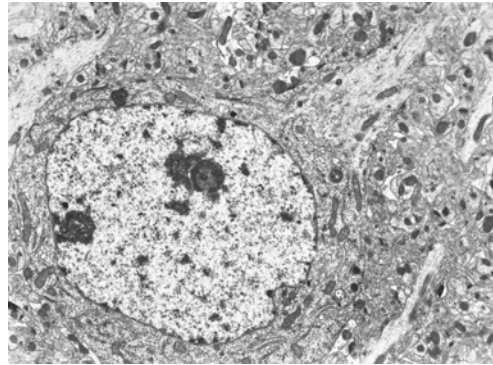


*Microscopio ottico;
colorazione Ematossilian & Eosina*



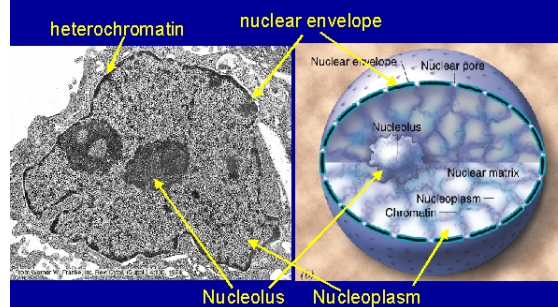
Microscopio elettronico

Nucleo

Biotechnologie

<http://www.meddean.luc.edu/lumen/meded/Histo/Histimages/h11A-49.jpg>
http://synapses.clm.utexas.edu/atlas/1_2_1.stm

Nucleus: structure and function



- Il **nucleo** è un organello altamente specializzato che funziona come **centro di processamento** e di **amministrazione** della cellula.
- Ha due funzioni principali: **immagazzinare il materiale ereditario** (DNA organizzato in cromosomi più o meno condensati) e **coordinare le attività cellulari**: **crescita**, **metabolismo intermedio**, **sintesi proteica** e **riproduzione** (divisione cellulare).

<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/nucleus/nucleus.html>

Nucleo – morfologia – [1]

- ✚ Il nucleo ha in genere forma sferica, ma può anche assumere forme bizzarre.
 - Può essere posizionato centralmente, ma anche essere decentrato, in vicinanza della membrana plasmatica.

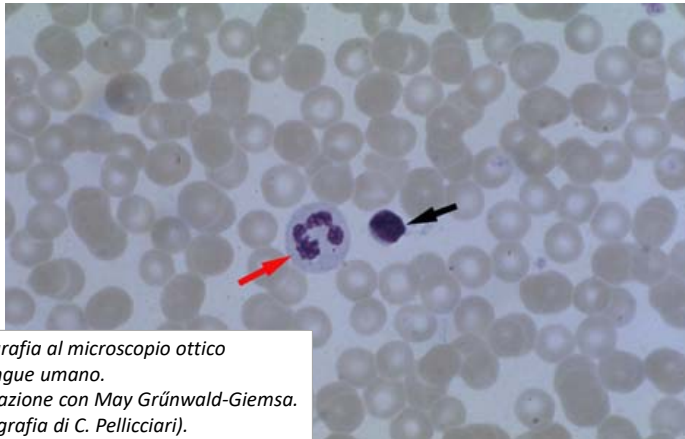
Adattato da lezioni di Elda Scherini

Nucleo – morfologia – [2]

- ✚ In preparati istologici colorati con miscele di coloranti acidi (es. Eosina/proteine) e basici (es. Ematossilina/DNA), il **nucleo** assume in varia misura i coloranti basici (a causa di abbondanza di gruppi fosfato del DNA). La sostanza contenuta nel nucleo, che si colora con i coloranti basici è la **cromatina**.
 - Tuttavia, la colorazione non è mai uniforme, ma appaiono delle zolle più intensamente colorate di altre.
 - La cromatina meno colorata corrisponde all'**euromatina** (contiene geni attivamente trascritti), quella più colorata all'**eterocromatina** (contiene regioni **non** trascritte del DNA).

Adattato da lezioni di Elda Scherini

Il nucleo, fortemente colorato con coloranti basici come l'Emattossilina (viola) può essere sferoidale, come nel linfocita rappresentato sotto (freccia nera), ma può anche assumere forma bizzarra, come nel granulocita polimorfonucleato neutrofilo presente nel campo fotografico (freccia rossa).

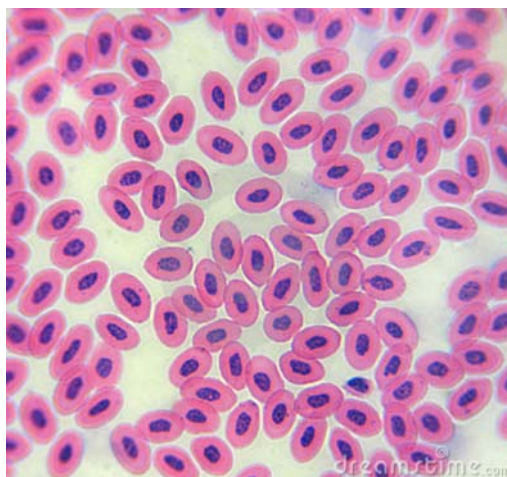


Fotografia al microscopio ottico di sangue umano. Colorazione con May Grünwald-Giemsa. (Fotografia di C. Pellicciari).

N.B. Notare che gli eritrociti non sono nucleati; questo indica che il sangue è di un mammifero.

Scherini

Il nucleo può essere localizzato centralmente e ricalcare la forma della cellula come in questi eritrociti del sangue di pollo.

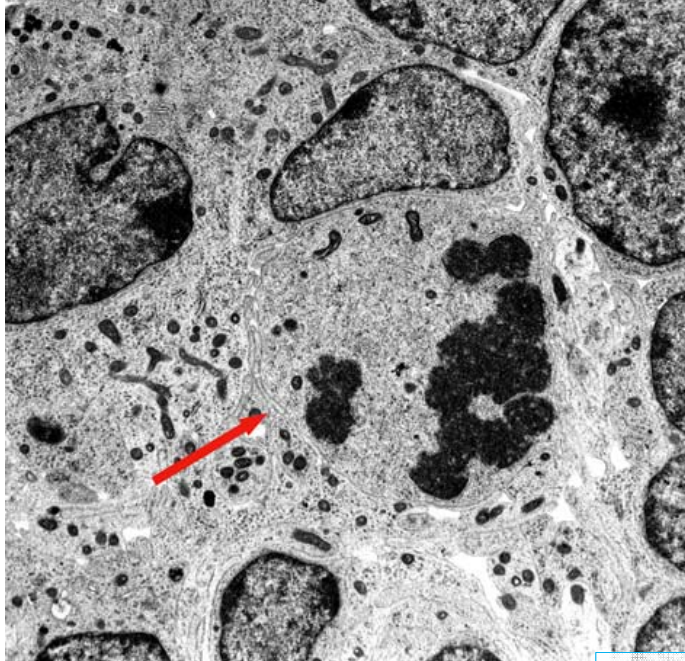


Scherini

<https://www.dreamstime.com/stock-images-chicken-blood-image6166734>

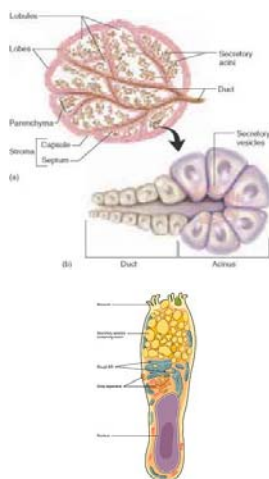
La **cromatina** raggiunge il **massimo grado di condensazione** quando le cellule entrano in **mitosi** e **si evidenziano i cromosomi**. Nella fotografia a microscopia elettronica è rappresentata una cellula dello strato granulare esterno del cervelletto di ratto in **mitosi**.

Fotografia di M. Biggiogera ed E. Scherini



Scherini

Nelle cellule con funzione ghiandolare, il nucleo è spesso decentrato, in zona basale, dalla parte opposta al polo apicale, dove le cellule accumulano, per poi esocitare, il prodotto di secrezione.



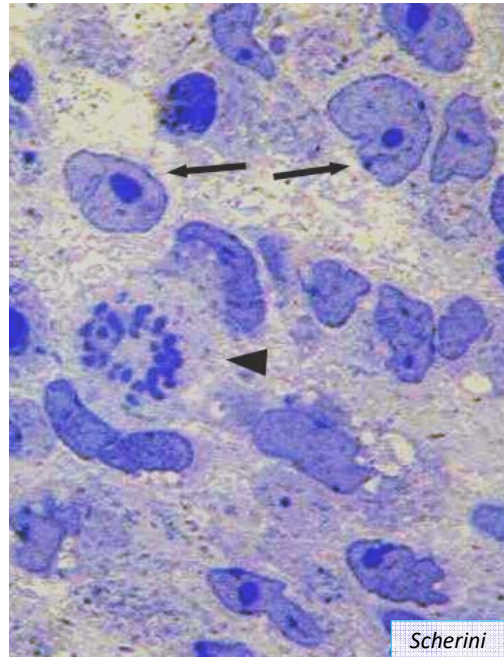
Fotografia a microscopia ottica di ghiandole del Brünner del duodeno di ratto. Colorazione con Ematossilina e Eosina. Fotografia di C. Soldani

Scherini

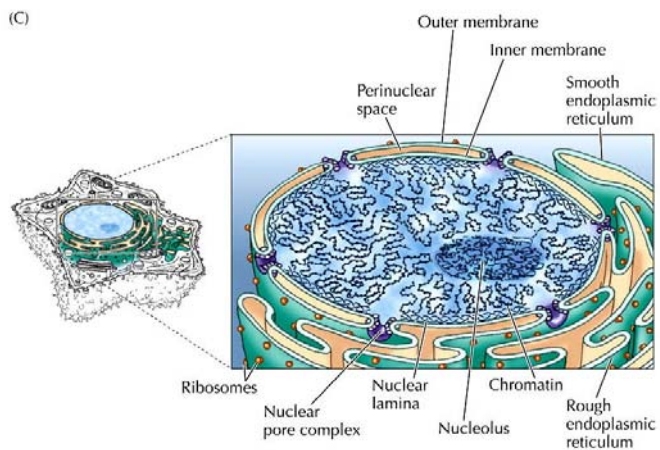
Oltre ad avere forma irregolare il nucleo appare colorato con i coloranti basici in modo irregolare, con piccole **zolle eterocromatiche**. Inoltre, nel nucleo è evidente un corpicciolo sferoidale, fortemente colorato, che è il **nucleolo** (particolarmente evidente nelle cellule puntate dalle frecce).

Nella fotografia si può osservare anche una cellula in mitosi (punta di freccia).

Fotografia a microscopia ottica di sezione semifine di neuroni in cultura. Colorazione con blu di metilene. Fotografia di L. Vecchio



(C)

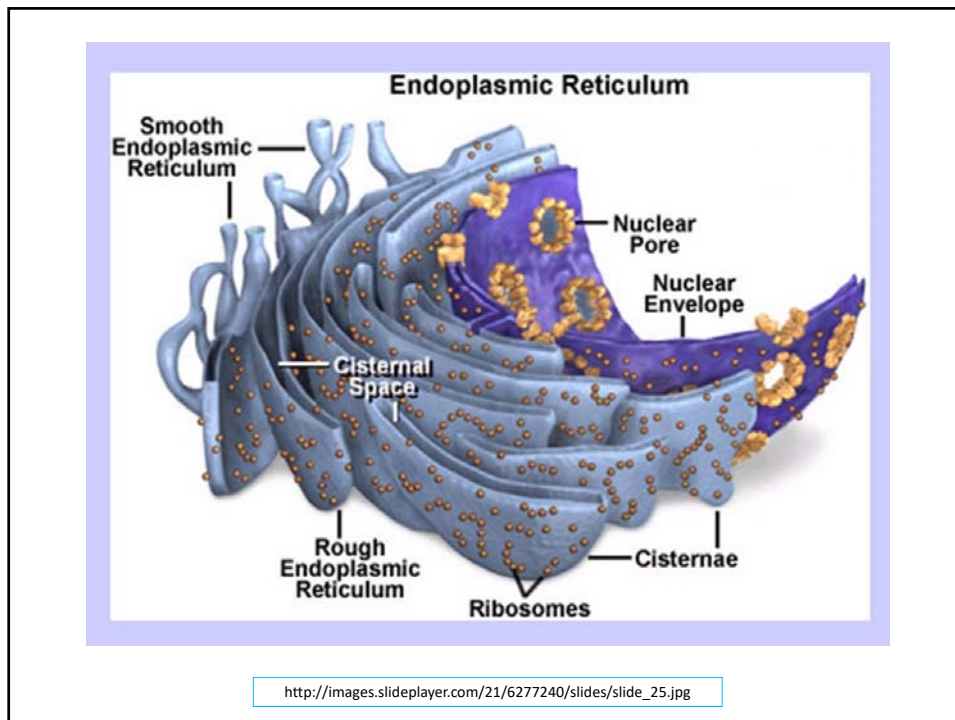


THE CELL, Fourth Edition, Figure 9.1 (Part B) © 2006 ASM Press and Garland Science, Inc.

Nucleo

INVOLUCRO NUCLEARE

Geoffrey M. Cooper: [The Cell: A Molecular Approach](#)



INVOLUCRO/CISTERNA NUCLEARE – [1]

- ✦ L'**inviluppo nucleare**, l'interfaccia fra il citoplasma e il nucleo, è una **doppia membrana**, una **interna** e una **esterna**, che si **riuniscono** all'altezza dei **pori nucleari**.
- ✦ La **membrana nucleare esterna** è in **diretta continuità con il reticolo endoplasmatico** ma **contiene proteine specializzate** (ad es. quelle dei pori nucleari) in concentrazione molto superiore a quella del reticolo.
- ✦ La **membrana interna** è rivestita all'interno dalla **lamina nucleare**, una rete di **filamenti intermedi** che stabilizza la cisterna nucleare ed è coinvolta nell'organizzazione e funzione della cromatina.
- ✦ Lo spazio tra le membrane, o spazio perinucleare, è **continuo con il lume del reticolo endoplasmatico**. Di solito ha uno spessore di 20-40 nm.
- ✦ L'inviluppo si **frammenta all'inizio della prometafase** della mitosi o della meiosi e **si riforma di nuovo nella telofase**.

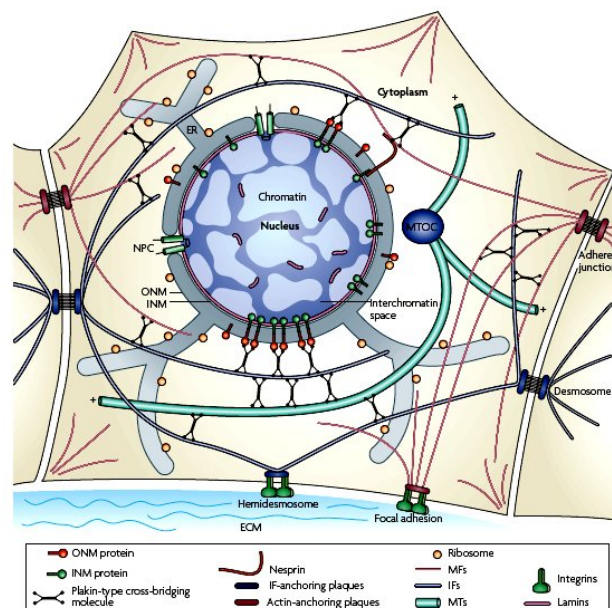
Geoffrey M. Cooper: *The Cell: A Molecular Approach*

Involucro nucleare – [2]

- ✚ La scorsa decade ha visto un completo **ripensamento** della tradizionale visione dell'involucro nucleare come **unicamente un involucro passivo per i cromosomi**.
- ✚ La convergenza di diverse linee di ricerca di base e clinica ha rivelato **ruoli aggiuntivi** sia nel **segnalamento** che nella **progressione mitotica**.
- ✚ Sta diventando evidente che l'**involucro nucleare definisce** non solo l'**organizzazione nucleare** ma anche quella del **citoscheletro** e perciò **integra morfologica- e funzionalmente l'architettura nucleare con quella citoplasmatica**.

Herrmann et al. Nat Rev Mol Cell Biol 8:562-573, 2007

Herrmann et al. Nat Rev Mol Cell Biol 8:562-573, 2007



PORI NUCLEARI

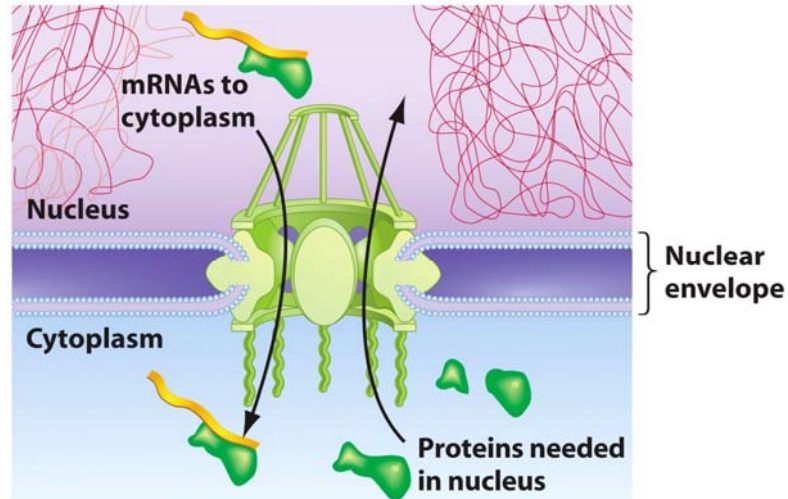


Figure 7-23 Biological Science, 2/e

© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/nuclear_pores.jpg

Trasporto verso e dal nucleo – [1]

- ✚ Il trasporto di proteine dal citoplasma verso il nucleo e il movimento di macromolecole, incluso gli mRNAs, i tRNAs e le subunità ribosomiali, dal nucleo verso il citoplasma, si svolge attraverso i **pori nucleari**, che attraversano entrambe le membrane dell'involucro nucleare.
- ✚ L'importazione delle proteine nel nucleo condivide alcuni aspetti fondamentali con l'importazione delle proteine verso gli altri organelli.
- ✚ Ad esempio, le proteine nucleari importate contengono **sequenze amminoacidiche specifiche di indirizzamento: SEQUENZE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE.**

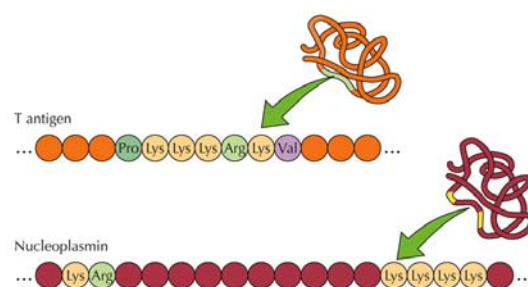
Lodish et al., 7° ed.

Trasporto verso e dal nucleo – [2]

- In molte proteine nucleari i segnali consistono in **una** o **due corte sequenze di amminoacidi che sono ricche degli amminoacidi carichi positivamente lisina e arginina**.
- Tuttavia, le **proteine sono importate nel nucleo già nello stato ripiegato** e quindi il sistema di importazione differisce da quello per l'importazione nei mitocondri, cloroplasti, perossisomi o RE, in cui le proteine si trovano non ripiegate durante la traslocazione.

Lodish et al., 7° ed.

SEGNALI DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARI



Il **segnale di localizzazione nucleare** dell'**antigene T** è una lunga stringa di amminoacidi. Viceversa, il segnale di localizzazione nucleare della **nucleoplasmina** è bipartito, e consiste in una sequenza Lys-Arg, seguita da una sequenza Lys-Lys-Lys-Lys localizzata 10 amminoacidi più a valle.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9927/figure/A1334/>

Table 12-3 Some Typical Signal Sequences

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	*H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	*H ₃ N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO ⁻
Import into ER	*H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻

Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in red and negatively charged amino acids are shown in green. Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in yellow and hydroxylated amino acids are shown in blue. *H₃N indicates the N-terminus of a protein; COO⁻ indicates the C-terminus.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26907/table/A2150/?report=objectonly>

Complesso dei pori nucleari – [1]

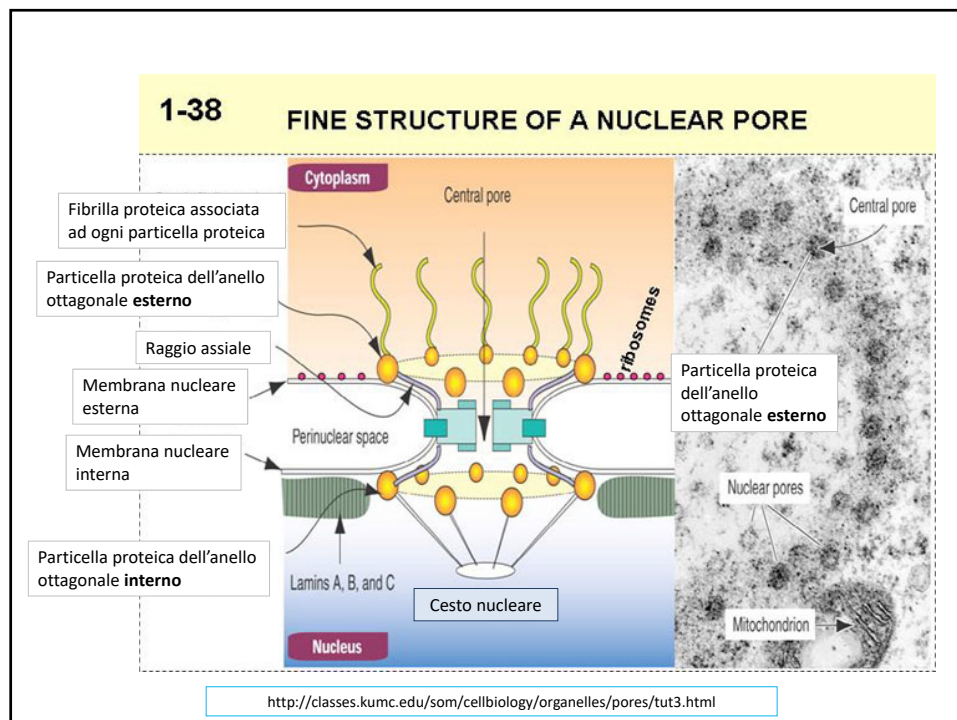
- ✚ L'involucro nucleare è attraversato da numerosi pori.
- ✚ Ogni poro è formato da una struttura elaborata, il **COMPLESSO DEI PORI NUCLEARI («Nuclear Pore Complex, NPC», NPC)**, uno dei più grandi complessi proteici della cellula (60-80 MDa nei Vertebrati, circa 16 volte maggiore di un ribosoma).
- ✚ Un NPC contiene molteplici copie di circa 30 proteine diverse: **nucleoporine**.
- ✚ Al ME si vede che i NPCs hanno una **struttura ad anello di forma ottagonale** inserita nella struttura dell'involucro nucleare che circonda un poro in gran parte acquoso

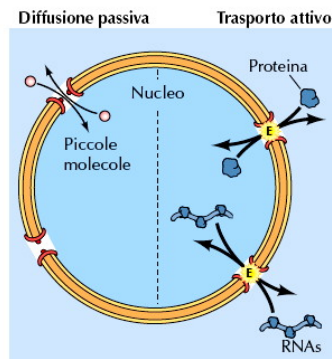
Lodish et al., 7° ed.

Complesso dei pori nucleari – [2]

- ✚ Otto filamenti lunghi circa 100 nm si estendono verso il nucleoplasma; le loro estremità distali sono collegate da un anello terminale, formando una struttura detta «canestro nucleare» («nuclear basket»).
- ✚ Filamenti citoplasmatici si estendono dal versante citoplasmatico del NPC verso il citosol.

Lodish et al., 7° ed.





Traffico molecolare attraverso i complessi dei pori nucleari

Le **molecole di piccole dimensioni** sono in grado di passare rapidamente attraverso i canali aperti del complesso del poro mediante **diffusione passiva**. Viceversa, le **macromolecole** sono trasportate mediante **meccanismo selettivo, energia-dipendente**, che funziona principalmente per importare proteine verso il nucleo ed esportare RNAs verso il citoplasma.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9927/figure/A1330/?report=objectonly>

• Diffusione

Aggiungendo molecole di dimensioni diverse si è visto che le molecole di:

MW: 5,000	Diffondono liberamente
MW: 17,000	2 min per ristabilire l'equilibrio
MW: 44,000	30 min per ristabilire l'equilibrio
MW: 60,000	Non si possono muovere per diffusione

MW: "molecular weight": peso molecolare

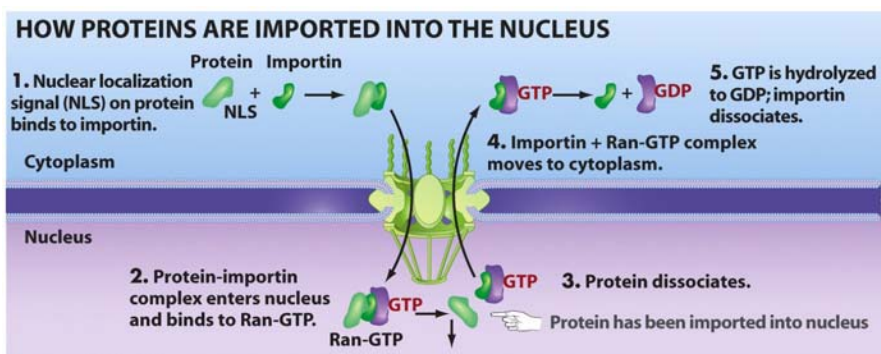
Questo concetto è importante perché significa che i ribosomi maturi (con le due subunità riunite) non possono rientrare nel nucleo. Perciò la sintesi delle proteine (traduzione del mRNA) deve avere luogo fuori dal nucleo.

Trasporto attraverso il complesso dei pori nucleari

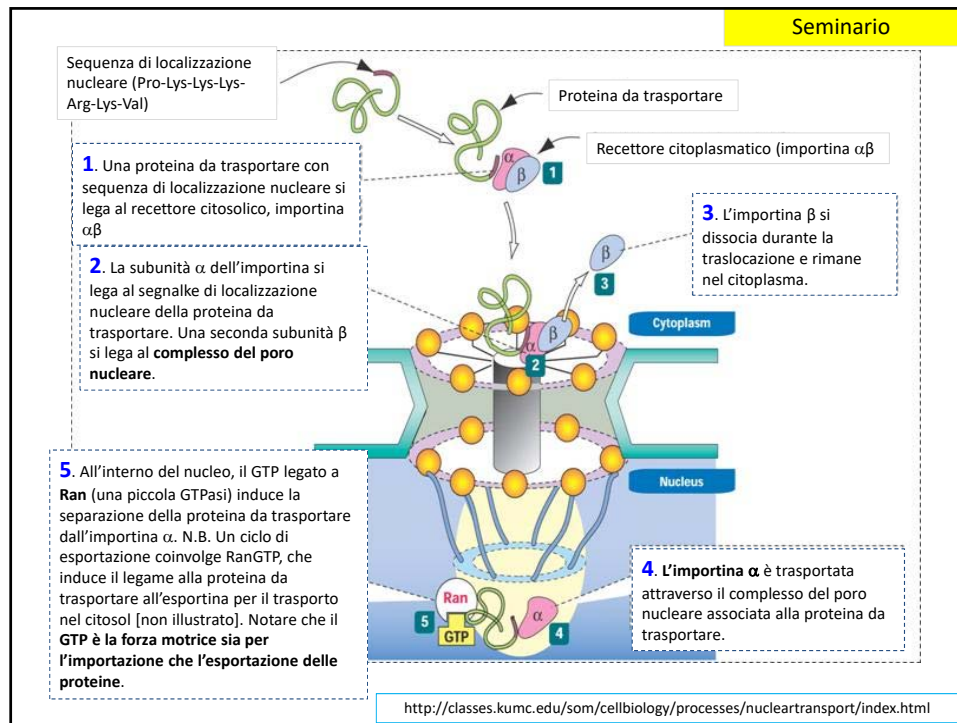
- ✚ Gli ioni, i piccoli metaboliti e le proteine globulari fino a circa 40 kDa possono diffondere passivamente attraverso la regione centrale acquosa del CP.
- ✚ Tuttavia, le proteine di grandi dimensioni e i complessi ribonucleoproteici **non possono diffondere** verso o uscire dal nucleo.
- ✚ Invece, queste molecole vengono **trasportate attivamente** attraverso il NPC con la **collaborazione di proteine di trasporto solubili che si legano alle macromolecole e inoltre interagiscono con le nucleoporine**.
- ✚ Ogni minuto, ogni NPC trasporta 60.000 molecole di proteine verso il nucleo, 20-250 molecole di mRNA, 10-20 subunità ribosomali e 1000 tRNAs fuori dal nucleo.

Lodish et al., 7^a ed.

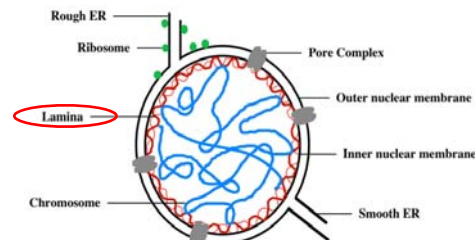
Seminario



<http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/nls.jpg>



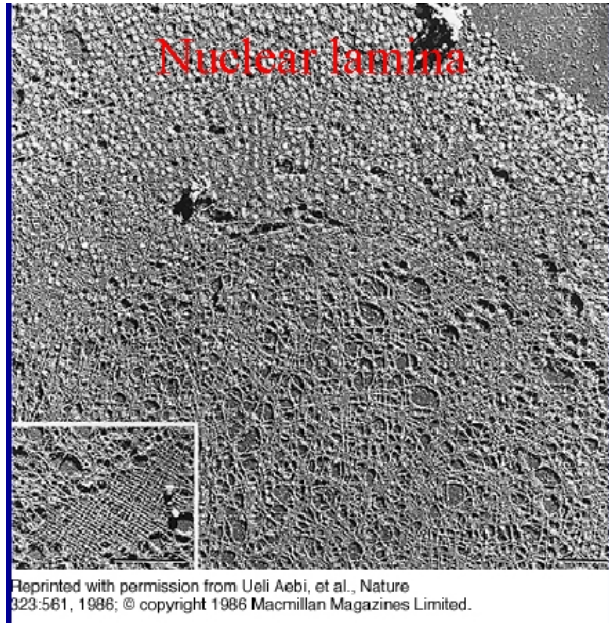
LAMINA NUCLEARE



- ✚ Negli Eucarioti una rete proteica, la **lamina nucleare**, riveste dall'interno il foglietto interno dell'involucro nucleare.
- ✚ E' una densa (30-100 nm di spessore) rete fibrillare all'interno del nucleo della maggior parte delle cellule.
- ✚ E' costituita da filamenti intermedi (citoscheletro) che appartengono alla famiglia delle **lamine nucleari**, e da **proteine della membrana nucleare associate alle lamine**.
- ✚ **La degradazione della lamina nucleare precede la scomparsa dell'involucro nucleare all'inizio della prometafase.**

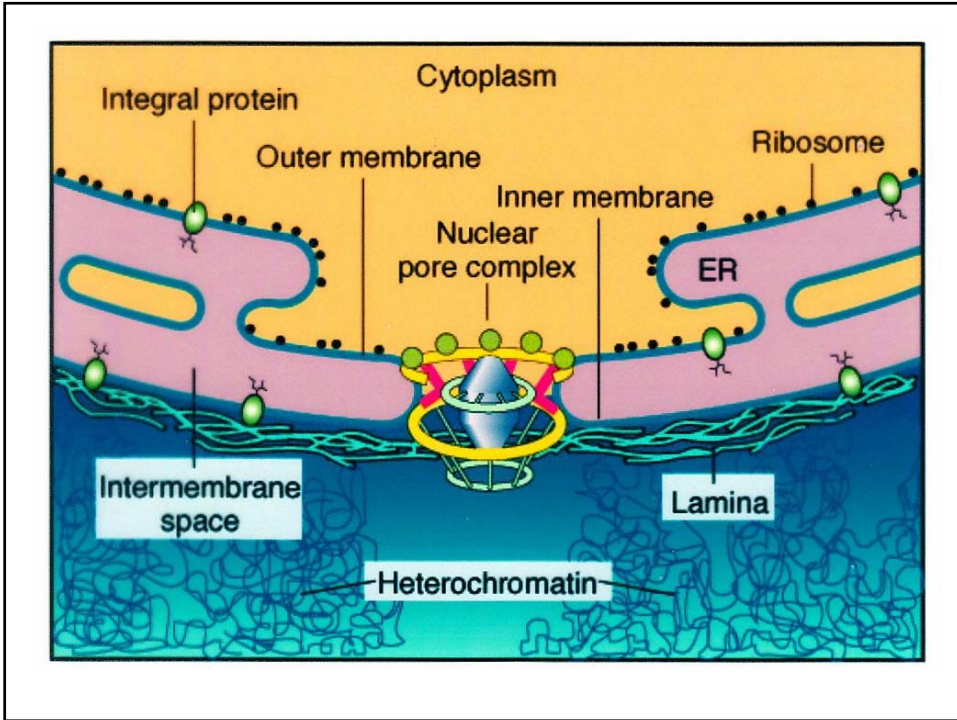
Lamina nucleare

IMPORTANTE
 Correlare con capitolo *filamenti intermedi - lamìne*



Reprinted with permission from Ueli Aebi, et al., Nature 323:561, 1986; © copyright 1986 Macmillan Magazines Limited.

<http://lge.lf1.cuni.cz/heslo/priklady/files/tmp/2.jpg>

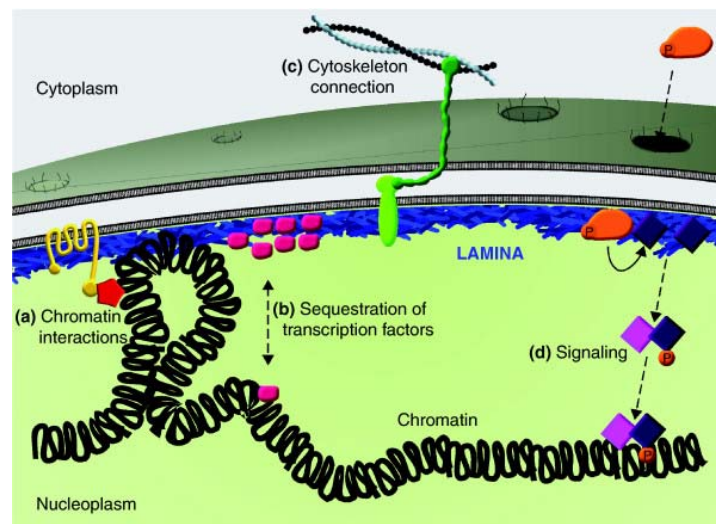


Struttura e composizione della lamina nucleare

- ✚ La **lamina nucleare** consiste di due componenti, le **lamine** e **proteine di membrana associate alle lamine**.
- ✚ Le **lamine** sono **filamenti intermedi di tipo V** che vengono categorizzate come di **tipo A** (lamine A e C) o di **tipo B** (lamine B1 e B2), a seconda dell'omologie delle loro sequenze di DNA, di proprietà biochimiche e di localizzazione cellulare nell'ambito del ciclo cellulare.
- ✚ I filamenti intermedi di tipo V differiscono dai filamenti intermedi citoplasmatici in quanto hanno un dominio a bastoncino più esteso (più lungo di 42 amminoacidi), portano tutti in **segnale di localizzazione nucleare** ("Nuclear Localization Signal"; **NLS**) nel loro C-terminale e hanno una **struttura terziaria diversa**.

https://en.wikipedia.org/wiki/Nuclear_lamina

Funzioni della lamina nucleare – [1]



https://www.researchgate.net/figure/51190261_fig5_Functions-of-the-nuclear-lamina-A-cartoon-representation-of-the-nuclear-lamina

Funzioni della lamina nucleare – [2]

- Lo schema mette in evidenza quattro funzioni chiave della lamina nucleare:
- La lamina **regola l'organizzazione del genoma** e la **struttura della cromatina** mediante **interazioni dirette con la cromatina** e, indirettamente, mediante **associazione con proteine che modificano e regolano la cromatina**.
 - La lamina **regola l'espressione genica sequestrando fattori di trascrizione** a livello dell'involucro nucleare, così limitando la loro disponibilità nel nucleoplasma.
 - Media** anche i **legami strutturali fra il nucleo e il citoscheletro** mediante il complesso LNC, che consiste di lamine e da una proteina della membrana nucleare interna che interagisce con una proteina della membrana nucleare esterna che a sua volta si lega agli elementi del citoscheletro.
 - Inoltre la lamina fornisce una **piattaforma per l'assemblaggio di complessi proteici coinvolti in vie di trasduzione del segnale**.

https://www.researchgate.net/figure/51190261_fig5_Functions-of-the-nuclear-lamina-A-cartoon-representation-of-the-nuclear-lamina


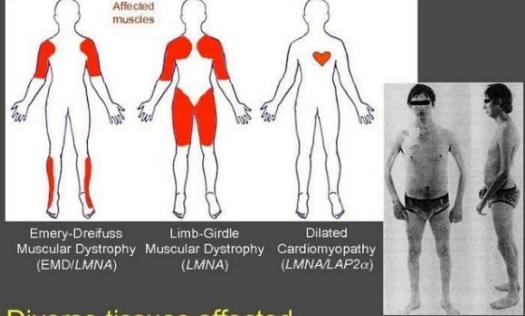






Laminopathies and the long strange trip from basic cell biology to therapy

Howard J. Worman,^{1,2} Loren G. Fong,³ Antoine Muchir,^{1,2} and Stephen G. Young^{3,4}

The Journal of Clinical Investigation <http://www.jci.org> Volume 119 Number 7 July 2009

La principale funzione della **lamina nucleare**, una rete di **filamenti intermedi** che giace principalmente sotto la membrana nucleare interna, è quella di **fornire un'impalcatura strutturale al nucleo** della cellula. Tuttavia, la lamina svolge anche altre funzioni, come quelle di giocare un ruolo **nell'organizzazione della cromatina**, nel **collegamento del nucleo con il citoplasma**, nella **trascrizione genica** e nella **mitosi**. Nelle cellule somatiche, i principali componenti proteici della lamina nucleare sono le lamine A, C, B1 e B2. L'interesse per le lamine nucleari è aumentato in modo drammatico negli ultimi anni con la consapevolezza che **mutazioni nel gene LMNA** che codifica per le lamine A e C, **provoca una grande diversità di patologie umane** ("laminopatie", che includono la distrofia muscolare, le cardiomiopatie, la lipodistrofia parziale, e i sindromi progeroidi). In questo lavoro riassumiamo le laminopatie e il lungo e strano percorso che va dagli studi di biologia cellulare di base agli approcci terapeutici per queste patologie.

Nuclear Envelope Diseases

	Muscle Muscular dystrophy <i>LMNA/EMERIN</i> <i>SUN2/Noxiprin</i>	<p style="text-align: center;">Skeletal Muscle Skeletal Muscle Cardiac Muscle</p>  <p style="text-align: center;">Affected muscles</p> <p style="text-align: center;">Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy (EMD/LMNA) Limb-Girdle Muscular Dystrophy (LMNA) Dilated Cardiomyopathy (LMNA/LAP2α)</p>
	Nerves Neuropathy <i>LMNA/Torsin A</i>	
	Skin Dermopathy <i>LMNA/FACE 1</i>	
	Heart Cardiomyopathy <i>LMNA/LAP2α</i>	
	Bone Melorheostosis <i>MAN1/LBR</i>	
	Fat Lipodystrophy <i>LMNA</i>	
	Aging Progeria <i>LMNA</i>	

Diverse tissues affected

Clinical variability

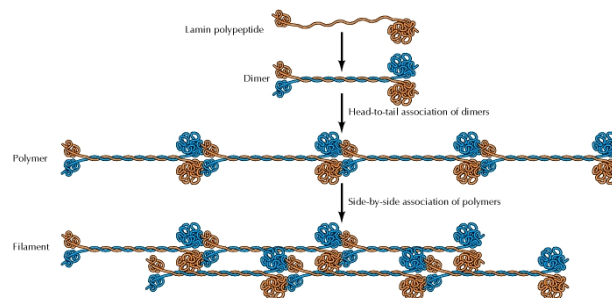
Genetic heterogeneity: Multiple interacting proteins cause variants of the same disease

Figure: Courtesy of E. Schirmer

<http://lge.lf1.cuni.cz/heslo/priklady/files/nad.html>

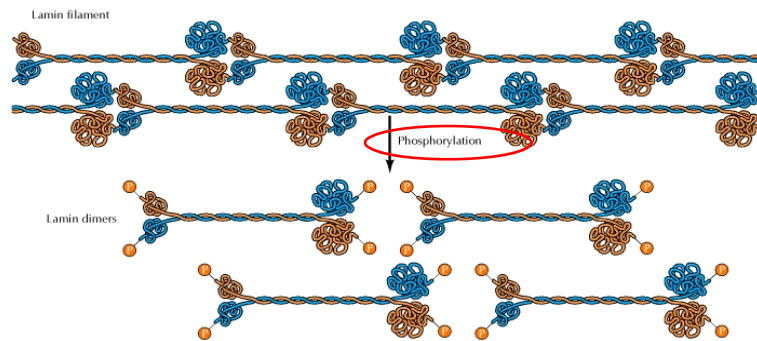
Polimerizzazione delle lamine

- La **lamina nucleare** è assemblata mediante interazioni fra due polipeptidi di lamine in cui le regioni ad α -elica si avvolgono una rispetto all'altra formando una struttura a due filamenti "coiled-coil", seguita da associazione testa-coda di molteplici dimeri.
- Il polimero allungato viene esteso lateralmente mediante interazioni laterali dei polimeri, formando una struttura bidimensionale sottostante l'involucro nucleare.



https://en.wikipedia.org/wiki/Nuclear_lamina

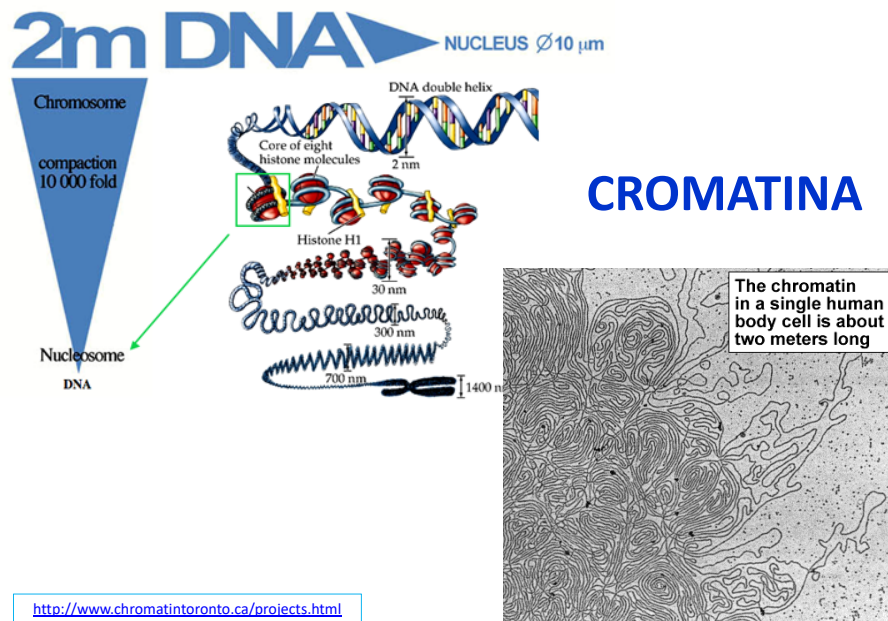
Dissoluzione della lamina nucleare nella profase della mitosi



La lamina nucleare consiste in una rete di **filamenti di lamine**. 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/>

Fig.1 Chromatin organization of higher eukaryotes.



Cromosomi – [1]

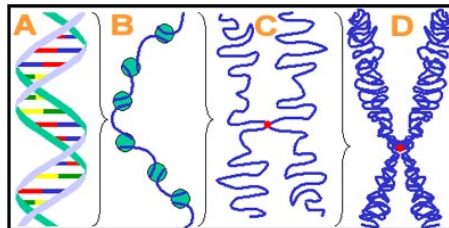
- Le cellule **impacchettano** il loro **DNA** non solo per **proteggerlo**, ma anche **per regolare quali geni sono accessibili per la trascrizione o la replicazione e quando**.
- Il **DNA** nucleare non è mai nudo nè separato da proteine. Piuttosto forma un **complesso** con diversi partners proteici che **collaborano al suo impacchettamento nello spazio angusto del nucleo**.
- Questo **complesso DNA-proteine** è detto **cromatina**, con una massa di proteine pressocchè uguale a quella del DNA.
- All'interno delle cellule la cromatina di solito si ripiega in formazioni caratteristiche dette **cromosomi**.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/chromosomes-14121320>

- Nella **fase G1 dell'interfase** del ciclo cellulare (precedente la fase S in cui avviene la sintesi del DNA) e nelle fasi di anafase e telofase della mitosi, ogni cromosoma contiene **una singola molecola di DNA** a doppio filamento (**cromatidio**) insieme alle menzionate proteine di impacchettamento [B].
- Dopo la **fase S**, in cui il DNA viene replicato [C], **ogni cromosoma contiene due copie della stessa molecola di DNA** (due cromatidi fratelli; "sister chromatids"), unite soprattutto a livello dei loro centromeri. Inizialmente i filamenti sono molto distesi ma nella profase e metafase si compattano progressivamente (diventando sempre più spessi e più corti) [D].
- Nell'**anafase** i due cromatidi si separano e i cromosomi ritornano ad avere una sola molecola di DNA e si decondensano di nuovo.

Cromosomi – [2]

Correlare con capitolo Ciclo Cellulare



<http://vanat.cvm.umn.edu/mMeiosis/images/ChromosomeContent.jpg>

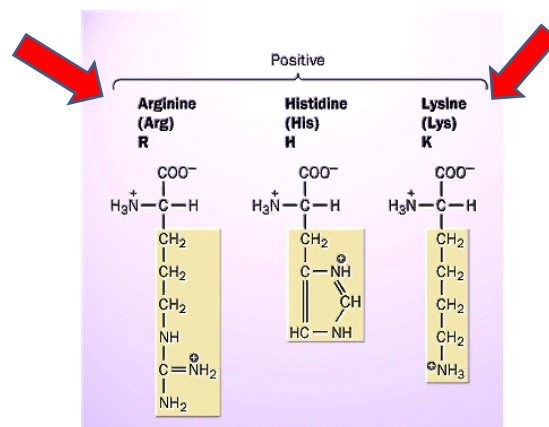
Nucleosomi

Unità fondamentali della struttura dei cromosomi – [1]

- Le **proteine che si legano al DNA per formare un cromosoma eucariotico** si dividono tradizionalmente in due classi:
 - Istoni**
 - Proteine non istoniche**
- Il **complesso** formato da entrambe le classi di **proteine con il DNA nucleare** è detto **CROMATINA**.
- Gli **istoni** sono presenti in tale quantità nelle cellule (circa 60 milioni di molecole di ogni tipo per cellula umana) che la loro **massa totale nella cromatina è circa uguale a quella del DNA**.

Istoni – [1]

- Piccole proteine che contengono un n° molto elevato dei **residui basici** (carica positiva) **lisina** e **arginina**.



Istoni – [2]

- ✚ Gli istoni sono suddivisi in 5 classi in base al **rapporto arginina/lisina**:

Histone	Molecular weight	Number of amino acid residues	Content of basic amino acids (% of total)	
			Lys	Arg
H1*	21,130	223	29.5	1.3
H2A*	13,960	129	10.9	9.3
H2B*	13,774	125	16.0	6.4
H3	15,273	135	9.6	13.3
H4	11,236	102	10.8	13.7

*The sizes of these histones vary somewhat from species to species. The numbers given here are for bovine histones.

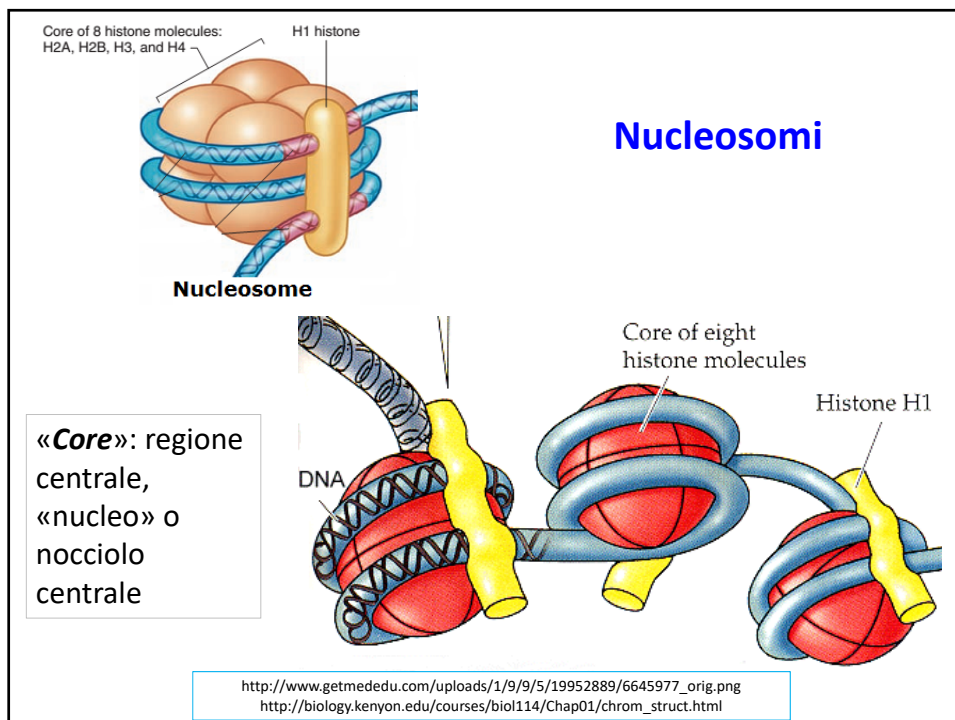
<http://www.siumed.edu/~bbartholomew/images/Lehninger/Table%2024-03.GIF>

Istoni – [3]

- ✚ Le sequenze di AA degli istoni (soprattutto H3 e H4) sono state estremamente conservate nell'evoluzione:
 - Una ragione è che **gli istoni interagiscono con il DNA che ha una struttura simile in tutti gli organismi**.
 - Un'altra è che **quasi tutti gli AA di un istone sono coinvolti con interazioni con altre molecole** (DNA e altri istoni).
 - Solo pochi AA di un istone possono essere sostituiti senza compromettere seriamente la loro funzione.

Nucleosomi: unità fondamentali della struttura dei cromosomi – [2]

- ✚ Gli istoni sono i responsabili del 1° livello (il più elementare) dell'organizzazione dei cromosomi: **NUCLEOSOMA**
- ✚ Nei nuclei interfasicci la maggior parte della cromatina si trova ulteriormente condensata, sotto forma di una **fibra** con **diametro di circa 30 nm**.
- ✚ Sottoposta a trattamenti per svolgere parzialmente, la fibra si presenta al ME come una serie di «**collana di perle**».
 - Il filo è il DNA.
 - Ogni perlina è una particella di nucleosoma.



Il nucleosoma: l'unità della cromatina

- Due unità di ogni istone H2A, H2B, H3, e H4 si avvicinano per formare un **ottamero di istoni**, che lega e avvolge circa 1,7 giri di DNA, circa 146 coppie di basi,
- L'aggiunta di una proteina H1 avvolge altre 20 coppie di basi, dando origine a due giri completi attorno all'ottamero, e formando una struttura chiamata **cromatosoma**.
- Le risultanti 166 coppie di basi non sono molto lunghe se si considera che ogni cromosoma contiene in media più di 100 milioni di coppie di basi del DNA.
- Perciò, **ogni cromosoma contiene centinaia di migliaia di nucleosomi** e questi nucleosomi sono **riuniti dal DNA che scorre fra di essi** (in media circa 200 coppie di basi).
- Questo DNA di collegamento viene designato "**linker DNA**"
- Ogni cromosoma è quindi una **lunga catena di nucleosomi**, che ha l'aspetto di una **collana di perle** quando osservato al microscopio elettronico.

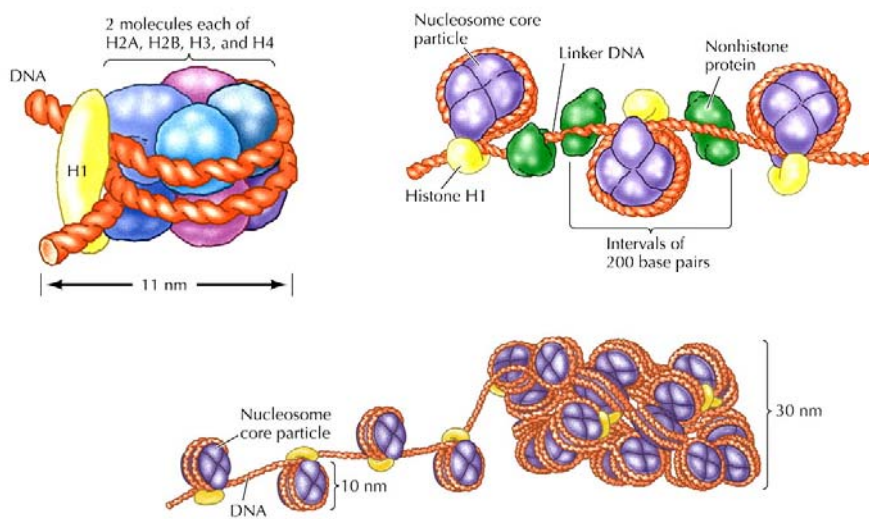


Foto al microscopio elettronico della cromatina: "**beads on a string**" [collana di perle].

I nucleosomi sono indicati da frecce

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>

Nucleosoma



Geoffrey M. Cooper: *The Cell: A Molecular Approach*

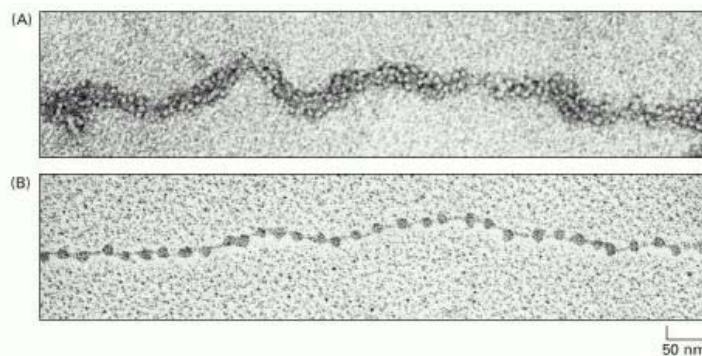
La cromatina è avvolta formando strutture di ordine superiore

- ✚ L'impacchettamento di DNA in nucleosomi accorcia la lunghezza della fibra di circa 7 volte.
 - ✚ In altre parole, un frammento di DNA lungo 1 m diventerà una **fibra di cromatina a "colana di perle"** di solo 14 cm.
 - ✚ Nonostante l'accorciamento, questa lunghezza è ancora eccessiva per essere contenuta dal nucleo, che di solito ha un diametro di circa 10-20 μm .
 - ✚ Perciò, la cromatina è ulteriormente avvolta in una **fibra ancora più corta, più spessa**, designata «**fibra di 30 nm**» perchè ha circa 30 nm di diametro.
- (1 μm = 1000 nm)



Fotografia al microscopio elettronico di una fibra di cromatina di 30 nm.
Scale bar = 50nm.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>



Nucleosomi osservati al microscopio elettronico

- (A) La cromatina isolata direttamente da un nucleo in interfase appare come un filamento di spessore 30 nm.
- (B) Questa immagine al microscopio elettronico mostra una porzione di cromatina che è stata sperimentalmente disimpaccata, o decondensata, dopo isolamento per mettere in evidenza i nucleosomi

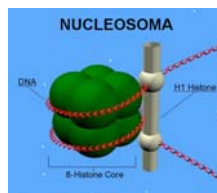
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26834/figure/A631/?report=objectonly>

Struttura del nucleosoma (10-11 nm di diametro)

✚ Ogni **nucleosoma** contiene una particella centrale; «core» formata da **146 coppie di basi di DNA superavvolto** che gira per quasi 2 volte **attorno ad un complesso** a forma di disco **formato da 8 molecole di istoni (due di ciascuno degli istoni H2A, H2B, H3 e H4)**.

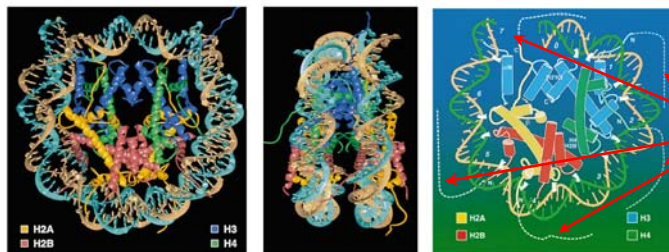
✚ L'ultimo istone, **H1**, è localizzato fuori dal «core»:

✚ **H1: Istone di connessione** – in quanto **lega e stabilizza una parte del DNA di connessione (DNA linker) che unisce due particelle centrali («core») successive**.



<http://www.molecularstation.com/molecular-biology-images/502-dna-pictures/60-nucleosome.html>

Struttura tridimensionale di un nucleosoma



Code degli istoni; modificabili chimicamente

✚ Le 8 molecole istoniche che formano il «core» del nucleosoma sono organizzate in 4 eterodimeri: **due dimeri H2A-H2B** e **due dimeri H3-H4**.

✚ La dimerizzazione è mediata dai domini C-terminali, che consistono principalmente di regioni ad α -elica, ripiegati in una massa compatta nel core del nucleosoma.

✚ Invece, **il segmento N-terminale di ogni istone** (ed anche il segmento C-terminale dei H2A) **ha la forma di una lunga coda flessibile che si estende al di fuori della doppia elica di DNA**.

■ **Queste code sono sottoposte ad una serie di modificazioni covalenti che hanno funzioni importantissime per la struttura e funzionamento del DNA**

H1
Linker histone

H2A

H2B

H3

H4

Legend:
 conserved
 variable
 helix

Histone Type	Molecular Weight	Number of Amino Acids	Approx. Content of Basic Amino Acids
H1	17,000–28,000	200–265	27% lysine, 2% arginine
H2A	13,900	129–155	11% lysine, 9% arginine
H2B	13,800	121–148	16% lysine, 6% arginine
H3	15,300	135	10% lysine, 15% arginine
H4	11,300	102	11% lysine, 4% arginine

ISTONI

Piccole proteine basiche, altamente conservate

Acetilazione degli istoni

- modificazione reversibile delle **lisine** del N-terminale degli istoni del «core»

Risultato

- Riduzione del legame al DNA
- Destabilizzazione della cromatina

$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})-$ Acetyl group

Seminario

Copyright 1999, J. H. Waterbor

3-99

http://www.ircm.qc.ca/Etudier/cours/Documents/BIM6026_2015.pdf

(A)

(B)

Seminario

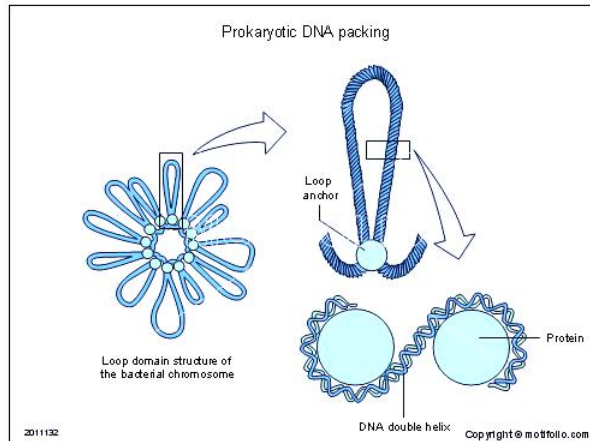
Nature Reviews | Cancer

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26834/figure/A643/?report=objectonly>

http://www.nature.com/nrc/journal/v1/n3/fig_tab/nrc1201-194a_F1.html

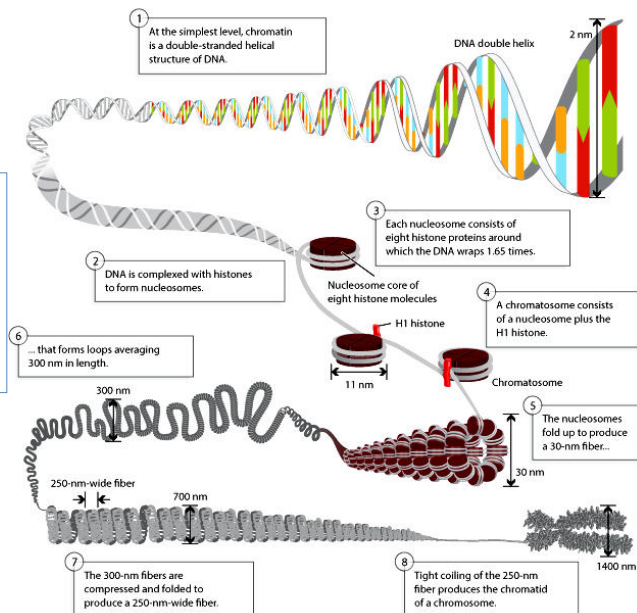
Nota:
 Il DNA è complessato con le proteine istoniche e non istoniche per formare la cromatina **soltanto nelle cellule eucariote**. **Nelle cellule procariote il DNA è praticamente "nudo"**.

DNA nelle cellule procariotiche



<http://www.motifolio.com/1021132.html>

LIVELLI SUPERIORI DI ORGANIZZAZIONE DELLA CROMATINA



<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>

Livelli di organizzazione della cromatina – [1]

- ✚ **1° livello:** avvolgimento della molecola di DNA intorno alla particella core del nucleosoma: **10 nm** di diametro.
- ✚ **2° livello:** Fibra di circa **30 nm**: aumenta di 6x il grado di compattazione del DNA (2 modelli suggeriti, in base alla posizione dei nucleosomi lungo la fibra):
 - La formazione della **fibra da 30 nm** dipende dall'**interazione tra istoni dei nucleosomi vicini** (sia istoni linker, H1, che istoni del core, H2a, H2b, H3, H4).

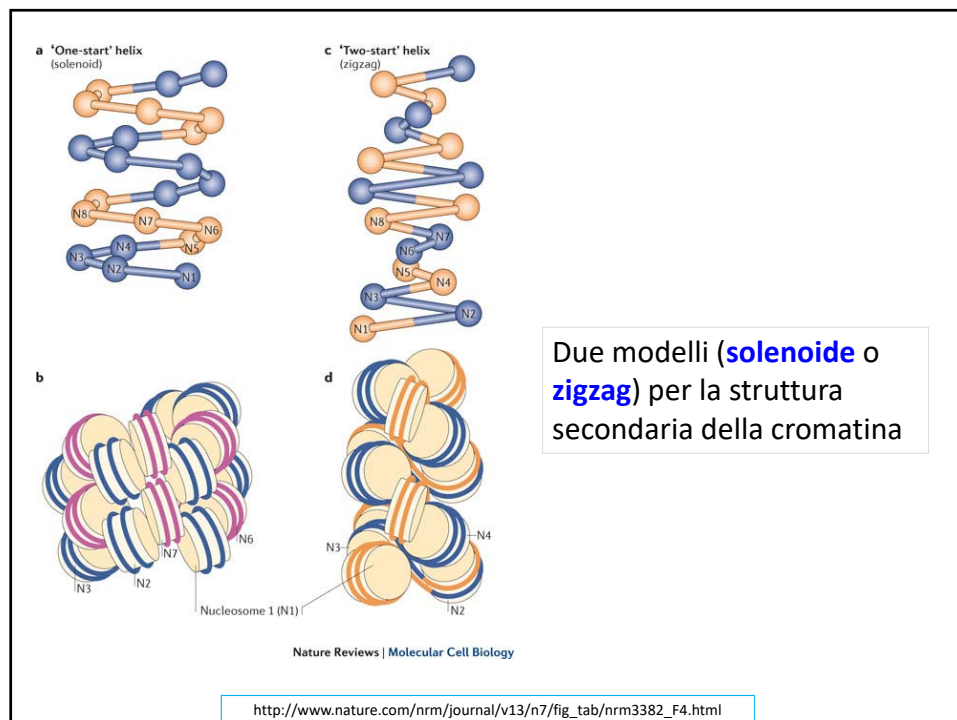
Livelli di organizzazione della cromatina – [2]

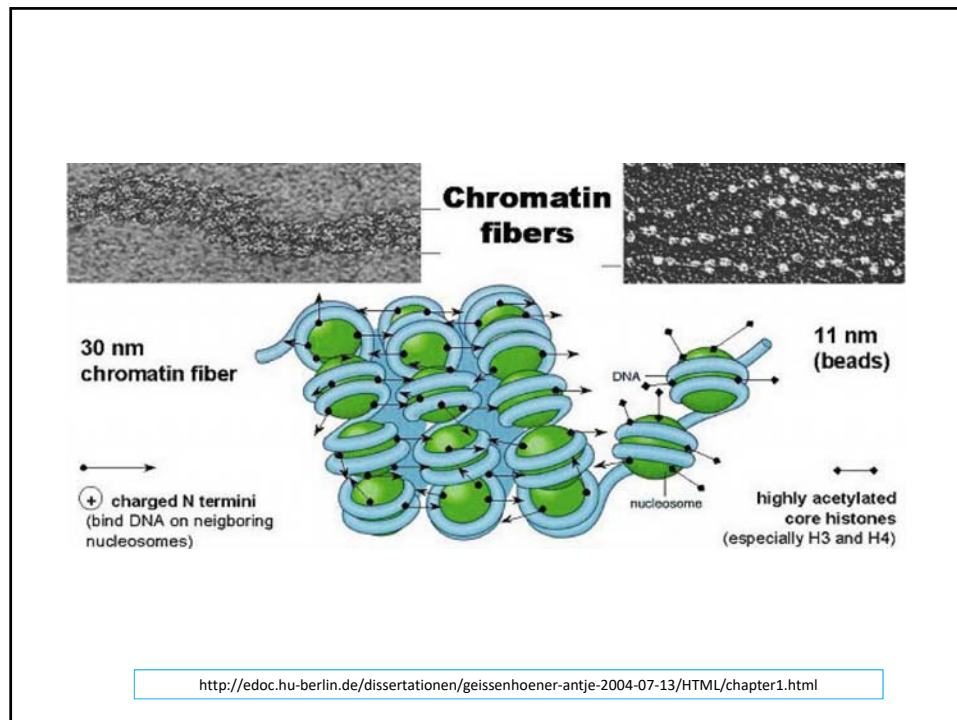
- ✚ La cromatina nelle **regioni** dei cromosomi che **non** vengono **trascritte** o **replicate** («eterocromatina») si trova predominantemente nella **forma condensata della fibra di 30 nm e in strutture di ordine superiore di ripiegamento, più spesse**.
- ✚ Viceversa, si ritiene che **le regioni della cromatina attivamente trascritte della cromatina** («eucromatina») assumano la forma distesa de «**collanina di perle**» (10-11 nm di diametro).

Lodish et al., 7° ed.

Struttura della fibra di 30 nm

- Gli studi attuali suggeriscono che la fibra di 30 nm abbia una struttura a nastro avvolto a zig-zag nel quale il DNA linker è presente in uno stato lineare e disteso che cambia direzione tra nucleosomi successivi, portando alla formazione di due file di nucleosomi adiacenti.





Livelli di organizzazione della cromatina – [3]

- ✚ **3° livello:** Organizzazione della fibra di cromatina da 30 nm in una serie di ampie **anse superavvolte** – domini – che possono essere compattate in fibre più spesse (**80 – 100 nm**). Le anse di DNA sono apparentemente agganciate alla loro base a proteine che formano un'impalcatura organizzata: matrice.
- ✚ **4° livello:** cromosoma mitotico: 1 μm di cromosoma contiene circa 1 cm di DNA (compattazione di 10,000:1).
 - Modalità di compattazione poco nota.

Chromosome structure

AP Biology

«**Scaffold proteins**»: proteina di impalcatura, di sostegno.

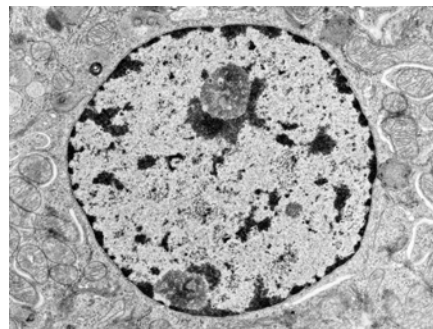
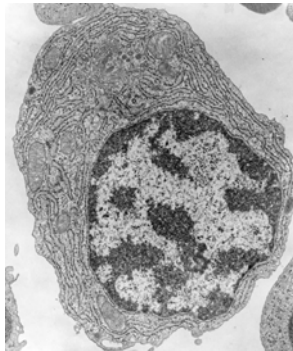
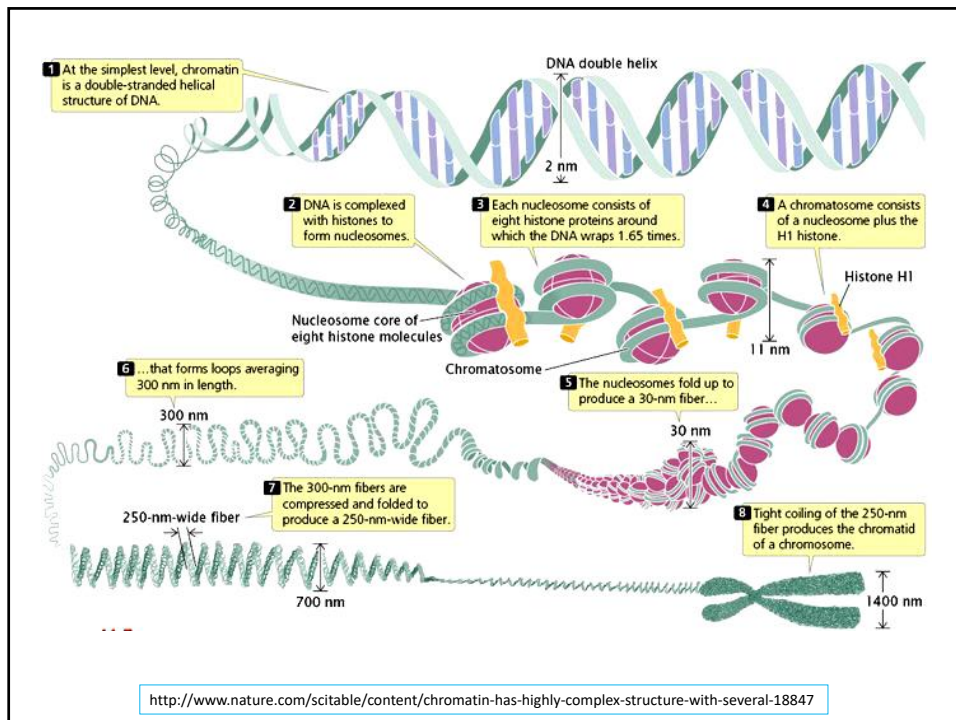
http://images.slideplayer.com/26/8520129/slides/slide_2.jpg

Anse di cromatina

Un livello superiore di struttura della cromatina

DNA is organized into chromosomes by scaffolding proteins in the nucleus

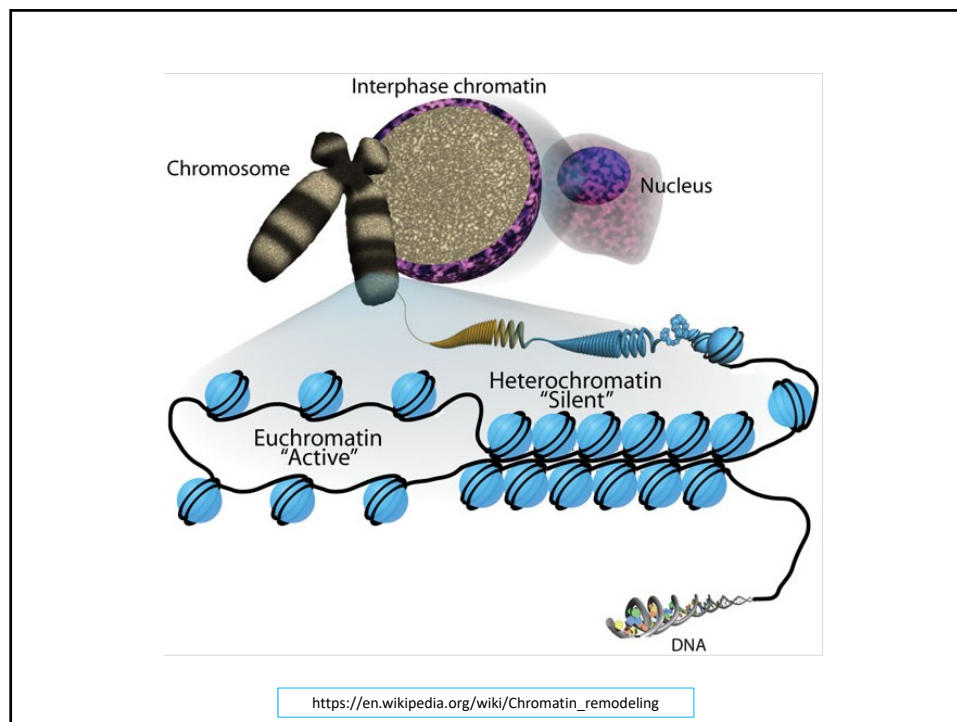
<http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Slides/Chromatin%20Structure/03%20Loops%20of%20Chromosome%20DNA.JPG>



Cromatina

ETEROCROMATINA ED EUCROMATINA: DEFINIZIONE FUNZIONALE

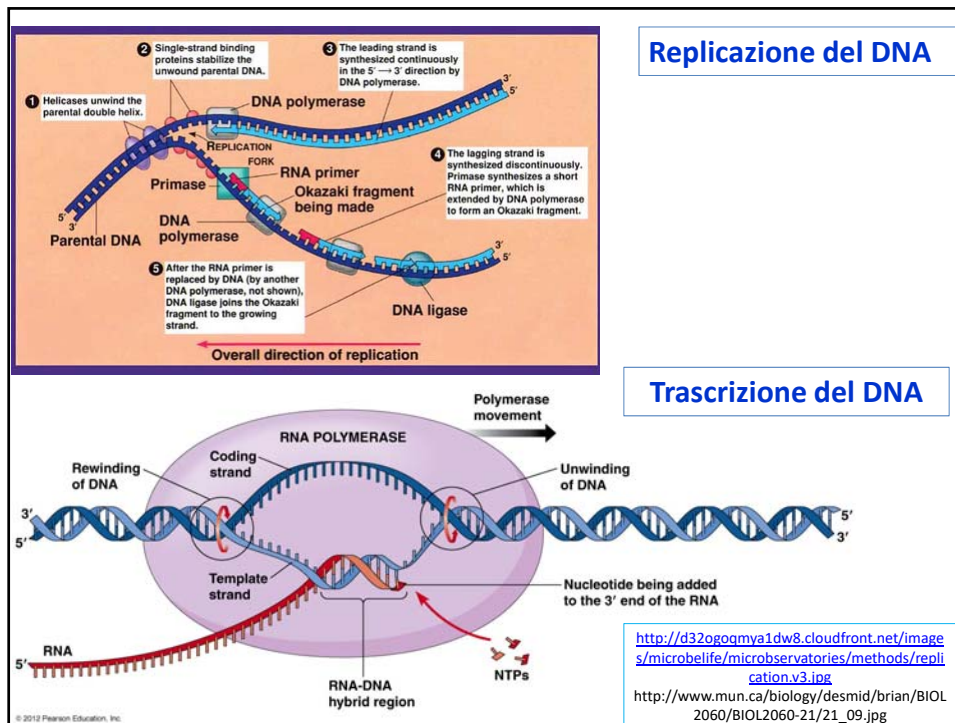
http://missinglink.ucsf.edu/m/ids_101_histo_resource/images/cell_structure_lab_micrograph_B.jpg
http://medcell.med.yale.edu/histology/cell_lab/images/euchromatin_and_heterochromatin.jpg



La cromatina nella trascrizione e replicazione del DNA – [1]

- ✚ I processi quali la **trascrizione** e la **replicazione** richiedono che **i due filamenti del DNA si separino temporaneamente, così dando alle polimerasi accesso allo stampo di DNA.**
- ✚ Tuttavia, la presenza dei nucleosomi e il ripiegamento della cromatina in fibre di 30 nm pone degli ostacoli agli enzimi che srotolano e copiano il DNA.
- ✚ E' quindi importante per le cellule avere meccanismi per svolgere le fibre di cromatina e/o per rimuovere transitoriamente gli istoni, permettendo che la trascrizione o la replicazione possano avere luogo.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>



La cromatina nella trascrizione e replicazione del DNA – [2]

- ✚ In termini generali, ci sono due meccanismi principali mediante i quali la cromatina viene resa più accessibile:
 - ◆ Gli istoni possono essere **modificati chimicamente** mediante aggiunta di gruppi **acetilici**, **metilici** o **fosfato**.
 - ◆ Gli istoni possono essere **spostati** da complessi di rimodellamento della cromatina, così esponendo le sequenze del DNA alle polimerasi o ad altri enzimi.
- ✚ E' importante tenere presente che questi **processi** sono **reversibili**, e che quindi la cromatina modificata o rimodellata può ritornare allo stato di compattazione dopo il completamento della trascrizione e/o replicazione.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>

Rimodellamento della cromatina – [1]

- ✚ **Modificazione dinamica dell'architettura della cromatina** per permettere accesso al DNA genomico dei complessi proteici che controllano l'espressione genica.
- ✚ Viene svolto principalmente da:
 - **Modificazione covalente degli istoni** mediante enzimi specifici, ad es. «**Histone Acetyl T**ransferases» (**HATs**), deacetilasi, metiltrasferasi e chinasi [enzimi che aggiungono gruppi fosfato ad amminoacidi quali la tirosina o la serina/treonina]
 - Complessi di **rimodellamento della cromatina** ATP-dipendenti che spostano, espellono, o ristrutturano i nucleosomi.

https://en.wikipedia.org/wiki/Chromatin_remodeling

Rimodellamento della cromatina – [2]

- ✚ Oltre a regolare dinamicamente l'espressione genica, il rimodellamento dinamico della cromatina impartisce un **ruolo regolatorio epigenetico** a diversi processi biologici essenziali. Ad es: **replicazione e riparo del DNA** degli **oociti**, **apoptosi**, **segregazione dei cromosomi**, **sviluppo** e **pluripotenza di cellule staminali**.
- ✚ Diverse aberrazioni delle proteine di rimodellamento della cromatina sono state individuate come associate a patologie umane, in particolare ai **tumori**.

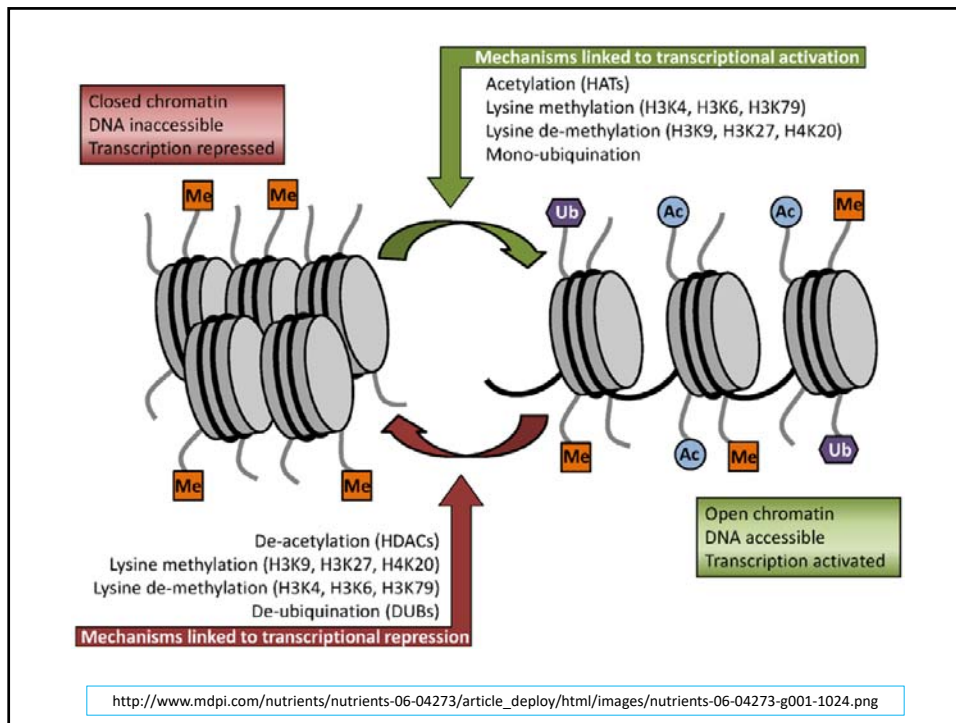
https://en.wikipedia.org/wiki/Chromatin_remodeling

Eterocromatina e eucromatina – [1]

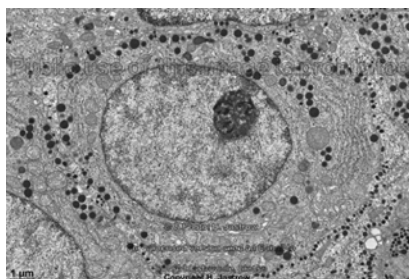
- ✚ Alla fine della mitosi, la maggior parte della cromatina che compone i cromosomi mitotici, altamente condensati, torna ad una condizione più distesa, tipica dell'interfase.
- ✚ Circa il 10% della cromatina tuttavia rimane in una **forma condensata e compatta anche durante l'interfase**, chiamata **ETEROCROMATINA**, per distinguerla dall'**EUCROMATINA** che invece ritorna ad uno stadio disperso, che **permette la trascrizione**.
- ✚ Perciò l'**eterocromatina ha un'attività trascrizionale ridotta o nulla**.

Eterocromatina e eucromatina – [2]

- ✚ Durante l'interfase l'**eterocromatina** rimane in uno **stato condensato** che di solito è associato all'involucro nucleare, ai nucleoli, e a foci in altre zone.
- ✚ L'eterocromatina include i **centromeri** e i **telomeri** dei cromosomi e **geni trascrizionalmente inattivi**.
- ✚ Viceversa, l'**eucromatina**, che presenta uno **stato meno condensato nell'interfase**, si colora debolmente con i coloranti per il DNA.
- ✚ La maggior parte delle **regioni trascritte** del DNA si trova nell'**eucromatina**.



Eucromatina ed eterocromatina

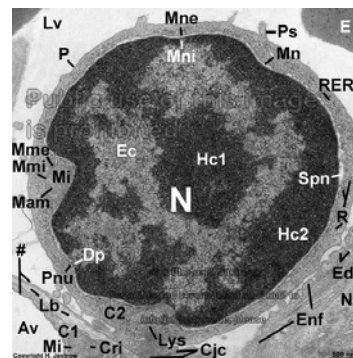


Cellule dell'adenipofisi che secerne prolattina

<https://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/eigeneEM/Hypophyse/Hy8E.html>

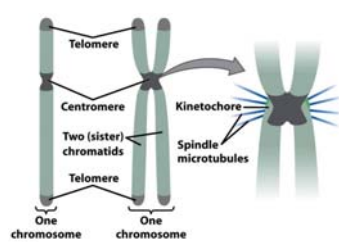
Linfocito in un capillare del polmone di ratto

<https://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/eigeneEM/Tph/Tph14Plc.jpg>

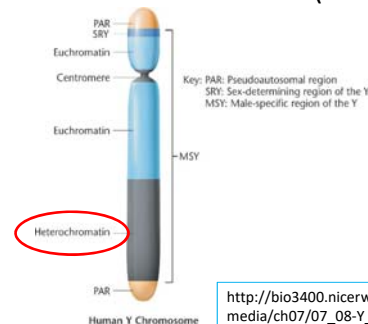


Eterocromatina Costitutiva

- ✚ **Eterocromatina costitutiva**: rimane nello stato condensato in tutti gli stadi del ciclo cellulare di tutte le cellule dello stesso organismo – DNA permanentemente silenziato.
- ✚ Nei mammiferi la maggior parte dell'eterocromatina costitutiva è localizzata in corrispondenza della regione che fiancheggia il **centromero** e i **telomeri** di ogni cromosoma e in alcuni siti come il **braccio distale del cromosoma Y** (maschi)



<https://classconnection.s3.amazonaws.com/955/flashcards/960955/jpg/picture61328398131390.jpg>



http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch07/07_08-Y_chromosome.jpg

Eterocromatina facoltativa

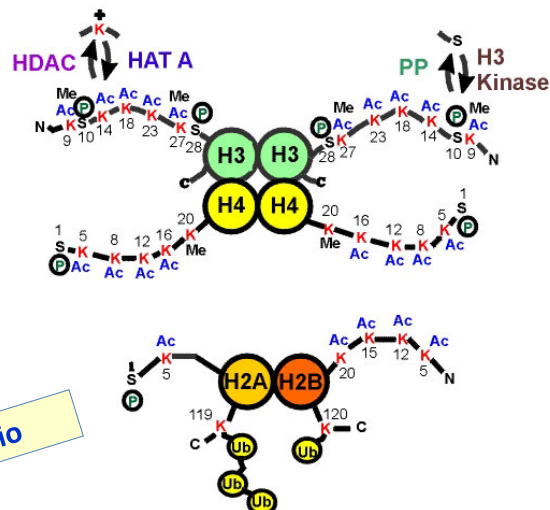
- ✚ Corrisponde a **porzioni della cromatina che sono state specificamente inattivate durante determinate fasi della vita di un organismo o in certi tipi di cellule differenziate**.
- ✚ Ad esempio, i geni che codificano per le proteine specializzate del fegato si trovano nell'eucromatina di un epatocita e nell'eterocromatina di una cellula muscolare o di un neurone.
- ✚ Nelle **femmine** uno dei due cromosomi X viene inattivato: solo uno dei due è trascrizionalmente attivo.
- ✚ L'altro rimane condensato sotto forma di un ammasso di eterocromatina – **corpo di Barr**.

Codice istonico e formazione dell'eterocromatina

- ✚ **CODICE ISTONICO**: Ipotesi secondo la quale *lo stato e l'attività di una determinata regione cromatinica dipendono da modificazioni specifiche*, o da una combinazione di modificazioni, *sulle code degli istoni* di quella regione:
 - ✚ Legame covalente, catalizzato enzimaticamente, con gruppi **metilici** (-CH₃), **acetilici** (CH₃-CH₂-) o **fosfato** (PO₄³⁻).

Seminario

Modificazioni chimiche delle code degli istoni



Seminario

<http://www.histonecode.com/>

Modificazioni delle **code istoniche** e struttura e funzione della cromatina - [1]

- ✚ I **residui modificati** servono come **sito di ancoraggio per un gruppo specifico di proteine non istoniche** che quindi determina le proprietà e attività di un dato segmento di cromatina.

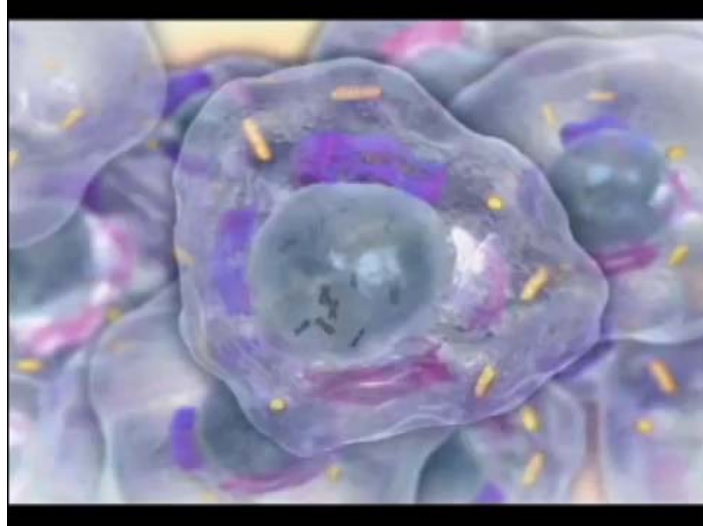
Seminario

Modificazioni delle **code istoniche** e struttura e funzione della cromatina - [2]

- ✚ I residui modificati alterano la modalità con cui le code istoniche di nucleosomi adiacenti interagiscono tra di loro e con il DNA a cui sono legati.
 - Variazioni in questi tipi di interazioni possono portare a cambiamenti dei livelli superiori di organizzazione della cromatina.
 - Es: l'acetilazione del residuo di lisina in posizione 16 dell'istone H4 interferisce con la formazione della fibra cromatinica di 30 nm.

Seminario

Struttura della cromatina



<https://www.youtube.com/watch?v=eYrQ0EhVCYA>

Cromatina nell'interfase e nella mitosi - [2]

- ✚ Nel **nucleo interfase** (figura A), i cromosomi sono difficili da distinguere uno dall'altro. Ciò nonostante, essi occupano uno spazio discreto all'interno del nucleo - detto **territorio cromosomico** (i bordi dei territori cromosomici sono suggeriti dalle linee tratteggiate rosse). E' facile distinguere l'eucromatina, debolmente colorata (attiva trascrizionalmente), dalle zolle di eterocromatina, più scura (silente trascrizionalmente).
- ✚ Durante la **divisione cellulare** (figura B), i cromosomi altamente condensati possono essere chiaramente distinguibili uno dall'altro. Complessivamente, i cromosomi mitotici visualizzati al microscopio ottico, costituiscono il **cariotipo**.

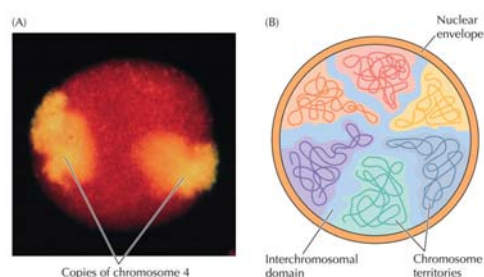
<http://www.mechanobio.info/topics/synthesis/go-0000785>

La maggiore compattazione dei cromosomi si ha nella metafase

- ✚ Quando le cellule eucariotiche si dividono, il DNA genomico deve essere ripartito ugualmente fra entrambe le cellule figlie. Per fare ciò, il DNA diventa altamente compattato formando i classici cromosomi metafasici che sono visibili al microscopio ottico. Una volta che la cellula si è divisa i cromosomi si srotolano di nuovo.
- ✚ Paragonando la lunghezza dei cromosomi metafasici con quella del DNA "nudo", l'impacchettamento del DNA nei cromosomi metafasici è di circa 10,000:1 (a seconda del cromosoma).
- ✚ Questo livello di compattazione può essere raggiunto ripiegando ripetutamente le fibre di cromatina in una progressione ierarchica di molteplici anse e avvolgimenti.
- ✚ Esattamente come questo viene svolto non è chiaro, ma la fosforilazione dell'istone H1 può giocare un ruolo.
- ✚ Infatti, questa è un'area di ricerca che impegnerà gli scienziati a lungo nei prossimi anni.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-packaging-nucleosomes-and-chromatin-310>

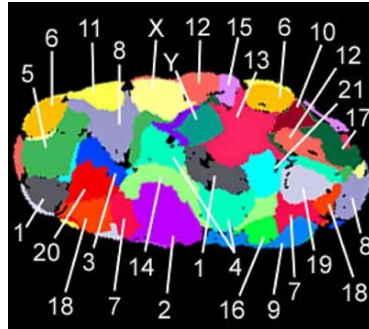
I singoli cromosomi occupano territori distinti all'interno del nucleo delle cellule dei mammiferi



TMF 0211, Fourth Edition, Figure 9.14 © 2005 Sinauer Associates, Inc.

Organizzazione dei cromosomi nel nucleo di mammiferi. (A) Marcatori che identificano sequenze ripetute del cromosoma 4 sono stati ibridizzati ad una cellula umana. Le due copie del cromosoma 4, identificato dalla fluorescenza gialla, occupano territori distinti nel nucleo. (B) Un modello di organizzazione dei cromosomi. I cromosomi occupano territori discreti, separati da domini intracromosomici dove si pensa che abbia luogo il processamento e il trasporto dell'RNA.

I singoli cromosomi occupano territori distinti all'interno del nucleo delle cellule dei mammiferi



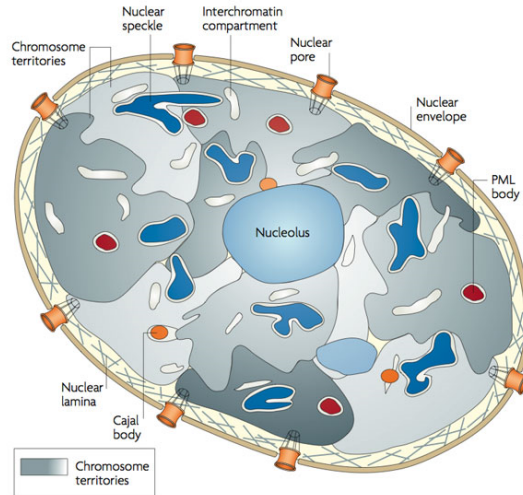
http://embryology.med.unsw.edu.au/notes/week1_12.htm

Localizzazione dei cromosomi nel nucleo di fibroblasti. Dati recenti hanno identificato che ogni cromosoma interfaseico occupa un dominio specifico (territorio cromosomale) all'interno del nucleo e non è sparpagliato in modo disordinato su tutta la superficie nucleare. Questi domini cromosomali e la localizzazione dei geni nei cromosomi suggeriscono un'organizzazione specifica 3D all'interno del nucleo.

- ✦ ***I geni attivamente trascritti sono localizzati alla periferia di questi territori,*** adiacenti a canali che separano i cromosomi.
- ✦ Si ritiene che l'RNA di nuova trascrizione venga rilasciato in questi canali fra i cromosomi, dove ha luogo il processamento dell'RNA.
- ✦ ***La maggior parte dell'eterocromatina è localizzata alla periferia del nucleo,*** perché le proteine associate all'eterocromatina si legano alla matrice della lamina nucleare.
- ✦ Poiché i vari tipi cellulari esprimono geni diversi, la loro eterocromatina facoltativa è diversa, e regioni variabili dei cromosomi interagiscono con la lamina nucleare nei vari tipi di cellule e dei tessuti.
- ✦ Alcune cellule hanno i loro centromeri e telomeri aggregati a poli opposti mentre altre hanno i loro cromosomi disposti in modo radiale.
- ✦ Mentre la localizzazione dei cromosomi all'interno del nucleo non è casuale, esse possono differire in tessuti diversi, in organismi diversi e durante il differenziamento cellulare.

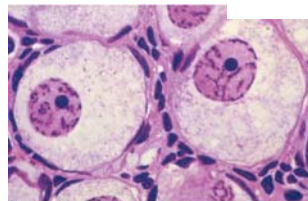
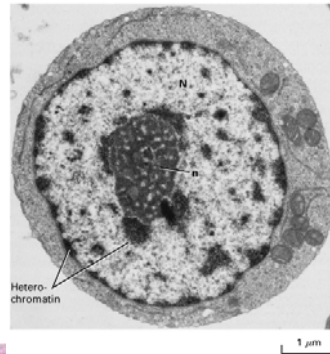
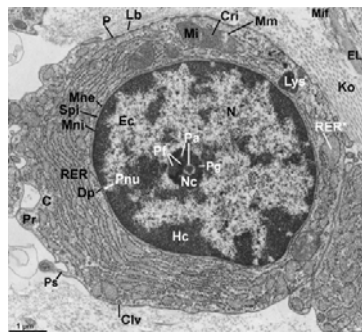
Seminario

Presunti territori nucleari



Lancot, Cheutin T, Cremer M, Cavalli G, Cremer T. Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions. *Nat Rev Genet.* 2007 Feb;8(2):104-15.

NUCLEOLI



http://hit-microscopevb.hc.msu.edu/Virtual_MicroStatic/Images_534/CY_Obj_04_02a_b_sm.jpg
http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6_2.files/F09-39.gif
http://3.bp.blogspot.com/-V5-tikBA3Uk/TflbYd6PBNI/AAAAAAAAAFY/EzC_zhEnQzA/s1600/Figure+3-13.bmp

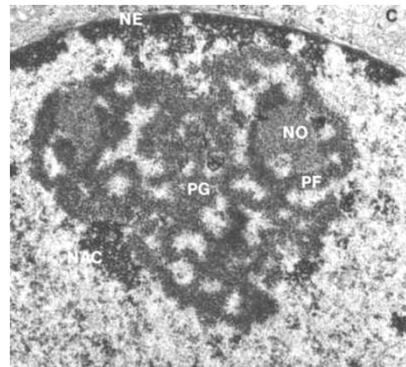
Nucleolo – [1]

- ✦ Il **nucleolo** è un piccolo corpo, spesso sferico, che si trova all'interno del nucleo delle cellule eucariotiche.
- ✦ La **trascrizione del RNA ribosomiale (rRNA)** ha luogo nel nucleolo dove si svolge anche l'assemblaggio delle subunità dei ribosomi.
- ✦ **I nucleoli contengono il rRNA e molte copie dei geni che codificano per l'rRNA.**
- ✦ **Il numero di nucleoli di un nucleo è indicativo dell'attività trascrizionale della cellula:** una cellula che sintetizza un elevato numero di proteine può avere diversi nucleoli

Geoffrey M. Cooper: *The Cell: A Molecular Approach*

Nucleolo - [2]

- ✦ Il nucleolo è organizzato in corrispondenza della "**nucleolar organizing region**" (**NOR**) presente su diversi cromosomi. Un certo numero di cromosomi si riunisce e **trascrive il RNA che codifica per i ribosomi (rRNA)** in quel sito*.
- ✦ Al microscopio elettronico le **Regioni Organizzatrici del Nucleolo, NOR**, compaiono come aree circolari (poco colorate) circondate da un anello di filamenti elettrodensi. Questi filamenti vengono chiamati complessivamente **pars fibrosa (PF)** che è costituita da **rRNA** appena trascritto.

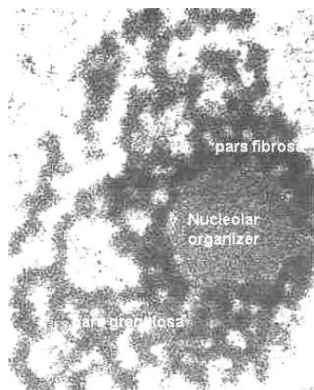


***Geni degli rRNA 5S, 8S, 18S e 28S** -> trascrizione nel nucleolo (RNA pol I);
gene del rRNA 5S: trascrizione fuori dal nucleolo (RNA pol III).

Nucleolo – [3]

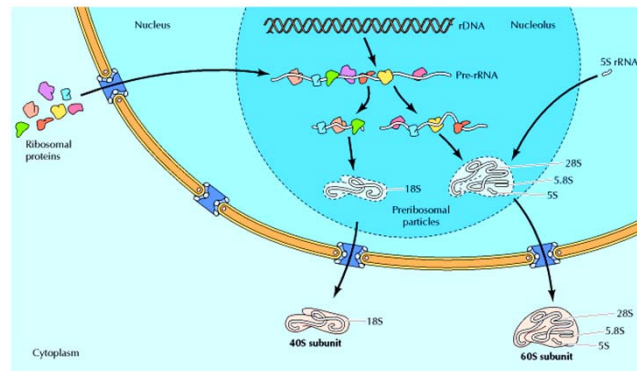
- ✚ Una volta trascritto il **rRNA**, esso viene legato a proteine e si possono vedere **accumuli di ribonucleoproteine** nella **pars granulosa (PG)**.
- ✚ Queste particelle formeranno i **due** tipi di **subunità ribosomiali** (la **grande** e la **piccola**) che vengono in seguito trasportate separatamente attraverso i **pori nucleari**. I pori **non** hanno spazio per i ribosomi assemblati, e quindi essi non possono rientrare. Questo significa che la **traduzione del RNA e la sintesi delle proteine hanno luogo fuori dal nucleolo**.
- ✚ Quando le subunità ribosomiali raggiungono il citoplasma si riuniscono formando un **ribosoma**: sito per l'ancoraggio del RNA messaggero (mRNA) e un modo di leggere il suo codice.

Nucleolo, segue



← Un'altra fotografia al microscopio elettronico con la **regione dell'organizzatore nucleolare**, la **pars fibrosa** e la **pars granulosa**.

- I nucleoli **aumentano in numero** e si **ingrandiscono** quando la cellula è stimolata per produrre proteine.
- I nucleoli **spariscono durante la divisione cellulare** per poi riformarsi nelle zone dei centri organizzatori dei nucleoli dei cromosomi.



Assemblaggio dei ribosomi

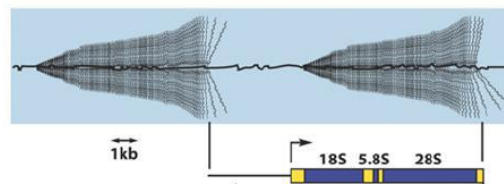
Le proteine ribosomali sono **importate** nel **nucleolo dal citoplasma** ed iniziano ad assemblarsi sul pre-rRNA prima del suo taglio. Quando il pre-rRNA viene processato, ulteriori proteine ribosomali e l'rRNA 5S (che è sintetizzato altrove nel nucleo) si assemblano per formare particelle pre-ribosomali. Le fasi finali della maturazione seguono l'esportazione delle particelle pre-ribosomali nel citoplasma, producendo le subunità ribosomali 40S e 60S.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9939/figure/A1372/>

Seminario

Il gene del rRNA

- I geni appaiono in **multiple copie**, in **clusters nelle regioni organizzatrici dei nucleoli** ("nucleolar organizer regions"; NOR)
 - Sono richieste **multiple copie** del gene per fornire i **10 milioni** di particelle ribosomiali di cui la cellula ha bisogno
 - Le **cellule umane** hanno **200 rRNA copie** del gene per genoma, localizzate su **cinque cromosomi** differenti (la *E. coli* ha sette copie)
 - Ogni gene ha **copie multiple** del gene 45S, tutte separate da regioni non-trascritte denominate **DNA spaziatore** ("spacer DNA")
 - Le catene di rRNA in crescita somigliano ad un **albero di Natale**



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?highlight=pre-rRNA&rid=mcb.section.2975#2976>