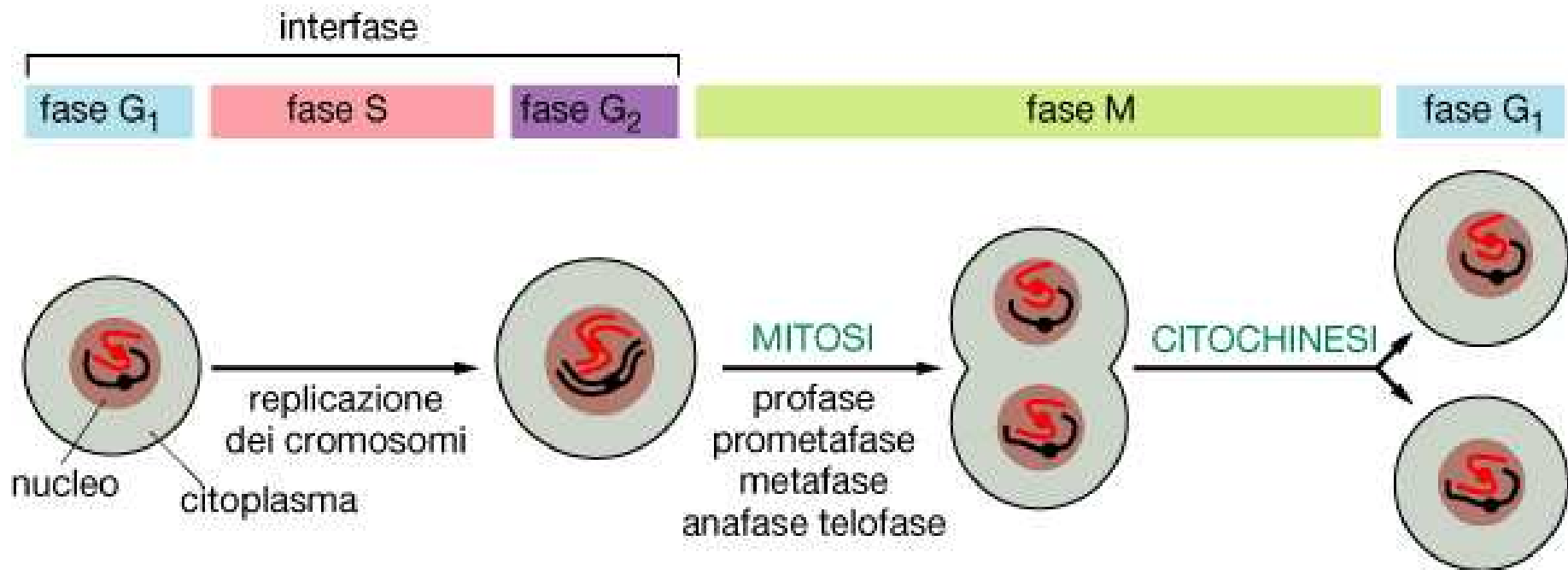


**Le cellule eucariotiche svolgono
durante la loro vita una serie ordinata
di eventi che costituiscono il
Ciclo Cellulare**



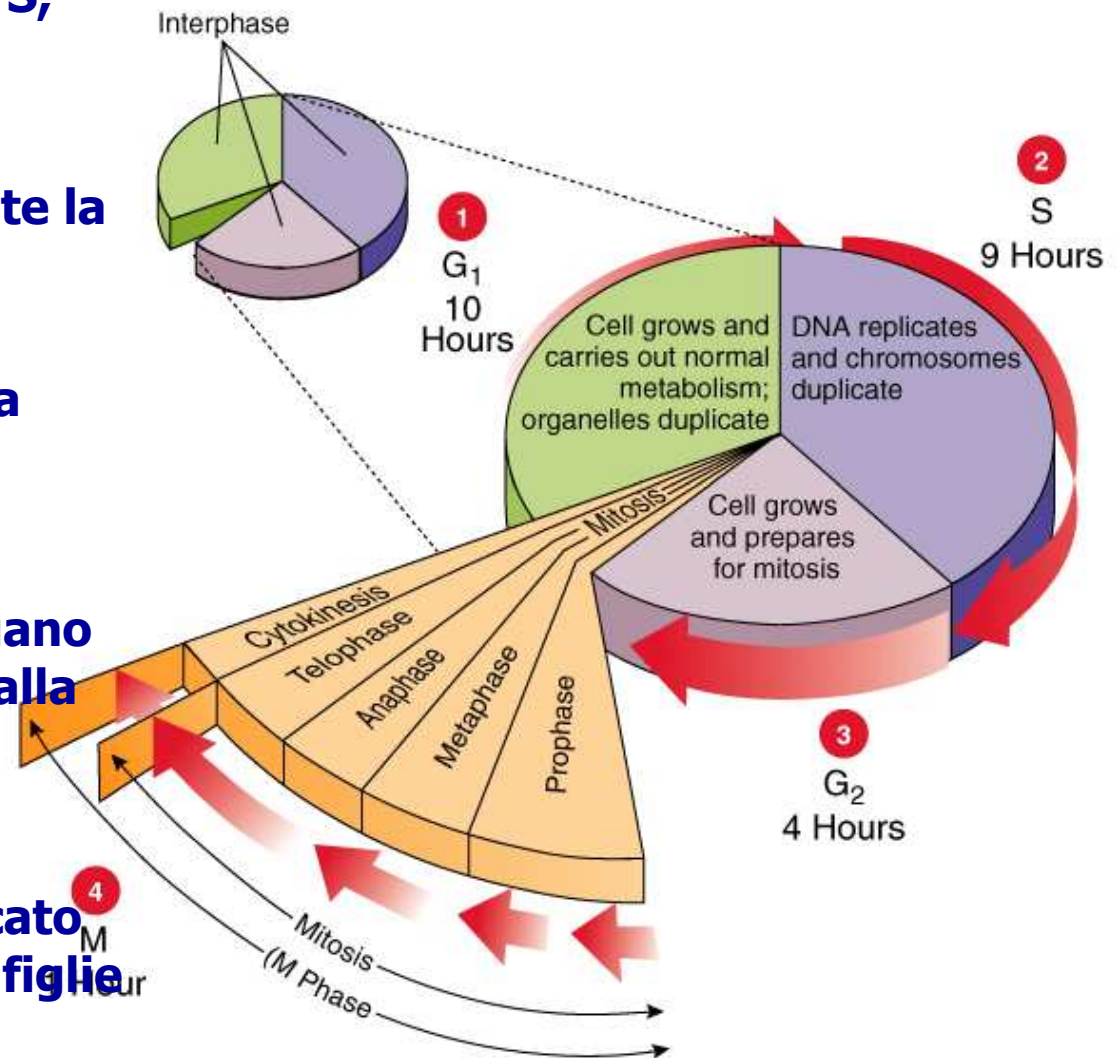
Interfase comprende le fasi G_1 , S, and G_2

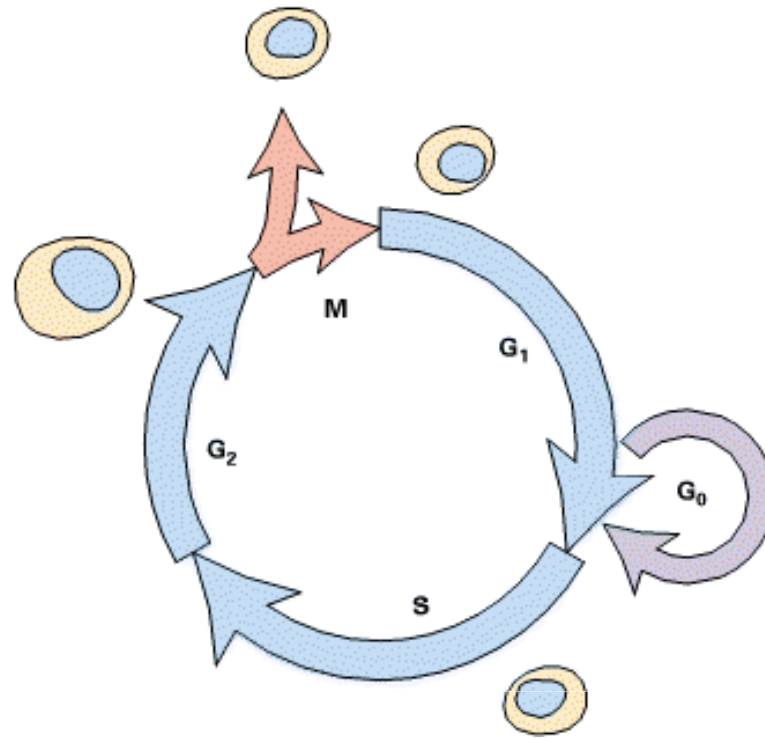
Sintesi di macromolecole durante la fase G_1

Duplicazione del DNA durante la fase S.

Durante la G_2 le cellule continuano l'accrescimento e si preparano alla divisione

Durante la fase M il DNA duplicato viene suddiviso alle due cellule figlie



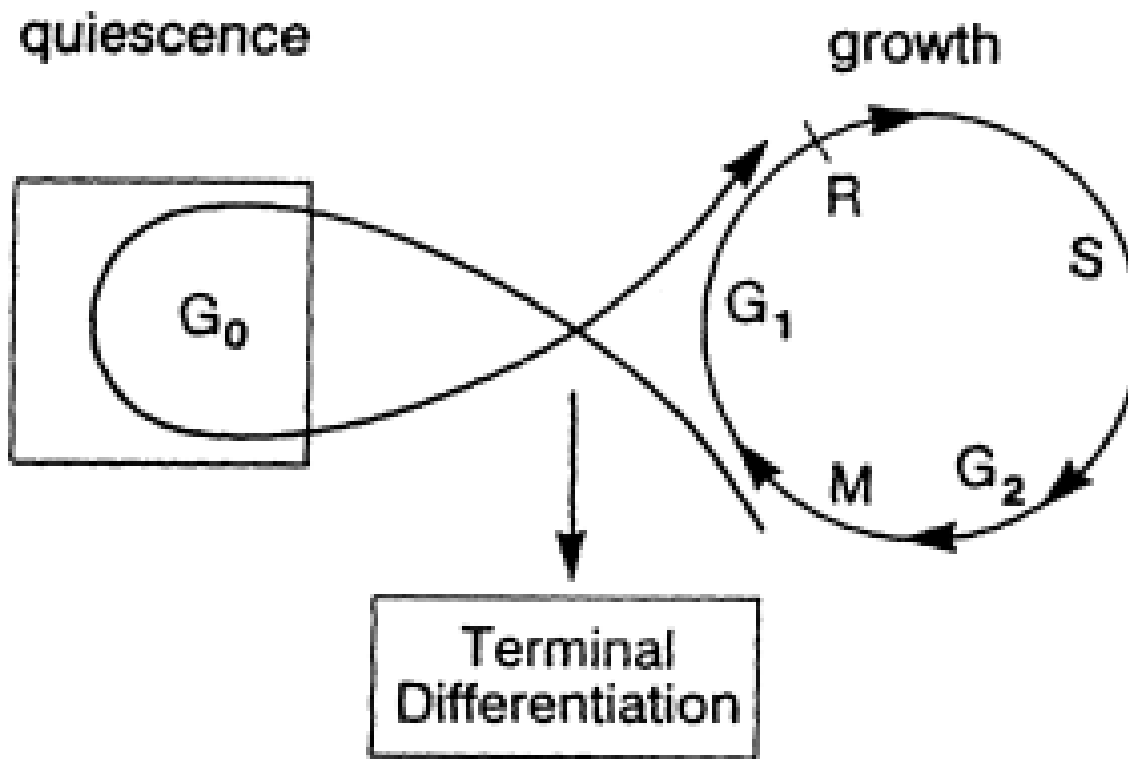


Negli organismi multicellulari le cellule post-mitotiche possono “uscire” dal ciclo cellulare ed entrare in uno stato di riposo specializzato chiamato G_0 .

La cellula può rimanere in G_0 per giorni, settimane o anche anni prima di riprendere la proliferazione.

Alcuni tipi cellulari restano permanentemente in G_0

Cell Proliferation



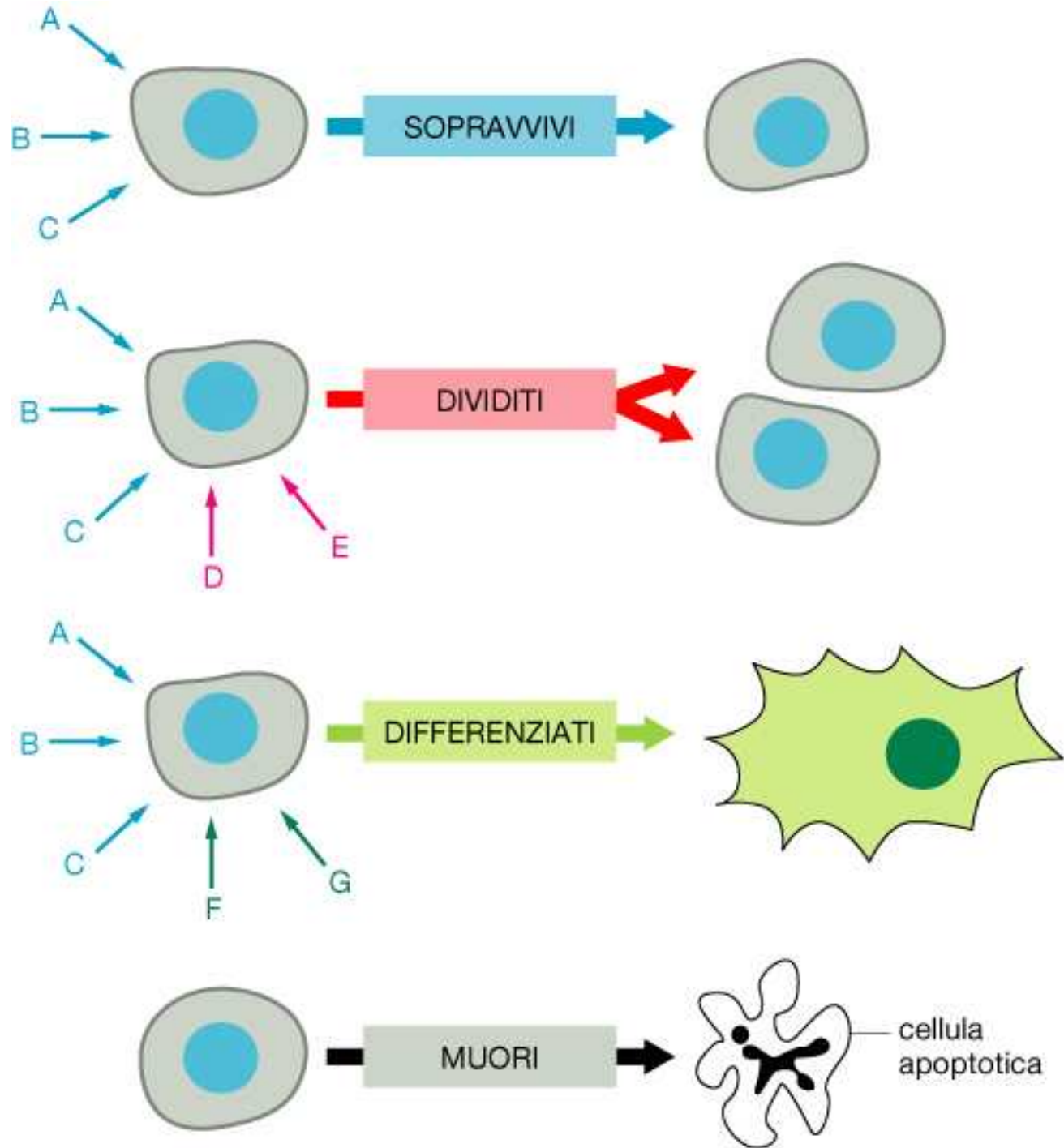
**Il rientro dalla G_0 in fase S è regolato
da specifici segnali che
controllano
la proliferazione cellulare**

**Sistemi di controllo che permettono
la progressione delle diverse fasi e
innescano i processi principali del
ciclo cellulare.**

La logica dei sistemi di controllo;

Le componenti proteiche fondamentali;

La coordinazione e l'integrazione dei diversi meccanismi



Controllo del Ciclo Cellulare

- Rispondere in modo adeguato ai segnali esterni**
- Attivazione di enzimi e proteine responsabili della conduzione dei vari processi al momento giusto**
- Disattivazione alla fine del processo**

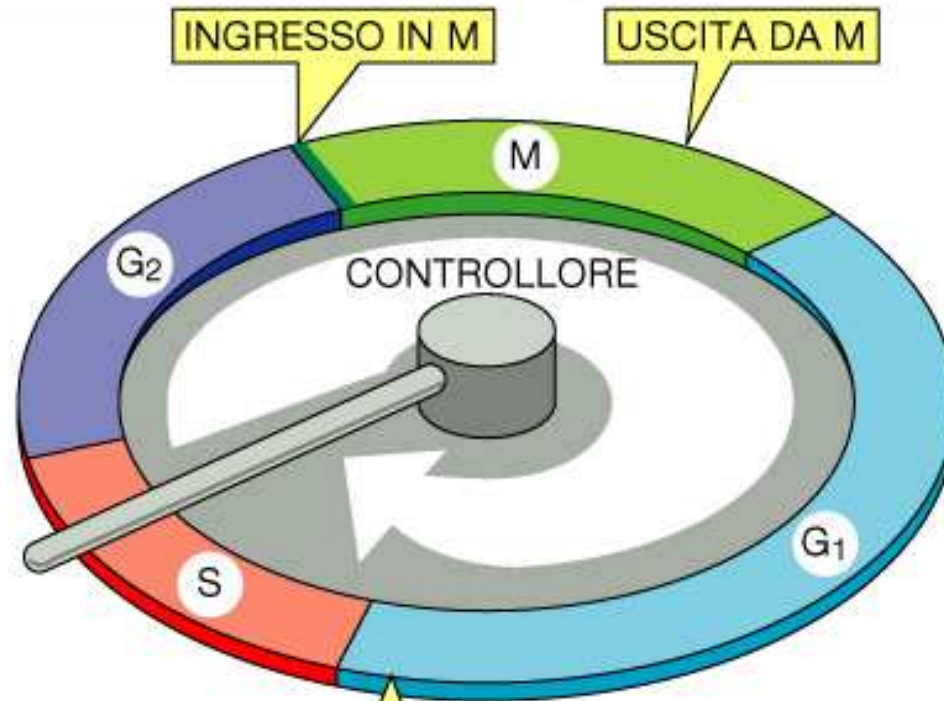
tutto il DNA è stato replicato?

l'ambiente è favorevole?

PUNTO DI CONTROLLO IN G₂

tutti i cromosomi sono
attaccati al fuso?

PUNTO DI CONTROLLO IN METAFASE



INGRESSO IN S

PUNTO DI CONTROLLO IN G₁

l'ambiente è favorevole?

G₁ – Start

La cellula cresce, aumenta la propria massa

- **Corretta quantità di nutrienti**
- **Adeguati segnali extra-cellulari**

G₂/M

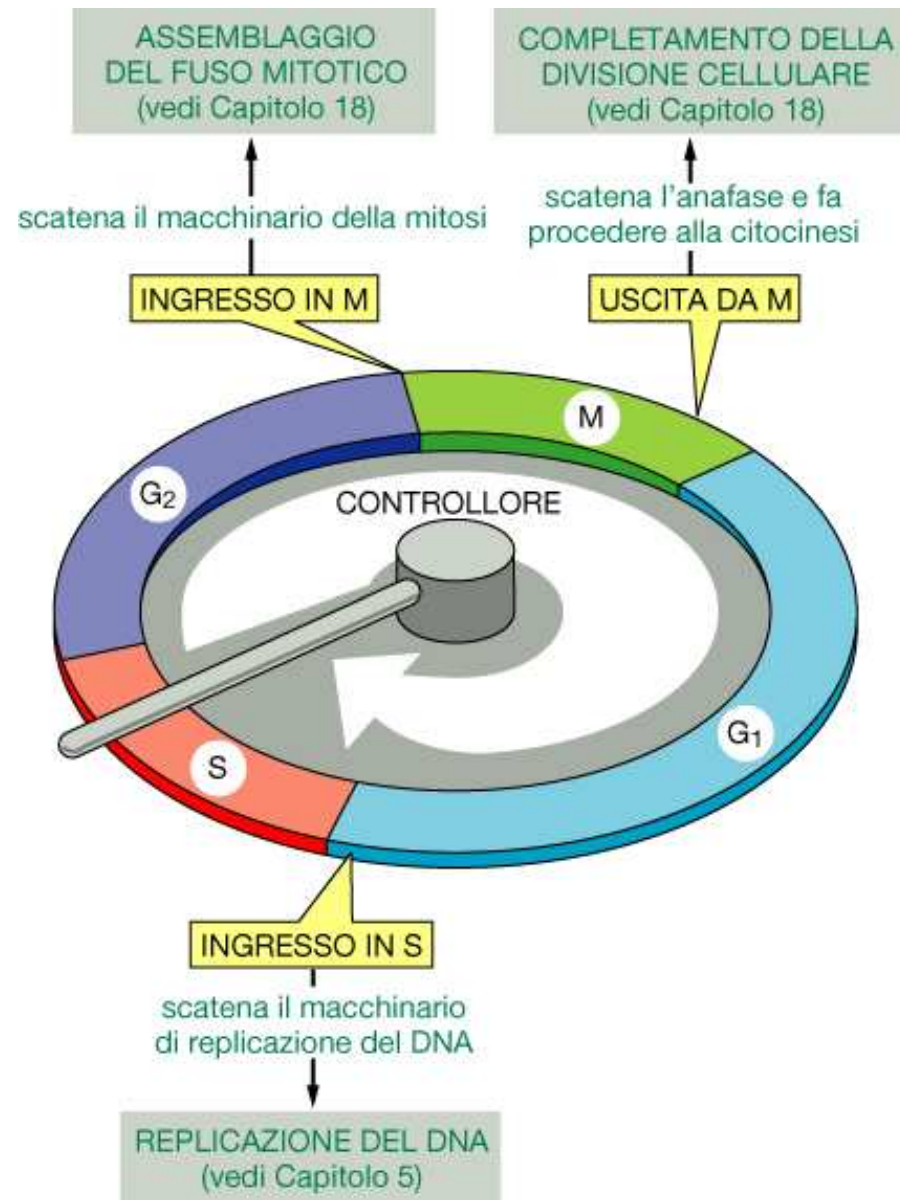
La cellula completa l'accrescimento

- **Controllo massa**
- **Replicazione del DNA completata**

Transizione Metafase - Anafase

La cellula si prepara alla citodieresi

- **Controllo integrità del fuso mitotico**
- **Corretta disposizione dei cromosomi**



Negli organismi multicellulari la capacità di procedere oltre i diversi punti di restrizione del Ciclo Cellulare è regolata da ormoni e fattori di crescita, che possono stimolare od inibire la divisione cellulare attivando una cascata di reazioni mediate da **protein-chinasi citoplasmatiche.**

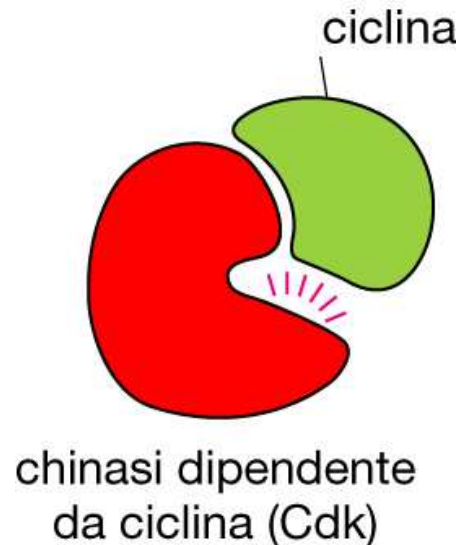
Le proteini chinasi ciclina dipendenti - CDK

Le cicline

Complessi eterodimerici

le subunità catalitiche sono chiamate chinasi dipendenti da cicline (CDK), poiché la loro attività chinasi dipende dall'associazione con una ciclina;

Le cicline costituiscono le subunità regolatrici.



Le CDK

Sono enzimi capaci di trasferire un gruppo fosfato da una molecola di ATP ad una specifica proteina bersaglio modificandone la funzionalità.

Questi enzimi sono sempre presenti nelle cellule ma non sono sempre attivi:

lo diventano grazie alla loro associazione con le proteine attivatrici - **ciclina**

Le cicline

Sono proteine la cui concentrazione intracellulare varia periodicamente in maniera ciclica ed in modo netto oscillando da zero a valori relativamente elevati che vengono raggiunti in momenti critici del ciclo cellulare.

Esse non posseggono attività enzimatica propria, ma la capacità di interagire con proteine-chinasi specifiche predisponendone l'attività funzionale

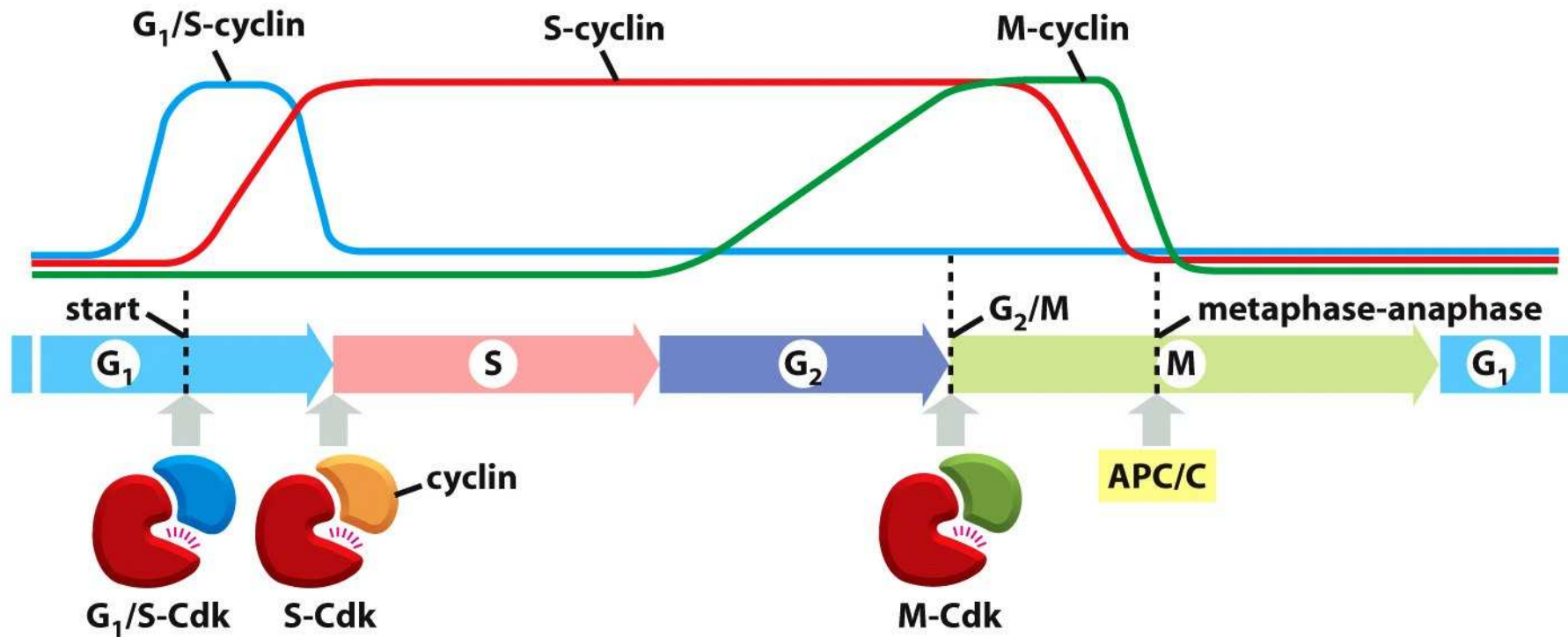


Figure 17-16 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

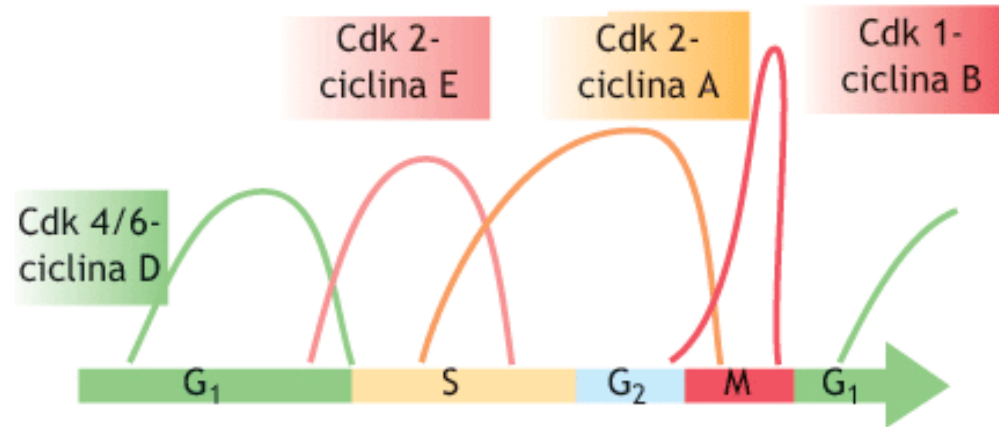
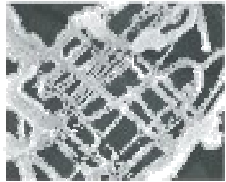


FIGURA 7.16 Espressione delle diverse cicline durante le diverse fasi del ciclo cellulare. Le linee colorate indicano l'attività chinasi dei diversi complessi Cdk-ciclina durante le differenti fasi del ciclo nei mammiferi. Le attività dei diversi complessi identificano bene le differenti fasi del ciclo cellulare.

Cdk4 – Ciclina D e Cdk6 – Ciclina D
Cdk2 – Ciclina E
Cdk2 – Ciclina A
Cdk1 – Ciclina B

durante la fase G1
alla fine della fase G1
durante la fase S
durante la fase G2 e la Mitosi



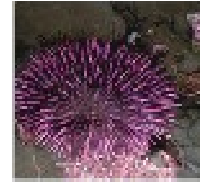
Fungi



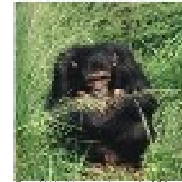
Arthropods



Annelids



Urchins



Primates

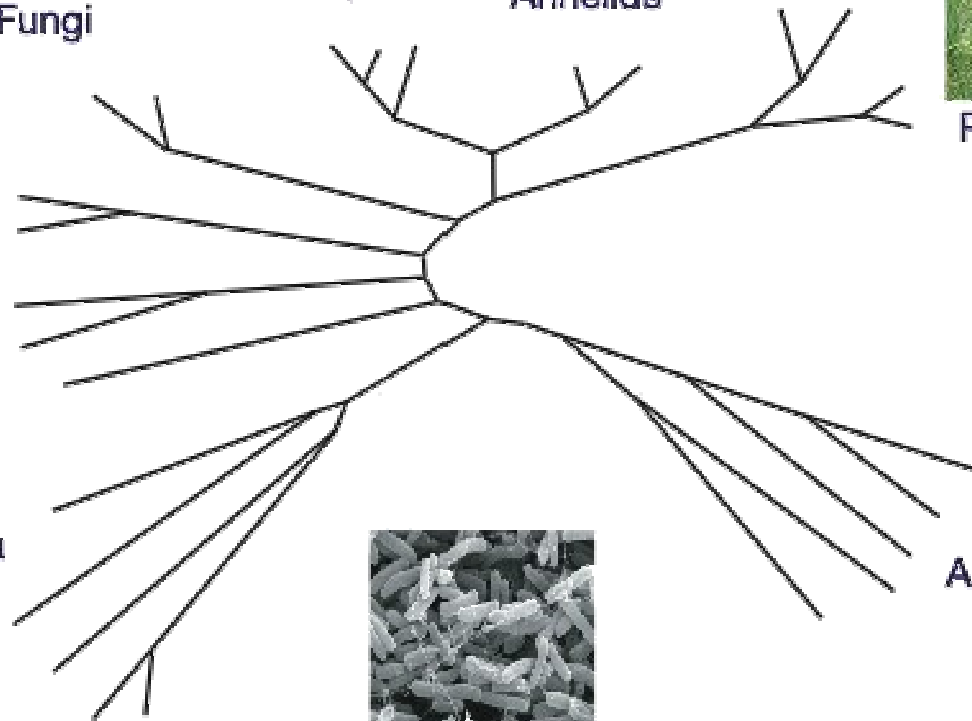
Plants

Protozoa

Eubacteria



Archaea



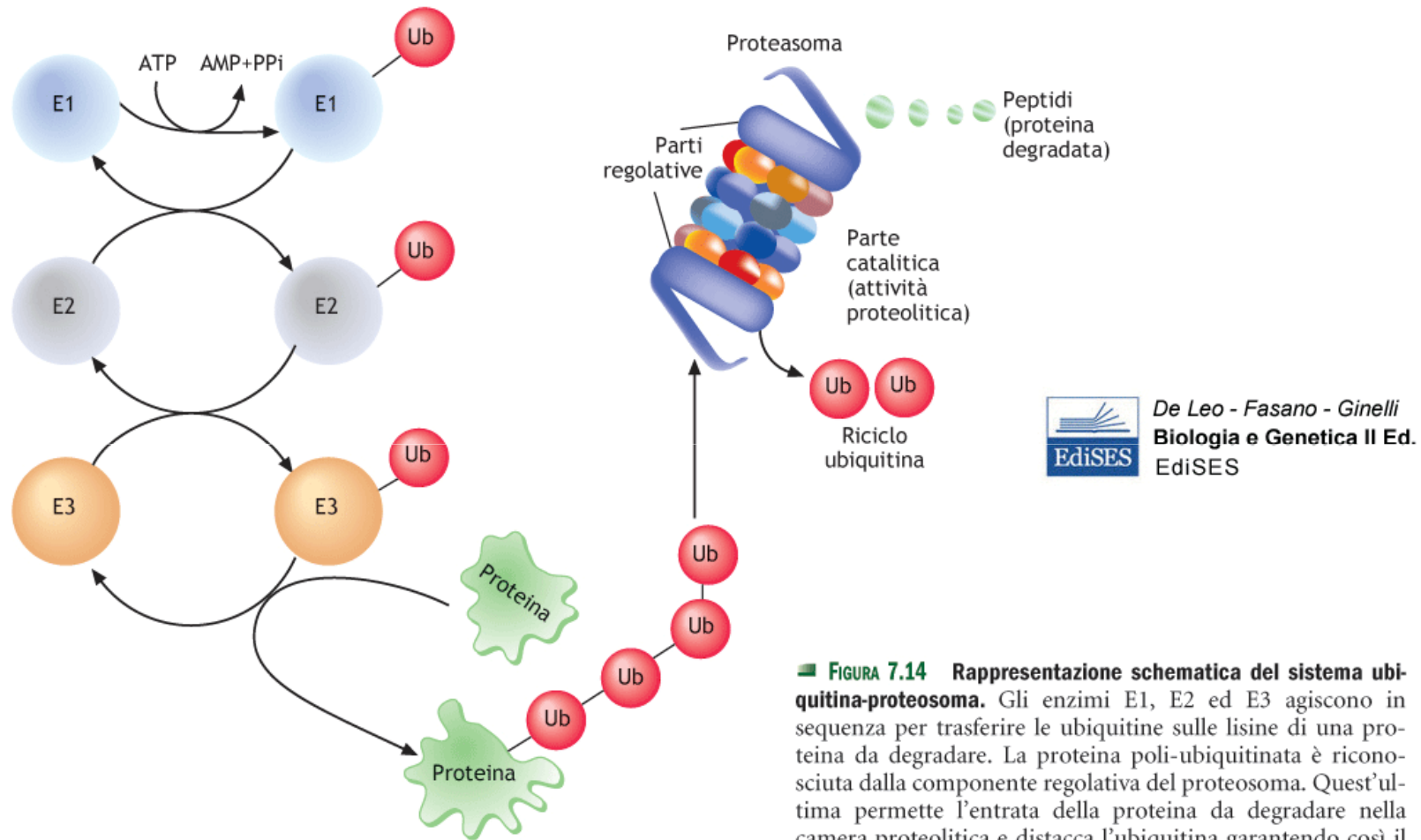
L'attività delle CDK è regolata:

- **Formazione del complesso ciclina-CDK**
- **Proteine inibitrici delle CDK (CKI)**
- **Da meccanismi di fosforilazione che possono inibire l'attività del complesso**

Il controllo del ciclo cellulare dipende anche da meccanismi di degradazione proteica attuati fondamentalmente da due complessi con attività ubiquitina-ligasi:

SCF (G1 tardiva)

APC/C (transizione metafase anafase)



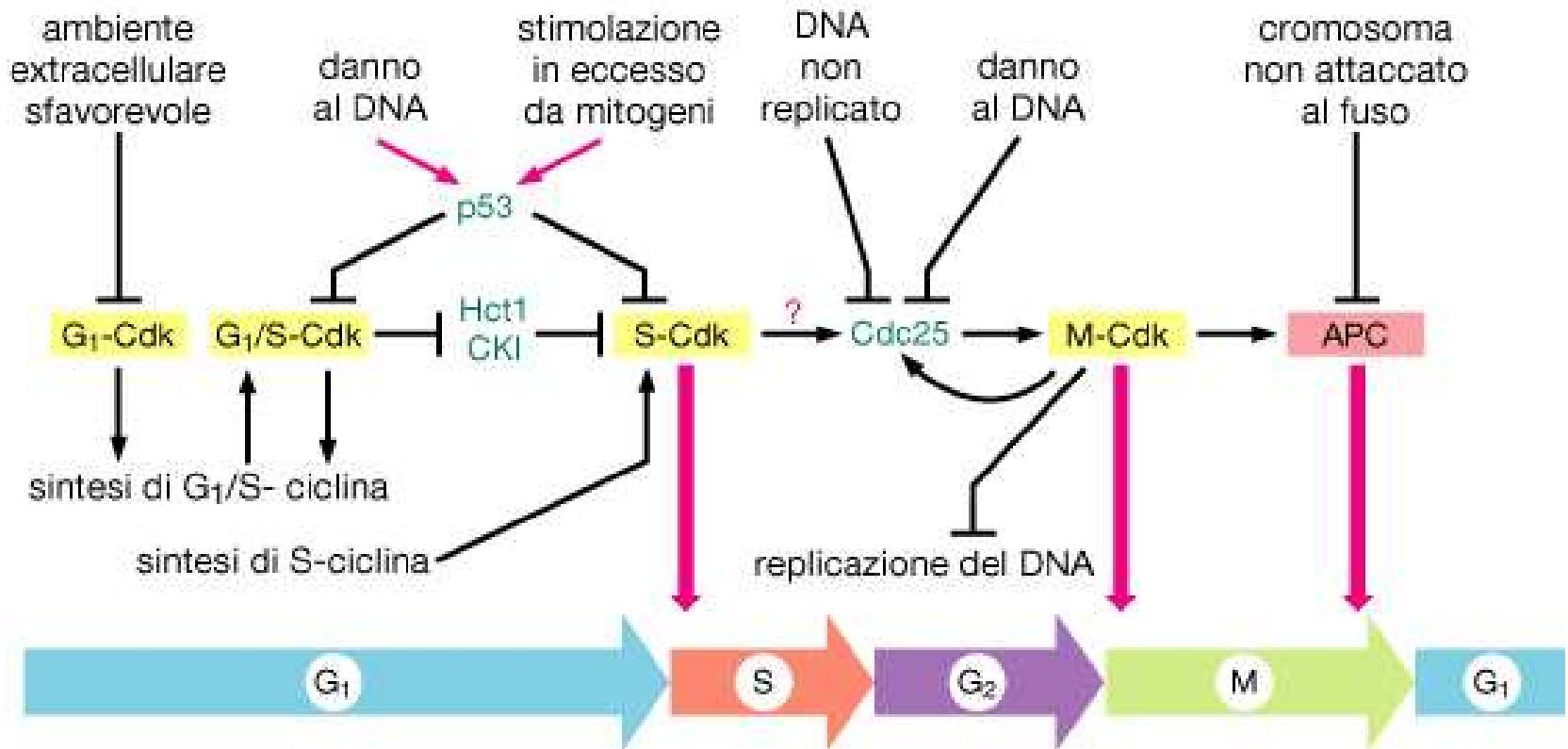
■ **FIGURA 7.14** Rappresentazione schematica del sistema ubiquitina-proteasoma. Gli enzimi E1, E2 ed E3 agiscono in sequenza per trasferire le ubiquitine sulle lisine di una proteina da degradare. La proteina poli-ubiquitinata è riconosciuta dalla componente regolativa del proteasoma. Quest'ultima permette l'entrata della proteina da degradare nella camera proteolitica e distacca l'ubiquitina garantendo così il suo riciclo.

L'attivazione delle CDK provoca principalmente

**la fosforilazione di proteine *target* diverse e
l'attivazione di *pathways* chimiche specifiche.**

(G1/S e G2/M)

PUNTI DI CONTROLLO
NUCLEO



G₁ – Start

La cellula cresce, aumenta la propria massa

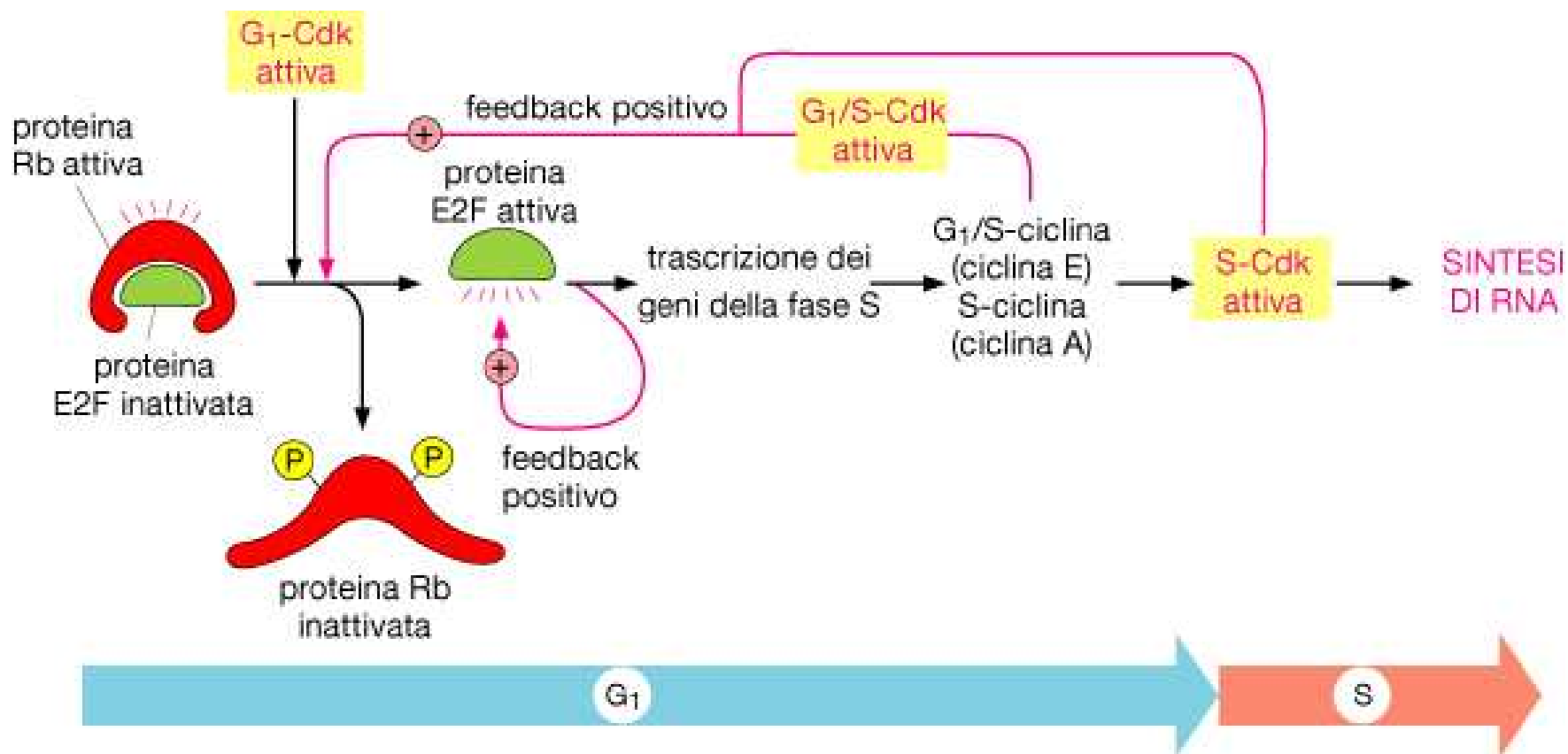
- **Corretta quantità di nutrienti**
- **Adeguati segnali extra-cellulari**

Segnali extra-cellulari

- **Mitogeni**
- **Fattori di crescita**

**stimolano la proliferazione cellulare
eliminando
i freni molecolari intracellulari
che limitano la progressione del ciclo in
fase G₁**

Proteina Rb

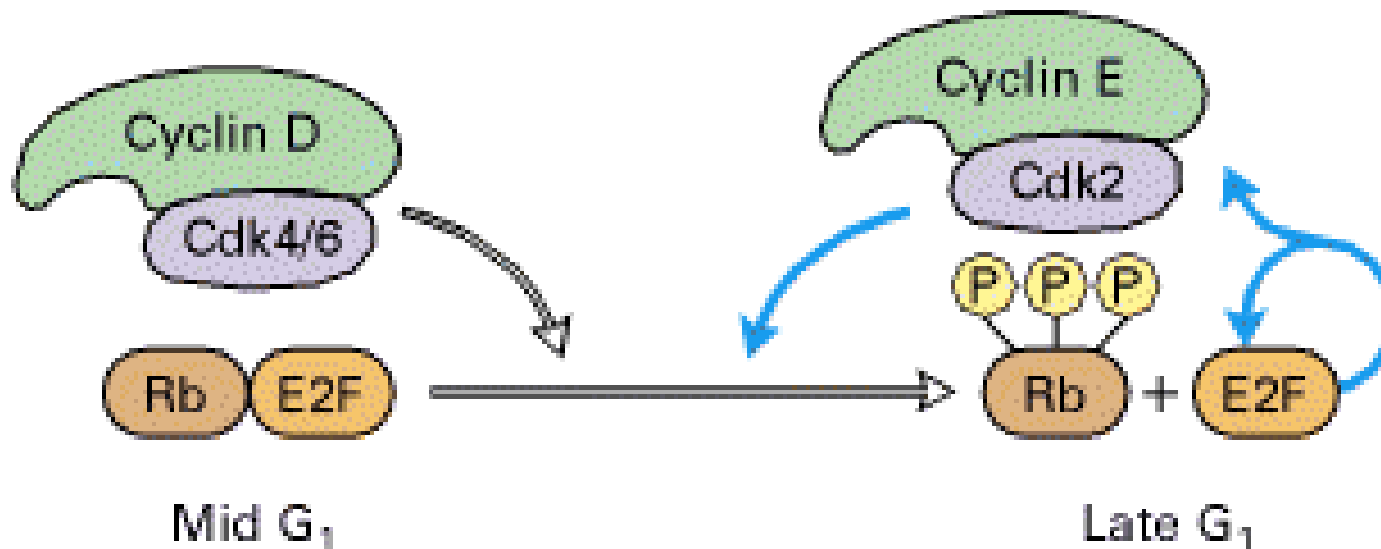


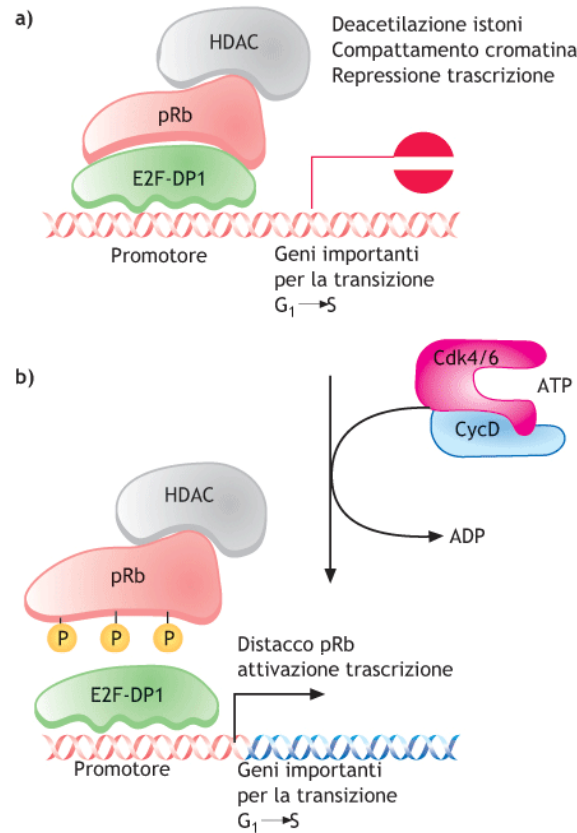
Il passaggio attraverso il punto di restrizione G₀ richiede l'attività del fattore **E2F**, il quale promuove la trascrizione di geni codificanti le proteine necessarie per la duplicazione del DNA cellulare.

Questo fattore è attivato da Cdk2, Ciclina E e Ciclina A.

L'attività di E2F è inibita dal legame con la proteina Rb

ipofosforilata, presente durante la fase M. Le Cdk 4/6, la Ciclina D, e successivamente la Cdk2 e la ciclina E, fosforilano Rb provocando il rilascio e la conseguente attivazione di E2F





■ **FIGURA 7.17 Fattore di trascrizione E2F e progressione $G_1 \rightarrow S$.** In assenza di segnali che promuovono la proliferazione cellulare, quali ad esempio fattori di crescita, pRb non è fosforilata dai complessi Cdk-ciclina e può legare il fattore di trascrizione E2F-DP1. **(a)** In questo modo pRb posiziona sui promotori legati da E2F-DP1 enzimi modificatori della cromatina quali le HDAC che causano la repressione della trascrizione a causa del compattamento locale della cromatina. Questa condizione appena descritta è quella di una cellula nella fase G_0 del ciclo cellulare. **(b)** Segnali che portano all'attivazione del complesso Cdk-ciclina innescano la fosforilazione di pRb ed il suo distacco da E2F-DP1. In questo modo la cromatina è meno compatta e l'RNA polimerasi può iniziare a trascrivere i geni sotto il controllo di E2F.

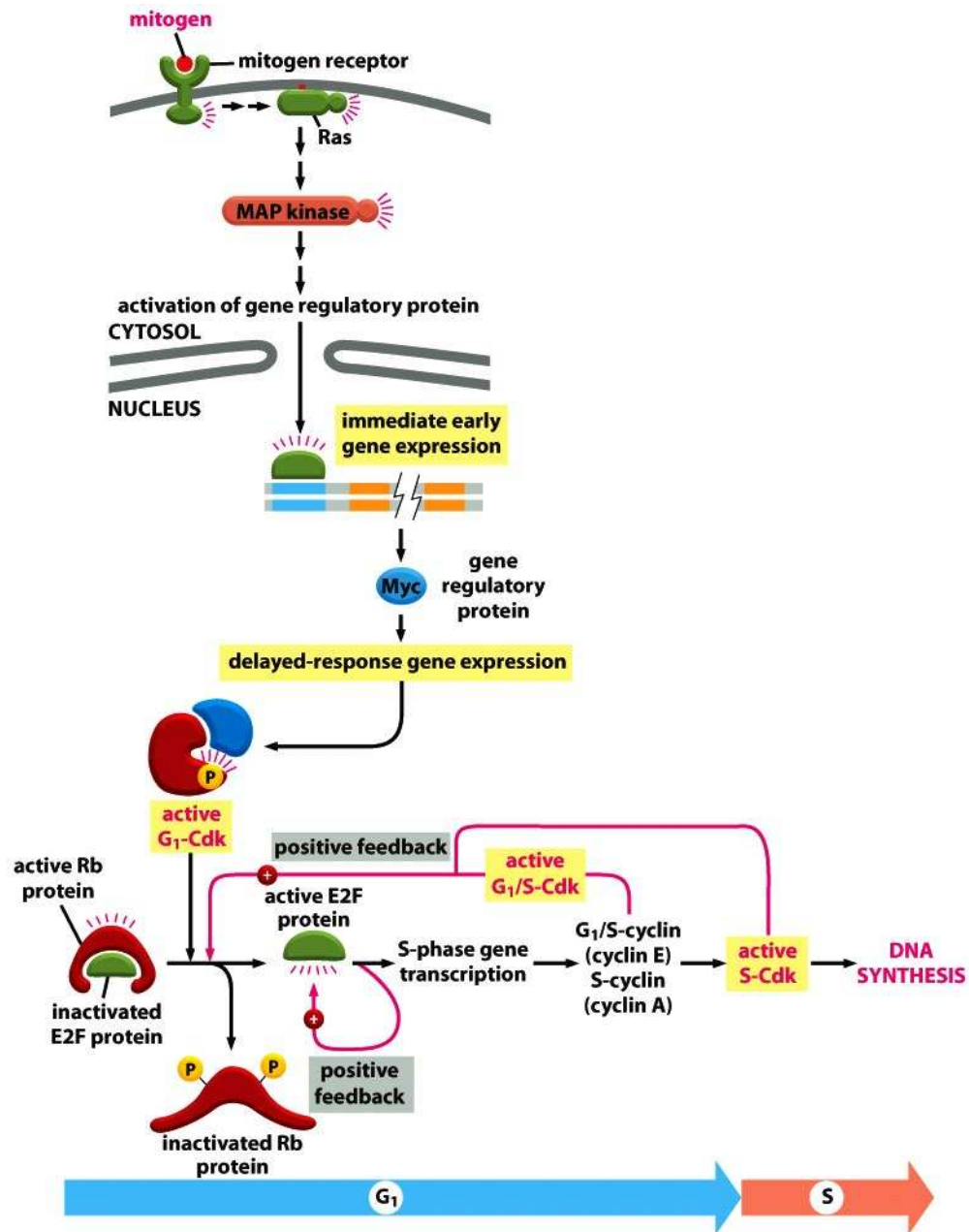
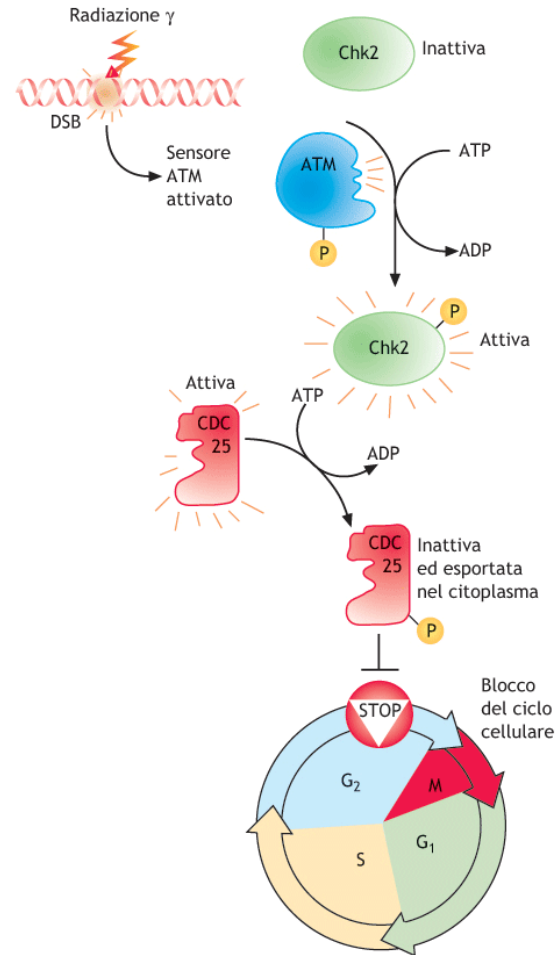
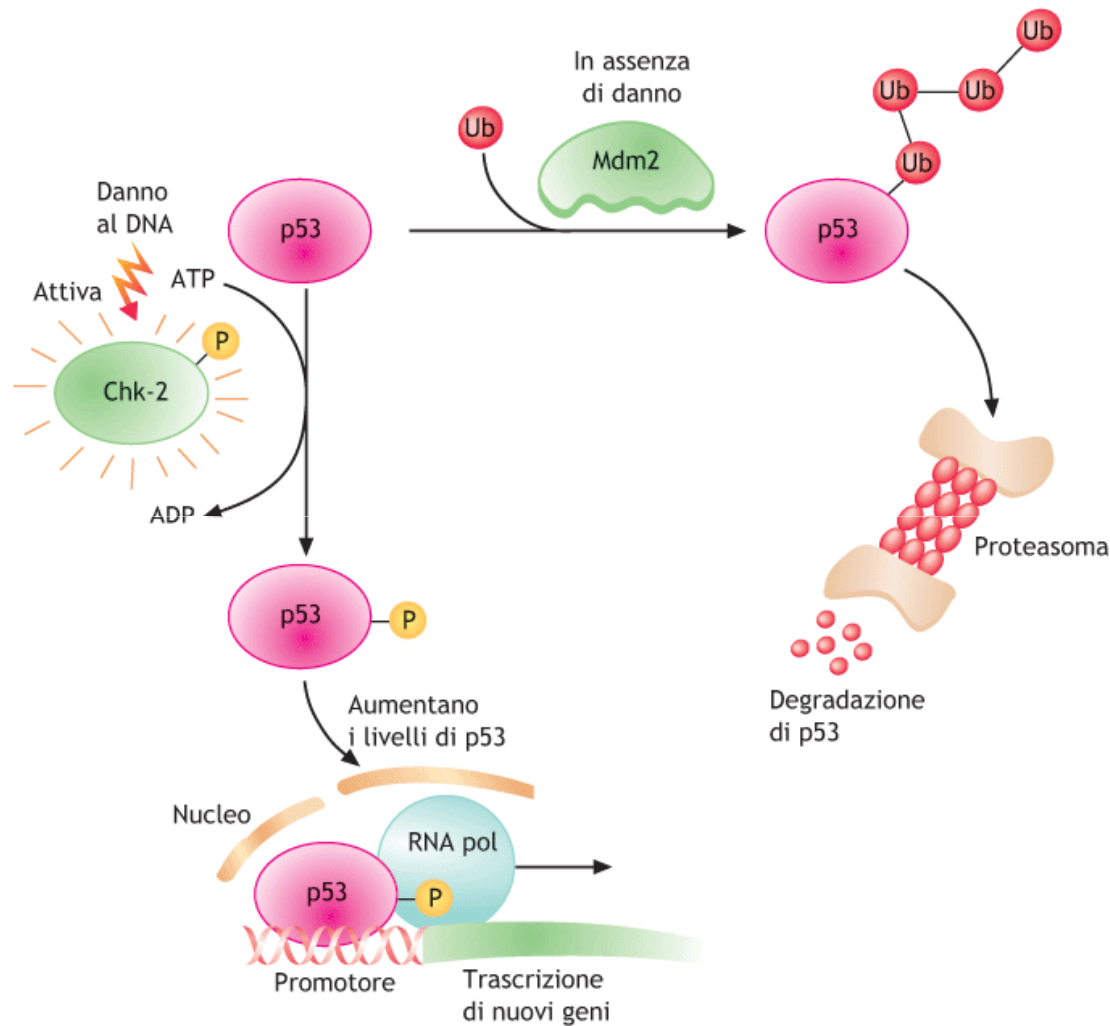


Figure 17-62 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

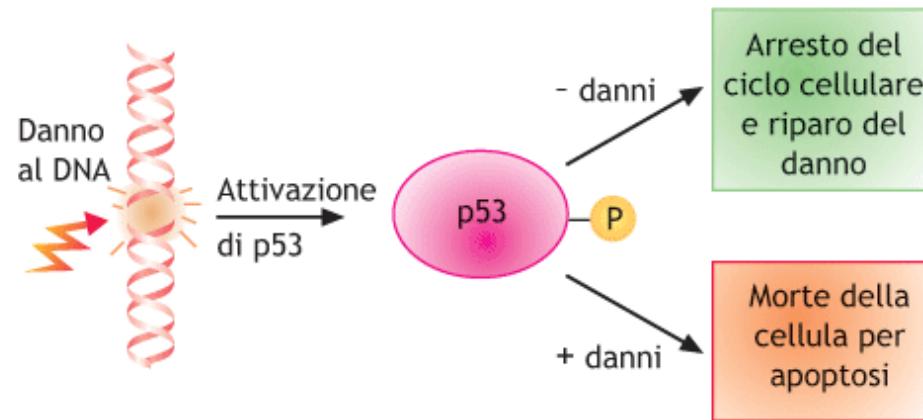


■ **FIGURA 7.19 Rotture nella doppia elica del DNA.** Tali rotture, indotte ad esempio da radiazioni gamma, provocano l'attivazione della chinasi ATM la quale a sua volta fosforila ed attiva la checkpoint chinasi-2 (Chk2). Un substrato di Chk2 è costituito dalla fosfatasi CDC25 che, in seguito a fosforilazione viene sia esportata dal nucleo al citoplasma, sia inattivata; la inattivazione di CDC25 è fondamentale per arrestare il ciclo cellulare. DBS = rottura di entrambe le eliche.



De Leo - Fasano - Ginelli
Biologia e Genetica II Ed.
 EdiSES

FIGURA 7.20 L'oncosoppressore p53. Nelle cellule i livelli di p53 sono mantenuti molto bassi a causa dell'azione dell'enzima Mdm2, una E3-ligasi che poliubiquitina ed invia p53 al proteosoma per la degradazione. Il danno al DNA induce la fosforilazione di p53 per mezzo di Chk2 che viene attivata dalla chinasi ATM. Mdm2 non interagisce con p53 fosforilata e quindi si ha un blocco della poli-ubiquitinazione con conseguente rapido aumento dei livelli di p53. Ora p53 può esplicare la sua azione come fattore di trascrizione legandosi ai promotori di alcuni geni essenziali per il controllo del ciclo, del riparo del DNA e dell'apoptosi. Mdm2 = Mouse double minute gene 2.



■ **FIGURA 7.21** p53 indirizza le cellule verso una delle due vie. Un esteso danno al DNA aumenta in modo massiccio i livelli di p53 la quale, controllando i promotori di geni coinvolti nell'apoptosi, provoca la morte della cellula. Un ridotto danno al DNA, invece, attiva a livelli minori p53 ed in questo caso prevale l'induzione di geni coinvolti nell'arresto del ciclo e nel riparo del DNA.



De Leo - Fasano - Ginelli
Biologia e Genetica II Ed.
 EdiSES

In alternativa, se i danni subiti dal DNA sono di notevole entità, la proteina p53 attiva il macchinario apoptotico e determina così il *suicidio* della cellula.

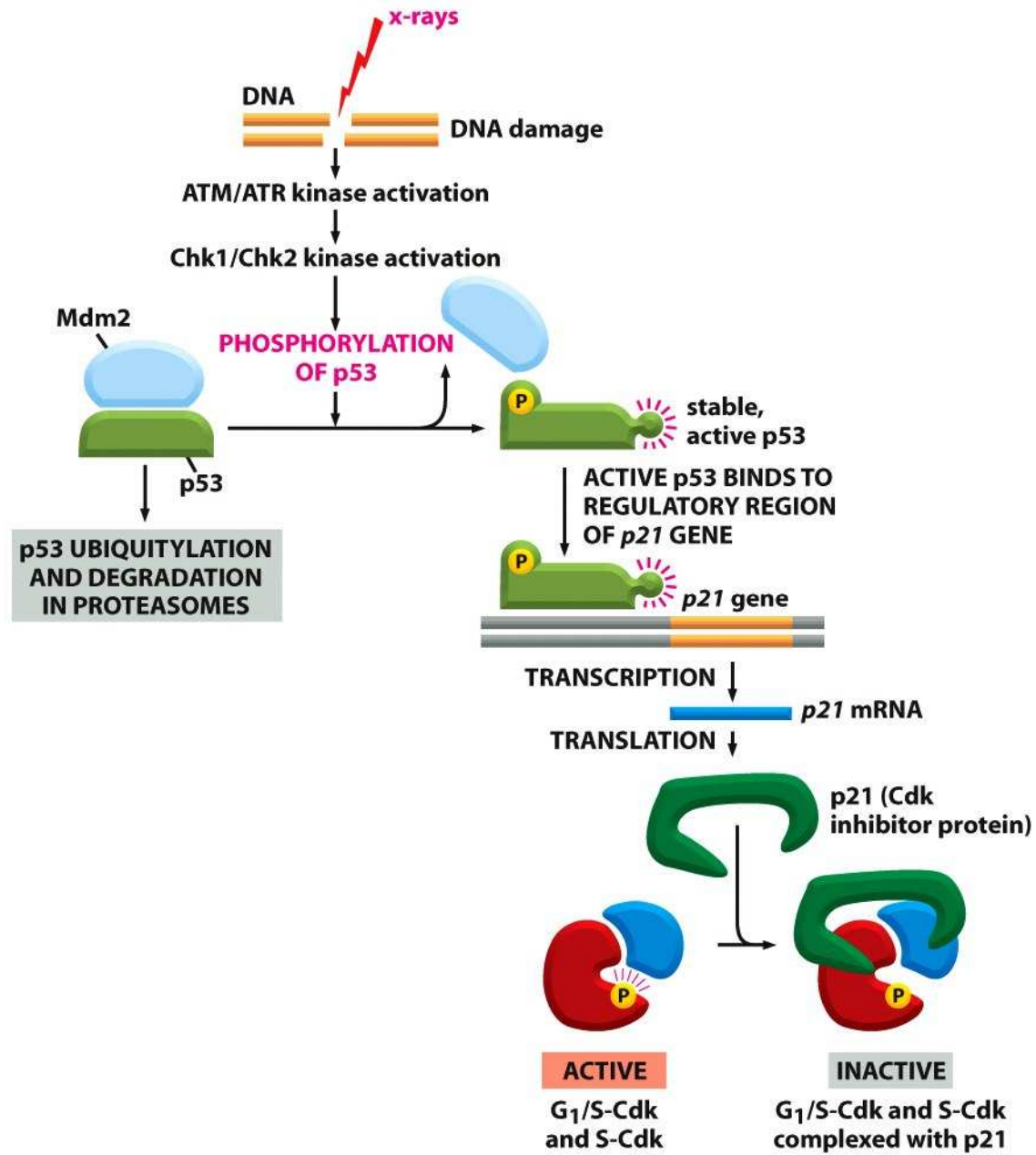
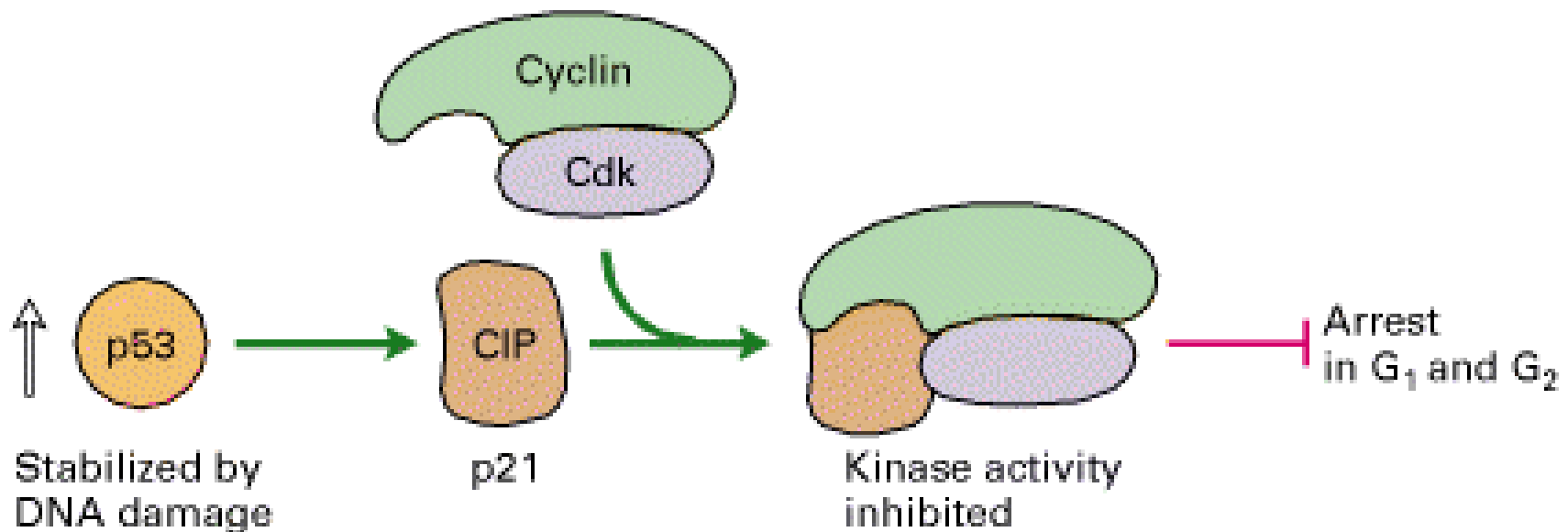
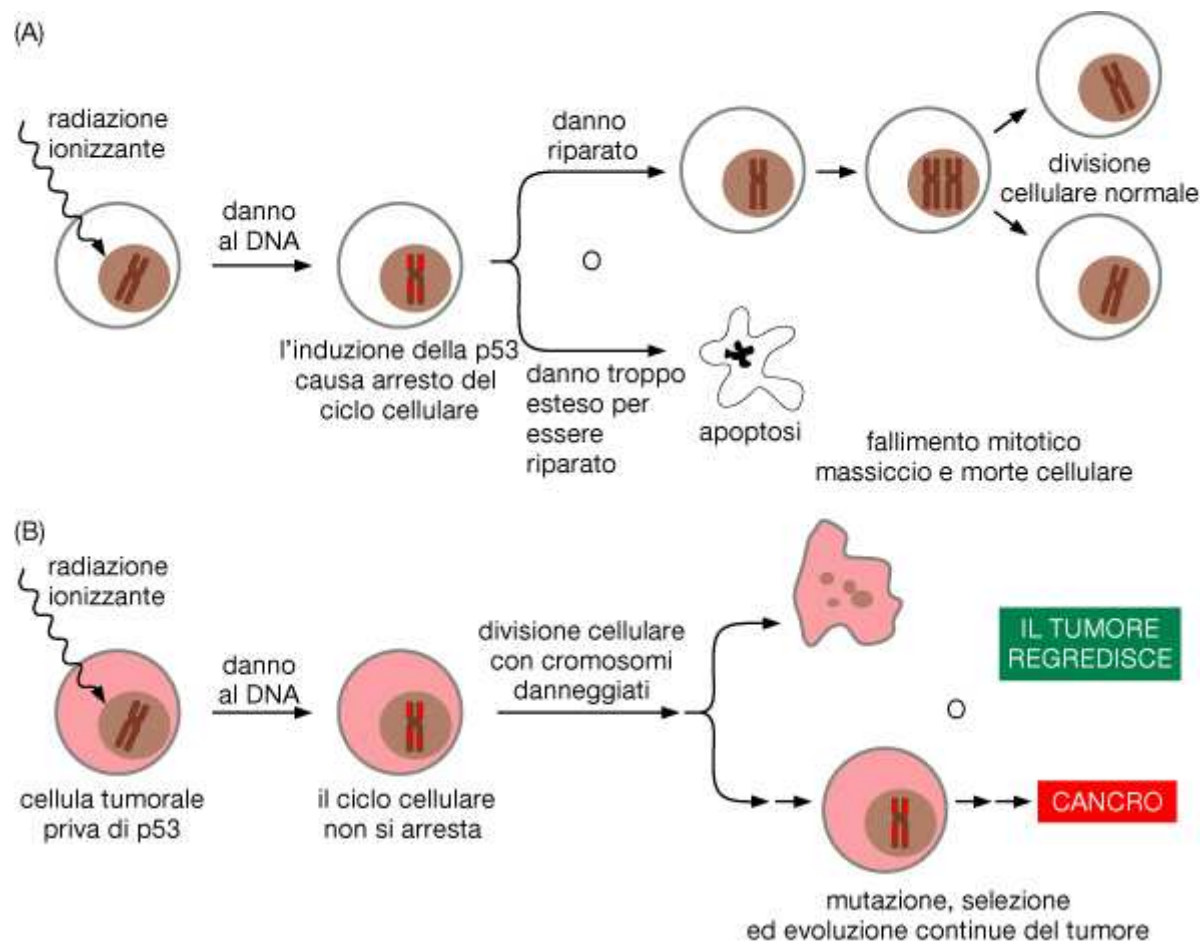


Figure 17-63 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

I danni subiti dal DNA nucleare sono identificati da un sistema di controllo, attivo durante G1 e G2, che si basa sulla attivazione di **p53**, un fattore di trascrizione che stimola l'espressione di **p21^{CIP}**.

Questo *cyclin-kinase inhibitor* (CKI) si lega ai complessi Cdk-Ciclina e li inibisce, causando l'arresto del ciclo in G1 oppure in G2 finchè il danno non sia stato riparato





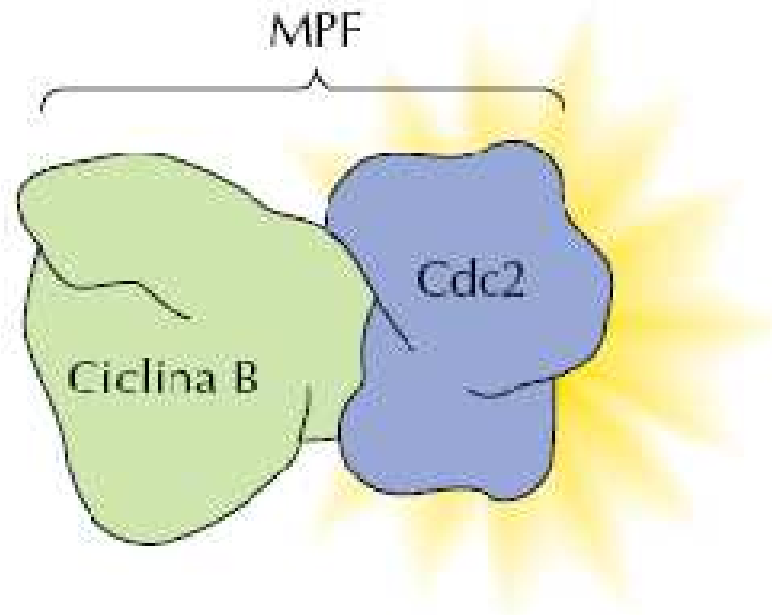
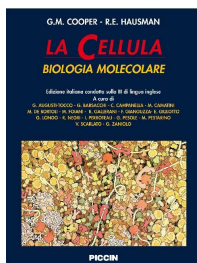


Figura 14.15 Struttura di MPF
MPF è un dimero formato da ciclina B e da proteina chinasi Cdc2.



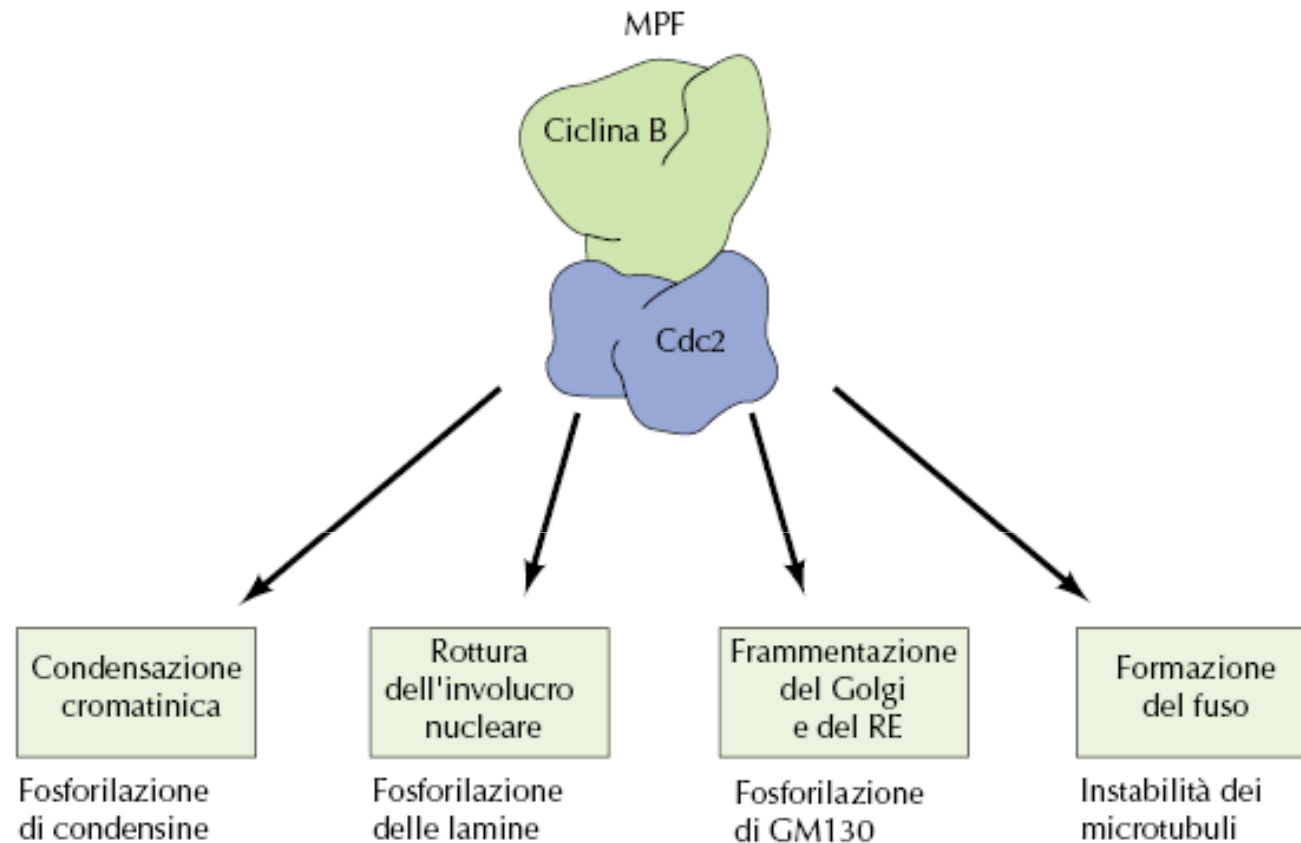


Figura 14.25 Bersagli di MPF

MPF induce molteplici cambiamenti nucleari e citoplasmatici all'inizio della fase M, entrambi tramite l'attivazione di altre proteina chinasi e la fosforilazione di proteine quali condensine e lamine nucleari.

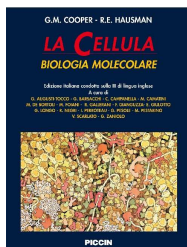
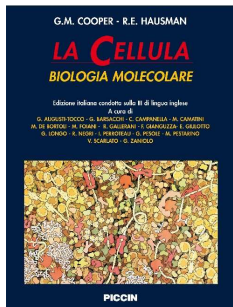
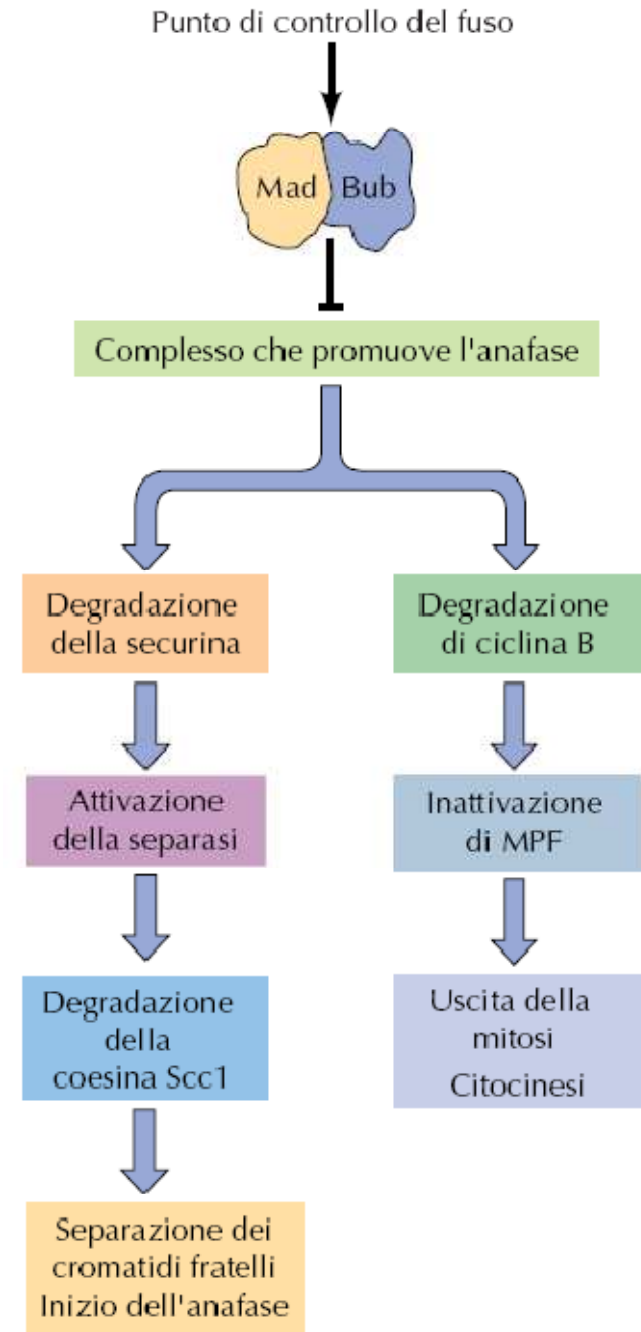
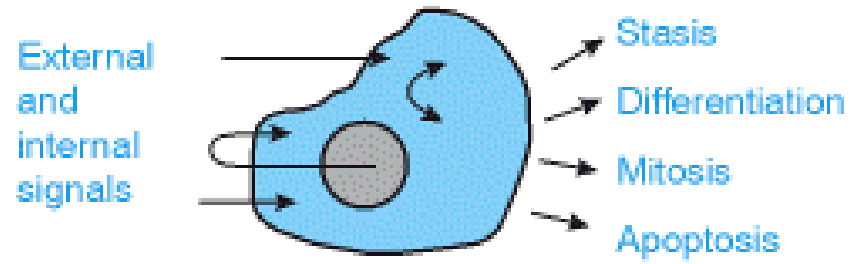


Figura 14.28 Bersagli del sistema di proteolisi della ciclina B

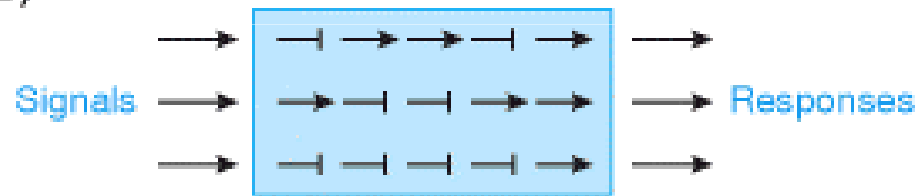
Il complesso che promuove l'anafase è un'ubiquitina ligasi che è inibita dalle proteine Mad/Bud fino a quando la cellula passa attraverso il punto di controllo del fuso. L'attivazione del complesso che promuove l'anafase, causa la transizione da metafase ad anafase inducendo la degradazione della coesina Scc1, che causa la rottura del legame tra i cromatidi fratelli. Il complesso che promuove l'anafase, inoltre, ha la ciclina B come bersaglio di degradazione, portando all'inattivazione di MPF, all'uscita dalla mitosi e alla citocinesi.



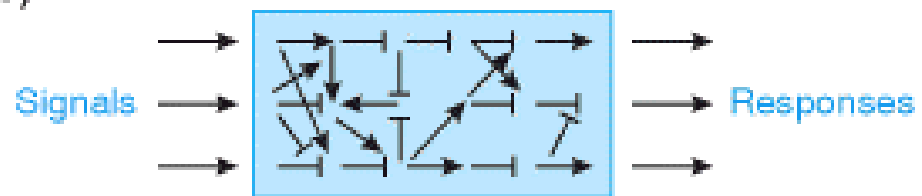
(A)



(B)



(C)



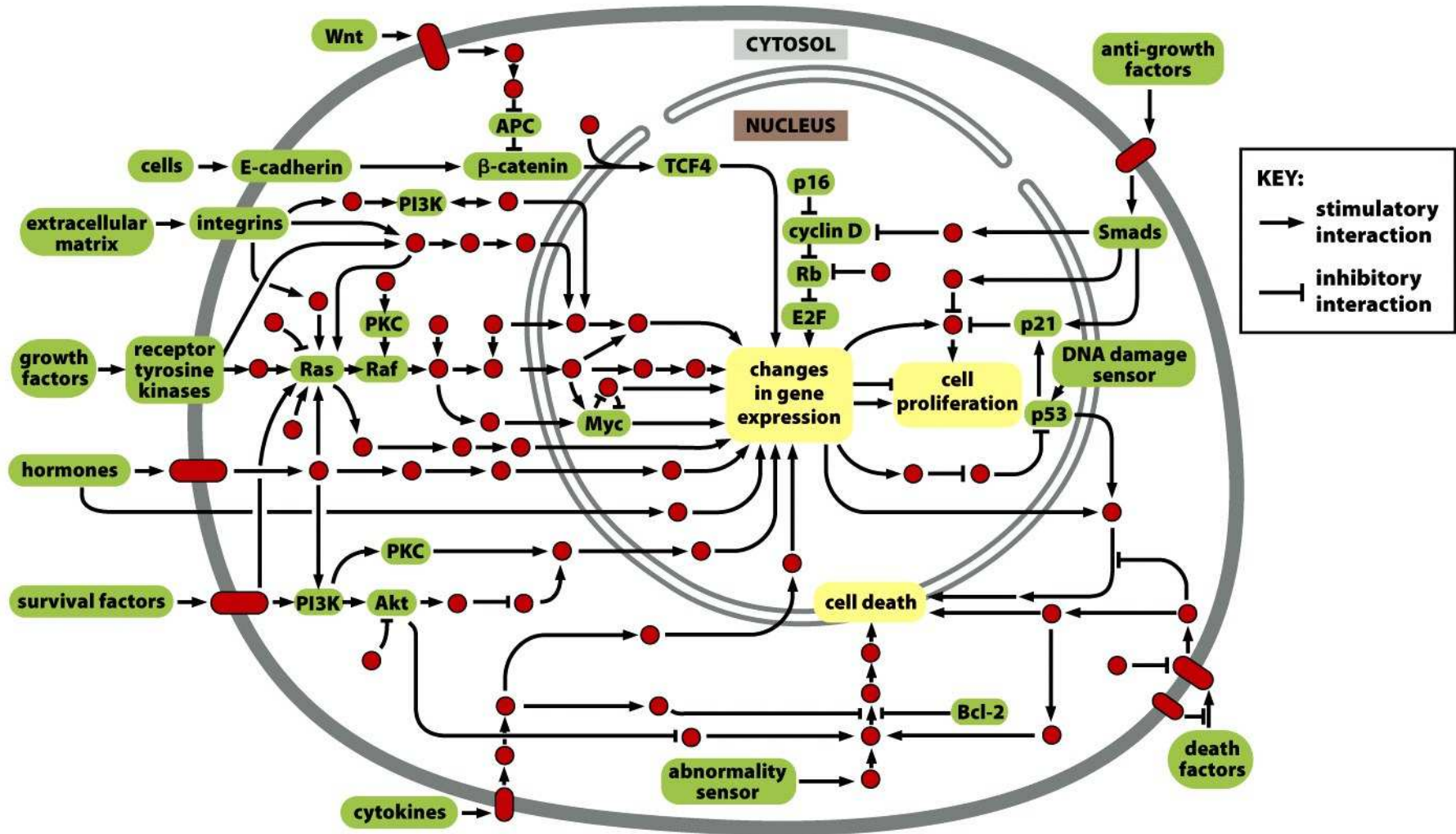


Figure 20-37 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)