

Citoscheletro: microfilamenti (microvilli, stereocilia)

1

Funzioni dei microfilamenti

1. **Movimenti di trasporto e di contrazione.** In tutte le cellule i filamenti di actina interagiscono con le miosine generando forze motrici
 - Cellule muscolari: contrazione (miosine con coda lunga)
 - Altre cellule: trasporto vescicole e organelli sui microfilamenti (mediato da miosine senza coda, monomeriche)

2

2. Strato corticale

- I microfilamenti insieme ad altre proteine, formano uno strato sotto la membrana plasmatica che costituisce una rete resistente a forze deformanti
 - La rete permette variazioni di forma della cellula mediante modificazioni promosse da proteine che tagliano i microfilamenti (es. gelsolina)
 - Implicato in numerosi processi (endocitosi, esocitosi, contrazione dei microvilli, migrazione cellulare)
3. Supporto meccanico alla membrana plasmatica mediante proteine di ancoraggio (es. spectrine e anchirina dei globuli rossi)

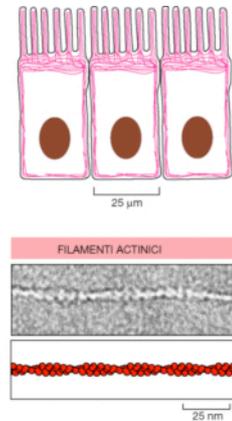
3

4. Formano strutture rigide di stabilizzazione per i microvilli. Nei microvilli l'actina si associa a piccole proteine di collegamento (fimbrina, fascina, α -actinina)
5. Responsabili delle forze che controllano la migrazione cellulare: protrusione locale di citoplasma evidenti nelle cellule migranti (fillopodi, lamellipodi)

4

I MICROFILAMENTI

- Costituiti da actina (5% delle proteine totali della cellula)
- Il monomero è la G-ACTINA: proteina globulare
- In presenza di **ATP e Mg⁺⁺** polimerizza in filamenti (F-ACTINA) contenenti singole molecole di G-actina avvolte a doppia elica e orientate nella stessa direzione (N.B. anche i microfilamenti sono polarizzati)
- **6 isoforme diverse** di actina con distribuzione specifica in cellule differenti

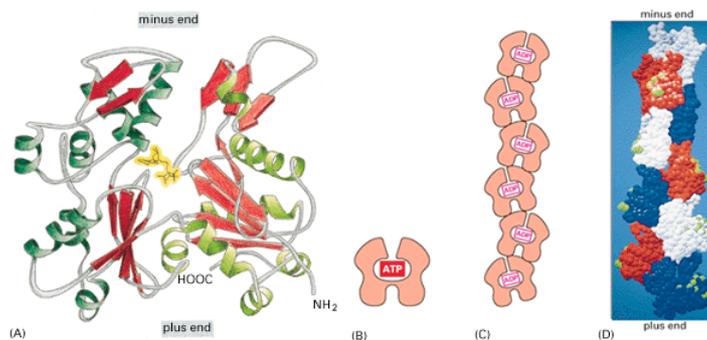


I **filamenti actinici** (noti anche come *microfilamenti*) sono polimeri elicoidali di una proteina, l'actina. Si presentano come strutture flessibili, del diametro di circa 7 nm, e si organizzano in tutta una serie di fasci lineari, reti bidimensionali e gel tridimensionali. Pur trovandosi sparsi per tutta la cellula, i filamenti di actina si concentrano particolarmente nel cortex, subito al di sotto della membrana plasmatica. (Foto al microscopio gentilmente concessa da R. Craig.)

L'actina è presente in tutte le cellule eucariotiche, dove rappresenta il 5% delle proteine cellulari.

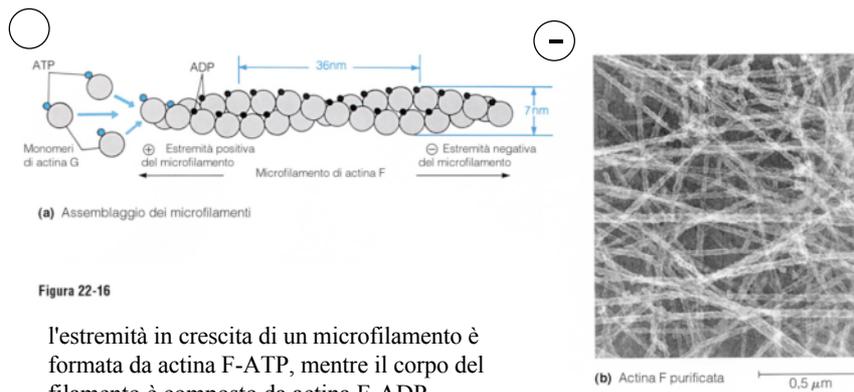
Le singole molecole di actina si chiamano **actina G** (actina globulare). In condizioni adeguate, le molecole di actina G polimerizzano a formare i microfilamenti; sotto questa forma, l'actina è chiamata **actina F** (actina filamentosa)

Polarità intrinseca



6

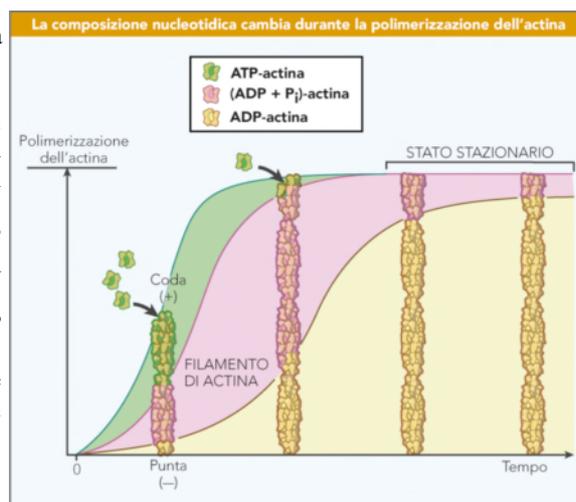
I filamenti di actina sono polari, con un'estremità positiva (+) a crescita veloce ed una negativa (-), inerte ed a crescita lenta.



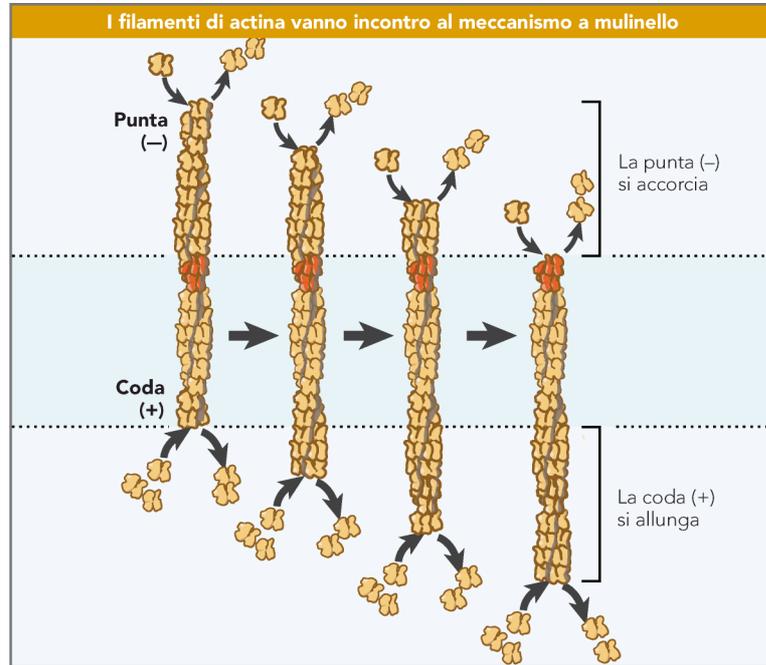
7

La polimerizzazione dell'actina richiede Mg^{2+} , K^{+} ed ATP.

- Si ha una fase di latenza, in cui si nucleano nuovi filamenti e poi una fase di polimerizzazione rapida, in cui si allungano i filamenti.
- Dopo la polimerizzazione, l'ATP si idrolizza ad ADP, che resta intrappolato nel polimero.
- L'estremità con ADP depolimerizza più rapidamente.
- Tuttavia l'idrolisi dell'ATP non è richiesta per l'allungamento dei microfilamenti.



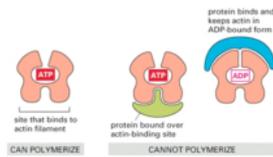
8



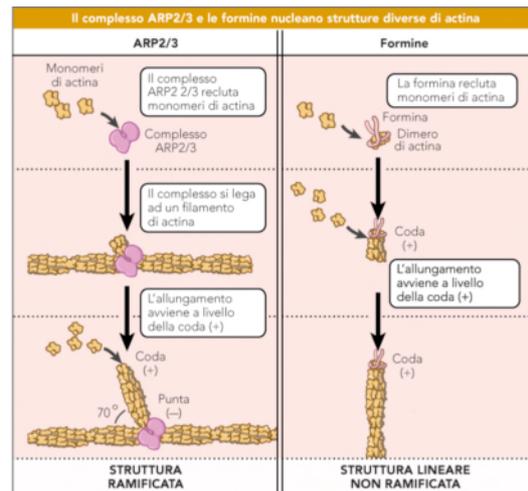
9

Classi di molecole che legano l'actina: Proteine che legano i monomeri di actina

-Proteine inibitrici



-Proteine nucleanti



10

Classi di molecole che legano l'actina: Proteine che legano i filamenti di actina

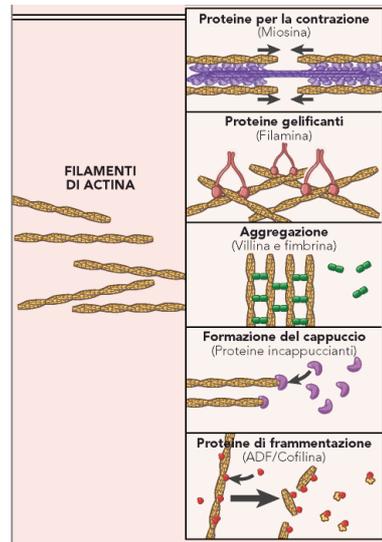
Proteine che associano i filamenti di actina possono regolare:

•Il tipo di interazione tra microfilamenti:

- strutture contrattili
- strutture a rete
- fasci paralleli

•La stabilità dei microfilamenti:

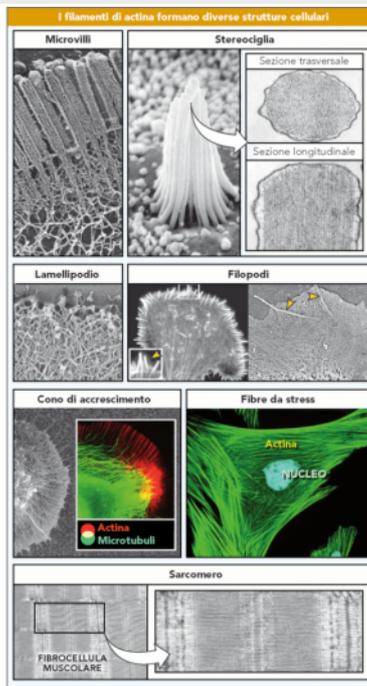
- Cappuccio
- Proteine di frammentazione



Funzioni dei microfilamenti

13

Superficie di scambio



14

Microvilli:

- Closely packed, finger-like projections of cytoplasm that increase surface area of the cell.

- Number and shape on cell surface correlate with absorptive capacity.

- Can be seen under LM (“brush border” or “striated border”).

- Contain a core of Actin filaments, which are anchored to Villin in tip.

- Actin also extends downward into apical cytoplasm where attaches to

terminal web:

a- Horizontal network of Actin filaments lying just below base of microvillus.

b- These Actin filaments are stabilized by **Spectrin**. Spectrin anchors terminal web to apical membrane of cell.

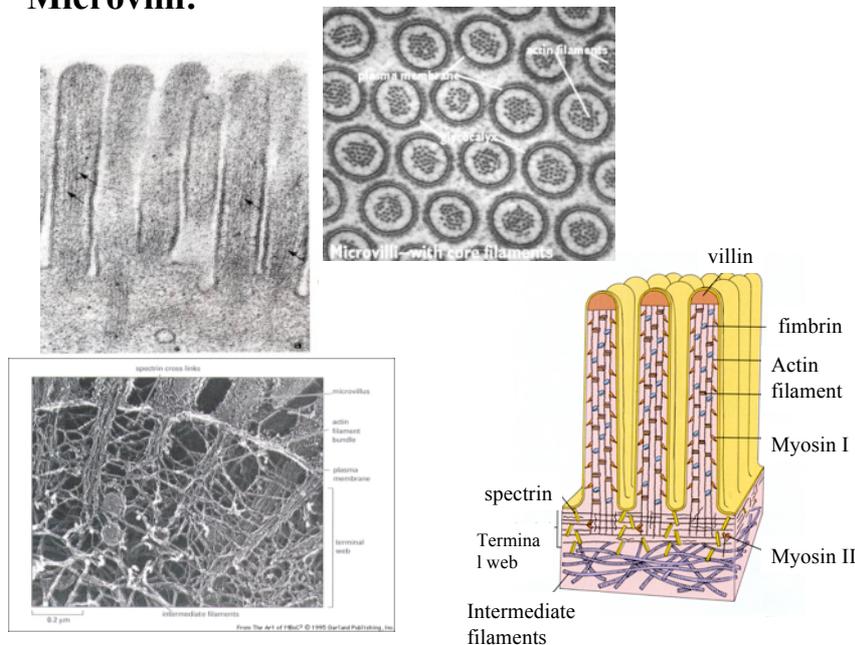
- Also contains **myosin II and tropomyosin filaments**, which allows microvillus to contract.

- Usually present on surface of microvilli is an amorphous cell coat of glycoprotein “**glycocalyx**”.

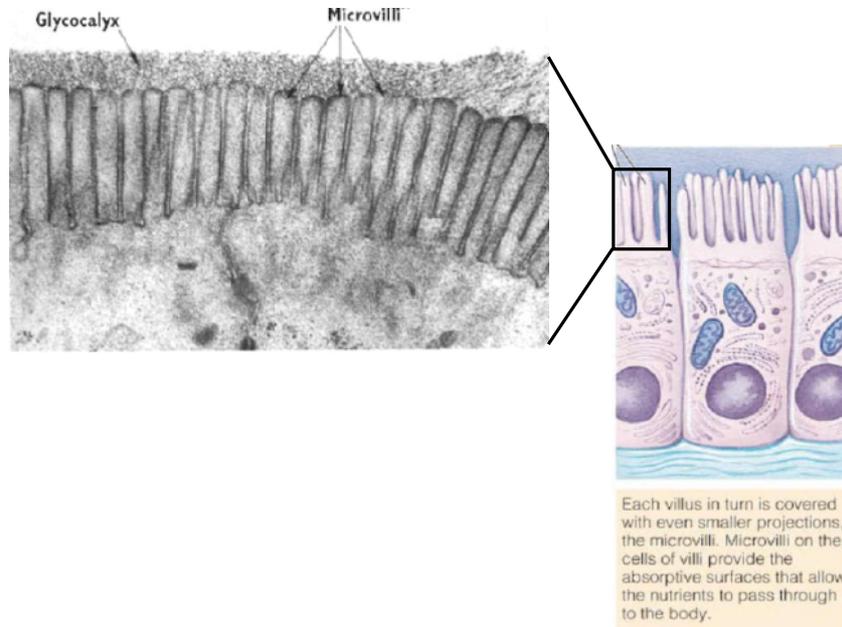
- Examples of where found: kidney and intestine (fluid and metabolites actively transported and absorbed).

15

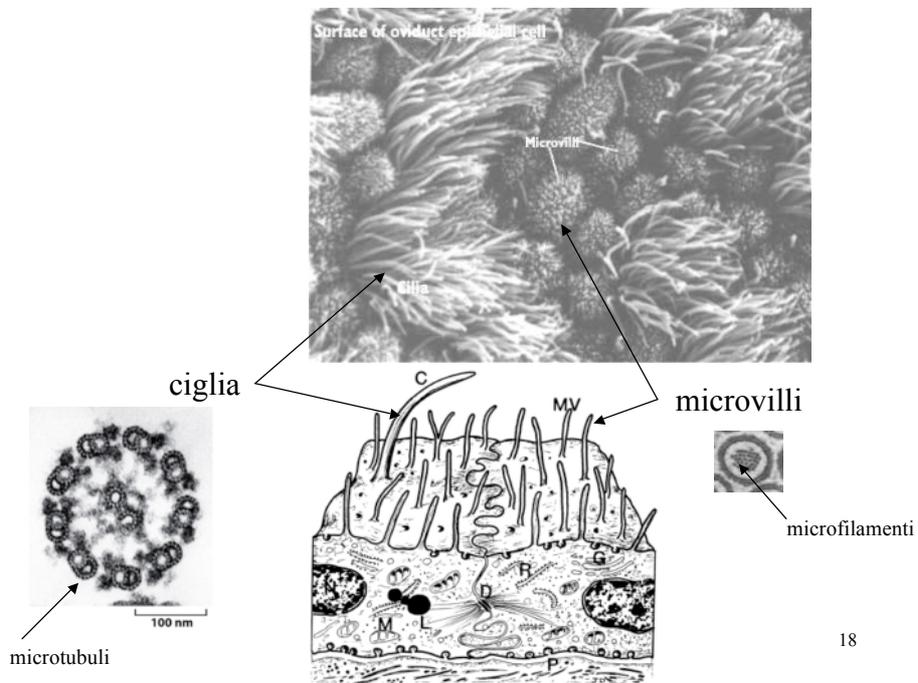
Microvilli:



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - citoscheletro: microfilamenti



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - citoscheletro: microfilamenti



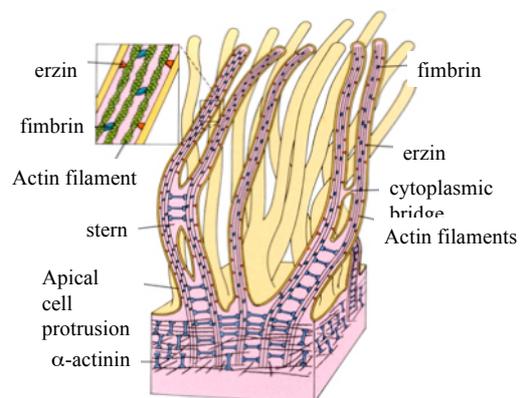
Stereocilia:

- Long microvilli.
- Apical cytoplasmic protrusions, with intermingling thin and thick regions. Cytoplasmic bridges interconnect thick regions.
- Actin filament bundles that are cross-linked by **fimbrin** support them.
- Actin bundles in stem portion are anchored to network of μ -actinin present in cross-bridges and apical cytoplasm of cell.
- Erzin**, a plasma membrane molecule, anchors the actin bundles to plasma membrane.
- Villin is not found in tip of stereocilium.
- Can be seen under LM
- Where found: limited to the male reproductive tract (epididymis and ductus deferens) and the receptor hair cells in the ear.

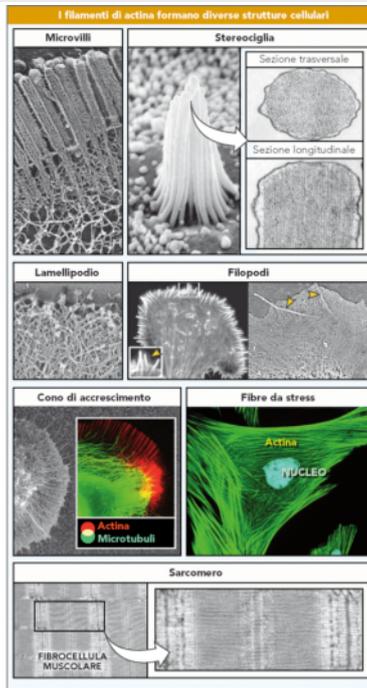
19

Stereocilia: Long microvilli.

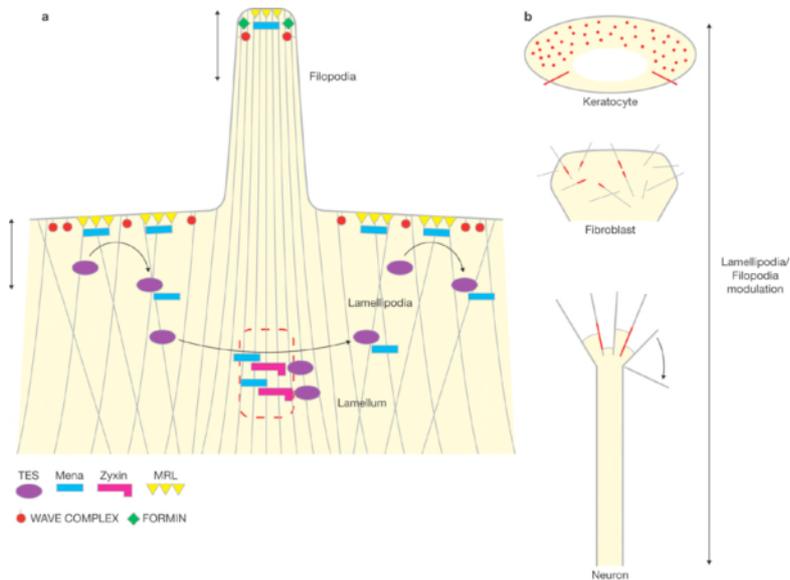
- Apical cytoplasmic protrusions, with intermingling thin and thick regions. Cytoplasmic bridges interconnect thick regions.
- Actin filament bundles that are cross-linked by **fimbrin** support them.
- Actin bundles in stem portion are anchored to network of μ -actinin present in cross-bridges and apical cytoplasm of cell.
- Where found: limited to the male reproductive tract (epididymis and ductus deferens) and the receptor hair cells in the ear.



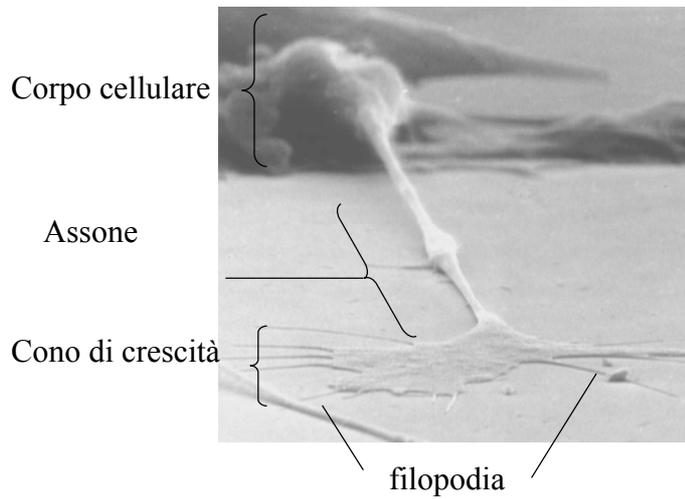
Protrusioni,
adesioni e
migrazione
cellulare



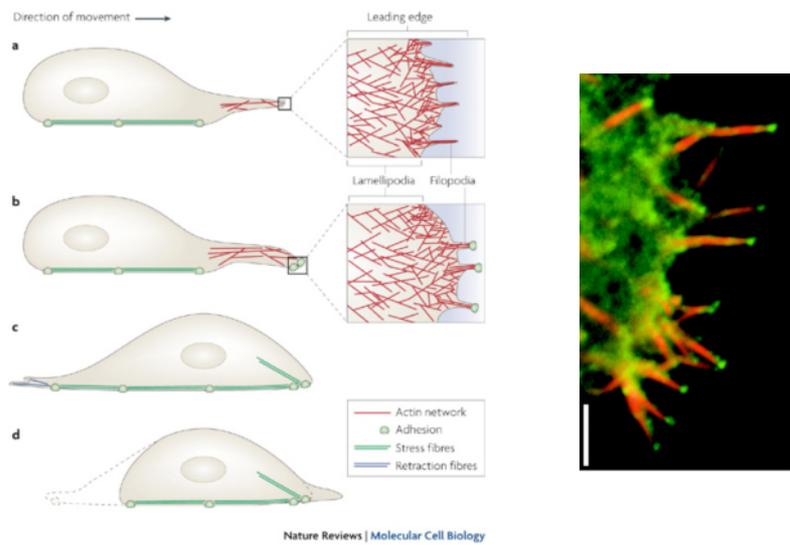
21



22

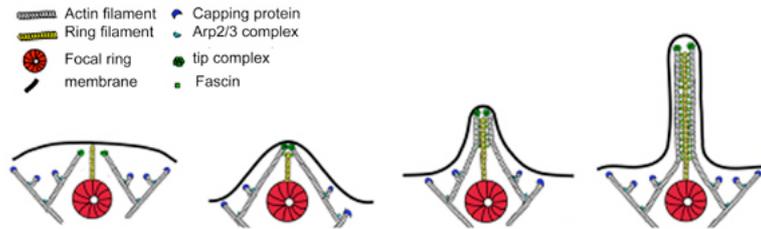


23



24

At the tip: The Convergent Elongation Model
 Short, branched actin filaments converge and elongate into bundles
 Svitkina et al. (2003) J. Cell Biol. 160: 409

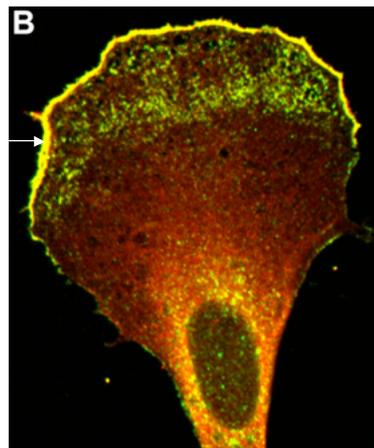
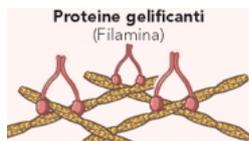


At the base: The Focal Ring Model
 Focal ring and axial filament supply the substrate anchorage
 Steketee et al. (2001) Mol. Biol. Cell 12: 2378-2395

25

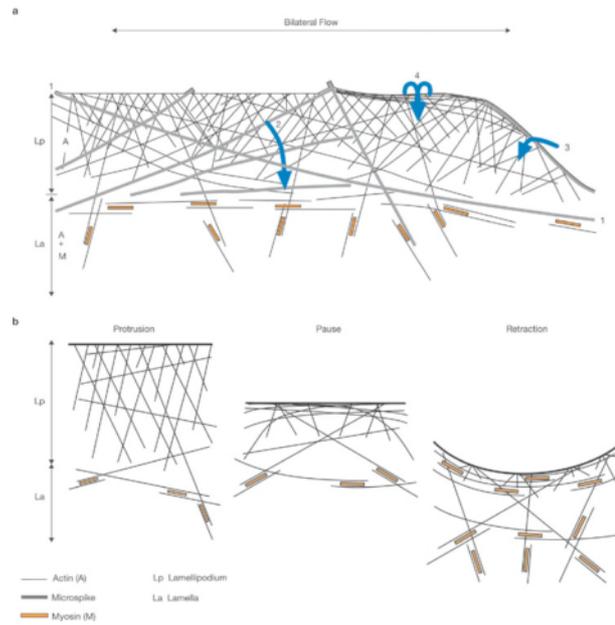
lamellipodia

Actina subcorticale



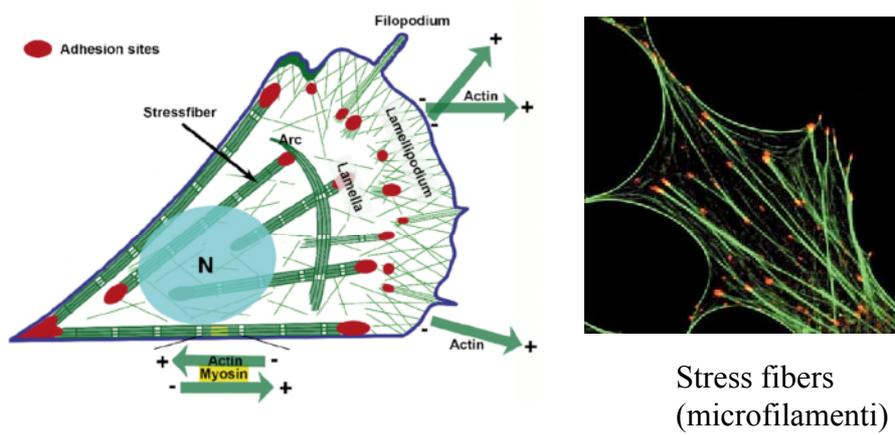
26

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - citoscheletro: microfilamenti



27

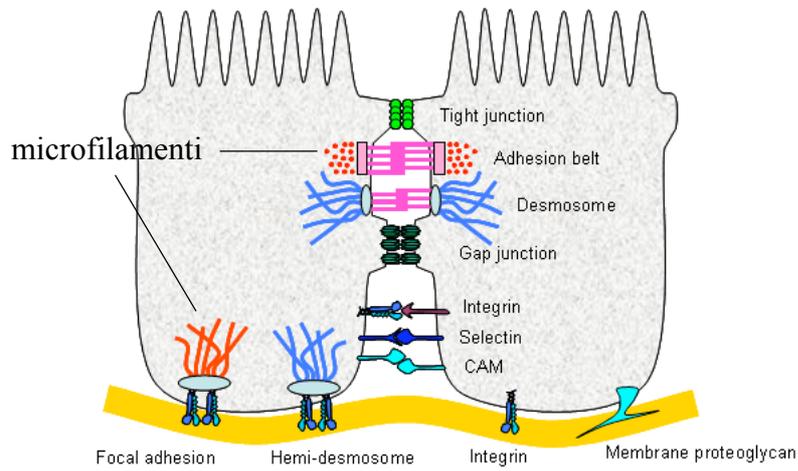
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - citoscheletro: microfilamenti



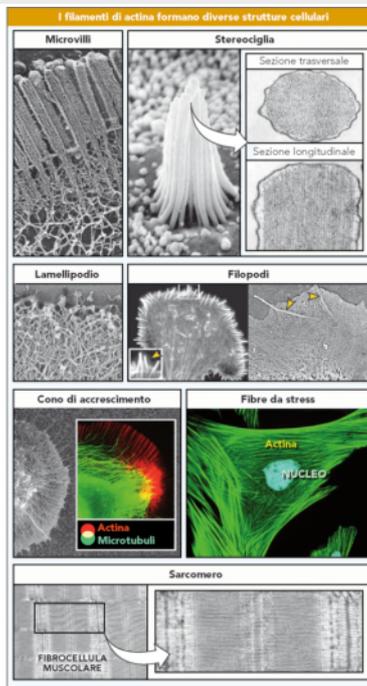
Stress fibers (microfilamenti)

28

Microfilamenti e giunzioni cellulari: giunzioni ancoranti e adesioni focali



29

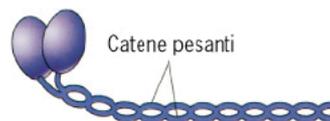


Contrazione muscolare

30

Il motore molecolare dei filamenti di actina: la MIOSINA

- Formata da 2 catene pesanti e 4 catene leggere
- Le catene pesanti sono formate da TESTA globulare e CODA lunga
- A livello della coda le 2 catene pesanti si intrecciano in una struttura coiled-coil
- Le teste contengono:
 - Il sito di legame e idrolisi di ATP
 - Il sito di legame per actina
- Le 4 catene leggere sono associate alle teste delle catene leggere



La miosina e il movimento dei microfilamenti

- In tutte le cellule i filamenti di actina interagiscono con alcune proteine (MIOSINE) per generare forze di movimento
- La miosina è una grossa proteina formata da diverse catene e provvista di attività ATPasica attivata dall'interazione con l'actina
- Famiglia di **7 classi diverse** di proteina

- Tutte possono legare actina e idrolizzare ATP
 - Il legame sequenziale di miosina a singole subunità di actina nei filamenti promuove lo scorrimento della miosina lungo il filamento di actina
 - Poiché i filamenti di actina sono polarizzati si generano forze di contrazione nella cellula
- La maggior parte di queste forze di contrazione è transitoria (es. durante la separazione delle cellule figlie dopo la mitosi)
- Nei tessuti muscolari specializzati per la contrazione il sistema dei filamenti di actina e miosina è altamente specializzato

33

La superfamiglia delle miosine

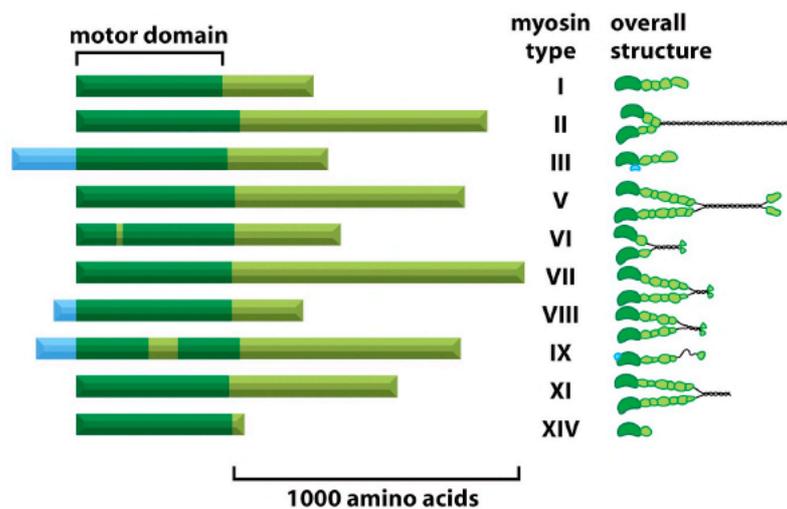
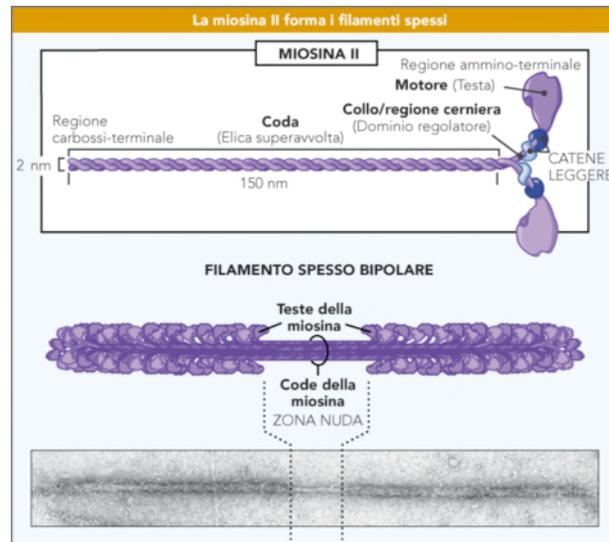
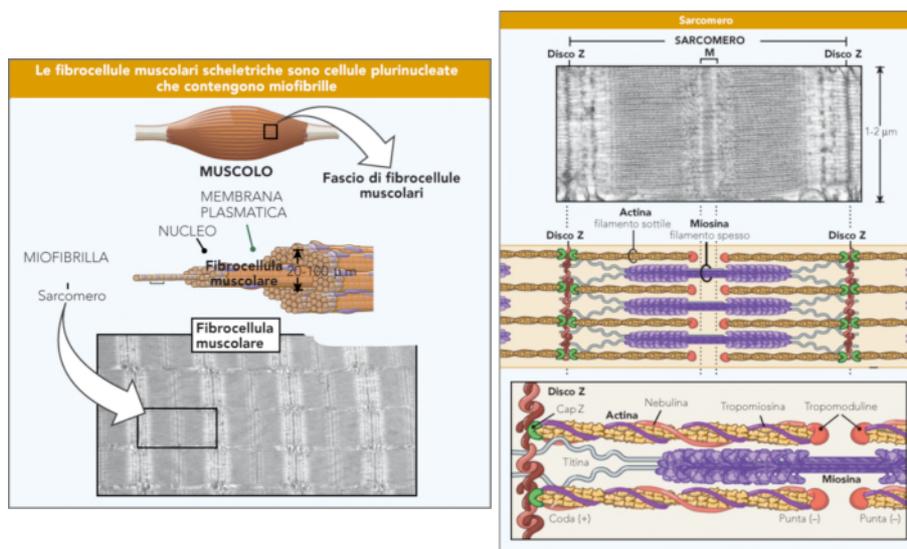
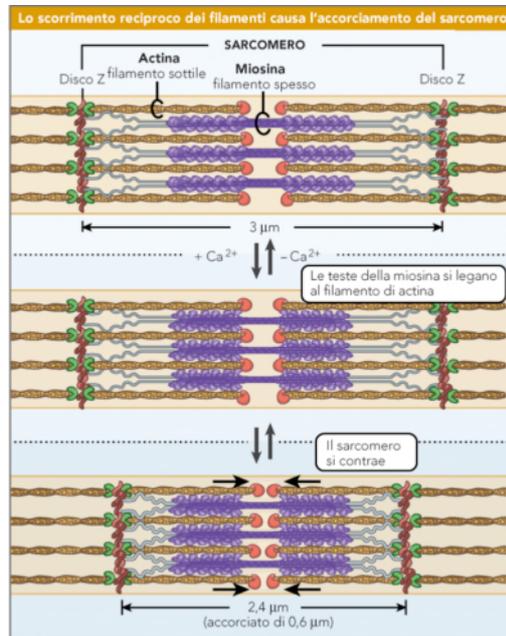


Figure 16-57 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

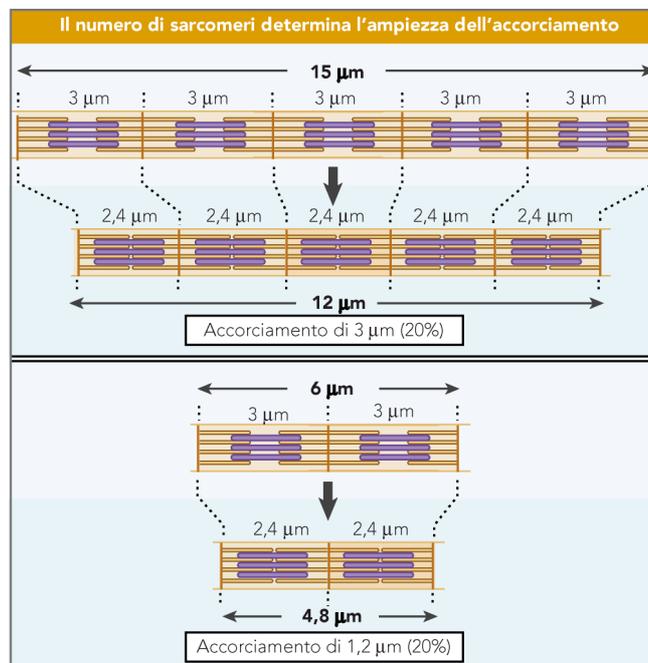


35





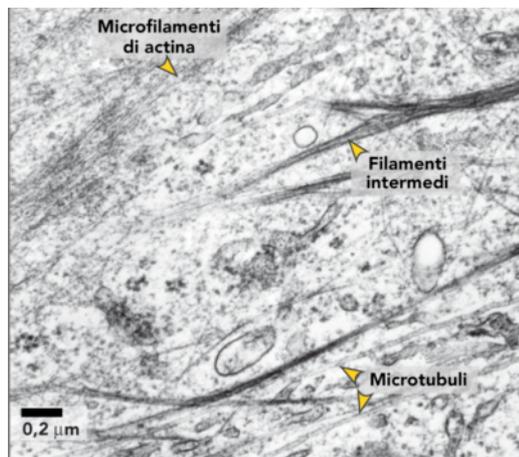
37



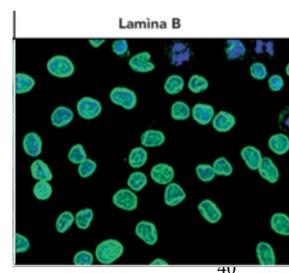
38

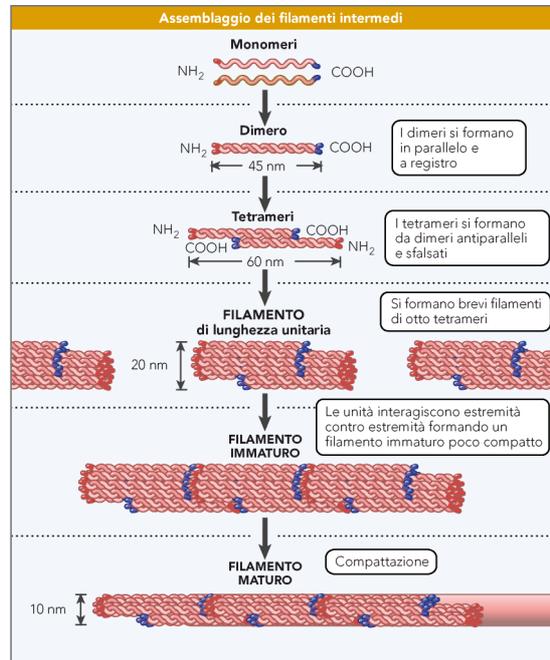
filamenti intermedi

39



nucleoscheletro





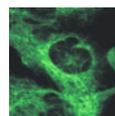
41

Proteine dei filamenti intermedi

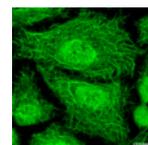
- 6 diversi tipi di proteine fibrose, con distribuzione tessuto specifica:
 - CHERATINA
 - VIMENTINA
 - DESMINA
 - PROTEINA ACIDA FIBRILLARE DELLA GLIA GFAP
 - PROTEINE DEI NEUROFILAMENTI NF
 - NESTINA
 - LAMINA NUCLEARE (nucleare, in tutte le cellule)

Tessuto
specifica
citoplasmatiche

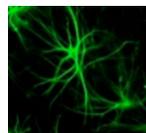
vimentina



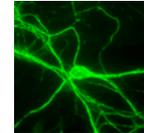
citocheratina



GFAP

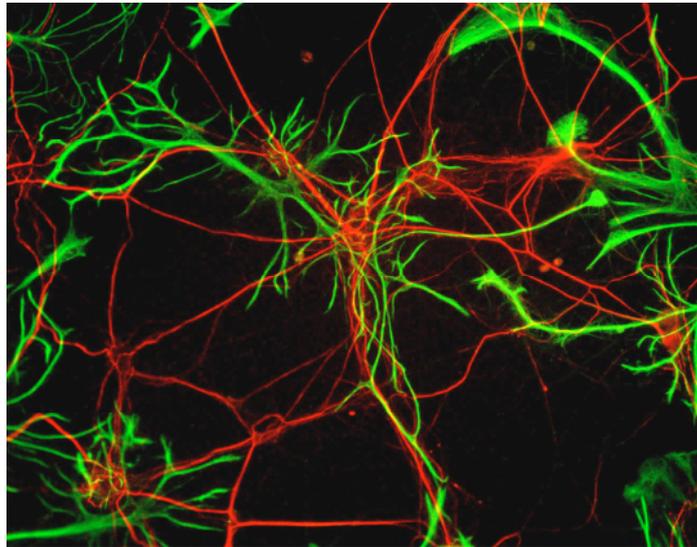


neurofilamenti



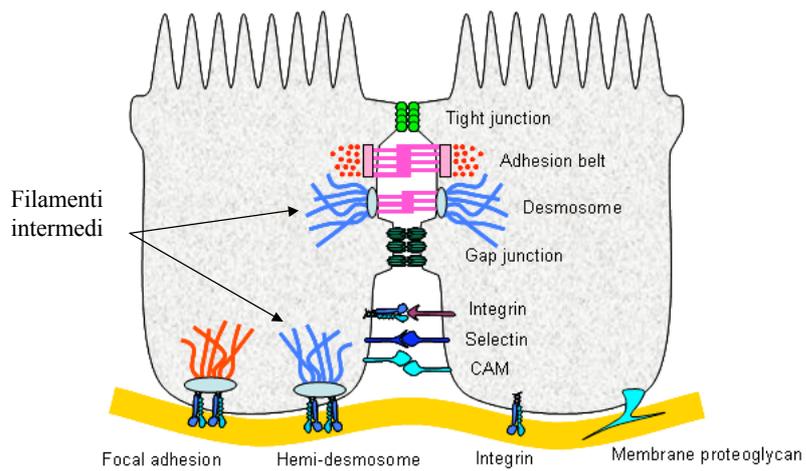
42

— Anti-neurofilamenti (cellule neuronali)
 — Anti-GFAP (cellule gliali)



43

filamenti intermedi e giunzioni cellulari: Desmosomi e emidesmosomi



44