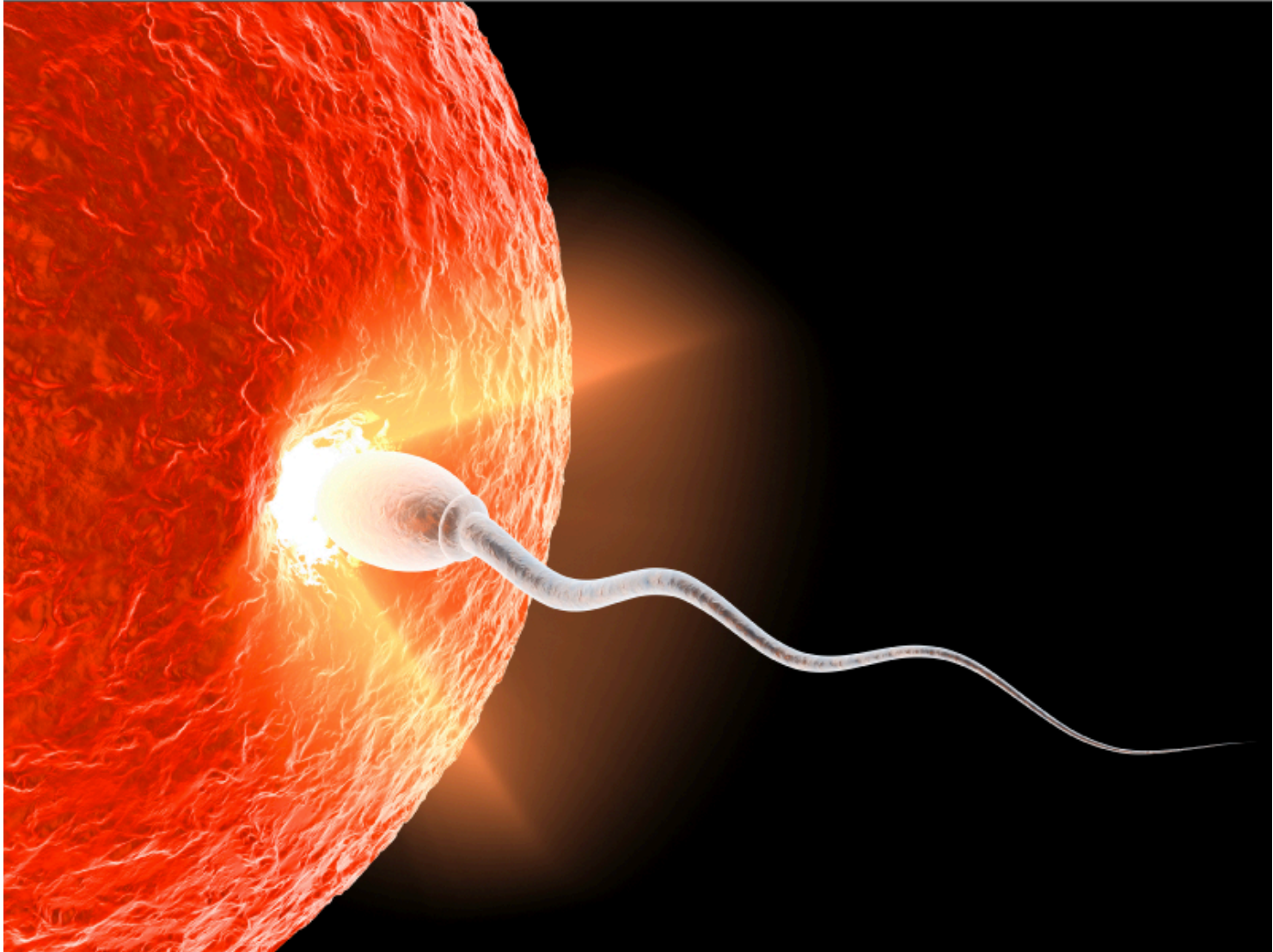
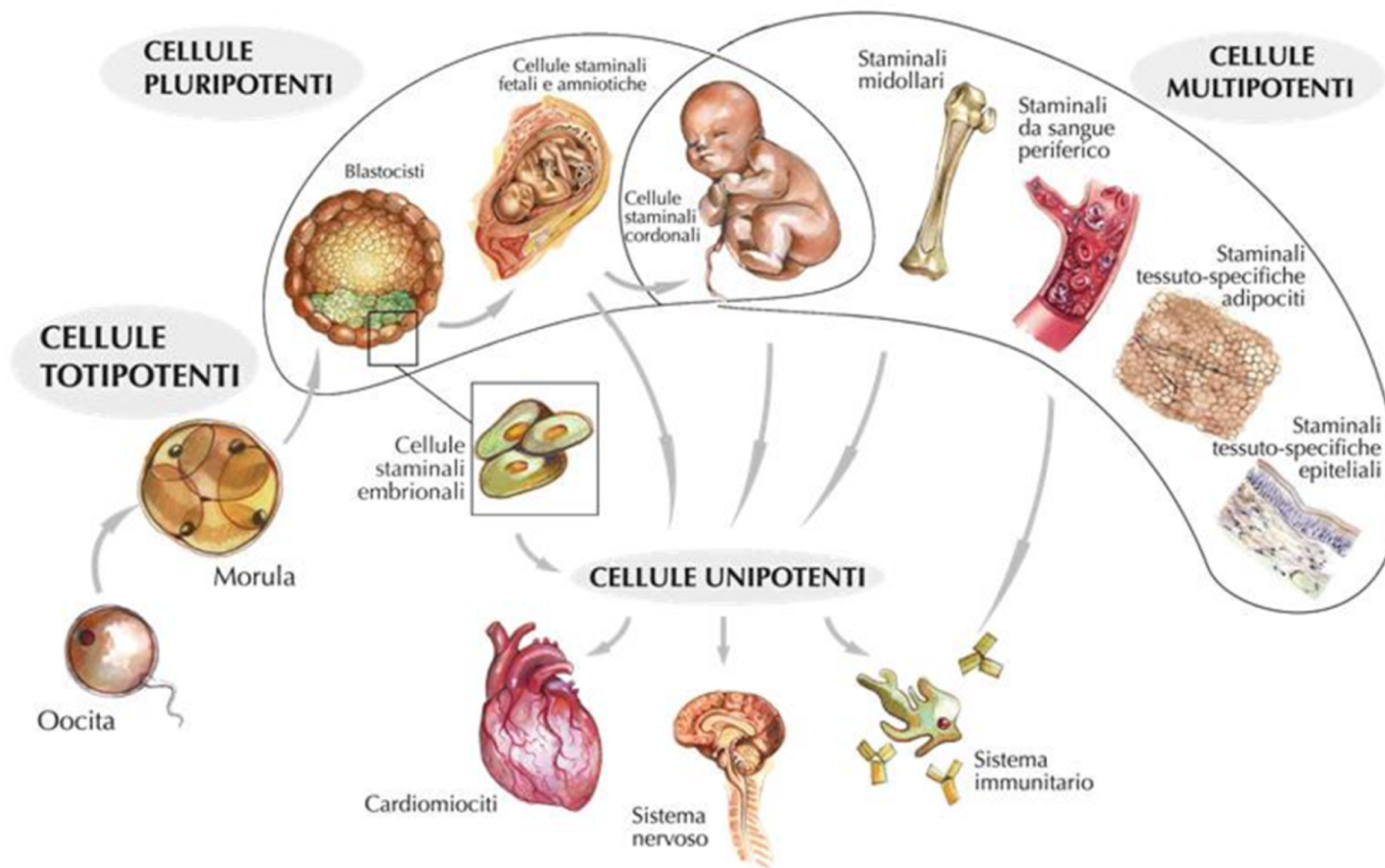


DIVISIONE CELLULARE

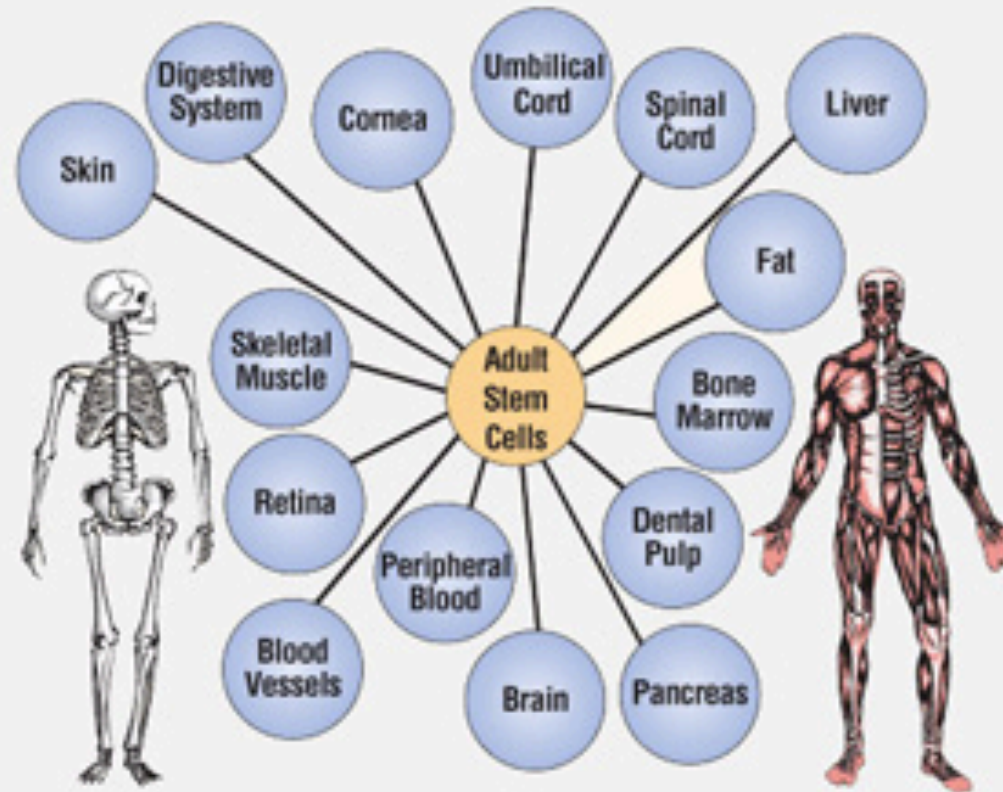
The beginnings...



Cellule staminali e differenziamento cellulare



Where are adult stem cells found?



Mesenchimali da tessuto adiposo o midollo osseo possono dare origine a:

- cartilagine
- osso
- tessuto adiposo

Uso terapeutico delle cellule mesenchimali

Le cellule mesenchimali possono svolgere un ruolo terapeutico anche attraverso la secrezione di esosomi- effetto paracrino

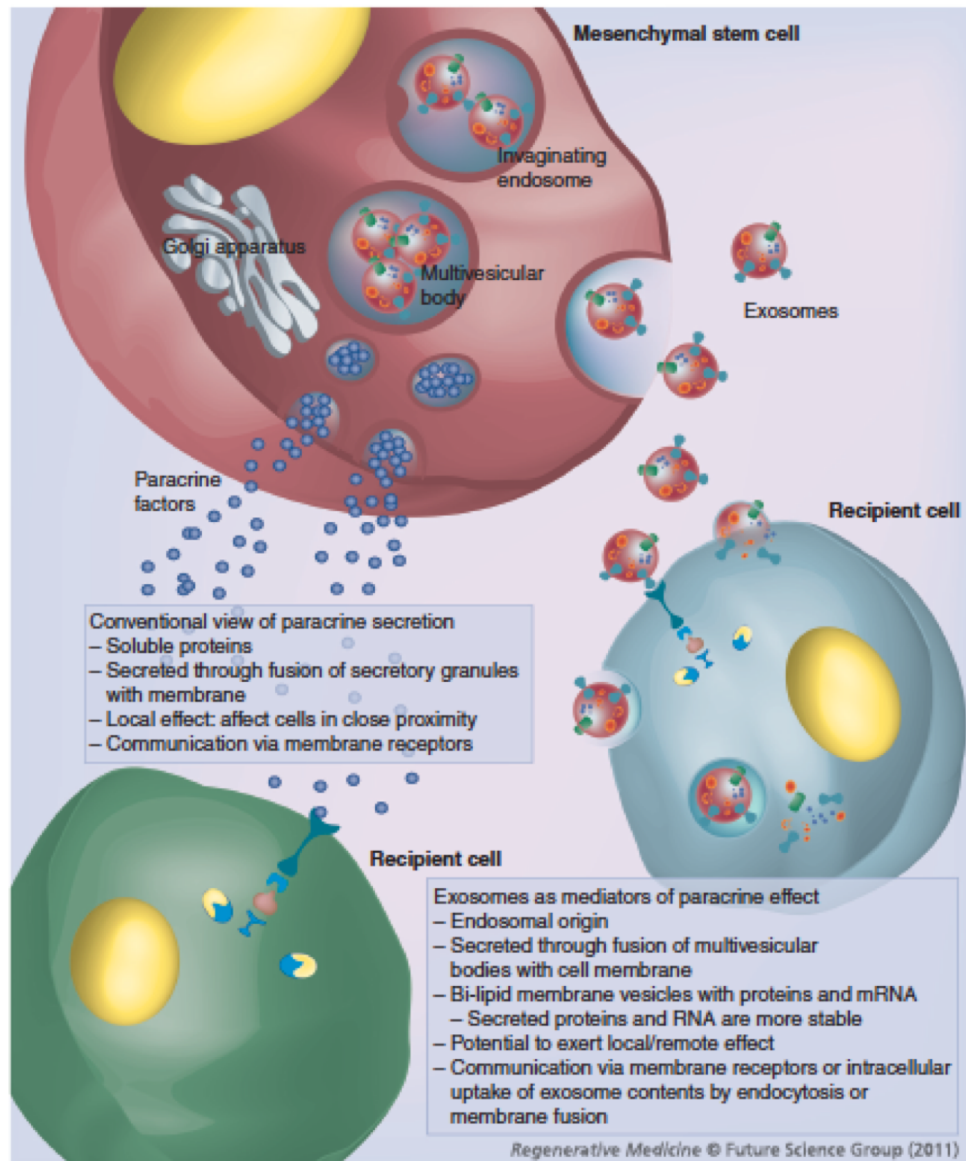
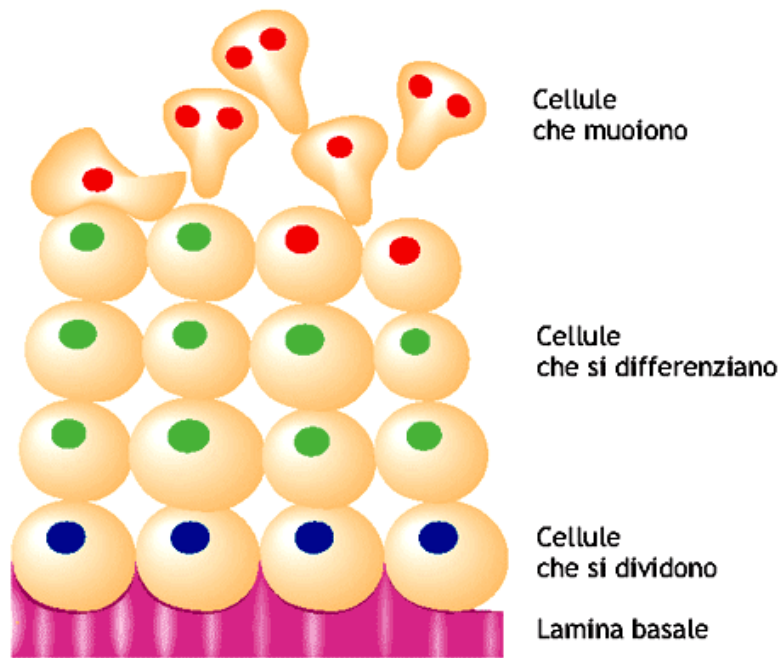
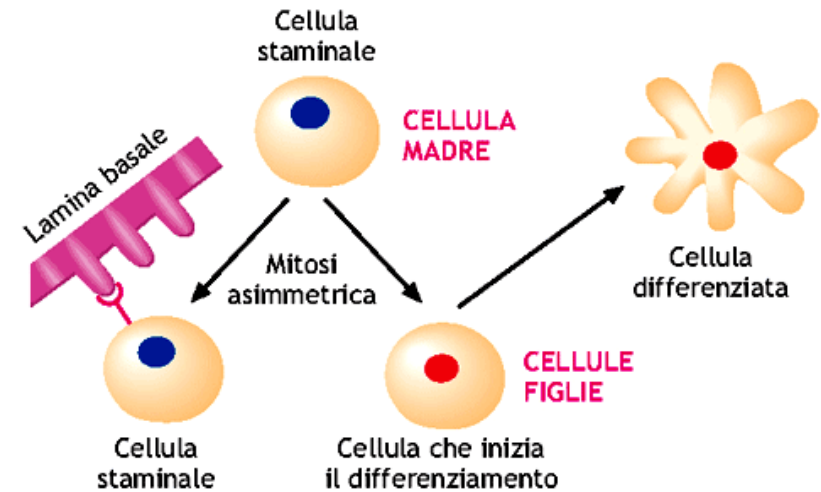


Figure 1. Paracrine effects of mesenchymal stem cells.

Le cellule staminali possono proliferare o iniziare il differenziamento

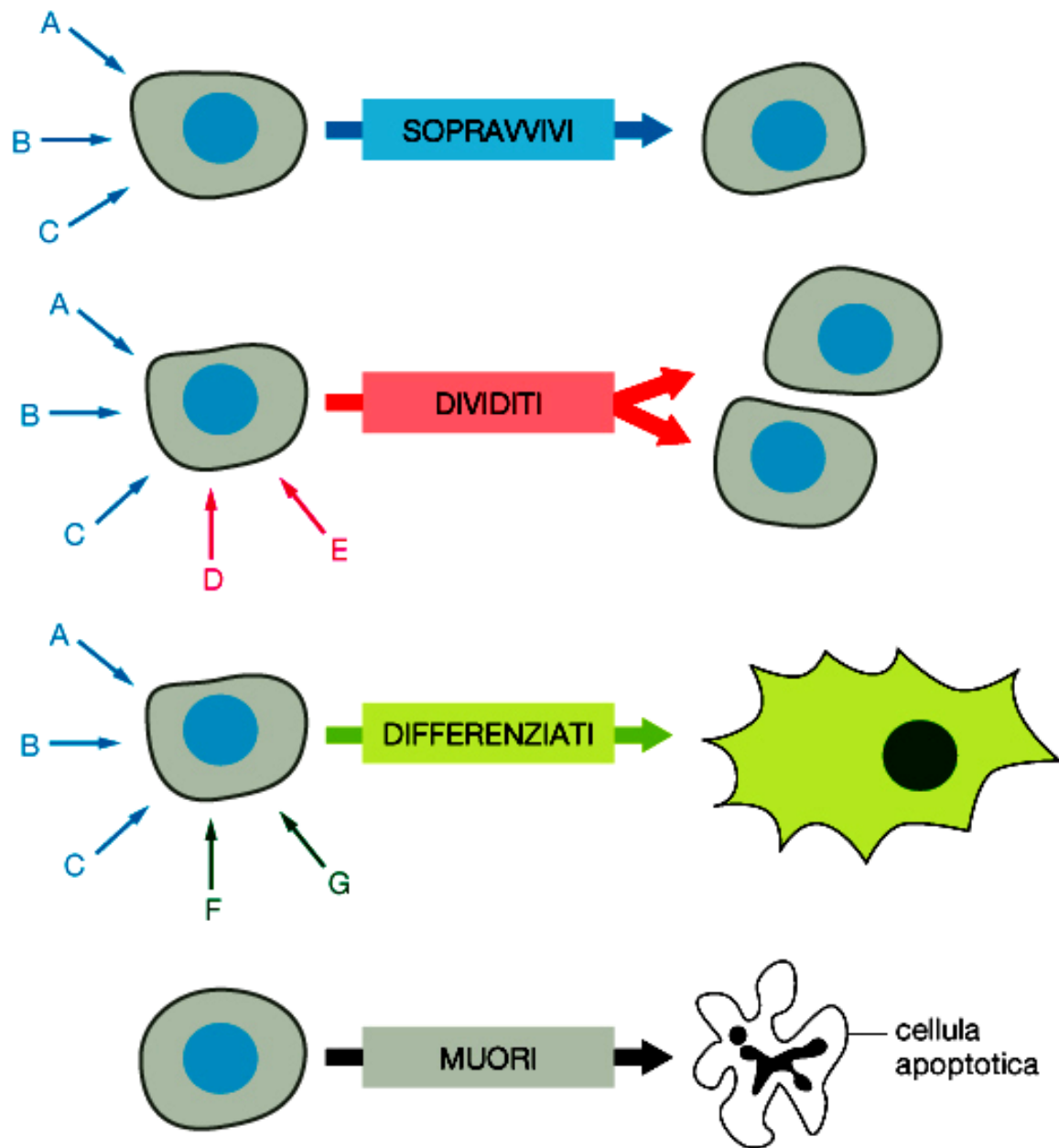


■ **Figura 7.4** Esempio di un tessuto ad elevato ricambio come, ad esempio, la nostra pelle. Cellule nello strato più a contatto con la lamina basale sono in attiva proliferazione e si dividono continuamente. Negli strati superiori si consolida il programma differenziale, mentre negli strati apicali le cellule infarcite di cheratina e proteine accessorie svolgono un'azione protettiva che terminerà con la loro morte ed il distacco.

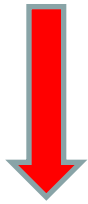


■ **Figura 7.5** Esempio di mitosi asimmetrica in una cellula staminale.

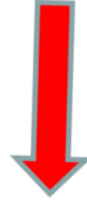
Il destino di una cellula



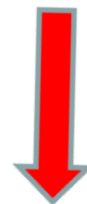
Come viene regolato il destino cellulare



Proliferation /Quiescence?

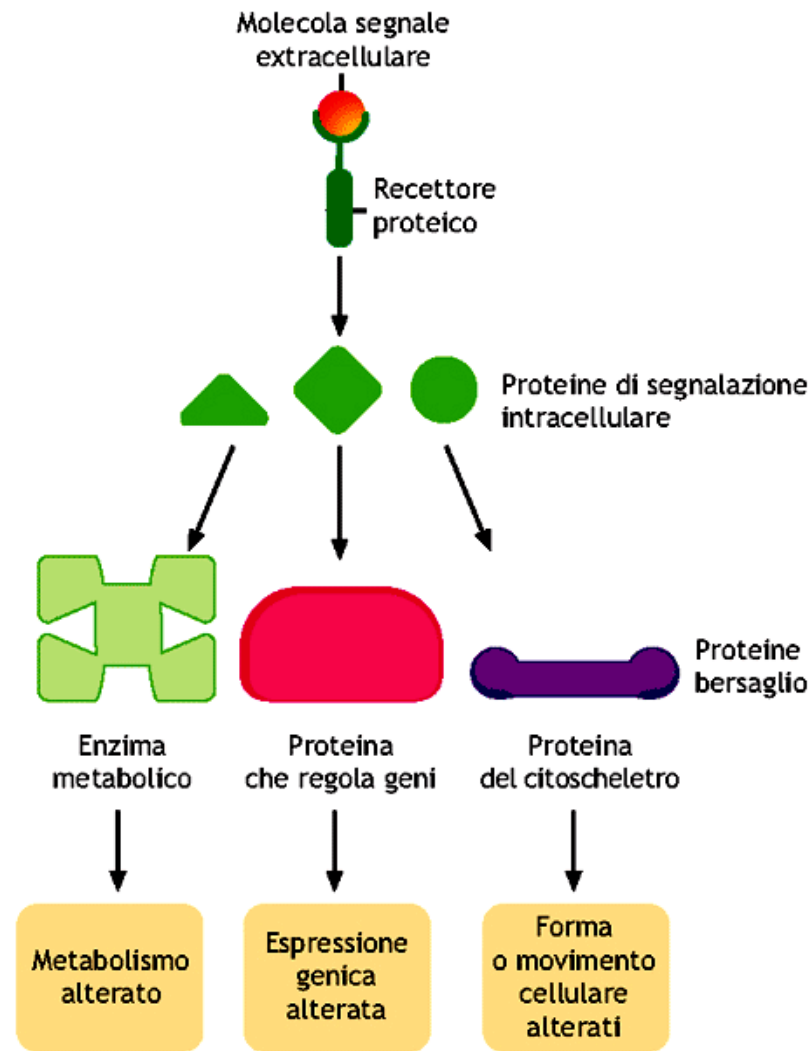


Differentiation/Stemness?



Apoptosis/Survival?

La comunicazione tra la cellula e l'esterno: recettori di membrana

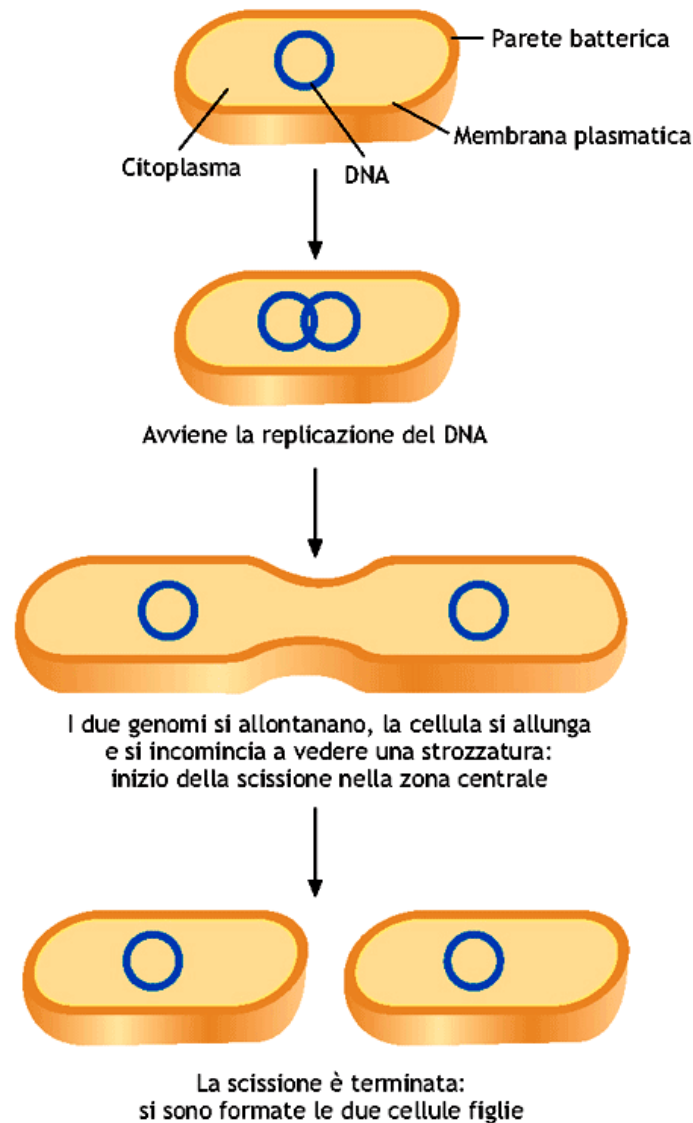


■ **Figura 5.42** Una molecola segnale idrofilica lega il suo recettore extracellulare, ciò scatena all'interno della cellula una serie di eventi mediati da proteine intracellulari di segnalazione. Queste proteine possono a loro volta interagire con proteine bersaglio, modificandole in modo da alterare il comportamento della cellula.

Divisione cellulare

La divisione cellulare è un processo che porta alla formazione di due o più cellule figlie a partire da una cellula genitore.

Nei procarioti la divisione cellulare avviene per scissione. E' un processo molto rapido- 30 minuti.



■ Figura 7.1 Divisione per scissione di un batterio.

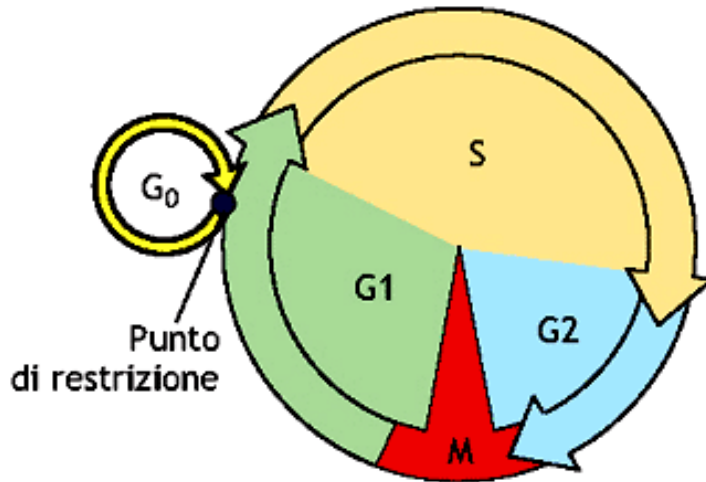
Divisione della cellula eucariotica: ciclo cellulare

•La cellula eucariotica si divide secondo una sequenza di eventi ordinata che termina con la **mitosi**. Tale sequenza è definita ciclo cellulare.

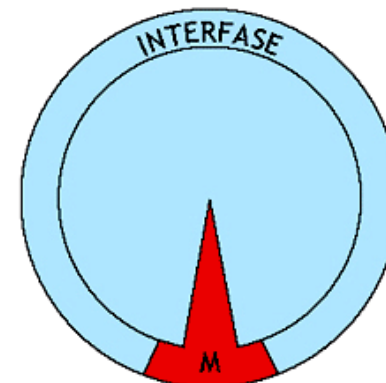
La durata del ciclo varia tra i vari tipi cellulari:

- fibroblasti 24 ore
- fasi iniziali dello sviluppo embrionale poche ore
- cellule che non si dividono mai (muscolari)
- cellule che eventualmente riprendono a dividersi (cellule epatiche)
- cellule che si dividono continuamente in tessuti che si rinnovano come epidermide, epitelio intestinale, endotelio

Ciclo cellulare è un'alternanza di mitosi e interfase



■ **Figura 7.3 Le diverse fasi del ciclo cellulare.** Alla fase G₁ segue la fase S di sintesi del DNA, alla quale succede la fase G₂. Il ciclo termina con la mitosi e la separazione in due della cellula (citodieresi). Il punto di restrizione in G₁ o START, nel lievito, è un momento decisionale molto importante prima del quale la cellula “sceglie” se dividersi ed entrare in fase S oppure se uscire dal ciclo per entrare in uno stato di non proliferazione denominato fase G₀ o quiescenza.



■ **Figura 7.2** Il ciclo cellulare rappresentato come un'alternanza di mitosi ed interfase.

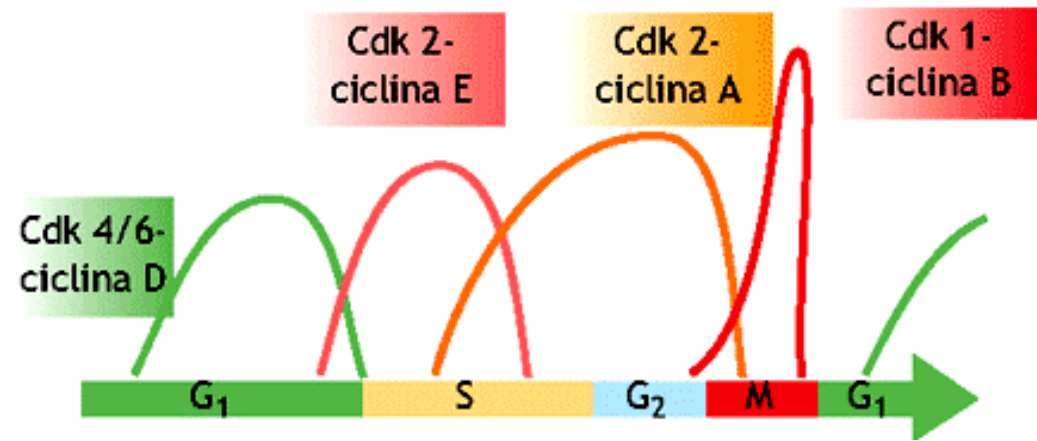
Proteine chiave del ciclo cellulare

1. ciclina

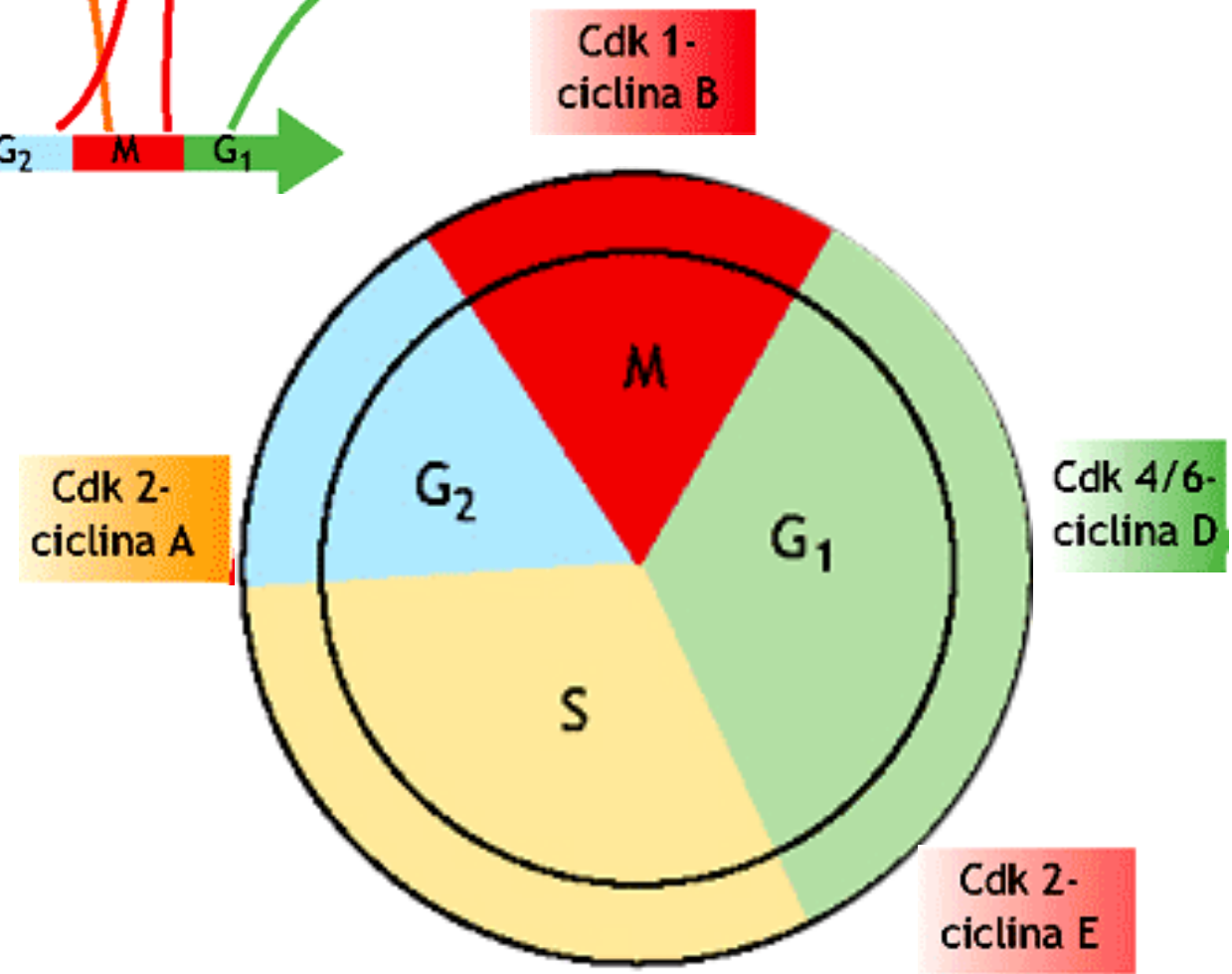
2. **cyclin-dependent kinases (cdk) : chinasi dipendenti dalle ciclina**

Cyclin-Cdk Complex	Cyclin	Cdk partner
G₁-Cdk	cyclin D	Cdk4/Cdk6
G₁/S-Cdk	cyclin E	Cdk2
S-Cdk	cyclin A	Cdk2
M-Cdk	cyclin B	Cdk1

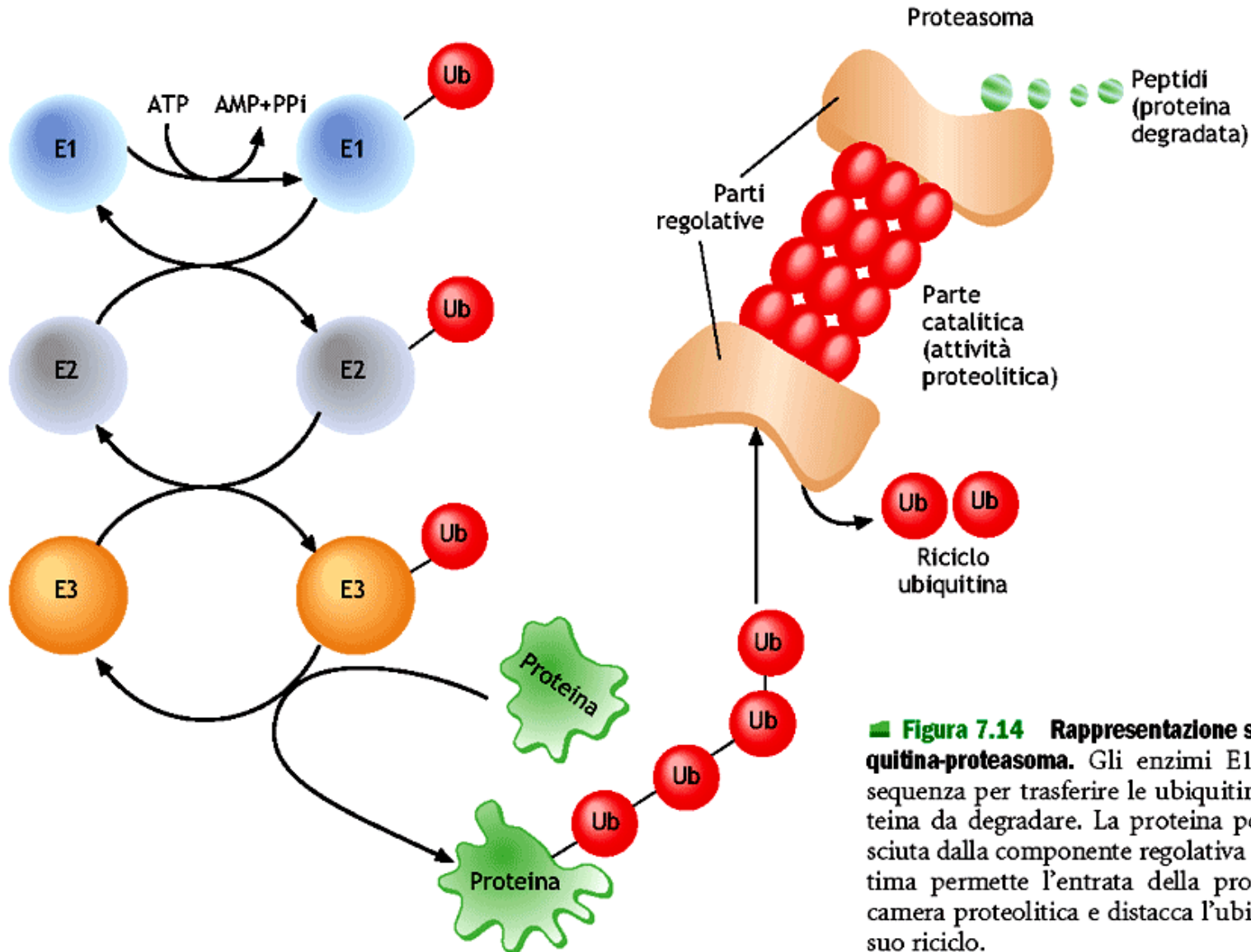
Ogni fase del ciclo cellulare necessita un complesso ciclina/Cdk: le cicline servono ad attivare le Cdk (cyclin dependent kinase)



■ **Figura 7.16** Espressione delle diverse cicline durante le diverse fasi del ciclo cellulare. Le linee colorate indicano l'attività chinasi dei diversi complessi Cdk-ciclina durante le differenti fasi del ciclo nei mammiferi. Le attività dei diversi complessi identificano bene le differenti fasi del ciclo cellulare.



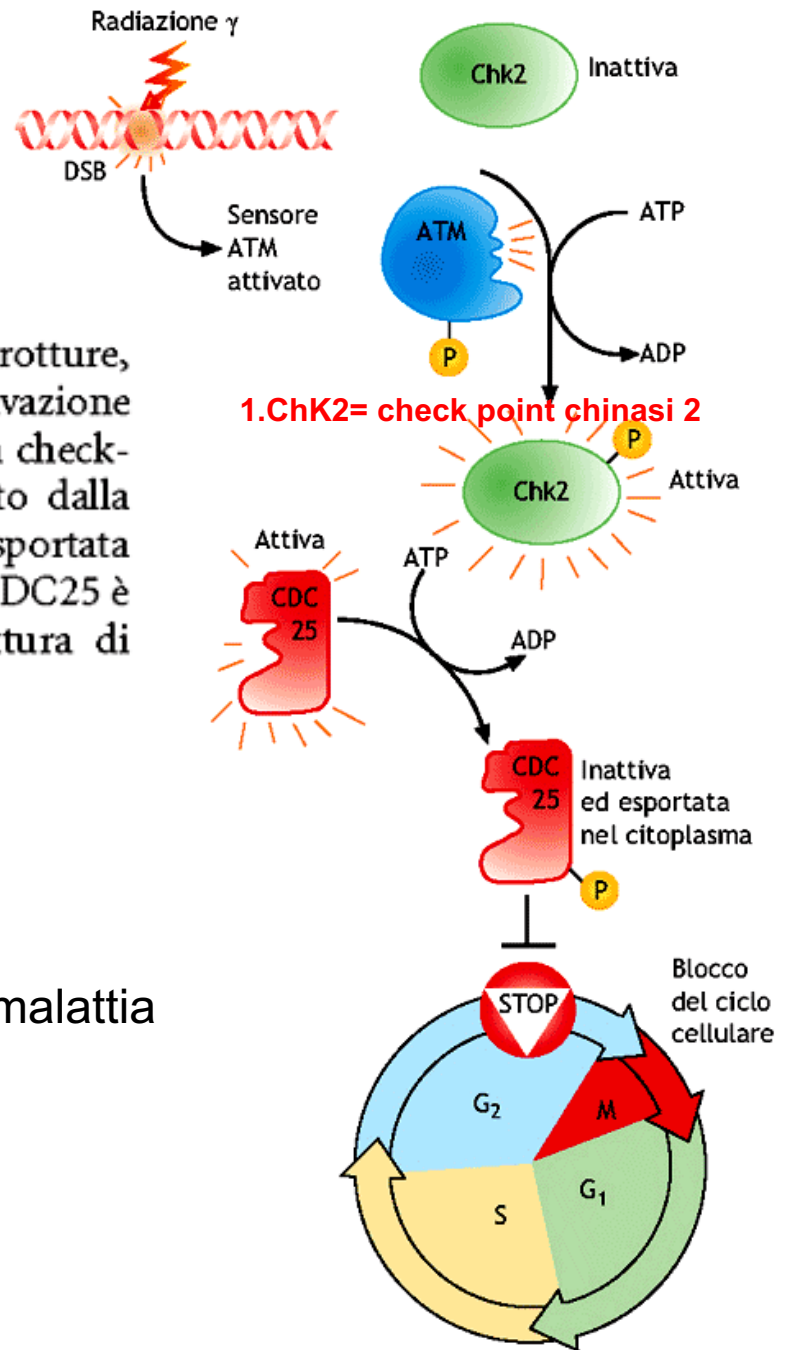
Per consentire il passaggio da una fase all'altra le cicline vengono degradate dal proteasoma in seguito all'aggiunta di una proteina chiamata ubiquitina



■ **Figura 7.14** Rappresentazione schematica del sistema ubiquitina-proteasoma. Gli enzimi E1, E2 ed E3 agiscono in sequenza per trasferire le ubiquitine sulle lisine di una proteina da degradare. La proteina poli-ubiquitinata è riconosciuta dalla componente regolativa del proteasoma. Quest'ultima permette l'entrata della proteina da degradare nella camera proteolitica e distacca l'ubiquitina garantendo così il suo riciclo.

Inattivazione di cdc25- Blocca progressione verso mitosi in presenza di danno DNA

Figura 7.19 Rotture nella doppia elica del DNA. Tali rotture, indotte ad esempio da radiazioni gamma, provocano l'attivazione della chinasi ATM la quale a sua volta fosforila ed attiva la checkpoint chinasi-2 (Chk2). Un substrato di Chk2 è costituito dalla fosfatasi CDC25 che, in seguito a fosforilazione viene sia esportata dal nucleo al citoplasma, sia inattivata; la inattivazione di CDC25 è fondamentale per arrestare il ciclo cellulare. DSB = rottura di entrambe le eliche.



ATM mutata nella atassia teleangectasia una malattia neurodegenerativa

Come viene regolato l'ingresso nel ciclo cellulare?

I fattori di crescita -specifici per ogni tipo cellulare, come VEGF; EGF; FGF- si legano a recettori di membrana e inducono la sintesi della ciclina D

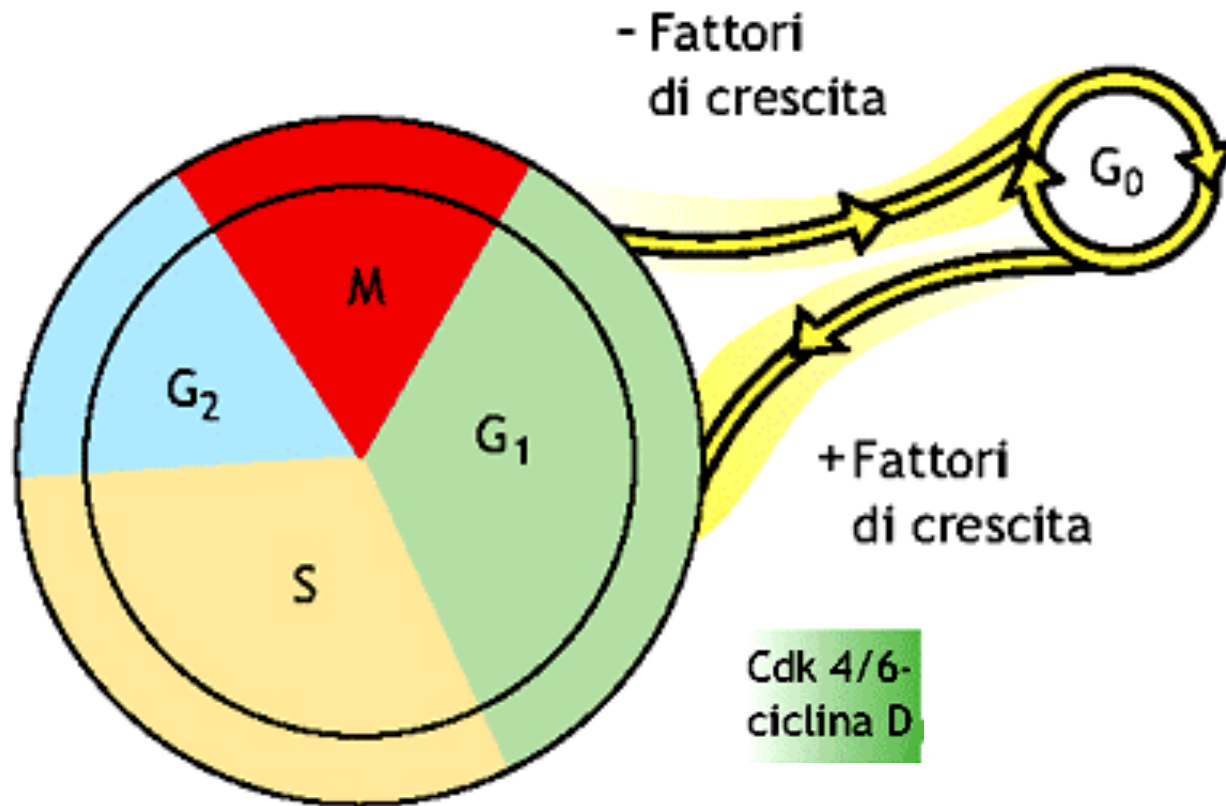
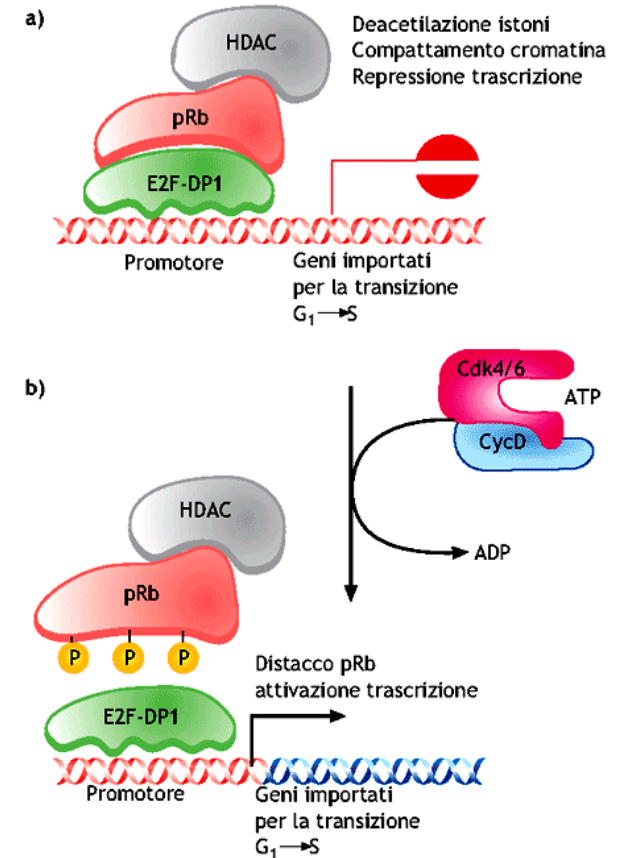
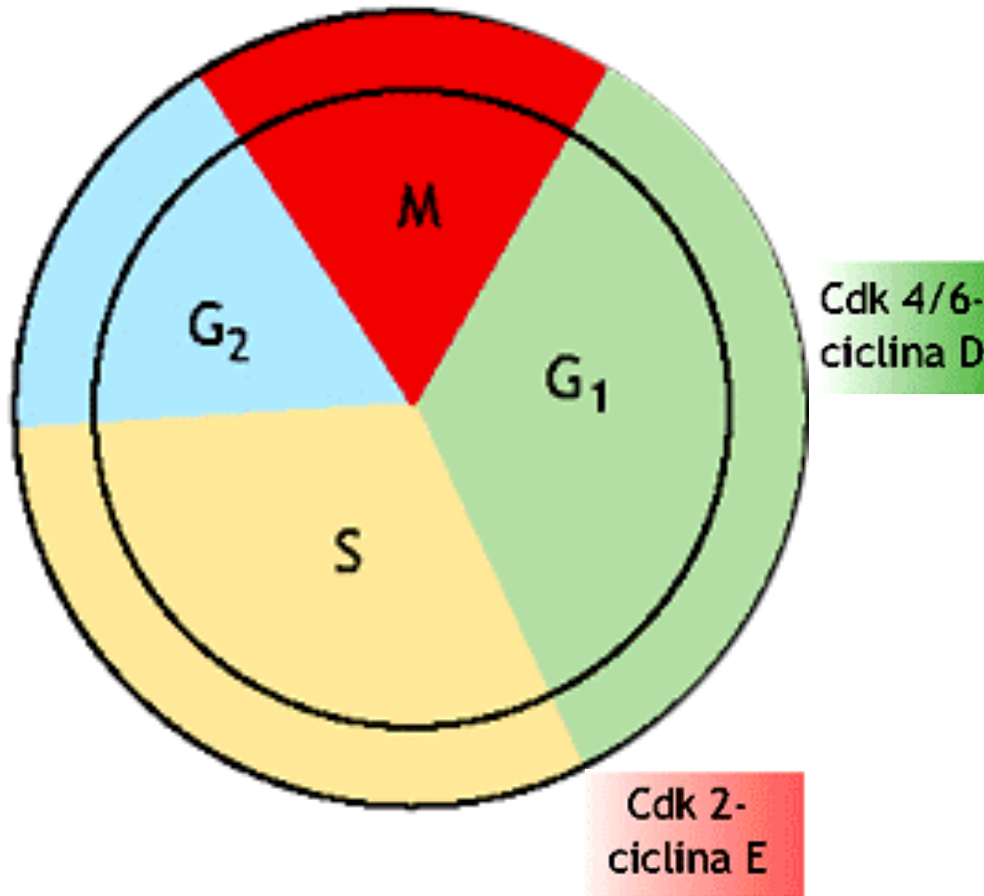


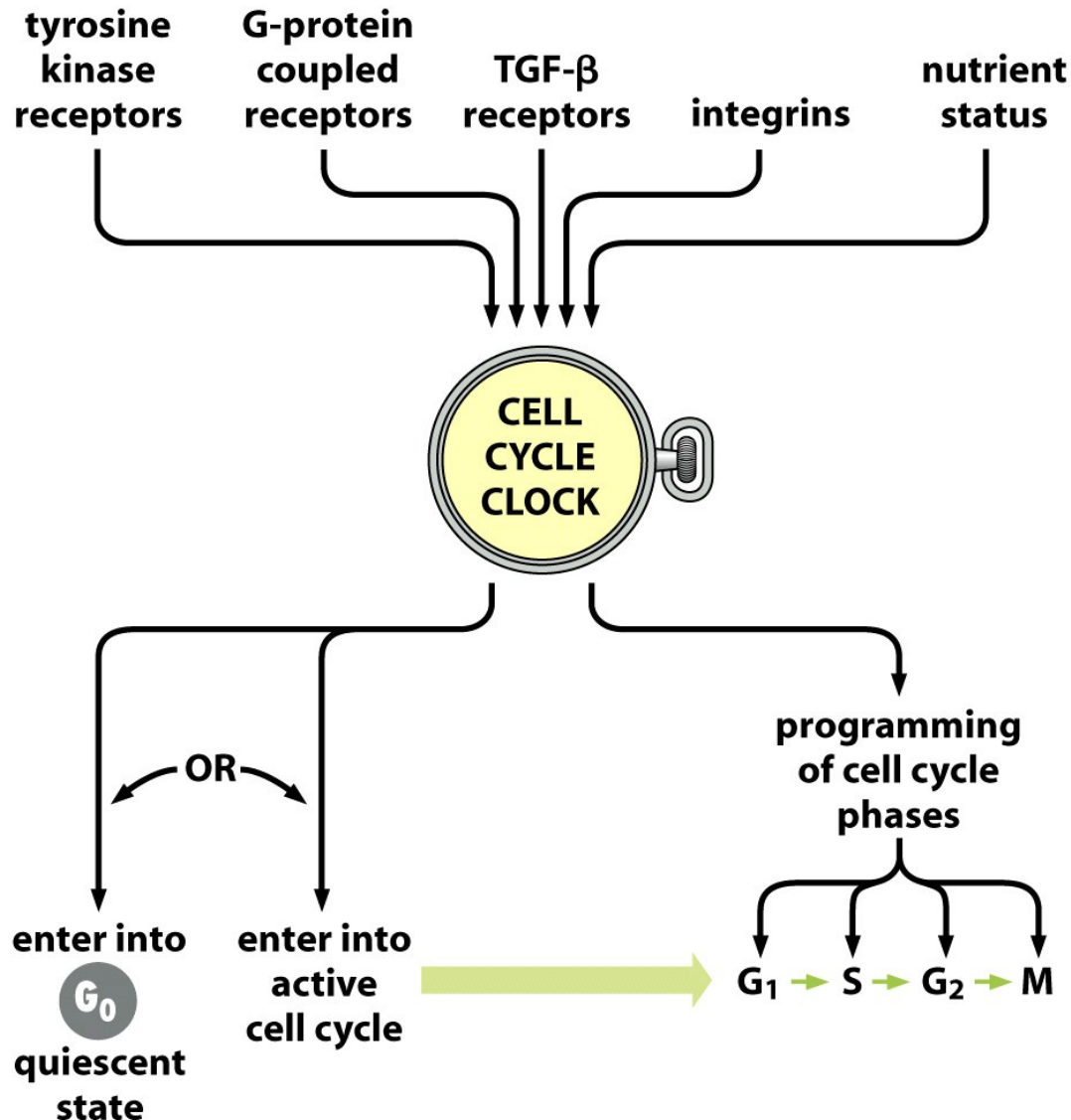
Figura 7.18 L'assenza di fattori di crescita provoca l'uscita dal ciclo cellulare e l'entrata nella fase G₀.

Complesso ciclina D/Cdk 4/6 inattiva (mediante fosforilazione) la proteina Rb e consente il passaggio alla fase S



■ **Figura 7.17** Fattore di trascrizione E2F e progressione $G_1 \rightarrow S$. In assenza di segnali che promuovono la proliferazione cellulare, quali ad esempio fattori di crescita, pRb non è fosforilata dai complessi ciclina-cdk e può legare il fattore di trascrizione E2F-DP1. (a) In questo modo pRb posiziona sui promotori legati da E2F-DP1 enzimi modificatori della cromatina quali le HDAC che causano la repressione della trascrizione a causa del compattamento locale della cromatina. Questa condizione appena descritta è quella di una cellula nella fase G_0 del ciclo cellulare. (b) Segnali che portano all'attivazione del complesso Cdk-ciclina innescano la fosforilazione di pRb ed il suo distacco da E2F-DP1. In questo modo la cromatina è meno compatta e l'RNA polimerasi può iniziare a scrivere i geni sotto il controllo di E2F.

The cell cycle clock is a network of interacting proteins that receives signals from outside and inside the cells, integrates them and decides the cell fate



Figur 8.1 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Checkpoints del ciclo cellulare: blocco della progressione del ciclo nel caso di eventi come:

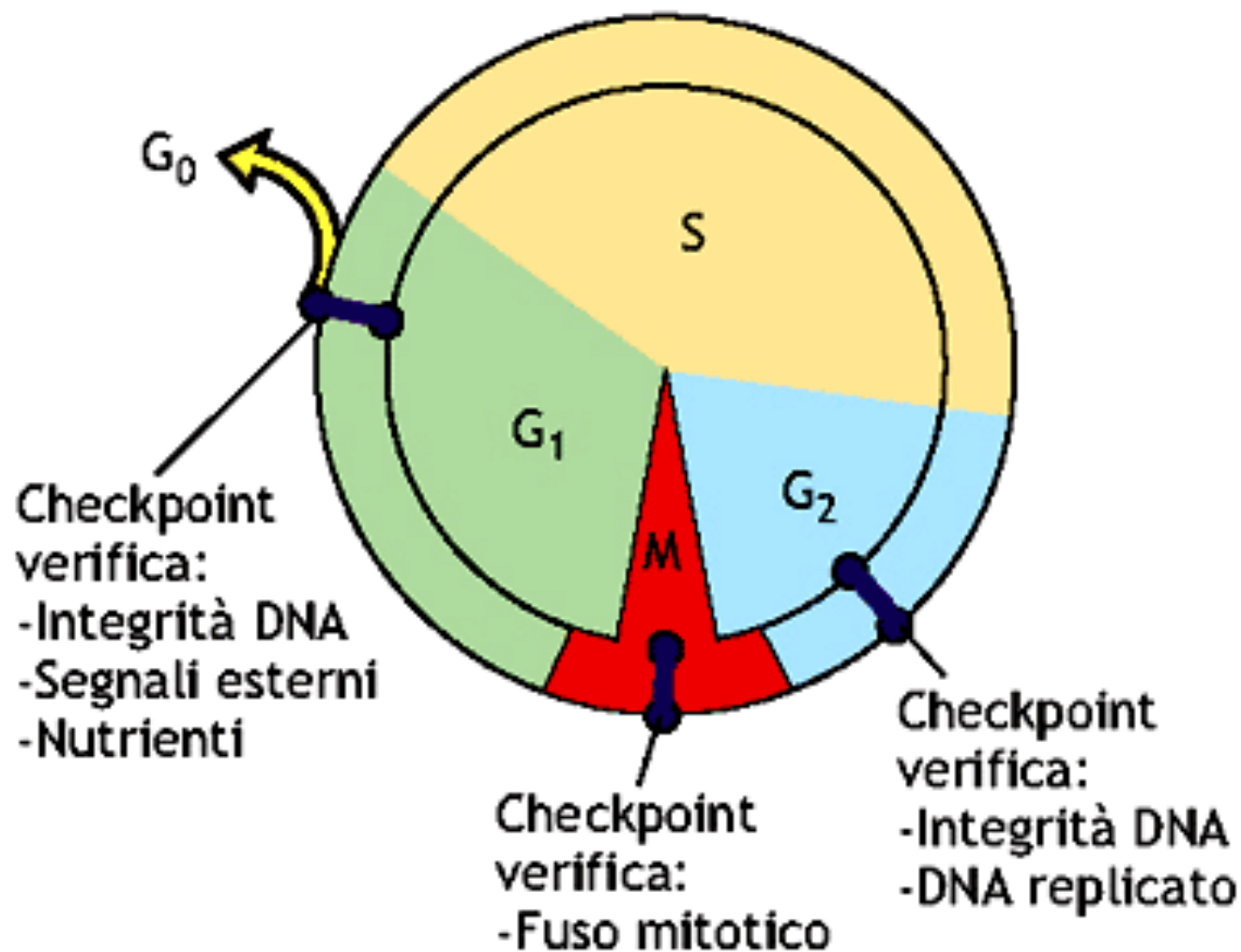
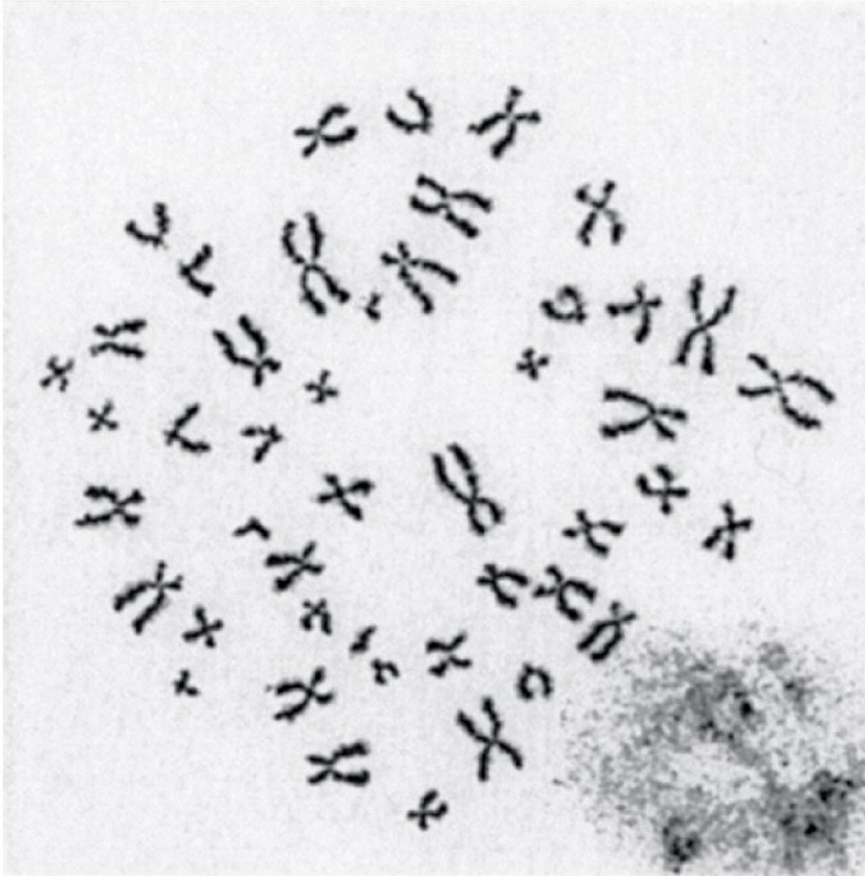


Figura 7.7 I diversi checkpoint (punti di controllo) che agiscono durante il ciclo cellulare.

Consequences of loss of checkpoints: multiple DNA replications

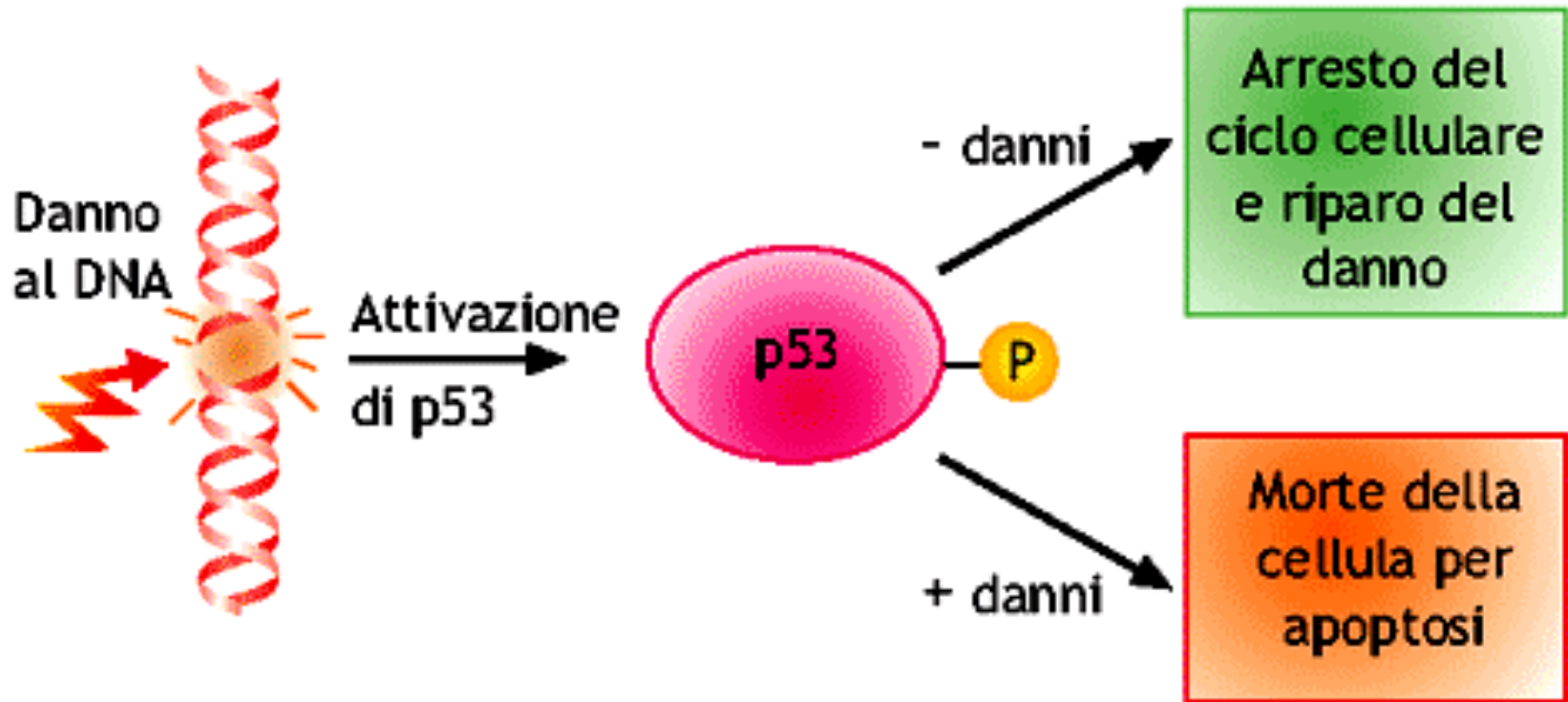
Rad7 mutation



Consequences of loss of checkpoints: chromosomes loss

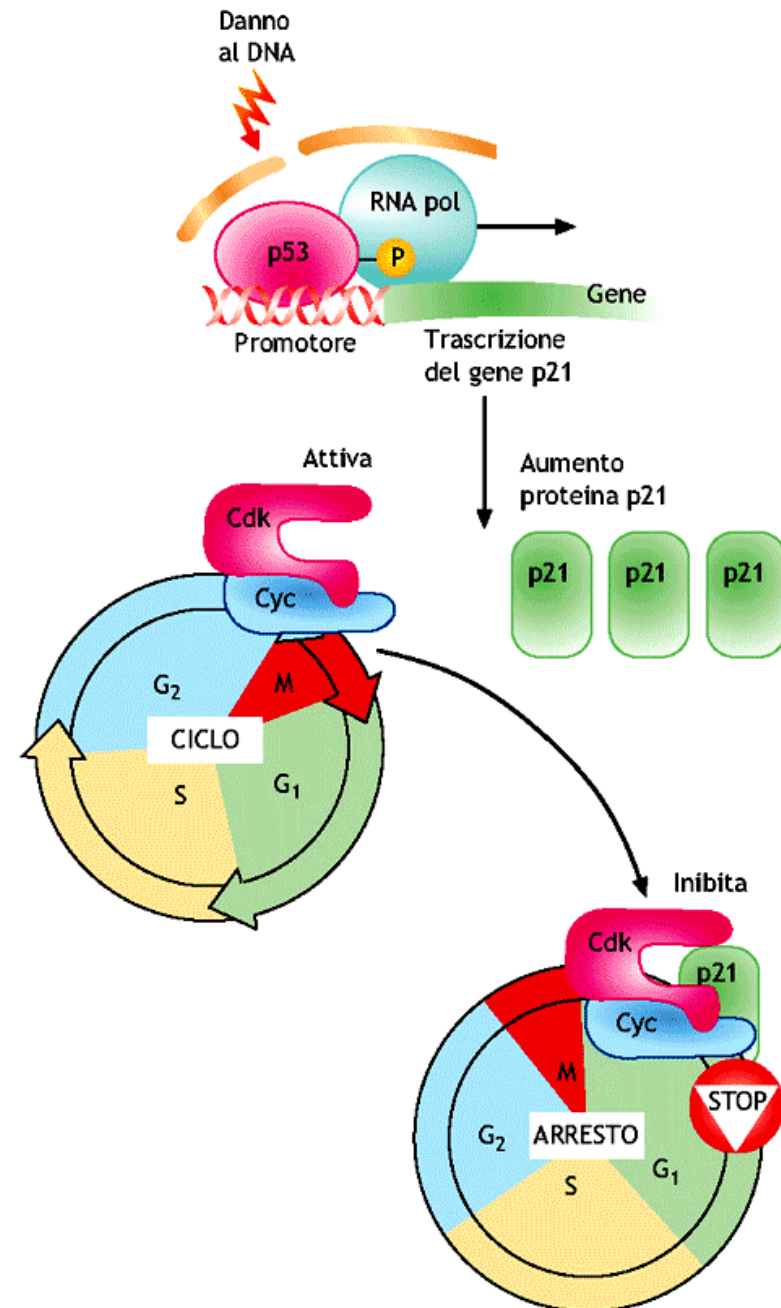


Blocco del ciclo cellulare nel caso di danni al DNA: la proteina p53



Blocco del ciclo cellulare: la proteina p21 inibisce le chinasi ciclina-dipendenti (CKI)

■ **Figura 7.22** **Gli inibitori del complesso Cdk-ciclina.** L'oncosoppressore p53, stabilizzato dal danno al DNA, si lega ai promotori di geni di rilievo nel controllo del ciclo cellulare, promuovendone la trascrizione mediata dalla RNA polimerasi. Tra questi geni c'è il gene *p21* che rende possibile l'immediato blocco del ciclo grazie al suo prodotto proteico che si lega ed inibisce diversi complessi Cdk-ciclina.

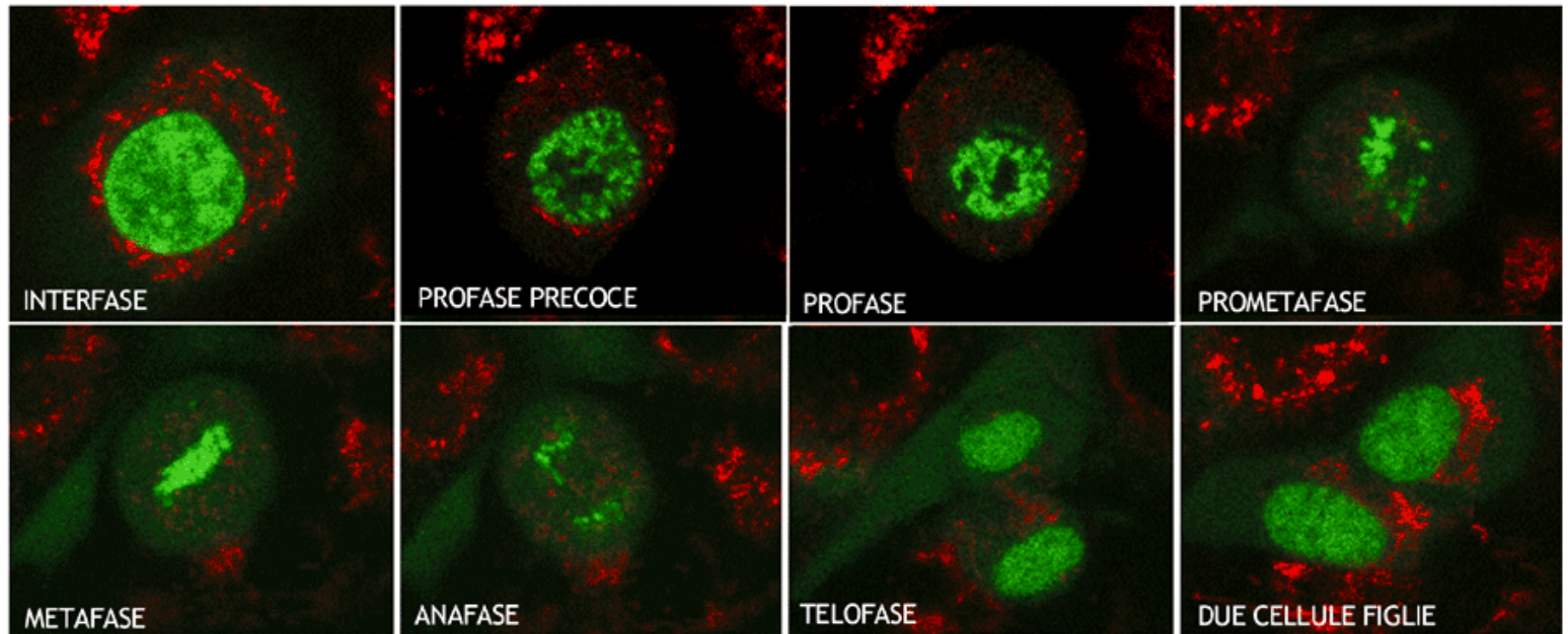


MITOSI-Slides presentate a lezione

Table 8.3 Molecular changes in human cancers leading to deregulation of the cell cycle clock

Specific alteration	Clinical result
Alterations of pRb	
Inactivation of the <i>Rb</i> gene by mutation	retinoblastoma, osteosarcoma, small-cell lung carcinoma
Methylation of <i>Rb</i> gene promoter	brain tumors, diverse others
Sequestration of pRb by Id1, Id2	diverse carcinomas, neuroblastoma, melanoma
Sequestration of pRb by the HPV E7 viral oncoprotein	cervical carcinoma
Alteration of cyclins	
Cyclin D1 overexpression through amplification of <i>cyclin D1</i> gene	breast carcinoma, leukemias
Cyclin D1 overexpression caused by hyperactivity of <i>cyclin D1</i> gene promoter driven by upstream mitogenic pathways	diverse tumors
Cyclin D1 overexpression due to reduced degradation of cyclin D1 because of depressed activity of GSK-3 β	diverse tumors
Cyclin D3 overexpression caused by hyperactivity of <i>cyclin D3</i> gene	hematopoietic malignancies
Cyclin E overexpression	breast carcinoma
Defective degradation of cyclin E protein due to loss of hCDC4	endometrial, breast, and ovarian carcinomas
Alteration of cyclin-dependent kinases	
CDK4 structural mutation	melanoma
Alteration of CDK inhibitors	
Deletion of 15 ^{INK4B} gene	diverse tumors
Deletion of 16 ^{INK4A} gene	diverse tumors
Methylation of p16 ^{INK4A} gene promoter	melanoma, diverse tumors
Decreased transcription of p27 ^{Kip1} gene because of action of Akt/PKB on Forkhead transcription factor	diverse tumors
Increased degradation of p27 ^{Kip1} protein due to Skp2 overexpression	breast, colorectal, and lung carcinomas, and lymphomas
Cytoplasmic localization of p27 ^{Kip1} protein due to Akt/PKB action	breast, esophagus, colon, thyroid carcinomas
Cytoplasmic localization of p21 ^{Cip1} protein due to Akt/PKB action	diverse tumors
Multiple concomitant alterations by Myc, N-myc or L-myc	
Increased expression of Id1, Id2 leading to pRb sequestration	diverse tumors
Increased expression of cyclin D2 leading to pRb phosphorylation	diverse tumors
Increased expression of E2F1, E2F2 E2F3 leading to expression of cyclin E	diverse tumor
Increased expression of CDK4 leading to pRb phosphorylation	diverse tumors
Increased expression of Cul1 leading to p27 ^{Kip1} degradation	diverse tumors
Repression of p15 ^{INK4B} and p21 ^{Cip1} expression allowing pRb phosphorylation	diverse tumors

Fasi della mitosi

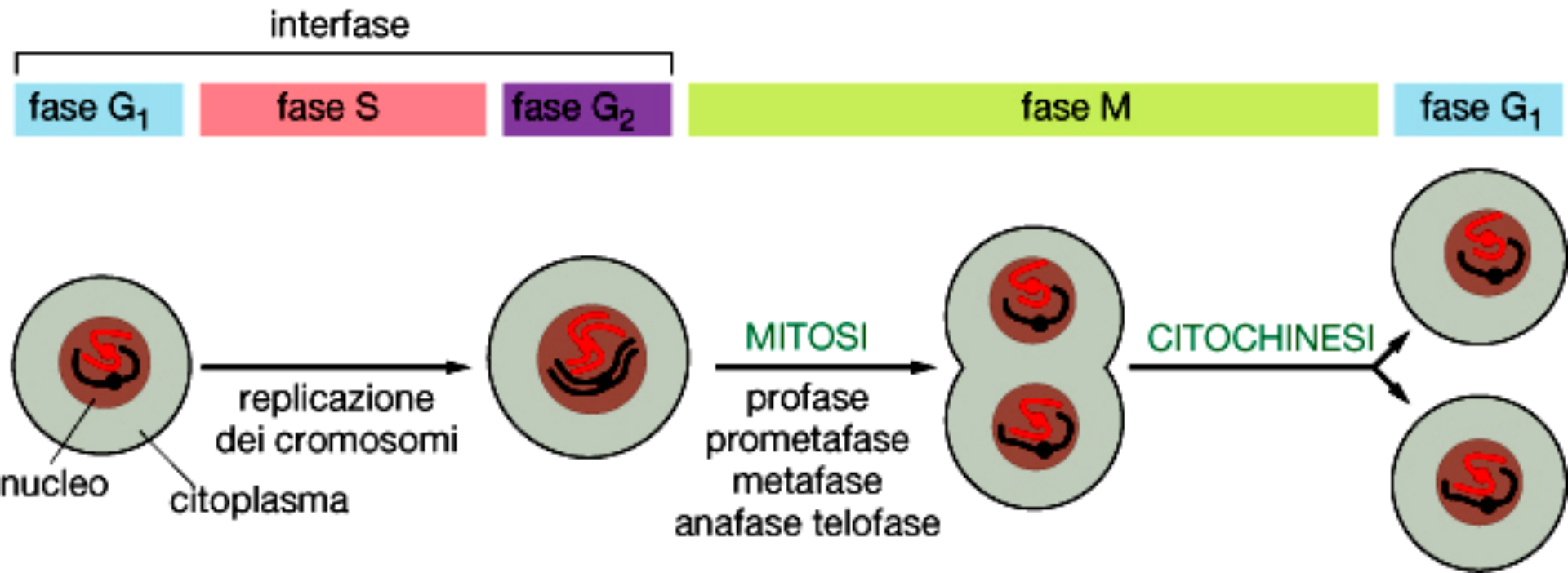


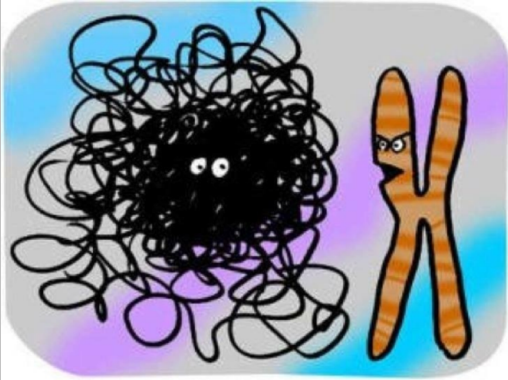
■ **Figura 7.23 La microscopia confocale a fluorescenza.** La tecnica del time-lapse permette di registrare l'evoluzione di un fenomeno biologico dal vivo, acquisendo ad intervalli regolari immagini dello stesso campione lungo un certo numero di ore ed ottenendo così una sequenza relativamente fluida del fenomeno studiato. In questo caso le immagini rappresentano una cellula esprime la proteina istonica H1 fusa alla GFP (Green Fluorescent Protein), una proteina fluorescente della medusa *Aequorea victoria* che emette una fluorescenza verde se eccitata ad una particolare lunghezza d'onda. La fusione viene eseguita a livello dei cDNA generando un nuovo gene chimerico. Il gene è clonato in un vettore idoneo per l'espressione in cellule di mammifero ed introdotto all'interno delle cellule con la tecnica della microiniezione nucleare. Questa strategia permette di evidenziare indirettamente il DNA delle cellule (colore verde dell'istone che si lega al DNA). In rosso, invece sono evidenziati i mitocondri con un colorante cationico, la tetra-metil-rodamina (TMRM), che si accumula specificatamente in questi organelli attratta dal potenziale di membrana ed emette fluorescenza rossa se eccitata ad una particolare lunghezza d'onda. Le diverse fasi della mitosi sono indicate. Si osservano: il compattamento dei cromosomi in profase, l'allineamento dei cromosomi in piastra in metafase ed il loro trascinarsi verso i poli nell'anafase.

https://www.youtube.com/watch?v=L61Gp_d7evo

https://www.youtube.com/watch?v=L61Gp_d7evo

La cellula si prepara alla mitosi durante l'interfase: replicazione dei cromosomi in fase S

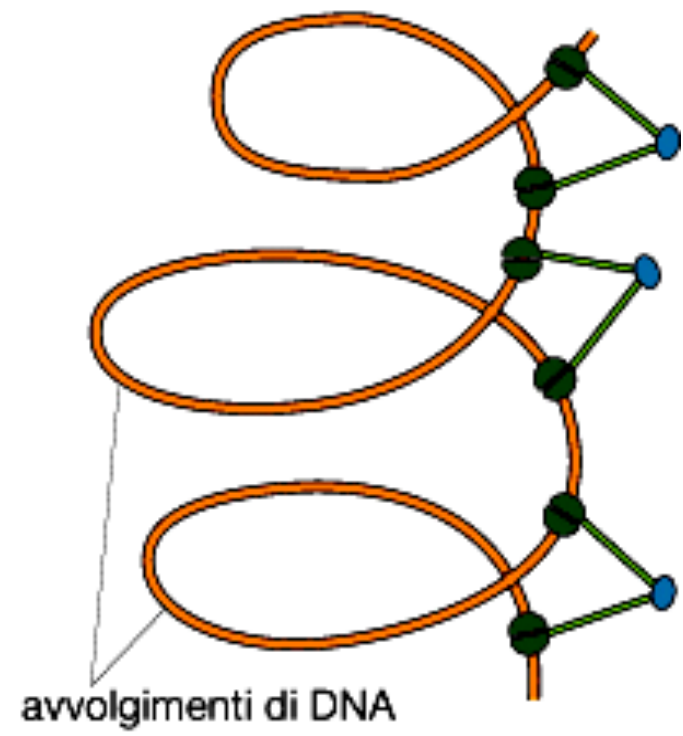
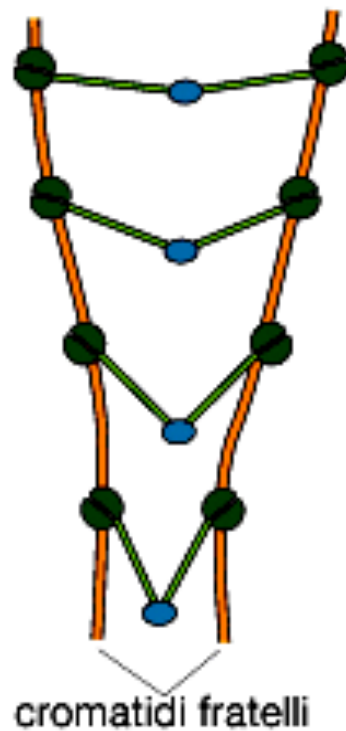
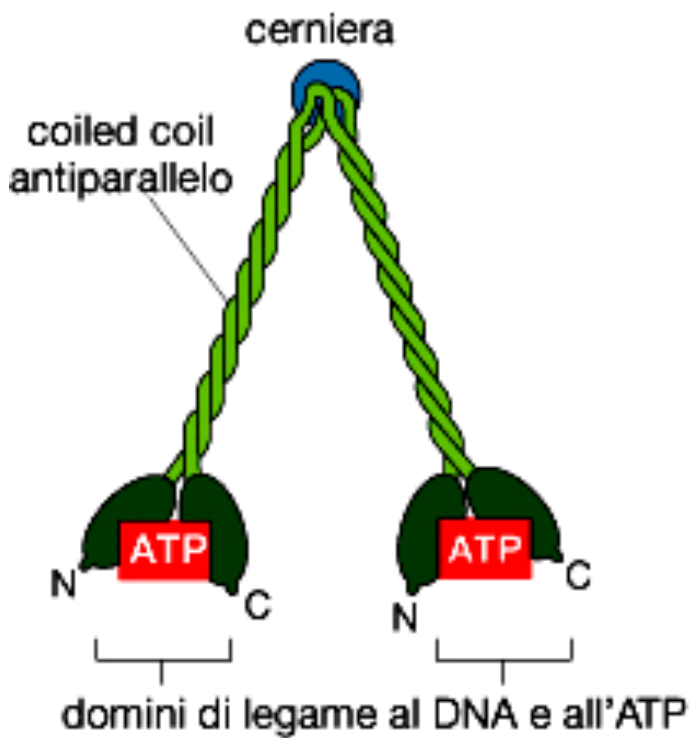




Dude, mitosis starts in five minutes...
I can't believe you're not condensed yet.

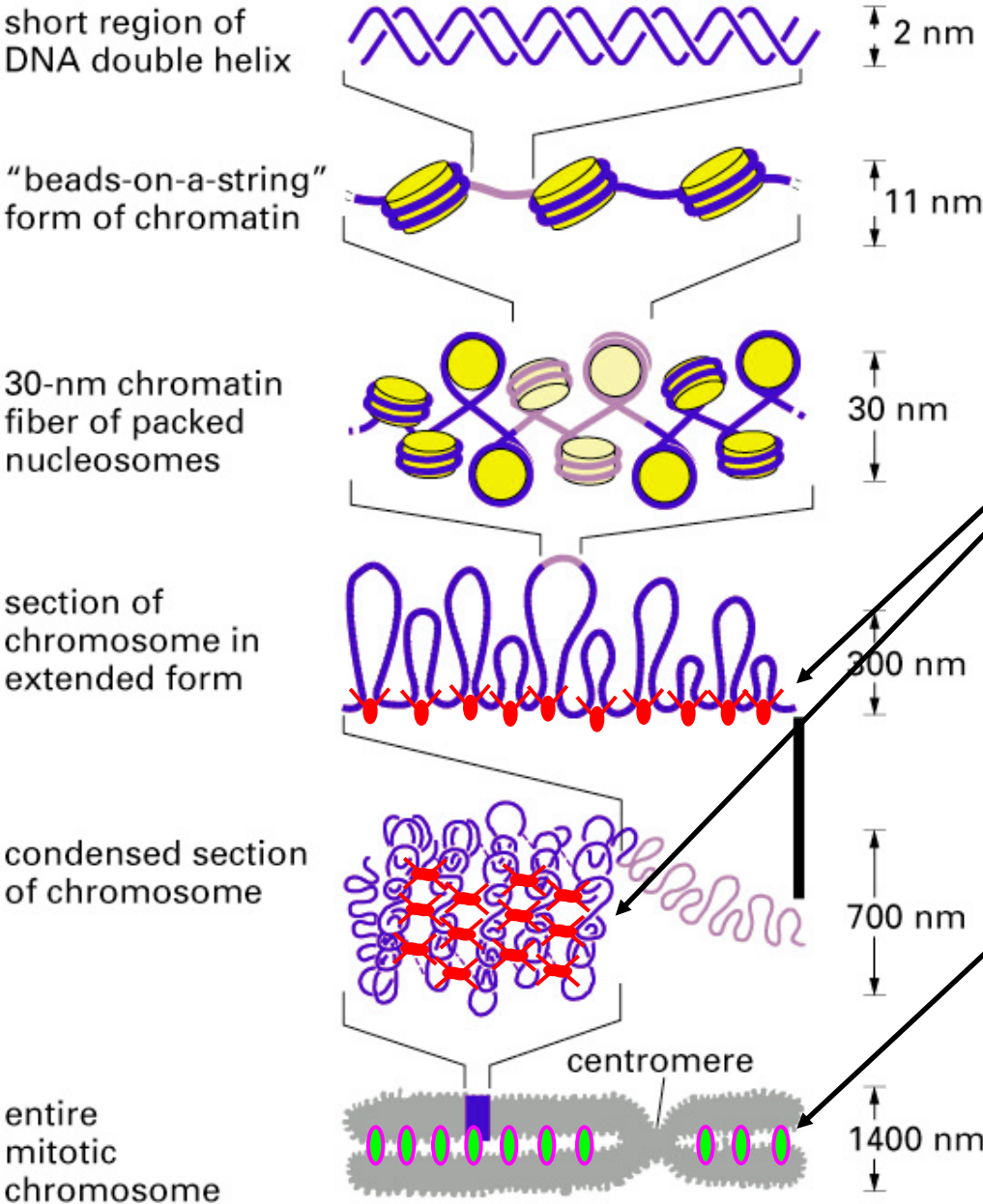
Profase

- **Compattamento dei cromosomi** iniziato da cdk1 attraverso la fosforilazione delle condensine
- **Ogni cromosoma è costituito da due cromatidi fratelli** uniti tramite le **coesine** che rimarranno poi solo a livello dei centromeri



Le *condensine* e le *coesine* hanno struttura e funzione correlate:

Entrambe le proteine hanno domini di legame all'DNA e all'ATP identici ad un'estremità e una regione di cerniera nell'altra, collegate da due regioni lunghe e a "coiled-coil". Questa struttura flessibile è ben adatta per il loro ruolo come molecole che formano legami incrociati

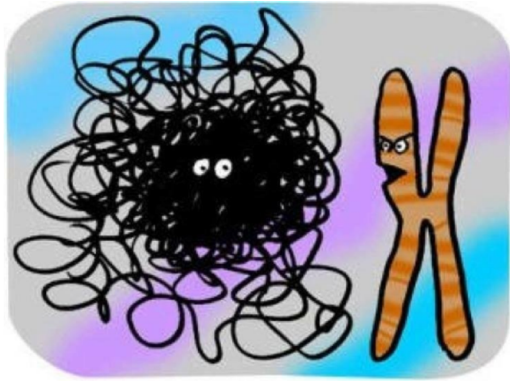


Condensin is Required for Chromosome Compaction

Cohesin is Required for Chromosome Compaction

NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

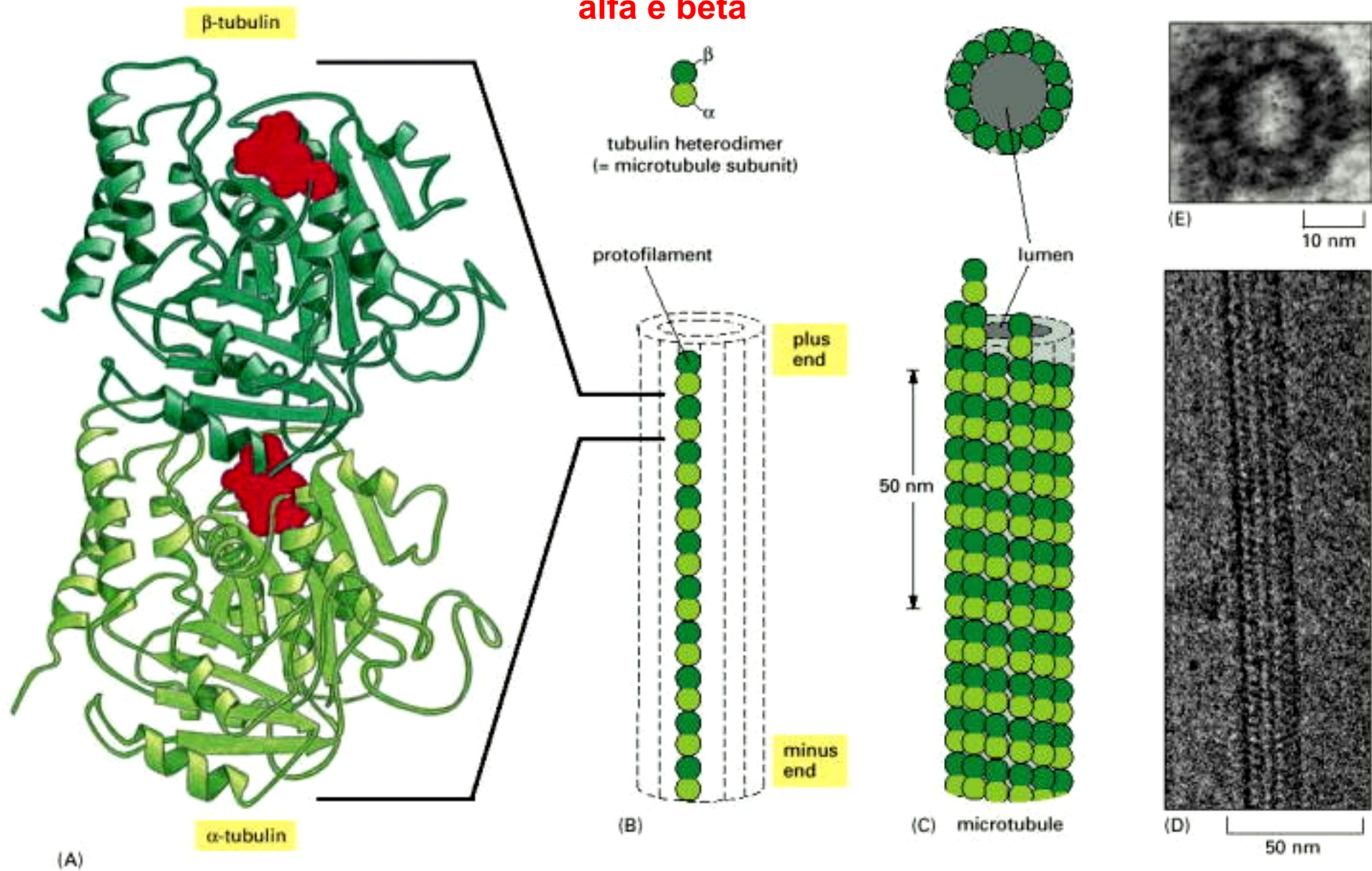


Dude, mitosis starts in five minutes...
I can't believe you're not condensed yet.

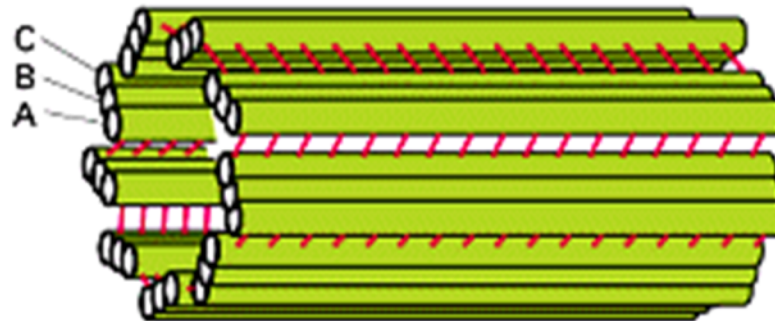
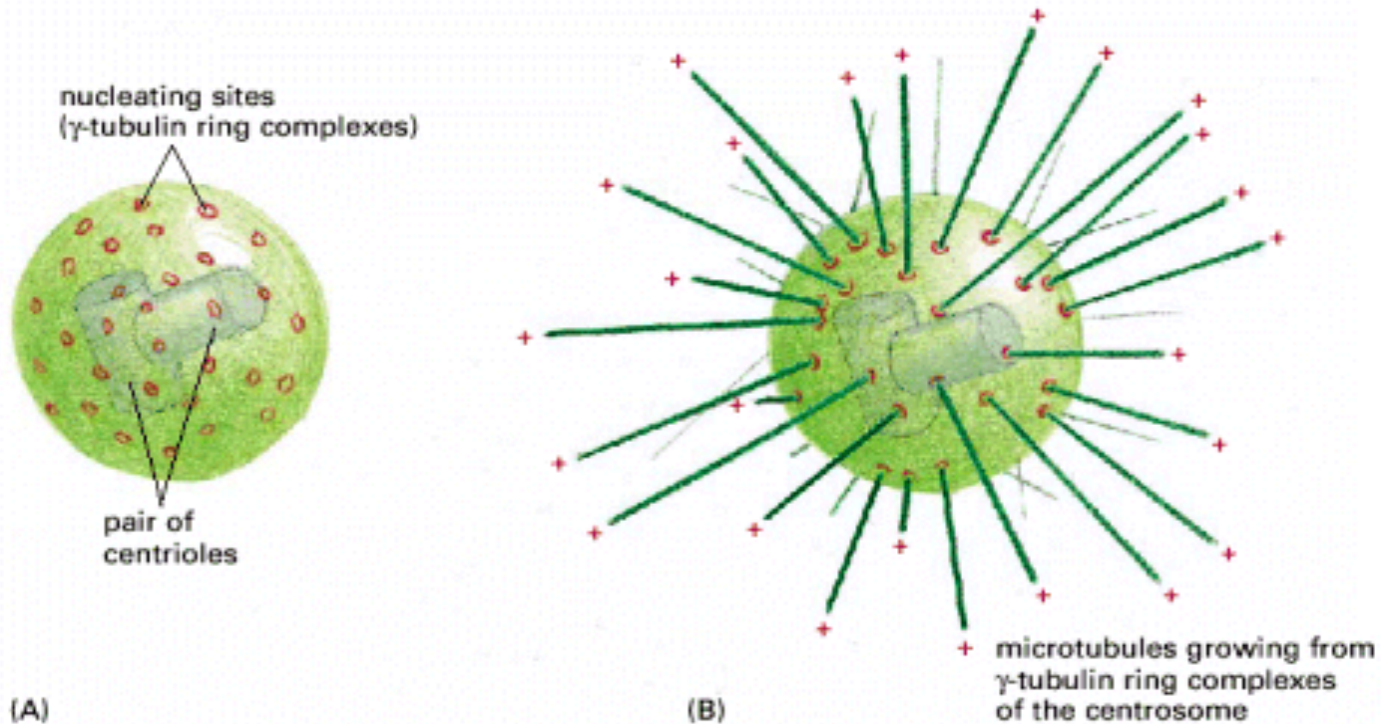
Profase

- **Contemporaneamente la struttura del citoscheletro collassa** (ad opera della fosforilazione da parte di cdk1)
- **Lamina nucleare si dissolve** (fosforilazione cdk1)
- **Anche gli altri organelli** si frammentano in vescicole (per assicurare l'equa distribuzione tra le cellule figlie)

Microtubuli sono formati da 13 filamenti costituiti da eterodimeri di tubulina alfa e beta



Il centrosoma che organizza il fuso mitotico che è costituito dai microtubuli

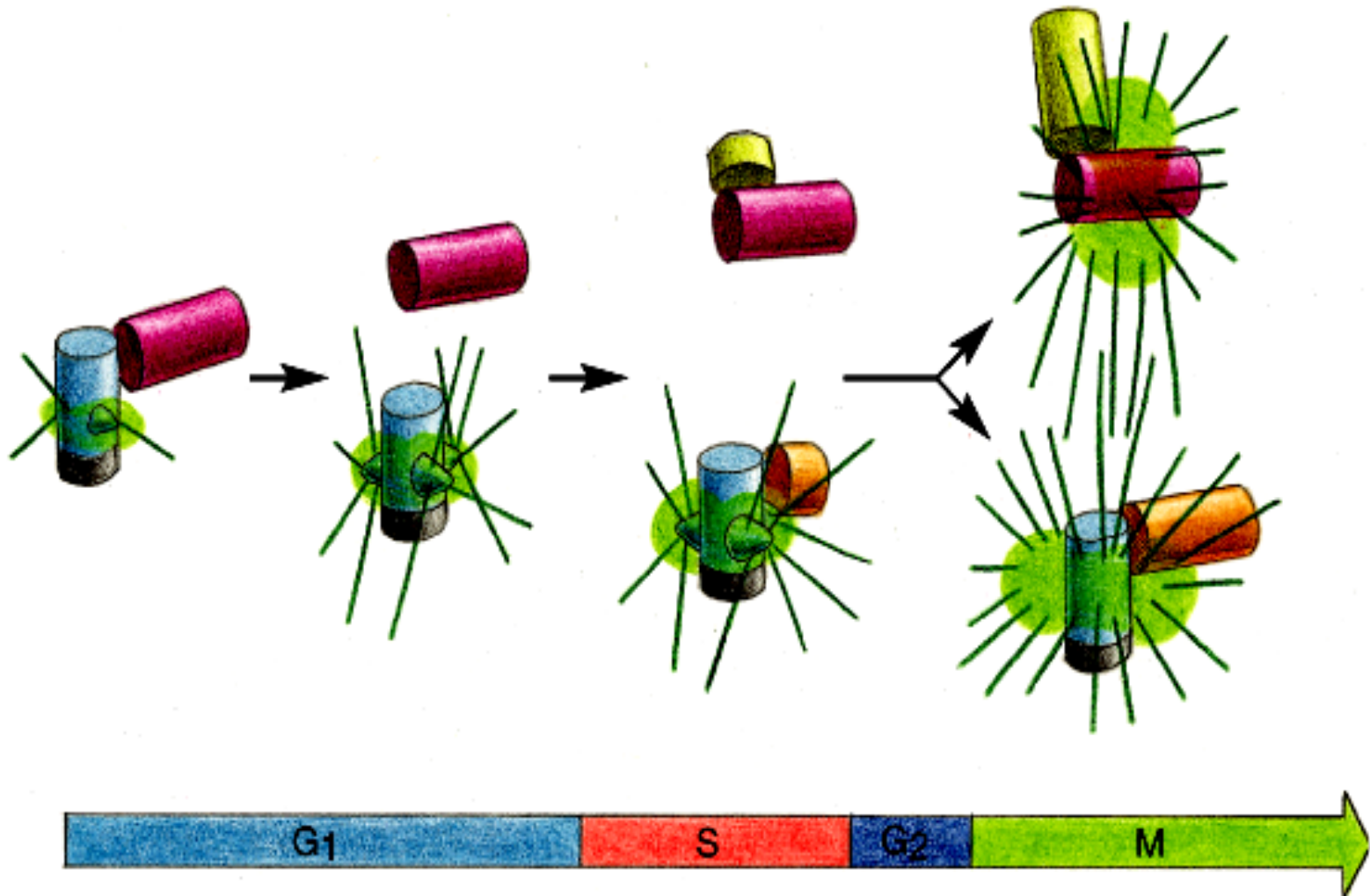


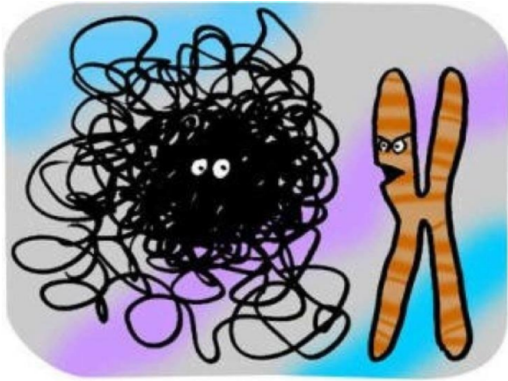
(centrioli costituiti da 9 triplette di microtubuli)

Il centrosoma è costituito da due centrioli immersi in una matrice proteica da cui si formano i microtubuli (polimerizzano in direzione della membrana plasmatica)

La cellula si prepara alla mitosi durante l'interfase: duplicazione del centriolo in fase S

La cdk che innesca la replicazione del DNA nella fase S, attiva anche la duplicazione del centriolo



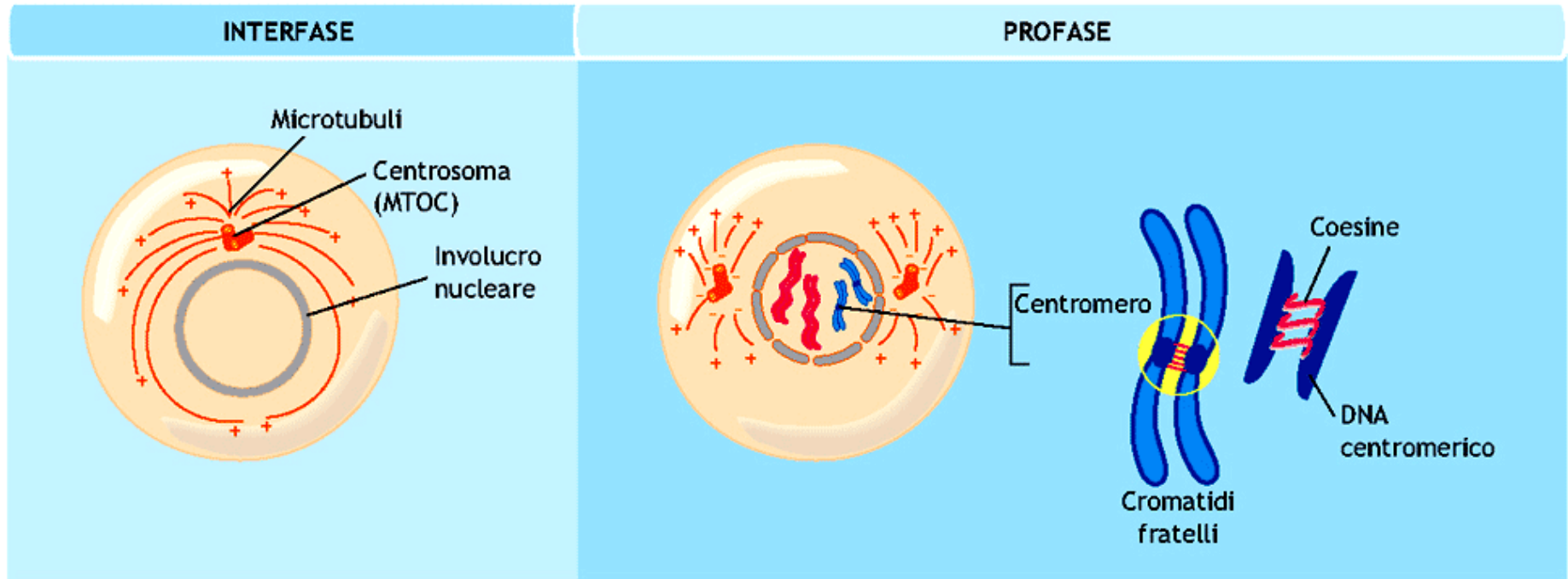


Dude, mitosis starts in five minutes...
I can't believe you're not condensed yet.

Profase

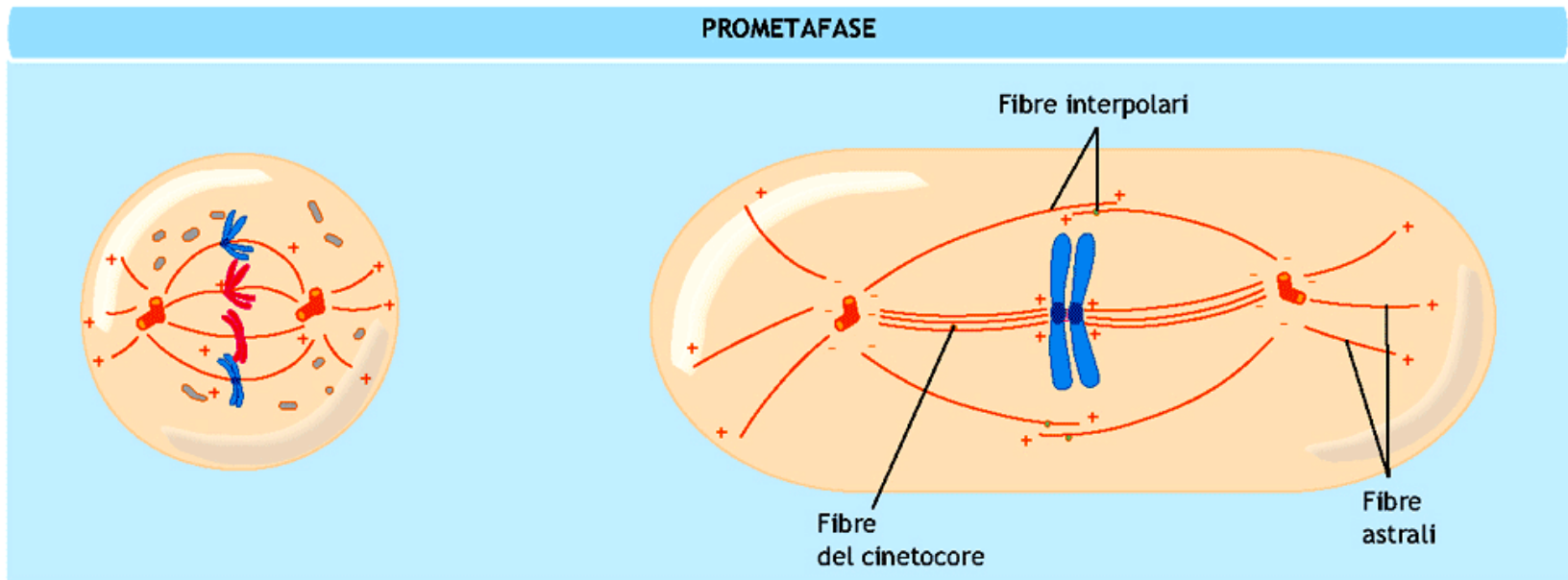
- i due centrosomi (o MTOC , microtubule organizing center) si separano per organizzare i due poli del fuso mitotico.
- Inizia ad organizzarsi il fuso mitotico **che garantisce l'equa ripartizione dei cromosomi**

Profase



■ **Figura 7.24** Differenze tra una cellula in interfase ed una in profase nell'organizzazione dei cromosomi, dei centrioli, dei microtubuli e dell'involucro nucleare. Da ricordare la polarità dei microtubuli con la distribuzione ordinata delle estremità positive lontane dai centrioli. L'ingrandimento illustra l'interazione tra i cromatidi fratelli che si esplica a livello del centromero attraverso il coinvolgimento della coesina.

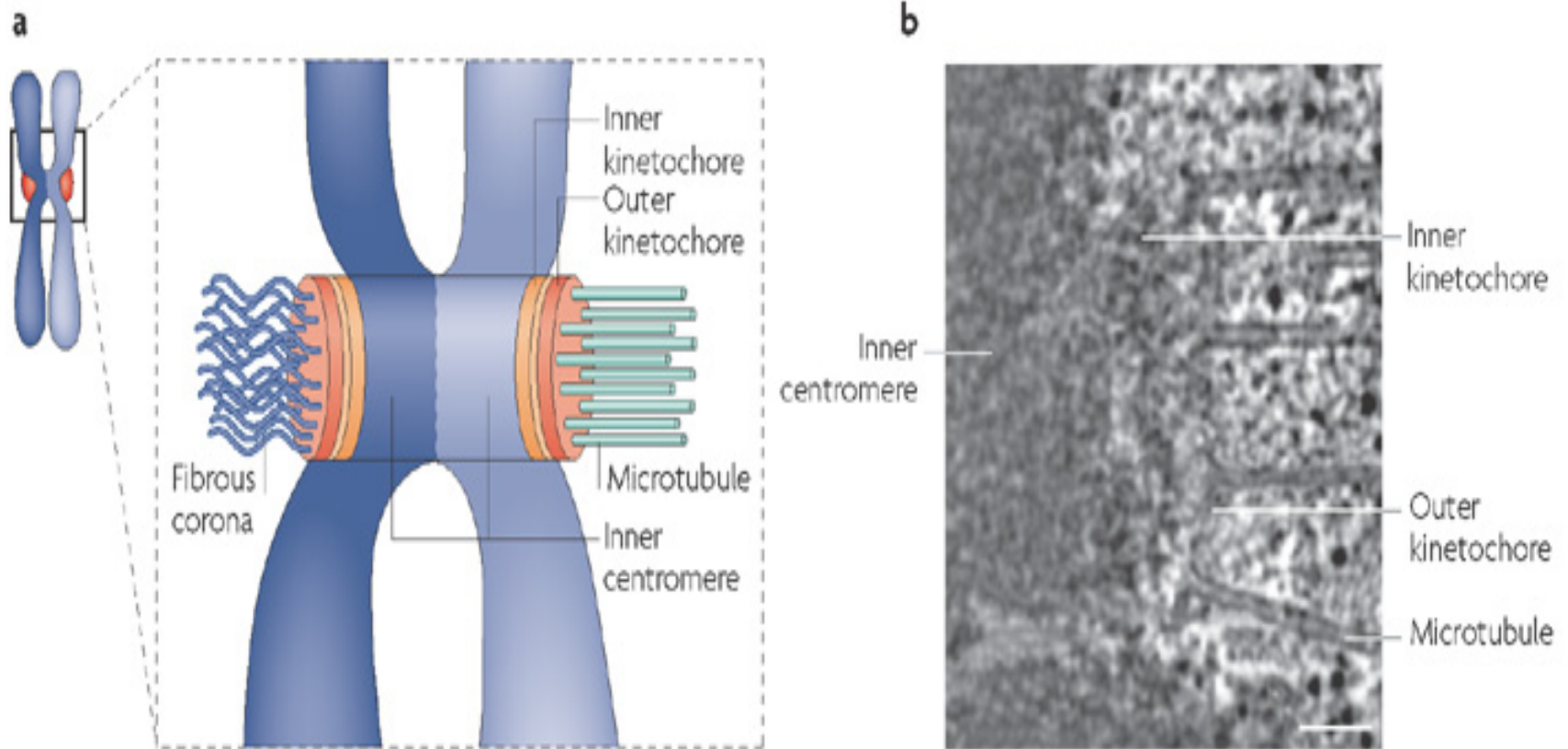
Prometafase



■ **Figura 7.25** Cambiamenti nell'organizzazione dei cromosomi e dei microtubuli nella cellula in prometafase. Viene evidenziato il fuso mitotico nelle sue diverse componenti. Dai poli del fuso, formati dai due centrioli si dipartono: le fibre del cinetocore, che entrano in contatto con i cromosomi a livello dei centromeri, le fibre astrali, che mediano i rapporti con il cortex cellulare, e le fibre interpolari, che stabiliscono contatti con i microtubuli provenienti dal polo opposto del fuso.

- L'avvio della prometafase coincide con la frammentazione della membrana nucleare
- Il citoscheletro collassa e si delinea il fuso mitotico formato da:
 - **Fibre astrali** che vanno dal polo verso il cortex **per allungamento del fuso** che viene trascinato verso la periferia
 - **Fibre cinetocore** che si legano al **cinetocore**
 - **Fibre interpolari** che partono dai poli e si sovrappongono all'equatore portano ad allungamento del fuso **per allontanare i cromosomi**

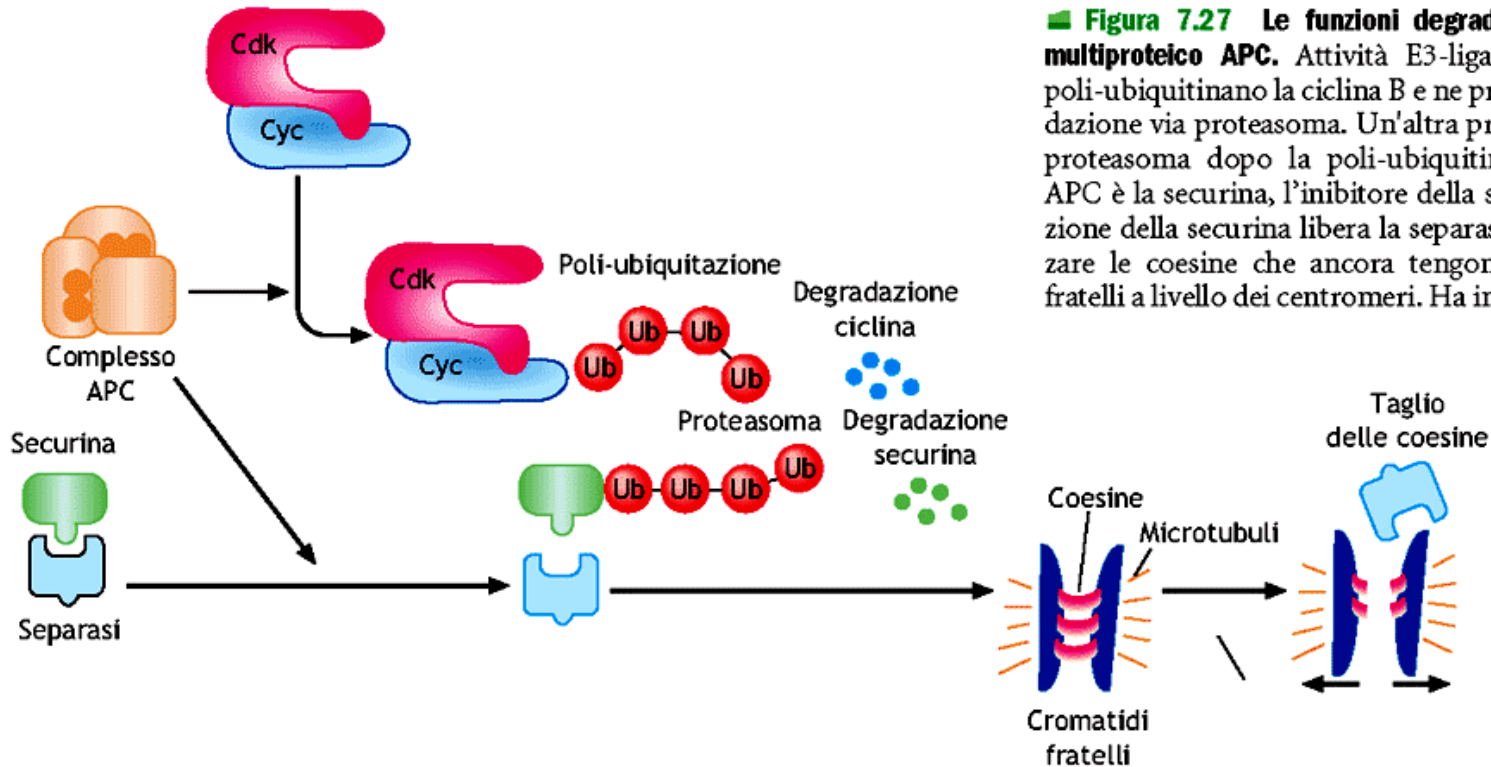
Fibre del cinetocore si legano al cinetocore una placca proteica nel centromero



Metafase

- I cromosomi sono allineati in posizione mediana rispetto ai due poli del fuso a formare **la piastra metafasica**
- In questa fase i cromatidi fratelli sono ancora tenuti insieme dalle coesine mentre le fibre del fuso tendono a separarli
- **Attivo il checkpoint che assicura che il fuso sia pronto e che tutti i cromosomi siano sul fuso**
- Se tutto è in regola viene attivata Anaphase Promoting Complex (APC) e si passa all'anafase

APC causa degradazione della securina che blocca le separasi (proteolizzano le coesine)

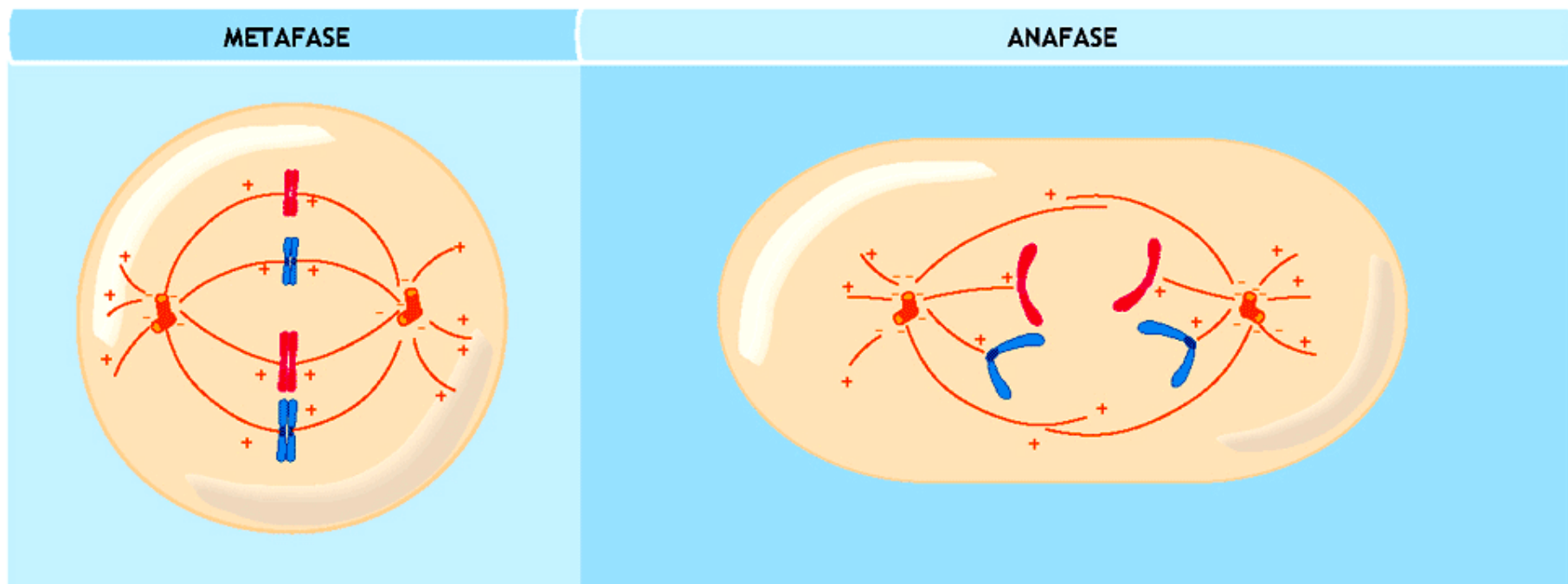


■ **Figura 7.27** Le funzioni degradative del complesso multiproteico APC. Attività E3-ligasi presenti in APC poli-ubiquitinano la ciclina B e ne promuovono la degradazione via proteasoma. Un'altra proteina degradata dal proteasoma dopo la poli-ubiquitinazione mediata da APC è la securina, l'inibitore della separasi. La degradazione della securina libera la separasi che può proteolizzare le coesine che ancora tengono uniti i cromatidi fratelli a livello dei centromeri. Ha inizio l'anafase.

Anafase

- APC: induce la degradazione delle coesine
- APC: induce degradazione della Ciclina B e pertanto inibizione di cdk1
- I cromatidi fratelli si separano e migrano (molto velocemente) verso le estremità del polo

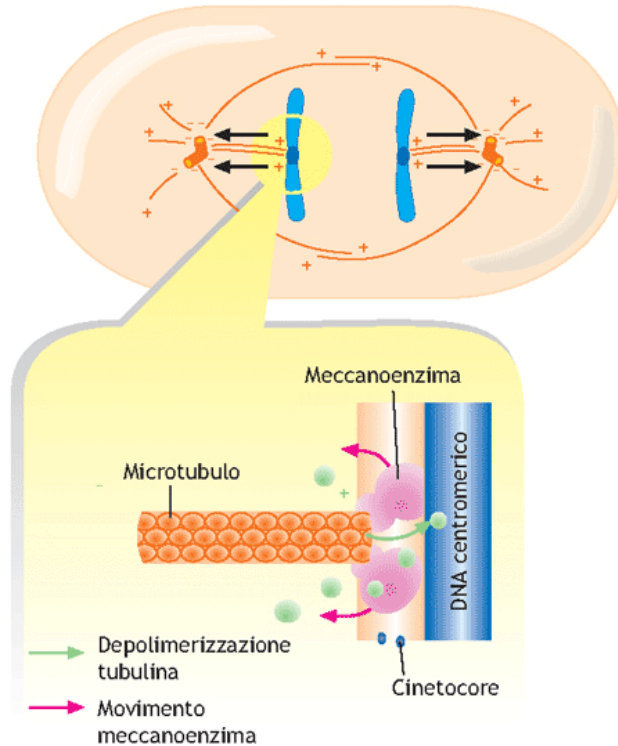
Metafase, Anafase



■ **Figura 7.26** Cambiamenti nella distribuzione dei cromosomi in metafase ed anafase. In metafase i cromatidi fratelli, ancora uniti dalla coesina, sono posizionati in piastra metafasica. Con l'anafase ha inizio la corsa dei cromatidi fratelli verso i poli opposti del fuso.

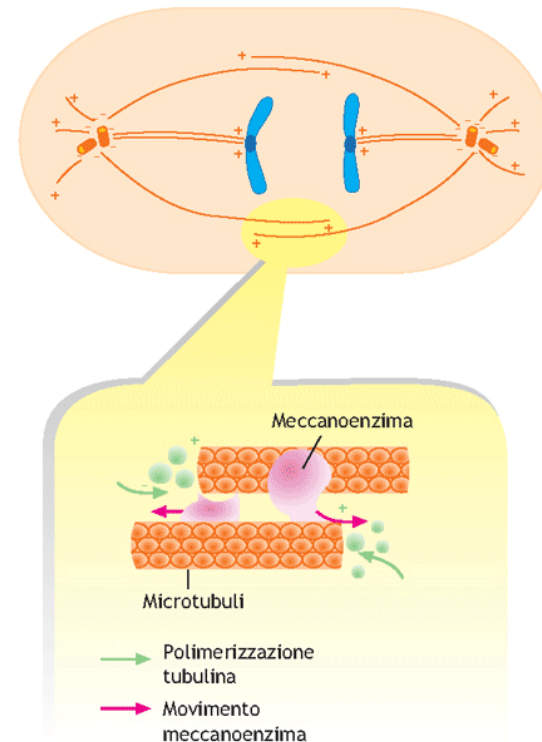
I cambiamenti dei microtubuli in anafase

ANAFASE A: SI ACCORCIANO LE FIBRE DEL CINETOCORE



■ **Figura 7.28** I cambiamenti nei microtubuli e l'azione dei meccanoenzimi nell'anafase A. I cromosomi si muovono rapidamente verso i poli opposti del fuso. L'ingrandimento evidenzia i cambiamenti a livello delle fibre del cinetocore. La freccia verde rimarca la depolimerizzazione di tubulina dall'estremità positiva delle fibre del cinetocore. La freccia rossa mette in risalto il movimento dei meccanoenzimi (chinesine mitotiche) verso l'estremità negativa dei microtubuli.

ANAFASE B: SI ALLUNGANO LE FIBRE INTERPOLARI



■ **Figura 7.29** I cambiamenti nei microtubuli e l'azione dei meccanoenzimi nell'anafase B. I poli opposti del fuso si allontanano e la cellula si allunga. L'ingrandimento evidenzia i cambiamenti a livello della zona equatoriale di sovrapposizione delle fibre interpolari. La freccia verde rimarca la polimerizzazione della tubulina all'estremità positiva delle fibre interpolari ed il conseguente allungamento delle stesse. La freccia rossa mette in risalto l'azione di spinta reciproca dei meccanoenzimi sui microtubuli opposti, che tende ad allontanarli, separando così i poli del fuso.

Telofase

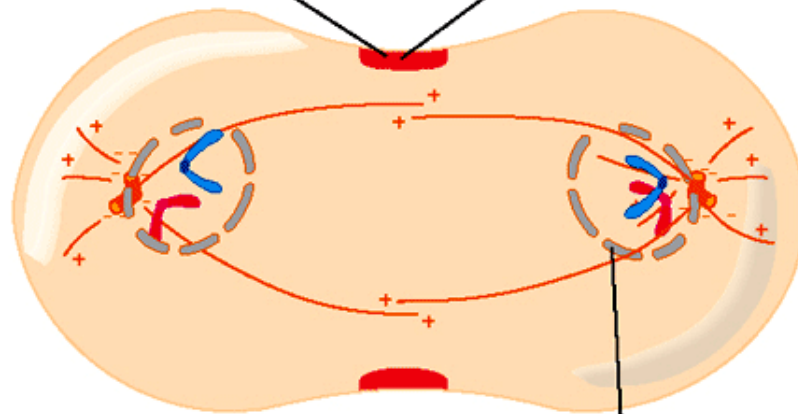
- Ogni cromatidio fratello si è portato alle due opposte regioni della cellula
- Si riforma la membrana nucleare con i pori nucleari
- Gli organelli che si erano frammentati per consentire equa distribuzione tra le cellule figlie, si riorganizzano nella struttura interfase
- I cromosomi gradualmente si decondensano
- Inizia ad invaginarsi la membrana plasmatica perpendicolarmente all'asse del fuso in una zona equidistante dai poli della cellula

Telofase

TELOFASE

Invaginazione
della membrana
plasmatica

Inizia ad evidenziarsi
l'anello contrattile



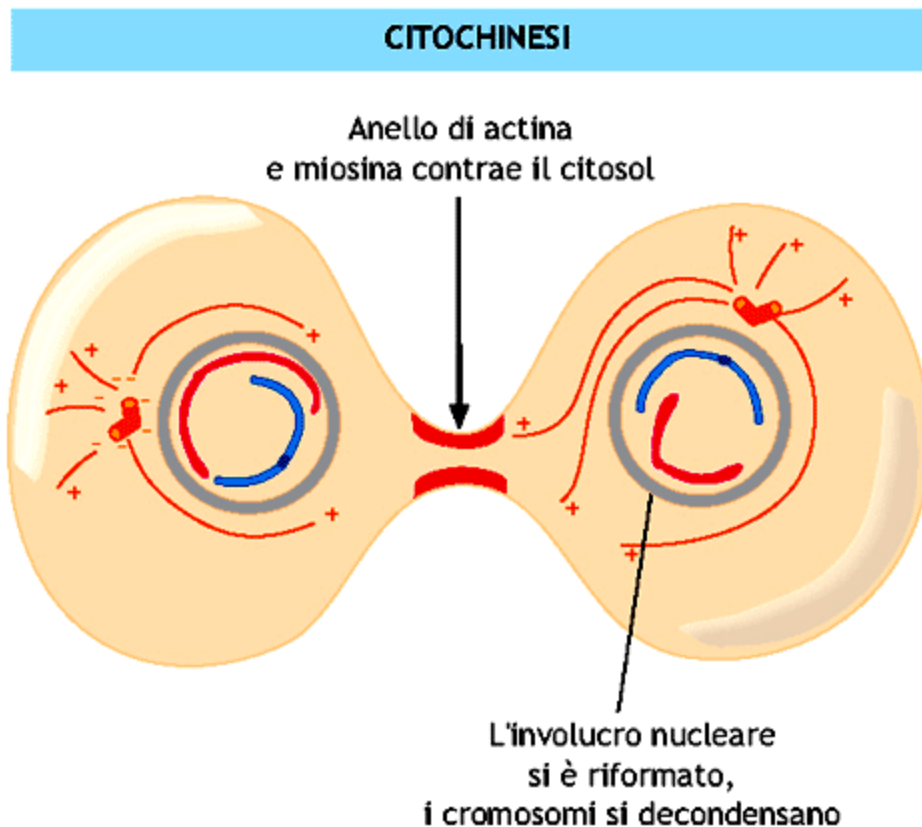
Si riorganizza
l'involucro
nucleare

■ **Figura 7.30** Cambiamenti della distribuzione dei cromosomi in telofase. Presso un'invaginazione della membrana plasmatica, nella zona equatoriale, si incomincia ad organizzare l'anello contrattile.

Citochinesi

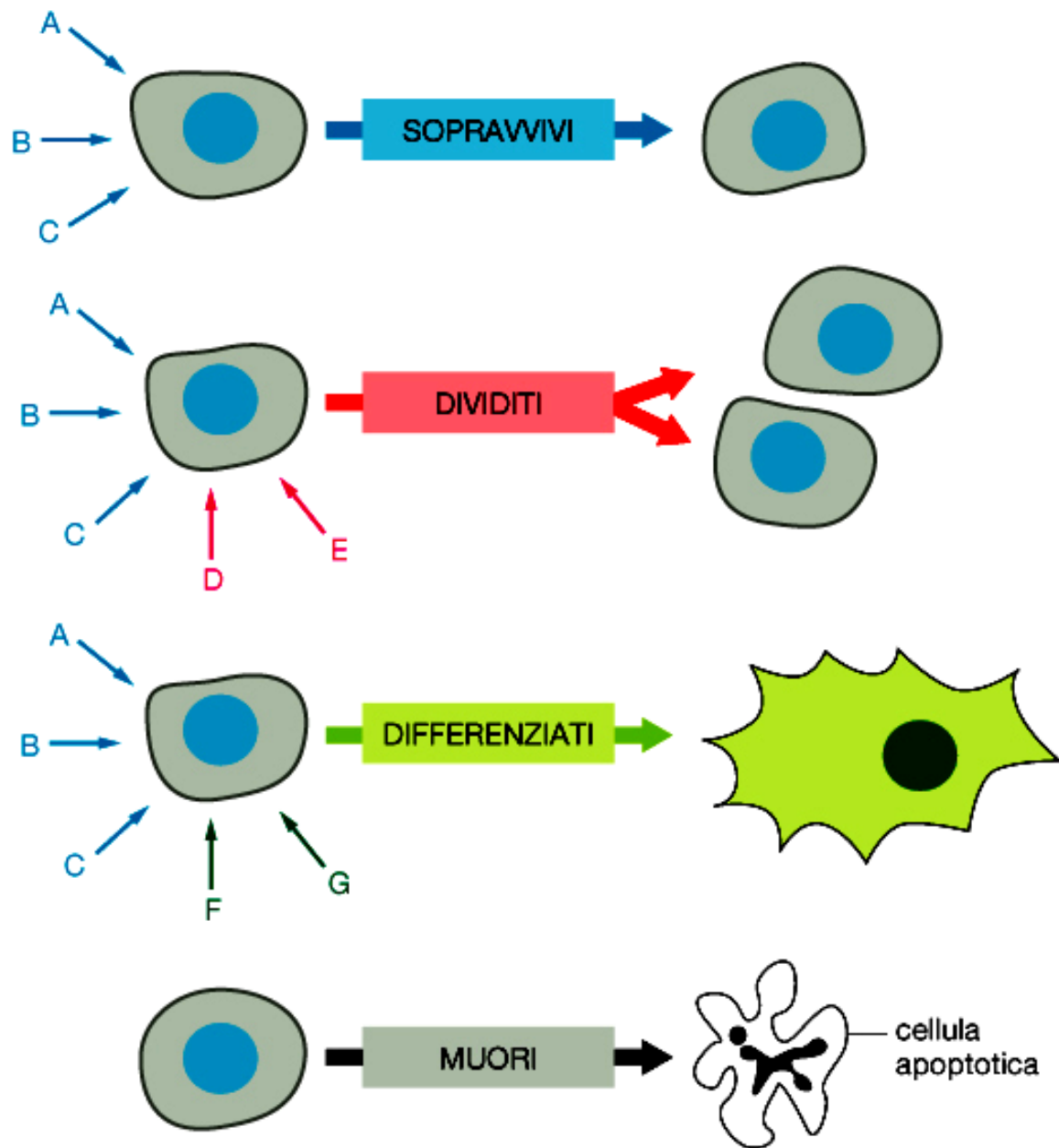
- Il solco che si è iniziato a formare durante la telofase continua ad invaginarsi perpendicolarmente all'asse che separa i due poli del fuso
- Il sistema dei microfilamenti (actina e miosina) formerà un anello contrattile che causerà la contrazione del citoplasma e la separazione in due della cellula

Citochinesi



■ **Figura 7.31** Nella citochinesi l'azione continua dell'anello contrattile provoca la separazione in due del citoplasma che fissa la formazione di due nuove cellule. Attorno ai due poli del fuso, dove sono giunti al termine della loro corsa i cromosomi, si riorganizza l'involucro nucleare.

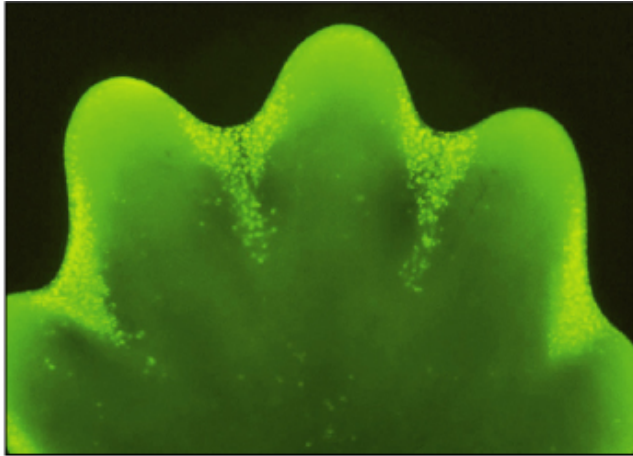
Il destino di una cellula



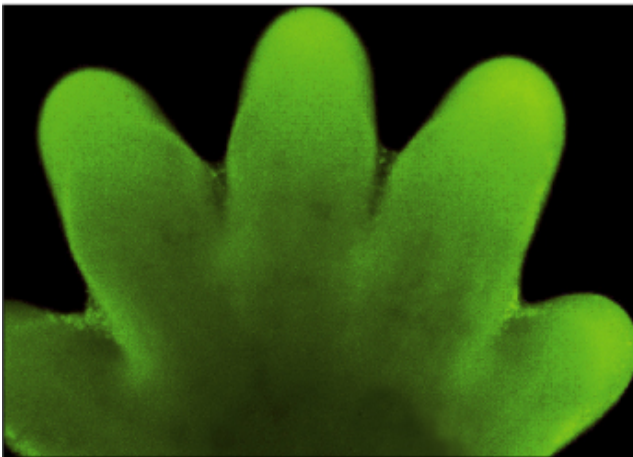
La morte cellulare programmata: apoptosi

Se delle cellule non sono più necessarie, queste si suicidano attivando un programma intracellulare di morte. Questo processo è perciò chiamato morte cellulare programmata, anche se è chiamato più comunemente apoptosi (la parola greca ptosis significa “cadere”).

Che scopo può avere questa morte cellulare?



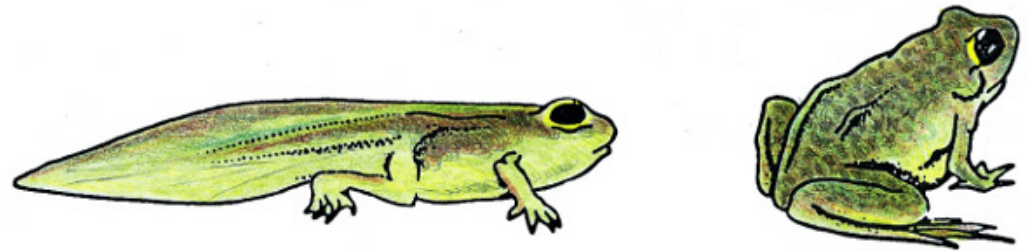
(A)



(B)

1 mm

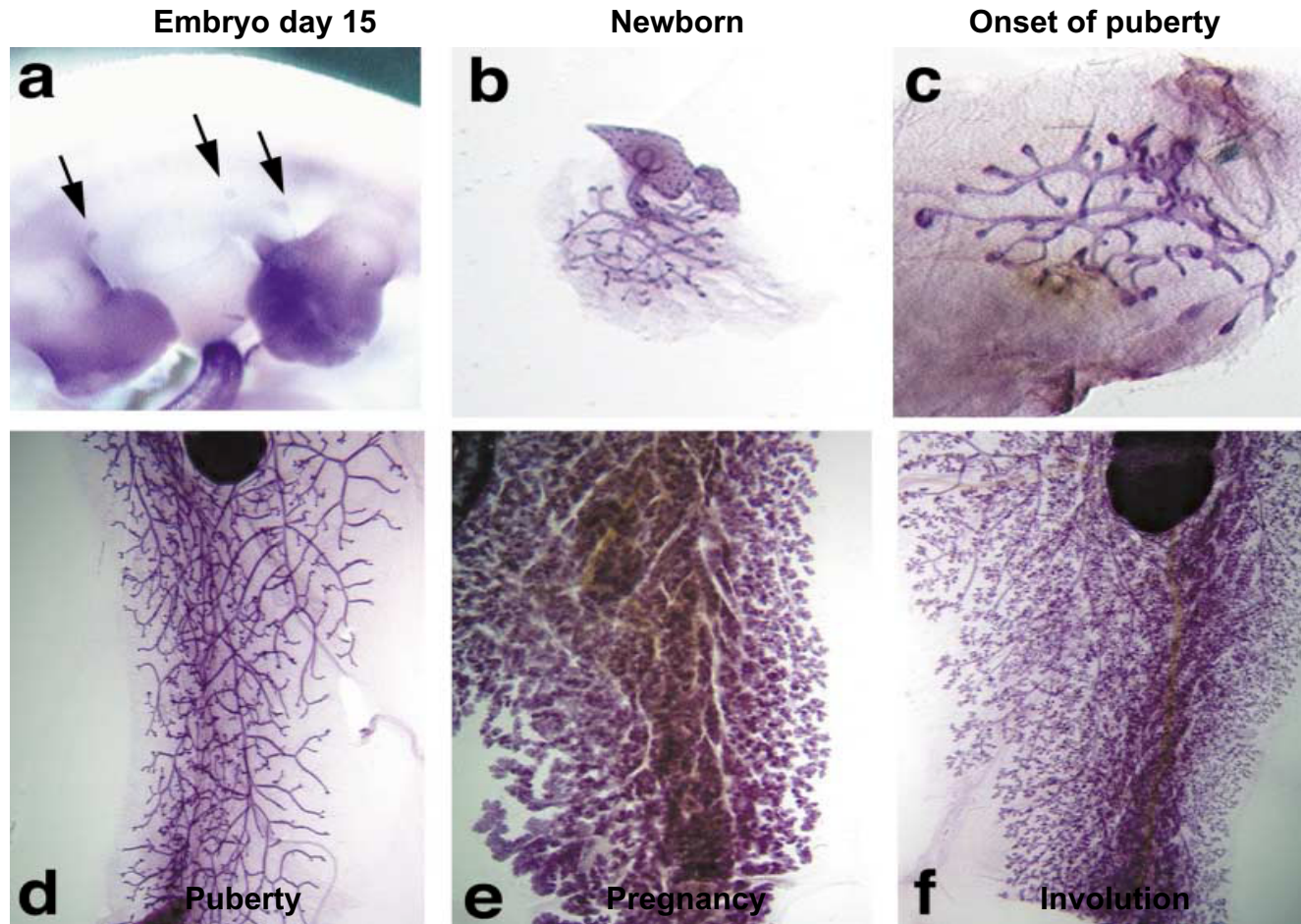
Apoptosi durante la metamorfosi di un girino in una rana



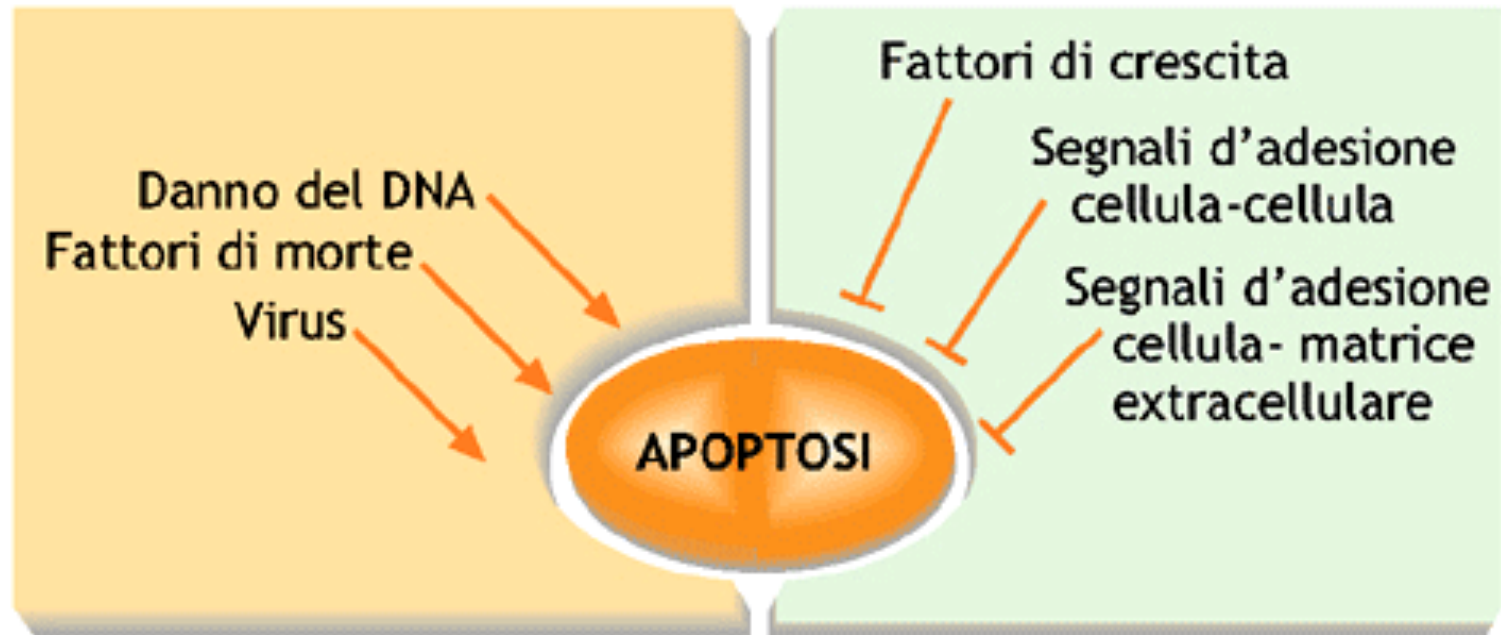
In altri casi la morte cellulare aiuta a regolare il numero delle cellule. Nel sistema nervoso in sviluppo, per esempio la morte cellulare adatta il numero di cellule nervose in modo che corrisponda al numero di cellule bersaglio che richiedono innervazione.

Nei tessuti adulti, la morte cellulare bilancia esattamente la divisione cellulare. Se non fosse così, il tessuto crescerebbe o si restringerebbe.

Apoptosis in mammary gland development



Apoptosi: morte cellulare programmata



■ **Figura 7.39** I segnali che inducono e che reprimono l'apoptosi.

Necrosi vs Apoptosi

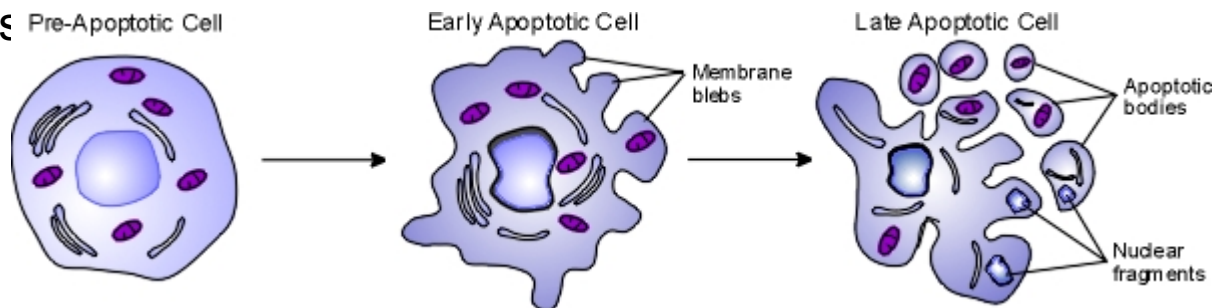
Le cellule che muoiono come risultato di un danno acuto tipicamente si rigonfiano e scoppiano, versando il loro contenuto su tutte le cellule vicine – un processo chiamato necrosi cellulare – provocando una risposta infiammatoria potenzialmente dannosa.

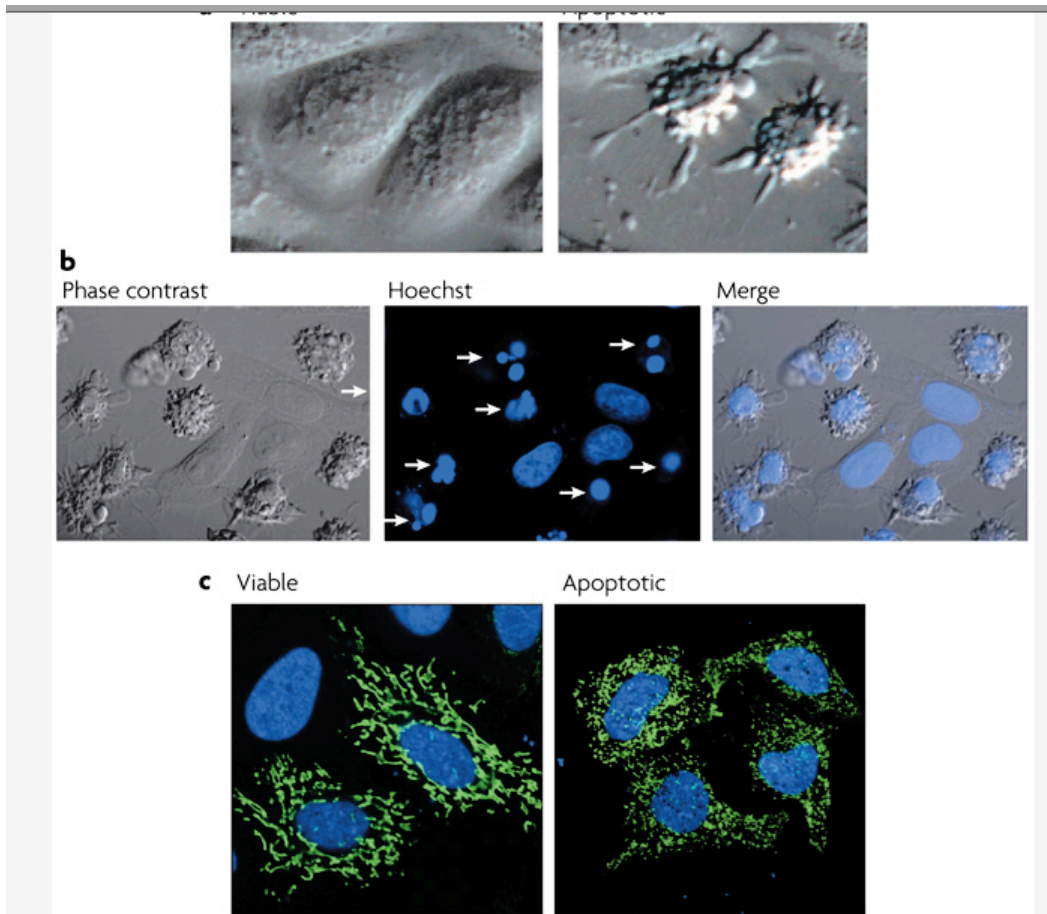
Una cellula che subisce l'apoptosi invece muore *pulitamente*, senza danneggiare i suoi vicini.

- La cellula si raggrinzisce e si condensa
- Il citoscheletro collassa
- **Il DNA nucleare si rompe in frammenti**
- **Si formano frammenti cellulari noti come corpi apoptotici**

Cosa più importante, **la superficie cellulare si altera**, mostrando proprietà che causano la rapida fagocitosi della cellula morente, da parte di una cellula circostante o da parte di un macrofago, prima che ci sia una perdita del suo contenuto. Ciò non soltanto evita le conseguenze dannose della necrosi cellulare ma permette anche il riciclaggio dei componenti organici della cellula morta da parte della cellula che la

ingeris



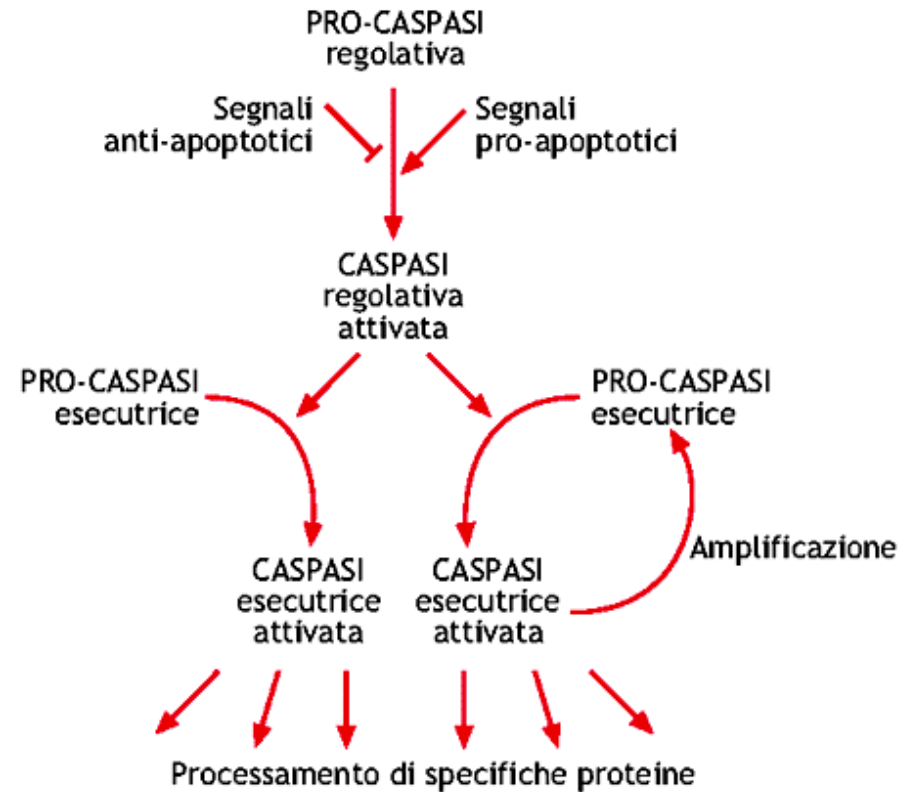
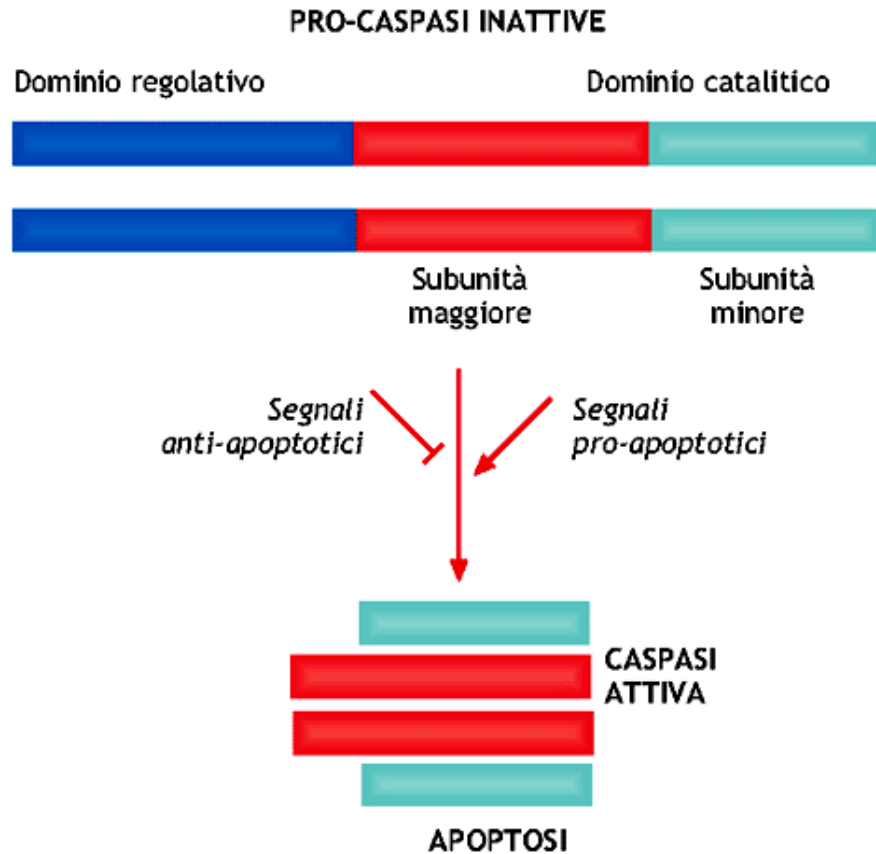


<https://www.youtube.com/watch?v=ukxNXSPckjQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=VG7gIVCmzSo>

https://www.youtube.com/watch?v=_Q8nVa-gxa8

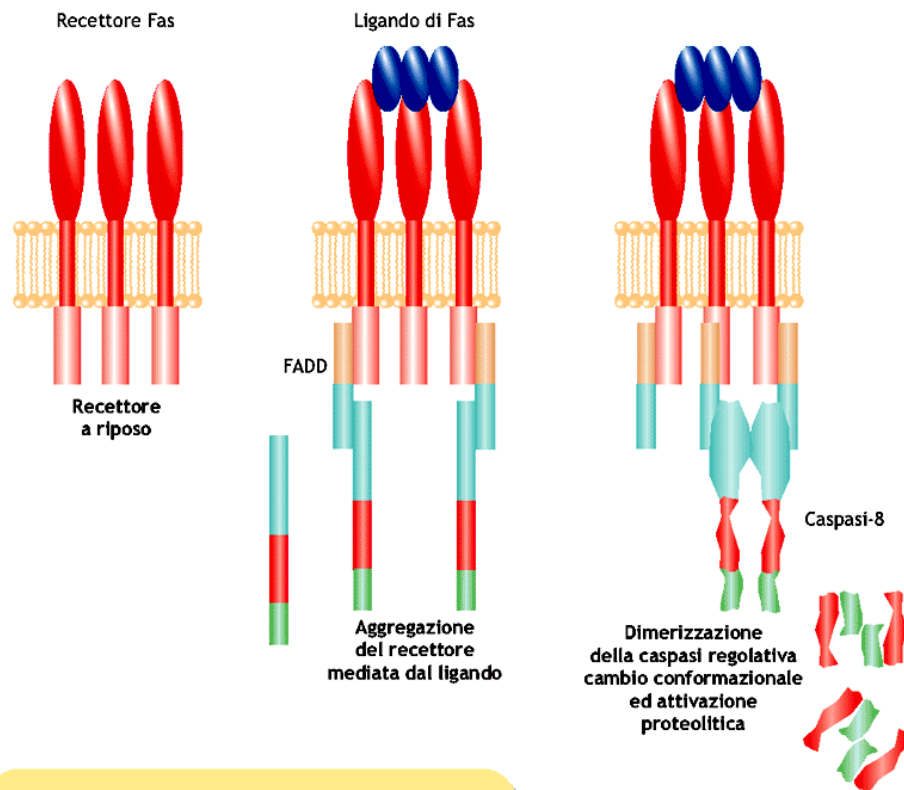
Le caspasi



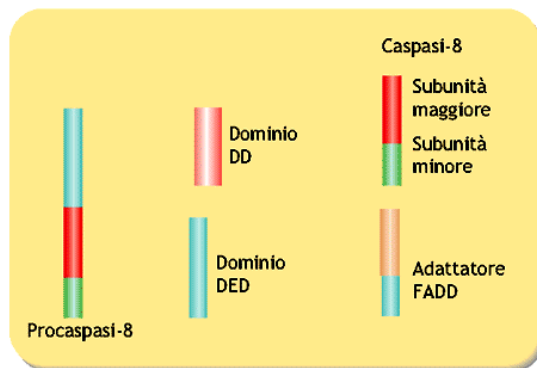
■ **Figura 7.41 Le caspasi.** Durante l'apoptosi queste cistein-proteasi vengono attivate mediante processamento proteolitico. La forma attiva dell'enzima è formata da un tetramero.

■ **Figura 7.42 La cascata proteolitica delle caspasi.** Un segnale apoptotico attiva la caspasi regolativa la quale processa le caspasi esecutrici in un sistema di amplificazione a cascata. Le caspasi esecutrici processano specifiche proteine cellulari innescando così i cambiamenti morfologici tipici dell'apoptosi.

Via estrinseca: recettori di morte-Fas



DD death domain
 FADD Fas associated DD
 DED death effector domain



Eliminazione linfociti T maturi
 Apoptosi di cellule infettate da virus

Figura 7.43 Attivazione della caspasi-8 mediata dall'interazione del FasL (ligando) con il FasR (recettore). FasL induce l'aggregazione del recettore, successivamente la proteina FADD si lega al dominio di morte del recettore mediando, a sua volta, il reclutamento del proenzima caspasi-8 presso il recettore, grazie all'interazione tra i due domini DED. L'avvicinamento di più procaspasi-8 stimola la dimerizzazione di due pro-enzimi con il conseguente cambio conformazionale richiesto per l'innesco dell'attività proteolitica. Il complesso proteico che controlla l'attivazione di caspasi-8 è denominato DISC. Caspasi-8 può essere rilasciata dopo processamento proteolitico dal DISC e processare i suoi substrati tra i quali la caspasi esecutrice caspasi-3 e la proteina BH3-only Bid.

Via intrinseca- Mitochondri

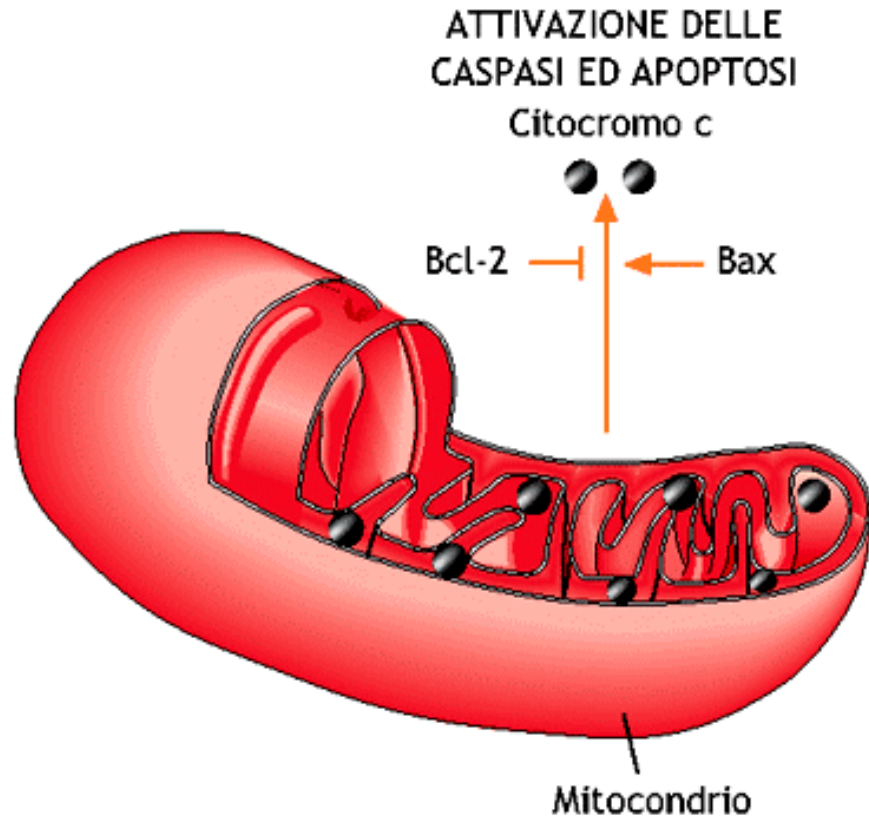
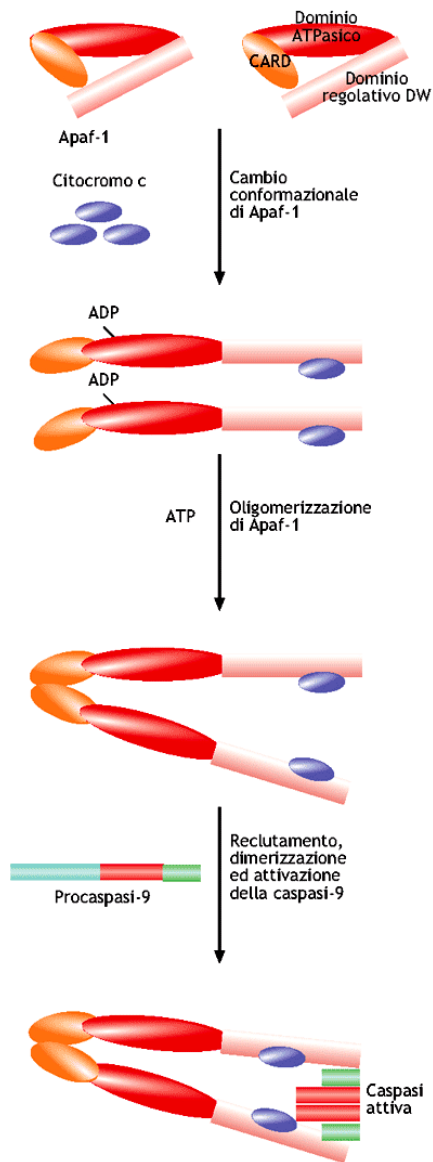
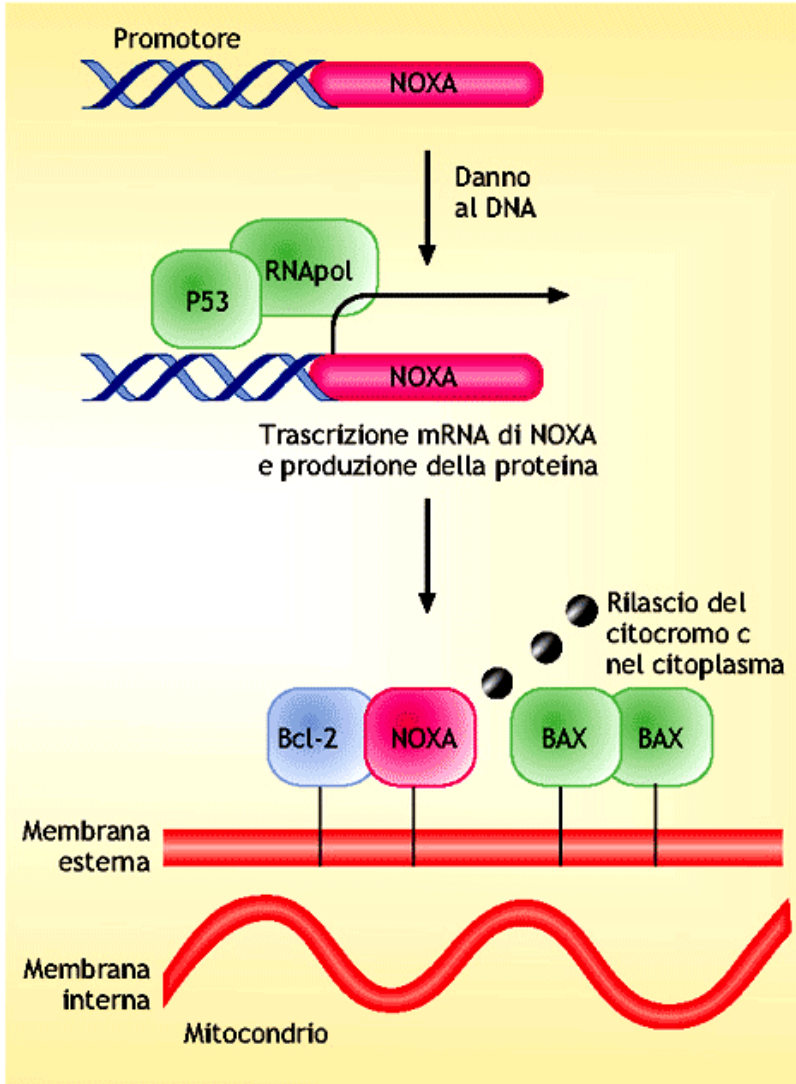


Figura 7.45 Controllo della fuoriuscita del citocromo c dal mitocondrio da parte delle proteine della famiglia di Bcl-2. Bcl-2 anti-apoptotica, che contiene tutti e 4 i domini BH, blocca la fuoriuscita del citocromo c dal mitocondrio; al contrario, Bax pro-apoptotica, caratterizzata dalla presenza dei domini BH1, 2 e 3, ne facilita l'uscita.

Figura 7.44 Attivazione della caspasi-9 dopo il rilascio del citocromo c dal mitocondrio. Il citocromo c legandosi ad Apaf-1, al dominio DW, così chiamato per la presenza di molti residui di aspartico (D) e triptofano (W), ne determina un cambiamento conformazionale, che provoca l'esposizione del dominio CARD. A questo punto Apaf-1 è disponibile per il processo di oligomerizzazione (interazione tra sette molecole di Apaf-1). Questo processo necessita di energia che deriva dall'idrolisi di ATP da parte di Apaf-1. Quando il dominio CARD di Apaf-1 è disponibile, è possibile l'interazione con il dominio CARD della caspasi-9, ciò promuove la dimerizzazione della caspasi-9 e la sua attivazione. La caspasi-9 attivata processa le caspasi esecutrici 3 e 7.

Apoptosi: ruolo di NOXA



■ **Figura 7.48** **Regolazione delle proteine BH3-only della famiglia di Bcl-2.** La proteina BH3-only Noxa è normalmente poco espressa nelle cellule. A seguito del danno al DNA aumentano i livelli dell'oncosoppressore p53, il quale lega il promotore del gene Noxa e ne stimola la trascrizione; di conseguenza aumentano i livelli della proteina Noxa sulla membrana esterna del mitocondrio ove Noxa si lega alle proteine Bcl-2 anti-apoptotiche, svincolando Bax dal legame con queste ultime. Bax può così oligomerizzare e promuovere il rilascio del citocromo c.