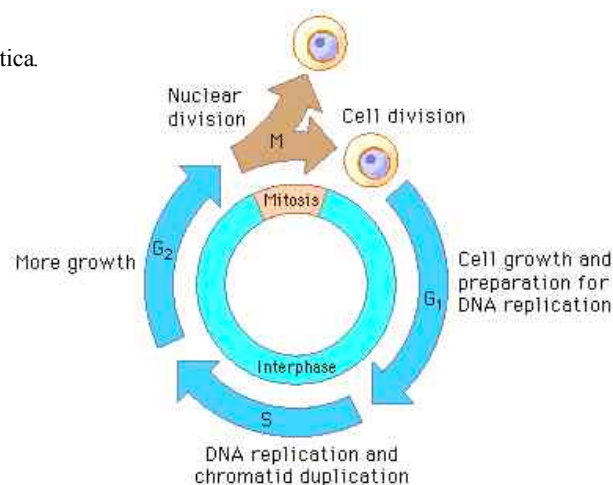


Ciclo cellulare

1

G1 sta per “gap 1”: intervallo o pre-sintesi
 S per sintesi
 G2 per gap 2, o post-sintesi
 M è la fase di divisione mitotica.

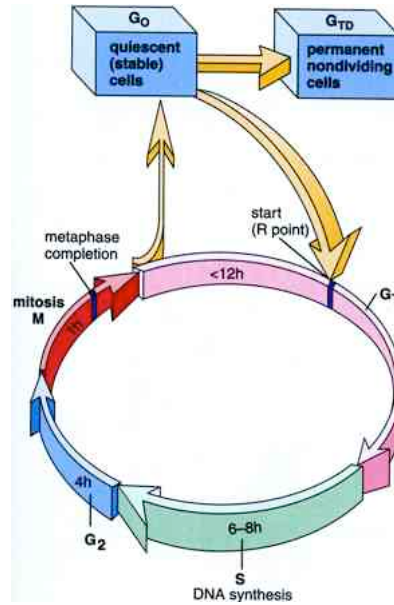
La durata del ciclo cellulare varia in funzione del tipo cellulare. Cellule in attiva proliferazione in coltura hanno un ciclo cellulare di 24 a 48 ore. La fase la cui durata varia maggiormente è la fase G1



G1, S, e G2 costituiscono l'interfasi

2

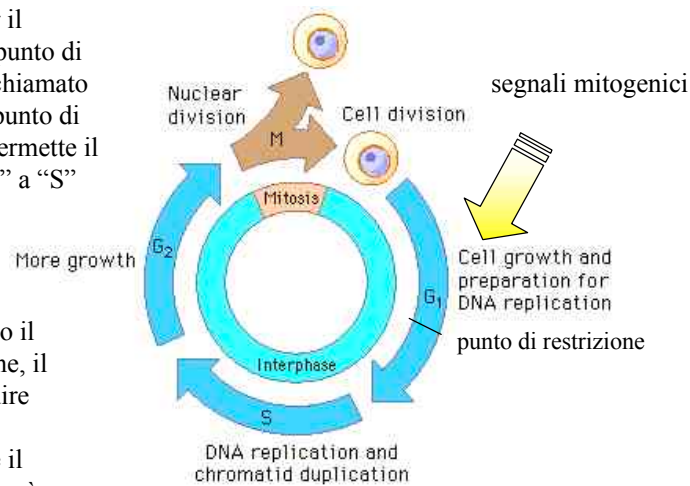
Le cellule che non si dividono più sono dette quiescenti o in G₀. Cellule come i neuroni del sistema nervoso centrale sono postmitotiche e rimangono in modo permanente in G₀. Altri tipi cellulari possono invece rientrare nel ciclo cellulare e compiere nuovamente la mitosi.



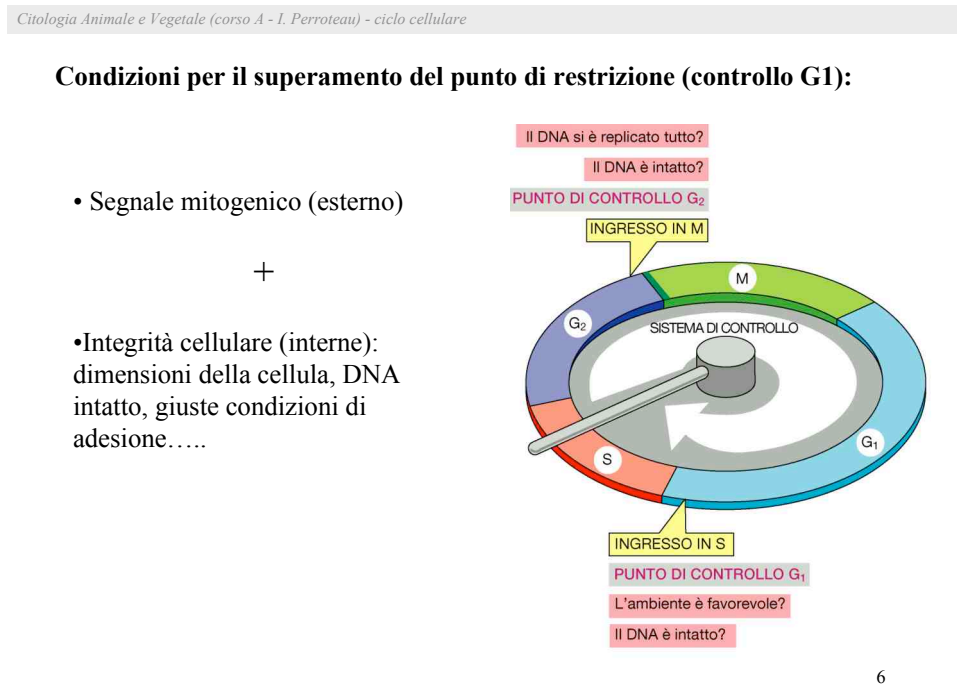
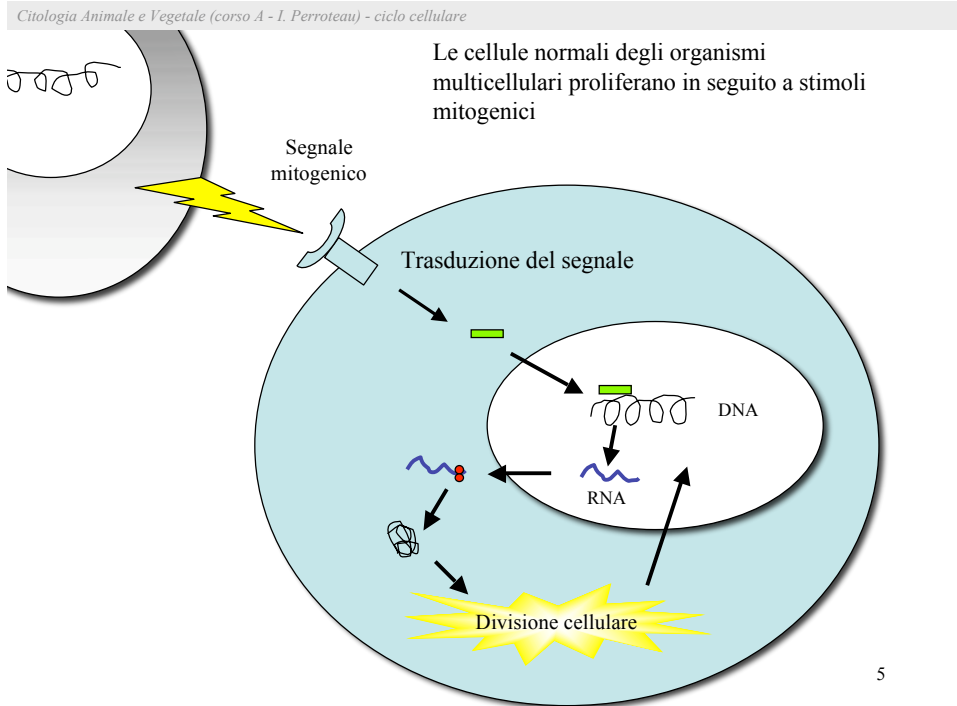
3

I segnali mitogenici sono indispensabili per il superamento del punto di controllo di G₁ (chiamato anche START o punto di restrizione) che permette il passaggio da "G₁" a "S"

Una volta superato il punto di restrizione, il ciclo può proseguire verso la divisione cellulare anche se il segnale mitogenico è stato rimosso.



4

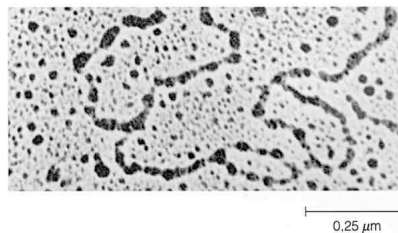
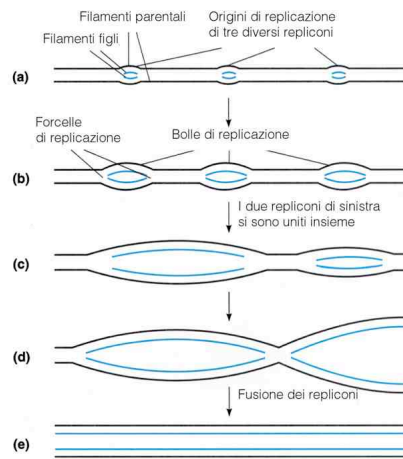
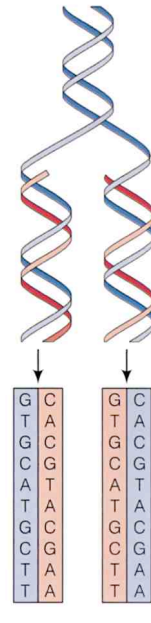
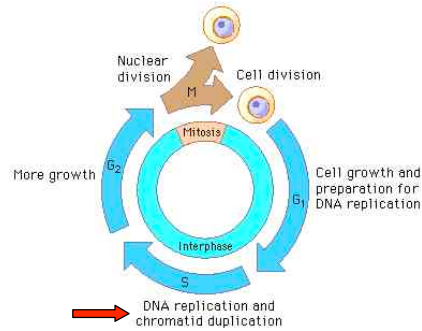


FASE S

Il superamento del punto di restrizione corrisponde permette la trascrizione di mRNA che codificano per enzimi necessari alla replicazione del DNA (compresa la DNA polimerasi).

La replicazione del DNA avviene nella fase S del ciclo cellulare, cioè durante l'interfase.

La replicazione del DNA è semi-conservativa

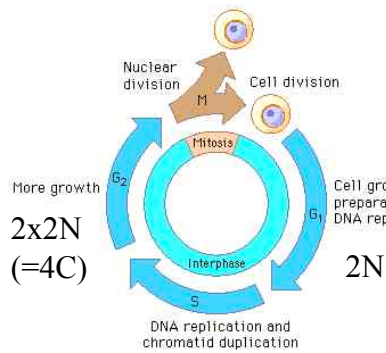


La replicazione del DNA inizia in più punti, in corrispondenza di regioni precise note come "origini di replicazione".

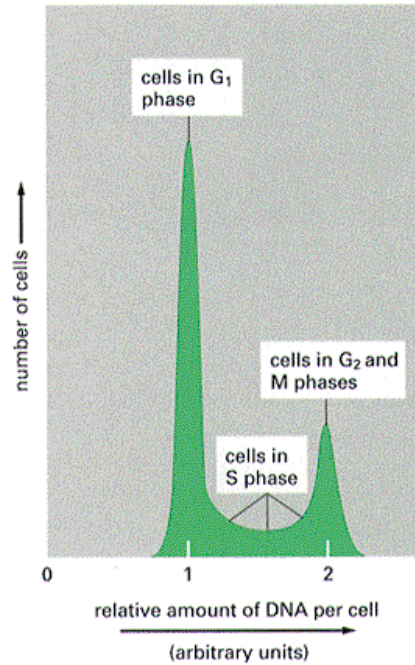
La cellula esce dalla fase S e entra nella fase G₂ quando tutto il DNA è stato replicato.

Figura 17-6

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare

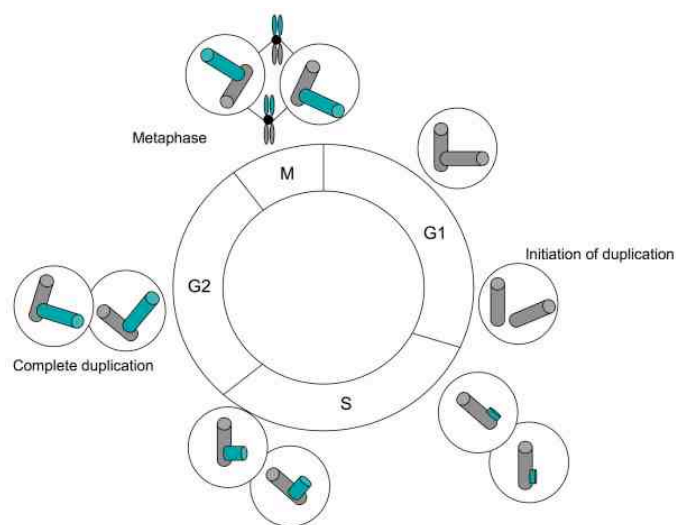


Le cellule in G₂ contengono due volte più DNA della cellula in G₁. La maggioranza delle cellule si trova in G₁ che è la fase più lunga del ciclo cellulare.



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare

La fase S corrisponde alla duplicazione del DNA ma anche dei centrioli e del centrosoma.



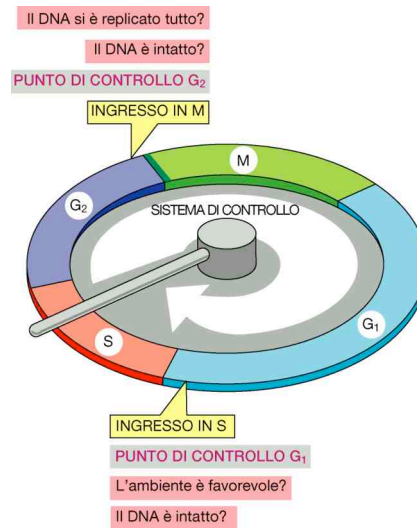
10

Condizioni per il superamento del punto di controllo G2:

La fase G2 permette alla cellula di raggiungere una dimensione sufficiente per poter affrontare la divisione mitotica.

Il punto di controllo G2 può essere superato se gli organelli sono cresciuti a sufficienza, se il DNA è intatto, se ci sono giuste condizioni di adesione.....etc

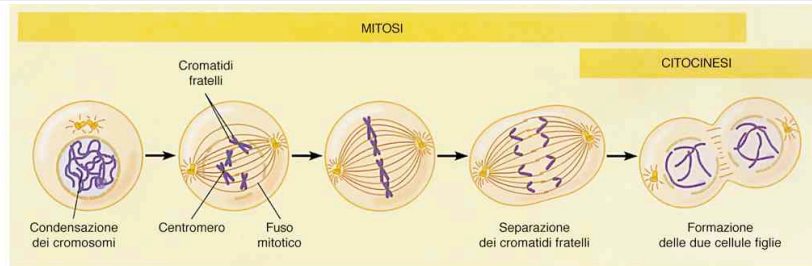
Il superamento del punto di controllo G2 corrisponde all'attivazione del MPF (Maturation Promoting Factor)



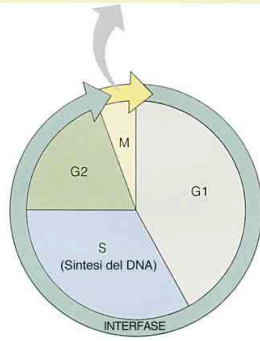
11

Mitosi

12



(a) La fase M (mitotica)

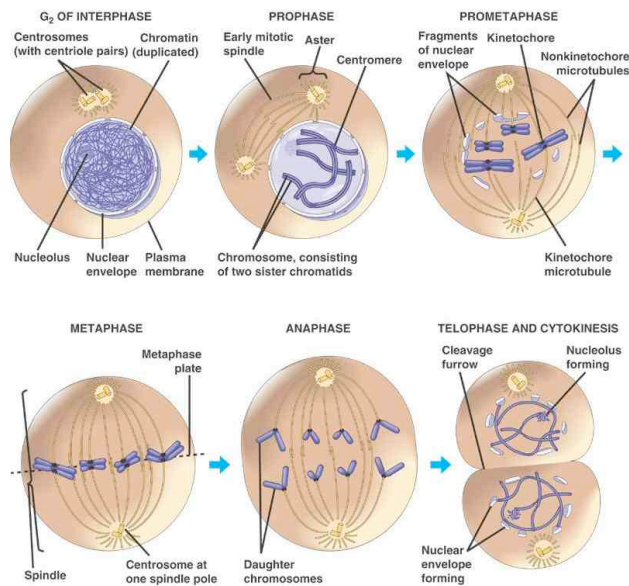


(b) Il ciclo cellulare

Le fasi della fase M

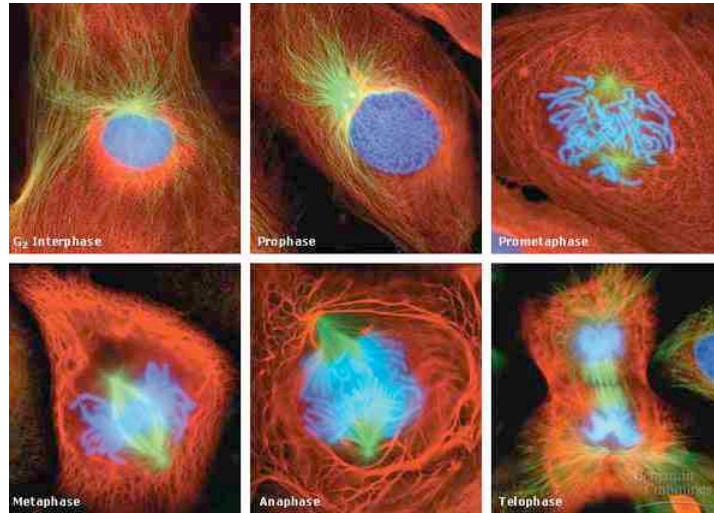
- Profase e prometafase
- Metafase
- Anafase
- Telofase e citocinesi

13



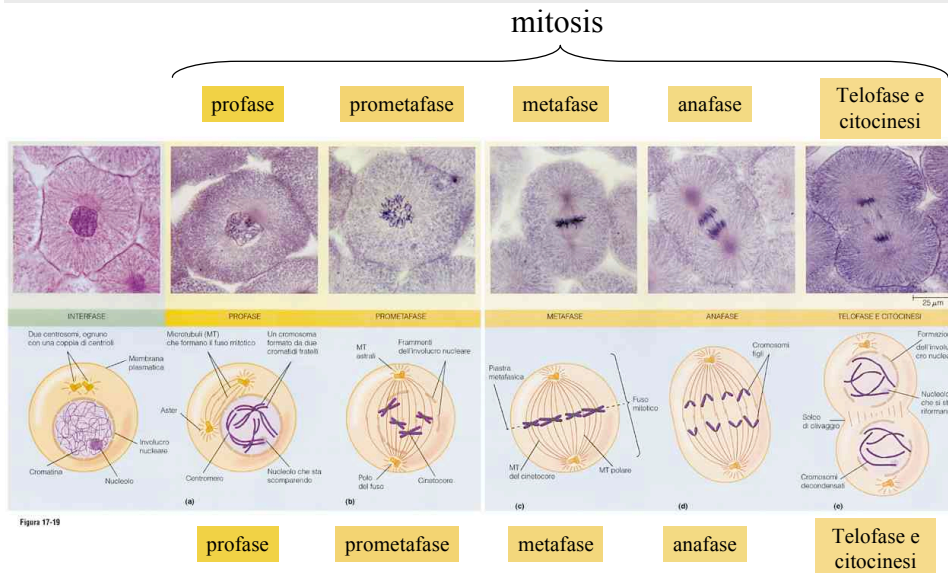
14

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare - mitosi



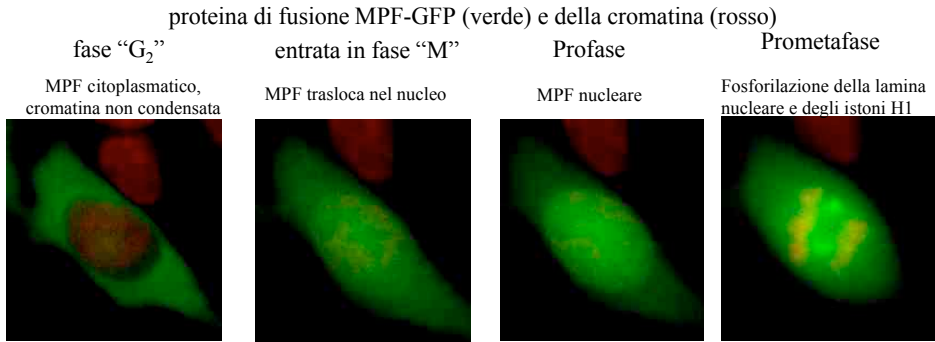
15

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare - mitosi



16

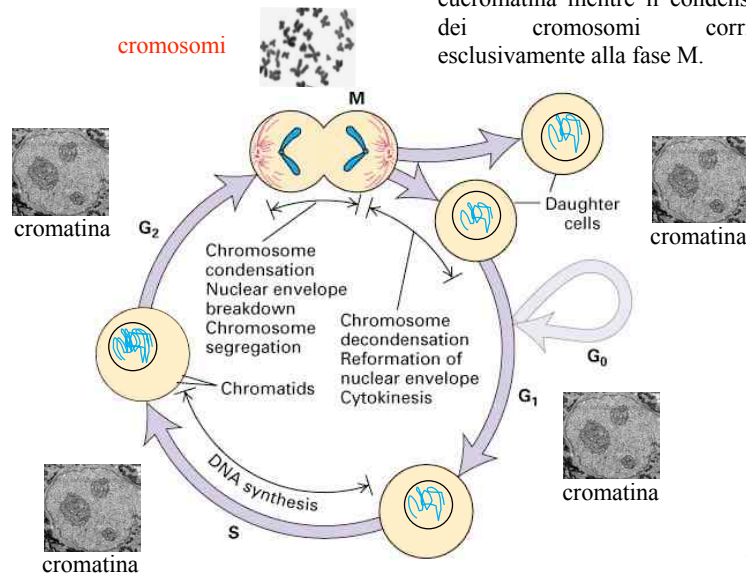
Fase M: L'entrata in fase M è dovuta all'attivazione del MPF e alla sua traslocazione nel nucleo.



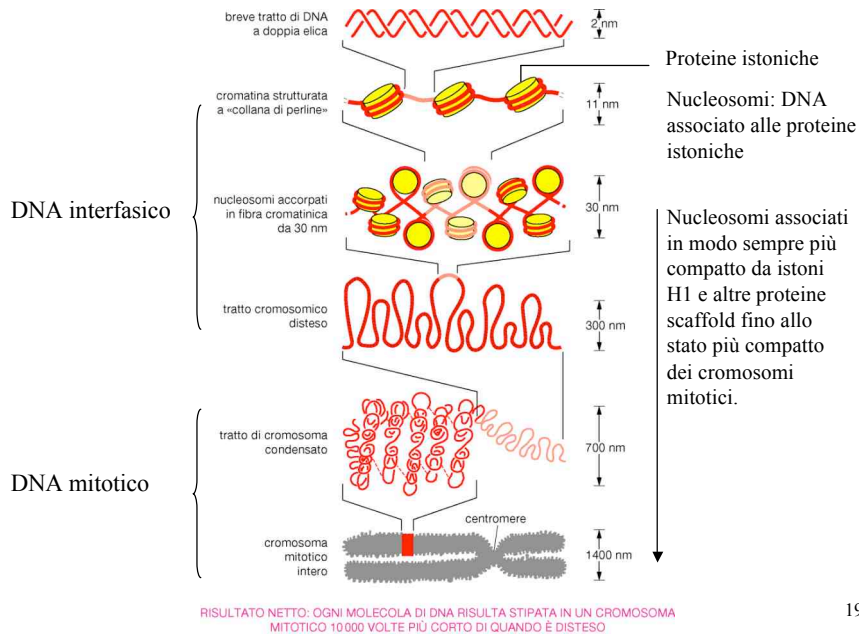
MPF porta al condensamento della cromatina, alla formazione del fuso mitotico e alla dissoluzione dell'involucro nucleare.

17

Durante tutta l'interfase il DNA è strutturato in eterocromatina e eucromatina mentre il condensamento dei cromosomi corrisponde esclusivamente alla fase M.



18

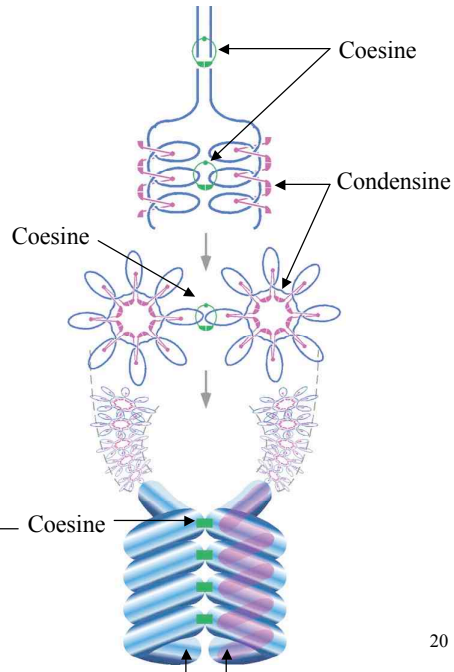


19

Condensamento della cromatina

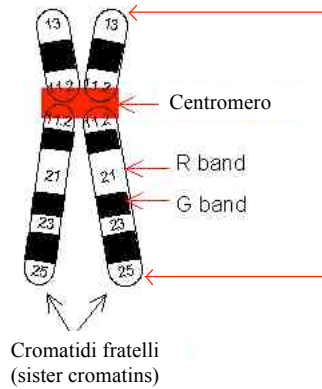
Le coesine tengono legati i cromatidi fratelli. Quando si entra in mitosi le condensine portano al condensamento della cromatina di ciascun cromatidi e le coesine tengono legati i cromatidi fratelli

Profase: cromatidi fratelli condensati e associati



20

Cromosomi



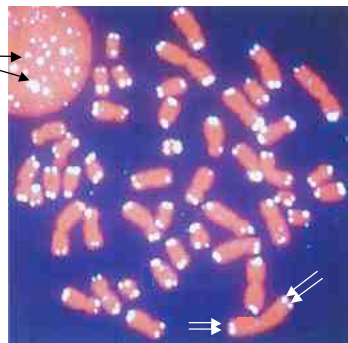
Telomeri: sequenze (ad esempio nell'uomo riptetizioni di TTAGGG) ripetute per centinaia di volte che si trovano all'estremità delle molecole di DNA.

21

Sequenze telomeriche: sequenze ripetitive localizzate alle estremità delle molecole di DNA.

Marcatura delle sequenze telomeriche tramite ibridazione in situ con sonde fluorescenti (questa tecnica è chiamata FISH: Fluorescence in situ hybridization)

Nucleo interfaseico
Le sequenze telomeriche appaiono disperse all'interno del nucleo.

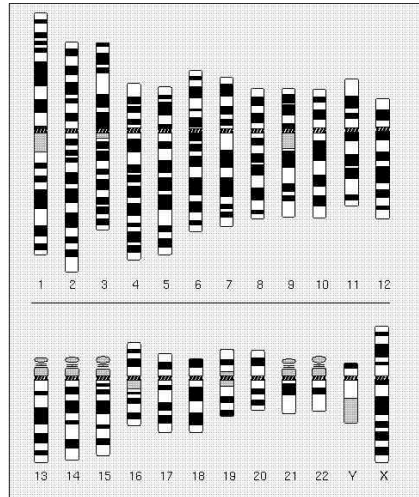


In rosso la marcatura generica per il DNA, in bianco la marcatura della sonda che ibridizza le sequenze telomeriche

Cromosomi metafasici

la localizzazione della marcatura per le sequenze telomeriche indica che le estremità delle molecole di DNA sono localizzate alle estremità dei cromosomi e che ciascun cromosoma è formato da due cromatidi. Notare l'avvicinanza delle marcature delle sequenze telomeriche dei due cromatidi fratelli all'estremità di ciascun cromosoma.

22



La bandeggiatura è specifica di ciascun cromosoma.

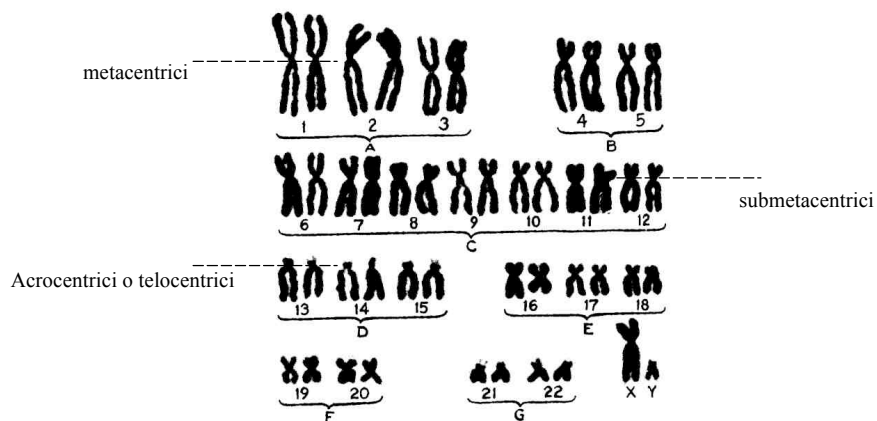
I cromosomi omologhi hanno la stessa bandeggiatura.

La bandeggiatura dei cromosomi di maschi e femmine (ovviamente nelle femmine non c'è cromosoma Y)

23

Cariotipo

Criteri per il riconoscimento dei cromosomi omologhi: lunghezza e posizione dei centromeri.

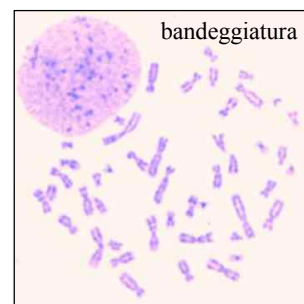
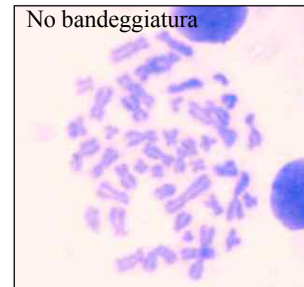


Questi due criteri possono mettere in evidenza alterazioni del numero dei cromosomi (ad esempio trisomia 21) ma non sono sufficienti per altre tipologie di alterazioni cromosomiche

24

I vari passi dello studio del cariotipo umano sono:

1. Prelievo di sangue
 2. Centrifugazione per ottenere i globuli bianchi
 3. **Stimolazione alla mitosi** dei globuli bianchi
 4. Essi vengono **bloccati nella metafase mitotica con la colchicina** (una sostanza estratta dal colchico)
 5. Le cellule vengono fatte scoppiare immergendole in una soluzione tampone per **lisi osmotica**
 6. La piastra metafasica viene isolata
 7. I **cromosomi vengono colorati** con sostanze che si fissano selettivamente a determinate zone cromosomiche, dando luogo ad un caratteristico aspetto a bande (**metodo del banding**) : bande Q, G o R secondo la tecnica di colorazione utilizzata.
 8. La piastra metafasica viene fotografata
- I cromosomi omologhi hanno gli stessi bandeggi e il loro centromero è nella stessa posizione.**

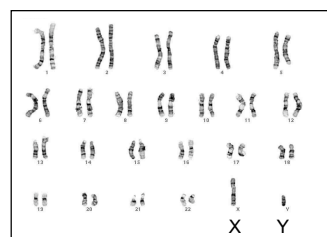


Cariotipo umano: 46 cromosomi (23 cromosomi di origine paterna + 23 cromosomi di origine materna). I 46 cromosomi sono suddivisibili in 22 paie di autosomi + 1 paio di cromosomi sessuali (XY per i maschi e XX per le femmine)

Cromosomi mitotici di un maschio



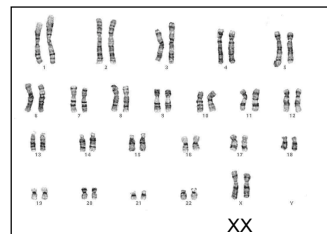
Cariotipo



Cromosomi mitotici di una femmina



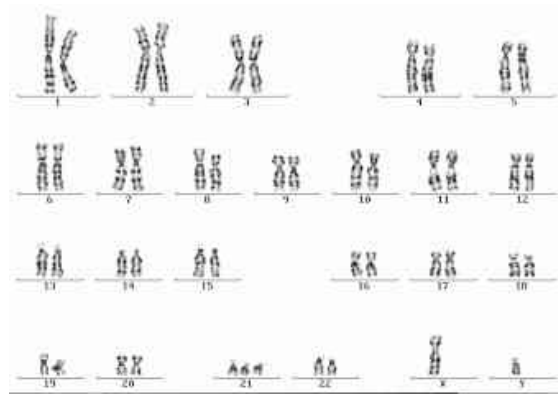
Cariotipo



Citogenetica = studio dei cariotipi

26

L'analisi del cariotipo permette di evidenziare eventuali anomalie cromosomiche, sia numeriche (quali trisomie, monosomie), che strutturali (traslocazioni, delezioni ed inversioni).

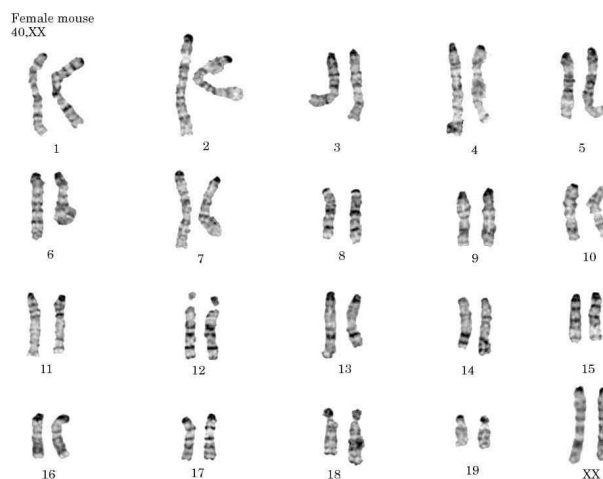


↑
Trisomia 21 (sindrome di Down)

27

Il numero di cromosomi è funzione della specie.

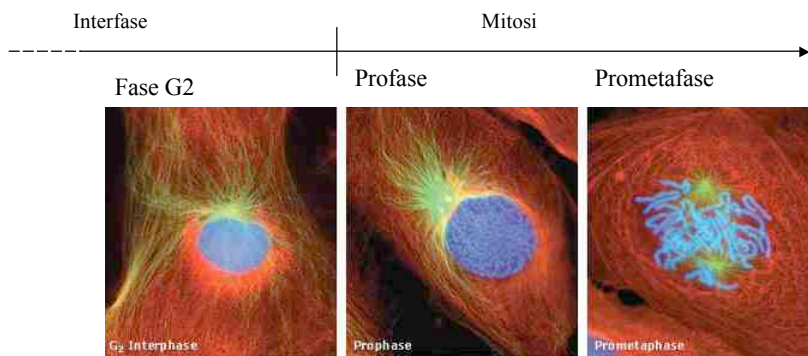
Cariotipo di una femmina di topo (20 cromosomi)



28

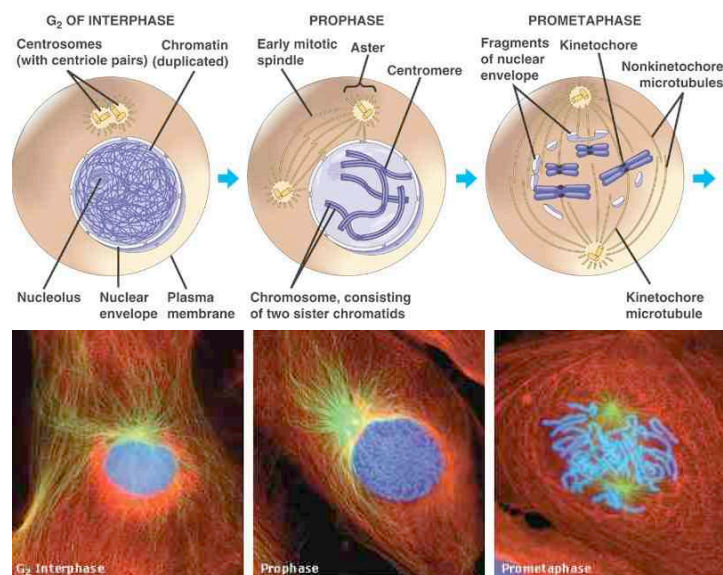
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare - mitosi

Profase e prometafase: MPF fosforila proteine scaffold che si legano alla cromatina e ne promuovono il condensamento. MPF promuove anche la formazione del fuso mitotico e la separazione dei centrosomi. La fosforilazione della lamina nucleare destabilizza l'involucro nucleare che sparisce. In prometafasi non esiste più la separazione tra nucleo e citoplasma.



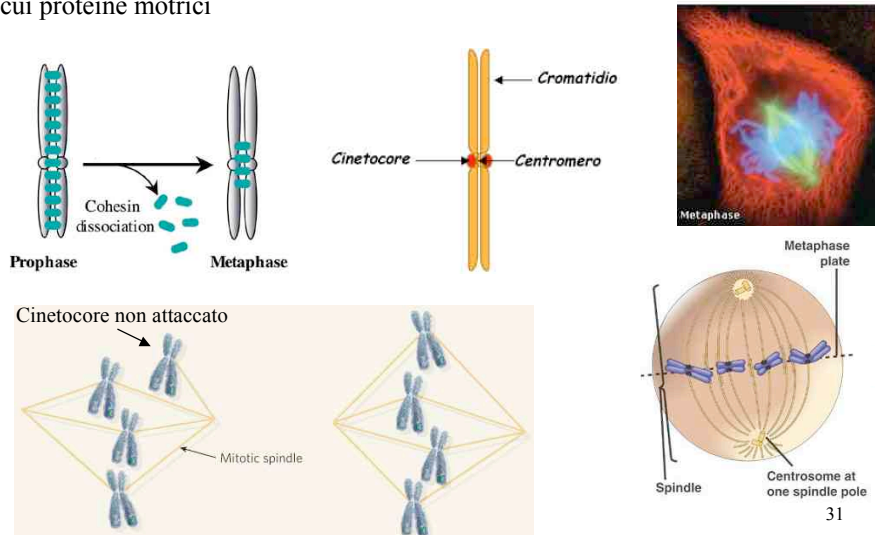
29

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - ciclo cellulare - mitosi

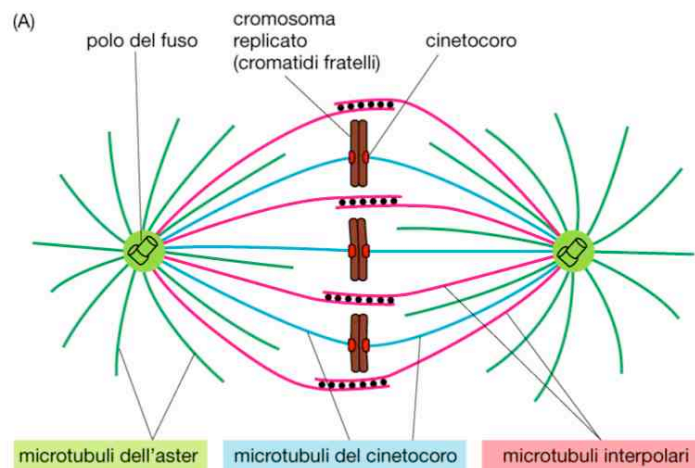


30

Metafase: i cromatidi fratelli legati da molecole di coesine rimangono associati a in corrispondenza del centromero. A livello del centromero si organizza anche un cinetocore per ciascun cromatidi. I cinetocori concentrano numerose proteine tra cui proteine motrici



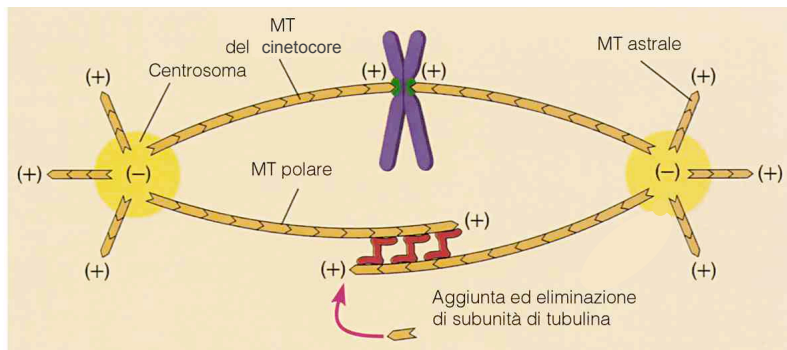
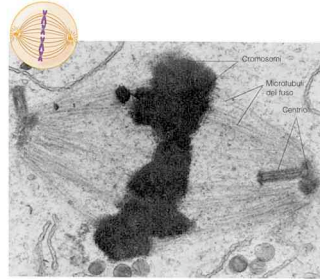
31



32

Metafase

Le forze di trazione dei cromosomi verso ciascun polo del fuso raggiungono l'equilibrio quando i cromosomi sono equidistanti dei due poli (piastra metafasica).
I cromosomi non allineati sulla piastra metafasica impediscono l'entrata in anafase.



33

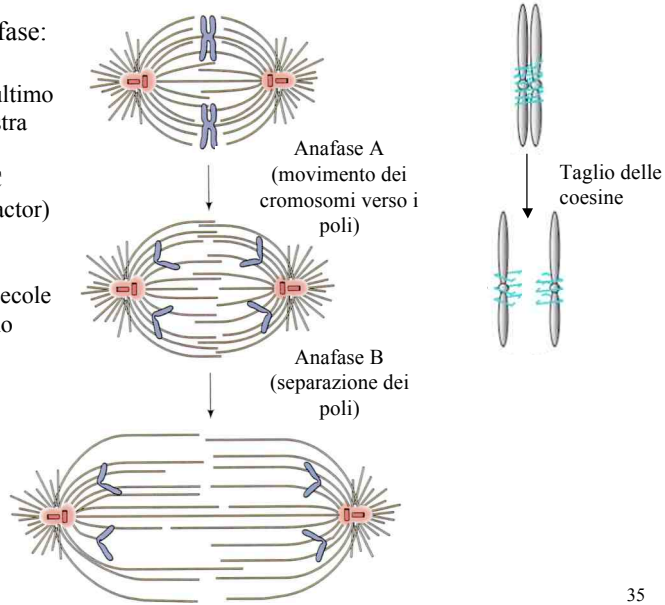
proteina di fusione MPF-GFP (verde) e della cromatina (rosso)

fase "G ₂ "	entrata in fase "M"	Profase	Prometafase
MPF citoplasmatico, cromatina non condensata	MPF trasloca nel nucleo	MPF nucleare	Fosforilazione della lamina nucleare e degli istoni H1
	<p>L'APF promuove la distruzione del MPF (notare la diminuzione della fluorescenza della proteina di fusione): questo permette la decondensazione della cromatina e la ricostruzione dell'involucro nucleare.</p>		
Allineamento di tutti cromosomi Metafase	Anafase		Telofase

34

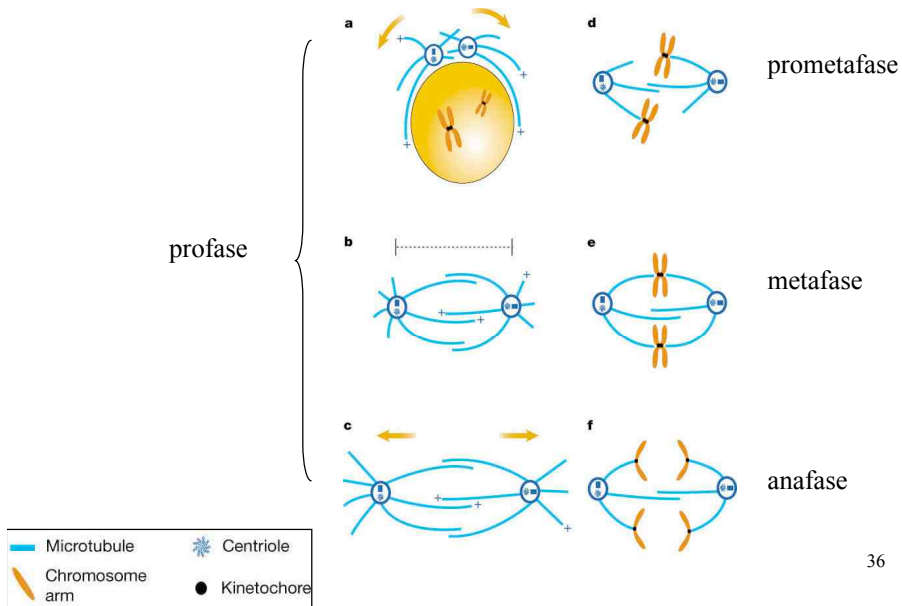
Da metafase a anafase:

L'allineamento dell'ultimo cromosoma sulla piastra metafisica permette l'attivazione del APC (anafase promoting factor) e l'entrata in anafase. L'APC promuove la distruzione delle molecole di coesina che tengono associati i cromatidi fratelli.



35

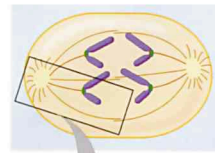
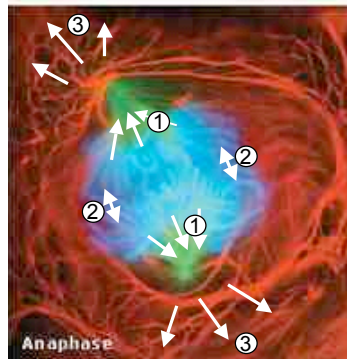
Ruolo e organizzazione dei microtubuli nelle diverse fasi della mitosi



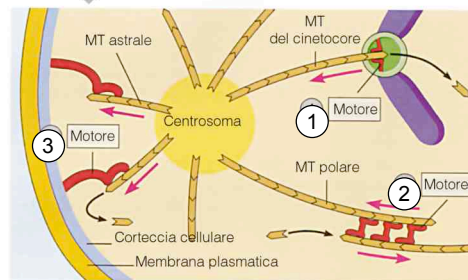
36

Anafase

3 tipologie di forze concorrono alla separazione dei cromatidi fratelli



Regolazione differenziata dei microtubuli

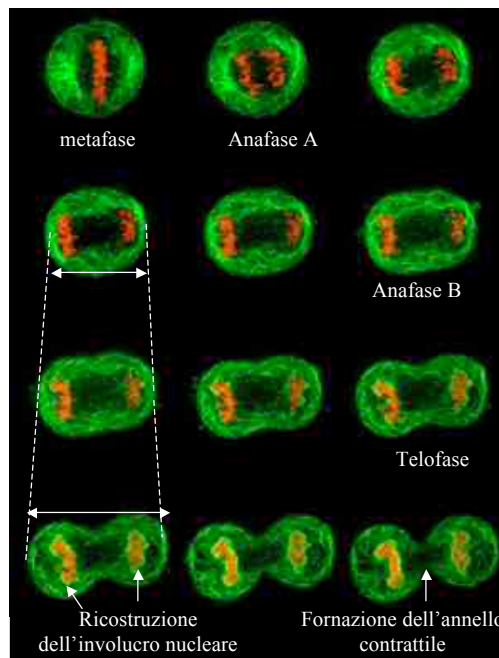


- ① I microtubuli legati ai cinetocori si accorciano e proteine motrici della famiglia delle dineine spostano i cromosomi verso i poli del fuso (centrosomi)
- ② I microtubuli polari si allungano e proteine motrici della famiglia delle cinesine che interagiscono con microtubuli dei poli opposti forniscono la forza motrice che allontana i poli del fuso
- ③ I microtubuli astrali si accorciano e proteine motrici della famiglia delle dineine associate alla membrana plasmatica forniscono la forza motrice che attira alla periferia ciascun polo del fuso

37

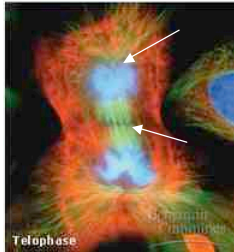
Da anafase a telofase

L'APC oltre alla distruzione della coesina permette anche la distruzione del MPF. In assenza di MPF la cromatina si decondensa e la lamina nucleare non più fosforilata può sostenere la formazione dell'involucro nucleare.



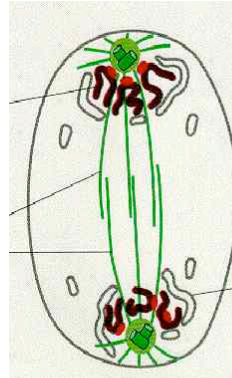
38

Telofase



I cromosomi si decondensano e non sono più associati ai microtubuli

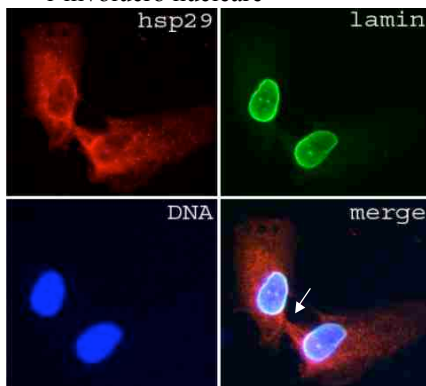
I microtubuli dei poli si allungano ulteriormente, sono concentrati nella parte centrale e proteine motrici che associano questi microtubuli forniscono la forza che continua ad allontanare i centrosomi



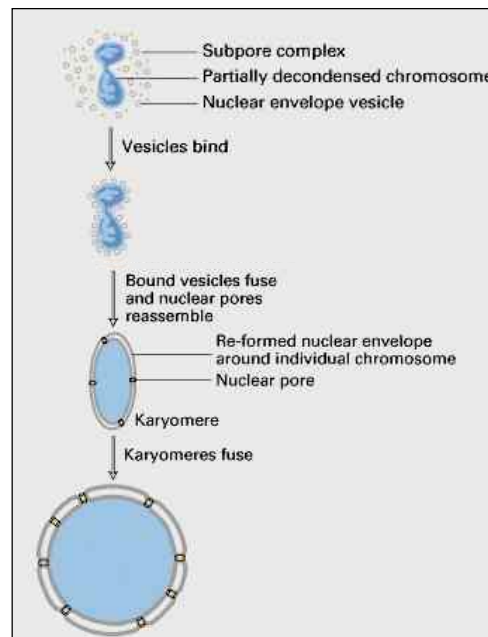
L'involucro nucleare si riforma attorno alla cromatina

39

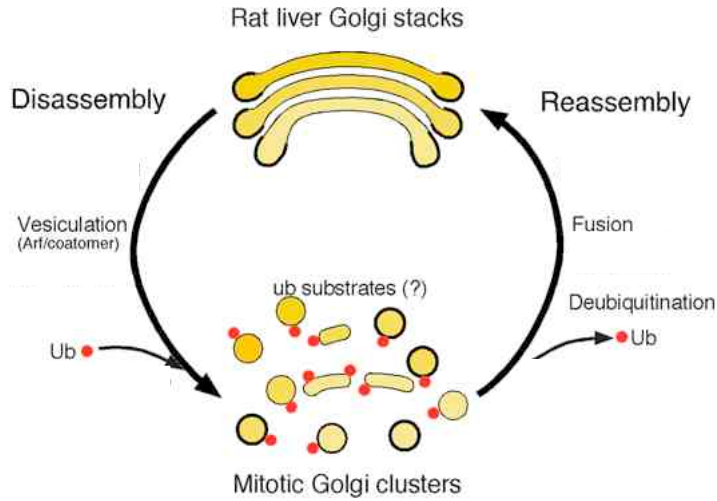
La cromatina associa attorno a se vescicole che si fondono per formare l'involucro nucleare



La lamina nucleare (marcatura verde) è localizzata attorno alla cromatina (marcatura blue) come si vede dalla sovrapposizione (merge) delle marcature. I microtubuli (marcatura rossa) non sono più associati alla cromatina ma mantengono separate le due cellule figlie prima della citocinesi (fleccia).

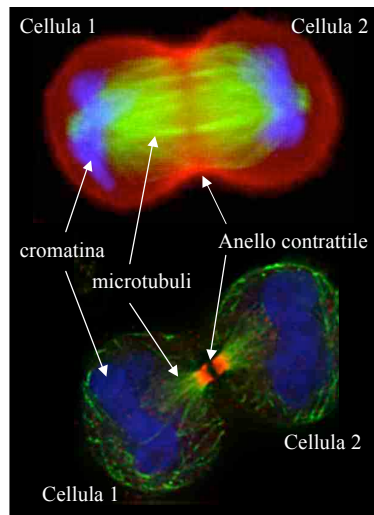


Reticolo endoplasmatico e apparato di Golgi vanno anche loro incontro a disassemblaggio durante la mitosi e si riassemblano nelle cellule figlie

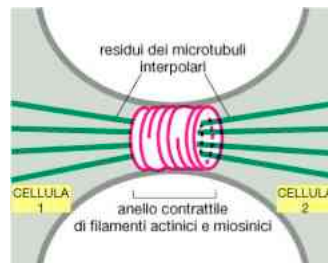


41

Citocinesi



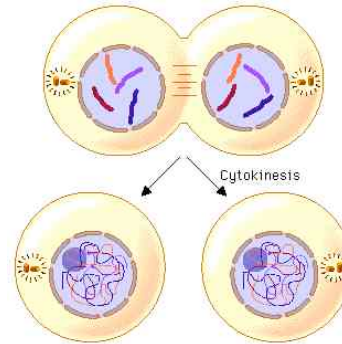
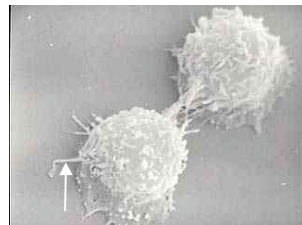
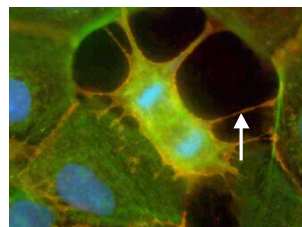
L'anello contrattile di actomiosina si forma attorno ai microtubuli dei poli e si restringe fino alla separazione delle due cellule figlie



42

Citocinesi

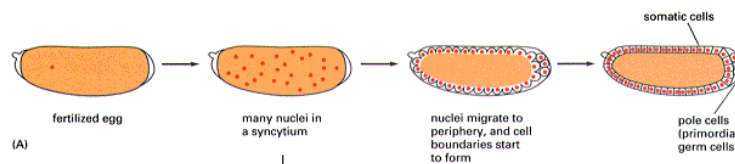
I punti focali di adesione sono importanti per generare le forze di separazione delle due cellule figlie.



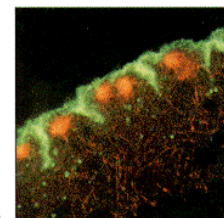
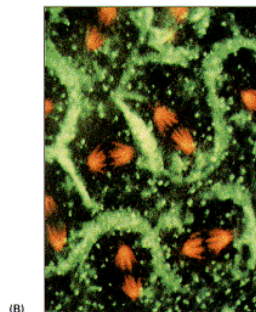
L'adesione cellulare necessaria per la risposta ai fattori mitogenici si allentata durante la mitosi. Questo permette anche l'inserimento delle cellule neoformate nel tessuto.

In alcuni casi la divisione non è completa e i citoplasma rimangono connessi: in questo caso si parla di sincizio.

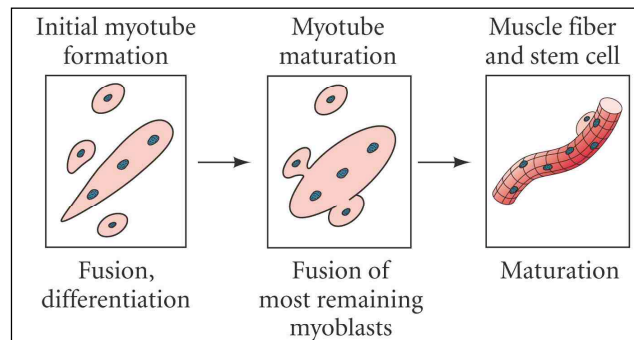
Drosophila



In molti insetti, il blastoderma che si forma all'inizio dello sviluppo embrionale è un sincizio formato da divisioni incomplete.



Anche le fibre muscolari sono un sincizio ma in questo caso il sincizio è dovuto a fusione cellulare (mioblasti) e non a divisioni incomplete.



45

Legge della grandezza cellulare costante (legge di Dietrich)

Cellule dello stesso tipo, in individui di differente mole hanno grandezza uguale, da cui ne derivò la **legge di Driesch o della grandezza cellulare costante** che afferma che non è la grandezza ma il numero delle cellule che condiziona la diversa mole corporea.

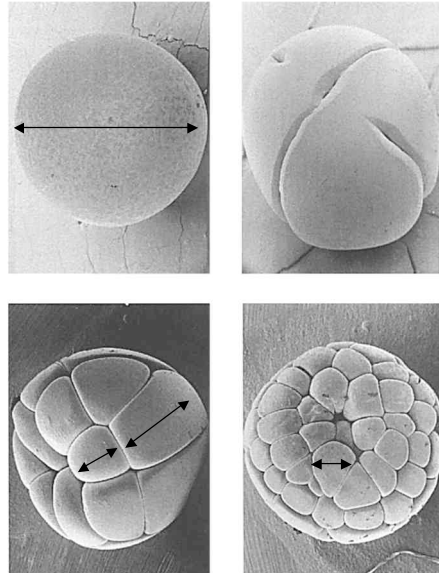
- Cellule somatiche dello stesso tipo in animali di mole diversa hanno la stessa grandezza
- Eccezioni: fibre muscolari scheletriche, neuroni
- Variazioni in conseguenza di stimoli funzionali:
 - Ipertrofia cellulare
 - Ipotrofia cellulare

46

I primi cili di divisione cellulare dividono lo zigote in molte cellule più piccole.

Nei primi cicli di divisione cellulare dopo la fecondazione, le fasi G1 e G2 sono ridotte al minimo in quanto non è necessaria la crescita cellulare.

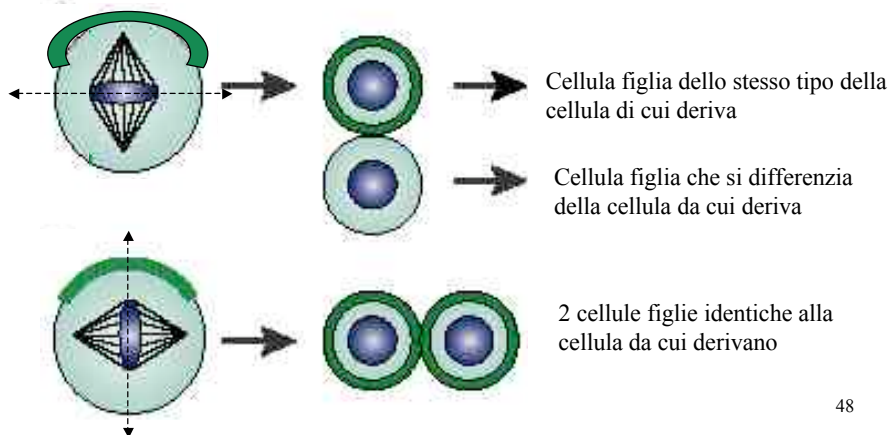
Divisioni cellulari asimmetriche differenziano il polo animale dal polo vegetale (Xenopus).



47

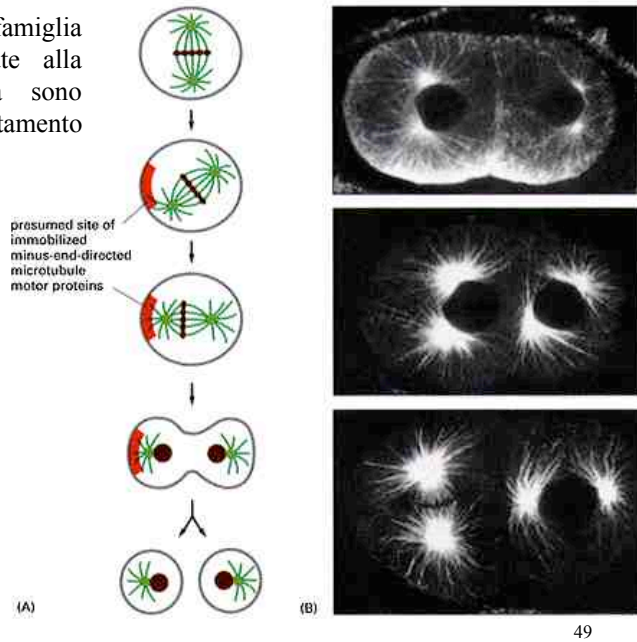
Divisioni cellulari asimmetriche possono anche essere alla base del differenziamento cellulare

Ruolo dell'orientamento del fuso mitotico e della localizzazione polarizzata di proteine o mRNA. La divisione cellulare può portare alla produzione di due cellule identiche (piano di divisione perpendicolare ai determinanti polarizzati) oppure a due cellule che si differenziano da un punto di vista dell'eredità citoplasmatica (piano di divisione parallelo ai determinanti polarizzati).

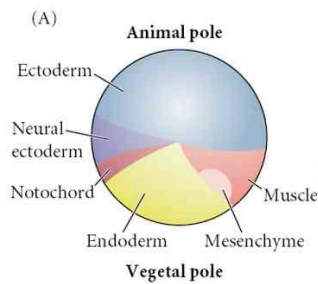


48

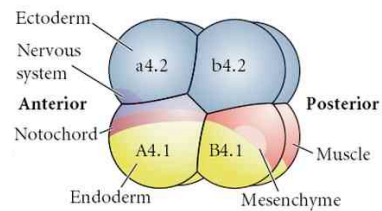
Proteine motrici della famiglia delle dineine associate alla membrana plasmatica sono responsabile dell'orientamento del fuso mitotico



Sviluppo del riccio di mare

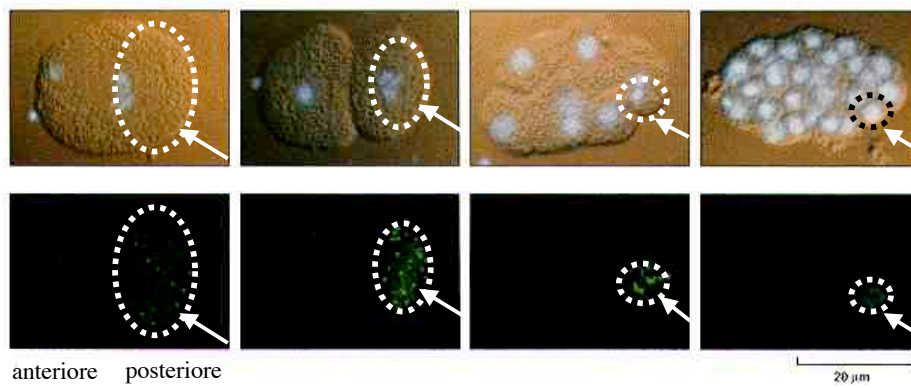


Regionalizzazione citoplasmatica nella cellula uovo



Embrioni a 8 cellule

Divisioni successive asimmetriche segregano granuli P nella cellula fondatrice della linea germinale nel nematode (C. Elegans)



51

52