

**CITOLOGIA E ISTOLOGIA (M-Z)**

prof.ssa Franceschini, 2020/2021

↳ tutti gli organismi sono formati da una o più cellule

↳ come distinguere i viventi?

1. RIPRODUZIONE

- mitosi (unicellulari)
- fecondazione (pluricellulari)

2. ACCRESIMENTO3. ADATTAMENTO AMBIENTALE4. RISPOSTA A STIMOLI ESTERNI5. METABOLISMO (anabolismo+catabolismo)

↳ elementi chimici fondamentali

- IDROGENO
- OSSIGENO
- CARBONIO
- AZOTO
- fosforo, zolfo, sodio, potassio, cloro, calcio...

↳ composizione chimica dei viventi

- ACQUA (75-85%)
- SALI in IONI (1%)
- COMPOSTI ORGANICI
  - lipidi (2-3%)
  - carboidrati (1%)
  - proteine (10-20%)
  - acidi nucleici (1-1,5%)

↳ **ACQUA (H<sub>2</sub>O)**

↳ solvente naturale degli ioni, mezzo disperdente dei sistemi colloidali

↳ libera (o di riempimento), legata (o di idratazione)

- molecola piccola, peso molecolare: 18
- elevato calore specifico
- elevata tensione superficiale
- elevata costante dielettrica (dipolo)

↳ è un buon solvente

↳ **IONI**

↳ regolano:

- **EQUILIBRIO OSMOTICO**

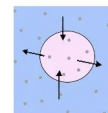
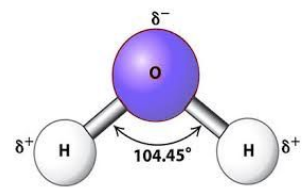
- **EQUILIBRIO ACIDO-BASE (pH)**

pH:  $\text{Log}_{10}$  del reciproco della concentrazione molare di ioni H<sup>+</sup>

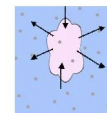
$$\text{pH} = \text{Log}_{10} [1/\text{H}^+]$$

pH neutro: acqua pura a 25°, C= 10<sup>-7</sup>

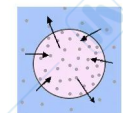
$$\text{pH: } \text{Log}_{10} [1/10^{-7}] = 7$$



Cellula in soluzione isotonica. Se una cellula si trova in una soluzione con una concentrazione di soluti pari a quella intracellulare, il flusso di acqua in uscita è pari a quello in entrata (situazione definita "equilibrio dinamico").



Cellula in soluzione ipertonica. Una cellula posta in una soluzione con una concentrazione di soluti maggiore rispetto a quella intracellulare, vedrà i suoi fluidi uscire all'esterno e "raggrinzirà" (shrinkage).



Cellula in soluzione ipotonica. Se una cellula è posta in una soluzione ipotonica, l'acqua tenderà a entrare nella cellula e a gonfiarla (swelling). Se la soluzione è eccessivamente ipotonica, la cellula si gonfierà fino a "scoppiare".

30/09/20

→ **SALI + comuni:**

- cloruri
- bicarbonati
- fosfati
- solfati

→ **IONI + comuni:**

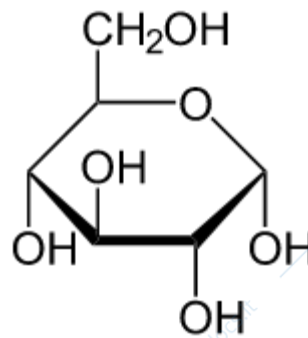
- $\text{Ca}^{2+}$
- $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$
- $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$

→ **COMPOSTI ORGANICI**

- TERNARI (C, O H):
  - carboidrati (glucidi)
  - trigliceridi
- QUATERNARI (C, O, H, N):
  - lipidi complessi
  - proteine
  - acidi nucleici

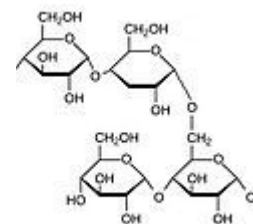
→ **CARBOIDRATI**

- MONOSACCARIDI
  - pentosi (ribosio, desossiribosio)
  - esosi (glucosio)
- DISACCARIDI
  - saccarosio
  - maltosio
  - lattosio
- POLISACCARIDI
  - amido (400)
  - cellulosa (8.000)
  - glicogeno (30.000)



→ i monomeri sono legati da:

- legame  $\alpha$ : sullo stesso piano (sequenza lineare)
- legame  $\beta$ : monomeri ruotati di  $180^\circ$ 
  - amido: polimero lineare, legame  $\alpha$
  - cellulosa: polimero lineare, legame  $\beta$
  - glicogeno: polimero ramificato



- GLICOSAMINOGLICANI (GAG)

polimeri di aminozuccheri e zuccheri acidi (glucosamina, acido glucuronico)

→ **LIPIDI**

- NON IDROLIZZABILI
  - acidi grassi
  - prostaglandine
- LIPIDI SEMPLICI (trigliceridi)
- STEROIDI E STEROLI
- LIPIDI COMPLESSI

## → ACIDI GRASSI

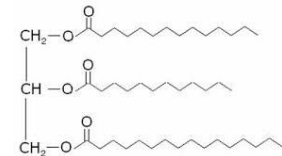
- saturi (legami singoli)  
es: acido stearico
- insaturi (doppi legami)  
es: acido oleico

## PROSTAGLANDINE

- modulatori attività cellulare
- formate da acido arachidonico
- grande varietà di tipi
- funzioni varie (coagulazione del sangue, contrazione muscolatura liscia, fenomeni infiammatori)

## → TRIGLICERIDI (LIPIDI SEMPLICI)

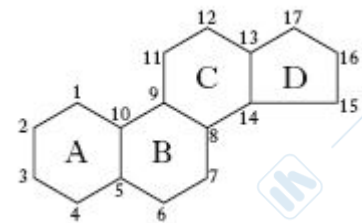
→ formati da glicerolo esterificata con 3 acidi grassi (per condensazione)



## → STEROIDI e STEROLI

formati da ciclopentanoperidrofenantrene, se

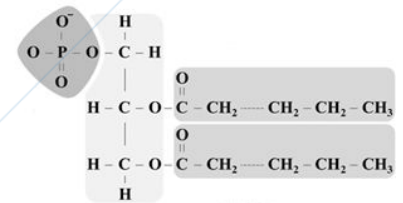
- al C3 è legato un gruppo ossidrilico -OH → steroli (es: colesterolo)  
→ il gruppo ossidrilico (idrofilo) rende la molecola polare
- al C17 è legato un acido grasso → steroidi



## → LIPIDI COMPLESSI (polari)

→ FOSFOLIPIDI (o fosfogliceridi)

- testa idrofila (acido fosforico + composto azotato)
- coda idrofobica (2 catene di acidi grassi)  
→ formano la membrana cellulare; la presenza di acidi grassi saturi o insaturi condiziona la fluidità della membrana

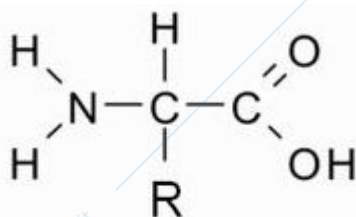


→ GLICOLIPIDI

- testa idrofila (catena glucidica)
- coda idrofobica (1 catena di acido grasso + 1 monosaccaride)  
→ es: cerebrosidi, gangliosidi

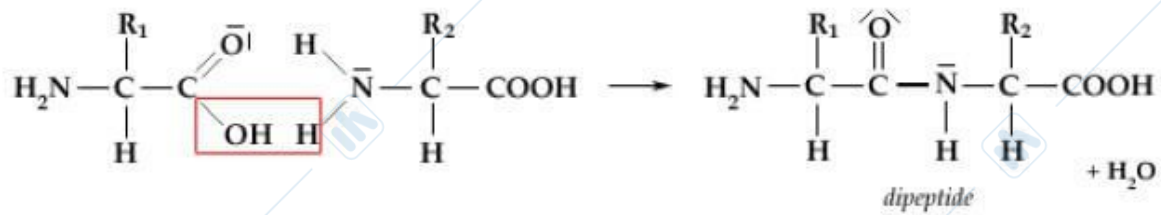
## → PROTEINE

- ENZIMATICHE (catalizzano le reazioni)
- STRUTTURALI  
→ formate da 20 tipi diversi di AMMINOACIDI



- carbonio chirale
- catena laterale diversa per ogni amm.
- gruppo amminico (radicale basico)
- gruppo carbossilico (radicale acido)
- idrogeno

→ gli amminoacidi sono legati tramite legame PEPTIDICO o carboamminico (per condensazione):



→ ogni proteina ha un VALORE ISOELETTTRICO (pH): le cariche elettriche negative in superficie sono bilanciate da quelle positive (carica netta = 0)

→ in un campo elettrico, la proteina non migra

→ **ELETTROFORESI**

→ modificando il pH, la carica netta non è più 0, nel campo elettrico le proteine migrano ai poli (in base alla carica)

- utilizzata per studiare gli amminoacidi di una proteina

es: EMOGLOBINA

- 2 catene  $\alpha$  (121 ammi.)

- 2 catene  $\beta$  (146 ammi.)

→ se in posizione 6 della catena  $\beta$  è presente una mutazione (valina anziché acido glutammico) si verifica ANEMIA FALCIFORME

→ STRUTTURA PRIMARIA

→ sequenza lineare degli amminoacidi

→ STRUTTURA SECONDARIA

→ posizione degli amminoacidi

- $\alpha$  - elica: andamento a spirale destrorsa; al centro gruppi carboamminici; struttura mantenuta da legami a idrogeno tra gruppo amminico e carbossilico
- foglietto -  $\beta$ : catena ripiegata a zig-zag, mantenuta da legami a idrogeno paralleli

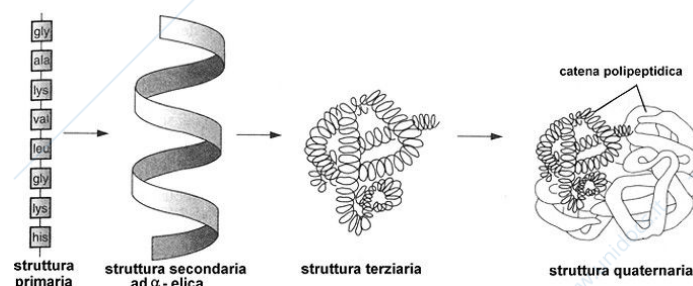
→ STRUTTURA TERZIARIA

→ struttura tridimensionale della proteina, data dal ripiegamento della struttura secondaria, mantenuta da interazioni tra le catene laterali

- GLOBULARE
- FIBROSA

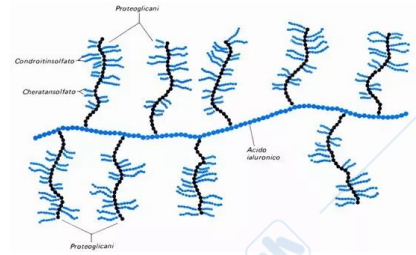
→ STRUTTURA QUATERNARIA (non tutte)

→ determinata da 2 o più strutture terziarie unite; chiamata anche configurazione sterica, determina la specificità della proteina (es: enzimi)



## → PROTEOGLICANI

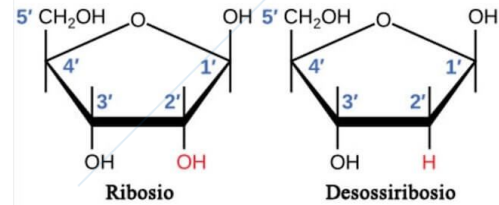
- costruiti con i GAG:
  - asse di acido ialuronico
  - catene di glicosaminoglicani
  - proteine di legame



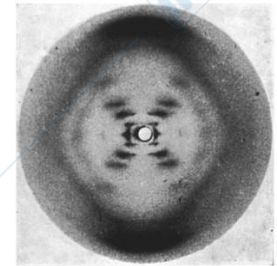
02/10/20

## → ACIDI NUCLEICI

- DNA → nucleo
- RNA → nucleo e citoplasma
- DNA + RNA → mitocondri e cloroplasti
- formati da:
  - zucchero pentoso
  - gruppo fosfato (acido fosforico)
  - base azotata

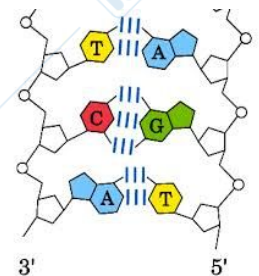
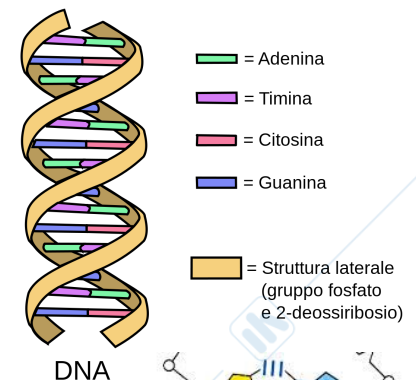


- purine (2 anelli): adenina, guanina
- pirimidine (1 anello): citosina, timina, uracile
- zucchero (C1) + base azotata (gruppo amminico) → nucleoside
  - nucleoside (C5) + gruppo fosfato → nucleotide
  - nucleotide (C5) + nucleotide (C3) → acido nucleico → legame fosfodiesterico (covalente)
    - estremità 5' in alto e 3' in basso libere
- modello a DOPPIA ELICA
  - Watson e Crick (1953), hanno usato dati di altri
  - Rosalind Franklin studiava il DNA tramite diffrazione (raggi x), muore giovane a causa delle radiazioni (foto 51)
    - W. e C. le rubano le idee



## → DNA

- 2 catene polinucleotidiche antiparallele (2 mt circa)
- diametro costante → 2 nm (Wilkins)
- passo di un'elica → 3,4 nm
- distanza tra i nucleotidi → 0,34 nm
- struttura resa stabile da legami tra le basi azotate; legame altamente specifico (ponti a idrogeno)
  - si deduce da:
    - diametro costante
    - numero di legami a idrogeno tra le basi
- adenina-timina (doppio legame)
- citosina-guanina (triplo legame)
  - equimolarità (a=t, c=g) (Chargaff)
  - la sequenza delle basi azotate di un filamento è complementare a quello antiparallelo



## → FUNZIONI

- **METABOLISMO**

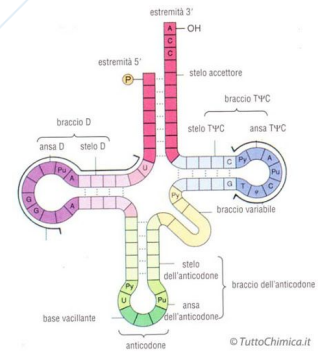
↳ avviene nel citoplasma, tramite trascrizione (svolgere e aprire l'elica, rompendo i legami a idrogeno tra nucleotidi, utilizzando il filamento 3'-5' come stampo si crea un filamento di RNA complementare, poi trasferito nel citoplasma)

- **DUPLICAZIONE**

↳ modello semiconservativo, ogni catena funge da stampo per un nuovo filamento, per mantenere l'equilibrio genetico

↳ **RNA**

- mRNA (messaggero): andamento lineare, trasferisce le informazioni geniche dal nucleo al citoplasma, serve a collocare correttamente gli amminoacidi nella catena polipeptidica
- rRNA (ribosomale): andamento lineare, associato a proteine forma i ribosomi, costituiti da due subunità, sede della sintesi proteica
- tRNA (transfer): porta l'amminoacido sul mRNA per la formazione della proteina; catena a 4 anse
  - ↳ estremità 3': sito di attacco dell'amminoacido
  - ↳ ansa 2: anticodone (codifica l'amminoacido (specifico per ogni amm.)



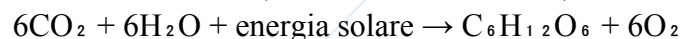
↳ **CELLULA**

↳ i resti fossili ci dicono che le prime cellule (~3,5 miliardi di anni fa) erano:

- procariote (senza organuli, compartimenti membranosi)
- anaerobiotiche: attività metaboliche in assenza di ossigeno (fermentazione → poca energia)
- eterotrofe (non produce autonomamente le sostanze nutritive)
  - ↳ progressivo impoverimento delle sostanze nutritive disponibili
  - ↳ sono favorite le cellule che hanno sviluppato la fotosintesi (autotrofi)

↓ mutazione

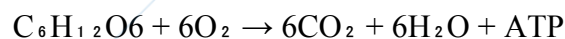
**CIANOBATTERI** (~1,5 miliardi di anni fa)



↳ produzione di materiale organico (glucosio), materiale di scarto (ossigeno), produzione di ozono contro i raggi UV

↓ mutazione

**ETEROTROFI AEROBIOTICI**



↳ la respirazione cellulare è molto più produttiva della fermentazione

↳ **EVOLUZIONE**

↳ la cellula ha 4 caratteristiche che la distinguono dagli aggregati molecolari:

- membrana cellulare
- proteine enzimatiche
- possibilità di evolversi

- duplicazione

### → TEORIA ENDOSIMBIOTICA

→ tre diversi procarioti vivevano in simbiosi:

- procarioti aerobi: ossidano sostanze nutritive (alto reso energetico)
- procarioti anaerobi: fermentazione (basso reso energetico)
- cianobatteri: fotosintesi (sostanza organiche + ossigeno)

→ METAZOI - METAFITI (640 milioni di anni fa)

→ organizzazione pluricellulare:

- vita più lunga (possibilità di riparazione)
- riproduzione perfezionata
- notevole variabilità (differenziamento)
- notevole efficienza funzionale

### → UNITÀ DI MISURA

- LUNGHEZZA

- micrometro ( $\mu\text{m}$ ) = 1/1000 mm
- nanometro (nm) = 1/1000  $\mu\text{m}$

- PESO

- microgrammo ( $\mu\text{g}$ ) = 1/1000000 gr
- picogrammo (pg) = 1/1000000000000 gr.

→ dimensioni:

- da alcuni cm a 100  $\mu\text{m}$  → organi
- da 100  $\mu\text{m}$  a 10  $\mu\text{m}$  → tessuti
- da 10  $\mu\text{m}$  a 200 nm → cellule
- da 200 nm a 0,4 nm → organuli, batteri, virus

### → SCOPERTA CELLULARE

→ grazie al progresso della tecnologia ottica (XVII sec. → telescopi e microscopi)

→ ROBERT HOOKE (1665) → costruisce un microscopio, studia il sughero, tagliato in lamine sottili, individua le cellule e le denomina come le celle dei monasteri

→ MARCELLO MALPIGHI (1671) → appartenente all'ateneo di Bologna, conferma le ipotesi di Hooke

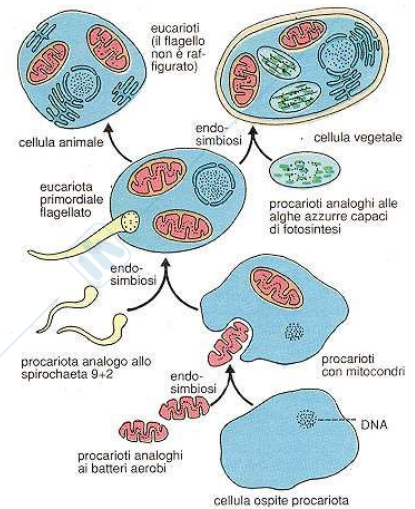
→ ANTONI VAN LEEUWENHOEK (1674) → commerciante olandese, investe nello studio della biologia, costruisce un microscopio in grado di ingrandire di 270 volte, osserva batteri, protozoi e i globuli rossi (prima cellula viva osservata)

### → TEORIA CELLULARE

→ SCHLEIDEN (1838) → tutti i tessuti vegetali sono formati da cellule

→ SCHWANN (1839) → estende la teoria ai tessuti animali (tranne tessuto nervoso):

- tutti gli esseri viventi sono formati da cellule
- le cellule sono l'unità fondamentale
- tutte le cellule derivano da altre cellule
- tutte le reazioni chimiche avvengono dentro la cellula



- tutte le cellule derivano da un progenitore comune

↳ **LIVELLI DI ORGANIZZAZIONE**

↳ GENI

↳ **DNA** (cromatina/cromosomi)

↳ **NUCLEO**

↳ **CELLULE**

↳ **TESSUTI**

↳ ORGANI

↳ APPARATI E SISTEMI

↳ INDIVIDUO

↳ AMBIENTE

↳ **PROCARIOTI (BATTERI)**

↳ cellula priva di compartimenti membranosi intracellulari, unico filamento di DNA chiuso ad anello → lieve modificazione durante la duplicazione

↳ alcuni possono avere una parete particolare (50 nm), formata da peptidoglicani (mureine), costituiti da acido n-acetilmuramico (esclusivo dei batteri), legati da ponti proteici

↳ **BATTERI GRAM-POSITIVI**

↳ si colorano con il colorante di Gram (blu/violetto) → colora i peptidoglicani della parete

↳ **BATTERI GRAM-NEGATIVI**

↳ privi di parete, si colorano di rosa, hanno comunque un rivestimento esterno più sottile (3-8 nm), simile a una membrana (doppio strato fosfolipidico + catene oligosaccaridiche)

↳ **CARATTERISTICHE**

- metabolismo anaerobiotico
- membrana plasmatica priva di colesterolo
- singolo cromosoma circolare
- geni privi di introni
- sono assenti:
  - compartimenti membranosi interni
  - citoscheletro
  - involucro nucleare
  - nucleolo
  - istoni (proteine associate al DNA)

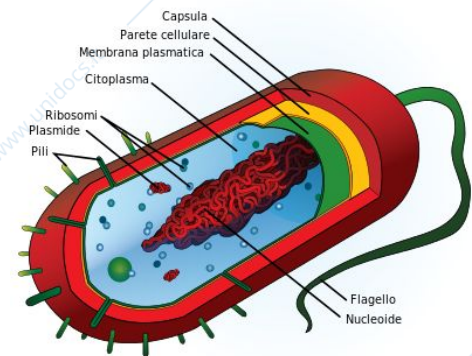
↳ **INTRONI & ESONI**

- introne: zona lungo la sequenza di DNA con basi non codificanti, non trascritta oppure trascritte ma non tradotte (eliminate durante lo splicing)
- esone: zona con basi codificanti trascritta e tradotta (negli RNA maturi)

↳ **VIRUS**

↳ non è una cellula, è un involucro di natura proteica, all'interno del quale si trova DNA o RNA (mai insieme)

↳ l'involucro si chiama capside, formato da capsomeri

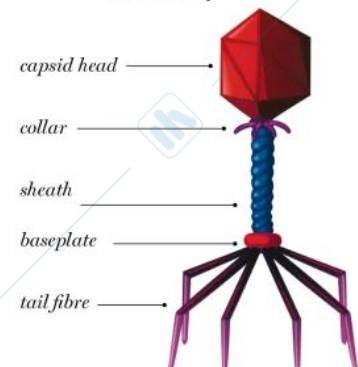


→ varie forme, es:

- virus del mosaico del tabacco: capsomeri allungati che formano un cilindro, all'interno vi è RNA, attacca la pianta di tabacco
- batteriofago T4: attacca i batteri

→ capsid formato da:

- testa
- collo
- coda
- placca
- 2 tipi di prolungamenti: corti (alla fine della placca), spine lunghe (radialmente)



→ nella testa si trova il DNA, il collo è formato

da un prolungamento della testa interno (tubo), rivestito da una guaina proteica a spirale

→ attacca i batteri

→ si aggancia alla parete cellulare del battere, dal tubo centrale viene secreto un enzima che lacera la parete cellulare, scavando un canale, la coda si contrae (molla), il tubo penetra nel canale, il DNA viene iniettato all'interno del battere

→ la cellula appena avverte la presenza nel citoplasma di DNA lo porta al nucleo (cellula eucariote) → il DNA virale blocca l'attività metabolica della cellula, si impone sulla sintesi proteica, produce tutte le proteine ed enzimi per comporre le varie parti del virus, compreso il DNA duplicato, vengono poi assemblati i pezzi, creando nuovi virus all'interno della cellula

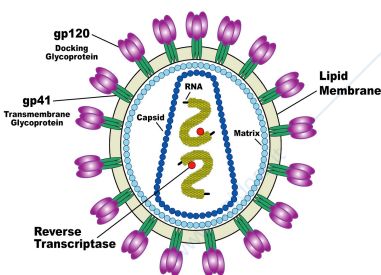
→ i virus escono lacerando la cellula, ormai morta



→ VIRUS A RNA (HIV o COVID)

→ il materiale genetico del virus è composto da RNA, ad ogni molecola è legato un enzima (trascrittasi inversa)

→ il capsid presenta un rivestimento esterno di natura lipoproteica (simile a una struttura di membrana plasmatica), con proteine che connotano la tipologia di virus → le cellule hanno dei recettori in grado di legare queste proteine, facilitando l'entrata del virus (l'involucro membranoso del virus si fonde con la membrana plasmatica della cellula ospite)



→ il capsid si dissocia, l'RNA viene liberato, si costituisce un ibrido: su stampo del filamento virale viene sintetizzato, grazie alla trascrittasi inversa, un filamento di DNA, questo viene poi duplicato

→ la cellula trasporta il DNA appena sintetizzato nel nucleo, il virus si impone sulla sintesi proteica, producendo gli elementi del capsid, la trascrittasi inversa, e le proteine di superficie

→ gli elementi vengono poi assemblati, il capsid spinge sulla membrana, infine si distacca, uccidendo la cellula

## → EUCARIOTI

1. UNICELLULARI (protozoi, protofiti)

2. PLURICELLULARI (metazoi, metafiti)

→ classificazione del Bizzozero: in base alla possibilità di divisione

- cellule labili (embrionali, staminali): cellule indifferenziate, si possono dividere per tutta la loro vita
- cellule stabili: al termine dell'accrescimento non si dividono più, ma conservano la capacità proliferativa (endoteli, cellule secernenti, muscolari lisce, epatociti)
- cellule perenni: altamente differenziate, perdono capacità proliferativa (neuroni, fibre muscolari striate)

→ **RAPPORTO NUCLEOPLASMATICO**: rapporto tra volume del nucleo e differenza tra volume del citoplasma e il volume del nucleo ( $V_n \rightarrow$  costante;  $V_c \rightarrow$  variabile, a causa del metabolismo)

→ margine di accrescimento, altrimenti regioni troppo grandi non potrebbero essere tenute sotto controllo dal nucleo

→ **RELAZIONE SUPERFICIE/VOLUME**: il volume rimane costante ma la superficie può cambiare → è vantaggioso avere molte cellule piccole, in modo da avere più superficie per l'interazione con l'ambiente

→ **LEGGE DI DRIESCH**: cellule omologhe di individui della stessa specie o affini hanno grandezza pressoché costanti

→ **STRUTTURE PLURINUCLEATE**:

- **SINCIZIO**: massa citoplasmatica con più nuclei derivante dalla fusione di più cellule (i nuclei mantengono i loro metabolismi) → osteoclasti
- **PLASMODIO**: si parte da una cellula che fallisce nella fase mitotica di citodieresi (rimangono i due nuclei) → sviluppo embrionale degli uccelli

→ **FORMA**: la forma delle cellule in cultura è sferica con poco citoscheletro, in natura sarebbe un poligono regolare (n. di facce = n. cellule adiacenti)

→ nelle cellule vegetali la parete cellulare rigida mantiene la forma

→ **STRUTTURE CELLULA ANIMALE**:

- MEMBRANA PLASMATICA
- NUCLEO:
  - involucro nucleare (doppio strato con pori)

- nucleoplasma
- cromatina
- nucleolo
- **RETICOLO ENDOPLASMATICO:**
  - **RUVIDO:** cisterne appiattite parallele tra loro, con ribosomi
  - **LISCIO:** tubuli anastomizzati
- **RIBOSOMI:** mRNA + proteine, 2 subunità si compattano solo durante la sintesi
- **APPARATO DI GOLGI:** pila di cisterne + 3 tipi di vescicole, adibito a maturazione delle proteine (str. terziaria)
- **MITOCONDRI:** sede della respirazione cellulare

→ **CELLULA VEGETALE:**

- **PARETE CELLULARE:** forma precisa, dà turgore
  - **VACUOLI:** volume molto grande, contiene acqua e sostanze disciolte
  - **PLASTIDI:**
    - cloroplasti (sede della fotosintesi clorofilliana)
    - amiloplasti (accumuli di amido nei tuberi)
    - cromoplasti (contengono pigmenti)
1. **MEMBRANA PLASMATICA** (o PLASMALEMMMA)

→ **FUNZIONI:**

- delimita la cellula
- controlla i movimenti di sostanze
- capta stimoli esterni
- sede di funzioni specifiche

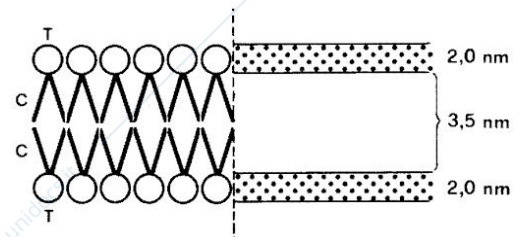
→ **FRAZIONAMENTO CELLULARE:** studio delle componenti della membrana tramite centrifughe differenziali consecutive; ad ogni ciclo il precipitato (omogenato) del ciclo precedente viene sospeso e sottoposto a centrifugazione

- nucleo (800-1.000 giri)
- mitocondri, cloroplasti, lisosomi, perossisomi (20.000-30.000 giri)
- RER (50.000-80.000 giri)
- membrane plasmatiche, REL, app. di Golgi (80.000-100.000 giri)
- ribosomi, particelle (150.000-300.000 giri)

→ **COMPOSIZIONE:**

→ **COMPONENTE LIPIDICA:** fosfolipidi, glicolipidi → cellule procariotiche; fosfolipidi, sfingolipidi, glicolipidi e steroli → cellule eucariotiche

→ fosfolipidi: molecole polari, la componente polare è data da acido fosforico e un composto azotato, quella apolare dalle catene di acidi grassi (1 testa polare + 2 code apolari) → in soluzione acquosa, condizione acqua-aria, le teste si dispongono in acqua, le code fuori (monolayer), oppure formano micelle; in condizione acqua-acqua si forma un doppio strato, con le code all'interno e le teste all'esterno (bilayer); il doppio



strato fosfolipidico è comune a tutte le membrane della cellula e quindi viene definito membrana unitaria

↳ i fosfolipidi partecipano anche alla produzione di acido arachidonico per la formazione di prostaglandine.

↳ ESPERIMENTO DI GORTER E GREDEL (1925): dimostrano l'effettiva disposizione del bilayer

↳ lipidi: responsabili della fluidità di membrana, insolubili in acqua per la presenza maggiore di gruppi non polari rispetto a quelli polari; i lipidi a catena corta e con doppi legami hanno punto fusione più basso e rimangono allo stato fluido anche a basse temperature

↳ influenzano enormemente la funzionalità e la posizione delle proteine (es: il grado di insaturazione può alterare attività di alcuni enzimi come ATPasi); sono idrolizzati dalle fosfolipasi, enzimi di membrana, per attivare risposte cellulari

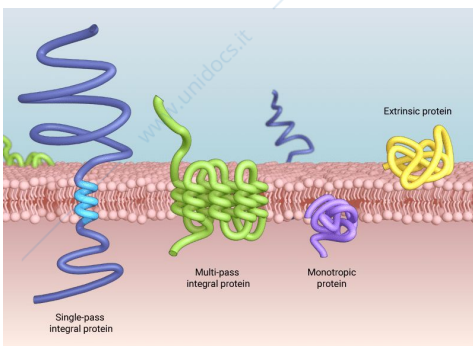
### ↳ COMPONENTE PROTEICA

↳ MODELLO DI DAVSON E DANIELLI (1935): modello a sandwich  
→ all'esterno rispetto alle teste dei fosfolipidi sono presenti proteine e pori intonacati da proteine (si conosceva solo la struttura secondaria)  
→ dopo la scoperta del Golgi, quindi della struttura terziaria, nel modello le proteine filamentose sono sostituite da quelle globulari

↳ con la nascita dei primi microscopi elettronici si modifica il modello: si osservano due linee più scure, che rappresentano le teste (2 nm) e una linea in mezzo più grande e chiara, che rappresenta la coda (3,5 nm) (totale 7 nm → membrane intracellulari: 6,5-8 nm), tuttavia non sono presenti i pori idrofilici di cui parlavano Davson e Danielli

↳ PROTEINE DI MEMBRANA:

- INTRINSECHE (75%): difficili da staccare perché affondano nel doppio strato attraverso legami forti, sono apolari altrimenti non rimarrebbero in maniera permanente nello strato fosfolipidico
  - monotopiche (rapporti con uno solo dei foglietti) → recettoriali
  - bitopiche (1 tratto idrofobico ad  $\alpha$ -elica attraversa la membrana, 2 regioni idrofiliche; attraversa la membrana 1 volta → monopasso)
  - politopiche (+ catene formate da amminoacidi sia idrofobici, a contatto con le code, sia idrofilici; attraversa la membrana + volte → multipasso) → canali idrofilici
- ESTRINSECHE (25%): legate alle teste dei fosfolipidi tramite legami lassi, di facile estrazione, idrofiliche

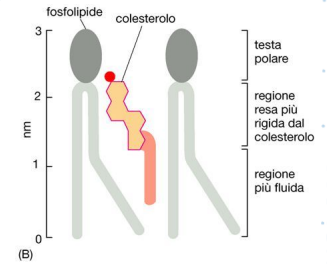
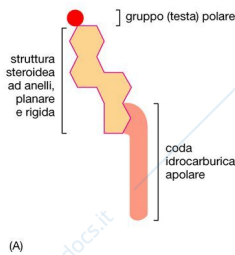


→ si fanno altri esperimenti: per ottenere membrana plasmatica pura si usarono emazie; mettendole in una soluzione ipotonica esse scoppiano, e si possono così analizzare frazioni pure di membrana

→ **MODELLO DI SINGER E NICHOLSON (1973): MOSAICO FLUIDO**: le proteine sono poste in modo discontinuo e fluido, tutti i componenti di membrana possono muoversi

→ **FLUIDITÀ**: dipende dalla componente lipidica

- catene entrambe sature → viscosa
  - almeno una catena insatura → maggiore fluidità
- influisce anche il colesterolo: testa polare, area ad anelli rigido(ciclopentanoperidrofenantrene), coda apolare idrocarburica; si pone in modo obliquo a due fosfolipidi per modulare sia la fluidità sia la viscosità



→ **MOVIMENTO**: i fosfolipidi possono muoversi secondo

- rotazione (su sé stessi,  $360^\circ$ )
  - flessione delle code
  - movimento laterale (i fosfolipidi sono diversi tra loro → modificano gli aspetti funzionali della membrana)
  - movimento flip-flop (da un foglietto all'altro)
- situazione momentanea termodinamicamente instabile in cui le teste sono a contatto con le code. Tale movimento avviene nelle membrane del REL che produce e ordina i fosfolipidi

→ **DISTRIBUZIONE ASIMMETRICA FOSFOLIPIDI (1980-1987)**: doppio strato formato da 2 foglietti indipendenti, diversi per:

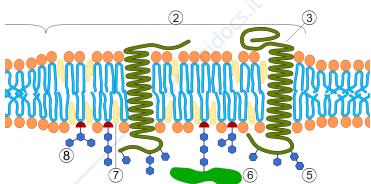
- composizione fosfolipidi
- proprietà fisiche e chimiche

→ **RAFTS LIPIDICI**: accumuli di fosfolipidi saturi e colesterolo, coinvolgono 1 solo foglietto o entrambi, bloccano determinate proteine (spesso glicoproteine) per fare in modo che avvengano in quel punto funzioni specifiche (formare sito per localizzazione di recettori, molecole segnale, proteine trasportatrici); sono presenti su qualunque tipo di membrana, osservabili tramite un ispessimento di essa (→ 10 nm)

- raft piano: in continuità con la superficie membranosa, ne aumenta solo lo spessore
- caveolae: piccola invaginazione della membrana, presenta le caveoline, proteine essenziali per la formazione della caveola

→ **MOVIMENTO PROTEINE**: movimento laterale, dimostrato tramite

- esperimento eterocarion: si fondono una cellula di topo e una cellula umana (eterocarion) → si tratta con una soluzione contenente anticorpi per proteine di topo coniugati a fluoresceina (verde) e anticorpi per cellule umane coniugati con rodamina (rosso) → al momento del trattamento la membrana



appare per metà fluorescente in rosso e per metà in verde → viene incubato a 37° → dopo 40 min non è più osservabile la netta differenza di colorazione → l'aumento della temperatura ha influito sulla fluidità di membrana e sullo spostamento laterale delle proteine

- capping in un macrofago in movimento: gli antigeni di membrana sono in piccoli gruppi sulla superficie intera, ma quando esso incontra un anticorpo e si forma legame antigene-anticorpo, le proteine si dispongono a una estremità formando un cap, opposta alla direzione di movimento del macrofago

↪ FREEZE-ETCHING: si sottopone un campione a congelamento molto rapido (-190°; non si distruggono le strutture) → in ambiente sottovuoto, con un martelletto si frattura il campione nel punto di minor resistenza (parte idrofobica) → l'onda di frattura incontra proteine intrinseche che non si rompono ma si lasciano circumnavigare rimanendo attaccate a uno dei due foglietti (in quello con rapporti maggiori) → si opera una ombreggiatura (replica) metallica dei due foglietti, osservata al microscopio a temperatura ambiente → il versante interno del foglietto citoplasmatico presenta + proteine rispetto al foglietto esterno → dimostrato modello a mosaico (no manto continuo)

#### ↪ **COMPONENTE GLUCIDICA (GLICOCALICE)**

↪ localizzato solo sul versante esterno della membrana, formato da

- carboidrati legati a proteine (glicoproteine), più numerose
- carboidrati legati a lipidi (glicolipidi)
- glicosamminoglicani legati a proteine (proteoglicani di membrana)

↪ carboidrati + diffusi: acetilglucosammina, acido sialico, acetilgalattosammina, galattosio

↪ al M.E. si presenta come uno strato abbastanza alto, individuato grazie ad un legame con la ferritina (si lega alla componente glucidica)

↪ glicocalice molto aumentato nelle cellule tumorali

↪ FUNZIONI:

- protezione da insulti meccanici (es. da osteociti)
- riconoscimento e adesione tra
  - cellula e cellula: mediante famiglia di proteine CAM (non necessitano ioni Ca) e caderine (necessitano ioni Ca)
  - cellula e matrice extracellulare: a livello delle membrane, tramite le integrine, proteine politopiche → si ancorano al citoscheletro nel dominio intracellulare e alla fibronectina che interagisce coi proteoglicani nel dominio extracellulare

- filtro
- idrolisi terminale proteine e glucidi
- antigenica
  - riconoscimento "self" e "non self"
  - determina il complesso di istocompatibilità (MHC)
  - forma i gruppi sanguigno insieme ai glicolipidi
- recettoriale (ormoni, farmaci, virus)
  - ↳ ogni tipologia cellulare svolge solo una di queste funzioni

#### ↳ **MECCANISMI DI TRASPORTO**

##### 1. PASSIVO

- non mediato (diffusione semplice, trasporto passivo)
- mediato (trasporto passivo mediato)

##### 2. ATTIVO

##### 3. ENDOCITOSI (fagocitosi, pinocitosi)

##### 4. ESOCITOSI

↳ **TRASPORTO PASSIVO**: avvengono senza consumo di ATP, ha lo scopo di equilibrare i compartimenti intracell. ed extracell. (per diversa concentrazione ionica o di potenziale elettrochimico)

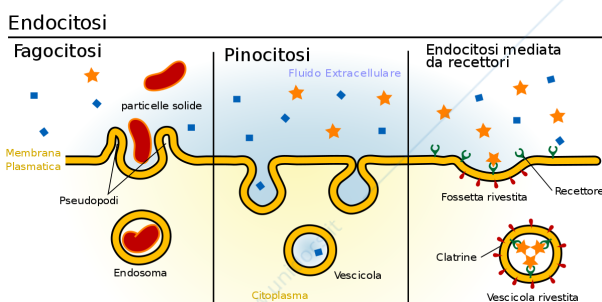
- **DIFFUSIONE SEMPLICE**: semplice movimento di sostanze, da una concentrazione più alta a una più bassa, senza aiuto di sistemi proteici; possono passare solo sostanze liposolubili, piccole molecole non polari (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>), piccole molecole polari non cariche (acqua, urea, etanolo) ma in modo molto più lento
- **TRASPORTO PASSIVO (diffusione facilitata)**: tramite canali specifici, normalmente chiusi
  - canale a controllo di voltaggio: si apre quando avviene la depolarizzazione (modifica nella distribuzione delle cariche sulla membrane), permette il passaggio di ioni
  - canale a controllo di ligando: presentano un sito di legame, si aprono quando il ligando si lega al sito (variazione conformazionale)
- **TRASPORTO PASSIVO MEDIATO**: il ligando entra nell'ambiente intracellulare insieme al carrier (proteina canale); trasporto più efficiente, poiché selettivo, la sua velocità è maggiore, vi è cinetica di saturazione, sensibile all'inibizione competitiva

↳ **TRASPORTO ATTIVO**: contro gradiente di concentrazione, si usa ATP per tenere chiusi canali ionici e per mantenere uno squilibrio ai lati della cellula; si utilizzano sistemi proteici

- **PORTA GIREVOLE**: proteina politopica con sito recettoriale in alto, l'arrivo del ligando modifica la conformazione (rotazione di 180°); consumo di 1 ATP per idrolisi per liberare il ligando all'interno della cellula e tornare alla situazione di partenza (flip-flop)
  - ↳ vero: l'ATP abbassa l'affinità e libera il ligando
  - ↳ falso: le proteine dovrebbero toccare le code idrofobiche

- **MODIFICAZIONE E ROTAZIONE DEL CARRIER:** proteina monotopica sul versante esterno, lega il ligando, si chiude e si sposta sull'altro foglietto, l'ATP scioglie il legame e libera il ligando
  - ↳ si tratta comunque di un movimento flip-flop
- **PORO OSCILLANTE:** modello in vigore, proteina transmembrana politopica, a riposo forma una V verso l'esterno, che ha in profondità il sito di legame → il ligando si lega, fa chiudere le  $\alpha$ -eliche in alto e le fa aprire in basso (V rovesciata) → movimento di oscillazione sul posto che fa entrare la sostanza, slegata dall'ATP → studiato a livello atomico tramite TEM (microscopio elettronico a trasmissione) ad alta risoluzione e diffrazione a raggi X (Abramson e altri, 2003), nell'Escherichia Coli
  - ↳ **MODALITÀ**
    - **UNIPORTO:** trasporto di un solo tipo di ione  
es: pompa  $H^+$ -ATPasi, pompa  $Ca^{2+}$ -ATPasi
    - **COTRASPORTO:** trasporto di sue molecole contemporaneamente
      - simporto (nella stessa direzione)  
es: pompa  $Na^+$  Glucosio-ATPasi
      - antiporto (direzioni opposte)  
es: pompa  $Na^+K^+$ -ATPasi
- **TRASPORTO  $H_2O$ :** diffonde attraverso il doppio strato, ma in maniera molto lenta, non vi sono inibitori → anni '60-'80: studi sulle membrane delle emazie → si dimostra che alcune membrane sono più permeabili di altre
  - ↳ si ipotizza che l'acqua sia trasportata da specifici complessi proteici (pori) → nel 1992 vengono scoperte per caso proteine trasportatrici di acqua, chiamate ACQUAPORINE:
    - velocità → 100 volte maggiore
    - inibizione tramite mercurio
    - presenti in tutti gli organismi
    - ruolo fondamentale nell'omeostasi dell'acqua
      - ↳ 1° proteina scoperta: AQP1 (P. Agre, 1988, isolata da m. emazie); 2° proteina: AQP0 (nella lente dell'occhio, scoperta già da prima ma non identificata)
      - ↳ tutte le acquaporine sono prot. politopiche, formate da 6 segmenti  $\alpha$ -elica transmembrana uniti da 5 tratti lineari (5 loops A-E), i terminali  $NH_2$  e  $COOH$  sono localizzati nel dominio citoplasmatico → a livello del loop B e E sono presenti 2 sequenze identiche (NPA) che formano il poro (carica positiva)
- ↳ **INIBITORI:**
  - irreversibili (distruggono definitivamente la capacità di azione enzimatica; es: insetticidi)
  - competitivi (si legano al sito attivo dell'enzima senza distruggerlo; entrano in competizione con il substrato naturale)

- non competitivi: si legano ad un altro sito attivo della molecola dedicato all'inibitore (con questo legame provoca una modificazione conformazionale della proteina, impedendo il legame con il substrato)
- **ENDOCITOSI**: dipende dai movimenti di membrana dovuti alla presenza del citoscheletro e dall'attività proteica
- **FAGOCITOSI**: la membrana estroflette due voragini chiamate pseudopodi che si chiudono mano a mano fino a portare dentro il materiale fagocitato, il vacuolo che crea prende il nome di fagosoma, intercettato poi dai lisosomi che si fonderanno con esso per eliminarlo; ha un aspetto più immunitario, in cui nel macrofago vi è un riconoscimento tra gli pseudopodi e le molecole presenti sul batterio (nb: le molecole sul batterio devono essere tutte conformemente distribuite su tutta la superficie per essere fagocitato)
  - **PINOCITOSI**: porta all'interno della membrana materiali in soluzione; può essere macropinocitosi (diametro minimo vescicole 200 nm) o micropinocitosi (diametro medio vescicole di 65 nm); vi è dunque un'assunzione di particelle disciolte e materiale liquido; si forma una vescicola poi intercettata dai lisosomi con enzimi idrolitici
  - **PINOCITOSI MEDIATA da recettori**: sono proteine politopiche il cui versante extracellulare è caratterizzato dal sito recettoriale per ligando, mentre il versante intracellulare è caratterizzato dal loro ancorarsi ai microfilamenti di actina, i quali permettono l'incurvatura della membrana e regolano il riconoscimento delle sostanze aiutati dalla proteina clatrina; quando il ligando viene intercettato i ricettori cercano si radunano in gruppi e la membrana comincia a invaginarsi, sostenuta dai microfilamenti che cambiano la loro disposizione (da paralleli diventano perpendicolari alla membrana); poi intervengono le clatrine che si assemblano formando cestelli di clatrina, utili a curvare la membrana; la vescicola poi ha un effetto di rotazione a molla e si stacca dalla membrana; una volta formata la vescicola la clatrina si dissolve e torna al sito originario (sotto la membrana plasmatica); nelle vescicole, con l'effetto della pompa protonica; i recettori si staccano dai ligandi, si produce citodieresi: 2 vescicole diverse (recettori/ligandi) → la vescicola coi recettori viene portata alla membrana plasmatica tramite il citoscheletro; la vescicola col ligando (endosoma) ha due vie:
    1. lisosoma I si fonde con endosoma;
    2. endosoma ha già materiale pronto utilizzabile dalla cellula e viene accolto dal Golgi.



→ la CLATRINA è una proteina formata da 3 catene pesanti esterne e 3 catene leggere interne che mantengono angolazione di  $120^\circ$  (forma a triskelion); i cestelli di clatrina sono un poligoni i cui lati derivano dalla sovrapposizione delle braccia di clatrina di diverse molecole;

- **TRANSCITOSI o DIACITOSI:** tipico delle cellule endoteliali; le vescicole (caveolae) si formano sul versante, attraversano la cellula e esocitano materiale al versante opposto (es: permette di portare una sostanza dal circolo sanguigno al connettivo); il materiale trasportato non subisce modifiche; le caveolae, grazie alle proteine caveoline, (monotopiche nel foglietto citoplasmatico) hanno superficie con striature più o meno parallele
- ↳ L'ENDOCITOSI esiste solo se esiste anche l'ESOCITOSI e viceversa: con l'endocitosi si eliminano unità di membrana che devono essere reintegrate con l'esocitosi; in questo modo vi è un continuo rinnovo della membrana plasmatica

## 2. CITOSOL

↳ distinzione tra citoplasma e citosol: il citoplasma è la regione tra involucro nucleare e membrana plasmatica (comprende citosol e organuli), il citosol è una componente del citoplasma, una sostanza semifluida con 85% di acqua, e contiene proteine, enzimi, sali e sostanze solubili; è un colloide (combinazione acqua-proteine)

↳ COLLOIDI:

- fase disperdente + fase dispersa
  - stato di sol: f. dispersa discontinua
  - stato di gel: f. dispersa continua
- non attraversa la membrana dializzante
- le particelle disperse presentano una marcata diffrazione della luce (effetto di Tyndall)
- interfaccia fase dispersa/fase disperdente ha carattere viscoso

↳ nel citosol la fase disperdente è composta da acqua e soluti, la fase dispersa da macromolecole; è un sistema polifasico eterogeneo e si presenta in uno stato di gel molto disperso; è la sede di sintesi di glicogeno, metaboliti intermedi fosforilati, è sede della glicolisi anaerobica

## 3. CITOSCHELETRO

↳ è un complesso proteico che lega gli organuli cellulari alla membrana; ha una funzione sia di sostegno sia di movimento, poiché la sua struttura non è stabile

↳ ELEMENTI: è formato da tre tipi di proteine polimerizzate in strutture filamentose:

- microfilamenti
- microtubuli
- filamenti intermedi

↳ microfilamenti e microtubuli sono strutture comuni in tutti gli eucarioti ma assenti nei procarioti; i filamenti intermedi differiscono in base al tipo cellulare e la loro espressione determina il differenziamento cellulare; i filamenti possono collegarsi tra loro o con altri tipi di proteine, determinando le proprietà funzionali del citoscheletro (es: adesione e giunzione di cellule adiacenti, movimento attraverso ATP); è visibile con microscopio ottico ad alto voltaggio

↳ MICROFILAMENTI:

- diametro: ~ 7nm
- monomero: actina G (globulare) → tra le più abbondanti e conservata negli eucarioti; forma i microfilamenti, con un'incisura centrale dove è legata 1 ATP; una volta polimerizzata l'actina forma catene lineari riunite in coppie in una doppia spirale → actina F. → 2 filamenti di actina F formano un 1 microfilamento

↳ DINAMICA DI POLIMERIZZAZIONE:

- fase di latenza: avvio (lento), formazione del primo dimero
- fase di nucleazione: al dimero si lega una terza molecola, formando un trimero e aumentando il potere di adesione
- fase di crescita: la velocità di polimerizzazione aumenta
- fase di equilibrio: polimerizzazione bilanciata da egual distacco di monomeri dall'estremità opposta → si stabilisce una polarità del filamento con un'estremità + in cui la crescita avviene con l'aggiunta di monomeri e una - in cui l'aggiunta è più lenta → fenomeno del treadmilling: continuo flusso di monomeri che si aggiungono a + e che poi si staccano da -, creando cambiamenti di forma e flusso

↳ la velocità di polimerizzazione dipende da diversi fattori:

- concentrazione di molecole di actina G libere
- presenza di ioni  $Mg^{2+}$  e molecole ATP → si legano nell'incisura del monomero → le molecole di ATP formano una zona all'estremità + che dà maggior stabilità, denominata cappuccio ad ATP, poi si idrolizza (verso estremità -) in ADP → fenomeno di depolimerizzazione

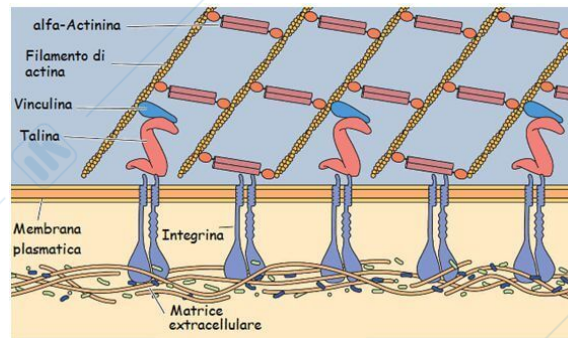
↳ polimerizzazione e depolimerizzazione influiscono sul movimento

↳ FUNZIONI:

- motilità cellulare: non hanno una lunghezza costante poiché devono essere molto flessibili
  - movimento ameboide (garantito dalla transizione costante da stato sol a stato gel)
  - contrazione muscolare
  - diapedesi leucociti (uscita dei g. bianchi dai vasi)
  - migrazione cellule mesenchimali e creste neurali durante embriogenesi
  - ciclosi (movimento dei cloroplasti lungo il perimetro della cellula, per avere il corretto orientamento rispetto alla radiazione solare)

↳ LOCALIZZAZIONE: in prossimità del plasmalemma a formare la trama terminale (terminal web), ancorati alla faccia interna del plasmalemma tramite alcune proteine → es: integrine, legate a catene proteiche di tre proteine: talina, vinculina, alfa-actinina, a loro volta legate al terminal web dei

microfilamenti di actina → formazione microfilamento ↔  $\alpha$ -actina ↔  
vinculina ↔ talina ↔ integrina (membrana)



→ **PROTEINE ASSOCIATE:** le funzioni dell'actina sono regolate da proteine ABP (actin binding protein):

- stabilizzatori di monomeri di G actina, li preservano dalla degradazione (es: timosina)
- proteine che tagliano i microfilamenti, attaccandosi all'estremo +, impediscono l'allungamento → più i microfilamenti sono corti più il citosol è fluido (es: gelsolina)
- proteine che creano dei fasci longitudinali (es: fimbrina, villina, alfa-actinina)
- proteine che formano legami trasversali tra microfilamenti (es: filamina)
- proteine che bloccano gli estremi di un microfilamento per impedire una modifica (es: Zcap)
- proteine che ancorano i microfilamenti alla membrana senza mediazione di proteine transmembrana (es: spectrina, presente nelle emazie)
- proteine motrici: appartengono alla famiglia delle miosine, (Miosina I e II più abbondanti), tutte hanno attività ATPasica
  - miosina I: presente in tutti i tipi cellulari, costituita dalla testa formata da una catena pesante (siti per actina e ATP), il collo e la coda costituiti da catene leggere (siti di legame per componenti cellulari); funzioni: spostamento vescicola rispetto al microfilamento, spostamento del microfilamento rispetto alla membrana plasmatica
  - miosina II: 2 teste (estremità globulare) a cui si legano 2 diversi tipi di catene leggere disposte specularmente, coda (parte lineare) formata due catene pesanti ad  $\alpha$ -elica; fanno scorrere i microfilamenti uno sull'altro; funzioni: contrazione muscolare, contrazione di fasci contrattili citoscheletrici di cellule non muscolari, formazione dell'anello contrattile al centro della cellula in citodieresi