



# Appunti di biologia animale prof: Barbara Costa

Biologia Animale  
Università di Pisa  
59 pag.

---

---

---

---

---

---

---

---



Macromolecole biologiche: acidi nucleici, proteine, polisaccaridi, lipidi

**Reazione di condensazione:** legame fra monomeri mediante una reazione in cui si ha la perdita di una molecola d'acqua

**Reazione di idrolisi:** macromolecola degradata nei monomeri costitutivi, si ha l'aggiunta di una molecola d'acqua

**Legami:** covalente, ionico, a H, interazione idrofobica (ultimi due stabilizzano la struttura della macromolecola).

**Legame covalente:** condivisione di elettroni; gli elettroni condivisi completano lo strato esterno di entrambi gli atomi

**Legame covalente puro:** condivisione diseguale di elettroni di legame

**Legame ionico:** dato dall'attrazione di cariche opposte generate a seguito dello scambio di elettroni tra due atomi con grande differenza di elettronegatività

**Legame a H:** debole attrazione tra due atomi con parziali cariche opposte

**Molecola:** costituita da H<sub>2</sub>O per il 75% → influenza interazioni tra molecole

**Molecola idrofila:** ione o molecola (legami covalenti polari) che interagisce con H<sub>2</sub>O

**Molecola idrofoba:** molecola (legami covalenti non polari) senza cariche nette si aggrega con altre molecole non polari

**Forza di Van der Waals:** interazione tra molecole non polari

### Proteine:

**Funzione:** trasporto; difesa immunitaria; ormonale; enzimatica; strutturale

**Struttura amminoacido:** AA con gruppo R polare; AA con gruppo R apolare

AA con gruppo R con carica netta positiva o negativa

**Legame peptidico:** gruppo amminico NH<sub>2</sub> e il gruppo carbossilico COOH di 2AA reagiscono e formano un legame peptidico (perdita di molecola d'acqua); ripetizione di questa reazione determina il legame di molte molecole amminoacidiche in un polipeptide

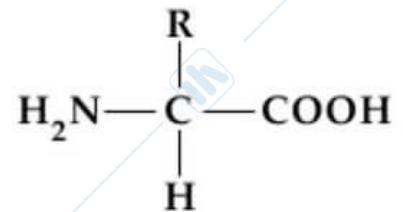
**Struttura primaria:** sequenza di AA, ogni proteina ha una specifica sequenza amminoacidica. Nella cellula le porzioni apolari interagiscono tra loro, le porzioni polari vengono esposte all'esterno e interagiscono con l'acqua.

**Struttura secondaria:** α-elica e β-foglietto, legami a H

**Struttura terziaria:** struttura 3D finale, interazione tra i gruppi R degli AA.

**Struttura quaternaria:** più catene polipeptidiche. Ogni catena ha un'estremità NH<sub>2</sub> e COOH terminale. Le catene interagiscono con vari tipi di legame.

Possono avere catene con struttura primaria identica o diversa.



### Carboidrati:

**glucosio:** esiste in due forme isomeriche: α e β

1 → forma a catena aperta: gruppo aldeidico sul Carbonio 1

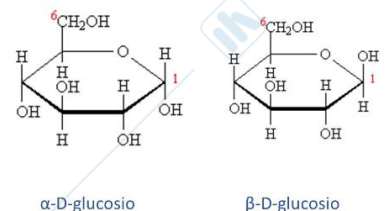
2 → reazione tra gruppo aldeidico e gruppo ossidrilico del carbonio

5 → formazione struttura ad anello

3 → a seconda dell'orientamento del gruppo aldeidico alla chiusura dell'anello si forma uno di due isomeri del glucosio

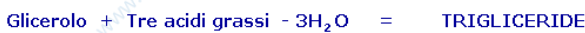
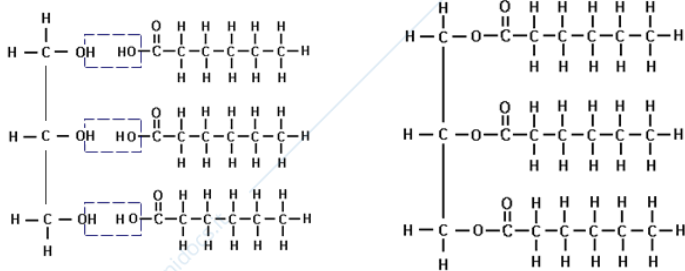
4 → nel disaccaride: primo glucosio è α allora maltosio; β allora cellobiosio

**Polisaccaridi:** polimeri di monosaccaridi uniti da legami glicosidici; amido e cellulosa sono i più abbondanti.



- **Cellulosa:** diverse migliaia di unità di glucosio. Legame 1-4 β glicosidico. Le catene interagiscono con legami ad H. Molecole parallele unite da legami a H che producono sottili fibrille.
- **Amido:** riserva energetica piante, legame 1-4 α glicosidico. Formato da amilosio (20%) e amilopectina (80%); presenza di ramificazioni.
- **Glicogeno:** riserva energetica animali; fino a 100.000 unità di glucosio. Struttura come amilopectina, elevato grado di ramificazioni.

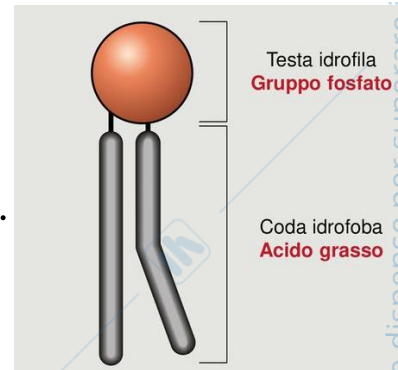
**Molecole lipidiche:** derivano da acidi grassi, fatte da due parti:



1. **Acido carbossilico:** catena di atomi di C che interagiscono tra loro attraverso legami covalenti. Ognuno è saturo da legami ad H e sono chiamate catene idrocarburiche; la lunghezza delle catene dà il nome all'acido grasso. La catena ha andamento lineare nello spazio e deriva da ogni legame singolo presente tra i carboni.
2. **Trigliceride:** tre molecole di acidi grassi legati al glicerolo

**Struttura fosfolipide:**

- **Coda:** 2 acidi grassi legati da glicerolo
- **Testa:** fosfato + molecola variabile. Anfipatiche (testa idrofila e coda idrofoba); caratteristica che determina la formazione di liposomi in ambiente acquoso → le teste idrofile interagiscono con H<sub>2</sub>O, le code apolari di un monostrato interagiscono con lo strato adiacente

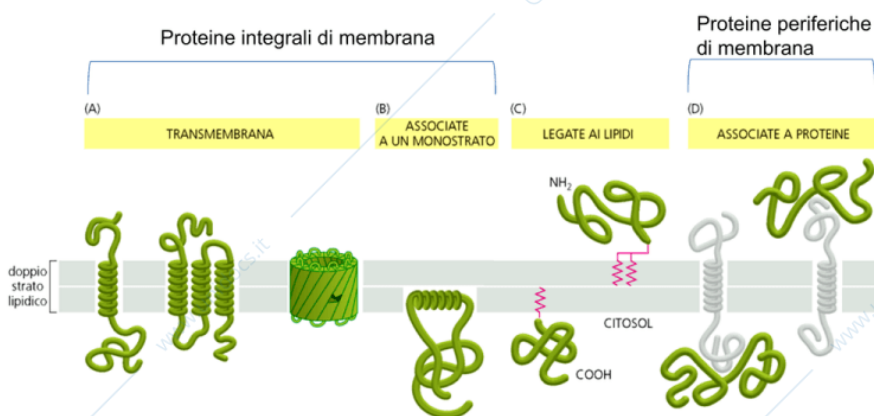


**Doppio strato lipidico della membrana plasmatica:** i fosfolipidi della membrana plasmatica si dispongono in doppio strato con le code idrocarburiche apolari rivolte verso l'interno e quelle polari verso le fasi acquose. Le membrane biologiche contengono colesterolo → struttura rigida che si interpone tra i fosfolipidi.

**Proprietà membrana plasmatica:**

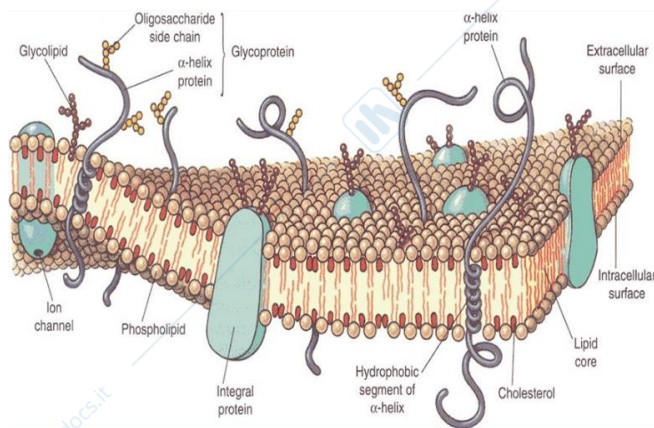
- **Asimmetria doppio strato fosfolipidico:** due strati hanno composizione differente, differenti fosfolipidi e glicolipidi tra interno ed esterno
- **Fluidità:** organizzazione ordinata dei fosfolipidi favorisce lo strato cristallino mentre un'organizzazione meno ordinata dei fosfolipidi favorisce lo strato fluido. Caratteristica influenzata da:
  - **Temperatura**
  - **Lunghezza e insaturazione delle catene di acidi grassi** → catene corte e insature favoriscono lo strato fluido
  - **Colesterolo.**

doppio strato lipidico → fluido bidirezionale (fosfolipidi si muovono lateralmente e ruotano attorno al proprio asse).



na svolgono la maggior parte lità della membrana possono ilate sulla faccia esterna.

## Modello di Singer e Nicholson a mosaico fluido



**Glicocalice:** sul lato extracellulare della membrana.

1. *Glicoproteine*: oligosaccaridi
2. *Glicolipidi*
3. *Proteoglicani*: polisaccaridi

La parte glucidica forma il rivestimento (il glicocalice). Protegge la cellula dal danneggiamento meccanico e chimico lubrificando; la superficie assorbe acqua.

### Membrana plasmatica o plasmolemma:

- Delimita i contorni della cellula
- Contiene proteine di trasporto per il movimento di sostanze tra interno ed esterno
- Fornisce dispositivi per la comunicazione cellula-cellula e per l'adesione cellulare

**Trasporto attraverso la membrana plasmatica:** meccanismi di trasporto sono essenziali alla vita della cellula. Membrana plasmatica → membrana semipermeabile.

Il trasporto è necessario per l'assunzione di sostanze nutrienti essenziali, l'eliminazione di prodotti di rifiuto e la regolazione di concentrazioni ioniche.

Il trasporto può essere:

- **Attivo:** richiede energia (endoergonico) e può essere:
  - primario
  - secondario o indiretto
- **Passivo:** non richiede energia (esoergonico) si verifica spontaneamente
  - diffusione semplice
  - diffusione facilitata

**Osmosi:** l'acqua si sposta dalla parte più concentrata a quella meno concentrata

- **Soluzione isotonica:** concentrazione di soluti pari a quella intracellulare, flusso di acqua in entrata è uguale al flusso in uscita
- **Soluzione ipertonica:** concentrazione di soluti maggiore rispetto a quella intracellulare → i fluidi escono all'esterno e la cellula si raggrinzisce (shrinkage)
- **Soluzione ipotonica:** l'acqua tende ad entrare nella cellula e a gonfiarla, se la soluzione è troppo ipotonica la cellula si gonfia fino a scoppiare

**Diffusione:** il soluto si sposta dalla parte più concentrata a quella meno concentrata per equiparare la soluzione secondo gradiente di concentrazione. La membrana deve essere permeabile al soluto.

**Permeabilità relativa:** capacità di diffusione attraverso lo stato lipidico

**Diffusione facilitata:** la proteina di membrana apre un canale per il passaggio di molecole proteiche.

- *Proteine trasportatrici:* si legano al soluto specifico e subiscono cambiamenti di conformazione per trasferire il soluto legato attraverso la membrana. Si alterna tra due conformazioni.



- *Proteine canali:* non legano il soluto ma formano un poro idrofilo per far passare il soluto nel doppio strato lipidico. Forma un poro pieni d'acqua in cui diffonde lo ione specifico

**Canale ionico:**

- Trasporto passivo di ioni inorganici secondo gradiente
- Selettivi per un determinato ione → carica e dimensione adatta a passare il canale.

Apertura e chiusura regolata da: - cambiamenti di voltaggio attraverso la membrana  
- attacco di un ligando

**Potenziale di membrana:** quando c'è differenza di carica elettrica sui due lati della membrana (quando si ha eccesso di ioni negativi su un lato e positivi sull'altro).

**Diffusione facilitata:** di due tipi

1. *Uniporto:* 1 soluto
2. *Cotrasporto:* 2 soluti
  - *Simporto:* 2 soluti nella stessa direzione
  - *Antiporto:* 2 soluti in direzioni diverse

**Trasporto attivo:** movimento di un soluto contro gradiente di concentrazione o contro gradiente elettrochimico (ioni carichi).

Trasporto avviene tramite proteine trasportatrici. Le proteine trasportatrici accoppiano il trasferimento del soluto ad una reazione che cede energia (esoergonica).

Il trasporto attivo fa in modo che la cellula possa mantenere le concentrazioni intracellulari di ioni specifici in una situazione di non equilibrio con l'ambiente extracellulare.

**Trasporto attivo diretto:** movimento dei soluti e degli ioni da un lato della membrana accoppiato direttamente a una reazione esoergonica (idrolisi ATP).

Pompe: proteine di membrana che servono da trasportatori.

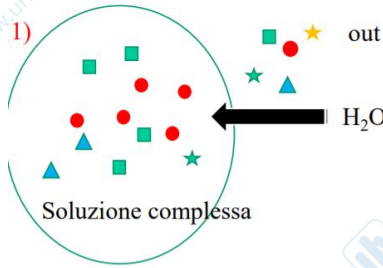
Pompe ATPasi o ATPasi di trasporto: proteine di trasporto attivate dall'ATP

**Pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>:** antiporto: escono 3 Na<sup>+</sup> ed entrano 2 K<sup>+</sup>.

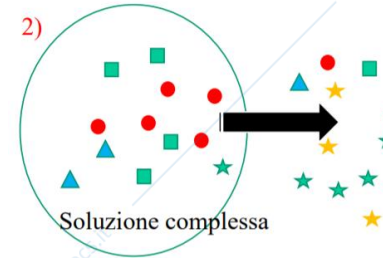
Trasporto accoppiato all'idrolisi di ATP, consuma 1/3 delle risorse energetiche della cellula  
Pompa che serve a mantenere l'equilibrio osmotico e stabilizzare il volume cellulare.

**La cellula contiene un'alta concentrazione di soluti:**

**La cellula contiene un'alta [soluti]**



1) Si creerebbe un gradiente osmotico che attirerebbe H<sub>2</sub>O nella cellula



2) Per mantenere l'equilibrio osmotico: la cellula pompa out dei soluti x aumentare la loro concentrazione nell'out e controbilanciare la potenziale entrata di H<sub>2</sub>O.

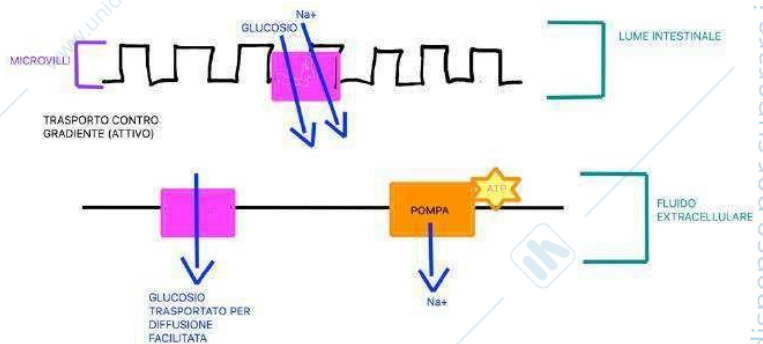
-la pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> mantiene l'equilibrio osmotico pompando fuori il Na<sup>+</sup>.

Se si blocca, x es. con l'ouabaina, le cellule si rigonfiano e scoppiano.

-contribuisce al mantenimento del V<sub>m</sub>

**Trasporto attivo secondario: trasporto attivo indiretto**

Sulla membrana apicale delle cellule epiteliali dell'intestino ci sono proteine che permettono il passaggio di glucosio contro gradiente. Processo endoergonico sostenuto dal flusso esoergonico di Na stabilito dalla pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

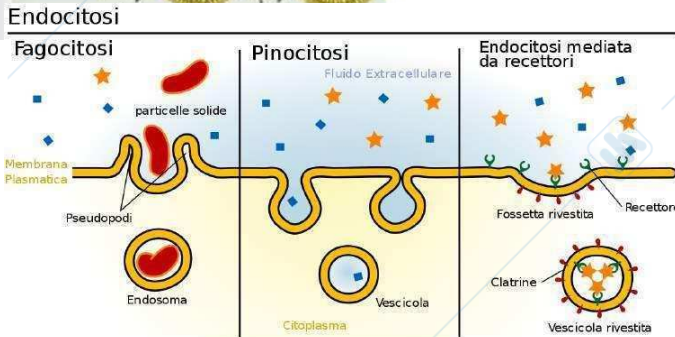
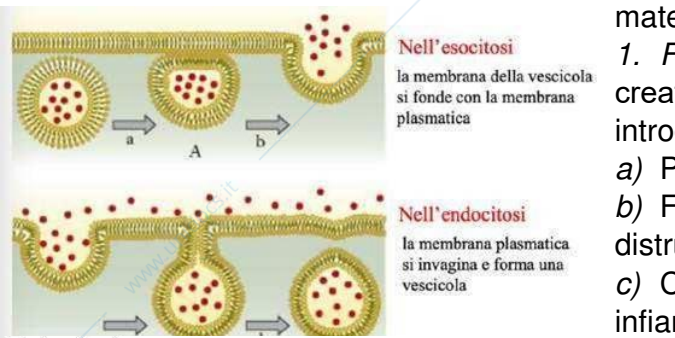


**Trasporto vescicolato: trasporto di molecole di grandi dimensioni**

materiale internizzato attraverso 3 meccanismi:

1. *Fagocitosi*: delle particelle solide introdotte da vescicole create grazie all'invaginazione della membrana e introdotte nella cellula. La utilizzano:

- a) Protozoi
- b) Fagociti, cellule specializzate del sistema immunitario, distruggono batteri e cellule morte o danneggiate
- c) Cellule specializzate di vari tessuti durante la risposta infiammatoria e per mantenere l'integrità del tessuto



Le molecole dallo spazio extracellulare. Cellula imposta top plasma. Si forma una piccola goccia di fluido stacca nel citoplasma. I recettori della membrana cellulare si legano a molecole

specifiche da portare dentro la cellula. Le proteine recettoriali si trovano in zone chiamate fossette rivestite (depressioni della superficie cellulare). Ogni fossetta è caratterizzata dalla presenza di uno strato di proteine periferiche alla membrana, le clatrine. Una volta che tutte le molecole specifiche sono legate ai recettori la fossetta si

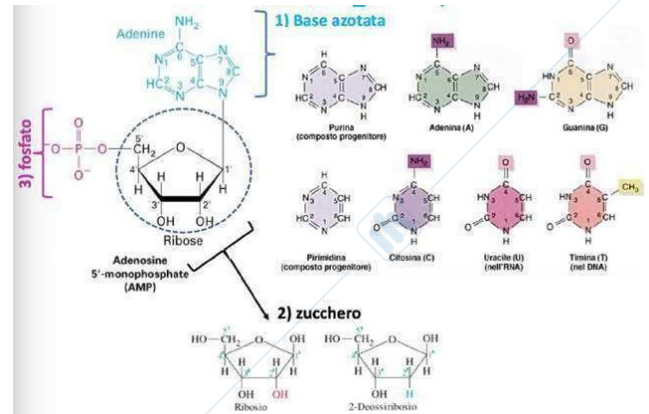
ripiega all'interno e dà origine a una vescicola ricoperta di clatrine e contenente la sostanza da trasportare.

**Acidi nucleici: DNA e RNA**

**Struttura primaria:** filamento composto da nucleotidi legati tra loro mediante legame fosfodiesterico.

**Acido ribonucleico (RNA):** filamento singolo di acido nucleico → può formare strutture secondarie grazie alla formazione di legami a H che si instaurano tra basi azotate complementari

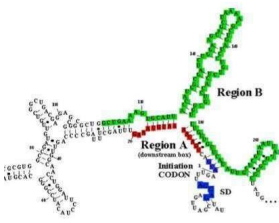
**Basi azotate:** citosina, guanina adenina uracile. A=T; C=G; A=U.



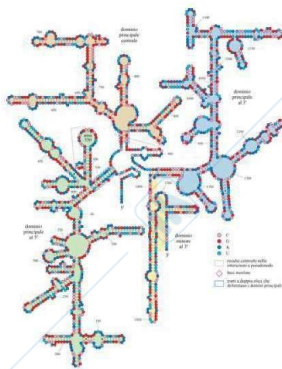
**Zucchero:** ribosio

**RNA:  
3 dei principali**

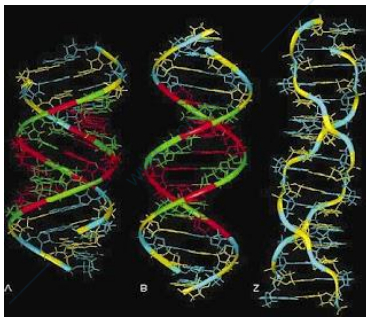
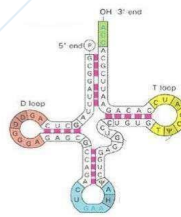
**RNA messaggero (mRNA)**



**RNA ribosomiale (rRNA)**



**RNA transfer (tRNA)**



**Acido desossiribonucleico (DNA):** filamento doppio complementare e antiparallelo a formare una doppia elica; lo zucchero è il ribosio e le basi azotate sono la citosina, la guanina, l'adenina e la timina.

**3 strutture:** identificate tramite analisi di diffrazione di raggi X 3 strutture secondarie.

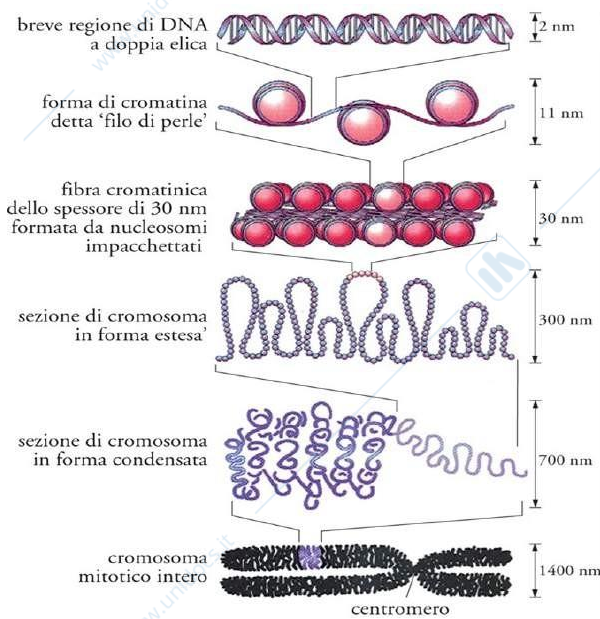
**DNA-A:** riscontrato solo in vitro. Il solco maggiore è stretto e il solco minore è ampio.

**DNA-B:** forma più comune. Solco maggiore ampio e solco minore stretto

**DNA-Z:** distinzione tra solchi non netta; impalcatura zucchero-fosfato è a

zig-zag

**Struttura terziaria:** DNA + proteine.

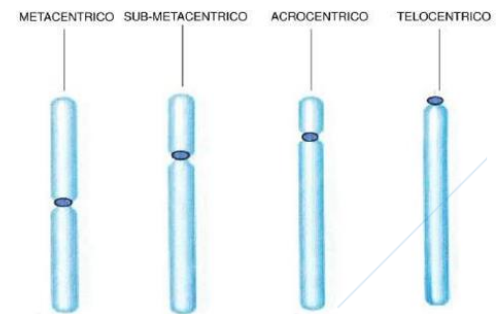


**Fibra a collana di perle:** il nucleosoma è l'unità fondamentale (perla) contiene una particella di proteine basiche (istoni), circondata da 1,75 giri di DNA. La particella di proteine è un ottamero di istoni e contiene due molecole di ognuno di questi istoni:

- Istone H2A
- Istone H2B
- Istone H3
- Istone H4

È presente, inoltre, il DNA linker che congiunge i nucleosomi e contiene l'istone H1

Gli istoni si avvolgono e formano un solenoide



**Classificazione dei cromosomi:**

possono essere classificati sulla base:

- Della posizione del centromero o costrizione primaria
- Della lunghezza

**Corredo cromosomico o cariotipo umano:**

Cellula umana è diploide: costituita da 23 coppie di cromosomi omologhi

22 paia di cromosomi sono autosomi: cromosomi identici nei due sessi

1 paio sono eterocromosomi: cromosomi sessuali coinvolti nella determinazione del sesso.

**Il DNA è il depositario dell'informazione genetica.** Gene nel DNA → trascrizione in mRNA e altri RNA → tradotto nella proteina specifica.

**Cromatina:** 2 forme →

- *Euromatina*: forma rilassata, più accessibile ai sistemi di trascrizione
- *Eterocromatina*: forma compatta, non accessibile.
  - Eterocromatina costitutiva: sempre compatta in tutte le cellule
  - Eterocromatina facoltativa: inattiva in alcune fasi. Può diventare attiva dopo alcune modificazioni agli istoni.

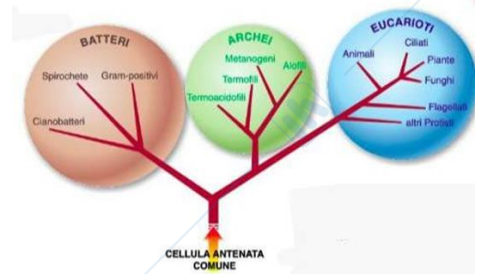
**Paradosso del valore C:** il valore C è la quantità di DNA per assetto aploide. Non esiste correlazione tra la complessità dell'organismo e le dimensioni del suo genoma.

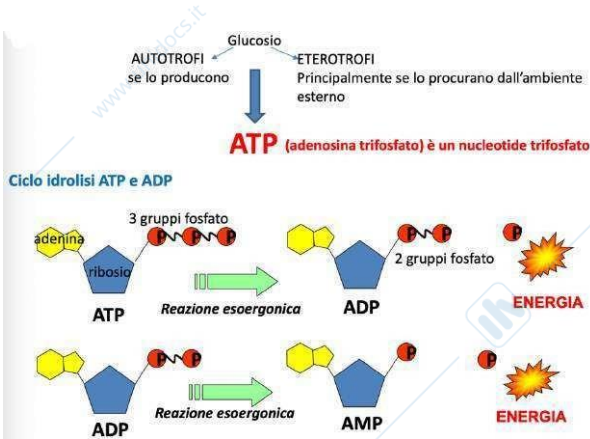
Genoma umano: 3 miliardi di nucleotidi → il DNA genico è circa il 35% (3% codificante), il DNA extra genico circa il 65%.

**Classificazione esseri viventi:** suddivisione dei regni in base

a

1. *Tipo di cellula*: procarioti ed eucarioti
2. *Complessità e struttura organismi*: unicellulari, pluricellulari
3. *Tipo e modalità di nutrizione*:
  - a) Eterotrofi: assumono materie prime dall'esterno
  - b) Saprofiti: si nutrono di sostanze organiche in decomposizione
  - c) Parassiti: utilizzano il metabolismo di altri organismi viventi
  - d) Autotrofi: sintetizzano molecole organiche partendo da sostanze inorganiche semplici (fotosintesi clorofilliana).





**Glucosio:** molecola elettiva di partenza per la produzione di ATP.

**Demolizione del glucosio genera ATP:** due fasi

- glicolisi: in presenza di  $O_2$  è seguita da respirazione cellulare; in assenza di  $O_2$  è seguita da fermentazione:

- *Fermentazione lattica:* in microrganismi anaerobici nelle cellule muscolari sottoposte ad un forte esercizio fisico anaerobico
- *Fermentazione alcolica:* nel vino, birra, lieviti ecc.

**Riproduzione:**

- *Aessuata:* individui generati uguali a quelli che li ha generati
  - *Scissione binaria*
  - *Gemmazione*
  - *Frammentazione:* parte distaccata di un organismo pluricellulare ne genera uno identico.
- *Sessuata:* ogni genitore ha il proprio patrimonio genetico (diploide,  $2n$ ); ogni gamete ha metà patrimonio di ciascun genitore (aploide,  $n$ ); l'individuo generato ha caratteristiche di entrambi i genitori, metà patrimonio genetico del padre e metà della madre

**Organismi procarioti unicellulari:**

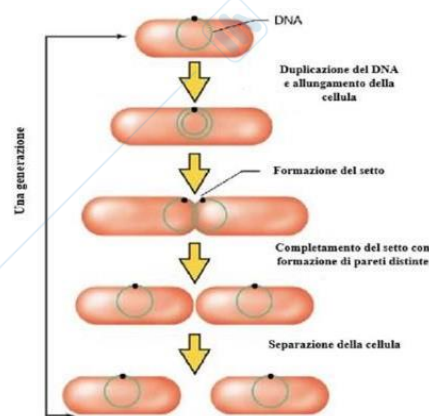
EUBATTERI → tutti i batteri e cianobatteri

- Bacilli
- Cocchi
- Vibrione
- Spirale
- Spirochete

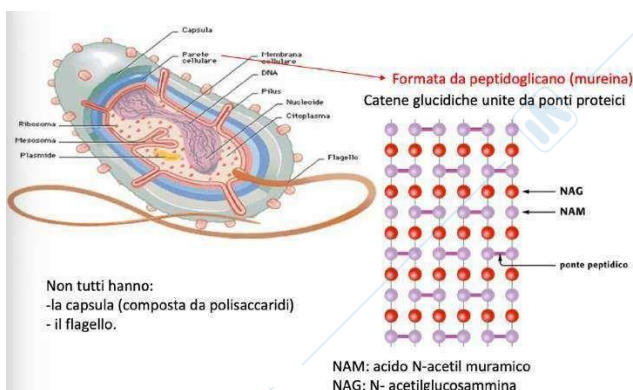
Gli eubatteri si aggregano reversibilmente e formano gruppi di cellule assumendo la forma di vere e proprie colonie.

- Diplococchi
- Streptococchi
- Streptobacilli
- Sarcine
- Stafilococchi

I batteri si riproducono per scissione binaria → non hanno il citoscheletro, non formano il fuso mitotico → non si possono dividere per mitosi

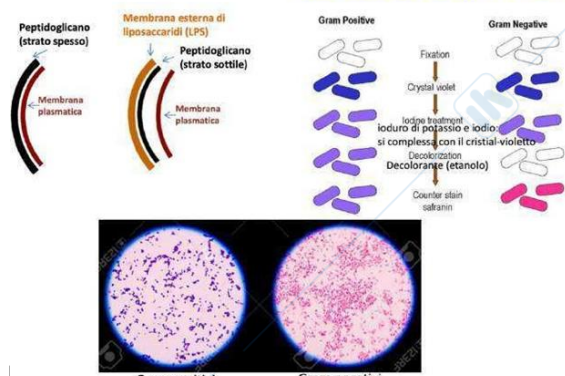


**Organizzazione strutturale della cellula procariotica:**



**suddivisione in GRAM+ e GRAM-:** dipende dalla struttura della parete

**COLORAZIONE DI GRAM: STEPS**



Solo i Gram+ sono sensibili alle penicilline naturali: le penicilline naturali sono più piccole e possono passare dai pori dei Gram-

**Plasmidi:** piccola molecola di DNA circolare extra cromosomica; non indispensabile alla sopravvivenza ma conferiscono proprietà aggiuntive → plasmidi-R danno resistenza agli

antibiotici. I plasmidi possono essere trasferiti da un batterio ad un altro tramite il processo di coniugazione.

**Eubatteri sporigeni:** si trovano in condizioni avverse, producono spore con una membrana che li rende immuni agli agenti esterni (*Bacillus anthracis*).

### Tossine:

**esotossine:** molecole prodotte e rilasciate dal batterio. Sono proteine inattivate dal calore, altamente antigeniche (stimolano la produzione di anticorpi e antitossine), possono essere convertite in formalina (tossoidi antigenici non tossici). Sono usati nelle vaccinazioni

**endotossine:** componenti della membrana esterna dei Gram-; vengono liberate alla morte del batterio. Sono complessi liposaccaridici, non inattivati dal calore, debolmente immunogene, non convertibili in tossoidi, provoca febbre. (*salmonella*).

Non tutti i batteri sono patogeni → microflora → ogni animale ospita batteri innocui simbiotici.

La maggior parte degli eubatteri sono eterotrofi

In base alla capacità che hanno di vivere in assenza o presenza di O<sub>2</sub> vengono definiti:

- **Aerobi:** vivono in presenza di
- **Anaerobi:**
  - **Obbligati:** vivono in assenza di O<sub>2</sub>
  - **Facoltativi:** possono vivere sia in presenza che in assenza di O<sub>2</sub>

In base alla temperatura vengono distinti in:

- **Psicrofili:** -7°/20°; optimum 18°
- **Mesofili:** 20°/40°; optimum 37°
- **Termofili:** 40°/90°; optimum diversificato

**Cianobatteri:** batteri autotrofi fotosintetici; strutture membranose simili a tilacoidi, parete di Gram-; possono fissare l'azoto e sono capaci di trasformarlo in composti ridotti come l'ammoniaca.

**Archeobatteri:** procarioti più antichi. Sono estremofili → condizioni di vita estreme.

**Alofili:** ambienti ad altissima salinità; impartiscono una colorazione rosa dovuto alla presenza di un pigmento fotosintetico chiamato batteriorodopsina.

**Termofili estremi e termoacidofili:** vivono ad altissime e bassissime temperature e in ambienti molto acidi

**Metanogeni:** produttori di metano; vivono in ambienti privi di O<sub>2</sub>. Si trovano nell'intestino di molti animali, nel fango delle paludi e nelle rocce a grande profondità. L'80% del metano presente nell'atmosfera è prodotto dai ruminanti.

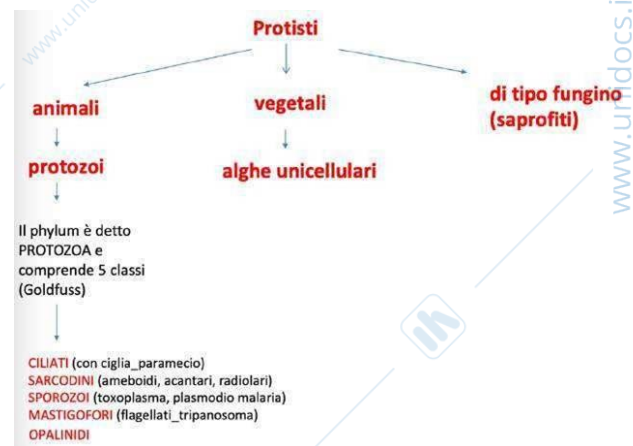
**Protisti:** i primi eucarioti ad essersi evoluti sulla terra.

- Eucarioti
- Unicellulari, a volte comunità pluricellulari ma non tessuti
- Gruppo eterogeneo

**Ciliati:** protozoi evoluti; movimento evoluto grazie alle ciglia. Nutrizione eterotrofa. Vivono nelle acque dolci.

2 nuclei: uno con i geni per riprodursi (scissione binaria) l'altro per le reazioni chimiche.

**Sarcodini:** amebe, radiolari. Eterotrofi. Movimento attivo grazie a pseudopodi che permettono anche la cattura di particelle alimentari. Vivono in acque dolci o salate. Alcune parassite provocano disturbi intestinali. Esoscheletro siliceo forato dal quale escono pseudopodi per il movimento



**Sporozoi:** importanti per la medicina veterinaria e umana. Passano da un ospite all'altro attraverso insetti. Assumono alimenti liquidi attraverso la parete del corpo. Si moltiplicano in cavità del corpo o dentro cellule di altri organismi arrecando danni molto gravi (fino a morte). Non hanno organi di movimento. Alternano una riproduzione asessuata a quella sessuata. (toxoplasma gondii → toxoplasmosi, attacca cani e gatti, gli uomini hanno gli anticorpi; se colpisce una donna in gravidanza può arrecare danni al nascituro. Plasmodium falciparum → malaria).

*Plasmodium della malaria:* 2 ospiti → uomo e zanzara anophelex. Alternanza riproduzione sessuata e asessuata.

Nell'uomo → ciclo asessuato → individui diploidi (sporozoi) si moltiplicano prima nel fegato e poi nel globulo rosso. Si ha la rottura del globulo rosso e l'invasione di altri globuli; si formano individui a mezzaluna che non si sviluppano più. Vanno incontro a meiosi.

Nella zanzara → ciclo sessuato: fecondazione nello stomaco; moltiplicazione e migrazione nelle ghiandole salivari. Può causare una forte anemia e ostruire capillari del cervello portando fino alla morte se non trattata.

**Mastigofori o flagellati:** portatore di flagelli, movimento attivo; eterotrofi, autotrofi e parassiti. I protozoi più diffusi, vivono sia in acqua dolce che salata. Comprendono 3 tripanosomi che infettano i vertebrati, causano malattie gravi e mortali. Trasportati da insetti ematofagi, mosca tse-tse e cimice ematofaga.

#### **Protisti vegetali: alghe unicellulari**

Costituiscono la biomassa prevalente del fitoplancton; responsabili del 70% di tutta l'attività fotosintetica della terra.

*Euglenofite:* acque dolci; stigma o macchia oculare che regola il movimento rispondendo a stimoli luminosi. Presenza di cloroplasti autotrofi condizionali (in assenza di luce possono diventare eterotrofi). 1-2 flagelli al polo anteriore in una tasca. Riproduzione asessuata.

Vacuolo contrattile per regolare l'ingresso di H<sub>2</sub>O per osmosi. No parete rigida

#### **Protisti fungini:**

- *Muffe d'acqua:* digeriscono le sostanze nutritive all'esterno del proprio corpo e assorbono poi le molecole organiche prodotte
- *Funghi mucilluginosi:* formano ammassi di consistenza gelatinosa, di colore giallo o arancio vivono nelle foglie e nei tronchi. Sono plasmodiali (massa citoplasmatica plurinucleata rinchiusa in una guaina viscida). A singole cellule. Si muovono a movimento ameboide. Si aggregano in colonie e si nutrono per fagocitosi.
- *Lieviti:* unicellulari. Il capostipite è il *Saccharomyces cerevisiae*. Usato per la fermentazione di bevande alcoliche e lievitazione del pane.

#### **Particelle acellulari:**

**Virus:** parassiti intracellulari obbligati, definiti non viventi → non hanno strutture per la respirazione cellulare e per sintetizzare i componenti.

Agenti infettivi: possono infettare tutti gli esseri viventi.

Fuori dalla cellula ospite è chiamato virione o particella virale.

Non tipica organizzazione della cellula eucariote o procariote, costituiti da

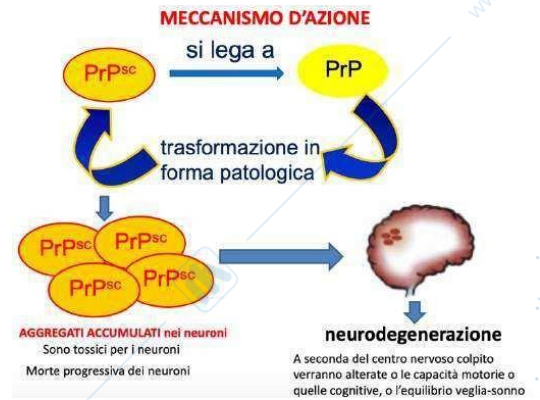
1. *Core:* acido nucleico a singolo o doppio filamento
2. *Capside:* rivestimento proteico
3. *Pericapside o envelope:* ulteriore protezione esterna

**Prione:** causa la TSE → encefalopatia spongiforme trasmissibile (malattia neurodegenerativa). Si trasmette tramite cibo contaminato anche di specie in specie. Negli ovini è chiamata *scrapie*, nei bovini BSE encefalopatia spongiforme bovina (morbo della mucca pazza). Sviluppata nel 1989 in gran Bretagna, da pecora a bovino. Lunga incubazione.

Spongiforme → all'esame autoptico il tessuto nervoso è spugnoso. Depositi di placche amiloidi.

Forma alterata della glicoproteina PrP naturalmente presente. Forma patologica → PrP<sup>sc</sup>

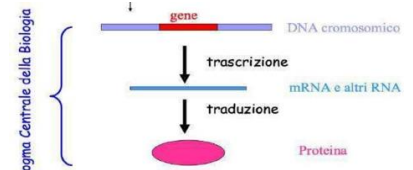
PrP: abbondante nei neuroni. Funzione probabile di regolazione ritmo sonno-veglia.



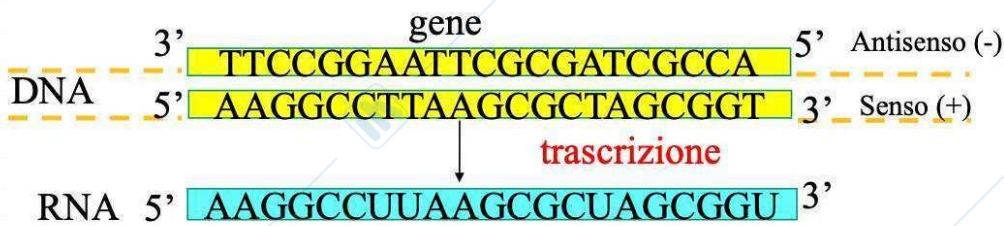
**Il DNA è il depositario dell'informazione genetica:**

Gli RNA che partecipano alla sintesi delle proteine sono:

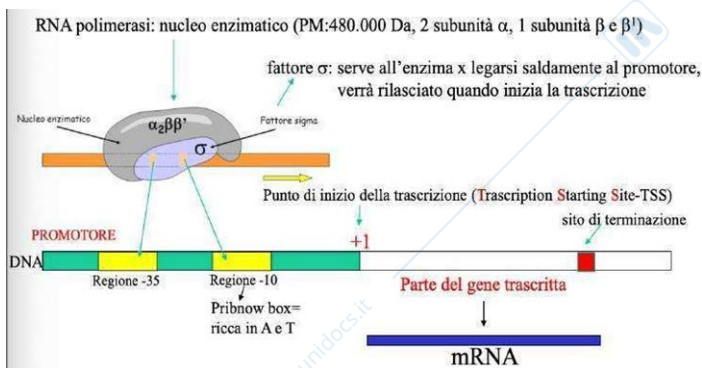
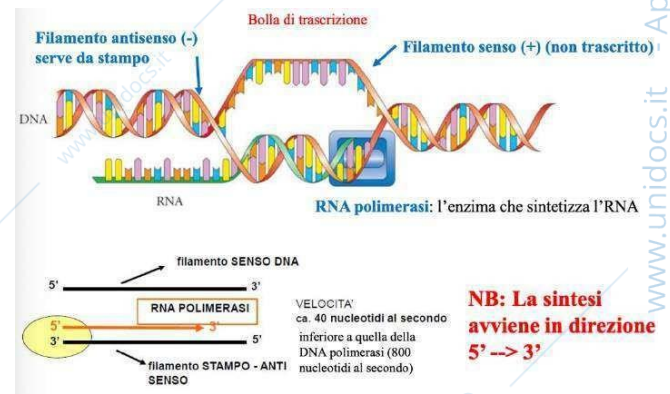
- *mRNA*: lo stampo
- *tRNA*: trasporta gli amminoacidi
- *rRNA + proteine*: ribosoma → partecipa alla formazione del legame peptidico



**Trascrizione del DNA in RNA:** la sequenza di RNA è complementare alla sequenza di uno dei due filamenti di DNA, il DNA stampo. RNA ha la sequenza del filamento senso



L'RNA legge la sequenza senso 3' → 5' e la trascrive complementariamente in senso 5' → 3'. 3' e 5' sono gli atomi di C presenti nello zucchero del nucleotide. Per polimerizzazione l'enzima ha come risultato un nucleotide trifosfato e ha bisogno di energia per cerare il ponte fosfodiesterico. L'energia è ottenuta dall'energia liberata dall'idrolisi del legame tra il fosfato α e β.



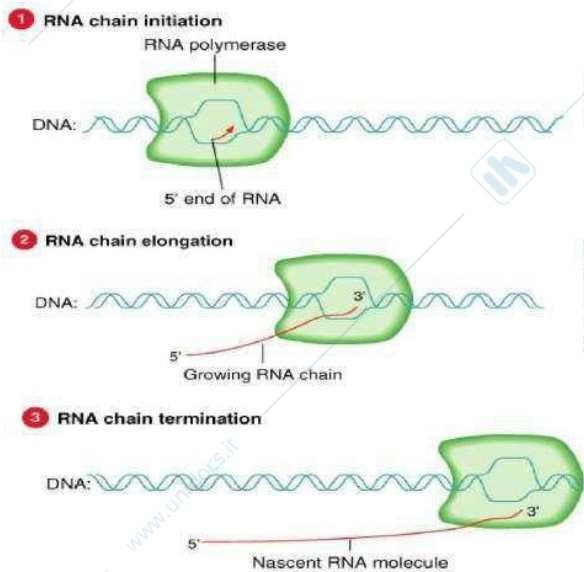
cui iniziare la trascrizione

**Struttura schematica di un gene nei batteri: Il**

DNA procariotico è formato da un promotore seguito da due regioni (una -35 e una -10) alla quale si attacca il fattore α prima, poi la parte del gene trascritta dall'mRNA attaccata poi al terminatore. Il promotore è una regione di controllo che permette di:

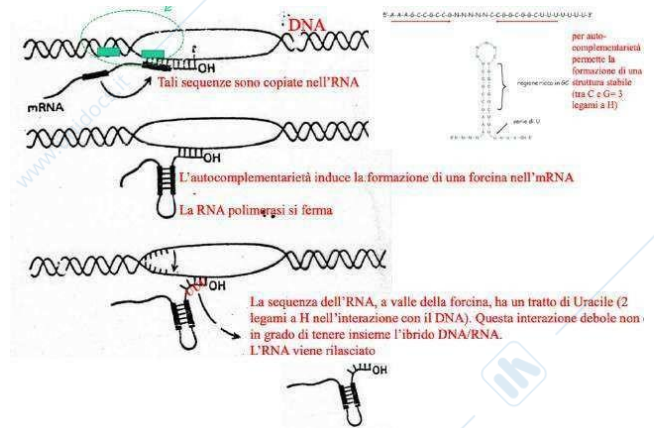
1. Permette di stabilire il legame iniziale dell'RNA polimerasi
2. Far riconoscere all'mRNA polimerasi il punto in

3. Far riconoscere all'mRNA polimerasi quale filamento di DNA usare come stampo
4. Influenza la velocità della trascrizione: promotore forte: > velocità; promotore debole: < velocità.



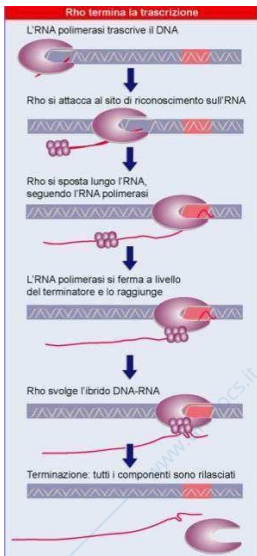
### I tre momenti della trascrizione:

1. Denaturazione locale del DNA e inizio polimerizzazione nucleotidica dalla posizione +1
2. La polimerasi allunga la catena fino all'incontro di un segnale di terminazione. La velocità non è costante. Va incontro a pause in corrispondenza di zone ricche di C e G
3. Quando l'RNA polimerasi incontra la sequenza di terminazione lascia libero il polimero. Anche lei stacca



### Terminazione della trascrizione

**Terminazione Rho indipendente o terminazione intrinseca.** Nel DNA genico il sito di terminazione è costituito da sequenze dotate di auto complementarità (palindrome).



**Terminazione Rho dipendente.** RHO è il fattore che termina la trascrizione; riconosce una specifica sequenza nell'RNA nascente e ci si lega. Insegue la catena lungo il verso della sintesi e approfittando dei rallentamenti dell'RNA polimerasi la raggiunge in prossimità del loop Rho permette il distacco dell'RNA nascente poiché è un'elicasi e svolge l'ibrido DNA-RNA.

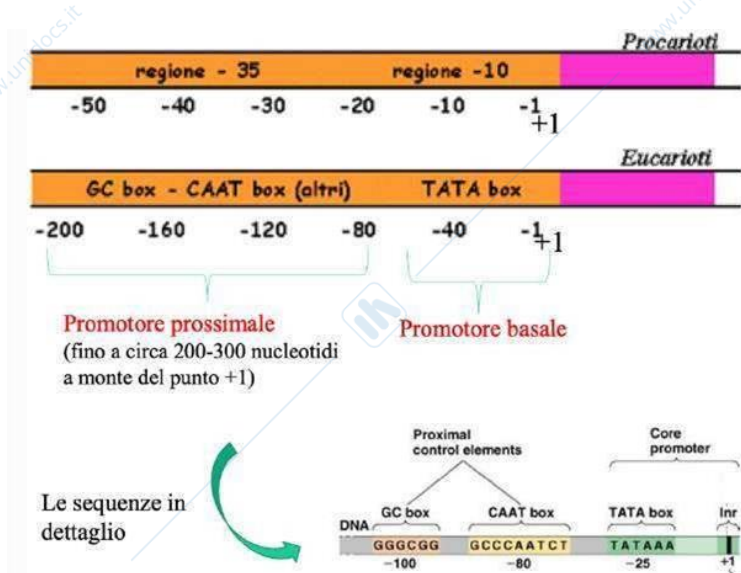
L'mRNA nei procarioti è spesso policistronico (da un solo filamento sintetizza più di una proteina).

### Confronto RNA polimerasi tra procarioti ed eucarioti:

Negli eucarioti 3 tipi di RNA polimerasi:

1. RNA pol I → sintetizza l'rRNA
2. RNA pol II → sintetizza l'mRNA
3. RNA pol III → sintetizza il tRNA, 5S rRNA e altri piccoli RNA

### Confronto promotore eucariotico e procariotico:



**Fattori di trascrizione basali o generici:** per iniziare l'RNA polimerasi eucariotica necessita di fattori di trascrizione chiamati generici, basali o generali. Non fanno parte della struttura dell'RNA polimerasi e riconoscono la regione del promotore.

I fattori di trascrizione basali riconoscono il promotore basale in cui sono presenti gli elementi di inizio → TATA box, Inr.

Si legano in sequenza fattori chiamati TFII (Transcription Factor, numero romano → fattori RNA polimerasi II). I fattori sono TFIID, TFIIB, TFIIA, TFIIF, TFIIH, TFIIJ.

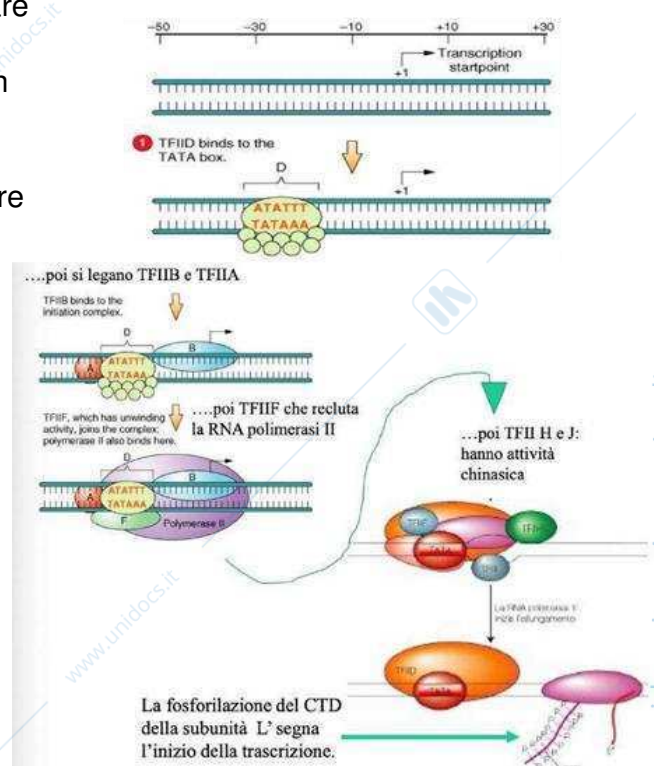
Formano il complesso di inizio della trascrizione. TDFIIB è il primo fattore ed è formato da TBP → **Tata-box Binding Protein** e da 11 proteine: **TAFs** → **TBP associated factors**

Per la regolazione della trascrizione sono importanti le sequenze presenti nel promotore distale e prossimale → aumentano l'efficienza di trascrizione; sono punti in cui si legano proteine.

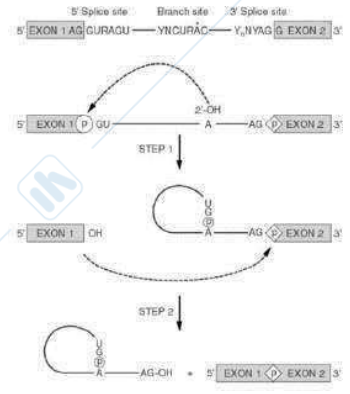
Il trascritto eucariotico è costituito da esoni, (parti codificanti) e introni (parti non codificanti). L'mRNA appena sintetizzato si chiama trascritto primario o RNA eterogeneo.

**Maturazione dell'mRNA:** serve a produrre un mRNA pronto ad essere tradotto →

- I. *Processi che aumentano la stabilità dell'mRNA e che hanno un ruolo nella traduzione:*
  - **Cap al 5':** costituito da 7 metil-guanina (forma un legame 5'-5') e dalla metilazione delle prime due basi di mRNA. Rende l'mRNA più resistente all'attacco delle nucleasi e serve a farsi riconoscere come mRNA da tradurre

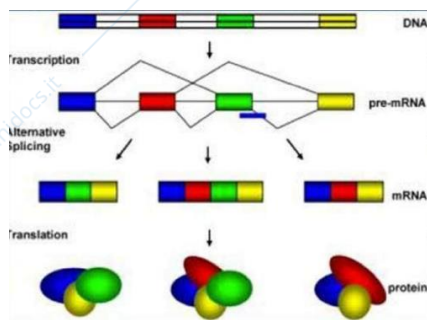


- **Coda di poli-A al 3'**: aggiunta al 3' di una coda di A di lunghezza variabile. La coda, aggiunta dalla polimerasi che riconosce uno specifico segnale dall'mRNA, viene tagliata a valle del segnale e attacca la coda di poli-A. La coda protegge l'mRNA dall'attacco delle nucleasi e permette che l'mRNA sia riconosciuto per essere tradotto



II. **Processo di rimozione di sequenze non codificanti**: (introni non portano informazioni per la sequenza della proteina)

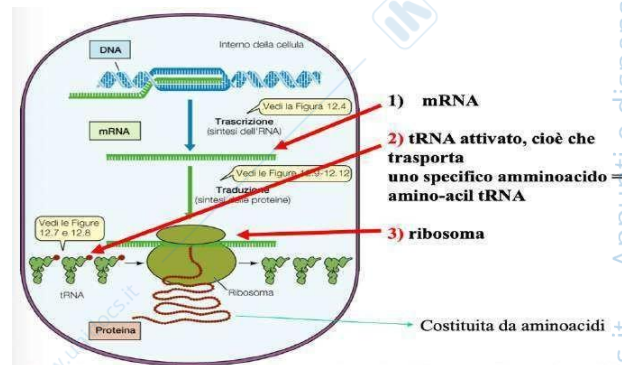
- **Splicing**: introni rimossi prima che il DNA passi nel citoplasma mediante l'intervento di proteine costituite anche da RNA, le ribonucleoproteine → riconoscono i siti di taglio (importanti per la rimozione dell'introne)
- **Splicing alternativo**: da un gene più trascritti



**Modifiche post-trascrizionali:**

**Traduzione**: il codice genetico è capace di convertire le basi dell'mRNA in amminoacidi. i nucleotidi sono 4 e gli amminoacidi 20, i nucleotidi potrebbero però formare fino a 64 diversi amminoacidi e questo significa che più di un codone codifica uno stesso amminoacido. Ogni combinazione di 3 nucleotidi (codone) codifica un solo amminoacido.

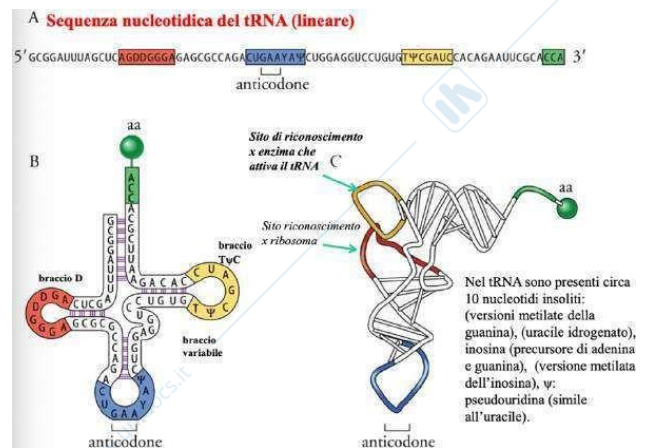
Il codice genetico è **degenerato universale** → alcuni amminoacidi sono codificati da 2 o più triplette. Ogni tripletta codifica un amminoacido, tra cui anche i codoni di stop.



**Proprietà del codice genetico:**

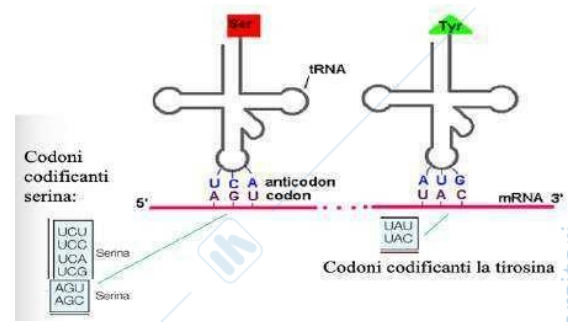
- Costituito da triplette nucleotidiche
- Degenerato
- Ha segnali di inizio e terminazione
- Universale
- Continuo, nessun nucleotide viene saltato
- Non sovrapposto (mRNA letto in triplette successive)

**RNA transfert (tRNA)**: il tRNA attivo (amminoacil-tRNA) trasporta l'amminoacido al 3'. L'amminoacido è attaccato attraverso il suo gruppo carbossilico COOH.



**Fasi della traduzione dell'mRNA in proteina:**

- Fase ATP dipendente della traduzione:** formazione dell'amminoacil-tRNA → le cellule contengono un amminoacil-tRNA sintetasi per ogni amminoacido da caricare sul tRNA
  - Si parte da ATP, amminoacido ed enzima
  - Amminoacido legato a ATP con liberazione di Ppi
  - Amminoacido legato a tRNA
  - tRNA attivo
- Fase GTP-dipendente:** fasi di inizio, allungamento e terminazione



Amminoacil-tRNA trasporta l'amminoacido corrispondente al proprio anticodone. L'anticodone è complementare al codone dell'mRNA. A seconda dell'anticodone ogni tRNA viene caricato con uno specifico amminoacido.

**Due classi di sintetasi:** sulla base della struttura tridimensionale differiscono nel lato tRNA conosciuto e da come legano l'ATP

**Classe I: monomeriche,** trasferiscono l'amminoacido sul 2'OH del ribosio terminale

**Classe II: dimeriche,** trasferiscono l'amminoacido sul 3' OH del ribosio terminale

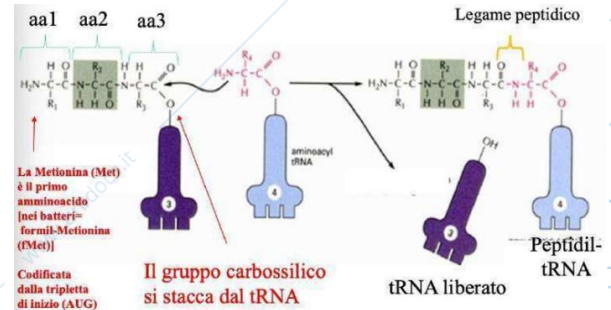
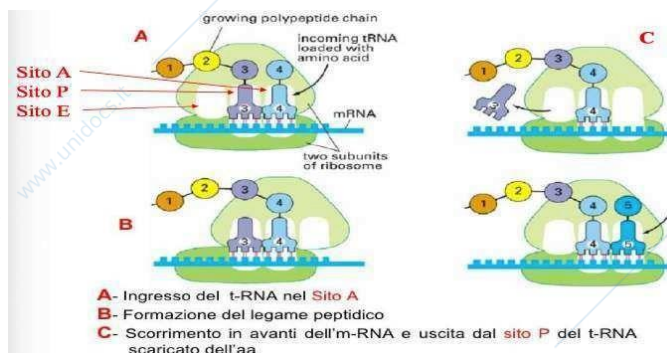
**I ribosomi:** fatti da due subunità, una maggiore e una minore. Negli eucarioti 80s; subunità maggiore fatta da tre tipi diversi di rRNA, la minore da uno. Per formare le subunità gli rRNA devono interagire con le proteine. I procarioti sono 70s; peso molecolare più piccolo.

S=coefficiente di sedimentazione

Il ribosoma completo ha 3 siti:

- Sito P: peptidico
- Sito A: amminoacidico
- Sito E: di uscita

**Formazione del legame peptidico:** ad opera della peptidil-transferasi nel ribosoma, nella subunità maggiore.



Il tRNA attacca 3 amminoacidi; è legato al terzo amminoacido che sta formando una piccola catena peptidica (ha già due legami peptidici). È necessario che l'ultimo amminoacido abbia sempre il gruppo

carbossilico all'estremità 3' del tRNA. C'è bisogno di un altro amminoacido trasportato dal tRNA. Il gruppo amminico si riformerà tra il gruppo amminico e il gruppo carbossilico. Quando il gruppo amminico con il tRNA attivato si lega al gruppo carbossilico (che si stacca dal tRNA) porta alla formazione del legame peptidico. Il risultato sarà una catena che si allunga di un amminoacido legato al terzo amminoacido ella catena già formata attraverso un legame peptidico; rimane però momentaneamente attaccato al tRNA che lo trasportava (catena attaccata al tRNA → peptidil-tRNA). I siti A, P ed E si formano quando il ribosoma si è assemblato e le subunità maggiore e minore si assemblano insieme. Il tRNA<sub>3</sub> ha legato a sé una catena che si sta formando e ci sarà un amminoacido 1, 2 e 3. L'amminoacido 3 è l'ultimo ed è attaccato al gruppo carbossilico. occupa il sito P. Nel sito A si trova l'amminoacil-tRNA, il

4° tRNA attivato che arriva con il 4° amminoacido che si lega con il suo gruppo amminico, 3 si stacca dal suo tRNA e il quarto amminoacido rimane l'ultimo. Comincia la formazione di un complesso di inizio costituito da un tRNA con l'amminoacido destinato ad essere il primo della catena polipeptidica e da una subunità ribosomiale minore. Tutti e due legati all'mRNA.

1. L'mRNA si lega al sito di legame complementare lungo l'mRNA. Un anticodone di tRNA caricato con metionina si lega al codone di inizio AUG completando il complesso di inizio.
2. Il tRNA dopo essersi caricato con metionina si lega all'mRNA; la subunità maggiore del ribosoma si unisce al complesso.
3. Il tRNA caricato con metionina scorre nel sito P del ribosoma; il sito A si allinea al secondo codone dell'mRNA.

Componenti tenute insieme da un gruppo di proteine → "fattori di inizio".

**Poliribosoma o polisoma:** ribosomi associati allo stesso mRNA, codificano proteine in serie: più ribosomi si attaccano alla stessa molecola di mRNA attraverso il quale si muovono dal codone iniziale a quello finale

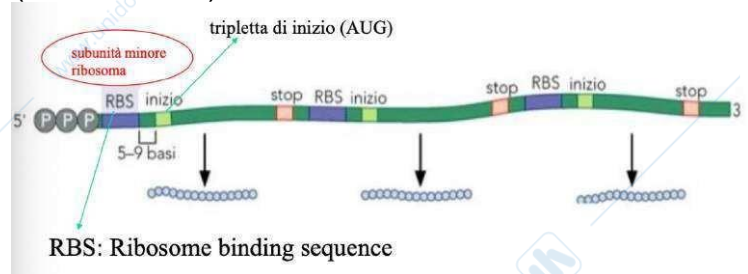
AUG → codone d'inizio; codifica la metionina (amminoacido)

Le proteine possono avere varie metionine nella loro sequenza amminoacidica.

L'individuazione del vero AUG premezza dall'interazione del ribosoma con la sequenza nucleotidica presente nell'mRNA che precede AUG (sequenza Shine-Dalgarno).

L'interazione avviene quando l'rRNA 16S

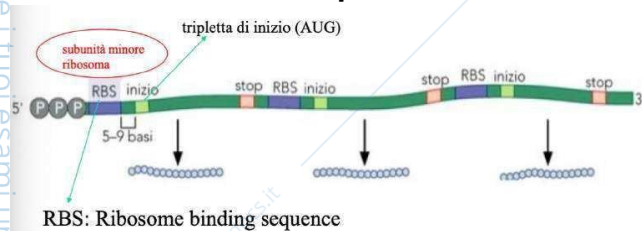
della subunità minore forma legami a H con la sequenza Shine-Dalgarno



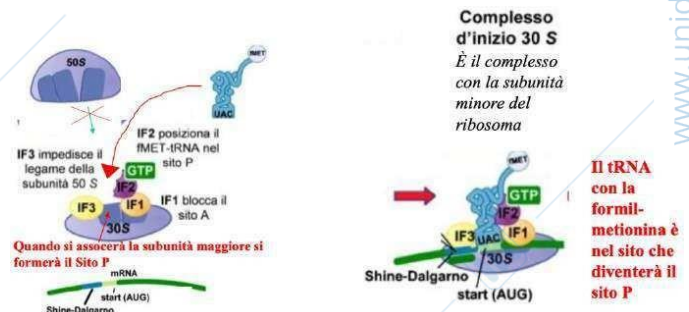
**Fase GTP-dipendente:** inizio, allungamento e terminazione

**Fase di inizio:** intervengono fattori proteici di inizio (IF) → si forma il complesso di inizio 30 S

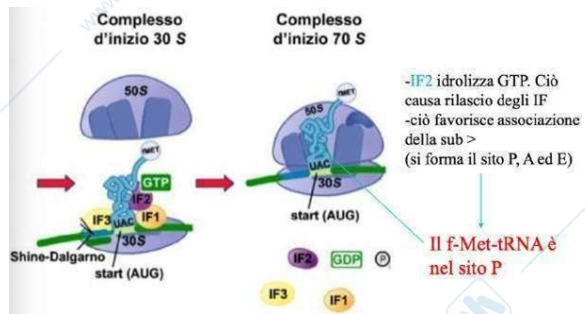
- IF1 e 3 → si legano alla subunità minore permettendole di prendere contatto con mRNA. IF3 evita l'associazione con l'unità maggiore IF1 evita che il tRNA entri nel sito A



- IF2-  
GTP → si lega a IF1 e guida fMet-tRNA a quello che sarà il sito P e permette l'interazione con AUG



**Formazione del ribosoma completo →**



Fattori di inizio procarioti (IF)	Fattori di inizio eucarioti (eIF)	Funzione
1	1	Blocca il sito A del ribosoma
2	2, 5B	Facilita il legame del tRNA iniziatore al sito P
3	3	Previene l'associazione della subunità maggiore del ribosoma
	4F (formato da 4A, 4E, 4G), 4B	Preparano lo stampo di mRNA per il legame del ribosoma

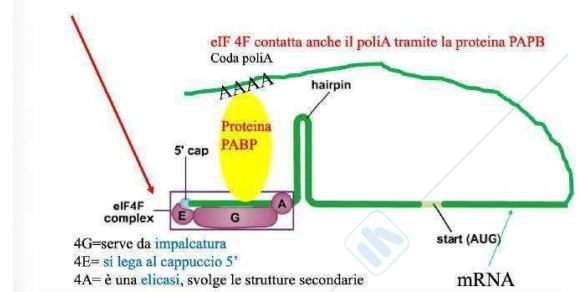
Negli eucarioti: inizio in estremità 5' dell'mRNA. Processo che coinvolge un gruppo di fattori (eIF) e un tRNA iniziatore: met-tRNA → porta una metionina non formulata → formazione del complesso 40S  
 Il cap al 5' e la coda poli A sono fondamentali per l'inizio della traduzione

**Scansione dell'RNA alla ricerca del codone d'inizio:**

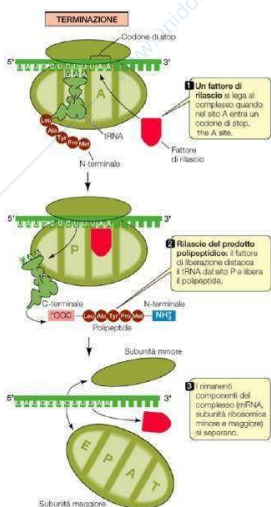
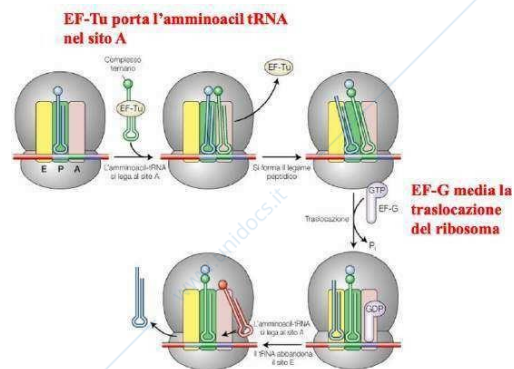
eucarioti: subunità minore lungo l'rRNA, si arriva alla tripletta AUG, all'interno di una sequenza più ampia (sequenza consenso Kozak)

**Formazione ribosoma completo 80S:** una volta identificato il codone d'inizio, l'attività GTPasica di eIF2 ed eIF5 favorisce la dissociazione dei fattori di traduzione e l'aggancio della subunità maggiore del ribosoma.

eIF 4F (formato da 3 fattori: 4A, 4E e 4G) interagisce con il cap al 5' e con la coda poliA



**Fase di allungamento** (procarioti)



**Fase di terminazione**

I codoni di stop possono codificare gli amminoacidi: solitamente UGA e UAG sono interpretati come codoni di stop ma, in realtà, possono anche codificare la selenocisteina (UGA) e pirrolisina (UAG)

possono essere riconosciuti come codificanti se alla valle del codone c'è una particolare sequenza a forcina; il ribosoma può ospitare il tRNA che trasporta selenocisteina. Negli eucarioti si trova nel 3' UTR, detta SECIS, nel caso della pirrolisina è detta PYLIS.

**Cellula eucariotica animale:** compartimentalizzata a livello degli organuli intracellulari  
**Nucleo** → scoperto da Robert Brown è tipico della cellula eucariote.

Struttura diversa a seconda della fase cellulare

In un ciclo cellulare di 24 H:

- G1: 11h
- S: 8h
- G2: 4h
- M: 1h

INTERFASE

Crescita sintesi e divisione si ripetono durante la vita della cellula → ciclo cellulare

Il nucleo ha una forma variabile. È localizzato nella regione centrale del citoplasma; nelle cellule secernenti è in posizione basale

Dimensioni variabili: solitamente sproporzionato rispetto al citoplasma

Cellula tessuto muscolare scheletrico → più nuclei

STRUTTURA NUCLEO:

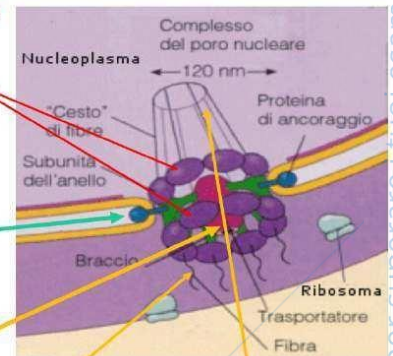
- I. *Involucro nucleare* → delimitato da due membrane concentriche: interna ed esterna. Due membrane separate dallo spazio perinucleare. Membrana esterna continua con la membrana del RE. Sulla membrana esterna ci possono essere ribosomi. Involucro non continuo, due membrane si fondono in alcuni punti, si formano così dei canali. In essi è presente una struttura proteica che permette la comunicazione tra nucleo e citoplasma. Complesso del poro nucleare.

#### Complesso del Poro nucleare

-2 anelli concentrici granulari che protrudono dal versante citoplasmatico e nucleoplasmatico (ciascun *anello* = 8 proteine poste in maniera simmetrica attorno al poro).

-strutture che ancorano gli anelli granulari alla membrana nucleare in corrispondenza dello spazio perinucleare.

granulo centrale detto TRASPORTATORE



-8 fibre che si estendono dagli anelli, dal lato interno formano una sorta di cesto.

Attraverso i pori nucleari passano verso il citoplasma passano RNA maturi e subunità di ribosomi, esportate grazie alla presenza di recettori posti nei pori. All'interno del nucleo passano proteine coinvolte nelle funzioni del nucleo

*Lamina nucleare*: rete di filamenti adesa al versante nucleoplasmatico della membrana interna dell'involucro nucleare. Funzione di sostegno e attacco per la cromatina. Nei nuclei integri difficile da osservare: nascosta dalla cromatina periferica

- II. *Matrice nucleare* → forma uno scheletro che partecipa al mantenimento della forma del nucleo. funzione di ancoraggio per sistemi coinvolti nella trascrizione e duplicazione. Impalcatura per le fibre di cromatina.

*Cromatina*: al microscopio elettronico appare come una massa densa collegata da ramificazioni che sembrano costruire un reticolo disperso

- III. *Nucleolo* → sede dell'assemblamento delle subunità dei ribosomi. Massa densa sferica che si colora intensamente. Non delimitato da membrana. Presente solo nelle cellule metabolicamente attive. In alcune cellule più nucleoli. Costituito da due regioni:

- a) Fibrillare: costituita da anse di DNA contenenti geni per gli rRNA.
- b) Granulare: contenente subunità ribosomiali a vari gradi di maturazione.

- IV. *Nucleoplasma* → non omogeneo, organizzato in sub-domini strutturali. Si pensa rappresentino una compartimentalizzazione funzionale. La cromatina di un cromosoma non è sparsa nel nucleo ma concentrata in un dominio specifico che non si sovrappone ai domini di altri cromosomi. Fattori coinvolti in processi di maturazione degli RNA sono raggruppati negli "*speckle*". Vicino agli speckle ci sono i *corpi di Cajal*, piccole sfere di strutture filamentose aggrovigliate; contengono fattori di maturazione e a differenza degli speckle si disperdono quando bloccano la trascrizione e maturazione

FUNZIONE NUCLEO:

- ❖ Sintesi degli RNA → trascrizione

- ❖ Maturazione RNA
- ❖ Assemblamento subunità ribosomi
- ❖ Sintesi DNA → processo di duplicazione DNA

**Cellula secernente:** tessuti epiteliali ghiandolari → derivano dal tessuto epiteliale di rivestimento:

- *Ghiandole esocrine:* secrezione avviene tramite dotti escretori che sfociano sulla superficie esterna del corpo o in cavità comunicanti con l'esterno
- *Ghiandole endocrine:* secrezione direttamente nei vasi sanguigni; il secreto è l'ormone. Pancreas → ghiandola sia esocrina che endocrina

**Tessuto connettivo:** formato da cellule in una matrice cellulare. Funzione di connessione, nutrimento, strutturale e forma tessuti e organi. Matrice gelatinosa con gran numero di fibroblasti

**Sangue:** matrice extracellulare è un fluido. Le cellule del sangue sono:

- *Globuli rossi:* trasporto di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Disco biconcavo senza nucleo
- *Piastrine:* coagulazione. Frammento citoplasmatico di megacariociti presenti nel midollo osseo
- *Globuli bianchi:* difesa immunitaria
  - Con granuli:
    - Granulociti neutrofili → nucleo con 2-5 lobi. Capacità fagocitaria.
    - Granulociti eosinofili → nucleo con 2 lobi. Rimane in circolo e migra nel connettivo. Non attività fagocita. Uccidono parassiti (rivestiti da anticorpi)
    - Granulociti basofili → nucleo con 2 lobi. Risposta infiammatoria. Liberano eparina e istamina. Recettori per IgE
  - Senza granuli:
    - Monociti → nucleo varia da tondo a lobato. Alta capacità fagocitaria. Regola la risposta di linfociti T e la coagulazione
    - Fagociti → nucleo sferico, occupa quasi tutto il volume cellulare. Interviene nella risposta immunitaria

**Tessuto muscolare:** movimento involontario e volontario del corpo

- ❖ Tessuto muscolare liscio → *fibrocellula*
- ❖ Tessuto muscolare liscio → *cardiomiocito*
- ❖ Tessuto muscolare scheletrico → *fibra muscolare*, deriva dalla fusione di mioblasti; polinucleata

**Sistema nervoso:**

✚ *Neuroni:* formati da corpo cellulare contenente il nucleo e prolungamenti (più lungo: assone, più corti: dendriti). Riceve stimoli dai dendriti e invia impulsi con l'assone.

- ❖ *Sinapsi:* struttura altamente specializzata → permette la comunicazione dei neuroni con altri neuroni o cellule.

Assone del neurone circondato da guaina mielinica. Maggior parte di assoni ricoperti da questo rivestimento. Serve a isolare e velocizzare la trasmissione di segnali elettrici.

Mielina che compone la guaina è formata da lipidi e proteine

✚ *Macroglia:*

- *Astrociti:* nome deriva dalla forma a stella. In contatto da un lato con i vasi del sistema circolatorio e dall'altro con neuroni  
FUNZIONI: *nutrimento dei neuroni; catturano i neurotrasmettitori* (fuoriescono dalla fessura sinaptica e vengono metabolizzati); *producono fattori di crescita; contribuiscono a formare la barriera emato-encefalica* (controlla il passaggio delle molecole all'interno del SNC. Evita che virus e batteri vi entrino. Mantiene costante la concentrazione di ioni nel liquido extracellulare. Evita il contatto tra

neuroni con molte sostanze presenti nel sistema circolatorio che hanno un forte effetto sui neuroni)

- *Oligodendrociti*: compongono la guaina mielinica nel SNC. Ognuno forma numerosi tratti di mielina nello stesso assone e negli assoni di altre cellule.
- *Cellule di Schwann*: compongono la guaina mielinica nel SNP. Ogni cellula avvolge un tratto di assone.

✚ *Microglia*: ripara i tessuti danneggiati fagocitando ciò che rimane delle cellule morte. Cellule immunitarie del sistema nervoso.

**Il reticolo endoplasmatico:** membrana in continuità con quella esterna dell'involucro nucleare. Costituito da tubuli o sacche più o meno appiattite e cisterne delimitate da una membrana e anastomizzate tra loro. Dentro c'è il lume.

**Reticolo endoplasmatico rugoso:** ribosomi adesi alla membrana.

**FUNZIONI:** *sintesi proteica; aggiunta di catene glucidiche per formare glicoproteine; accelerare formazione struttura terziaria proteine; formazione ponti disolfuro per stabilizzare struttura proteine; ancoraggio proteine a glicolipidi; tagli proteolitici.*

Molto abbondante nelle cellule produttrici di ormoni proteici

**Reticolo endoplasmatico liscio:** **FUNZIONI:** *sintesi molecole* (lipidiche, fosfolipidi, glicolipidi, trigliceridi, colesterolo, ormoni steroidei); *detossicazione farmaci; sequestro di ioni Ca<sup>2+</sup>; idrolisi glicogeno.*

Abbondante nelle cellule endocrine produttrici di ormoni steroidei, nel fegato e nelle cellule muscolari.

Le cisterne del reticolo endoplasmatico sono il complesso più esteso delle cellule eucariot

**Sintesi proteine nel reticolo endoplasmatico:**

Sintesi delle proteine dai ribosomi liberi nel citosol; destinate a: *reticolo endoplasmatico; nucleo; perossisomi; mitocondri.*

Sintesi delle proteine nel RER inizia nel citoplasma.

Particella di riconoscimento del segnale (**SRP**) fa la spola tra membrana e citosol. SRP riconosce il peptide segnale sulla proteina di nuova sintesi appena emerge dal ribosoma, ci si lega e causa una pausa nella sintesi proteica permettendo al ribosoma di ancorarsi sulla membrana del RE. Dirige il peptide ad un recettore SRP specifico e insieme a un traslocatore proteico trasferisce la catena in crescita attraverso la membrana.

**Sintesi di proteine solubili e trans-membrana:**

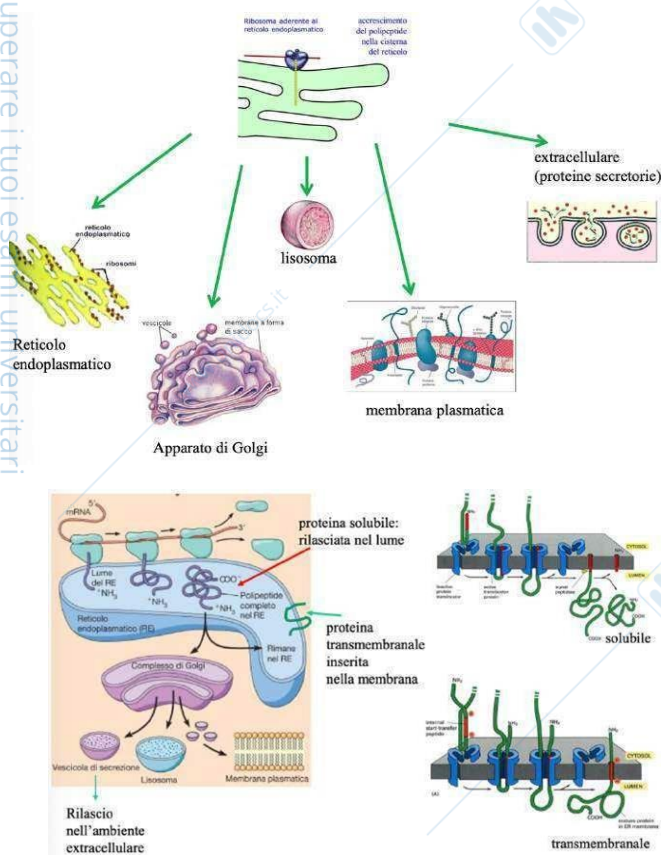
glicosilazione proteine: **N-glicosilazione** → oligosaccaride preformato è trasferito sul NH<sub>2</sub> dell'asparagina.

Oligosaccaride trattenuto sulla membrana dal lipide "dolico". Lega lo zucchero con un legame piro-solfato ad alta energia (energia di attivazione per la glicosilazione)

**O-glicosilazione:** glicosilazione su gruppi OH di serina, treonina; avviene nell'apparato di Golgi

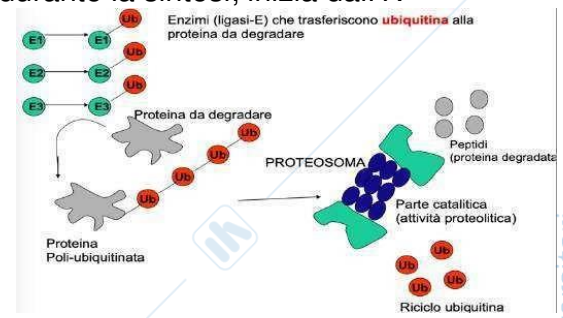
www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari



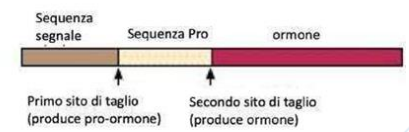
**Folding, ripiegamento delle proteine è co-traduzionale:** proteina neosintetizzata assume spontaneamente la conformazione nativa. Folding avviene durante la sintesi; inizia dall'N terminale, quasi tutto spontaneo. Determinato dalla sequenza amminoacidica

**Chaperoni molecolari:** proteine che agevolano e monitorano il folding delle proteine. Si legano a catene polipeptidiche nascenti e le assistono nel processo di ripiegamento. Proteine con un corretto ripiegamento espulse dal reticolo endoplasmatico rugoso e degradate tramite il proteasoma → degrada proteine poli-ubiquitinilate.



**Formazione di legami covalenti tra catene laterali:** ponti disolfuro → dopo l'avvolgimento nella conformazione nativa alcune proteine formano legami disolfuro tra i residui Cys → si forma la cistina nel RER. Negli eucarioti i ponti disolfuro si trovano nelle proteine da esportare fuori dalla cellula. I ponti disolfuro contribuiscono a proteggere la conformazione nativa impedendo la denaturazione nell'ambiente extracellulare (può essere molto diverso dalle condizioni intracellulari di solito ambiente ossidante).

**PRE-PRO-ORMONE**



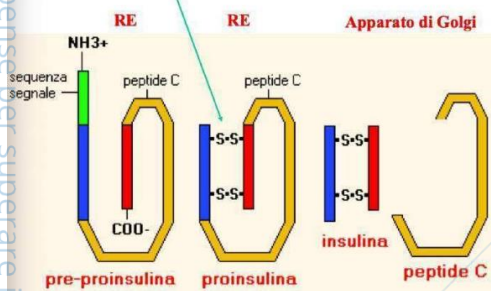
**Tagli proteolitici: ormoni peptidici** →

**Formazione ponti disolfuro:**

prodotta da cellule β delle isole di Langerhans nel pancreas. Ancoraggio delle proteine a glicolipidi → ad alcune proteine di membrana viene tagliato un peptide carbossil-terminale e scambiato con un'ancora di glicosil-fosfatidil-inositolo (GPI) proteine ancorate a GPI.

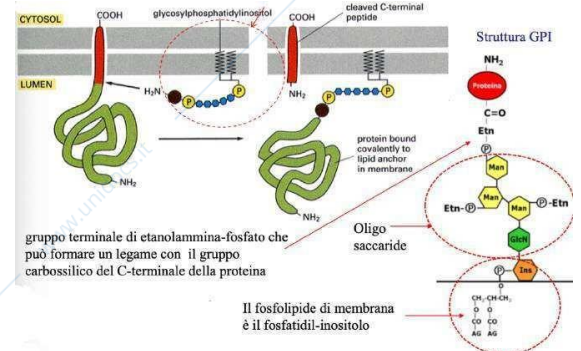
Pre-pro-insulina  
Pre-pro-ossitocina  
Pre-pro-vasopressina  
etc

**Formazione ponti disolfuro**



Ancora GPI sintetizzata da un precursore glicolipidico nel RE per aggiunte sequenziali di zuccheri al fosfatidil-inositolo.

*Il reticolo endoplasmatico non è un compartimento isolato → in continuo collegamento con altre regioni attraverso la formazione di vescicole → traffico vescicolare: vescicole gemmano da un compartimento e si fondono con un altro.*



**Apparato di Golgi:** formato da compartimenti membranosi appiattiti ordinati a formare una pila leggermente ricurva. Ha due lati: *cis* e *trans* → cisterne comunicano tramite vescicole. Cisterne sulle due facce si differenziano per forma, dimensioni, enzimi e contenuto delle vescicole associate.

**FUNZIONI:** *immagazzina, impacchetta e distribuisce molecole già sintetizzate in diverse regioni della cellula.*

1. Apporta modifiche alle molecole che passano dalle sue cisterne
  - a) Modificazione di amminoacidi
  - b) Glicosilazione: aggiunta di zuccheri per formare glicoproteine e glicolipidi
  - c) Modifica di glicoproteine e glicolipidi sintetizzati altrove: solvatazione, acetilazione, deaminazione
2. Rimaneggiamento di lipidi: glicolipidi e sfingomieline
3. Sintesi di polisaccaridi complessi

*Rielabora la catena oligosaccaridica attaccando e staccando zuccheri specifici:*

1. Fosforilazione enzimi lisosomiali, a livello di un mannosio venendo glicosilate nel reticolo (prod glicoprote) e nel Golgi viene attaccato un fosfato al livello del mannosio
2. Altre glicoproteine incontro a processo di rimozione del mannosio. Proteine quando sintetizzate sono già etichettate alla loro funzione

Dal RE si formano proteine trans membranali o solubili; dal reticolo si forma una vescicola con questi 2 tipi di proteine. Quando a contatto con l'apparato del Golgi, la trans-membranale rimane inserita nella membrana della cisterna del Golgi mentre nel lume rimane solubile fino ad arrivare alla vescicola di secrezione che prende contatto con la membrana plasmatica; la trans-membranale rimane nella membrana mentre la solubile va nell'extracellulare. Secrezione di due tipi:

1. *Regolata*: rilascio determinato da una regolazione → presenza di un segnale ormone o recettore di membrana, una proteina che viene a contatto con una molecola extracellulare, interagendo si attiva un sistema che permette alla vescicola di venire a contatto con la membrana e di rilasciare verso l'esterno la sostanza.
2. *Costitutiva*: rilascio costante e continuo di sostanze verso l'esterno.

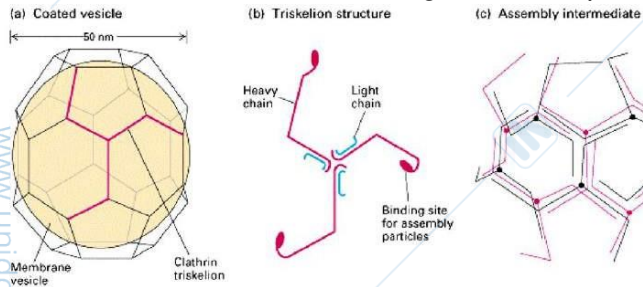
Se una molecola fatta da macromolecole biologiche che deve essere degradata viene inserita per endocitosi viene fatta venire a contatto con una vescicola contenete enzimi lisosomiali del lisosoma primario; vescicola che si origina dall'apparato di Golgi e si fonde con la particella endocitotica creando un lisosoma secondario contenente la particella endocitotica e gli enzimi lisosomiali. Enzimi lisosomiali: 40-50 tipi diversi: *nucleasi* (degrada legami fosfodiesterici); *proteasi*; *glicosidasi*; *lipasi*; *fosfatasi*; *solfatasi*; *fosfolipasi*.

Vescicola che trasporta l'enzima contiene solo un tipo di enzima lisosomiali. Enzimi chiamati idrolasi acidi (idrolizzano legami covalenti+ enzimi con attività massima catalitica a pH acido → dentro il lisosoma secondario il pH è +/- 5; il citoplasma è neutro ma c'è un sistema di trasporto che pompa dentro gli H<sup>+</sup> aumentando la concentrazione [trasporto attivo primario ATP inserito da una pompa protonica che degrada l'ATP in ADP+P]) sistema adattato dalla cellula garantisce l'attività di questi enzimi nel lisosoma e se rilasciati nel citoplasma la differenza di pH porta alla loro degradazione. Nella parte interna del lisosoma vi sono proteine che bloccano l'accesso a questi enzimi evitando che vadano ad attaccare le proteine di membrana dell'organulo. I lisosomi hanno 3 vie di degradazione:

1. *Fagocitosi*: fagociti hanno la capacità di fagocitare un batterio prendendo il nome di fagosoma al quale si andranno ad attaccare i lisosomi primari diventando lisosomi secondari
2. *Endocitosi*: compiuta da tutte le cellule si forma l'endosoma (vescicola) → di 2 tipi: precoce o tardivo
3. *Autofagia*: strutture che si trovano dentro la cellula. Un mitocondrio danneggiato deve essere eliminato → la cellula lo circonda di membrane e vengono inseriti enzimi lisosomiali. Struttura chiamata autofagosoma.

**Endocitosi mediata da recettori**: l'endocitosi permette l'ingresso di particelle LDL (particella idrofobica che trasporta il colesterolo). Colesterolo viene esterificato a trigliceride e circondato da fosfolipidi e apolipoproteine, viene inserito nella cellula e viene utilizzato distruggendo la particella per la produzione di ormoni steroidei e per la membrana plasmatica. La particella quando si trova sulla membrana della cellula trova dei recettori (proteine) in grado di riconoscerla grazie alle apolipoproteine. All'interno della membrana plasmatica troviamo la clatrina (proteina) che circonda esternamente la vescicola una volta che si sarà formata (vescicola rivestita). Una volta persa la clatrina la vescicola si chiamerà endosoma precoce; a questo punto cominciano a funzionare le pompe protoniche e si ha l'interazione tra recettori e LDL che li fa staccare favorendo il ciclo di recettori; si forma

un'evaginazione e la creazione di una vescicola formata solo da recettori riportati poi sulla membrana. Complesso di vescicole senza recettori chiamato *endosoma tardivo*, si fonde con il lisosoma primario e forma il lisosoma secondario → rende disponibile colesterolo esterificato a trigliceridi rompendo il legame tra colesterolo e trigliceridi



*Clatrina a forma di canestro*: quando riveste le vescicole per l'assunzione di molecole extracellulari e trasporto dal Golgi ai lisosomi.

Quando le vescicole si originano dal RER sono rivestite dalla proteina COP2; se originano dal Golgi sono le proteine COP1.

Tutto ciò dentro alla vescicola corrisponde allo spazio extracellulare. Quando le proteine sono

sintetizzate nel RER possono avere due orientamenti:

1. *Estremità NH<sub>2</sub>-terminale*: proteina ha l'NH<sub>2</sub> rivolto verso l'extracellulare
2. *Estremità COOH-terminale*: proteina ha il COOH rivolto verso l'extracellulare

Nel RER è possibile attaccare alla proteina un'oligosaccaride per fare la glicoproteina → si troverà verso l'extracellulare una volta trasportato → glicocalice attaccato alla membrana plasmatica, comprende glicoproteine fatte da RER.

A livello di una cisterna dell'apparato di Golgi può essere attaccato un gruppo fosfato alla proteina. Enzimi lisosomiali sono glicoproteine formate nel RER il quale attacca un'oligosaccaride, arriva nel Golgi dove viene attaccato un gruppo P al livello del mannosio; modifica che avviene solo per questa molecola → serve a proteggere l'oligosaccaride dagli enzimi che andrebbero a tagliare il mannosio. Enzima lisosomiale glicosilato (RER) → aggiunta mannosio-6-fosfato (AG)

### Perossisoma:

- Organuli delimitati da un'unica membrana
- Matrice granulare
- Abbondanti in fegato e reni
- Contiene enzimi che in presenza di O<sub>2</sub> scinde gli acidi grassi a catena lunga in molecole più corte da usare per produrre energia
- Biosintesi acid biliari, colesterolo, dolicoles
- Funzione di detossificazione → trasformano molecole tossiche che entrano in circolo
- Difendono la cellula da radicali liberi

*Radicali liberi*: molecole molto reattive; hanno elettroni spaiati, tendono a reagire con altre molecole per trasformarsi in una molecola stabile ma trasformano la molecola con cui reagiscono in una molecola instabile.

*Radicali liberi più diffusi nella cellula* → ROS (*specie reattive dell'O*)

- *Radicale ossidrilico -OH*: prodotto dell'idrolisi dell'H<sub>2</sub>O da parte di radiazioni. Radicale più reattivo
- *Perossido d'H*: si forma nei perossisomi; prodotto finale dei processi di ossidazione
- *Anione superossido O<sub>2</sub>*: prodotto da riduzione incompleta di O<sub>2</sub> durante la fosforilazione ossidativa

Reazioni chimiche che avvengono normalmente in questo organulo danno origine al perossido di H; lo possono metabolizzare (nome organulo).

Degradano l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con l'enzima catalasi: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>

L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> è neutralizzata anche da glutazione perossidasi nel citosol e nei mitocondri

Proteine dei perossisomi sintetizzate sui ribosomi liberi nel citoplasma. Vengono dirette ai perossisomi perché hanno all'N o C terminale una sequenza segnale specifica (1 o 2 di targeting per i perossisomi)

**I mitocondri:**

- ❖ Producono ATP; sintesi eme, steroidi; induzione morte programmata: apoptosi
- ❖ Presenti in tutte le cellule eucariotiche animali e vegetali con stessa struttura
- ❖ Dimensione simile a quella di un batterio 0,5-3  $\mu\text{m}$
- ❖ Non presenti in cellule procariotiche
- ❖ Numero di mitocondri in ogni cellula varia per le richieste energetiche e i tipi di cellule

Doppia membrana: *interna* → ripiegata su sé stessa, crea invaginazioni (creste mitocondriali)  
All'interno della membrana interna vi è la matrice mitocondriale, i ribosomi e il DNA.

Matrice mitocondriale:

- Elevata concentrazione di proteine, molti enzimi e ribosomi 70s.
- Molecola di DNA circolare a doppio filamento → n° coppie variabile a seconda della specie (uomo: 5,6 copie)
- DNA non associato a proteine strutturali ("nudo"), come nei procarioti.
- Contiene geni per rRNA, tRNA e proteine deputate a fosforilazione ossidativa.
- Codice genetico NON universale
- Trascrizione forma lunghi trascritti primari policistronici
- Semiautonoma → maggior parte di proteine codificate dal genoma nucleare

Può dividersi per scissione raddoppiando il numero di cellule neoformate in seguito a divisione di una cellula madre

Membrana esterna e interna → diversa composizione

- *Membrana interna*
  - 70% che proteine intervengono nella fosforilazione ossidativa → processo porta alla formazione di ATP
  - Manca il colesterolo
  - Presenza fosfolipide insolito: "cardiolipina"
  - Altamente impermeabile
- *Membrana esterna*
  - 50% proteine
  - Contiene *porine* → permettono il passaggio di molecole fino a 5000 Da
  - Più permeabile dell'interna

**Trasporto proteine mitocondriali dal citosol:** traslocatore proteico: proteina che deve andare nella matrice ci va direttamente senza toccare lo spazio inter-membranale. Quando la proteina si trova dentro la matrice viene liberata dalla sequenza segnale.

**Origine dei mitocondri:** cellula ancestrale degli eucarioti è anaerobica, della procariotica è aerobica → utilizzava l'O<sub>2</sub> per creare l'ATP. Il mitocondrio fu internalizzato dalla cellula eucariotica ancestrale attraverso la circonduzione della membrana attorno al procariota, fagocitandola. Batterio non distrutto, ha continuato a effettuare il metabolismo aerobico. Cellula ancestrale eucariotica inizia a sfruttare il metabolismo ospite entrando in simbiosi. La cellula eucariotica produceva più ATP, la procariota era più protetta.

*Teoria endosimbiotica* → mitocondri hanno origine procariota

- ❖ Membrana interna → assenza colesterolo (come nei procarioti) membrana esterna simile a quella eucariotica
- ❖ Dimensione simile ai batteri
- ❖ Struttura e dimensione
- ❖ Scissione binaria come nei batteri
- ❖ Presenza DNA circolare caratteristico dei batteri

**Il citoscheletro:** molto complesso. Connesso alle proteine di membrana. Cambia la forma della cellula.

## FUNZIONI:

- Fornisce l'impalcatura per dare forma alla cellula. Si oppone a forze che la deformano
- Organizza la disposizione e il movimento degli organelli e vescicole
- Guida lo spostamento dei cromosomi nella mitosi e meiosi
- Permette lo spostamento di cellule special. (spermatozoi; globuli bianchi, fibroblasti)
- Guida la progressione di assoni e dendriti dei neuroni durante lo sviluppo.
- Macchinario per la contrazione di cellule muscolari
- Modula la trasmissione di segnali provenienti dall'esterno e rivolti all'esterno.

È formato da filamenti proteici classificati in:

**filamenti intermedi:** molto abbondanti in cellule epiteliali e neuroni.

Conferiscono alla cellula resistenza a stress da stiramento: distribuiscono le sollecitazioni meccaniche a cui le cellule sono soggette → resistenza trazionale e stabilità meccanica.

Fibre simili a corde; sono molto resistenti. Si estendono in tutto il citoplasma.

Costituiscono una rete che circonda il nucleo e si estende verso la periferia.

Contribuiscono all'adesione cellulare; si attaccano ai desmosomi, giunzioni intercellulari specializzate, adesive.

Si ancorano spesso alla membrana plasmatica in corrispondenza di connessioni tra cellule.

Costituiti da varie classi di proteine: tessuto-specifiche; solo le lamine nucleari sono presenti in ogni cellula. I filamenti intermedi possono essere:

- **Citoplasmatici:**
  - *Cheratine:* negli epiteli. Resistenza meccanica
  - *Vitamine e vitamino-simili:* nel TC, muscolare e glia. Mantiene forma cellula
  - *Neurofilamenti:* nelle cellule nervose. Danno resistenza e dimensione all'assone. Si concentrano negli assoni per dare resistenza alla tensione. Caratterizzati da protrusioni (legami laterali che aumentano la resistenza a tensione)
- **Nucleari:**
  - *Lamine nucleari:* in tutte le cellule. Formano un'impalcatura che dà forma al nucleo. Formano una rete adesa al versante nucleoplasmatico della membrana interna dell'involucro nucleare

**Esempi di filamenti intermedi:**

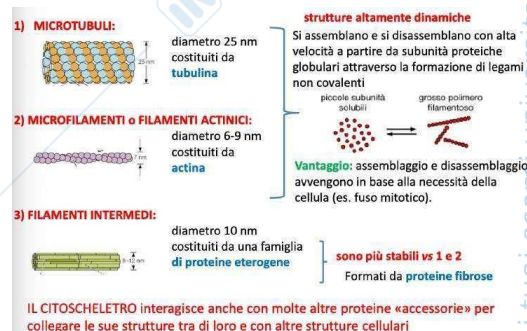
**alfa cheratina:** proteina fibrosa; dà resistenza meccanica a cute e la impermeabilizza

**Unità della cheratina:** coppia di  $\alpha$ -eliche strettamente avvolte e collegate con ponti disolfuro inter-catena, più sono numerosi più la struttura è resistente. Idrofobicità data dalla predominanza di amminoacidi idrofobici presenti in ogni  $\alpha$ -elica.

Negli strati dell'epidermide le cellule principali sono i cheratinociti.

**Cellule dell'epidermide:**

- *Cellule di Langerhans:* simili a macrofagi
- *Melanociti:* contenenti melanosomi che rilascia ai cheratinociti. Melanina protegge cellule sottostanti da raggi UV.



- *Cellule di Merkel*: fanno contatti sinaptici con le cellule nervose. Funzionano come mecano recettori sentendo variazioni di pressioni esercitate sulla pelle.

**Microtubuli**: lunghi cilindri cavi e dritti.

*Posizionano e guidano organuli e vescicole di trasporto nei movimenti.* Costituiscono il flagello, le ciglia e il fuso mitotico.

Cilindri formati da 13 protofilamenti costituiti da eterodimeri di  $\alpha$ -tubulina e  $\beta$ -tubulina. Entrambe le subunità legano GTP.

Protofilamenti sono polarizzati  $\rightarrow$  ogni protofilamento ha una subunità  $\alpha$  in una estremità e  $\beta$  nell'altra.

*Estremità (+)*: espone la subunità  $\beta$ . *Estremità (-)*: espone la subunità  $\alpha$ .

Originano dalla polimerizzazione reversibile dei dimeri  $\alpha$  e  $\beta$  tubulina.

In vitro: GTP + dimeri tubulina +  $Mg^{2+}$  – si scalda fino a  $37^{\circ}C$   $\rightarrow$  allungamento microtubuli

**Centrosomi**: centri organizzati dai quali dipartono i microtubuli. Microtubuli  $\rightarrow$  estremità attaccata al centrosoma chiamata MTOC (centro organizzatore di microtubuli).

All'interno del centrosoma vi sono:

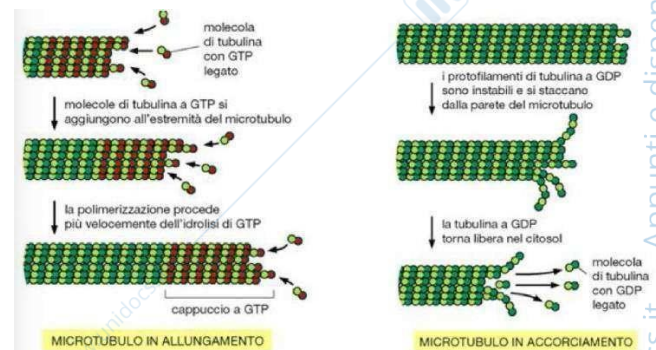
- *Centrioli*: orientati ad angolo retto; formati da 9 triplette di microtubuli. Reclutano il materiale che agisce da centro di nucleazione dei microtubuli.
- *Strutture ad anello*: ogni anello è sito di nucleazione per la crescita di un microtubulo.

*Microtubuli hanno un'instabilità dinamica*  $\rightarrow$  crescono o si accorciano improvvisamente (eccezione nelle ciglia e nei flagelli).

*Rimodellamento microtubuli*: equilibrio dinamico tra polimerizzazione e depolimerizzazione.

Dimeri tubulinici hanno attività GTPasica.

- Se le molecole di tubulina sono legate a GTP restano a formare il microtubulo
- Se molecole di tubulina legate a GDP cambiano conformazione e stabiliscono legami meno stabili; tornano libere nel citosol.



**Il fuso mitotico**: all'inizio della meiosi si ha la disgregazione dei microtubuli citoplasmatici che si riassociano per formare il fuso.

Nell'interfase si ha solo un centrosoma che si duplica nella fase S; rimane però un unico organulo dove si separano durante la mitosi.

Microtubuli funzionano da rotaie per il movimento di cromosomi durante la meiosi e mitosi  $\rightarrow$  distribuzione corretta dei cromosomi in cellule figlie.

*In cellule differenziate l'instabilità dinamica dei microtubuli è limitata*: quando la cellula si specializza (differenziamento terminale), la cellula non si divide ulteriormente; struttura dei microtubuli deve rimanere costante nel tempo. L'estremità crescente dei microtubuli può essere stabilizzata (protetta da disaggregazione) mediante legami con altre molecole.

*I microtubuli interagiscono con proteine MAP*:

1. **MAP che stabilizzano e coordina l'organizzazione di microtubuli**
  - a) **MAP2**: dominio sporgente lungo  $\rightarrow$  assone dei neuroni, neuroni con MAP2 formano fasci di microtubuli stabili tenuti lontani tra loro
  - b) **TAU**: dominio sporgente corto  $\rightarrow$  neuroni con TAU formano fasci di MC compatti.  
Morbo di Alzheimer: iperfosforilazione TAU causa aggregati di proteine insolubili. Proteina non svolge più la sua funzione. una delle cause.

2. MAP definite *motori microtubulari*, si muovono lungo i microtubuli permettendo il movimento di vescicole, organuli → teste globulari sono come piedi per camminare lungo il microtubulo.

- Chinesine**: si muovono verso l'estremità + **movimento anterogrado**; dal centro alla periferia (della cellula)
- Dineine**: si muovono verso l'estremità – **movimento retrogrado**. Da periferia a centro.

Hanno un sito di attacco per i microtubuli e uno per la membrana della vescicola o organulo. Testa globulare si lega al microtubulo ed ha attività ATPasica. Proteine motrici trascinano nel citoplasma le strutture delimitate da membrana lungo dei binari (microtubuli). Movimento di ogni proteina è *unidirezionale*.

### Farmaci che interagiscono con microtubuli:

**Colchicina**: inibisce la polimerizzazione. Si lega agli eterodimeri della tubulina liberi nel citoplasma. Impedisce loro di aggiungersi ai microtubuli in crescita; procede solo la depolimerizzazione, microtubuli si accorciano. La cellula blocca la mitosi

**Estratti del ginepro**: inibiscono la polimerizzazione; blocco mitosi

**Taxolo**: inibisce la depolimerizzazione; blocco mitosi. Usato per tumore al seno

**Ciglia e flagelli**: microtubuli formano anche strutture che sporgono dalla superficie di cellule, le ciglia. Si muovono in maniera sincrona. Funzione di spingere muco verso la gola (deglutendo vengono eliminate particelle estranee). Molto più corte dei flagelli

I microtubuli formano anche i flagelli → serve per il movimento (spermatozoi). Più lunghi

**Microtubuli sono organizzati secondo uno schema universale 9+2** → 9 coppie di MT formano un cilindro che circonda altri 2 MT centrali.

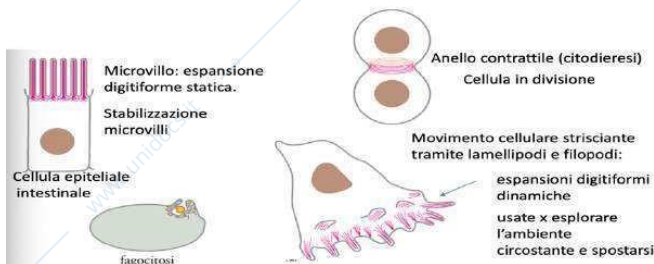
**Assonema**: filamento assile elastico di ciglia e flagelli, costituito da 1 membrana che racchiude le 9+2 coppie.

Movimento dato dal movimento di una coppia che muove la coppia più vicina. Permessato da dineina che idrolizza ATP.

All'interno del centrosoma, nelle ciglia e nei flagelli, vi sono i corpuscoli basali.

**Filamenti actinici o microfilamenti**: filamenti presenti in tutte le cellule eucariotiche; sotto la membrana plasmatica per dare resistenza e forma alla membrana. Coinvolti anche nella contrazione muscolare:

- Polimeri elicoidali di actina
- Flessibili
- Si organizzano in fasci lineari, reti bidimensionali e gel tridimensionali



Monomero dei microfilamenti è l'actina; è tessuto specifica:

- ❖ **Muscolo specifica**: actina  $\alpha$
- ❖ **Non muscolare**: actina  $\beta$  e  $\gamma$  (gamma). Localizzate in regioni diverse della cellula

**Proteine correlate all'actina (ARP)**: omologia del 50% con l'actina. Coinvolte in processi di nucleazione di nuovi microfilamenti nelle cellule che migrano.

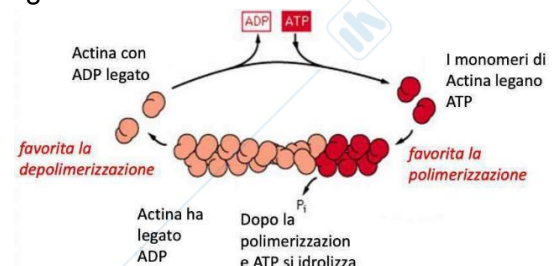
Sono singole molecole di G-actina polimerizzate. Polimero detto protofilamento.

2 protofilamenti si avvolgono ad elica destrorsa e formano il filamento di actina: **F-actina**.

Nella cellula vi è un equilibrio dinamico tra polimeri e monomeri

### Proteine che interagiscono con i filamenti di actina:

- ✚ **Proteine che regolano la polimerizzazione dei filamenti actinici:**

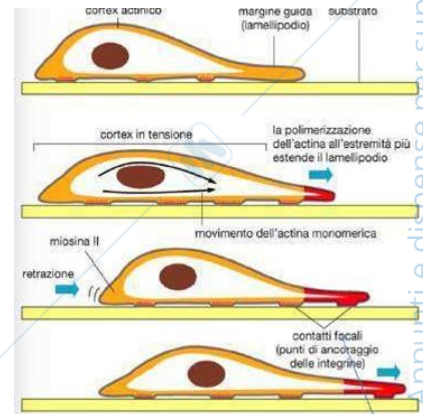


- **ARP2 e ARP3:** inducono la polimerizzazione. Complesso ARP2/3 facilita la formazione dei primi aggregati di actina all'estremità (-) favorendo l'allungamento.
- **Timosina** (blocca la crescita) e **profilina:** sequestrano monomeri e regolano la polimerizzazione.
- **Gelsolina:** lega actina e favorisce la frammentazione
- **Proteine cappuccio:** bloccano la polimerizzazione
- ✚ **Proteine che regolano la loro organizzazione reciproca**
  - **Filamina:** formano reti
  - **Alfa actina e fibrina:** formano fasci
- ✚ **Proteine motrici actino-dipendenti: miosine.** Ne esistono diversi tipi; le più rappresentate sono miosina 1 e 2. Hanno una testa globulare motrice che prende contatto con l'actina; interazione che permette lo spostamento di vescicole e modificazioni della membrana. Le teste di miosina 2 quando prendono contatto con filamenti di actina → una serie di teste si lega ai filamenti di actina tirando in una direzione; l'altra serie tira nella direzione opposta. Interazione che determina le attività contrattili. I due fasci di actina scorrono uno sull'altro in direzione opposta generando una forza contrattile. (**contrazione muscolare**)

**Movimento cellulare strisciante:** inducono la formazione di espansioni per il movimento cellulare

**forma filiforme:** all'interno fasci paralleli di actina. Emergono evidenti dalla superficie cellulare. Movimento strisciante tipico dei fibroblasti e delle migrazioni cellulari embrionali

**Forma laminare:** il margine guida della cellula si estende in un lamellipodio appiattito



Consentono l'adesione delle cellule alla matrice extracellulare

**Contatti cellula-cellula nell'organizzazione di tessuti:** le cellule si interconnettono organizzandosi in tessuti. Le cellule di un tessuto si riconoscono e stabiliscono interazioni che permettono la formazione di aggregati. Capacità di riconoscimento e di aggregazione cellulare dipende dalle interazioni tra proteine presenti sulla membrana cellulare → recettori adesivi.

- ✚ **Caderine:** per funzionare richiedono la presenza di ioni  $Ca^{2+}$ . Mediano il riconoscimento omofilico. Ne esistono almeno 12 tipi in base all'espressione in specifici tessuti. Le cellule si aggregano mediante lo stesso tipo di caderine. Possono dare origine a giunzioni specializzate tra cellule (giunzioni aderenti e desmosomi).

Sono glicoproteine di membrana. I domini importanti sono

- ❖ **Nel dominio extracellulare:** 5 domini ripetuti stabilizzanti di  $Ca^{2+}$ . Rimozione  $Ca^{2+}$  fa dissociare le cellule
- ❖ **Nel  $NH_2$  terminale:** sequenza di tre amminoacidi che permettono il riconoscimento omofilico tra caderine.
- ❖ **Regione citoplasmatica:** interagisce con i filamenti di actina del citoscheletro mediante 3 proteine:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  catenine.

- ✚ **CAM:** appartengono alla famiglia delle immunoglobuline (Ig), anticorpi, mediano l'adesione in assenza di  $Ca^{2+}$ . Mediano il riconoscimento omofilico. Non necessitano di  $Ca^{2+}$

- ❖ N-CAM: principale; espressa in molti tipi cellulari, soprattutto cellule neovose
  - Ne esistono molte isoforme derivanti per splicing alternativo da un singolo gene
  - ❖ Alcune mediano il riconoscimento eterofilico
  - Non organizzano giunzioni specializzate ma mediano contatti diffusi sulla membrana
1. **Interazione omofilica:** legame tra un recettore di una cellula con uno identico su una cellula adiacente
  2. **interazione eterofilica:** legame tra recettori di tipo diverso
  3. legame tra cellule è mediato da una **molecola che fa da ponte** tra due recettori.

### Giunzioni cellula-cellula specializzate:

- *giunzioni strette o occludenti:* negli epiteli di rivestimento sigillano le membrane di 2 cellule adiacenti. Perfetta aderenza tra i doppi strati fosfolipidici assicurata dalle proteine di membrana.
  - a. Sigillano gli strati epiteliali → impediscono il transito di molecole attraverso lo spazio intercellulare. L'unica modalità di scambio è mediata dalle proteine di trasporto
    - *Nelle cellule dell'epitelio intestinale:* barriera che previene la diffusione incontrollata dei fluidi dal lume intestinale ai tessuti sottostanti.
    - *Nella vescica:* impediscono all'urina accumulata di diffondersi tra le cellule
  - b. Polarizzano la funzione cellulare → impediscono la diffusione laterale delle proteine di membrana da un dominio di membrana ad un altro. 2 principali proteine integrali di membrana che formano le giunzioni occludenti: **claudine** e **occludine** → si legano saldamente tra loro.
    - *Nello strato epiteliale dell'intestino* viene assicurato che i sistemi di trasporto di membrana richiesti per la captazione di nutrienti dall'intestino e quelli necessari per la secrezione di nutrienti nel torrente sanguigno siano presenti su domini separati della cellula.
    - *Sul lato apicale della cellula:* proteina che media il trasporto attivo indiretto del glucosio dal lume all'interno della cellula epiteliale.
    - *sul lato basale della cellula:* proteina che media la diffusione facilitata del glucosio della cellula al torrente ematico.
- **Giunzioni adesive o ancoranti:**
  - a) Aderenti: giunzione intermedia. Le cellule sono unite dal legame omofilo delle caderine. Sotto la membrana in corrispondenza delle caderine si forma la placca di giunzione che contiene caderine e altre proteine. Placca che fa da tramite tra caderine e filamenti di actina del citoscheletro. Negli epiteli la giunzione aderente percorre tutta la circonferenza cellulare → giunzione a cintura.

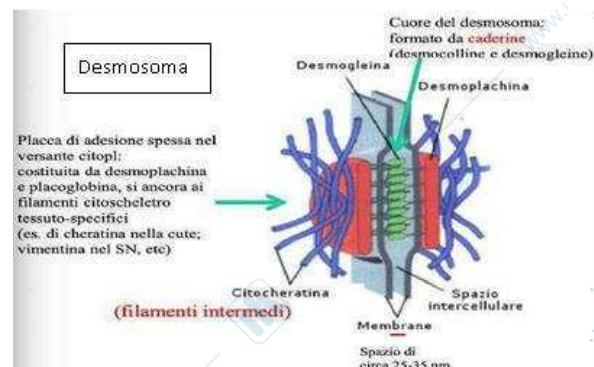
- b) **Desmosoma**: distribuiti in piccole aree sulla superficie delle cellule. Organizzazione complessa: robusta giunzione meccanica resa possibile da proteine di membrana che interagiscono a livello interstiziale con quello della cellula adiacente.

Legano il citoscheletro di una cellula a quello della cellula adiacente.

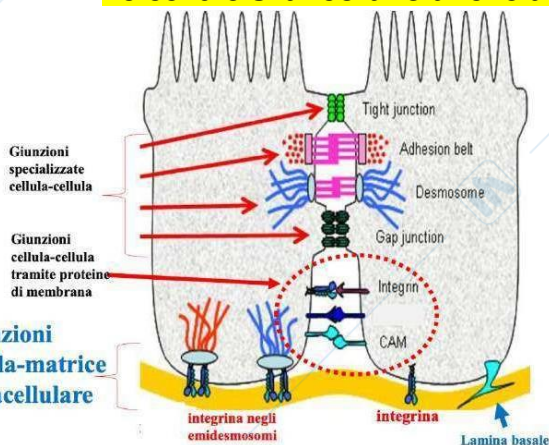
L'interconnessione tra i filamenti del

citoscheletro garantisce la resistenza agli insulti meccanici. Le forze esercitate su una cellula si scaricano su quelle vicine e si ammortizzano nelle strutture elastiche del citoscheletro.

- **Giunzioni comunicanti (gap)**: costituiscono un canale dove passano ioni o piccole molecole. Ogni canale, connessione, è costituito da 4-6 molecole di connessina. I canali possono aprirsi o chiudersi



### Le cellule si ancorano anche alla matrice extracellulare ECM:



#### le molecole della ECM:

- **Collagene**: da resistenza meccanica ai tessuti di protezione e trasporto.
- **Elastina**: da elasticità. Forma fibre elastiche, si formano legami covalenti crociati tra lisina.
- **Fibronectina**: funzione di adesione
- **Aggregati di proteoglicani legati ad un'unica molecola di acido ialuronico**.
  - **Proteoglicani**: proteine legate covalentemente a glicosaminoglicani GAG. I GAG sono lunghi polimeri di molecole glucidiche con eccesso di carica negativa. Non si ripiegano e occupano grandi volumi; sono fortemente idratibili. Trattengono grosse quantità di acqua e Sali minerali generando turgore per rendere la matrice resistente alla compressione mecc.

#### Tessuto connettivo: derma sottocutaneo:

i fibroblasti sono le cellule principali in una abbondante ECM

- Collagene 70%
- Fibre elastiche 1-2%
- Proteoglicani 0,1-0,3%

#### Le cellule si ancorano alla ECM mediante integrine:

**Emidesmosoma**:

- ✚ Ancora la superficie basale della cellula alla lamina basale → strato sottile di ECM che fa da supporto all'epitelio
- ✚ Sul versante citoplasmatico si trova la placca di adesione alla quale non corrisponde un'altra placca dal lato opposto.
- ✚ Le proteine della semiplacca si attaccano alle proteine della lamina basale → la lamina ed il collagene di tipo IV
- ✚ Principali proteine: **integrine**

**Integrine**:

- ✚ Proteine trans-membranali della cellula

- ✚ Formate da due dimeri:  $\alpha$  e  $\beta$   $\rightarrow$  22 tipi diversi
  - ✚ Ogni tipo lega un tipo particolare di proteina della matrice
  - ✚ La porzione intracellulare si lega al citoscheletro, necessita di proteine "ponte"
  - ✚ La porzione extracellulare lega le proteine della ECM:
    - *Fibronectina*: proteina fibrosa formata da 2 catene unite al COOH terminale da ponti S-S. Ha regioni che interagiscono con integrine. Ha regioni che interagiscono con collagene, eparina e fibrina.
    - *Laminina*: glicoproteina. Formata da 3 catene:  $\alpha$ ,  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , avvolte per formare una croce. Ha regioni che interagiscono con integrine.
- FUNZIONE: fa da ponte tra le cellule e la lamina basale. Ha anche regioni che interagiscono con altre proteine.

**Duplicazione del DNA:** una cellula replica il DNA prima di generare due cellule figlie.

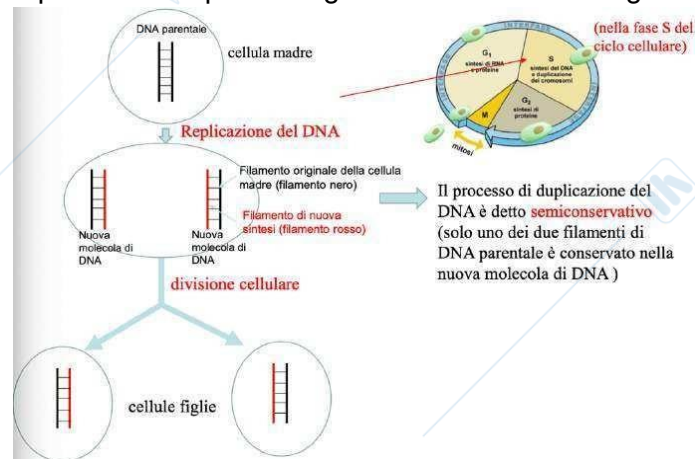
Le cellule figlie hanno il DNA identico a quello della cellula madre  $\rightarrow$  ogni filamento parentale da stampo sfruttando la complementarità. L'enzima deputato alla sintesi del nuovo filamento aggiunge l'opportuno nucleotide.

L'inserimento della base complementare sul nuovo filamento garantisce la fedeltà trasmissione genetica alle cellule figlie.

La DNA polimerasi polimerizza i nucleotidi in direzione  $5' \rightarrow 3'$  usando il filamento di DNA parentale.

- DNA pol 3 nei procarioti
  - DNA pol delta negli eucarioti
- il substrato della reazione di polimerizzazione è nucleotide trifosfato.

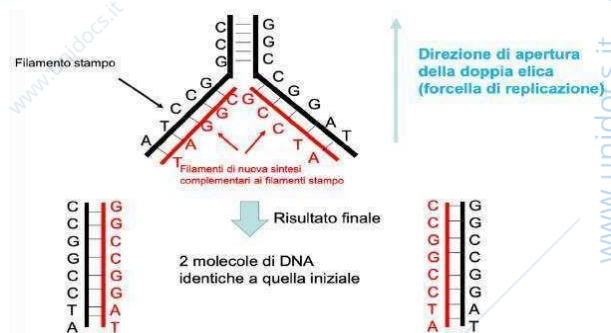
- 1) Nucleotidi vengono aggiunti all'estremità di accrescimento  $3'$
- 2) L'enzima della DNA pol 3 catalizza l'aggiunta del desossiribonucleoside successivo contenente la base C al gruppo -OH libero presente all'estremità  $3'$  della catena in via di sintesi.
- 3) Legami che uniscono i gruppi fosfati sono rotti liberando energia che permette alla reazione di decorrere.



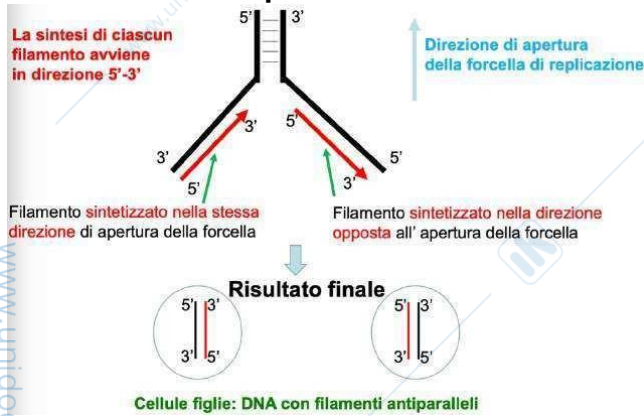
Il processo di duplicazione del DNA è detto **semiconservativo** (solo uno dei due filamenti di DNA parentale è conservato nella nuova molecola di DNA)

serve

della



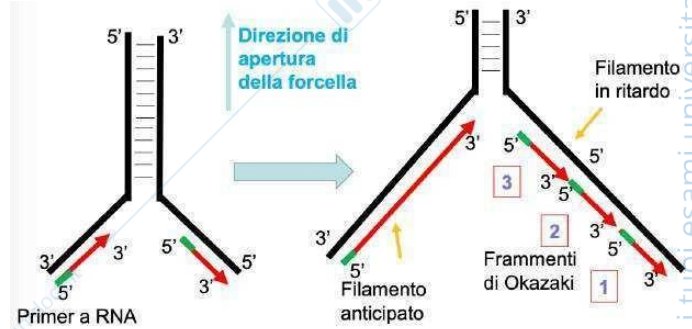
## Il DNA parentale ha filamenti antiparalleli:



La DNA polimerasi non è capace di iniziare la sintesi ex-novo, ha bisogno di un primer di innesco per iniziare la polimerizzazione di nucleotidi.

- L'enzima primasi si lega al DNA e sintetizza un **RNA iniziatore** → funziona da primer per l'innesco per la DNA polimerasi.

Un filamento è sintetizzato in maniera continua → filamento anticipato. L'altro sotto forma di



frammenti di Okazaki → filamento in ritardo

**Frammenti di Okazaki:** DNA pol 1 rimuove i primer a RNA (mattoncini verdi).

L'RNA eliminato deve essere sostituito con DNA.

La DNA pol 3 usa il terminale 3' dei frammenti Okazaki 2 per polimerizzare i nucleotidi mancanti.

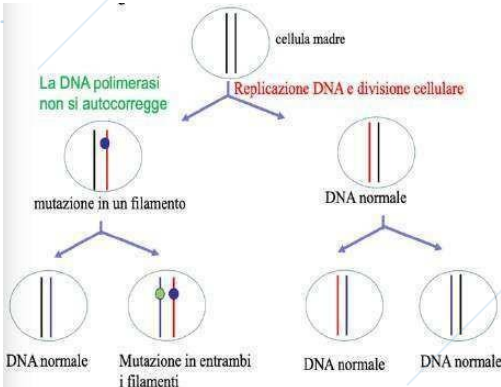
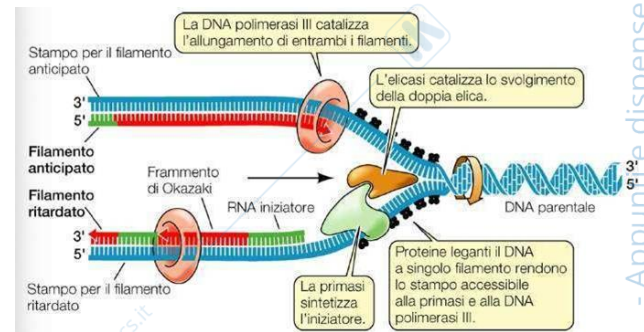
La ligasi forma il legame fosfodiesterico tra l'ultimo nucleotide aggiunto dalla DNA pol 3 e il nucleotide del frammento di Okazaki 1.

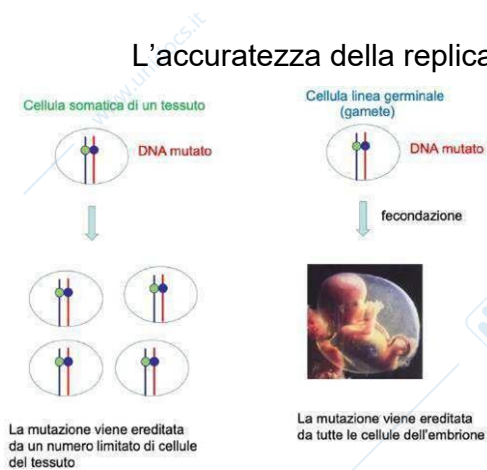
Nella realtà le DNA pol 3 formano un dimero che rimangono attaccate in modo che procedono contemporaneamente, la parte dei filamenti di Okazaki fa un'ansa che permette che si avvicinino tra loro.

Negli eucarioti ci sono 15 tipi di DNA pol che provvedono anche alla riparazione del DNA nei mitocondri.

## Attività generali DNA polimerasi:

- Catalizza l'allungamento 5'-3'
- Attività esonucleasi 5'-3' rimuovendo i frammenti di Okazaki
- Attivata esonucleasi 3'-5' con la correzione di bozze, rimuovendo le basi non complementari. La DNA pol inserisce una base errata ogni  $10^9 - 10^{10}$  nucleotidi inseriti. Attività esonucleasica 3' → 5' (rimuove l'ultimo nucleotide che ha aggiunto) correzione di bozze rimuove le basi non complementari.





L'accuratezza della replicazione di DNA è fondamentale per la corretta trasmissione dell'informazione genetica. La DNA pol non si può autocorreggere, perciò, se si ha un errore avviene una mutazione nell'altro filamento. Le mutazioni sono differenti se avvengono nelle cellule somatiche o nella linea germinale. Se avviene nelle cellule somatiche la mutazione si eredita da un numero limitato di cellule appartenenti al tessuto. Se avviene nel gamete la mutazione viene ereditata da tutte le cellule del tessuto. Se avviene nel gamete la mutazione viene ereditata da tutte le cellule dell'embrione.

Nei procarioti ed eucarioti è bidirezionale. La molecola di DNA è molto lunga e ogni cromosoma forma più forcelle di replicazione

bidirezionale con lo scopo di velocizzare la sintesi del DNA. *Punti ori* → origini dove si formano le forcelle.

### Negli eucarioti:

- Complesso primario primasi/DNA polimerasi  $\alpha$ : polimerizzano il primer a RNA. Complesso allontanato dal fattore di replicazione C e dall'antigene nucleare di proliferazione cellulare
- La polimerasi delta è l'enzima principale sia per il filamento leader che per quello ritardato.
- La rimozione dei primer di innesco avviene attraverso la RNAasi H e grazie alla cooperazione di un fattore noto come Fen-1

I cromosomi hanno i **telomeri**, le estremità. Una cellula iniziale ha i telomeri normali, quando si divide essi diventano più piccoli: si dividono a loro volta fino ad arrivare alle cellule figlie con il telomero mancante; poi avviene il processo di duplicazione che porta ad un accorciamento del DNA lineare. Nei P (DNA circolare) non succede.

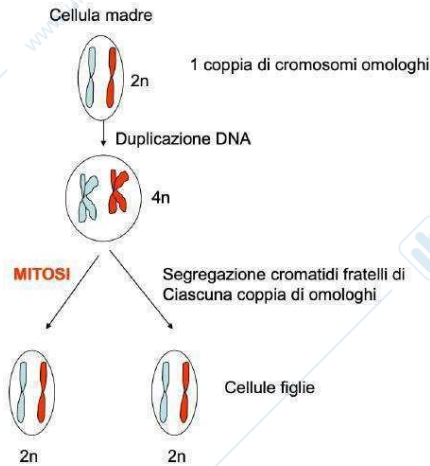
Quando l'accorciamento è elevato il cromosoma perde la sua stabilità strutturale e la cellula tende a morire **senescenza**, processo irreversibile. Alle estremità 5' dove sono presenti primer vengono tolti per collegare frammenti ma ci sono dei pezzi mancanti → non c'è lo spazio per sintetizzare il DNA mancante. Il filamento in ritardo è più corto. Quando andrà a fare da stampo sarà più corto → graduale accorciamento delle estremità del DNA. Le cellule hanno una grande capacità proliferativa: enzima **telomerasi** che allunga i telomeri; è una trascrittasi inversa, la struttura è fatta da amminoacidi + RNA, usa lo stampo di DNA per creare lo stampo complementare di DNA mancante. Telomeri fatti da una sequenza di 6 nucleotidi riprodotti in tandem. Uomo TTAGGG.

La telomerasi è nelle cellule staminali, tumorali, cellula linea germinale, cellule embrionali. Retro-trascrive l'RNA in DNA.

Compromissione della stabilità strutturale con la perdita di telomeri → nonostante ci siano dei geni viene persa.

I cromosomi sono 46; il cariotipo è diploide  $2n$ , gli autosomi sono  $2n-2$  (cromosomi sessuali) chiamati anche eterosomi. Le coppie dei cromosomi numerati sono omologhe, uno dal padre, uno dalla madre.

## La mitosi:



**Riproduzione asessuata:** da una cellula  $2n$  si ottengono 2 cellule  $2n$  identiche uguali a quella madre.  $Cellule\ 2n \rightarrow 2\ cellule\ figlie\ 2n$  identiche.

**Riproduzione sessuata:** si parte da due individui  $2n$ , partendo da cellule **gameti**, attraverso la **meiosi** il gamete maschile e femminile hanno il patrimonio genetico dimezzato ( $n$ ). Cellule vanno incontro alla fecondazione dando una cellula  $2n$  non identica ai genitori. Cellula  $2n$  formata è uno **zigote** con un nuovo genotipo, mix dei genotipi parentali.

### LE FASI:

- 1) **Profase:** coincide con la condensazione della cromatina. Lo scopo è quello di garantire una corretta segregazione dei cromatidi. Cromatidi fratelli sono uniti al livello del centromero della coesina: proteine localizzate nel centromero  $\rightarrow$  da colla per cromatidi prima dell'anafase, degradate all'inizio dell'anafase  $\rightarrow$  consentono la separazione dei cromatidi fratelli. Comincia a formarsi il fuso mitotico  $\rightarrow$  impalcatura per il trasporto dei cromosomi. Dai centrosomi iniziano a formarsi le fibre del fuso mitotico  $\rightarrow$  impalcatura per trasporto di cromatidi fratelli.
- 2) **Prometafase:** frammentazione involucro nucleare necessario poiché le fibre del fuso mitotico possano prendere contatto con i cromosomi. Disassemblamento sotto forma di vescicole innescate dalla depolimerizzazione della lamina nucleare, le lamine vanno incontro alla fosforilazione. Polimerizzazione microtubuli continua fino ad arrivare alla forma del fuso mitotico.
 

Fibre del fuso mitotico:

  - a. *fibre del cinetocore:* 80% delle fibre del FM prende contatto con i cromosomi e sono i responsabili della segregazione dei cromatidi fratelli. Non diretto contatto con i cromatidi ma con la placca **cinetocore**, a livello del centromero
  - b. *fibre astrali:* si dirigono dai poli alla membrana plasmatica e allungano il fuso mitotico, trascinano il fuso e i cromosomi alla periferia della cellula.
  - c. *Fibre interpolare:* in contatto tra loro nella zona equatoriale del fuso. Allungano il fuso e allontanano i poli.
- 3) **Metafase:** allineamento all'equatore dei cromosomi duplicati, **piastra metafasica**, le coesine ancora presenti impediscono che i cromatidi siano trascinati ai poli. Ciò che avviene qui fa parte della regolazione del ciclo cellulare. Controllo che avviene affinché la cellula possa dire a queste strutture di separarsi; **checkpoint mitotico**, verifica il giusto allineamento dei cromosomi nella piastra decidendo se la segregazione può andare avanti o no. Per la separazione dei cromosomi è necessaria l'attivazione dell'APC che promuove il processo.
- 4) **Anafase:** inizia quando le forze che tengono uniti i cromatidi fratelli nei loro centromeri si allentano. Ogni cromatide ora è un cromosoma indipendente. I cromosomi disgiunti migrano nei poli opposti guidati dalle fibre del cinetocore.
 

*Segregazione dei cromatidi fratelli:* ci deve essere la rimozione delle coesine. Depolimerizzazione dei microtubuli che costituiscono le fibre dei microtubuli  $\rightarrow$  possono così andare verso il loro centrosoma. Termina quando i cromosomi hanno raggiunto i poli. L'APC è un E-ligasi, enzimi con capacità di attaccare l'ubiquitina alle proteine, venendo degradate, tagliando le coesine
- 5) **Telofase:** stato finale, situazione cromosomica nuovamente simile all'interfase dove i cromosomi iniziano a decondensarsi. Si sviluppa l'involucro nucleare a circondare i cromatidi. Si riformano organuli.

**Citodieresi:** separazione del citoplasma. Formazione solco di divisione, **anello contrattile**, proteine actinici; fatto da actina e miosina; sempre più stretto fino a dividere le cellule.

**La meiosi:** a partire da una cellula diploide  $2n$ . Processo di duplicazione di meiosi con la formazione di 4 cellule aploidi con 23 cromosomi. Ciclo riproduttivo chiamata **diplonte**. Gli individui adulti attraverso la meiosi producono cellule aploidi che non hanno vita a sé ma che vanno incontro a fecondazione, hanno vita breve.  $n + n = 2n$ . Organismi viventi che hanno cicli aploiplonti.

Spermatozoo  $n$  + ovocita  $n \rightarrow$  fecondazione  $\rightarrow$  zigote  $2n$ - *moltiplicazione*  $\rightarrow$  differenziamento cellule per la produzione di tessuti.

Tutte le cellule del nostro organismo hanno lo stesso patrimonio genetico, la differenza è nei geni espressi, in base a dove sono posizionati.

Meiosi: il termine indica rendere più piccolo. Avviene in due fasi successive:

- 1) *Meiosi 1*: separazione dei cromosomi omologhi, migrano in cellule diverse i materni e paterni. **Riduzionale**  $\rightarrow$  divide il cromosoma materno dal paterno
- 2) *Meiosi 2*: ogni gamete formerà due gameti  $n$  contenenti un cromosoma.

**Equazionale:** formando 4 cellule aploidi. Segregazione cromatidi fratelli

**Crossing over:** scambio di tratti di DNA tra coppie di omologhi. Durante la meiosi 1. All'interno di ogni coppia di cromosomi omologhi.

*Assortimento indipendente:* durante la metafase della meiosi. Per 2 coppie di omologhi si ottiene 4 possibili combinazioni. Nell'uomo 23 coppie di cromosomi,  $2^{23} = 8.400.000$  possibili combinazioni. Si può avere una situazione dove il cromosoma 1 paterno non si combina con il cromosoma 2 paterno ma si può combinare con il cromosoma 2 materno. È possibile la formazione di gameti non sempre distinti.

FASI MEIOSI:

- **Meiosi 1**
  - Profase 1: assomiglia alla mitosi  $\rightarrow$  involucro nucleare si frammenta, i cromosomi si condensano.
    - *Leptotene*: si inizia a delineare il **complesso sinaptineale**  $\rightarrow$  struttura proteica che permette l'appaiamento tra le coppie di omologhi. **Sinapsi**  $\rightarrow$  quando i cromosomi omologhi sono appaiati. Si appaiano in tutta la lunghezza, quelli sessuali solo all'estremità, nelle regioni pseudo-autosomiche, per la differenza di lunghezza.
    - *Zigotene*: ciascuna coppia
    - *Pachitene*: avviene il crossing-over
    - *Diplotene*: cromosomi uniti nei chiasmi, dov'è avvenuto il crossing over
    - *Diacinesi*
  - Metafase 1
  - Anafase 1
  - Telofase 1
- **Meiosi 2:**
  - Profase 2
  - Metafase 2
  - Anafase 2
  - Telofase 2

Portano alla separazione dei cromosomi omologhi. Differenze dalla mitosi:

- Le fibre del cinetocore non prendono contatto con ciascun cromatide, solo con 1 dei 2
- Le coesine che tengono uniti i cromatidi fratelli non vengono degradate

La durata della mitosi è diversa da quella della meiosi. Mitosi dura poche ore; meiosi dura nell'uomo 24 giorni e nella donna inizia durante la pubertà.

**Gametogenesi:****Maschile: spermatogenesi****Spermatozoo:**

- **Testa:** nucleo e acrosoma (vescicola che deriva dall'apparato di Golgi e contiene enzimi che consentono la distruzione della protezione dell'ocita penetrandolo)
- **Segmento intermedio:** molti mitocondri; fornisce energia per il movimento del flagello. Presenza corpo basale
- **Flagello;** struttura microtubuli 9+2

Avviene nei testicoli, nei tubuli seminiferi; ci sono vari strati di gameti in diversi gradi di differenziamento. I più vicini alla parete sono i meno differenziati (**spermatogoni**), si arriva a vari gradi di maturazione fino ad arrivare agli spermatozoi.

1. Spermatogonio
2. Spermatocita primario
3. Spermatocita secondario
4. Spermatide
5. Spermatozoi

**Cellule di Sertoli:** danno nutrienti alle cellule spermatiche e stimolano la spermatogenesi.

**Ipotalamo:** dalla pubertà si ha il rilascio di gonadotropina → stimola l'ipofisi a rilasciare:

- **FSH:** follicolo stimolante → stimolano le cellule di Sertoli.
- **LH:** luteinizzanti → stimolano le cellule interstiziali e producono testosterone → caratteristiche sessuali primarie e secondarie.

**Femminile: oogenesi**

Avviene nell'ovaio e inizia nella vita embrionale ma si fermerà fino alla pubertà. Il processo di maturazione si fermerà verso i 50-55 anni (*menopausa*), variabile a livello soggettivo. Inizia da una cellula iniziale immatura, **oogonio**, moltissime nell'embrione; diploide, durante lo sviluppo embrionale aumenta le sue dimensioni e si trasforma. Alla nascita è già iniziato il processo di maturazione e abbiamo l'**ocita primario**; si blocca nella profase 1 fino alla pubertà quando la maturazione continuerà formando l'**ocita secondario** che si blocca nella metafase 2. Gli ovai si alternano nella maturazione. Quando la meiosi 1 è completata si forma l'ocita secondario e il crepuscolo polare. Il gamete completerà la meiosi 2 solo se fecondato formando la cellula uovo e il secondo corpuscolo polare. Maturazione sotto controllo ormonale e dalla pubertà si forma un oocita secondario al mese stimolato dalla *GnRH* (ormone che rilascia le gonadotropine LH e FSH dall'ipotalamo). LH e FSH sono rilasciate dall'ipofisi. FSH è il follicolo stimolante che porta alla formazione del follicolo ed è la struttura che porterà alla liberazione dell'ocita secondario. L'ocita primario è circondato da cellule della granulosa. Tra oocita secondario e queste cellule vi è la zona pellucida che deve essere passata dallo spermatozoo. Le cellule della granulosa sono circondate dalle cellule della teca che insieme producono ormoni steroidei. L'ocita secondario, rilasciato dall'ovaio, con lo scoppio del follicolo, rimane bloccato in metafase 2. Quando il follicolo si scoppia si trasforma in corpo luteo e, se non avviene la fecondazione, degenera e forma il corpo abdicano. **Ovulazione:** rilascio oocita. L'ocita secondario matura definitivamente solo se incontra lo spermatozoo terminando la meiosi con l'espulsione del 2° globulo polare. Si forma lo zigote e inizia a dividersi dopo 30 h; dopo 3 giorni abbiamo molte cellule; al 5-6 giorno l'embrione procede all'impianto nell'endometrio. Se questo non avviene c'è la degenerazione dell'endometrio e la fase mestruale. La fase iniziale che porta alla formazione di un follicolo: fase follicolare controllata da FSH, l'estradiolo aumenta sempre più fino a raggiungere un picco all'ovulazione. La fase luteale porta alla formazione del corpo luteo; il progesterone aumenta e se non c'è fecondazione cala; sennò rimane a livelli alti.

Nell'ovulazione l'ormone LH aumenta e porta alla formazione del corpo luteo

**Fasi di sviluppo embrionali:** dallo zigote si formano i primi stadi della cellula → **fase di segmentazione:** le cellule che si formano hanno meno citoplasma.

Prima struttura fatta da una sfera cava: **blastula**, all'interno ha una cavità, **blastocoele** → va incontro ad un fenomeno di migrazione cellulare dove delle cellule formano un'invaginazione nel blastocoele: **gastrula**; invaginazione detta **endoderma**; alla base dell'invaginazione c'è il **blastoporo**; le cellule che circondano l'invaginazione sono l'**ectoderma**. Tra l'invaginazione e lo strato più esterno è il **mesoderma**. Questi tre tipi di cellule sono i **foglietti degenerativi**. Dallo strato più esterno si origina il SN e l'epidermide; dal mediano si forma lo scheletro; dall'interno il digerente.

Cellule staminali: proprietà di replicare sé stessa; può differenziarsi in altre cellule. Una staminale può generare un'altra staminale o una cellula che può differenziarsi per formare tessuti.

Staminale → progenitore → precursori danno origine a un tipo cellulare.

- **Totipotenti:** zigote → da uno si può avere tutti i tessuti. Questa caratteristica resta fino ad un determinato stadio di poche divisioni cellulari. Resta nelle blastocisti. Con lo sviluppo si passa alla pluripotenza
- **Pluripotenti:** non possono generare un individuo completo ma sono capaci di differenziarsi nei 3 foglietti generativi. Nel feto rimane questa caratteristica ma anche la multipotenza. Ci sono anche nell'adulto
- **Multipotenti:** feto e adulto
- **Unipotenti:** solo un tipo cellulare. Nell'adulto

Nell'adulto sono nel:

- Retina
- Fegato
- Intestino
- Pelle
- Cervello: ippocampo e regioni del ventricolo
- Midollo osseo:
  - Ematopoietiche: origine a componenti nel sangue
  - Mesenchimali: adipociti, condrociti, osteociti.

**Meiosi:** nella gametogenesi la non disgiunzione da mutazioni del numero di cromosomi.

Consideriamo, per esempio, il cromosoma 1

Normale:  $4n \rightarrow 2x(2n) \rightarrow 4xn$

Anomalie: non disgiunzione alla prima divisione:  $4n \rightarrow 1x4n + 1x$  (altri cromosomi che si sono separati regolarmente) →  $2x(n+1) + 2x$  (altri cromosomi-1). Porta al 100% dei gameti con numero non corretto.

Anomalie:  $4n \rightarrow 2x(2n) \rightarrow 1x(n+1) + 1x$  (altri cromosomi -1) +2

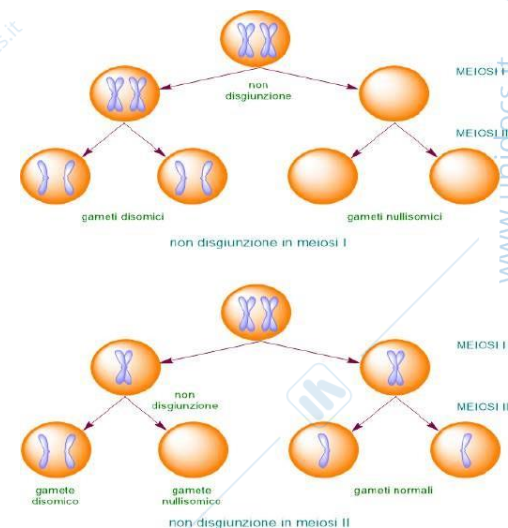
Queste anomalie portano a problematiche nei gameti e nella fecondazione, **aneuploide** → eccesso o difetto nel numero di specifici cromosomi.

Lo sbilanciamento tra geni crea un fenotipo anomalo o morte.

La maggior parte degli aneuploidi autosomiche sono letali con aborto spontaneo.

Pochi trisomici autosomici sopravvivono:

- Trisomia 21: Down
- Trisomia 13: Patau
- Trisomia 18: Edwards



L'aneuploide che interessa i cromosomi sessuali può essere non letale. La monosomia è incompatibile con la vita tranne XO

**Sindrome di Down:** ritardi nello sviluppo, difetti cardiaci, problemi immunitari, vista, udito, respiro. Può esser causata anche dalle traslocazioni Robertsoniane: coinvolge 2 cromosomi acrocentrici. Può coinvolgere tutte le combinazioni possibili di cromosomi acrocentrici (13, 14, 15, 21, 22). I portatori possiedono un fenotipo normale ma hanno un'alta probabilità di generare figli affetti da disturbi genici. Gli individui affetti da traslocazione del 21 hanno un'alta probabilità di generare figli con la sindrome di Down.

**Aneuploide dei cromosomi sessuali:** inattivazione dei cromosomi X in eccesso: problemi nello sviluppo sessuale e di fertilità (evidenziati nella pubertà) e ritardo mentale.

**Sindrome di Turner** → XO

**Sindrome di Klinefelter** → XXY

Nelle femmine uno dei due X viene inattivato: si forma il corpo di BARR, non è sempre materno o paterno ma è un'inattivazione casuale a seconda delle cellule → effetto di lyonizzazione.

Avviene normalmente avendo un effetto a "mosaico". Il cromosoma X inattivato è molto compatto nel nucleo (gatto tartarugato → responsabile colorazione pelo).

**Poliploide:** n di cromosomi multiplo rispetto al corredo aploide o diploide. Nell'uomo non compatibile con la vita e rarissimo. Si possono riscontrare nei casi di:

- Tumori solidi
- Infezioni virali
- Aborti spontanei
- Feti pluri-malformati
- Esposizione a radiazione e sostanze chimiche

**Mosacismo:** mutazione dopo la formazione dello zigote. Presenza contemporanea di 2 o più linee cellulari differenti tra loro per numero o struttura di cromosomi. Non disgiunzione avviene nella cellula in mitosi nello zigote → cellule che derivano da tali cellule avranno la anomalia cromosomica.

**Tipi di mutazione:**

- **Mutazioni somatiche:** nelle cellule somatiche; trasmettono la mutazione per mitosi alle cellule figlie e alle generazioni cellulari ma solo in un gruppo.
- **Mutazioni germinali:** nella linea germinale; dà origine a gameti che poi trasmetteranno la mutazione agli individui che si generano dopo la fecondazione.
  - **Puntiformi:** solo una base azotata mutata, sostituendo la base:
    - in base al tipo di basi coinvolte:
      - *transizioni:* sostituzione di una purina con una purina o di una pirimidina con una pirimidina
      - *trasversioni:* sostituzione di una purina con una pirimidina o di una pirimidina con una purina
    - In base all'effetto causato:
      - *Silenti:* mutazioni puntiformi che non cambiano l'amminoacido codificato. Frequenti nella terza base di codoni
      - *Missenso:* mutazioni puntiformi che cambiano un amminoacido con un altro → cambiamento dell'amminoacido non porta sempre alla perdita della funzione; dipende dalle proprietà chimiche dell'amminoacido che sostituisce quello wild-type (forma iniziale) e dalla posizione in cui avviene la sostituzione.

- **Non senso:** mutazioni che eliminano o introducono un codone di stop
- **Per inserzione o delezione di basi:** possono alterare lo schema di lettura causando conseguenze drastiche sul prodotto di espressione. Mutazioni dette a scivolamento dello schema di lettura. L'inserzione o delezione di 3 basi o multipli di tre può essere molto meno dannoso.

Le mutazioni possono verificarsi in tutto il genoma. Se si verificano in zone di controllo (promotore o sequenze splicing) possono influenzare l'espressione genetica. Se si verificano in zone di significato ignoto (sequenze ripetute) l'effetto ignoto (ritenuto nullo).

Quando la mutazione ha una frequenza nella popolazione superiore all'1% si chiama **polimorfismo**. Le mutazioni puntiformi in questo caso sono chiamate SNPs.

**Geni e cromosomi:** ogni cromosoma è costituito da una successione lineare di geni.

**Gene:** unità fondamentale ereditaria. Costituito da una determinata sequenza nucleotidica.

Ogni gene è posizionato in un *locus*, nel cromosoma.

**Genotipo:** corredo genetico di un individuo; insieme di geni contenuti nel DNA.

**Fenotipo:** manifestazione di ciò che è scritto nel genoma; risultato delle proteine prodotte.

*Morfologia, proprietà biochimiche* (come funziona un enzima) e *proprietà fisiologiche* dipendono dal genotipo, dalle interazioni tra i geni con altri geni e i geni con l'ambiente.

All'interno delle nostre cellule vi è un set di coppie di cromosomi e si deve considerare che un gene è presente in un cromosoma e nel suo omologo.

*Esempio:* un gene A presente nel cromosoma materno e paterno può non essere uguale a quello iniziale. Può essere un gene per creare un enzima che può dare un pigmento rosso o verde. Il gene è sempre lo stesso che dà la capacità di creare un pigmento. Può essere definito **allele**, può essere identico con la produzione dello stesso enzima AA o può essere in un'altra forma Aa. Se un gene è presente in più forme alleliche: >2 un individuo può portarne lo stesso massimo 2 (sono 2 le coppie di omologhi).

Gli alleli si possono presentare come **allele dominante (A)** **allele recessivo (a)**

- AA → omozigote dominante (genotipo)
- Aa → eterozigote (genotipo)
- aa → omozigote recessivo (genotipo)

in un cariotipo con die cromosomi omologhi ci sono tante varianti alleliche. Al massimo l'uomo può portarne 2 per il fatto che ci sono due cromosomi omologhi: **multiallelia**. L'allele principale, più presente nella popolazione, (A) è il *wild-type*, gli altri sono il risultato di mutazioni ma non hanno portato ad una inattivazione della proteina, solo ad un cambiamento.

Esempi di multiallelia: colore del mantello dei conigli → 4 forme alleliche: C → wild type; c<sup>ch</sup> → fenotipo cincilla; c<sup>h</sup> → fenotipo Himalaya; c → fenotipo albino.

Il numero dei genotipi che si possono avere nelle varianti alleliche si calcola così:  $\left[ \frac{n(n+1)}{2} \right]$

Se le forme alleliche sono 3 (n=3), il numero dei possibili genotipi è 6.

Coppia di omologhi 2n con SS (il genotipo del genitore). Produce 4 gameti ciascuno con allele dominante. I tipo di gameti prodotti può essere scritto nel **quadrato di Punnet**. Se parti con un genotipo genitore 2n SS vengono prodotti 4 gameti con ciascuno un allele dominante. Se il genotipo genitore è eterozigote Ss vengono prodotti due recessivi e due dominanti.

Tutto ciò deriva dagli esperimenti svolti da Mendel, monaco agostiniano vissuto nell'800 che è riuscito a formulare le leggi della genetica tutt'ora valide. Fece gli esperimenti nel giardino del monastero con una pianta di pisello considerando 7 fenotipi della pianta:

- colore del seme
- forma del seme
- colore del baccello
- forma del baccello
- posizione dei fiori
- lunghezza dello stelo
- colore del fiore.

### Le tre leggi di Mendel:

1. per un determinato gene, tra le sue varianti alleliche, alcune possono essere dominanti, altre recessive □ in un individuo eterozigote = allele dominante e uno recessivo: **LEGGE DELLA DOMINANZA**
2. durante la formazione dei gameti le due forme alleliche segregano l'una dall'altra. Questo perché c'è la separazione degli omologhi nella meiosi<sup>1</sup>. Separando le varianti che inizialmente erano insieme.
3. È necessario considerare 2 geni ognuno responsabile di un diverso fenotipo:
  - a. Uno da colorazione gialla o verde al seme di pisello
  - b.
  - c. Uno dà la forma al seme di pisello rugosa o liscia

L = liscio l= rugoso G= giallo g = verde

A disposizione ci sono 4 cromosomi: LG lg Lg lG. Ottenendo così:

- 9 LG
- 3 lG
- 3 Lg
- 1 lg

**Legge dell'ASSORTIMENTO INDIPENDENTE.** Legge dell'indipendenza dei caratteri o della segregazione (o assortimento) indipendente dei caratteri: geni indipendenti assortiscono indipendentemente.

Questa legge non si può applicare a:

- Ai geni che si trovano sullo stesso cromosoma: infatti non assortiscono indipendentemente, ma possono andare incontro a ricombinazione genica (crossing-over).

Dimostrato da Morgan. Il modello sperimentale usato è il moscerino della frutta si presta a indagini di genetica per le dimensioni ridotte, facilmente allevabili e rapido susseguirsi di generazioni. Sono stati studiati: colore del corpo e dimensioni ali; ha incrociato eterozigoti con omozigoti recessivi. Ha trovato 2 fenotipi con frequenze diverse da quelle che dovevano avere in teoria (su grandi numeri).

Lui ha indicato un'unità di misura centiMorgan, che stabilisce la distanza tra i geni, più sono lontani più possono ricombinare tra di loro, più sono vicini meno ricombinano.

### ECCEZIONE ALLE LEGGI DI MENDEL:

- **DOMINANZA INCOMPLETA:** non abbiamo una completa dominanza di un allele rispetto ad un altro, ma è un intermedio tra i due genotipi. □ un pollo nero e un pollo bianco, secondo la legge di Mendel la prole deve essere del colore della specie dominante, mentre la prole è di colore grigio, con la creazione di un nuovo fenotipo. Se faccio un incrocio Rr e Rr ottengo quindi un individuo Rosso, 2 rosa e uno bianco 1:2:1
- **CODOMINANZA:** condizione in cui si ha negli antigeni del gruppo sanguigno. Gli eterozigoti non mostrano fenotipi intermedi ma mostrano entrambi i fenotipi.

I gruppi sanguigni sono predominati dall'locus AB0, si possono trovare 3 fenotipi: IA, IB e i:

- IA □ codominante rispetto a IB e dominante su i
- IB □ codominante su IA e dominante su i
- Recessivo rispetto a IA e IB

Gli antigeni O, A, B sono oligosaccaridi che protrudono dalla membrana dei G rossi e sono ancorati ad un lipide o a una proteina inserita nella membrana plasmatica:

- Antigene O: ha 4 zuccheri
- Antigene A: ha 4 zuccheri + la N-acetil-glucosammina
- Antigene B: ha 4 zuccheri + il galattosio

L'antigene è un'oligosaccaride ancorato alla membrana tramite un lipide o una proteina.

- ❖ Individui con i/i hanno il gruppo sanguigno O, con antigene H come glicolipide di membrana.
- ❖ Individui con IA/IA o IA/i hanno il gruppo sanguigno A, perché all'antigene H c'è legata la N-acetil-glucosammina.
- ❖ Individui con IB/IB o IB/i hanno gruppo sanguigno B, perché all'antigene H è legato il galattosio.
- ❖ Individui con IA/IB il gruppo sanguigno è AB □ entrambi gli alleli si manifestano.
- ALLELI LETALI: alleli che determinano la morte dell'organismo e il gene in questione è il GENE ESSENZIALE, se mutano sono letali, se la mutazione è su un allele dominante è letale, mentre se è su un recessivo solo se è omozigote risulta letale. Nel topo l'allele AY è letale solo se omozigote, se no da colorazione gialla

### EPISTASI:

La 3° legge di Mendel non viene seguita nell'epistasi, che è un tipo di interazione tra geni. Tipo di fenotipo: colorazione del manto del Labrador, ci sono 2 geni: B (B e b), che permette la colorazione del pigmento nero, b invece è il colore bruno; il gene E (E ed e), che permette la deposizione del pigmento; e invece non permette la colorazione del pigmento.

- BBEE: nero
- bbEE: bruno
- BBee: biondo
- Bbee: biondo

L'allele e è epistatico rispetto a B e b perché maschera la presenza degli alleli B e b. questo è un caso di epistasi recessiva, perché gli alleli e permettono la colorazione.

Se facciamo degli incroci tra eterozigoti EB/Eb/eB/eb abbiamo il rapporto 9:3:4. L'epistasi dominante esiste come per la colorazione della zucca.

### EFFETTO DELL'AMBIENTE SULL'AZIONE GENETICA

Come il fenomeno del punto di restrizione per la colorazione del manto del gatto siamese e del coniglio. Hanno un genotipo che dovrebbe manifestarsi con una colorazione marrone in tutto il corpo, ma l'enzima che agisce è mutato e funziona a 25°C e per questo alla periferia del corpo dove la temperatura è più bassa funziona; infatti, hanno orecchie e zampe marroni con il busto più chiaro perché la temperatura è più alta.

### COMUNICAZIONE CELLULARE:

Ci sono cellule che producono molecole di vario tipo diverse tra loro, dette molecole segnale, rilasciate da cellule secernenti che portano il messaggio che deve essere recepito dalla cellula bersaglio, che va a fare delle risposte cellulari:

- Differenziamento cellulare
- Crescita o divisione

- Vita o morte
- Coordinamento di attività cellulare, finalizzato per mantenere l'omeostasi e il benessere dell'organismo.

La cellula che riceve, o cellula bersaglio, lo è perché sulla superficie ha delle proteine recettori che fa attuare le risposte, la cellula che non ha il recettore per un determinato segnale non risponde. Possono essere sulla membrana o all'interno della cellula.

C'è una continua comunicazione tra la cellula e l'esterno, e c'è anche tra gli organuli interni. Contemporaneamente si attivano varie vie.

La proteina p53 Pathway è la proteina mutata o inattivata durante i tumori, è un oncosoppressore, quindi sarebbe necessario riattivarla.

AKT Pathway è un'altra proteina importante.

### STRATEGIE DI COMUNICAZIONE CELLULARE:

1. **PARACRINA:** la cellula produce il mediatore chimico che va ad agire alle cellule adiacenti a lei stessa, le cellule che rispondono sono nelle immediate vicinanze. Non agisce a corto raggio, e controlla lo stato contrattile della muscolatura liscia dei vasi, quindi la pressione sanguigna.
2. **AUTOCRINA:** la cellula secernente è anche la bersaglio. (mediatore chimico)
3. **COMUNICAZIONE ENDOCRINA:** il segnale e l'ormone vengono rilasciati nel circolo ematico e vengono portati anche lontano dalla cellula secernente, e possono trovarsi ovunque, ed ogni cellula risponde ad un ormone diverso. L'ormone quando viene lasciato nel circolo si diluisce molto e fa sì che i recettori presenti nelle cellule target abbiano un'alta affinità di legame per l'ormone stesso; infatti, gli *ormoni agiscono a bassa concentrazione*.

Ormoni:

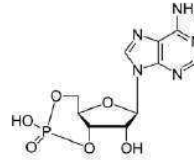
- Peptidici: pancreas (insulina e glucagone), *ipotalamo* (vasopressina e ossitocina) e *ipofisi* (FSH e LH)
  - Steroidi: cortisolo, progesterone, estradiolo, testosterone. Derivano dal colesterolo.
  - Catecolaminici: derivano dalla tirosina.
  - Iodinati: tiroideo.
4. **COMUNICAZIONE SINAPTICA:** tra neuroni. La sinapsi è una zona dove il neurone presinaptico rilascia sostanze che vanno al neurone post-sinaptico. La distanza tra i 2 neuroni è lo spazio sinaptico, e porta degli effetti sulla cellula post-sinaptica. Il presinaptico produce neurotrasmettitori che vanno verso la membrana e vengono portati fuori. Quando vengono rilasciati nel vallo sono molto concentrati e i recettori per questi neurotrasmettitori possono avere anche una bassa affinità perché sono tanti e agiscono ad alte concentrazioni.

Neurotrasmettitori:

- Peptidici: 40-50 neuropeptidi, derivano dal taglio di precursori.
- Acetilcolina: colina + acetil-CoA
- Nucleotidi: adenosina
- Catecolaminici: derivano dalla tirosina
- Aa e derivati: glutammato, aspartato, serotonina.

## SEGNALAZIONE TRA LE GIUNZIONI STRETTE:

Tra una cellula e l'altra passa l'AMP ciclico (cAMP) →



Le molecole segnale possono essere:

- **Idrosolubili:** tutti i neurotrasmettitori, la maggior parte degli ormoni e dei mediatori chimici locali. Non possono attraversare la membrana interagiscono con le cellule rimanendo all'esterno. Hanno recettori sulla membrana plasmatica.
- **Liposolubili:** gli ormoni steroidei e tiroidei. Sono idrofobici, attraversano la membrana. Hanno recettori intracellulari.

A seguito tra molecola segnale e recettore si ha un cambiamento conformazionale del recettore, formando così un legame ad idrogeno o interazioni idrofobiche tra il recettore e il segnale che inducono un cambiamento conformazionale, alterando un equilibrio che deriva dal mutamento del folding della proteina 3°, questo innesca eventi intracellulari che porteranno ad una risposta cellulare dipendente dal tipo di recettore.

Quando il segnale si attacca al recettore esso viene attivato e parte la via di trasduzione del segnale. Il segnale esterno lo porta alla conversione del messaggio che arriva in modo che la cellula possa comprendere:

- Attivazione e/o inibizione di un enzima
- Fattore di trascrizione attivato e/o inibito

## TIPI DI RECETTORI

- **RECETTORI DI MEMBRANA:**
  - Recettore accoppiato a proteine G: sono i più numerosi, sono proteine multipasso con 7 domini trans-membranali, uniti da loops extra e intra-cellulari. Dal lato del citosol della membrana plasmatica interagiscono con la proteina G, che è costituita da 3 subunità (alfa, beta e gamma) la beta e la gamma stanno sempre unite; la alfa ha sempre attaccato il GDP.
    - Serotonina
    - Dopamina
    - Adenosina
    - Adrenalina

Quando la subunità alfa lega il **GDP è inattiva**. Quando la subunità alfa lega il **GTP è attiva**. La subunità alfa si dissocia dal dimero beta-gamma. La proteina G può essere attiva per poco tempo e può tornare in uno stato di inattività, che viene fatto dalla subunità alfa che stacca un P dalla GTP tra sfornandola in **GDP**. Questa capacità è GTP-asi → si riforma il trimero alfa, beta, gamma.

Quando la **proteina G è attiva**, cioè che la proteina alfa è legata alla GTP, migra sulla proteina e si lega all'effettore (adenilato-ciclasti; fosfolipasi-C; canali ionici), questa migrazione verso l'effettore è dovuto alla fluidità della membrana. Possono essere proteine G di vario tipo, con determinati effettori specifici (Gs, Gi, Gq, Go).

La Gs:

- **L'adenilato ciclasti** è un enzima di membrana che usando ATP produce **cAMP**, prodotto solubile presente nel citoplasma, esso è il **secondo messaggero**. L'cAMP attiva la proteina PKA, che è un acronimo di **Proteina-Kinasi-cAMP** dipendente; è fatta da 4 subunità, 2 catalitiche (fa da enzima) e 2 regolatrici (subisce la regolazione, cioè dove ci si attacca l'cAMP, che a seguito si distaccano le catalitiche e fanno da enzima). Essendo una chinasi essa attacca i gruppi P, ad una proteina bersaglio; fosforilano le proteine bersaglio solo a livello della serina e trionina, che hanno la caratteristica di avere degli ossidrilici.

Questa via porta ad un'**amplificazione del segnale**, cioè che da fuori attiva il recettore, cambia conformazione e attiva una proteina G, produce cAMP e attivano 3 proteine chinasi-A e ognuna catalizza una reazione, ed ognuna svolgerà un'operazione, con l'innescò di una risposta amplificata, cioè che con un recettore si attivano tante molecole di PKA.

Questa metodologia viene usata dal recettore per l'adrenalina e per il glucagone, con lo scopo di attivare recettore per stimolare la glicogenolisi per liberare glucosio. Contemporaneamente viene inattivata per la sintesi del glicogeno.

- 1) La fosforilazione, indotta dal legame dell'adrenalina, inattiva la glicogeno-sintasi, impedendo l'accumulo del glucosio sotto forma di glicogeno.
- 2) La fosforilazione attiva la glicogeno-fosforilasi, favorendo il rilascio delle molecole di glucosio depositate nel glicogeno.

- **Fosforilasi C (PLC):** idrolizza in maniera **Ca<sup>2+</sup>** dipendente l'idrolisi di specifici fosfolipidi di membrana (fosfatidil-inositoli) e determina la produzione di **IP<sub>3</sub>** e **DAG**.

La PLC usa in PIP<sub>2</sub> come substrato per produrre DAG e IP<sub>3</sub>. La PLC è stata attivata dalla sub alfa della proteina G, scinde il PIP<sub>2</sub> e forma il DAG e il IP<sub>3</sub>, esso si comporta come l'cAMP, molecola solubile che si trova nel citoplasma della cellula dopo l'attività esercitata sul fosfolipide di membrana. IP<sub>3</sub> interagisce con recettori propri a livello della membrana del REL (organulo che accumula gli ioni Ca<sup>2+</sup>), determinando l'apertura di un canale che determina il rilascio nel citoplasma del **Ca<sup>2+</sup>**, che aumenta la sua C nel citosol, considerato così come **secondo messaggero** e ha tante attività: attiva insieme al DAG un enzima della membrana PKC, che è una chinasi, il C sta per Ca. la PKC determina risposte cellulari a seconda delle proteine fosforilate. (caso visto nella pRNA, dove alcuni fattori avevano attività chinatica). Il Ca<sup>2+</sup> deve essere mantenuto basso nel citoplasma e infatti viene sequestrato dal REL e mantenuto lì, e le sue variazioni di C danno segnale di attività cellulare.

- **Canali ionici:** la proteina G può attivare queste strutture con l'apertura del canale, con l'ingresso di uno specifico ione. Questa attivazione può essere fatta dalla sub alfa e dal dimero beta-gamma.

- **Recettori associati a canali ionici:** recettore dell'acetilcolina, che può interagire con l'acetilcolina legandola e questo complesso forma un canale. Il recettore fa parte già da solo di tutto il canale. Nelle cellule muscolari ed è responsabile della contrazione muscolare.

Recettore delle benzodiazepine □ canale per il Cl<sup>-</sup>. Questo canale si apre se arriva il suo GABA, che è un neurotrasmettitore inibitorio del SNC che interagisce con il suo inibitore e apre il canale facendo entrare il cloro, facendo iperpolarizzare la membrana. Nel canale ci sono altri punti dove si legano molecole sintetiche che hanno la stessa attività del GABA, come le benzodiazepine, potenziando l'effetto del GABA facendo aprire di più il canale. A questo complesso si legano anche gli ormoni steroidei, alcuni potenziano l'effetto del GABA e altri lo inibiscono. C'è il sito anche per i barbiturici.

- **Recettore con attività enzimatica intrinseca: recettori tirosin-chinatici.** Il recettore emerge dalla membrana della cellula, è trans-membranale emergendo all'esterno e all'interno della cellula. Esso non è multipasso, cioè che attraversa

con tanti domini, questo è **monopasso**. Sul lato citoplasmatico ci sono le aa tirosine (Y) e un dominio enzimatico che catalizza la reazione enzimatica, quella di attaccare i gruppi fosfato. Questo recettore attivandolo attiva il dominio chinasi che attiva le tirosine nel recettore. Sono chinasi anche loro di membrana, attivati però dopo l'interazione con la molecola segnale.

Recettori per i fattori di crescita: proliferazione, processi pro-vita, chemiotassi

- **PDGF**: platelet-derived
- **EGF**: crescita epidermide
- **NGF**: crescita nervi
- **FGF**: crescita fibroblasti

Recettori per **citochine** → citochine pro-infiammatorie e antinfiammatorie: effetti pleiotropici, cioè con tanti effetti e si agisce su molti meccanismi contemporaneamente, come per la proliferazione e il differenziamento.

Recettori per **ormoni** → insulina

Al momento in cui la molecola segnale interagisce col recettore si avvia la dimerizzazione del recettore, cioè 2 recettori si accoppiano e formano un dimero, viene effettuata dal dominio chinasi del dominio che ha vicino.

Ogni recettore fosforila le tirosine presenti sull'altra molecola di recettori presenti nel dimero.

Un fattore di crescita interagisce col suo recettore, che dimerizza con un altro, viene fosforilato a livello delle tirosine, servono da attacco per altre proteine, tipo le GRB2, che hanno un dominio che riconosce la tirosina fosforilata, che si chiama SH2 [Src Homology 2 (SRC è la prima proteina dove è stato trovato questo dominio)]. La GRB2 ha anche il dominio SH3 col dominio SOS, che viene portato in prossimità della membrana e attiva la proteina G monomeric RAS, ha una sola subunità che lega in inattività la GDP. Quando la SOS si attacca la RAS si attiva cambiando la GDP in GTP, attivandosi, attiva quindi una chinasi la RAF, che è una chinasi serina- treonina. Di seguito viene attivata la MEK, che attiva poi la MAPK, che è una proteina che può entrare nel nucleo e fosforila delle proteine che possono essere attivate e controllano la modulazione della trascrizione dei geni.

GTP RAS → RAF → MEK → MAPK → proteine del nucleo.

La RAS ha un'attività GTP-asi intrinseca, che idrolizza il GDP in GTP, per disattivarsi.

Attivazione contemporanea di più vie.

- **RECETTORI INTRACELLULARI**: gli ormoni steroidei che possono entrare nella cellula nonostante idrofobi perché il recettore è dentro la cellula, nel citoplasma o nel nucleo. Deve essere inattivato perché viene sequestrato dal chaperone. Quando per esempio il cortisolo va a contatto con il recettore attivandosi, libera il chaperone, entra nel nucleo e si lega al DNA. Quindi i recettori per gli ormoni steroidei, che alla fine entrano nel nucleo e si legano al DNA, sono dei fattori di trascrizione, che possono modularla.

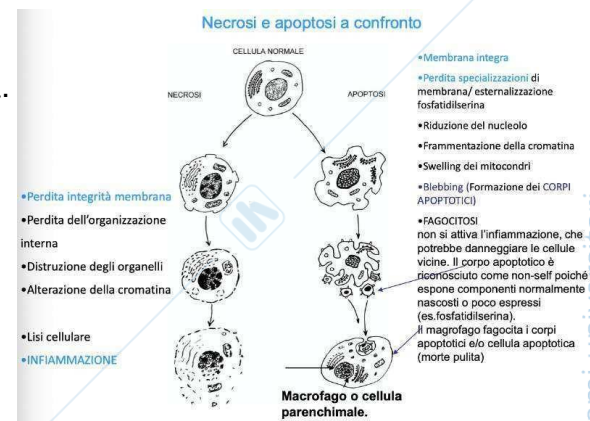
Ci sono recettori anche per gli ormoni tiroidei e per la vitamina D3.

In assenza di ormone il recettore, come per esempio per l'estradiolo, (le proteine chaperone che inibiscono il recettore sono multiple), il recettore per esso è inattivato da 3 chaperoni, bloccando il sito con cui lui può interagire con DNA. Una volta che l'estradiolo ha interagito col recettore, esso dimerizza, entrambi liberati dalle proteine che lo bloccavano. Il dimero così può andare nel nucleo e interagire col DNA. I dimeri si formano perché riescono ad agganciarsi meglio al DNA.

**Morte cellulare:** Processo che elimina le cellule in eccesso, malfunzionanti o invecchiate.

Meccanismi di morte cellulare:

- **Necrosi:** perdita dell'integrità della membrana ed innesco della risposta infiammatoria.
  - Evento accidentale.
  - Dovuto a trauma o anossia.
  - Passivamente subito dalle cellule.
  - Interessa gruppi di cellule.
  - La lisi della cellula causa fenomeni di infiammazione e di autoimmunità.
- **Apoptosi:** la cellula si frammenta in corpi apoptotici mentre la membrana rimane integra.
  - Evento programmato, suicidio cellulare.
  - Realizzato di norma in condizioni fisiologiche.
  - Attivamente realizzato dalle cellule modulando uno specifico programma genetico.
  - Interessa cellule singole.
  - Le modalità della morte cellulare sono finalizzate ad evitare l'instaurarsi di fenomeni di infiammazione e di autoimmunità.



#### MARKER APOPTOTICI:

- **Esternalizzazione della fosfatidilserina**
- **Frammentazione cromatina:** il DNA che si avvolge intorno al nucleo ottamerico ha una certa lunghezza. Se faccio una separazione elettroforetica su gel, si nota la formazione di bande di DNA e lo confronto col frammento di riferimento, ladder, ci sono grandezze note, caso che non succede se le frammentazioni sono casuali. Se invece le bande sono specifiche c'è la frammentazione specifica fatta dalle DNAasi, che stanno in uno stato di inattività, ma vengono attivati nell'apoptosi.
- **Swelling mitocondriale:** slargamento della membrana del mitocondrio. Si osserva col ME.

#### PERCHE' ALCUNE CELLULE DEVONO ESSERE ELIMINATE?

Cellula **riceve dei segnali** specifici per crescere o dividersi, ma anche **per non morire**. La mancanza di un segnale di sopravvivenza innesca l'apoptosi.

Segnali di sopravvivenza:

- Fattori di crescita e loro recettori.
- Segnali di adesione cellula-cellula → caderine
- Segnali di adesione cellula-matrice → extracellulare, integrine

Se si verifica un danno nel DNA o c'è un'infezione virale, si crea un suicidio altruista.

L'apoptosi è un meccanismo fisiologico:

- **Garantisce l'omeostasi tessutale** → cellula che non appartiene a un tessuto non riceverà o non risponderà a segnali di sopravvivenza, è destinata a morire. Eccezione: cellule tumorali.
- **Implicata nella metamorfosi** → le cellule muoiono per apoptosi quando la struttura di cui fanno parte non è più necessaria.

- **È parte integrante dello sviluppo embrionale** → cellule vengono eliminate durante il programma differenziativo e morfogenetico. Nell'adulto: quando non sono più necessarie determinate strutture, come la regressione della ghiandola mammaria dopo l'allattamento.

### INDUZIONE DELL'APOPTOSI:

L'innesco può essere dato da:

- Fattori endogeni:
  - Ormoni: steroidi (immunosoppressivi) □ i corticosteroidi aumentano l'apoptosi dei linfociti attivi nelle linee linfoblastiche.
  - Calo dei fattori di crescita → fattori di sopravvivenza che normalmente riducono l'apoptosi.
  - Citochine
  - Ligando per i recettori Fas.
  - Rapporto ADP → un brusco calo di ATP porta a necrosi, mentre un calo più moderato induce l'apoptosi.
- Fattori esogeni:
  - Farmaci antineoplastici: indipendentemente da struttura chimica e meccanismo d'azione sono **proapoptotici**.

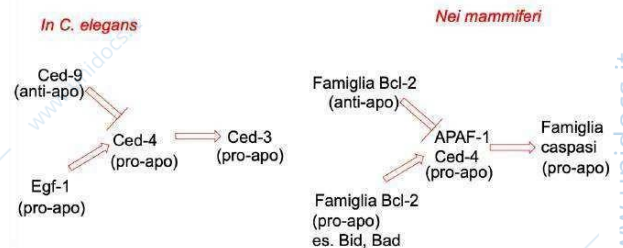
L'apoptosi è un meccanismo fisiologico, ma può andare incontro a deregolazione (condizione patologica).

- **Aumento** dell'apoptosi: diminuzione della sopravvivenza cellulare □ malattie cardiovascolari o neurodegenerative.
- **Diminuzione** dell'apoptosi: aumento della sopravvivenza cellulare □ neoplasie maligne o malattie autoimmuni.

### LE FASI DEL PROCESSO APOPTOTICO:

- 1) Induzione
- 2) Esecuzione o fase effettrice
- 3) Riconoscimento e fagocitosi
- 4) Degradazione dei corpi apoptotici da parte del fagocita

I geni che controllano l'apoptosi sono stati individuati in *Caenorhabditis elegans* → il nematode *C. elegans* è formato da un numero definito di cellule, nel corso dello sviluppo alcune di esse vanno incontro ad apoptosi. Questi geni sono stati chiamati Ced.



### ENZIMI COINVOLTI NELL'APOPTOSI: CASPASI

Le caspasi:

- Nome che deriva da Cysteinil-Aspartate-Specific protease.
- Proteine enzimatiche scoperte per la prima volta nel Nematode *C. elegans* e chiamate CED.
- Molto conservate
- Funzione: proteasi → tagliano il substrato tra Cys e un Asp.

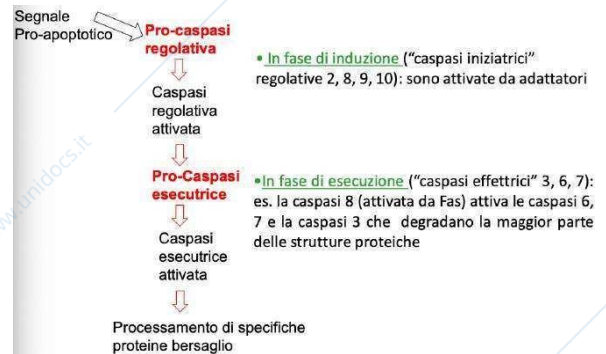
- Sono zimogeni: si trovano in forma inattiva e vengono attivate per taglio proteolitico da altre caspasi → regolazione a cascata o feedback positivo come per il complemento e la coagulazione.

**Caspasi regolative ed esecutive:** almeno 15, prodotte come precursori inattivi. L'attivazione avviene mediante processo proteolitico. La forma attiva è costituita da un tetramero.

Nella cellula è presente il cleaved-caspase che è un marker apoptotico.

Le caspasi attivate tagliano proteine cellulari. Al momento sono identificati almeno 300 bersagli proteolitici:

- Proteine del citoscheletro
- Beta-catenine
- Inibitore della DNAasi
- Fattori di trascrizione
- Fattori di traduzione
- Chinasi
- Pro-caspasi



Ruolo rilevante nel controllo dell'apoptosi è rappresentato dalla attivazione delle caspasi:

**Segnali di attivazione delle caspasi:**

- Via estrinseca o recettoriale: si basa su un sistema classico di interazione recettore-ligando. I recettori di morte attivano la caspasi □ appartengono alla famiglia dei recettori TNF che hanno un ruolo nell'infiammazione. Il recettore più studiato è quello per il ligando Fas. È presente in tutte le cellule, il ligando Fas è prodotto solo da alcune cellule.

La via recettoriale Fas-ligando Fas avviene nell'eliminazione di:

- Linfociti T maturi alla fine di una risposta immunitaria.
- Cellule infettate da virus.
- Cellule tumorali da parte dei linfociti T citotossici (natural Killer).

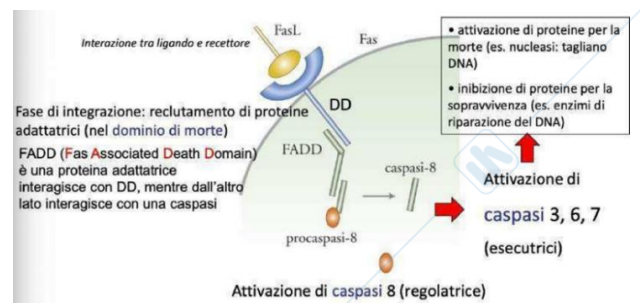
Questi recettori hanno nel dominio citoplasmatico un sito di legame per proteine adattatrici.

Cd95 → FADD  
TNFR → TRADD

Queste integrazioni attivano le caspasi portando la cellula nella fase effettrice nell'apoptosi.

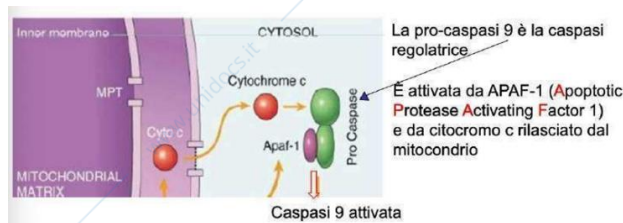
**FASE DI INDUZIONE** → i recettori Fas hanno 3 domini:

- a) Dominio extracellulare che interagisce con il ligando.
- b) Dominio trans-membranale.
- c) Dominio di morte intracellulare.



La **proteolisi della caspasi** è determinata dalla formazione di complessi proteici.

- Via intrinseca o mitocondriale: controllata dal mitocondrio.



APAF1 e pro-caspasi 9 sono sempre presenti nel citoplasma.

La pro-caspasi 9 può essere attivata solo se il mitocondrio rilascia citocromo C. APAF-1, citocromo C e pro-caspasi 9 formano l'apoptosoma per attivare la pro-caspasi 9.

La caspasi 9 attivata, attiva caspasi esecutrici: 3 e 7.

La permeabilizzazione della membrana mitocondriale esterna MOMP determina il rilascio di citocromo C □ la MOMP può essere determinata da proteine della famiglia delle proteine Bcl-2. All'interno di questa famiglia ci sono proteine anti e pro-apoptotiche. Questa famiglia possiede uno o più domini omologhi denominati BH (Bcl-2 homology).

La MOMP può essere determinata da proteine della famiglia delle proteine Bcl-2. Per fare la MOMP serve più di una proteina, per creare un canale, oligomerizzandosi, formando un oligomero nella membrana esterna, dalla quale esce citocromo C.

C'è una connessione tra le due vie: attraverso la molecola BID viene attivata la Caspasi 8 (anti), che una volta attivata recluta Bax e Bad facendole oligomerizzare e creare il canale per il passaggio del citocromo C.

**Modificazioni covalenti delle proteine:** Alcune proteine raggiungono la loro conformazione biologicamente attiva solo dopo aver subito una o più modificazioni.

#### MODIFICAZIONI AMMINO-TERMINALI E CARBOSSI-TERMINALI:

N-terminale metionina (negli eucarioti) o altri residui N-terminali o C-terminali possono essere rimossi enzimaticamente e quindi non compaiono nella proteina matura.

Il residuo **N-terminale può essere N-acetilato** (50% delle proteine eucariotiche). Non si sa il ruolo.

#### PERDITA DELLE SEQUENZE SEGNALE:

I primi 15-30 aminoacidi N-terminali importanti per dirigere la proteina verso la destinazione finale. La sequenza segnale viene rimossa mediante proteolisi.

#### AGGIUNTA DI CATENE LATERALI DI CARBOIDRATI:

Formazione di legame covalente con carboidrati durante o dopo la sintesi delle proteine.

- Residui di Asn → legame con N: N-glicosilazione.
- Residui di Ser o Thr → legame con O: O-glicosilazione.

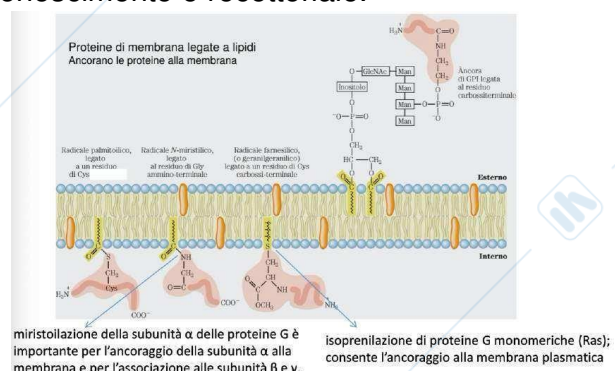
Proteine che svolgono la loro funzione al di fuori della cellula □ proteoglicani lubrificanti della matrice extracellulare, e che ricoprono le membrane delle mucose.

Proteine trans-membranali con funzione di riconoscimento e recettoriale.

#### ANCORATE A GPI O AGGIUNTA DI RADICALI ALCHILICI:

Permettono l'ancoraggio della proteina alla membrana.

Alla proteina è aggiunto un radicale palmitico, N-miristilico o radicali isoprenilici farnesile. La proteina può essere anche ancorata a GPI.



#### FORMAZIONE DI LEGAMI COVALENTI TRA CATENE LATERALI (ponti disolfuro)

- **Ponti S-S intercatena:** stabilizzano l'unione tra catene diverse.
- **Ponti S-S intracatena:** stabilizzano la struttura terziaria di una catena.

## LEGAMI COVALENTI TRASVERSALI NON CONTENENTI ZOLFO

Derivano da catene laterali di lisina e prolina → nelle fibre collagene del TC.

**Collagene** → proteina fibrosa con funzione strutturale:

- Da resistenza meccanica a cute, ossa e cartilagine.
- Formato da 3 eliche, ricche in prolina, lisina idrossilate.
- Più triple eliche formano strutture sovra-molecolare → **fibrilla**.
- Tra le fibrille ci sarebbero interazioni deboli, quindi stabilizzate da enzima che forma legami covalenti tra idrossilisina e idrossiprolina → **legami crociati**.
- **Scorbuto** (carenza di vitamina C, è un cofattore x enzimi coinvolti in idrossilazione prolina lisina) è caratterizzato da fragilità cutanea e delle pareti dei vasi sanguigni. In questo caso le fibrille collagene non sono stabilizzate x resistere alle sollecitazioni meccaniche.

## MODIFICAZIONI PROTEOLITICHE IRREVERSIBILI:

Taglio proteolitico di precursori inattivi per produrre molecole proteiche a più basso peso molecolare funzionalmente attive.

- Ormoni peptidici → prodotti come pre-pro-ormoni. Processo di maturazione dell'enzima.
- Enzimi, proteine con funzione strutturale, proteine coinvolte nella coagulazione del sangue → zimogeni, possono essere inattivati da tagli proteolitici mediati da altri enzimi.
- Proteine coinvolte nell'apoptosi → il taglio proteolitico le attiva.

## MODIFICAZIONI COVALENTI TRANSITORIE:

Cambiano la conformazione della proteina.

### FOSFORILAZIONE

Quando le proteine vengono fosforilate avviene un cambiamento della proteina, e il substrato è l'ATP, usato da un enzima chinasi, che porta all'attacco di un fosfato, a livello dell'OH

- Tirosina
- Serina
- Treonina

Se la proteina è un enzima esso verrà attivato, creando il sito attivo, divenendo disponibile per agire col substrato. La fosforilazione delle proteine bersaglio è transitoria, cioè che dura per poco tempo. Esistono le chinasi e le fosfatasi, che staccano il gruppo P dalla proteina. La fosforilazione generalmente attiva la proteina, ma può anche inattivarla.

Queste fosforilazioni possono essere fatte anche su proteine che non sono enzimi ma anche di funzione strutturale che non mediano nessuna reazione biochimica → esempio: le condensine, che sono richieste per compattare la cromatina. La loro fosforilazione è uno dei fattori che determinano la condensazione della cromatina durante la mitosi.

### ACETILAZIONE

Annulla la carica + di alcune aa, come la lisina K, effettuato aggiungendo un gruppo acetile a livello dell'azoto del gruppo amminico; il donatore è l'acetil Co-A, dall'acetil-transferasi. Può essere anche staccato dalla deacetilazione. Esempio: l'annullamento della carica + negli istoni decondensa la cromatina. Favorisce l'accesso di fattori della

Trascrizione → cromatina acetilata, è aperta e trascrizionalmente attiva; cromatina deacetilata, compatta e trascrizionalmente repressa.

Può essere associata a attivazione genica. Avviene in alcune lisine delle code N-terminali dell'istone H3 e H4. Può essere scritto come: H3-K9-Ac (H3 = istone; K9 = numero della posizione della lisina; Ac = acetilazione).

### METILAZIONE

attacco del gruppo metilico, attraverso la SAM, cioè la S-adenosinmetionina. Avviene sugli azoti della lisina, istidina, arginina; avviene anche su O di glutammato e aspartato; avviene anche sugli S della cisteina. Gli enzimi che attaccano sono le metil-transferasi e quelle che staccano sono le demetilasi.

**Esempio:** gli istoni sono proteine che vanno incontro a modifiche post-traduzione. Le modifiche svolgono un ruolo importante nella regolazione della struttura della cromatina. Associata a attivazione e repressione genica. Avviene su lisine, arginine delle code N-terminale degli istoni H3 e H4.

Viene scritta in H3-K4-Me (1,2,3) indica Me = metilazione e 1,2,3 = il n di metili aggiunti.

Se è metilata la Lys 4 è un'attivazione, se è la Lys 9 viene repressa.

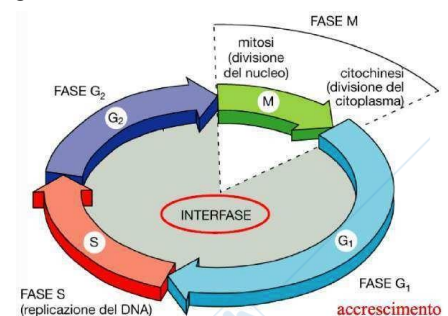
La metilazione dell'arginina implica solo l'attivazione della trascrizione.

**Il ciclo cellulare:** Inizia con la formazione di due nuove cellule figlie da una cellula parentale e termina con la successiva divisione che ognuna effettua.

### CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE

La crescita/replicazione DNA/mitosi devono essere coordinate durante la progressione. Ciò viene compiuto da una serie di punti di controllo che:

- 1) Regolano la progressione attraverso le varie fasi del ciclo (G1, S, G2, M)
- 2) Impediscono l'ingresso nella fase successiva del ciclo cellulare prima del completamento degli eventi della fase precedente.
- 3) La cellula risponde alle condizioni ambientali.



Controlli effettuati dalla cellula prima di diversi:

- Endogeni:
  - La cellula deve avere determinate dimensioni.
  - Il DNA deve essere completamente replicato.
- Esogeni:
  - Controlli provenienti dall'ambiente extracellulare.
  - Inibizione da contatto.

Difetti nel controllo del ciclo cellulare sono alla base dell'insorgenza dei tumori □ le cellule tumorali non risentono della inibizione da contatto.

### PUNTI DI CONTROLLO DEL CICLO CELLULARE:

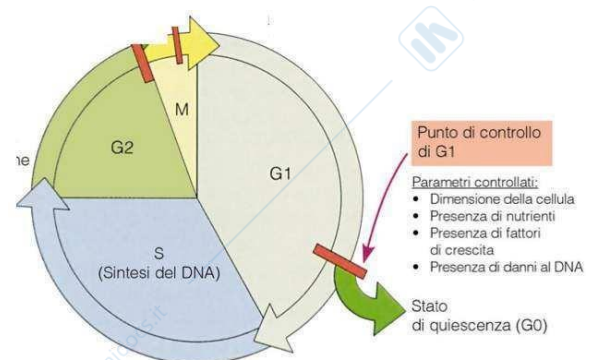
**Punto di controllo alla fine di G<sub>1</sub>:**

- START → eucarioti inferiori
- PUNTO DI RESTRIZIONE, punto R → eucarioti superiori.

Responsabile della transizione da G<sub>1</sub> a S.

Influenzato da:

- Disponibilità sostanze nutritive e fattori di crescita.
- Massa cellulare
- Danno al DNA



È il punto di controllo principale negli eucarioti superiori.

Dimensione cellula non appropriata/assenza di fattori di crescita □ Blocco crescita in G1, uscita da G1 e entrata in G0 (fase di quiescenza). In G0 la cellula rimane metabolicamente attiva. Può rimanere in G0 anche x anni, fino a quando non riceve uno stimolo opportuno.

**Punto di controllo in G2:**

Controlla la transizione da G2 a fase M.

È il principale punto di controllo di alcuni eucarioti inferiori. Negli eucarioti superiori un esempio è fornito dagli oociti dei vertebrati che rimangono in G2 anche per anni, la progressione in M è scatenata da segnali extracellulari. Esempio: stimolazione ormonale. Blocco influenzato da danno al DNA o da mancato completamento della duplicazione del DNA.

Scopo: evitare che le cellule figlie possano ereditare DNA mutato, oppure un patrimonio genetico incompleto.

**Punto di controllo in M, del fuso:**

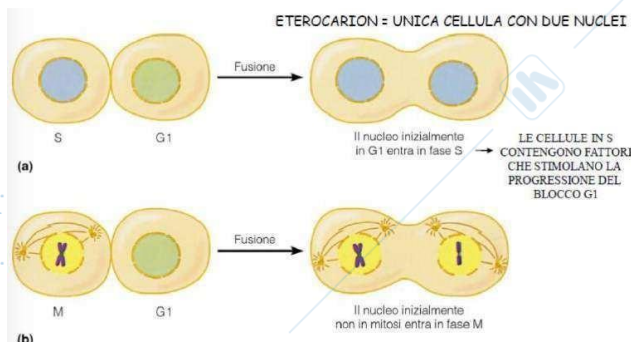
Controlla il completamento della fase M.

Viene verificata l'interazione tra il fuso mitotico e i diversi cromosomi, ed il loro corretto allineamento nella zona equatoriale del fuso mitotico.

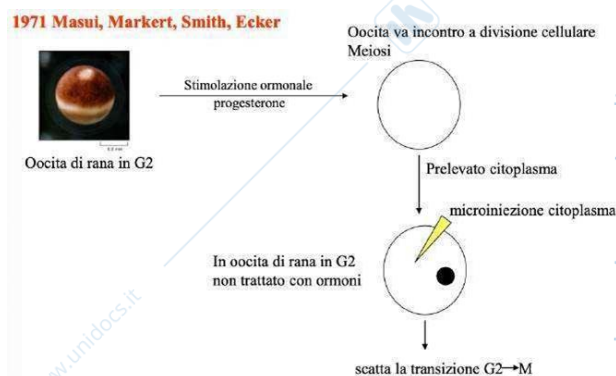
Quindi controlla che la segregazione cromosomica non cominci prima che i cromosomi abbiano stabilito un saldo legame con il fuso mitotico x assicurare una giusta distribuzione dei cromosomi alle cellule figlie.

Scoperta delle molecole implicate nella regolazione del ciclo cellulare, da approcci sperimentali diversi:

**Esperimenti di fusione cellulare su cellule in coltura**



**Scoperta del fattore che promuove la maturazione**

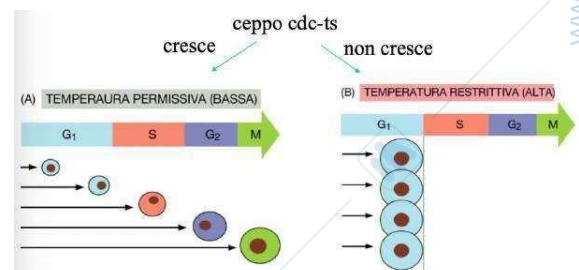


Nel citoplasma dell'ocita stimolato con ormoni deve essere presente un fattore citoplasmatico che fa riprendere la meiosi (maturazione ovarica), il fattore è stato chiamato: fattore che promuove la maturazione o fase M.

- **1970 Hartwell e colleghi:** esperimenti effettuati su mutanti di lievito con difetti nella progressione del ciclo cellulare: CDC → mutanti del ciclo di divisione cellulare.

I mutanti CDC presentano mutazioni T°-sensibili:

in genere si tratta di mutazioni puntiformi che interessano AA capaci, in condizioni normali, di mantenere la funzione della proteina, ma in condizioni ambientali più difficili (aumento della temperatura), manifestano il loro effetto alterandone la funzione. L'uso dei CDC-T°S ha permesso di isolare il gene CDC che codifica un enzima implicato nella regolazione del ciclo cellulare: questo enzima è una chinasi.



**CDC-28** (proteina necessaria per superare la fase G1) → subisce blocco in G1.

**CDC-2** (proteina necessaria per superare la fase G2) → subisce il blocco in G2.

CDC 20 e 2: geni funzionalmente omologhi richiesti in entrambe le specie di lievito per il passaggio da G1 a S e da G2 a M.

Per evitare confusione derivante dalla differenza di nomenclatura tra il gene di *S. Cerevisiae* e di *S. Pombe*, la proteina codifica entrambi i geni è stata chiamata **CDC-**

**2.**

- Scoperta delle cicline: 1983 Hunt e colleghi → usato come modello sperimentale il riccio di mare, perché dopo la fecondazione lo zigote va incontro a rapide divisioni cellulari. Dopo la fase S segue subito mitosi, (in assenza di fasi G1 e G2 ben distinte).

Nell'embrione di riccio di mare sono state identificate 2 proteine con andamento periodico di accumulo e degradazione. Le 2 proteine nel corso dell'interfase sono rapidamente degradate verso la fine della mitosi. Chiamate **cicline (A e B)**. mediante il loro accumulo e degradazione controllano l'entrata e l'uscita della fase M.

### PROTEINE CHE INTERVENGONO NELLA REGOLAZIONE DELLA PROGRESSIONE DEL CICLO CELLULARE:

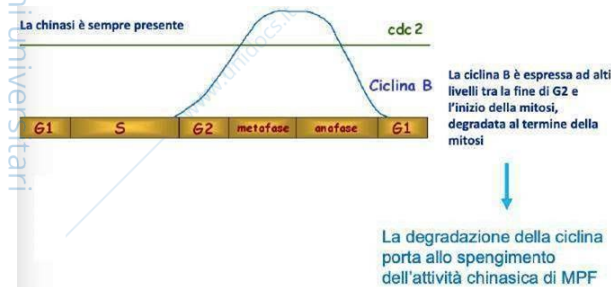
**Cicline:** proteine i cui livelli variano periodicamente nel corso del ciclo cellulare (accumulo/degradazione).

**Chinasi-ciclina dipendenti (CDK):** proteine che fosforilano proteine bersaglio in serina o treonina. Si attivano solo in seguito all'associazione con le cicline. Sono presenti in tutte le fasi del ciclo cellulare. Quindi i livelli della CDK non variano, passano da uno stato attivo (associata a ciclina), ad uno stato inattivo (non associazione a ciclina).

### NEGLI EUCARIOTI INFERIORI:

**Esiste un solo tipo di CDK** → chi permette alla CDK di fosforilare specifici substrati relativi alle specifiche fasi del ciclo sono le diverse cicline distinte in:

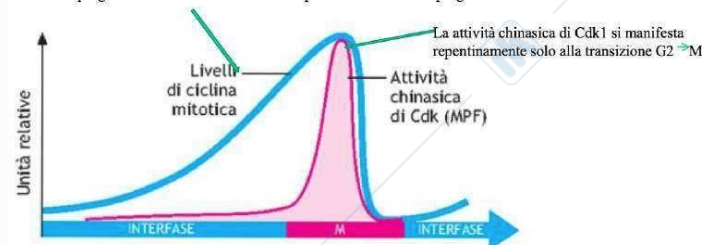
- **Cicline mitotiche:** coinvolte nella regolazione del passaggio da G2 a M e nelle prime fasi della mitosi.
- **Cicline G1:** cicline coinvolte nella regolazione da G1 a S.



**Controllo in G2: il fattore MPF fa progredire le cellule attraverso il punto di controllo G2** → accumulo in G2 di ciclina B (ciclina mitotica) che si associa a una CDK della CDC-2 o anche CDK-1.

**CDC-2 + ciclina B = MPF**

All'accumulo progressivo della ciclina B non corrisponde un'attivazione progressiva dell'attività chinasi di Cdk



L'associazione della ciclina con CDK non è sufficiente per attivare completamente la chinasi.

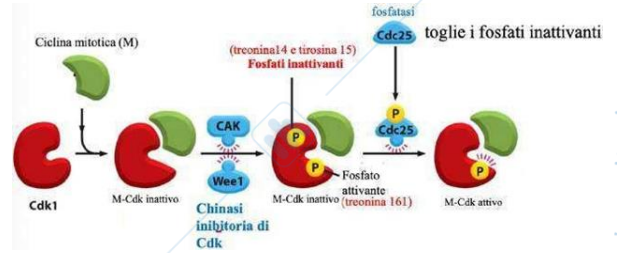
La piena attività di CDK-1 è innescata da una modifica post-traduzionale di CDK.

- 1) **Stato iniziale:** Quando Cdk1 non è associata alla ciclina il sito attivo non può interagire con la proteina substrato e ATP.

L'accesso è ostacolato da un impedimento sterico proprio della struttura terziaria di Cdk1 (chiamato T- loop, ansa che contiene la treonina 161).

2) **Associazione CDK/ciclina:** L'associazione causa un cambiamento conformazionale di Cdk consistente nella scomparsa del T-loop. Tuttavia, il sito attivo non è ancora del tutto accessibile. Si parla di condizione di pre- attivazione di CDK.

3) **Fosforilazione di CDK:** per rendere accessibile il sito attivo, Cdk deve subire un ulteriore cambiamento conformazionale provocato dalla fosforilazione della treonina 161. L'enzima che fosforila T161 è CAK. L'attività di CAK è ulteriormente regolata da WEE-1 e CDC-25:



Altri due aminoacidi sono importanti per la regolazione di Cdk: treonina14 e tirosina15. Si trovano vicino il sito catalitico e una loro fosforilazione ha una azione inibitoria.

La fosforilazione di questi residui è ad opera della chinasi **WEE-1**, chinasi a doppia fosforilazione, sia trionina che tirosina.

La defosforilazione di questi residui è ad opera della **fosfatasi CDC-25**.

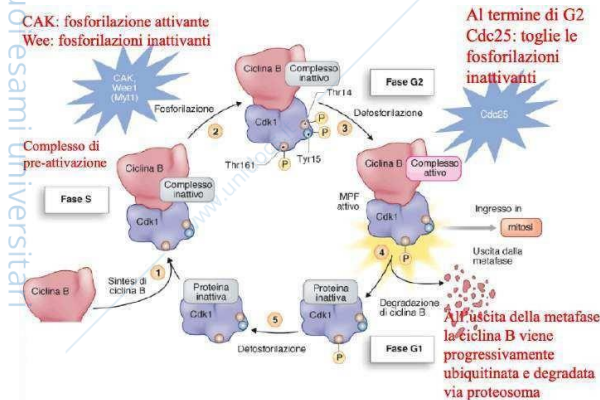
Il dualismo tra WEE-1 e CDC-25 è l'ultima verifica prima dell'attivazione di MPF e della trascrizione G2 → M

### NEGLI EUCARIOTI SUPERIORI:

Tipo complesso ciclina-CDK per il controllo delle varie fasi:

- Nelle fasi iniziali in G1: **ciclina D** + chinasi **CDK-4 e CDK-6**
- Transizione G1-S: **ciclina E** + chinasi **CDK-2**
- Transizione S-G2: **ciclina A** + chinasi **CDK-2**
- Transizione G2-M: **ciclina B + CDK1 (fattore MPF)**

### CICLO DI ATTIVAZIONE/DISATTIVAZIONE DI MPF: VISTO LUNGO IL CICLO CELLULARE:



WEE-1 è importante perché: in sua assenza, a mano a mano che la ciclina mitotica (B) è sintetizzata, si formerebbero complessi CDK/ciclina-B sempre attivi e questi, fosforilando i substrati, causerebbero l'entrata prematura in M con conseguente catastrofe mitotica (le cellule muoiono perché la fase G2 non si è completata e sono piccole).

Mancanza di CDC-25 o eccesso di WEE-1: la cellula non entra in mitosi.

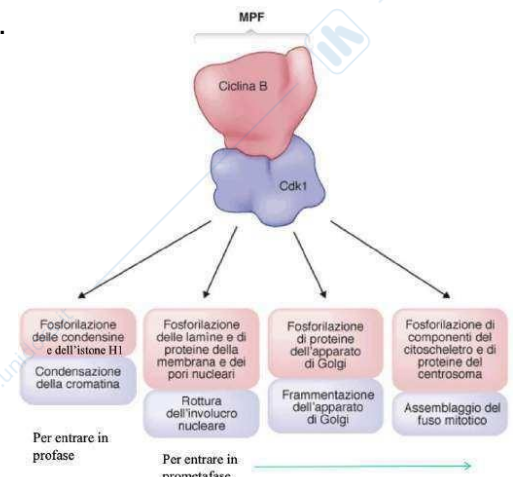
Mancanza di WEE-1 o eccesso di CDC-25: la cellula entra precocemente in mitosi.

### ESEMPI DI BERSAGLI DI MPF ATTIVATO:

#### LE PROTEINE DELLA LAMINA NUCLEARE

3 tipi di proteine: A, B e C.

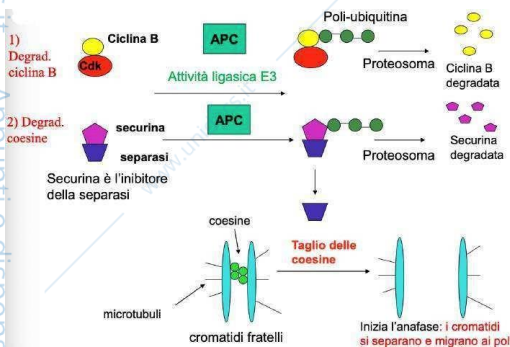
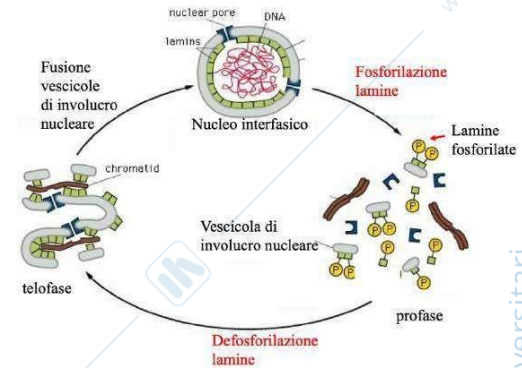
Formano dimeri che si aggregano in lunghe fibre che costituiscono i filamenti della lamina. Dai dimeri si formano i tetrameri, che andranno a formare i filamenti di lamine. Quando i dimeri sono fosforilati non si formano i tetrameri, quindi non si forma la lamina.



La fosforilazione delle lamine porta al disassemblamento dell'involucro nucleare (prometafase).

MPF ha un ruolo non solo nell'innescare la mitosi ma anche nell'anafase □ fosforila il complesso APC (viene attivato): induce la degradazione, ubiquitina dipende dagli inibitori dell'anafase, permettendo così l'anafase, in cui avviene la segregazione dei cromatidi fratelli.

APC (Anaphase Promoting Complex): responsabile della transizione da metafase ad anafase. Fa degradare la ciclina B e la securina. La separasi si attiva e taglia le coesine.



L'attività dei complessi ciclina e chinasi ciclina dipendente è regolata da:

- Dalla disponibilità di cicline.
- Da una modificazione post-traduzionale della CDK.
- Dal legame delle CDK con proteine inibitorie CKI, inibizione reversibile: la distruzione delle CKI mediata da ubiquitinazione e successiva degradazione nel proteosoma rilascia il complesso ciclina-CDK pienamente attivato → questo tipo di controllo è particolarmente importante per le CDK che regolano la transizione da **G1 a S**.

Esistono due famiglie di CKI:

- 1) **INK-4** attivate da segnali antiproliferativi, agiscono soprattutto a livello del punto di restrizione, cioè in G1.
- 2) **CIP/KIP** attivate dal danno al DNA. Agiscono sulle CDK in tutti i punti di controllo del ciclo cellulare.

### EVENTI INNECATI DAL FATTORE DI CRESCITA:

- 1) **Recettore tirosin-chinasico.**
- 2) **Via di trasduzione del segnale:** ras → MAPK
- 3) **Attivazione trascrizione.**
- 4) **Geni della risposta precoce** ai fattori di crescita: c-MYC, c-FOS, c-JUN, sono fattori di trascrizione.
- 5) I fattori di trascrizione attivano la trascrizione che innescano i **geni della risposta tardiva** ai fattori di crescita.

I segnali extracellulari mitogeni attivano il complesso Cdk-Ciclina G1 che fosforilano proteine bersaglio attivandole. Esempio: **Proteina del Retinoblastoma (pRb)**, nome derivante dal fatto che quando è mutata causa retinoblastoma.

**pRb attiva:** disattiva la proteina regolatrice della trascrizione.

**pRb inattiva:** attiva la proteina regolatrice della trascrizione.

La proteina regolatrice della trascrizione influenzata da pRb è il complesso E2F/DP1, questo complesso è un controllore fondamentale della progressione G1 → S nei mammiferi: i fattori di crescita attivano la via ras che stimola la produzione delle cicline-D che attivano le CDK-4/6, che fosforilano pRb, che quando è fosforilata, si stacca da E2F. allontanata anche la deacetilasi. Favorita la acetilazione → attivazione trascrizione.

**FATTORE DI CRESCITA ASSENTE:** stato di non transizione G1 → S: pRb è associata a E2F, pRb recluta le deacetilasi che deacetilano gli istoni → compattamento cromatina → repressione trascrizione.

**ONCOSOPPRESSORI:**

Geni che controllano la proliferazione cellulare.

pRb è un oncosoppressore: blocca la transizione G1 → S (tramite il blocco dell'attività trascrizionale di E2F). Fa sì che questo avvenga solo in presenza di appropriati segnali da parte di fattori di crescita.

p53 (guardiano del genoma) controlla che non ci siano danni al DNA, agisce soprattutto fra G1 e S, ma può agire anche in G2 (dopo la sintesi del DNA).

Blocco in G1 innescato da danno al DNA: ruolo fondamentale di p53.

P53 è:

- Un fattore di trascrizione. È la proteina più studiata al mondo.
- Oncosoppressore, mutata nella maggior parte dei tumori.
- Costituita da 3 domini.

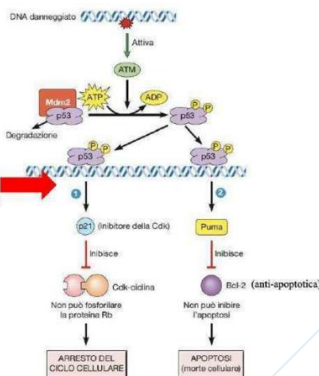
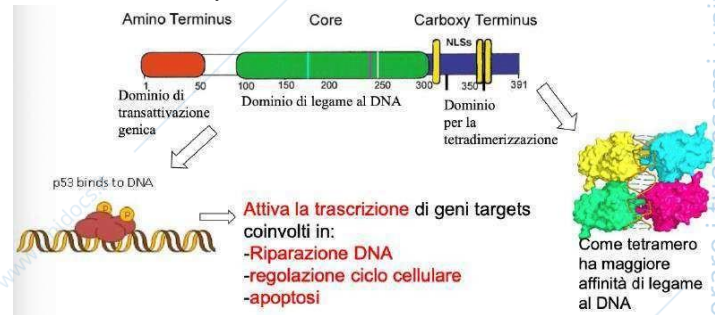
In condizioni normali p53 è mantenuta a bassi

livelli dal suo inibitore naturale

MDM2, che è una ubiquitina-ligasi.

Il danno al DNA attiva una chinasi ATM che fosforila p53 e MDM2: p53 si attiva mentre MDM2 è inattivato.

La prima risposta mediata dalla stabilizzazione di p53 è un blocco della progressione del ciclo cellulare in G1, inibisce anche l'apoptosi.



p53 attiva la trascrizione del principale inibitore del ciclo cellulare (p21). Lo scopo è di permettere che il danno al DNA venga riparato

**ONCOGENI:**

Derivano da geni detti proto-oncogeni (gene normale) che subiscono alterazioni e si trasformano in oncogeni.

Gli oncogeni inducono trasformazione neoplastica perché per esempio possono codificare proteine che stimolano in modo eccessivo la proliferazione cellulare.

Meccanismi che inducono conversioni di un proto-oncogene in oncogene:

- Mutazione puntiforme
- Amplificazione genica
- Traslocazione cromosomica
- Riarrangiamenti locali del DNA
- Mutagenesi inserzionale

Proteine codificate da oncogeni:

- Fattori di crescita
- Recettori dei fattori di crescita
- Proteine chinasi o proteine che attivano proteine chinasi
- Proteine che controllano il ciclo cellulare, come la ciclina-D
- Proteine che influenzano l'apoptosi
- Fattori di trascrizione

## Il contenuto del genoma:

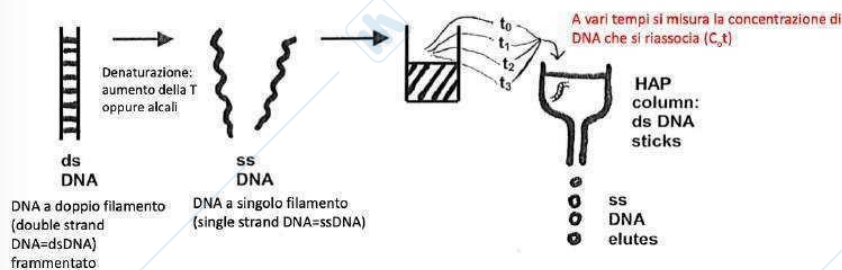
**Genoma:** serie completa dei geni di un organismo.

**Trascrittoma:** serie di tutti i geni espressi.

**Proteoma:** serie completa delle proteine prodotte.

Ogni organismo richiede l'espressione coordinata di molti geni.

Per studiare la composizione dei genomi si segue la cinetica di riassociazione dei frammenti di ssDNA.



10 coppie di geni si riassociano 10 volte più rapidamente che 1 sola copia di un gene.

## GENOMA EUKARIOTICO:

**DNA ripetitivo:** sequenze di DNA ripetute molte volte nel genoma di organismi eucarioti.

### 1) Sequenze semplici ripetute in tandem

- a. **Satelliti:** nome che deriva dalla densità di galleggiamento. La densità di galleggiamento si determina centrifugando il DNA in un gradiente CsCl. Può essere costituito da unità ripetute. Segmenti lunghi fino a qualche centinaio di chilobasi.

Nei cromosomi una delle sedi dove è localizzato è il centromero, cioè il punto di attacco della cromatina alle fibre del fuso mitotico.

Costituiti da sequenze di DNA variabilmente ripetute a seconda delle specie (ricche di A e T).

Sono particolarmente resistenti alla digestione con nucleasi, cosa che indica una struttura fortemente eterocromatica e diversa dalla normale cromatina nucleosomale del resto del genoma.

Un gruppo di proteine si lega alle sequenze centromeriche a formare un cinetocoro. Varie di queste proteine sono state isolate e caratterizzate. La loro presenza sembra escludere l'associazione con gli istoni.

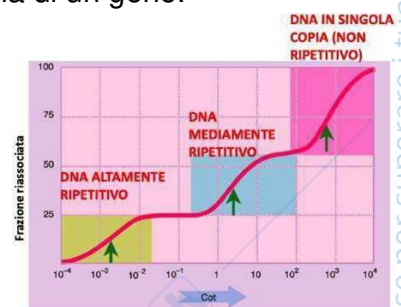
### b. Minisatelliti:

**DNA minisatellite ipervariabile:** unità ripetuta si presenta della popolazione in numerose varianti alleliche caratterizzate da differenze nel numero di ripetizioni.

Il termine usato per descrivere questa caratteristica: sequenze nucleotidiche altamente polimorfiche.

Non esistono 2 individui che possano avere contemporaneamente tutte le variabili numeriche di ripetizione in tandem (**VNTR**).

**VNTR** vengono utilizzate per analisi di paternità perché seguono una ereditarietà mendeliana o come impronta digitale del DNA dell'individuo nei casi forensi.



**DNA minisatellite (famiglia telomerica):**

- localizzato ai telomeri di tutti i cromosomi
- unità ripetuta in tandem TTAGGG (6 nucleotidi)
- lunghezza del blocco= varie Kb
- sintetizzato da TERT (telomerasi)

**DNA minisatellite (famiglia ipervariabile):**

- localizzato particolarmente nelle regioni vicine ai telomeri di tutti i cromosomi
- unità ripetuta 2-24
- lunghezza del blocco: fino a 3000 ripetizioni

c. **Microsatelliti**: ampiamente distribuiti su tutti i cromosomi. Ha sequenze più corte, blocchi non superiori a 150 nucleotidi.

2) **Sequenze ripetitive disperse nel genoma di varie lunghezze**

a. **LINES** (sequenze lunghe disperse)

b. **SINES** (sequenze corte disperse)

**DNA ripetuto intersperso**, perché le singole unità sono sparse nel genoma. Sono elementi trasponibili: possono spostarsi nel genoma (trasposizione) per questo sono definiti elementi mobili.

Includono:

- **Retrotrasposoni**: per spostarsi utilizzano un intermedio a RNA.
  - *Simil retrovirali*: somigliano ai retrovirus. Hanno la capacità di integrarsi nel genoma (codificano la trascrittasi inversa e l'integrarsi). Non hanno la capacità di lasciare la cellula in cui si trovano perché non codificano le proteine necessarie per costituire il rivestimento proteico tipico del retrovirus.
  - *Non retrovirali*:
    - **LINES**: si trovano nei genomi di molti organismi. Sono originati dalla retrotrascrizione di mRNA. Si spostano mediante un intermedio a RNA. Il meccanismo per lo spostamento richiede una endonucleasi. Codificano la trascrittasi inversa e un'endonucleasi. Nel genoma umano, la maggior parte è immobile.
    - **SINES**: sono retroelementi, prevedono per la trasposizione un intermedio a RNA. Non codificano trascrittasi inversa e endonucleasi, ma utilizzano gli enzimi derivanti da altri retrotrasposoni. Nell'uomo e negli altri primati la famiglia più rappresentativa è costituita dall'elemento Alu. Contengono promotori interni, tipici di alcuni trascritti di RNA pol3.
- **Trasposoni**: la loro trasposizione avviene in modo
  - **Conservativo**: l'elemento si sposta in un altro punto del genoma.
  - **Replicativo**: l'elemento rimane nel punto originale e in un nuovo sito. Presenti nei procarioti e negli eucarioti. Nell'uomo quasi la metà del genoma è rappresentato da essi. A seguito del loro spostamento possono attivare/inibire un gene. Per la trasposizione è richiesto l'enzima **trasposasi** che è codificata dallo stesso trasposone. La trasposasi riconosce specifiche sequenze che fiancheggiano il trasposone (ripetute invertite). Forma una struttura ad anello inducendo la sua escissione. Alcuni trasposoni hanno solo il gene della trasposasi, altri hanno geni che determinano la resistenza ad antibiotici (composti).

Gli elementi mobili hanno avuto un profondo effetto sulla formazione dei genomi attuali.

Durante l'evoluzione spostandosi hanno occasionalmente modificato sequenze genomiche che in alcuni casi hanno comportato vantaggio all'organismo.

Nel corso del tempo mutazioni casuali hanno alterato le loro sequenze.

Solo pochi sono ancora attivi e capaci di movimento. La maggior parte sono "fossili" molecolari. Sono spesso considerati "parassiti" molecolari (chiamati anche DNA egoista) in quanto sono rimasti nelle cellule perché le cellule non possono liberarsi di loro. In alcuni casi portano un beneficio all'organismo → nei batteri possono conferire la resistenza ad antibiotici.

