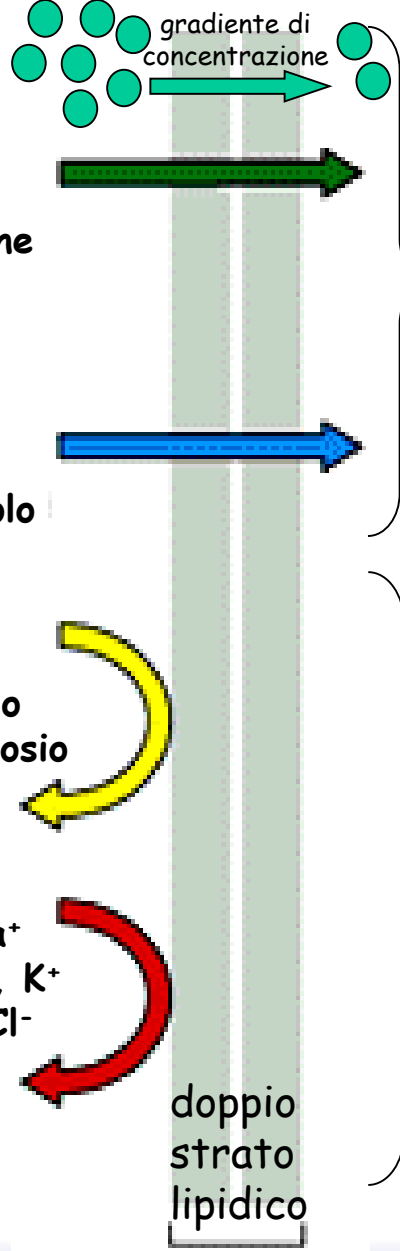
H_2O
urea
glicerolo

GROSSE MOLECOLE POLARI PRIVE DI CARICA

glucosio
saccarosio

IONI

H^+, Na^+
HCO_3^-, K^+
Ca^{2+}, Cl^-
Mg^{2+}



permeabile

non permeabile

Non è coinvolta nessuna proteine di membrana

Il flusso netto di molecole è sempre a favore di gradiente:

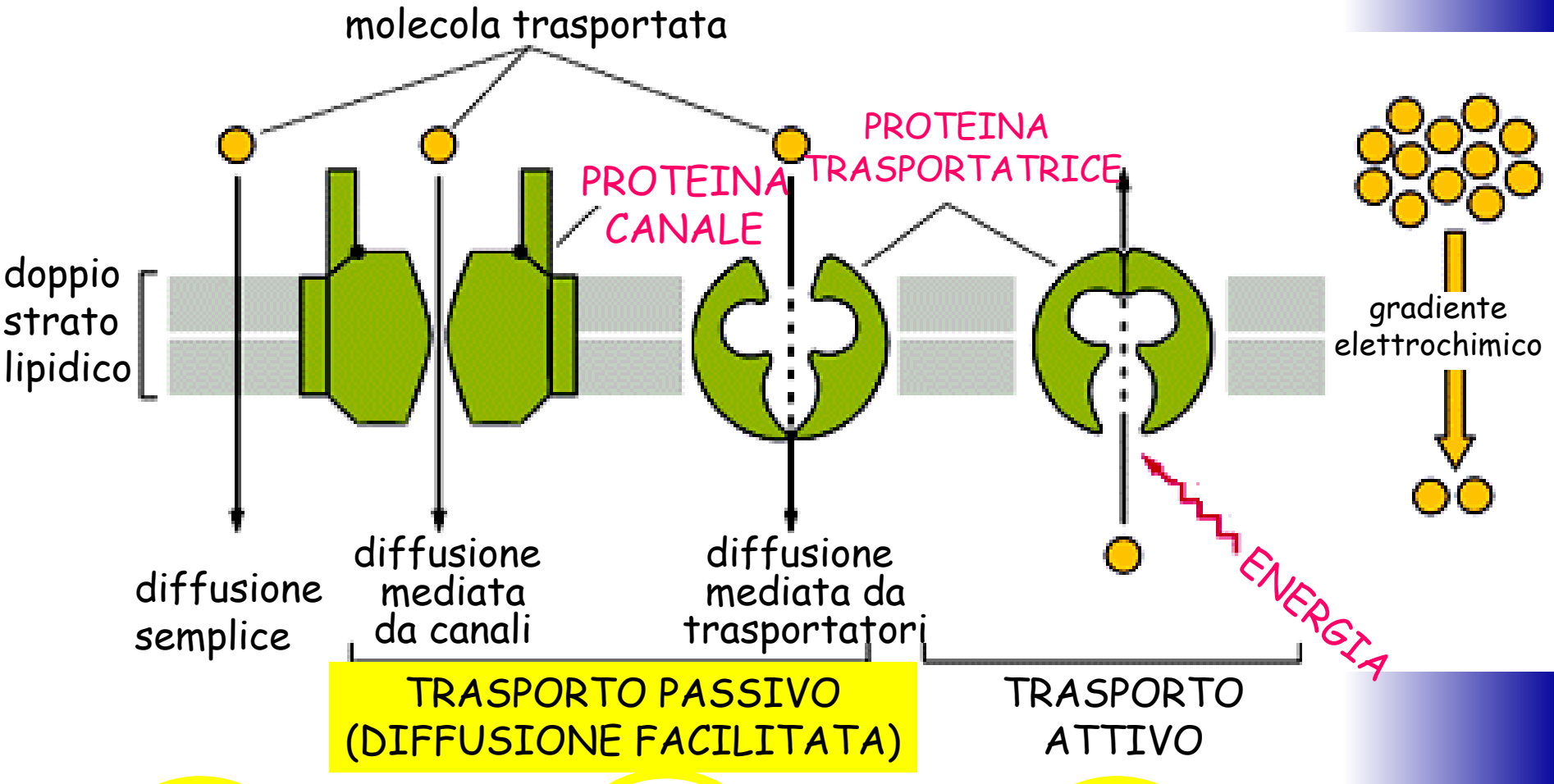
da un compartimento ad alta concentrazione

↓

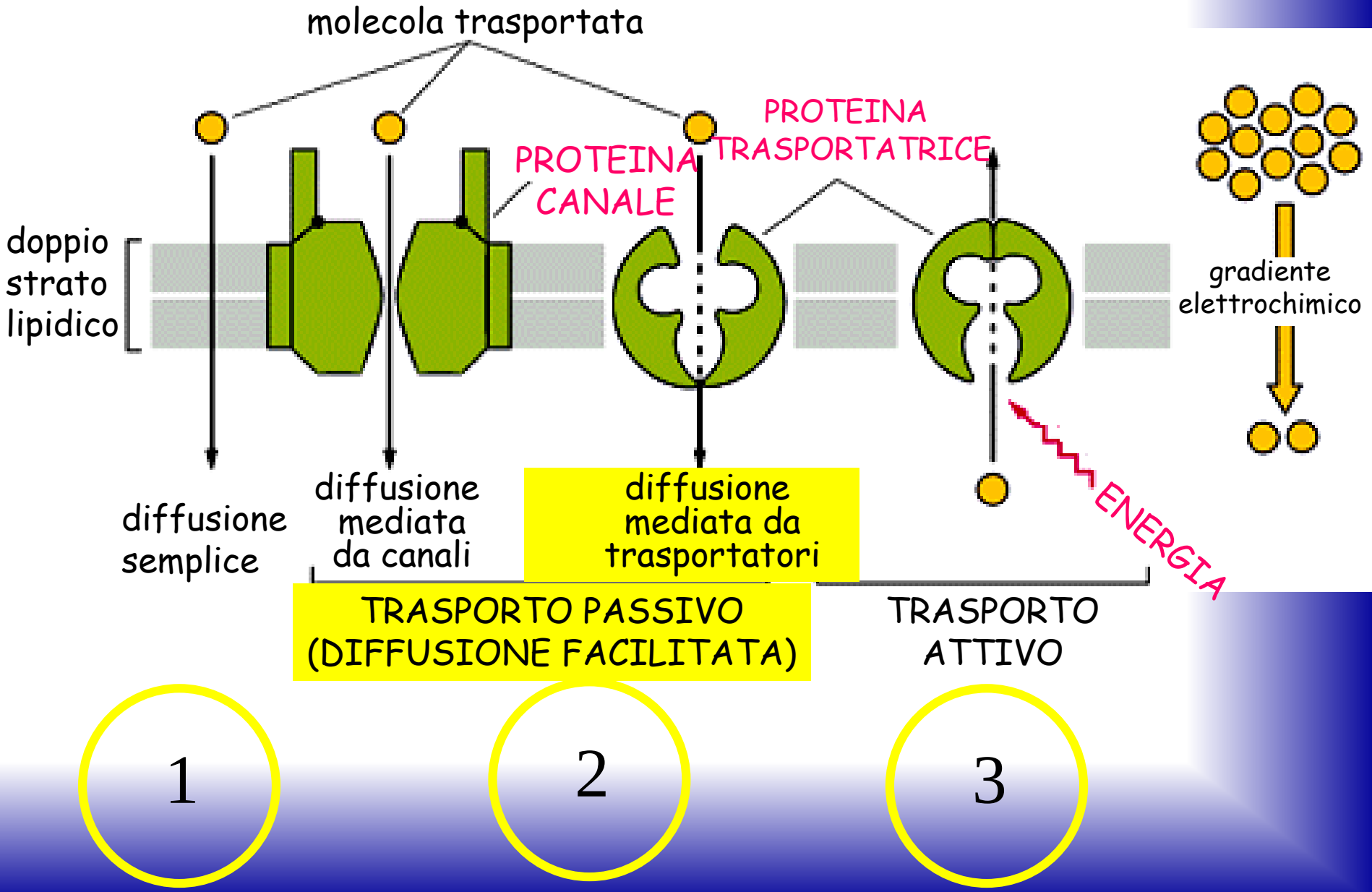
a uno a bassa concentrazione

Durante la diffusione semplice una molecola si dissolve nel doppio strato fosfolipidico, diffonde attraverso di esso e si riversa nella soluzione acquosa dall'altro lato della membrana.

PROTEINE DI TRASPORTO DI MEMBRANA



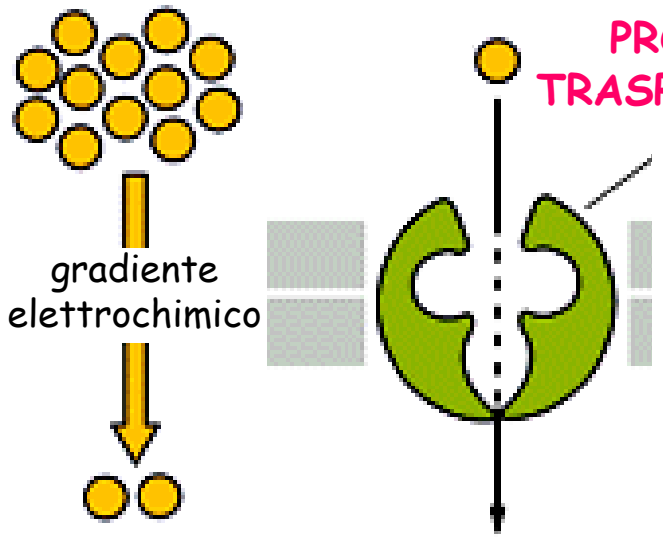
PROTEINE DI TRASPORTO DI MEMBRANA



IL TRASPORTO DI MEMBRANA: DIFFUSIONE FACILITATA

Movimento dal compartimento a più alta concentrazione a quello a più bassa concentrazione, quindi secondo gradiente di concentrazione o di potenziale elettrico

Il passaggio delle molecole è mediato da proteine che permettono alle molecole trasportate di attraversare la membrana senza interagire direttamente con il suo interno idrofobico

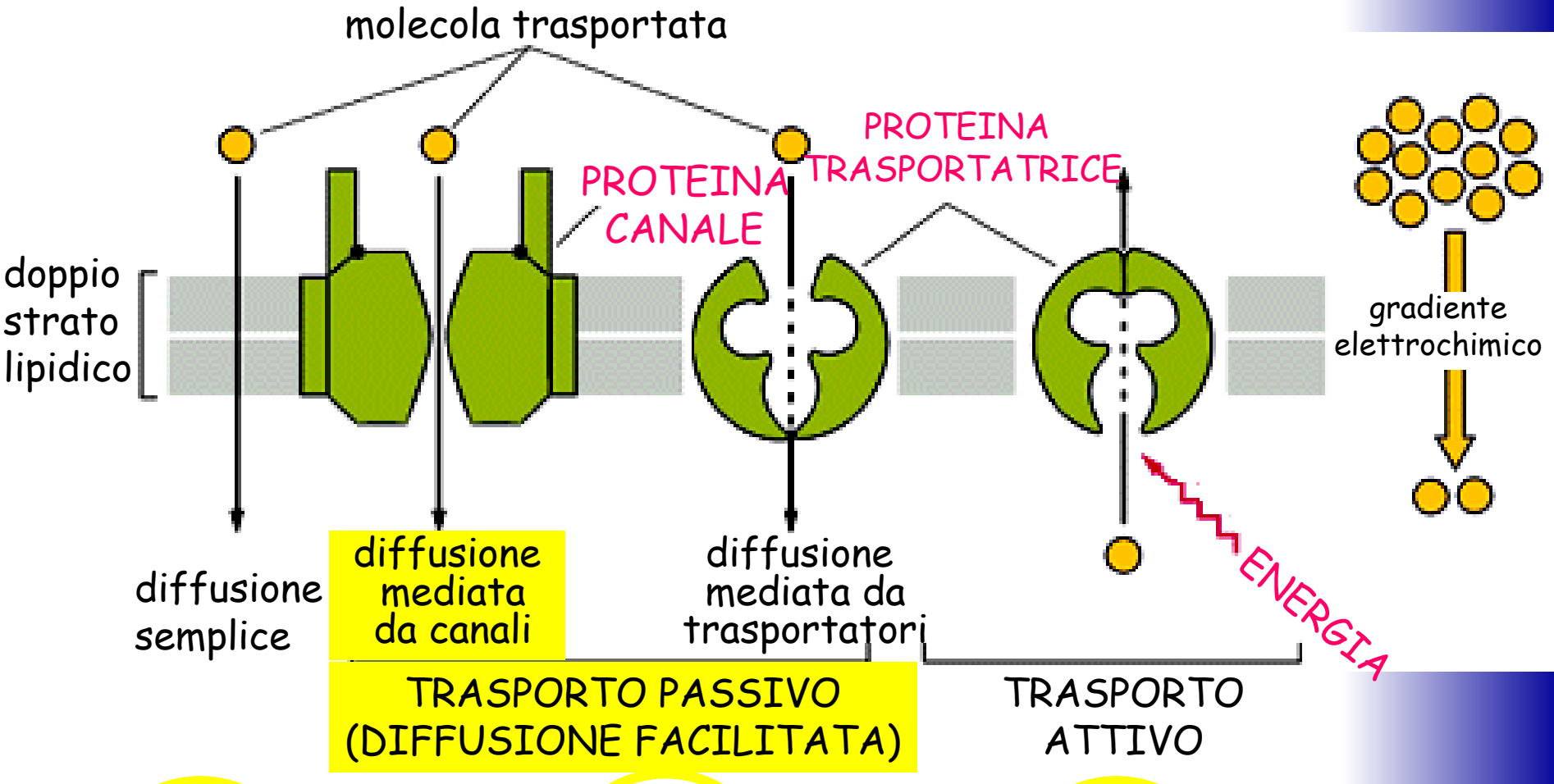


1. Carboidrati
2. Aa
3. Nucleosidi
4. ioni

} molecole polari

Proteine vettore: dotate di parti mobili, traghettano piccole molecole da un lato all'altro della membrana cambiando forma. Trasportano piccole molecole organiche e ioni inorganici. Es. glucosio verso l'interno della cellula

PROTEINE DI TRASPORTO DI MEMBRANA

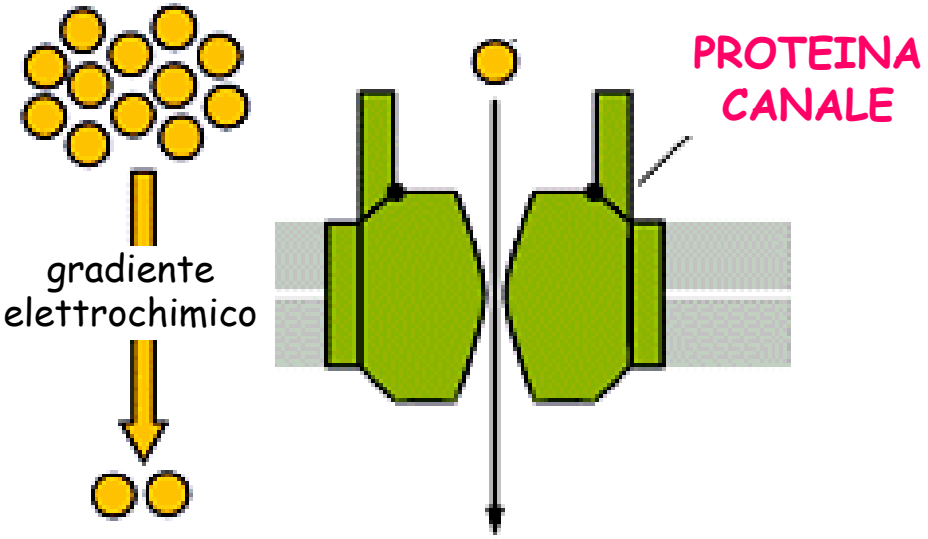


IL TRASPORTO DI MEMBRANA: DIFFUSIONE FACILITATA

Proteine canale: formano minuscoli pori idrofilici nella membrana, che i soluti attraversano per diffusione.

Canali ionici: mediano il passaggio di ioni attraverso la membrana plasmatica

Importanti nelle cellule nervose e muscolari

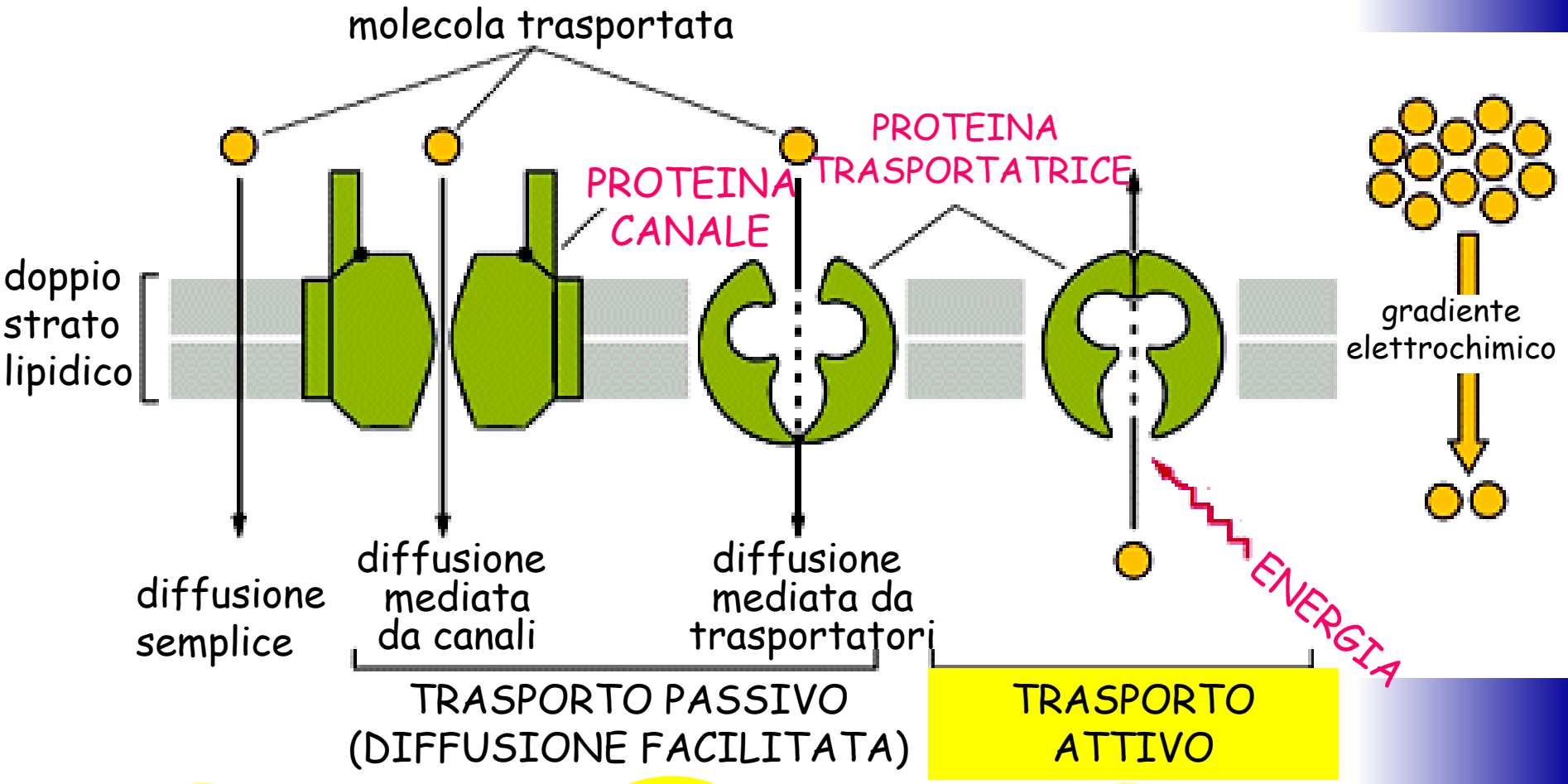


3 proprietà fondamentali:

1. Trasporto rapido, maggiore rispetto al trasporto mediato da proteine trasportatrici
2. Selettivi: limitano il passaggio di Na^+, K^+, Ca^{2+} e Cl^-
3. Non sono sempre aperti: l'apertura è regolata in risposta a stimoli specifici (ligandi o voltaggio)

Il flusso di ioni attraverso i canali di membrana dipende dall'esistenza di gradienti ionici attraverso la membrana plasmatica.

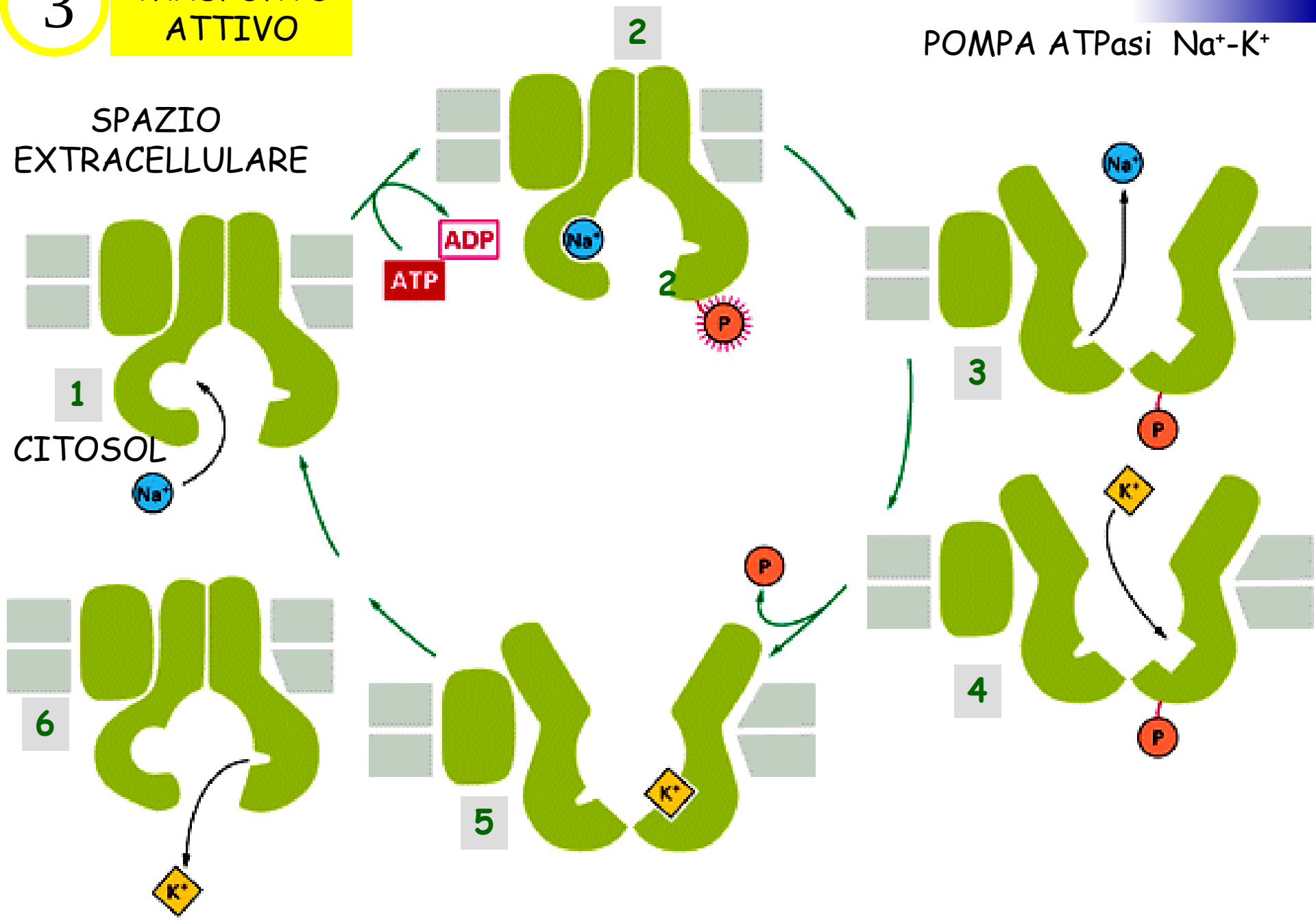
PROTEINE DI TRASPORTO DI MEMBRANA

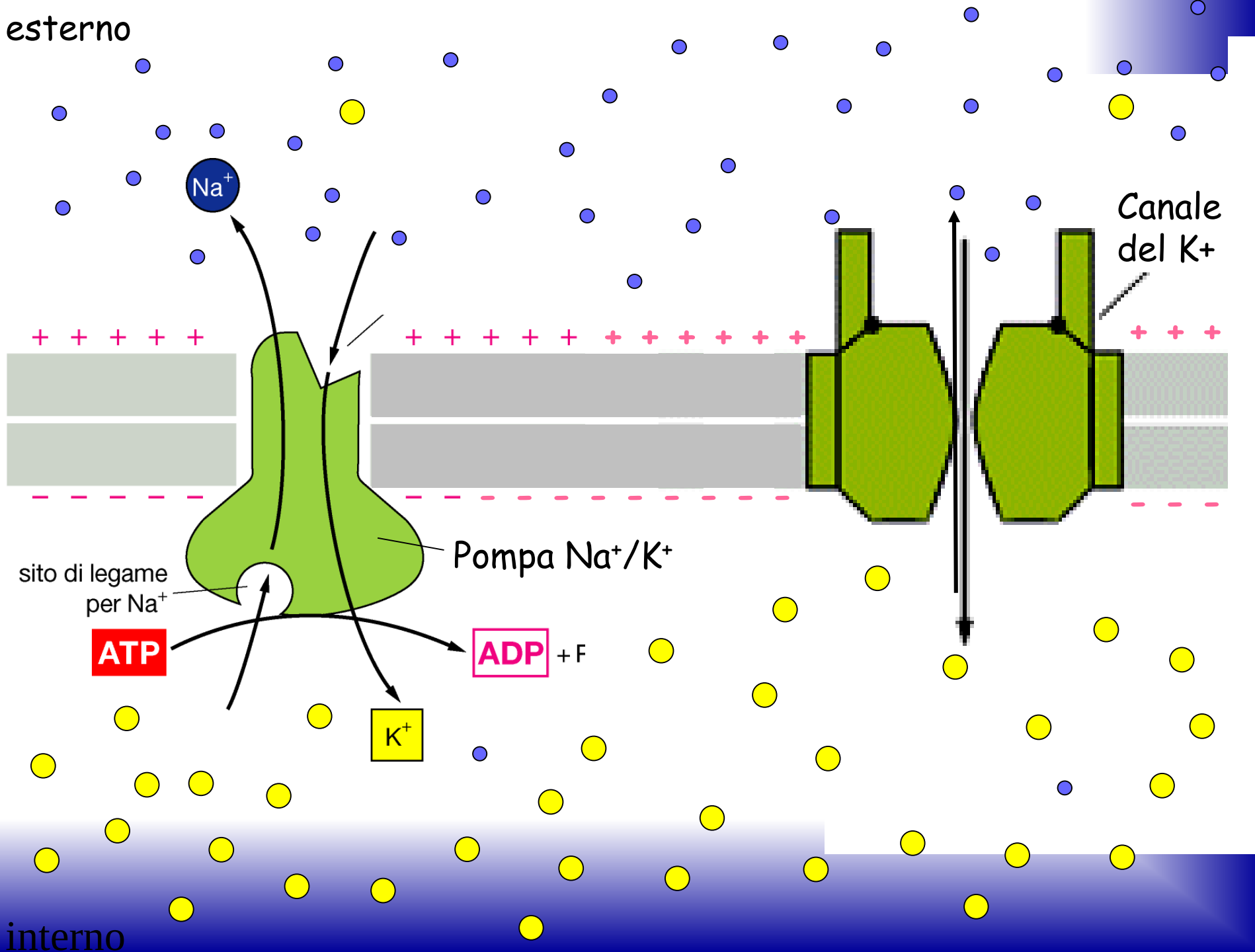


1 2 3

3 TRASPORTO ATTIVO

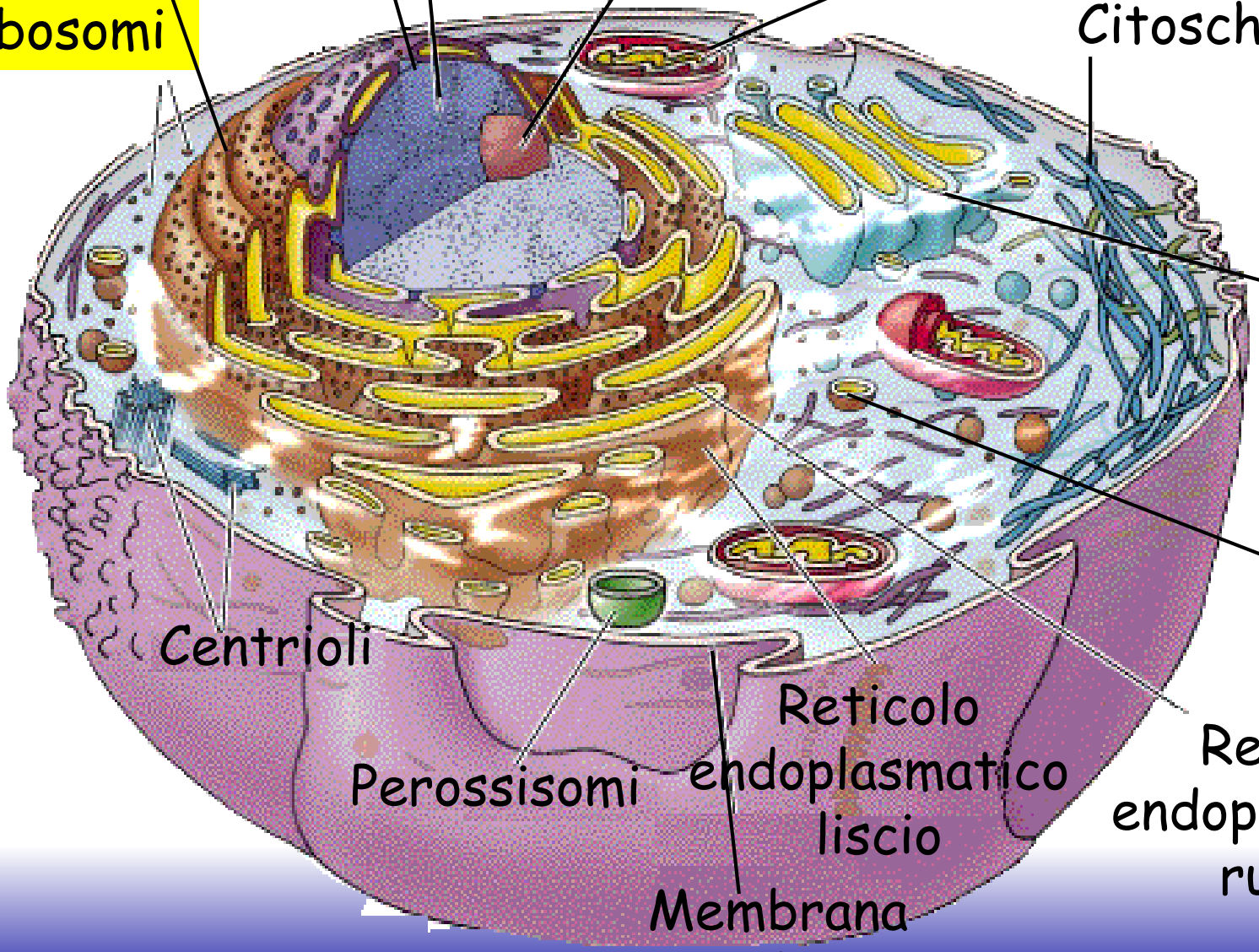
IL TRASPORTO DI MEMBRANA




esterno
Na+
Canale del K+
Pompa Na+/K+
sito di legame per Na+
ATP
ADP
+ F
K+
interno

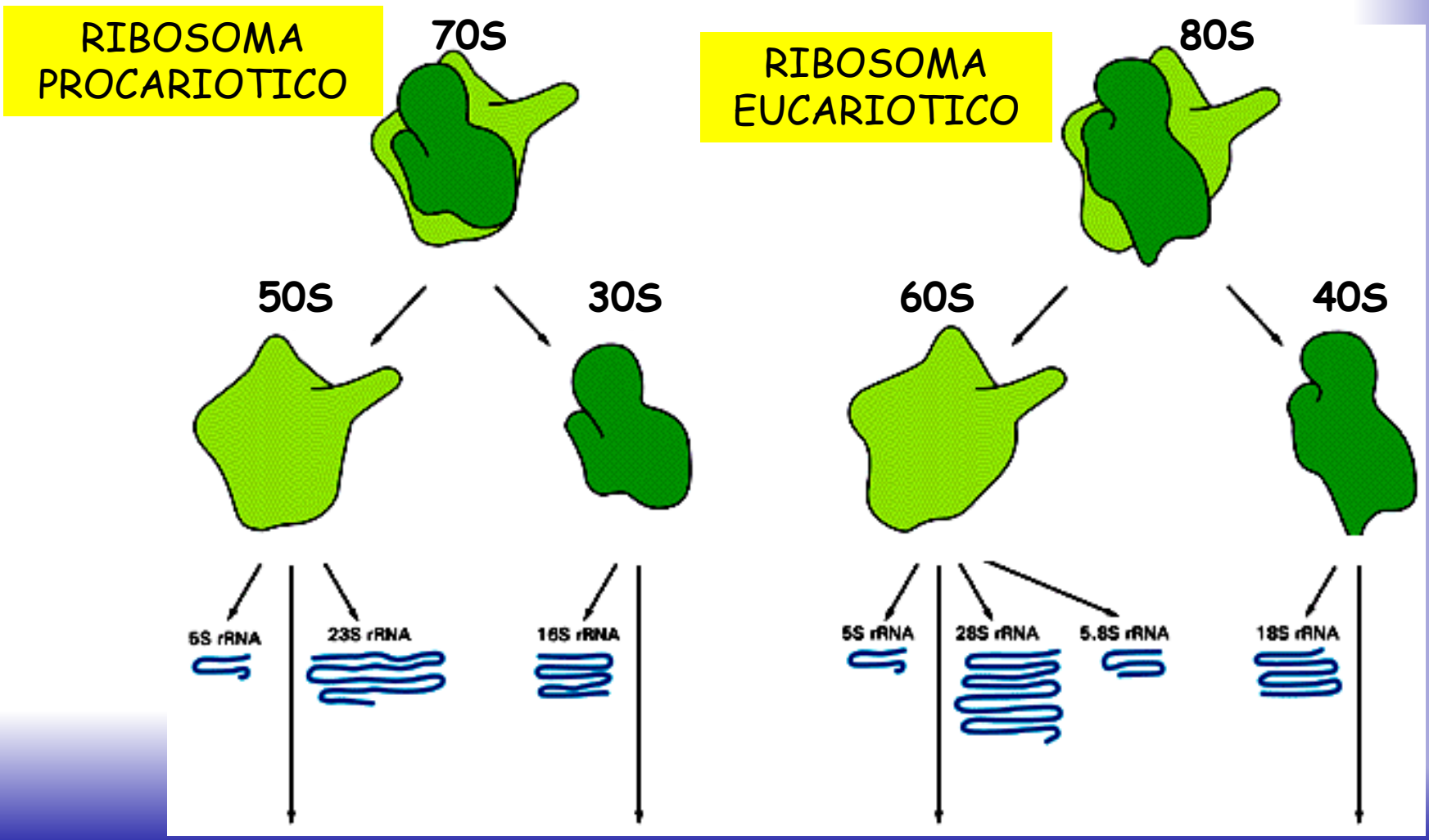
Lezione 5 - La cellula eucariotica

5-100 μm

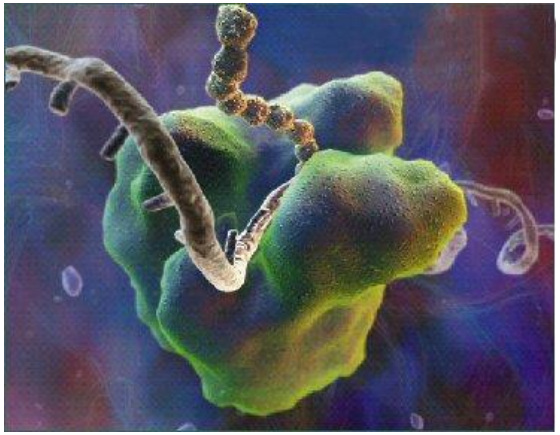


I RIBOSOMI

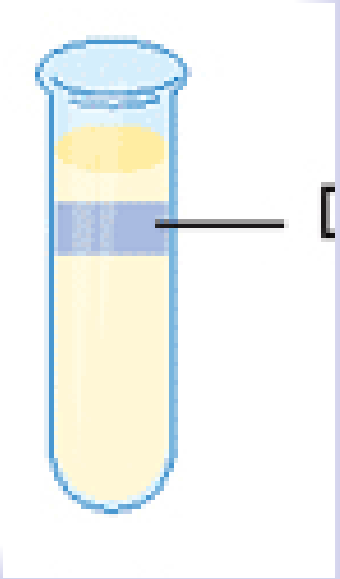
Complessi fortemente interconnessi di proteine ed RNA. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici



I RIBOSOMI

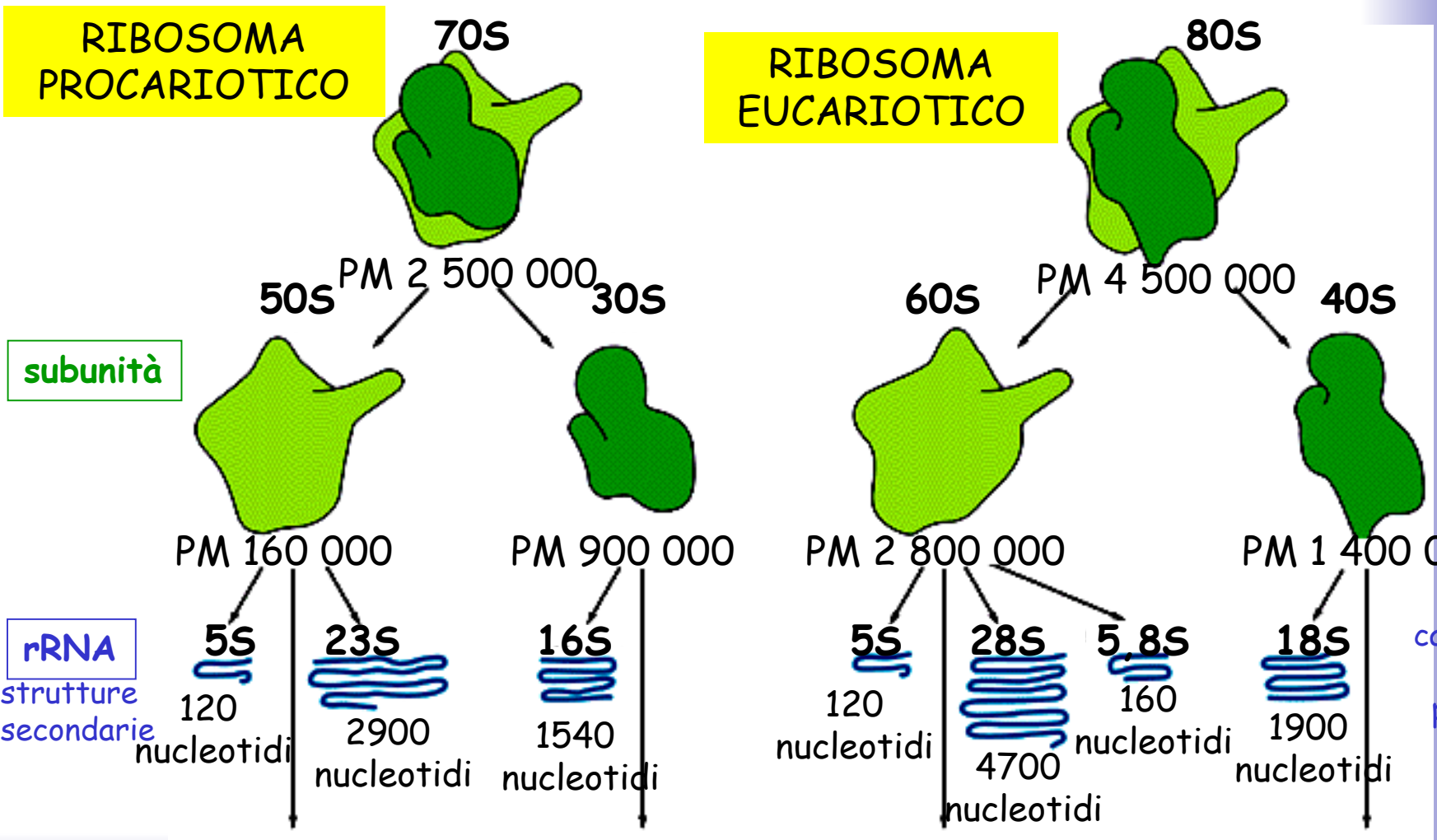


Le dimensioni dei ribosomi vengono espresse in base al loro Coefficiente di sedimentazione espresso in unità Svedberg (S): unità che misura la densità di un organulo cellulare o di una macromolecola verificando il punto in cui sedimenta mediante ultracentrifugazione in gradiente di densità



I RIBOSOMI

Complessi fortemente interconnessi di proteine ed RNA. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici

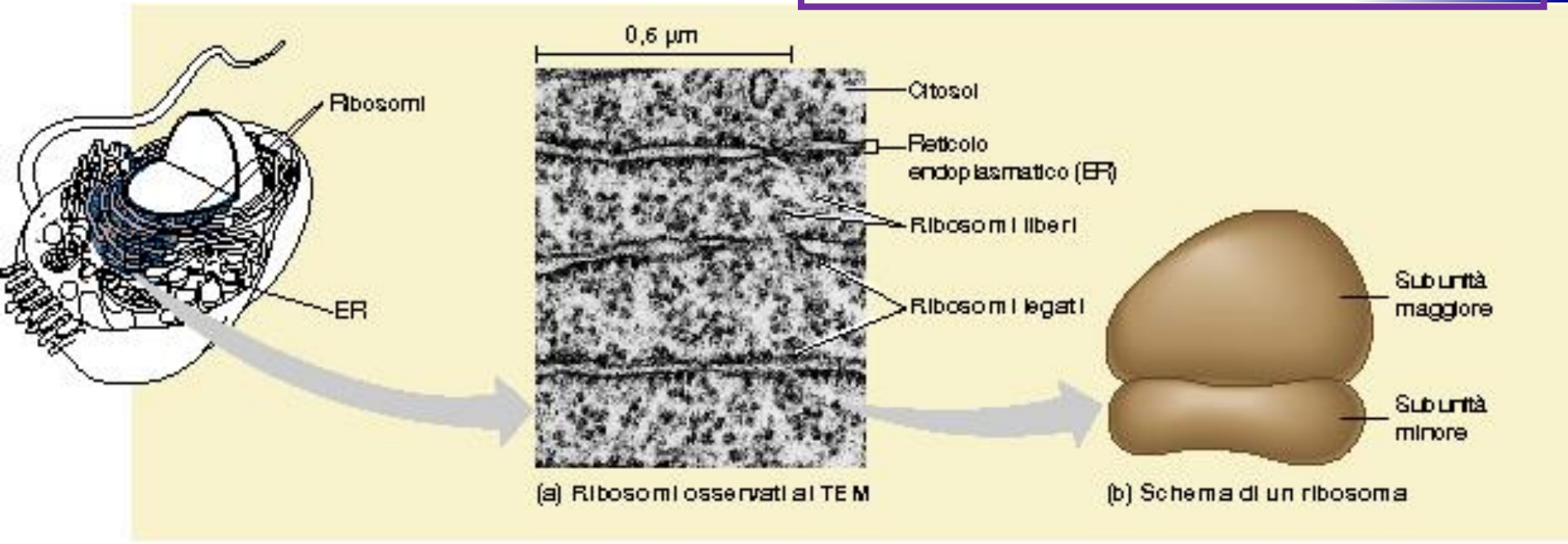


I RIBOSOMI

I ribosomi sono gli organuli che provvedono alla sintesi proteica. Nelle cellule eucariotiche possono essere:

liberi nel citoplasma
Producono Proteine:
-che sono utilizzate nel citosol

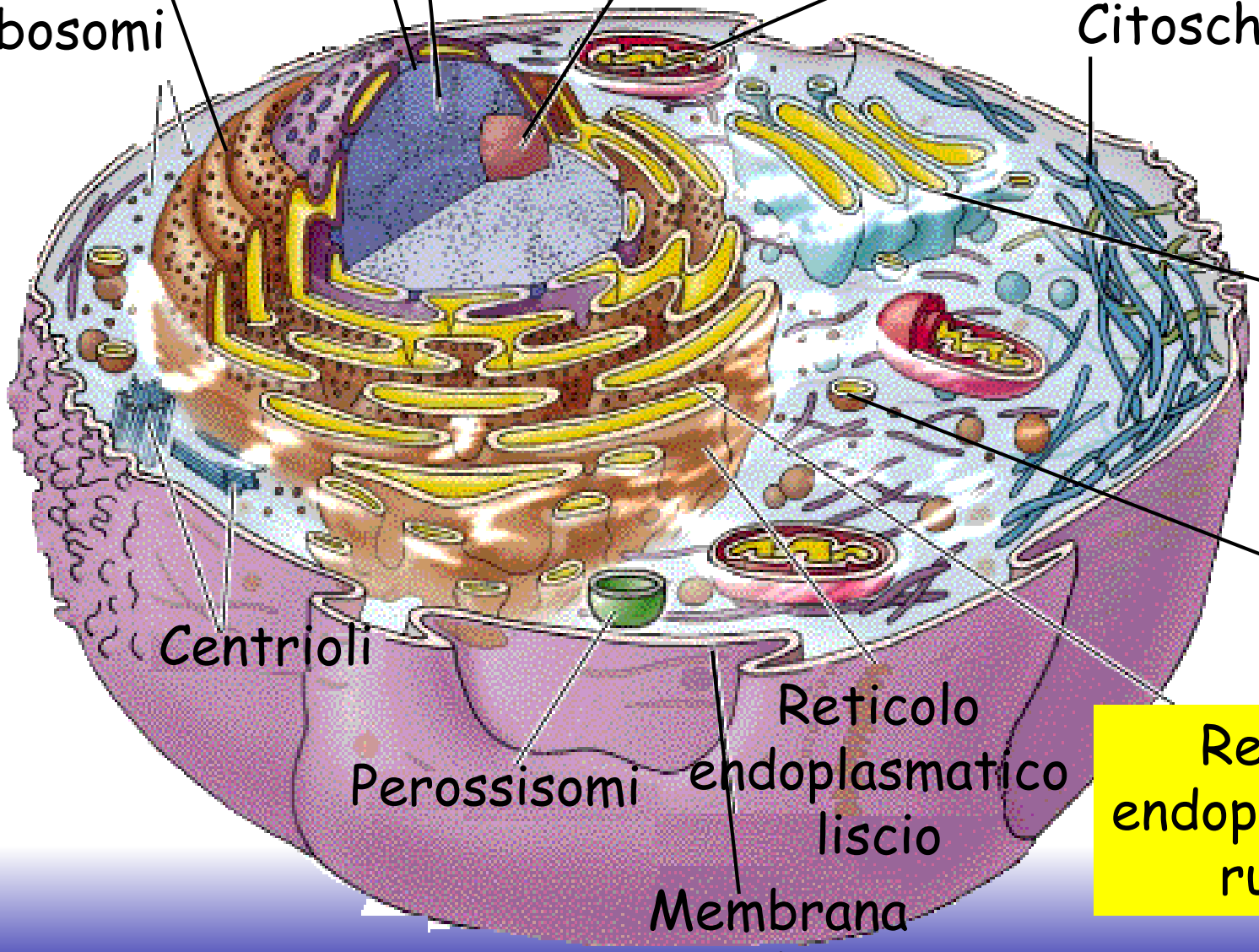
legati al reticolo endoplasmatico
Producono Proteine:
-destinate ad essere inserite nelle membrane, o
-destinate ad essere esportate dalla cellula (secrete)



Ribosomi liberi e legati sono identici e possono alternarsi

La cellula eucariotica

5-100 μm

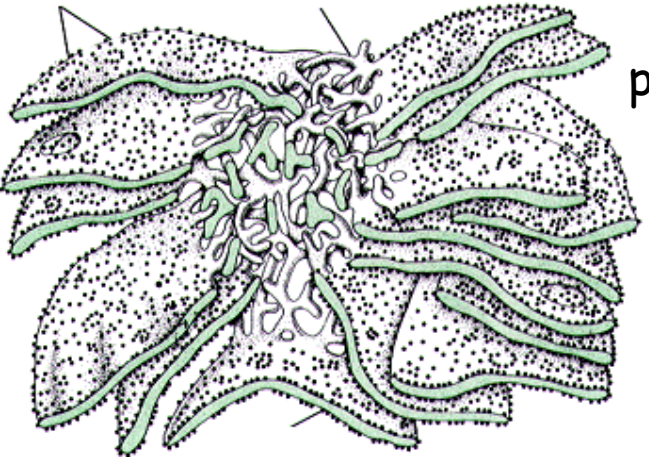


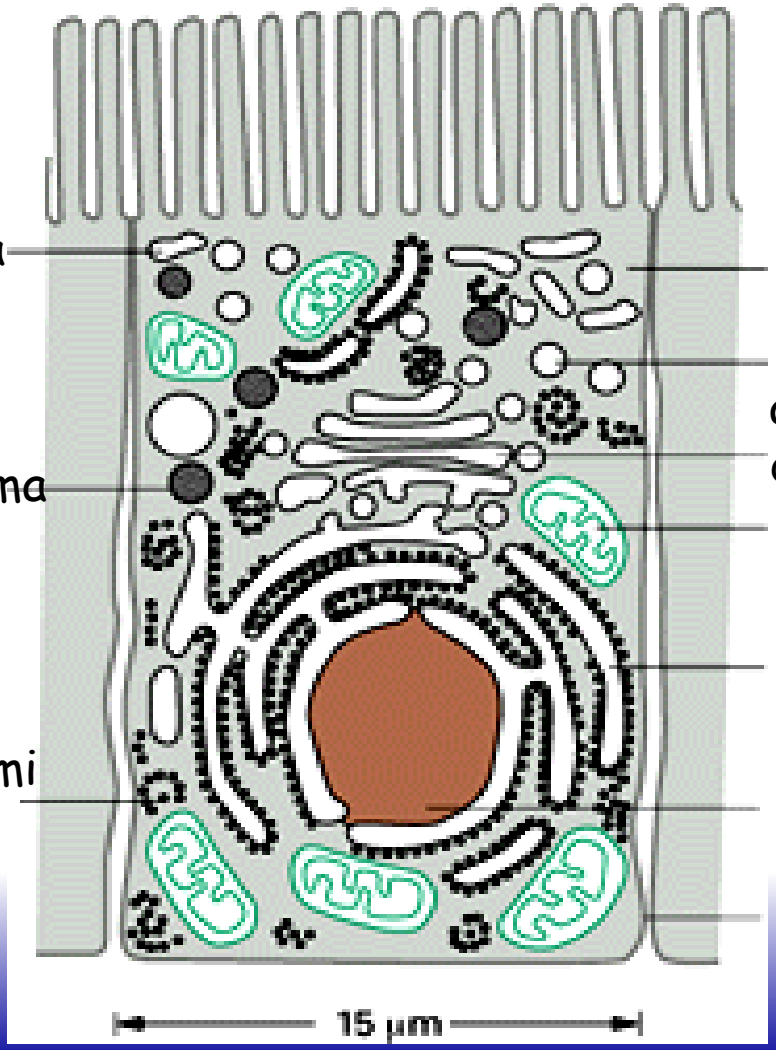
Reticolo endoplasmatico rugoso

RETICOLO ENDOPLASMATCO RUGOSO

Struttura:

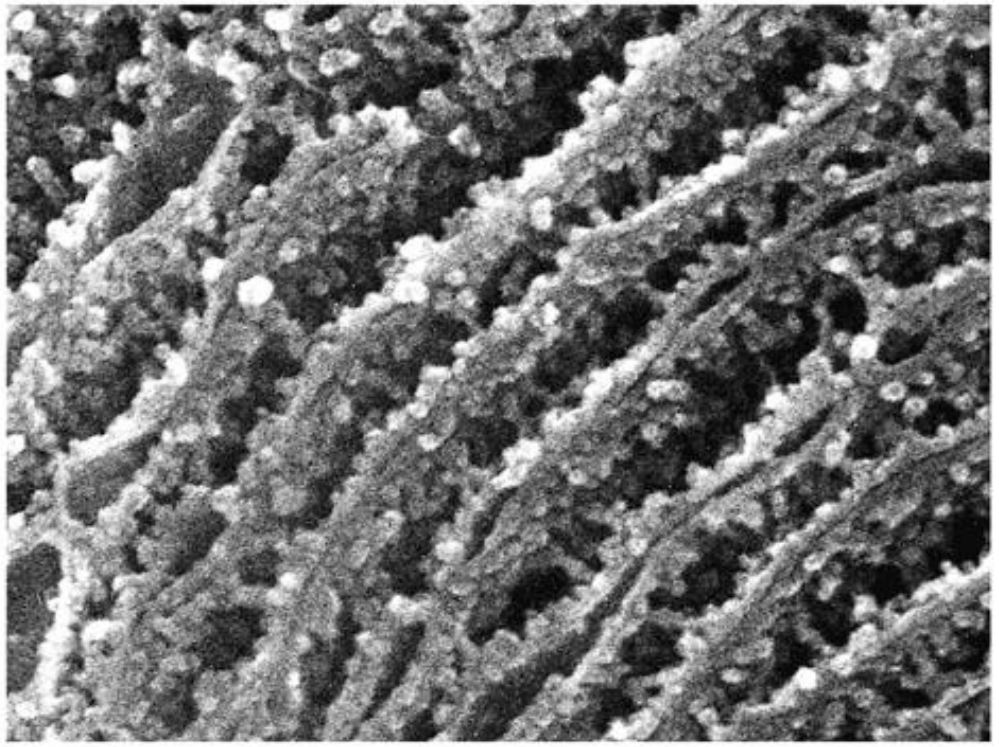
Canalicoli e cisterne ampie ed appiattite, interconnessi tra loro e ricoperti sulla superficie citoplasmatica da ribosomi





RETICOLO ENDOPLASMATCO RUGOSO

Funzione:
Sintesi di proteine: :



1. destinate ad essere esportate al Golgi,
ai Lisosomi,
alle vescicole di accumulo

2. destinate ad essere secrete

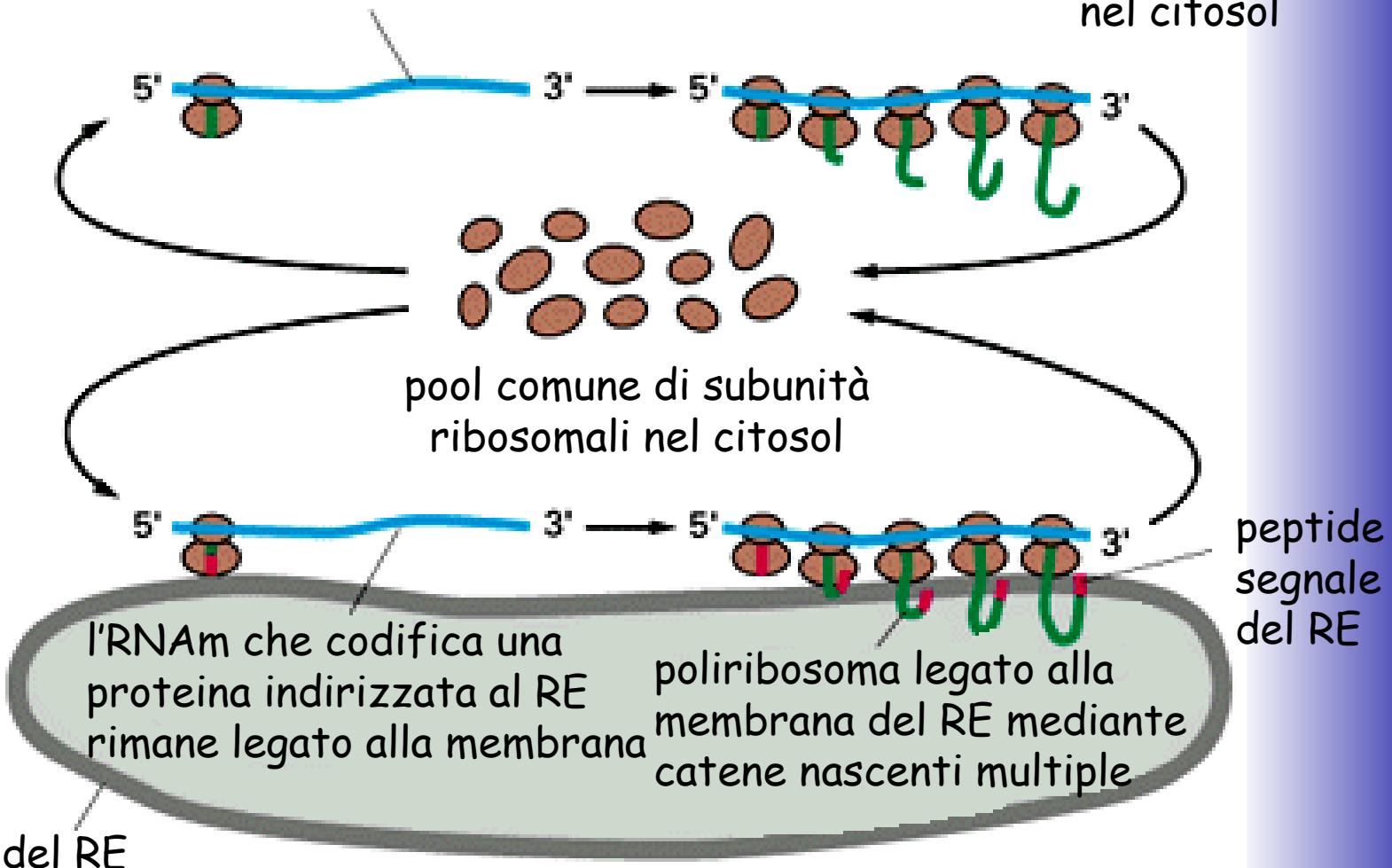
3. proteine di membrana

Dopo la sintesi le proteine sono rilasciate nel lume del RE
e subiscono rimaneggiamenti e ripiegamenti specifici

RETICOLO ENDOPLASMATCO RUGOSO: RIBOSOMI LIBERI E LEGATI A MEMBRANA

L'mRNA che codifica una proteina citosolica rimane libero nel citosol

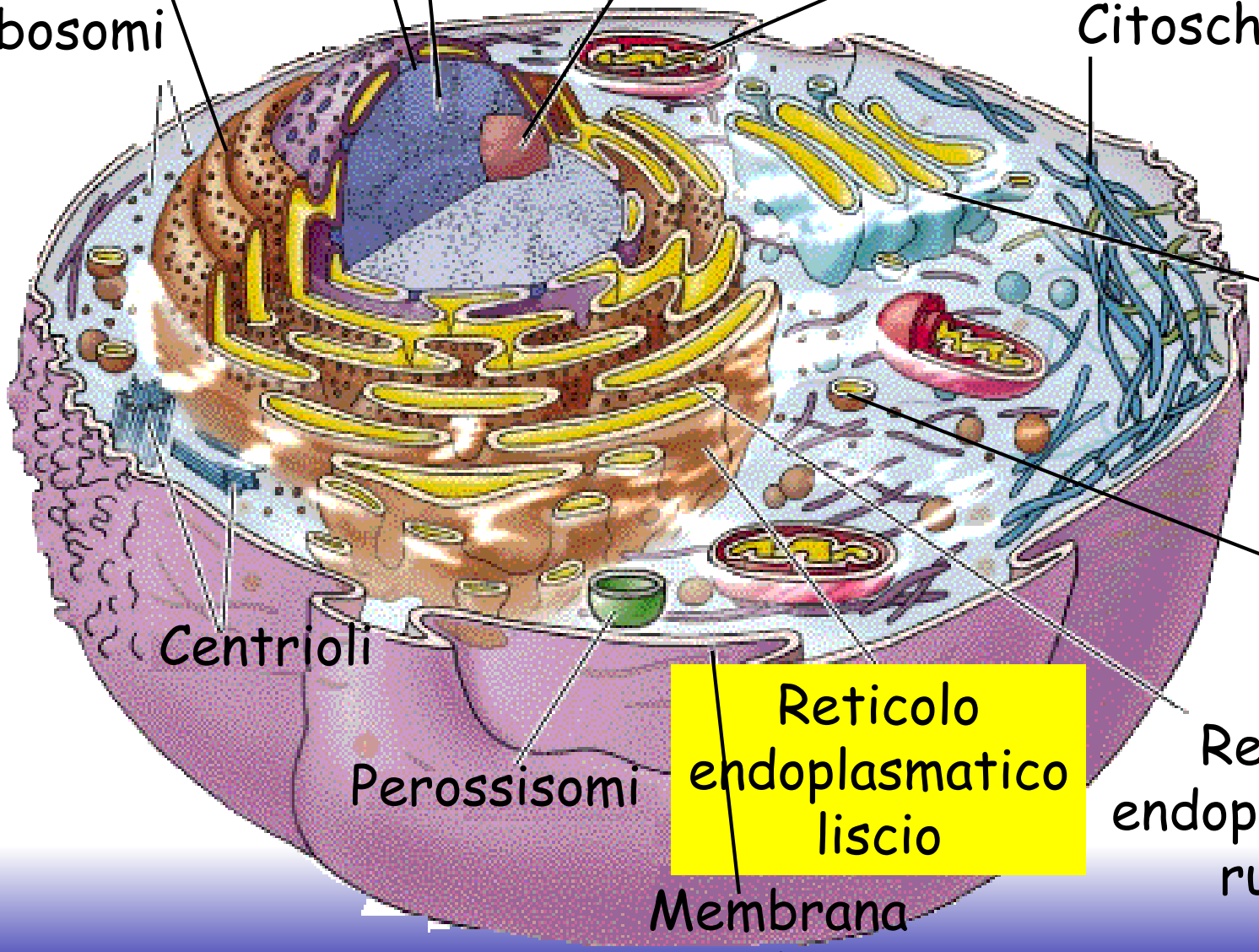
poliribosoma libero nel citosol



- I Ribosomi sono tutti identici: differiscono solo per le proteine che sintetizzano
- Il Ribosoma che sintetizza una proteina con una sequenza segnale va all'RE
- Il poliribosoma rimane attaccato alla membrana e alla fine si libera

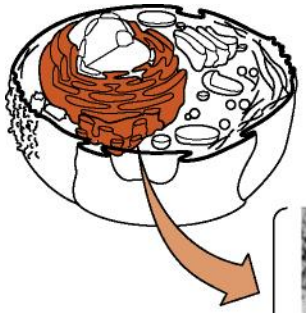
La cellula eucariotica

5-100 μm



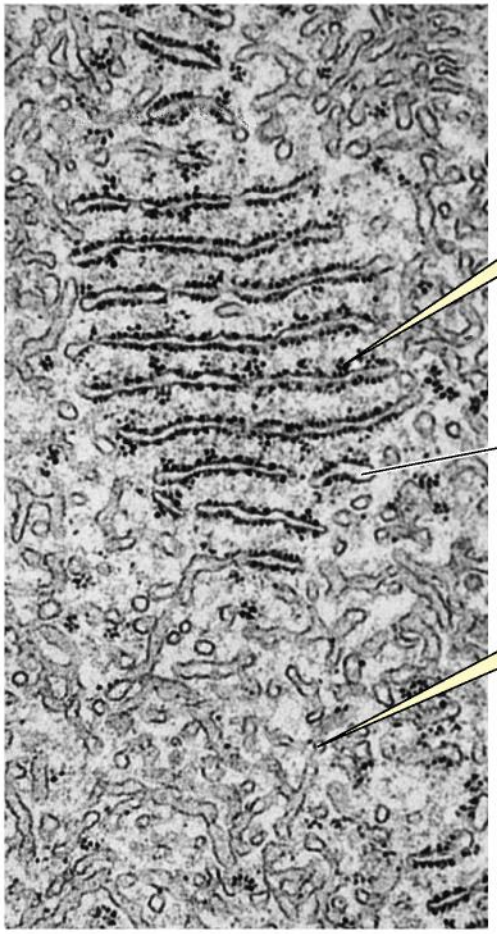
RETICOLO ENDOPLASMATICO

Lo strato esterno della membrana nucleare prosegue nella membrana del RETICOLO ENDOPLASMATICO (RE), sistema ininterrotto di concamerazioni e tubuli membranosi, che spesso si estende a tutta la cellula e si divide in RER e REL:



RE ruvido

RE liscio



0,5 µm

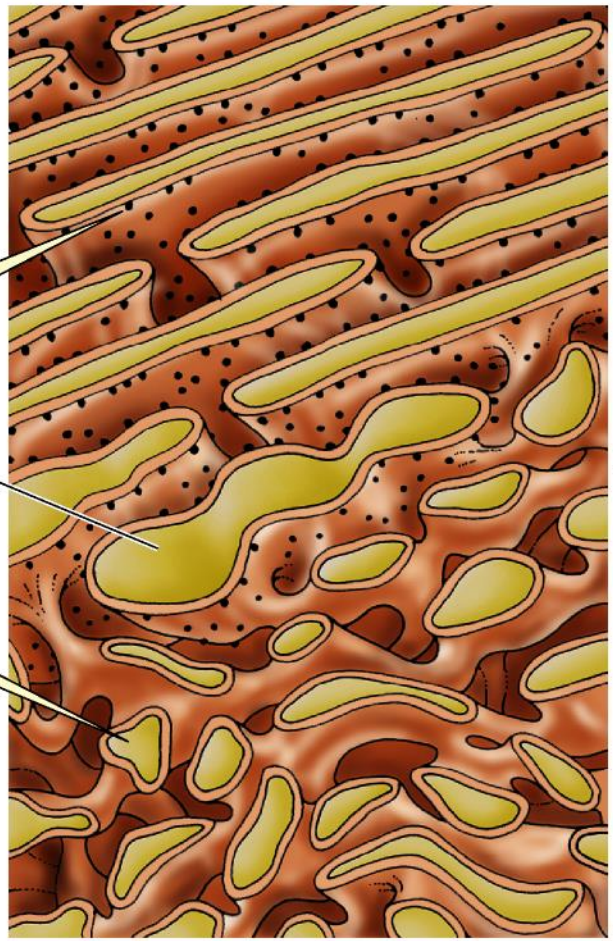
rugoso

I ribosomi del reticolo endoplasmatico ruvido rappresentano i siti della sintesi proteica e sono responsabili dell'aspetto punteggiato che il reticolo assume al microscopio elettronico.

Lume

Nel reticolo endoplasmatico liscio avvengono la sintesi lipidica e le modifiche dei prodotti proteici cellulari.

liscio



RE ruvido

RE liscio

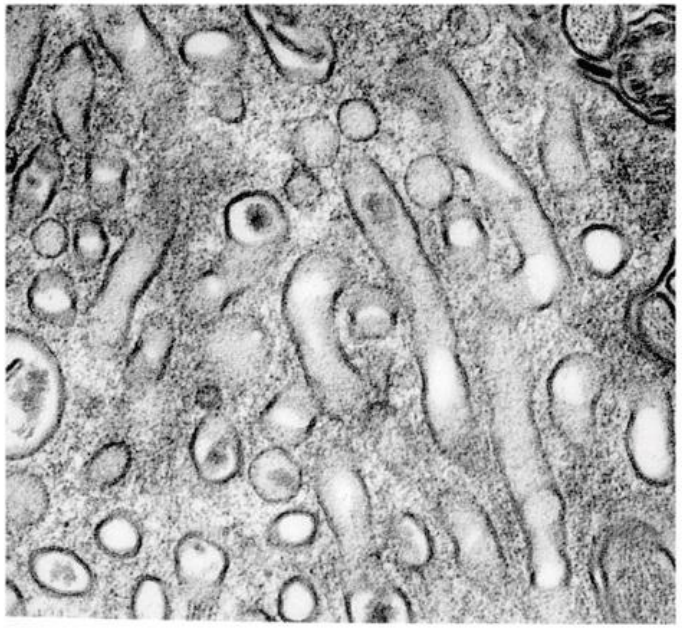
RETICOLO ENDOPLASMATCO LISCIO

Struttura:

L'RE liscio è scarso nella maggioranza delle cellule, ma è molto sviluppato in alcune cellule che hanno particolari funzioni: es. cell delle ghiandole surrenali ed epatociti

Sistema ininterrotto di concamerazioni e tubuli membranosi privi di ribosomi
Nelle sue membrane sono inclusi diversi enzimi deputati ad eseguire le funzioni di questo organulo.

RETICOLO ENDOPLASMATCO LISCIO

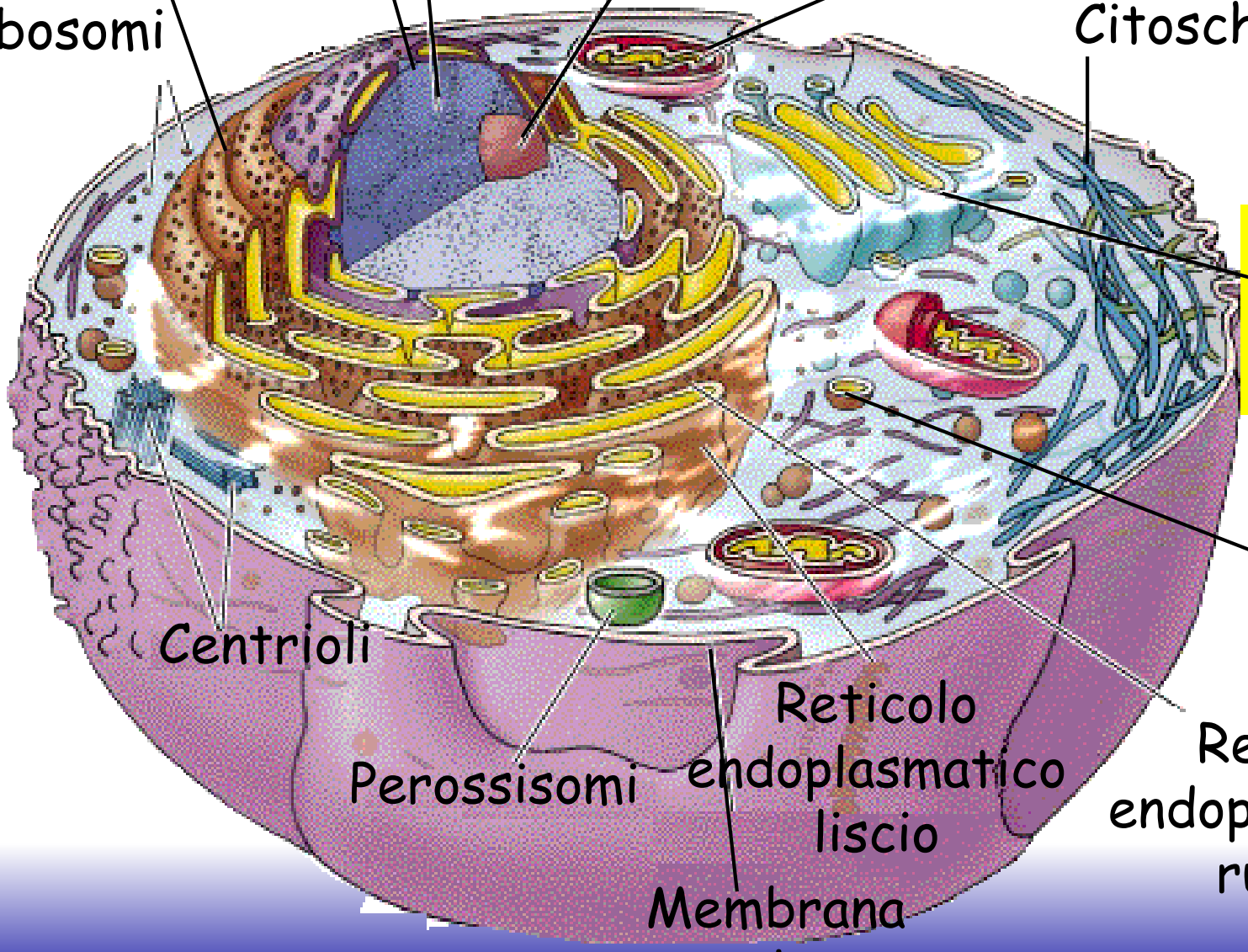


Funzioni:

1. **Sintesi di molecole lipidiche**: colesterolo, steroidi, trigliceridi e fosfolipidi che faranno parte di tutte le membrane cellulari, comprese quelle dello stesso reticolo
2. Sintesi di **glicolipidi, carboidrati**
3. **Trasporto** di proteine, glicoproteine e lipoproteine
4. Sede in cui avviene l' **idrolisi del glicogeno**
5. Sede in cui avviene la **detossificazione** di scorie metaboliche, sostanze nocive, farmaci (anfetamine, morfina, barbiturici, tossine, pesticidi, erbicidi).

La cellula eucariotica

5-100 μm



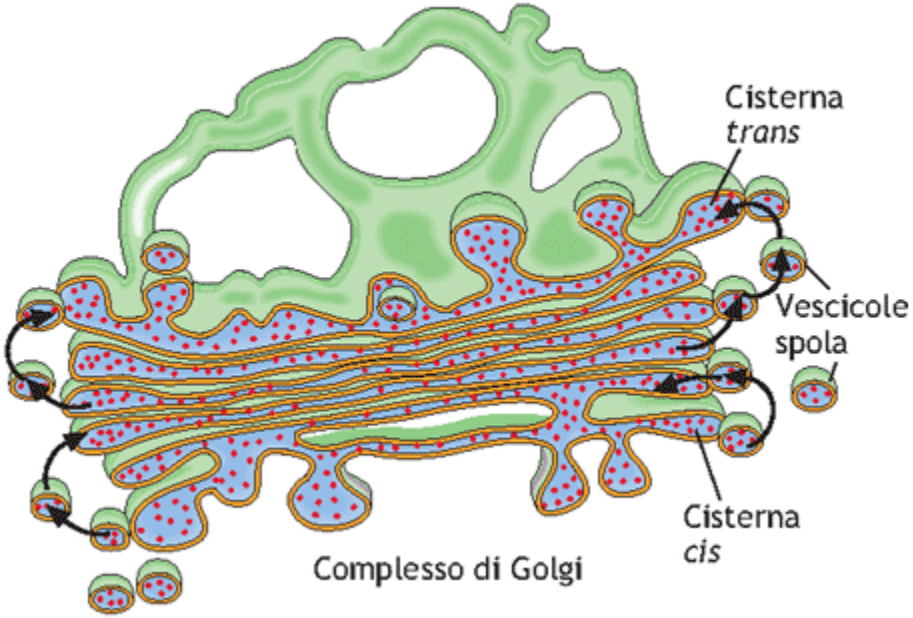
APPARATO DI GOLGI

Struttura:

Compartimenti e sacculi membranosi appiattiti (3-8), ordinati a formare una pila leggermente ricurva.

Nella regione perinucleare, circondato da vescicole e tubuli

Struttura dinamica caratterizzata da un turnover costante che è direttamente correlato all'ampio flusso di pt e lipidi provenienti dal RE



Ha due lati: cis e trans

Il materiale viene trasportato da vescicole di transizione dal RE

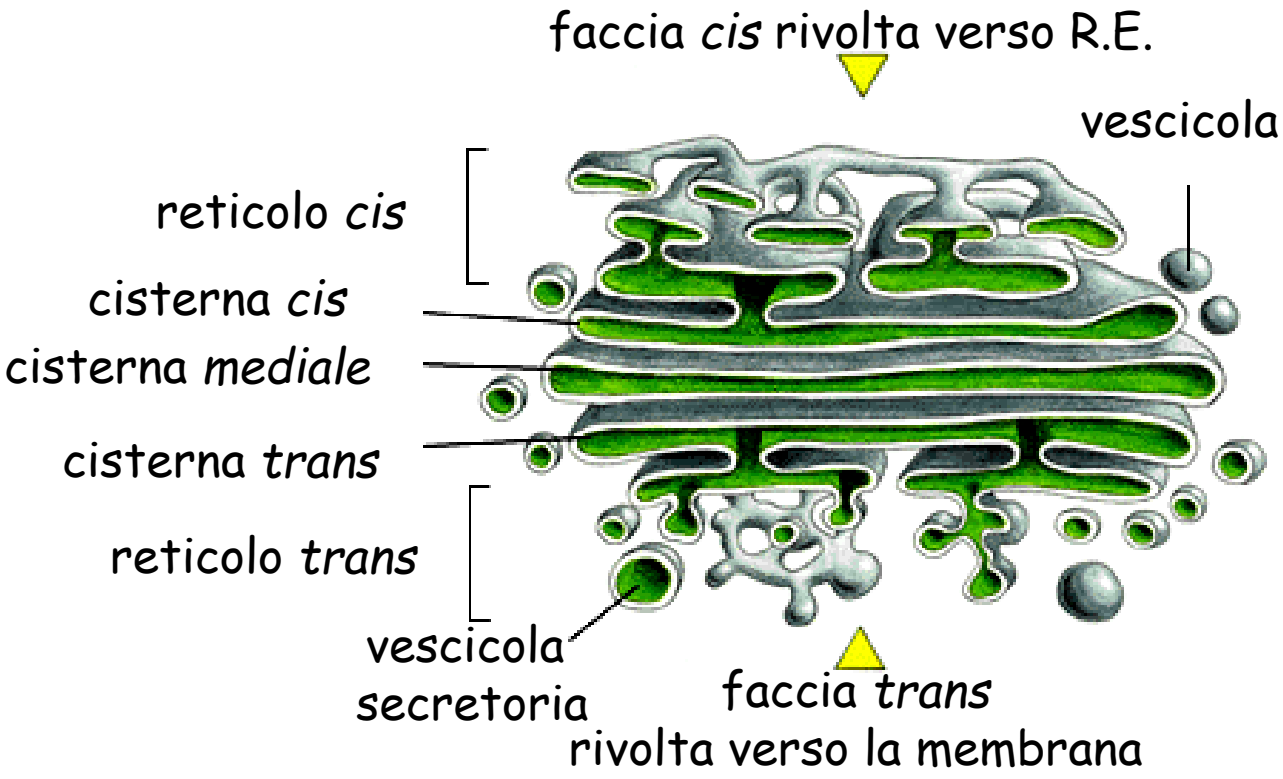
alle cisterne cis

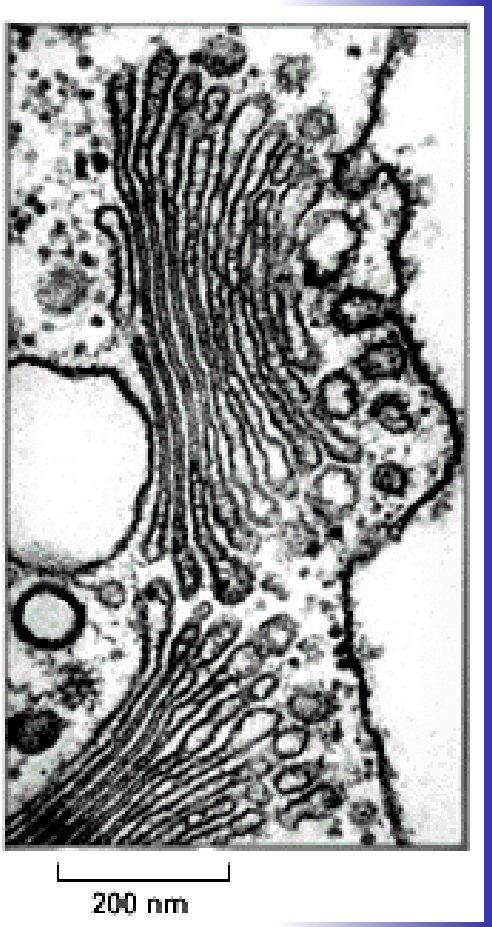
alle cisterne mediane

alle cisterne trans

Le cisterne sulle 2 facce si differenziano per forma, dimensioni, enzimi e contenuto delle vescicole associate

APPARATO DI GOLGI





APPARATO DI GOLGI

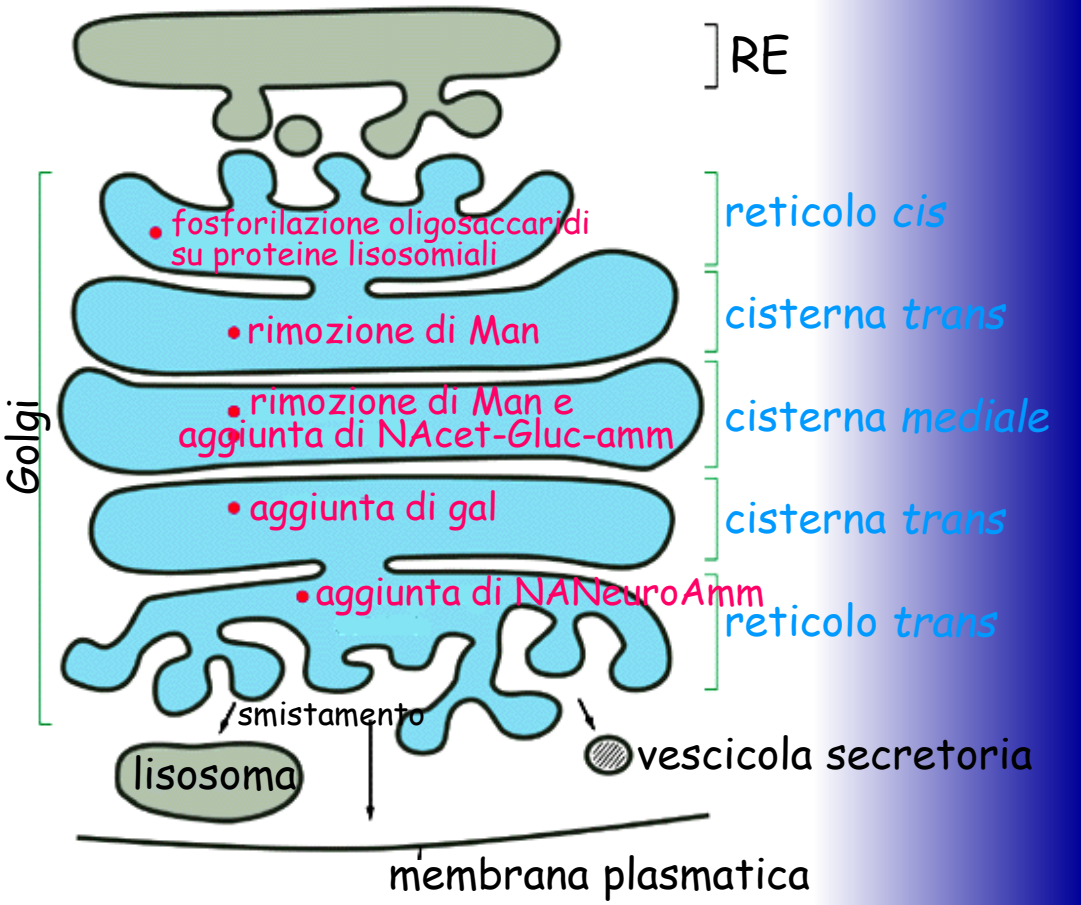
Funzioni:

1. Immagazzina, impacchetta e distribuisce molecole già sintetizzate in diverse regioni della cellula

2. Apporta modifiche alle molecole che passano nelle sue cisterne:
    1. modificazione di aa
    2. Glicosilazione: aggiunta di zuccheri per formare glicoproteine e glicolipidi
    3. Modifica di glicoproteine e glicolipidi sintetizzati altrove:
        1. Solvatazione
        2. Acetilazione
        3. Deamminazione

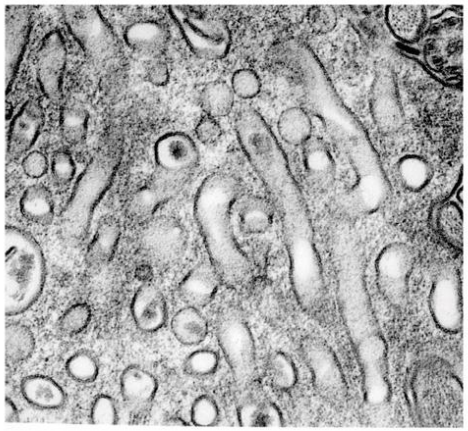
3. Rimaneggiamento dei lipidi: glicolipidi e sfingomielina

4. Sintesi di polisaccaridi complessi



Le diverse cisterne hanno diversi enzimi che agiscono sulle molecole che mano a mano raggiungono le diverse cisterne, in maniera precisa secondo una sequenza determinata

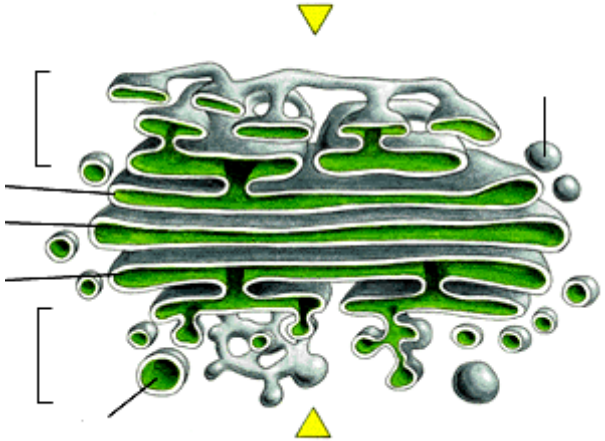
RETICOLO ENDOPLASMATCO LISCIO



Funzioni:

1. **Sintesi dei lipidi**: per le membrane cellulari
2. **S**intesi di **glicolipidi, carboidrati**
3. **Trasporto** di proteine, glicoproteine e lipoproteine
4. **Idrolisi del glicogeno**
5. **Detossificazione**

APPARATO DI GOLGI



Funzioni:

1. Immagazzina, impacchetta e distribuisce molecole già sintetizzate altrove
2. Modifica le molecole che passano nelle sue cisterne:

-aminoacidi modificazione;

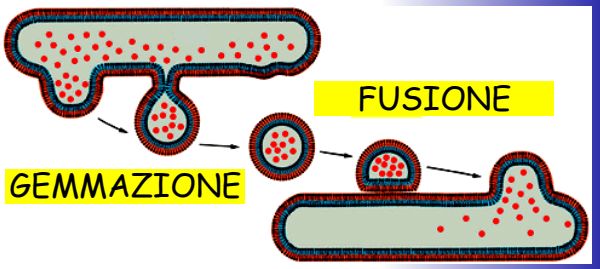
-Glicosilazione per formare glicoproteine e glicolipidi;

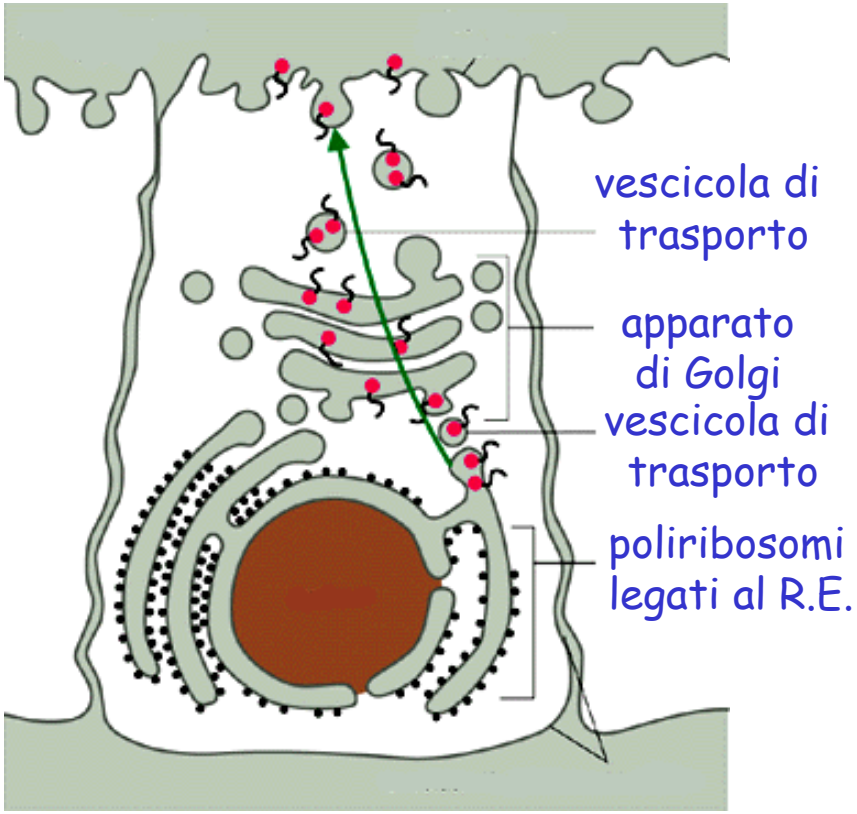
-solvatazione acetilazione e deaminazione di glicoproteine e glicolipidi sintetizzati altrove

3. Rimaneggiamento dei lipidi: glicolipidi e sfingomielina
4. Sintesi di polisaccaridi complessi

APPARATO DI GOLGI

Le molecole nuove vengono raccolte in vescicole di trasporto che si originano per gemmazione e si fondono alle cisterne successive o si avviano verso la membrana plasmatica



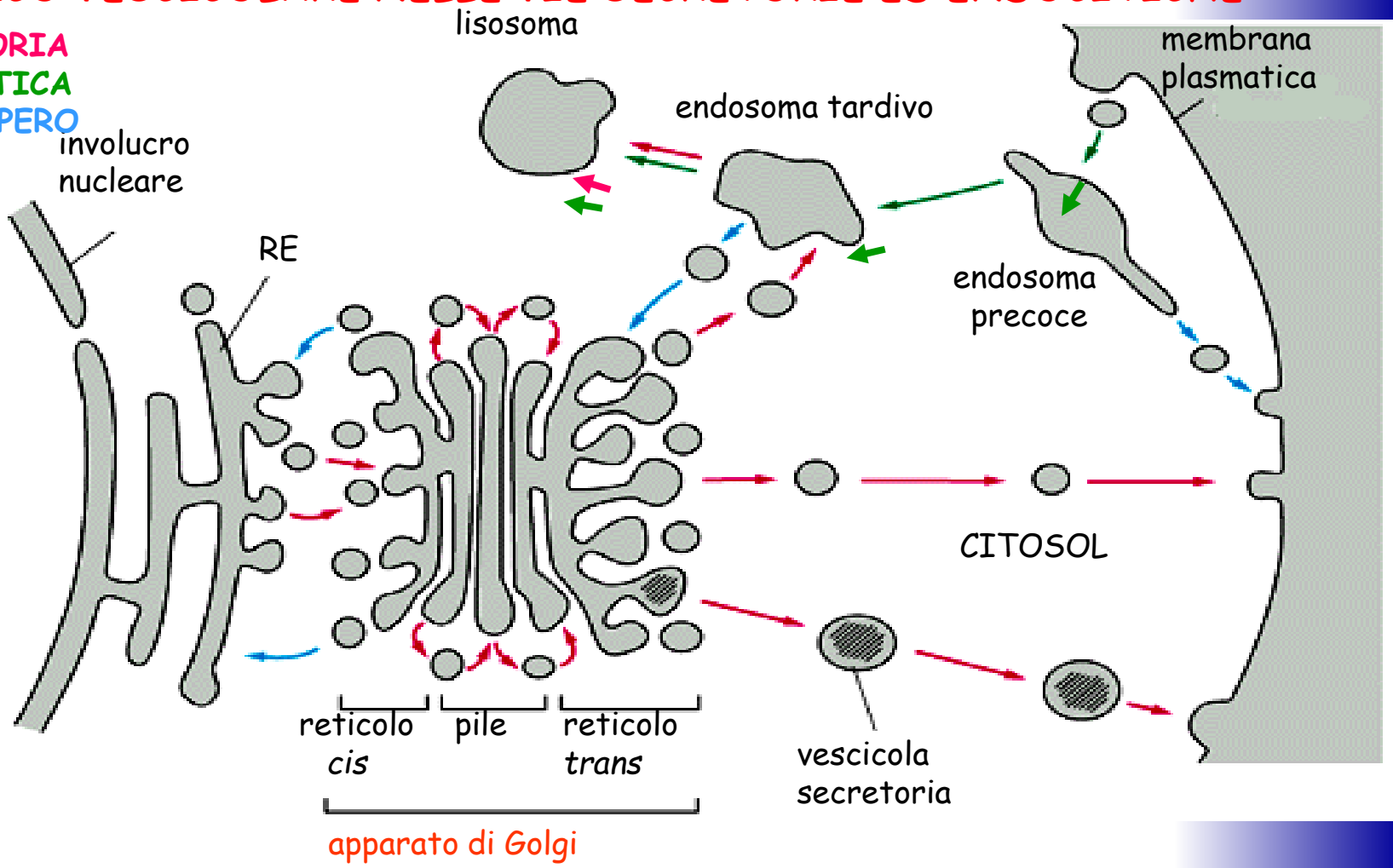


1. molecole dirette verso la membrana plasmatica, perché destinate a farne parte o perché seguono la via della secrezione
2. molecole destinate ad altri comparti cellulari
3. proteine trattenute nel Golgi perché residenti funzionalmente in esso

I meccanismi di smistamento sono numerosi perché
numerose sono le destinazioni indicate da segnali molecolari

TRAFFICO VESCICOLARE NELLE VIE SECRETORIE ED ENDOCITICHE

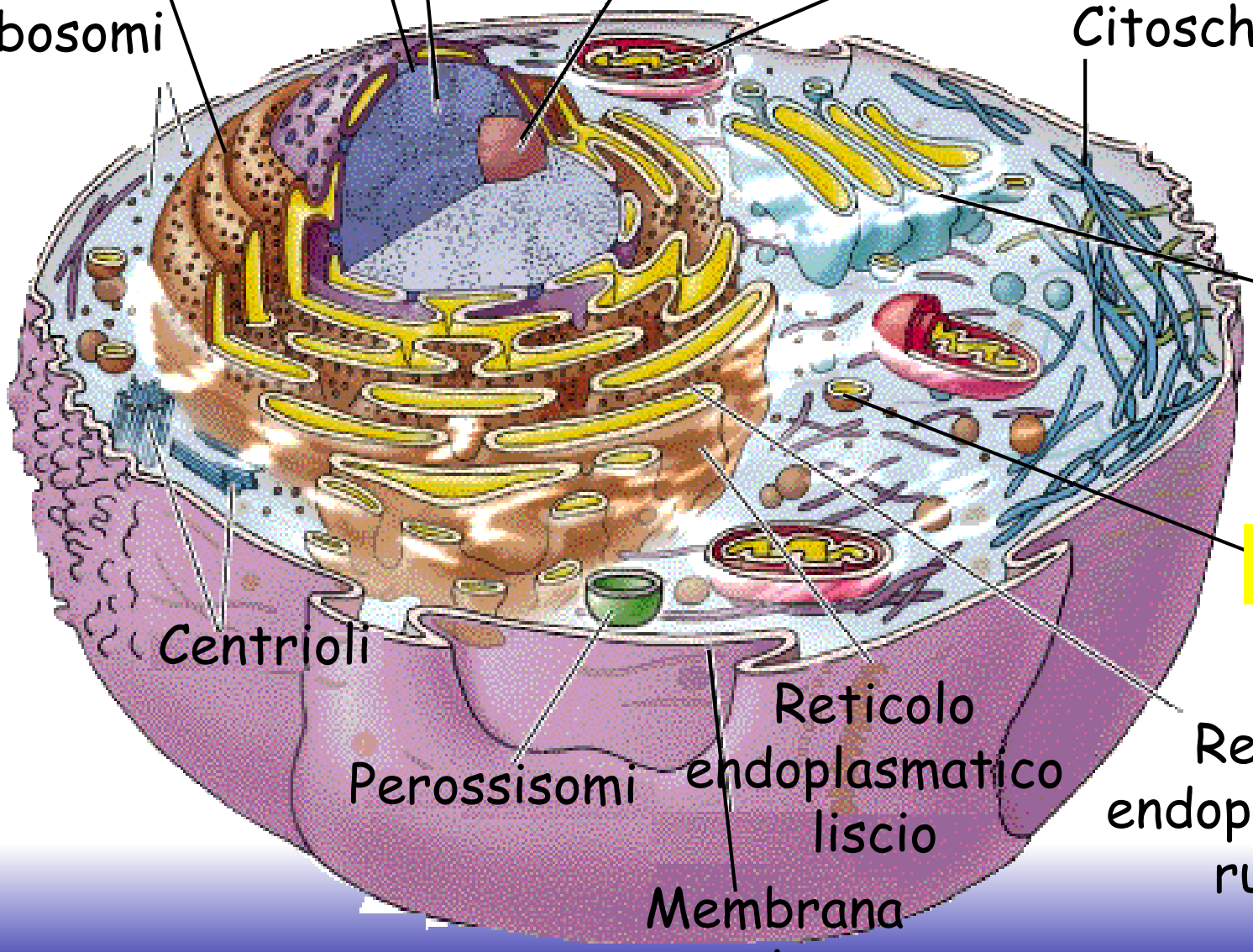
VIA SECRETORIA
VIA ENDOCITICA
VIA DI RECUPERO



Le vescicole gemmano da una membrana e vanno a fondersi con un'altra, trasportando componenti della membrana e proteine solubili da un comparto cellulare all'altro. Ogni comparto racchiude un volume interno o lume, topologicamente equivalente all'esterno della cellula. Lo spazio extracellulare e ciascuno dei compartimenti delimitati da membrana comunicano tra loro per mezzo di vescicole di trasporto.

La cellula eucariotica

5-100 μm



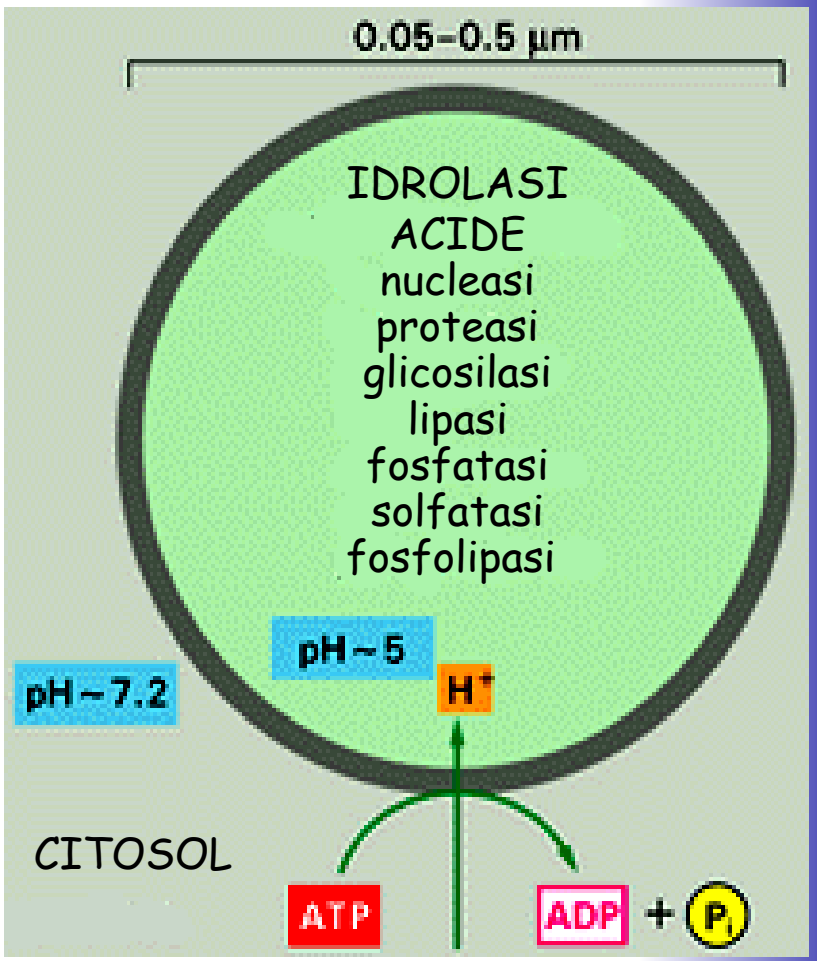
TRAFFICO VESCICOLARE NELLE VIE SECRETORIE ED ENDOCITICHE
DAL GOLGI AI LISOSOMI

I lisosomi sono sacchettini di enzimi digestivi, che degradano gli organelli troppo consumati e anche le macromolecole e le particelle che la cellula assume per endocitosi.

Contengono una quarantina di enzimi idrolitici di diverso tipo, tra cui quelli che degradano le proteine, gli acidi nucleici, gli oligosaccaridi e i fosfolipidi

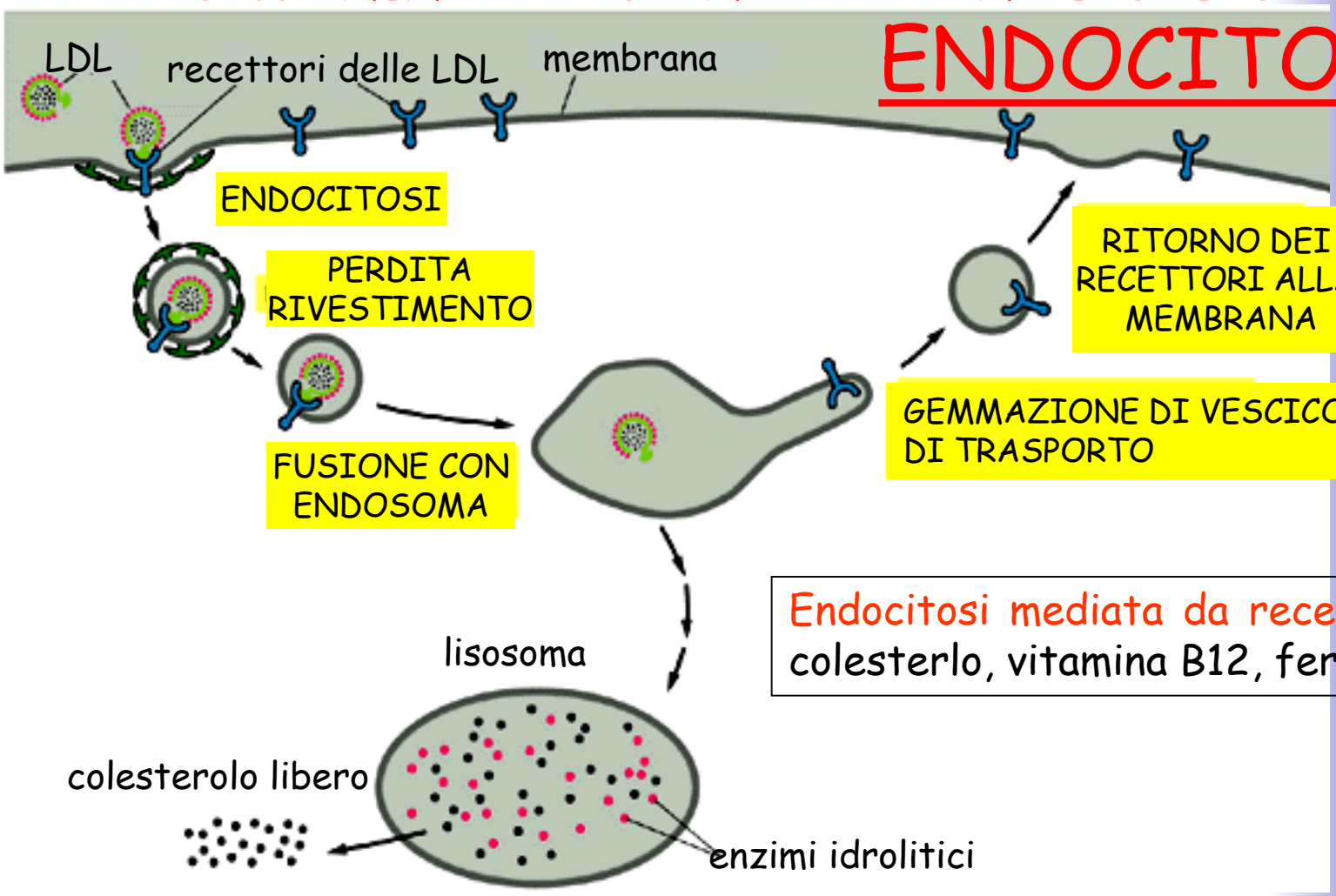
ph acido mantenuto dentro ai lisosomi da una pompa per H+ alimentata ad ATP che trasloca protoni nel lume e ne mantiene il contenuto a ph acido

Le proteine della membrana lisosomica sono fortemente glicosilate per proteggerle dall'autodigestione proteasica



IL TRASPORTO DALLA MEMBRANA PLASMATICA TRAMITE GLI ENDOSOMI:

ENDOCITOSI

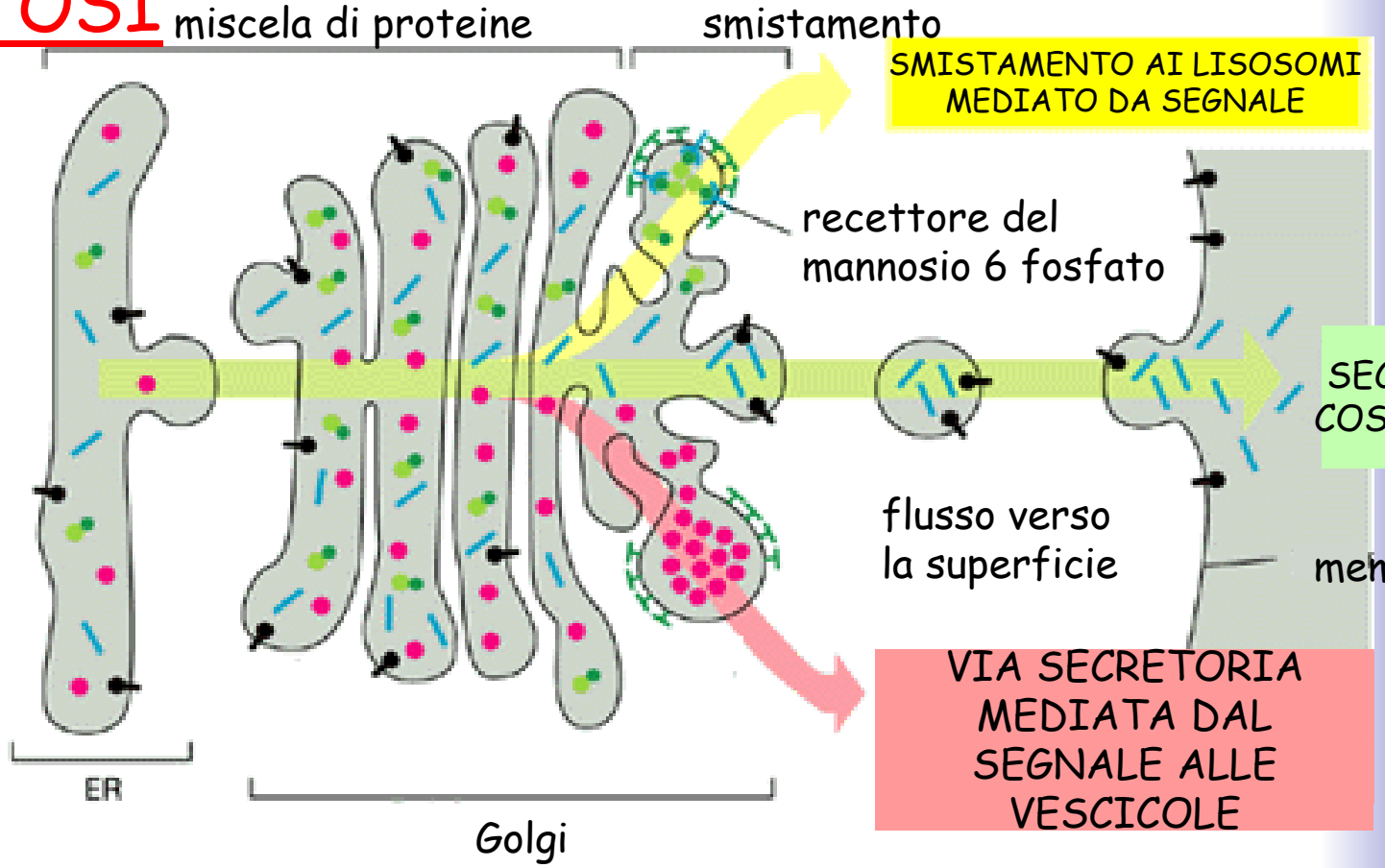


Endocitosi mediata da recettori: colesterlo, vitamina B12, ferro

La molecola da internalizzare si lega a recettori situati sulla superficie cellulare e i complessi recettore ligando vengono internalizzati per endocitosi e recapitati agli endosomi. Quando il recettore rilascia il ligando, ritorna alla membrana plasmatica via vescicole di trasporto e viene riutilizzato. Il ligando viene invece riversato nei lisosomi dove viene digerito.

IL TRASPORTO ALLA MEMBRANA PLASMATICA TRAMITE GLI ENDOSOMI:

ESOCITOSI

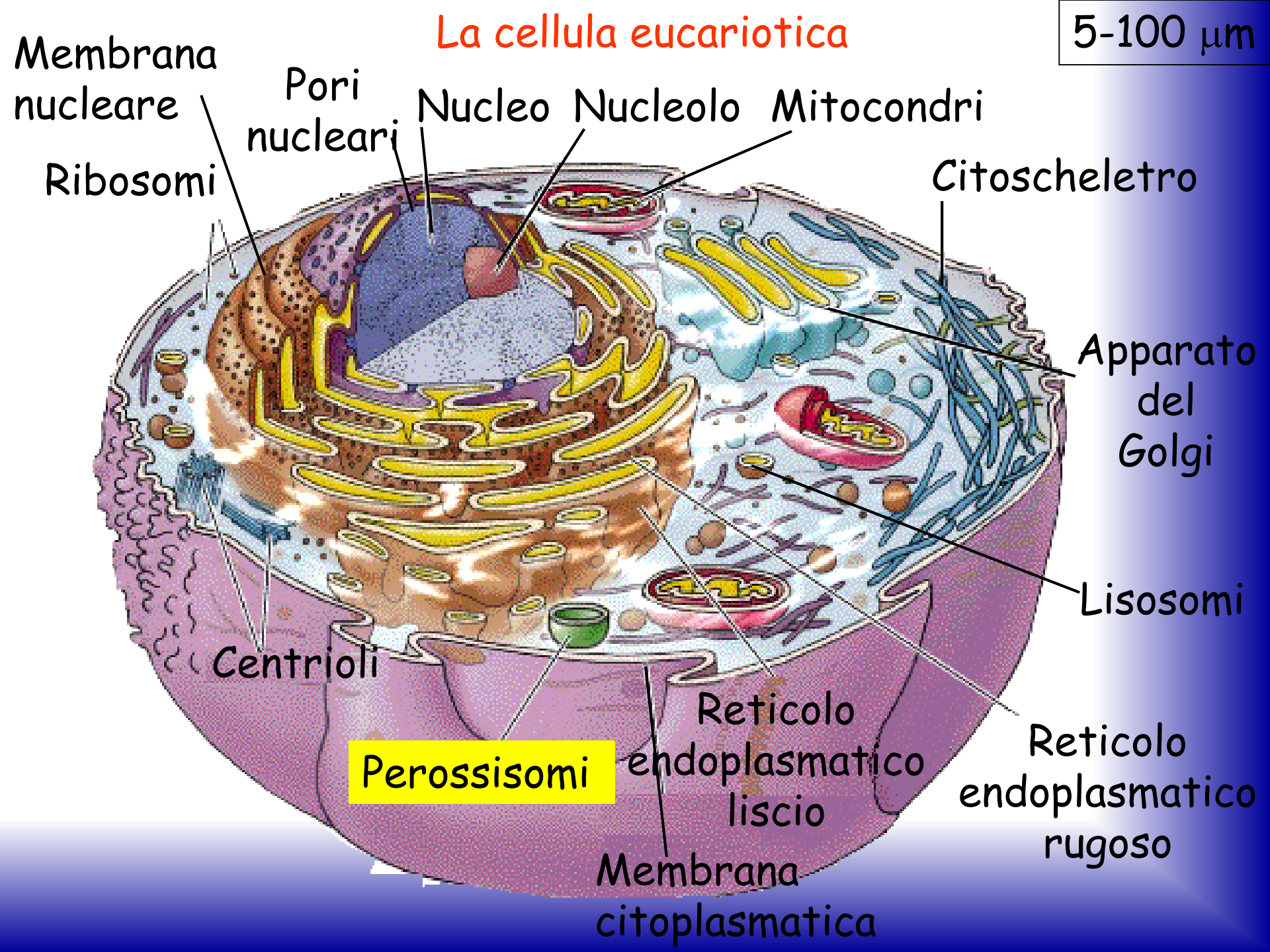


La cellula secerne continuamente tramite esocitosi costitutiva, operante in tutte le cellule: proteine solubili, proteine e lipidi di nuova sintesi per la membrana plasmatica.

Le cellule specializzate nella secrezione possiedono anche una via di esocitosi regolata: le proteine con questo destino, dal Golgi trans vengono deviate in vescicole secretorie: lì le proteine si concentrano e si accumulano finchè non arriva un segnale extracellulare a indurre la loro secrezione.

La cellula eucariotica

5-100 μm

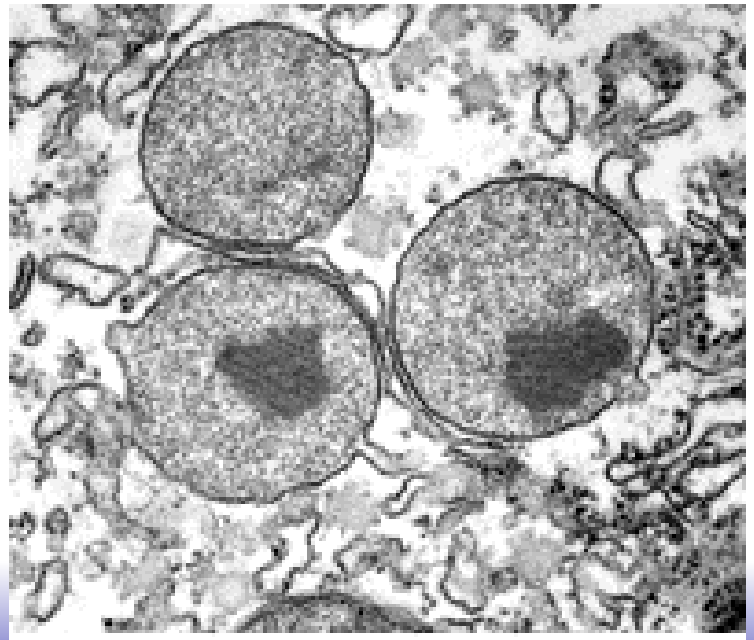


PEROSSISOMI

Contengono enzimi ossidativi come le

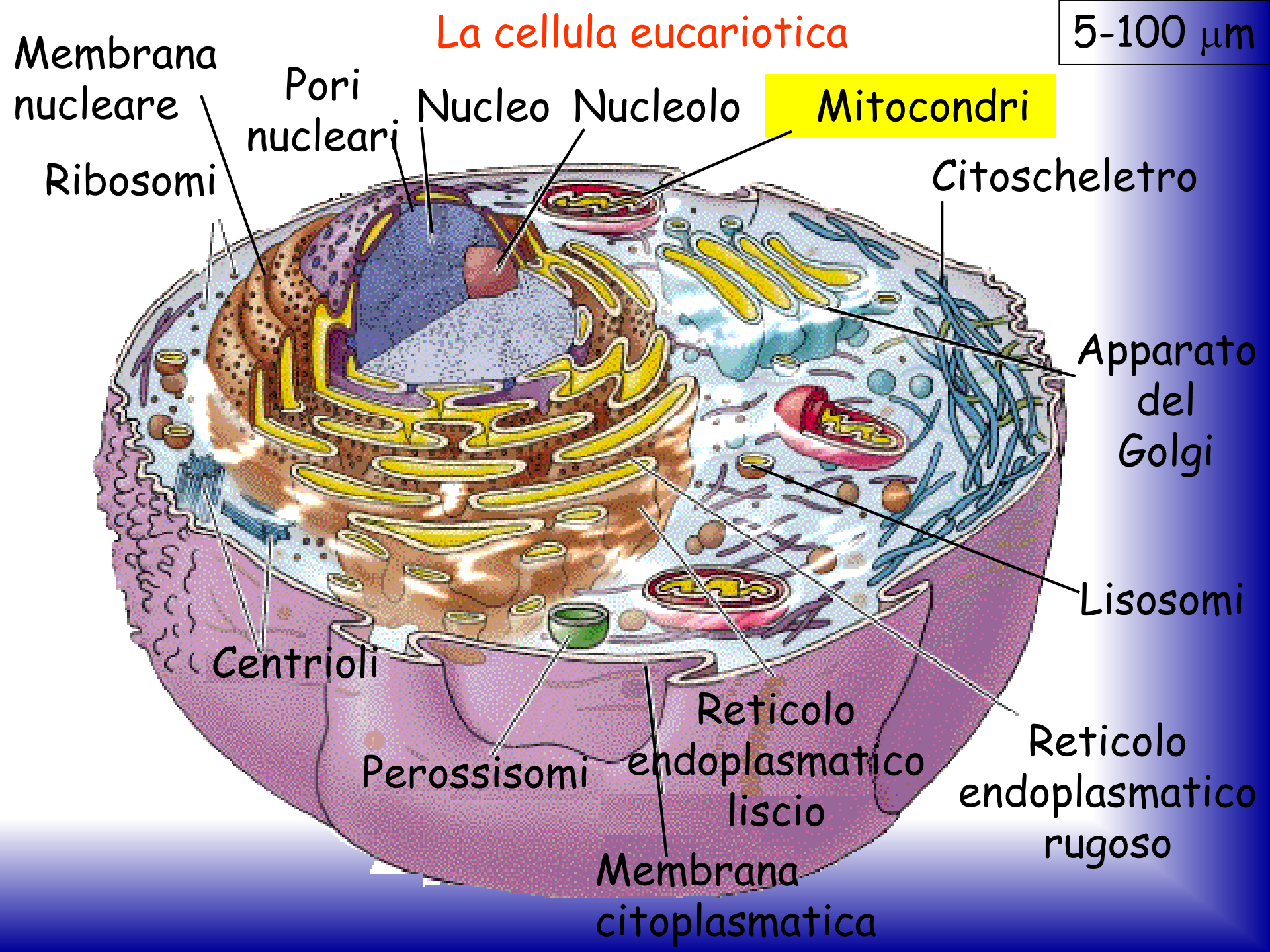
1. *urato ossidasi* che catalizzano le ossidazioni di substrati quali acido urico, acil-CoA ecc. partendo da ossigeno molecolare e *producendo acqua ossigenata*
2. *catalasi* che decompongono l'acqua ossigenata (che è tossica per le cellule) in ossigeno e acqua.

Nel complesso questi enzimi intervengono nella degradazione delle purine e nella beta-ossidazione degli acidi grassi con la produzione di acetil-CoA.



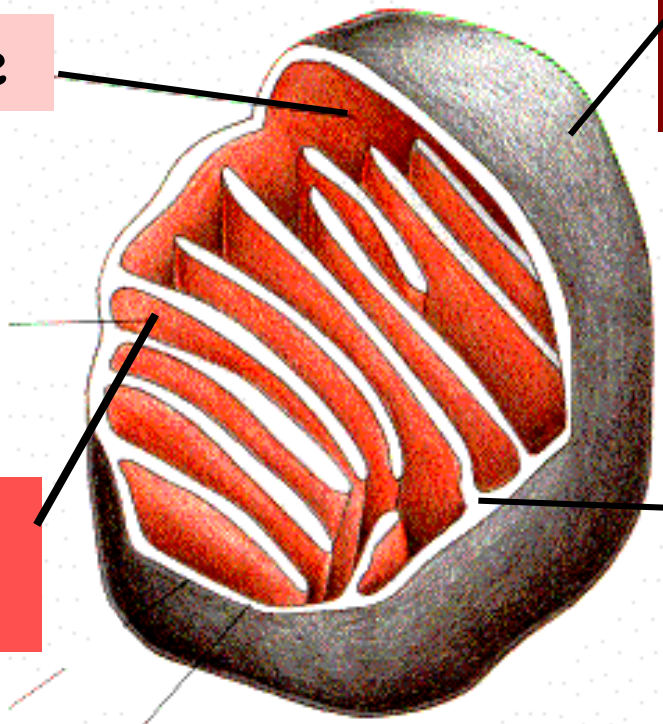
La cellula eucariotica

5-100 μm



I MITOCONDRI

Sono organelli circondati da membrane che convertono l'energia in forme utili a promuovere le reazioni cellulari



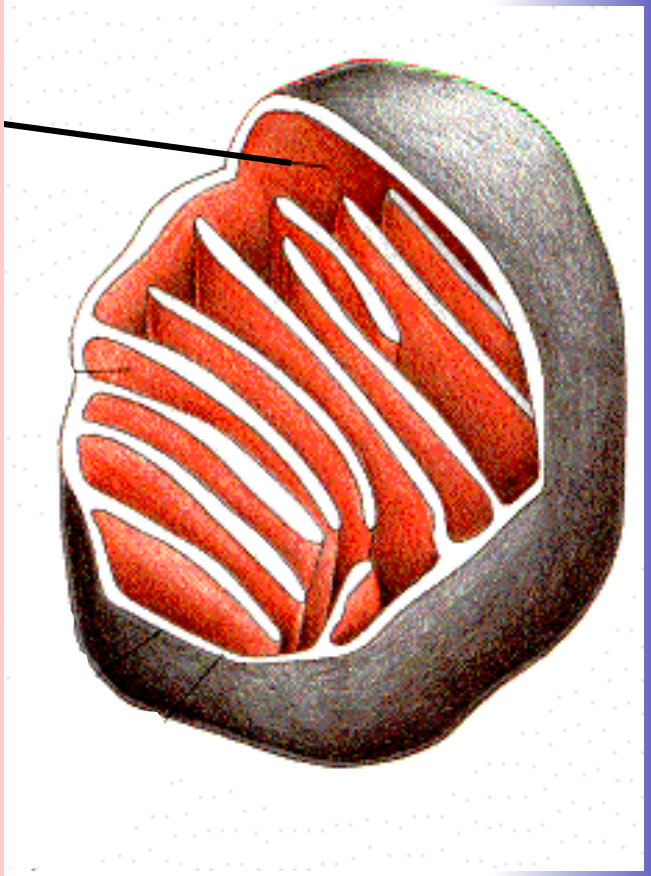
FUNZIONE DEI MITOCONDRI

Carboidrati, aminoacidi e acidi grassi introdotti come alimento dentro le cellule vengono assorbiti dai mitocondri che li ossidano fino ad CO_2 e H_2O, e utilizzano l'energia ricavata per convertire adenosin-difosfato (ADP) in adenosin-trifosfato (ATP)

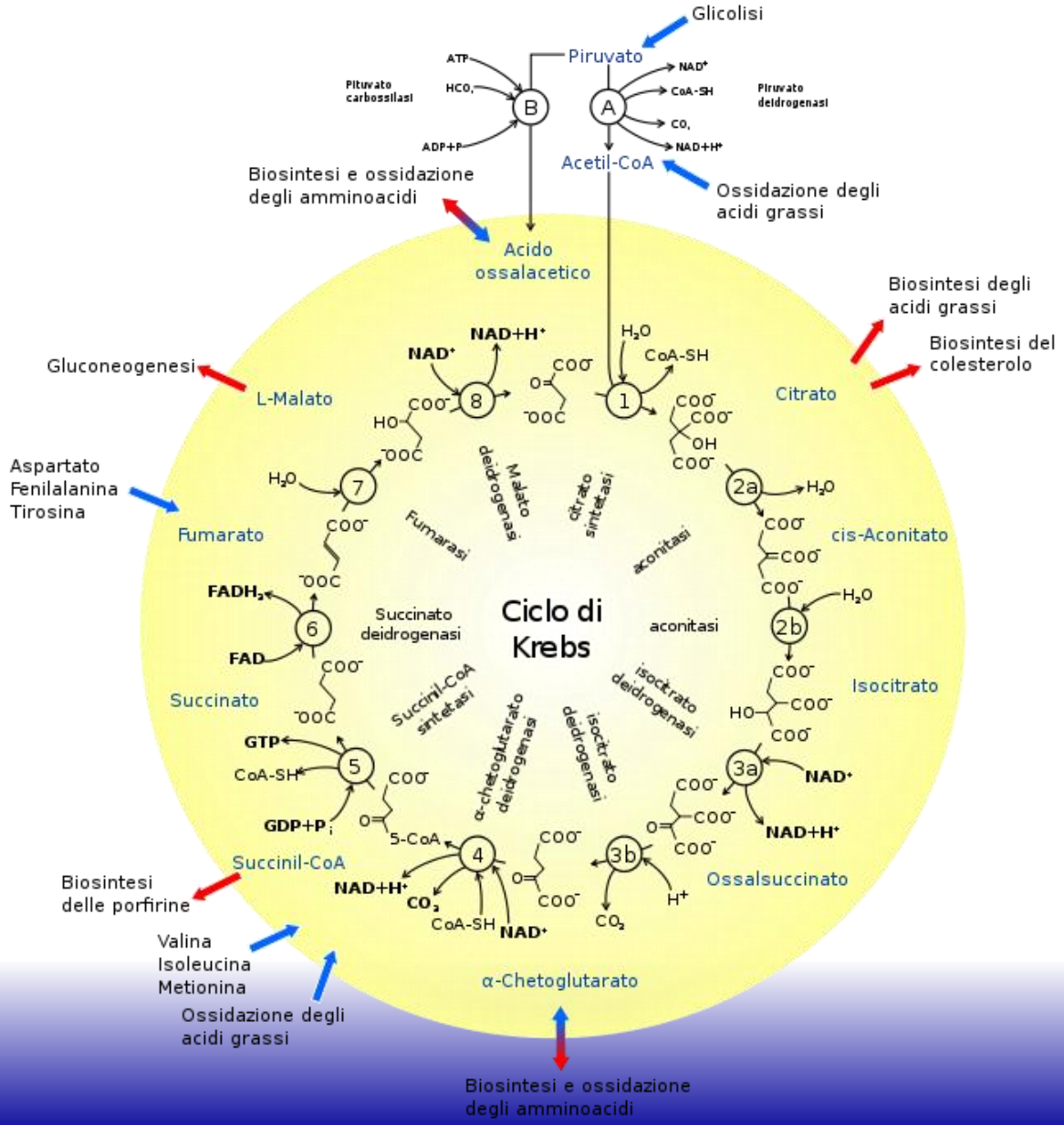
I MITOCONDRI

La Matrice contiene:

1. Enzimi
    1. per l'ossidazione del piruvato e degli acidi grassi
    2. per il ciclo dell'acido citrico
2. molte copie identiche del DNA del genoma mitocondriale
3. speciali ribosomi mitocondriali
4. tRNA
5. enzimi necessari per l'espressione dei geni mitocondriali.



Ciclo dell'acido citrico o ciclo di Krebbs



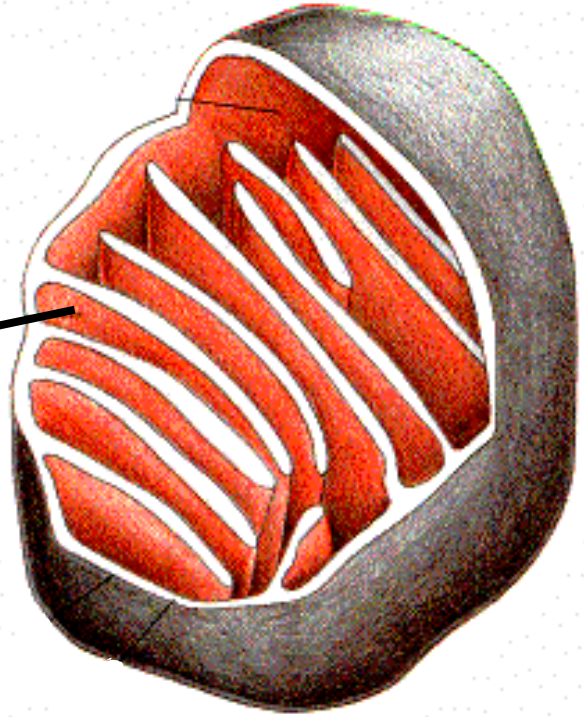
I MITOCONDRI

Membrana interna: E' ripiegata in numerose **creste** che aumentano di molto la sua superficie totale. Essa contiene proteine con 3 funzioni:

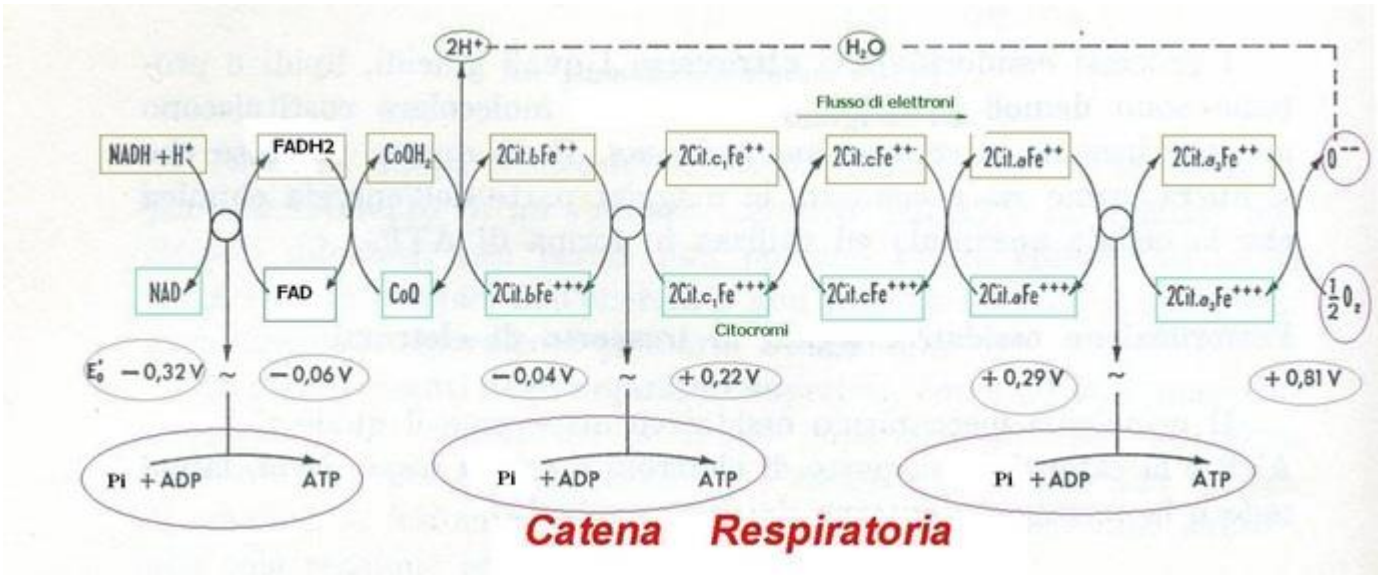
1. pt che svolgono le reazioni di ossidazione della catena respiratoria

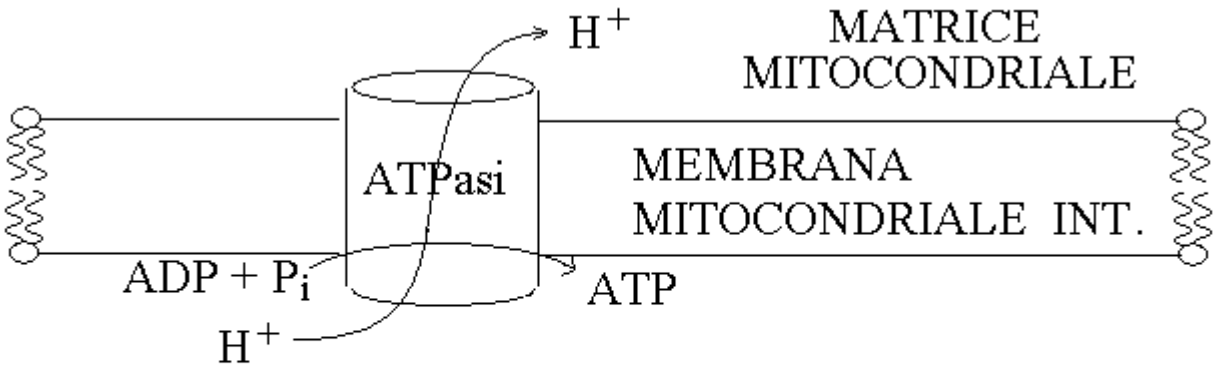
2. un complesso enzimatico chiamato *ATP sintasi* che produce ATP nella matrice

3. Pt di trasporto che regolano il passaggio di metaboliti dentro e fuori della matrice

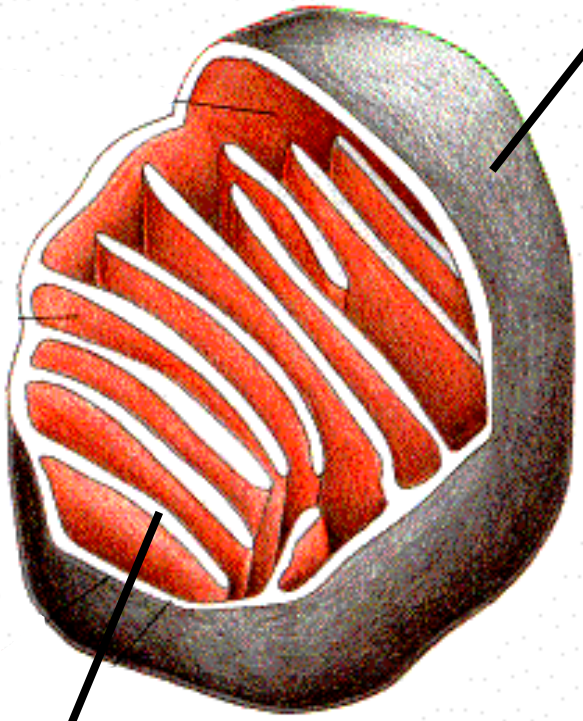


Ossidazione della catena respiratoria





I MITOCONDRI



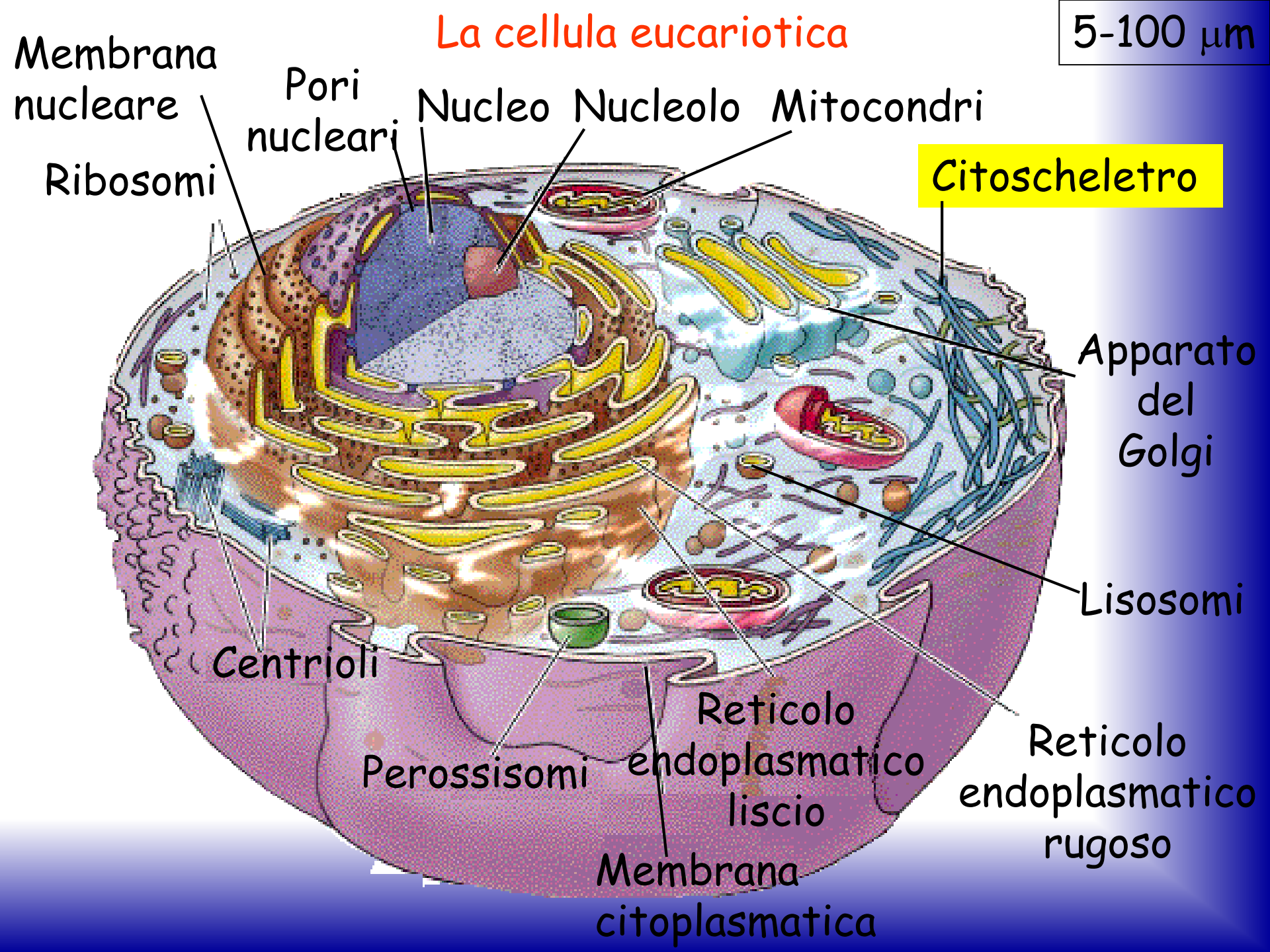
Membrana esterna contiene diversi tipi di proteine:

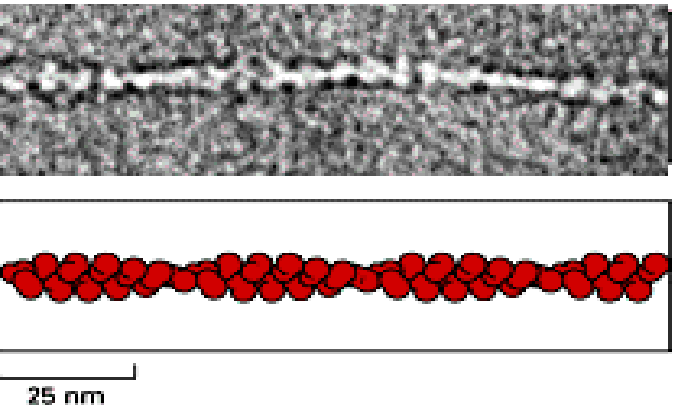
1. porina, grossa proteina che forma un canale permeabile a tutte le molecole inferiori ai 5000 dalton
2. enzimi coinvolti nella sintesi mitocondriale dei lipidi
3. enzimi che convertono substrati lipidici in forme che sono successivamente metabolizzate nella matrice.

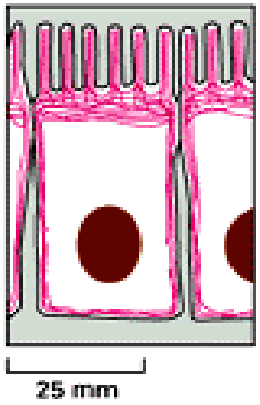
Spazio intermembrana: Contiene parecchi enzimi che usano l'ATP che esce dalla matrice per fosforilare altri nucleotidi

La cellula eucariotica

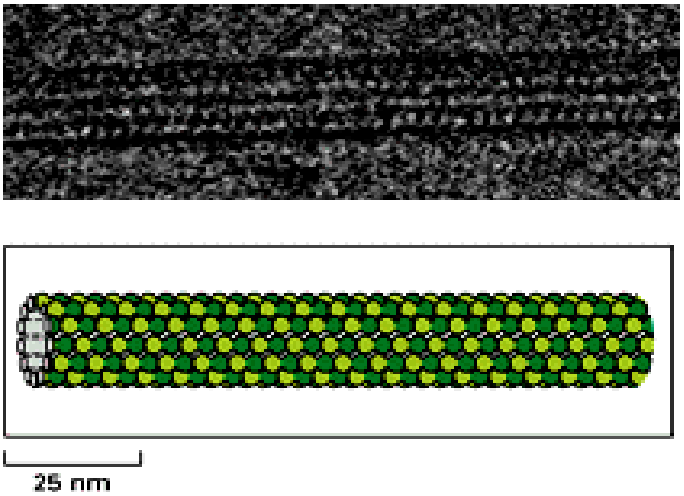
5-100 μm

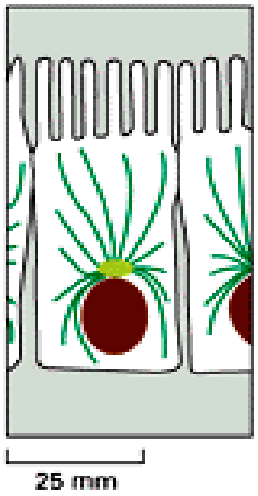




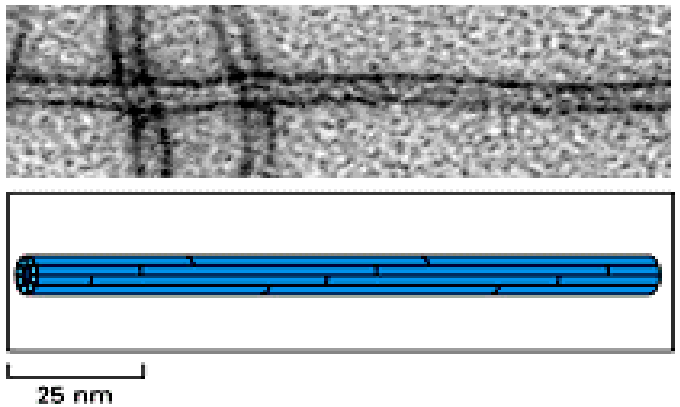


Filamenti di actina



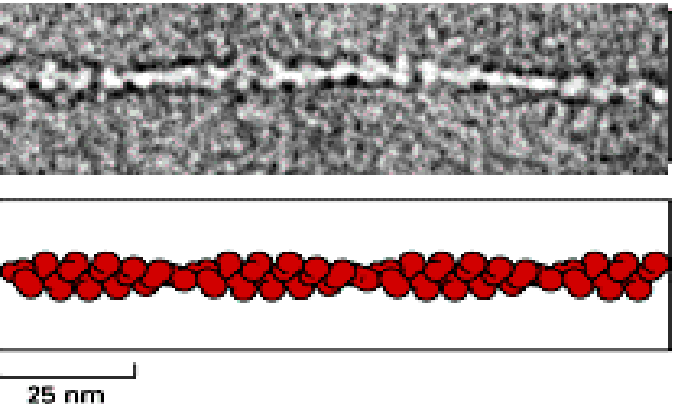


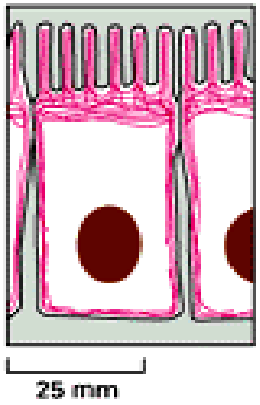
Microtubuli



Filamenti intermedi

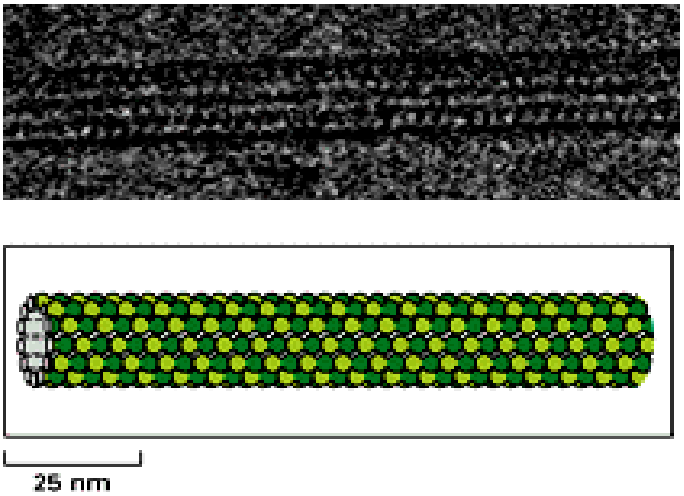
IL CITOSCHELETRO

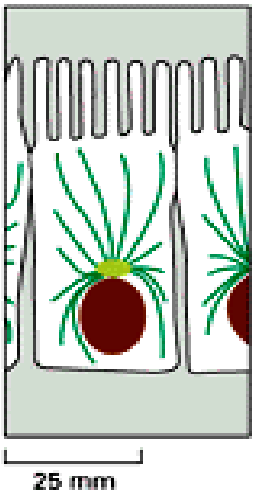




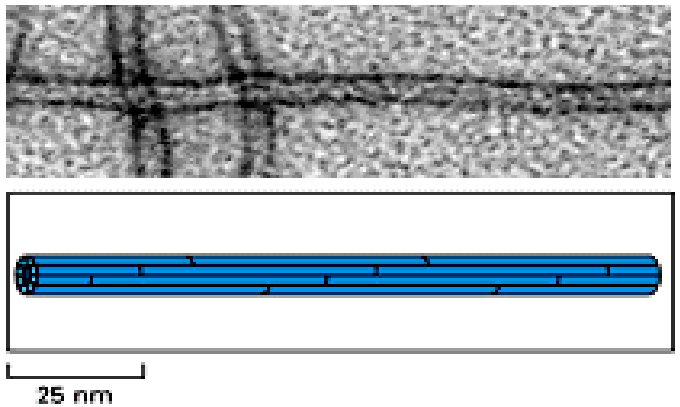
Filamenti di actina o microfilamenti:

- polimeri elicoidali a due filamenti della pt actina
- strutture flessibili, con un diametro di 5-9 nm organizzate in una varietà di fasci lineari, reti bidimensionali e gel tridimensionali
- dispersi in tutta la cellula ma più concentrati nella *corteccia,* appena sotto la membrana plasmatica.



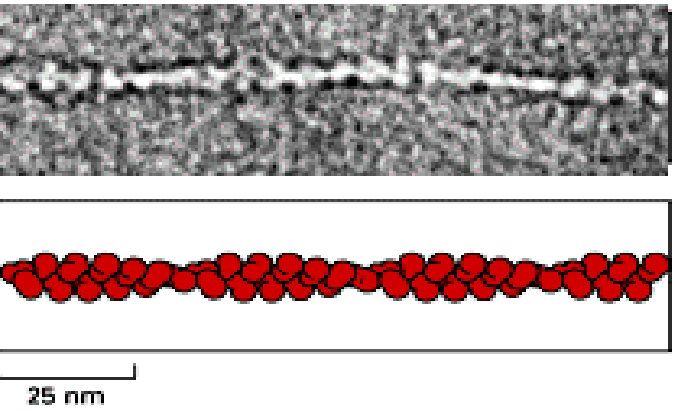


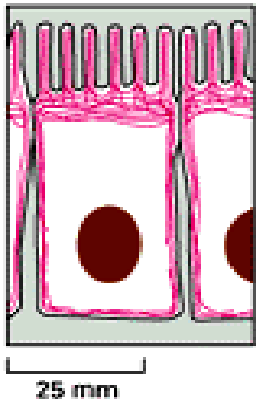
Microtubuli



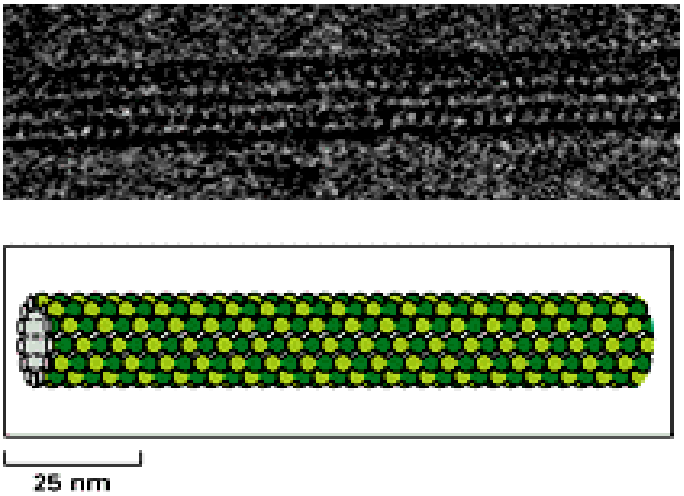
Filamenti intermedi

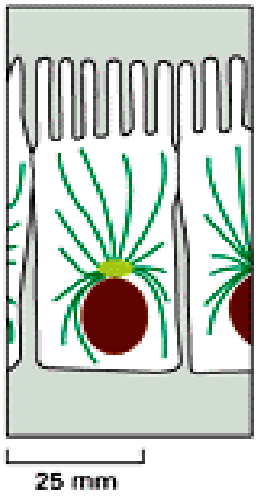
IL CITOSCHELETRO





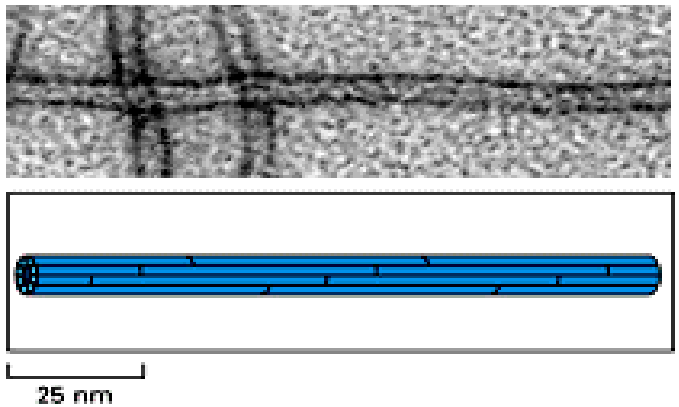
Filamenti di actina o microfilamenti





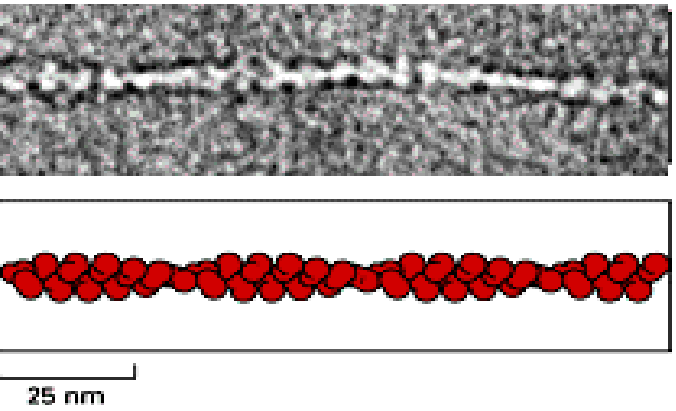
Microtubuli:

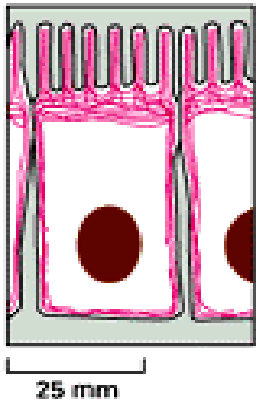
- lunghi cilindri cavi composti dalla pt tubulina
- diametro esterno di 25 nm sono molto più rigidi dei filamenti di actina e sono lunghi e diritti
- hanno una estremità attaccata ad un singolo centro organizzatore dei microtubuli (MTOC): *centrosoma.*



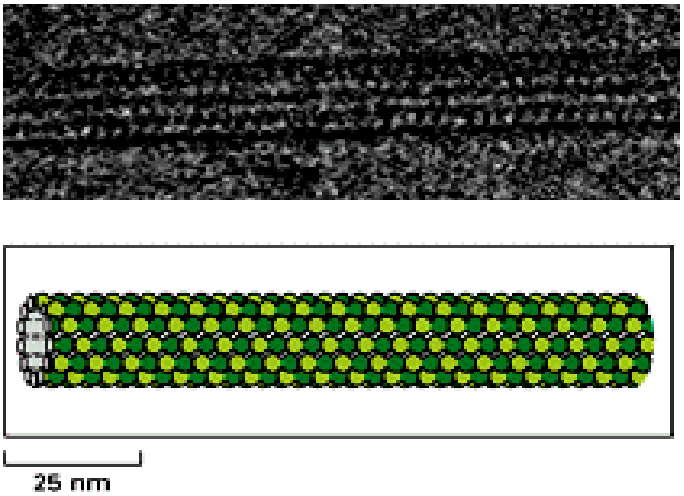
Filamenti intermedi

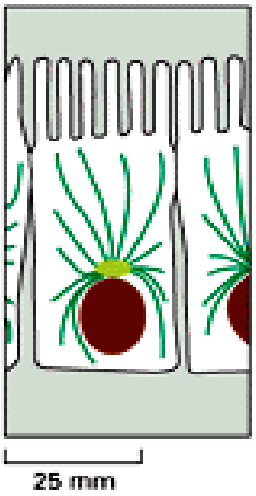
IL CITOSCHELETRO





Filamenti di actina o microfilamenti

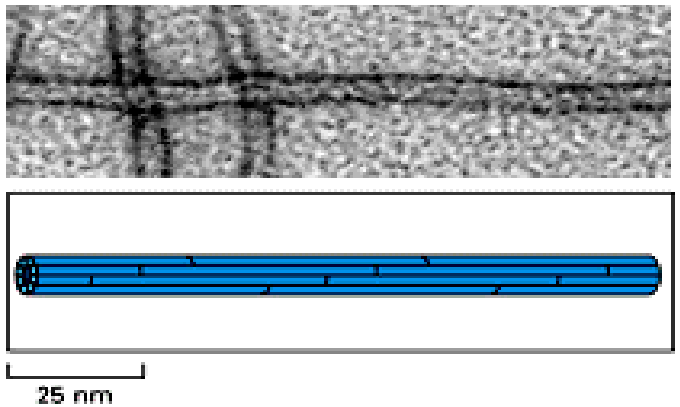




Microtubuli

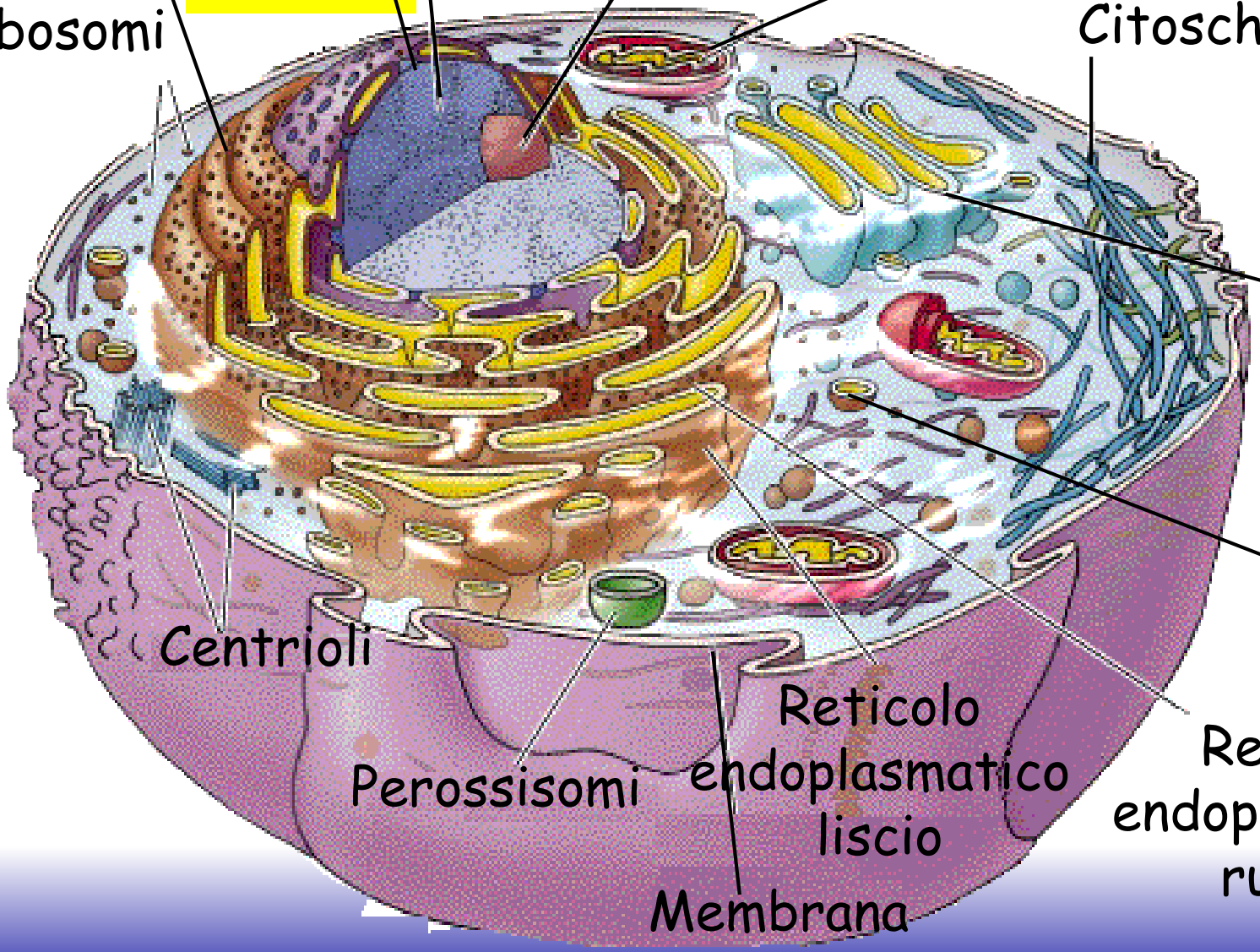
Filamenti intermedi:

- fibre a forma di corda con un diametro di circa **10 nm**
- costituiti da **proteine** dei filamenti intermedi, che costituiscono una **famiglia grande e eterogenea**
- Un tipo di filamento intermedio forma un reticolo, chiamato **lamina nucleare**, proprio sotto la membrana nucleare interna
- Altri tipi si estendono attraverso il citoplasma, dando alle cellule **forza meccanica** e sopportando gli stress meccanici nel tessuto epiteliale, attraversando il citoplasma da una giunzione cellulare all'altra.

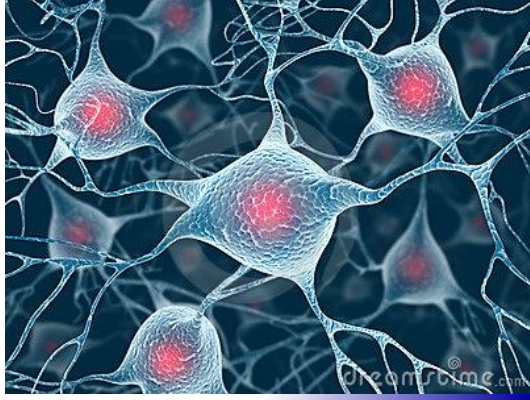


La cellula eucariotica

5-100 μm



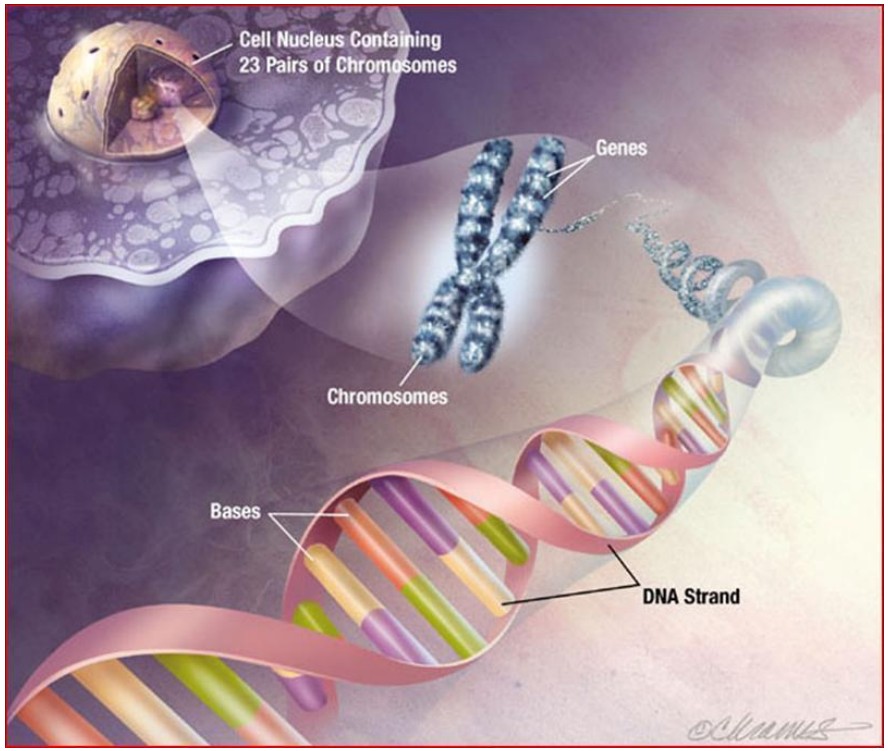
Nucleo cellulare



- Componente essenziale della cellula
- Struttura assente nei procarioti
- Contiene il materiale genetico (DNA)
- Sede di meccanismi indispensabili alla riproduzione cellulare e alla sintesi proteica

Nucleo cellulare

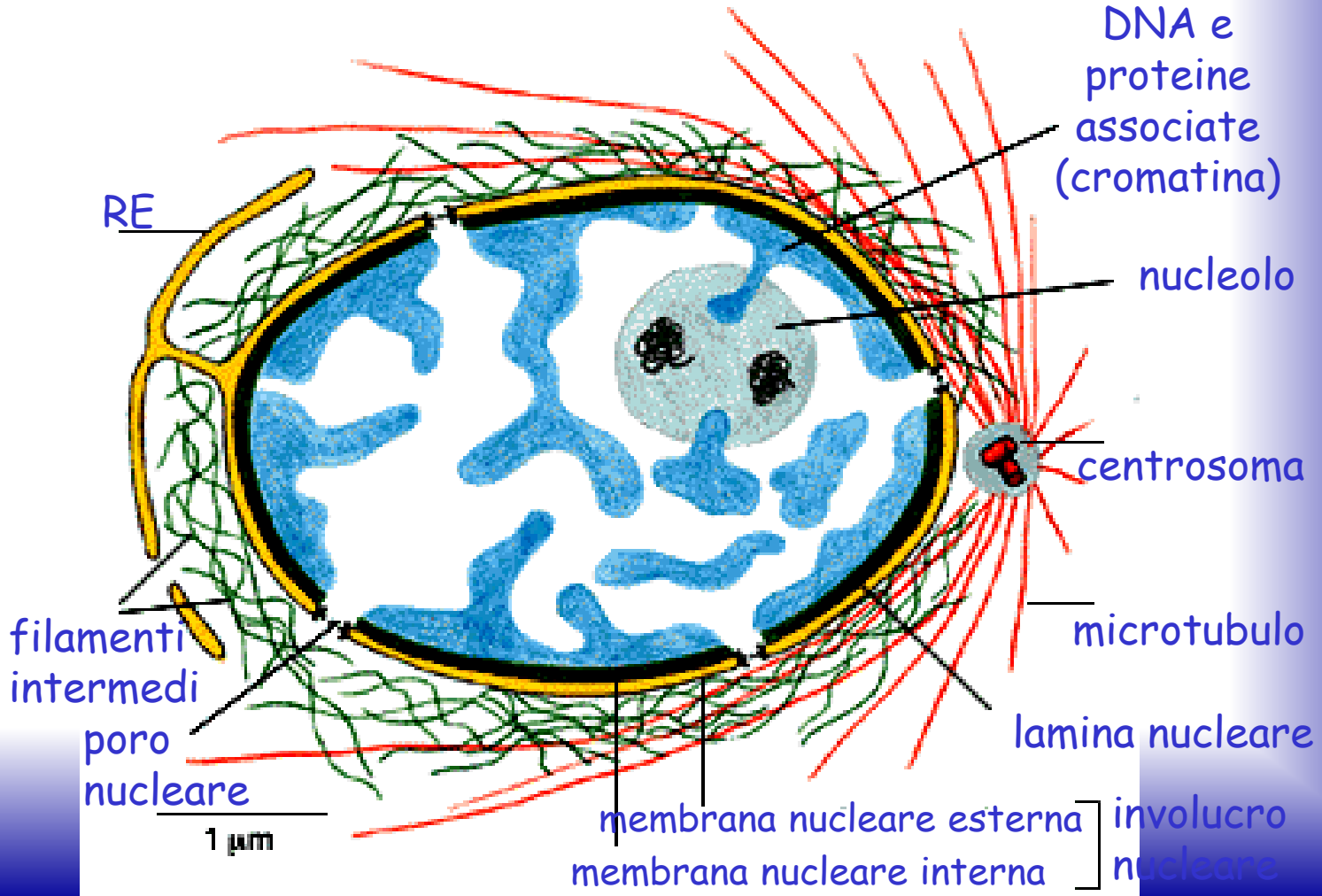
Il nucleo svolge un ruolo cruciale nel controllo della vita della cellula e nel processo di divisione cellulare



Entrambe le funzioni dipendono strettamente dall'acido desossiribonucleico (DNA) contenuto nel nucleo

IL NUCLEO CELLULARE

Il nucleo costituisce la sede dell'informazione genetica, visto che in esso risiedono le molecole di DNA e che sempre al suo interno, queste sono duplicate e trascritte.
Nucleo: controllore e coordinatore delle attività della cellula

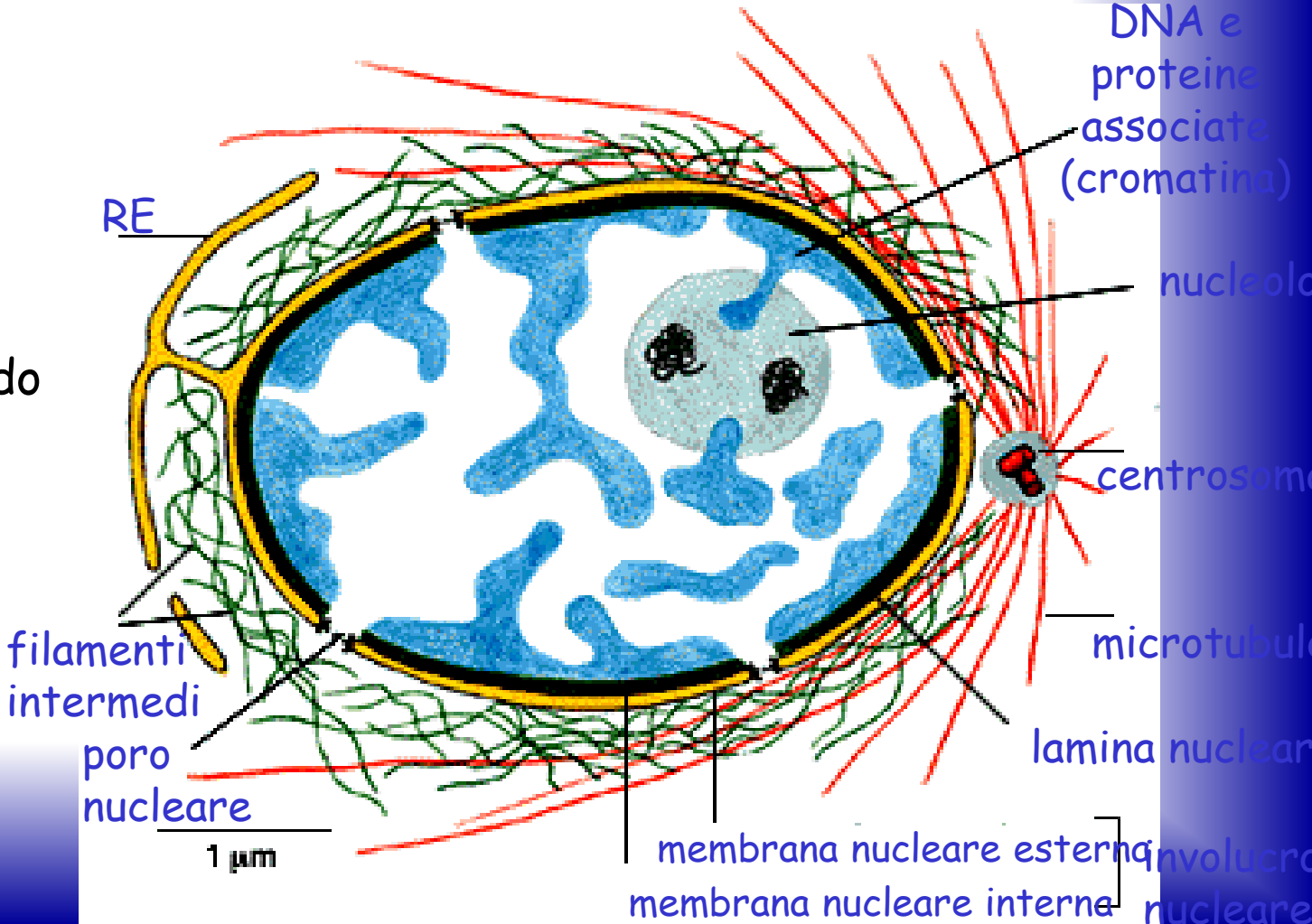


IL NUCLEO CELLULARE

Nel nucleo molecole lunghissime di DNA sono associate a proteine a formare la cromatina

Nucleo contiene un pool vario di molecole: pt, tra cui enzimi, RNA e altre componenti coinvolte in duplicazione, sintesi e processamento RNA

Continuo passaggio di molecole dal citoplasma al nucleo e viceversa in modo controllato

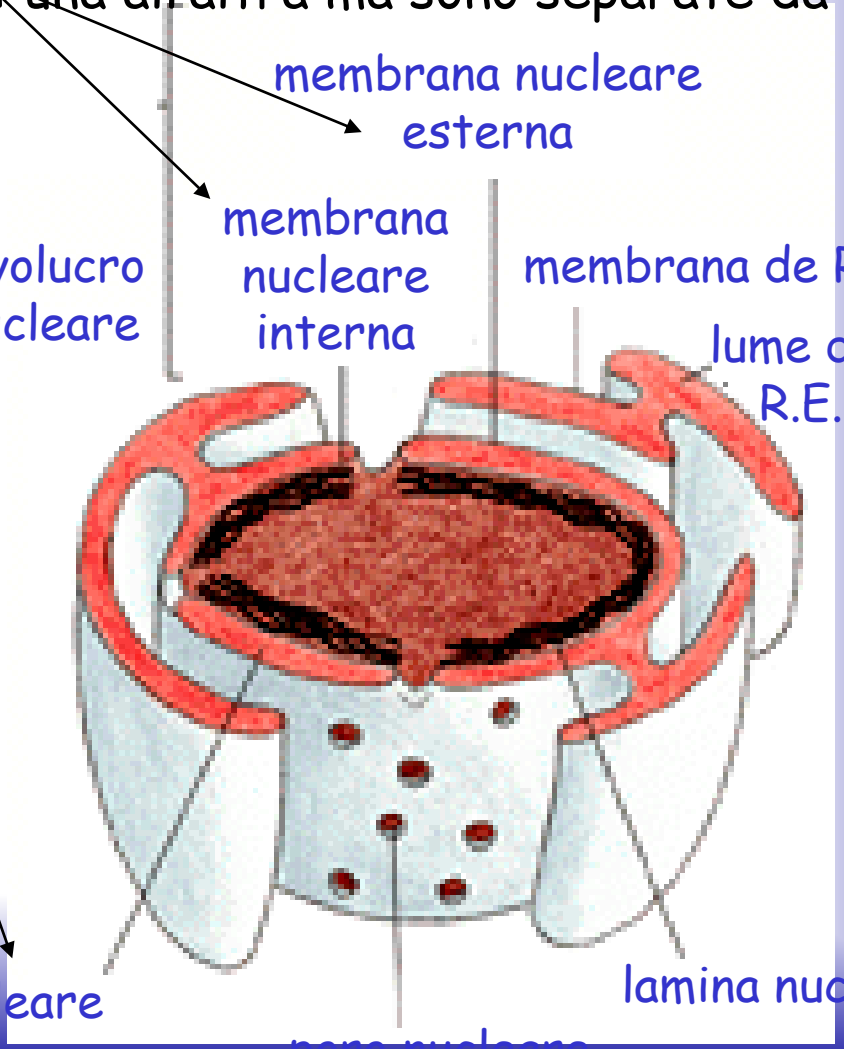


IL NUCLEO CELLULARE: Involucro nucleare o carioteca

È una doppia membrana:
membrana nucleare interna e
membrana nucleare esterna
} entrambe costituite da un doppio strato fosfolipidico

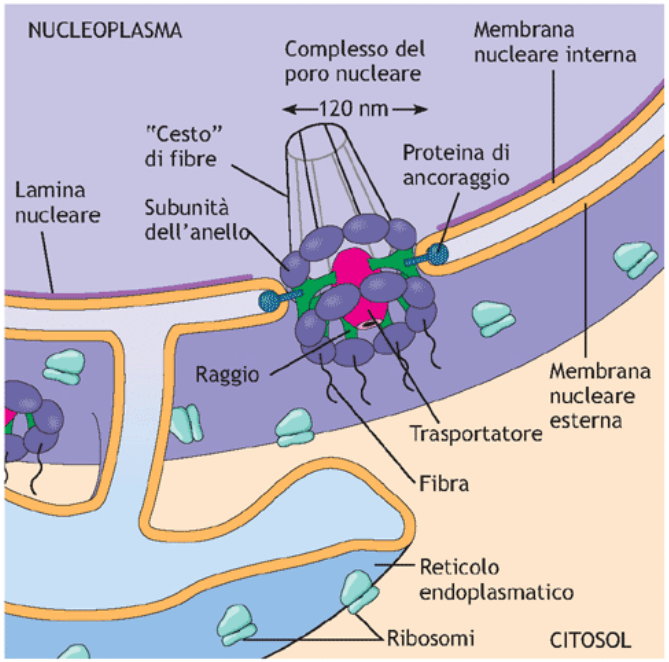
Non sono strettamente aderenti una all'altra ma sono separate da uno spazio perinucleare

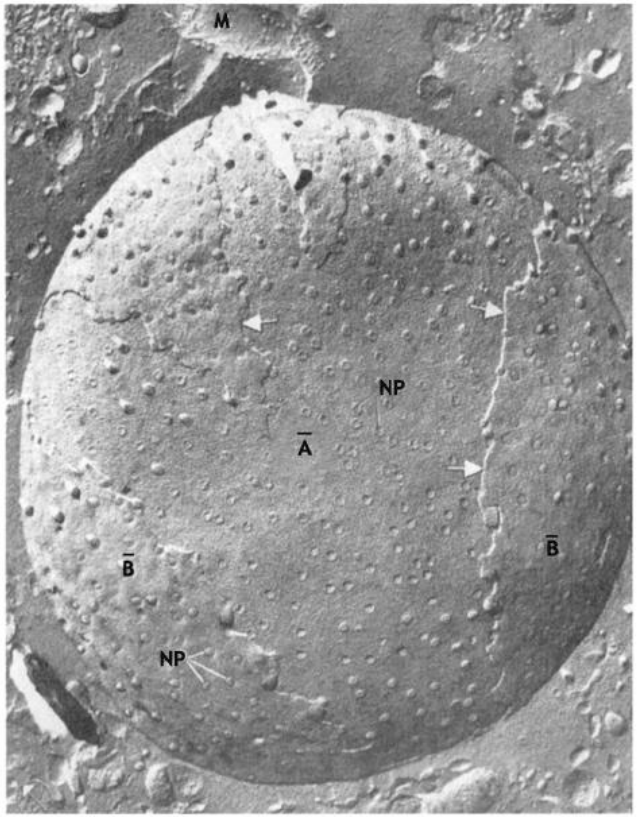
La membrana esterna è continua con il RE e spesso presenta aderenti alla superficie citoplasmatica dei ribosomi



IL NUCLEO CELLULARE: Il poro nucleare

L'involucro nucleare non è un limite continuo perchè le 2 membrane si fondono in alcuni punti determinando uno spazio libero che assume la forma di canale e che viene indicato come poro nucleare





La superficie dell'involucro nucleare risulta costellata di tali interruzioni

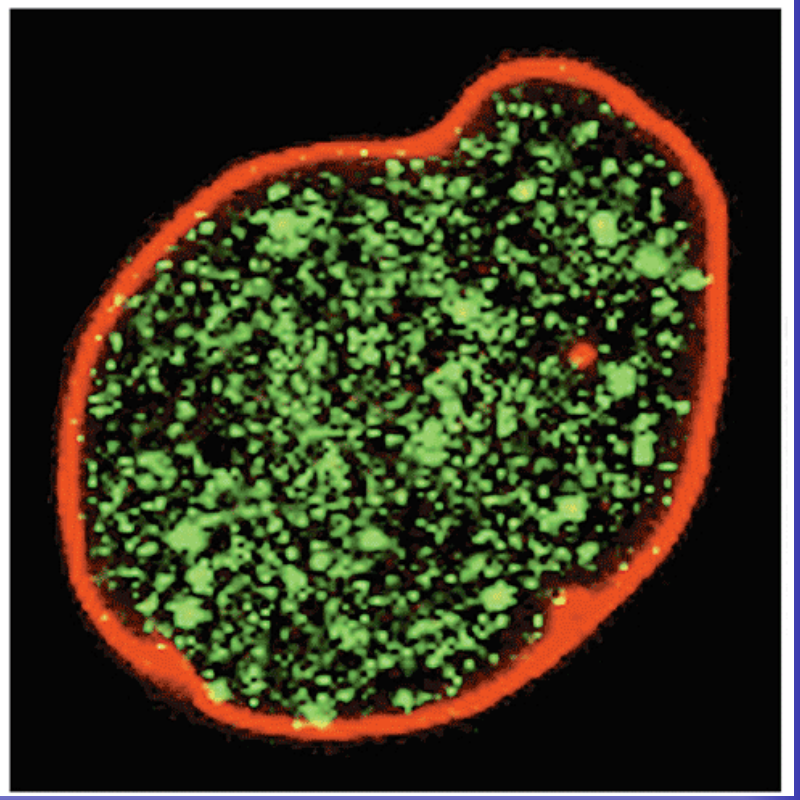
IL NUCLEO CELLULARE: Lamina nucleare

Struttura:
Sottile e densa rete di proteine adesa al versante nucleoplasmatico della membrana interna dell'involucro nucleare
Formata dai filamenti omologhi ai filamenti intermedi del citoscheletro

Funzioni:

1. sostegno

2. ancoraggio per i cromosomi nella mitosi



IL NUCLEO CELLULARE: Nucleolo

Struttura specializzata comprendente:
1. un gruppo di geni che portano l'informazione per gli rRNA
2. i corrispondenti trascritti di RNA
3. molte proteine

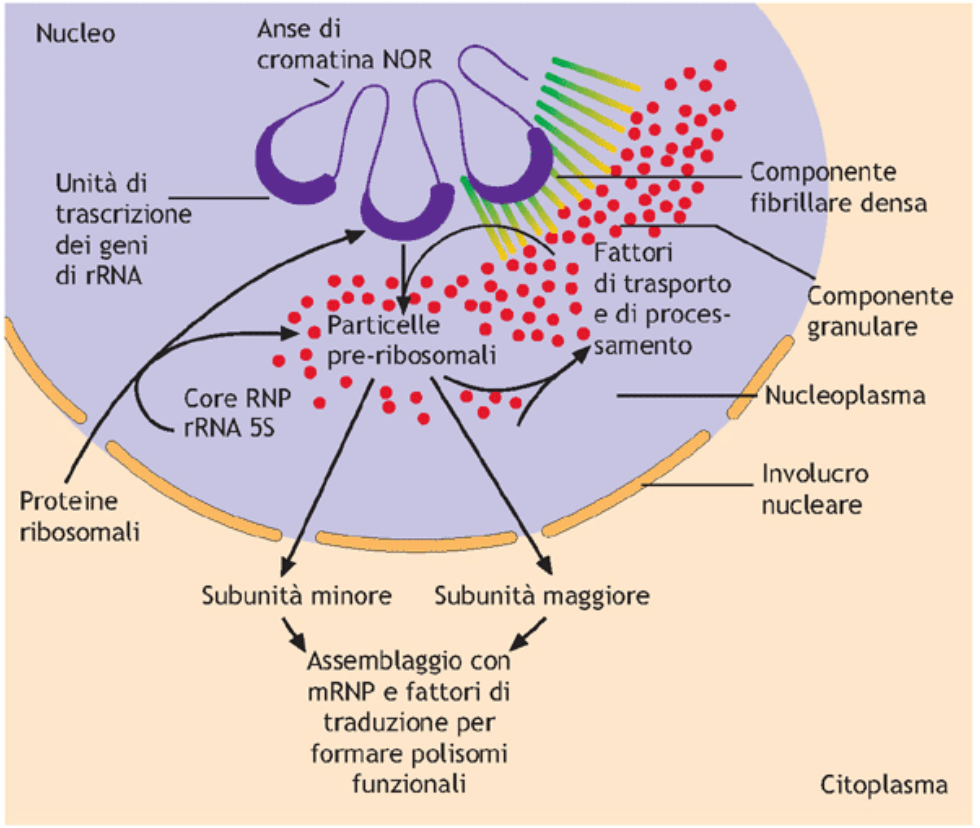
Non circondati da membrana, ma con contorni sufficientemente definiti

Contiene particelle ribosomali a vari stadi di assemblaggio

Biogenesi dei ribosomi nel nucleolo:

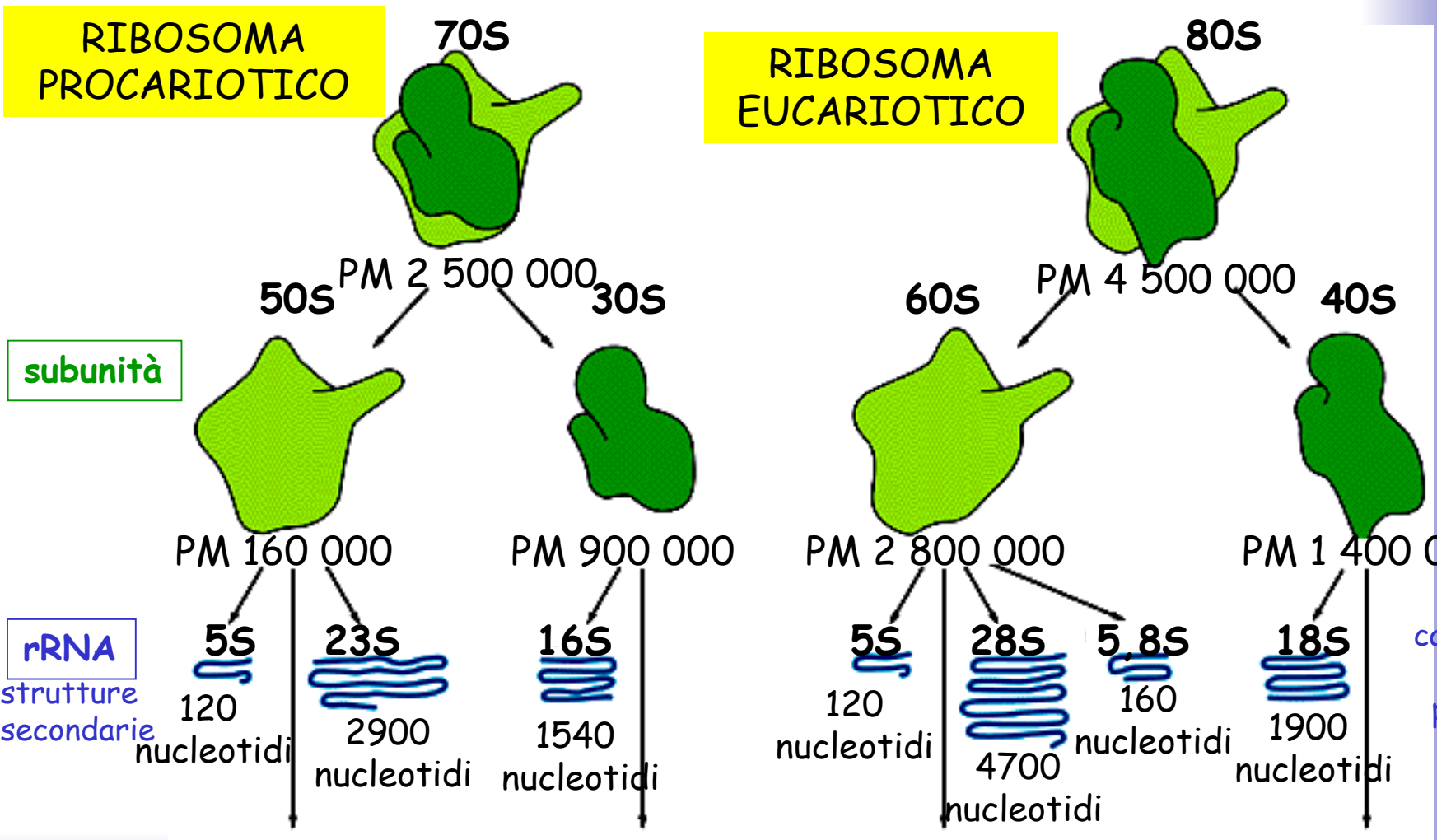
pt ribosmali prodotte nel citoplasma si associano agli rRNA neosintetizzati

dopo il loro assemblaggio le unità ribosomali vengono esportate nel citoplasma attraverso i pori nucleari



I RIBOSOMI

Complessi fortemente interconnessi di proteine ed RNA. Denominati secondo la loro velocità di sedimentazione: 70S batterici; 80S eucariotici



Ripieg rRNA e posiz tRNA

fine

Identificazione del DNA come materiale genetico

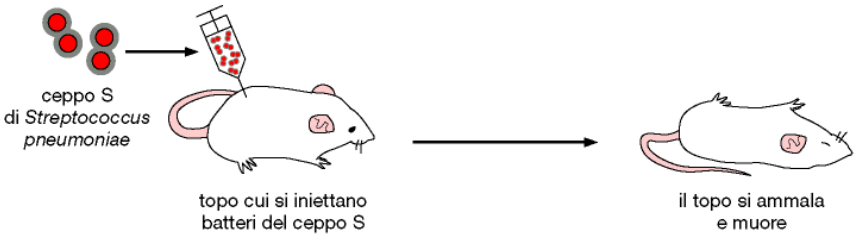
Nonostante il DNA fosse noto sin dal 1868, la sua identificazione come materiale genetico è avvenuta solo nel 1944 ed è intimamente legata agli studi sulla virulenza del microrganismo, il *Diplococcus pneumoniae*, o più semplicemente pneumococco, che causa la polmonite nei mammiferi. I pneumococchi possono esistere in 2 varietà:

1) S: virulenta, provvista di una capsula polisaccaridica di rivestimento che ne impedisce la fagocitosi;
2) R: non virulenta, sprovvista di capsula.

1. Esperimento di Griffith, 1928 (1 DIA)
2. Esperimento di O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty, 1944 (2 DIA)
3. Esperimento di Hershey e Chase, 1953 (3 DIA)

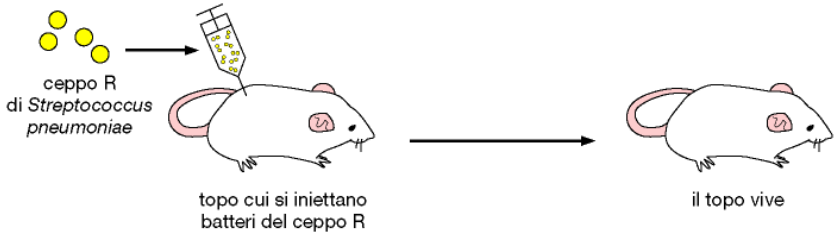
Identificazione del DNA come materiale genetico: Esperimento di Griffith, 1928

Iniezione del ceppo virulento S



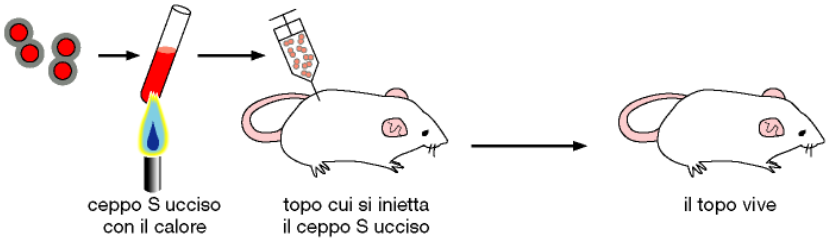
Topo muore

Iniezione del ceppo non virulento R



Topo vive

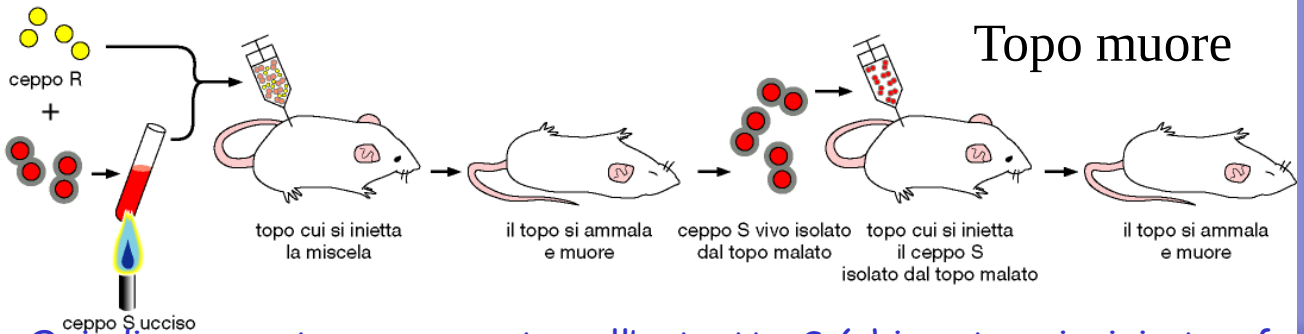
Iniezione del ceppo virulento S ucciso



Topo vive

Iniezione del ceppo non virulento R

+ ceppo virulento S ucciso

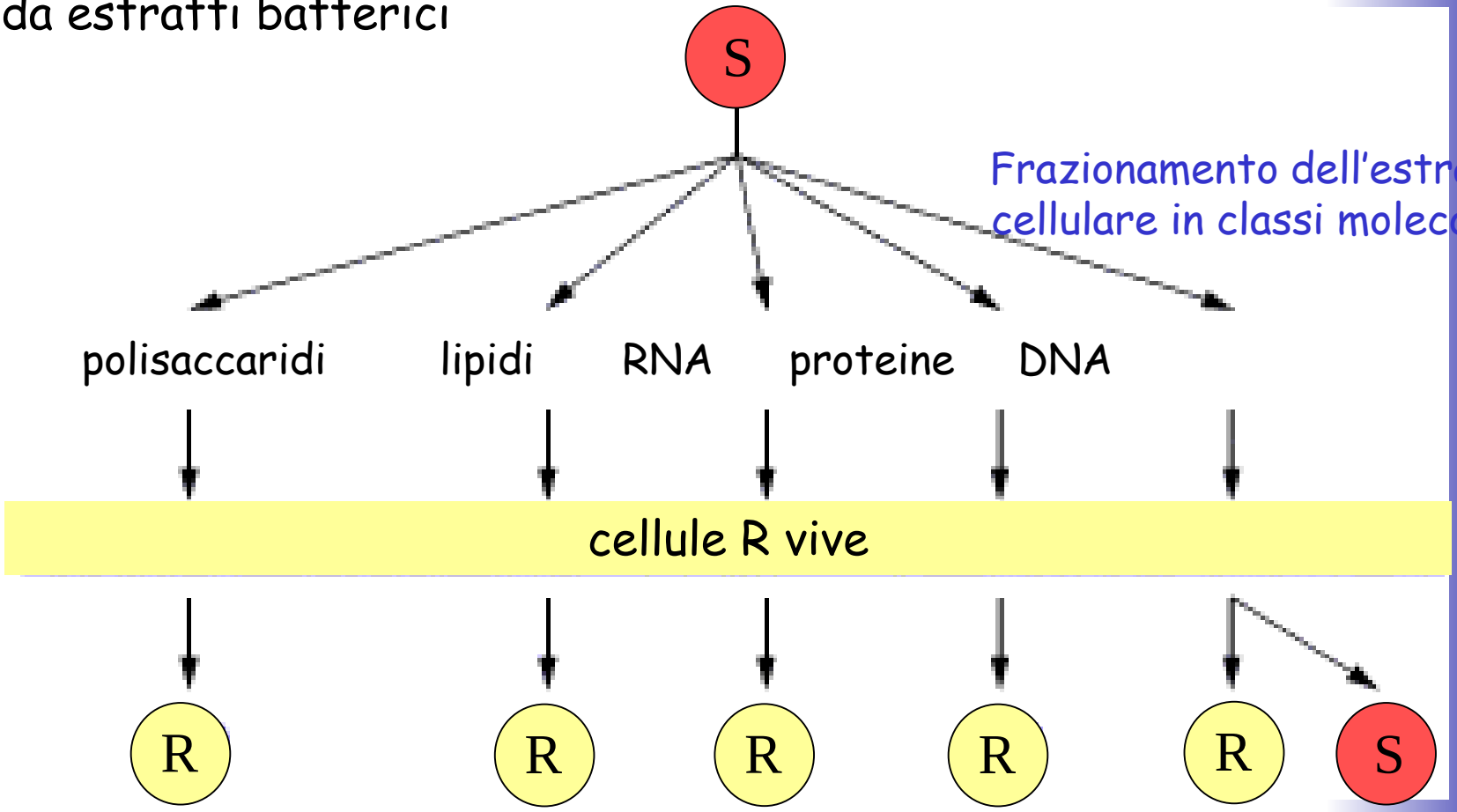


Topo muore

Quindi, una sostanza presente nell'estratto S (chiamata principio trasformante) era responsabile per l'induzione della trasformazione genetica dei batteri R in S.

Identificazione del DNA come materiale genetico
Esperimento di O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty, 1944

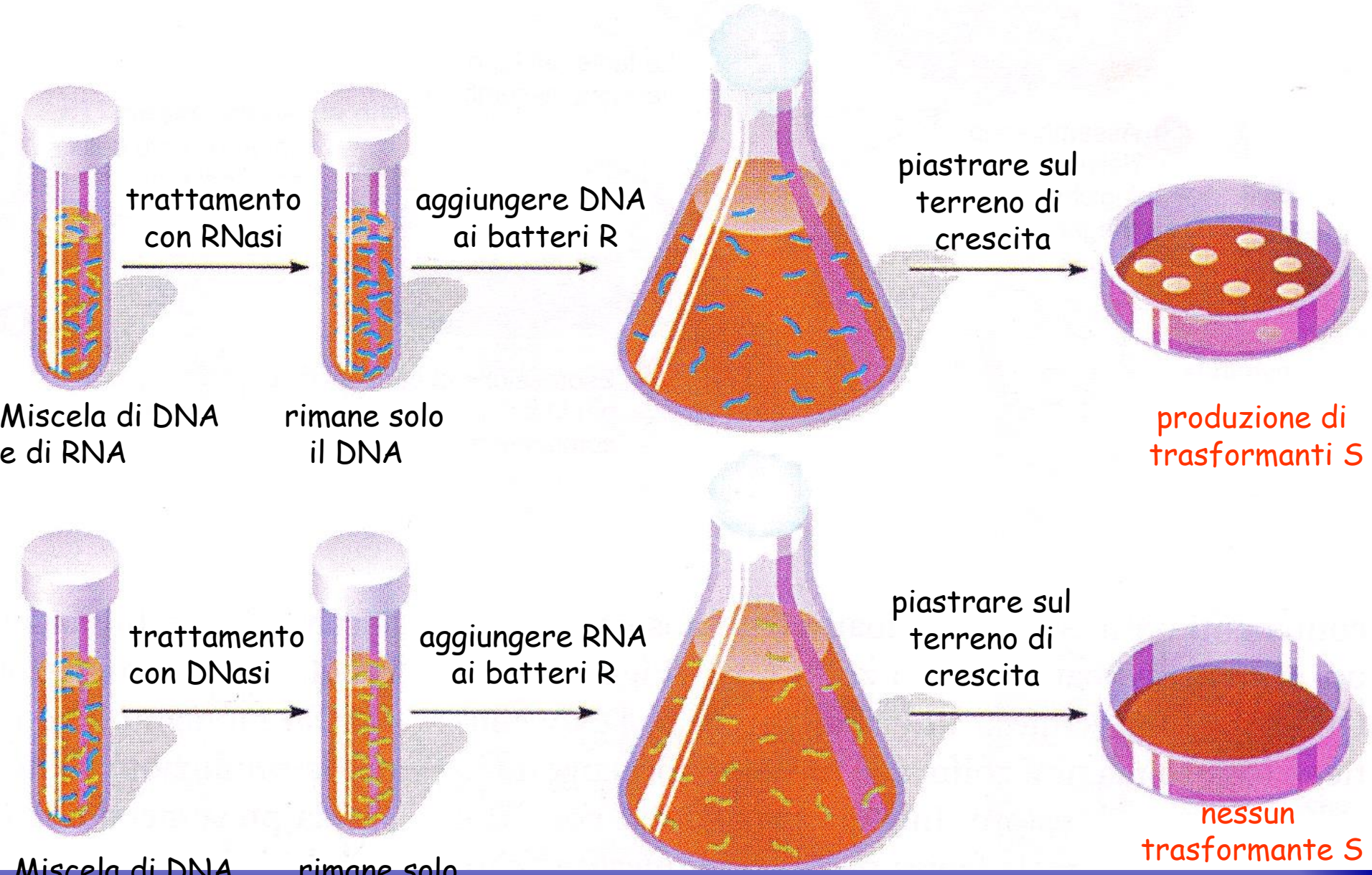
Stabilirono che il principio trasformante era il DNA, purificandolo da estratti batterici



Il DNA della specie patogena veniva assunto dalla specie innocua e trasmesso fedelmente alle generazioni batteriche successive

Identificazione del DNA come materiale genetico

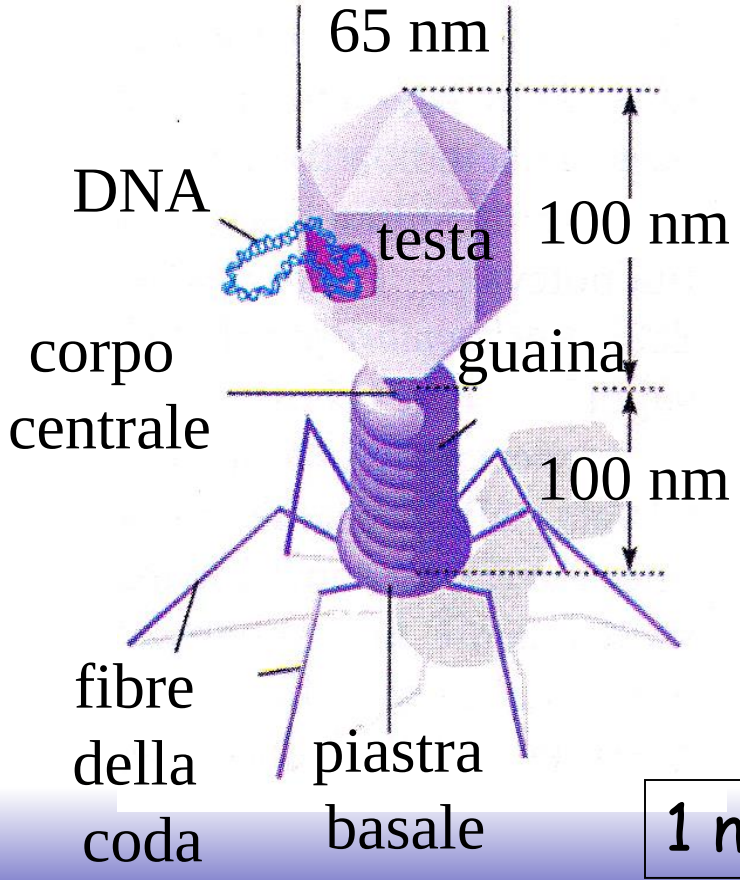
Esperimento di O. Avery, C. MacLeod, M. McCarty, 1944

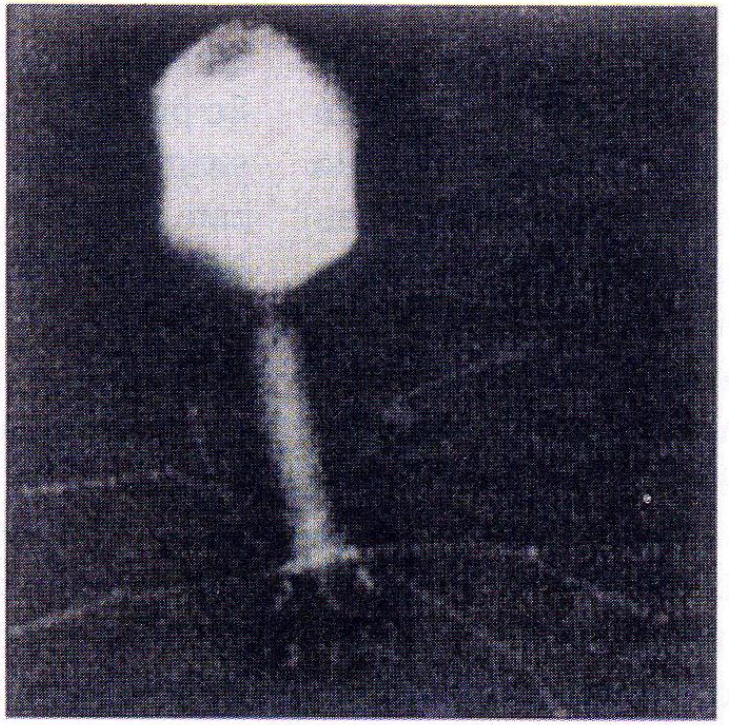


Identificazione del DNA come materiale genetico

Esperimento di Hershey e Chase

Alfred Harshey e Martha Chase stavano studiando nel 1953 un batteriofago chiamato T2.



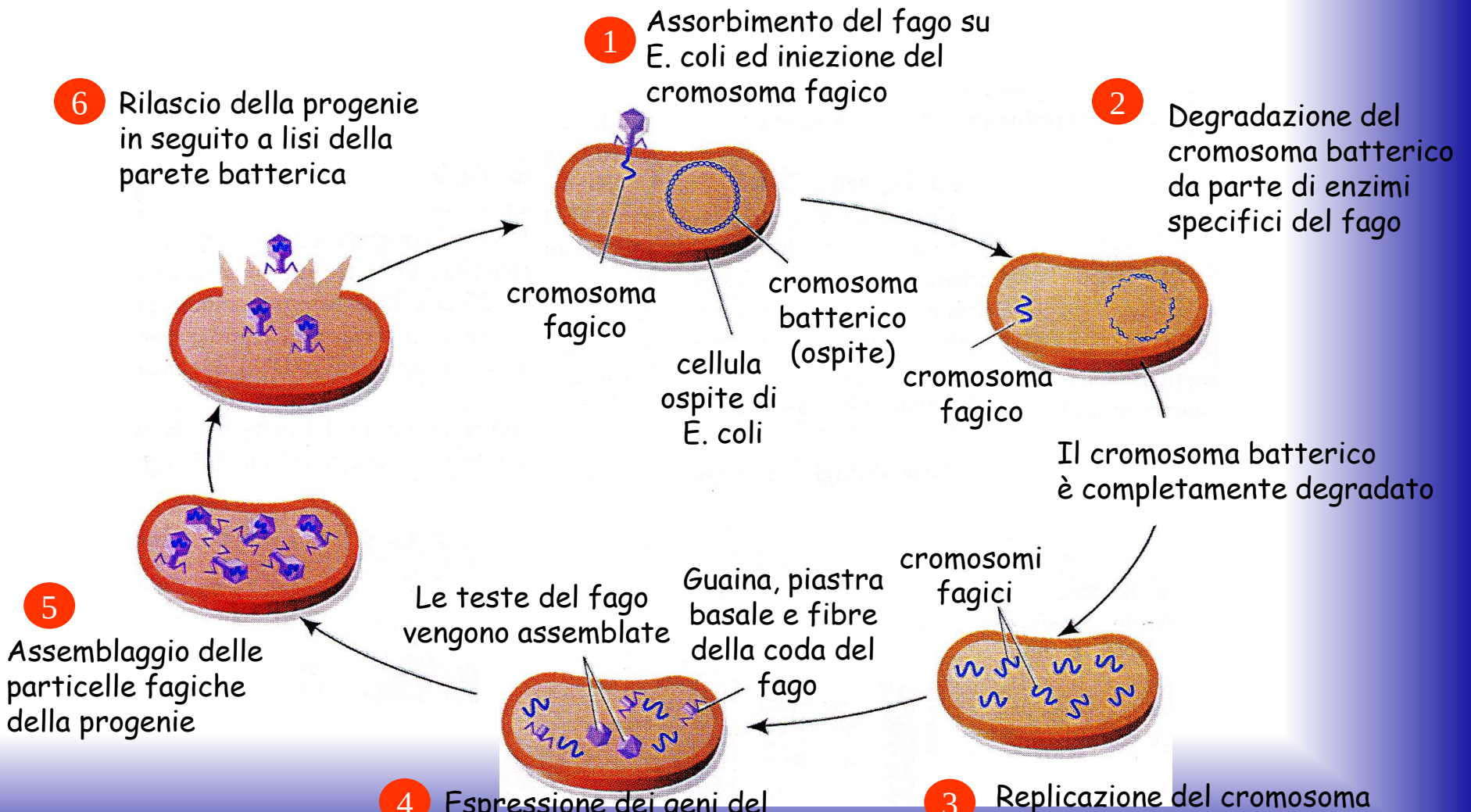


Fotografia al M.E. del batteriofago T2

$1\ nm = 10^{-9}\ m$

Identificazione del DNA come materiale genetico: Esperimento di Hershey e Chase

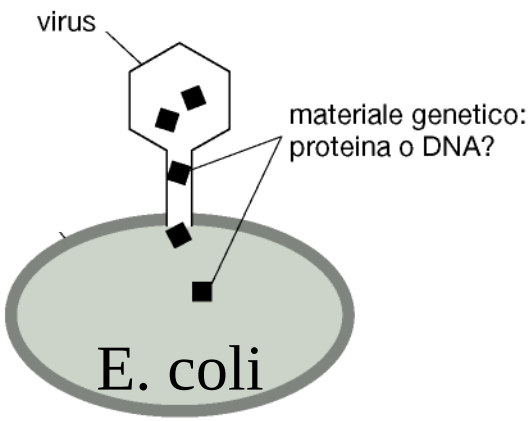
Hersey e Chase sapevano che il virus T2 era costituito soltanto da DNA e proteine e che il virus era in qualche modo capace di usare il proprio materiale genetico per riprogrammare la cellula ospite per farle produrre nuovi fagi. Tuttavia, non erano a conoscenza di quale dei due componenti, DNA o proteine, fosse la causa.

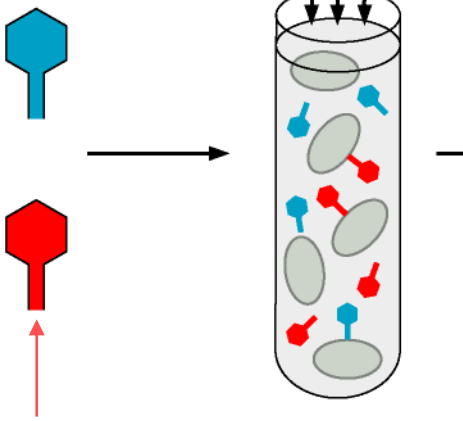


Identificazione del DNA come materiale genetico

Esperimento di Hershey e Chase

DNA marcato con ^{32}P

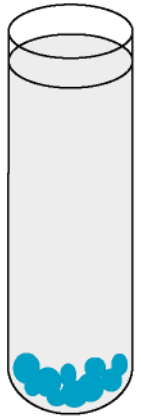




virus liberi di infettare *E. coli*

involucri virali separati dalle cellule infettate

CENTRIFUGA



Proteine marcate con ^{35}S

Cellule infettate contenenti ^{32}P

e non ^{35}S