

Citoscheletro - Microfilamenti

Biotechnologie

<http://www.lifetechnologies.com/it/en/home/technical-resources/research-tools/image-gallery/image-gallery-detail.2188.html>
<http://www.olympusmicro.com/moviegallery/confocal/u373cherryactin/index.html>

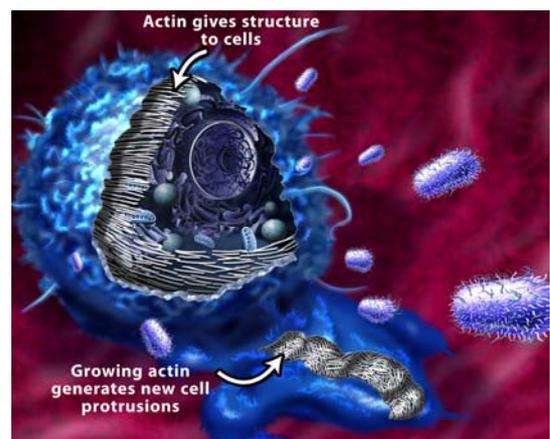
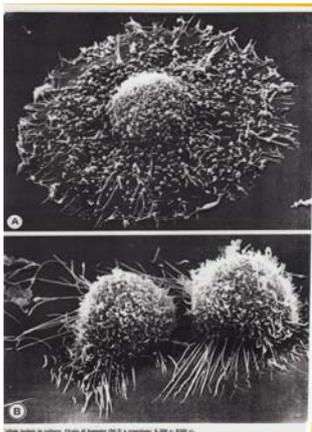
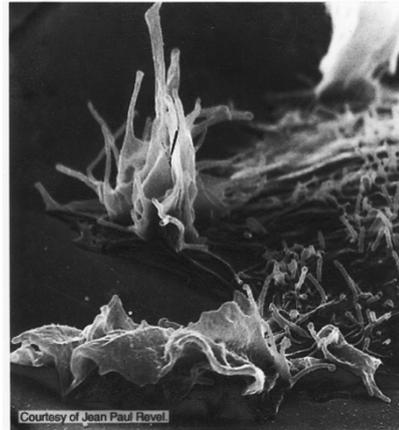


Table 3.1: The Structure and Function of the Cytoskeleton

Property	Microtubules (Tubulin Polymers)	Microfilaments (Actin Filaments)	Intermediate Filaments
Micrographs of fibroblasts, a favorite cell type for cell biology studies. Each has been experimentally treated to fluorescently tag the structure of interest.			
Structure	Hollow tubes; wall consists of 13 columns of tubulin molecules	Two intertwined strands of actin, each a polymer of actin subunits	Fibrous proteins supercoiled into thicker cables
Diameter	25 nm with 15-nm lumen	7 nm	8–12 nm
Protein subunits	Tubulin, a dimer consisting of α -tubulin and β -tubulin	Actin	One of several different proteins of the keratin family, depending on cell type
Main functions	Maintenance of cell shape (compression-resistant "skeleton") Cell motility (as in cilia or flagella) Chromosome movements in cell division Organelle movements	Maintenance of cell shape (tension-bearing elements) Changes in cell shape Muscle contraction Cytoplasmic streaming Cell motility (as in pseudopodia) Cell division (cleavage furrow formation)	Maintenance of cell shape (tension-bearing elements) Anchorage of nucleus and certain other organelles Formation of nuclear lamina

Uni Texas

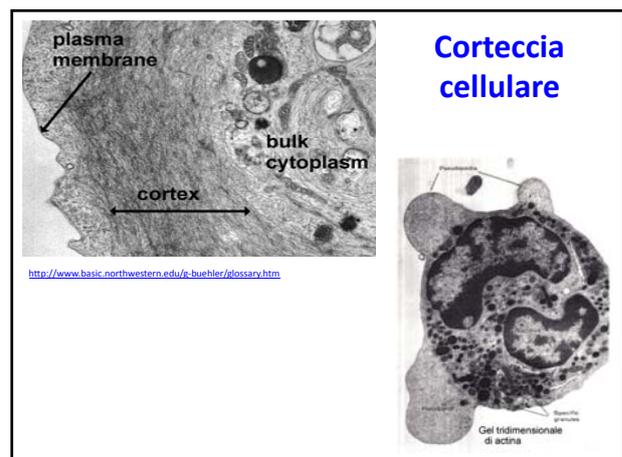
PROPRIETA' DEI MICROTUBULI, FILAMENTI INTERMEDI E FILAMENTI DI ACTINA

	Microtubuli	Filamenti Intermedi	Filamenti di Actina (Microfilamenti)
Subunità incorporate nei polimeri	Eteropolimero di GTP- α -tubulina	Varie proteine filamentose	Monomeri di ATP-actina
Sito preferenziale di incorporazione	Estremità (+) (β -tubulina)	Interno	Estremità (+) ("a barbigli")
Polarità	Sì	No	Sì
Attività enzimatica	GTPasi	Nessuna	ATPasi
Proteine motrici	Chinesine, dineine	Nessuna	Miosine
Maggior gruppo di proteine associate	MPA	Plachine	Proteine legate all'actina
Struttura	Tubo rigido, cavo	Robuste fibre a forma di corda	Filamenti elicoidali flessibili
Dimensioni	25 nm di diametro esterno	10 nm di diametro	8 nm di diametro
Distribuzione	Tutti gli eucarioti	Animali	Tutti gli eucarioti
Funzioni primarie	Supporto, trasporto intracellulare, organizzazione cellulare	Supporto strutturale	Motilità, contrattilità

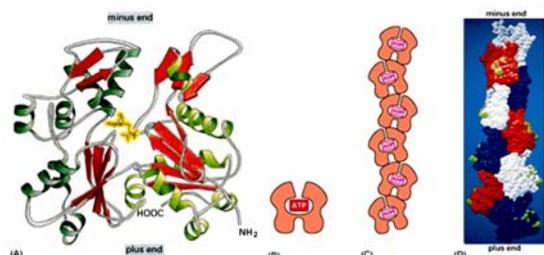
Da G. Karp, BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE, 3a ed, CORRETTA

Microfilamenti

- I **filamenti di actina (microfilamenti; F-actina)** consistono di subunità della proteina actina globulare (**g-actina**) collegate in polimeri formati da filamenti doppi attorcigliati come una corda ---- **LEGAMI NON-COVALENTI**
- Hanno un diametro di circa 5-10 nm, sono dotati di **grande flessibilità** e formano una grande diversità di **reti bi- o tri-dimensionali**.
- Anche se i filamenti a base di actina si possono trovare quasi dappertutto nella cellula, essi spesso **si concentrano** nelle zone spigolose della cellula, appena **sotto la membrana plasmatica**. In questa sede possono irrigidire i contenuti liquidi del citoplasma, formando la **corteccia cellulare**, spesso dando alla membrana plasmatica delle cellule animali la loro forma caratteristica:
 - Estensioni sottili, appuntite: **FILOPODI**
 - Lamelle: **LAMELLIPODI**
 - Pieghe o **infossature della membrana plasmatica**, simili a quelle che si formano durante la divisione cellulare (**citochinesi**)



La struttura dei filamenti di actina



- Il collegamento della **g-actina** con l'**ATP** induce un cambiamento conformazionale che promuove la polimerizzazione.

http://www.cytochemistry.net/cell-biology/actin_filaments_intro.htm

La F-actina ha una polarità strutturale e funzionale

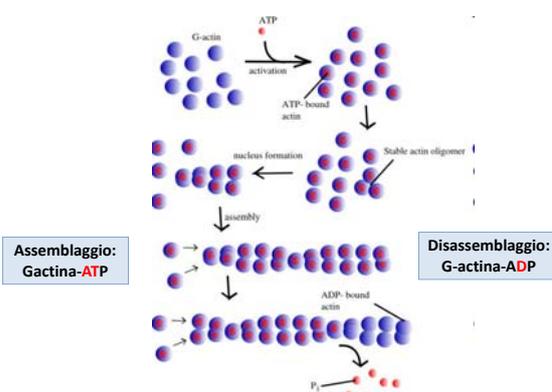
- Tutte le subunità di G-actina che si inseriscono in un filamento sono **orientate nello stesso senso**.
- Quindi il filamento avrà una «**polarità**»: un'estremità del filamento è diversa dall'altra estremità.
- Una delle estremità **favorisce l'aggiunta di subunità di actina: estremità (+)**.
- Nell'altra è **favorita la dissociazione di subunità: estremità (-)**.
- Nell'estremità (+) la fenditura che lega l'ATP della subunità terminale di actina è in contatto con l'unità adiacente.
- Nell'estremità (-) la tasca è esposta alla soluzione circostante.

Lodish, 7^a ed.

Assemblaggio e disassemblaggio dei microfilamenti (1)

- Prima di potere essere incorporata in un filamento, **una molecola di actina globulare lega una molecola di ATP**.
- La molecola di actina è una ATPasi** (come la tubulina è una GTPasi).
- L'ATP associata al monomero di actina viene idrolizzata ad ADP** in un momento successivo alla sua incorporazione nel filamento in crescita.
- Perciò **la maggior parte del filamento di actina consiste di subunità di actina-ADP**.

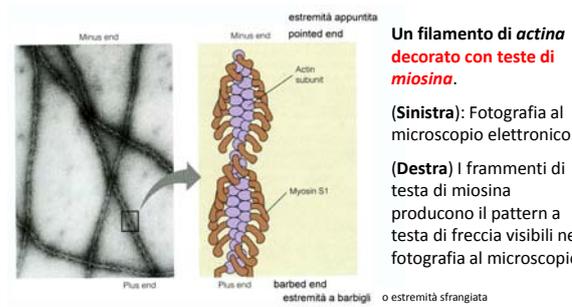
Polimerizzazione dell'actina



Assemblaggio e disassemblaggio dei microfilamenti (2)

- La fase iniziale della polimerizzazione avviene lentamente perché ha bisogno che si formino piccoli aggregati di subunità che fungono da innesco per la polimerizzazione – **fase di nucleazione**.
- La **fase** seguente di **allungamento** avviene molto rapidamente.
- Una delle estremità del filamento **ha maggiore affinità per le subunità** e le incorpora ad una velocità 5-10 volte superiore (**estremità «più»**) rispetto all'altra subunità (**estremità «meno»**).
- Mediante «decorazione» con teste della proteina motore **miosina** (frammento S1) si vede che l'estremità sfrangiata (a barbigli; «più») è l'estremità a crescita più rapida, mentre l'estremità «appuntita» è quella a crescita lenta

La decorazione dei filamenti di actina con teste di miosina (S1) permette di individuare l'estremità appuntita (-) e l'estremità a barbigli/sfrangiata (+)



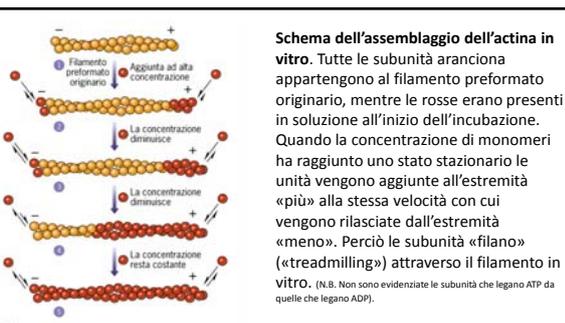
Un filamento di **actina** decorato con teste di **miosina**.

(Sinistra): Fotografia al microscopio elettronico.

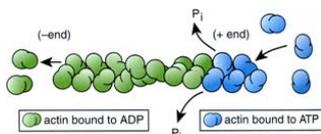
(Destra) I frammenti di testa di miosina producono il pattern a testa di freccia visibili nella fotografia al microscopio

Mathews et al: Biochemistry, 3rd Ed., Addison-Wesley Publishing Co

14

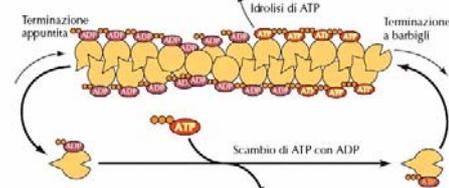


Schema dell'assemblaggio dell'actina in vitro. Tutte le subunità aranciona appartengono al filamento preformato originario, mentre le rosse erano presenti in soluzione all'inizio dell'incubazione. Quando la concentrazione di monomeri ha raggiunto uno stato stazionario le unità vengono aggiunte all'estremità «più» alla stessa velocità con cui vengono rilasciate dall'estremità «meno». Perciò le subunità «filano» («treadmilling») attraverso il filamento in vitro. (N.B. Non sono evidenziate le subunità che legano ATP da quelle che legano ADP).



Estremità -

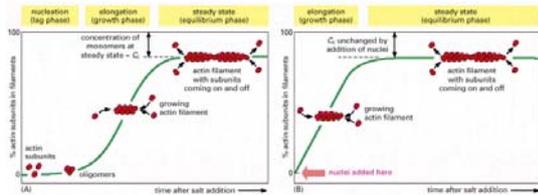
Estremità +



Escono subunità di G-actina-ADP

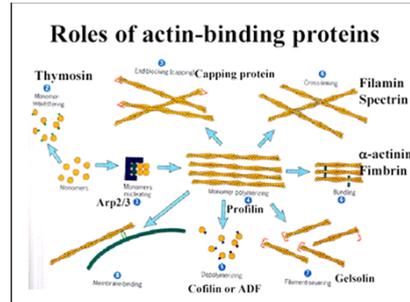
Entrano preferibilmente subunità di G-actina-ATP

Cinetica della crescita dei filamenti di actina in provetta



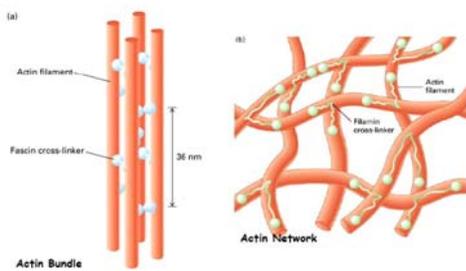
- (A) La polimerizzazione viene iniziata aumentando la concentrazione salina in una soluzione di subunità pure di actina.
- (B) La polimerizzazione viene iniziata nello stesso modo, ma con frammenti pre-formati di filamenti di actina per fungere di nuclei che stimolano la crescita dei filamenti.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26862/figure/A2965/>

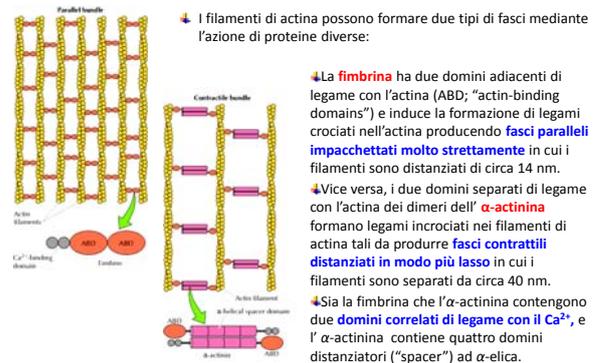


**Proteine associate all'Actina
«Actin-Binding Proteins» (ABPs)
(incluso proteine motore)**

**The Cytoskeleton: Part 1
Actin filaments are cross-linked by proteins**

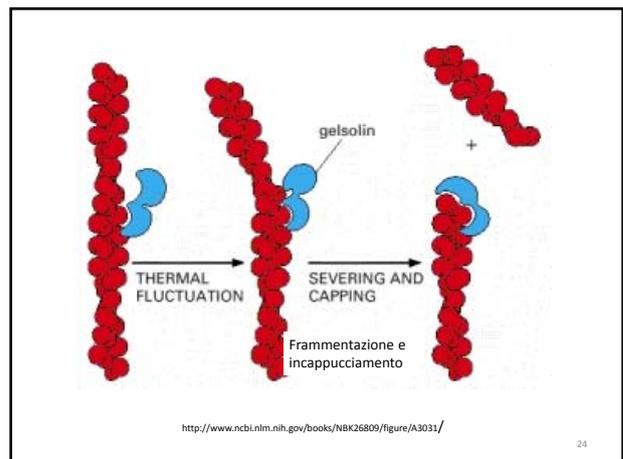
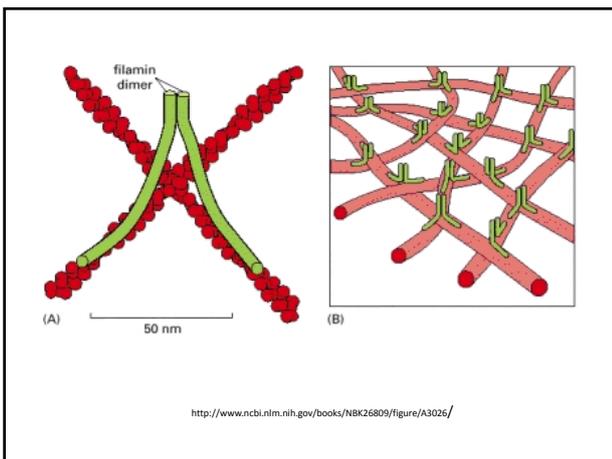
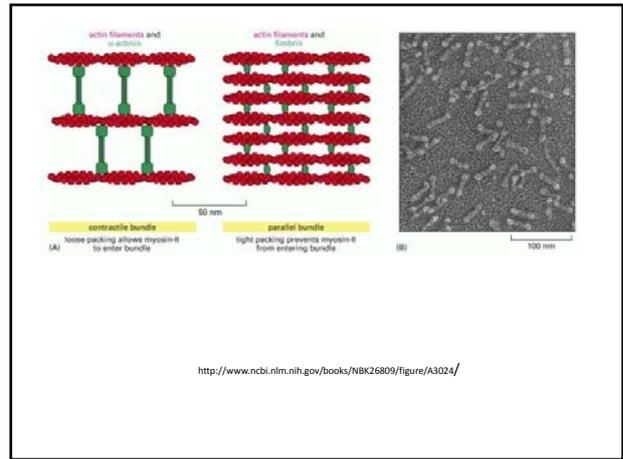
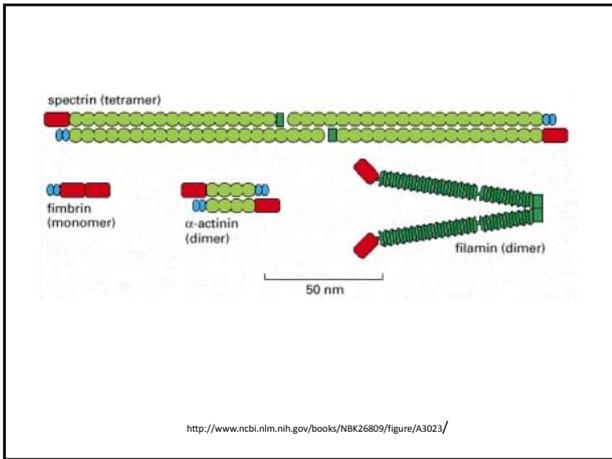


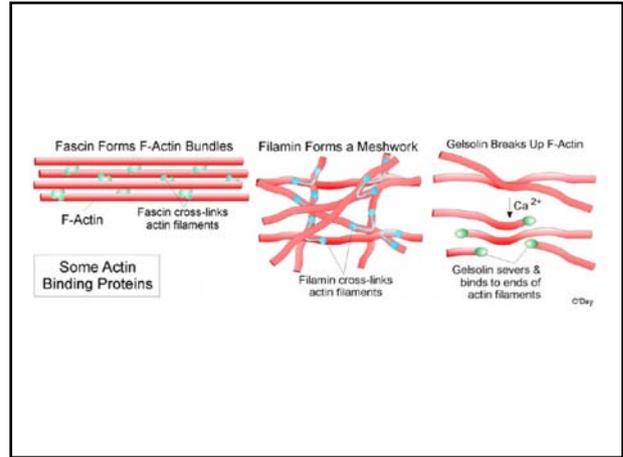
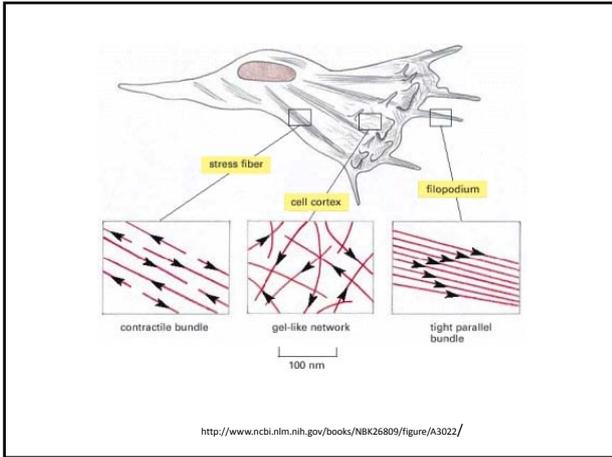
Proteine che inducono la formazione di fasci di actina



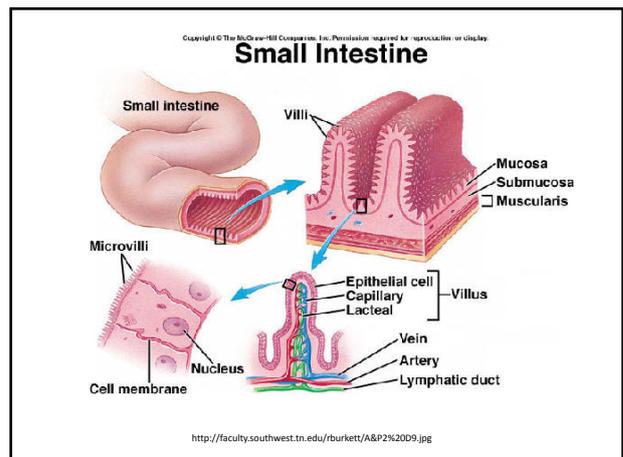
I filamenti di actina possono formare due tipi di fasci mediante l'azione di proteine diverse:

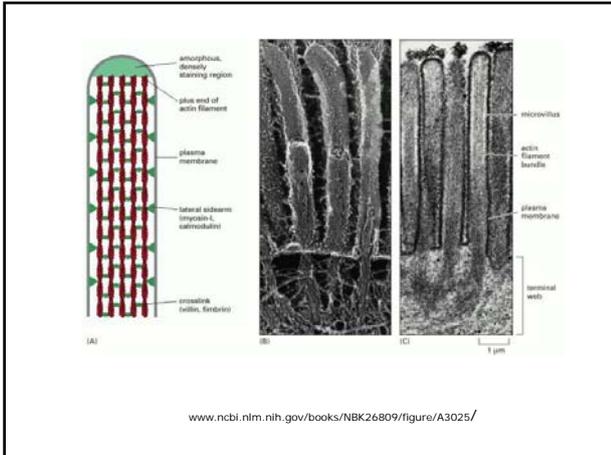
- La **fimbrina** ha due domini adiacenti di legame con l'actina (ABD; "actin-binding domains") e induce la formazione di legami crociati nell'actina producendo **fasci paralleli impacchettati molto strettamente** in cui i filamenti sono distanziati di circa 14 nm.
- Vice versa, i due domini separati di legame con l'actina dei dimeri dell'**α-actinina** formano legami incrociati nei filamenti di actina tali da produrre **fasci contrattili distanziati in modo più lasso** in cui i filamenti sono separati da circa 40 nm.
- Sia la fimbrina che l'**α-actinina** contengono due **domini correlati di legame con il Ca²⁺**, e l'**α-actinina** contiene quattro domini distanziatori ("spacer") ad **α-elica**.





Actina
Microvilli





Proteine associate all'actina

Proteine motore

Mov_2

Motori cellulari

Le cellule possiedono motori fatti da proteine che legano due molecole e, usando l'ATP come energia, provocano il movimento di una delle molecole rispetto all'altra. Tipi di proteine motore:

- **Miosine**, che provocano movimenti associati all'actina
- **Dineine o chinesine**, che si muovono lungo i microtubuli

Queste famiglie di proteine hanno tutte un'estremità che fa da motore, ma possono legarsi dall'altra estremità a diversi tipi di strutture molecolari. Quando queste proteine si legano, possono provocare i movimenti di diversi organelli, molecole, ecc.

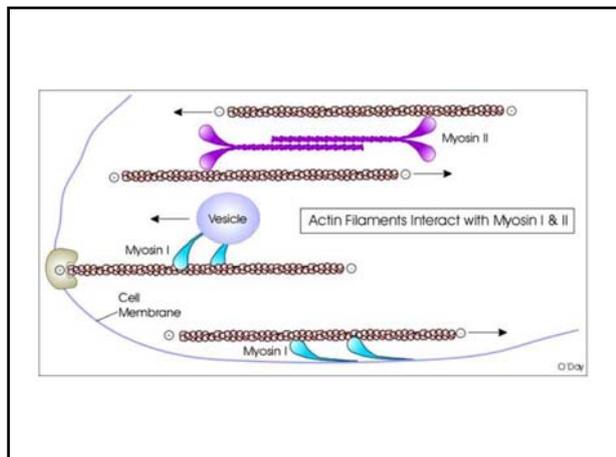
Family of kinesin motors

La famiglia delle chinesine ha la possibilità di trasportare diversi tipi di organelli

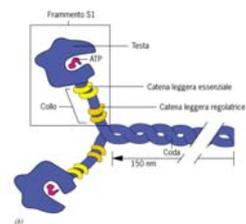
Le tre più comuni classi di miosine

Class	Step size	Diagram	Function
I	10-14 nm		Associazione alle membrane; endocitosi
II	8 nm		Contrazione
V	36 nm		Trasporto di organelli

Lodish et al., 7ª ed.



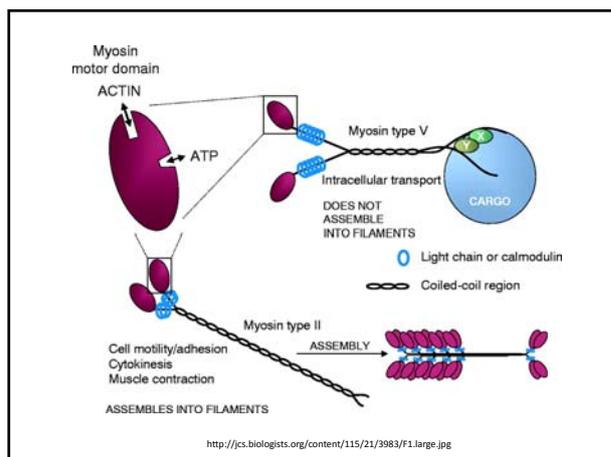
Struttura della miosina II (1)



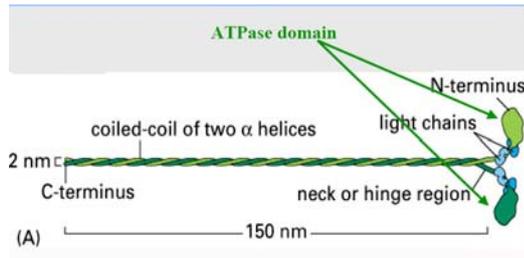
- La **miosina II** è il motore molecolare che genera la forza nei vari tipi di **tessuti muscolari** ed anche in una varietà di processi non muscolari quali la **citocinesi**.
- Tutte le molecole di miosina II contengono una **coda** lunga, a forma di bastoncino, con **due teste globulari** attaccate ad una estremità.

Struttura della miosina II (2)

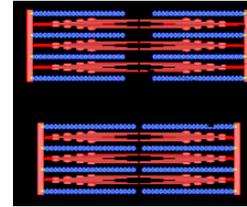
- Le **teste** sono il **sito di legame con i filamenti di actina**, **idrolizzano l'ATP** e **subiscono i cambiamenti conformazionali richiesti per la generazione di forza**.
- Il **colo** probabilmente agisce come il braccio di una leva che amplifica i cambiamenti conformazionali della testa.
- Le **code** fibrose **mediano l'assemblaggio della miosina in filamenti bipolari**.
- La maggior parte delle **miosine non convenzionali** ha una sola testa e domini di coda variabile ed è impegnata nella motilità cellulare e nel trasporto di organelli.



La miosina II è la proteina motore che costituisce i filamenti spessi dei muscoli striati

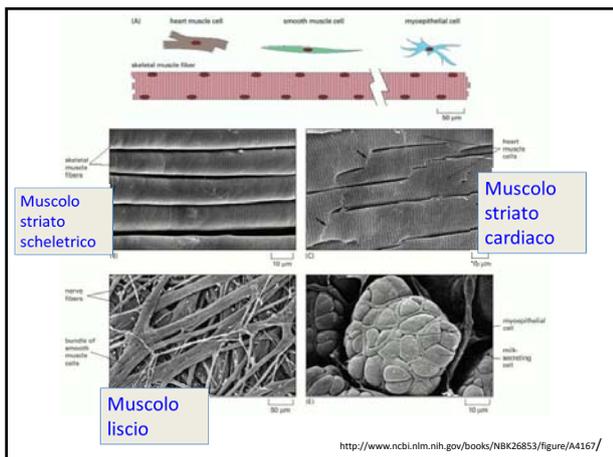


Univ Arapaho



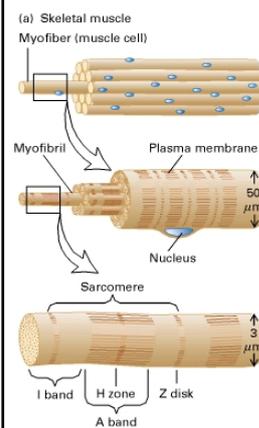
Actina

Contrazione muscolare



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26853/figure/A4167/>

Struttura generale del muscolo scheletrico

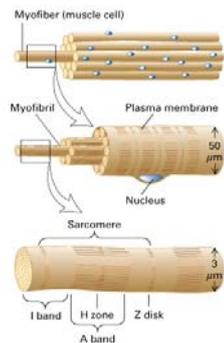


- Il **tessuto muscolare scheletrico** è composto da fasci di cellule muscolari multinucleate, o **miofibre**.
- Ogni cellula muscolare ha un citoplasma infarcito di fasci di filamenti di actina e di miosina organizzate in **miofibrille** che si estendono per tutta la lunghezza della cellula.
- Organizzati sequenzialmente si trovano catene di **sarcomeri**, le **unità funzionali della contrazione**.
- L'organizzazione interna dei filamenti dà alle cellule muscolari la tipica morfologia striata.

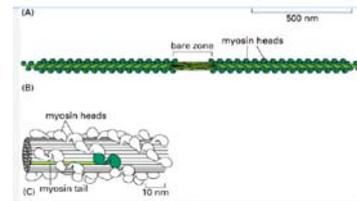
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11670/figure/A5200/?report=objectonly>

Muscolo scheletrico

- È composto da una disposizione ordinata di actina e miosina
 - I filamenti spessi sono di miosina II
 - I filamenti sottili sono di actina filamentosa
- Il sarcomero è una unità funzionale che si ripete:
 - Bande A e zona H zone (miosina)
 - Bande I e disco Z (actina)



Ogni filamento spesso contiene centinaia di molecole di miosina



Le singole molecole di miosina sono raggruppate mediante legami di idrogeno e interazioni idrofobiche

Univ Arapaho

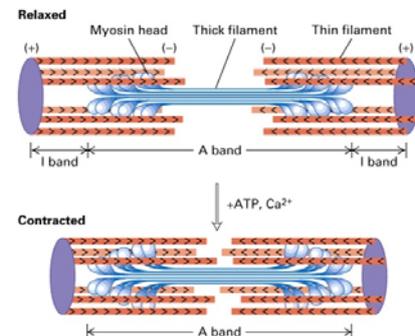
Sarcomero

(dal Greco sárx = "carne", méros = "parte")

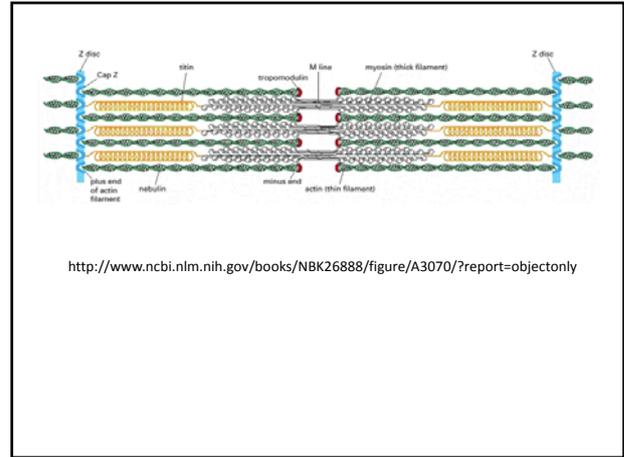
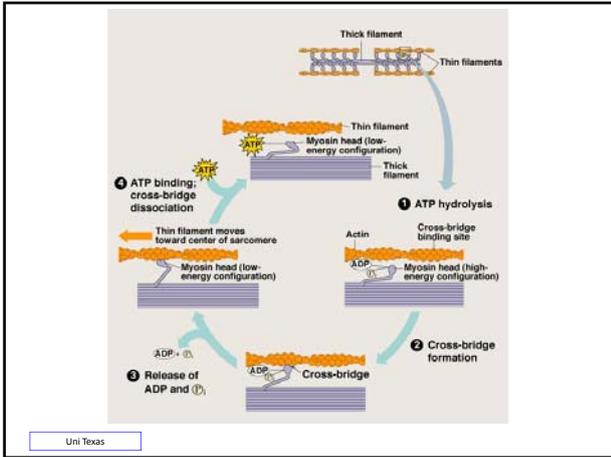
- I sarcomeri danno ai muscoli cardiaco e scheletrico la loro apparenza striata tipica.
- Un sarcomero è definito come il segmento fra due linee Z vicine (dischi Z; dal Tedesco "Zwischenscheibe", il disco fra le bande I). In microscopia elettronica appare come una serie di bande scure.
- Attorno alla linea Z vi è la banda I (da isotropica).
- Dopo la banda I c'è la banda A (da anisotropica). Così designata dalla sua proprietà al microscopio polarizzatore.
- All'interno della banda A vi è una zona più chiara, la banda H (dal Tedesco "heller", più chiara).
- Finalmente, all'interno della zona H vi è una sottile linea M (dal Tedesco "Mittelscheibe", il disco mezzo al sarcomero) formato da elementi che intercollegano gli elementi del citoscheletro.

Contrazione del muscolo scheletrico

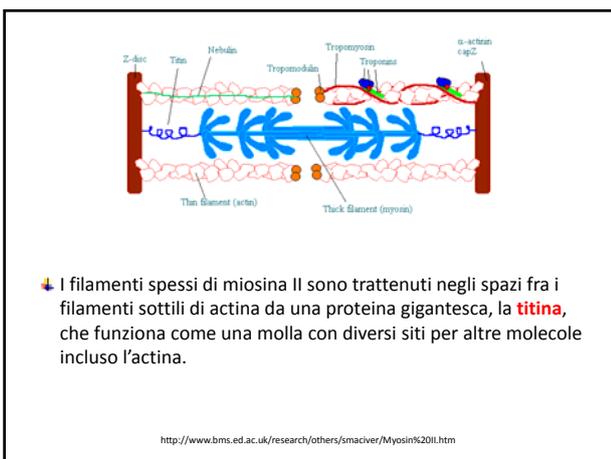
- I filamenti spessi di miosina e i filamenti sottili di actina scivolano uno sull'altro



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21670/figure/A5208/?report=objectonly>

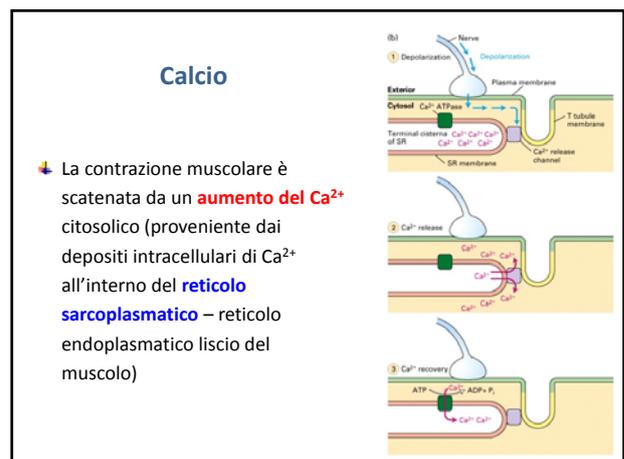


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26888/figure/A3070/?report=objectonly>



I filamenti spessi di miosina II sono trattenuti negli spazi fra i filamenti sottili di actina da una proteina gigantesca, la **titina**, che funziona come una molla con diversi siti per altre molecole incluso l'actina.

<http://www.bms.ed.ac.uk/research/others/fmacer/Myosin%20II.htm>



Calcio

La contrazione muscolare è scatenata da un **aumento del Ca^{2+}** citosolico (proveniente dai depositi intracellulari di Ca^{2+} all'interno del **reticolo sarcoplasmatico** – reticolo endoplasmatico liscio del muscolo)

Controllo della contrazione del muscolo scheletrico da parte della troponina

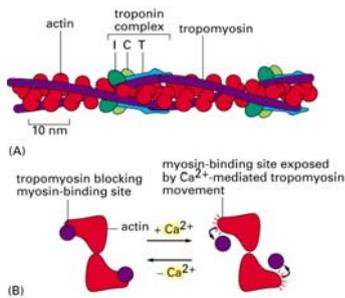
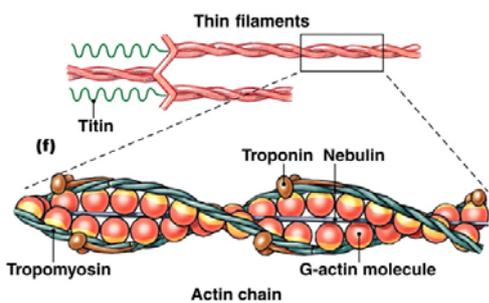
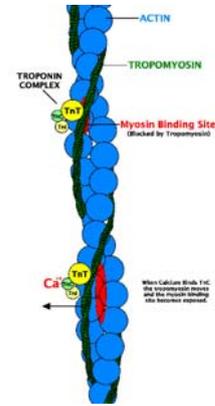
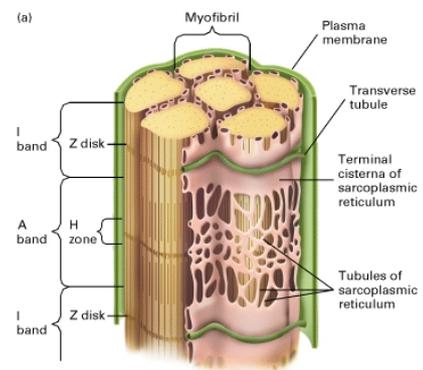


Figure 16-74. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

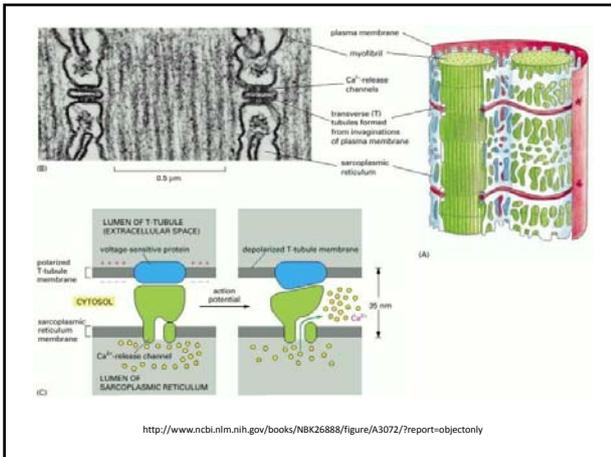


Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings. Fig. 12-3

<http://www.colorado.edu/intphys/Class/1PHY3430-200/Image/12-3f.jpg>

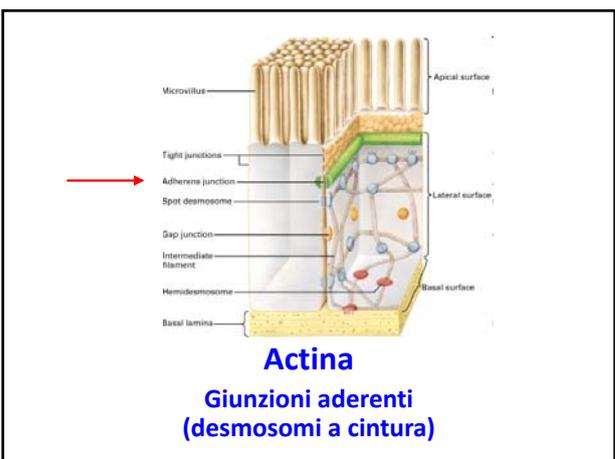
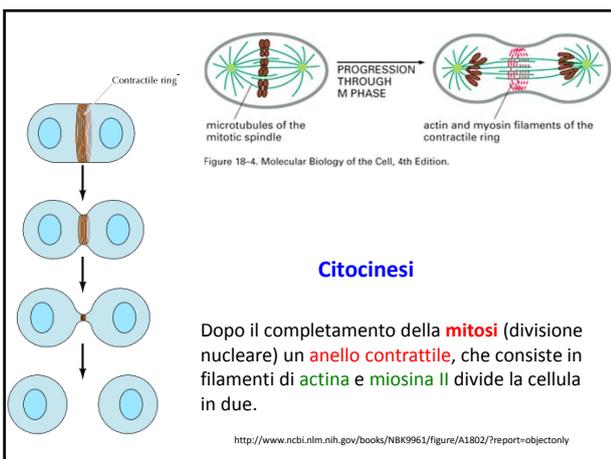


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21670/figure/A5212/report-objectonly>

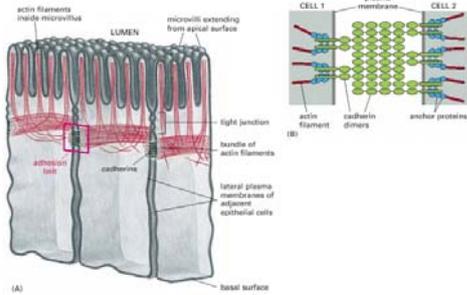


Actina

Citocinesi, citodieresi
(fase finale del ciclo cellulare)

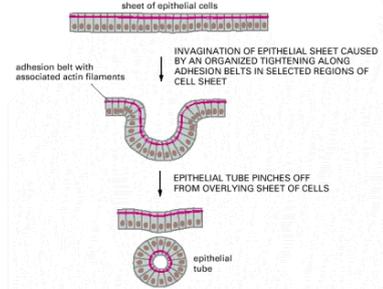


GIUNZIONI ADERENTI («DESMOSOMI A CINTURA»)

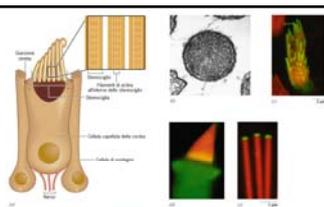


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26857/figure/A3486/>

Formazione strutture tubulari durante lo sviluppo embrionale



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26857/figure/A3487/?report=objectonly>



Stereocilia, cellule capellute dell'orecchio interno

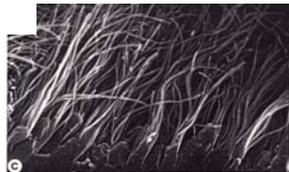
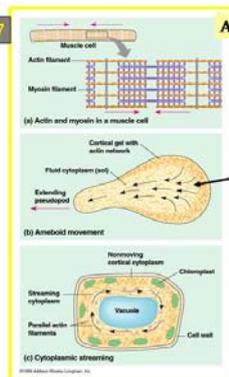


Fig. 7.27



Actin + myosin = contraction

Myosin has motor component - interacts with actin

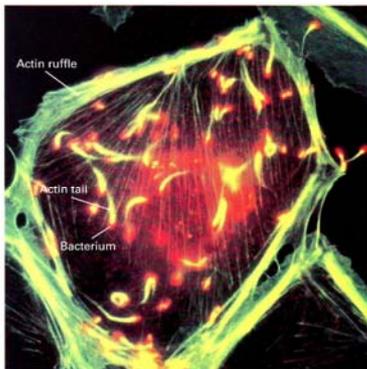
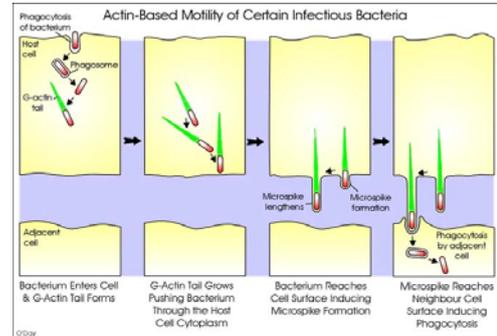
Dynamic instability (constant assembly and breakdown)

28

Uni Texas

Actina

LISTERIA: UN BATTERE CHE SFRUTTA LA POLIMERIZZAZIONE DELL'ACTINA PER INVADERE LA CELLULA EUKARIOTICA



Filamenti di actina e movimento cellulare

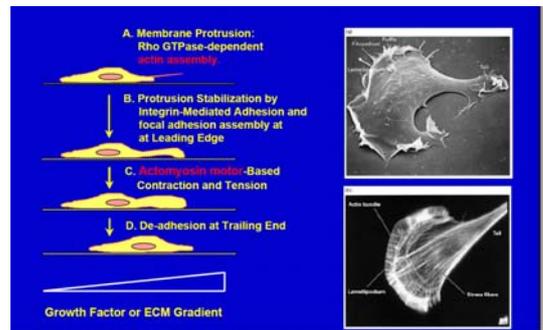
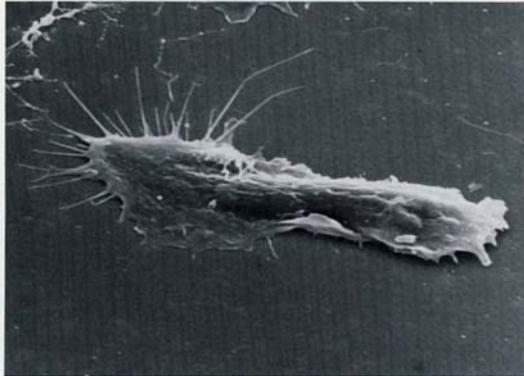


Figure 42. A human neutrophil crawling across a glass surface, from left to right (SEM).



Seminario

Microfilamenti

Nucleazione

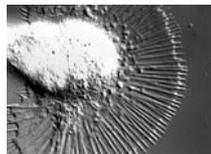
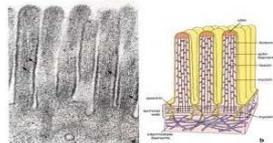
Nucleazione dei microfilamenti

✚ Mentre la nucleazione dei microtubuli avviene nella profondità del citoplasma, quella dell'actina ha luogo frequentemente **sulla o vicino alla membrana plasmatica**:

■ La maggiore concentrazione di actina nella maggior parte delle cellule si trova alla periferia cellulare: **CORTECCIA CELLULARE**.

■ Qui i filamenti di actina determinano la forma e i movimenti della superficie cellulare:

- Microvilli
- Filopodi
- Lamellipodi, ecc.



Seminario