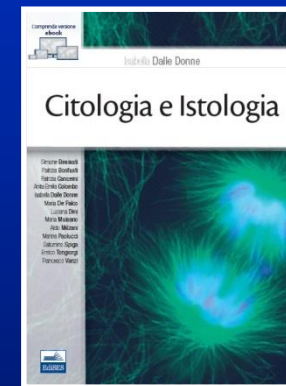




# Citologia e Istologia – Capitolo 5

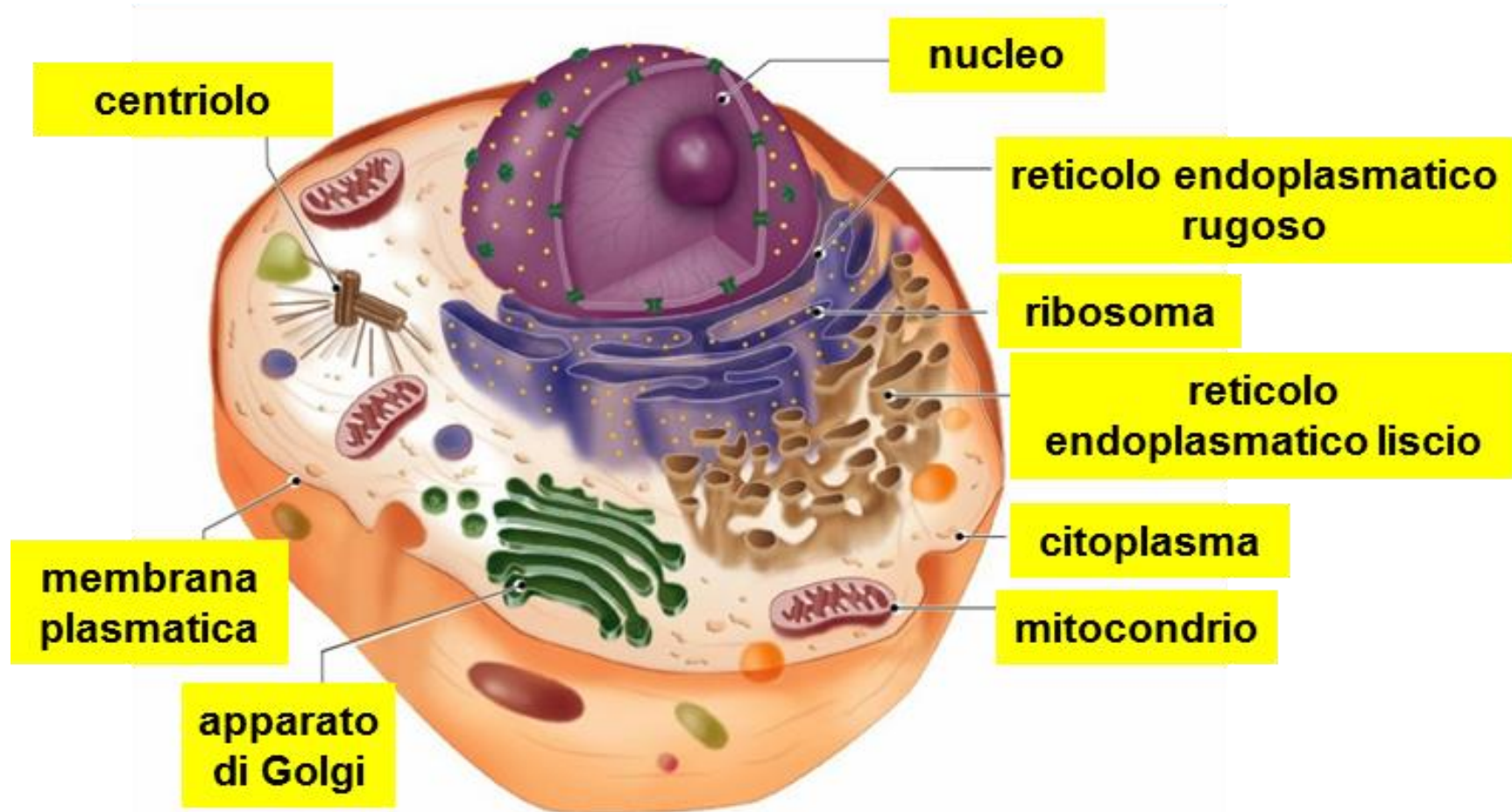


**Anno accademico  
2022-2023**

# COMPARTIMENTAZIONE

## CITOSOL E SISTEMA MEMBRANOSO CITOPLASMATICO

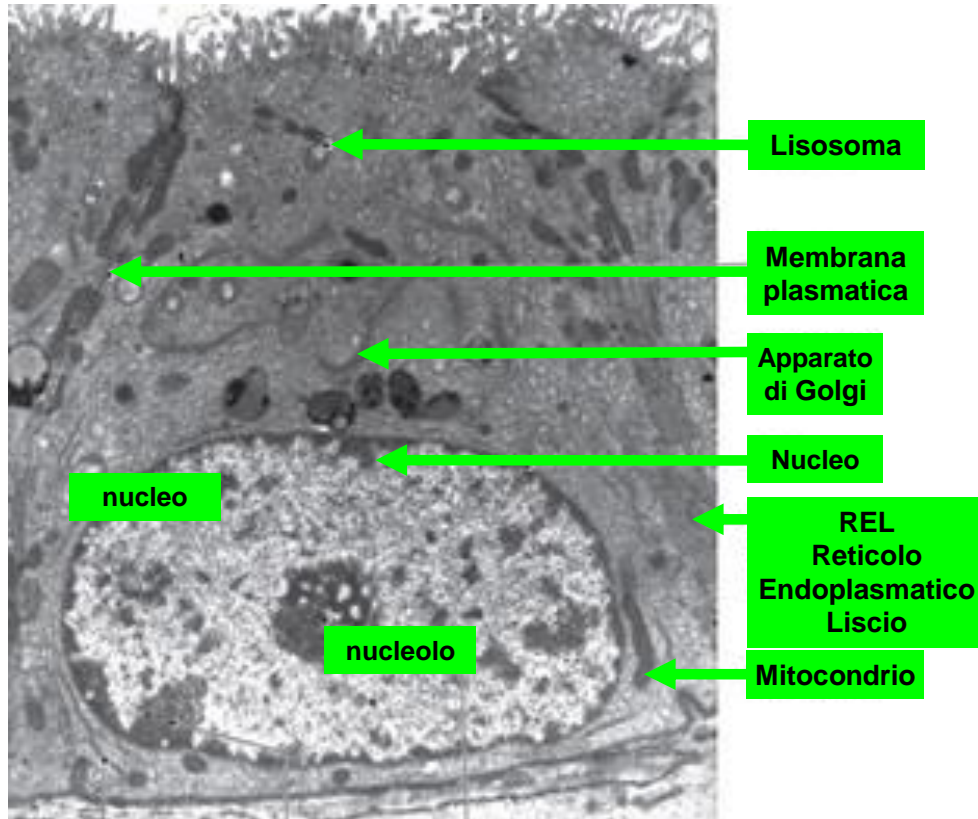
### CELLULA EUCARIOTICA ANIMALE



# INVOLUCRO NUCLEARE e COMPARTIMENTAZIONE

## CITOSOL E SISTEMA MEMBRANOSO CITOPLASMATICO

### CELLULA EUCARIOTICA ANIMALE



Le **cellule eucariotiche**, contrariamente alle cellule batteriche (costituite da un unico compartimento circondato da membrana), presentano dei **COMPARTIMENTI O ORGANELLI** immersi nel citoplasma.

La parte del citoplasma che non è contenuta negli organelli è il **CITOSOL**, una soluzione acquosa contenente proteine, grassi, zuccheri, ecc...

### SIGNIFICATO DELLA COMPARTIMENTAZIONE

Nella cellula hanno luogo migliaia di reazioni chimiche, l'esistenza di compartimenti intracellulari specializzati garantisce che esse avvengano nei **COMPARTIMENTI** nel modo più efficiente possibile.

**COMPARTIMENTI = MICROAMBIENTI**  
diversi per attuare specifiche  
reazioni chimiche



# INVOLUCRO NUCLEARE e COMPARTIMENTAZIONE

## ULTRASTRUTTURA DEL NUCLEO: CROMATINA

Quando una cellula non è in divisione, la **CROMATINA** si trova sotto forma di lunghi e sottili filamenti parzialmente srotolati che, aggregandosi tra loro, le conferiscono un aspetto granulare all'osservazione al microscopio elettronico.

**CROMATINA = DNA + proteine**

**Istoniche  
(o istoni),**  
essenziali nella  
organizzazione  
spaziale del  
DNA

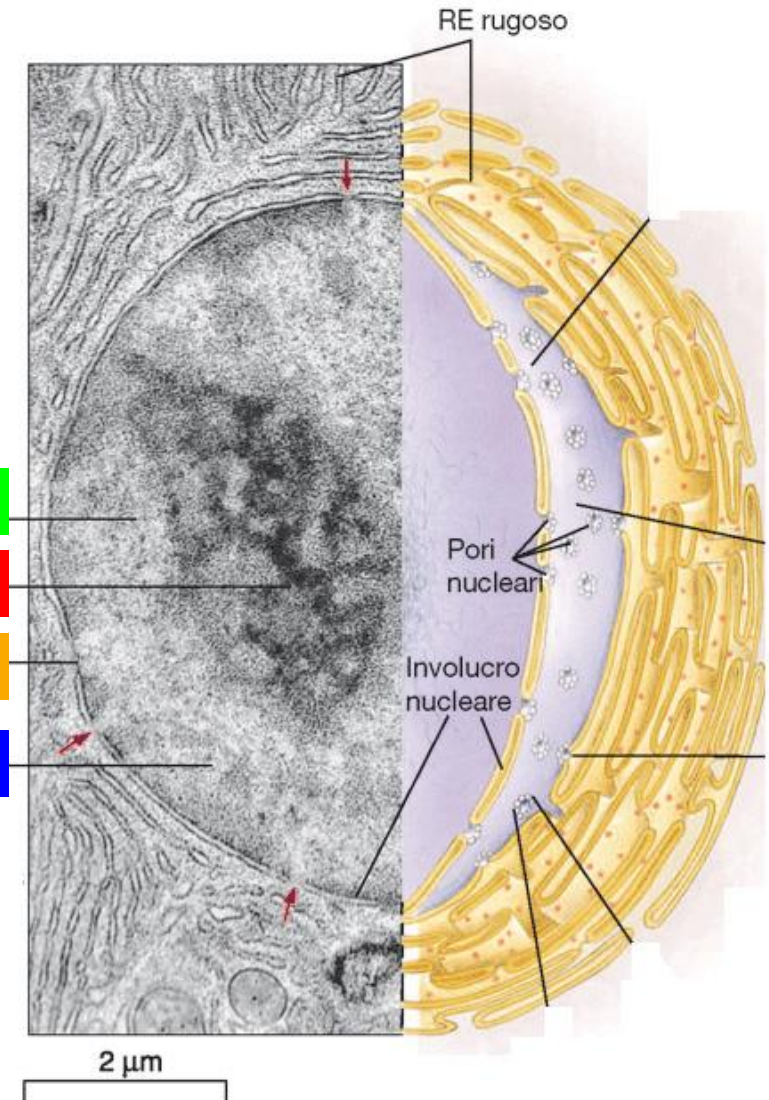
**Non istoniche,**  
essenziali nella  
regolazione  
funzionale del DNA

**CROMATINA**

**nucleolo**

**poro nucleare**

**nucleoplasma**



# INVOLUCRO NUCLEARE e COMPARTIMENTAZIONE

## ULTRASTRUTTURA DEL NUCLEO: CROMATINA

Cellula in interfase  
(non in divisione):  
la maggior parte della cromatina è  
poco compattata (dispersa).

**ETEROCROMATINA:**  
cromatina interfase altamente  
condensata, il cui DNA è  
temporaneamente o  
permanentemente NON trascritto.

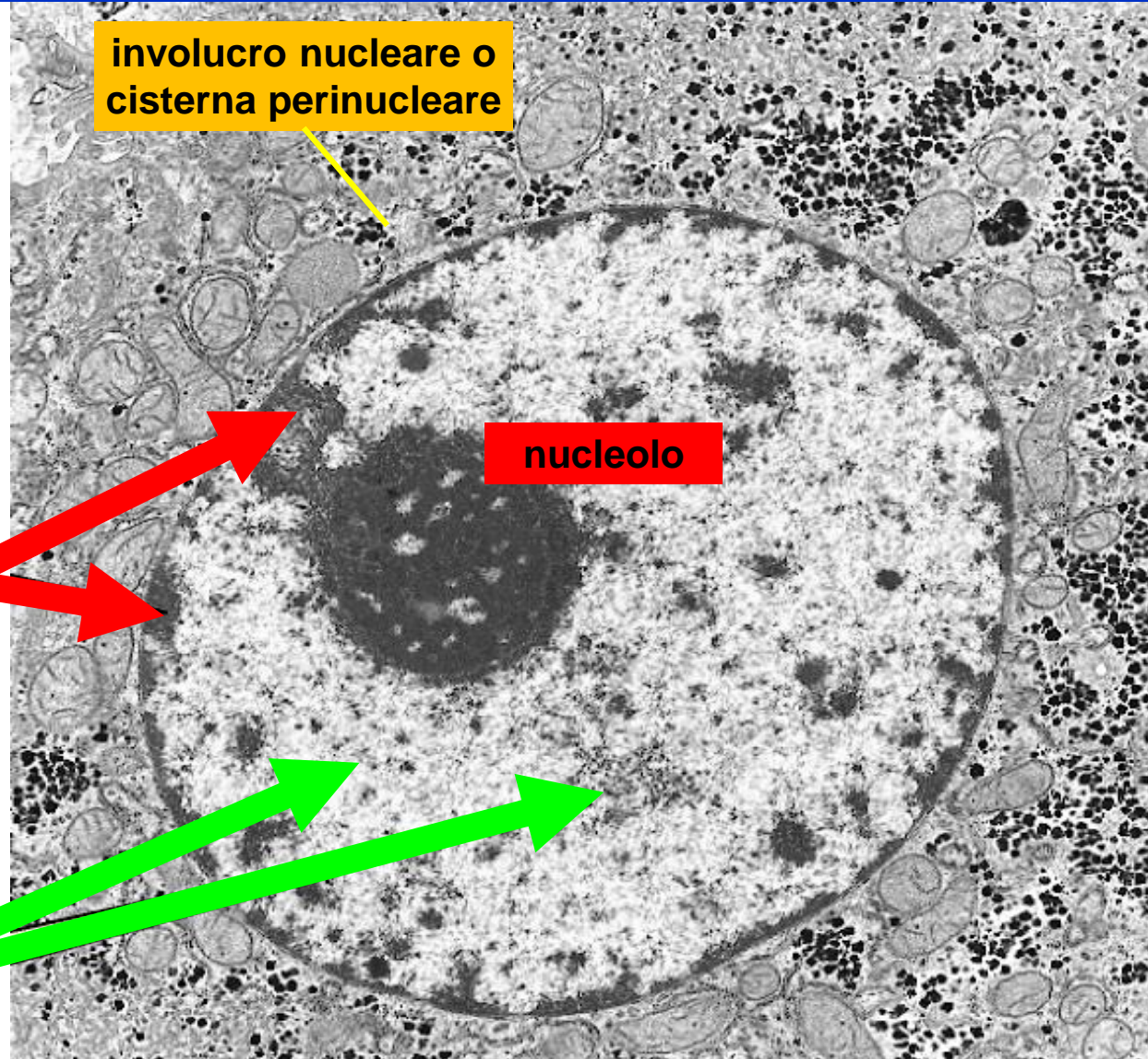
**ETEROCROMATINA**

**EUCROMATINA:** cromatina  
interfase meno compatta e  
maggiormente dispersa, il cui DNA  
è trascritto.

**EUCROMATINA**

involucro nucleare o  
cisterna perinucleare

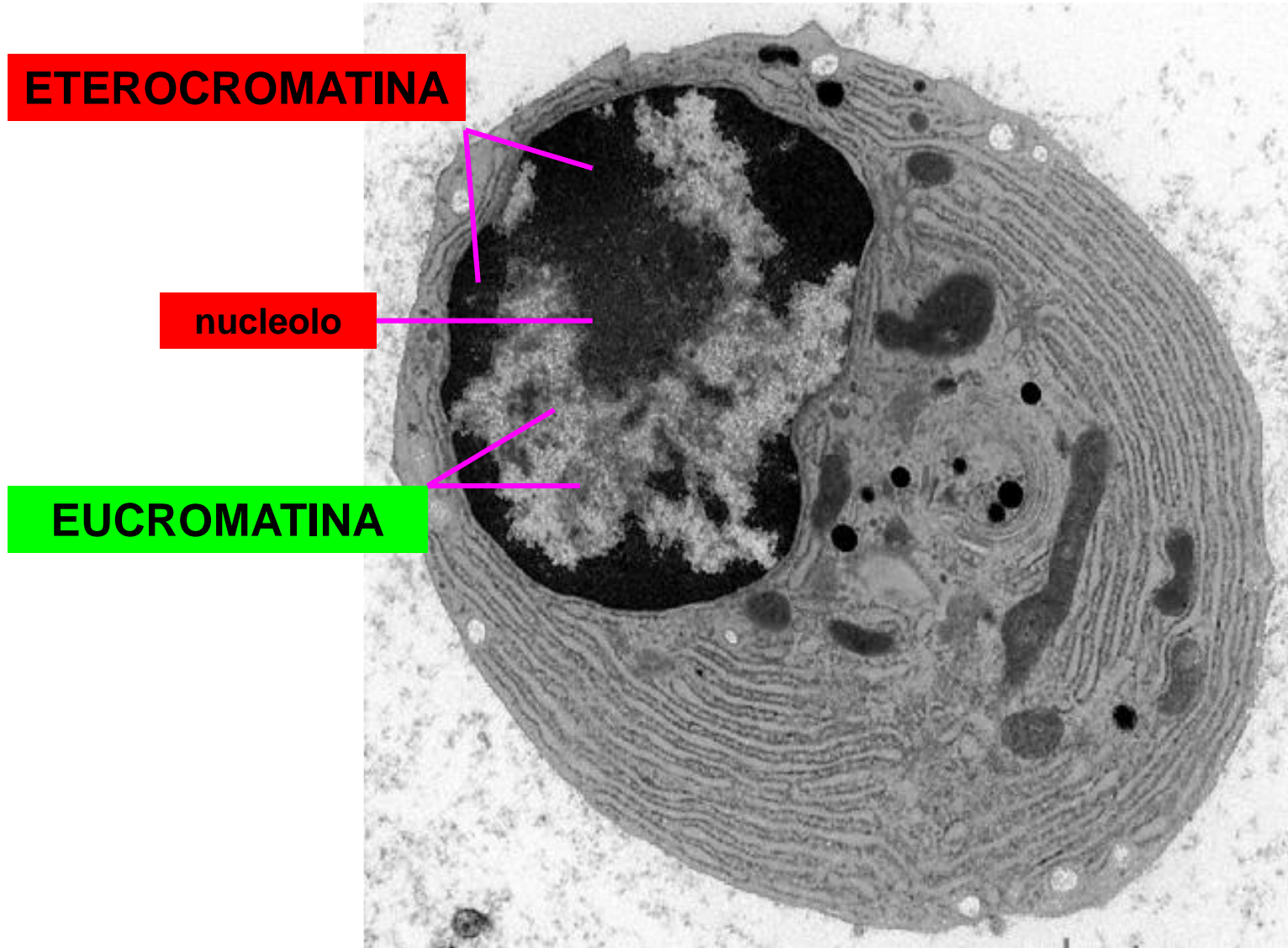
nucleolo





# ULTRAISTRUTTURA DEL NUCLEO

## EUCROMATINA ED ETEROCROMATINA



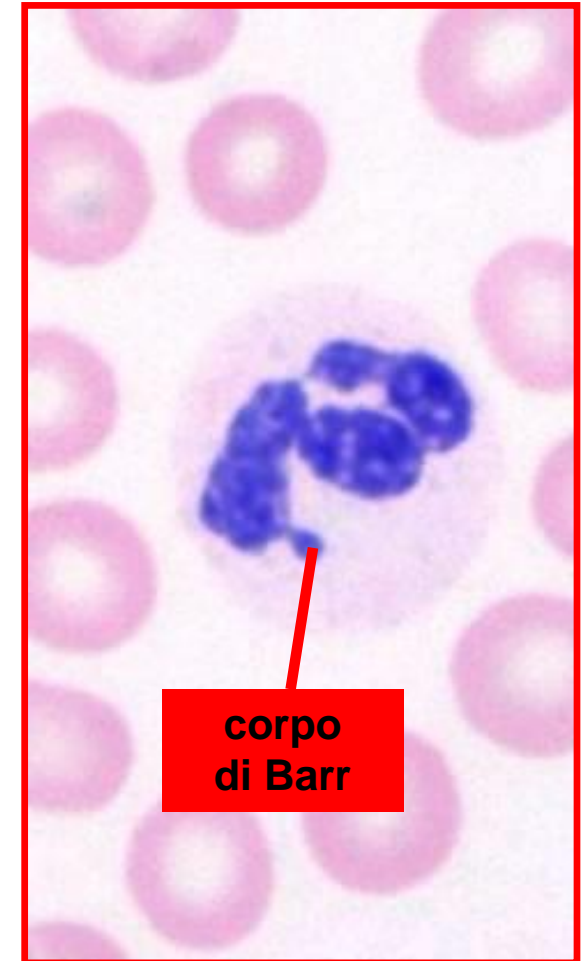
Plasmacellula  
osservato al TEM

# ULTRAISTRUTTURA DEL NUCLEO

## ETEROCROMATINA

**ETEROCROMATINA FACOLTATIVA:** cromatina interfaseica altamente condensata, il cui DNA è temporaneamente **NON trascritto** (regioni del genoma temporaneamente inattivate) in certi tipi di cellule di un organismo oppure in certi momenti della vita di una cellula. P.es.: **corpo di Barr**, presente nelle cellule somatiche femminili dei mammiferi, dovuto all'inattivazione casuale di uno dei due cromosomi X nelle fasi iniziali dello sviluppo embrionale.

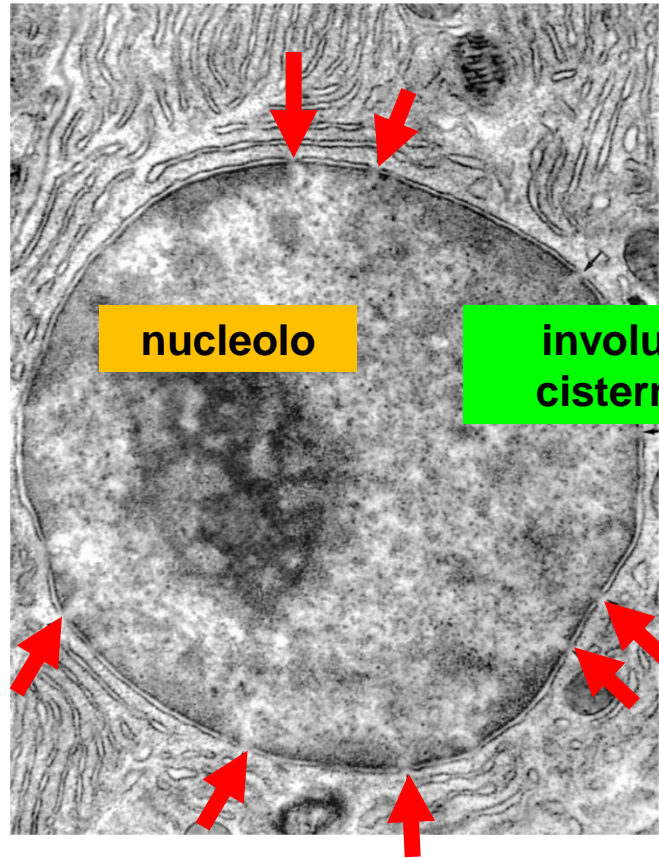
**ETEROCROMATINA COSTITUTIVA:** cromatina interfaseica altamente condensata, il cui DNA non è **MAI trascritto** (regioni del genoma inattivate in modo permanente in tutti gli stadi del ciclo cellulare di tutte le cellule di un organismo); in genere sono sequenze altamente ripetute di DNA, indicate come **DNA satellite**, contenenti un basso numero di geni. P.es.: centromero e telomeri.



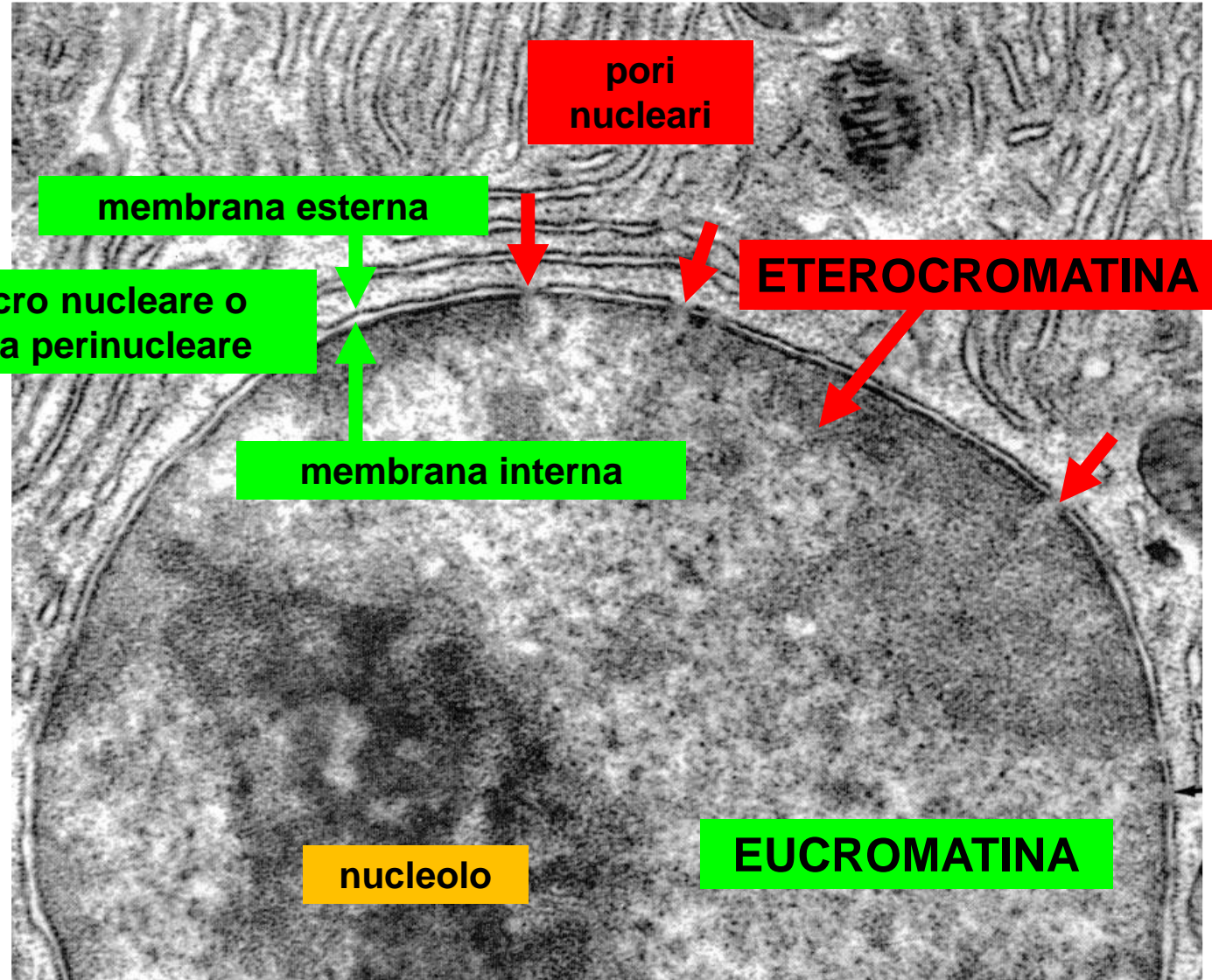


# ULTRAISTRUTTURA DEL NUCLEO

## EUCROMATINA ED ETEROCROMATINA



Nucleo osservato al  
TEM a vari  
ingrandimenti.

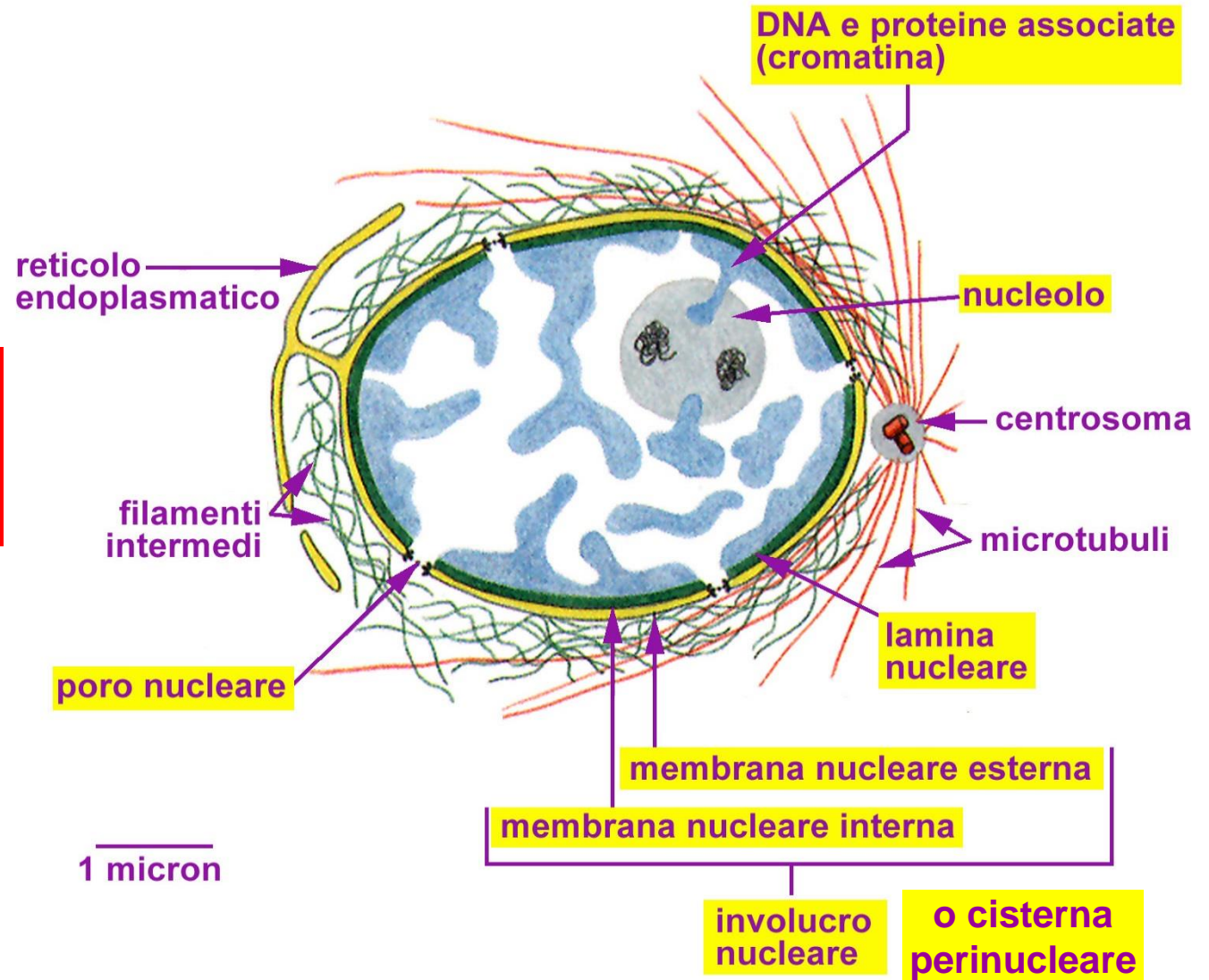




# INVOLUCRO NUCLEARE e COMPARTIMENTAZIONE

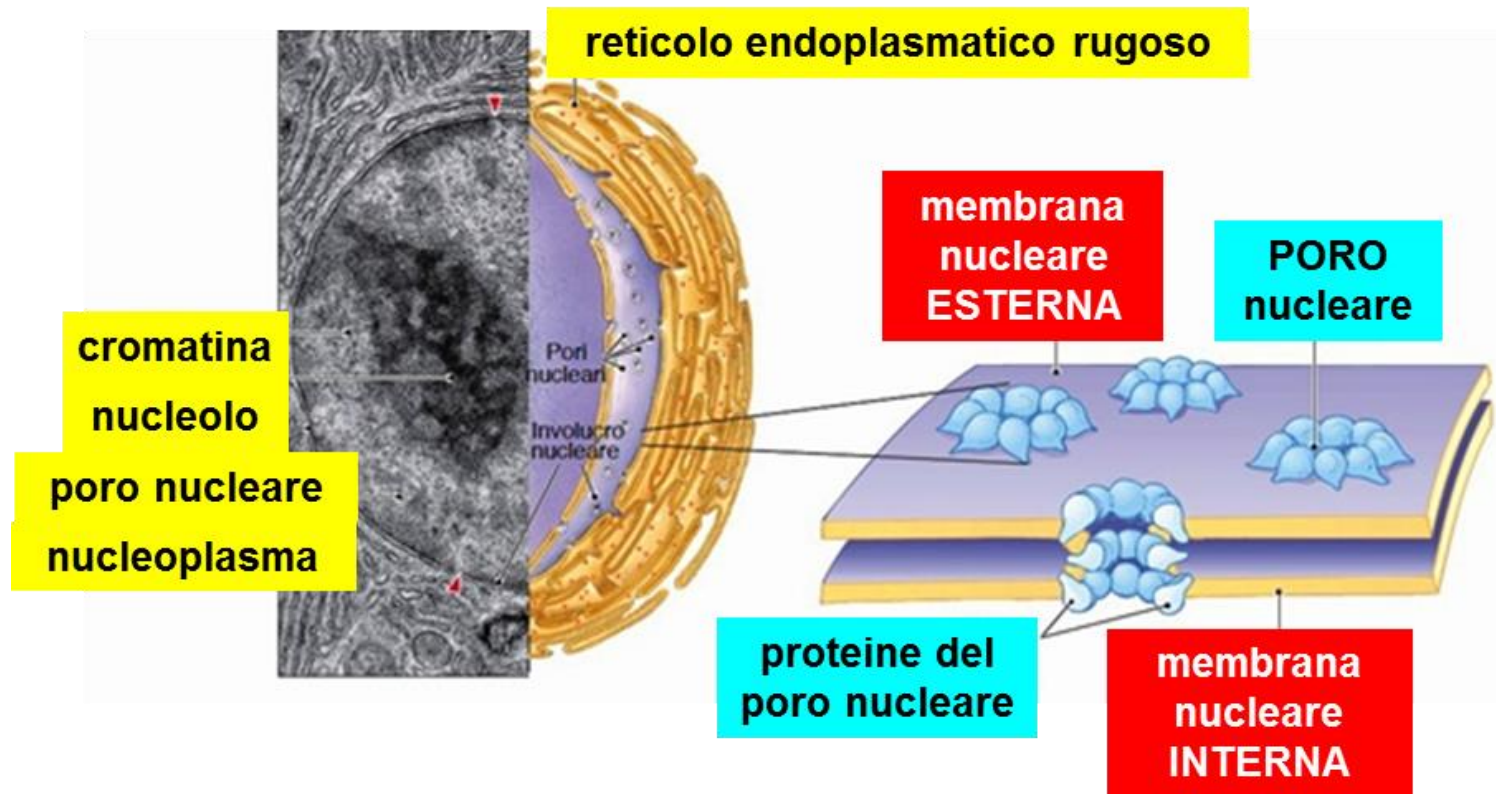
## ULTRASTRUTTURA DEL NUCLEO

**Il nucleo è una struttura dinamica la cui morfologia cambia nelle varie fasi del ciclo cellulare.**



# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## INVOLUCRO NUCLEARE e PORI NUCLEARI



Il nucleo è avvolto da una doppia membrana definito **INVOLUCRO NUCLEARE**.

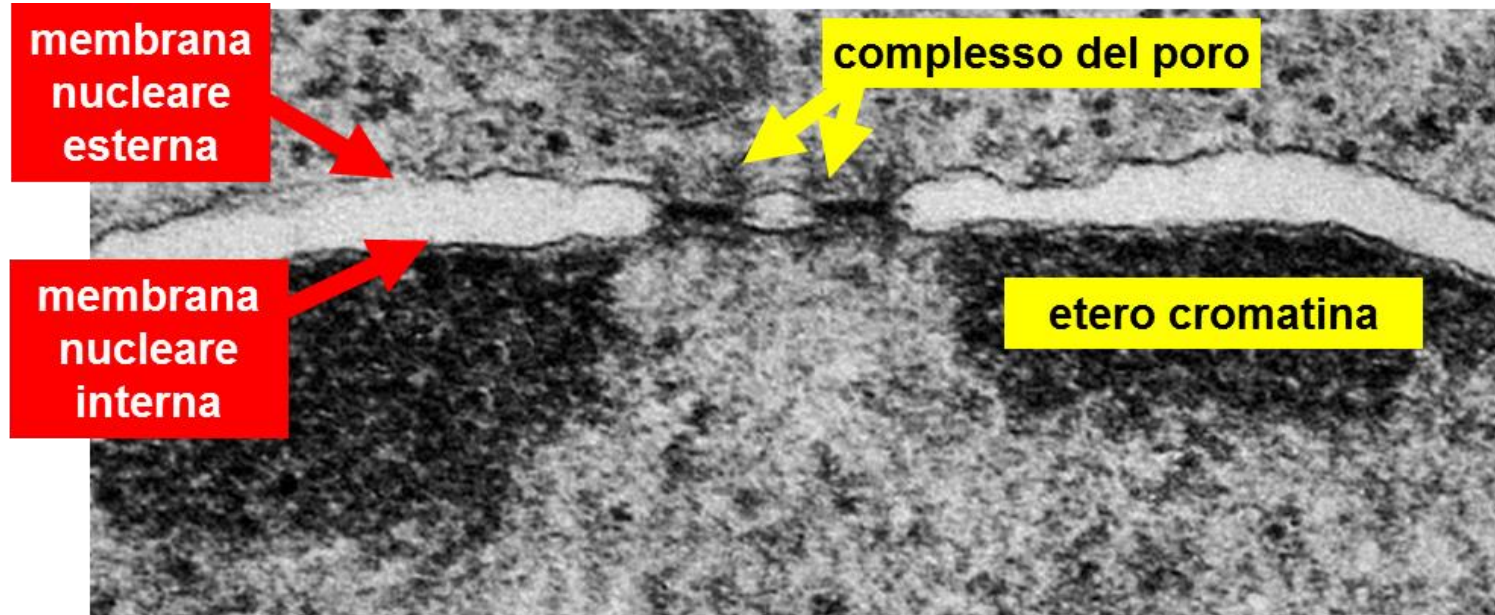
Le **membrana nucleare interna e esterna** sono separate dallo **spazio intermembrana**.

La membrana esterna è in continuità con il **reticolo endoplasmatico rugoso** che porta ribosomi sulla sua superficie.

La membrana nucleare interna ha specifiche proteine transmembrana che legano la **lamina nucleare** che contribuisce al sostegno strutturale dell'inviluppo nucleare.

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## ULTRASTRUTTURA DEL PORO NUCLEARE



Si osservano la membrana nucleare interna, la membrana nucleare esterna e lo spazio perinucleare.

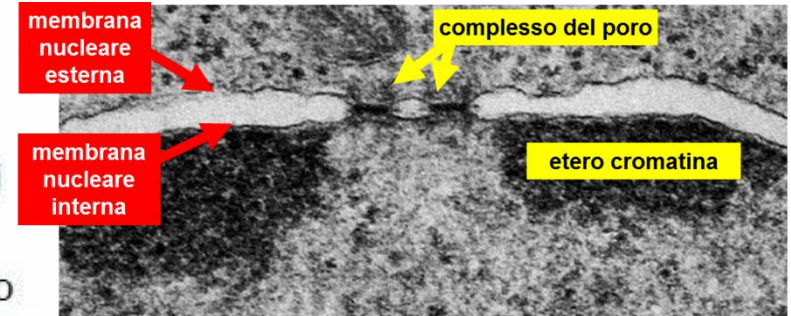
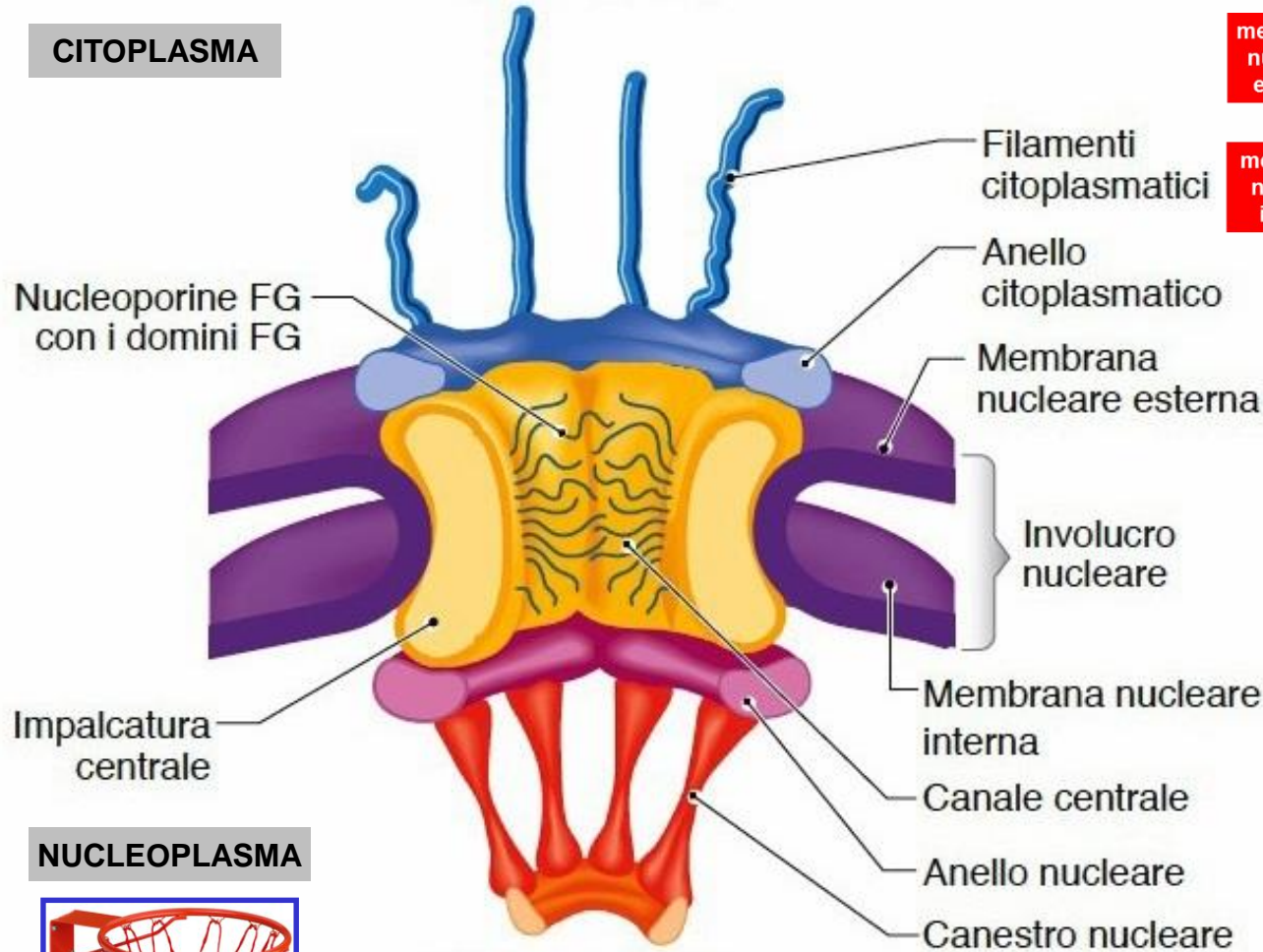
L'involucro nucleare è interrotto dai **PORI NUCLEARI**, in cui avviene lo scambio bidirezionale di molecole tra nucleo e citoplasma.

Tra nucleo e citoplasma esiste un'intensa attività di trasporto che interessa, per esempio, il movimento di proteine, sintetizzate nel citoplasma, ma che svolgono le loro funzioni all'interno del nucleo: per esempio, le **proteine impegnate nella replicazione e nella trascrizione del DNA** (DNA polimerasi, RNA polimerasi, fattori di trascrizione, enzimi); gli mRNA trascritti nel nucleo e destinati al citoplasma per essere tradotti in proteine; gli rRNA e le subunità ribosomali prodotti e assemblati nel nucleo e destinati al citoplasma.



# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## COMPLESSO DEL PORO NUCLEARE

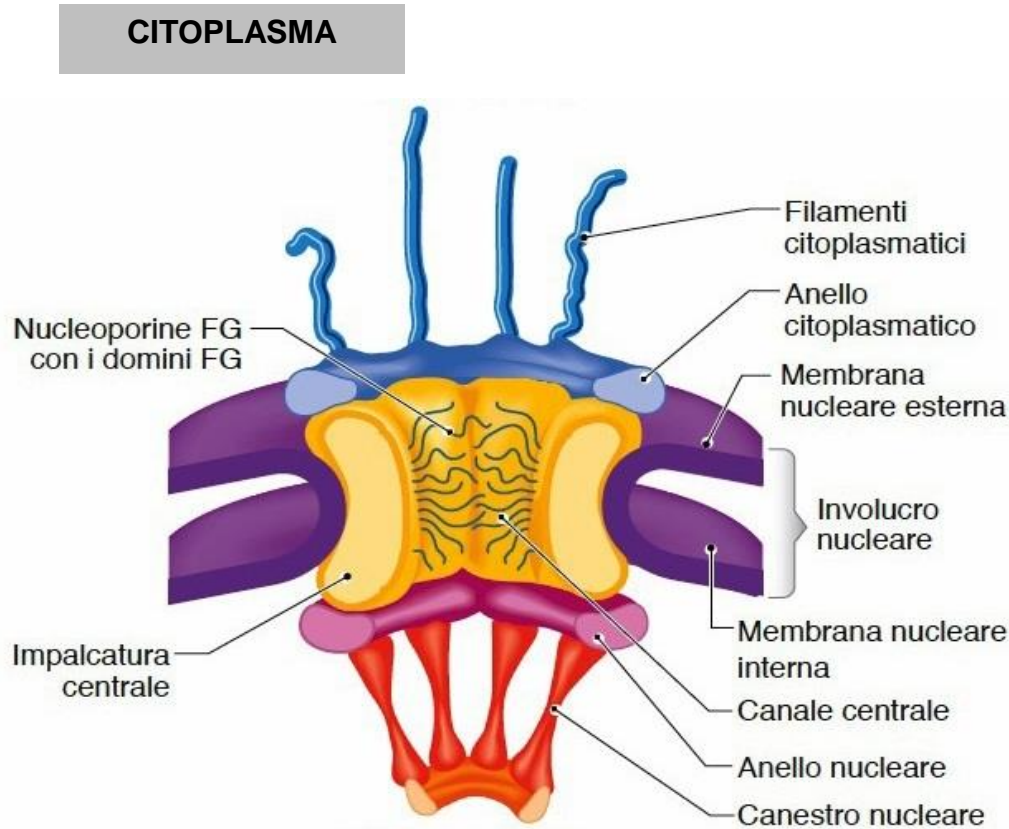


Il poro nucleare è costituito da una struttura proteica chiamata **complesso del poro nucleare** composta da 30-50 diverse proteine dette **NUCLEOPORINE**.

È costituito da **anello centrale**, **anello nucleare** seguito da un **canestro nucleare** e **anello citoplasmatico** collegato a **filamenti citoplasmatici** (che sporgono verso il citoplasma).

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## COMPLESSO DEL PORO NUCLEARE



Nel poro si trovano **NUCLEOPORINE** con piccole sequenze amminoacidiche (XXFG, X = qualunque amminoacido, F = fenilalanina, G = glicina) dette **SEQUENZE FG**.

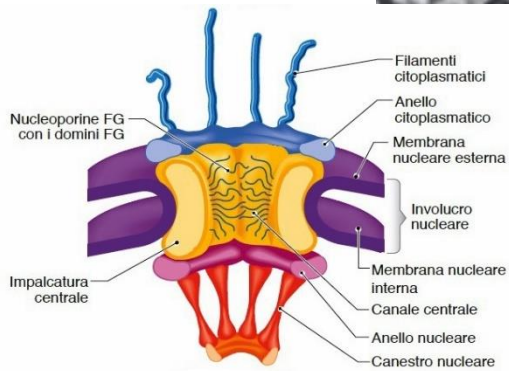
Le nucleoporine assumono una struttura filamentosa.

Nel canale centrale formano un **setaccio idrofobo** che impedisce il passaggio delle molecole più grandi.

Negli anelli nucleari e in quelli citoplasmatici, invece, le sequenze FG contribuiscono al **trasporto bidirezionale** delle macromolecole attraverso il poro, permettendo il passaggio di vari tipi di RNA e subunità ribosomali verso il citoplasma (OUT), e di proteine (RNA polimerasi, DNA polimerasi, istoni, lamìne, enzimi, ecc.) verso il nucleo (IN).

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## PORI NUCLEARI



versante nucleare

versante citoplasmatico

SEM

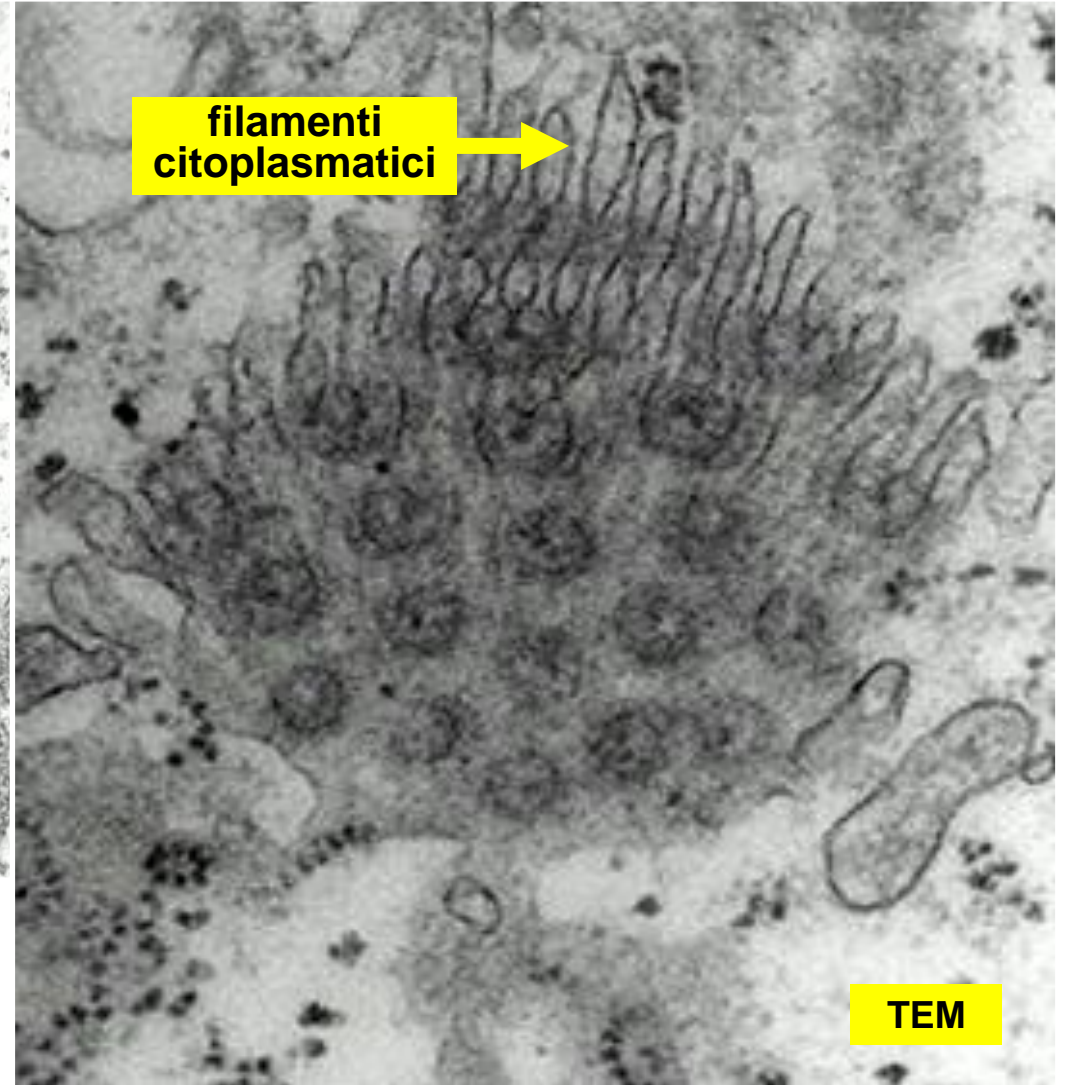


# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## PORI NUCLEARI



Pori nucleari

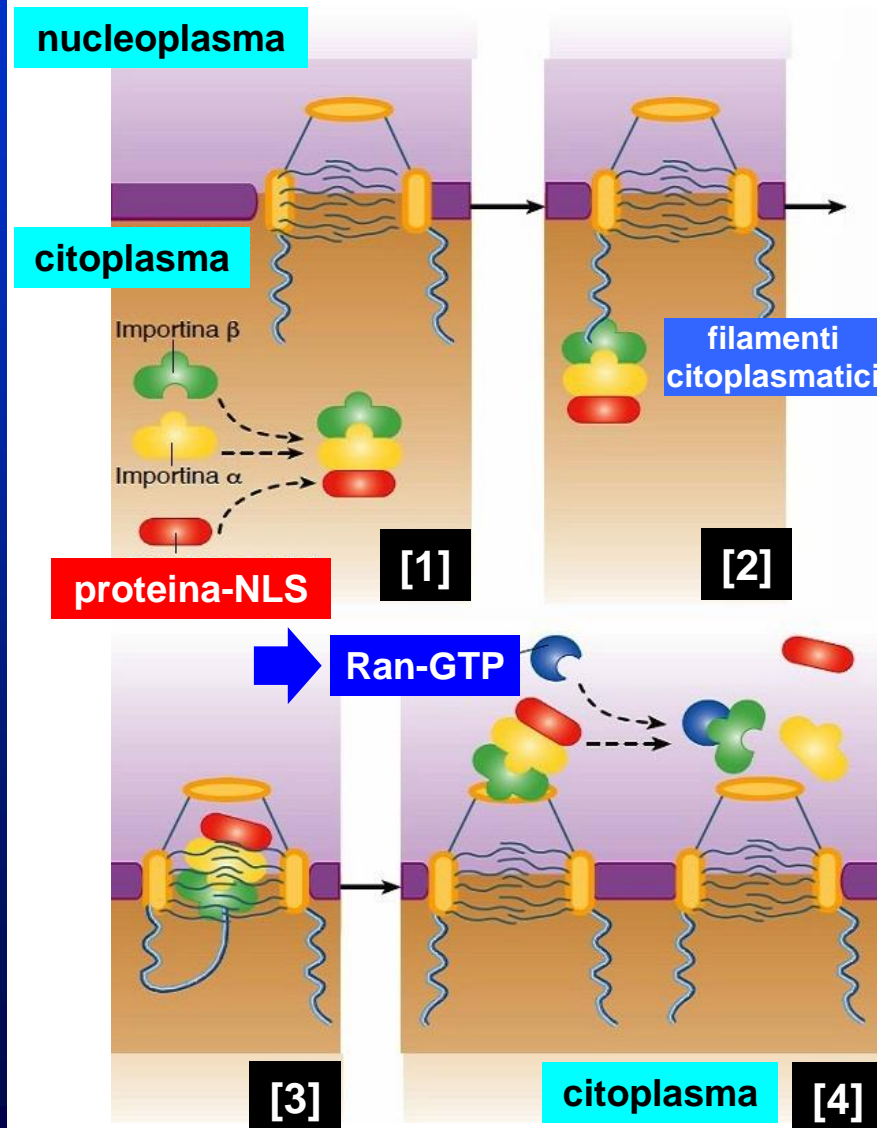


filamenti  
citoplasmatici

TEM

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## TRASPORTO DI PROTEINE DAL CITOPLASMA AL NUCLEO



Le proteine che devono essere trasportate dal citoplasma al nucleo contengono una **SEQUENZA DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE** o **NLS** (*Nuclear Localization Signal*) di 8-30 amminoacidi C-terminale o nella regione centrale della proteina.

La sequenza NLS è riconosciuta da **specifici recettori** o **IMPORTINE**.

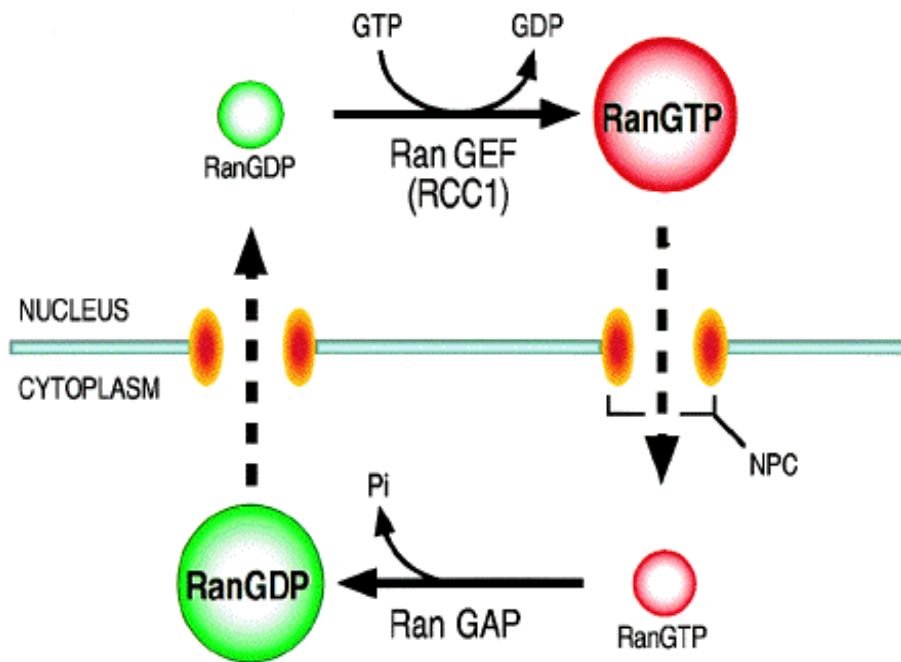
La **proteina-NLS** da trasferire nel nucleo ha una sequenza di localizzazione nucleare (NLS) riconosciuta dal recettore **importina  $\alpha/\beta$** . Il complesso importina  $\alpha/\beta$ -proteina-NLS interagisce con i filamenti citoplasmatici del poro (lega le sequenze FG delle NUCLEOPORINE), inducendo un cambiamento conformazionale dei filamenti citoplasmatici e determinando il trasporto attraverso il poro.

Le proteine che devono essere esportate dal nucleo al citoplasma contengono una **SEQUENZA DI ESPORTAZIONE NUCLEARE** o **NES** (*Nuclear Export Signal*), riconosciuta da **specifici recettori** o **ESPORTINE** (es. Importina  $\alpha$ ).

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

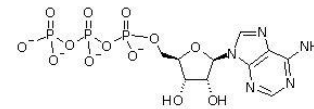
## CICLO DELLE RAN-GTPASI

### THE Ran GTPase CYCLE



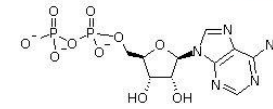
### Energia

• ATP



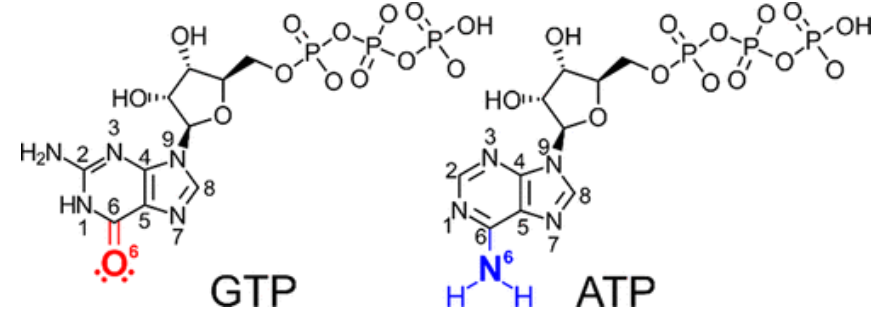
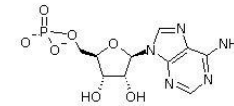
$$\Delta G_0' = -7.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$$

• ADP



$$\Delta G_0' = -15.3 \text{ kcal} \cdot \text{mole}^{-1}$$

• AMP

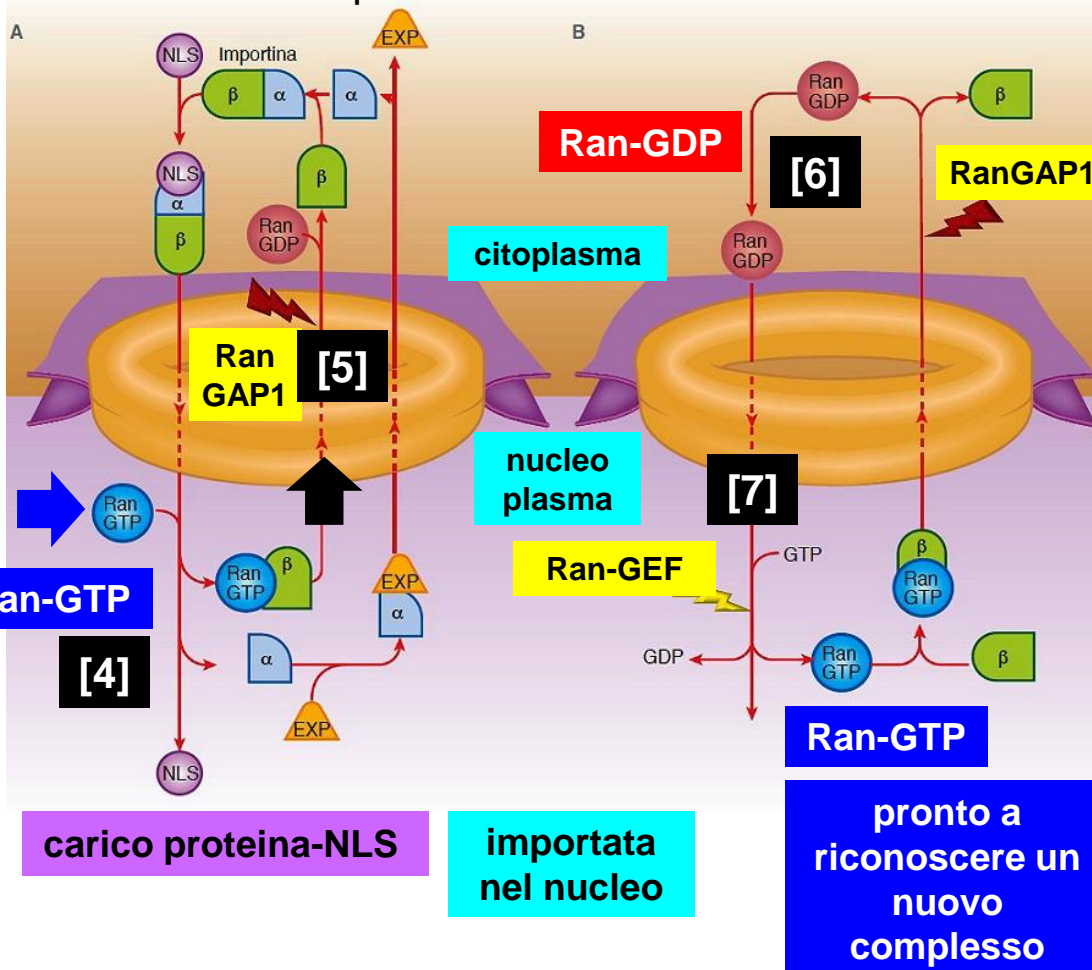




# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## RITORNO DELLE IMPORTINE DAL NUCLEO AL CITOPLASMA

➡ Nel nucleo **Ran-GTP** riconosce e lega l'importina-β e ne induce il distacco dall'importina-α, determinando il rilascio del carico proteina-NLS dentro il nucleo.



➡ **Ran-GTP-importina-β** tornano nel citoplasma guidati dal gradiente di concentrazione di Ran-GTP (più concentrata nel nucleo che nel citoplasma).

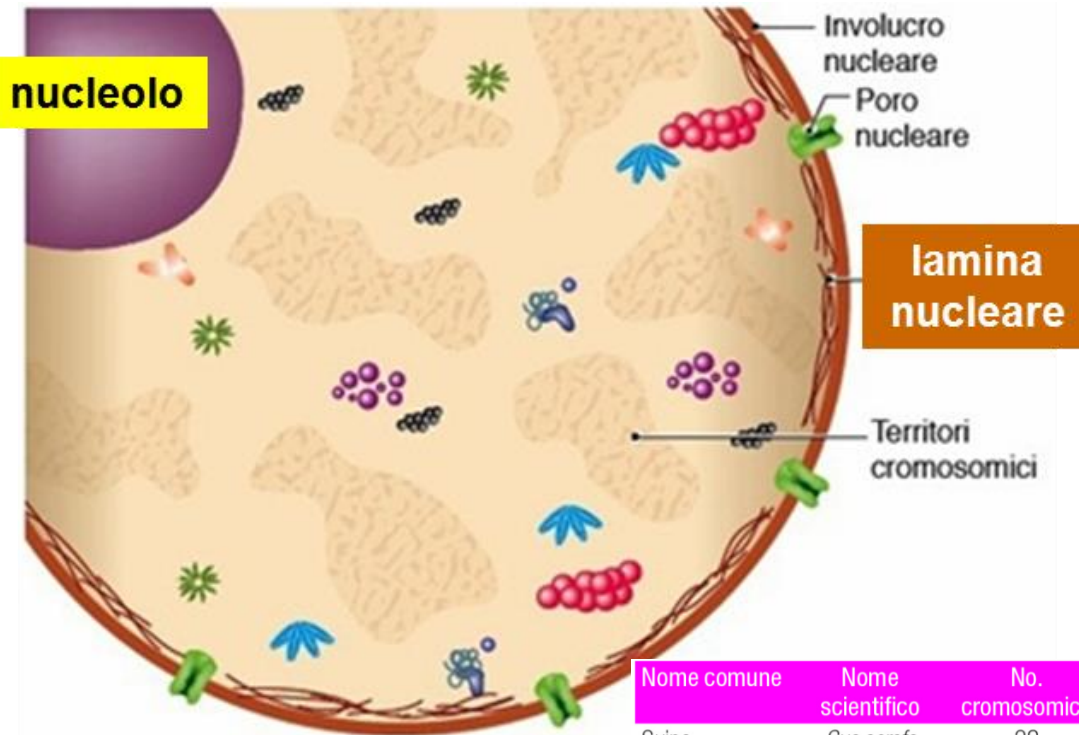
[5-6] Nel citoplasma **RanGAP1** induce la conversione **Ran-GTP** → **Ran-GDP** con liberazione dell'importina-β nel citoplasma, dove può ricominciare un nuovo ciclo di trasporto.

[7] **Ran-GDP** a sua volta, seguendo il gradiente di concentrazione rientra nel nucleo dove incontra **Ran-GEF** che promuove la conversione di Ran-GDP in Ran-GTP pronta a ricominciare un nuovo ciclo.

L'importina-α viene riportata nel citoplasma grazie alla sua sequenza NES di esportazione nucleare, riconosciuta da una **esportina (EXP)**, che rilascia la proteina nel citoplasma.

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## INVOLUCRO NUCLEARE e PORI NUCLEARI



La lamina nucleare è formata dalle **lamìne**, una classe di proteine del citoscheletro.

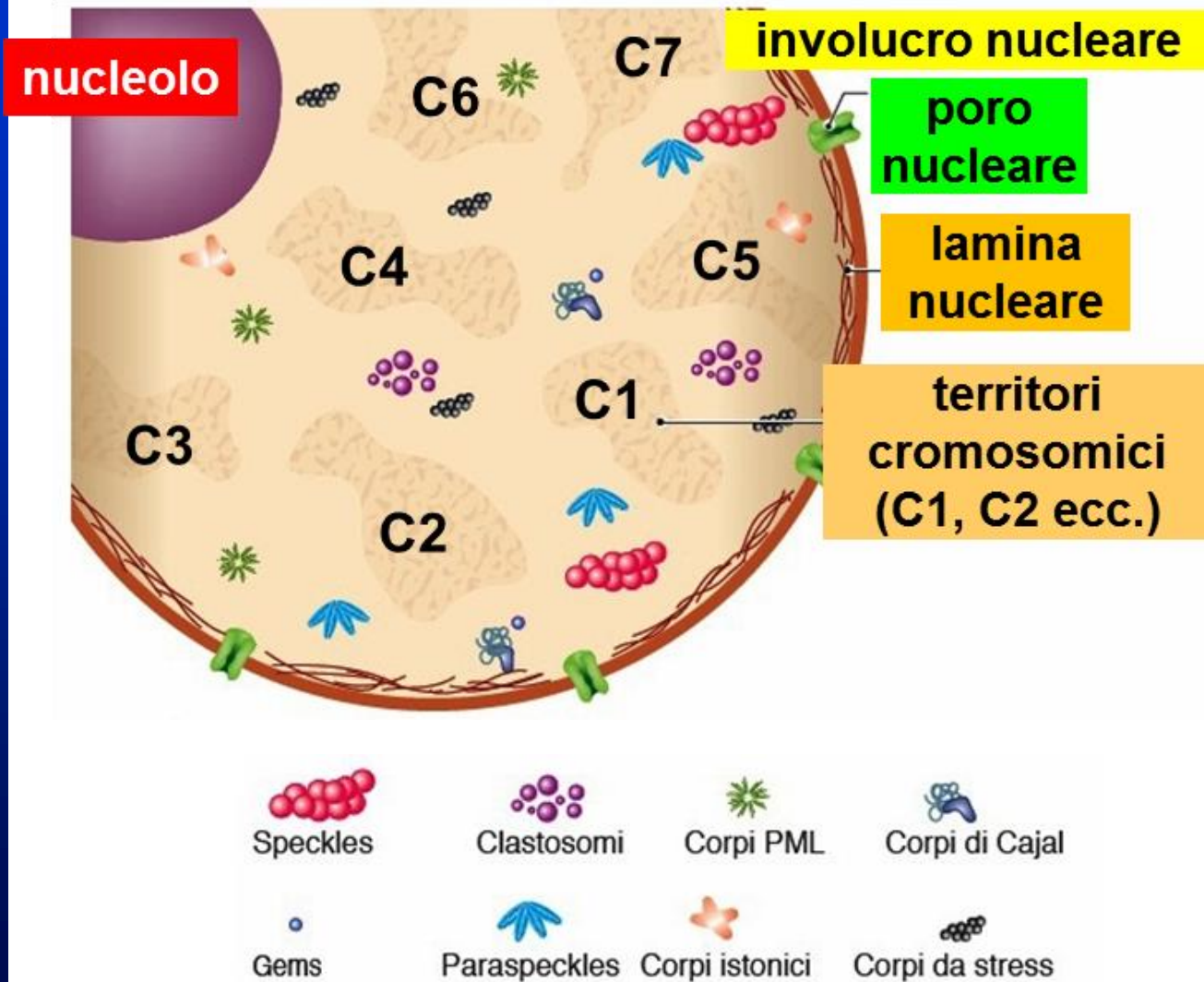
La **fosforilazione delle lamìne** determina la loro depolimerizzazione, con disgregazione dell'involucro nucleare. La **defosforilazione delle lamìne** induce la loro polimerizzazione e determina la riorganizzazione dell'involucro nucleare dopo la divisione cellulare.

L'importanza delle lamìne nell'organizzazione dell'involucro nucleare è indicata dal fatto che mutazioni nei geni che codificano per le lamìne sono responsabili di malattie dette **laminopatie**, che determinano fragilità nucleare e/o invecchiamento precoce.

Nome comune	Nome scientifico	No. cromosomico
Suino	<i>Sus scrofa</i>	38
Gatto	<i>Felis catus</i>	38
Uomo	<i>Homo sapiens</i>	46
Bufalo di fiume	<i>Bubalus bubalis</i>	50
Pecora	<i>Ovis aries</i>	54
Bovino	<i>Bos taurus</i>	60
Capra	<i>Capra hircus</i>	60
Asino	<i>Equus asinus</i>	62
Cavallo	<i>Equus caballus</i>	64
Cane	<i>Canis familiaris</i>	78

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## NUCLEOPLASMA COMPARTIMENTI SUBNUCLEARI



Il **NUCLEOPLASMA** è una matrice ricca di  $H_2O$ , ioni, proteine e DNA e ha un'organizzazione ben definita.

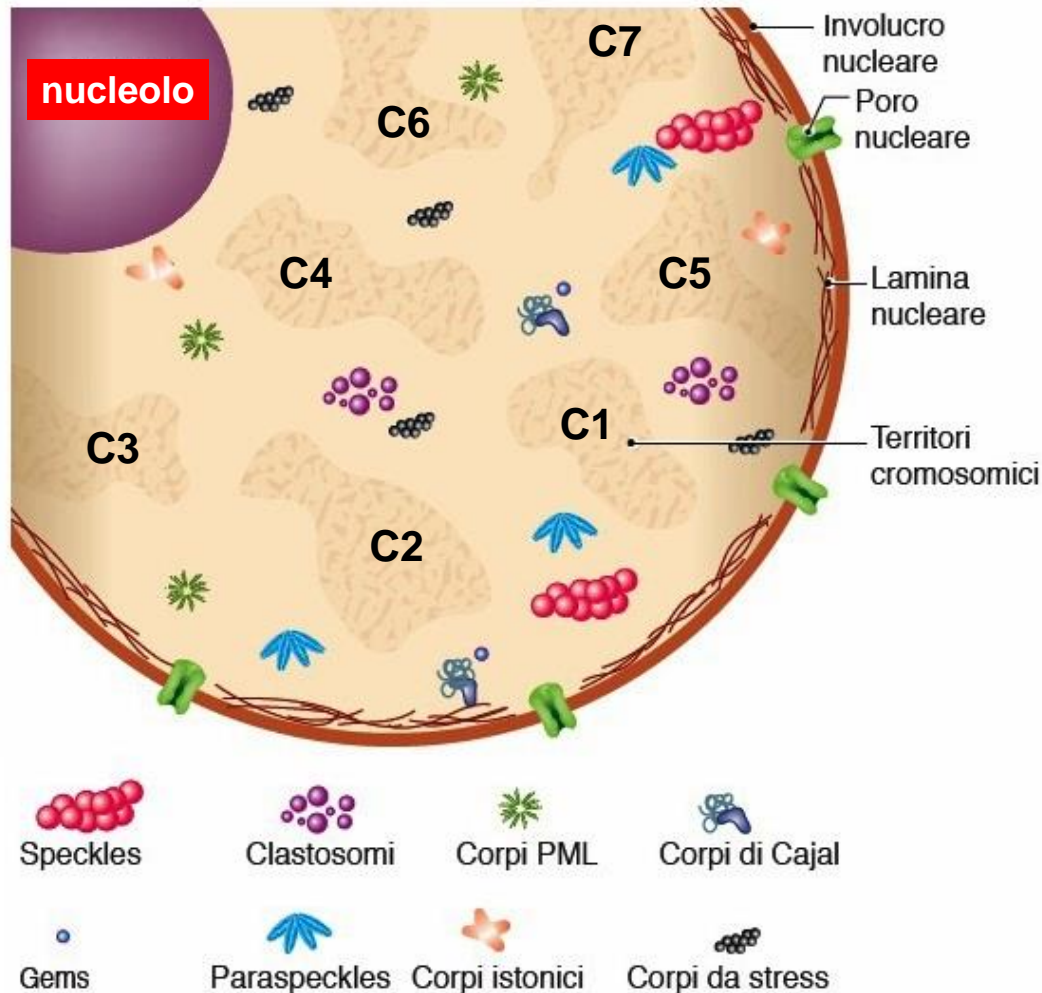
Nel nucleo la cromatina si organizza in maniera ordinata in specifici territori (**TERRITORI NUCLEARI**) e si ancora all'involucro nucleare per mezzo di interazioni con proteine.

Es: le fibre di cromatina che costituiscono un particolare cromosoma stanno in una determinata regione del nucleo che non si sovrappone mai ad altri domini nucleici (**territori cromosomici**).



# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## NUCLEOPLASMA COMPARTIMENTI SUBNUCLEARI



Nel nucleoplasma sono presenti organelli detti **CORPI NUCLEARI composti da DNA, proteine e RNA** che intervengono nella trascrizione, maturazione e trasporto degli RNA, nell'assemblaggio di ribonucleoproteine (RNP) e in processi di controllo del ciclo cellulare.

Differentemente dagli organelli citoplasmatici i corpi nucleari non sono delimitati da membrana.

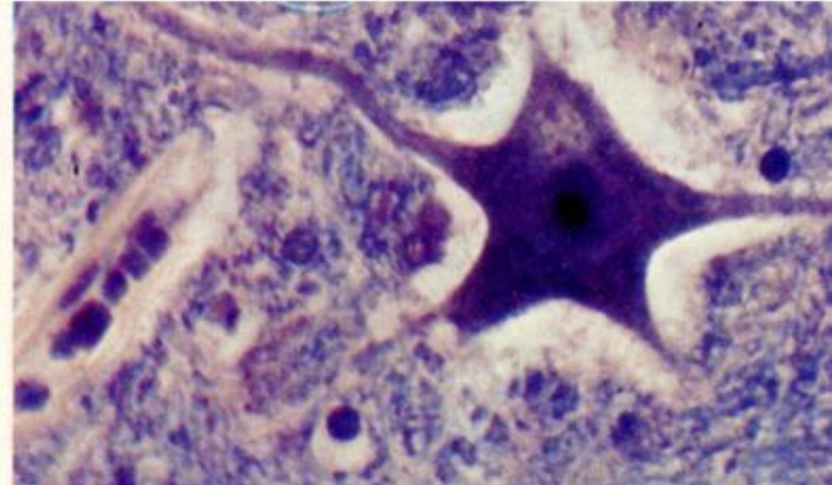
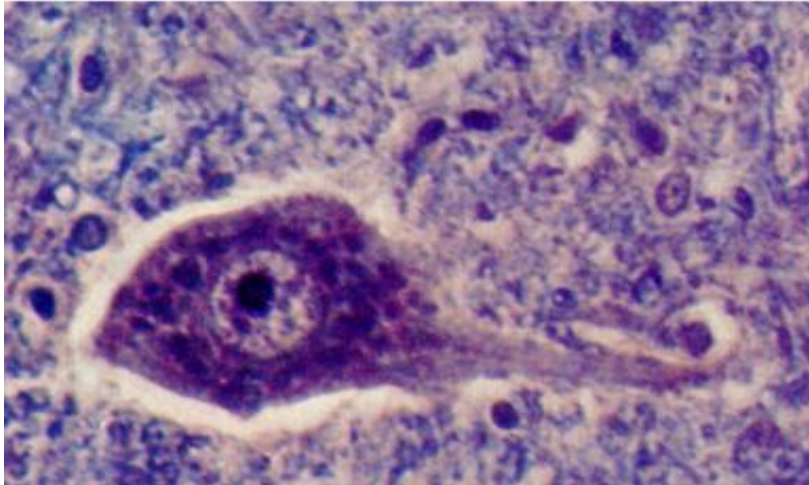
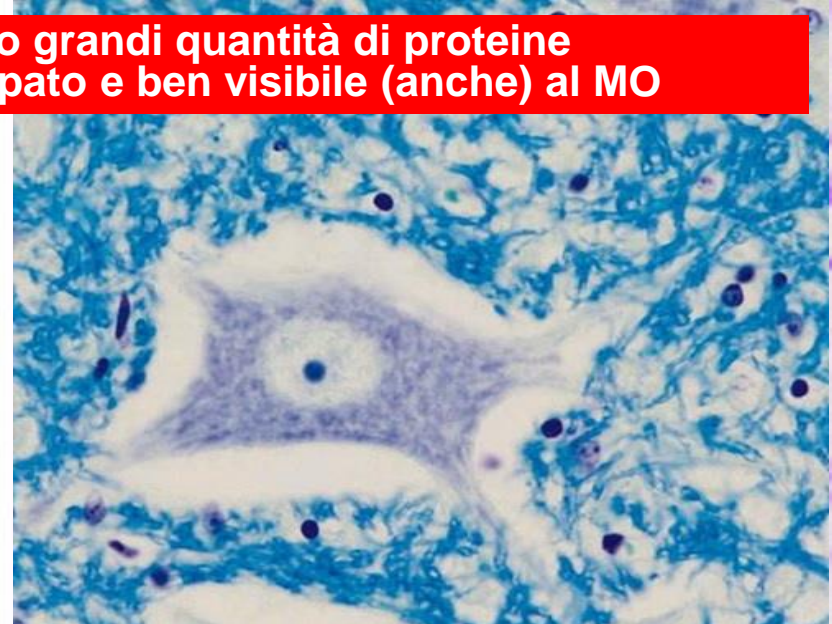
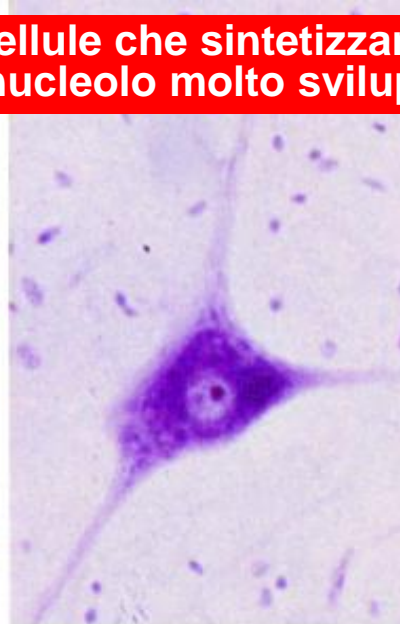
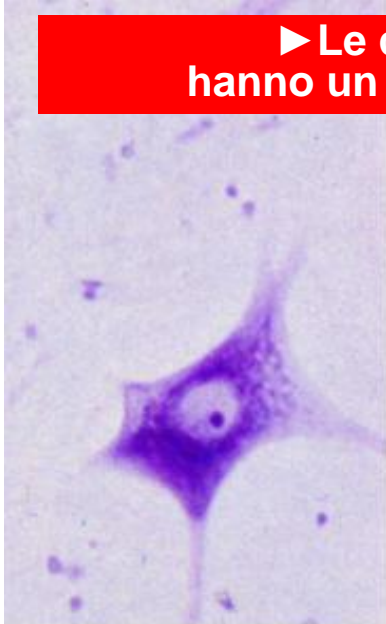
**Il NUCLEOLO è il corpo nucleare di dimensioni maggiori e può raggiungere un diametro di 8  $\mu\text{m}$ .**

**Il NUCLEOLO è l'unico CORPO NUCLEARE visibile al microscopio ottico.**

# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## NUCLEOLO

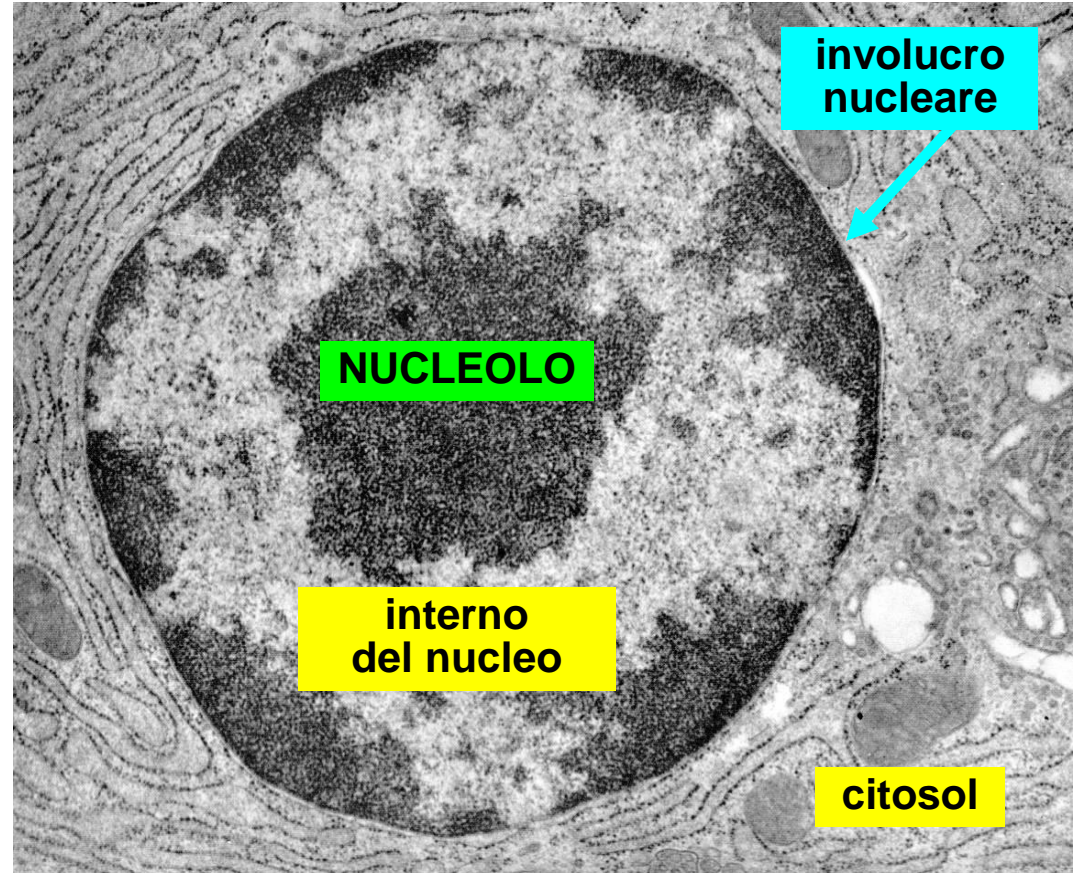
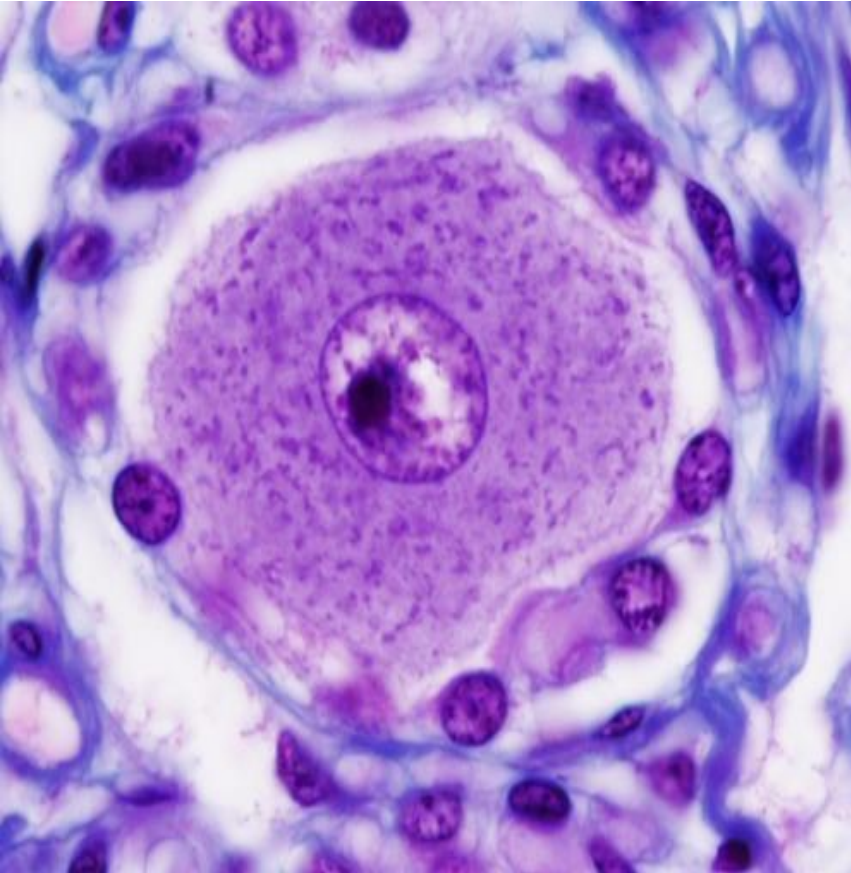
► Le cellule che sintetizzano grandi quantità di proteine hanno un nucleolo molto sviluppato e ben visibile (anche) al MO





# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## NUCLEOLO



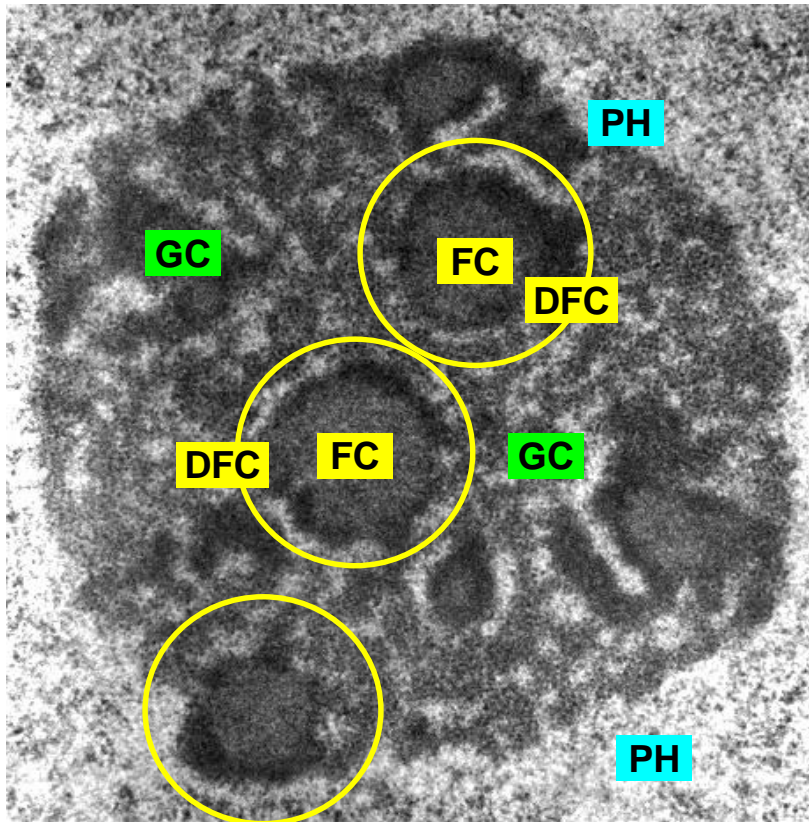
La maggior parte delle cellule contiene un singolo nucleolo.  
Le dimensioni e il numero di nucleoli sono correlati con l'attività TRASCRIZIONALE e TRADUZIONALE delle cellule.



# STRUTTURA E FUNZIONE DEL NUCLEO

## NUCLEOLO

### NUCLEOLO OSSERVATO AL TEM



FC = RNA ribosomiali

GC = subunità ribosomiali

Al TEM si distinguono due regioni distinte del nucleolo:

[1] **REGIONE FIBRILLARE** (DFC: componente fibrillare densa), caratterizzata dal **centro fibrillare (FC)** che contiene **regioni di DNA che codificano per gli rRNA**: geni ribosomiali trascrizionalmente attivi (cromatina poco condensata).

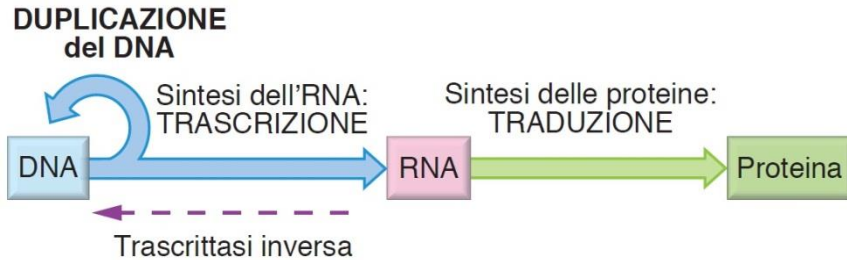
[2] **REGIONE GRANULARE** (GC: componente granulare) che contiene le **subunità ribosomiali** in vari stadi di assemblaggio. Il nucleolo, infatti, è la sede di sintesi dei ribosomi (costituiti da rRNA e proteine). Intorno al nucleolo è presente la **cromatina perinucleolare (PH)**.

Le **PROTEINE RIBOSOMALI** sono sintetizzate nel citoplasma e importate nel nucleo dove si associano nel nucleolo agli rRNA neosintetizzati.

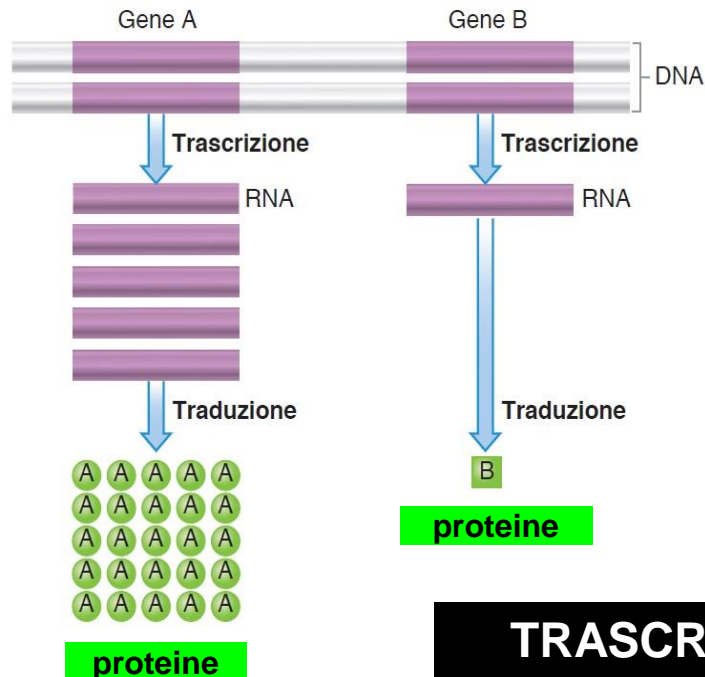
Dal nucleolo le **SINGOLE SUBUNITA' RIBOSOMALI** sono esportate nel citoplasma dai pori nucleari.

# TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

## DOGMA CENTRALE DELLA BIOLOGIA



### ESPRESSIONE GENICA



Le informazioni genetiche (per sintesi proteine), contenute nel DNA, sono espresse attraverso trascrizione e traduzione.

**Espressione genica:** processo per cui l'informazione genetica fluisce dal DNA all'RNA – **TRASCRIZIONE** – e dall'RNA alle proteine – **TRADUZIONE**.

Il principio della direzionalità del flusso informativo dal DNA all'RNA alle proteine è il dogma centrale della biologia.

I **virus ad RNA** sono un'eccezione poiché possono effettuare la trascrizione inversa grazie all'enzima **trascrittasi inversa**.

Ogni gene può essere espresso con efficienza diversa: **REGOLAZIONE ESPRESSIONE GENICA**. Una cellula può avere grandi quantità di certe proteine e scarse quantità di altre, o non averne affatto. Una cellula può regolare l'espressione dei suoi geni a seconda delle sue esigenze.

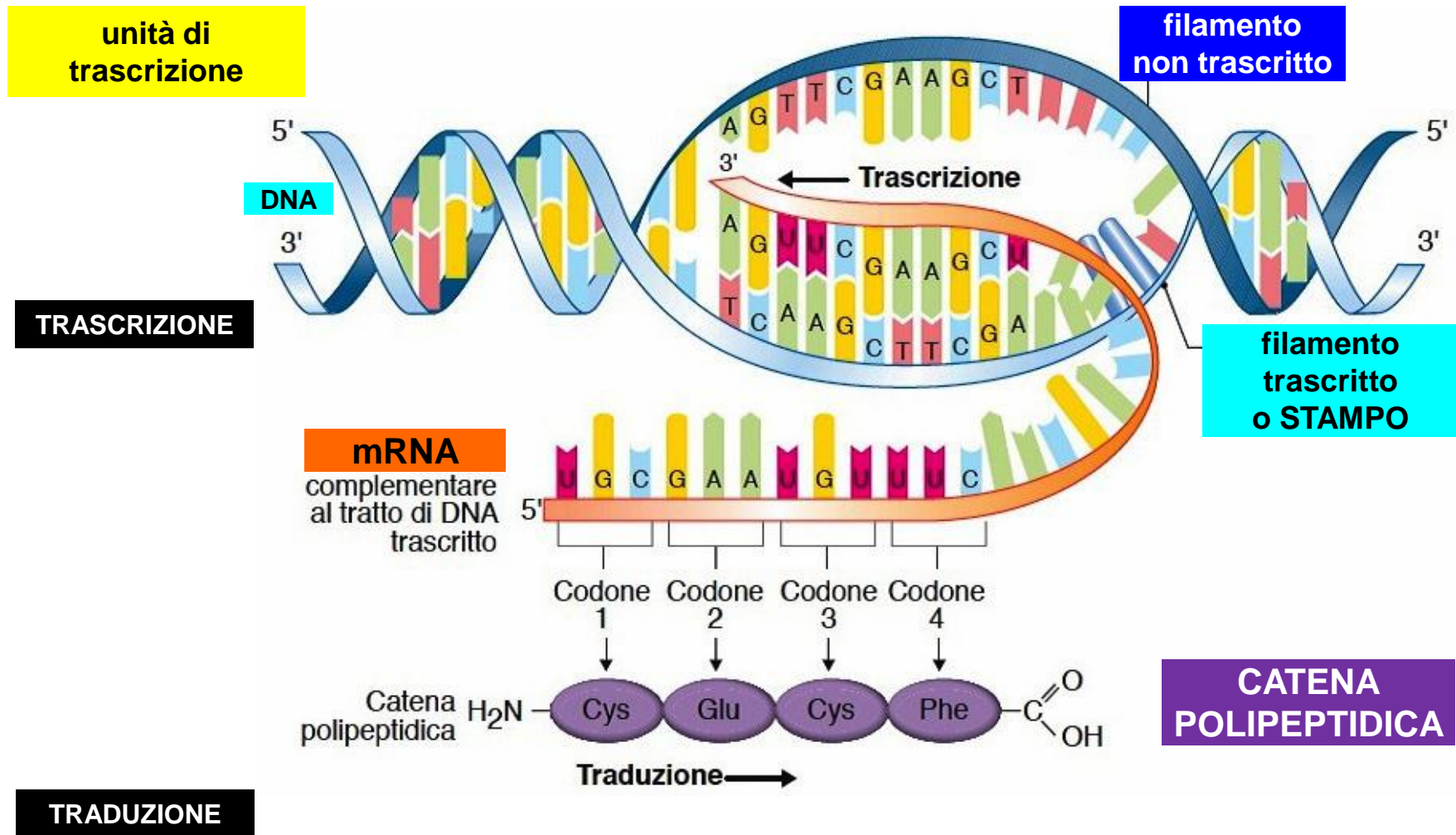
**TRASCRIZIONE = SINTESI di mRNA**

**TRADUZIONE = SINTESI delle PROTEINE**

# TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

## TRASCRIZIONE DEGLI RNA

### UNITÀ DI TRASCRIZIONE

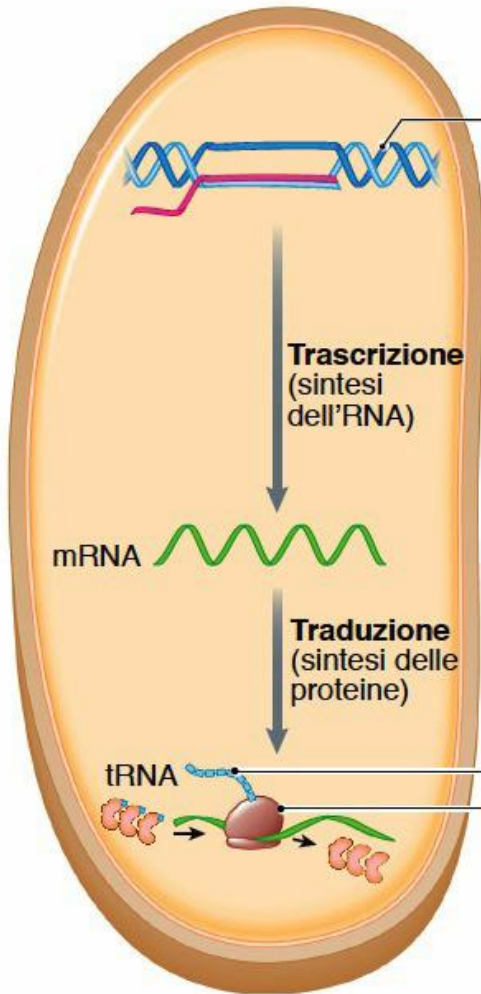




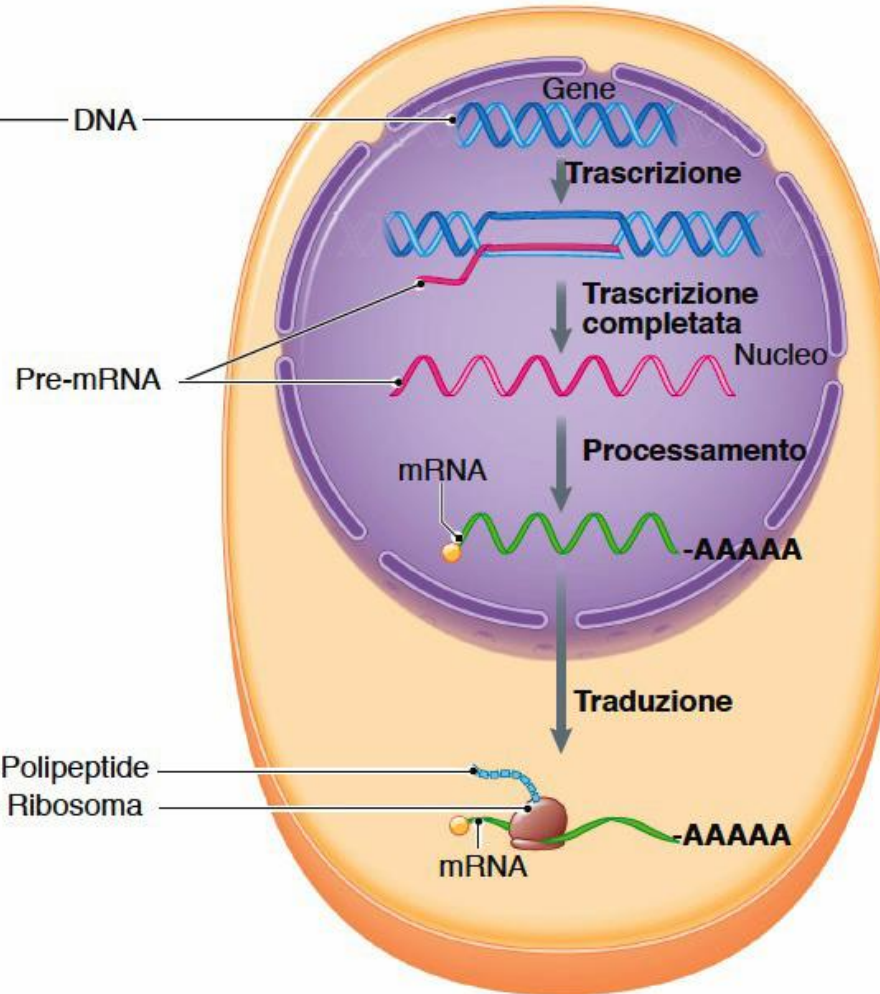
# TRASCRIZIONE E TRADUZIONE

## DIFFERENZA PROCARIOTI – EUCARIOTI

### CELLULA PROCARIOTICA



### CELLULA EUCARIOTICA



Nella **CELLULA PROCARIOTICA** (batterica) **che non ha nucleo**, l'mRNA prodotto nel citoplasma dalla trascrizione è immediatamente tradotto senza subire ulteriori modificazioni.

Nella **CELLULA EUCARIOTICA**, il nucleo separa nello spazio la trascrizione che avviene nel nucleo (ed è seguita dalla maturazione dell'RNA che avviene nel nucleo) dalla traduzione che avviene nel citoplasma.

# PROCARIOTI ED EUCARIOTI

Ricordiamo le differenze...

<i>Caratteristiche</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
▶ Involucro nucleare	Assente	Presente
▶ Organelli delimitati da membrane	Assenti	Presenti
▶ Cromosoma circolare	Presente (lineare in alcune specie)	Assente
▶ Numero di cromosomi	Tipicamente uno (possono essere presenti anche plasmidi)	Tipicamente molti
▶ Istoni associati al DNA	Assenti	Presenti
Peptidoglicano nella parete cellulare	Presente	Assente
Struttura dei lipidi di membrana	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei
▶ Dimensioni dei ribosomi	70S	80S, a eccezione di quelli di mitocondri e cloroplasti
RNA polimerasi	Una sola	Diverse
Traduzione	Inizia con la formilmetionina	Inizia con la metionina
Crescita sopra i 70°C	Sì	No