

BIOLOGIA CELLULARE

Introduzione

Cellule (piccole celle): deriva dalla somiglianza di esse con le celle delle api. Il nome è stato inventato da Robert Hooke.

Archebatteri: batteri che hanno un metabolismo molto semplice, simile ai primi organismi comparsi sulla Terra. Essi compiono la fotosintesi, ma non producono ossigeno; generano solamente molecole organiche.

L'ossigeno liberato in acqua viene speso tutto per ossidare il ferro; quindi la Terra rimase senza ossigeno per diversi miliardi di anni. Solo circa 1,8 miliardi di anni fa comparve l'O₂ (la Terra ha 4,6 miliardi di anni).

Struttura della cellula in generale.

Il *citoplasma* è lo spazio tra la membrana e l'involucro nucleare; nel citoplasma poi ci sono diverse porzioni differenziate, immerse in una porzione liquida detta *citosol*. L'*apparato di Golgi* è una struttura importante perché in essa avviene la rielaborazione delle proteine o lipidi sintetizzati dalla cellula. I processi di rimozione avvengono nei *lisosomi*.

L'*involucro nucleare* è una struttura complessa che separa il nucleo dal citoplasma; protegge il materiale genetico contenuto nel nucleo. Ogni cromatidio contiene una doppia elica di DNA, uguale e continua fino alla fine. Quando i due si separano, i singoli cromatidi contengono la stessa elica di DNA, per cui le cellule figlie hanno lo stesso DNA di quella madre. Il *nucleolo* è una parte differenziata del nucleo; le due entità però non sono separate: il nucleolo contiene DNA per un solo prodotto: l'RNA ribosomiale.

Il microscopio.

Potere di risoluzione del microscopio:

Microscopio ottico

$\lambda=0,4-0,7\mu\text{m}(0,5\mu\text{m})$

NA(apertura numerica)= $n\sin\alpha$

n =indice di rifrazione del mezzo. In aria=1, in olio=1,4

α =angolo del cono di luce; per angolo di 90°(massimo)=1

$l=\frac{0,61 \cdot \lambda}{NA}=\frac{0,61 \cdot 0,5}{1,4}=0,22\mu\text{m}$ 0,61=costante

Microscopio elettronico

$\lambda=0,004\text{nm}$

NA=0,01

$\alpha=0,5$

$l=0,02\text{nm}$ (teorico), ottimale=0,2nm

1-2nm (pratico)

Tecniche di colorazione:

1. *colorazione positiva* (tetraossido di osmio, acetato d'uranio, citrato di piombo): le strutture a cui si legano da soli appaiono scarse.
2. *colorazione negativa*: per macromolecole sferiche, organelli o batteri
3. *ombreggiatura con metalli*: effetto ombra (frattura)
4. *congelamento*: frattura + ombreggiatura con metalli.

Matrice extracellulare: "cemento" che tiene insieme le cellule in una coltura cellulare.

Organizzazione della membrana cellulare

Gli *eritrociti* sono cellule prive di nucleo e di membrane interne: essi vivono alcuni giorni, ma poi vengono eliminati dal sangue.

Sono utili per lo studio, perché quella plasmatica è l'unica membrana che possiedono.

Per evidenziare la membrana con il microscopio a scansione si usa il tetraossido di osmio che interagisce con essa; la parte interna della membrana (zona idrofobica) non interagisce per cui viene vista chiara.

La zona interna dei *fosfolipidi* non ha solo la coda idrofobia, ma anche proteine inserite in essi. I fosfolipidi non possono passare da un mezzo foglietto all'altro: i componenti si muovono solo orizzontalmente. Ogni mezzo foglietto è costituito da una parte di doppio strato. Sia proteine che lipidi possono essere legati a zuccheri diventando così *glicoproteine* o *glicolipidi*.

Per formare una α -elica gli amminoacidi devono essere piccoli ed apolari, oltre che non ingombranti. È una struttura molto regolare che può attraversare il doppio strato; gruppi polari formano legami ad H con il doppio strato, mentre quelli apolari interagiscono con la membrana.

Le due semimembrane sono *asimmetriche* come tipo di molecole che contengono, anche se le proteine sono distribuite in maniera abbastanza omogenea, mentre i fosfolipidi no. Tale asimmetria è dovuta alla barriera energetica tra un foglietto e l'altro.

Proteine integrali di membrana: regione che attraversa la membrana. Questa regione ha una struttura ad α -elica; qui si formano legami ad H tra le proteine ed i fosfolipidi: le strutture idrofobiche della proteina stabiliscono legami ad H con la coda idrofoba dei fosfolipidi. Sulle membrane dei procarioti ci sono proteine che attraversano il doppio strato.

Le proteine canale si chiamano *porine*: canali a livello della membrana esterna.

Batteriorodopsina: proteina che attraversa tutto lo spessore della membrana. Essa è importante perché è in grado di utilizzare la luce per compiere un'attività che richiede energia; in questi casi il gruppo non proteico è il *retinale*, che è in grado di catturare energia per tirare fuori dalla cellula protoni.

Figura a pag. 350 (libro: L' "Essenziale" di biologia molecolare della cellula. Questa proteina è stata introdotta per far capire come una proteina esterna può interagire con la membrana cellulare.

La *proteina RAS* è molto importante per la regolazione del ciclo cellulare; essa prende contatto con la membrana reagendo con la parte esterna dell'amminoacido cisteina (che ha un SH laterale); un'altra proteina, *SRC*, ha un'interazione ionica con la membrana, perché ha una carica positiva nella parte finale, mentre i fosfolipidi hanno una carica negativa.

Una membrana è un *mosaico fluido*, perché i fosfolipidi si possono spostare orizzontalmente, ma non verticalmente passando nell'altra semimembrana.

Presenza di zuccheri nei due componenti principali (proteine e fosfolipidi) della membrana plasmatica. Questi sono presenti solo nelle proteine rivolte verso la parte esterna della

membrana e costituiscono una regione chiamata *glicocalice*. Il glicocalice rende umida e viscosa la superficie delle cellule, proteggendole così dall'esterno; la membrana plasmatica è composta da proteine e lipidi.

L'R.E. rugoso sintetizza le proteine, mentre quello liscio i lipidi; alcune delle proteine elaborate dal Golgi vengono portate alla membrana plasmatica; esse passano da una parte all'altra della membrana mediante *vescicole* contenenti proteine che si fondono con la membrana. C'è un continuo flusso di membrana che parte dall'interno verso l'esterno: in questo modo la membrana cresce, però perché non cresca all'infinito, il flusso di membrana in uscita è contrastato dal flusso di membrana in entrata (cioè vescicole che sottraggono materiale alla membrana verso l'interno).

Flusso verso l'esterno: *esocitosi*

Flusso verso l'interno: *endocitosi*

La *semimembrana nera* è quella rivolta verso il citosol, mentre la *semimembrana grigia* è quella luminale, cioè rivolta verso l'interno dell'organello; la semimembrana grigia contiene glicolipidi e glicoproteine.

La membrana non può continuare a crescere, anche perché ci sono dei materiali esterni utili per la cellula. Questo avviene con il processo dell'endocitosi; la membrana si piega verso l'interno, si origina una vescicola che si fonde poi con i lisosomi e viene digerita (non va a finire nel Golgi).

I composti organici all'interno danno un eccesso di cariche negative e quindi per compensarle le concentrazioni degli ioni positivi fuori dalla cellula sono maggiori. Si usa il termine *pompa* (a differenza dei canali dove gli ioni vanno secondo gradiente) quando gli ioni Na^+ e K^+ vengono trasportati dentro la membrana contro gradiente.

L'*ATP-asi* indica l'insieme di enzimi che idrolizza l'ATP per cedere energia. L'ATP è *Na-K dipendente*, perché la sua attività richiede Na e K per idrolizzare l'ATP: attività questa essenziale per le cellule animali.

Esistono degli enzimi che prendono gruppi fosforici e li attaccano alle proteine facendole diventare attive. Le proteine con gruppi fosforici si dicono *fosforilate*.

Trasporti

Buona parte della cellula vegetale è costituita dal *vacuolo*, che è una regione acquosa dove si trovano enzimi idrolitici, zone di riserva energetica (amido), che vengono attivati a pH acido; tale pH viene mantenuto da una pompa che fa entrare ioni idrogeno nel *vacuolo* (cellule vegetali) e nel *lisosoma* (cellule animali)

Simporto: le molecole vanno nella stessa direzione

Antiporto: le molecole vanno in senso opposto. Si tratta sempre di un sistema di *co-trasporto*.

Le cellule epiteliali hanno sul dominio apicale delle proteine: una di esse è in grado ricompere un co-trasporto; le molecole entrano mediante un legame tra sodio e glucosio: il sodio entra secondo gradiente, portandosi dietro il glucosio legato ad esso. Negli altri lati della cellula c'è un sistema di trasporto facilitato, dove c'è il trasportatore del glucosio che lo fa uscire (essendo il glucosio molto concentrato all'interno della cellula).

Diffusione facilitata: diffusione con proteina di membrana.

Diffusione semplice: diffusione diretta attraverso la membrana

Canali ionici: proteine che costituiscono un passaggio attraverso la membrana, dove passa un singolo ione. I canali ionici oscillano tra la conformazione *aperta* e la conformazione *chiusa*. Diverse catene polipeptidiche attraversano il doppio strato e fanno spargere proteine

con cariche positive o negative; questo consente di scegliere il tipo di ione che deve passare. Il canale può venire aperto perché si lega una molecola (detta *ligando*) → situazione generale. Questa proteina può avere legato il ligando anche a lato. L'apertura e chiusura di un canale dipende anche da *un potenziale di membrana*: se c'è una polarizzazione della membrana (non più differenza di cariche) il canale si apre, in caso contrario si chiude.

Quando il canale si apre entrano ioni che ristabiliscono la differenza di potenziale e per questo motivo dopo si richiude.

I canali ionici non sono accoppiati, per cui le sostanze passano secondo gradiente. La conformazione è controllata da un ligando (*neurotrasmettitore*); il neurotrasmettitore serve per far passare il segnale tra cellule nervose. Quando viene rilasciata l'*acetilcolina* si lega ad un recettore (unito al canale ionico) che fa sì che il canale si apra.. Energeticamente è più stabile la conformazione aperta del canale.

Il *canale a perdita di potassio* serve per polarizzare la membrana; quando questa si depolarizza il K⁺ esce, portando via cariche positive e quindi ristabilendo il potenziale negativo all'interno. Il potenziale di membrana a riposo è -40. *Potenziale di soglia*: a questo potenziale si aprono i canali di sodio a controllo voltaico, entra il sodio e quindi il potenziale diventa positivo.

Questa inversione (da negativo a positivo) determina il *potenziale d'azione*. Il motivo per cui il sodio passa nel canale del potassio non è chiaro: si suppone che le molecole d'acqua che lo trasportano vengano attratte ai lati della membrana. Il sodio è troppo piccolo da solo (e quindi non interagisce con le proteine) e troppo grande con la molecola d'acqua. Il potassio invece non passa attraverso il canale del sodio, solo perché il canale è troppo piccolo.

Gli ioni non attraversano la membrana da soli: passano solo per trasporto facilitato.

Trasporto ionico.

1. *Trasporto facilitato*
 - Ionofori
 - Canali ad apertura regolata
2. *Trasporto attivo e pompe*

Sintesi e smistamento delle proteine

Soltanto gli eucarioti hanno membrane interne (*endomembrane*). Ci sono proarioti con inflessioni di membrana, che accumulano enzimi fotosintetici: hanno così un'elevata capacità di fotosintesi. Le inflessioni hanno generato le *membrane interne*.

I lisosomi sono caratterizzati da pH acido, poiché una pompa ionica preleva H⁺ dal citosol portandoli dentro ai lisosomi. Gli *endosomi* sono varie vescicole che vengono dalla superficie cellulare (la membrana plasmatica).

Perossisomi: ossidatori di molecole tossiche e degradatori.

Il *reticolo endoplasmatico* è il sistema di membrane interne più complesso: qui avviene la sintesi di proteine e di lipidi. Tali membrane permettono di racchiudere enzimi pericolosi per la cellula; è impossibile in un sistema di membrane prendere materiali dannosi per la cellula. C'è la digestione del materiale dannoso, così si liberano amminoacidi utili per la cellula.

Il reticolo endoplasmatico si differenzia in due sistemi che hanno proteine diverse. Uno di essi è quello *rugoso* (o *granulare*): esso è in continuità con le membrane dell'involucro nucleare. Si chiama "rugoso" perché sulla faccia citosolica della semimembrana ci sono ribosomi. I ribosomi sono presenti anche dove non c'è l'R.E.: essi si trovano anche nel

citofasi. Essi sono da entrambe le parti perché le proteine vengono sintetizzate dai ribosomi del citosol, o da quelli dell'R.E., a seconda della proteina che si vuole sintetizzare. Le proteine hanno tre destinazioni: *membrana plasmatica, lisosomi, vescicole*.

L'mRNA inizia nei ribosomi liberi e poi passa a quelli dell'R.E.

La cellula deve fare la distinzione, perché le tre destinazioni vanno incontro a differenziazioni di RNA nell'apparato di Golgi, fino ad arrivare alla loro destinazione definitiva.

Fase 0: L'mRNA esce dal nucleo ed incontra i ribosomi; inizia la traduzione a partire dall'N-terminale.

Fase 1: La particella SRP (contiene proteine ed RNA) si appiccica alla *sequenza segnale* (cioè all'N-terminale di una ventina di amminoacidi); interrompe la sintesi delle proteine, perché si pone tra l'RNA ed il ribosoma.

Fase 2: Una volta che il recettore si unisce alla SRP, essa si sgancia dal complesso e verrà poi riutilizzata.

Fase 3: La sintesi può così continuare; la proteina entra nel lume dell'R.E., dove trova un enzima (*peptidasi del segnale*) che taglia la sequenza segnale, facendo sì che la nuova proteina venga liberata nel reticolo endoplasmatico.

Nel lume dell'R.E. ci sono degli enzimi (*glicosil transferasi*) in grado di catalizzare reazioni di trasferimento oligosaccaridico da una proteina di membrana ad una proteina informazione. All'interno dell'R.E. vengono trasferiti amminoacidi dai lipidi alle proteine in formazione. Dall'R.E. non si originano vescicole; esse transitano fondendosi con le cisterne dell'apparato di Golgi (*cisterne cis* quelle più vicine all'R.E., poi *mediane*, ed infine *trans* le più interne); escono dall'apparato di Golgi e poi si fondono con la membrana; solo l'R.E. consente alla proteina di inserirsi direttamente nella membrana cellulare. Tutto ciò che entra nell'R.E. ha una strada obbligata fino ad un certo punto; cioè fino al Golgi. Poi esce o in direzione della membrana plasmatica o in direzione dei lisosomi. Dall'apparato di Golgi escono granuli di secrezione (vescicole piene di materiale); esse escono in due modi: *secrezione regolata o costitutiva*.

Lo stimolo esterno porta alla secrezione regolata; la vescicola si fonde con la membrana e getta fuori il suo contenuto. Ogni volta che si genera materiale che viene espulso, si parla di vescicole continue.

Le proteine che rimangono in un dato comparto si chiamano *residenti*.

KDEL: tetrapeptide formato da quattro amminoacidi (Lys, Asp, Gly, Leu). In ogni comparto ci sono proteine che devono rimanere dentro.

Le proteine devono passare per il Golgi, perché in esso le modifiche continuano. Le vescicole cis, mediane e trans sono distinte dagli enzimi presenti: man mano che la proteina passa per il Golgi, subisce delle modifiche. Le proteine destinate ai lisosomi contengono tutte uno zucchero (*mannosio-6-fosfato*). Le vescicole presentano un percorso specifico, perché c'è un sistema di riconoscimento particolare.

I proteosomi sono aggregati di *enzimi peptidici*.

Proteine: modificazioni post-traduzionali.

1. *Formazione di legami disolfuro*
2. *Associazioni tra catene polipeptidiche e conformazione tridimensionale*
3. *Tagli proteolitici*
4. *Addizione e modificazione dei carboidrati.*

Molte volte una proteina è inattiva perché ha una catena polipeptidica in più; quindi con un taglio proteolitico di questa catena in più la proteina si attiva e viene utilizzata. Le cellule compongono una proteina inattiva, perché non si rovini e possa essere ben presto degradata. Il *reticolo endoplasmatico liscio* trasporta lipidi. Il fosfolipide si forma perché ci sono enzimi che mettono insieme i vari pezzi, sparsi per il citosol. La prima reazione avviene con enzimi che la catalizzano: è una reazione di *esterificazione* tra glicerolo e due molecole di acido grasso.

La proteina attraversa i *cloroplasti*, o i *mitocondri*, *perossisomi* quando la sintesi è già terminata. (sistema attraverso la membrana); il trasporto dall'R.E. all'esterno è quello vescicolare.

L'involucro nucleare ha dei pori che portano un segnale detto di *localizzazione nucleare*; questi sistemi di trasporto sono consentiti dalla presenza di segnali nella proteina.

Come le proteine destinate al nucleo vengono riconosciute come tali? Il problema viene risolto prendendo una proteina (*nucleoplasmina*), componendola e marcandola con qualcosa di riconoscibile (particelle d'oro colloidale); poco dopo si nota che i puntini neri del citoplasma sono localizzati nel nucleo e si incomincia poi a sezionare la proteina; sezionandola si vede la parte della proteina responsabile del trasporto. Il segnale di trasporto nel nucleo è una breve sequenza di *amminoacidi basici* (circa sette) riconosciuta dalle proteine presenti nel citosol; queste trasportano le proteine ai pori del nucleo e da lì vi entrano dentro. La sequenza d'importazione nel nucleo non viene tagliata. La funzione di non eliminazione consente alla proteina di ritornare nel nucleo dopo la mitosi e di non fondersi con quelle del citoplasma.

La membrana plasmatica è rivestita ed anche le vescicole lo sono, tanto che di tali vescicole ce ne sono tantissime nella cellula.

Clatrina: proteina che riveste la membrana cellulare: essa è composta da tre catene polipeptidiche pesanti ognuna delle quali ne porta una leggera. Anche le vescicole sono rivestite di clatrina, ma questo rivestimento si dissolve subito dopo la formazione della vescicola. Lo scopo del rivestimento è quello di permettere la formazione della vescicola: essa si forma perché la clatrina tira la membrana verso l'interno.

Perché la SNARE si fonda occorre che vengano eliminate tutte le molecole d'acqua.

Percorso dal Golgi ai lisosomi

Nella regione media del Golgi ci sono i recettori del *mannosio*, che consentono la fosforilazione delle vescicole in questa regione.

Il comparto degli *endosomi* racchiude tutte le vescicole che si originano dalla membrana plasmatica; si dividono in *precoce* e *tardivo*. Il pH endosomico è *leggermente acido*: questo fa sì che si stacchino i recettori del carico, che poi tornano alla membrana. L'inizio dell'idrolisi acida trasforma l'endosoma in lisosoma.

LDL, lipoproteine a bassa densità: formano una micella (proteine all'esterno, lipidi all'interno); esse formano legami con il colesterolo. Il colesterolo in questo modo viene portato dentro la cellula.

Fagocitosi (cellula che mangia): quando l'organismo che viene mangiato è grande; i macrofagi mangiano i globuli rossi vecchi (più piccoli della cellula che mangia).

Autofagia: la cellula perde parte della sua struttura che viene degradata e gli organelli giunti ormai al termine della loro vita vengono così rimpiazzati.. Il lisosoma si fonde con l'*autofagosoma* che ha inglobato l'organello e lo digerisce.

Un lisosoma ha: *idrolisi* (scissione molecole d'acqua) *acide* (funzionano a pH acido)

Certi rifiuti la cellula non riesce ad espellerli per cui invecchia e deve essere degradata.

L'ATP deriva dalla digestione di molecole organiche come cibo; è energia sottoforma di legame chimico. I processi in grado di produrre energia avvengono in minima parte nel citosol e in maggior parte nel *mitocondrio*; il *piruvato* si forma dalla *glicolisi*; è questo che entra nel mitocondrio, dove avviene il *ciclo dell'acido citrico* (*ciclo di Krebs*), dove si produce il *NAD* (*nicotinammid-adenin-dinucleotide*) e l'ATP. IL NADH (NAD ridotto) è il modo migliore per trasportare gli ioni H⁺ in una *catena di trasporto degli elettroni*. Alla fine della respirazione i 6 carboni del glucosio diventano CO₂ (in forma completamente ossidata). La seconda parte avviene nella *membrana interna* (essa si ripiega per formare le creste mitocondriali); alla fine dell'intero passaggio il NAD si ossida e si forma acqua.

La membrana mitocondriale esterna è molto *impermeabile*: anche le molecole e gli ioni possono passare perchè le proteine sono porine.

Lo *spazio intermembrana* è di poco diverso dal citosol; solo le macromolecole riescono ad attraversare la membrana interna. In generale le membrane hanno: proteine: 40%, lipidi: 60%.

Membrana mitocondriale interna: proteine 60-80%, lipidi 40-20% (di peso).

Nella matrice mitocondriale ci sono molecole di *DNA circolare*.

I ribosomi sono composti da *RNA ribosomiale* (*rRNA*) e proteine; il *tRNA* trasporta gli amminoacidi necessari per la sintesi proteica.

Il citoscheletro

Il citoscheletro ha funzioni specializzate, non solo generali. (cioè dare forma alla cellula e mantenere fermi gli organelli). Importante nel citoscheletro è la proteina *actina*, presente soprattutto nelle cellule muscolari.

Il citoscheletro si divide in tre tipi di costituenti; sono classificati in base alla proteina che li compone:

1. *Filamenti intermedi*: con proteine costituenti che si assomigliano tra loro.
2. *Microtubuli*.
3. *Filamenti di actina*

I filamenti intermedi partono dalle zone laterali delle cellule o da quelle basali; *desmosomi* (*filamenti laterali*), *emidesmosomi* (*filamenti basali*).

I filamenti intermedi sono parte dell'*inviluppo nucleare* (proteine dette *lamine*, costituenti dell'inviluppo nucleare). Le cellule epiteliali hanno proteine particolari dette *cheratine*. Le cellule muscolari hanno come costituente la *desmina*, mentre i neuroni hanno proteine dette *dei neurofilamenti*.

La *tubulina* è costituente dei *microtubuli*: le tubuline che costituiscono un dimero sono diverse le une dalle altre (infatti si chiamano *tubulina α* e *tubulina β*).

Ogni *protofilamento* è una successione alternata di tubulina α e tubulina β (13 in ogni protofilamento del microtubulo).

La composizione e distribuzione dei microtubuli è molto importante nella metafase della mitosi cellulare.

Il linfocita (globulo bianco) ha una forma particolare perché è mantenuto dal citoscheletro e quindi ha una forma concava.

La corteccia cellulare è la zona più ricca di filamenti di *actina*: essi sono bloccati da proteine che si legano all'estremità +.

Una cellula di un organismo unicellulare si muove mediante *pseudopodi* presenti nella corteccia cellulare. Una cellula (organismo pluricellulare) si muove buttando

fuori il citoplasma da una parte e contraendosi dall'altra. La corteccia cellulare che consente il movimento è costituita da filamenti disordinati di actina (nella zona lontana dal movimento); nella zona vicina al movimento i filamenti di actina sono più ordinati. La cellula di fronte avanza, ma dietro deve avvenire il distacco: si ha la completa disgregazione dei filamenti di actina che permettono l'adesione. La proteina che permette la contrazione è la *miosina*.

Di miosine ne esistono più categorie: quella che ci interessa è la *miosina II*, perché reagendo con l'actina consente lo scorrimento della cellula. La proteina è costituita da 6 catene polipeptidiche, due grandi (pesanti) si avvolgono tra di loro e 4 piccole (leggere) che si uniscono alle teste di miosina.

Nucleo e nucleolo

Le interruzioni della membrana sono i punti in cui ci sono i pori dell'involucro nucleare. All'interno del nucleo ci sono uno o due *nucleoli*.

Distinzione tra *euromatina* ed *eterocromatina*: questi nomi indicano il colore della cromatina al microscopio.

Cromatina condensata e *cromatina dispersa*: euromatina (dispersa) è la cromatina *attiva*, mentre l'eterocromatina (condensata) è quella *non attiva*.

Quello che si vede al microscopio dipende dalla condizione della cellula. In tutte le cellule quella condensata si trova ai margini dell'involucro nucleare. Ogni cromatidio è costituito da una molecola di DNA a doppia elica; quando una cellula sta per entrare in mitosi il numero di cromatidi raddoppia (come il numero di molecole di DNA); il numero di cromosomi rimane invece sempre uguale. Il nucleolo non è una porzione distinta (cioè non involucro, ma solo una regione molto condensata). Il nucleolo è formato da DNA, RNA (in grande abbondanza) e proteine. Questo perché il nucleolo è sede di sintesi dell'RNA ribosomale; dopo la sintesi gli RNA subiscono un processo di maturazione all'interno del nucleolo. Una cellula smette di trascrivere durante la mitosi; durante la mitosi il nucleolo sparisce perché finisce l'attività trascrizionale. Nell'interfase invece il nucleolo si mantiene.

Lo scopo importante degli *istoni* è quello di far occupare il minimo spazio al DNA. Il primo livello di organizzazione della cromatina è il *nucleosoma*. Lungo tratto di DNA lungo circa 200 coppie di basi. La struttura cromosomica non sta ferma, ma si avvolge formando un *solenoid*; l'organizzazione del nucleo viene mantenuta da una struttura detta *matrice nucleare*. La matrice nucleare è una struttura formata da RNA e proteine: ricorda la lamina alla quale si lega la cromatina.

Microcirconvoluzioni: piccole palline che costituiscono il cromosoma (prendono il nome dalle circonvoluzioni cerebrali). Il cromosoma ha una parte proteica centrale, attorno alla quale si avvolgono le eliche di DNA; l'organizzazione della cromatina tra la fase mitotica ed interfase cambia. La struttura del cromosoma è stata scoperta togliendo tutti gli istoni dal DNA: gli istoni si legano al DNA perché sono basici (ed il DNA acido); se li metto in una soluzione più acida, gli istoni si legano ad essa lasciando il DNA (e quindi le sue anse si distendono mancando l'organizzazione nucleosomica di base).

SAR (regione di attacco allo scheletro)

MAR (regione di attacco alla matrice)

Il nucleolo è collegato all'involucro nucleare per mezzo di cromatina condensata.

Nucleolo: 3 regioni

1. Centro fibrillare, DNA

Enzimi: RNA polimerasi I

DNA topoisomerasi I

UBP fattore di trascrizione

2. Componente fibrillare densa: Fibrillarina e sn- (piccolo nucleare) RNA (ricco di fibrillarina).

3. Componente granulare

Produzione di rRNA al confine tra la regione 1 e 2

Il snRNA è un piccolo RNA deputato alla maturazione dell'RNA scritto nella regione 1.

Il ribosoma è composto da RNA ribosomale e proteine ribosomali. È costituito da due subunità (minore e maggiore): esse sono separate e si uniscono nel citoplasma. *Subunità maggiore*: 3 molecole di RNA diverse e circa 50 proteine; *subunità minore*: 1 molecola di RNA diversa dalle altre 3, circa 30 proteine. Complessivamente il ribosoma è composto da 4 RNA e circa 80 proteine).

Il centro fibrillare è fatto da RNA, DNA e proteine. A lato del nucleolo ci sono dei geni, perché lungo il tratto di cromatina avviene la trascrizione, mentre le zone laterali sono RNA che stanno trascrivendo. Alla base ci sono proteine che tengono saldate le molecole di RNA e DNA (enzima: DNA polimerasi).

I geni per produrre l'RNA precursore sono tanti, separati e messi uno dopo l'altro da una molecola di DNA (DNA spaziatore).

Le due membrane dell'involucro nucleare sono saldate tra loro. Ci sono otto strutture rotonde che sporgono dal poro, con alcuni filamenti citoplasmatici, più una zona di sporgenza verso il nucleo, detta *canestro nucleare*. A livello del poro non c'è lamina nucleare.

Ci sarà dispendio energetico per far cambiare configurazione alla molecola che deve passare per il poro (sequenza segnale costituita da amminoacidi basici). *Sequenza bipartita*: amminoacidi basici ed acidi mescolati tra loro. *Importina*: particolare proteina che si attacca al poro con la proteina da trasportare; l'energia per entrare nel nucleo si ottiene idrolizzando ATP e GTP. Nel nucleo entra la subunità α dell'importina, mentre la subunità β rimane fuori.

L'importina ha il compito di trasportare le proteine nel nucleo.

I cromosomi

I cromosomi si distinguono in *autosomi* (sempre in coppia) e *cromosomi sessuali* (in coppia nell'uomo o unici in alcune specie). Quelle che determinano le caratteristiche sessuali sono i geni presenti negli autosomi. Quando il cromosoma esce dalla mitosi, è composto da un *cromatidio* (per cui un'unica doppia elica di DNA).

46 cromosomi umani \rightarrow 44+XX (donna)

44+XY (uomo)

22 coppie +XY

Tutte le cellule somatiche sono diploidi (44+XX o +XY); il numero di cromosomi è sempre uguale (46 nell'uomo)

Ogni cromosoma ha due zone particolari: ogni cromatidio ha due bracci, separati da un restringimento detto *centromero*. Il *cinetocoro* è la zona del cromosoma dove si attaccano i microtubuli del fuso, mentre il *telomero* è l'estremità del cromatidio.

Il *braccio* è quella parte di cromatidio che va da un'estremità al centromero.

Se il centromero separa bracci della stessa lunghezza si chiamano cromosomi *metacentrici*, se il centromero è in alto si chiamano *submetacentrici*; se è più in basso si chiamano *acrocentrici* o *telocentrici* (dipende quindi dalla lunghezza del braccio).

Cariotipo: ordinamento dei cromosomi di quella specie; il numero assegnato parte dal cromosoma più grande (che prende il numero 1); si mettono insieme per primi quelli grandi metacentrici, poi quelli submetacentrici (ordine cioè in base alla posizione del centromero)

Bande: tipo di colorazione specifica utilizzata per identificare i cromosomi; la presenza o no dell' *organizzatore nucleolare* è un altro identificatore per cromosomi. L' *organizzatore nucleolare* è presente soprattutto nei cromosomi telocentrici; esso contiene parti di RNA ribosomale. Ad ogni cromosoma umano è stata assegnata la lettera *p* (*braccio corto*) e *q* (*braccio lungo*); le regioni con le bande di riferimento si contano a partire dai centromeri verso i telomeri. L'involucro nucleare è tenuto insieme dalla *lamina nucleare*: una volta che essa si disgrega anche l'involucro nucleare si rompe.

Il ciclo cellulare.

Nelle cellule evolute il *ciclo cellulare* non comprende solo la divisione cromosomica, ma anche l'accrescimento della cellula e la sua divisione.

G_1 : intervallo tra la divisione e sintesi del DNA; *S*: periodo in cui viene sintetizzato il DNA; G_2 : intervallo tra la fase *S* e la divisione cellulare. La cromatina della fase G_1 è attiva in fase trascrizionale.

I punti nei quali inizia il filamento doppio si chiamano *punti di replicazione*; da lì inizia la replicazione del DNA. Lungo le molecole ci sono più punti dai quali parte la replicazione del DNA. I punti di replicazione poi si fondono. La velocità di replicazione del DNA è proporzionale al numero di punti di replicazione; comunque alla fase *S* il DNA è tutto replicato.

Molte fasi della divisione cellulare sono regolate dai microtubuli: essi nascono dal *centrosoma* dove vi sono dei piccoli cilindretti detti *cetrioli*. Alla fine della fase G_1 inizia la duplicazione dei cetrioli (che continua in fase *S*); in fase G_2 i cetrioli sono già duplicati (ed il centrosoma quasi duplicato); in fase *M* (mitosi) i centrosomi sono già duplicati e si allontanano. In fase mitotica ci sono quindi due punti dove si originano i microtubuli.

Durante la *profase* avviene la formazione del fuso mitotico (centrosomi: poli del fuso mitotico + microtubuli che partono dal centrosoma = *fibre del fuso*). Al momento della disgregazione nucleare si entra in *prometafase*.

In *anafase* la cellula si allunga, perché i microtubuli scorrono uno sull'altro, grazie all'intervento delle *proteine motrici*.

RE ed apparato di Golgi si frammentano in vescicole che vengono suddivise in maniera equa tra le due cellule.

Nella cellula vegetale per via della parete non c'è restringimento al momento della divisione; c'è un solco centrale tra le due. Le vescicole del Golgi arrivano al solco camminando lungo i microtubuli e formano così la *parete cellulare* tra le due cellule divise: essa è generata infatti dalle vescicole dell'apparato di Golgi. La struttura formata dai microtubuli e dalle vescicole all'estremità del solco si chiama *fragmoplasto*: al centro le vescicole si sono già fuse. All'interno della parete ogni cellula ricostituisce la propria membrana cellulare.

Il ciclo cellulare è un procedimento che ha molti *sistemi di controllo*: controllare se la cellula è in grado di entrare in fase *M*, poi la successiva esecuzione di tale fase e poi se la cellula è in grado di uscire da essa, entrando in fase G_1 .

Nei *protesomi* vengono degradate proteine interne, mentre nei lisosomi quelle provenienti dall'endocitosi. La cellula prima di entrare in fase M deve essere abbastanza grande, ma in generale deve essere in grado di sopportare la divisione. Prima di entrare in fase S, c'è un controllo alla fine della G_1 , perché in fase S c'è la replicazione dei cromosomi; se la cellula si blocca in una fase successiva alla S rischia la morte. In fase G_1 si controlla se il DNA è integro e in caso negativo va sistemato.

MPF (fattore che promuove la mitosi); lo si è isolato dal citoplasma. Esso iniettato in ovociti non fecondati induce alla mitosi; ha la sua attività massima durante la mitosi, minima in interfase. L'*MPF* è una buona *chinasi* (enzima che induce la fosforilazione di altre proteine). Ci sono enzimi in grado di compiere la reazione di defosforilazione (*fosfatasi*). La fosforilazione e la defosforilazione delle proteine è in grado di controllare l'attività delle proteine stesse.

L'*MPF* è fatto di due proteine: una c'è sempre, l'altra no (*ciclina*). La ciclina viene chiamata così perché ha un ciclo. In mitosi cala, in interfase viene prodotta e raggiunge il massimo quando l'*MPF* è al massimo della sua concentrazione. *MPF*= chinasi (sempre presente) e ciclina. La chinasi è attiva solo se unita alla ciclina: il complesso è attivo solo se ci sono entrambe. *CDK*= chinasi ciclina dipendente.

Ogni passaggio della cellula può venire controllato e bloccato, se c'è qualcosa che non va. L'*MPF* s'incarica di fosforilare le lamine, provocando così la disgregazione dell' involucro nucleare; fosforilando le proteine motrici su aumenta il processo di composizione e disgregazione dei microtubuli, favorendo così la formazione del fuso. Se si distrugge la ciclina, *MPF* prede la sua attività.

La ciclina viene distrutta nei *protesomi*, così si esce dalla fase M. In profase la ciclina viene marcata con una proteina detta *ubiquitina* (piccola): essa la conduce dai *protesomi* dove viene degradata e distrutta.