

DNA, cromosomi e genomi

Il poro nucleare ha un ruolo attivo nel riconoscimento del materiale che entra ed esce. Le molecole che attraversano l'NPC devono avere la conferma per entrare ed uscire dal nucleo. Il nucleo è la sede della conserva proteica attraverso la membrana nucleare del **patrimonio genetico**. L'*informazione ereditaria* è trasmessa da una cellula alle cellule figlie durante la divisione cellulare e da una generazione di un organismo alla successiva attraverso le cellule riproduttive dell'organismo. Tutte le informazioni che servono alla cellula per funzionare e che devono essere poi ereditate dalla progenie, sono contenute nel DNA. Queste istruzioni sono conservate in ogni cellula come **geni**, gli elementi che contengono informazioni che determinano le caratteristiche di una specie nel suo insieme e degli individui che la compongono. L'informazione contenuta nei geni viene copiata e trasmessa da una cellula alle cellule figlie milioni di volte durante la vita di un organismo pluricellulare. Il DNA per poter essere contenuto all'interno del nucleo, viene aiutato dalle proteine. Queste proteine aiutano il DNA ad essere organizzato per poter essere avvolto in maniera più ordinata. In questo modo riesce ad essere contenuto all'interno del nucleo. Il tipo di protezione presenti nel lume del nucleo, associato all'organizzazione del DNA sono le **proteine istoniche** e le **proteine non istoniche**. Le proteine istoniche aiutano ad organizzare il DNA in modo tale da poter essere contenuto all'interno del nucleo e ne regolano l'attività.

Gli **acidi nucleici** sono polimeri di nucleotidi o polinucleotidi. I nucleotidi sono costituiti da una base azotata, uno zucchero pentoso e un gruppo fosfato. I nucleotidi sono uniti insieme da un legame fosfodiesterico fra gli atomi di carbonio 5' e 3' per formare gli acidi nucleici. I nucleotidi hanno molteplici funzioni:

1. Portano energia chimica nei loro legami fosfoanidride facilmente idrolizzabili. Come ATP.
2. Si combinano con altri gruppi per formare coenzimi. Come CoA.
3. Sono usati come molecole di segnalazione specifiche nella cellula. Come cAMP.

Le basi azotate sono di due tipi, le **basi puriniche** o **purine** e **basi pirimidiniche** o **pirimidine**.

BASI PURINICHE	BASI PIRIMIDINICHE
Adenina	Timina o Uracile
Guanina	Citosina

Sono dette "basi" perchè alcuni azoti possono protonarsi, diventare N^+ , sottraendo H^+ alla soluzione. Gli zuccheri pentosi sono diversi tra DNA e RNA, sono: **2-desossiribosio** nel DNA e **ribosio** nell'RNA.

Il 2-desossiribosio nel carbonio-2 è privo di un gruppo ossidrilico, ha due idrogeni, mentre il ribosio al carbonio-2 presenta l'ossidrilico.

Si definisce **nucleotide** l'unità ripetitiva del materiale genetico composto da una serie di strutture.

Il nucleotide è formato da una base azotata, uno zucchero pentoso (composto a 5 atomi di carbonio come il ribosio o il deossiribosio) e un gruppo fosfato (che deriva dall'acido fosforico), mentre per **nucleoside** si intende la somma tra base azotata e zucchero pentoso. Se al nucleoside si aggiunge il gruppo fosfato, esso prende il nome di nucleotide. Una molecola di nucleoside è costituita dallo zucchero pentoso legato mediante legame N-glicosidico ad una base azotata.

Una molecola di **acido deossiribonucleico (DNA)** consiste di due lunghe catene polinucleotidiche composte da quattro tipi di subunità. Ciascuna di queste catene è nota come *catena di DNA* o *filamento di DNA*. Le due catene corrono antiparallele una rispetto all'altra e *legami idrogeno* fra le basi dei nucleotidi tengono insieme le due catene. I nucleotidi sono composti da un zucchero a 5 atomi di carbonio al quale sono attaccati uno o più gruppi fosfato e una base che contiene azoto. Nel caso dei nucleotidi del DNA, lo zucchero è deossiribosio attaccato a un singolo gruppo fosfato e la base può essere *adenina (A)*, *citocina (C)*, *guanina (G)* o *timina (T)*. I nucleotidi sono uniti covalentemente fra loro in una catena tramite gli zuccheri e i fosfati che formano l'ossatura di zucchero-fosfato-zucchero-fosfato, alternati. Poiché soltanto la base differisce in ciascun tipo di subunità, una catena polinucleotidica di DNA è analoga a una collana, l'ossatura, composta da quattro tipi di basi, A,C,G e T. Il modo in cui i filamenti sono allineati insieme dà al filamento di DNA una polarità chimica.

Il ruolo centrale lo ha lo zucchero pentoso poiché al suo carbonio-5 è legato un gruppo fosfato mentre al carbonio-1 è legata la base azotata. La polimerizzazione avviene attraverso un legame fosfodiesterico. Il DNA, catalizzato dalla DNA polimerasi, unisce un nucleotide attraverso l'ossidrilico in posizione 3, il fosfato del nucleotide segue in posizione 5.

Le due estremità sono facilmente distinguibili perché una ha un buco, l'ossidrilico 3' e l'altra una sporgenza, il fosfato 5' al suo terminale. Questa polarità, in una catena di DNA, viene indicata riferendosi a un'estremità come *estremità 3'* e all'altra come *estremità 5'*, termini derivati dall'orientamento dello zucchero deossiribosio. Il legame avviene in 3'-5' dei nucleotidi successivi, questo conferisce direzionalità alla molecola di DNA o RNA. All'estremità 5' sarà presente il primo nucleotide di questo polimero mentre all'estremità 3' ci sarà la fine della catena polipeptidica. Il fosfato è posizionato sul 5' libero mentre l'ossidrilico è sul 3' libero. La struttura tridimensionale del DNA, una **doppia elica**, deriva dalle caratteristiche chimiche e strutturali delle sue due catene polinucleotidiche. Queste due catene sono tenute insieme da legami idrogeno fra le basi sui differenti filamenti, tutte le basi sono all'interno della doppia elica e le ossature di zucchero-fosfato sono all'esterno. Una base a due anelli, una purina, è appaiata a una base a singolo anello, una pirimidina; A si appaia sempre con T e G con C. Questo *appaiamento complementare delle basi* permette alle **coppie di basi** di compattarsi all'interno della doppia elica, in modo energeticamente favorevole. In questa disposizione ciascuna coppia di basi ha una lunghezza simile e tiene così le ossature di zucchero-fosfato distanziate in modo uguale lungo la molecola del DNA. Le due ossature di zucchero-fosfato si avvolgono l'una sull'altra formando una doppia elica con un giro completo ogni dieci coppie di basi. I membri di ciascuna coppia di basi possono adattarsi insieme dentro la doppia elica soltanto se i due filamenti dell'elica sono **antiparalleli**, cioè solo se la polarità di un filamento è orientata in senso opposto a quella dell'altro filamento. Una conseguenza di questi requisiti è che ciascun filamento di una molecola di DNA contiene una sequenza di nucleotidi che è esattamente **complementare** alla sequenza nucleotidica dell'altro filamento.

Quindi il DNA è costituito da quattro tipi di nucleotidi che sono uniti covalentemente in una catena polinucleotidica (filamento di DNA) con un'ossatura di zucchero-fosfato da cui sporgono le basi (A, C, G e T). Una molecola di DNA è composta da due filamenti di DNA tenuti insieme da legami idrogeno fra le basi appaiate. Le forme e la struttura chimica delle basi permettono di formare legami idrogeno in modo efficiente soltanto fra A e T e fra G e C, dove gli atomi che sono capaci di formare legami idrogeno possono essere avvicinati senza distorcere la doppia elica. Le basi si possono appaiare in questo modo soltanto se le due catene polinucleotidiche che le contengono sono antiparallele.

Le **regole di Chargaff** definiscono i rapporti fissi che sussistono tra i vari nucleotidi, i rapporti fissi del DNA:

- La quantità di **adenina** è uguale alla quantità di **timina** (A=T)
- La quantità di **guanina** è uguale alla quantità di **citosina** (G=C)
- La quantità totale delle **purine** (A+G) è uguale alla quantità totale delle **pirimidine** (T+C)

La percentuale di purine e pirimidine all'interno di una molecola di DNA è di 50% di purine e 50% di pirimidine. Tra le due basi si possono formare il maggior numero di legami idrogeno.

$$\text{PURINE} = \text{PIRIMIDINE} \rightarrow \text{A+G} = \text{C+T}$$

$$\text{A\%} = \text{T\%}$$

$$\text{G\%} = \text{C\%}$$

Il fosfato deriva dall'acido fosforico, un acido debole, H_3PO_4 . L'acido fosforico viene ad interagire con lo zucchero pentoso attraverso la contrazione di un **legame fosfoestereo**. Questo legame di esterificazione libera una molecola di acqua quando il lega si forma.

I nucleotidi si legano attraverso legami idrogeno tra residui azotati e ossigenati delle basi. L'adenina e la timina contraggono doppi legami idrogeno, mentre la citosina e la guanina contraggono tripli legami idrogeno. Le **forze di stacking** sono interazioni idrofobiche che si instaurano tra le basi quando sono impilate l'una sull'altra. Nel contesto dei filamenti sono presenti le forze di stacking tra i nucleotidi che si sovrappongono l'uno sull'altro.

Il DNA ha molteplici conformazioni, la più conosciuta in citologia è il DNA che presenta una spiralizzazione a doppia elica. In diversi momenti del ciclo cellulare, il DNA si compatta attorno agli istoni generando il **cromosoma**.

A partire da un sottile DNA con dimensione di circa 2nm, interagendo con proteine istoniche si compatta e crea una struttura spiraliforme per poi impacchettarsi formando il cromosoma. Ogni cromosoma in una cellula eucariotica consiste di una singola molecola di DNA estremamente lunga associata a proteine che ripiegano e impacchettano il sottile filamento di DNA in una struttura più compatta. Oltre alle proteine coinvolte nel compatimento del DNA, i cromosomi sono anche associati a molte proteine necessarie per i processi di espressione genica, di replicazione del DNA e di riparazione del DNA. Il complesso di DNA e proteine strettamente associate è detto *cromatina* (dal greco *chroma*, "colore"). Con l'eccezione delle cellule germinali dei pochi tipi cellulari altamente specializzati che non possono moltiplicarsi e sono completamente privi di DNA o che hanno replicato il loro DNA senza completare la divisione cellulare, ciascuna cellula umana contiene due copie di ciascun cromosoma, una ereditaria dalla madre e una dal padre. I cromosomi paterno e materno di una coppia sono chiamati **cromosomi omologhi**. L'unica coppia di cromosomi non omologhi è composta dai *cromosomi sessuali* nei maschi in cui un cromosoma Y è ereditato dal padre e un cromosoma X dalla madre. Ciascuna cellula umana contiene un totale di 46 cromosomi di cui 22 coppie comuni a maschi e femmine, più i cosiddetti cromosomi sessuali che sono XY nel maschio e XX nella femmina. L'immagine dei 46 cromosomi umani durante la mitosi in metafase è detta **cariotipo** umano.

La maggior parte del DNA rimanente in un gene consiste di lunghi tratti di DNA non codificante che interrompono i segmenti relativamente brevi di DNA che codificano la proteina. Le sequenze codificanti sono chiamate **esoni**, le sequenze intercalate non codificanti sono chiamate **introni**. La maggioranza dei geni umani consiste così di una lunga fila di esoni e introni alternati, con la maggior parte del gene composta da introni. La maggioranza dei geni degli organismi con genomi compatti è priva di introni. Oltre a introni ed esoni, ciascun gene è associato a *sequenze regolatrici di DNA*, che sono responsabili del fatto che il gene sia attivo o inattivo al momento opportuno, espresso a livello appropriato alle necessità e solo nel tipo corretto di cellula. Le sequenze regolatrici di un gene tipico sono sparse in decine di migliaia di coppie di nucleotidi.

Una molecola di DNA per formare un cromosoma deve essere in grado di replicarsi e le copie replicate devono essere separate e divise correttamente nelle cellule figlie a ogni divisione. Questo processo avviene attraverso una serie ordinata di fasi conosciute nel loro insieme come **ciclo cellulare**, che forniscono una separazione temporale tra la duplicazione dei cromosomi e la loro segregazione in due cellule figlie. Durante una lunga *interfase* i geni sono espressi e i cromosomi vengono replicati, le due repliche rimangono insieme come coppia di *cromatidi fratelli*. Per tutto il tempo i cromosomi sono distesi e molta della loro cromatina è presente all'interno del nucleo come lunghi filamenti, per cui i singoli cromosomi non possono essere distinti. Ogni cromosoma si condensa durante il breve spazio di tempo della mitosi, cosicché i due cromatidi fratelli si possono separare e possono essere distribuiti nei due nuclei figli. I cromosomi altamente condensati presenti in una cellula in divisione sono noti come *cromosomi mitotici*. Il cromosoma mitotico è un cromosoma condensato duplicato in cui due nuovi cromosomi, chiamati cromatidi fratelli, sono ancora uniti insieme.

Un tipo di sequenza nucleotidica agisce da **origine di replicazione** del DNA, la posizione in cui inizia la duplicazione del DNA. I cromosomi eucariotici contengono molte origini di replicazione per assicurare che l'intero cromosoma possa essere replicato rapidamente. Dopo la replicazione i due cromosomi figli restano attaccati l'uno all'altro e, se il ciclo cellulare produce, sono ulteriormente condensati per produrre cromosomi mitotici. La presenza di una seconda sequenza specializzata di DNA chiamata **centromero**, permette a una copia di ciascun cromosoma duplicato e condensato di essere tirata in ciascuna cellula figlia quando una cellula si divide. Un complesso proteico chiamato *cinetocore* si forma sul centromero e attacca i cromosomi duplicati al fuso mitotico, permettendone la separazione. La terza sequenza specializzata di DNA forma i **telomeri**, le estremità di un cromosoma. I telomeri contengono sequenze nucleotidiche ripetute che permettono la replicazione efficiente delle estremità dei cromosomi. I telomeri svolgono anche un'altra funzione, le sequenze ripetute di DNA telomerico, insieme con le regioni adiacenti formano strutture che proteggono l'estremità del cromosoma dall'eventualità di essere riconosciuta dalla cellula come un molecola di DNA spezzato che ha bisogno di essere riparata. Ciascun cromosoma ha origini di replicazione multiple, un centromero e due telomeri.

Il DNA si replica in interfase, iniziando dalle origini di replicazione e procedendo bidirezionalmente dalle origini lungo il cromosoma. Nella fase M il centromero attacca i cromosomi duplicato al fuso mitotico, cosicché una coppia viene distribuita a ciascuna cellula figlia durante la mitosi, la struttura che unisce il centromero al fuso è il cinetocore. Il centromero aiuta anche a tenere insieme i cromosomi duplicati fino a che sono pronti ad essere separati. I cromosomi presentano una struttura dinamica, essi si condensano in modo estremo nella fase M del ciclo cellulare. Regioni specifiche dei cromosomi interfascici si decondensano quando le cellule accedono a sequenze specifiche di DNA per esprimere geni, per riparare il DNA e per replicarlo, e si ricondensano quando questi processi sono stati completati. Il compattamento dei cromosomi è perciò compiuto in modo da permettere un rapido accesso localizzato, secondo la necessità, al DNA. Le proteine che si legano al DNA per formare i cromosomi eucariotici sono tradizionalmente divise in due classi generali, gli *istoni* e le *proteine cromosomiche non istoniche*; ognuna contribuisce al cromosoma con una massa pari a quella del DNA. Il complesso di entrambe le classi di proteine con il DNA nucleare delle cellule eucariotiche è noto come **cromatina**. La cromatina consiste di DNA legato sia agli istoni sia alle proteine non istoniche. La massa di un cromosoma è formata per circa un terzo da DNA e per due terzi da proteine.

Gli istoni sono responsabili del primo livello di base dell'organizzazione dei cromosomi, il **nucleosoma**, un complesso DNA-proteine, che venne scoperto nel 1974. In interfase la cromatina è sotto forma di una fibra con un diametro di circa 30nm, se questa cromatina viene sottoposta a trattamenti, essa appare al microscopio elettronico come un serie di "perline su un filo". Il filo è il DNA e ciascuna perlina è una particella centrale del nucleosoma, costituita da DNA avvolto intorno a un nucleo proteico formato da istoni. L'organizzazione strutturale dei nucleosomi è stata determinata dopo averli prima isolati da cromatina svolta per digestione con enzimi particolari, le *nucleasi*, che spezzano il DNA tagliandolo fra i nucleosomi. In seguito a digestione il DNA esposto fra le particelle centrali dei nucleosomi, *DNA linker*, viene degradato. Ciascuna singola particella centrale del nucleosoma consiste di un complesso di 8 proteine istoniche, due molecole degli istoni H2A, H2B, H3 e H4, e di DNA a doppio filamento, lungo 147 coppie di nucleotidi. Queste proteine istoniche organizzano il DNA, ognuna presente in due unità andando a formare l'**ottamero istonico**, attorno al quale si avvolge la molecola di DNA. L'ottamero istonico attorno a cui è avvolto il DNA è il nucleosoma. Questo avvolgimento attorno all'ottamero istonico avvicina siti che potrebbero essere distanti. L'ottamero di istoni forma un nucleo proteico intorno al quale è avvolto il DNA a doppio filamento. La struttura del DNA avvolto ai nucleosomi costituisce il livello di organizzazione più basso della cromatina, fibra di 10nm detta **collana di perle**.

Per nucleosoma si intende quindi una particella centrale del nucleosoma più uno dei DNA linker adiacenti, esso contiene un nucleo proteico composto da 8 molecole di istoni. La formazione dei nucleosomi converte una molecola di DNA in un filo di cromatina la cui dimensione è circa un terzo della lunghezza iniziale. Gli istoni che compongono il nucleo del nucleosoma sono proteine relativamente piccole e hanno un motivo strutturale comune, noto come *ripiegamento istonico*, formato da tre alfa-eliche connesse da due anse. Nell'assemblaggio di un nucleosoma i ripiegamenti istonici si legano fra loro formando dimeri H3-H4 e H2A-H2B, i dimeri H3-H4, che si combinano formando tetrameri.

Un tetramero H3-H4 si combina poi con due dimeri H2A-H2B per formare un nucleo compatto dell'ottamero, intorno al quale si avvolge il DNA.

L'interfaccia tra il DNA e l'istone è estesa, in ciascun nucleosoma si formano 142 legami a idrogeno fra il DNA e il nucleo degli istoni. Quasi a metà di questi legami si forma fra l'ossatura degli amminoacidi degli istoni e l'ossatura fosfodiesterica del DNA. Ciascun istone del nucleo contiene una coda N-terminale che è soggetta a diverse modificazioni covalenti e una regione di ripiegamento istonico. La struttura del ripiegamento istonico è formato da tutti e quattro gli istoni del nucleo. Gli istoni H3 e H4 formano un dimero tramite lo stesso tipo di interazione. Nell'ottamero istonico finale con avvolto il DNA, otto code N-terminali degli istoni protrudono dalla struttura a forma di disco nel nucleo. Queste code presentano una conformazione flessibile e servono come sito di legame per gruppi di altre proteine. Sono soggette a parecchi tipi diversi di modificazioni covalenti che a loro volta controllano aspetti cruciali della struttura e della funzione della cromatina. Le cellule eucariotiche contengono *complessi di rimodellamento della cromatina* dipendenti da ATP, questi complessi comprendono una subunità che idrolizza ATP.

La subunità di questi complessi si lega sia al nucleo proteico del nucleosoma che al DNA a doppio filamento avvolto intorno a esso.

Usando l'energia di idrolisi dell'ATP per spostare questo DNA rispetto al nucleo questa subunità cambia temporaneamente la struttura di un nucleosoma rendendo il DNA legato meno strettamente al nucleo di istoni. Tramite cicli ripetuti di idrolisi di ATP i complessi di rimodellamento possono catalizzare lo *scorrimento dei nucleosomi* e, tirando il nucleosoma lungo la doppia elica del DNA in questo modo, rendono il DNA del nucleosoma disponibile per altre proteine cellulari. Cooperando con proteine che legano gli istoni che servono da *chaperoni degli istoni*, alcuni complessi di rimodellamento sono capaci di rimuovere il nucleo del nucleosoma in tutto o in parte, catalizzando uno scambio dei suoi istoni H2A-H2B o la rimozione completa del nucleo ottamerico dal DNA. Le cellule contengono decine di diversi complessi di rimodellamento della cromatina dipendenti da ATP che sono specializzati in ruoli differenti. I nucleosomi sono compattati l'uno all'altro generando schiere regolari in cui il DNA è ancora più condensato. La cromatina è la forma condensata del materiale genetico poiché se il materiale genetico fosse completamente disteso all'interno del nucleo, sarebbe all'incirca 2 metri. Da uno spessore di 2nm del doppio filamento di DNA antiparallelo si condensa formando la struttura del nucleosoma raggiungendo uno spessore di 11nm. Un nucleosoma è un'unità formata da un avvolgimento di DNA 1,65 giri, circa 200bp attorno ad 8 istoni. I nucleosomi sono collegati da segmenti di DNA detto **DNA linker** contenente istone H1, un tratto di circa 80bp. L'istone H1 detto anche istone linker è più grande dei singoli istoni del nucleo, una singola molecola di istone H1 si lega a ciascun nucleosoma entrando in contatto sia col DNA che con proteine e cambiando il percorso del DNA quando esce dal nucleosoma. Si pensa che questo cambiamento di percorso di uscita del DNA aiuti a compattare il nucleosoma. Ci sono delle ulteriori condensazioni, i nucleosomi si condensano tra loro formando le fibre di cromatina, con uno spessore di circa 30nm, questa si condensa ulteriormente formando anse. Le anse più raggiungibili sono quelle contenenti geni che devono essere poi trascritti, le anse più piccole e meno raggiungibili sono quelle che non contengono geni da trascrivere in quelle cellule. Si possono ancora condensare formando delle strutture che hanno uno spessore di 700nm fino ai cromosomi che sono un livello di condensazione della cromatina che si ha soltanto quando la cellula si avvicina alla divisione, in questo caso con il cromosoma ha uno spessore 1400nm. Ci sono delle proteine oltre agli istoni. Che aiutano il DNA a mantenere tutte le diverse strutture di condensazione, esse sono le proteine dello **Scaffold Proteico**, un'impalcatura di sostegno, sono proteine acide mentre le proteine istoniche sono basiche.

Nei nuclei interfasicici delle cellule eucariotiche ci sono due tipi di cromatina: una altamente condensata, chiamata **eterocromatina**, e la rimanente che è meno condensata detta **euromatina**. L'eterocromatina rappresenta una forma particolarmente compatta di cromatina. Essa è altamente concentrata in regioni specifiche, soprattutto nei centromeri e nei telomeri, ma è presente anche in altre regioni lungo il cromosoma, regioni che possono variare a seconda dello stato fisiologico della cellula.

Quindi:

Euromatina è DNA meno condensato che contiene i geni che devono essere trascritti.

Eterocromatina può essere *facoltativa* o *costitutiva*, DNA molto condensato perché non contiene geni da trascrivere. Tra le regioni eterocromatiche ce ne sono alcune che non contengono geni in generale poiché il DNA non contiene solo geni, una parte sono geni una parte sono eterocromatina costitutiva, che ha funzioni generalmente strutturali.

Eterocromatina costitutiva è una cromatina che è sempre compatta, in qualsiasi momento della vita della cellula. Quindi non può mai avvenire la trascrizione a livello di questa eterocromatina. Essa non possiede inoltre sequenze codificanti, i geni. Ci sono sequenze ripetute con una particolare funzione ma non viene mai trascritta. L'eterocromatina costitutiva la troviamo a livello dei telomeri, con funzione di protezione dall'attacco di enzimi ma anche di proteggere l'estremità del cromosoma. Il centromero in base alla sua posizione inoltre i cromosomi vengono classificati in maniera diversa.

Eterocromatina facoltativa, è un tipo di eterocromatina che può essere trascritta, essa può diventare euromatina quando la cellula ne necessita. A livello dell'eterocromatina facoltativa ci sono delle sequenze codificanti, ma non vengono utilizzati se alla cellula non servono.

Tutte le cellule hanno la stessa quantità di DNA, fatta eccezione per i gameti.

Tra due cellule, la quantità di cromatina è la stessa ma la quantità di eterocromatina e eucromatina non è la stessa, sarà diversa.

I **fenomeni epigenetici**, sono modificazioni a carico sia del DNA sia delle proteine istoniche che variano la quantità di cariche, con aggiunta o eliminazione di alcuni gruppi come gruppi acetili, l'acetilazione attiva il DNA, mentre la presenza di gruppi metilici inattiva il DNA perché cambiano le cariche.

La metilazione crea maggior affinità, rende più stabile il legame tra DNA e le proteine istoniche, quindi meno accessibile al macchinario della trascrizione. La fosforilazione è un fenomeno che modifica l'affinità del DNA per le proteine istoniche e quindi modifica l'attività del DNA. Gli istoni sono proteine soggette ad una notevole varietà di modificazioni covalenti reversibili. La maggior parte di queste modificazioni avviene sulla coda N-terminale dell'ottamero, ma talvolta possono avvenire anche sul corpo del nucleosoma, in particolare sulle catene laterali degli amminoacidi di un istone. L'acetilazione della lisina o dell'arginina, che tende ad allentare la struttura della cromatina poiché rimuove la carica positiva di questo amminoacido, avviene ad opera dell'istone Acetil-transferasi (HAT), la loro deacetilazione da parte di deacetilasi (HDAC), la loro metilazione da parte dell'istone Metil-transferasi, a cui corrispondono delle demetilasi. L'aggiunta di gruppi metilici inattiva il DNA. Altre possibili modificazioni sono la fosforilazione della serina e l'ubiquitazione. Il passaggio della cromatina da eucromatina a eterocromatina facoltativa o viceversa è resa possibile da queste modificazioni che avvengono a carico delle proteine istoniche perché variano le cariche e quindi varia l'affinità delle proteine per il DNA. La collana di perle è il livello di organizzazione più basso della cromatina, la *fibra di 10nm*, in questo stadio a collana di perle il DNA è avvolto attorno agli istoni senza ulteriori ripiegamenti. La *fibra da 30nm* di diametro è il secondo livello, in esso la cromatina assume un aspetto solenoidale grazie alle interazioni tra le code degli istoni di un nucleosoma con quelle dei nucleosomi adiacenti, grazie agli istoni H1. La *fibra da 300nm* o *fibra ad ansa*, la cromatina si ripiega ulteriormente su se stessa grazie all'aiuto di altre proteine. La *fibra da 700nm* di diametro, la cromatina si superavvolge, è il diametro dei singoli cromatidi. La *fibra da 1400nm* di diametro, è a livello di condensazione massimo, i *cromosomi metafasici*.

Le funzioni della cromatina sono:

- Impacchettamento del DNA
- Rafforzare il DNA per permettere la mitosi
- Prevenire danni al DNA
- Controllare la replicazione del DNA e l'espressione del gene.

Durante l'interfase del ciclo di divisione cellulare sono ripiegate separatamente per produrre due cromosomi fratelli o cromatidi fratelli, uniti a livello dei centromeri. Questi cromosomi sono normalmente ricoperti da un varietà di molecole fra cui grandi quantità di complessi RNA-proteine. Il compattamento dei cromosomi durante la mitosi è un processo dinamico altamente organizzato che ha principalmente due scopi. Innanzitutto, quando la condensazione è completa in metafase i cromatidi fratelli sono stati disavvolti e si trovano fianco a fianco. Così i cromatidi fratelli possono separarsi facilmente quando l'apparato mitotico inizia a tirarli in direzioni opposte. In secondo luogo, il compattamento dei cromosomi protegge le molecole di DNA relativamente fragili dalla rottura quando vengono tirate in cellule figlie separate. La condensazione dei cromosomi interfasici in cromosomi mitotici avviene all'inizio della fase M ed è strettamente connessa con il progetto del ciclo cellulare. Durante la fase M l'espressione genica si spegne e gli istoni subiscono modificazioni specifiche che aiutano a riorganizzare la cromatina man mano che si compatta. Al compattamento partecipano due classi di proteine a forma di anello, le **coesine** e le **condensine**. Le coesine e le condensine sono due proteine non istoniche che aiutano ad aumentare l'organizzazione della cromatina. Le condensine sono coinvolte nel controllo della struttura generale e sono responsabili della condensazione dei cromosomi mitotici, le coesine sono coinvolte nelle connessioni tra i cromatidi fratelli. La coesina si lega lungo il cromosoma avvolgendo i due cromatidi in maniera da evitare che, durante lo spostamento, questi cromosomi non si rompano. La condensina stabilizza le anse del DNA, quindi aiutano a compattare la molecola di DNA. Quando si ha la condensazione massima del DNA le anse si distribuiscono lungo un asse, questa struttura viene stabilizzata grazie all'intervento della coesina e della condensina.