

Le proprietà elettive della cellula:

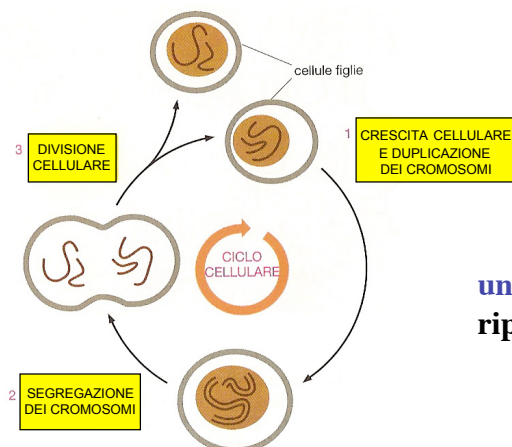
regolazione espressione genica e differenziamento
divisione cellulare

CdL Infermieristica

Aa. 2011/12 Prof.ssa Frabetti

Il ciclo di divisione cellulare e la sua regolazione

ACCRESIMENTO E DIVISIONE



unicellulari
riproduzione

pluricellulari
sviluppo
rinnovamento
riparazione

Ciclo di divisione cellulare o “Ciclo cellulare”

ciclo riproduttivo della cellula cioè
la **sequenza ordinata di eventi** per cui una cellula
duplica il suo contenuto e si divide

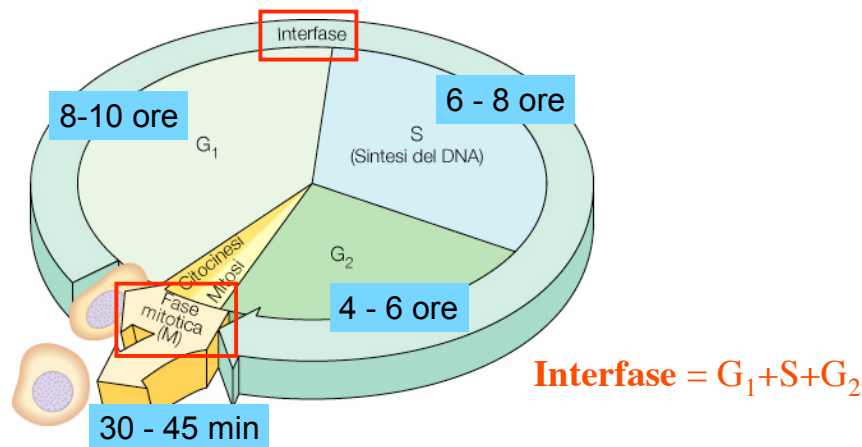
Nel ciclo prima della divisione fisica nelle cellule figlie si ha:

1. **duplicazione di tutto il DNA** nucleare
 2. raddoppiamento della massa cell. e duplicazione degli organuli
- ciò comporta una intensa attività biosintetica e un altissimo dispendio energetico e metabolico.

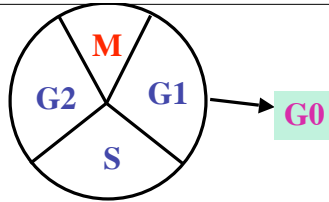
passaggi **coordinati**
nel tempo e nello spazio

Il ciclo cell. **deve essere controllato** da precisi meccanismi

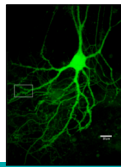
Descrizione del ciclo di divisione cellulare



Mitosi (M) è il processo di **divisione nucleare** che termina con la **citocinesi o citodieresi** ovvero la divisione del citoplasma

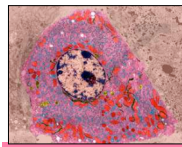


Dalla fase G_1 , le cellule che non hanno ancora duplicato il DNA, possono entrare in una **fase di stasi cellulare detta di quiescenza** identificabile con G_0 : l'arresto del ciclo può essere temporaneo o definitivo



cellule perenni

con perdita definitiva
della capacità
riproduttiva



cellule stabili

sospendono
la loro attività riproduttiva,
ma mantengono
tale capacità all'occorrenza

$\neq$



cellule labili

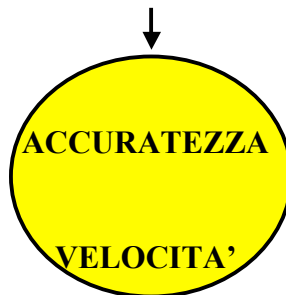
sottoposte a usura
e continuamente si
dividono

*Quale è l'evento fondamentale
che avviene durante l'interfase
prima di ogni Mitosi o Meiosi?*

Duplicazione DNA

Fase S: sintesi DNA

Replicazione del DNA o duplicazione del DNA,
meccanismo fondamentale per mantenere invariato
il patrimonio informativo ed indispensabile premessa
di ogni processo di **divisione cellulare**.



Sistema multi-enzimatico

*“Non è sfuggito alla nostra attenzione il fatto che
l'appaiamento specifico da noi postulato suggerisce
immediatamente un possibile meccanismo per la
copiatura del materiale genetico”
da Watson e Crick Nature , 1953*

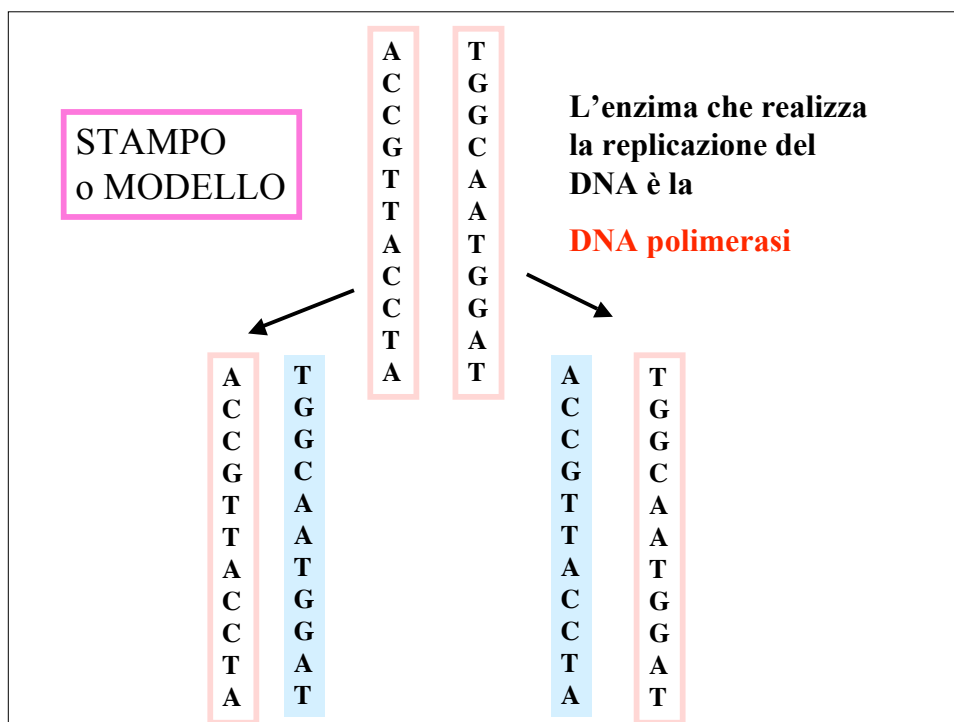
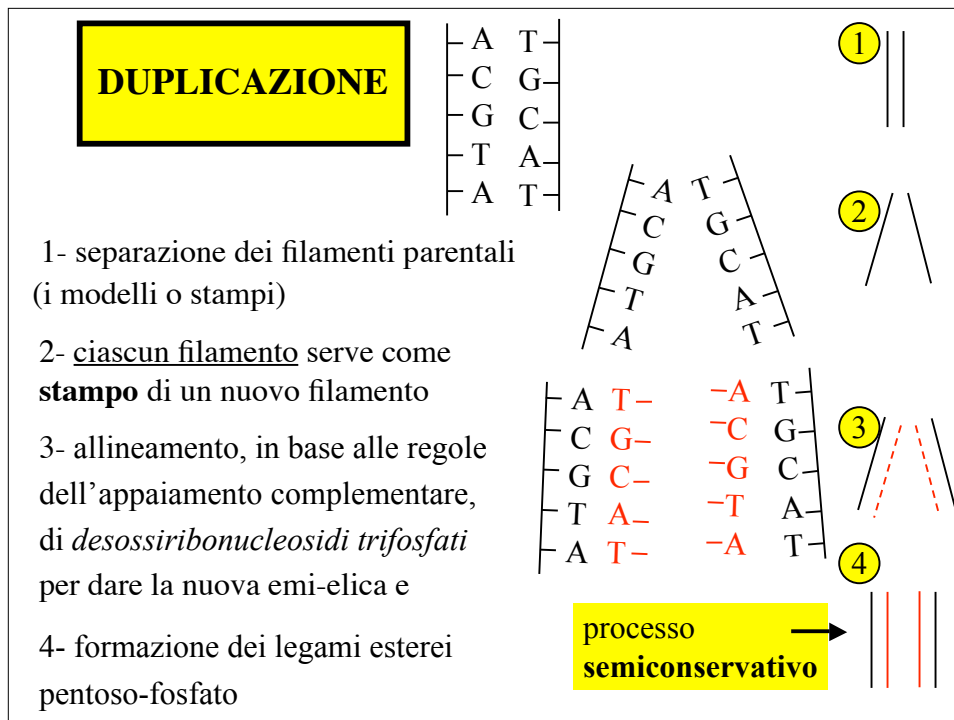
**La duplicazione del DNA si basa
sulla struttura stessa del DNA e
sulla complementarietà delle basi**



struttura e funzione

Fasi:

- 1- separazione delle catene parentali (**i modelli o stampi**)
- 2- allineamento, in base alle regole dell'appaiamento complementare, di *desossiribonucleosidi trifosfati*, substrati della reazione di sintesi della nuova catena polinucleotidica
- 3- formazione dei legami esterei pentoso-fosfato



L'enzima DNA polimerasi richiede:

- a) una estremità 3'OH
- b) un appaiamento perfetto nel tratto copiato



In base a tali verifiche è in grado di correggere gli eventuali errori.



Correzione degli errori di duplicazione



ALTA FEDELTA'

Attività di AUTOCORREZIONE, eliminando nucleotidi errati in direzione 3'OH verso 5'.

Al massimo 1 errore ogni 10⁹ nucleotidi.

Su un genoma di $6,4 \times 10^9$ possono essere introdotti in media 6 errori

Cosa sono i cromosomi? Molecole di DNA!



cromosomi 1

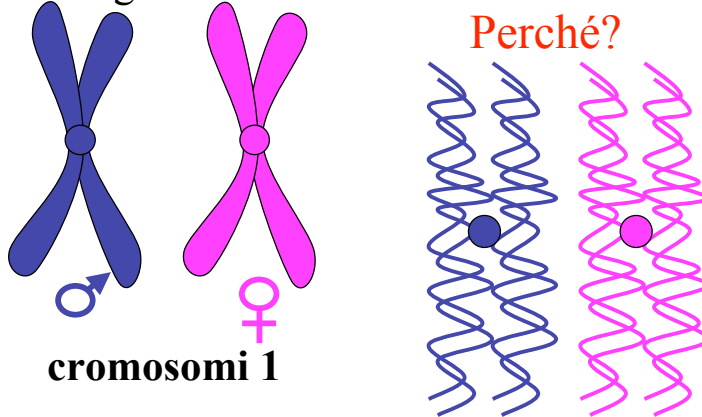
Dimensioni medie:

- 2nm diametro
- 8 cm lunghezza

Li vediamo solo quando:

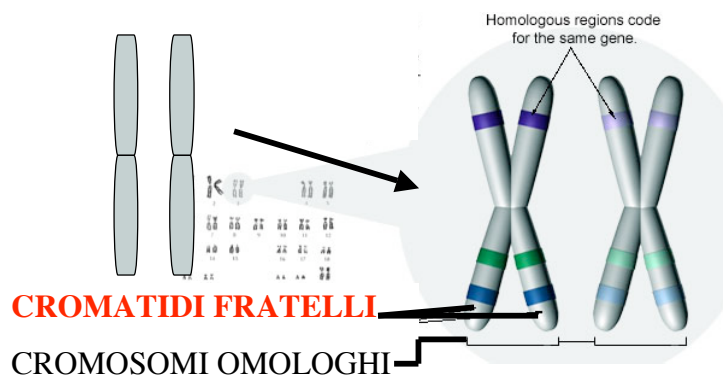
- 1 μm di diametro
- alcuni μm di lunghezza

Immagine *mentale* del cromosoma:



Quando vediamo al M.O. i cromosomi durante la MITOSI è già avvenuta (nella interfase), la **DUPLICAZIONE DEL DNA** che ha raddoppiato il contenuto in DNA: ogni cromosoma è fatto di due molecole identiche di DNA che si mantengono legate insieme a livello del “**centromero**”. Il cromosoma si dice che è fatto di 2 “**cromatidi**”

Dopo la fase S, ogni cromosoma sarà costituito di 2 **CROMATIDI “fratelli”** che sono repliche esatte, frutto della duplicazione del DNA.



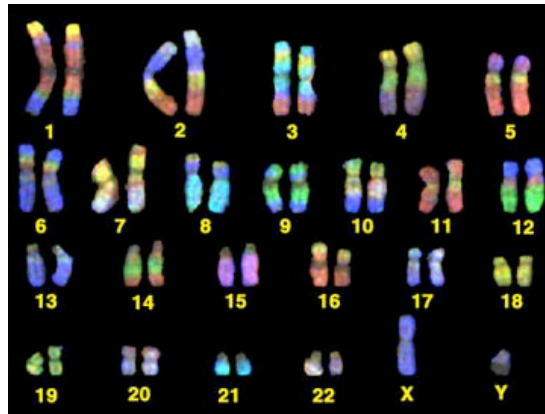
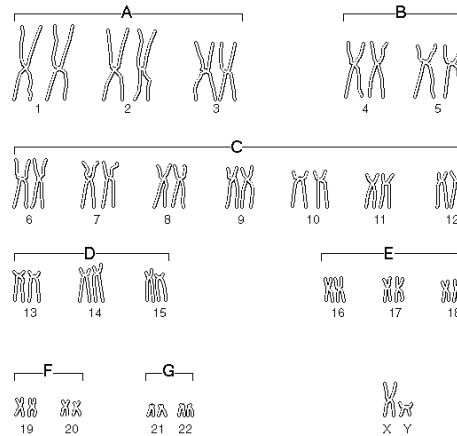
I cromosomi di una coppia si definiscono **OMOLOGHI**, contengono le medesime informazioni (geni) nello stesso punto (*locus*), ma possono essere **differenti versioni** per la stessa informazione

CARIOTIPO

Corredo cromosomico di un individuo o della specie a cui appartiene; viene realizzato bloccando i cromosomi durante la fase M

**ESSERE UMANO:
23 COPPIE DI CROMOSOMI = 46**

**22 AUTOSOMICI x 2 = 44
2 SESSUALI (XX o XY)**



**CORREDO CROMOSOMICO
DIPLOIDE
CON DUE SERIE DI
CIASCUN CROMOSOMA
 $2n$**

Con eccezione delle cell. germinali, le cellule umane hanno due copie di ognuno dei cromosomi: **una di origine materna** ed **una di origine paterna**

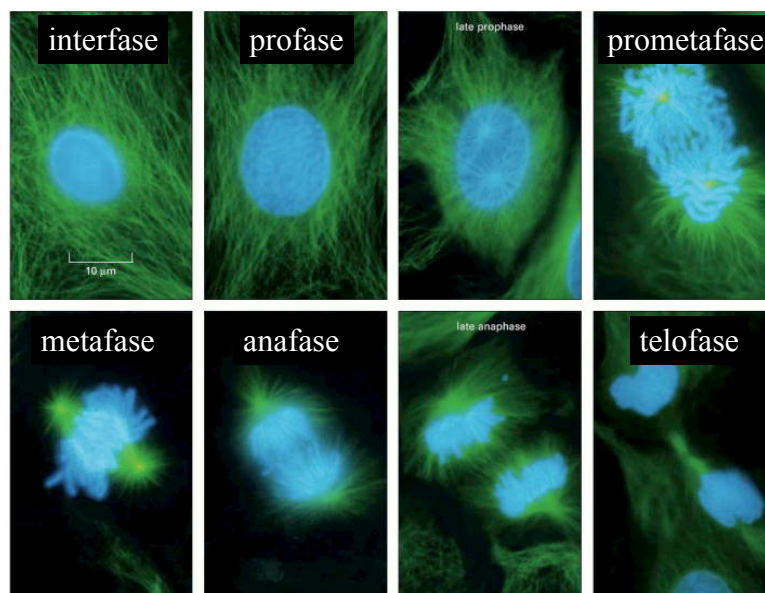
→ 23 coppie di cromosomi
46 cromosomi

→ Corredo cromosomico
DIPLOIDE

Quale processo permette di mantenere il corretto numero cromosomico?

Mitosi

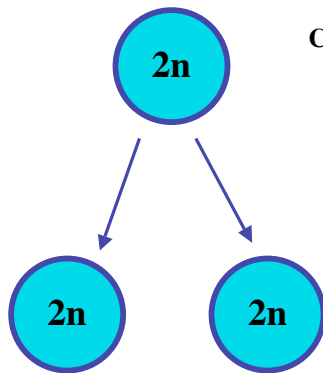
Il **citologo** ed il **biologo** osservano eventi e fenomenologia



Il **genetista** osserva il contenuto di cromosomi e DNA

MITOSI

DIVISIONE CELLULARE
CELLULE SOMATICHE

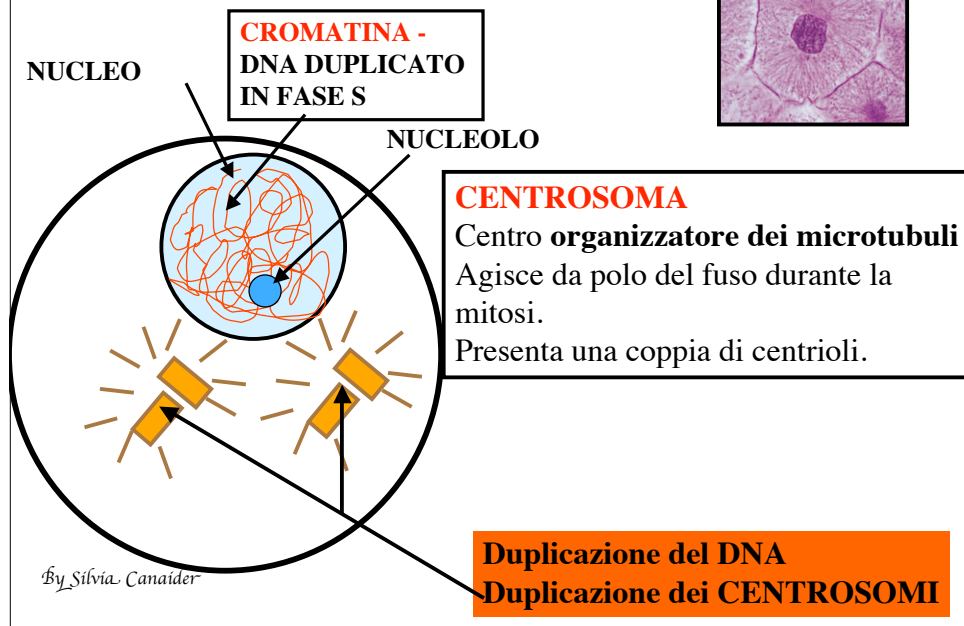


CORREDO CROMOSOMICO
DIPLOIDE

CORREDO CROMOSOMICO
DIPLOIDE

**DA 1 CELLULA SI OTTENGONO
2 CELLULE GENETICAMENTE
UGUALI TRA LORO
E ALLA CELLULA MADRE**

INTERFASE

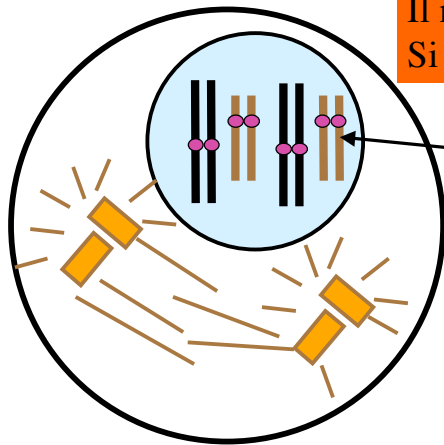


1- PROFASE

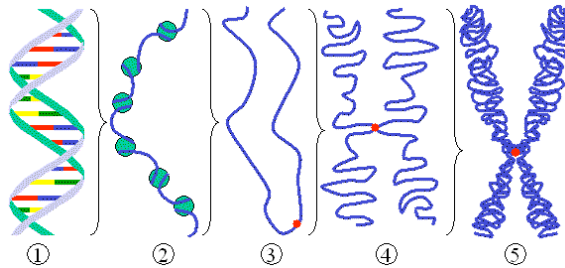
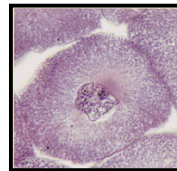
CORREDO CROMOSOMICO DIPLOIDE

Esempio con due coppie di cr. omologhi

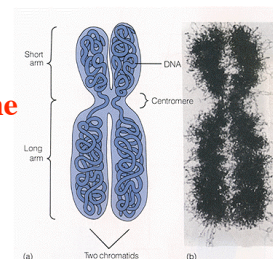
Condensazione dei cromosomi
Il nucleolo scompare
Si inizia a formare il fuso



CROMOSOMI
DI-CROMATIDICI
(DNA DUPLICATO
IN FASE S)



- 1) DNA
- 2) nucleosomi(DNA + istoni)
- 3) interfase con centromeri
- 4) cromosoma in profase **dopo la replicazione**
- 5) cromosoma in metafase

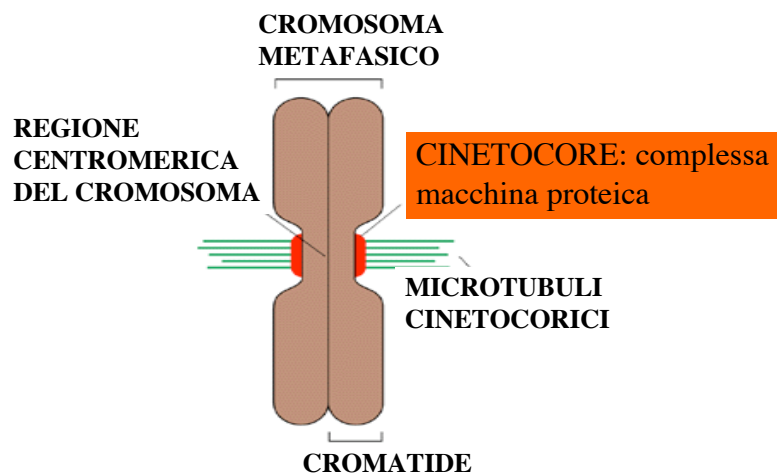
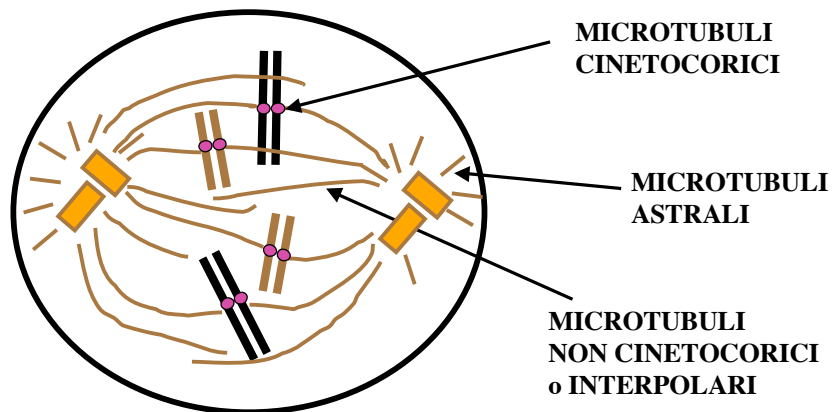
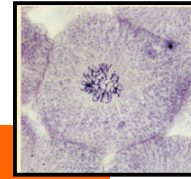


2- PROMETAFASE

Demolizione involucro nucleare

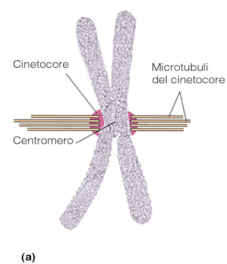
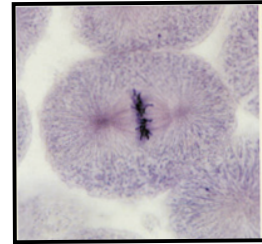
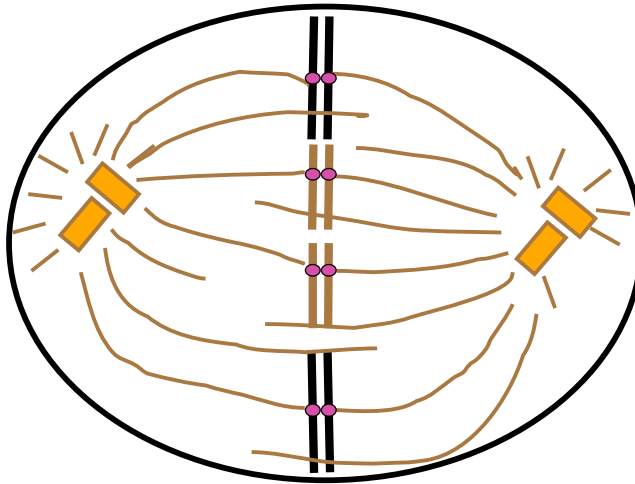
Attacco dei cromosomi al fuso: “*ricerca e cattura*”

Il fuso si organizza in 3 principali tipi di microtubuli

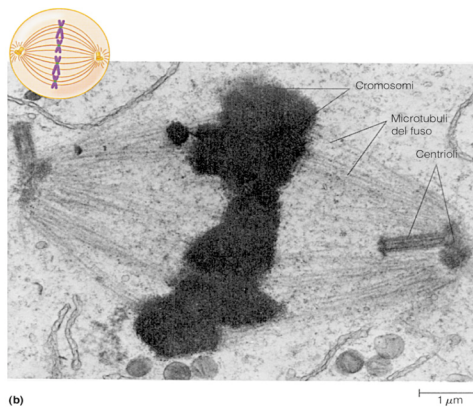


3- METAFASE

La fase complessivamente **più lunga** della mitosi
I microtubuli cinetocorici dispongono i cromosomi
in **piastra equatoriale**



(a)

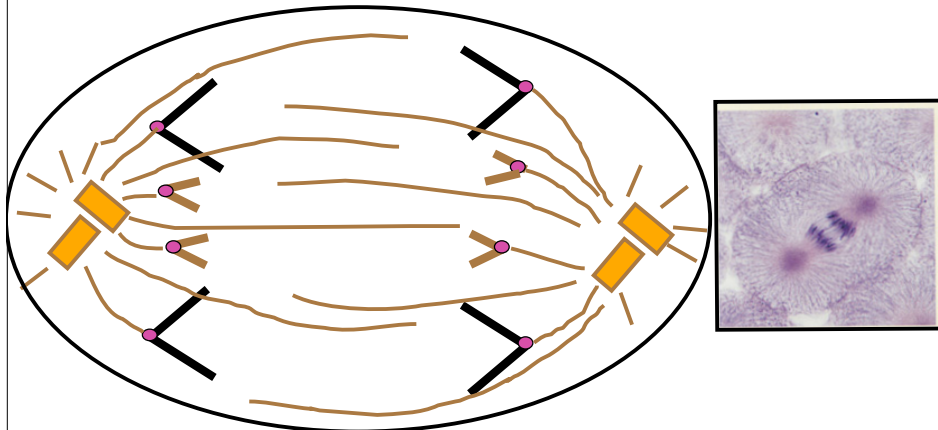


(b)

La fase successiva e la separazione dei cromatidi non avviene fino a che tutti i cinetocori non siano legati

4-ANAFASE

I cromatidi fratelli si separano e diventano veri e propri **cromosomi monocromatidici**
Vengono tirati ai poli opposti dalla dinamica dei microtubuli



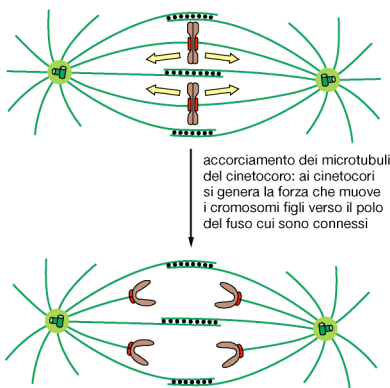
Azione congiunta dei microtubuli cinetocorici e non cinetocorici

ANAFASE A

Processi sovrapposti ed indipendenti dei microtub. cinetocorici e non

ANAFASE A

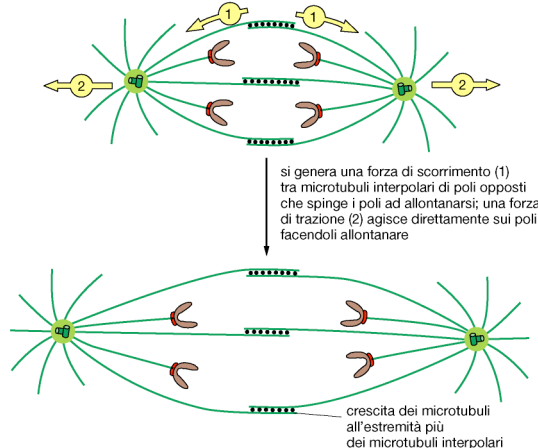
I CROMOSOMI VENGONO TIRATI VERSO I POLI



accorciamento dei microtubuli del cinetocoro: ai cinetocori si genera la forza che muove i cromosomi figli verso il polo del fuso cui sono connessi

ANAFASE B

I POLI SONO SIA SPINTI SIA TIRATI IN MODO DA ALLONTANARSI TRA LORO



si genera una forza di scorrimento (1) tra microtubuli interpolari di poli opposti che spinge i poli ad allontanarsi; una forza di trazione (2) agisce direttamente sui poli facendoli allontanare

crescita dei microtubuli all'estremità più dei microtubuli interpolari

I ruoli svolti dalle PROTEINE MOTRICI

Le **proteine motrici** utilizzano energia ricavata da ATP per modificare la propria conformazione ed esercitare una **FORZA** che sortisca nel movimento delle strutture annesse o la depolimerizzazione dei MT

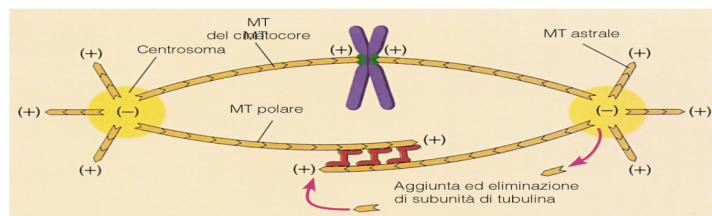
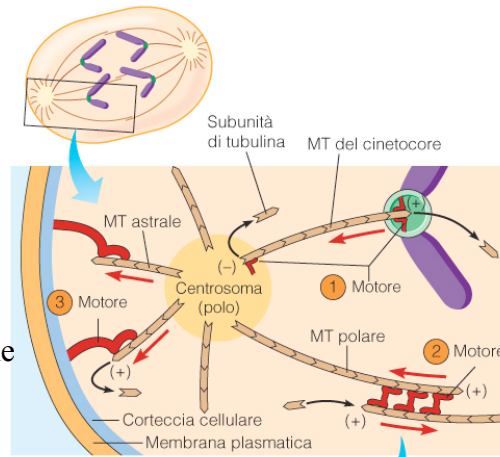
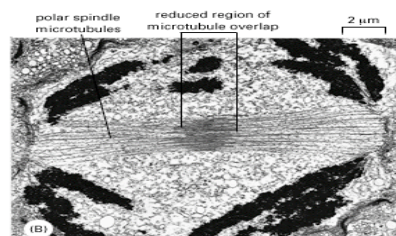
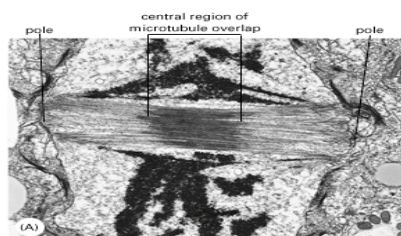
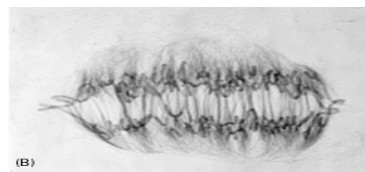
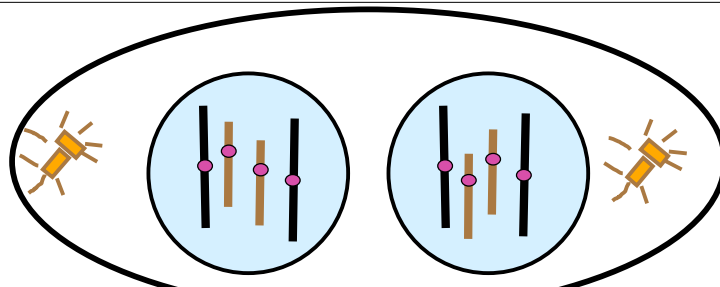
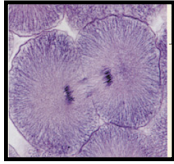


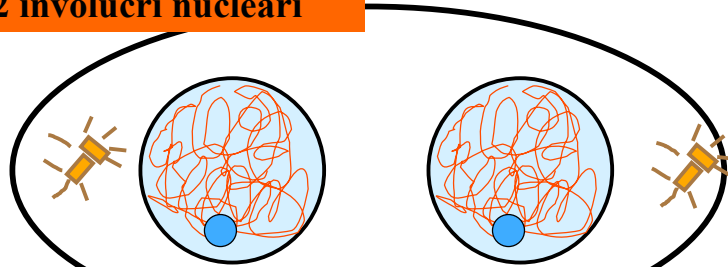
Figura 17-24



5-TELOFASE



Si disassembla il fuso mitotico
Si formano i 2 involucri nucleari

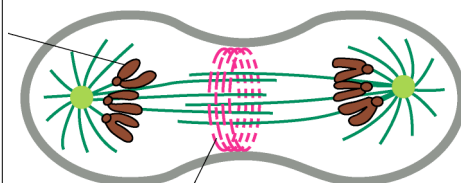


I cromosomi si **decondensano (cromatina)**
Ricompaiono i nucleoli

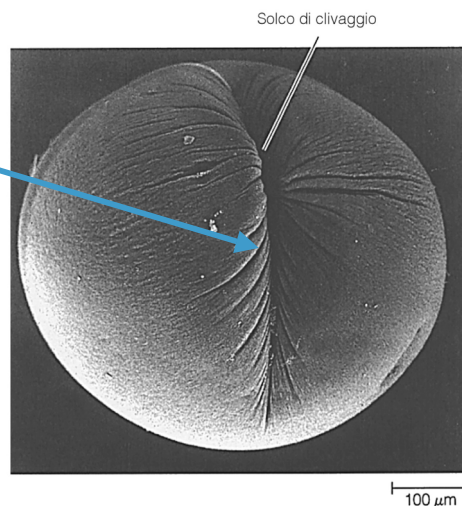
CITOCHINESI

ANELLO CONTRATTILE (ACTINA E MIOSINA)

che all'interno della cellula agisce
provocando un solco che andrà
a dividere le due cellule neoformate



filamenti actinici e miosinici
dell'**anello contrattile**

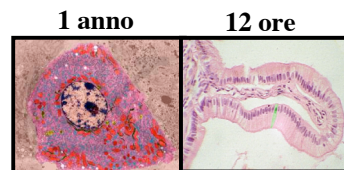
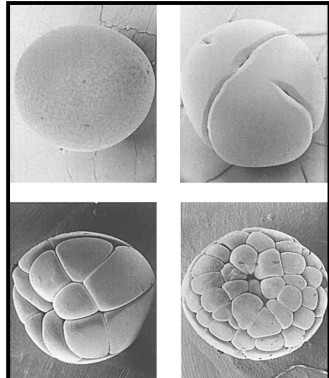


Regolazione del ciclo di divisione

Variabilità del ciclo cellulare

Differenze nel ciclo in base
alla **fase del ciclo vitale**,
al **tipo cellulare**
alla **specie**

durata < 30 minuti

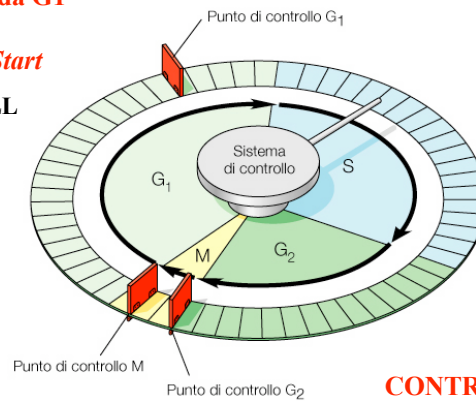


MECCANISMI DI REGOLAZIONE

PUNTI FONDAMENTALI DI CONTROLLO

CONTROLLO in tarda G1
PUNTO DI
RESTRIZIONE o Start

GRANDEZZA CELL
AMBIENTE
DANNI AL DNA



CONTROLLO
METAFASE-ANAFASE

ATTACCO
DEI CROMOSOMI
AL FUSO

CONTROLLO G₂

DUPPLICAZIONE
DANNI AL DNA
AMBIENTE
GRANDEZZA CELL

Il controllo del ciclo di divisione avviene in 2 modi:

1- controllo intra-cellulare o endogeno:

il ciclo è regolato da **fattori proteici** che promuovono il passaggio sequenziale attraverso le varie fasi.

Il motore del ciclo è un sistema biochimico di chinasi dipendenti da cicline

2- controllo extra-cellulare o esogeno:

il ciclo è modulato da **fattori o segnali chimici esterni**, favorenti o inibenti la divisione cellulare.

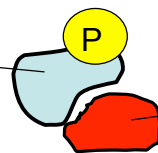
Sono questi **fattori mitogeni** a innescare il motore biochimico di cui sopra

MOTORE BIOCHIMICO che **promuove la progressione** attraverso il ciclo è dato da:

- fattori proteici
- che operano ciclicamente
- sono *dimeri* proteici dati dall'unione di una **ciclina** e una **protein chinasi ciclina - dipendente (CdK)**

protein chinasi ciclina-dipendenti

enzimi che fosforilano proteine bersaglio (ATP)



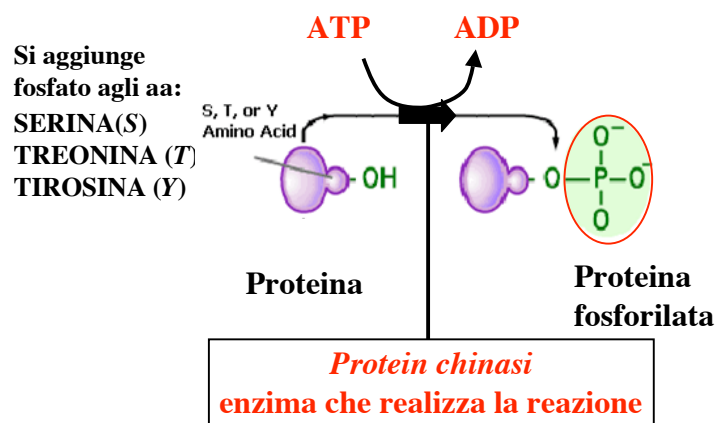
ciclina

componente di una famiglia di proteine che si lega alle CdK e ne regola il funzionamento.

La concentrazione di queste "proteine attivatrici" oscilla con periodicità

Le Protein chinasi sono E che compiono fosforilazione.

Fosforilazione: reazione chimica, si tratta della aggiunta di gruppi fosfato a substrati proteici, reazione accoppiata a demolizione di ATP

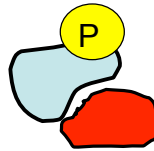


La proteina fosforilata si attiva o inattiva funzionalmente

Le protein chinasi agiscono solo se legate a proteine che le attivano chiamate cicline:

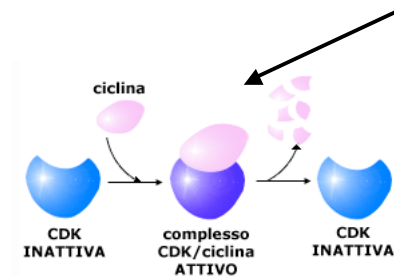
**protein chinasi
ciclina-dipendenti**

enzimi che
fosforilano
proteine
bersaglio (ATP)

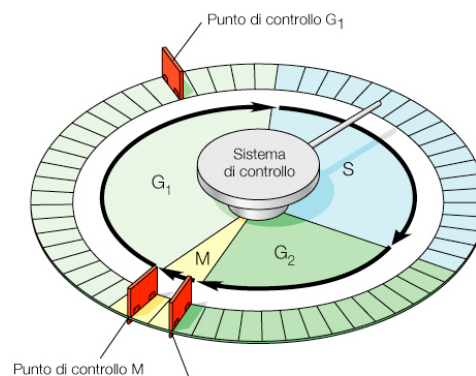


ciclina

La **concentrazione** di queste cicline “proteine attivatrici” oscilla con periodicità durante il ciclo grazie al fatto che vengono **sintetizzate** (il loro gene è trascritto e tradotto) e **degradate** in modo ciclico durante le fasi del ciclo cellulare. Ciò comporterà la attivazione ed inattivazione delle CdK.



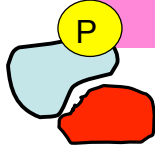
Come si può spiegare tutto ciò a livello molecolare?



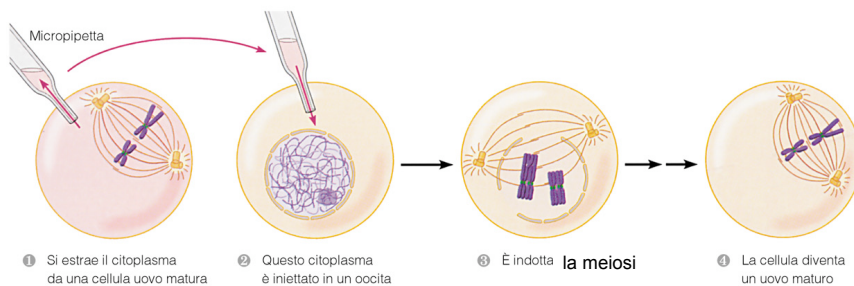
CONTROLLO G2

CdK/ciclina M (MPF)

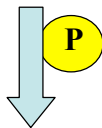
*M-phase promoting factor o
fattore che promuove la maturazione*



Dimostrazione dell'attività MPF
in cellule uovo di *Xenopus*

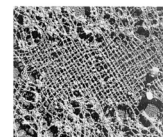


CdK/ciclina M (MPF)



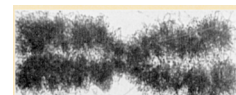
LAMINE

disgregazione nucleare



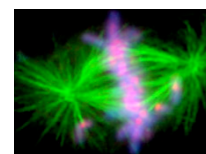
CONDENSINA e istoni H1

compattazione cromosomi

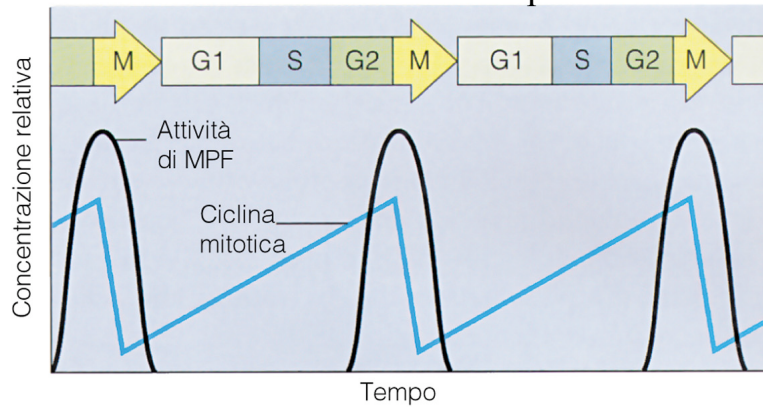


PROTEINE DEI MICROTUBULI

fuso mitotico



Attività MPF in relazione ai livelli di concentrazione di ciclina M che variano nel tempo

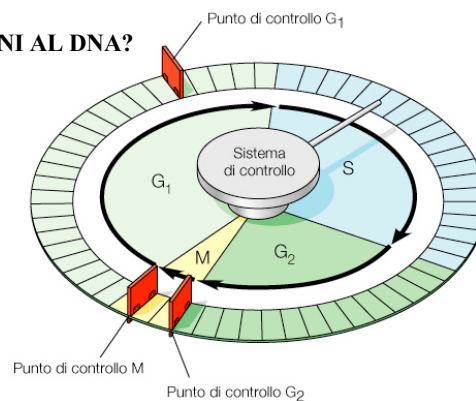


Accumulo graduale della ciclina M (linea azzurra) a partire dalla fase S. L'accumulo dipende dalla attivazione della trascrizione e traduzione del gene della ciclina M. Di conseguenza si accumulano complessi M-Cdk.

Attivazione di MPF in tarda G2

CHECK POINT - freni della progressione

DANNI AL DNA?

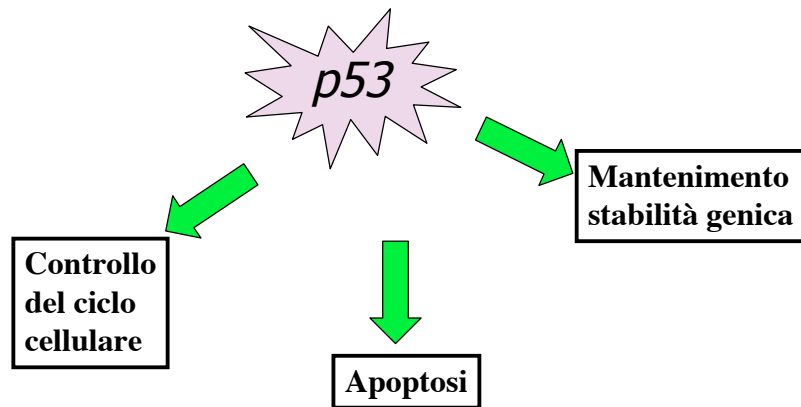


**CROMOSOMI
ATTACCATI
AL FUSO MITOTICO?**

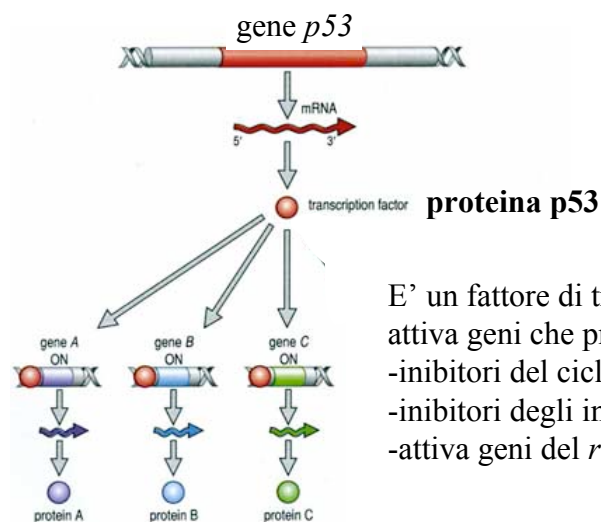
DANNI AL DNA?

**DUPLICAZIONE
COMPLETATA?**

Danni al DNA - ruolo di **p53** (proteina di 53.000 dalton)



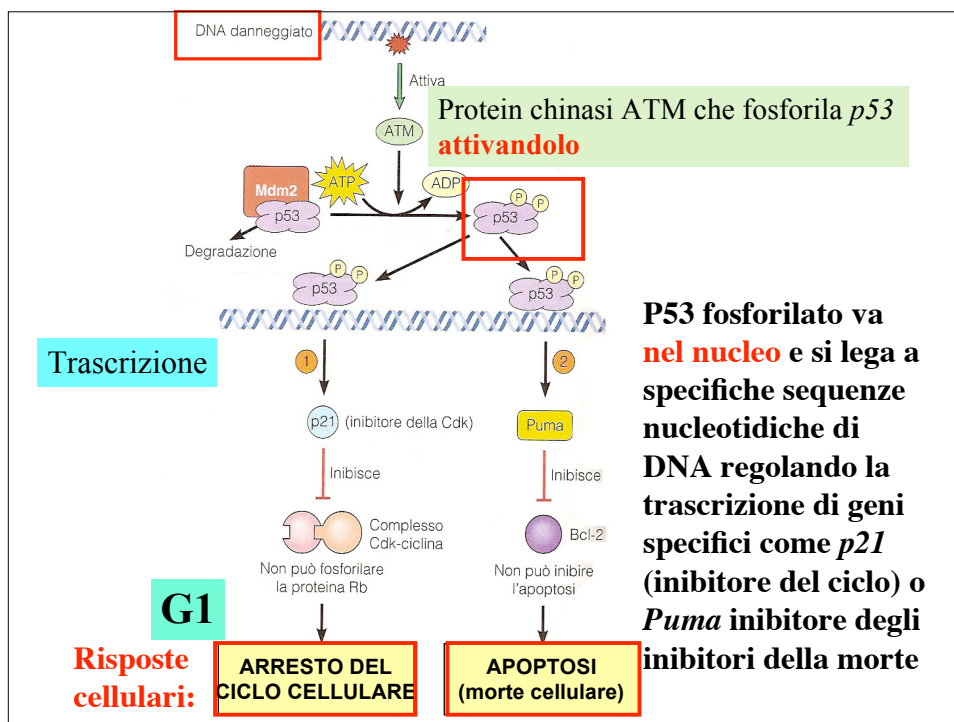
Danni al DNA - ruolo di p53



E' un fattore di trascrizione che attiva geni che producono:
-inibitori del ciclo di divisione
-inibitori degli inibitori di morte
-attiva geni del *repair*

p53

- **Fattore di trascrizione** che controlla diversi *pathway* genici cioè diversi percorsi metabolici biologicamente fondamentali.
- Di norma ha una localizzazione citoplasmatica e la sua attivazione attraverso fosforilazione, lo porta ad essere **traslocato attivamente nel nucleo** dove esplica la sua azione
- Il prodotto genico è *metastabile* (instabile) in quanto, se non fosforilato, viene degradato
- Mutato nel 50% dei tumori (80% mutazioni puntiformi, 20% prodotto troncato). Le mutazioni possono causare diverse conseguenze



Il controllo del ciclo di divisione avviene in 2 modi:

1- controllo intra-cellulare o endogeno:

il ciclo è regolato da **fattori proteici** che promuovono il passaggio sequenziale attraverso le varie fasi.

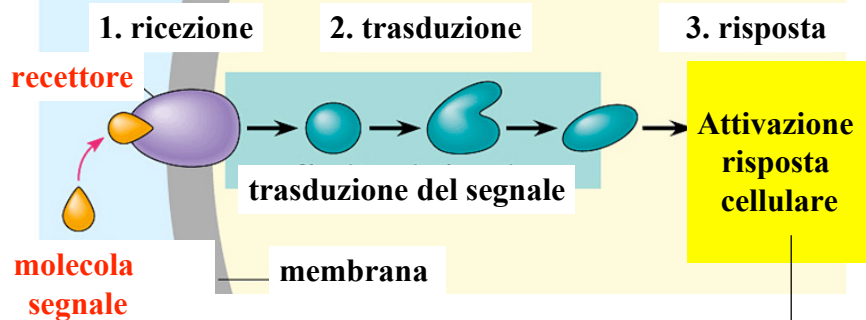
Il motore del ciclo è un sistema biochimico di chinasi dipendenti da cicline

2- controllo extra-cellulare o esogeno:

il ciclo è modulato da **fattori o segnali chimici esterni**, favorenti o inibenti la divisione cellulare.

Sono questi per es. **fattori mitogeni**, a innescare il motore biochimico di cui sopra

Questo è uno schema di come una **molecola segnale** possa legarsi ad un R di membrana (1.ricezione), il complesso segnale/recettore può trasferire l'impulso o stimolo all'interno della cellula trasformandolo ed amplificandolo (2.trasduzione) e ciò può attivare una risposta cellulare specifica (3.risposta) che coinvolge anche la espressione di geni nucleari.



Fattori di crescita

GFs (growth factors)

EGF o *epidermal growth factor*

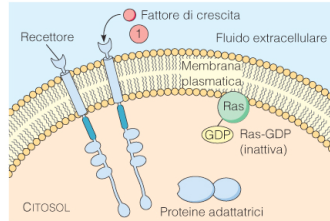
PDGF o *platelet-derived growth factor*

FGF o *fibroblast growth factor*

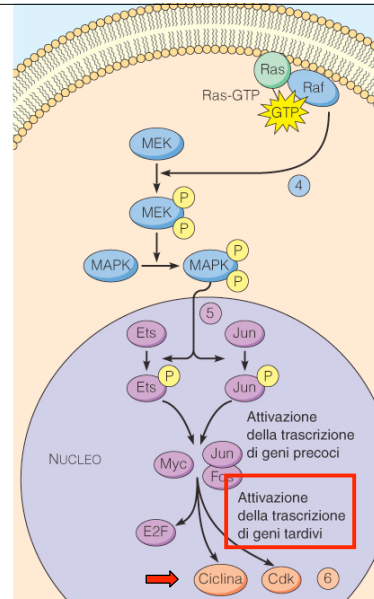
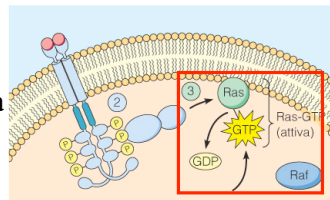
Attivazione della espressione di geni nel nucleo coinvolti nel ciclo, come ad es. le **cicline**

Es. Segnalazione mediata da FATTORI DI CRESCITA come EGF attraverso R tirosin-chinasici

Il R forma un dimero in risposta al legame con EGF



Il R dimerico è attivo come Kinasi e fosforila Ras attivando eventi a cascata



In ultimo la cellula viene indotta a modificare la espressione genica a livello trascrizionale ed entra in ciclo sintetizzando i prodotti proteici utili per innescare il ciclo di divisione (G_1/S), es. le cicline