

**ORTOLOGHI** significato

Un paio di geni che sono trovati nella stessa specie e si originano da un evento comune vengono detti **omologhi**, se invece i geni sono trovati in due specie differenti che però hanno una sequenza comune sono chiamati **ortologhi**.

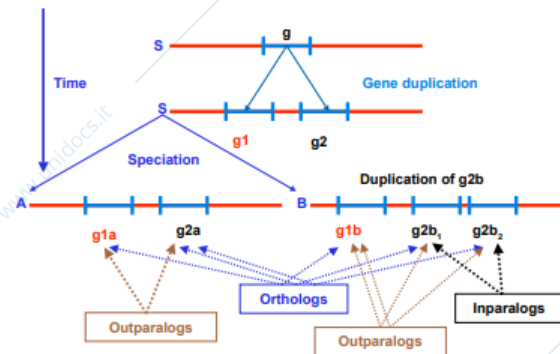
**Ortologhi** = sono i geni di specie diverse che si sono evoluti da un gene ancestrale comune mediante speciazione. In genere conservano la medesima funzione nell'evoluzione.

**Paraloghi** = sono i geni che si sono originati per duplicazione nel genoma di una stessa specie.

Cosa significa graficamente? In alto si trova la specie (S) e il gene (g) che si è duplicato nella stessa specie. g1 e g2 in questo caso sono omologhi, come nella definizione di prima, quindi omologhi nella stessa specie.

Nell'immagine è rappresentata la speciazione e la duplicazione e le loro dirette conseguenze sui geni.

Si ha una duplicazione intraspecie (nella stessa specie S) del gene g che dà origine a due geni g1 e g2 (si noti che g non è più visibile nella specie s); un evento di speciazione dà origine a due specie A e B con contenuti identici a S; in particolare, g1 e g2 sono indicati come g1a e g2a in A e g1b e g2b in B; assumiamo che in B, g2b sia duplicato e dia origine a g2b<sub>1</sub> e g2b<sub>2</sub>; (notare che g2b non è più visibile in B).



Considerando esclusivamente l'ultimo evento di speciazione:

- g1 e g2 sono **omologhi** perché discendono da g. Similmente, g1a e g1b sono omologhi perché discendono da g1;
- g1 e g2 sono **in-paralog**, perché sono duplicati in S;
- allo stesso modo, g2b<sub>1</sub> e g2b<sub>2</sub> sono **in-paralog** perché sono duplicati in B;
- g1a e g2a sono **out-paralog** perché i loro antenati sono duplicati in S;
- allo stesso modo, g1b e ciascuno di g2b<sub>1</sub> e g2b<sub>2</sub> sono **out-paralog**, perché i loro antenati sono duplicati in S;
- g1a e g1b sono **ortologhi** perché sono in specie distinte A e B, rispettivamente, con un antenato comune g1;
- g2a, g2b<sub>1</sub> e g2b<sub>2</sub> sono **ortologhi** perché sono in specie distinte A e B, rispettivamente, con lo stesso antenato g2.
- g2b<sub>1</sub> e g2b<sub>2</sub> sono anche chiamati **coortologhi** di g2a.

Le frecce tratteggiate con colori diversi evidenziano coppie di **ortholog**, **out-paralog** e **in-paralog**.

## **CELLULA VEGETALE**

Cenni storici: il termine cellula è nato nel 17° secolo da un fisico inglese di nome Robert Hooke. Egli nel 1665, osservando una sottile scheggia di sughero, con un microscopio di sua invenzione, si accorse che essa appariva composta da tante piccole celle (*cellulae*, in latino) affiancate, delimitate da una parete.

Naturalmente quello che vide lui non era in sé per sé una cellula ma erano cellule morte, quindi, il resto di una essa.

Il termine cellula nasce in ambito vegetale ed è stato solo successivamente esteso agli altri organismi, infatti ne rappresenta l'unità fondamentale.

Per studiare i diversi tipi di cellule c'è bisogno di diversi **microscopi**.

Con il microscopio confocale abbiamo una risoluzione di circa e non oltre 200 nm, con il quale si possono vedere bene alcuni piccoli batteri, i mitocondri e i cloroplasti. Quest'ultimi, nelle cellule vegetali, hanno delle dimensioni che variano dai 3 a 5 Micron mentre nelle cellule epidermiche della foglia possono essere anche un po' più piccoli (a volte anche 2,5 Micron). Invece, per quanto riguarda la cellula epiteliale dell'uomo, si trova un range che si aggira attorno ai 50 Micron, molto più piccola rispetto alla cellula vegetale. Naturalmente non tutte le cellule vegetali hanno queste dimensioni, infatti, se andiamo a vedere nella zona del meristema sia apicale che radicale sono più piccole.

Ad esempio, a livello di foglia, le cellule hanno dimensioni da 100 a 150 Micron (sono abbastanza grandi) e per questo molti preferiscono studiare alcuni sistemi come il reticolo endoplasmatico nella cellula vegetale, perché, essendo abbastanza grande, si può visualizzare per bene l'organulo, mentre nelle cellule di mammifero, essendo più piccole, è più difficile avere una risoluzione abbastanza buona.

Il microscopio migliore per potere risolutivo è quello elettronico, (poi naturalmente ogni microscopio è utile per visualizzare determinate cose) in quanto, più di tutti, permette di andare a investigare al meglio le strutture più piccole. Questo dipende dall'obiettivo, infatti il microscopio ottico di solito si usa con obiettivi 100X mentre il microscopio confocale si può usare sempre con un 100X ma solitamente si usa con un 63X. Il potere risolutivo dell'ottico e del confocale non è così buono come quello del microscopio elettronico.

**Microscopio a luce composta:** è il modello che si usa in laboratorio (noi). È un microscopio molto semplice però permette di avere una buona risoluzione.

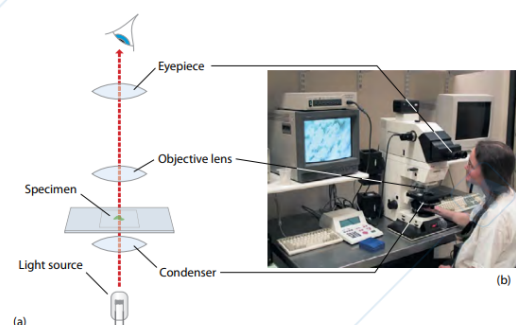
In laboratorio abbiamo anche gli **stereo microscopi**.

Il **microscopio confocale:** ha dei sistemi di laser di diversi tipi, con diversi colori in modo da coprire tutto lo spettro dagli UV all'infrarosso.

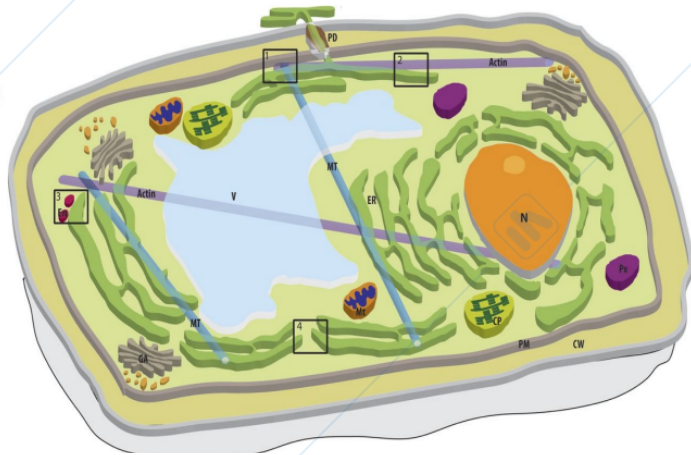
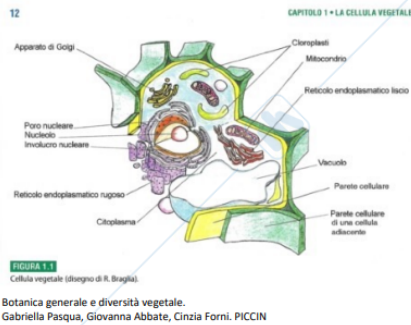
Il **microscopio elettronico a scansione:** ci permette di visualizzare varie strutture (es: pollini).

Il **microscopio elettronico a trasmissione** è quello che ha il potere risolutivo migliore, si può andare a distinguere tutte le immagini di organuli e strutture tipo ribosomi.

Overview generale della cellula vegetale:



La figura a sinistra è simile a quella che si trova sui libri, che però fornisce una concezione sbagliata.



Ad esempio: il reticolo endoplasmatico viene raffigurato attraverso la divisione in rugoso e liscio, mentre nella realtà, nelle piante, questa distinzione non è netta come nelle cellule animali, infatti non si nota perché la maggior parte del reticolo ha i ribosomi addossati sulla propria membrana ed è difficile trovare zone in cui non siano presenti.

Un altro problema di queste foto è che il reticolo sembra che sia solo un organulo isolato quando in realtà si ritrova dappertutto nella cellula (è un network che si estende in tutto il volume cellulare). Oltretutto nell'immagine sulla destra (fatta dal prof) si vede un plasmodesma in alto attraverso cui ci passa il reticolo endoplasmatico e raggiunge la cellula vicina; quindi, in una pianta, il reticolo endoplasmatico è unico, non si interrompe mai e non è un organulo a sé stante nella cellula. Il reticolo endoplasmatico si interrompe soltanto nelle cellule morte, quindi nello xilema, perché nello xilema non abbiamo nessun tipo di organuli, endomembrane o citoplasma.

Un altro errore riguarda l'apparato del Golgi in quanto, solitamente, ne è rappresentato solo uno ma in realtà ce ne sono tantissimi. Il vacuolo occupa quasi il 90% del volume cellulare e si può estendere in tutte le direzioni.

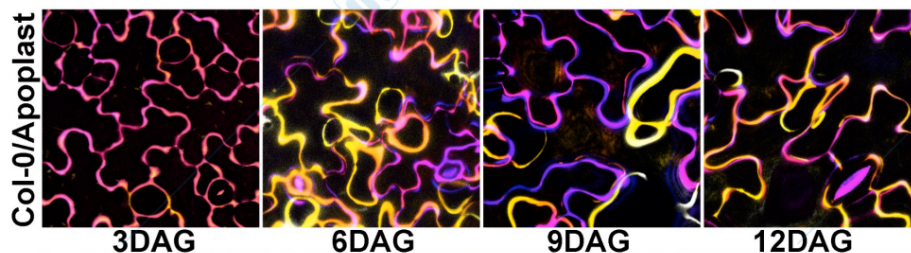
### Differenza tra citosol e citoplasma (domanda sicura)

**Citosol** = è quella porzione del protoplasto contenuta all'interno della membrana plasmatica ed esclusa dai compartimenti ed organelli circondati da membrana. Si tratta di una soluzione colloidale costituita da acqua, ioni, lipidi, proteine enzimatiche e strutturali, zuccheri, nucleotidi e ormoni. Inoltre nel citosol sono presenti RNA (mRNA e tRNA), ribosomi e gli elementi del citoscheletro.

Insomma tutto ciò che non sia organulo o sistema di endomembrane.

**Citoplasma** = invece comprende anche il citosol e tutti gli organuli cellulari escluso il nucleo e i vacuoli, ed è delimitato esternamente dalla membrana plasmatica.

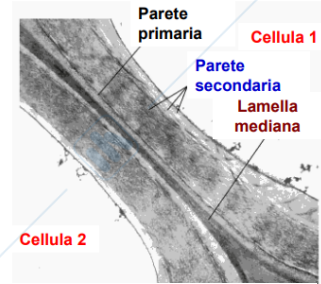
Il citoplasma non è immobile.



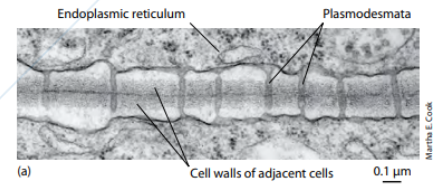
Questa è una foto presa al microscopio confocale che rappresenta l'**apoplasto** con un marcatore fluorescente che si localizza su di esso. L'apoplasto è tutta quella parte che comprende la parete cellulare e gli spazi intercellulari. Viene rappresentato un pezzo di foglia di una pianta di arabidopsis, e nelle varie immagini

nonché nei diversi giorni (DAG significa day after germination, dopo che la pianta ha germinato) si vedono le cellule che vanno a espandersi e tutto il sistema dell'apoplasto.

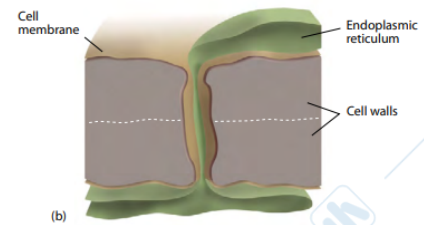
La **parete cellulare** costituisce l'apoplasto ed è composta dalla lamella mediana (che sta a contatto con due o più cellule), dalla parete primaria che è uno strato sottile e dalla parete secondaria che è quella di ultima apposizione.



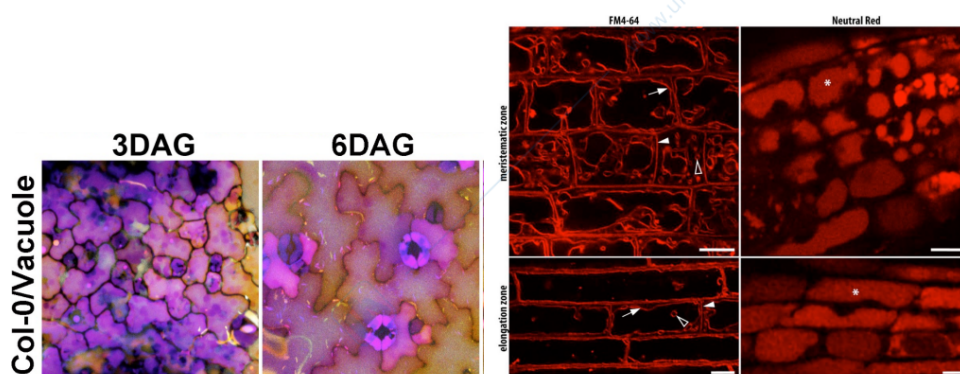
I **plasmodesmi**: al loro interno passa il reticolo endoplasmatico. Nell'immagine si vede in alto e in basso due cellule diverse, una linea sottile nera al centro che è la lamella mediana e attorno, in questo caso, solo la parete primaria. La parte del reticolo endoplasmatico che attraversa il plasmodesma è chiamata **desmotubulo** (immagine sotto, linietta verde tra i due rettangoli).



La **membrana plasmatica** della cellula è un doppio strato di fosfolipidi dove si trovano le proteine integrali o periferiche. La cosa interessante che si è vista in questi ultimi anni è che nelle cellule vegetali, le proteine periferiche o integrali, a volte possono avere dei legami con i polisaccaridi di parete e quindi restare fissate in una posizione all'interno del doppio strato lipidico della membrana. Così alcune proteine della membrana plasmatica riescono, grazie alle catene laterali delle glicoproteine (zuccheri agganciati a proteine), a stabilire dei legami con i polisaccaridi di parete, in maniera tale che queste proteine restino immobili in una posizione. Questo è soprattutto molto importante se si ha a che fare con dei canali che devono controllare, per esempio, la fuoriuscita di ormoni in una determinata posizione per modulare la crescita di una cellula in una determinata direzione, in quanto, quella proteina deve restare fissa in quella posizione e non dobbiamo rischiare che vada a muoversi all'interno dell'area lipidica.



**FIGURE 5.26 Plasmodesmata** (a) Transmission electron microscopic view. (b) A diagram showing that endoplasmic reticulum extends through plasmodesmata, from one cell to an adjacent cell.



Questo è il **vacuolo** visto al microscopio confocale, sulla sinistra ci sono cellule un po' frastagliate con una forma irregolare che di solito sono le cellule epidermiche della foglia; in questo caso particolare, della foglia di arapidopsis a 3 e a 6 giorni, con un marcatore fluorescente che va a localizzarsi all'interno del lume del vacuolo e va a riempire la maggior parte della cellula tranne una sezione piccolissima di citoplasma. Nella figura sulla destra, invece, viene rappresentato, attraverso gli spazi neri, il citoplasma e l'apoplasto, contenuti in essi.

FM 464, nella figura di destra, è un marcatore che va a localizzarsi a livello del **tonoplasto**, quindi nella membrana del vacuolo, mentre quello di prima era nel lume del vacuolo. (*tonoplasto probabile domanda*)

Invece, l'altro colorante neutral Red va a localizzarsi all'interno del lume del vacuolo e ci permette di distinguere l'acidità di una cellula perché è pH dipendente. Si vede ancora come il vacuolo occupa la maggior parte delle cellule. Se prendiamo in considerazione la figura in basso a destra (più rossa che nera) si vede una parte nera che forma una specie di mezzaluna ed è il posto che sta occupando il nucleo della cellula. Si nota in quanto si sta illuminando tutto il vacuolo tranne il nucleo stesso che sta escludendo il marcatore fluorescente da quella zona. Si riesce a vederlo perché il microscopio confocale riesce a prendere un'immagine da un piano a nostra scelta, mentre con un microscopio a fluorescenza si prende la fluorescenza che proviene da tutta la cellula. Per cui con quello da noi, in questo caso, utilizzato si riesce a estrarre la fluorescenza proveniente da una sezione sottile e a prendere la porzione illuminata ed esclusa dal nucleo.

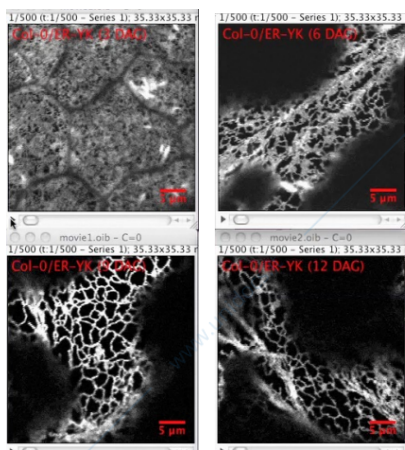
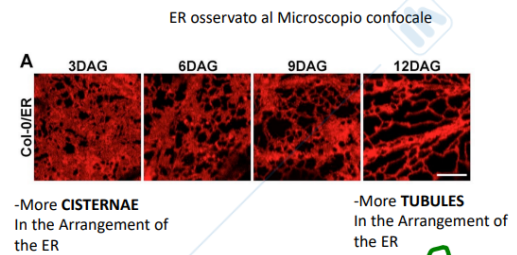
Una cosa che dà in più il colorante neutral red è il fatto di essere pH dipendente quindi cellule più o meno illuminate significa che il pH all'interno di quei vacuoli è diverso.

Quello che fa il vacuolo è prestare tutto ciò che è citosol, nucleo e citoplasma verso la membrana plasmatica perché con la sua pressione di turgore non fa altro che spingere quindi ogni volta che si va a fare una sezione di solito il nucleo lo si vede sempre schiacciato vicino alla membrana, tranne in alcuni tipi di cellule dove ci sta tutto un sistema di actina e microtubuli che riescono a tenerlo nella parte centrale.

## Quanto è importante il reticolo endoplasmatico

Il reticolo endoplasmatico è la sede dove vengono sintetizzate tutte le proteine che vanno poi ad essere immagazzinate nel vacuolo. Qui ci sono delle immagini di reticolo endoplasmatico prese al microscopio confocale e al microscopio a trasmissione elettronica. A destra c'è il reticolo endoplasmatico (a volte abbreviato come ER=endoplasmic reticulum) osservato al microscopio confocale osservato a tre, sei, nove e dodici giorni dopo la germinazione. La struttura del reticolo cambia nel tempo e passa da un reticolo con tante cisterne a un reticolo con più tubuli che si riaggancia durante l'espansione di una cellula.

Nella figura presa al microscopio a trasmissione elettronica si vede una porzione di reticolo endoplasmatico in cui tutti puntini che lo compongono sono i ribosomi e infatti non si riesce a trovare una porzione di reticolo endoplasmatico, nella cellula vegetale, che non sia rugoso perché la maggior parte è sempre pieno di ribosomi ed è difficile avere la distinzione tra rugoso e liscio come nelle cellule animali.

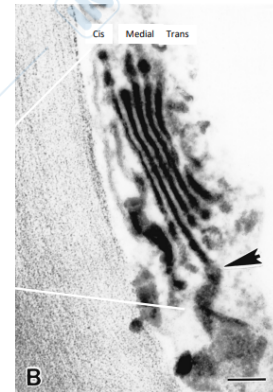
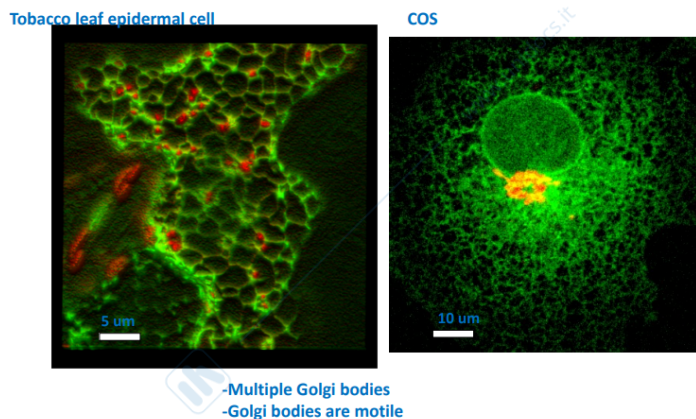


(video al microscopio confocale di reticolo endoplasmatico in piante wild type a 3, 6, 9, 12 giorni dopo la germinazione). Nella foto presa a 3 giorni si vedono diverse cellule, non una sola come nelle altre tre immagini. Nel video si vede com'è il movimento nei diversi quadranti, a 3 giorni si ha una velocità bassa mentre a 12 giorni il reticolo endoplasmatico si muove più velocemente. Questo naturalmente avviene anche nelle piante che si trovano al supermercato: nella rucola sta succedendo questo anche se è stata tagliata e messa nel frigo (magari mettendola nel frigo a 4°C il movimento si rallenta), in queste piante tutto

ciò che si trova all'interno si sta muovendo (reticolo endoplasmatico, mitocondri...) e continuano finché poi la fogliolina non secca.

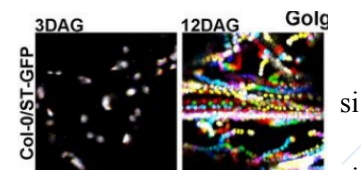
L'**apparato del Golgi** non è singolo all'interno della cellula vegetale, ma ci sono più Golgi. Ci sono tre tipi di cisterne CIS, MIDIAL, TRANS (*sicuramente una domanda*), non è detto che ci siano solo tre cisterne ce ne possono essere più di una di un singolo tipo o di tutte e tre. C'è un'altra regione che è in parte dipendente dal Golgi e si chiama **trans Golgi network**.

(Dovrebbe esserci anche qualche domanda trabocchetto riguardo al numero di cisterne tipo: ci sono solo tre cisterne nel senso come numero? No, come tipo sì ma come numero no).



Nella foto è rappresentata la differenza tra una cellula vegetale e una cellula animale, la scala è 5 Micron contro 10 micron. Nell'immagine è rappresentata solo una porzione della cellula vegetale; non è una cellula intera ma immaginiamo che sopra ci un altro lobo così come sotto. Nella figura della cellula epidermica di tabacco ci sono un sacco di Golgi, se ne possono contare almeno 20 (ma si vede solo un piano, non è 3D), mentre nella cellula animale se ne vede solo uno, quello vicino alla membrana nucleare. Ciò che è rappresentato in verde è il reticolo endoplasmatico mentre la parte in rosso è il Golgi (in entrambe le foto). È più facile studiare la struttura del reticolo endoplasmatico nella cellula vegetale perché i tubuli sono ben distinti mentre in una cellula animale i tubuli sono tutti ammassati, aggregati.

Per quanto riguarda la velocità del Golgi, a 0 secondi si ha un colore nero e poi procedendo si ha il rosso, verde, blu fino ad arrivare a 44 secondi (ad ogni tempo è stato assegnato un colore). A 3 giorni dopo la germinazione il Golgi è mosso pochissimo e si vede solo bianco perché tutti i colori si sono sovrapposti l'uno sull'altro finché non si è ottenuta l'ultima parte (quindi non sono mossi, tutti i colori sono rimasti nella stessa posizione) mentre a 12 giorni il Golgi, muovendosi, ad ogni posizione è stato assegnato un colore e quindi si crea questa striscia colorata.



(da ricordare!)

Riassunto: nella cellula vegetale ci sono più Golgi, con una cisterna CIS, MIDIAL, TRANS mentre nella cellula animale c'è un unico grande Golgi (anche se ci sono delle eccezioni e in alcuni casi possiamo avere più gocce, però è raro).

Invece, è stato visto che il lievito ha sempre l'apparato del Golgi però le cisterne non sono legate tra di loro quindi si possono trovare la CIS, MIDIAL, TRANS in diverse posizioni, quindi sono sparsi (*domanda!*)

Tutto il movimento del Golgi e del reticolo avviene grazie a un sistema di microtubuli e actina con sopra delle proteine a motore, **chinesine**, che riescono a muovere diversi organelli.

I **mitocondri** sono organelli delle cellule eucariotiche, nei quali si realizza un'intensa attività metabolica, essendo coinvolti nel consumo cellulare di ossigeno ed associati a processi di conservazione dell'energia sotto forma delle molecole di ATP. Forniscono vari composti come gli acidi organici e gli amminoacidi che vengono utilizzati nelle reazioni sintetiche di tutta la cellula. Si riproducono per scissione come i procarioti e i plastidi.

È importante ricordare che anche i mitocondri si muovono e possono raggiungere una velocità di 6 Micron a secondo a 9 giorni, è più veloce del Golgi.

Un altro elemento importante della cellula vegetale è il **perossisoma**, un compartimento metabolico che svolge la funzione di rapida ossidazione dei substrati, un processo che non è accoppiato con la conservazione dell'energia. Nelle piante e nelle alghe i perossisomi connettono le vie metaboliche biosintetiche e ossidative e compartimentalizzano i passaggi potenzialmente letali del metabolismo come la formazione delle specie reattive dell'ossigeno e il gliossilato, prevenendo così l'avvelenamento della cellula.

Sono estremamente importante perché grazie alla **catalasi** ( $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ) previene il cosiddetto avvelenamento della cellula perché catalizza la reazione quindi il perossido di idrogeno viene convertito in acqua e ossigeno.

*(da ricordare!)*

Il perossisoma è formato da un doppio strato di fosfolipidi esternamente e internamente ha un nucleotide.

Nelle piante sono stati identificati diversi tipi di perossisomi:

- **Perossisomi fogliari**, caratteristici degli organi fotosintetici e contenenti diversi enzimi fotorespiratori. Sono spesso localizzati accanto a cloroplasti e mitocondri.
- **Gliossisomi**, presenti nelle cellule dei semi oleaginosi, contengono gli enzimi della beta ossidazione e del ciclo del gliossilato. Sono spesso localizzati fra i corpi oleosi e si trovano sia nei tessuti di riserva di semi oleosi (arachidi, girasole, noci di cocco) e negli organi senescenti.
- **Uricosomi** presenti nelle cellule dei noduli delle radici delle leguminose, altamente specializzati nell'ossidazione delle purine.
- **Perossisomi non specializzati**, con funzioni incerte. Sono presenti in tessuti non fotosintetici e privi di riserve lipidiche. Essi sono più piccoli di quelli fogliari, sono per lo più liberi o associati soltanto al reticolo endoplasmatico.

All'interno della cellula vegetale non si trova soltanto il cloroplasto ma si trovano diversi **plastidi**, e tutti quanti, o quasi tutti, originano dai **pro-plastidi** come: cloroplasto, ezioplasto, xiloplasto, amiloplasto, proteinoplasto, elaioplasto, feniloplasto, cromoplasti (presenti nel pomodoro)

I **ribosomi** sono presenti in ogni compartimento sub-cellulare in cui avviene la sintesi proteica. La cellula vegetale possiede tre tipi di ribosomi: citoplastici, mitocondriali e plastidiali. Nel citoplasma sono presenti ribosomi 80S, composti dalle sub-unità 40 e 60, i ribosomi plastidiali e quelli mitocondriali 70S con sub-unità 30 e 50. Ogni molecola di mRNA può legare più ribosomi, i quali formano così un complesso chiamato polisoma o poliribosomi. *(domanda sui tipi di ribosomi)*

I ribosomi si trovano in diversi punti all'interno della cellula.

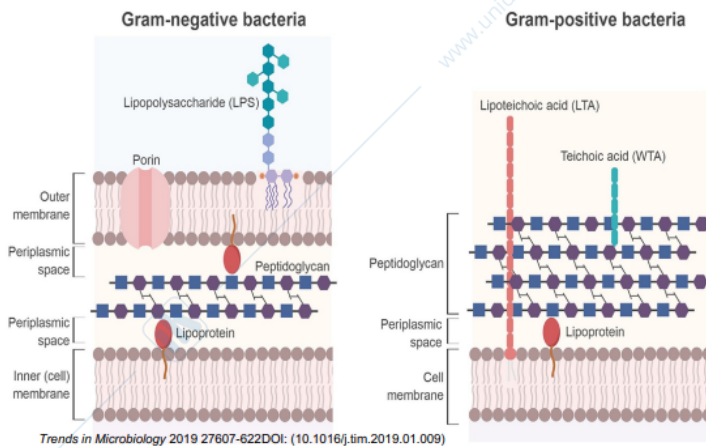
**Teoria endosimbiotica:** come si sono originati i mitocondri e i cloroplasti, loro avevano già i ribosomi quando sono stati internalizzati all'interno della cellula.

## PARETE CELLULARE

La parete cellulare è presente nella maggior parte dei procarioti, in tutti i funghi, in numerosi protisti (sono organismi eucarioti che si possono considerare non appartenenti ai regni animali, piante o funghi, tipo alcune spugne e alghe). Tutte le piante hanno la parete cellulare. (*domanda*)

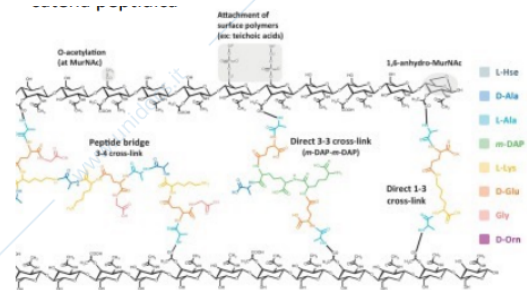
La **parete cellulare dei procarioti** (eubatteri) è costituita da **peptidoglicano**, detta anche **mureina**, naturalmente c'è una differenza tra la parete dei gram negativi rispetto a quella dei gram positivi. I batteri gram negativi sono i batteri da cui si sono originati i mitocondri e i cloroplasti, prima di internalizzarli, adesso questi non sono più batteri.

I **gram negativi** hanno la membrana interna, lo spazio periplasmico, il peptidoglicano mureina e poi di nuovo lo spazio periplasmico e la membrana esterna; mentre nei **gram positivi** abbiamo membrana interna, lo spazio periplasmico e il peptidoglicano.



Il **peptidoglicano** è formato da catene di zuccheri internamente (le zone colorate) da peptidi (ogni colore corrisponde ad un aminoacido). Le catene di zuccheri sono tenute tra di loro da questi ponti peptidici.

La **parete cellulare dei funghi** è composta da **chitina** che non è esclusiva dei funghi ma si trova anche in altri artropodi. La chitina è un polisaccaride costituito da residui di **n-acetilglucosamina**. (*domanda*)



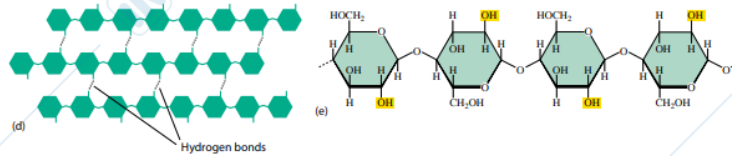
La chitina è estremamente importante nell'industria, infatti viene utilizzata tramite un processo di deacetilazione attraverso cui viene prodotto il **chitosan**, che ha numerosi impieghi. Recentemente è stato utilizzato anche per costruire le cellule dei pannelli fotovoltaici in quanto formano dei polimeri molto resistenti oppure anche come bioplastiche e nell'industria cosmetica.

La **parete cellulare delle alghe**: nelle **microalghe** la parete cellulare può mancare o essere sostituita da diversi involucri; nelle **macroalghe** la parete cellulare è composta da polisaccaridi come nelle piante è composta da una componente fibrillare, immersa in una matrice amorfa e talvolta può essere impregnata di carbonato di calcio.

La **parete cellulare delle piante** è composta da una fase **micro fibrillare**, costituita da **cellulosa** e da una fase di **matrice amorfa** (come nei funghi) costituita da **emicellulosa**, **pectina**, **acqua** e **proteine**. Quest'ultime possono avere una funzione enzimatica o una funzione strutturale; quelle con funzione strutturale andranno a legare diversi polisaccaridi tra di loro mentre quelle con funzione enzimatica, tra cui ci

sono le **laccasi** e le **perossidasi**, sono importanti perché attivano i monomeri lignoli per formare poi la lignina, (veramente importanti, per esempio, durante un attacco da patogeni in cui sono super attivate per irrobustire subito la parete e rendere questi polisaccaridi inattaccabili dagli enzimi idrolitici dei patogeni). Poi abbiamo i **composti fenolici**. (*domanda su tutta questa parte*)

- **Fase micro fibrillare:**



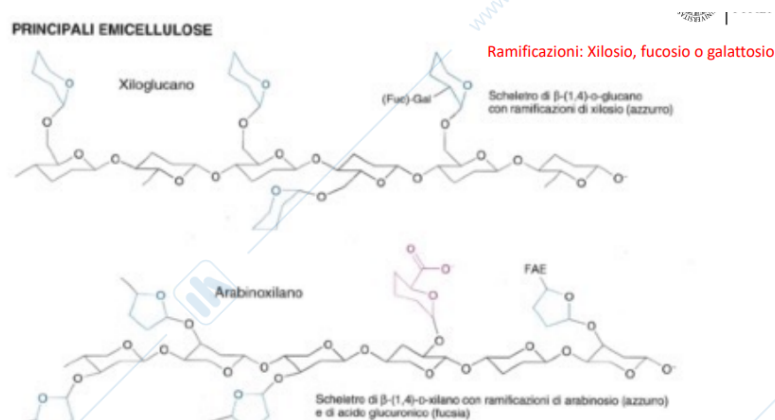
È costituita da cellulosa, e in particolare modo le molecole di cellulosa costituiscono la microfibrilla, le quali a loro volta si assemblano per formare una macrofibrilla. Nella figura è indicato il dimero fondamentale, il **cellobiosio**, costituito da due molecole di beta-D-glucosio unite da legame 1-4 che (*domanda*) vanno a formare la cellulosa detta anche **Beta-1-4-D-glucano**. Le molecole di cellulosa sono legate tra di loro da legami idrogeno che le tengono assieme e stabilizzano tutta la struttura.

Rispetto all'amido, gli zuccheri sono invertiti di  $180^\circ$ .

- **Fase matriciale:** è composta da **emicellulose** e **pectine**. Queste due componenti vengono estratte dalla parete con agenti chimici diversi, una soluzione alcalina estrarrà le emicellulose mentre agenti chelanti dello ione  $\text{Ca}^{2+}$  e una soluzione acida calda estrarrà le pectine.
  - Le **emicellulose** fanno collegamenti crociati tra le fibrille di cellulosa e costituiscono la forza portante della parete, mentre le **pectine** sono i polisaccaridi più complessi ricchi di acido galatturonico che conferiscono plasticità alla parete.

I diversi polisaccaridi che vanno a costituire le emicellulose (*domanda tipo "Quali sono i principali costituenti delle emicellulose?" non importa la struttura*) sono **xiloglucano** e **arabinoxilano**.

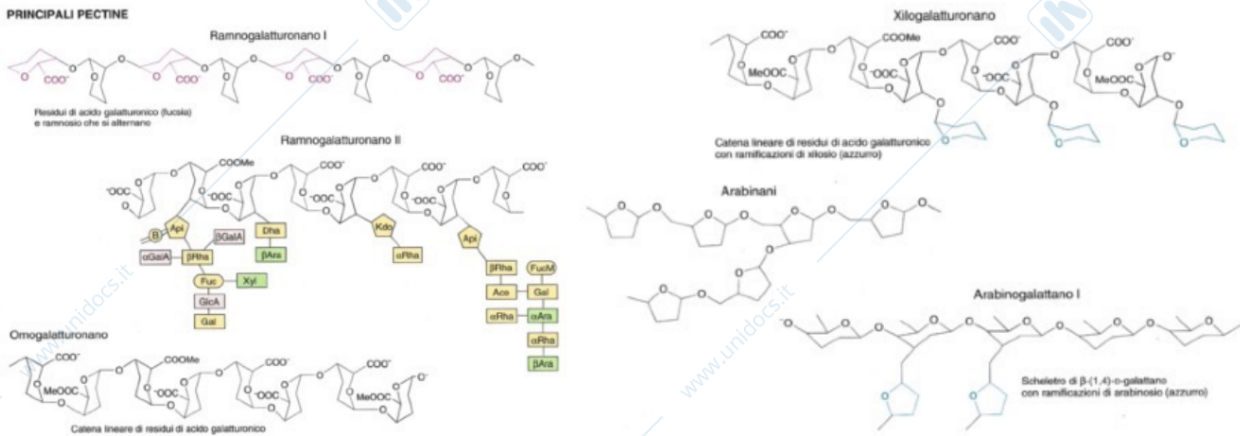
Lo **xiloglucano** è composto dallo scheletro di beta-(1-4)-o-glucano con ramificazioni di xilosio. Mentre l'**arabinoxilano** è composto da beta-(1-4)-D-xilano con ramificazione di



arabinosio e di acido galatturonico.

- Le **pectine** (*domanda "quali sono i componenti delle pectine"*) sono costituite da:
  - **Ramnogalatturonano1** e **ramnogalatturonano2**: ramnogalatturonano significa residui di acido galatturonico e ramnosio che si alternano

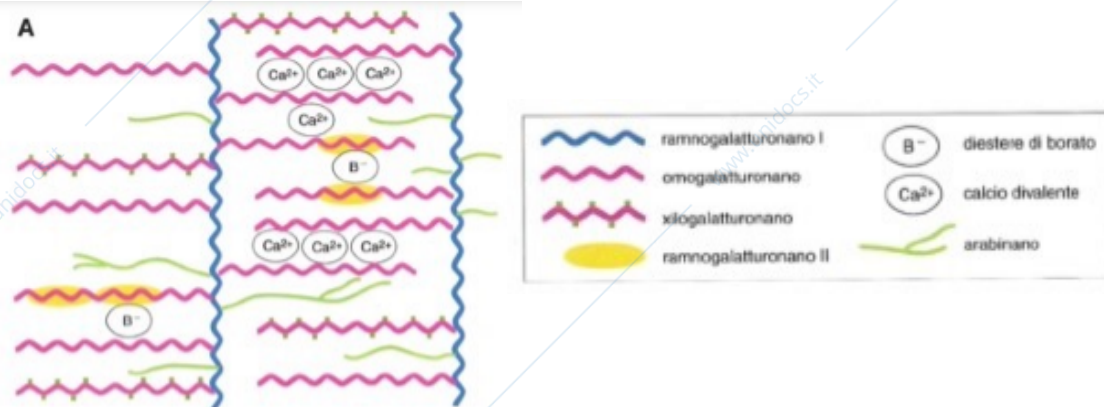
- **Omogalatturonano**, una catena lineare di residui di acido galatturonico.
- **Xilogalatturonano**, composto da una catena lineare di residui di acido galatturonico con ramificazioni di xilosio;
- **Arabinano**, composto da arabinosio e da arabinogalattani I costituiti da uno scheletro di beta-(1.4)-o-galattano con ramificazioni di arabinosio.



Le pectine sono in grado di formare GEL anche dopo essere state estratte dalla parete. Per questo trovano largo impiego nell'industria alimentare, farmaceutica e cosmetica.

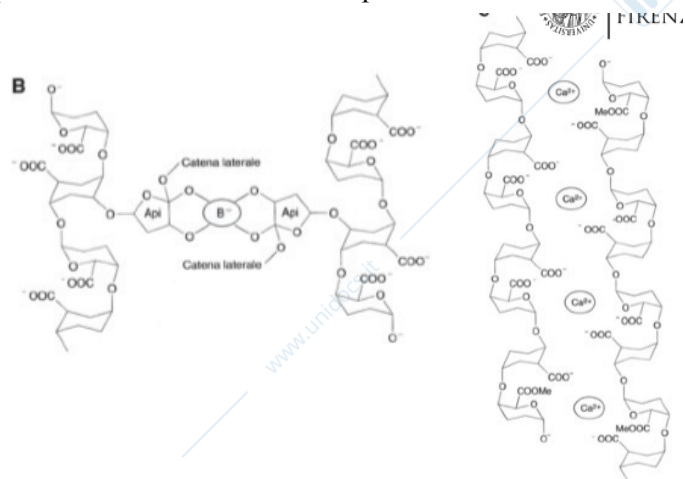
### Formazione del gel:

L'acqua all'interno delle pectine può arrivare al 60% in peso, in una parete primaria, e grazie alla sua funzione strutturale forma il gel con le pectine e i legami a idrogeno con gli altri polimeri della parete. Anche alcuni ioni, come il borato ( $B^-$ ) e il calcio divalente ( $Ca^{2+}$ ) sono strutturalmente importanti, in quanto formano legami di una certa rigidità tra polimeri pectici.



Tra le componenti delle pectine ci sono dei gruppi carbossilici e si formano dei ponti grazie a ioni di borato ( $B^-$ ) e calcio.

Il borato va a stabilire dei ponti tra residui di ramnogalatturonano 2 ma si stabiliscono anche delle interazioni elettrostatiche tra gruppi carbossilici dei galatturonani e lo ione calcio ( $Ca^{2+}$ ) o magnesio ( $Mg^{2+}$ ). Questi legami stabilizzano fra di loro i polisaccaridi.



Test per la formazione del gel:

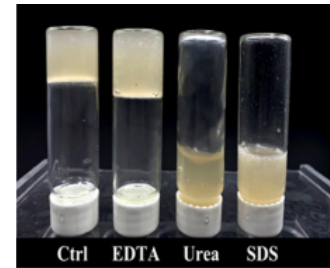
4 provette: una di controllo (ctrl), una con EDTA, una con urea e una con SDS.

Vediamo i diversi legami che si possono stabilire a livello delle pectine: ci sta il calcio, il magnesio, il borato, ma oltre a questo ci sono anche legami a idrogeno e interazioni idrofobiche.

L'EDTA, l'urea e l'SDS possono essere usati rispettivamente per:

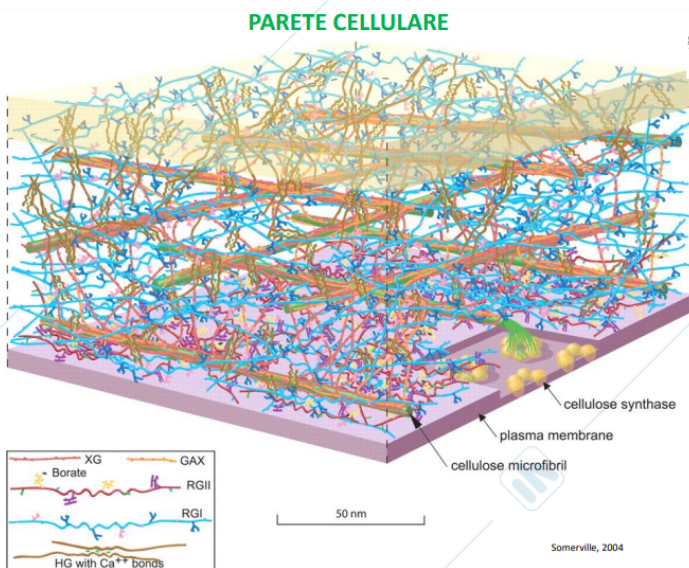
- l'EDTA chela gli ioni divalenti, quindi calcio e magnesio;
- l'urea rompe legami a idrogeno;
- l'SDS rompe le interazioni idrofobiche.

Nel controllo si hanno acqua e pectine con le quali si forma una soluzione gelatinosa e quando vengono capovolte le provette, la soluzione rimane attaccata in alto, in quanto, tutti i legami all'interno rimangono intatti. Se inseriamo l'EDTA questo va a togliere (chielare) gli ioni calcio e magnesio dalla parete delle pectine, quindi si indeboliranno i legami e aumenterà il suo volume. Così facendo, una volta capovolta la provetta, la parete delle pectine sarà più rilassata e di conseguenza la soluzione scenderà un pochino di più rispetto al controllo.



Con l'urea vengono rotti i legami a idrogeno, quindi la maggior parte dei legami. Questo fa sì che tutto il sistema collassi quando invertiamo la provetta. La soluzione non rimarrà più attaccata al fondo della provetta ma cadrà verso il basso. Stessa cosa per l'SDS che rompe tutte le interazioni idrofobiche, che sono molte anche queste, portando al collasso totale.

(domanda "funzione degli ioni calcio e magnesio all'interno delle pectine")



Qui sono presenti tutte le componenti della parete.

➤ Le **proteine** possono essere strutturali o con azione enzimatica.

- **Strutturali:** importanti perché stabiliscono legami tra le diverse componenti delle parete (tra i diversi polisaccaridi). Appena secrete sono relativamente solubili ma diventano sempre più insolubili durante la maturazione cellulare o a seguito di ferite e attacco dei patogeni. Si ritiene che il processo di insolubilizzazione sia dovuto a legami

intermolecolari di difenil etero fra le triosine e venga indotto durante le ferite o attacco dei patogeni.

- **Proteine con attività enzimatica:** le più importanti sono la perossidasi (enzimi ossidativi) e la laccasi. Attivano i monomeri di monolignoli che formano poi la lignina. Ci sono anche degli enzimi idrolitici che servono per degradare dei legami dei polisaccaridi di parete (pectinasi, cellulasi, emicellulasi), soprattutto, durante l'accrescimento cellulare, alcuni polisaccaridi devono essere digeriti per far sì che la parete possa espandersi. Enzimi per l'espansione cellulare sono i transglicosidasi e le espansine.

- **Proteine strutturali:** sono generalmente **glicosilate** (glicoproteine) e appartengono a 4 gruppi caratterizzati da sequenze aminoacidiche altamente ripetute. La struttura regolare e l'alto grado di glicosilazione consente la formazione di legami con i polisaccaridi e ne fanno degli ottimi componenti strutturali. Possono essere estratte e purificate quando sono nella via di secrezione ma una volta raggiunta la parete tendono a polimerizzare ed a reagire con altre componenti parietali diventando insolubili e non estraibili.

1. Hydroxyprolin Rich Glyco Proteins = estensine (HRGP)
2. Proline Rich Proteins (PRP)
3. Glycine Rich Proteins (GRP)
4. Arabino Galattan Proteins (AGP)

La componente polisaccaridica è dominante e si trova nella parete e nella faccia esterna della membrana plasmatica. La loro espressione è tessutipecifica. Più che una funzione strutturale si ritiene abbiano un ruolo di molecole segnale nei processi di sviluppo.

- **Proteine con attività enzimatica:** laccasi e perossidasi

All'interno della parete cellulare secondaria sono presenti la perossidasi e la laccasi che grazie a perossido di idrogeno oppure monomero di ossigeno, generato dall'NADPH ossidasi, vanno ad attivare i monomeri dei monolignoli per la lignina.