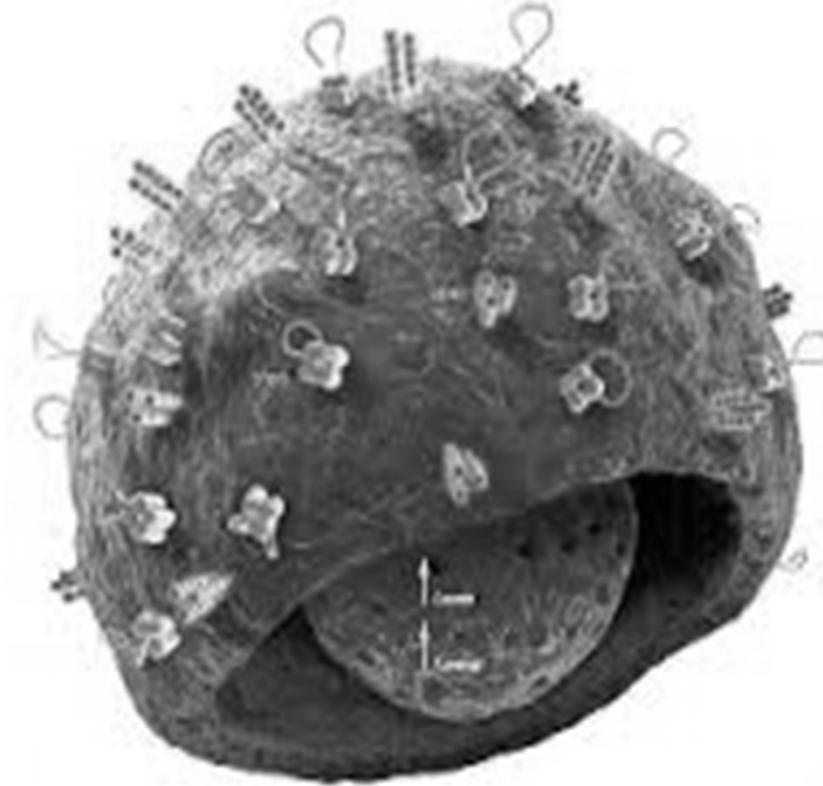


NUCLEO
NUCLEOLO
RECETTORI NUCLEARI



Principi di Biologia e Genetica
Scienze Motorie
a.a 2021-22
Dr ssa Elisa Mazzoni, PhD



TABELLA 4-1

Strutture delle cellule eucariotiche e loro funzioni

Struttura	Descrizione	Funzione
Il nucleo cellulare		
Nucleo	Grande struttura delimitata da una doppia membrana; contiene il nucleolo e i cromosomi	Trasferimento dell'informazione da DNA a RNA; specifica le proteine cellulari
Nucleolo	Corpo granulare all'interno del nucleo, formato da RNA e proteine	Sede della sintesi di RNA ribosomale e dell'assemblaggio dei ribosomi
Cromosomi	Costituiti da un complesso di DNA e proteine (cromatina); sono condensati e ben visibili quando la cellula si sta dividendo	Contengono i geni (unità dell'informazione ereditaria) che regolano la struttura e l'attività cellulare
Gli organelli citoplasmatici		
Membrana plasmatica	Membrana di rivestimento delle cellule	Racchiude il contenuto della cellula; regola il movimento del materiale fuori e dentro la cellula; aiuta a mantenere la forma delle cellule, comunica con le altre cellule (presente anche nei procarioti)
Ribosomi	Granuli costituiti da RNA e proteine, alcuni attaccati alle membrane del RE, altri liberi nel citoplasma	Sintesi dei polipeptidi sia nei procarioti che negli eucarioti
Reticolo endoplasmatico (RE)	Rete di membrane interne che si estendono nel citoplasma	Sede di sintesi dei lipidi e di modifica di molte proteine; sede in cui si formano le vescicole di trasporto contenenti le proteine
Liscio (REL)	Privo di ribosomi sulla faccia esterna	Sede della sintesi dei lipidi e della detossificazione dei farmaci; deposito di calcio
Rugoso (RER)	Presenza di ribosomi sulla faccia esterna	Sede della sintesi di proteine destinate alla secrezione o che verranno incorporate nelle membrane
Complesso del Golgi	Pila di vescicole membranose appiattite	Modificazione delle proteine; organizzazione delle proteine secrete; scelta di altre proteine destinate ai vacuoli o ad altri organuli
Lisosomi	Vescicole rivestite da membrana (presenti nelle cellule animali)	Contengono gli enzimi per digerire il materiale ingerito, secrezioni e scarti
Vacuoli	Vescicole rivestite da membrana (presenti in piante, funghi ed alghe)	Accumulo di materiale, sostanze di scarto ed acqua; mantengono la pressione idrostatica
Perossisomi	Vescicole rivestite da membrana contenenti una grande varietà di enzimi	Sedi di molte reazioni metaboliche diverse; ad es. degradazione degli acidi grassi
Mitocondri	Vescicole rivestite da 2 membrane; quella interna si inflette a formare delle creste e racchiude la matrice	Sedi della maggior parte delle reazioni della respirazione cellulare; trasformazione dell'energia originatasi dalla demolizione del glucosio o dei lipidi nell'energia dell'ATP
Plastidi (ad es. i cloroplasti)	Strutture rivestite da una doppia membrana che racchiudono i tilacoidi; nei cloroplasti i tilacoidi contengono la clorofilla	Sedi della fotosintesi. La clorofilla cattura l'energia luminosa; si formano ATP ed altri composti ricchi di energia che vengono poi usati per sintetizzare glucosio a partire da CO ₂



Nucleo

Struttura e Funzioni

- ❑ Componente essenziale della cellula: il nucleo può essere considerato come il «coordinatore» ed il «controllore» delle attività che si svolgono nella cellula
- ❑ Frequentemente localizzato nella regione centrale del citoplasma, sebbene numerose e variegata possano essere: la morfologia, la dimensione, la posizione nella cellula
- ❑ È generalmente di forma rotondeggiante (dal latino nucis, nocciolo)
- ❑ Diametro di 5 μM
- ❑ Il nucleo è delimitato da una doppia membrana, INVOUCRO NUCLAEARE dotata di pori (pori nucleari) che consentono le comunicazioni tra il nucleo e il resto della cellula (citoplasma).
- ❑ All'interno del nucleo si trova una regione specializzata, detta nucleolo
- ❑ Struttura assente nei procarioti
- ❑ Conserva le informazioni genetiche ereditarie ovvero costituisce la sede dell'informazione genetica: al suo interno è conservato il DNA sotto forma di CROMATINA
- ❑ Sede di duplicazione del DNA
- ❑ Sede della trascrizione: controlla la sintesi proteica inviando nel citoplasma RNA messaggeri (mRNA)



NUCLEO

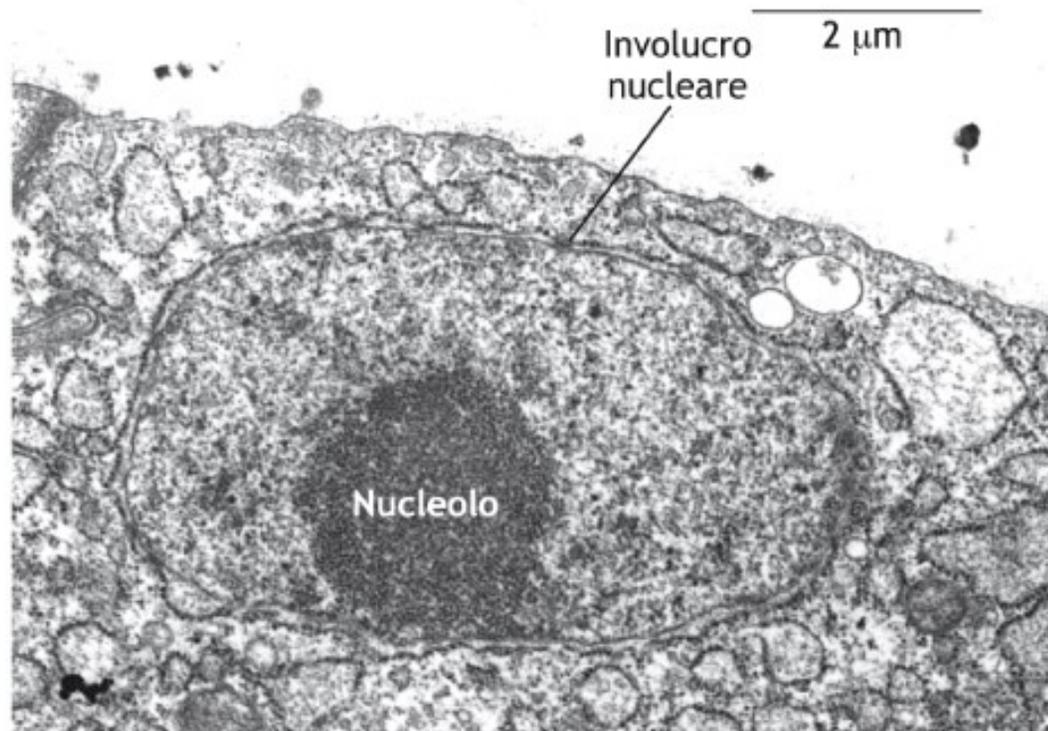


Figura 2.40 Nucleo di una cellula epiteliale. Il nucleo è delimitato da una doppia membrana che costituisce l'involucro nucleare, e racchiude il nucleoplasma fluido entro cui sono i cromosomi; questi non si distinguono perché in questa fase della vita cellulare il DNA si trova in forma dispersa. La regione densa agli elettroni, in basso, è il nucleolo.



NUCLEO

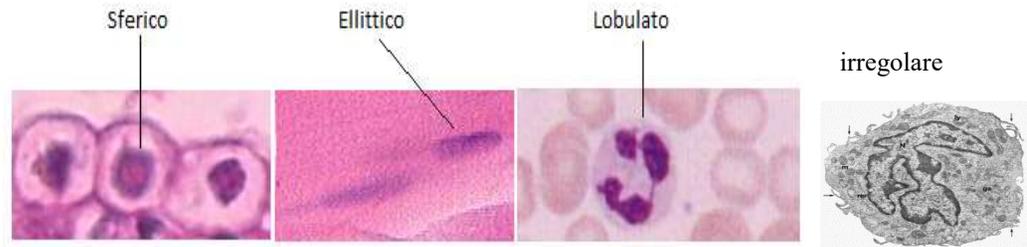
Dimensioni Forma, Posizione

DIMENSIONI

Variabili (~5 μm) ma spesso proporzionali a quelle della cellula

FORMA

Sferico, Ellittico, Lobulato, irregolare

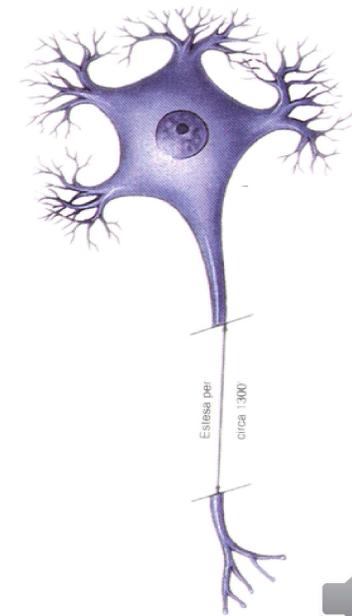
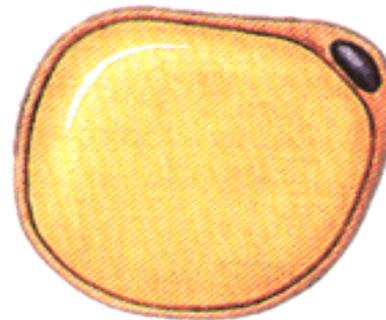
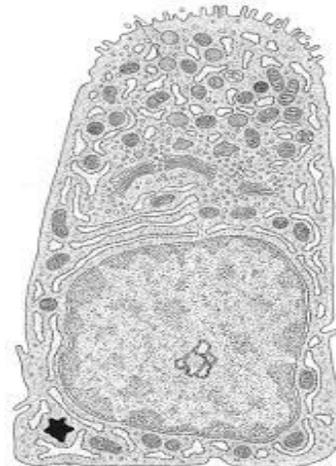


POSIZIONE

Variabile ma caratteristica di ogni tipo cellulare

-*posizione centrale* rispetto al corpo cellulare: es. cellule embrionali, neuroni

-*nucleo eccentrico*: nelle cellule secernenti, adipociti ec



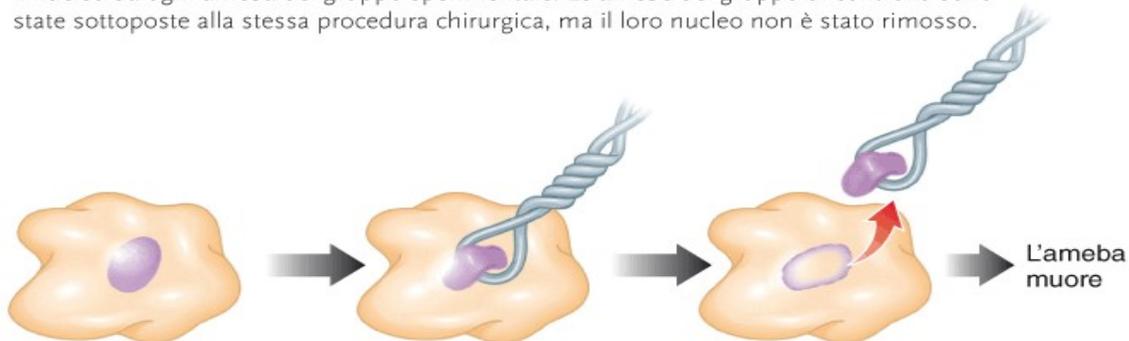
Ruolo del nucleo

ESPERIMENTO CHIAVE

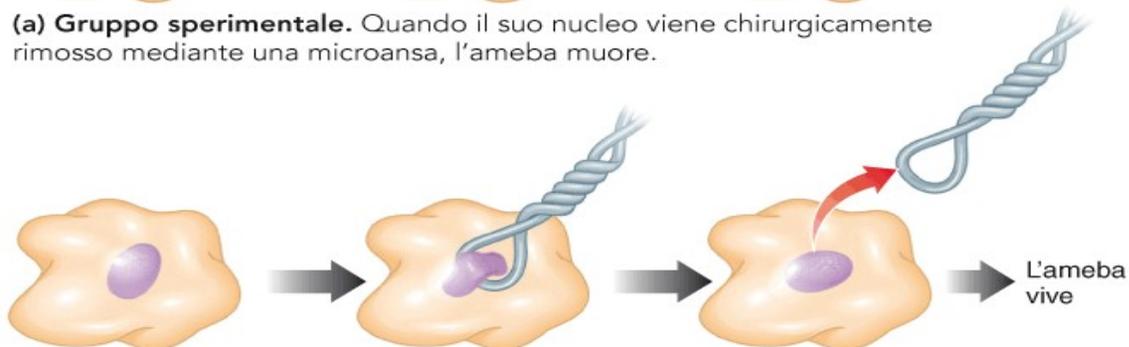
Il nucleo è essenziale per il benessere della cellula?

SVILUPPARE UN'IPOTESI: Le cellule risentiranno negativamente della perdita del loro nucleo.

EFFETTUARE ESPERIMENTI: Usando una microansa, i ricercatori hanno rimosso il nucleo da ogni ameba del gruppo sperimentale. Le amebe del gruppo di controllo sono state sottoposte alla stessa procedura chirurgica, ma il loro nucleo non è stato rimosso.



(a) Gruppo sperimentale. Quando il suo nucleo viene chirurgicamente rimosso mediante una microansa, l'ameba muore.



(b) Gruppo di controllo. Un'ameba di controllo sottoposta a una manipolazione simile (compresa l'inserzione della microansa), ma senza la rimozione del nucleo, non muore.

RISULTATI: Le amebe prive di nucleo sono morte. Le amebe del gruppo di controllo sono sopravvissute.

CONCLUSIONI: Le amebe non possono vivere senza nucleo. L'ipotesi è supportata.

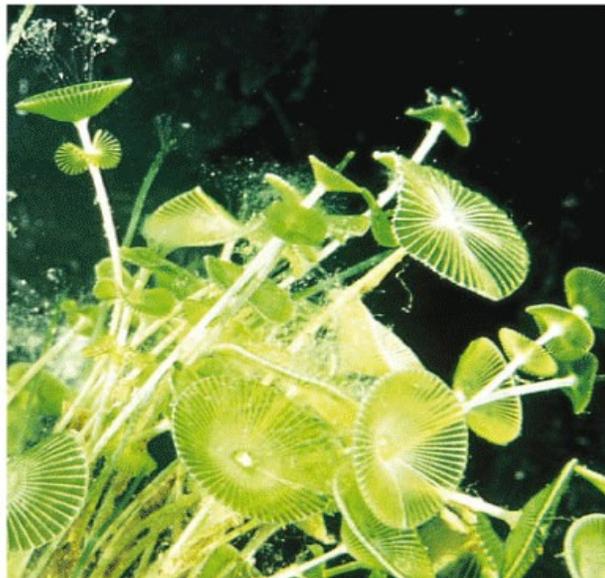


Ruolo e Posizione del nucleo

Acetabularia



- ❑ Alga marina di 5 cm di lunghezza
- ❑ Unica gigantesca cellula
- ❑ Nucleo localizzato nel piede, punto più lontano dal cappello della pianta



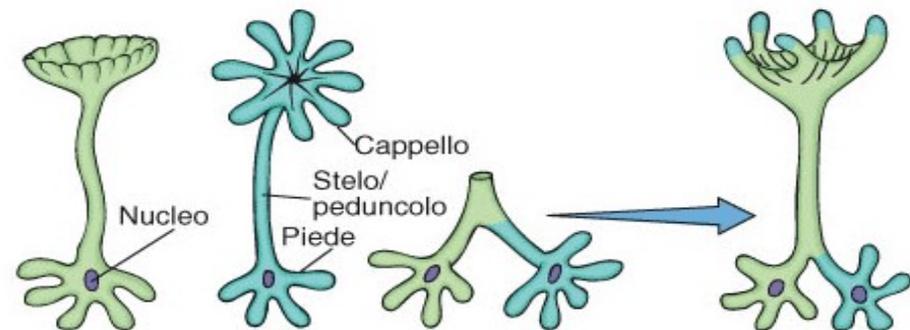
L. Sims/Visuals Unlimited

FIGURA 4-11 Micrografia ottica di *Acetabularia*

Benché la traduzione letterale del suo nome sia "coppa per l'aceto", agli individui romantici la piccola alga *Acetabularia* ricorda la coppa di una sirena. L'*Acetabularia*, che è costituita da un'unica cellula, costituisce un ottimo modello per studiare la funzione del nucleo.

FIGURA 4-12 *Acetabularia* e il controllo delle attività cellulari

Il biologo J. Hämmerling utilizzò due specie di *Acetabularia*, un'alga marina formata da una singola cellula, per la maggior parte dei suoi esperimenti: *A. mediterranea*, con cappello liscio, e *A. crenulata*, con cappello suddiviso in una serie di protuberanze digitiformi. Se il cappello dell'*Acetabularia* viene rimosso, dopo poche settimane ne ricresce uno nuovo. Il tipo di cappello che si rigenera dipende dalla specie utilizzata nell'esperimento. Come ci si può immaginare, *A. crenulata* rigenera un cappello "sfrangiato", mentre *A. mediterranea* lo rigenera "liscio".



A. mediterranea *A. crenulata*

(a)

RISULTATI E CONCLUSIONI: Le alghe rigenerarono un cappello comune con caratteristiche intermedie rispetto a quelle delle due specie coinvolte. Questo esperimento dimostrò che qualcosa che era presente nello stelo o nel piede controllava la forma del cappello.

Cio' che è nel nucleo controlla la forma del cappello! (Il DNA) (anni 1930-1950)



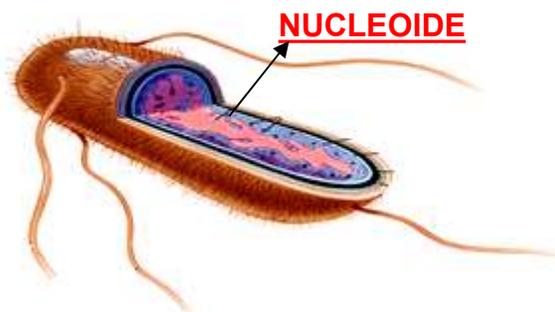
Nucleo e Nucleoide

Le cellule si dividono in due classi principali, definite in prima istanza in base alla presenza o meno del nucleo:

Cellule procariotiche

(batteri)

- *Pro* = Prima
- *Carion* = Nucleo o nocciolo
- “DNA in un area non delimitata”
- sono prive di nucleo (e quindi di una membrana nucleare).
- Il materiale genetico è localizzato in una regione del citoplasma definita NUCLEOIDE

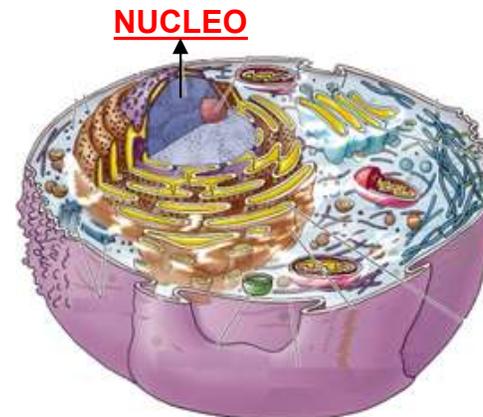


Cellula procariotica

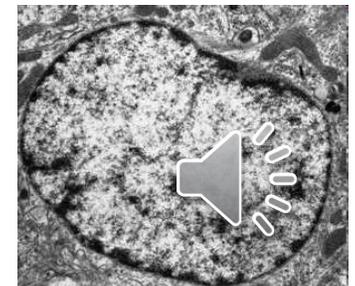
Cellule eucariotiche

(protisti, piante, funghi e animali)

- *Eu* = Bene o vero
- *Carion* = Nucleo o nocciolo
- “DNA all’interno di nucleo ben delimitato”
- hanno un NUCLEO in cui il materiale genetico resta separato dal citoplasma grazie alla presenza della membrana nucleare



Cellula eucariotica



NUCLEO and Immunostaining

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

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

è

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

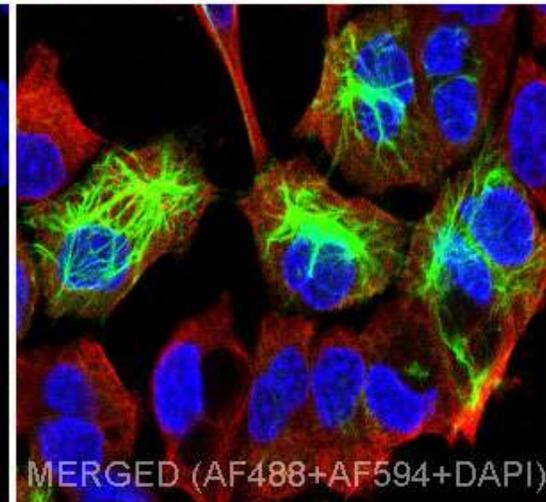
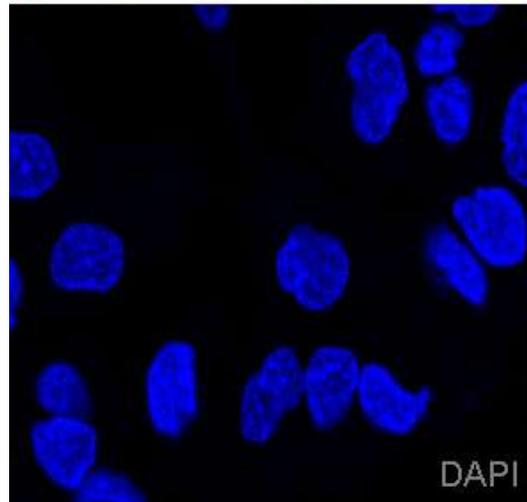
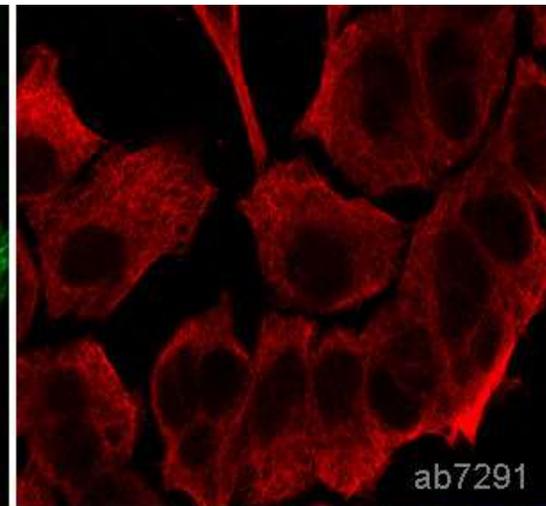
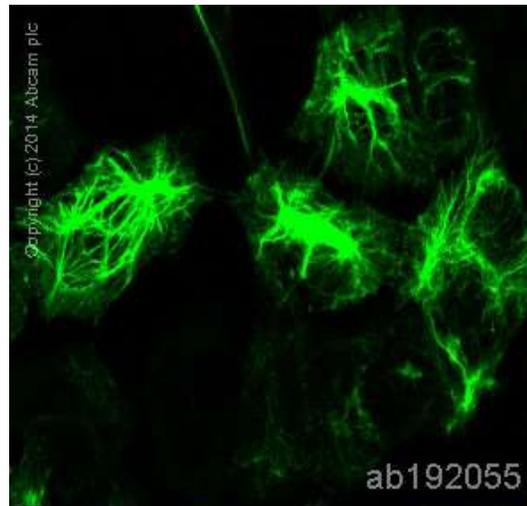
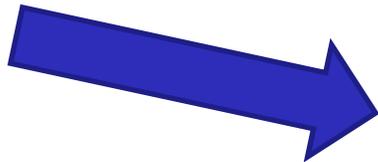
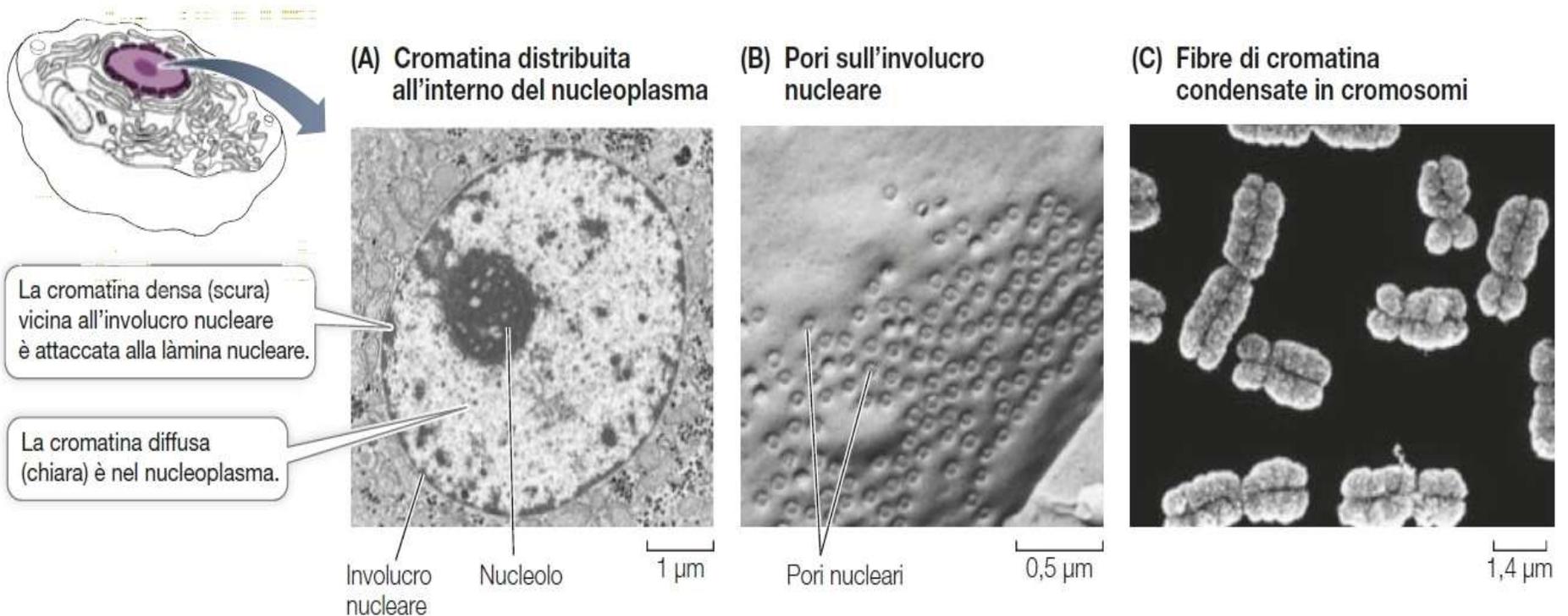


Figura 5.8 Il nucleo, la cromatina e i cromosomi (A) La cromatina è composta da DNA nucleare e proteine a esso associate. Quando la cellula non si sta dividendo, la cromatina è diffusa in tutto il nucleo. Questa immagine bidimensionale è realizzata con un microscopio elettronico a trasmissione. (B) L'involucro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

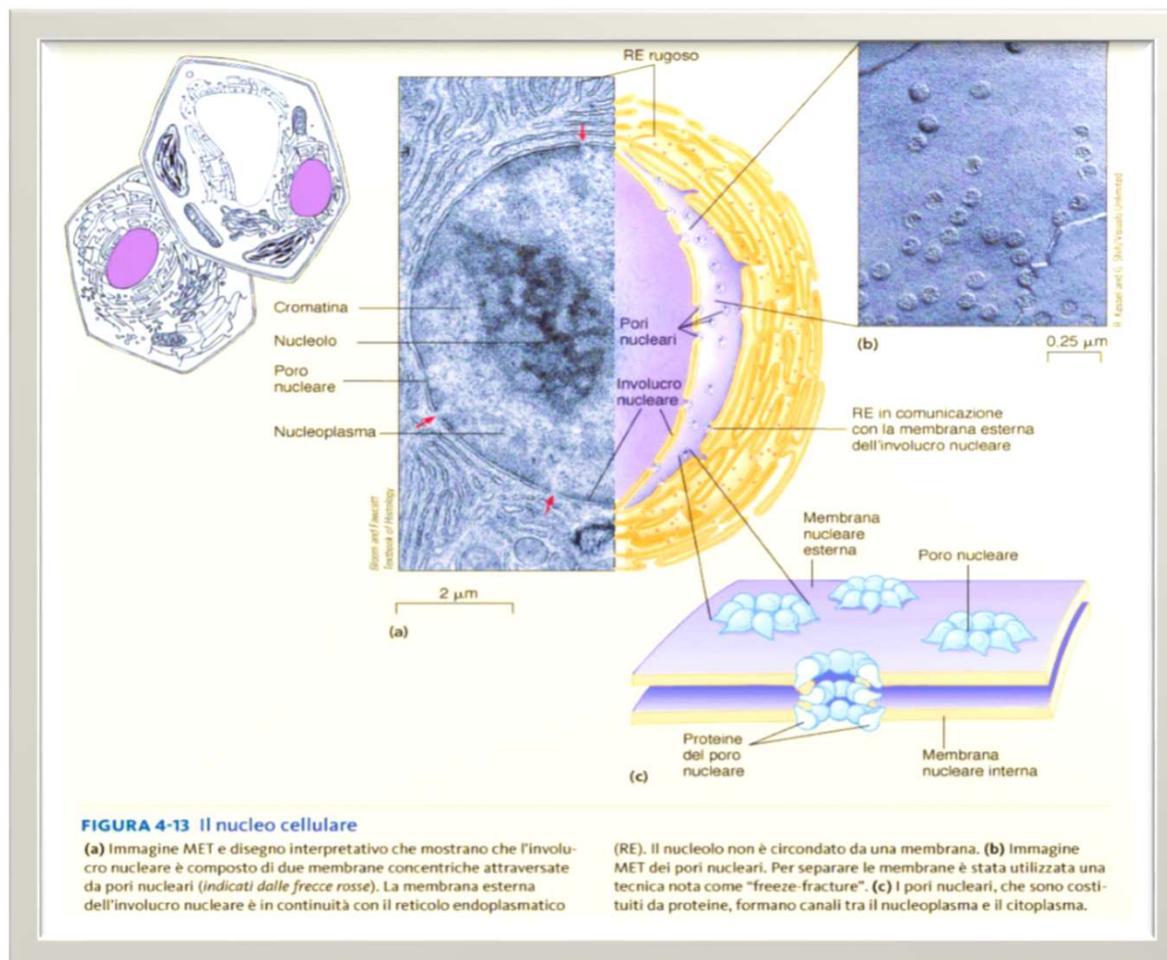


Nucleo

INVOLUCRO NUCLEARE

L'involucro nucleare è costituito da due membrane concentriche. Ciascuna delle **due membrane** è costituita da un doppio strato fosfolipidico. Membrana esterna e interna separate da uno SPAZIO PERINUCLEARE (20-40 nm)

Ad intervalli, le 2 membrane si fondono formando i pori nucleari.

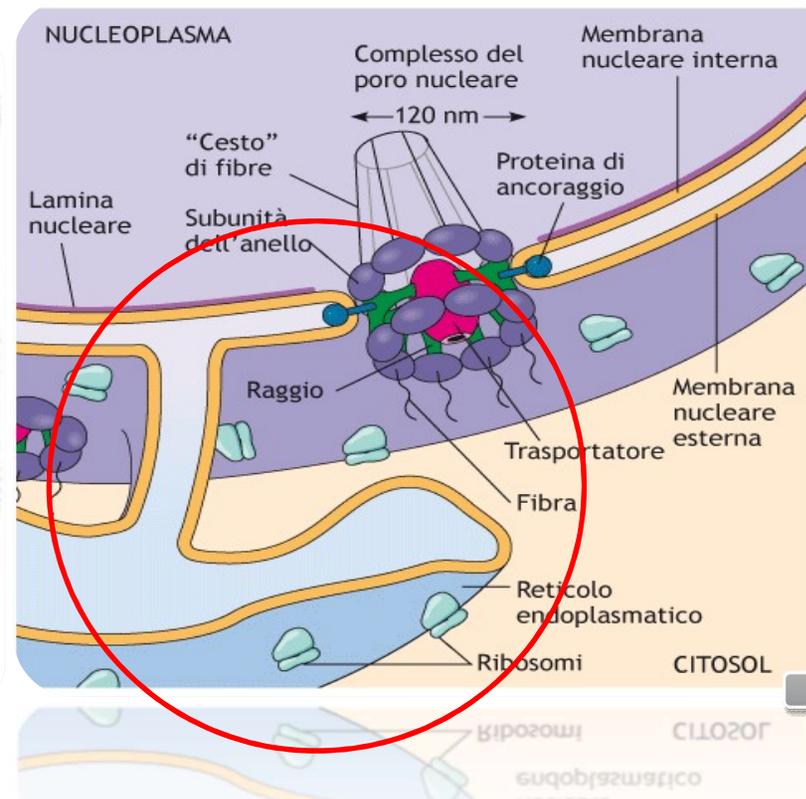
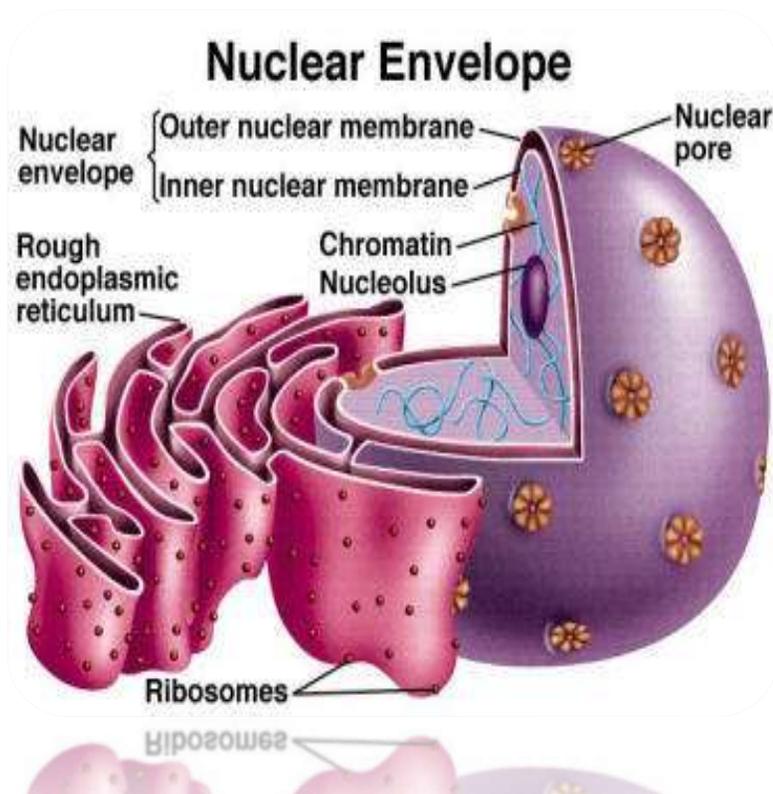


Nucleo

INVOLUCRO NUCLEARE

La **membrana esterna** dell'INVOLUCRO NUCLEARE è in continuità con il sistema di membrane interno al citoplasma, con il Reticolo Endoplasmatico

Figura 2.42 Involucro nucleare. (a) Visione d'insieme della organizzazione dell'involucro nucleare e del complesso del poro nucleare. Viene mostrata la continuità della membrana nucleare esterna con il reticolo endoplasmatico rugoso, la lamina nucleare e schematizzata la struttura del complesso del poro. I pori nucleari si formano nei punti in cui la membrana interna ed esterna si fondono lasciando una interruzione che viene occupata dalla complessa struttura del poro. Essa è costituita da più di 50 polipeptidi differenti o nucleoporine. (b) Micro-

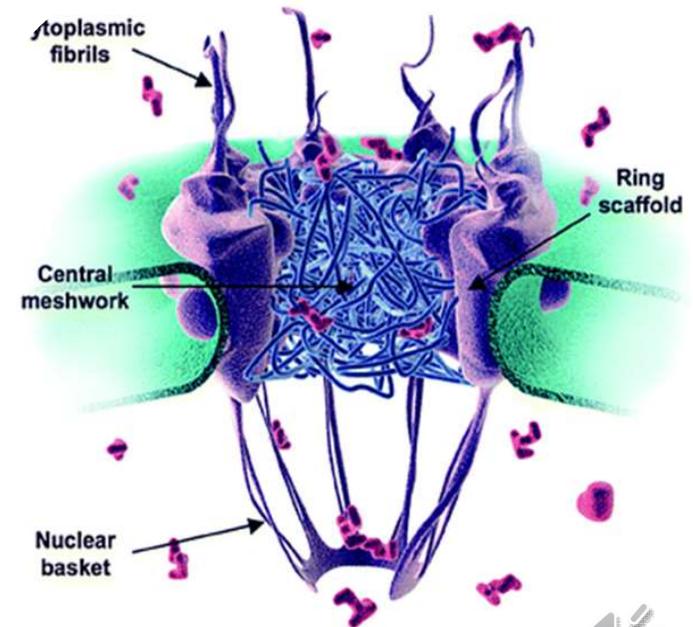
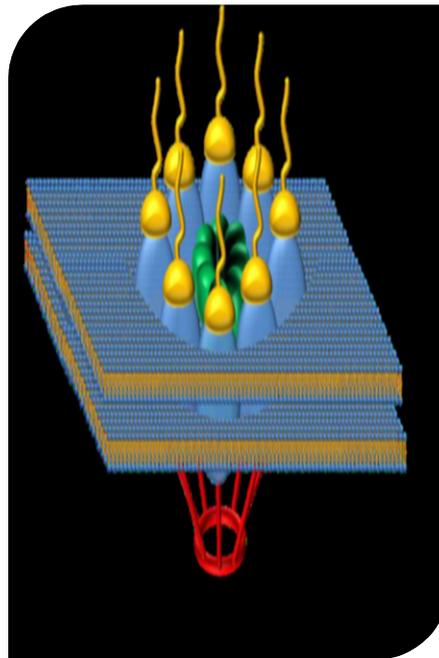
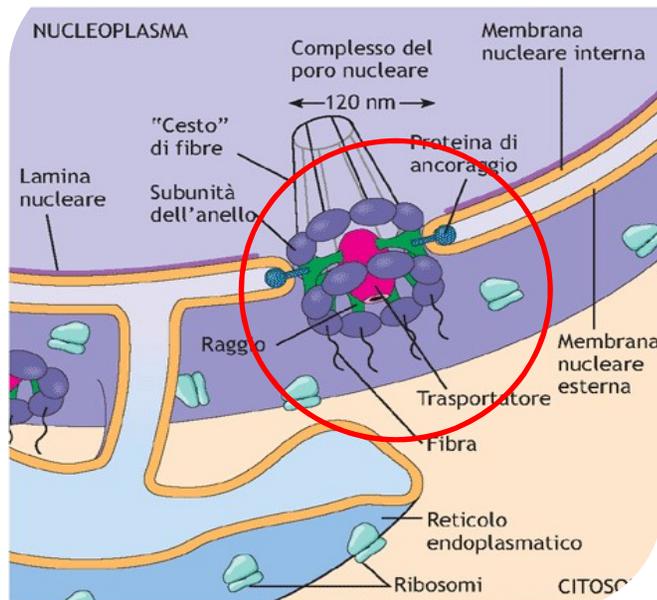


Nucleo

Il poro nucleare

L'involucro nucleare non è un limite continuo infatti perché le 2 membrane si fondono in alcuni punti determinando uno spazio libero che assume la forma di canale e che viene indicato come **PORO NUCLEARE**.

Ogni poro nucleare è costituito diversi tipi di proteine differenti denominate **NUCELOPORINE**



TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE

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

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

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

RECETTORI DI IMPORTAZIONE NUCLEARE (IMPORTINE)

RECETTORI DI ESPORTAZIONE NUCLEARE (ESPORTINE)

che indicano al poro di allargarsi per permetterne il passaggio



TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE: **IMPORTINE**

Ogni proteina che deve essere trasportata nel poro contiene un
SEGNALE DI LOCALIZZAZIONE NUCLEARE (NLS)

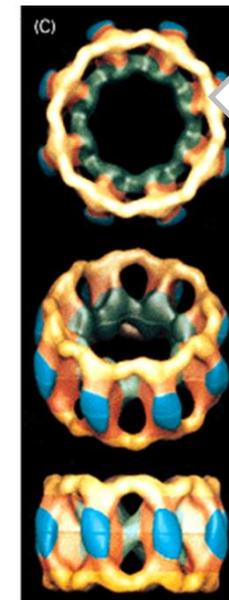
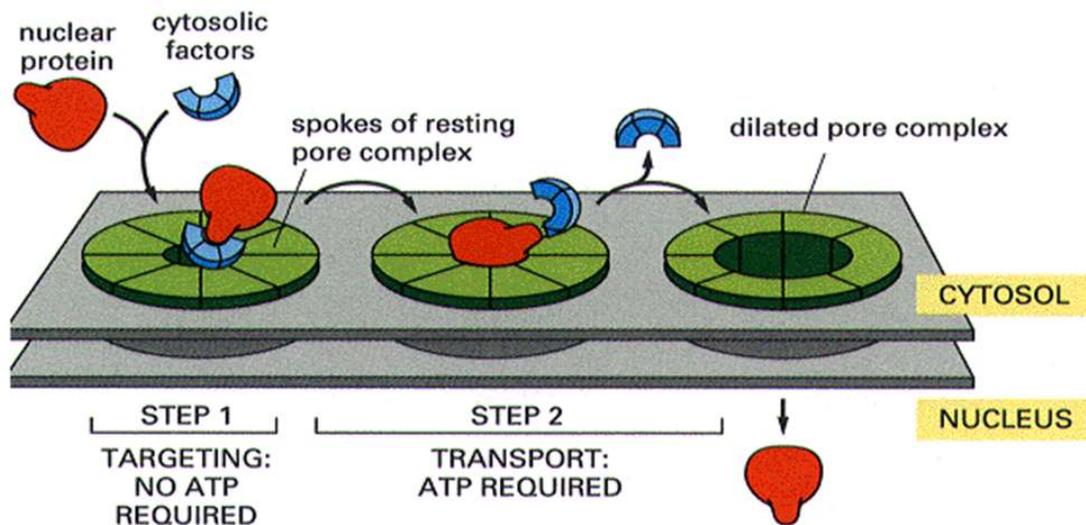
Proteine solubili (**IMPORTINE**) riconoscono le NLS
Le **IMPORTINE** legano la sequenza **NLS** e trasportano anche 2000 molecole al
secondo !!

Il complesso **IMPORTINA-PROTEINA NUCLEARE** si lega alle proteine del poro

Il poro si dilata e la proteina lo attraversa

l'importina si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel citosol

ES Fattori di trascrizione. Una delezione della sequenza **NLS** è in grado di bloccare
l'entrata nel nucleo.



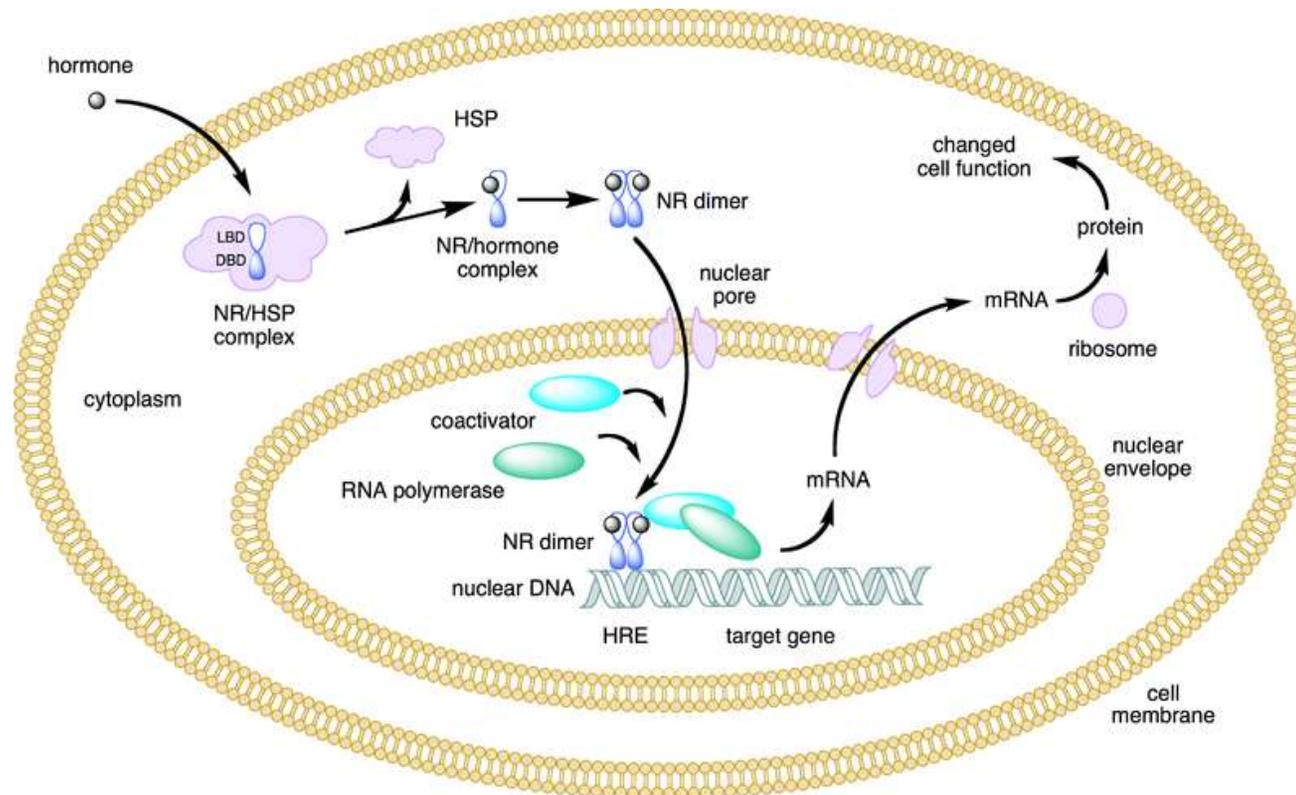
Proteine.
Es. Fattori di trascrizione



INTRACELLULAR RECEPTOR A TRANSCRIPTION FACTOR

La superfamiglia dei recettori nucleari nella specie umana è composta da una cinquantina di membri. La loro principale azione è il controllo dell'espressione dei geni bersaglio (regolazione della trascrizione). Alcuni recettori nucleari sono fattori di trascrizione i cui ligandi sono ormoni (steroidi, tiroidei) o sostanze diffusibili attraverso le membrane cellulari (vitamina D, acido retinoico).

Recettori nucleari svolgono un ruolo fondamentale e ubiquitario, intervenendo nel processo di differenziazione e di proliferazione cellulare e partecipando alla regolazione di un gran numero di funzioni (**riproduzione, metabolismo osseo, sistema cardiovascolare e nervoso** ecc.).



INTRACELLULAR RECEPTOR A TRANSCRIPTION FACTOR

In mammals, **the Intracellular Receptors** is a large family of receptor, that includes proteins involved in **embryo growth and development**, as well as reproduction or **metabolism** in adulthood (transcription factor)

Activation of these proteins occurs upon binding to **lipophilic ligands** that can readily diffuse through the cellular membrane.

Elwood V. Jensen was the first to propose the **existence of intracellular receptors**, when he observed that a radiolabeled **steroid hormone** administered *in vivo* rapidly concentrates in cell nuclei of target organs.

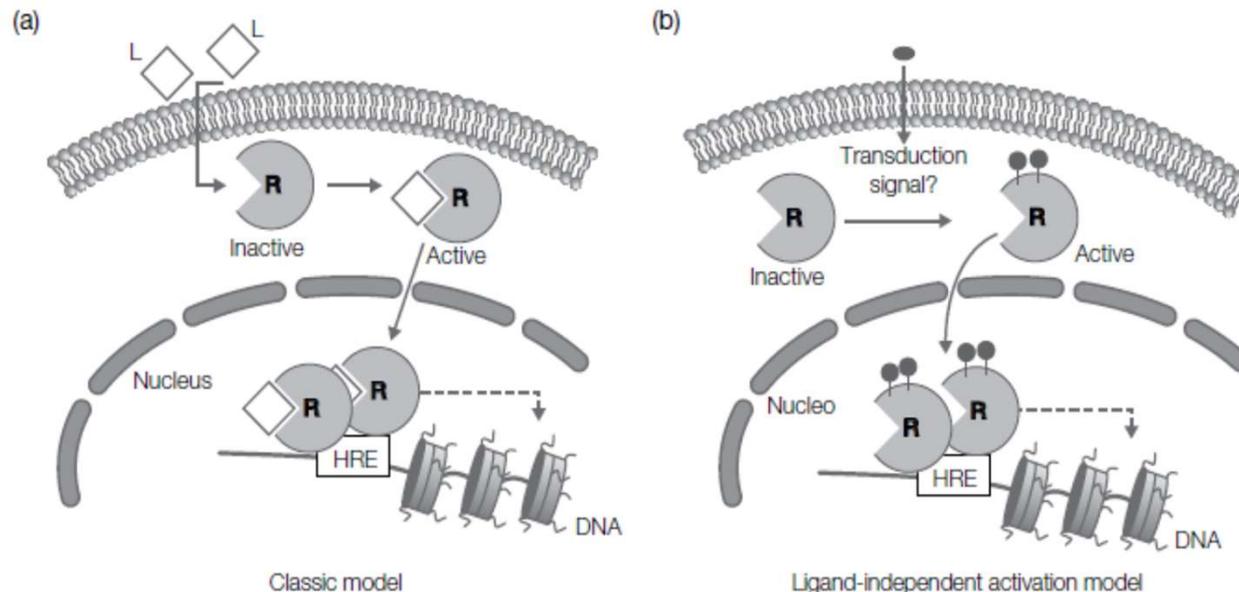


FIGURE 24.2 Mechanism of activation of intracellular receptors. (a) The classical model of ligand-dependent activation of intracellular receptors suggests that upon interaction with the ligand (L), the receptor is released from a complex with inhibitory proteins and enabled to interact with HRE regulatory sequences in target gene promoters and with other nuclear proteins. (b) The model of ligand-independent activation of intracellular receptors postulates the initial activation of protein kinases that phosphorylate the receptor (or transcription factors associated with it, thus favoring receptor binding to DNA) and alter its structural conformation, similarly to what occurs upon ligand binding; these phosphorylations promote receptor dimerization and high-affinity binding to DNA. Nucleo, nucleus.



INTRACELLULAR RECEPTOR A TRANSCRIPTION FACTOR

Recettore per estrogeno

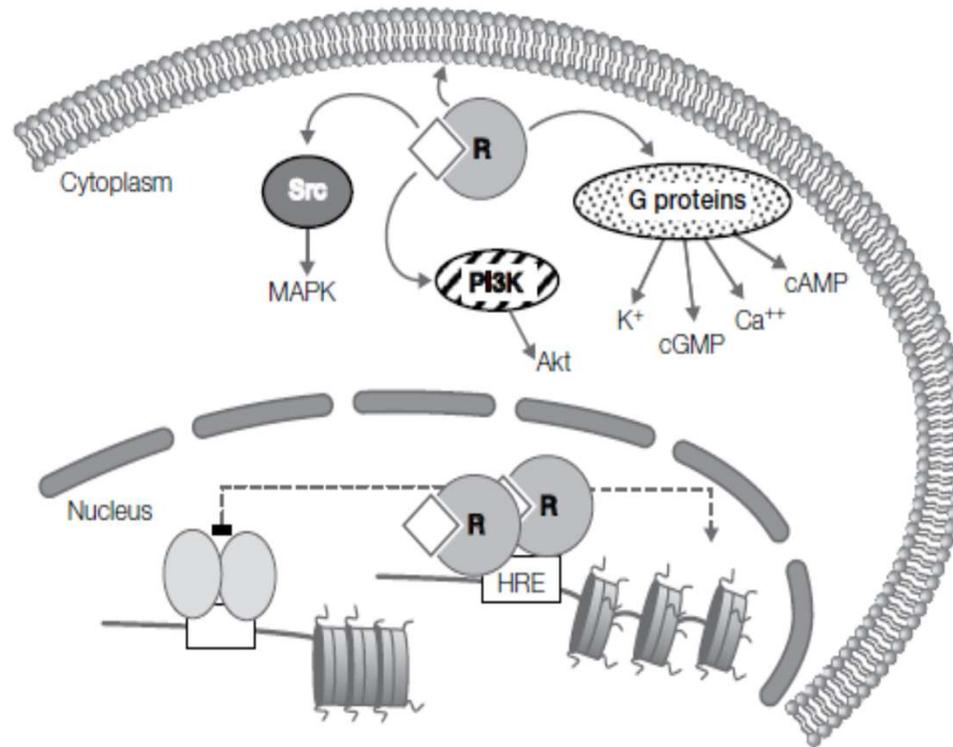


FIGURE 24.4 Estrogen receptor nuclear and cytoplasmic activity. The ER acts both in the nucleus, where it regulates gene transcription, and in the cytoplasm where, upon hormone binding, it interacts with enzymes and other proteins involved in intracellular signaling pathways, such as those regulated by Src, PI3K, and G proteins, stimulating their activity. In addition, other members of the intracellular receptor superfamily can act through this mechanism.



INTRACELLULAR RECEPTORS

(a)

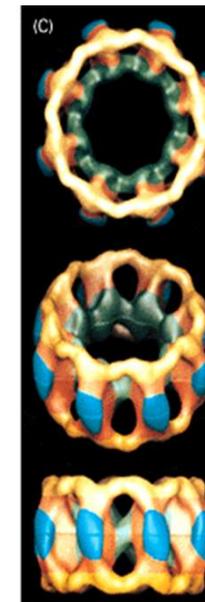
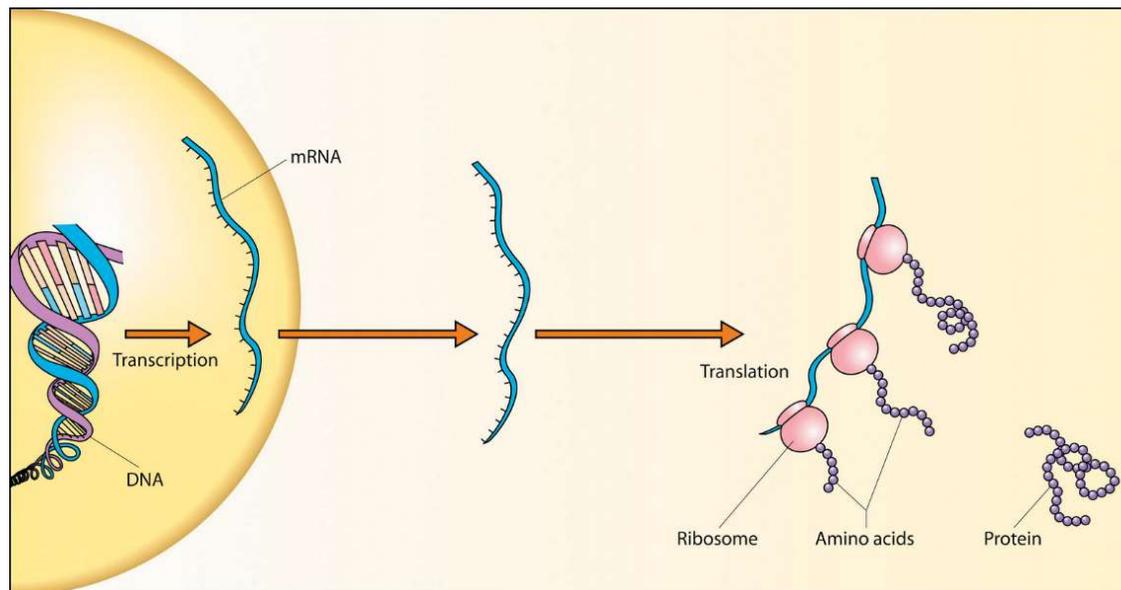
Nomenclature					
Class	Subclass	Receptor	Ligand	HRE	Dimers
NR1	NR1A1	TR α	Thyroid hormones	RGGTCA; Pal, DR-4, PI	E
	NR1A2	TR β			
	NR1B1	RAR α	Retinoic acids	AGTTCA; DR-2; DR-5	E
	NR1B2	RAR β			
	NR1B3	RAR γ			
	NR1C1	PPAR α	Fatty acids, PGJ2	AGTTCA; DR-1	E
	NR1C2	PPAR β			
	NR1C3	PPAR γ			
	NR1F1	ROR α	Cholesterol, cholesteryl sulphate retinoic acid		E
	NR1F2	ROR β			
	NR1F3	ROR γ			
	NR1H3	LXR α	Oxysterols	RGKTCA; DR-4	E
	NR1H2	LXR β			
	NR1H4	FXR α	Biliary acids	AGATCA; DR-4, IR-1	E
	NR1H5	FXR β	Lanosterol		
	NR1I1	VDR	Vitamin D, 1,25-dihydroxyvit. D	RGKTCA; DR-3, PI-9	E
NR1I2	PXR	Xenobiotics	RGKTCA; DR-3	E	
NR1I3	CAR	Xenobiotics, phenobarbital	RGKTCA; DR-4	E	
NR2	NR2B1	RXR α	9-cis-retinoic acid	AGTTCA; Pal, DR1	O, E
	NR2B2	RXR β			
	NR2B3	RXR γ			
NR3	NR3A1	ER α	Estrogens	RGGTCA; Pal	O
	NR3A2	ER β			
	NR3C1	GR	Cortisol	AGAACA; Pal	O
	NR3C2	MR	Aldosterone	AGAACA; Pal	O
	NR3C3	PR	Progesterone	AGAACA; Pal	O
	NR3C4	AR	Testosterone	AGAACA; Pal	O

(b)



TRASPORTO ATTRAVERSO IL PORO NUCLEARE

- ❑ L'RNA messaggero (mRNA) passa nel citoplasma dove sono sintetizzate le proteine nei ribosomi
- Proteine solubili (**ESPORTINE**) riconoscono le **NES** (Nuclear Export Signals)
- Il complesso **ESPORTINA-PROTEINA NUCLEARE** si lega al poro nucleare
- Il complesso attraversa il poro
- l'ESPORTINA si dissocia dalla proteina nucleare e torna nel nucleo



NUCLEOSCHELETRO: lamina nucleare e matrice nucleare

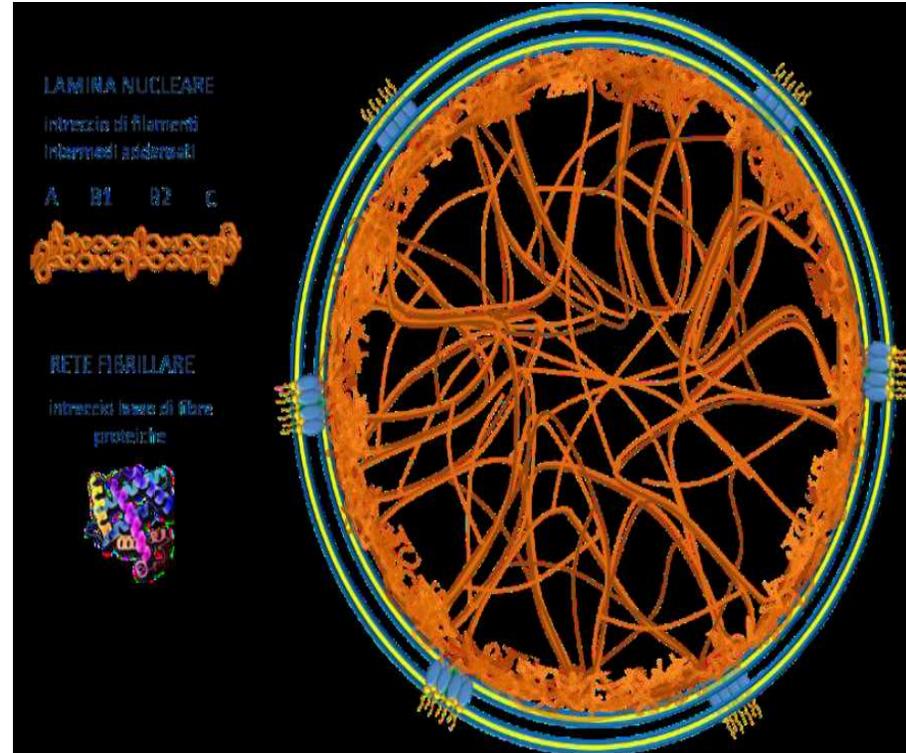
lamina nucleare:

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

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

matrice nucleare:

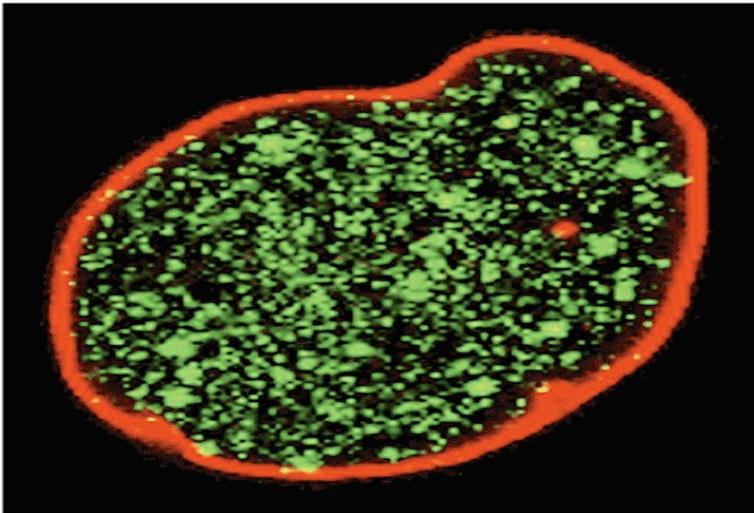
estesa matrice fibrogranulare insolubile sembra costituire un nucleoscheletro che partecipa a mantenere la forma del nucleo.



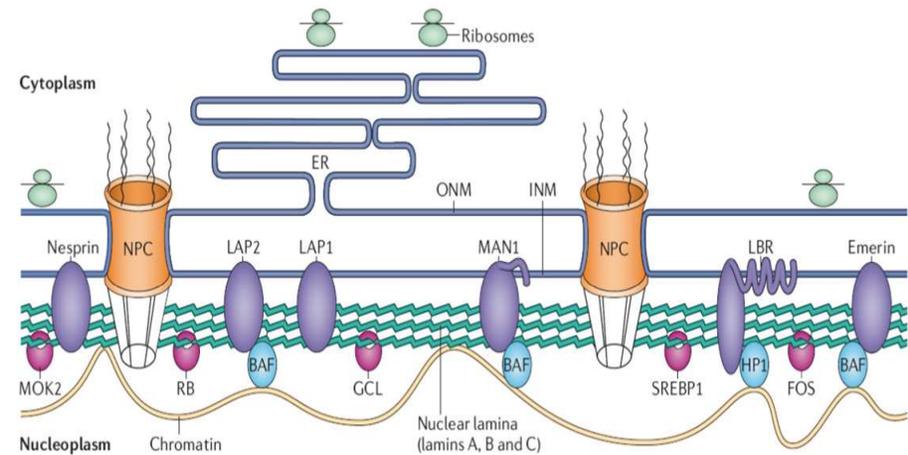
Lamina nucleare

Principali funzioni:

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



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



LAMINA NUCLEARE

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

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



Nucleolo

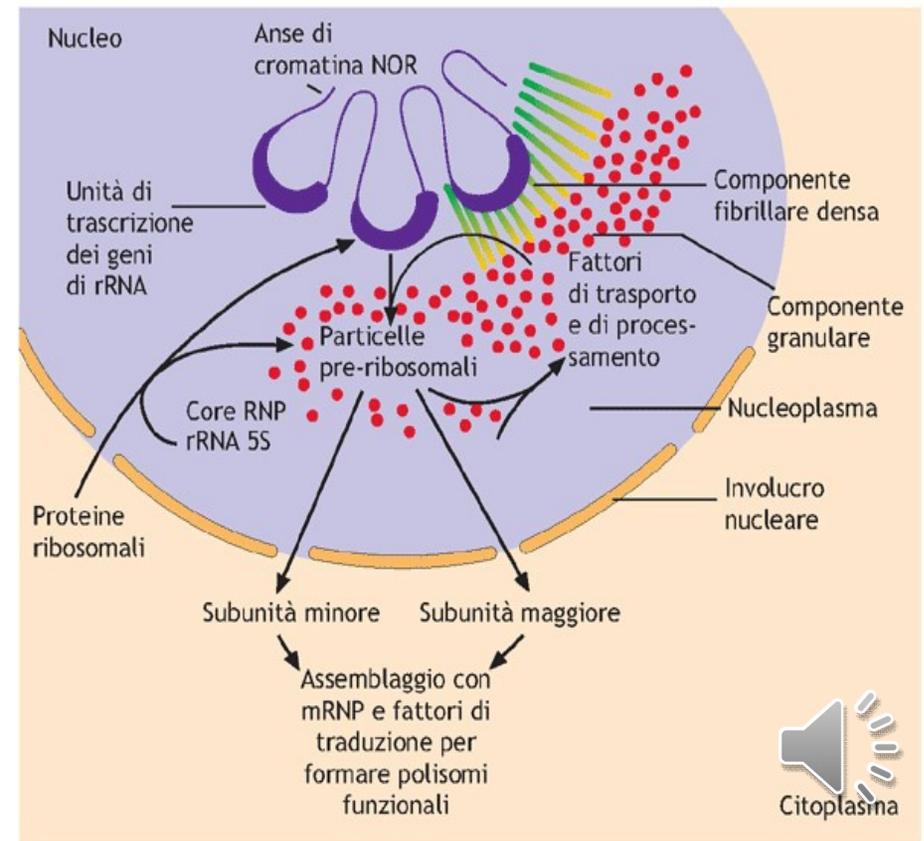
Regione densa di materiale genetico e proteico

Il nucleolo è una regione del nucleo responsabile della sintesi dei ribosomi

Struttura specializzata comprendente:

1. **RIBOSOMI Neosintetizzati**: particelle ribosomiali a vari stadi di assemblaggio, infatti il nucleolo è sede della biogenesi dei ribosomi.
2. un gruppo di **geni** che portano l'informazione per gli RNA ribosomiali
- 3 I corrispondenti **trascritti di RNA ribosomiale**

Dopo il loro assemblaggio le unità ribosomiali vengono esportate nel citoplasma attraverso i pori nucleari



NUCLEOLO

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

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

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

Oocita dell'anfibio *Xenopus*

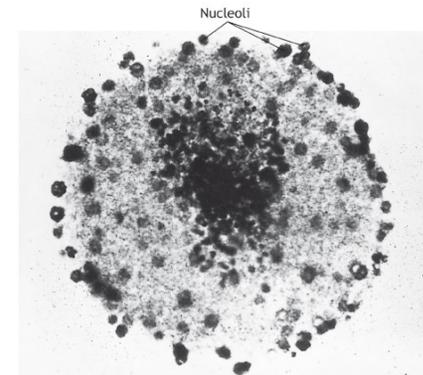
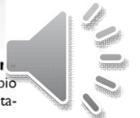


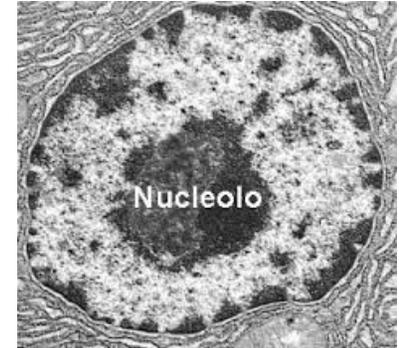
Figura 2.48 I nucleoli possono essere più di uno all'interno dello stesso nucleo, come in questo oocita dell'anfibio *Xenopus* da cui è stato isolato il nucleo che è stato colorato appositamente per evidenziare la presenza dei nucleoli.



NUCLEOLO

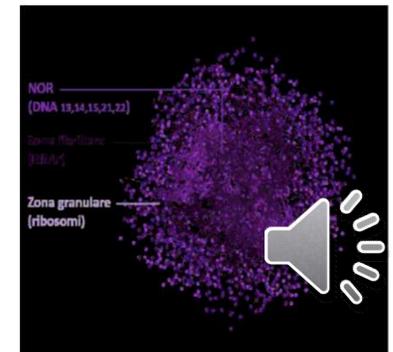
Al microscopio elettronico a trasmissione appare come:

- granulo rotondeggiante
 - non delimitato da membrana
 - circondato da cromatina condensata (cromatina perinucleolare)
 - Formato da due regioni morfologicamente distinte: una fibrillare e una granulare
-
- *presente* durante le fasi **G1**, **S** e **G2** del ciclo cellulare
 - *scompare* durante la **mitosi** (durante la profase si ha la dissoluzione del nucleolo)
 - *ricompare* quando la cellula ha completato la divisione cellulare e riprende la sua attività di sintesi.



Si distinguono:

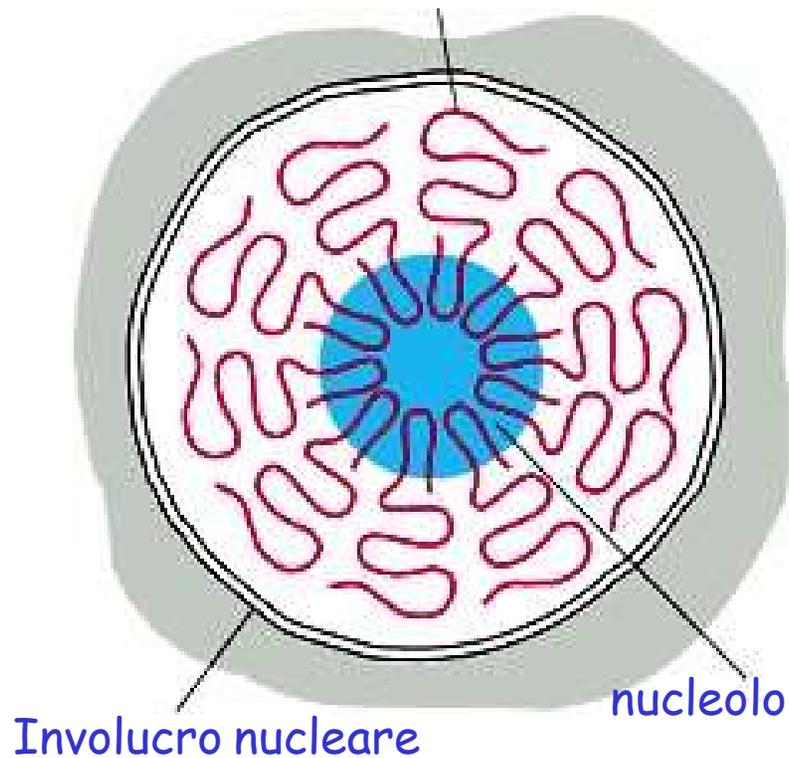
- **Zona organizzatrice** del nucleolo che contiene le sequenze di DNA che codificano per gli RNA ribosomiali .
- **Zona fibrillare** densa, dove ci sono sottili fibrille (di 3-5 nm). Essa è formata dagli RNA appena trascritti.
- **Zona granulare**, così chiamata per la presenza di piccoli granuli (di 15 nm).



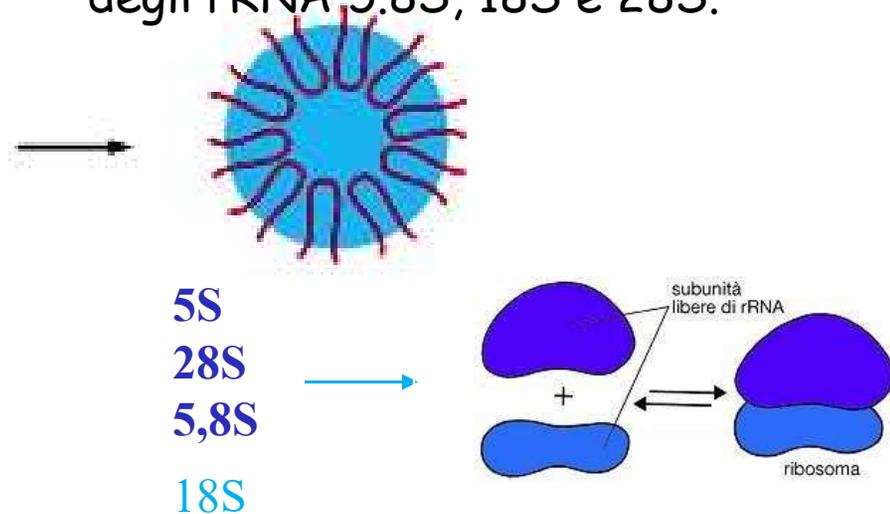
IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

- La struttura più evidente all'interno del nucleo è il NUCLEOLO

10 cromosomi interfascici forniscono al nucleolo le anse di DNA che producono RNAr



- Il nucleolo non ha membrana
- E' organizzato intorno alle regioni cromosomiche che contengono i geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S.



grazie!

