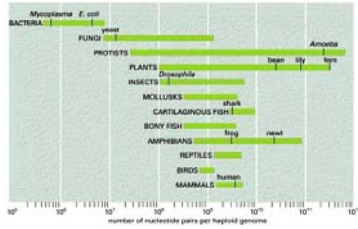


IL GENOMA

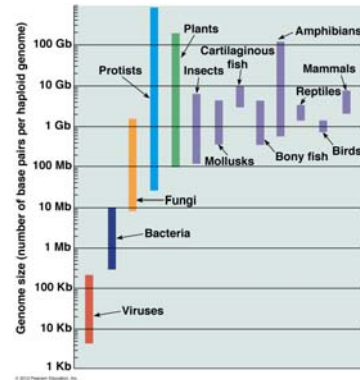
- Il **genoma** è il contenuto genetico totale di un organismo
- Le dimensioni del genoma variano fra gli organismi
- Questo non è correlato con la complessità
- I tulipani hanno **10x** la quantità di DN degli esseri umani
- Una specie di ameba (un protozoo, organismo unicellulare procariote) ha **100x** tanto più DNS degli esseri umani
- Il genoma del pesce palla è circa **1/8** del genoma dell'uomo
- Il genoma è pieno di DNA extra.



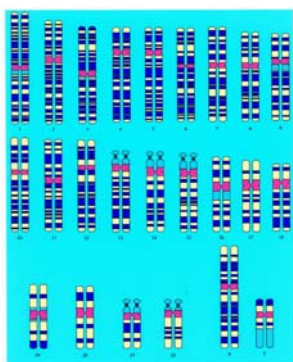
Paragone tra dimensioni del genoma

La dimensione del genoma viene misurata in termini di paia di nucleotidi del DNA per genoma aploide, ossia, per singola copia del genoma. (Le cellule degli organismi che si riproducono sessualmente sono di solito diploidi: esse contengono due copie del genoma, una ereditata dalla madre, l'altra dal padre). Gli organismi strettamente correlati possono variare largamente nella quantità di DNA dei loro genomi, anche se contengono numeri simili di geni funzionalmente distinti.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26909/figure/A80/>



http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-18/18_11.jpg



I cromosomi umani. Schema dei cromosomi umani evidenziando il quadro bandeggiato che si ottiene con una colorazione citogenetica.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9907/figure/A649/>

- ✚ Le cellule, come tutti gli organismi, hanno un ciclo vitale. Le cellule nascono, si riproducono e muoiono.
- ✚ La riproduzione e la morte delle cellule dipendono da diversi fattori e sono strettamente correlate. Per esempio, i tessuti animali possono essere classificati, dal punto di vista cinetico, in tre tipi:

- tessuti labili
- tessuti stabili
- tessuti perenni

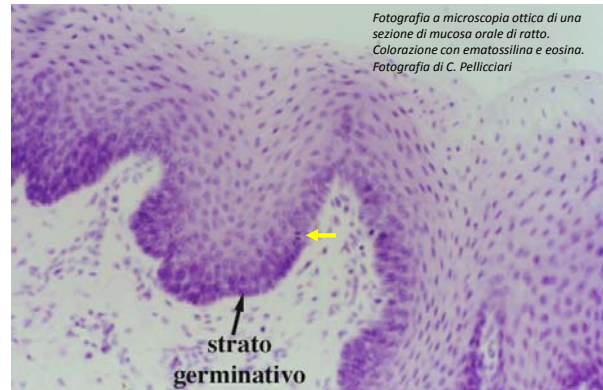
E. Scherini

✚ I tessuti **labili** sono tessuti in cui **le cellule hanno un ciclo vitale breve e un ritmo di proliferazione alto.**

✚ Un esempio tipico è rappresentato dagli epitelii pluristratificati, quale l'epidermide. Le cellule superficiali dell'epidermide sono soggette a continui traumi fisici e chimici. Esse vanno incontro a cheratinizzazione, muoiono e si esfoliano. Per mantenere l'integrità tissutale, l'epidermide ha bisogno di un continuo rinnovo cellulare; nuove cellule devono prendere il posto di quelle che man mano muoiono. Lo strato basale, a contatto con il tessuto connettivo sottostante, dell'epidermide viene chiamato strato germinativo. A questo livello infatti le cellule si riproducono e poi vengono sospinte verso gli strati più superficiali.

E. Scherini

Fotografia di un epitelio pluristratificato. Nello strato germinativo è visibile una cellula in divisione (freccia gialla).



✚ Gli organi interni di un organismo, quali per esempio le ghiandole, sono soggetti a traumi minori. Le cellule, quindi, hanno vita più lunga e un ritmo di proliferazione più basso. In caso però di una lesione (chimica o chirurgica), l'integrità dell'organo deve essere rapidamente ripristinata e in conseguenza le cellule si attivano nella proliferazione.

✚ Questi tessuti, costituiti da **cellule che possono rimanere quiescenti per lunghi periodi, per poi rapidamente proliferare a seguito di stimoli**, vengono chiamati **stabili**.

E. Scherini

✚ Altri tessuti, quali il tessuto muscolare cardiaco ed il tessuto nervoso, sono costituiti da **cellule che, una volta differenziate (in cardiomiociti o neuroni), non sono più apparentemente in grado di riprodursi**. Ne consegue che, nell'organismo maturo, una lesione di questi tessuti non può essere riparata, se non con la costituzione di un tessuto cicatriziale (connettivo nel caso del miocardio, gliale nel caso del tessuto nervoso).

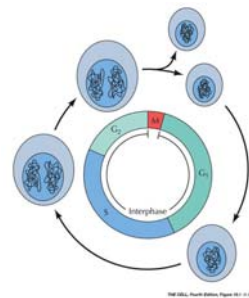
✚ Questi tessuti sono definiti **perenni**.

E. Scherini

- Le cellule dei tessuti vanno incontro, quindi, in maggior o minor misura, ad un **ciclo vitale**.
- Durante questo ciclo, **la cellula nasce, si accresce e svolge la propria funzione e si divide in due cellule figlie**. Il periodo che intercorre tra la nascita della cellula e la sua divisione viene chiamato **ciclo cellulare**. Secondo il tipo cellulare ed il tessuto, una delle due cellule figlie può continuare ad accrescersi e dividersi (e quindi rientrare nel ciclo cellulare), o differenziarsi per dare origine a una cellula matura.
- Ad ogni modo, **la cellula che si divide deve dare origine a due cellule perfettamente uguali dal punto di vista genetico**. Nelle cellule, sia procariote che eucariote, è presente il DNA, che, grazie alla trascrizione, rappresenta tutte le caratteristiche di una certa specie e, come tale, deve essere tramandato dalla cellula originaria alle cellule figlie. Il **ciclo cellulare** e la divisione delle cellule attraverso il processo di **mitosi** garantiscono che il **patrimonio genetico (il DNA)** venga fedelmente tramandato.

E. Scherini

FASI DEL CICLO CELLULARE



- Il ciclo di divisione della maggior parte delle cellule eucariotiche è suddiviso in quattro fasi distinte: **M, G₁, S e G₂**.
- La fase **M (mitosi)** è di solito seguita dalla **citocinesi (citodieresi)**.
- La fase **S** è il periodo durante il quale ha luogo la **replicazione del DNA**.
- La cellula cresce durante tutta l'**interfase**, che include **G₁, S e G₂**.
- Le durate relative delle fasi del ciclo cellulare qui illustrate sono tipiche per cellule di mammiferi in rapida divisione.

INTERFASE (1)

- Di solito dura almeno 12-24 h nei tessuti dei mammiferi. In questo periodo la cellula stanno costantemente sintetizzando RNA, producendo proteine e aumentando le loro dimensioni.
- L'interfase può essere suddivisa in 4 passi: "**Gap**" (intervallo) **0 (G₀), Gap 1 (G₁), fase S (sintesi del DNA) e Gap 2 (G₂)**.

INTERFASE (2)

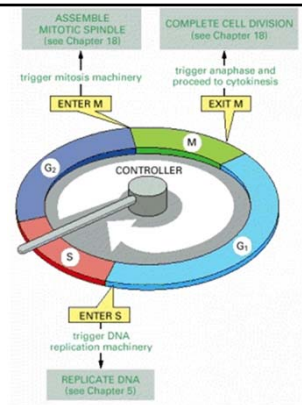
- Fase di "gap 0" (G₀)**: Ci sono occasioni in cui una cellula lascia il ciclo e smette di dividersi. Questo può essere un periodo di riposo temporaneo, può essere più prolungato o persino permanente. Un esempio dell'ultimo è una **cellula che ha raggiunto uno stadio finale dello sviluppo e non si dividerà più** (ad es. un neurone).
- Fase di "gap 1" (G₁)**: **Le cellule aumentano di dimensioni in G₁, producono RNA e sintetizzano proteine**. Un importante meccanismo di controllo attivato in questo periodo (G₁ checkpoint) assicura che tutto sia pronto per la sintesi del DNA.

INTERFASE (3)

- Fase S:** per produrre due cellule figlie identiche, la totalità delle istruzioni contenute nel DNA deve essere duplicata. La **replicazione del DNA** ha luogo in questa fase S (di sintesi). Ha luogo anche la **sintesi di nuovi istoni** necessari per avvolgere il DNA neo-sintetizzato formando nucleosomi
- Fase di gap 2 (G₂):** Nell'intervallo (gap) fra la sintesi di DNA e la mitosi, la cellula continuerà a crescere e a produrre nuove proteine. Alla fine di questo intervallo vi è un altro **punto di controllo** (checkpoint G₂) per determinare se la cellula è ora in grado di procedere ad entrare nella fase di mitosi (M) e dividersi.

CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE (1)

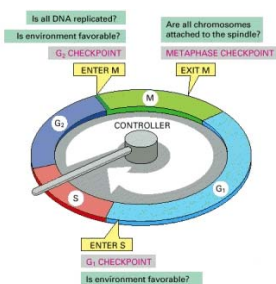
I processi fondamentali del ciclo cellulare – quali la replicazione del DNA, la mitosi e la citocinesi – sono scatenati da un **sistema di controllo del ciclo cellulare**. Per analogia con una lavatrice, il sistema di controllo del ciclo cellulare viene qui illustrato come una lancetta centrale – il **controllore** – che ruota in senso orario, scatenando eventi essenziali quando raggiunge punti specifici sul quadrante esterno.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.3189>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26824/figure/A3189/>

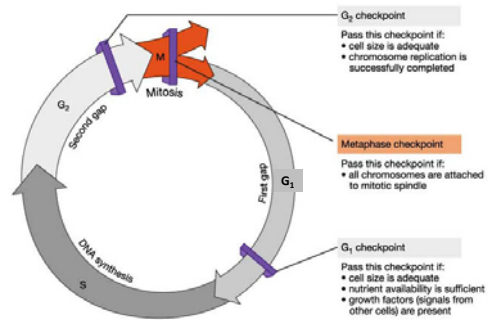
CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE (2)



Posti di blocco ("checkpoints") del sistema di controllo del ciclo cellulare.

Informazioni riguardanti il completamento degli eventi del ciclo cellulare così come segnali dall'ambiente esterno, possono provocare l'arresto del sistema di controllo del ciclo in posti di blocco specifici. I punti di blocco più importanti hanno luogo nelle localizzazioni marcate da caselle gialle.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figrp.3197>



<http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/mitosis/checkpoints.htm>

PUNTO DI CONTROLLO IN G_1

Oltrepassare questo punto solo se:

- ✚ La dimensione della cellula è appropriata
- ✚ La disponibilità di nutrienti è sufficiente
- ✚ Sono presenti fattori di crescita (segnali da altre cellule)

PUNTO DI CONTROLLO IN G_2

Oltrepassare questo punto solo se:

- ✚ La dimensione della cellula è appropriata
- ✚ La replicazione dei cromosomi è stata completata con successo

PUNTO DI CONTROLLO NELLA METAFASE

Oltrepassare questo punto solo se:

- ✚ Tutti i cromosomi sono legati al fuso mitotico

Fase G_0 (1)

- ✚ La **divisione cellulare è altamente regolata**: le cellule sono programmate per NON dividersi a meno che non ricevano segnali per farlo.
- ✚ Nella fase G_1 tardiva esiste un punto di controllo detto **PUNTO DI RESTRIZIONE**.
- ✚ **Per ch  la cellula superi il punto di restrizione debbono essere presenti fattori proteici detti fattori di crescita.**
- ✚ I fattori di crescita si legano a recettori sulla cellula bersaglio e inducono la sua crescita.
- ✚ Se i fattori corretti di crescita sono presenti, **la cellula oltrepassa le fasi G_1 e S ed   destinata a dividersi.**
- ✚ **Se i fattori di crescita non sono presenti, la cellula entra in uno stato di quiescenza detto G_0 , in cui le cellule permangono a lungo senza crescere o dividersi, svolgendo una funzione specializzata.**
- ✚ **Le cellule in G_0 sono metabolicamente attive** ma il loro tasso di sintesi proteica   molto ridotto rispetto alle cellule in crescita attiva.

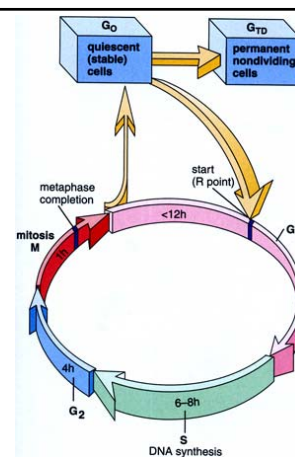
Kreuzer & Massey

Fase G_0 (2)

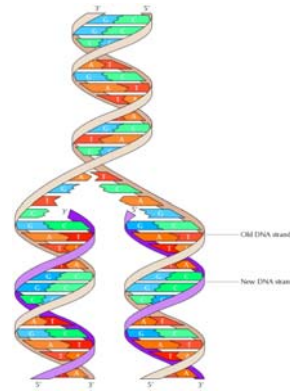
- ✚ Lo stato normale di una cellula in un organismo adulto   quello di rimanere in G_0 finch  i fattori di crescita appropriati le segnalino di dividersi:

- Es: I fibroblasti della pelle rimangono in G_0 e non crescono a meno che la pelle non sia danneggiata.
- Quando ci  avviene, un fattore di crescita   rilasciato dalle piastrine durante il processo di coagulazione del sangue.
- I fattori di crescita derivati dalle piastrine (PDGF) si legano ai recettori sulla superficie dei fibroblasti della pelle vicino al sito della ferita e segnalano ad essi di lasciare lo stato G_0 e di dividersi, riparando la ferita.

Kreuzer & Massey



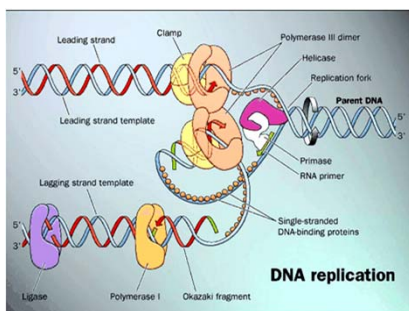
Ciclo cellulare
FASE S



Replicazione semiconservativa del DNA.

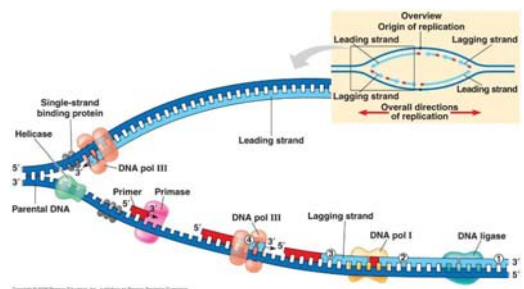
I due filamenti parentali del DNA si separano e ognuno serve come stampo per la sintesi di un nuovo filamento "figlio" mediante accoppiamento di basi complementari.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9944/figure/A430/>

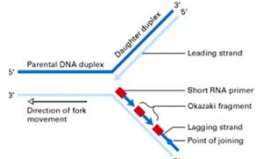


Replicazione del DNA

Sintesi del DNA



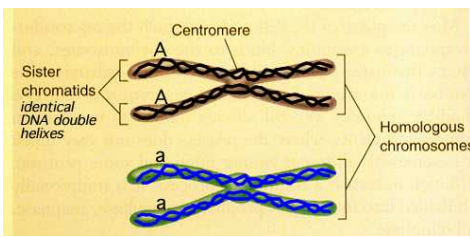
http://morgansbio205.weebly.com/uploads/1/3/6/5/13658882/2926827_orig.jpg71



Rappresentazione schematica del meccanismo di duplicazione del DNA a livello della forcella di replicazione.

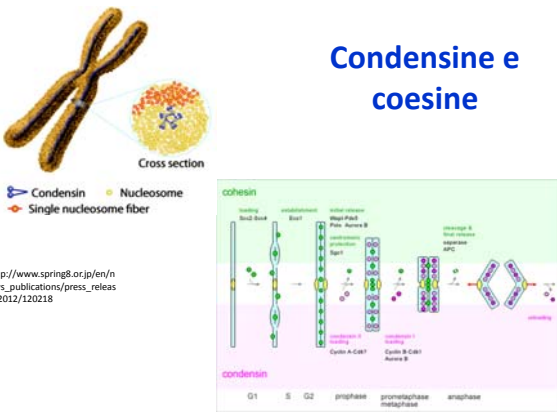
Ad entrambi i filamenti in allungamento, i nucleotidi vengono aggiunti dalla **DNA polimerasi** in direzione **5' → 3'** (indicata dalle frecce). La sintesi del **filamento guida** avviene in modo continuo, a partire da un unico innesco a RNA legato alla sua estremità 5' (non mostrato). La sintesi dell'altro filamento figlio (il **filamento lento**), procede in modo discontinuo; all'inizio si formano i **frammenti di Okazaki**, che si allungano a partire da numerosi inneschi a RNA, che vengono formati, sul filamento parentale man mano che, a livello della forcella di replicazione, viene esposta una nuova porzione di DNA. Gli inneschi a RNA vengono allungati dalla DNA polimerasi. Man mano che ogni frammento si avvicina ad un innesco che lo precede lungo il filamento parentale, l'innesco viene rimosso, da un enzima e i frammenti di DNA vengono uniti dalla **DNA ligasi** per formare un filamento continuo. La sintesi dell'intero filamento lento viene compiuta attraverso numerose ripetizioni di questo processo.

Cromatidi fratelli «sister chromatids» (dopo la fase S)



<http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/molecular%20biology/mitosis-chromosome.html>

Condensine e coesine

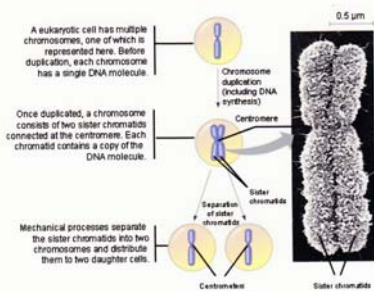


http://www.spring8.or.jp/en/news_publications/press_releases/2012/120218

<http://www.riken.jp/chromdina/en/research/project02.html>

Figure 12.4 Chromosome duplication and distribution during cell division

Mitosis
 functions
 sister chromatids
 cell cycle
 Stages
 cytokinesis



A eukaryotic cell has multiple chromosomes, one of which is represented here. Before duplication, each chromosome has a single DNA molecule.

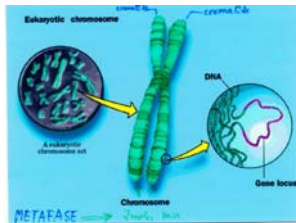
Once duplicated, a chromosome consists of two sister chromatids connected at the centromere. Each chromatid contains a copy of the DNA molecule.

Mechanical processes separate the sister chromatids into two chromosomes and distribute them to two daughter cells.

0.5 μm

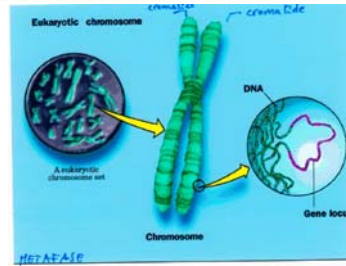
CROMOSOMI

- I **cromosomi** contengono tutto o quasi tutto il materiale genetico di una cellula.
- Un singolo cromosoma contiene un gran numero di geni, ciascuno con il suo locus (localizzazione) sul cromosoma.
- Ogni cromosoma contiene una grande molecola di **DNA** e diverse molecole di **proteine**.
- I cromosomi cambiano struttura in modo molto appariscente durante il ciclo cellulare.



CROMATIDI

- I **cromatidi** sono le repliche affiancate prodotti dalla replicazione (duplicazione) del DNA durante la fase S dell'interfase.
- Dalla **fine della fase S** fino al momento in cui i centromeri si dividono, **iniziando l'anafase**, ogni cromosoma consiste di **due cromatidi**.



La cromatina altamente condensata si replica tardi, mentre i geni nella cromatina meno condensata tendono a replicarsi presto

- ✚ L'**eterocromatina** è uno stato particolarmente condensato della cromatina, mentre l'**eucromatina** o **cromatina trascrizionalmente attiva** ha una conformazione meno condensata che apparentemente è necessaria per permettere la trascrizione.
- ✚ L'eterocromatina tende ad essere replicata molto tardi nella fase S, il che suggerisce che il tempo di replicazione sia correlato al compattamento del DNA nella cromatina.
 - Es: I due cromosomi X della femmina di mammifero contengono essenzialmente le stesse sequenze di DNA, uno è attivo per la trascrizione del DNA e l'altro no.
 - Quasi tutto il cromosoma X inattivo è condensato in eterocromatinae il suo DNA si replica tardi nella fase S.
 - Il suo omologo attivo è meno condensato e si replica per tutta la fase S.
- ✚ Queste scoperte suggeriscono che quelle regioni del genoma la cui cromatina è meno condensata e perciò più accessibile al macchinario di replicazione vengono replicate per prime.

- ✚ Dopo la fase S, in cui la cellula replica il proprio contenuto in DNA, segue la **fase G2**. Questa fase è in genere abbastanza breve e solitamente prelude alla divisione cellulare. In alcuni tessuti, però, può essere molto prolungata e addirittura durare per tutta la vita della cellula. In tal caso, le cellule svolgono le loro normali funzioni.

- ✚ Alla fase G2 segue la **fase M** o **mitosi**, la divisione cellulare vera e propria, attraverso cui da una cellula se ne generano due perfettamente identiche dal punto di vista genetico.

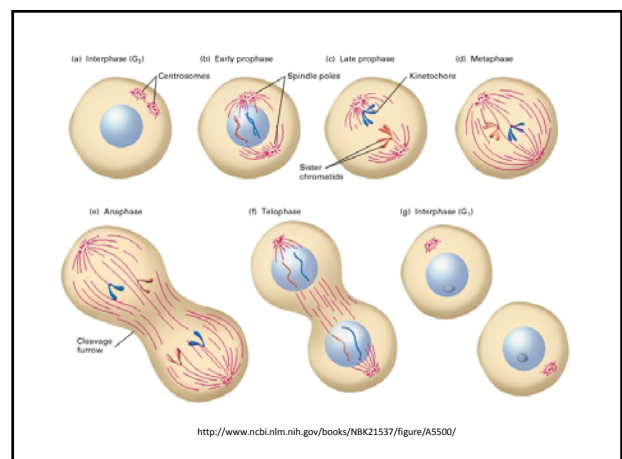
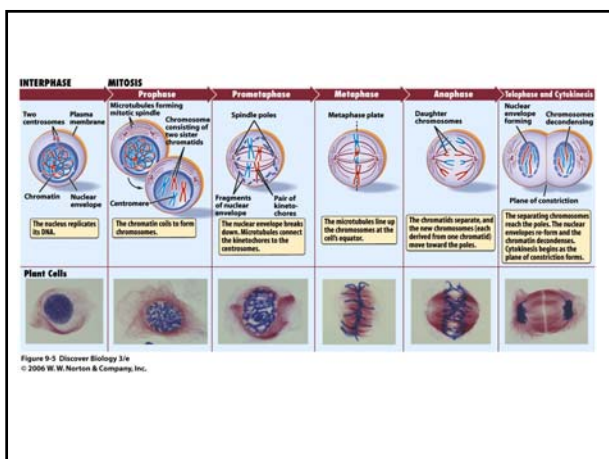
Scherini, 2002

21

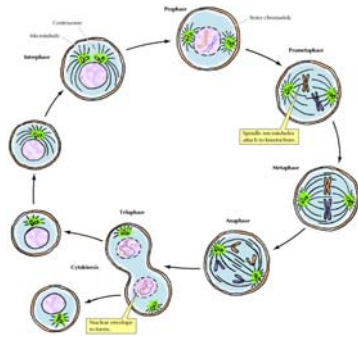
Ciclo cellulare
MITOSI

STADI DELLA MITOSI DI UNA CELLULA ANIMALE

- ⚡ Durante la **profase** i cromosomi si condensano e i centrosomi si muovono ai lati opposti del nucleo, iniziando la formazione del fuso mitotico.
- ⚡ A questo punto la **rottura dell'involucro nucleare** permette ai microtubuli del fuso di attaccarsi al cinetocore dei cromosomi.
- ⚡ Durante la **prometafase** i cromosomi oscillano avanti e indietro fra i centrosomi e il centro della cellula, per infine allinearsi al centro del fuso (**metafase**).
- ⚡ Nell'**anafase** i cromatidi fratelli si separano e si muovono verso i poli opposti del fuso. La mitosi ha termine con la **re-formazione degli involucri nucleari** e la **decondensazione dei cromosomi** durante la **telofase**, e la **citocinesi** produce due cellule figlie in interfase.
- ⚡ Notare che ciascuna delle cellule figlie riceve un centrosoma, che si duplicherà prima della seguente mitosi.



STADI DELLA MITOSI DI UNA CELLULA ANIMALE



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9558/figure/A2472/report-objectonly>

Figure 12.6 Exploring The Mitotic Division of an Animal Cell

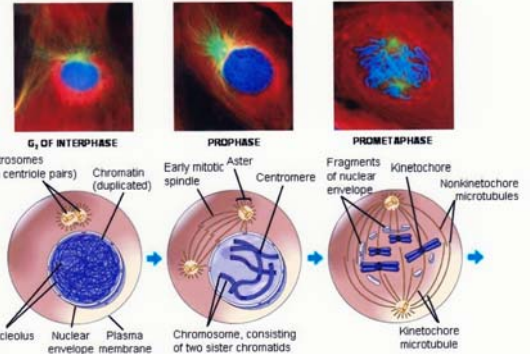
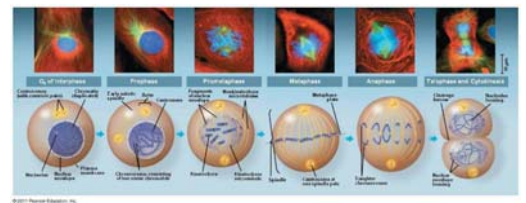
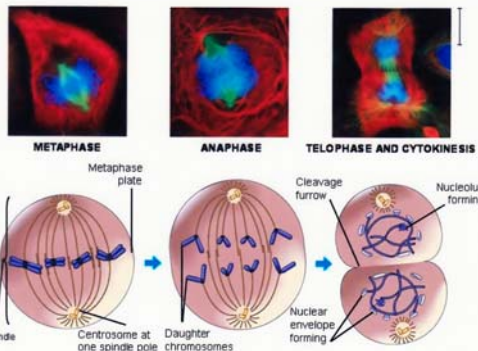
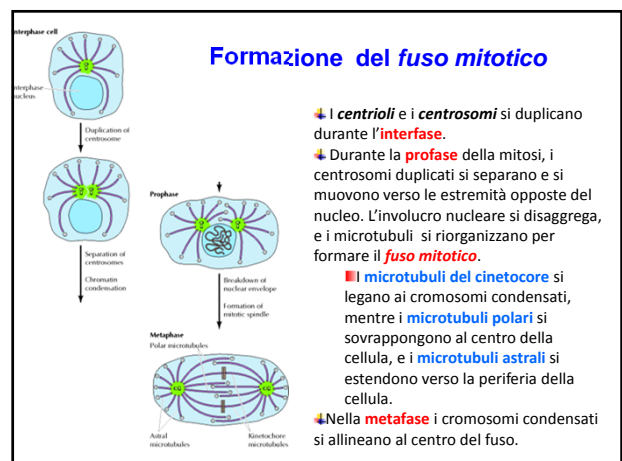
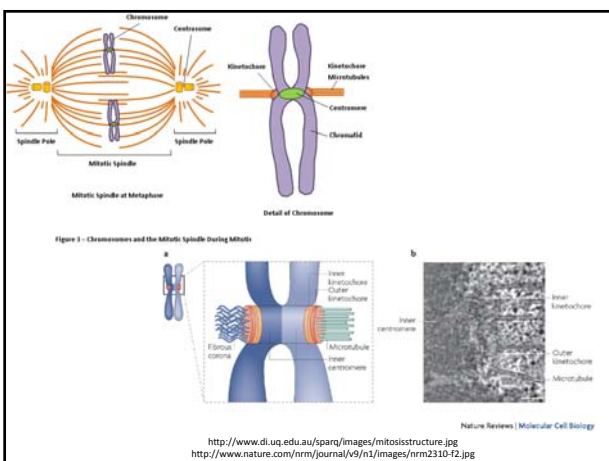
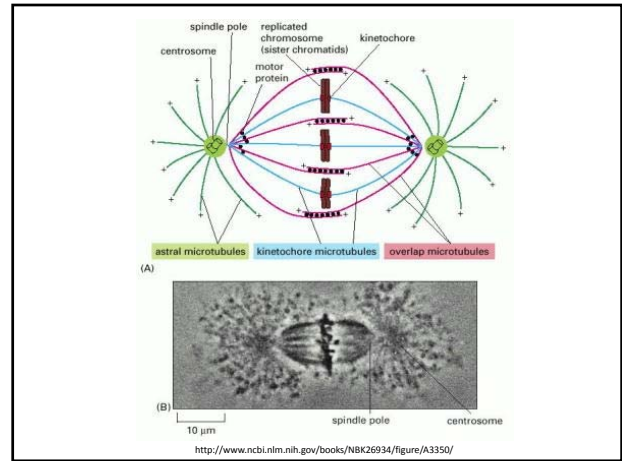
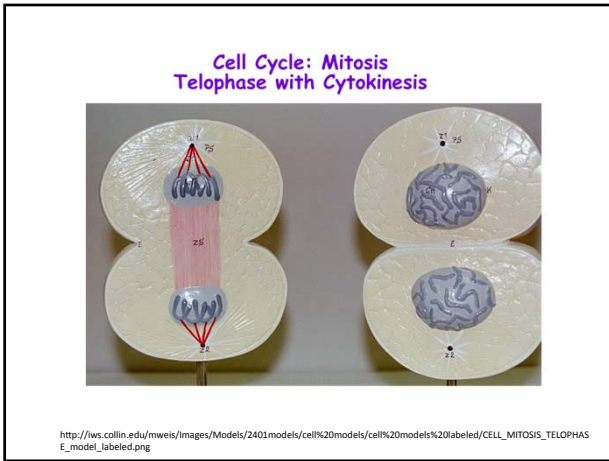
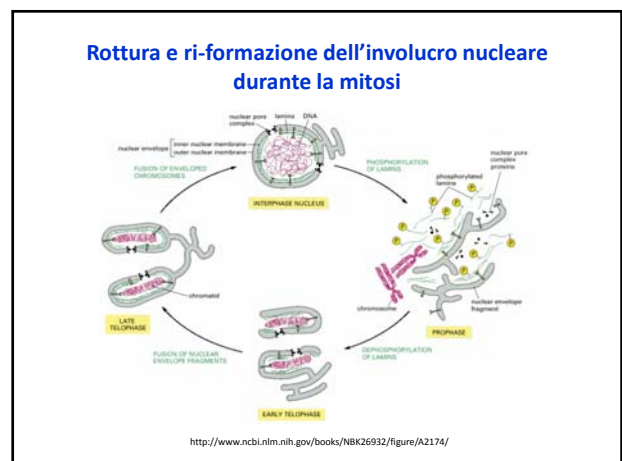
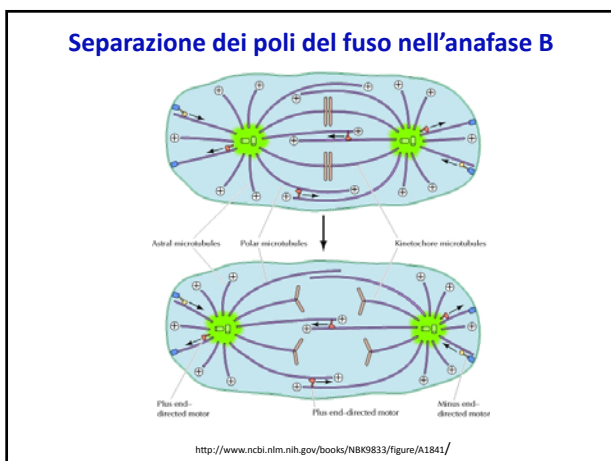
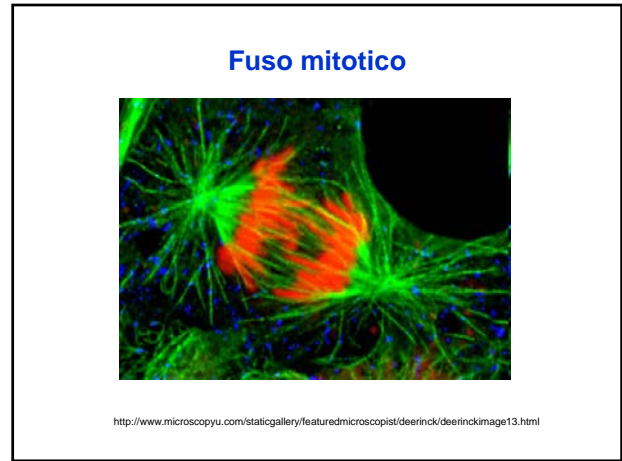
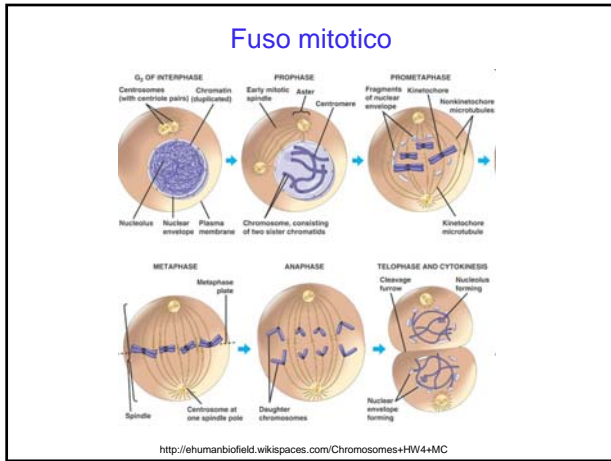


Figure 12.6 Exploring The Mitotic Division of an Animal Cell

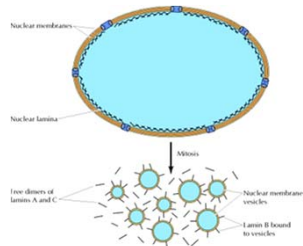


http://www.quia.com/files/quia/users/lmcgee/mitosis/AP_Chapter_12/mitosis_stages_diagram.jpg





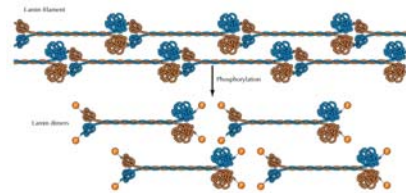
FRAMMENTAZIONE DELL'INVOLUCRO NUCLEARE



Mentre la lamina nucleare si dissocia, l'involucro nucleare si frammenta in vescicole. Le lamine di tipo B rimangono legate a queste vescicole, mentre le lamine A e C vengono rilasciate come dimeri liberi.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9890/figure/A1378/?report=objectonly>

Dissoluzione della lamina nucleare



La lamina nucleare consiste in una rete di filamenti di lamina. Nella mitosi, la Cdc2 ed altre proteina chinasi fosforilano le lamine, provocando la dissociazione dei filamenti in dimeri di lamina liberi.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9890/figure/A1377/?report=objectonly>

LA FOSFORILAZIONE DELLE LAMINE PORTA ALLA DEGRADAZIONE DELL'INVOLUCRO NUCLEARE -1

✚ L'**involucro nucleare** è una estensione circondata da una doppia membrana del reticolo endoplasmico ruvido che contiene molti complessi dei pori nucleari. Il doppio strato lipidico della membrana interna è sostenuto dalla **lamina nucleare**, una rete di filamenti di lamina localizzato sotto la faccia interna dell'involucro nucleare. Le tre lamine nucleari (**A**, **B**, e **C**) presenti nelle cellule dei Vertebrati appartengono alla classe dei *filamenti intermedi* delle proteine del citoscheletro, che sono cruciali per sostenere le membrane cellulari.

LA FOSFORILAZIONE DELLE LAMINE PORTA ALLA DEGRADAZIONE DELL'INVOLUCRO NUCLEARE -2

✚ Le **lamina A e C**, che sono codificate dalla stessa unità di trascrizione e prodotte per **splicing alternativo** di un singolo pre-mRNA, sono identiche, all'eccezione di una regione di 133 residui nel C-terminale della lamina A, che è assente nella lamina C.

✚ La **lamina B**, codificata da una unità trascrizionale diversa, viene **modificata post-traduzionalmente mediante l'aggiunta di un gruppo isoprenilico idrofobico vicino al C-terminale**.

■ Questo acido grasso viene incorporato nel foglietto interno del bilayer lipidico che forma la membrana nucleare interna, **ancorando così la lamina nucleare alla membrana**.

✚ Tutte tre le lamine nucleari formano dimeri che contengono una sezione centrale bastoncennale ad α -elica e domini di testa e di coda globulari; la polimerizzazione di questi dimeri mediante associazioni testa-a-testa e coda-a-coda genera i filamenti intermedi che compongono la lamina nucleare.

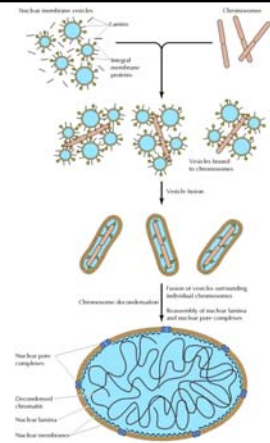
LA FOSFORILAZIONE DELLE LAMINE PORTA ALLA DEGRADAZIONE DELL'INVOLUCRO NUCLEARE -3

⚡ All'inizio della mitosi, il **Mitosis Promoting Factor (MPF)** fosforila residui di serina specifici in tutte tre le lamine, provocando la depolimerizzazione dei filamenti intermedi della lamina. I dimeri fosforilati di lamine A e C vengono rilasciati in soluzione, mentre i dimeri fosforilati di lamine B rimangono associati alla membrana nucleare mediante la loro ancora isoprenilica.

⚡ La **depolimerizzazione delle lamine nucleari** porta alla **disintegrazione della rete della lamina nucleare** e contribuisce alla rottura dell'involucro nucleare in piccole vescicole.

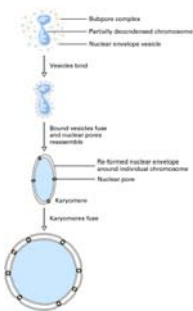
Ri-formazione dell'involucro nucleare

Il primo passo del riassetto dell'involucro nucleare consiste nel legame di vescicole di membrana ai cromosomi, che può essere mediato sia da proteine integrali di membrana che da lamine di tipo B. Le vescicole allora si fondono, la lamina nucleare si riassume e i cromosomi decondensano.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9890/figure/A1382/>

ASSEMBLAGGIO DELL'INVOLUCRO NUCLEARE DURANTE LA TELOFASE



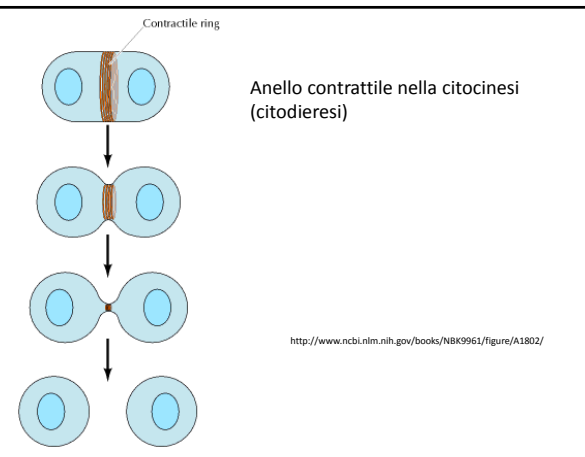
⚡ Vescicole dell'involucro nucleare, generate dalla rottura dell'involucro durante la profase, si associano con i cromosomi in fase di decondensazione e quindi si fondono.

⚡ I complessi dei subpore si riasssemblano nei pori nucleari, formando mininuclei individuali detti **cariomeri**.

⚡ I cromosomi da essi racchiusi si decondensano ulteriormente e la subseguente fusione degli involucri nucleari di tutti i cariomeri all'altezza dei poli del fuso forma un nucleo singolo contenente un corredo completo di cromosomi.

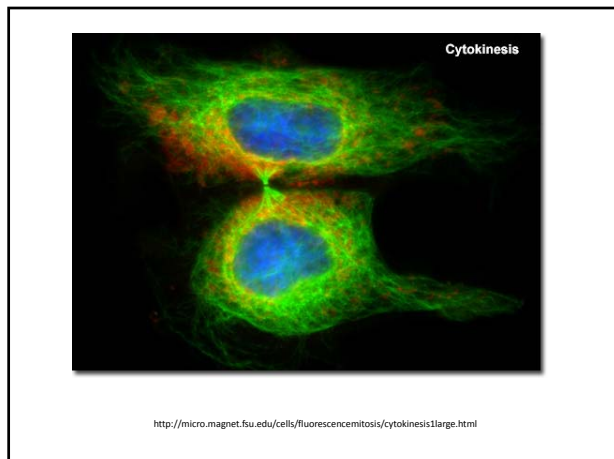
⚡ Il riassetto della lamina nucleare non è indicato.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21704/figure/A3523/>



Anello contrattile nella citocinesi (citodieresi)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9961/figure/A1802/>



NOTE

- Può capitare che la telofase non sia seguita dalla citodieresi. In tal caso si genera una cellula binucleata, in cui ciascun nucleo è $2c$ e $2n$.
- I cromatidi si possono dividere in tarda metafase, ma non segregare ai poli opposti. La cellula che ne deriva ha un solo nucleo con contenuto in DNA $4c$ e numero cromosomico **tetraploide** ($4n$).
- Se il processo prosegue si ottengono cellule **poliploidi**. Nel fegato questo evento è molto comune.
- Le cellule germinali si dividono anch'esse per mitosi sino a un certo stadio del loro differenziamento, quindi seguono un percorso diverso e si dividono per meiosi. Questo argomento verrà trattato nel modulo di Biologia dello Sviluppo.

