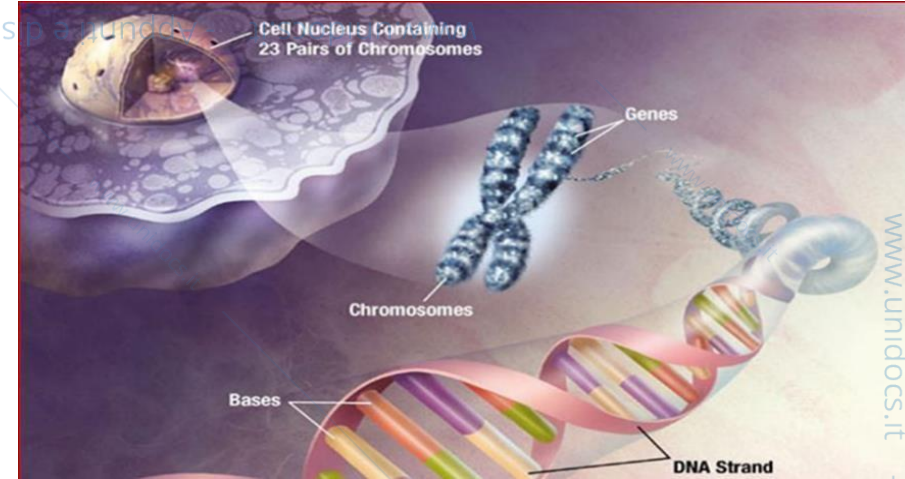


# NUCLEO

# IL NUCLEO



Può essere considerato **il centro di comando** da cui partono tutti gli ordini che regolano la vita della cellula.

Costituisce la **sede dell'informazione genetica**; contiene la maggior parte del **patrimonio genetico**.

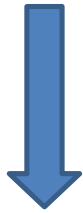
Al suo interno è conservato il DNA sotto forma di cromatina ed hanno luogo la **replicazione del DNA** nucleare e la sua **trascrizione ad RNA**.

Sede di **meccanismi** indispensabili all'**espressione genica** e alla **duplicazione cellulare**.

Considerato il ruolo e la valenza del DNA, il nucleo può essere considerato come il **«coordinatore»** ed il **«controllore»** delle attività che si svolgono nella cellula.

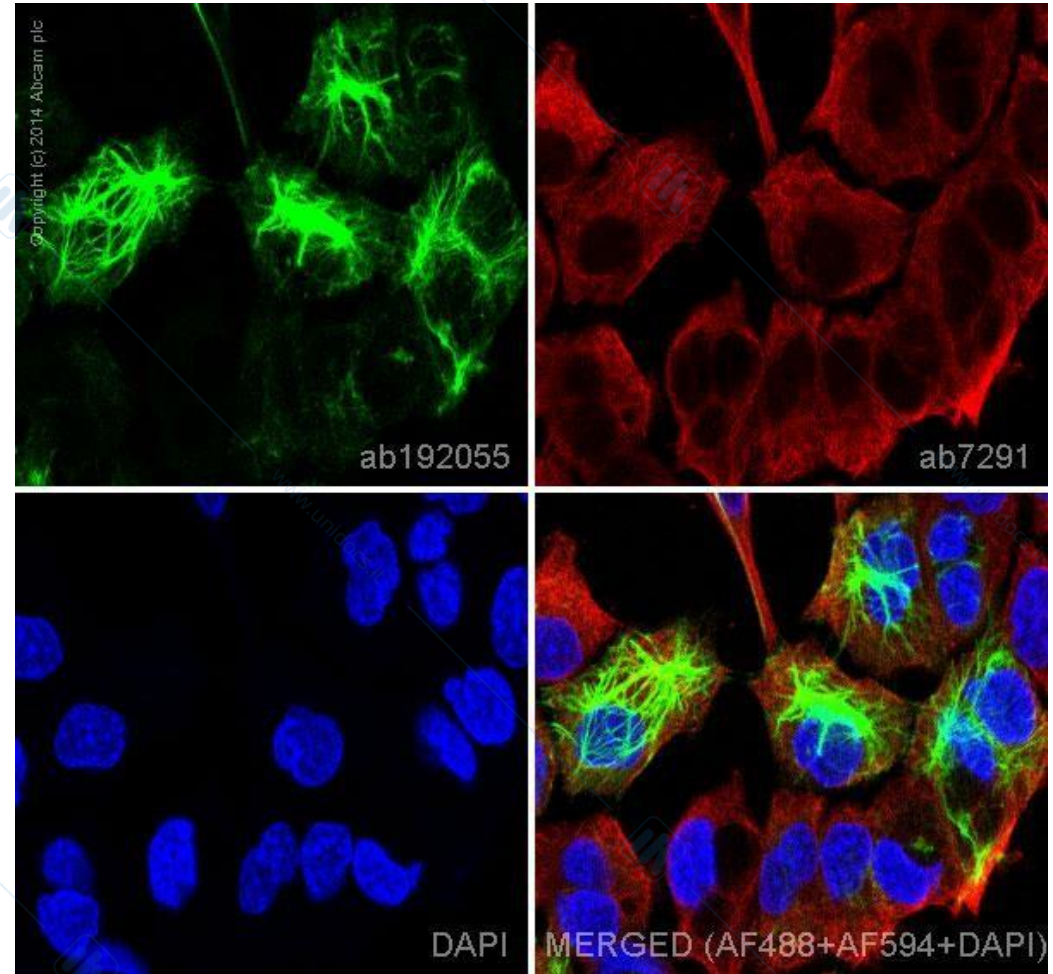
# NUCLEO

- Organulo più ampio e facilmente evidenziabile all'interno della cellula (DAPI)



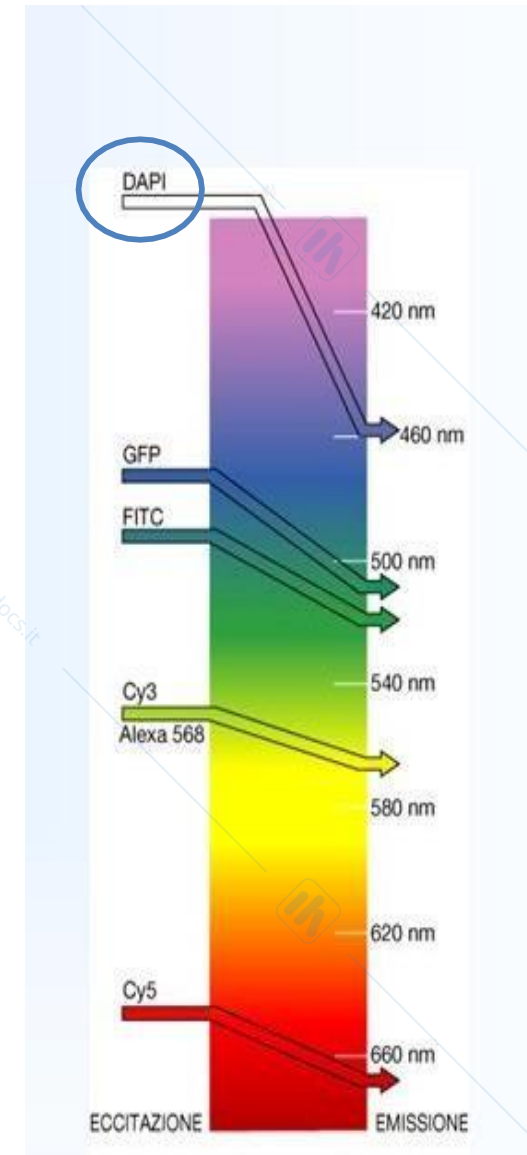
## DAPI o 4',6-diamidin-2-fenilindolo

è un colorante organico fluorescente che lega fortemente regioni del DNA ricche in sequenze A-T



# Microscopio a fluorescenza

- è in grado di rivelare e localizzare molecole autofluorescenti o rese fluorescenti mediante l'impiego di fluorocromi (si usa un composto fluorescente per marcare la molecola d'interesse, sia in cellule fissate che in cellule vive).
- Una sostanza è definita *fluorescente* quando, assorbendo luce ad una determinata lunghezza d'onda la emette ad una lunghezza d'onda maggiore, nello spettro visibile.
- Il campione viene colpito da luce UV

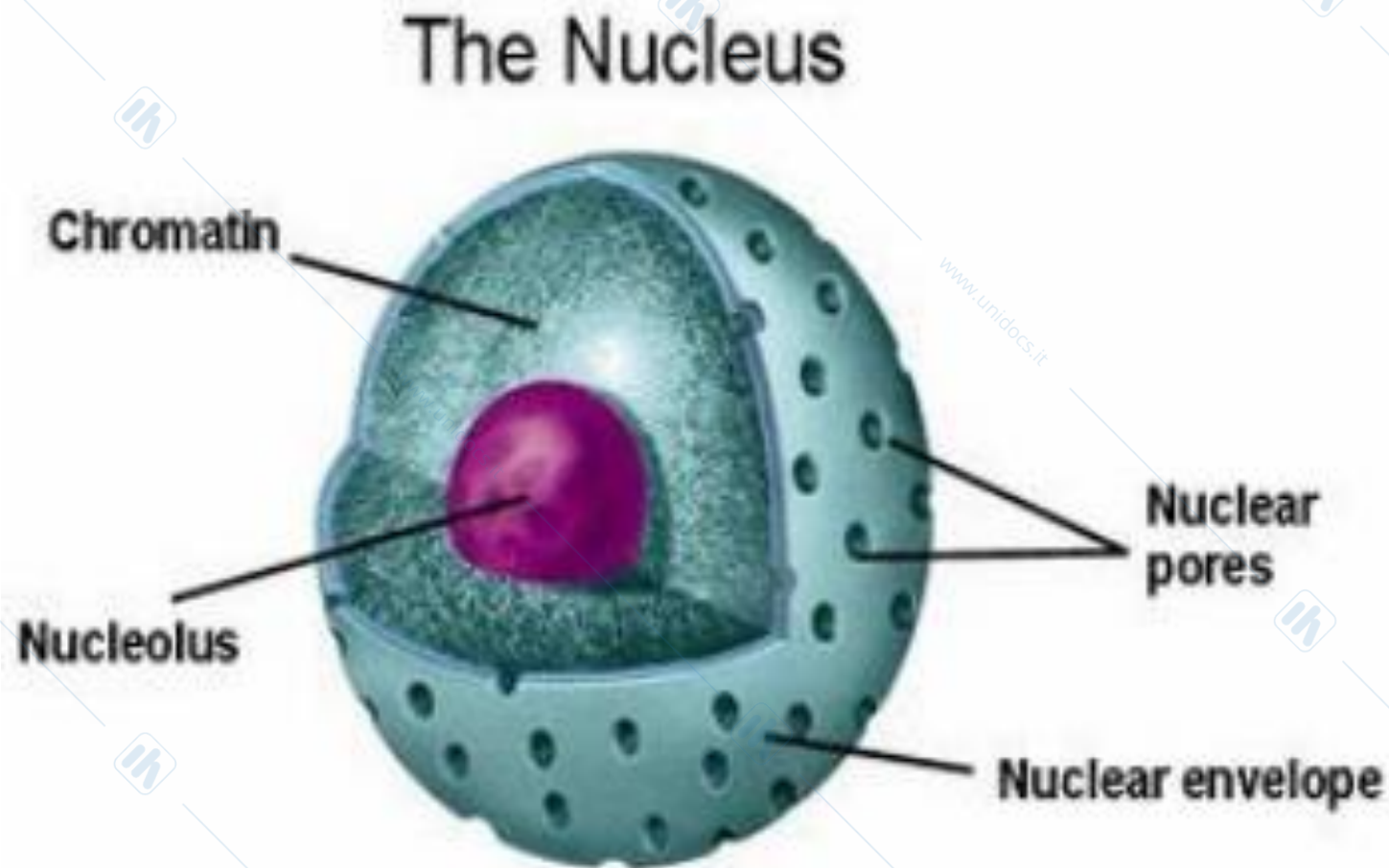


# NUCLEO

## ➤ ALCUNE CARATTERISTICHE GENERALI

➤ STRUTTURA

➤ FUNZIONI



# **NUCLEO:**

## **alcune caratteristiche**

È generalmente di forma rotondeggiante (dal latino *nucis*, nocciolo) e, nelle cellule animali, è frequentemente localizzato nella regione centrale del citoplasma, sebbene numerose e variegata possano essere:

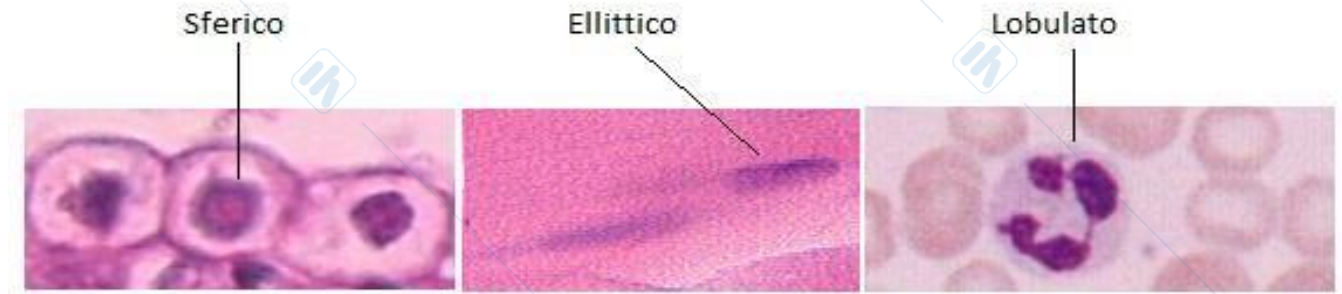
1. La morfologia
2. La dimensione
3. La posizione nella cellula
4. Il numero di nuclei

# NUCLEO

## FORMA

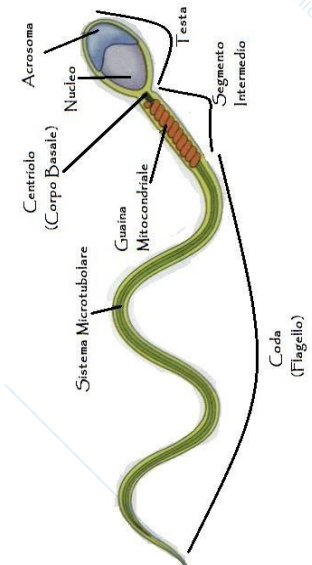
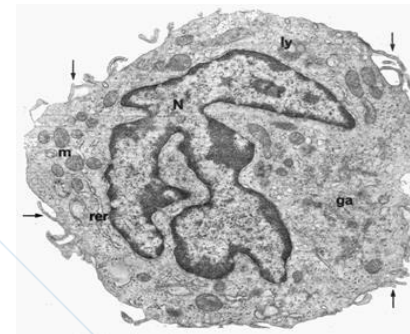
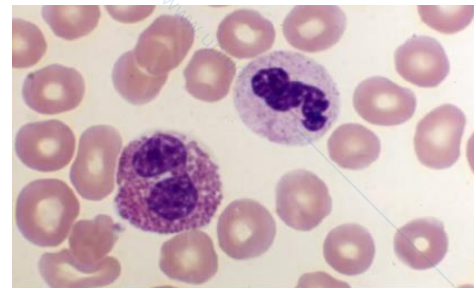
➤ Correlata con quella della cellula

- Sferico
- Ellittico
- Lobulato



➤ Talvolta completamente irregolare

- Leucociti polimorfonucleati
- Spermatozoi



# NUCLEO

## DIMENSIONI

- Variabili, ma spesso proporzionali a quelle della cellula

## POSIZIONE

- Variabile ma caratteristica di ogni tipo cellulare

- per esempio:
  - Cellule embrionali: nucleo centrale
  - Cellule secernenti: nucleo eccentrico



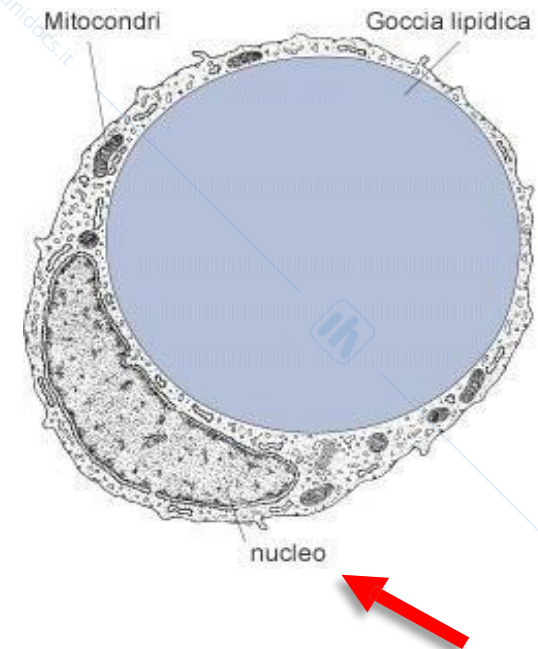
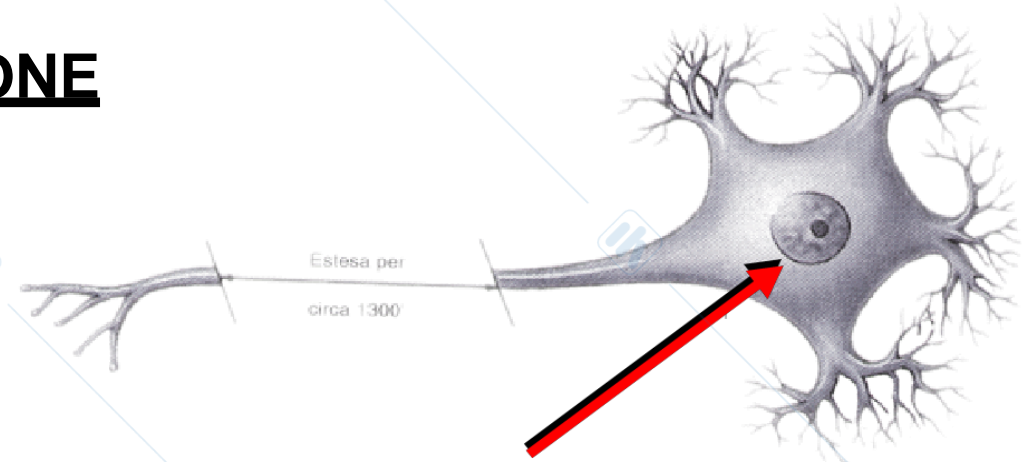
# NUCLEO

## POSIZIONE

In questo **neurone** il nucleo si trova al centro rispetto al corpo cellulare

Il citoscheletro forma un'impalcatura che mantiene stabile la posizione del nucleo

La goccia lipidica spinge il nucleo dell'**adipocita** verso la periferia



# NUCLEO

Normalmente le cellule eucariote sono mononucleate.

## ➤ **CELLULE POLINUCLEATE:**

- **Sincizi** → fusione di cellule

In citologia, si definisce sincizio la fusione di due o più cellule tra loro, con la formazione di una sola cellula multinucleata. Più nel dettaglio, una cellula multinucleata è chiamata sincizio vero (caso tipico del muscolo striato scheletrico). Un altro esempio di sincizi sono i macrofagi polinucleati che derivano dalla fusione di macrofagi mononucleati

- **Plasmodi** → cellule in cui le divisioni nucleari non sono state seguite dalla divisione cellulare.

## ➤ **CELLULE PRIVE DI NUCLEO:**

- **Globuli rossi** dei mammiferi perdono il nucleo in seguito al loro differenziamento, infatti il loro unico scopo è quello di trasportare i gas coinvolti nella respirazione

- **Piastrine**

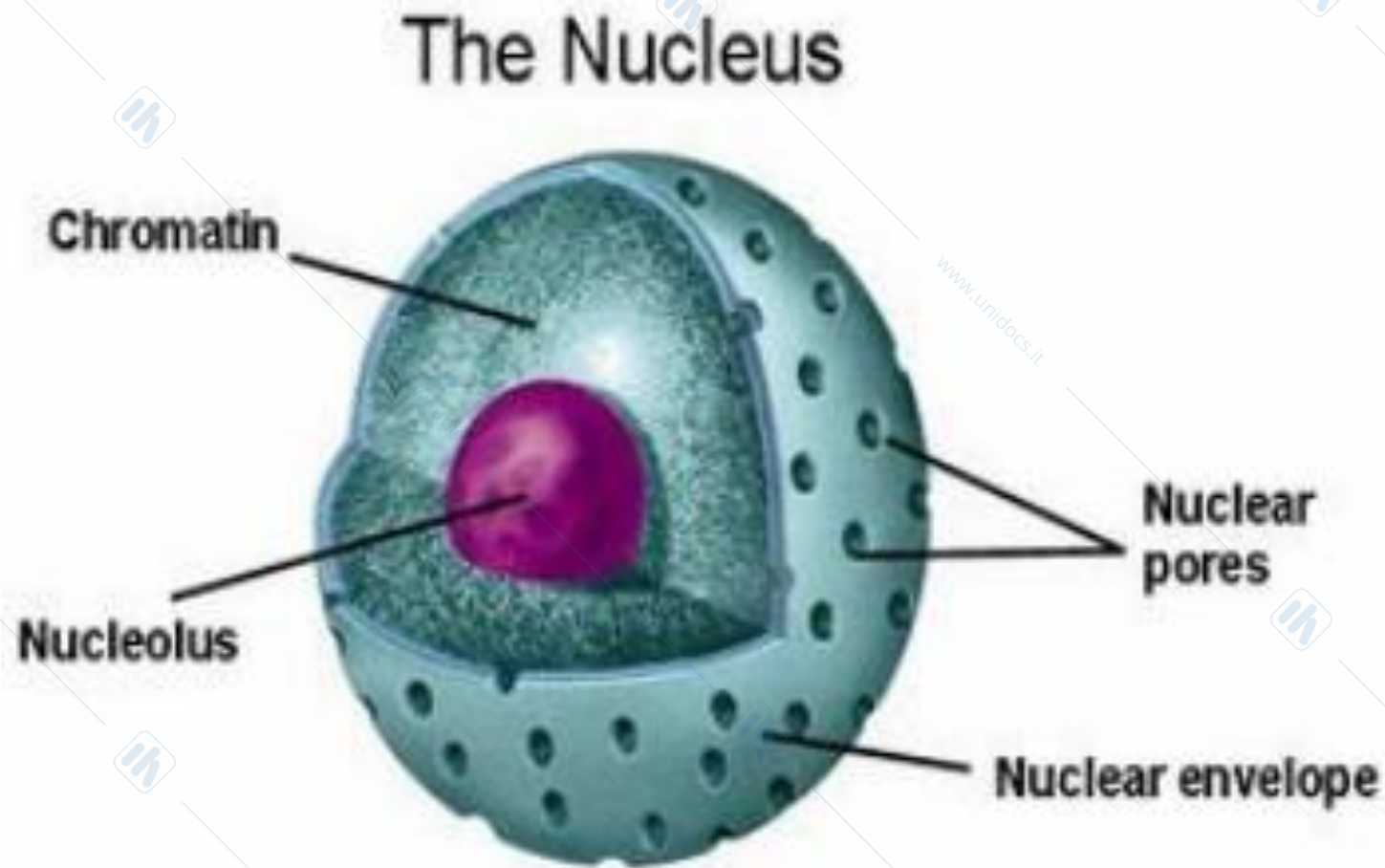
- **Squame cornee della pelle**

# NUCLEO

➤ ALCUNE CARATTERISTICHE GENERALI

➤ **STRUTTURA**

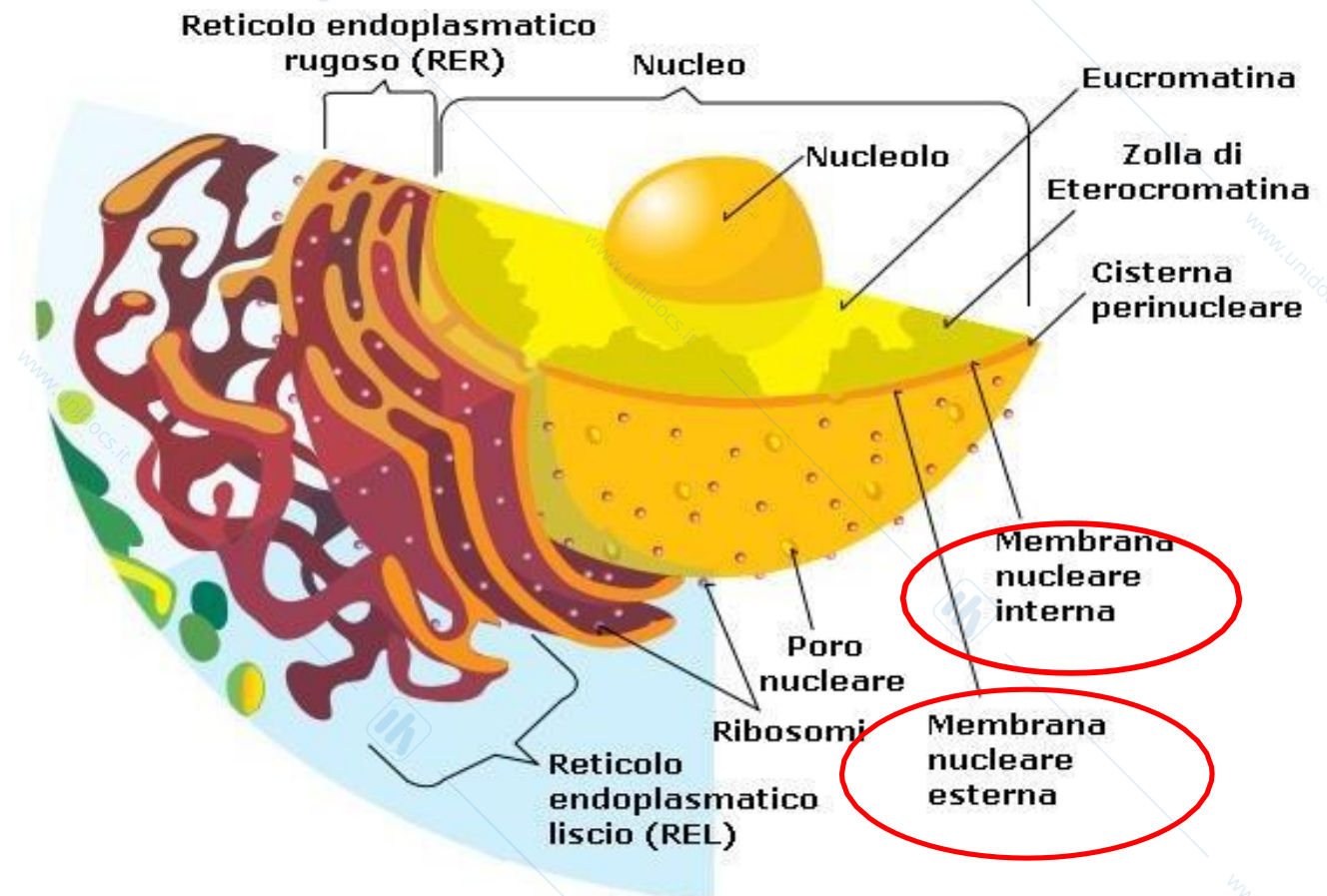
➤ FUNZIONI



# NUCLEO: struttura

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

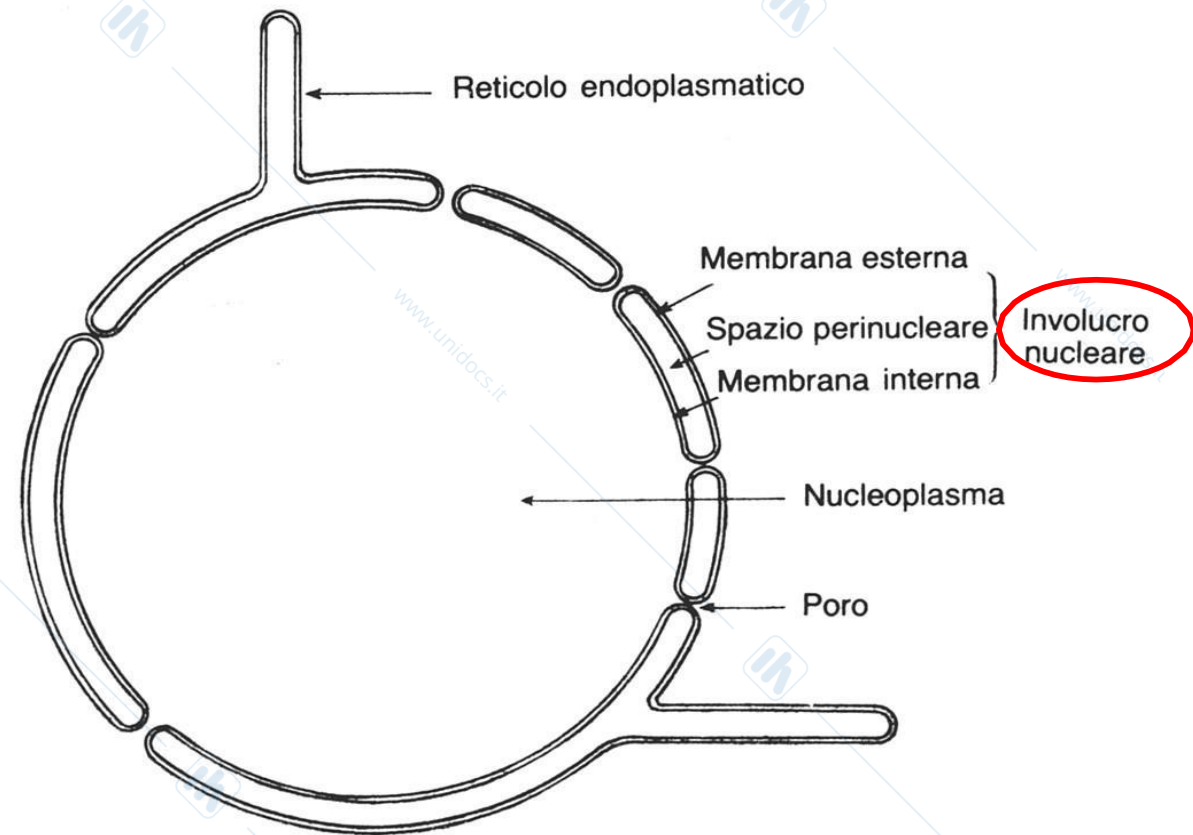
1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
3. Cromatina
4. Nucleolo



# INVOLUCRO NUCLEARE

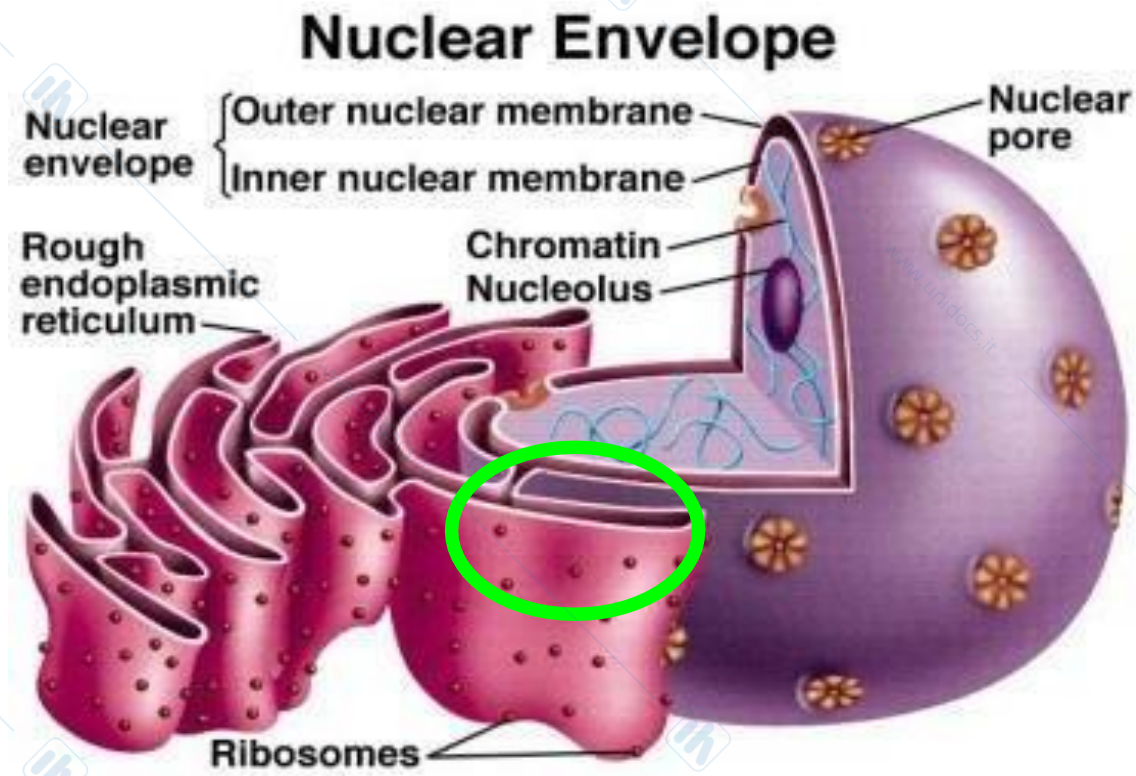
Al microscopio elettronico a trasmissione, il nucleo appare delimitato da una doppia membrana, l'involucro nucleare, o carioteca, che racchiude il **NUCLEOPLASMA**

- Ciascuna delle due membrane è costituita da un doppio strato fosfolipidico
- *Membrana esterna e interna* separate dallo **SPAZIO PERINUCLEARE** (30 nm)
- La *membrana esterna* è continua con il sistema di membrane interno al citoplasma



# INVOLUCRO NUCLEARE

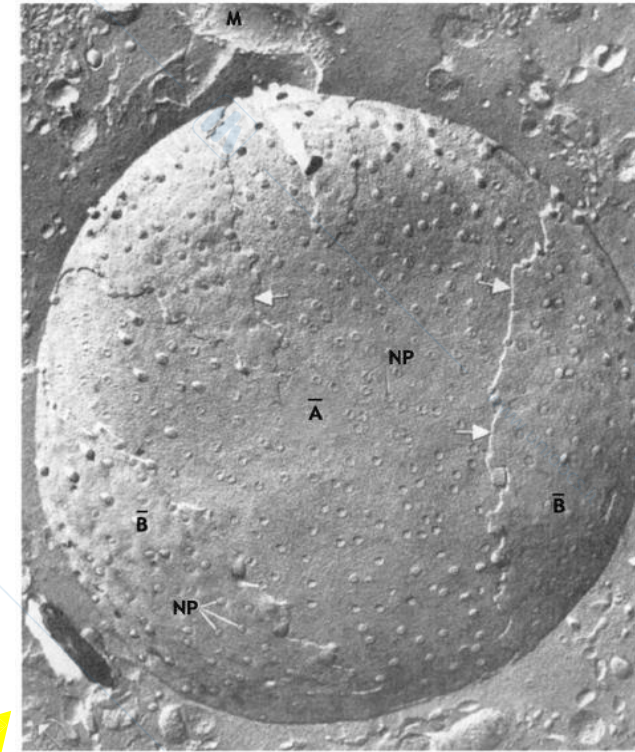
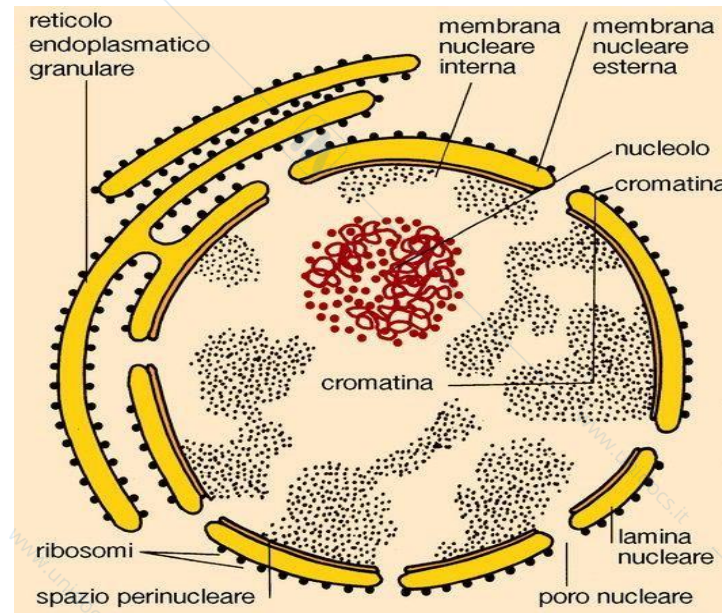
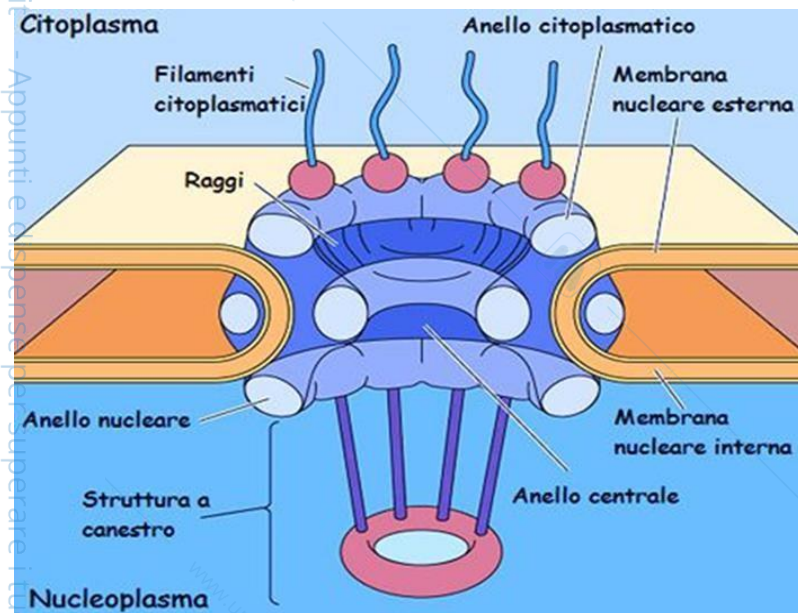
La *membrana esterna* è continua con il sistema di membrane interno al citoplasma, il **RETICOLO ENDOPLASMATICO**



Involutro nucleare non è continuo → **PORI NUCLEARI**

# PORO NUCLEARE

I pori nucleari sono interruzioni dell'involucro nucleare che non è un limite continuo perchè **le 2 membrane si fondono** in alcuni punti determinando dei passaggi che assumono la forma di **canali**.

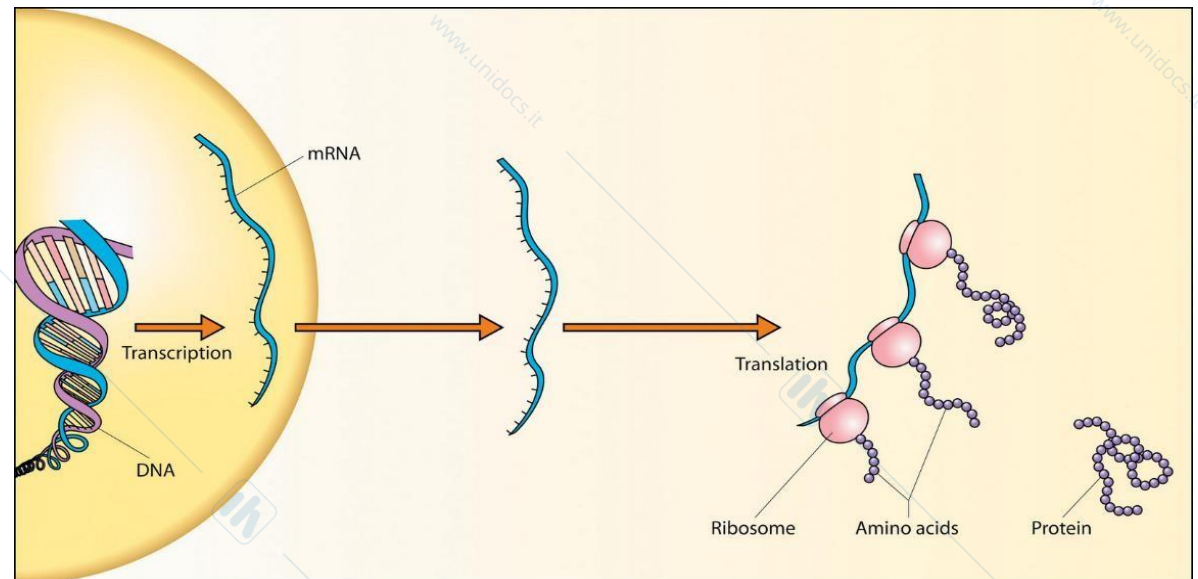
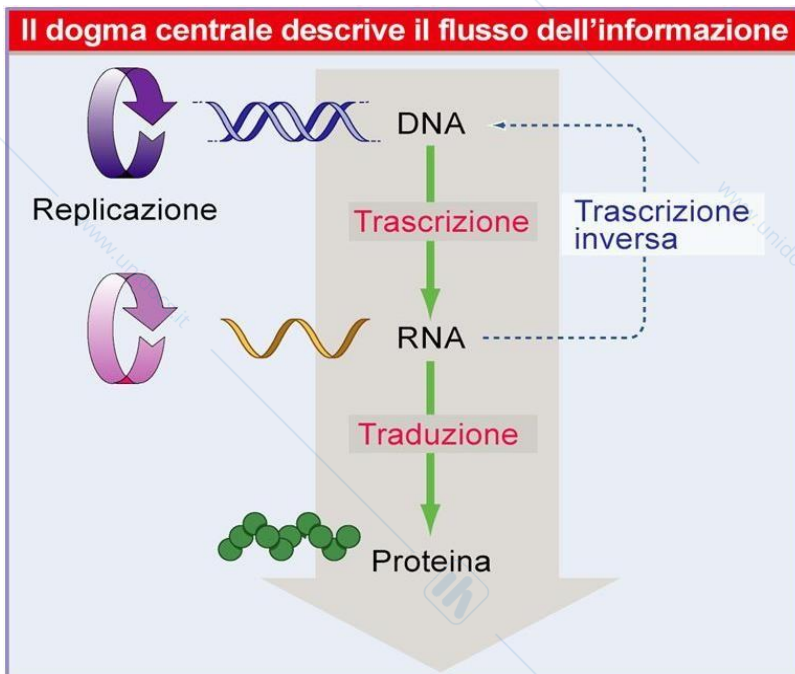


- L'involucro nucleare è la barriera fra il nucleo e il citoplasma.
- I pori nucleari sono le vie di passaggio.

La superficie dell'involucro nucleare risulta costellata di tali interruzioni

# PORO NUCLEARE

- Replicazione e trascrizione del DNA avvengono nel nucleo e richiedono l'intervento di proteine sintetizzate nel citoplasma → trasportate **nel nucleo** attraverso i pori.
- tRNA, mRNA e subunità dei ribosomi vengono prodotti nel nucleo → trasportati **nel citoplasma** attraverso i pori.



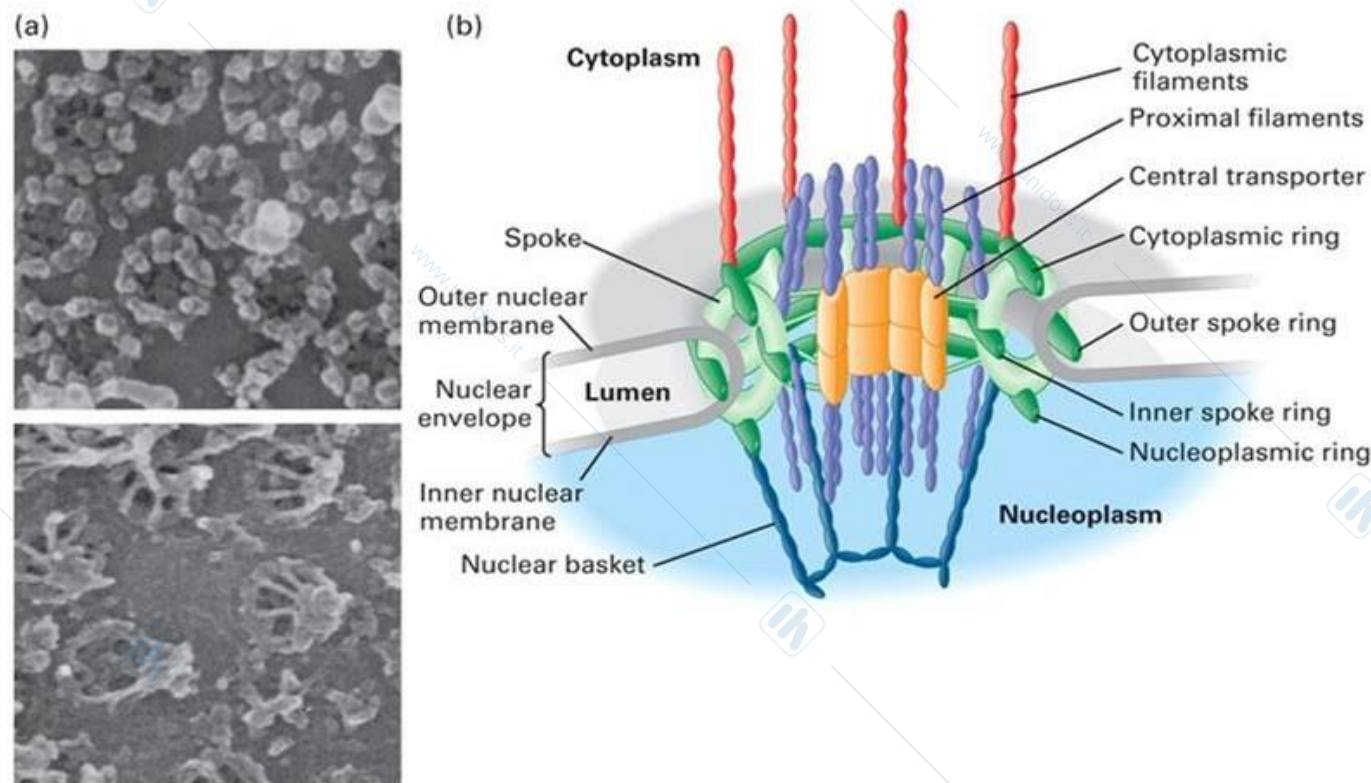
# PORO NUCLEARE

Si assiste ad un continuo passaggio di molecole dal nucleo al citoplasma e viceversa. Questi passaggi devono sempre essere controllati, non possono avvenire spontaneamente o per semplice diffusione

Infatti

Il poro nucleare non è un semplice canale, ma contiene una struttura altamente organizzata e complessa, di natura proteica

## COMPLESSO DEL PORO NUCLEARE (CPN)



# PORO NUCLEARE

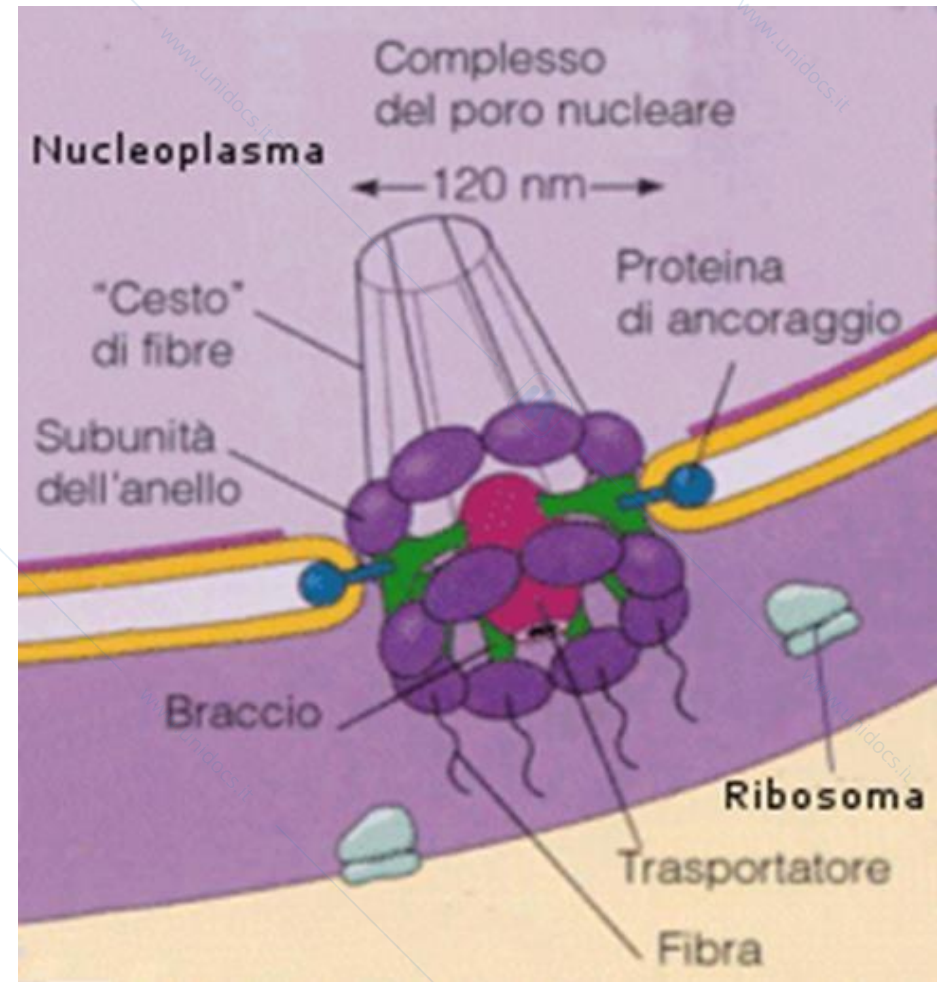
Organizzazione ottagonale:

8 proteine poste in maniera simmetrica attorno al poro e che protrudono sia sul versante citoplasmatico che nucleoplasmatico e formano 2 anelli concentrici appoggiati alle 2 membrane

altre proteine formano 8 raggi che dipartendosi dagli anelli si dirigono verso il centro del poro raggiungendo un'unità denominata trasportatore

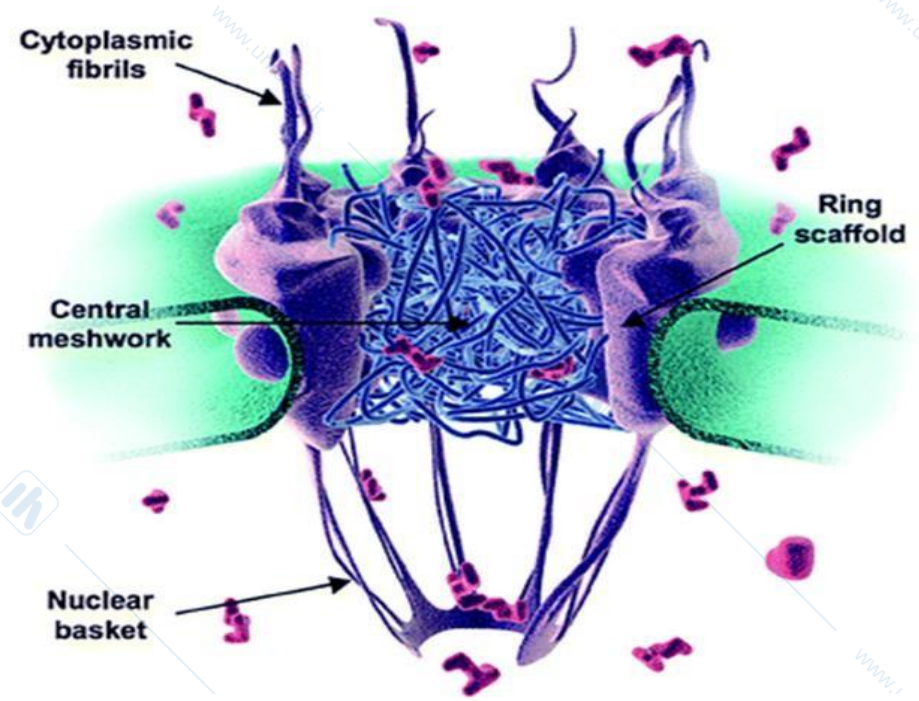
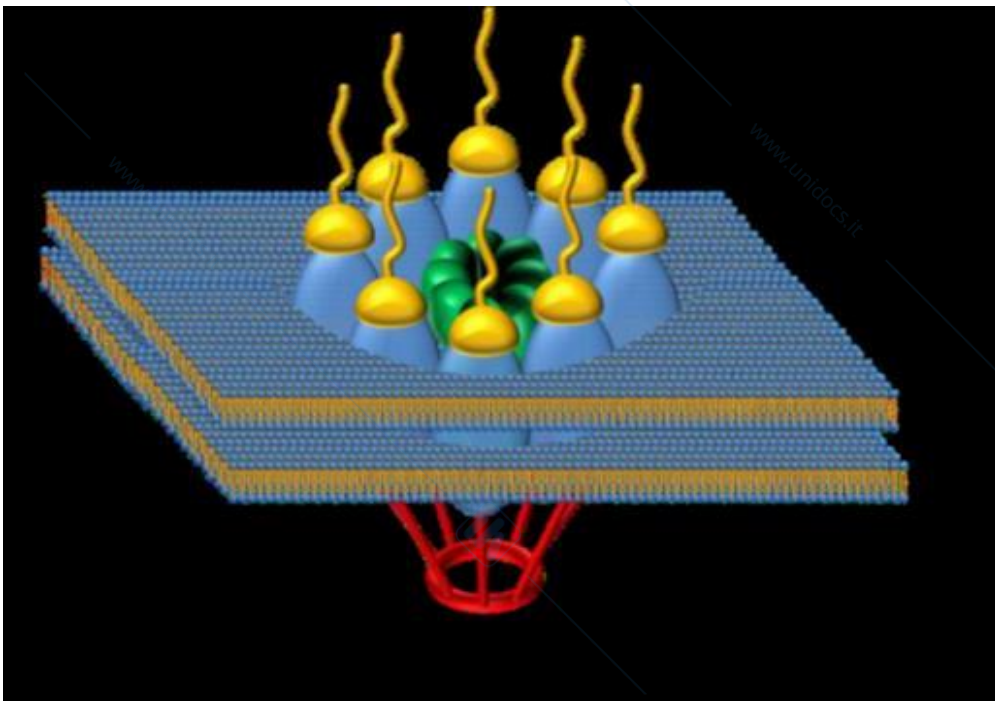
Ci sono poi proteine che si estendono dal bordo verso lo spazio perinucleare e si ritiene che possano fungere da ancoraggio per tutto il complesso.

Inoltre 8 fibre si estendono dagli anelli sia verso il citosol sia verso il nucleoplasma. Quelle protrudenti all'interno del nucleo formano una sorta di cesto (basket nucleare) in quanto unite alle loro estremità da un anello fibroso.



# PORO NUCLEARE

➤ Il complesso del poro nucleare contiene molteplici copie di circa 30 proteine diverse: **nucleoporine** (la classe più abbondante di proteine del poro)



# TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE

- **ioni, i piccoli metaboliti e le proteine globulari fino a circa 40 kDa** possono diffondere passivamente attraverso la regione centrale acquosa del canale del poro.
- **le proteine di grandi dimensioni e i complessi ribonucleoproteici** non possono diffondere verso o fuori dal nucleo.

Queste molecole vengono trasportate attivamente attraverso il NPC con la collaborazione di proteine di trasporto solubili che si legano alle macromolecole e inoltre interagiscono con le nucleoporine.

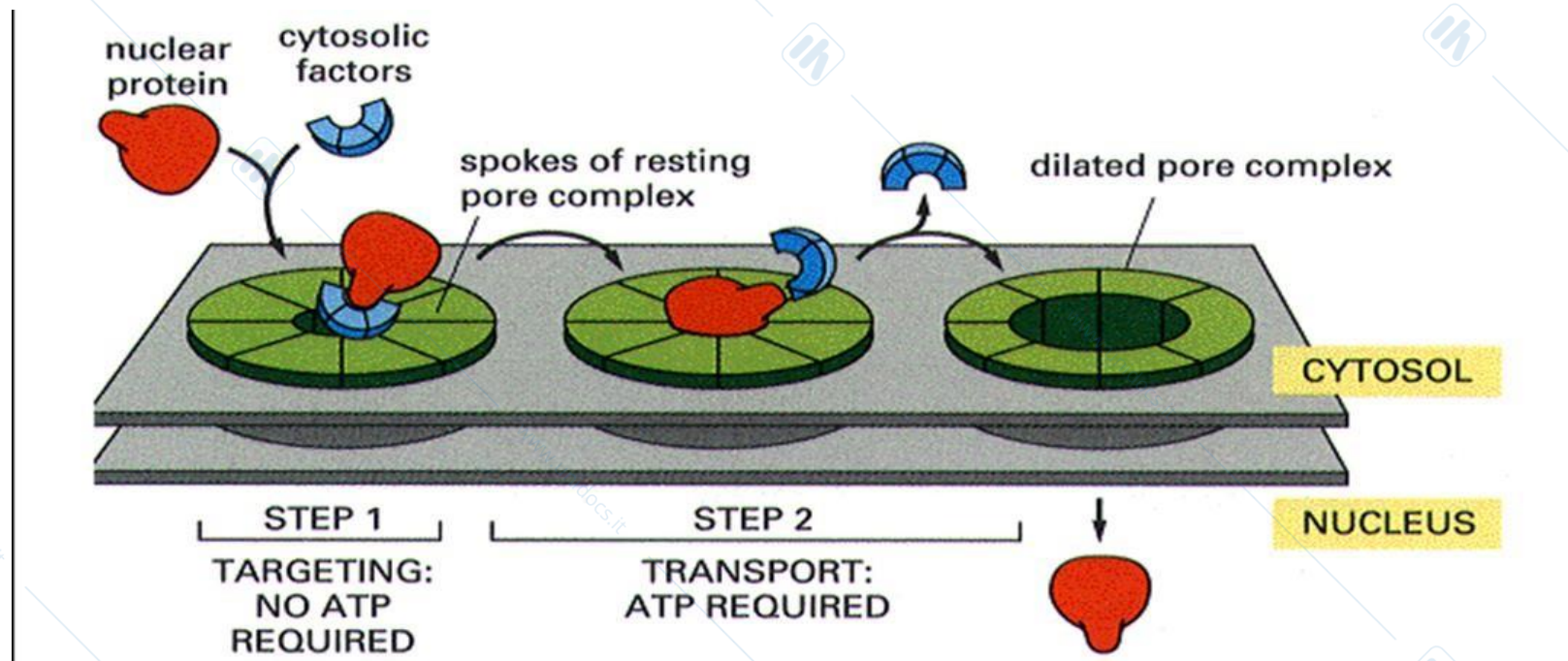
Le molecole più grandi, sia per entrare che per uscire dal nucleo, hanno bisogno di particolari recettori proteici:

**RECETTORI DI IMPORTAZIONE NUCLEARE (IMPORTINE)**  
**RECETTORI DI ESPORTAZIONE NUCLEARE (ESPORTINE)**

che indicano al poro di allargarsi per permetterne il passaggio.

Ad esempio, le proteine nucleari importate contengono sequenze aminoacidiche specifiche di indirizzamento: SEQUENZE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE (NLS)

- Proteine solubili (**IMPORTINE**) riconoscono le **NLS**
- Il complesso IMPORTINA-PROTEINA NUCLEARE si lega alle proteine del poro
- Il poro si dilata e la proteina lo attraversa
- l'importina si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel citosol



In maniera analoga:

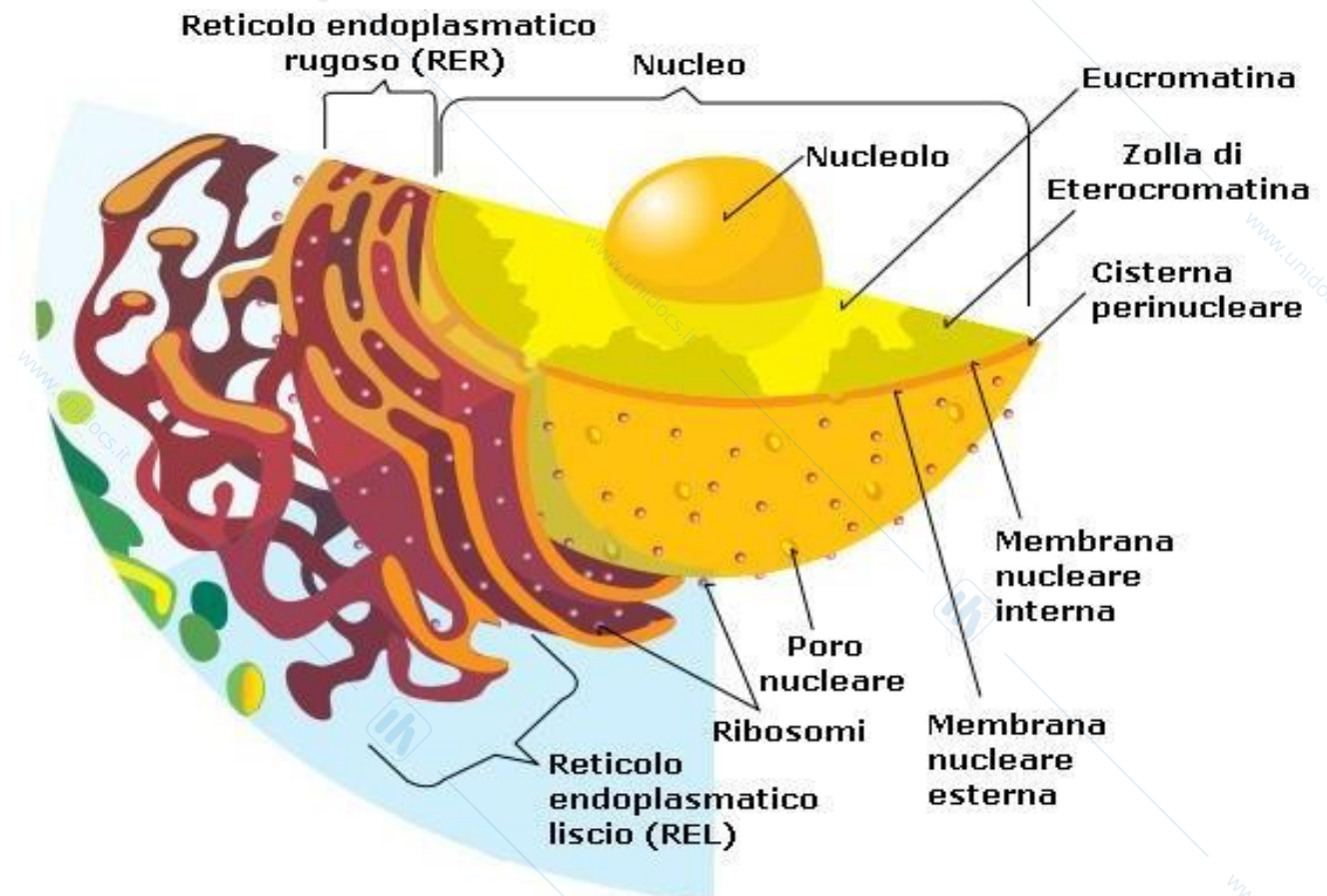
- Proteine solubili (**ESPORTINE**) riconoscono le **NES** (Nuclear Export Signals)
- Il complesso ESPORTINA-PROTEINA NUCLEARE si lega al poro
- Il complesso attraversa il poro
- l'esportina si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel nucleo

# NUCLEO

## STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. **Nucleoscheletro**
3. Cromatina
4. Nucleolo



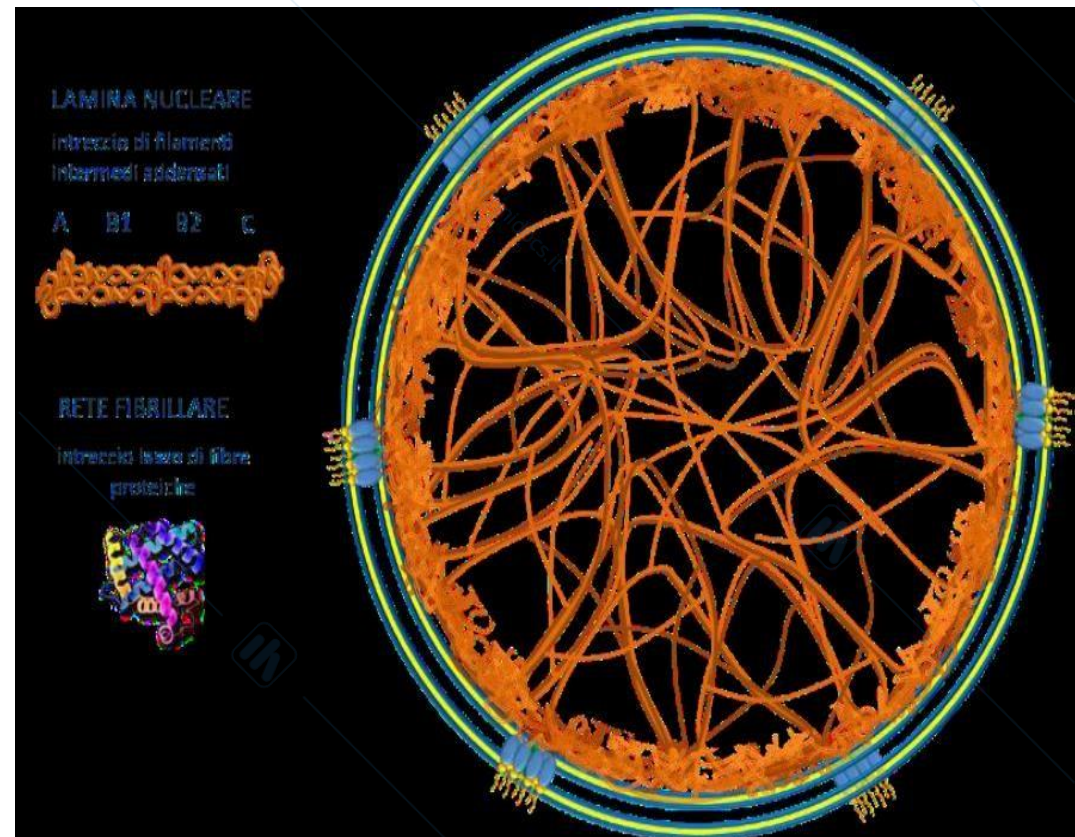
# NUCLEOSCHELETRO: matrice nucleare e lamina nucleare

## lamina nucleare:

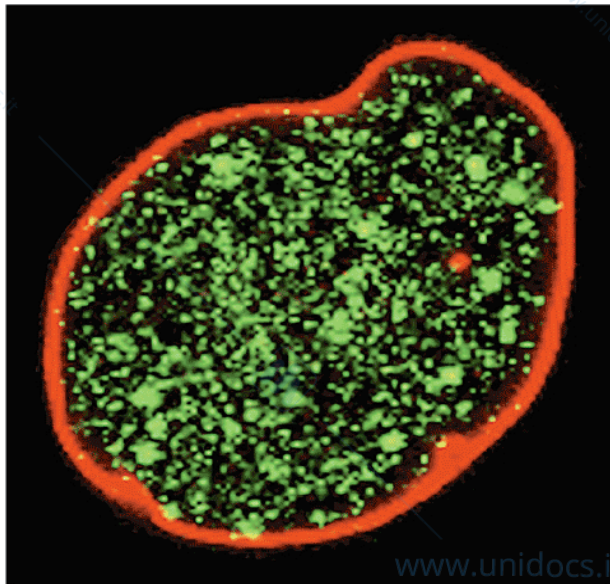
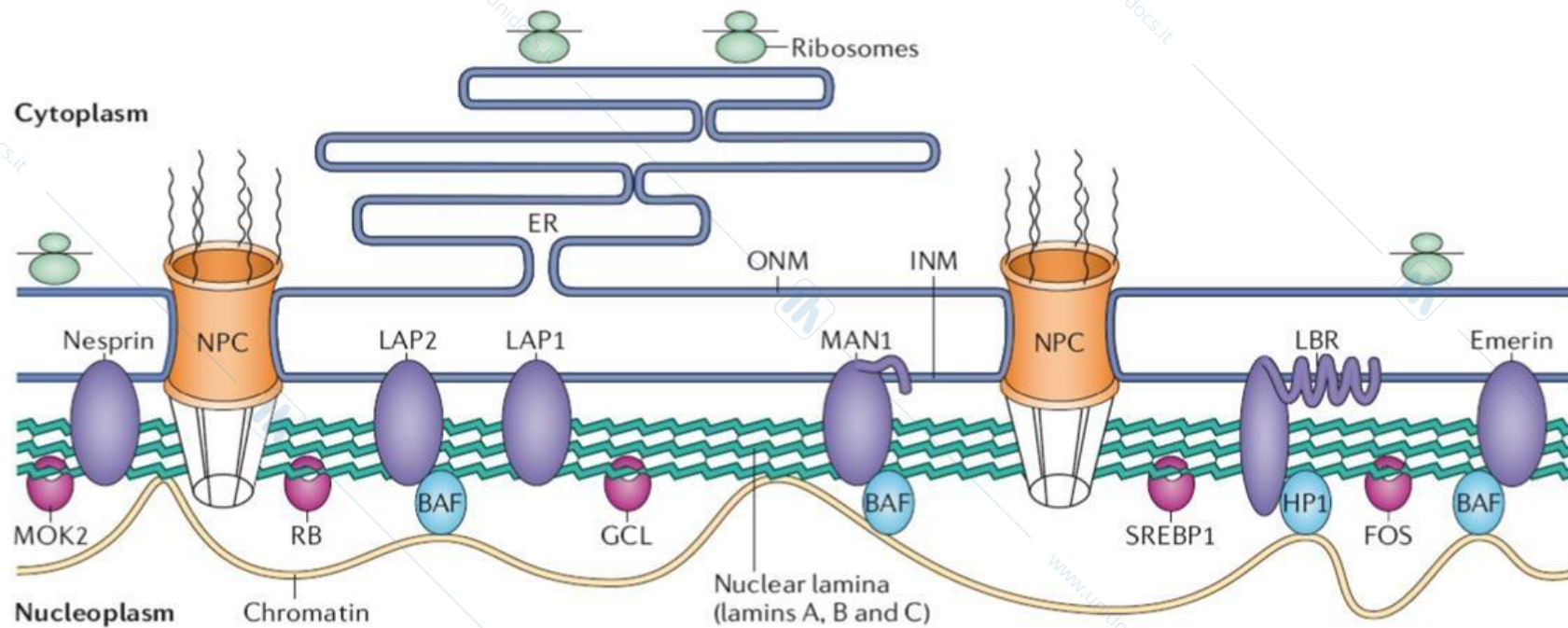
sottile e densa rete di proteine, altamente insolubili, adesa al versante nucleoplasmatico della membrana interna dell'involucro nucleare.

- Spessa 30-80 nm
- Composta da quattro tipi di polipeptidi definiti lamine nucleari (A, B1, B2, C)
- Le lamine A e C sono omologhe ai **filamenti intermedi** del citoscheletro
- La lamina B differisce dalle altre due ed è strettamente associata alla membrana interna dell'involucro nucleare

matrice nucleare: estesa matrice fibrogranulare insolubile sembra costituire un nucleoscheletro che partecipa a mantenere la forma del nucleo.



# Lamina



Nucleo di una cellula umana in coltura trattata con un anticorpo marcato con coloranti fluorescenti che rivelano la presenza della lamina nucleare (rosso) adiacente alla membrana nucleare interna.

# Lamina nucleare

## Principali funzioni:

- Supporto strutturale per l'involucro nucleare
- Sito di attacco per fibre di cromatina alla periferia del nucleo
- Ha un ruolo ancora poco chiaro nella replicazione e nella trascrizione del DNA e nella regolazione dell'espressione genica.

# Matrice nucleare

## Principali funzioni:

- Impalcatura cui si associano strettamente le fibre di cromatina per la propria organizzazione strutturale
- Sistema di ancoraggio per alcuni complessi molecolari coinvolti nella duplicazione e nella trascrizione.

# LAMINA NUCLEARE

**Mutazioni** in uno dei geni della lamina sono responsabili di **molte malattie**, es:

- Rara forma di distrofia muscolare
- **Sindrome della progeria (invecchiamento precoce) di Hutchinson-Gilford**

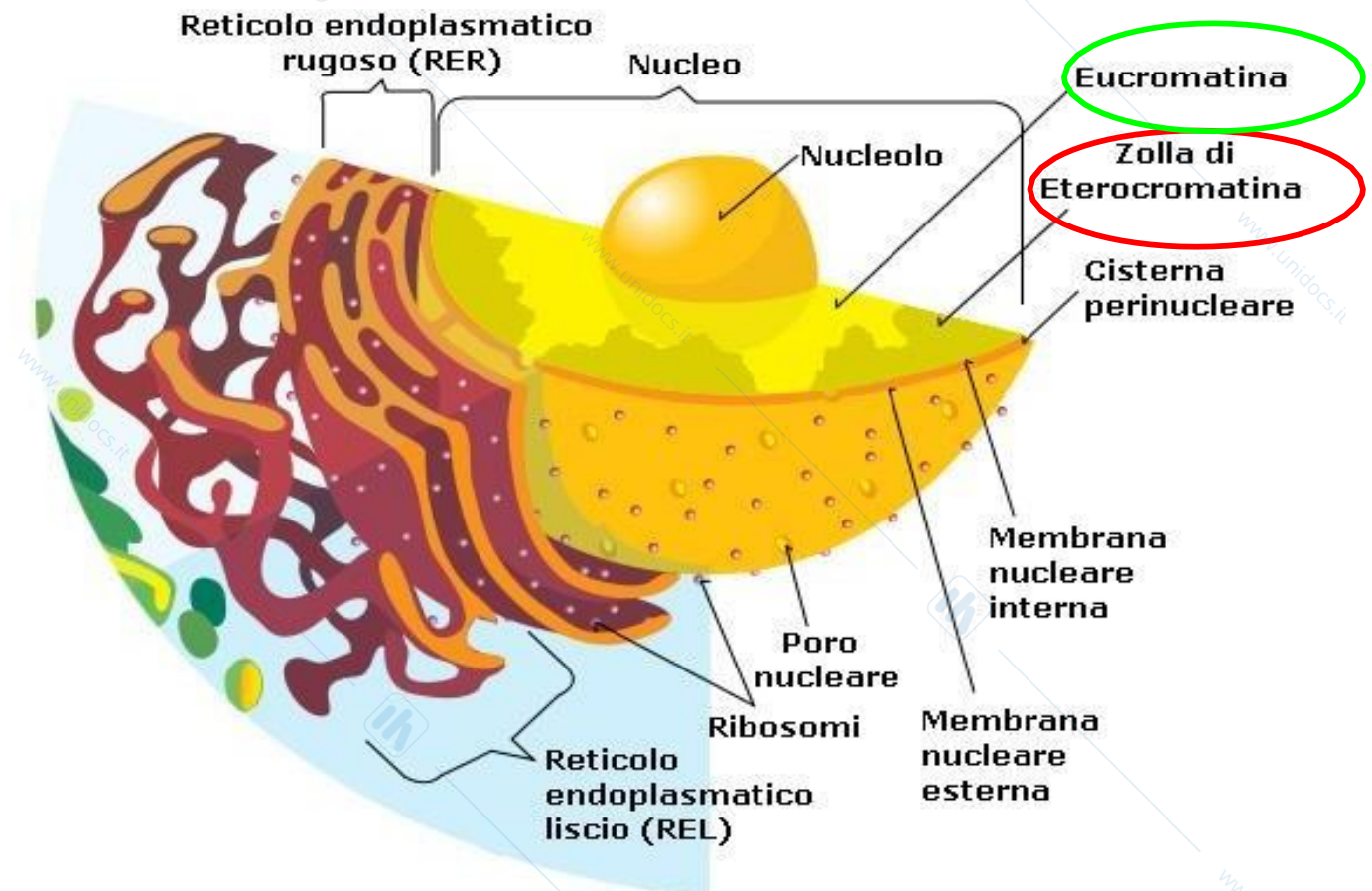


# NUCLEO

## STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

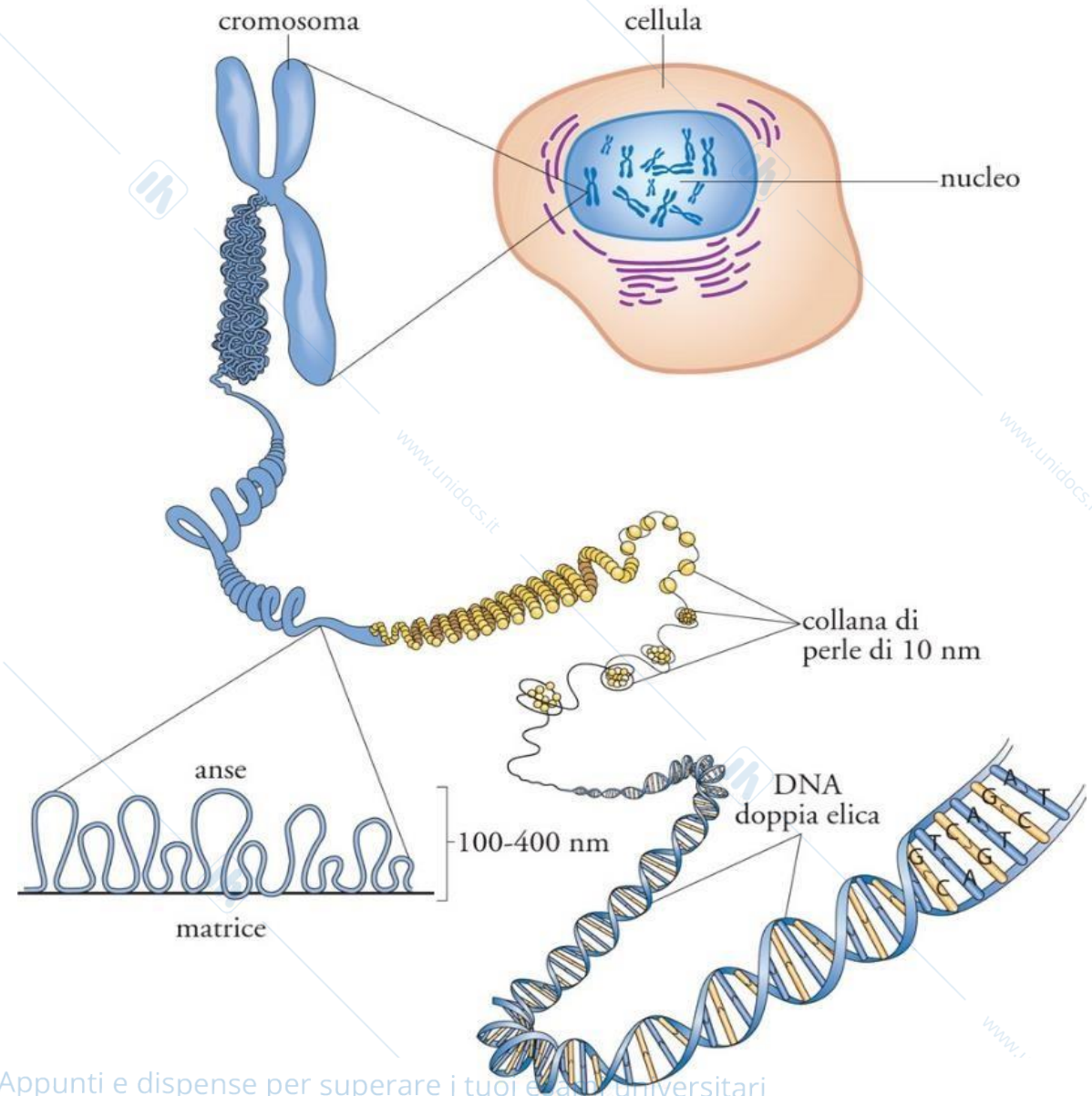
1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
3. **Cromatina**
4. Nucleolo

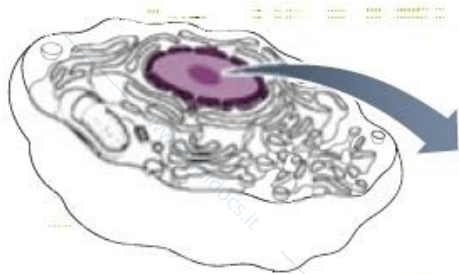


# CROMATINA

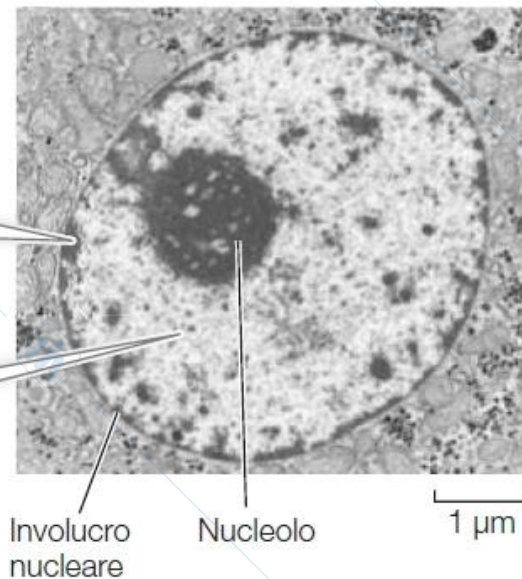
## Cromatina: DNA(eucariotico) + proteine

- Si tratta di una sostanza basofila che occupa gran parte del nucleo.
- È costituita da DNA e proteine che ne permettono la spiralizzazione.
- la struttura della cromatina è dinamica, cioè cambia stato di condensazione
- Si ricompatta formando i cromosomi





(A) Cromatina distribuita all'interno del nucleoplasma



La cromatina densa (scura) vicina all'involucro nucleare è attaccata alla lamina nucleare.

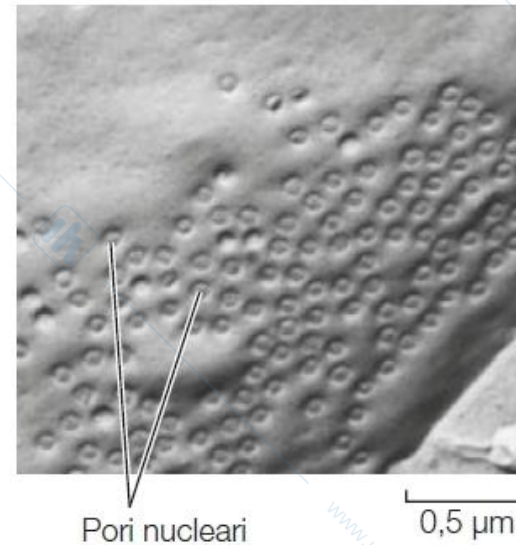
La cromatina diffusa (chiara) è nel nucleoplasma.

Involucro nucleare

Nucleolo

1 µm

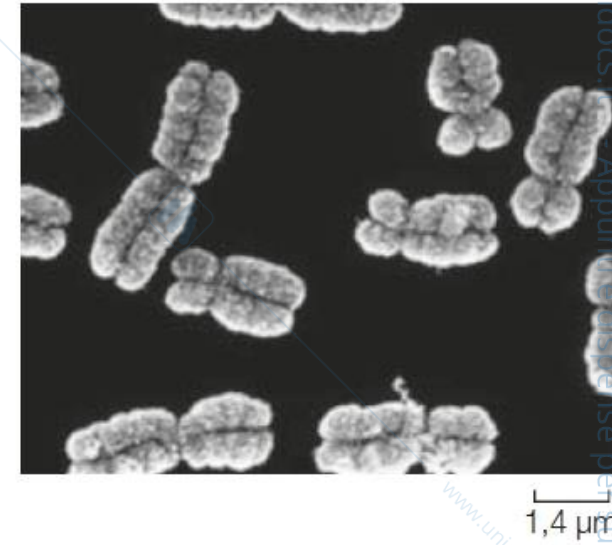
(B) Pori sull'involucro nucleare



Pori nucleari

0,5 µm

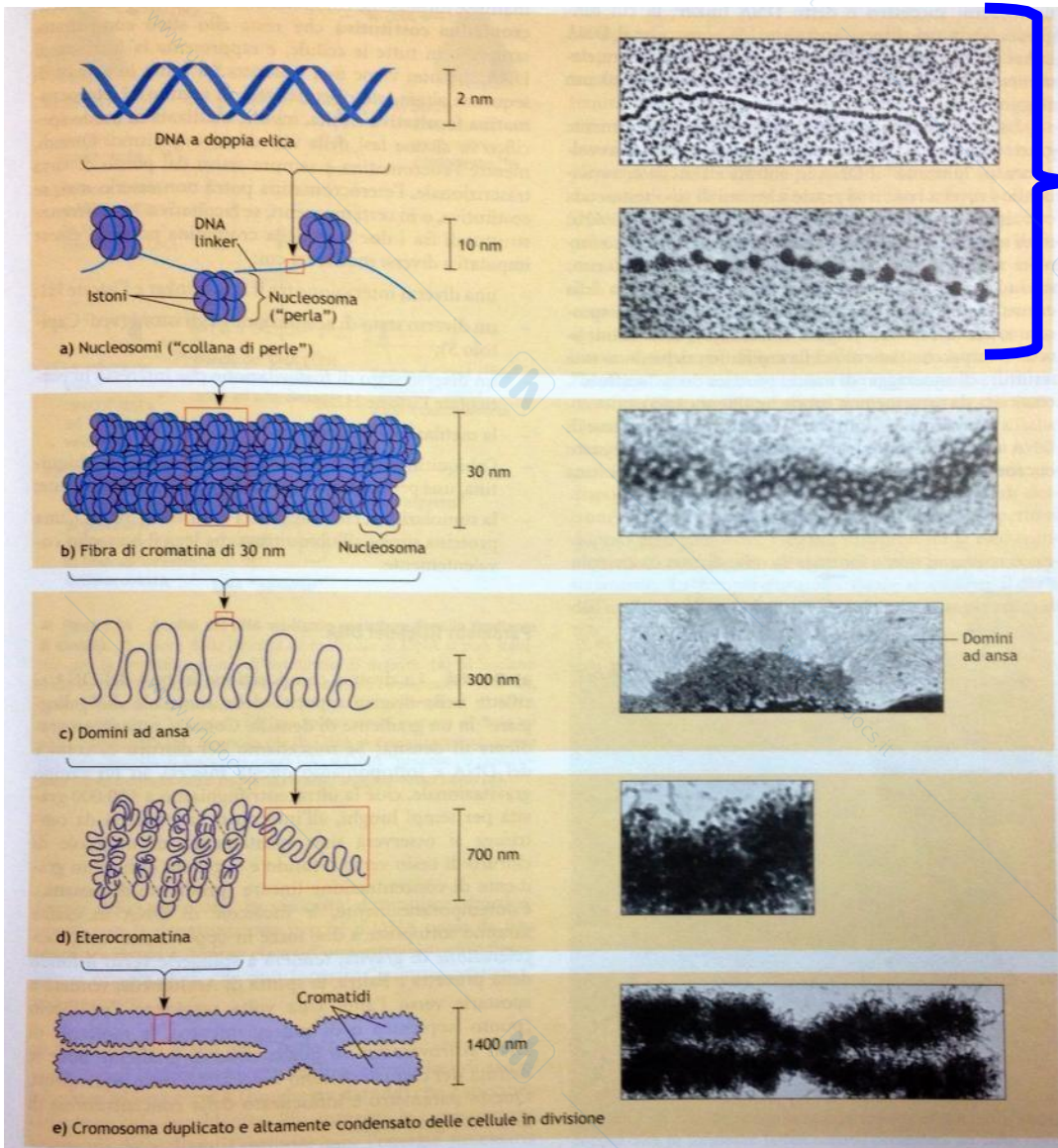
(C) Fibre di cromatina condensate in cromosomi



1,4 µm

**Figura 5.8 Il nucleo, la cromatina e i cromosomi** (A) La cromatina è composta da DNA nucleare e proteine a esso associate. Quando la cellula non si sta dividendo, la cromatina è diffusa in tutto il nucleo. Questa immagine bidimensionale è realizzata con un microscopio elettronico a trasmissione. (B) L'involucro nucleare presenta molti pori che regolano il passaggio di grandi molecole come l'RNA e le proteine dentro e fuori il nucleo. (C) Nelle cellule che si stanno dividendo, la cromatina diventa molto condensata, tanto che i singoli cromosomi diventano visibili. Questa immagine tridimensionale di cromosomi isolati in metafase è stata realizzata con un microscopio elettronico a scansione.

# CROMATINA E CROMOSOMI



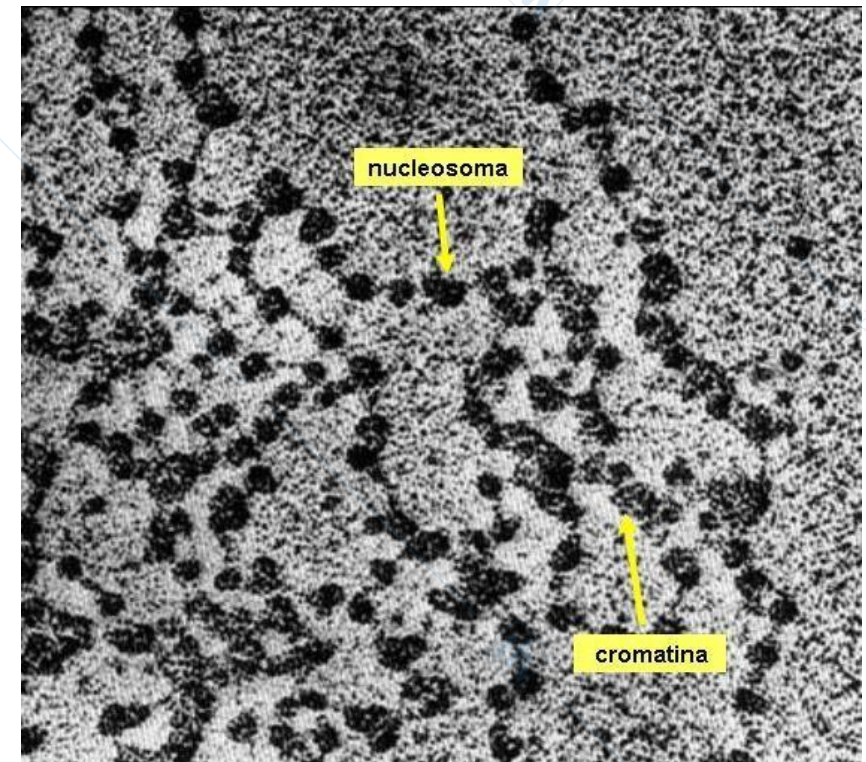
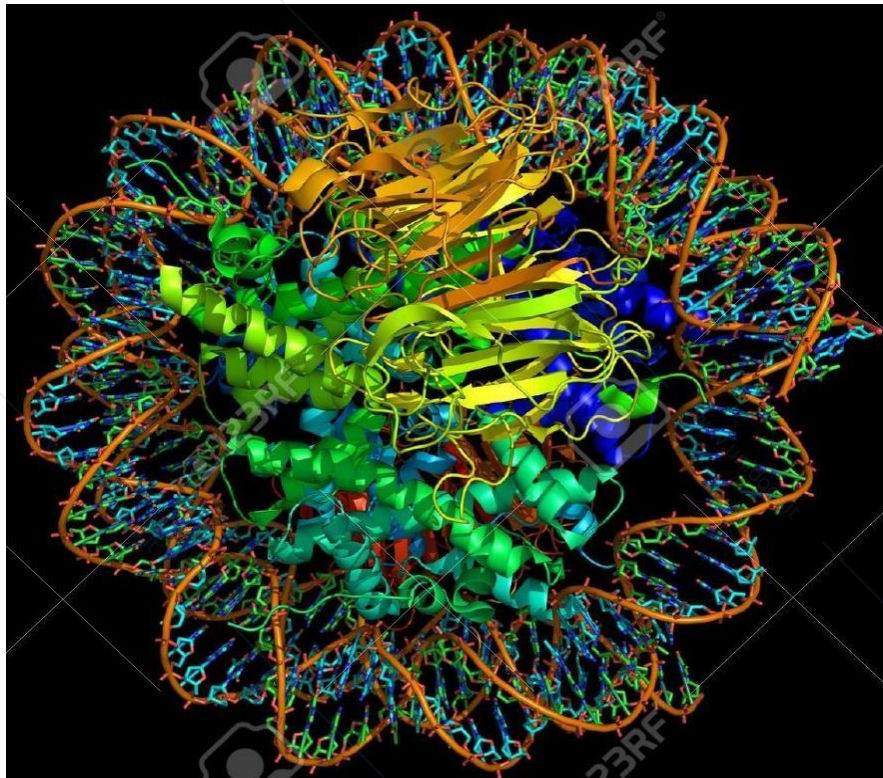
Il DNA all'interno del nucleo è *superavvolto*



Primo livello di organizzazione della cromatina → **NUCLEOSOMI**

# CROMATINA E CROMOSOMI

La doppia elica di DNA è avvolta attorno a proteine (**ISTONI**) a formare i **NUCLEOSOMI**, che interagiscono tra loro avvolgendosi a spirale.



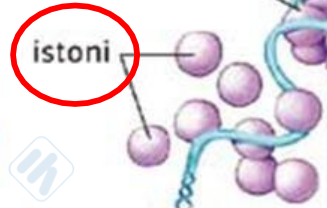
doppia elica di DNA  
(diametro 2 nm)



linker

struttura a  
"collana di perle"

istoni

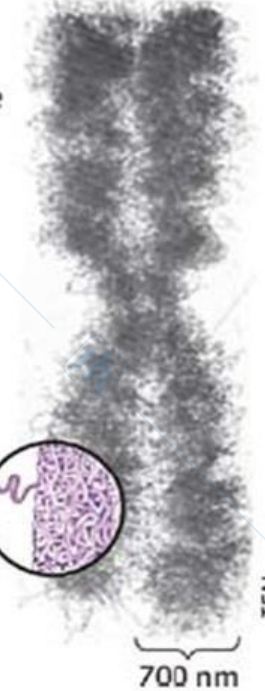


nucleosoma  
(diametro 10 nm)

fibra strettamente  
avvolta a elica  
(diametro 30 nm)

superavvolgimento  
(diametro 300 nm)

cromosoma  
in metafase



**ISTONI:** sono le proteine principali della cromatina

H1  
H2A  
H2B  
H3  
H4



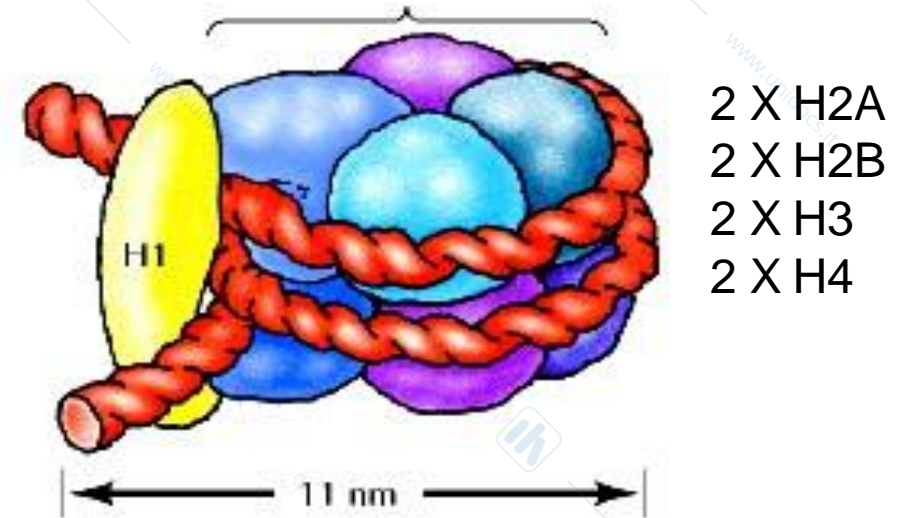
Alta % di aminoacidi basici,  
**Lys e Arg:** facilitano il legame alla  
molecola di DNA carica negativamente

# Nucleosoma

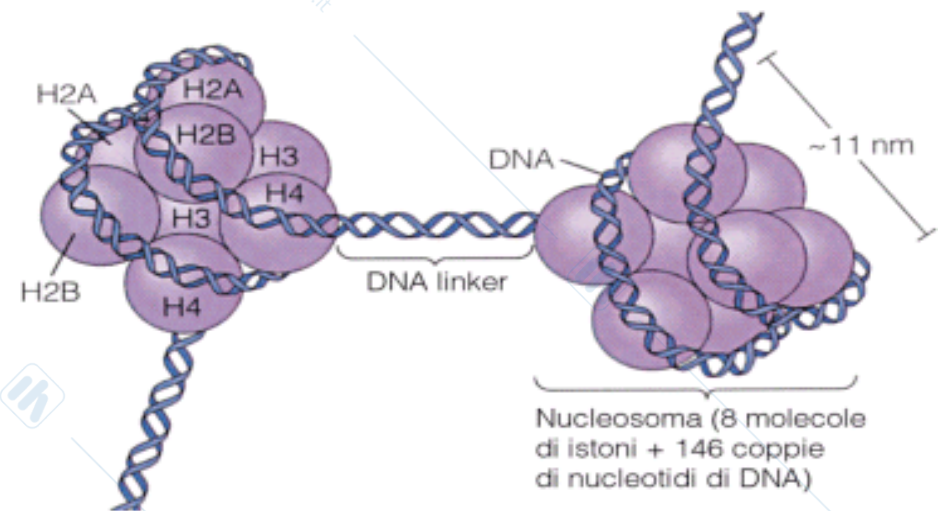
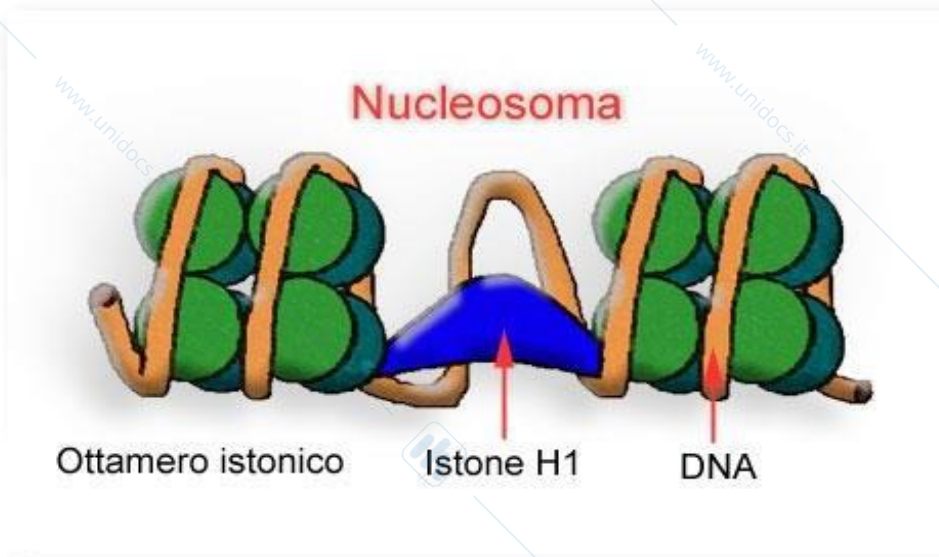
Ciascun nucleosoma contiene una particella centrale (**CORE**) formata da 146 coppie di basi di DNA superavvolto che gira per quasi due volte intorno ad un complesso a forma di disco formato da otto **ISTONI**.

Tale complesso consiste di due molecole degli istoni **H2A**, **H2B**, **H3** e **H4** assemblati in un ottamero.

L'istone **H1** è posizionato fuori dal core (**ISTONE DI CONNESSIONE**)  
→ lega il DNA di connessione (*DNA-linker*) che unisce due cori.



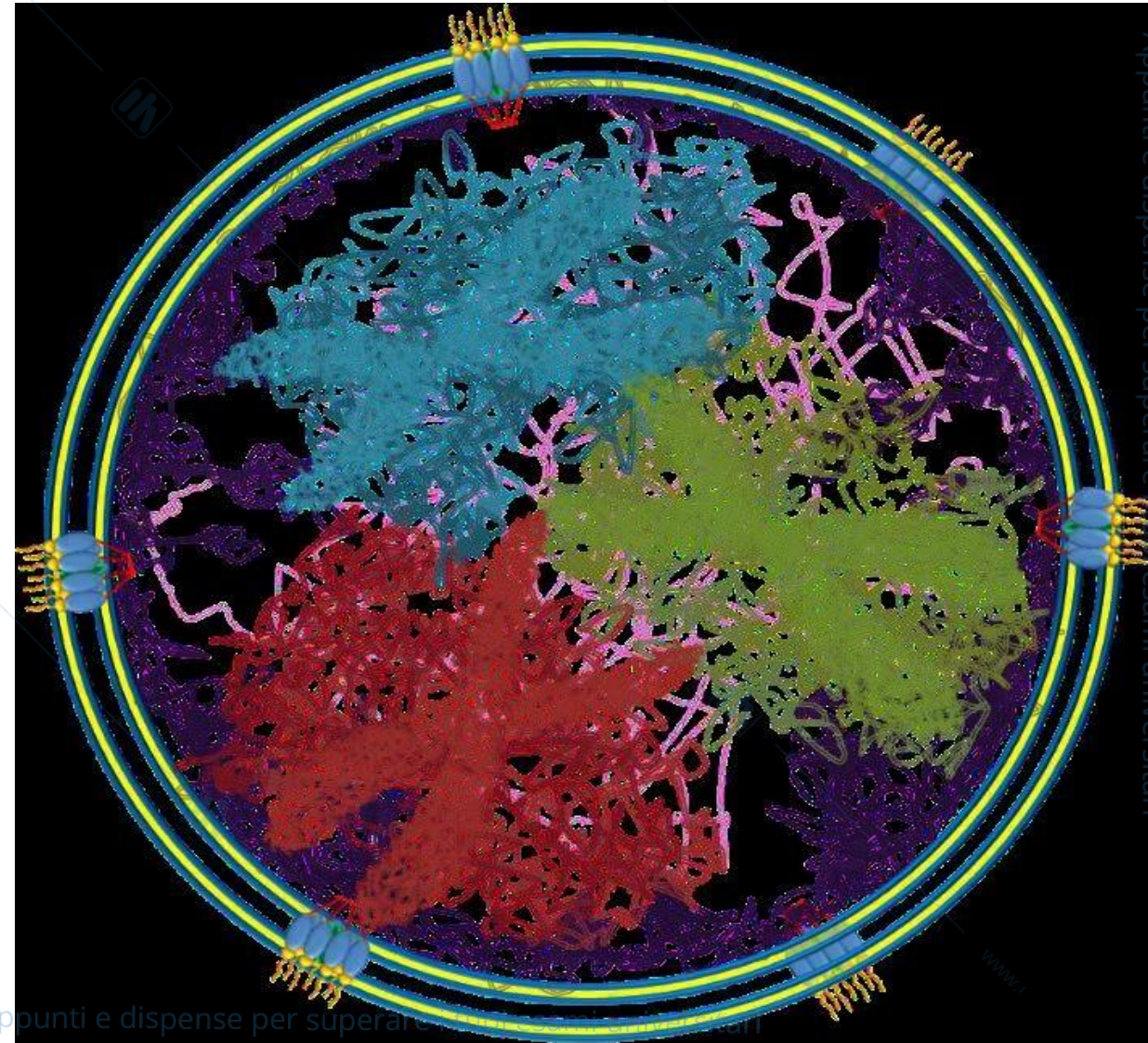
Una molecola di istone H1 tiene bloccati in posizione due giri di DNA sul nucleosoma



## CROMATINA e CROMOSOMI

### La cromatina si compatta in unità strutturali distinte, dette cromosomi *organizzazione superelicoidale del DNA*

- I cromosomi si rendono evidenti durante la mitosi (quando sono condensati).
- In realtà, essi esistono come entità distinte anche nell'interfase (fase in cui la cellula non si divide).
- Sono organizzati in territori: ogni cromosoma occupa una regione ben precisa del nucleo.
- Tale territorio viene conservato anche dopo la mitosi e si trasmette alle cellule figlie.



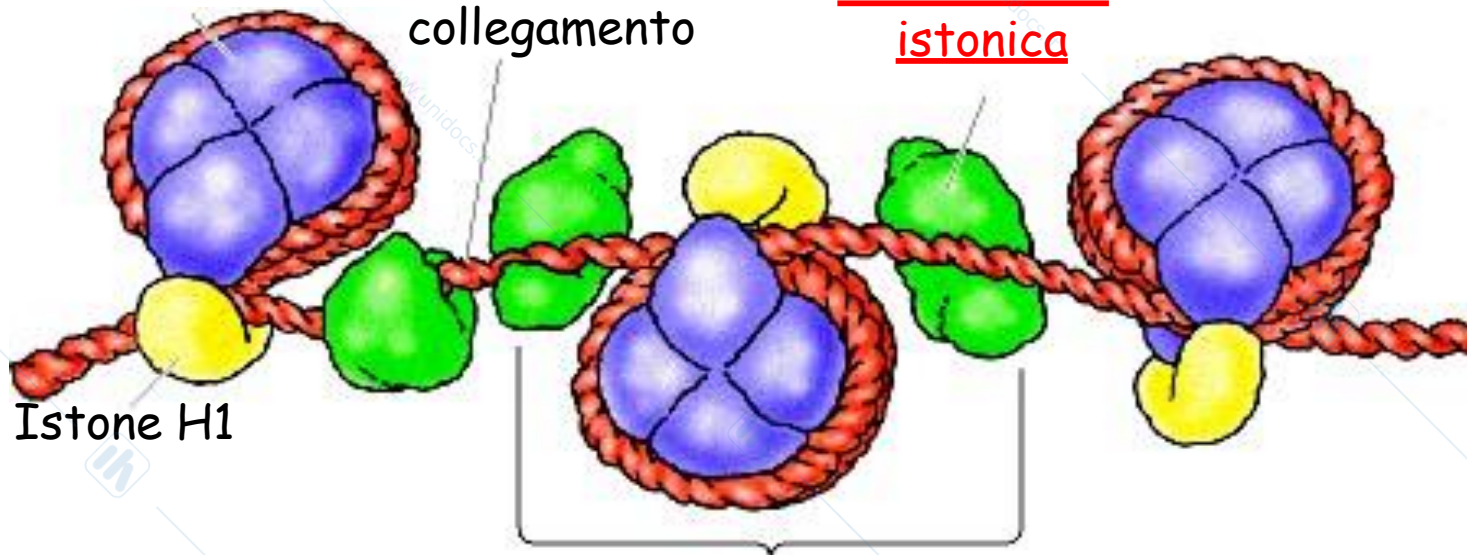
# Cromatina e proteine non istoniche

Il DNA è avvolto intorno agli istoni a formare i nucleosomi e sigillato dall'istone H1. **Proteine non istoniche** si legano al DNA di collegamento fra i vari nucleosomi. Infatti la cromatina contiene una massa approssimativamente uguale di una varietà di proteine cromosomiche non istoniche. Esistono più di mille tipi diversi di queste proteine, che sono coinvolte in un gamma di attività, comprese **replicazione** del DNA ed **espressione genica**.

Particella del nucleo  
del nucleosoma

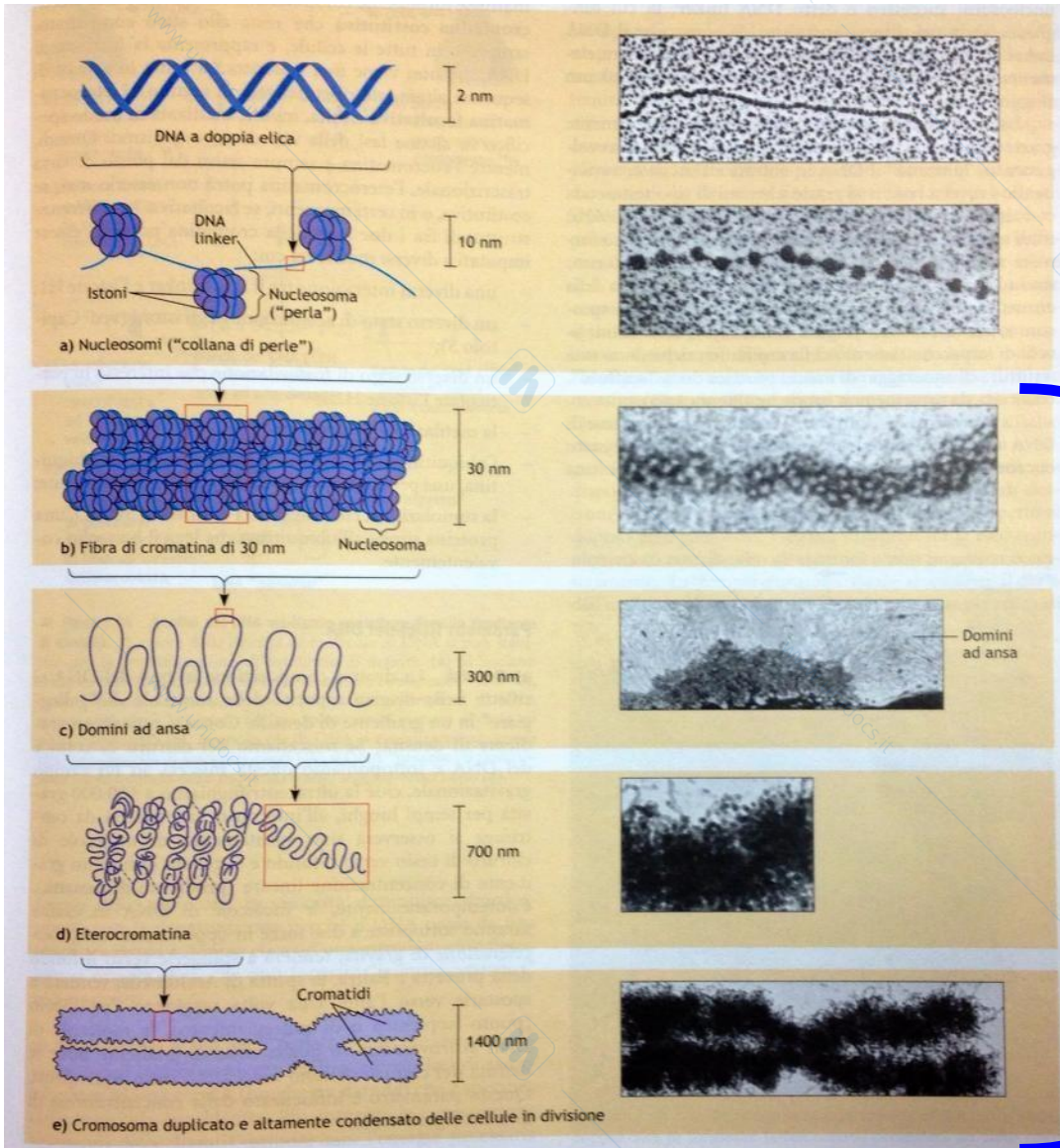
DNA di  
collegamento

Proteina non  
istonica

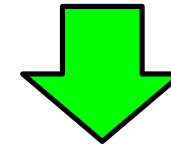


Intervalli di 200 coppie di basi

# CROMATINA E CROMOSOMI



Livelli superiori di organizzazione della cromatina



Fibra di cromatina di 30 nm

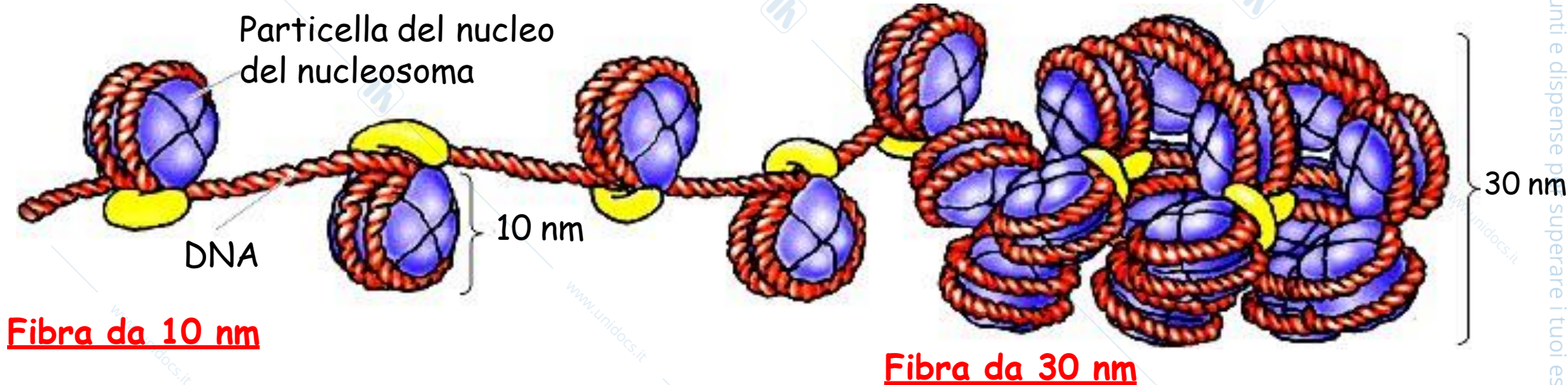
Domini ad ansa

Eterocromatina

Cromosoma

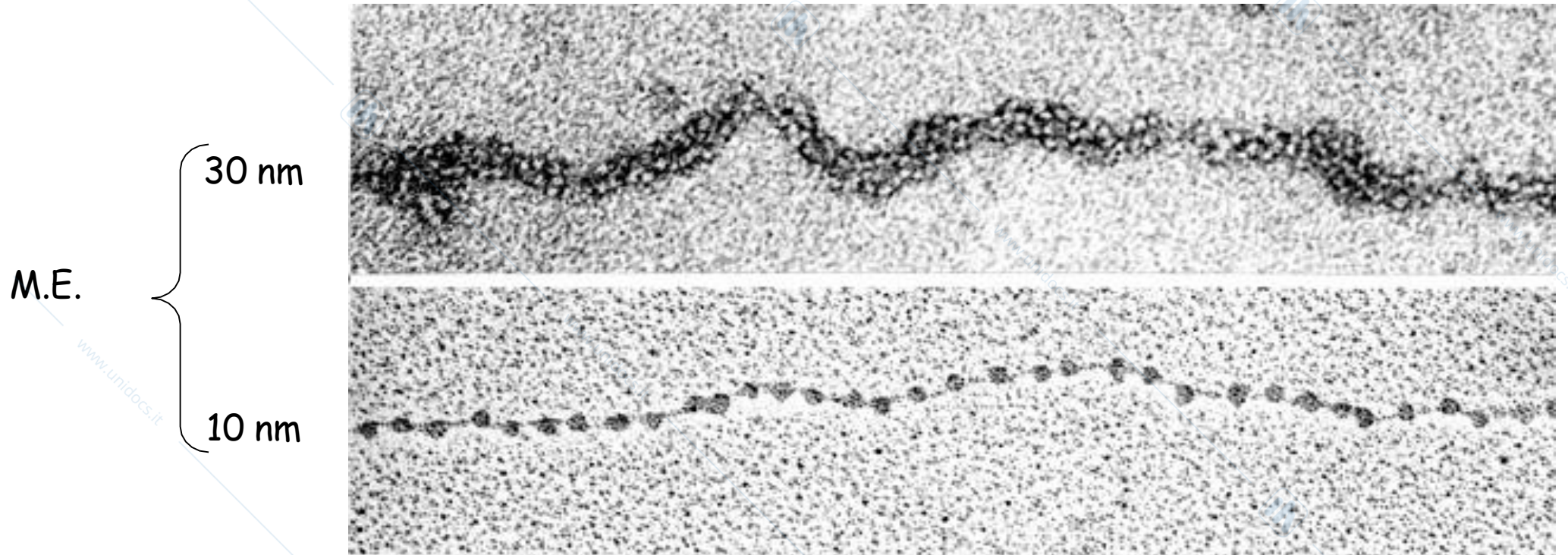
# Cromatina

La cromatina può poi essere ulteriormente condensata da un avvolgimento in fibre di 30 nm la cui struttura rimane ancora da determinare.



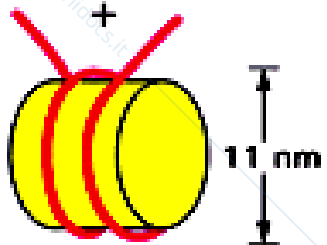
# Cromatina

Fotografie al microscopio elettronico delle fibre di cromatina da 30 nm e da 10 nm.

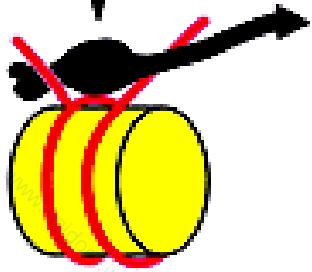


# Cromatina

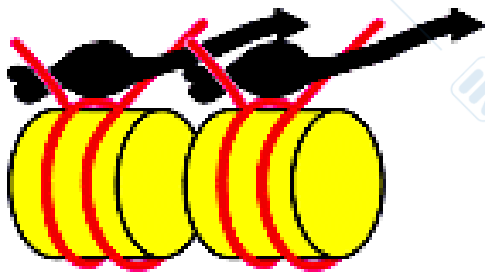
Istone H1



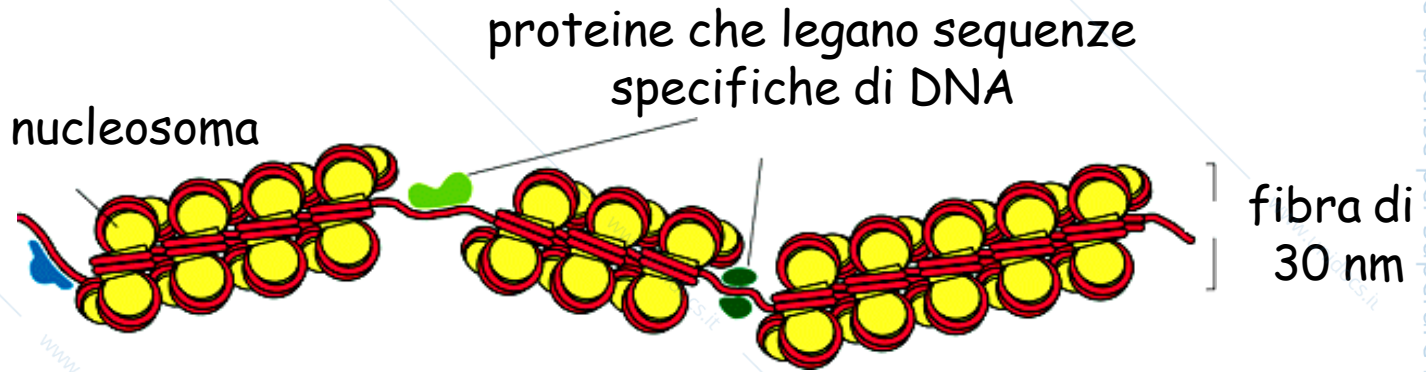
H1 si lega a regioni specifiche del nucleosoma



I nucleosomi sono compattati



Le interazioni fra le molecole dell'istone H1 sembrano importanti per il compattamento della cromatina a fibra di 30 nm.



# Cromatina e cromosomi

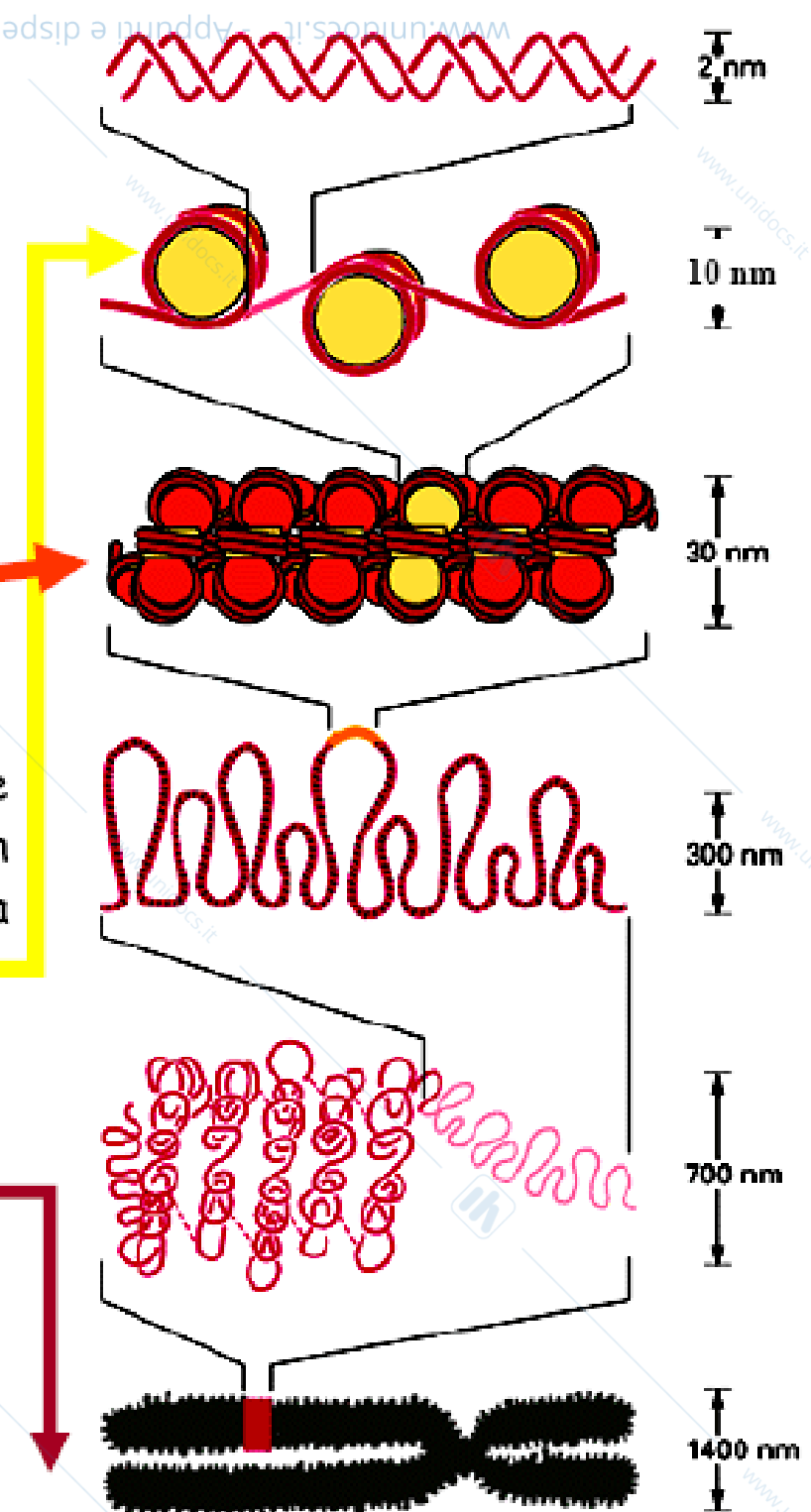
Il grado di condensazione della cromatina varia durante il ciclo vitale della cellula. In cellule in interfase:

## Eucromatina

- la maggior parte della cromatina (ca. 90%)
- relativamente decondensata e distribuita in tutto il nucleo
- sotto forma di **fibre da 30 nm** organizzate in grandi anse (80%)
  - Circa il 10% della eucromatina, contenente i geni che sono trascritti attivamente, è in uno stato più decondensato che permette la trascrizione: **struttura di 10 nm**

## Eterocromatina

- Circa il 10% della cromatina interfaseica
- **stato molto condensato** che assomiglia alla cromatina delle cellule che attraversano la mitosi
- è inattiva dal punto di vista della trascrizione
- contiene sequenze di DNA altamente ripetuto, come quelle presenti in centromeri e telomeri.

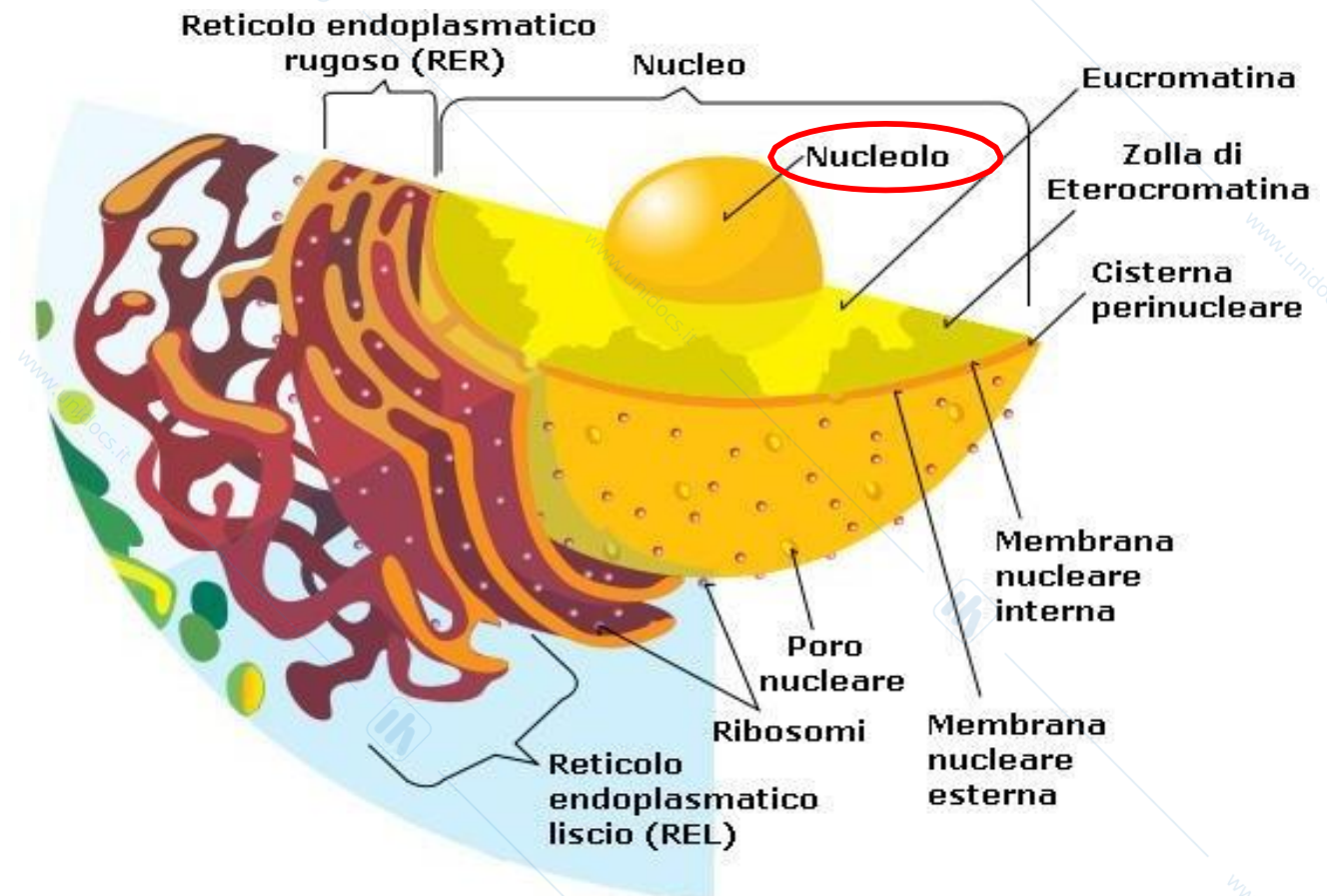


# NUCLEO

## STRUTTURA

Il nucleo è formato da quattro componenti principali:

1. Membrana nucleare o involucro nucleare
2. Nucleoscheletro
3. Cromatina
4. **Nucleolo**



# NUCLEOLO

Il nucleolo è una regione del nucleo responsabile della sintesi dell'RNA ribosomiale (**rRNA**).

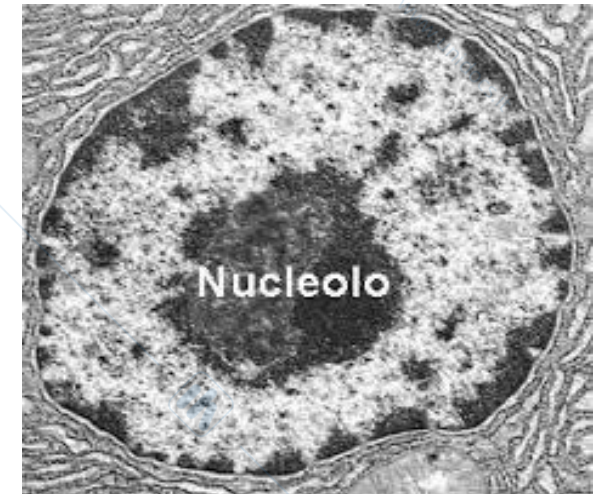
È una regione densa di materiale genetico e proteico

Al microscopio elettronico a trasmissione appare come:

- granulo rotondeggiante
- non delimitato da membrana
- circondato da cromatina condensata (cromatina perinucleolare)
- Formato da due regioni morfologicamente distinte: una fibrillare e una granulare

Il nucleolo è:

- presente durante le fasi **G1**, **S** e **G2** del ciclo cellulare
- scompare durante la **mitosi** (durante la profase si ha la dissoluzione del nucleolo)
- ricompare quando la cellula ha completato la divisione cellulare e riprende la sua attività di sintesi.



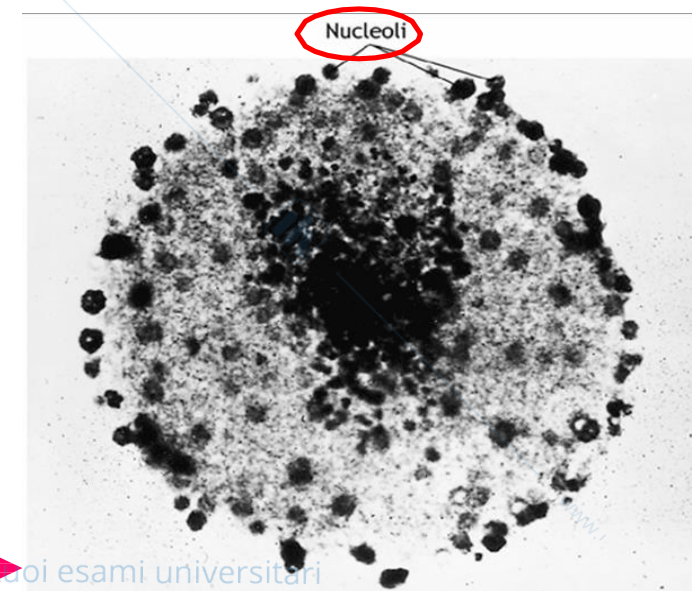
# NUCLEOLO

1. Morfologia: variabile; struttura rotondeggiante od ovale.
2. Posizione: spesso attaccato alla membrana nucleare o comunque in posizione eccentrica rispetto al nucleo.
3. Numero: variabile, solitamente da 1 a 6
4. Dimensioni: dimensioni variabili.

Il numero e la dimensione dei nucleoli varia in funzione del tipo di cellula e della sua attività funzionale.

I nucleoli sono di dimensioni rilevanti nelle cellule metabolicamente attive in cui avviene un elevato livello di sintesi proteica.

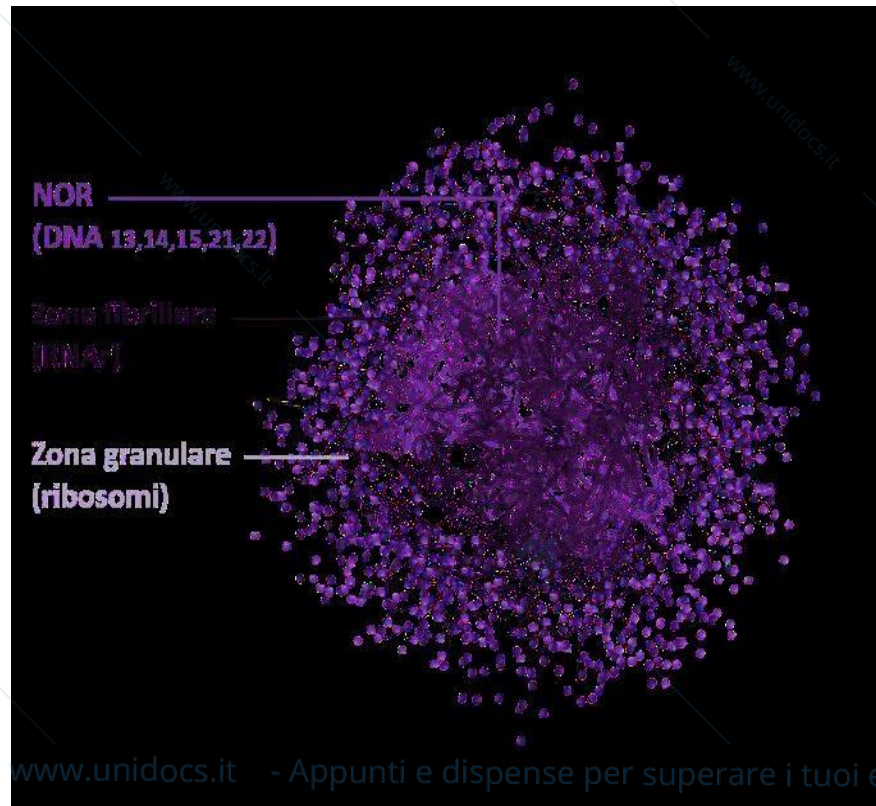
Oocita dell'anfibio *Xenopus*



# NUCLEOLO

Struttura specializzata in cui si distinguono:

- **Zona organizzatrice del nucleolo** che contiene le sequenze di DNA che codificano per gli rRNA.
- **Zona fibrillare densa**, dove ci sono sottili fibrille (di 3-5 nm). Essa è formata dagli RNA appena trascritti.
- **Zona granulata**, così chiamata per la presenza di piccoli granuli (di 15 nm). È essenzialmente costituita dalle subunità dei ribosomi in via di maturazione.



# NUCLEOLO

Contiene particelle ribosomiali a vari stadi di assemblaggio, infatti il nucleolo è sede della biogenesi dei ribosomi.

## Biogenesi dei ribosomi nel nucleolo:

Le proteine ribosomiali che sono state prodotte nel citoplasma, attraversando la membrana nucleare, arrivano al nucleoplasma e costituiscono parte del nucleolo ove si associano agli rRNA neosintetizzati. Dal nucleolo, le unità ribosomiali, dopo il loro assemblaggio, vengono esportate nel citoplasma attraverso i pori nucleari.

