

Corso di Biologia cellulare

Matrice extracellulare e giunzioni cellulari

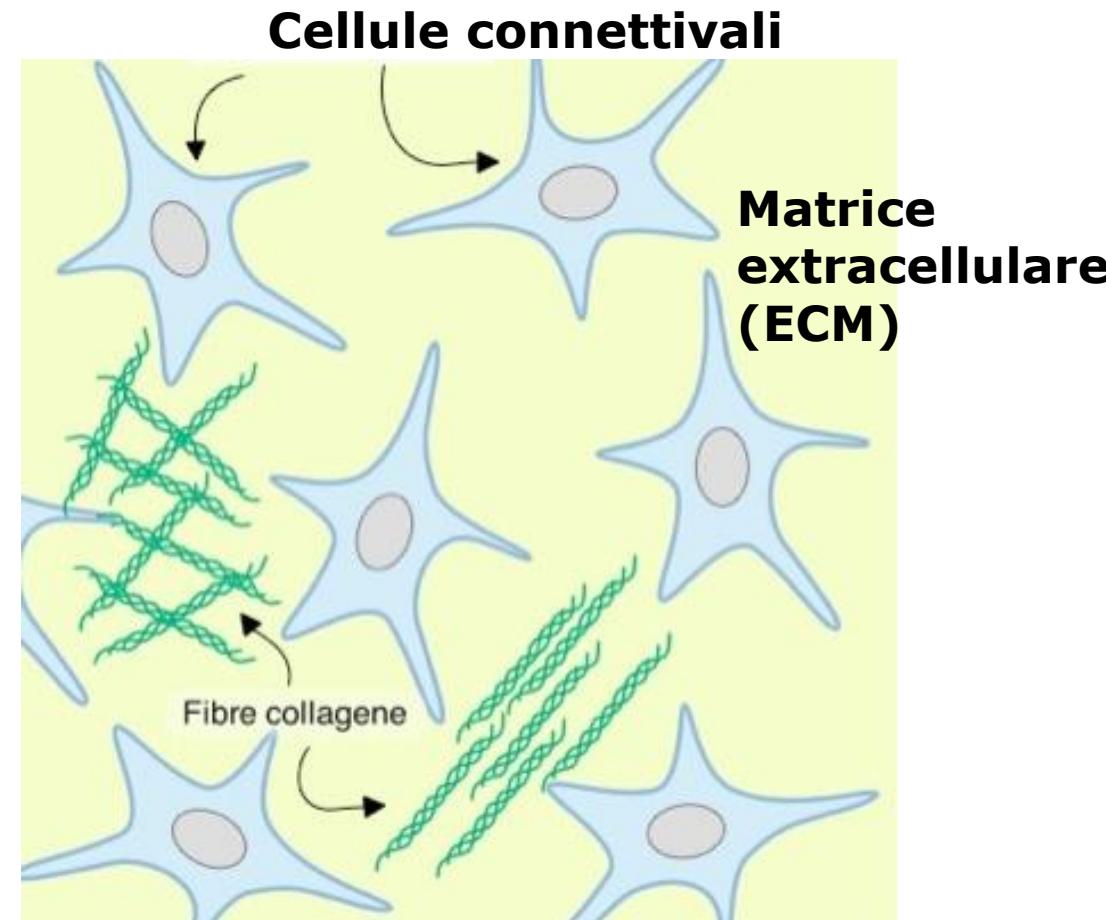
*< Le cellule all'interno dei tessuti sono fisicamente
collegate con l'ambiente circostante >*

Le cellule e la matrice extracellulare (ECM)

- I tessuti animali sono costituiti da 2 componenti che interagiscono fra loro: cellule e matrice extracellulare (ECM).
- Molti componenti della ECM sono riconosciuti da e legati a recettori della superficie cellulare; molti di tali recettori sono molecole transmembrana che si collegano ad elementi del citoscheletro. **Quindi cellule e ECM formano un continuum che funziona insieme e reagisce a fattori stimolanti ed inibenti.**
- **La ECM è una rete complessa di proteine e zuccheri (glicoproteine e proteoglicani), minerali e fluidi che fornisce siti di adesione alle cellule e segnali di trasmissione tra le cellule**
- **L'ECM è organizzata in fibre, strati e strutture a foglietto: resistenza, flessibilità e filtro selettivo.**

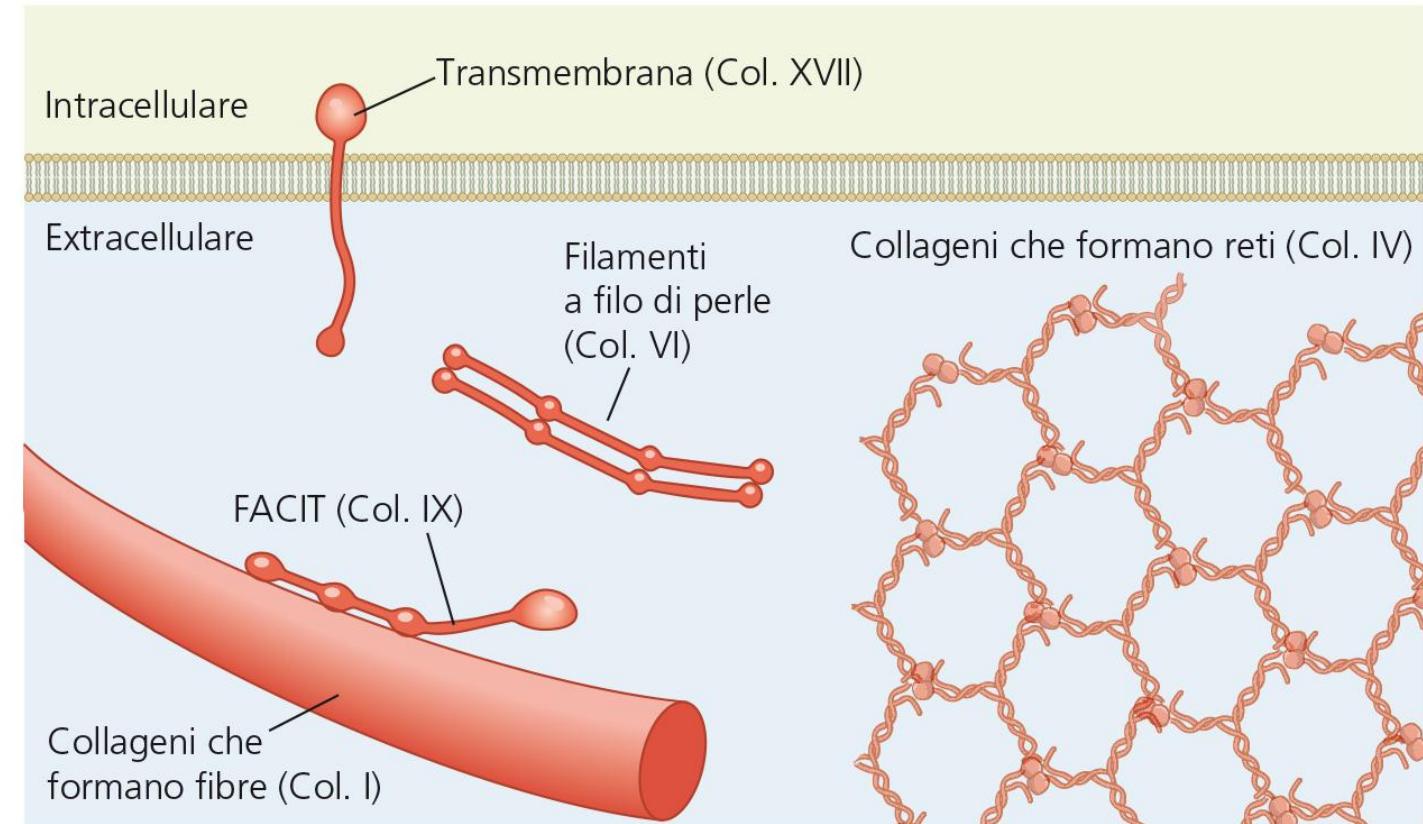
Le cellule e la matrice extracellulare (ECM)

- La ECM è una fitta rete di molecole che si trova tra le cellule in un organismo pluricellulare ed è prodotta dalle cellule contenute all'interno della rete stessa.
 - **Collagene**: supporto strutturale ai tessuti.
 - **Fibronectina**: connette le cellule a ECM che contengono collagene fibrillare.
 - **Elastina**: elasticità ai tessuti.
 - **Laminine**: substrato adesivo alle cellule – resistenza alla trazione.
 - **Proteoglicani**: provvedono all'idratazione dei tessuti.



Le glicoproteine formano reti filamentose tra le cellule: i collageni

- La famiglia di glicoproteine dei **collageni** consiste di almeno 29 proteine.
- **Funzione primaria: resistenza** - sono infatti formati da fasci costituiti da *superavvolgimenti sottili a tripla elica* tenute insieme da legami covalenti e non covalenti.
- Le subunità di collagene sono assemblate in superavvolgimenti a tripla elica che possono essere organizzati in fibrille o foglietti legati insieme da altre proteine della matrice extracellulare.
- I collageni forniscono il supporto strutturale ai tessuti e presentano un'ampia varietà di forme, organizzate in **5 classi diverse**.

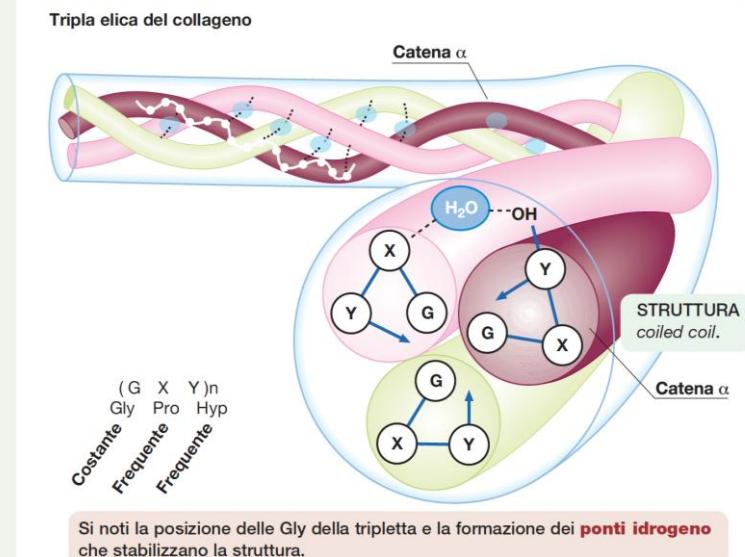


I collageni

- La maggior parte dei collageni si raggruppano in 4 classi.
- Variano in base alle loro formule molecolari, forme polimerizzate e distribuzione tissutale.

Classe	Esempio	Localizzazione
Che formano fibrille (fibrillare)	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	Osso, cornea, organi interni, legamenti, pelle, tendini
Associati a fibrille	$\alpha 1(IX)\alpha 2(IX)\alpha 3(IX)$	Cartilagine
Che formano reti	$[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$	Lamina basale
Transmembrana	$[\alpha 1(XVII)]_3$	Emidesmosomi

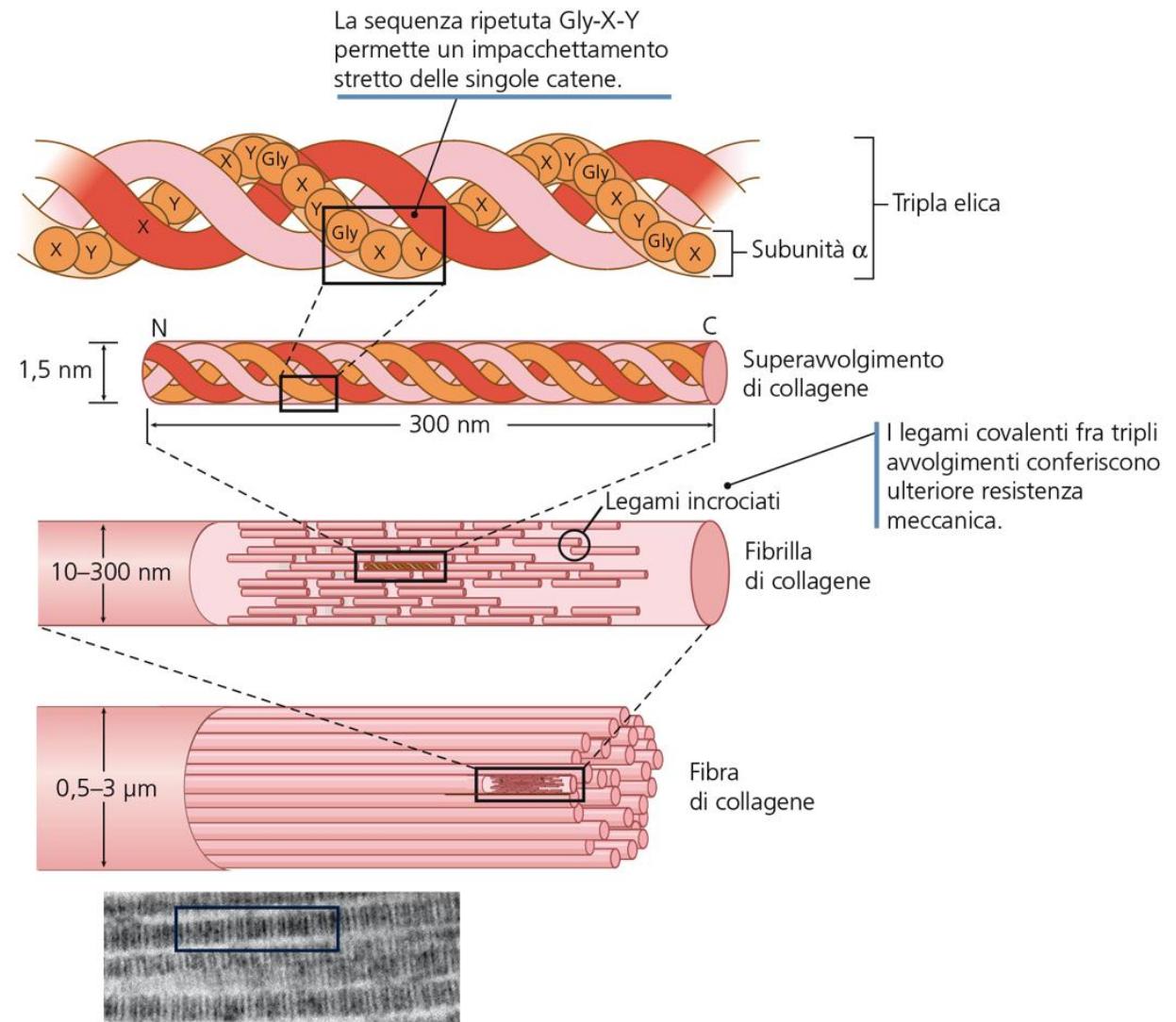
Num. romano= n. di strutture a tripla elica



Tripla elica: 3 Subunità- α

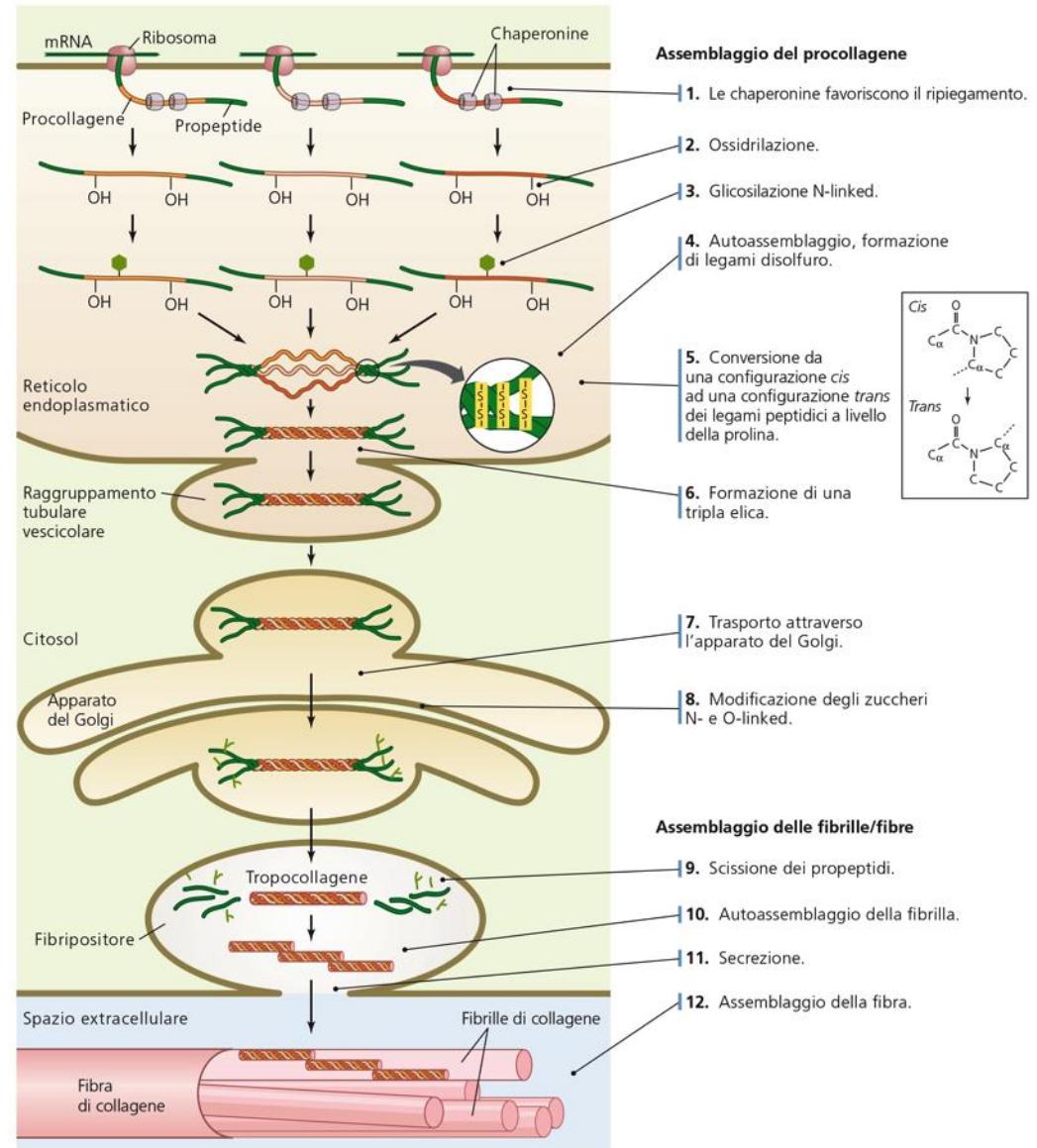
Superavvolgimento a tripla-elica del collagene

- Tutti i collageni sono accomunati dal possedere almeno un **dominio a tripla elica** con catene ricche in Gly, Pro e Hyp (G-X-Y).
- La ripetizione dell'aa Gly ogni 3 amminoacidi fa sì che le tre catene α si avvolgano tra loro (coiled-coil) a formare una tripla elica rigida.
- Queste unità sono tenute insieme da legami covalenti N-C terminali. I superavvolgimenti sono in parallelo e con interruzioni: strisce al TEM.



Assemblaggio del procollagene

- I collageni sono formati da una famiglia di proteine secrete come **procollagene** e poi processate a **tropocollagene** nell'ambiente extracellulare.
- Le subunità sono sintetizzate come superavvolgimenti legati a N-e C-terminale da proteine globulari che interferiscono con l'assemblaggio del collagene nel RE e Golgi.
- Seguono percorso di esocitosi perché sono secreti: **le cellule sintetizzano e secernono la maggior parte del materiale che li circonda.**



- La struttura di tripla elica del collagene è stata di importanza fondamentale per la formazione della ECM che ha portato ad organismi pluricellulari e all'evoluzione dei tessuti.
- Il collagene di Tipo IV è il più antico evolutivamente e descrive come una struttura come la tripla elica si sia adattata ad una grande varietà di attività biologiche.

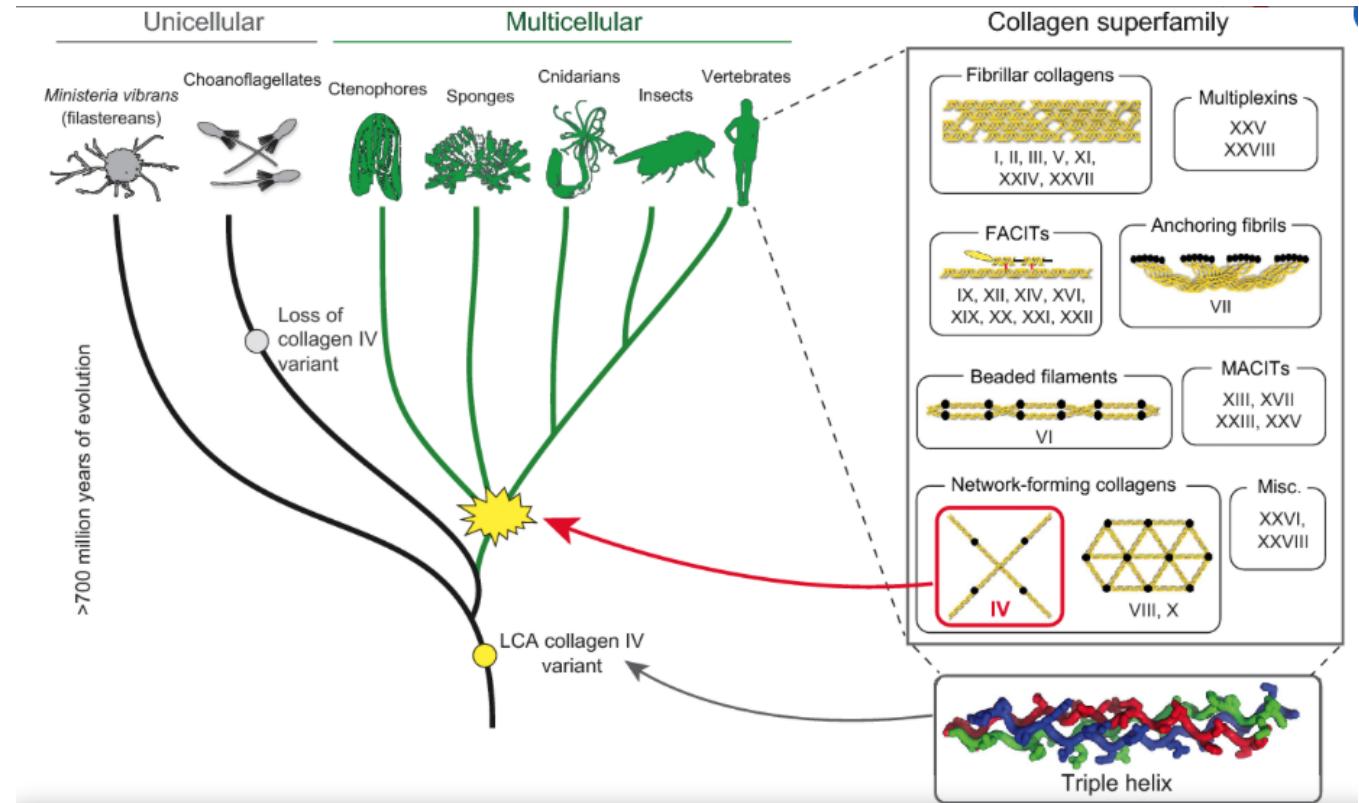


Fig. 1. Collagen IV is the evolutionarily most ancient of the vertebrate collagen superfamily. The collagen superfamily has 28 members in vertebrates, each comprising three of 46 α -chains – the basis of the diverse suprastructure distributed across different tissues – invertebrates have less members. A hallmark feature of all collagens is the triple helix, which is characterized by three intertwined polypeptide chains. A collagen IV-like gene probably first appeared in the last common ancestor (LCA) to filastereans, choanoflagellates and animals. The phylogenetic distribution suggests that collagen IV played a critical role in the Collapse

Published in Journal of Cell Science 2018

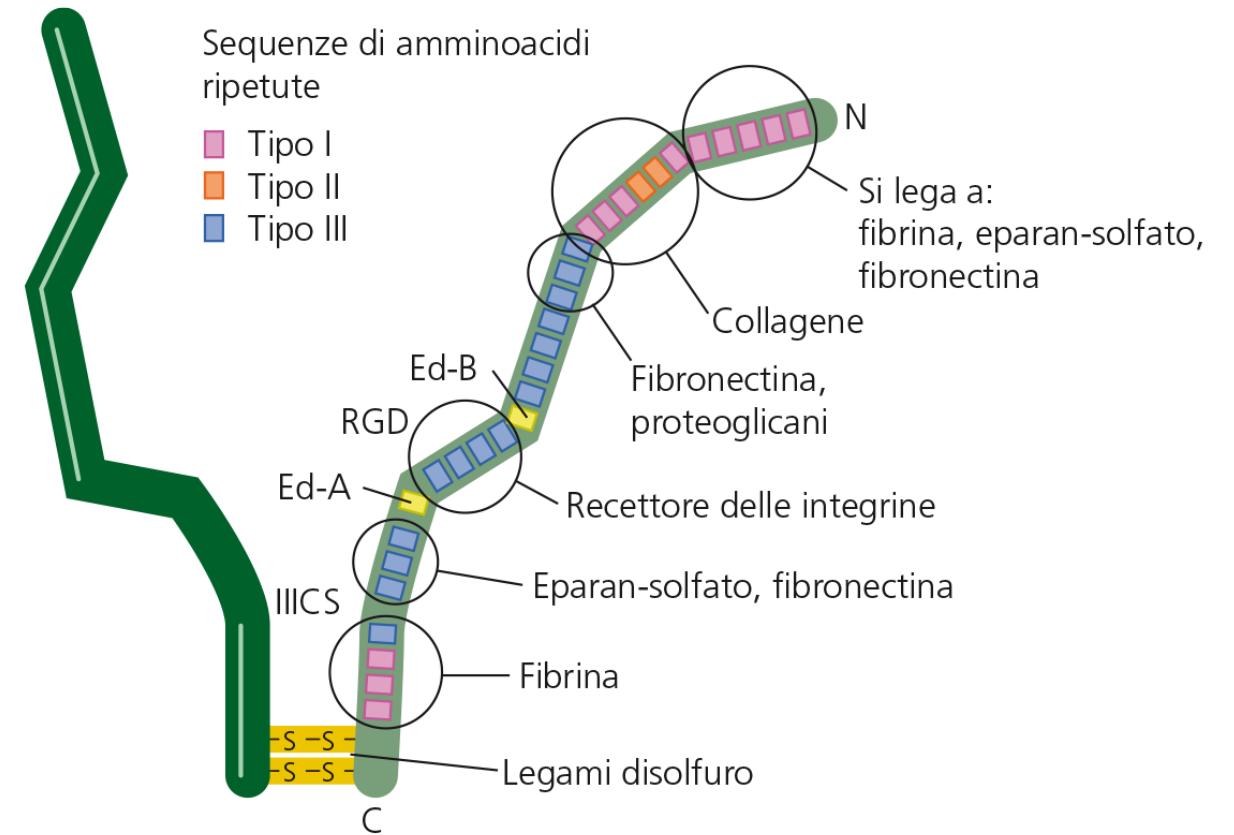
The triple helix of collagens – an ancient protein structure that enabled animal multicellularity and tissue evolution

Aaron L. Fidler, S. Boudko, A. Rokas, B. Hudson



Fibronectine e matrice collagenosa

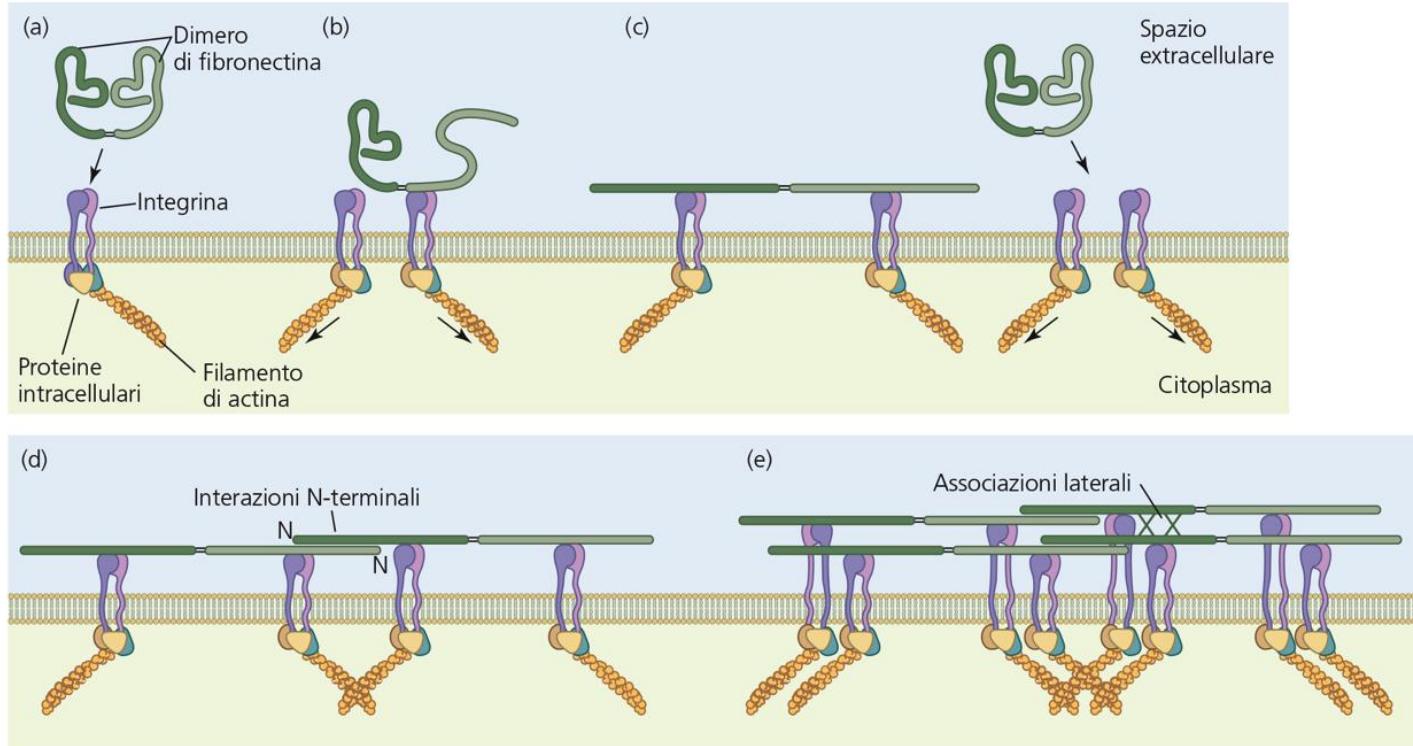
- Le fibronectine sono una famiglia di glicoproteine: solubili (o plasmatiche) e insolubili (o cellulari).
- Collegano le cellule alla ECM e **regolano la forma e l'organizzazione citoscheletrica.**
- Sono formate da **domini** con sequenze ripetute: classificate in 3 gruppi: di tipo I, II e III
- I domini sono specifici per il legame: con collagene, proteoglicani e altre molecole di fibronectina.



- 2 polipeptidi legati covalentemente da legami disolfuro in C-terminale. Ogni polipeptide è organizzato in 6 domini, contenenti sequenze ripetute.

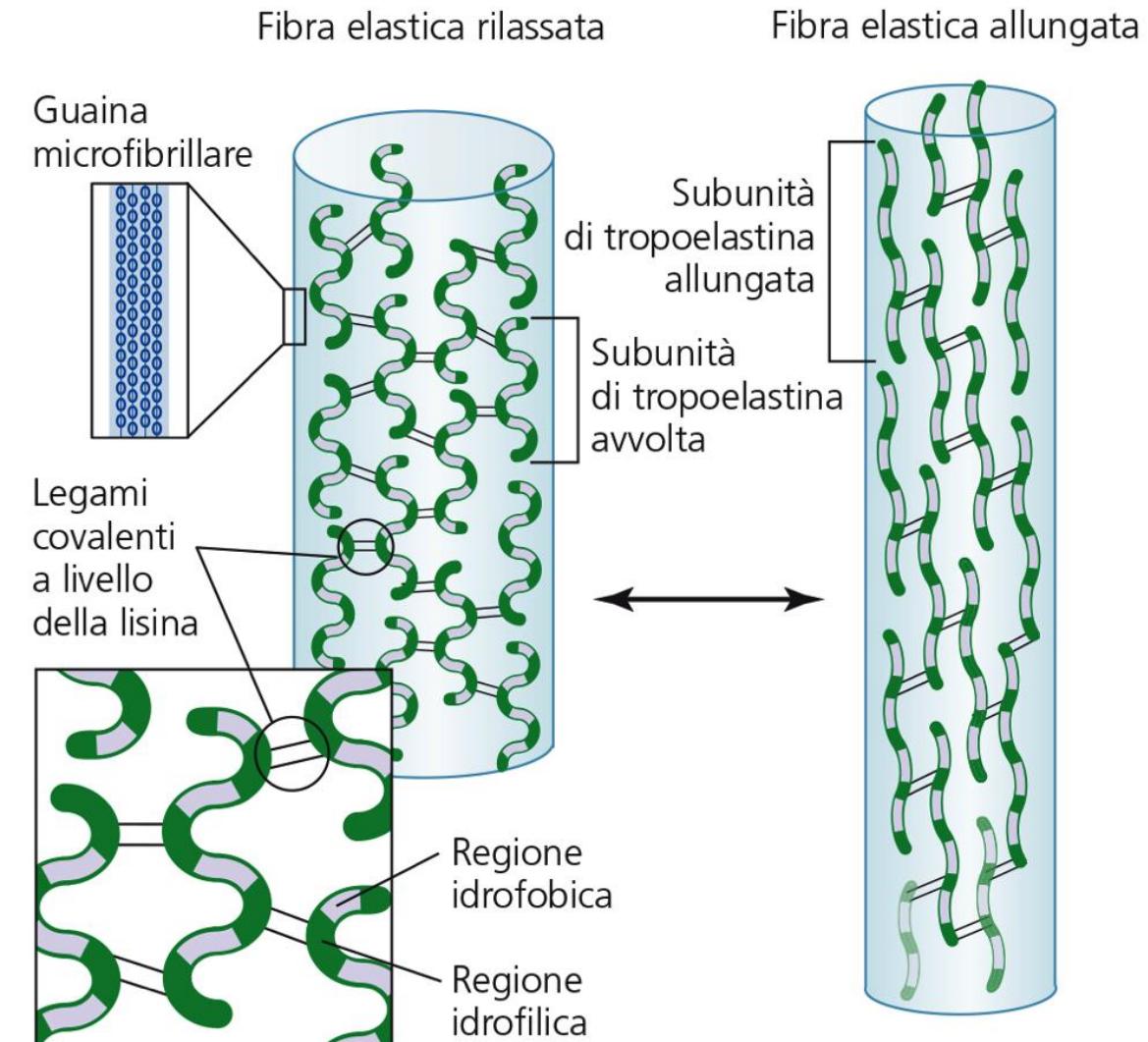
Fibronectina

- La proteina matura è un dimero solubile. L'assemblaggio in reti di fibronectina insolubile richiede il contatto diretto fra cellule (legami con **integrine**).
- La fibronectina si lega anche ad altre molecole dell'ECM: struttura di supporto.



Fibre elastiche

- Sono **fibre molto estensibili** e capaci di ritornare alle dimensioni originarie al termine dello stiramento.
- Sono formate da microfibrille della glicoproteina **FIBRILLINA** (alla periferia) e di **ELASTINA** (nel core). L'elastina, ricca di **amminoacidi idrofobici** alternati a sequenza idrofiliche, viene secreta sotto forma di tropoelastina nello spazio extracellulare dove poi matura.
- **LOCALIZZAZIONE:** parete delle arterie (foglietti appiattiti), derma (fasci ramificati), polmoni, padiglione auricolare, legamenti (nucale).



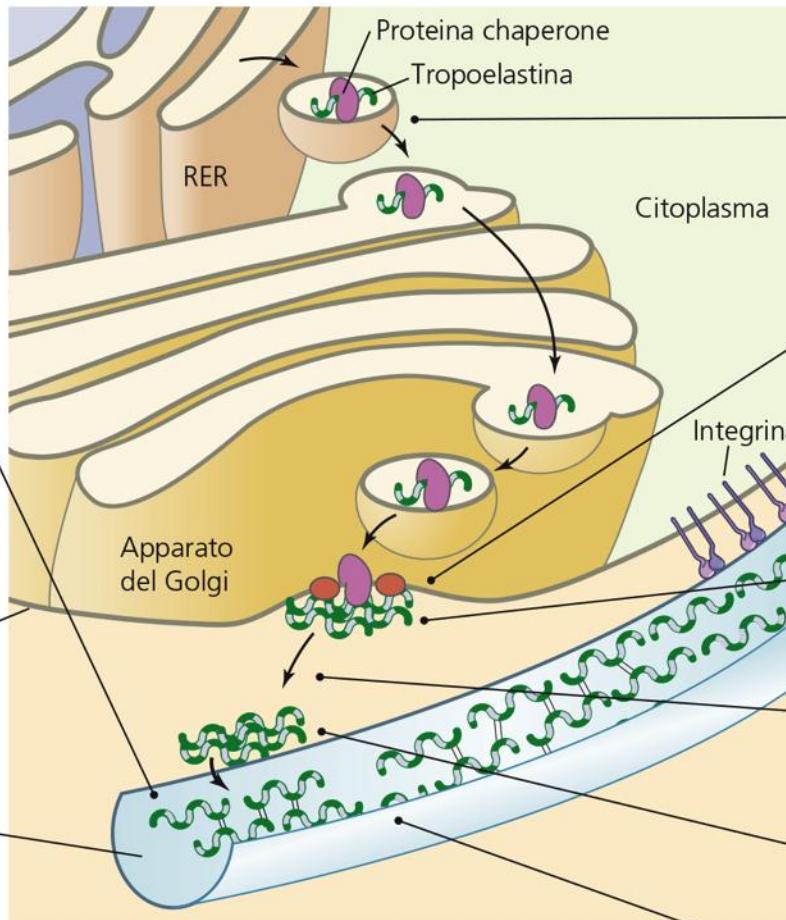
Fibrillogenesi

- Avviene in 7 passaggi.
- L'elastina viene sintetizzata sotto forma di monomeri (**tropoelastina**).
- I monomeri sono assemblati in fibre solo nello spazio extracellulare.

1. Le fibrilline e le glicoproteine associate alle miofibrille (MAGP) sono secrete nello spazio extracellulare e formano il reticolo che nuclea l'assemblaggio delle fibre di elastina.

Membrana cellulare

Guaina microfibrillare



2. La tropoelastina viene sintetizzata sul reticolo endoplasmatico rugoso e si lega a una proteina chaperone.
3. La tropoelastina secreta rimane attaccata alla membrana plasmatica e viene assemblata in un complesso che contiene la proteina fibulina, e legata ulteriormente dall'enzima lisil ossidasi.
4. Il complesso di elastina sulla superficie cellulare diventa più grande poiché vengono aggiunte ulteriori tropoelastine.
5. Gli aggregati di tropoelastina vengono trasferiti sulle microfibrille extracellulari attaccate alle cellule attraverso i recettori delle integrine.
6. Gli aggregati sulle microfibre si condensano formando grandi complessi.
7. La struttura finale è legata covalentemente alla guaina da enzimi transglutaminasi.

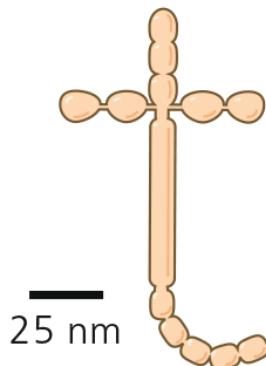
Le laminine

- Proteine della matrice: **forniscono il substrato adesivo alle cellule.**
- Formate da tre subunità polipeptidiche avvolte a formare un superavvolgimento a tripla elica (7 aminoacidi ripetuti) stabilizzato da legami disolfuro.
- Una parte di ogni subunità è organizzata nel superavvolgimento; l'altra parte forma estremità libere (struttura a croce).
- **Non formano fibrille ma reti.**

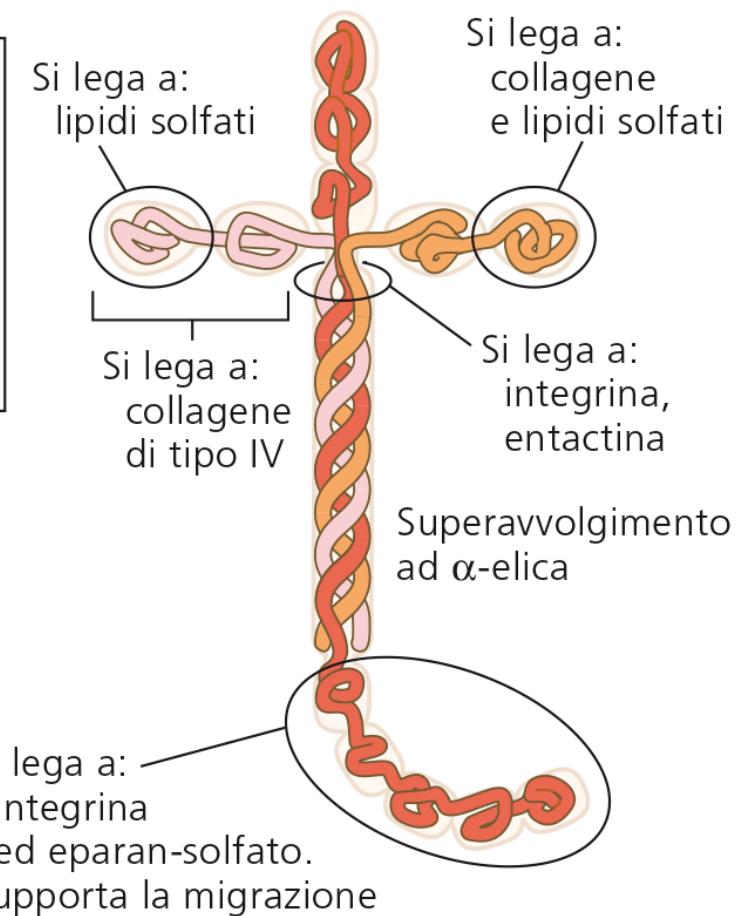
Catena α
(peso molecolare 400 000)

Catena β
(peso molecolare 215 000)

Catena γ
(peso molecolare 205 000)

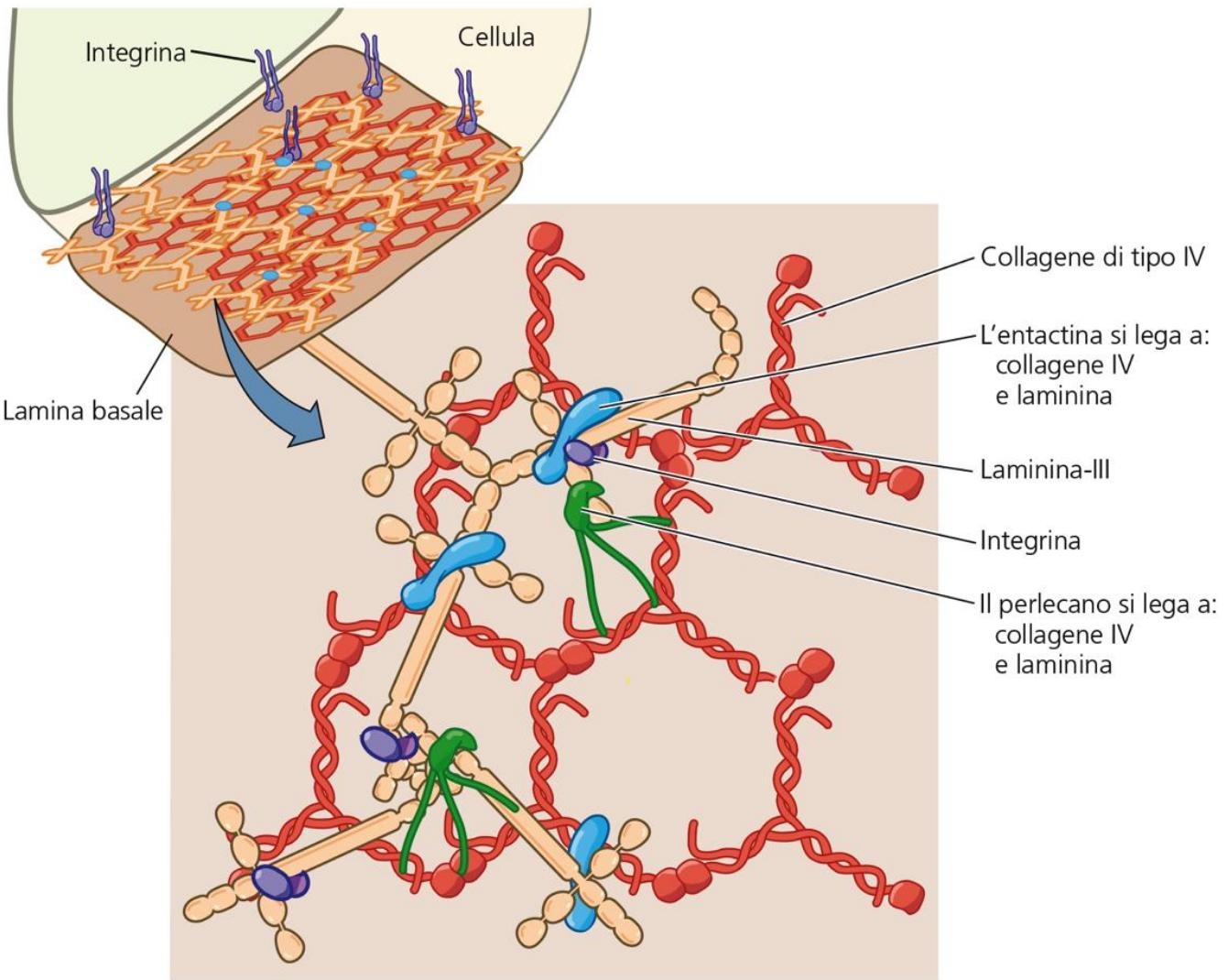
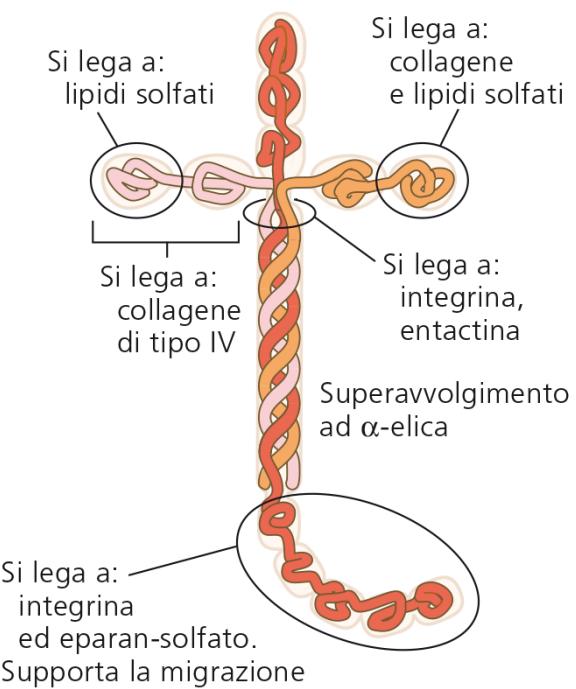


Simbolo utilizzato
nelle figure successive



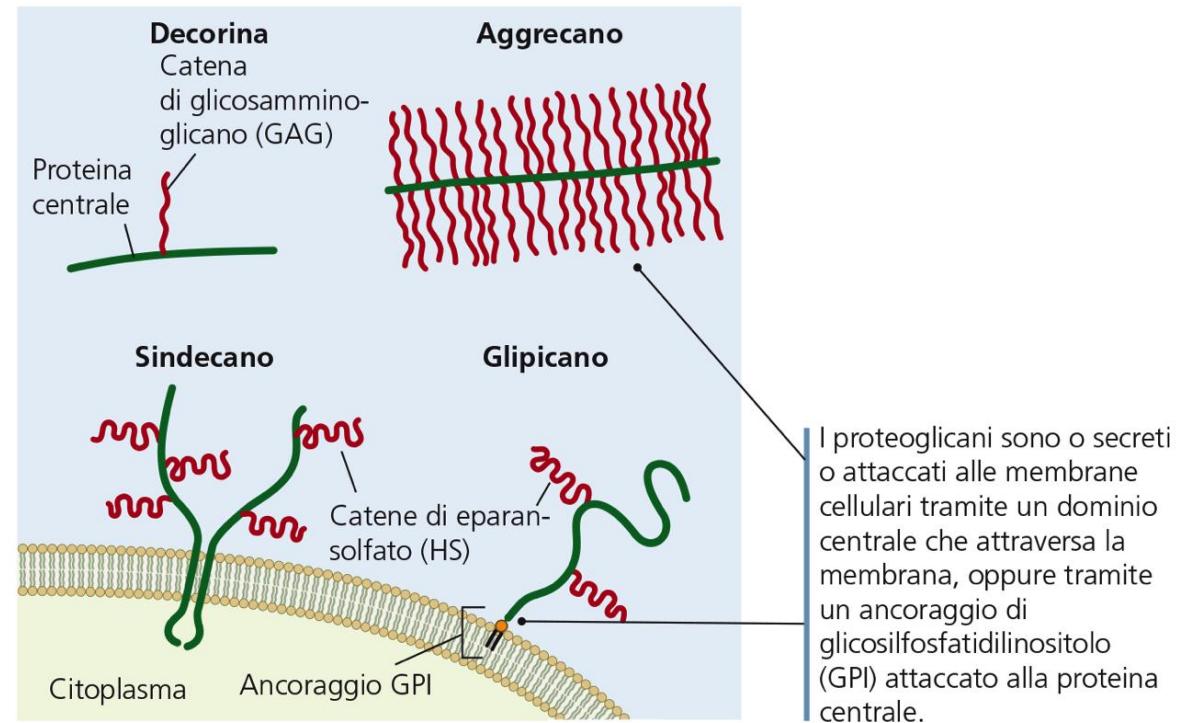
Le laminine

- Non formano fibrille ma reti.
- Si associano ad almeno altre tre proteine della ECM formando una rete all'interno della lamina basale.



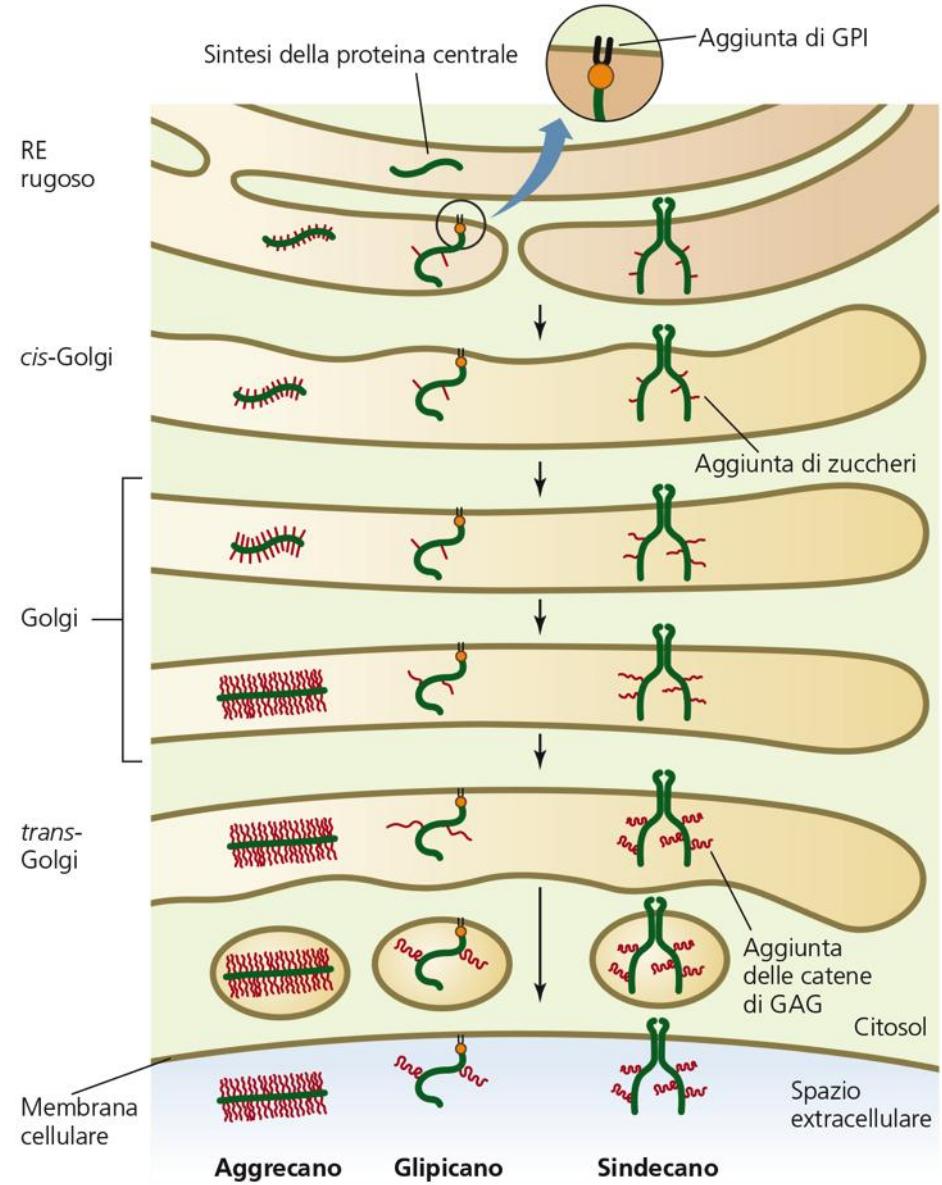
I proteoglicani

- I proteoglicani assicurano che la ECM sia un gel idrato per permettere resistenza a forze di compressione.
- Composti da una singola regione centrale polipeptidica (40 proteine diverse) cui sono legati gli zuccheri (glicani). Sono secreti per la maggior parte ma possono anche restare in membrana.
- Sono diversi dalle glicoproteine per tipo e organizzazione degli zuccheri legati: i **glicosamminoglicani, GAG**, catene lunghe e ripetute di disaccaridi lineari.



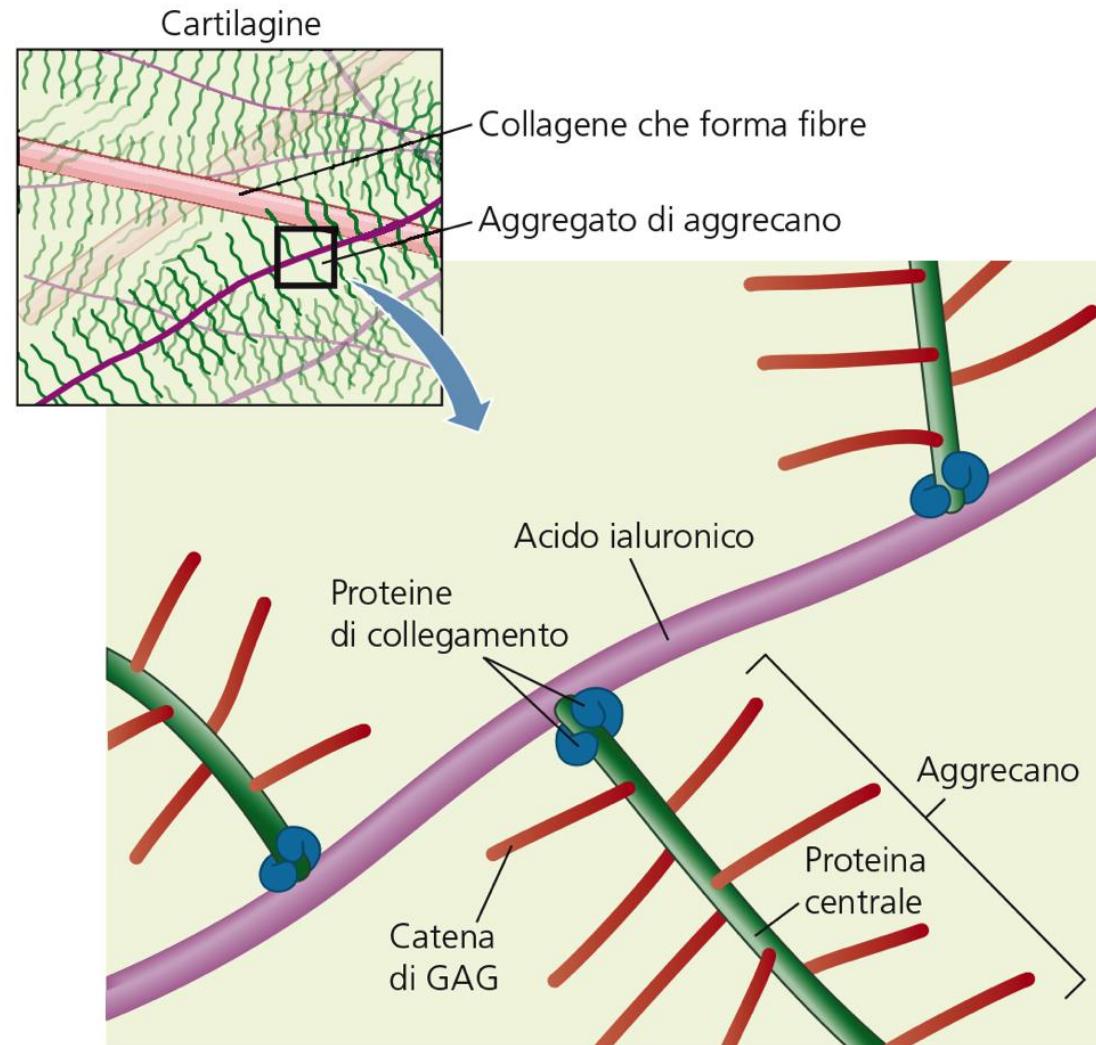
Sintesi di Proteoglicani

- Le proteine sono sintetizzate ne RER e secrete tramite esocitosi (fanno eccezione i sindecani che restano in membrana).
- Nella via esocitotica enzimi **glicosiltransferasi** attaccano gli zuccheri alla proteina della regione centrale. A questi zuccheri si legheranno i GAG
- Un proteoglicano può avere da 1 a 100 grandi GAG attaccati ad esso: forma a bastoncino.



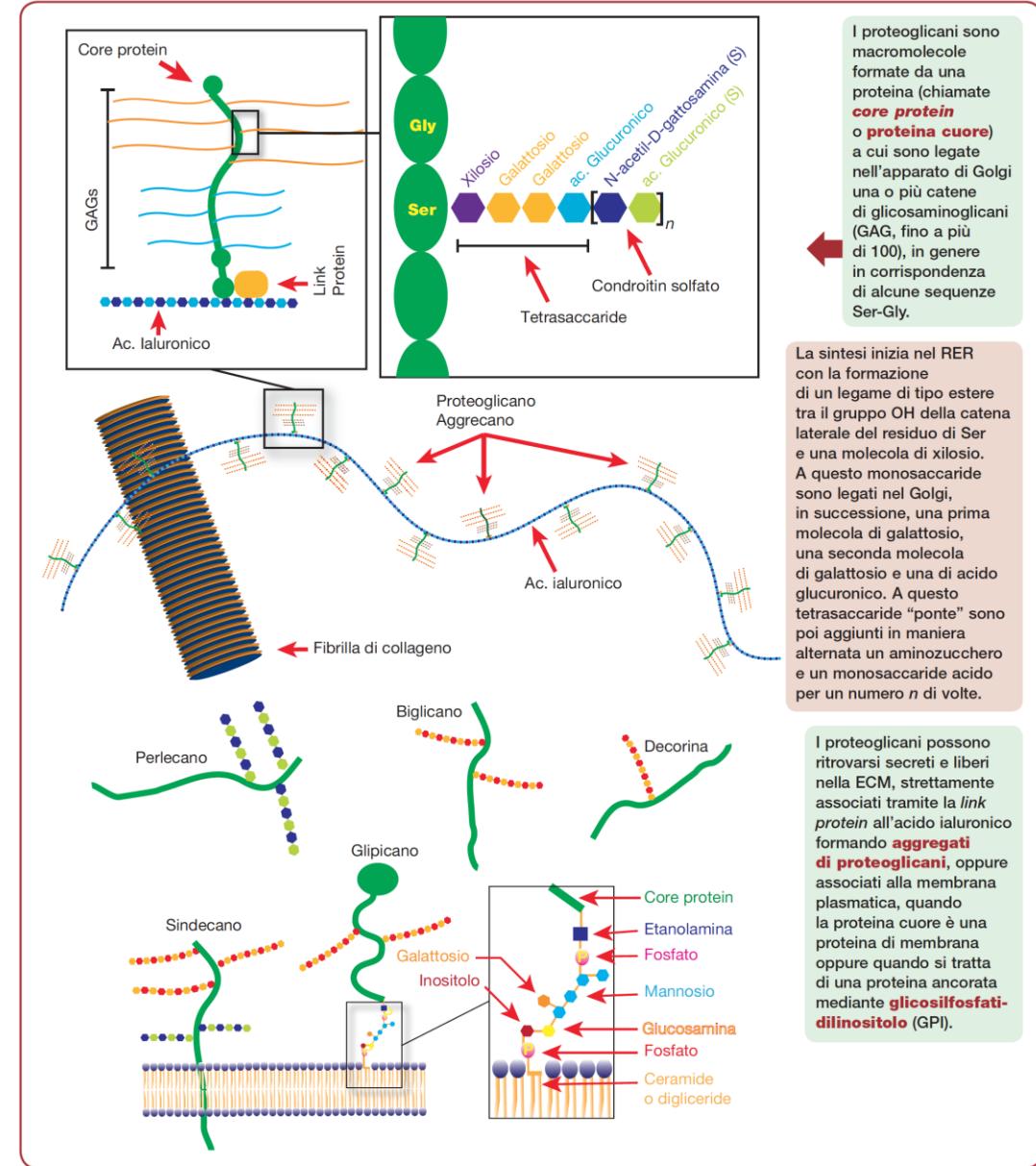
Sintesi di Proteoglicani

- I proteoglicani formano complessi con il collagene nella ECM.
- Per formare questi aggregati, le molecole di **aggrecano** si legano ai GAG per mezzo di proteine di collegamento (BLU).
- Un altro proteoglicano, la decorina, agisce da spaziatore tra fibre di collagene e controlla l'assemblaggio.
- Topi in cui la decorina è silenziata sviluppano fibre di collagene irregolari e hanno una pelle molto fraglie.



GAG e PROTEOGLICANI della ECM

- L'**acido ialuronico (HA)** è un GAG e diversamente dagli altri non è legato covalentemente alla proteina della regione centrale ma forma grandi complessi con i proteoglicani secreti. In questo modo crea grandi spazi idratati.
- L'**eparan sulfato** è un GAG che si lega alla proteina centrale a formare i **proteoglicani eparan-solfati HSPG** (si trova nei glipicani e sindecani). Sono importanti perché svolgono un ruolo chiave nell'adesione delle cellule ad altri componenti della ECM.



▲ Figura 11.11 Glicosaminoglicani (GAG) e proteoglicani della ECM.

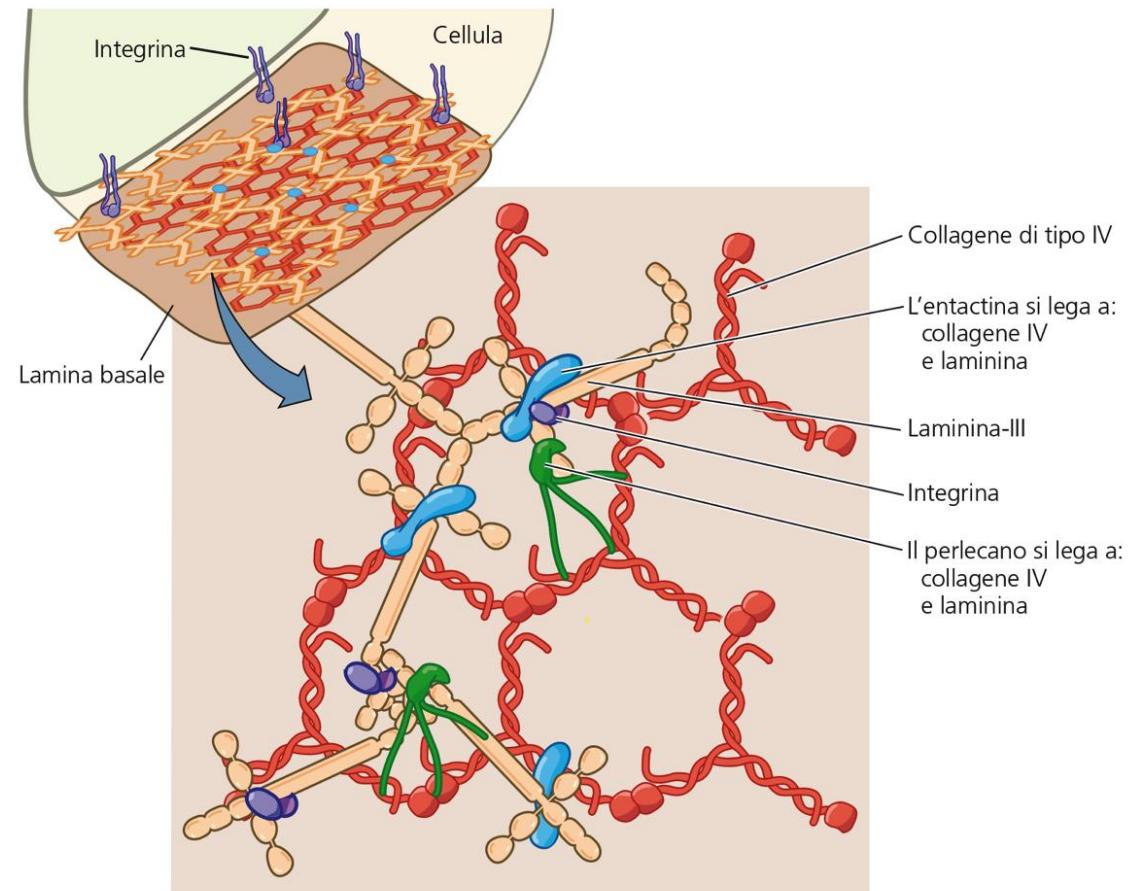
I proteoglicani sono macromolecole formate da una proteina (chiamata **core protein** o **proteina cuore**) a cui sono legate nell'apparato di Golgi una o più catene di glicosaminoglicani (GAG, fino a più di 100), in genere in corrispondenza di alcune sequenze Ser-Gly.

La sintesi inizia nel RER con la formazione di un legame di tipo estere tra il gruppo OH della catena laterale del residuo di Ser e una molecola di xilosio. A questo monosaccaride sono legati nel Golgi, in successione, una prima molecola di galattosio, una seconda molecola di galattosio e una di acido glucuronico. A questo tetrasaccaride "ponte" sono poi aggiunti in maniera alternata un aminozucchero e un monosaccaride acido per un numero n di volte.

I proteoglicani possono ritrovarsi secreti e liberi nella ECM, strettamente associati tramite la *link protein* all'acido ialuronico formando **aggregati di proteoglicani**, oppure associati alla membrana plasmatica, quando la proteina cuore è una proteina di membrana oppure quando si tratta di una proteina ancorata mediante **glicosifosfati-dilinositolo (GPI)**.

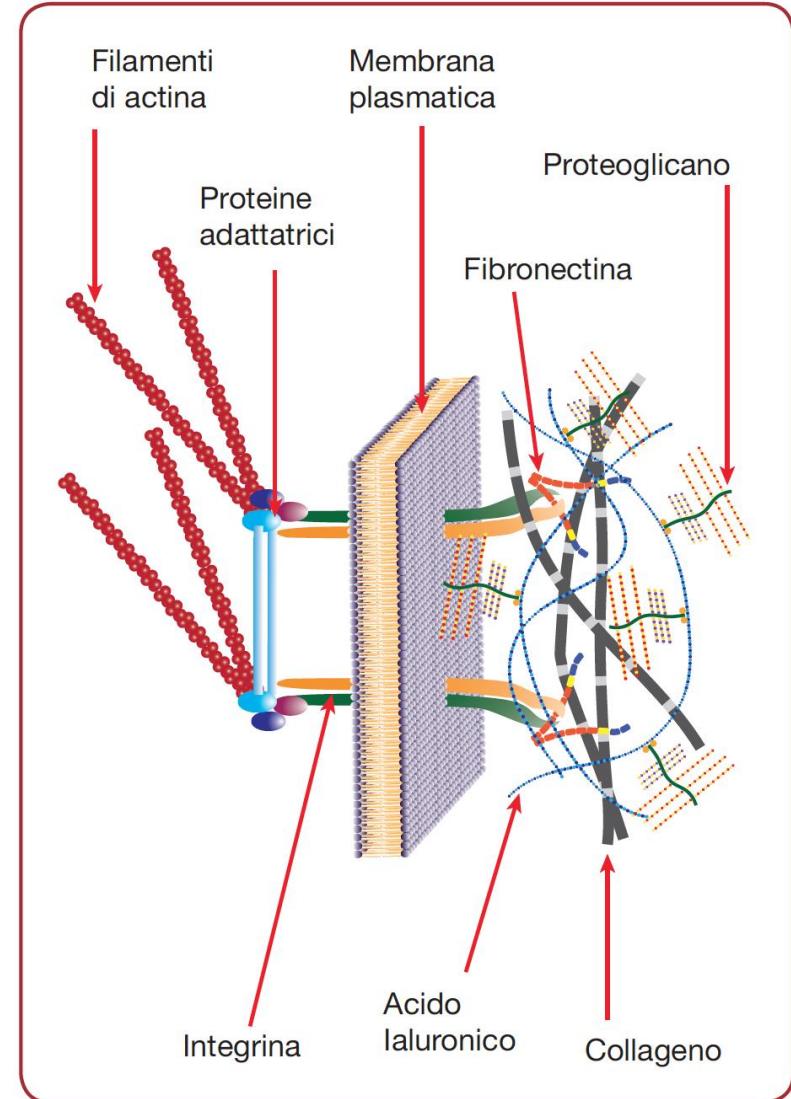
La lamina basale

- La lamina basale è un foglietto sottile della ECM che si trova immediatamente vicino a molti tipi cellulari con i quali è a contatto.
- **E' una ECM specializzata in quanto contiene proteine specifiche e per la sua organizzazione a foglietto.**
- I componenti della lamina basale variano nei diversi tessuti (20 proteine diverse): funzioni diverse.
- 4 componenti in tutte le lame: collagene di tipo IV, la laminina, i proteoglicani eparansulfato e l'entactina (struttura a rete).



Cellule ed ECM: le integrine

- Le cellule si legano alle proteine della ECM attraverso recettori specifici: le integrine.
- Le integrine si legano alle proteine di ECM e a quelle sulla superficie di altre cellule: **proteine responsabili di tenere insieme i tessuti.**
- **Consistono di due polipeptidi diversi, subunità α e β , che attraversano la membrana una volta e si associano in maniera non covalente per formare un recettore eterodimerico.**
- 18 subunità α e 8 subunità β che interagiscono a formare almeno 24 combinazioni diverse di recettori $\alpha-\beta$.



Le integrine

1. Più espresse

- Sono organizzate in 3 sottofamiglie sulla base della **subunità β** .

2. Solo nei leucociti del sistema immunitario

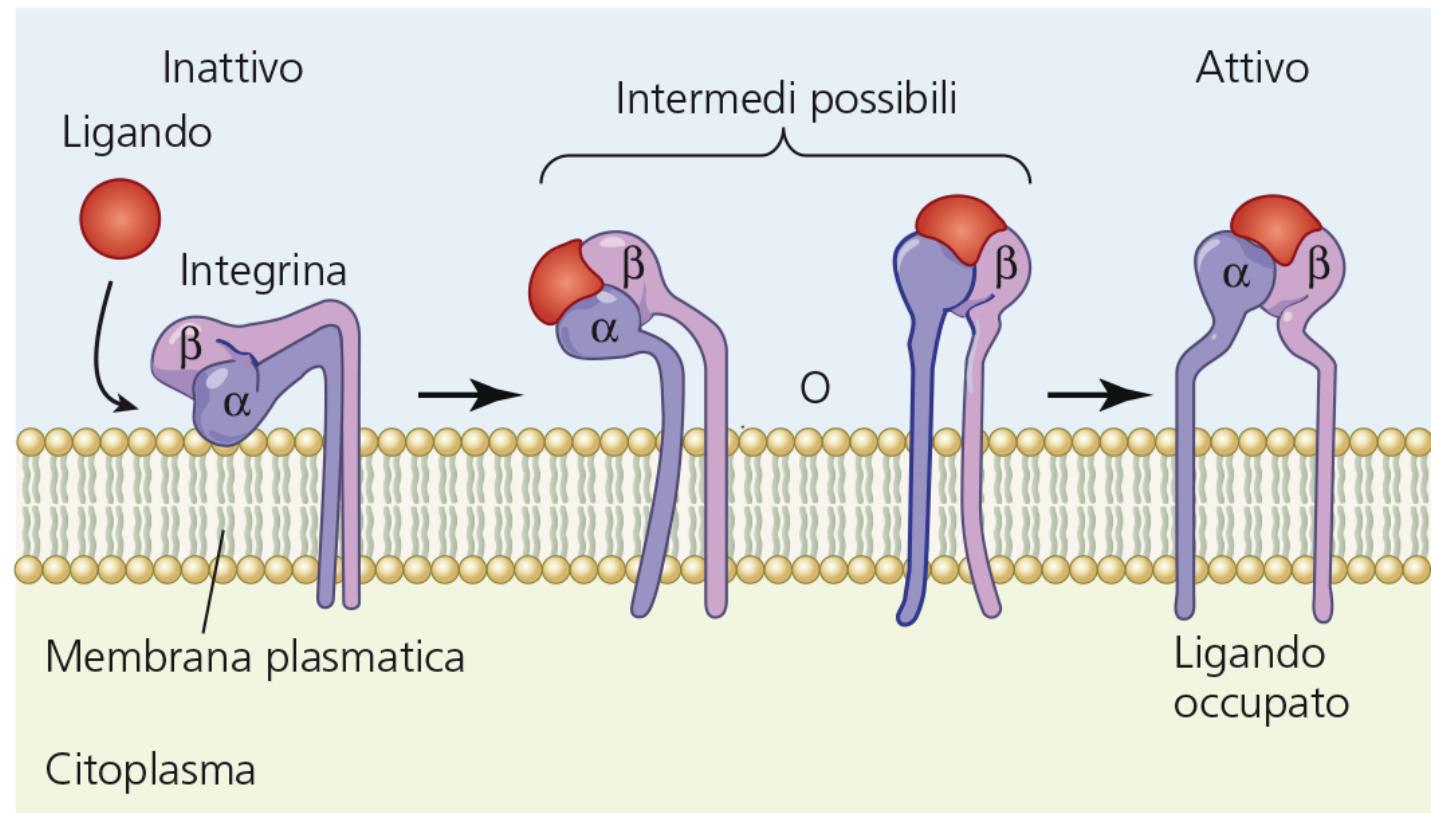
3. Piastrine e magacariociti

Classe	Ligandi	Localizzazione/funzione
α_1 α_2 α_3 α_4 β_1 α_5 α_6 α_7 α_8 α_9 α_{10} α_{11}	Collageni, laminina Collageni, laminina Fibronectine, laminina, trombospondina Fibronectina, molecola di adesione delle cellule vascolari-1 Collagene, fibronectina, fibrinogeno Laminina Laminina Citotactina/tenascina-C, fibronectina Citotactina/tenascina-C Collageni Collageni	Matrice extracellulare Adesione cellula-cellula Matrice extracellulare Coagulo di sangue Matrice extracellulare
α_D α_L α_M β_2 α_X	Molecola di adesione intercellulare-3, molecola di adesione vascolare-1 Molecole di adesione intercellulare 1-5 C3b Fibrinogeno, fattore X, molecola di adesione vascolare-1 Fibrinogeno, C3b	Adesione cellula-cellula Difesa dell'ospite Coagulo di sangue Adesione cellula-cellula Coagulo di sangue Difesa dell'ospite
α_{Ib} α_{IIB} β_3 α_V	Collageni Collageni, fibronectina, trombospondina, vitronectina, fibrinogeno, Fattore di von Willebrand, plasminogeno, protrombina Collagene, fibronectina, laminina, osteopontina, trombospondina, vitronectina, disintegrina, fibrinogeno, protrombina, Fattore di von Willebrand, metalloproteinasi di matrice-2	Matrice extracellulare Coagulo di sangue Matrice extracellulare Coagulo di sangue Proteasi

Attivazione del recettore delle integrine

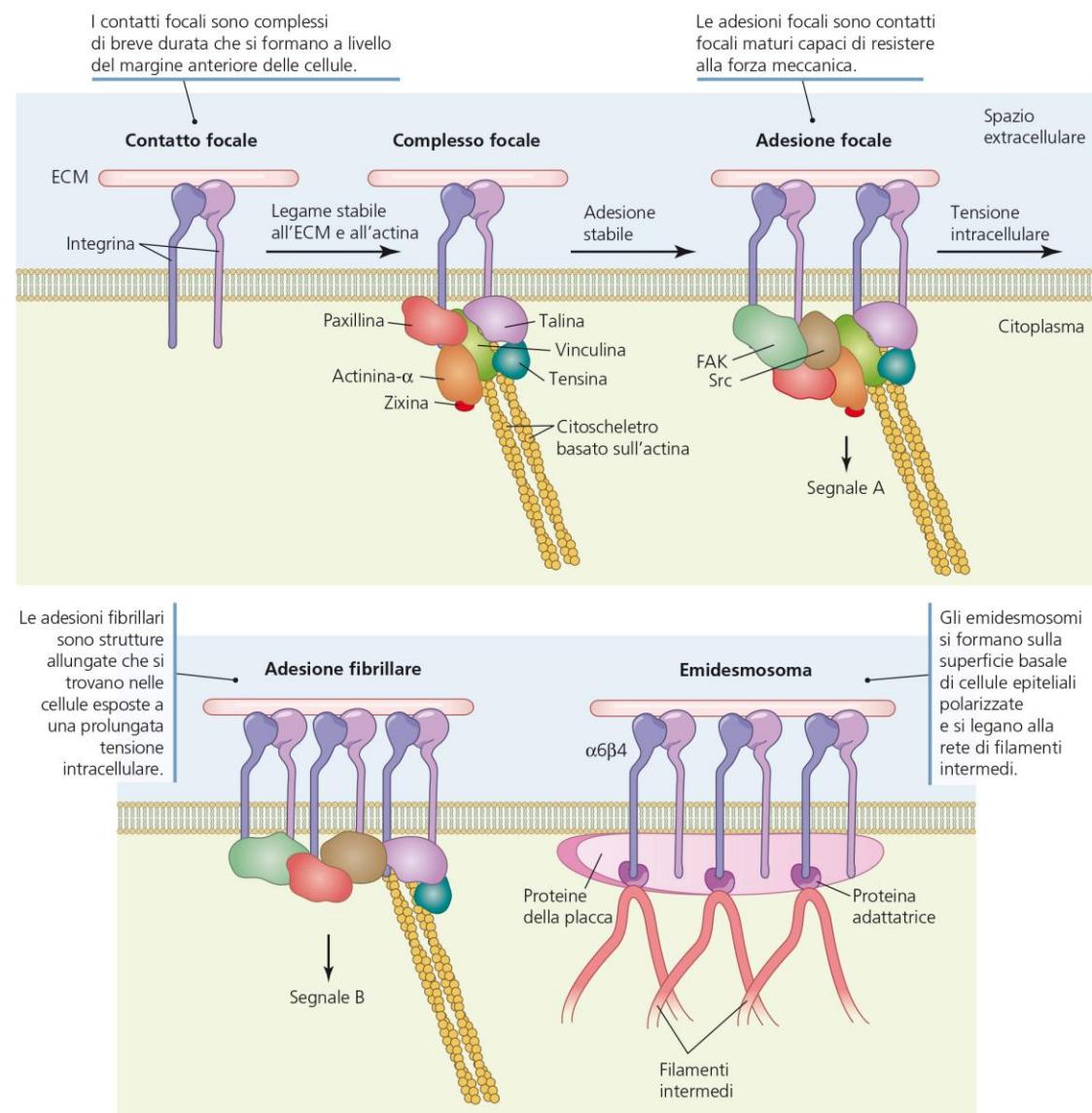
- Le integrine supportano l'adesione cellula-cellula mediante il legame diretto alla proteina della ECM utilizzando i domini extracellulari sia delle catene α che β . **Tutte le integrini possono legarsi a più di un ligando e le ogni proteina di ECM si lega a più di una integrina.**

- Il legame con il ligando cambia conformazione al recettore con le subunità che si distendono e si separano.



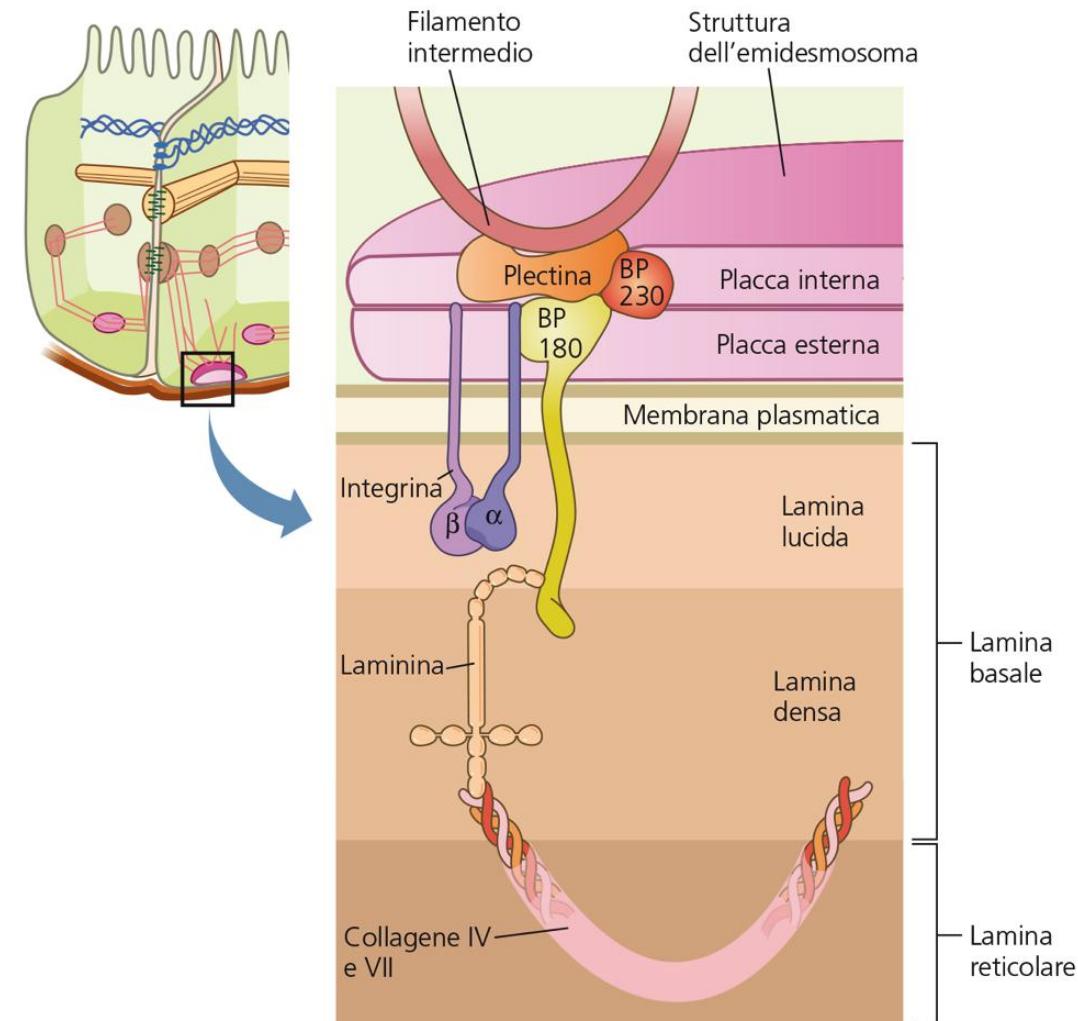
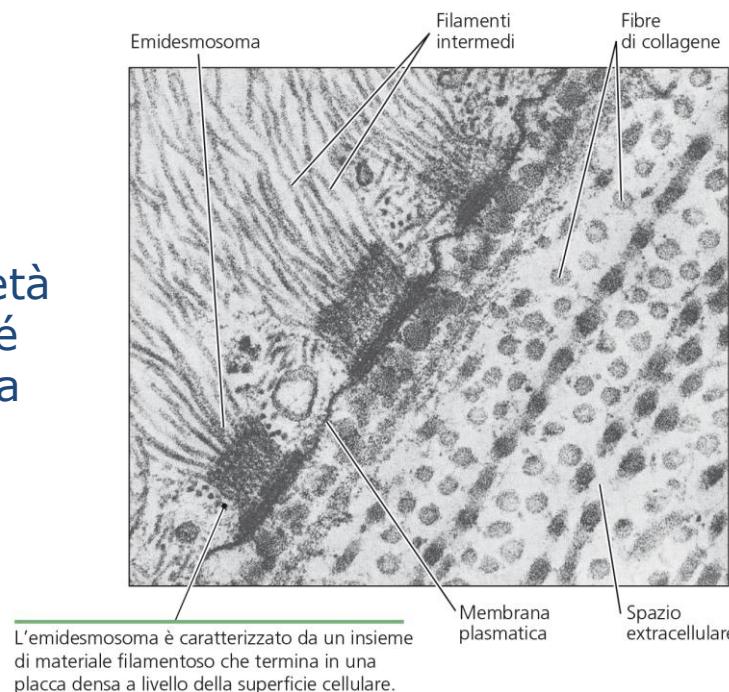
Ruoli distinti delle integrine: gruppi specializzati

- 1. Contatto focale;** primi gruppi di integrine che si formano ai margini di cellule che migrano.
- 2. Complesso focale;** se dal contatto focale si forma un legame stabile con citoscheletro cellulare.
- 3. Adesione focale;** aumento di dimensioni del complesso focale.
- 4. Adesione fibrillare;** adesioni focali soggette a periodi prolungati di forza di tensione.
- 5. Emidesmosomi;** si legano alla rete di filamenti intermedi con la funzione di ancorare foglietti epiteliali alla lamina basale.



Ruoli distinti delle integrine: Gli emidesmosomi

- E' una giunzione presente alla base degli epitelii che lega la membrana plasmatica della regione basale della cellula alla sottostante lamina basale.
- Presentano INTEGRINE legate a proteine della placca (plectina e BP230) e quindi ai filamenti intermedi.
- Ai TEM appare come metà di un desmosoma poiché manca la seconda cellula che forma l'altra metà.



Integreine: composizione e funzioni cellulari

