

Corso di Biologia cellulare

Il citoscheletro e l'architettura cellulare.

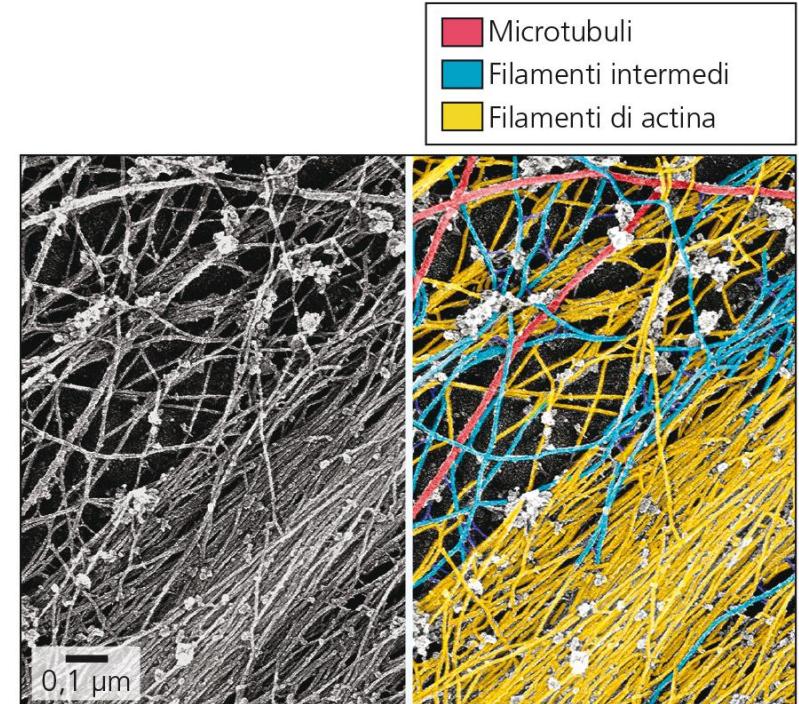
< Le cellule sono sempre in movimento >

CITOSCHELETRO

- Complesso dinamico di strutture sottili e relativamente lunghe nel citosol a collegare organelli e membrana.
- E' formato da proteine con proprietà meccaniche distinte e composte da **subunità monomeriche**.
- Si assemblano in 3 strutture polimeriche:
 - **FILAMENTI INTERMEDI**
 - **MICROTUBULI**
 - **MICROFILAMENTI**

Funzioni:

1. **sostiene strutturalmente la cellula stabilizzandone la forma;**
2. **fornisce resistenza meccanica alla cellula;**
3. **permette i movimenti cellulari.**



CITOSCHELETRO

- **CIASCUN TIPO DI FILAMENTO E' UN POLIMERO**

MONOMERO

actina

POLIMERO

microfilamenti

tubulina

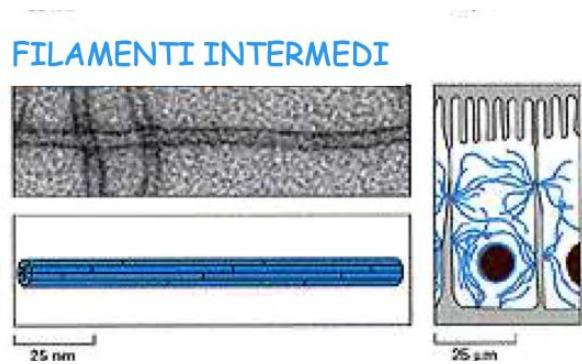
microtubuli

diverse proteine

filamenti intermedi

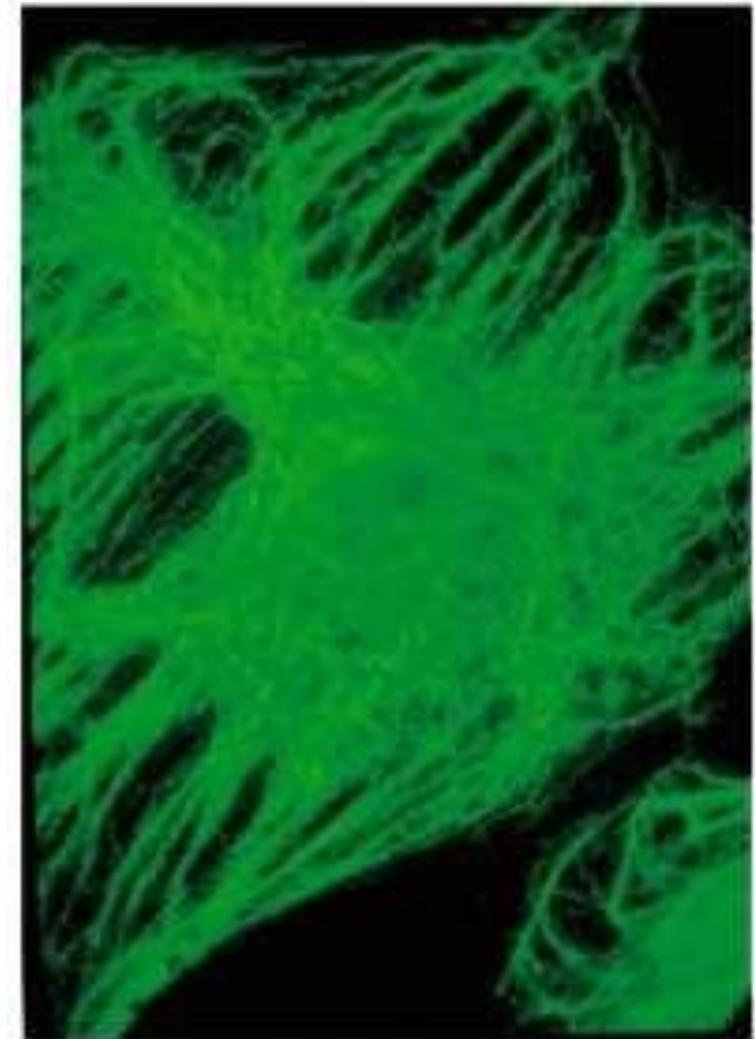
CITOSCHELETRO, FILAMENTI INTERMEDI

- Unità: famiglia eterogenea di proteine
- 10nM
- Lamina nucleare, assoni, tessuti epiteliali



IMPALCatura e
ORGANIZZAZIONE DI
TESSUTI

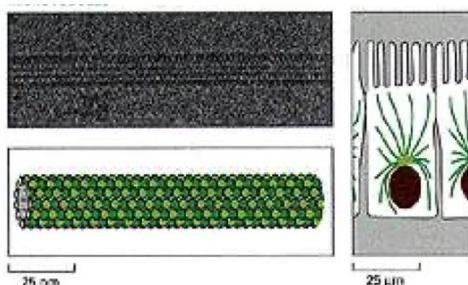
(a) Intermediate filaments
(vimentin)



CITOSCHELETRO, MICROTUBULI

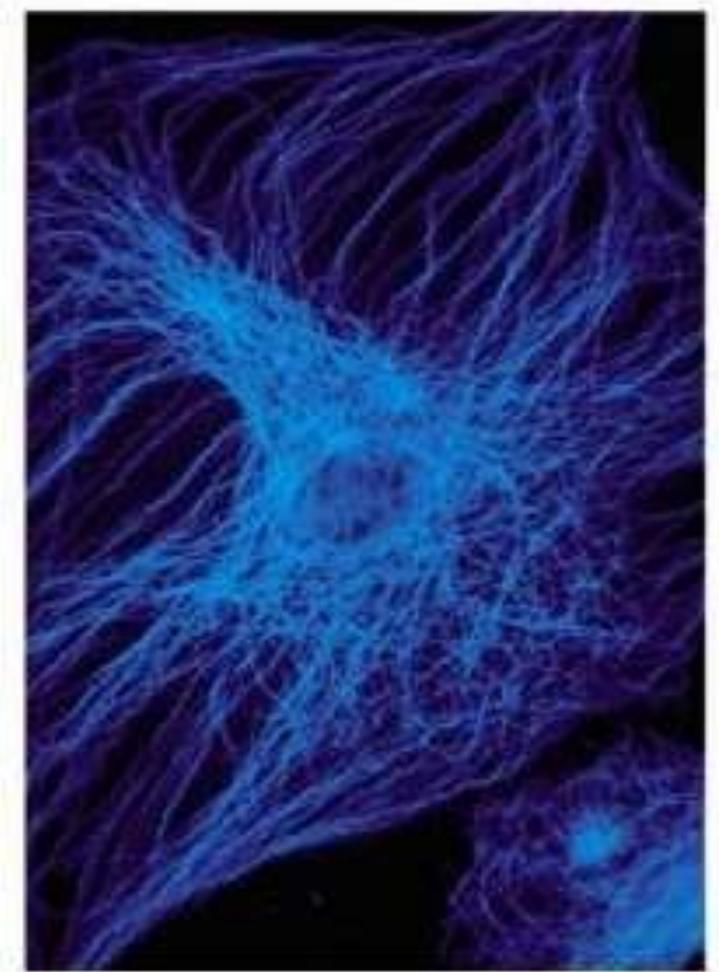
- Cilindri cavi
- Unità: tubulina (alfa e beta)
- 25nM
- Rigidi
- MTOC: centrosoma
- si definisce centrosoma (*MTOC - MicroTubule Organizing Center*) una struttura non membranosa posta vicino al nucleo e circondata da una massa amorfa di materiale pericentriolare, preposta alla formazione, alla demolizione e all'organizzazione dei microtubuli della cellula.

MICROTUBULI (TUBULINA)



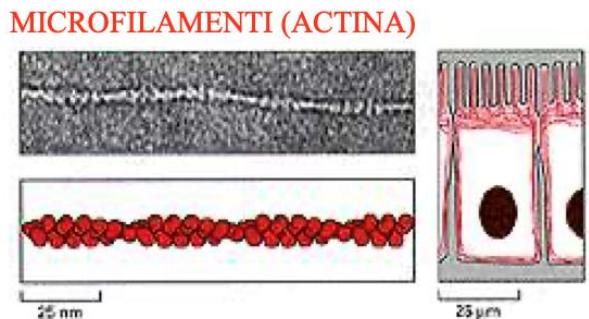
MITOSI E TRAFFICO
DI VESCICOLE

(b) Microtubules (tubulin)



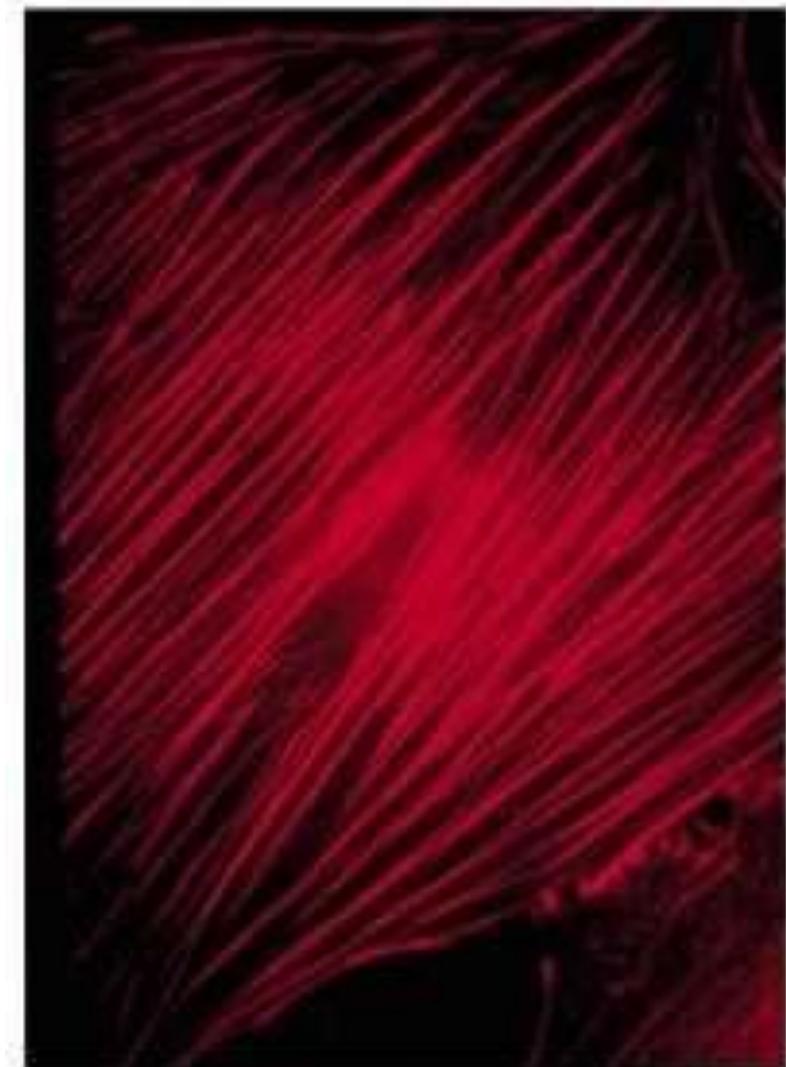
CITOSCHELETRO, MICROFILAMENTI

- Polimeri elicoidali a 2 filamenti della proteina ACTINA
- Strutture flessibili
- 5-9nM
- Fasci lineari
- Reti bidimensionali
- Gel tridimensionali

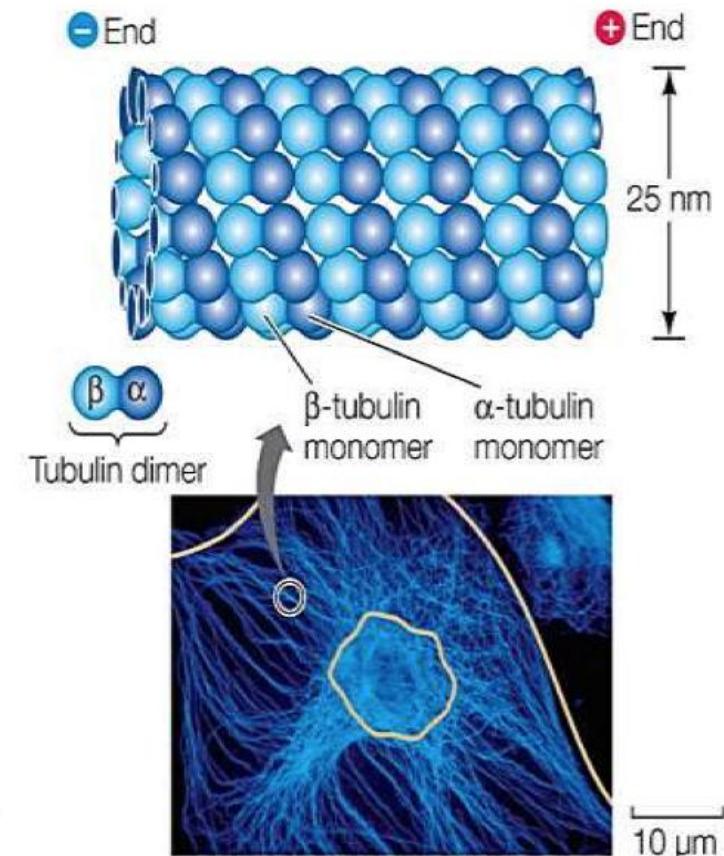
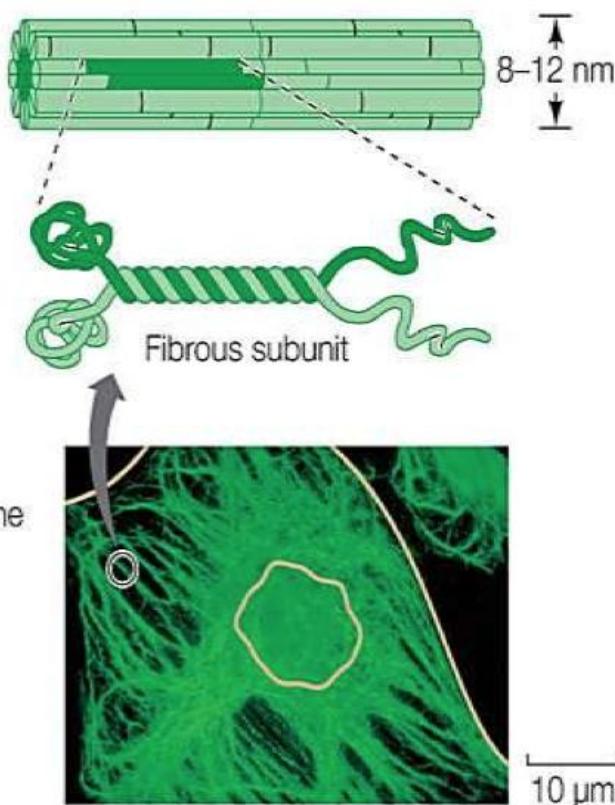
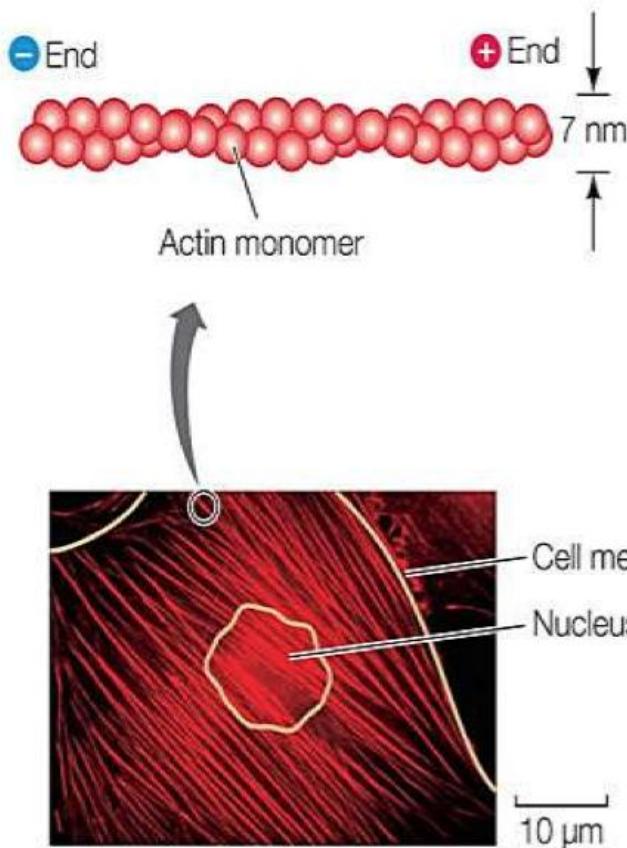


FORMA E MOVIMENTO
DELLE CELLULE

(c) Microfilaments (actin)



CITOSCHELETRO



(A) Microfilaments

Made up of strands of the protein actin; often interact with strands of other proteins.

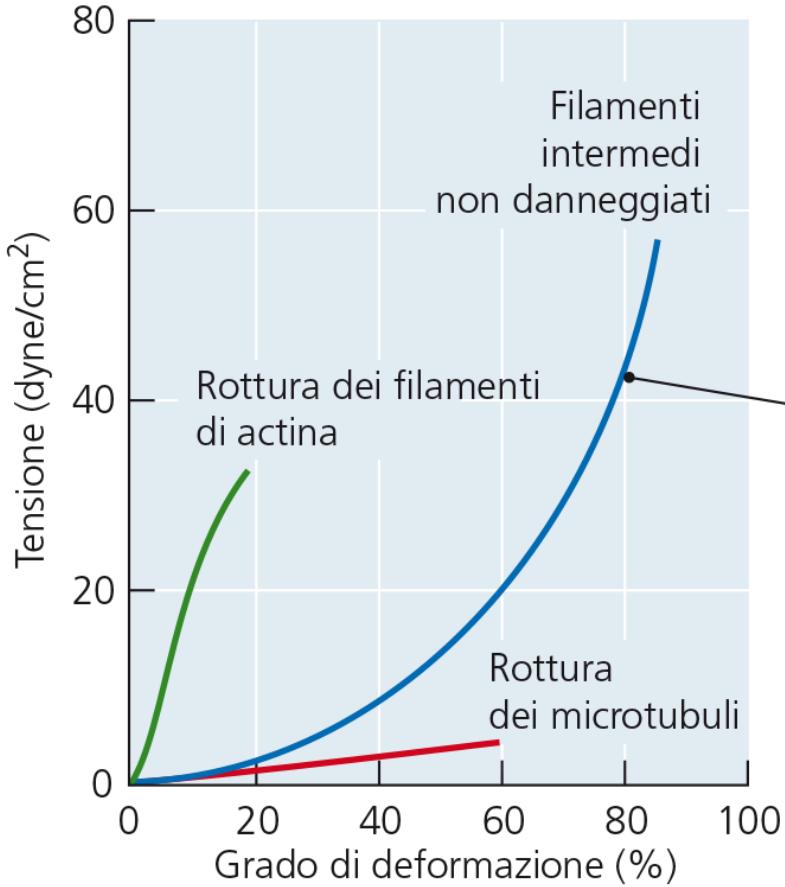
(B) Intermediate filaments

Made up of fibrous proteins organized into tough, ropelike assemblies that stabilize a cell's structure and help maintain its shape.

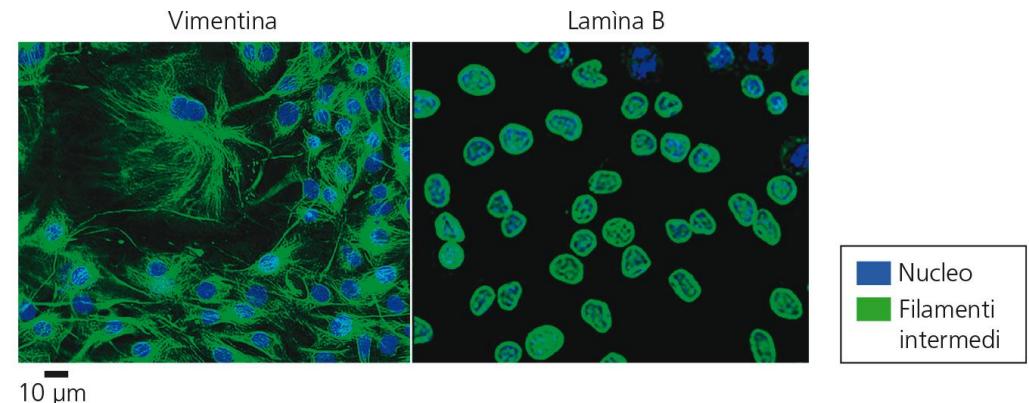
(C) Microtubules

Long, hollow cylinders made up of many molecules of the protein tubulin. Tubulin consists of two subunits, α -tubulin and β -tubulin.

FORZA MECCANICA DEI FILAMENTI INTERMEDI



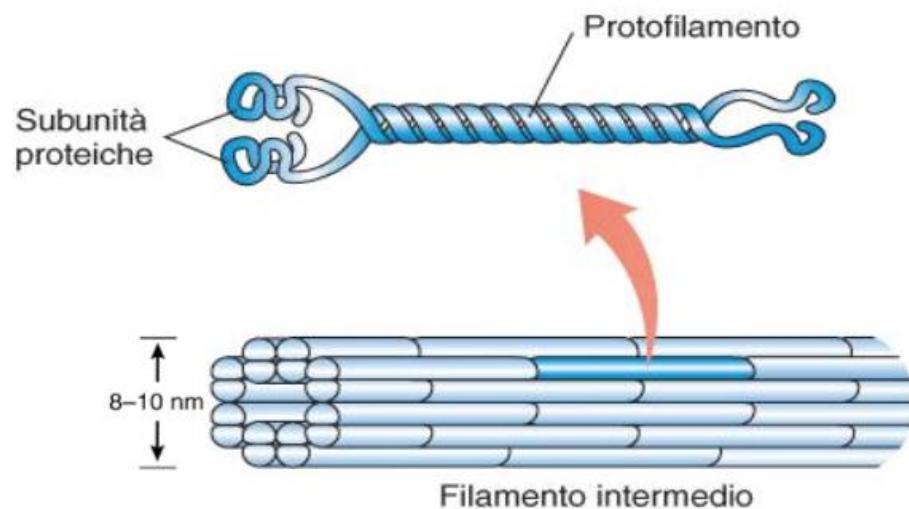
I filamenti intermedi sono quelli con maggiore resistenza dei tre tipi di filamenti citoscheletrici. Assorbono una maggiore quantità di tensione deformandosi (allungandosi) più di quanto riescano a fare gli altri tipi di filamenti.



- I filamenti intermedi stabilizzano la cellula grazie alle caratteristiche meccaniche di resistenza.
- Strutture fibrose **resistenti alla tensione**.

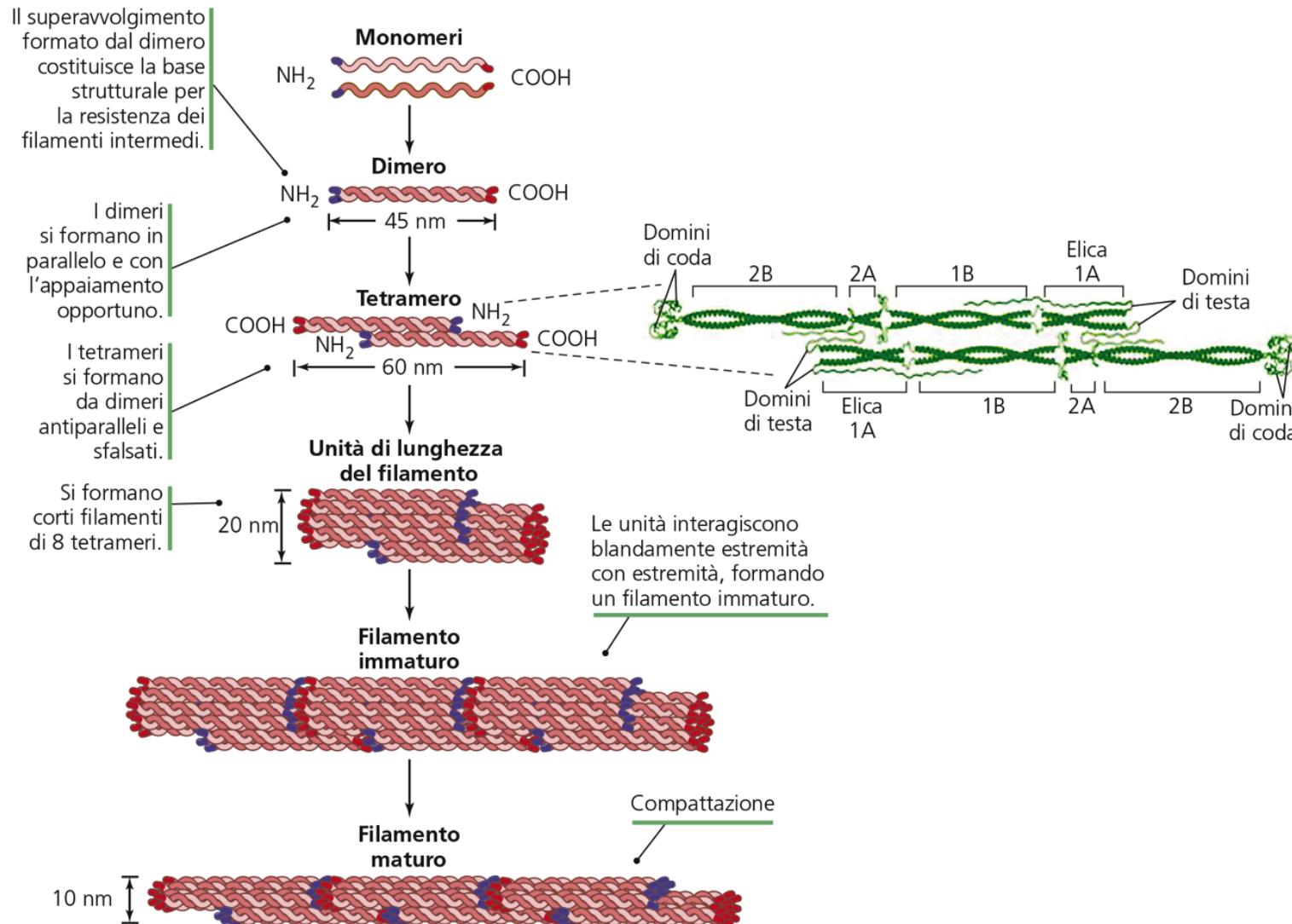
I FILAMENTI INTERMEDI

- Elementi principali del citoscheletro sia nel citoplasma che nel nucleo.
- Più stabili e meno solubili degli altri componenti del citoscheletro.
- Non presentano polarità.
- Strutture fibrose resistenti alla tensione: abbondanti in zone soggette a stress meccanico.
- Tessuto-specifici: le subunità proteiche che li costituiscono variano nei diversi tipi cellulari.



- “Bastoncini” resistenti e flessibili (8-10 nm di spessore).
- Protofilamenti: subunità proteiche arrotolate l’una sull’altra.

Assemblaggio di un filamento intermedio



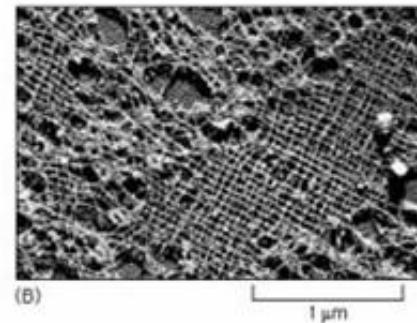
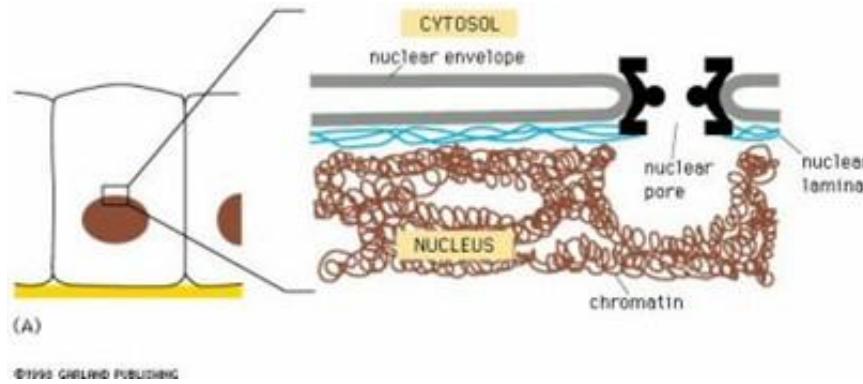
Classi principali di filamenti intermedi

CLASSI	PROTEINA	DISTRIBUZIONE
I	Citocheratine acide.	➤ Cellule epiteliali.
II	Citocheratine basiche o neutre.	➤ Cellule epiteliali.
III	Vimentina, desmina, periferina, GFA (proteina glio fibrillare acida).	➤ Vimentina in tessuto connettivo, muscolo e cellule di sostegno del sistema nervoso; desmina in cellule muscolari; GFA nelle cellule della glia; periferina nei neuroni del SNP.
IV	Proteine dei neurofilamenti (NFL, NFM, NFH).	➤ Neuroni
V	Lamine nucleari (A, B, C).	➤ Lamine ubiquitaria, nel nucleo cellulare
VI	Nestina.	➤ Nestina nei precursori neuronali.

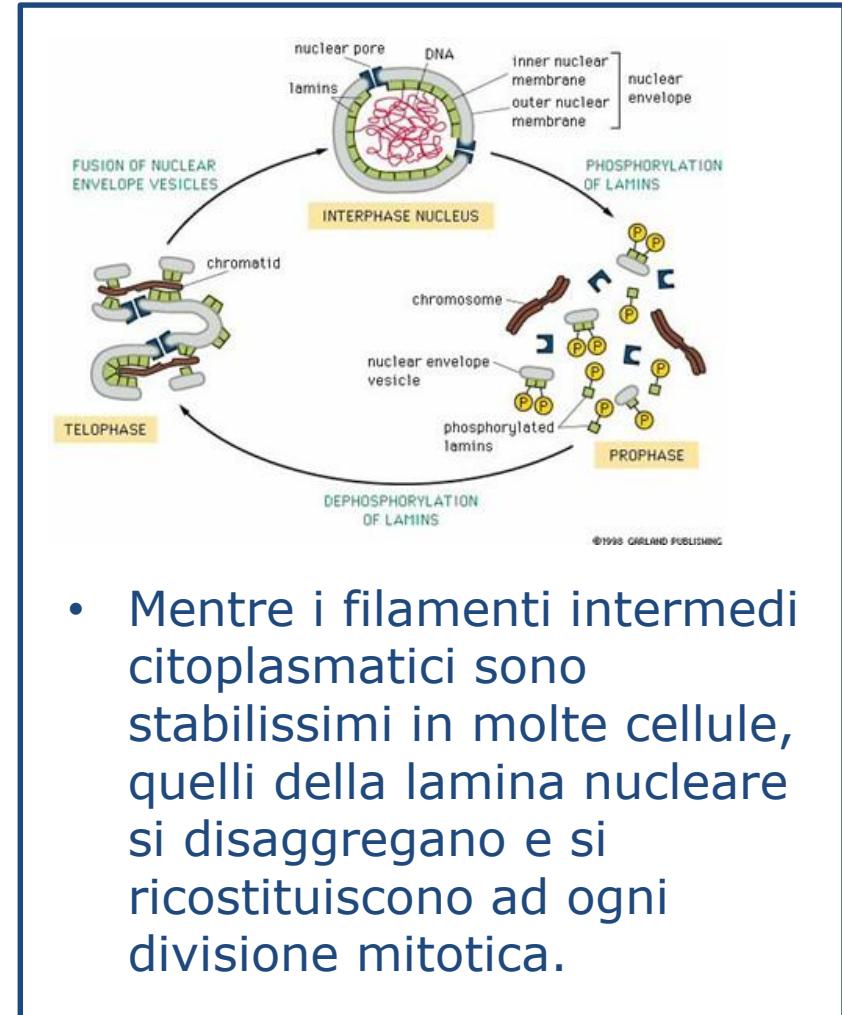
- **Ogni tipo di proteina è codificata da un gene distinto.**
- Negli esseri umani ci sono **70 geni** per i filamenti intermedi che formano circa 75 proteine filamento diverse.
- Le cheratine tipo I e II sono le più numerose proteine dei filamenti intermedi

I filamenti intermedi formano strutture specializzate

- I filamenti intermedi della **lamina nucleare** sono costituiti da proteine del gruppo delle lamine.
- Rivestono ed irrobustiscono la faccia interna della membrana nucleare.
- 3 geni soggetti a splicing alternativo (6 subunità).



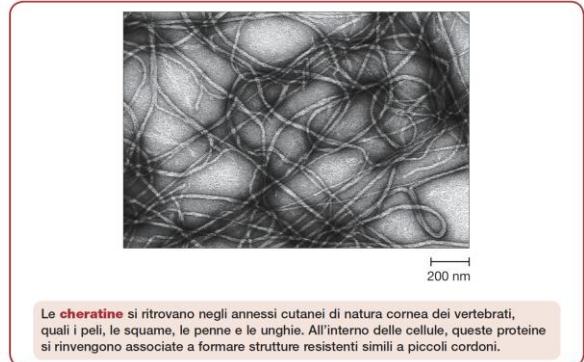
- Si trovano solo nel nucleo delle cellule.



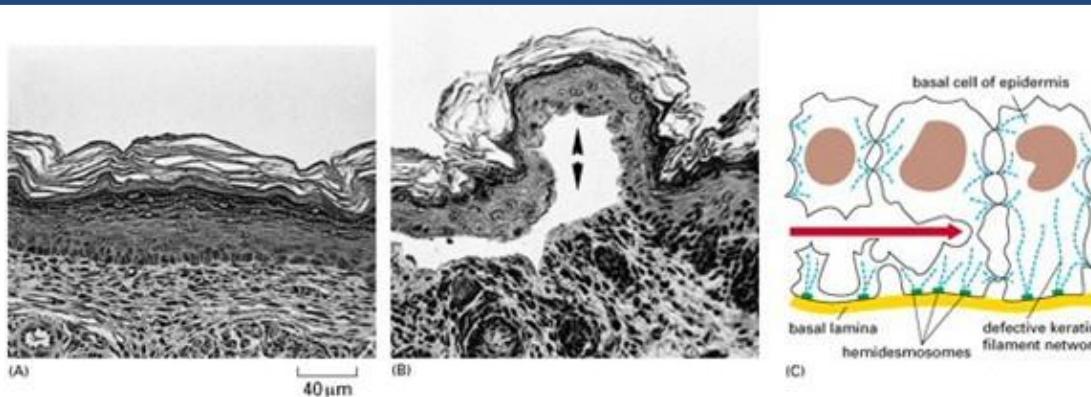
I filamenti intermedi formano strutture specializzate

- Le **cheratine** si ritrovano negli annessi cutanei di natura cornea dei vertebrati, come peli, squame, penne e unghie.

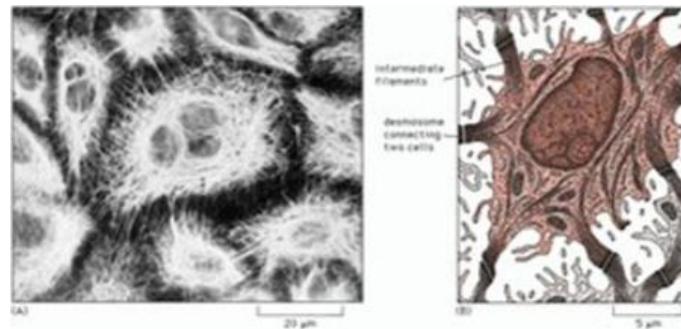
► Figura 6.18 Immagine al ME dei filamenti di cheratina.



- Sempre in cellule epiteliali: 54 geni per due subunità, eterodimeri obbligati.



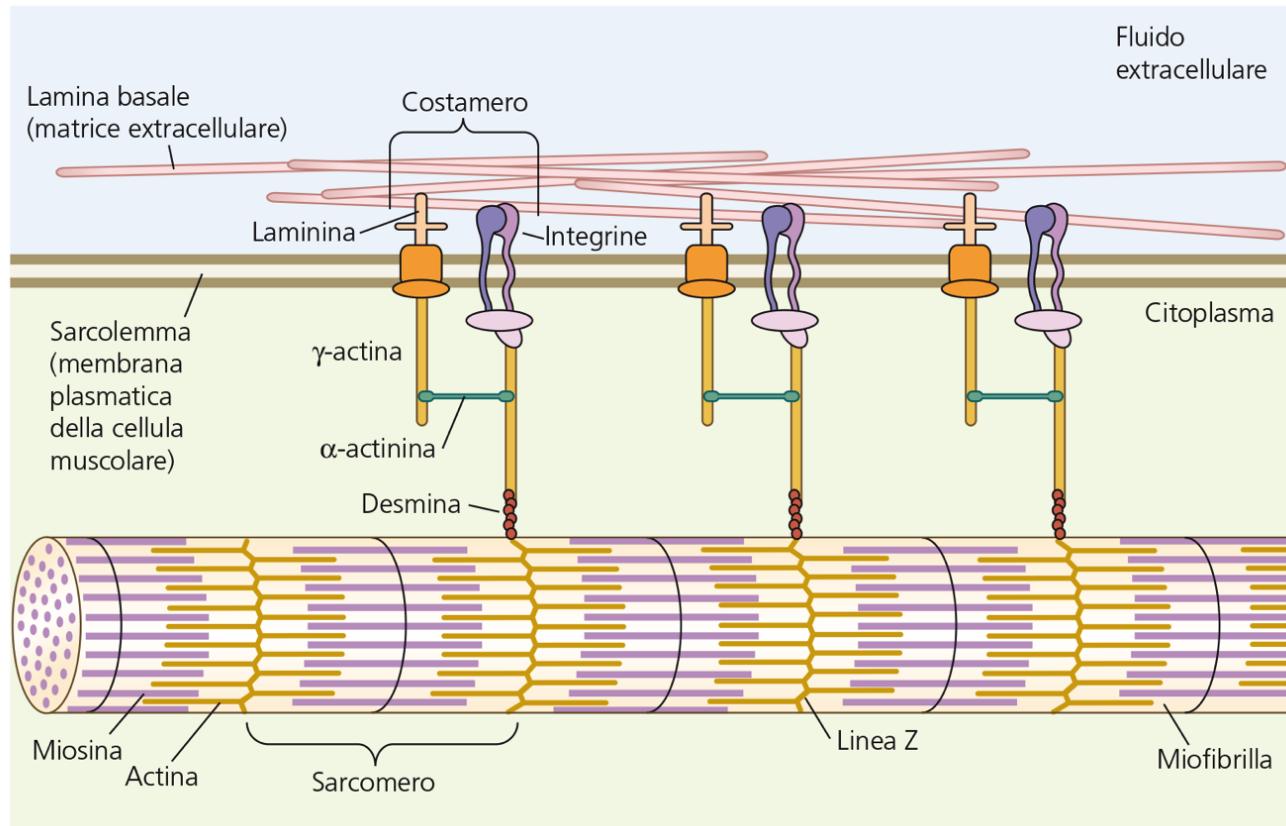
- Mutazioni nei geni che codificano per le cheratine possono causare gravi malattie: **epidermolisi bollosa simplex**. Interferenza con la corretta formazione di filamenti intermedi: la pelle è molto delicata e anche una pressione moderata porta alla formazione di bolle.



- Cellule epidermiche in cultura colorate per evidenziare i filamenti intermedi citoplasmatici connessi fra le varie cellule da desmosomi.

I filamenti intermedi formano strutture specializzate

- La **desmina** è essenziale per la funzione dei muscoli.
- Forma omodimeri in tutti e 3 i tipi di tessuto muscolare (scheletrico, cardiaco, liscio)
- Non forma classiche strutture filamentose.
- Fa parte del **costamero**, struttura che lega l'apparato contrattile delle cellule muscolari con membrana plasmatica e matrice extracellulare.
- Mutazioni nelle proteine del costamero: *distrofie muscolari*.



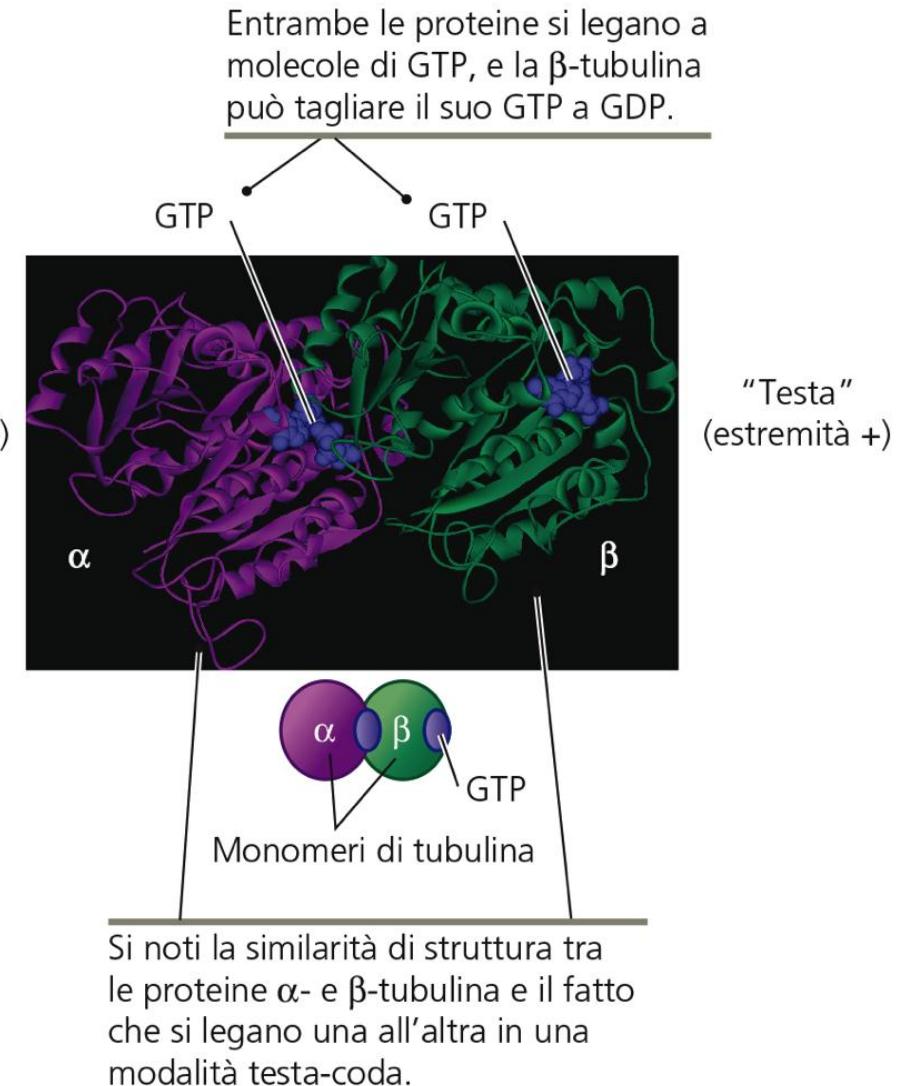
I MICROTUBULI

1. Svolgono funzione di organizzazione e mantenimento della forma e polarità della cellula animale.
2. Sono responsabili del movimento dei cromosomi.
3. Guidano il *trafficking*, trasporto intracellulare e movimento degli organelli.
 - Le cellule si muovono di continuo: distribuzione del materiale non casuale legata alla presenza di microtubuli (richiede energia).
 - La distribuzione della rete di microtubuli varia da un tipo cellulare all'altro.



α - e β -TUBULINA

- I microtubuli sono costituiti da due subunità proteiche, di α - e β -tubulina (40% omologhe).
- Le 2 subunità formano un dimero molto stabile e si allineano per formare una configurazione a forma di 8.
- Sono entrambe legate a GTP ma l'idrolisi di GTP avviene solo nella β -tubulina: scambio GDP-GTP cruciale per l'assemblaggio dei dimeri.



Assemblaggio dei microtubuli

- Rapido assemblaggio e disassemblaggio.
- I **dimeri di tubulina** (α e β) sono instabili e si dissociano velocemente.
- Alcuni si assemmbrano per formare gruppi detti **oligomeri (6-12 dimeri)** dimensione critica) che agiscono come nuclei a promuovere la formazione di **protofilamenti**.
- **13 protofilamenti** si associano a formare dei fogli che si chiudono a formare una **struttura tubolare**, il microtubulo (circa 25 nm di diametro).

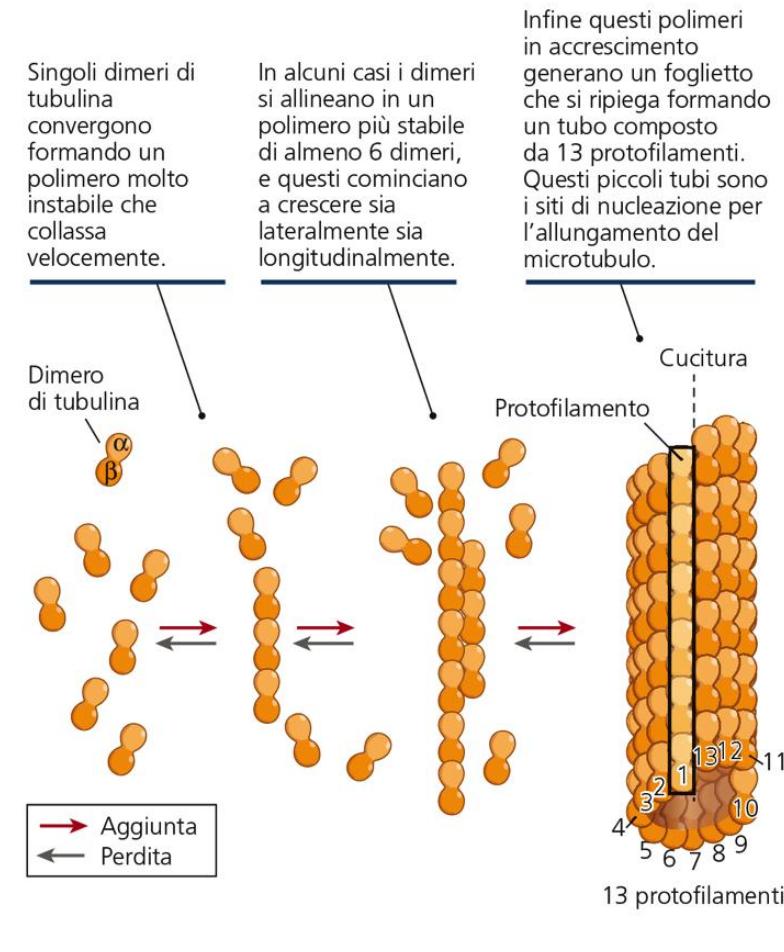
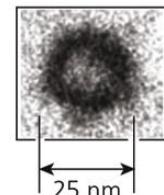
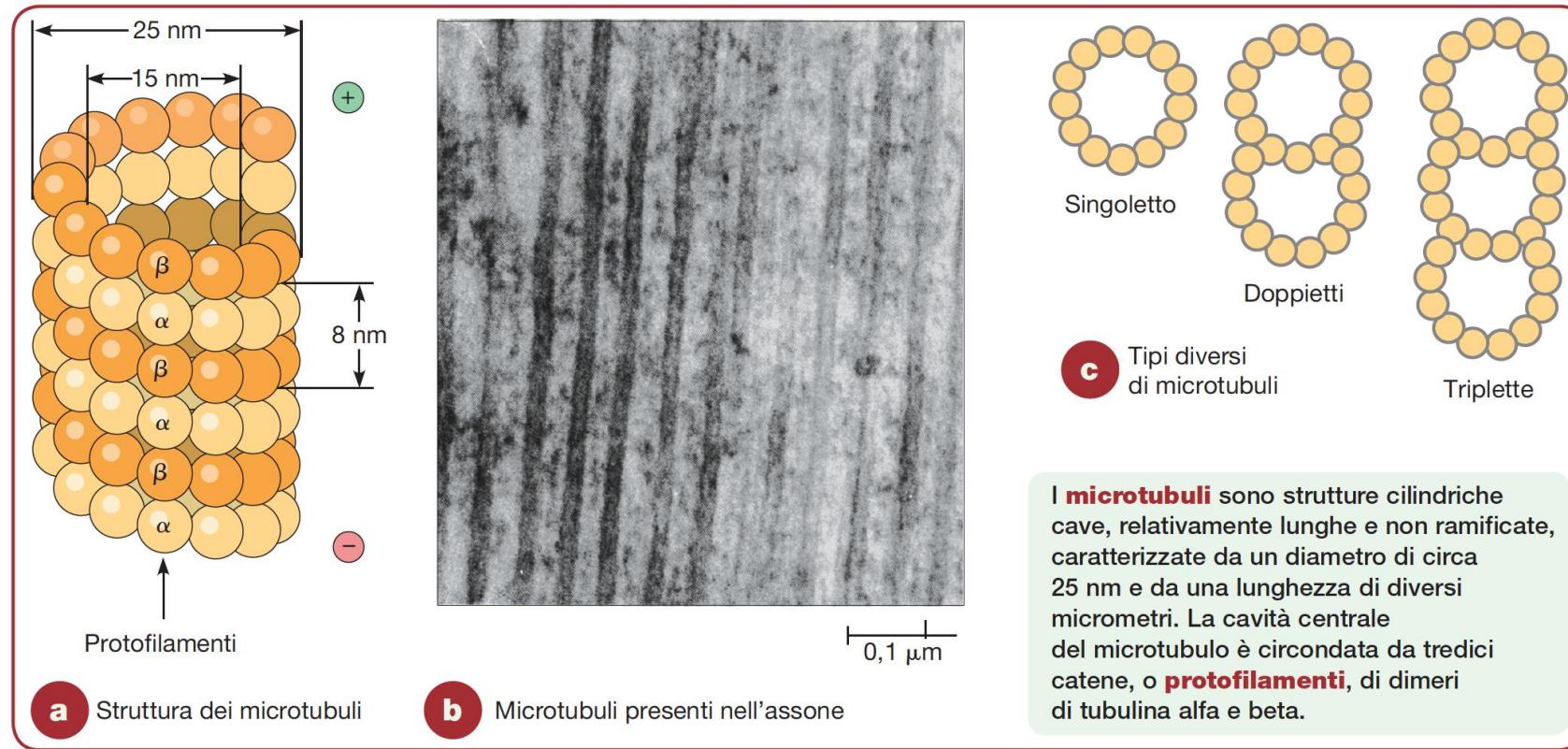


Immagine di microscopia elettronica di un microtubulo purificato.



Struttura dei microtubuli

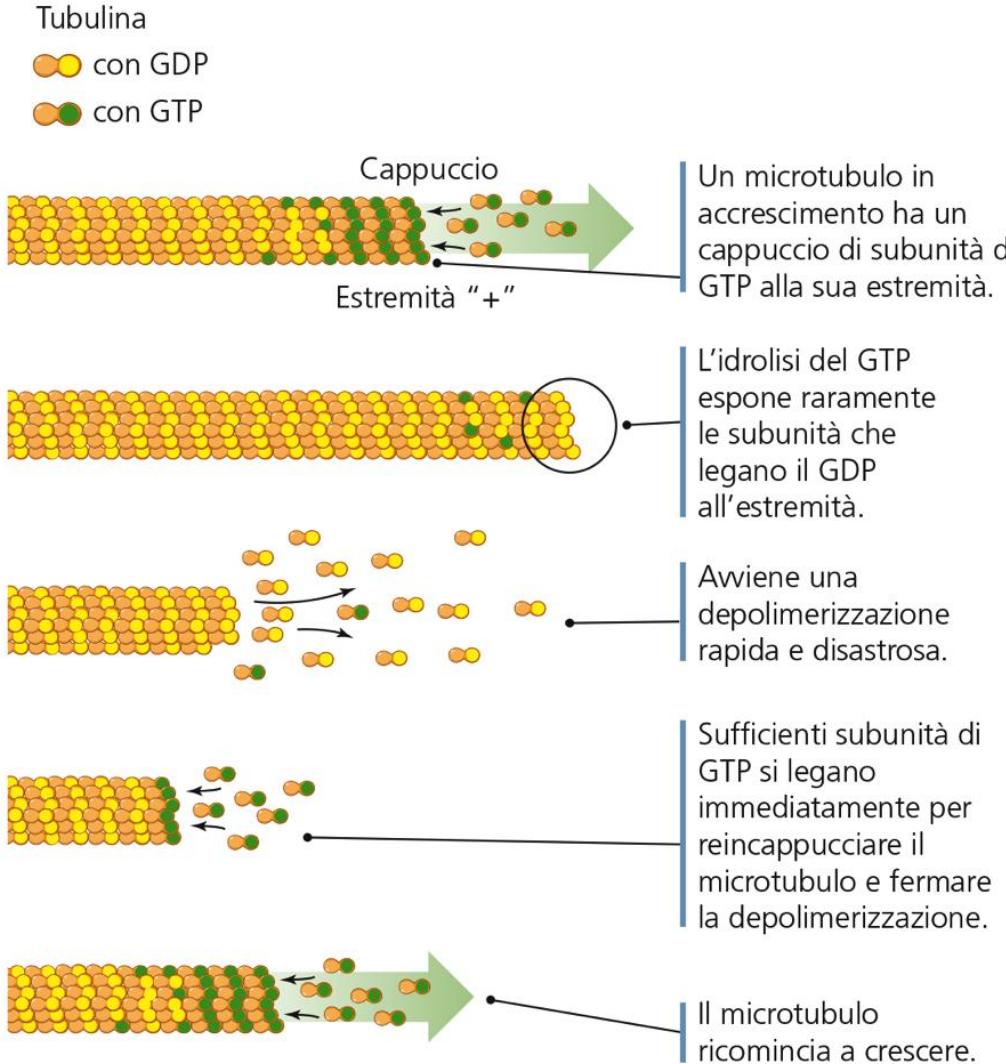


▲ Figura 6.2 Rappresentazione schematica e immagine al ME della struttura dei microtubuli.

- Nei doppietti e nelle triplette si distinguono: un tubulo A di 13 protofilamenti e tubuli incompleti (tubulo B e C) che consistono di 10 o 11 protofilamenti

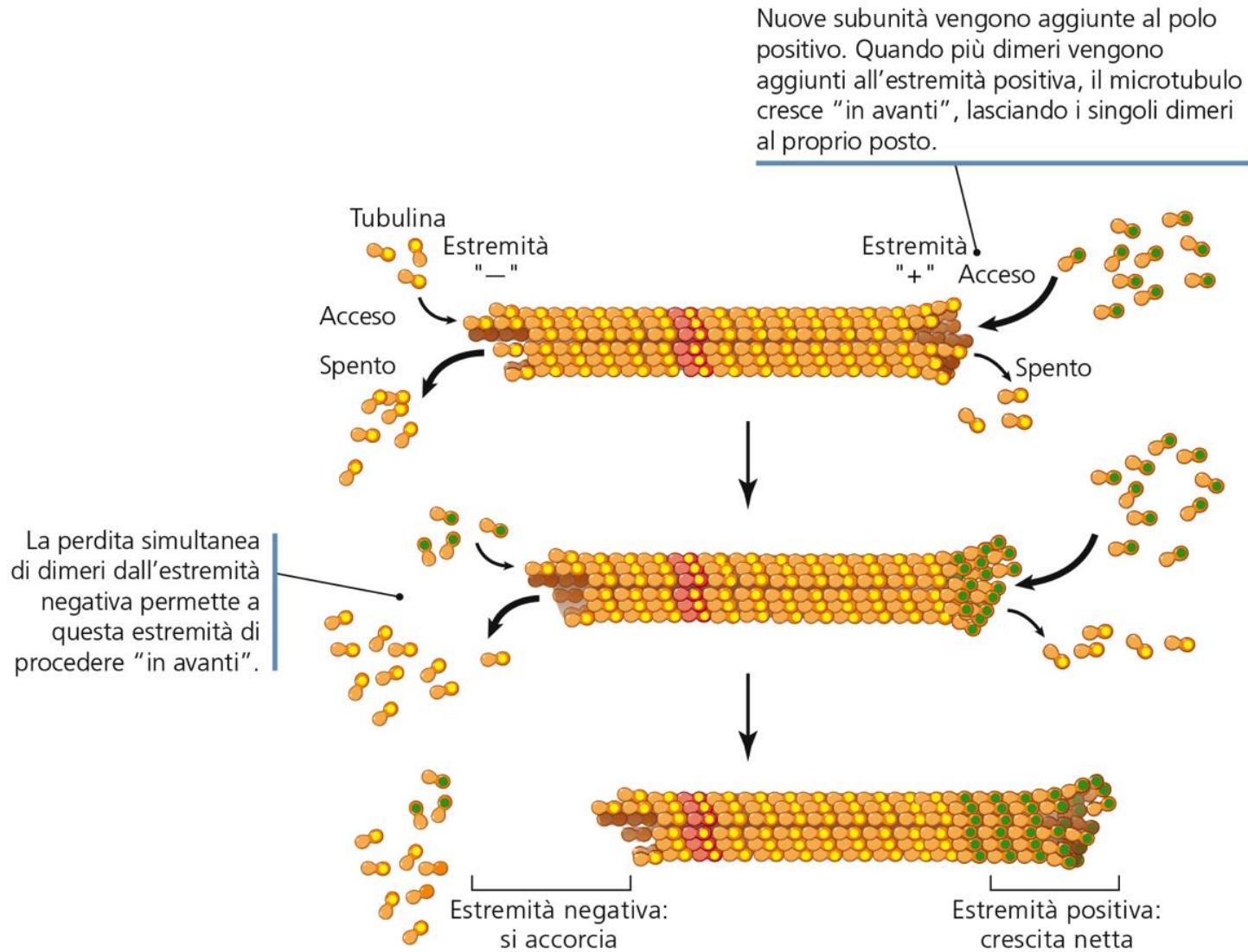
- I microtubuli citoplasmatici sono formati da una singola struttura tubica di 13 protofilamenti.
- Alcuni microtubuli, più complessi, sono costituti da doppietti (assonemi di ciglia e flagelli) o triplette (corpi basali di ciglia e flagelli e centrioli).

Polimerizzazione dei dimeri di tubulina



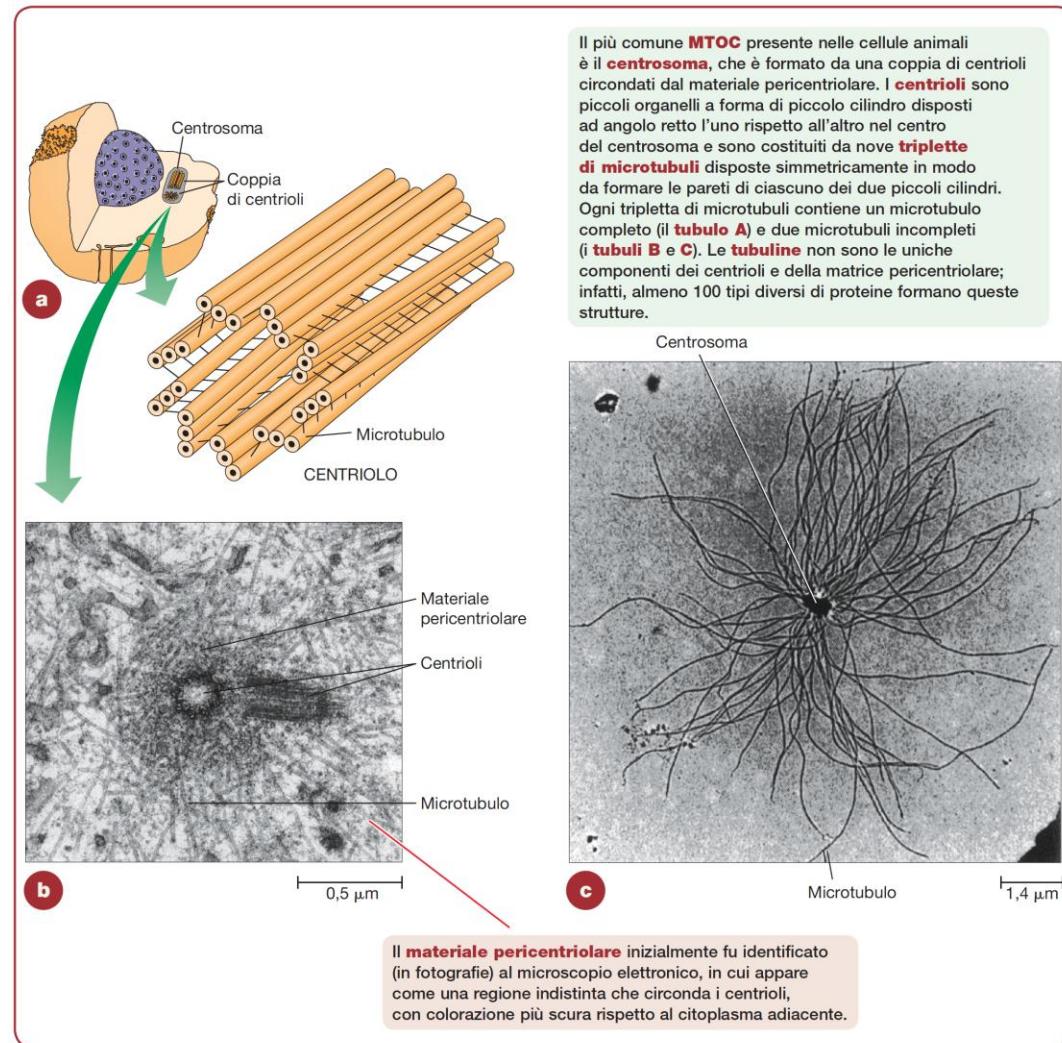
- I dimeri di tubulina possono avere GTP o GDP.
- Quando sia **α -tubulina** che **β -tubulina** hanno GTP legato è favorita la polimerizzazione.
- Quando **β -tubulina idrolizza GTP a GDP** cambia conformazione e favorisce **depolimerizzazione**.
- Hanno una estremità positiva (cappuccio di molecole di **β -tubulina**) ed una negativa (cappuccio di molecole di **α -tubulina**).

Polimerizzazione dei dimeri di tubulina

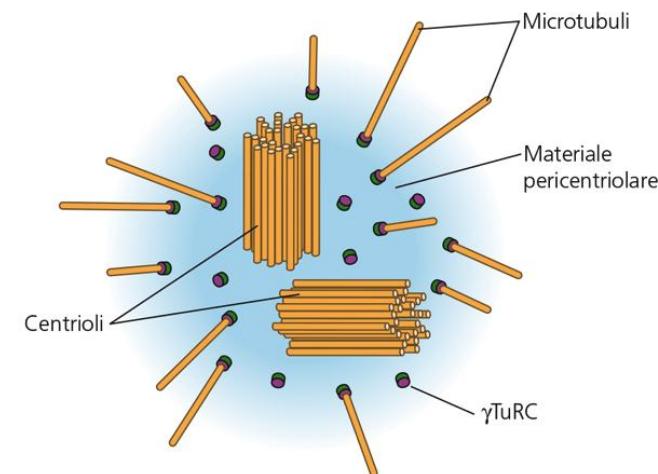


- Allungamento e accorciamento dei microtubuli per aggiunta e rimozione dei dimeri di tubulina avvengono ad entrambe le estremità ma **l'assemblaggio è più rapido all'estremità positiva.**

Centri organizzatori dei microtubuli (MTOC)



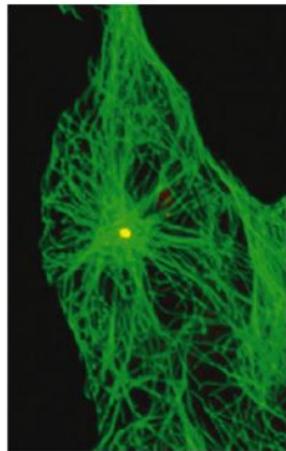
- La maggior parte dei microtubuli viene a formarsi in centri specializzati chiamati MTOC.
- Il principale e più comune MTOC delle cellule animali è il **centrosoma**, formato da una coppia di **centrioli** immersi in una matrice pericentriolare.



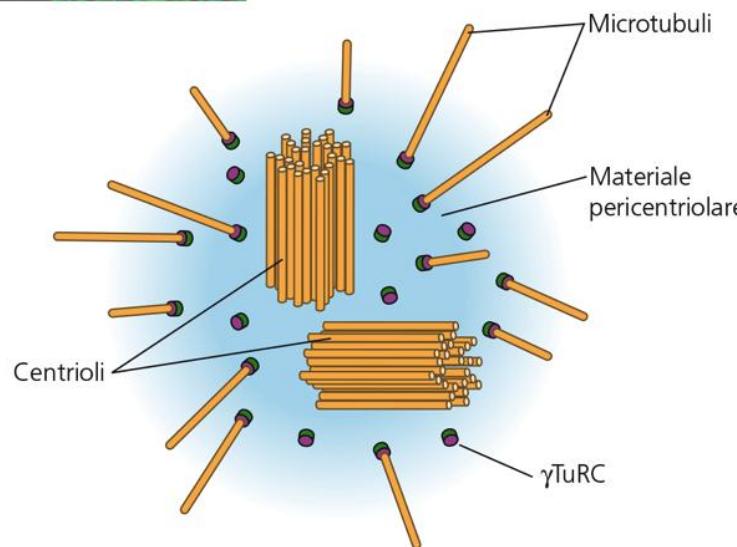
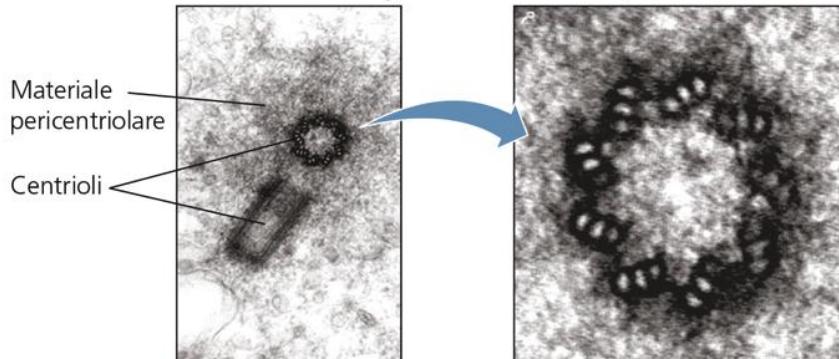
▲ Figura 6.6 Schema e immagini al ME del centrosoma, MTOC delle cellule animali.

Centri organizzatori dei microtubuli (MTOC)

In questa micrografia a fluorescenza, i microtubuli sono in verde e il centrosoma in giallo. Il nucleo non è visibile.



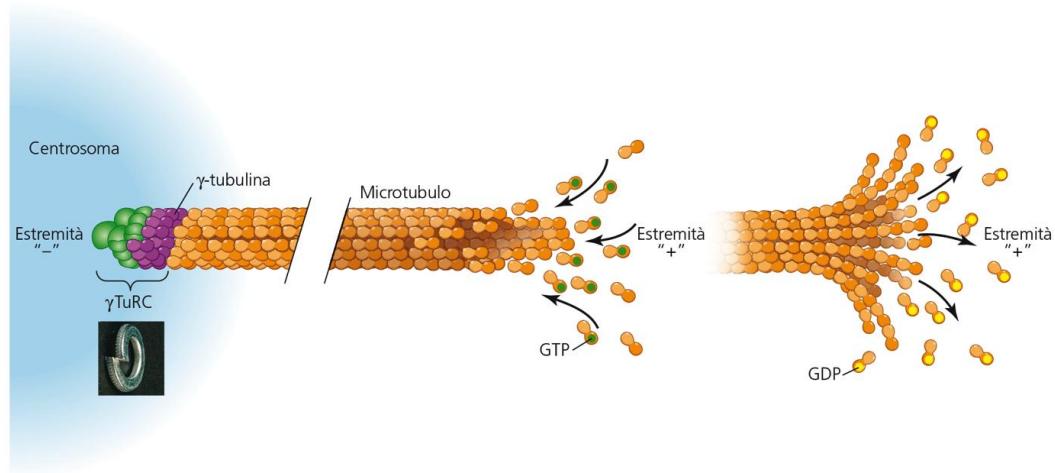
Le micrografia al microscopio elettronico (a basso e alto ingrandimento) mostrano che il centrosoma è composto da due centrioli circondati da una nuvola di materiale pericentriolare.



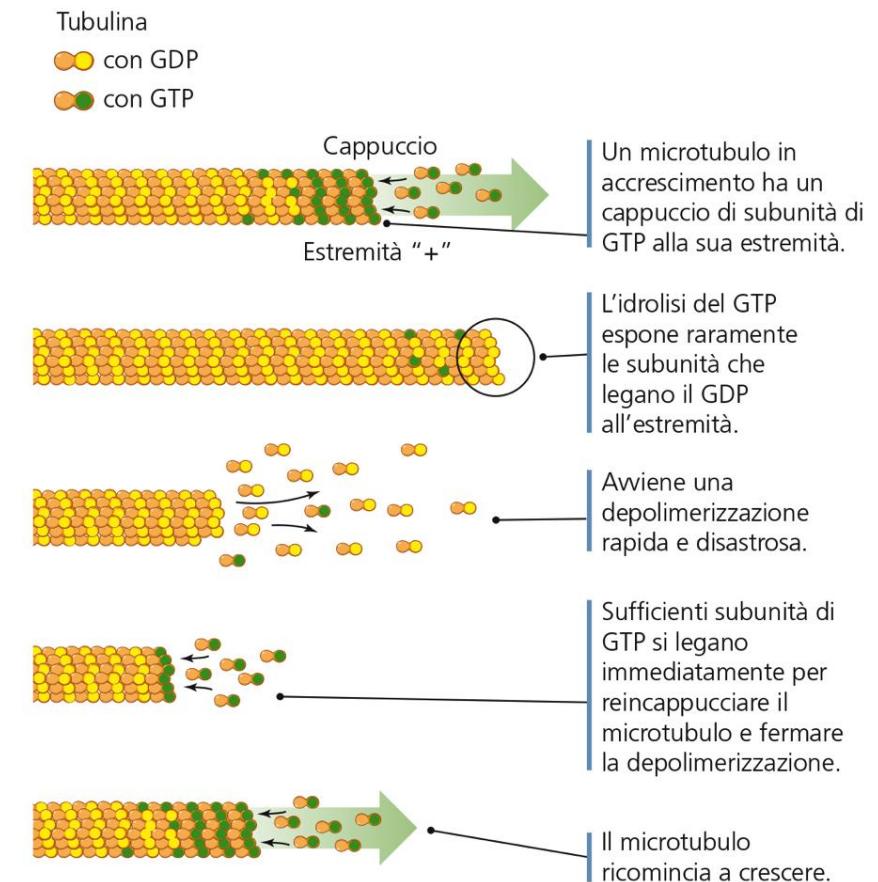
- In MTOC sono ben visibili due strutture, i centrioli. Ogni centrosoma contiene due centrioli.
- I centrioli sono piccoli organelli a forma di piccolo cilindro disposti ad angolo retto l'uno rispetto all'altro costituiti da 9 triplette di microtubuli circondati da materiale pericentriolare.
- Centrioli e materiale pericentriolare: **γ TuRC**, complesso ad anello formato da γ -tubuline, tubuline ripiegate ad elica o ad anello.
 - I γ -TURC del materiale pericentriolare si legano a tubulina (α e β).
 - Sono le componenti che nucleano i microtubuli.

Instabilità dinamica dei microtubuli

- La crescita dei microtubuli comincia quando gli **anelli della γ -tubulina iniziano a fungere da nuclei di polimerizzazione dei dimeri di α - β - tubulina**, come il centrosoma nei MTOC.

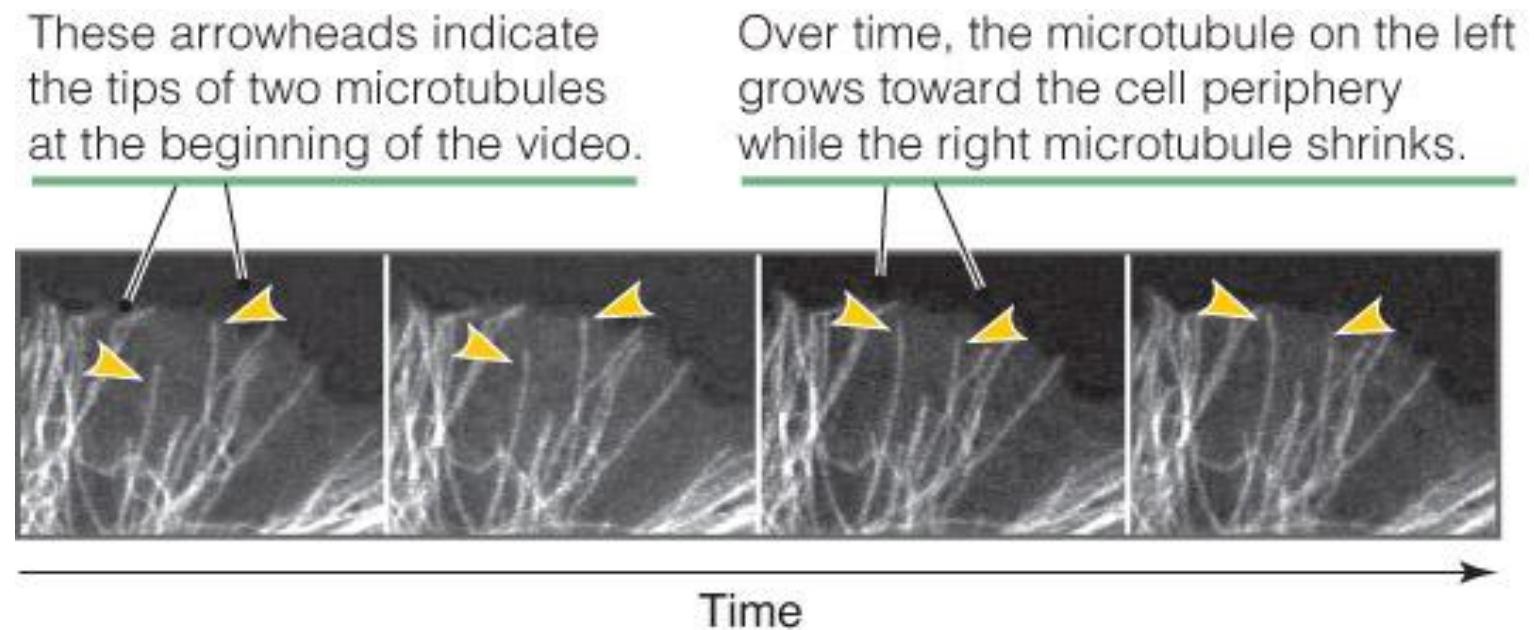


- I microtubuli sono in continuo assemblaggio e disassemblaggio: **instabilità dinamica**.
- E' necessaria per permettere alle cellule di muovere qualcosa da un posto all'altro.



Instabilità dinamica dei microtubuli

- Alcuni microtubuli nella cellula polimerizzano e depolimerizzano velocemente= instabilità dinamica

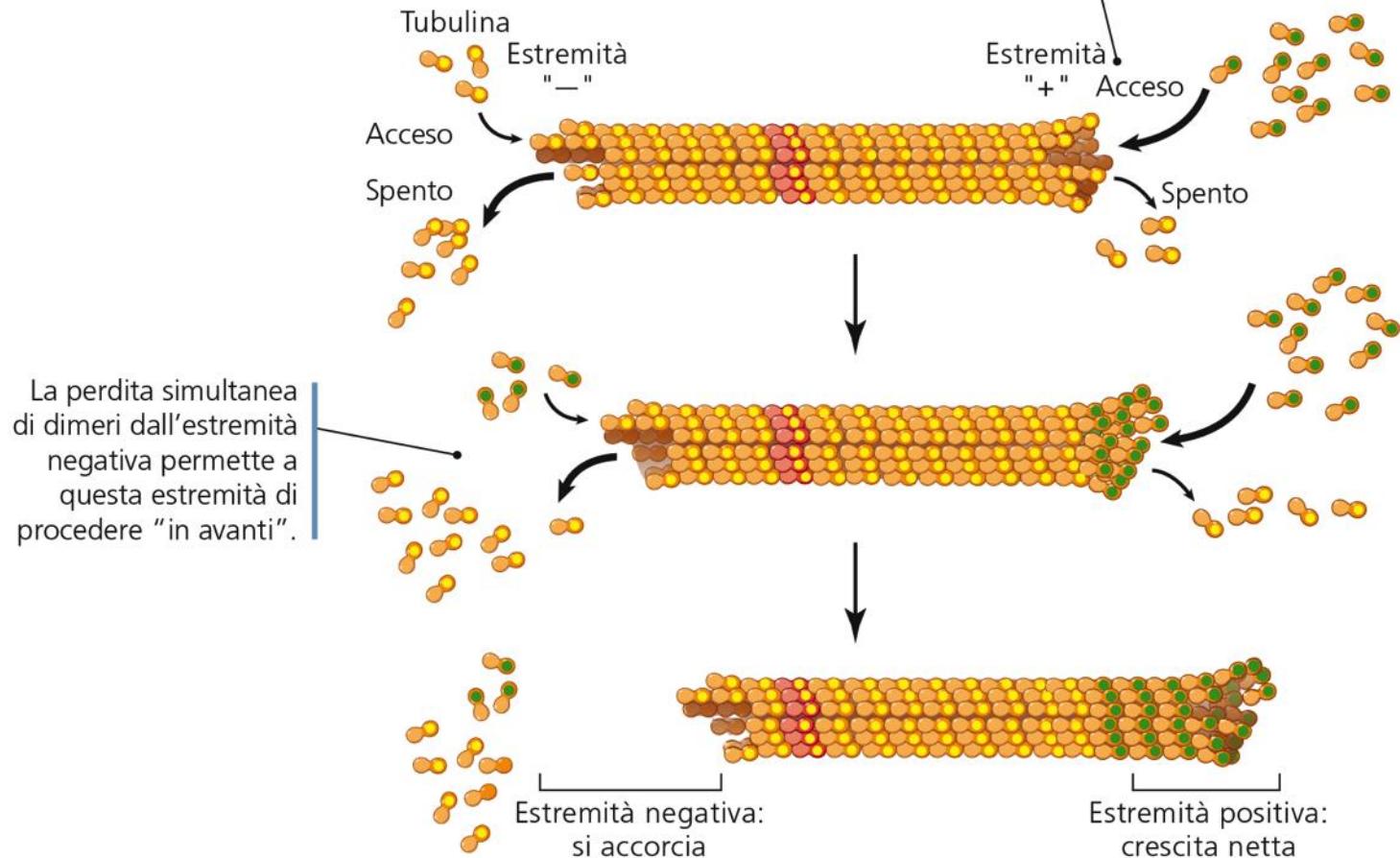


- Microtubuli marcati con fluorescenza e videoregistrati mentre si allungano e si accorciano in una cellula vivente. Photos courtesy of Lynne Cassimeris, Lehigh University.

Processo di Treadmilling

- Nei casi in cui nessuna estremità dei microtubuli sia stabilizzata, i dimeri di tubulina vengono aggiunti al polo positivo + e persi al polo negativo -.
- **La lunghezza resta costante ma i dimeri sono in continua mutazione.**

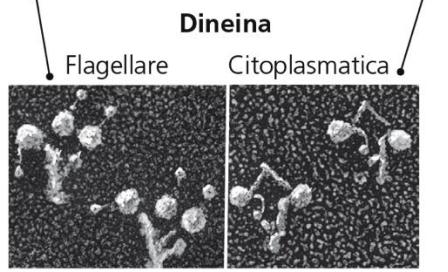
Nuove subunità vengono aggiunte al polo positivo. Quando più dimeri vengono aggiunti all'estremità positiva, il microtubulo cresce "in avanti", lasciando i singoli dimeri al proprio posto.



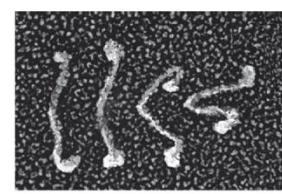
Proteine associate al microtubulo (MAP)

- Le MAP più importanti sono le proteine motrici dei microtubuli, la **dineina** e la **chinesina**.

Due tipi di dineine molto diversi sono localizzati nei flagelli o nel citoplasma.

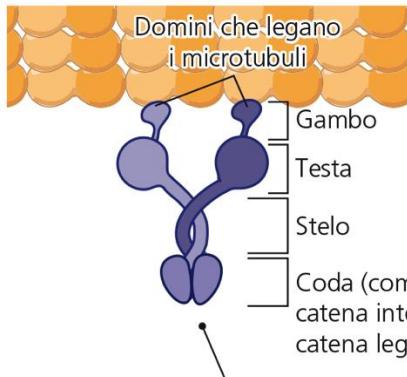


Dyneina

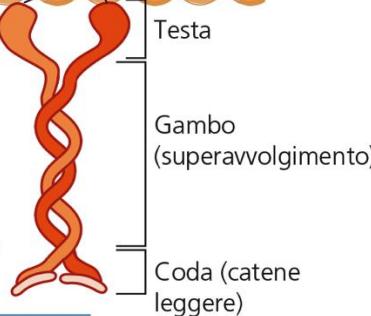


Kinesina

Domini che legano i microtubuli

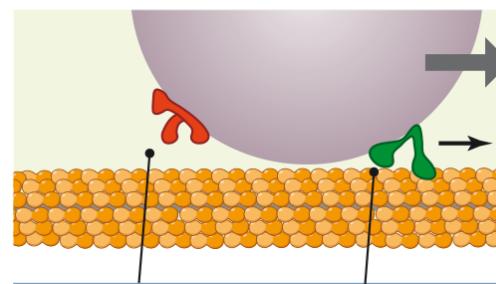
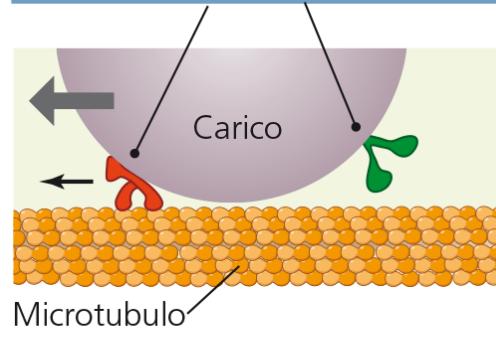


Domini che legano i microtubuli



Entrambe le proteine sono composte da subunità multiple chiamate "catene".

Una proteina motrice lega sia il carico sia il microtubulo, e li trasporta attivamente in una direzione mentre l'altra non si lega al microtubulo.

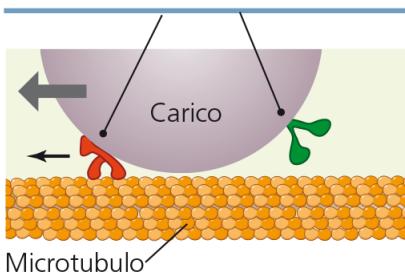


Lo scambio tra proteine motrici determina la direzione verso cui si muove il carico.

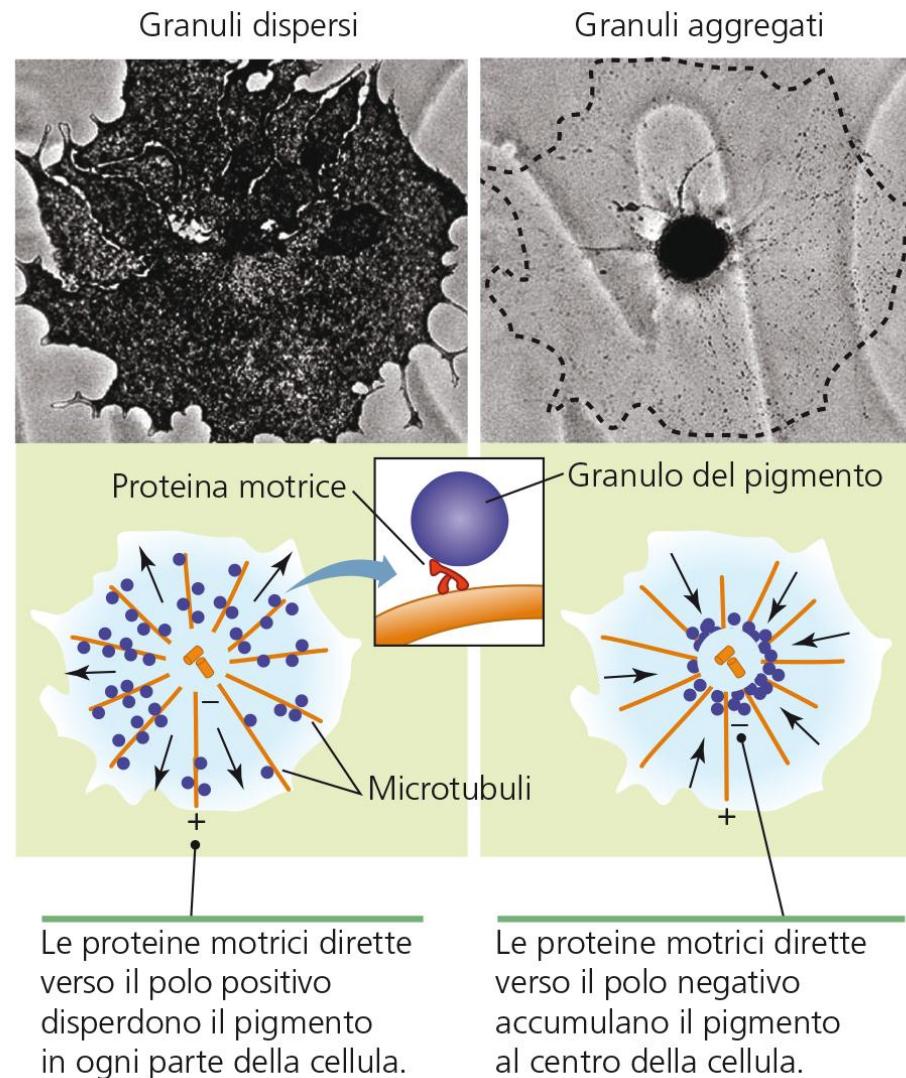
Proteine associate al microtubulo (MAP)

- Le MAP più importanti sono le proteine motrici dei microtubuli, la **dineina e la chinesina**.

Una proteina motrice lega sia il carico sia il microtubulo, e li trasporta attivamente in una direzione mentre l'altra non si lega al microtubulo.

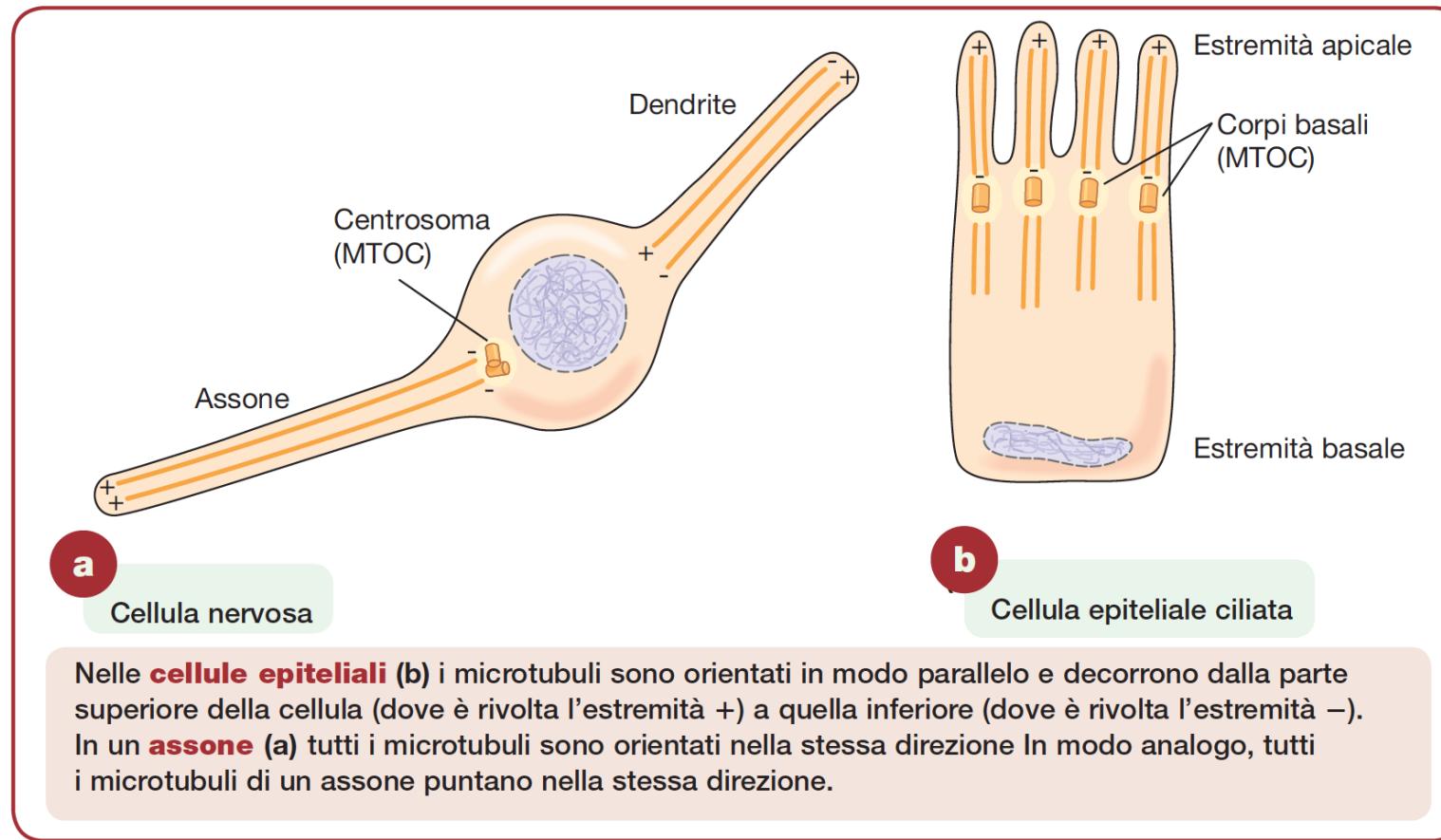


Lo scambio tra proteine motrici determina la direzione verso cui si muove il carico.



Orientamento dei microtubuli e forma della cellula

- L'organizzazione morfo-funzionale della cellula dipende dalla polarità dei microtubuli

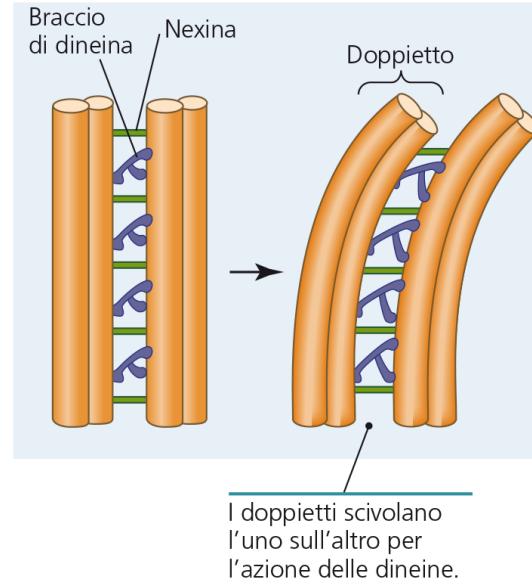
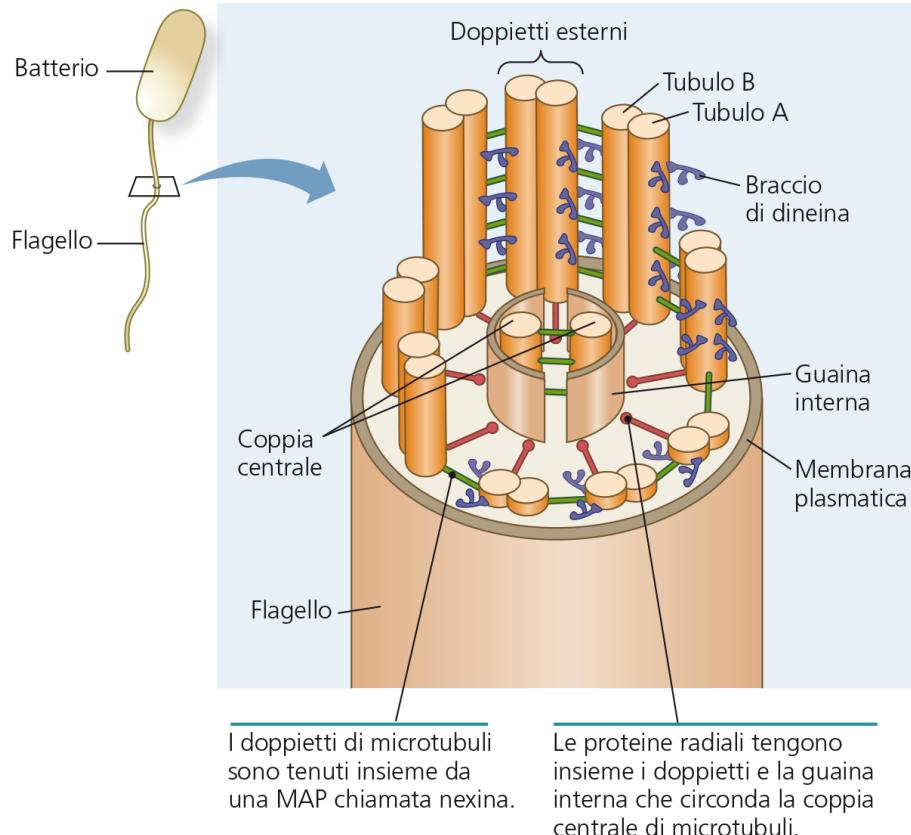


▲ Figura 6.9 Organizzazione dei microtubuli in base alla polarità.

c) Eritrocita umano maturo (no nucleo e no MTOC): microtubuli, con polarità mista, disposti in bande circolari alla periferia

d) Fibroblasto: tutti i microtubuli sono disposti con le estremità negative centralmente e quelle positive vicino alla periferia

Organuli microtubulari: ciglia e flagelli

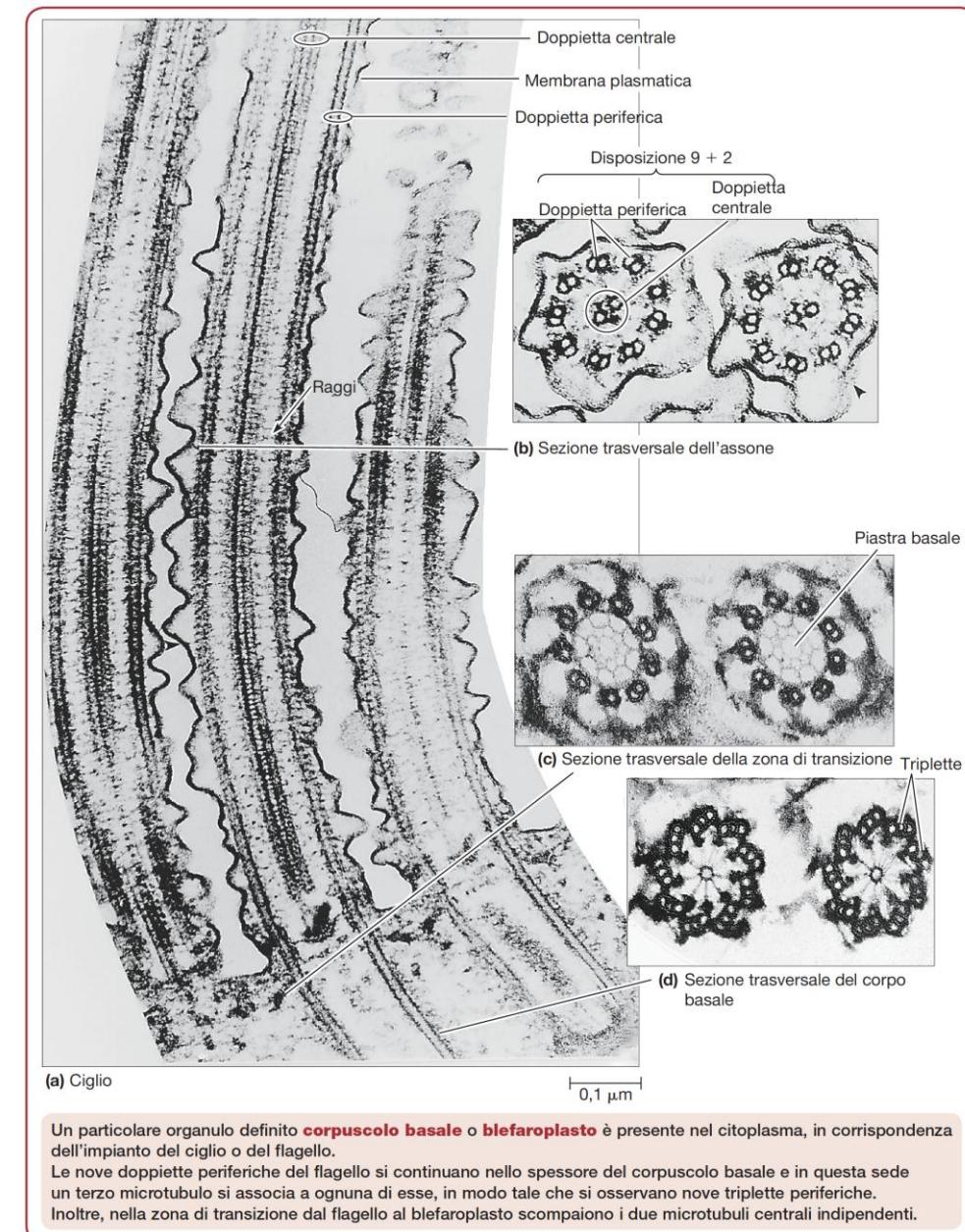
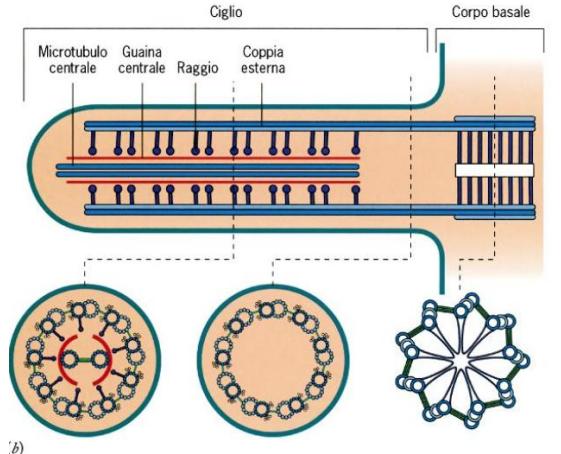


- L'asse delle ciglia e dei flagelli, detto **assonema**, presenta in tutti gli eucarioti la seguente **ultrastruttura definita 9+2**:

- 9 doppietti di microtubuli disposti ad anello in periferia;
- una coppia di microtubuli al centro;
- raggi proteici che collegano i doppietti tra loro e con i due microtubuli al centro;
- **bracci di dineina** che collegano ogni doppietto a quello adiacente.

Organuli microtubulari: ciglia e flagelli

- Particolare organulo presente in corrispondenza dell'impianto del ciglio o del flagello, il **corpuscolo basale o blefaroblasto**.



Analogie e differenze
ultrastrutturali tra

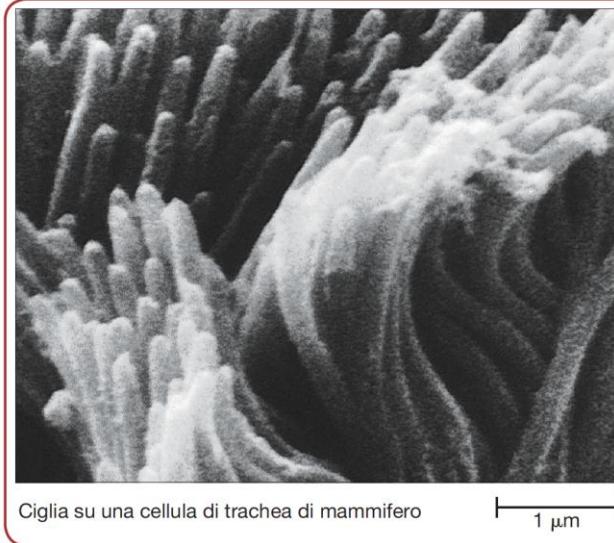
assonema

zona di transizione

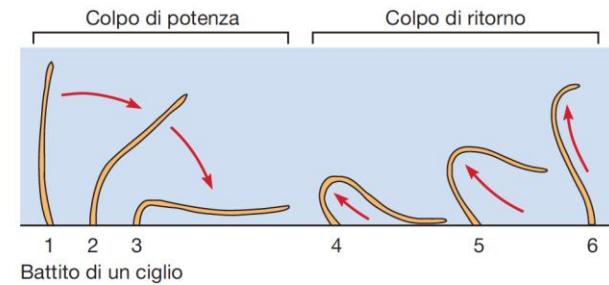
corpo basale

Differenze tra ciglia e flagelli

- **NUMERO:** ciglia di regola TANTE per cellula; flagelli UNO o POCHE per cellula
- **LUNGHEZZA:** ciglia 2-20 µm; flagelli 10-200 µm
- **MODALITA' E DIREZIONE DEL MOVIMENTO:**
 - ciglia; movimento «a remo» con direzione di spostamento perpendicolare rispetto all'asse del ciglio;
 - flagelli; movimento ondulatorio con spostamento nella stessa direzione dell'asse del flagello.



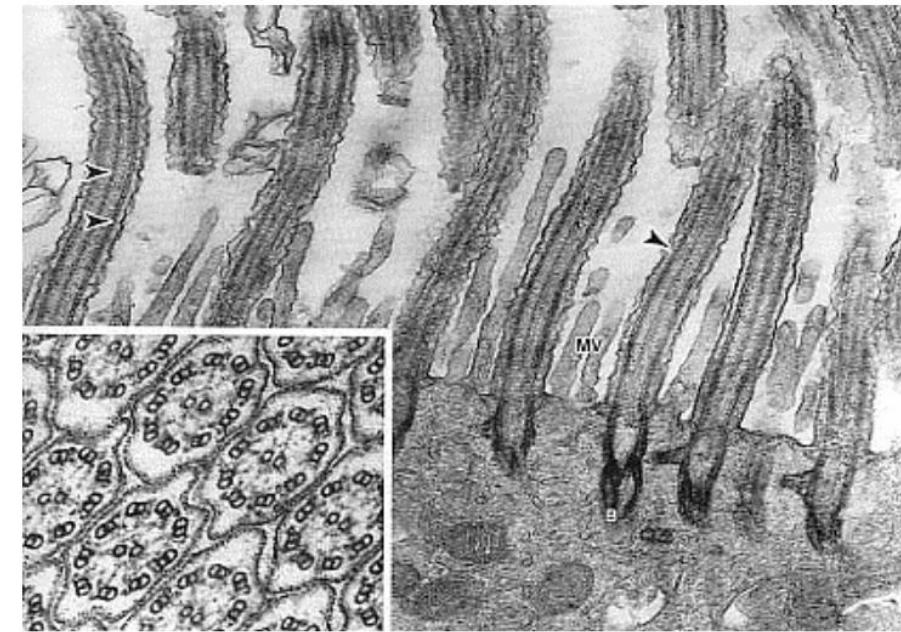
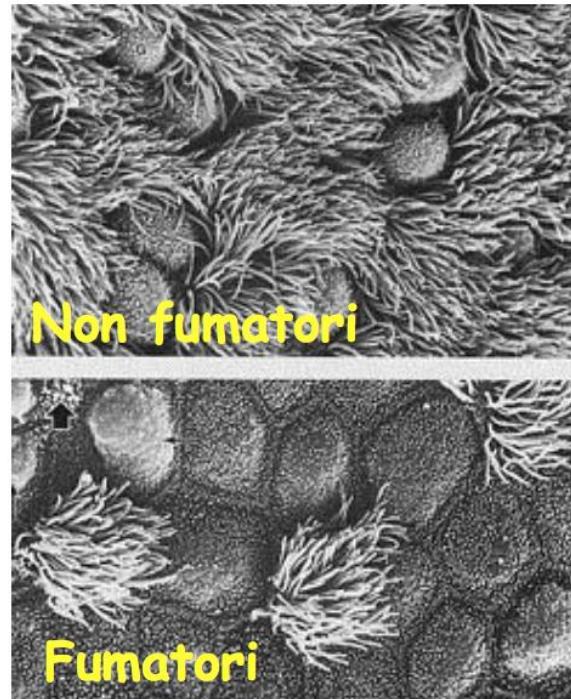
Le estroflessioni citoplasmatiche più brevi e più numerose sono definite **ciglia**; il loro battito inizia con un **colpo di potenza** seguito da un **colpo di ritorno**.



▲ Figura 6.10 Immagine al ME e schematizzazione del battito cigliare.

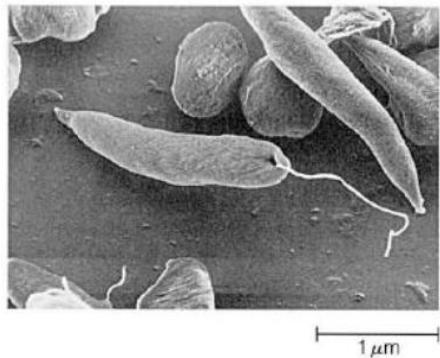
Organuli microtubulari: Ciglia

- Strutture mobili che si proiettano dalla superficie libera di alcuni epitelii:
 - Trachea, Tube di Falloppio
- Lunghezza 7-10 μm – Possono arrivare anche a metà della lunghezza della cellula.
- 300 ciglia per cellula.
- Richiedono ATP per il movimento.
- Movimentano sostanze sulla superficie.
- Movimento utile per la pulizia delle superfici.

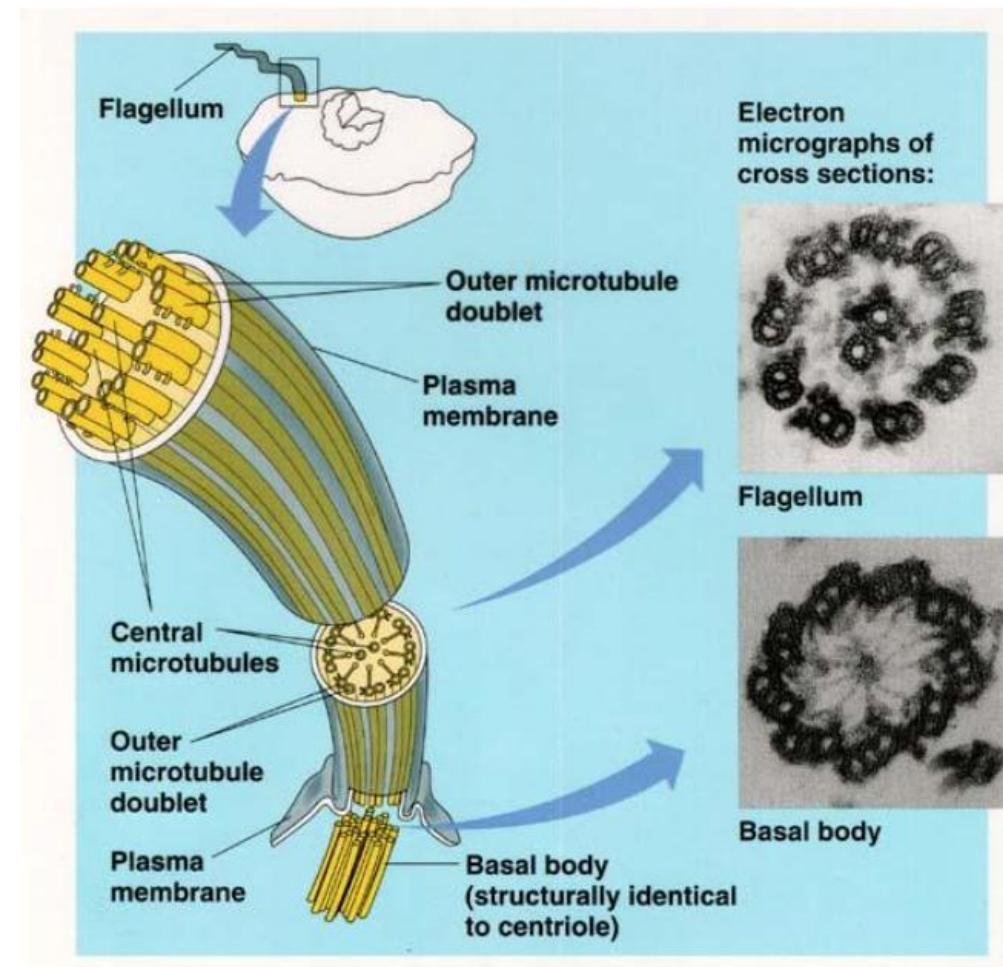


Organuli microtubulari: Flagelli

- Disposizione dei microtubuli e richieste di ATP simile a ciglia.
- Movimento di singole cellule.
- Molto lunghi: circa 3-4 volte la lunghezza della cellula.
- Uno per cellula:
 - Alcuni Batteri
 - Protozoi
 - Spermatozoi



- Flagello e movimento dell'alga unicellulare Euglena.



- Flagello di spermatozoo: 9+2 coppie di microtubuli con dineina e altre MAP (proteine per movimento).