

BIOLOGIA GENERALE

2) FISILOGIA CELLULARE

2.3. *Il nucleo*

Come già si è avuto modo di far notare (Biologia generale 1.1) il nucleo rappresenta la parte più importante della cellula, sia perchè è la struttura fondamentale che contiene gli elementi necessari per la trasmissione dei caratteri ereditari, sia perchè è la centrale di controllo delle attività metaboliche che si compiono nella cellula. E' opportuno precisare che considereremo in questa trattazione il nucleo delle cellule *eucariotiche*, in cui cioè esso appare ben definito e distinto dal circostante citoplasma, a differenza di quanto si verifica nelle cellule *procariotiche* (batteri) in cui taluni componenti nucleari, pur rendendosi identificabili al momento della divisione, non sono separati nettamente dal citoplasma; in quest'ultimo caso non si può parlare di nucleo vero e proprio.

La descrizione che verrà fatta del nucleo si riferisce al periodo dell'*interfase*, quando cioè la cellula non si divide; durante le fasi di divisione cellulare il nucleo, insieme a talune strutture citoplasmatiche, va incontro a una serie di profonde modificazioni, di cui parleremo diffusamente nel prossimo numero.

2.3.1. *Struttura generale del nucleo*

Le cellule in genere sono *mononucleate*, anche se non mancano casi in cui possono presentare due o più nuclei; il nucleo solitamente occupa una posizione ben definita per ogni tipo cellulare, di norma centrale, ma può essere confinato alla periferia della cellula in seguito alla differenziazione degli organuli cellulari o all'accumulo di sostanze di riserva.

Fra nucleo e citoplasma esistono numerose, intime e ben specifiche relazioni; si è addirittura ipotizzata una duplice e reciproca influenza: il nucleo eserciterebbe un'azione sul citoplasma e il citoplasma a sua volta condizionerebbe le attività del nucleo. Infatti numerosi esperimenti hanno portato a concludere che, come le cellule private del nucleo, cioè ridotte a solo citoplasma, non possono sopravvivere, altrettanto si verifica per i nuclei, quando siano stati isolati dal loro ambiente naturale che è appunto il citoplasma. Se ad esempio sezioniamo un'Ameba (organismo unicellulare) in due porzioni di cui una senza nucleo, vedremo che, mentre quella nucleata conserva tutte le prerogative vitali, quella anucleata riduce subito le proprie attività, va incontro a fenomeni di sofferenza e alla morte. Analogamente, privando un'Ameba del suo nucleo si provoca un arresto dei suoi processi vitali che si ripristinano, però, ad un livello normale quando la si provveda nuovamente di nucleo. E' evidente quindi che le attività citoplasmatiche vengono organizzate e dirette dal nucleo e che non è possibile una indefinita sopravvivenza del citoplasma senza nucleo. D'altra parte però il nucleo isolato non è in grado di sopravvivere, mentre è sufficiente un sottile strato di citoplasma intorno ad esso per consentire una ripresa del ritmo vitale.

Lo studio della composizione chimica del nucleo è stato reso possibile dall'impiego della centrifugazione frazionata che ha permesso di raccogliere i nuclei, isolati dagli altri componenti cellulari. Alcuni costituenti chimici del nucleo sono quasi costanti, come l'acido desossiribonucleico e l'acido ribonucleico, che sono accompagnati da lipidi, proteine e sali inorganici.

Il risultato principale delle ricerche sull'organizzazione chimica del nucleo fu la scoperta che i suoi costituenti più importanti sono le nucleo-proteine, cioè quelle proteine complesse che derivano dalla combinazione di acidi nucleici (DNA ed RNA) e proteine. Il contenuto proteico del nucleo è molto complesso: in massima parte sono presenti due proteine basiche semplici, le protamine e gli istoni, accompagnate però da una notevole quantità di proteine acide. In particolare si è dimostrato che la frazione più importante del nucleo, i cromosomi, contiene il 16% di DNA, il 12% di RNA e il 72% di proteine di cui circa il 50% sono proteine acide.

Le indagini condotte ai raggi X hanno evidenziato che le proteine basiche si avvolgono intorno alla molecola del DNA sistemandosi nelle scanalature periodiche che essa presenta. Come si è detto (Biochimica 2.1) le molecole di DNA sono filamenti lunghi e sottili formati dall'attorcigliarsi a spirale e in senso opposti delle due catene nucleotidiche; alla superficie della molecola si formano perciò delle scanalature ripetute con continuità in cui possono alloggiare le proteine. La frazione proteica nucleare può presentarsi quindi legata al DNA oppure rimanere libera e costituire le cosiddette proteine residue del nucleo.

Di natura proteica sono anche gli enzimi nucleari fra cui i più importanti sono quelli che intervengono nel metabolismo degli acidi nucleici: la DNA-polimerasi e l'RNA-polimerasi che catalizzano la sintesi del DNA e dell'RNA.

E' stato anche osservato che, mentre mancano gli enzimi della catena respiratoria, sono invece presenti gli enzimi della glicolisi anaerobica, dal che si deduce che l'energia disponibile nel nucleo deriva appunto dai fenomeni del metabolismo anaerobico.

Della costituzione e del significato del DNA diremo ancora nelle prossime pagine; ricordiamo comunque che dalla molecola di DNA hanno origine i diversi tipi di RNA (RNA_m , RNA_t , RNA_r) che complicano notevolmente la situazione chimica del nucleo.

Riferendoci ai tre tipi principali di RNA, tutti si originano dal DNA dei cromosomi: i codici d'informazione (o geni) per la sintesi delle proteine, sono localizzati nella molecola del DNA. Il gene è un tratto della molecola del DNA, cioè una sequenza di nucleotidi capace di codificare una determinata sequenza

di aminoacidi in proteine specifiche. Da tale proprietà dei geni deriva la capacità specifica di ogni cellula di sintetizzare proteine particolari; ed in questo risiede la caratterizzazione cellulare. L'informazione contenuta nei geni viene trascritta nella molecola dell' RNA_m che ha una sequenza nucleotidica complementare per la porzione strutturale del gene della molecola di DNA (Biochimica 2.1). Appena formato, l' RNA_m passa nel citoplasma e qui la sua vita dipende dalla natura della proteina per cui è stato codificato.

Nel nucleo si forma anche l' RNA_t , a carico delle zone della molecola di DNA chiamate *determinanti RNA*: questo tipo di RNA è specifico per ognuno dei 20 aminoacidi esistenti in natura ed è in grado di legarsi all' RNA_m favorendo il formarsi della sequenza degli aminoacidi di una data proteina.

Il terzo tipo di RNA (RNA_r) è trascritto nel nucleolo da una zona particolare della molecola del DNA chiamata *organizzatore del nucleolo*: questo RNA_r , dopo essersi scisso in molecole più piccole, si unisce alle proteine per formare le subunità ribosomiche che, trasportate nel citoplasma e in presenza di Mg, si uniscono a formare i ribosomi.

2.3.2. Membrana nucleare

Si è già considerata la membrana nucleare (Biologia generale 2.2.1. C) come facente parte delle membrane del sistema vacuolare citoplasmatico ed in particolare come strettamente dipendente dalle membrane del reticolo endoplasmatico.

Alcuni Autori considerano addirittura l'involucro nucleare come una cisterna appiattita del reticolo endoplasmatico che ha conservato i ribosomi solo alla superficie verso il citoplasma. La membrana nucleare è costituita da due strati, più opachi agli elettroni, ognuno dello spessore di circa 75 \AA , con la tipica costituzione della *membrana fondamentale* (Biologia Generale 2.1) e separati da uno spazio più chiaro di 140 \AA (*spazio perinucleare*).

La membrana interna appare frequentemente più spessa della membrana esterna, data la presenza di uno strato di filamenti che costituiscono la cosiddetta *lamina fibrosa*, cui viene attribuita funzione di rinforzo.

In molti punti della superficie nucleare i due strati membranosi non si mantengono separati e distinti, ma si continuano l'uno con l'altro dando origine ai *pori nucleari* che, se pure sono sede di scambi di sostanze fra citoplasma e nucleoplasma, non consentono una diffusione indiscriminata di sostanze in un senso o nell'altro.

La microscopia elettronica ha già evidenziato che il poro ha una forma ottagonale e un diametro che può raggiungere i 600 Å; è circondato da una struttura circolare, ad esso sovrapposta e che si può staccare dalla superficie esterna, chiamata *annulus*. L'insieme poro-annulus viene chiamato *complesso del poro* e raggiunge un'ampiezza di circa 1200 Å (Figura 1). Gli annuli quindi rappresentano una specie di diaframma che copre una parte del poro

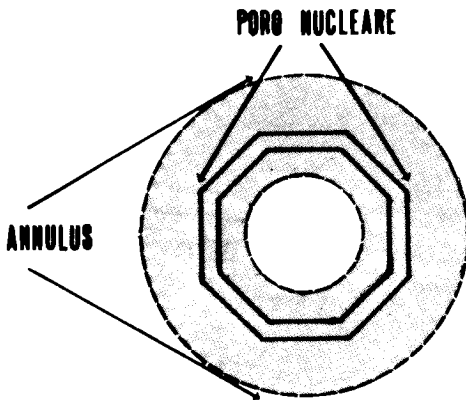


Figura 1

e che esercita un suo proprio ruolo nella funzione di permeabilità selettiva della membrana nucleare: gli annuli cioè regolano gli scambi nucleo-citoplasmatici a seconda delle dimensioni ed anche della natura chimica delle sostanze interessate.

2.3.3. *Succo nucleare*

Con questa definizione non si indica un'entità morfologicamente ben definita, ma semplicemente quella parte del nucleo che nei preparati si presenta più chiara, non occupata dalla cromatina e dal nucleolo.

2.3.4. *Nucleolo*

Si presenta come un corpicciolo tondeggiante localizzato in posizione eccentrica nel nucleo; sovente il numero dei nucleoli può variare, oltre che per tipo cellulare, anche nella stessa cellula a seconda delle sue condizioni fisiologiche.

Anche le dimensioni sono estremamente variabili: il nucleolo è voluminoso soprattutto nelle cellule embrionali che si moltiplicano attivamente, nonché nelle cellule che sintetizzano proteine. Ciò ha permesso di chiarire la funzione del nucleolo che per molto tempo è stata discussa. Il nucleolo infatti appare costituito da un'area centrale chiara o *pars amorpha*, abbracciata da un cordone ripetutamente ramificato e anastomizzato detto *nucleolonema*. Al microscopio elettronico, la *pars amorpha* si risolve in sottili filamenti, mentre alla composizione del nucleolonema partecipano anche granuli, molto simili per forma e dimensioni ai ribosomi citoplasmatici.

Si è così pensato che il nucleolo costituisca la sede in cui i ribosomi vengono sintetizzati: i filamenti osservati sono i precursori dei granuli i quali a loro volta sono i precursori dei ribosomi; questi ultimi infine escono dal nucleo attraverso i pori della membrana e si distribuiscono nel citoplasma. Il nucleolo scompare nel corso della divisione mitotica e ricompare, alla fine di questo processo, in prossimità di punti specifici di alcuni cromosomi che perciò sono stati definiti come *organizzatori del nucleolo*.

Una parte di questi cromosomi rimane infatti associata durante il periodo interfase all'interno del nucleolo ed è questa che determina la sintesi dell'RNA₂ secondo la seguente relazione dinamica: DNA nucleolare → porzione filamentosa → porzione granulare del nucleolo.

Delle modificazioni cicliche, cui va incontro il nucleolo durante la mitosi, ci occuperemo in seguito quando parleremo in particolare del ciclo mitotico.

2.3.5. Cromatina

Come si è detto precedentemente le indagini chimiche hanno dimostrato che nel nucleo esiste una forte concentrazione di DNA: esso non si trova libero nel nucleoplasma ma combinato con istoni ed altre proteine a costituire la *cromatina nucleare* che, nel nucleo interfase, si presenta nei due stati intercambiabili di dispersione e condensazione, indicati rispettivamente con i nomi di *eucromatina* ed *eterocromatina*.

Le molecole del DNA sono suscettibili di profonde modificazioni di forma anche in seguito a lievi modificazioni chimico-fisiche; di qui il diverso aspetto che la cromatina assume nei preparati a seconda che sia nella condizione distesa o condensata. Si ritiene che le regioni condensate rappresentino le parti inerti in cui il materiale genetico è momentaneamente inattivo, mentre le regioni eucromatiche distese, esponendo il DNA al nucleoplasma una maggior superficie, parteciperebbero attivamente alle funzioni specifiche della cellula.

E' importante notare comunque che tutti questi rilievi sono riferibili al *nucleo della cellula interfase*; durante la divisione cellulare il nucleo subisce infatti profonde modificazioni in tutte le sue strutture. Nelle cellule che si stanno dividendo, anche la cromatina che si trovava allo stato disteso si condensa a formare i *cromosomi*, per cui oggi la cromatina non è considerata altro che la forma interfase dei cromosomi, che precede l'organizzazione e la contrazione cui essi vanno incontro prima della divisione.

Il *cromosoma* è un componente nucleare capace di autoriprodursi e di conservare, anche dopo numerose e successive divisioni cellulari, le proprie caratteristiche morfologiche e fisiologiche.

Tutte le cellule di uno stesso individuo, contengono lo stesso numero di cromosomi che, di solito, a seconda dell'aspetto, si possono raggruppare a coppie, differendo comunque generalmente ogni coppia dalle altre.

Pertanto, il numero di cromosomi di ogni cellula di un individuo (*corredo cromosomico*) si definisce *diploide* (si indica con la sigla $2n$ dove n è il numero delle coppie, e si deve conservare tale durante tutte le divisioni cellulari che si compiono nell'individuo stesso nel corso del suo accrescimento. Ogni cromosoma membro di una coppia prende il nome di *omologo*.

Il numero dei cromosomi si dimezza e diventa *aploide* (n) solo nei gameti, cioè in quelle cellule destinate a ricostituire un nuovo individuo dopo la fecondazione.

Tutti gli organismi che si riproducono sessualmente hanno origine da una cellula, lo *zigote*, che si forma dall'unione di due *gameti*, uno di origine materna, l'*uovo*, e uno di origine paterna, lo *spermatozoo*. E' ovvio che, dovendo ogni individuo di una stessa specie possedere sempre lo stesso numero di cromosomi, se i gameti fossero diploidi lo zigote, che da essi origina, avrebbe un corredo cromosomico $2n + 2n = 4n$, cioè doppio rispetto al corredo cromosomico proprio dell'individuo. Invece essendo i gameti aploidi (cioè n) il corredo cromosomico dello zigote sarà $n + n = 2n$; si ripristina cioè il corredo da cui si è partiti (Figura 2).

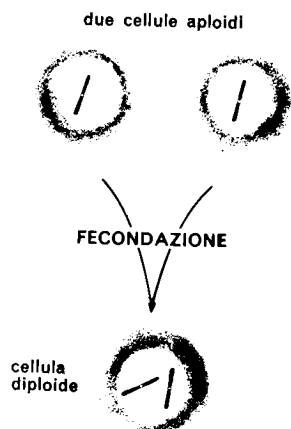


Figura 2

La possibilità di passare dal corredo diploide delle cellule somatiche a quello aploide delle cellule sessuali è garantita da una particolare divisione cellulare detta *meiosi*, mentre la continuità del corredo cromosomico nel corso dello sviluppo dell'organismo dipende da un altro tipo di divisione detto *mitosi*. Della meiosi e della mitosi ci occuperemo in un altro capitolo; per ora ci limiteremo a considerare i cromosomi in tutti i loro aspetti.

Le osservazioni che verranno presentate sui cromosomi si riferiscono al loro aspetto nel corso delle prime fasi della divisione, in quanto nel nucleo interfasico essi si despiralizzano.

Nei preparati i cromosomi appaiono come strutture cilindriche, fortemente colorate, interrotte da una zona chiara (*costrizione primaria*) in cui si può osservare un piccolo granulo sferico chiamato *centromero*. Il cromosoma appare così diviso in due braccia e proprio a seconda della loro reciproca lunghezza si distinguono morfologicamente 4 tipi di cromosomi: 1) *telocentrici*, quando il centromero è situato ad un'estremità; 2) *acrocentrici*, quando il centromero separa 2 braccia di cui una è molto corta; 3) *submetacentrici*, quando le due braccia sono disuguali e il cromosoma ha la forma di una L; 4) *metacentrici*, quando il centromero è centrale e le due braccia sono disposte a V.

La struttura del centromero è duplice e piuttosto complessa: infatti ogni cromosoma appare costituito da due filamenti elicati ed appaiati detti *cromatidi*, ed il centromero rappresenta la zona in cui i cromatidi sono saldati fra loro. I punti di fusione sono due: lo spazio compreso fra questi due punti è diviso in 3 zone di cui quella centrale rappresenta il punto di contatto fra il cromosoma e le fibre del fuso mitotico che compaiono nel citoplasma delle cellule in mitosi (Figura 3).

La configurazione a due cromatidi appaiati è propria del cromosoma all'inizio della divisione cellulare, quando cioè è già avvenuta la *reduplicazione* del DNA, di cui si parlerà in seguito, per effetto della quale da una sola molecola di DNA se ne sono formate due. Il centromero, che tiene uniti i due cromatidi, rappresenta la zona in cui la reduplicazione non è avvenuta.

La posizione del centromero e la eventuale presenza di altri strozzamenti (*costrizioni secondarie*) sono criteri usati per la identificazione morfologica dei cromosomi, insieme al numero, la forma e le dimensioni.

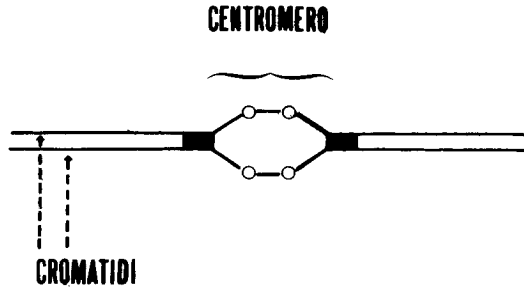


Figura 3

Tutte queste caratteristiche servono ad identificare il corredo cromosomico, di un determinato organismo e vengono raggruppate sotto il nome di *cariotipo*.

Nella pratica i cromosomi omologhi non si troveranno mai accostati e quindi appaiati; infatti la loro localizzazione è del tutto libera; per un migliore studio del cariotipo i cromosomi possono però essere rappresentati con un diagramma, detto *ididogramma*, in cui le coppie vengono ricomposte in ordine di grandezza decrescente.

Comunque più che l'aspetto dei cromosomi, come sono osservabili al microscopio, è oggi importante conoscerne la struttura molecolare. Le numerose ricerche condotte sui cromosomi hanno portato alla conclusione che la loro struttura fondamentale è fibrillare, ma le dimensioni e il numero delle *microfibrille* che compongono il cromosoma non è ancora stato stabilito. Le dimensioni delle microfibrille variano nel corso del ciclo vitale della cellula e sono da mettere in relazione con il loro maggiore o minor grado di spiralizzazione. Si è supposto che ogni cromatidio della citologia classica sia costituito da una molecola di DNA associata a proteine, la cosiddetta *microfibrilla*.

la, che si avvolge su se stessa a spirale, più o meno fitta, e forma la *fibra* di diametro generalmente compreso fra 200 e 300 Å.

Questa ipotesi è stata avallata dagli esiti di numerose ricerche, grazie alle quali si è anche potuta conoscere la lunghezza della molecola di DNA dei cromosomi; per es., è stato calcolato che la lunghezza del DNA contenuto nel singolo cromosoma del primo paio dei cromosomi umani, è di 7,3 cm.

Il modello lineare della organizzazione molecolare del cromatidio appare comunque il più convincente, anche perchè con esso è molto facile spiegare una ripartizione di materiale ereditario fra i cromatidi figli, al momento della divisione cellulare. In una cellula che sta per dividersi il cromosoma si fessura longitudinalmente e si separa in 2 unità, ognuna delle quali possiede una delle due catene di una molecola di DNA; ciascuna elica ricostituisce poi quella mancante e origina una molecola completa di DNA (reduplicazione semiconservativa del DNA).

Si è già parlato del DNA a proposito della sintesi delle proteine (Biochimica 2.2) e si è accennato alla sua costituzione e a come ciascuna delle sue due catene serva da "stampo" per la sintesi dell' RNA_m .

Per quanto riguarda la sua costituzione molecolare sappiamo che vi partecipano il desossiriboso (glicide), l'acido fosforico (H_3PO_4) e le basi azotate: sono proprio queste ultime che rivestono una particolare importanza per quanto riguarda la differenza fra DNA e RNA e i possibili metodi di evidenziazione e d'indagine degli acidi nucleici.

Le basi azotate che partecipano alla composizione della molecola del DNA sono quattro: 2 di natura pirimidinica (derivate dalla pirimidina) e cioè: citosina e timina; e 2 di natura purinica (derivate dalla purina): e cioè adenina e guanina. Le basi si legano fra di loro a due a due in senso orizzontale in modo che una base purinica si combini con una pirimidinica ed in particolare costituiscono i ponti fra le 2 eliche del DNA; per soddisfare le esigenze di appaiamento i rapporti fra adenina e timina e fra guanina e citosina devono essere sempre di 1 : 1.

Il modello della molecola di DNA proposto per la prima volta da Watson e Crick ne chiarisce la struttura e ne spiega le pro

prietà fisico-chimiche e biologiche e specialmente la reduplicazione.

Come si vede dalla Figura 4, la molecola è costituita da 2 catene che si avvolgono secondo direzioni opposte intorno ad un asse ideale posto al centro; le due catene sono unite fra loro tramite ponti d'idrogeno fra le basi. L'appaiamento delle basi è altamente specifico: poichè deve essere conservata una distanza fissa fra le due molecole di desossiriboso di ogni catena (pari a 11 Å; il diametro totale della molecola è stato calcolato intorno a 20 Å) l'unico accoppiamento possibile è: base pirimidinica - base purinica.

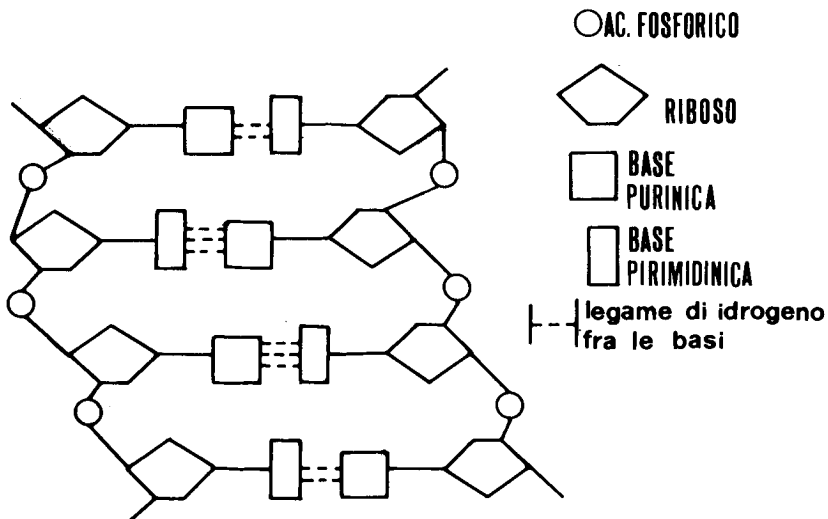


Figura 4

Lungo una catena le basi si possono succedere in modo estremamente vario, ma nell'altra catena la sequenza delle basi deve essere ordinata in modo complementare (Figura 5).

E' d'uopo ora precisare due fatti dai quali si può dedurre l'importanza del DNA: 1) il disporsi delle basi lungo la catena del DNA costituisce il fondamento dell'informazione genetica: in

particolare possiamo dire che le basi costituiscono un linguaggio in codice la cui unità fondamentale è costituita da una *tripletta* di basi in successione, cioè da 3 delle quattro basi variamente combinate lungo ogni singola catena.



Figura 5

E' ovvio che le possibilità di combinazione sono molto numerose e, poichè le molecole di DNA sono polimeri molto lunghi, si originano in tal modo migliaia di caratteri ereditari differenti.

2) Abbiamo detto che la sequenza delle basi su di una catena è assolutamente complementare a quella dell'altra: in questo modo, durante la reduplicazione del DNA, la nuova catena si forma sullo "stampo" fornito da quella originaria, assicurando esattamente la trasmissione del codice genetico da una generazione all'altra di cellule. La funzione del DNA nella ereditarietà è in larga misura connessa con la divisione cellulare di cui diremo in un altro capitolo.

Oltre a questo codice genetico che perpetua i caratteri in generazioni successive di cellule, il DNA contiene un codice che regola molte attività metaboliche fra cui ricordiamo la già citata sintesi delle proteine.