

Soluzioni per il tuo controllo

1. Ciclo cellulare: struttura e fasi.

Il ciclo cellulare è composto da quattro fasi: G1 (crescita, con complessi ciclina D/CDK4-6 e ciclina E/CDK2), S (replicazione del DNA, con ciclina A/CDK2), G2 (verifica pre-mitotica, con ciclina A e B/CDK1) e M (mitosi, con ciclina B/CDK1). Le fasi G1 e G2 sono regolative e soggette a molteplici controlli; le fasi S e M sono operative. Le cellule possono uscire in G0 (quiescenza). La durata di G1 e G2 è variabile, mentre S e M sono relativamente costanti.

2. Cicline e CDK: meccanismo d'azione.

Le cicline sono la subunità regolatrice di complessi dimerici ciclina-CDK; la CDK, inattiva come monomero, viene attivata dal cambiamento conformazionale indotto dall'associazione con la ciclina, che espone il sito attivo chinasi. Le cicline si accumulano durante una specifica fase e vengono degradate alla sua fine (tramite la sequenza PEST) da sistemi ubiquitina/proteasoma; la perdita della ciclina inattiva la CDK, ponendo fine alla fosforilazione dei substrati di quella fase e consentendo la transizione alla fase successiva. Sperimentalmente, cicline prive della sequenza PEST non vengono degradate e bloccano la cellula.

3. Struttura e logica dei checkpoint.

Tutti i checkpoint sono composti da: 1) un sensore, che monitora una condizione specifica (integrità del DNA, completamento della replicazione, attacco dei microtubuli); 2) un trasduttore, che amplifica il segnale attraverso cascate di fosforilazioni; e 3) un effettore, che genera la risposta: se le condizioni sono soddisfatte il ciclo procede, altrimenti viene indotto un arresto. Questo schema conservato evolutivamente garantisce l'ordine degli eventi e impedisce la propagazione di errori.

4. pRB e controllo della proliferazione.

pRB lega e inibisce i fattori trascrizionali E2F/DP, occupandone i siti di legame sui promotori dei geni di ciclo e bloccando la RNA polimerasi II: questo mantiene la cellula in G0. In risposta a segnali mitogenici, la ciclina D1 viene sintetizzata e forma complessi con CDK4 o CDK6, che fosforilano pRB; la fosfo-pRB riduce la sua affinità per E2F, si distacca dai promotori e consente la trascrizione dei geni pro-proliferativi. La perdita di funzione di RB1 nei tumori definisce formalmente il gene come oncosoppressore.

5. La transizione G1-S e il punto di restrizione R.

Dopo il legame dei mitogeni, la ciclina D1 fosforila parzialmente pRB, liberando alcuni fattori E2F che attivano, tra gli altri, il gene E2F-1 (circuitto autoamplificante) e il gene della ciclina E. La ciclina E/CDK2 completa la fosforilazione di pRB, determinandone la totale inattivazione. A questo punto la cellula ha raggiunto il punto di restrizione R: il programma proliferativo procede autonomamente anche in assenza dei fattori extracellulari che l'avevano innescato. I geni attivati da E2F/DP codificano enzimi essenziali per la replicazione (ribonucleotide reductasi, timidilato sintetasi) e proto-oncogeni (c-myc, c-fos).

6. p53 e risposta al danno del DNA.

p53 interagisce con il DNA rilevando rotture e distorsioni, senza preferenza di sequenza, e viene definita il 'guardiano del genoma'. In risposta al danno attiva come fattore trascrizionale il gene p21, che inibisce universalmente i complessi ciclina-CDK, arrestando il ciclo. Mutazioni di TP53, presenti in ~50% dei tumori umani, aboliscono questa sorveglianza: le cellule accumulano danni senza arrestarsi. Clinicamente, lo stato funzionale di p53 orienta la scelta terapeutica: i farmaci genotossici sono efficaci in tumori con p53 funzionale, inefficaci in tumori con p53 mutata.

7. ATM e ATR: chinasi chiave della DDR.

ATM risponde principalmente alle rotture a doppio filamento (DSB): è attivata per autofosforilazione e transita da dimeri inattivi a monomeri attivi. ATR risponde alla presenza di DNA a singolo filamento e forche replicative bloccate, ed è attivata da regioni di ssDNA generate durante la riparazione. Entrambe sono chinasi apicali: fosforilano le chinasi effettrici CHK2 (principalmente ATM) e CHK1 (principalmente ATR), che propagano il segnale verso effettori quali p53, CDC25 e Wee1, inducendo arresto del ciclo e attivazione della riparazione.

8. Regolazione del checkpoint G2/M: Wee1, CDC25 e CAK.

In G2, Wee1 mantiene CDK1 inattiva fosforilando due residui inibitori a monte del sito attivo. La fosfatasi CDC25 rimuove questi gruppi fosfato, attivando CDK1. Quando il DNA non è completamente replicato o è danneggiato, i checkpoint attivano CHK1 e CHK2, che inibiscono CDC25 e mantengono Wee1 attiva: CDK1 rimane inattivo, bloccando la mitosi. Solo quando replicazione e riparazione sono complete, CDC25 viene attivata (anche tramite PLK1, a centrosomi maturi) e promuove l'ingresso in mitosi.

9. Assemblaggio del fuso mitotico.

Nella via principale (centrosomica), CDK1 con Plk1 e Aurora-A reclutano la γ -tubulina ai centrosomi, da cui nucleano i microtubuli. Nella via alternativa (cromatina-dipendente), RCC1 carica GTP su RAN in prossimità dei cinetocori; RANGTP recluta proteine che inducono la polimerizzazione locale dei microtubuli, inclusa la γ -tubulina. Motori molecolari con polarità opposte (dineine verso i poli, chinesine verso le estremità libere) cooperano per organizzare la struttura bipolare: le dineine convergono i microtubuli ai poli, le chinesine allontanano i poli tra loro.

10. Checkpoint mitotico (SAC) e transizione metafase-anafase.

Il SAC monitora l'attacco dei microtubuli ai cinetocori: un cinetocore libero genera un *wait signal* tramite le proteine Mad (MAD1, MAD2, MAD3) e BUB, che formano il complesso MCC (*mitotic checkpoint complex*). MCC sequestra Cdc20, impedendo l'attivazione di APC/C e quindi la degradazione della securina e della ciclina B1. Quando tutti i cinetocori sono occupati e biorientati, MCC si dissocia, Cdc20 attiva APC/C, che ubiquitina securina e ciclina B1: la separasi (liberata dalla securina) degrada le coesine, permettendo la separazione dei cromatidi fratelli e l'inizio dell'anafase.