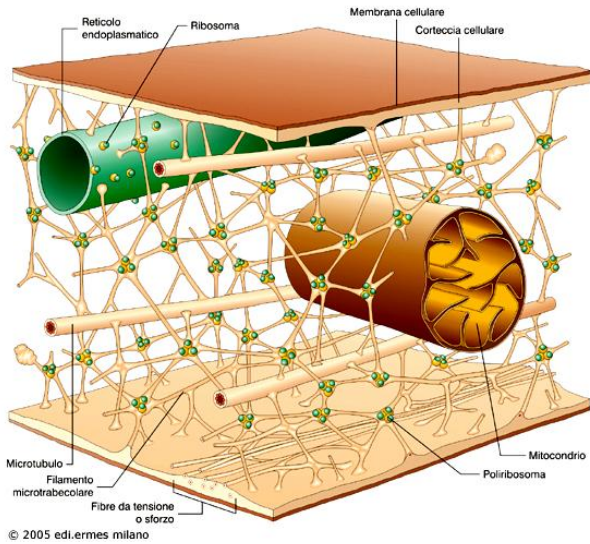
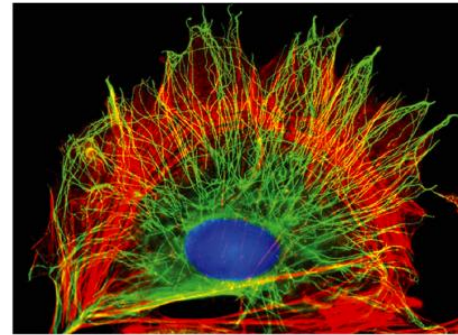


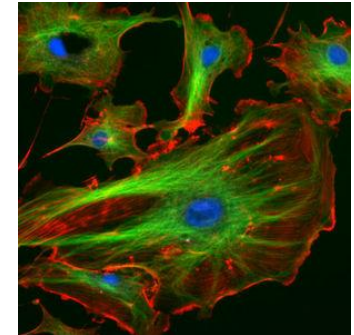
# IL CITOSCHELETRO



Ipotetica ricostruzione tridimensionale delle interazioni tra citoscheletro e organelli cellulari (Porter et al., 1976) ottenuta da immagini al ME. Secondo questa ipotesi il citoscheletro formerebbe una **rete microtrabecolare** nel citosol. Oggi questa visione è stata superata, grazie a tecniche più moderne



10 µm



Microtubuli

Microfilamenti

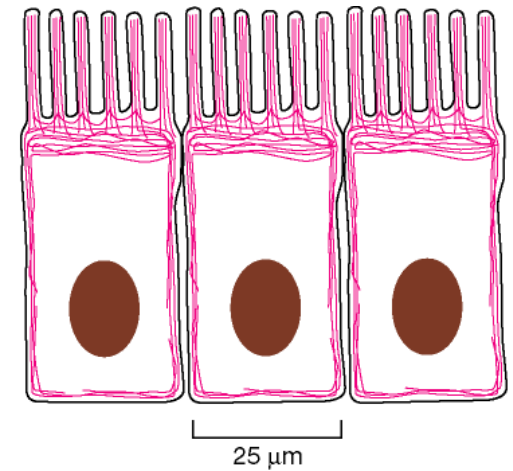
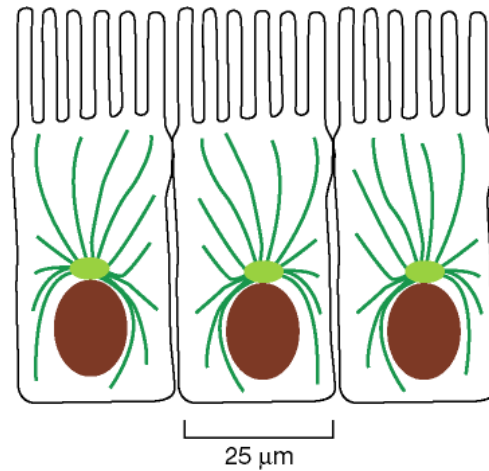
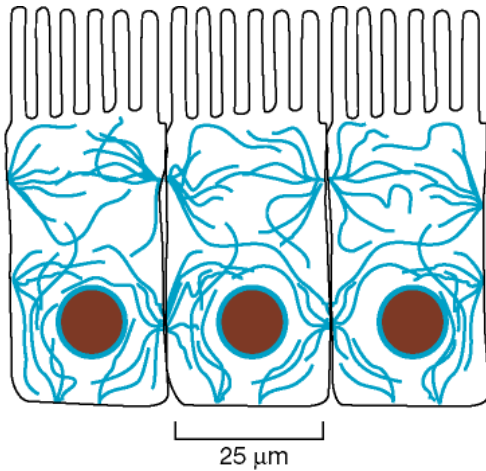
Immunofluorescenza di cellule eucariote con anticorpi anti-actina (rosso) e anti tubulina (verde) e con la marcatura del nucleo in blu.

Nonostante la diversa architettura del citoscheletro suggerita dai preparati in fluorescenza, oggi della vecchia ipotesi di Porter resta il concetto che **il citoscheletro dà forma alla cellula e le conferisce un'impalcatura interna, sebbene non trabecolare**

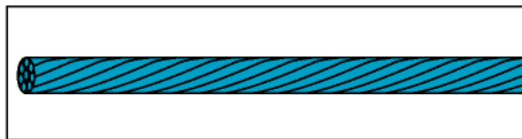
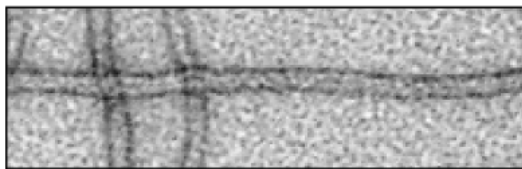
Oggi sappiamo che il citoscheletro è una **struttura dinamica** coinvolta oltre che nella struttura, anche nel funzionamento delle cellule, nella localizzazioni e nei **trasporti intracellulari di organelli e molecole**, nella **migrazione cellulare**, nella struttura e nel movimento di **flagelli e ciglia**, nella **divisione cellulare**.

Il citoscheletro è presente in tutte le cellule eucariote e recentemente è stato anche identificato in cellule procariote.

## Ci sono tre tipi di citoscheletro nella cellula eucariota:



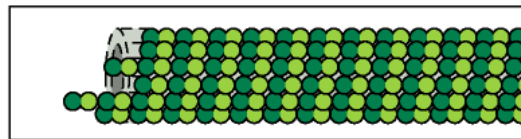
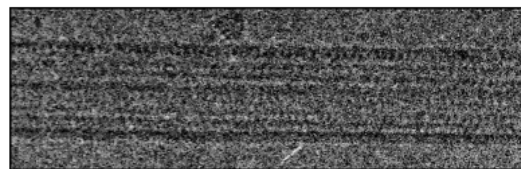
FILAMENTI INTERMEDI



25 nm

Diametro = 8-10 nm

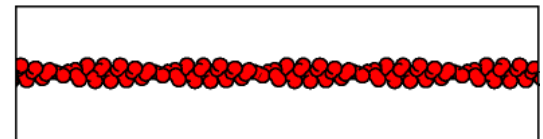
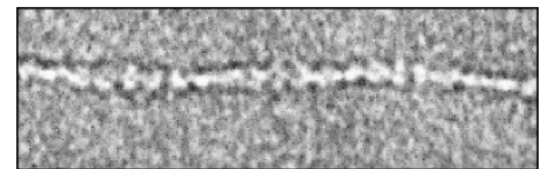
MICROTUBULI



25 nm

Diametro = 25 nm

MICROFILAMENTI



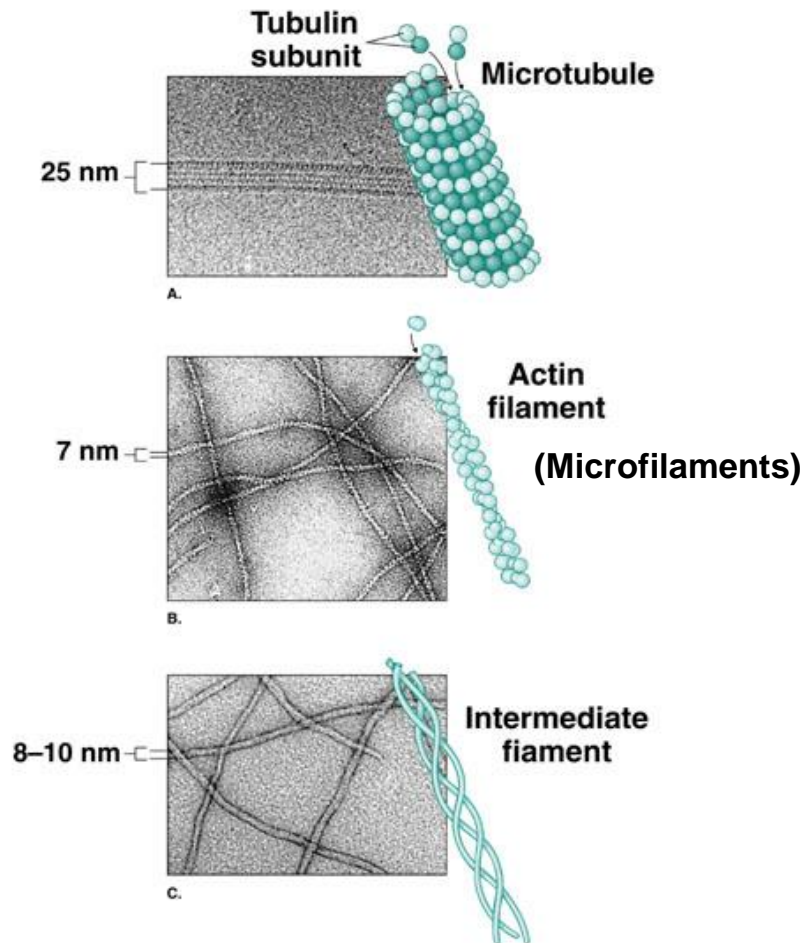
25 nm

Diametro = 7 nm

Il citoscheletro è costituito da una serie di strutture filamentose ben definite - **microtubuli**, **microfilamenti**, **filamenti intermedi** - e dalle **proteine loro associate**.

I tre tipi di filamenti sono polimeri di subunità proteiche tenute insieme da legami non covalenti.

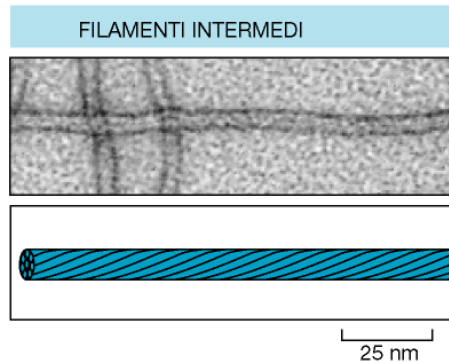
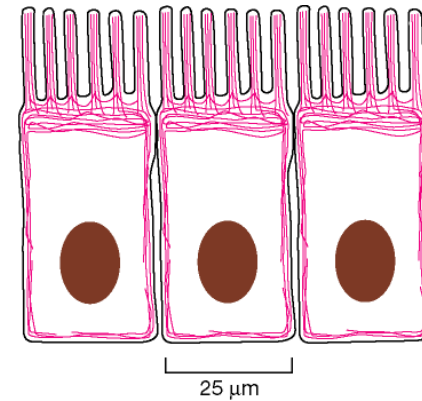
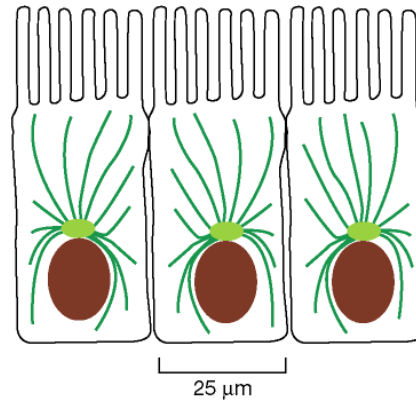
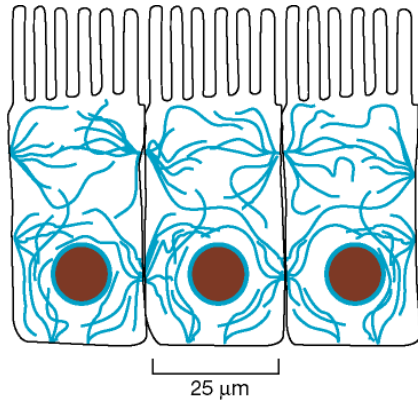
Ciascuno dei tre tipi di filamenti possiede proprietà, distribuzione e funzioni proprie.



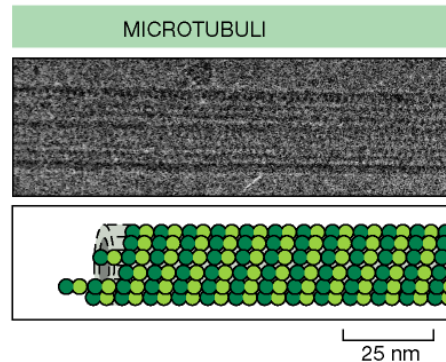
Comuni a tutte le cellule

Lamina nucleare + diverse tipologie a secondo del tipo cellulare (neurofilamenti, citocheratine, etc..)

# Stabilità e instabilità dei filamenti proteici del citoscheletro



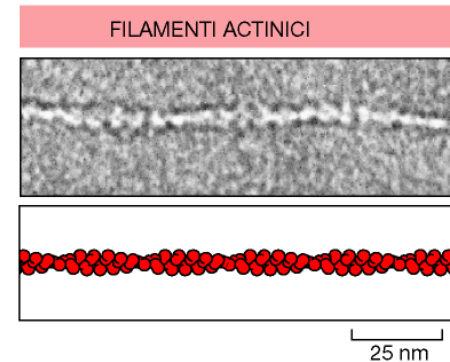
STABILI



INSTABILI

STABILI

↓  
Ciglia, flagelli



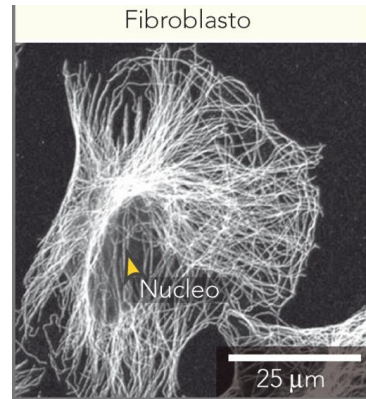
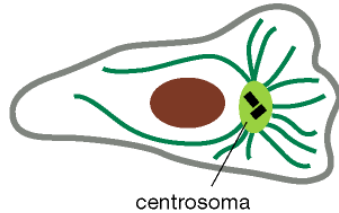
INSTABILI

STABILI

↓  
sarcomeri, microvilli

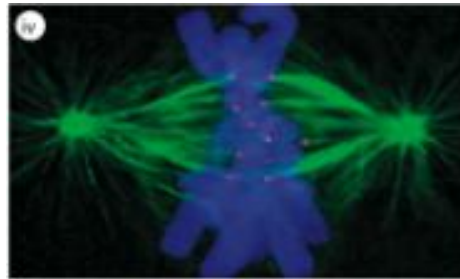
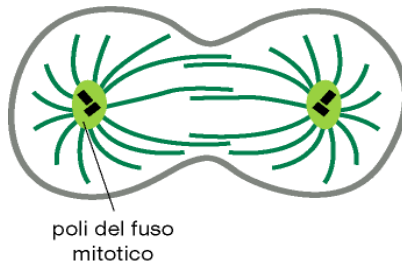
# Funzioni dei MICROTUBOLI

(A) CELLULA INTERFASICA



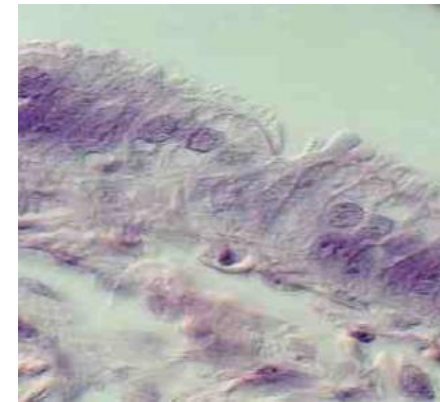
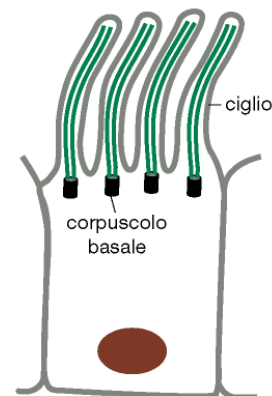
- Distribuzione degli organelli dentro la cellula (es.: RE, Golgi)
- Mantenimento della polarizzazione funzionale di alcune cellule (neuroni, cellule epiteliali, ...)
- Trasporto intracellulare (fibre "guida" per lo spostamento di vescicole e altro materiale nel citosol)

(B) CELLULA IN DIVISIONE



Formazione del fuso e segregazione dei cromosomi durante la mitosi

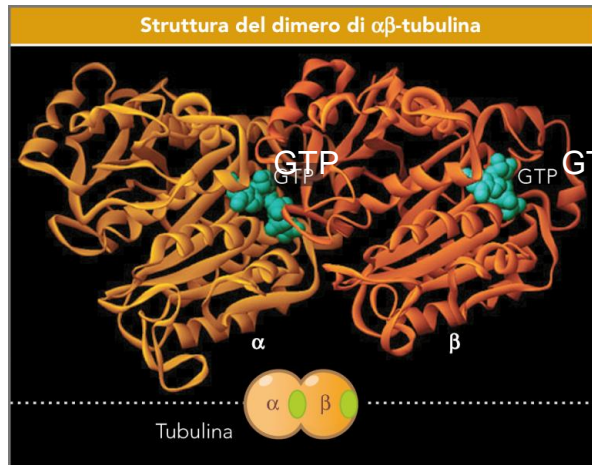
(C) CELLULA CILIATA



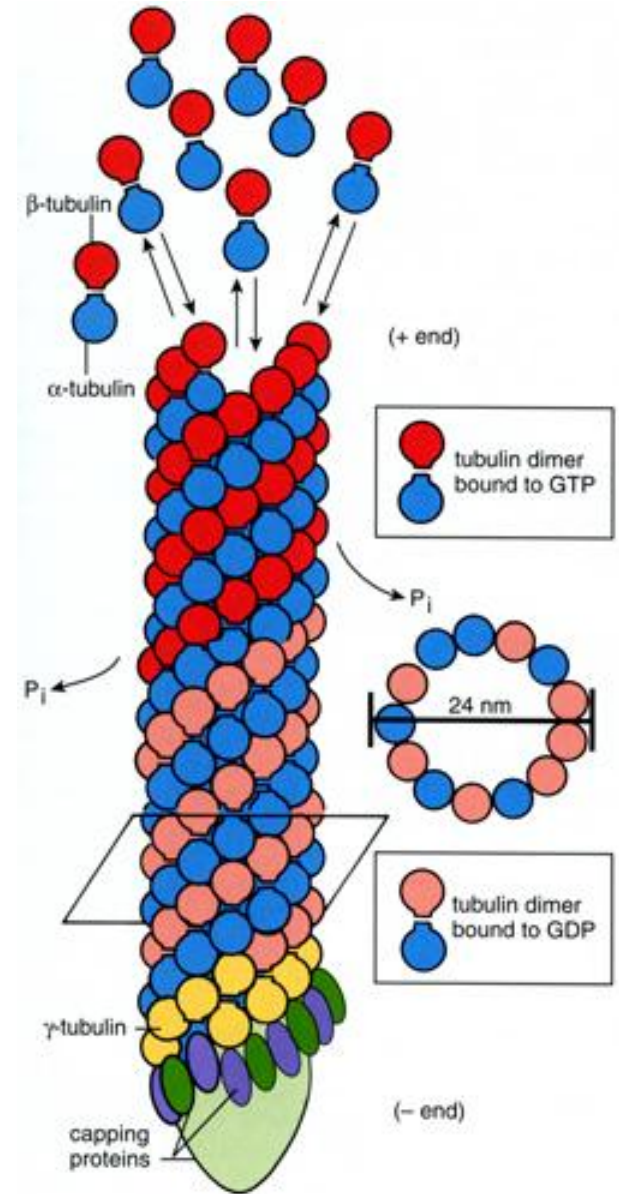
Formazione di strutture associate al movimento cellulare: **ciglia** e **flagelli**, sono strutture stabili il cui movimento può conferire forza propulsiva negli spostamenti cellulari (flagelli), o può spostare i fluidi con cui sono a contatto (ciglia)

## Struttura dei MICROTUBULI

- sono presenti in tutte le cellule
- strutture cilindriche cave con diametro di 25nm
- la parete del microtubulo è formata da una serie di proteine globulari: le TUBULINE
- Ne esistono due tipi principali:  **$\alpha$ -tubulina** e  **$\beta$ -tubulina**. Insieme formano un **eterodimero** di  $\alpha/\beta$  tubulina, che costituisce l'unità di base dei microtubuli:

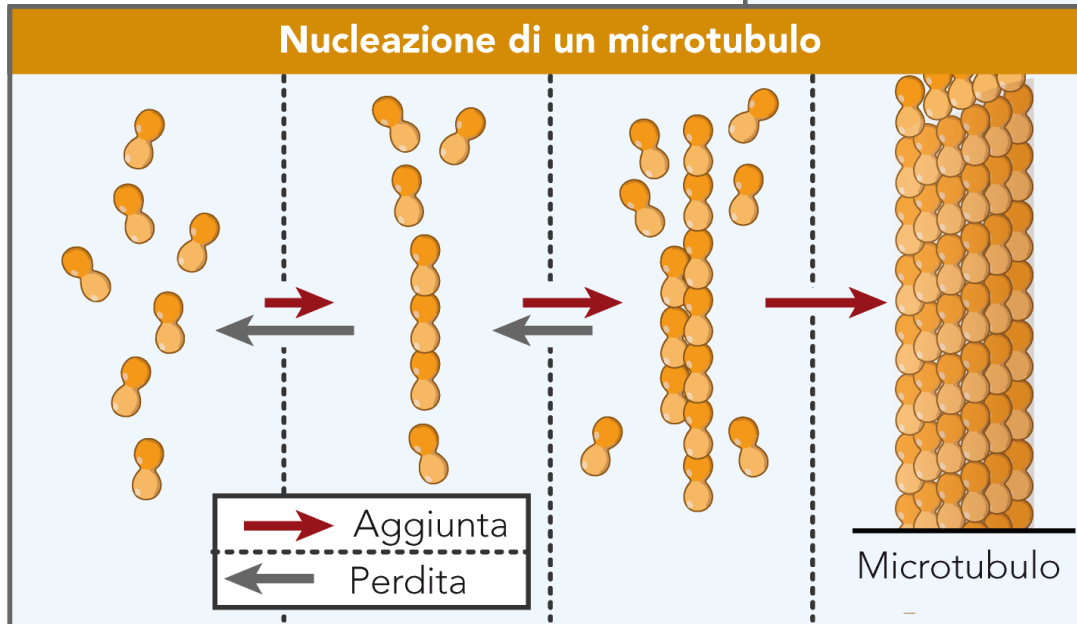
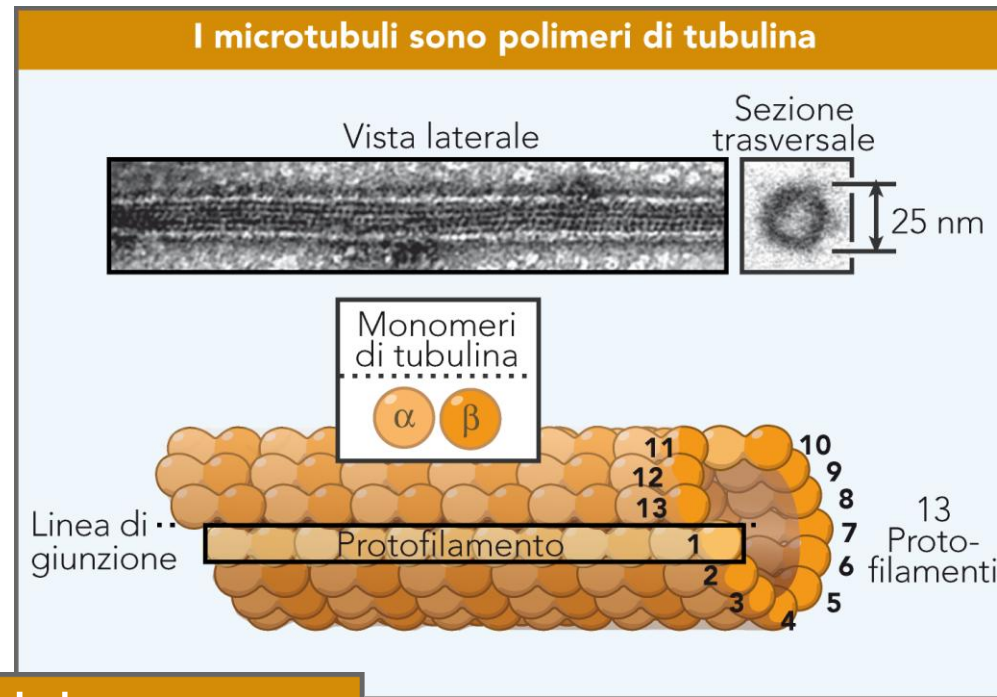


- Nel microtubulo i dimeri di tubulina sono orientati nella stessa direzione (es.: tutte le subunità  $\alpha$  sono rivolte verso la stessa estremità), ciò è all'origine della **polarità del microtubolo**
- Il terzo tipo di tubulina ( **$\gamma$ -tubulina**) è importante per l'inizializzazione della polimerizzazione dei microtubuli

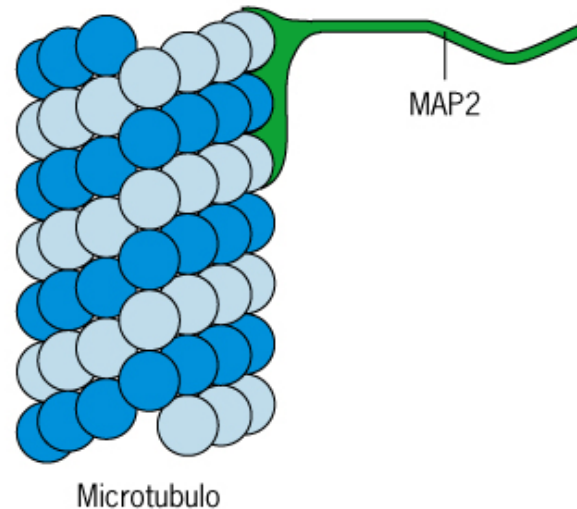


## Polimerizzazione dei MICROTUBOLI (MT)

- i MT originano dalla polimerizzazione reversibile dei dimeri di tubulina
- L'aggregazione dei dimeri di tubulina in brevi catene è detta NUCLEAZIONE, questi brevi tratti infatti servono da "nuclei" da cui le catene possono crescere fino a formare i **protofilamenti**.
- I protofilamenti si assemblano in **gruppi di 13** a formare un cilindro cavo all'interno: il microtubulo



Le **MAP (Microtubule Associated Proteins)** sono proteine che si legano ai microtuboli, possono stabilizzarli, promuoverne l'assemblamento o favorirne l'allineamento parallelo

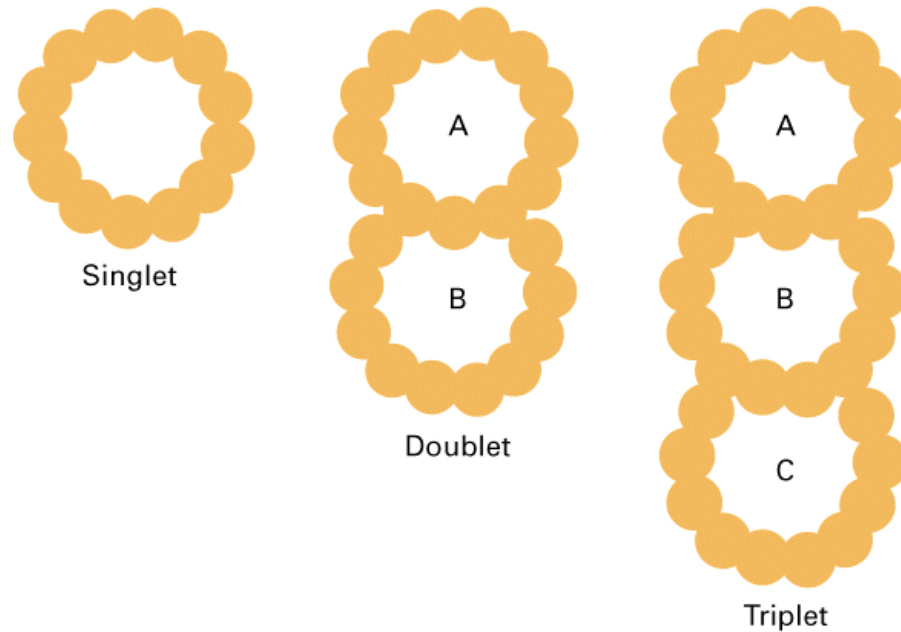


**FIGURA 9.10 Proteine associate ai microtubuli (MAP).** Rappresentazione schematica di una molecola di MAP2 legata alla superficie di un microtubulo. Ciascuna molecola di MAP2 contiene tre siti di legame alla tubulina, collegati da brevi tratti della catena polipeptidica. (Un'isoforma alternativa contiene quattro siti di legame). I siti di legame sono intervallati da una distanza sufficiente da permettere alla molecola di MAP2 di attaccarsi a tre subunità separate di tubulina sulla parete del microtubulo. Le code delle molecole di MAP si proiettano all'esterno, dove possono interagire con altre componenti cellulari.

---



i MT possono essere singoli (microtuboli citoplasmatici), o formare **DOPPIETTE** (ciglia e flagelli) e **TRIPLETTE** (nei centrioli)



Il microtubolo **A** contiene sempre 13 protofilamenti, **B** e **C** in genere sono formati da 10-11 protofilamenti

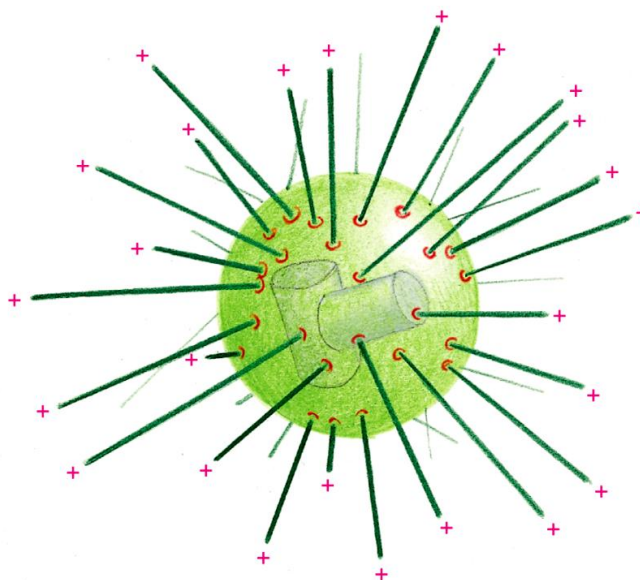
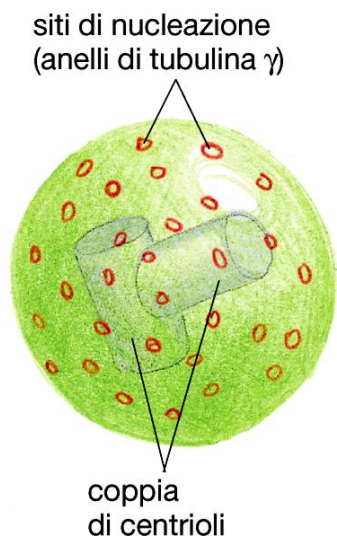
## Dove hanno origine i microtubuli nella cellula?

I microtubuli si autoassemblano a partire da un nucleo di polimerizzazione presente in un'area della cellula disposta vicino al nucleo: il **CENTROSOMA** o Centro Organizzatore dei Microtubuli (**MTOC**).

Il MTOC contiene i **centrioli** e i **corpi pericentriolari** (strutture dense attorno ai centrioli)

Sono i corpi pericentriolari, non i centrioli, il punto di partenza per la nucleazione dei microtubuli. I corpi pericentriolari fungono da ancoraggio per l'estremità ( - ) dei MT.

I corpi pericentriolari contengono un tipo particolare di tubulina ( **$\gamma$ -tubulina**), che costituisce solo l'1% della tubulina totale



(B) microtubuli che crescono da complessi anulari di tubulina  $\gamma$  del centrosoma

# Centrioli

I centrioli sono presenti in cellule animali e in alcune piante inferiori

Nelle cellule animali, i centrioli sono localizzati nel centrosoma. Sono strutture doppie posizionate ad angolo retto l'una rispetto all'altra.

I centrioli **si duplicano** durante le fasi "S" e "G2" dell'interfase e i 2 centrosomi si separano all'inizio della mitosi durante la profase a formare i due poli del **fuso mitotico**.

Singoli centrioli sono anche localizzati alla base di **ciglia** e **flagelli**. In questo contesto sono chiamati "**corpi basali**" e permettono la nucleazione e il funzionamento dei microtubuli che sostengono queste specializzazioni funzionali della membrana plasmatica.

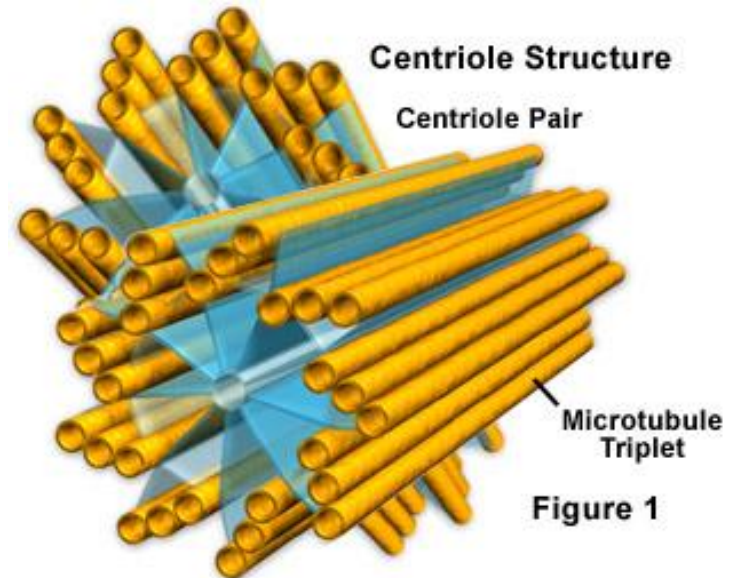
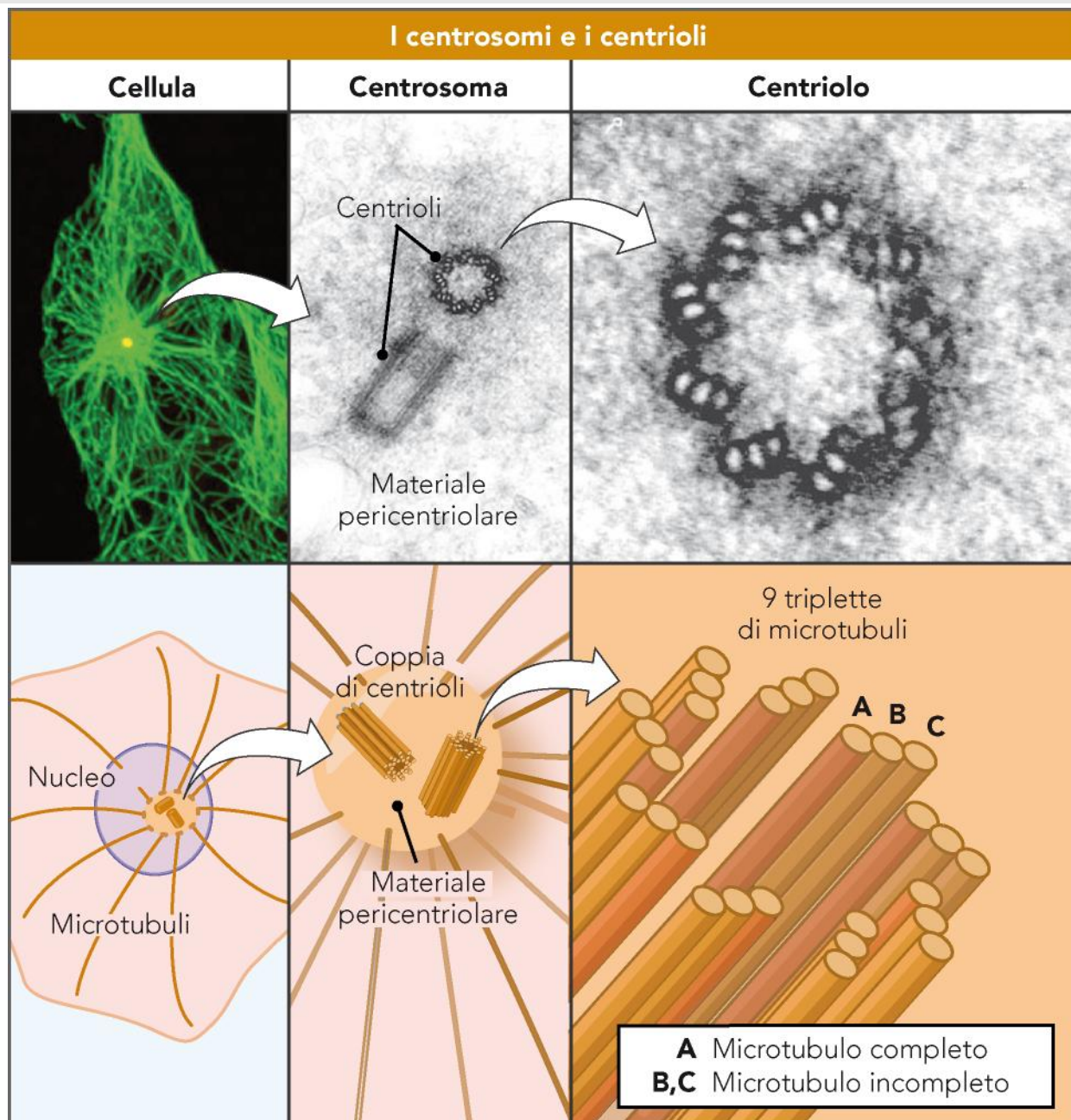
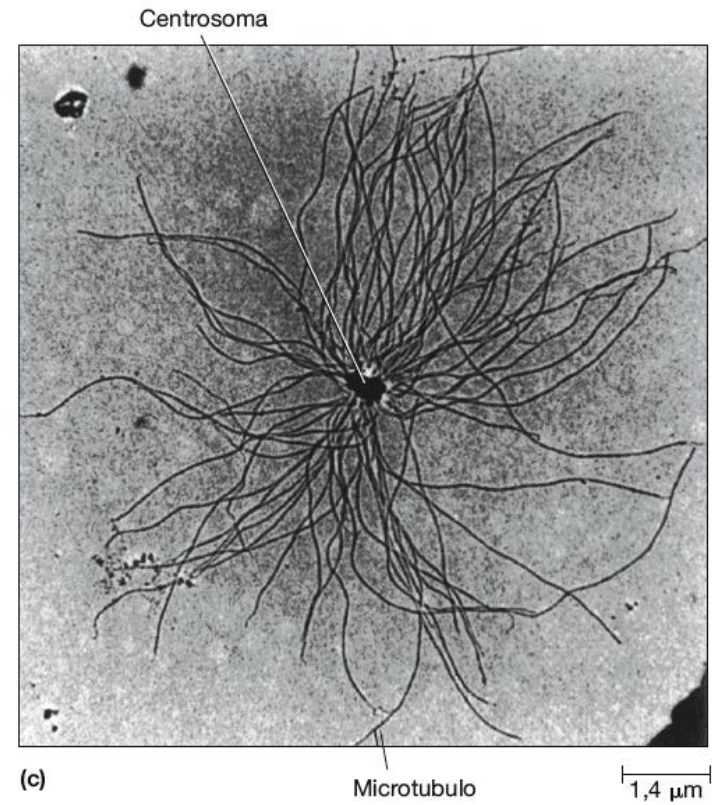
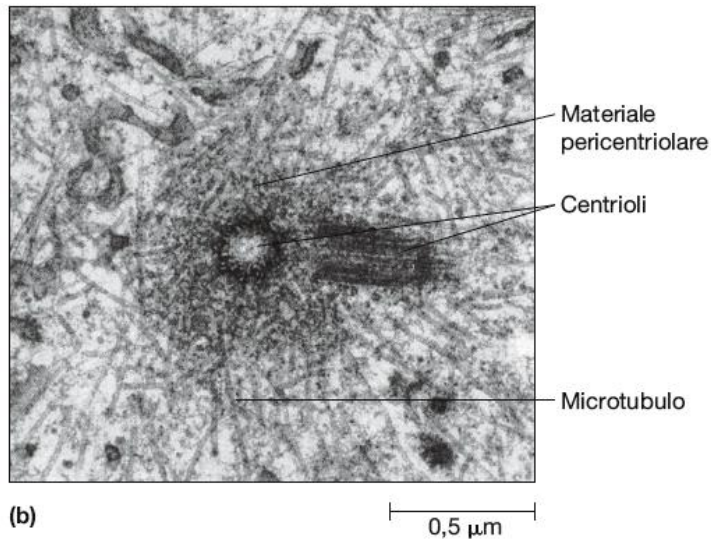
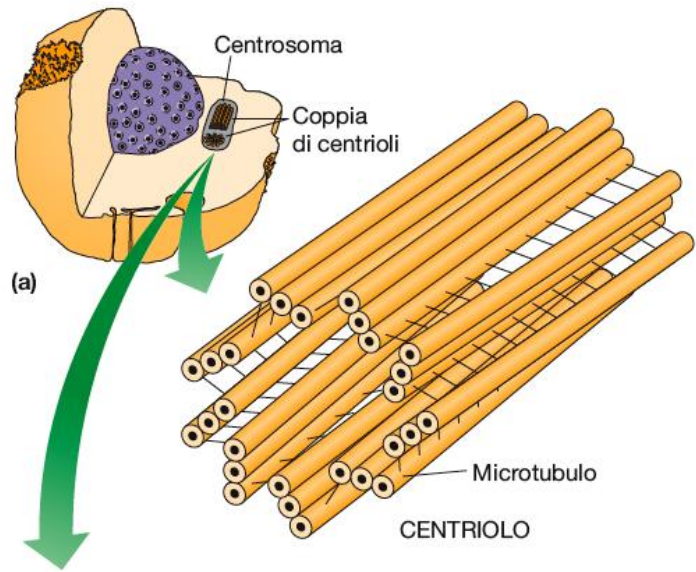


Figure 1

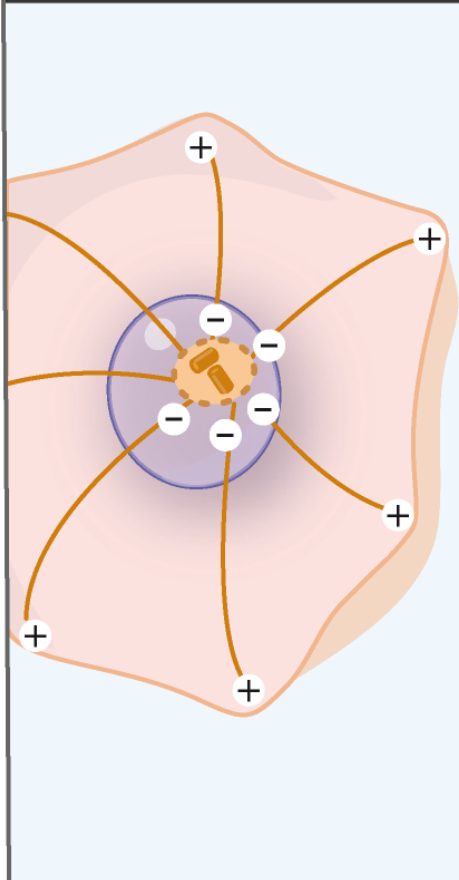


# Il Centrosoma

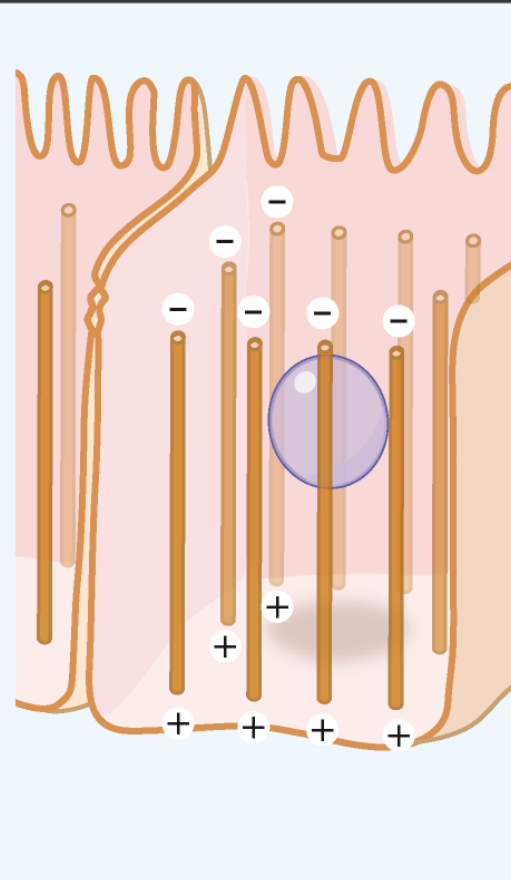


# Polarità dei microtubuli nelle cellule

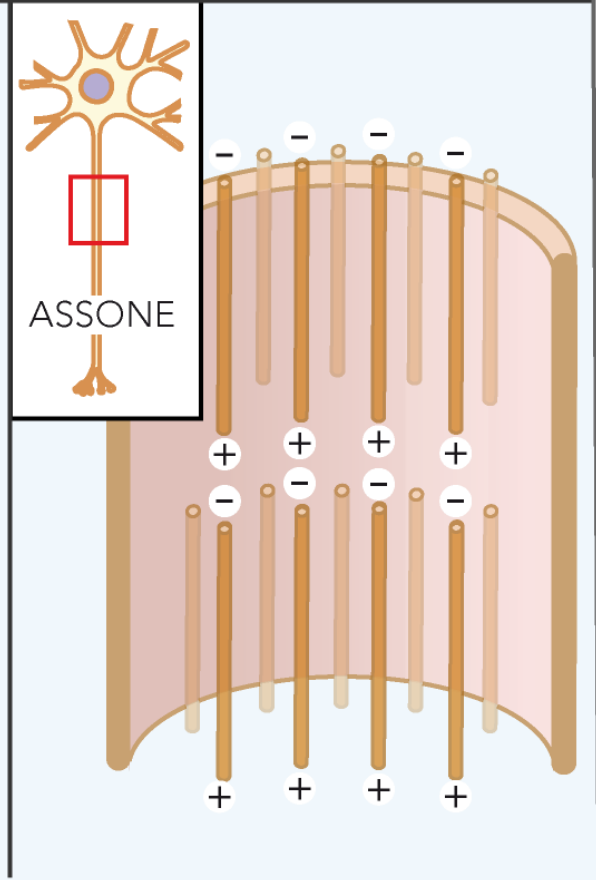
Fibroblasto



Cellula epiteliale



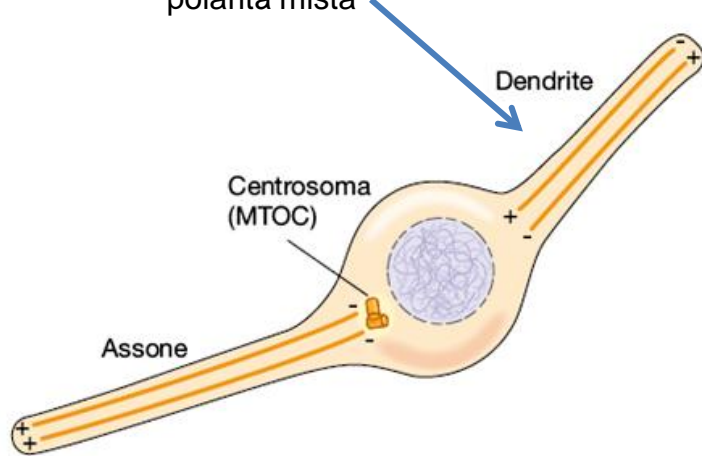
Neurone



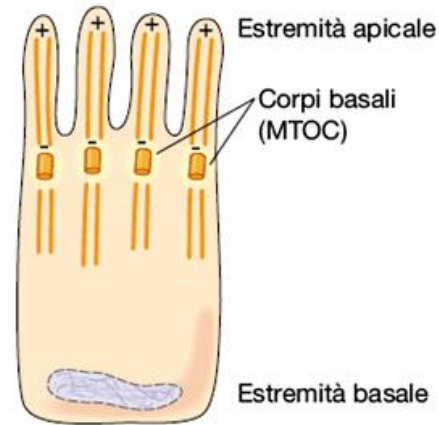
Cellule polarizzate

# Orientamento dei MT in vari tipi cellulari

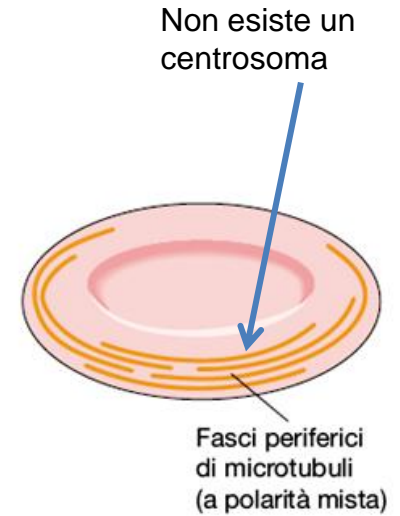
Nei dendriti i MT non sono associati con il centrosoma e hanno una polarità mista



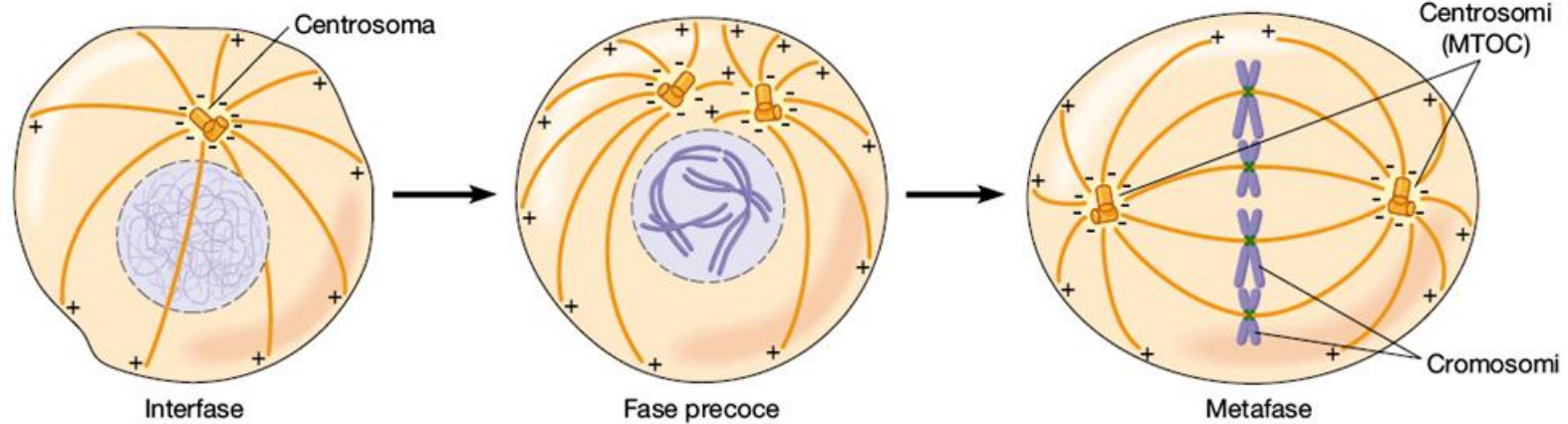
(a) Cellula nervosa



(b) Cellula epiteliale ciliata

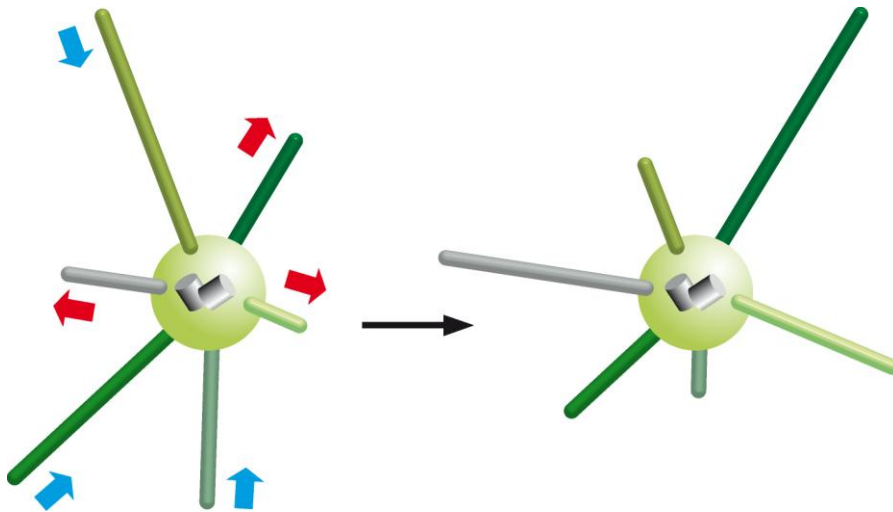


(c) Globulo rosso



(d) Cellula in divisione

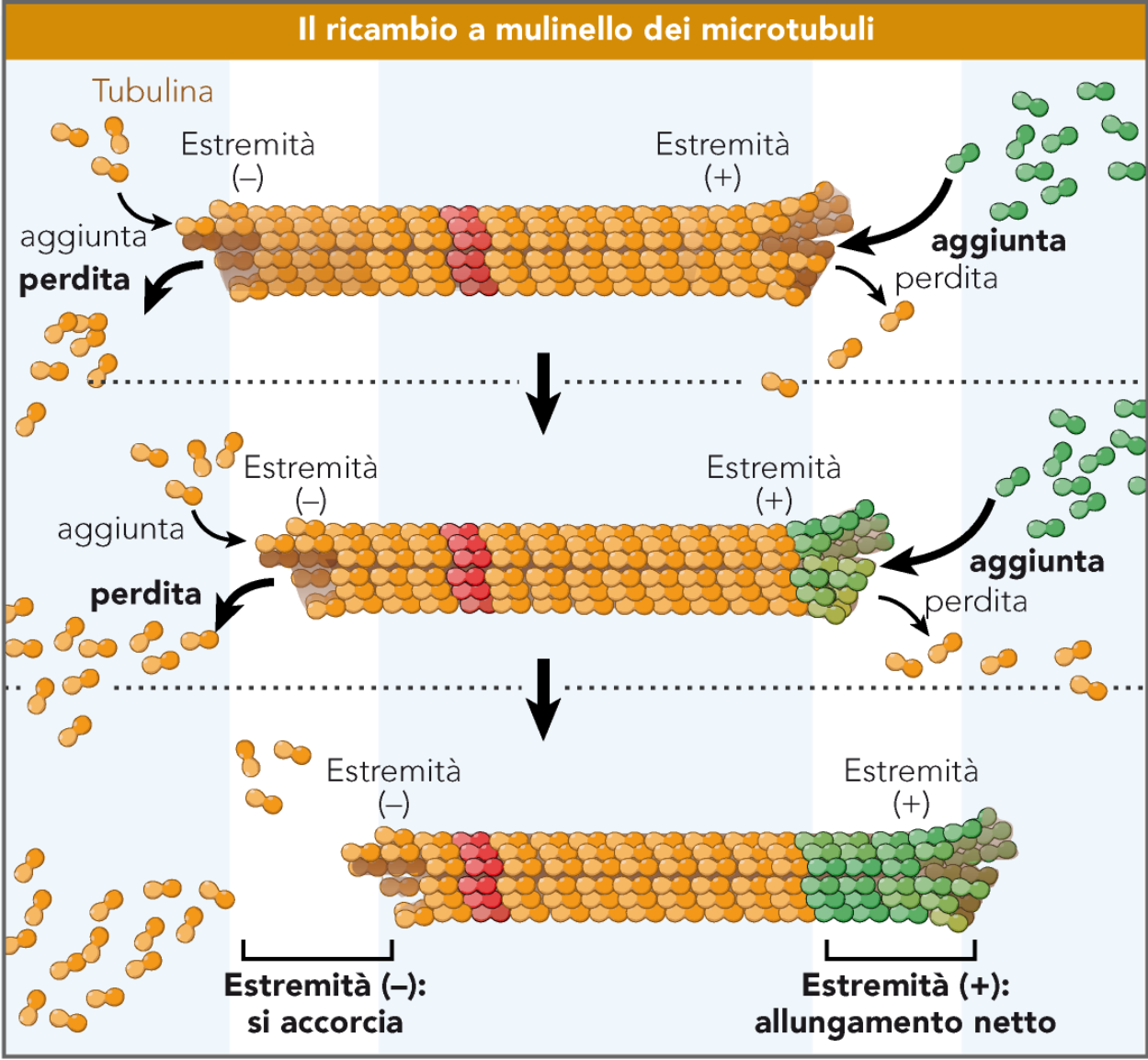
# Polimerizzazione-depolimerizzazione dei microtubuli:



I microtubuli **non sono strutture stabili**: i protofilamenti assemblati sono in equilibrio dinamico con dimeri di tubulina solubile. Processo continuo di polimerizzazione-depolimerizzazione della tubulina e conseguente assemblaggio-disassemblaggio dei microtubuli. La cellula modula l'equilibrio variando le condizioni che favoriscono la polimerizzazione (dimeri di tubulina polimerizzano in presenza di GTP e  $Mg^{++}$ ; sono inibiti da  $Ca^{++}$ ).

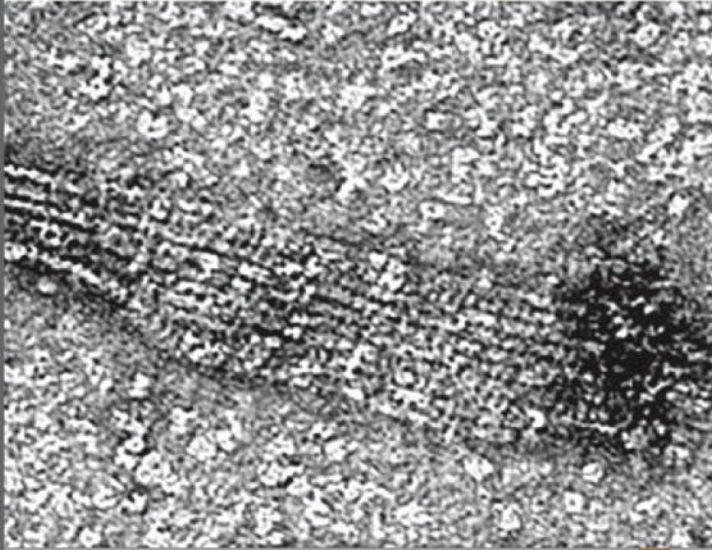


# L'assemblaggio dei MT avviene più rapidamente all'estremità positiva

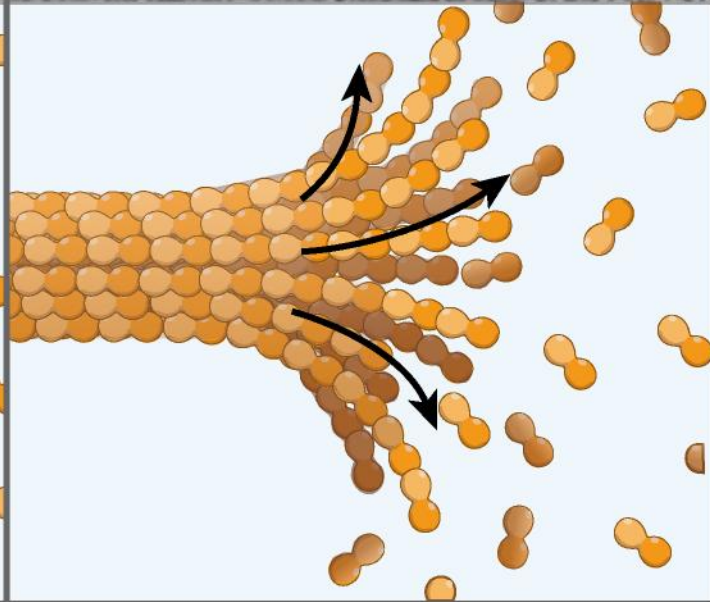
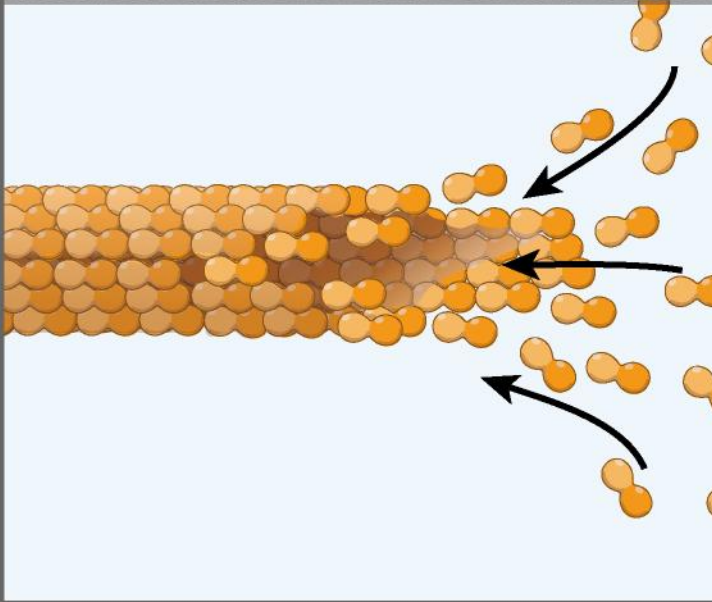


## Estremità di microtubuli

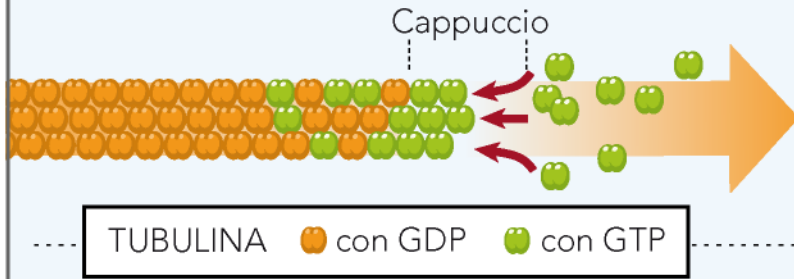
In allungamento



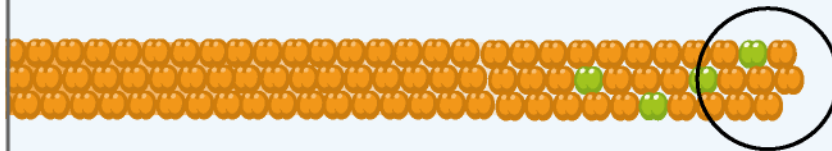
In accorciamento



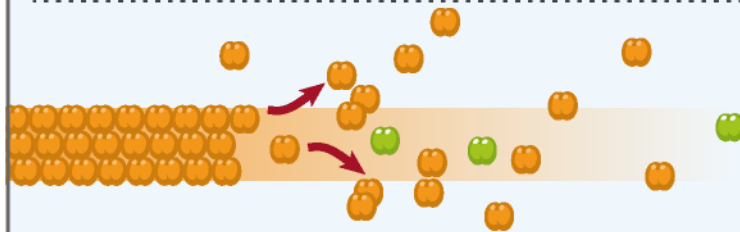
## L'idrolisi del GTP promuove l'instabilità dinamica



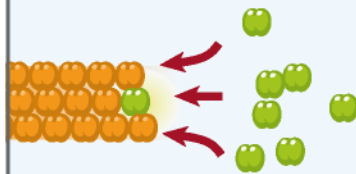
Un microtubulo in allungamento ha un cappuccio di subunità di GTP-tubulina alla sua estremità



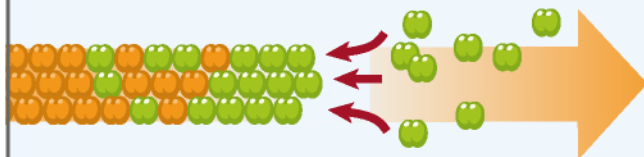
L'idrolisi del GTP occasionalmente espone subunità legate al GDP a livello dell'estremità



Avviene una depolimerizzazione rapida e catastrofica

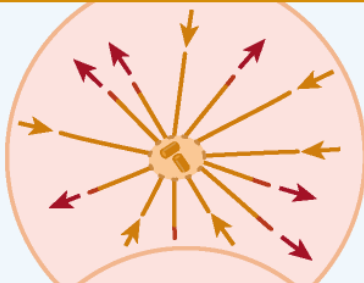


Abbastanza subunità di GTP-tubulina si legano contemporaneamente, cosicché il microtubulo viene incappucciato di nuovo e la depolimerizzazione cessa

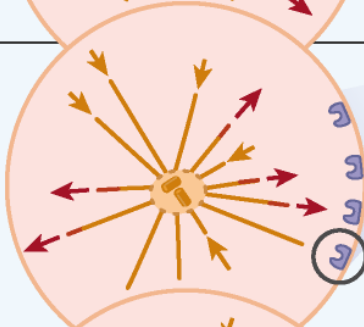


Il microtubulo ricomincia ad allungarsi

## Stabilizzazione selettiva di microtubuli dinamici



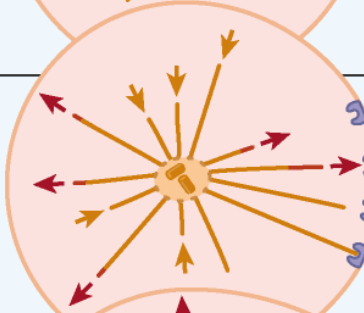
I microtubuli dinamici sondano la cellula in tutte le direzioni



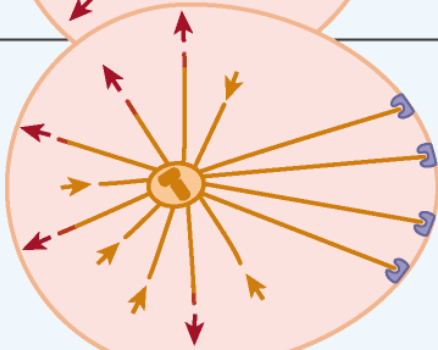
SEGNALE

Un segnale localizzato attiva le strutture che formano il cappuccio

STRUTTURA DI INCAPPUCCIAMENTO



Le strutture che formano il cappuccio, una volta attivate, catturano e stabilizzano i microtubuli



I microtubuli stabili determinano attività che polarizzano la cellula

La stabilizzazione selettiva dei microtubuli in un determinato dominio cellulare può conferire alla cellula polarità strutturale e funzionale

I **neuroni** sono cellule tipicamente **POLARI**. Questa polarità è conferita principalmente dalla distribuzione e l'orientamento dei MT. Nell'assone i MT sono relativamente stabili e servono al trasporto anterogrado e retrogrado di materiale tra il corpo cellulare e il terminale assonale

