UNIVERSITA'
DEGLI STUDI
DI TERAMO

Corso di laurea in Biotecnologie

CdS BIOTECNOLOGIE N.O.
C.I. Biologia Cellulare e Laboratorio di metodologie per lo studio di cellule e tessuti

(Proff. Gioia/Mauro) 15CFU
I anno

CdS BIOTECNOLOGIE V.O.
C.I. Fisiologia Cellulare e Immunologia

(Proff. Gioia/Tiscar) 11CFU
II anno

Moduli:
FISIOLOGIA CELLULARE (4CFU)
LABORATORIO DI COLTURE CELLULARI (3CFU)

Docente: *Prof.ssa Luisa Gioia*

Testo di **FISIOLOGIA CELLULARE**

L'essenziale di biologia molecolare della cellula

Sesta edizione

Bruce Alberts, Rebecca Heald, Karen Hopkin, Alexander Johnson, David Morgan, Keith Roberts



Testo di **FISIOLOGIA CELLULARE**



Zanichelli

Zanichelli editore S.p.A.
via Irnerio, 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

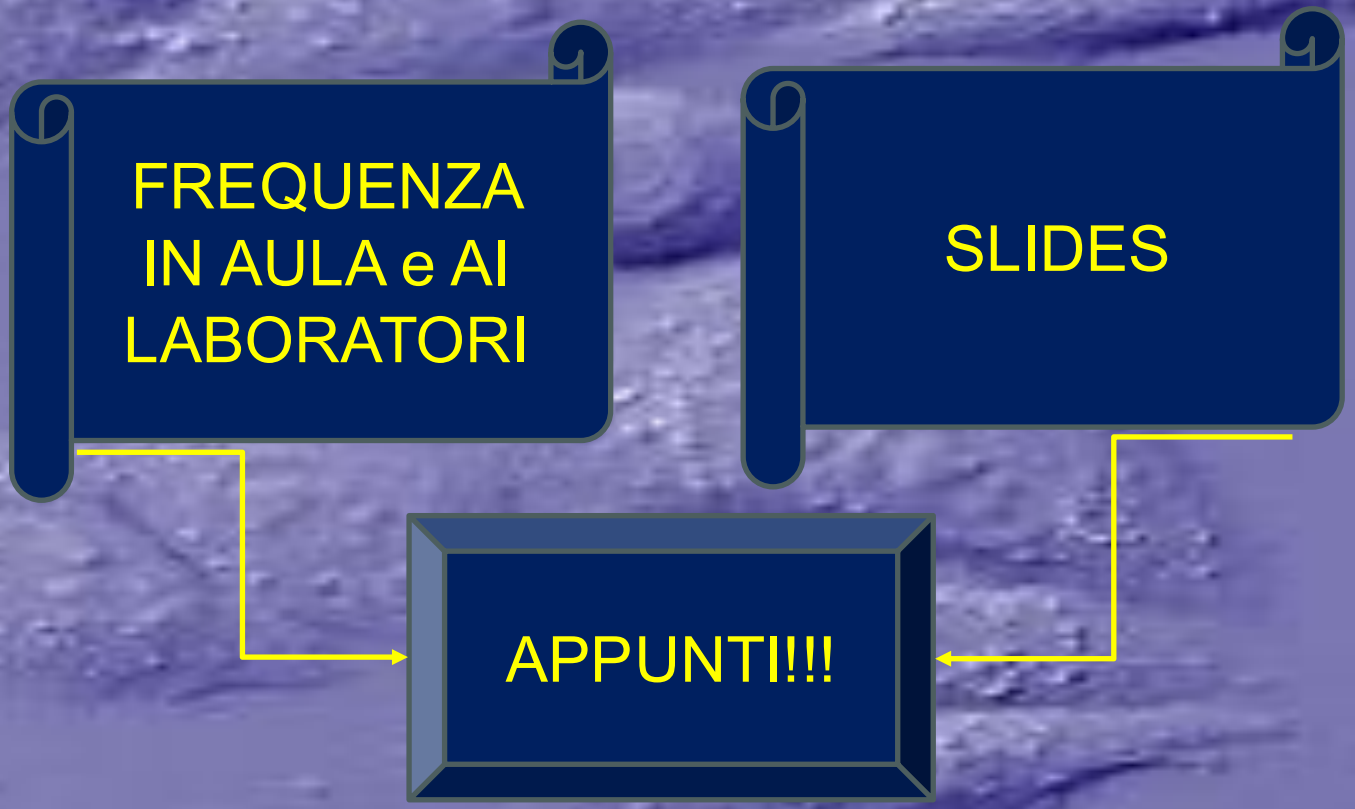
pp. 1680 + XXXII
ISBN 88-08-07891-4

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…

- Presidente del C.I. Prof.ssa Luisa Gioia

- Prenotazione appello C.I. esame: obbligatoria, su segreteria studenti online; nelle NOTE specificare eventuali dettagli

- Verificare su sito del Dipartimento di Bioscienze eventuali AVVISI da parte del docente relativi alle attività didattiche

- Informazioni sulle modalità di svolgimento degli esami disponibili sul sito (COURSE CATALOGUE)

- Registrazione al corso/piattaforma E-LEARNING (account) per ricevere comunicazioni urgenti dal docente e per sostenere i test di valutazione

- Suddivisione in gruppi e prenotazione alle attività pratiche in LABORATORIO. Obbligo del camice. Richiesta massima puntualità.

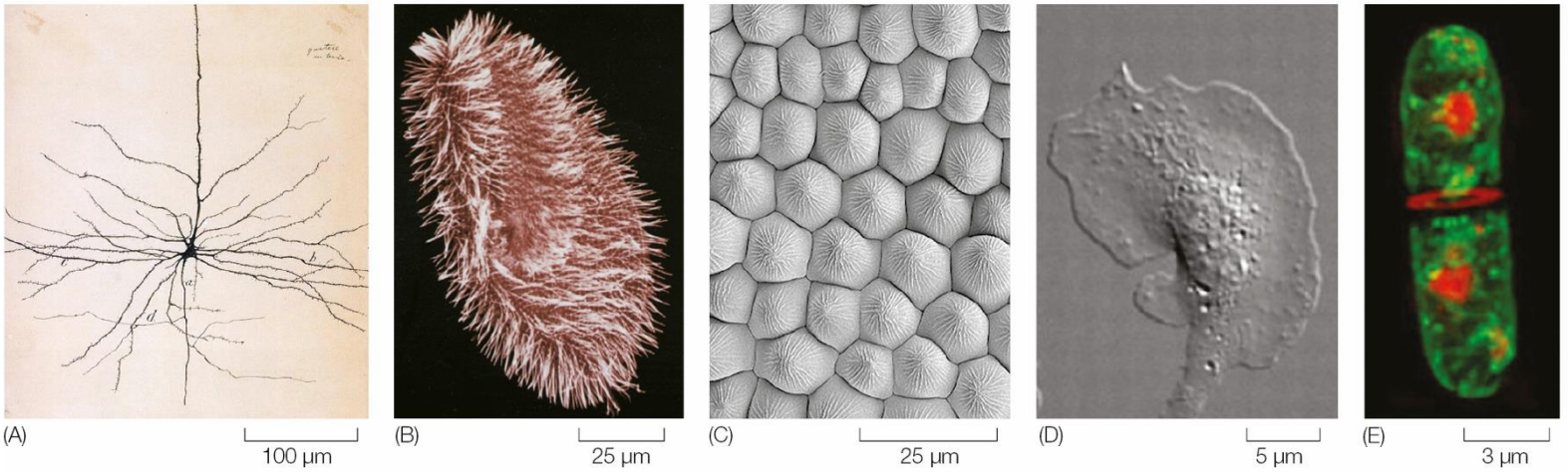
Capitolo 1

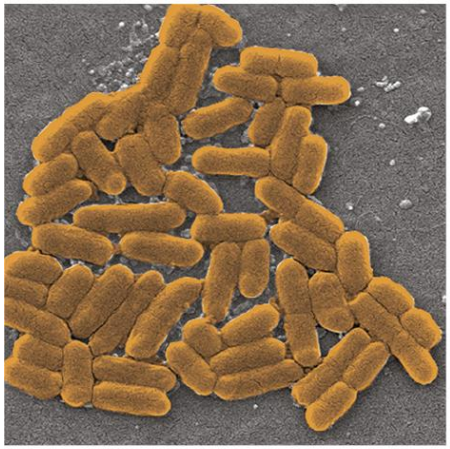
Cellule: le unità fondamentali della vita

Figura 1.1 Le cellule presentano varie forme e dimensioni. Si notino le scale molto diverse di queste micrografie. (A) Disegno di una singola cellula nervosa (neurone) di un cervello di mammifero. Questa cellula presenta una singola estensione (assone), che si proietta verso la parte superiore dell'immagine, attraverso la quale invia segnali elettrici alle altre cellule nervose e un'immensa rete di ramificazioni attraverso cui riceve segnali da ben 100 000 altri neuroni. (B) Paramecio. Questo protozoo, un'unica cellula gigante, nuota grazie al battito coordinato delle ciglia che ricoprono la sua superficie. (C) La superficie di un petalo di fiore (bocca di leone) che mostra una serie ordinata di celle ben chiuse. (D) Un macrofago che si espande mentre pattuglia i tessuti animali alla ricerca di microrganismi invasori. (E) Un lievito che sta dividendosi in due. Il setto mediale (marcato con un colorante fluorescente *rosso*) forma una parete tra i due nuclei (anch'essi colorati di rosso) che sono stati separati nelle due cellule figlie; in questa immagine le membrane delle cellule sono marcate con un colorante fluorescente *verde*. [A, per gentile concessione di Herederos de Santiago Ramón y Cajal, 1899; B, per gentile concessione di Anne Fleury, Michel Laurent e André Adoutte; C, per gentile concessione di Kim Findlay; D da Hanley P.J. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 12145-12150 (2010). Con l'autorizzazione della National Academy of Sciences; E per gentile concessione di Janos Demeter e Shelley Sazer.]

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**





(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 1.3 Tutti gli organismi viventi sono composti da cellule.
(A) Una colonia di batteri, (B) una farfalla, (C) una rosa e (D) un delfino sono composti da cellule dotate di una chimica sostanzialmente simile e funzionano secondo gli stessi principi di base. [A, per gentile concessione di Janice Carr; D, per gentile concessione di Jonathan Gordon, IFAW.]

I virus non sono considerabili organismi viventi, perché **non sono in grado di riprodursi autonomamente e di avere un metabolismo autonomo**, pur avendo un genoma (che può essere a RNA oltre che a DNA, a seconda del tipo di virus). Per queste funzioni devono penetrare all'interno di una cellula di cui sfruttano gli apparati metabolici e di riproduzione. Pertanto non sono organismi viventi autonomi, ma, per certi versi, si può considerare che ne assumano le caratteristiche "parassitando" le cellule.

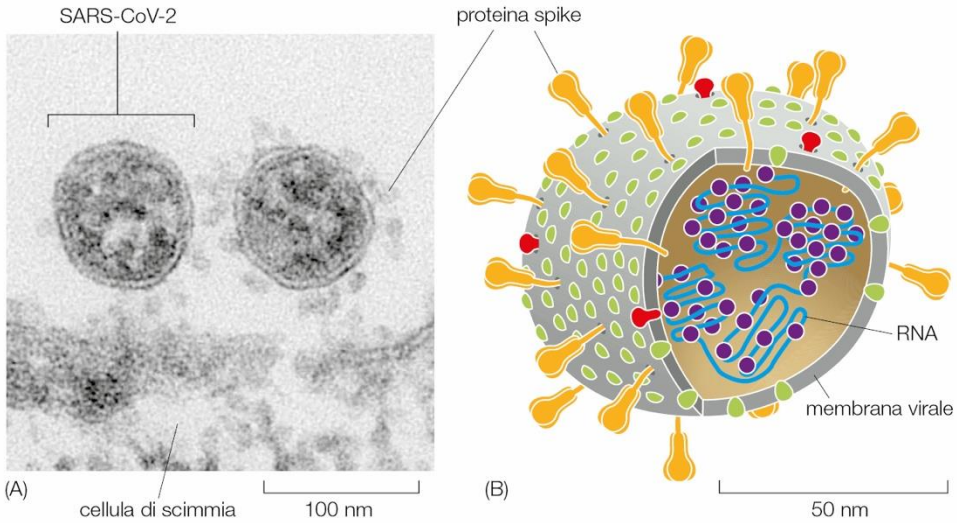


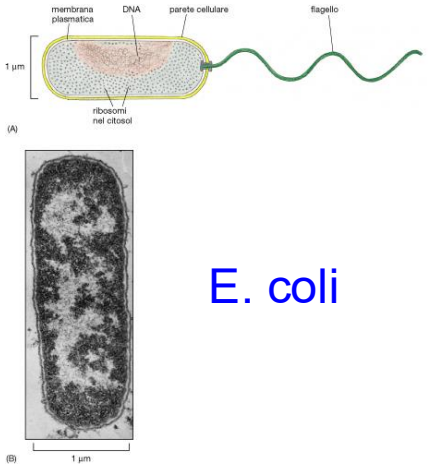
Figura 1.41 SARS-CoV-2 appartiene a una famiglia di coronavirus. (A) Una fotografia al microscopio elettronico mostra due particelle di SARS-CoV-2 attaccate alla superficie di una cellula di scimmia in coltura (che occupa la parte inferiore dell'immagine). Le proteine spike che rivestono la superficie di SARS-CoV-2 permettono ai virus di riconoscere proteine presenti sulla superficie della cellula ospite e conferiscono ai coronavirus il loro aspetto caratteristico. Poiché la proteina spike è fondamentale per il riconoscimento e l'ingresso nelle cellule ospiti, questa rappresenta il principale bersaglio di tutti i vaccini progettati per bloccare l'infezione da SARS-CoV-2. (B) Un disegno in sezione di SARS-CoV-2 mostra diversi suoi componenti chiave, tra cui le proteine spike che sporgono dalla superficie (*verde*) e un tipo di proteina (*viola*) che contribuisce a impacchettare il genoma virale (*azzurro*), costituito da RNA e non da DNA, in nuove particelle virali. Descriveremo il ciclo vitale del virus e il modo in cui si replica all'interno di una cellula ospite nel Capitolo 9. [Da Laue, M. *et al.*, *Sci. Rep.* **11**, 3515 (2021). Con il permesso di Cold Spring Harbor Laboratory Press.]

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

PROCARIOTI

Batteri

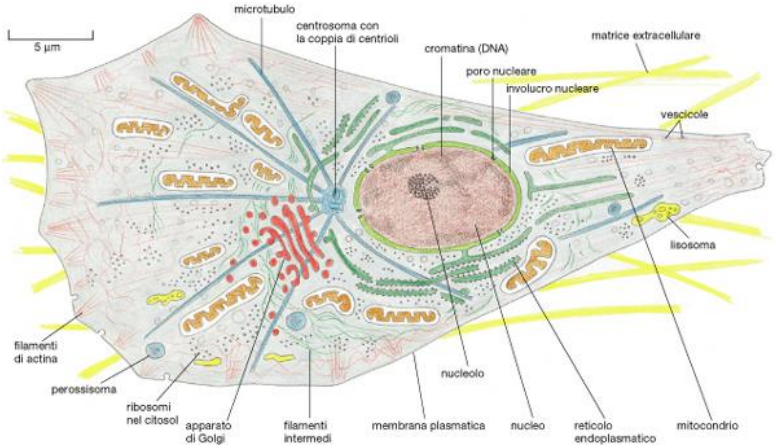
Vibrio cholerae



E. coli

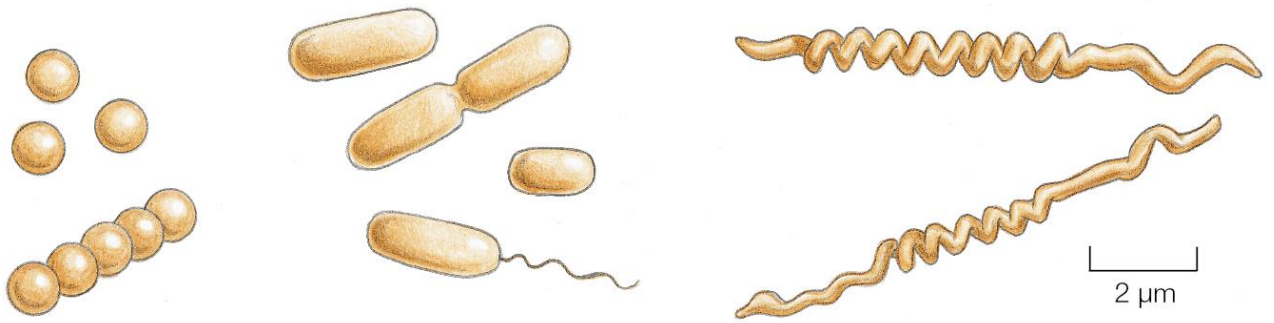
EUCARIOTI

Vegetali
Funghi
Animali



Cellula eucariotica animale

Figura 1.11 I batteri presentano forme e dimensioni varie. Vari tipi di batteri, sferici, a bastoncello ed elicoidali sono qui disegnati in scala. Le cellule elicoidali mostrate nella figura sono i microrganismi patogeni responsabili della sifilide.



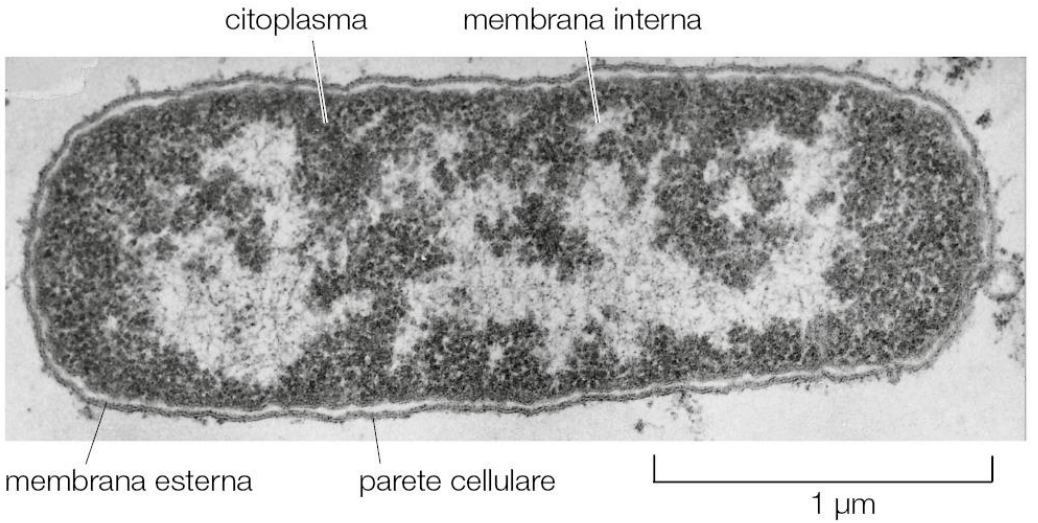
cellule sferiche (per esempio *Streptococcus*)

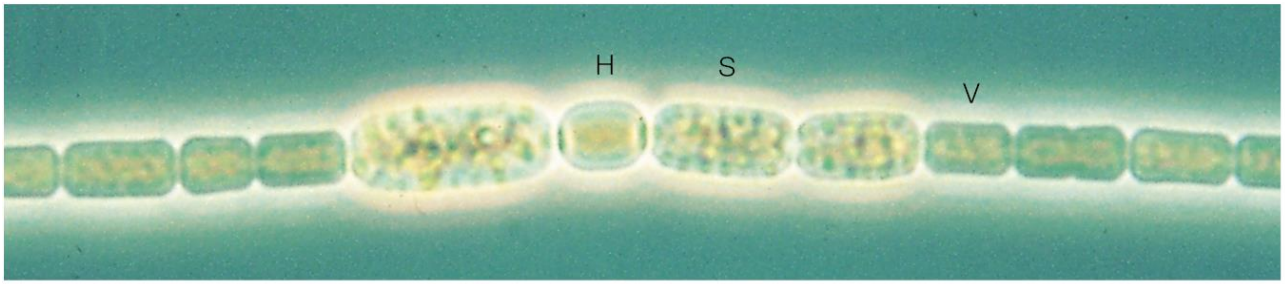
cellule a bastoncello (per esempio *Escherichia coli, Salmonella*)

cellule elicoidali (per esempio *Treponema pallidum*)

ZANICHELLI

Figura 1.12 Il batterio *Escherichia coli* (*E. coli*): un importante organismo modello. Sezione longitudinale di un batterio di questa specie al microscopio elettronico; il DNA cellulare si trova nelle zone a colorazione chiara. Si noti che *E. coli* è dotato di una membrana esterna e una interna (membrana plasmatica), tra le quali si trova una sottile parete cellulare. I numerosi flagelli distribuiti sulla superficie del batterio non sono visibili in questa micrografia. [Per gentile concessione di E. Kellenberger.]





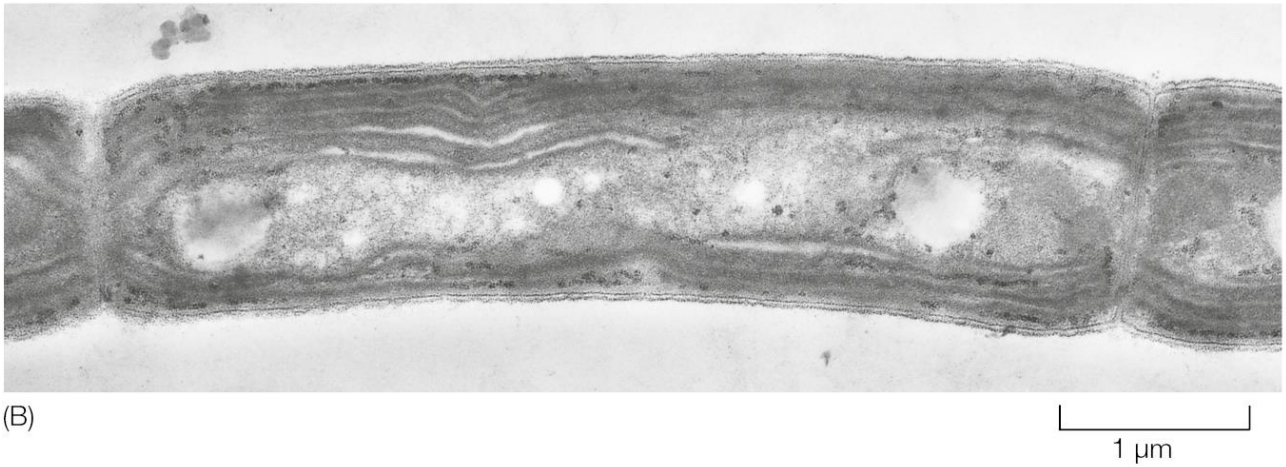


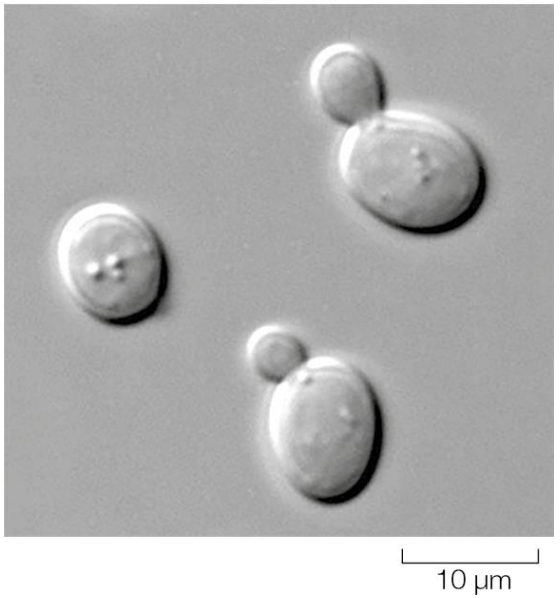
Figura 1.13 Alcuni batteri sono fotosintetici. (A) *Anabaena cylindrica* forma dei lunghi filamenti pluricellulari. In questa foto al microscopio ottico è possibile osservare cellule con specializzazioni diverse: per fissare l'azoto, cioè catturare N_2 atmosferico e incorporarlo in composti organici (indicate con H), per fissare il CO_2 con la fotosintesi (indicate con V), o diventare spore (indicate con S). (B) Al microscopio elettronico si vedono le membrane intracellulari di *Phormidium laminosum*, dove avviene la fotosintesi. Come risulta da queste immagini, anche le cellule procariote formano talvolta organismi pluricellulari molto semplici. [A, per gentile concessione di David Adams; B, per gentile concessione di D.P. Hill e C.J. Howe.]



Figura 1.14 Un batterio sulfureo ricava energia da H_2S. *Beggiatoa*, un procariote che vive in ambienti ricchi di zolfo, ossida H_2S formando zolfo ed è in grado di fissare il carbonio anche in assenza di luce. In questa micrografia ottica si vedono depositi di zolfo giallo all'interno di entrambe le cellule. [Per gentile concessione di Ralph W. Wolfe.]

ZANICHELLI

Figura 1.16 I lieviti sono eucarioti semplici che conducono vita libera. Le cellule che appaiono in questa foto al microscopio ottico appartengono alla specie dei lieviti, *Saccharomyces cerevisiae*, utilizzata per la lievitazione del pane e per la trasformazione del malto di orzo in birra. Come si vede dall'immagine, le cellule si riproducono gemmando e dividendosi asimmetricamente in una cellula madre di dimensioni più grandi e una cellula figlia più piccola; per questo motivo sono detti lieviti gemmanti.



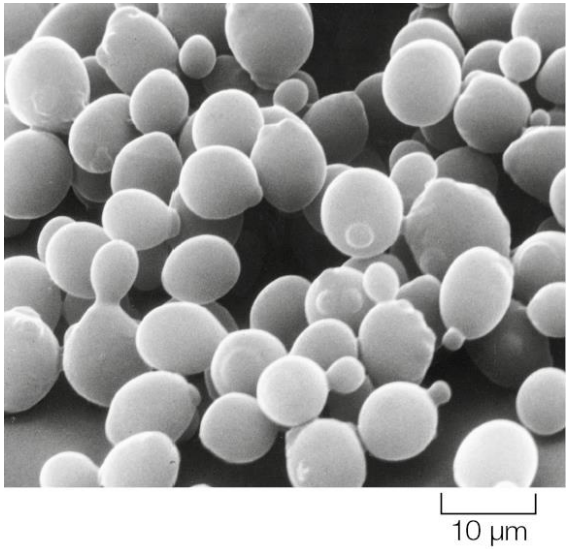
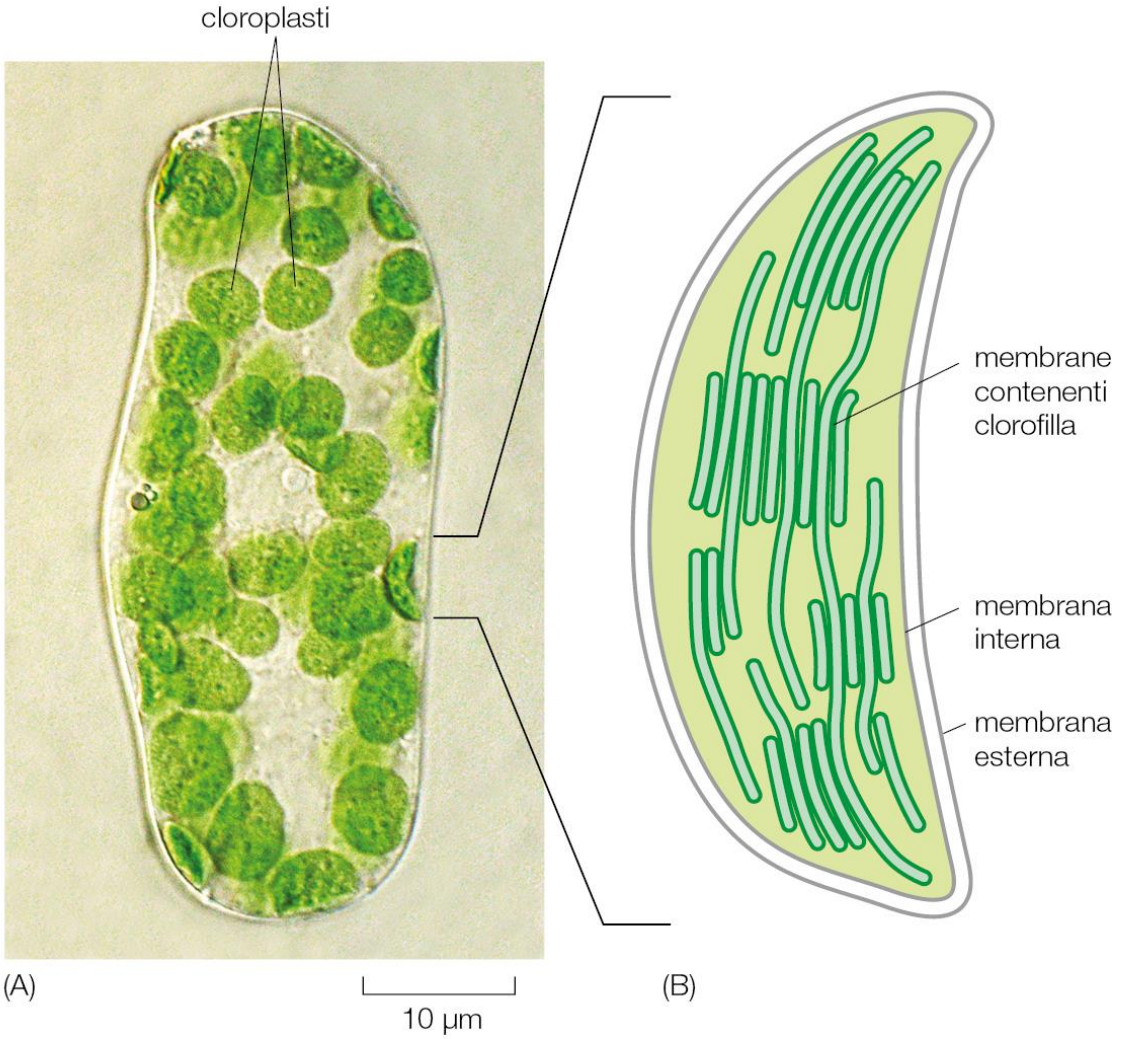


Figura 1.32 Il lievito *Saccharomyces cerevisiae* è un eucariote modello. Al microscopio elettronico a scansione si vedono alcune cellule di lievito che si dividono per gemmazione. Una cellula della stessa specie è raffigurata nella Figura 1.16. [Per gentile concessione di Ira Herskowitz ed Eric Schabatach.]

ZANICHELLI

Un tipo di cellula eucariotica: la cellula VEGETALE

Figura 1.21 I cloroplasti delle cellule vegetali catturano l'energia della luce solare. (A) Immagine al microscopio ottico di una cellula isolata da una foglia di pianta a fiore, che mostra numerosi cloroplasti verdi. (B) Disegno schematico di un singolo cloroplasto: in evidenza le membrane esterna e interna e il complesso sistema di ripiegature profonde che interessa le membrane interne, dove sono contenute le molecole di clorofilla deputate all'assorbimento dell'energia luminosa. [A, per gentile concessione di Preeti Dahiya.]



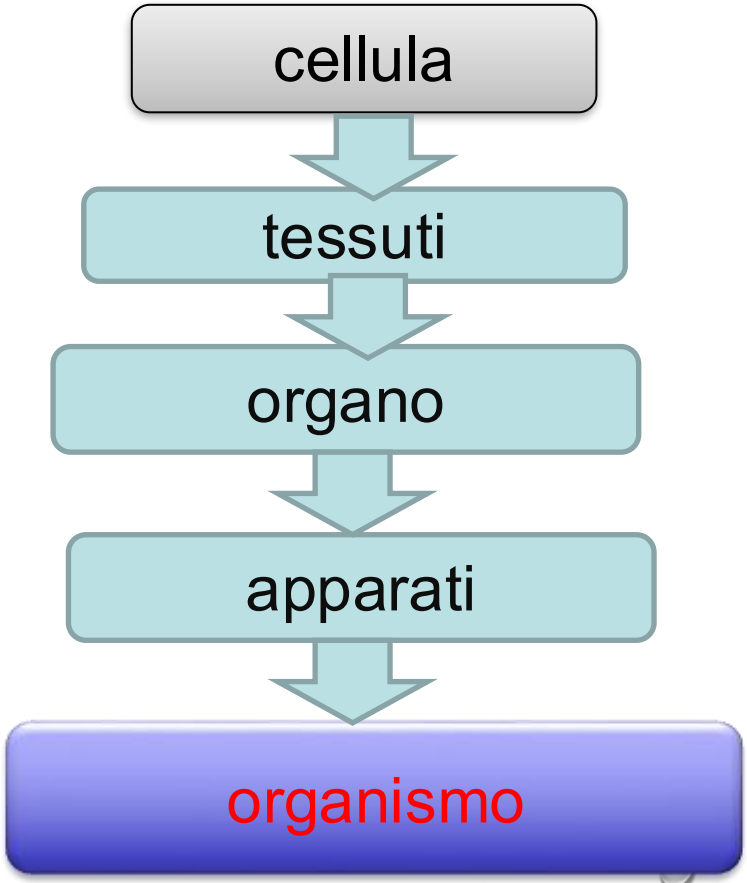
ZANICHELLI

Tutti gli esseri viventi (organismi) sono costituiti da **cellule**

Le cellule sono dotate della capacità di crescere e poi creare copie di se stesse

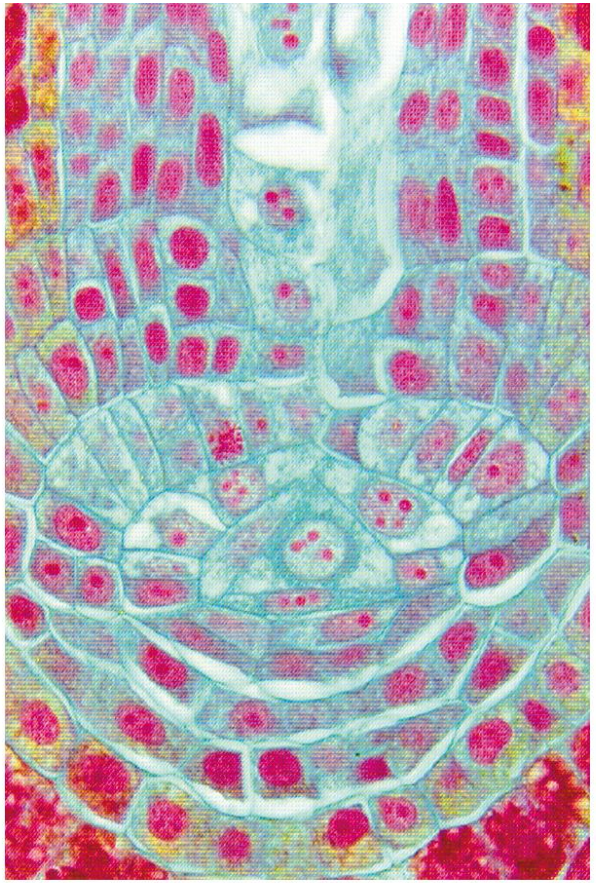
Le forme di vita più semplici sono unicellulari.

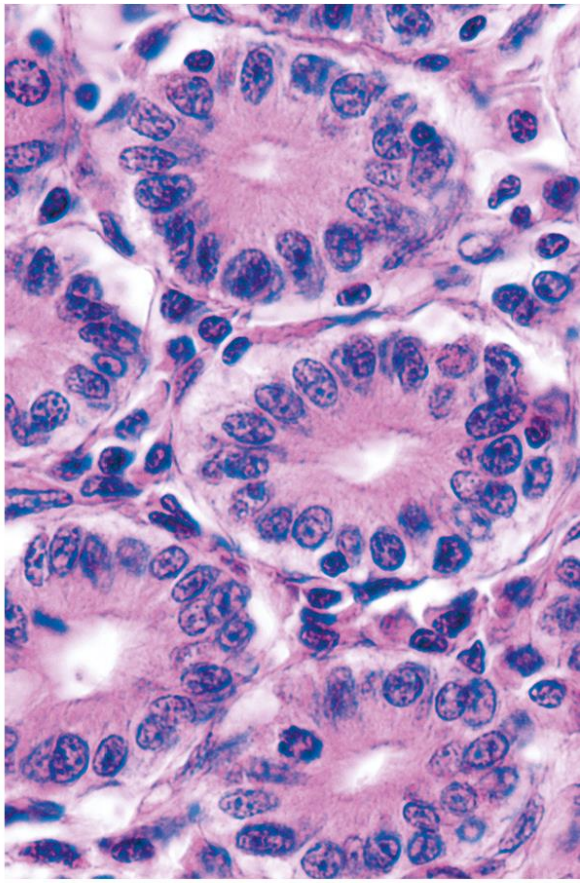
Gli organismi più complessi sono **pluricellulari**, derivanti da una singola cellula (zigote).



Le cellule possono assumere **grande varietà di forme/dimensioni/funzioni**
Le cellule dell'organismo compiono funzioni specializzate che vengono regolate grazie alla comunicazione intercellulare

Figura 1.6 Nelle piante e negli animali le cellule si organizzano in tessuti. (A) Cellule dell'apice radicale di una felce. I nuclei sono colorati in *rosso* e ogni cellula è circondata da una sottile parete cellulare (*azzurra*). Le cellule negli angoli inferiori sono così fittamente raggruppate che solo i nuclei *rossi* sono facilmente visibili. (B) Cellule dei dotti collettori del rene. In questa sezione trasversale ogni dotto appare formato da cellule a stretto contatto (con i nuclei colorati in *blu*) disposte ad anello. L'anello è circondato da matrice extracellulare, di colore *viola,* contenente le cellule che producono la maggior parte dei componenti della matrice. [A, per gentile concessione di James Mauseth; B, Jose Luis Calvo/Shutterstock.]





Risposta agli stimoli: gli organismi viventi percepiscono i cambiamenti ambientali fisici e chimici, come la variazione della temperatura, del pH, dell'umidità o della concentrazione di una determinata sostanza chimica, e sono in grado di reagire a essi **mettendo in atto specifiche risposte**.

Segnalazione intracellulare (signaling/trasduzione)

Gli stimoli a cui ogni organismo vivente può rispondere sono molti e variano a seconda della specie.

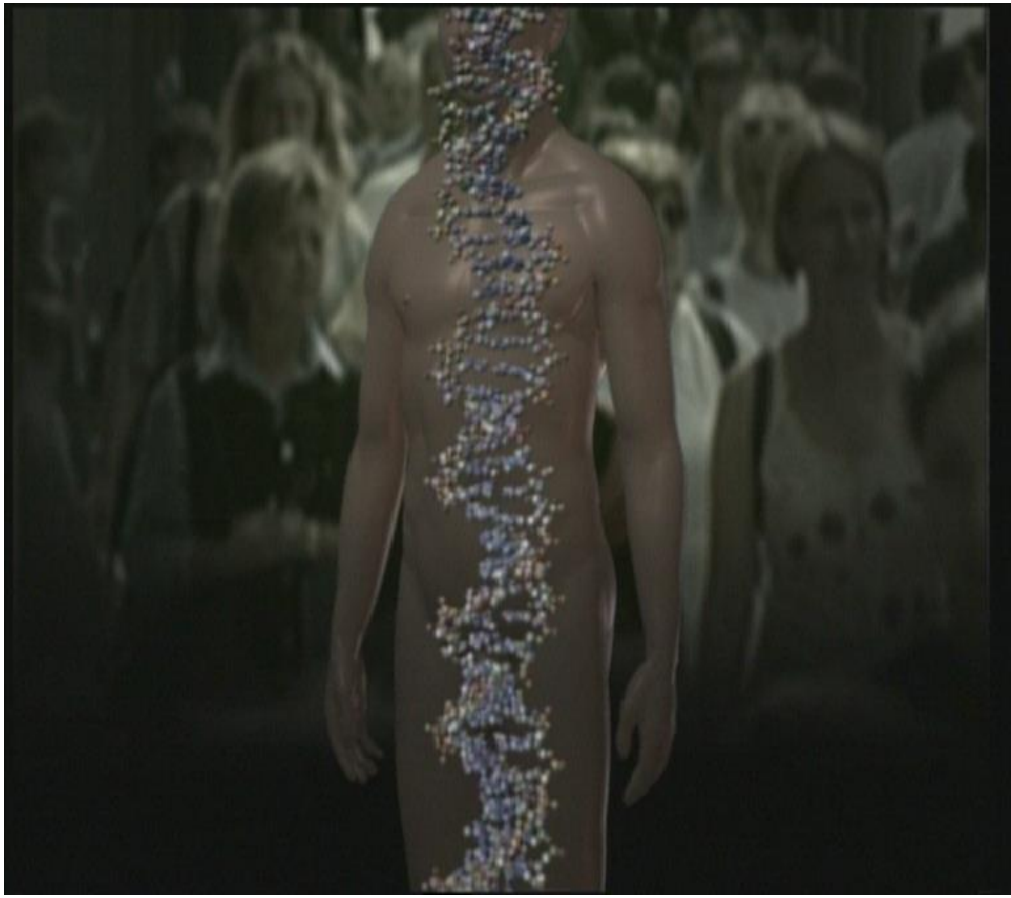
Le piante, per esempio, sono in grado di rispondere alla luce (fototropismo) orientando verso di essa la propria crescita.

Gli animali possono reagire a un pericolo con la fuga o alla scarsità/ricchezza di fonti alimentari regolando il metabolismo.

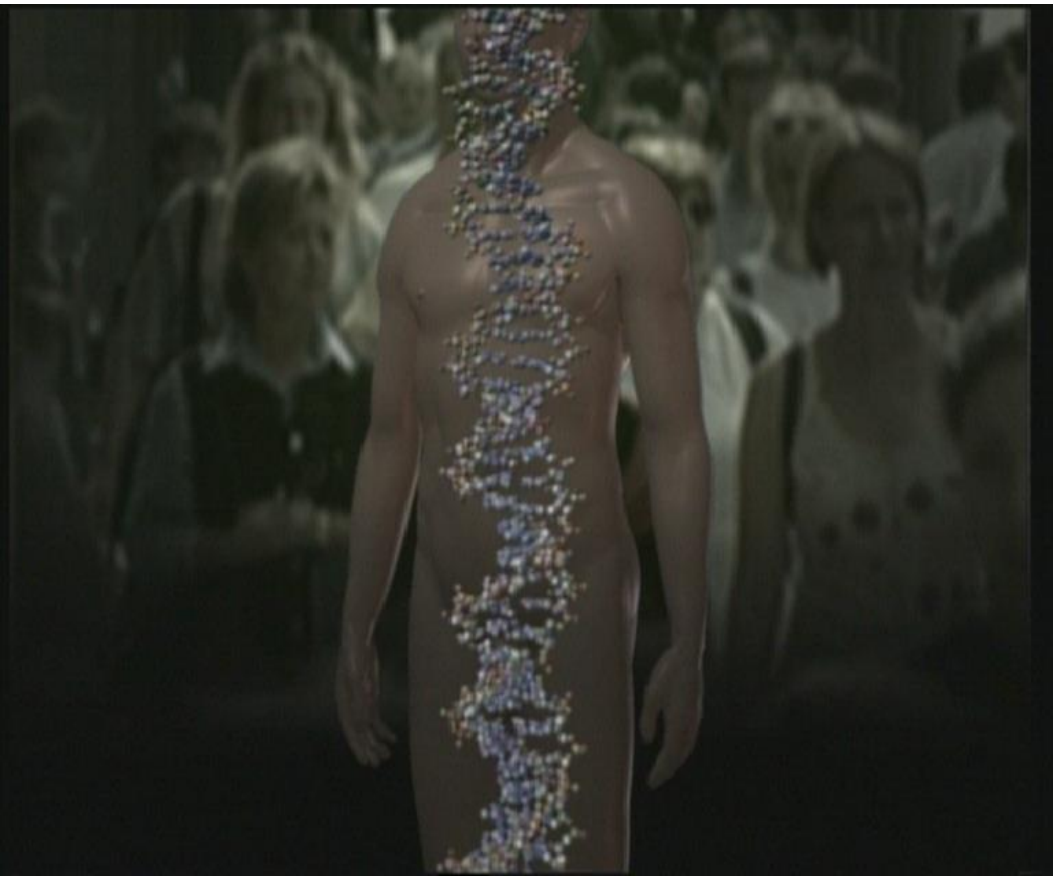
La **capacità di mantenere un ambiente interno costante**, chiamata **omeostasi**, è una proprietà che caratterizza tutti gli esseri viventi e che deriva dal quella di **risposta agli stimoli**, ossia dall'essere in grado di percepire le variazioni ambientali e di rispondervi in modo adeguato, variando, per esempio, il proprio metabolismo.

Controllo genetico

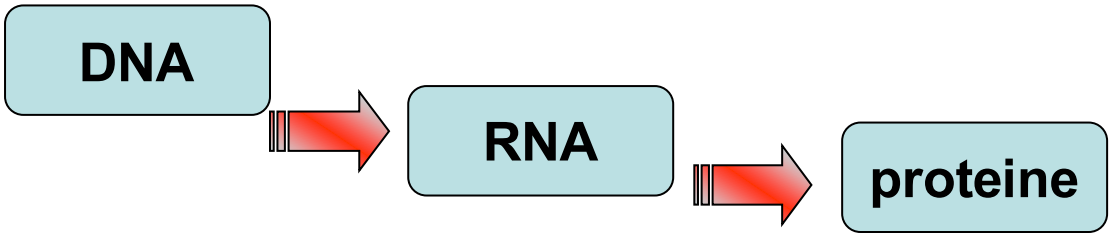
Le funzioni vitali sono determinate e regolate in ultima analisi da **informazioni genetiche contenute in una molecola di acido nucleico (DNA)** e che sono **ereditarie,** cioè si trasmettono lungo le generazioni



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



FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA



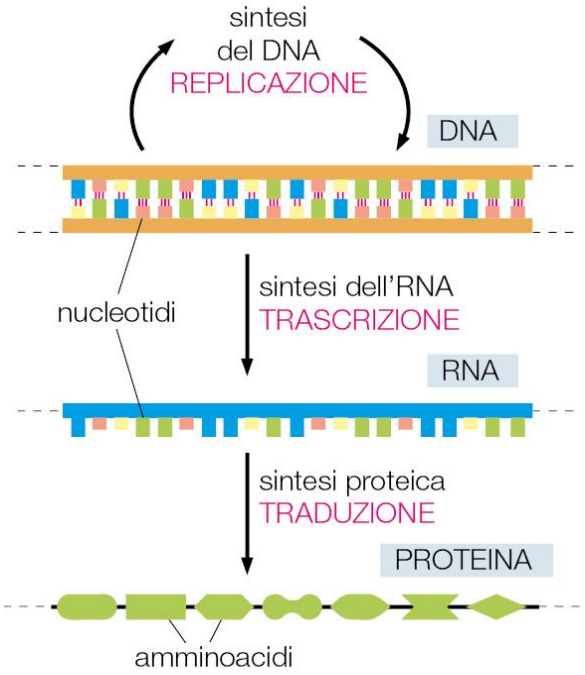
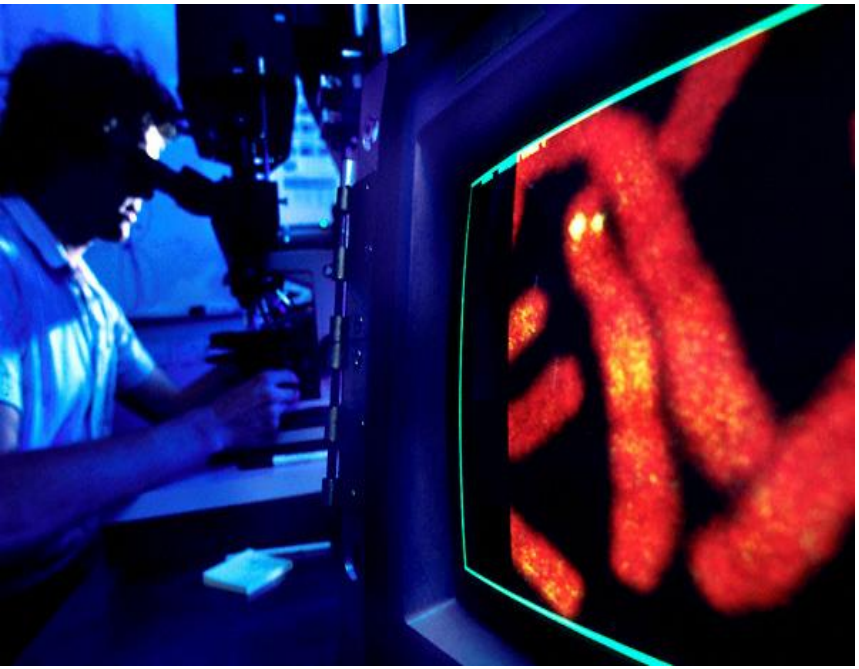


Figura 1.2 In tutte le cellule viventi l'informazione genetica fluisce dal DNA all'RNA (trascrizione) e dall'RNA alle proteine (traduzione), in una sequenza nota come *dogma centrale*. La sequenza di nucleotidi contenuta in un determinato segmento di DNA (un gene) viene trascritta in una molecola di RNA, che può quindi essere tradotta nella sequenza lineare di amminoacidi di una proteina. Viene mostrata solo una piccola parte del gene, dell'RNA e della proteina.

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

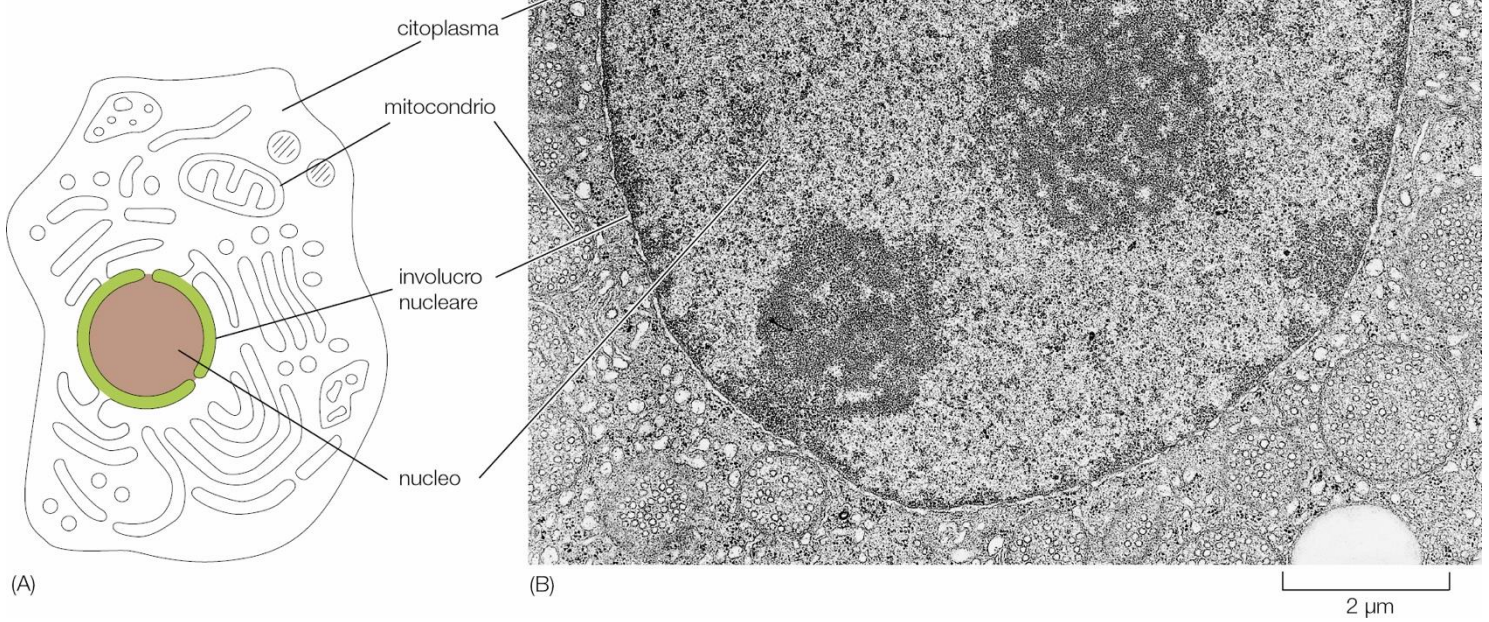


UV dyes: **DAPI**, **Hoechst**
Visible dyes: **Propidio Ioduro** (PI), **Etidio Bromuro**



Il DNA presenta diversa organizzazione a seconda della fase di vita cellulare

Figura 1.17 Nella cellula eucariote il nucleo contiene la maggior parte del DNA. (A) Questo schema di una tipica cellula animale mette in evidenza l'esteso sistema di organuli delimitati da membrana. Qui il nucleo è evidenziato in *marrone,* l'involucro nucleare in *verde* e il citoplasma (il contenuto interno della cellula che circonda il nucleo) è *bianco.* (B) Il nucleo di una cellula di mammifero al microscopio elettronico. Non si distinguono i singoli cromosomi perché, in questa fase della vita cellulare, il DNA si trova disperso in tutto il nucleo in filamenti sottilissimi. [B, con l'autorizzazione di E.L. Bearer e Daniel S. Friend.]



Il DNA presenta diversa organizzazione a seconda della fase di vita cellulare

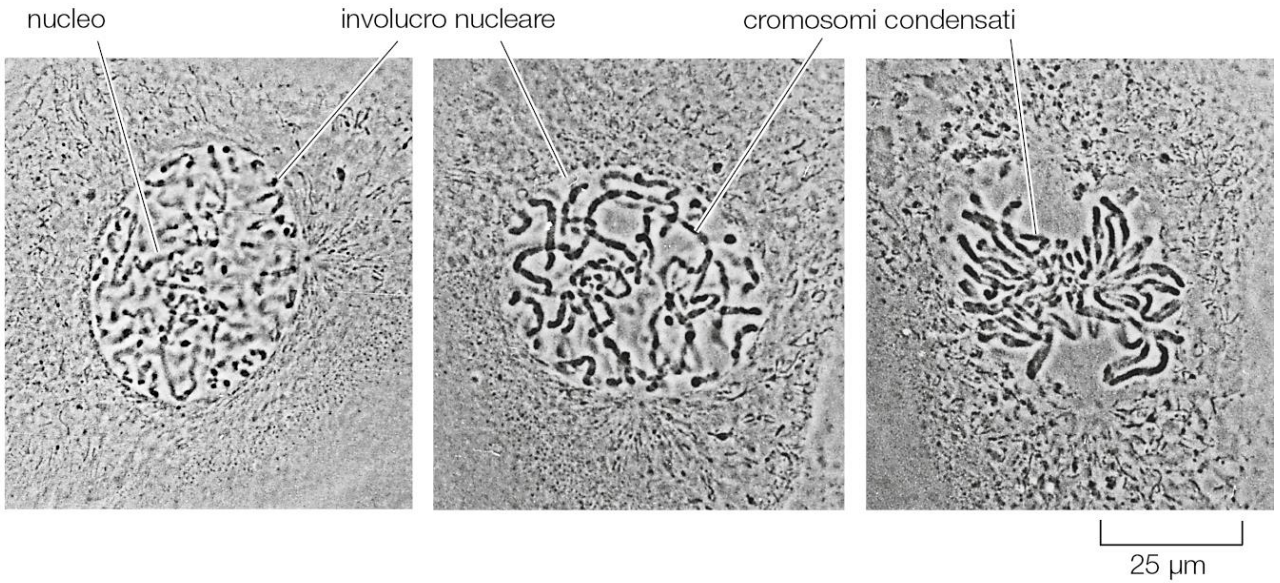


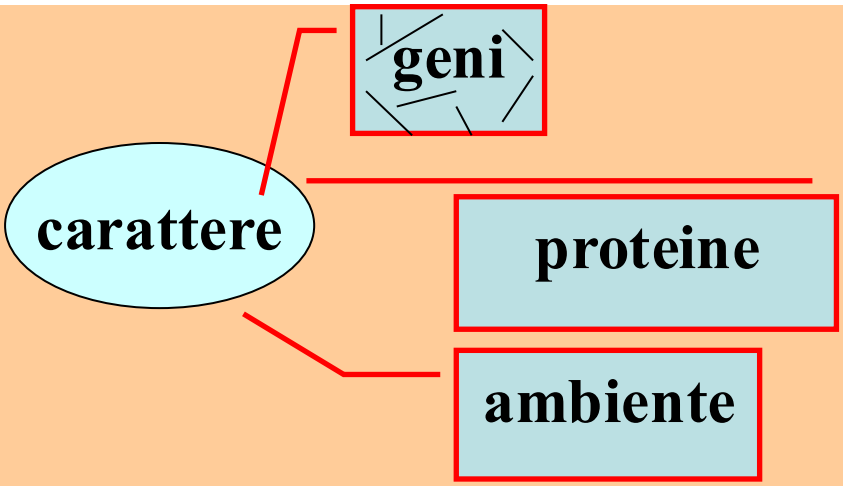
Figura 1.18 I cromosomi diventano visibili quando la cellula è prossima a dividersi. Quando una cellula eucariote si prepara a dividersi, le sue molecole di DNA diventano sempre più compatte (condensate) formando cromosomi a vermicello visibili al microscopio ottico (*vedi anche* Figura 1.5). Le foto riportano tre fasi successive di questo processo in una cellula polmonare di tritone, coltivata *in vitro*. Si noti che nell'ultima foto sulla destra, l'involucro nucleare si è disgregato per permettere il posizionamento corretto dei cromosomi per la divisione cellulare. [Per gentile concessione di Conly L. Rieder, Albany, New York.]

alcune informazioni….

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

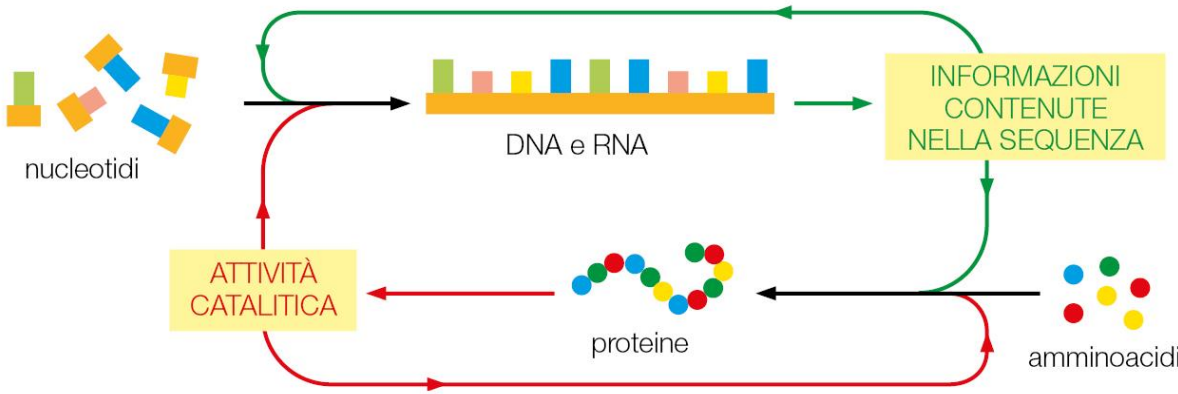
*in essa sono scritte sotto forma di **geni** le istruzioni necessarie a determinare tutte le nostre caratteristiche*

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



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

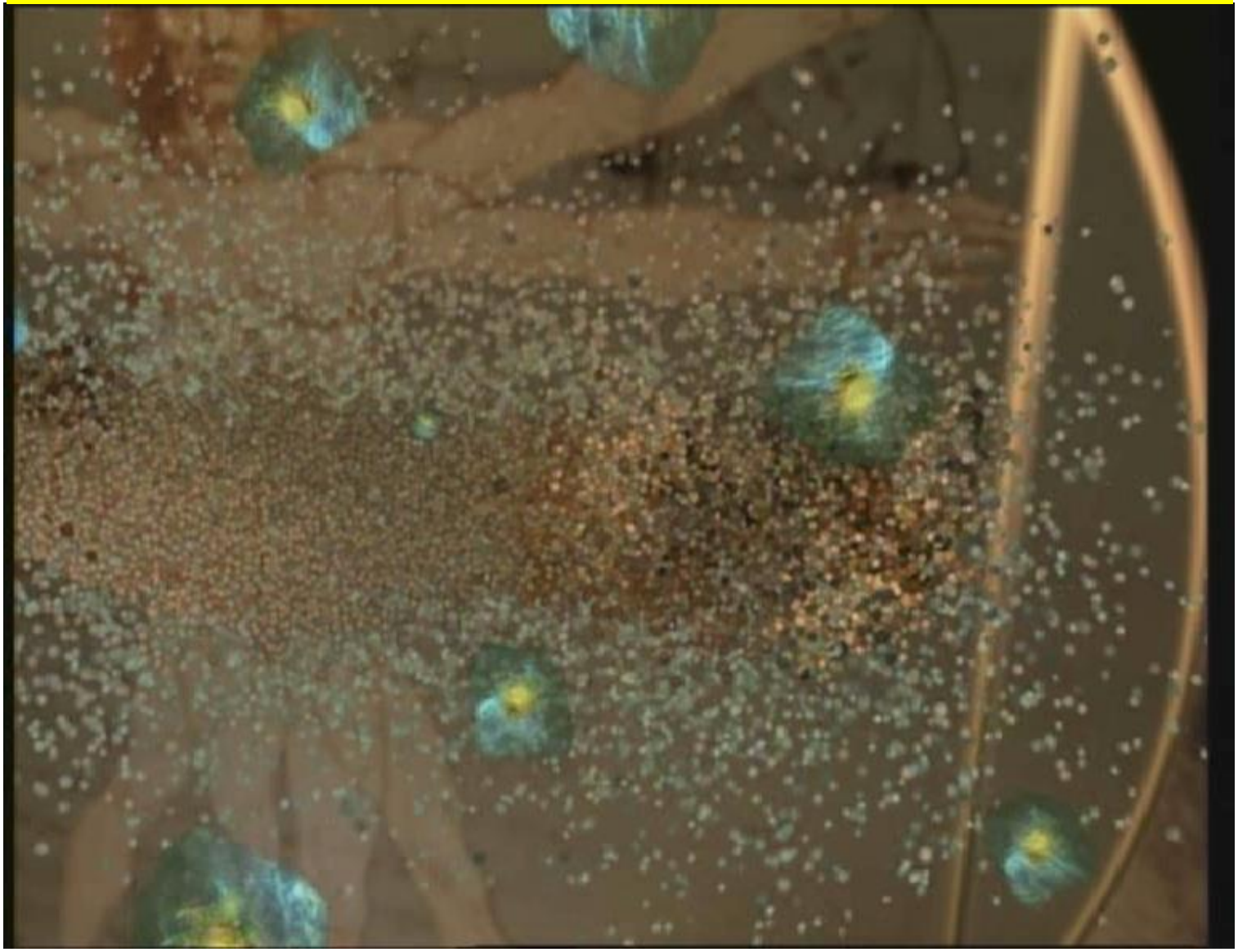
Figura 1.4 La vita è un processo autocatalitico. Il DNA e l'RNA forniscono l'informazione (frecce *verdi*) utilizzata per produrre proteine e per replicarsi. Le proteine, a loro volta, forniscono l'attività catalitica (frecce *rosse*) necessaria per sintetizzare DNA, RNA e proteine stesse. Le *frecce nere* rappresentano i processi biochimici attraverso i quali nelle cellule vengono prodotti nuovi DNA, RNA e proteine. Insieme, questi circuiti creano il sistema autoreplicante che conferisce alle cellule viventi la capacità di riprodursi.



Evoluzione e adattamento: Gli organismi viventi sono soggetti a **variazioni nel proprio patrimonio genetico**, le quali possono introdurre novità favorevoli per la sopravvivenza della specie a cui appartiene l'individuo, facendola evolvere. L'evoluzione si verifica per selezione naturale: gli individui che possiedono cambiamenti in grado di renderli più adatti di altri all'ambiente in cui vivono, conferendogli qualche vantaggio, hanno maggiori probabilità di sopravvivere e riprodursi.

Controllo genetico: Le funzioni vitali sono determinate e regolate in ultima analisi da **informazioni genetiche contenute in una molecola di acido nucleico (DNA)** e che sono **ereditarie,** cioè si trasmettono lungo le generazioni.

La cellula è l'unità minima che si riproduce



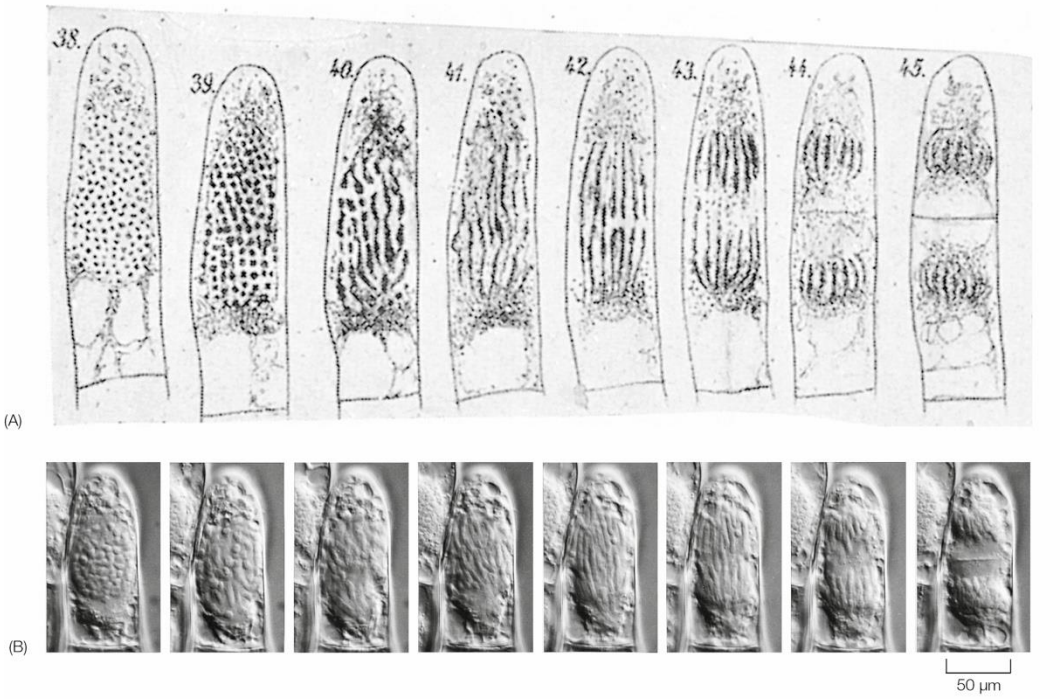
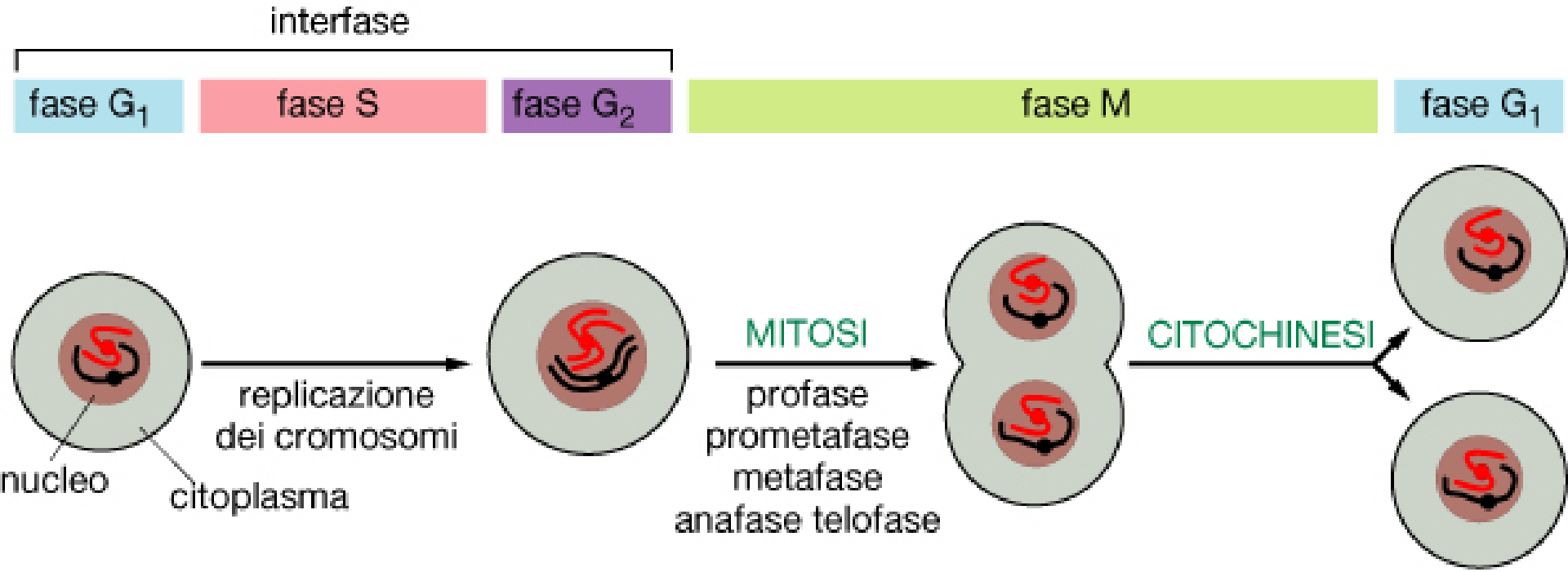


Figura 1.5 Ogni nuova cellula si forma per crescita e divisione di una cellula preesistente. (A) Nel 1880 Eduard Strasburger disegnò una cellula vegetale viva (cellula di un pelo staminale da un fiore di *Tradescantia virginiana*) che egli aveva osservato mentre si divideva in due cellule figlie nell'arco di 2 ore e mezza. All'interno della cellula, il DNA (*nero*) può essere visto in forma condensata nei cromosomi, che vengono poi segregati nelle due cellule figlie. (B) Cellula viva dello stesso tipo fotografata di recente con un microscopio ottico moderno. [B, da Hepler, P.K., *J. Cell Biol.* **100**, 1363-1368 (1985). Con l'autorizzazione della Rockefeller University Press.]

CICLO CELLULARE



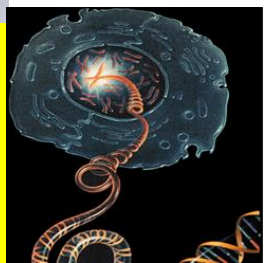
duplicazione DNA

2 cellule figlie aventi le stesse informazioni genetiche della cellula madre

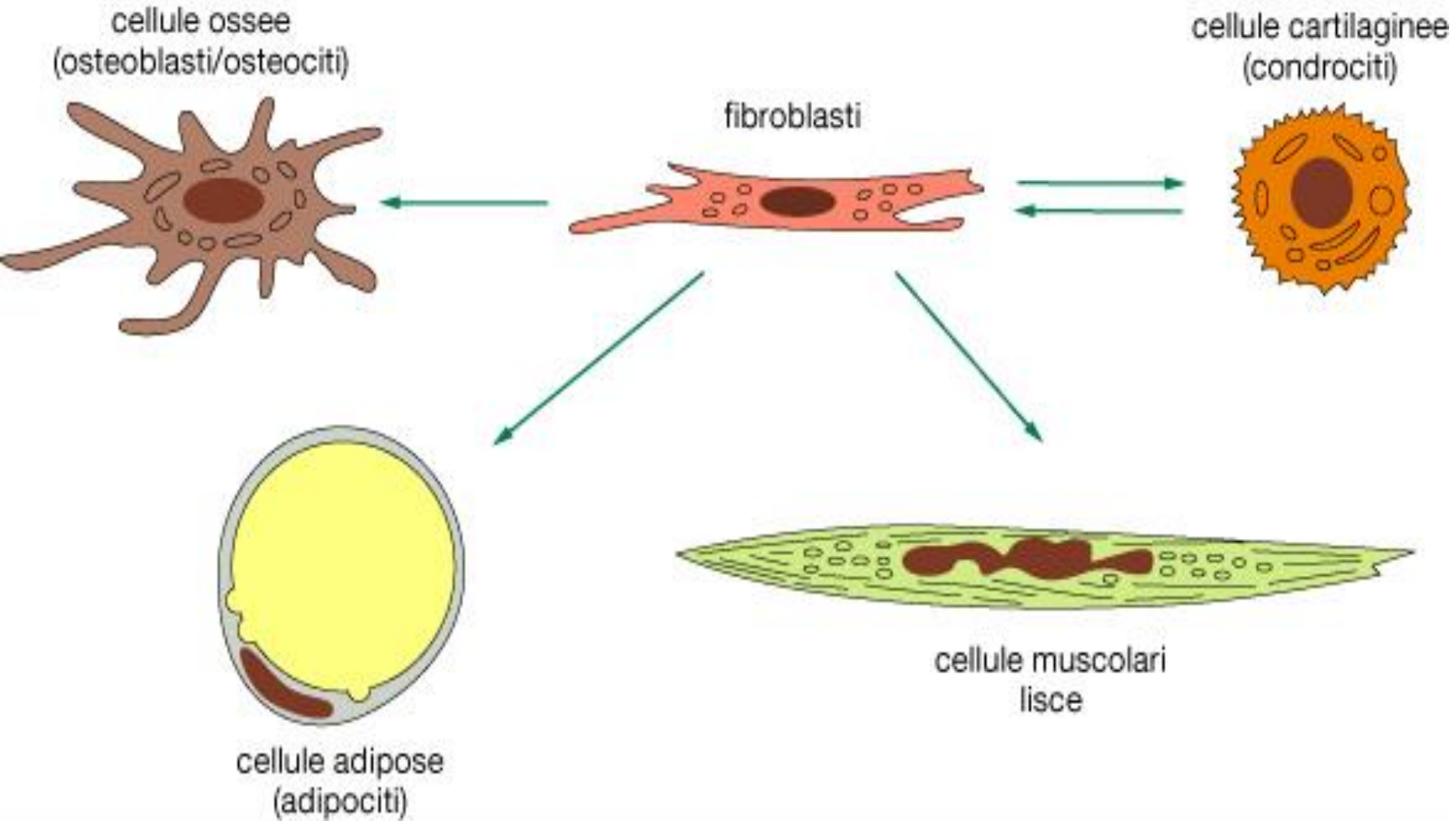
Tutte le cellule di un organismo derivano da un'unica cellula (zigote) da cui si sviluppa l'embrione

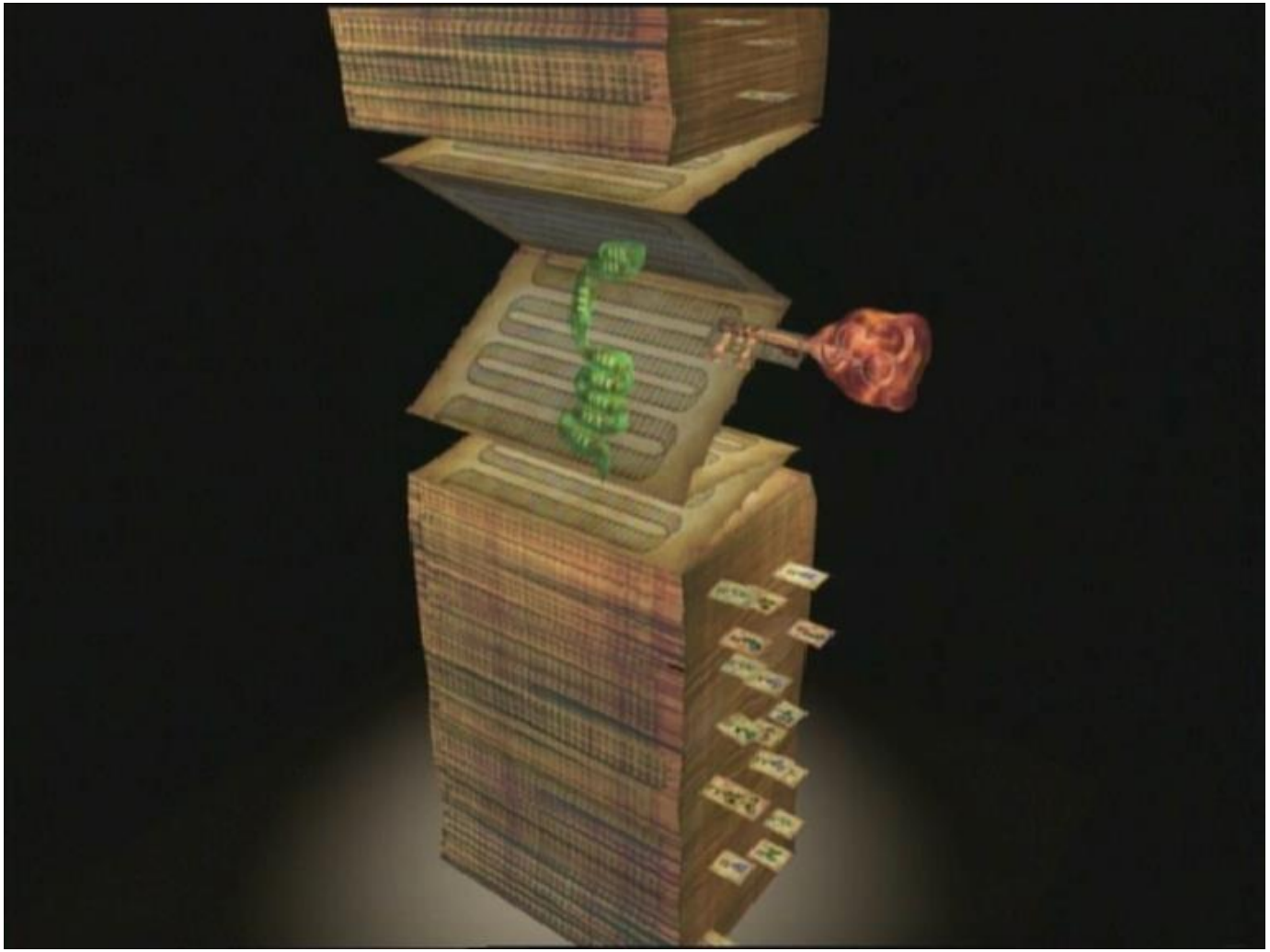


Tutte le cellule dell' organismo possiedono pertanto lo stesso patrimonio genetico eppure….



differenziamento





Un tipo di cellule altamente differenziate: i **GAMETI**

Riproduzione: Gli organismi viventi sono in grado di riprodursi, generando nuovi individui simili a loro stessi. La riproduzione può essere **sessuata**, quando coinvolge due organismi diversi, o **asessuata**, che riguarda un singolo organismo che si autoriproduce. Si possono riprodurre asessualmente i batteri, per scissione binaria, i protisti per scissione o gemmazione, i funghi per gemmazione o frammentazione, le piante per riproduzione vegetativa (riproduzione a partire da una porzione della pianta) e anche alcuni animali, per frammentazione, gemmazione o partenogenesi.

Nella riproduzione sessuata, ogni organismo produce delle cellule specializzate chiamate **gameti**, l'unione di due gameti derivanti da organismi diversi determina la formazione di un nuovo individuo. Questa è la modalità prevalente di riproduzione negli animali.

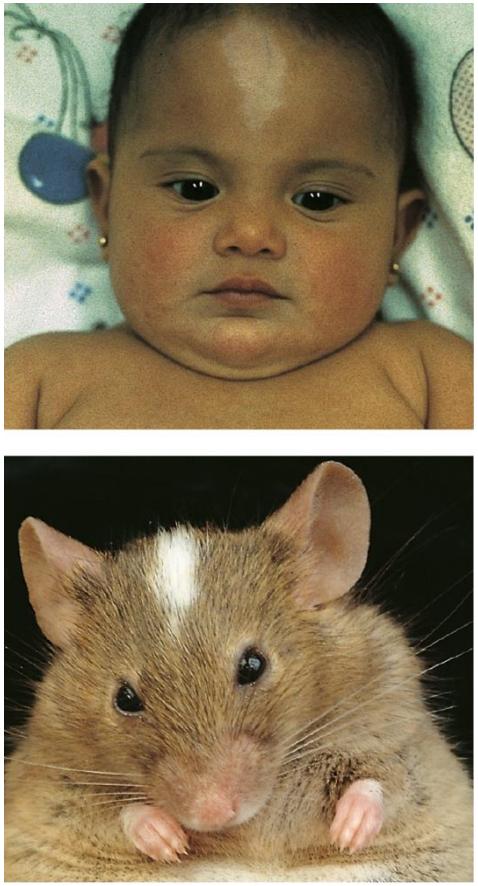
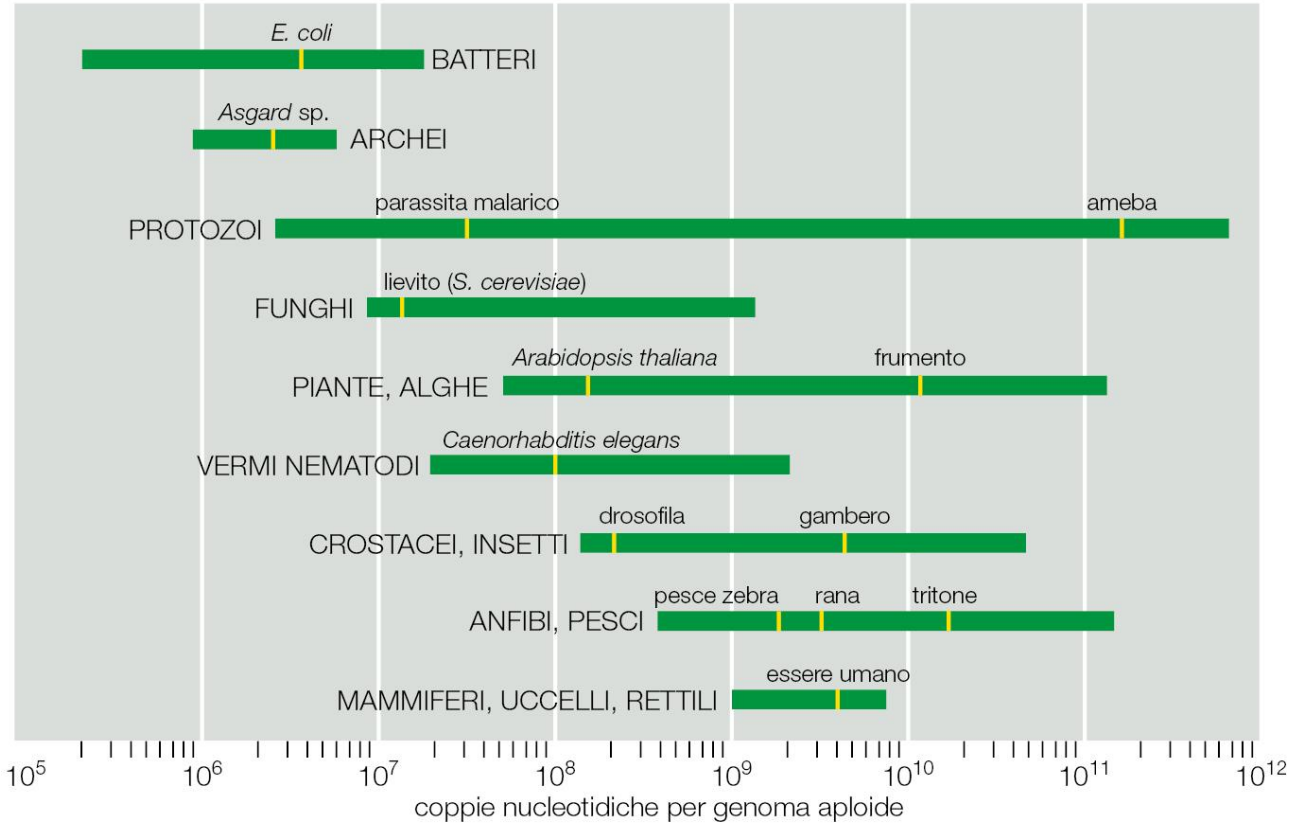


Figura 1.42 Specie viventi diverse hanno geni molto simili. La bimba e il topolino della foto hanno entrambi una chiazza bianca sulla fronte a causa di un difetto presente sul gene corrispondente (detto *Kit*), necessario per sviluppare e mantenere le cellule pigmentate. [Per gentile concessione di Fleischman, R.A., da *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**,10885-10889 (1991).]

Figura 1.43 La dimensione del genoma dei diversi organismi varia considerevolmente. La dimensione del genoma viene misurata in coppie di nucleotidi di DNA per genoma aploide, cioè, per singola copia del genoma. (Le cellule che compongono il corpo di organismi a riproduzione sessuata, come l'essere umano, sono generalmente diploidi: contengono due copie del genoma, una ereditata dalla madre e l'altra ereditata dal padre). La quantità del DNA nel genoma di organismi strettamente correlati può variare considerevolmente (come indica la lunghezza delle *barre verdi*), anche se il numero di geni funzionalmente distinti è simile, questo perché la maggior parte del DNA nei genomi di grandi dimensioni non codifica per proteine. (Dati da T.R. Gregory, 2021, Animal Genome Size Database: www. genomesize.com)



Le cellule in LABORATORIO

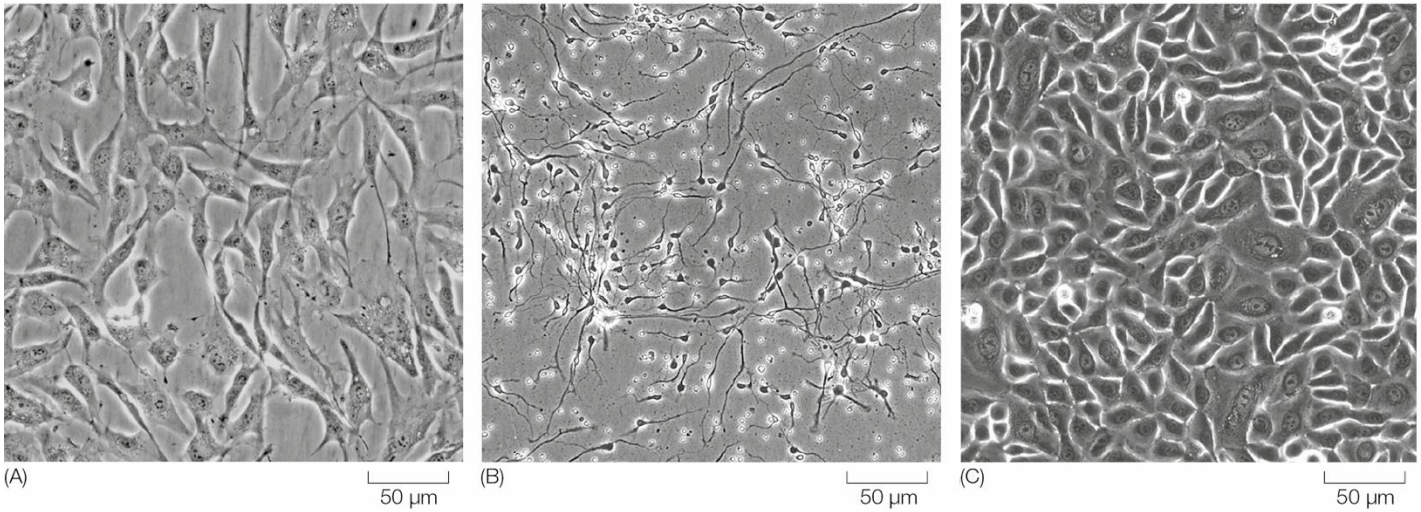


Figura 1.40 Le cellule in coltura spesso mostrano proprietà che riflettono le loro origini.
(A) Micrografia a contrasto di fase di fibroblasti in coltura derivati da pelle umana. (B) Neuroni umani che si connettono l'un l'altro. (C) Cellule epiteliali della cervice umana che formano un foglietto cellulare. [Micrografie per gentile concessione del ScienCell Research Laboratories, Inc.]

Le cellule in LABORATORIO

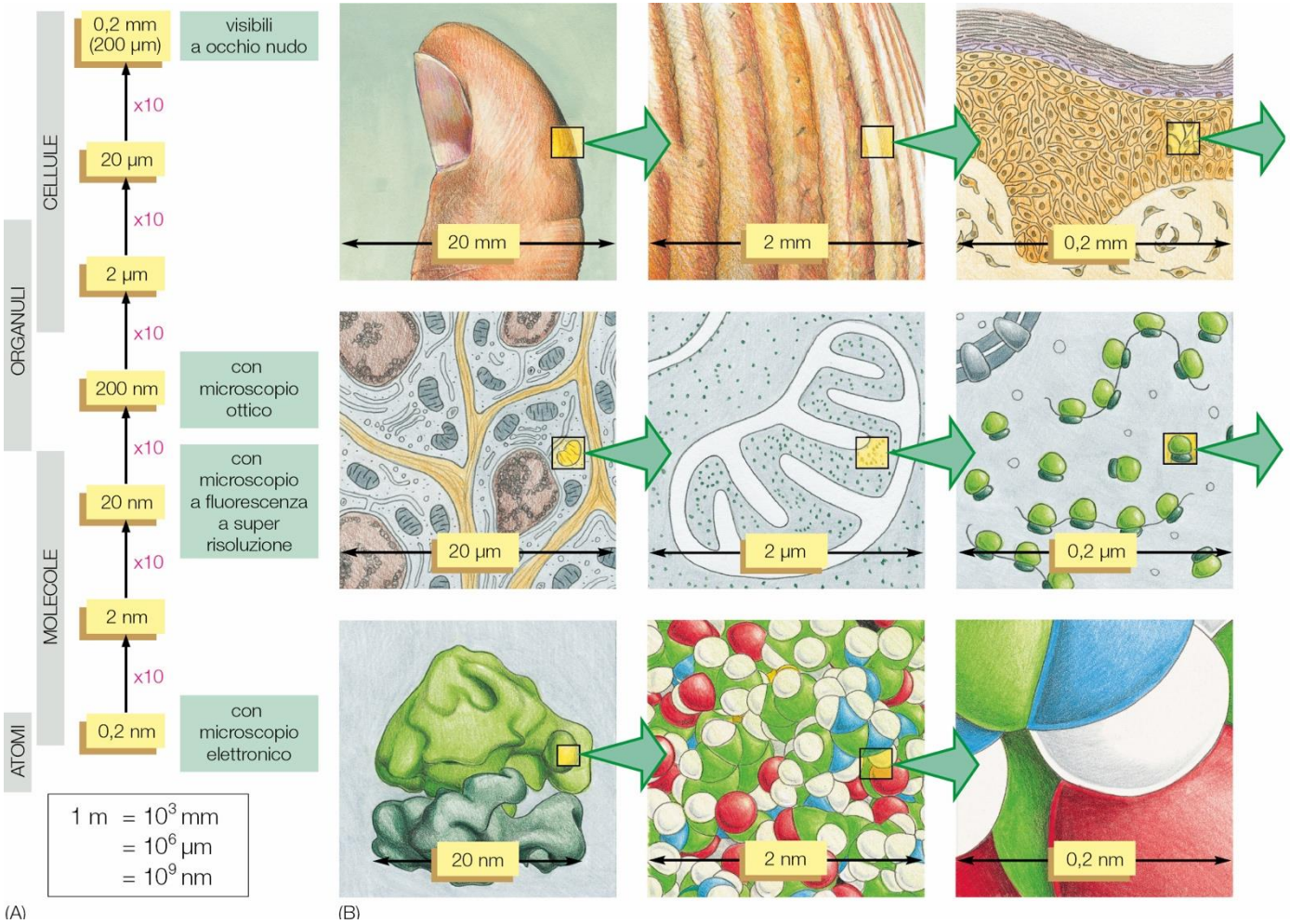


Figura 1.9 Quanto sono grandi una cellula e i suoi componenti? (A) Le dimensioni delle cellule e dei loro componenti e le unità di misura in cui si effettuano le misurazioni. (B) Disegni per dare un'idea del rapporto scalare tra cellule viventi e atomi. Ogni riquadro mostra un'immagine ingrandita 10 volte rispetto alla precedente, in una successione immaginaria che parte da un dito pollice, la pelle e le sue cellule, un mitocondrio, un ribosoma e infine l'aggregato di atomi che costituisce una delle tante molecole proteiche del nostro corpo. I ribosomi sono presenti sia all'interno dei mitocondri (come mostrato nell'immagine), sia nel citoplasma.

Le cellule in LABORATORIO

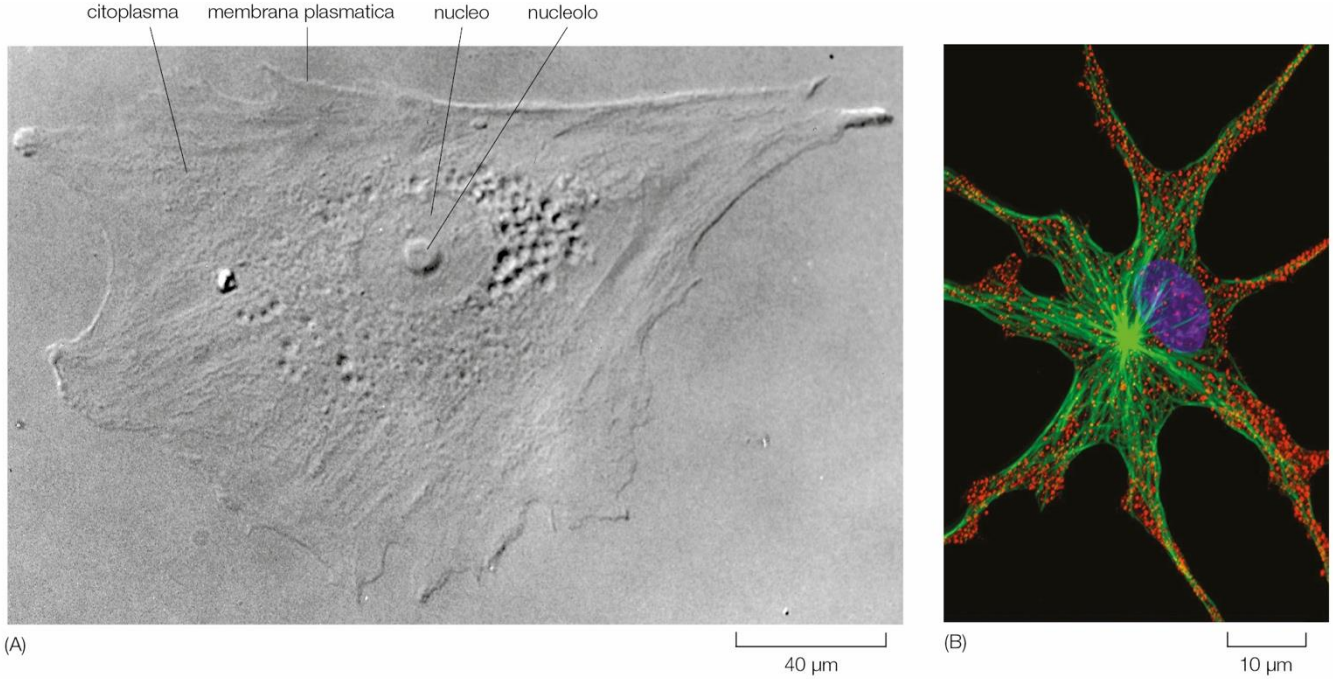


Figura 1.7 Alcune strutture interne della cellula viva sono visibili al microscopio ottico. (A) Cellula della pelle umana in coltura fotografata al microscopio ottico a interferenza (*vedi* Poster 1.1, pagg. 12-13). Il nucleo risulta ben evidente, così come il piccolo nucleolo sferico al suo interno (descritto nel Capitolo 5 e nel Poster 1.2, pag. 28). (B) Cellula pigmentata di rana, colorata con sostanze fluorescenti e osservata al microscopio confocale (*vedi* Poster 1.1). Il nucleo appare *viola*, i granuli di pigmento appaiono *rossi* e i microtubuli, un tipo di filamenti formati da molecole proteiche nel citoplasma, appaiono *verdi*. [A, per gentile concessione di Casey Cunningham; B, per gentile concessione di Stephen Rogers e dell'Imaging Technology Group del Beckman Institute, University of Illinois, Urbana.]

Le cellule in LABORATORIO

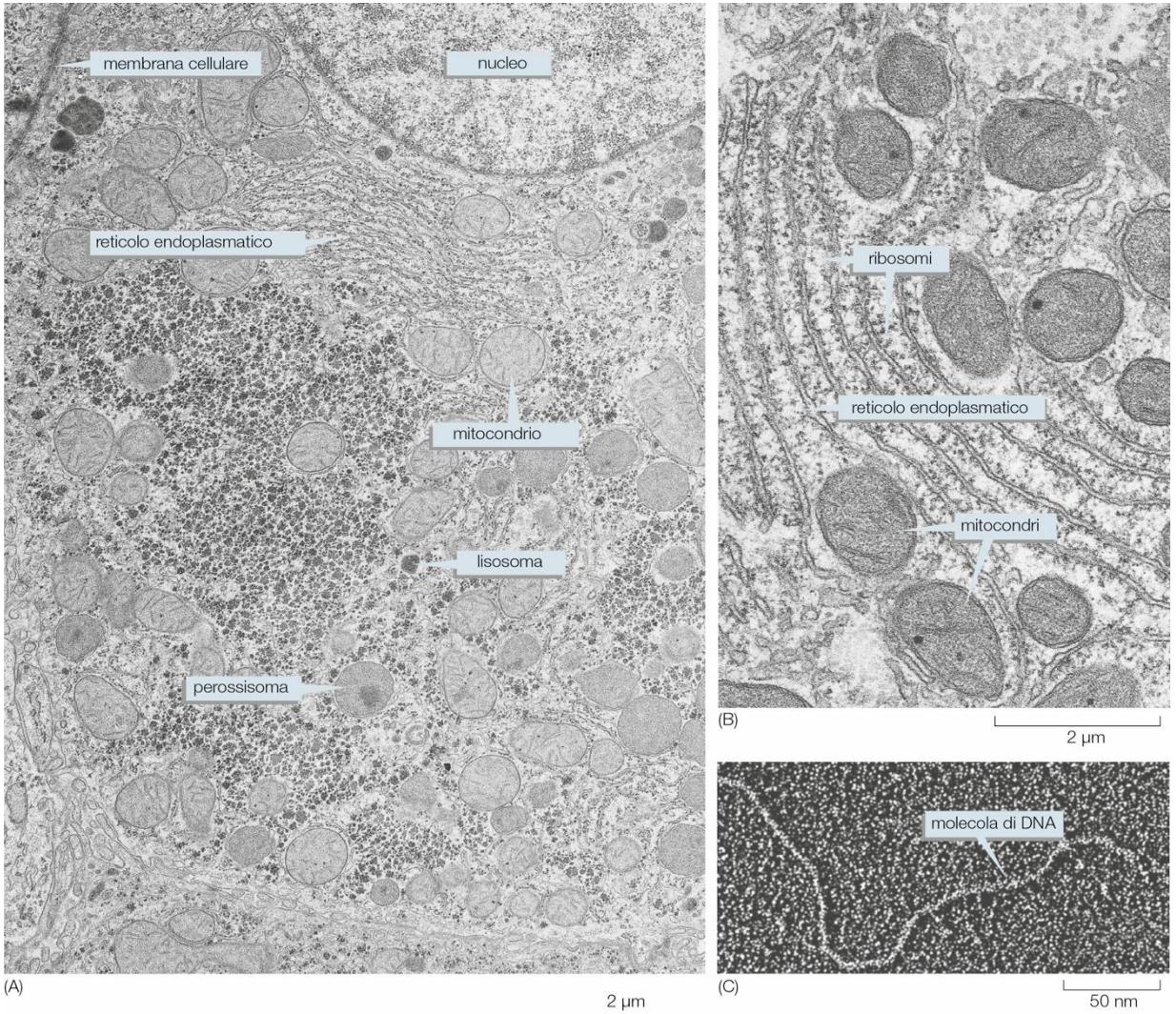


Figura 1.8 La struttura fine della cellula come appare al microscopio elettronico a trasmissione. (A) Sezione sottile di una cellula di fegato, ricchissima di particolari. Sono stati indicati alcuni dei componenti cellulari che verranno trattati in questo capitolo, identificabili in base alla forma e alle dimensioni. (B) Piccola zona del citoplasma un poco più ingrandita. Le strutture più piccole visibili più chiaramente sono i ribosomi: ciascuna è formata da 80-90 tra proteine e molecole di RNA; alcuni sono liberi nel citoplasma, mentre altri sono legati a un organulo circondato da membrana, il reticolo endoplasmatico, che verrà trattato in seguito (*vedi* Figura 1.23). (C) Tratto di una lunga molecola filamentosa di DNA, isolata da una cellula e osservata al microscopio elettronico. Il DNA è stato ispessito artificialmente per migliorarne la visibilità. (A e B per gentile concessione di E.L. Bearer e Daniel S. Friend; C, per gentile concessione di Mei Lie Wong.)

Guardando all’interno delle cellule eucarotiche

Gli organuli citoplasmatici

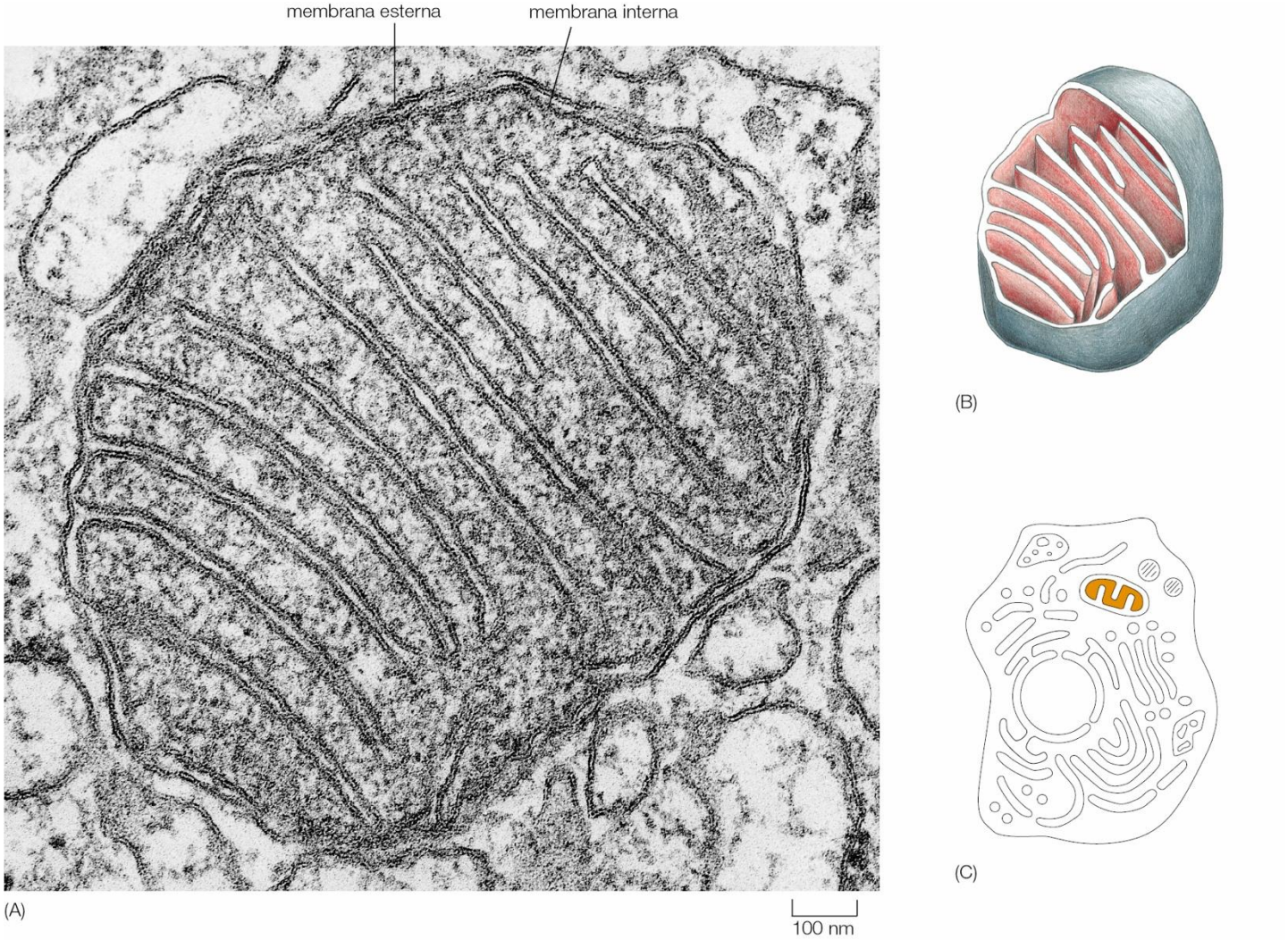


Figura 1.19 I mitocondri presentano una struttura interna caratteristica. (A) Al microscopio elettronico un mitocondrio in sezione trasversale mostra le profonde ripiegature della sua membrana interna. (B) Questa rappresentazione tridimensionale mostra la membrana esterna liscia (*grigio*) e quella interna sollevata in creste altissime (*rosso*). La membrana interna contiene gran parte delle proteine responsabili della respirazione cellulare, una delle funzioni principali del mitocondrio, e le sue profonde pieghe sviluppano una grande superficie proprio per l'attività respiratoria. (C) Schema di una cellula tipo, con lo spazio interno del mitocondrio evidenziato in *arancione*. [A, per gentile concessione di Daniel S. Friend, con l'autorizzazione di E.L. Bearer.]

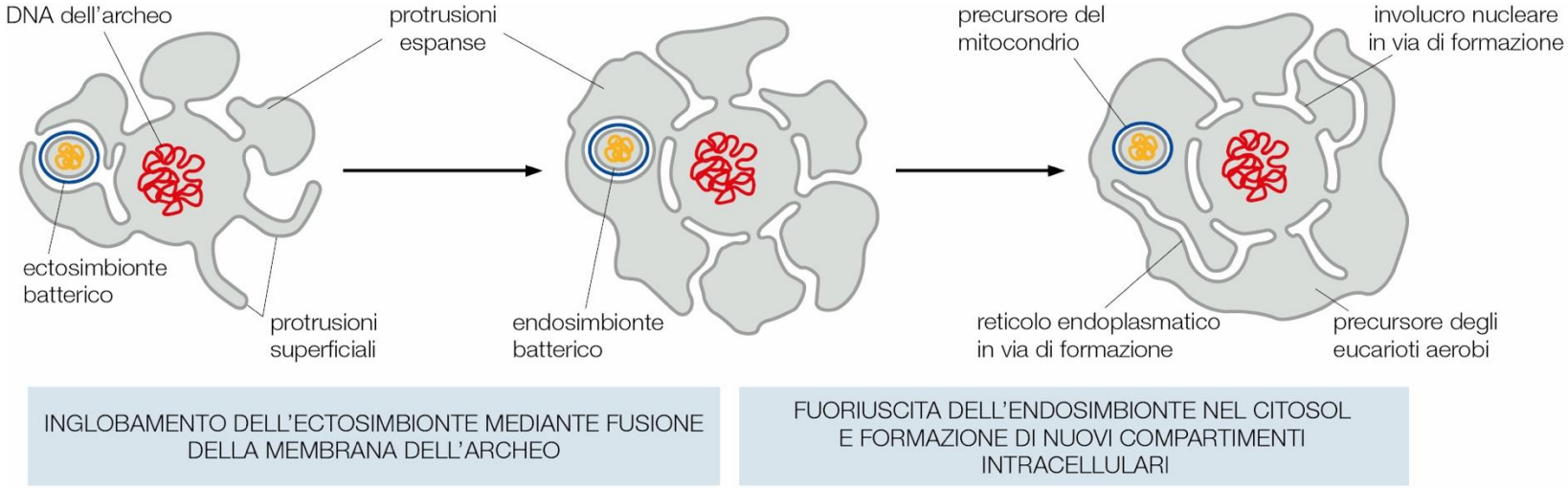


Figura 1.20 Si ritiene che i mitocondri si siano evoluti da batteri inglobati. È estremamente probabile che i mitocondri derivino da batteri aerobi che furono catturati e successivamente inglobati da un'antica cellula di un archeo anaerobio. Secondo questo modello, le protrusioni superficiali di un antico archeo simile agli Asgard si espansero e circondarono un batterio aerobio, favorendo l'instaurarsi di una relazione simbiotica tra le due cellule. Con il tempo, le protrusioni espanse si fusero tra loro, intrappolando il batterio come endosimbionte, dove inizialmente rimase racchiuso da una membrana interna derivata dalla membrana plasmatica dell'archeo. A un certo punto, il simbionte sfuggì a questa membrana ed entrò nel citosol della cellula, dove alla fine si evolse in un mitocondrio contenente DNA e circondato da membrane derivate dal batterio inglobato. Come indicato, si ritiene che la membrana plasmatica dell'archeo, che si ripiegò verso l'interno durante i processi di protrusione, espansione e fusione, abbia dato origine sia all'involucro nucleare sia agli organuli intracellulari delimitati da membrana, come il reticolo endoplasmatico. [Adattato da Imachi, H. *et al.*, *Nature* **577**, 519-525 (2020) e da Baum, D.A. e Baum B., *BMC Biol.* **12**, 76-92 (2014).]

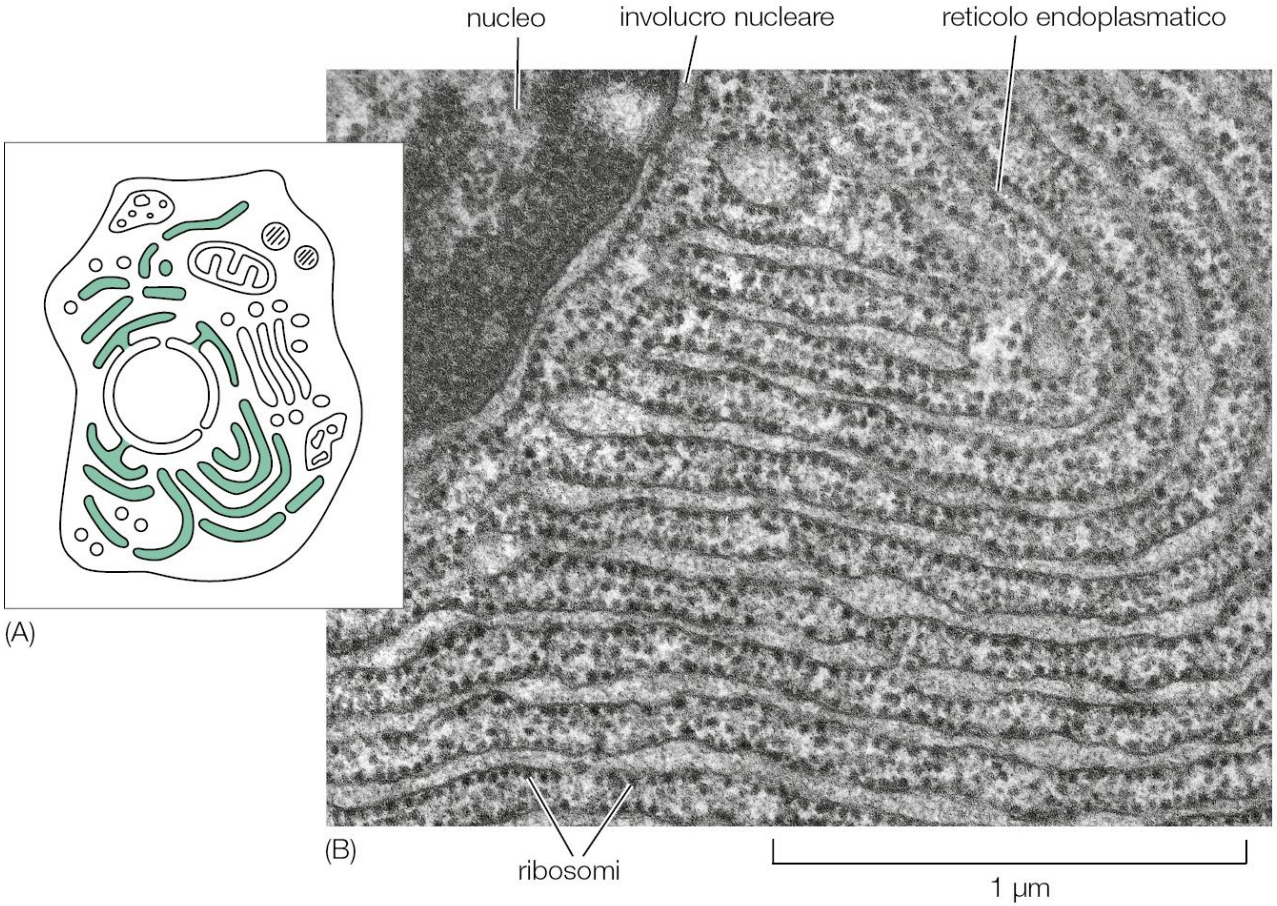


Figura 1.23 Nel reticolo endoplasmatico si producono molti componenti della cellula eucariote. (A) Schema di una cellula animale, con il reticolo endoplasmatico (RE) evidenziato in *verde*. (B) Sezione ultrasottile di una cellula pancreatica di mammifero, specializzata nella secrezione di proteine, al microscopio elettronico, che mostra una piccola parte dell'RE, presente in quantità notevoli in questo tipo di cellule. Si noti che la membrana dell'RE è contigua a quella dell'involucro nucleare. I puntini *scuri* che costellano questa zona del reticolo sono ribosomi, strutture deputate alla traduzione degli RNA in proteine: il RE orlato da questi organuli si chiama spesso reticolo endoplasmatico "ruvido", proprio per questo suo aspetto, e si distingue dal reticolo endoplasmatico "liscio", non costellato di ribosomi. [B, per gentile concessione di Lelio Orci.]

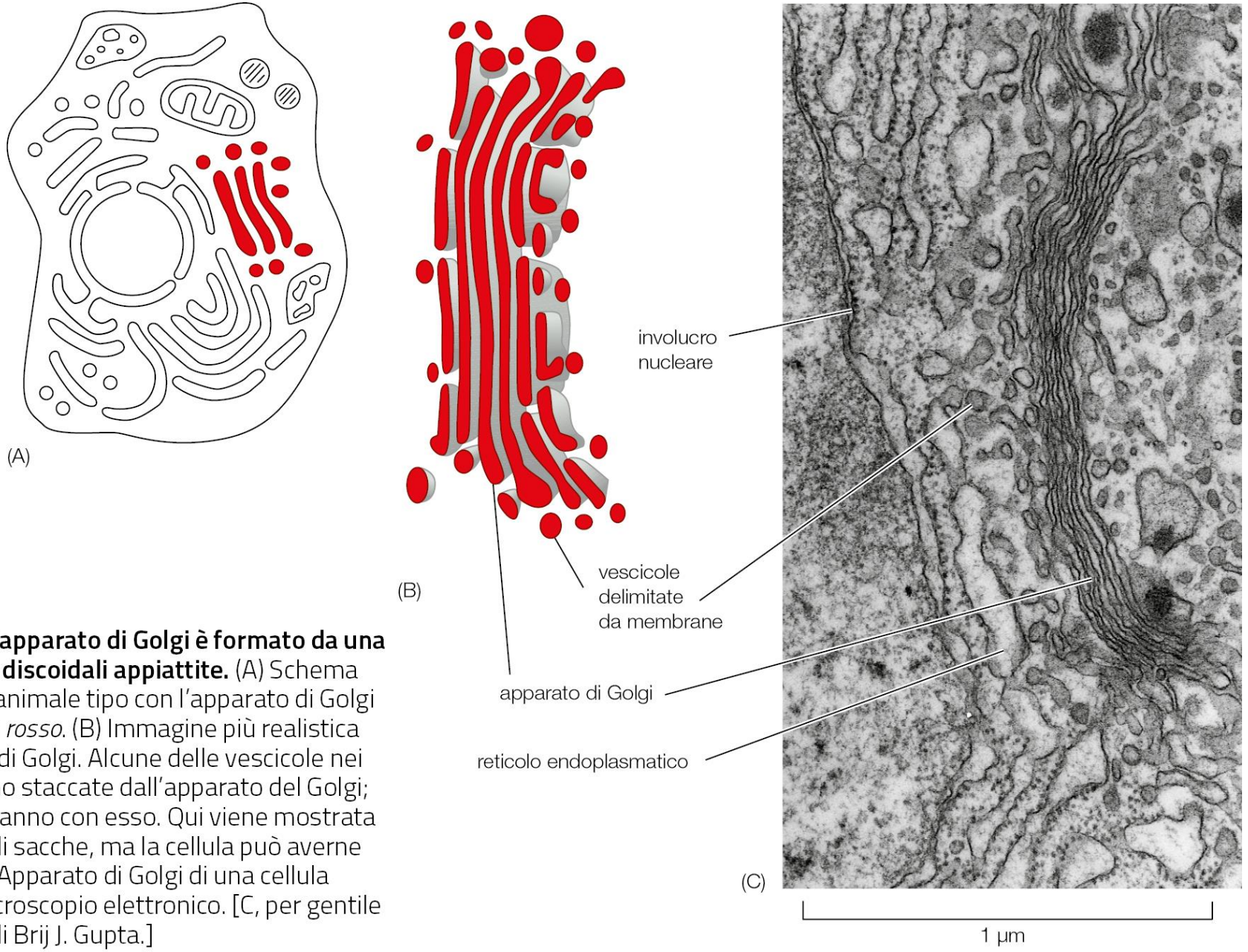
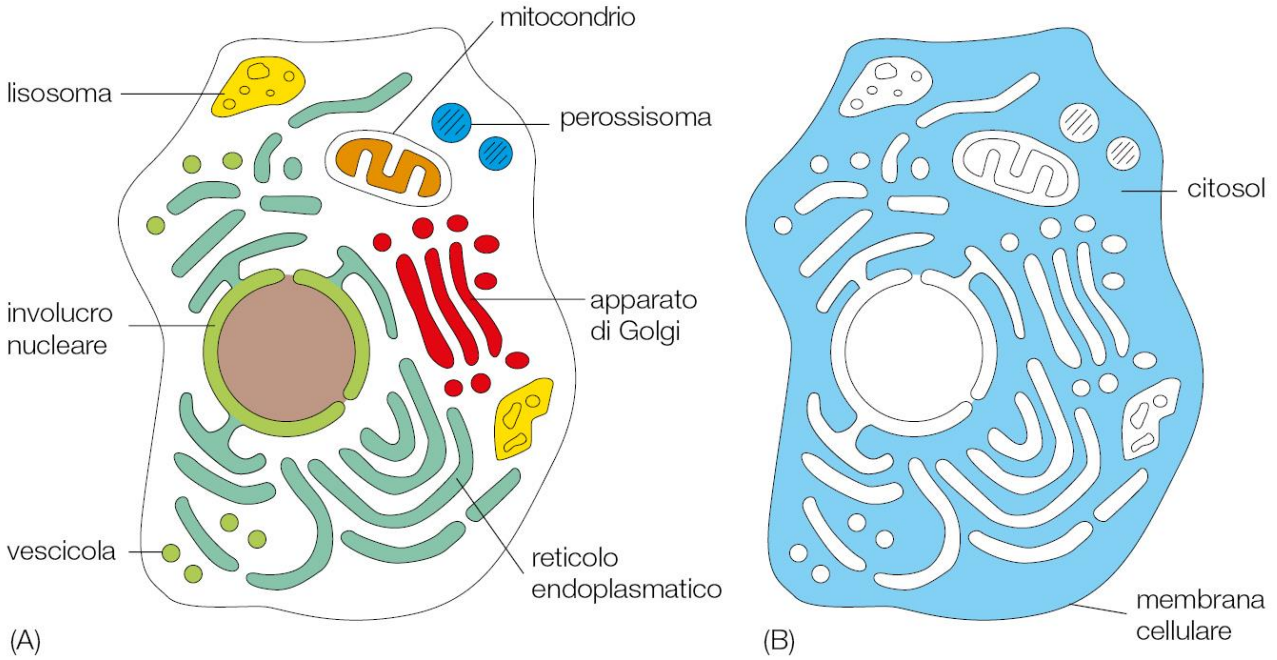


Figura 1.24 L'apparato di Golgi è formato da una pila di sacche discoidali appiattite. (A) Schema di una cellula animale tipo con l'apparato di Golgi evidenziato in *rosso*. (B) Immagine più realistica dell'apparato di Golgi. Alcune delle vescicole nei dintorni si sono staccate dall'apparato del Golgi; altre si fonderanno con esso. Qui viene mostrata una sola pila di sacche, ma la cellula può averne parecchie. (C) Apparato di Golgi di una cellula animale al microscopio elettronico. [C, per gentile concessione di Brij J. Gupta.]

Figura 1.25 Gli organuli avvolti da membrane sono distribuiti in tutto il citoplasma della cellula eucariote. (A) Ognuno degli organuli racchiusi da membrana, mostrati con colori diversi, è specializzato per una funzione diversa. (B) La parte di citoplasma che occupa lo spazio tra questi organuli viene chiamato citosol (evidenziato in *azzurro*).



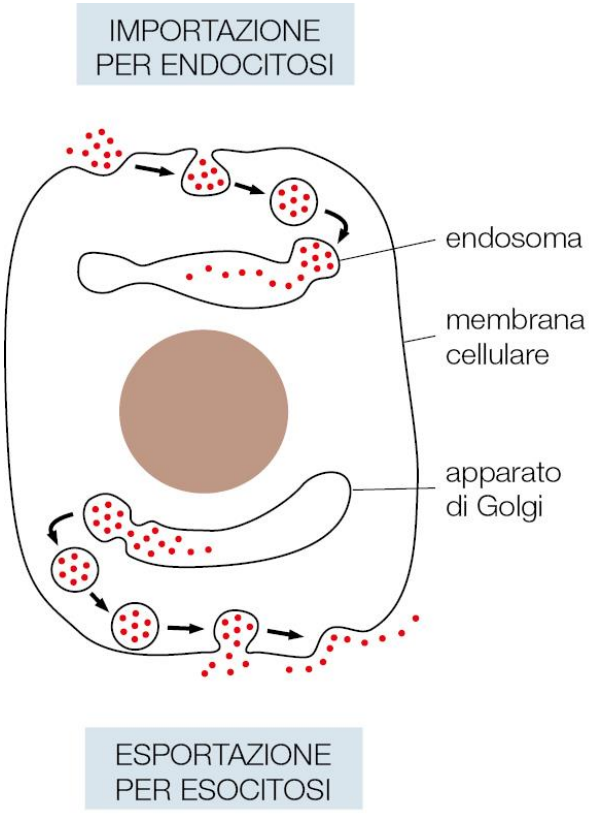


Figura 1.26 L'endocitosi e l'esocitosi sono attività tipiche della cellula eucariote. Le cellule eucariote importano materiale extracellulare per endocitosi e secernono materiale intracellulare per esocitosi. Il materiale endocitato viene inizialmente convogliato in organuli delimitati da membrana chiamati endosomi (esaminati nel Capitolo 15).

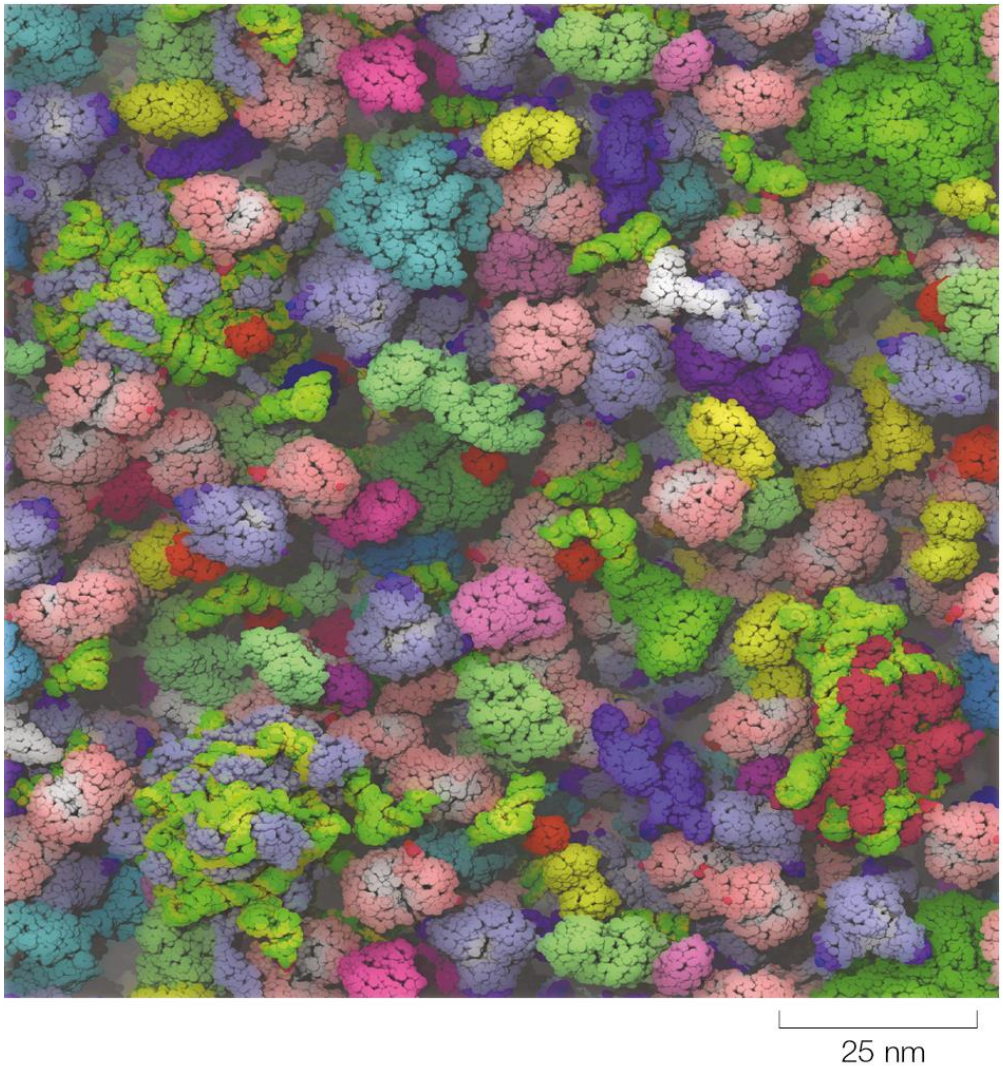


Figura 1.27 Il citosol è estremamente affollato. Questo modello a livello atomico del citosol di *E. coli* si basa sulle dimensioni e sulle concentrazioni di 50 tra le macromolecole più abbondanti presenti nel batterio. RNA, proteine e ribosomi sono mostrati in colori diversi. [Da McGuffee, S.R. e Elcock, A.H., *PLoS Comput. Biol.* **6**, e1000694 (2010).]

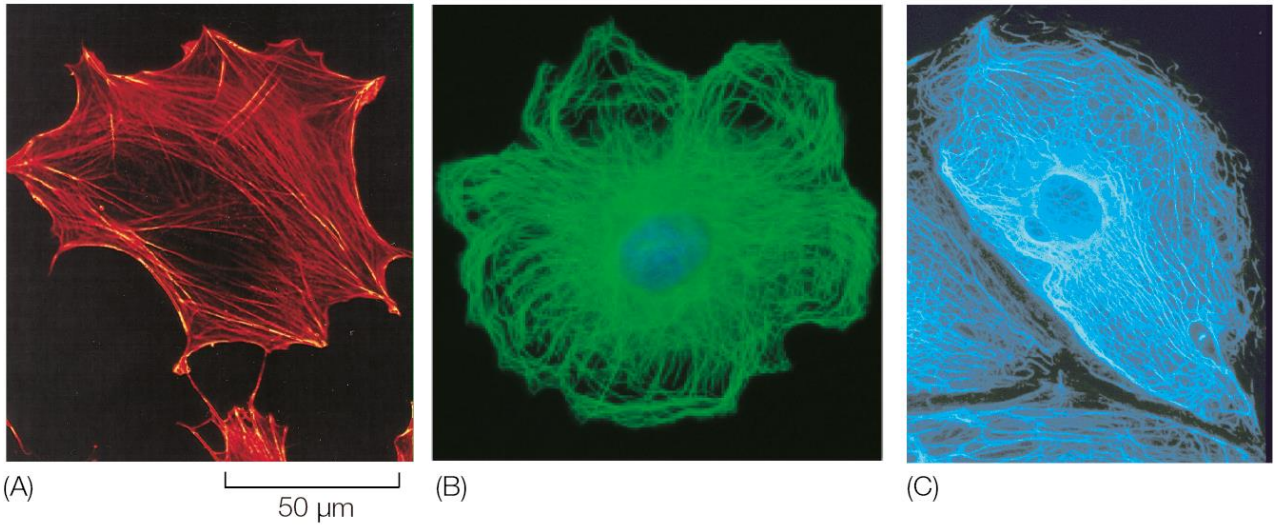
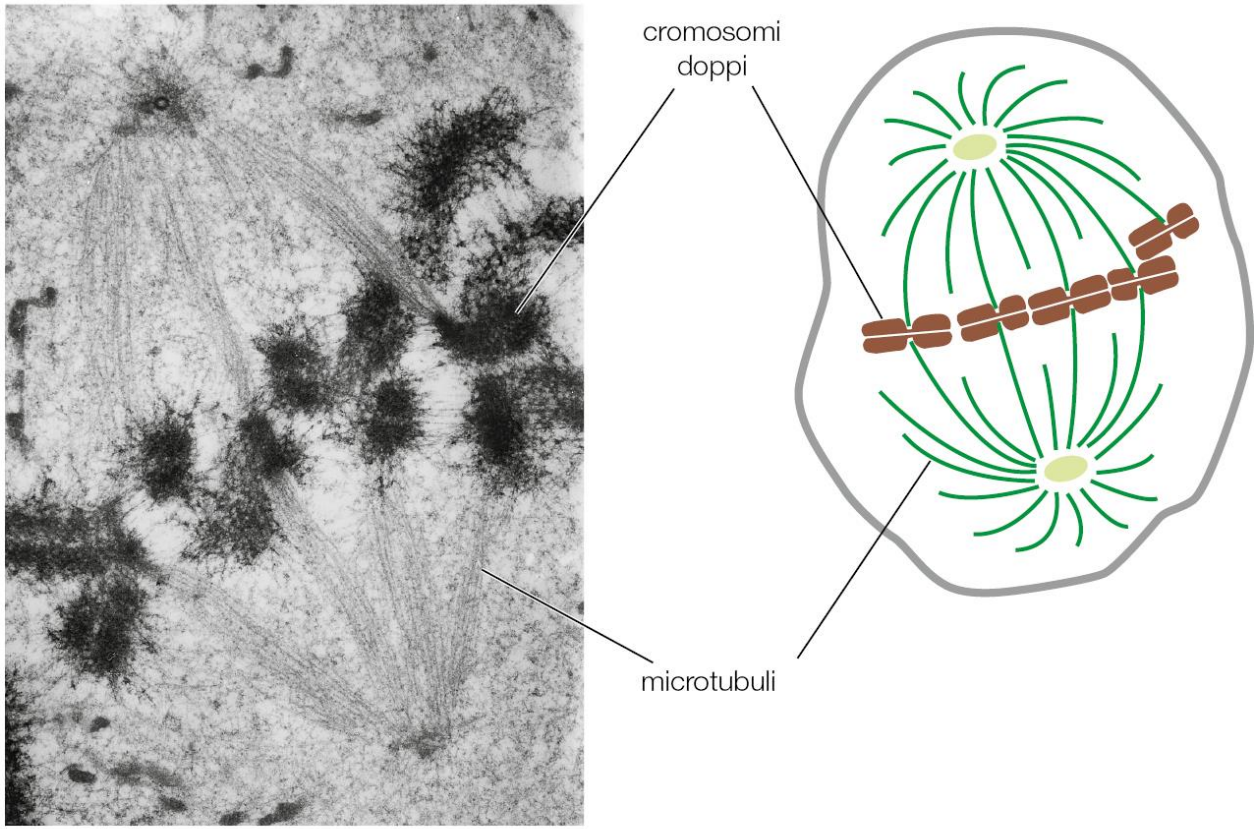


Figura 1.28 Il citoscheletro è una rete di filamenti proteici che attraversano in lungo e in largo il citoplasma della cellula eucariote. È possibile evidenziare i tre tipi principali di filamenti con diverse colorazioni fluorescenti specifiche. In (A) si vedono i filamenti di actina, in (B) i microtubuli, in (C) i filamenti intermedi. [A, per gentile concessione di Simon Barry e Chris D'Lacey; B, per gentile concessione di Nancy Kedersha; C, per gentile concessione di Clive Lloyd.]

Figura 1.29 Durante la divisione cellulare i microtubuli sono attivi nella ripartizione dei cromosomi. Quando una cellula si divide, la membrana nucleare si dissolve (*vedi* Figura 1.18) e il DNA si condensa in cromosomi visibili, ognuno dei quali viene duplicato per formare una coppia di cromosomi; i microtubuli allora provvedono a separare e allontanare tra loro i membri di ogni coppia nelle due cellule figlie. In questa immagine ottenuta con il microscopio elettronico a trasmissione (*sinistra*), i microtubuli si irradiano da due punti focali situati ai poli opposti della cellula in divisione. *Vedi* anche Poster 1.1, pagg. 12-13. [Foto al microscopio gentilmente concessa da Conly L. Rieder, Albany, New York.]



Proprietà fondamentali della materia vivente

Composizione chimica: gli organismi viventi hanno una composizione chimica specifica, composta principalmente da carbonio (C), idrogeno (H), ossigeno (O), azoto (N) e zolfo (S). **L'elemento centrale è il carbonio**, che grazie alle sue proprietà chimica da luogo a un enorme numero di molecole collettivamente indicate come **composti organici**. Tra questi, caratterizzano gli esseri viventi la presenza di **macromolecole** dette biologiche quali **proteine, carboidrati, lipidi e acidi nucleici**.

Presenza di un metabolismo: il termine metabolismo indica l'insieme di tutte le reazioni chimiche che avvengono nell'organismo vivente.

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

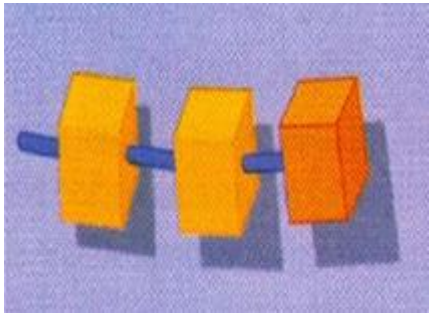
Tutte le cellule…

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

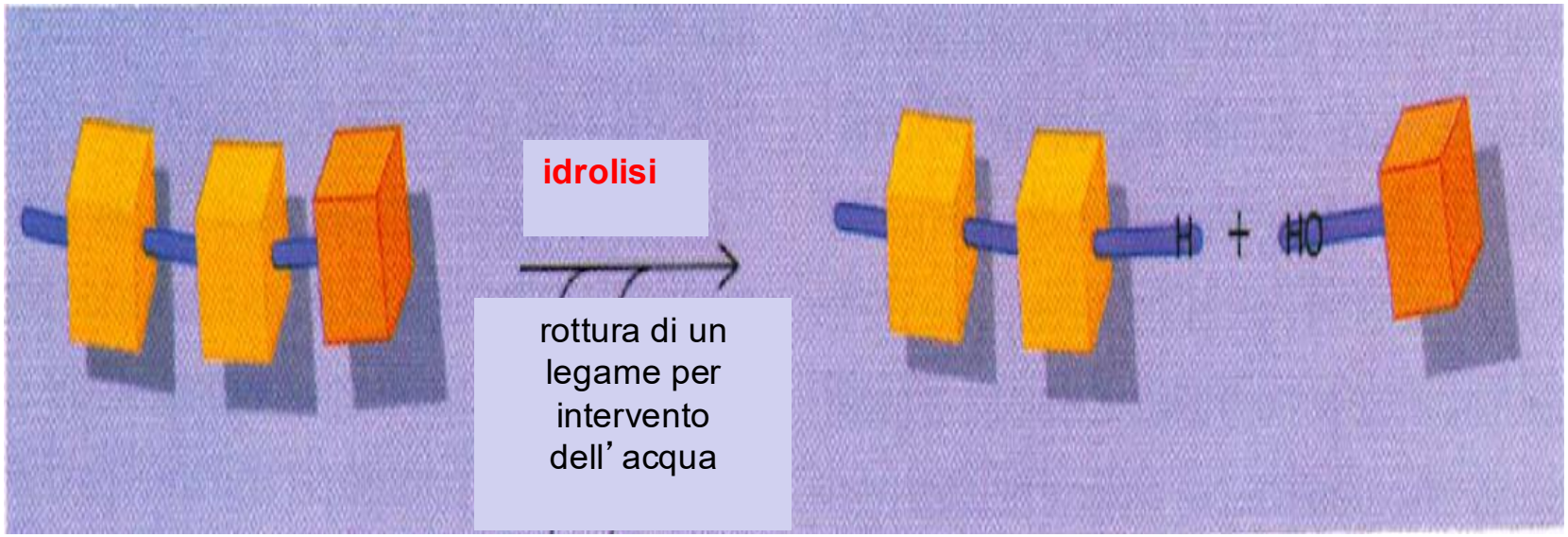
zuccheri	→	**polisaccaridi**
acidi grassi	→	**grassi, lipidi, membrane**
amminoacidi	→	**proteine**
nucleotidi	→	**acidi nucleici (DNA, RNA)**

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



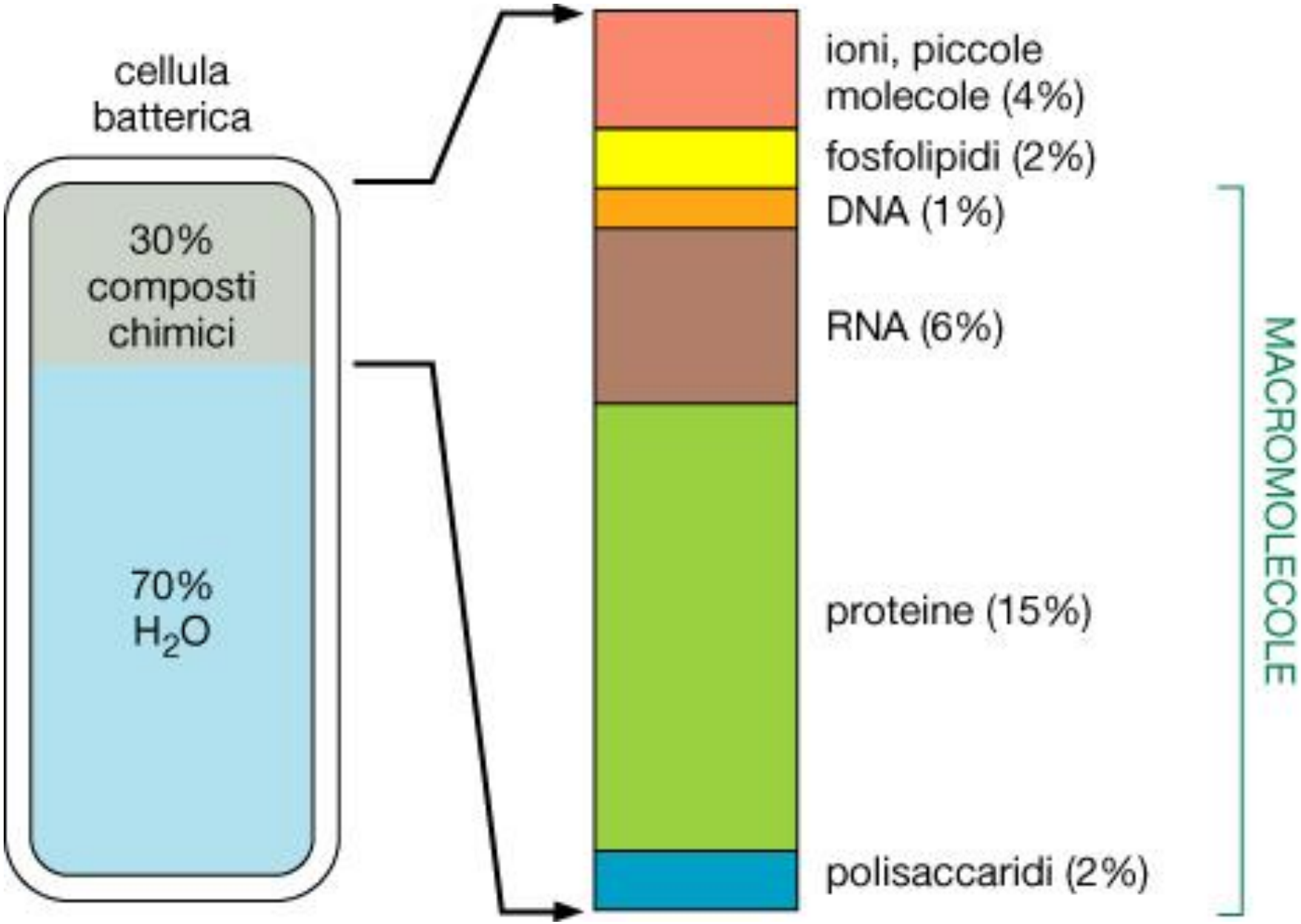
ad esempio,
zuccheri, amminoacidi
e nucleotidi



ad esempio,
proteine globulari e RNA



ad esempio, ribosoma


cellula batterica
30% composti chimici
70% H_2O
ioni, piccole molecole (4%)
fosfolipidi (2%)
DNA (1%)
RNA (6%)
proteine (15%)
polisaccaridi (2%)
MACROMOLECOLE

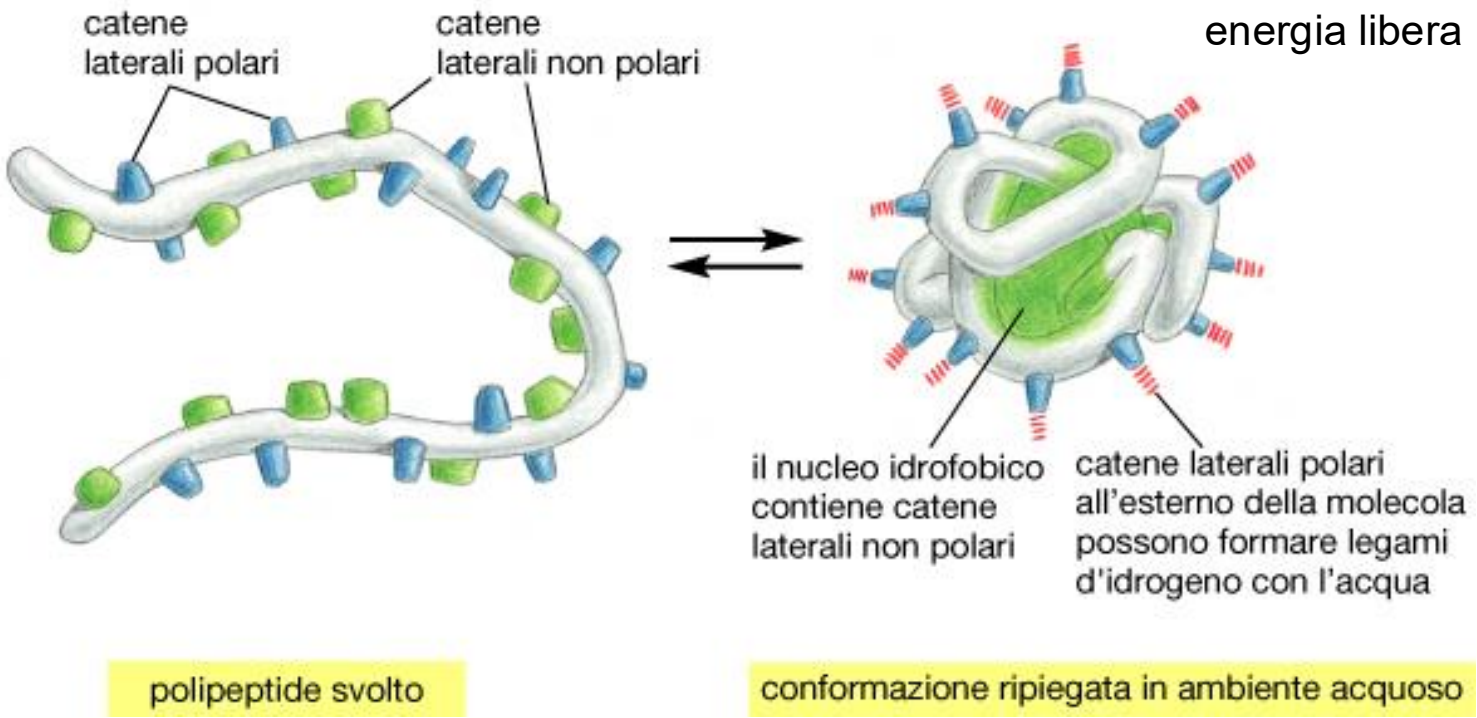
Le proteine svolgono numerose funzioni nella cellula

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

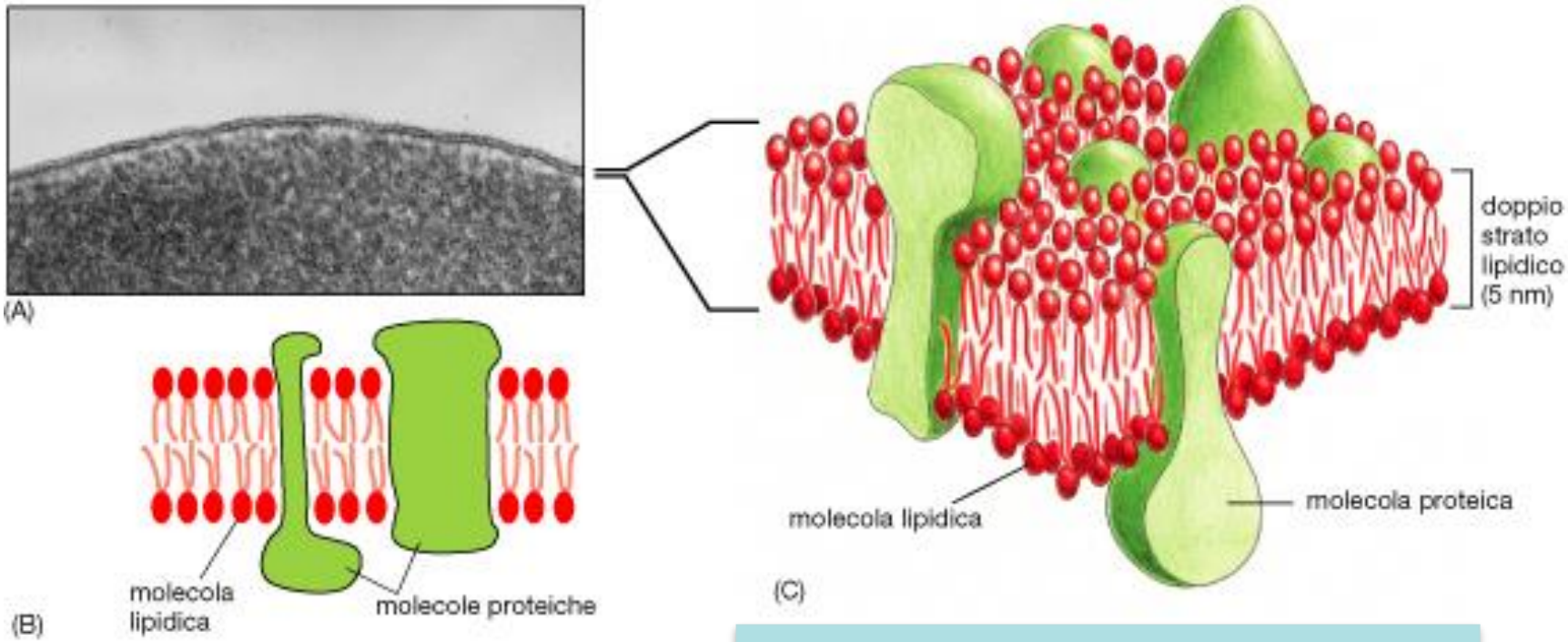
le proteine si ripiegano nella conformazione con energia libera più bassa



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

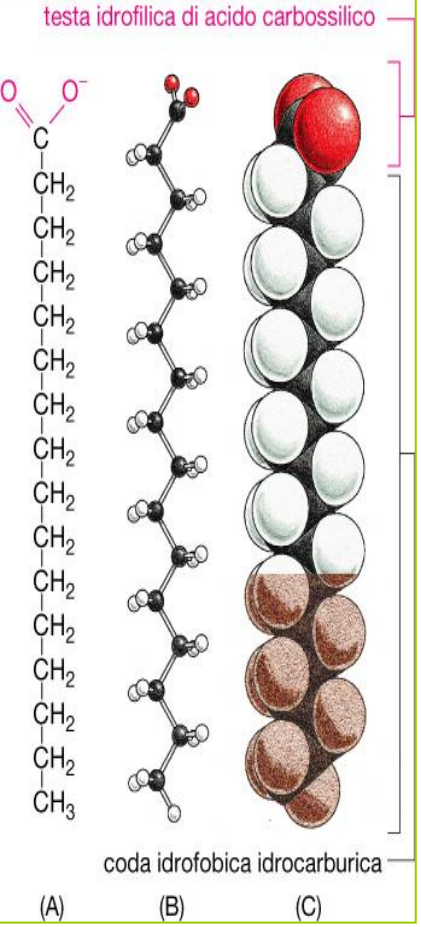
Tutte le cellule sono racchiuse da una **MEMBRANA PLASMATICA** (membrana cellulare)

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



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

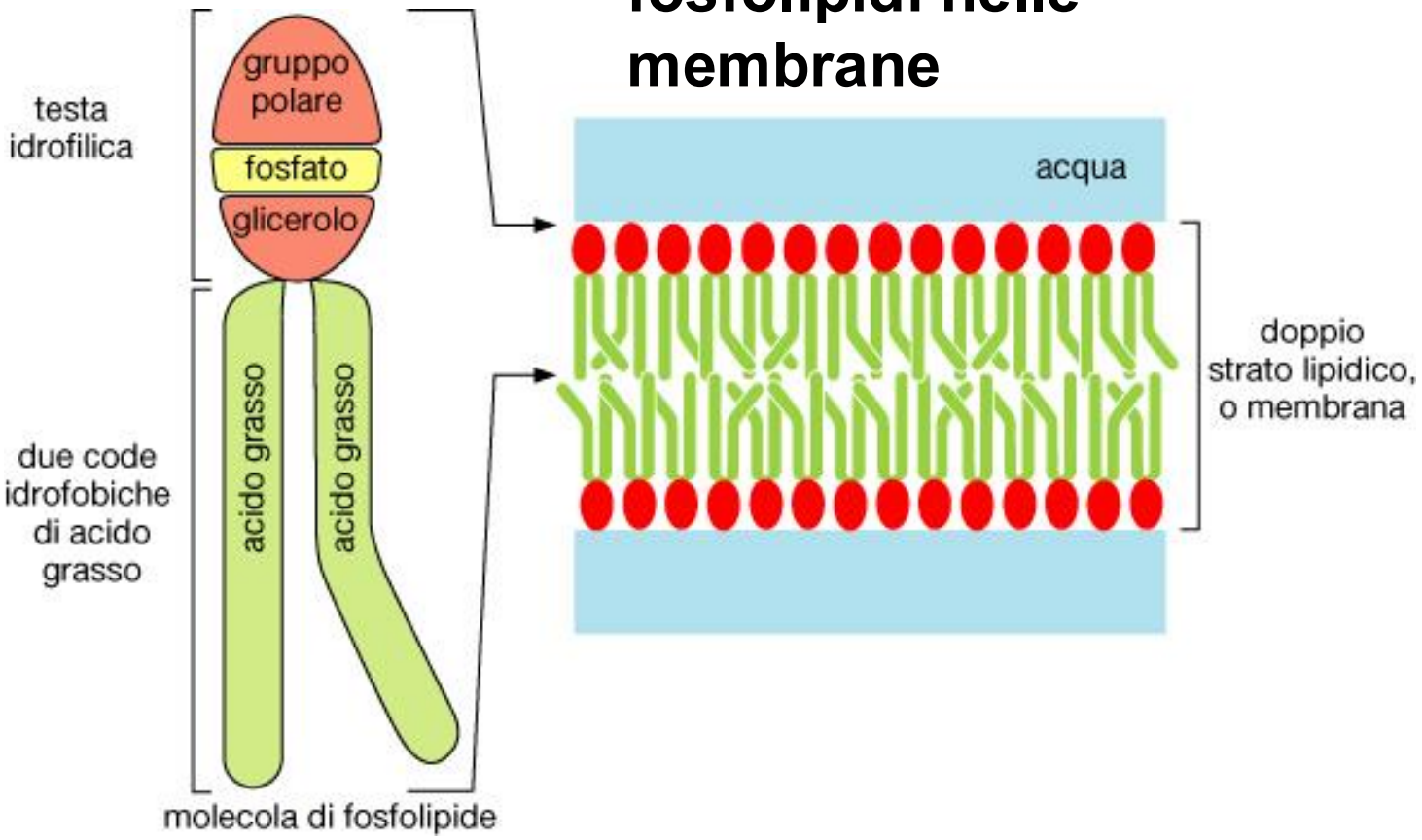
Struttura dei **FOSFOLIPIDI**

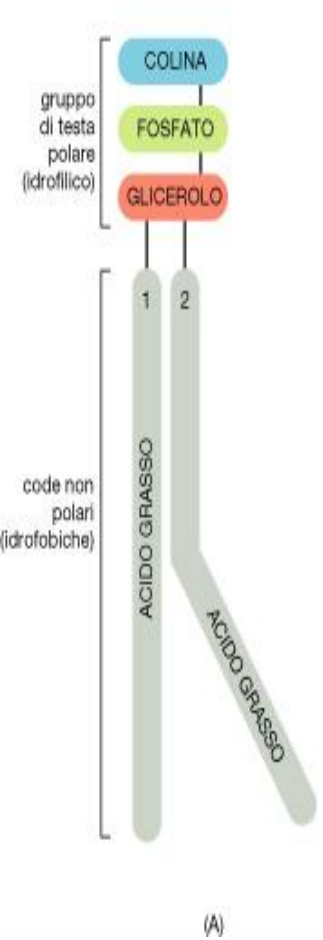


Struttura di un **ACIDO GRASSO**

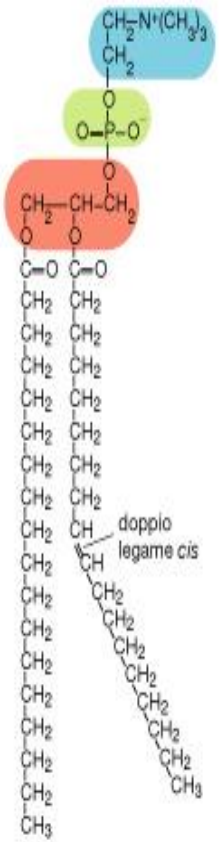
(*acido palmitico*)

Orientamento dei fosfolipidi nelle membrane

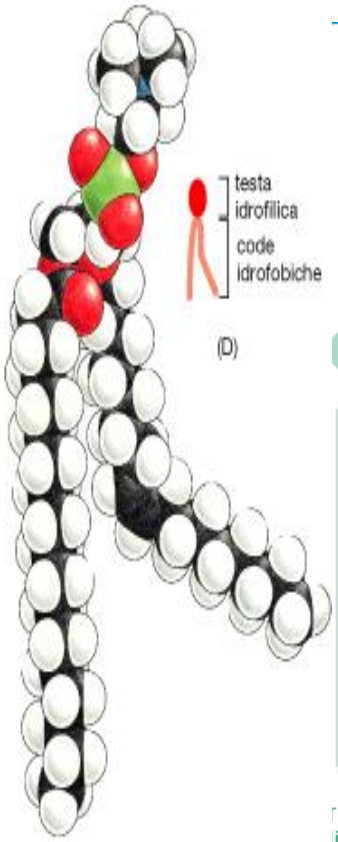




(A)



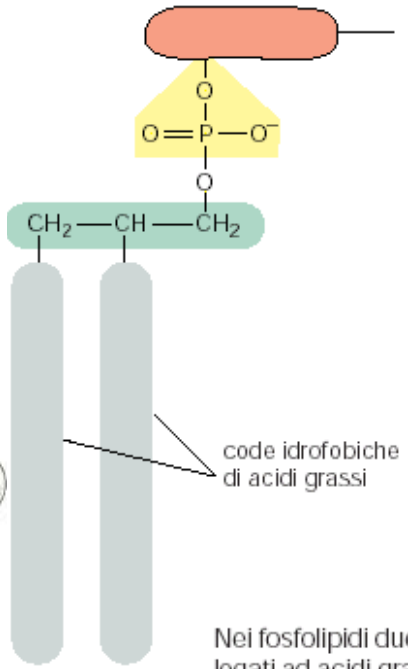
(B)



(C) (D)

Fosfolipidi

I fosfolipidi sono i costituenti principali delle membrane cellulari.



struttura generale di un fosfolipide

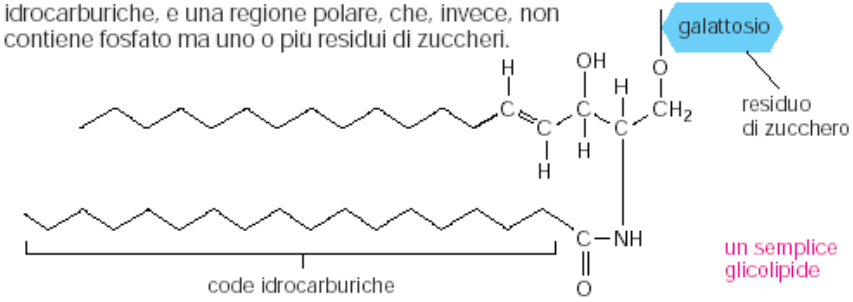


modello a spazio pieno del fosfolipide fosfatidilcolina

Nei fosfolipidi due dei gruppi –OH nel glicerolo sono legati ad acidi grassi, mentre il terzo gruppo –OH è legato ad acido fosforico. Il fosfato è ulteriormente legato a un piccolo gruppo polare di vario tipo (alcol).

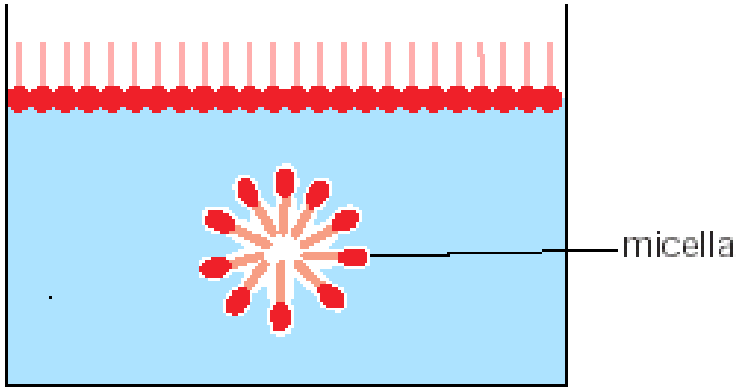
Glicolipidi

Come i fosfolipidi, questi composti sono costituiti da una regione idrofobica, contenente due lunghe code idrocarburiche, e una regione polare, che, invece, non contiene fosfato ma uno o più residui di zuccheri.



Aggregati lipidici

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



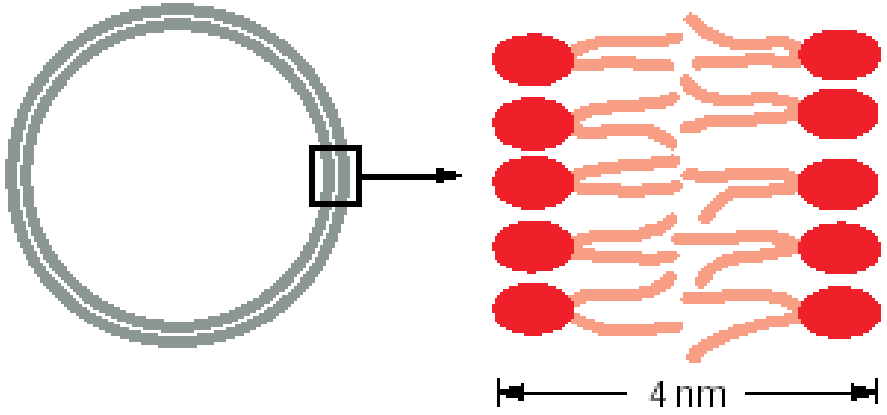
In acqua possono formare un film superficiale o formare piccole micelle.

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.



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

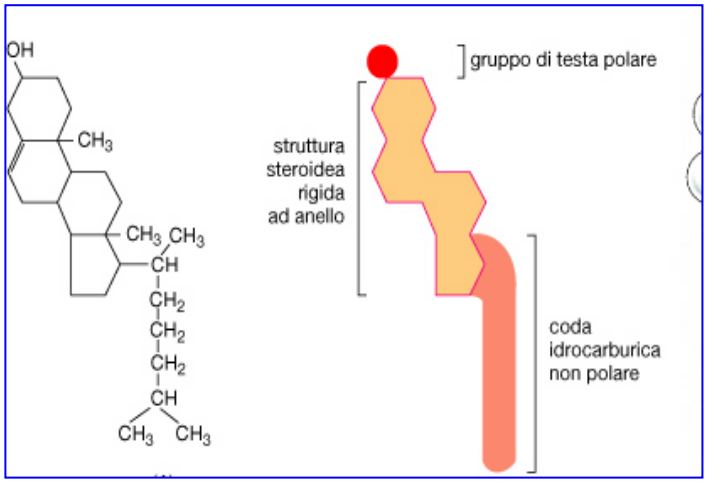
fluidità di membrana

- **Rapida diffusione laterale** dei fosfolipidi
- ***Flip-flop*** raro in assenza dei traslocatori dei fosfolipidi

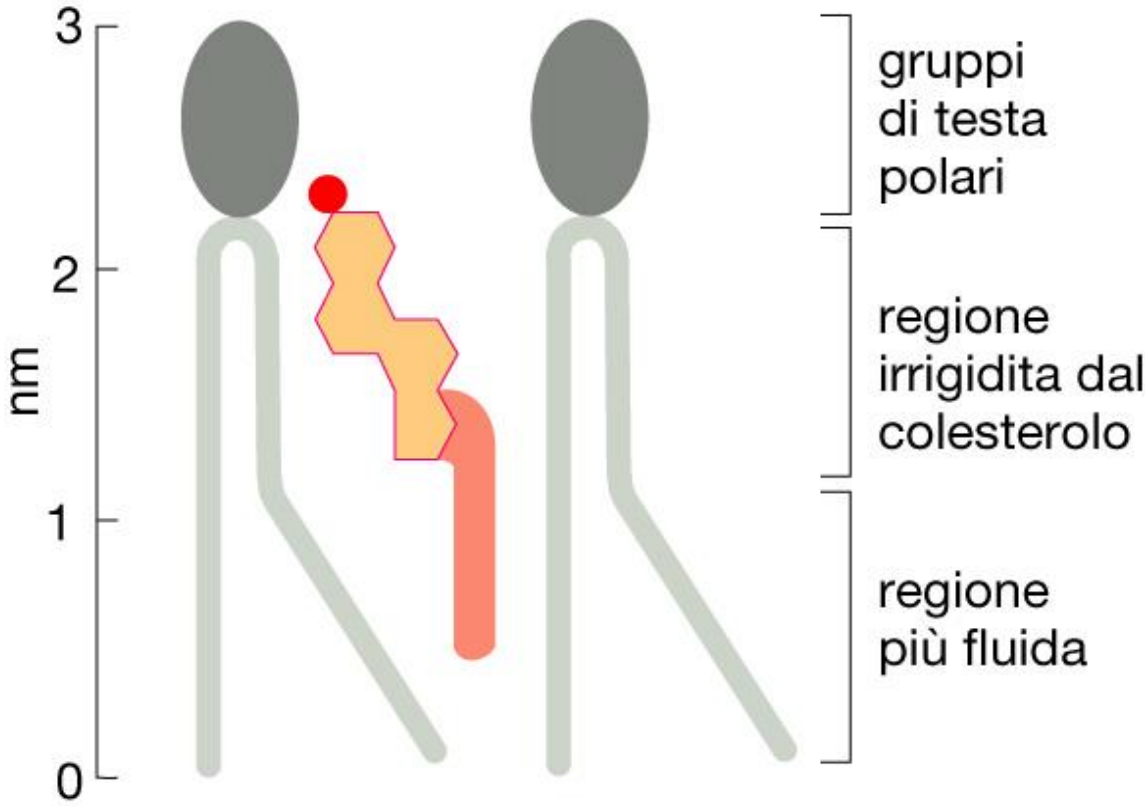
- **Colesterolo** → regola la plasticità delle membrane

- 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

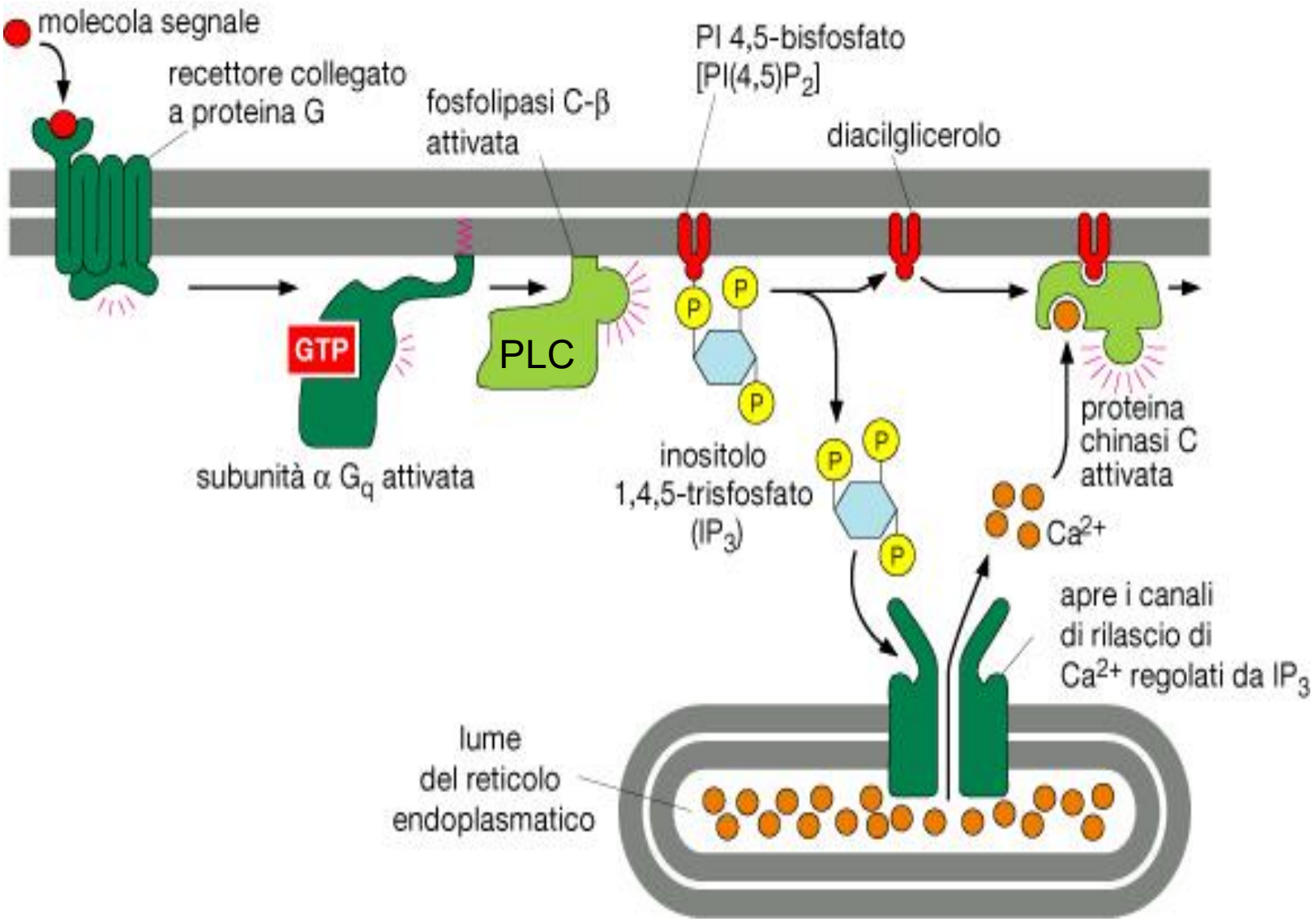
La membrana cellulare non è omogenea, presenta delle specializzazioni funzionali

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

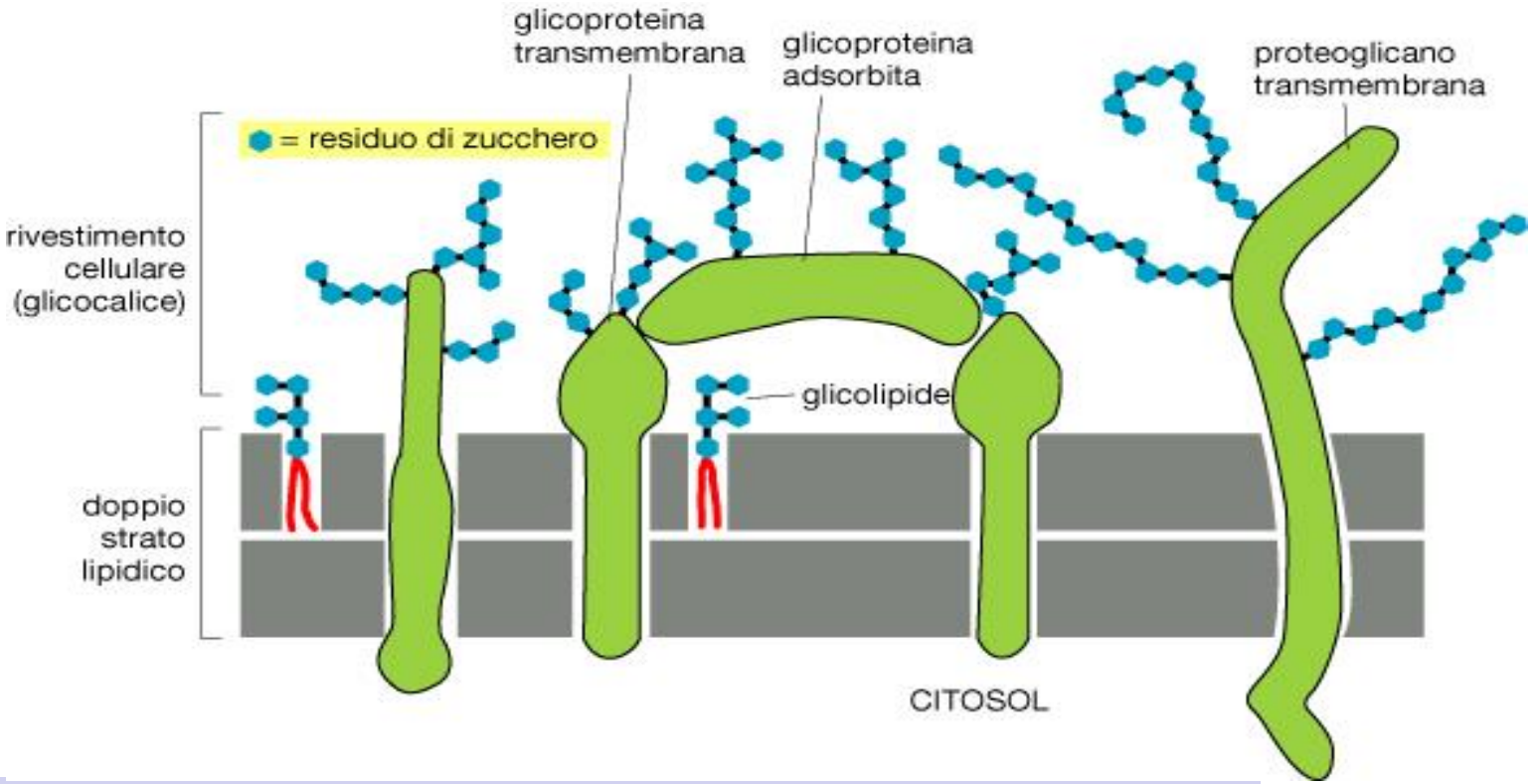
asimmetria del doppio strato lipidico

- 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

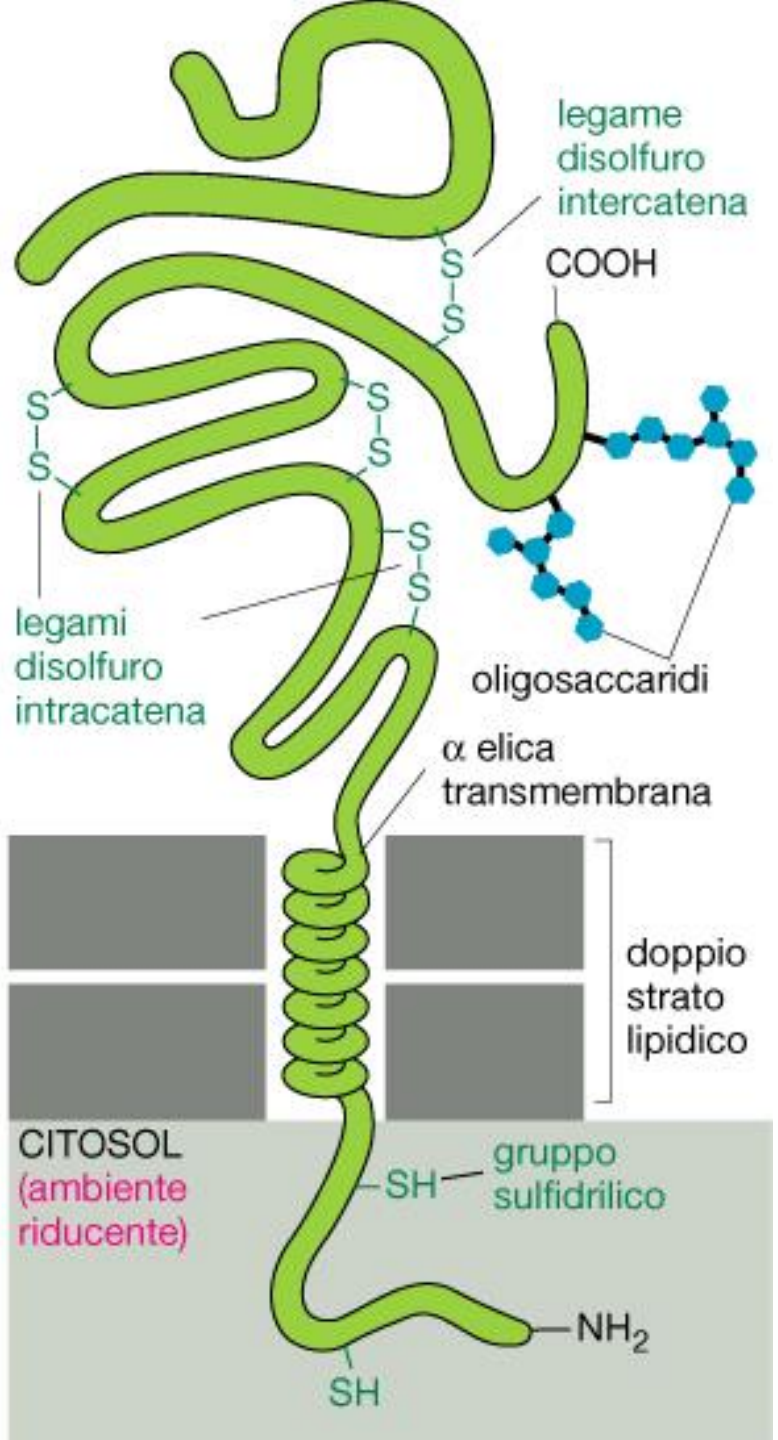


- *Funzione protettiva contro danni meccanici e chimici*
- *Tiene a distanza corpi estranei e altre cellule, impedendo interazioni proteina-proteina non desiderate*
- *Alcune delle catene oligosaccaridiche sono riconosciute dalle LECTINE (proteine che legano carboidrati di membrana) che aiutano a mediare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

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)



La membrana cellulare non è omogenea, presenta delle specializzazioni funzionali

asimmetria del doppio strato lipidico

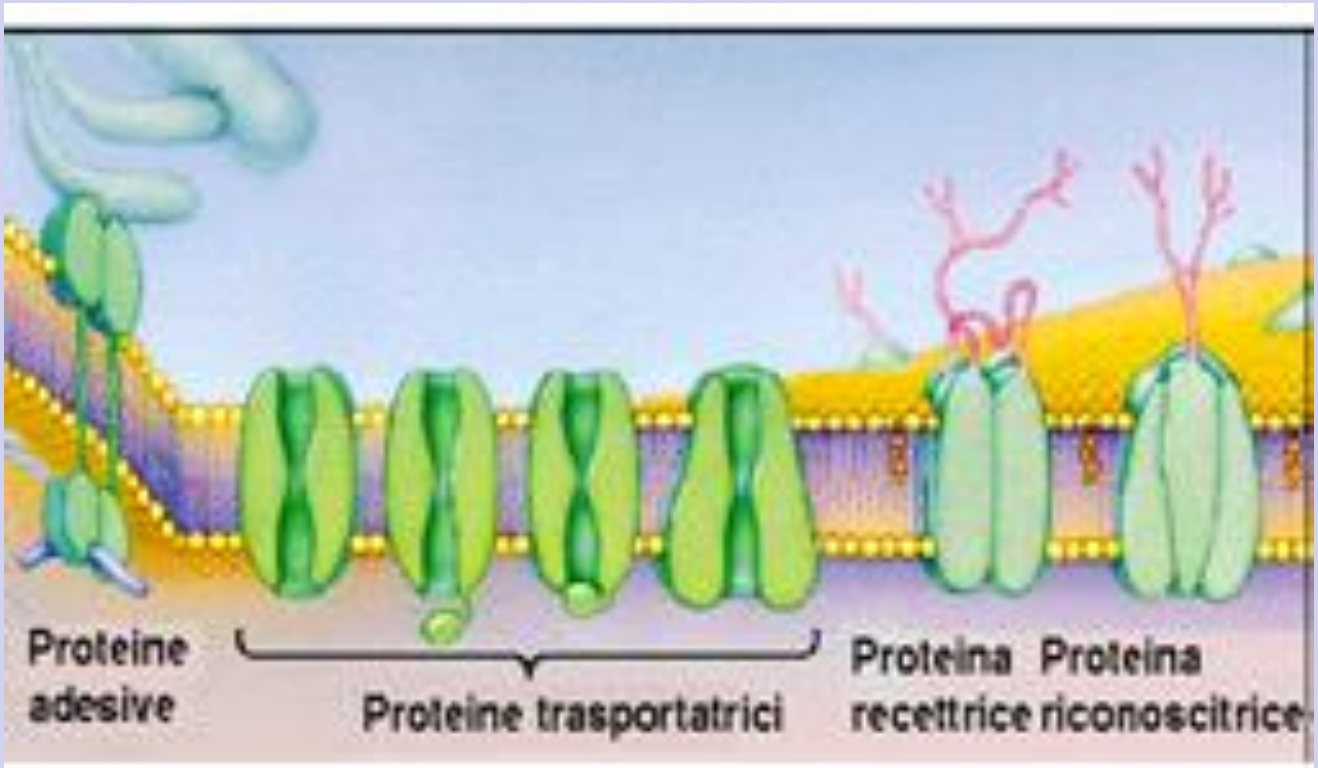
- molti enzimi, ad es. **PKC,** sono legati solo sul versante citosolico
- glicolipidi: esclusivamente localizzati nel monostrato non citosolico

➢ Asimmetria di alcuni fosfolipidi (es. fosfatidilserina, PS): molti animali la sfruttano per distinguere cellule vive o morte (**apoptosi**)

LAB: saggio **Annexin V** per rilevare cellule in apoptosi

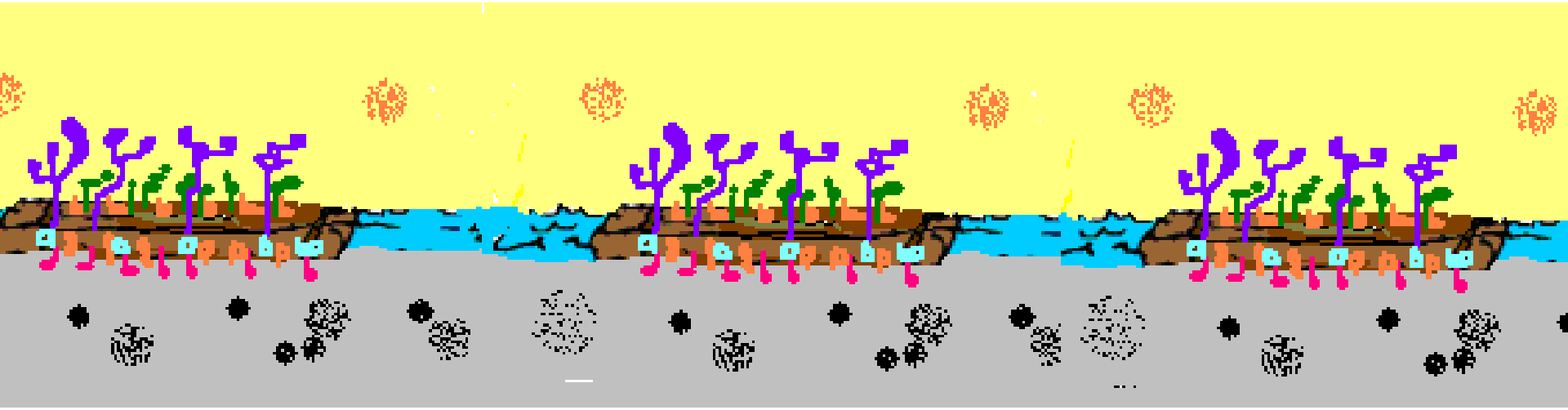
Funzioni della membrana cellulare

- 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

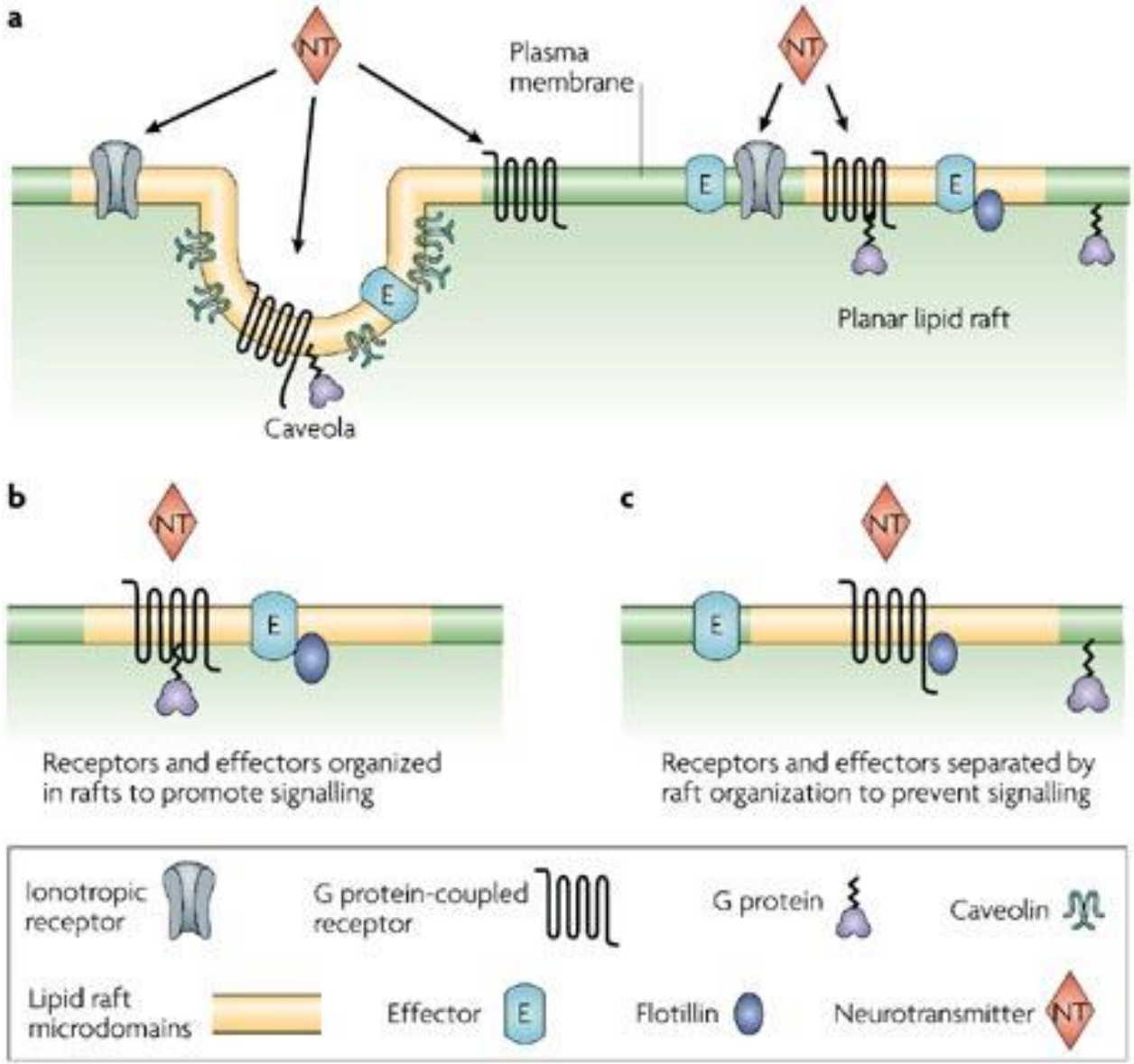


Zone di specializzazione della membrana

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

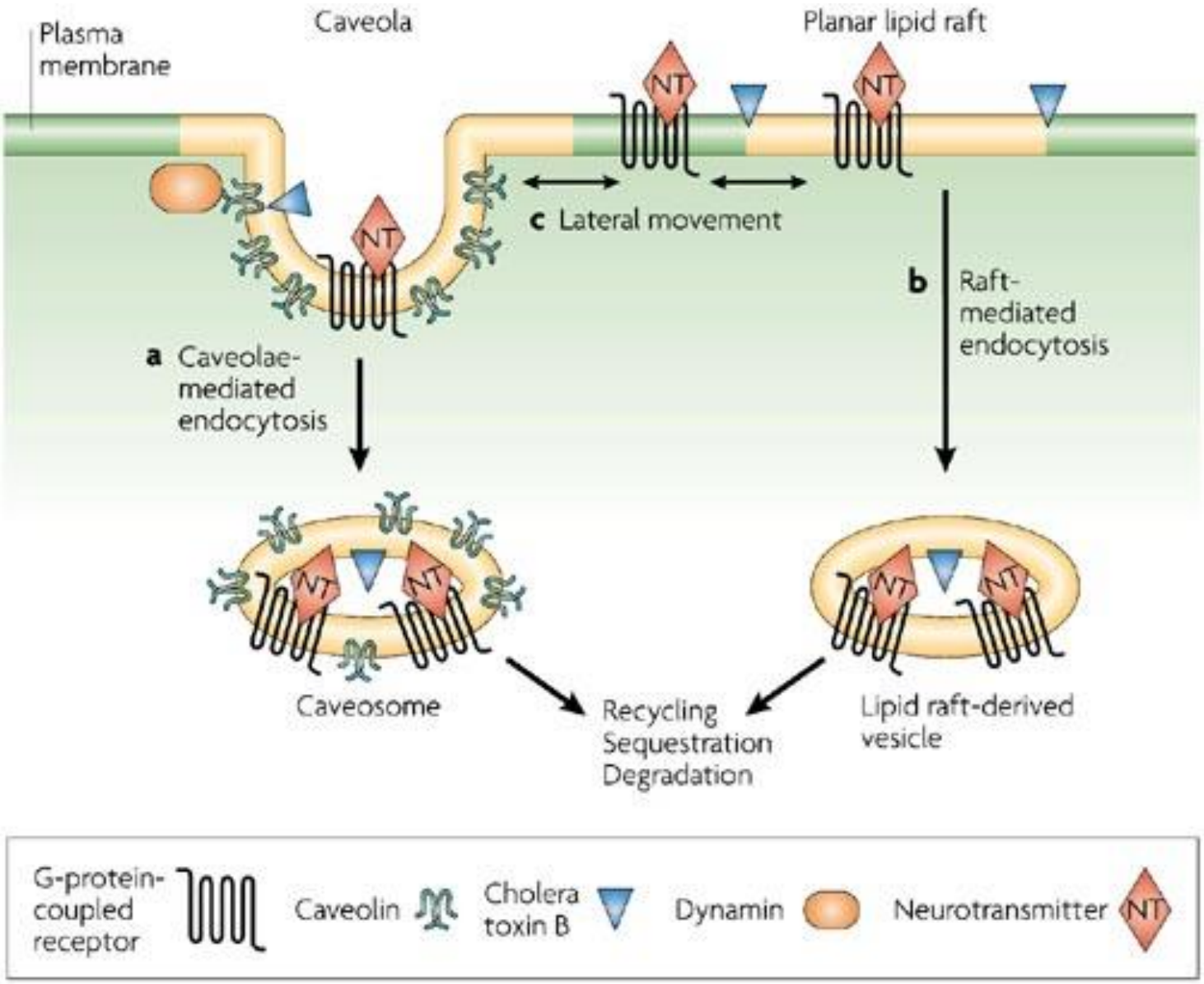


Signaling



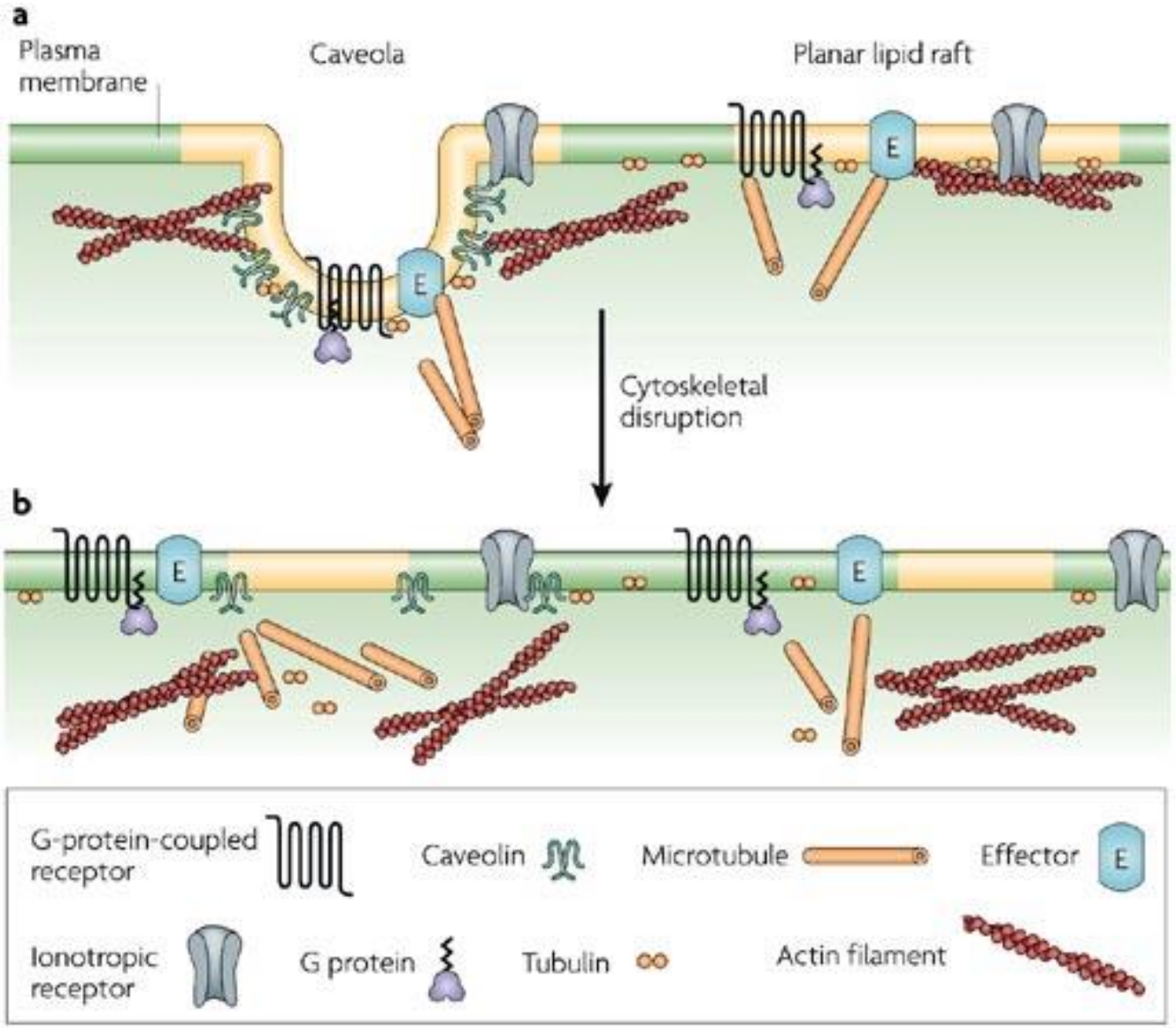
Nature Reviews | Neuroscience

Mediazione esocitosi



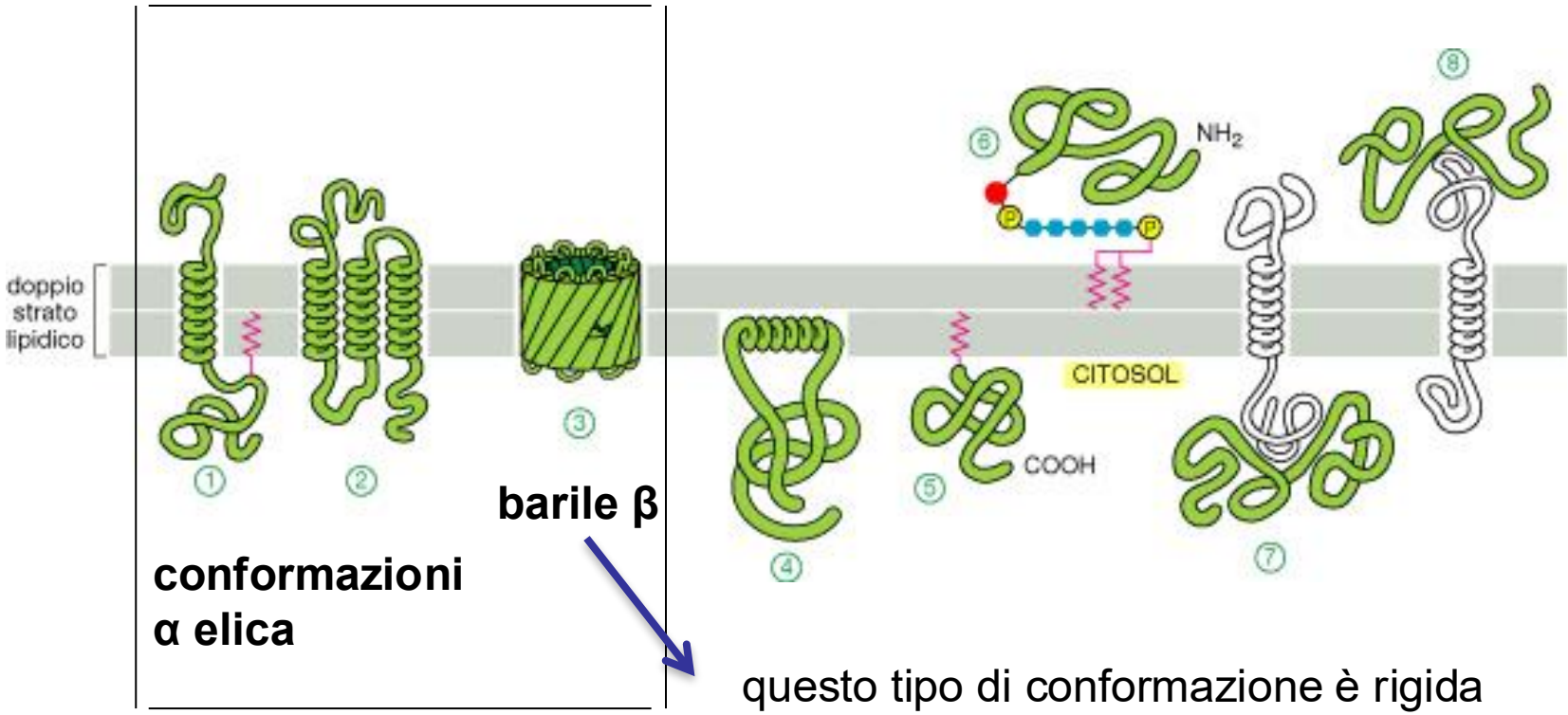
Nature Reviews | Neuroscience

In rapporto con il citoscheletro



Nature Reviews | Neuroscience

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



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

proteine transmembrana

LABORATORIO

- **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)

