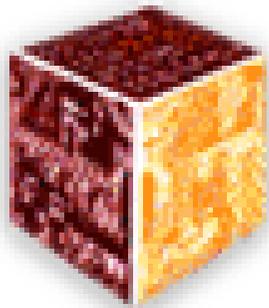


UNIVERSITA'  
DEGLI STUDI  
DI **TERAMO**

*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)

# Matrice ExtraCellulare

- L'organismo è fatto da diversi tessuti, in cui le cellule sono assemblate e tenute insieme in modi diversi
- La **MEC** ha una parte essenziale nell'organizzazione dei tessuti

# Matrice extracellulare (MEC)

- Rete di **macromolecole extracellulari** (secrete)
  - Funzione principale: struttura di **supporto**
  - Ruolo attivo di **regolazione del comportamento** delle cellule (ne influenza la sopravvivenza, la proliferazione, la migrazione, la forma e la funzione)

# TESSUTI

**I principali tessuti nei Vertebrati sono:**

- Nervoso
- Muscolare
- Ematico
- Linfoide
- Epiteliale
- Connettivo

# TESSUTI

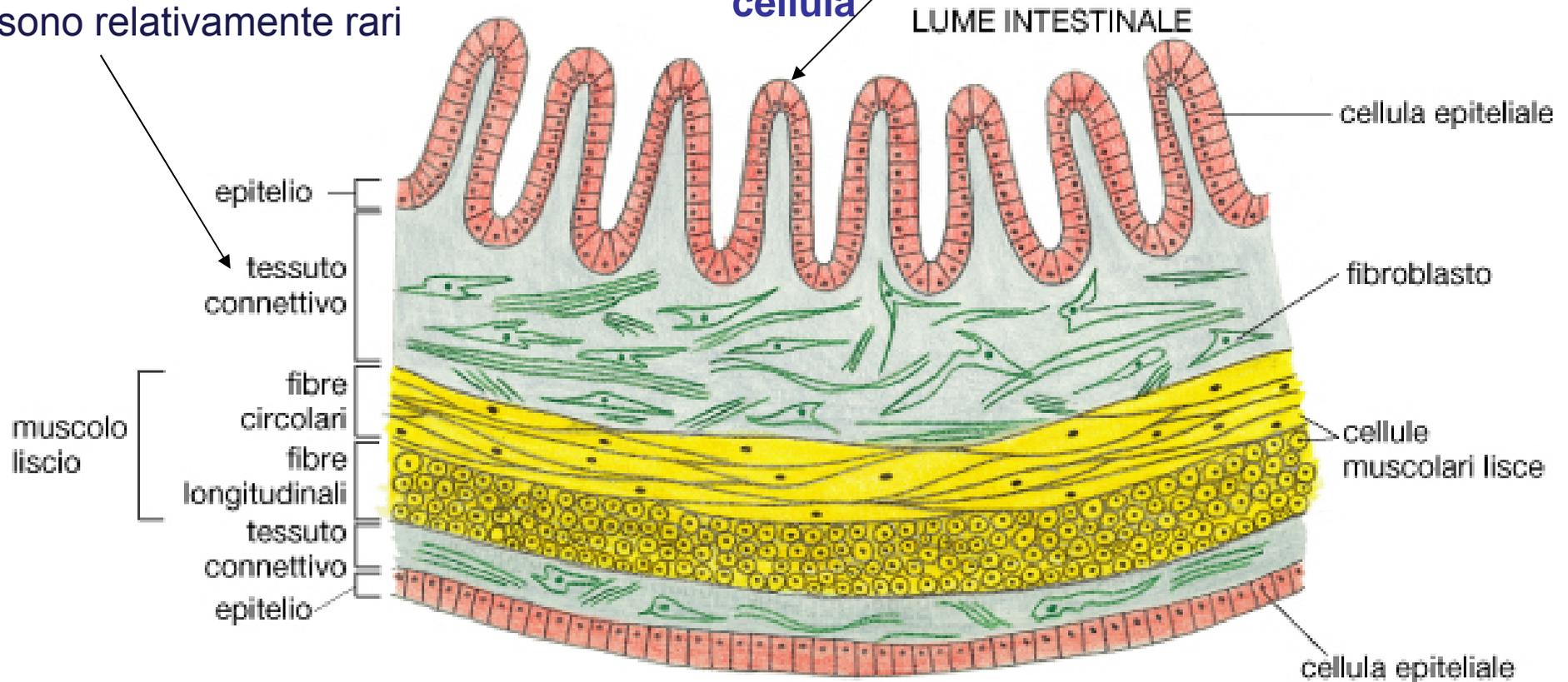
giunzioni cellula-cellula

matrice extracellulare (MEC)

## MEC abbondante

attacchi diretti tra una cellula e l'altra sono relativamente rari

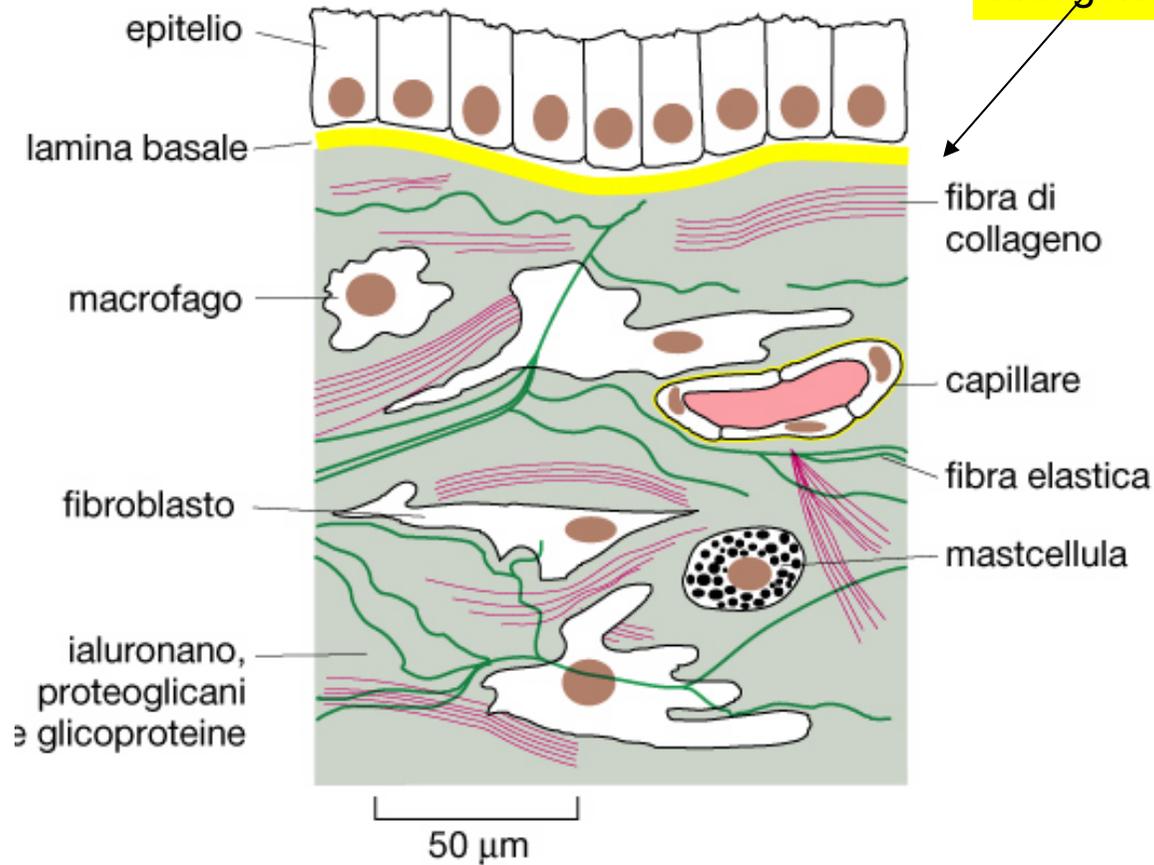
La MEC è scarsa e consiste soprattutto di un tappeto sottile chiamato **LAMINA BASALE** che sta sotto all'epitelio. Le cellule sono attaccate tra loro mediante **adesioni cellula-cellula**



# LAMINA BASALE:

tappeto flessibile di MEC specializzata (40-120 nm)

composta soprattutto da collagene di tipo IV, nidogeno e un proteoglicano eparan solfato



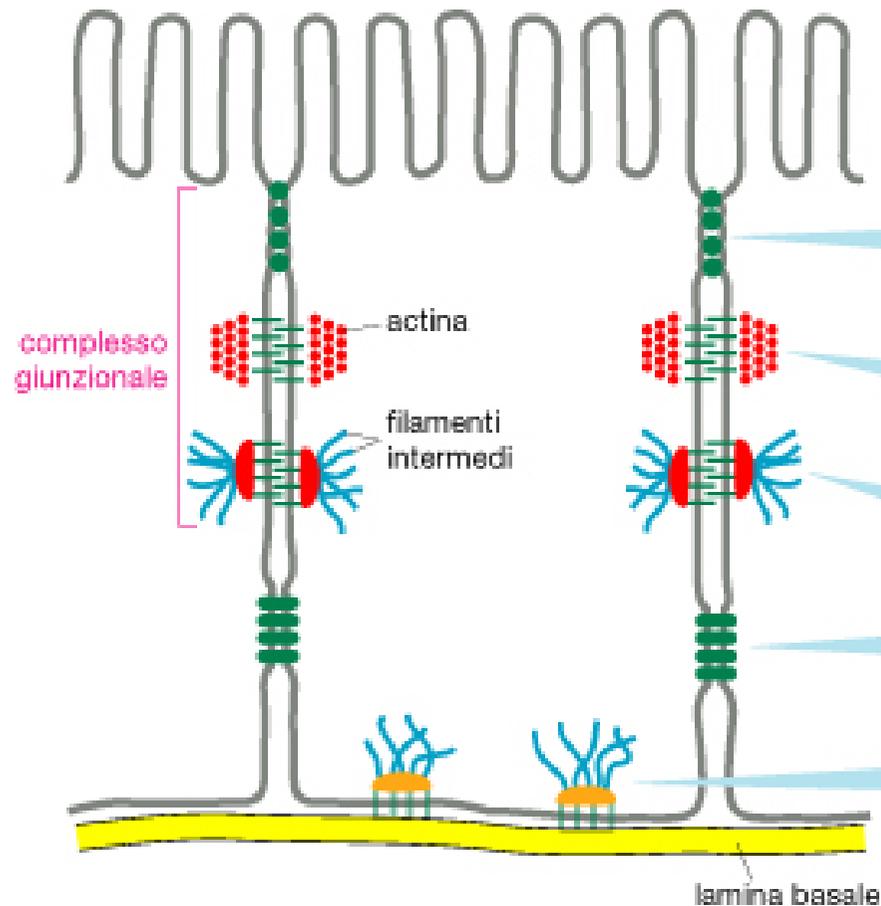
TESSUTO CONNETTIVO

**Gli epitelii quasi sempre si trovano su un letto di supporto di TESSUTO CONNETTIVO**

La **MEC** nel tessuto connettivo è più abbondante delle cellule che circonda

# giunzioni cellula-cellula

varie **giunzioni cellulari** in una cellula epiteliale di Vertebrato



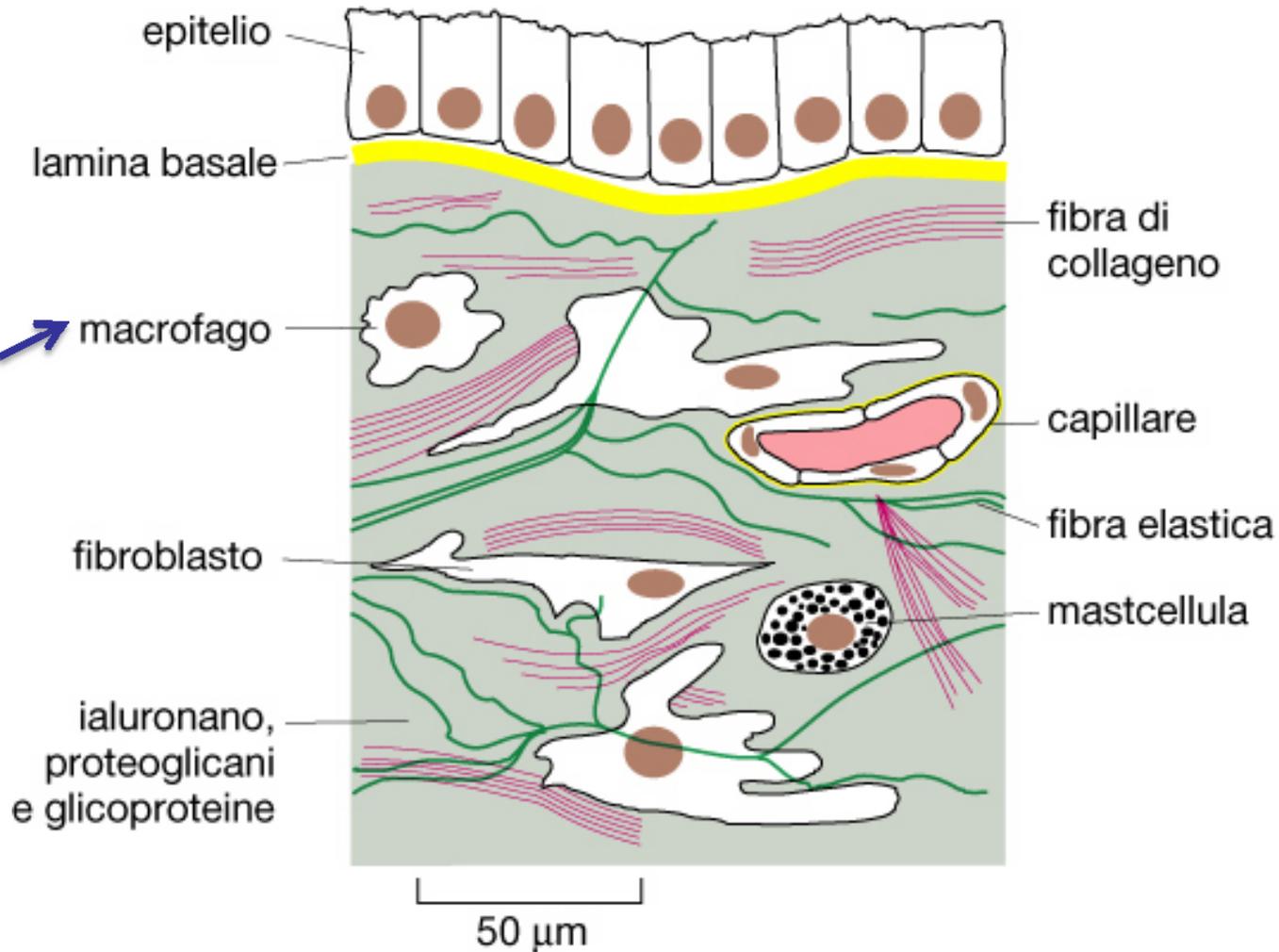
nome	funzione
giunzione stretta	sigilla cellule adiacenti in un foglietto epiteliale per impedire il passaggio di molecole fra di esse
giunzione aderente	unisce un fascio di actina in una cellula a un fascio simile in una cellula vicina
desmosoma	unisce i filamenti intermedi in una cellula a quelli in una cellula vicina
giunzione gap	permette il passaggio di piccoli ioni e molecole solubili in acqua
emidesmosoma	àncora i filamenti intermedi in una cellula alla lamina basale

# Tessuti connettivi

**Formano l'impalcatura del corpo** nei Vertebrati, ma la sua quantità presente negli organi varia molto: è max nella cartilagine e l'osso, è minima nel cervello e nel midollo spinale

**Regolano il comportamento delle cellule**

tipo cellulare predominante



TESSUTO CONNETTIVO

- **la MEC è composta da 2 classi principali di macromolecole** prodotte localmente (da fibroblasti o condroblasti/osteoblasti):
  1. **GLICOSAMMINOGLIGANI** (GAG), catene polisaccaridiche di solito unite covalentemente a proteine a formare i **proteoglicani**
  2. **PROTEINE FIBROSE** con funzioni sia strutturali che adesive: **collagene, elastina, fibronettina** e **laminina**

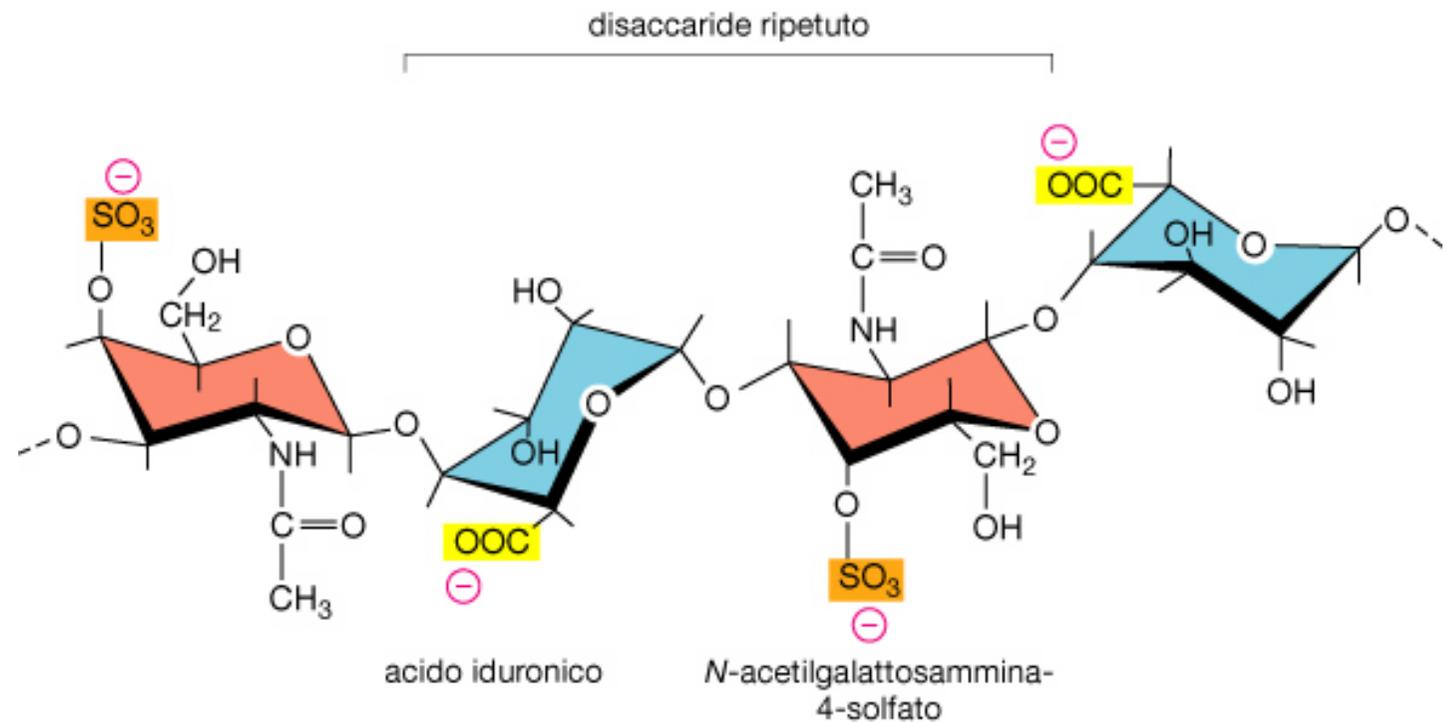
**Turnover**  $\Rightarrow$  le macromolecole della MEC sono continuamente degradate e ri-sintetizzate

*Es. degradazione della matrice se le cellule devono migrare attraverso la lamina basale*

- Sono **catene polisaccaridiche non ramificate** composte da unità ripetute di disaccaridi
- **Gruppi solfato o carbossilici** sono presenti nella maggior parte dei loro zuccheri → carica altamente negativa

# GAG

rigide e fortemente idrofiliche



- A seconda dei loro zuccheri, del tipo di legame tra gli zuccheri ed il numero e la posizione dei gruppi solfato si distinguono **4 gruppi di GAG**:

1. **Ialuronano (o acido ialuronico)**
2. **Condroitin solfato e dermatan solfato**
3. **Eparina solfato**
4. **Cheratan solfato**

catene polisaccaridiche → **rigide e fortemente idrofiliche**

conformazioni molto estese ⇒ **occupano enormi volumi** rispetto alla loro massa e **formano gel** anche a basse concentrazioni

*La forte carica negativa attrae una nuvola di cationi, soprattutto Na<sup>+</sup> → turgore*  
**(Sopportano forze di compressione)**

● proteina globulare (PM 50 000)

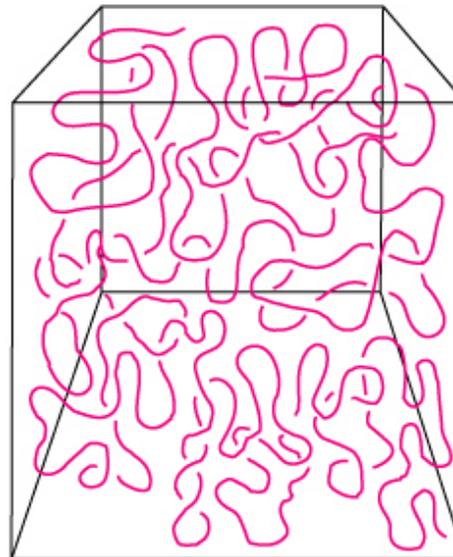


glicogeno (PM circa 400 000)



spettrina (PM 460 000)

— collageno (PM 290 000)



ialuronano (PM  $8 \times 10^6$ )

300 nm

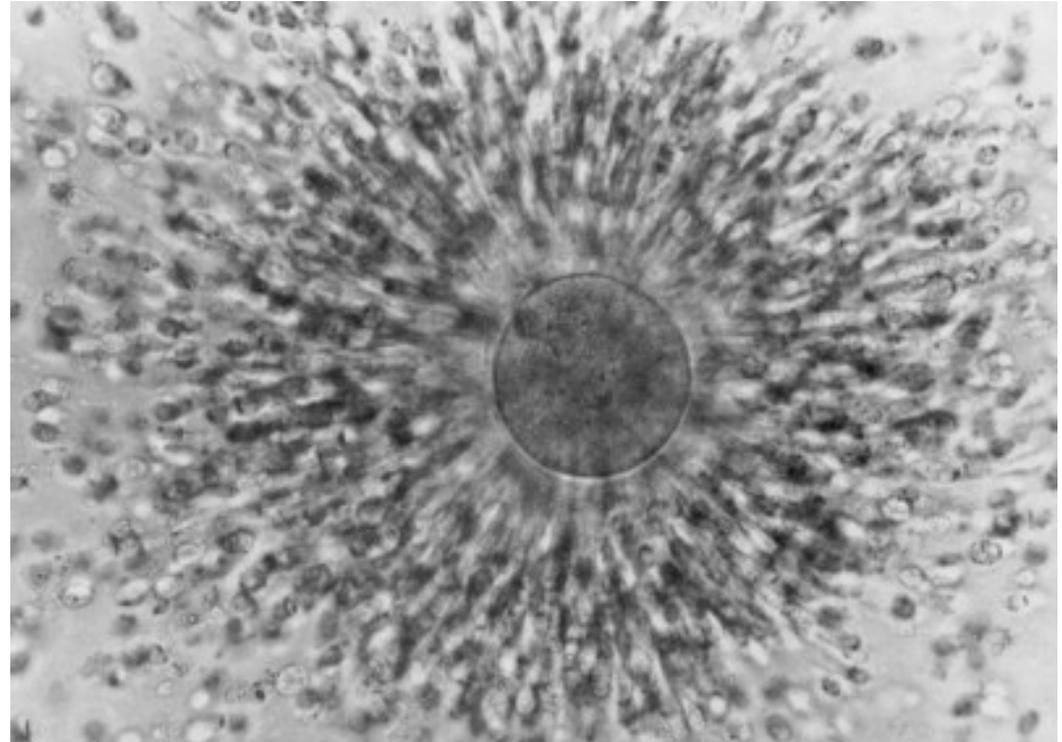
*singola molecola idratata di ialuronano*

*(detto anche acido ialuronico)*

**GAG** < 10% del peso delle proteine fibrose, ma **riempiono la > parte dello spazio extracellulare**  
**(supporto meccanico)**

# Acido ialuronico

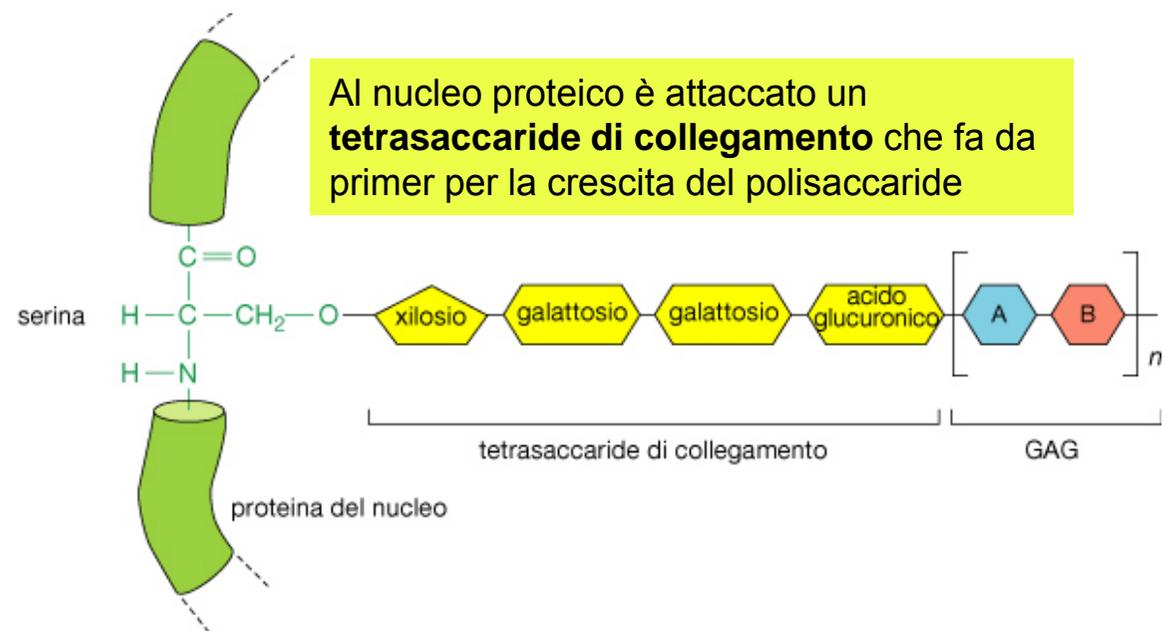
- È il più semplice dei GAG
- Non contiene zuccheri solfati
- Non è unito a nessuna proteina
- Una piccola quantità si espande con l'H<sub>2</sub>O ad occupare grandi volumi
- Viene degradato dall'enzima ialuronidasi



*complesso cumulo-oocita  
espanso*

# PROTEOGLICANI

- Tranne l'ac. ialuronico, tutti i GAG sono attaccati covalentemente a **proteine**
- Possono contenere fino al 95% in peso di **carboidrati**, sotto forma di **catene lunghe e non ramificate** di GAG



La catena polipeptidica è prodotta dai ribosomi attaccati alla membrana ed introdotta nel lume del **ER**; le catene polisaccaridiche sono assemblate su questo nucleo proteico principalmente nel **Golgi**

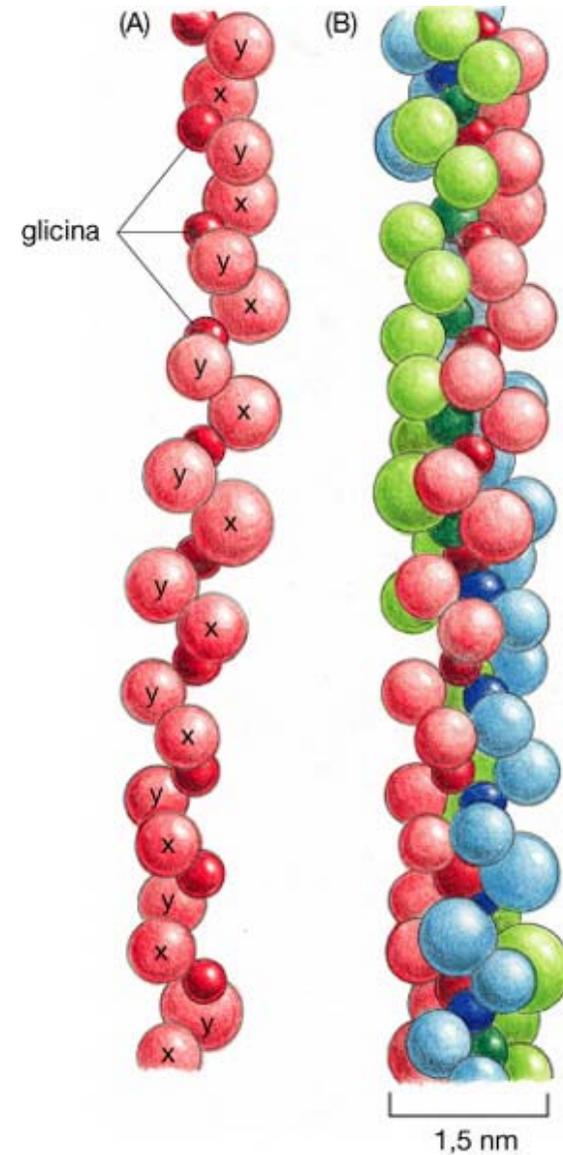
# Funzioni dei GAG

- Forniscono uno **spazio** idratato intorno e tra le cellule
- Le catene di GAG formano **gel** con dimensioni dei pori e densità di cariche variabili→ **setacci selettivi** per il traffico di molecole e cellule
- Ruolo nella **segnalazione** chimica tra le cellule
- Alcuni proteoglicani sono componenti integrali delle M plasmatiche e agiscono da **co-recettori**

# Proteine fibrose: **COLLAGENI**

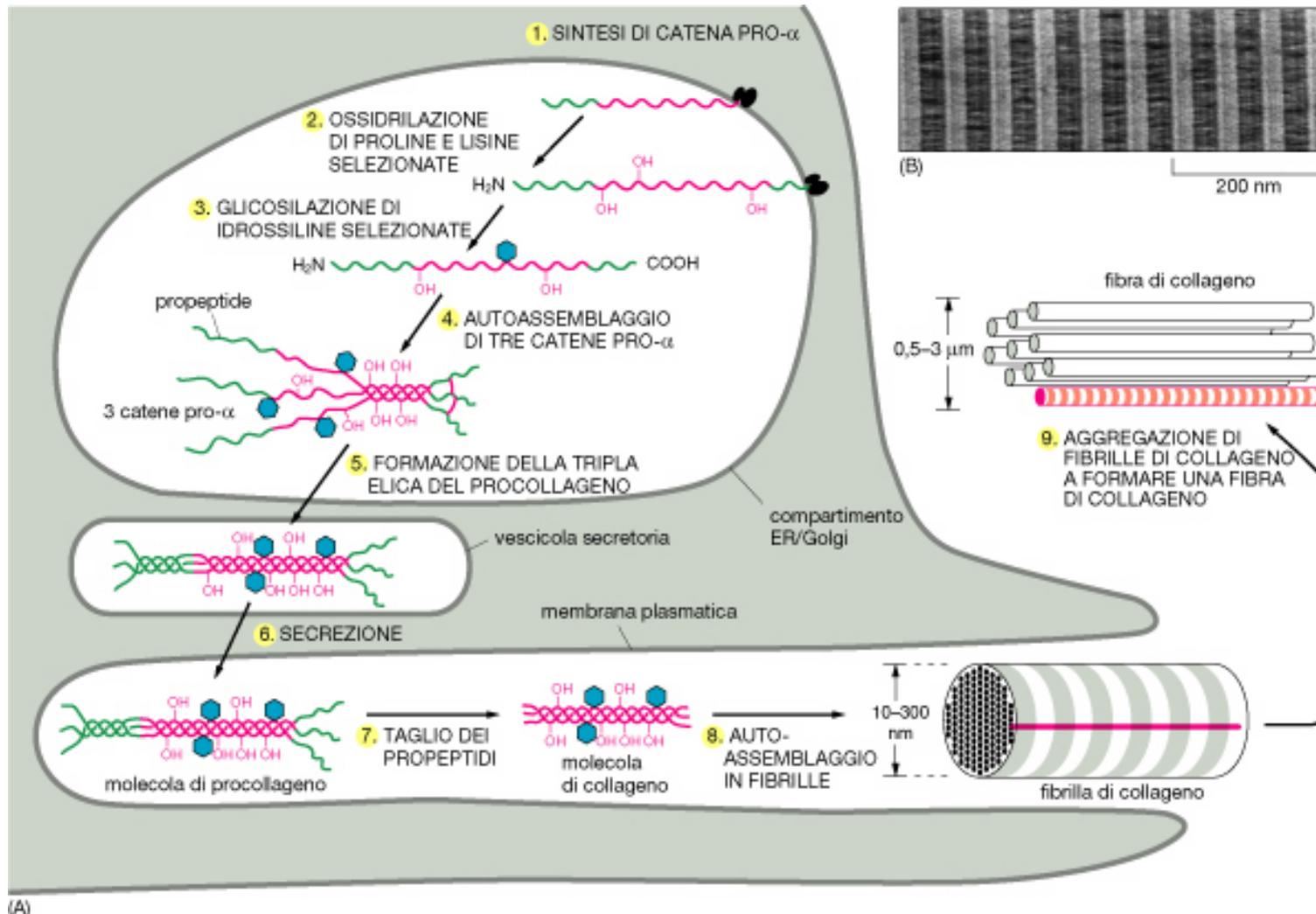
*sono le proteine più abbondanti nei mammiferi: 25% della massa proteica totale*

- **Proteine fibrose** presenti in tutti gli animali multicellulari: **proteine principali della MEC**
- Secreti da cellule del connettivo e da altri tipi cellulari
- Componente principale di pelle e osso
- Lunga struttura rigida a tripla elica



# Formazione di una fibrilla di collagene

- Le singole catene polipeptidiche del collagene sono sintetizzate **nel ER** come precursori più grandi: **catene pro-alfa** e assemblate in tripla elica di **pro-collagene**
- Solo dopo la secrezione le molecole di pro-collagene sono convertite in **molecole di collagene** e assemblate nello spazio extracellulare in **fibrille di collagene** molto più grandi dotate di elevata resistenza a **forze di tensione**





# Proteine fibrose: **ELASTINA**

- Conferisce ai tessuti la loro **elasticità**
- Proteina altamente idrofobica non glicosilata
- In molti tessuti dei Vertebrati (pelle, vasi, polmoni) una **rete di fibre elastiche nella MEC** dà l'elasticità necessaria ad accorciarsi dopo uno stiramento temporaneo
- Precursore solubile: **tropoelastina** secreto nello spazio EC; qui forma fogli di elastina attraverso legami crociati

*Le **lunghe fibrille di collagene** sono intessute insieme alle **fibre elastiche** per limitare il grado di stiramento e impedire al tessuto di lacerarsi*

# Proteine fibrose: **fibronettina** e **laminina**

- **Grandi glicoproteine** della matrice a domini multipli, attraverso cui **aiutano ad organizzare la matrice e aiutano le cellule ad aderirvi**
- Fibronettina: del plasma (forma solubile), nella MEC (fibrille di fibronettina altamente insolubili)
- **Filamenti di actina intracellulare regolano L'ASSEMBLAGGIO DELLE FIBRILLE EXTRACELLULARI di fibronettina**  

- **L'organizzazione della MEC può a sua volta influenzare l'ORGANIZZAZIONE DEL CITOSCHELETRO della cellula**
- La **MEC** influenza il comportamento della cellula **legandosi a recettori della superficie cellulare** che attivano vie di segnalazione intracellulare
- I componenti della MEC sono degradati da enzimi proteolitici extracellulari: es. metalloproteasi  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{Zn}^{++}$  -dipendenti

# COLLEGAMENTO CELLULE ↔ MEC

- Tutte le cellule hanno **proteine di adesione transmembrana** che agiscono da **recettori della matrice** e legano la **MATRICE** al **CITOSCHELETRO** della cellula

Sulle cellule animali i principali **recettori per le proteine della MEC** sono le **INTEGRINE**

*Rispetto ai “classici” recettori di M:*

- **minore affinità** per il ligando

- presenti sulla superficie cellulare con **concentrazione da 10 a 100 volte superiore**

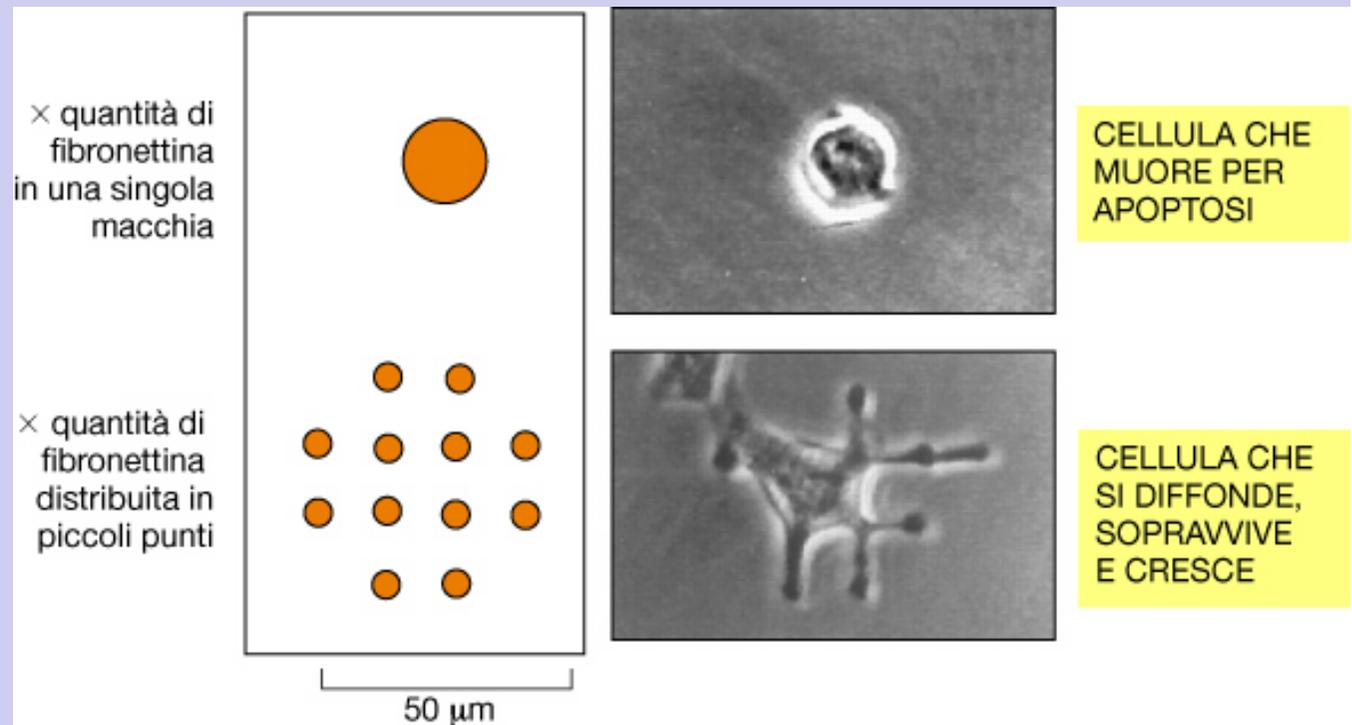
- Le integrine e i segnali intracellulari che esse generano mediano il fenomeno cellulare della ***DIPENDENZA DA ANCORAGGIO***

La maggior parte delle cellule devono attaccarsi alla MEC per **crescere e proliferare** e spesso anche per **sopravvivere**

**dipendenza da ancoraggio**

*È il grado di allargamento su un substrato piuttosto che il numero di molecole della MEC che la cellula contatta ad influenzare la sopravvivenza cellulare*

**importanza dell'allargamento**



Cellule che **si allargano su una grande superficie** sopravvivono meglio e proliferano più velocemente di cellule che non sono così allargate, anche se in entrambi i casi le cellule hanno la stessa area che prende contatto con la matrice

# FUNZIONI DELLE INTEGRINE

- “**attaccano**” una cellula a ciò che la circonda
- attivano vie di **segnalazione intracellulare** che comunicano alla cellula il carattere della MEC a cui è attaccata

*Una cellula può regolare l'attività adesiva delle sue integrine dall'interno*

