

Nucleoplasma e cromatina

Cosa contiene il nucleo?

Il nucleo non contiene solo **DNA**, che costituisce solo il 20% del materiale nucleare, ma anche una grande quantità di proteine chiamate nucleoproteine ed RNA.

La maggior parte delle **nucleoproteine** è strettamente associata al DNA; le proteine che legano il DNA sono di due tipi:

- 1) istoni: struttura della cromatina
- 2) proteine nonistoniche: proteine di regolazione dell'attività genica, enzimi di sintesi degli acidi nucleici.

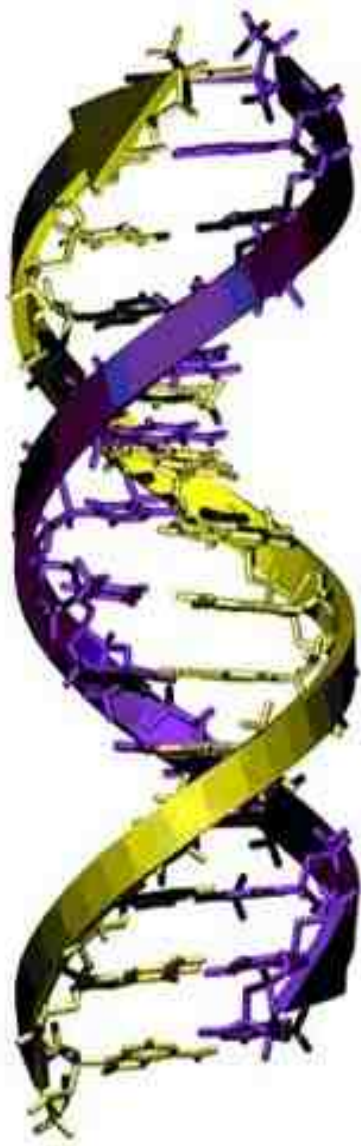
Inoltre il nucleo contiene le proteine del nucleoskeletro e nucleoplasma.

Tutte le nucleoproteine sono sintetizzate nel citoplasma e quindi trasportate nel nucleo

L'RNA nucleare è costituito da RNA messaggero (mRNA) di nuova sintesi e da RNA di trasferimento (tRNA), ribosomico (rRNA) e microRNA (miRNA) che non sono stati ancora trasferiti nel citoplasma e da small nuclear RNA (snRNA).

cromatina

DNA + nucleoproteine



DNA

Tranne che nel periodo della divisione cellulare, i cromosomi, ciascuno dei quali è costituito da due molecole di **DNA** appaiate, esistono sotto forma di **filamenti aggrovigliati** che si estendono attraverso il nucleo e NON possono essere visualizzati individualmente mediante la microscopia elettronica.

nucleoproteine

Gli istoni, (H1, H2A, H2B, H3, H4), che rappresentano la maggior parte delle proteine legate al DNA, formano il nucleosoma su cui si avvolge per due giri e mezzo il filamento di DNA (200 paia di basi). Il DNA che unisce due nucleosomi e' il DNA linker. Gli istoni sono proteine di peso molecolare relativamente basso, con un alto contenuto di aa carichi positivamente, che si legano con facilità alle eliche del DNA cariche negativamente. Gli istoni possono essere coinvolti nel compattamento del DNA e nella regolazione della sua attività.

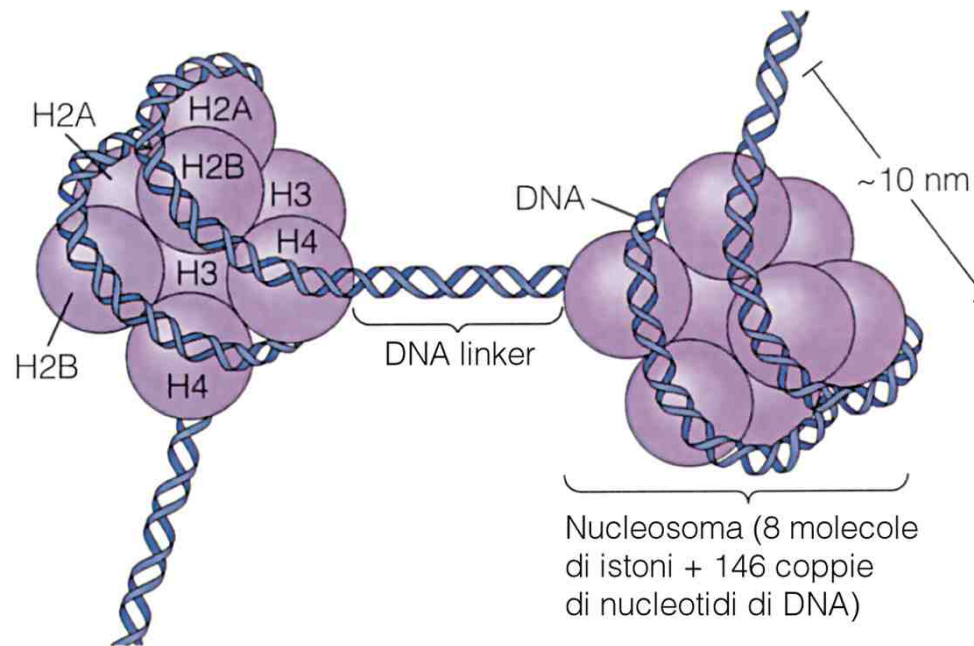
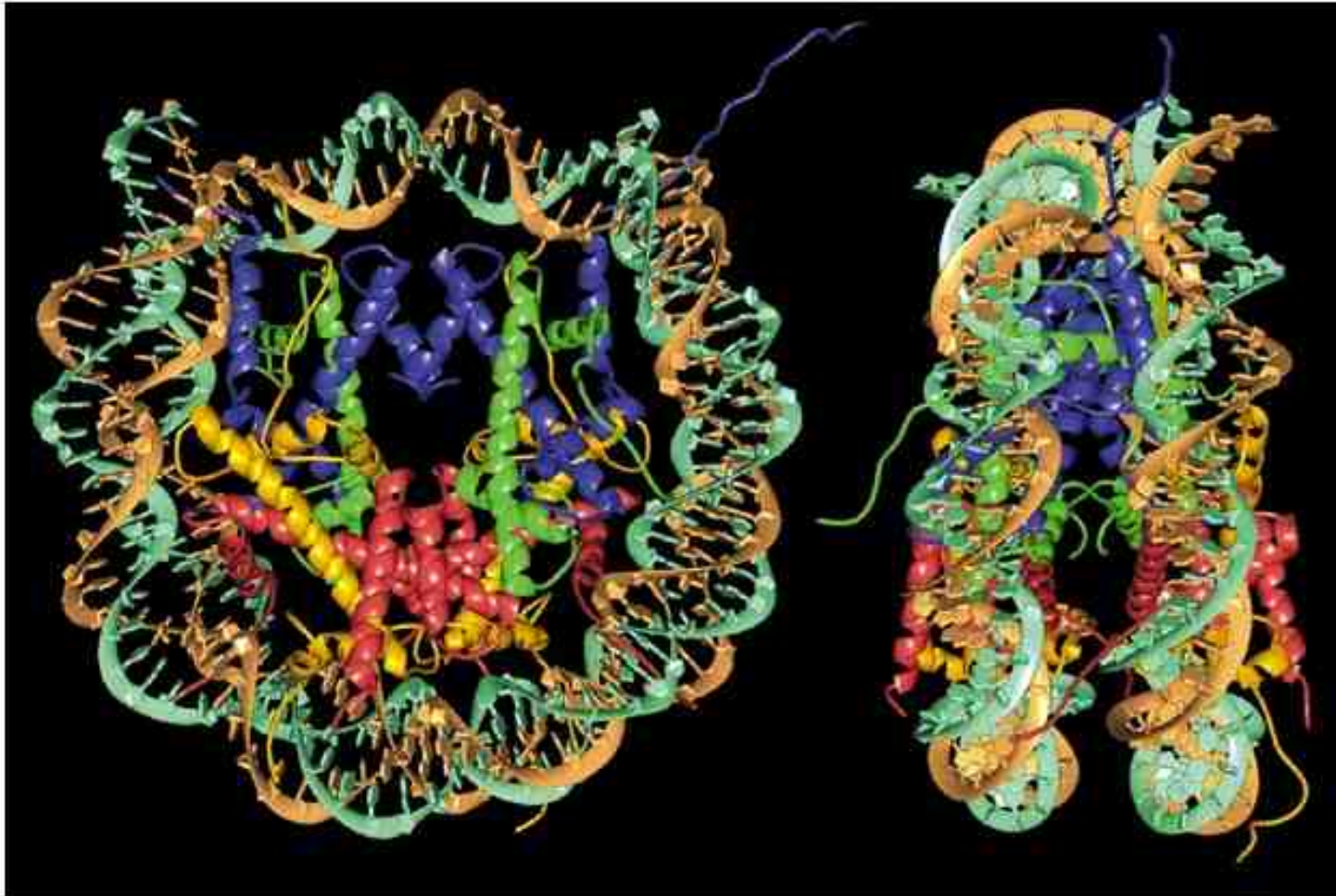


Figura 16-20

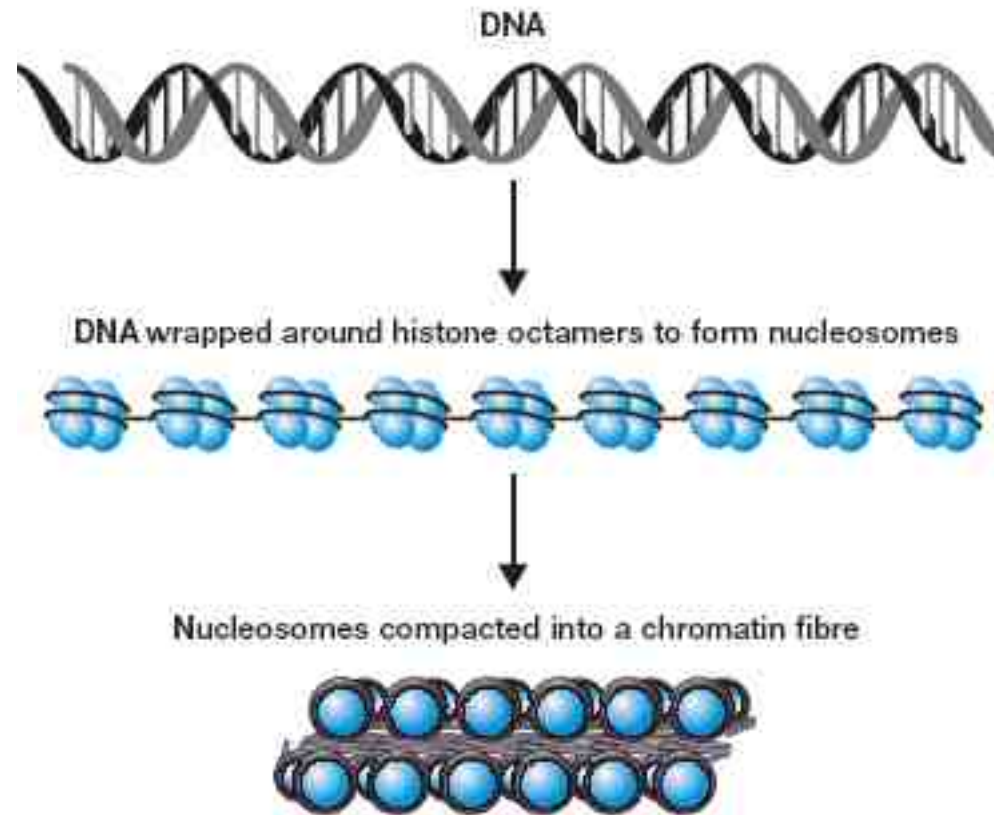
nucleosoma



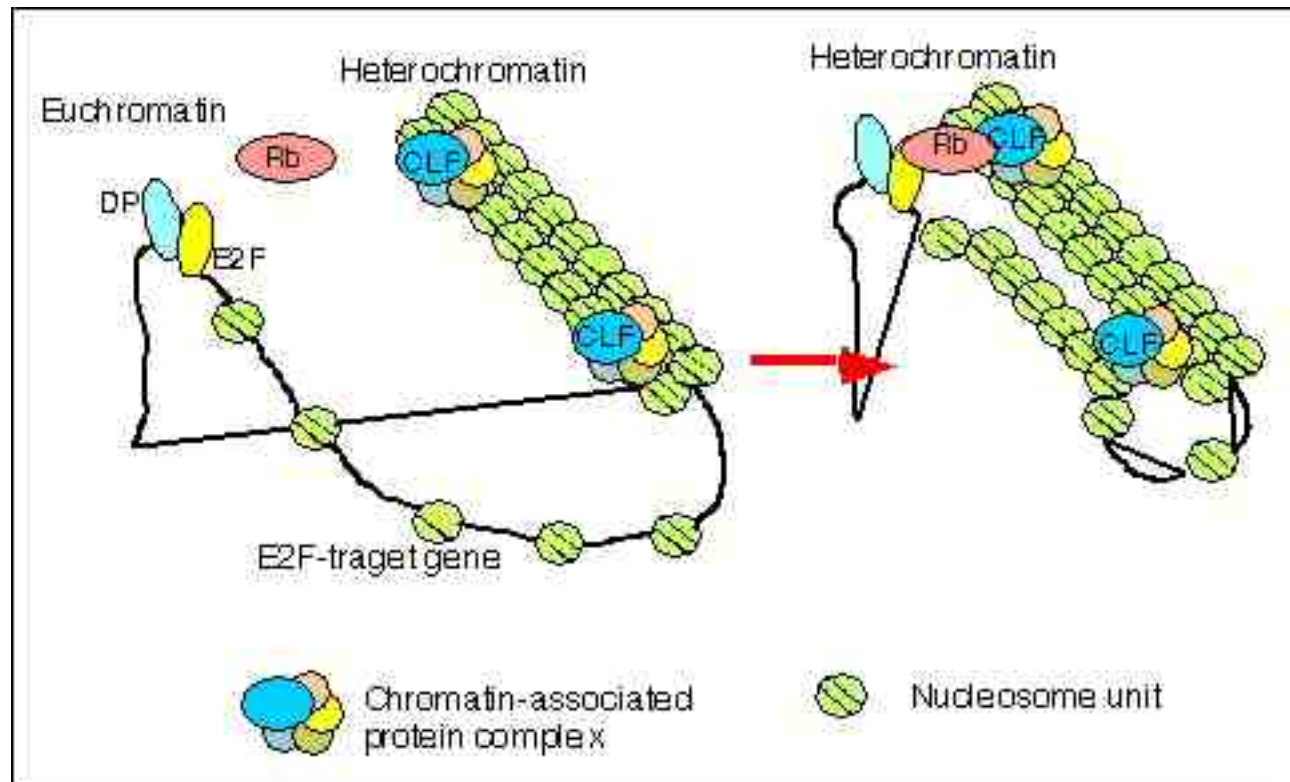
08_bct_2011

6

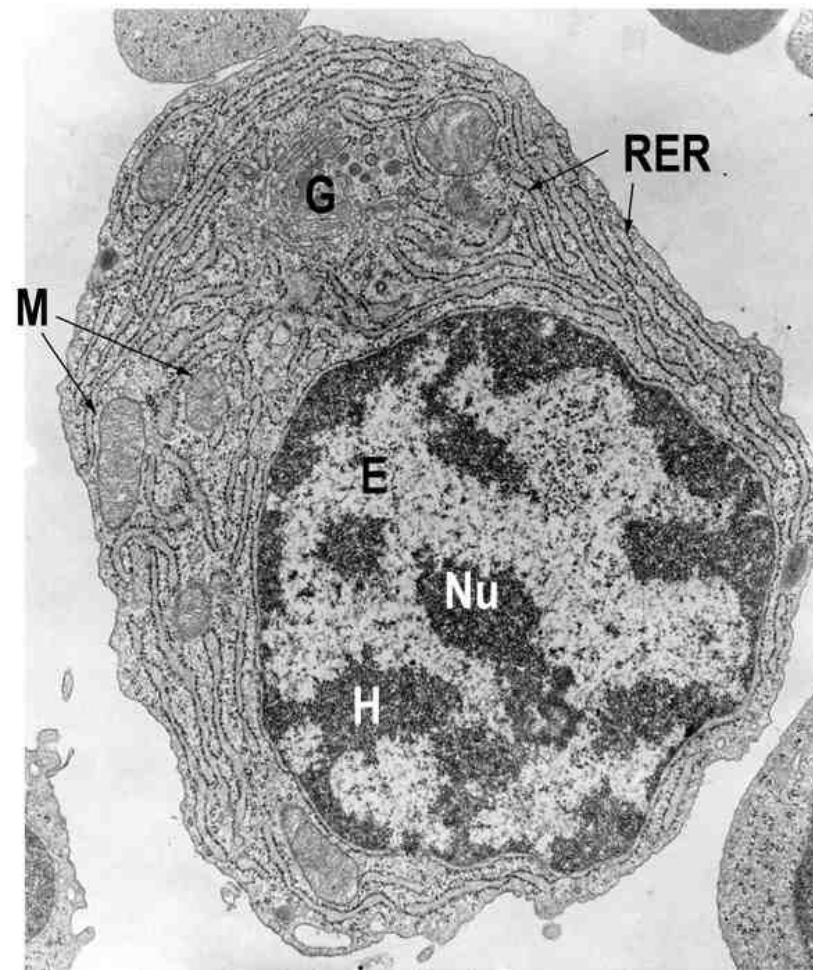
euromatina



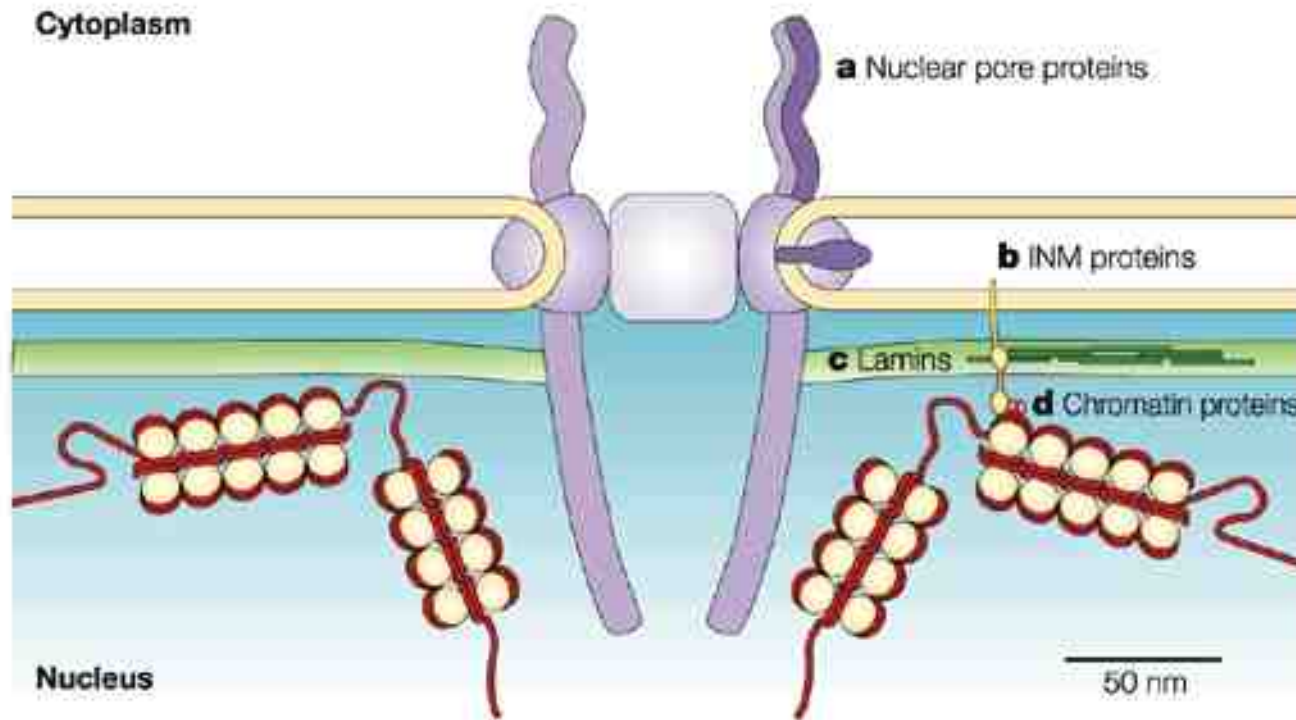
eterocromatina



I nuclei appaiono come strutture eterogenee con aree elettrone-dense (eterocromatina) ed aree elettrone-trasparenti (eucromatina).

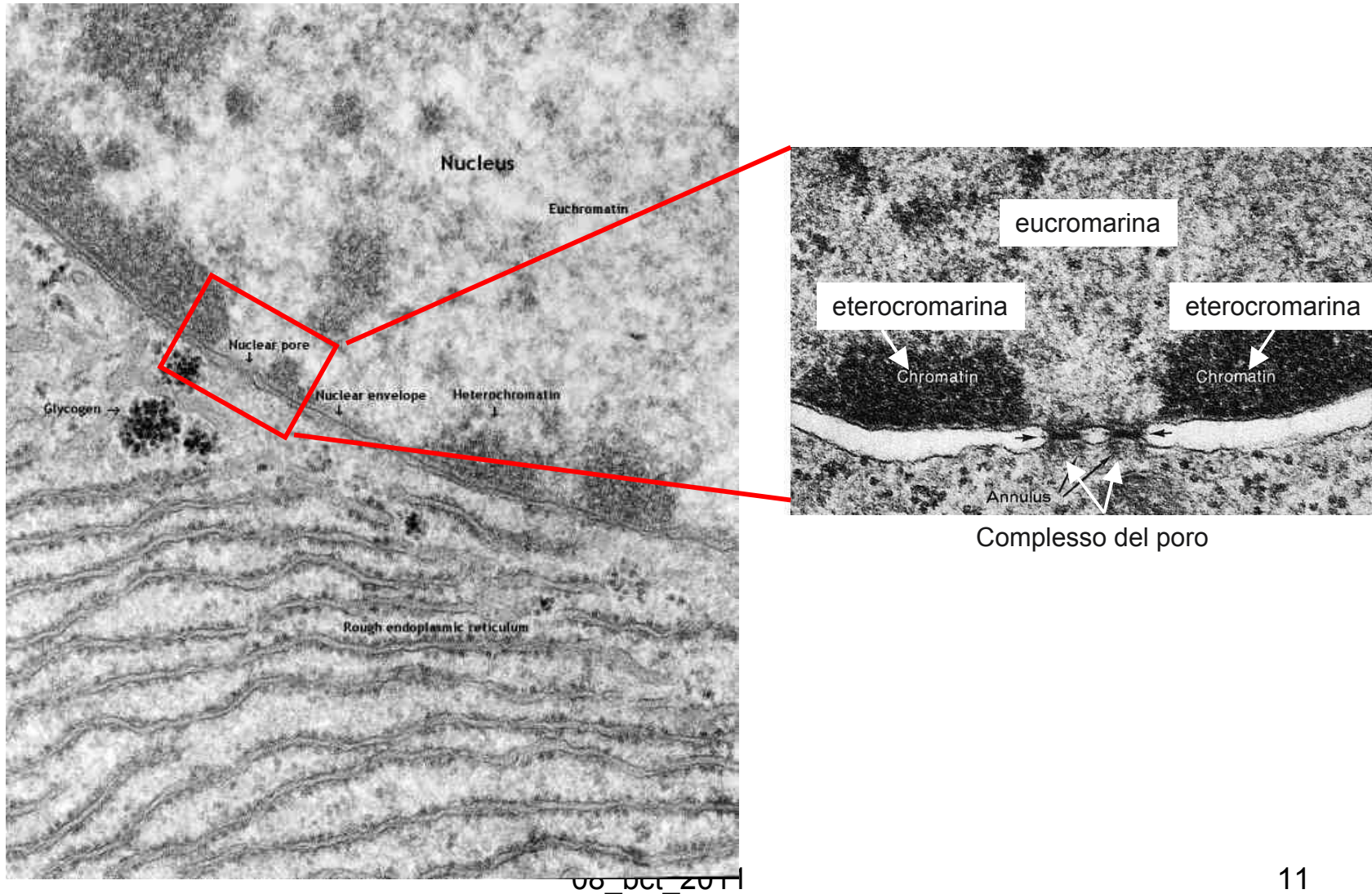


Nu-nucleus, E-euchromatin, H-heterochromatin, M-mitochondria, RER-rough endoplasmic reticulum, G-golgi complex



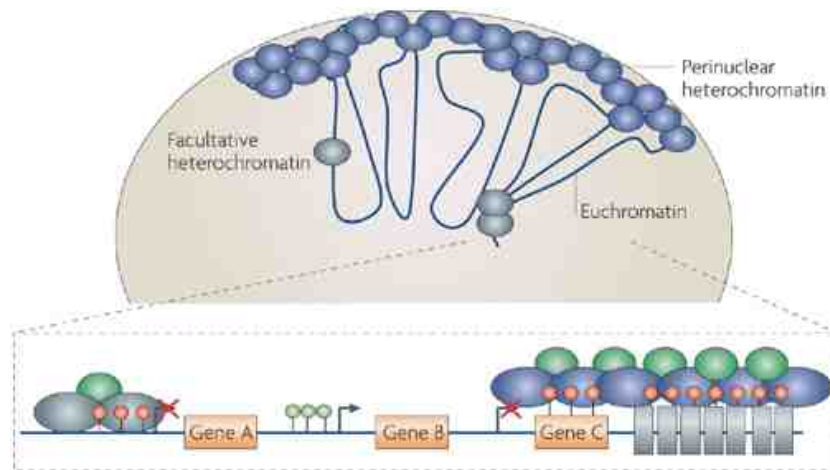
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

L'eterocromatina si interrompe in corrispondenza dei pori nucleari



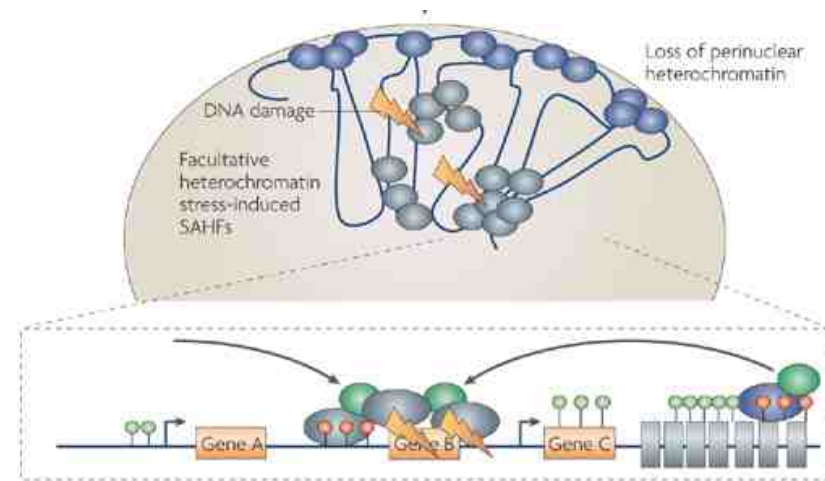
La struttura della cromatina di una cellula può cambiare nel tempo: questa regolazione fa parte dei meccanismi del differenziamento cellulare.

cellula “giovane”
(non totalmente differenziata)



Struttura della cromatina permissiva per l'espressione del gene “B” e non per i geni “A” e “C”

Stessa cellula più “vecchia”
(totalmente differenziata)



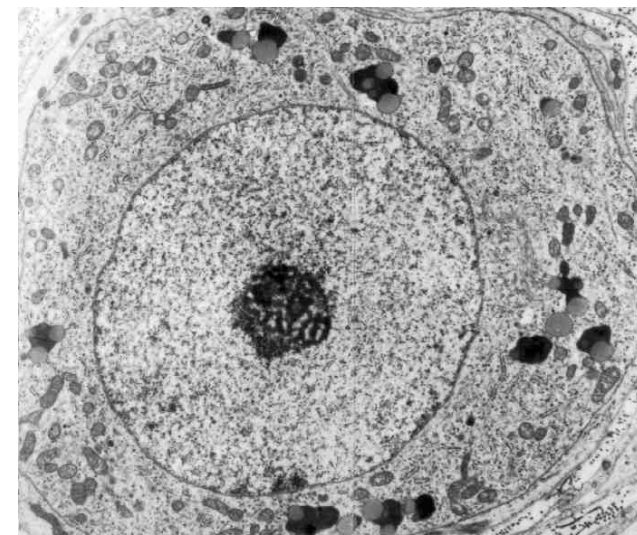
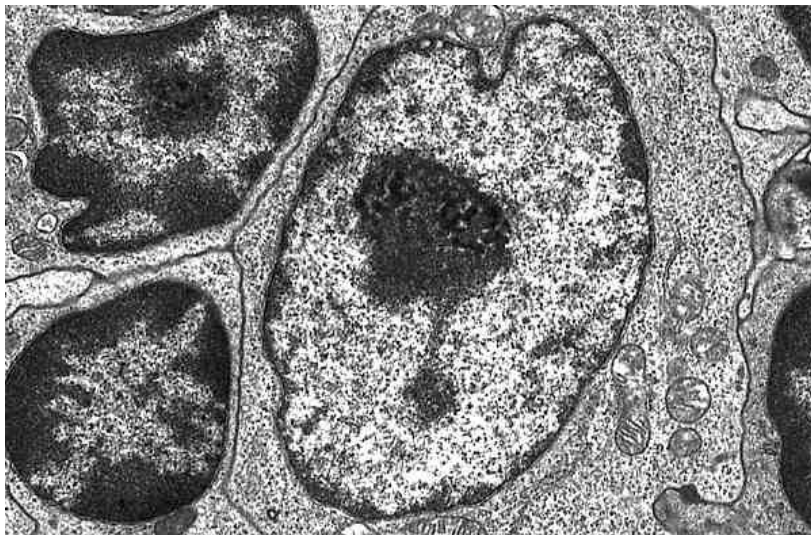
Struttura della cromatina permissiva per l'espressione dei geni “A” e “C” e non più per il gene “B”

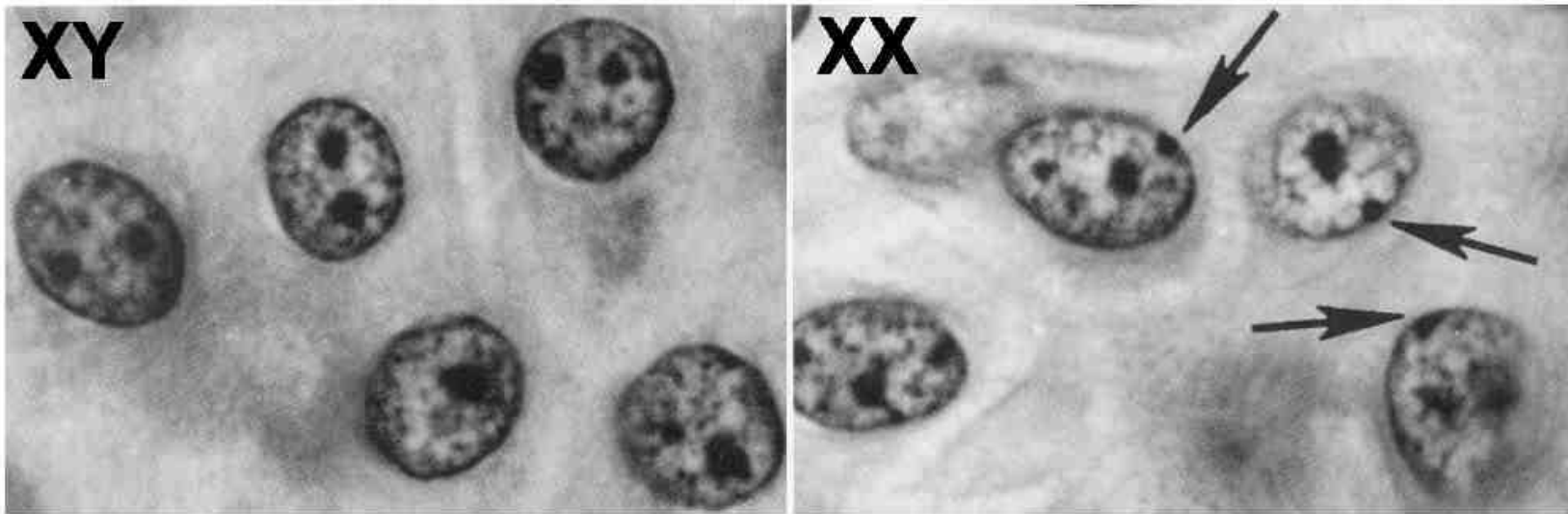
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Le **aree dense** chiamate **eterocromatina**, rappresentano quella porzione di DNA, con le nucleoproteine associate, che non è attiva nella sintesi di RNA. L'eterocromatina tende a raggrupparsi alla periferia del nucleo, ma forma anche agglomerati irregolari all'interno del nucleo. Nelle femmine, in cromosoma X inattivato (corrispondente al cromosoma Y nel maschio), forma una piccola massa nota come corpo di Barr. I corpi di Barr sono visibili lungo il margine esterno del nucleo in una piccola percentuale di cellule femminili in cui la sezione sia stata condotta secondo un piano favorevole. La zona **elettron-trasparente**, chiamata **eucromatina**, rappresenta quella parte di DNA che è attiva nella sintesi di RNA. Globalmente, l'eucromatina e l'eterocromatina costituiscono la cromatina, denominazione derivata dall'aspetto fortemente colorati dei nuclei osservati al microscopio ottico.

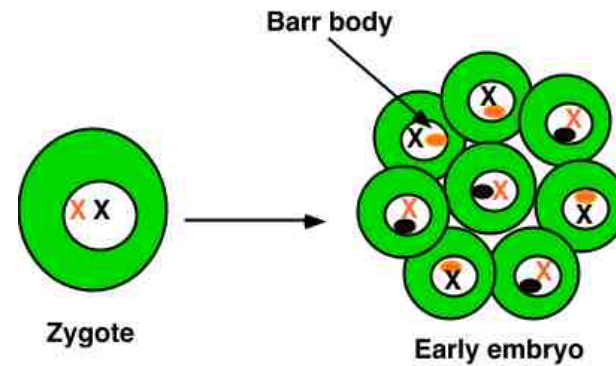
Nuclei ricchi di eterocromatina localizzata essenzialmente alla periferia del nucleo. Questa morfologia è tipica di cellule poco attive da un punto di vista della sintesi proteica.

Nucleo con cromatina in maggioranza sotto forma di eucromatina. Cellula con alta attività trascrizionale.



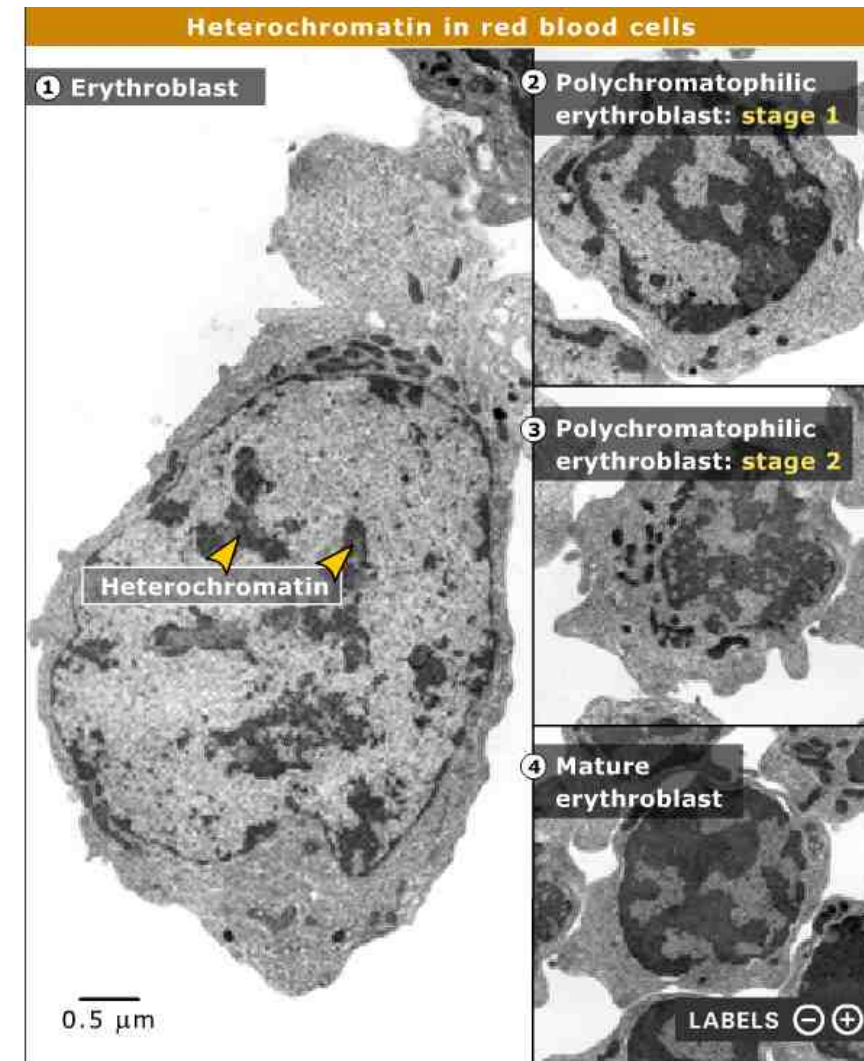


Corpuscoli di Barr (frecche):
inattivazione random di uno dei due
cromosomi "X" per
heterocromatizzazione



Eritroblasti ---> eritrociti

Man mano che le cellule eritoidi (globuli rossi del sangue) si differenziano, viene espresso un numero minore di geni, aumenta la frazione eterocromatica del genoma e le cellule diventano più piccole



La trascrizione

=

sintesi del RNA

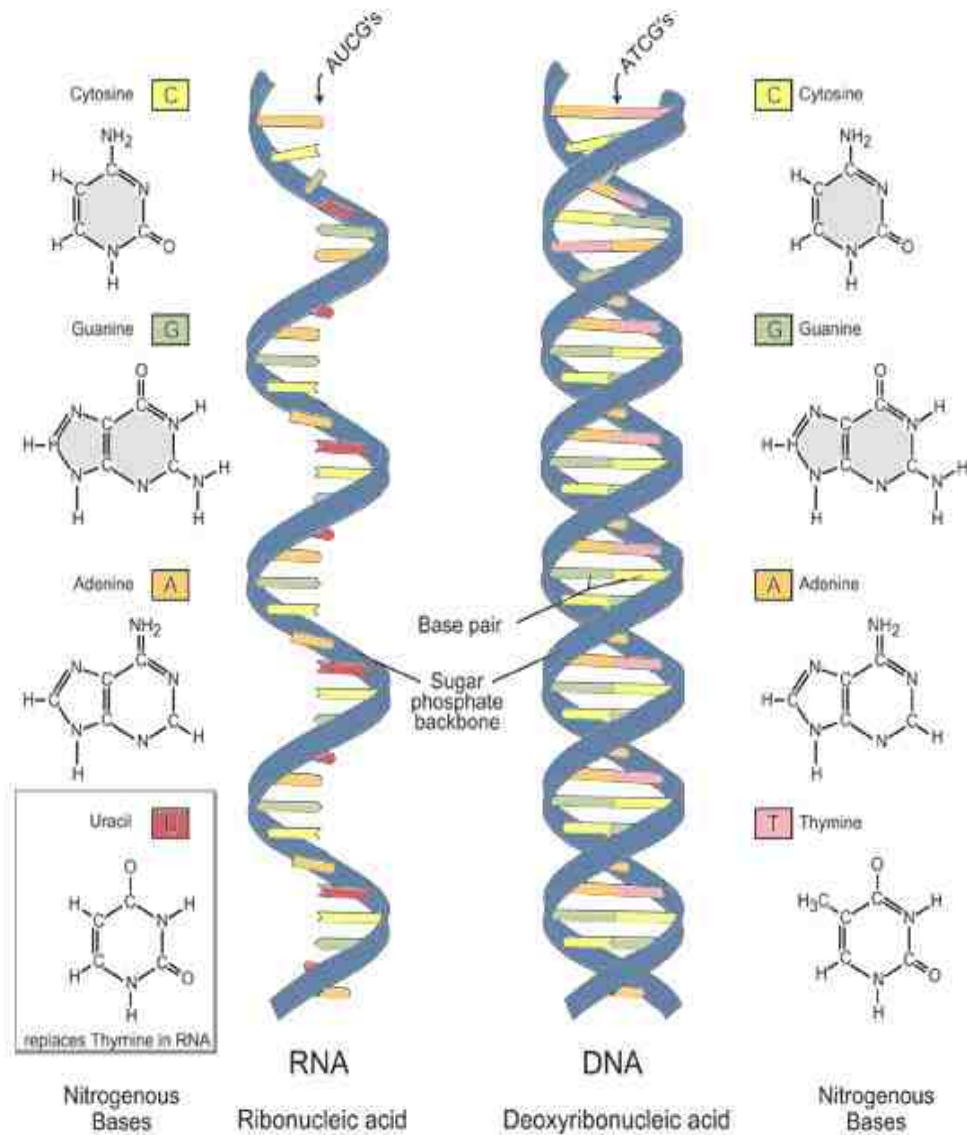


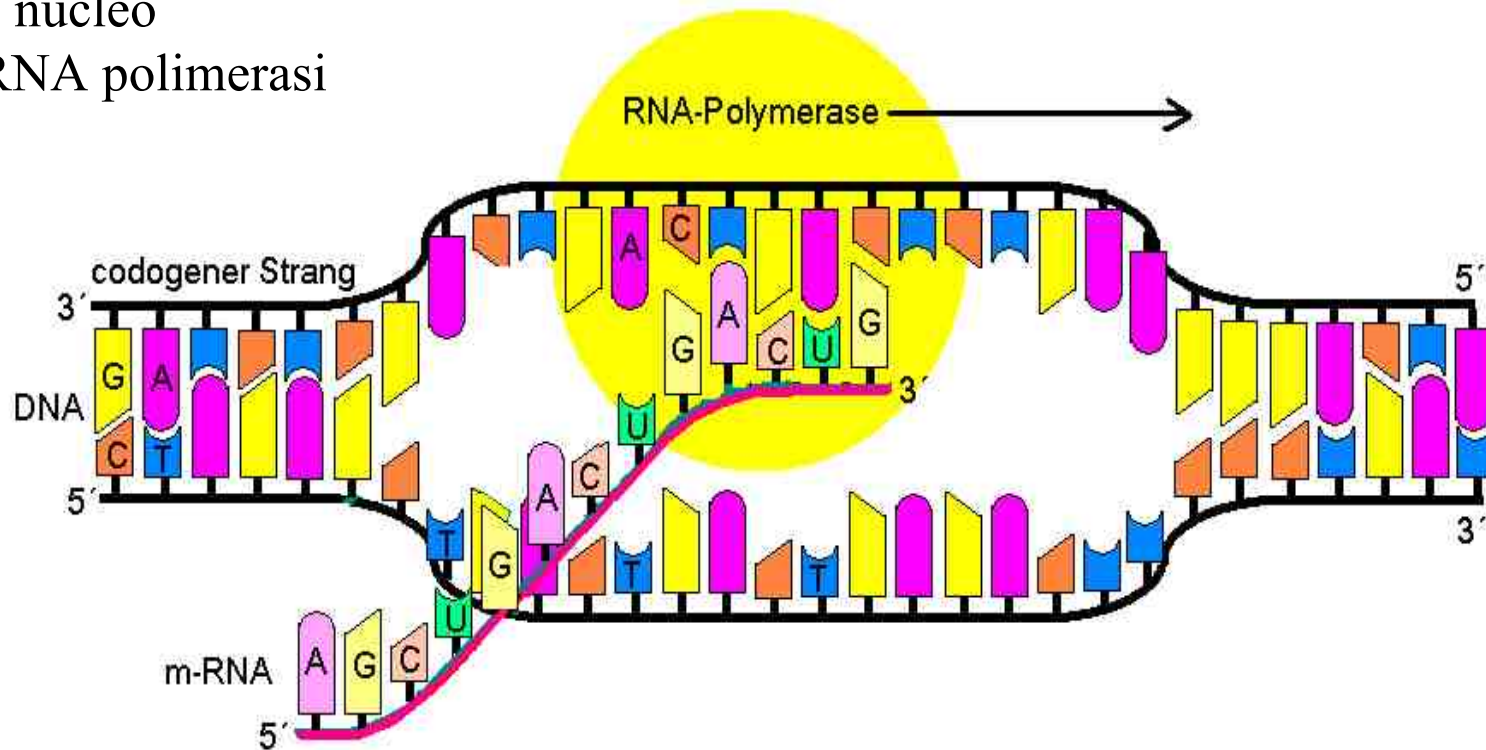
Image adapted from: National Human Genome Research Institute. Talking Glossary of Genetic Terms. Available at: www.genome.gov/Pages/Hyperion/DIR/VIP/Glossary/Illustration/rna.shtml.

Trascrizione:

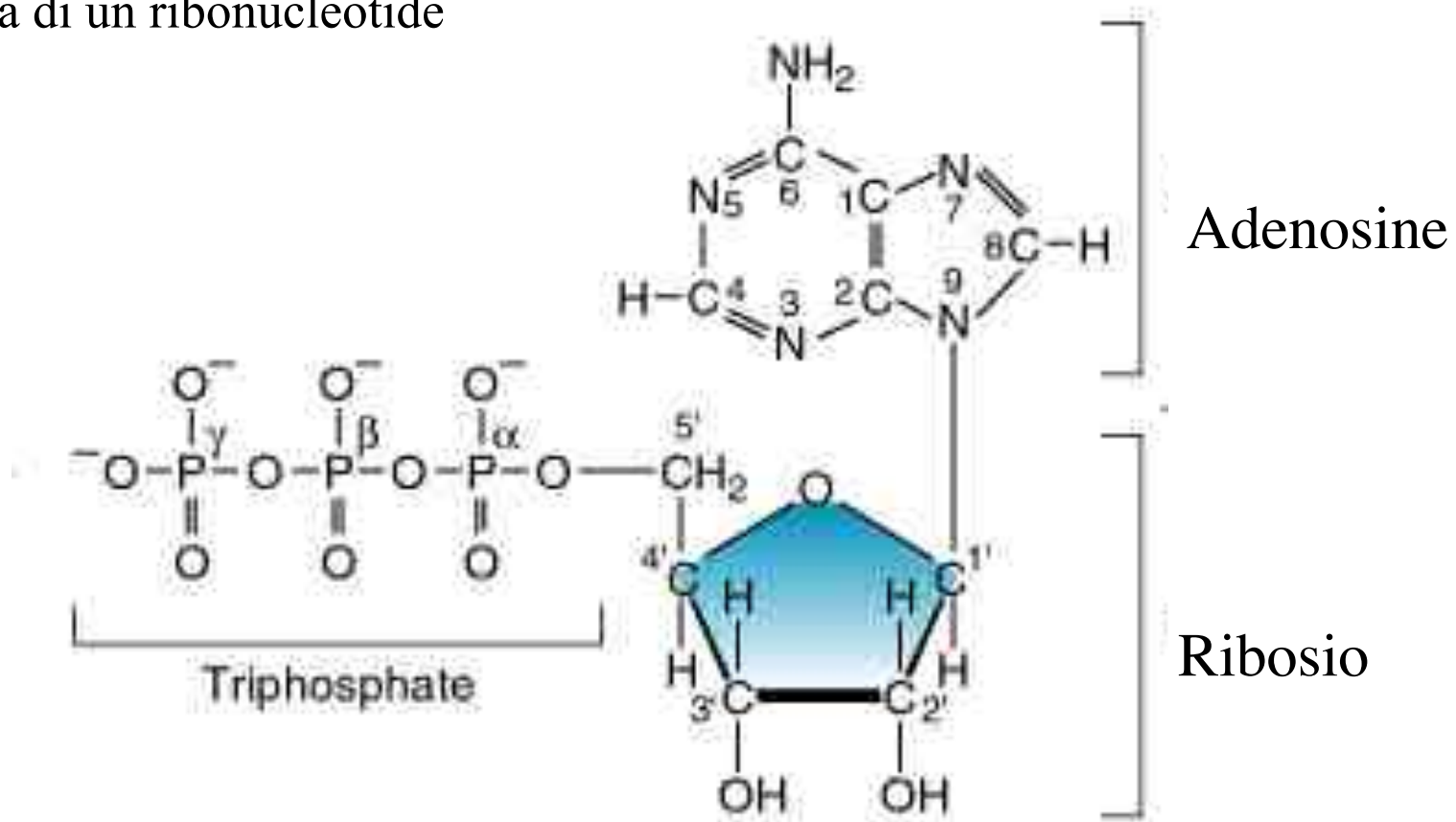
Cosa: da DNA a RNAs

Dove: nucleo

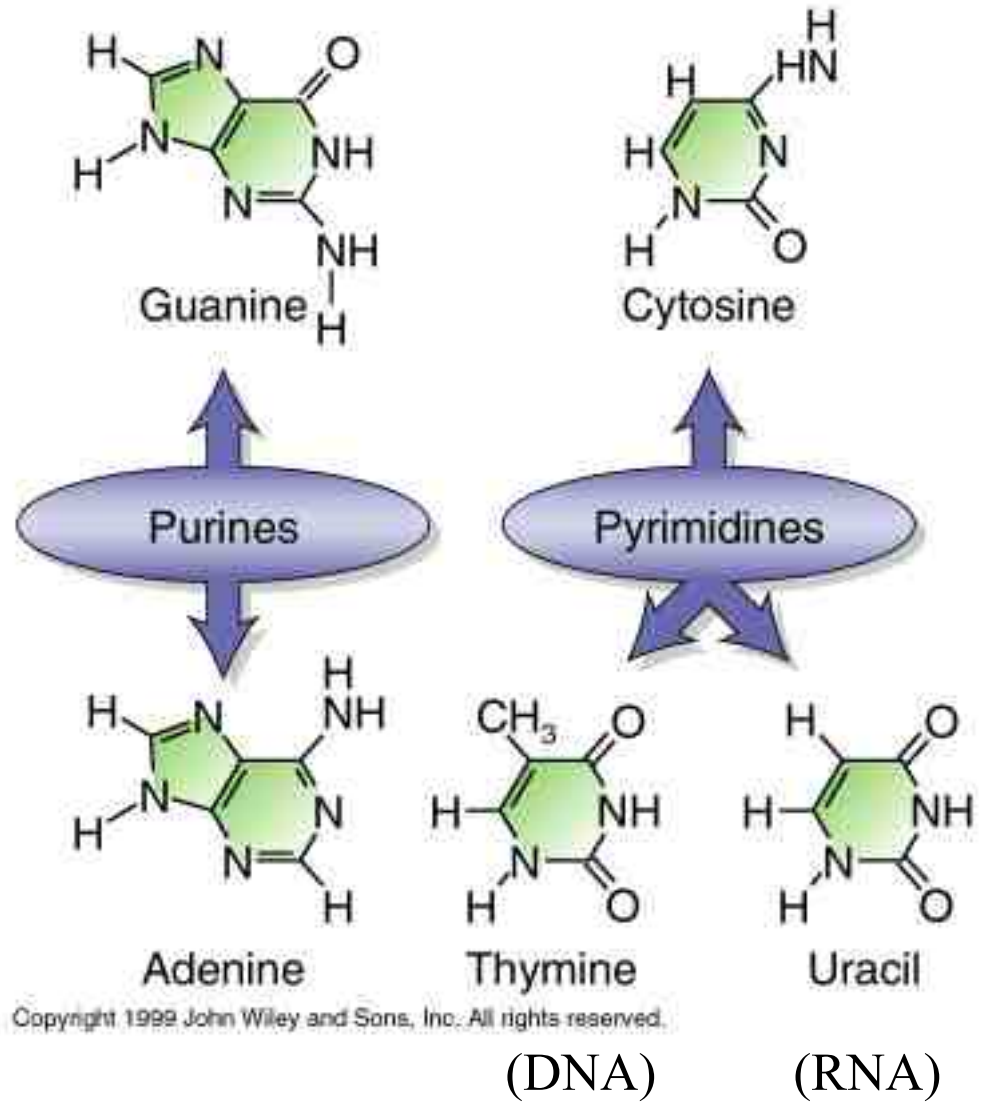
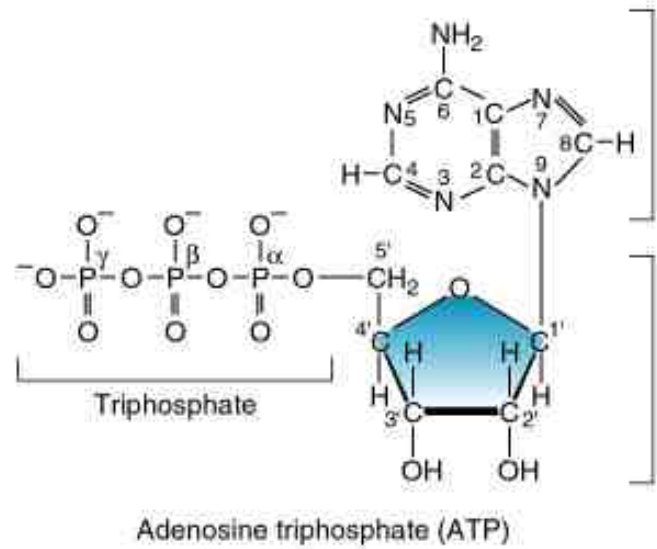
Chi: RNA polimerasi



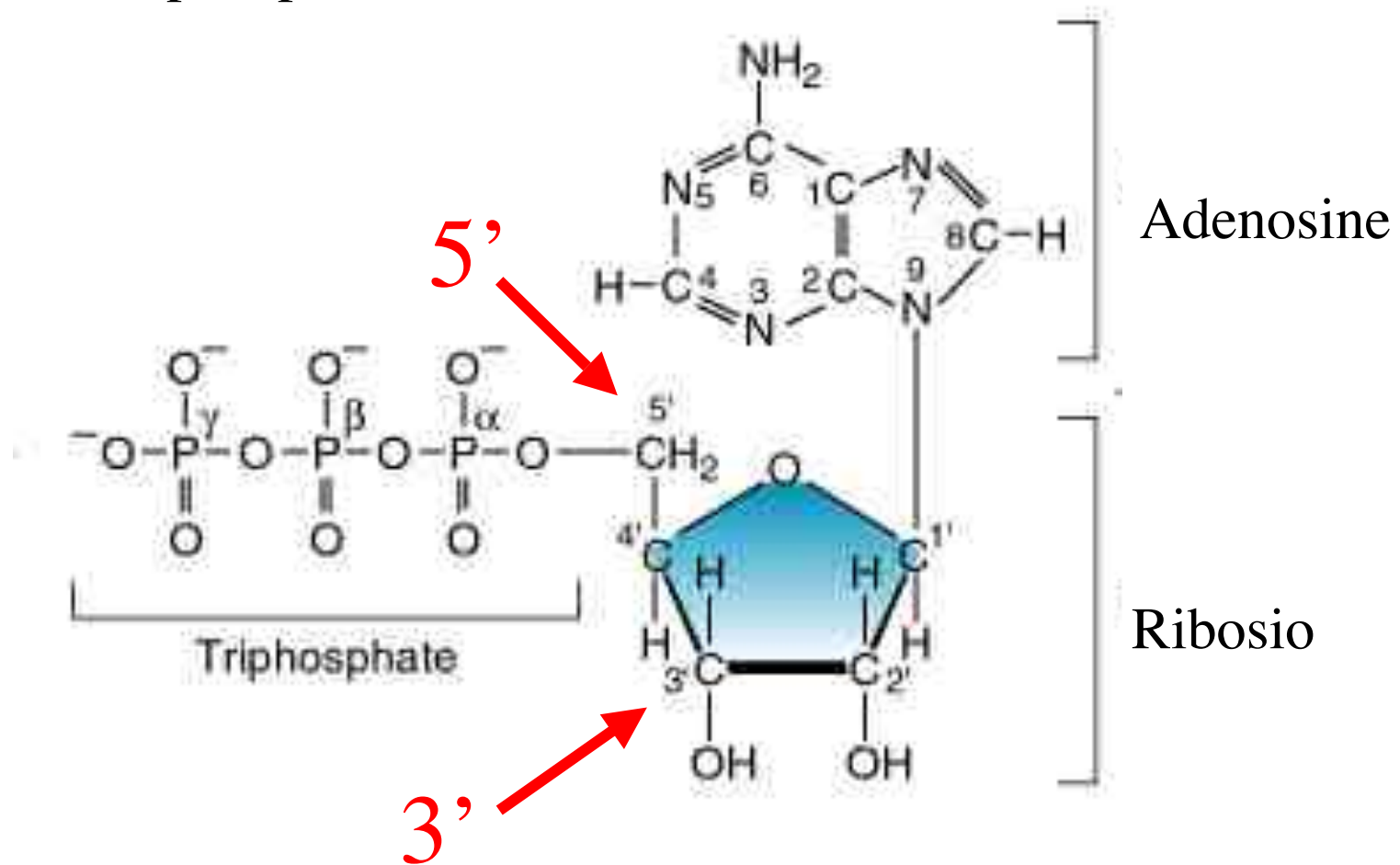
Formula di un ribonucleotide



Adenosine triphosphate (ATP)

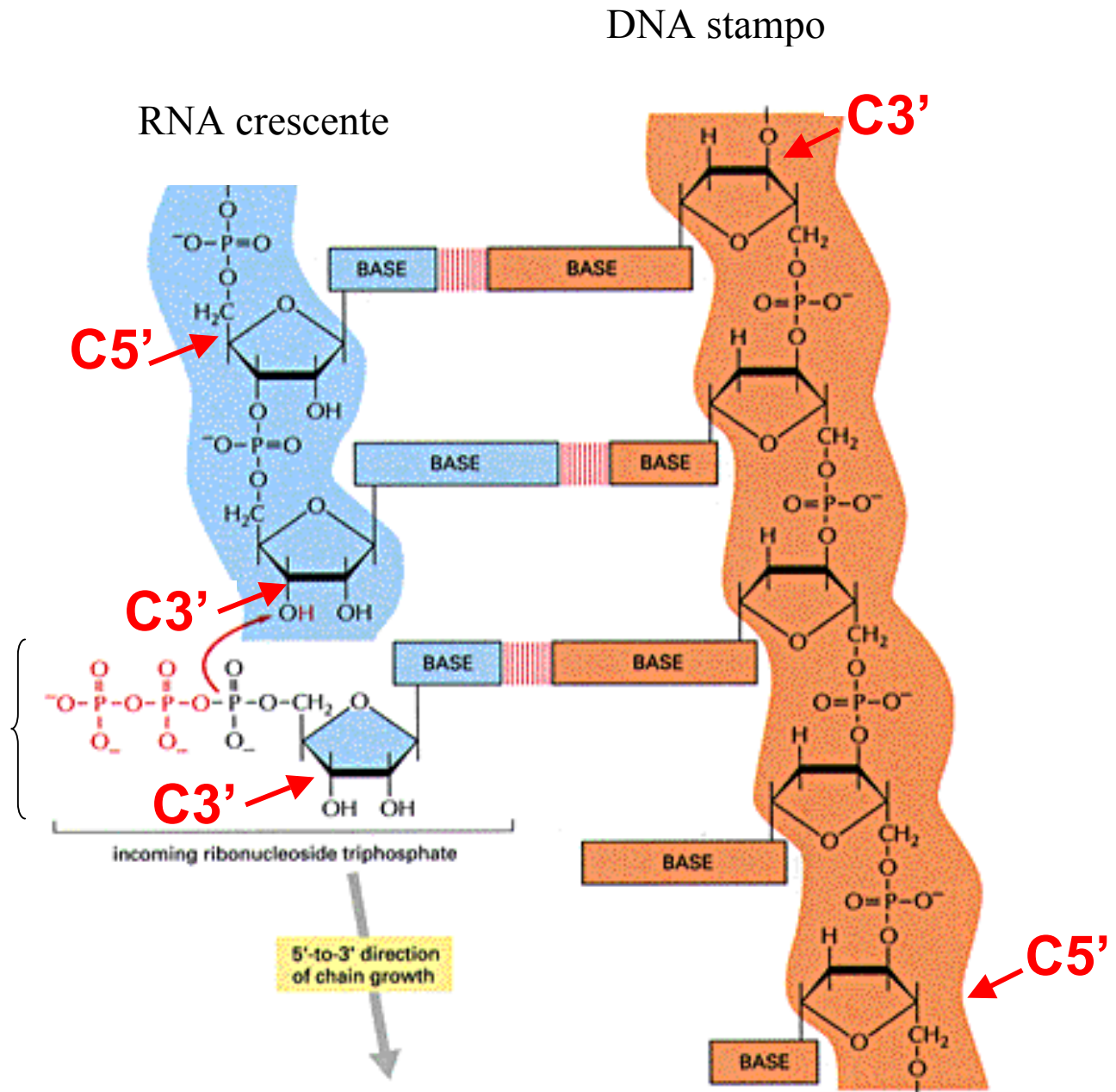


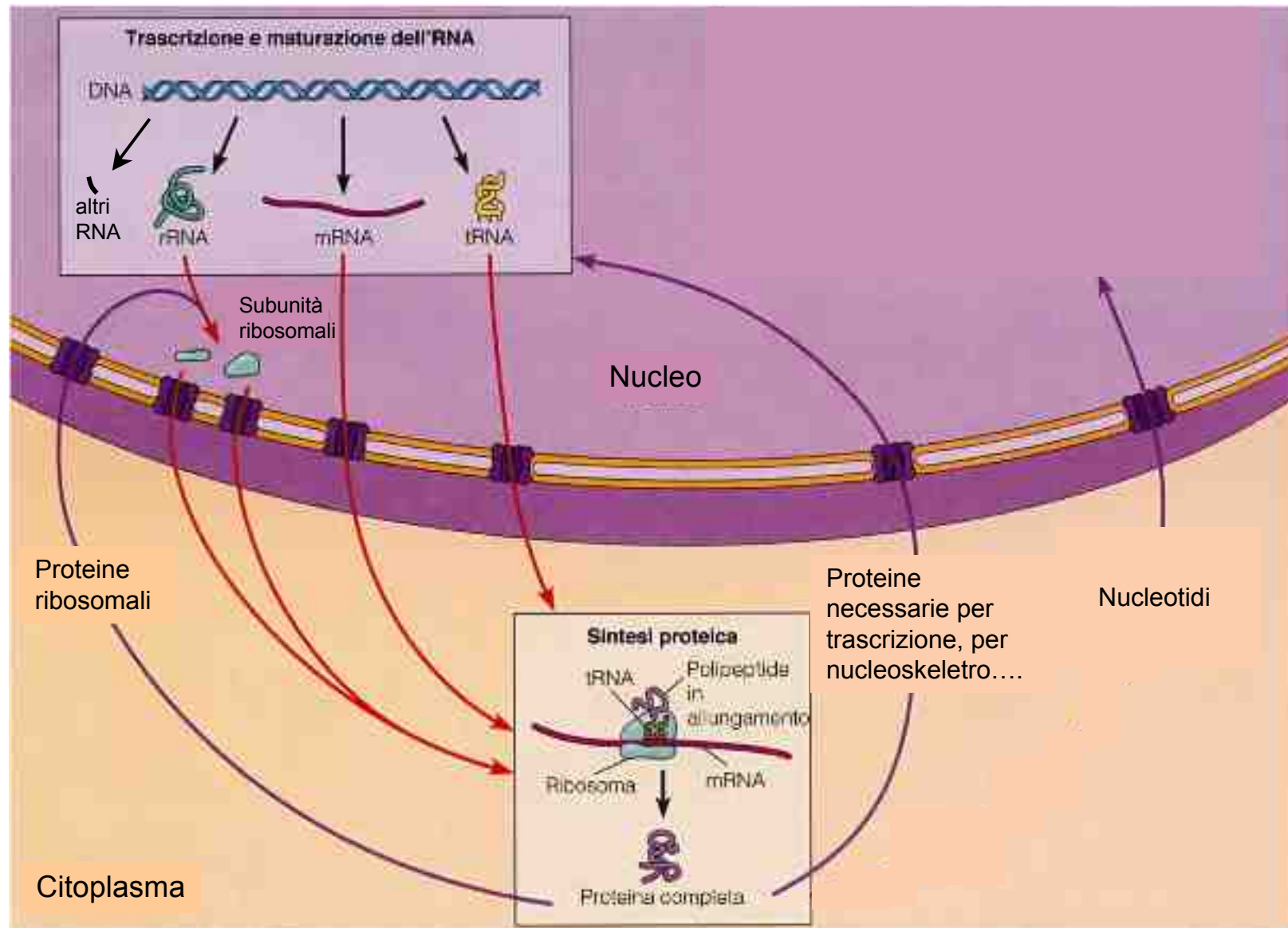
Adenosine triphosphate (ATP)



Tutte le RNA polimerasi sintetizzano l'RNA secondo le stesse regole:
1) La catena di RNA neosintetizzata è antiparallela alla catena di DNA stampo e 2) la direzione della sintesi è 5'---->3'

Nuovo ribonucleotide nucleotide tri-fosfato da aggiungere alla catena di RNA.





Eucariote hanno numerosi tipi di RNA polimerasi:

- La **RNA polimerasi I**: sintetizza un pre-rRNA 45S, che matura in rRNA di 28S, 18S and 5.8S della grande subunità ribosomale.
- La **RNA polimerasi II** sintetizza i pre-mRNAs and la maggior parte degli non coding RNA (snRNA e microRNAs). Questa polimerasi è di gran lunga la più studiata e la cui attività è la più regolata. Fattori trascrizionali regolano la sua interazione con i promotori.
- La **RNA polymerase III** sintetizza tRNAs, rRNA 5S and e tutti gli altri piccoli RNAs che si trovano nel nucleo e nel citosol.
- La **RNA polymerase IV** sintetizza i siRNA nelle piante.
- Ci sono altri tipi di RNA polimerasi nei mitocondri e nei cloroplasti e RNA polimerasi RNA-dipendenti coinvolte nel processo di RNA-interferenze.

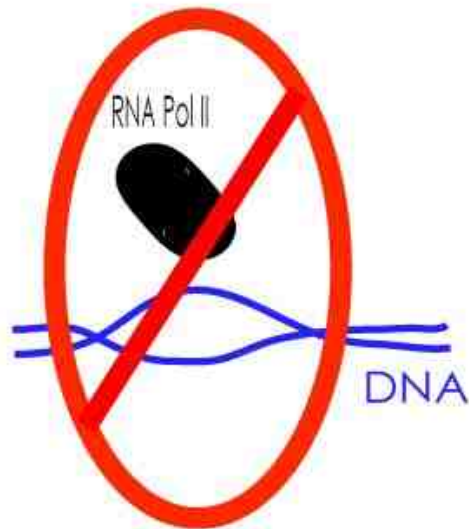
TABELLA 7.1 Classi di geni trascritti dalle RNA polimerasi eucariotiche

Tipi di RNA sintetizzati	RNA polimerasi
Geni nucleari	
mRNA	II
tRNA	III
rRNA	
5.8S, 18S, 28S	I
5S	III
snRNA e scRNA	II e III ^a
Geni mitocondriali	Mitocondriale ^b
Geni del cloroplasto	Cloroplasto ^b

^aAlcuni piccoli RNA nucleari (sn) e citoplasmatici (sc) sono trascritti dalla polimerasi II e altri dalla polimerasi III.

^bLe RNA polimerasi del mitocondrio e del cloroplasto sono simili agli enzimi batterici.

Fattori trascrizionali



Eukaryotic RNA Polymerases
cannot bind DNA alone!

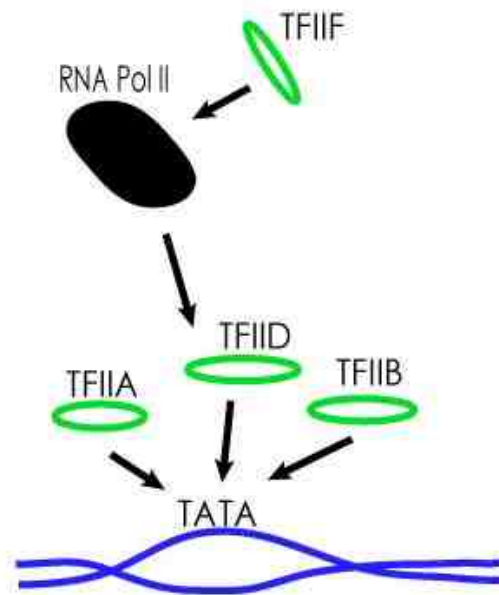
Nessuna delle tre polimerasi eucariotiche si lega direttamente al DNA durante la fase iniziale della sintesi dell'RNA. L'inizio della trascrizione da parte di questi enzimi è mediata da fattori trascrizionali che sono specifici per ciascuna polimerasi e che riconoscono sequenze promotrici appropriate.

mRNA

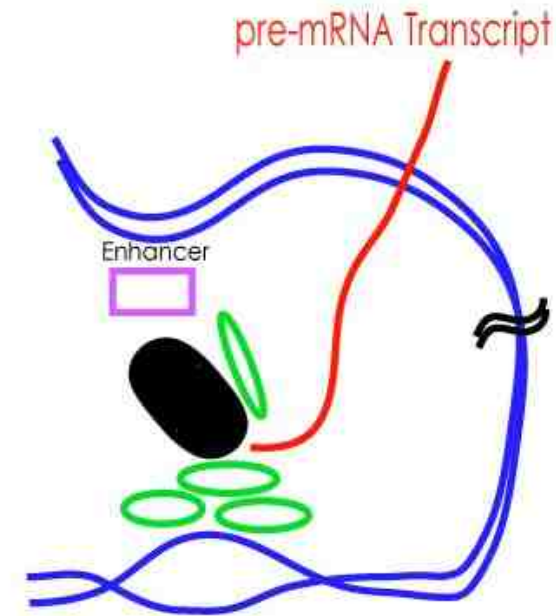
Fattori trascrizionali

Il promotore per i geni che codificano proteine è localizzato a monte rispetto al punto d'inizio della trascrizione ed è costituito da combinazioni diverse di elementi promotori.

Fattori trascrizionali specifici e fattori regolatori si legano a questi elementi e facilitano l'inizio della trascrizione da parte della RNA polimerasi II. In posizione più distale rispetto al promotore si trovano delle sequenze enhancer (intensificatori), alle quali si legano dei fattori regolatori che hanno la funzione di facilitare al massimo la trascrizione genica.



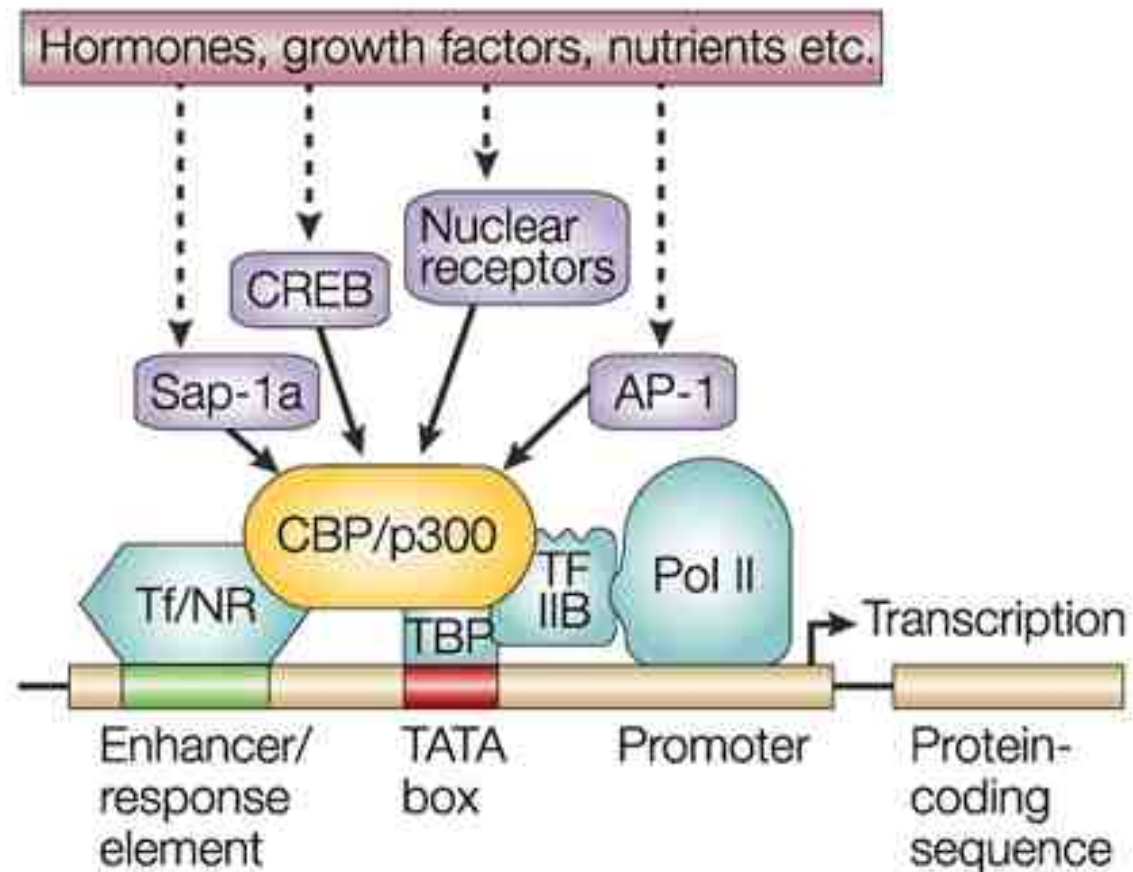
Basal transcription factors are **REQUIRED** for initiation!



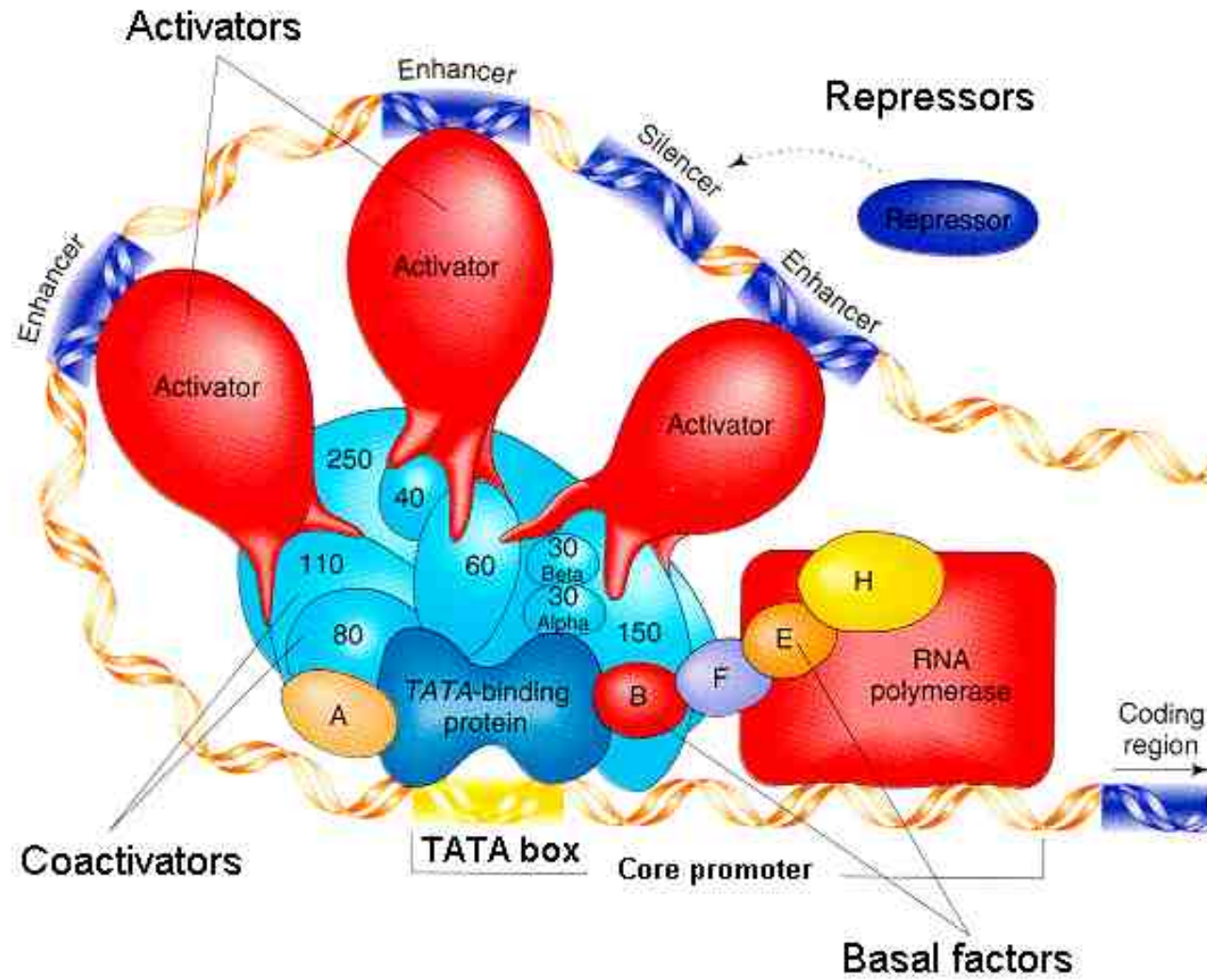
Distant enhancer sequences can also affect transcription!

Segnali cellulari regolano l'attività genica perché regolano il legame al DNA di fattori trascrizionali.

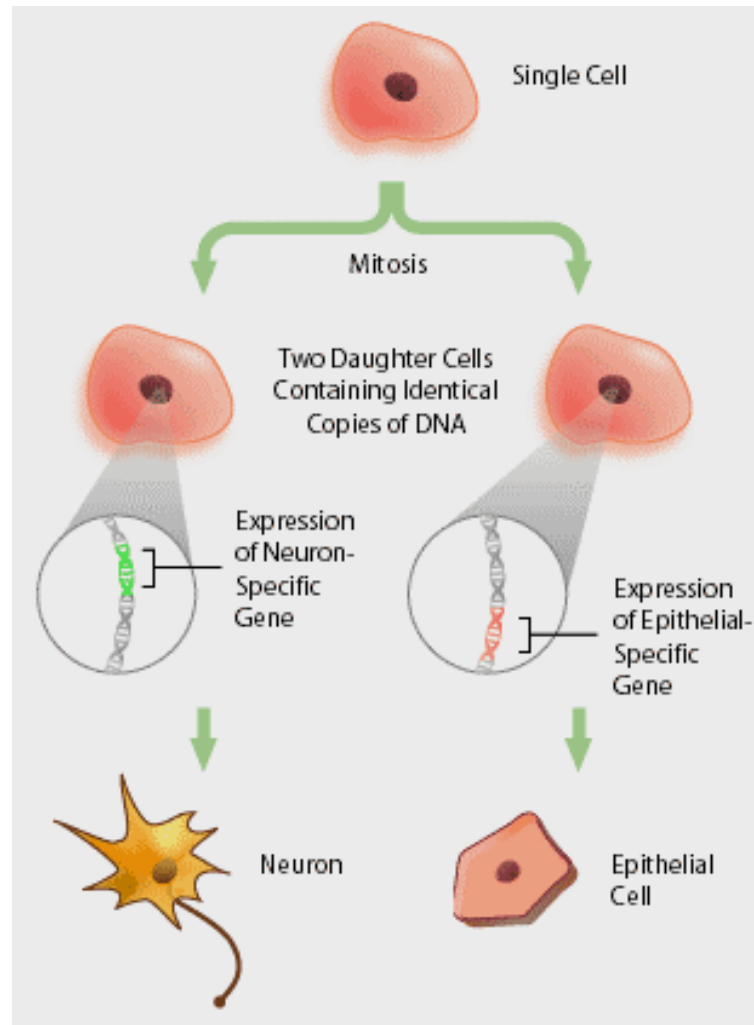
Una sequenza nucleotidica che lega fattori trascrizionali come TBP è la sequenza TATA chiamata "TATA box"



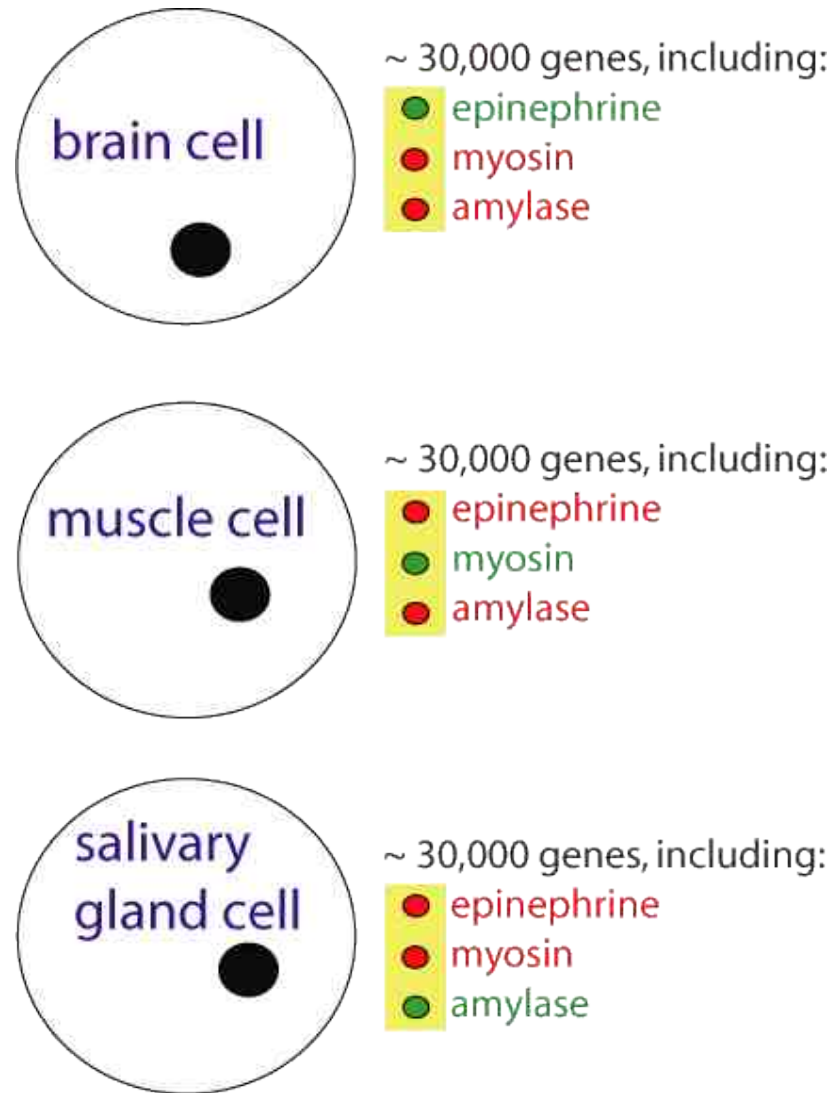
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



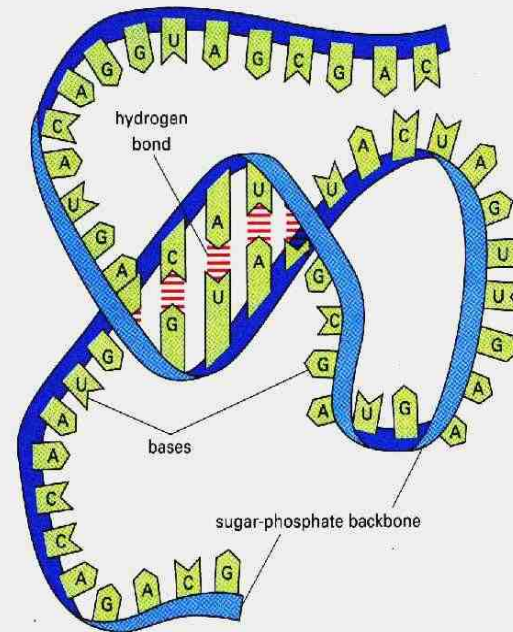
neuroni e cellule epiteliali dello stesso individuo hanno la stessa informazione genetica ma la usano in modo diverso.



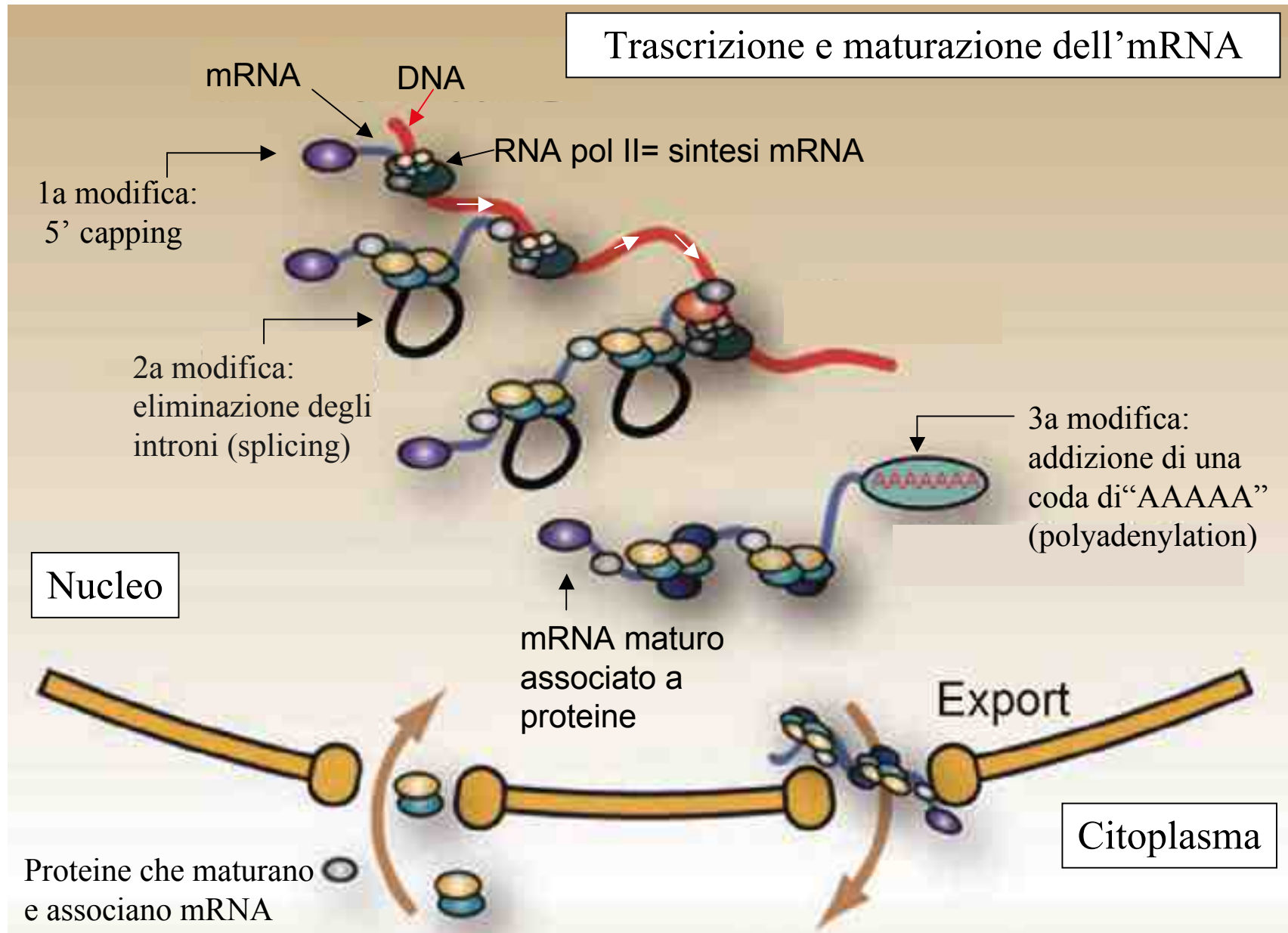
Esempio di 3 geni espressi in modo differenziato in tre tipi cellulari diversi:



mRNA



L'mRNA è sintetizzato sotto forma di pre-mRNA che subisce nel nucleo modifiche co- o post-trascrizionali: capping al 5', splicing (eliminazione degli introni) e aggiunta del poliA al 3'.



Transcription

gene

Exon 1 Intron 1 Exon 2 Intron 2 Exon 3

DNA

ACGTCTA	GTACTGCATT	AGCGATG	CATACG	ATGCATGCAA	GGCATAC
TGCAGAT	CATGACGTAAT	TCGCTAC	GTATGC	TACGTACGTTT	CCGTATG



RNA polymerase

ACGTCTA	GTACTGCATT	AGCGATG	CATACG	ATGCATGCAA	GGCATAC
---------	------------	---------	--------	------------	---------



RNA

TGCAGAT	CATGACGTAAT	TCGCTAC	GTATGC	TACGTACGTTT	CCGTATG
---------	-------------	---------	--------	-------------	---------

nuclear factors



hRNA

(heteronuclear)

splicing

GUACUGCAUU	AGCGAUG	CAUACG	AUGCAUGCAA	GGCAUAC
------------	---------	--------	------------	---------

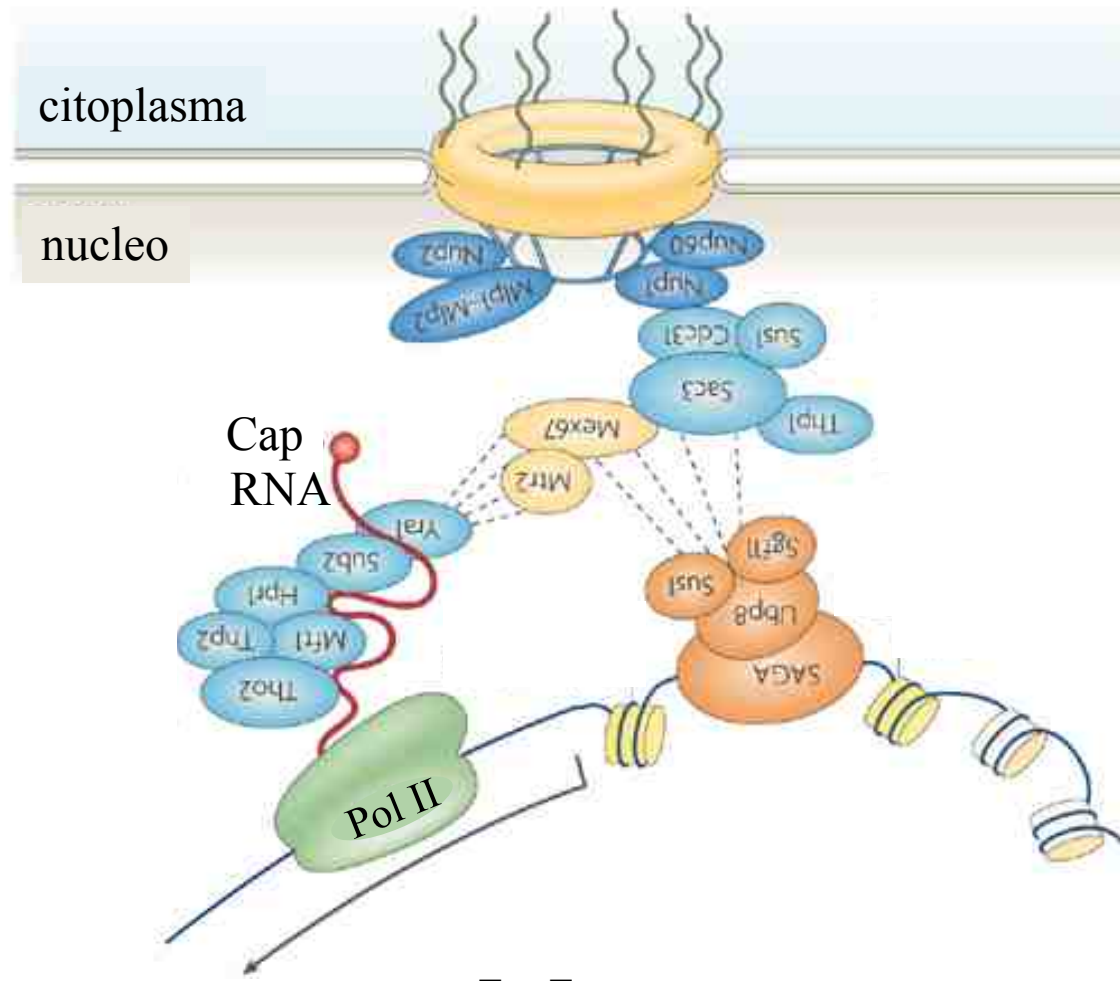
mRNA

(messenger)

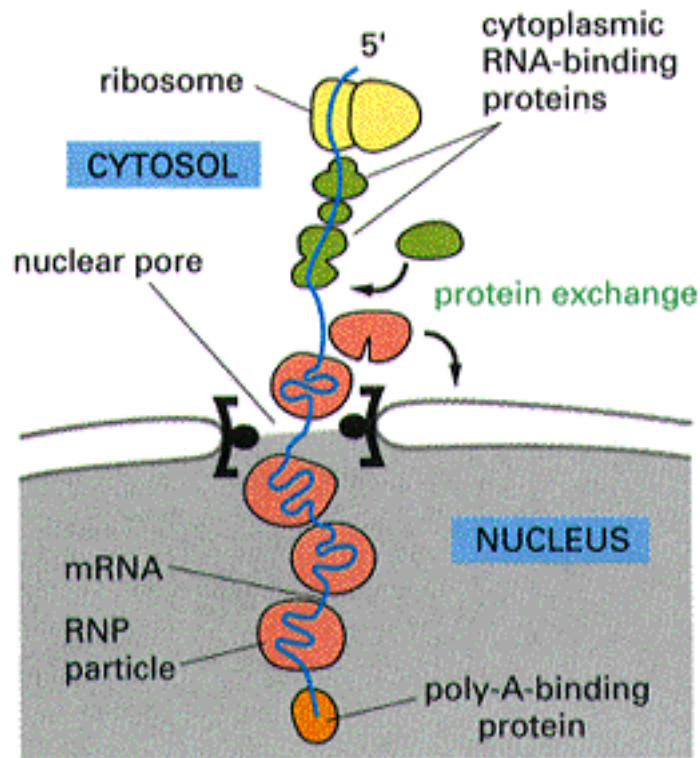
GUACUGCAUU	CAUACG	GGCAUAC	AAAAAAAAAAAA
------------	--------	---------	--------------

polyA tail

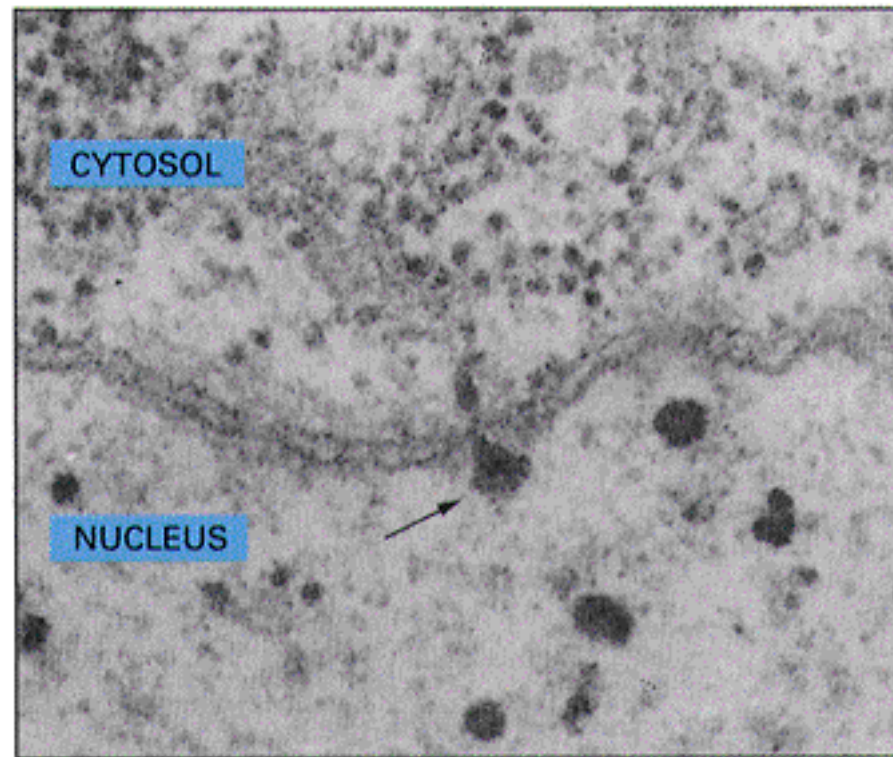
Sequenze di DNA attive trascrizionalmente sono localizzate in corrispondenza dei complessi del poro e l'attività di trascrizione, maturazione e trasporto degli mRNA è coordinata.



Trascrizione, trasporto, traduzione: L'mRNA è associato a molte proteine che regolano questi diversi passaggi



(A)



(B)

RNP: ribonucleoproteine

tRNA

tRNA

