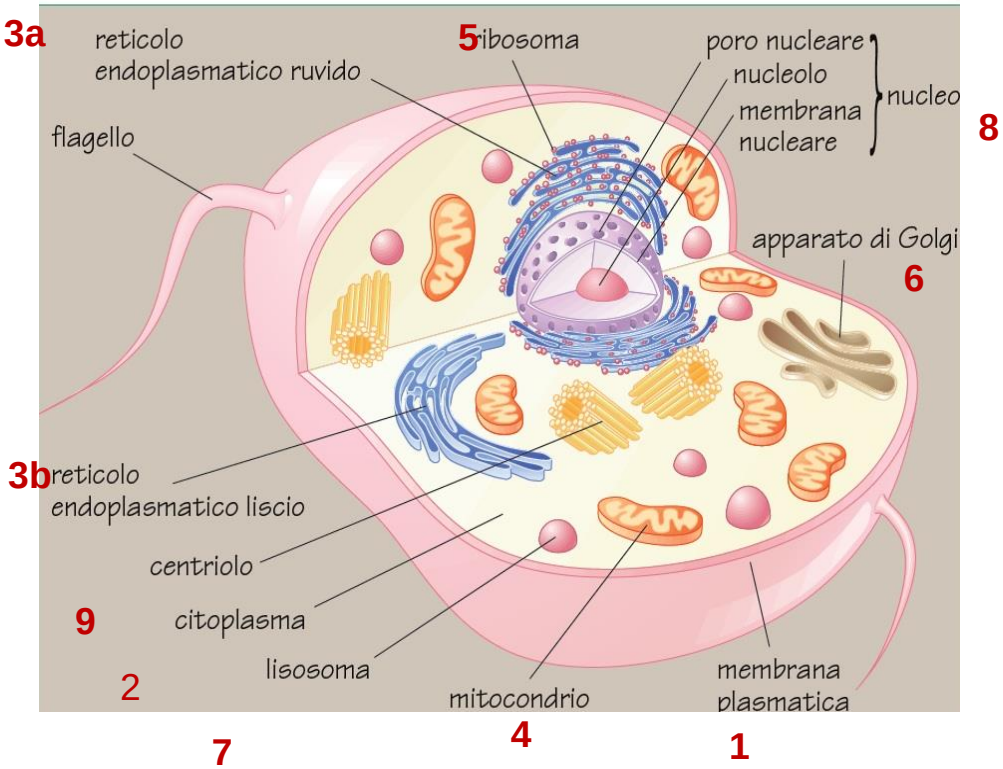
2a. ORGANIZZAZIONE DEL MATERIALE EREDITARIO: Basi cromosomiche dell'ereditarietà

LA CELLULA

- **La cellula (dal latino, piccola camera) è l'unità fondamentale di tutti gli organismi viventi, la più piccola struttura ad essere classificabile come vivente.**

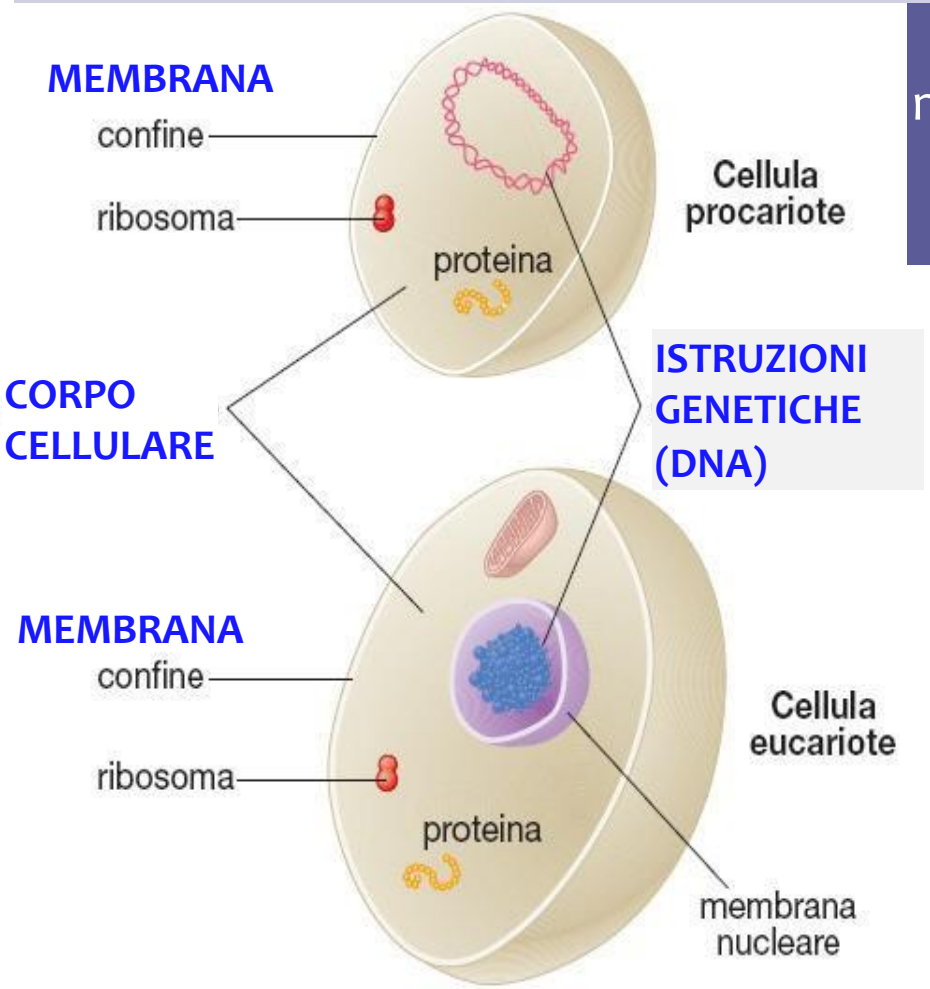


- Tutti gli organismi viventi sono formati da cellule
- Le cellule sono le unità di base di struttura e funzione dei viventi
- Nuove cellule sono prodotte da cellule esistenti

Tutte le cellule sono dotate di

MEMBRANA
CITOPLASMA

ISTRUZIONI GENETICHE



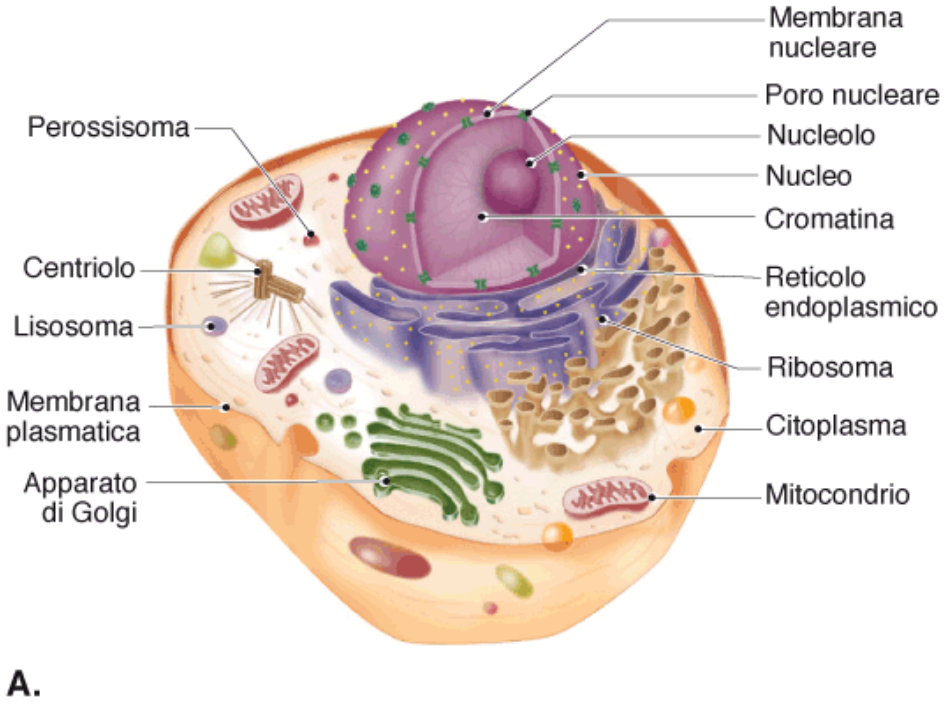
PROCARIOTE:
materiale genetico **NON CIRCONDATO** da membrana.
COMPARTIMENTO UNICO

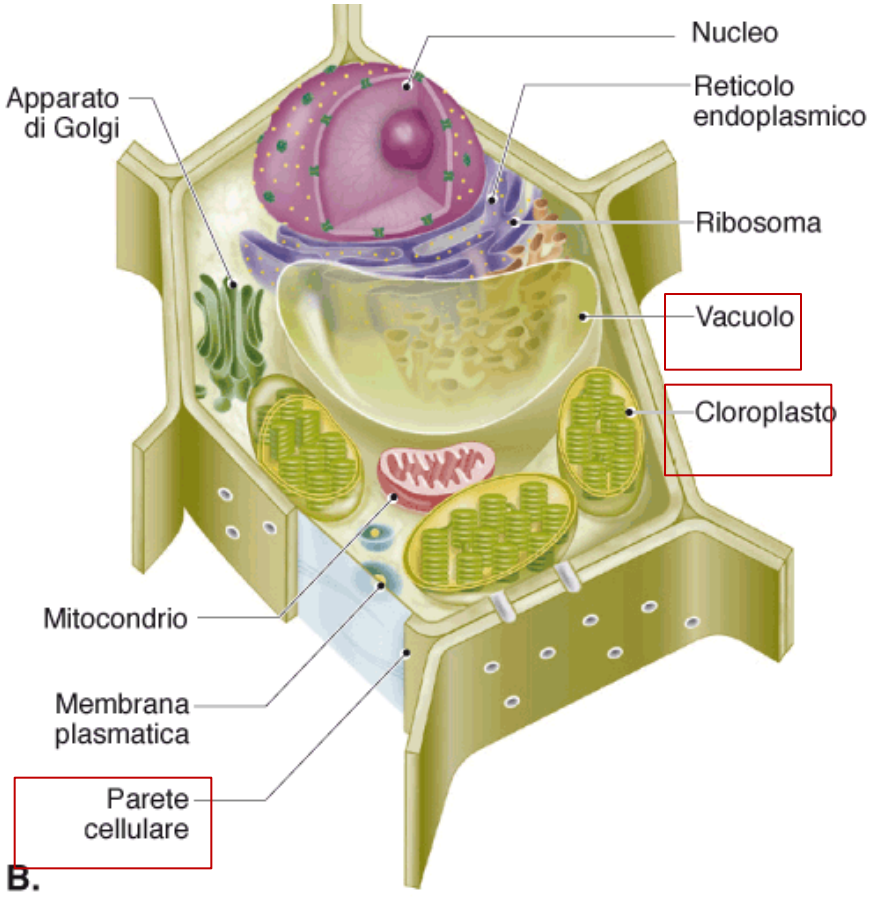
EUCARIOTE:
materiale genetico CIRCONDATO da membrana.
PIU' COMPARTIMENTI

Principali organelli del citoplasma cellulare

Organello	Funzione	Dove
Mitocondrio	Produzione di energia	Cellule animali e vegetali
Cloroplasto	Fotosintesi	Solo cellule vegetali
Reticolo endoplasmatico	Trasporto di sostanze Supporto dei ribosomi	Cellule animali e vegetali
Ribosoma	Montaggio delle proteine	Cellule animali e vegetali
Apparato di Golgi	Impacchettamento e smistamento di sostanze	Cellule animali e vegetali
Lisosoma	Digestione di sostanze	Cellule animali e vegetali
Vacuolo	Eliminazione di sostanze	Cellule animali e vegetali. Nelle cellule vegetali è spesso di grandi dimensioni
Nucleo	Direzione delle attività della cellula	Cellule eucarioti animali e vegetali

Struttura ed organizzazione di una cellula eucariotica animale (A) e vegetale (B)





NUCLEO

- Il nucleo ha un **ruolo importante nella eredita e divisione cellulare**.
- Eredità: ciò che si eredità dai genetori tramite i geni (i geni sono localizzati sui cromosomi)
- Divisione cellulare: come sono prodotte nuove cellule

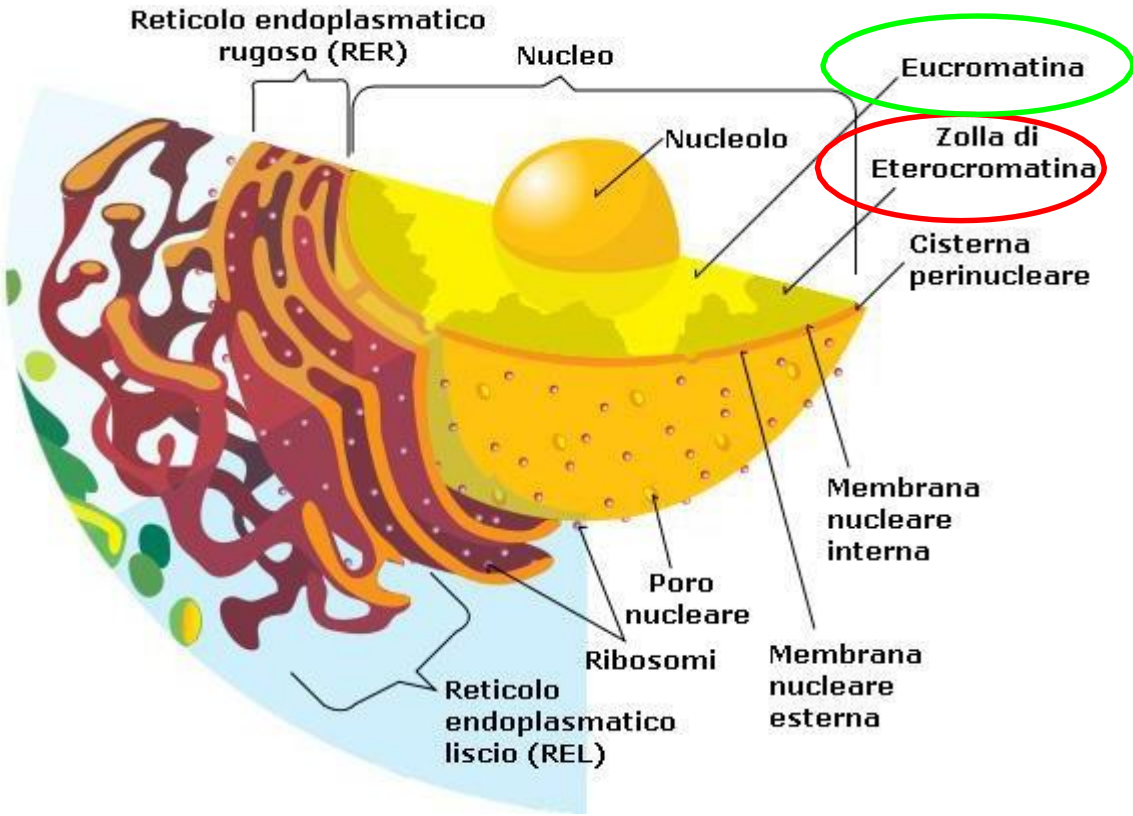
STRUTTURA

❑ Il nucleo è formato da

quattro componenti

principali:

- Membrana nucleare o involucro nucleare
- Nucleoscheletro
- **Cromatina**
- Nucleolo



CROMATINA

- E' un complesso di DNA, proteine ed RNA.

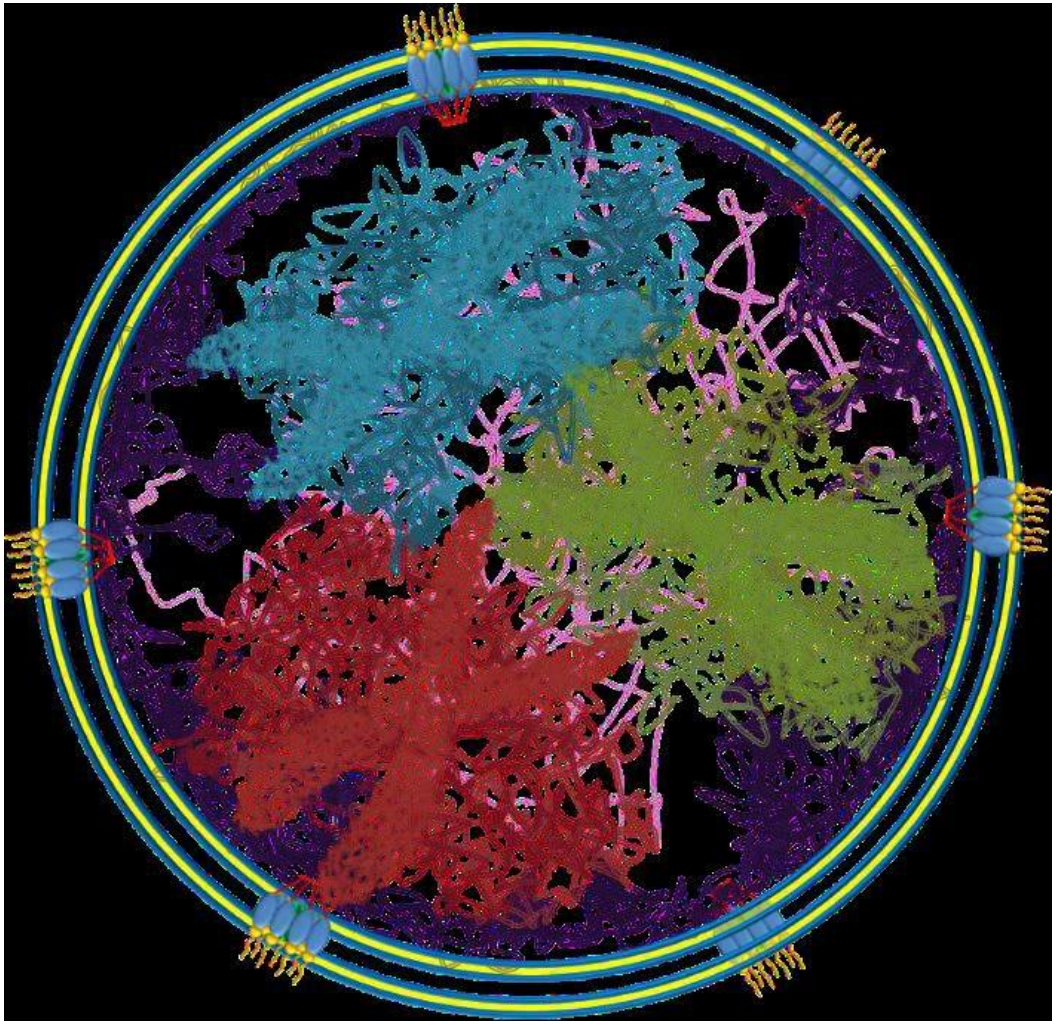
Tabella 13.2 Composizione della cromatina (i valori sono espressi in % del peso secco)

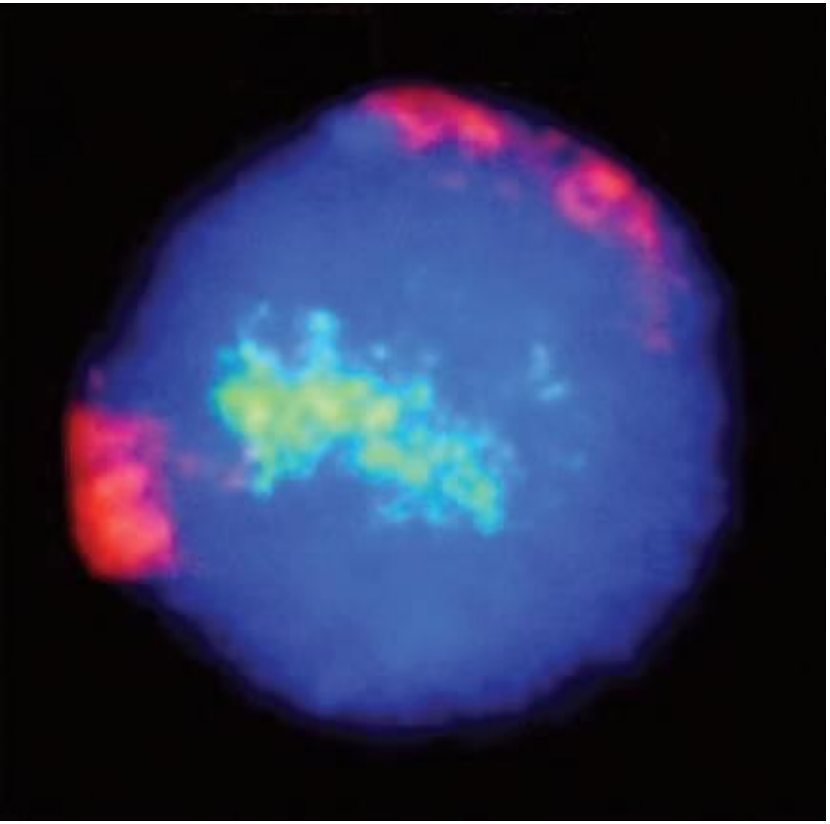
Componente	Fegato	Embrione di pisello
DNA	31	31
RNA	5	17,5
Istone	36	33
Proteine non istoniche	28	18

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.





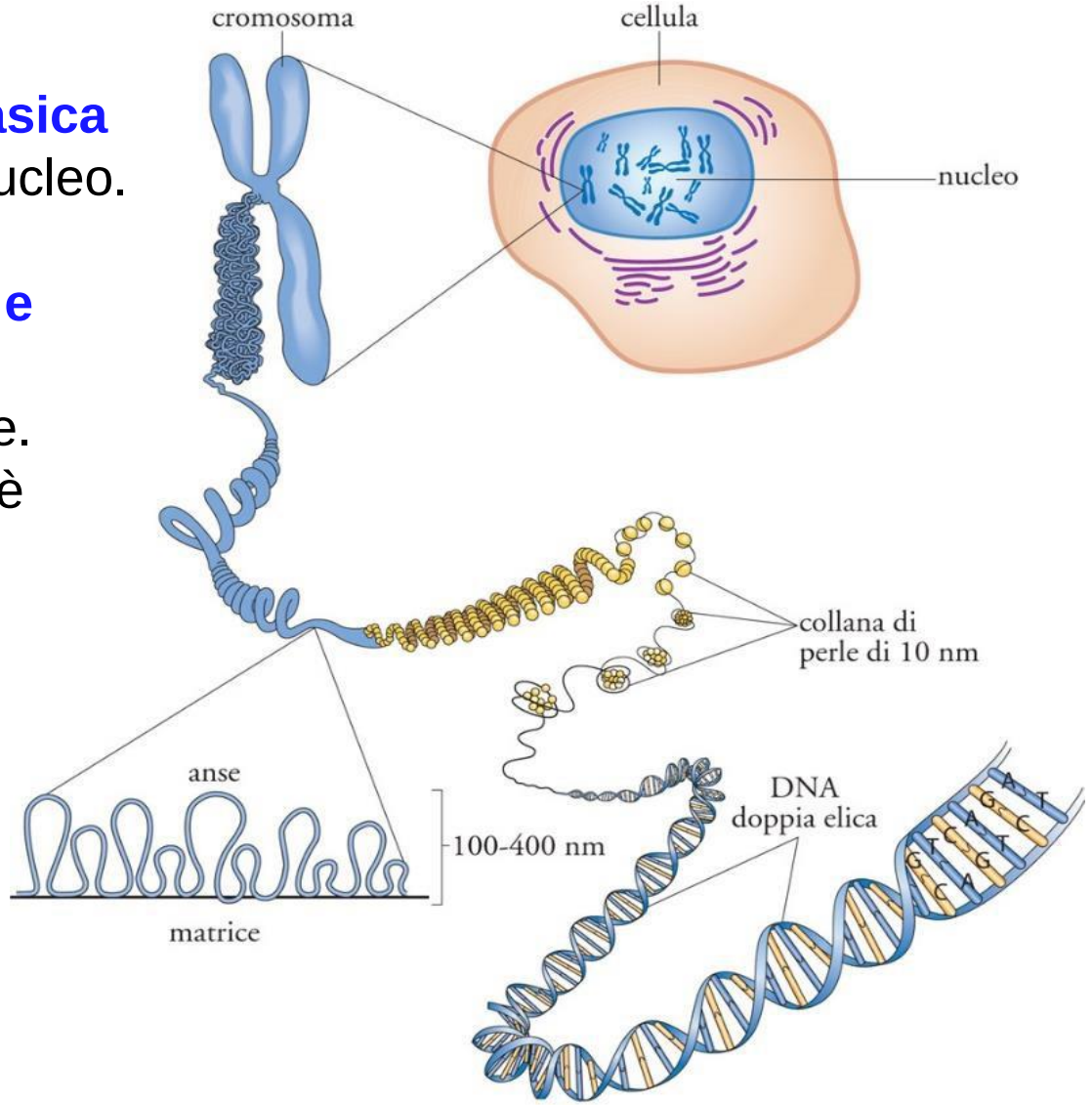
- **Certe regioni entro un dato cromosoma possono essere riscontrate in localizzazioni specifiche**
- Regioni eterocromatiche sono spesso associate con la membrana nucleare
  - In mammiferi, il cromosoma X silenziato è spesso localizzato presso la membrana nucleare
  - Telomeri di lievito si addensano alla membrana nucleare

- I cromosomi umani n.18 and 19 hanno dimensioni simili
  - la regione ricca in geni del cr. 19 (verde) si riscontra in prossimità centrale del nucleo,
  - la regione povera in geni del cr. 18 (rosa) si riscontra in posizione periferica

CROMATINA

➢ Cromatina: DNA (eucariotico) + proteine

- ➢ Si tratta di una **sostanza basica** che occupa gran parte del nucleo.
- ➢ È costituita da **DNA (~ 40% e proteine (~ 60%)** che ne permettono la spiralizzazione.
- ➢ la **struttura** della cromatina è **dinamica**,
  - cioè cambia stato di condensazione
- ➢ Si ricompatta formando i cromosomi



-Le proteine non-istoniche sono proteine eterogenee con caratteristiche meno costanti delle proteine istoniche

Mobilità elettroforetica delle varie classi di Istoni.

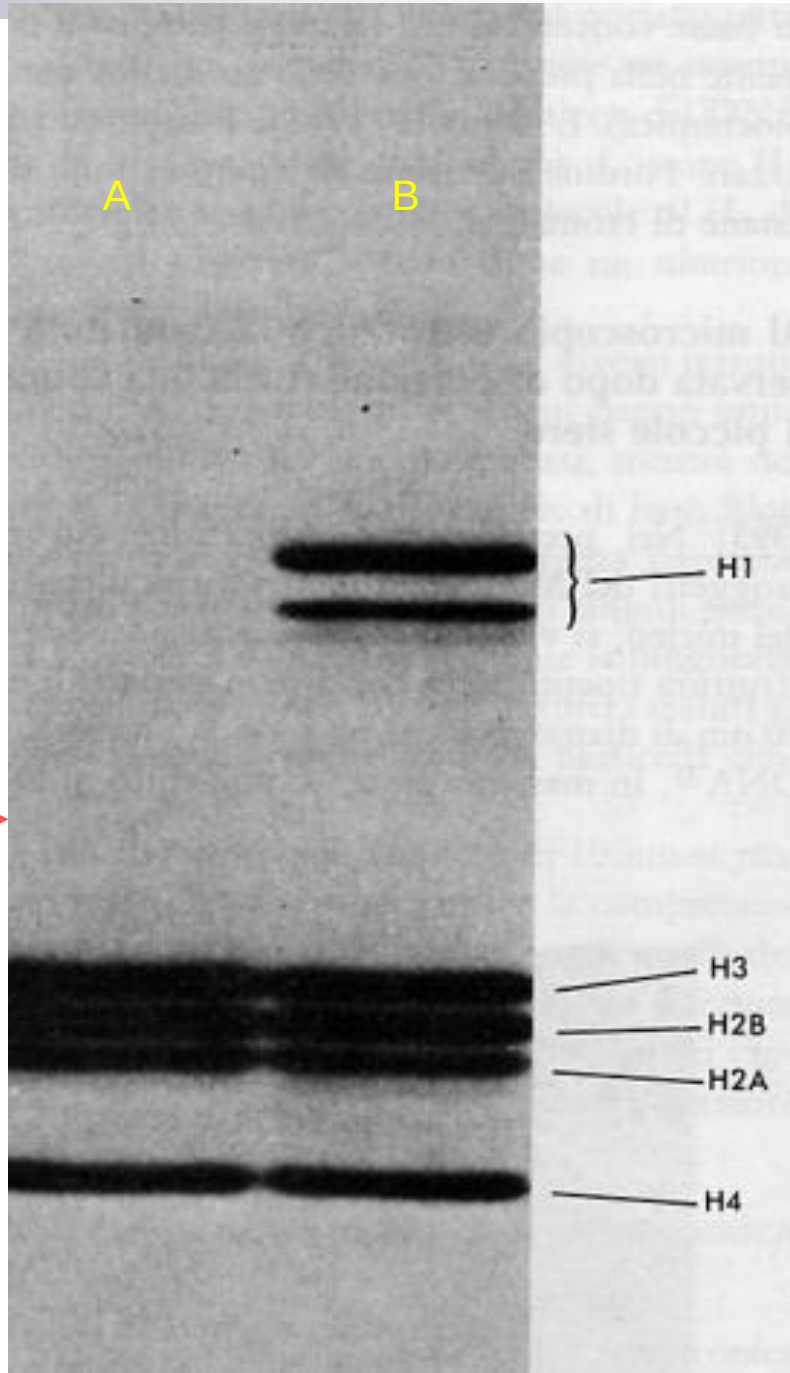
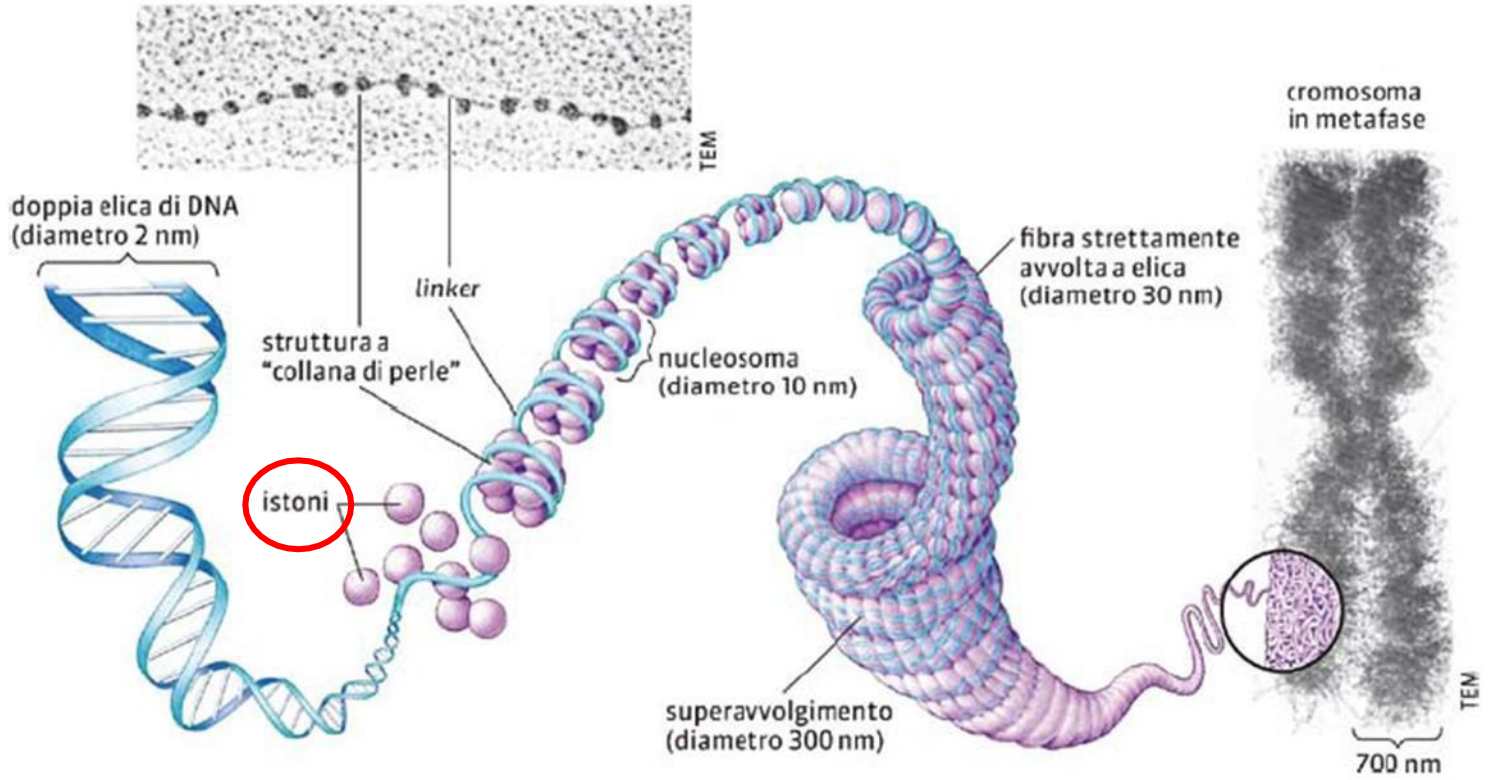


Figura 13.12 Elettroforesi di proteine istoniche su gel di poliacrilamide contenente sodio-dodecilsolfato. (A) istoni della particella centrale del nucleosoma che non contengono H_P (B) istoni della cromatina totale. Notare che i quattro tipi fondamentali degli istoni sono presenti in quantità uguali. (Per concessione di Jean O. Thomas.)

Qual è la differenza tra proteine istoniche e non istoniche?

Proteine istoniche	vs	Proteine non Istoniche
Le proteine istoniche sono il principale componente proteico della cromatina.		Le proteine non istoniche sono componenti della cromatina.
Funzione principale		**Funzione principale**
Agiscono come bobine per il DNA da avvolgere e diventano più corte in lunghezza.		Agiscono principalmente come proteine di impalcatura per il DNA.
Tipi		**Tipi**
H1 / H5, H2A, H2B, H3 e H4 sono tipi di istoni.		Le proteine dell'impalcatura, la proteina 1 dell'eterocromatina, la DNA polimerasi, il Polycomb, ecc. Sono alcuni tipi di non istoni.
Coinvolgimento del nucleosoma		**Coinvolgimento del nucleosoma**
Le proteine istoniche sono le proteine centrali di un nucleosoma.		Le proteine non istoniche non fanno parte di un nucleosoma.
Sequenza conservata		**Sequenza conservata**
Le proteine istoniche sono conservate tra le specie.		Le proteine non istoniche non sono conservate tra le specie.
Ruolo nell'espressione genica		**Ruolo nell'espressione genica**
Le proteine istoniche sono coinvolte nella regolazione dell'espressione genica		Le proteine non istoniche non sono coinvolte nella regolazione dell'espressione genica



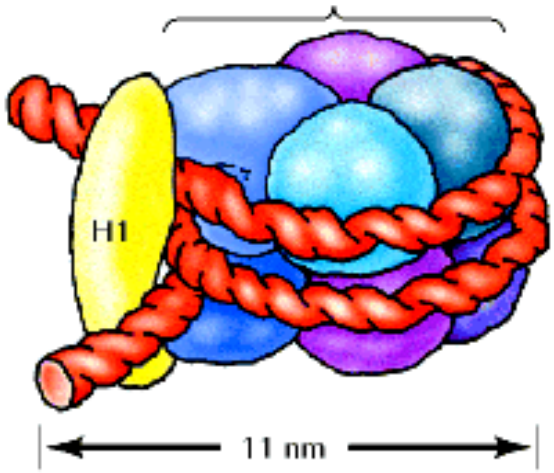
ISTONI: sono le proteine principali della cromatina

H1
H2A
H2B
H3
H4

- **Alta % di aminoacidi basici,**
- **Lys e Arg**: facilitano il legame alla molecola di DNA carica negativamente agli istoni,
- **Istoni,** oltre a neutralizzare le cariche negative del DNA – cosa che permette a diverse molecole di DNA addossate l'una all'altra di non respingersi -, sono le **proteine responsabili del grado di compattamento** della cromatina stessa

Nucleosoma

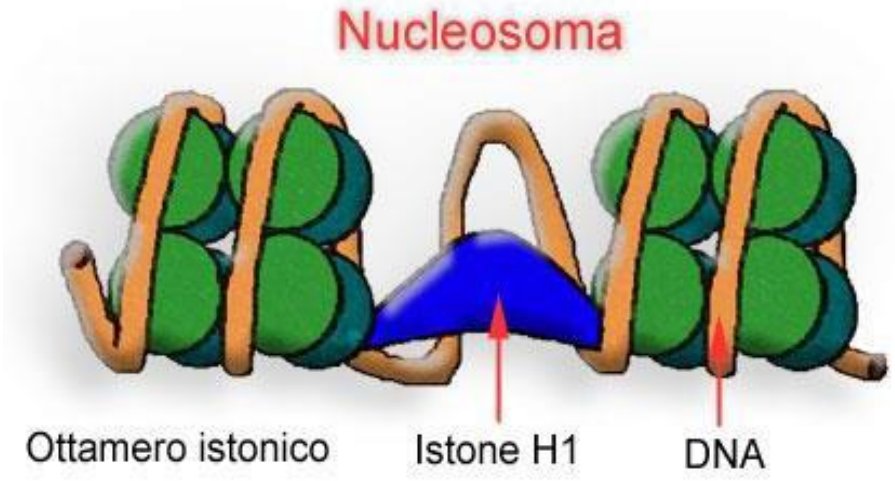
- Ciascun nucleosoma contiene una particella centrale (**CORE**) formata da **146 coppie di basi di DNA** **s**uper-avvolto che gira per quasi due volte intorno ad un complesso a forma di disco formato da otto **ISTONI**.

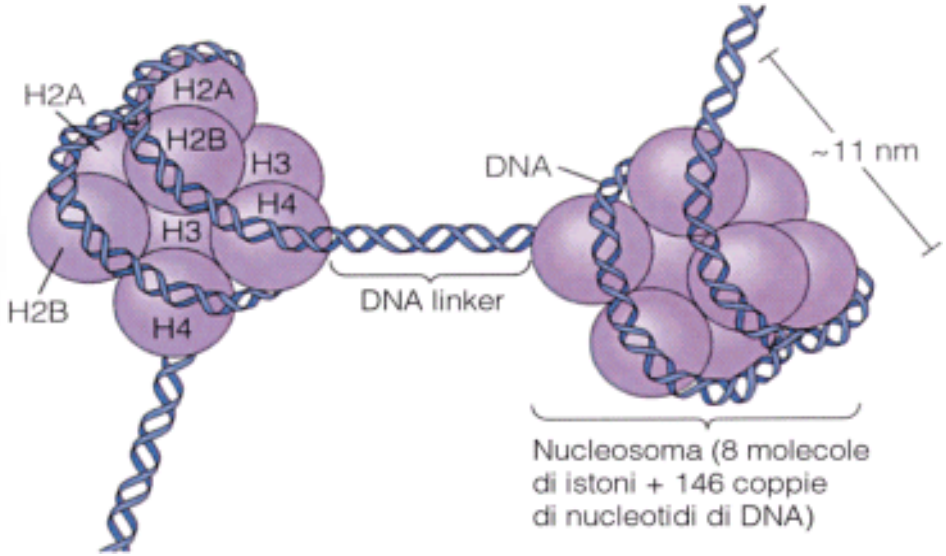


2 X H2A
2 X H2B
2 X H3
2 X H4

- 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.

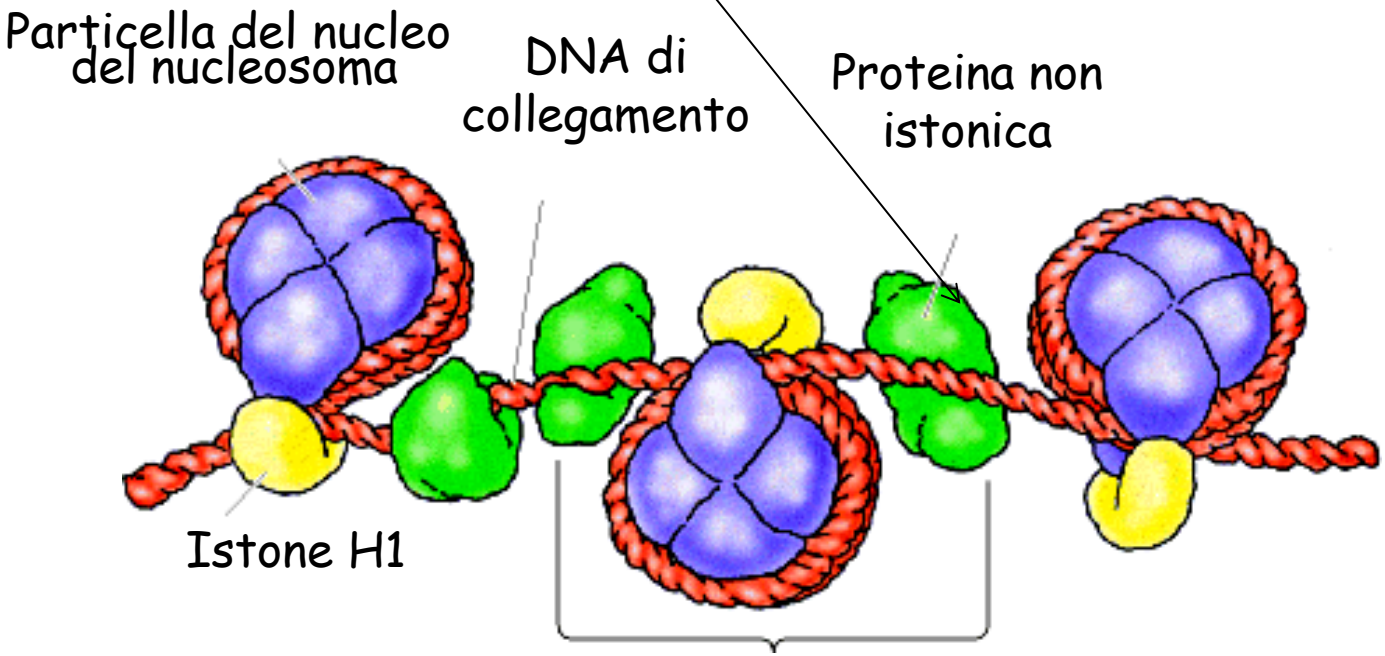
✓ Una molecola di **istone H1 tiene bloccati** in posizione **due giri di DNA** sul nucleosoma





Cromatina e 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.

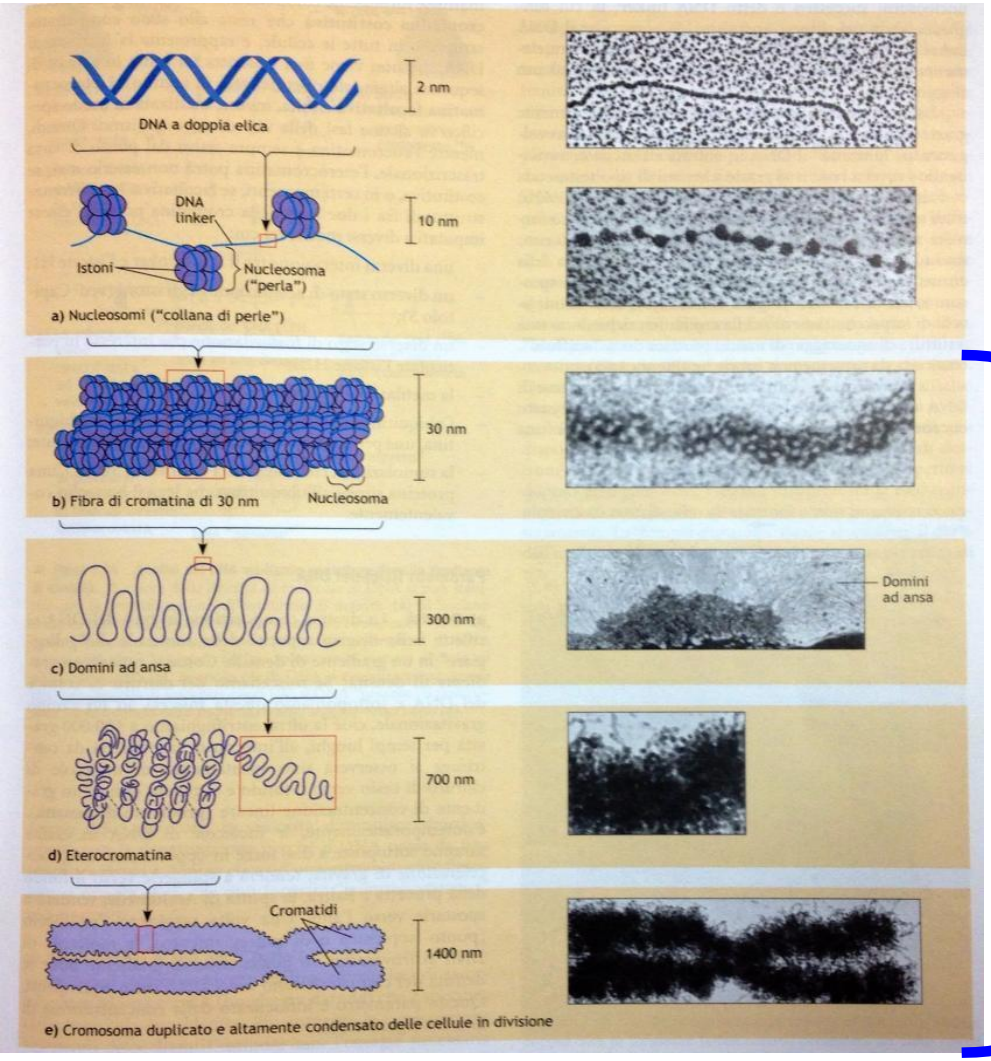


Nucleosomi:
componente fondamentale dei cromosomi

- **La lunghezza del DNA linker può variare in organismi diversi**

Specie	Unità di ripetizione (bp)	DNA linker (bp)
S. cerevisiae	160-165	13-18
S. purpuratus	ca. 200	ca. 110
D. melanogaster	ca. 180	ca. 33
H. sapiens	185-200	38-53

CROMATINA E CROMOSOMI

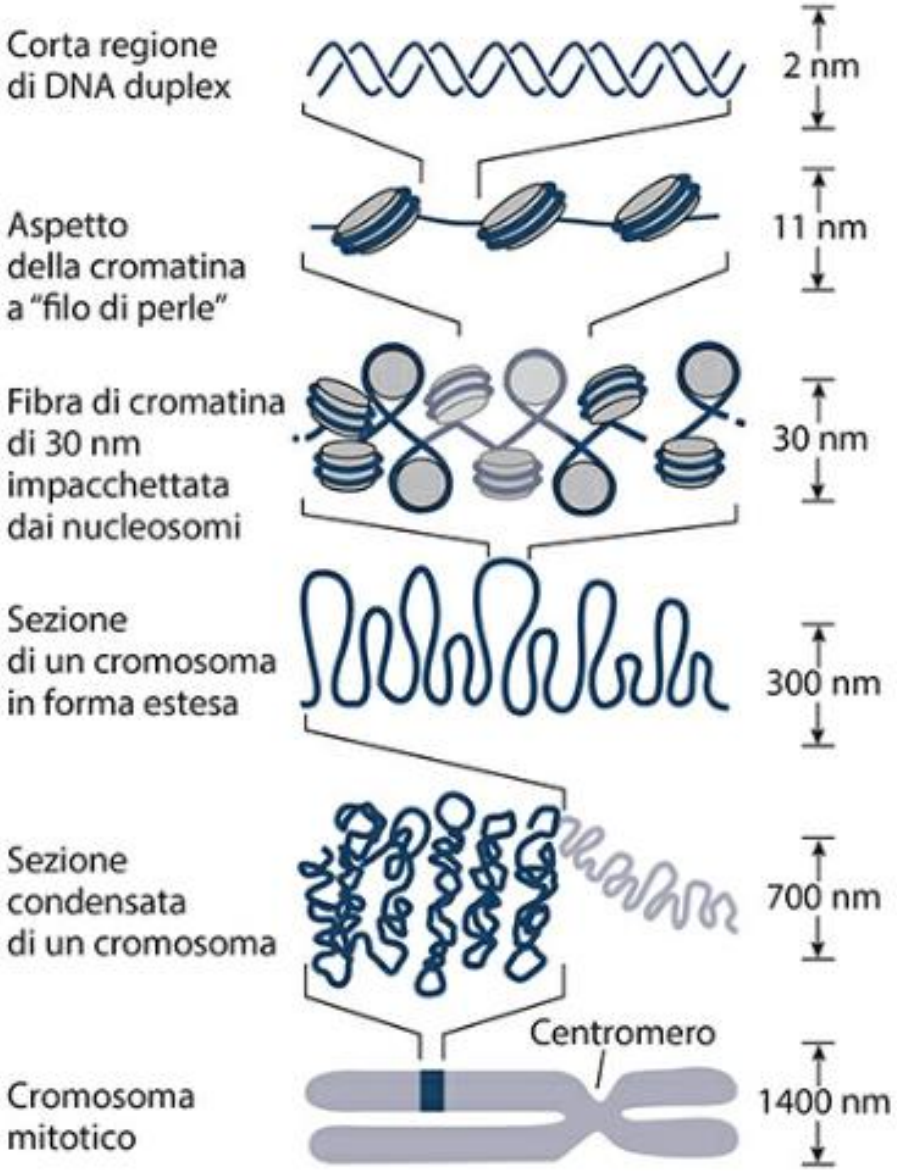


➢ **Livelli superiori di organizzazione della cromatina**

- **Fibra di cromatina di 30 nm**
- **Domini ad ansa**
- **Eterocromatina**
- **Cromosoma**

CROMATINA E CROMOSOMI

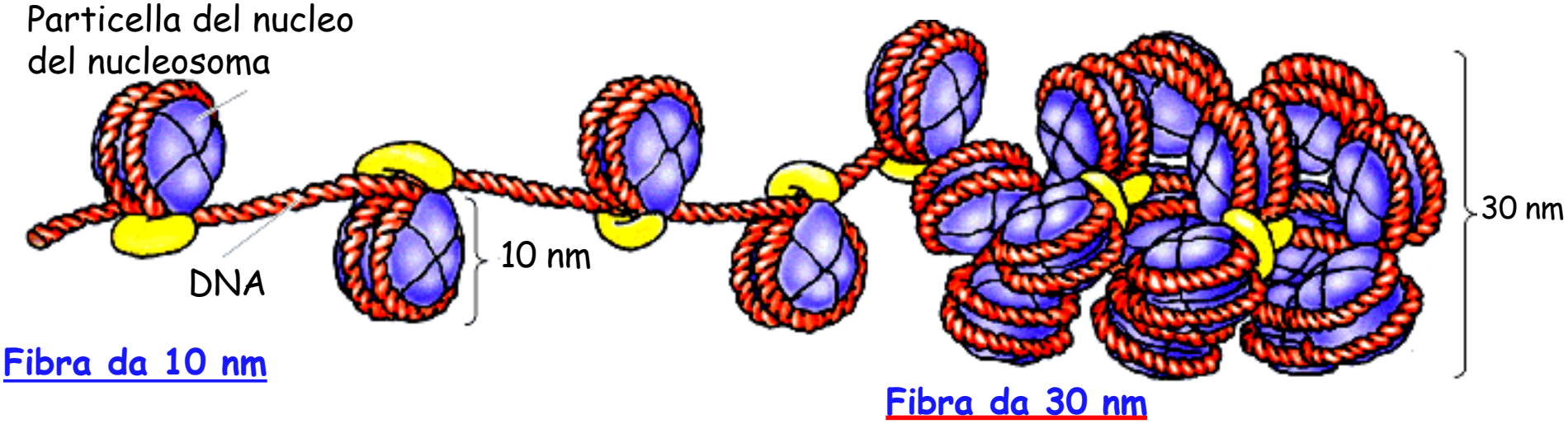
Livelli superiori di organizzazione della cromatina



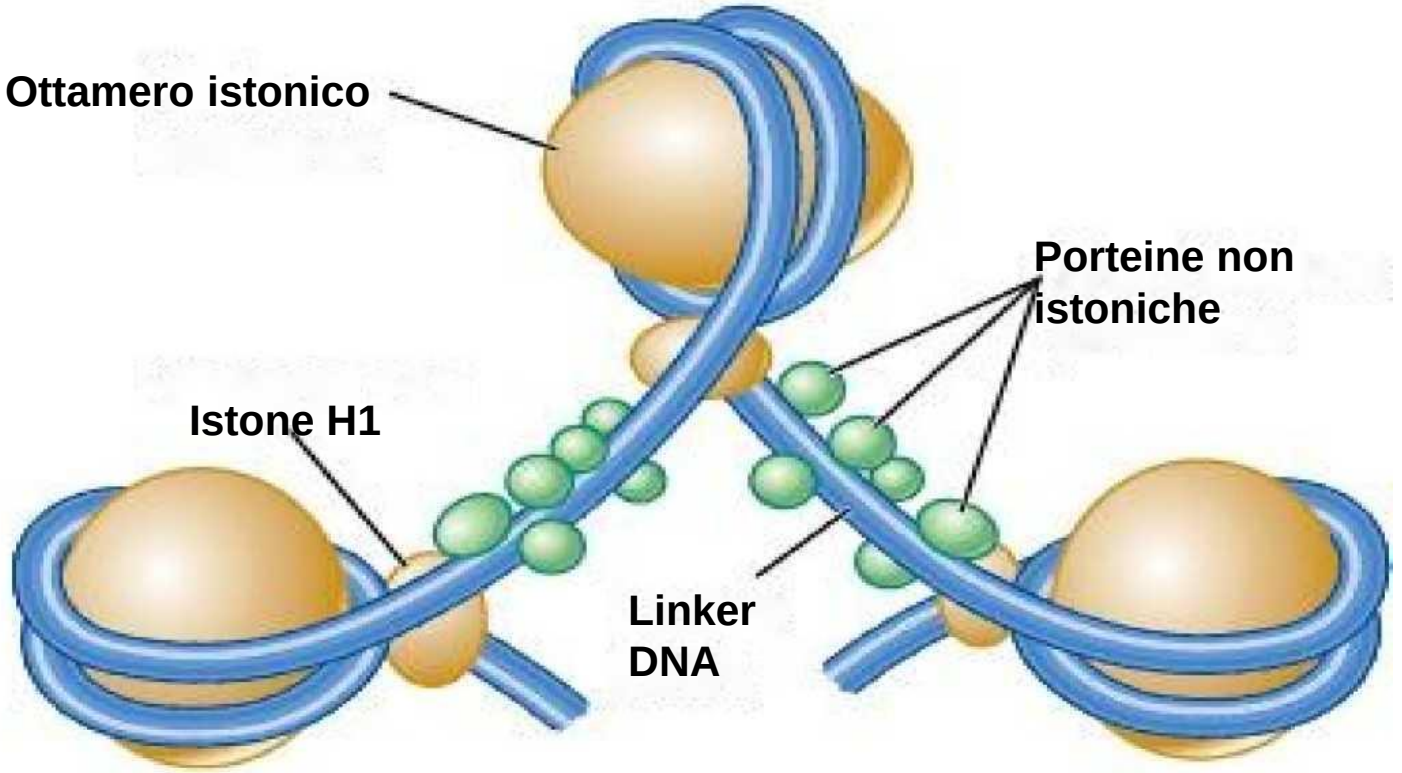
Rappresentazione dei diversi livelli di avvolgimento della cromatina, dallo stadio a "filo di perle" (11 nm di spessore) al cromosoma metafasico (1400 nm. di spessore).

Cromatina

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



Nucleosomi sono compattati per formare la fibra di 30 nm

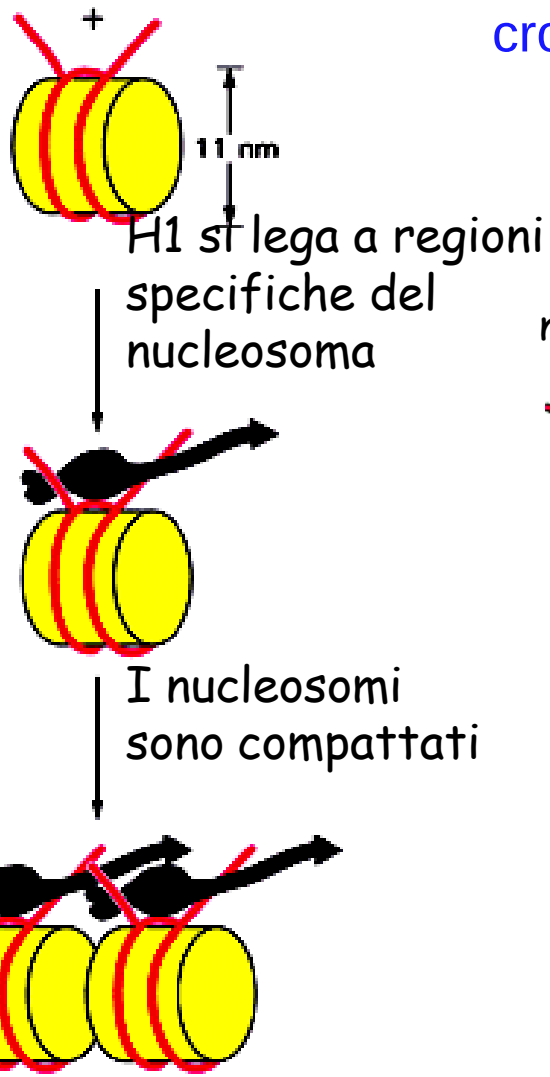


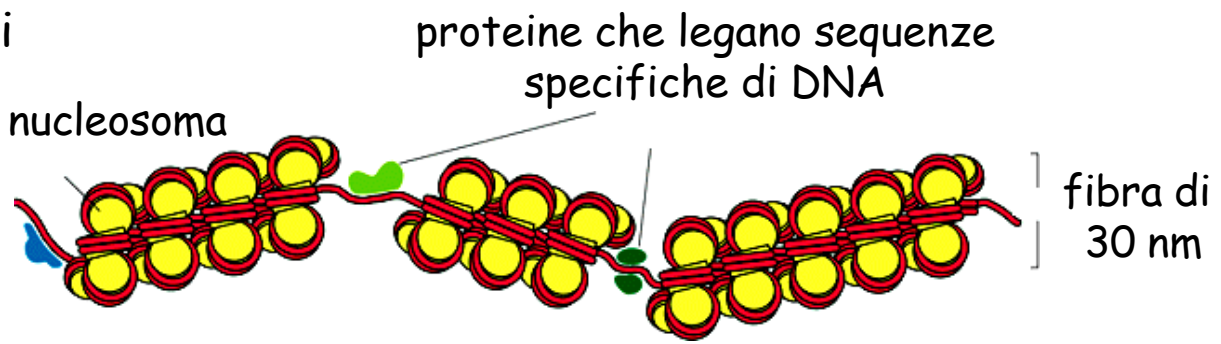
(b) **Nucleosomi che mostrano istoni linker e proteine non istoniche**

Cromatina



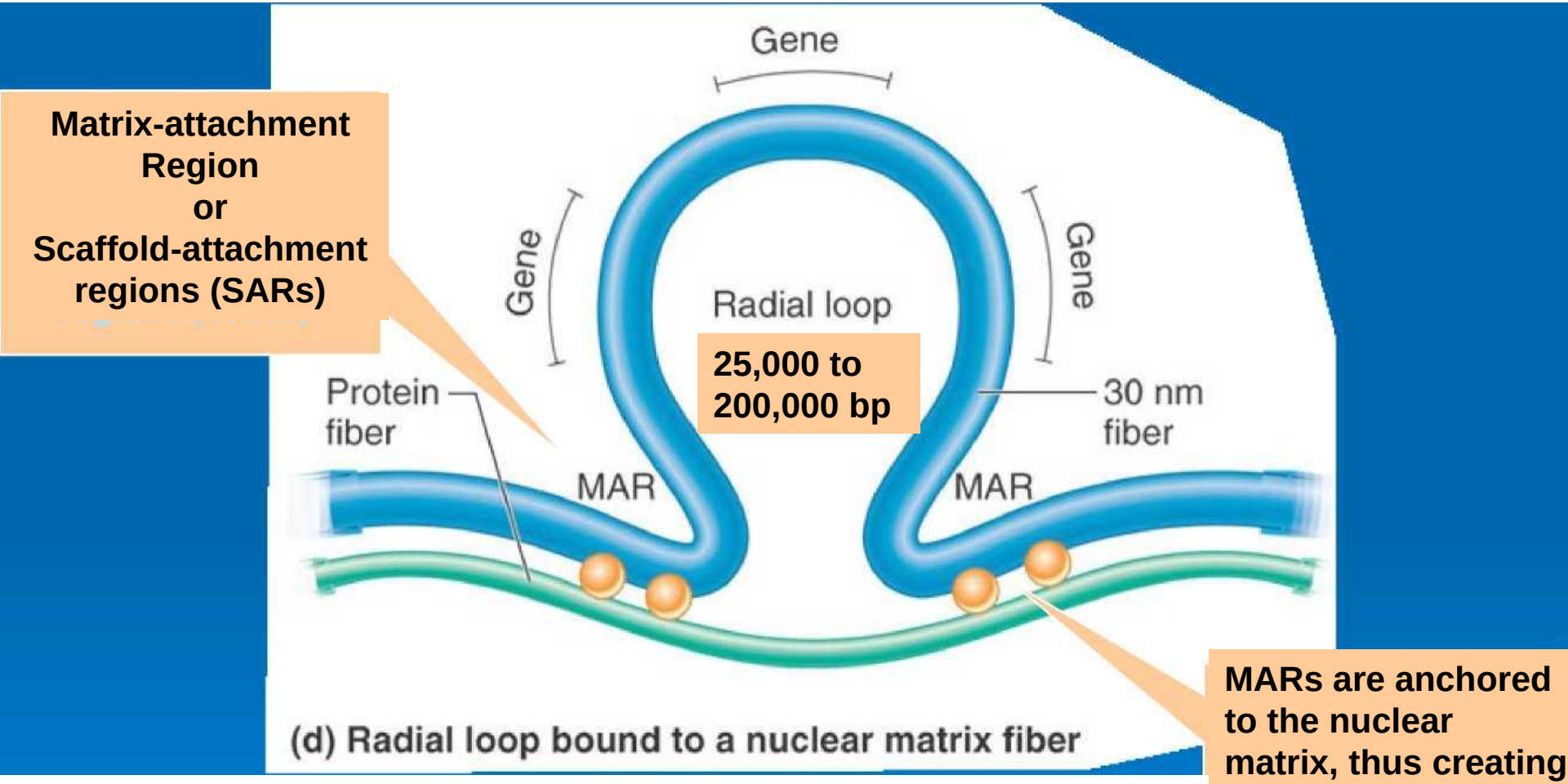
- Le **interazioni fra le molecole dell'istone H1** sembrano importanti per il compattamento della cromatina a fibra di 30 nm.





Il terzo meccanismo di compattamento del DNA implica la formazione di domini ad anse radiali

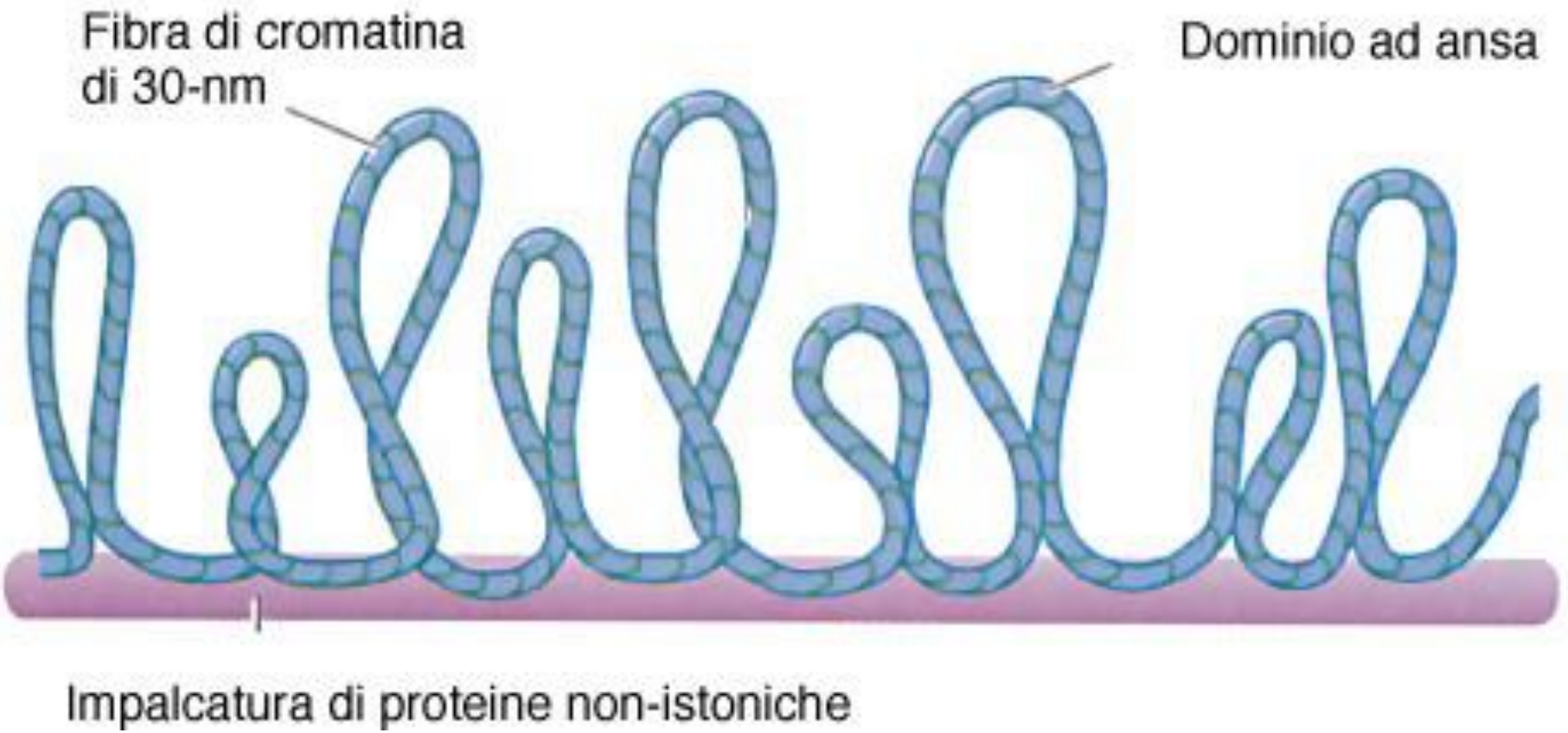
Matrix-attachment Region or Scaffold-attachment regions (SARs)



MARs are anchored to the nuclear matrix, thus creating radial loops

Copyright ©The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display

Le proteine non-istoniche legano la fibra di 30 nm formando dei domini ad ansa



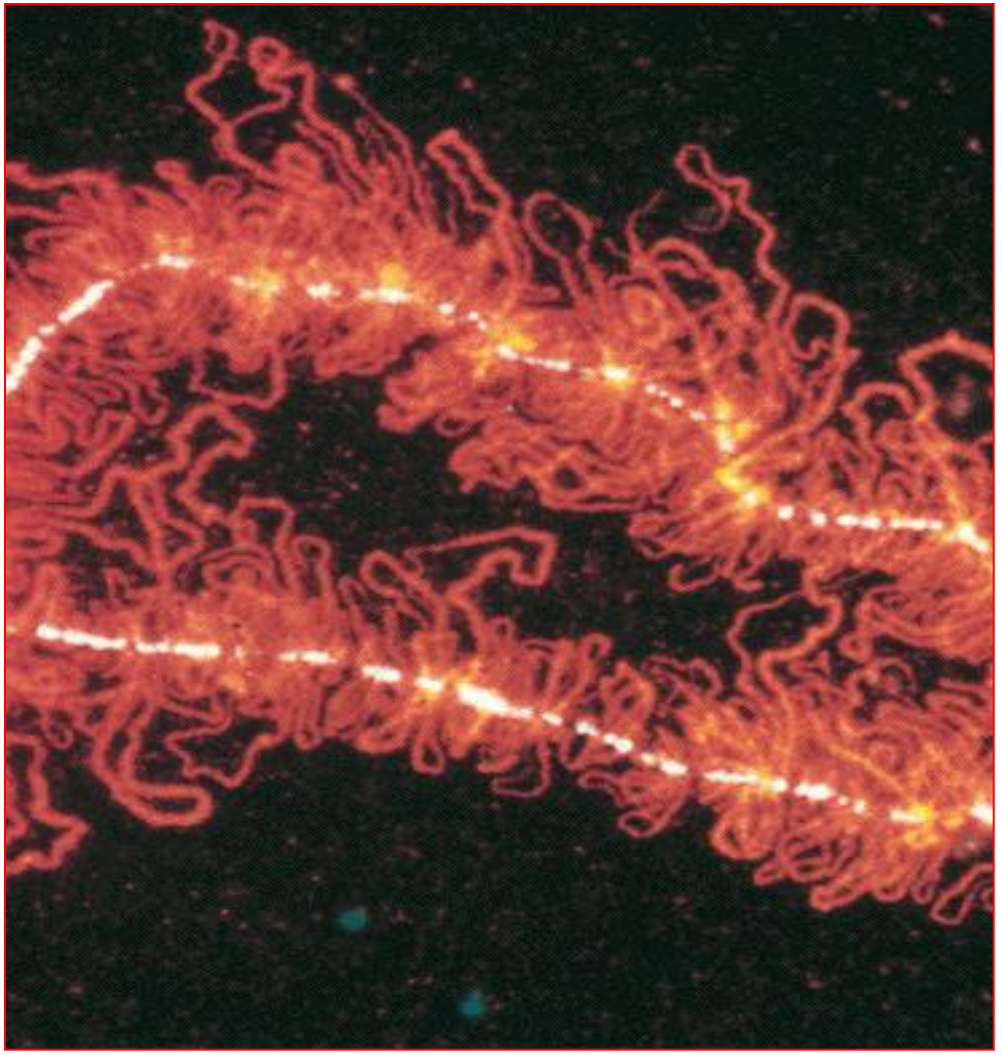
Anse (domini) cromatiniche:

un livello superiore di struttura della cromatina

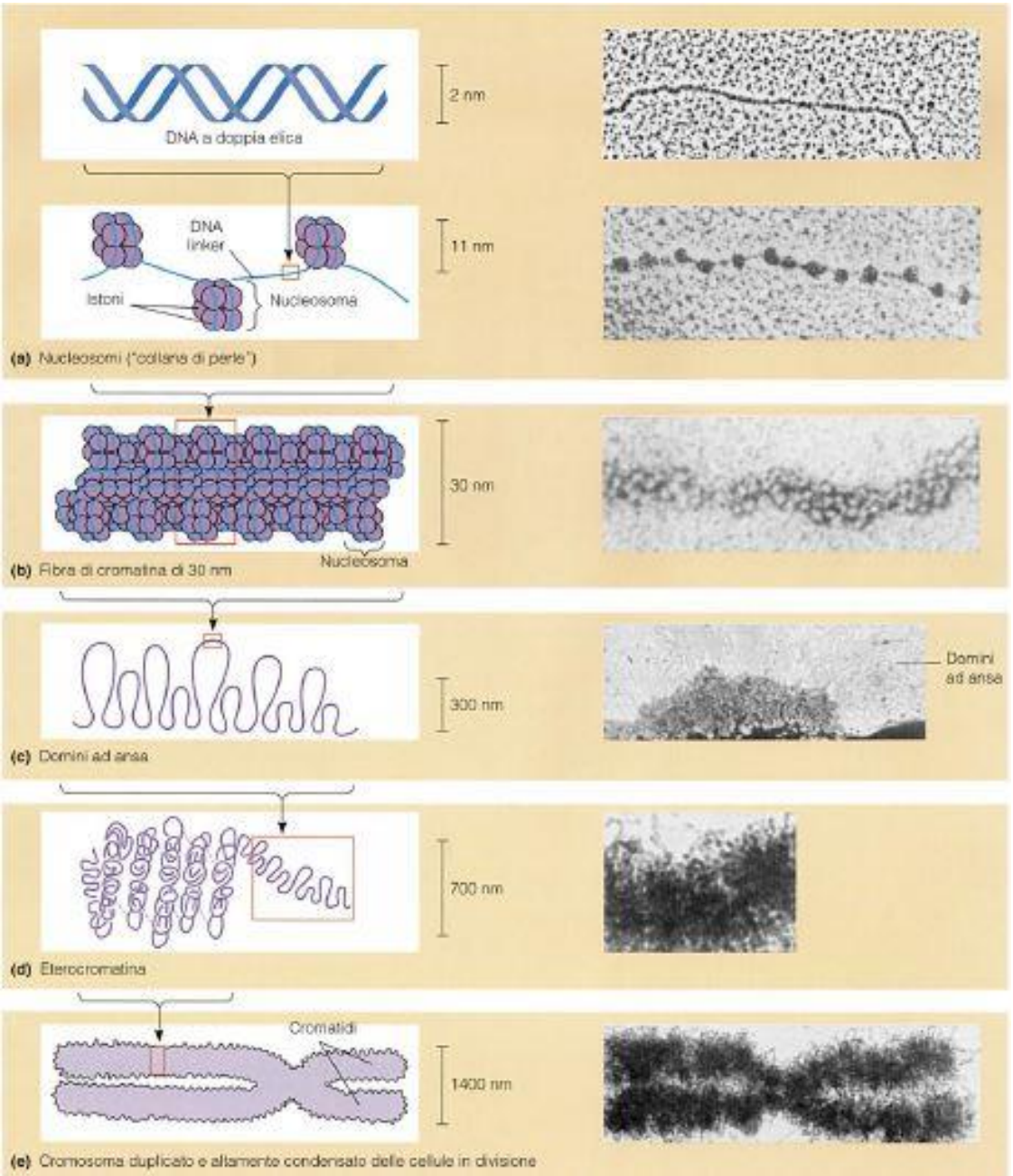
- Al microscopio ottico il cromosoma presenta

un'impalcatura centrale formata da **una proteina acida**, alla quale si lega la fibra cromatinica a livello di alcune sequenze ripetute

Si formano così le ***Anse di Laemli*****,** che contengono circa **200.000 copie di basi**



Riassumendo



	Rapporto Impaccamento
Breve regione di DNA a doppia elica	**1**
Fibra di **cromatina** a collana di perle (nucleosomi)	**6-7**
Fibra di cromatina formata da nucleosomi impachettati	**40**
I nucleosomi impachettati si organizzano in anse	**680**
Le anse di cromatina si impacchettano	**1,5-2,0 x 10^3**
Cromosoma altamente condensato	**1,5-2,0 x 10^4**

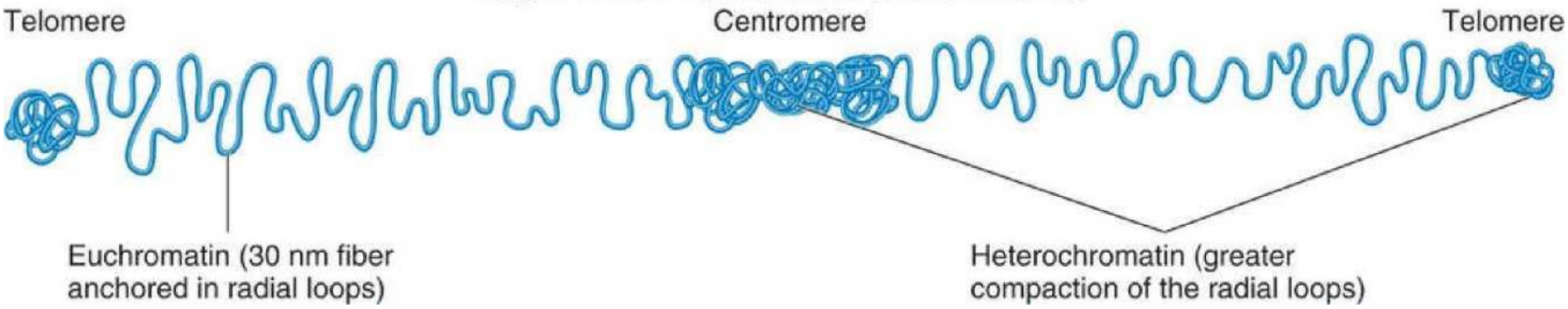
Eterocromatina vs Eucromatina

- Il grado di compattezza dei cromosomi in interfase non è completamente uniforme

- **Eucromatina**
  - Regione dei cromosomi meno condensate
  - Trascrizionalmente attive
  - Regioni dove la fibra 30 nm forma domini ad anse radiali

- **Eterocromatina**
  - Regioni cromosomiche strettamente compatte
  - Trascrizionalmente inattive (in generale)
  - Domini ad anse radiali persino ulteriormante compattati

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



L'eterocromatina si distingue in 2 tipi:

I. **Costitutiva** (resta sempre allo stato di massimo compattamento in tutte le cellule, non viene mai trascritta);

II. Facoltativa (viene inattivata in modo specifico in alcune fasi della vita dell'organismo)

Es: Corpi di Barr

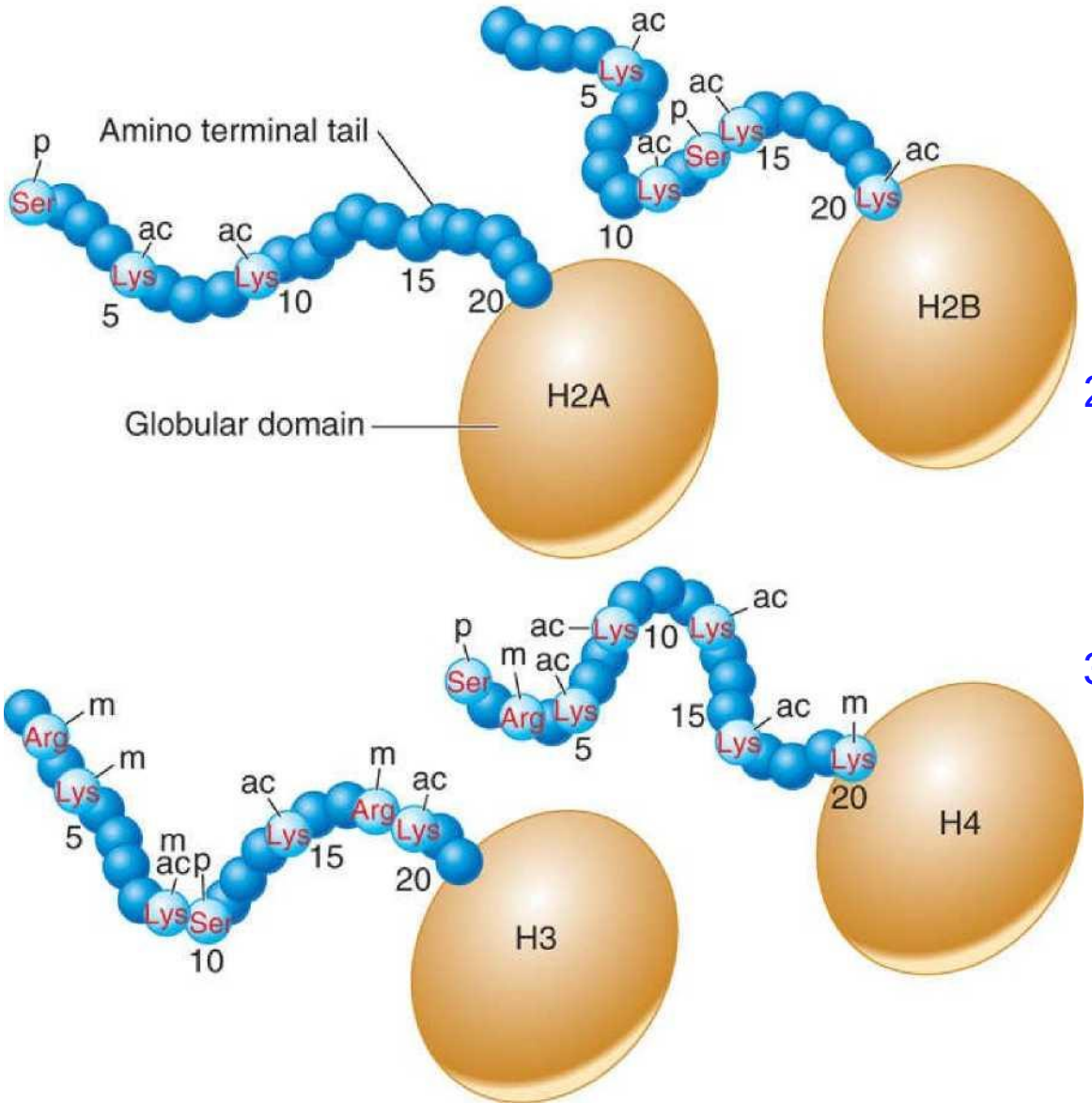
Il codice istonico controlla il grado di compattazione

> Il livello di compattazione anche della eucromatina è troppo alto per fattori di trascrizione e RNA polimerasi per un facile accesso per la trascrizione dei geni

- **Rimodellamento della cromatina** cambia la struttura della cromatina
  - regola la capacità di qccesso dei fattori di trascrizione ai geni
- **Code del core istonico sono modificate**
  - oltre 50 differenti enzimi identificano quale sono le code da modificare
  - modificazioni che includono acetilazione, metilazione e fosforilazione tutte variazioni covalenti
  - vedi figura seguente
- **Ipotesi codice istonico** ovvero il pattern di modificazione è un codice di alterazioni specifiche

Il codice istonico

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



1. **Lysines may be acetylated**
2. **Serines may be phoshorylated**
3. **arginines may be methylated**

I CROMOSOMI EUCARIOTICI

Chromos: colore *Soma:* corpo

- **Prima che la cellula si divida, la cromatina si condensa e forma delle strutture che si colorano:**

- Si definisce **cromosoma una struttura molto compatta e colorabil**e, visibile al MO durante la divisione cellulare, in **particolare durante la meta-fase,** quando viene raggiunto il massimo livello di compattamento della cromatina (spessore di circa 1400 nm)



bastoncelli colorati e "strozzati al centro".

Il termine CROMOSOMA
identifica alcune strutture presenti
nel nucleo della cellula, con la capacità di acquisire alcuni coloranti

N° cromosomici in diversi organismi

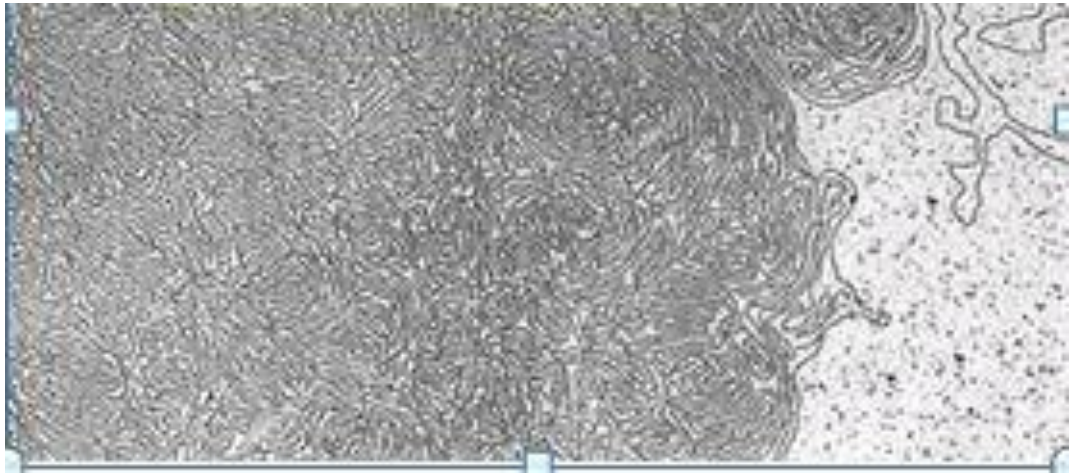
Organismo	Numero totale di cromosomi
Uomo	46
Scimpanzé	48
Cane	78
Gatto	72
Topo	40
Cavallo	64
Pollo	78
Rospo	36
Pesce rosso	94
Stella di mare	36
Moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*)	8
Zanzara	6
Formica australiana (*Myrecia pilosula*)	♂1, ♀2
Nematode	♂11, ♀12
Neurospora (aploide)	7
Muschio (aploide)	23
Equiseto	216
Sequoia gigante	22
Tabacco	48
Cotone	52
Patata	48
Pomodoro	24
Grano tenero	42
Lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) (aploide)	16

[a] Tutti i numeri cromosomici sono riferiti a cellule diploidi, tranne quando indicato.

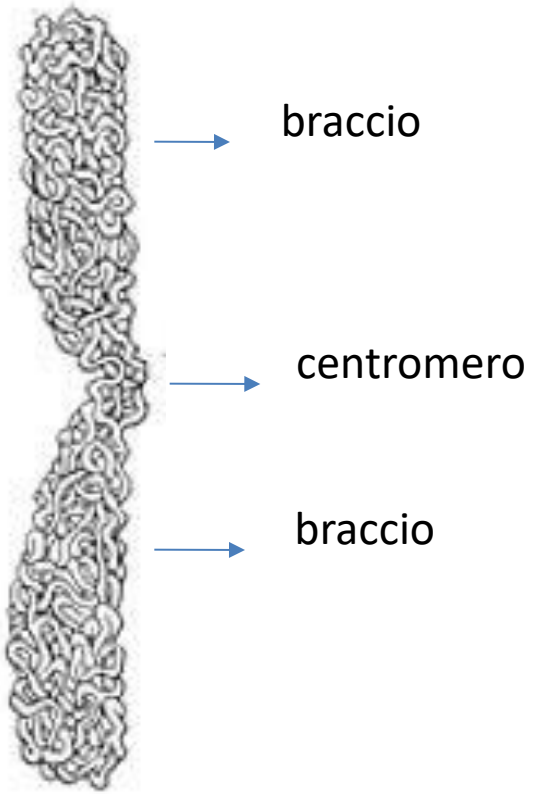
Organism	estimated size	estimated gene number	average gene density	Chromo-some number
Homo sapiens(human)	3000 million bases	~25,000-30,000	1 gene per 100,000 bases	46
Rattus norvegicus (rat)	2,750 million bases	~30,000	1 gene per 100,000 bases	42
Mus musculus (mouse)	2500 million bases	~30,000	1 gene per 100,000 bases	40
Drosophila melanogaster (fruit fly)	180 million bases	13,600	1 gene per 9,000 bases	8
Arabidopsis thaliana (plant)	125 million bases	25,500	1 gene per 4000 bases	5
Caenorhabditis elegans (roundworm)	97 million bases	19,100	1 gene per 5000 bases	6
Saccharomyces cerevisiae (yeast)	12 million bases	6300	1 gene per 2000 bases	16
Escherichia coli (bacteria)	4.7 million bases	3200	1 gene per 1400 bases	1
H. influenzae (bacteria)	1.8 million bases	1700	1 gene per 1000 bases	1
Human immunodeficiency virus (HIV)	9700	9	1 gene per	

➢ I cromosomi degli eucarioti si duplicano prima di ogni divisione cellulare

- **I cromosomi si trovano per la maggior parte del tempo sottoforma di una massa diffusa di fibre di cromatina non impachettate**

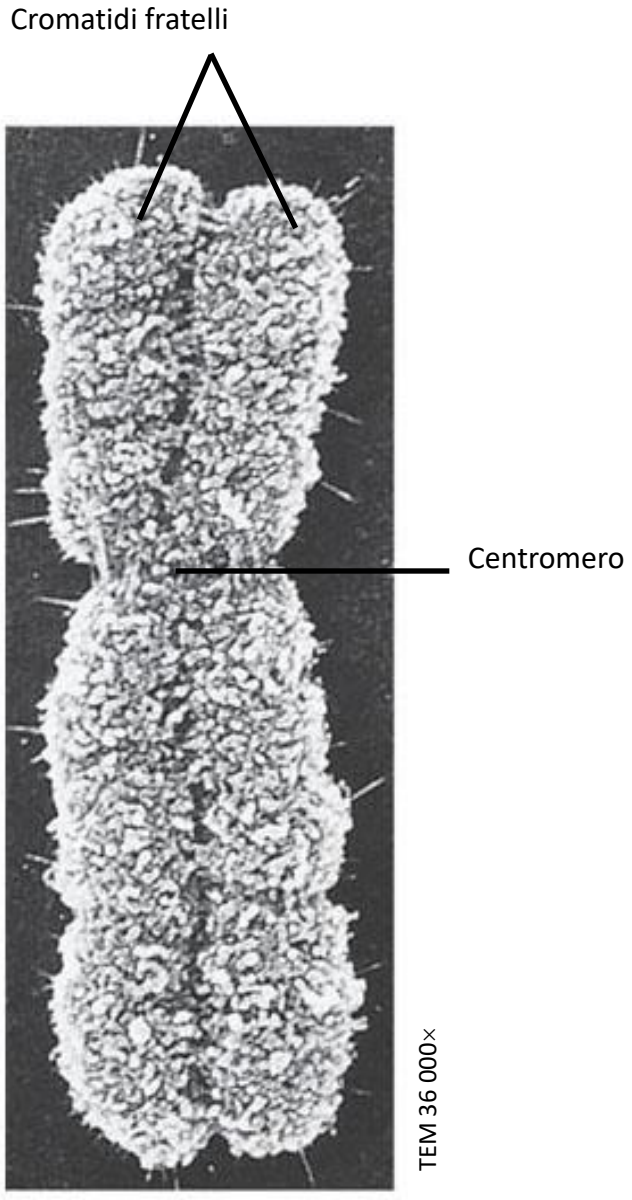


- **Quando la cellula si prepara per la divisione la cromatina si spiralizza compattandosi e formando cromosomi ben definiti**



– Prima di dividersi, la cellula duplica i suoi cromosomi, formando due **cromatidi fratelli** (copie identiche che contengono gli stessi geni).

– I due cromatidi fratelli sono uniti in corrispondenza di una regione chiamata **centromero**.



– **Quando la cellula si divide, i cromatidi fratelli di uno stesso cromosoma duplicato si separano l'uno dall'altro.**

– **Ciascun cromatidio migra in una delle due cellule figlie.**

– **Il risultato è che ogni cellula figlia riceve una serie completa e identica di cromosomi.**

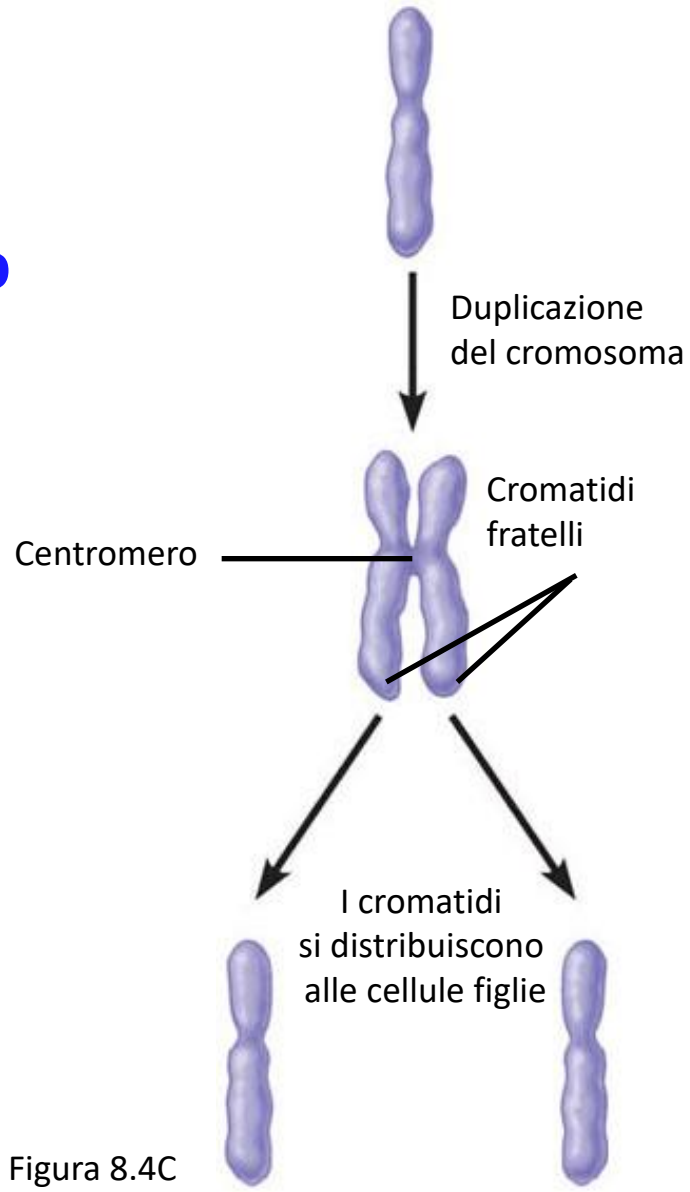


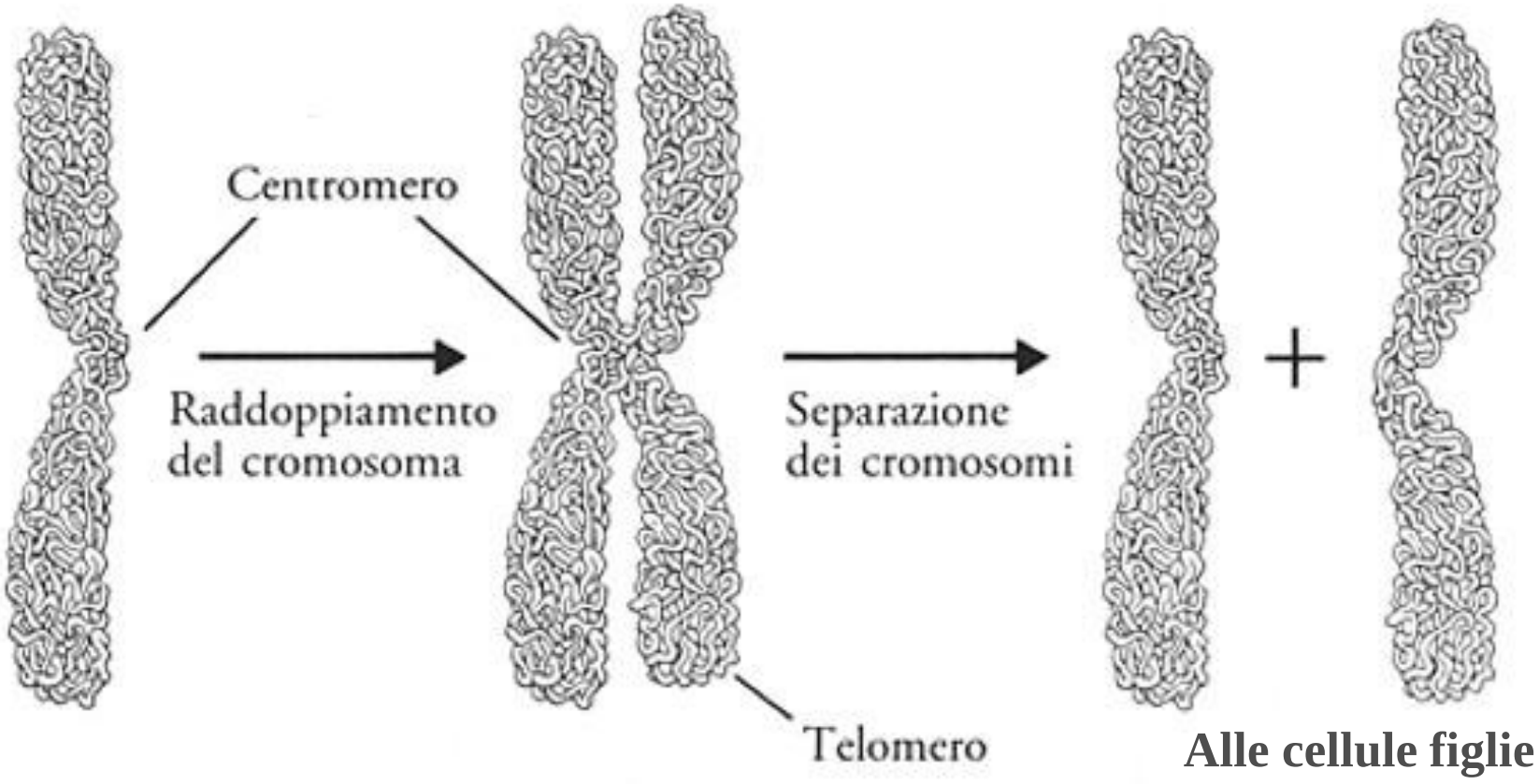
Figura 8.4C

La duplicazione di un cromosoma e la distribuzione dei cromosomi alle cellule figlie

Un cromosoma

Un cromosoma formato da 2 cromatidi fratelli

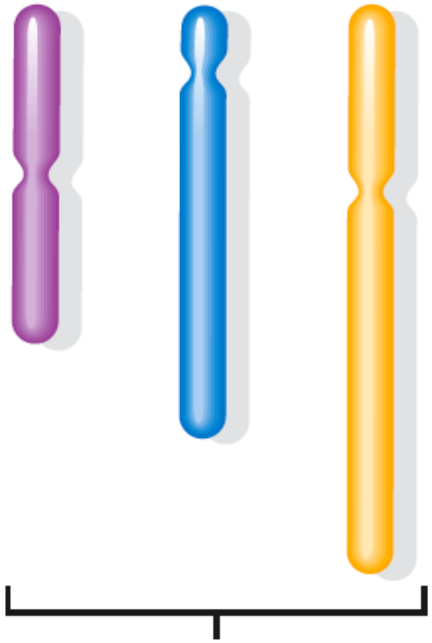
Due cromosomi



Alle cellule figlie

Aploide (N)

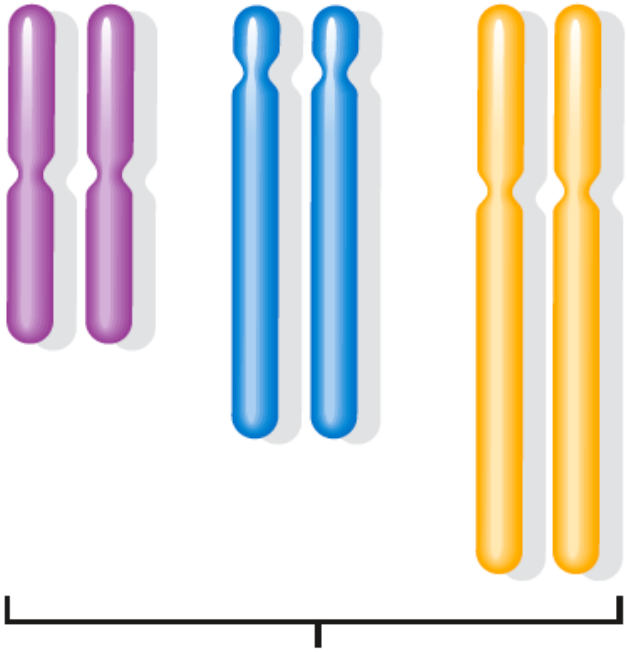
Una copia di un genoma ripartito nei cromosomi



Tre cromosomi non omologhi

Diploide (2N)

Due copie di un genoma ripartito nei cromosomi



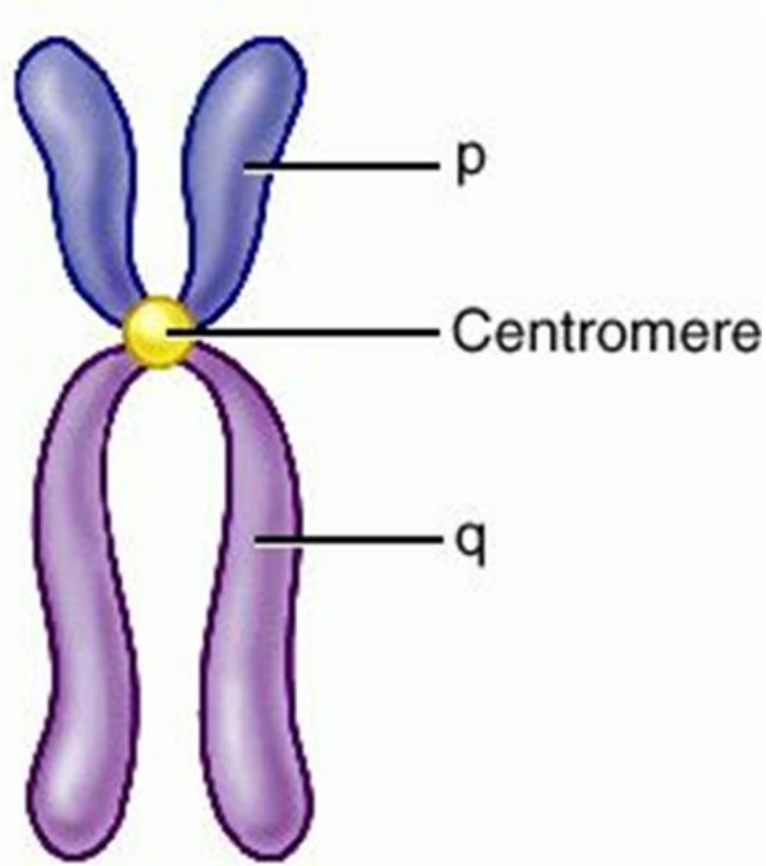
Tre coppie di cromosomi omologhi

Genoma: **contenuto completo di informazione genetica in un corredo cromosomico aploide**

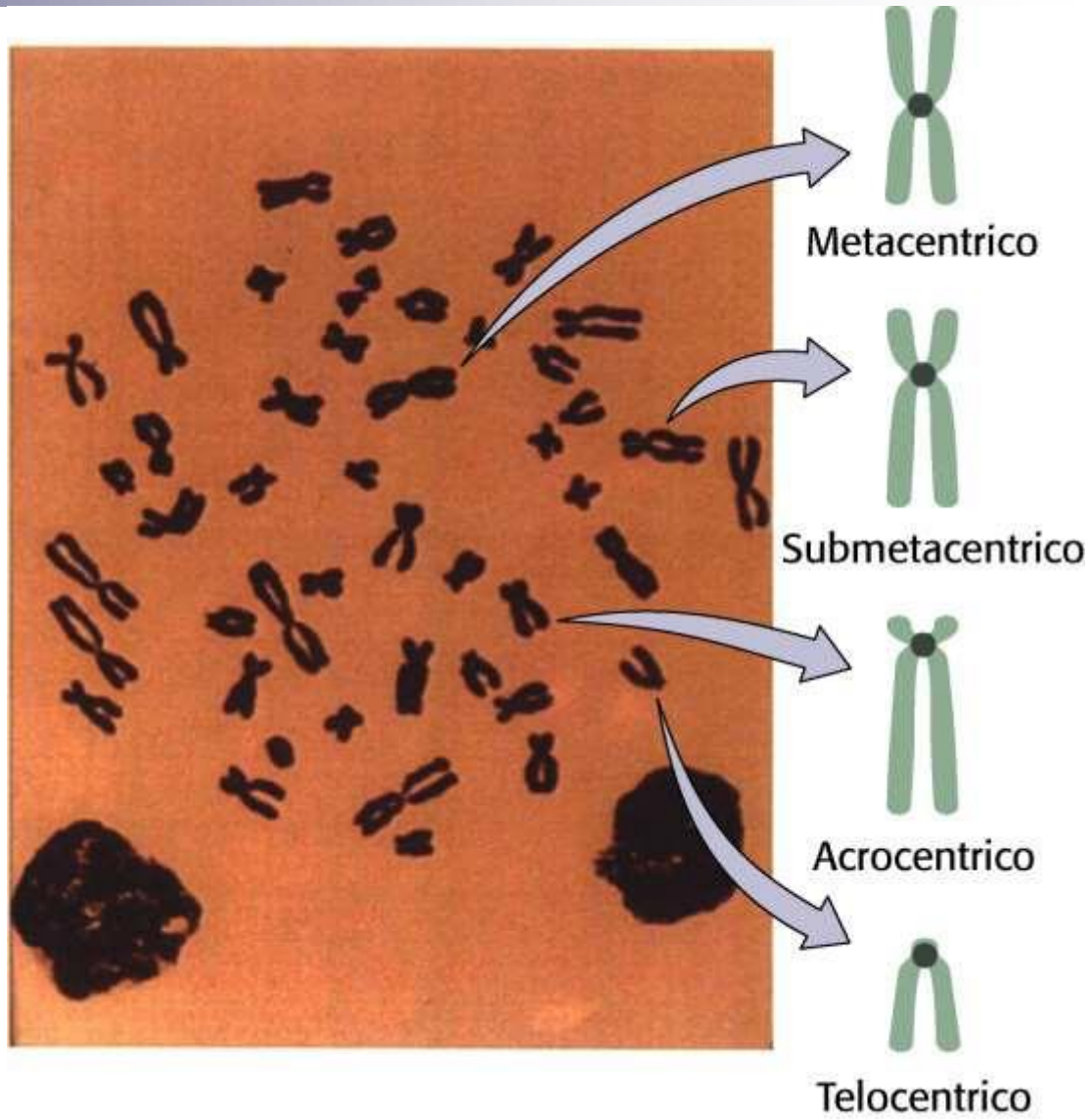
Struttura dei cromosomi

- **2 braccia, divise dal centromero**
  - Braccio p- braccio petit
  - Braccio q- braccio lungo

- **Centromero**
- Regione dove i cromatidi fratelli sono connessi
- Formato da unità ripetitive

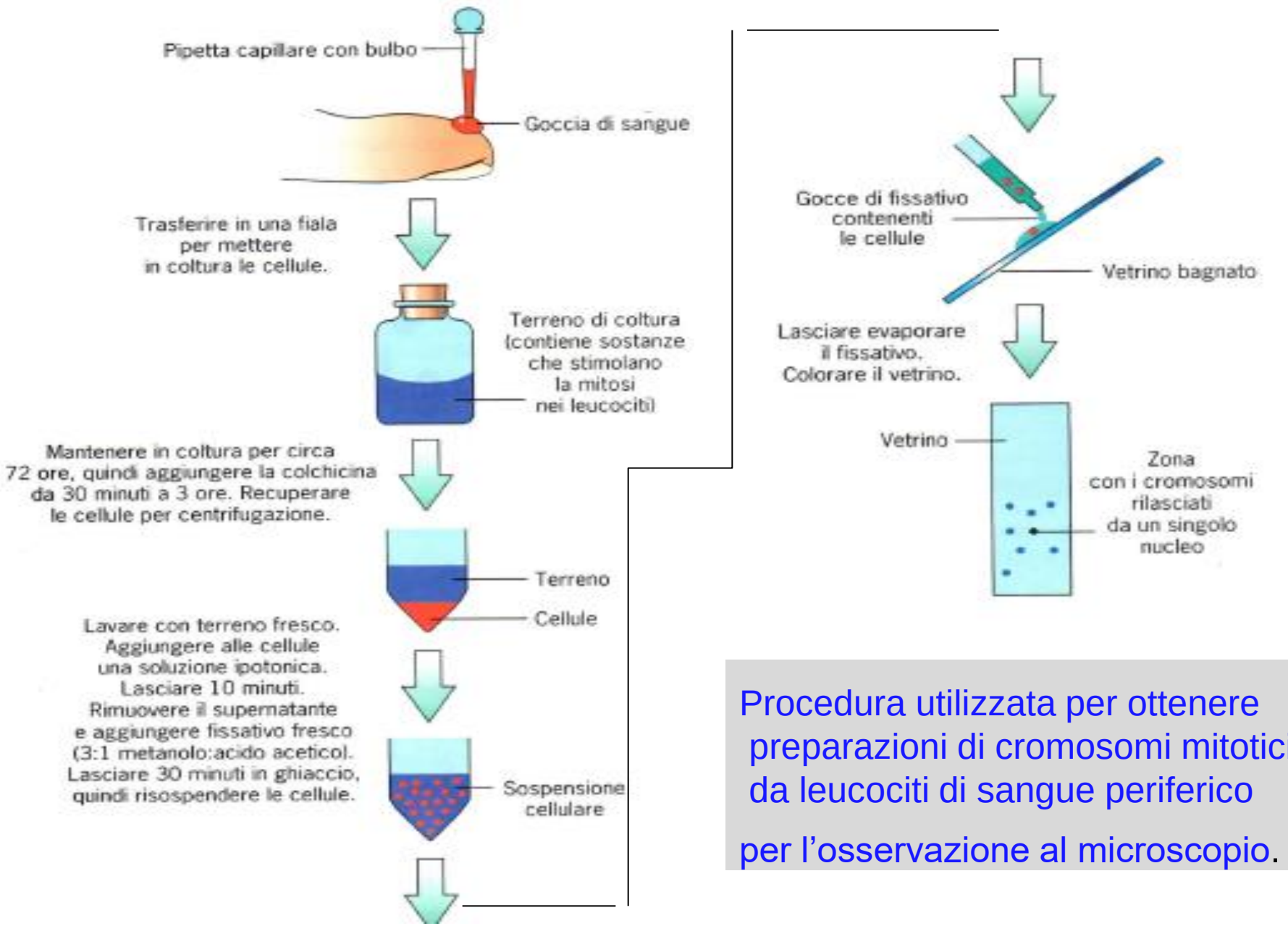


Classificazione dei cromosomi: momenclatura



Pierce, GENETICA, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2005

Cromosomi mitotici umani e cariotipo.



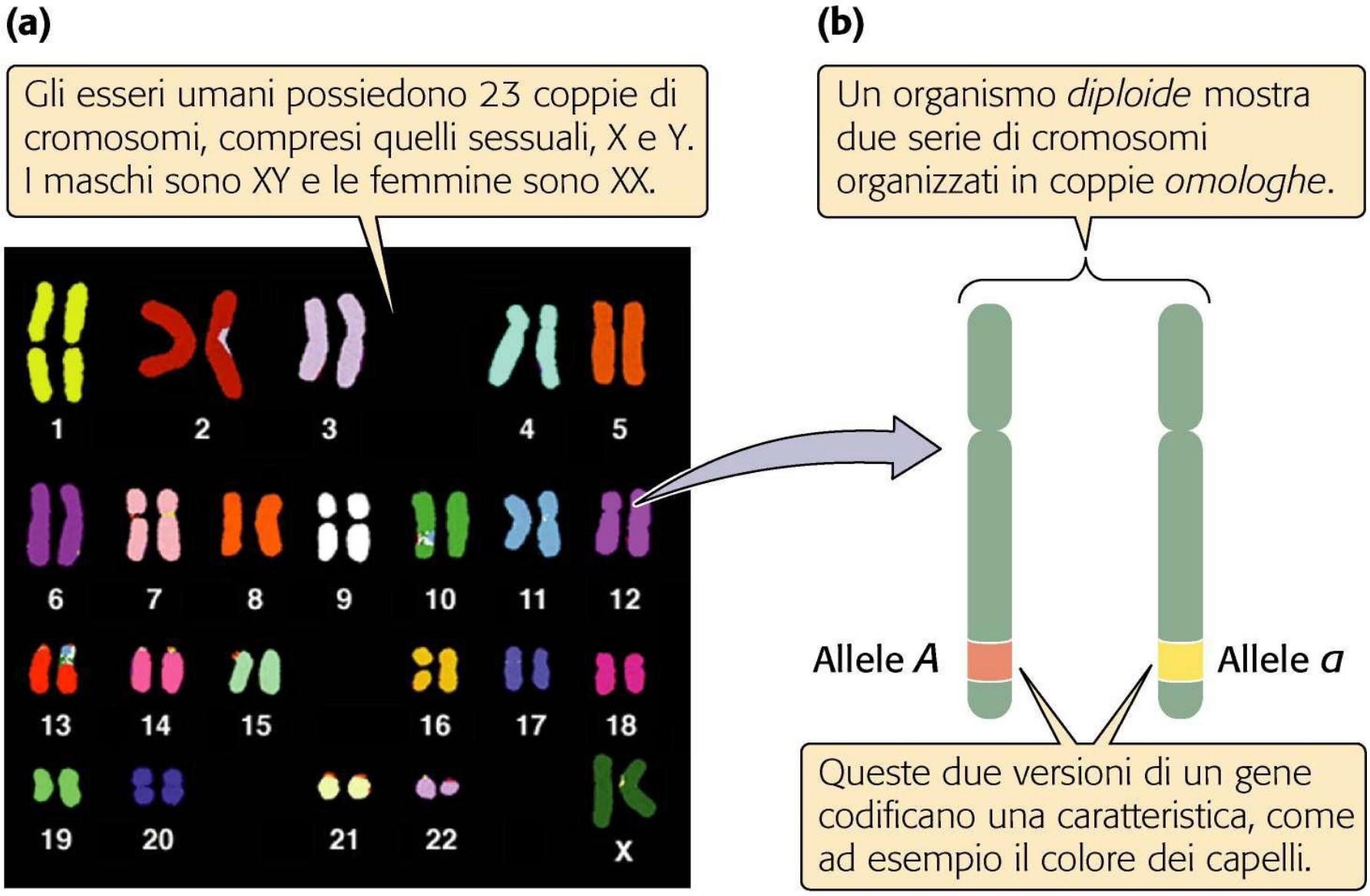
Procedura utilizzata per ottenere preparazioni di cromosomi mitotici da leucociti di sangue periferico

per l'osservazione al microscopio.

Bandeggio cromosomico: tecniche

MAIN TYPES OF CHROMOSOME BANDS		
Banding Methods	**Type**	**Principle Use**
Trypsin-induced Giemsa stain	G	Differentiates light and dark bands
AT-specific fluorochrome (quinicrine, Hoechst 3325B)	Q	Light fluorescence in the region of dark G-bands, some centromere regions, distal long arm of Y-chromosome
Reverse bands	R	Opposite of G
Centromere stain	C	Centromere region darkly stained
Bromodeoxyuridine (BrdU) for 2 cell cycles	SCE	Differential staining of sister chromatids (SCEs)
Distamycin A-DAPI	DA/DAPI	Light fluorescence in the short arm of chromosome 15, centromere regions of 1, 9, and 16; distal long arm of Y
Silver nitrate stain	NOR	Short arms of all acrocentric chromosomes
Giemsa II	GII	Centromere of chromosome 11

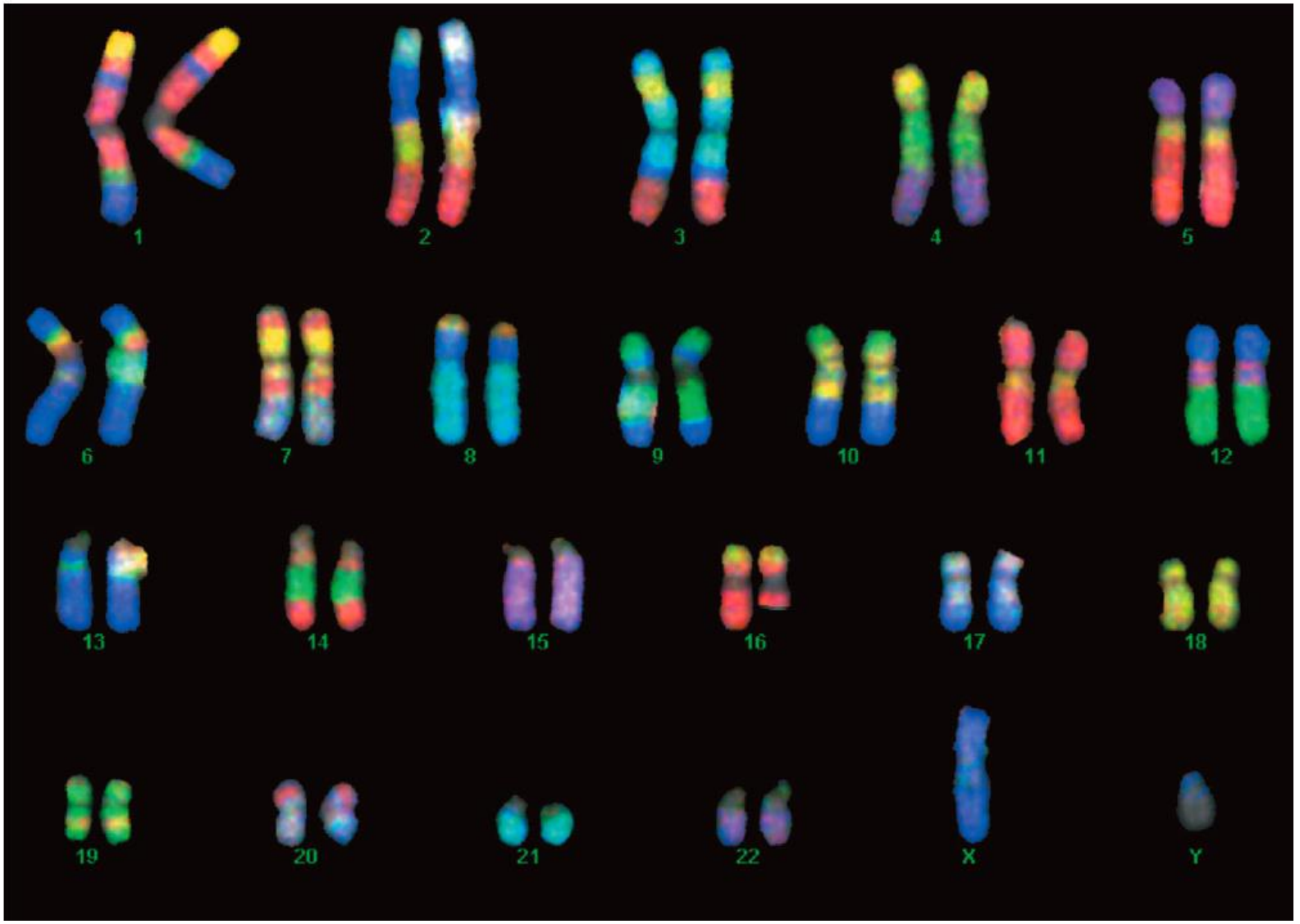
Cromosomi mitotici umani e cariotipo



Pierce, GENETICA, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2005

“Chromosome painting”, nuove forme di bandeggio

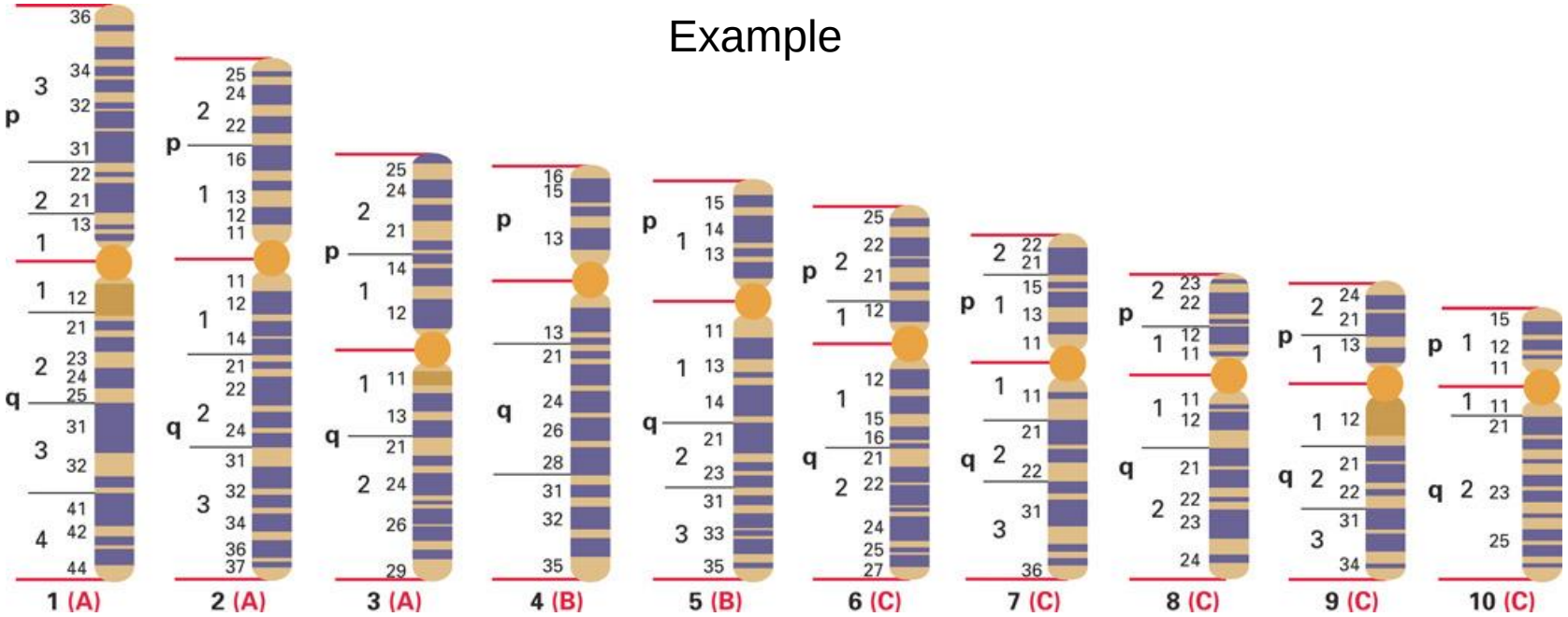
b) Colorazione dei cromosomi in un cariotipo di sesso maschile



Human Chromosomes

- Each chromosome in karyotype is **divided into two regions** (arms) separated by the centromere
- p = short arm (petit); q = long arm
- p and q arms are divided into numbered bands and interband regions based on pattern of staining
- Within each arm the regions are numbered.

Example



Principali simboli utilizzati nella descrizione del cariotipo

SIMBOLO	SIGNIFICATO
p	braccio corto
q	braccio lungo
cen	centromero
del	delezione, ad es 46,XY,del(17)(p13.3)
dup	duplicazione, ad es 46,XX,dup(8)(p22-23)
fra	sito fragile, ad es 46,XY,fra(Xq27.3)
i	isocromosoma, ad es 46,X,i(Xq)
inv	inversione, ad es 46,XY,inv(9)(p12q12)
ish	*in situ hybridization*, ad es 46,XX.ish del(15)(q11.2q11.2)(D15S10)
r	cromosoma ad anello (*ring*), ad es. 46,XX,r(14)
t	traslocazione, ad es. 46,XX,t(1;21)(p35;q22.1)
ter	estremità del cromosoma (terminale) → pter o qter
/	simbolo che separa le linee di un mosaicismo, ad es. 45,X/46,XX
+ o -	Utilizzato dopo un cromosoma o un braccio cromosomico per indicare acquisizione o perdita, ad es. 47,XY,+21; 46,XX,4p-

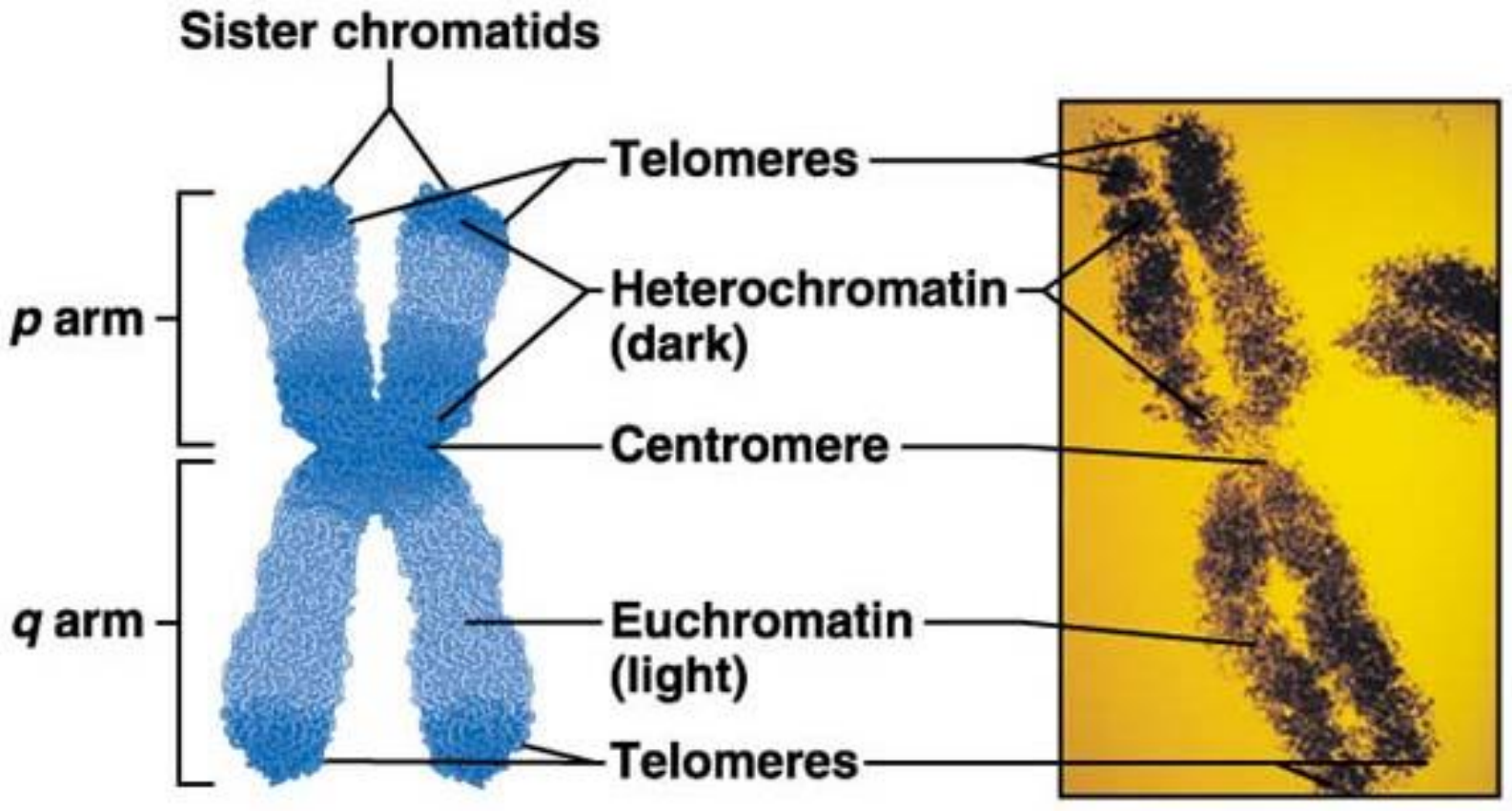
Funzioni biologiche dei cromosomi

Veicoli per la trasmissione dei geni

- **Perpetuare il materiale genetico durante lo sviluppo di un individuo**
  - **corretta replicazione**
  - **corretta suddivisione tra le figlie**
- **Rimescolare il materiale genetico tra generazioni successive**
  - **ricombinazione meiotica**
  - **Segregazione omologhi**

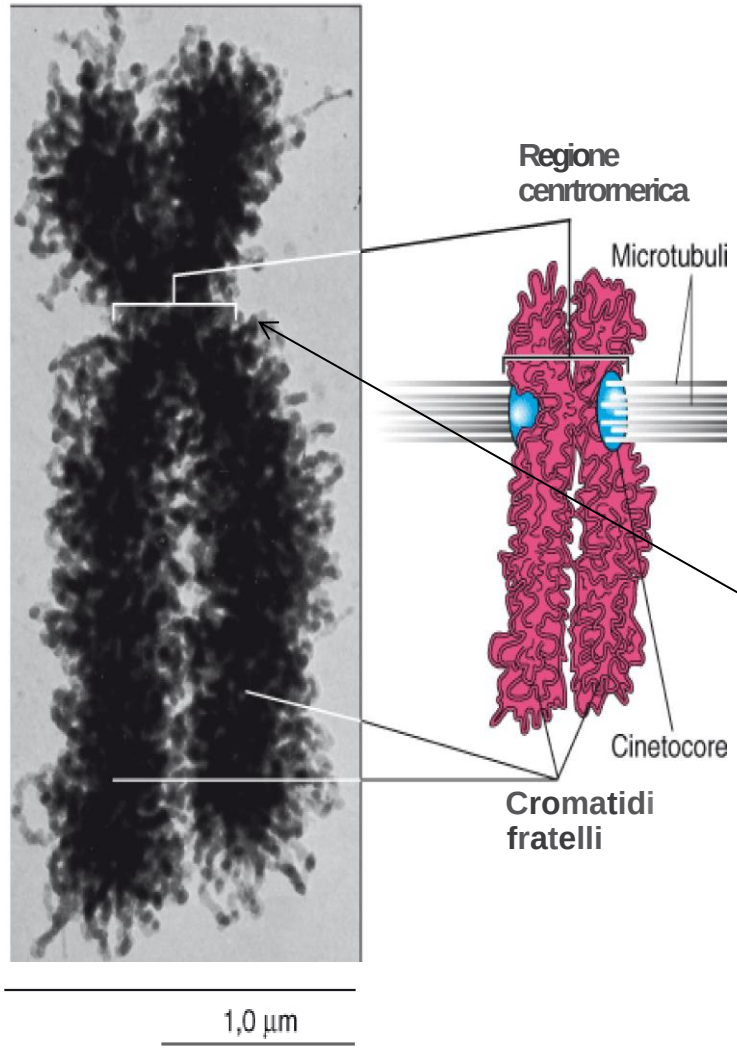
Anatomia di un cromosoma

Struttura di un cromosoma



- I **cromosomi sono dicromatidici:** fatti da 2 cromatidi fratelli (duplicati in fase S), associati a livello del centromero.

Cromatidi fratelli e centromeri di cromatidi fratelli

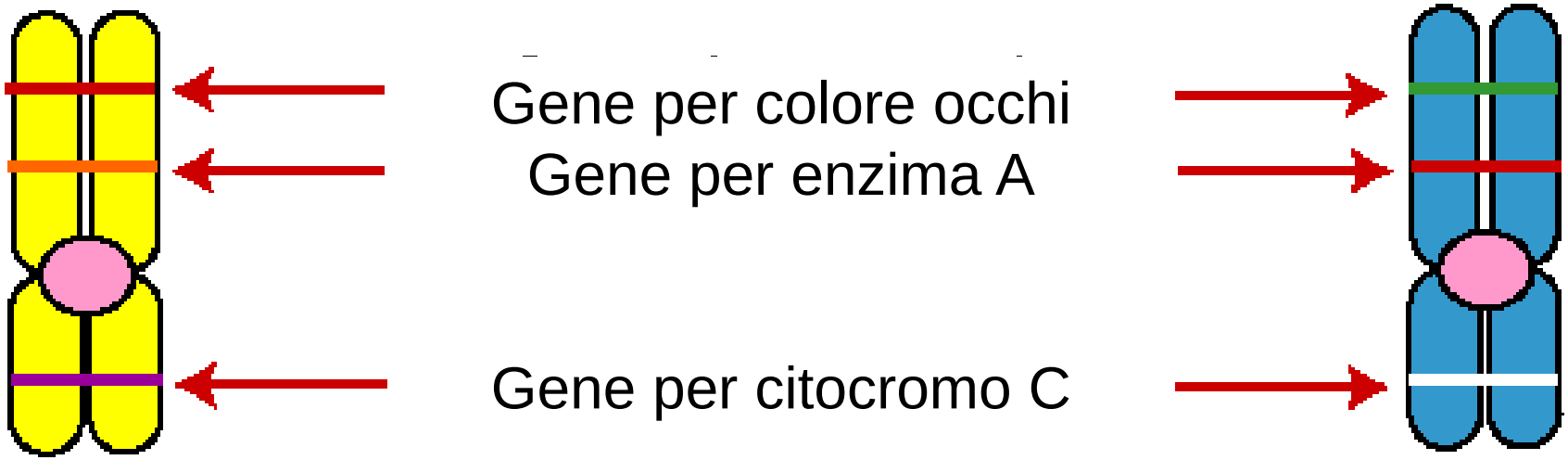


- **Cromatidi: ciascuno costituito da fibre di cromatina altamente condensate,**
- sono strettamente associati nella regione del centromero indicata dalle parentesi.

- A ciascun **centromero è associato un cinetocore,** che serve corne punto di attacco ai microtuboli,
- I cinetocori e i microtubuli non sono visibili in questa fotografia di un cromosoma metafasico eseguita al ME a 'trasmissione.

Cromatidi fratelli e cromosomi omologhi

Paio di cromosomi omologhi

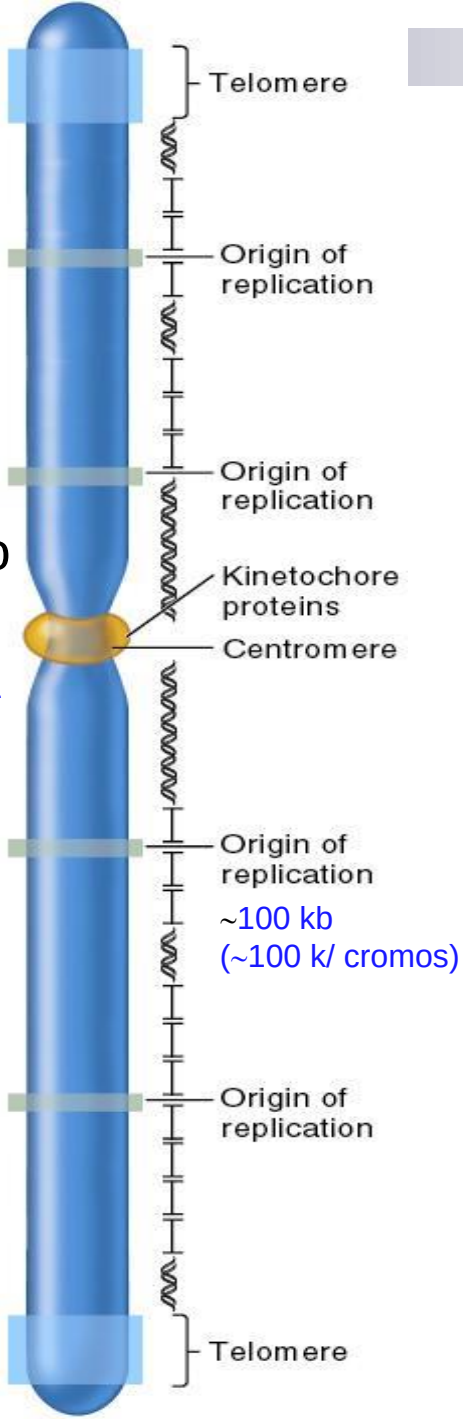


Cromosoma duplicato
(proviene dalla madre)

Cromosoma duplicato
(proviene dal padre)

Organizzazione di un cromosoma eucariotico

- Un cromosoma eucariotico contiene una **lunga, lineare molecola di DNA**
- Tre tipi di sequenze di DNA sono richieste per la replicazione e segregazione del DNA
  - **Origini di replicazione**
  - **Centromeri**
  - **Telomeri**



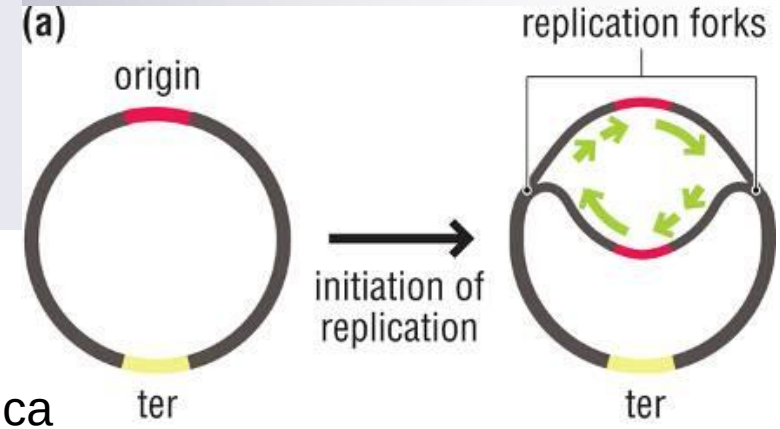
Key features:

- Eukaryotic chromosomes are usually linear.
- A typical chromosome is tens of millions to hundreds of millions of base pairs in length.
- Eukaryotic chromosomes occur in sets. Many species are diploid, which means that somatic cells contain 2 sets of chromosomes.
- Genes are interspersed throughout the chromosome. A typical chromosome contains between a few hundred and several thousand different genes.
- Each chromosome contains many origins of replication that are interspersed about every 100,000 base pairs.
- Each chromosome contains a centromere that forms a recognition site for the kinetochore proteins.
- Telomeres contain specialized sequences located at both ends of the linear chromosome.
- Repetitive sequences are commonly found near centromeric and telomeric regions, but they may also be interspersed throughout the chromosome.

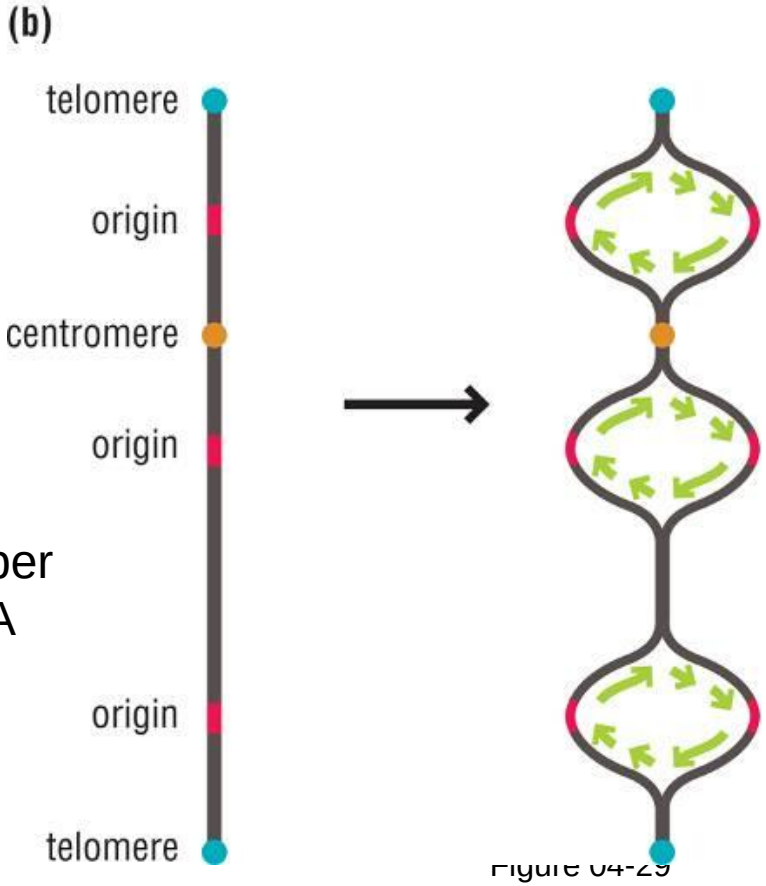
Genes

Repetitive sequences

Le origini della replicazione (ori) sono necessarie per dirigere la replicazione nei batteri (a) e negli eucarioti (b)



- Nei batteri, le sequenze vicino all'***ori*** determinano la distribuzione dei cromosomi replicati alle cellule figlie. *ter* specifica la terminazione della replica



- Negli eucarioti, i **centromeri dirigono la segregazione cromosomica.**
  I telomeri stabilizzano le estremità dei cromosomi e aiutano a risolvere il problema Della replicazione delle estremità cromosomiche

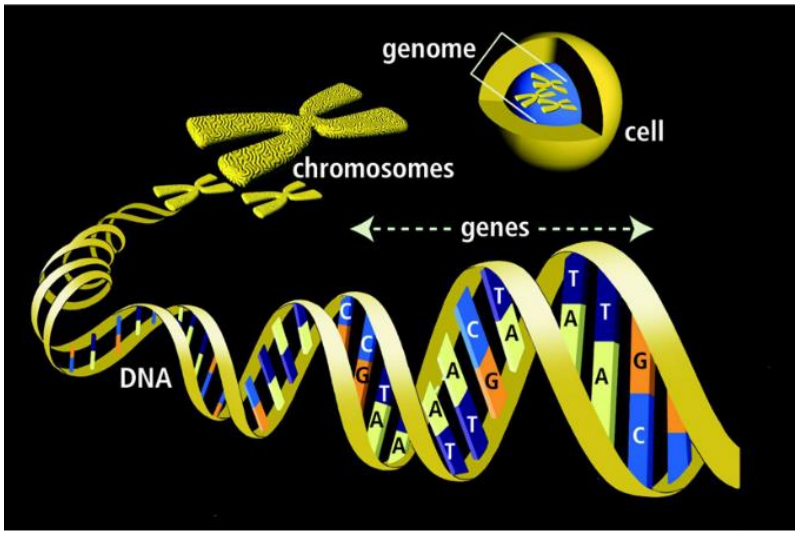
- **Ori** sono regioni in cui il dsDNA viene svolto e separato ed è pronto per l'attacco delle proteine di replicazione
- La replica è bidirezionale. I batteri hanno un ori per cromosoma, gli eucarioti ne hanno molti (più DNA da replicare)
- Nei batteri e in alcuni eucarioti, sequenze specifiche definiscono le **ori**

Figure 04-29

Caratteristiche generali di cromosomi eucariotici

- I geni sono localizzati tra le regioni **centromeriche** e **telomeriche lungo l'intero** cromosoma

- Un singolo cromosoma di norma ha da alcune centinaia a diverse migliaia di geni



Una molecola di DNA contiene da diverse centinaia ad alcune migliaia di geni

Negli **eucarioti inferiori (**i.e lievito)

- Geni sono relativamente corti
- Essi contengono principalmente le sequenze che codificano polipeptidi i.e . pochi introni sono presenti

- Negli **eucarioti superiori (**es. mammiferi)

- I geni sono lunghi
- Tendono a possedere **molti introni**
- **Lunghezzze degli introni da 100** ad oltre **10.000** bp

Sequenze ripetitive

- la **complessità della sequenza** si riferisce al numero di volte in cui una particolare sequenza di basi appare nel genoma

- Esistono tre tipi principali di sequenze ripetitive

  - **Uniche o non ripetitive**
  - **Moderatamente ripetitive**
  - **Altamente ripetitive**

Sequenze ripetitive

> **Sequenze uniche o non ripetitive**

- Trovato una o poche volte nel genoma
- Include geni strutturali e aree intergeniche

> **Moderatamente ripetitivo**

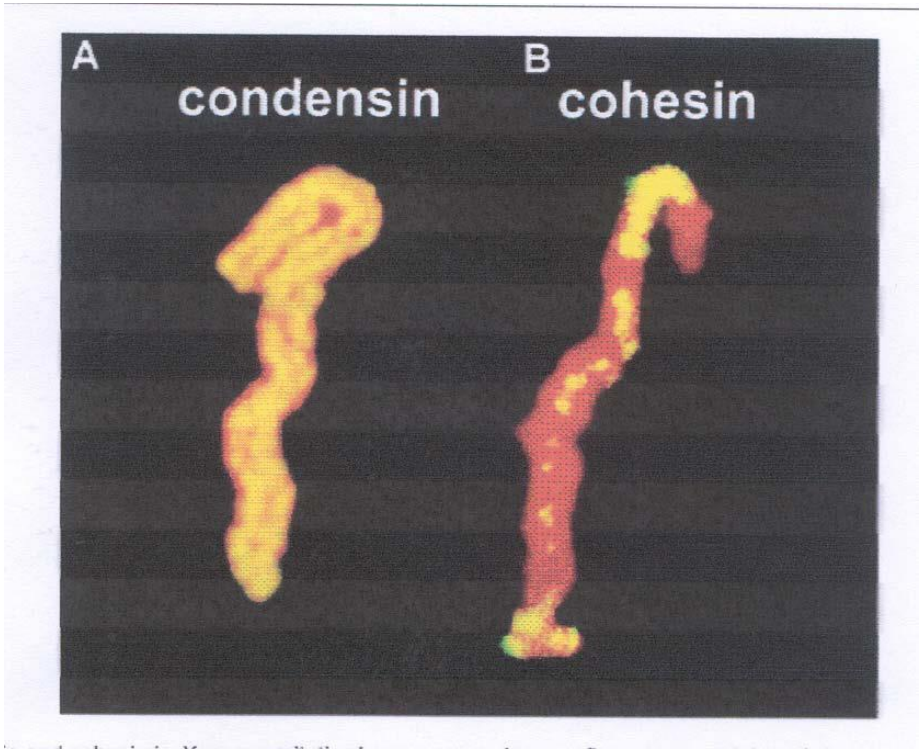
- Trovato da poche centinaia a poche migliaia di volte
- Include
  - Geni per rRNA e istoni
  - Origini di replicazione
  - Elementi trasponibili

> **Altamente ripetitivo**

- Trovato da decine di migliaia a milioni di volte
- Ogni copia è relativamente breve (da pochi nucleotidi a diverse centinaia di lunghezza)

Problema n°1
replicare e compattare
ma non separare

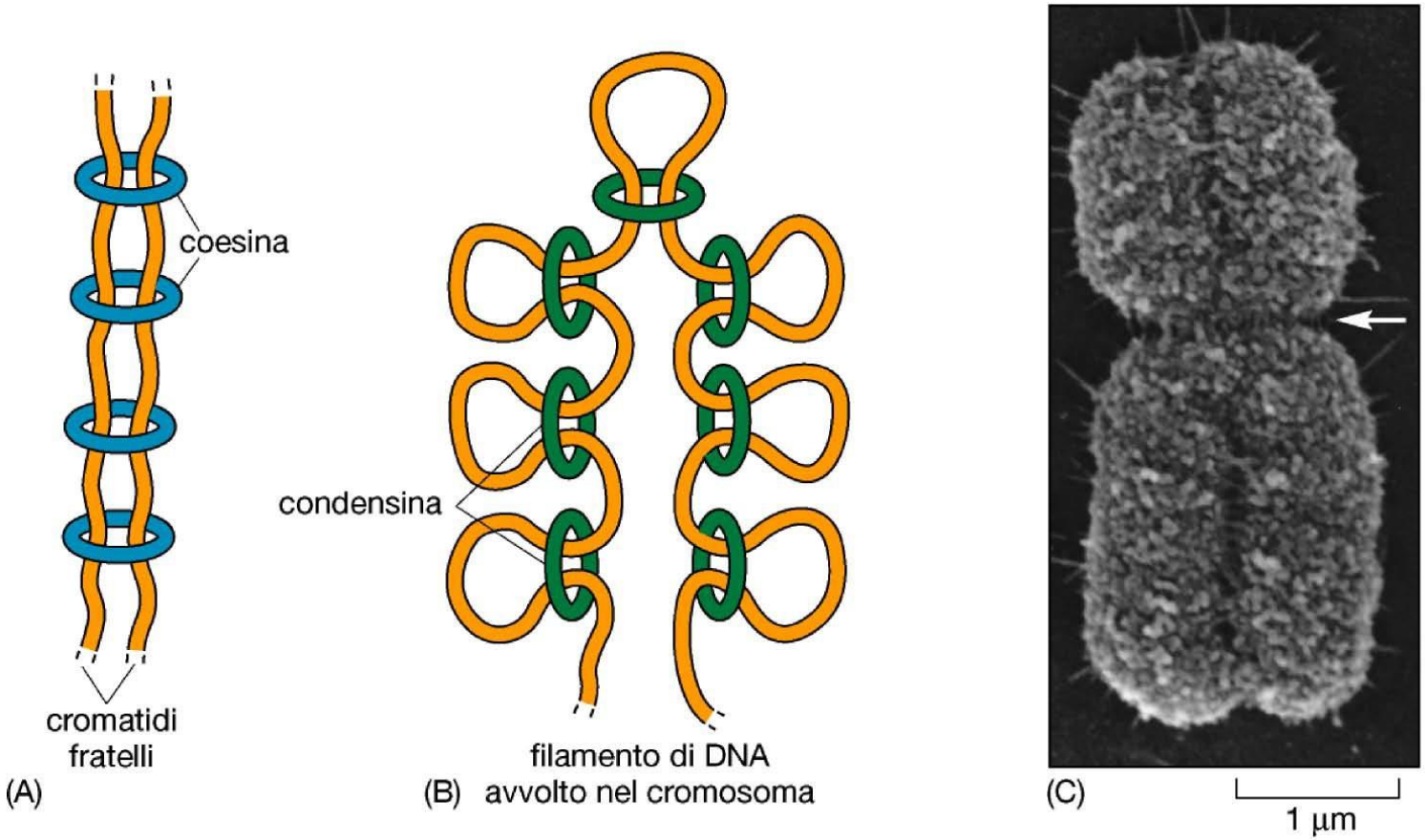
Soluzione:



➢ **Le *condensine* e le *coesine* hanno struttura e funzione correlate:**

- Entrambe le proteine hanno
  - **domini di legame al DNA** e all'ATP identici ad un'estremità
  - una **regione di cerniera nell'altra**,
  - collegate da due regioni lunghe e a "coiled-coil" (super-avvolta).
- Questa struttura flessibile è ben adatta per il loro ruolo come molecole che formano legami crociati con il DNA.

Le coesine e le condensine contribuiscono a preparare i cromosomi replicati per la mitosi



- Le **coesine e le condensine** contribuiscono a **rendere i cromosomi mitotici strutture piccole e compatte**
- La M-Cdk promuove l'ingresso in fase M poiché induce i complessi di condensine ad associarsi al DNA fosforilando alcune loro subunità

Le coesine e le condensine

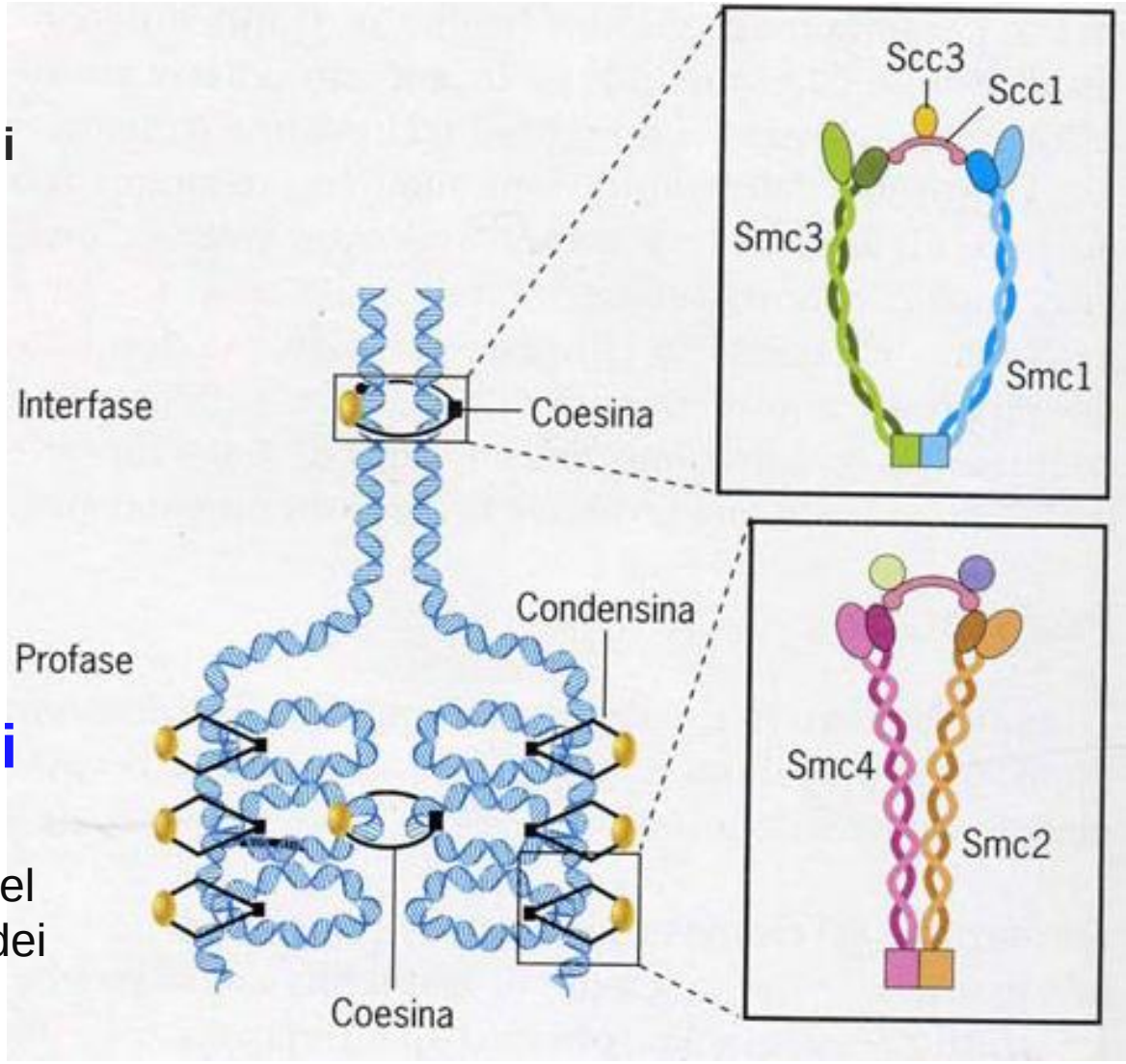
- **Le *coesine***

•Fino alla separazione i **cromatidi fratelli sono tenuti saldamente** insieme dalle **coesine**

•Sono formati legami crociati tra due cromatidi fratelli, incollandoli insieme.

- **Le *condensine* mediano legami crociati intramolecolari:**

ciò crea delle anse nel DNA nel processo di condensazione dei cromosomi.



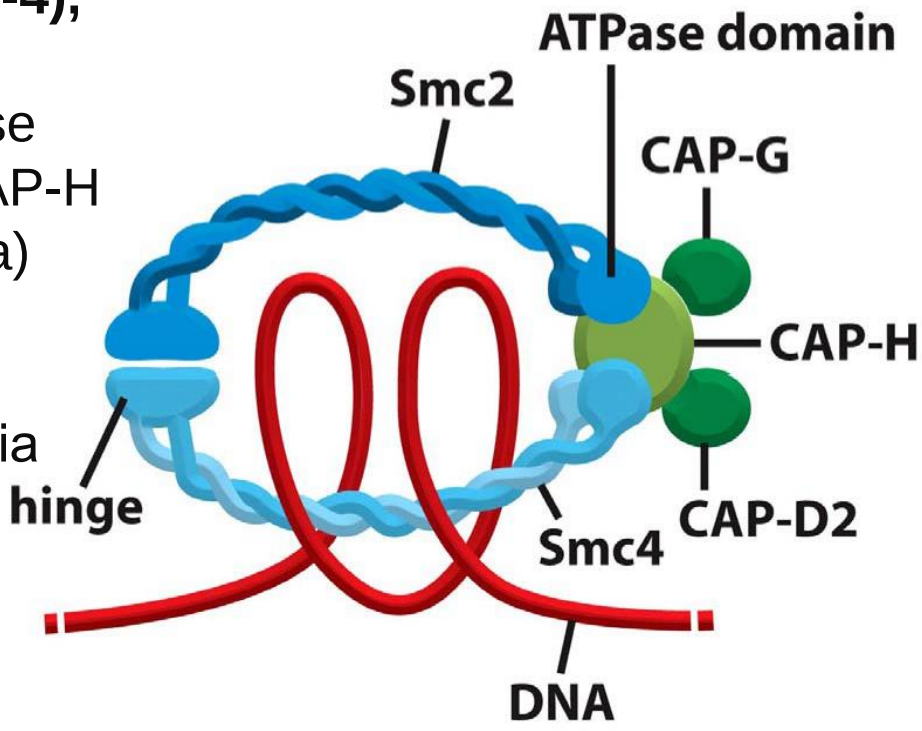
Condensina

- **Complessi costituita da 5 subunità,**

  Include:

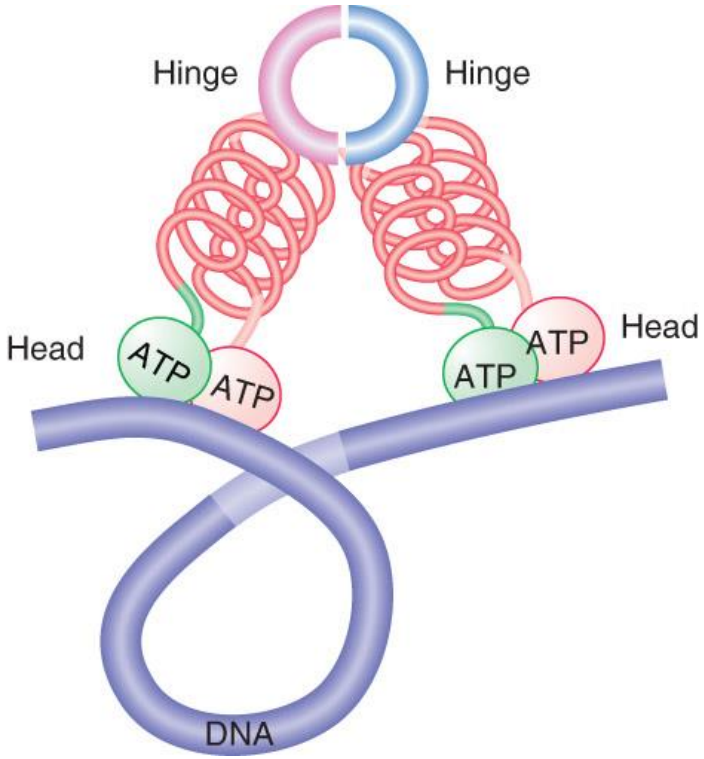
- un eterodimero **di proteine di mantenimento strutturale** dei cromosomi (**Smc-2 e -4),**
- una proteina della fam. **kleisina**
  - questa lega al dominio Smc ATPase
    - il dominio di testa denominato CAP-H (condensina)
    - e due proteine CAP-G o CAP-D2.
  - può formare una struttura ad anello che in qualche modo utilizza l'energia fornita dall'idrolisi dell'ATP per promuovere il compattamento dei cromatidi fratelli.

Scm: Structural Maintenance of Chromosomes



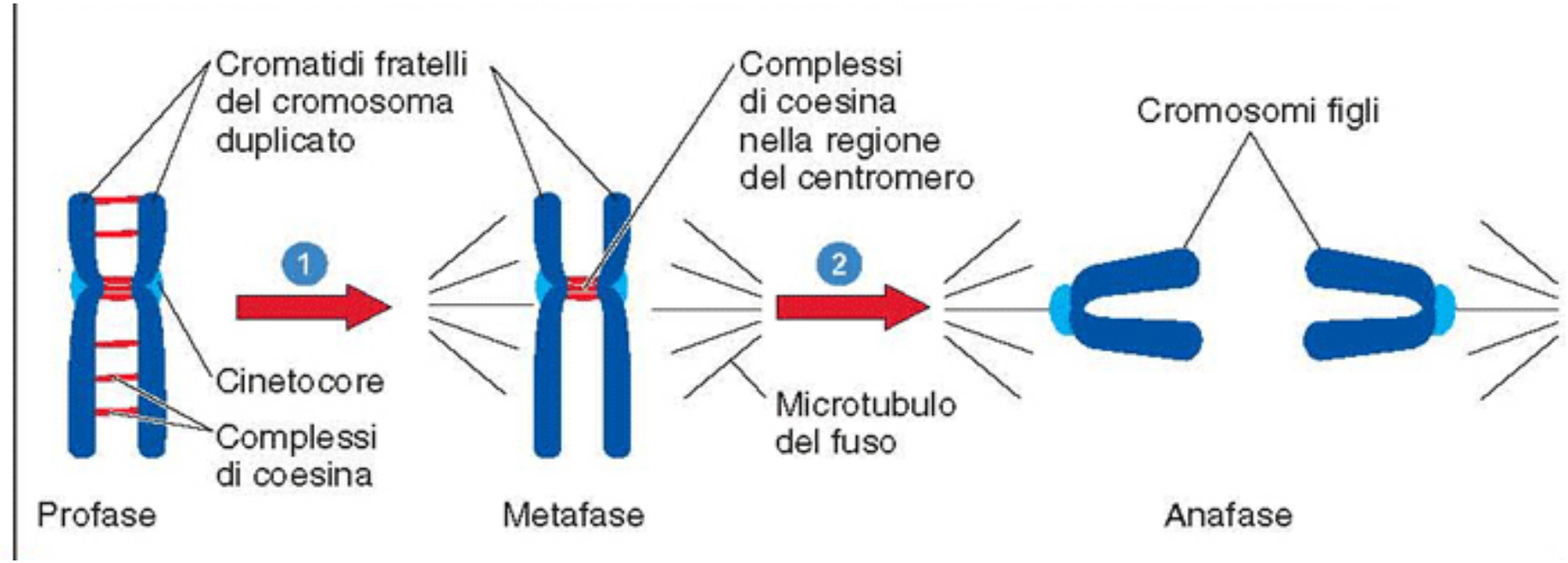
- È in grado di modificare l'avvolgimento delle molecole di DNA in provetta
- la fosforilazione delle subunità da parte di M-Cdk stimola questa attività.

Le Condensine



- Condensine **provocano** sulla cromatina un **avvolgimento più stretto** tramite introduzione di superavvolgimenti positivi nella molecola di DNA.
- **Condensine sono responsabili per condensare i cromosomi alla mitosi.**
- Condensine cromosoma-specifiche sono responsabili per compattare i cromosomi X inattivi in *C. elegans*.

LE COESINE

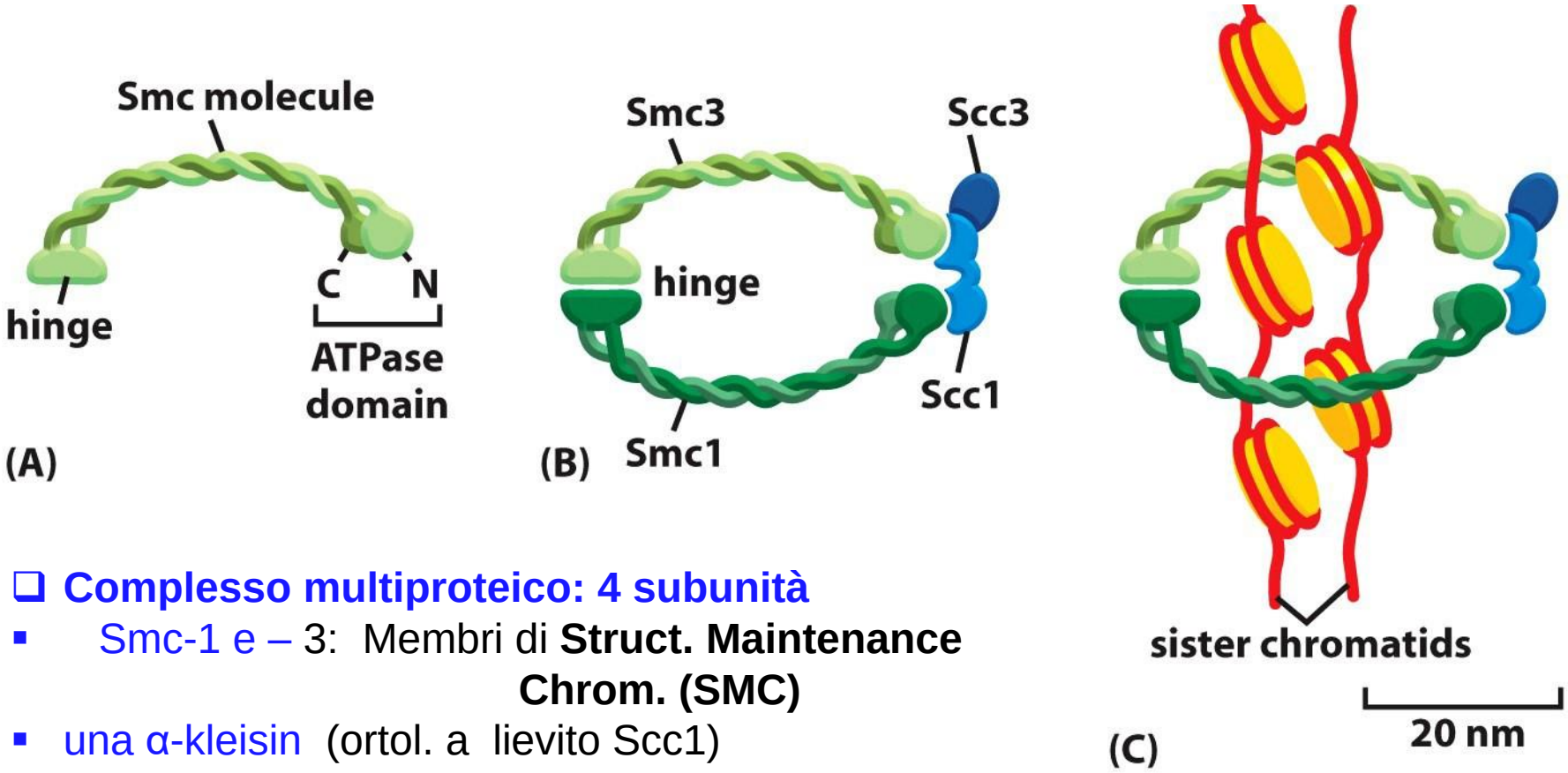


- **Gruppo di proteine, localizzate al centro del centromero,**
- **funzionano come colla** che tiene insieme i cromatidi prima dell'inizio dell'anafase
- sono degradate all'inizio dell'anafase, consentendo così la separazione dei cromatidi fratelli.

LE COESINE

- La coesione dei cromatidi fratelli dipende da un **grande complesso proteico detto coesina**,

  - esso è depositato in molti punti lungo l'asse maggiore di ogni cromatide fratello mentre il DNA viene replicato in fase S.

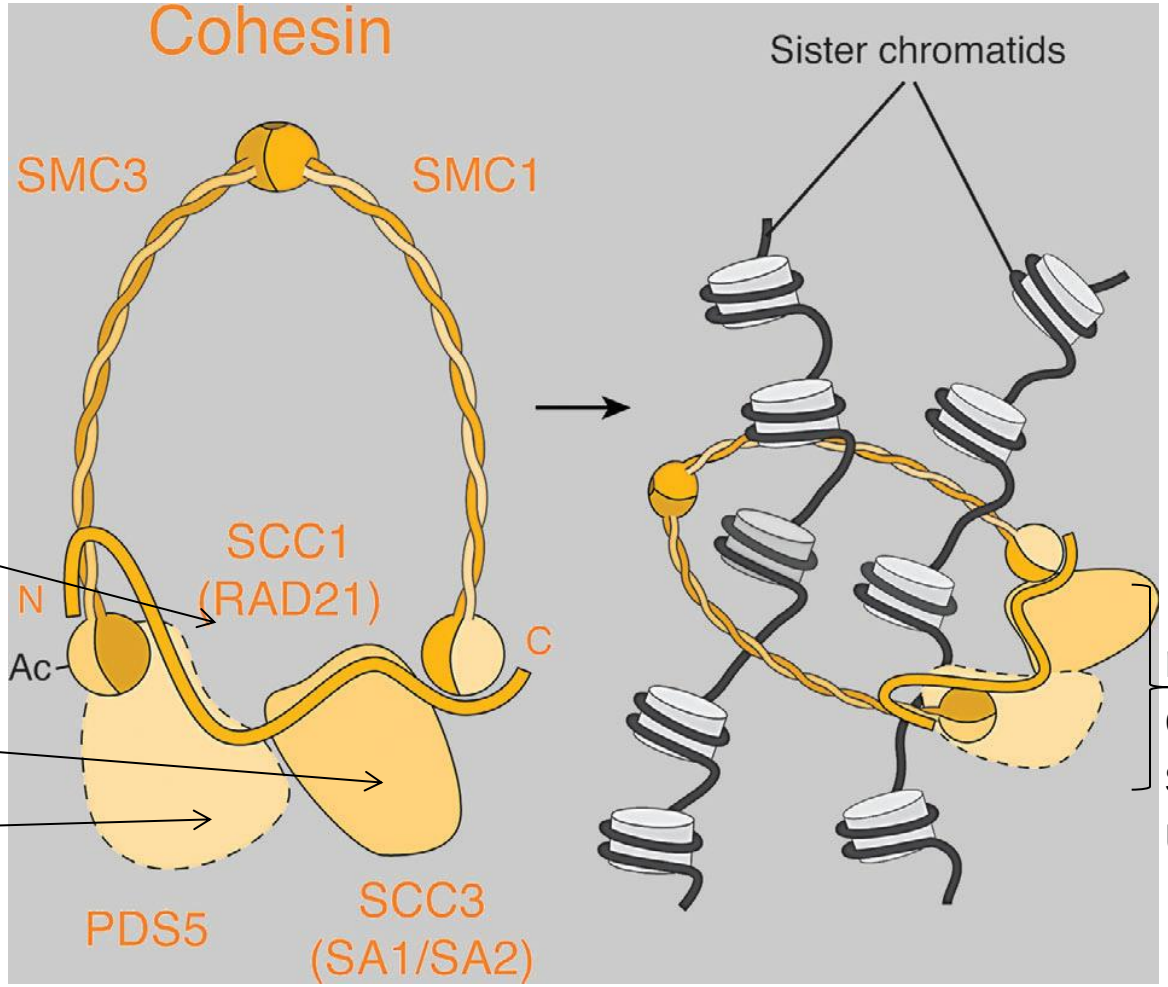


- **Complesso multiproteico: 4 subunità**
- Smc-1 e – 3: Membri di **Struct. Maintenance Chrom. (SMC)**
- una α-kleisin (ortol. a lievito Scc1)
- una proteina ortologa di lievito Scc3 (eg. STAG1-3 in uomo)

Cohesin complexes

- ✓ SMC1 and SMC3: Structural Maintenance of Chromosomes proteins
- ✓ a protein of the **kleisin family** that binds to the SMC ATPase

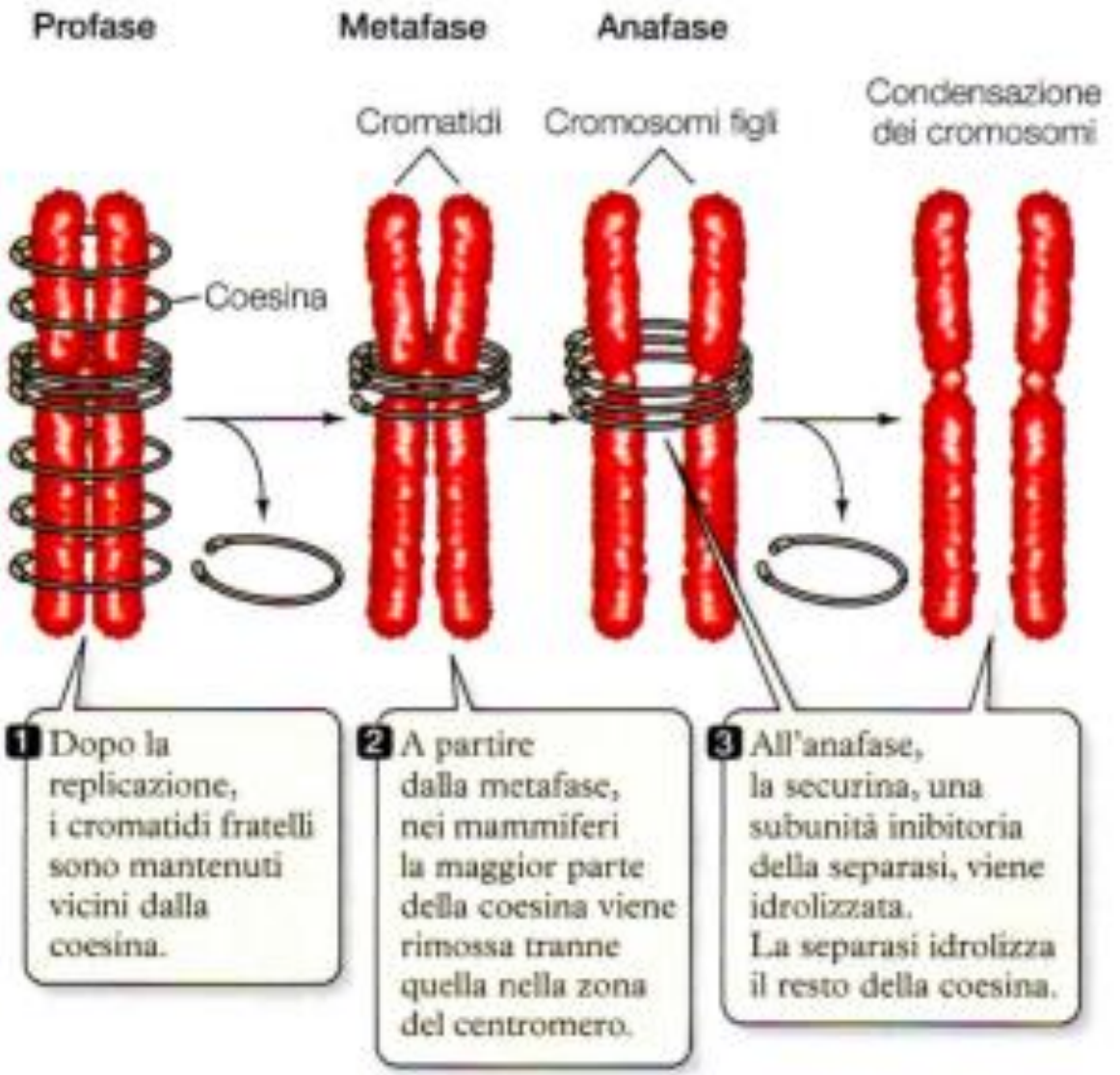
- Similar to condensin, the kleisin subunit binds to HEAT-repeat subunits called SCC3 or SA1/SA2 and PDS5.



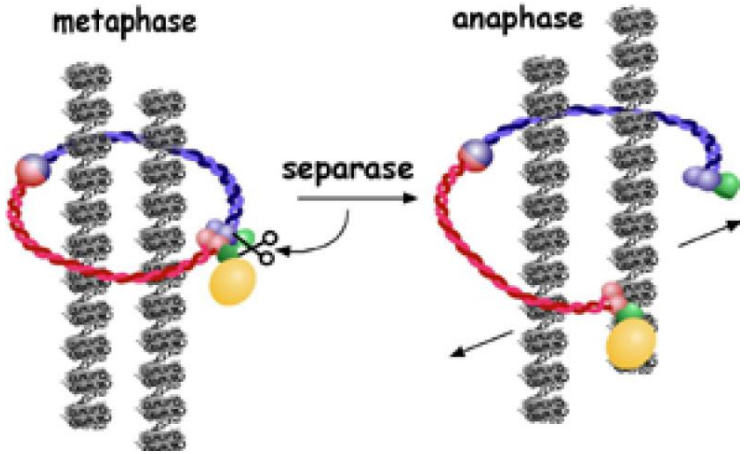
Architecture of the cohesin complex and mechanism of sister chromatid cohesion.
"Ac" indicates acetylation of the SMC3 ATPase domain.

Modalità dell'unione e della separazione dei cromatidi

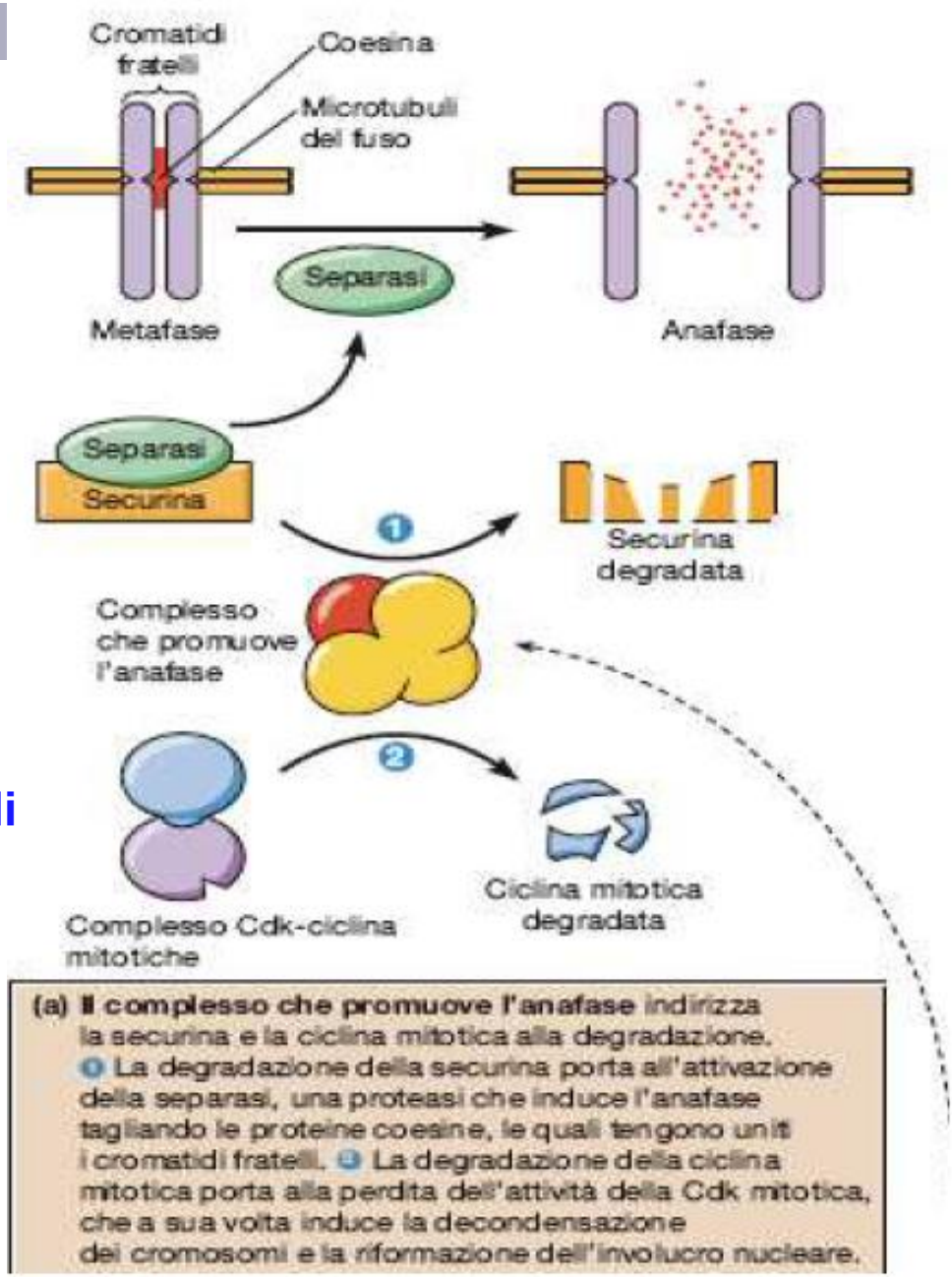
- La proteina **coesina** unisce i cromatidi fratelli,
- mentre l'enzima **separasi** idrolizza le molecole di coesina all'inizio dell'anafase,
- ciò permette così ai cromatidi di separarsi come due cromosomi figli



Schema d'azione della separasi



separasi: preservata dalla securina abolisce la coesione dei cromatidi fratelli



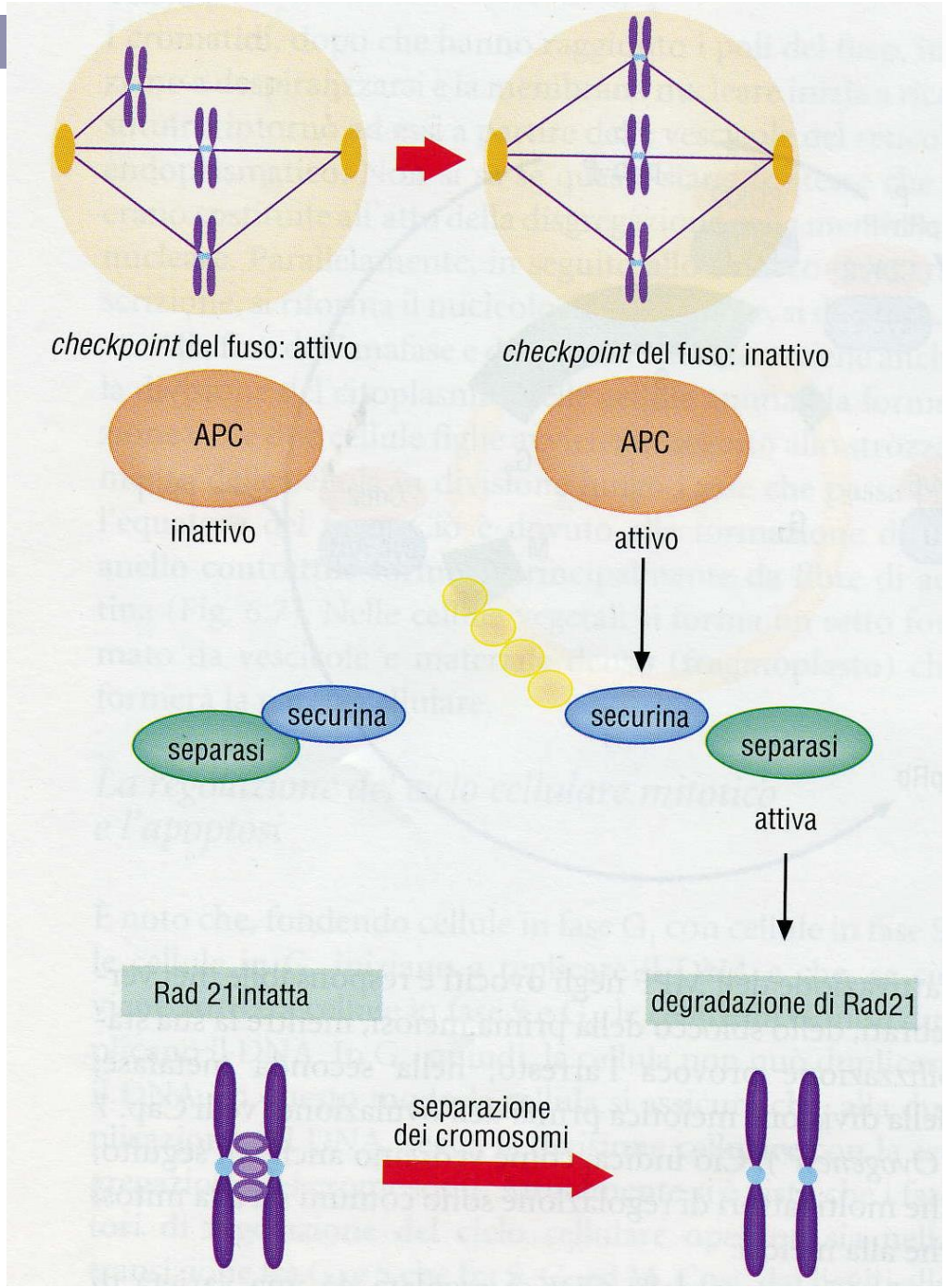
- Il complesso che promuove l'anafase

Indirizza proteine specifiche alla degradazione ubiquitina-dipendente

- **Securina**
- **Ciclina mitotica**

PUNTO DI CONTROLLO ASSEMBLAGGIO DEL FUSO

Quando si attiva APC (**Anaphase Promoting Factor)** **la securina è degradata**, dopo essere stata ubiquitinata. Questo provoca **attivazione della separasi** (enzima che degrada la componente Rad21 delle coesine) quindi consente la separazione dei cromatidi fratelli

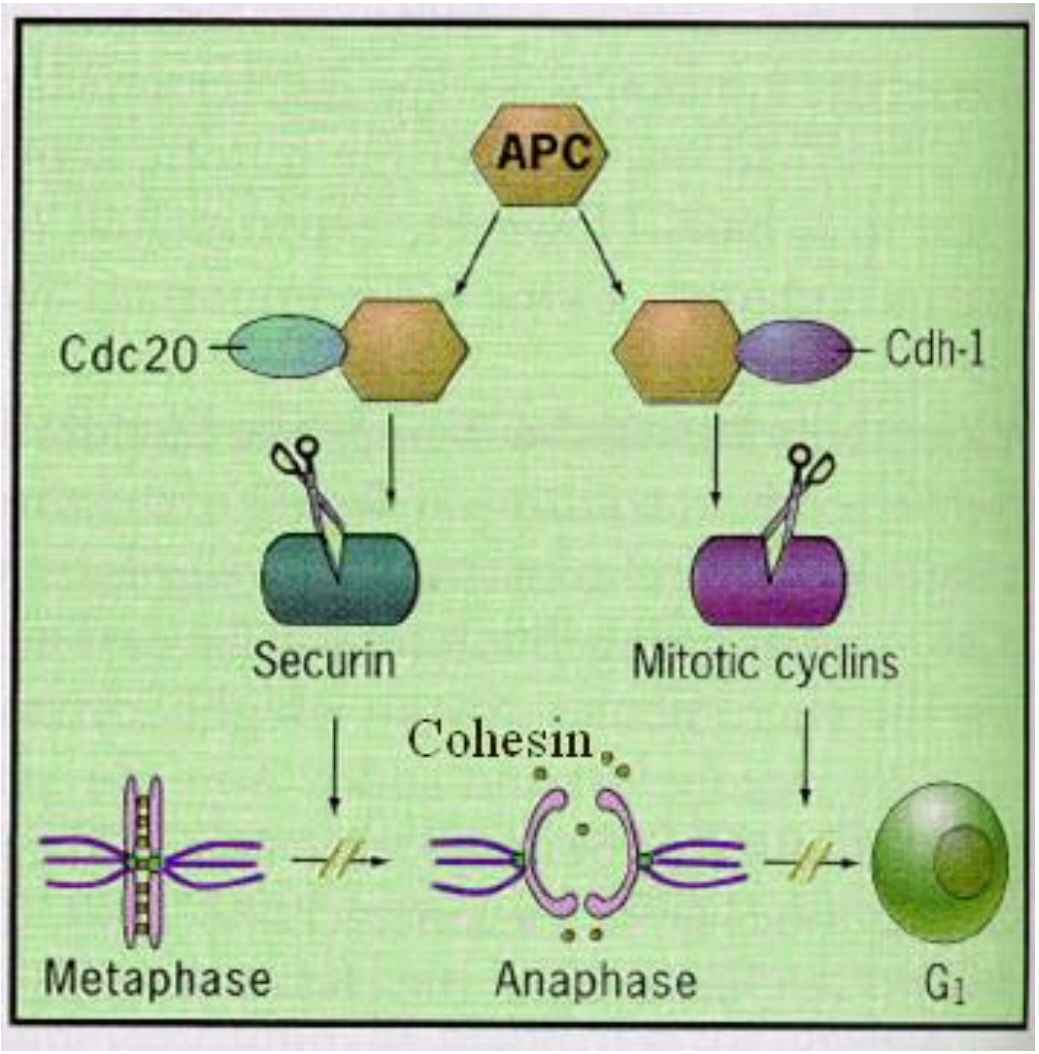


ACP: Anaphase Promoting Factor

Securina: la sua degradazione causa la separazione dei cromatidi fratelli (lievito) in cui la degradazione è causata da proteolisi ubiquitina dipendente

Separasi: preservata dalla securina abolisce la coesione dei cromatidi fratelli

Coesina: complesso multiproteico che causa la coesione dei cromatidi



Il centromero:

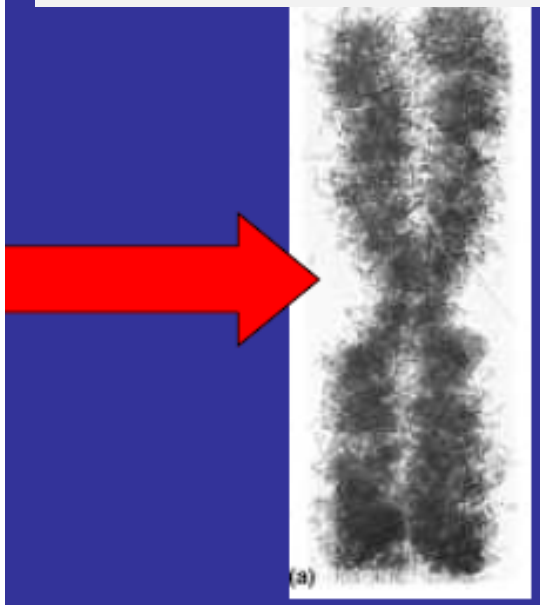
una regione di DNA necessaria per la segregazione dei cromosomi

- Il **centromero** (o regione CEN) è una regione **specifica del cromosoma eucariotico.**
- Storicamente è definito come "costrizione primaria del cromosoma"
- questo corrisponde alla regione in cui il cromosoma condensato (chiamato anche mitotico) risulta più sottile,
- Assomiglia pertanto a una sorta di strozzatura decentrata.



Centromero

- **Consente di tenere uniti i due cromatidi fratelli di ciascun cromosoma fino alla metafase e una corretta separazione dei due cromatidi fratelli all'anafase.**
- **consente pertanto una *corretta segregazione* dei cromosomi durante mitosi e meiosi**



Il centromero appare come **una *costrizione* in un unico punto del cromosoma**

Per ogni cromosoma il centromero è *sempre nella stessa posizione*

Nella maggior parte degli eucarioti a ogni centromero si attaccano *molte fibre del fuso*

Nel lievito *S. cerevisiae* ad ogni centromero si attacca un sola fibra del fuso

- I cromosomi senza centromero, o con due centromeri (di-centrici), **non possono attaccarsi al fuso.**
  - **si ripartiscono in modo anomalo durante la mitosi**
  - Ciò determina la formazione di cellule figlie con corredo genico non bilanciato.

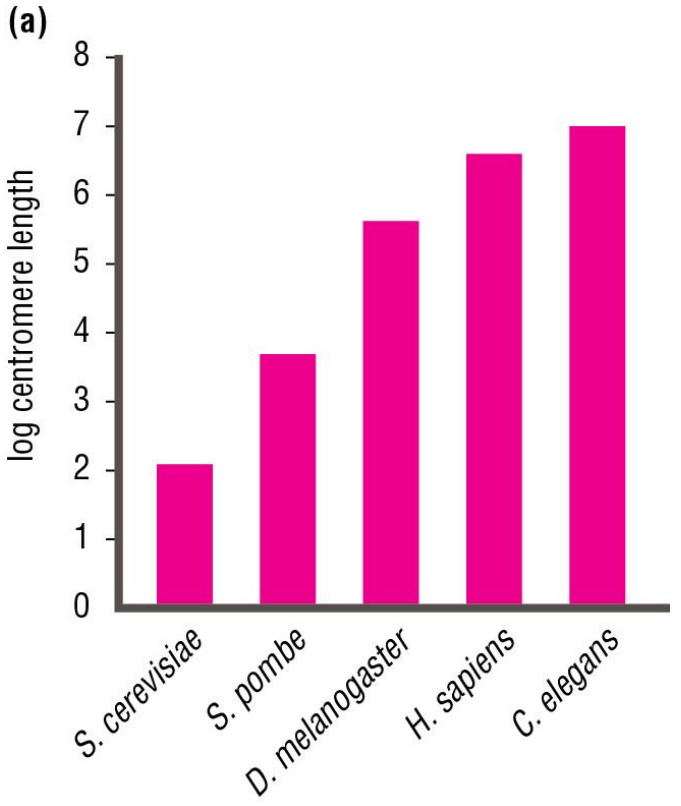
Il centromero

- Centromeri **variano in dimensioni e sequenze** in organismi differenti

- punti centromerici sono molto piccolo e hanno sequenze definite (come in *S. cerevisiae*).

- Regioni centromeriche sono fornate da centinaia di kb (come in *Drosophilia*, *S. pombe* e mammiferi)

- Alcuni organismi non hanno centromeri definiti
  - cromosomi sono chiamati olocentrici
  - qui le fibre si attaccano lungo la lunghezza del cromosoma



Il centromero: caratteristiche

- **composto da DNA altamente ripetuto;**
- Questo DNA non codifica per alcun gene ed è fortemente eterocromatico.
- La **funzione** di questa regione è prettamente **strutturale** nei processi di segregazione cromosomica
- in quanto vi si assembla una struttura proteica chiamata **cinetocore**.

- Il cinetocore interagisce con i microtubuli del fuso mitotico
- ciò permette la segregazione dei cromatidi fratelli nelle due cellule f durante il processo di anafase I e II della meiosi o durante l'anafase mitotica,
- se ciò non accadesse si avrebbero dei seri danni alle future cellule.

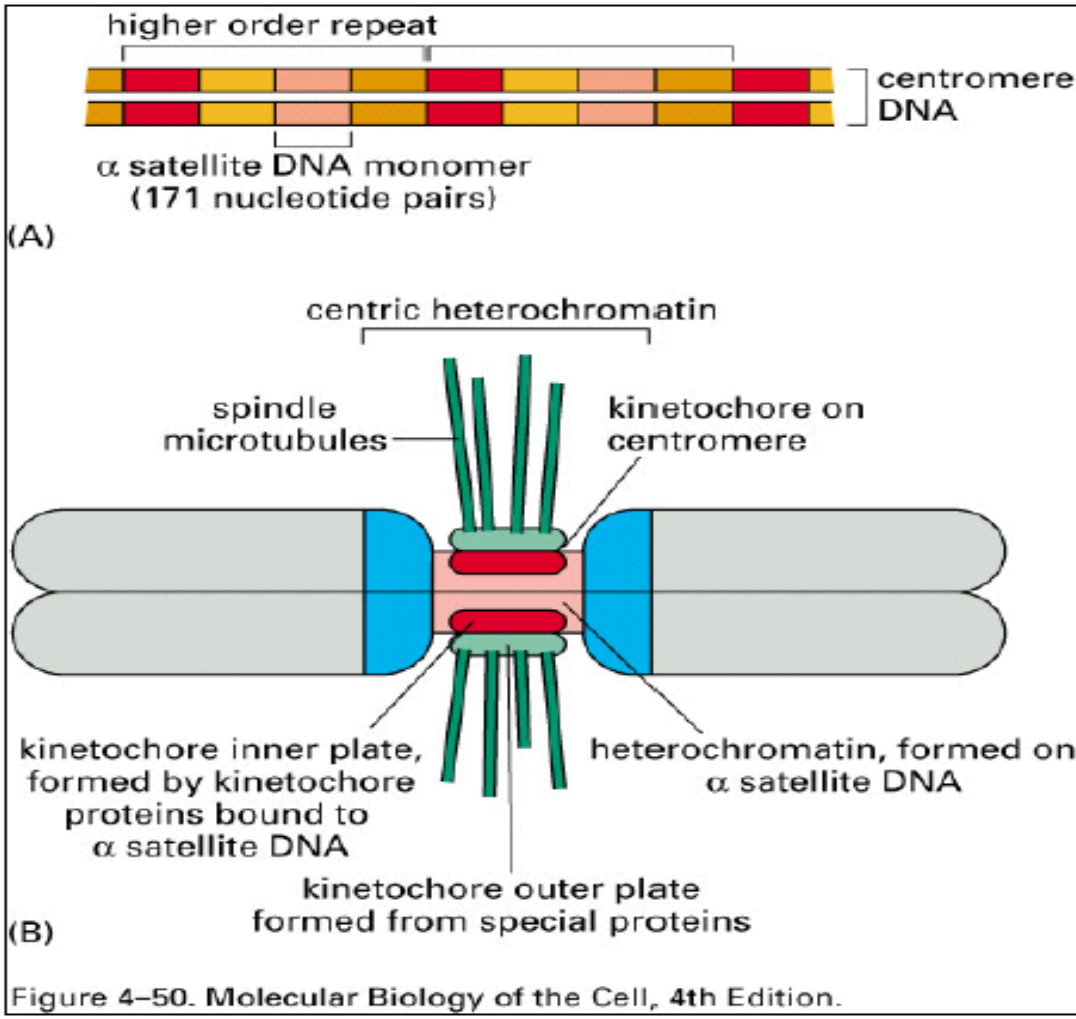


Figure 4–50. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

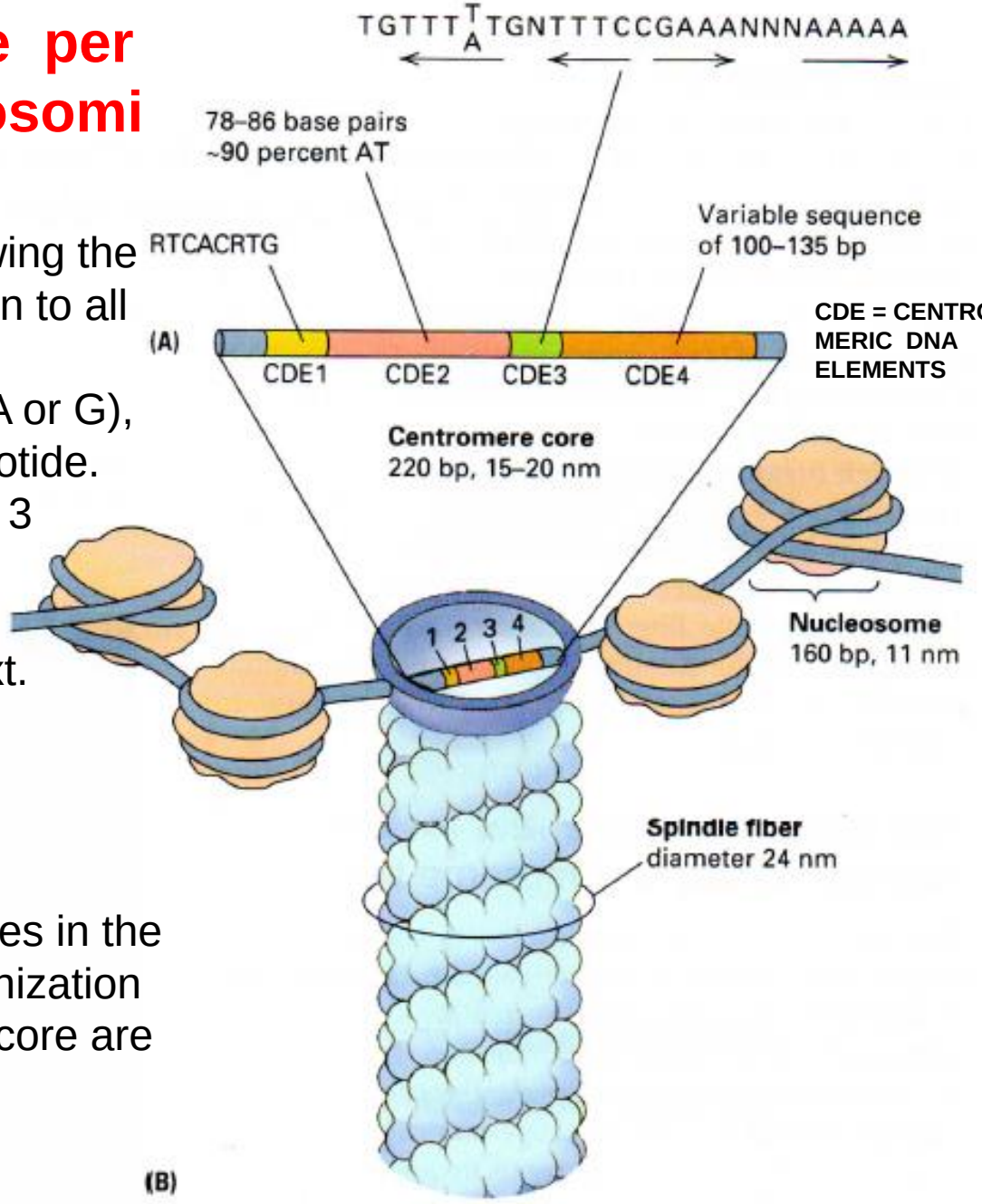
Il centromero è essenziale per la segregazione dei cromosomi

A yeast centromere.
(A) Diagram of centromeric DNA showing the regions (CDE1 through CDE4) common to all yeast centromeres.

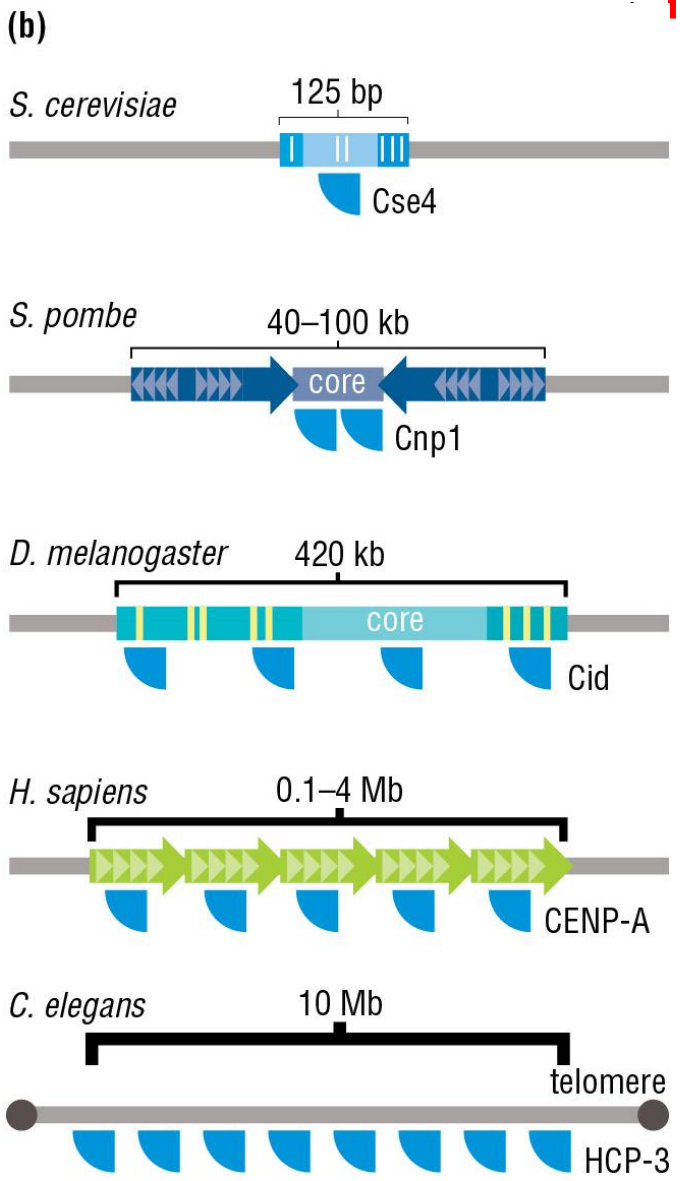
- The letter R stands for any purine (A or G), and the letter N indìcates any nucleotide. Inverted repeat segments in region 3 are indicated by arrows.
- The sequence of region CDE4 varies from one centromere to the next.

(B) Positions of the centromere core

- and the nucleosomes on the DNA.
- The DNA is wrapped around histones in the nucleosomes, but the detaìled organization and composition of the centromere core are unknown.



The Centromere



- In *S. cerevisiae*, the centromere **is 125bp** long and has 3 distinct regions, CDEI, CDEII, CDEIII

- CDEI and III have unique conserved sequences, disruption of which disrupts centromere function. CDEII is 80-90bp of AT-rich DNA, and the exact sequence is not important for function

- Each of the three *S. pombe* chromosomes has a slightly different centromere sequence

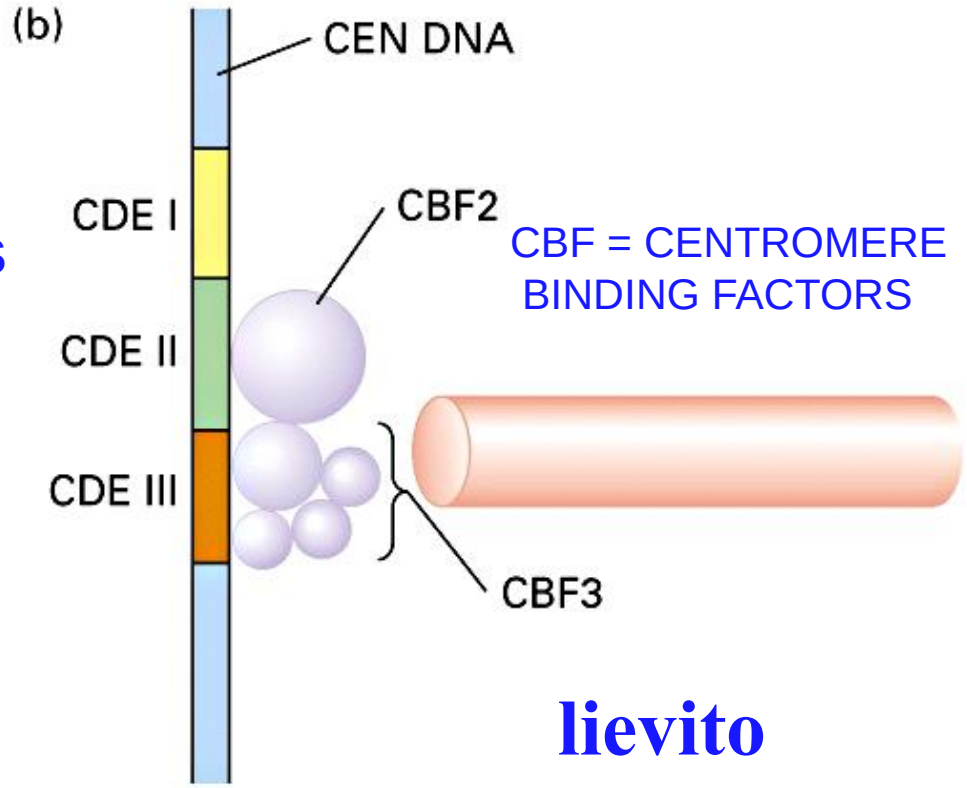
- Each *S. pombe* centromere has a unique core of 5-6 kb, with large inverted repeats sequences flanking it

- Human centromeres are about 1MB and are made of repetitive sequences (alpha-satellite repeats) – tandem repeats of 171bp arranged in higher order repeats

1) Il dominio centrale

- Il dominio centrale (CEN) è **composto dal cosiddetto DNA centromerico** che nella maggior parte degli eucarioti superiori è **composto da DNA satellite che forma** l'eterocromatina costitutiva, ovvero **quella cromatina che rimane inattiva** e non trascritta per tutto il ciclo cellulare e in tutti i tipi di cellule.
- Per esempio, le regioni centromeriche dei cromosomi umani contengono una sequenza di DNA di circa 170 bp ripetuta in tandem e denominata alfa-satellite.

CDE:
CENTROMERIC DNA ELEMENTS



lievito

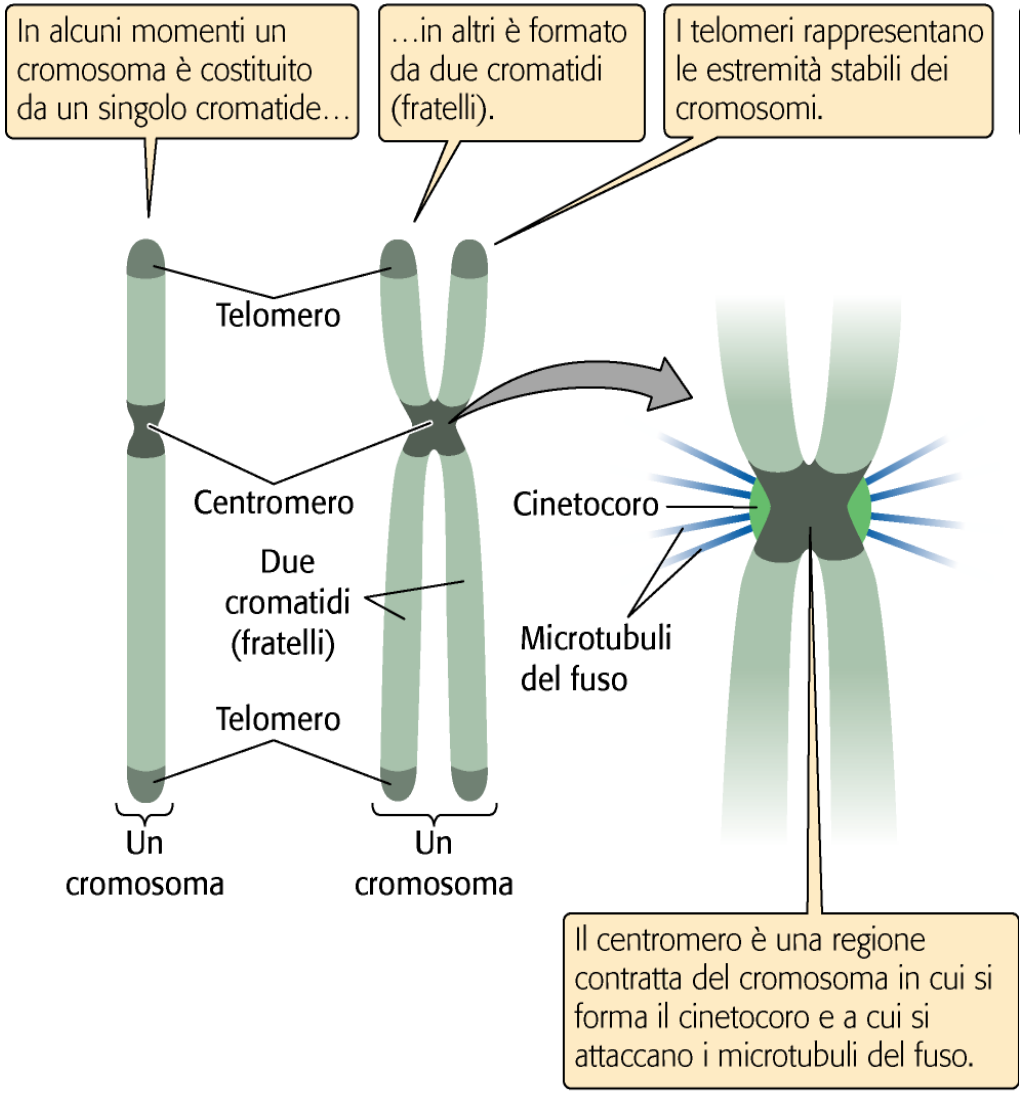
Sequenza consenso dei centromeri del lievito (*S. cerevisiae*)

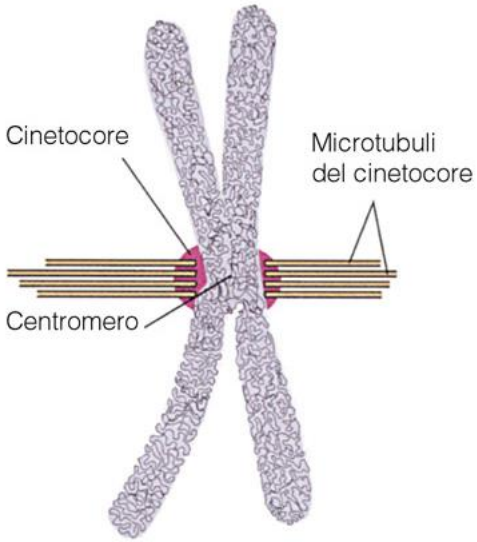


- Le coppie di basi presenti in 15 dei 16 centromeri sono **altamente conservate**.
- Le coppie di basi presenti in 10-13 dei 16 centromeri sono conservate e sono indicate con lettere maiuscole.
  Le posizioni non conservate sono indicate con trattini.
  R= purina

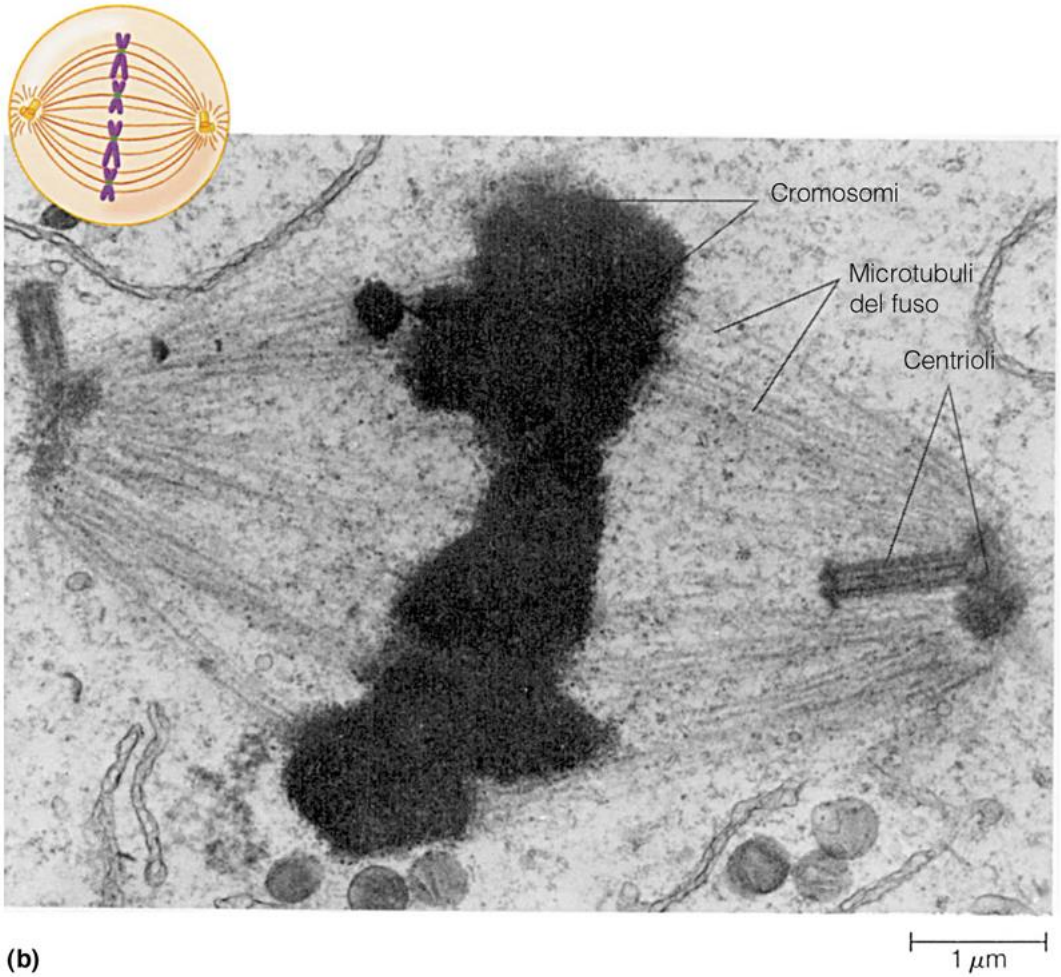
Il cinetocore:

- **sito d'attacco per i microtubuli del fuso mitotico**





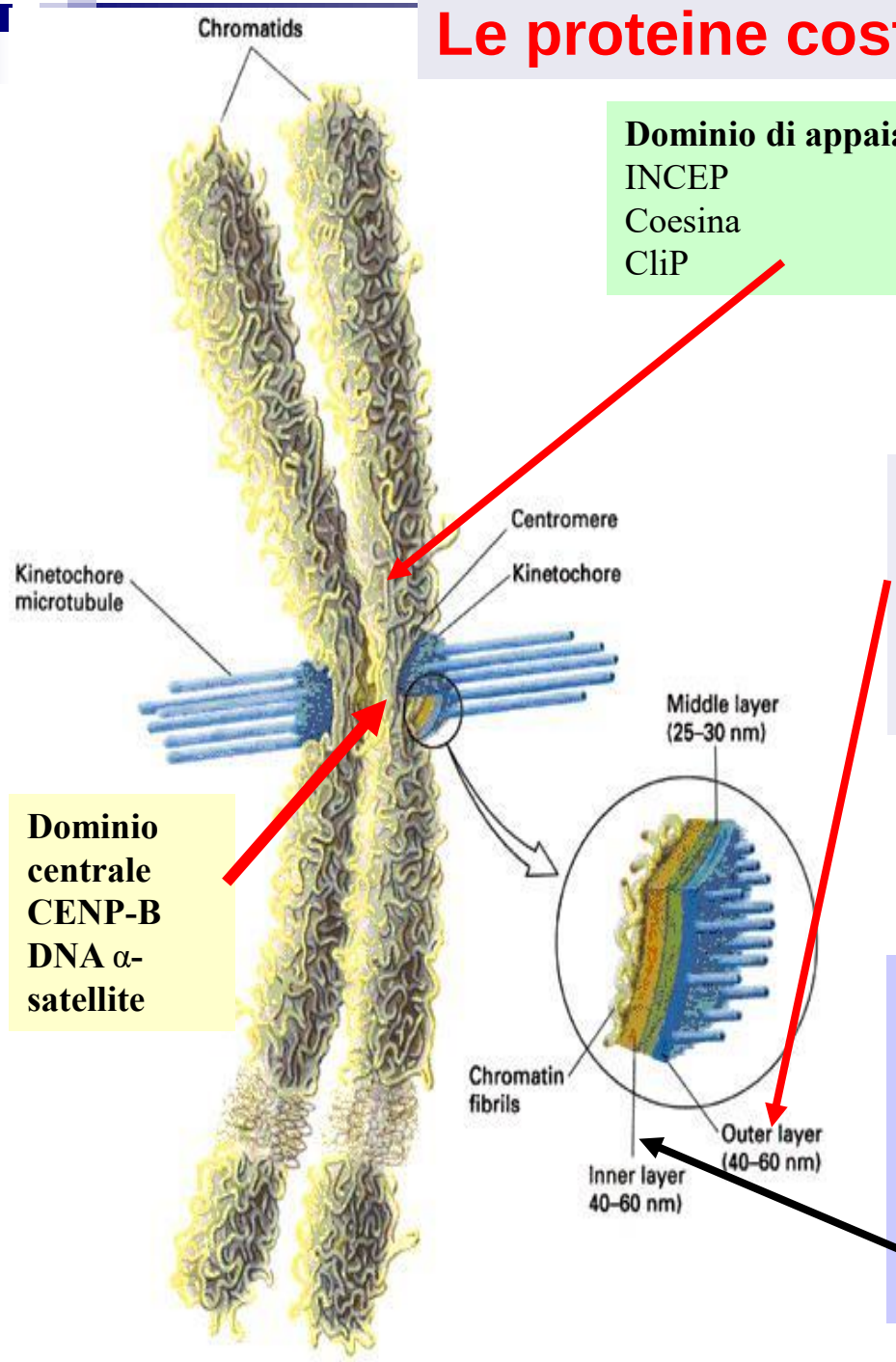
(a)



(b)

- **I cinetocori nel *lievito* sono piccoli e ciascuno è legato a un solo MT (MicroTubolo),**
- **mentre nelle cellule di *mammifero* i cinetocori sono molto più grandi e ognuno è attaccato a 30-40 MT del fuso.**

Le proteine costitutive del centromero



Dominio di appaiamento:
INCEP
Coesina
CliP

Dominio centrale CENP-B DNA α-satellite

Piastra esterna:
CENP-E
CENP-F
Dineina
Mad's
Bub's

Piastra interna:
DNA α-satellite
CENP-C
CENP-A
CENP-G
CENP-H
CENP-I
Mis12

- Le proteine coinvolte nella funzionalità del centromero sono numerose e possono essere
- **suddivise in due categorie:**
  - **proteine costitutive del centromero**
  - **proteine accessorie del centromero.**
- Tra le prime vi è un piccolo gruppo di proteine centromeriche molto importanti in quanto necessarie al corretto assemblaggio del cinetocore. Queste proteine, che sono associate al centromero per tutta la durata del ciclo cellulare, si assemblano in maniera gerarchica e co-dipendente permettendo sia la formazione del cinetocore che ha determinazione epigenetica e quindi la funzione e la propagazione dei centromeri.
- Tali proteine sono:
  CENP-A, CENP-B, CENP-C, CENP-H, CENP-I e Mis12.

COME E' FATTO UN CINETOCORE?

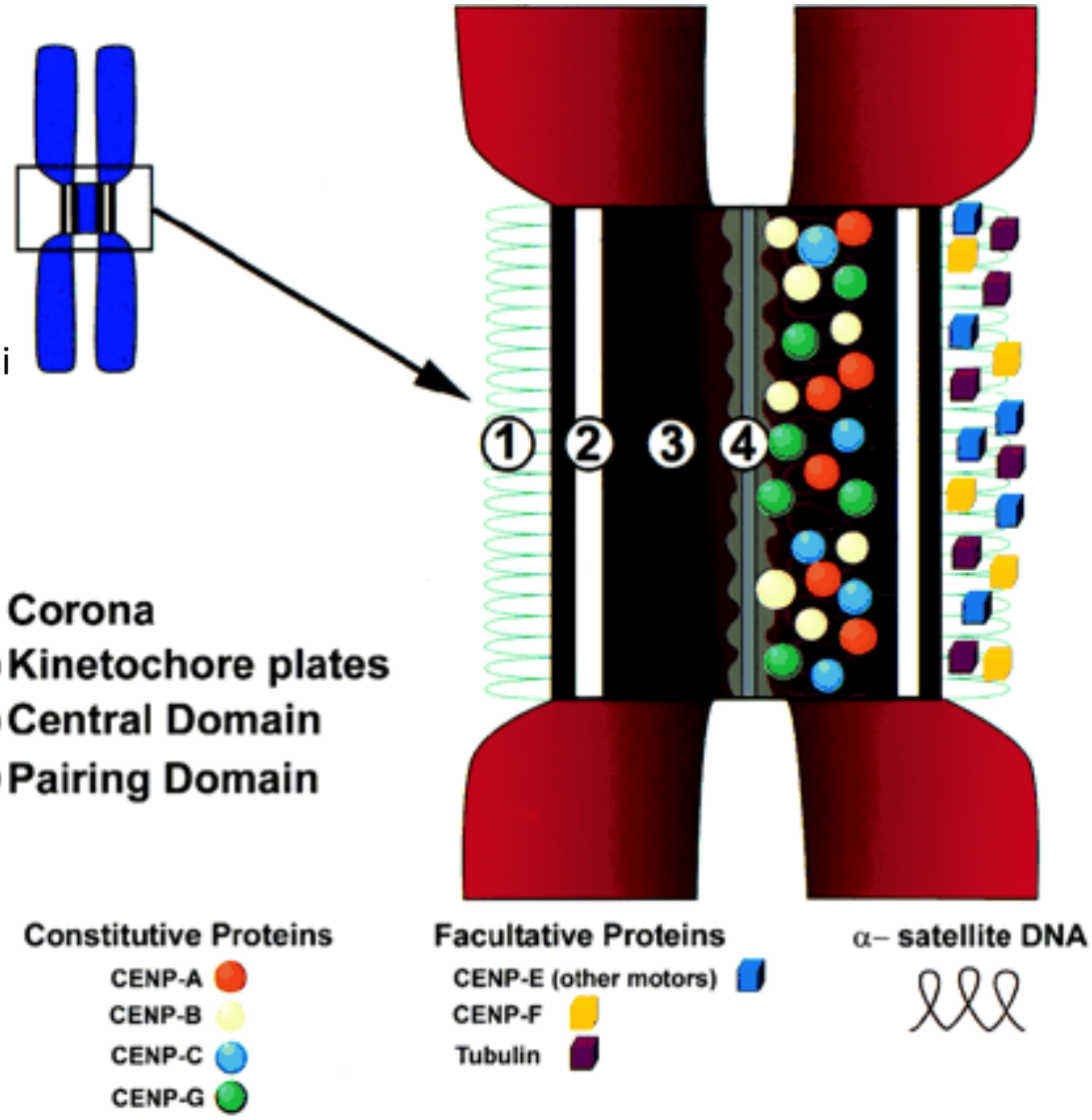
- I **cinetocori sono posizionati ai lati opposti della costrizione primaria, sulla faccia esterna del cromosoma.**
- Al ME presentano **una struttura a forma di disco trilaminare**:

- due parti, **la piastra esterna e quella interna**, sono elettrondense, **tra di loro si trova la terza parte,** più chiara, di 15-35 nm di spessore.

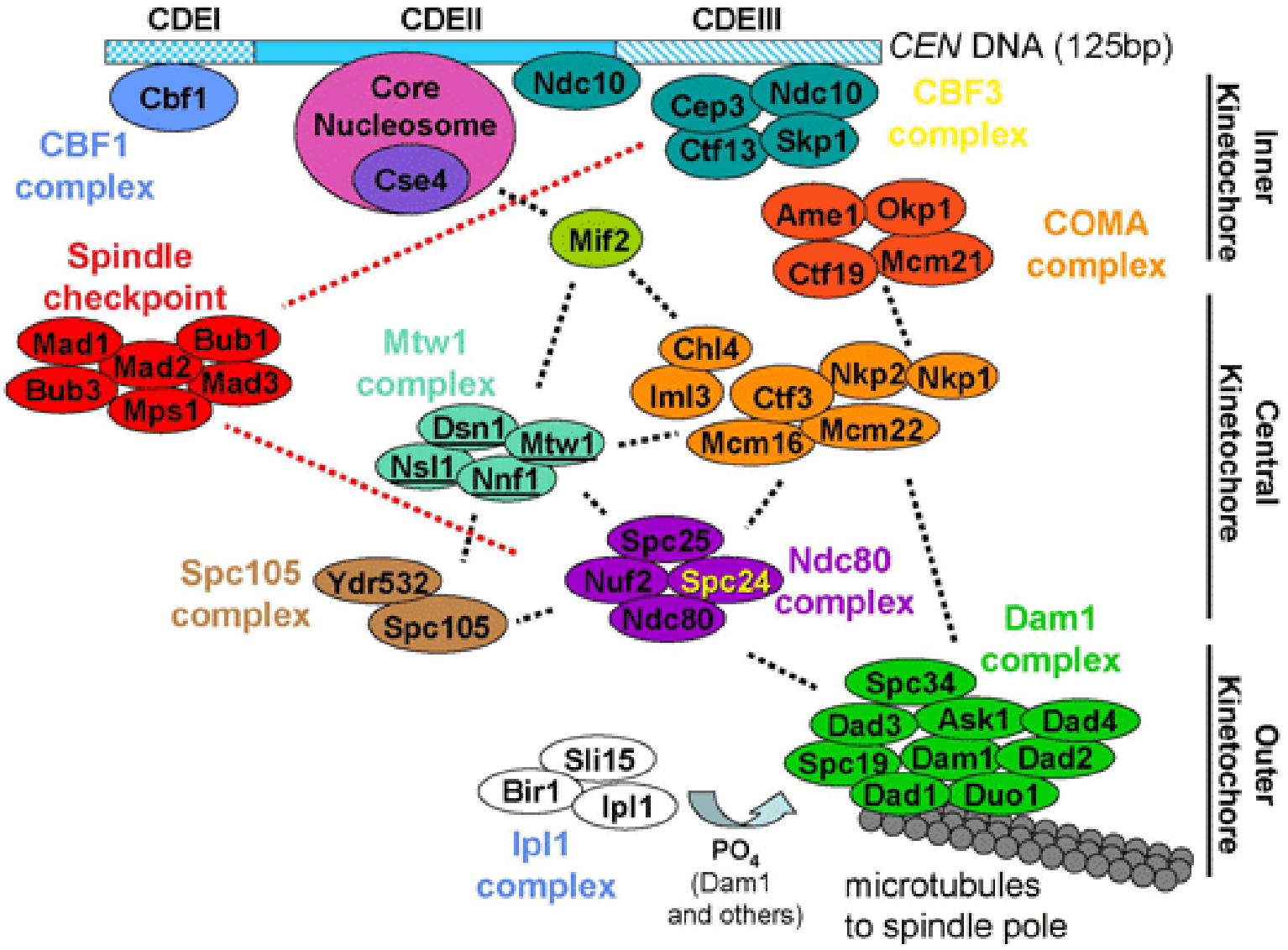
La piastra interna è associata con la superfice dell'eterocromatina centromerica, mentre quella esterna prende contatto con le fibre del fuso mitotico.

- **Il cinetocore contiene proteine con funzione diversa**.

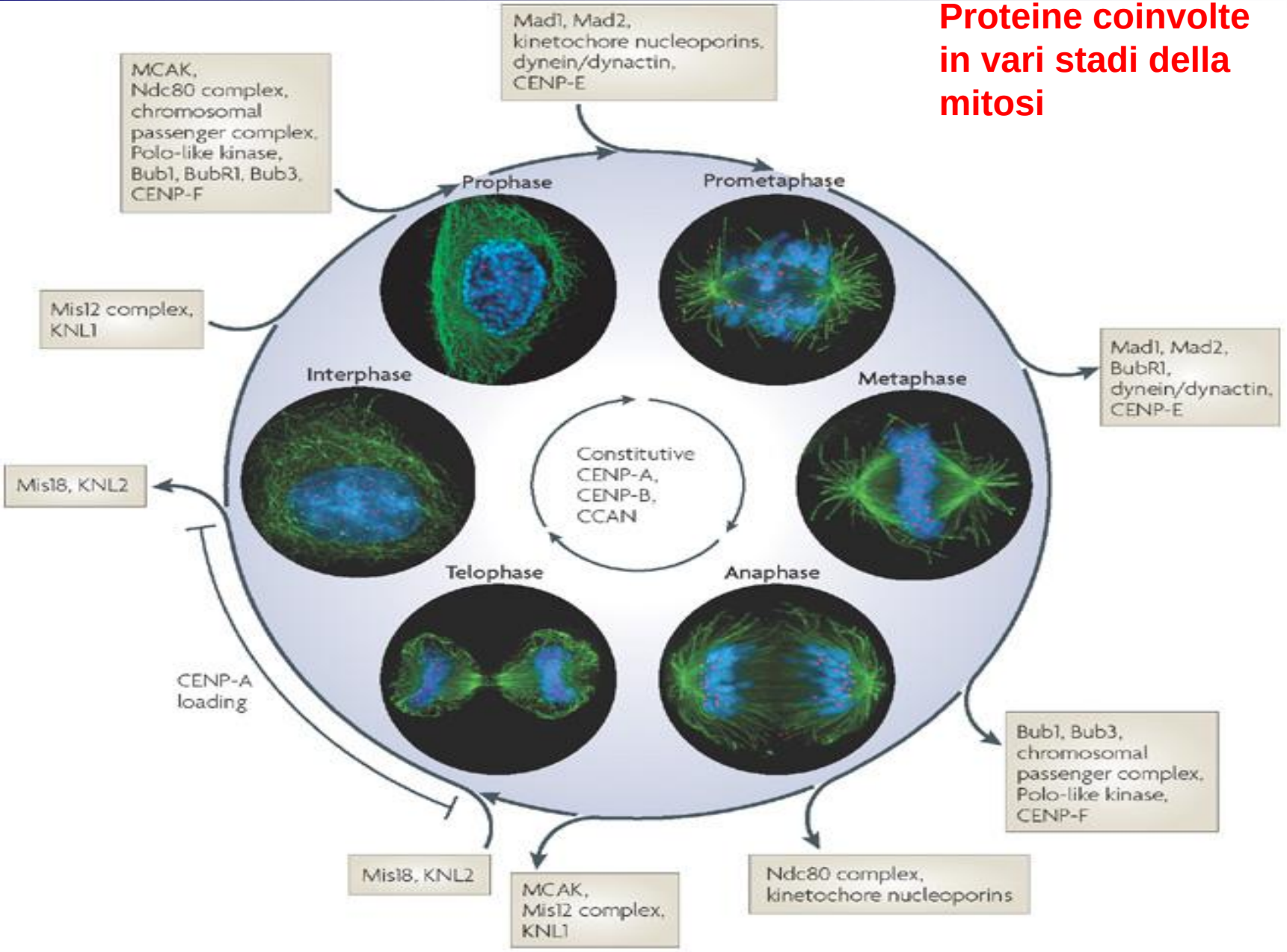
- Alcune sono coinvolte nell'attività motoria e fondamentali per l'organizzazione strutturale come le proteine CENP (CENtromere Protein),
- mentre altre sono implicate nella regolazione della transizione metafase-anafase



Struttura del cinetocore in lievito



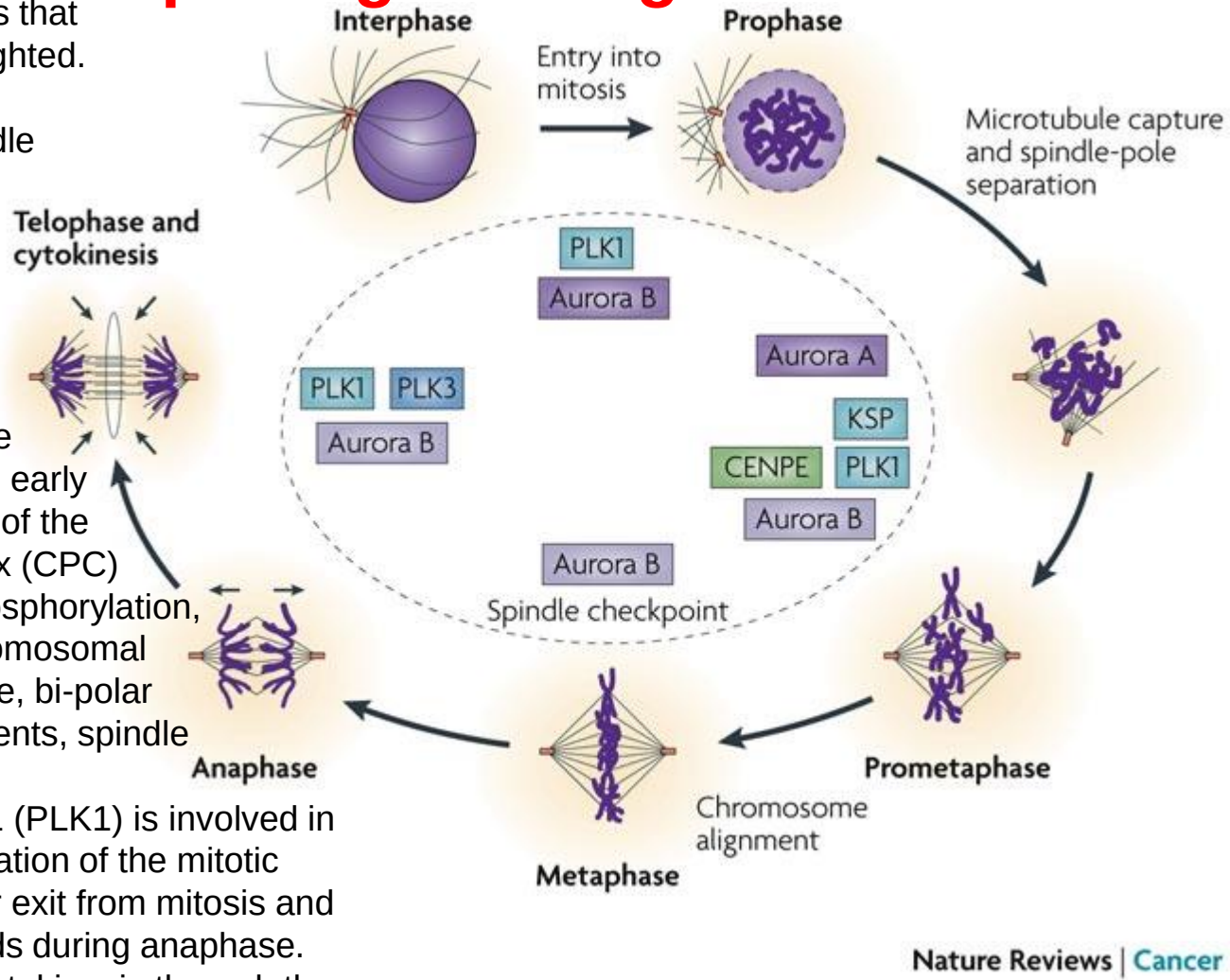
Proteine coinvolte in vari stadi della mitosi



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

The progression of mitosis through the canonical morphological stages

Specific druggable protein targets that function during mitosis are highlighted. Kinesin spindle protein (KSP) is required to establish mitotic spindle bipolarity through driving centrosome separation. Centromeric protein E (CENPE) is required for accurate chromosome congression at metaphase during mitosis. Aurora A is crucial for centrosome maturation and separation during early prophase. Aurora B is a member of the chromosomal passenger complex (CPC) and is involved in histone H3 phosphorylation, chromosomal condensation, chromosomal alignment on the metaphase plate, bi-polar centromere-microtubule attachments, spindle checkpoint and cytokinesis. During mitosis, Polo-like kinase 1 (PLK1) is involved in centrosome maturation and formation of the mitotic spindle. PLK1 is also required for exit from mitosis and the separation of sister chromatids during anaphase. PLK1 might also have a role in cytokinesis through the phosphorylation of the kinesin-like motor protein MKLP1.



Il complesso centromero-cinetocore: funzioni

- Il complesso centromero-cinetocore è capace di svolgere **funzioni essenziali in differenti aspetti della mitosi e della meiosi:**

- è responsabile **dell'appaiamento dei cromatidi fratelli**,

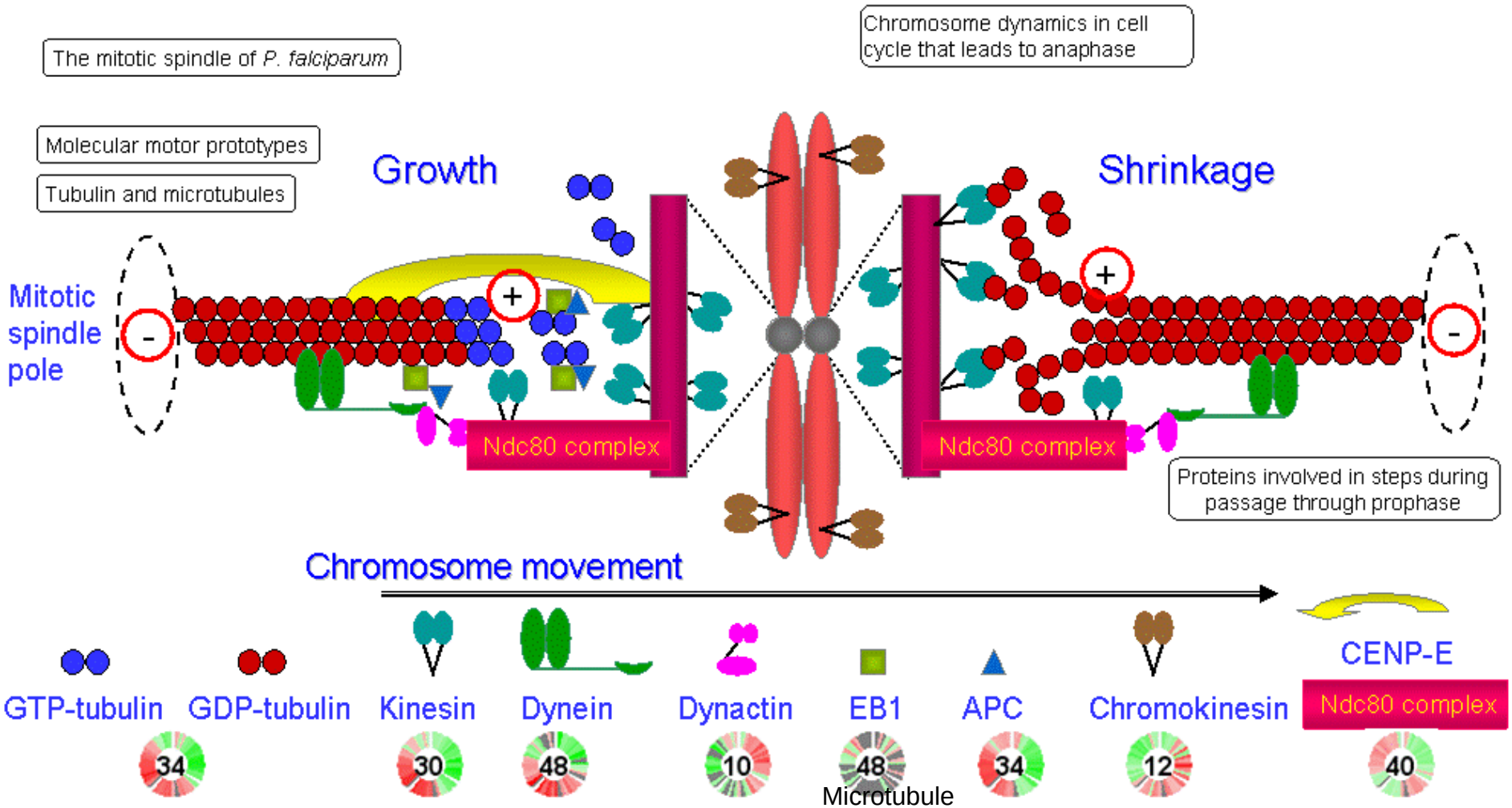
- rappresenta il **sito d'attacco per i microtubuli** del fuso mitotico,

- **controlla la transizione metafase-anafase** nel ciclo cellulare regolando il movimento dei cromosomi.

Corretto orientamento dei cromatidi fratelli e la segregazione degli stessi durante l'anafase

- Il corretto orientamento dei cromatidi fratelli e la segregazione degli stessi durante l'anafase sono **determinati dal legame dell'estremità positiva** (*plus-end*) dei microtubuli del fuso mitotico, provenienti dai poli opposti della cellula, alla piastra esterna del cinetocore (che contiene proteine importanti per il movimento dei cromosomi quali CENP-E e la **dineina)**.
- In genere i **cinetocori sono in grado di legare dai 10 ai 45 microtubuli.**

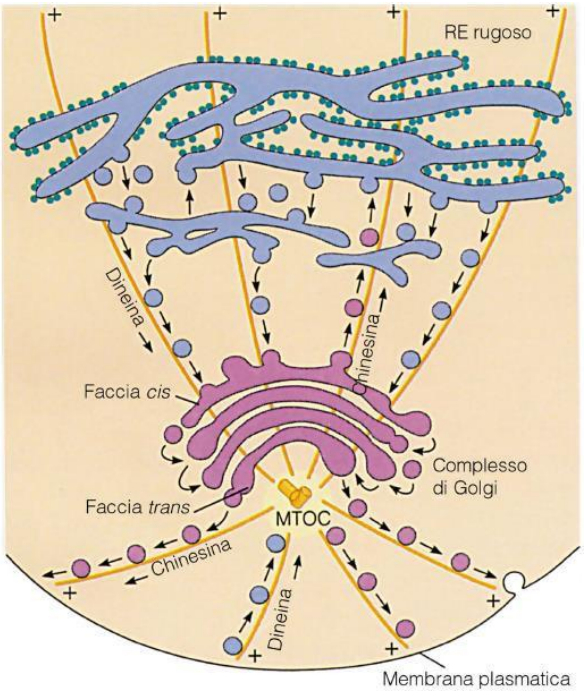
Kinetochores power chromosome movements in mitosis

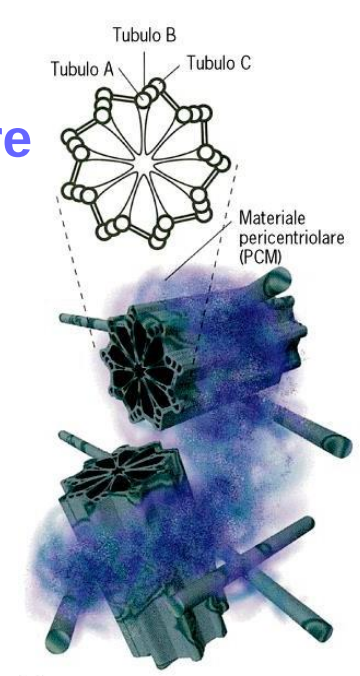


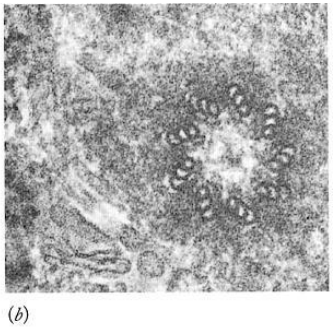
Kinetochore microtubules are captured by motor proteins, including CENP-E and cytoplasmic dynein, the latter in associated with dynactin, and NDC80. Kinesin acts as a microtubule disassemblase at and between the two sister kinetochores. Microtubule plus-end tracking proteins (such as EB1, APC) track microtubule “plus” ends and contribute to kinetochore microtubule stability and attachment. Plus-end directed chromokinesins are localized on chromosome arms and are responsible for driving the chromosome arms away from the poles (the “polar ejection” force).

Centrosoma e Centrioli

- I microtubuli si formano in un area denominata ***MTOC*: *Centro Organizzatore dei MicroTubuli***
- Nell'interfase ***MTOC*** prende il nome di ***Centrosoma,*** *struttura* localizzata vicino al nucleo
  - formata da due *centrioli*
  - circondati da **materiale pericentriolare**
  - Centrioli sono costituiti da triplette di microtubuli disposti a cerchio









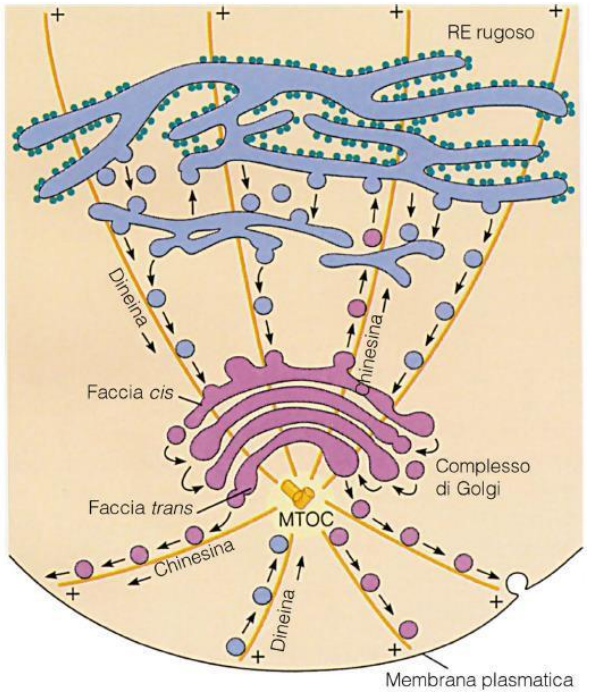
Centro Organizzatore dei Microtubuli

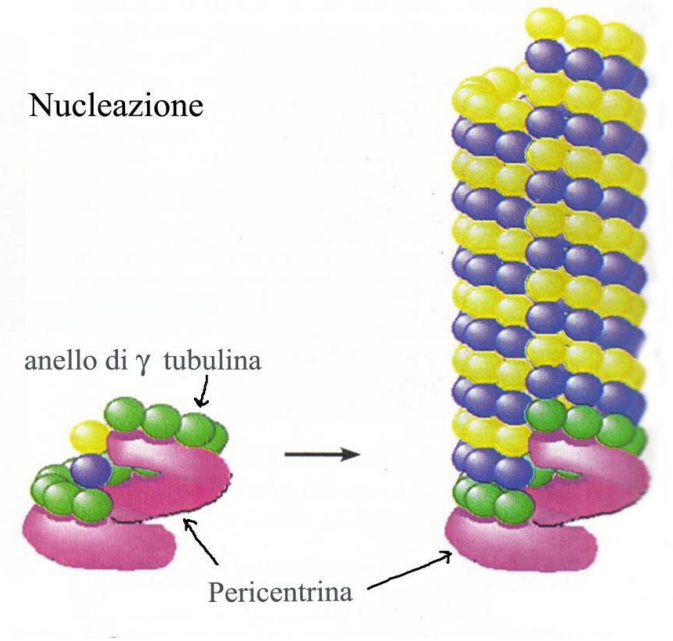
- Il materiale pericentriolare presenta due proteine

- ***y- Tubulina***
  - Conformazione ad anello alla base del microtubulo nascente
  - Serve da stampo nella nucleazione

- ***Pericentrina***

- L'estremità negativa del microtubulo è collegata con il MTOC (Centro Organizzatore dei MicroTubuli)

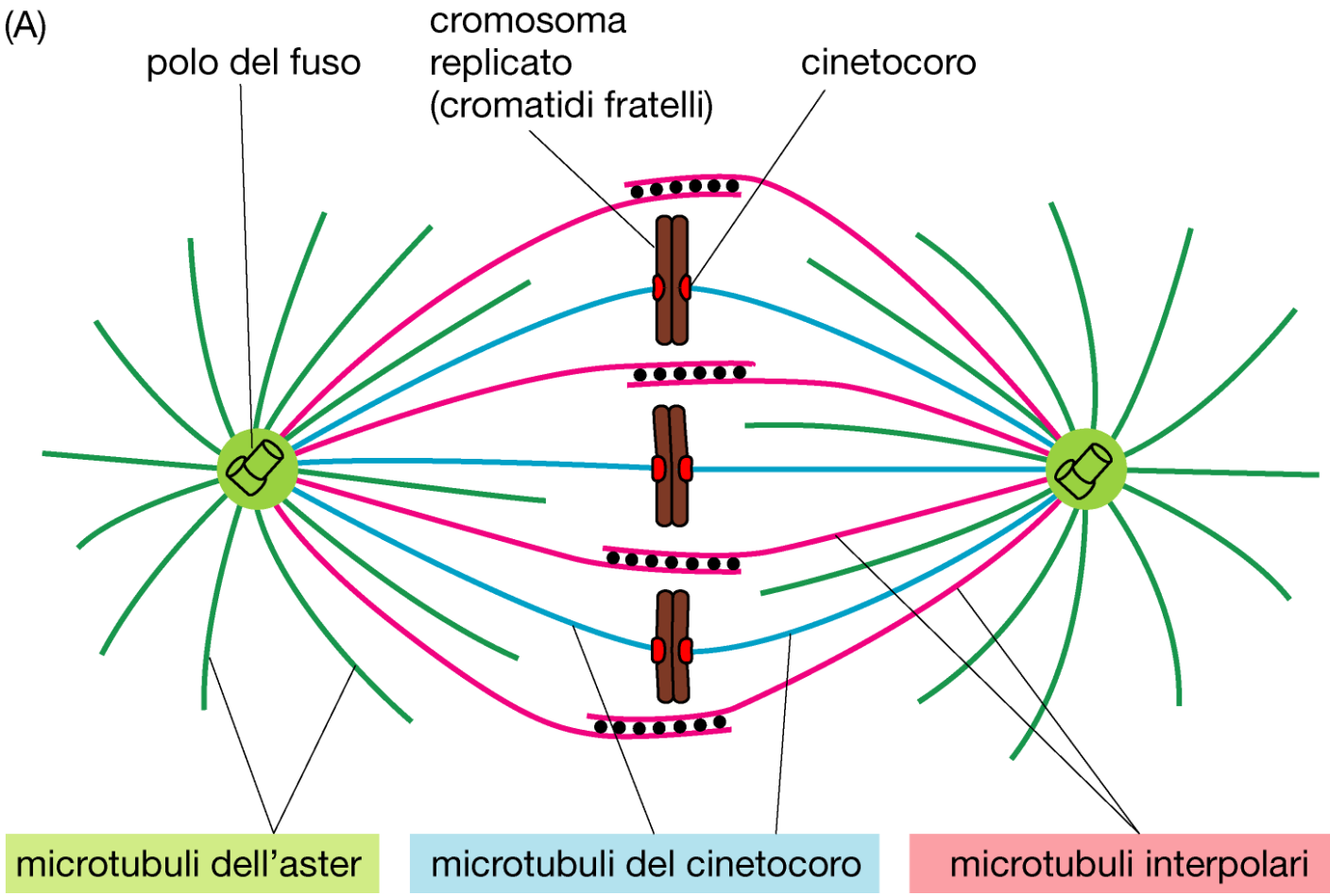




A CHE SERVE IL FUSO MITOTICO? COME SI FORMA? COME FUNZIONA?

- come si allineano i centrosomi?
- come si separano i centrosomi?
- come i microtubuli si legano ai cromosomi?
- come vengono ‘agganciati’ i cromosomi?
- come si muovono i cromosomi?
- come si separano i cromatidi?

Il fuso mitotico è composto da tre tipi di microtubuli



1

(irradiano in tutte le direzioni dai centrosomi)

2

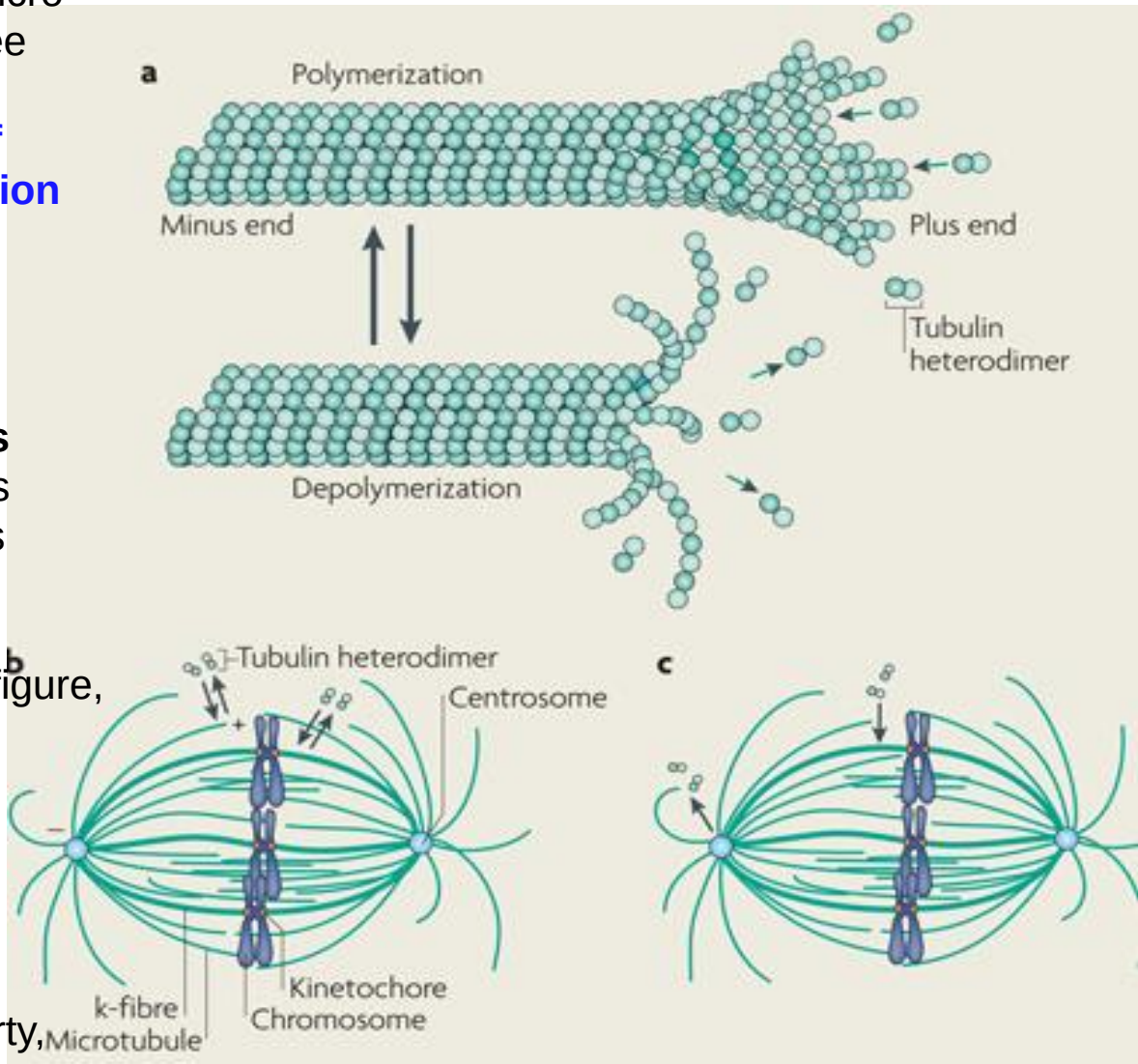
(attaccati al cinetocoro specializzato)

3

(sovrapposti sulla linea mediana del fuso)

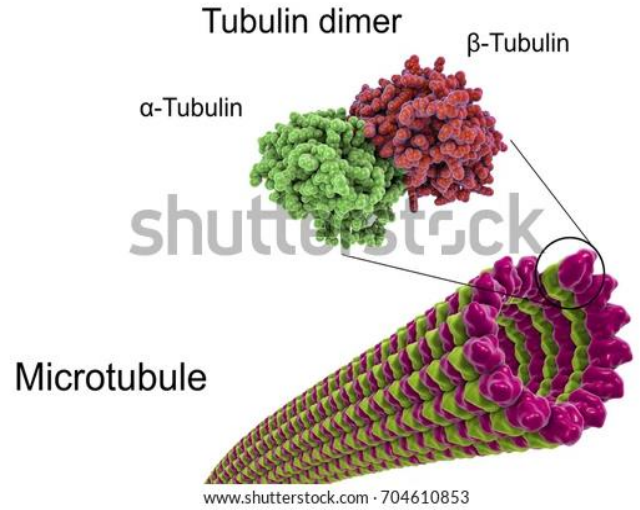
Il fuso mitotico è composto da microtubuli

- Microtubules are **dynamic polymers** that are **assembled from tubulin heterodimers**, which are organized such that the micro-tubules have an intrinsic polarity (see the figure, part a).
- Microtubules **undergo periods of polymerization and depolymerization** and interconvert randomly between these states , a property known as dynamic instability.
- Although microtubules **exhibit dynamic instability at both ends of the microtubule**, the plus ends are more dynamic than the minus ends.
- Microtubules in the spindle also **exhibit dynamic instability** (see figure, part b), which occurs primarily at the plus ends of the microtubules as the minus ends are often capped at the centrosome.
- However, spindle microtubules and kinetochore (k)-fibres exhibit an additional dynamic property, known as microtubule flux, in which **there is a net addition of tubulin heterodimers** at the plus ends near the kinetochores and a net loss of tubulin subunits at the minus ends near the centrosomes (see the figure, part c).



Caratteristiche strutturali dei microtubuli

- **sono elementi cavi orientati con una estremità positiva e l'altra negativa.**
- Sono **polimeri di un eterodimero, l' α- e β-Tubulina (PM 55 kD/ogni sub**)
  - diametro esterno è di 25 nm,
  - quello interno di 15 nm.
  - Lunghezza diversi µm



In sezioni trasversali si osservano 13 sub-unità. Pertanto i m**icrotubuli** sono **costituiti da 13 protofilamenti affiancati.**

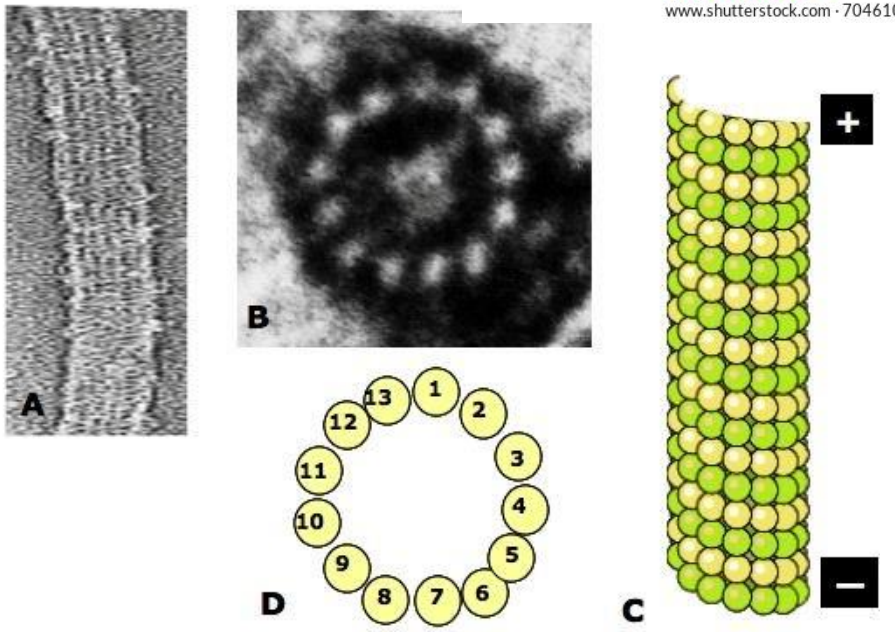


figura: Micrografia elettronica di un microtubulo ottenuta per colorazione negativa (A), sua sezione trasversale (B) e loro rappresentazione schematica (C) e (D)

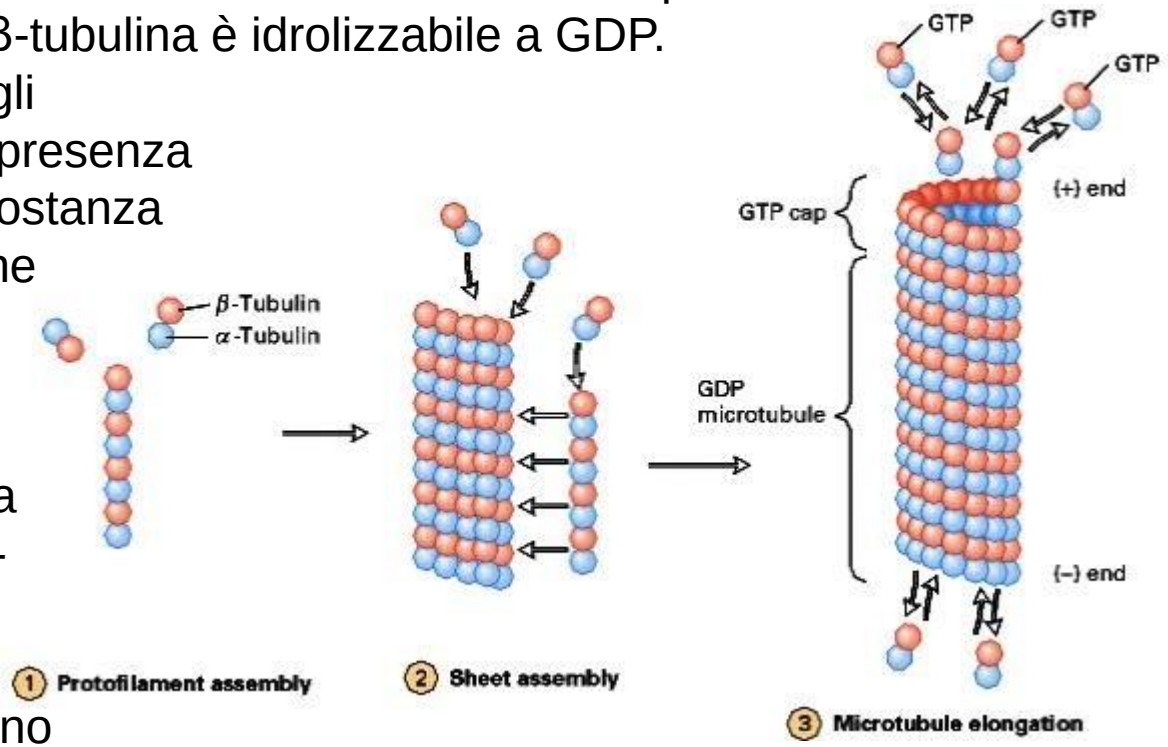
Funzione dei Microtubuli

- **Sostegno e forma alle cellule**
- Trasporto degli organelli
- Formano anche ciglia e flagelli
- **Formano il fuso mitotico** per separare i cromosomi nella divisione cellulare

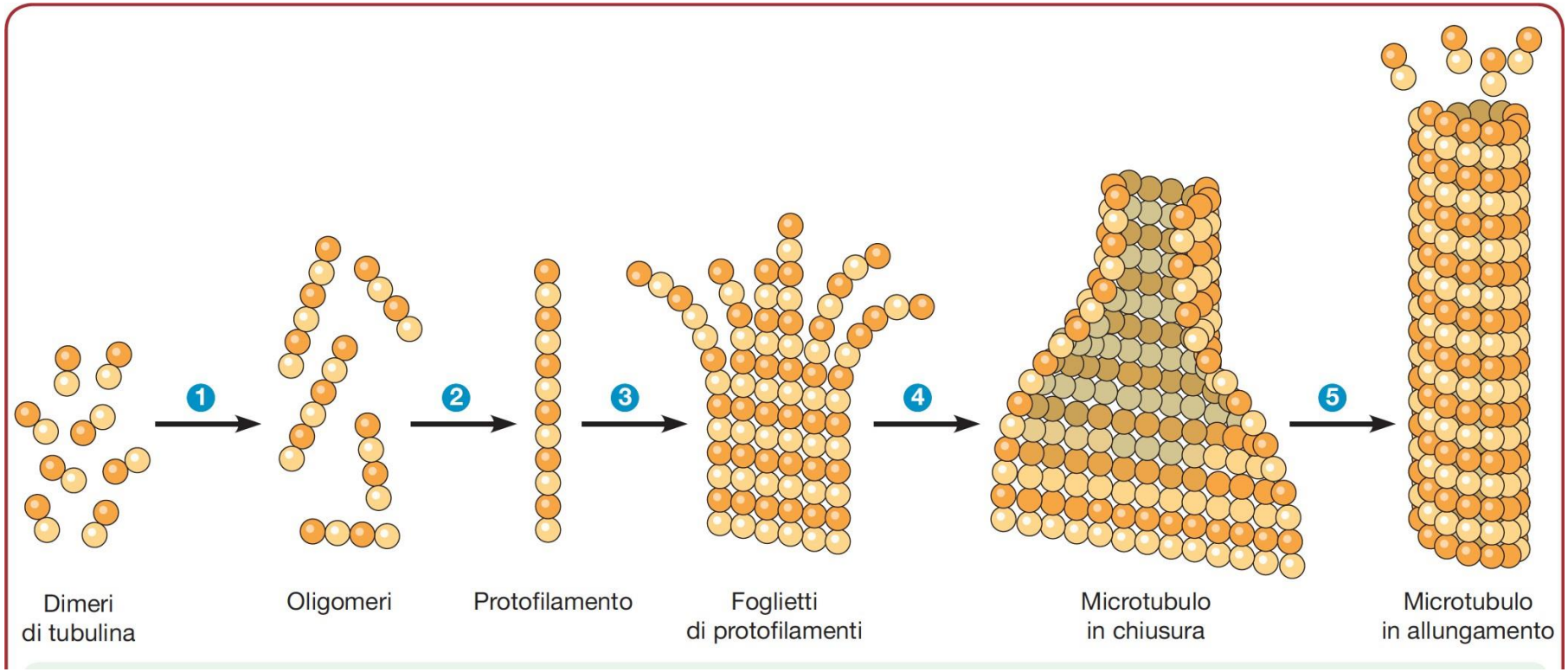


Microtubuli: Assemblaggio *in vitro*

- Le sub-unità di α- e β-tubulina si trovano sempre associate a formare un eterodimero di tubulina.
- Entrambe le sub-unità legano una molecola di GTP, ma solo quella della β-tubulina è idrolizzabile a GDP.
- In vitro la polimerizzazione degli etero-dimeri avviene a 37°C, in presenza di GTP, di Mg^{++}, di EGTA (una sostanza che sequestra il Ca^{++}) e di proteine collettivamente denominate **MAPs (Microtubule-Associated Proteins).**
- Gli eterodimeri polimerizzano a tandem ordinati a formare i proto-filamenti lineari orientati.
  - Iniziano con la sub-unità α (estremità negativa) e terminano con la sub-unità β (estremità positiva).
  - Tredici protofilamenti si associano lateralmente a registro per poi chiudersi a formare il microtubulo.
  - L'aggiunta di nuovi **eterodimeri avviene preferenzialmente all'estremità positiva**, dove costituiscono il cappuccio a GTP. Tuttavia poco dopo la GTP idrolizza a GDP.



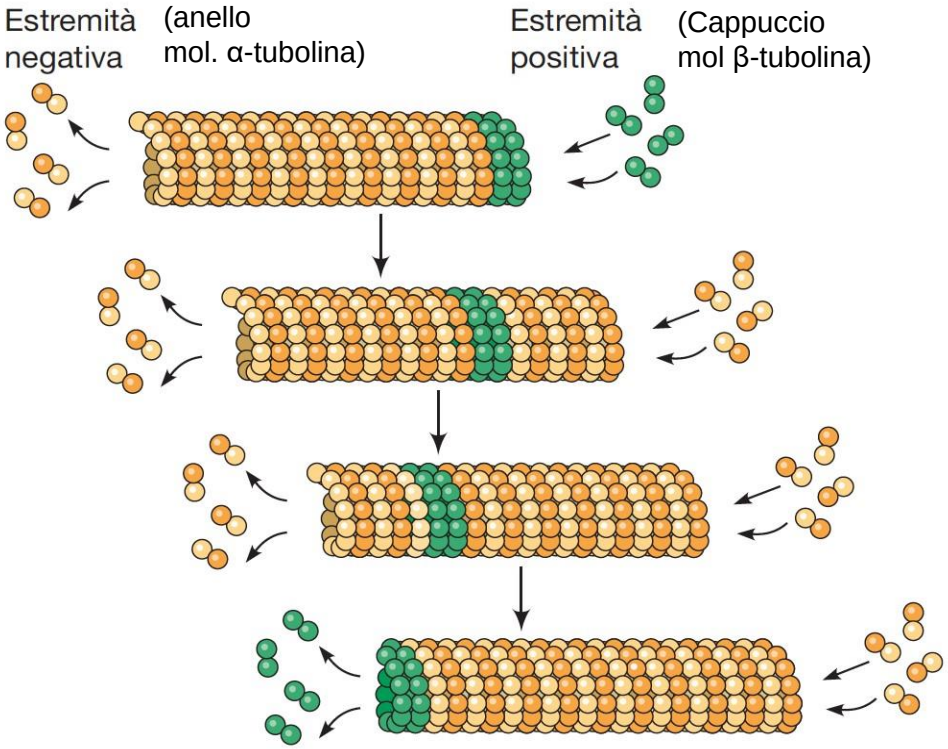
Formazione dei microtubuli



- La tubulina lega il GTP e lo idrolizza in GDP quando polimerizza
- I dimeri di tubulina polimerizzano a formare lunghe **catene chiamate proto-filamenti**
- I protofilamenti si assemblano a file di tredici che si avvolgono a spirale a formare il microtubulo

Dinamica dei Microtubuli

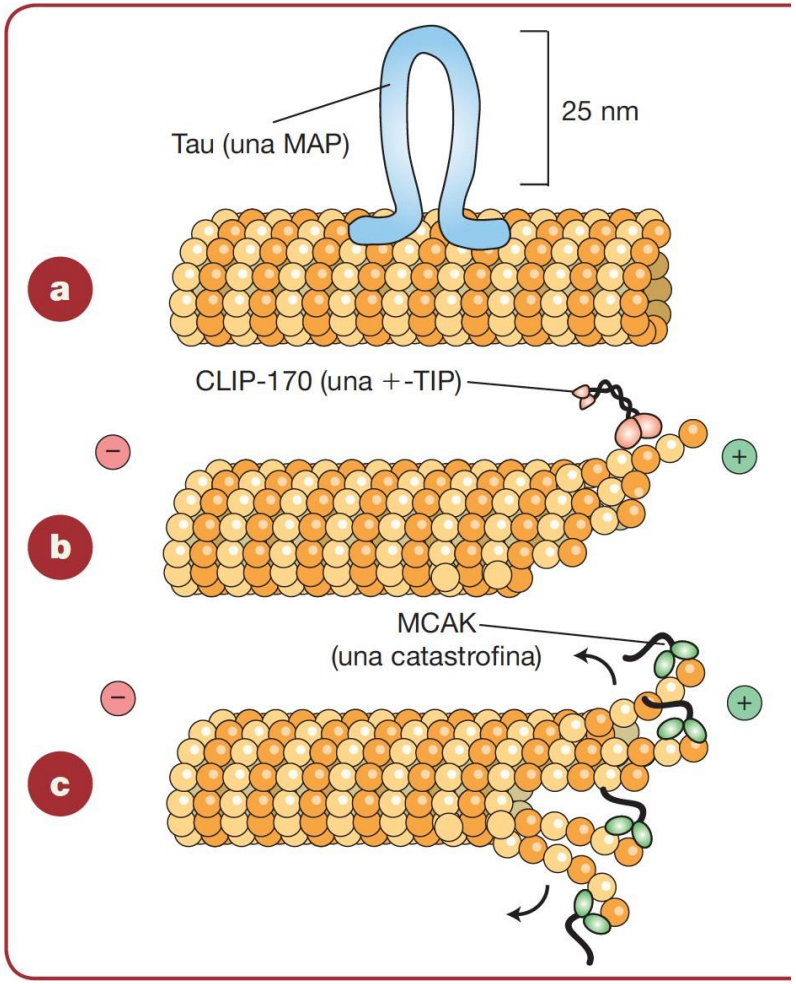
- La vita media di un microtubulo è di soli 10 minuti.
- Sono in **continuo stato di assemblaggio e disassemblaggio,** per poter cambiare di lunghezza e posizione.
- La **crescita** avviene più **rapidamente da un lato** (chiamato estremità positiva**).**



Le due estremità del microtubulo sono definite **estremità positiva** e **negativa**. L'estremità (+) presenta un cappuccio di molecole di β-tubulina, mentre l'estremità negativa (–) è caratterizzata da un anello di molecole di α-tubulina. In questo modo le due estremità di un microtubulo sono strutturalmente e funzionalmente diverse. I dimeri di tubulina possono essere aggiunti o rimossi da entrambe le estremità, con un processo che allunga o accorcia il microtubulo e che viene definito ***treadmilling***; tuttavia, l'assemblaggio dei microtubuli avviene più rapidamente all'estremità positiva rispetto a quella negativa.

a)MAP (Proteine Associate ai Microtuboli) non motrici:

▼ Figura 6.8 Proteine associate ai microtubuli (MAP).



Proteine associate ai microtuboli (MAP)

- **MAP di tipo I**

  mediano il legame dei microtubuli con altri componenti del citoscheletro o con proteine di membrana. Es.: Map1

- **MAP di tipo II,** stabilizzano i microtubuli.

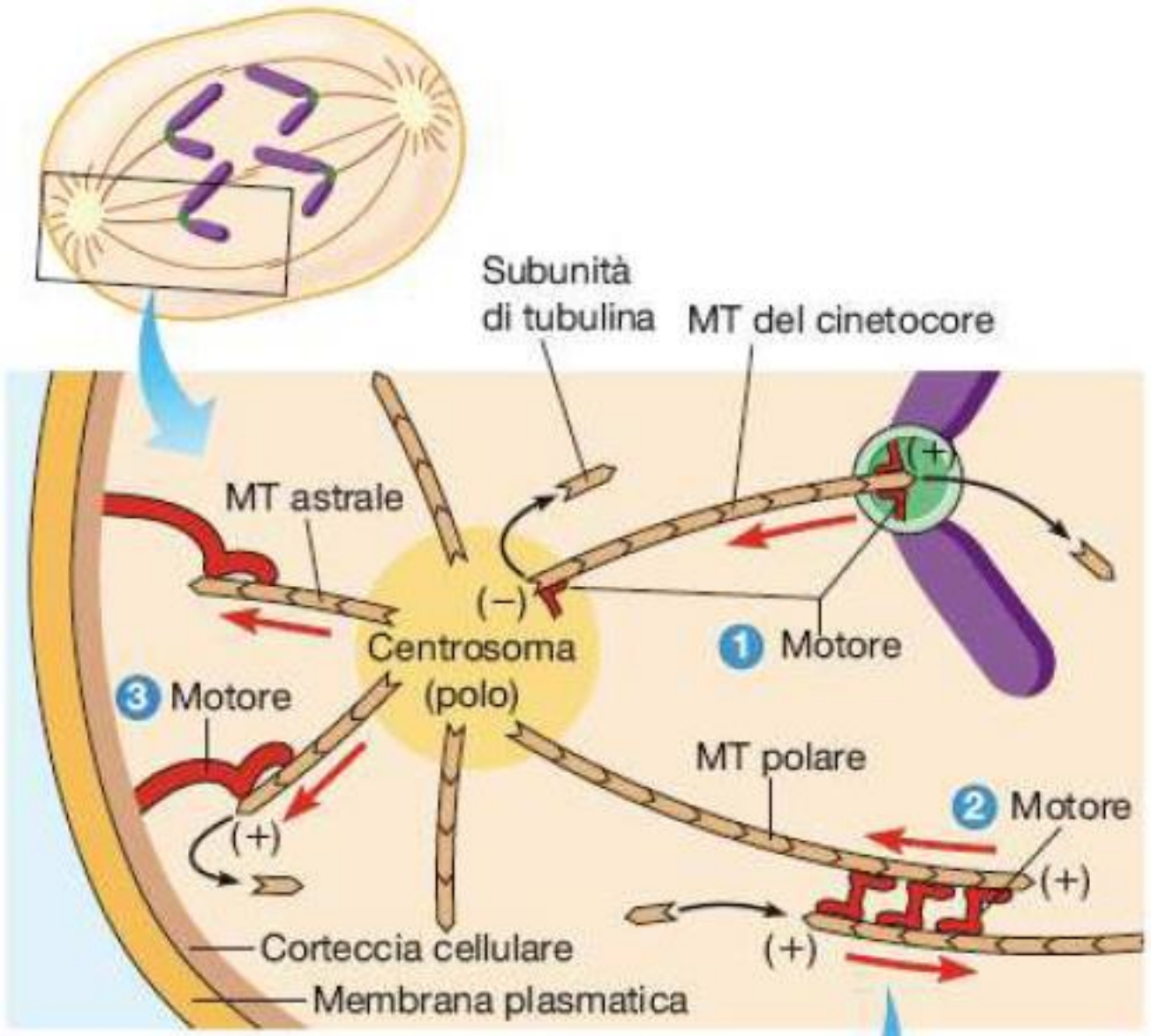
  Es.: Map2 (dendriti), Tau (assoni)

- **Altri tipi di MAP,**

  Molte legano le estremità dei microtubuli e ne regolano la polimerizzazione.

  Es.: catastrofina

Ruolo delle proteine motrici nel movimento dei cromosomi



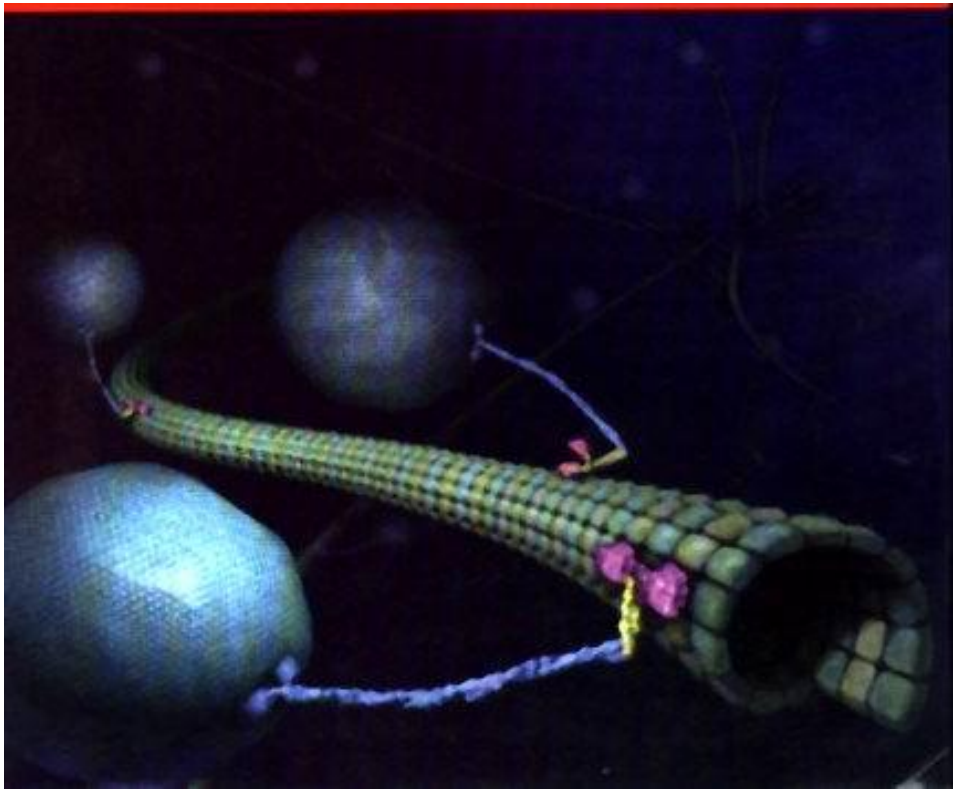
(a) Tre ruoli svolti dalle proteine motrici

Microtubuli – Traffico vescicolare

- I **microtubuli formano piste dinamiche per il traffico direzionato di vescicole o organelli.**
- Tali elementi sono **legati a proteine motrici, che li trasportano** lungo i microtubuli, in direzione positiva o negativa.

- Le proteine motrici appartengono a due famiglie:

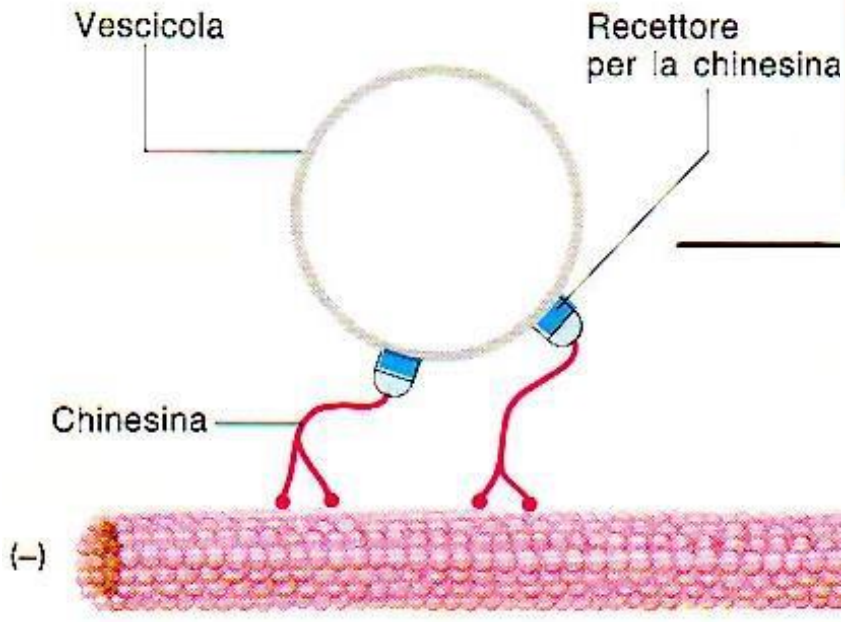
- **dineine** citoplasmatiche (mediano il trasporto di vescicole o organelli verso l'estremità negativa);
- **chinesine** (mediano il trasporto di vescicole o organelli verso l'estremità positiva).

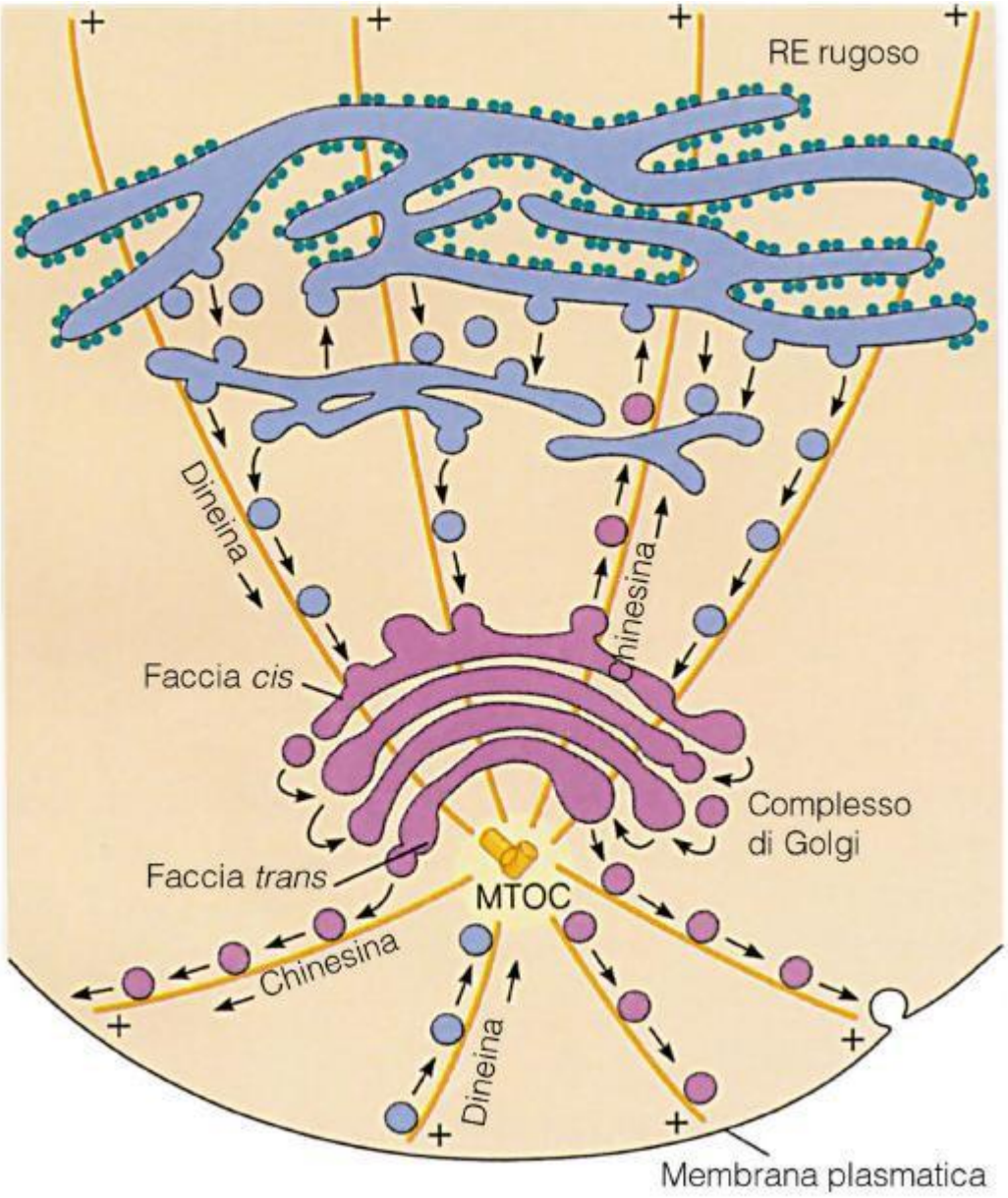


Vescicole legate alla chinesina che si muovono verso l'estremità positiva di un microtubulo

MAP Motrici

- **Chinesina**
  - Si muove verso la estremità positiva
- **Dineina**
  - Si muove verso quella negativa





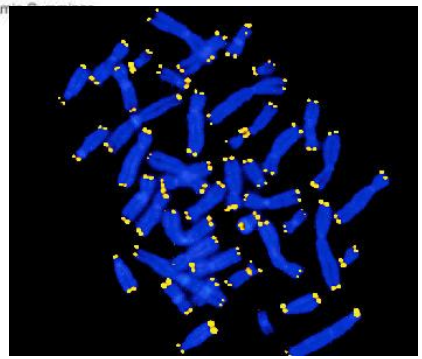
Telomeri: funzione

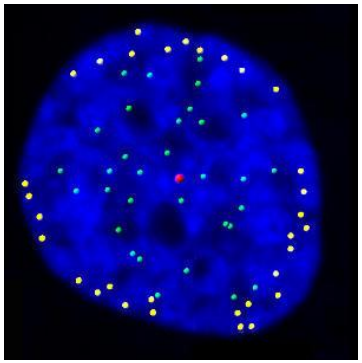
’Un cappuccio protettivo alle estremità dei cromosomi’’



3’ end can be thousands of bases long



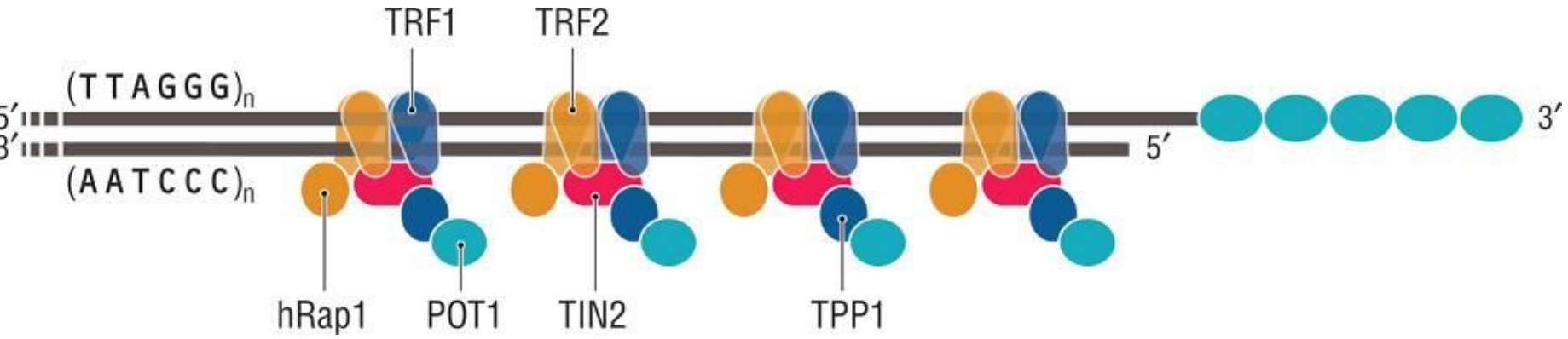




Telomeres (yellow) may anchor to cell edge during division

‘

- Una **regione di DNA ripetitivo**, **associata a proteine (shelterin**),
  - Protegge le regioni codificanti
    - Orologio biologico
- Perde la capacità di funzionare propriamente dopo numerose divisioni cellulari
  - Senescenza cellulare
- Telomerasi ristora la lunghezza di un telomero



- **Telomeres bind proteins that protect the ends and help maintain the length**

- There are three classes of telomere binding proteins
  - **End-binding proteins protect the G-rich overhang**
  - **Double-stranded binding proteins bind along the length**
  - **Proteins that associate with the DNA binding proteins**

- **Telomere-binding proteins** regulate length – overexpression results in shorter telomeres

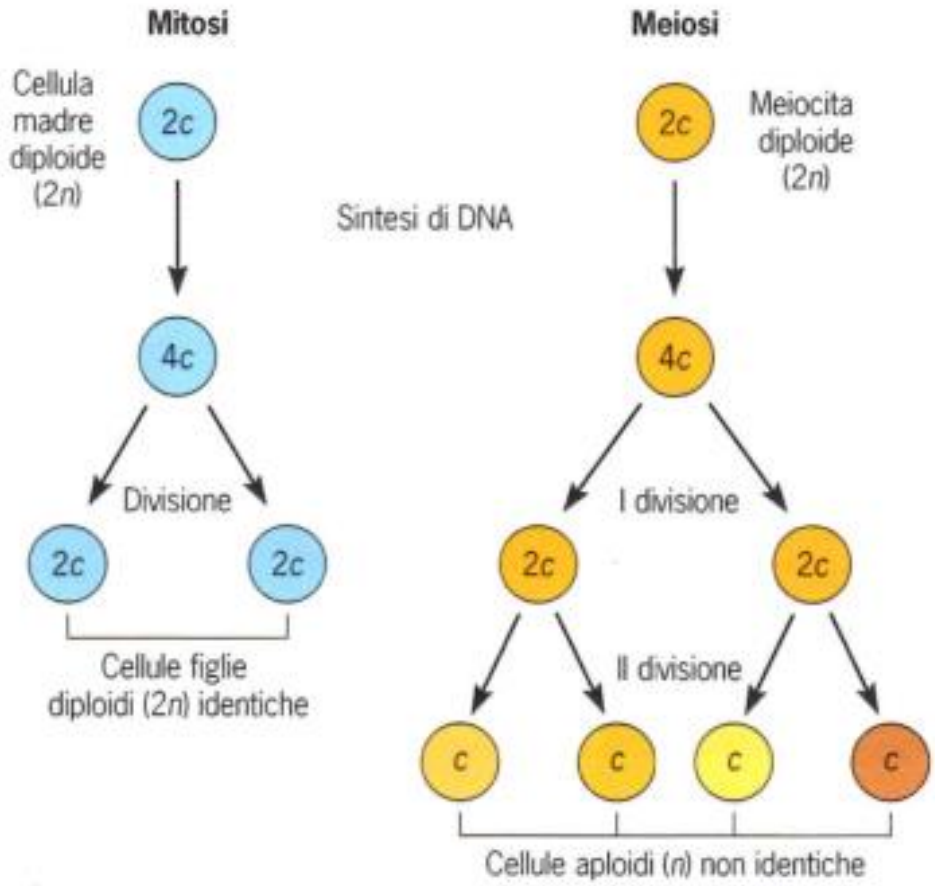
- Loss of telomere function **causes problems for the cell.**
- The unprotected end is “repaired” as a DNA break, which causes broken and aberrantly joined chromosomes – DNA information is then not stably heritable

Figure 04-38

Ciclo cellulare di cellule eucariote

- **E' l'insieme di eventi ordinati che regolano la crescita e la divisione di una cellula in relazione a stimoli esterni**

- **Esistono due tipi di divisione cellulare:**
- **Mitosi** (cellule somatiche)
- **Meiosi** (cellule germinali)



- I due processi sono soggetti a meccanismi regolativi di controllo a livello molecolare
  - in parti comuni
  - in parte specifici

La cellula eucariotica si divide per mitosi o meiosi

MITOSI

- La **riproduzione di una cellula somatica (mitosi)** ha lo **scopo di trasmettere l'informazione genetica** alle cellule figlie
- in modo che abbiano le stesse caratteristiche e lfunzioni della cellula genitrice,
- Le cellule figlie sono identiche alla cellula genitrice, sia per la quantità sia per il tipo di DNA.

Alcune cellule si dividono molto rapidamente e in continuazione (es. sviluppo durante i primi stadi embrionali)
Altre cellule non si dividono o si dividono molto lentamente
(es. neuroni del cervello)

- **Tipica delle cellule somatiche**

MEIOSI

- Le **cellule figlie non sono** uguali ai genitori;
- questo perchè la **quantità di materiale genetico è dimezzata** ed è diversa.
- Produce quindi diversità genetica

- Tipica delle cellule germinali implicate nella riproduzione sessuale

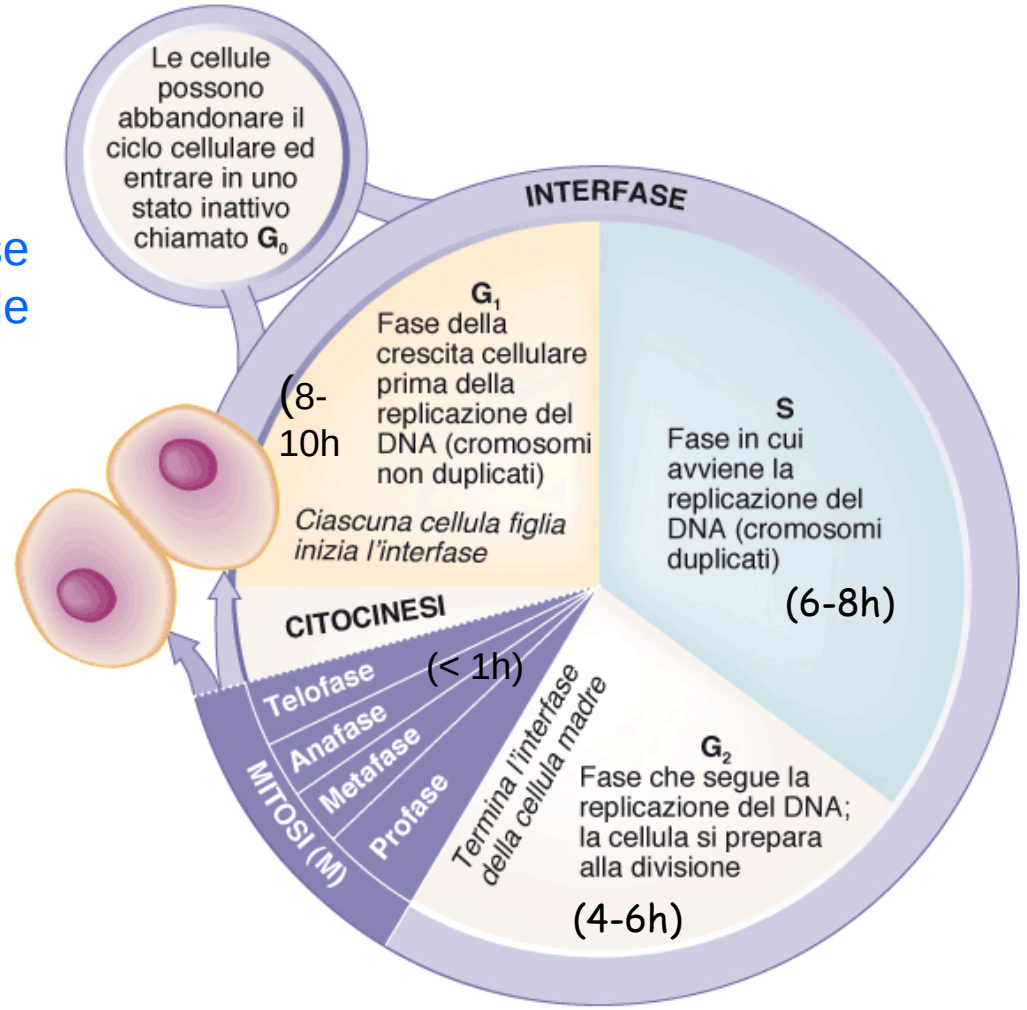
I segnali per la divisione sono controllati!

Ciclo cellulare di una cellula eucariotica

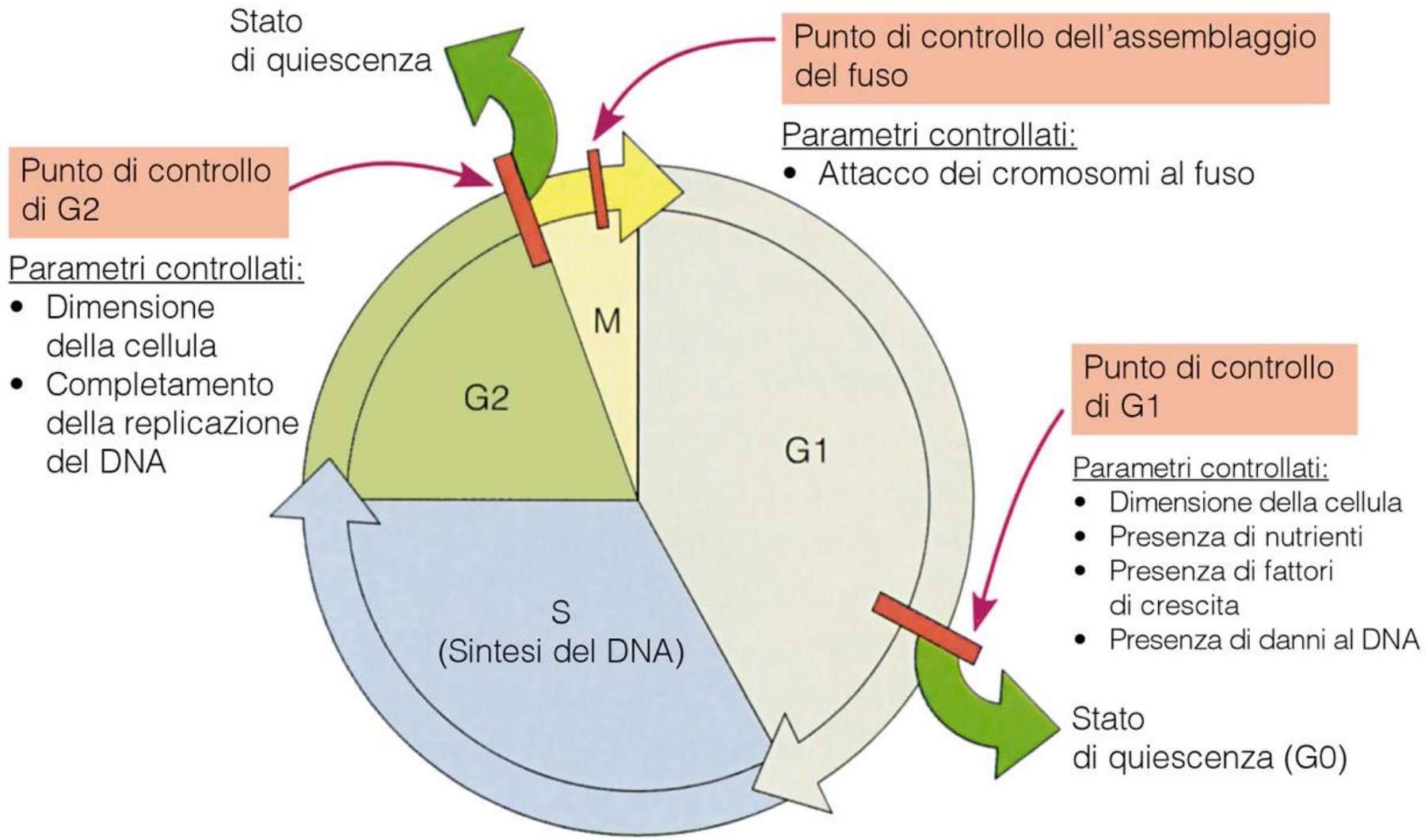
- La durata del ciclo e delle diverse
- fasi varia tra i diversi tipi di cellule eucariotiche,

G1 : crescita e metabolismo;
S: sintesi del DNA e duplicazione dei cromosomi;
G2: preparazione alla mitosi;

M: Mitosi

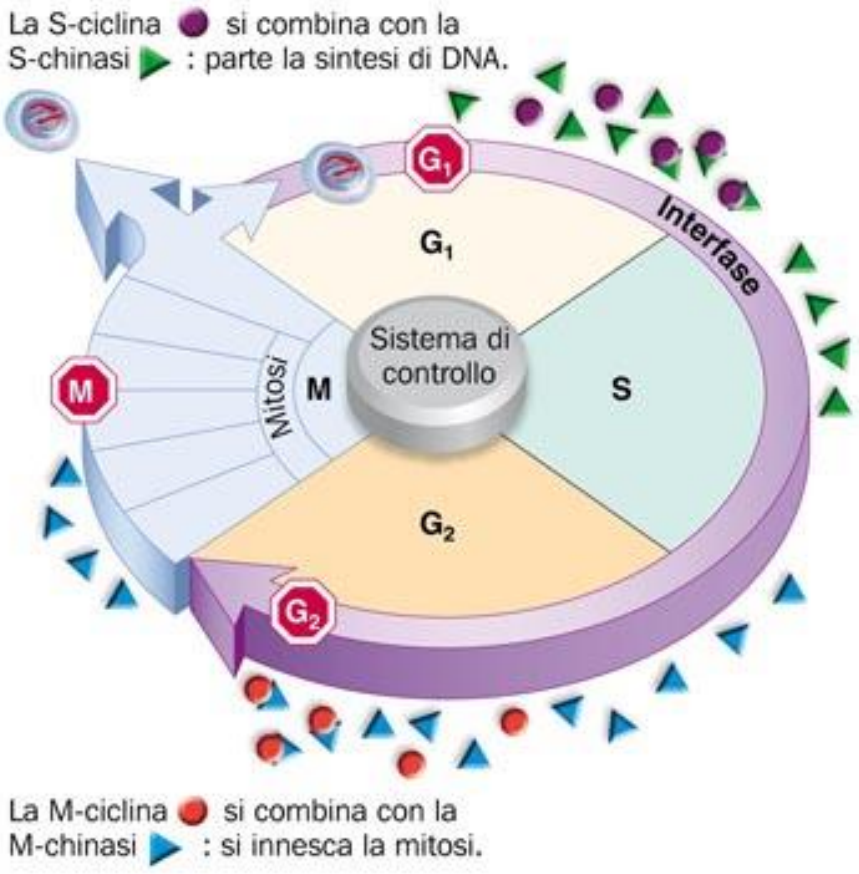


Il ciclo cellulare è soggetto a vari sistemi di controllo



Il controllo cellulare obbedisce a precisi segnali

- I punti di controllo rispondono a precisi ordini portati da **molecole segnale** che stimolano o inibiscono un certo evento del ciclo.

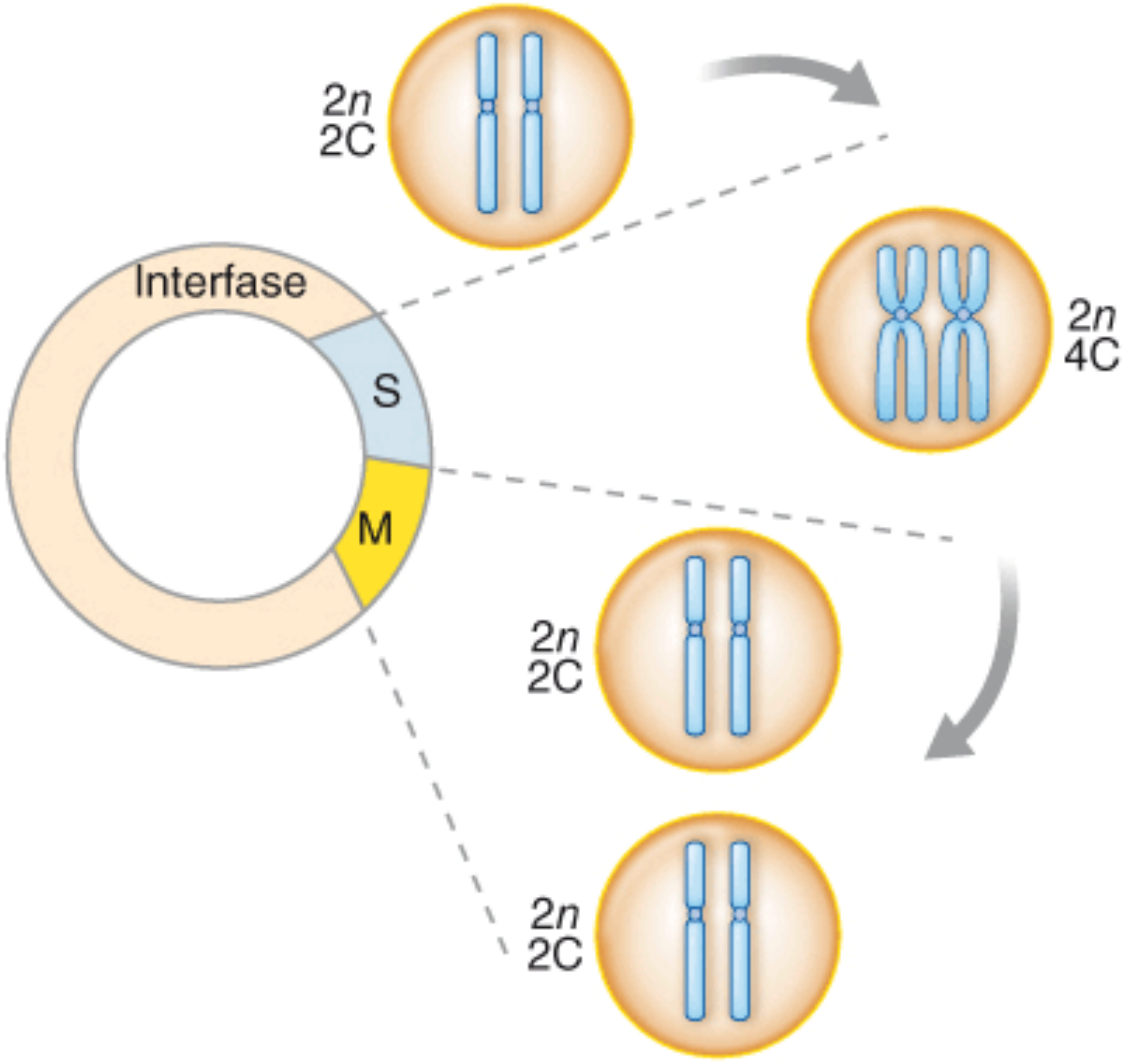


- Le molecole segnale **interne** del ciclo cellulare sono le ***chinasi* e le *cicline*.**
- Esse si muovono nell'ambito cellulare.

Sylvia S. Mader *Immagini e concetti della biologia* © Zanichelli editore, 2012

Variazioni del contenuto di DNA (valore C) durante il ciclo cellulare in una cellula somatica

- I cromosomi sono costituiti da una singola doppia elica di DNA dalla fine della fase M fino all'inizio della replicazione nella fase S (2C).
- Dopo la replicazione fino alla fase M ogni **cromosoma è costituito da due doppie eliche** unite a livello del centromero, **chiamate cromatidi** (4C).
- Durante la fase M i **cromatidi fratelli di** ogni cromosoma si separano, dando origine a due cromosomi che vengono distribuiti equamente alle cellule figlie (2C).



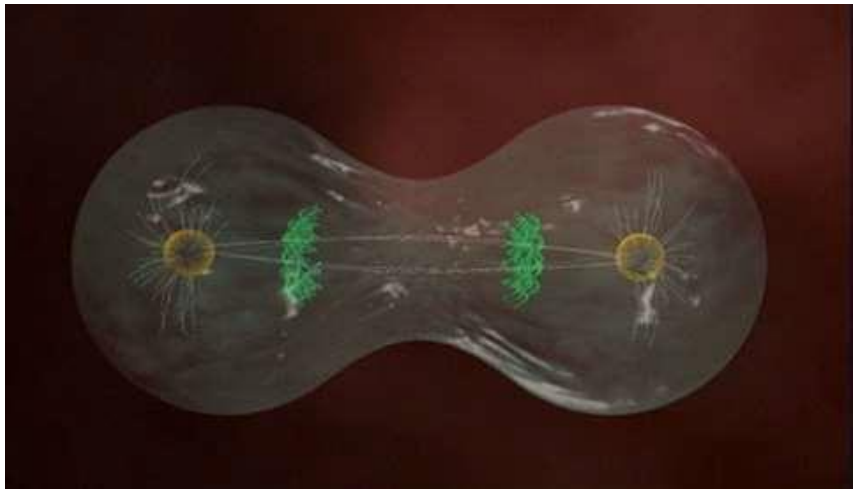

MITOSI - MEIOSI
Meccanismo d'azione

1. MITOSI

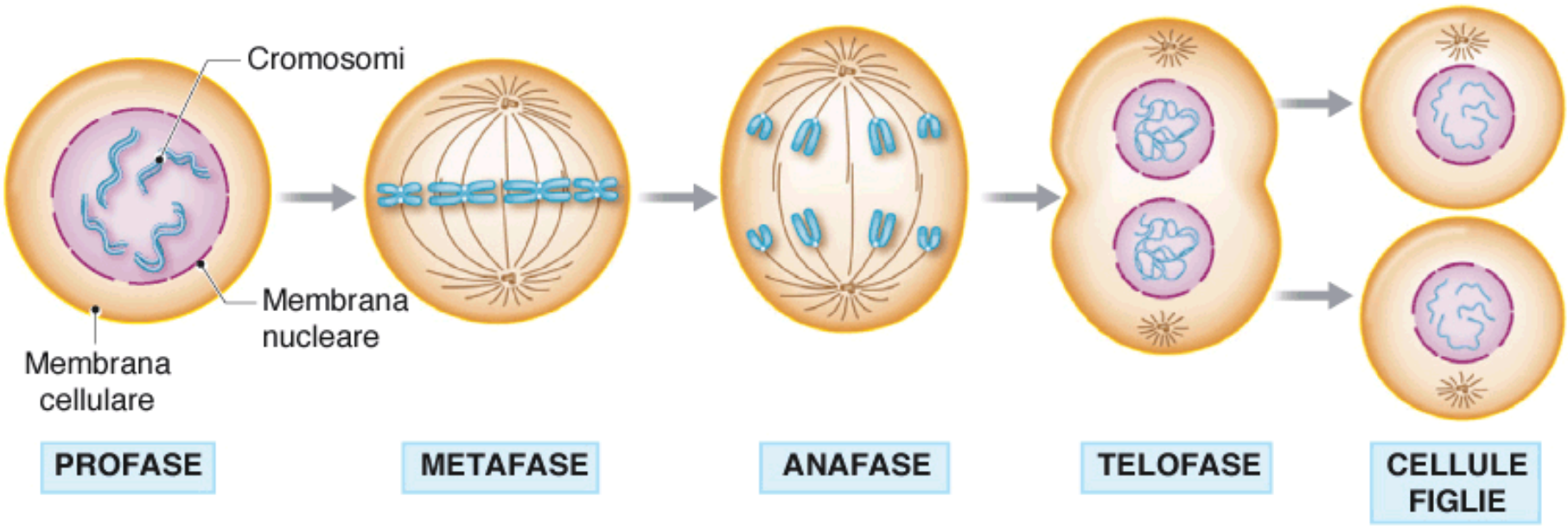
- **Processo di divisione cellulare**
  - garantisce la conservazione e la distribuzione dello stesso numero di cromosomi da una cellula madre alle due cellule figlie.
  - Il **materiale cromosomico si raddoppia una volta**

    e la **cellula si divide *una*** volta.

- La mitosi produce sempre **due cellule geneticamente identiche alla cellula madre.**

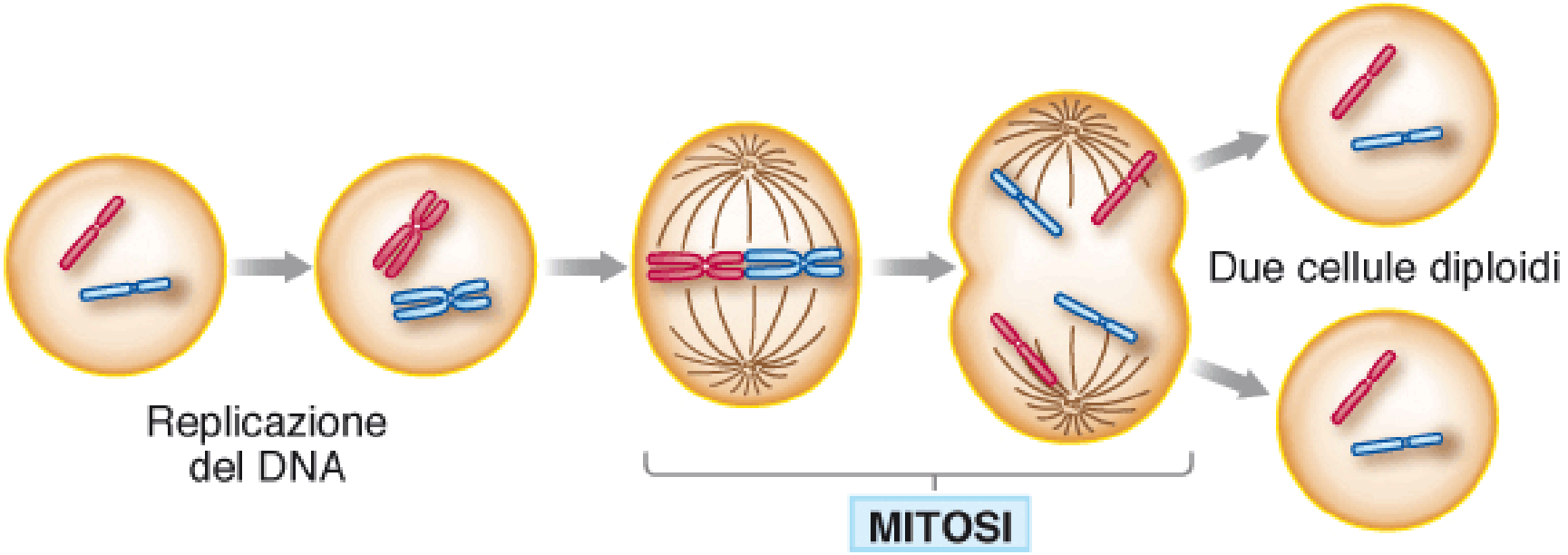


Trasmissione dei cromosomi
MITOSI



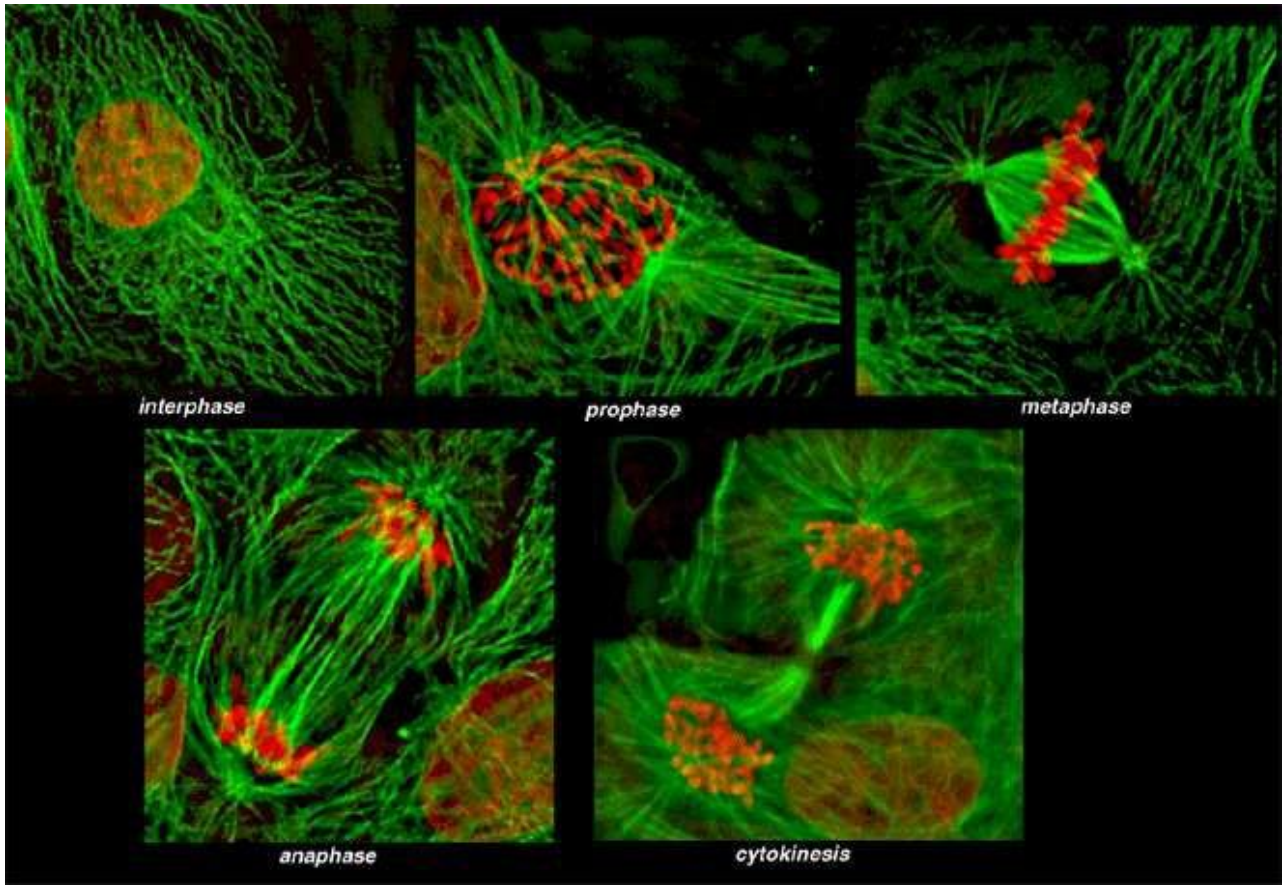
Le diverse fasi della divisione cellulare

Dopo la mitosi le 2 cellule figlie sono geneticamente identiche alla cellula madre



Fasi della Mitosi:

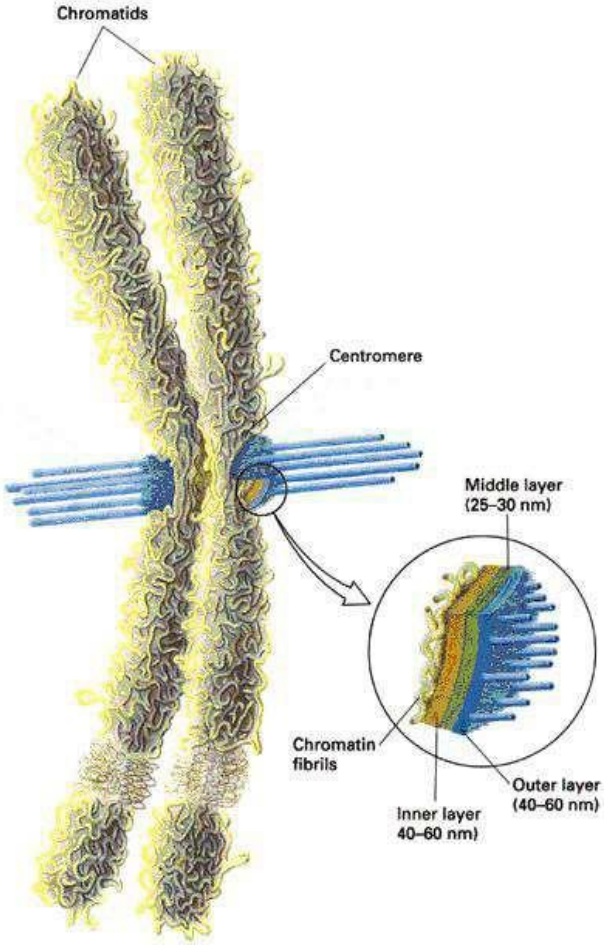
1. Profase
2. Metafase
3. Anafase
4. Telofase e Citocinesi



Profase:

Inizia quando i lunghi **filamenti di cromatina cominciano** a c**ondensarsi** mediante processi di spiralizzazione nel quale i cromosomi diventano contemporaneamente più corti e più spessi.

- Ogni cromosoma è stato duplicato durante la precedente fase S e consiste di una coppia di unità identiche → **cromatidi fratelli.**
- Ogni cromatide contiene una regione chiamata **centromero.**

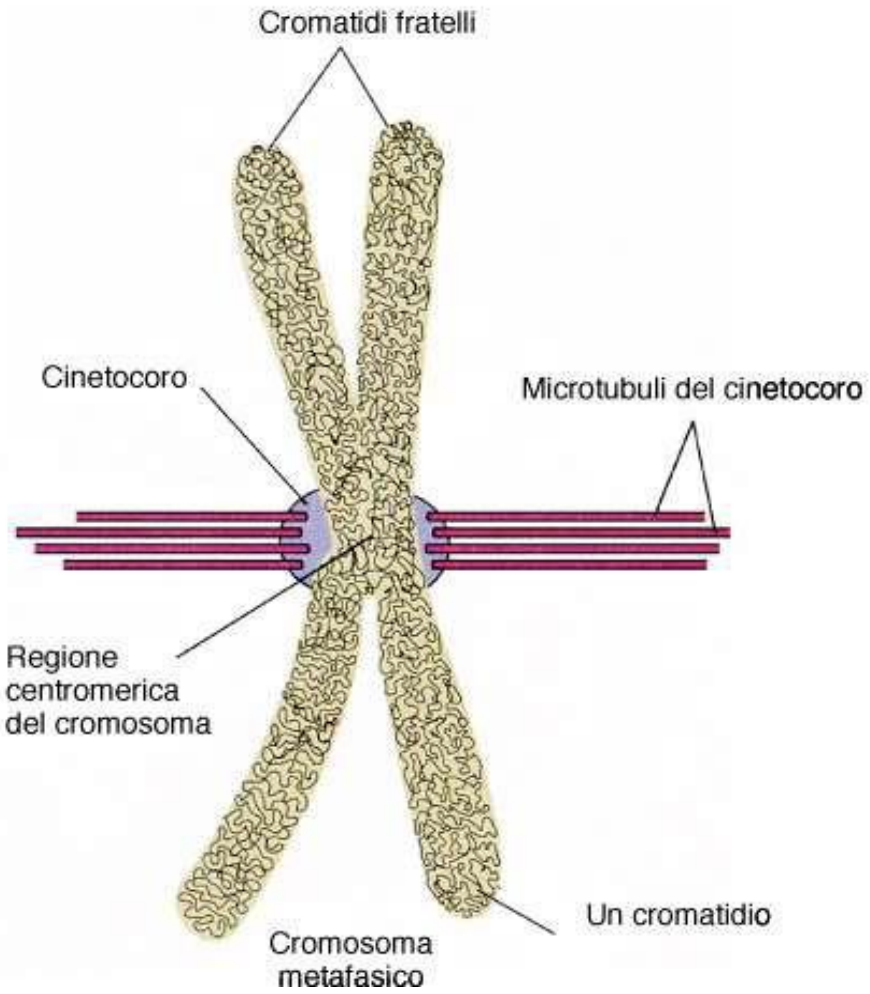


Metafase:

- **I cromosomi sono allineati lungo il piano equatoriale** della cellula (piastra metafasica) e prendono contatto con i microtubuli.

- Per la corretta separazione dei cromosomi si forma una connessione tra i microtubuli del cinetocoro e i cromosomi replicati.

- Il cinetocoro è un insieme di proteine che aderisce al centromero.

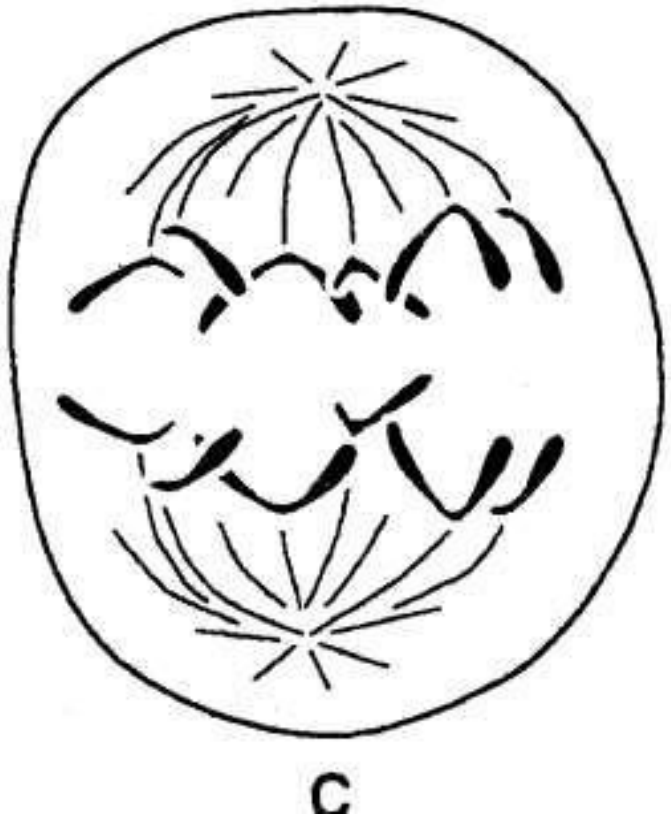


Anafase:

- Ha inizio quando le forze che tengono uniti i cromatidi fratelli in corrispondenza dei loro centromeri si allentano.
  Ogni **cromatide** è ora considerato come un cromosoma indipendente.

- I cromosomi disgiunti migrano lentamente ai poli opposti grazie ai cinetocori, ancora uniti ai microtubuli del fuso, che ne guidano il cammino.

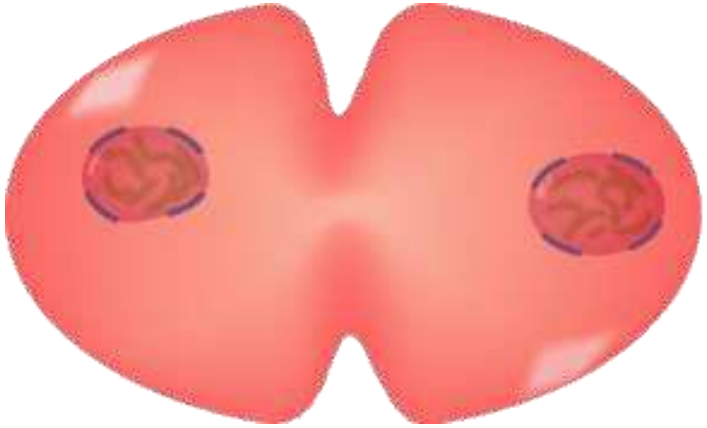
- L'anafase **termina quando tutti i cromosomi hanno raggiunto i poli.**



C

Telofase:

- E' lo stadio finale della mitosi, caratterizzato dal ritorno ad una condizione simile a quella di interfase.
- I **cromosomi si decondensano srotolandosi.**
- Attorno ad ogni serie di cromosomi si sviluppa un involucro nucleare.



Citocinesi:

- divisione del citoplasma che divide la cellula in due parti quasi uguali.
- In molti tipi cellulari telofase e citocinesi avvengono contemporaneamente

2. MEIOSI

- Il termine meiosi significa **"rendere più piccolo",**
  - ciò è in riferimento al fatto che il **numero dei cromosomi viene dimezzato**.
  - E' quindi un processo di divisione cellulare che porta alla produzione di cellule **aploidi.**

- il **materiale cromosomico**
  - si raddoppia ***una*** volta
  - la cellula si divide ***due*** volte.

- e' un **processo fondamentale per garantire la conservazione dello stesso numero di cromosomi all'interno di ogni specie**.

I processi di base della meiosi sono simili a quelli della mitosi, ma presentano 4 importanti differenze:

1.La meiosi comporta

-**2 successive divisioni nucleari** e **citoplasmatiche**

- con potenziale produzione di 4 cellule.

2. Nonostante le due divisioni il DNA subisce una sola duplicazione durante l'interfase che precede la divisione meiotica

3. Ognuna delle 4 cellule prodotte contiene un n° aploide di cromosomi, cioè solo un esemplare di ogni coppia di omologhi.

4. Durante la meiosi l'informazione genetica che proviene da entrambi i genitori **viene riassortita, così che ogni cellula possiede una combinazione di geni potenzialmente unica.**

La meiosi: caratteristica

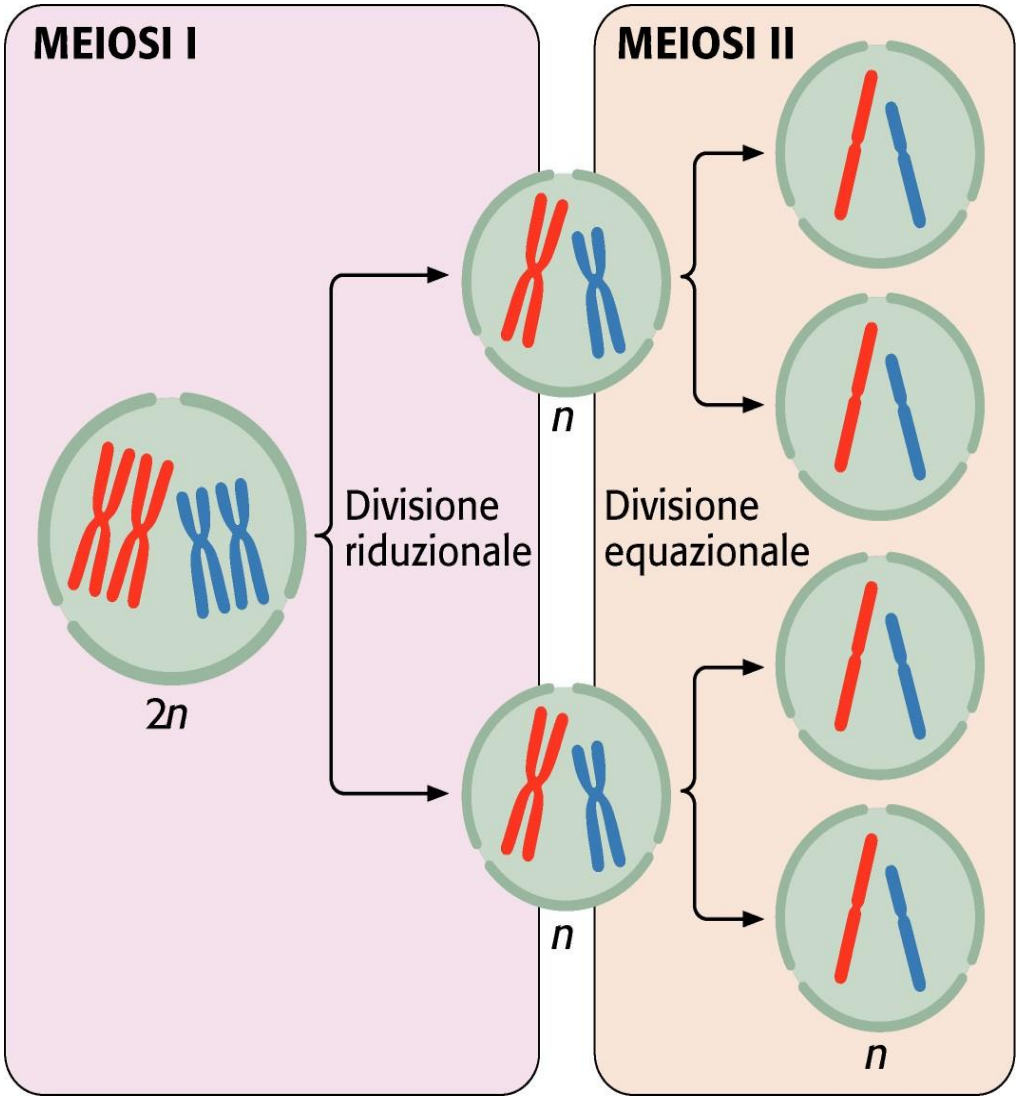
- **Due divisioni nucleari e citoplasmatiche** denominate prima e seconda divisione meiotica.

- **Meiosi 1**: i membri di ogni coppia di cromosomi omologhi prima si uni-scono,

- poi si separano e vengono distribuiti in nuclei distinti.

- **Meiosi 2**: i cromatidi che costi-tuiscono ciascun cromosoma omo-logo si separano e

- vengono distribuiti ai nuclei delle cellule figlie



Fasi della Meiosi

DIVISIONE RIDUTTIVA

I **PROFASE I**

1. leptotene
2. zigotene (sinapsi)
3. pachitene (crossing-over; tetrade)
4. diplotene (chiasmi)
5. diacinesi

II **METAFASE I**

III **ANAFASE I:**

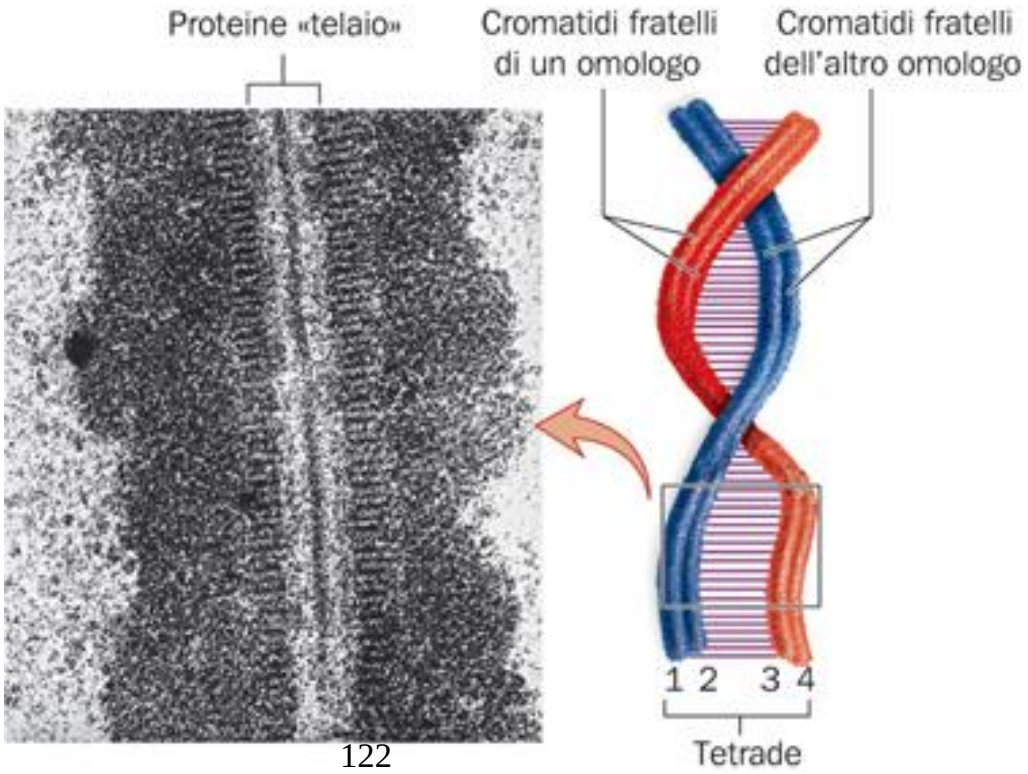
- i componenti di una coppia di cromo somi omologhi si dirigono verso i poli opposti;
- i centromeri non si sono divisi quindi i cromosomi sono composti da due cromatidi e sono detti diade

IV **TELOFASE I:**

2 cellule figlie con meta' dei cromosomi formati ciascuno da due cromatidi

Durante la meiosi I si verificano le sinapsi e il crossing-over

- I cromosomi omologhi si **avvicinano e si allineano** lateralmente: essi sono in **sinapsi**, che significa «uniti insieme».
- Poiché ciascun omologo ha due cromatidi fratelli, nella sinapsi quattro cromatidi si trovano a stretto contatto; tale gruppo si **chiama *tetrade*.**



Appaiamento

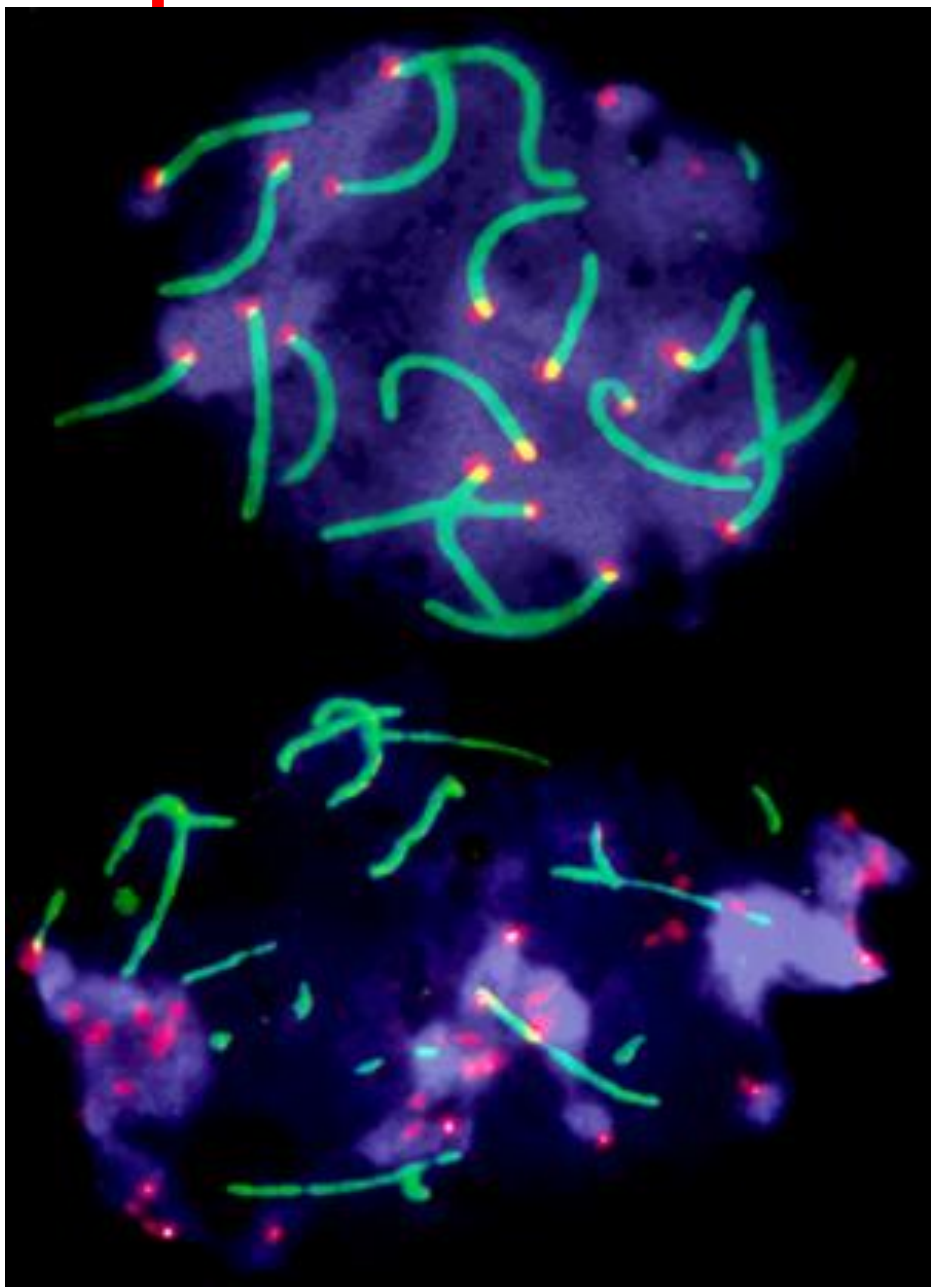
➢ stadio di zigotene.

- Nello zigotene i cromosomi omologhi cominciano ad **appaiarsi in modo altamente specifico**, punto per punto, come i due elementi di una *chiusura lampo*.
- Questo appaiamento è detto **sinapsi**.
- La sinapsi è quel processo mediante il quale i cromosomi omologhi si appaiano durante la **profase I.**
- L'appaiamento è dovuto ad un complesso proteico, chiamato complesso sinaptinemale, che funge da cerniera e tiene stretti i cromosomi.
- Poiché la replicazione è già avvenuta, ciascuna serie di cromosomi sinaptici è costituita da 4 cromatidi
- viene indicata col termine di ***serie bivalente o tetrade***

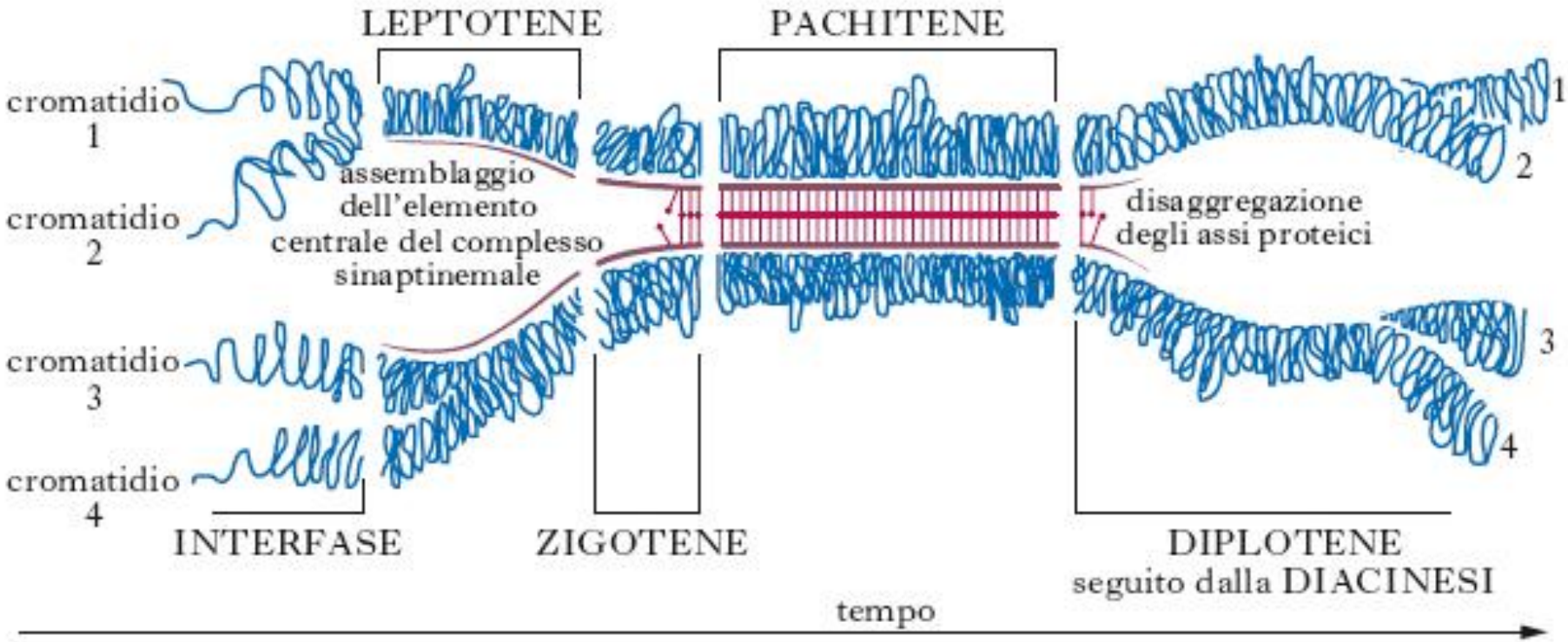
Il complesso sinaptinemale

- L'**appaiamento punto per punto** di ciascuna coppia di omologhi risulta diretto da una particolare struttura proteica che compare in zigotene, perdura in pachitene e scompare più tardi:

- si tratta del **complesso sinaptinemale**,
- questo è una **formazione nastriforme interposta fra gli omologhi**, che quindi non sono a diretto contatto,
- è composta da tre zone disposte in parallelo lungo l'asse longitudinale del complesso.



COMPLESSO SINAPTINEMALE



Schema della formazione e del dissolvimento del complesso

Il complesso sinaptinemale

- Tale struttura nastriforme è soprattutto

  costituita da proteine acide
  alle quali è adeso dell'RNA,

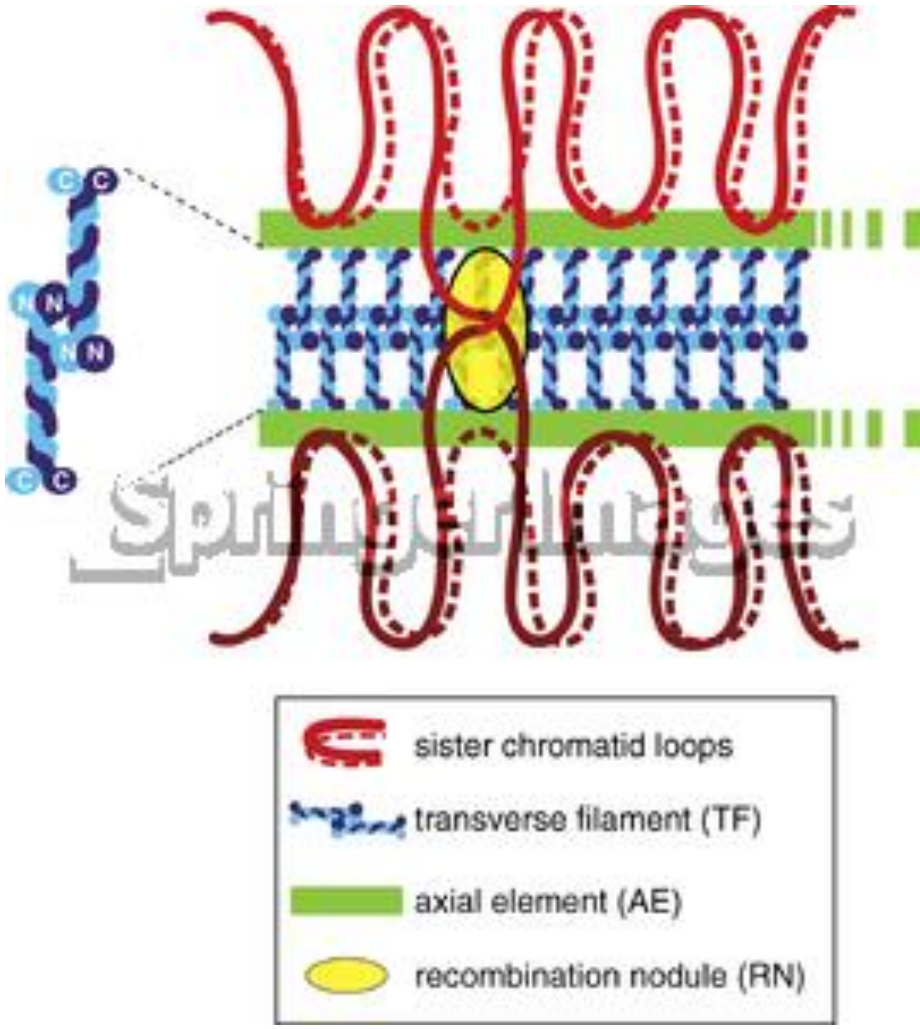
- ma non si conosce il ruolo che esso svolge nel crossing-over.

- queste proteine si dispongono a formare unità globulari, dette

  noduli di ricombinazione,

- **Tali unità sono** presenti nell'elemento centrale del complesso sinaptinemale.

- In alcuni organismi, come nei maschi di Drosofila, il complesso sinaptinemico non si forma e in questi casi il crossing-over non avviene.

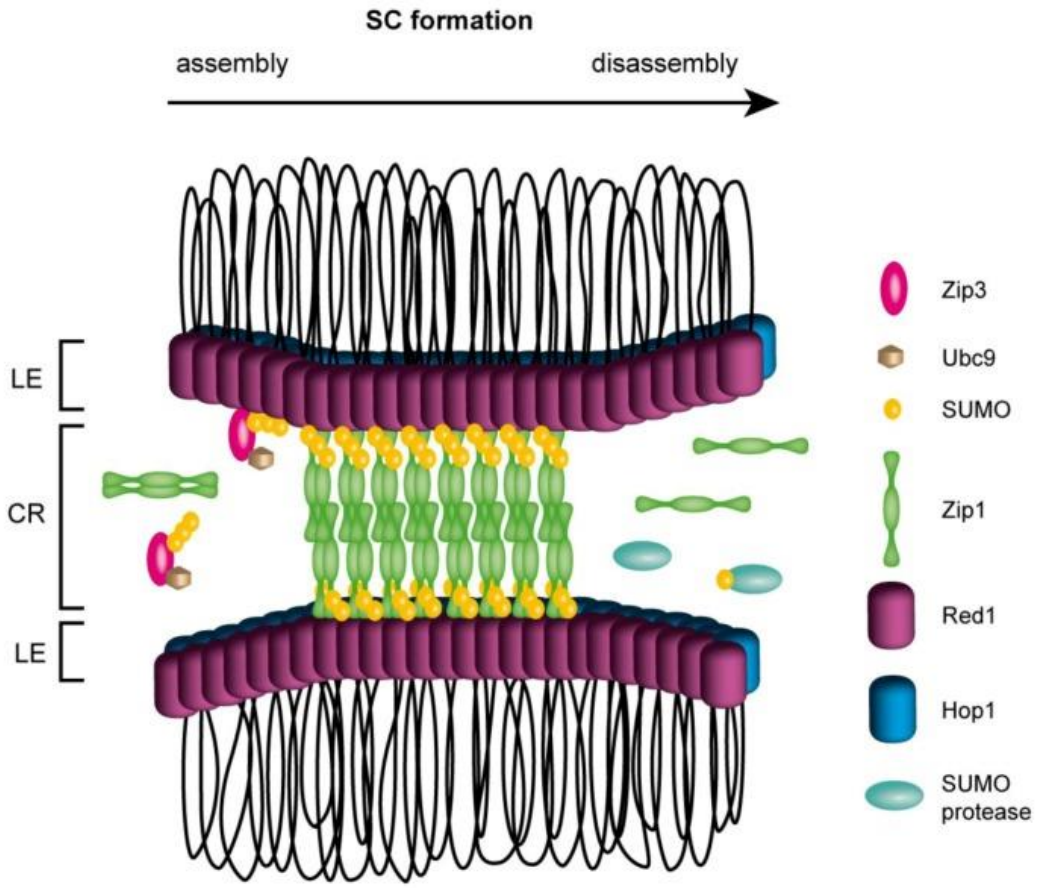


Il complesso sinaptinemale

- it is formed by
- **lateral element LE),**
- **central element (CE),**
- **transverse filaments**.

- The LE comprises
  - **cohesins** (Rec8/C(2)M/SYN1, STAG3/Rec11, SMC1- and SMC3),
  - **structural proteins** SCP2 and SCP3 and the HORMA-domain proteins /Hop1p/Rev7p/MaD).

- **The transverse filaments** are formed by the proteins Zip1/SCP1/C(3)G/SYP1.)

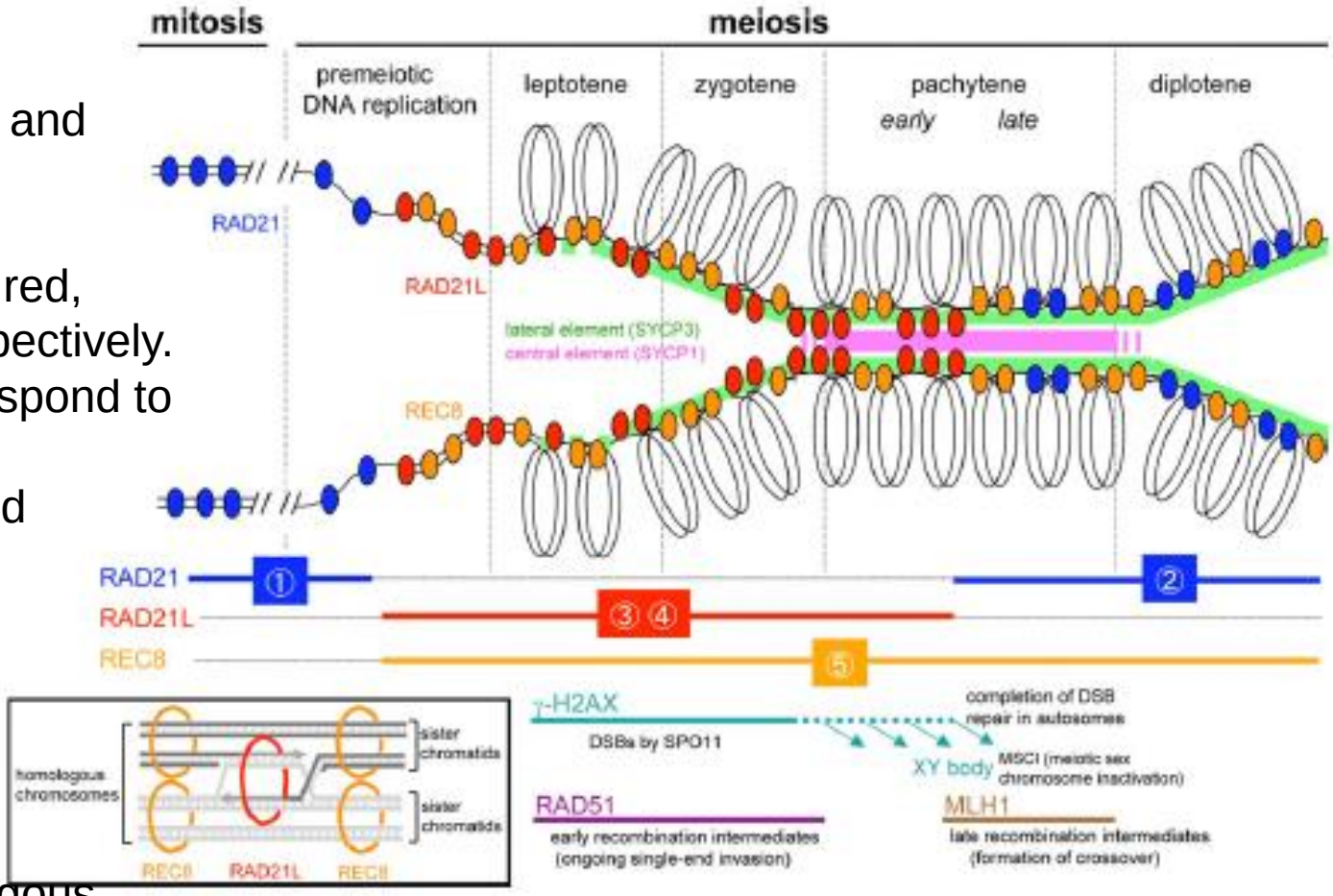


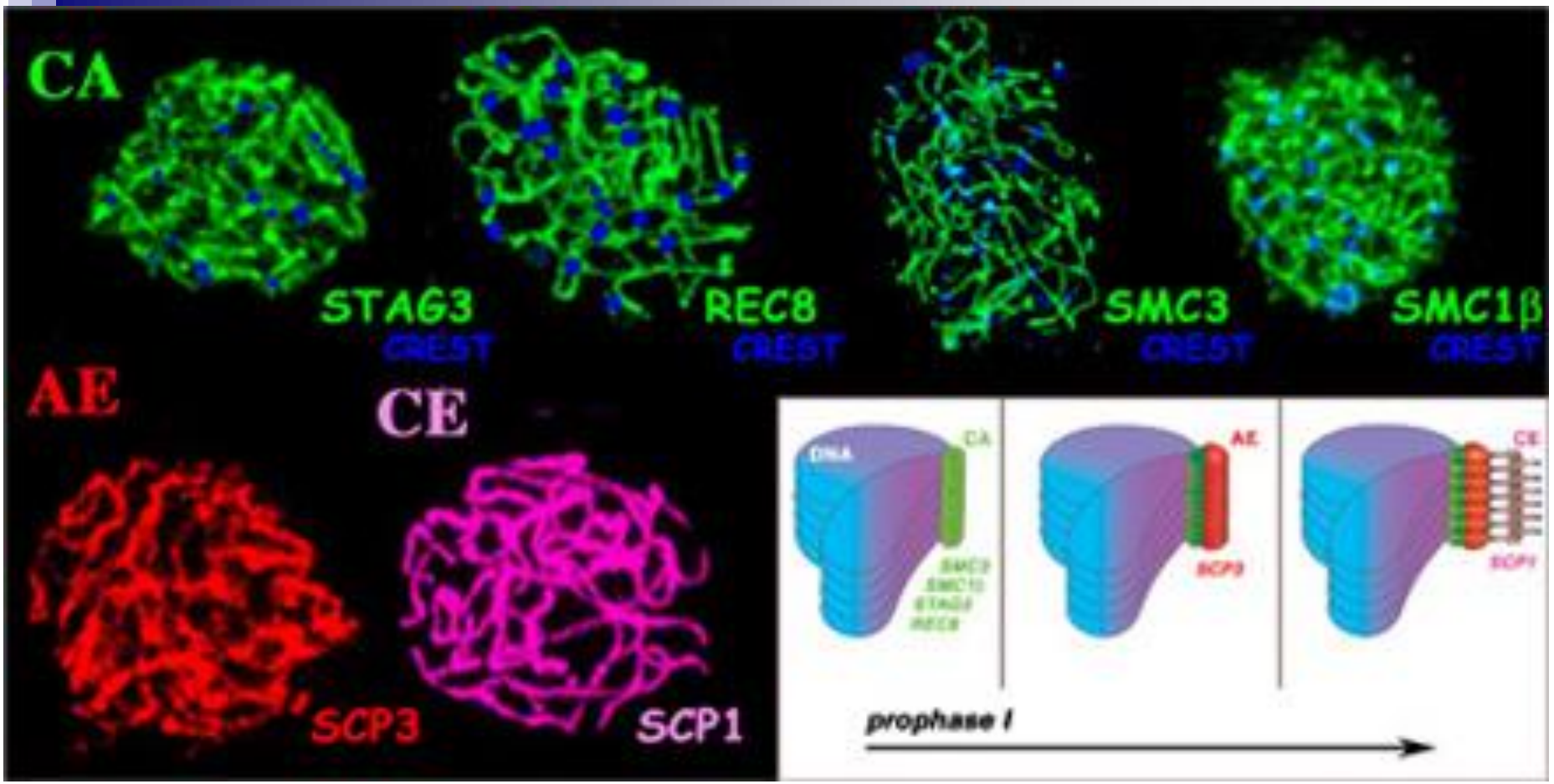
Spatio-temporal distribution of multiple cohesin complexes in the processes of paring, synapsis, and recombination of homologous chromosomes during meiotic prophase I in mammals.

- **RAD21**-, **RAD21**L-, and **REC8**- containing cohesins are indicated by the blue, red, and orange ovals, respectively. Circled numbers correspond to the different cohesin complexes summarized in Fig..

Although the intriguing possibility is depicted here that

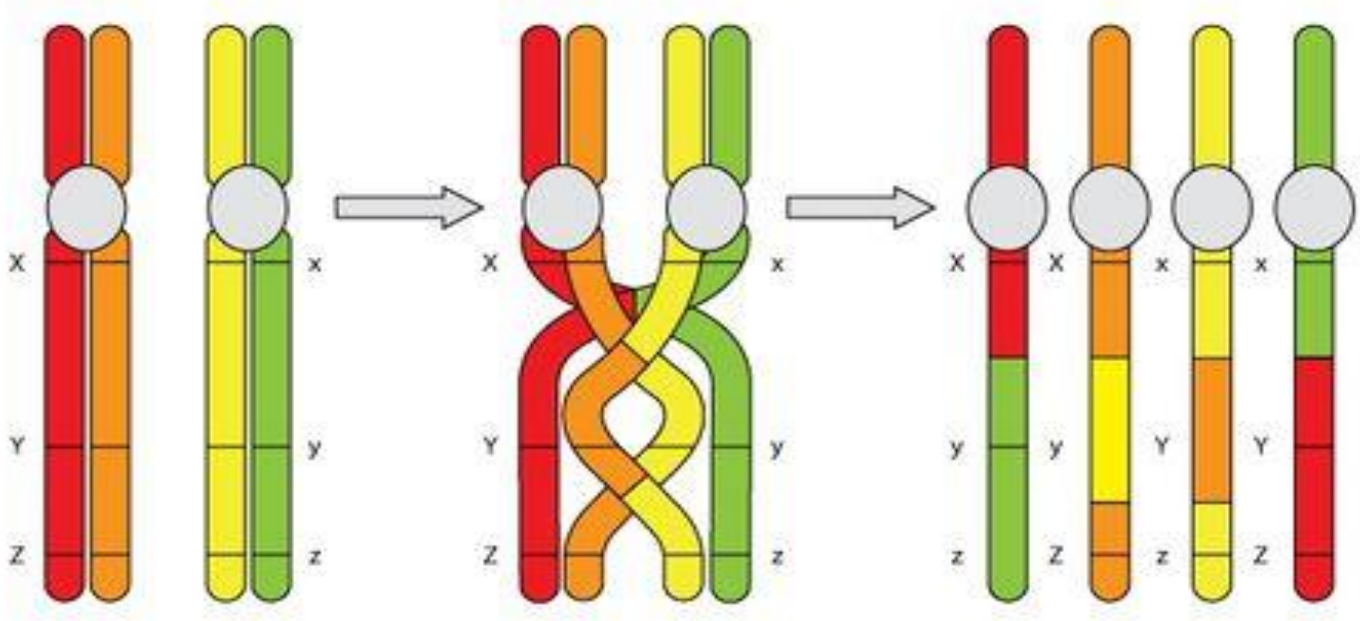
- Cohesin **RAD21L** could embrace two duplexes from homologous chromosomes
- whereas cohesin **REC8** could do so from sister chromatids (inset), our current results by no means exclude other models.





- Immunolocalizzazione di subunità di coesine (verdi) e
- proteine del complesso sinaptico SCP1 (fucsia) e SCP3 (rosse) in spermatidi umani.
- CREST (anticorpi anticentromerici, blue).
- AE (elementi assiali del complesso sinaptico).
- CE (elementi centrali del complesso sinaptico).
- CA (asse delle coesina).

Crossing over



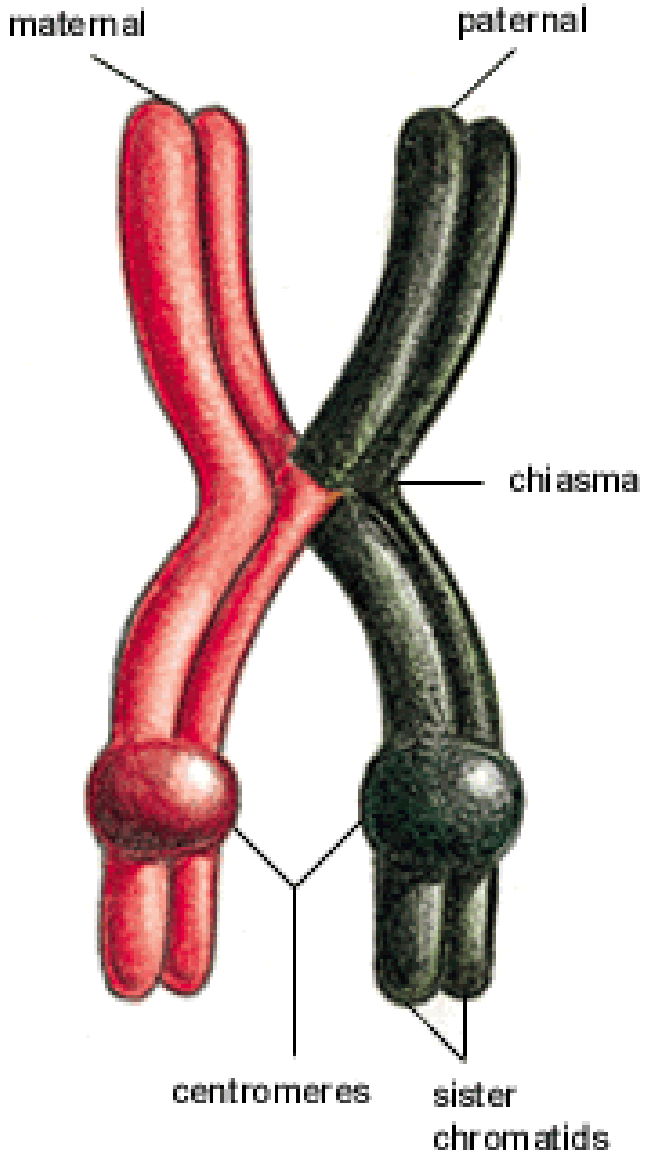
Appaiamento dei cromosomi omologhi durante la metafase I della meiosi

- **Il** chiasmo o chiasma (letteralmente dal greco "struttura a croce di chi greca")

è la figura retorica **in** cui si crea un incrocio immaginario tra due coppie di parole, in versi o in prosa, con uno schema sintattico di AB,BA

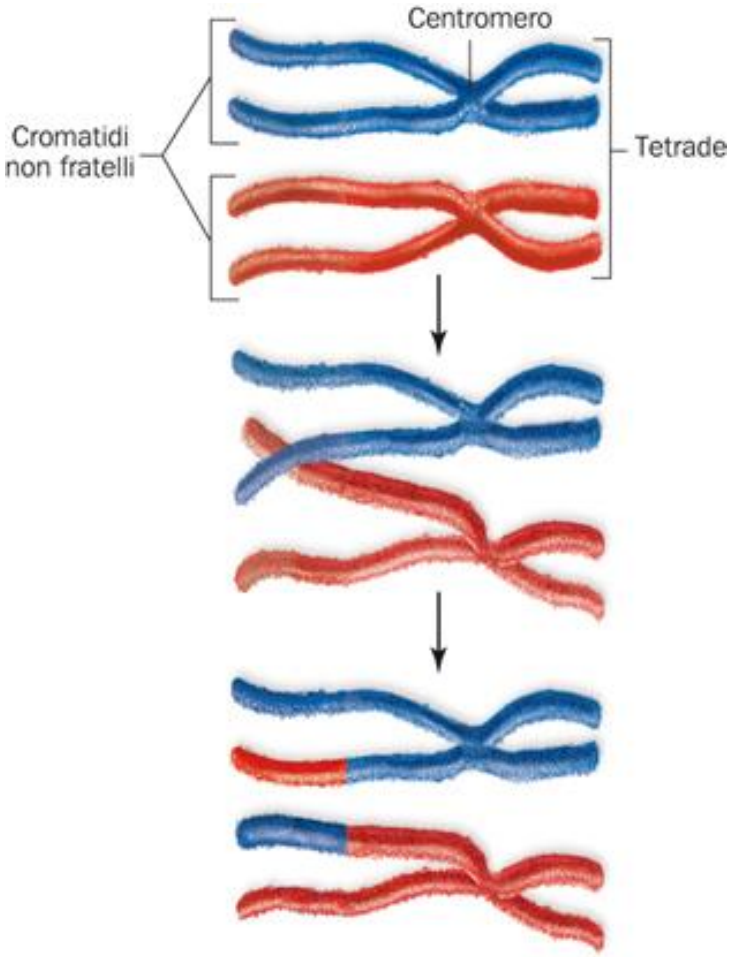
- La disposizione contrapposta delle parole può essere raffigurata mediante la lettera greca χ("chi") dell'alfabeto greco.

- Il risultato visibile del crossing over è una struttura a croce chiamata **chiasma**.
- In ciascun chiasma **i cromosomi omologhi possono scambiarsi segmenti di cromatidi**.



Comparsa dei chiasmi nel diplonema, prova visibile del X-O

Durante la meiosi I si verificano le sinapsi e il crossing-over



- Durante la sinapsi i cromatidi non fratelli della tetrade talvolta si scambiano materiale genetico, un evento chiamato **crossing-over**.

- Grazie a questo scambio, i cromatidi fratelli portano delle informazioni genetiche non più uguali.

I cinetocori fratelli si separano all'improvviso e ciascuno si muove verso il suo polo trascinando i cromatidi.

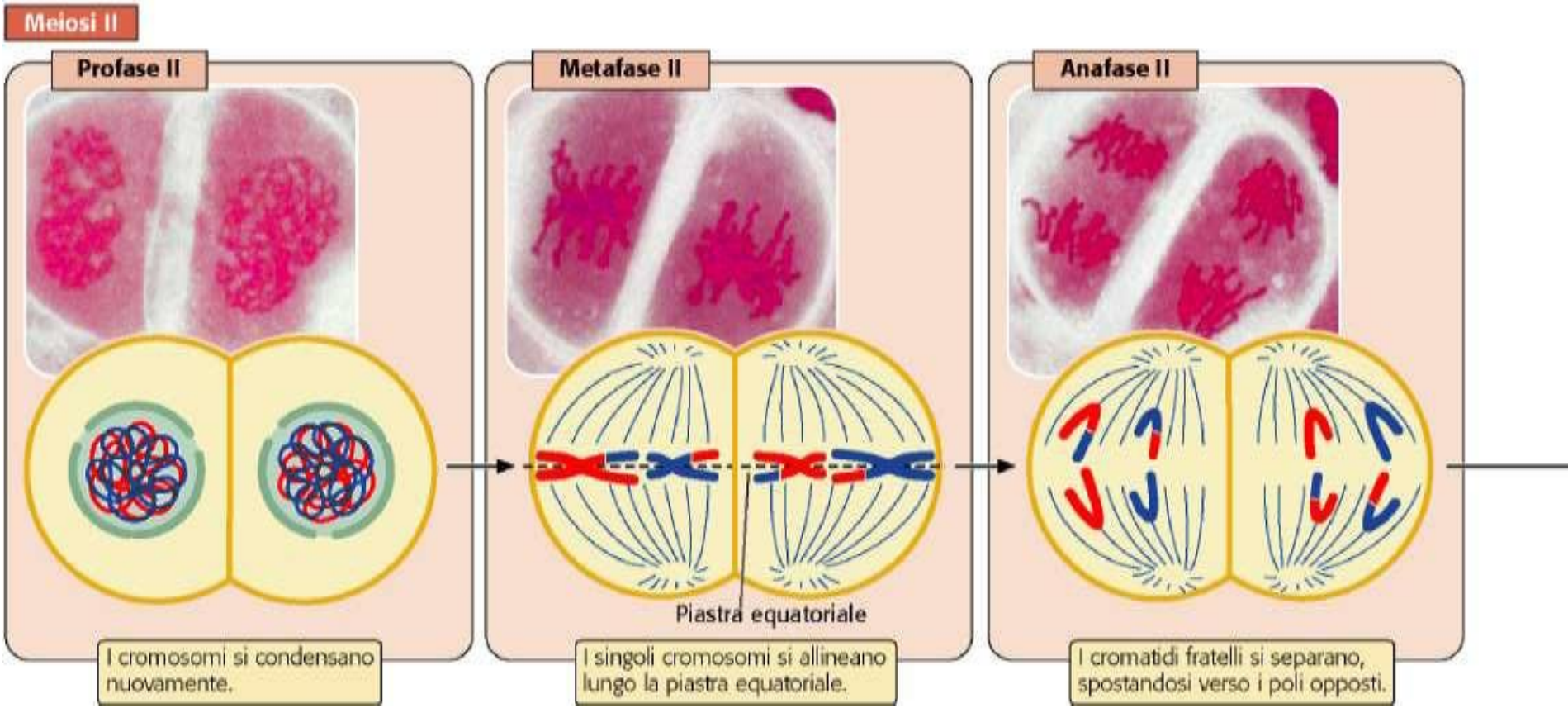
- Separazione dei cromatidi fratelli dipende dalla degradazione della coesina che li ha tenuti insieme
- La degradazione della Coesina è c**ausata** dalla proteasi chiamata **separase** (noto anche come separina).
- La separase è tenuta inattiva fino alla tarda metafase da un inibitore la **securina chaperone**.
- L' Anafase inizia quando il complesso di promozione anafase (APC) distrugge la securina (inviandola al proteasoma) che rilascia così la sua inibizione sulla separase e la separase degrada la coesina

II DIVISIONE MEIOTICA

- con la seconda divisione meiotica, a partire dalle due cellule aploidi con cromosomi dicromatidici,
- si **formano quattro cellule aploidi** ciascuna con un set completo di cromosomi monocromatidici .

- in questa fase della meiosi vengono ripercorse le stesse identiche tappe della mitosi.
- nota: durante l'oogenesi la divisione meiotica viene momentaneamente bloccata in metafase II per poi riprendere e completarsi dopo che la cellula uovo e' fecondata!

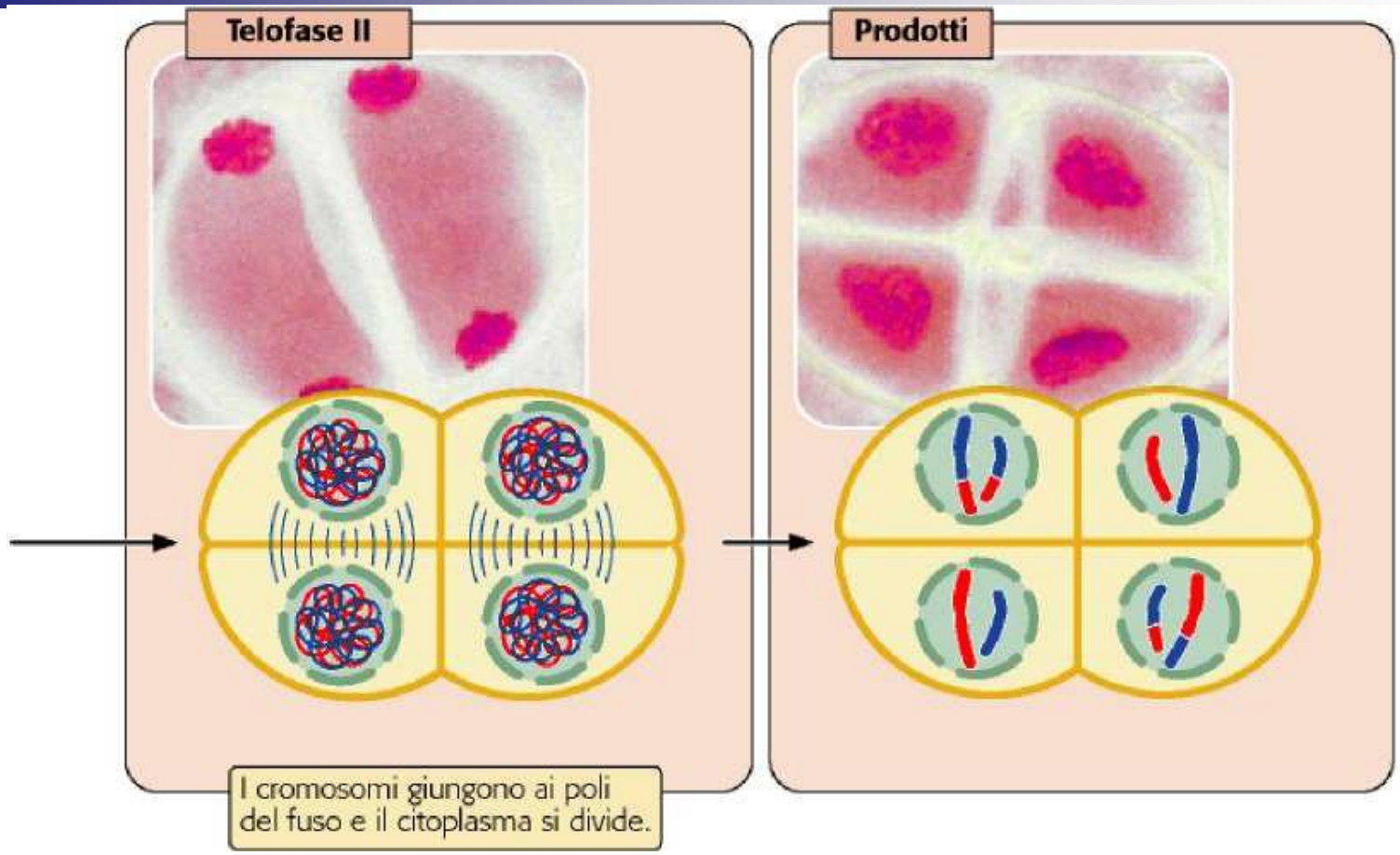
Fasi della Meiosi EQUAZIONALE (Meiosi II)



PROFASE II: i cromosomi condensano nuovamente, si riforma il fuso, si disgrega la membrana

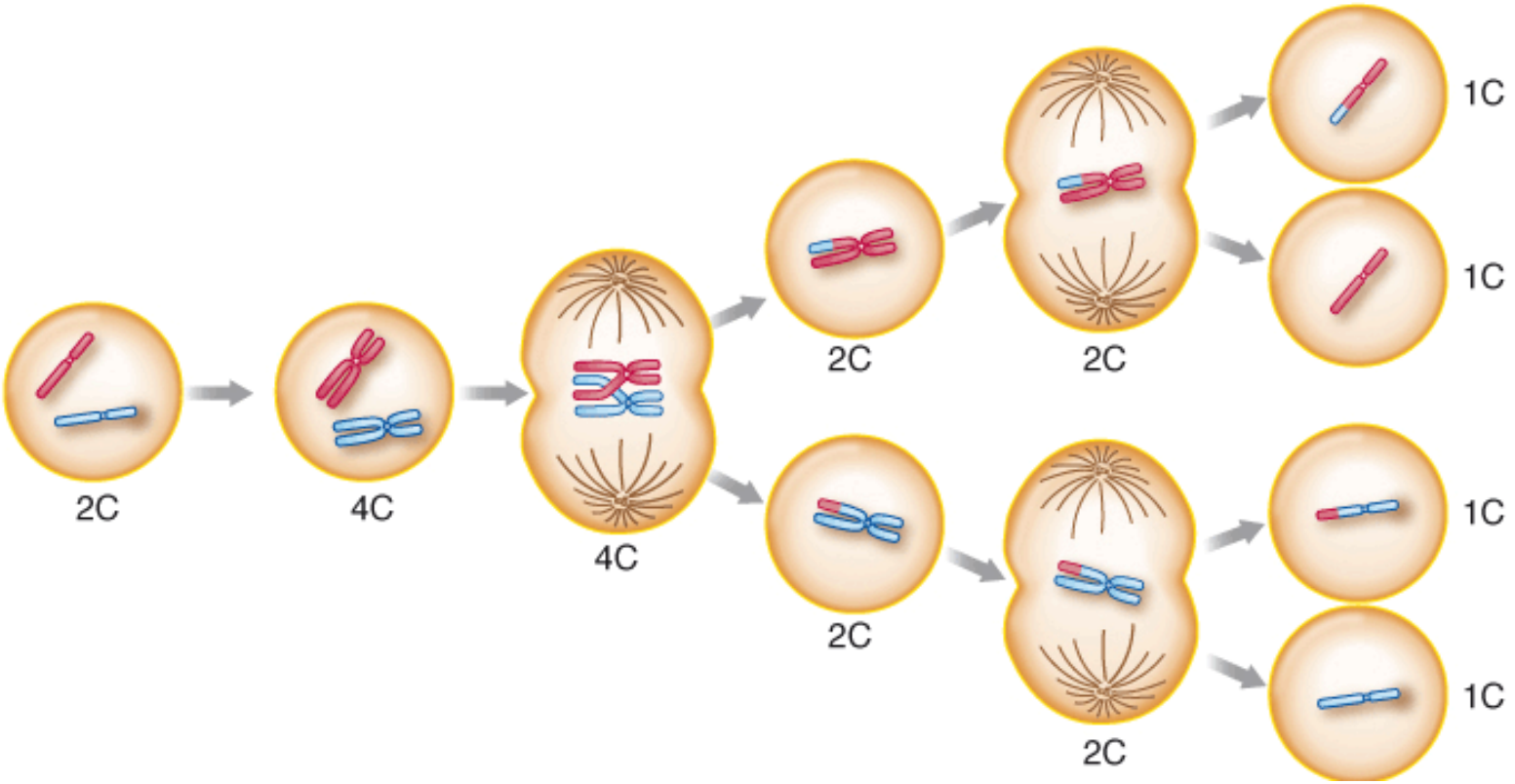
METAFASE II: i singoli cromosomi si allineano sulla piastra metafasica

ANAFASE II: si dividono i cromatidi di ciascun cromosoma



TELOFASE II: citocinesi 4 cellule con metà numero dei cromosomi formati ciascuno da un cromatidio

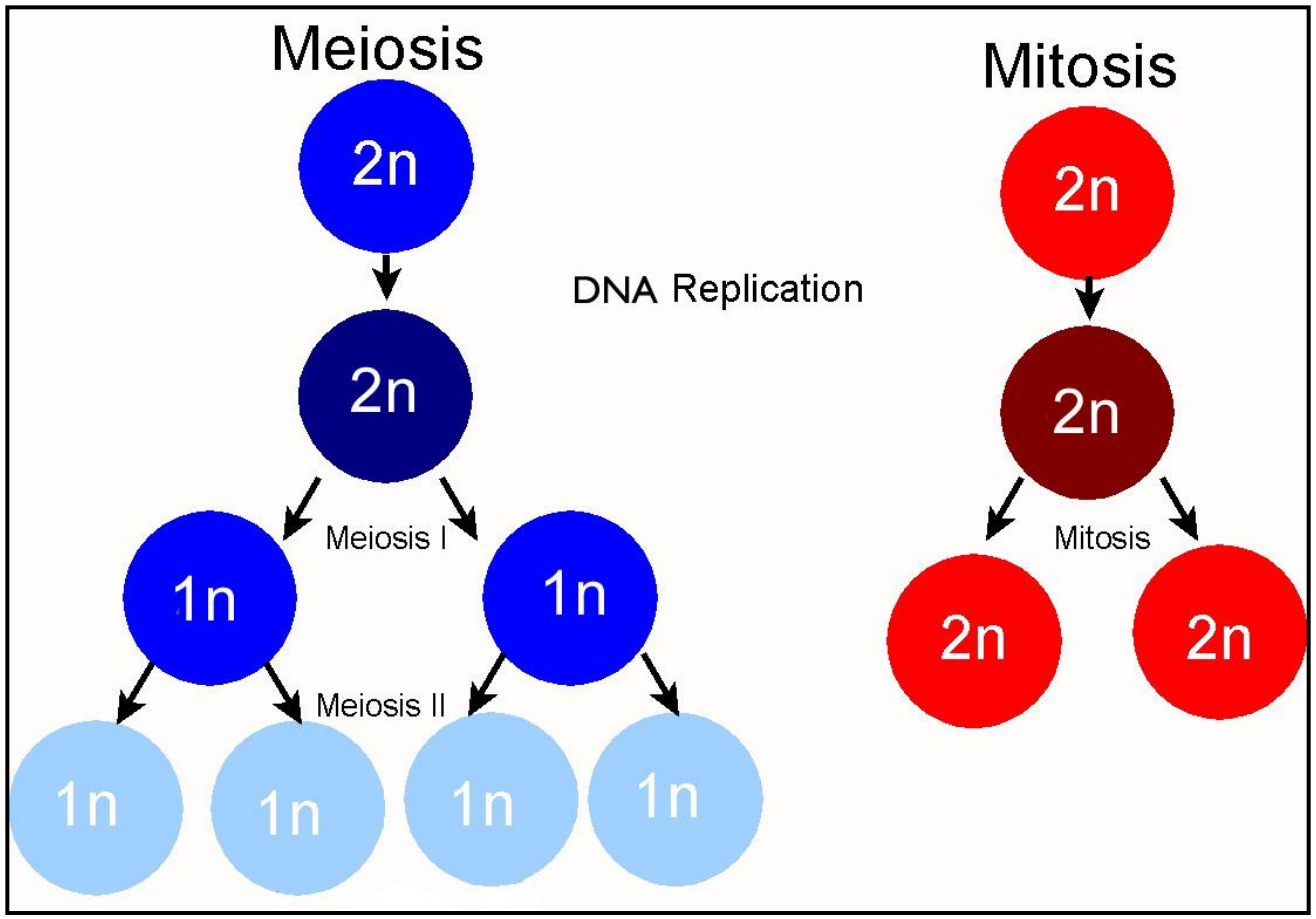
Numero cromosomico e contenuto di DNA alla meiosi



- Meiosi in una ipotetica cellula con un coppia di cromosomi (i due cromosomi omologhi sono di colore diverso).
- Dopo la I divisione il numero cromosomico è dimezzato, ma non il contenuto di DNA

MEIOSI

- la meiosi genera le diversita'
- la mitosi e' un processo conservativo



IL SIGNIFICATO BIOLOGICO DELLA MEIOSI:

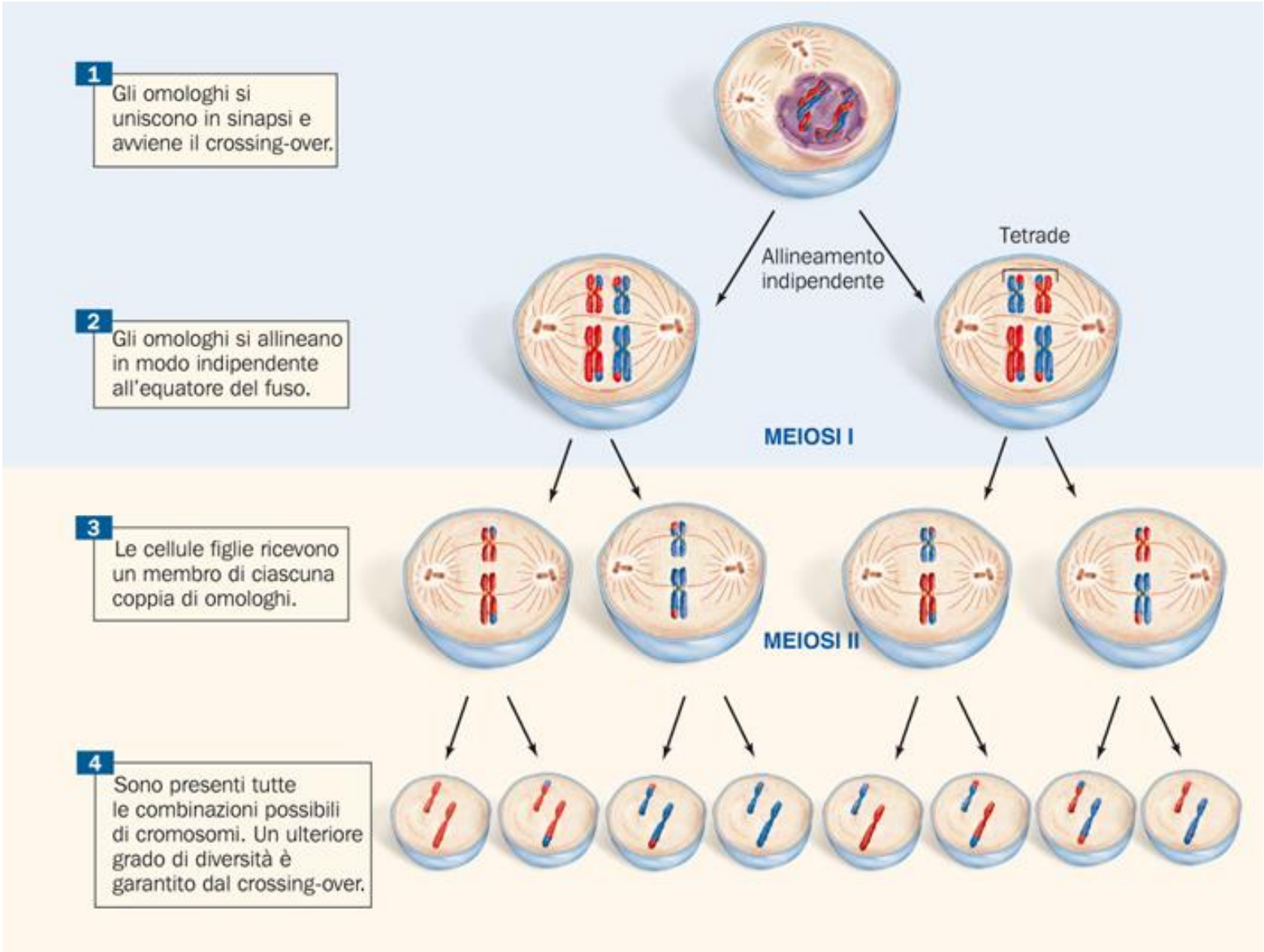
LA VARIABILITA' GENETICA

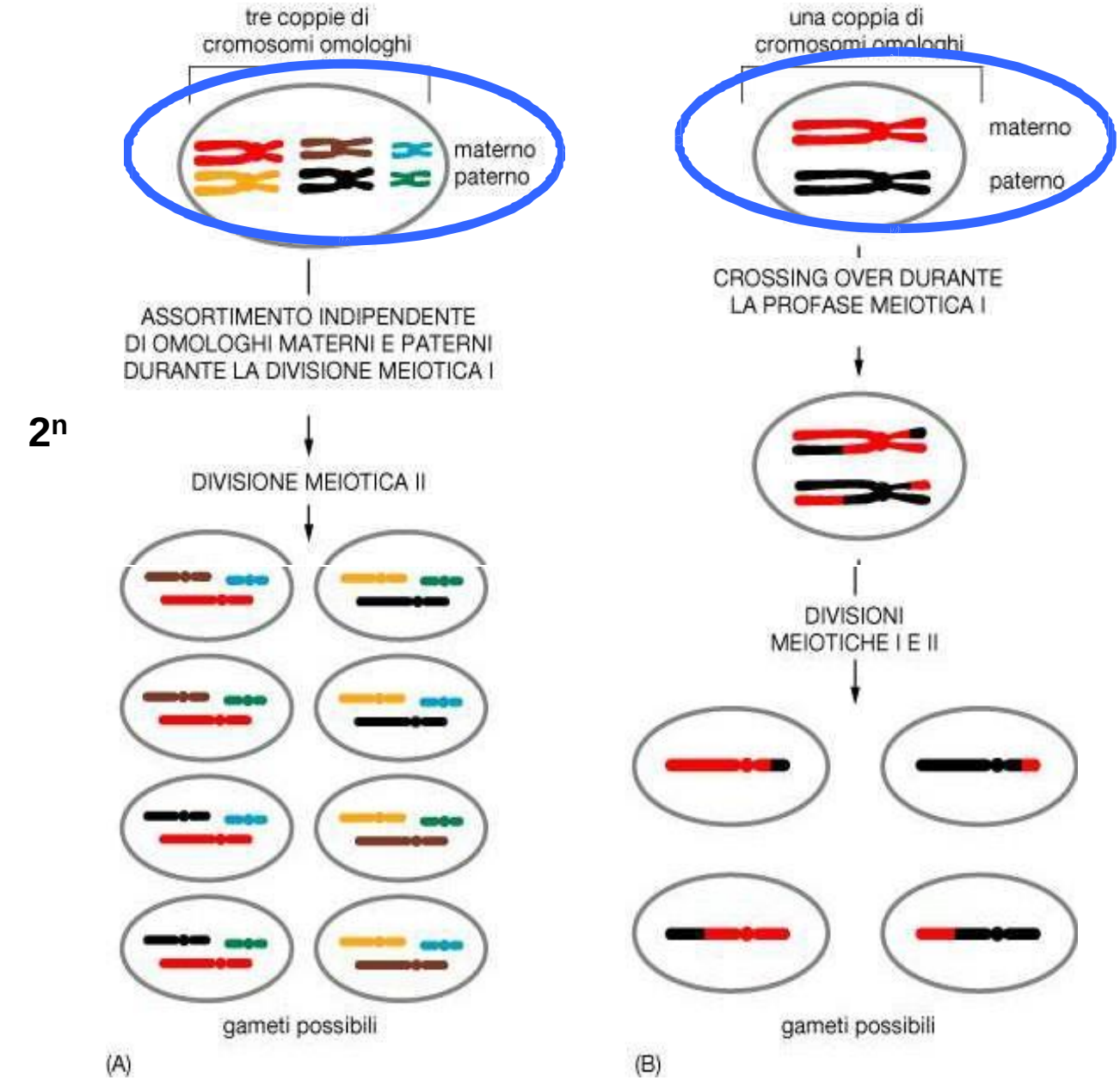
- la diversità dei gameti prodotti da un individuo e' principalmente dovuta a:

  - **crossing-over**
  - **assortimento indipendente**

- l'unione dei corredi genomici di due gameti genera dunque un individuo (zigote) unico ed irripetibile.

La riproduzione sessuata aumenta la variabilità genetica




tre coppie di
cromosomi omologhi
materno
paterno
ASSORTIMENTO INDIPENDENTE
DI OMOLOGHI MATERNI E PATERNI
DURANTE LA DIVISIONE MEIOTICA I
DIVISIONE MEIOTICA II
gameti possibili
(A)
una coppia di
cromosomi omologhi
materno
paterno
CROSSING OVER DURANTE
LA PROFASE MEIOTICA I
DIVISIONI
MEIOTICHE I E II
gameti possibili
(B)

2^n

NELL'UOMO IL SOLO ASSORTIMENTO INDIPENDENTE PUO' DETERMINARE LA FORMAZIONE DI

- 2^{23} (due possibili orientamenti ai due poli del fuso, il tutto elevato al numero aploide di cromosomi) (8.400.000)
- diverse combinazioni di distribuzione dei cromosomi materni e paterni nei gameti

- **A QUESTO SI AGGIUNGA LA VARIABILITA'**

DETERMINATA DAL X-O.

E' ALQUANTO IMPROBABILE CHE, A MENO DEI GEMELLI MONOZIGOTI, VENGANO A FORMARSI DUE INDIVIDUI IDENTICI PER CASO.

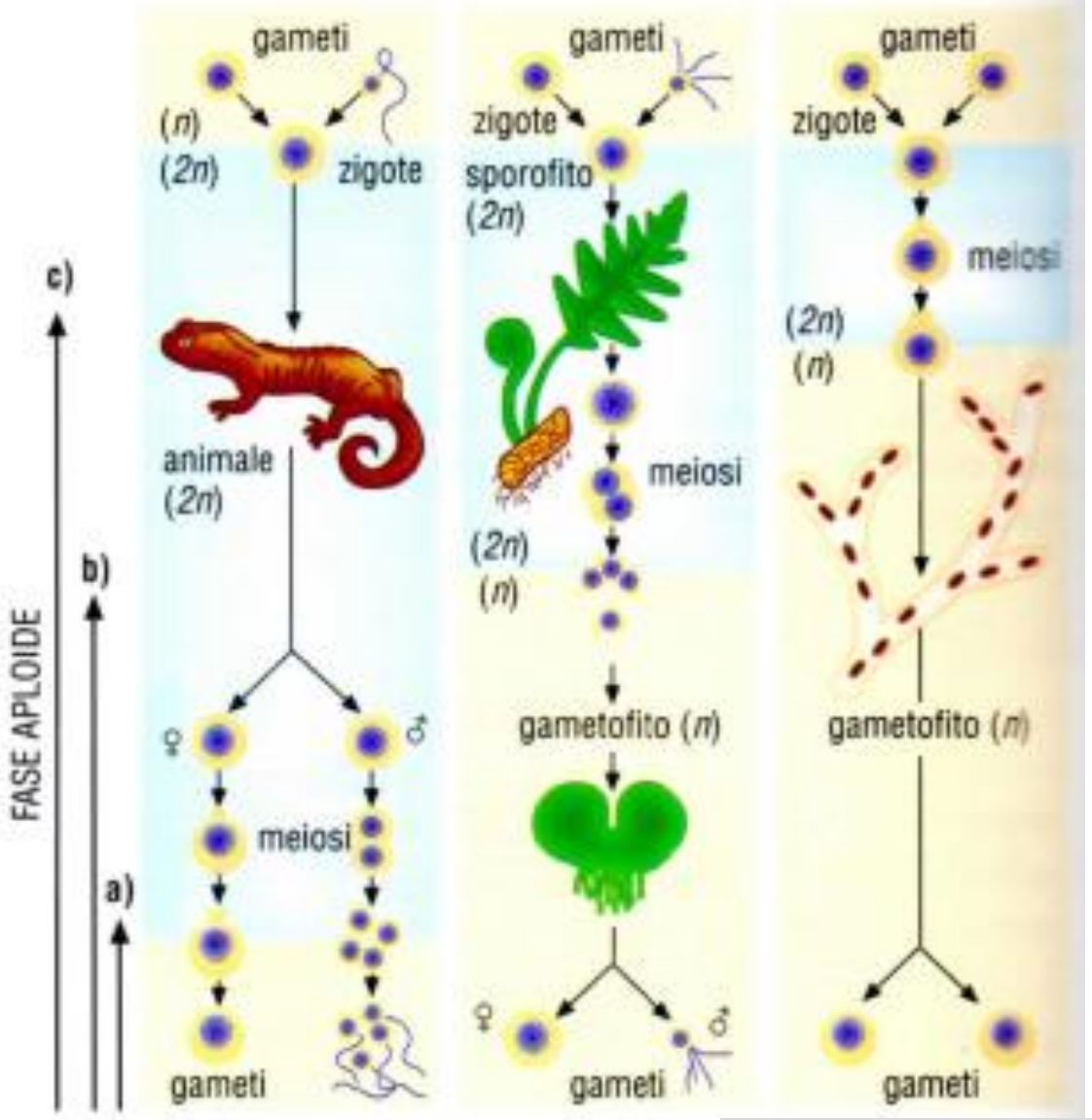
Confronto Mitosi vs. Meiosi

Caratteristica	Mitosi	Meiosi
Finalità	Produce cellule geneticamente identiche tra loro	Produce i gameti per la riproduzione sessuale che sono geneticamente differenti tra loro
Localizzazione	Cellule somatiche	Cellule della linea germinale
Meccanismo	un ciclo di replicazione cellulare seguito da un ciclo di divisione cellulare	un ciclo di replicazione del DNA seguito da due cicli di divisione cellulare
Cromosomi omologhi	Non si appaiono e raramente subito ricombinazione	Sinapsi durante la profase I e DEVONO ricombinare durante la profase I
Cromatidi fratelli	Migrano ai poli opposti durante la l'anafase	Migrano allo stesso polo in anafase I e ai poli opposti all'anafase II
Prodotti	Due cellule diploidi identiche alla cellula madre	4 cellule aploidi differenti che maturano a gameti

IL CICLO CELLULARE MEIOTICO

I tre modelli principali della meiosi,

n = numero aploide dei cromosomi,
2n = numero diploide,

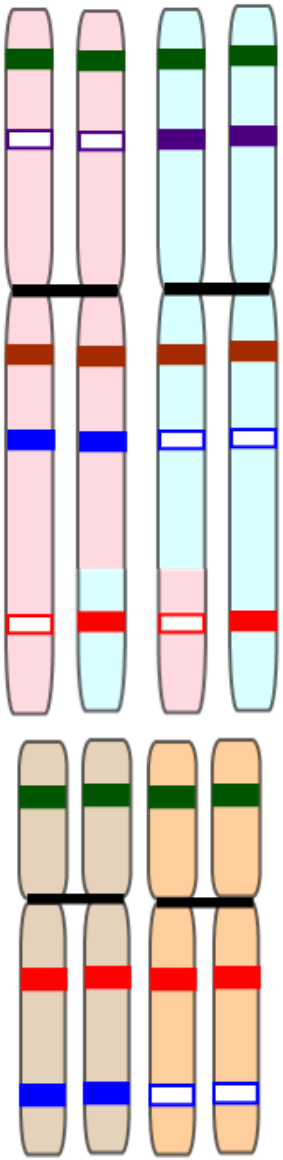


Meiosi gametica o terminale

Meiosi sporofitica od intermedia,

Meiosi zigotica od iniziale (i.e ife muffe Neurosora)

Which phase of meiosis is shown? Why?



A. Interphase

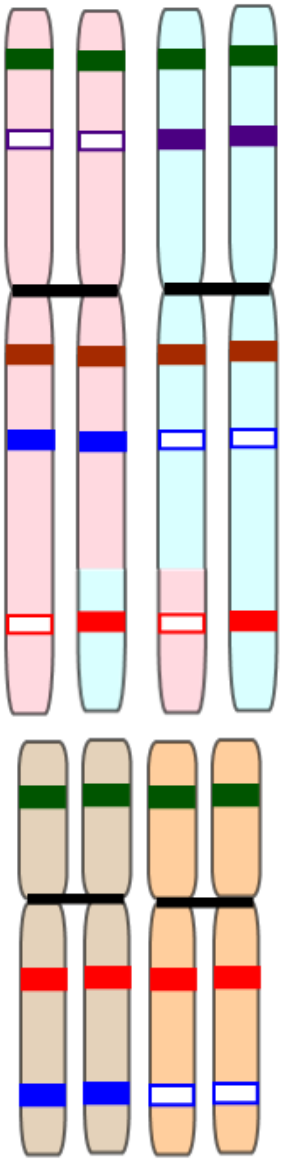
B. Prophase I

C. Metaphase I

D. Metaphase II

Reason:

Which phase of meiosis is shown? Why?



A. Interphase

B. Prophase I

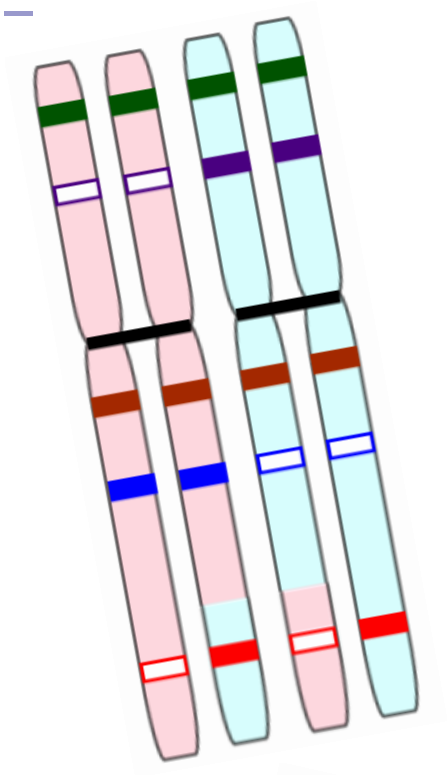
C. Metaphase I

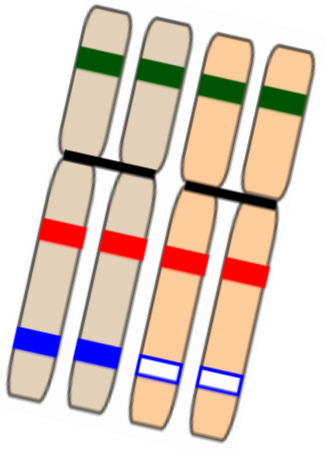
D. Metaphase II

Reason:

- Homologous pairs are aligned (at equator), so must be metaphase.
- Crossing-over has already taken place, so must be after prophase I.
- Homologous pairs have not yet separated, so must be still in meiosis I (metaphase I).

Which phase of meiosis is shown? Why?





A. Interphase

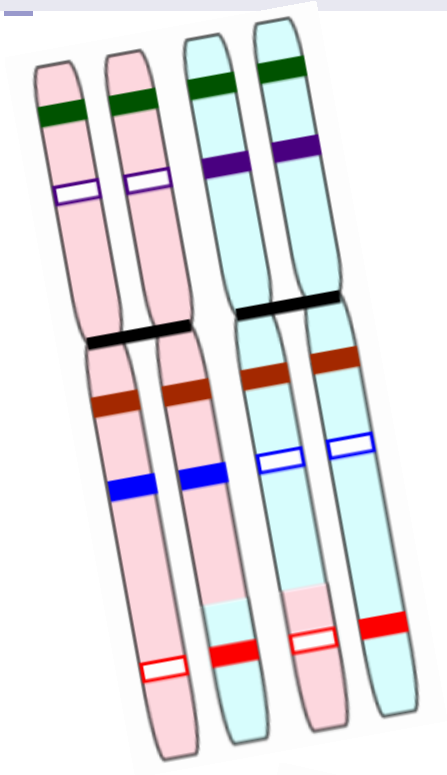
B. Prophase I

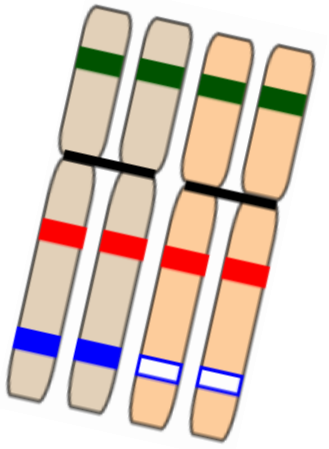
C. Metaphase I

D. Metaphase II

Reason:

Which phase of meiosis is shown? Why?





A. Interphase

B. Prophase I

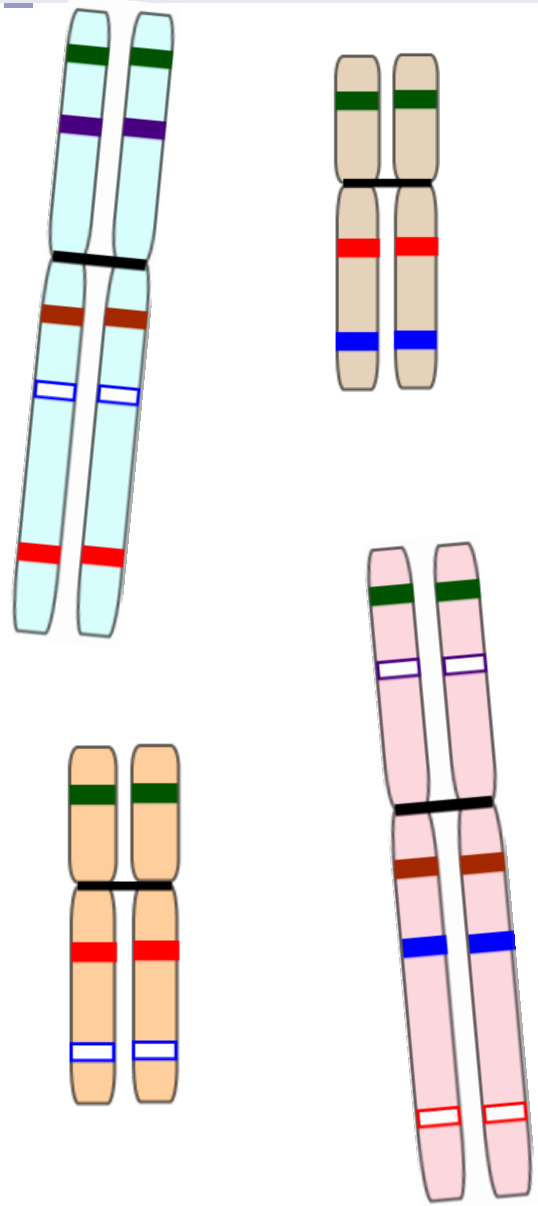
C. Metaphase I

D. Metaphase II

Reason:

- Homologous pairs have associated.
- Crossing-over has taken place.
- Homologous pairs have not aligned at the equator.

Which phase of meiosis is shown? Why?



A. Interphase

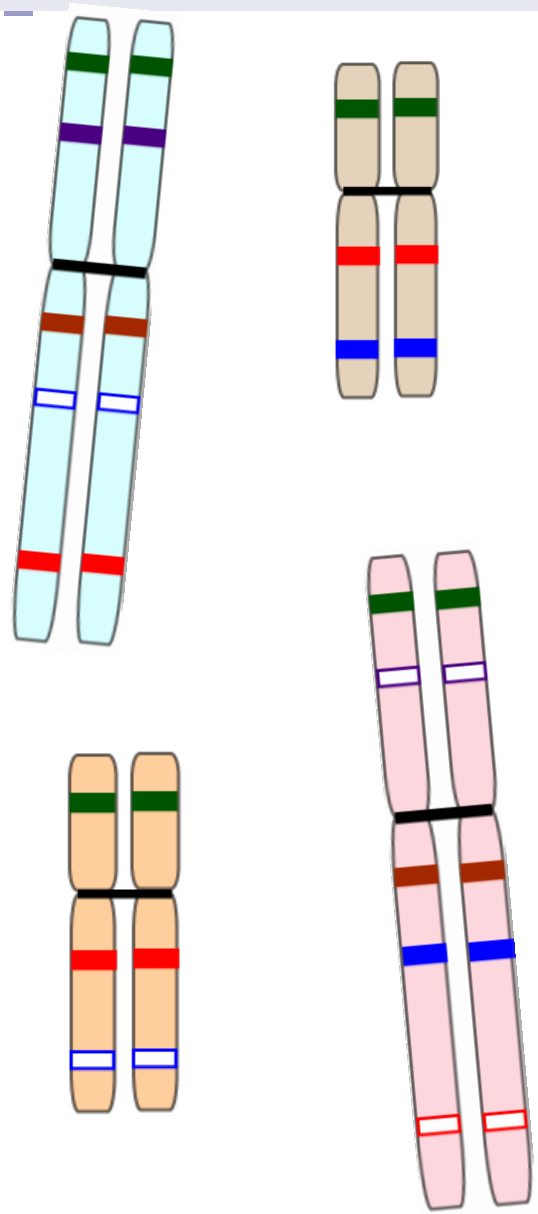
B. Prophase I

C. Metaphase I

D. Metaphase II

Reason:

Which phase of meiosis is shown? Why?



A. Interphase

B. Prophase I

C. Metaphase I

D. Metaphase II

Reason:

- Homologous pairs have not yet associated.
- Replication has taken place.
- Crossing-over has not yet taken place.

Sintesi

- Il ciclo cellulare è regolato dalle interazioni tra un programma genetico interno e i segnali esterni.

- Nella mitosi, i cromosomi duplicati si separano (segregano) e vengono distribuiti equamente nei due nuclei figli.
- La mitosi rappresenta una fase importante del ciclo cellulare, il quale consiste nella successione degli stadi che una cellula attraversa.

- La meiosi, che porta alla riduzione del numero di assetti cromosomici da diploide ad aploide, è necessaria per preservare il normale numero di cromosomi quando due cellule si uniscono nel corso della riproduzione sessuata.
- La meiosi contribuisce ad aumentare la variabilità genetica nella progenie.
- La meiosi e la produzione di gameti precede la fecondazione nel ciclo di vita degli organismi che si riproducono sessualmente.