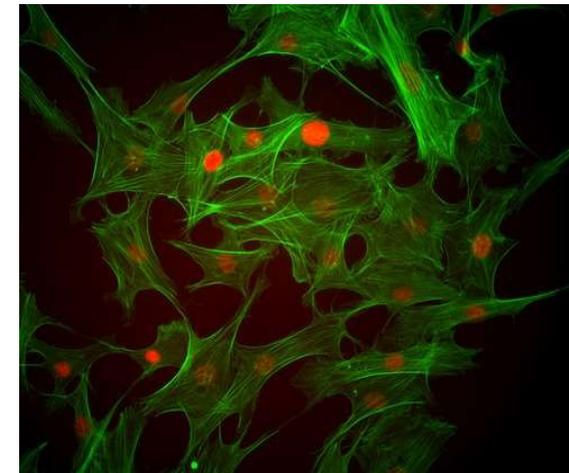
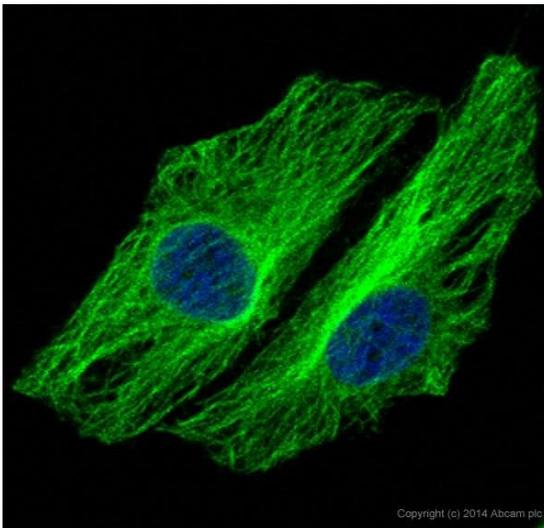
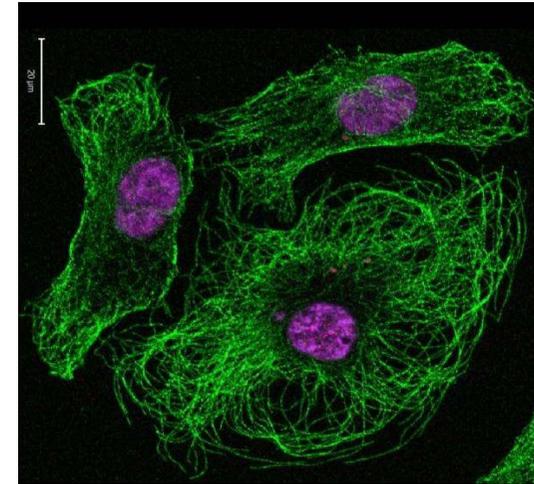
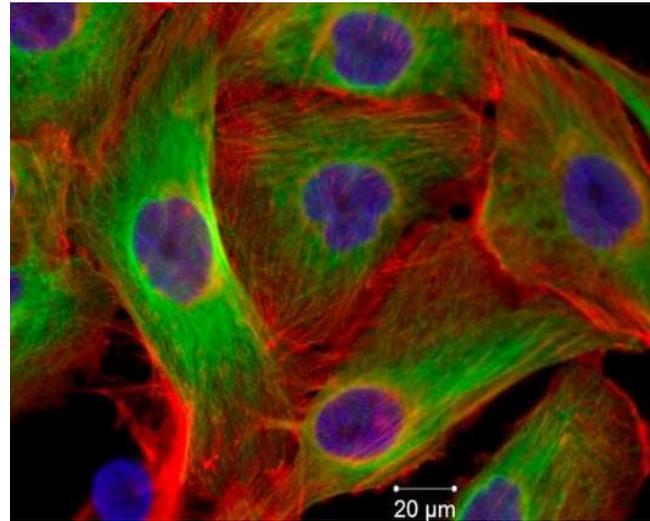
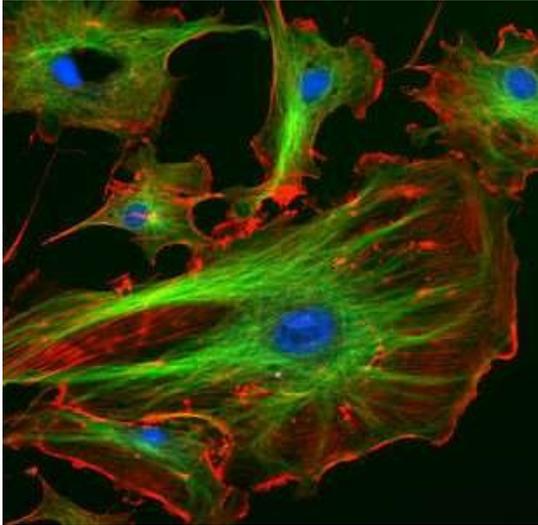


La cellula eucariotica e i suoi organuli

CITOSCHELETRO

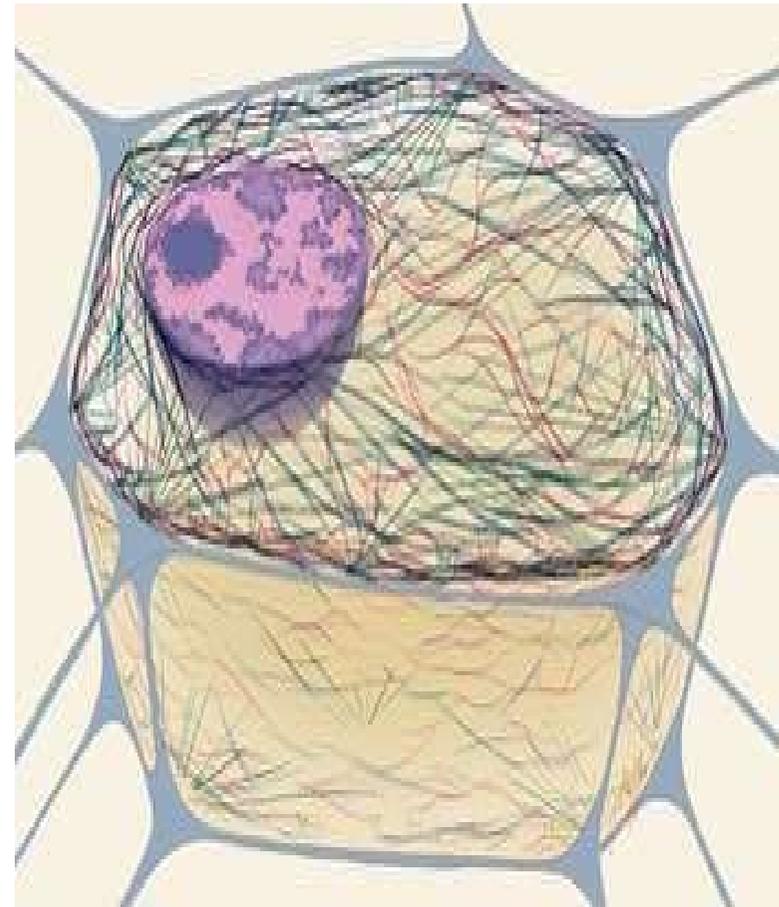
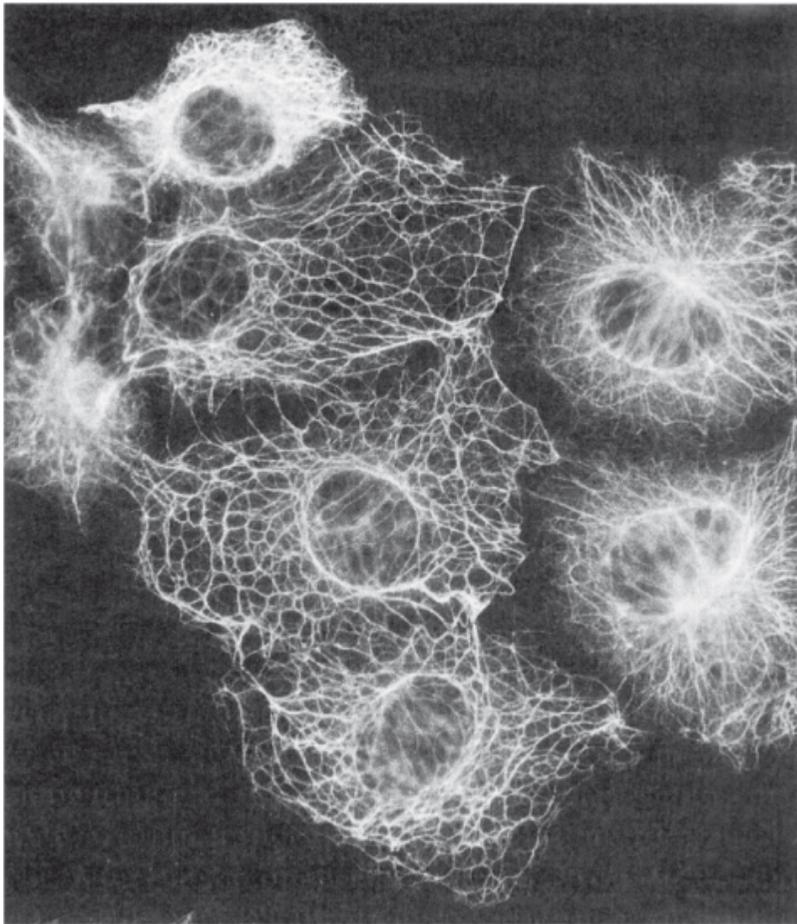


Dr ssa Elisa Mazzoni, Ph.D
Corso di laurea in Scienze Motorie
Insegnamento
Biologia applicata all'esercizio fisico

Modulo di
Principi di Biologia e Genetica (6cfu)
a.a 2019-2020
Università di Ferrara

CITOSCHELETRO

Figura 2.81 Il citoscheletro. Una rete intricata di filamenti che si estende per tutto il citoplasma delle cellule eucariotiche.

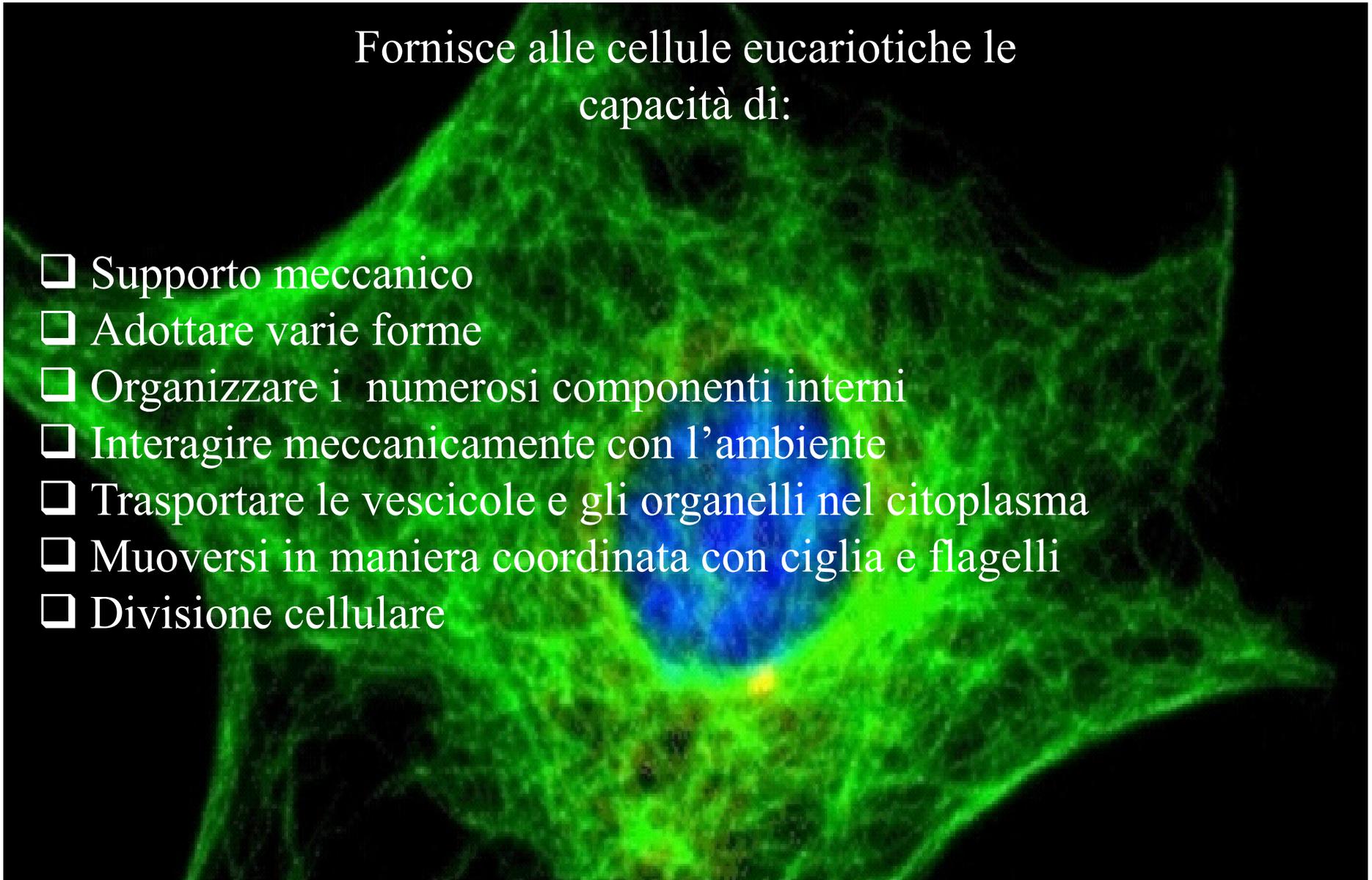


CITOSCHELETRO

FUNZIONI

Fornisce alle cellule eucariotiche le capacità di:

- Supporto meccanico
- Adottare varie forme
- Organizzare i numerosi componenti interni
- Interagire meccanicamente con l'ambiente
- Trasportare le vescicole e gli organelli nel citoplasma
- Muoversi in maniera coordinata con ciglia e flagelli
- Divisione cellulare



FILAMENTI DEL CITOSCHELETRO

caratteristiche principali

1. Microtubuli: (i) determinano le posizioni degli organelli e (ii) dirigono il trasporto intracellulare degli organuli e vescicole (iii) determinano la formazione del fuso mitotico e movimento dei cromosomi (iv) costituiscono ciglia e flagelli per la locomozione cellulare
2. Filamenti di actina (microfilamenti): determinano la forma della superficie cellulare (ii) sono necessari per la locomozione dell'intera cellula (lamellipodi, filipodi); (iii) determinano la divisione cellulare con l'anello di contrazione e (iv) permettono la contrazione interagendo con la miosina
3. Filamenti intermedi: forniscono forza meccanica e resistenza agli stress (involucro nucleare, assoni)

Proteine accessorie sono essenziali per l'assemblaggio controllato dei filamenti del citoscheletro, comprendono i *motori proteici* che muovono gli organelli o i filamenti stessi.

Microtubuli

I microtubuli sono lunghi cilindri cavi composti dalla proteina tubulina (alfa e β tubulina) con diametro esterno di 25 nm

Sono molto più rigidi dei filamenti di actina e dei filamenti intermedi

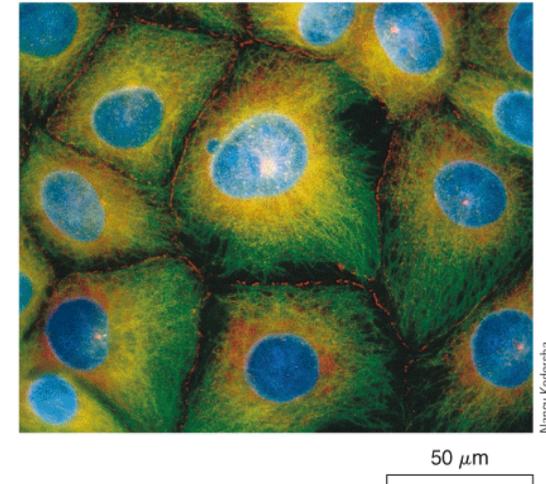
I microtubuli sono lunghi e dritti e in genere hanno una estremità attaccata ad un singolo centro organizzatore dei microtubuli (Micro tubule- organizing center, MTOC) chiamato centrosoma.

Contribuiscono alla struttura della cellula

Contribuiscono al posizionamento degli organuli nella cellula, guidandoli nei loro movimenti all'interno del citoplasma

Dirigono il movimento dei cromosomi quando la cellula si divide (mitosi)

I microtubuli costituiscono Ciglia e Flagelli per il movimento cellulare



(b) Immagine al microscopio ottico a fluorescenza confocale in cui i microtubuli sono visibili in verde. Un centro di organizzazione dei microtubuli (*macchia rosa*) è visibile accanto o sopra buona parte dei nuclei cellulari (*blu*).

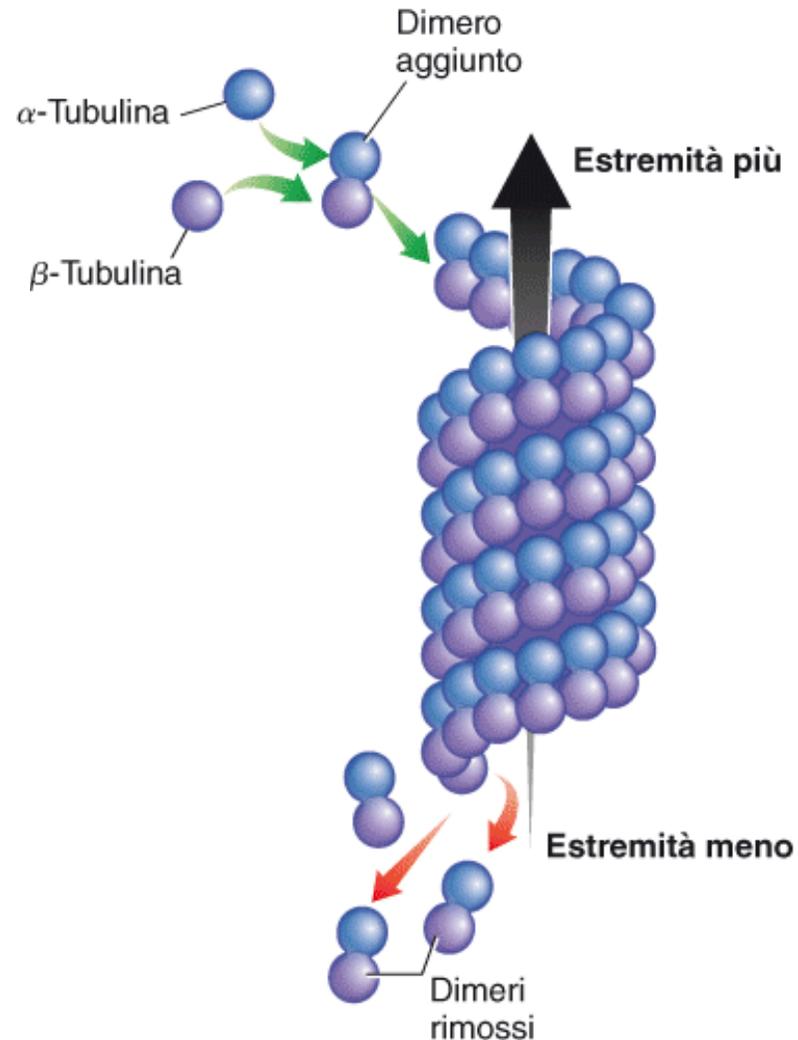
Figura 4-23 Organizzazione dei microtubuli

Microtubuli

Struttura e allungamento:

I microtubuli si allungano aggiungendo dimeri di alfa e beta tubulina nell'estremità più ed accorciarsi eliminando dimeri

(a) Microtubuli vengono a formarsi all'interno della cellula per aggiunta di dimeri di α -tubulina e β -tubulina a una estremità del cilindro cavo. È da notare che il cilindro possiede una polarità. L'estremità rappresentata nella parte alta della figura è quella a crescita rapida, o estremità più; quella opposta è l'estremità meno. Per ogni giro di spirale sono necessari 13 dimeri.



Microtubuli

I microtubuli si assemblano a partire da dimeri di tubulina

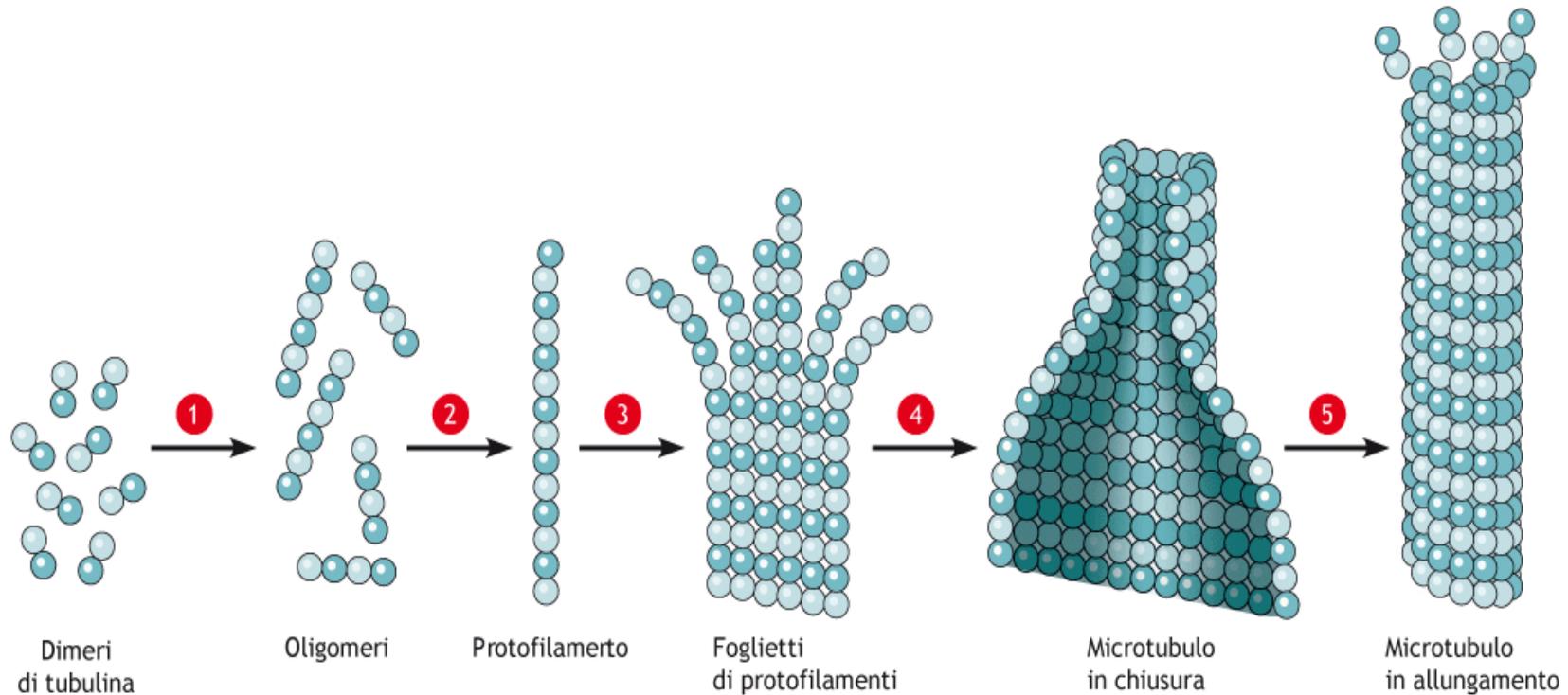


Figura 2.91 I microtubuli *in vitro* si assemblano a partire da dimeri di tubulina $\alpha\beta$. Una molecola di tubulina α ed una molecola di tubulina β si associano strettamente a formare un eterodimero $\alpha\beta$. Inizialmente essi si aggregano casualmente in oligomeri (1) e solo in seguito si formano delle strutture lineari che sono i singoli protofilamenti (2); unendosi tra di loro lateralmente i protofilamenti formano dei foglietti (3) e, successivamente, i foglietti formati da 13 protofilamenti si chiudono a formare un tubulo (4); una volta chiuso, il microtubulo può allungarsi per aggiunta di altre subunità alle estremità (5).

Microtubuli e Disposizione degli Organuli

Contribuiscono al posizionamento degli organuli e vescicole nella cellula, guidandoli nei loro movimenti all'interno del citoplasma

Proteine motrici

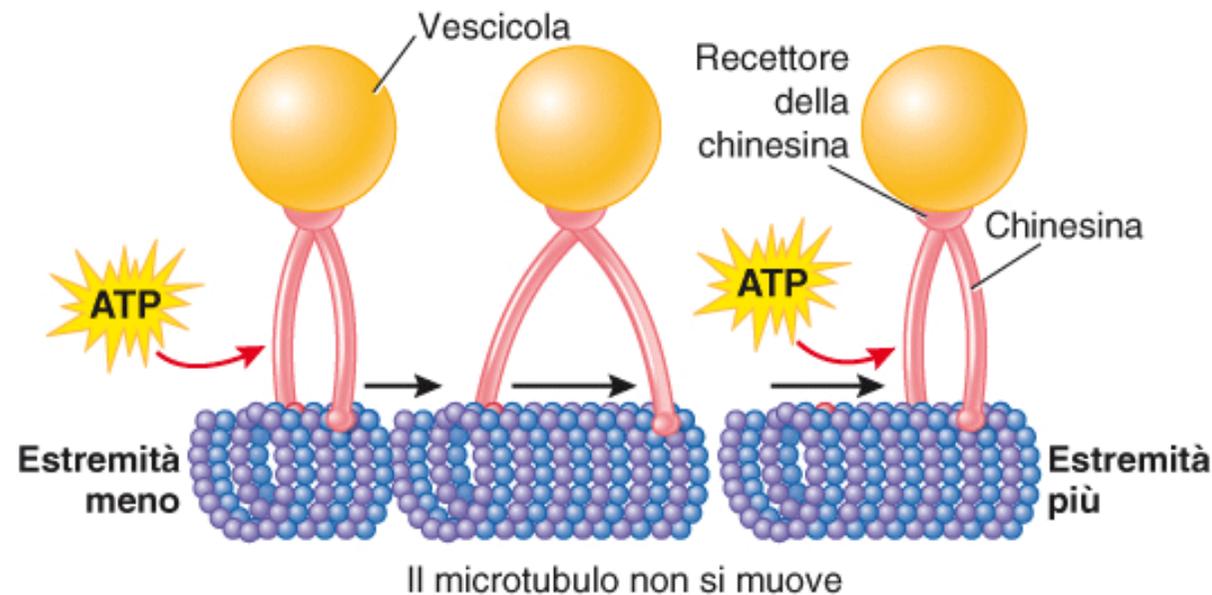


Figura 4-24 Modello ipotetico di un motore di chinesina

Una molecola di chinesina si attacca a uno specifico recettore sulla vescicola. L'energia fornita dall'ATP permette alla molecola di chinesina di cambiare conformazione e di «camminare» lungo il microtubulo, portandosi dietro la vescicola. (Le dimensioni relative sono state rese sproporzionate per chiarezza).

Microtubuli

Proteine motrici

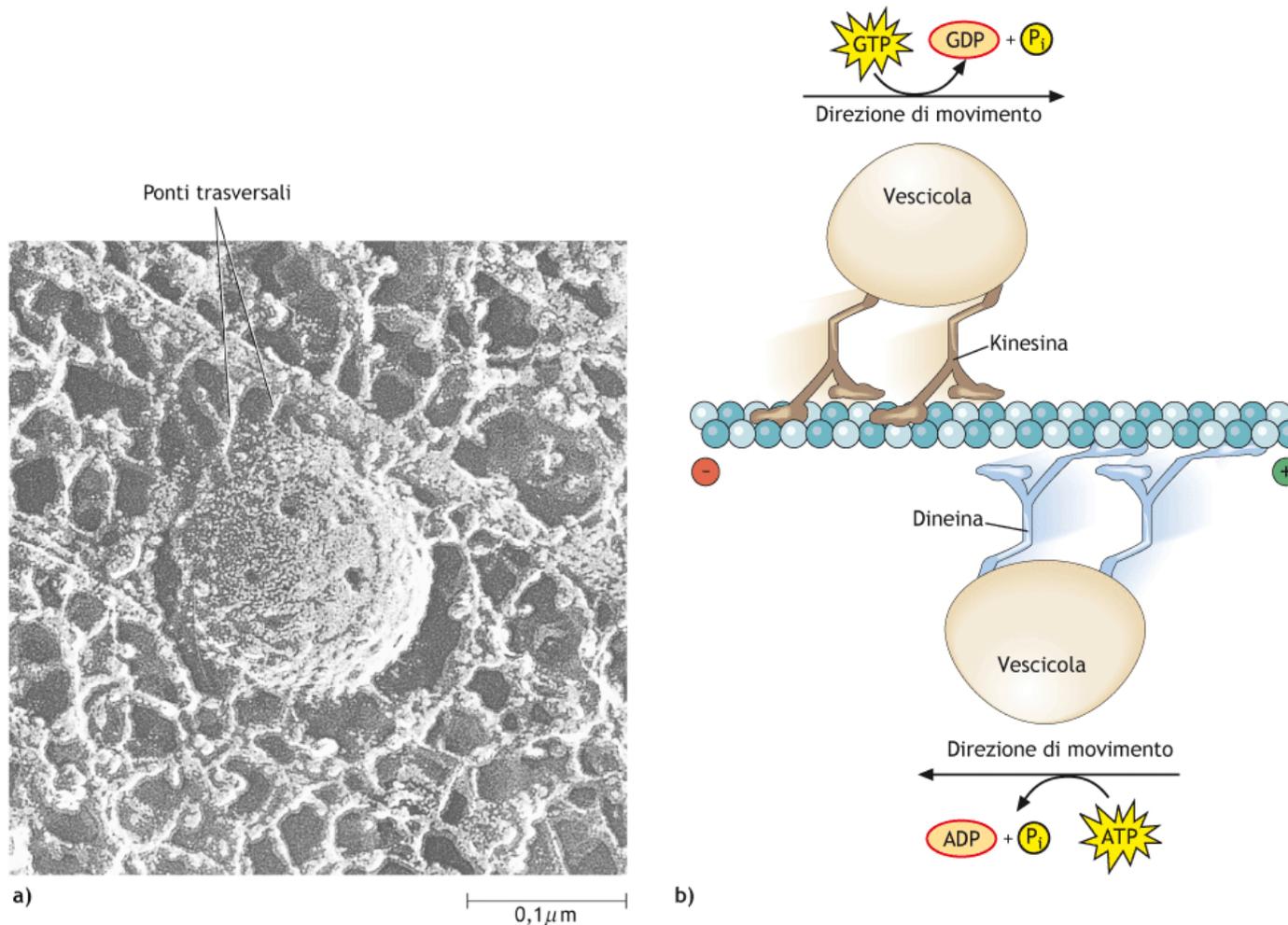
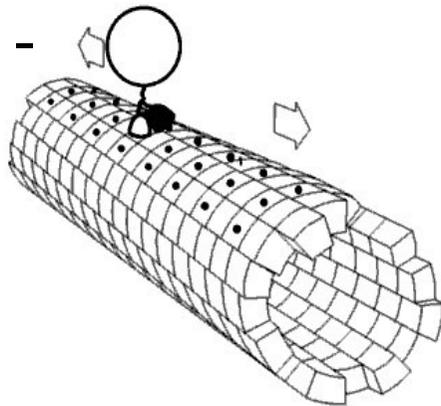
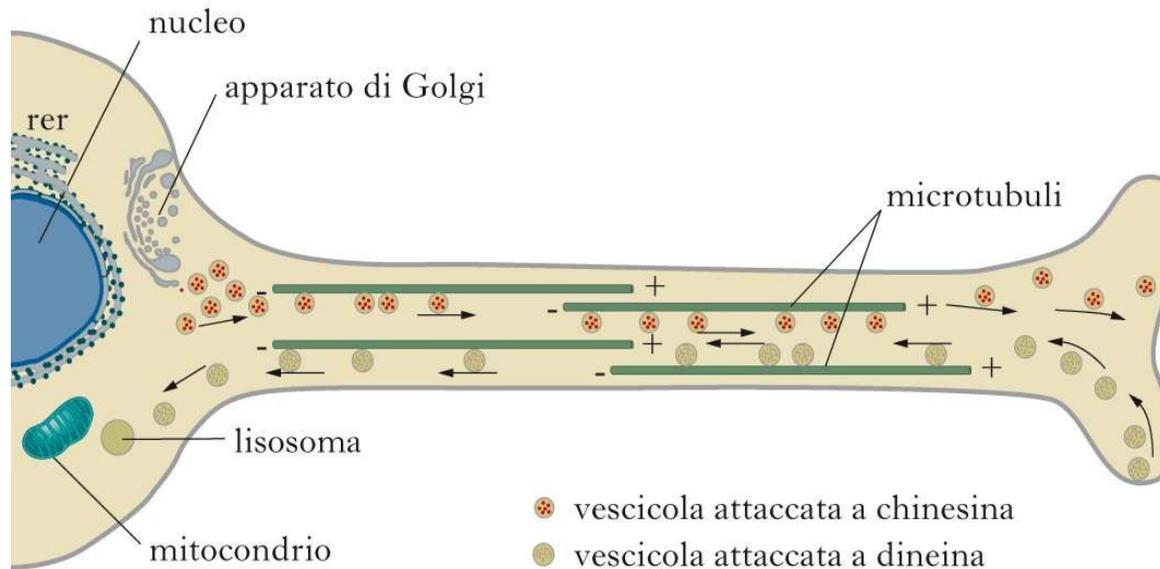


Figura 2.94 Kinesina e dineina. (a) Micrografia elettronica di una molecola di dineina ed una di kinesina. (b) Queste proteine che risultano molto complesse, si legano ai microtubuli e li percorrono in direzione opposta: rispettivamente la dineina verso l'estremità *minus* e la kinesina verso l'estremità *plus*.

Microtubuli

Proteine motrici



Chinesina → (+) Anterogrado
Dineina ← (-) Retrogrado

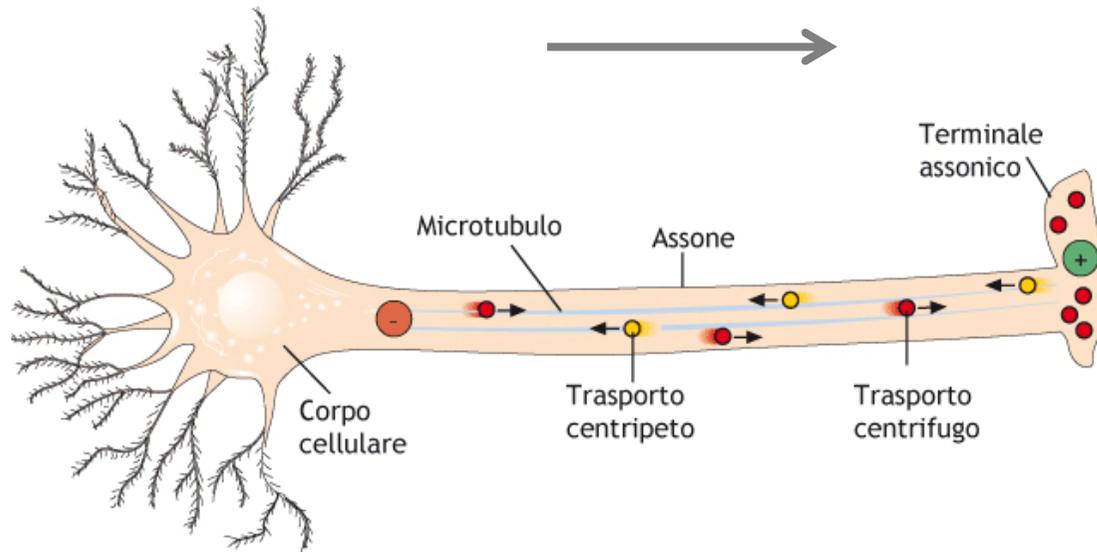
Chinesina. Il movimento è unidirezionale e avviene verso l'estremità (+) del microtubulo. In pratica la polarità del trasporto è quello anterogrado, dal centro della cellula verso la periferia, ed è quello che si realizza nel caso delle vescicole di secrezione.

Il movimento della dineina avviene verso l'estremità (-) del microtubulo, mediando così il trasporto retrogrado.

Microtubuli

Cellula nervosa

Figura 2.95 Trasporto attraverso l'assone di una cellula nervosa, lungo i numerosi microtubuli che sono orientati tutti allo stesso modo e cioè con la estremità più diretta verso la terminazione assonica. Questo movimento verso il terminale (anterogrado, centrifugo) è facilitato dalla presenza di alcune proteine motrici, mentre il movimento in direzione opposta (retrogrado, centripeto) è dovuto alla presenza di altre proteine motrici.



La Chinesina trasporta le vescicole sul microtubulo con movimento anterogrado nell'assone della cellula nervosa

Microtubuli

Il fuso mitotico è formato da microtubuli

I microtubuli hanno una estremità attaccata ad un **centro di organizzazione dei microtubuli**, Micro tubule-organizing center (MTOC). Nelle cellule animali il centro **di organizzazione** è il centrosoma, costituito da due centrioli

Centrosomi e Centrioli svolgono un ruolo chiave nella divisione cellulare dirigendo il movimento dei cromosomi quando la cellula si divide.

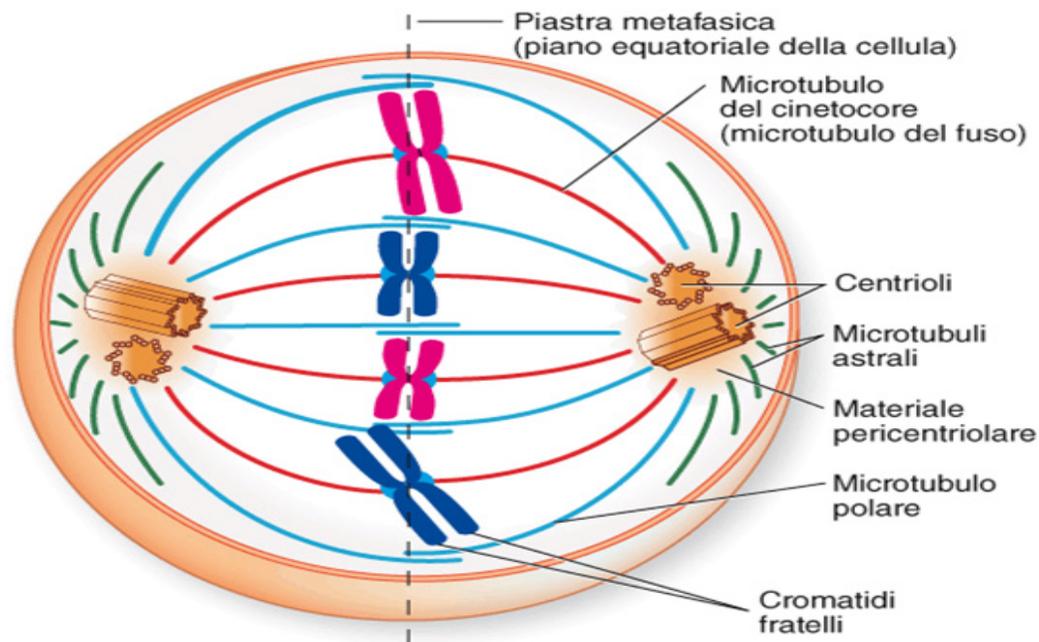
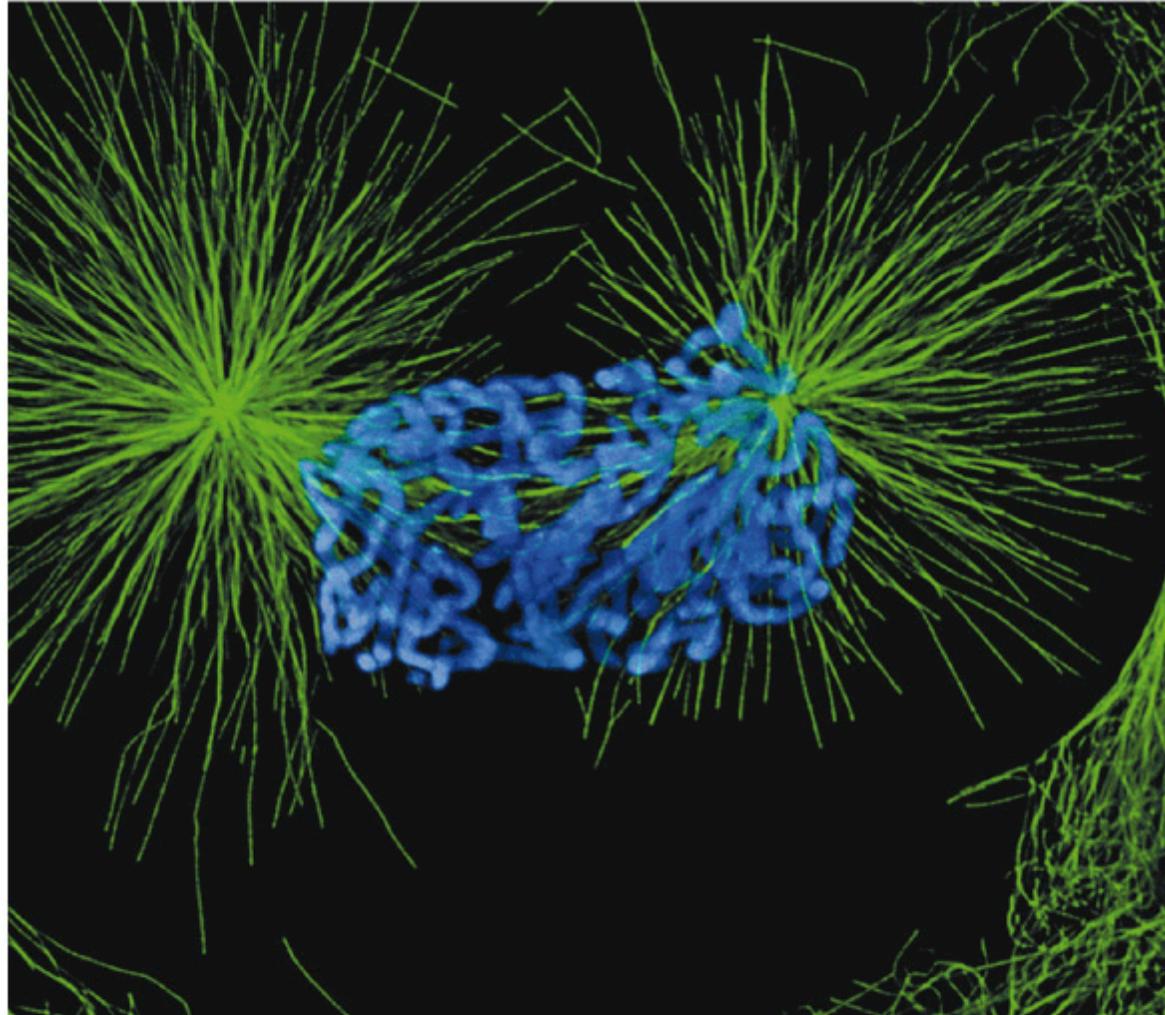


Figura 10-9 Il fuso mitotico

Un'estremità di ciascun microtubulo di questa cellula animale è collegata a uno dei poli. I microtubuli astrali (*in verde*) si irradiano in ogni direzione formando l'aster, quelli del cinetocore (*in rosso*) collegano i cinetocori ai poli, quelli polari (*in blu*) si sovrappongono sul piano equatoriale.

I MICROTUBULI DEL FUSO MITOTICO

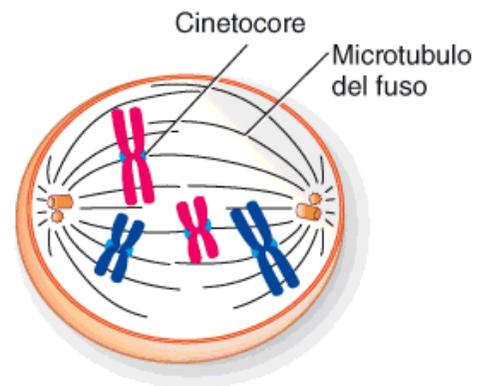
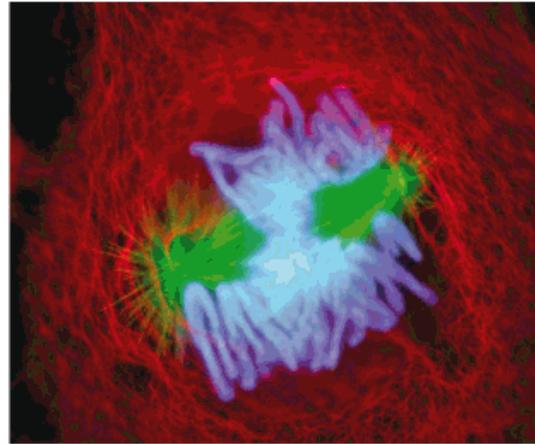


Alexey Khodjakov, Wadsworth Center, Albany, NY

Fotografia al microscopio ottico di una cellula di tritone in coltura durante la mitosi (prometafase precoce). L'involucro nucleare si è disgregato e i microtubuli del fuso mitotico (*in verde*) interagiscono con i cromosomi (*in blu*).

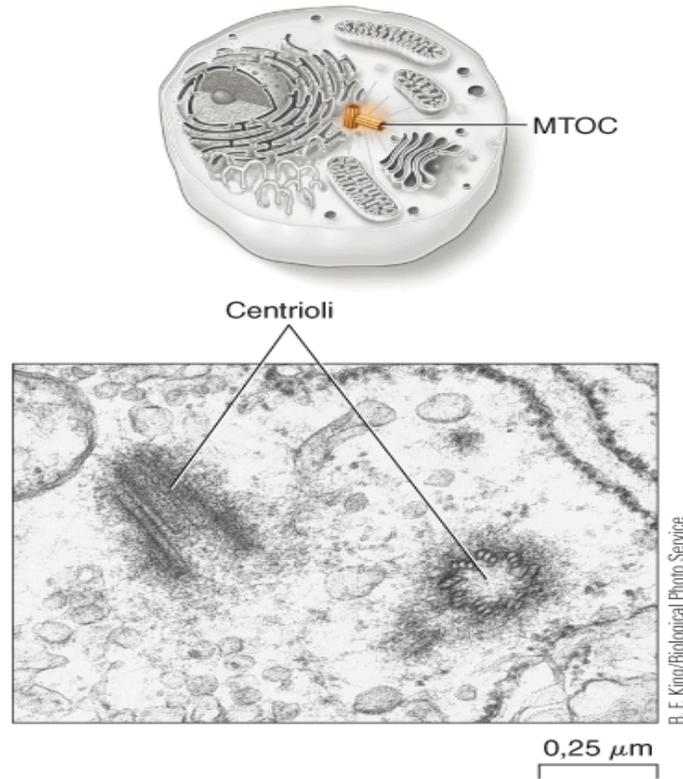
I MICROTUBULI DEL FUSO MITOTICO

PROMETAFASE



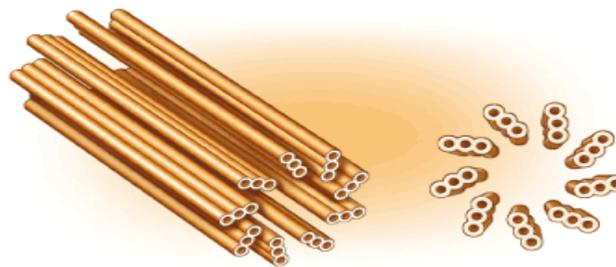
(c) I microtubuli del fuso si attaccano ai cinetocori dei cromosomi. I cromosomi cominciano a spostarsi verso il piano equatoriale della cellula.

Microtubuli



Il centriolo ha
arrangiamento
9x3 dei
microtubuli

(a) Nell'immagine MET, i centrioli sono sistemati ad angolo retto vicino al nucleo di una cellula animale che non si sta dividendo.



(b) È da notare l'arrangiamento 9×3 dei microtubuli. Il centriolo a destra è stato tagliato trasversalmente.

Figura 4-25 Centrioli

CIGLI A E FLAGELLI SONO COSTITUITI DA MICROTUBULI

Le ciglia hanno
arrangiamento 9+2
dei microtubuli del
corpo basale

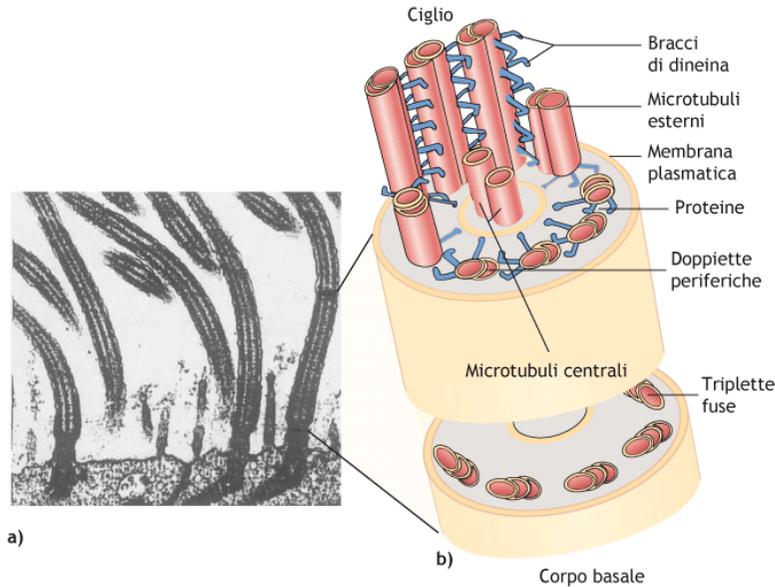


Figura 2.97 Struttura di un ciglio. **(a)** Sezioni longitudinali di ciglia di cellule epiteliali dell'invertebrato *Ciona intestinalis*, in cui sono visibili le doppiette centrali e laterali. **(b)** Schema di sezioni trasversali di assonemi con la ricostruzione della caratteristica disposizione 9 + 2 dei microtubuli corrispondenti al ciglio e al corpo basale.

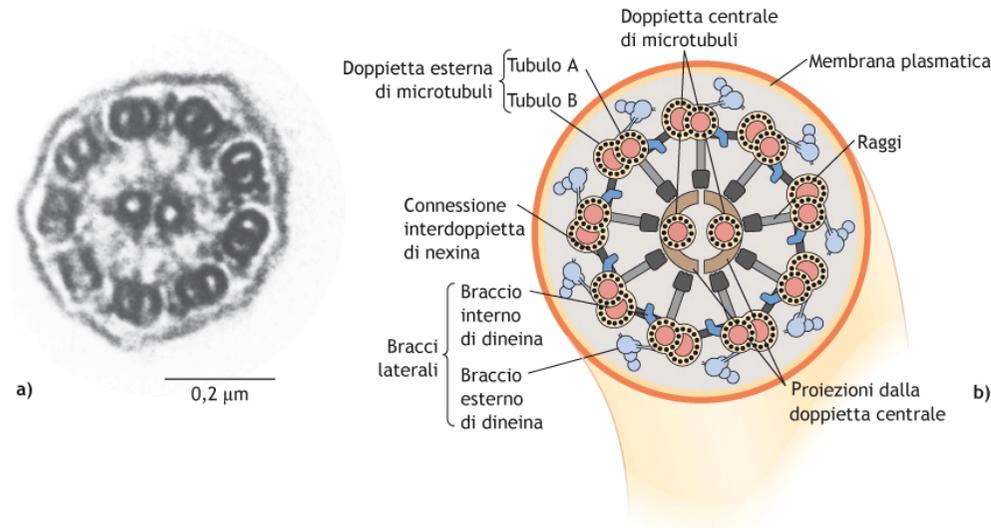


Figura 2.98 Struttura dell'assonema. **(a)** Sezione trasversale di un ciglio visto al microscopio elettronico. **(b)** Schema corrispondente.

Un ciglio è costituito da microtubuli in una disposizione 9 + 2 circondati dalla membrana plasmatica; la proteina dineina sposta i microtubuli formando e rompendo ponti trasversali su coppie adiacenti di microtubuli.

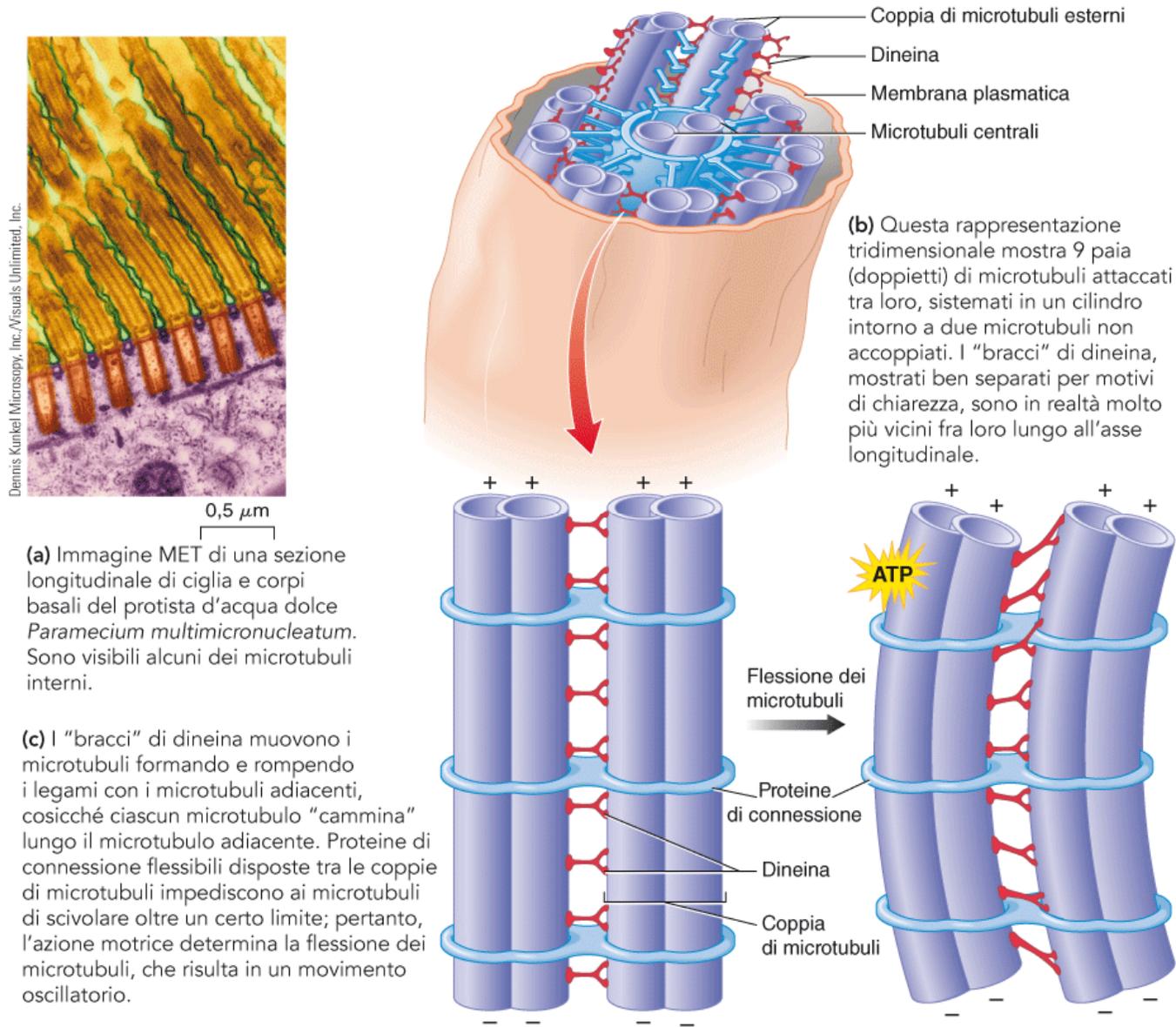
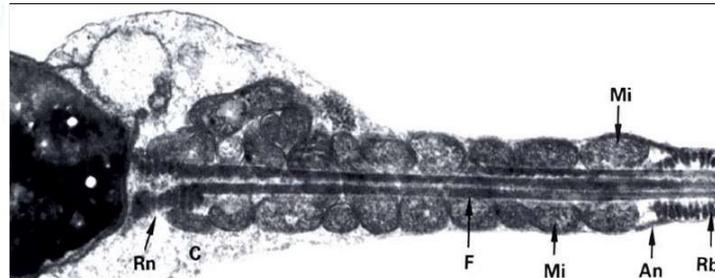
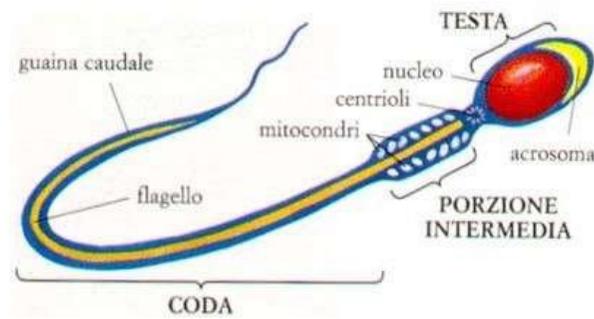


Figura 4-26 Struttura e movimento delle ciglia

I flagelli sono costituiti da microtubuli che costituiscono la coda degli spermatozoi

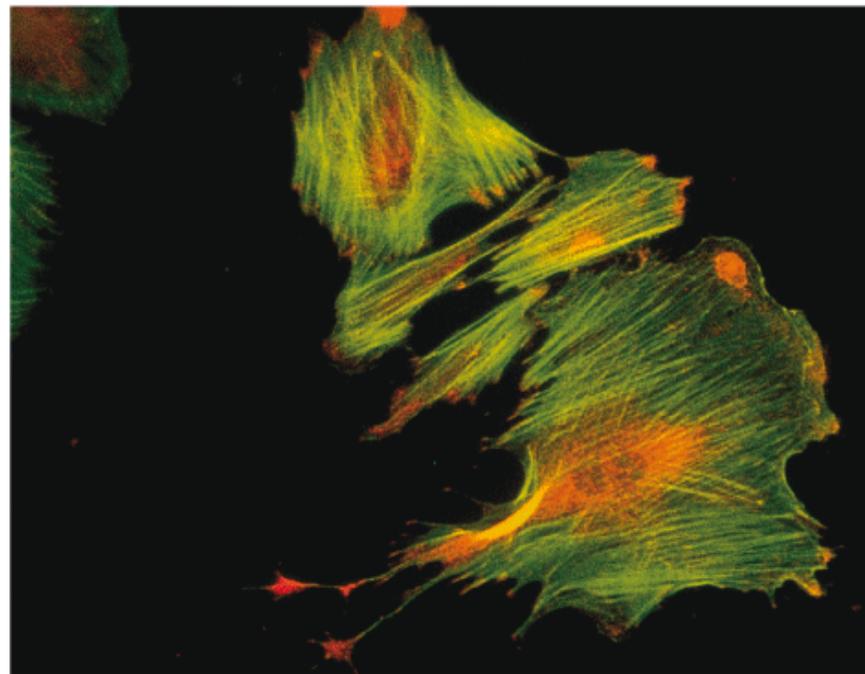


Spermatozoo

Microfilamenti



(a) Ogni microfilamento è costituito da due catene di molecole di actina intrecciate tra loro.



(b) Questa fotografia al microscopio ottico a fluorescenza di fibroblasti (cellule del tessuto connettivo) evidenzia numerosi fasci di microfilamenti (*in verde*).

Figura 4-27 Microfilamenti

Microfilamenti

Sono strutture rigide formate da una particolare proteina globulare chiamata actina.

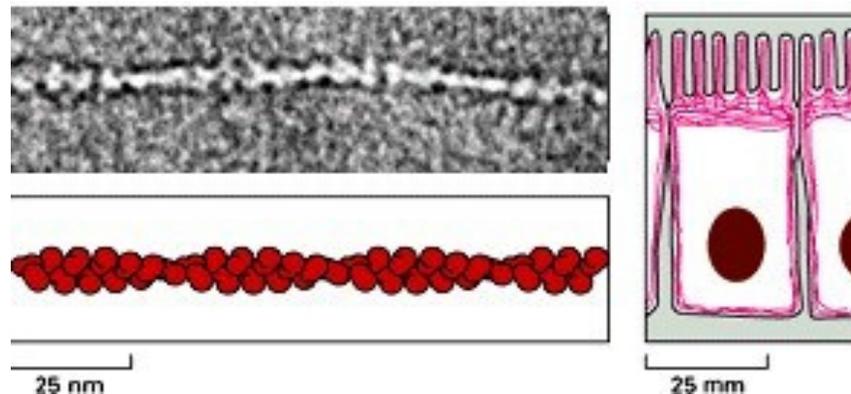
Ogni microfilamento è formato da 2 molecole di actina avvolte l'una sull'altra.
Hanno andamento elicoidale e si intrecciano l'una sull'altra.

I **filamenti di actina** (noti anche come micro-filamenti) sono polimeri elicoidali a due filamenti della proteina **actina**.

Hanno l'aspetto di strutture flessibili, con un diametro di 5-9 nm organizzate in una varietà di fasci lineari, reti bidimensionali e gel tridimensionali.

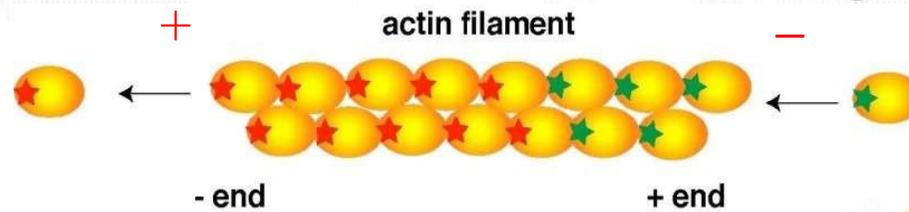
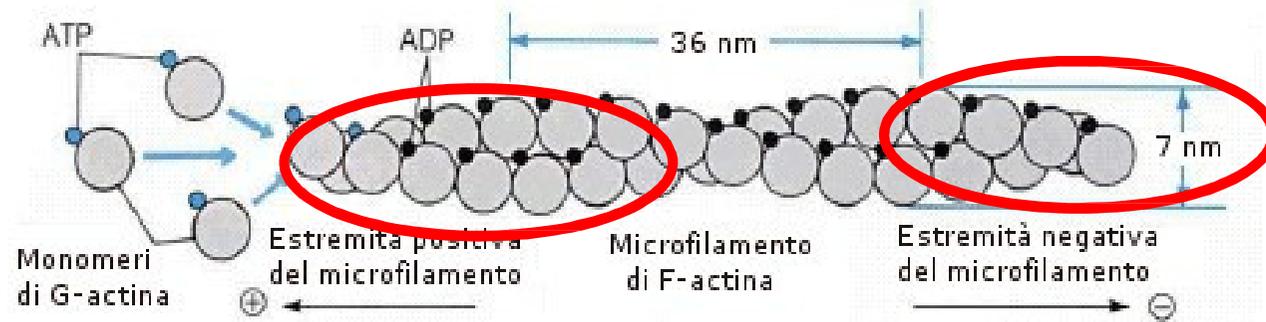
Sebbene i filamenti di actina siano dispersi in tutta la cellula, sono più concentrati nella corteccia, appena sotto la membrana plasmatica.

Rappresentano il 15-20% delle proteine totali cellulari

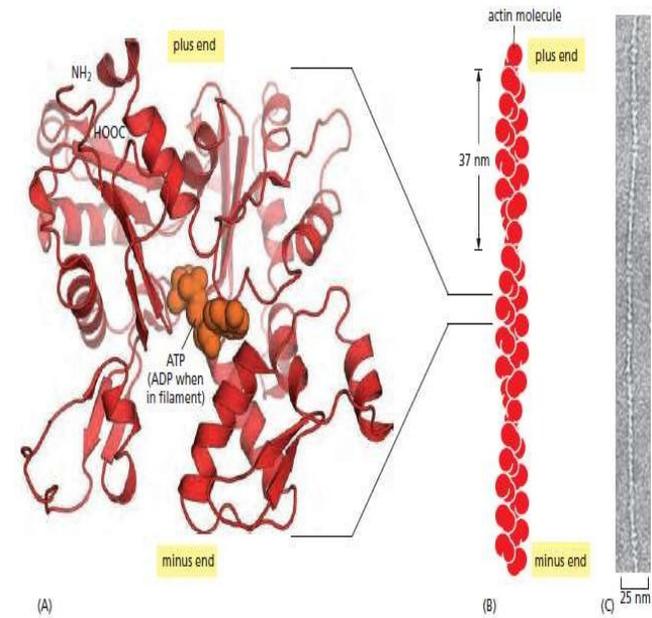


Microfilamenti

Assemblaggio



-  actin monomer bound to ADP
-  actin monomer bound to ATP



ARCHITETTURA DEI MICROFILAMENTI

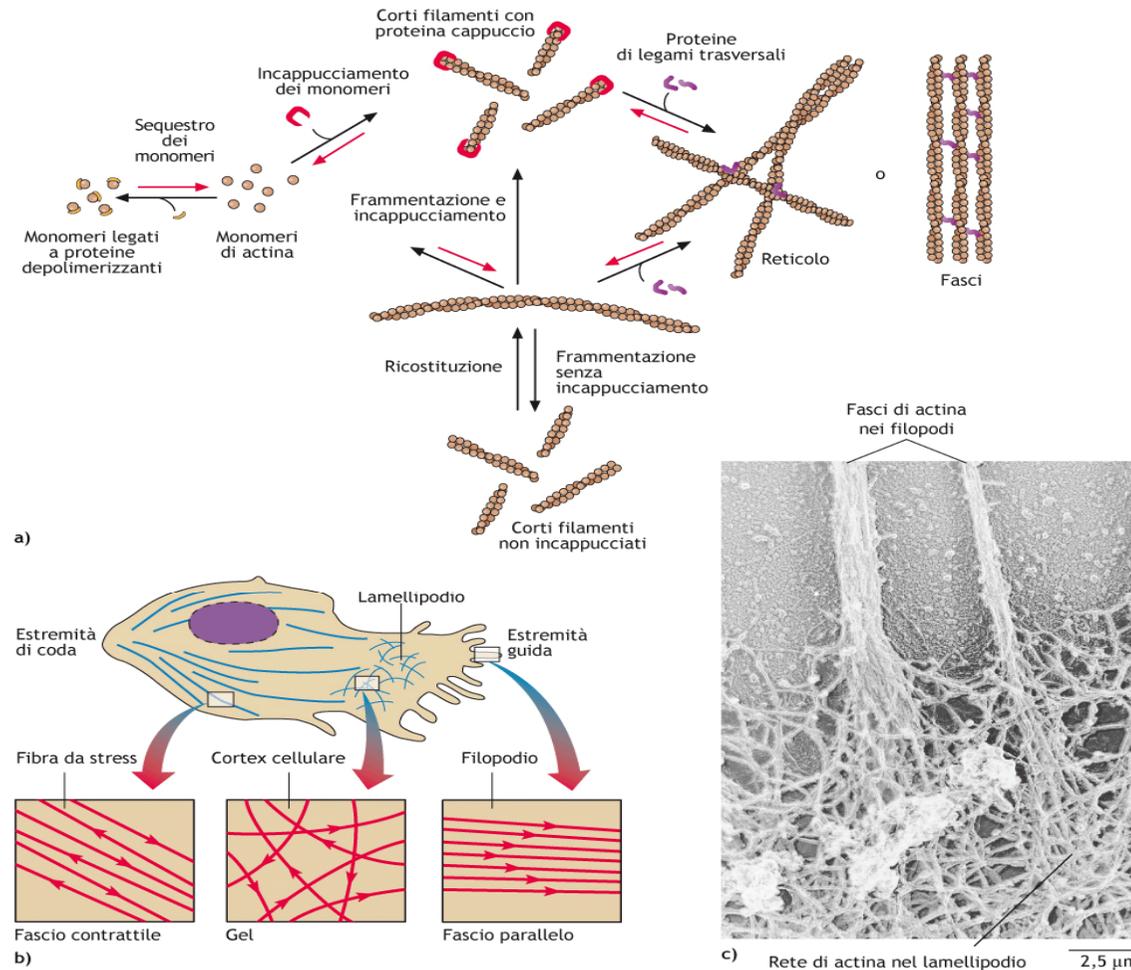
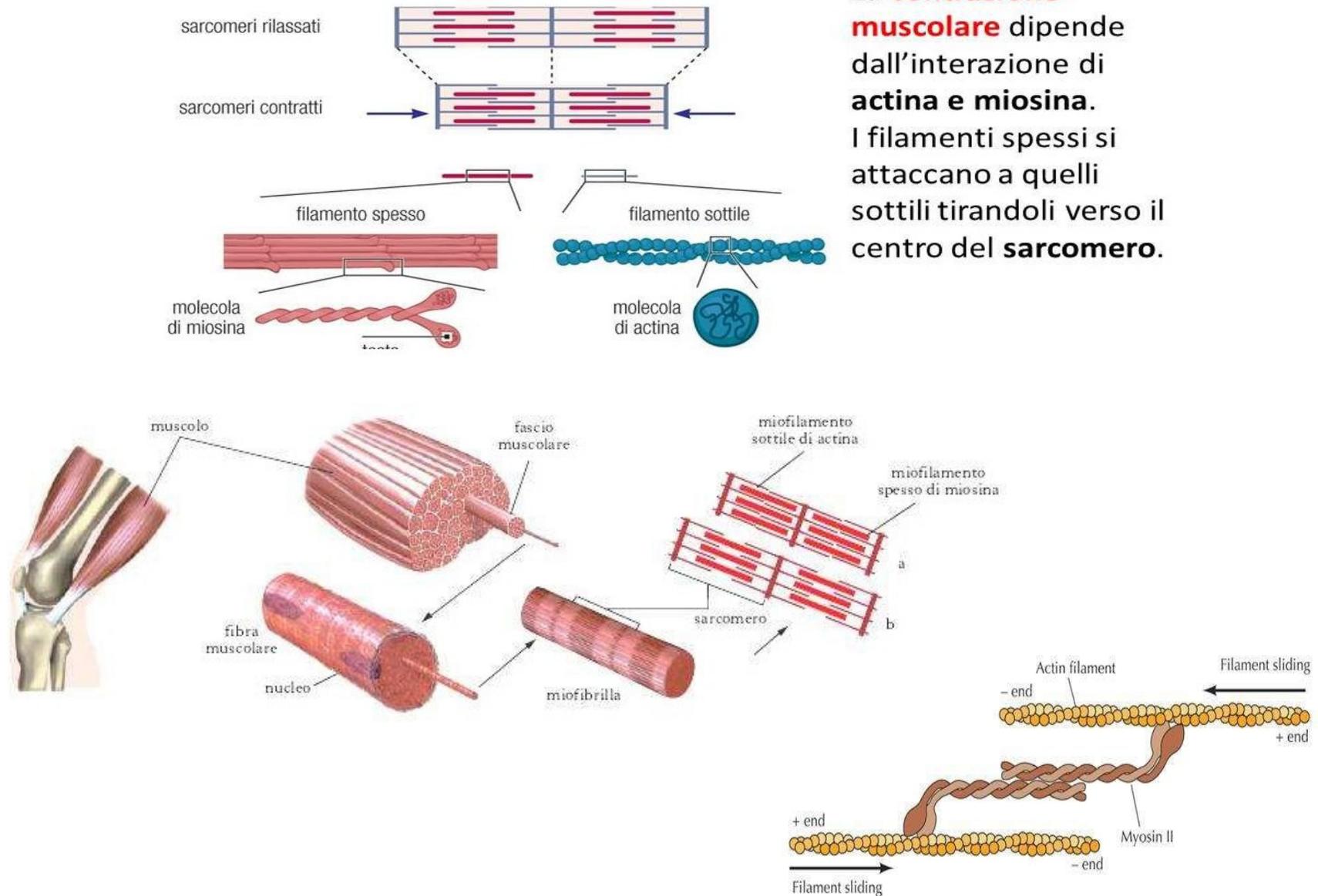


Figura 2.87 Architettura dei microfilamenti. (a) Nel citosol, grazie al legame con proteine che controllano il comportamento dei filamenti actinici, questi possono organizzarsi a formare strutture differenti, filamentose corte o lunghe, con le estremità bloccate e non; diversi filamenti si possono associare in reticoli o in fascetti; (b) le diverse conformazioni che i filamenti di actina possono assumere, possiamo trovarle contemporaneamente in una cellula; ad es. in un macrofago ci saranno: (i) fascetti contrattili di actina che corrono dalla estremità di coda della cellula all'estremità guida, e sono le fibre da stress; (ii) alla periferia si trova il cortex, costituito da una rete tridimensionale di microfilamenti intrecciati a formare un gel; (iii) alla estremità guida del macrofago si possono formare delle proiezioni della membrana plasmatica, i filopodi in cui i microfilamenti formano dei veri e propri fascetti. (c) Nella micrografia elettronica si vedono i fasci di actina nei filopodi di un macrofago; tali fascetti si estendono dalla rete di microfilamenti presente al di sotto della membrana plasmatica di un lamellipodio.

Microfilamenti

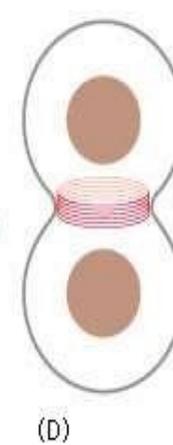
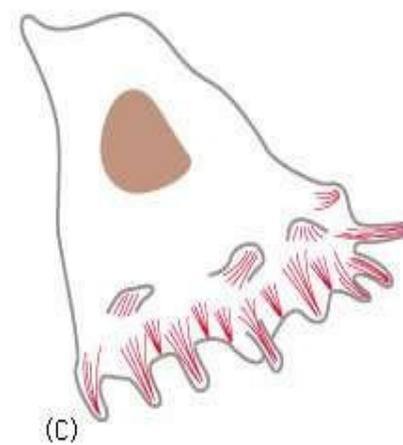
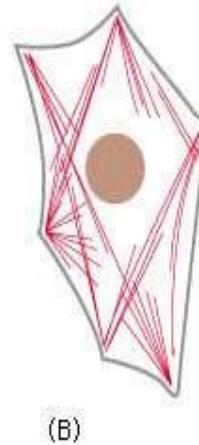
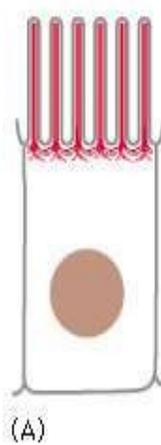
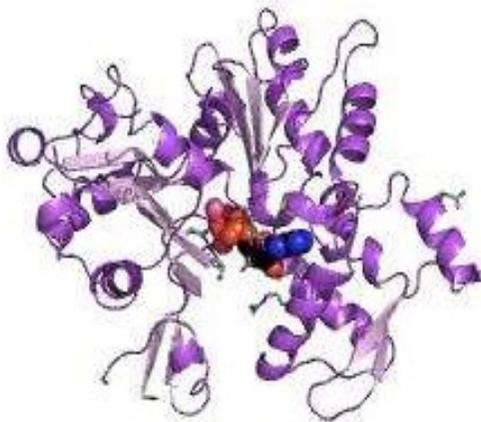
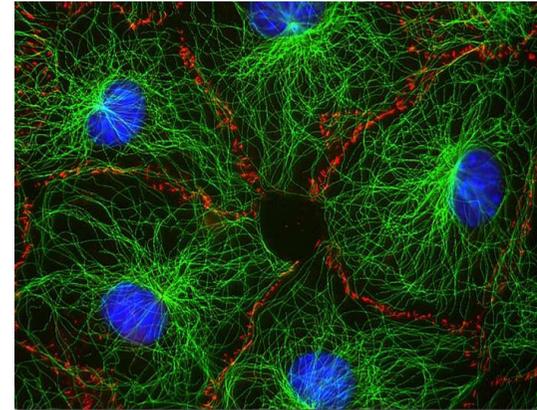
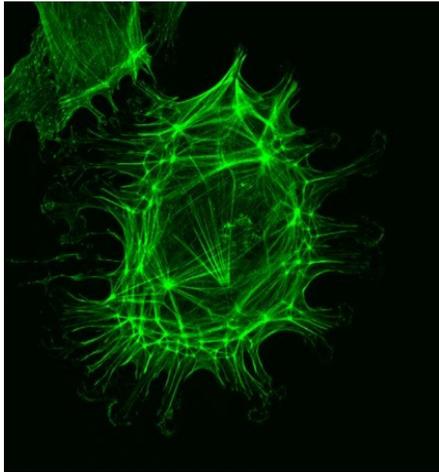
I microfilamenti di actina sono essenziali per la contrazione muscolare

La **contrazione muscolare** dipende dall'interazione di **actina e miosina**. I filamenti spessi si attaccano a quelli sottili tirandoli verso il centro del **sarcomero**.



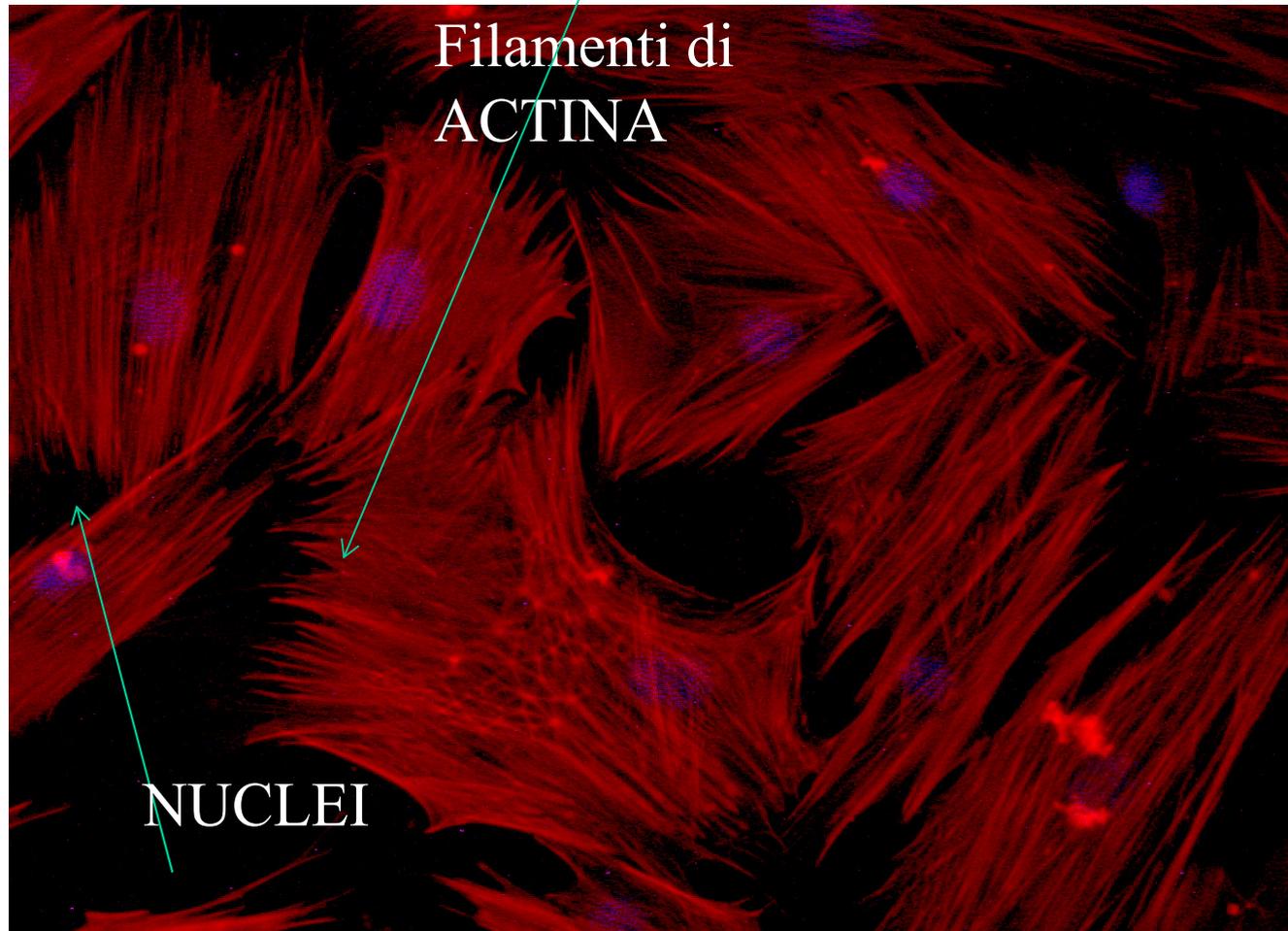
Microfilamenti

I microfilamenti aiutano la cellula a cambiare forma.



Microfilamenti

Citoscheletro di hASC evidenziato con
Immunocitochimica (Falloidina ^{TRITC})



Interazione del citoscheletro (ACTINA) e INTEGRINE PER ADESIONE ALLA MATRICE EXTRACELLULARE

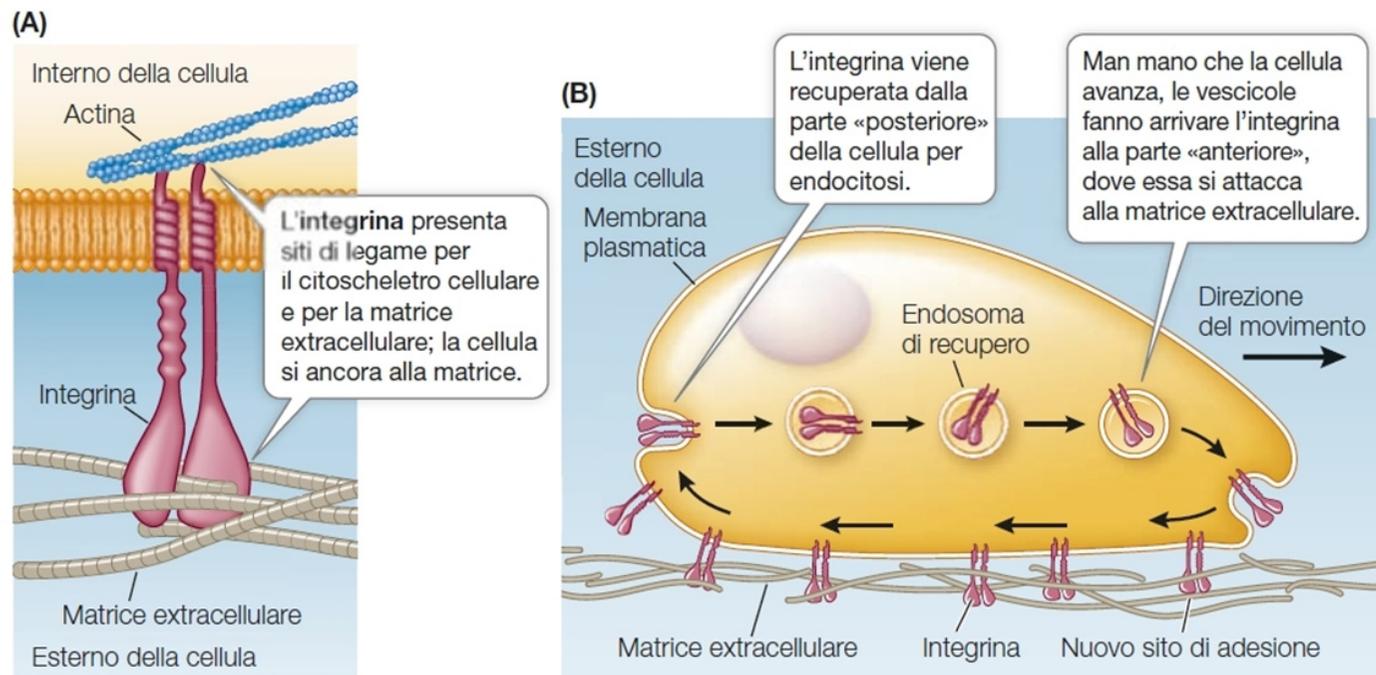


Figura 6.8 Le integrine e la matrice extracellulare
(A) Le integrine fanno da tramite per l'attacco delle cellule alla matrice extracellulare. (B) L'attacco delle integrine rende possibili i movimenti cellulari.

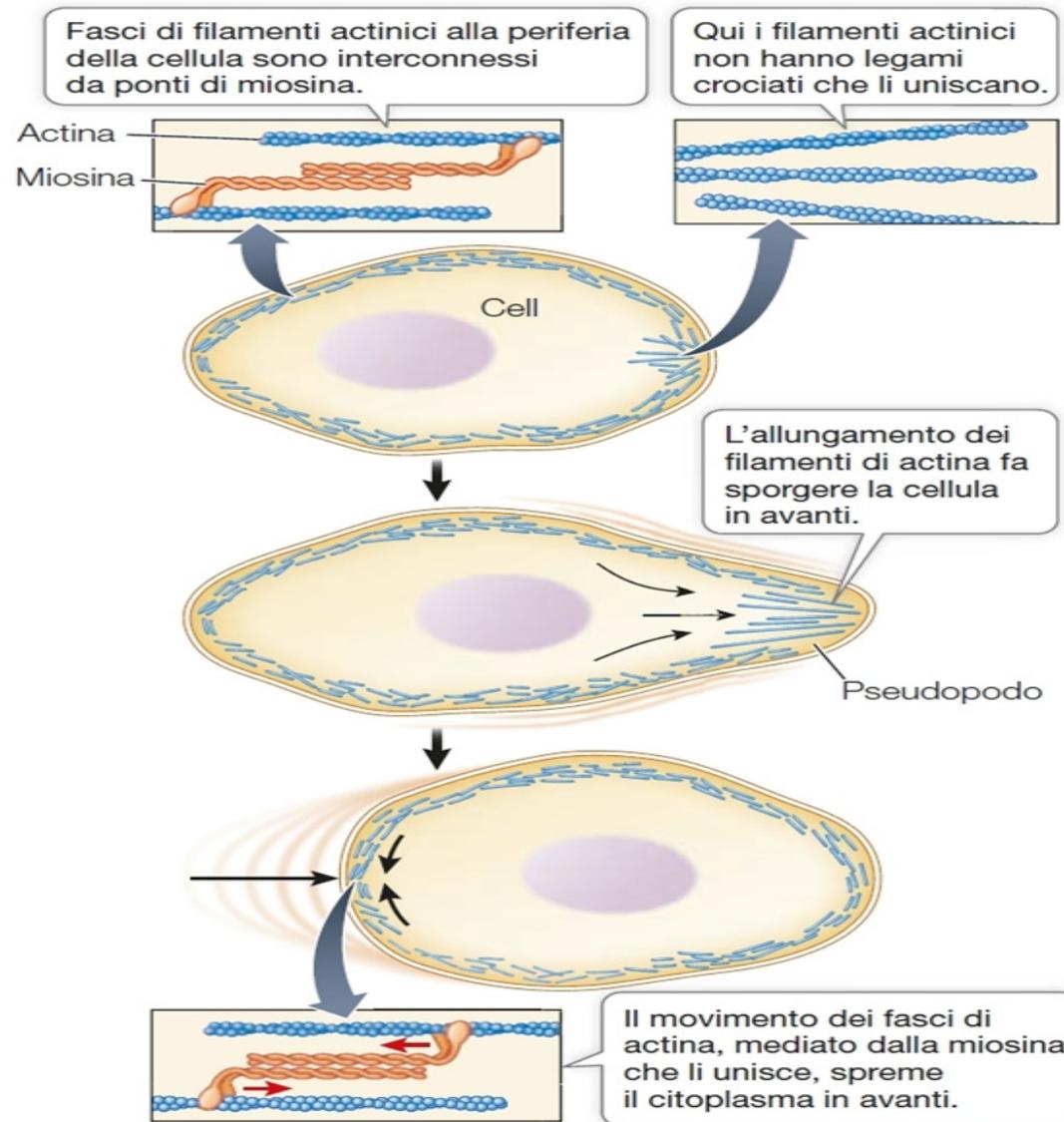


Figura 5.15 Microfilamenti e movimenti cellulari

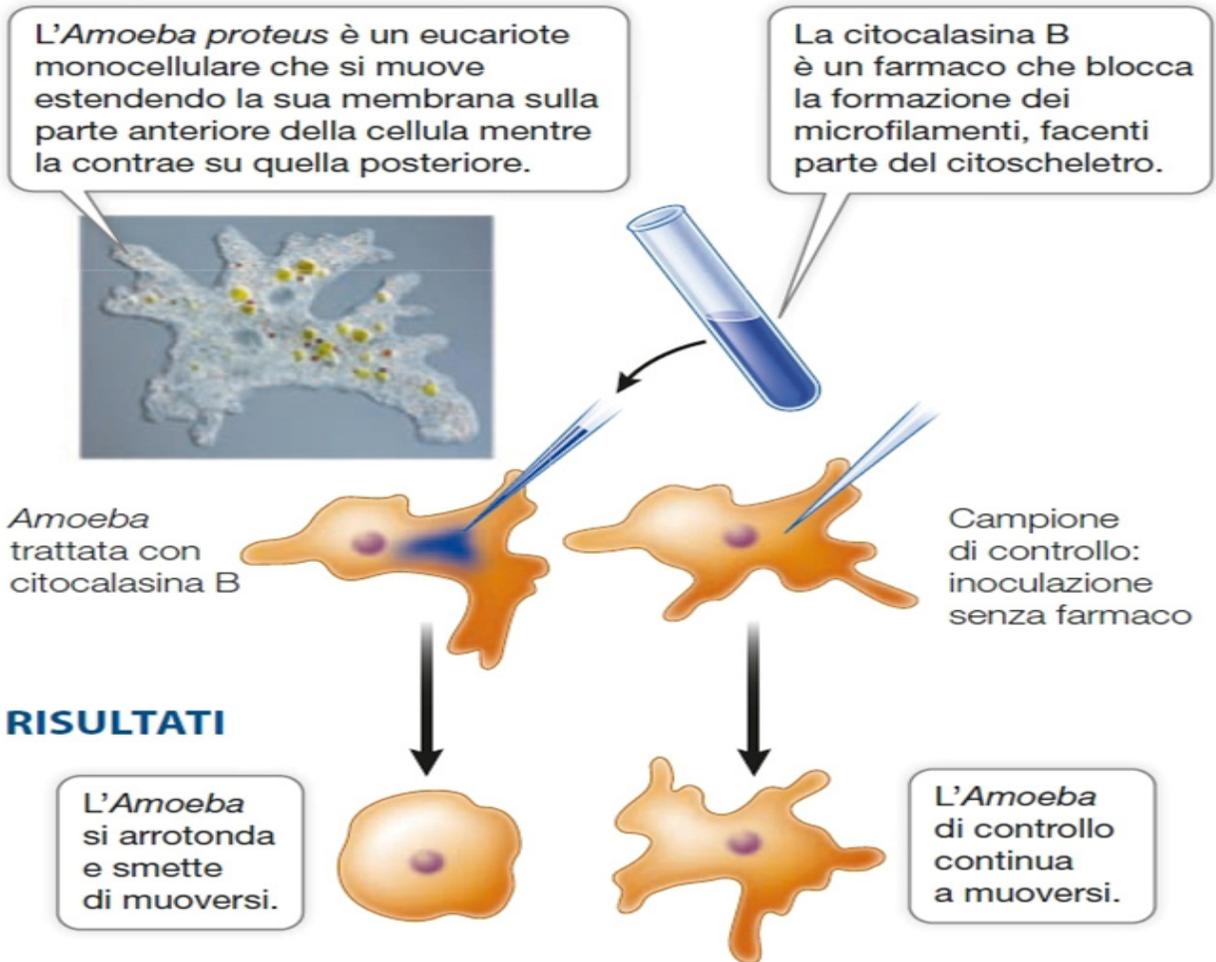
I microfilamenti mediano il movimento dell'intera cellula (come illustrato qui per il movimento ameboide) e anche il movimento del citoplasma all'interno di essa.

Figura 5.20A Il ruolo dei microfilamenti nel movimento cellulare – dimostrazione di una relazione causa-effetto in biologia

IPOTESI

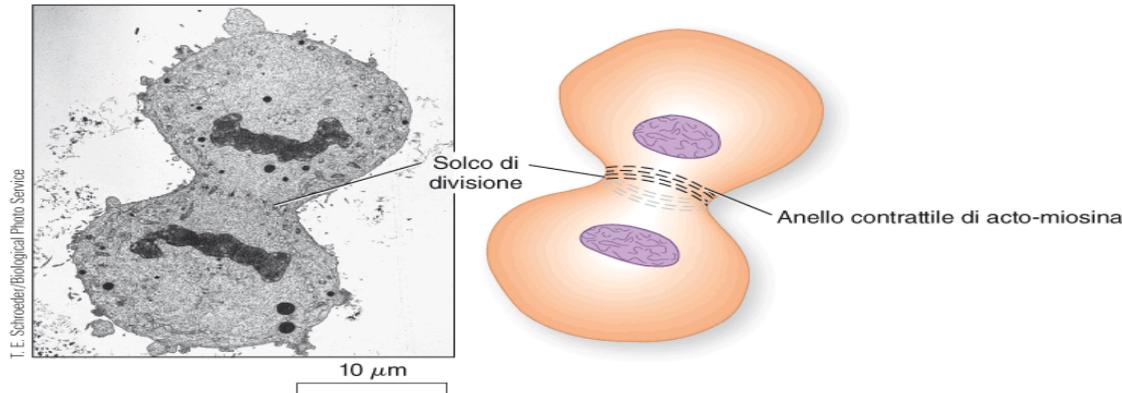
I movimenti cellulari ameboidi sono causati dal citoscheletro.

METODO

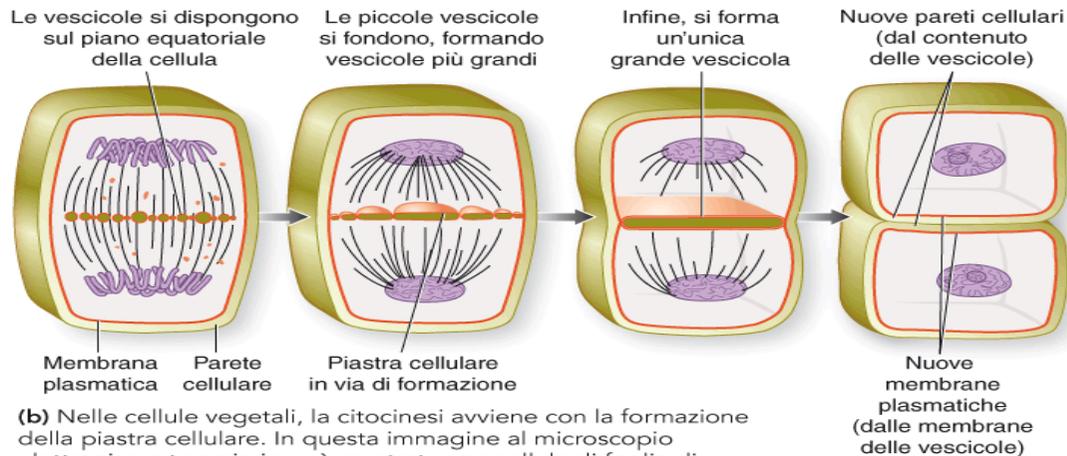


Microfilamenti

Formano un anello di contrazione formato da actina e miosina causando la strozzatura della cellula per dare origine a due cellule figlie



(a) Questa immagine al microscopio elettronico a trasmissione mostra la formazione del solco di divisione nel piano equatoriale di una cellula animale in coltura durante la citocinesi. Anche nelle cellule fungine in divisione si forma un anello contrattile che determina la citocinesi.



(b) Nelle cellule vegetali, la citocinesi avviene con la formazione della piastra cellulare. In questa immagine al microscopio elettronico a trasmissione è mostrata una cellula di foglia di acero (*Acer saccharinum*) che sta effettuando la citocinesi.

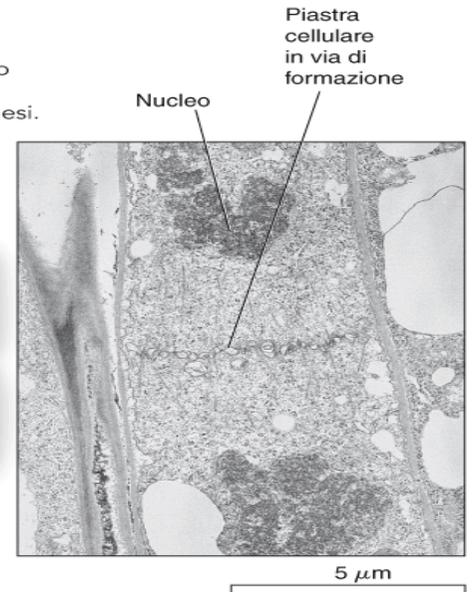


Figura 10-11 Citocinesi in cellule animali e vegetali

I nuclei in entrambe le immagini al microscopio elettronico a trasmissione sono allo stadio di telofase. I disegni interpretativi mostrano le relazioni tridimensionali.

Filamenti intermedi

Sono formati da proteine fibrose di varie proteine , una **famiglia grande e eterogenea**, tra cui la **cheratina e vimentina**.

Hanno un diametro di circa 10 nm

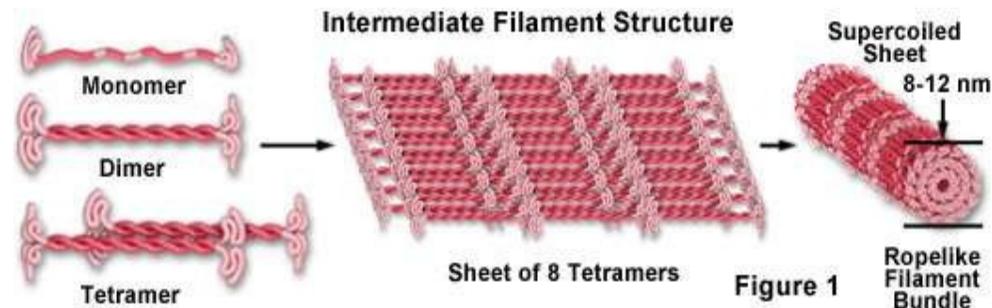
Hanno funzione di rinforzo per sopportare eventualmente tensioni e tenere fermi gli organuli nel citoplasma.

Danno alle cellule **forza meccanica** e sopportando gli stress meccanici nel tessuto epiteliale, attraversando il citoplasma da una giunzione cellulare

I filamenti intermedi hanno ruolo strutturale di resistenza trazionale e di stabilità meccanica.

Contribuiscono all'adesione cellulare tramite desmosomi e emidesmosomi, ed interagiscono con microtubuli e microfilamenti al consolidamento del citoscheletro

Sono inoltre partecipi dell'ampliamento della complessità che caratterizza il citoscheletro.



Filamenti intermedi

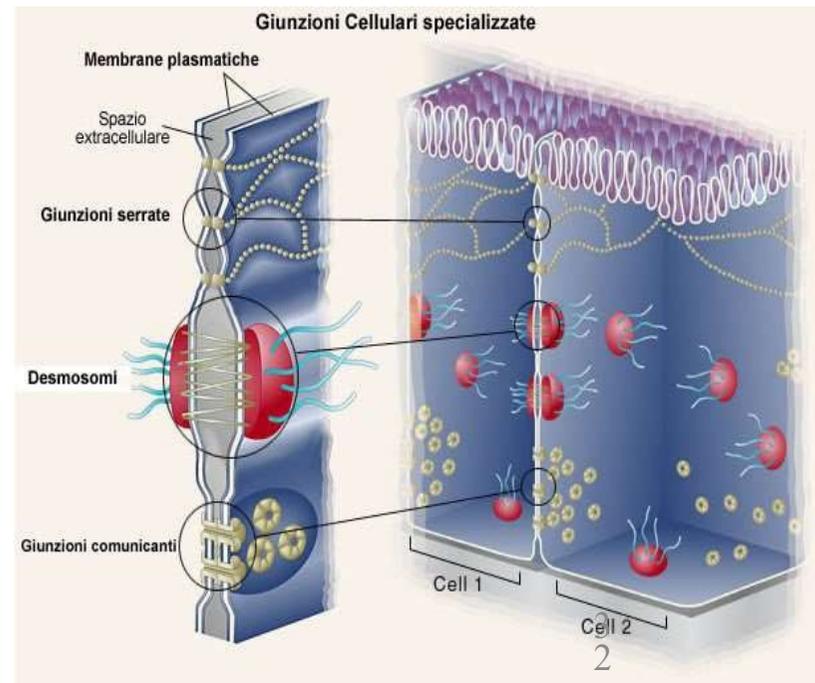
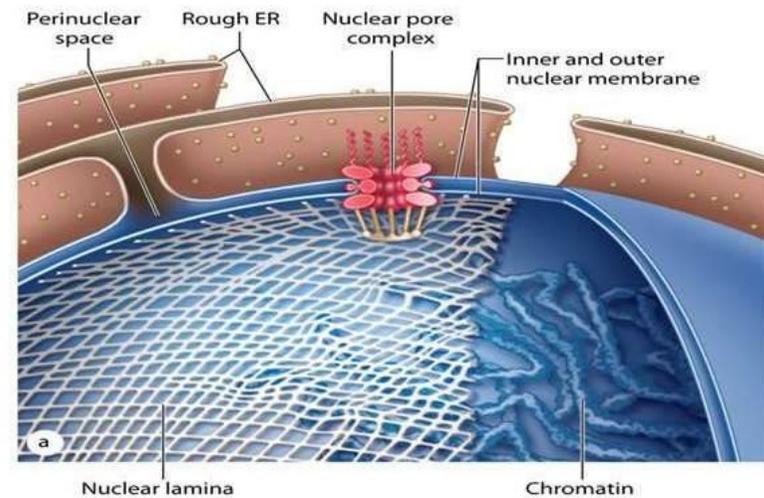
Classi	Famiglia	Component	Localizzazione
I	Cheratine	Cheratina Acida	Epitelio , derivati (unghia , pelo , piuma)
I		Cheratina Basica Cheratina Neutra	
I	Vimentinosimili	Vimentina	Cellule di origine mesenchimale (fibroblasti , endotelio , ecc.) Cellule Muscolari Astrociti , cellule di Schwann Neuroni del SNP
II		Desmina GFAP Periferina	
I	F.I. Neuronali	Neurofilamento (NF-L/NF-M/NF-H)	Neuroni Neuroni in sviluppo Cellule Muscolari Cellule Muscolari
V		Internexina Sinemina Sincoilina	
V	lamine	Lamina A Lamina B Lamina C	Lamina nucleare
V	Nestine	Nestina	Cellule staminali

Filamenti intermedi

Un tipo di filamento intermedio forma un reticolo, chiamato **lamina nucleare**, Presente sotto la membrana nucleare interna.

Altri tipi si estendono :

- (i) attraversano il citoplasma, dando alle cellule forza meccanica e
- (ii) Soppo a gli stress meccanici nel tessuto epiteliale, attraversando il citoplasma da una giunzione cellulare all'altra.

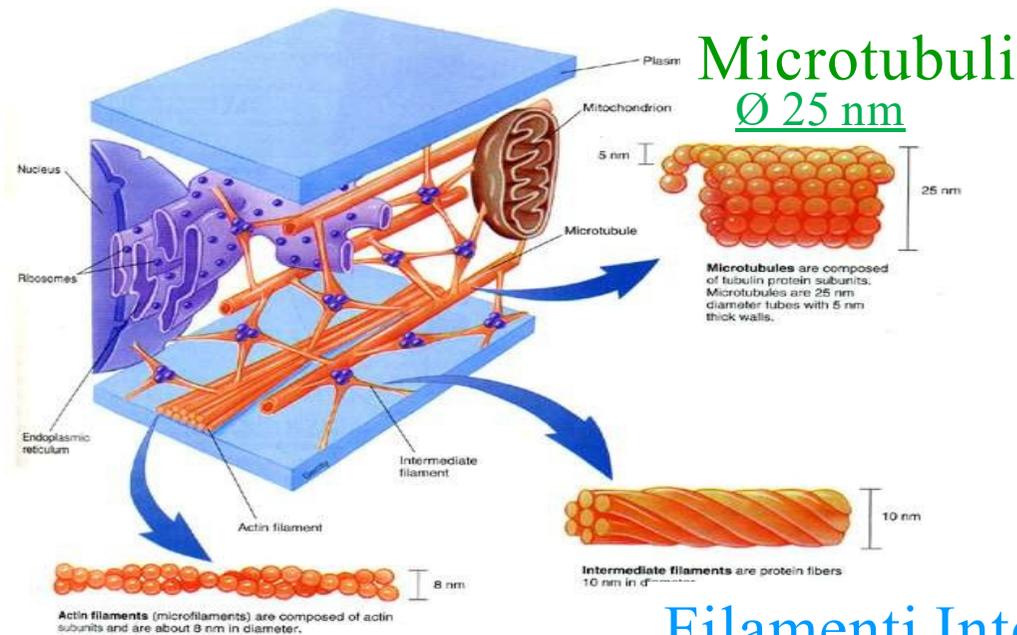


CITOSCHELETRO

Microtubuli (costituiti da tubulina $\alpha\beta$, subunità proteiche globulari)

Microfilamenti (filamenti di actina, subunità proteica globulare)

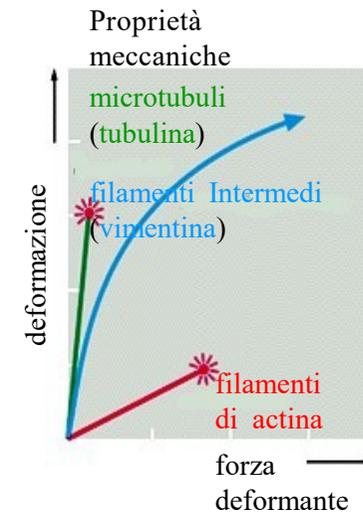
Filamenti Intermedi (varie proteine fibrose)



Microtubuli
Ø 25 nm

Microfilamenti
Ø 5-9 nm

Filamenti Intermedi
Ø 10 nm



1nm=0,001 μ m
1 μ m=0,001 mm

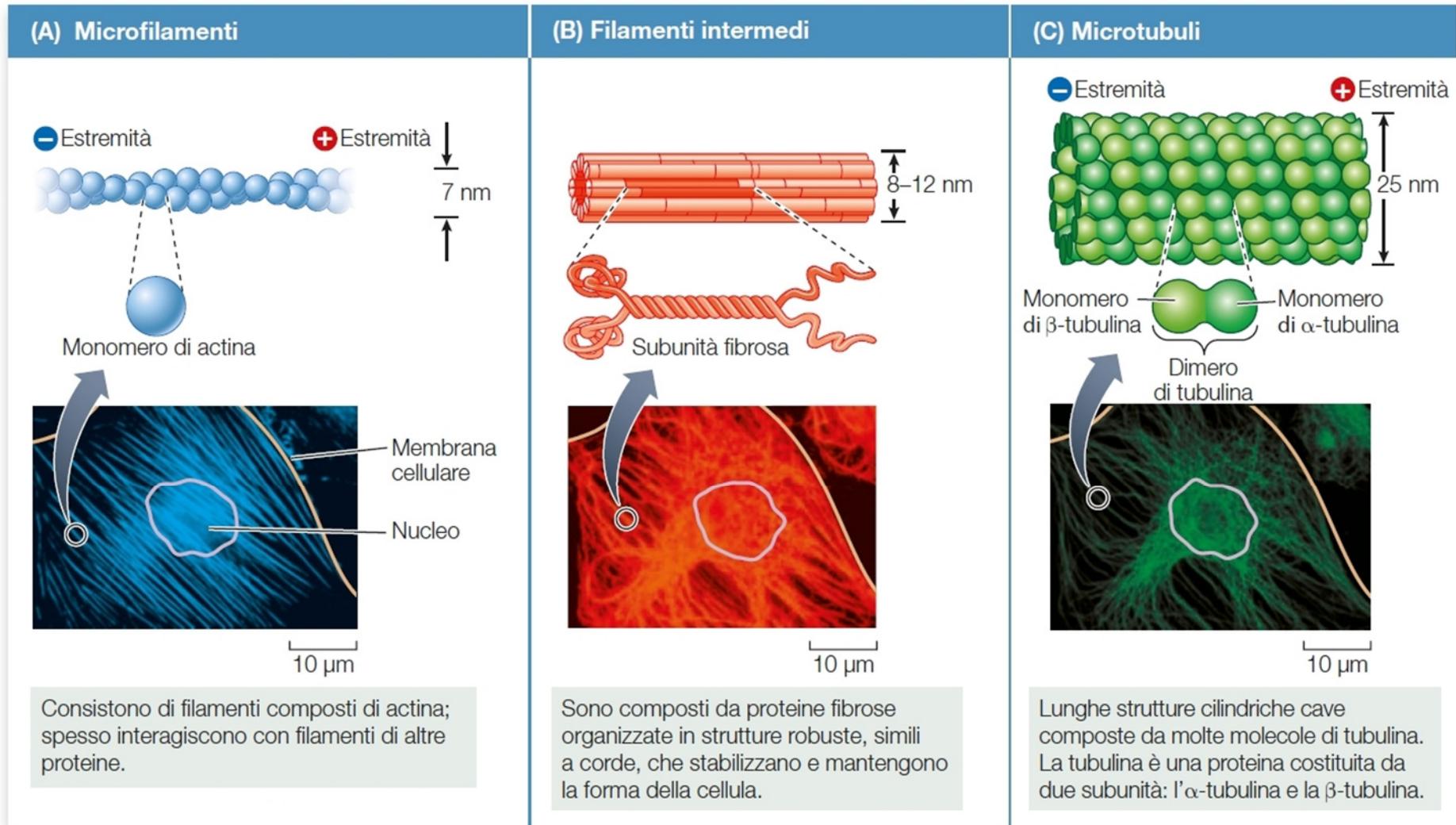


Figura 5.14 Il citoscheletro La figura illustra nei particolari le tre componenti strutturali più evidenti e importanti del citoscheletro. Le immagini ritraggono la stessa cellula, trattata con diversi anticorpi fluorescenti, che rivelano i microfilamenti (A), i filamenti intermedi (B) e i microtubuli (C). Queste strutture mantengono la forma della cellula, la rinforzano e contribuiscono al suo movimento. Il nucleo della cellula è prossimo al centro delle inquadrature.

Interazione citoscheletro e membrana plasmatica

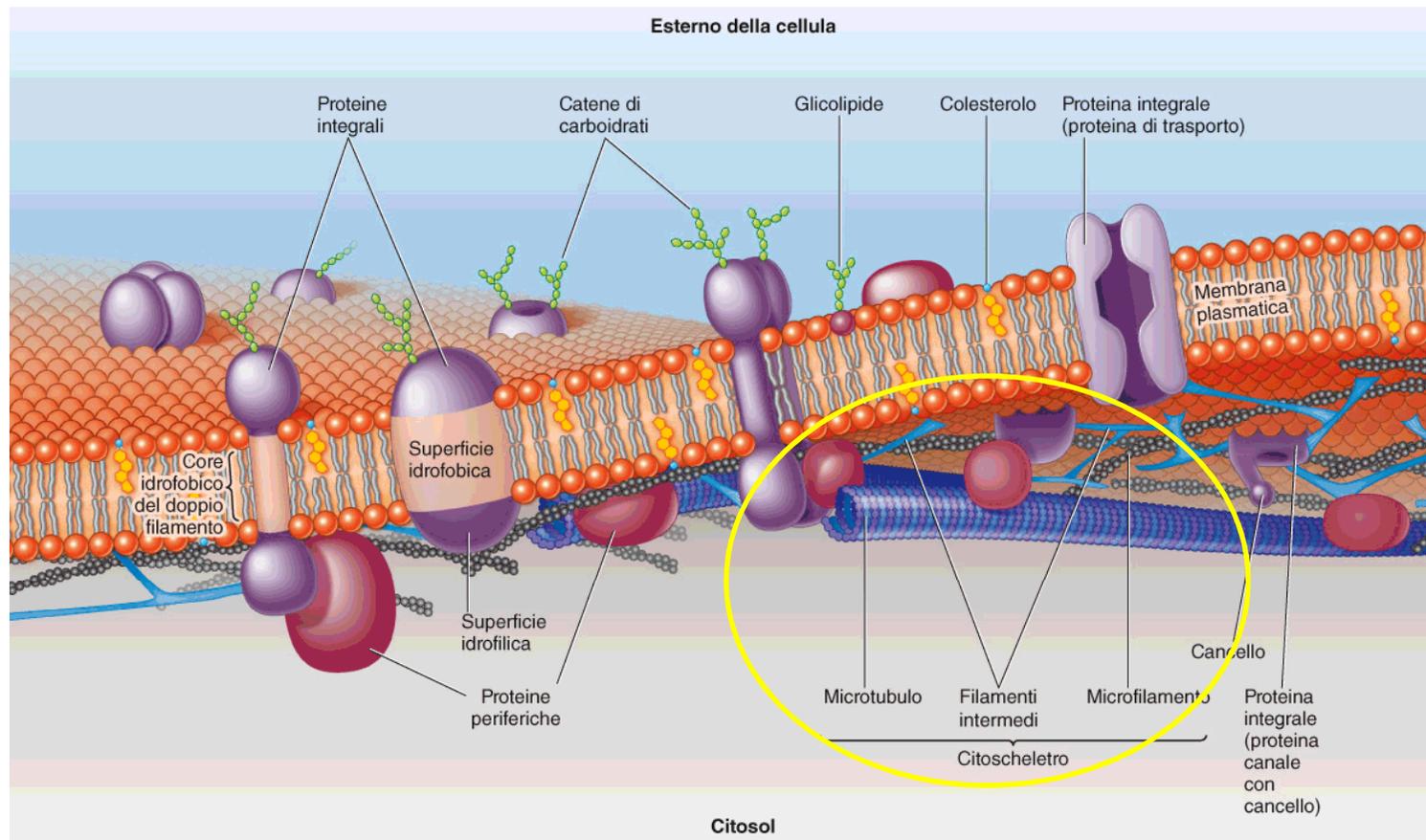
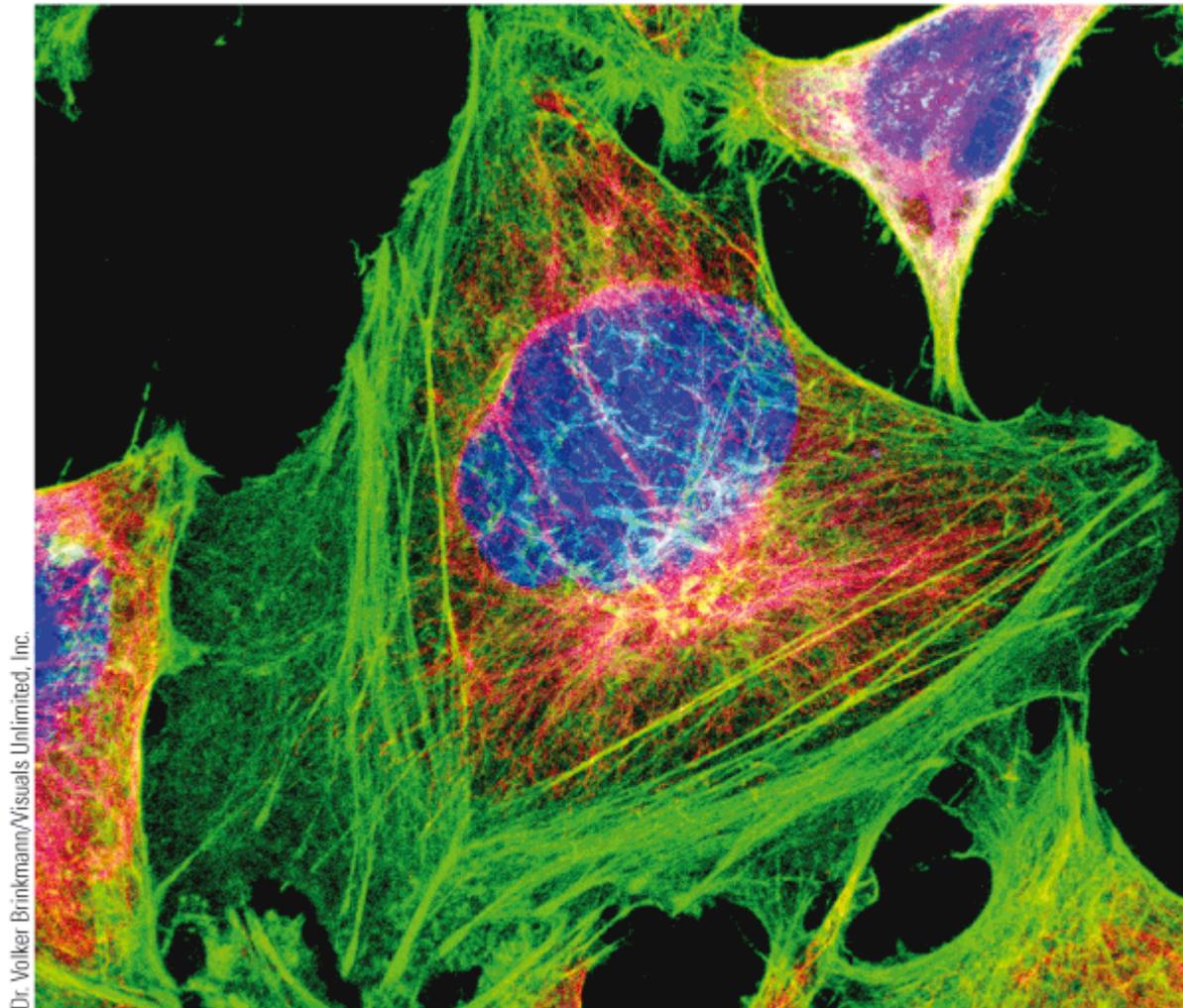


Figura 5-4 Struttura dettagliata della membrana plasmatica

Le membrane cellulari sono composte di un doppio strato di fosfolipidi in cui le proteine si muovono come iceberg nel mare. Anche se il doppio strato lipidico è costituito principalmente da fosfolipidi, vi si trovano altri lipidi, come il colesterolo e i glicolipidi. Le proteine periferiche sono debolmente associate al doppio strato, mentre le proteine integrali sono strettamente legate a esso. Le proteine integrali qui illustrate sono del tipo transmembrana e si estendono attraverso il doppio strato. Esse sono caratterizzate da regioni idrofile su entrambe le facce del doppio strato connesse da una regione idrofoba che attraversa la membrana. I glicolipidi (carboidrati attaccati ai lipidi) e le glicoproteine (carboidrati attaccati alle proteine) sono esposti sulla superficie extracellulare; entrambi hanno un ruolo importante nel riconoscimento e nell'adesione cellulare.

CITOSCHELETRO

Filamenti Intermedi in rosso
Microfilamenti in verde



Dr. Volker Brinkmann/Visuals Unlimited, Inc.

Il citoscheletro. La cellula mostrata qui è stata marcata con molecole fluorescenti che si legano al DNA (*in blu*), ai microfilamenti (*in verde*), e ai filamenti intermedi (*in rosso*). Questo tipo di microscopio, noto come microscopio a fluorescenza confocale, mostra la distribuzione dei microfilamenti in questa cellula.

CITOSCHELETRO

PUNTO CHIAVE

Il citoscheletro è costituito da reti di diversi tipi di fibre che sostengono la cellula e sono importanti nel movimento cellulare.

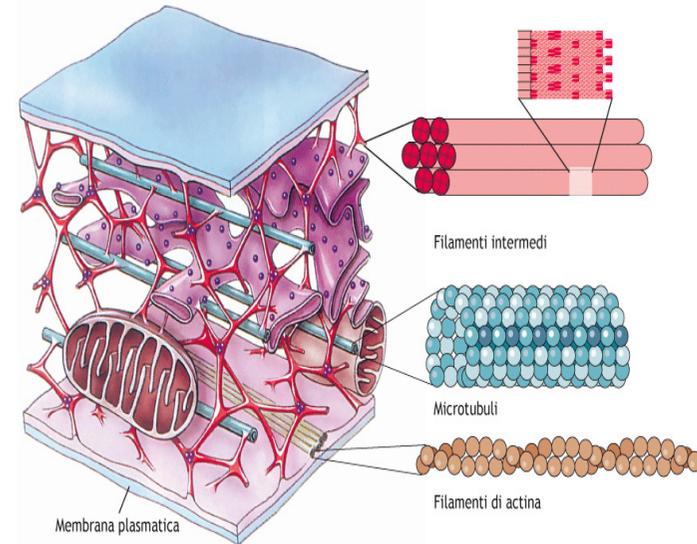
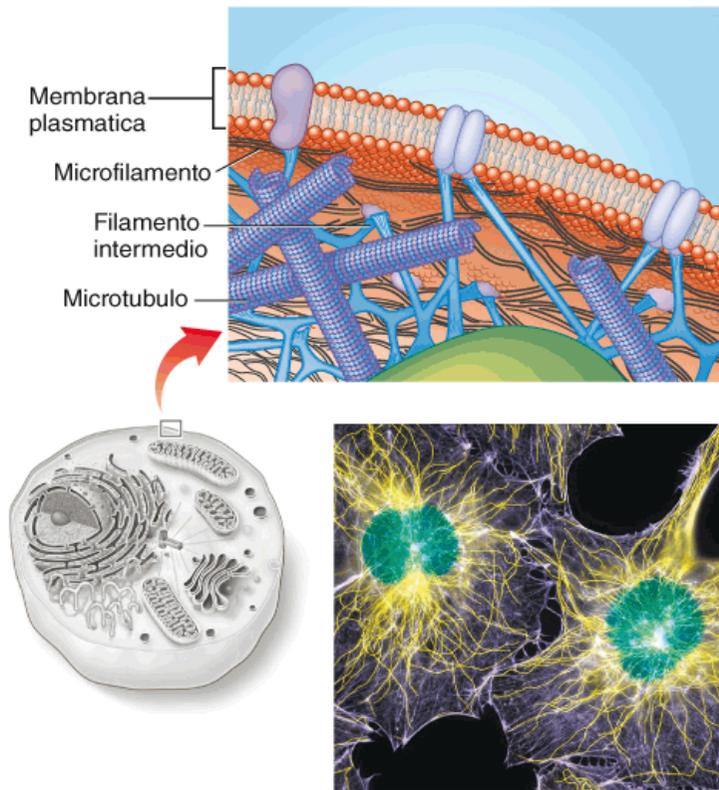


Figura 2.82 Distribuzione del citoscheletro nel citoplasma e schema rappresentativo della struttura dei singoli elementi che lo compongono.

Figura 4-22 Citoscheletro

Le cellule eucariotiche posseggono un citoscheletro costituito da reti di fibre diverse, tra cui i microtubuli, i microfilamenti e i filamenti intermedi. Il citoscheletro determina la forma della cellula, l'ancoraggio degli organuli e i rapidi cambiamenti che si verificano quando la cellula si muove. Nella micrografia ottica a fluorescenza è visibile il citoscheletro di due fibroblasti (microtubuli, in giallo; microfilamenti, in blu; nuclei, in verde).

Microtubuli in giallo e
Microfilamenti in blu

CITOSCHELETRO

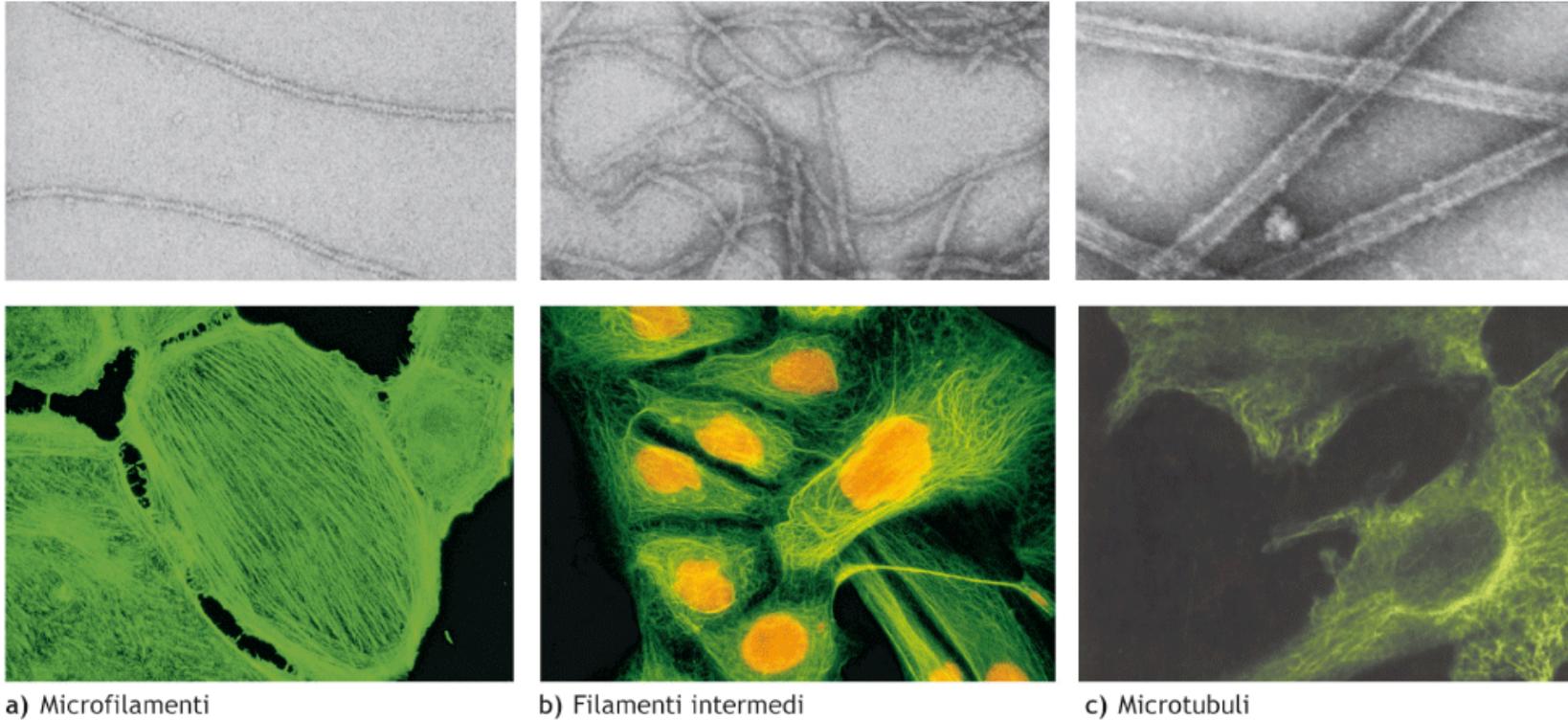


Figura 2.83 I tre tipi di filamenti proteici che formano il citoscheletro. **(a)** Filamenti di actina; **(b)** filamenti intermedi; **(c)** microtubuli. Nei pannelli in alto micrografie elettroniche di campioni colorati negativamente, allo stesso ingrandimento. In basso, micrografie a fluorescenza di cellule colorate per ciascun tipo di polimero.

FILAMENTI DEL CITOSCHELETRO

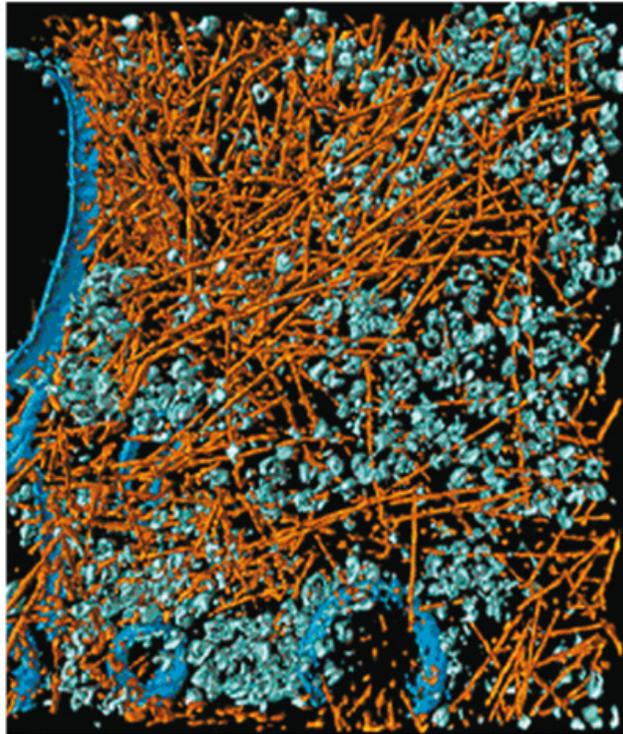


Figura 1.11 Il citoplasma di una cellula eucariotica è un compartimento affollato. Questa è una fotografia al microscopio elettronico, colorata artificialmente, che mostra una piccola porzione di citoplasma, prossimale al margine sottile di un organismo eucariotico unicellulare, che è stato congelato rapidamente prima dell'esame microscopico. La visualizzazione tridimensionale è possibile grazie alla ripresa su due dimensioni di immagini digitali di una sezione vista da diverse angolazioni, integrando successivamente le singole immagini con un computer. I filamenti di citoscheletro sono mostrati in rosso, i complessi macromolecolari (soprattutto ribosomi) sono verdi e porzioni della membrana plasmatica sono in blu. (DA OHAD MEDALIA ET AL. SCIENCE 298:1211, 2002, FIGURA 3A. © 2002, RIPRODOTTA PER GENT. CONC. DALL'AAAS. FOTO GENT. FORNITA DA WOLFGANG BAUMEISTER.)

FILAMENTI DEL CITOSCHELETRO

caratteristiche principali

	Microtubuli	Microfilamenti	Filamenti intermedi
Struttura	Tubo cavo con una parete formata da 13 protofilamenti	Due catene di actina F intrecciate	Otto protofilamenti collegati testa a testa con sovrapposizioni sfalsate
Diametro	Esterno: 25 nm Interno: 15 nm	7 nm	8-12 nm
Monomeri	Tubulina α Tubulina β	Actina G	Varie proteine (elencate nella Tabella 2.7)
Polarità	Estremità positive e negative	Estremità positive e negative	Polarità sconosciuta
Funzioni	Assonemali: motilità cellulare Citoplasmatici: organizzazione e mantenimento della forma della cellula animale movimento dei cromosomi disposizione e movimento degli organelli	Contrazione muscolare Movimento ameboide Correnti citoplasmatiche Divisione cellulare Mantenimento della forma della cellula animale	Supporto strutturale Mantenimento della forma della cellula animale Rafforzamento dell'assone della cellula nervosa (proteine dei neurofilamenti) Mantenimento del registro delle fibre muscolari (desmina)

Tabella 2.8 Proprietà di microtubuli, microfilamenti e filamenti intermedi.

Proteine motrici

Proteine associate ai microtubuli	
Dineina citoplasmatica	Movimento verso l'estremità negativa del microtubulo
Dineina assonemale	Attivazione dello scorrimento dei microtubuli nel flagello
Kinesina	Movimento verso l'estremità positiva del microtubulo
Proteine associate ai microfilamenti	
Miosina I, monomero	Movimento lungo il filamento di actina
Miosina II, filamento	Movimento lungo il filamento di actina nel sarcomero della cellula muscolare

Tabella 2.6 Alcune proteine motrici delle cellule eucariotiche.

grazie!

