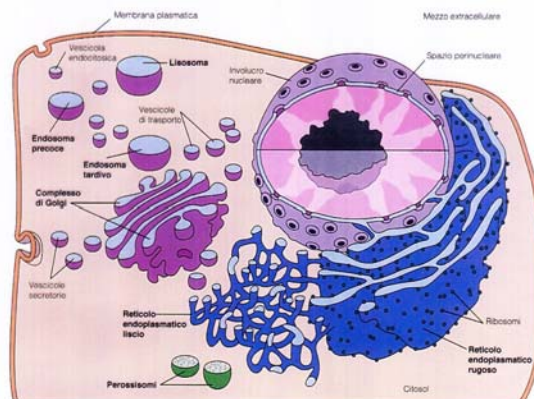


## Biologia della cellula animale

### Biotecnologie

# • RIPASSO SECONDA PARTE DEL PROGRAMMA



## Lisosomi

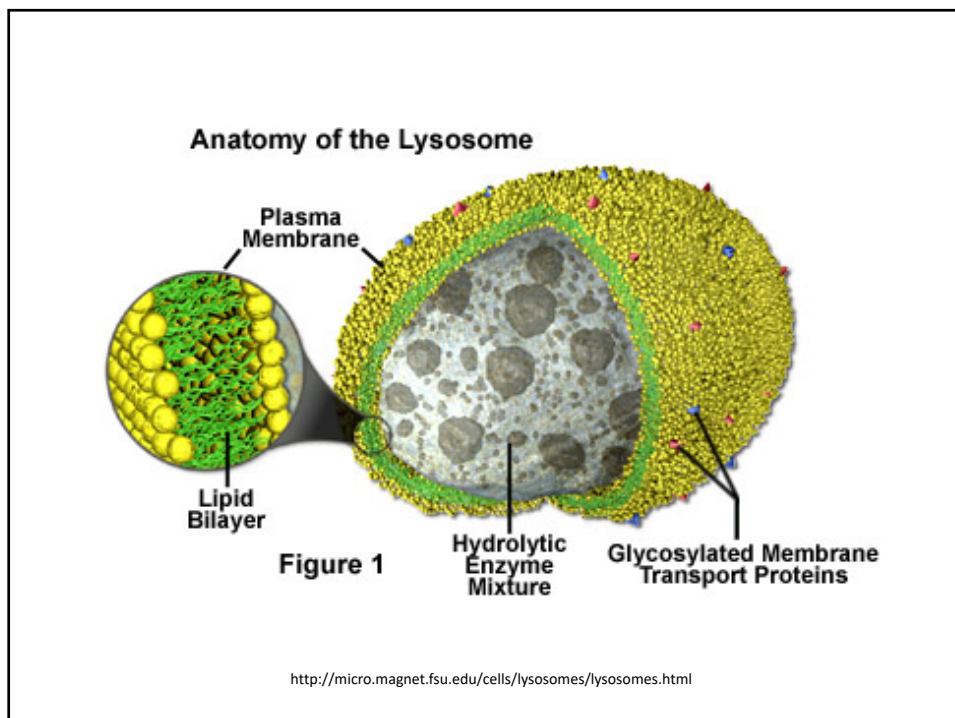
(solo cellule animali)

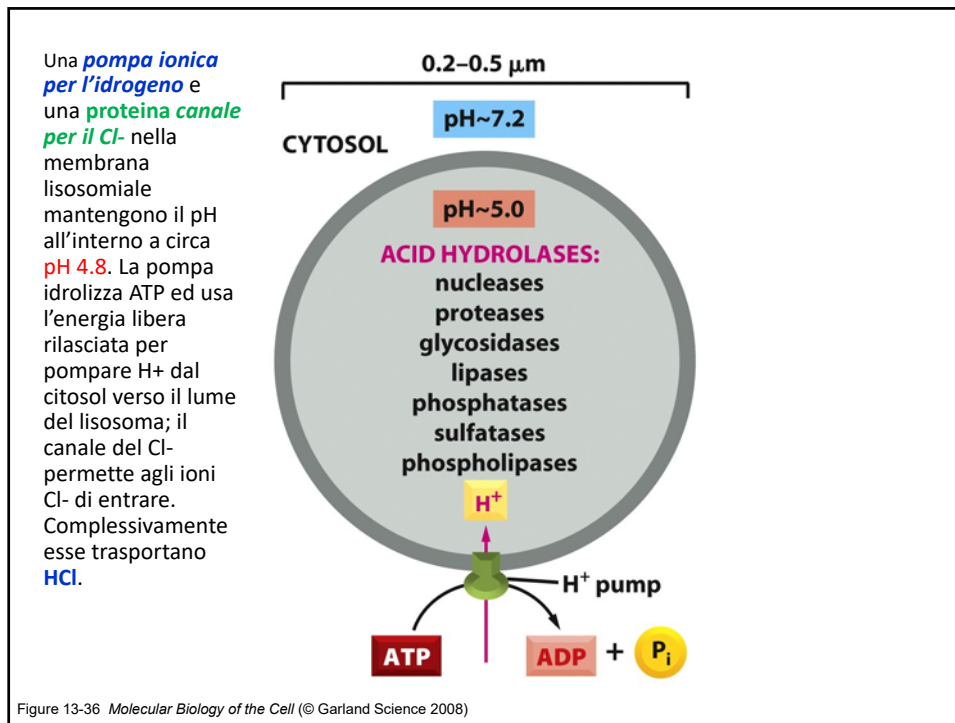
(x piante vd vacuolo; Biol. Cell Veg)

Biotechnologie

## LISOSOMI

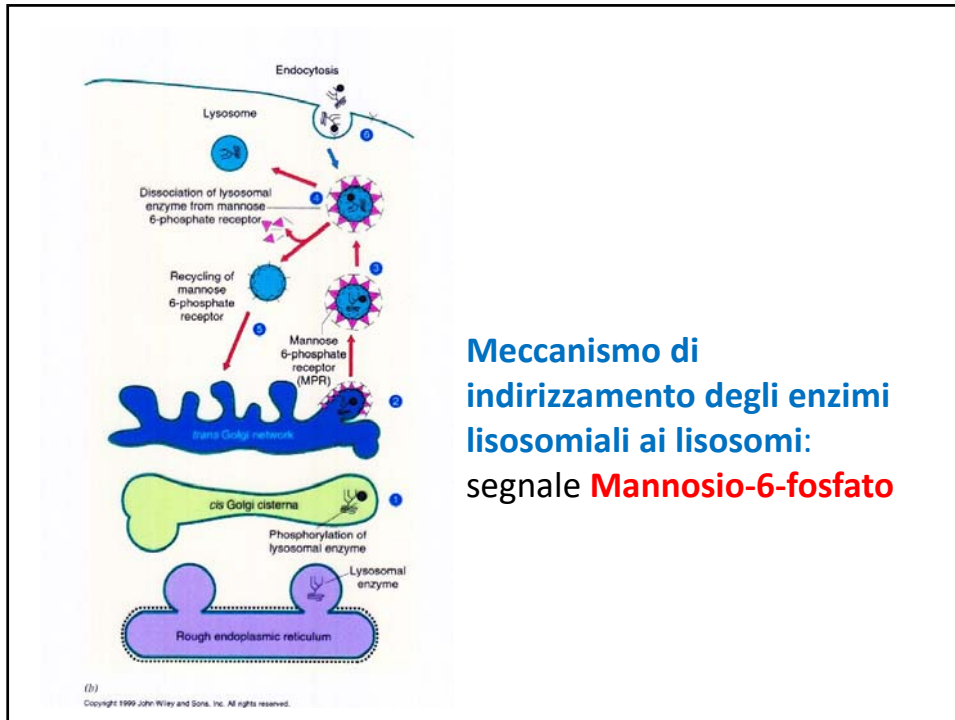
- Sono organelli presenti nelle **cellule animali**, circondati da una membrana singola facenti parte del sistema di endomembrane .
- Contengono enzimi digestivi in grado di degradare le principali classi di macromolecole biologiche. Gli enzimi idrolitici digeriscono materiali extracellulari introdotti per endocitosi nella cellula o strutture della cellula stessa danneggiate o non più necessarie
- Gli enzimi digestivi sono detti **idrolasi acide** lavorano più efficacemente a **pH acido**



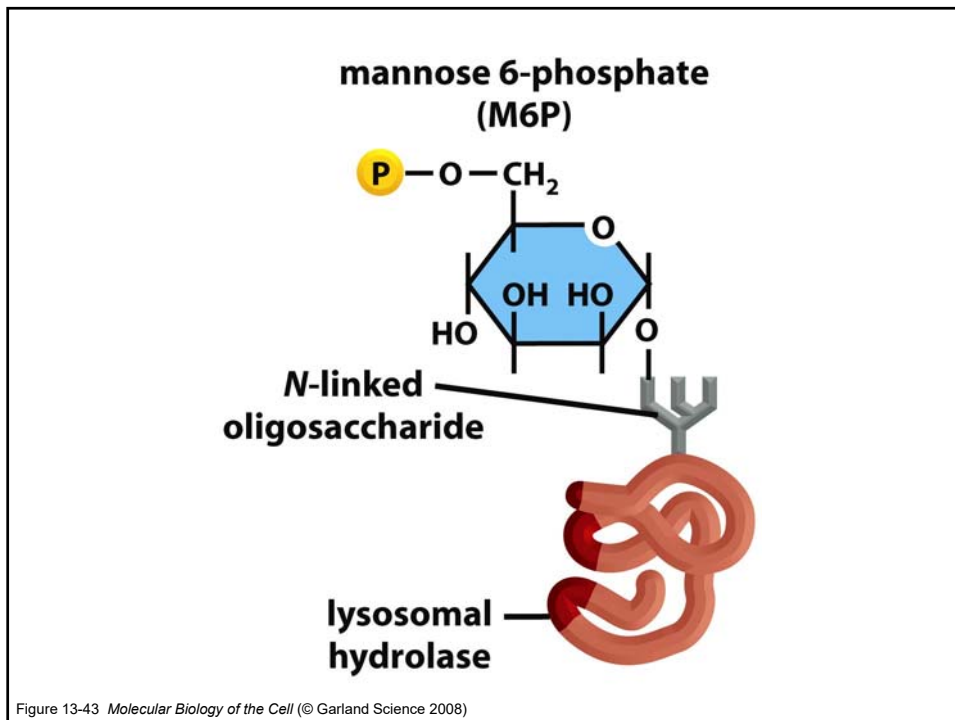


## LISOSOMI

- Il **pH acido aiuta a denaturare le proteine**, rendendole accessibili all'azione delle idrolasi lisosomiali. Gli enzimi lisosomiali sono solo debolmente attivi ai valori di pH neutri delle cellule e della maggior parte dei fluidi extracellulari. Perciò, **se un lisosoma rilascia i suoi contenuti nel citosol, dove il pH è fra 7.0 e 7.3, avverrà una ridotta degradazione dei componenti citosolici.**



Meccanismo di indirizzamento degli enzimi lisosomiali ai lisosomi: segnale **Mannosio-6-fosfato**

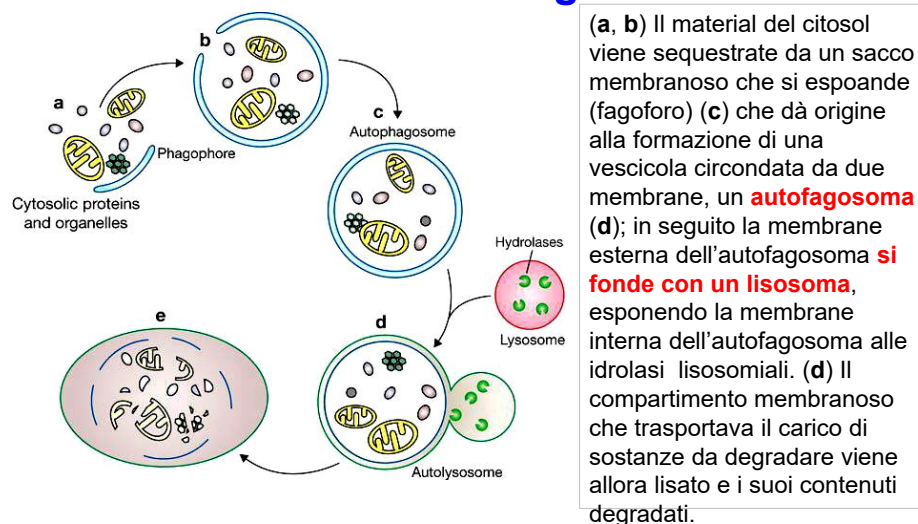




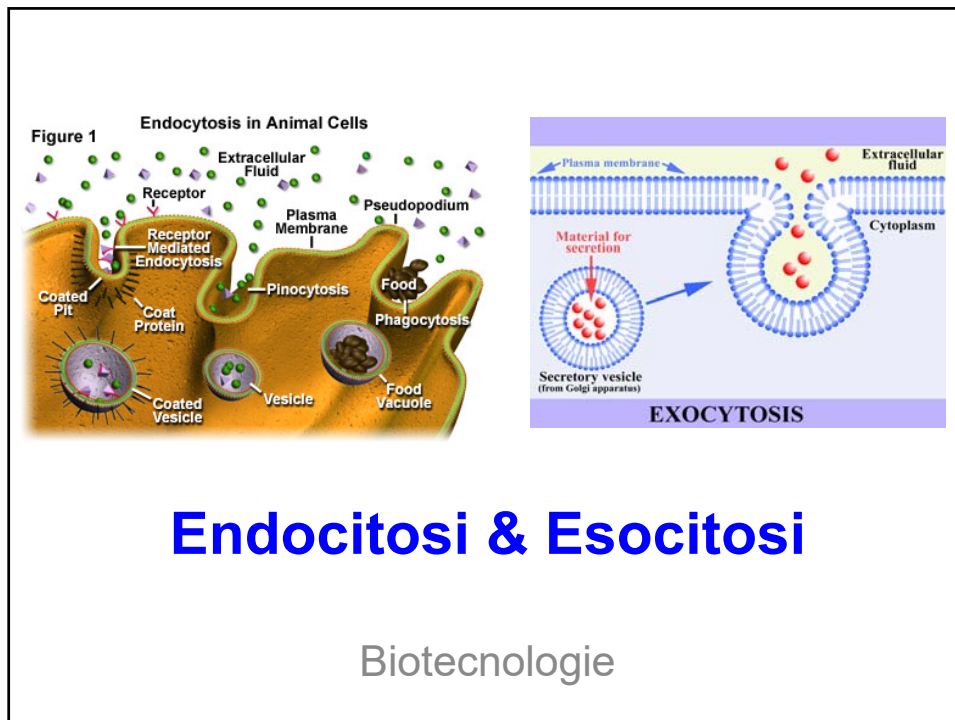
## RUOLO DEI LISOSOMI NEI PROCESSI DIGESTIVI CELLULARI

- I lisosomi primari che gemmano dall'apparato di Golgi possono prendere diverse vie:
  - **via A: Esocitosi** – trasporto di enzimi digestivi all'esterno della cellula (digestione extracellulare)
  - **via B : Fagocitosi** – di materiale ingerito dall'esterno (**eterofagocitosi**)
  - **Via C : Endocitosi mediata da recettori**
  - **Via D: Autofagia** – digestione di organelli della cellula stessa

### Diagramma schematico dell'autofagia



Xie Z, Klionsky DJ. **Autophagosome formation: core machinery and adaptations.** Nat Cell Biol. 2007 Oct;9(10):1102-9.  
<http://www.nature.com/ncb/journal/v9/n10/images/ncb1007-1102-f1.jpg>



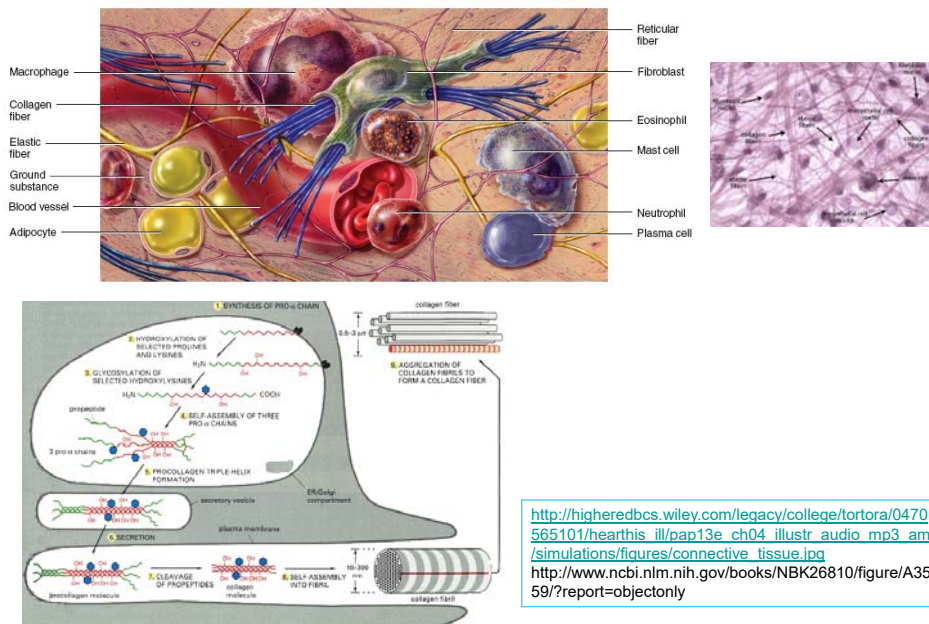
## ESOCITOSI

- Le cellule **espellono** particolari **prodotti di secrezione** (che funzionano all'esterno delle cellule) o **prodotti di scarto** (**escrezione**) mediante la fusione di vescicole con la membrana plasmatica.
- L'esocitosi determina **la fusione della membrana delle vescicole secretorie con la membrana plasmatica**. Questo costituisce un meccanismo primario di **accrescimento della membrana plasmatica**.

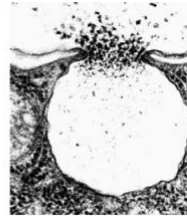
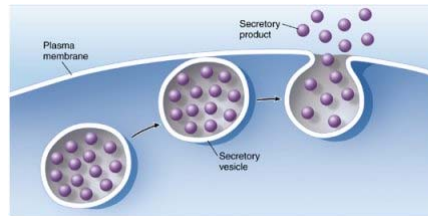
## Vie regolata e costitutiva di secrezione

- Le due vie **divergono nella rete *trans* del Golgi**.
  - Molte proteine solubili sono **costantemente secrete** dalla cellula mediante la **via secretoria costitutiva** (chiamata anche la via "default", ossia quella che avviene a meno che non vi sia un ordine in contrario). Questa via **fornisce inoltre alla membrana plasmatica lipidi e proteine di nuova sintesi**.
  - Le cellule secretorie specializzate hanno inoltre una **via di secrezione regolata**, mediante la quale **proteine selezionate nella rete *trans* del Golgi sono deviate verso vescicole di secrezione, dove le proteine sono concentrate ed immagazzinate finché un segnale extracellulare esterno stimola la loro secrezione**.

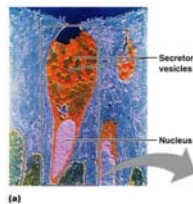
## Esocitosi del collagene, fibroblasti (costitutiva)



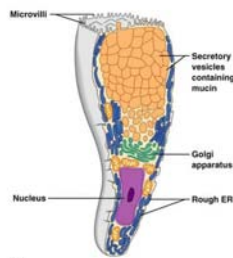
## Esocitosi, ghiandole (regolata)



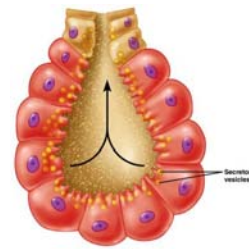
[http://www.yellowtang.org/images/exocytosis2\\_c\\_ph\\_784.jpg](http://www.yellowtang.org/images/exocytosis2_c_ph_784.jpg)



(a)



(b)



(c)

<http://classes.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio210/chap04/Slide8.J>

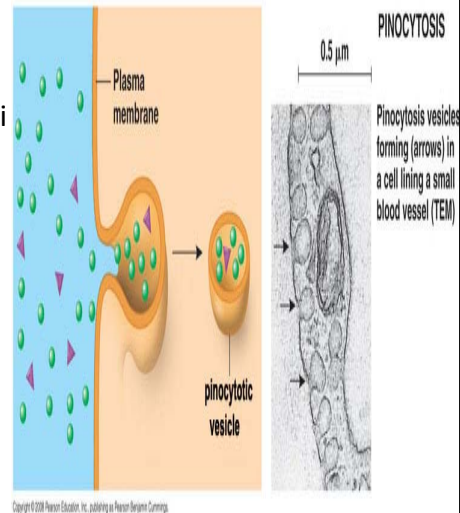
[https://classconnection.s3.amazonaws.com/999/flashcards/386999/jpg/merocrine\\_gland1316436677984.jpg](https://classconnection.s3.amazonaws.com/999/flashcards/386999/jpg/merocrine_gland1316436677984.jpg)

## ENDOCITOSI

- Nell'endocitosi il **materiale viene introdotto nella cellula.**
- Esistono diversi tipi di endocitosi:
  - **Fagocitosi**
  - **Pinocitosi**
  - **Endocitosi mediata da recettori**

## Endocitosi – PINOCITOSI

- Mediante la **pinocitosi**, la cellula **introduce materiale liquido**; minuscole gocce di liquido vengono prima intrappolate e poi circondate dalla membrana plasmatica, che si stacca nel citoplasma sotto forma di minuscole vescicole.
- I liquidi contenuti in queste vescicole vengono poi trasferiti lentamente nel citosol. Le vescicole diventano sempre più piccole fino a scomparire.

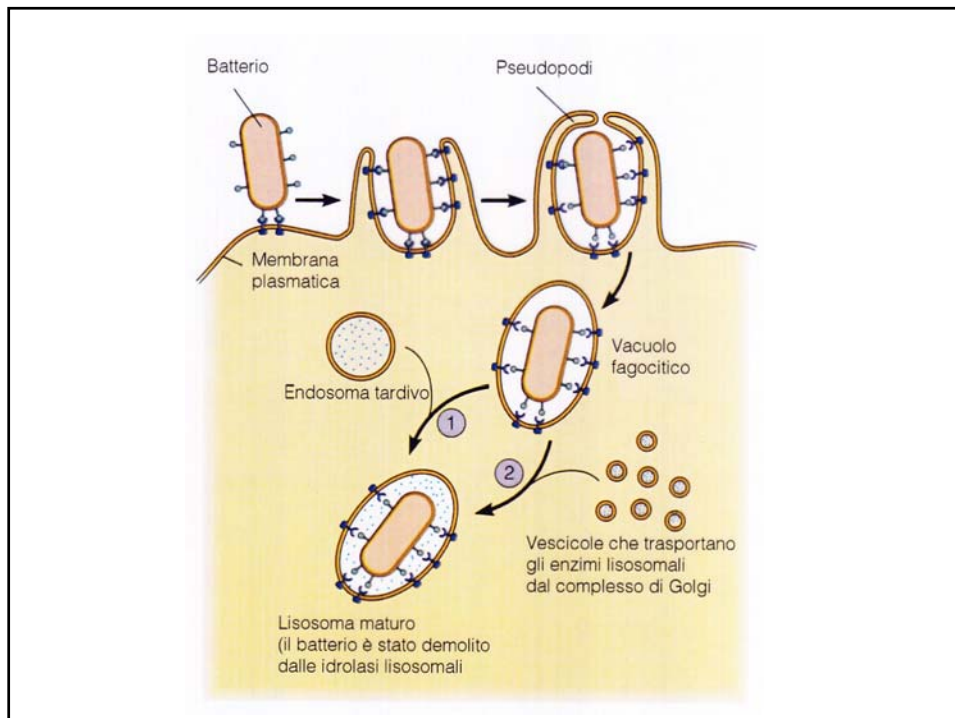
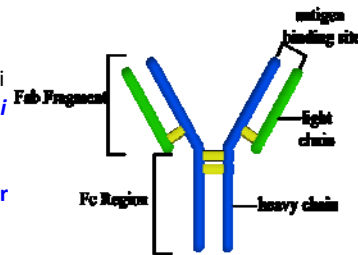


## Endocitosi – FAGOCITOSI

- Nella **fagocitosi** le cellule **ingeriscono grandi particelle solide**, come batteri o cibo.
- Questo processo viene utilizzato dai **protozoi**, dai **granulociti neutrofili** e dai **macrofagi** per ingerire particelle, alcune delle quali hanno le dimensioni di un batterio o sono addirittura cellule intere o frammenti cellulari.
- Durante l'ingestione, si ha il ripiegamento della membrana plasmatica per includere la particella che è venuta a contatto con la superficie cellulare e si forma così intorno ad essa un grande sacco membranoso o vacuolo.
- Quando la membrana ha circondato completamente la particella, questa si fonde nel punto di contatto.
- **Il vacuolo si fonde successivamente con i lisosomi e il materiale ingerito viene così degradato.** Le **sostanze indigeribili** rimarranno nei lisosomi, formando i **corpi residui**

## FAGOCITOSI

- Per essere fagocitate, le particelle devono prima legarsi alla superficie del fagocita.** Tuttavia, non tutte le particelle che si legano verranno ingerite. I fagociti hanno una varietà di **recettori specializzati** di superficie che sono uniti covalentemente al macchinario fagocitico della cellula. A differenza della pinocitosi, che è un **processo costitutivo che avviene continuamente**, **la fagocitosi è un processo che viene attivato da recettori che trasmettono segnali all'interno della cellula e iniziano la risposta.**
- I **segnali di attivazione** meglio caratterizzati sono **gli anticorpi**, che ci proteggono legandosi alla superficie di microrganismi infettivi formando un **rivestimento in cui la regione di coda di ciascuna molecola anticorpale**, chiamata **regione Fc**, è esposta all'esterno. Questo rivestimento di anticorpi è riconosciuto da **recettori per l'Fc** specifici sulla superficie dei **macrofagi** e dei **neutrofili**, il cui attacco induce la cellula fagocitica ad estendere pseudopodi che avvolgono la particella e si fondono alle loro estremità per formare un fagosoma.



## FAGOCITOSI

- Sono state caratterizzate parecchie classi di **recettori** che promuovono la **fagocitosi**.
  - Alcuni riconoscono **componenti del complemento**, che **collaborano con gli anticorpi** nel marcare i microbi per la distruzione.
  - Altri riconoscono direttamente **oligosaccaridi sulla superficie di certi microrganismi**.
  - Altri ancora riconoscono **cellule che sono morte per apoptosi**. **Le cellule apoptotiche perdono la distribuzione asimmetrica dei fosfolipidi nella loro membrana plasmatica**. Come conseguenza, la **fosfatidilserina** carica negativamente, che è normalmente confinata nel foglietto citosolico del doppio strato lipidico, è ora **esposta all'esterno della cellula**, dove scatena la fagocitosi della cellula morta.

## ENDOCITOSI MEDIATA DA RECETTORI

- In questo caso, **molecole specifiche si combinano con le proteine recettoriali inglobate nella membrana plasmatica della cellula**.
- Una molecola detta **ligando** si lega in **modo specifico** ad un recettore.
- I recettori sono concentrati in **fossette rivestite**, depressioni della superficie della membrana plasmatica.
- Ogni fossetta è ricoperta da uno strato di proteine, le **clatrine**, che si trovano appena sotto la membrana plasmatica. Dopo che il ligando si è legato al recettore, la fossetta dà origine per endocitosi ad una vescicola ricoperta.

## Tipi di recettori

- **Recettori «housekeeping», di mantenimento:**
  - Responsabili dell'**assunzione** di **materiali** che saranno **utilizzati dalla cellula**.
  - Esempi più studiati: **recettori** per la **trasferrina** (proteina che media il trasporto del **ferro**) e per le «**low Density Lipoproteins**», LDL (**mediante il trasporto del colesterolo dal fegato ai tessuti**)

## Tipi di recettori -

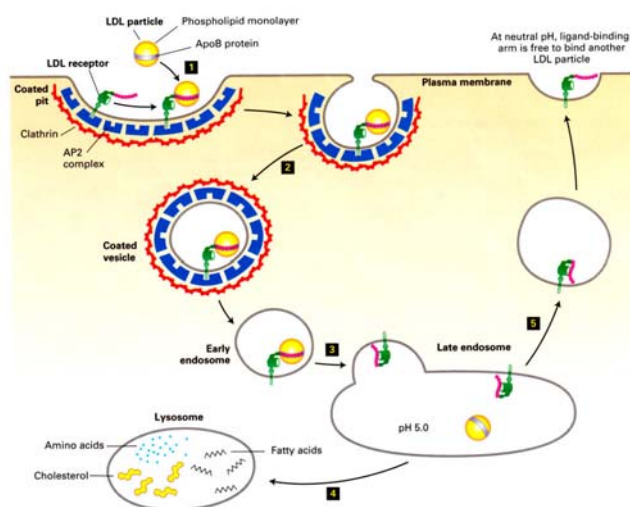
- **Recettori di segnale:**
  - Responsabili del **legame di ligandi extracellulari** che portano **messaggi** che **cambiano l'attività della cellula**. Es. di ligandi:
    - **Ormoni** (es. insulina, glucagone, adrenalina, ecc.)
    - **Fattori di crescita** o di **differenziamento** (es. EGF, FGF, HGF, VEGF, TGF, ecc).



## Tipi di recettori

- **L'endocitosi dei recettori «housekeeping»** è seguita dal **trasporto del materiale legato** (es. ferro, colesterolo) **alla cellula e dal ritorno del recettore sulla superficie cellulare per un ulteriore ciclo di assunzione.**
- **L'endocitosi dei recettori di segnale** è spesso seguita da **distruzione del recettore** – regolazione negativa dei recettori - che ha l'effetto di ridurre la sensibilità della cellula ad ulteriori stimolazione da parte dell'ormone o del fattore di crescita.

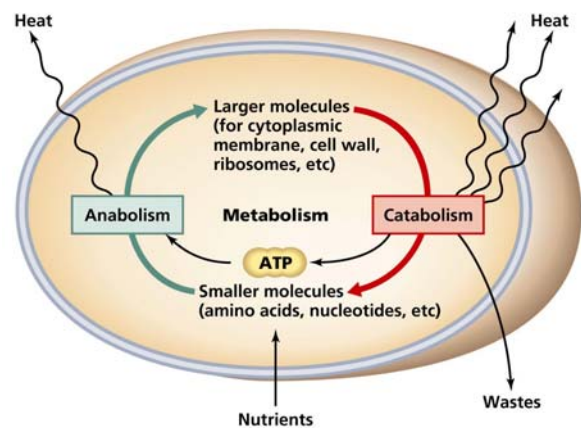
## Via endocitica per l'internalizzazione delle lipoproteine LDL

Lodish, 7<sup>a</sup> ed.

## IMPORTANTE

3. Dopo che il rivestimento della vescicola viene rilasciato, la vescicola endocitica (**endosoma precoce**) si fonde con un **endosoma tardivo**. Il **pH acido** di questo compartimento provoca un cambiamento conformazionale del recettore per le LDL che porta al rilascio delle particella di LDL legata.
4. **L'endosoma tardivo** si fonde con un **lisosoma** e **le proteine e lipidi della particella LDL libera** sono degradati fino alle loro componenti di base dagli enzimi lisosomiali.
5. **Il recettore per la LDL viene riciclato verso la superficie cellulare** dove, al **pH neutro** dell'ambiente esterno, subisce un cambiamento conformazionale tale di potere legare altre molecole di LDL.

Lodish, 7° ed.



## Metabolismo energetico

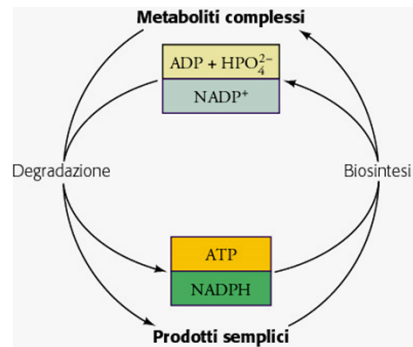
[http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/05-01\\_Metabolism\\_L.jpg](http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/05-01_Metabolism_L.jpg)

**Metabolismo** : comprende tutte le reazioni chimiche che si svolgono all'interno di una cellula; esso consiste in diverse vie metaboliche, ciascuna delle quali svolge una specifica funzione. Due categorie :

- ✚ **Vie cataboliche** : **degradazione dei componenti cellulari** (ossidazioni esoergoniche-rilasciano energia)
- ✚ **Vie anaboliche** : **sintesi dei componenti cellulari** (processi endoergonici – richiedono energia)

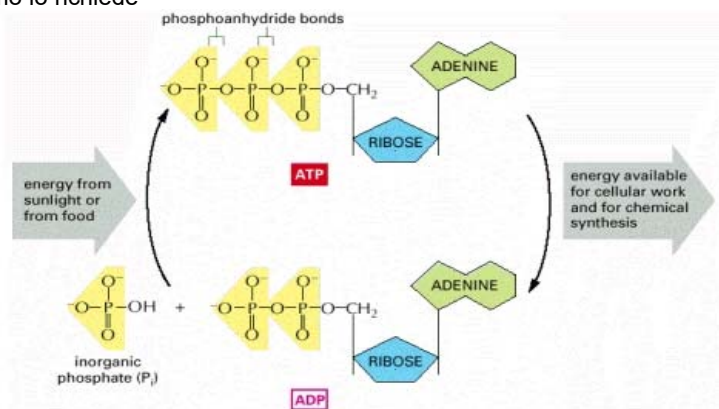
I processi **esoergonici** ed **endoergonici** sono **accoppiati** mediante la sintesi intermedia di

- ✚ **composti "ad alta energia"** come l'ATP
- ✚ **coenzimi trasportatori di elettroni** (es. NAD(P)H) oppure **trasportatori di gruppi chimici** (es. coA)



## ATP MONETA ENERGETICA PER LE REAZIONI BIOLOGICHE

la molecola di **ATP** funziona come una «**pila chimica**» che **immagazzina energia** quando è **in eccesso** ma è in grado di **rilasciarla** istantaneamente quando l'organismo lo richiede



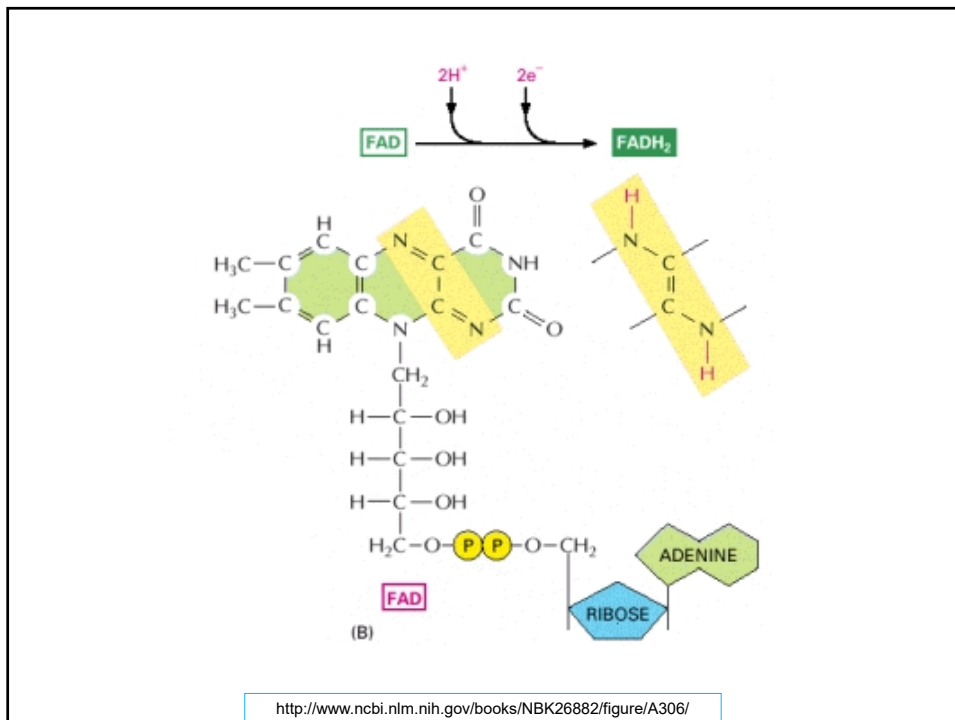
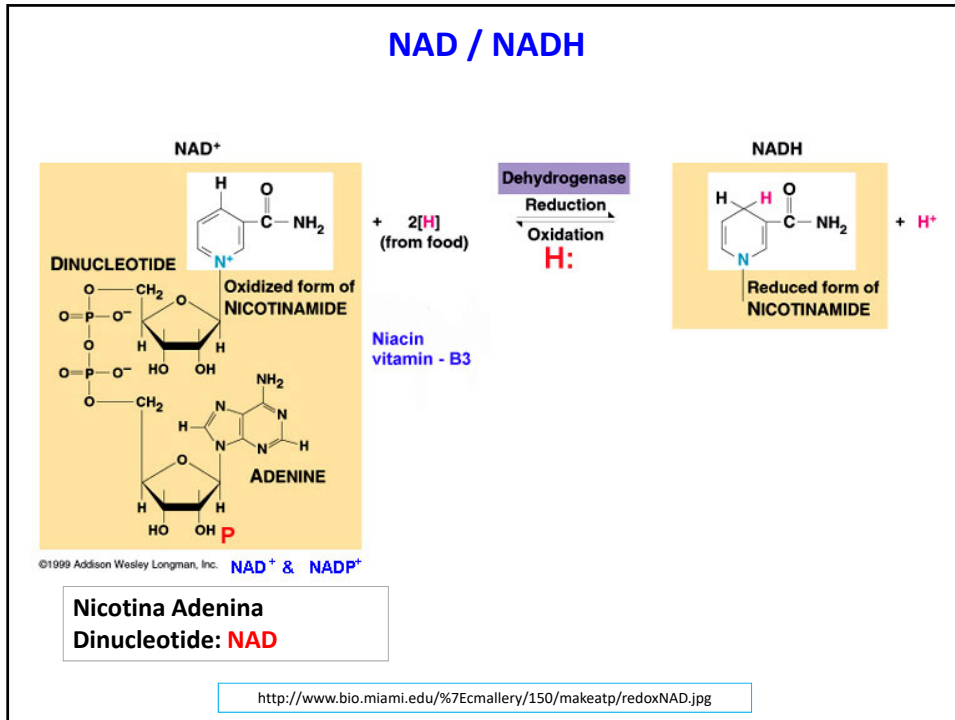
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26883/figure/A219/?report=objectonly>

## Metabolismo energetico

- Le **reazioni cataboliche** sono per la maggior parte reazioni di **ossidazione** che prevedono la rimozione di elettroni accompagnata da anche da ioni H<sup>+</sup>
- Nelle reazioni cellulari che coinvolgono molecole organiche l'**ossidazione** si manifesta quasi sempre come reazione di **deidrogenazione**
- Una reazione di **ossidazione** è sempre accoppiata ad una reazione di **riduzione** in quanto gli elettroni rimossi devono essere trasferiti ad un'altra molecola che viene **ridotta**
- La reazione di **riduzione** è un processo **endoergonico**
- La **riduzione di coenzimi** è un importante sistema con cui le cellule conservano energia chimica come potere riducente.

## Metabolismo energetico

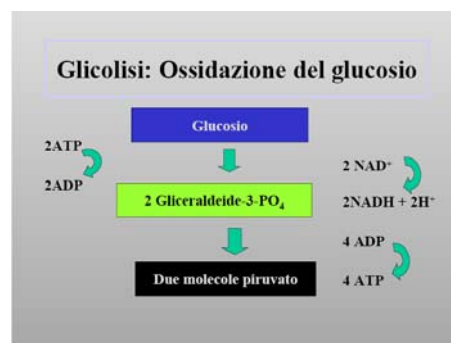
- I più comuni **trasportatori intermedi di elettroni** sono la **Nicotinamide Adenina Dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)** e la **Flavina Adenina Dinucleotide (FAD)**



## Una via catabolica nel suo insieme può essere fortemente esoergonica

- Ad es. ossidazione completa del glucosio  $\Delta G^{\circ} = -2850 \text{ kJ} \cdot \text{mole}^{-1}$
- Le cellule **decompongono la reazione in diversi passi intermedi** in cui **la quantità di energia rilasciata è perfettamente appaiata alla quantità di energia che può essere immagazzinata**, ad es. in **ATP**, oppure **può essere adoperata per svolgere il successivo passo della reazione**.
- Se non ci fosse questo perfetto appaiamento, **l'energia rilasciata in eccesso verrebbe sprecata sotto forma di calore**, oppure non si formerebbe energia sufficiente per generare molecole di ATP o per rendere possibile la reazione successiva.

Lodish, 7° ed.



•Metabolismo

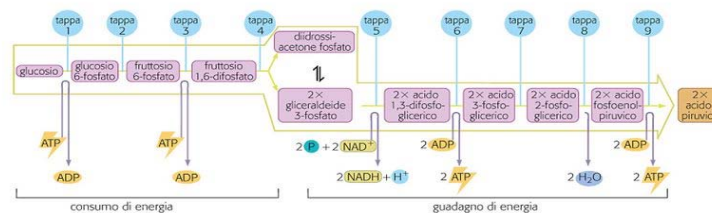
### GLICOLISI

È una via catabolica presente in praticamente tutte le cellule, sia procariotiche che eucariotiche.  
Si svolge nel **citrosol**.

# GLICOLISI

## Tappe della glicolisi

- La glicolisi avviene in nove tappe suddivise in due fasi: una **fase preparatoria**, in cui sono consumate due molecole di ATP, e una **fase di recupero** energetico, che produce 4 ATP e 2 NADH + 2H<sup>+</sup>
- Il guadagno energetico effettivo è di 2 ATP e 2 NADH



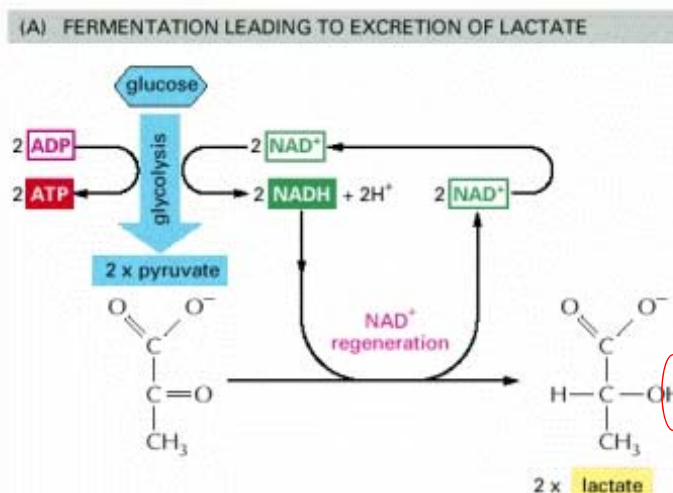
## Riassunto

- Inizia con:
  - Glucosio
- Finisce con:
  - 2 molecole di Piruvato
  - 2 molecole di ATP mediante fosforilazione a livello di substrato
  - 2 molecole di NADH
- ATTENZIONE: **Non** viene utilizzato ossigeno (**anche quando è presente**)

## Fermentazione

- Via metabolica per **produrre energia in situazioni di anaerobiosi**, in cui il piruvato, prodotto nella glicolisi, è convertito ad esempio in **lattato** (es. muscolo) o in **etanolo** (lieviti), con l'ossidazione di NADH in NAD<sup>+</sup>.
- **Importante per il ripristino del NAD<sup>+</sup> dato che le riserve cellulari di NAD<sup>+</sup> sono limitate.**

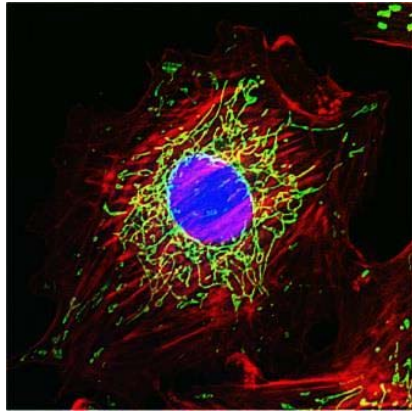
## Rigenerazione del NAD<sup>+</sup> mediante fermentazione lattica



Il piruvato viene ridotto a lattato mentre il NADH viene ossidato a NAD<sup>+</sup>.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26882/figure/A295/?report=objectonly>





### Microscopia in fluorescenza

**Mitocondri:** fluorocromo verde

**Actina:** Falloidina (veleno che agisce sui microfilamenti di actina) collegata a fluorocromo verde

**DNA:** fluorocromo azzurro

## Mitocondri

### Biotecnologie

<http://blogs.scientificamerican.com/guest-blog/files/2012/03/Mitochondrial-Network-of-Endothelial-Cell-in-Green.jpg>

## Membrane mitocondriali

- I mitocondri sono organuli di forma per lo più ovale ma variabile a seconda del tipo cellulare; sono circondati da **due membrane**, la **membrana mitocondriale esterna** e la **membrana mitocondriale interna**.
- La **membrana mitocondriale esterna** racchiude completamente il mitocondrio e rappresenta il confine con il citosol.
- La **membrana mitocondriale interna** contiene due domini interconnessi:
  - **Membrana delimitante interna:** sotto la membrana mitocondriale esterna. Particolarmente ricca di **proteine coinvolte nell'importo di proteine mitocondriali** in regioni strettamente affiancate delle due membrane.
  - **Creste mitocondriali:** si estendono verso l'interno dell'organello; contengono in particolare le proteine della catena respiratoria e l'ATP sintasi.
  - La membrana delimitante interna e le creste sono collegate da sottili connessioni – **giunzioni delle creste**.

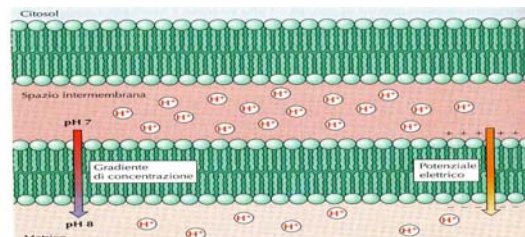
Adattata da: Karp G.: *Biologia Cellulare e Molecolare: Concetti ed Esperimenti*, EdISES, IV ed., 2010; Smith & Wood, *Cell Biology*, 2nd ed., Stanley Thornes, 1999.

## Membrana mitocondriale esterna

- E' formata per il circa 50% di lipidi (lipidi simili a quelli della maggior parte delle altre membrane delle cellule eucariotiche).
- Contiene soltanto circa 5% della massa totale di proteine dei mitocondri.
- Le proteine più abbondanti sono le **porine**, **proteine integrali che formano ampi canali (2-3 nm) circondati da una palizzata di foglietti  $\beta$**  (similmente alla membrana esterna dei batteri Gram negativi).
  - Le **porine** sono strutture dinamiche in grado di **chiudersi reversibilmente** a seconda delle condizioni della cellula.
  - Quando i canali delle porine sono aperti, la membrana esterna è permeabile a molecole con peso molecolare fino a 5000 Da, in particolare anche all'**ATP**, al **NAD<sup>+</sup>** e al **coenzima A**, che giocano un ruolo chiave nel metabolismo energetico.

## Membrana mitocondriale interna

- E' la **membrana specializzata per la trasduzione di energia** ed è **impermeabile a quasi tutti i piccoli ioni**.
- Praticamente **priva di colesterolo**, ha un **elevato rapporto lipidi insaturi/lipidi saturi (elevata fluidità)**
- Ricca di un lipide inusuale, il difosfatidilglicerolo, detto anche **cardiolipina**.
- La **cardiolipina** è importante per **ridurre la permeabilità ai protoni** dando così origine al gradiente elettrochimico di protoni fra lo spazio intermembranario e la matrice dei mitocondri.

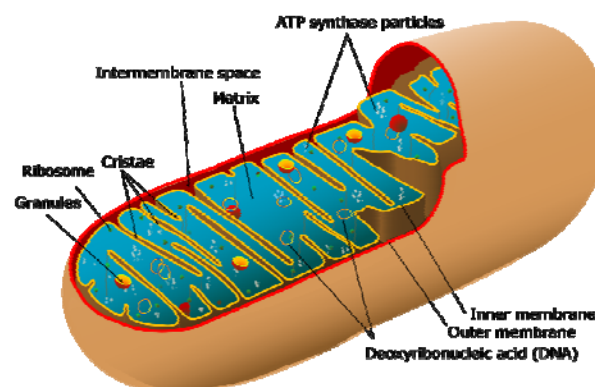


## Membrana mitocondriale interna

- Vi si trovano tre tipi principali di complessi proteici:
  - Componenti della **catena di trasporto di elettroni** (catena respiratoria): **complessi I, II, III e IV**.
  - **L'ATP sintasi (complesso V)**
  - **Proteine di trasporto specifiche** che mediano il trasporto di metaboliti verso e al di fuori della matrice mitocondriale.
  - La sua **elevata fluidità** permette una **mobilità laterale elevata dei complessi proteici coinvolti nel trasporto degli elettroni**.

## Spazio intermembrane

- Contiene proteine coinvolte nella morte cellulare programmata (apoptosi).



[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0c/Animal\\_mitochondrion\\_diagram\\_en\\_%28edit%29.svg/2000px-Animal\\_mitochondrion\\_diagram\\_en\\_%28edit%29.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0c/Animal_mitochondrion_diagram_en_%28edit%29.svg/2000px-Animal_mitochondrion_diagram_en_%28edit%29.svg.png)

## Le membrane mitocondriali dividono i mitocondri in due compartimenti pieni di fluido

- **Matrice:**
  - Consistenza di gel, dovuta all'elevata concentrazione di proteine idrosolubili (< 500 mg/ml).
  - Contiene diversi **enzimi**, in particolare tutti quelli che **catalizzano i vari passi del ciclo degli acidi tricarbossilici** (ciclo di Krebs, ciclo dell'acido citrico) (tranne uno, la Succinato deidrogenasi, SDH, che è presente sul versante della membrana mitocondriale interna rivolto verso la matrice)
  - Contiene **ribosomi** e parecchie molecole di **DNA a doppio filamento, di solito circolari**.
    - Il **DNA mitocondriale** codifica per un piccolo n° di proteine (circa 13 nell'uomo) coinvolte nel trasporto degli elettroni nelle creste mitocondriali, per due RNA ribosomiali e per una ventina di tRNA.

### *Ipotesi endosimbiontica*

E' da molto che i biologi si sono resi conto delle somiglianze fra diversi organelli delimitati da membrane e certi batteri. In particolare, una delle somiglianze più note è quella tra i cloroplasti e i cianobatteri carichi di clorofila. Allo stesso modo è stata notata la somiglianza fra i mitocondri e altri tipi di batteri. Il fatto che i cloroplasti e i mitocondri possiedono il loro proprio DNA e possano dividersi in modo indipendente dal resto della cellula appoggia l'ipotesi che questi ed altri organelli una volta fossero batteri indipendenti che invasero le cellule primitive e giunsero a stabilire un rapporto indipendente con esse. Si pensa che gli invasori furono **simbionti** che beneficiavano dell'ambiente protetto all'interno della cellula che a loro volta apportavano all'ospite capacità e talenti che ad esso mancavano.

## Funzione

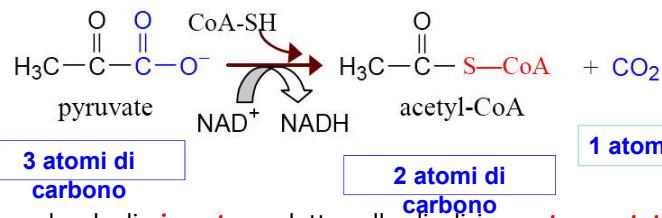
- I **mitocondri** sono la sede della **respirazione cellulare**, processo attraverso cui la cellula, è in grado di ricavare energia dalla completa ossidazione dei substrati organici come zuccheri, grassi, aminoacidi utilizzando **l'ossigeno molecolare** come accettore finale di elettroni
- Gli elettroni rimossi dai substrati organici sono trasferiti all'ossigeno mediante **coenzimi e complessi enzimatici trasportatori inseriti nella membrana interna del mitocondrio**
- Il trasferimento degli elettroni è accoppiato indirettamente alla sintesi di ATP (accoppiamento chemiosmotico)

## Respirazione cellulare

- **Fase 1** Glicolisi (nel citosol) : ossidazione del glucosio a piruvato con produzione di 2 ATP e 2 NADH.
- Se c'è ossigeno il piruvato viene ulteriormente ossidato

## Fase 2

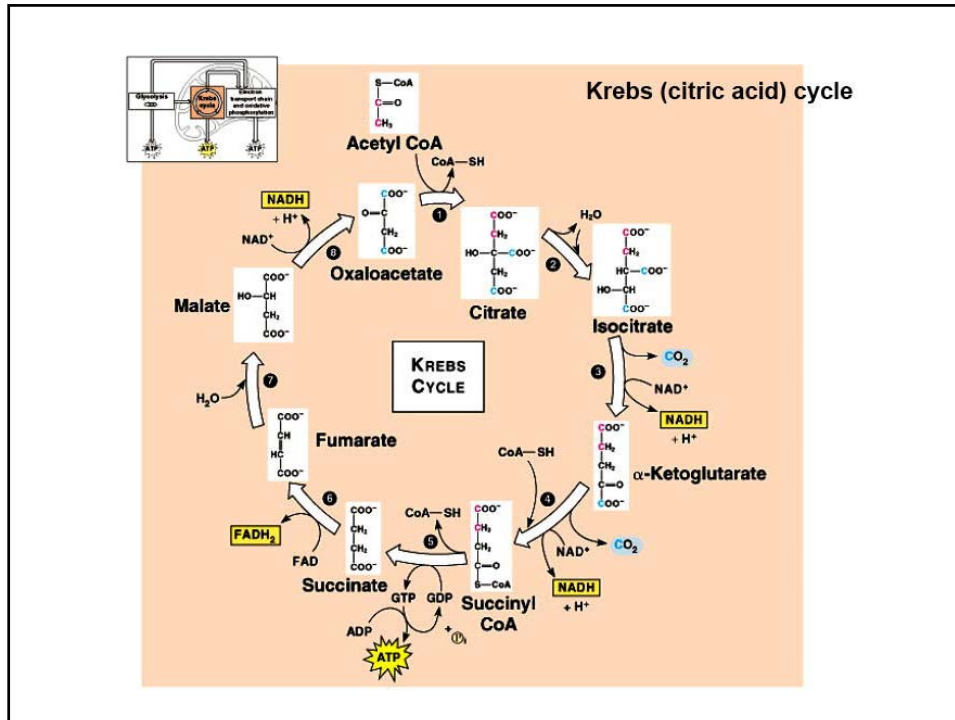
### Pyruvate Dehydrogenase



- ✦ Le molecole di **piruvato** prodotte nella glicolisi sono **trasportate** attraverso la membrana mitocondriale interna **verso la matrice**, dove vengono **decarbossilate** per formare **gruppi acetile**, con **2 atomi di carbonio** (-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>).
- ✦ Il gruppo acetile forma in seguito un complesso con il coenzima A per formare **acetil-CoA**:
 
$$\text{Piruvato} + \text{HS-CoA} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{acetil CoA} + \text{CO}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+$$
- ✦ La decarbossilazione del piruvato ed il trasferimento del gruppo acetile al CoA sono catalizzati dal complesso multienzimatico gigante della **piruvato deidrogenasi** nella matrice mitocondriale. Il **coenzima A (CoA-SH)** è un **trasportatore generale di gruppi acilici attivati** in una grande varietà di reazioni.

## Fase 3

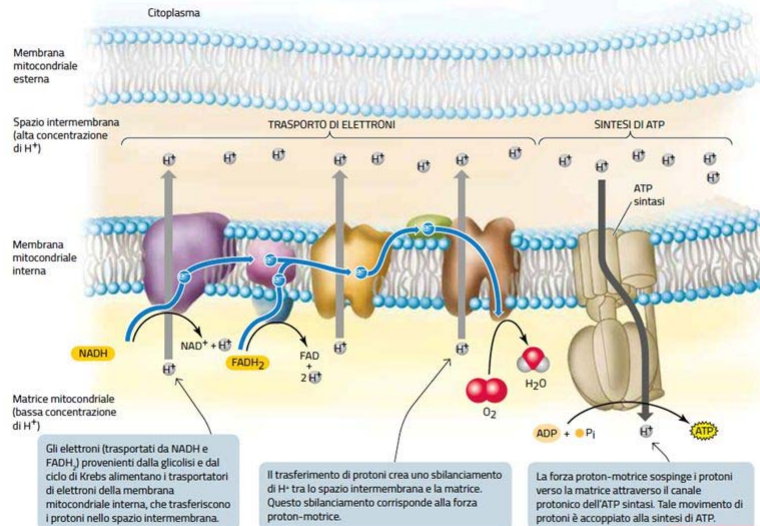
- L'**acetilCoA** entra nel **ciclo di Krebs (o degli acidi tricarbossilici o dell'acido citrico)**
- Gli enzimi del ciclo si trovano nella matrice ad eccezione del complesso della **succinico deidrogenasi** localizzato nella membrana interna



## Ruolo dell'ossigeno nel ciclo dell'acido citrico

- L'ossigeno molecolare **non** partecipa direttamente al ciclo dell'acido citrico.
- Tuttavia, il ciclo opera soltanto in condizioni aerobiche perchè il **NAD<sup>+</sup>** e il **FAD** possono venire **rigenerati nei mitocondri soltanto mediante il trasferimento di elettroni all'ossigeno molecolare**.
- Mentre la glicolisi si può svolgere sia in modo aerobico che anerobico, **il ciclo dell'acido citrico è strettamente aerobico**.

## La catena di trasporto degli elettroni



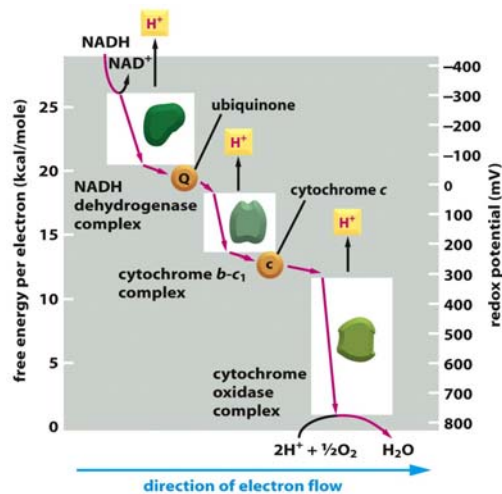
ZANICHELLI

12

Sadava et al. *La nuova biologia*. blu © Zanichelli 2015

### La catena respiratoria consiste in quattro complessi : tre pompe protoniche e un collegamento fisico con il ciclo dell'acido citrico

- Gli elettroni sono trasferiti dal **NADH** all'**O<sub>2</sub>** mediante una catena di tre grandi complessi proteici:
  - NADH-Q ossidoreduttasi (NADH-deidrogenasi)
  - Q-citocromo C ossido-reduttasi
  - citocromo C ossidasi.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/>

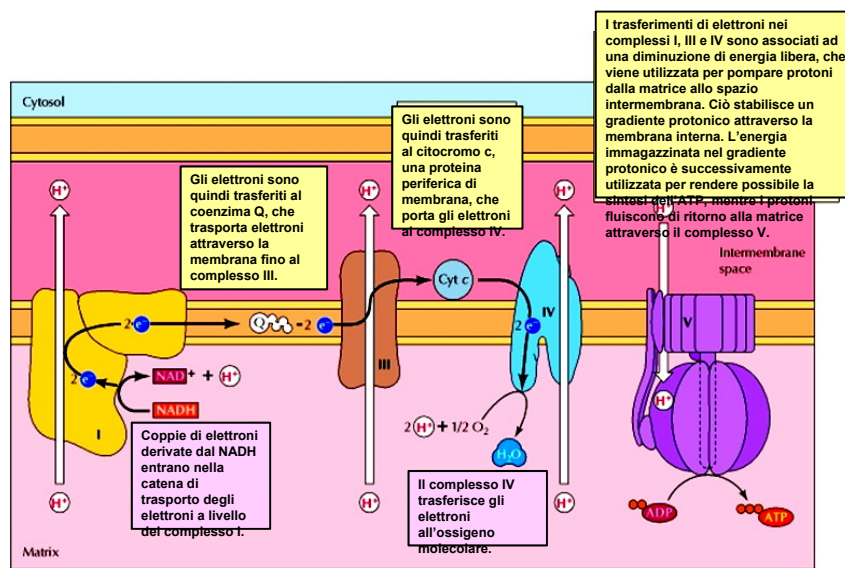
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2549/?report=objectonly>



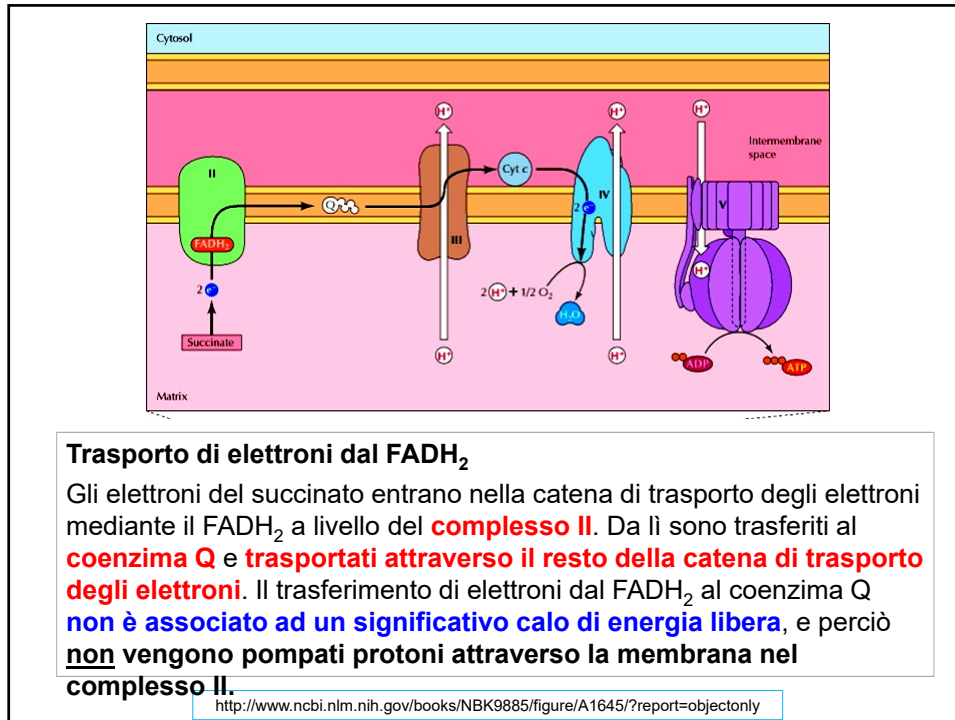
**La catena respiratoria consiste di quattro complessi:  
tre pompe protoniche e un collegamento fisico  
con il ciclo dell'acido citrico**

- ✦ L'**ubichinone** è un chinone **solubile nei lipidi** che diffonde rapidamente all'interno della membrana mitocondriale interna.
- ✦ L'ubichinone trasporta gli **elettroni dal  $FADH_2$** , generati dalla succinato deidrogenasi nel ciclo dell'acido citrico, alla Q-citocromo C ossidoreduttasi, generata mediante la succinato Q-reduttasi.
- ✦ Il **citocromo C**, una piccola proteina **solubile nei lipidi**, fa da navetta per gli elettroni dalla Q-citocromo C ossidoreduttasi alla citocromo C ossidasi, la **componente finale della catena**, che **catalizza la riduzione dell' $O_2$  ad  $H_2O$** .

**Trasporto di elettroni dal NADH**



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885/figure/A1644/?report=objectonly>



**Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna**

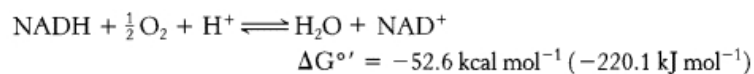
- Il movimento dell'H<sup>+</sup> ha due conseguenze principali:
  - Genera un **gradiente di pH** attraverso la membrana interna, con pH maggiore nella matrice rispetto allo spazio intermembrana (e al citosol, dato che la membrana esterna è permeabile).
  - Genera un **gradiente di voltaggio** (potenziale di membrana) attraverso la membrana interna, in cui l'interno è negativo e l'esterno positivo (come risultato del flusso netto di ioni positivi).

**Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna**

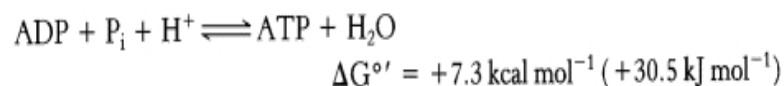
- Il gradiente di pH ( $\Delta\text{pH}$ ) pilota («drives») il ritorno degli  $\text{H}^+$  verso la matrice, così rinforzando l'effetto del potenziale di membrana ( $\Delta V$ ), che agisce per attrarre qualsiasi ione positivo verso la matrice e quindi per spingere gli ioni negativi fuori.
- Complessivamente, il  $\Delta\text{pH}$  e il  $\Delta V$  costituiscono un **gradiente elettrochimico protonico**.
- Il gradiente elettrochimico protonico esercita una **forza proton-motrice** (misurata in millivolts, mV).

**Un gradiente protonico fornisce l'energia per la sintesi dell' ATP**

- Il flusso di elettroni dal NADH all' $\text{O}_2$  è un processo esoergonico:



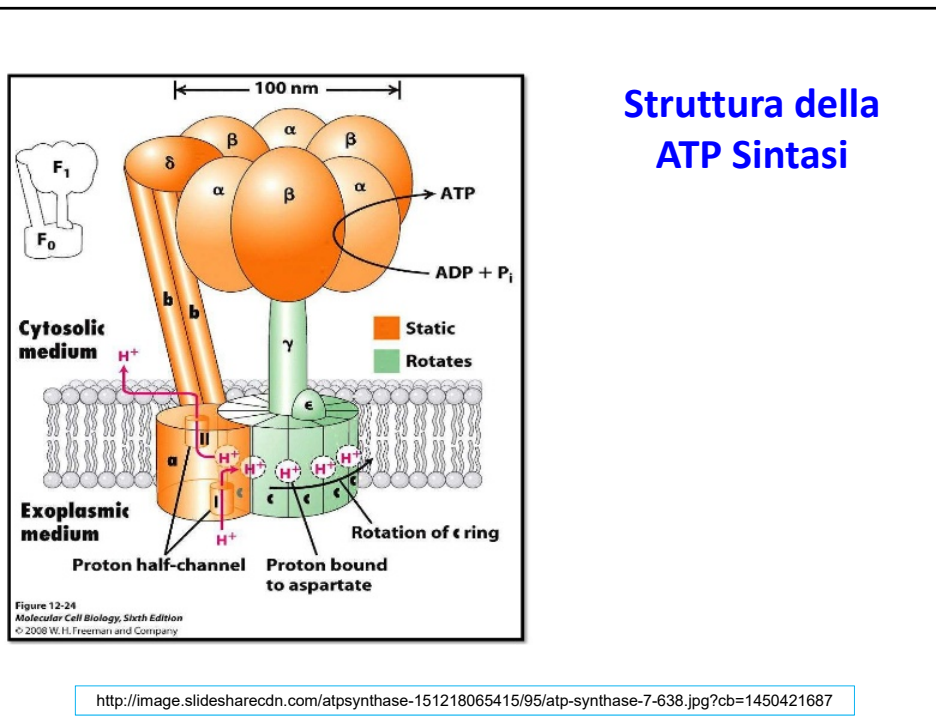
- ✚ Questo processo è accoppiato alla sintesi di ATP, un processo endergonico:

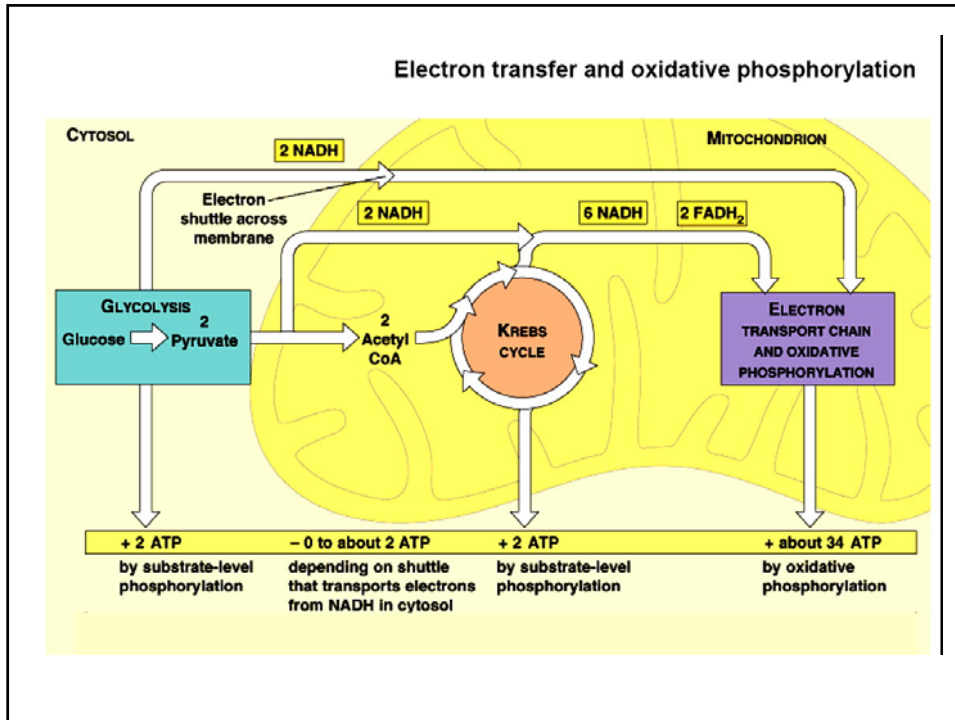


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22388/>

## Il gradiente protonico pilota («drives») la sintesi dell'ATP

- Il **gradiente elettrochimico protonico attraverso la membrana mitocondriale interna** è il processo fondamentale della **fosforilazione ossidativa**.
- Questa è svolta mediante un enzima legato alla membrana interna, **l'ATP sintasi**.
- L'ATP sintasi crea una **via idrofilica attraverso la membrana interna che permette il flusso di protoni lungo il loro gradiente elettrochimico**.
- Mentre i protoni si incanalano lungo l'ATP sintasi, essi sono usati per pilotare la reazione energeticamente sfavorevole fra l'ADP e il  $P_i$  che permette il ripristino dell'ATP.





## Perossisomi

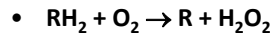
(«microbodies»: microcorpi)

Biotec

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

## Perossisomi

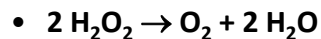
- Ulteriore tipo di **organello specializzato per l'utilizzo dell'ossigeno**, presente in praticamente tutti i tipi di cellule eucariotiche.
- Noti anche come **microcorpi**, sono organelli con diametro 0,1-1,0  $\mu\text{m}$  che **spesso** contengono un nucleoide denso, cristallino, di enzimi ossidativi molto concentrati.
- Le **ossidasi** dei perossisomi catalizzano reazioni cataboliche di diversi sostanze organici trasferendo elettroni e ioni idrogeno (atomi di idrogeno) dai loro substrati all'**ossigeno** molecolare ( $\text{O}_2$ ), **riducendolo ad acqua ossigenata** ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):



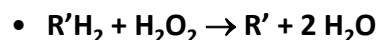
- La  $\text{H}_2\text{O}_2$  è molto tossica per cui viene degradata in loco da un enzima chiamato **catalasi**

## Metabolismo del perossido di idrogeno

- La **catalasi** può decomporre il  $\text{H}_2\text{O}_2$  in due modi:
- Quando la **concentrazione di  $\text{H}_2\text{O}_2$  è molto abbondante**, la catalasi può detossificare due molecole di  $\text{H}_2\text{O}_2$  contemporaneamente, in una reazione di **dismutazione** (una viene ossidata a ossigeno e l'altra ridotta ad acqua):



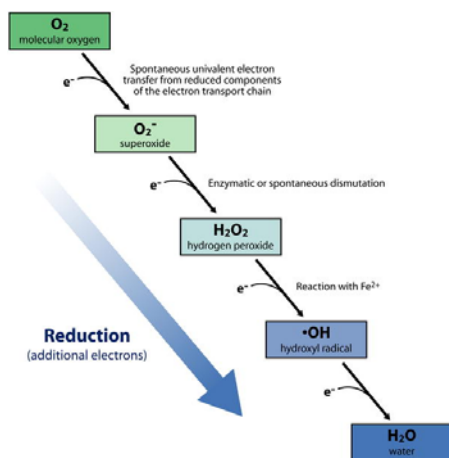
- In alternativa, la catalasi può funzionare come una **perossidasi**, catalizzando una reazione in cui **gli elettroni derivati da una sostanza organica sono usati per ridurre il perossido di idrogeno ad acqua**:



## Detossificazione di composti nocivi

- Molte **sostanze tossiche** (metanolo, etanolo, acido formico, formaldeide, nitriti, fenoli, ecc) possono agire come donatori di elettroni ( $R'H_2$ ).
- Dato che questi composti sono nocivi, la **detossificazione** può essere considerata una delle funzioni più importanti dei perossisomi.
- Probabilmente i numerosi perossisomi del **fegato** e del **rene** sono coinvolti in questa funzione.

## Detossificazione di composti nocivi



- **Detossificazione di specie reattive derivate dall'ossigeno (ROS)** (es. anione superossido,  $O_2^-$ , radicale idrossilico,  $OH^\bullet$ ;  $^\bullet$ : elettrone spaiato, altamente reattivo).
- Si formano come **sotto-prodotti del metabolismo cellulare**.
- Se si accumulano producono **stress ossidativo**.
- I perossisomi contengono **enzimi** (SuperOssido Dismutasi, catalasi, perossidasi) che **detossificano i ROS, prevenendo il loro accumulo** e il conseguente **danno ossidativo** ai componenti cellulari.

## Ossidazione degli acidi grassi

- **Beta-ossidazione degli acidi grassi** che fornisce energia alle cellule.
- Cellule animali: ossidazione perossisomiale di **acidi grassi a catena lunga** (C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>), **molto lunga** (C<sub>24</sub>-C<sub>26</sub>) e di acidi grassi **ramificati**.
- .Ossidazione nei perossisomi con **accorciamento di un gruppo acetilico alla volta** (che si **collegherà al CoA**), fino al **raggiungimento di acidi grassi di lunghezza minore di 16 atomi di carbonio la cui ossidazione proseguirà nei mitocondri**.

## Metabolismo dei composti azotati

- Ad eccezione dei Primati, la maggior parte degli animali richiede l'urato ossidasi per ossidare l'**urato** (purina che si forma durante il catabolismo degli acidi nucleici e di alcune proteine).
- **L'urato ossidasi** catalizza il trasferimento diretto di atomi di idrogeno dal substrato all'ossigeno molecolare, formando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:
  - **Urato + O<sub>2</sub> → allantoina + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**
- L' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> viene degradata dalla catalasi.
- L'allantoina viene ulteriormente metabolizzata ed escreta dall'organismo sotto forma di acido allantico, o, nel caso dei crostacei, pesci, anfibi, di urea.



## Metabolismo dei composti azotati

- Amminotrasferasi (**transaminasi**): catalizzano il **trasferimento di gruppi amminici** ( $-\text{NH}_3^+$ ) **dagli aminoacidi agli  $\alpha$ -chetoacidi**; processo importante nella **sintesi e degradazione degli aminoacidi**:

### Aminotrasferase

- Catalyse the transfer of amino group from amino acid to  $\alpha$ -keto acid (usually  $\alpha$ -keto glutarate) forming new  $\alpha$ -keto acid and (usually) glutamic acid. Require pyridoxal-5'-phosphate.

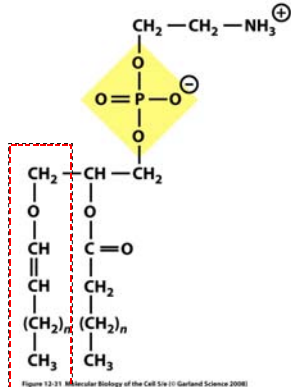


<http://www.cheesesience.net/2008/03/to-degrade-or-not-to-degrade.html>

## Catabolismo di sostanze insolite

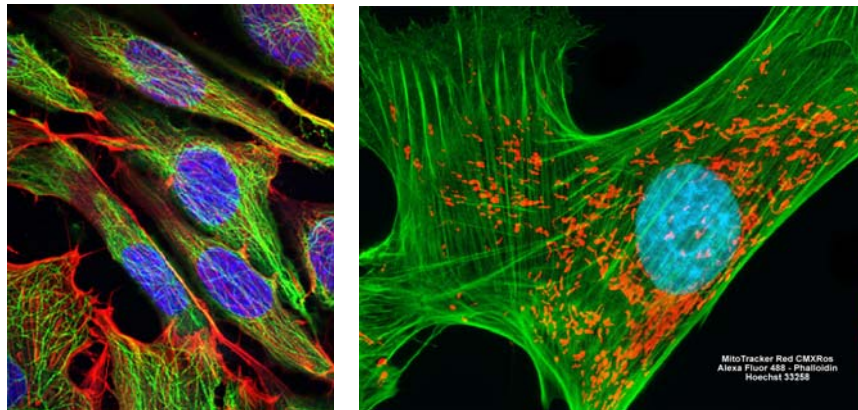
- Alcuni dei substrati delle ossidasi perossisomiali sono composti per i quali la cellula non possiede altre vie di degradazione:
  - **D-amminoacidi** (ad es. della parete cellulare batterica non riconosciuti dagli enzimi che possono degradare gli L-amminoacidi).
  - **Xenobiotici** (composti estranei agli organismi biologici): idrocarburi derivati dal petrolio.

## Perossisomi e sintesi dei plasmalogeni



I **plasmalogeni** sono molto **abbondanti nei rivestimenti di mielina che isolano gli assoni delle cellule nervose**. Essi possono costituire fino al 80-90% dei fosfolipidi della membrana di mielina. Oltre ad una testa di tipo etanolamina e ad una lunga catena di acido grasso legato alla stessa impalcatura di glicerol fosfato usato per i fosfolipidi, **i plasmalogeni contengono un alcool grasso poco comune che è legato mediante un legame di tipo etere** (in basso a sinistra).

- ✦ Una funzione biosintetica essenziale dei perossisomi delle cellule animali è la catalisi delle reazioni iniziali della **formazione di plasmalogeni**, che sono la **più abbondante classe di fosfolipidi della mielina**.
- ✦ La carenza di plasmalogeni provoca anomalie pronunciate della mielinizzazione delle cellule nervose, ragione per cui **molte disfunzioni dei perossisomi portano a malattie neurologiche**.



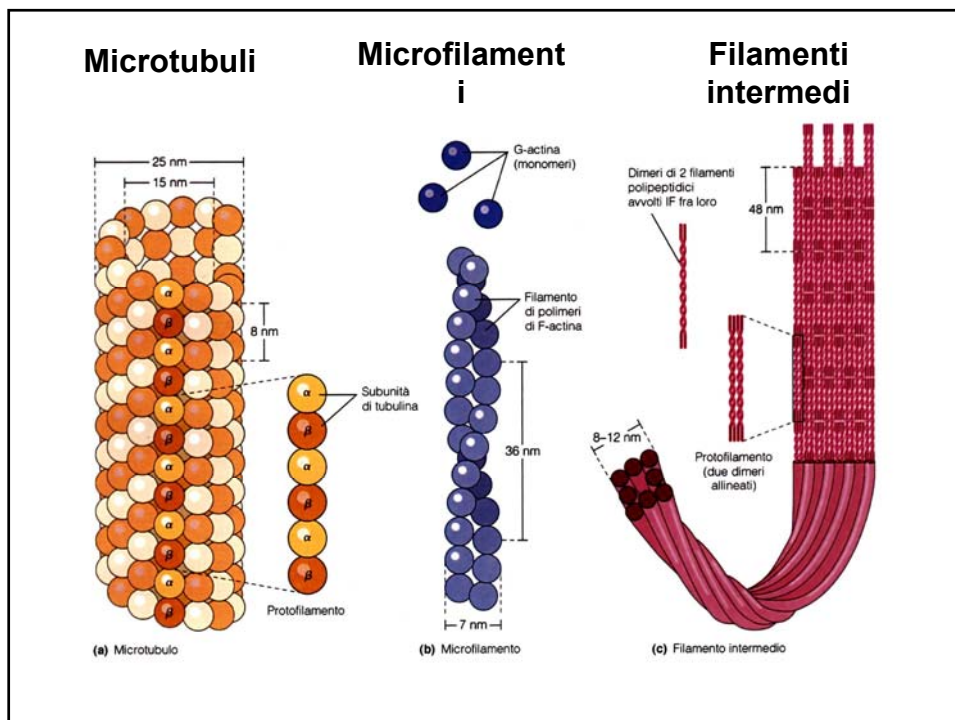
## Citoscheletro

### Biotechnologie

<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/galleries/cells/index.html>

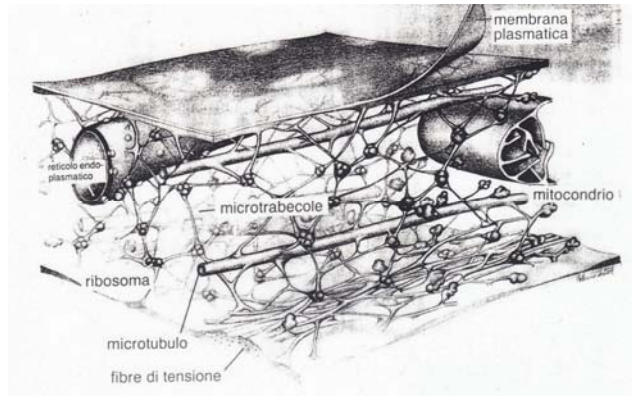
## Citoscheletro

- Complessa e dinamica rete proteica formata da tre strutture filamentose distinte ma interconnesse strutturalmente:
  - Microfilamenti
  - Microtubuli
  - Filamenti intermedi



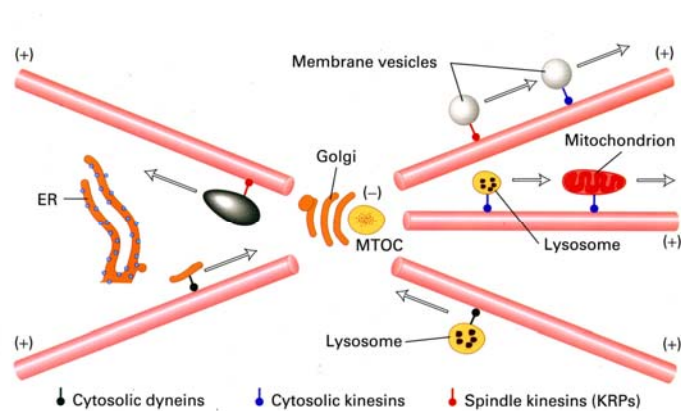
## Funzioni del citoscheletro

- Fornire un **supporto strutturale**
- Fornire una **impalcatura interna** che **determina la posizione dei vari organelli all'interno della cellula.**



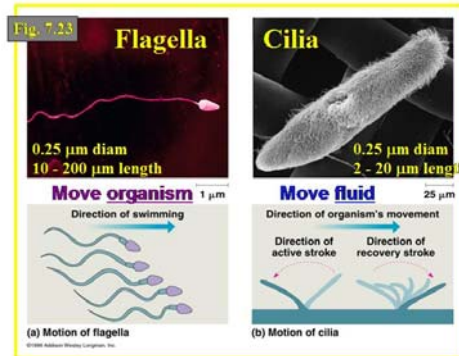
## Funzioni del citoscheletro

- Collaborare ai meccanismi necessari al **movimento di organelli e vescicole nelle cellule.**



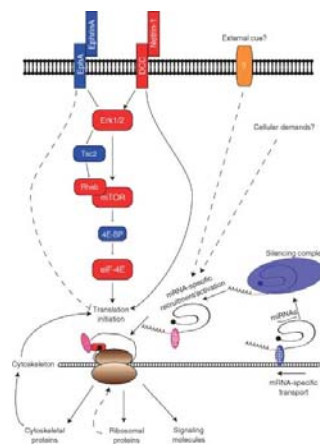
## Funzioni del citoscheletro

- Agire come elementi **generatori di forza** che determinano il **movimento dell'intera cellula** o di **alcune regioni di una cellula**.



## Funzioni del citoscheletro

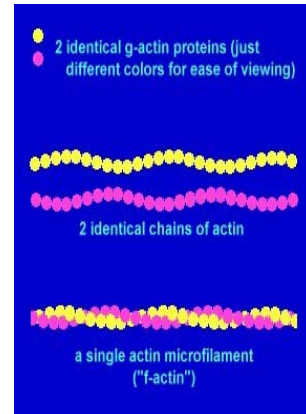
- Servire come **sito di ancoraggio per gli RNA messaggeri**, facilitandone la traduzione in polipeptidi.



Jung H, Holt CE. Local translation of mRNAs in neural development. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2:153-165, 2011.

## Microfilamenti

- I **filamenti di actina** (**microfilamenti; F-actina**) sono costituiti da **due catene** di subunità di g-actina attorcigliate una rispetto all'altra, e la forma filamentosa viene chiamata "**f-actina**". Legami **non-covalenti** (più deboli, maggiore **possibilità di riorganizzazione rapida e di flessibilità**).
- Hanno un diametro di circa 5-10 nm, sono dotati di **grande flessibilità** e formano una grande diversità di **reti bi- o tri-dimensionali**.
- Anche se i filamenti a base di actina si possono trovare quasi dappertutto nella cellula, essi spesso **si concentrano** nelle zone spigolose della cellula, appena **sotto la membrana plasmatica**. In questa sede possono irrigidire i contenuti liquidi del citoplasma, formando la **corteccia cellulare**, fornendo alla membrana plasmatica delle cellule animali la loro forma caratteristica:
- Estensioni sottili, appuntite: **FILOPODI**
  - Lamelle: **LAMELLIPODI**
  - Pieghe o **infossature della membrana plasmatica**, simili a quelle che si formano durante la divisione cellulare (**citochinesi**)



83

## La F-actina ha una polarità strutturale e funzionale

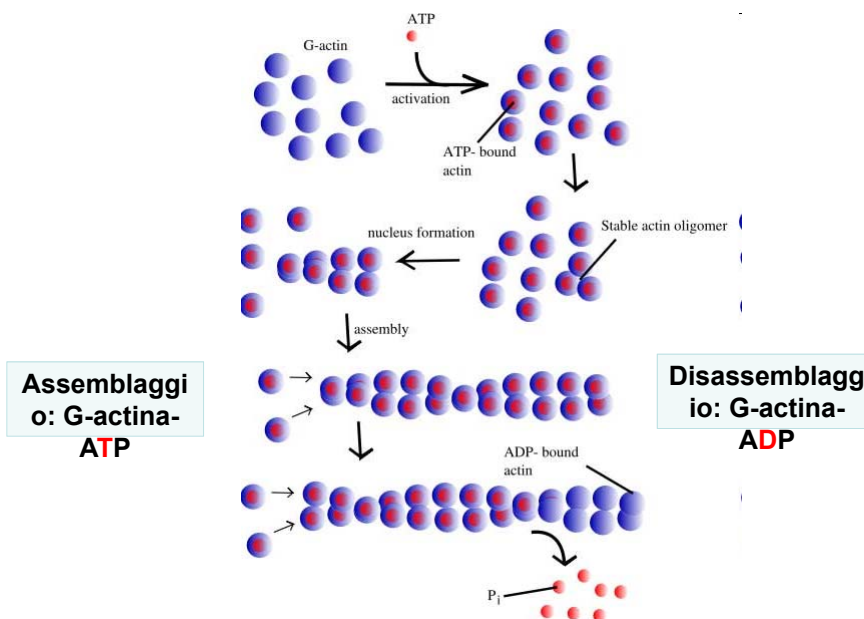
- Tutte le subunità di G-actina che si inseriscono in un filamento sono **orientate nello stesso senso**.
- Quindi il filamento avrà una «**polarità**»: **un'estremità del filamento è diversa dall'altra estremità**.
- Una delle estremità **favorisce l'aggiunta di subunità di actina: estremità (+)**.
- Nell'altra è **favorita la dissociazione di subunità: estremità (-)**.
- Nell'estremità (+) la **fenditura che lega l'ATP** della subunità terminale di actina è in contatto con l'unità adiacente.
- Nell'estremità (-) la tasca è esposta alla soluzione circostante

Lodish, 7° ed.

## Assemblaggio e disassemblaggio dei microfilamenti

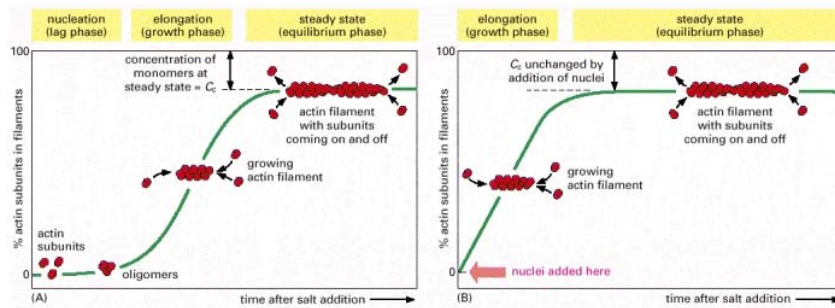
- Prima di potere essere incorporata in un filamento, **una molecola di actina globulare lega una molecola di ATP**.
- **La molecola di actina è una ATPasi**
- **L'ATP associata al monomero di actina viene idrolizzata ad ADP** in un momento successivo alla sua incorporazione nel filamento in crescita.
- Perciò **la maggior parte del filamento di actina consiste di subunità di actina-ADP**.

## Polimerizzazione dell'actina





## Cinetica della crescita dei filamenti di actina in provetta

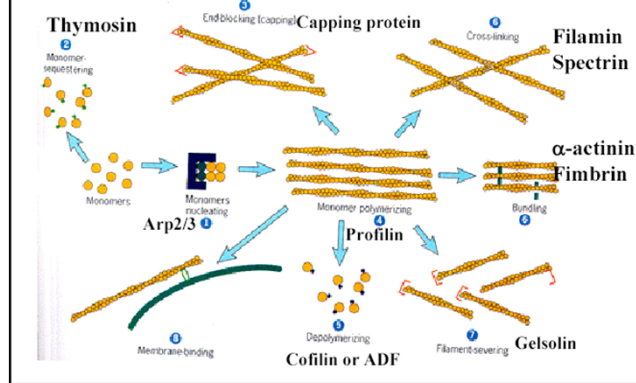


(A) La polimerizzazione viene iniziata aumentando la concentrazione salina in una soluzione di subunità pure di G-actina.

(B) La polimerizzazione viene iniziata nello stesso modo, ma con frammenti pre-formati di filamenti di G-actina che fungono da innesti che stimolano la crescita dei filamenti.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26862/figure/A2965/>

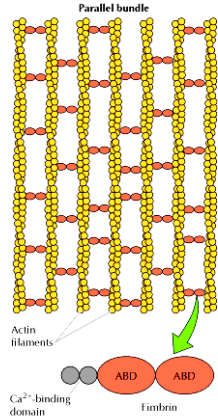
## Roles of actin-binding proteins



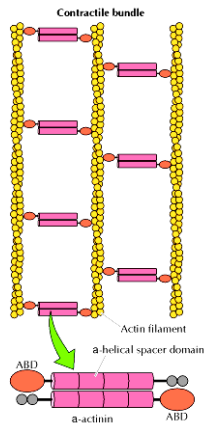
**Proteine associate all'Actina  
«Actin-Binding Proteins» (ABPs)  
(incluso proteine motore)**



## Proteine che inducono la formazione di fasci di actina



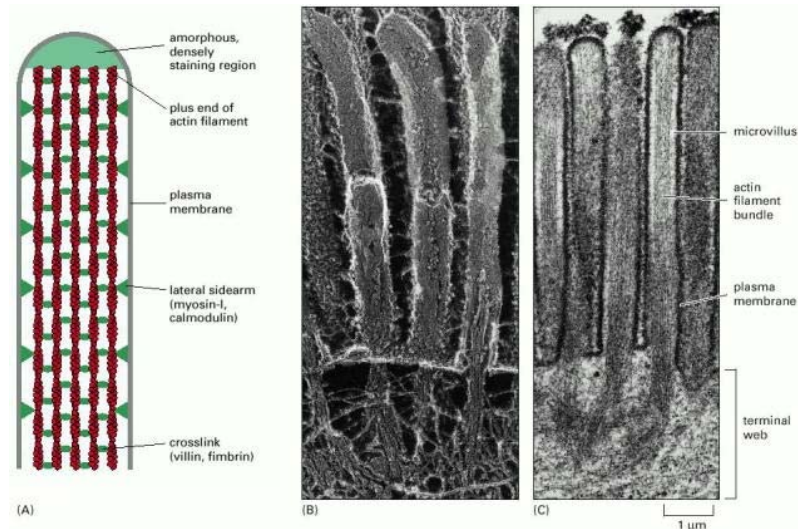
⚡ I filamenti di actina possono formare due tipi di fasci mediante l'azione di proteine diverse:



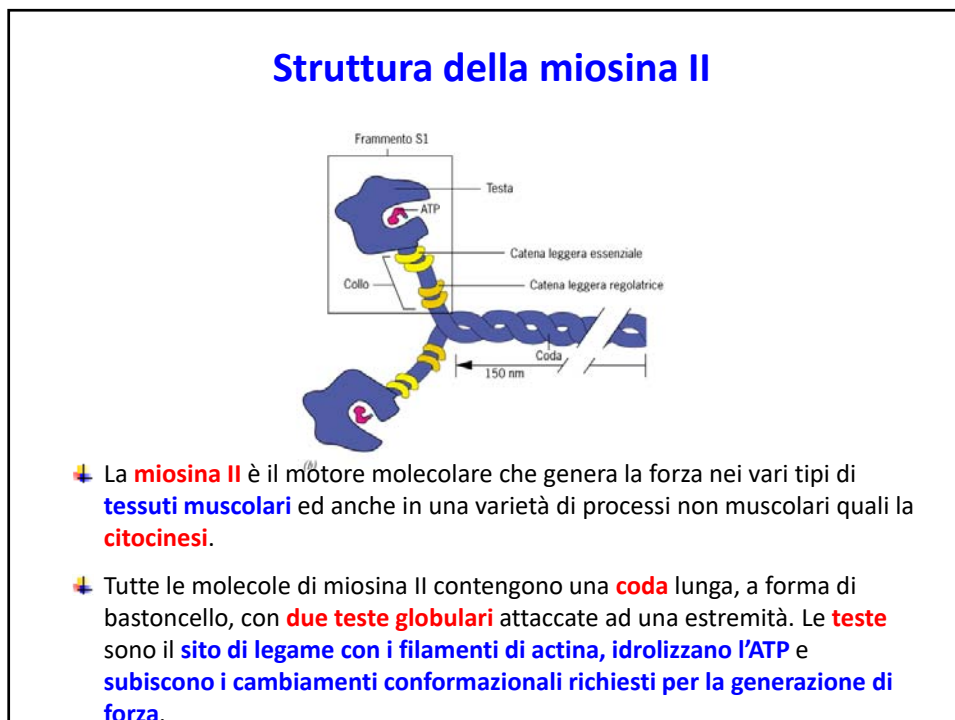
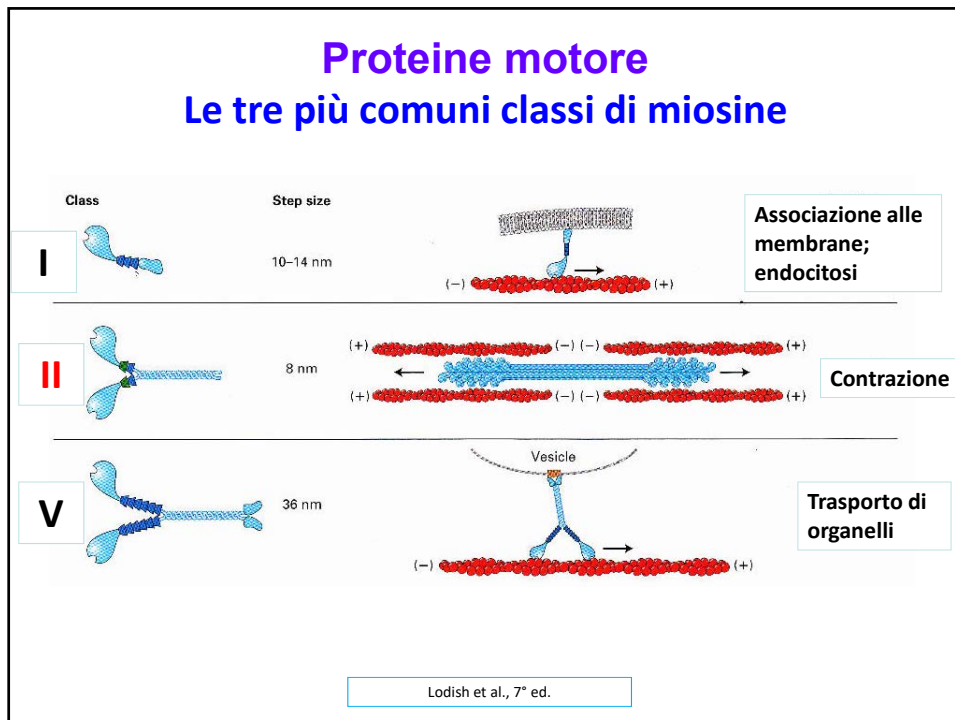
⚡ La **fimbrina** ha due domini adiacenti di legame con l'actina (ABD; "actin-binding domains") e induce la formazione di legami crociati nell'actina producendo **fasci paralleli impacchettati molto strettamente** in cui i filamenti sono distanziati di circa 14 nm.

⚡ Vice versa, i due domini separati di legame con l'actina dei dimeri dell'**α-actinina** formano legami incrociati nei filamenti di actina tali da produrre **fasci contrattili distanziati in modo più lasso** in cui i filamenti sono separati da circa 40 nm.

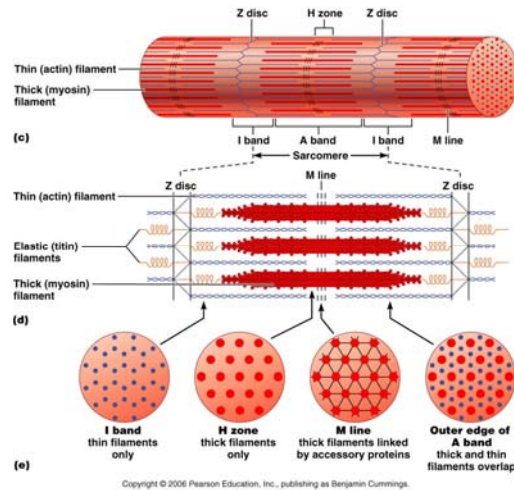
⚡ Sia la fimbrina che l'α-actinina contengono due **domini correlati di legame con il Ca<sup>2+</sup>**, e l'α-actinina contiene quattro domini distanziatori ("spacer") ad α-elica.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26809/figure/A3025/>



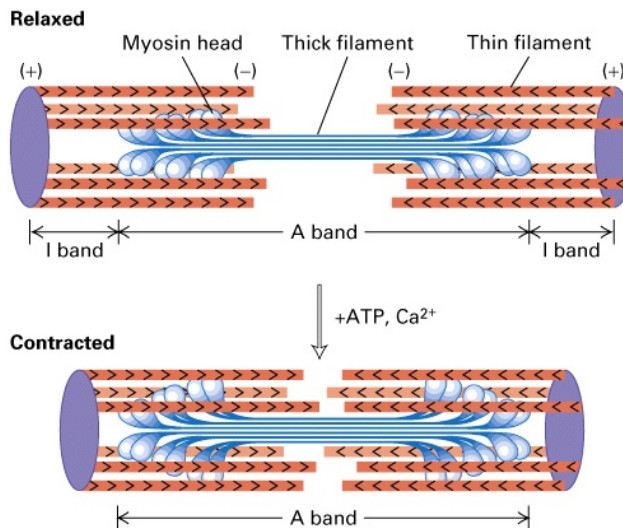
### STRUTTURA DI UN SARCOMERO, UNITA' FUNZIONALE DI CONTRAZIONE DI UNA FIBROCELLULA MUSCOLARE



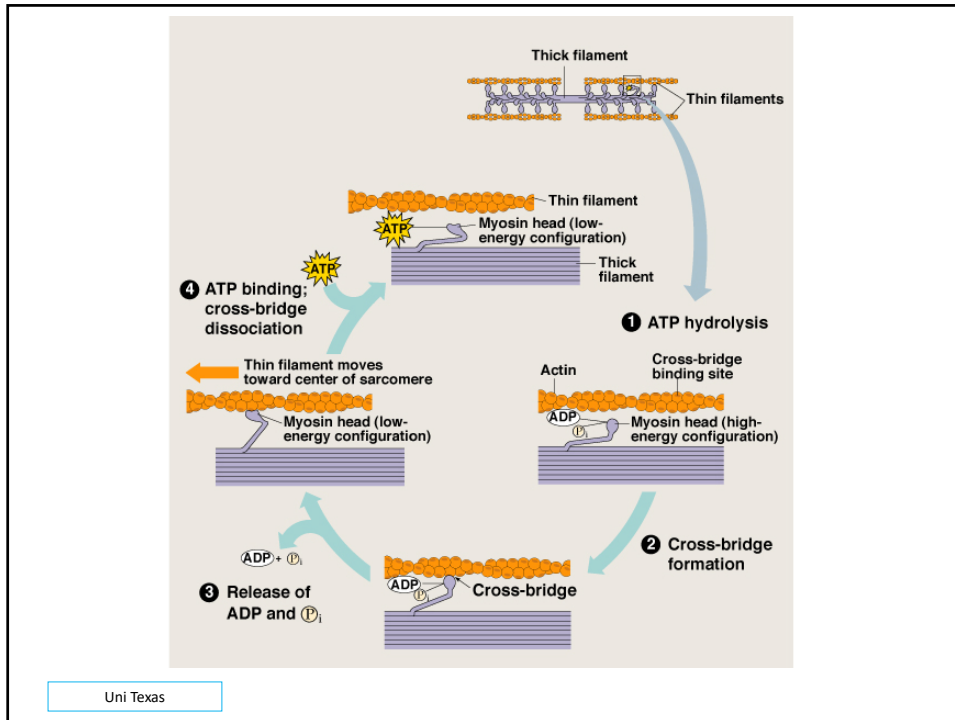
[http://facweb.northseattle.edu/learn/BIOL\\_241\\_242/Muslce3.jpg](http://facweb.northseattle.edu/learn/BIOL_241_242/Muslce3.jpg)

### Contrazione del muscolo scheletrico

- I **filamenti spessi di miosina** e i **filamenti sottili di actina** scivolano uno sull'altro

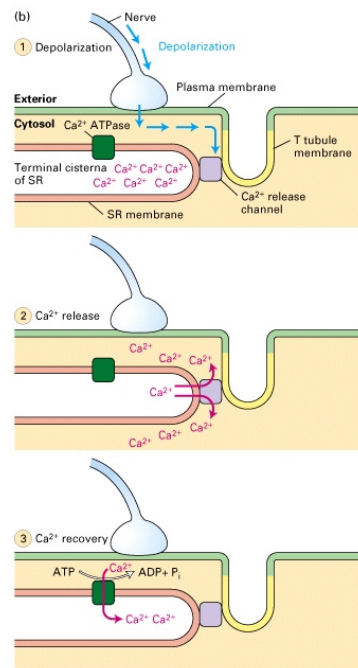


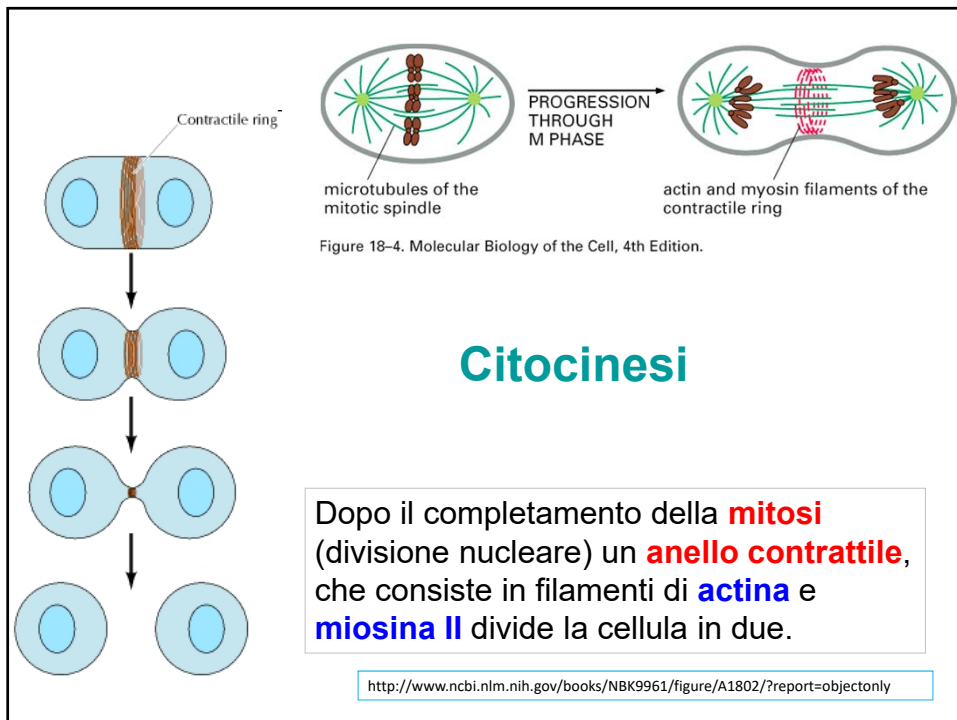
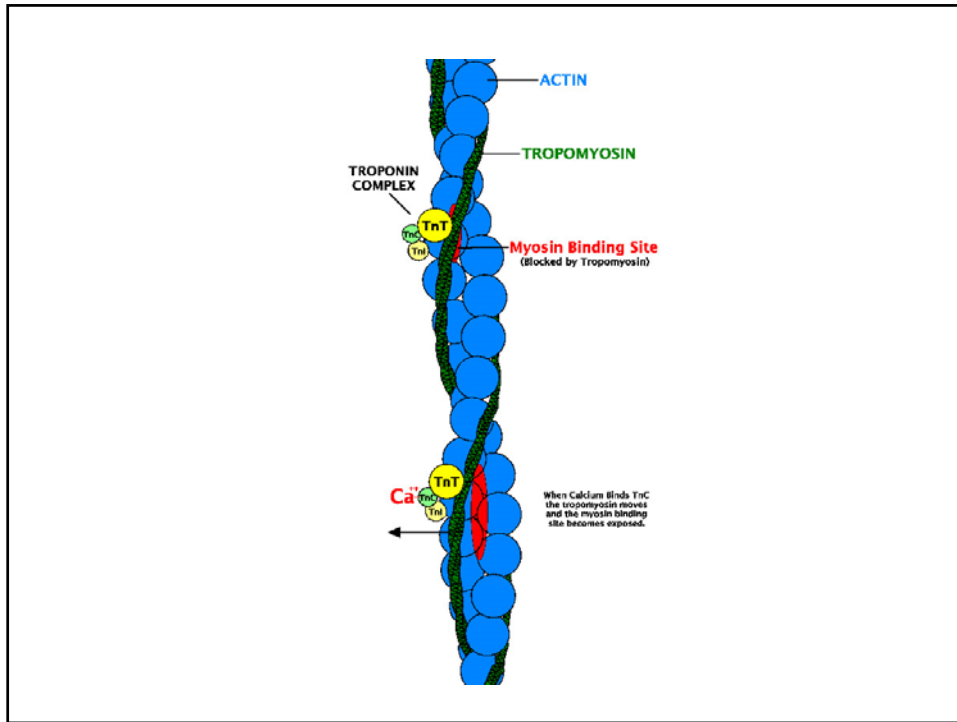
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21670/figure/A5208/?report=objectonly>



## Ruolo del Calcio

- La contrazione muscolare è scatenata da un **aumento del  $Ca^{2+}$**  citosolico (proveniente dai depositi intracellulari di  $Ca^{2+}$  all'interno del **reticolo sarcoplasmatico** – reticolo endoplasmatico liscio del muscolo)





## Citocinesi

Dopo il completamento della **mitosi** (divisione nucleare) un **anello contrattile**, che consiste in filamenti di **actina** e **miosina II** divide la cellula in due.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9961/figure/A1802/?report=objectonly>



## Citoscheletro – Microtubuli

Biotechnologie

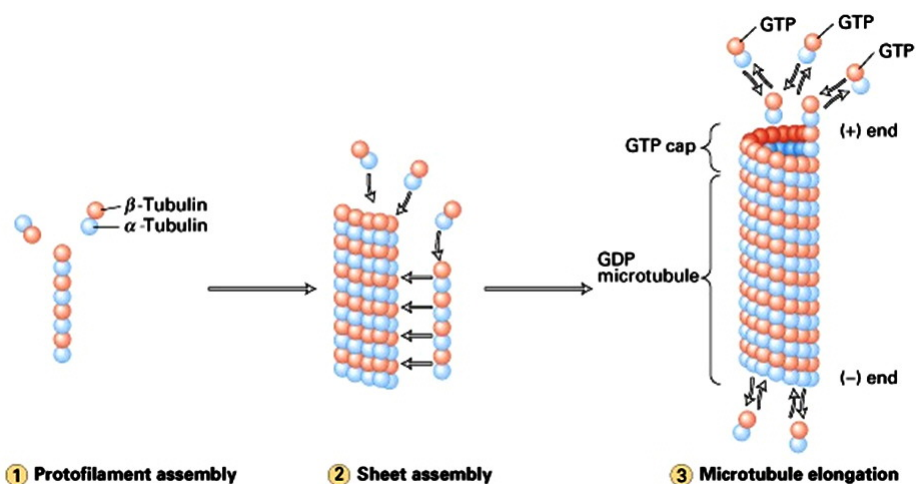
### Struttura

- Sono gli elementi più grossi del citoscheletro ( 25 nm diametro)
- Sono cilindri cavi, la cui parete è formata da **13 protofilamenti**.
- Ogni protofilamento è un polimero formato da **eterodimeri** della proteina **tubulina**
- Gli **eterodimeri** sono composti da una molecola di **tubulina  $\alpha$**  e una molecola di **tubulina  $\beta$**  che al momento della sintesi sono associati in modo non covalente una all'altra a costituire un **eterodimero  $\alpha\beta$** , non dissociabile in condizioni normali.
- All'interno del microtubulo i dimeri di tubulina sono orientati nella stessa direzione, in modo che tutte le subunità della **tubulina  $\alpha$**  siano rivolte verso la stessa estremità. Questo comporta che un'estremità sia diversa dall'altra e che quindi i protofilamenti hanno una **polarità** intrinseca.
- L'estremità che espone la **subunità  $\beta$**  è l'**estremità (+)** mentre l'estremità che espone la **subunità  $\alpha$**  è l'**estremità (-)**.
- **Le due estremità differiscono chimicamente e una può crescere più velocemente (+) dell'altra (-)**

## Polimerizzazione dei microtubuli

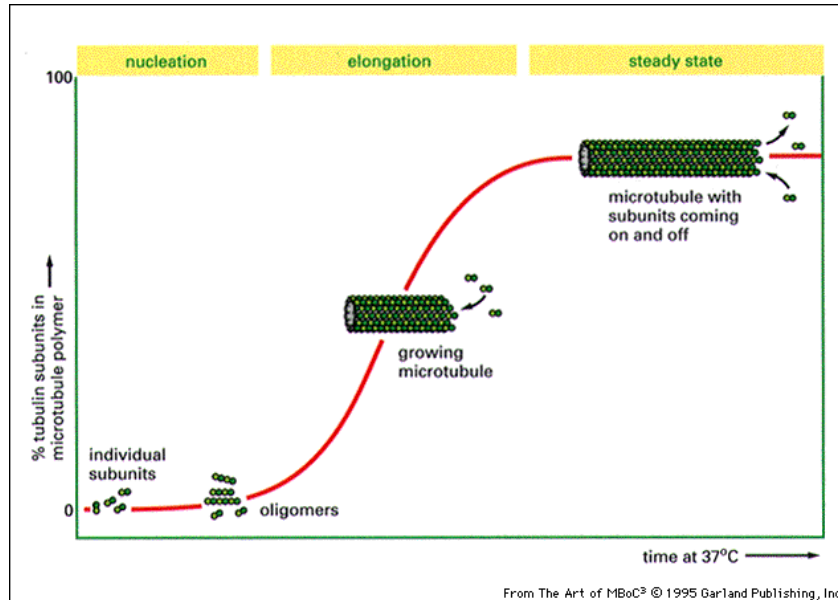
- Sia le **subunità  $\alpha$**  che  **$\beta$**  del dimero di tubulina si legano ad una molecola di **GTP**.
- Il **GTP legato alla tubulina  $\alpha$**  non viene mai idrolizzato e rimane intrappolato nell'interfaccia fra le subunità  $\alpha$  e  $\beta$ .
- Viceversa, il sito di legame per il GTP della subunità  $\beta$  si trova alla superficie del dimero.
- Il **GTP legato alla subunità  $\beta$**  può essere idrolizzato e il **GDP risultante può venire scambiato con un GTP libero**.

## Polimerizzazione dei MT



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21522/figure/A5432/>

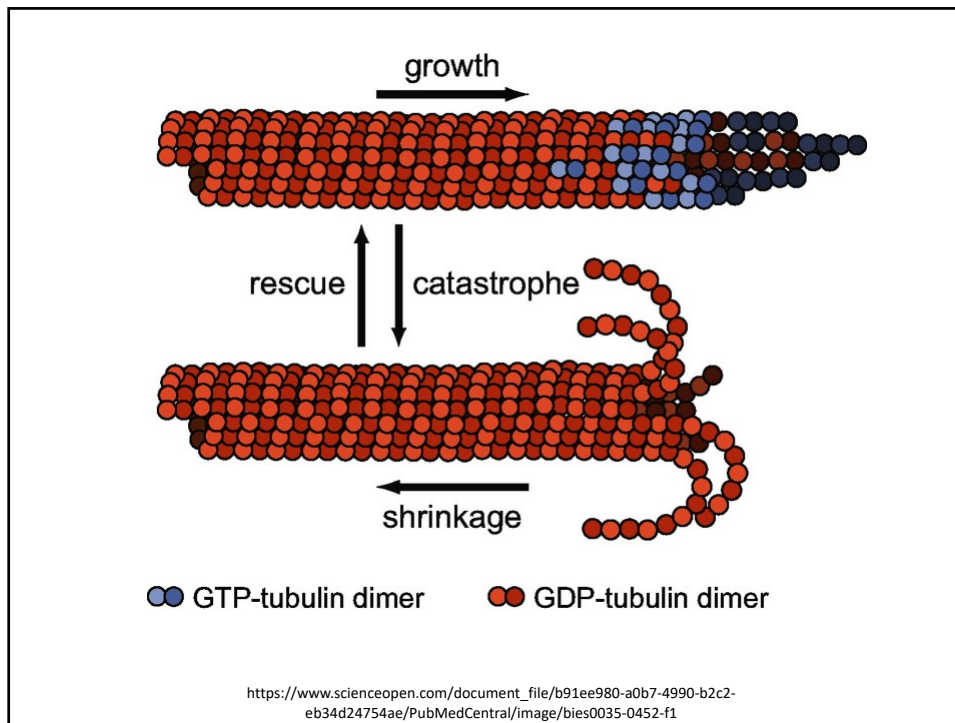
## Cinetica di crescita dei Microtubuli



## Instabilità dinamica

- L'aggiunta di un dimero all'estremità (+) di un protofilamento su un microtubulo in crescita coinvolge l'interazione tra una subunità pre-esistente  $\beta$  terminale e la nuova subunità  $\alpha$ .
- L'interazione aumenta l'idrolisi del GTP a GDP nella precedente subunità  $\beta$  terminale.
- Tuttavia, **la  $\beta$ -tubulina del nuovo dimero che viene aggiunto contiene GTP.**
- Perciò, ogni protofilamento in un microtubulo in crescita contiene soprattutto **GDP- $\beta$ -tubulina lungo la sua estensione** ma è **«incapucciato» da uno o due dimeri terminali contenenti GTP-  $\beta$ -tubulina .**



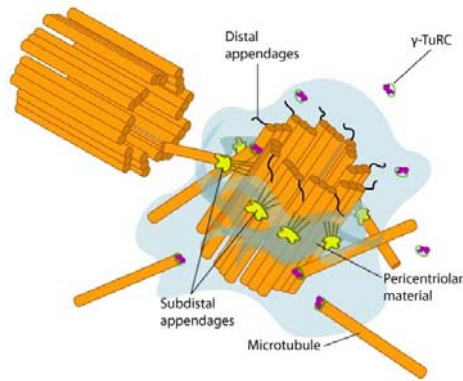


### MICROTUBULE ORGANIZING CENTERS (MTOCs) (Centri di Organizzazione dei Microtubuli)

- I microtubuli originano dai MTOC
- Controllano il **numero** e la **polarità** dei microtubuli che si formano
- Controllano il **numero** di **protofilamenti** che formano la parete dei microtubuli (ad es. 13 o 11, come nell'assonema o nei centrioli e corpi basali)
- Controllano il **momento** e il **luogo** dove i microtubuli vengono assemblati

G. Karp: Biologia cellulare e Animale, EdiSES, 1998

## Struttura del centrosoma



⚡ Nelle cellule che **non** si stanno dividendo, il **MTOC** è noto come **centrosoma**, e consiste in una **copia di centrioli a forma di L e materiale centriolare** associato.

**CENTRIOLO**: Il centriolo è un cilindro che comprende 9 triplette di microtubuli, e ha appendici nelle estremità distali dopo maturazione. Vi sono variazioni in questa struttura, in cui le triplette sono sostituite da singole o doppie e non vi sono appendici.

⚡ Il **materiale pericentriolare** contiene numerosi **complessi proteici gamma-TuRC** che **nucleano la disposizione di microtubuli**.

<http://manual.blueprint.org/Home/glossary-of-terms/mechanoglossary--c/glossary-centriole>

## MICROTUBULI

- Due gruppi di microtubuli nelle cellule eucariote che differiscono per il grado di organizzazione e per la stabilità strutturale :
- **Microtubuli citoplasmatici** organizzati in modo lasso e dinamico : svolgono supporto strutturale, preservano gli assoni delle cellule nervose, costituiscono il fuso mitotico, funzionano da rotaie per il posizionamento e lo spostamento di vescicole ed organelli.
- **Microtubuli assonemali** organizzati in strutture molto stabili che si trovano in strutture subcellulari associate con il movimento cellulare quali ciglia, flagelli e corpi basali a cui tali strutture sono attaccate.

## Organizzazione del citoplasma

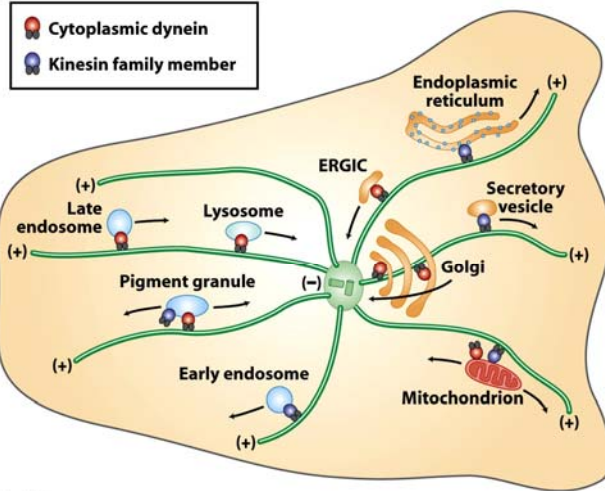
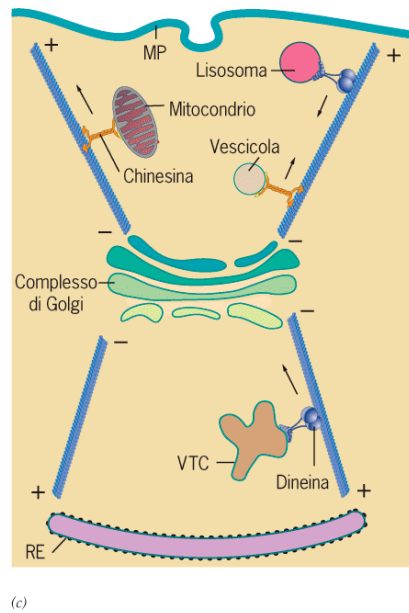
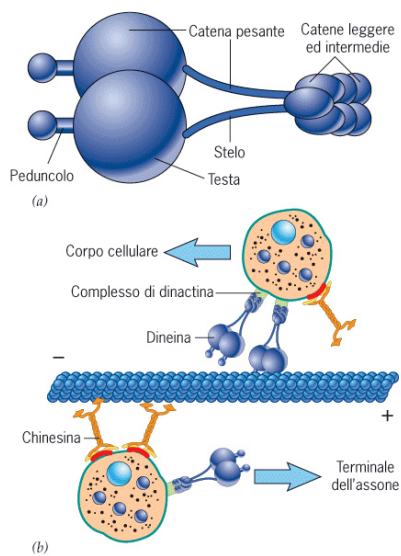


Figure 18-27  
 Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
 © 2008 W.H. Freeman and Company

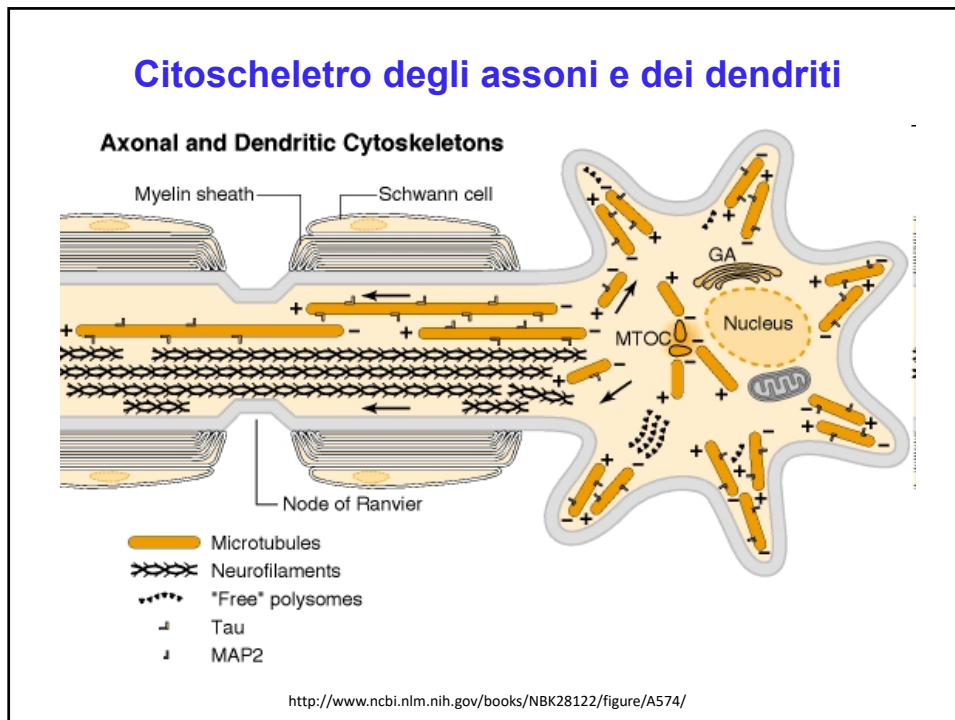
<http://www.bio.miami.edu/tom/courses/protected/MCB6/ch18/18-27.jpg>

## Proteine motore associate ai microtubuli

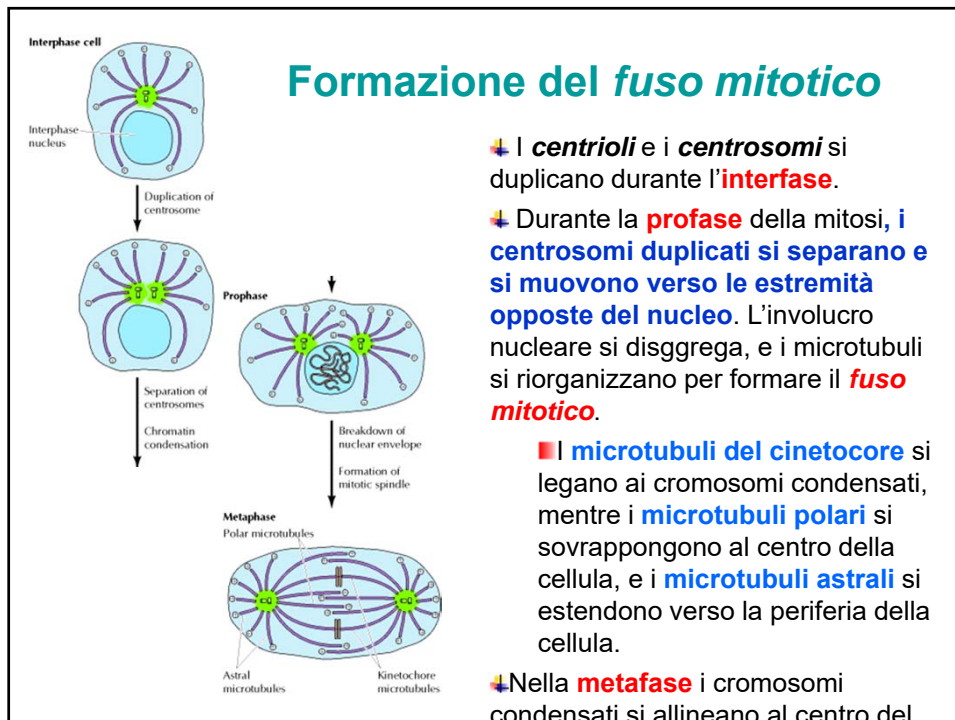
Gerald Karp  
 Biologia cellulare e molecolare  
 E.d.S.E.S.

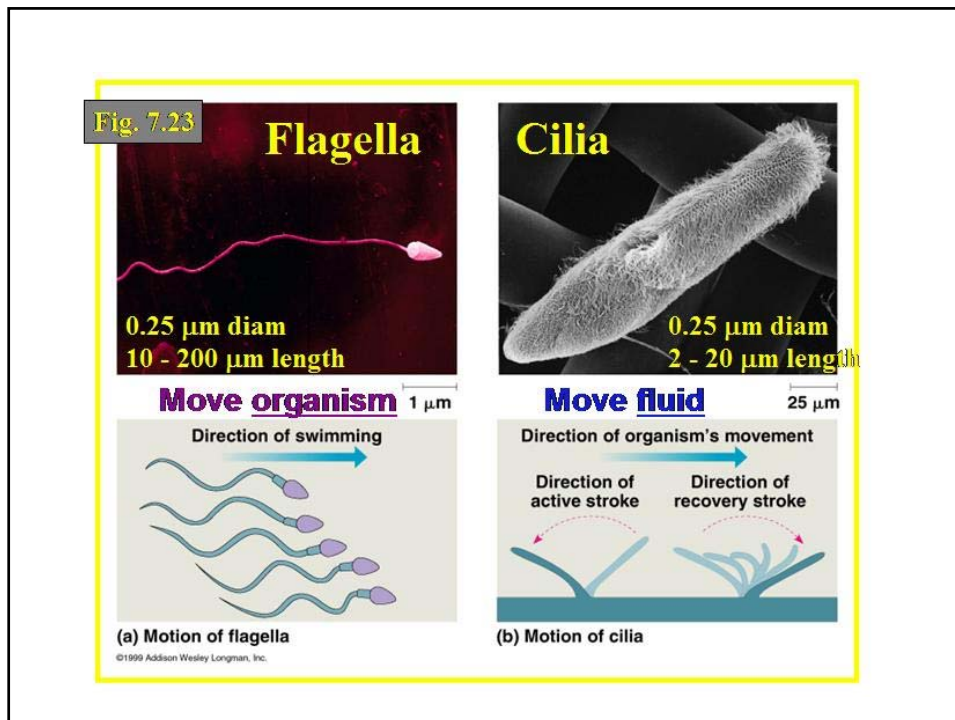


## Citoscheletro degli assoni e dei dendriti

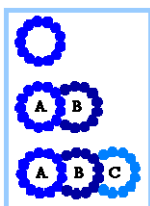


## Formazione del fuso mitotico



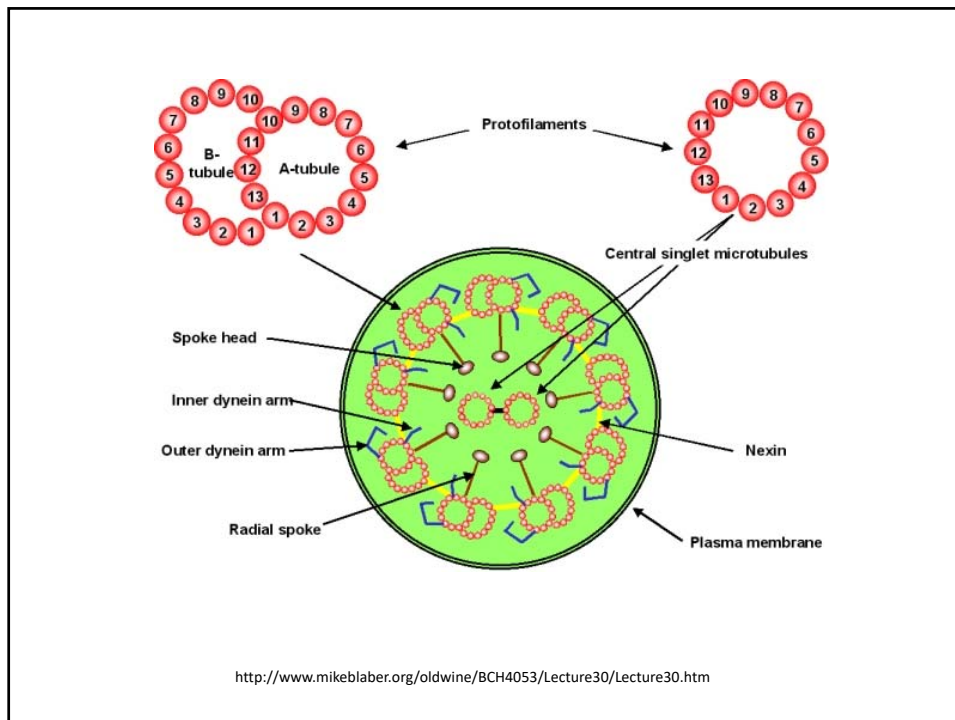


## L'assonema di cilia e flagelli



- Le cilia e flagelli hanno dimensioni che vanno da alcuni micron a >2mm negli spermatozoi di alcuni insetti.
- Hanno un fascio centrale di microtubuli, l'**assonema**, che consiste in una **disposizione detta «9+2» con 9 doppiette di microtubuli circondando una coppia centrale di microtubuli isolati.**
- Ciascuna delle doppiette consiste in un **microtubulo A completo** (13 protofilamenti) e in un **microtubulo B incompleto** (di solito 10 protofilamenti), appoggiato al primo.

Lodish et al., 7<sup>a</sup> ed  
<https://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb2/part1/images/mtub.gif>



## L'assonema di cilia e flagelli

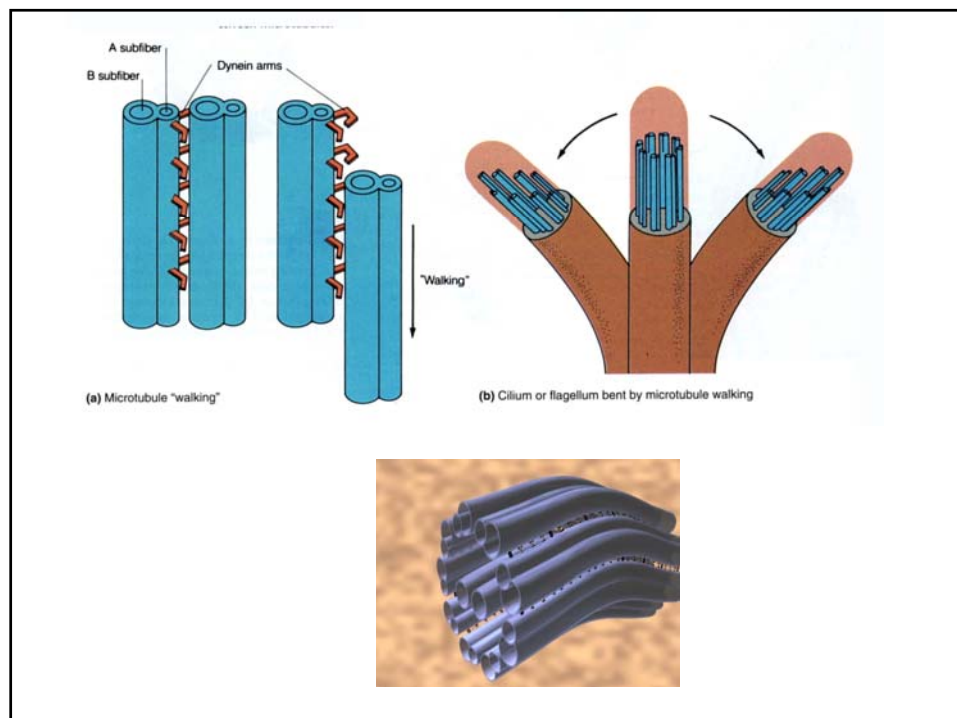
- Tutti i microtubuli dell'assonema hanno la stessa polarità: **l'estremità (+) è localizzata nella punta distale.**
- Dalla parte opposta, l'assonema è collegato ad un **corpo basale**, una **struttura con 9 triplete di microtubuli simile al centriolo.**
- La struttura dell'assonema è tenuta insieme da tre insiemi di **proteine che stabiliscono legami incrociati.**
- I **due microtubuli centrali** sono collegati strutturalmente da ponti proteici periodici, simili ai pioli di una scaletta.
- Un secondo insieme di proteine strutturali, costituiti dalla proteine **nexina**, **collega doppiette esterne adiacenti.**
- Altre proteine strutturali si dispongono come dei **raggi** («radial spokes») che si proiettano da ogni tubulo A di ogni doppietta verso la coppia centrale.

Lodish et al., 7° ed.

## L'assonema di cilia e flagelli

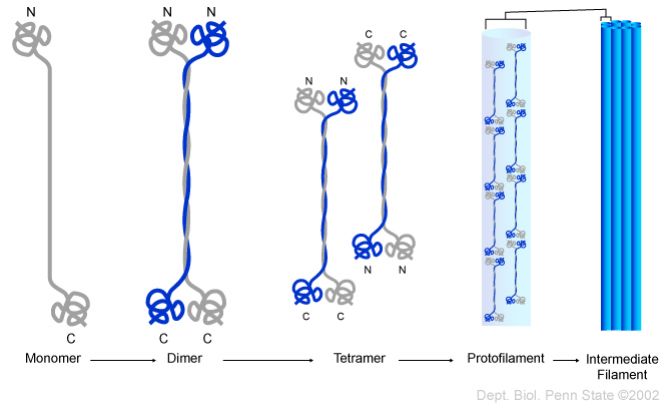
- La principale proteina motore presente nelle cilia e nei flagelli è la **dineina assonemale**.
- Due file di **motori di dineina** sono collegate periodicamente lungo la lunghezza di ogni tubulo A delle doppiette esterne di microtubuli: **dineine del braccio esterno** e **dineine del braccio interno**.
- E' **l'interazione temporanea** di questi motori di dineina con il tubulo B della doppietta adiacente che permette il **piegamento delle cilia e dei flagelli**.

Lodish et al., 7° ed.





«I filamenti intermedi possono funzionare per integrare meccanicamente le diverse strutture dello spazio citoplasmatico in modo «**cucito su misura**» sullo **stato di differenziamento della cellula**» Elias Lazarides, 1980

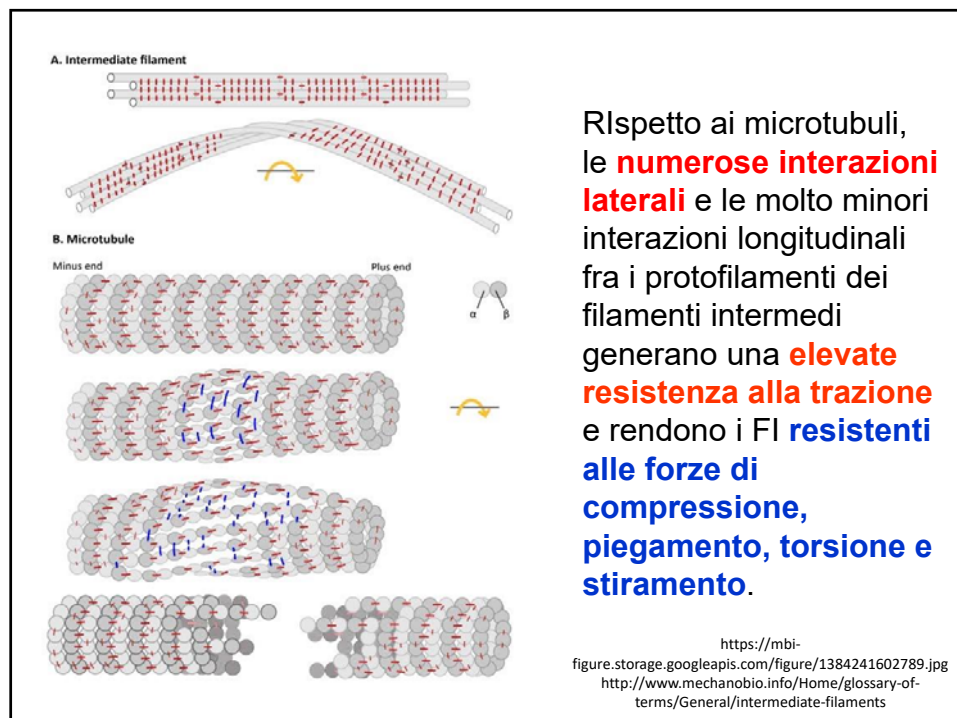
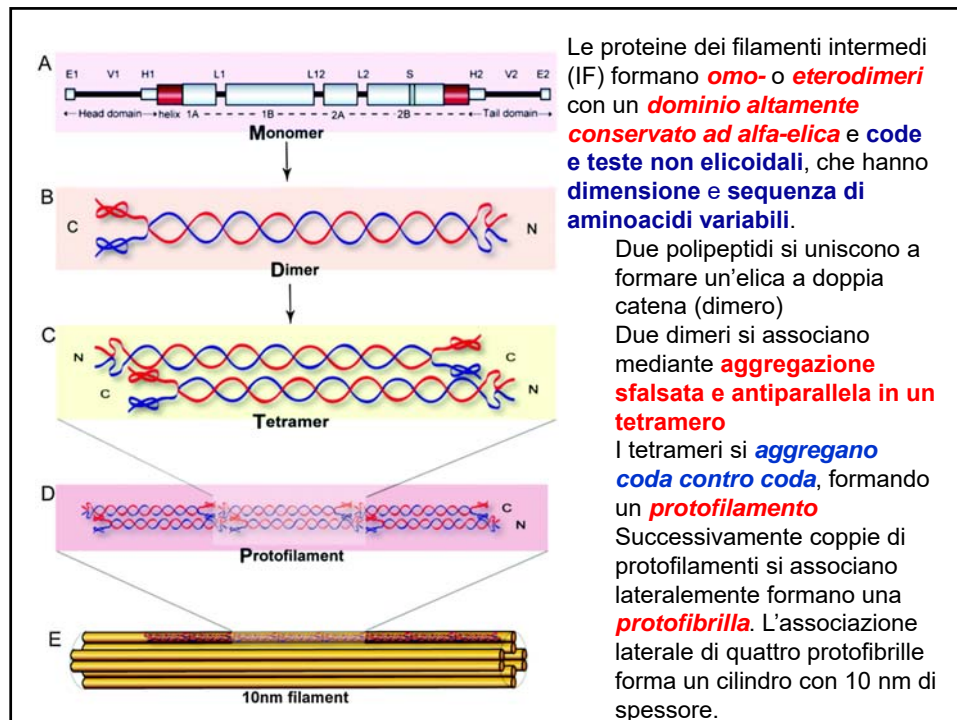


## Filamenti Intermedi

### FILAMENTI INTERMEDI

- Sono **biochimicamente** molto più **eterogenei, costituiti da proteine diverse nei vari tipi cellulari**
- **Sono le strutture più stabili e meno solubili del citoscheletro**
- Hanno **grande forze tensile**
- **NON hanno una polarità intrinseca** come i microfilamenti e i microtubuli, Dato che non hanno polarità intrinseca **non si conoscono proteine motori che li usino come rotaie** le loro unità costituenti **NON si legano ad un nucleotide**.
  - forniscono un **sostegno strutturale** al citoplasma e al nucleo degli eucarioti superiori e resistenza meccanica **agli stress cellulari** .
  - Studi recenti hanno evidenziato che i **filamenti intermedi influenzano la crescita e la morte cellulare** mediante interazioni dinamiche con proteine non-strutturali.





## ETEROGENEITÀ MOLECOLARE DEI FILAMENTI INTERMEDI

- Mentre i filamenti di **actina** e i **microtubuli** sono **polimeri di un unico tipo di proteina** (actina e tubulina, rispettivamente), i **filamenti intermedi** (FI) sono composti da una **gran varietà di proteine che sono espresse da tipi cellulari diversi**.
- Sono stati identificati più di 65 proteine diverse di FI, che sono state classificate in **sei gruppi** in base alle somiglianze di sequenze aminoacidiche.

### ETEROGENEITÀ MOLECOLARE DEI FILAMENTI INTERMEDI - 2

Tipo	Proteina	Dimensione (kD)	Sito di espressione
I	Cheratine acide (~ 15 proteine)	40-60	Cellule epiteliali
II	Cheratine neutre o basiche (~ 15 proteine)	50-70	Cellule epiteliali
III	Vimentina	54	Fibroblasti, leucociti e altri tipi cellulari
	Desmina	53	Cellule muscolari
	Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)	51	Cellule gliali
	Periferina	57	Neuroni periferici
IV	Proteine dei neurofilamenti		
	NF-L	67	Neuroni
	NF-M	150	Neuroni
	NF-H	200	Neuroni
	$\alpha$ -internexina	66	<b>Neuroni</b>
V	Lamine nucleari	60-75	Lamina nucleare di tutti i tipi cellulari
VI	Nestina	200	Cellule staminali, <b>soprattutto del SNC</b>

Le nestine sono talvolta classificate come FI di tipo IV piuttosto che di tipo VI

Adattato da: Cooper GM & Hausman RE: The Cell: A Molecular Approach", 4th ed, ASM Press, Sinauer Associates

## ETEROGENEITÀ MOLECOLARE DEI FILAMENTI INTERMEDI

- I **tipi I e II** consistono in due gruppi di **cheratine**, ciascuno consistente di circa 15 proteine diverse, che sono espresse nelle **cellule epiteliali**.
  - Ogni tipo di cellula epiteliale sintetizza **almeno un tipo di cheratina I** (acide) **e un tipo di tipo II** (basiche, neutre), che copolimerizzano per formare filamenti.
  - Alcuni tipi di cheratine di tipo I e II (dette **cheratine dure**) sono usate per produrre strutture dure quali i capelli, le unghie e le corna.
  - Altri tipi di cheratina (**cheratine molli, citocheratine**) sono abbondanti nel citoplasma delle cellule epiteliali.

Adattato da: Cooper GM & Hausman RE: The Cell: A Molecular Approach", 4th ed, ASM Press, Sinauer Associates

## NEUROFILAMENTI

- ✚ Queste tre proteine, NF-L, NF-M e NF-H sono sintetizzate nei **neuroni**.
- ✚ Non sono distribuite in modo uguale:
  - I corpi cellulari contengono soprattutto NF-L e NF-H.
  - Gli assoni esprimono preferenzialmente NF-M e NF-H
- ✚ Hanno residui carbossilici altamente carichi.

## VIMENTINA

- ✚ Espressa dai tessuti mesenchimali (connettivali), tipica delle cellule primitive.
- ✚ Le cellule in coltura ritornano ad esprimere vimentina anche se questo non è il loro filamento intermedio del tessuto maturo, forse come risultato della stimolazione

Adattato da Smith and Wood: Cell Biology, Chapman & Hall, London, 1992

## DESMINA

- ✚ Questa proteina è espressa soprattutto dalle cellule **muscolari scheletriche**, aumentando negli stadi più tardivi di differenziamento, quando l'espressione della vimentina cessa.
- ✚ La desmina è presente anche nella **muscolatura liscia** e in **cellule non muscolari con attività contrattile**, come i periciti, le cellule stellate del fegato, le cellule mio-epiteliali e i podociti del rene.
- ✚ E' anche presente in altre cellule non muscolari come le cellule endoteliali.
- ✚ Quindi, l'espressione di desmina non è interamente muscolo-specifica.

Adattato da Smith and Wood: Cell Biology, Chapman & Hall, London, 1992

## Lamina nucleare

- La membrana interna dell'involucro nucleare si trova vicino ad uno strato di filamenti sottili che circonda il nucleo ovunque tranne che all'altezza dei pori nucleari. Questi possono anche fungere da filamenti di stabilizzazione. Questa struttura è detta **lamina nucleare ed** è composta da un gruppo di proteine chiamate **lamine A, B e C** che hanno un PM di circa 60-70 kD.
  - Le **lamine di tipo A** si trovano all'interno, verso il nucleoplasma.
  - Le **lamine di tipo B** si trovano vicino alla membrana nucleare (interna) e possono legarsi a proteine integrali all'interno della membrana
  - Le **lamine di tipo C** sono identiche al tipo A
  - Le lamine possono essere coinvolte **nell'organizzazione strutturale del nucleo**.

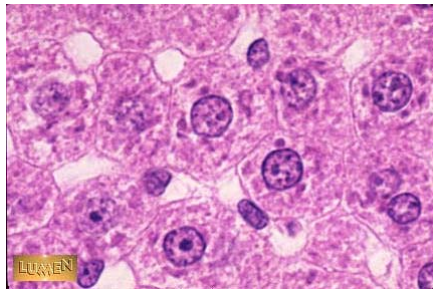
## Lamina nucleare

- Le lamine possono giocare un ruolo **nell'assemblaggio e disassemblaggio prima e dopo la mitosi.**
  - La loro **fosforilazione** provoca il disassemblaggio della lamina e provoca la disgregazione dell'involucro nucleare in vescicole.
  - La **defosforilazione** rovescia questo processo e permette al nucleo di riformarsi.

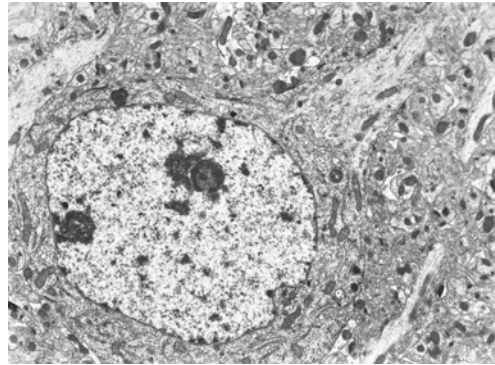
## DIAGNOSI DEI TUMORI UMANI IN BASE ALLA LORO ESPRESSIONE DI FILAMENTI INTERMEDI

- Normalmente quando i pazienti con tumori sono trattati con radiazione o farmaci, la decisione sul tipo di trattamento è basata sulla diagnostica del tumore.
  - Per esempio, alcuni tipi tumorali rispondono al trattamento con la radiazione mentre altri sono radio-resistenti.
- Man mano che i tumori crescono, le caratteristiche strutturali del tessuto normale scompaiono e le singole cellule spesso perdono le loro caratteristiche proteine di membrana, il che rende la loro identificazione molto difficile.
- Tuttavia, **tumori di origine sconosciuta possono essere diagnosticati mediante l'identificazione dei loro filamenti intermedi con anticorpi specifici.** Questo perchè **l'espressione dei filamenti intermedi è cellula-specifica, ossia, ogni proteina di filamento intermedio è associata ad un tipo cellulare particolare.**
  - Ad esempio, i tumori che esprimono citocheratine possono essere classificati come carcinomi (di origine epiteliale) e distinti dai sarcomi (di origine mesenchimale) che esprimono vimentina.

(Adattato da: Smith and Wood: Cell Biology, Chapman & Hall, London, 1992)



*Microscopio ottico;  
colorazione Ematossilian & Eosina*



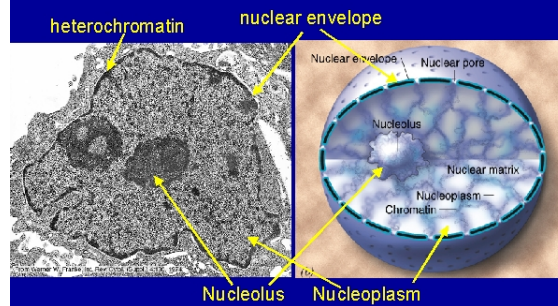
*Microscopio elettronico*

## Nucleo

### Biotechnologie

<http://www.meddean.luc.edu/lumen/meded/Histo/Histimages/h1A-49.jpg>  
[http://synapses.clm.utexas.edu/atlas/1\\_2\\_1.stm](http://synapses.clm.utexas.edu/atlas/1_2_1.stm)

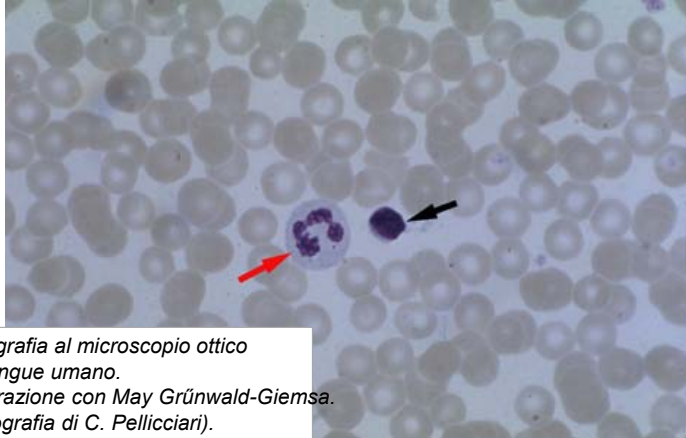
### Nucleus: structure and function



- ✚ 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>

Il nucleo, fortemente colorato con coloranti basici come l'Ematossilina (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).

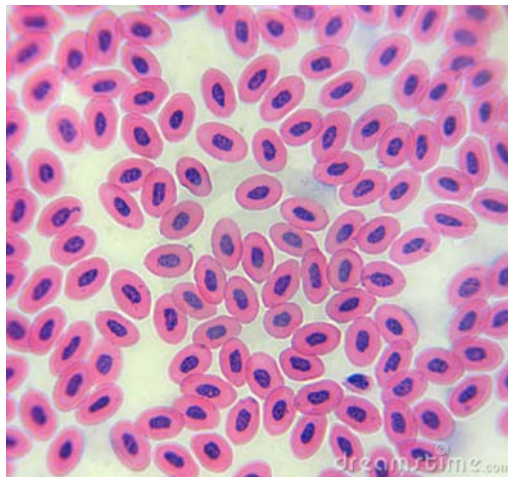


Fotografia al microscopio ottico di sangue umano. Colorazione con May Grünwald-Giemsa. (Fotografia di C. Pellicciari).

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.

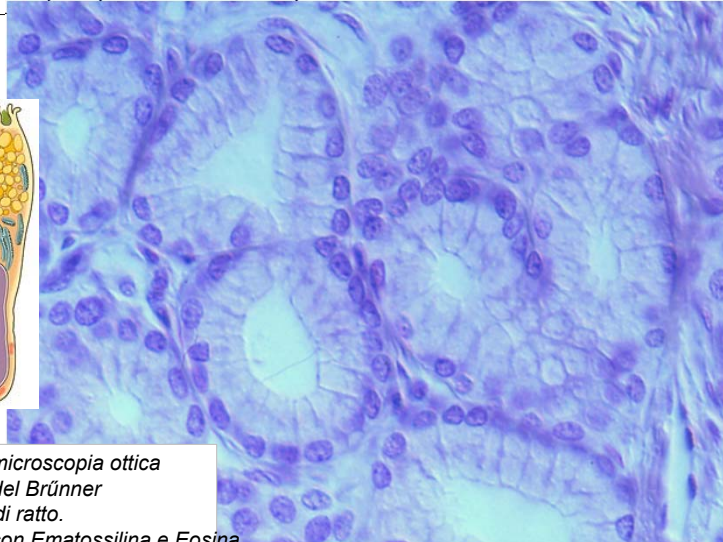


Scherini

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

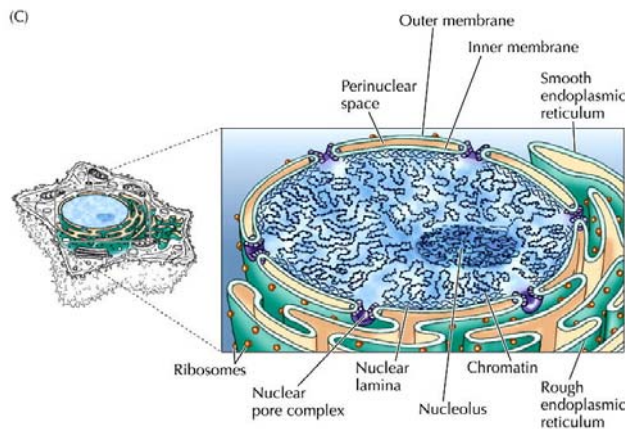


Nelle cellule con funzione ghiandolare, il nucleo è spesso decentrato, in zona basale, dalla parte opposta al polo apicale, dove le cellule accumulano per poi esocitare il prodotto di secrezione.



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

Scherini



THE CELL, Fourth Edition, Figure 9-1 (Part 2) © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

•Nucleo

## INVOLUCRO NUCLEARE

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



## INVOLUCRO/CISTERNA NUCLEARE

- **L'involucro 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**.
- L'involucro 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

- ✚ 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**.

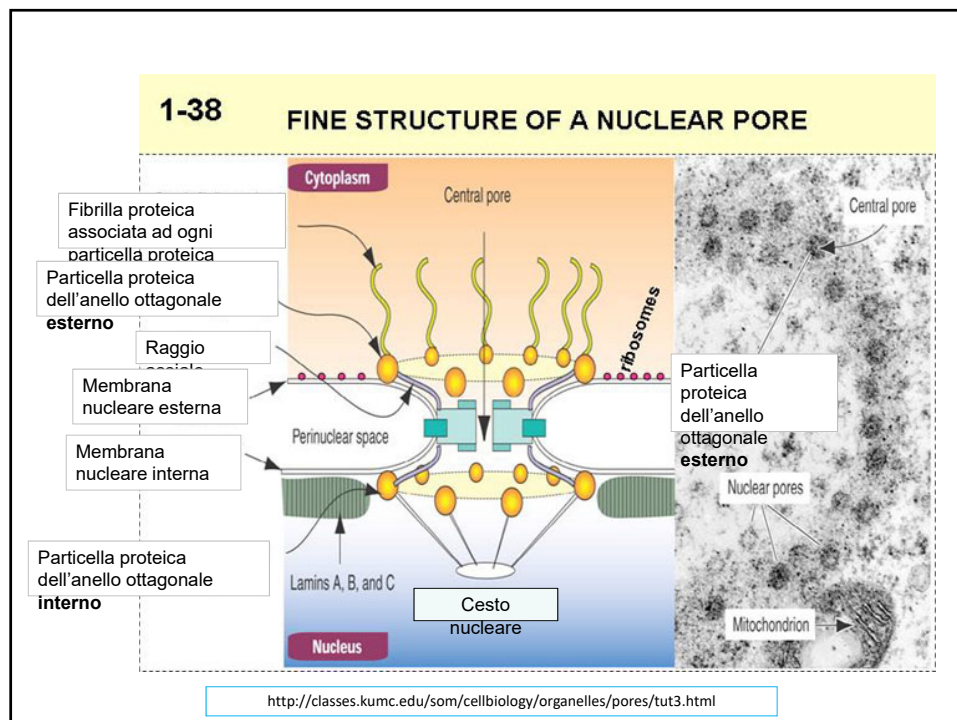
Herrmann et al. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:562-573, 2007

## Complesso dei pori nucleari

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**.

Lodish et al., 7° ed.

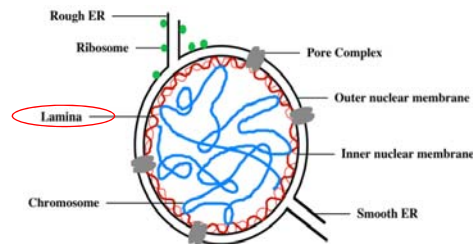


## Trasporto verso e dal nucleo

- 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 aminoacidiche specifiche di indirizzamento: SEQUENZE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE.**

Lodish et al., 7° ed.

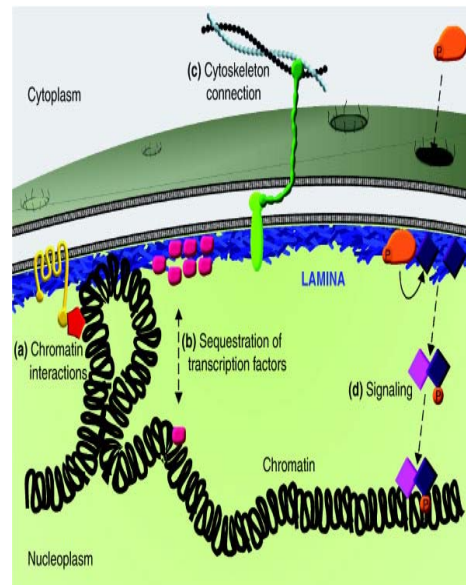
## LAMINA NUCLEARE



- ✦ 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**

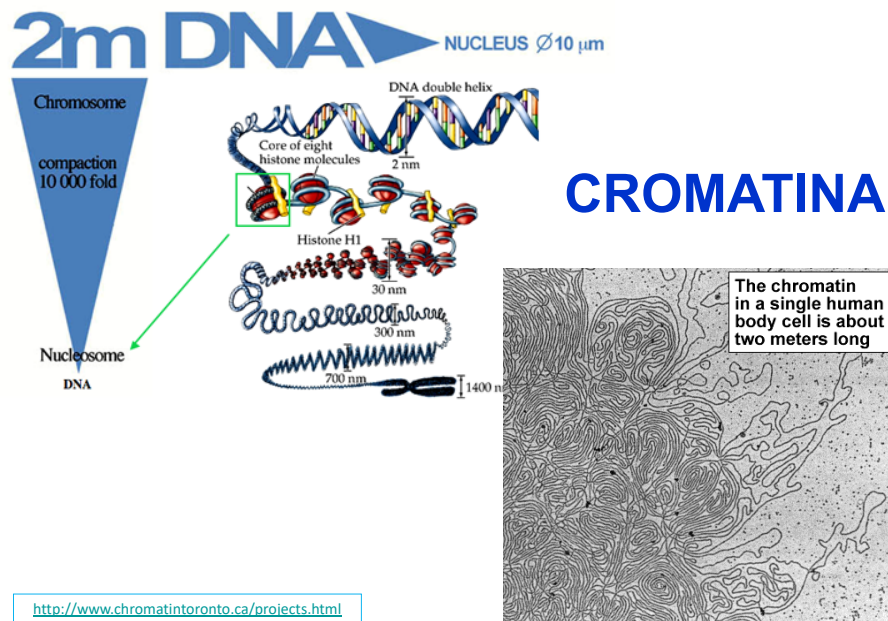
## Funzioni della lamina nucleare

- 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**



[https://www.researchgate.net/figure/51190261\\_fig5\\_Functions-of-the-nuclear-lamina-A-cartoon-representation-of-the-nuclear-lamina](https://www.researchgate.net/figure/51190261_fig5_Functions-of-the-nuclear-lamina-A-cartoon-representation-of-the-nuclear-lamina)

**Fig.1** Chromatin organization of higher eukaryotes.



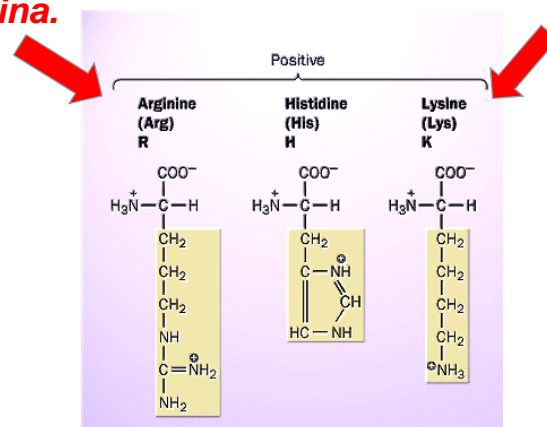
## Cromatina

- Il **DNA** nucleare negli eucarioti non è mai nudo. Piuttosto forma un **complesso** con diversi partners proteici che **collaborano al suo impacchettamento nello spazio angusto del nucleo**.
- 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**.
- Questo **complesso DNA-proteine** è detto **cromatina**
- All'interno delle cellule **la cromatina** può presentarsi in diversi livelli di compattazione.
- Le **proteine che si legano al DNA** si dividono tradizionalmente in due classi:
  - **Istoni**
  - **Proteine non istoniche**

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

## Istoni

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



## Istoni

- 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>

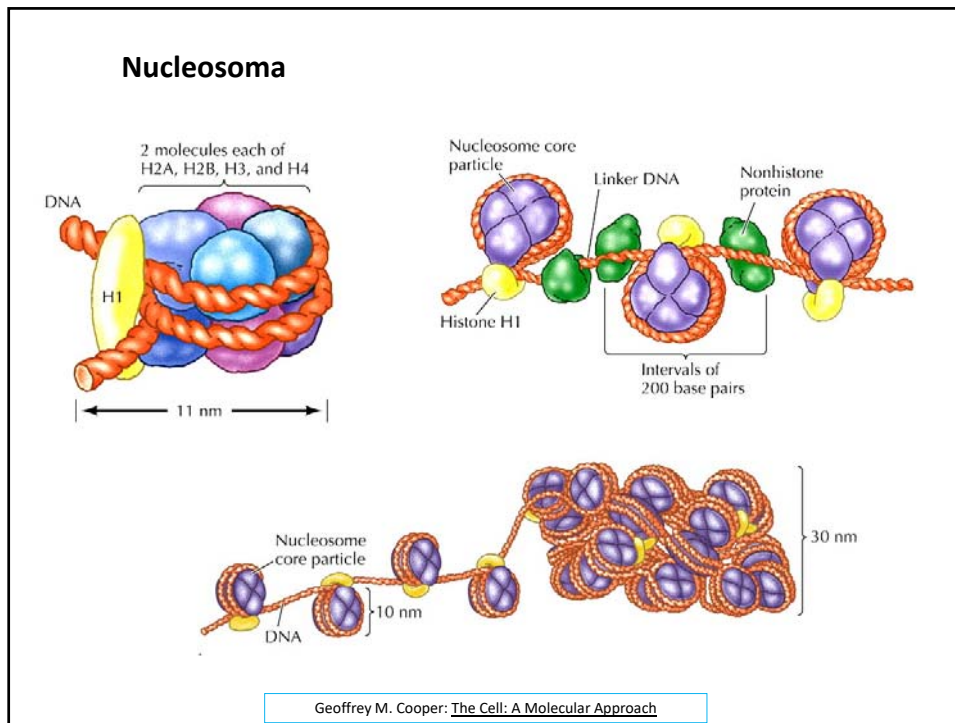
## Livelli di organizzazione della cromatina

- **1° livello** : **Nucleosoma** avvolgimento della molecola di DNA intorno alla particella core **10 nm** di diametro costituita da due unità di ogni istone H2A, H2B, H3, e H4 per formare un **ottamero di istoni**, che lega e avvolge circa 1,7 giri di DNA, circa 146 coppie di basi. I nucleosomi sono **uniti dal DNA che scorre fra di essi** (in media circa 20 coppie di basi).
- Questo DNA di collegamento viene designato "**linker DNA**"
- 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**. La cromatina quindi è costituita da una **lunga catena di nucleosomi**, che ha l'aspetto di una **collana di perle** quando osservata al microscopio elettronico.



Foto al microscopio elettronico della cromatina: "**beads on a string**" [collana di perle]. I nucleosomi sono indicati da frecce





## Livelli di organizzazione della cromatina

### 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).

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.

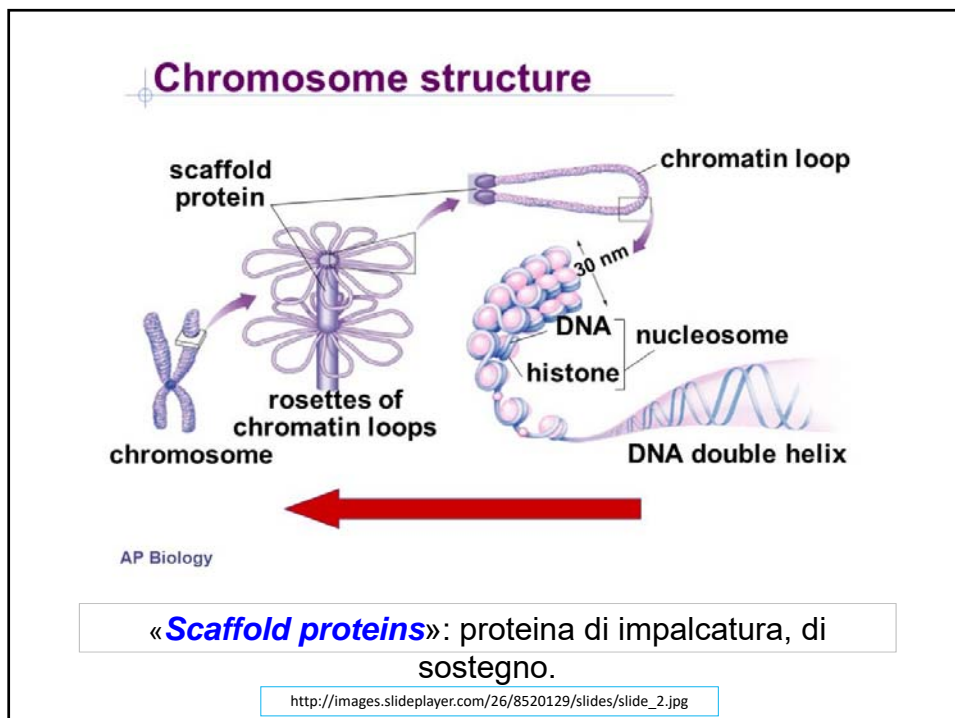


Fotografia al microscopio elettronico di una fibra di cromatina di 30 nm.  
Scale bar = 50nm.

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

## Livelli di organizzazione della cromatina

- **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 da proteine che formano un'impalcatura organizzata: matrice.
- **4° livello: cromosoma mitotico:** 1  $\mu\text{m}$  di cromosoma contiene circa 1 cm di DNA (compattazione di 10,000:1).





## Livelli di organizzazione della cromatina

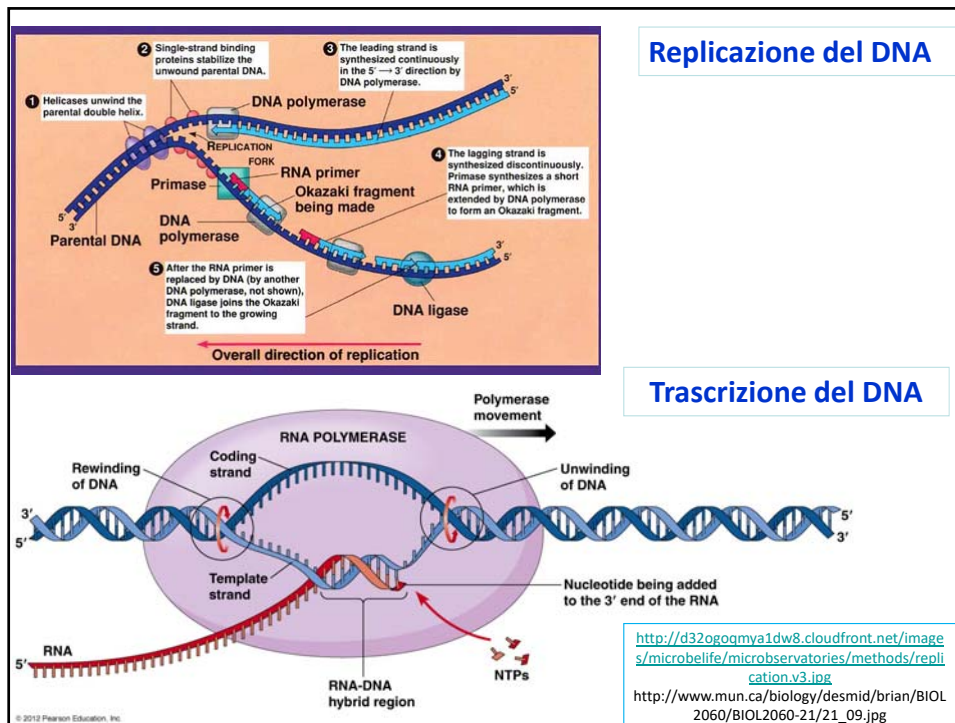
- La cromatina nelle **regioni** dei cromosomi che **non** vengono **trascritte** o **replicate** («eterocromatina») si trova predominantemente nella **forma condensata della fibra di 30 nm e in strutture di ordine superiore di ripiegamento, più spesse**.
- Viceversa, si ritiene che **le regioni della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

Lodish et al., 7° ed.

## La cromatina nella trascrizione e replicazione del DNA

- 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

- 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>

## Eterocromatina e eucromatina

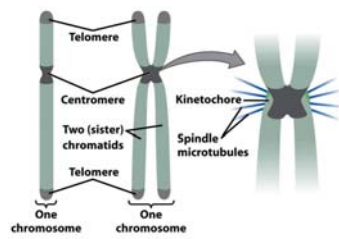
- Alla fine della mitosi, la maggior parte della cromatina che compone i cromosomi mitotici, altamente condensati, torna ad una condizione più distesa, tipica dell'interfase.
- Circa il 10% della cromatina tuttavia rimane in una **forma condensata e compatta anche durante** l'interfase, chiamata **ETEROCROMATINA** che di solito è associata 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**.

## Eterocromatina e eucromatina

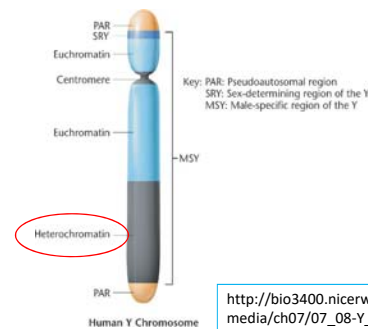
- Viceversa, l'**eucromatina**, presenta uno **stato meno condensato nell'interfase**, si colora debolmente con i coloranti per il DNA.
- La maggior parte delle **regioni trascritte** del DNA si trova nell'**eucromatina**.

## 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>

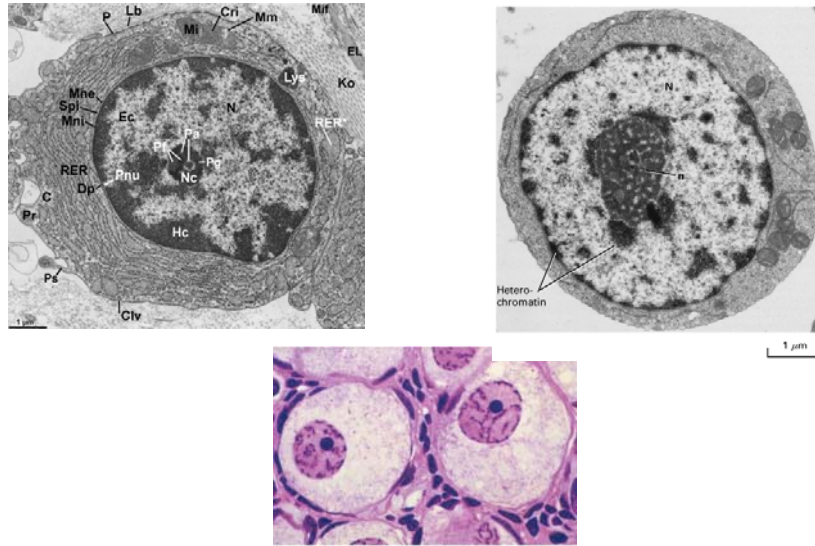


[http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch07/07\\_08-Y\\_chromosome.jpg](http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch07/07_08-Y_chromosome.jpg)

## 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**.

## NUCLEOLI



[http://hit-microscopeweb.hc.msu.edu/Virtual\\_MicroStatic/images\\_534/CY\\_Obi\\_04\\_02a\\_b\\_sm.jpg](http://hit-microscopeweb.hc.msu.edu/Virtual_MicroStatic/images_534/CY_Obi_04_02a_b_sm.jpg)  
[http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6\\_2.files/F09-39.gif](http://www.pha.jhu.edu/~ghzheng/old/webct/note6_2.files/F09-39.gif)  
[http://3.bp.blogspot.com/-V5-tikBA3UK/TfibYd6PBNI/AAAAAAAAAFY/EzC\\_zhEnQzA/s1600/Figure+3-13.bmp](http://3.bp.blogspot.com/-V5-tikBA3UK/TfibYd6PBNI/AAAAAAAAAFY/EzC_zhEnQzA/s1600/Figure+3-13.bmp)

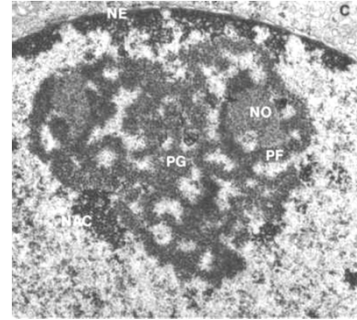
## Nucleolo

- ✚ Il **nucleolo** è un piccolo corpo, spesso sferico, che si trova all'interno del nucleo delle cellule eucariotiche
- ✚ I nucleoli contengono molte copie dei geni che codificano per l'rRNA.
- ✚ La **trascrizione del RNA ribosomiale (rRNA)** ha luogo nel nucleolo dove si svolge anche l'assemblaggio delle subunità dei ribosomi.
- ✚ 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

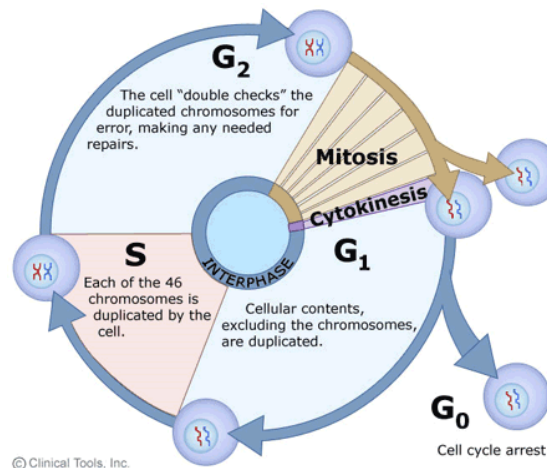
Geoffrey M. Cooper: *The Cell: A Molecular Approach*

## Nucleolo

✦ Il nucleolo contiene una regione dell'organizzatore nucleolare (**NOR**) costituito da DNA che contiene coppie multiple per l'rRNA. Al microscopio elettronico le regioni organizzatrici del nucleolo, **NOR**, compaiono come aree circolari (poco colorate) circondate da un anello di filamenti elettrondensi. Questi filamenti vengono chiamati complessivamente **pars fibrosa (PF)** che è costituita da rRNA appena trascritto. Una volta trascritto il rRNA, esso viene legato a proteine e si possono vedere **accumuli di ribonucleoproteine** nella **pars granulosa (PG)**.



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



## Ciclo Cellulare

Biotechnologie

<http://www2.le.ac.uk/departments/genetics/vgec/diagrams/22-Cell-cycle.gif>

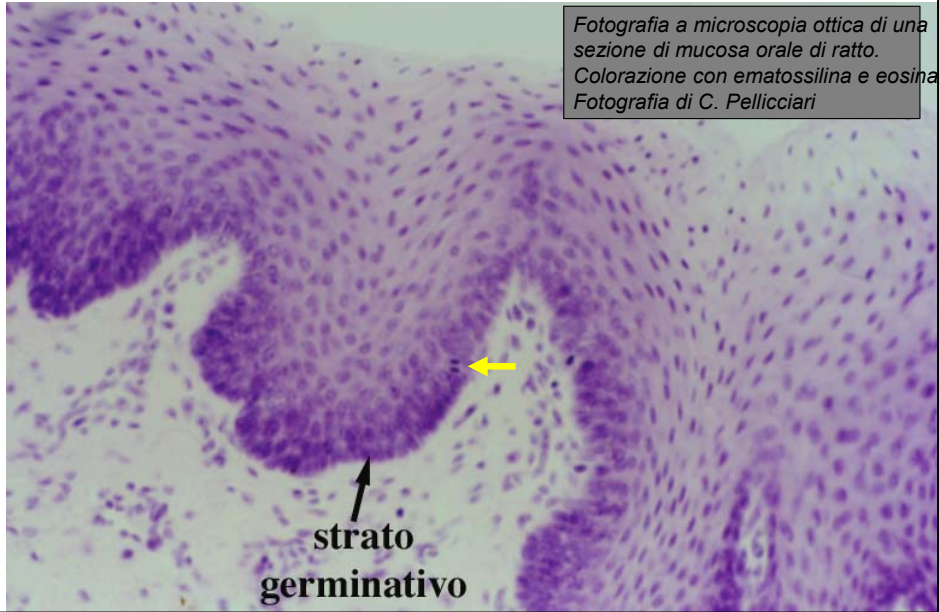
- ✚ Le cellule, come tutti gli organismi, hanno un ciclo vitale. Le cellule **nascono, si riproducono e muoiono**.
- ✚ La riproduzione e la morte delle cellule dipendono da diversi fattori e sono strettamente correlate. Per esempio, i tessuti animali possono essere classificati, dal punto di vista cinetico, 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 **epiteli 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 dell'epidermide, a contatto con il tessuto connettivo sottostante, viene chiamato strato germinativo. A questo livello infatti le cellule si riproducono e poi vengono sospinte verso gli strati più superficiali.

E. Scherini

Fotografia al microscopio ottico 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



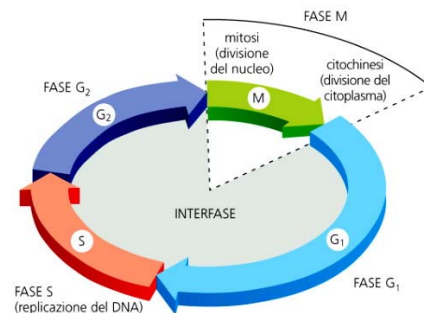
- ✦ Altri tessuti, quali il tessuto muscolare cardiaco ed il tessuto nervoso, sono costituiti da **cellule che, una volta differenziate** (in cardiomiociti o neuroni), **non sono più apparentemente in grado di riprodursi**. Ne consegue che, nell'organismo maturo, una lesione di questi tessuti non può 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.
- ✦ 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

Tutte le cellule tra una divisione e l'altra hanno bisogno di passare attraverso una serie di stadi definiti, che costituiscono il **CICLO CELLULARE**



La funzione fondamentale del ciclo cellulare è la duplicazione del DNA contenuto nei cromosomi (fase S), e la distribuzione di 1 copia identica nelle 2 cellule figlie (fase M)

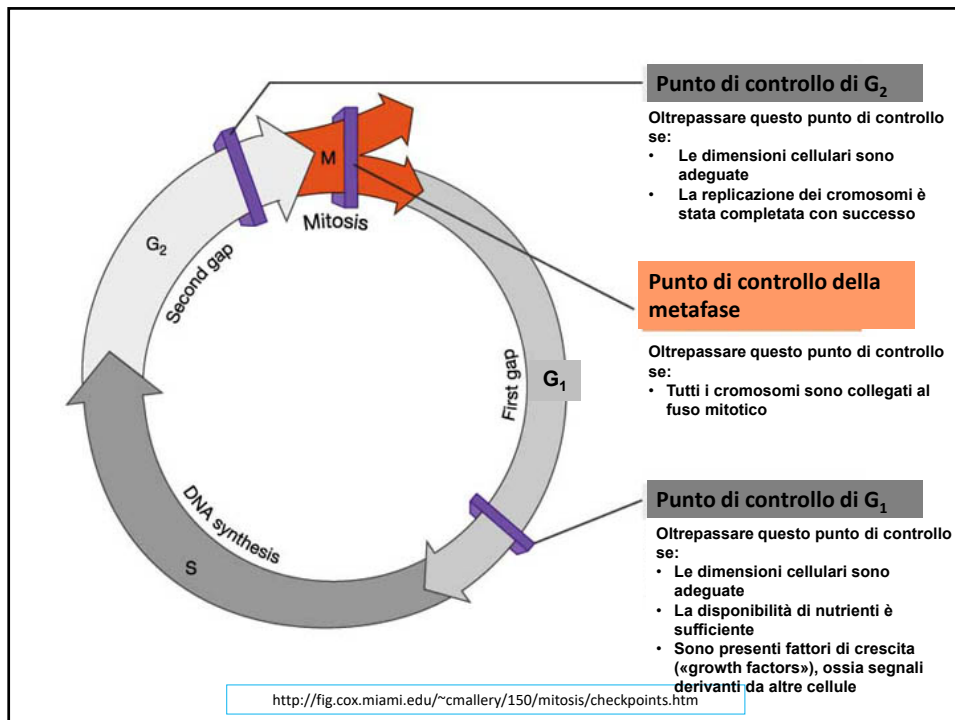
**M** = divisione mitotica  
**S** = sintesi (replicazione) del DNA  
**G1** = "gap 1" = intervallo tra M e S (intervallo pre-sintesi DNA)  
**G2** = "gap 2" = intervallo tra S e M (intervallo post-sintesi DNA)

**Interfase** = periodo di tempo del ciclo cellulare che intercorre tra una mitosi e la successiva. Somma di G<sub>1</sub> + S + M

[http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod\\_resource/content/0/Lezioni/BC\\_A\\_19\\_Nucleo\\_Ciclo\\_cellulare\\_Mitosi.pdf](http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod_resource/content/0/Lezioni/BC_A_19_Nucleo_Ciclo_cellulare_Mitosi.pdf)

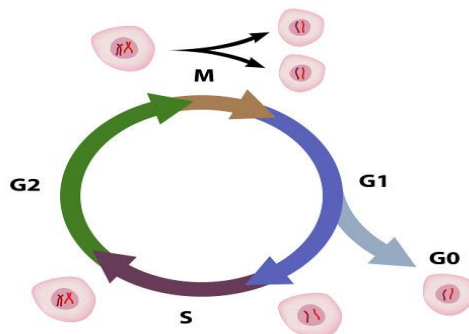
## Interfase

- **Fase di gap 1 (G<sub>1</sub>)** : le cellule si accrescono, producono RNA, sintetizzano proteine, duplicano gli organuli
- **Fase S** : per produrre 2 cellule figlie identiche, la totalità del contenuto del DNA deve essere duplicata. La replicazione del DNA ha luogo in questa fase (sintesi). Vengono sintetizzati anche gli istoni per avvolgere il DNA neosintetizzato
- **Fase di gap 2 (G<sub>2</sub>)** : la cellula continua ad accrescersi ed a produrre proteine

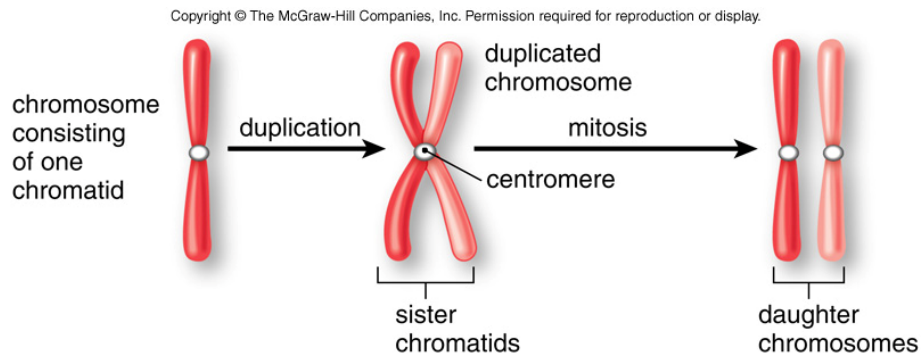


## CILCLO CELLULARE

- ✚ Se i fattori di crescita corretti sono presenti, **la cellula oltrepassa le fasi  $G_1$  e S ed è 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 è molto ridotto rispetto alle cellule in crescita attiva.



## Cromatidi

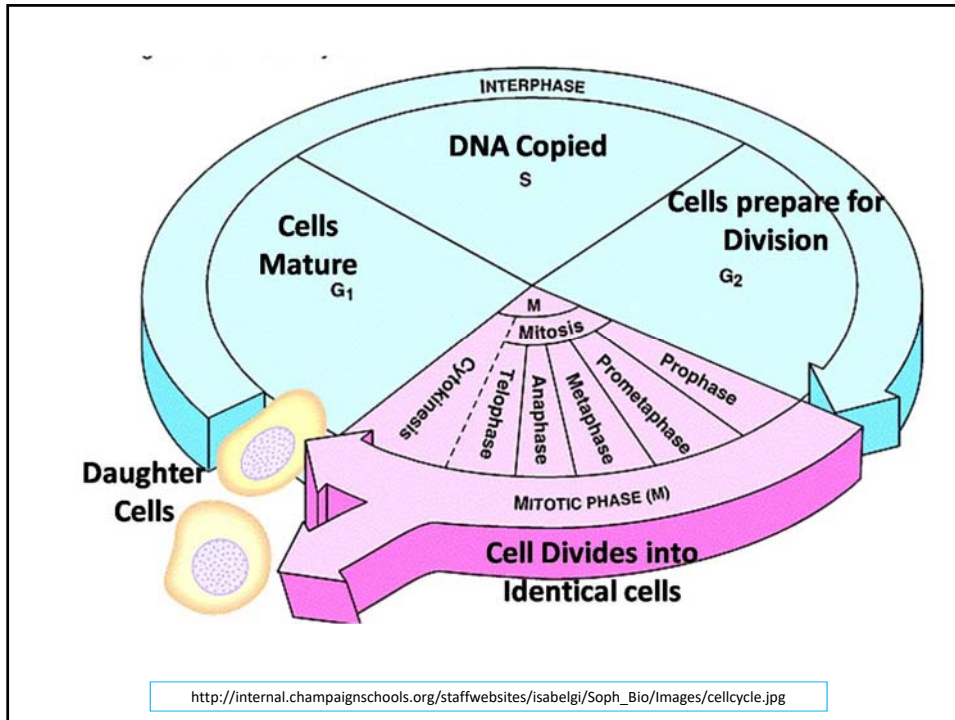


- ✚ I **cromatidi** sono le coppie affiancate prodotte dalla replicazione (duplicazione) del DNA durante la fase S dell'interfase.
- ✚ Dalla fine della fase S fino al momento in cui i centromeri si dividono, iniziando l'anafase, ogni cromosoma consiste di due cromatidi.

[http://legacy.hopkinsville.kctcs.edu/instructors/jason-arnold/VLI/Old%20VLI/m2celldivision/f8-04\\_overview\\_of\\_mitos\\_c.jpg](http://legacy.hopkinsville.kctcs.edu/instructors/jason-arnold/VLI/Old%20VLI/m2celldivision/f8-04_overview_of_mitos_c.jpg)

## MITOSI

- **Fase M o mitosi** : Alla fase G2 segue la divisione cellulare vera e propria, attraverso cui da una cellula se ne generano due perfettamente identiche dal punto di vista genetico (corredo cromosomico diploide  $2n$ )



**1 PROPHASE**

Nella **profase**, i cromosomi replicati, che consistono ciascuno di due cromatidi fratelli strettamente associati, si condensano. Fuori dal nucleo, si assembla il fuso mitotico fra i due centrosomi, che hanno iniziato a separarsi. Per semplicità, sono illustrati solo tre cromosomi.

time = 0 min

---

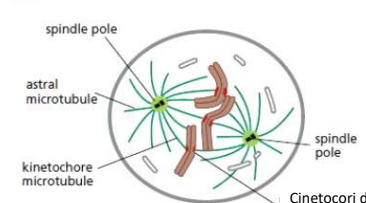
**2 PROMETAPHASE**

La **prometafase** inizia a improvvisamente con la rottura dell'involucro nucleare. I cromosomi possono ora collegarsi ai microtubuli del fuso mediante i loro cinetocori e si muovono attivamente

time = 79 min

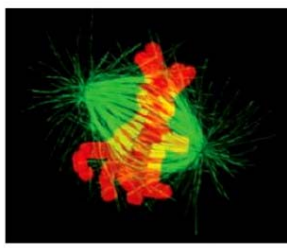
[http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod\\_resource/content/0/Lezioni/BC\\_A\\_19\\_Nucleo\\_Ciclo\\_cellulare\\_Mitosi.pdf](http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod_resource/content/0/Lezioni/BC_A_19_Nucleo_Ciclo_cellulare_Mitosi.pdf)

### 3 METAPHASE



Cinetocori di tutti i cromosomi allineati in un piano a metà strada fra i due poli del fuso

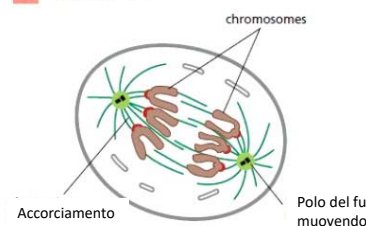
Nella **metafase**, i cromosomi sono allineati nell'equatore del fuso, a metà strada fra i poli del fuso. I microtubuli del cinetocore su ogni cromosoma sono collegati ai poli opposti del fuso.



time = 250 min

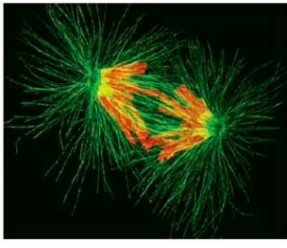
---

### 4 ANAPHASE



Accorciamento del microtubulo del cinetocore

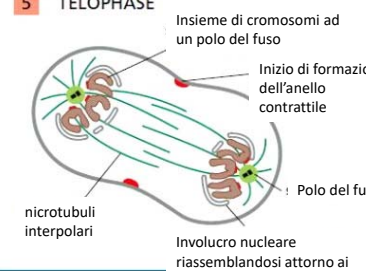
Nell'**anafase** i cromatidi fratelli si separano in modo sincrono, e ciascuno è tirato lentamente verso il polo del fuso a cui è attaccato. I microtubuli del cinetocore si accorciano, e i poli del fuso si allontanano, contribuendo alla segregazione dei cromosomi.



time = 279 min

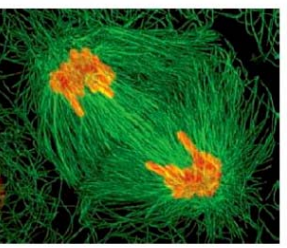
[http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod\\_resource/content/0/Lezioni/BC\\_A\\_19\\_Nucleo\\_Ciclo\\_cellulare\\_Mitosi.pdf](http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod_resource/content/0/Lezioni/BC_A_19_Nucleo_Ciclo_cellulare_Mitosi.pdf)

### 5 TELOPHASE



Involucro nucleare riassemblandosi attorno ai singoli cromosomi

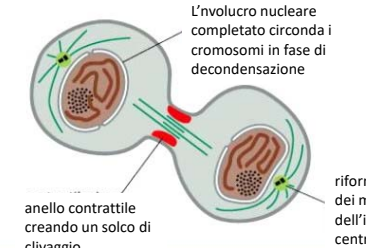
Durante la **telofase** i due insiemi di cromosomi arrivano ai poli del fuso. Un nuovo involucro nucleare si assembla attorno ad ogni insieme, completando la formazione di due nuclei e marcando la fine della mitosi. Inizia la divisione del citoplasma con l'assemblaggio dell'anello contrattile



time = 315 min

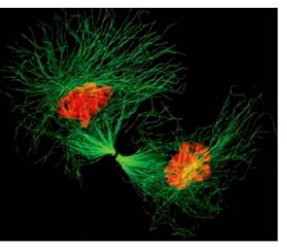
---

### 6 CYTOKINESIS



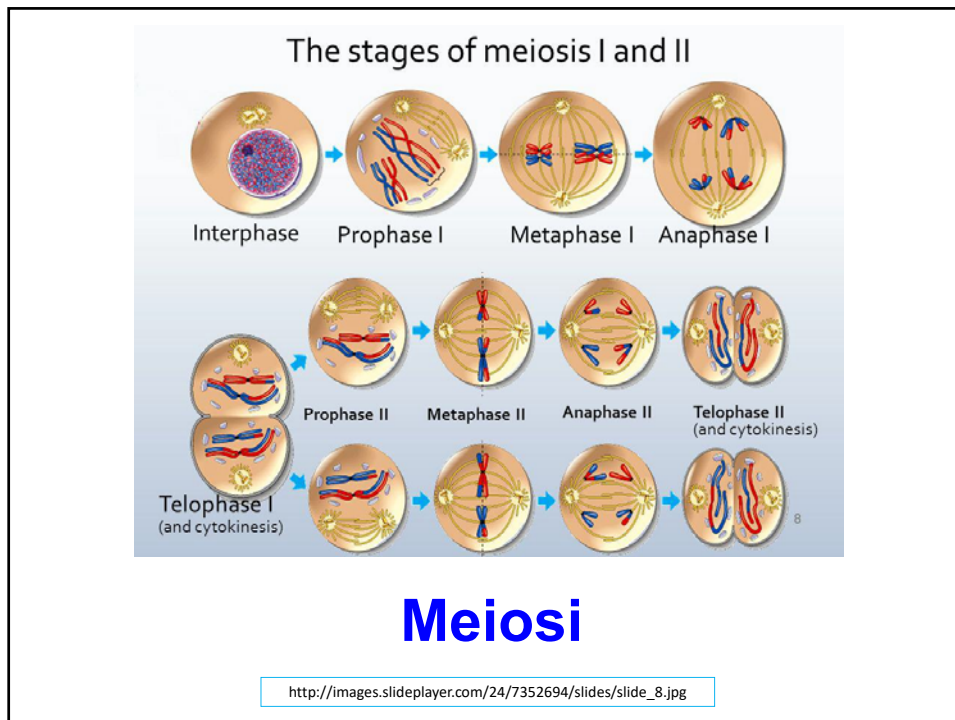
anello contrattile creando un solco di clivaggio

Durante la **citocinesi** di una cellula animale, il citoplasma si divide in due mediante un anello contrattile di filamenti di actina e miosina, che «pizzica» la cellula per creare due cellule figlie, ognuna con un nucleo



time = 362 min

[http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod\\_resource/content/0/Lezioni/BC\\_A\\_19\\_Nucleo\\_Ciclo\\_cellulare\\_Mitosi.pdf](http://biologia.i-learn.unito.it/pluginfile.php/31640/mod_resource/content/0/Lezioni/BC_A_19_Nucleo_Ciclo_cellulare_Mitosi.pdf)



## Meiosi

- ✚ La **meiosi** è un **tipo specializzato di ciclo cellulare che dimezza il numero di cromosomi delle cellule diploidi**, dando origine alla produzione di **4 cellule figlie aploidi**. Le 4 cellule aploidi figlie possono avere **versioni alternative dello stesso gene (alleli diversi)**.
- ✚ Mentre le **cellule somatiche** per proliferare subiscono il processo di **mitosi**, le **cellule germinali** subiscono il processo di **meiosi** per produrre gameti aploidi (**spermatozoi** e **uova**).
- ✚ Lo sviluppo di un nuovo organismo inizia grazie alla **fusione dei gameti (fecondazione)** che ripristina un corredo cromosomi diploide.

Alleli alternativi



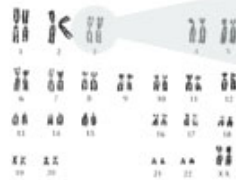


## CONSIDERAZIONI SULLA DIVISIONE CELLULARE -

- ✦ Viceversa, al termine della **meiosi**, il patrimonio genetico delle cellule figlie è diverso fra di loro e da quello della cellula di partenza, per due motivi:
  1. Il patrimonio cromosomico risulta dimezzato, da **diploide ( $2n$ )** ad **aploide ( $1n$ )**.
    - **Ploidia: numero delle serie di cromosomi delle cellule di un organismo:** le **cellule diploidi** possiedono **coppie di cromosomi omologhi ( $2n$ )** mentre le **cellule aploidi** hanno **una solo serie di cromosomi ( $n$ )**.
  2. Attraverso processi di **ricombinazione omologa** si **aumenta la variabilità del patrimonio genetico**.

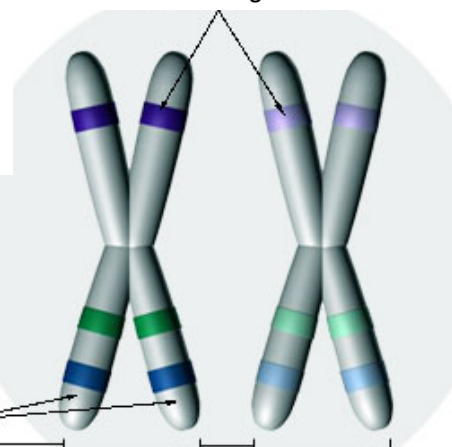
G. De Leo, E. Ginelli, S. Fasano: Biologia e Genetica, EdiSES, II ed

**I cromosomi omologhi contengono DNA che codifica per gli stessi geni.** In questo esempio, entrambi i cromosomi hanno tutti gli stessi geni nella stessa localizzazione (rappresentata da strisce colorate), ma diverse versioni di questi geni (alleli) (rappresentate da diverse tonalità dello stesso colore).



**I cromatidi fratelli sono repliche esatte, ma i cromosomi omologhi non lo sono**

Regioni omologhe per lo stesso gene



**Cromosomi omologhi**

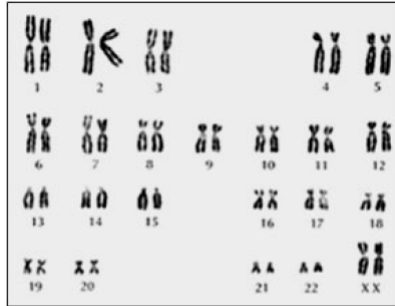
[http://hopes.stanford.edu/sites/hopes/files/f\\_b11homolgs.jpg](http://hopes.stanford.edu/sites/hopes/files/f_b11homolgs.jpg)





### Cariotipo umano (femmina)

Figure B-10: The Human Genome



I 23 cromosomi di una persona, quando allineati, hanno un aspetto simile a questo. Ogni numero nel diagramma identifica le 2 coppie dello stesso cromosoma: uno del padre e l'altro della madre. Notare che il cromosoma 23 (cromosoma del sesso) è identificato da due X. Questo esempio particolare del DNA perciò è di una femmina.

- ✚ Il genoma **umano** è composto da **23 tipi diversi di cromosomi**. Tuttavia, dato che gli esseri umani concepiscono mediante riproduzione sessuale, ogni bambino riceve **due insiemi di 23 cromosomi – uno dal padre e l'altro dalla madre**.
- ✚ Perciò ogni individuo ha 23 copie di cromosomi, per un totale di 46 cromosomi.
- ✚ Di queste 23 paia, un paio è responsabile per la **determinazione del sesso**. I cromosomi di questo paio sono quindi designati **cromosomi sessuali**.
- ✚ I cromosomi delle rimanenti 22 paia sono detti **autosomi**.

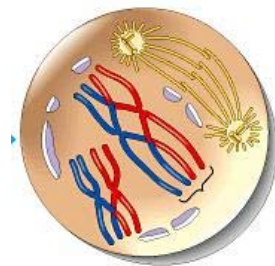
### STADI DELLA MEIOSI

- ✚ Come la mitosi, **la meiosi è preceduta da un periodo di interfase** in cui i cromosomi si duplicano.
- ✚ A differenza della mitosi, in cui i cromosomi si distribuiscono tra i due nuclei figli, **la meiosi comprende due divisioni sequenziali, la meiosi I e la meiosi II**, cosicché **i cromosomi si distribuiscono tra quattro nuclei**, anziché tra due.

## MEIOSI I

- ✦ **DIVISIONE RIDUZIONALE** della meiosi: i nuclei delle due cellule figlie contengono la metà del numero di cromosomi del nucleo della cellula madre.
- ✦ La riduzione del numero di cromosomi si ottiene *separando in differenti nuclei* i membri di ciascuna coppia di cromosomi omologhi:
  - Le cellule figlie prodotte dalla meiosi I sono **aploidi** (contengono soltanto un insieme completo di cromosomi anziché due insiemi come nella cellula madre diploide)
- ✦ Per assicurare che ciascuna delle cellule figlie abbia soltanto un membro di ciascuna coppia di cromosomi omologhi, si svolge un *processo elaborato di appaiamento dei cromosomi* che non ha equivalente nella mitosi.
- ✦ E' in questo passo che viene generata la **diversità genetica**.

## Le fasi della meiosi I



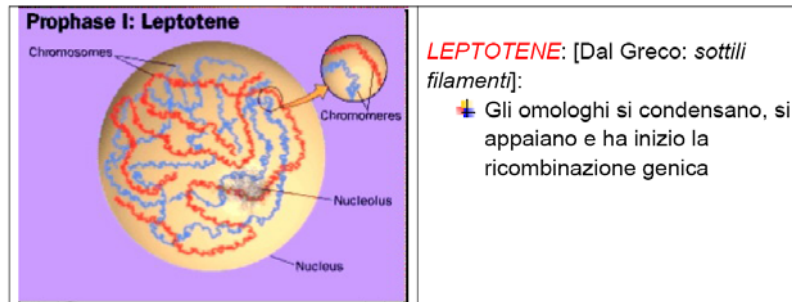
La **Profase I** ha 5 stadi significativi:

1. LEPTOTENE
2. ZIGOTENE
3. PACHITENE
4. DIPLTENE
5. DIACINESI

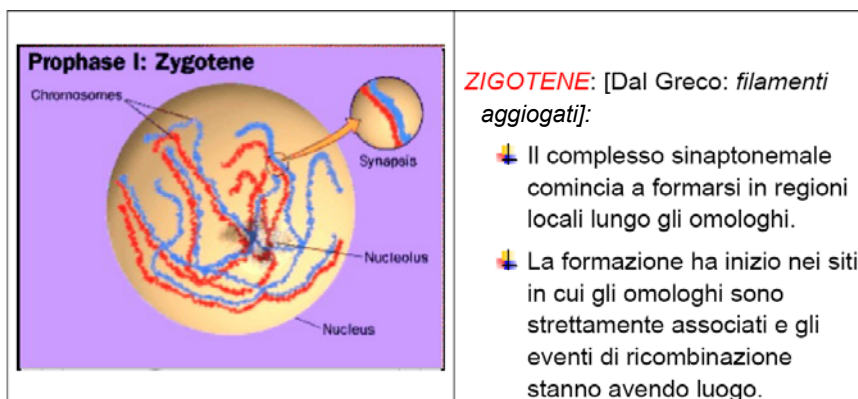
### Profase I

*La replicazione del DNA precede l'inizio della meiosi I.* Durante la profasi I, i cromosomi omologhi si appaiono e formano delle sinapsi, un passo unico e caratteristico della meiosi. I cromosomi appaiati vengono chiamati **bivalenti**, e si comincia a notare la formazione di chiasmata provocata dalla **ricombinazione genica**. La condensazione dei cromosomi permette che questi siano osservabili al microscopio. Notare che **il bivalente ha due cromosomi e quattro cromatidi**, con un cromosoma proveniente a ogni genitore.

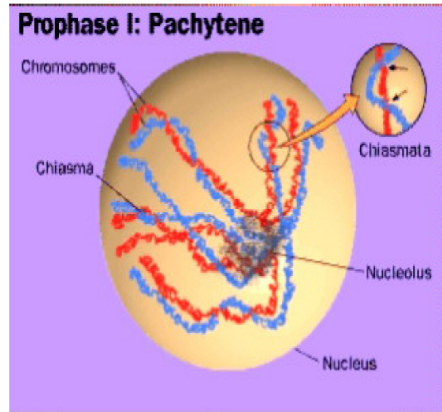
## STADI DELLA PROFASE I DELLA MEIOSI



## STADI DELLA PROFASE I DELLA MEIOSI



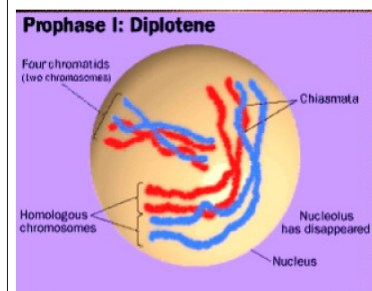
## STADI DELLA PROFASE I DELLA MEIOSI



**PACHITENE:** [Dal Greco: *filamento spesso*]:

- ✚ Il processo di assemblamento è completo e gli omologhi hanno formato sinapsi su tutta la loro lunghezza.
- ✚ Questo stadio può durare giorni o anche più a lungo, finché la risoluzione delle sinapsi non comincia durante il diplotene.

## STADI DELLA PROFASE I DELLA MEIOSI

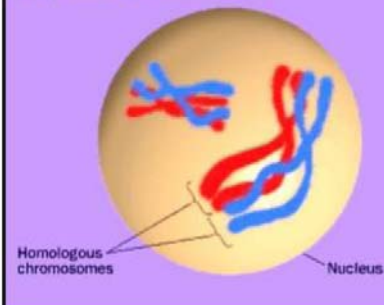


**DIPLOTENE:** [Dal greco: *doppi filamenti*]:

- ✚ Disassemblaggio dei complessi sinaptonemali accompagnato da condensazione e accorciamento dei cromosomi.
- ✚ Solo in questo stadio, in seguito al disassemblaggio dei complessi, i singoli eventi di "crossing-over" tra cromatidi non fratelli possono essere visti come connessioni interomologhe chiamate **chiasmi** che ora hanno un ruolo cruciale nel **tenere insieme gli omologhi compatti**.
- ✚ Gli omologhi sono pronti per entrare nel processo di segregazione.

## STADI DELLA PROFASE I DELLA MEIOSI

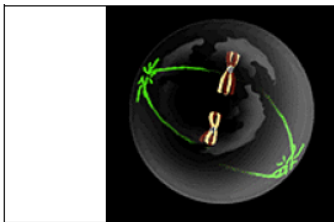
### Prophase I: Diakinesis



**DIACINESI:** [da Greco: movimento di separazione]:

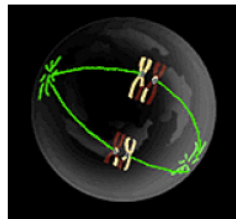
- ✚ Fase di transizione alla metafasi I.

## Proseguimento della Meiosi I dopo la prolungata Profase



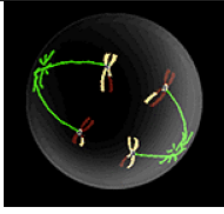

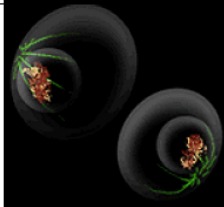
### Prometafasi I

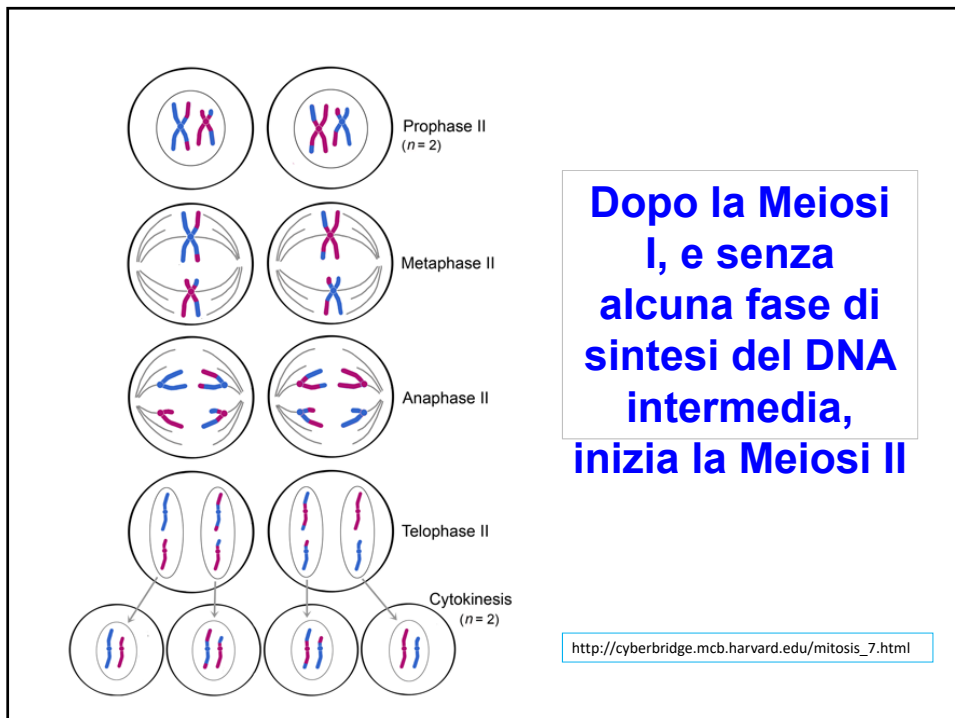
La membrana nucleare sparisce. Si forma **un cinetocore per cromosoma** invece che per cromatidio, e i cromosomi legati alla fibre del fuso iniziano a muoversi.



### Metafase I

I bivalenti, ciascuno costituito da due cromosomi (quattro cromatidi) si allineano nella piastra metafasica. **L'orientamento è casuale, con uno o l'altro omologo parentale per lato.** Ciò significa che esiste una probabilità 50-50 che le cellule figlie ereditino l'omologo della madre o del padre per ogni cromosoma.

	<p><b>Anafase I</b></p> <p>I chiasmata si separano. I cromosomi, ciascuno con due cromatidi, si muovono verso poli opposti. <b>Ciascuna delle cellule figlie è ora aploide (23 cromosomi nell'Uomo), ma ogni cromosoma ha due cromatidi.</b></p>
	<p><b>Telofase I</b></p> <p>Gli involucri cellulari possono riformarsi, oppure la cellula può rapidamente iniziare la meiosi II.</p>
	<p><b>Citocinesi</b></p> <p>Analogia alla mitosi, in cui si formano due cellule figlie complete.</p>



## Meiosi II: Divisione equazionale

- ✦ La **meiosi II** è simile alla **mitosi**
- ✦ Tuttavia, **non** è preceduta da una fase S
- ✦ I cromatidi di ogni cromosoma non sono più uguali fra loro dovuto alla precedente ricombinazione tra omologhi
- ✦ La meiosi II separa i cromatidi.

## Riassunto della meiosi

- Paragone tra **Meiosi** e **Mitosi**
- Comportamento dei cromosomi**
  - **Mitosi**: I cromosomi omologhi sono indipendenti
  - **Meiosi**: I cromosomi omologhi si appaiono formando bivalenti fino all'anafasi I.
- Numero di cromosomi - riduzione nella meiosi**
  - **Mitosi**- cellule figlie identiche
  - **Meiosi**- cellule figlie aploidi
- Identità genetica della progenie**
  - **Mitosi**: cellule figlie identiche
  - **Meiosi**: le cellule figlie hanno un nuovo assortimento di cromosomi parentali
  - **Meiosi**: cromatidi non identici: "crossing over"