

Viaggio al centro della cellula



Anna Maria Rossi
Dip. di Biologia - Genetica

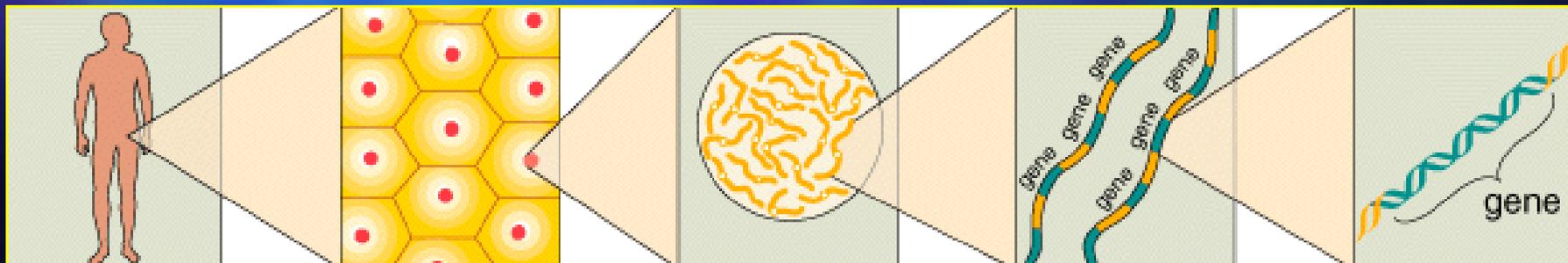
L'informazione genetica

**La costituzione genetica
di un individuo
ha un'importanza fondamentale
per tutto l'arco della sua vita
Ma non c'è una sola possibilità...**

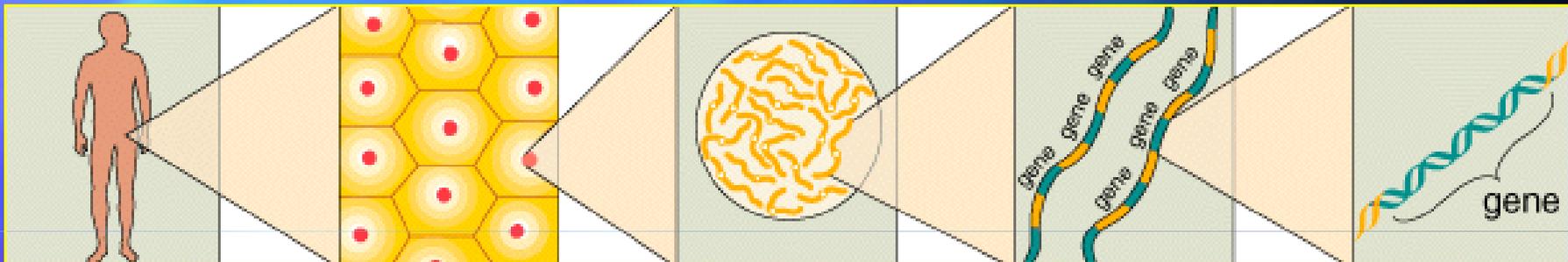


L'informazione genetica

L'insieme delle istruzioni per costruire le strutture
dell'organismo con le caratteristiche specifiche
della **SPECIE** e
del singolo **INDIVIDUO**
e di ciascun **tipo cellulare**



Le caratteristiche di un organismo (**fenotipo**) dipendono dalla struttura e funzione delle cellule che lo costituiscono



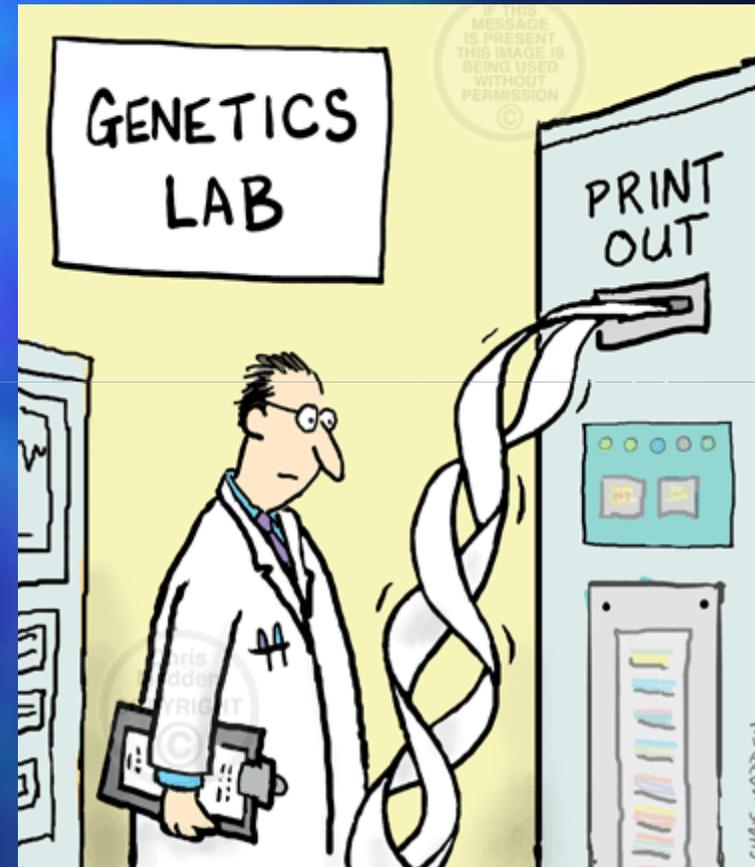
Le caratteristiche delle cellule sono il risultato di complesse interazioni

dinamiche

del patrimonio genetico (**genotipo**) con miriadi di fattori endogeni ed esogeni

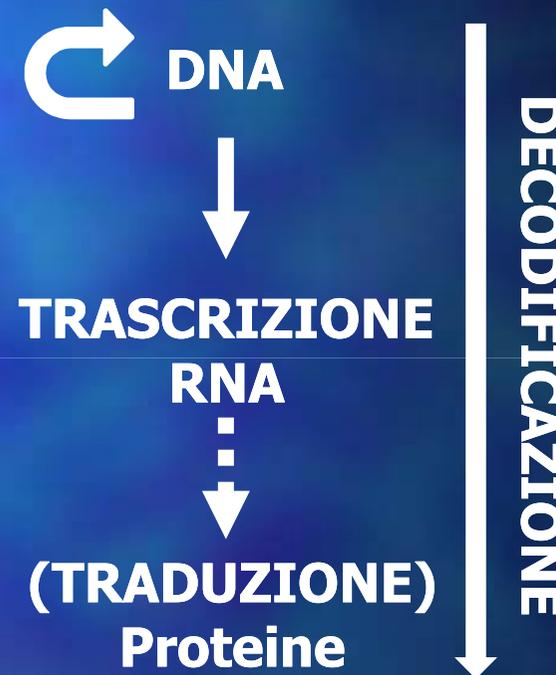
Come l'informazione diventa forma

Il DNA contiene l'informazione per i processi e per le strutture dell'organismo a partire dai principali componenti cellulari
- RNA e Proteine -



Come l'informazione diventa forma

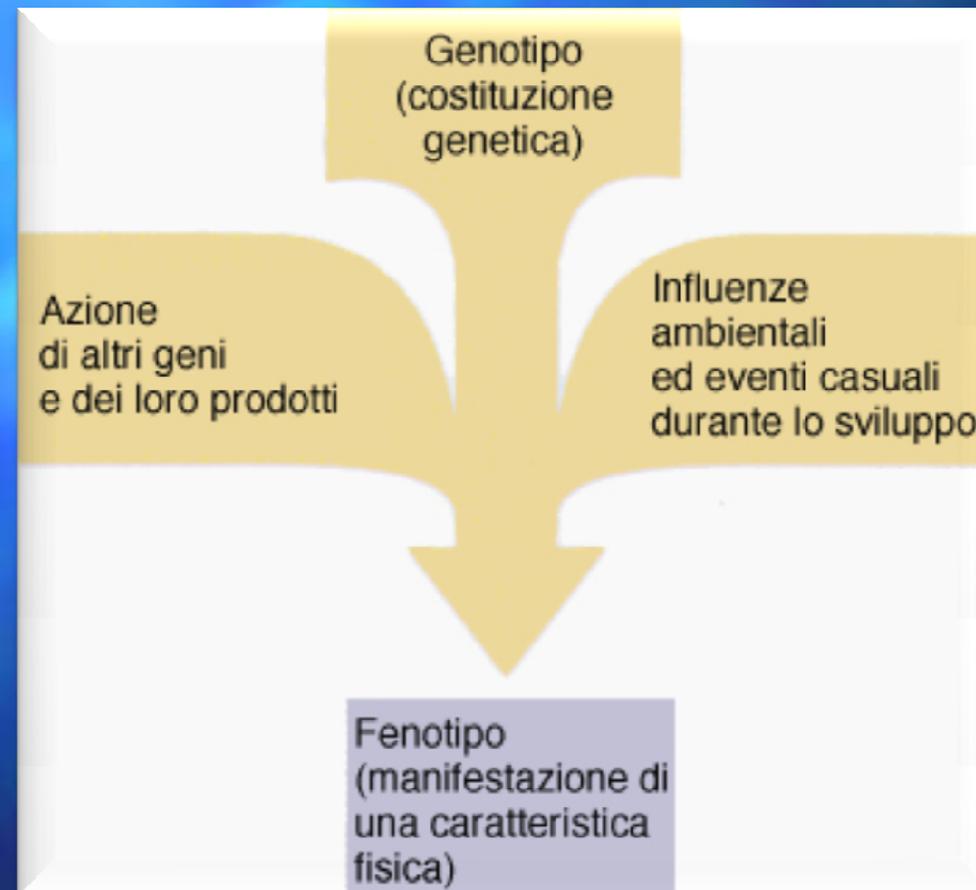
L'informazione genetica è contenuta nel DNA in forma codificata



GENI ON DEMAND

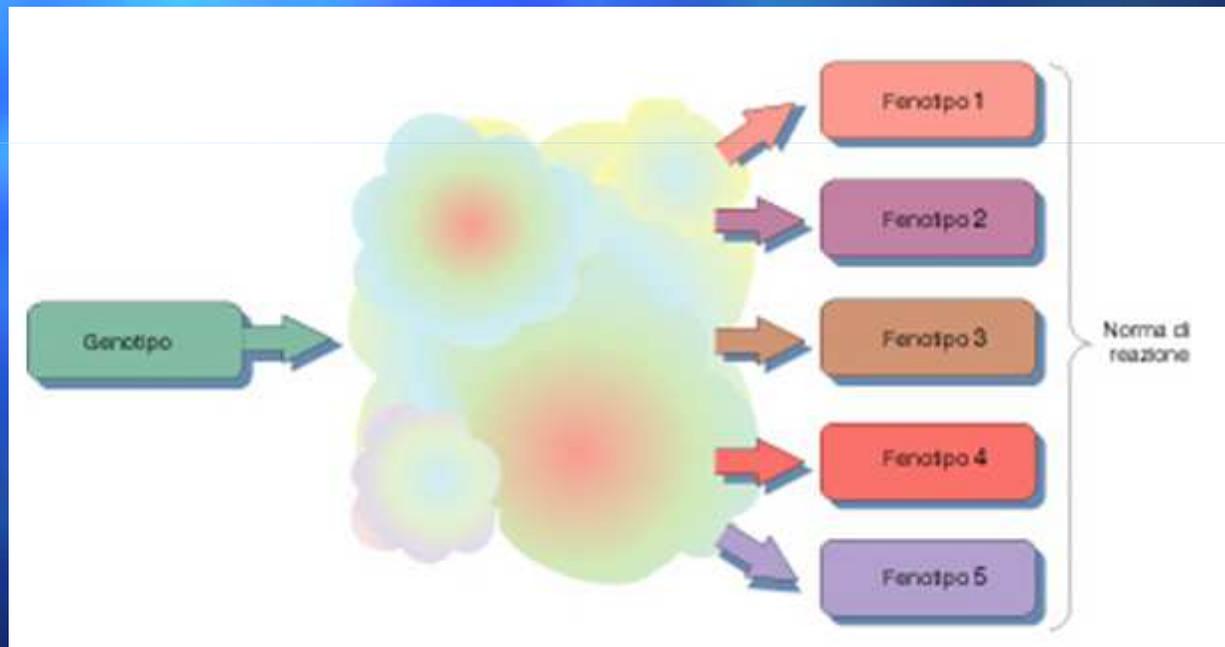
Un tratto di DNA può essere trascritto in un RNA (ed eventualmente tradotto in una proteina) in un preciso momento della vita cellulare a seconda delle necessità e di specifici segnali intra- e inter-cellulari

Genotipo e fenotipo



Norma di reazione

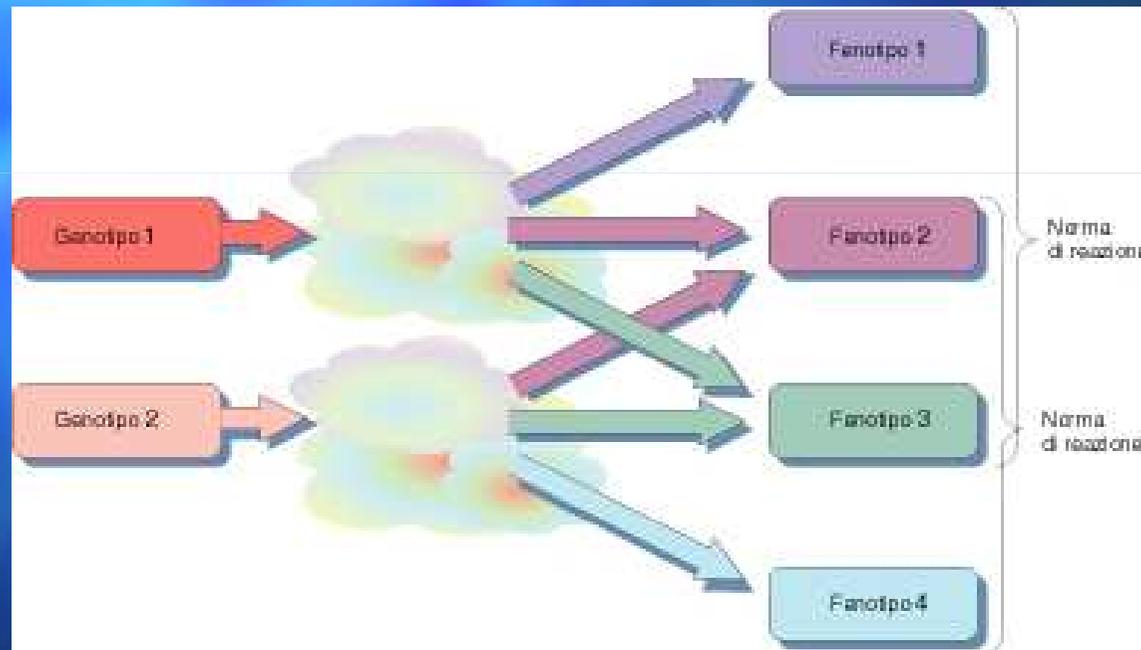
Ogni genotipo è caratterizzato da una norma di reazione (NdR) che copre un certo range di fenotipi



Un genotipo può corrispondere a molti fenotipi a seconda dell'ambiente

Norma di reazione

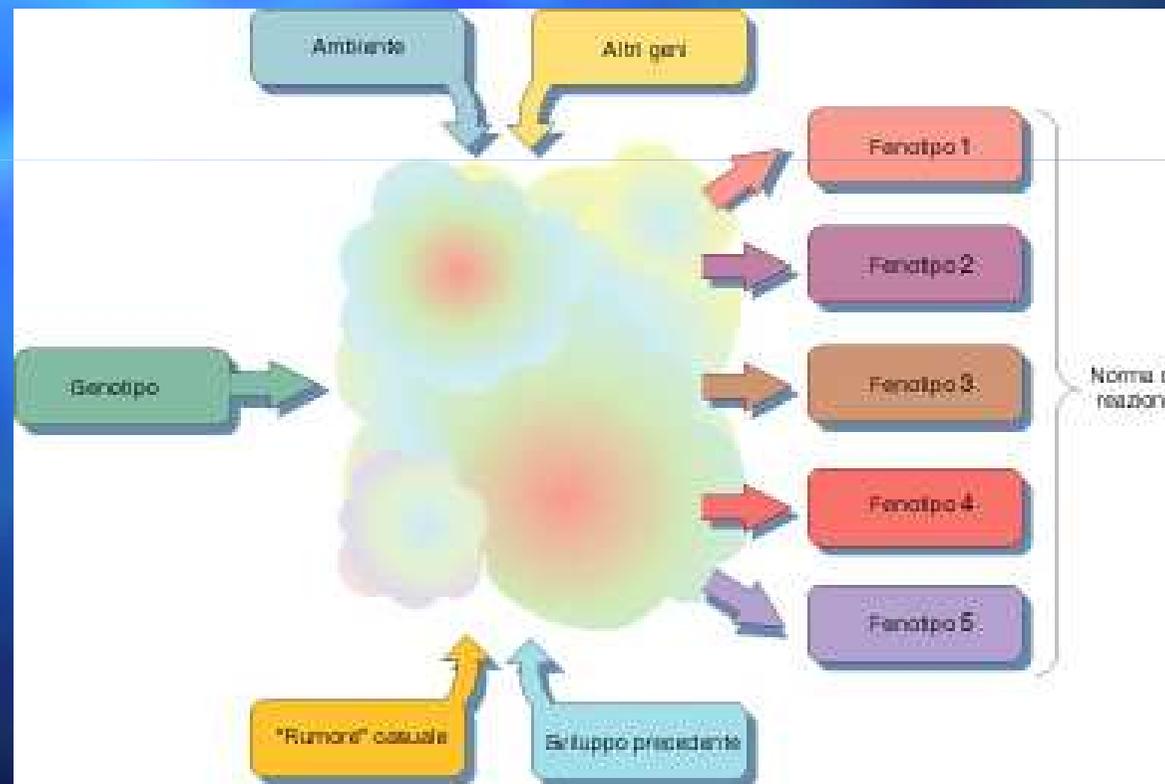
I diversi genotipi possono avere NdR sovrapposte per cui non è possibile assegnare un genotipo ad un fenotipo



Un fenotipo può corrispondere a diversi genotipi a seconda dell'ambiente

Norma di reazione

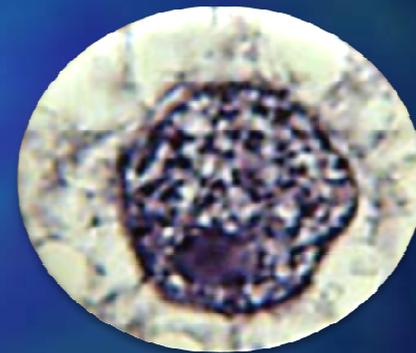
La variabilità del fenotipo non solo è in relazione al genotipo ma a molti altri fattori

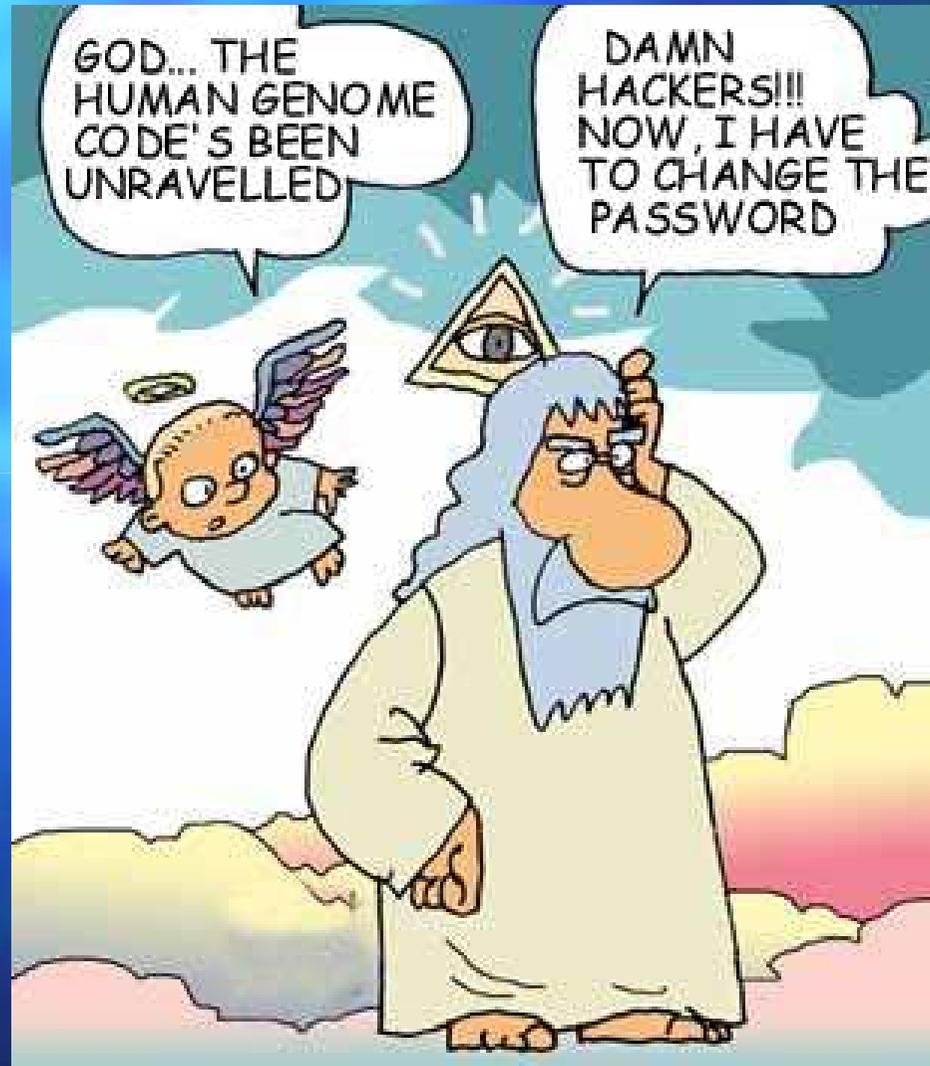


L'informazione genetica

contenuta nel nucleo cellulare svolge due funzioni

- **Trasmissione dell'informazione**
- **Attuazione dell'informazione**





Interfase



Profase



Metafase



Anafase



Telofase

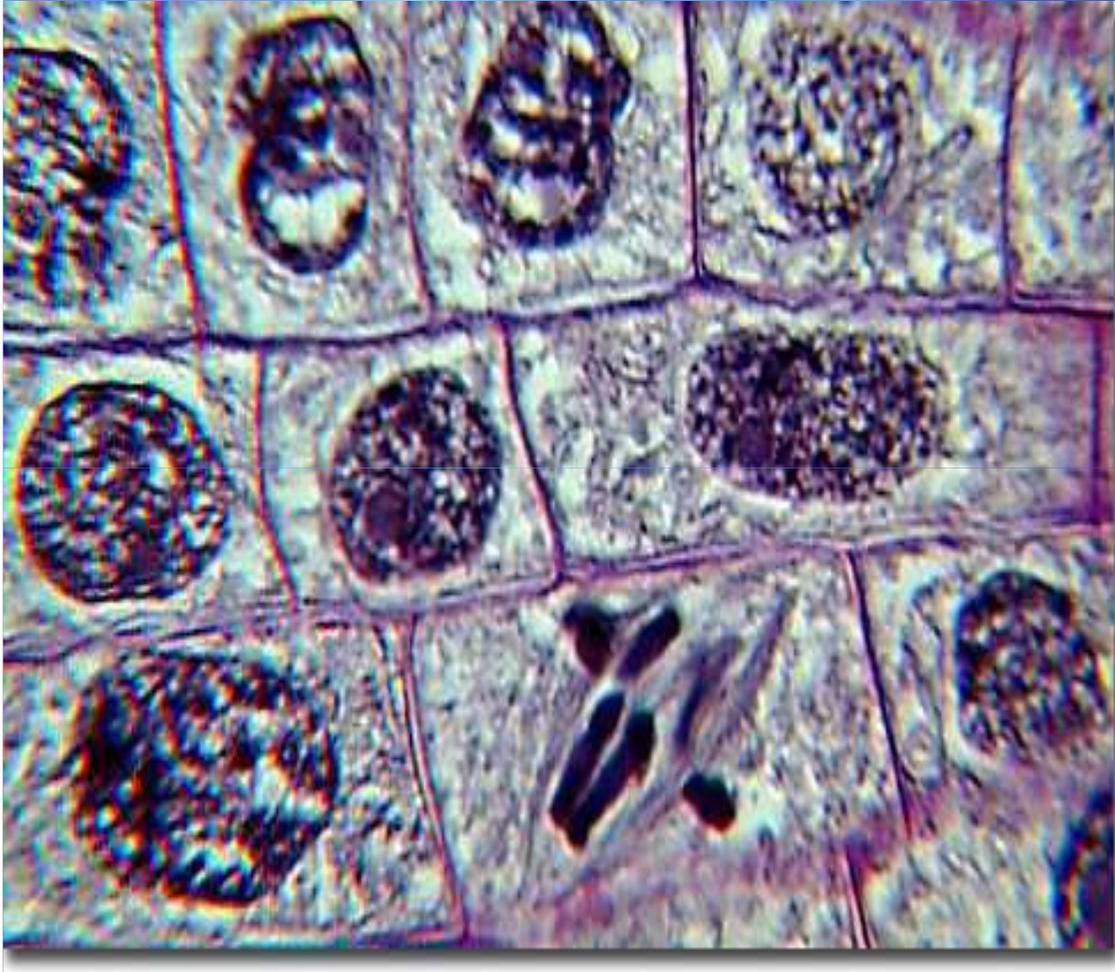


Citodieresi



Durante la mitosi possiamo osservare notevoli cambiamenti nella struttura del nucleo

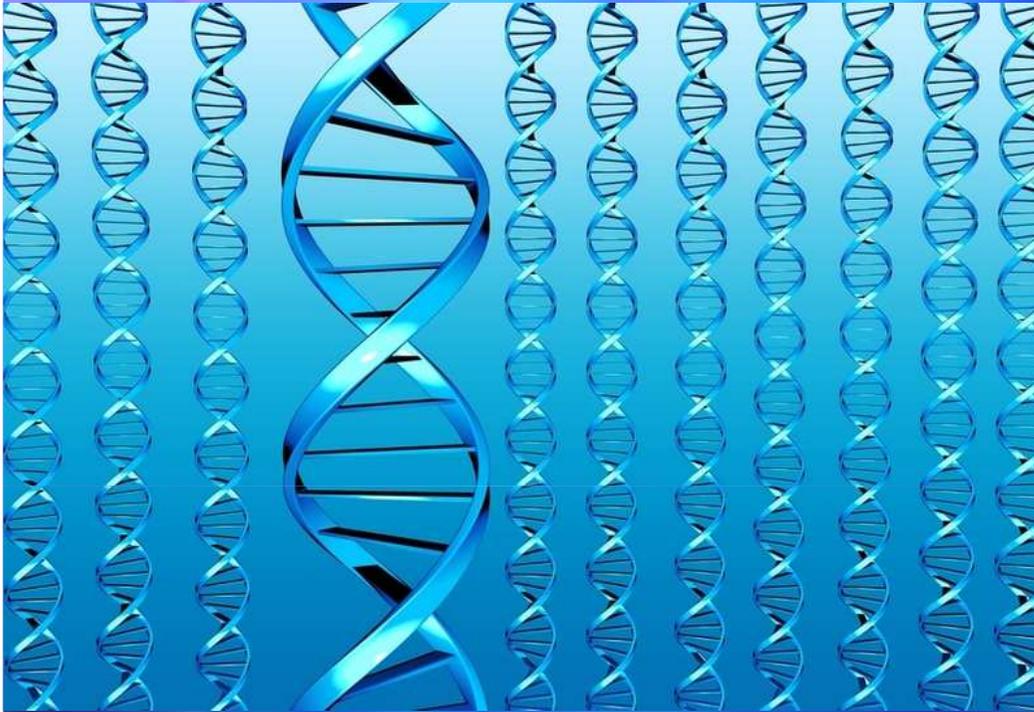
L'organizzazione spaziale del nucleo



Ma durante
l'interfase
il nucleo ci appare
omogeneo
mentre non lo è

Apici radicali di cipolla

L'organizzazione del genoma

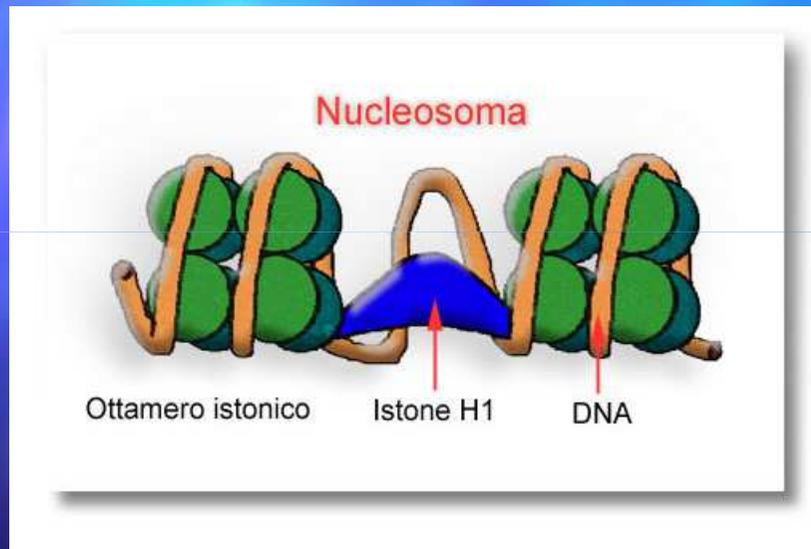


Di solito noi immaginiamo
il patrimonio genetico
o genoma
di una cellula o di un organismo
come una struttura lineare

La sequenza del DNA rappresenta solo il **primo** livello
di una struttura con numerosi livelli gerarchici
interdipendenti

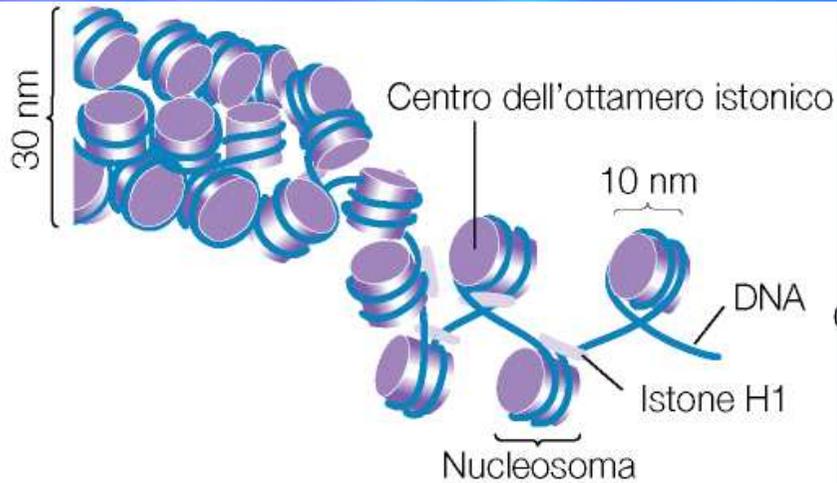
L'organizzazione del genoma

Il secondo livello è quello della struttura della cromatina



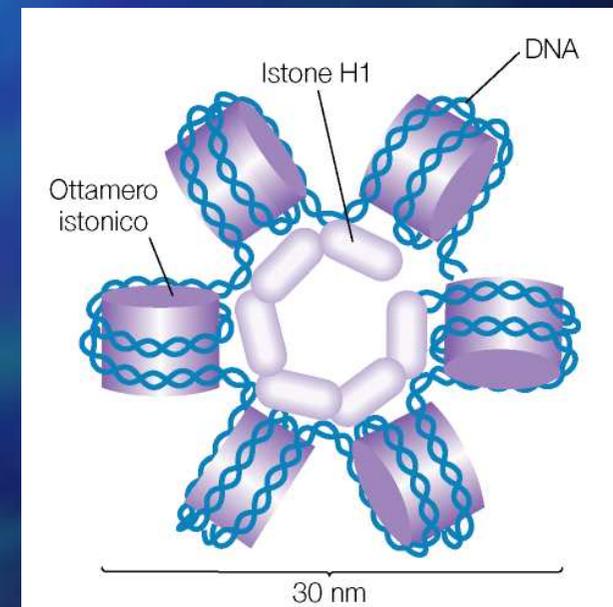
Il DNA fa due avvolgimenti
intorno al nucleosoma
composto
da un ottamero di istoni
stabilizzato dall'istone H1

L'organizzazione del genoma



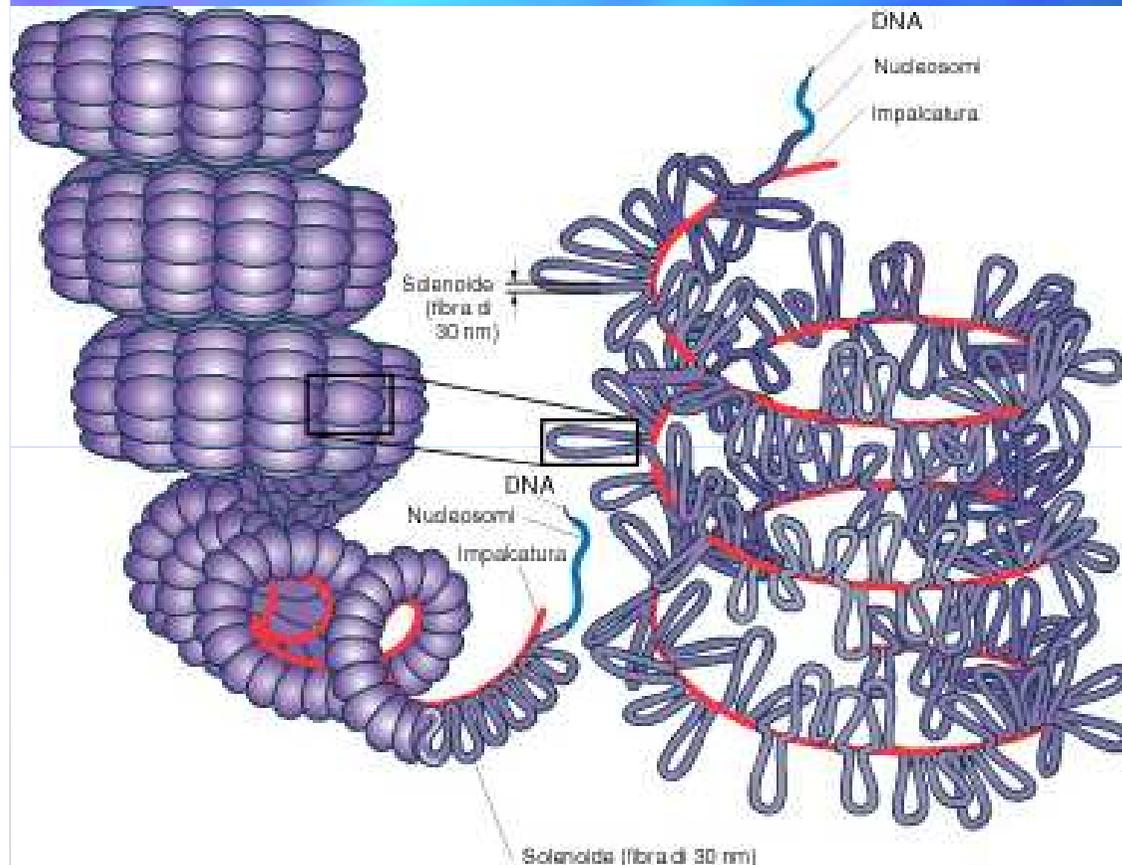
L'istone H1 promuove il compattamento dei nucleosomi in un solenoide in cui i legami H1-H1 tengono unita la fibra di 30 nm

Visione di lato



Visione di fronte

L'organizzazione del genoma



Le fibre di cromatina si ripiegano a formare delle **anse** che si associano all'impalcatura proteica (**scaffold**, in rosso) raggiungendo un maggior grado di condensazione

I livelli di condensazione della cromatina

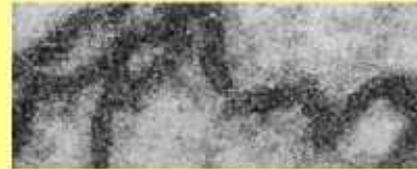
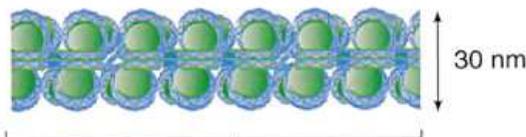
DNA a doppia elica



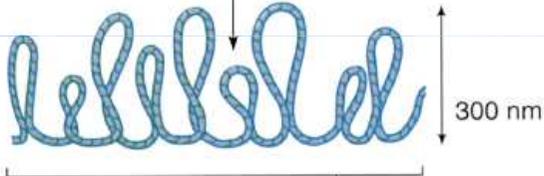
Forma della cromatina a "collana di perle"



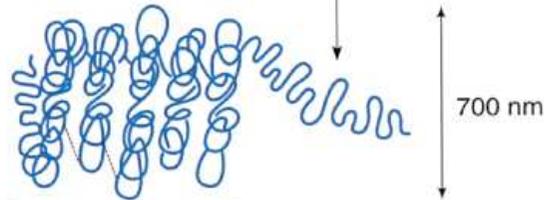
Nucleosomi impacchettati nella fibra di cromatina



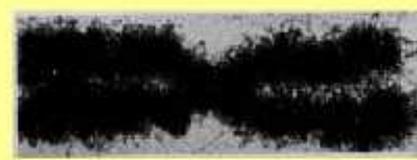
Sezione distesa di un cromosoma



Sezione condensata di un cromosoma



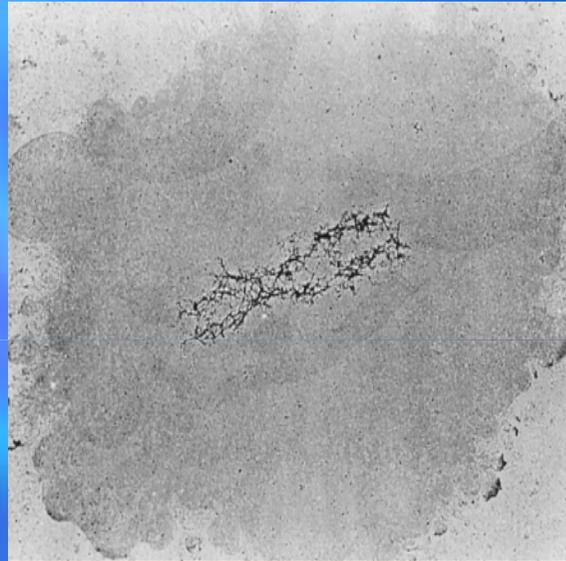
Cromosoma metafasico



Dal nucleosoma al cromosoma metafasico c'è una compattazione di 10.000 volte

Le immagini al microscopio elettronico a trasmissione dopo digestione delle proteine

L'organizzazione del genoma



2 metri di DNA  nucleo (Φ 10-20 micron)
(Φ 2nm)

Le immagini al microscopio elettronico a trasmissione dopo digestione delle proteine nucleari

2 metri di DNA \rightarrow nucleo (Φ 10-20 micron)
(Φ 2nm)

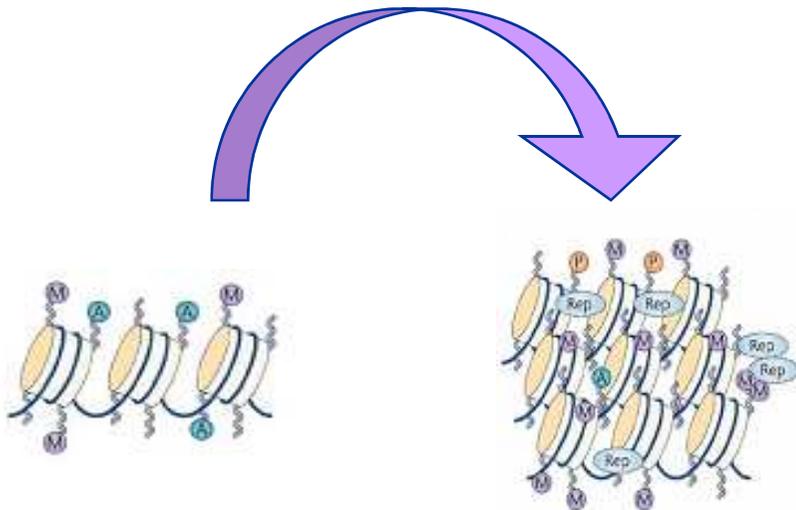


Sarebbe come far entrare 20 km di filo di ragnatela
(Φ 20 micron) in un pallone da calcio (Φ 20 cm)

L'organizzazione del genoma

La visione della cromatina come semplice impacchettamento del genoma è stata completamente ribaltata

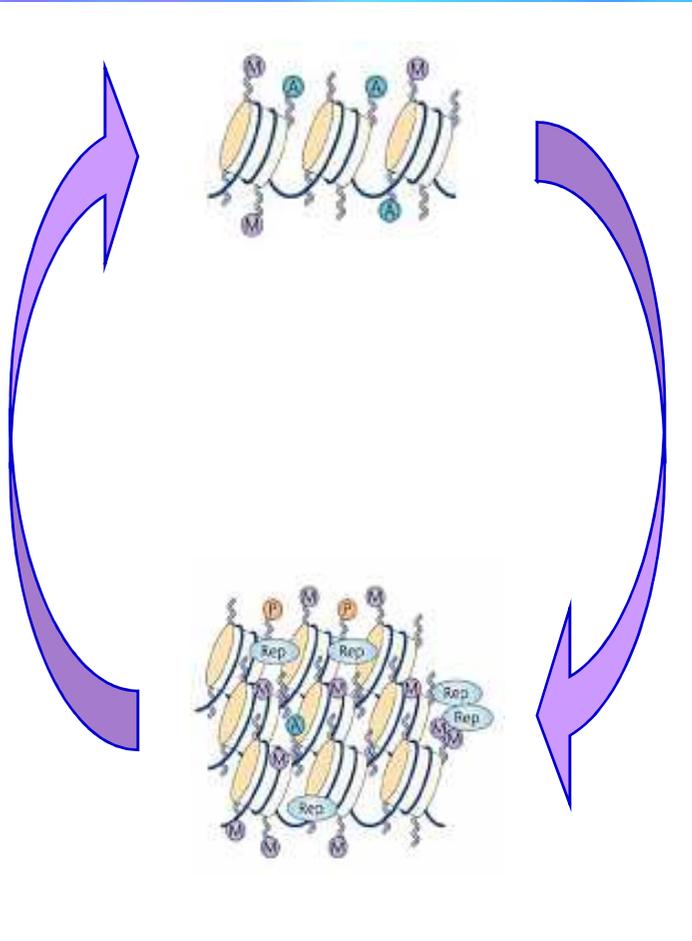
condensazione della cromatina



decondensazione della cromatina

La struttura della cromatina controlla importanti funzioni cellulari

L'organizzazione del genoma



Eucromatina

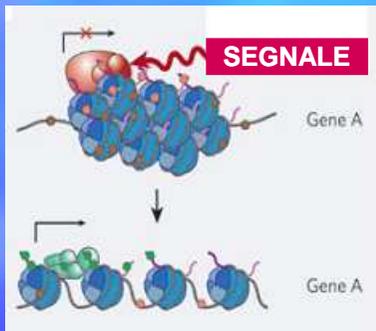
Contiene sequenze che devono essere aperte
attivazione genica
corrisponde spesso a regioni ricche di geni

Eterocromatina

Contiene sequenze che devono essere chiuse
repressione genica
corrisponde spesso a regioni a bassa densità di geni

La struttura della cromatina

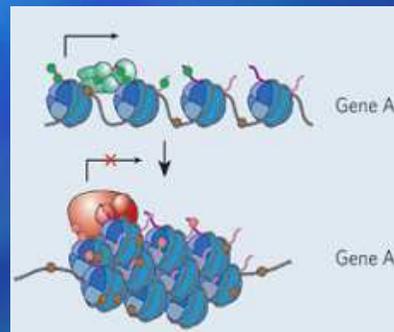
cambia rapidamente in risposta ai segnali cellulari



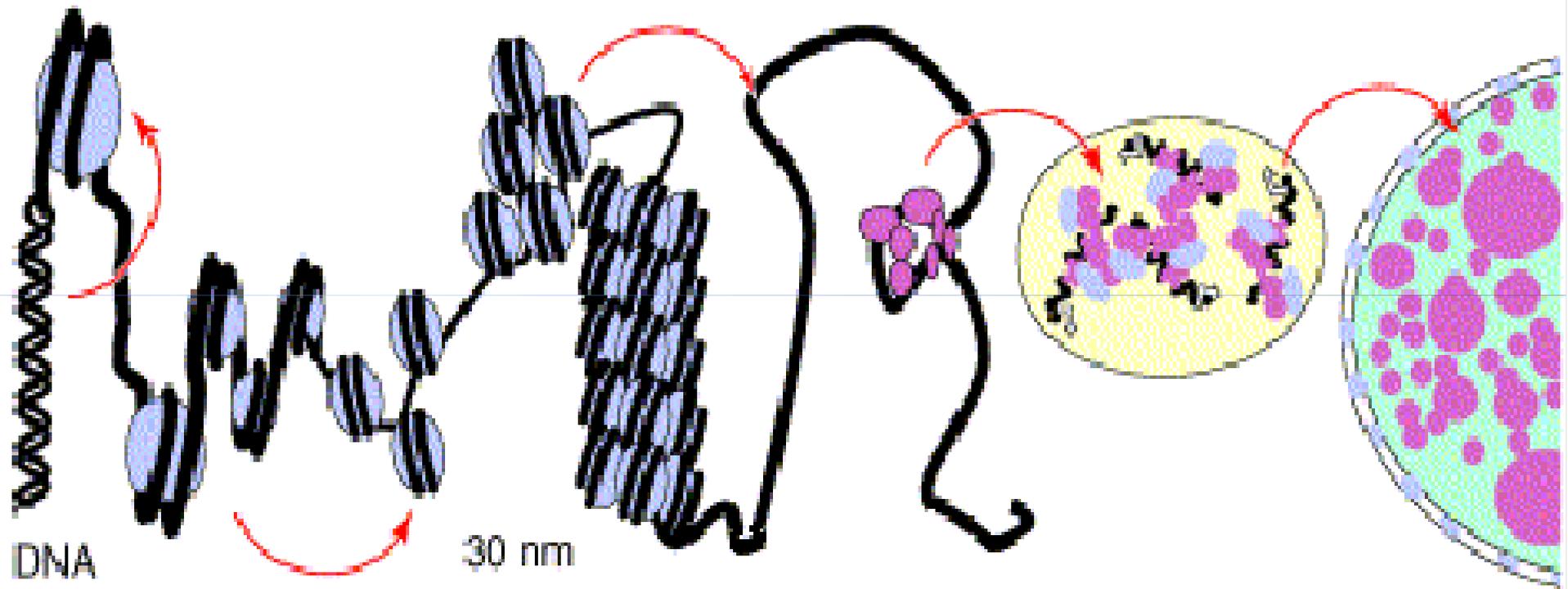
Allentando le interazioni tra gli istoni
la cromatina si rimodella

Gli istoni scivolano da parte ed il DNA
diventa accessibile ai fattori di trascrizione

o viceversa

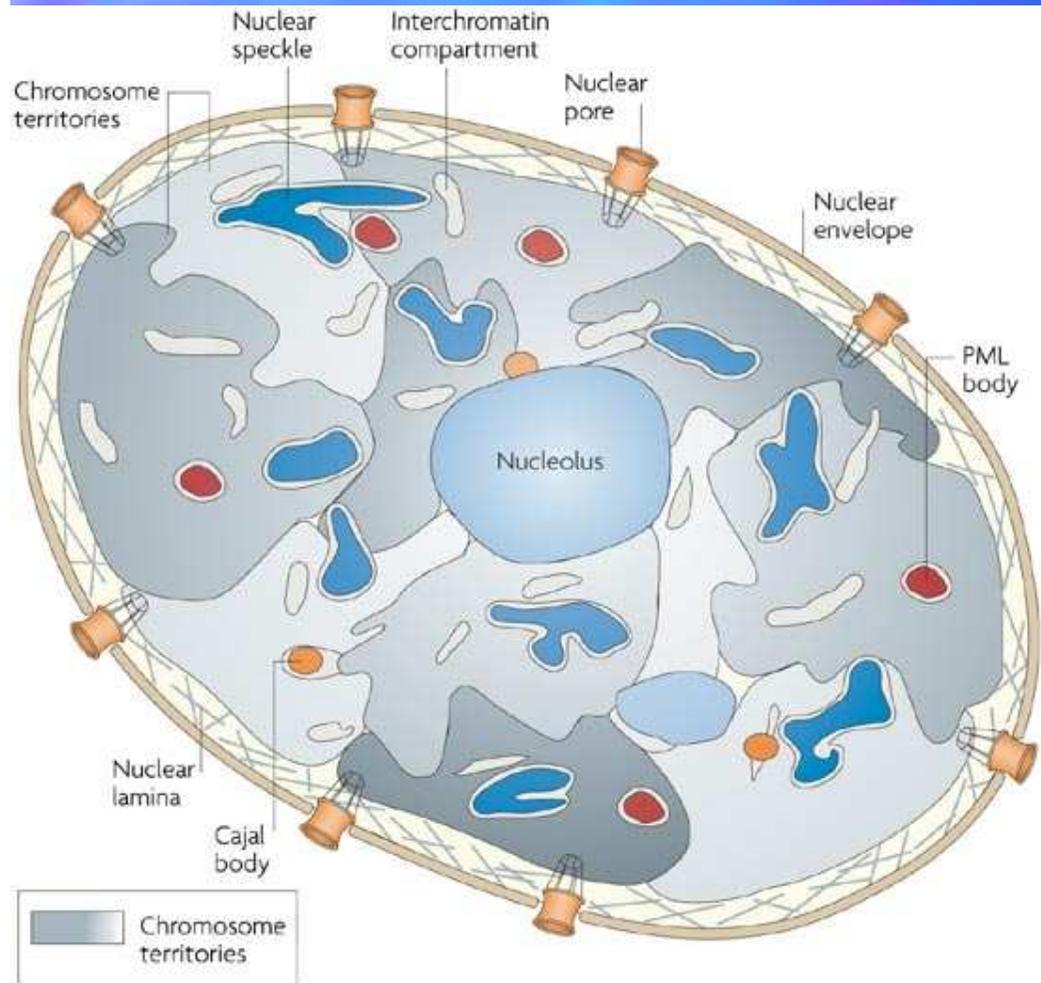


L'organizzazione del genoma



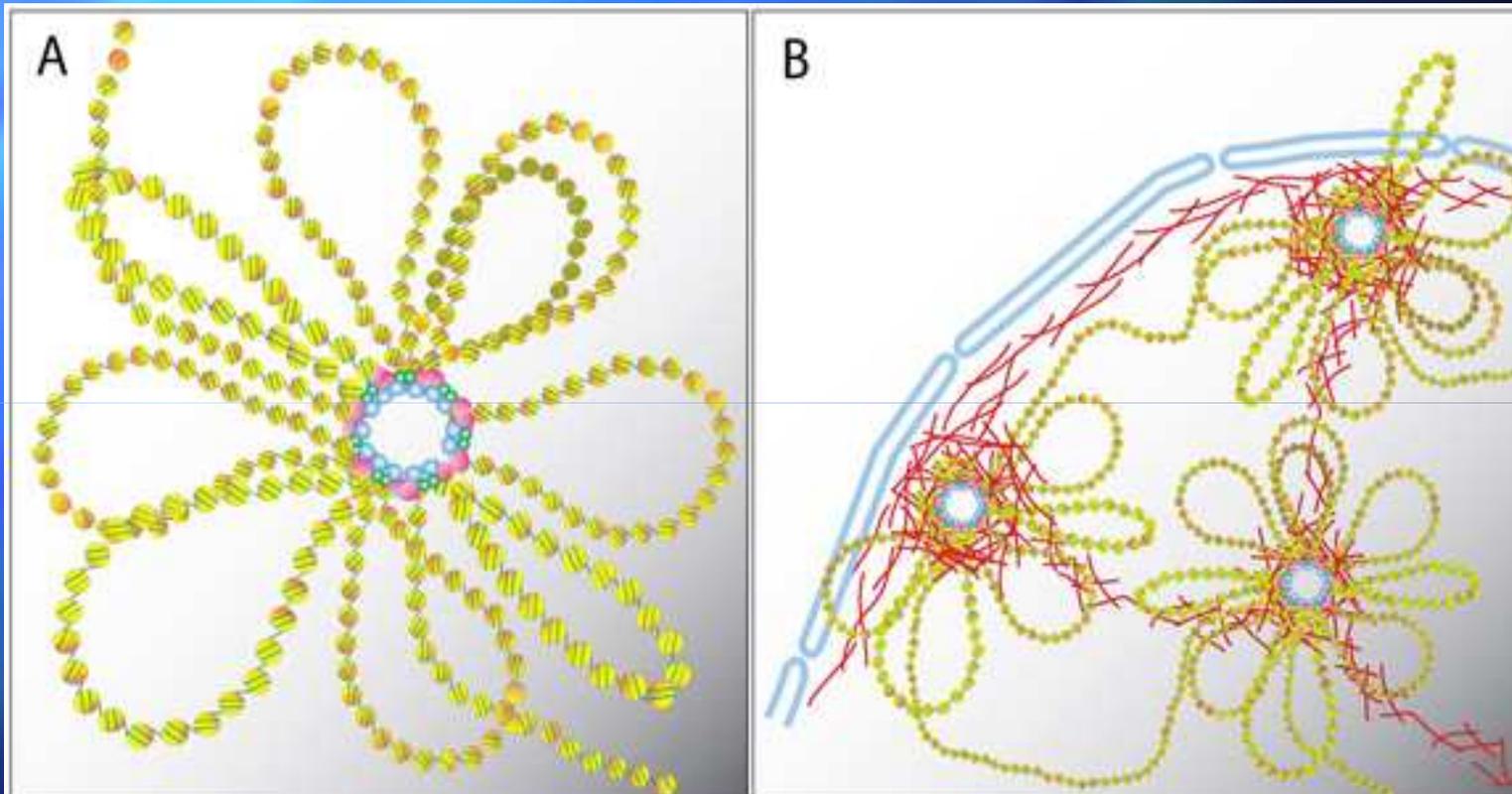
Il terzo livello è quello dei compartimenti del nucleo

L'organizzazione spaziale del nucleo



Ciascun cromosoma occupa un suo specifico TERRITORIO

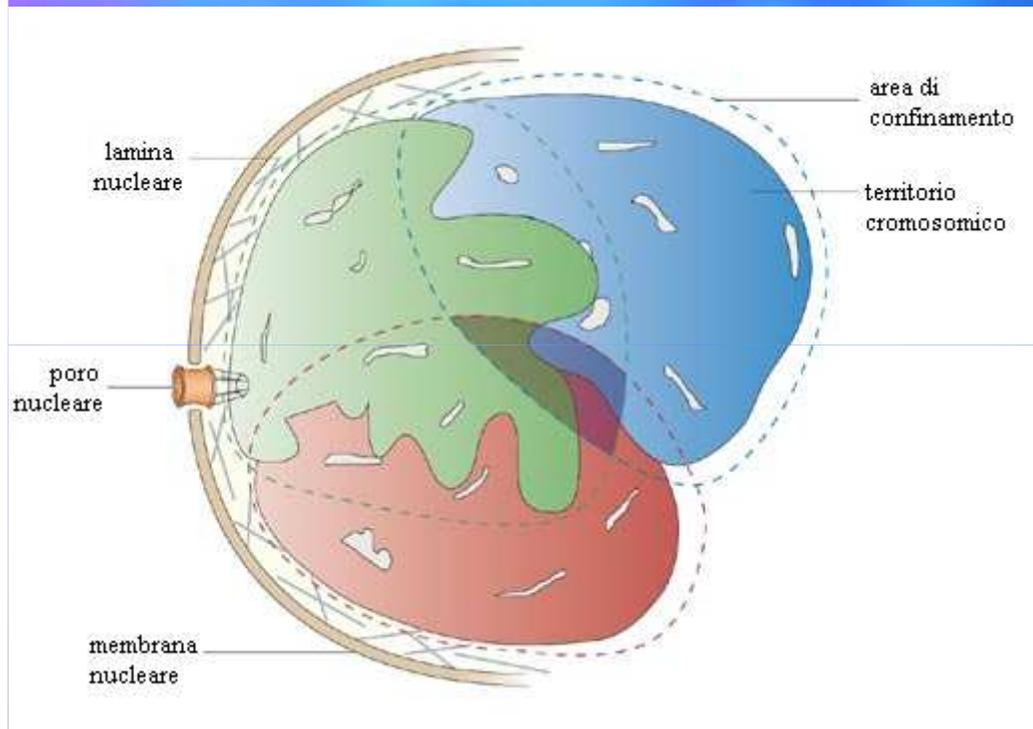
L'organizzazione della fibra di cromatina nei compartimenti nucleari è stabilizzata da elementi detti "Insulator"



A. Domini di cromatina aperta (nucleosomi gialli) trattenuti dagli "insulator" (palline rosa, blu e verdi)

B. Cromatina compartimentalizzata ancorata alla periferia nucleare dall'interazione degli "insulator" con la lamina nucleare (linee rosse)

L'organizzazione spaziale del nucleo



Tre territori CROMOSOMICI
parzialmente sovrapposti

Le aree dei territori
più intensamente colorate
contengono geni **attivi**

La struttura del nucleo è dinamica
la cromatina può essere riposizionata all'interno del suo territorio

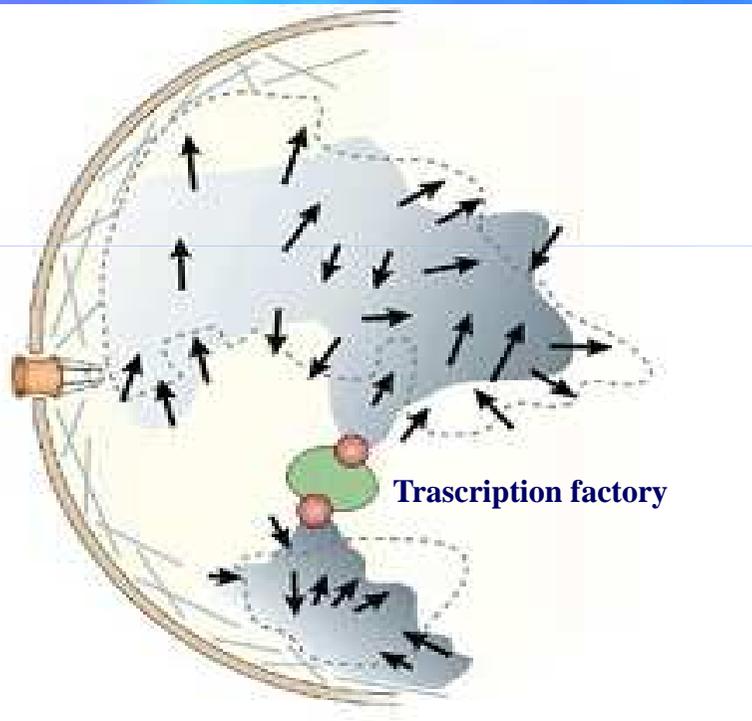
L'organizzazione spaziale del nucleo



La struttura del nucleo è dinamica
la cromatina può essere riposizionata all'interno del suo territorio

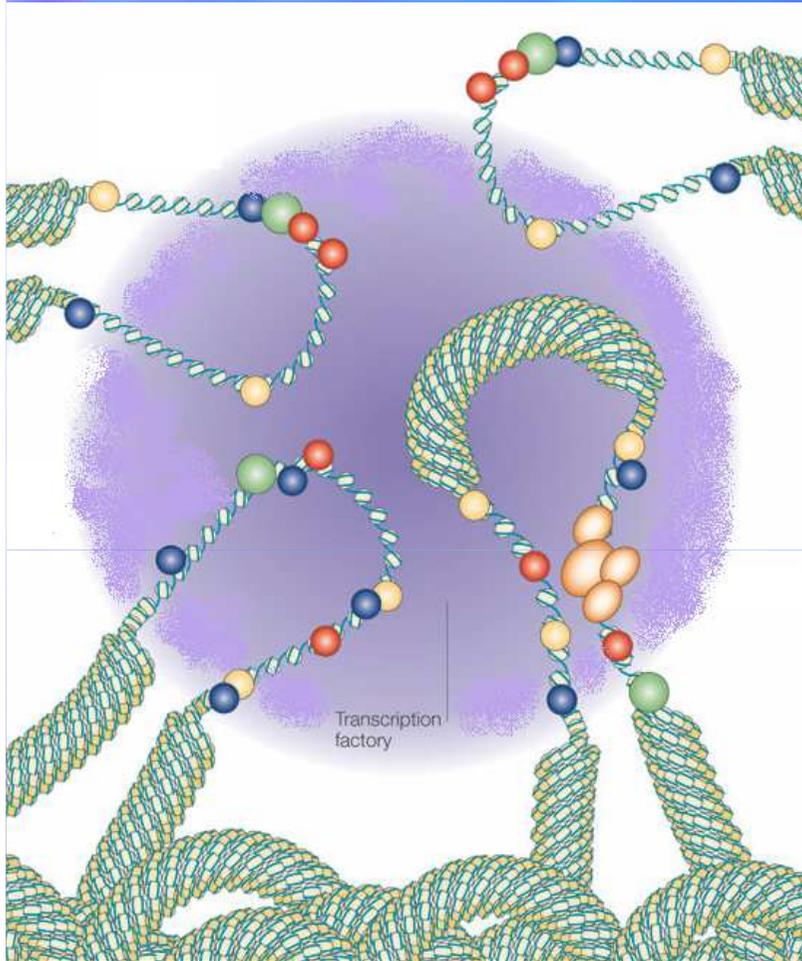
L'organizzazione spaziale del nucleo

La cromatina si riposiziona all'interno del suo territorio
e cambia stato di condensazione e di attività



Quando un gene deve essere trascritto
si sposta
verso la transcription factory
quando deve essere silenziato
se ne allontana

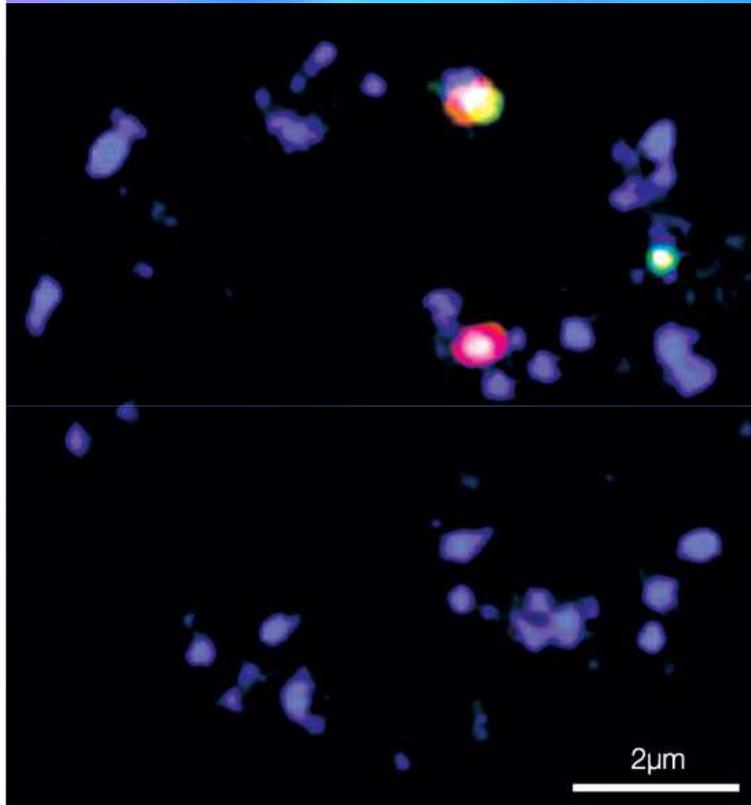
L'organizzazione spaziale del nucleo



Fattori di trascrizione e RNA-pol II
si raggruppano
in quantità sufficiente per la trascrizione
simultanea di 6-8 geni

I complessi di trascrizione sono strutture assemblate e scomposte
in modo molto specifico per ciascun tipo cellulare

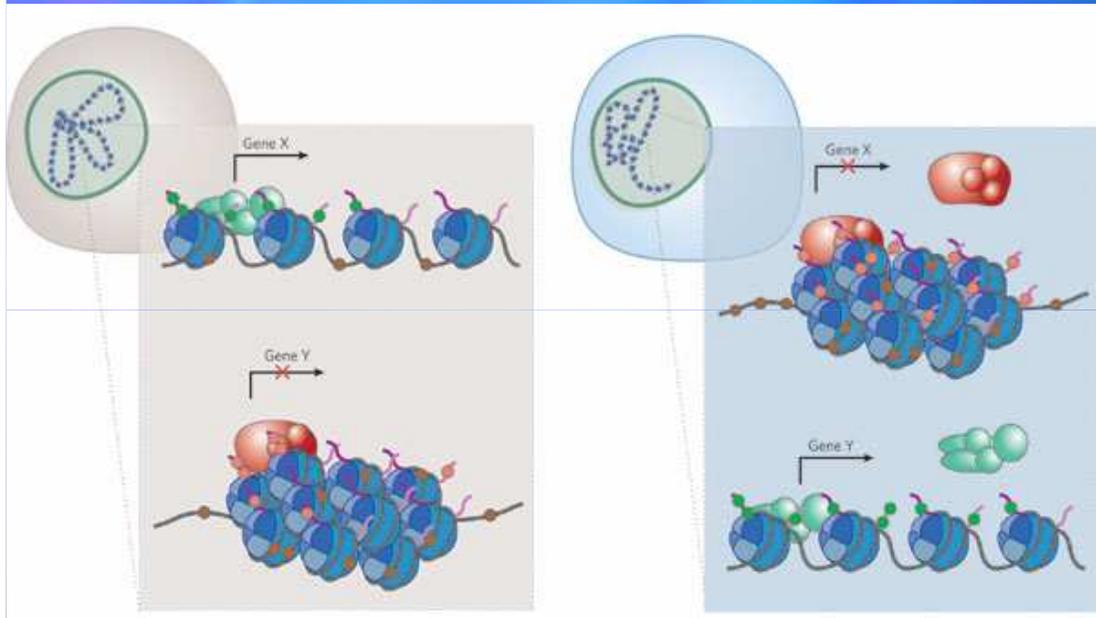
L'organizzazione spaziale del nucleo



RNA immuno-FISH

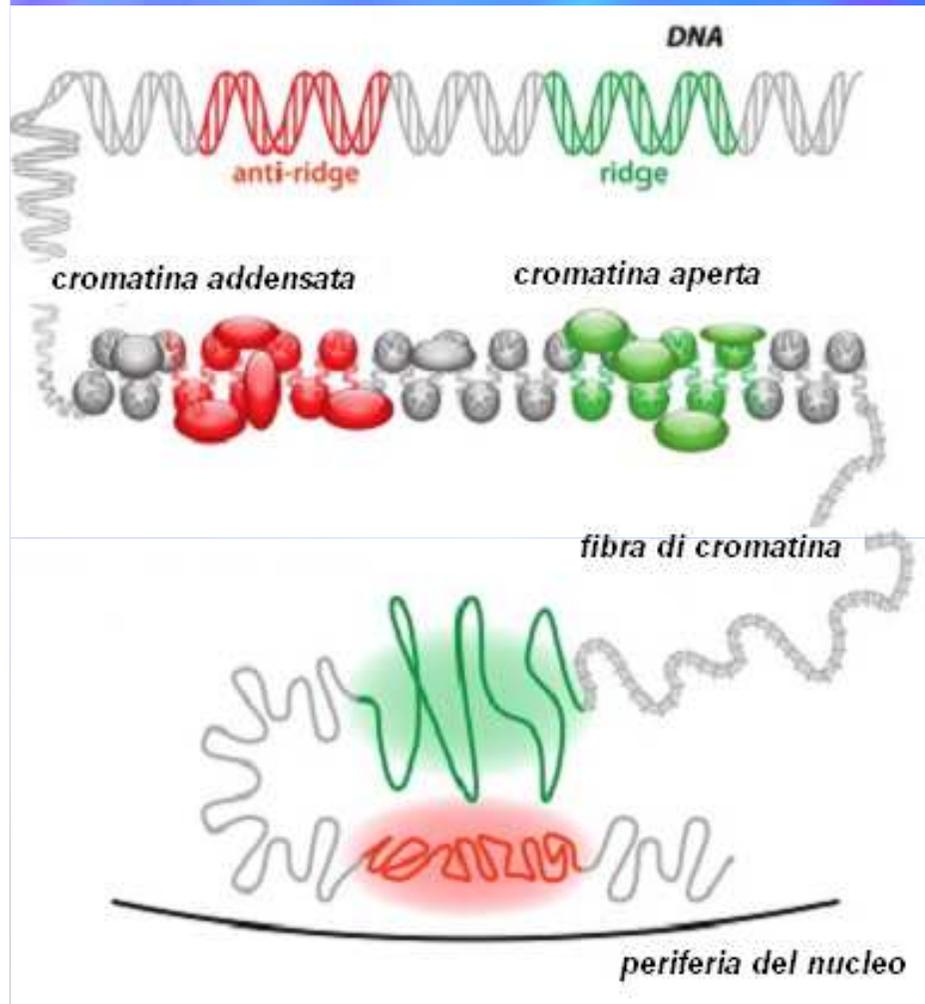
In ciascuna transcription factory
si raggruppano
specifici complessi
creando
ambienti di trascrizione selettivi
per gruppi di geni coordinati

L'organizzazione spaziale del nucleo



La cromatina si riposiziona e
nel contempo cambia
stato di condensazione e
di attività

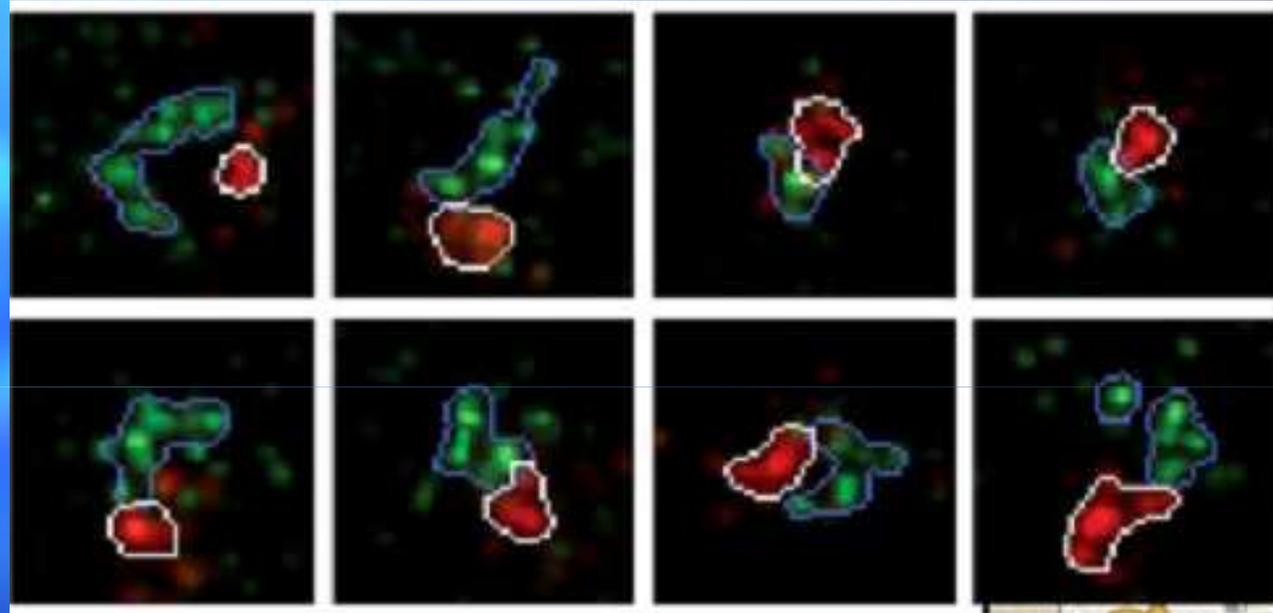
L'organizzazione spaziale del nucleo



La disposizione spaziale
del genoma nel nucleo
ne regola l'attività
a seconda del tipo cellulare
in risposta a diversi segnali

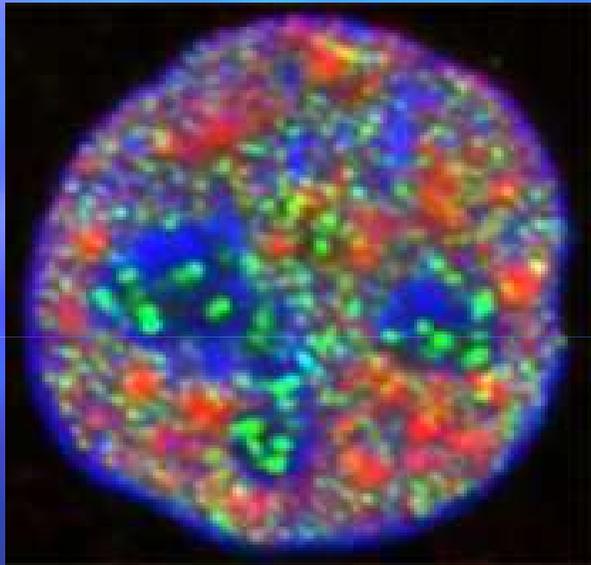
Anche le posizioni reciproche delle regioni cromosomiche
cambiano nel tempo e quindi anche le interazioni tra i cromosomi

L'organizzazione spaziale del nucleo



Immagini FISH-3D di domini ridge (in verde) e anti-ridge (in rosso)
del cromosoma 1
in 8 cellule diverse della stessa coltura

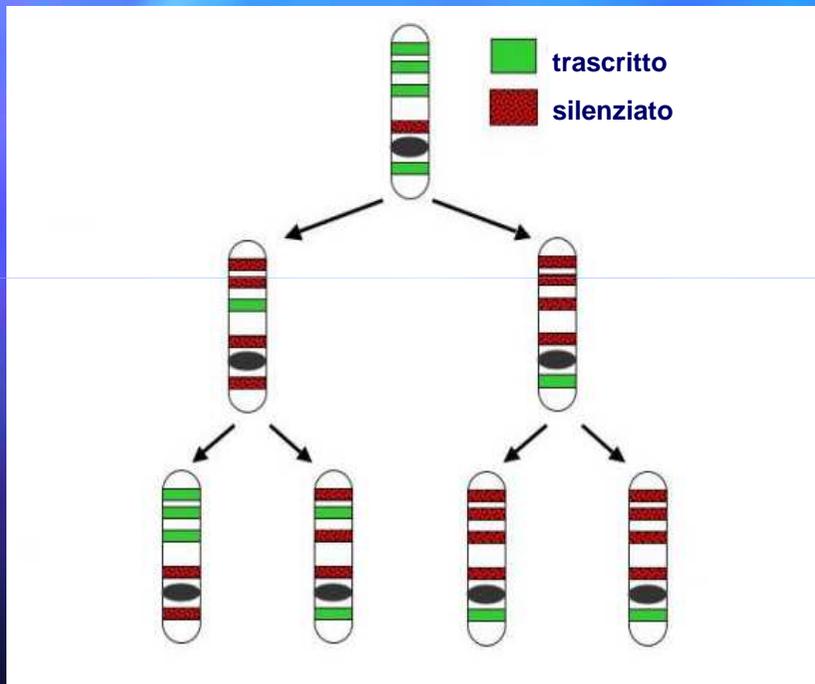
L'organizzazione spaziale del nucleo



La **trascrizione** avviene
in diverse migliaia di regioni definite
disperse nel nucleo

Questa immagine è stata ottenuta con un microscopio confocale a scansione laser
La cromatina condensata è in blu, gli splicing speckles (SC35) sono in rosso
ed i siti di trascrizione (Br-uridina) sono in verde
Si notano tre grossi nucleoli associati ad eterocromatina centromerica

L'organizzazione spaziale del nucleo



Differenziamento cellulare

In ciascun tipo cellulare

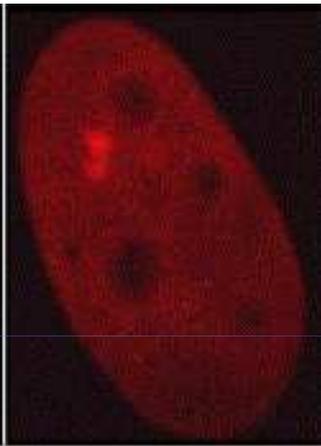
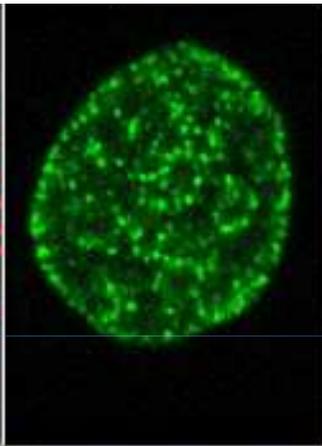
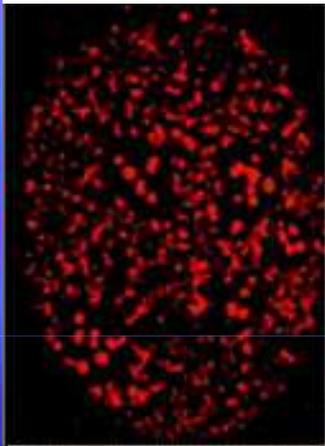
ci sarà un pattern caratteristico di espressione dei geni

L'organizzazione spaziale del nucleo

Trascrizione

Replicazione

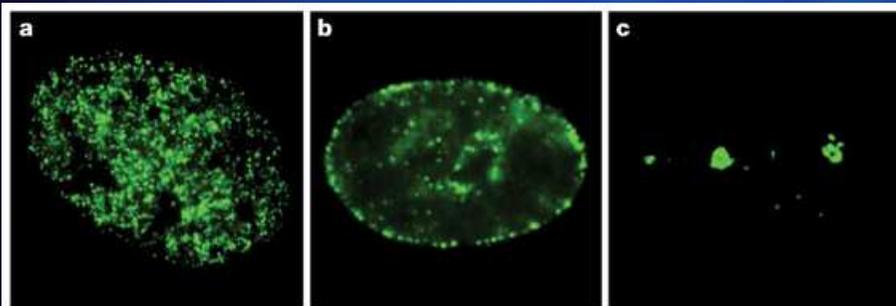
Riparazione



Marcatura dell'RNA con bromo-UTP

Marcatura dell'DNA con bromo-dUTP

Marcatura con il fattore 53BP1 in corrispondenza delle rotture a doppio filamento (danni al DNA)

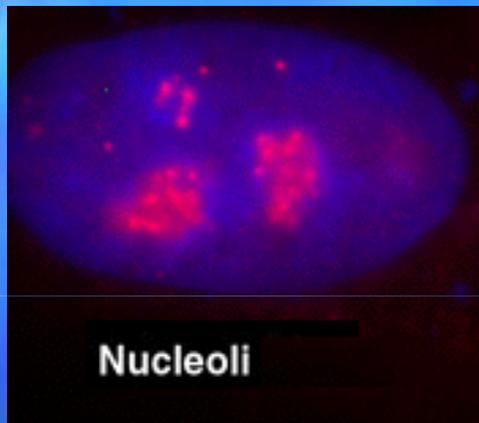


Tutti i processi nucleari sono compartimentalizzati

Misteli, Cell 2007 [doi:10.1016/j.cell.2007.01.028](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.028)

Chakalova et al., *Nature Reviews Genetics* 6, 669-677 (2005)
[doi:10.1038/nrg1673](https://doi.org/10.1038/nrg1673)

L'organizzazione spaziale del nucleo

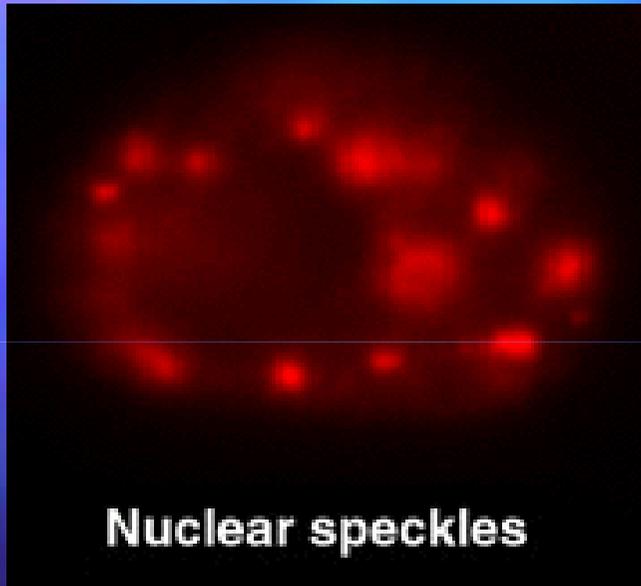


I centri specializzati di trascrizione
dei geni per l'RNA-ribosomale
mediata dall'RNA-polimerasi I

<http://www.cellnucleus.com/>

<http://npd.hgu.mrc.ac.uk/index.html>

L'organizzazione spaziale del nucleo



Nuclear speckles

Depositi dei fattori di splicing dell'mRNA

L'importanza della cromatina

- ❖ Assicura l'organizzazione spaziale del DNA nel nucleo e la corretta segregazione dei cromosomi durante la divisione cellulare
- ❖ Controlla l'accessibilità del DNA per la replicazione, la riparazione e lo stato di attività o di inattività dei geni

A fluorescence microscopy image of a cell. The nucleus is stained blue and is centrally located. The cytoskeleton is stained green, showing a complex network of filaments that surround the nucleus and extend to the cell periphery. The background is dark, with other cells visible as faint blue spots.

Ora non vi sembra più così omogeneo