



Corso di laurea in *Biotechnologie*

**UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI TERAMO**

***Fisiologia cellulare
e
Laboratorio di colture cellulari***

Prof.ssa Luisa Gioia

**C.I. Fisiologia Cellulare e Immunologia
(Proff. Gioia/Tiscar) 11CFU**

Modulo:
**FISIOLOGIA CELLULARE E
LABORATORIO DI COLTURE CELLULARI
(6CFU)**

Docente: *Prof.ssa Luisa Gioia*

FISIOLOGIA CELLULARE E LABORATORIO DI COLTURE CELLULARI

Docente: *Prof.ssa Luisa Gioia*

FISIOLOGIA CELLULARE

La cellula come unità funzionale autonoma.

Meccanismi di trasporto attraverso la membrana cellulare.

Meccanismi di diffusione da e per la cellula. L'osmosi. I canali ionici, cinetica, selettività e possibilità di controllo.

Caratteristiche bioelettriche della membrana cellulare. *Le cellule eccitabili, la cellula nervosa e muscolare, la placca neuromuscolare.*

Funzioni degli organuli cellulari (nucleo, RE, Golgi, mitocondri, lisosomi, perossisomi).

Ciclo cellulare e sua regolazione

Funzioni del citoscheletro. Il fuso cellulare: funzioni e regolazione.

Trasporto intracellulare: Rapporti nucleo-citoplasma: i pori nucleari, l'importazione e la esportazione nucleare. Smistamento proteine

La matrice extracellulare.

Meccanismi di relazione intercellulare. I segnali endocrini, paracrini, autocrini ed i rapporti giunzionali.

SIGNALING: le proteine di membrana, il segnalamento trans-membranario ed i messaggeri intracellulari.

LABORATORIO COLTURE CELLULARI

Equipaggiamento di laboratorio. Generalità sulle colture cellulari. Dai tessuti alle cellule: disgregazione meccanica ed enzimatica di tessuti volta all'isolamento delle cellule. Conteggio cellulare. Metodiche per la valutazione dell'integrità di membrana. Caratteristiche fondamentali delle

Testo di **FISIOLOGIA CELLULARE**



Zanichelli

Zanichelli editore S.p.A.
via Invernio, 34 - 40126 Bologna
tel. +39 051 293.111/245.024
fax +39 051 249.782

**B. ALBERTS - A. JOHNSON - J. LEWIS -
M. RAFF - K. ROBERTS - P. WALTER**

**BIOLOGIA MOLECOLARE DELLA
CELLULA**

Traduzione di Giorgio Corte

pp. 1680 + XXXII
ISBN 88-08-07891-4

Testo di **COLTURE CELLULARI**

INTRODUZIONE ALLE COLTURE CELLULARI

*G.L. Mariottini, V. Capicchioni, L. Guida, F. Mattioli, S. Penco,
P. Romano, L. Scarabelli*

II edizione - Tecniche Nuove

Alcune indicazioni utili...

- Prenotazione appello C.I. esame: on line obbligatoria
- Suddivisione in gruppi e prenotazione alle attività pratiche in laboratorio. Obbligo del camice

Oggi sulla Terra vi sono da 10 a 100 milioni di **specie viventi**

➤ Gli organismi viventi appaiono straordinariamente *diversi* tra loro eppure tutti sono fatti di **CELLULE**



(B)



(D)



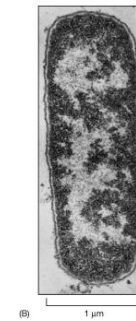
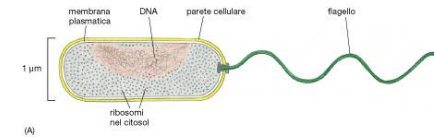
(F)

- *In base alla struttura cellulare gli organismi viventi si dividono in 2 gruppi:*

PROCARIOTI

Batteri

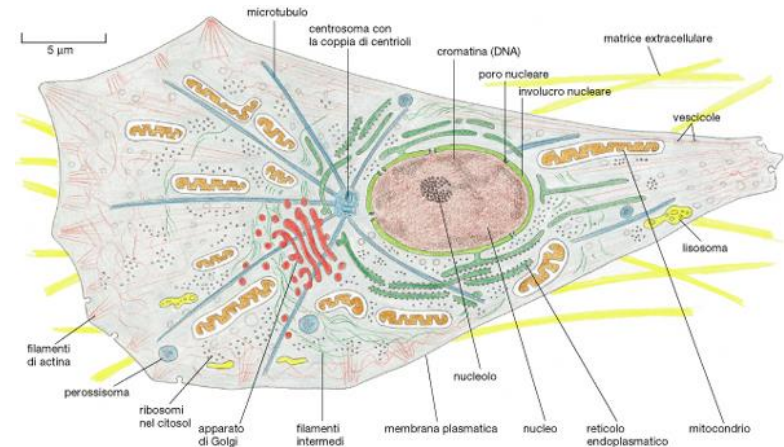
Vibrio cholerae



E. coli

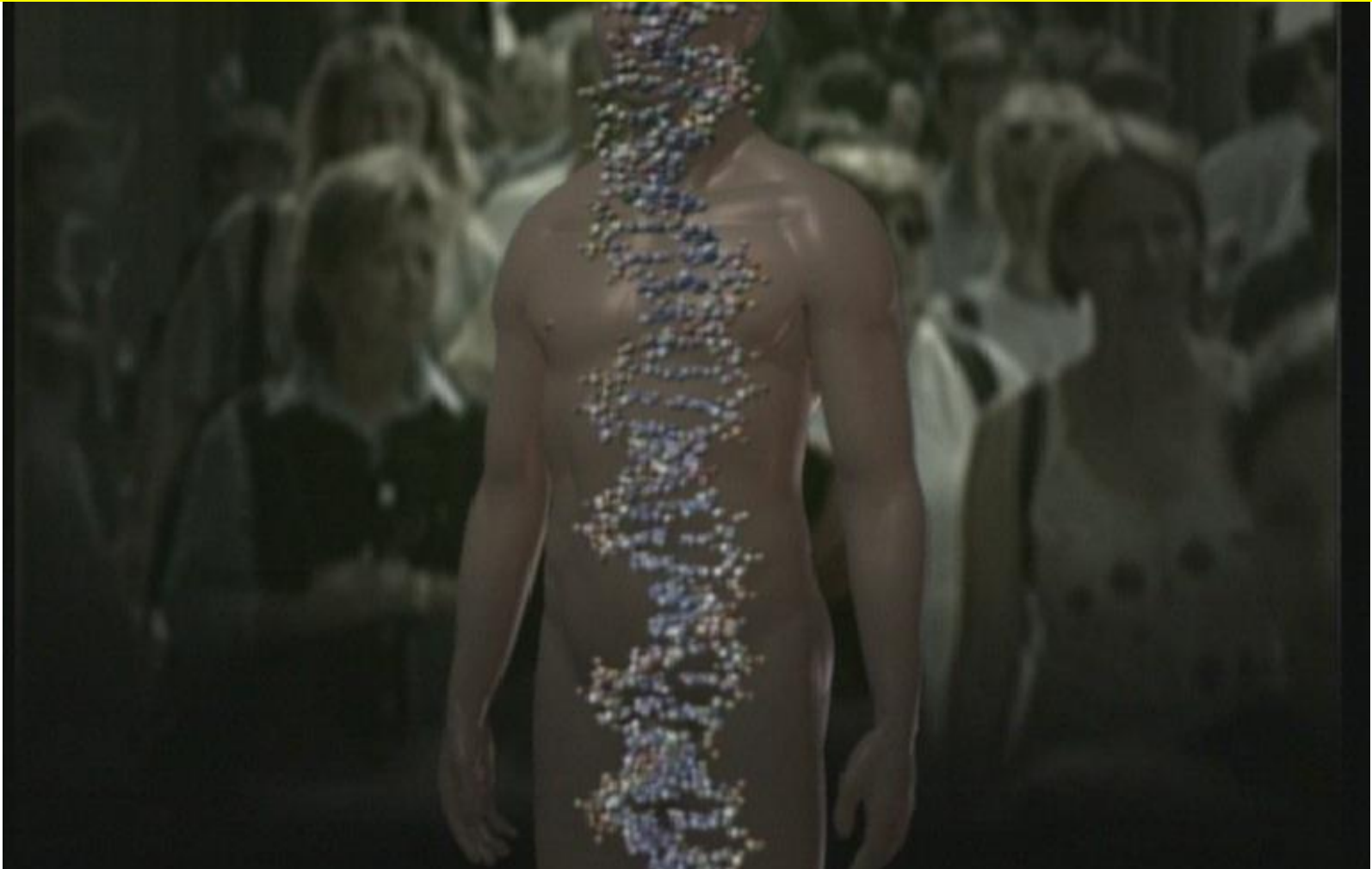
EUCARIOTI

**Vegetali
Funghi
Animali**



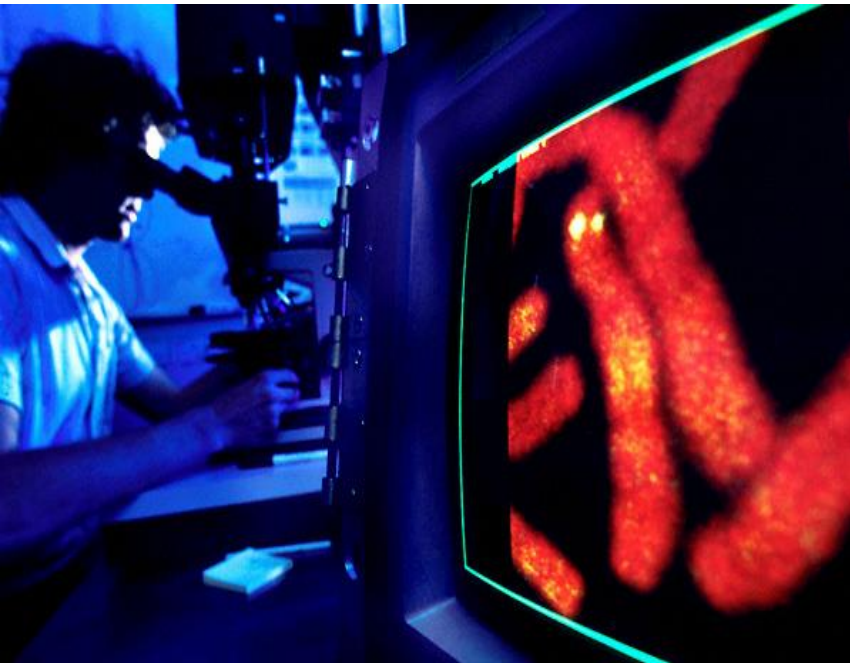
Cellula eucariotica animale

Gli esseri viventi si riproducono trasmettendo
la loro **informazione genetica** alla progenie



Ogni cellula esistente sulla Terra conserva tutte le sue informazioni nella stessa forma chimica, il **DNA**, una molecola a doppio filamento

Il DNA nelle cellule eucariotiche è contenuto nel nucleo e può essere evidenziato mediante colorazioni specifiche

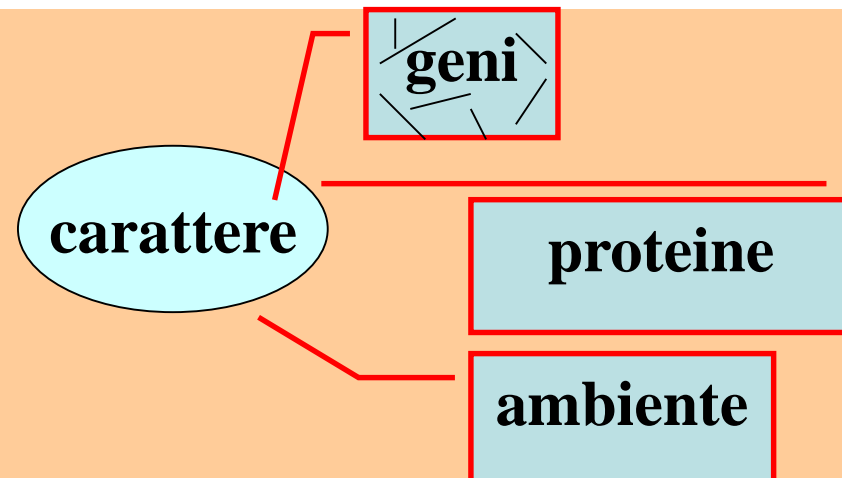


alcune informazioni....

- **La molecola a doppia elica del DNA se srotolata sarebbe lunga 1,8 metri!**

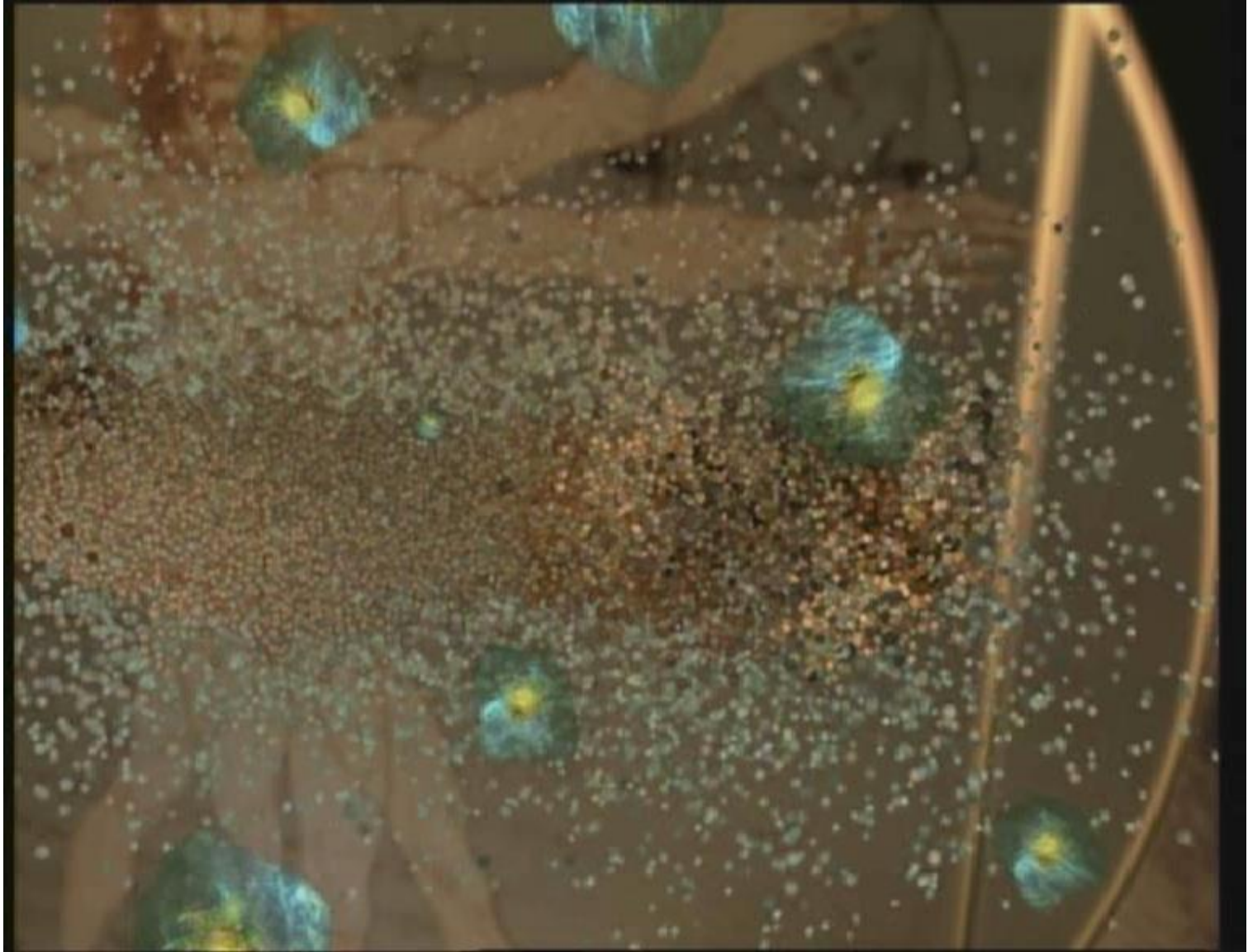
in essa sono scritte sotto forma di geni le istruzioni necessarie a determinare tutte le nostre caratteristiche

- **I geni umani sono 30.000-40.000**

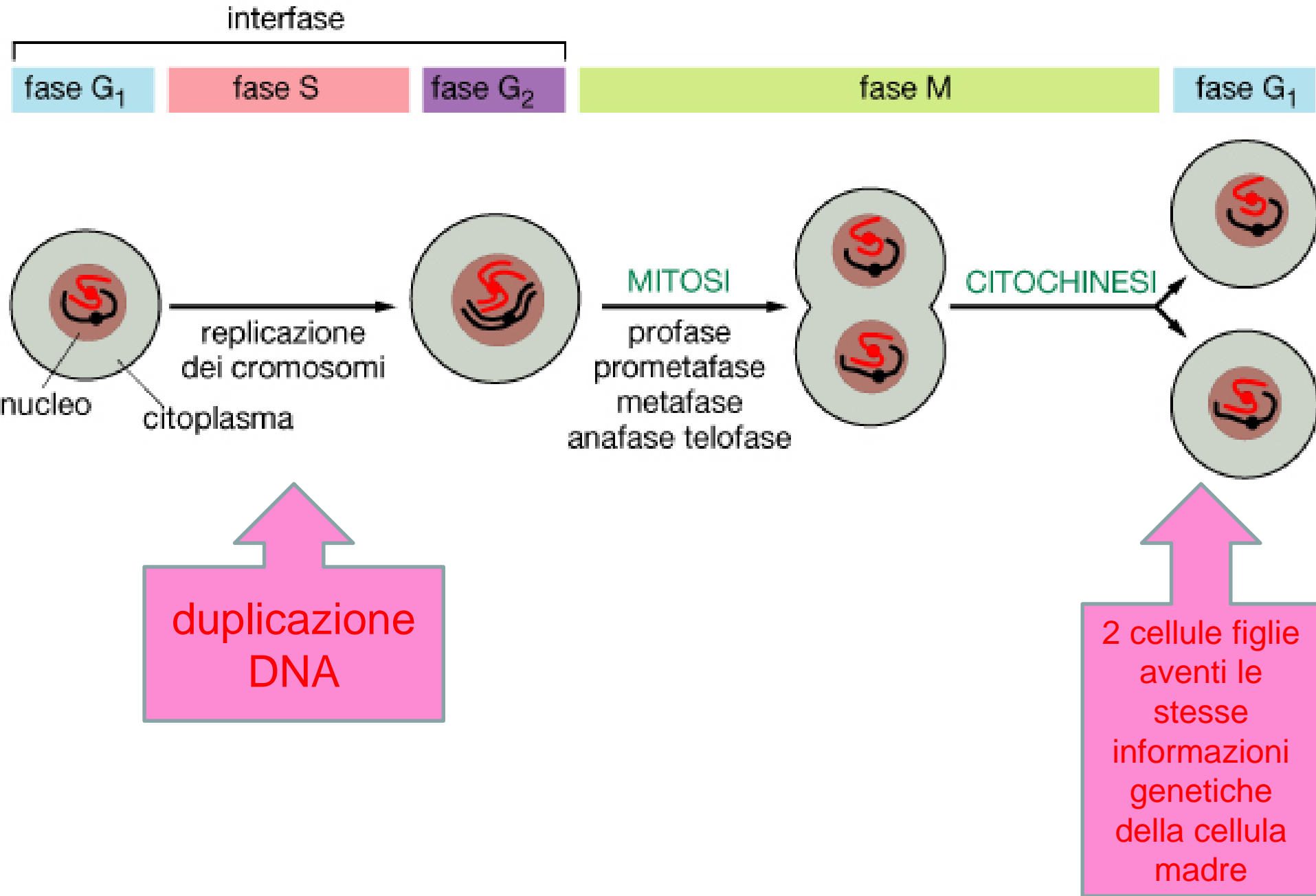


ciò che il gene produce è quello che determina la nostra complessità di esseri umani!

La **cellula** è l'unità minima che si riproduce



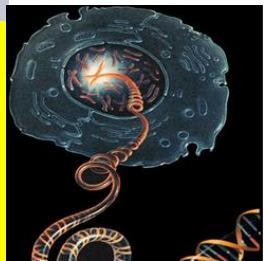
CICLO CELLULARE



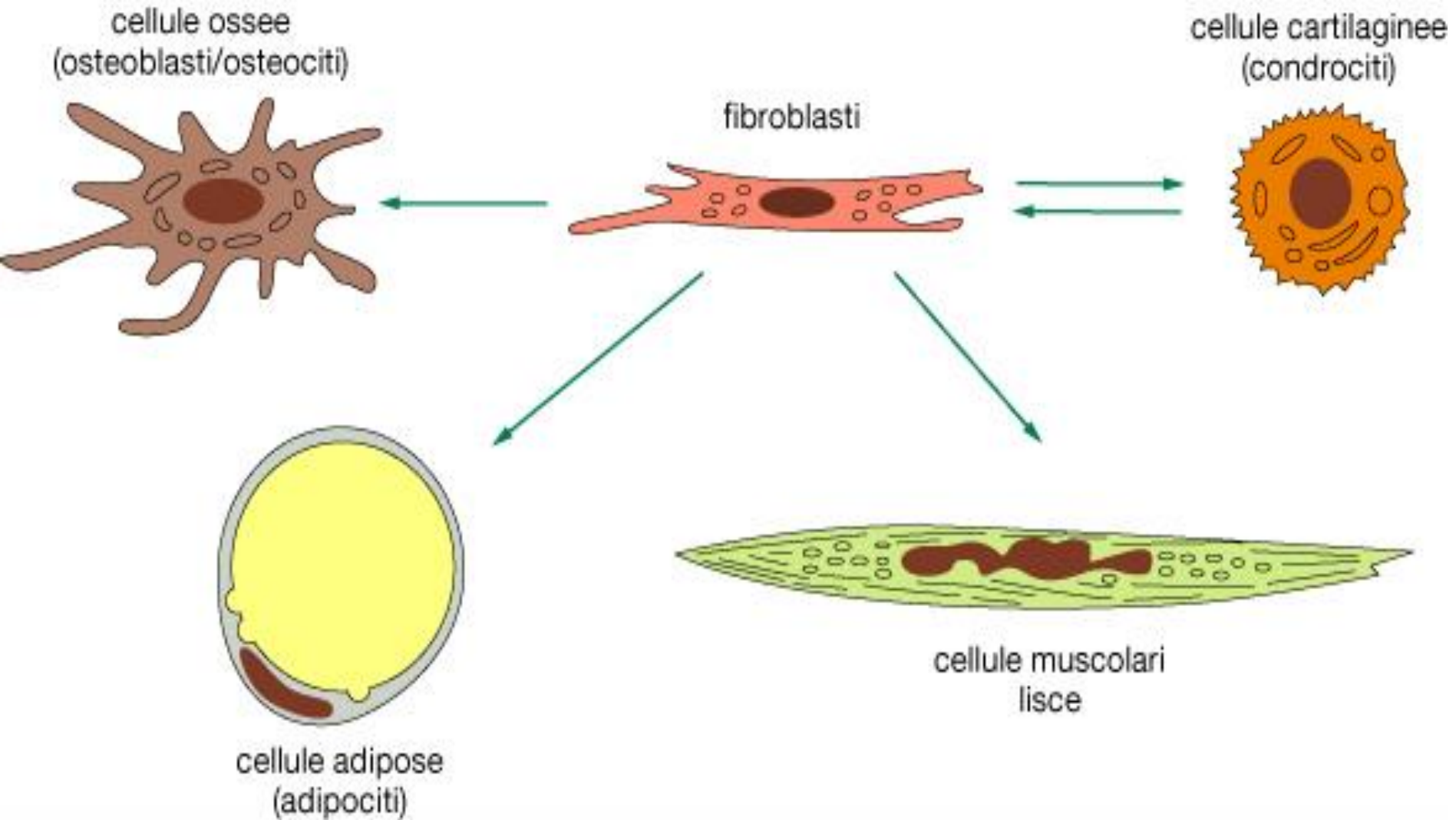
Tutte le cellule di un organismo derivano da un'unica cellula (zigote) da cui si sviluppa l'embrione

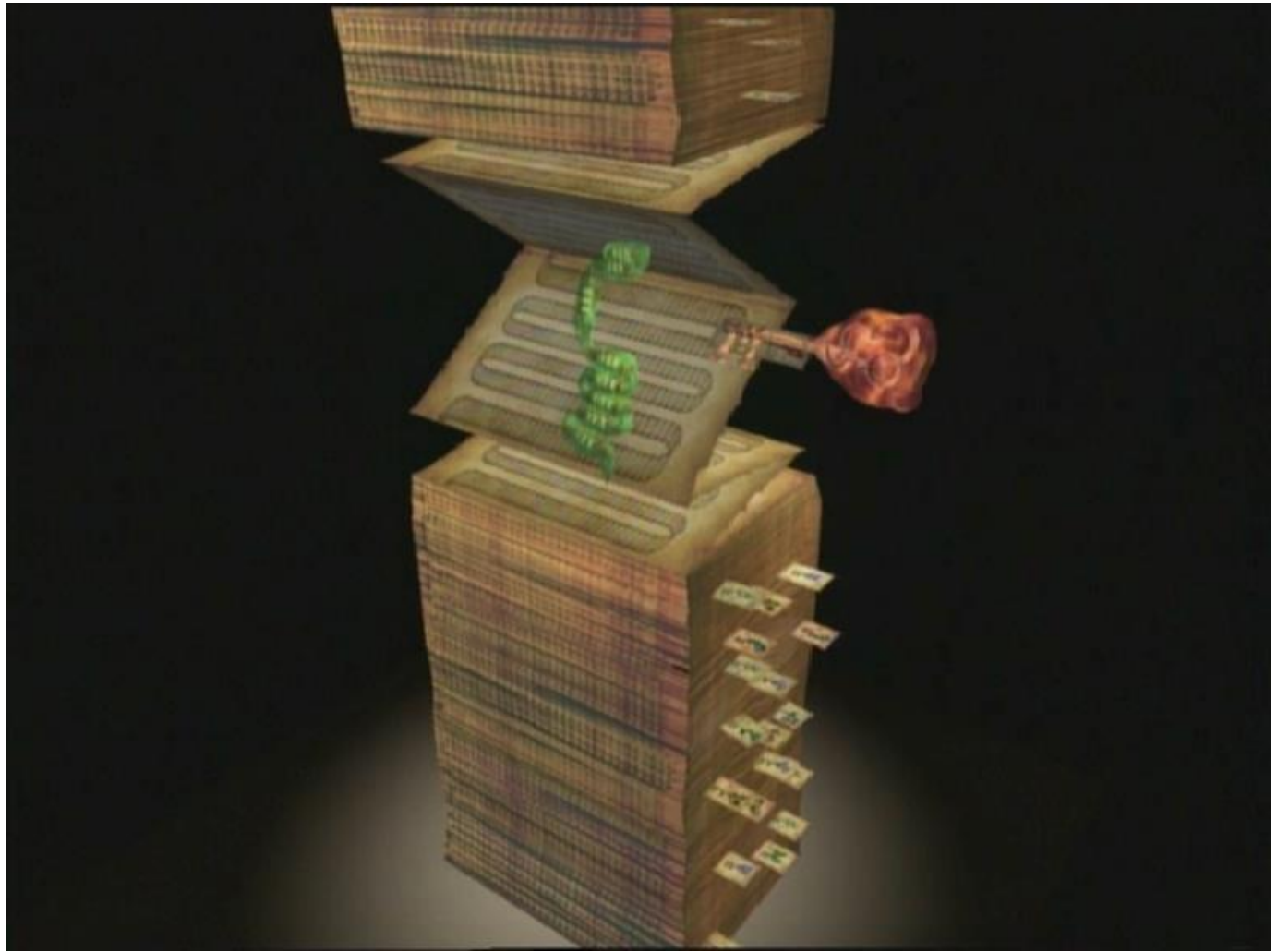


Tutte le cellule dell' organismo possiedono pertanto lo stesso patrimonio genetico eppure....

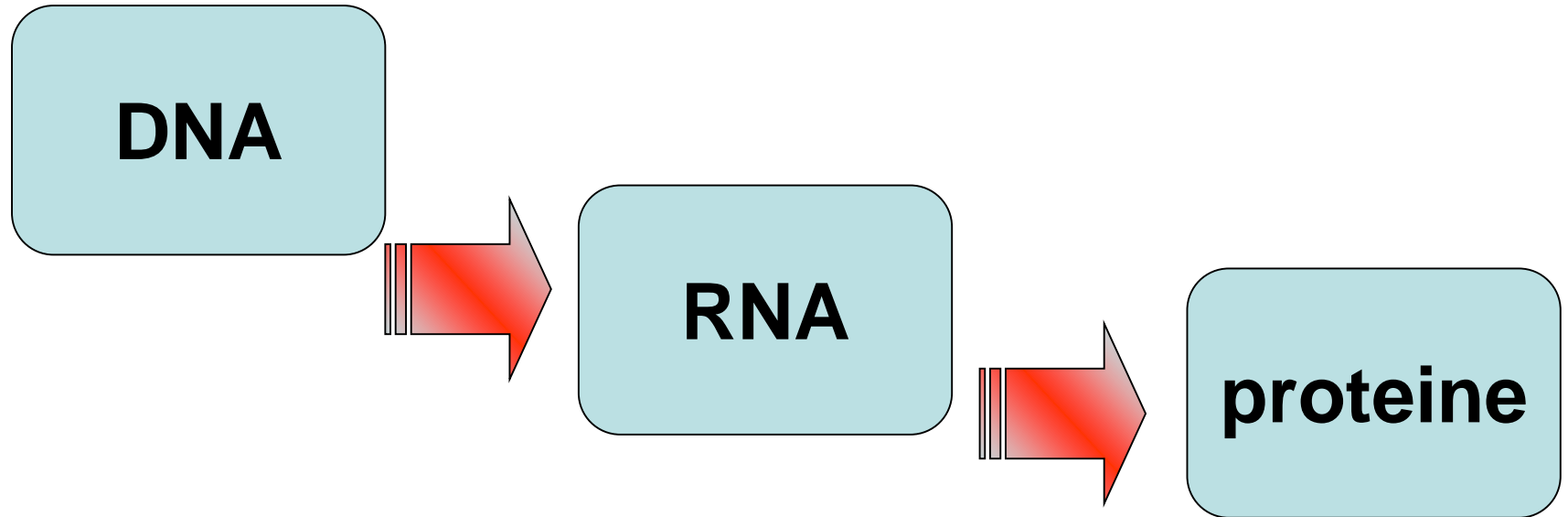


differentiamento



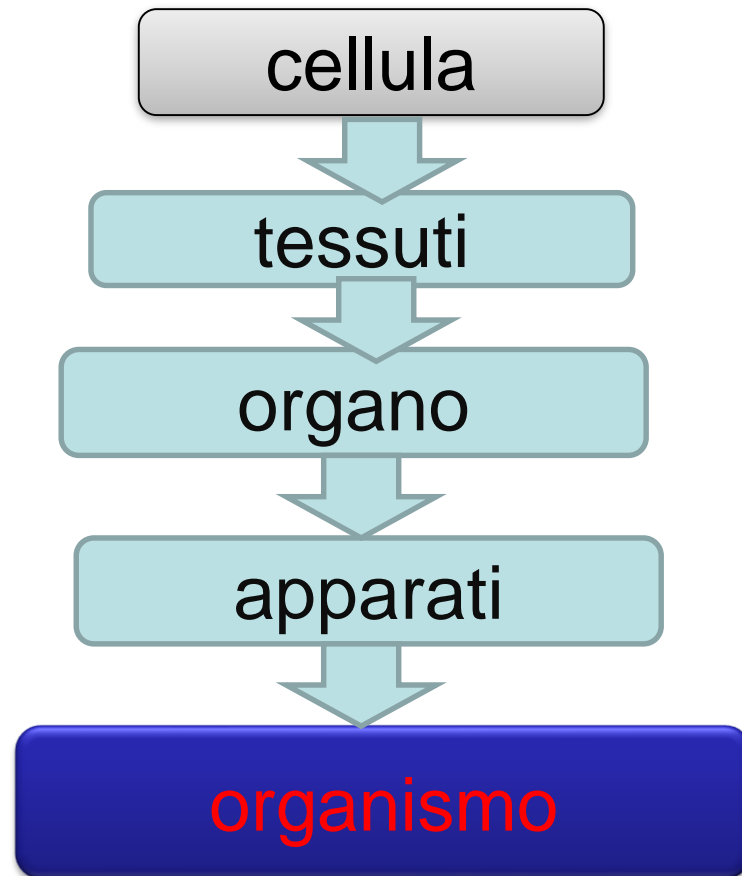


FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA



ORGANISMI PLURICELLULARI

sono organizzati in modo progressivamente più complesso



Le caratteristiche universali delle cellule

Tutte le cellule...

➤ Contengono **4 famiglie principali di molecole organiche**

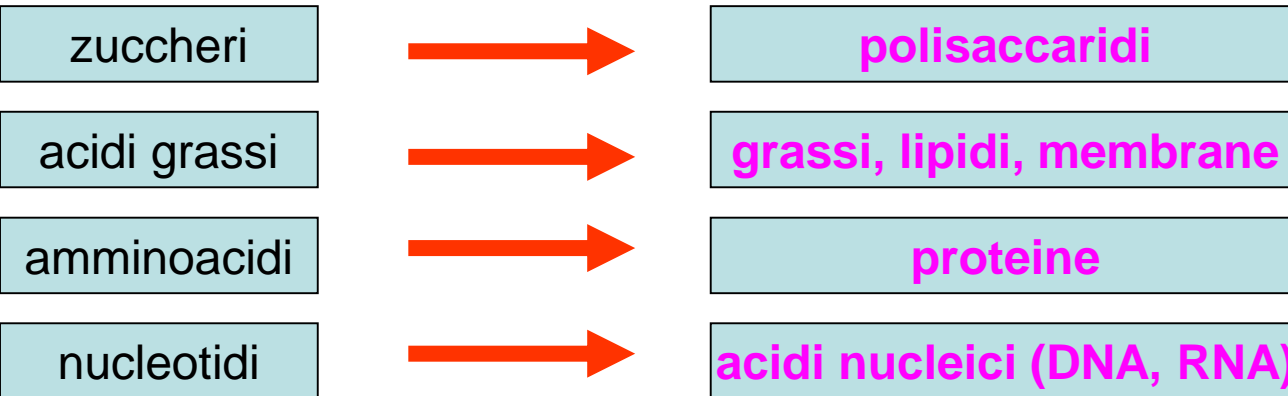
- zuccheri (fonte di energia e subunità dei polisaccaridi)
- acidi grassi (componenti delle membrane cellulari)
- amminoacidi (subunità delle proteine)
- nucleotidi (ATP; subunità del DNA ed RNA)

- le piccole molecole organiche sono **basate sul carbonio**;
- sono **essenzialmente le stesse per ogni specie vivente**;
- sono **tutte costituite da una piccola serie di atomi legati tra loro con legami covalenti**.

Le caratteristiche universali delle cellule

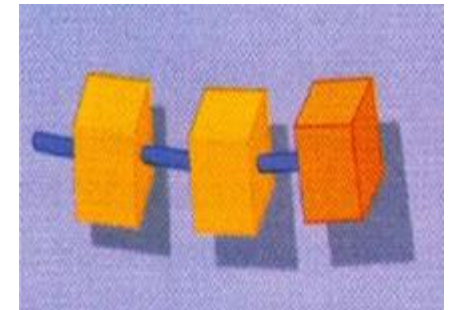
Tutte le cellule...

- Funzionano da **fabbriche biochimiche** che utilizzano le stesse unità molecolari di base

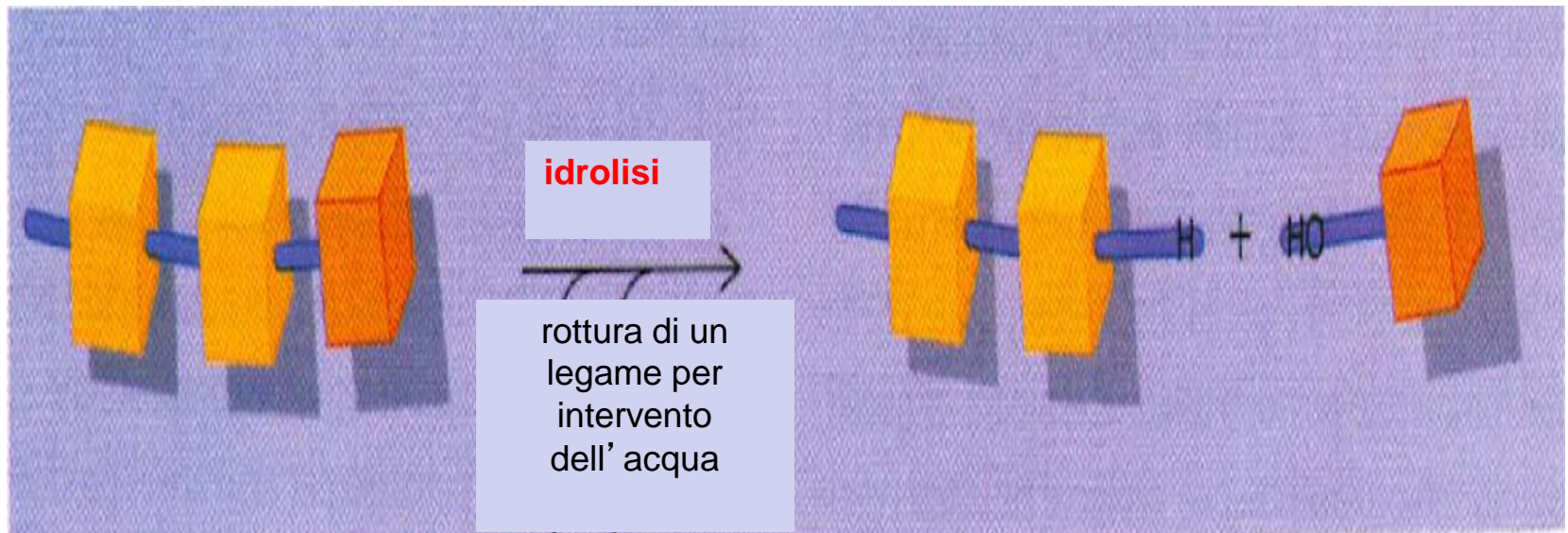


macromolecole

Una **macromolecola** è formata da più molecole organiche (**monomeri**) legati insieme da legami covalenti in lunghe catene



Una macromolecola è dissociata per **IDROLISI** dei legami che la tengono unita (reazioni catalizzate da enzimi specifici)



reazioni catalizzate da enzimi specifici

SUBUNITÀ

legami covalenti

MACROMOLECOLE

legami non covalenti

COMPLESSI
MACROMOLECOLARI



ad esempio,
zuccheri, amminoacidi
e nucleotidi

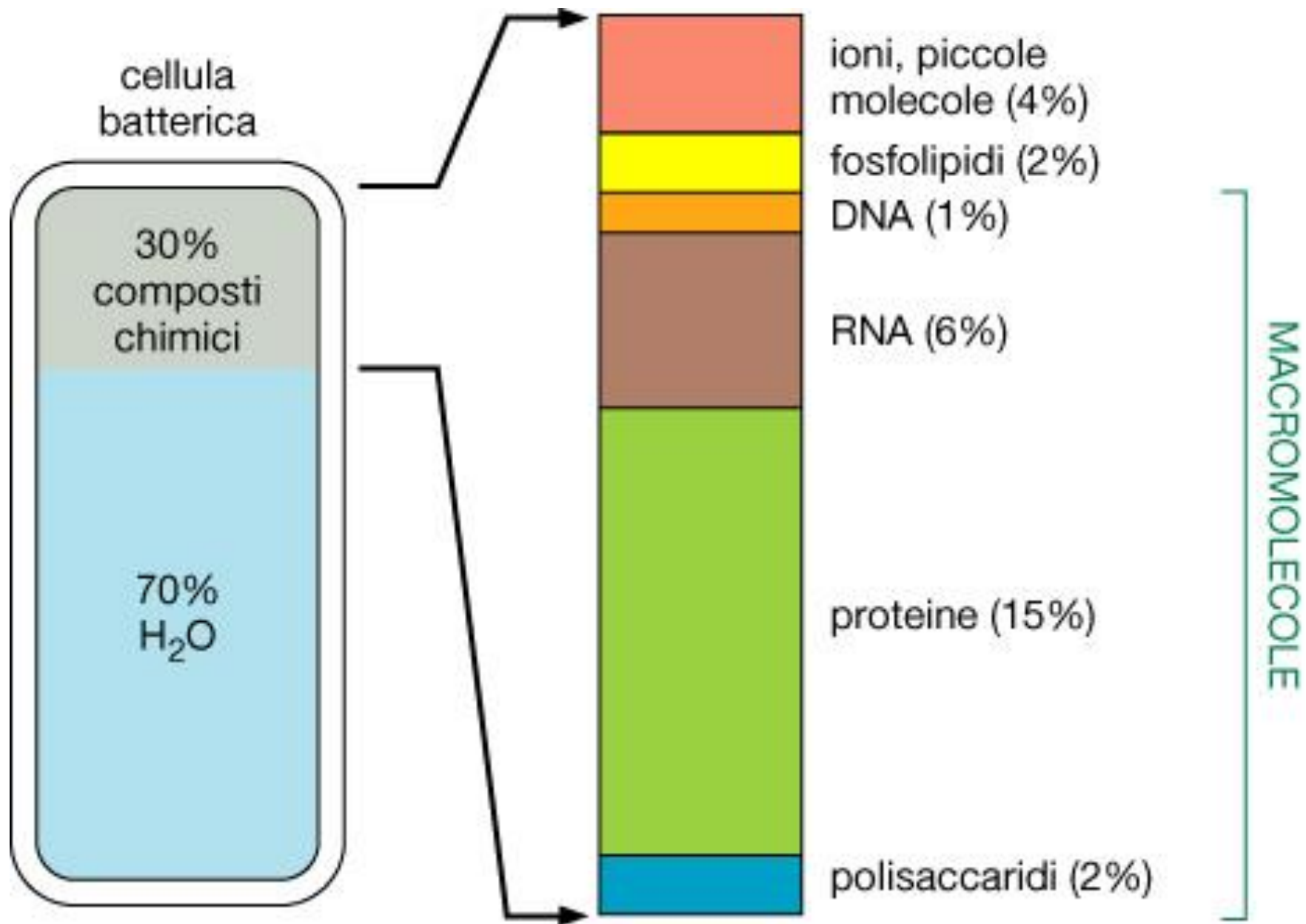


ad esempio,
proteine globulari e RNA



30 nm

ad esempio, ribosoma



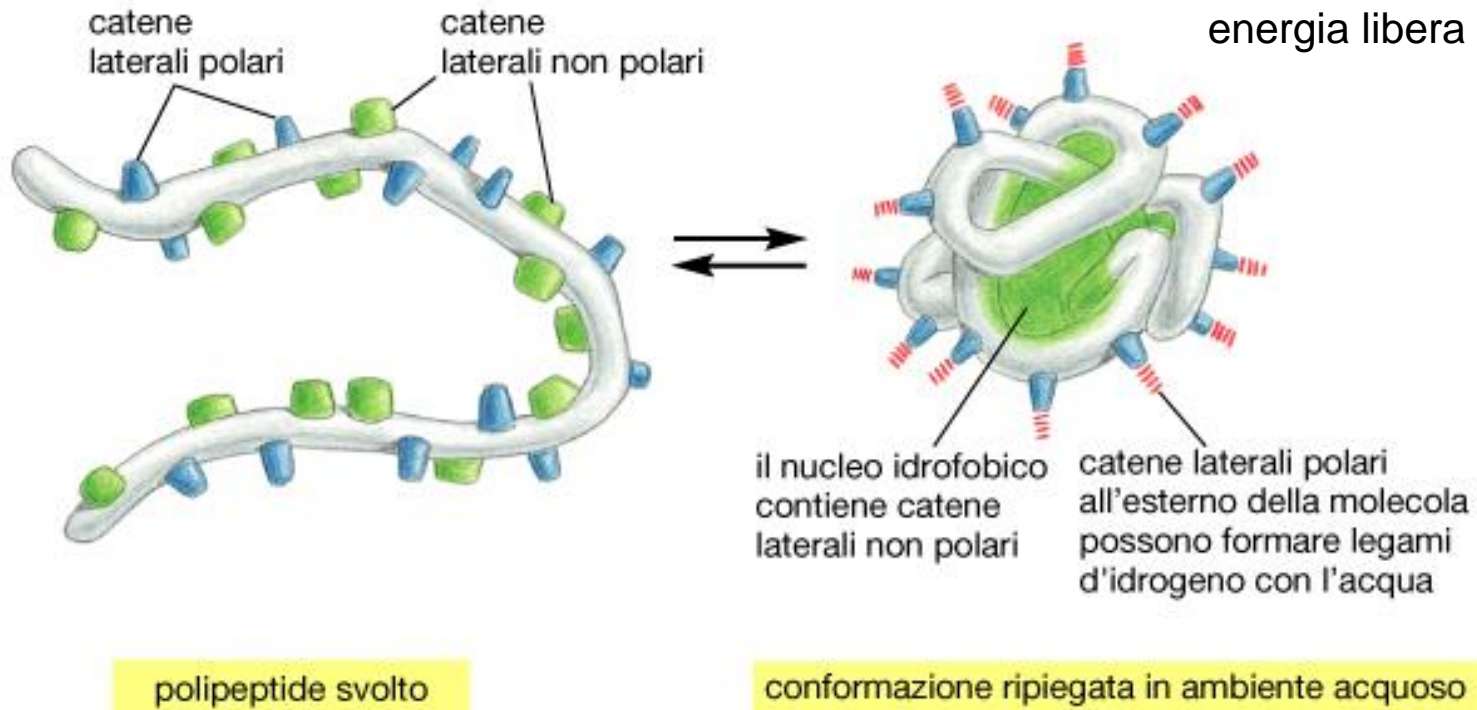
Le proteine svolgono numerose funzioni nella cellula

alcuni esempi....

- *Catalizzatori delle reazioni* ENZIMI
- *Componenti strutturali* TUBULINA, ISTONI
- *Produzione di movimento* MIOSINA (muscolo)
- *Diffusione piccole molecole fuori e dentro la cellula* CANALI E POMPE DI MEMBRANA
- *Comunicazione cellula/cellula e cellula/ambiente* NEUROTRASMETTITORI
RECETTORI
- *Sistema immunitario* ANTICORPI
- *Altro* ORMONI, TOSSINE,...

la forma di una proteina è determinata dalla sequenza dei suoi amminoacidi

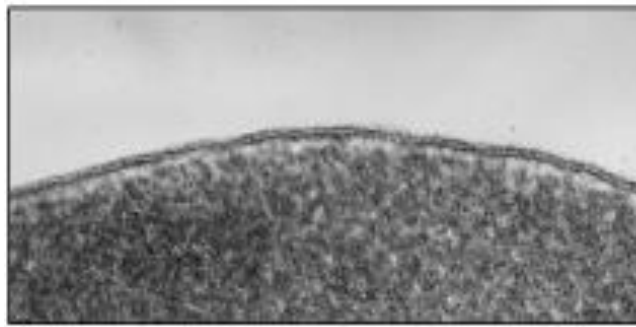
le proteine si ripiegano nella conformazione con energia libera più bassa



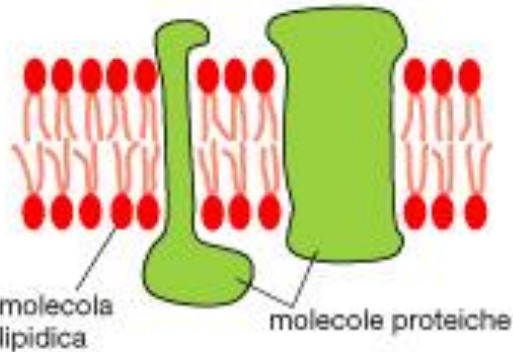
Le proteine più grandi spesso contengono più di una catena polipeptidica (es. emoglobina)

Tutte le cellule sono racchiuse da una **MEMBRANA PLASMATICA** (membrana cellulare)

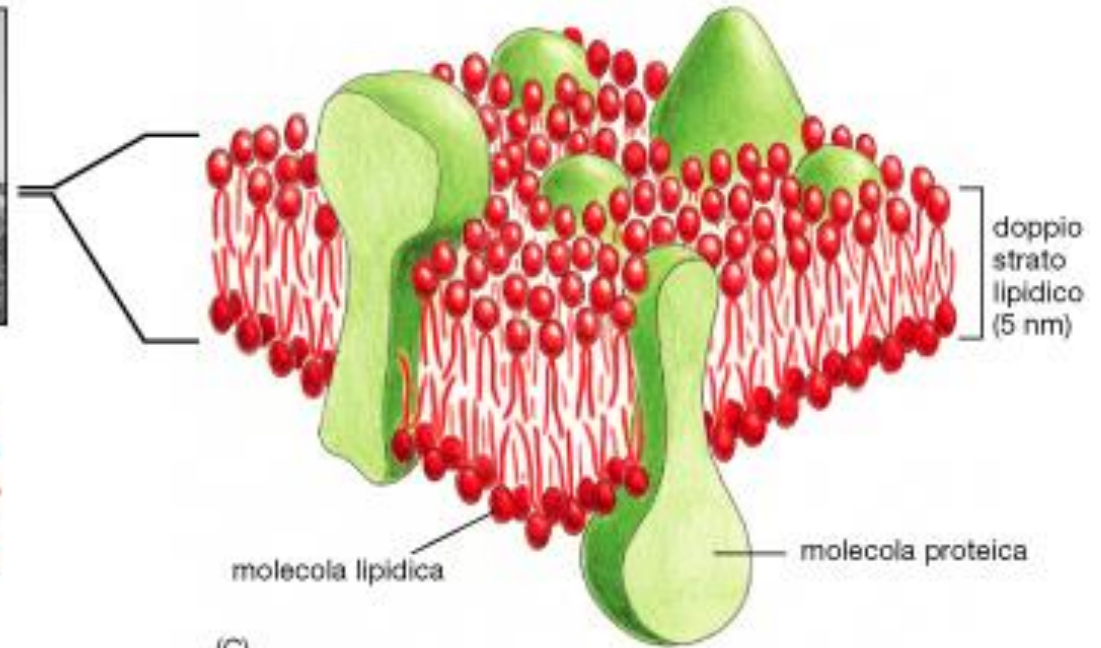
Struttura comune generale: film di **molecole lipidiche** e **proteiche** tenute insieme principalmente da interazioni non covalenti



(A)



(B)

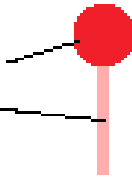


(C)

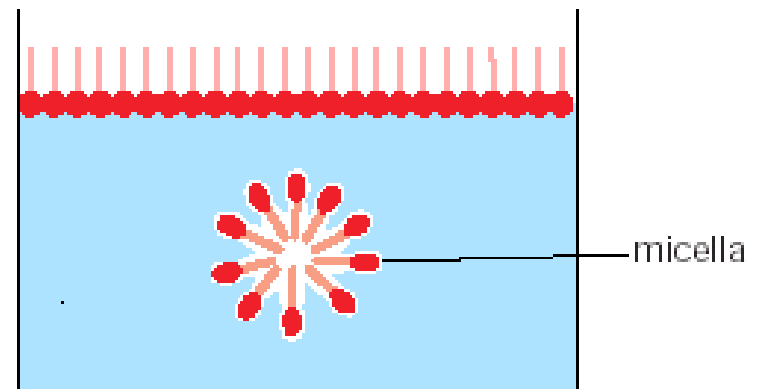
I lipidi di membrana più abbondanti sono i **fosfolipidi**

Aggregati lipidici

Gli acidi grassi hanno una testa idrofilica e una coda idrofobica.



In acqua possono formare un film superficiale o formare piccole micelle.



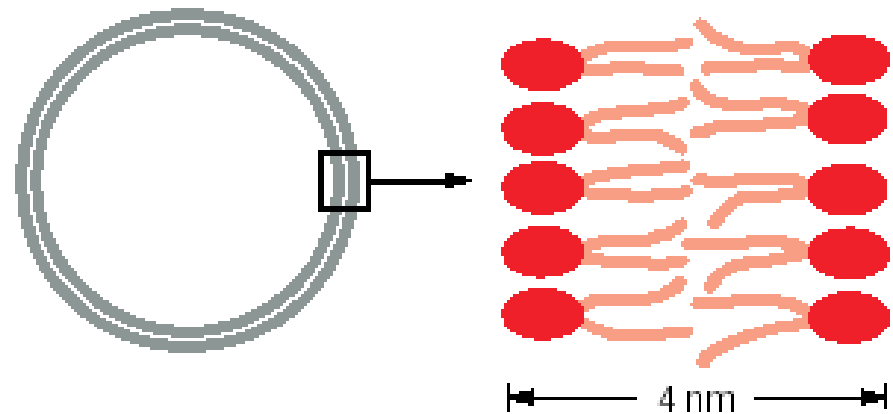
I loro derivati possono formare aggregati più grandi tenuti insieme da forze idrofobiche:

I **trigliceridi** possono formare goccioline sferiche di grasso nel citoplasma della cellula.



200 nm
o più

I **fosfolipidi** e i **glicolipidi** formano doppi strati lipidici che si autosigillano che sono la base di tutte le membrane cellulari.

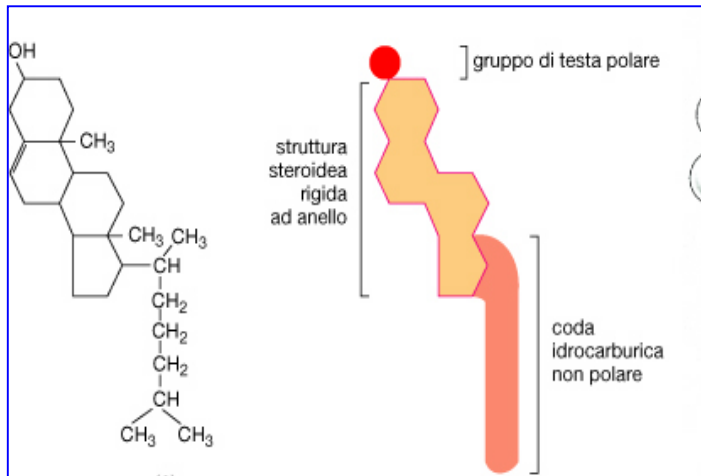


Le membrane biologiche sono come liquidi bidimensionali

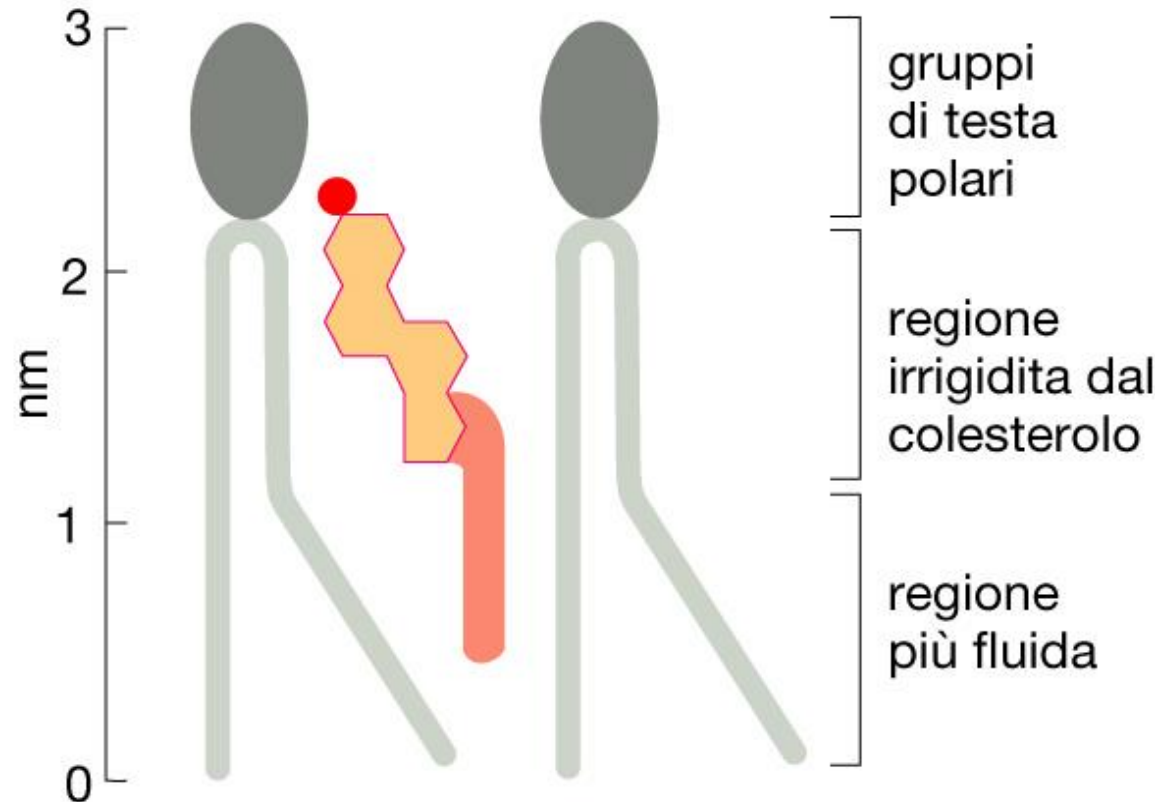
fluidità di membrana

- **Rapida diffusione laterale** dei fosfolipidi
- ***Flip-flop*** raro in assenza dei traslocatori dei fosfolipidi
- **Colesterolo** → regola la plasticità delle membrane
- Composizione della membrana: **4 fosfolipidi diversi** (ruolo strutturale; fosfatidilserina: carica negativa); **inositol fosfolipidi** (ruolo importante nel *signaling*)

Il doppio strato lipidico di molte membrane cellulari contiene anche **COLESTEROLO** E **GLICOLIPIDI**



struttura del **colesterolo**



aumenta le proprietà di barriera di permeabilità del doppio strato lipidico



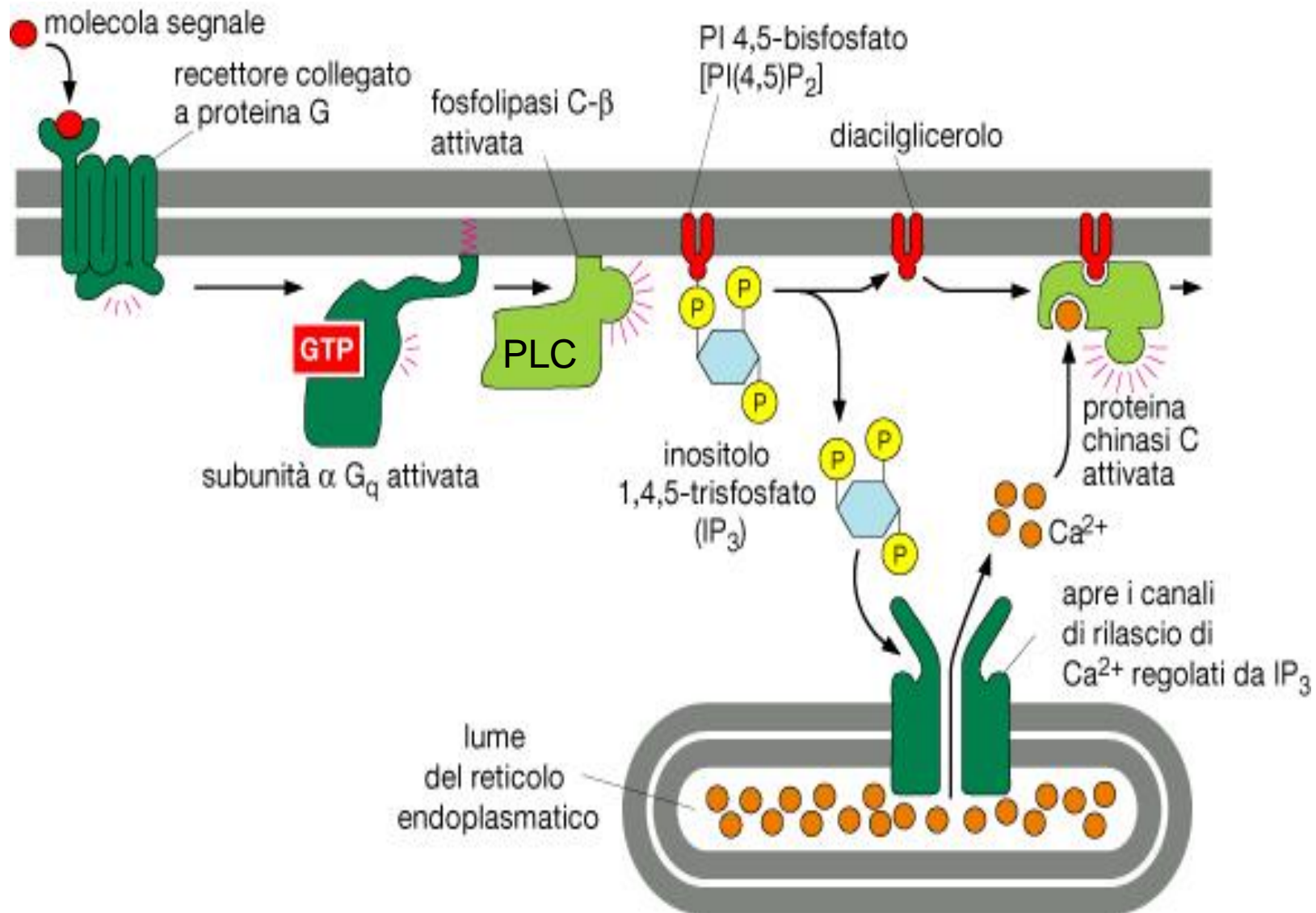
Le membrane plasmatiche dei batteri non contengono colesterolo

La membrana cellulare non è omogenea, presenta delle specializzazioni funzionali

asimmetria del doppio strato lipidico

➤ **molti enzimi**, ad es. PKC (via di trasduzione PIP2-IP3), sono legati solo sul versante citosolico

➤ inositol fosfolipidi e fosfolipasi (importanti per il signaling)



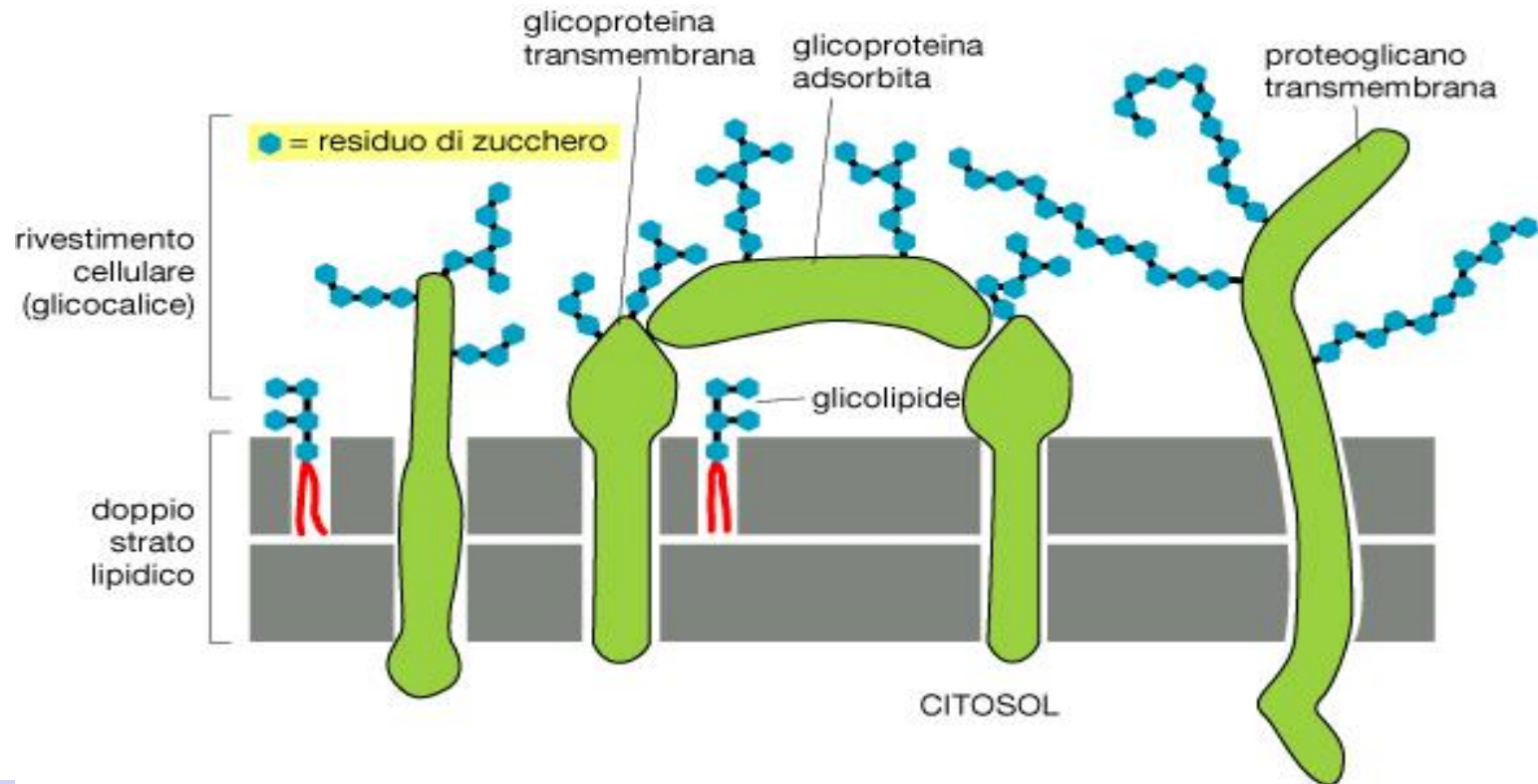
La membrana cellulare non è omogenea, presenta delle specializzazioni funzionali

asimmetria del doppio strato lipidico

- **molti enzimi**, ad es. **PKC**, sono legati solo sul versante citosolico
- **glicolipidi**: esclusivamente localizzati nel monostrato non citosolico

La superficie cellulare è rivestita da residui di zuccheri (glicoproteine, glicolipidi, proteoglicani)

GLICOCALICE



- *Funzione protettiva contro danni meccanici e chimici*
- *Tiene a distanza corpi estranei e altre cellule, impedendo interazioni proteina-proteina non desiderate*
- *Alcune delle catene oligosaccaridiche sono riconosciute dalle LECTINE (proteine che legano carboidrati di membrana) che aiutano a mediare eventi di **adesione** cellulare*

La membrana cellulare non è omogenea, presenta delle specializzazioni funzionali

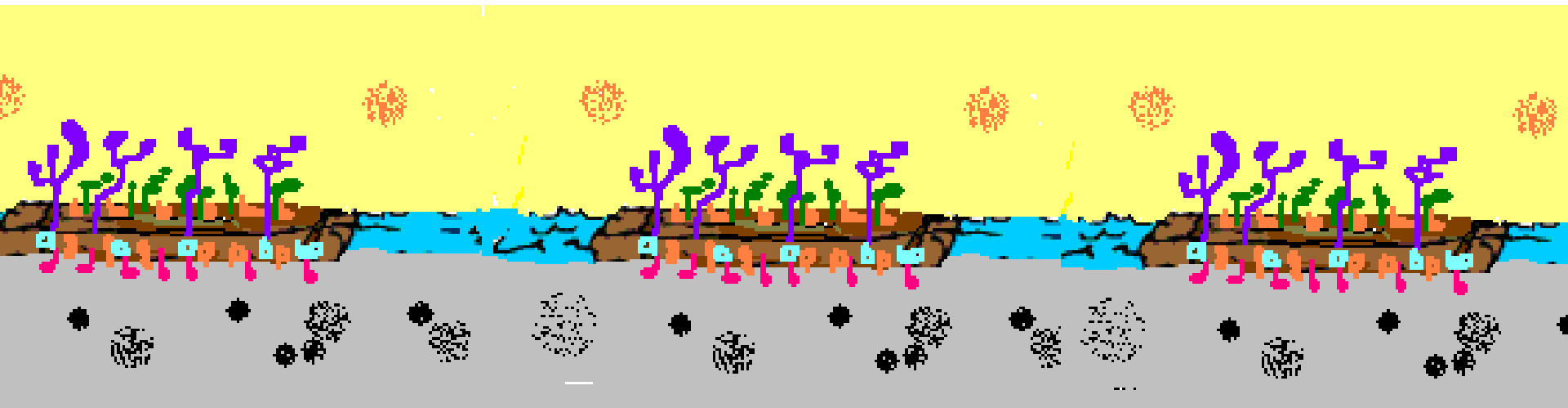
asimmetria del doppio strato lipidico

- **molti enzimi**, ad es. **PKC**, sono legati solo sul versante citosolico
 - **glicolipidi**: esclusivamente localizzati nel monostrato non citosolico
- **Asimmetria di alcuni fosfolipidi** (es. fosfatidilserina, **PS**): molti animali la sfruttano per distinguere cellule vive o morte (**apoptosi**)

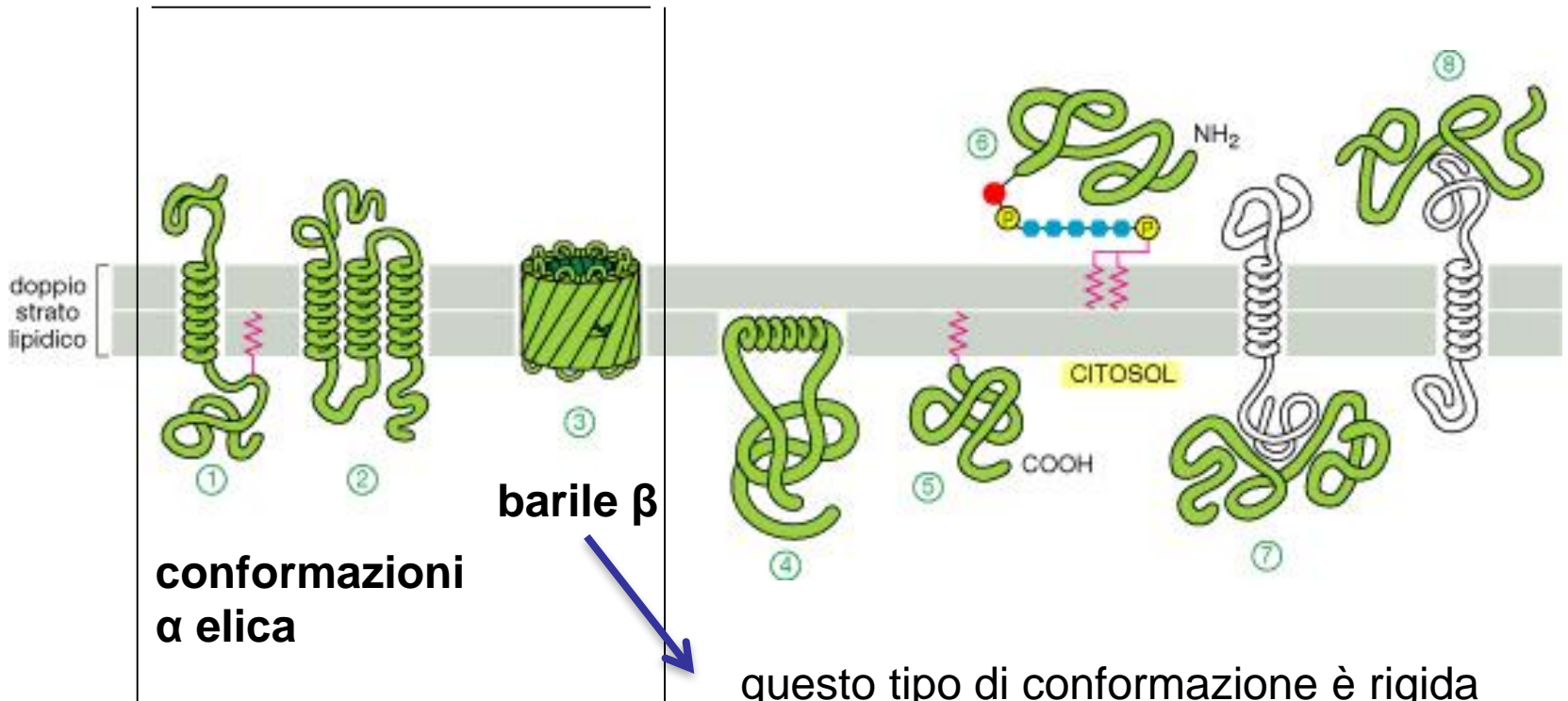
zone di specializzazione

Zone di specializzazione di m.

➤ **zattere lipidiche** (*lipid rafts*), **caveole**: piccole aree specializzate della m., morfologicamente individuabili, in cui si concentrano alcuni lipidi (soprattutto colesterolo e sfingolipidi) e proteine



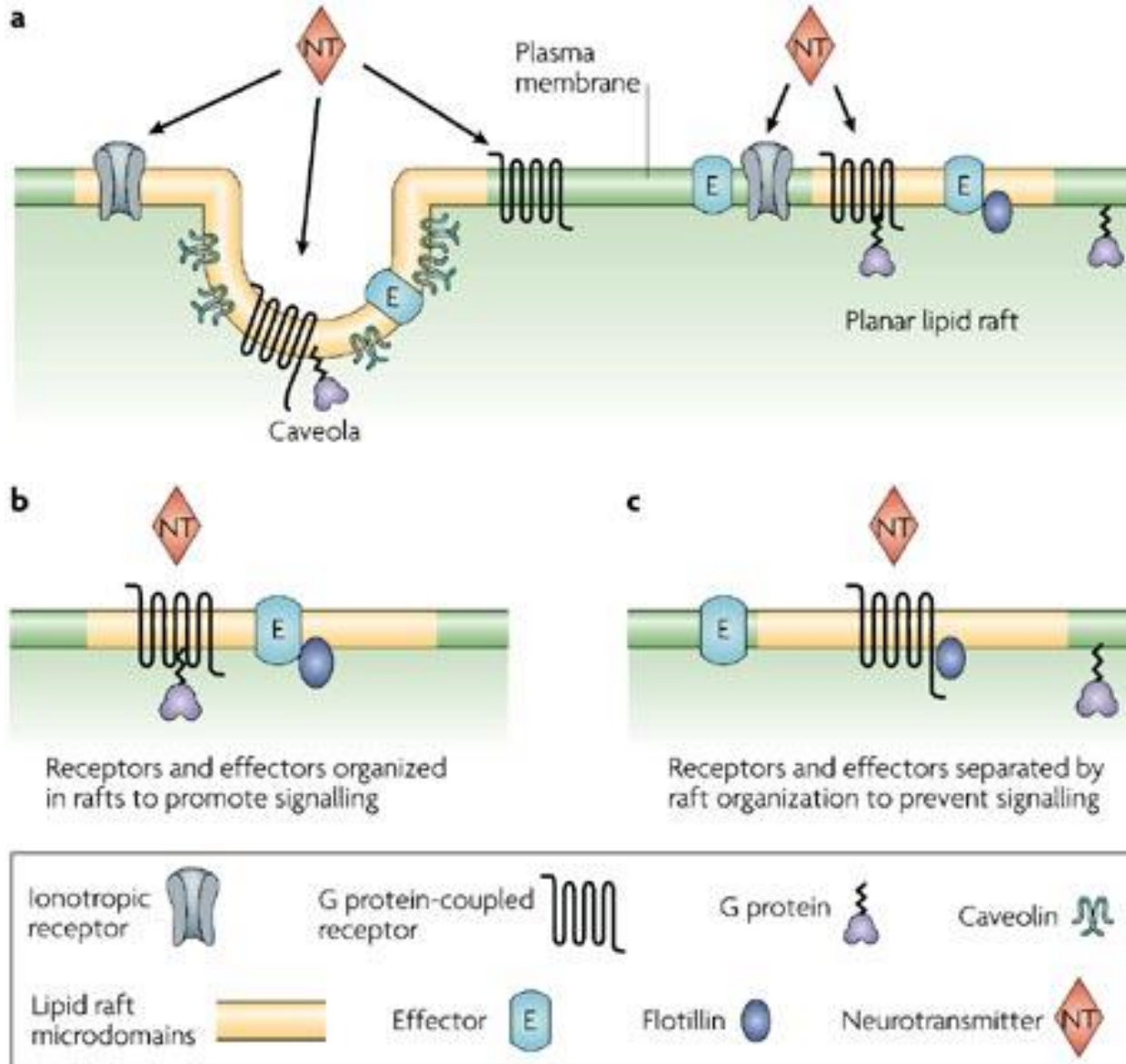
Le **proteine** possono essere associate con il doppio strato lipidico in diversi modi



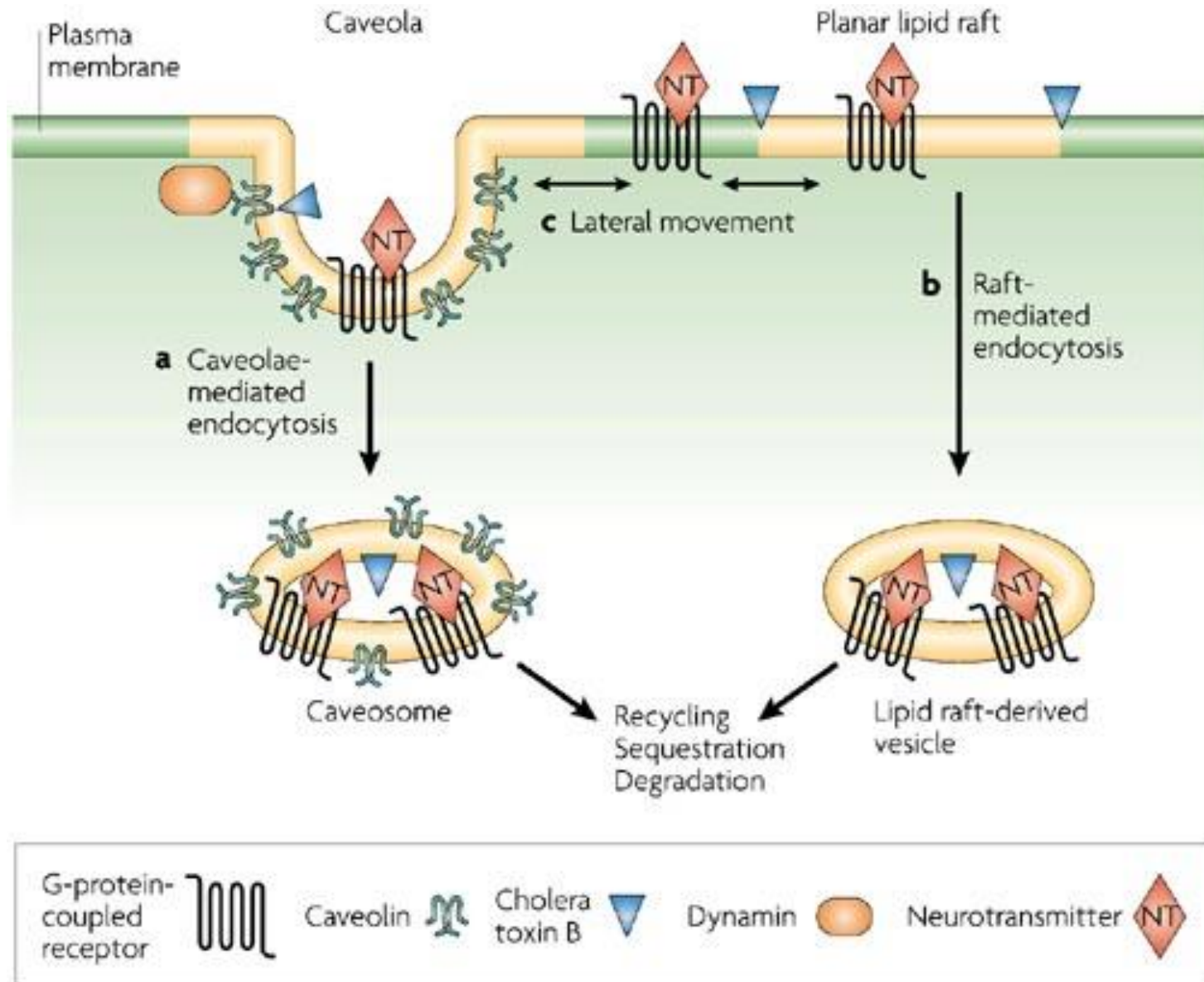
proteine
transmembrana

questo tipo di conformazione è rigida e poco si presta a cambiamenti conformazionali

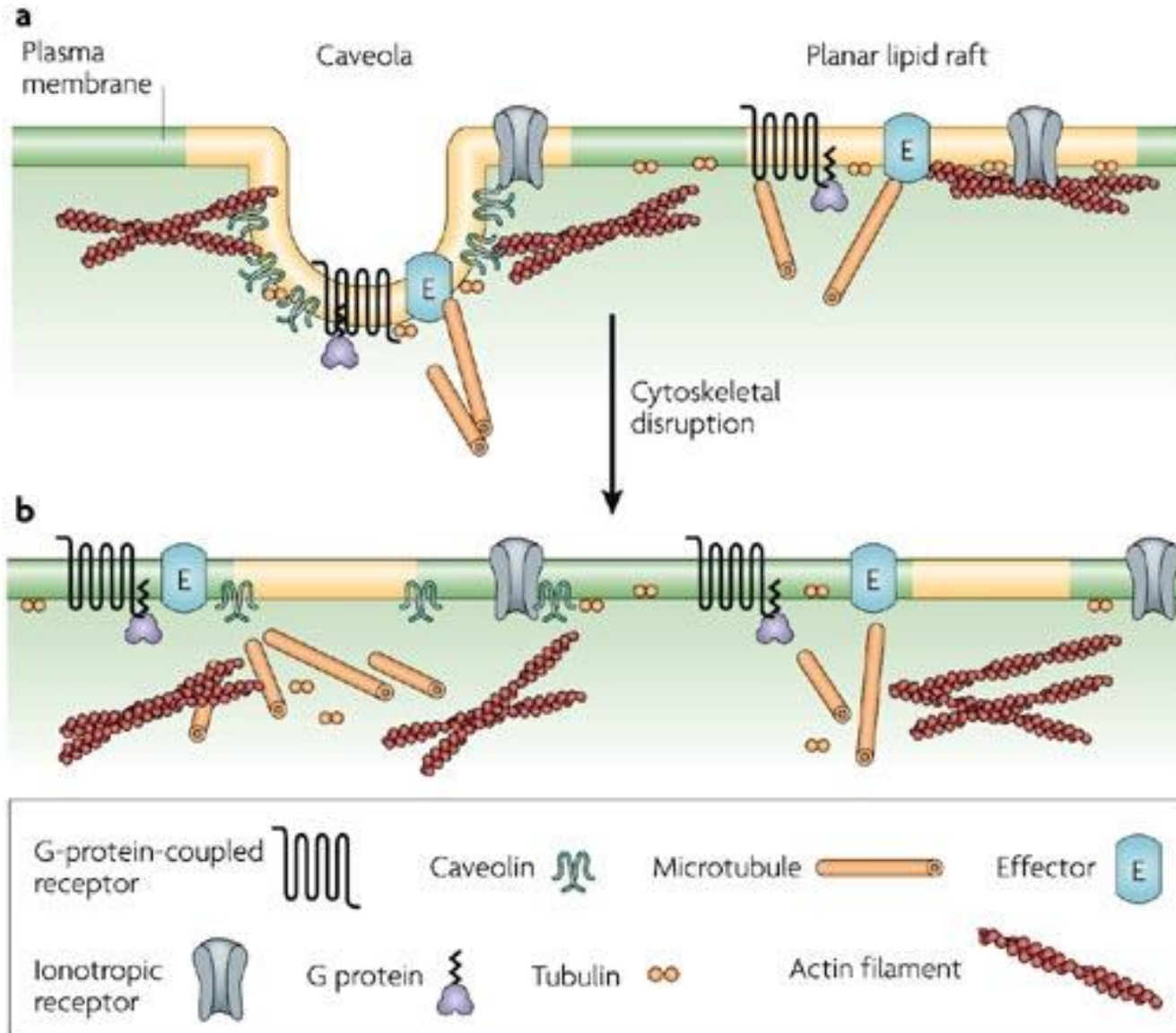
Signaling



Mediazione esocitosi



In rapporto con il citoscheletro

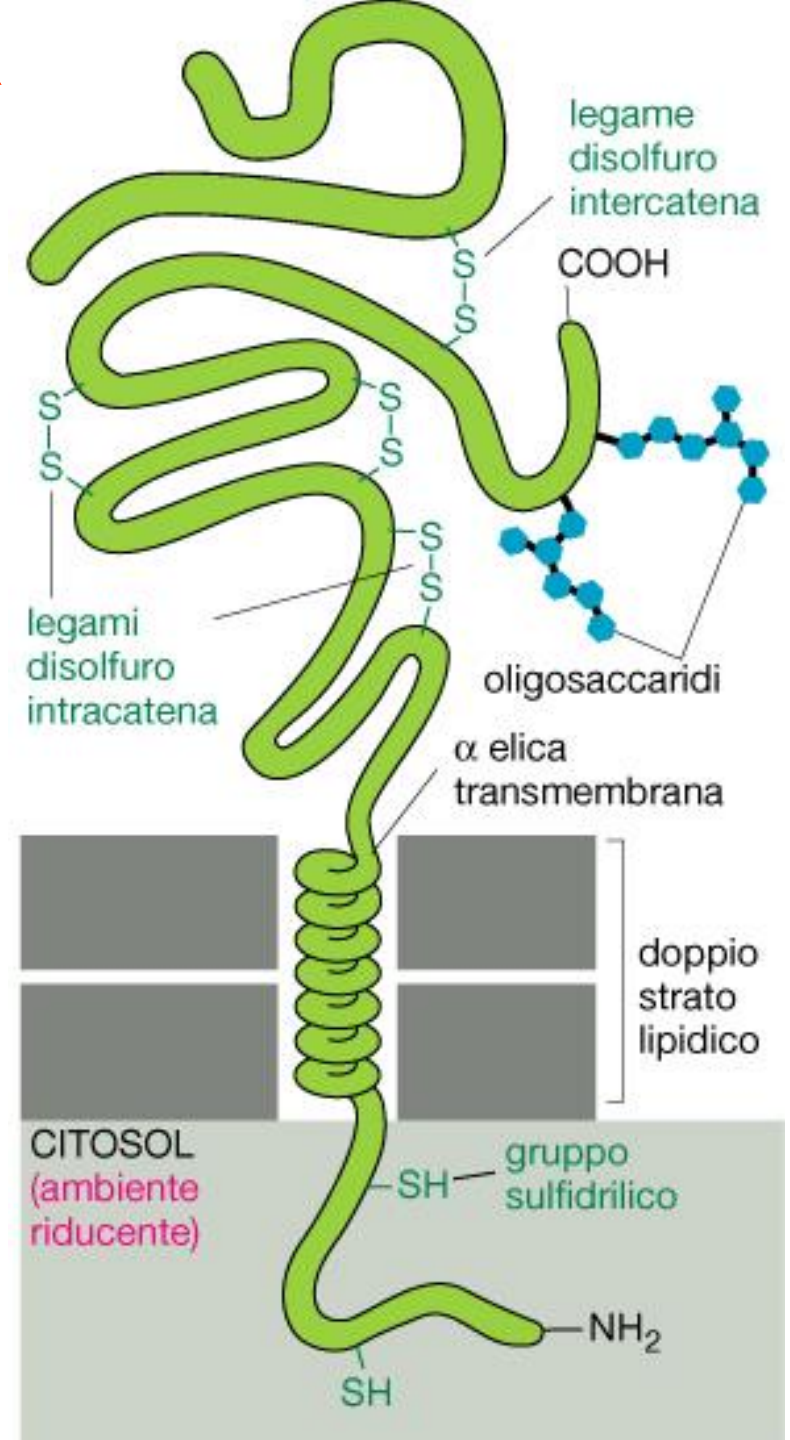


Proteine di membrana

Molte p. transmembranarie sono glicosilate

(i residui di zuccheri vengono aggiunti nel lume del RE e nel Golgi)

L'ambiente citosolico è riducente (bassa probabilità che si formino ponti S-S)

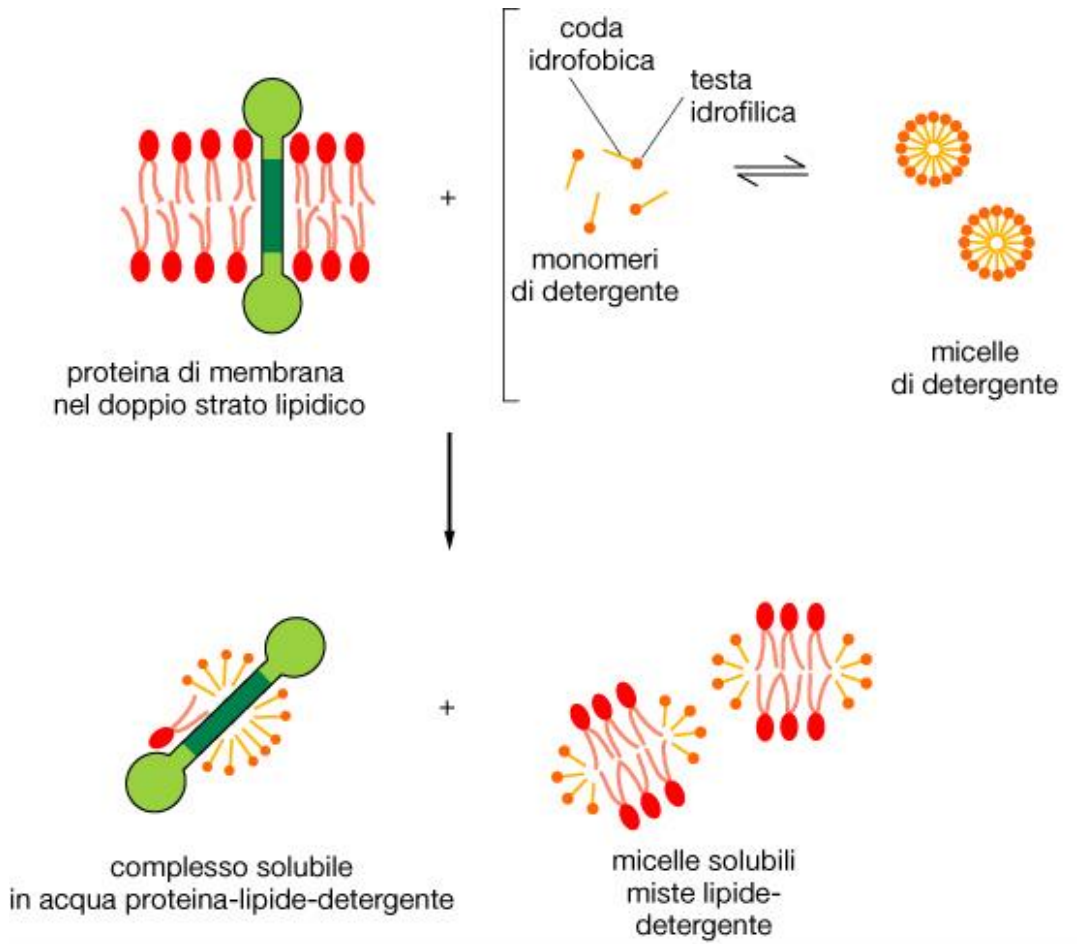


- Le proteine di membrana possono essere solubilizzate con un **DETERGENTE**

(i detergenti distruggono il doppio strato lipidico e portano le proteine in soluzione come complessi detergente-lipide-proteina)

- I detergenti sono **molecole anfipatiche** che in acqua formano micelle

- I 2 detergenti più usati sono il **TRITON X-100** (blando detergente non ionico) e il **SDS** (forte detergente ionico)



Funzioni della membrana cellulare

- Delimita la cellula
- **Trasporto:** attraverso la membrana avviene il trasporto di sostanze tra l'interno della cellula e l'ambiente esterno
- **Raccoglie segnali dall'esterno** (recettori) e trasferisce le informazioni alla cellula

