



UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI **TERAMO**

Corso di laurea BIOTECNOLOGIE

Fisiologia cellulare e Laboratorio di Colture cellulari

Prof.ssa Luisa Gioia



Corso di laurea BIOTECNOLOGIE

Fisiologia cellulare e Laboratorio di Colture cellulari

UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI TERAMO

**IL MATERIALE CONTENUTO IN QUESTE
DIAPOSITIVE E' AD ESCLUSIVO USO DIDATTICO PER
L'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TERAMO.**

ALCUNE IMMAGINI CONTENUTE SONO STATE TRATTE DAI
SEGUENTI LIBRI:

“Biologia molecolare della cellula” – Bruce Alberts *et al.* (Ed. Zanichelli)

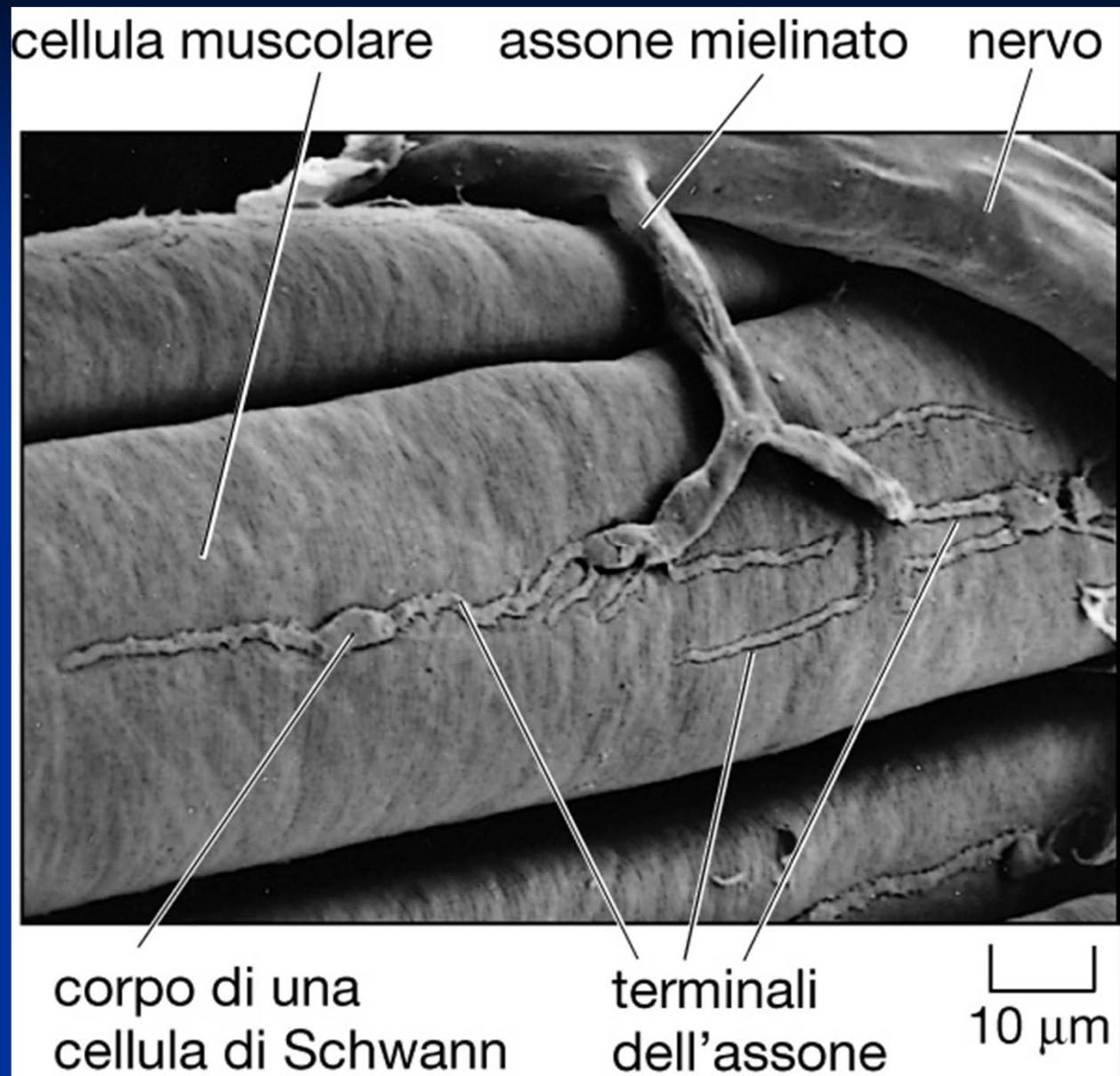
“FISIOLOGIA Molecole, cellule e sistemi” – Egidio D'Angelo e Antonio Peres (Edi-ermes)

“Introduzione alle colture cellulari” - G.L. Mariottini *et al.* (Ed. Tecniche nuove)

“Cell Biology: a short course” – S.R. Bolsover *et al.*
(Ed. Wiley-Blackwell)

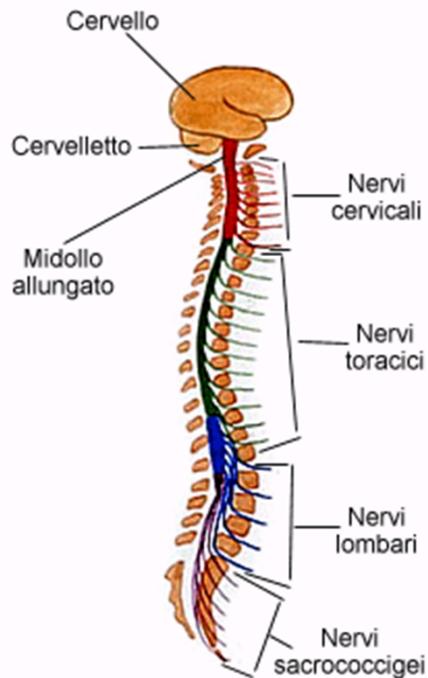
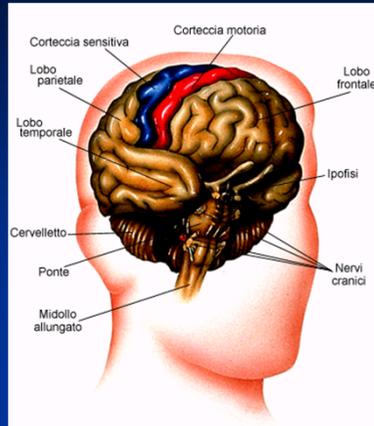
Un tipo di sinapsi chimica: la giunzione neuromuscolare

Giunzione neuromuscolare

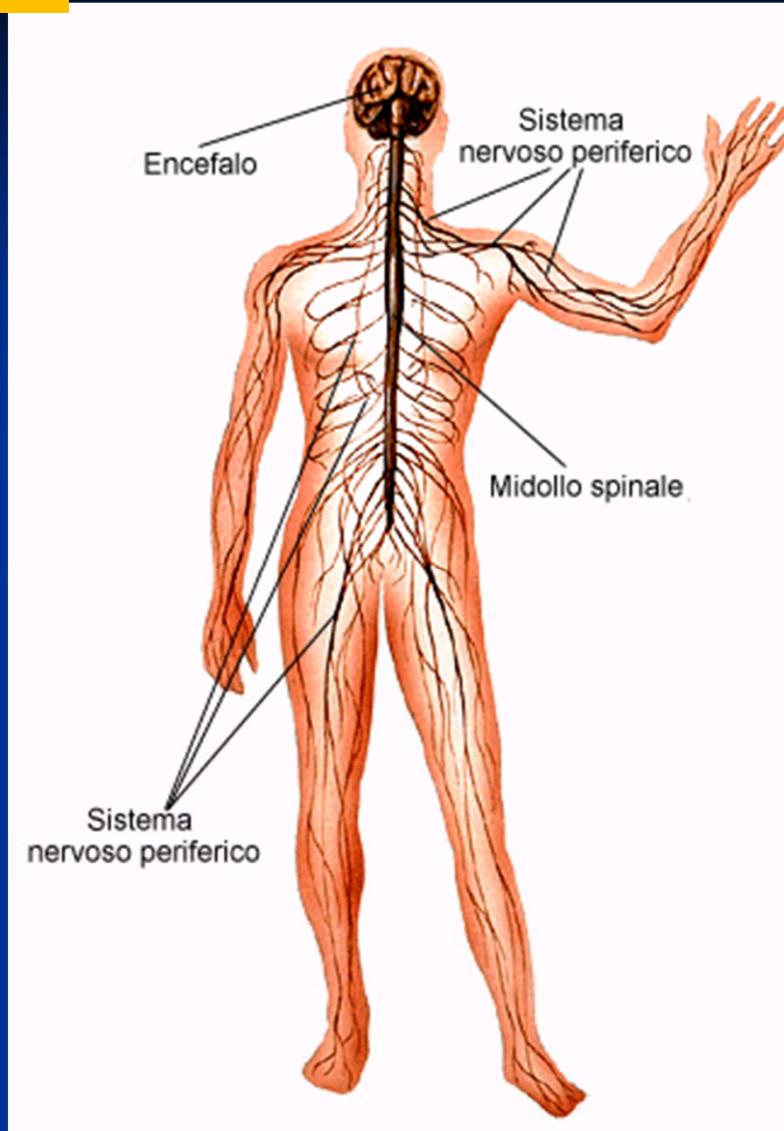


sinapsi chimica specializzata fra un **motoneurone** e una **cellula di muscolo scheletrico**

sistema nervoso centrale



SISTEMA NERVOSO



sistema nervoso periferico:

comprende tutti gli organi dell'apparato nervoso (nervi cranici e spinali), che collegano il sistema centrale con la periferia costituita dagli organi di senso

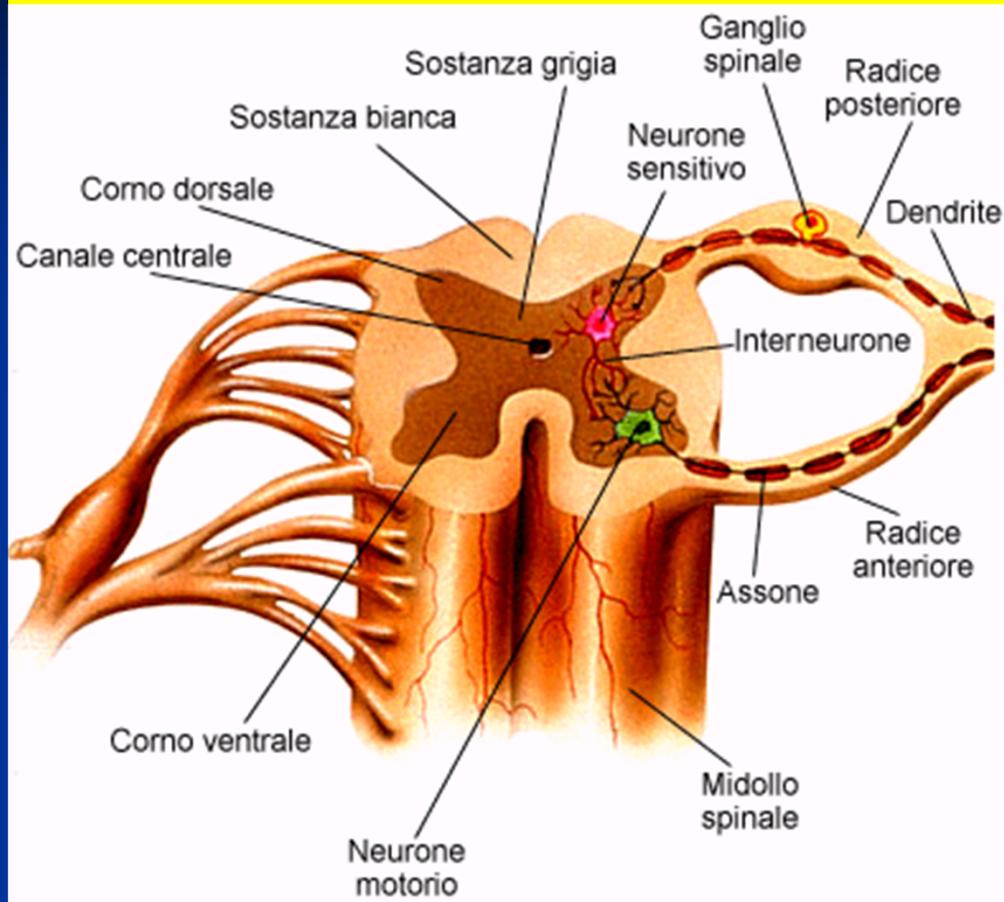
↓
i **nervi sensitivi** portano informazioni dalla periferia del corpo verso il midollo spinale e verso l'encefalo

i **nervi motori** trasferiscono i comandi elaborati dall'encefalo e dal midollo ai muscoli scheletrici

sistema nervoso vegetativo o autonomo (simpatico/parasimpatico)

→ destinato all'innervazione degli organi che regolano la vita vegetativa dell'organismo, come la respirazione o la circolazione sanguigna

Sezione del midollo spinale



Neurone motorio

Trasferisce gli stimoli provenienti dall'encefalo agli organi capaci di tradurre il messaggio in azione, come i muscoli.

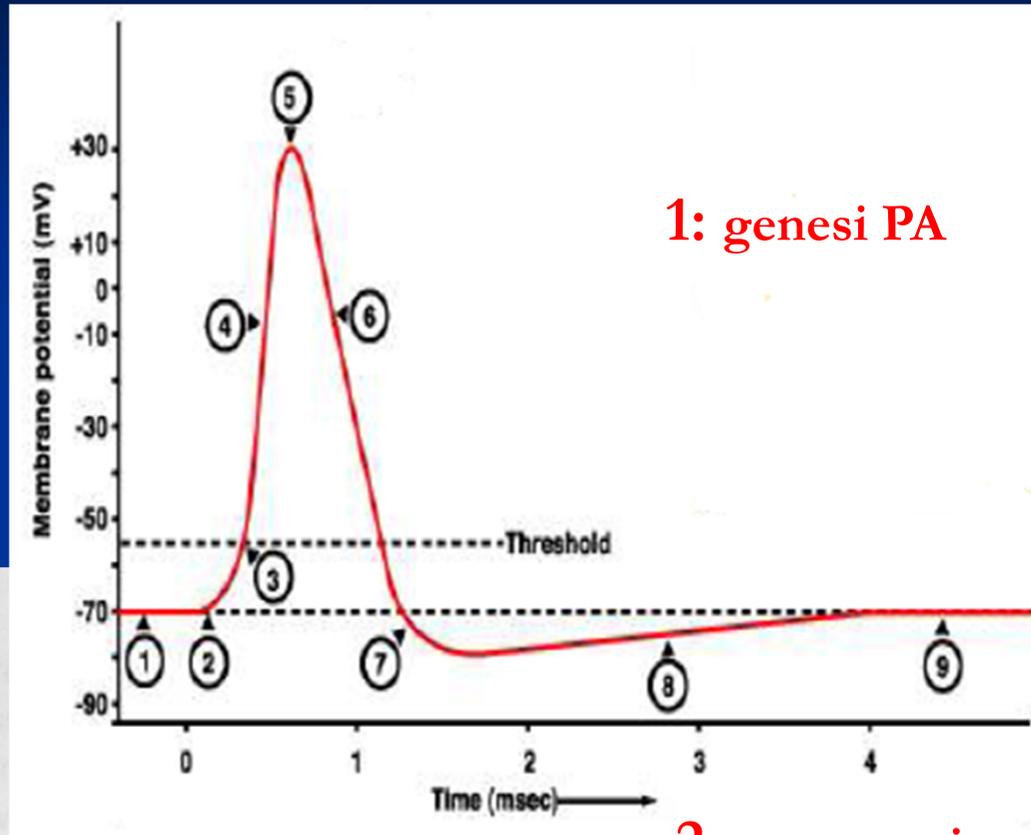
Sezionando il midollo spinale si può notare che è costituito da una **sostanza bianca periferica** (formata da fibre nervose parallele tra loro che conducono lo stimolo nervoso da e verso l'encefalo, o tra i diversi punti del midollo) e da una **sostanza grigia centrale** formata dai neuroni

Neurone sensitivo

Trasferisce gli stimoli provenienti dalla periferia all'encefalo.

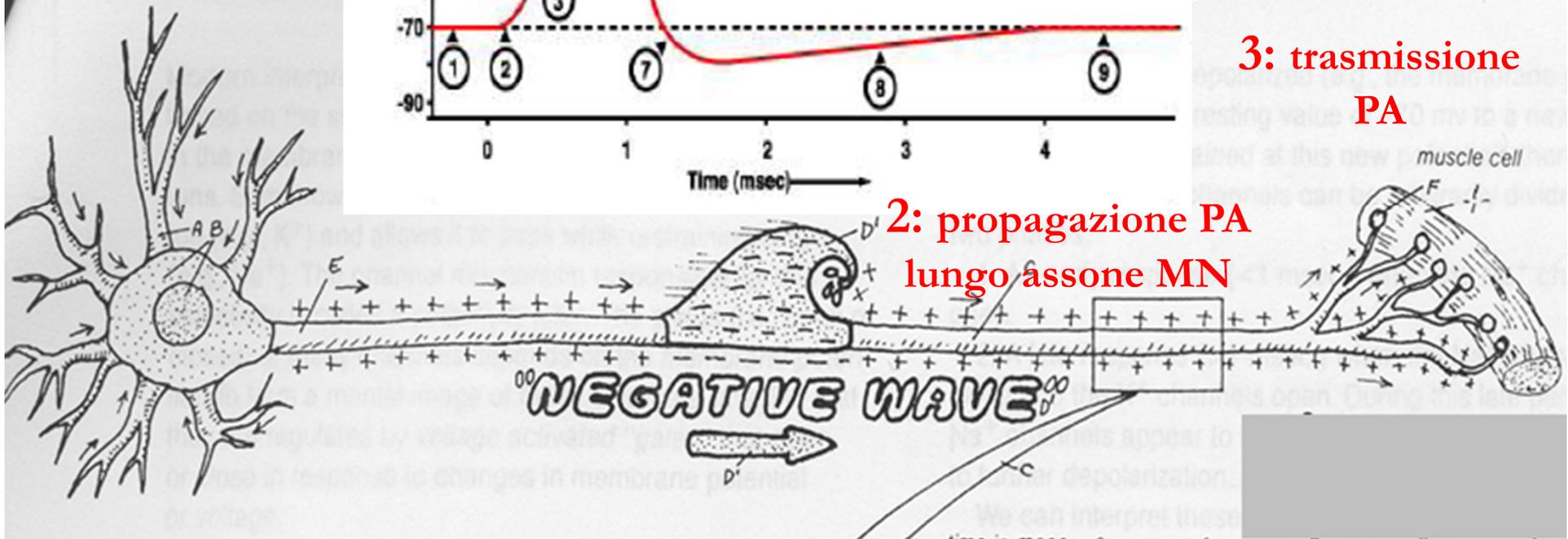
Lungo l'assone dei neuroni viaggiano gli impulsi nervosi diretti alla periferia

Trasmissione del PA terminale sinaptico del motoneurone (MN)



3: trasmissione PA

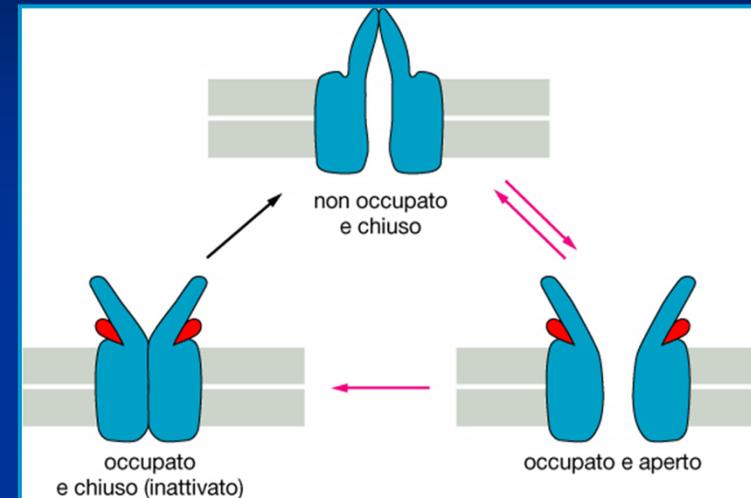
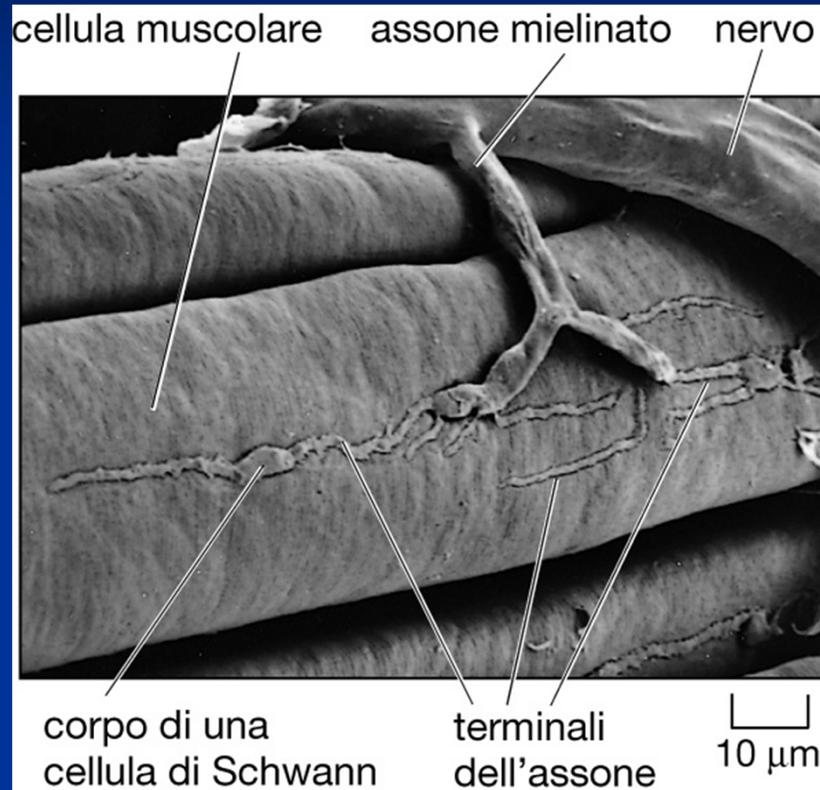
2: propagazione PA lungo assone MN



Giunzione neuromuscolare

trasmettitore: acetilcolina

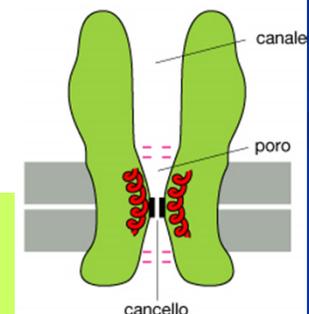
sinapsi chimica specializzata fra un **motoneurone** e una **cellula del muscolo scheletrico**



recettore dell'acetilcolina

Se l'acetilcolina persiste per un tempo prolungato (eccessiva stimolazione nervosa) il canale si inattiva

Canale cationico

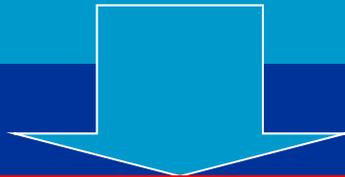


sono le concentrazioni e le forze elettrochimiche dei cationi che determinano se e quale catione passa attraverso il canale una volta aperto

Quando la M della cellula muscolare è al potenziale di riposo la forza netta del K^+ è vicina a zero perché il gradiente di voltaggio è circa in equilibrio con il gradiente di elettrochimico del K^+

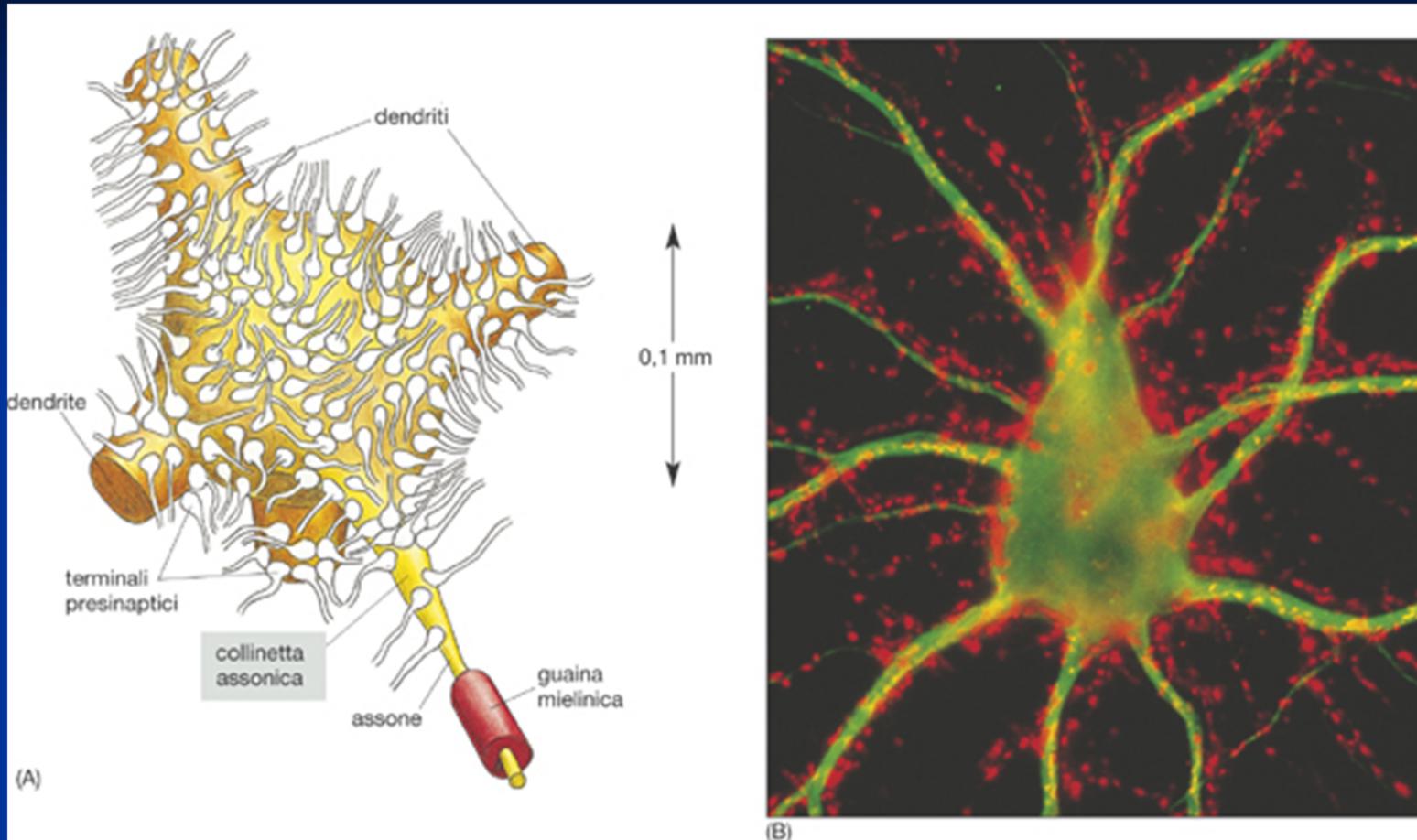
In condizioni di riposo, per il Na^+ si ha una situazione diversa: sia il gradiente di concentrazione che quello elettrico spingono lo ione nella stessa direzione (verso l'interno della cellula)

Lo stesso vale per il Ca^{++} ma la concentrazione extracellulare del Ca^{++} è significativamente più bassa di quella del Na^+ quindi il Ca^{++} partecipa solo con un piccolo contributo alla corrente cationica verso l'interno della cellula muscolare



PERCIO' L'APERTURA DEI CANALI REGOLATI DALL'ACETICOLINA PROVOCA PREVALENTEMENTE UN FORTE INFLUSSO DI SODIO ALL'INTERNO DELLA CELLULA

Molte migliaia di terminazioni nervose formano sinapsi su un singolo motoneurone



la grandezza del PSP è tradotta in ritmo di scarica di PA da un insieme di canali cationici presenti sulla M della **collinetta assonica**

Corpo cellulare di un motoneurone nel midollo spinale

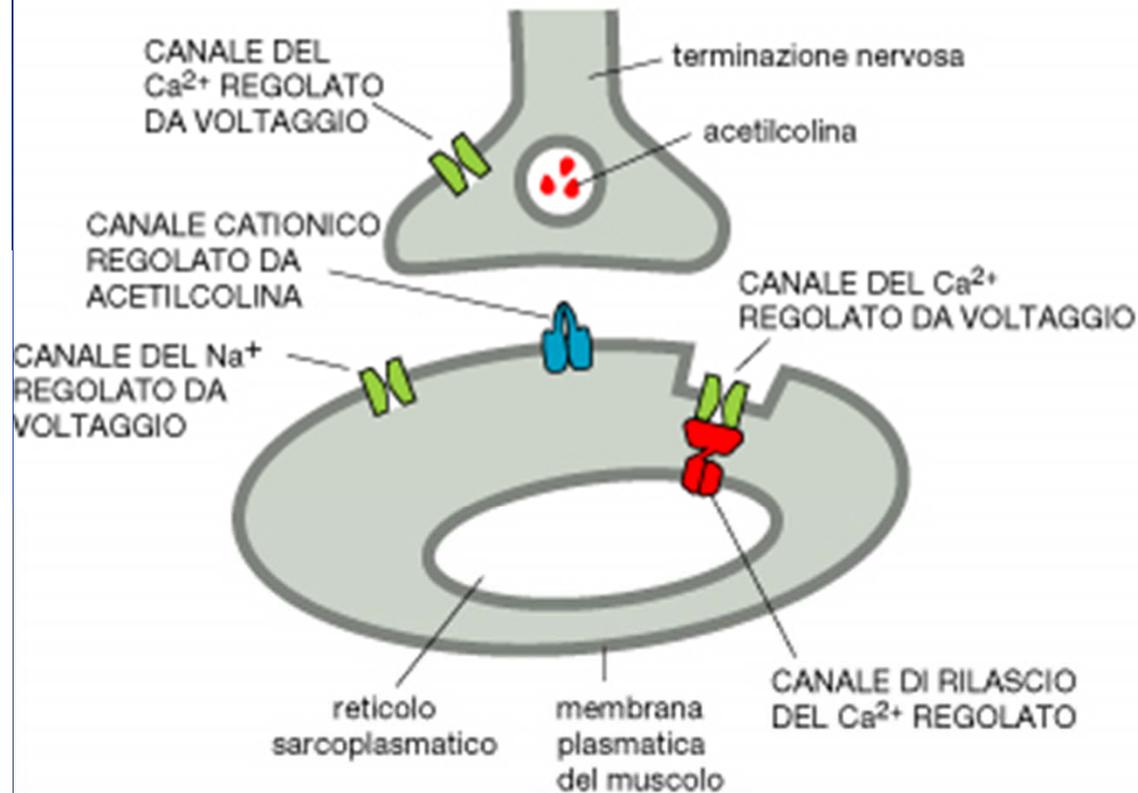
La TRASMISSIONE NEUROMUSCOLARE comporta l'attivazione sequenziale di 5 serie diverse di canali ionici

1. L'impulso nervoso → depolarizza la M plasmatica della terminazione pre-sinaptica → apertura **voltage-gated Ca-channels** → rilascio trasmettitore
2. L'acetilcolina si lega ai recettori presenti nella M plasmatica della cellula muscolare (CM) → apre i **canali cationici regolati dal neurotrasmettitore** → entrano cationi (prevalentemente Na^+) → depolarizzazione
3. La depolarizzazione della M plasmatica della CM determina l'apertura dei **canali del Na voltaggio-dipendenti** → entra altro Na^+ che depolarizza ancora di più la M coinvolgendo l'intera m. (PA)
4. La depolarizzazione generalizzata della M plasmatica della CM attiva ***canali del Ca voltaggio-dipendenti** presenti in regioni specializzate di questa membrana (**tubuli trasversi T**)
5. Ciò provoca l'apertura temporanea di ****canali del Ca** in una regione adiacente della M **del reticolo sarcoplasmatico** e il rilascio del Ca immagazzinato nel reticolo sarcoplasmatico nel citosol → l'aumento improvviso di Ca fa contrarre le miofibrille della CM

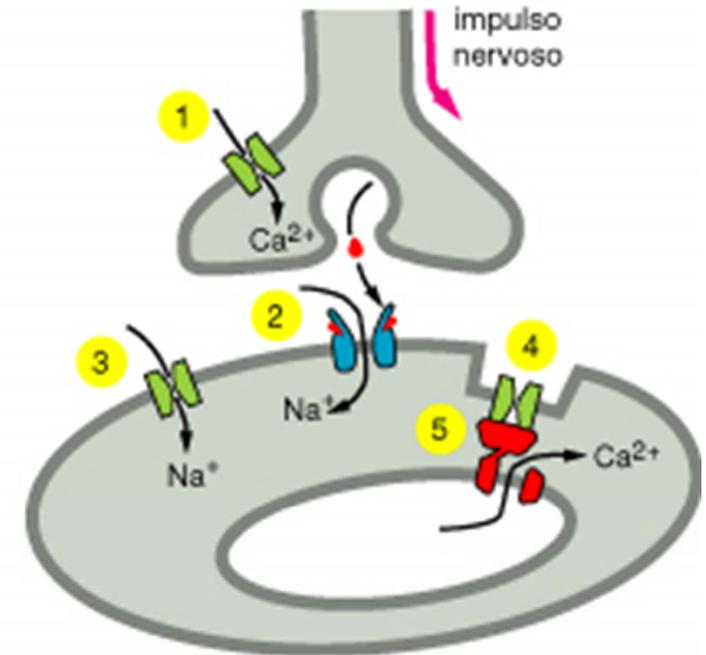
*N.B. I canali * e ** sono uniti a formare una struttura specializzata*

PROCESSO TRAMITE IL QUALE UN IMPULSO NERVOSO STIMOLA UNA CELLULA MUSCOLARE A CONTRARSI

GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE A RIPOSO

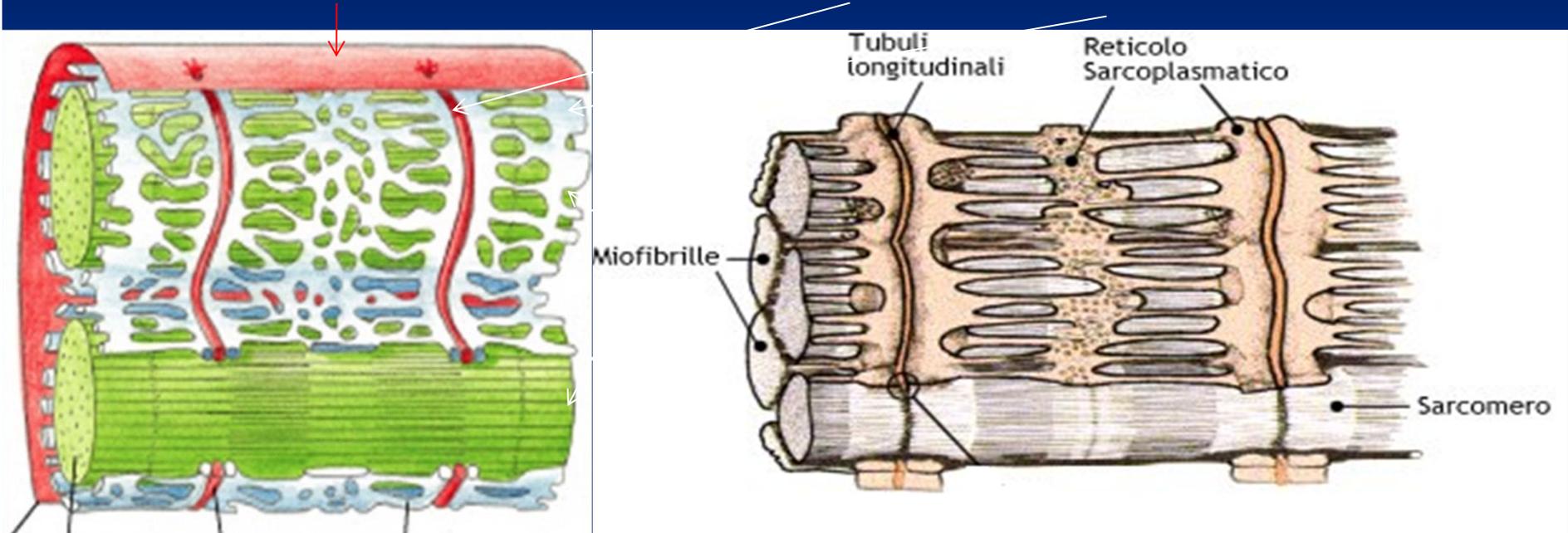


GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE ATTIVATA



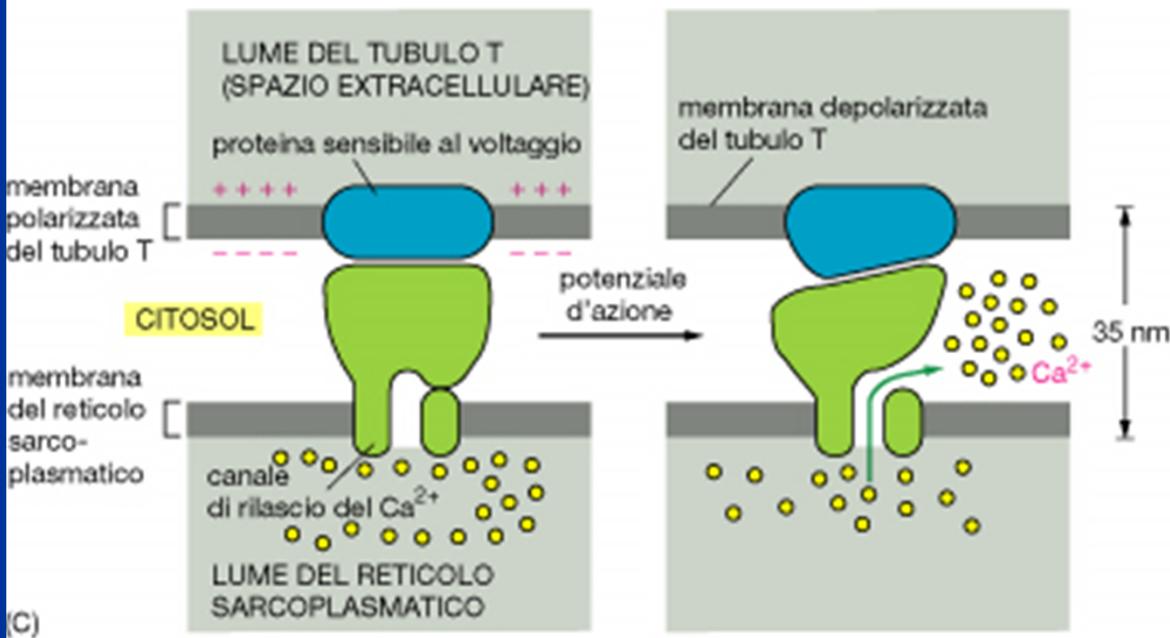
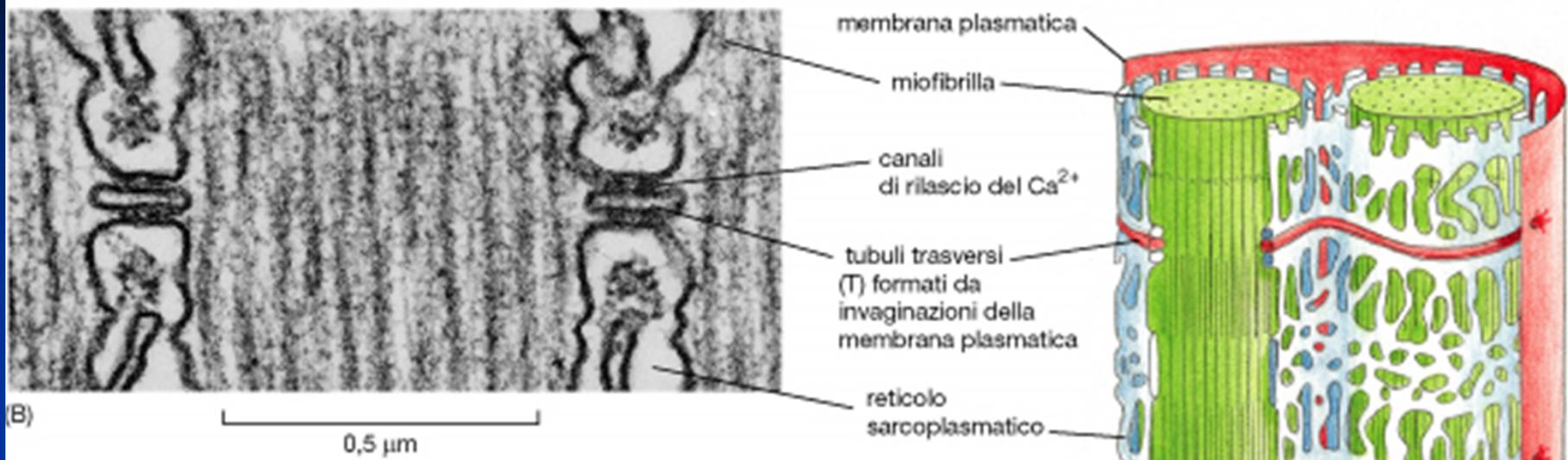
*il **SR** circonda come una calza a rete ciascuna miofibrilla*

Membrana plasmatica



La depolarizzazione generalizzata della membrana plasmatica della cellula muscolare attiva **canali del Ca** **voltage-dipendenti** **localizzati** in regioni specializzate della membrana cellulare (**tubuli trasversi T**) che si invaginano circondando ogni miofibrilla

Il PA diffonde attraverso i tubuli T ed è trasmesso al RS che circonda ciascuna miofibrilla

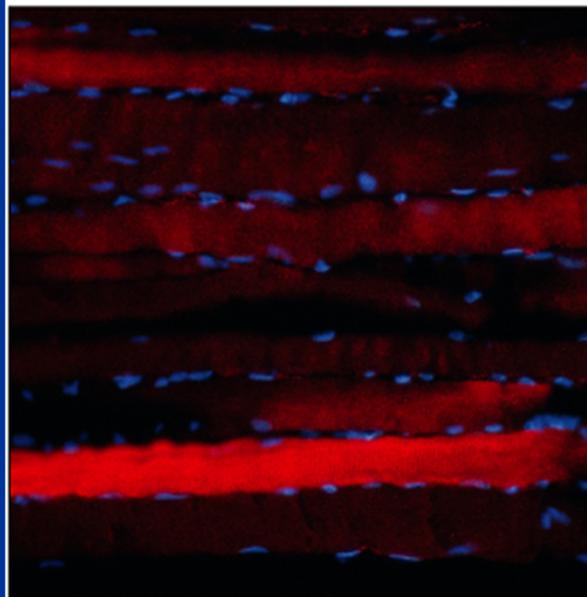
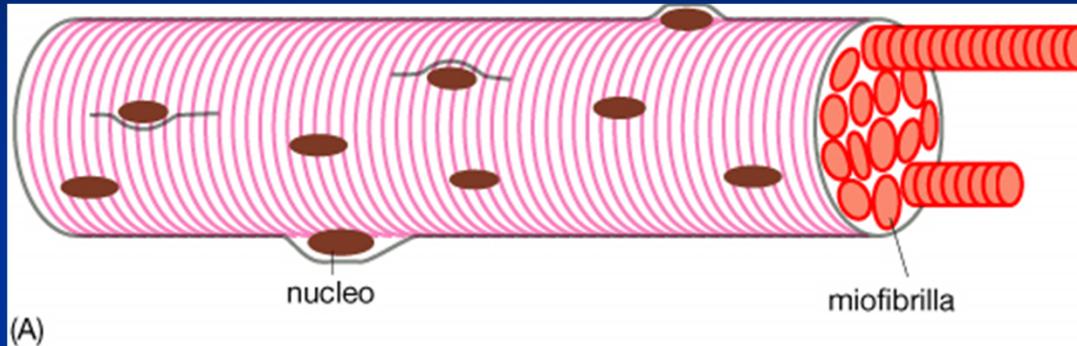


Le m. del tubulo T e del SR sono giustapposte e i 2 tipi di canale si uniscono a formare una **struttura specializzata**

Cellule di muscolo scheletrico

o

Fibre muscolari



LE CELLULE MUSCOLARI DEL M. SCHELETRICO
SONO SPECIALIZZATE
PER UNA CONTRAZIONE RAPIDA
ED EFFICIENTE

Il citoplasma di una cellula muscolare è composto da **MIOFIBRILLE** a loro volta costituite da unità contrattili dette **SARCOMERI**

I SARCOMERI danno alla miofibrilla un tipico aspetto striato

Le **bande scure** corrispondenti ai filamenti spessi sono chiamate **bande A**

Le **bande chiare** che contengono solo i filamenti sottili sono chiamate **bande I**

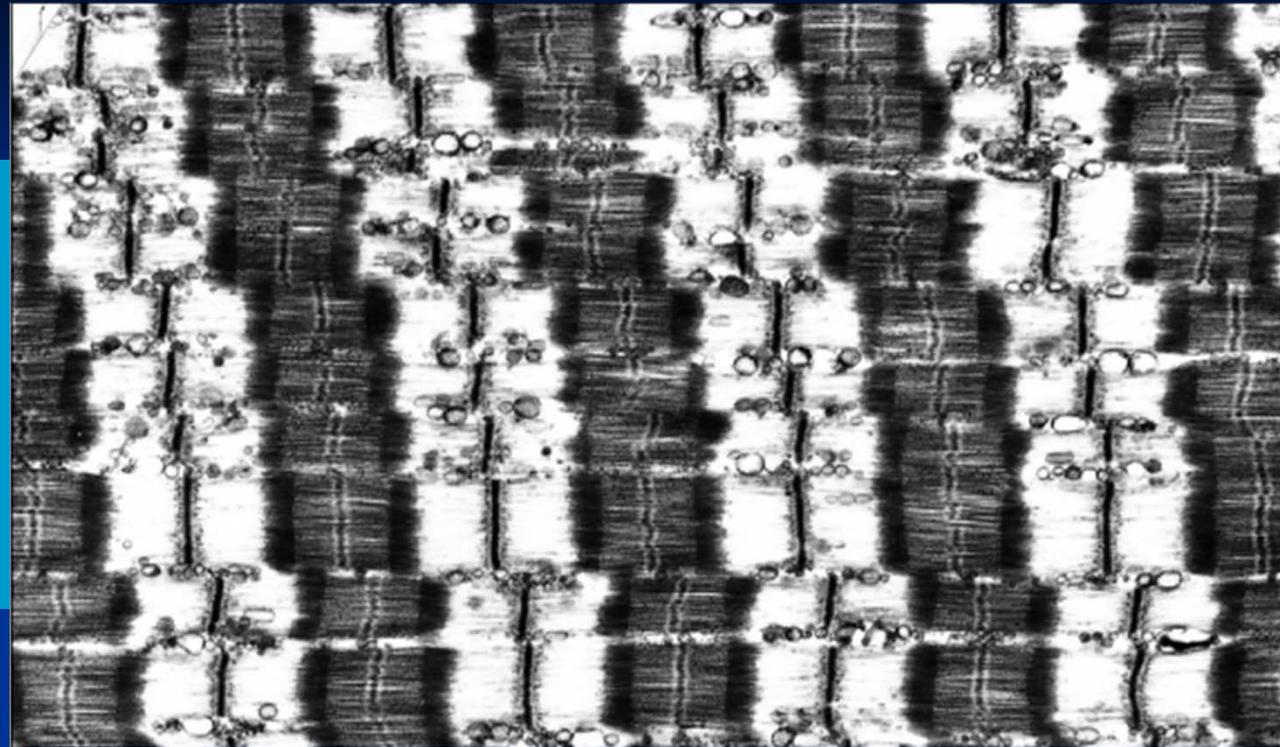
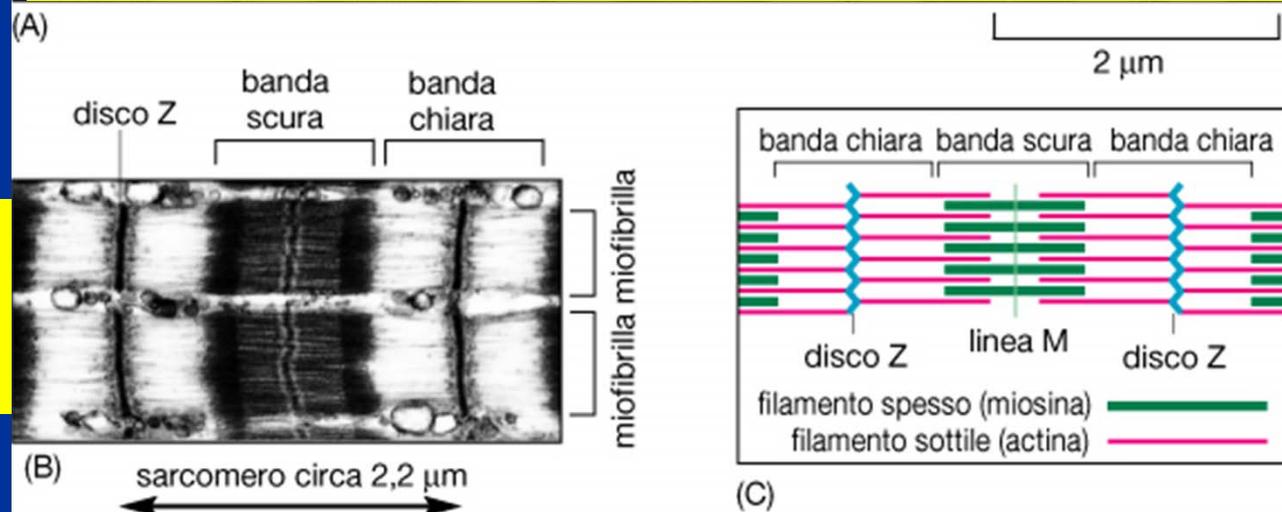


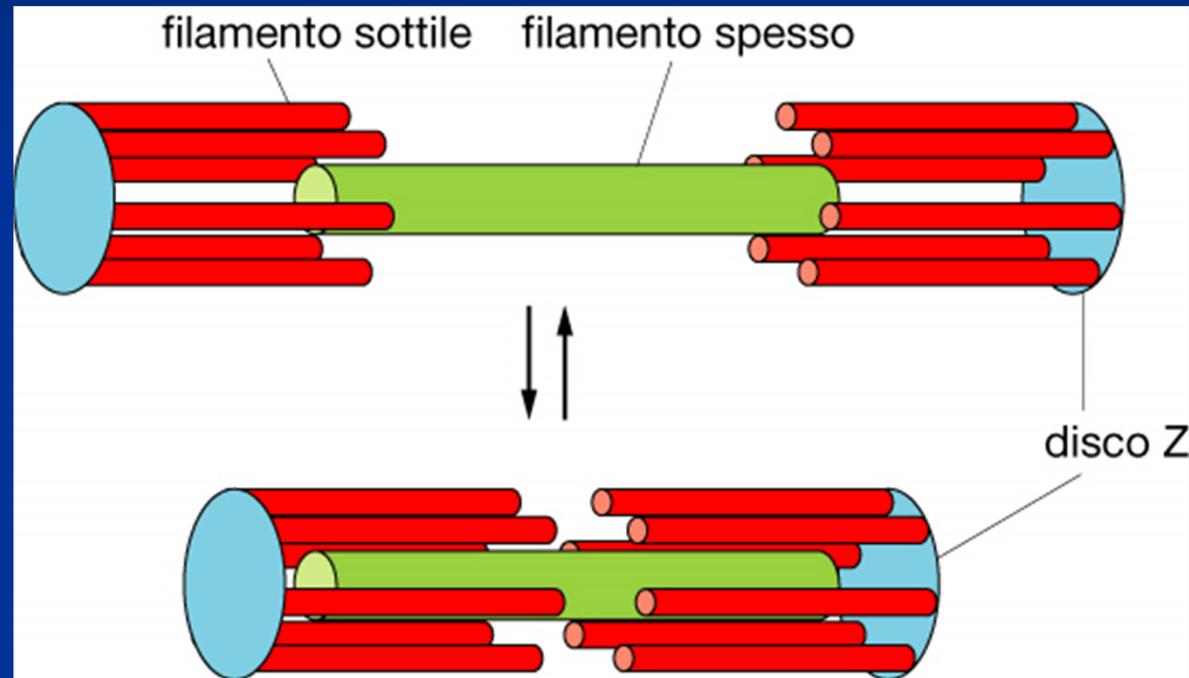
foto al microscopio elettronico di una sezione longitudinale di muscolo scheletrico



Dettaglio della foto A: **porzioni di 2 miofibrille adiacenti** e la definizione di un sarcomero

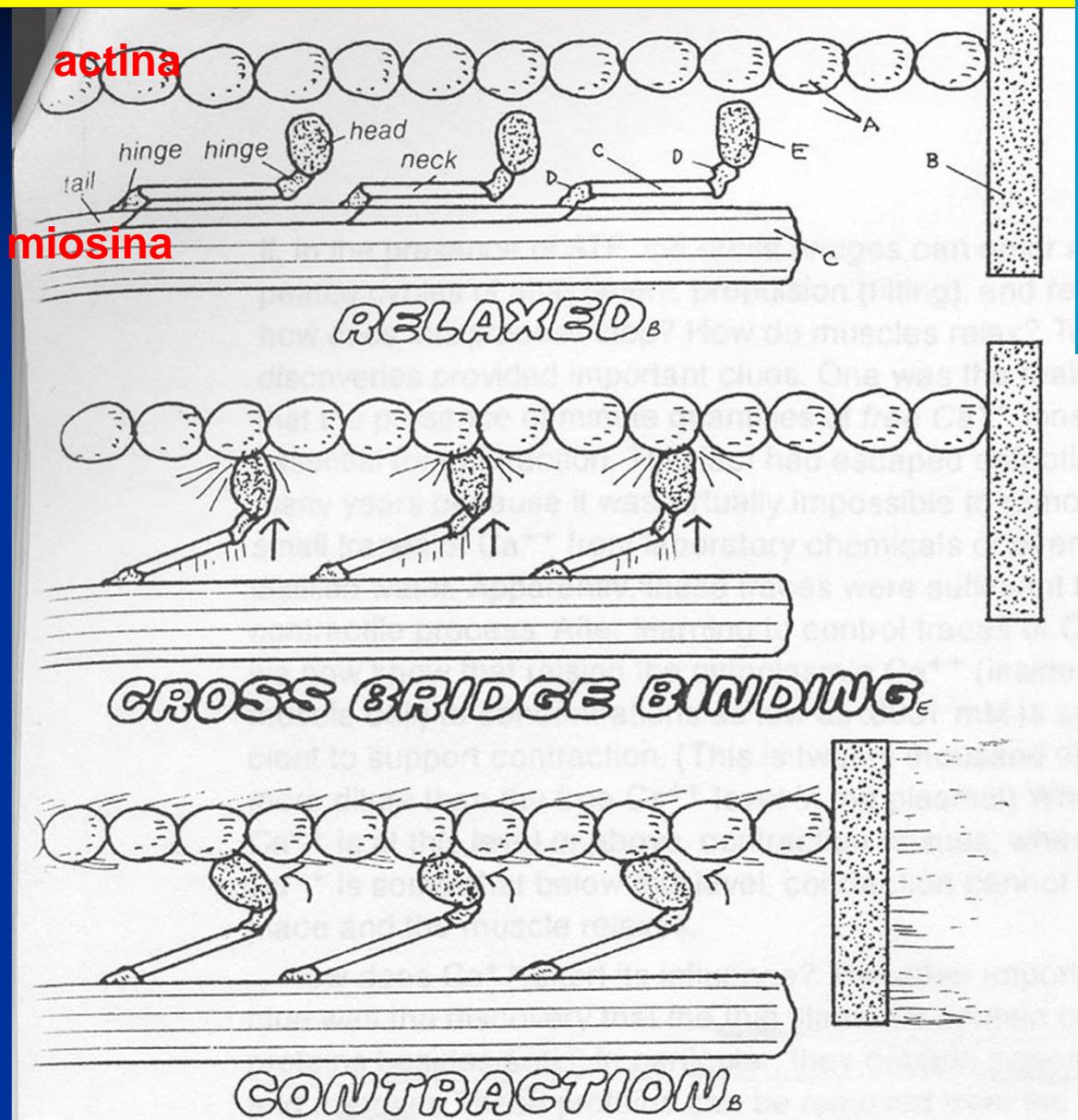
schema del singolo **sarcomero** che mostra l'origine delle bande scure e chiare viste al microscopio.

I filamenti di **ACTINA** e di **MIOSINA** del SARCOMERO non si accorciano ma scivolano l'uno sull'altro!



*N.B. **MIOSINA** (proteina motrice): accoppia l'attacco e l'idrolisi dell'ATP a cambiamenti conformazionali generando forza motrice*

Formazione di legami crociati tra actina e miosina



Anche se il muscolo è rilassato il legame crociato è in una **condizione di alta energia** che deriva da un precedente legame e idrolisi dell'ATP (la miosina è pronta per l'azione)

Quando la **testa della miosina si attacca all'actina** si ha una inclinazione delle teste che trascina il filamento di actina contemporaneamente al **rilascio dell'ADP e P** dalla testa della miosina

Durante la contrazione aumenta l'area di sovrapposizione dei due filamenti

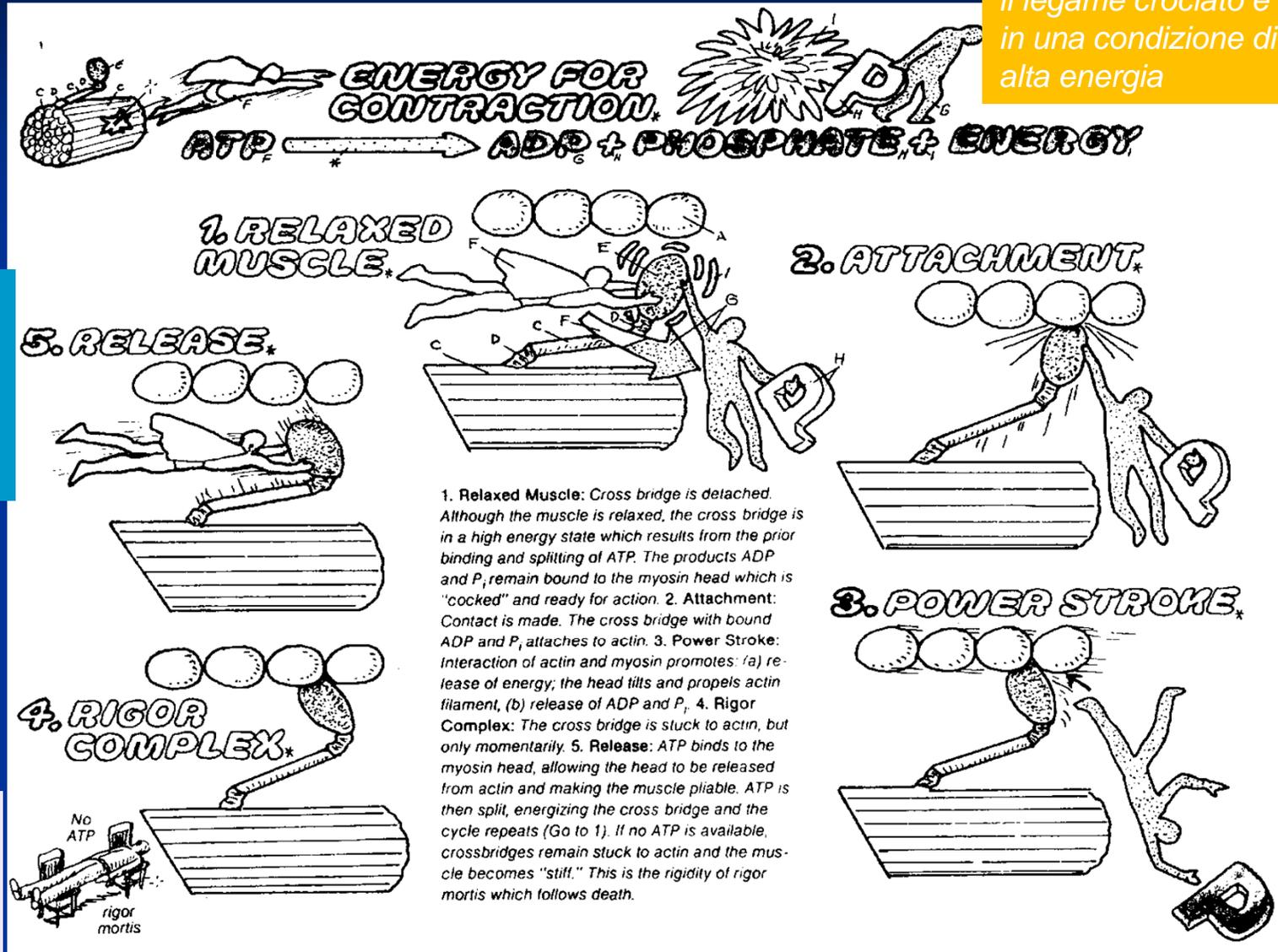
La formazione dei legami crociati deve essere momentanea!

Successivamente l'ATP viene idrolizzato, conferendo alla testa uno stato di alta energia pronta ad un nuovo legame crociato e il ciclo ricomincia

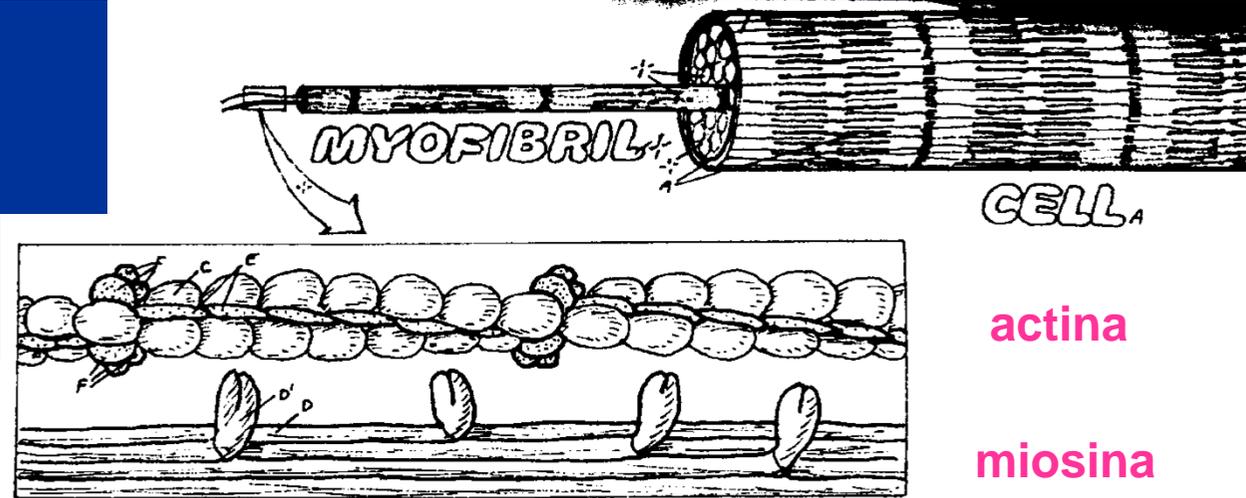
1. Anche se il muscolo è rilassato il legame crociato è in una condizione di alta energia

Quando l'ATP si lega alla testa della miosina determina il rilascio della testa dall'actina e quindi il rilassamento del muscolo.

Se non c'è ATP non si disfano i legami crociati → **rigor mortis**

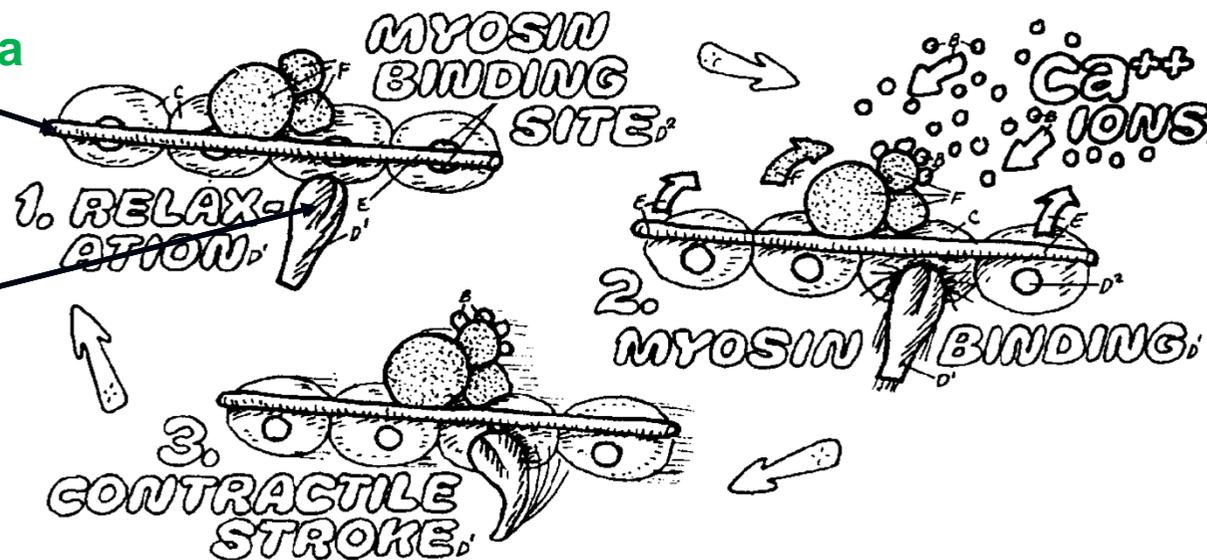


Come la contrazione muscolare dipende dal Ca^{++} ?



tropomiosina

miosina



Il legame del Ca alla troponina sposta la tropomiosina smascherando il sito di legame per la miosina

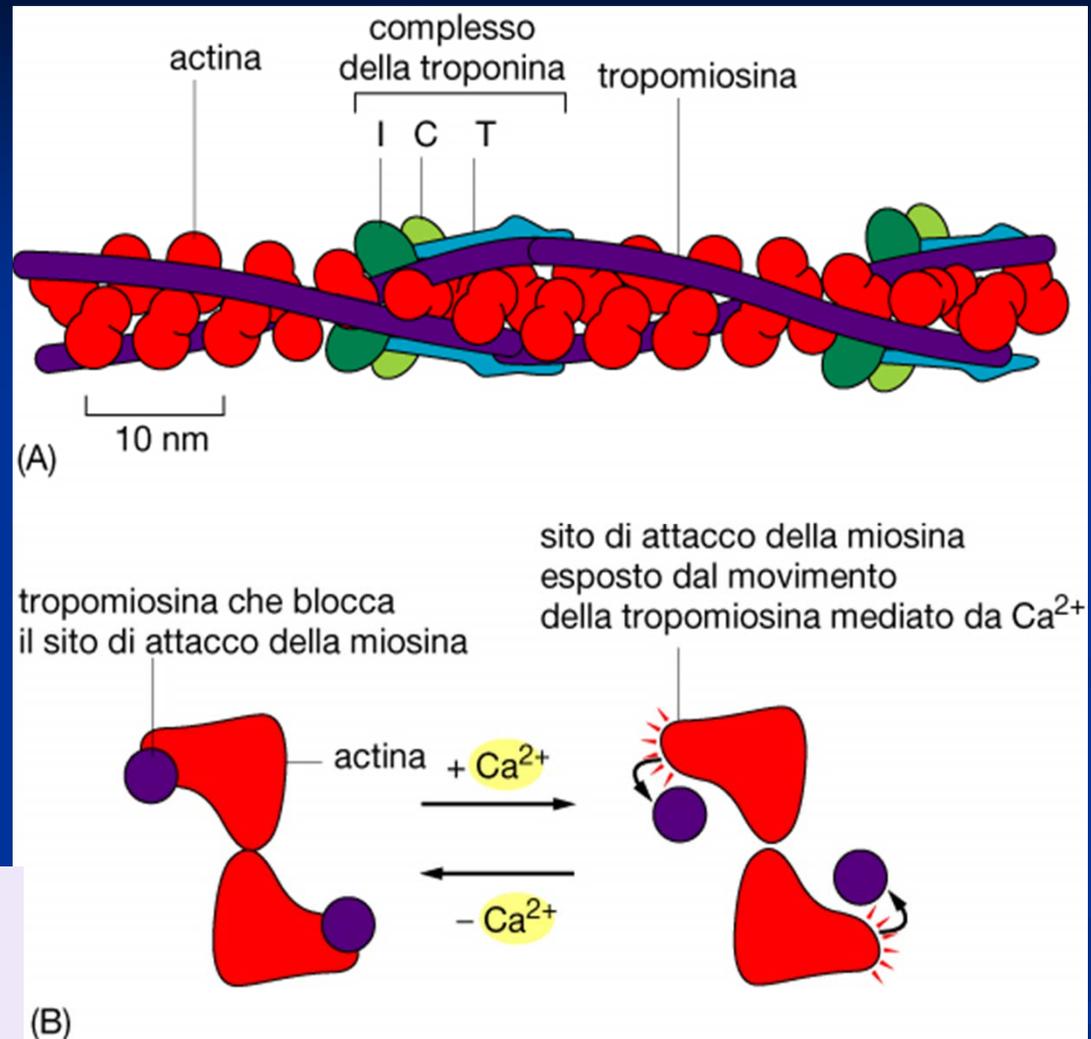
Meccanismo con cui il Ca^{++} libero stimola la contrazione

Come la contrazione muscolare dipende dal Ca^{++} ?

filamento sottile
(actina) di una cellula
di muscolo scheletrico

Durante il rilassamento i
legami crociati non possono
formarsi perché i siti per il
legame della miosina
sull'actina sono mascherati da
molecole di **tropomiosina**

Alla tropomiosina è legata a sua volta
un'altra proteina, la **troponina** che può
legare Ca^{++}



Il Ca^{++} legandosi alla troponina provoca cambiamenti conformazionali nella tropomiosina smascherando i siti per l'interazione tra actina e testa della miosina

CONTRAZIONE MUSCOLARE

- **L'aumento di Ca^{++} nel citosol della c. muscolare, indotto dall'apertura dei canali del Ca sulla m. del SR a seguito del PA trasmesso attraverso i tubuli T, provoca la **contrazione di ciascuna miofibrilla****
- **Il segnale viene trasmesso dalla m. plasmatica a ciascun sarcomero (tramite i Tubuli T e il SR) nel giro di ms e tutte le miofibrille della c. muscolare si contraggono contemporaneamente**
- **L'aumento citoplasmatico di Ca^{++} è temporaneo**

LA CONTRAZIONE MUSCOLARE DIPENDE DA DUE PROCESSI CHE CONSUMANO ENORMI QUANTITÀ DI ENERGIA (ATP):

1. Lo scivolamento dei filamenti spinto dalla ATP-asi del dominio motore della miosina
2. Il pompaggio del Ca^{++} , spinto dalla pompa del Ca^{++}

In assenza di ATP



RIGOR MORTIS

Diverse tipologie di canali ionici → meccanismo

K⁺ leak channels → **potenziale di riposo**

Canali cationici regolati da voltaggio → **potenziale d'azione**

Canali ionici regolati da trasmettitore → **segnali chimici in segnali elettrici**