

Molecole, Cellule e Organismi

E. Ginelli
M. Malcovati

R. Asselta
G. Badaracco
A. Barbon
D. Barisani
P. Bonaldo
P. Braghetta
C. Brancolini
S. Cecconi
S. Ciafrè
P. Defilippi
G. De Petro
S. Duga
A. Gallone
P. Limonta
M. Marini
E. Messi
A. Modesti
R. M. Moretti
M. Mottes
M. Nigro
P. Piomboni
A. Poletti
G. Principato
M.G. Romanelli
A. Salvetti



Accedi all'ebook e ai contenuti digitali

Espandi le tue risorse

un libro che **non pesa**
e si **adatta** alle dimensioni
del **tuo lettore!**



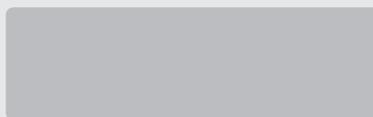
COLLEGATI AL SITO
EDISES.IT

ACCEDI AL
MATERIALE DIDATTICO

SEGUI LE
ISTRUZIONI

Utilizza il codice personale contenuto nel riquadro per registrarti al sito **edises.it** e accedere alla **versione digitale** del testo e al **materiale didattico**.

Scopri il tuo **codice personale** grattando delicatamente la superficie



Il volume NON può essere venduto, né restituito, se il codice personale risulta visibile.
L'**accesso al materiale didattico** sarà consentito **per 18 mesi**.

Per attivare i **servizi riservati**, collegati al sito **edises.it** e segui queste semplici istruzioni

Se sei registrato al sito

- clicca su *Accedi al materiale didattico*
- inserisci email e password
- inserisci le ultime 4 cifre del codice ISBN, riportato in basso a destra sul retro di copertina
- inserisci il tuo **codice personale** per essere reindirizzato automaticamente all'area riservata

Se non sei già registrato al sito

- clicca su *Accedi al materiale didattico*
- registrati al sito o autenticati tramite facebook
- attendi l'email di conferma per perfezionare la registrazione
- torna sul sito **edises.it** e segui la procedura già descritta per *utenti registrati*



Molecole, Cellule e Organismi

Coordinamento a cura di

ENRICO GINELLI
MASSIMO MALCOVATI



MOLECOLE, CELLULE E ORGANISMI
Copyright © 2016, EdiSES s.r.l. - Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0
2020 2019 2018 2017 2016

Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata

A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale, del presente volume o di parte di esso con qualsiasi mezzo.

L'Editore

L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere il permesso di riproduzione del materiale di cui non è titolare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti gli aventi diritto.

Impaginazione:
Vincenzo Scasserra

Fotoincisione e stampa:
Petruzzi S.r.l.
via Venturelli 7/B
06012 Città di Castello (PG)

per conto della
EdiSES s.r.l. – Piazza Dante Alighieri, 89 – Napoli

[http: www.edises.it](http://www.edises.it) E-mail: edises@edises.it

ISBN 978 88 7959 914 6

Autori

Rosanna Asselta

Università Humanitas, Milano – *cap. 18*

Gianfranco Badaracco

Università dell'Insubria – *cap. 24*

Alessandro Barbon

Università di Brescia – *cap. 17*

Donatella Barisani

Università di Milano-Bicocca – *cap. 28*

Paolo Bonaldo

Università di Padova – *cap. 14*

Paola Braghetta

Università di Padova – *cap. 14*

Sandra Cecconi

Università dell'Aquila – *cap. 27*

Silvia Ciafrè

Università di Roma Tor Vergata – *cap. 21*

Paola Defilippi

Università di Torino – *capp. 10 e 11*

Giuseppina De Petro

Università di Brescia – *cap. 17*

Stefano Duga

Università Humanitas, Milano – *cap. 18*

Anna Gallone

Università di Bari – *cap. 19*

Patrizia Limonta

Università di Milano – *cap. 26*

Massimo Malcovati

Università di Milano – *capp. 1-9*

Marina Marini

Università di Bologna – *cap. 20*

Elio Messi

Università di Milano – *cap. 25*

Alessandra Modesti

Università di Firenze – *cap. 22*

Roberta Manuela Moretti

Università di Milano – *cap. 26*

Monica Mottes

Università di Verona – *capp. 15 e 16*

Marco Nigro

Università di Pisa – *cap. 29*

Paola Piomboni

Università di Siena – *cap. 12*

Angelo Poletti

Università di Milano – *cap. 25*

Giovanni Principato

Università Politecnica delle Marche – *cap. 13*

Maria Grazia Romanelli

Università di Verona – *cap. 23*

Revisione a cura di:

Enrico Ginelli *Università di Milano*

Massimo Malcovati *Università di Milano*

Claudio Brancolini *Università di Udine*

Alessandra Salvetti *Università di Pisa*

Coordinamento a cura di:

Enrico Ginelli *Università di Milano*

Massimo Malcovati *Università di Milano*

Materiale di supporto per i docenti

I docenti che utilizzano il testo a scopo didattico possono scaricare dal sito **www.edises.it**, previa registrazione all'area docenti, le immagini del libro in formato Power Point.

Prefazione

Nel giro di pochi decenni la Biologia ha conosciuto uno sviluppo straordinario: i meccanismi che determinano e regolano molti fenomeni biologici sono stati chiariti in grande dettaglio sia a livello cellulare, sia a livello molecolare; nuovi ruoli sono stati scoperti a carico di molecole di cui si supposeva di conoscere a fondo la funzione; sono emerse interazioni e reciproche regolazioni tra processi considerati indipendenti e concetti ritenuti definitivamente acquisiti hanno dovuto essere rivisti e ridimensionati. *L'Introduzione* del volume cerca di documentare molto sinteticamente questo straordinario sviluppo descrivendo le tappe attraverso cui i grandi temi della Biologia si sono evoluti.

Di fronte a questa effervescenza di conoscenze, la selezione del materiale per un testo rivolto a studenti dei primissimi anni dei Corsi di Laurea a base biologica e medica comporta inevitabilmente un buon grado di arbitrarietà. La scelta fatta nel redigere questo volume è stata quella di fornire un'analisi accurata della "logica" dei processi biologici fondamentali, limitando la descrizione dettagliata ad alcuni esempi specifici, in modo da fornire allo studente le basi per comprendere autonomamente la loro applicazione a nuovi casi particolari, senza far assumere al volume un carattere enciclopedico. Per molti capitoli, in appendice, è inoltre fornita una lista di monografie per ulteriori approfondimenti di specifici argomenti.

D'altra parte, per compensare l'eterogeneità del background culturale degli studenti dei primi anni e la diversa collocazione temporale nelle varie sedi universitarie dei Corsi di Biologia di base rispetto a corsi propedeutici come Chimica e Fisica, è stata introdotta una Prima parte del volume, *Premesse*, in cui vengono sinteticamente presentati i concetti e le conoscenze di chimica, chimico-fisica e biochimica necessari alla comprensione dei fenomeni biologici, evitando di intercalarli nella trattazione dei processi biologici, e contemporaneamente ne viene fornita allo studente una "lettura in chiave biologica", sottolineando gli aspetti che maggiormente contribuiscono alla comprensione dei fenomeni biologici.

La Seconda parte, *Struttura e funzione della cellula e delle sue parti*, analizza dal punto di vista morfologico, molecolare e funzionale la cellula e le strutture che

la compongono, mentre la Terza, *Il flusso di informazione all'interno della cellula*, descrive i meccanismi che trasformano l'informazione genetica in strutture funzionanti e la loro regolazione, e la Quarta, *Il flusso di informazione da una generazione cellulare all'altra*, descrive il processo della replicazione del DNA, i meccanismi della divisione cellulare, la regolazione e le alterazioni del ciclo cellulare. La Quinta parte, *La riproduzione*, infine, affronta brevemente il tema dei diversi tipi di riproduzione con particolare riguardo alla riproduzione sessuata e alla meiosi, dello sviluppo embrionale e del differenziamento e si conclude con un capitolo sulle recenti teorie sull'origine della vita cellulare.

La scelta di affiancare alla versione cartacea del volume una versione elettronica, basata su di una piattaforma che consente al docente di selezionare i contenuti del volume e di arricchirli con propri contributi adattandolo così allo specifico corso, dovrebbe permettere sia di garantire di anno in anno l'aggiornamento o la modifica dei contenuti, sia di ovviare, almeno in parte, all'arbitrarietà delle scelte cui si è accennato sopra, sia di riempire eventuali lacune nei contenuti, sia, infine, di correggere possibili errori.

Vorremmo infine ringraziare gli Autori che hanno contribuito alla redazione del volume, non solo per l'impegno e la professionalità posti, ma anche, e soprattutto, per la disponibilità ad apportare ai loro capitoli le modifiche che si sono rivelate necessarie sia per uniformare il linguaggio e la terminologia, sia per eliminare sovrapposizioni e per riempire lacune emerse dopo la prima stesura dei testi. Un ulteriore ringraziamento va ai colleghi che hanno letto e discusso varie parti del testo, in particolare al Prof. Severino Ronchi dell'Università Statale di Milano per la discussione del capitolo sulla chimica e la chimico-fisica di rilevanza biologica, fornendo preziosi consigli e critiche.

Un caloroso ringraziamento finale va alla segreteria di redazione della EdiSES, in particolare alle Dottoresse Lucia Cavestri e Rossana Favorito e alla disegnatrice Martina Troise, senza la cui attenzione, competenza e revisione critica il volume non sarebbe stato realizzato.

Enrico Ginelli e Massimo Malcovati



Indice generale

Autori

Prefazione

Introduzione

Una breve storia della biologia cellulare e una panoramica a volo d'uccello

Una breve storia della biologia cellulare e molecolare 1

- I primi passi 1
- Lo sviluppo della teoria cellulare 2
- Il concetto di evoluzione 3
- La nascita della genetica 4
- Le prime ricerche chimiche 6
- La nascita e lo sviluppo della biochimica 7
- L'integrazione degli studi chimici e morfologici 8
- La natura dell'informazione genetica e il DNA come depositario dell'informazione genetica 9
- La rivoluzione molecolare 10
- La nascita dell'ingegneria genetica e della bioinformatica 13
- L'era della genomica, della proteomica e della trascrittomica 14

La cellula, struttura di base di tutti gli esseri viventi 15

- La teoria cellulare 15
- Elementi costitutivi essenziali della cellula 15
- Dimensioni 16
- Forma 17
- Moltiplicazione 17

Le caratteristiche fondamentali della materia vivente e i grandi temi della biologia 17

- Complessità specificamente definita 17
- Capacità di accrescersi 18
- Capacità di autoriprodursi 18
- Congruità con l'ambiente 18

La classificazione degli esseri viventi 19

PARTE I PREMESSE

Capitolo 1

Concetti e nozioni di chimica e chimico-fisica di rilevanza biologica 23

Spontaneità e reversibilità dei processi: le leggi della termodinamica 24

- Il primo principio della termodinamica o legge della conservazione dell'energia 24
- Il secondo principio della termodinamica 25
- La combinazione del primo e del secondo principio della termodinamica: l'energia libera 25

Reversibilità delle reazioni chimiche; relazione tra K_{eq} ed energia 26

III Forza e stabilità dei legami chimici 28

V

- I legami chimici 28
- La presenza di doppi legami alternati a legami semplici nei composti organici conferisce loro particolari proprietà 31
- L'elettronegatività degli atomi; molecole polari e apolari 32
- La forza dei legami chimici 32
- I legami secondari o deboli 33

1

Importanza biologica dei legami secondari; concetto di complementarità delle superfici delle molecole 35

- Le strutture cellulari e i processi biologici si basano su interazioni specifiche e reversibili tra molecole 35
- La complementarità di superficie tra molecole 35
- Il ruolo dei legami secondari nel determinare la struttura tridimensionale delle macromolecole biologiche 36

Le ossidoriduzioni 36

- Le reazioni di ossidoriduzione 36
- Il potenziale di ossidoriduzione 37
- La relazione tra $\Delta E_0'$ e $\Delta G^0'$ 38
- Il numero di ossidazione 39

I fenomeni elettrici che si verificano nella materia vivente sono spiegati dall'elettrochimica 40

- La legge di Nerst 40
- Le pile a concentrazione 41

Energia di attivazione e catalizzatori 41

- L'energia di attivazione 41
- I catalizzatori 43

Capitolo 2

La chimica delle cellule 45

La composizione chimica delle cellule 46

L'acqua e la sua importanza 46

- La vita, come la conosciamo oggi, sarebbe impossibile in assenza di acqua 46
- Le basi delle proprietà chimico-fisiche dell'acqua 47
- L'acqua come solvente 48
- La dissociazione dell'acqua e il pH 52

Caratteristiche delle soluzioni acquose 52

- Acidi e basi 52
- La diffusione 53
- La pressione osmotica 54
- L'equilibrio di Donnan 55
- Le membrane biologiche come membrane semipermeabili 56

I composti organici del carbonio 56

Le varie forme di isomeria presenti nei composti organici 58

- Isomeria di catena 58
- Isomeria di posizione 58
- Isomeria ottica (o stereoisomeria) 58
- Isomeria *cis-trans* 59

Le principali classi di composti biologici 60**I carboidrati 60**

- I monosaccaridi 60
- I derivati dei monosaccaridi 62
- Gli oligosaccaridi 62
- I polisaccaridi 63

I lipidi 64

- Gli acidi grassi 64
- I lipidi semplici (o lipidi neutri) 65
- I lipidi complessi (o lipidi polari) 66
- Gli steroidi 66

Le macromolecole biologiche e l'informazione biologica 68

- Le macromolecole biologiche come polimeri 68
- Polimeri regolari e polimeri informativi 68
- La natura dell'informazione biologica 69

*Capitolo 3***Le proteine**

71

Per la loro versatilità funzionale, le proteine rappresentano l'hardware delle cellule 72

Proteine solubili, proteine insolubili e proteine di membrana 72

La struttura chimica delle proteine 73

- Proteine semplici e proteine coniugate 73
- Gli alfa-amminoacidi 73
- Il legame peptidico 75

I livelli di organizzazione strutturale delle proteine 76

- Allo stato nativo, tutte le molecole di una data proteina sono ripiegate nello spazio nello stesso modo 76
- I diversi livelli di organizzazione strutturale delle proteine 77
- La struttura primaria 77
- Le varianti delle proteine 78
- Le strutture secondarie 78
- Strutture secondarie possono essere associate a formare motivi presenti in proteine diverse 81
- La struttura terziaria 81
- Domini 84
- La struttura quaternaria 84
- Non tutte le molecole proteiche hanno strutture rigide, fissate una volta per tutte 84

Denaturazione e rinaturazione delle proteine 85

- La denaturazione delle proteine dimostra che la loro funzione biologica dipende dalla loro struttura tridimensionale 85
- La rinaturazione dimostra che la sequenza degli amminoacidi delle catene polipeptidiche è sufficiente per definirne la struttura tridimensionale 86

La regolazione dell'attività biologica delle proteine 87

- L'attivazione per taglio proteolitico 88
- La regolazione allosterica 88
- La regolazione per modificazione covalente 89
- La localizzazione all'interno della cellula può contribuire a regolare l'attività delle proteine 91

Confrontare strutture di proteine diverse consente di chiarire i rapporti tra struttura e funzioni 92

- Proteine omologhe 92
- Proteine omologhe hanno sequenze simili, ma non identiche 92
- Funzioni simili in proteine diverse sono svolte da segmenti di catena polipeptidica con sequenze simili 95

RIQUADRO 3.1 *Quando una conformazione scorretta di una proteina è al cuore di una patologia 95*

*Capitolo 4***Enzimi e vie metaboliche**

101

Le cellule sono straordinari laboratori chimici 102

Gli enzimi 102

- Gli enzimi agiscono formando un complesso enzima-substrato a livello del quale avviene la catalisi 103
- Cofattori e coenzimi 107
- La regolazione dell'attività degli enzimi 107

Le vie (o catene) metaboliche 107

- L'organizzazione delle vie metaboliche 107
- Ciascuna via metabolica, nel suo insieme, avviene con liberazione di energia 108
- Il flusso di metaboliti lungo le vie metaboliche è sottoposto a precisi meccanismi di regolazione 109

*Capitolo 5***Gli acidi nucleici**

113

I nucleotidi 114

- Una classe di composti con importanti funzioni biologiche 114
- I nucleotidi che costituiscono gli acidi nucleici 114

Il legame fosfodiesterico 115

L'acido desossiribonucleico (DNA) 116

- Il DNA è il depositario dell'informazione genetica 116
- La composizione in basi delle molecole di DNA che costituiscono il genoma delle cellule sembra incoerente con la sua funzione biologica 116
- Le molecole di DNA sono costituite da due catene polinucleotidiche avvolte a spirale l'una attorno all'altra 117
- Forma e dimensioni delle molecole di DNA 120
- Le molecole di DNA possono essere piegate e/o presentare superavvolgimenti 121
- Sequenze ripetute invertite (palindromi) possono dar origine a strutture cruciformi 122
- L'andamento della denaturazione della doppia elica del DNA riflette la sua composizione in basi 123
- La rinaturazione del DNA dimostra che catene complementari formano spontaneamente una doppia elica 124
- Lo studio della cinetica di rinaturazione mette in evidenza l'esistenza nel DNA di diverse classi di sequenze 125
- La tautomeria delle basi azotate ne modifica le caratteristiche di complementarità 126

L'acido ribonucleico (RNA) 128

- Gli RNA sono coinvolti, direttamente o indirettamente, nella sintesi delle proteine 128
- La struttura dell'RNA 129
- Nelle cellule sono presenti molti tipi diversi di RNA 131

Proteine che legano gli acidi nucleici 131

- Proteine che presentano il motivo "helix-turn-helix" 133
- Proteine che contengono "zinc finger" 133
- Proteine che contengono "leucine zipper" 134
- Proteine che contengono il motivo "helix-loop-helix" 135

Enzimi che agiscono sugli acidi nucleici 136

Enzimi che idrolizzano i legami fosfodiesterici 137

- Molti enzimi di restrizione tagliano il DNA in corrispondenza di specifiche sequenze 137
- Molte ribonucleasi sono coinvolte nella maturazione dei vari tipi di RNA 140

Enzimi che sintetizzano legami fosfodiesterici 140

- Le polimerasi utilizzano come substrati i nucleosidi trifosfati 140

- Le polimerasi hanno bisogno di uno stampo da cui ricavare l'informazione sulla sequenza del polinucleotide da sintetizzare 141
- A differenza delle RNA polimerasi, le DNA polimerasi non sono in grado di iniziare *ex novo* la sintesi di una catena polinucleotidica 142
- Molte DNA polimerasi e alcune RNA polimerasi sono in grado di correggere eventuali errori nella sintesi del DNA 143
- Nelle cellule esistono diverse DNA ed RNA polimerasi 143
- Le DNA ligasi formano legami fosfodiesterici tra segmenti di DNA 144

Enzimi che modificano la topologia del DNA 145

Enzimi che modificano le basi degli acidi nucleici 147

Capitolo 6

Cellule e organismi 149

Classificazione delle cellule: cellule procariotiche e cellule eucariotiche 150

La membrana plasmatica: una struttura comune a tutte le cellule 151

La cellula procariotica 152

- Forma e dimensioni 152
- Struttura 152
- Metabolismo 155
- Sporulazione 155
- Moltiplicazione 155

La cellula eucariotica 155

- Forma e dimensioni 156
- Il nucleo, struttura distintiva delle cellule eucariotiche 157
- Il citosol 158
- I ribosomi e la sintesi delle proteine 159
- Il reticolo endoplasmatico ruvido 160
- L'apparato di Golgi 160
- Esocitosi ed endocitosi 161
- I lisosomi 161
- Il reticolo endoplasmatico liscio 162
- I mitocondri 163
- Perossisomi e microcorpi 164
- Il citoscheletro: microtubuli, microfilamenti e filamenti intermedi 164
- Ciglia e flagelli 165
- La divisione cellulare: la mitosi e il ciclo cellulare 166
- Strutture specializzate delle cellule vegetali 167
- La matrice extracellulare 168
- L'adesione cellula-cellula 169
- Giunzioni cellulari 170

Organismi mono- e pluricellulari 171

- Livelli di organizzazione negli organismi pluricellulari 172

I virus 172

- Struttura e morfologia 173
- Tropismo dei virus 173
- Il genoma virale 174
- L'infezione virale 174
- L'infezione virale nei batteri 174
- L'infezione virale nelle cellule eucariotiche 175
- I virus oncogeni 175

PARTE II

STRUTTURA E FUNZIONE DELLA CELLULA E DELLE SUE PARTI

Capitolo 7

Le membrane biologiche 179

Composizione chimica delle membrane biologiche 180

I lipidi di membrana 180

- I glicerofosfatidi 180
- Gli sfingolipidi 182
- I glicosil-diacil-gliceroli 183
- Gli steroli 184
- I lipidi polari formano spontaneamente membrane a doppio strato lipidico 185

Il mosaico fluido e le proteine di membrana 188

- Il mosaico fluido 188
- Gli esperimenti che hanno dimostrato l'esistenza della struttura a mosaico fluido 190

Le proteine di membrana 192

- Molte funzioni delle membrane dipendono dalla presenza di specifiche proteine 192
- Le proteine di membrana presentano particolari strutture 193
- Molte proteine di membrana sono glicoproteine 195

Le membrane biologiche possono fondersi fra loro in condizioni controllate 196

I meccanismi di trasporto di ioni e sostanze polari attraverso le membrane 196

La diffusione semplice 198

- L'osmosi: risorsa per alcuni tipi di cellule e problema per altri 198
- Le porine: una via di mezzo tra canali e trasportatori 199

La diffusione facilitata 200

- Caratteristiche della diffusione facilitata 200
- Il meccanismo d'azione delle proteine coinvolte nella diffusione facilitata 201
- Un esempio di diffusione facilitata mediata da proteine carrier: il trasporto del glucosio attraverso la membrana plasmatica 202
- Esempi di diffusione facilitata mediata da proteine canale: le acquaporine, canali che facilitano la diffusione dell'acqua attraverso le membrane 203
- Esempi di diffusione facilitata mediata da proteine canale: i canali ionici sono in grado di discriminare tra i vari ioni 203
- L'apertura e la chiusura di molti canali ionici sono regolate da specifici segnali 204
- I canali a controllo di voltaggio sono tipici dei tessuti eccitabili 205
- I canali ligando-dipendenti sono tipici di molte sinapsi 207

Il trasporto attivo 209

- Caratteristiche del trasporto attivo 209
- Il trasporto attivo diretto 210
- Le pompe di tipo P 211
- Le pompe di tipo V 214
- Le pompe di tipo F 215
- Le pompe di tipo ABC 216
- La batteriorodopsina: una pompa protonica che utilizza l'energia luminosa 217
- Il trasporto attivo indiretto (o secondario) 218

Capitolo 8

Il flusso di energia attraverso la materia vivente: il ruolo di mitocondri e cloroplasti 221

Il ruolo dell'ATP nel metabolismo energetico delle cellule 222

- Il passaggio di energia dalle reazioni esoergoniche a quelle endoergoniche avviene grazie all'accoppiamento delle reazioni 223

Le reazioni di ossidoriduzione forniscono l'energia per la sintesi dell'ATP 224

- La sintesi dell'ATP nelle cellule avviene con due meccanismi distinti 224

Nella fosforilazione a livello del substrato solo alcuni composti possono donare un fosfato all'ADP per formare ATP 224

Composti di natura chimica diversa fungono da coenzimi nelle ossidoriduzioni biologiche 225

A seconda della natura dell'accettore ultimo di elettroni, il metabolismo delle cellule può essere aerobio o anaerobio 229

La demolizione dei composti organici avviene attraverso vie cataboliche convergenti 230

Nelle cellule eucariotiche le vie cataboliche sono compartimentalizzate 231

La glicolisi consente alle cellule di ottenere ATP in assenza di ossigeno 231

Il principale punto di regolazione del flusso di metaboliti lungo la glicolisi è a livello della fosfofruttochinasi 233

Il continuo funzionamento della glicolisi richiede l'utilizzazione di un composto che funge da accettore di elettroni: le fermentazioni 234

I mitocondri e la produzione aerobica di ATP 235

La struttura dei mitocondri 235

Nella matrice mitocondriale la parziale ossidazione di piruvato, acidi grassi e dello scheletro di alcuni amminoacidi converge nella formazione di acetil-coenzima A 236

L'acetil-coenzima A è completamente ossidato a CO₂ nel ciclo di Krebs 239

Le ossidazioni che avvengono nella matrice mitocondriale producono la maggior parte dei coenzimi ridotti della cellula 241

La comprensione dei meccanismi della respirazione cellulare e della fosforilazione ossidativa è stata possibile grazie alla combinazione di un approccio molecolare e di uno olistico 241

La catena respiratoria è formata da trasportatori di elettroni i cui gruppi prostetici vanno incontro a cicliche ossidoriduzioni in una successione dettata dai loro potenziali di ossidoriduzione 241

I trasportatori di elettroni sono organizzati in complessi multiproteici collegati da trasportatori mobili di elettroni 243

L'energia liberata dalle ossidoriduzioni che avvengono nei complessi I, III e IV è sfruttata per espellere protoni attraverso la membrana mitocondriale creando un gradiente elettrochimico attraverso di essa 245

La F₀F₁ ATPasi è una straordinaria macchina che trasforma energia elettrochimica in energia chimica dell'ATP 248

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa sono strettamente accoppiati: il trasporto di elettroni dipende dalla quantità di ADP nel mitocondrio 252

L'antiporto ATP/ADP garantisce che le ossidazioni mitocondriali avvengano solo quando la cellula ha necessità di energia 252

Il passaggio di metaboliti e ioni attraverso la membrana mitocondriale interna è assicurato da specifici trasportatori 253

In assenza di trasportatori di nucleotidi piridinici, gli equivalenti riducenti formati nel citoplasma vengono trasferiti nella matrice da sistemi "navetta" tra citosol e matrice 253

I mitocondri sono coinvolti anche in altri processi di grande importanza per il funzionamento delle cellule 255

La matrice mitocondriale è sede della replicazione del DNA mitocondriale e della sintesi di alcune delle catene polipeptidiche degli enzimi della membrana 256

I perossisomi e le ossidoriduzioni che non producono ATP 256

La produzione e la demolizione dell'acqua ossigenata 257

Il ciclo del gliossilato e la possibilità per batteri e tessuti vegetali di produrre glucosio dagli acidi grassi 258

I cloroplasti e la fotosintesi 259

La struttura dei cloroplasti 260

La clorofilla e gli altri pigmenti fotosintetici 261

L'organizzazione dei pigmenti fotosintetici e delle ossidoreduttasi nelle membrane tilacoidali 262

Le reazioni della fase luminosa trasformano l'energia luminosa nell'energia chimica dell'ATP e del NADPH ridotto 264

Le reazioni della fase oscura utilizzano ATP, NADPH e CO₂ per sintetizzare glucosio: il ruolo della rubisco 268

Le strategie per aggirare la bassa efficienza della rubisco: piante C3, C4 e CAM 271

La fotosintesi nei procarioti 272

Capitolo 9

La membrana plasmatica: un confine che controlla il transito di composti ed informazioni 275

Le funzioni della membrana plasmatica: una rapida panoramica 276

La membrana plasmatica delle cellule procariotiche 277

La membrana plasmatica delle cellule eucariotiche 279

Morfologia e struttura 279

Le due facce della membrana plasmatica hanno caratteristiche molto diverse 279

La fluidità della membrana è indispensabile al suo funzionamento 280

Nella membrana delle cellule eucariotiche la mobilità delle singole molecole è soggetta a vincoli 280

Al di sotto della membrana plasmatica delle cellule prive di parete cellulare si trova uno "scheletro" di proteine citoplasmatiche che la rafforzano 281

Il traffico di composti attraverso la membrana 284

Le modalità di controllo del trasporto attraverso le membrane 284

Integrazione delle funzioni della membrana plasmatica fra di loro e con quelle del citoplasma 285

I fenomeni elettrici associati alla membrana plasmatica sono alla base di importanti processi biologici 287

Il potenziale di membrana 287

Il potenziale d'azione 288

La conduzione degli impulsi nervosi 291

Il passaggio degli impulsi nervosi da una cellula all'altra: le sinapsi 294

L'integrazione degli stimoli a livello delle cellule nervose 298

Molti veleni, tossine e farmaci agiscono a livello delle sinapsi chimiche 299

Segnali extracellulari e trasduzione del segnale 300

Caratteri generali dei sistemi di segnalazione cellulare 300

La segnalazione tra cellule negli organismi pluricellulari 302

I principali sistemi di trasduzione del segnale 303

Recettori accoppiati a proteine G 303

Le proteine G: timer molecolari attivati dai recettori 304

I secondi messaggeri: molecole mobili all'interno della cellula con effetti diversi a seconda della proteina bersaglio 306

Trasduzione del segnale: la via dell'AMP ciclico 306

I secondi messaggeri derivati dal fosfatidil-inositolo 310

Le rodopsine: fotorecettori accoppiati a proteine G 313

L'ossido nitrico è coinvolto nella trasduzione del segnale che causa il rilassamento della muscolatura liscia dei vasi sanguigni 315

I recettori dotati di attività protein-chinasica 316

Il meccanismo di attivazione dei recettori dotati di attività tirosina chinasica 318

La proteina Ras e le piccole proteine G monomeriche 320

La via di Ras-MAP chinasi 320

Un singolo recettore dotato di attività tirosina chinasica può attivare diverse vie di segnalazione 322

Diverse vie di trasduzione del segnale possono convergere, divergere ed influenzarsi a vicenda 324

RIQUADRO 9.1 *La via di segnalazione Wnt e la β -catenina: una molecola per tutte le stagioni* 326

Capitolo 10

Riconoscimento e interazioni tra cellule 331

Il riconoscimento tra cellule 332

- I gruppi sanguigni 332
- Il complesso maggiore di istocompatibilità 334

L'adesione cellula-cellula 337

- I meccanismi di adesione cellula-cellula e le proteine di adesione 338
- Le Ig-CAM 338
- Le selectine 339
- Le caderine 339
- Le CAM neurali (N-CAM e L1-CAM) sono coinvolte nell'organizzazione dei fasci di neuroni 339
- Il ruolo delle Ig-CAM, delle selectine e delle integrine nelle interazioni leucociti/cellule endoteliali durante il processo di extravasazione 340
- La caderina nella transizione epitelio-mesenchima: dallo sviluppo embrionale alla patogenesi 340

Le giunzioni specializzate cellula-cellula negli epiteli 343

- Le giunzioni occludenti (o strette) sigillano le cellule impedendo il passaggio di molecole tra cellule adiacenti 343
- Le giunzioni aderenti ancorano una cellula alle cellule adiacenti 345
- I desmosomi 346
- Le giunzioni comunicanti 347
- I plasmodesmi 348

Capitolo 11

La matrice extracellulare 349

Strutture extracellulari delle cellule dei tessuti animali 350

- La fibronectina 351
- Le laminine 353
- I collageni 354
- Le elastine 357
- I proteoglicani e i GAG 358
- Lo ialuronato esiste come GAG associato ai proteoglicani o in forma libera 360
- La lamina basale 361

Adesione cellulare alla matrice extracellulare 362

- Le integrine 362
- Le integrine e le adesioni focali 364
- Le integrine negli emidesmosomi 365
- Integrine e segnalazione 365

Strutture extracellulari delle cellule vegetali 365

- Le molecole della parete cellulare e la loro organizzazione 366
- La sintesi della parete cellulare 367

Strutture extracellulari delle cellule procariotiche 368

- La parete cellulare dei batteri Gram-positivi 369
- La parete cellulare dei batteri Gram-negativi 370
- Lo spazio periplasmatico e le sue funzioni 372
- Il meccanismo di sintesi della parete cellulare nei procarioti 373
- La capsula batterica 373

Capitolo 12

Il citoscheletro e la motilità cellulare 375

Ruolo del citoscheletro e delle strutture contrattili 376

I microtubuli 376

- Struttura dei microtubuli: le tubuline 377
- Assemblaggio e stato dinamico dei microtubuli 378

- I centri di organizzazione dei microtubuli: ruolo della γ -tubulina 380
- Le proteine associate ai microtubuli 381
- Farmaci che interferiscono con i microtubuli 384
- Funzioni strutturali e motorie dei microtubuli: proteine motrici associate ai microtubuli 385
- Le kinesine, "facchini" che trasportano "carichi" lungo i microtubuli verso l'estremità più 385
- Le dineine citoplasmatiche trasportano vescicole ed organelli verso l'estremità meno 387
- Ciglia e flagelli: struttura e movimenti 388
- Il ciglio primario: una "antenna" cellulare 390

RIQUADRO 12.1 Tutta un'altra storia 391

I microfilamenti 393

- L'actina: struttura, assemblaggio, disassemblaggio e polarità dei filamenti 393
- Le proteine che legano l'actina e le loro funzioni 394
- Le proteine che regolano la polimerizzazione/depimerizzazione dell'actina sono a loro volta regolate 394
- Diverse proteine organizzano la disposizione spaziale dei microfilamenti 398
- L'assemblaggio/disassemblaggio dei filamenti di actina è alla base della motilità cellulare, dell'allungamento degli assoni e dei cambiamenti di forma delle cellule durante lo sviluppo embrionale 399
- Le miosine ed i movimenti di organelli mediati da miosine 400
- Tipi di fibrocellule muscolari 404
- La contrazione del muscolo striato 405
- L'accoppiamento stimolo-contrazione 407
- La contrazione del muscolo liscio 407
- Integrazione tra motilità microtubulo- e microfilamento-mediata 408

I filamenti intermedi 409

- I filamenti intermedi sono costituiti da un gruppo eterogeneo di proteine 409

Capitolo 13

I sistemi di membrane citoplasmatiche 413

Il traffico di vescicole tra i compartimenti cellulari 414

Il reticolo endoplasmatico 419

- Il reticolo endoplasmatico ruvido (RER) è coinvolto nella sintesi, nel ripiegamento, nella modificazione co-traduzionale e nel controllo di qualità di una rilevante parte del proteoma della cellula 420

RIQUADRO 13.1 Come evitare che le proteine destinate agli organelli esplichino la loro attività prima di aver raggiunto la loro destinazione finale: il modello del molten globule 421

RIQUADRO 13.2 Il ruolo del glutatione nel mantenere i gruppi sulfidrilici delle proteine del citosol allo stato ridotto 423

- Il sistema di controllo di qualità delle proteine sintetizzate nel RER porta al trasferimento nel citosol di quelle irrimediabilmente mal ripiegate 425
- Tra reticolo endoplasmatico ruvido ed apparato di Golgi si svolge un intenso traffico bidirezionale di vescicole 425
- Le vescicole rivestite da COPII 427

L'apparato di Golgi 428

RIQUADRO 13.3 Il meccanismo di avanzamento del materiale lungo l'apparato di Golgi è ancora controverso 430

- Le vescicole ricoperte da COPI 431
- Nel *trans*-Golgi network avviene lo smistamento delle proteine destinate ai lisosomi, alla membrana plasmatica e alla secrezione (regolata e non) 431
- Le vescicole rivestite di clatrina 432

Le vescicole destinate ai lisosomi 434
 Vescicole rivestite da complessi di retromero riportano i recettori del mannosio 6-fosfato al TGN 435

L'esocitosi 436

La secrezione costitutiva 436
 La secrezione regolata 437

Endocitosi e fagocitosi: come la cellula internalizza materiale di grosse dimensioni 438

L'endocitosi si basa sulla gemmazione di vescicole dalla membrana plasmatica verso il citoplasma 438
 L'endocitosi mediata da recettori è un processo altamente specifico 439
 La fagocitosi permette alle cellule di inglobare particelle di grandi dimensioni 440
 Attraverso l'autofagia la cellula demolisce e ricicla organelli usurati 441

Gli endosomi 442

Gli endosomi: un nuovo modo di comunicazione tra cellule 444

I lisosomi 444

Funzioni del lisosoma 445
 Patologie lisosomiali 446

Il reticolo endoplasmatico liscio 447

Il REL è la sede della sintesi dei lipidi delle membrane 447
 Il REL ha un ruolo centrale nel regolare i livelli di Ca^{2+} nel citosol 448
 Il REL svolge un ruolo fondamentale nei processi di detossificazione 449

Il processo di detossificazione 449

Caratteristiche generali degli enzimi di detossificazione 449
 Ruolo del REL nella fase I della detossificazione 450
 Il citosol e la fase II della detossificazione 451
 La membrana plasmatica e la fase III della detossificazione 452
 Gli enzimi di detossificazione sono inducibili 453

RIQUADRO 13.4 *Il vacuolo centrale delle cellule vegetali e le sue molteplici funzioni* 454

Capitolo 14

Il nucleo 455

La struttura del nucleo interfascio 457

L'involucro nucleare 457
 La lamina nucleare 458
 Il complesso del poro controlla il traffico di molecole da e per il nucleo 459
 L'importazione e l'esportazione di proteine nel nucleo 461
 L'esportazione di RNA dal nucleo 461

La cromatina 462

Proteine associate al DNA: istoni e proteine non istoniche 462
 Gli istoni e la loro struttura 463
 La struttura base della cromatina: il nucleosoma 464
 I livelli superiori di compattamento della cromatina 465
 Eucromatina ed eterocromatina 468
 Il ruolo degli istoni e delle loro modificazioni nel determinare lo stato di compattamento della cromatina 469

La matrice nucleare 471

I cromosomi metafasici 471

Struttura dei cromosomi: centromero e telomeri 472
 L'analisi dei cromosomi e il cariotipo 475

Il nucleo come compartimento altamente organizzato 477

I territori cromosomici 477
 Il nucleolo 477
 Gli altri sottocompartimenti nucleari 478

L'organizzazione del DNA nel nucleo delle cellule procariotiche 479

PARTE III

IL FLUSSO DI INFORMAZIONE ALL'INTERNO DELLA CELLULA

Capitolo 15

Il dogma centrale della biologia molecolare rivisitato 485

Il DNA è il depositario dell'informazione genetica 486

Se introdotto in una cellula, il DNA ne modifica stabilmente le caratteristiche ereditarie 486
 Il contenuto in DNA del nucleo delle cellule somatiche di organismi della stessa specie è costante: il valore C 488
 L'esperimento di Beadle e Tatum e la definizione di gene 489
 Definizione di genoma e classificazione funzionale dei diversi tipi di sequenze di DNA 489
 I geni sono allineati in successione lungo le molecole di DNA 491

L'informazione del DNA non viene direttamente utilizzata per la sintesi delle proteine 492

La dimostrazione dell'esistenza dell'mRNA 492

Il flusso di informazione all'interno della cellula 492

RIQUADRO 15.1 *Gli esperimenti di Brenner, Jacob e Meselson* 493

Condizioni ambientali possono modificare l'informazione genetica 494

Capitolo 16

L'organizzazione dei genomi 495

Le dimensioni dei genomi riflettono solo approssimativamente la complessità degli organismi 496

I genomi virali sono estremamente compatti e contengono un numero limitato di geni 497

A causa della limitata disponibilità di spazio, vari virus hanno evoluto diverse strategie di compattamento dell'informazione genetica 498
 Requisiti minimi per un genoma virale 499

Il genoma dei procarioti 499

I genomi dei procarioti contengono una singola origine di replicazione 500
 Spesso i geni strutturali per proteine enzimatiche coinvolte nella stessa via metabolica sono organizzati in operoni 501
 I geni strutturali per gli rRNA e i tRNA possono essere presenti in diversi esemplari 501
 In molti batteri sono presenti addizionali molecole di DNA, i plasmidi, dotati di una propria origine di replicazione e contenenti un numero limitato di geni 501

Il genoma degli eucarioti 502

Il genoma degli eucarioti è costituito da molecole lineari di DNA, ciascuna delle quali costituisce un cromosoma; il loro numero è tipico di ciascuna specie 502
 I paradossi dei valori C e G 502

RIQUADRO 16.1 *L'evoluzione di organismi sempre più complessi comporta l'acquisizione di nuovi geni* 503

Procedendo nella scala evolutiva degli eucarioti, diminuisce il numero di geni codificanti per Mb di genoma 503
 Buona parte dei geni eucariotici è costituita dall'alternanza di segmenti codificanti e di segmenti non codificanti 504
 Il genoma umano contiene un numero di geni codificanti per proteine molto inferiore all'atteso 505
 Nel genoma eucariotico sono presenti sequenze uniche, sequenze mediamente ripetute e sequenze altamente ripetute 505
 Sequenze altamente ripetute in tandem sono presenti nei centromeri e nei telomeri di ciascun cromosoma eucariotico 507

Tra le sequenze mediamente ripetute si trovano geni per gli rRNA e per gli istoni, e molte sequenze non codificanti 508
 Le sequenze mediamente ripetute in tandem comprendono macrosatelliti, minisatelliti e microsattelliti 509
 Mini- e microsattelliti sono altamente polimorfici e trovano applicazioni in medicina legale 509
 Sequenze altamente ripetute intersperse: SINE e LINE 510

La plasticità dei genomi 510

I diversi fattori che alterano la struttura dei genomi agiscono con frequenza ed efficienza estremamente diverse 510
 Le mutazioni genomiche modificano la ploidia delle cellule 511
 I riarrangiamenti cromosomici possono produrre duplicazioni o delezioni di singoli geni o gruppi di geni 512

RIQUADRO 16.2 *CNV: i cambiamenti del numero di copie di geni sono frequenti nel nostro genoma* 513

Gli elementi trasponibili spostano segmenti di DNA da un punto all'altro del genoma 514
 I trasposoni batterici 514
 I trasposoni delle cellule eucariotiche: trasposoni a DNA e retrotrasposoni 515
 Importanza dei trasposoni nell'evoluzione del genoma umano 516
 Famiglie e superfamiglie geniche e pseudogeni 518
 Meccanismi di formazione delle famiglie geniche 518

Capitolo 17

La trascrizione 521

Aspetti generali della trascrizione 522

La trascrizione nelle cellule procariotiche 524

Fase di inizio della trascrizione batterica 525
 Fasi di allungamento e di terminazione della trascrizione batterica 525

La trascrizione nelle cellule eucariotiche 527

I promotori eucariotici e il meccanismo di reclutamento della RNA polimerasi II 528
 La fase di allungamento della trascrizione 531
 La terminazione e il concetto di "fabbrica trascrizionale" 531
 La trascrizione mediata dalla RNA polimerasi I 532
 La trascrizione mediata dalla RNA polimerasi III 534

Capitolo 18

Maturazione degli RNA 535

Gli RNA codificanti e non codificanti 536

La maturazione degli RNA messaggeri e dei long non-coding RNA negli eucarioti 536

Il ruolo della RNA polimerasi II nell'organizzare la maturazione degli RNA 536
 Le modificazioni delle estremità del trascritto primario: il capping e la poliadenilazione 537
 Lo splicing: giunzioni esone-introne; la chimica dello splicing; lo spliceosoma 539
 Lo splicing alternativo: esempi e meccanismo di regolazione 544

RIQUADRO 18.1 *Esempi di splicing alternativo* 546

Lo splicing autocatalitico: lo spliceosoma come ribozima 547

L'editing dell'RNA 548

RIQUADRO 18.2 *Ruolo degli introni e teorie evolutive* 549

Il trasferimento dei messaggeri nel citoplasma 553

La sintesi e la maturazione degli rRNA, tRNA e dei piccoli RNA 555

La maturazione degli rRNA 555

RIQUADRO 18.3 *L'assemblaggio dei ribosomi: un processo multistep* 556

La maturazione dei tRNA 558

La maturazione dei piccoli RNA 558

Capitolo 19

La traduzione 563

Esiste colinearità tra un gene e la corrispondente catena polipeptidica 565

Il codice genetico 566

Il codice non va confuso con l'informazione genetica 566
 Affinché 4 nucleotidi diversi identifichino 20 amminoacidi sono necessarie combinazioni di almeno tre nucleotidi successivi: le possibili disposizioni delle triplette 566
 L'effetto della sostituzione di una singola base dimostra che le triplette non sono sovrapposte, mentre quello delle mutazioni *frame-shift* che il codice è a triplette "senza virgole" 567
 I principali esperimenti che hanno permesso la decifrazione del codice 570
 Le caratteristiche generali del codice 571
 Gli RNA transfer sono gli adattatori che collegano il "linguaggio" dei nucleotidi a quello degli amminoacidi 572
 Ridondanza e ipotesi del "vacillamento" (wobble hypothesis) 575
 Eccezioni all'universalità del codice genetico 576

Il "macchinario" della sintesi delle proteine 576

La sintesi delle proteine avviene a livello dei ribosomi: dimostrazione che essi vanno incontro a cicli di associazione/dissociazione 576
 La struttura dei ribosomi 578
 Per funzionare, i ribosomi hanno bisogno di fattori di traduzione 581
 Il ruolo dell'mRNA e delle sue parti nella sintesi delle proteine 581
 Il ruolo dei tRNA nella sintesi delle proteine 582
 Le amminoacil-tRNA sintetasi riconoscono i singoli amminoacidi e i corrispondenti tRNA e li legano fra loro 582
 Una volta legato ad un tRNA, l'identità dell'amminoacido è definita dall'anticodone del tRNA 584

Il meccanismo generale della traduzione 584

La sintesi proteica procede per aggiunte successive di singoli amminoacidi a partire dall'estremità N-terminale, mentre l'mRNA viene letto a partire dall'estremità 5' 584
 La traduzione comprende diverse fasi: inizio, allungamento e terminazione 585

La traduzione nei procarioti 586

La fase di inizio: ruolo della sequenza di Shine e Dalgarno, codone di inizio, amminoacil-tRNA iniziatore 586
 La fase di allungamento: adattamento degli amminoacil-tRNA, transpeptidazione, traslocazione 588
 La fase di terminazione: il riconoscimento dei codoni di stop 591
 Diversi ribosomi si succedono lungo una stessa molecola di messaggero portando catene in corso di sintesi progressivamente più lunghe: poliribosomi 592

La traduzione negli eucarioti 592

Fase di inizio e amminoacil-tRNA iniziatore, fattori di inizio 592

RIQUADRO 19.1 *La traduzione nel nucleo: un enigma che perdura* 594

Adattamento, transpeptidazione e traslocazione 595

La terminazione negli eucarioti 595

Il ripiegamento delle catene polipeptidiche neosintetizzate 595

Capitolo 20

Le modificazioni post-traduzionali delle proteine e lo smistamento verso le loro destinazioni finali 597

Chaperon, chaperonine e co-chaperon facilitano il corretto ripiegamento delle catene polipeptidiche 599

RIQUADRO 20.1 *La scoperta delle HSP* 601

Visione generale dello smistamento delle proteine nelle cellule eucariotiche; ruolo delle sequenze segnale di destinazione 601

Come l'ambiente influenza la conformazione delle proteine 601

La sintesi di tutte le proteine inizia sui ribosomi liberi nel citoplasma, ma subito dopo si verifica un primo smistamento 603

Modificazioni post-traduzionali delle proteine che coinvolgono legami covalenti 605

Eventi proteolitici 605

Modificazioni di amminoacidi 606

Aggiunta di ancoraggi alla membrana 607

Ruolo di sequenza segnale, SRP e trasloconi nell'importazione co-traduzionale delle proteine nel RER 608

La rimozione della sequenza segnale 609

RIQUADRO 20.2 *La scoperta dei meccanismi alla base della "via secretiva"* 611

Nel caso delle proteine solubili, esse sono rilasciate nel lume delle cisterne, il traslocone si chiude e il ribosoma si stacca dalla membrana e si dissocia 613

La distinzione tra proteine destinate al lume cisternale e proteine di membrana è codificata nella sequenza amminoacidica, che contiene segnali di stop e di inizio del trasferimento 613

Le modificazioni co-traduzionali a carico delle proteine nel RER 614

A livello del RER avviene una N-glicosilazione che coinvolge il dolicolo fosfato dapprima sulla faccia citoplasmatica e poi su quella cisternale della membrana 614

Chaperon e disolfuro isomerasi facilitano il corretto ripiegamento delle catene nascenti 615

A livello del RER si verifica un controllo di qualità delle proteine neosintetizzate 616

Le proteine incapaci di assumere la corretta conformazione nel RE sono trasportate nel citosol e avviate alla degradazione: il meccanismo ERAD 616

L'accumulo nel lume del RE di proteine non correttamente ripiegate determina una risposta cellulare di allarme: la UPR 616

ATF6 617

IRE1 618

PERK 619

I vari ruoli e la regolazione dell'apparato di Golgi 619

Le proteine sono trasferite all'apparato di Golgi da vescicole di trasporto e procedono dal CGN verso il TGN subendo tappe successive di maturazione e di smistamento 619

Le proteine residenti nel RER, identificate dalla sequenza KDEL, sono riportate al RER con un trasporto retrogrado da vescicole rivestite da COPI 620

La componente oligosaccaridica delle proteine viene completata nell'apparato di Golgi per rimozione e aggiunta di monosaccaridi 621

Nell'apparato di Golgi si verifica anche la glicosilazione dei glicolipidi e la sintesi dei polisaccaridi complessi della matrice extracellulare 621

A livello del *trans* Golgi network avviene lo smistamento delle proteine verso gli organelli di destinazione o verso la secrezione 623

La secrezione costitutiva indirizza le vescicole verso la membrana plasmatica; nelle cellule polarizzate la secrezione può essere diretta verso una specifica superficie 623

La secrezione regolata comporta la formazione di granuli di secrezione 623

Le proteine destinate ai lisosomi sono caratterizzate da mannosio fosfato e sono riconosciute da un recettore della membrana dalla quale gemmano vescicole rivestite di clatrina 624

Lo smistamento post-traduzionale delle proteine sintetizzate nel citosol ai diversi organelli 625

Le proteine sono importate nei perossisomi mantenendo la loro conformazione nativa 625

Le proteine destinate ai mitocondri presentano un duplice segnale: per l'attraversamento della membrana esterna e per quello della membrana interna 626

Anche il trasferimento delle proteine nei cloroplasti coinvolge un duplice segnale: l'intervento di chaperon e chaperonine 630

Il traffico bidirezionale di proteine attraverso i pori nucleari coinvolge le carioferine e la proteina Ran 631

Regolazione del traffico nucleo-citoplasmatico delle proteine 633

Capitolo 21

La regolazione dell'espressione genica 637

La regolazione dell'espressione genica nei procarioti 638

Espressione genica costitutiva e regolata 638

L'unità funzionale responsabile del controllo della sintesi delle proteine a livello della trascrizione nei procarioti è l'operone 638

Un esempio di operone inducibile: l'operone *lac* di *E. coli* 641

RIQUADRO 21.1 *Come Jacob e Monod sono giunti all'identificazione dell'operone* 642

Il controllo positivo degli operoni catabolici: la repressione da cataboliti e il ruolo del cAMP 644

L'attenuazione interviene nel regolare l'espressione di molti operoni biosintetici dopo che la trascrizione è iniziata 644

I riboswitch: l'interazione tra RNA e piccole molecole regolatrici senza l'intervento di proteine modifica la conformazione dell'RNA modulando la trascrizione o la traduzione 646

La regolazione dell'espressione genica negli eucarioti 647

Le cellule somatiche degli eucarioti superiori contengono tutte la stessa informazione genetica; il differenziamento comporta l'espressione differenziale dei geni nel tempo e nello spazio 647

John B. Gurdon e la clonazione di un anfibio mediante trasferimento nucleare 648

Wilmot e Campbell e la clonazione di un mammifero: la pecora Dolly 649

Frederick C. Steward e la clonazione nel regno vegetale 649

I diversi livelli a cui avviene la regolazione dell'espressione genica negli eucarioti 649

Controllo a livello genomico 649

Modificazioni genomiche associate alla regolazione dell'espressione genica: amplificazione dei geni per gli rRNA di *Xenopus* e riarrangiamento dei geni per le immunoglobuline 650

Controllo a livello della conformazione della cromatina 651

Dimostrazione che la decondensazione della cromatina è collegata alla trascrizione: i puff dei cromosomi politenici 652

La decondensazione della cromatina è collegata alla trascrizione: sensibilità alla DNasi I 652
 Le citosine dei geni non trascritti tendono ad essere ipermetilate e il grado di metilazione trasmesso da una generazione cellulare all'altra è alla base dell'imprinting 653
 Le modificazioni covalenti post-traduzionali degli istoni 655
 Le proteine HMG 657
 I complessi di rimodellamento della cromatina 658
 I repressori trascrizionali reclutano istone deacetilasi e metil-transferasi 661
 L'inattivazione del cromosoma X nelle cellule somatiche delle femmine di mammifero è un esempio complesso di regolazione epigenetica 661

Controllo a livello della trascrizione 662

Sequenze del DNA coinvolte nella regolazione della trascrizione: elementi di controllo prossimali, enhancer e silencer 662
 Struttura generale dei fattori di trascrizione: dominio di legame al DNA e dominio di attivazione 663
 I geni omeotici e i loro prodotti 664
 Il livello di espressione di un gene dipende dalla particolare combinazione di fattori attivanti e inibenti la trascrizione presente in un dato momento in una data cellula 665
 Il controllo della trascrizione in risposta a stimoli extracellulari: l'esempio dei recettori per gli ormoni steroidei 665
 Il controllo della trascrizione in risposta a stimoli extracellulari: il ruolo della regolazione per fosforilazione/defosforilazione, l'esempio di CREB e STAT 668
 Il controllo della trascrizione in risposta a stimoli extracellulari: geni heat-shock 669

Controllo post-trascrizionale 670

Lo splicing alternativo: importanza degli enhancer esonici e delle proteine che li legano nel determinare il riconoscimento di siti di splicing 670
 Controllo a livello dell'esportazione dal nucleo 671

Controllo a livello della traduzione 671

Controllo della localizzazione citoplasmatica dei messaggeri: ruolo degli zip-code nei 3'-UTR 671
 Ruolo del controllo generalizzato della traduzione attraverso fosforilazione/defosforilazione dei fattori di inizio e di allungamento 673
 I repressori traduzionali: il caso della regolazione della ferritina da parte del ferro 673
 Controllo della stabilità dei messaggeri: ruolo della coda di poli-A e dell'esosoma 674
 Sequenze stabilizzanti e destabilizzanti al 3'-UTR 676
 Interferenza da RNA: ruolo dei siRNA e dei miRNA 676

Controllo post-traduzionale 681

Ruolo del proteasoma e dell'ubiquitinazione nella degradazione delle proteine 681
 Segnali predefiniti per la longevità delle proteine (amminoacido N-terminale, degroni) e segnali funzionali (fosforilazione) 683

Capitolo 22

Sistemi genetici citoplasmatici 685

Mitocondri e cloroplasti sono organelli semiautonomi 686

La biogenesi dei mitocondri 686

Il sistema genetico mitocondriale 687

Il DNA mitocondriale degli animali è quello di dimensioni minori e quello in cui si verifica il massimo "compattamento" dell'informazione 687
 Ogni mitocondrio contiene diverse copie di DNA mitocondriale 688
 Il DNA mitocondriale umano codifica per una quarantina di geni 689
 La replicazione del DNA mitocondriale avviene con un meccanismo diverso e temporalmente indipendente da quello del DNA nucleare 690
 Caratteristiche dei geni e della loro espressione nei mitocondri degli animali 691
 Il codice genetico utilizzato dai mitocondri presenta eccezioni all'universalità 692
 Il meccanismo della sintesi proteica all'interno del mitocondrio assomiglia a quello dei procarioti 692
 La sensibilità agli antibiotici dei ribosomi mitocondriali animali è simile a quella dei procarioti 693

Il sistema dei cloroplasti 693

Anche il genoma dei cloroplasti è formato da molecole di DNA circolari, le cui dimensioni variano a seconda della specie 695
 Il DNA dei cloroplasti viene replicato a partire da due origini, senza la formazione di frammenti di Okazaki 695
 Il DNA dei cloroplasti contiene in media 140 geni 695
 La trascrizione e la traduzione dei cloroplasti sono molto simili a quelle procariotiche 696

Capitolo 23

I virus 699

Le strutture dei virus e il tropismo virale 700

Tropismo dei virus 701

Classificazione dei virus 702

L'infezione virale 704

L'infezione virale nei batteri 704
 I batteriofagi virulenti causano inevitabilmente la lisi del batterio infettato 704
 I batteriofagi temperati: ciclo litico o lisogenia? 706

L'infezione virale nelle cellule animali 709

I virus oncogeni 711

RIQUADRO 23.1 *L'infezione da HPV (human papilloma virus) e l'insorgenza di tumori nell'uomo 712*

RIQUADRO 23.2 *Il virus di Epstein-Barr e l'insorgenza di tumori nell'uomo 713*

I viroidi e i virusoidi 714

Ipotesi sull'origine dei virus 714

PARTE IV

**IL FLUSSO DI INFORMAZIONE
 DA UNA GENERAZIONE CELLULARE ALL'ALTRA**

Capitolo 24

La replicazione del DNA 717

Una panoramica del meccanismo 718

La replicazione del DNA è semiconservativa 718
 Il replicone 719
 Identificazione e isolamento del replicatore di *E. coli* 721
 Ricerca delle origini di replicazione negli eucarioti 722

Le fasi della replicazione del DNA 723

Preinizio 724

- La DNA elicasi srotola la doppia elica del DNA creando una zona a singolo filamento utilizzabile dagli enzimi adibiti alla polimerizzazione di nucleotidi 725
- Le SSB stabilizzano il DNA a singolo filamento prima della sua replicazione 725
- Le topoisomerasi rimuovono i superavvolgimenti creati dall'espansione contrapposta delle due forcelle replicative 726
- Preinizio negli eucarioti 726

Fase di inizio 728

- La polimerizzazione di un nuovo filamento di DNA è resa possibile da un innesco di RNA 728
- Sintesi continua e discontinua del DNA 729

Fase di allungamento 729

- Nella cellula sono presenti diversi tipi di DNA polimerasi con ruoli differenti 729
- Struttura molecolare e funzionamento delle DNA polimerasi 730
- La "sliding DNA clamp" conferisce alla DNA polimerasi una elevata processività 731
- La sliding DNA clamp viene aperta e posizionata sul DNA da una proteina posizionatrice 732
- La sintesi del DNA avviene alla forcella replicativa contemporaneamente sui due filamenti 732

Fase di terminazione 733

- La decatenazione dei due cromosomi circolari neosintetizzati richiede l'attività della topoisomerasi di tipo II 735
- Le estremità dei cromosomi lineari richiedono una particolare strategia per essere replicate 735
- La telomerasi: struttura e funzioni 735
- Ricostituzione della cromatina immediatamente dopo il transito della forcella replicativa 735

Il cromosoma viene replicato una sola volta durante il ciclo cellulare 738

Le mutazioni del genoma e la riparazione del DNA 739

- Errori che avvengono durante la replicazione e loro riparazione 739
- Riparazione per escissione delle basi (BER) 744
- Riparazione per escissione dei nucleotidi (NER) 744
- Riparazione di rotture del doppio filamento tramite ricombinazione 746

Capitolo 25

Divisione cellulare 749

- Il problema centrale della divisione cellulare: assicurare la corretta ripartizione del materiale genetico 750

La divisione cellulare nei procarioti 750

- Il ruolo del citoscheletro e della membrana plasmatica nella ripartizione del materiale genetico 751
- Il ritmo di divisione cellulare dei batteri può essere più rapido del tempo necessario alla replicazione del cromosoma 753

La divisione cellulare negli eucarioti: la mitosi 754

RIQUADRO 25.1 La duplicazione dei centrioli 755

- La mitosi è suddivisa in fasi 756
- Eventi della profase 756
- Eventi della prometafase 758

RIQUADRO 25.2 Il lievito gemmante come esempio della mitosi chiusa 760

- Eventi della metafase 761
- Eventi dell'anafase 762
- Eventi della telofase e citodieresi 763
- Meccanismo della condensazione della cromatina 764
- Meccanismo molecolare della formazione del fuso e dell'attacco dei cromosomi 765
- Meccanismo della separazione dei cromatidi e del movimento dei cromosomi 768

- Meccanismo della citodieresi nelle cellule animali 770
- Particolarità della mitosi e della citodieresi nelle cellule vegetali 772

Capitolo 26

Il ciclo cellulare 777

Il ciclo cellulare: definizione, durata e fasi 778

- Cellule che si dividono in continuazione, cellule che si dividono solo in determinate condizioni, cellule che hanno smesso di dividersi 778
- Le fasi del ciclo e i processi che le caratterizzano: i vari processi metabolico-funzionali dell'interfase si succedono secondo un ordine costante 778
- Misurazione della durata delle fasi del ciclo cellulare 779

La regolazione del ciclo cellulare 782

- La scoperta dell'MPF 782
- Gli esperimenti di fusione tra cellule in fasi diverse del ciclo cellulare 783
- L'importanza delle Cdk e delle cicline 785
- Il meccanismo di attivazione del complesso Cdk1/ciclina B 785
- Il meccanismo di inattivazione dei complessi Cdk1/ciclina B 786
- Diversi tipi di Cdk, di cicline e dei corrispondenti inibitori 788
- La "logica" della regolazione del ciclo: superamento di successivi punti di controllo 790
- I tre check-point del ciclo e i parametri che vengono controllati 791
- Il superamento del punto di restrizione e la transizione G1/S 792
- Il blocco del ciclo cellulare da danno o alterazioni al DNA: ruolo di ATM e di ATR 794
- Il ruolo della p53 797

L'apoptosi 798

- Aspetti morfologici dell'apoptosi 799
- Le caspasi: struttura e funzioni 800
- La via estrinseca dell'apoptosi 801
- La via intrinseca dell'apoptosi 802
- Le vie estrinseca ed intrinseca dell'apoptosi possono essere interconnesse: ruolo di Bid 804
- Il ruolo degli inibitori delle caspasi e di Smac 805
- Apoptosi indotta da p53 806
- Importanza dell'apoptosi nelle patologie umane 807

La senescenza cellulare 807

- Il ruolo dei telomeri 808
- Caratteristiche della cellula senescente 808
- La cellula senescente nel contesto dell'organismo 809

La cellula tumorale 809

- La perdita di controllo del ciclo cellulare: la trasformazione neoplastica 809
- Caratteristiche delle cellule neoplastiche e trasformate 809

RIQUADRO 26.1 Principali cause della trasformazione neoplastica 812

- La trasformazione neoplastica come processo multistep 814
- Lo studio delle basi molecolari della trasformazione neoplastica 815

RIQUADRO 26.2 Le cellule staminali tumorali: un concetto emergente 817

- Classificazione dei geni coinvolti nella trasformazione: oncogeni, oncosoppressori e geni mutatori 819
- Oncogeni: meccanismi di attivazione dei proto-oncogeni, classificazione, esempi 819
- Geni oncosoppressori 823
- Geni mutatori 826
- Alterazioni epigenetiche che modificano l'espressione genica sono coinvolte nella trasformazione neoplastica 827

PARTE V
LA RIPRODUZIONE

*Capitolo 27***La riproduzione sessuata 831****Significato biologico della riproduzione sessuata 832****I tipi di riproduzione degli esseri viventi 832**

La riproduzione asessuata 832

La riproduzione sessuata 832

Le modalità di riproduzione sessuata 833

Il sesso ha dei costi ma anche dei vantaggi 834

Lo scambio di materiale genetico negli organismi a riproduzione asessuata 834

La trasformazione 834

La coniugazione 835

La trasduzione 837

Caratteri generali della riproduzione sessuata 837

Il dimorfismo sessuale ed i cromosomi sessuali 837

La meiosi 838

Tipi di meiosi 838

Le fasi della meiosi 839

La segregazione cromosomica ed il complesso sinaptonemale 842

Le origini della meiosi 843

La ricombinazione omologa 844

Il modello di Holliday 845

Caratteristiche peculiari della ricombinazione nell'uomo 845

La conversione genica 848

La gametogenesi maschile e femminile 848

Le cellule germinali primordiali e il differenziamento delle gonadi 849

Dalla mitosi alla meiosi 850

La spermatogenesi 851

L'ovogenesi 853

La maturazione meiotica dell'ovocito 859

La fecondazione 860**L'imprinting 865***Capitolo 28***Sviluppo embrionale e differenziamento 867****Le prime fasi dello sviluppo embrionale 868**

Segmentazione e formazione della blastula 868

Gastrulazione e foglietti embrionali 870

Geni segmentari e geni omeotici 872

Induzione e determinazione embrionale 874

Cellule staminali 878**Il differenziamento terminale richiede l'espressione controllata di****geni tessuto-specifici 879****Il differenziamento eritroide comporta l'attivazione e lo spegnimento sequenziale dei geni delle globine 879**

La struttura dell'emoglobina 880

Le tappe del differenziamento eritroide 880

L'organizzazione dei geni per le globine e la regolazione della loro espressione durante lo sviluppo embrionale e fetale 882

Il differenziamento e la maturazione del sistema immunitario comportano riarrangiamenti del DNA 883

I componenti del sistema immunitario: cellule e molecole 883

Struttura delle immunoglobuline e dei recettori correlati 884

Organizzazione dei geni delle immunoglobuline 886

La generazione della specificità anticorpale: riarrangiamento dei geni e suo meccanismo 888

Incremento della specificità anticorpale mediante mutazioni somatiche 891

La distinzione del self dal non self: la selezione dei linfociti T 891

RIQUADRO 28.1 *Le cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) 892**Capitolo 29***Le origini della vita cellulare 893****Introduzione 894**

La Terra ha un'età di circa 4,6 miliardi di anni 895

Le origini della vita cellulare, ipotesi 1: la vita ha preso origine dal "brodo primordiale" 896

Origine prebiotica di molecole organiche semplici 896

Sintesi non enzimatica di RNA 898

Comparsa ed "evoluzione" di RNA dotati di proprietà catalitiche ed informative 899

La vita diviene incapsulata 900

Alcune obiezioni all'ipotesi del "brodo primordiale" 900

Le origini della vita cellulare, ipotesi 2: la vita ha preso origine dalle sorgenti idrotermali sottomarine 902

Il grande salto: batteri ed archei si svincolarono indipendentemente dal loro incubatore minerale 903

La fotosintesi ossigenica: una rivoluzionaria "invenzione" dei cianobatteri 906**L'origine degli eucarioti: una storia di simbiosi 908*****Elenco degli acronimi 915******Bibliografia e storiografia – Letture consigliate 923******Indice analitico 945***



Riquadri

- 3.1** Quando una conformazione scorretta di una proteina è al cuore di una patologia – *M. Malcovati*
- 9.1** La via di segnalazione Wnt e la β -catenina: una molecola per tutte le stagioni – *M. Malcovati*
- 12.1** Tutta un'altra storia – *M. Malcovati*
- 13.1** Come evitare che le proteine destinate agli organelli esplicino la loro attività prima di aver raggiunto la loro destinazione finale: il modello del *molten globule* – *G. Principato*
- 13.2** Il ruolo del glutatione nel mantenere i gruppi sulfidrilici delle proteine del citosol allo stato ridotto – *G. Principato*
- 13.3** Il meccanismo di avanzamento del materiale lungo l'apparato di Golgi è ancora controverso – *M. Marini*
- 13.4** Il vacuolo centrale delle cellule vegetali e le sue molteplici funzioni – *M. Malcovati*
- 15.1** Gli esperimenti di Brenner, Jacob e Meselson – *M. Malcovati*
- 16.1** L'evoluzione di organismi sempre più complessi comporta l'acquisizione di nuovi geni – *M. Mottes*
- 16.2** CNV: i cambiamenti del numero di copie di geni sono frequenti nel nostro genoma – *M. Mottes*
- 18.1** Esempi di splicing alternativo – *S. Duga e R. Asselta*
- 18.2** Ruolo degli introni e teorie evolutive – *S. Duga e R. Asselta*
- 18.3** L'assemblaggio dei ribosomi: un processo multistep – *S. Duga e R. Asselta*
- 19.1** La traduzione nel nucleo: un enigma che perdura – *E. Ginelli*
- 20.1** La scoperta delle HSP – *M. Marini*
- 20.2** La scoperta dei meccanismi alla base della "via secretiva" – *M. Marini*
- 21.1** Come Jacob e Monod sono giunti all'identificazione dell'operone – *S. Ciafrè*
- 23.1** L'infezione da HPV (human papilloma virus) e l'insorgenza di tumori nell'uomo – *M.G. Romanelli*
- 23.2** Il virus di Epstein-Barr e l'insorgenza di tumori nell'uomo – *M.G. Romanelli*
- 25.1** La duplicazione dei centrioli – *E. Messi e A. Poletti*
- 25.2** Il lievito gemmante come esempio della mitosi chiusa – *E. Messi e A. Poletti*
- 26.1** Principali cause della trasformazione neoplastica – *P. Limonta e R.M. Moretti*
- 26.2** Le cellule staminali tumorali: un concetto emergente – *P. Limonta e R.M. Moretti*
- 28.1** Le cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) – *A. Bolotta*

Capitolo [14]

Il nucleo

SOMMARIO

La struttura del nucleo interfaseico

La cromatina

La matrice nucleare

I cromosomi metafasici

Il nucleo come compartimento altamente organizzato

L'organizzazione del DNA nel nucleo delle cellule procariotiche

Il nucleo è il compartimento delimitato da membrane che permette di distinguere inequivocabilmente una cellula eucariotica da una cellula procariotica: è facilmente identificabile in gran parte delle cellule durante l'interfase, in quanto presenta una doppia membrana che ne delimita il contorno e separa l'ambiente interno, il *nucleoplasma* (fortemente acido), dal citoplasma. Il termine stesso "cellula eucariotica" si riferisce alla presenza di "un nucleo vero", completamente conformato e organizzato (Fig. 14.1a). Il nucleo racchiude il genoma di tutte le cellule eucariotiche (salvo una piccola frazione del materiale genetico contenuta nei mitocondri e nei cloroplasti, Cap. 22).

La presenza di tale struttura nelle cellule eucariotiche è stata osservata fin dal XVIII secolo in animali e piante e fu proprio un botanico, Robert Brown (1773-1858), che per primo lo chiamò "nucleo", intendendo con questo termine una struttura intracellulare dalla forma simile a quella di un nocciolo. La ragione che giustifica una separazione così netta degli ambienti citoplasmatico e nucleare va ricercata nella necessità di proteggere il DNA, il quale durante l'interfase si trova in una forma relativamente poco condensata e quindi più "fragile" e facilmente danneggiabile. Negli eucarioti il nucleo garantisce, inoltre, la possibilità di una fine regolazione genica, permettendo di concentrare in prossimità del DNA i molteplici fattori che regolano la trascrizione e di avvicinarli fra loro in modo da rendere più efficienti le interazioni. Complessivamente, la presenza di un distinto compartimento nucleare permette una maggiore efficienza di tutti i complessi processi biologici che coinvolgono il DNA.

La dimensione del nucleo varia da un diametro di circa 1 μm nel lievito *Saccharomyces cerevisiae* alla dimensione massima di 400 μm negli ovociti di *Xenopus laevis*. In generale, il nucleo degli organismi pluricellulari ha un diametro compreso fra i 5 e i 10 μm . Esso è sempre presente nelle cellule eucariotiche, almeno in

una fase del differenziamento, proprio in quanto è l'organello dal quale partono tutte le direttive per regolare e condurre la vita di una cellula. Alcune cellule mature (come gli eritrociti dei mammiferi, le piastrine e alcune cellule del cristallino dell'occhio) ne sono prive, ma va tenuto presente che tali cellule si originano per differenziamento di precursori nucleati e che esse non sono più in grado di riprodursi.

Esistono anche tipi di cellule nelle quali è presente più di un nucleo. In alcuni casi, esse si originano a seguito di plurime duplicazioni nucleari (cariochinesi) non seguite dalle corrispondenti divisioni cellulari (citodieresi), e la cellula plurinucleata che ne deriva viene detta *plasmidio*. Gli embrioni di *Drosophila melanogaster* e di altri insetti nelle fasi precoci dello sviluppo mostrano centinaia di nuclei che si posizionano alla periferia dell'embrione; tali nuclei sono tutti trascrizionalmente attivi e gli RNA generati e le proteine da questi prodotte si muovono nel citoplasma dell'embrione, creando gradienti di morfogeni che determineranno la formazione differenziale delle strutture lungo l'asse antero-posteriore (Fig. 14.1b).

In altri casi, cellule plurinucleate si formano dalla fusione di precursori mononucleati e la cellula plurinucleata così formata è detta *sincizio*: un esempio ne è il muscolo scheletrico, dove le cellule mature deputate alla contrazione (le *fibrocellule muscolari*) sono originate dalla fusione di cellule mononucleate (i *mioblasti*). In alcune situazioni patologiche di infiammazione cronica (*granulomi*) i *macrofagi tissutali* (o *istiociti*) possono fondersi generando cellule plurinucleate (*cellule di Langhans* e *cellule di Müller*, rispettivamente nel caso di granulomi da agente infettivo, per esempio da *Mycobacterium tuberculosis*, o da corpo estraneo).

La forma del nucleo è per lo più sferica o allungata in modo da disporre di una superficie minima con il massimo volume. Esistono però nuclei con forme

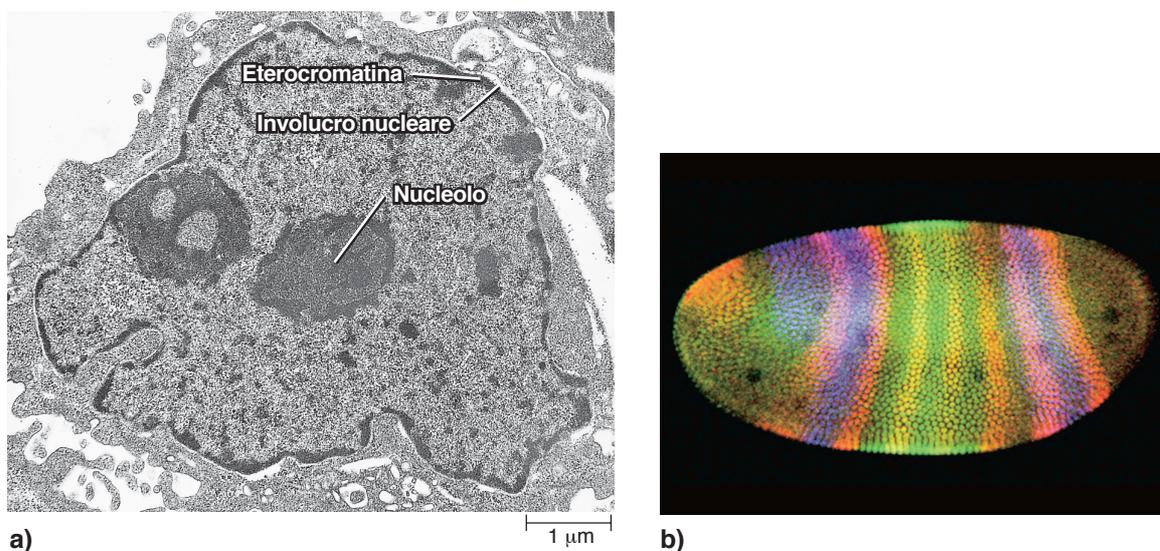


FIGURA 14.1 ► Il nucleo della cellula eucariotica. **a)** Immagine al microscopio elettronico del nucleo di una cellula tumorale in interfase. L'eterocromatina risulta evidente intorno all'intera superficie interna dell'involucro nucleare. Sono visibili due grossi nucleoli. **b)** Immagine al microscopio ottico a fluorescenza di un embrione di *Drosophila*: un esempio di un plasmidio. A questo stadio di sviluppo l'embrione è ancora una singola cellula ma con numerosissimi nuclei (i piccoli punti più chiari), conseguenza di divisioni nucleari non seguite da divisioni citoplasmatiche (le diverse colorazioni, frutto di un'elaborazione al computer, identificano regioni in cui sono espressi determinati geni durante lo sviluppo).

particolari che, possono, in genere, essere ricondotte alla forma della cellula o alla sua funzione; ad esempio, nelle cellule adipose, in cui la gran parte del citoplasma è occupata da una grossa goccia lipidica, il nucleo è relegato in posizione periferica e assume una forma assottigliata fino a diventare lentiforme.

La percentuale di volume cellulare totale occupata dal nucleo varia notevolmente: dall'1-2% nelle cellule di lievito, al 10% nella maggior parte delle cellule somatiche degli animali, fino al 40-60% delle cellule con limitata attività di sintesi proteica ma elevata attività mitotica, quali le cellule staminali e le cellule tumorali. Il rapporto tra il volume del nucleo e il volume cellulare totale viene detto *indice nucleo/plasmatico* (N/P) ed è caratteristico per ciascun tipo cellulare. Immediatamente dopo la mitosi tale rapporto aumenta, in quanto il citoplasma viene diviso tra le due cellule figlie.

Uno dei meccanismi di controllo della divisione cellulare tiene anche conto dell'indice nucleo/plasmatico: solo quando una cellula ha riportato tale rapporto al valore caratteristico può aver inizio una seconda mitosi. Fanno eccezione le cellule degli embrioni precoci: nelle fasi iniziali di sviluppo, le cellule (*blastomeri*) si dividono rapidamente (*fase di segmentazione*), senza produzione di citoplasma e con un aumento notevole dell'indice nucleo/plasmatico. Osservando le dimensioni delle cellule di un embrione precoce risulta evidente che queste diminuiscono sensibilmente durante

i primi stadi di sviluppo, cosicché allo stadio di morula il volume complessivo dell'embrione corrisponde a quello della cellula uovo prima della segmentazione (Cap. 28).

La posizione occupata dal nucleo nei diversi tipi di cellule è in genere correlata alla specifica funzione svolta da quel tipo citologico. Nelle cellule epiteliali con elevata attività secretoria il nucleo è posizionato nella porzione di citoplasma opposta alla zona di secrezione, che è invece occupata dagli organelli deputati alla produzione delle vescicole secretorie. Nelle cellule staminali, il nucleo occupa gran parte del volume cellulare e si trova in posizione centrale.

[▶] LA STRUTTURA DEL NUCLEO INTERFASICO

[▶] L'involucro nucleare

Il nucleo interfaseico è delimitato da un involucro nucleare costituito da due membrane concentriche, la *membrana nucleare interna* (MNI) e la *membrana nucleare esterna* (MNE), ciascuna costituita da un doppio strato lipidico nel quale sono inseriti o a cui sono legati vari tipi

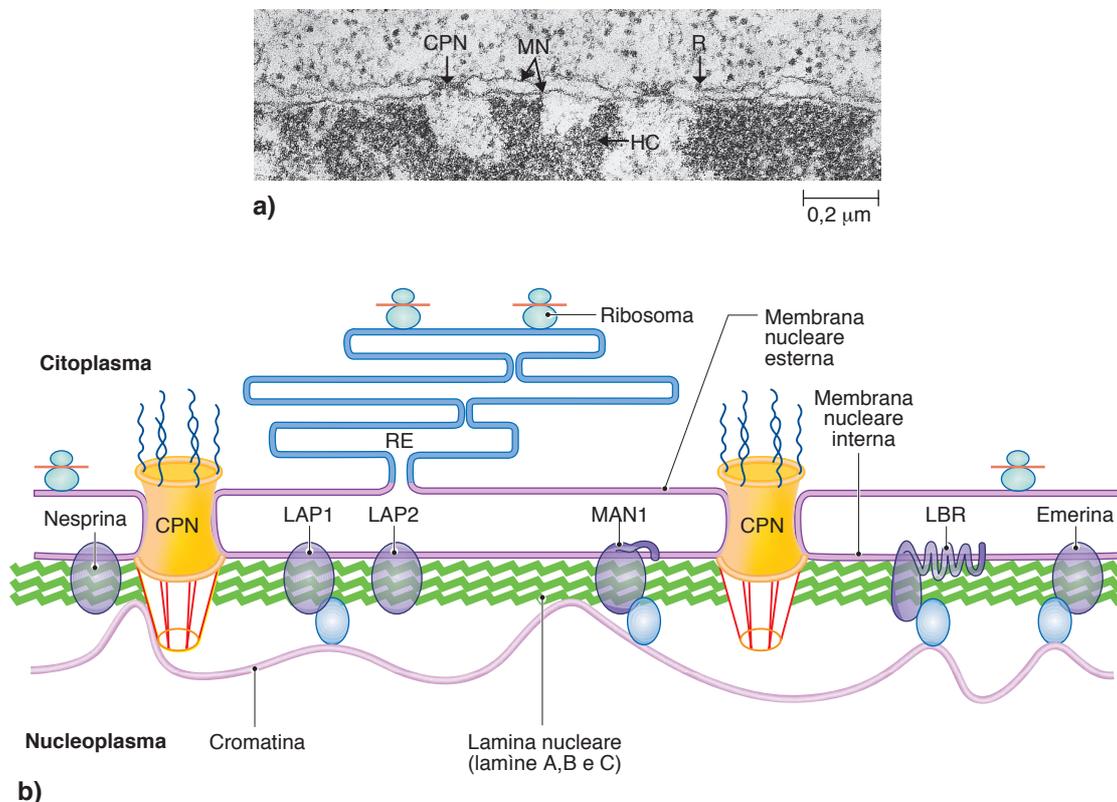


FIGURA 14.2 ▶ L'involucro nucleare. **a)** Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione: appaiono le due membrane che lo costituiscono (MN), ribosomi aderenti alla membrana esterna (R), complessi del poro nucleare (CPN), e, opposti alla membrana interna, blocchi di eterocromatina (HC). **b)** Rappresentazione schematica dell'organizzazione dell'involucro nucleare: la membrana esterna si continua nelle membrane del reticolo endoplasmatico (RE); le due membrane dell'involucro nucleare si uniscono in corrispondenza dei pori nucleari, occupati dai complessi del poro (CPN); al di sotto della membrana interna si trova la lamina nucleare, alla quale è legata la cromatina. Nesprina, LAP1 e LAP2 (*lamin associate polypeptides*), MAN1, LBR (*lamin-B receptor*) ed emerina sono proteine che mediano l'attacco delle lamine alla membrana nucleare interna.

di proteine, e spesso circa 7-8 nm. La membrana nucleare esterna è in continuità con le membrane del reticolo endoplasmatico ruvido e presenta sulla superficie rivolta verso il citoplasma numerosi ribosomi, impegnati nella sintesi di proteine convogliate verso il lume del reticolo. Lo spazio tra le due membrane, detto *spazio perinucleare*, di circa 20-40 nm, è perciò in continuità con il lume del reticolo endoplasmatico (Fig. 14.2).

La caratteristica più evidente dell'involucro nucleare è la presenza di numerose aperture circolari, i *pori nucleari*, che ne tappezzano la superficie. Ciascuno di essi è in gran parte occupato da una grossa struttura proteica, il *complesso del poro*, che garantisce i movimenti di molecole in entrambe le direzioni tra il compartimento citoplasmatico e quello nucleare.

La presenza di una doppia membrana nucleare ha fatto supporre per il nucleo un'origine evolutiva simile a quella dei mitocondri e dei cloroplasti: secondo la teoria endosimbiontica, una cellula primitiva avrebbe potuto inglobare un'altra cellula acquisendo nuove caratteristiche e una traccia di tale evento sarebbe data proprio dalla presenza della doppia membrana. Tuttavia, nonostante la presenza di una doppia membrana, come nei mitocondri e nei cloroplasti, per il nucleo è più difficile comprendere come la cellula fagocitante abbia perso il proprio DNA e sia stato mantenuto solo quello della cellula fagocitata. Una diversa possibilità è che il compartimento nucleare si sia inizialmente originato delimitando il materiale genetico con una membrana (poi diventata quella interna), e successivamente sia stato circondato da cisterne del reticolo endoplasmatico, acquisendo così una seconda membrana (evolutasi poi in quella esterna) (Cap. 29).

Verso il lato interno, l'involucro nucleare è sostenuto da una rete di filamenti intermedi: la *lamina nucleare*, presente in tutti i metazoi (eccetto le piante) strettamente apposta alla membrana nucleare interna. Durante la mitosi, la lamina nucleare svolge un ruolo essenziale nella disgregazione dell'involucro prima della separazione dei cromosomi e poi nella riformazione dello stesso a separazione conclusa. Il ruolo giocato dalla lamina nel processo di divisione cellulare verrà descritto successivamente (Cap. 25). È interessante notare come i lieviti non presentino lamina nucleare, probabilmente per le dimensioni piuttosto piccole dei loro nuclei, ma anche per la diversa modalità di divisione: i lieviti infatti attuano una mitosi chiusa, dove cioè non viene perso l'involucro nucleare.

[►] La lamina nucleare

La lamina nucleare (Fig. 14.3a,b) consiste fondamentalmente in due tipi di proteine: le *lamine* e le *proteine che legano le lamine* (*lamin-binding proteins, LBP*):

- le *lamine* appartengono al gruppo V dei filamenti intermedi (Cap. 12) e hanno un peso molecolare tra i 60 e gli 80 kDa; presentano un piccolo dominio globulare all'estremità N-terminale, un dominio centrale con struttura *coiled-coil*, e un altro dominio

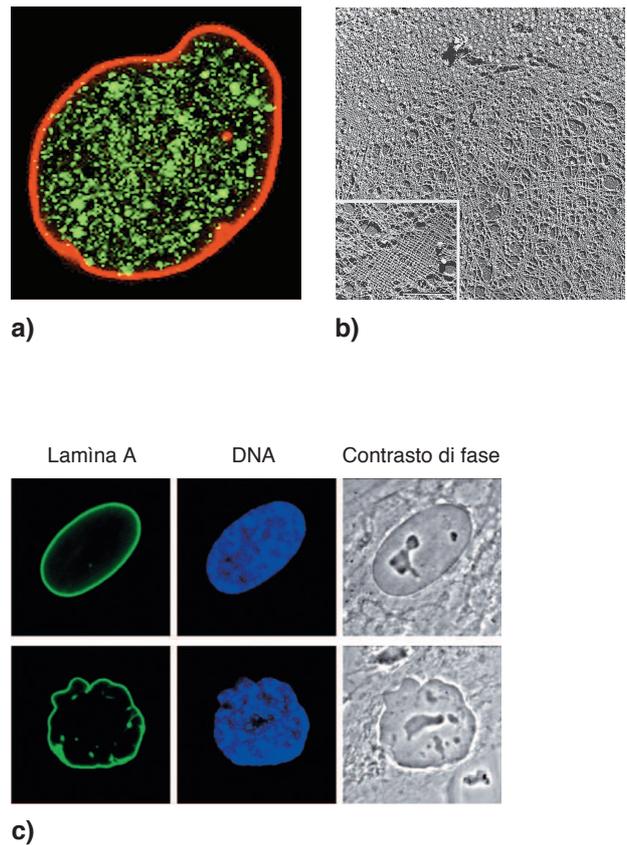


FIGURA 14.3 ► La lamina nucleare. **a)** Nucleo di una cellula eucariotica marcato con anticorpi fluorescenti per evidenziare la lamina nucleare (in rosso), presente al di sotto dell'involucro nucleare. **b)** Immagine al microscopio elettronico dell'involucro nucleare di una cellula eucariotica; la lamina appare come un reticolo continuo formato da filamenti orientati perpendicolarmente tra di loro. Il riquadro mostra un'area ben preservata dalla quale sono stati rimossi i pori nucleari. **c)** Microfotografie del nucleo di un fibroblasto in coltura proveniente da un soggetto sano (controllo) e da un paziente affetto da progeria di Hutchinson-Gilford (HGPS). Le cellule sono state marcate per la lamina A (in verde), per il DNA (in blu), o mostrate in microscopia ottica (contrasto di fase). La presenza nel paziente di una forma trunca della lamina A determina una forma alterata del nucleo.

globulare all'estremità C-terminale (Fig. 12.42). Il dominio centrale promuove la dimerizzazione, mentre i due terminali favoriscono l'associazione testa-coda per formare polimeri; nella sequenza amminoacidica sono rilevabili due siti di fosforilazione che fiancheggiano il dominio centrale.

In base alla sequenza amminoacidica, alle proprietà biochimiche e al loro comportamento durante la mitosi, le lamine sono suddivise in *lamine di tipo A* (lamine A e C) e *lamine di tipo B* (B₁ e B₂). Nei vertebrati, le lamine sono codificate da 3 geni dai quali per eventi di splicing alternativo si ottengono sette diversi polipeptidi, alcuni dei quali presenti solo in alcuni tipi cellulari. La lamina di tipo B (codificate nell'uomo dai geni *LMNB1* e *LMNB2*) sono essenziali per la vitalità cellulare, sono espresse in tutte le cellule e subiscono modificazioni post-traduzionali con aggiunta di un gruppo isoprenilico (Cap. 20), che ne

media l'attacco diretto alla membrana nucleare interna durante l'interfase e permette loro di rimanere legate alle membrane durante la divisione cellulare. Le lamine di tipo A (A, C, AΔ10 e C2), codificate da un singolo gene (*LMNA* nell'uomo) ed espresse in modo tessuto-specifico, durante la mitosi si dissociano come proteine solubili nel citoplasma e alla fine della divisione nucleare sono incorporate nella lamina nucleare dopo le lamine di tipo B;

- le LBP sono sia proteine integrali di membrana, sia proteine periferiche. Le più importanti sono: LAP₁ e LAP₂ (*lamin-associated polypeptide 1 e 2*), emerina, LBR (*lamin-B receptor*), nesprina 1α e MAN1 (**Fig. 14.2**). La loro principale funzione è di mediare il legame della lamina nucleare all'involucro nucleare.

La lamina nucleare si organizza a partire dalla dimerizzazione di due catene polipeptidiche delle lamine a livello della porzione centrale, seguita dall'associazione testa-coda di tali dimeri. Le strutture allungate così ottenute si associano lateralmente per costituire la lamina nucleare definitiva. Oltre a fornire supporto meccanico all'involucro nucleare, la lamina nucleare svolge un ruolo nell'organizzazione della cromatina, nel ciclo cellulare, nella replicazione e trascrizione del DNA, nel differenziamento cellulare e nell'apoptosi. La gran parte della eterocromatina è localizzata alla periferia del nucleo, in stretta prossimità con la lamina nucleare. La distribuzione non casuale della cromatina all'interno del nucleo suggerisce fortemente un ruolo della lamina nucleare nella distribuzione spaziale della cromatina stessa. È stato, inoltre, provato che le lamine sono in grado di legare specifiche sequenze di DNA dette *matrix attachment regions* (MAR) e che le lamine A e B possono anche legare gli istoni H2A e H2B tramite i domini terminali.

Durante l'interfase la lamina nucleare fornisce un supporto all'involucro nucleare, determinandone le dimensioni e la forma; negli spermatozoi, ad esempio, una forma particolare di lamina (B3) permette ai loro nuclei di acquisire una forma allungata. La lamina nucleare garantisce la resistenza dell'involucro nucleare a tensioni di tipo meccanico, particolarmente importante in tessuti quali i muscoli scheletrici e il cuore. Durante la mitosi aperta (Cap. 25) essa interviene nel processo di disgregazione dell'involucro nucleare, fenomeno che permette alle fibre del fuso mitotico di raggiungere il cinetocore di tutti i cromosomi. Infatti, è proprio il disassemblaggio e riassetto della lamina nucleare che determina la disgregazione e successiva riformazione dell'involucro nucleare nelle diverse fasi della mitosi. All'inizio della mitosi, il disassemblaggio della lamina nucleare è promosso dal complesso ciclina B/Cdk1 (M-Cdk) che fosforila le lamine in specifici siti fiancheggiati il dominio centrale. In seguito alla fosforilazione, le lamine A e C diventano solubili nel citoplasma della cellula, mentre le B restano agganciate alle vescicole derivanti dalla disgregazione dell'involucro nucleare. Alla fine della mitosi, la defosforilazione delle lamine induce la riorganizzazione della lamina attorno ai cromosomi separati ai due poli del fuso e, di conseguenza, la riforma-

zione dell'involucro nucleare e il posizionamento dei complessi del poro.

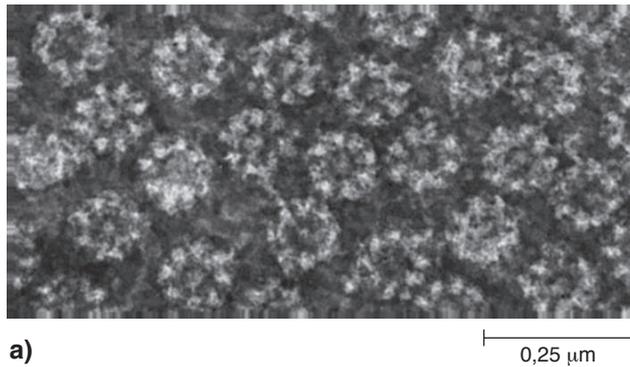
Durante l'apoptosi, invece, i componenti della lamina nucleare (sia le lamine, sia le proteine che le legano) sono oggetto dell'azione proteolitica delle caspasi (Cap. 26).

Considerando il ruolo importante della lamina nucleare in diversi processi, non sorprende che mutazioni nei geni codificanti per le lamine e per le LBP siano responsabili di varie patologie che vanno sotto il nome di *laminopatie*. Per lo più le malattie associate a tali mutazioni si manifestano in organi sottoposti a frequenti stress meccanici, come i muscoli scheletrici e il cuore. Tra queste, vanno ricordate la *distrofia muscolare di Emery-Dreifuss* (EDMD) e la *progeria* o *sindrome di Hutchinson-Gilford* (HGPS) (**Fig. 14.3c**).

► Il complesso del poro controlla il traffico di molecole da e per il nucleo

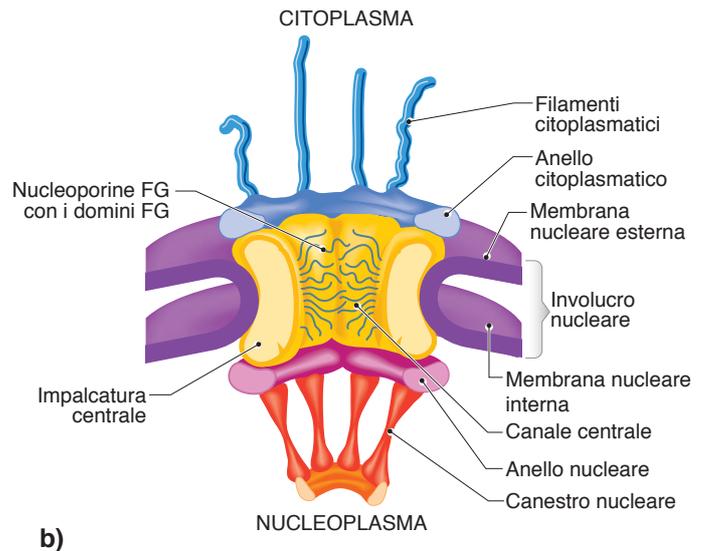
Come accennato sopra, l'involucro nucleare è interrotto da strutture proteiche di grandi dimensioni, i complessi del poro (CPN), che costituiscono la via di scambio bidirezionale di molecole tra il nucleo e il citoplasma (**Fig. 14.4a**). I pori nucleari sono molto numerosi: mediamente ce ne sono dai 10 ai 20 per μm² di involucro nucleare e pertanto ciascuna cellula somatica di mammifero presenta, in genere, alcune migliaia di CPN. Il numero di pori nucleari è dipendente dall'attività trascrizionale e traduzionale della cellula: sono più abbondanti nelle cellule con elevata sintesi proteica, data la necessità di trasportare notevoli quantità di RNA verso il citoplasma e di proteine verso il nucleo.

I CPN sono costituiti da proteine dette *nucleoporine* (Nup): ognuno di essi contiene almeno 456 molecole proteiche appartenenti a 30 tipi di nucleoporine diverse (**Fig. 14.4b**). La maggior parte delle informazioni sulle nucleoporine deriva da studi genetici e biochimici in *Saccharomyces cerevisiae*, dove la purificazione di tali proteine risulta più facile per l'assenza della lamina nucleare. Una caratteristica delle nucleoporine è la presenza di ripetizioni multiple di piccole sequenze: in particolare circa un terzo contiene ripetizioni del tipo X-X-Phe-Gly (dette *ripetizioni FG*), dove X rappresenta un amminoacido qualunque. Queste ripetizioni, il cui numero varia di solito da 10 a 30, sono separate da sequenze spaziatriche di 3-15 amminoacidi. Si ritiene che le ripetizioni FG delimitino il canale centrale del poro, dove servono da siti di aggancio per le molecole di trasporto. L'importanza delle ripetizioni poste nel canale centrale è indicata dal fatto che la delezione di tali sequenze compromette la vitalità delle cellule. Altra caratteristica di molte nucleoporine è la presenza del motivo strutturale proteico avvolto a spirale detto "*coiled-coil*". Questi domini sono particolarmente adatti a interagire con altri domini simili, creando grandi strutture multimeriche. Studi di immunoelettromicroscopia hanno permesso di localizzare le diverse classi di nucleoporine all'interno dei CPN. La maggior parte di esse si trova sia sul lato nucleare, sia su quello citopla-



a)

0,25 μm



b)

FIGURA 14.4 ► Il complesso del poro nucleare (CPN). **a)** Fotografia al microscopio elettronico di una porzione di involucro nucleare preparata con colorazione negativa, che mette in evidenza la simmetria tipicamente ottagonale dei complessi del poro nucleare. **b)** Rappresentazione tridimensionale di un CPN, dove si nota la struttura elaborata formata da diverse parti, fra cui un'impalcatura che ancora il complesso all'involucro nucleare, un anello citoplasmatico e uno nucleare, un canestro nucleare e otto filamenti citoplasmatici. Le nucleoporine FG sono disposte lungo il canale centrale e si estendono nel lume.

smatico; solo poche sono proteine transmembrana e si ritiene che queste aiutino l'ancoraggio del complesso all'involucro nucleare (Fig. 14.4b).

I CPN occupano la gran parte di ciascun poro nucleare, avendo uno spessore complessivo di circa 200 nm ed un diametro di 120 nm e lasciando libero solo un sottile spazio centrale il cui diametro varia da 5,2 nm nell'uomo a 10,7 in *Xenopus laevis*. La massa molecolare di un CPN di mammifero è di circa 120.000 kDa. Sono strutture altamente conservate in tutti gli organismi: tra i CPN di lievito e quelli dei metazoi non ci sono differenze nelle dimensioni e nell'organizzazione. I CPN hanno forma cilindrica e attraversano l'intero involucro nucleare, arrivando a sporgere sia nel citoplasma che nel nucleoplasma. La maggior parte dei CPN ha simmetria ottagonale (Fig. 14.4a), anche se talora si possono osservare CPN composti da 7 o 9 parti. Le strutture terminali che sporgono dalla faccia citoplasmatica sono costituite da 8 fibrille che si estendono per circa 100 nm nel citoplasma. Sulla faccia nucleare sono presenti fibrille simili che si uniscono in una caratteristica struttura a canestro (Fig. 14.2b). Queste strutture che si estendono nel nucleoplasma e citoplasma rappresentano i siti di interazione con le molecole che devono essere trasportate. A livello dei CPN, le membrane dell'involucro nucleare si fondono e la lamina nucleare si interrompe. Tuttavia, la lamina nucleare sembra svolgere un ruolo cruciale nel legare i CPN e nel posizionarli sull'involucro nucleare.⁽¹⁾

¹ In alcune cellule sono stati ritrovati CPN in strutture diverse dall'involucro nucleare; queste strutture, dette *lamelle annulate*, sono pile di doppie membrane con CPN allineati presenti principalmente in ovociti di vertebrati e invertebrati e la cui funzione è ancora sconosciuta.

Non è chiaro il processo di formazione dei CPN, anche se esso sembra coinvolgere specifiche proteine della famiglia delle nucleoporine. In base a studi di deplezione di specifiche proteine Nup e conseguente formazione di nuclei privi di CPN, si è giunti a ipotizzare che i complessi Nup siano coinvolti nella fusione della membrana nucleare esterna con quella interna. La completa formazione di CPN sembra richiedere tre passaggi:

- una iniziale interazione delle proteine Nup con la cromatina che le avvicina all'involucro nucleare, innescando successivamente la fusione delle due membrane;
- la formazione di una struttura pre-poro data dall'unione di più complessi Nup associati alla cromatina, osservati in microscopia elettronica prima della formazione dell'involucro nucleare al termine della mitosi;
- l'aggiunta di diversi piccoli complessi proteici ai CPN preesistenti.

Durante la mitosi, i CPN si disassemblano per passaggi successivi. Le nucleoporine più periferiche (Nup 153, 98, 214) si distaccano per prime, seguite poi da quelle che compongono il cilindro centrale. Gli eventi sono probabilmente dovuti a fosforilazioni, ma gli enzimi coinvolti non sono noti. Nei metazoi, una volta disassemblati i CPN, l'involucro nucleare si disgrega velocemente, permettendo l'entrata nello spazio nucleare di proteine chiave nella regolazione della mitosi e di enzimi che intervengono nella disorganizzazione delle strutture intranucleari. Nei funghi invece, dove la mitosi è di tipo chiuso (l'involucro nucleare permane durante le fasi di separazione dei cromosomi), i CPN cambiano completamente la loro permeabilità, permettendo ai complessi ciclina B/Cdk2 e alla tubulina di entrare nel nucleo. La permanenza dei CPN integri sembra garantire stabilità all'involucro nucleare.

I CPN regolano il traffico bidirezionale di molecole attraverso l'involucro nucleare, permettendo il passaggio di vari tipi di RNA e delle subunità ribosomali verso il citoplasma, così come di numerose proteine (ad esempio, istoni, lamine, RNA polimerasi e DNA polimerasi, fattori di trascrizione) verso l'interno del nucleo. Vista la loro funzione nell'accesso al genoma, è importante che il numero di CPN sia particolarmente alto nelle fasi del ciclo cellulare in cui è necessaria un'abbondante trascrizione. In alcuni casi, un'aumentata richiesta di trascrizione può indurre l'assemblaggio di nuovi CPN durante l'interfase.

[►] L'importazione e l'esportazione di proteine nel nucleo

Piccole proteine con una massa pari a circa 40 kDa possono attraversare i CPN per diffusione passiva, mentre le macromolecole più grandi sono trasportate attivamente attraverso i CPN dopo essere state riconosciute grazie a specifiche sequenze segnale. Come nel caso delle proteine indirizzate ad altri compartimenti, anche le proteine che devono essere importate nel nucleo sono infatti provviste di uno specifico segnale per il loro riconoscimento e importazione, il *segnale di localizzazione nucleare* (NLS, *nuclear localization signal*), costituito da una particolare sequenza amminoacidica e riconosciuto da proteine trasportatrici, le *importine* (che, insieme alle *esportine*, appartengono al gruppo delle *carioferine*, Cap. 20).

D'altra parte diverse proteine devono poter uscire dal nucleo: esse presentano nella loro sequenza un *segnale di esportazione nucleare* (NES, *nuclear export si-*

gnal), riconosciuto da un secondo gruppo di trasportatori: le *esportine*. Come vedremo al Capitolo 20, il transito dei complessi formati da importine ed esportine con le proteine dotate rispettivamente di NLS o di NES richiede il loro legame con una piccola proteina G, *Ran*, la concentrazione della cui forma attiva (in combinazione con GTP, Ran-GTP) è mantenuta elevata all'interno del nucleo, grazie alla presenza del Ran-GEF (guanine exchange factor) legato alla cromatina, mentre nel citoplasma prevale la forma inattiva (in combinazione con GDP, Ran-GDP) per la presenza del Ran-GAP (GTPase activating protein): questa differenza di concentrazione fa sì che i complessi [importina-proteina NLS-Ran-GDP] migrino nel nucleo, mentre i complessi [esportine-proteina NES-Ran-GTP] si spostino nel citoplasma (questo trasporto è mostrato in Fig. 14.5). Esistono proteine che riescono ad attraversare il CPN senza l'aiuto delle carioferine: per esempio β -catenina, una molecola di segnalazione coinvolta nella via di Wnt (Cap. 9), interagisce direttamente con le nucleoporine. Alcuni virus producono proteine che si sostituiscono alle importine e mediano la traslocazione del materiale virale all'interno del nucleo; un esempio è la proteina Vpr del virus HIV.

[►] L'esportazione di RNA dal nucleo

L'esportazione delle subunità ribosomali e degli RNA, come tRNA e miRNA, avviene con un meccanismo che prevede il legame con particolari carioferine (esportine) che presentano un NES e che quindi vengono ri-

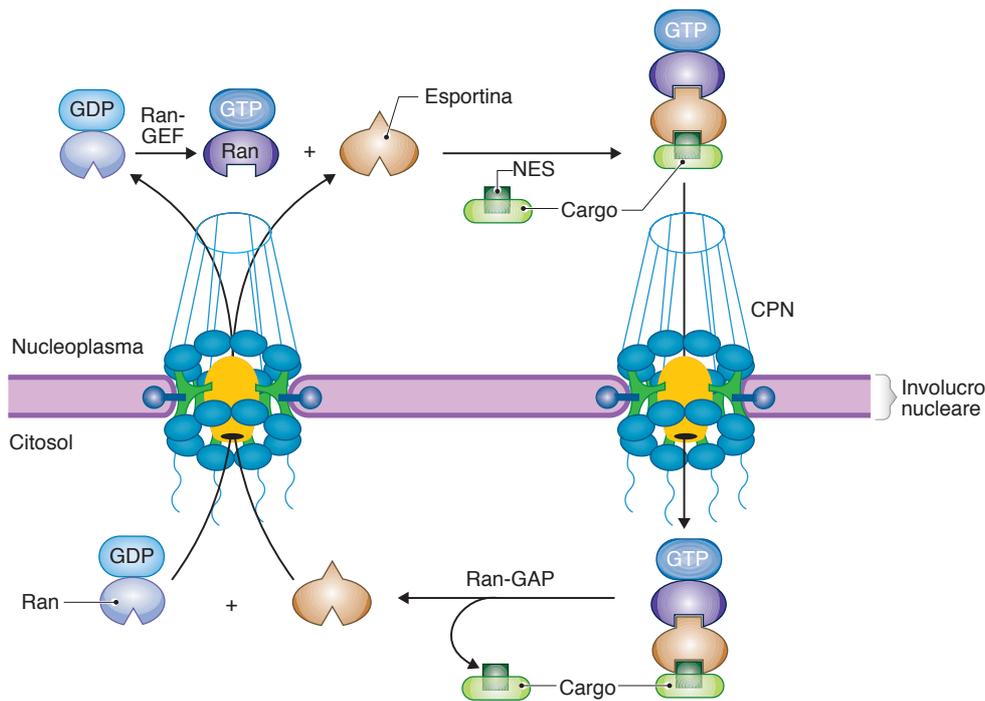


FIGURA 14.5 ► Il trasporto dal nucleo al citoplasma mediato da Ran-GTP. Il gradiente di Ran-GTP/Ran-GDP, garantito dalla compartimentalizzazione di Ran-GEF e Ran-GAP, determina la direzionalità del trasporto.

conosciute e trasportate tramite il sistema esportina/Ran-GTP (Cap. 18).

I snRNA escono dal nucleo come snRNP (*small nuclear ribonucleoproteins*) per completare la loro maturazione e rientrano nel nucleo grazie a un complesso fra alcune proteine specifiche (come *snurportin-1/SNUPN*) e l'importina- β . I miRNA, dopo essere stati modificati da Drosha (Cap. 21) producendo il precursore a forcina (pre-miRNA), sono legati dall'esportina 5 che utilizza Ran-GTP.

Il trasporto nucleo-citoplasma degli mRNA si basa invece sul legame di un insieme di proteine, alcune delle quali sono fattori responsabili della maturazione co-trascrizionale dei pre-mRNA che deve essere portata a completamento in modo corretto prima della traslocazione. L'insieme di RNA e di tali fattori va sotto il nome di *hnRNP* (*heterogeneous nuclear ribonucleoproteins*). Tra gli eventi di maturazione co-trascrizionale è stato osservato che la struttura del cap al 5' non è essenziale per l'esportazione del mRNA, ma agevola il processo, mentre lo splicing e l'aggiunta della coda di poli-A sono strettamente associati al processo di esportazione. Una volta avvenuto lo splicing, i complessi proteici EJC (*exon junctional complex*) che si sono assemblati sulle giunzioni esone-esone restano associati all'mRNA e rappresentano un importante segnale di traslocazione (vedi anche Cap. 18).⁽²⁾ Infatti, il complesso EJC lega un fattore di esportazione detto *Aly* che interagisce con UAP56, un componente dello spliceosoma, e con TAP (appartemente alla famiglia di proteine chiamate *nuclear export factors*, NXF), un recettore di esportazione in grado di legarsi alle ripetizioni FG delle nucleoporine. TAP sembra avere perciò un ruolo simile alle esportine, specifico per gli mRNA. La rimozione delle altre proteine associate all'mRNA è probabilmente mediata da altri fattori proteici, tra i quali gioca un ruolo importante *Dpb5*, che è in grado di legare le fibrille del CPN e utilizzare l'idrolisi dell'ATP per liberare l'mRNA.

La presenza dell'involucro nucleare negli eucarioti permette un ulteriore livello di controllo dell'espressione genica e del ciclo cellulare, in quanto sia l'esportazione che l'importazione sono processi altamente regolati. Un esempio interessante è la regolazione del trasporto di NF- κ B, un fattore di trascrizione. In presenza di precisi stimoli, NF- κ B si sposta dal citoplasma al nucleo andando ad attivare i geni della risposta immunitaria. Per assicurarsi che l'importazione al nucleo avvenga solo dopo l'arrivo di stimoli corretti, NF- κ B nel citoplasma è legato a una proteina inibitrice chiamata I- κ B. Questo inibitore impedisce all'NLS di NF- κ B di essere riconosciuto dall'importina α . La fosforilazione di I- κ B induce la sua rapida degradazione, permettendo a NF- κ B di essere trasportato al nucleo (Fig. 20.27c) e di realizzare così una risposta molto rapida agli stimoli che lo hanno attivato. Per terminare l'attivazione trascrizionale, NF- κ B deve essere riportato nel citoplasma: tra i geni attivati da NF- κ B, c'è quello che codifica l'inibitore I- κ B.

I- κ B presenta sia un NLS, sia un NES. Appena sintetizzato nel citoplasma, grazie al suo NLS viene importato nel nucleo, dove si combina con NF- κ B mascherandone il NLS. Il complesso NF- κ B/I- κ B così formato viene esportato nel citoplasma grazie al NES di I- κ B, facendo quindi cessare la stimolazione da parte di NF- κ B.

[►] LA CROMATINA

Per comprendere come il nucleo svolga il suo ruolo di compartimento cellulare deputato alla protezione e all'utilizzazione dell'informazione contenuta nel DNA che costituisce il genoma delle cellule, occorre affrontare un duplice problema: come sia possibile da un lato immagazzinare in uno spazio ristrettissimo, del diametro di una decina di μ m, molecole estremamente lunghe e sottili (ad esempio, la somma delle lunghezze delle 46 molecole di DNA dei cromosomi di ciascuna cellula umana supera i due metri) e dall'altro garantire al "macchinario" enzimatico deputato all'espressione dell'informazione genetica, alla replicazione del DNA e alla loro regolazione l'accessibilità alle diverse porzioni di DNA di volta in volta necessarie. Ciò si realizza grazie alla presenza nel nucleo, accanto al DNA, di numerose proteine, parte delle quali assicura un impaccamento estremamente compatto e al tempo stesso dinamico delle doppie eliche del DNA e parte è rappresentata dagli enzimi e dalle proteine deputati alla replicazione del DNA, alla sua trascrizione in RNA e alla regolazione di questi processi. Questo complesso sistema di DNA e proteine costituisce la *cromatina*, che quindi è composta da DNA, proteine e RNA. In termini di peso secco, il contenuto di DNA è pari al 40%, quello delle proteine a circa 57% (circa il 44% è dovuto alle proteine istoniche, il 13% alle proteine non istoniche) e l'RNA a circa il 3%. Tuttavia, la sua composizione e le sue proprietà sono influenzate da numerosi fattori, quali il tipo cellulare, il processo di differenziamento e lo stadio del ciclo cellulare. La componente che principalmente subisce variazioni in termini di quantità, ma soprattutto di qualità, è rappresentata dalle proteine non istoniche.

La struttura della cromatina varia notevolmente se osserviamo un nucleo in interfase, nel quale la cromatina appare come una sostanza piuttosto dispersa, anche se presenta zone a densità differente, o un nucleo in mitosi. In quest'ultimo caso la cromatina appare costituita dai singoli cromosomi che acquistano gradualmente una forma sempre più evidente e definita, a causa dell'elevato compattamento del materiale genetico.

[►] Proteine associate al DNA: istoni e proteine non istoniche

Il DNA nel nucleo eucariotico è sempre associato a proteine. Le singole molecole di DNA che costituiscono ciascun cromosoma sono associate a *istoni* (proteine basiche) e a *proteine non istoniche*:

² Come vedremo al Cap. 21, gli EJC svolgono un importante ruolo anche nel "controllo di qualità" della sintesi proteica attraverso il *nonsense-mediated decay* dei messengeri.

TABELLA 14.1 ► I diversi tipi di istoni

Tipo di istone	Peso molecolare (kDa)	Numero di amminoacidi	Contenuto in amminoacidi basici
H1	17-28	200-265	27% lisina, 2% arginina
H2A	13,9	129	11% lisina, 9% arginina
H2B	13,8	125	16% lisina, 6% arginina
H3	15,3	135	10% lisina, 15% arginina
H4	11,3	102	11% lisina, 4% arginina

- gli *istoni* sono polipeptidi dotati di carica positiva per l'abbondante presenza nella loro sequenza di amminoacidi basici. Essi svolgono funzioni sia strutturali, nell'impaccamento del DNA all'interno del nucleo, sia regolatorie dell'attività trascrizionale, attraverso il controllo dell'accessibilità del DNA alla RNA polimerasi. L'interazione fra istoni e DNA è dovuta alla formazione di legami ionici tra le cariche negative dei gruppi fosfato dei filamenti del DNA e quelle positive dei residui di lisina e arginina degli istoni. Tale interazione quindi non è sequenza-specifica, ma si può verificare in ogni tratto dei due filamenti del DNA. L'elevata quantità di proteine istoniche presenti in un nucleo eucariotico ne richiede un'elevata sintesi, facilitata dalla presenza nel genoma di copie multiple dei geni che le codificano;
- le *proteine non istoniche* all'interno di un nucleo eucariotico sono molto variabili, sia per quantità che per qualità, tra un tipo cellulare e un altro, nei diversi stadi di sviluppo e durante le diverse fasi del ciclo cellulare. A differenza degli istoni, che sono tra le proteine maggiormente conservate anche tra organismi evolutivamente distanti evidenziando così la loro importante funzione strutturale già nelle prime forme di vita eucariotiche, le proteine non istoniche sono molto eterogenee e comprendono enzimi e fattori indispensabili per lo svolgimento delle funzioni associate al DNA (trascrizione, replicazione, riparazione e ricombinazione) e della loro regolazione. L'interazione di tali proteine non istoniche con il DNA è altamente specifica, con sequenze nucleotidiche di riconoscimento e legame ben definite e distinte per ciascuna di loro.

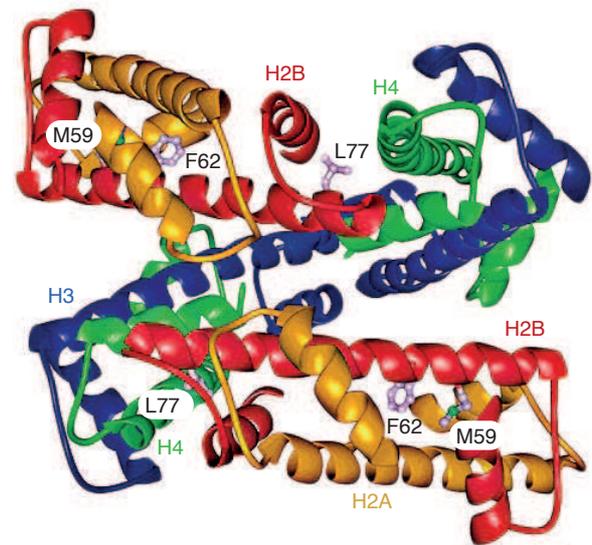


FIGURA 14.6 ► Rappresentazione schematica della struttura di un ottamero di istoni da uova di *Xenopus*. Sono evidenti l'organizzazione della catena polipeptidica di ciascun istone a formare tre α -eliche collegate da anse ad andamento irregolare (ripiegamento istonico) e il ruolo svolto dalle α -eliche nella formazione dell'ottamero. Le sigle (M59, F62 e L77) identificano la posizione nell'istone H2B di specifici amminoacidi all'interfaccia tra H2B e H2A, e tra H2B e H4. I residui di tali amminoacidi sono fondamentali per l'organizzazione dell'eterodimero H2A/H2B e dell'intero ottamero. Non sono rappresentate le "code" all'estremità N-terminale delle molecole.

► Gli istoni e la loro struttura

Il compattamento del DNA nel nucleo eucariotico dipende strettamente dall'interazione della doppia elica con gli istoni, formando il primo livello di organizzazione nucleare della molecola di DNA: il *nucleosoma*. Le proteine istoniche sono accomunate dalla dimensione piuttosto limitata (il loro peso molecolare varia tra gli 11 kDa dell'istone H4 e i 28 kDa dell'istone H1) e dall'abbondanza di residui basici di lisina e arginina, presenti in quantità diverse nelle diverse classi di istoni (dal 15% al 29% del contenuto totale in amminoacidi). Gli istoni sono suddivisi in 5 classi: H1, H2A, H2B, H3 e H4 (Tab. 14.1). Le loro sequenze amminoacidiche hanno subito minime variazioni durante l'evoluzione,

tanto che gli istoni di organismi molto diversi differiscono tra loro solo per qualche amminoacido. Tale conservazione è legata al ruolo svolto da queste proteine: esse interagiscono con il DNA, molecola che è identica nelle sue caratteristiche chimiche e di organizzazione tridimensionale in tutti gli organismi eucariotici. La maggior parte degli amminoacidi di ciascun istone è coinvolta nelle interazioni con il DNA o con gli altri tipi di istone, sfavorendo cambiamenti anche di singoli amminoacidi che porterebbero a modificazioni rilevanti nell'efficienza della loro funzione. Tuttavia, all'interno di ogni classe di istoni esistono varianti che differiscono parzialmente fra loro nella sequenza amminoacidica; tali *varianti istoniche* svolgono ruoli importanti nella regolazione della funzione del DNA (Cap. 21).

Gli istoni delle classi H2A, H2B, H3 e H4 sono noti anche come istoni della particella *core* del nucleosoma, mentre la classe H1 è l'istone *linker*. Tutti gli istoni della particella core presentano un motivo strutturale comune: il *ripiegamento istonico* (Fig. 14.6). Questo è

costituito da tre segmenti ad alfa elica connessi da due anse. Questa porzione della molecola è particolarmente importante nella formazione dei dimeri, strutture che si formano inizialmente durante l'organizzazione del nucleosoma. Ciascun istone poi presenta una *coda* all'estremità N-terminale che nel nucleosoma maturo si estende all'esterno dalla particella core. Queste code sono sede di numerose modificazioni post-traduzionali che controllano aspetti cruciali della struttura e della funzione della cromatina, come verrà illustrato più avanti.

Gli istoni H1, benché altamente conservati tra le specie, mostrano una maggiore variabilità, con isoforme espresse in modalità tessuto-specifica e in precise fasi dello sviluppo embrionale. La struttura primaria dell'istone H1 è costituita da un dominio globulare centrale e da due lunghe code alle estremità C- e N-terminale. A differenza degli altri istoni, H1 non è parte integrante della particella core, ma invece si posiziona al di sopra della struttura del nucleosoma, stabilizzando l'interazione del DNA e legando anche circa 20-80 nucleotidi del DNA linker fra un nucleosoma e l'altro. Il dominio globulare interagisce con la molecola di DNA all'entrata e all'uscita del nucleosoma, mentre le code, interagendo con il DNA linker, ne neutralizzano le cariche elettriche. La modalità di interazione dell'istone H1 con il DNA suggerisce una funzione di protezione del DNA, in particolare quando i nucleosomi devono essere disassemblati. Nella cromatina, H1 è presente in quantità dimezzata rispetto alle altre classi di istoni e il suo ruolo funzionale nella trascrizione non è ancora chiaro, potendo agire da stimolatore o inibitore del processo a seconda del gene preso in considerazione.

► La struttura base della cromatina: il nucleosoma

Il primo livello di compattamento del DNA nella cromatina è rappresentato da particelle del diametro di circa 10 nm: i *nucleosomi*. Ciascun nucleosoma è costituito da ~200 paia di basi di DNA e dalle proteine

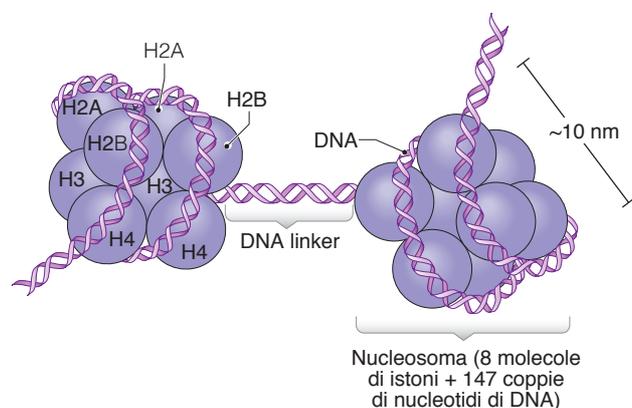


FIGURA 14.7 ► Rappresentazione schematica dell'organizzazione della particella core dei nucleosomi. Non è rappresentato l'istone H1.

istoniche. La digestione di una preparazione di DNA proveniente da un nucleo eucariotico interfascico con un enzima (*nucleasi micrococcica*), in grado di tagliare solo le molecole polinucleotidiche "nude", permette di separare particelle di uguale dimensione, corrispondenti ai singoli nucleosomi. Controllando la reazione di taglio da parte dell'enzima, è possibile interrompere la reazione prima che tutto il DNA linker sia stato tagliato, in modo da ottenere una miscela di singoli nucleosomi, dinucleosomi uniti da DNA linker, trinucleosomi, e così via. Separando poi il DNA dalle proteine e frazionandolo mediante elettroforesi in gel di agarosio si possono osservare molte bande di dimensioni multiple a quelle del DNA di un singolo nucleosoma. La spiegazione di una tale osservazione è che la cromatina sia effettivamente costituita da una struttura fondamentale ripetuta. L'analisi molecolare di tali particelle, dopo dissociazione con concentrazione elevata di sali, indica che sono costituite da un tratto di DNA di circa 200 paia di basi e da un ottamero di proteine (la particella core) comprendente due molecole ciascuna di istoni delle classi H2A, H2B, H3 e H4. La particella core ha una forma simile a quella di un cilindro attorno al quale la molecola di DNA si avvolge percorrendo 1,7 giri con andamento sinistrorso, tanto che i punti di entrata e uscita del doppio filamento sono in stretta prossimità (**Fig. 14.7**). Digestioni più prolungate hanno permesso di identificare che 147 paia di basi sono la dimensione fissa del tratto di DNA strettamente associato a un nucleosoma, mentre il DNA linker disposto nella regione di connessione fra nucleosomi adiacenti ha lunghezza variabile tra le 8 e le 80 paia di basi.

Considerando la dimensione media dei nucleosomi, si stima che una cellula umana diploide con $6,4 \cdot 10^9$ paia di basi di DNA contenga approssimativamente 30 milioni di nucleosomi. La cromatina interfascica appare perciò formata da una collana di perle dal diametro di 10 nm (detta *fibra cromatinica da 10 nm*) che si susseguono ordinatamente lungo la molecola di DNA (**Fig. 14.8**).

L'assemblaggio della particella core prevede inizialmente l'associazione tramite i domini istonici di dimeri H3-H4 e H2A-H2B. I dimeri H3-H4 si unisco-

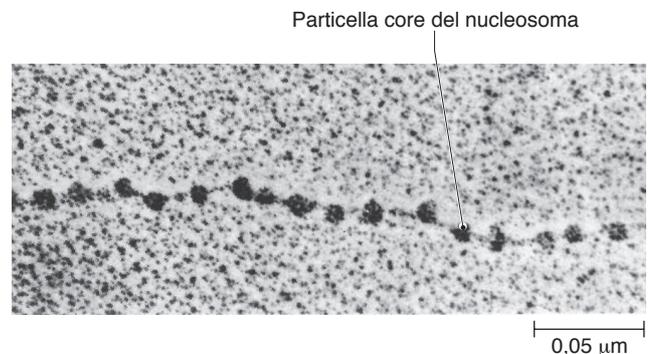


FIGURA 14.8 ► Fotografia al microscopio elettronico di una fibra cromatinica da 10 nm.

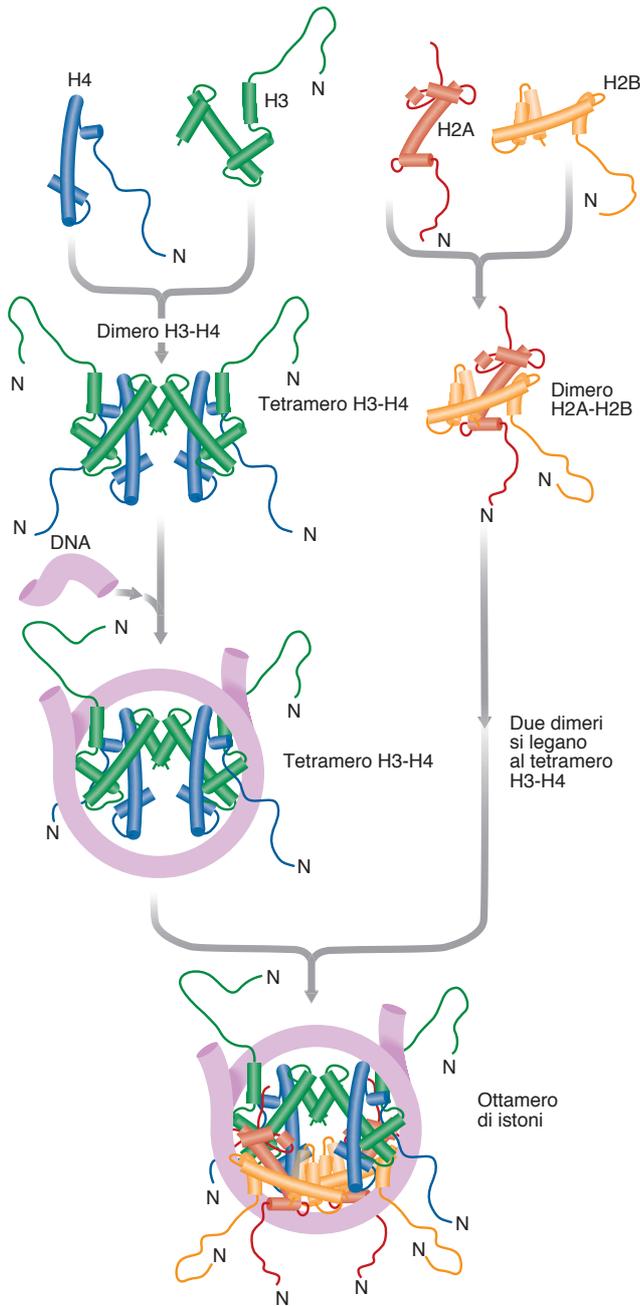


FIGURA 14.9 ▶ L'assemblaggio di un ottamero di istoni. Il processo si svolge per tappe successive: 1) formazione di dimeri H3-H4 e H2A-H2B; 2) formazione di tetrameri H3-H4 e interazione con la molecola di DNA; 3) completamento dell'ottamero con i dimeri H2A-H2B. È da notare come le code degli istoni sporgano dalla struttura centrale.

no in tetrameri che a loro volta si uniscono con due dimeri H2A-H2B, formando il nucleo compatto della particella (**Fig. 14.9**). L'interfaccia di associazione del DNA con il cilindro proteico è estesa e coinvolge molti legami a idrogeno (~142), legami ionici e interazioni idrofobiche. È da ricordare la particolare abbondanza dei residui di lisina e arginina delle molecole istoniche, che ben si adatta alla complessiva carica negativa dello scheletro zucchero-fosfato della catena polinucleotidica. Il percorso del DNA sulla particella core non è retti-

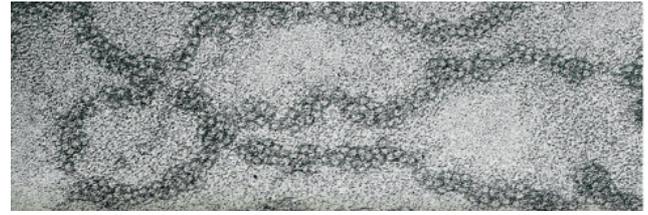


FIGURA 14.10 ▶ Fotografia al microscopio elettronico della fibra cromatinica da 30 nm rilasciata da un nucleo in seguito a lisi in condizioni blande.

lineo, vista l'organizzazione delle code istoniche, e provoca modificazioni nella curvatura della doppia elica. Coppie di nucleotidi del tipo AA, TT e AT sono preferite nella parte interna di contatto con la particella core, mentre quelle GC sono poste di preferenza all'esterno. Queste caratteristiche steriche di interazione favoriscono, seppure con bassa specificità, il posizionamento degli istoni in particolari tratti di DNA.

Per molti anni la posizione di ciascun nucleosoma, una volta organizzato, era stata ritenuta fissa, vista l'associazione stretta fra DNA e istoni. Se così fosse, i processi genetici sarebbero notevolmente ostacolati in quanto per lo più implicano l'associazione di grandi complessi proteici (quali RNA polimerasi e DNA polimerasi) e interazioni con proteine regolatorie. In realtà, l'interazione fra DNA e istoni nel nucleosoma è altamente dinamica, ed è stato dimostrato che il DNA resta avvolto attorno ad un nucleosoma per circa un quarto di secondo, poi si svolge parzialmente e quindi si riavvolge. Questi cicli di avvolgimento-svolgimento rendono la molecola di DNA in grado di interagire eventualmente con altre proteine. Esiste inoltre nella cellula eucariotica una grande varietà di "complessi di rimodellamento della cromatina" (*chromatin remodeling complexes*), in grado di rendere più lasso il legame del DNA con gli istoni utilizzando l'energia derivata dall'idrolisi dell'ATP (Cap. 21).

▶ I livelli superiori di compattamento della cromatina

Il compattamento dovuto alla fibra cromatinica da 10 nm riduce la lunghezza del DNA nel nucleo di circa sette volte. Nonostante tale riduzione, la molecola di DNA è ancora troppo lunga per poter essere contenuta all'interno del nucleo. La lisi di nuclei eucariotici permette di osservare che i nucleosomi si compattano in strutture più spesse: le *fibre cromatiniche da 30 nm* (**Fig. 14.10**).

Quale sia il modo nel quale i nucleosomi si organizzano nella fibra cromatinica da 30 nm è ancora oggetto di studi. I modelli proposti in base alle analisi di cristallografia e alle osservazioni di microscopia elettronica ad alta risoluzione sono due (**Fig. 14.11a**): il *modello a zig-zag*, nel quale il DNA linker risulta rettilineo, e il *modello a solenoide*, dove il DNA linker forma una piga e i nucleosomi si trovano intercalati gli uni sugli

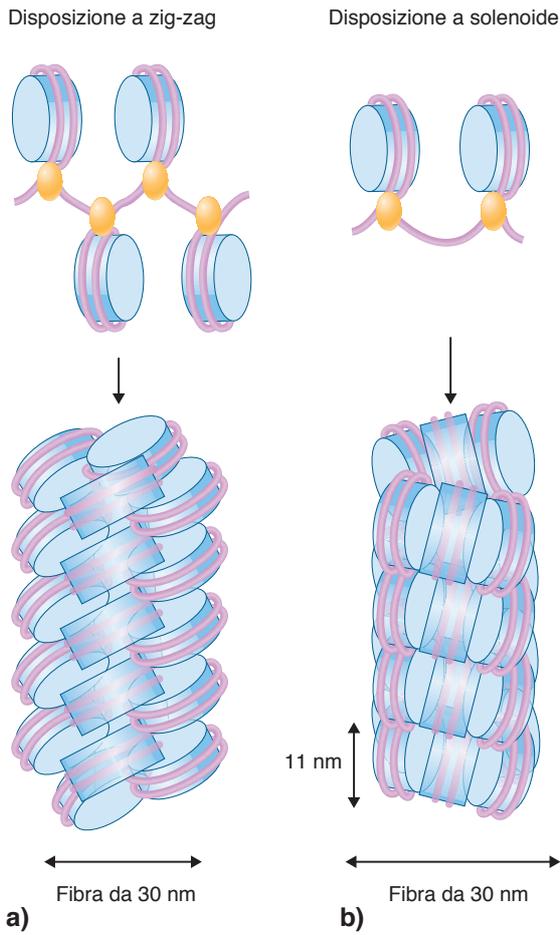


FIGURA 14.11 ▶ Rappresentazione schematica dei due modelli di organizzazione della fibra da 10 nm per formare la fibra da 30 nm. **a)** Modello a zig-zag: il DNA linker è rettilineo, ma i due linker che fuoriescono da un nucleosoma formano un angolo, stabilizzato dal dall'istone H1 (la pallina gialla), per cui i nucleosomi formano pile adiacenti. **b)** Modello a solenoide: il DNA linker è incurvato per cui i nucleosomi si dispongono a spirale, con circa 6-8 nucleosomi per giro.

altri (**Fig. 14.11b**). Nella formazione della fibra cromatinica da 30 nm giocano un ruolo importante le code degli istoni della particella core, in particolare quelle dell'istone H4, e soprattutto l'istone H1. Infatti, H1 ha dimensioni maggiori degli altri istoni, è in grado di legare sia il DNA sia gli istoni della particella core e di cambiare la direzione della molecola di DNA, fattore essenziale per poter raggiungere la conformazione a zig-zag o a solenoide.

Lo stadio successivo nel processo di impaccamento del DNA consiste nell'avvolgimento delle fibre cromatiniche da 30 nm in ampie anse dette *domini* di lunghezza media di 10-30 μm , pari a 30-90 kb, che portano alla formazione di fibre piú spesse di circa 80-100. Le anse di DNA sono agganciate alla matrice nucleare in corrispondenza di zone indicate come S/MARS (*scaffold/matrix attachment regions*, vedi oltre) che interagiscono con diverse proteine, tra cui le topoisomerasi di tipo II, che hanno anche il ruolo di svolgere, in base alle necessità, eventuali anse superavvolte per evitare l'aggrovigliamento. La presenza delle anse

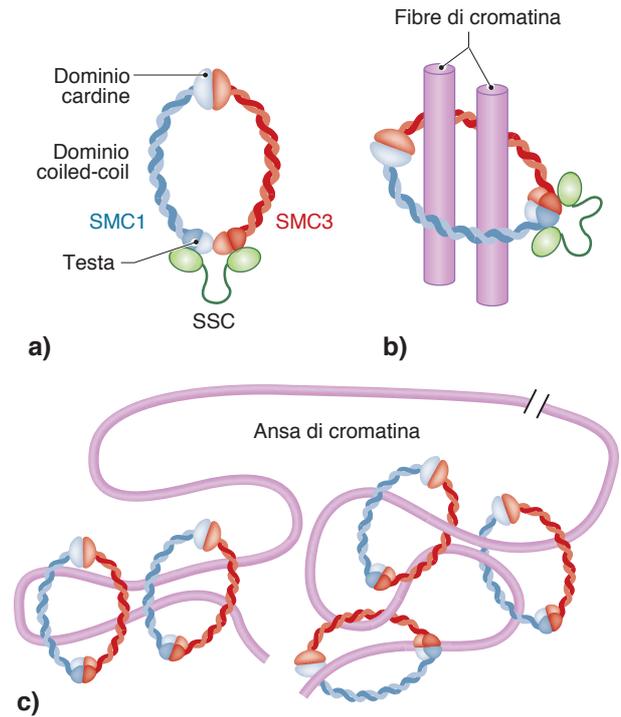


FIGURA 14.12 ▶ Struttura e funzione delle coesine. **a)** Rappresentazione schematica di una coesina: essa è formata da un dimero di proteine SMC (SMC1 e SMC3) e da un dimero di proteine SSC, che contribuiscono alla chiusura dell'anello. **b)** La coesina circonda due filamenti di cromatina mantenendoli ravvicinati. **c)** Nel nucleo interfase, le anse di cromatina sono legate alla base da diverse molecole di coesina.

non è visibile all'osservazione diretta, ma può essere messa in evidenza grazie a un trattamento proteolitico dei cromosomi metafasici: un cromosoma allora appare costituito da una impalcatura proteica centrale (*scaffold*) circondata da tratti di DNA libero dagli istoni (**Fig. 25.18**). Il cromosoma mitotico infatti rappresenta il livello piú elevato di compattamento della cromatina: 1 μm di cromosoma mitotico corrisponde a circa 1 cm di DNA, con un compattamento effettivo di circa 10.000 volte. Va sottolineato come la condensazione del cromosoma non modifichi la natura della fibra cromatinica, ma solo il modo in cui questa viene compattata.

Come discusso in dettaglio piú avanti, le diverse modificazioni covalenti delle code istoniche hanno un ruolo importante nel modulare il compattamento della cromatina. Tuttavia, i livelli superiori di compattamento della cromatina richiedono anche l'intervento di specifiche classi di proteine non istoniche. Esperimenti con estratti di uova di anfibio hanno permesso di individuare una famiglia di proteine, dette SMC (*struc-*



Molecole, Cellule e Organismi

Accedi all'ebook e ai
contenuti digitali

» Espandi le tue risorse

» con un libro che **non pesa** e si **adatta**
alle dimensioni del tuo **lettore**



All'interno del volume il **codice personale** e le istruzioni per accedere alla versione **ebook** del testo e agli ulteriori servizi.
L'accesso alle risorse digitali è **gratuito** ma limitato a **18 mesi dalla attivazione del servizio**.



www.edises.it



€ 70,00

