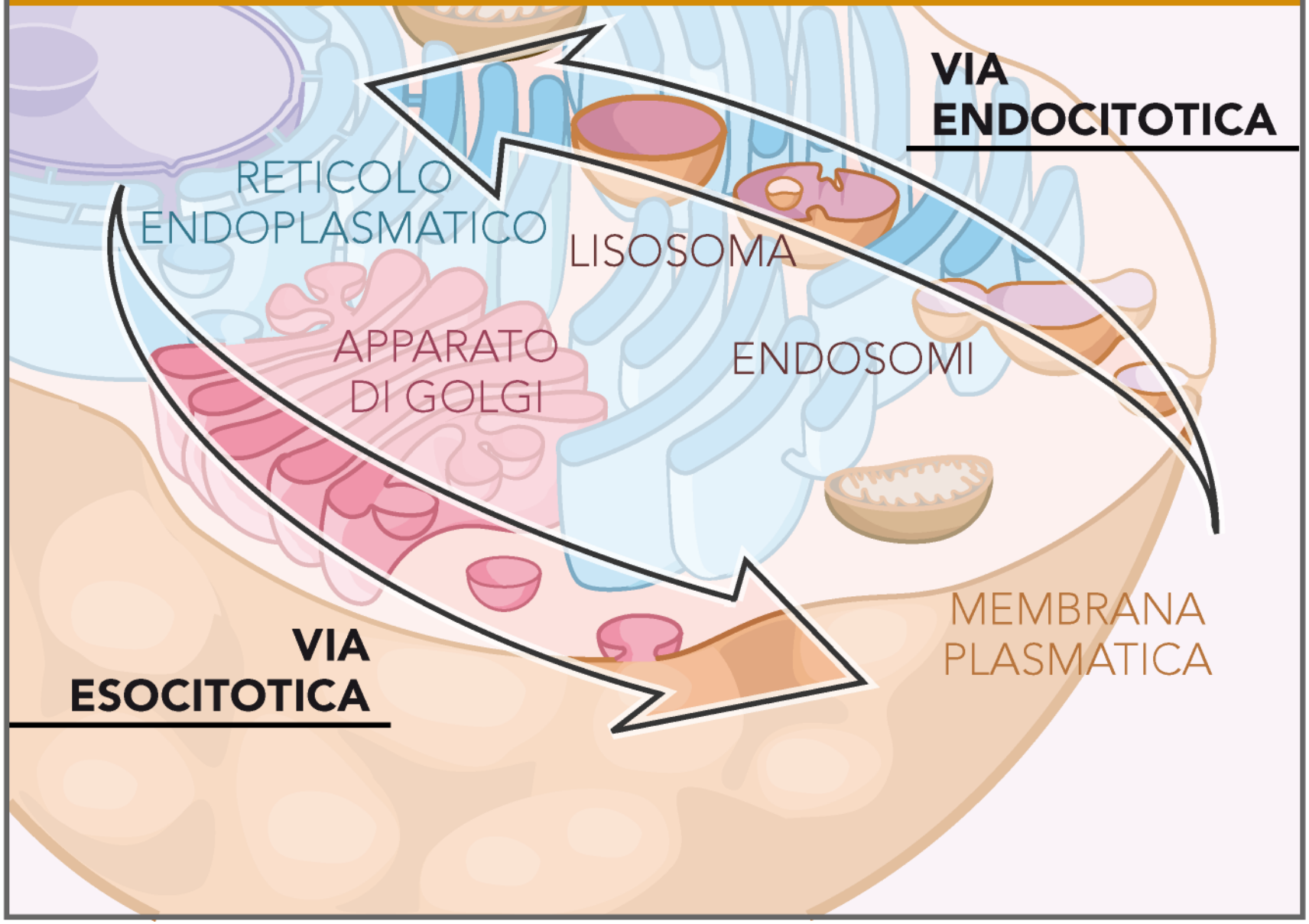
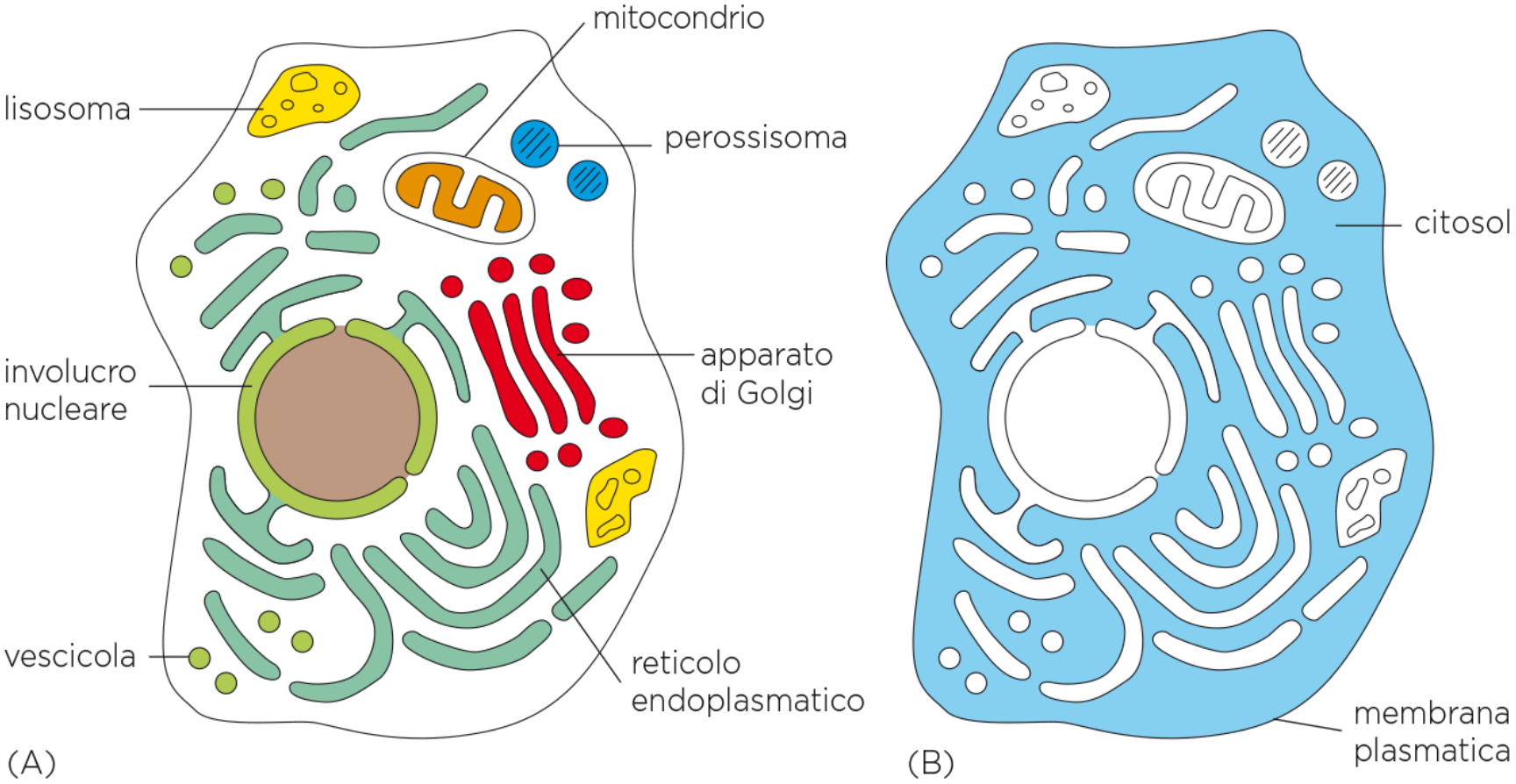
Lezione 2

La cellula eucariote:

organelli e citoscheletro

Vie esocitotiche e endocitotiche




mitocondrio
lisosoma
perossisoma
apparato
di Golgi
involucro
nucleare
vescicola
reticolo
endoplasmatico
(A)
citosol
membrana
plasmatica
(B)

IL RETICOLO

ENDOPLASMATICO

IL RETICOLO ENDOPLASMATICO

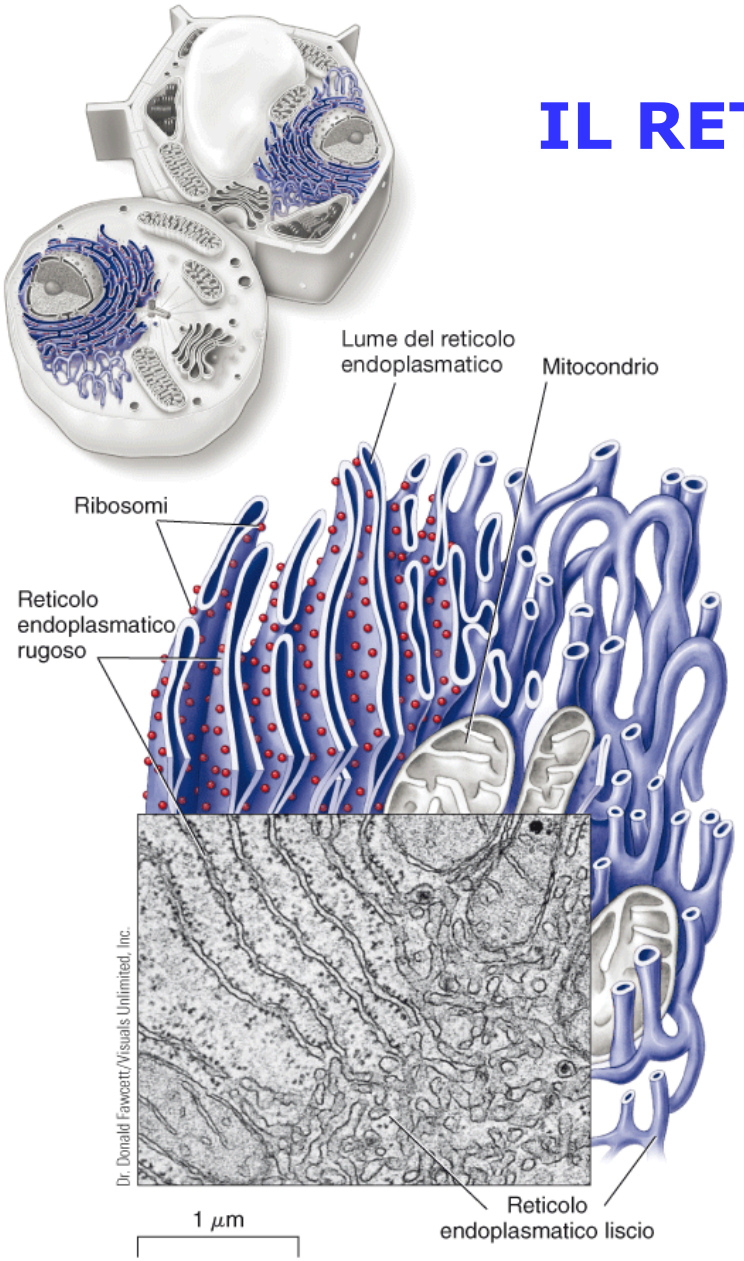
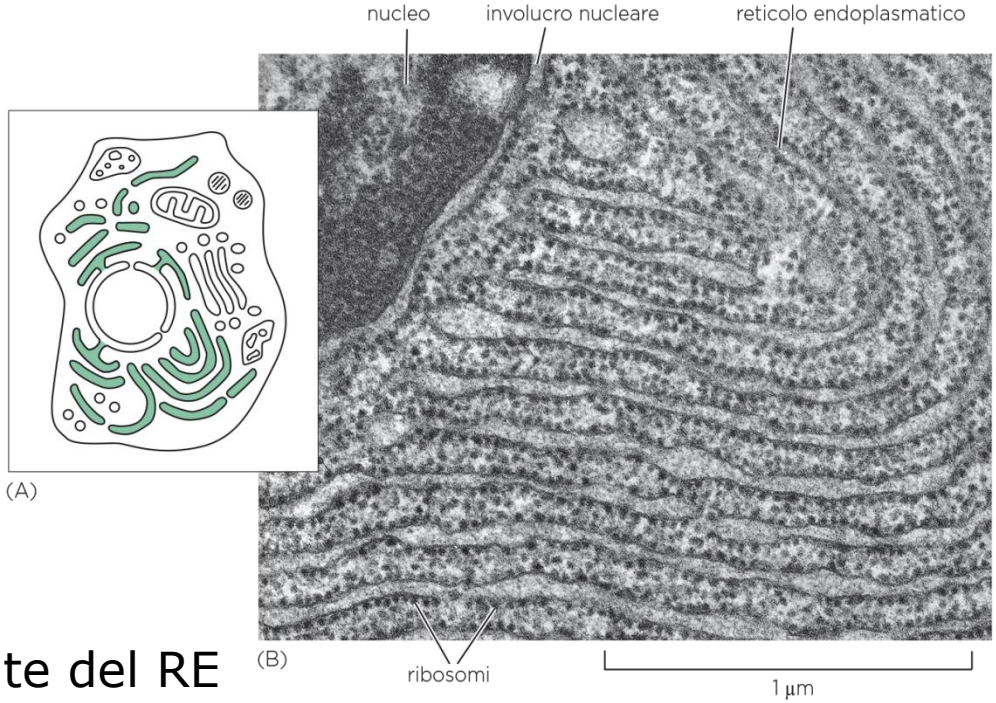


Figura 4-13 **Reticolo endoplasmatico (RE)**
Immagine MET che mostra il reticolo endoplasmatico liscio e rugoso di una cellula epatica.

Reticolo di membrane organizzate in **strutture tubulari** e **cisterne appiattite** che si estendono in molte regioni del citoplasma.

Lo spazio che si viene a formare all'interno delle membrane è detto **lume** e dà origine ad un unico compartimento interno che comunica anche con il lume nucleare

IL RETICOLO ENDOPLASMATICO



Il RE ha quattro funzioni principali:

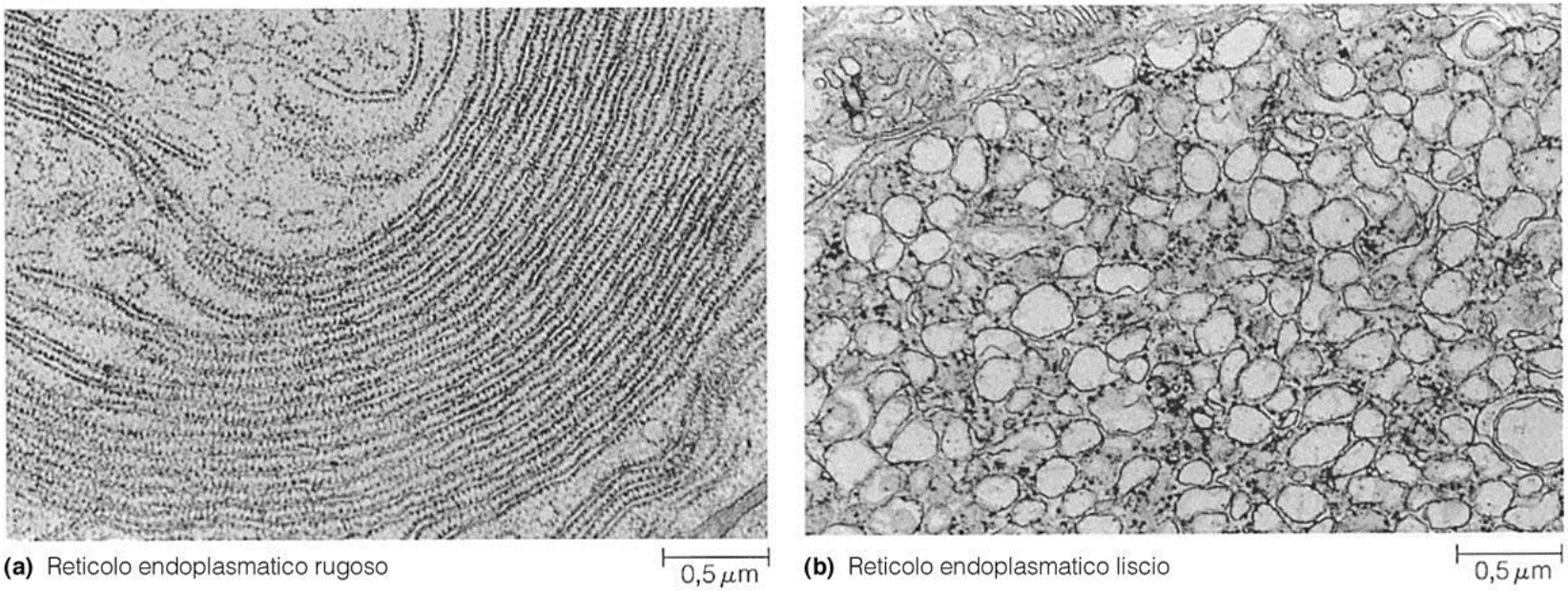
- **Sintesi** : regioni specializzate del RE sintetizzano **proteine**, **carboidrati** e **lipidi**
- **Deposito**: molecole o altri materiali possono essere assorbiti dal citosol e immagazzinati nel RE
- **Trasporto**: materiali possono viaggiare tra compartimenti cellulari
- **Detossificazione** : farmaci o tossine possono essere assorbiti e neutralizzati nel RE

IL RETICOLO ENDOPLASMATICO

Distinguiamo due tipi di reticolo endoplasmatico:

- **Reticolo Endoplasmatico Rugoso (RER)**
- **Reticolo Endoplasmatico Liscio (REL o SER)**

Il **RER** deve il suo nome alla presenza di ribosomi sulle membrane, il **REL** ne è sprovvisto. Hanno **struttura e funzioni diverse**



(a) Reticolo endoplasmatico rugoso

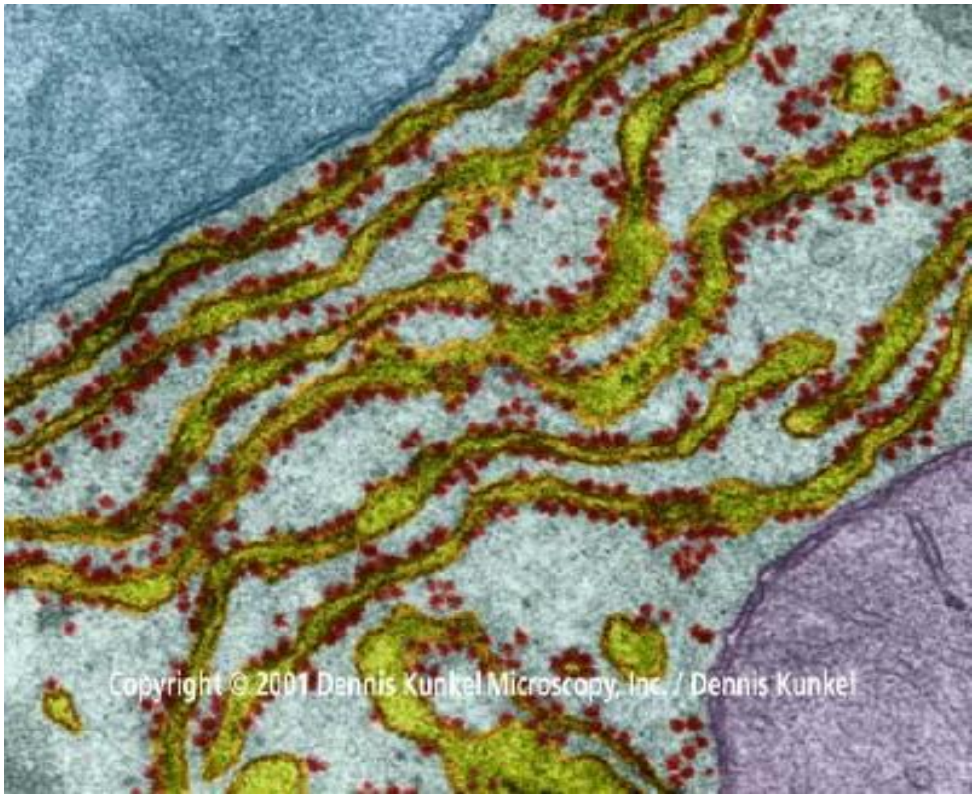
(b) Reticolo endoplasmatico liscio

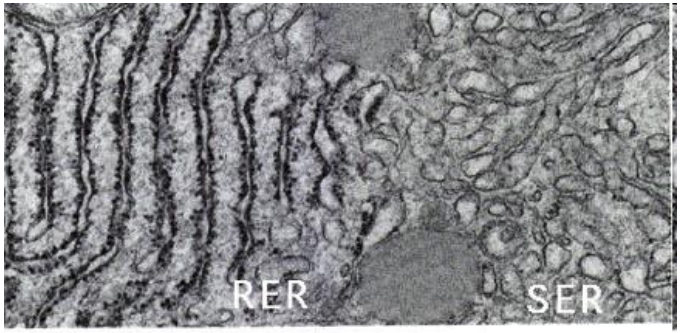
Figura 12-2

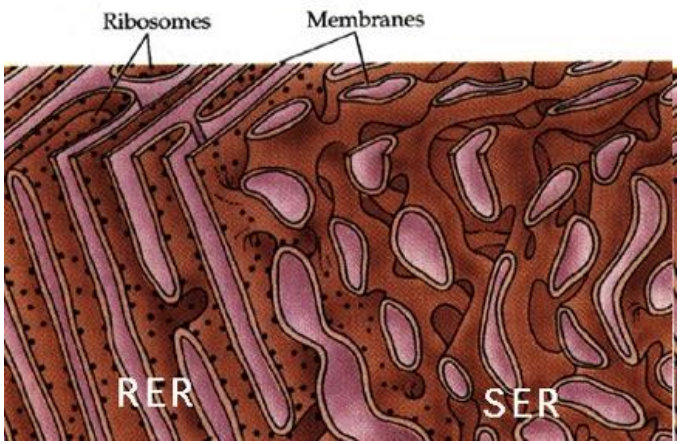
IL RETICOLO ENDOPLASMATICO

La quantità di Reticolo Endoplasmatico e la proporzione di RER o REL variano in relazione al **tipo di cellula e alla sua attività**.

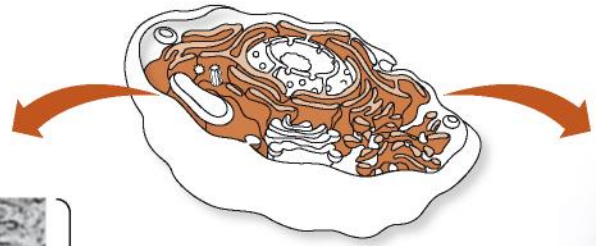
Es. RER sviluppato e REL scarso in cellule pancreatiche che producono enzimi digestivi. Nelle cellule dell' apparato genitale, il contrario.





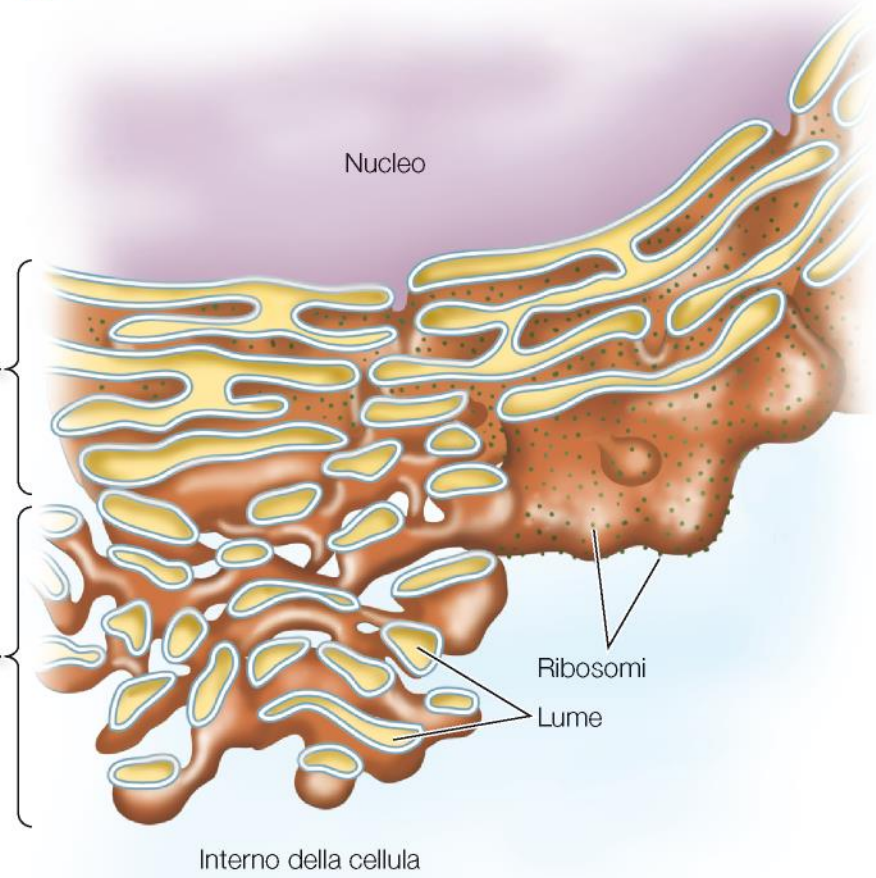


IL RETICOLO ENDOPLASMATICO



Il **reticolo endoplasmatico rugoso** è costellato di ribosomi che sono i siti della sintesi proteica. Essi sono responsabili del suo aspetto rugoso.

Nel **reticolo endoplasmatico liscio** avvengono la sintesi dei lipidi e alcune modificazioni chimiche delle proteine.



SINTESI DI PROTEINE NEL RER

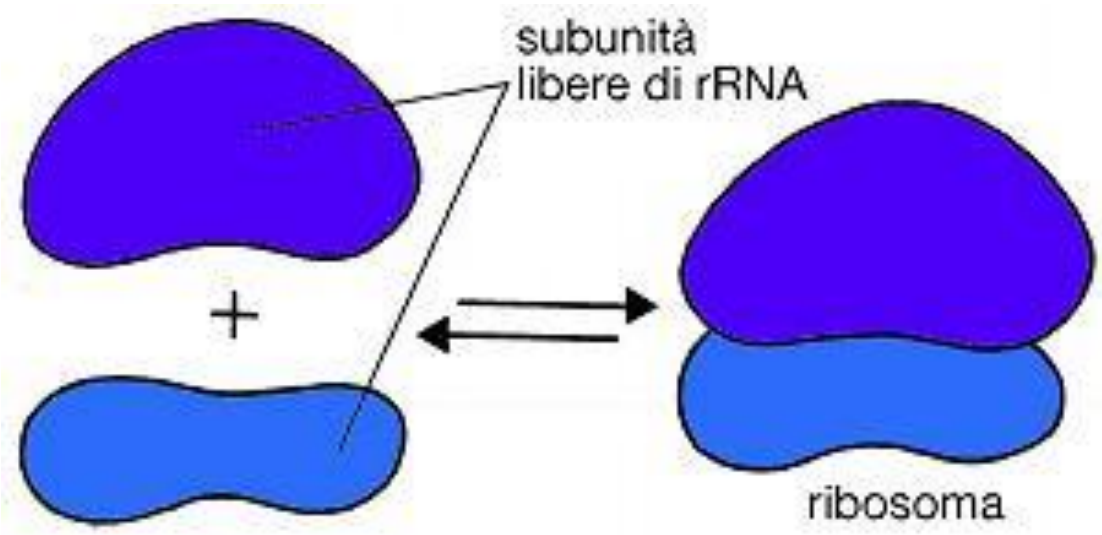
- ✓ I ribosomi legati al RER sintetizzano **proteine** destinate ad **altri organuli** della cellula o destinate ad essere **secrete all'esterno della cellula**.

- ✓ Nel RER le proteine sono **assemblate** assumendo la struttura secondaria e terziaria

- ✓ Le proteine neoformate vanno incontro a **modificazioni chimiche**. Il RER è il sito iniziale della **glicosilazione delle proteine** ►(glicoproteine)

- ✓ Il RER è il sito di **controllo di qualità** delle proteine (quelle non conformate correttamente sono eliminate. Quelle corrette sono trasferite ad altri comparti dalle vescicole di trasporto

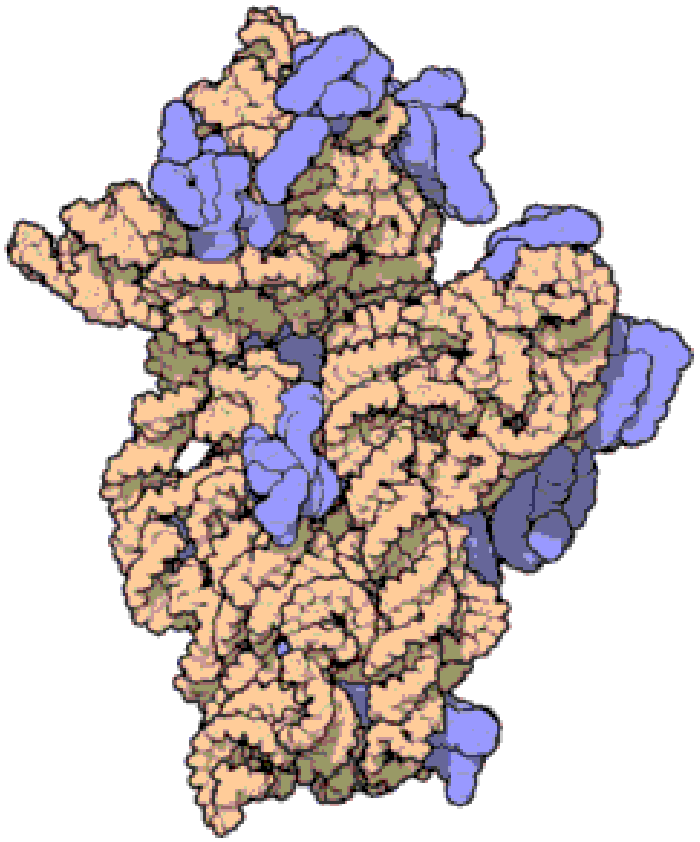
I RIBOSOMI



I ribosomi sono complessi macromolecolari dove vengono **sintetizzate le proteine** secondo l'informazione contenuta negli acidi nucleici.

Si localizzano **nel citoplasma**, liberi o legati alle membrane del RER, e **nei mitocondri**.

I RIBOSOMI



Subunità minore del ribosoma dell'eubatterio *Thermus thermophilus*. In blu le **proteine**, in rosa l'**RNA**

I ribosomi dei procarioti e quelli degli eucarioti sono molto simili. Sono costituiti da due componenti principali: una **subunità maggiore** e una **subunità minore**.

Le **differenze** nella struttura e nella composizione tra ribosomi **procariotici ed eucariotici** rende possibile trattamenti con **antibiotici specifici** che aggrediscono solo i ribosomi dei batteri.

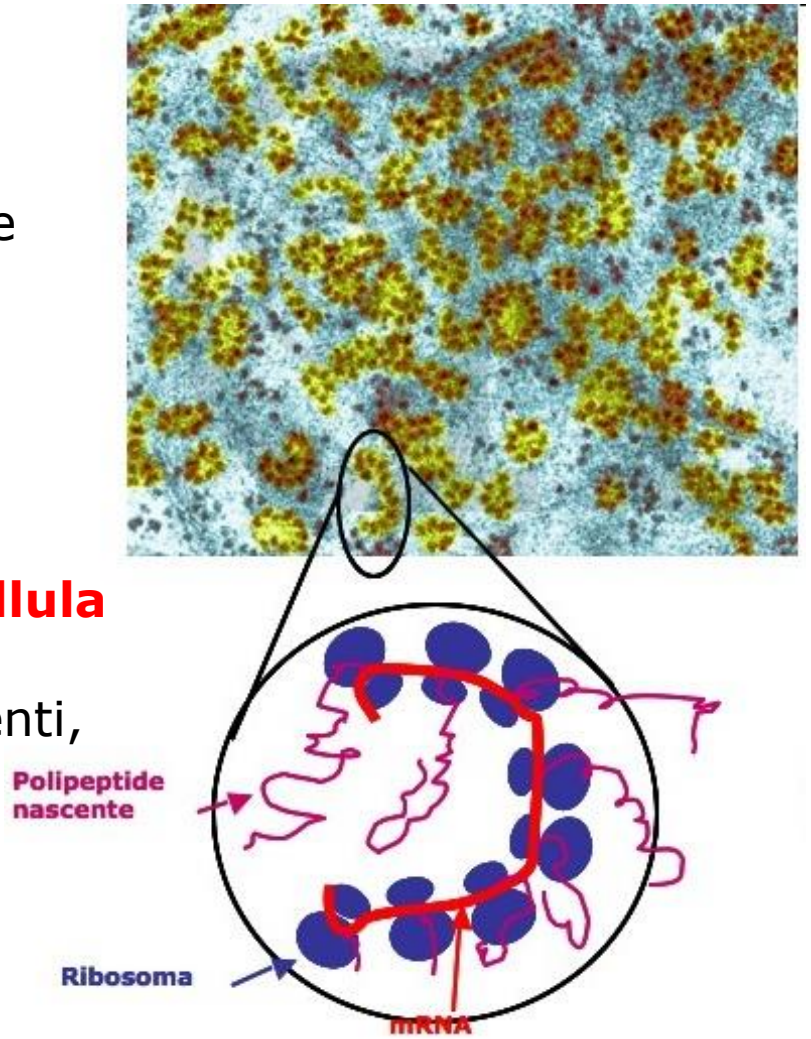
I RIBOSOMI

- ✓ Sono formati da (60%) **RNA ribosomiale** (rRNA) associato a (40%) **proteine** (circa 80).

- ✓ Alcuni sono liberi nel citoplasma mentre altri sono associati sulla membrana del reticolo endoplasmatico

- ✓ Sono strutture semiautonome che **si dividono indipendentemente dalla cellula**

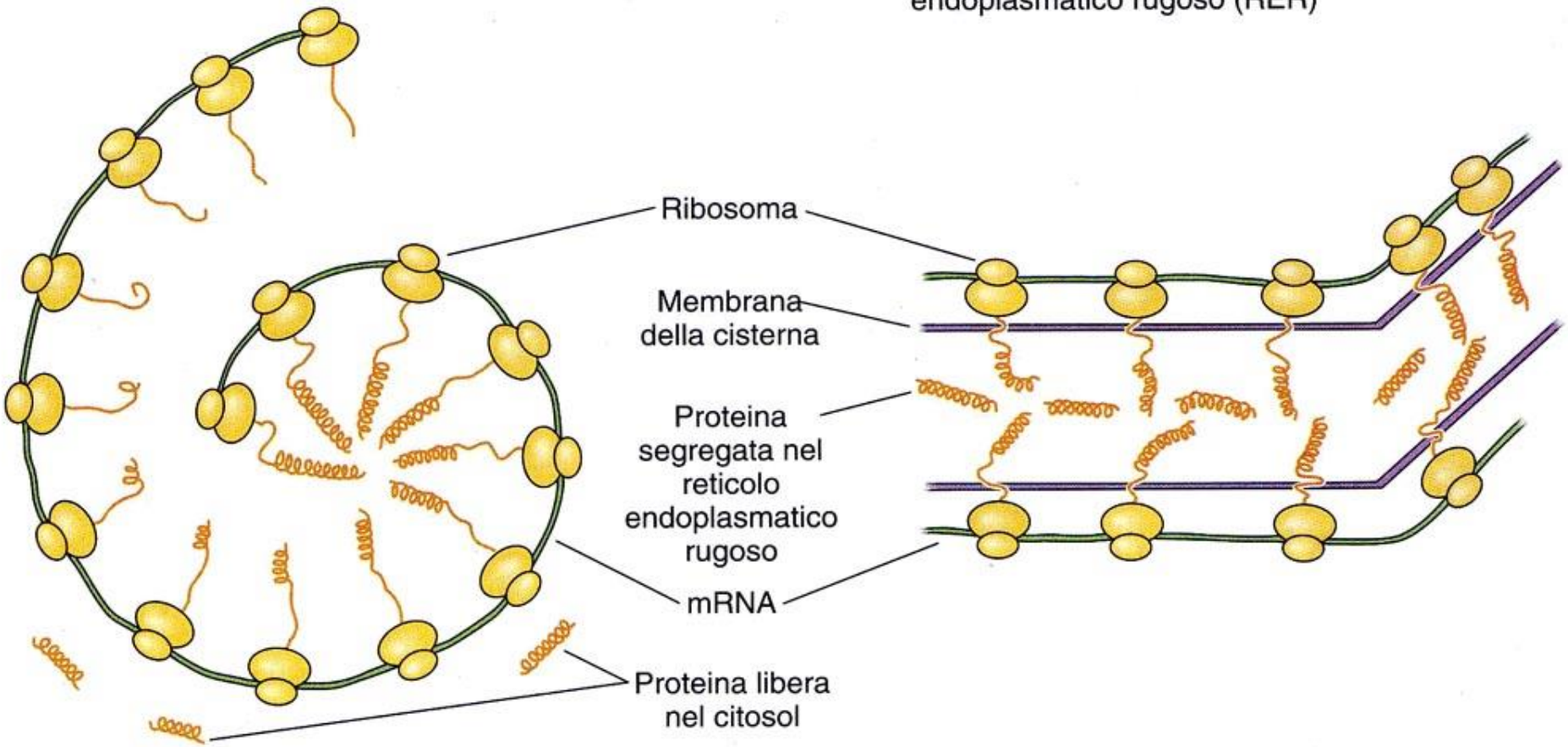
- ✓ Sono associati in catene di 5 -20 elementi, denominati **POLISOMI**, dove avviene la traduzione degli mRNA, ovvero la sintesi proteica.



RIBOSOMI LIBERI E RIBOSOMI LEGATI

A Poliribosomi liberi, i quali sintetizzano proteine che rimangono nel citoplasma

B Poliribosomi legati, i quali sintetizzano proteine che vengono segregate entro il reticolo endoplasmatico rugoso (RER)

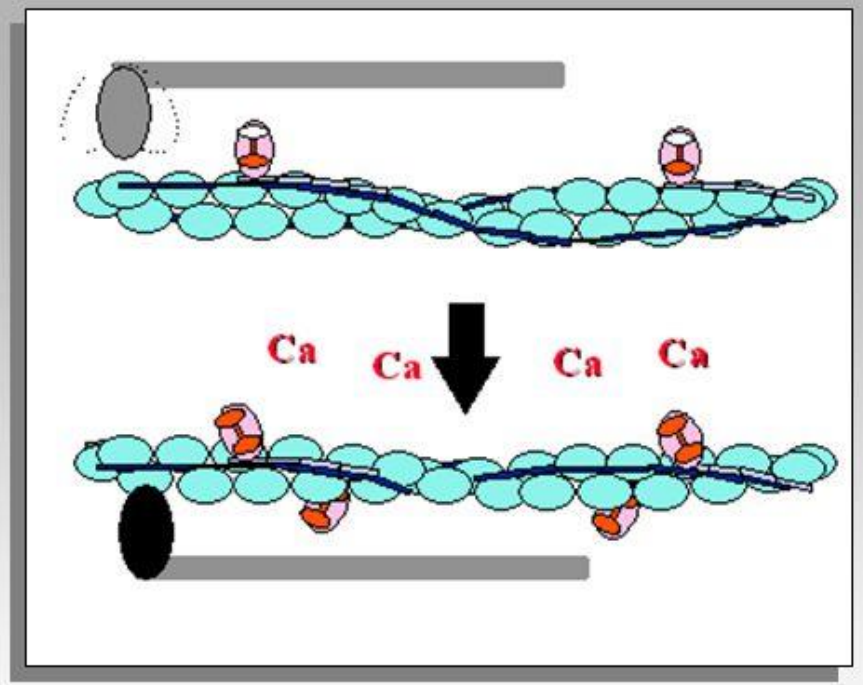


Reticolo endoplasmatico LISCIO (REL o SER)

- ✓ Il REL è costituito da **strutture tubulari comunicanti** (non da cisterne) e la superficie della sua membrana appare liscia.
- ✓ Rappresenta la sede primaria dove avviene la **biosintesi dei lipidi di membrana e degli ormoni steroidei**.
- ✓ Enzimi di membrana (epatociti) coinvolti nella **detossificazione** di sostanze sia endogene che esogene come prodotti di scarto dell'organismo, farmaci e sostanze tossiche
- ✓ E' coinvolto nella sintesi e degradazione del **glicogeno** (muscolo scheletrico, epatociti)
- ✓ **Deposito** intracellulare degli **ioni calcio** utilizzati nel rilascio di neurotrasmettitori o modificazioni strutturali del citoscheletro

CONTRAZIONE delle MIOFIBRILLE

Il legame tra actina e miosina avviene solo in presenza di ioni Ca^+



MUSCOLO

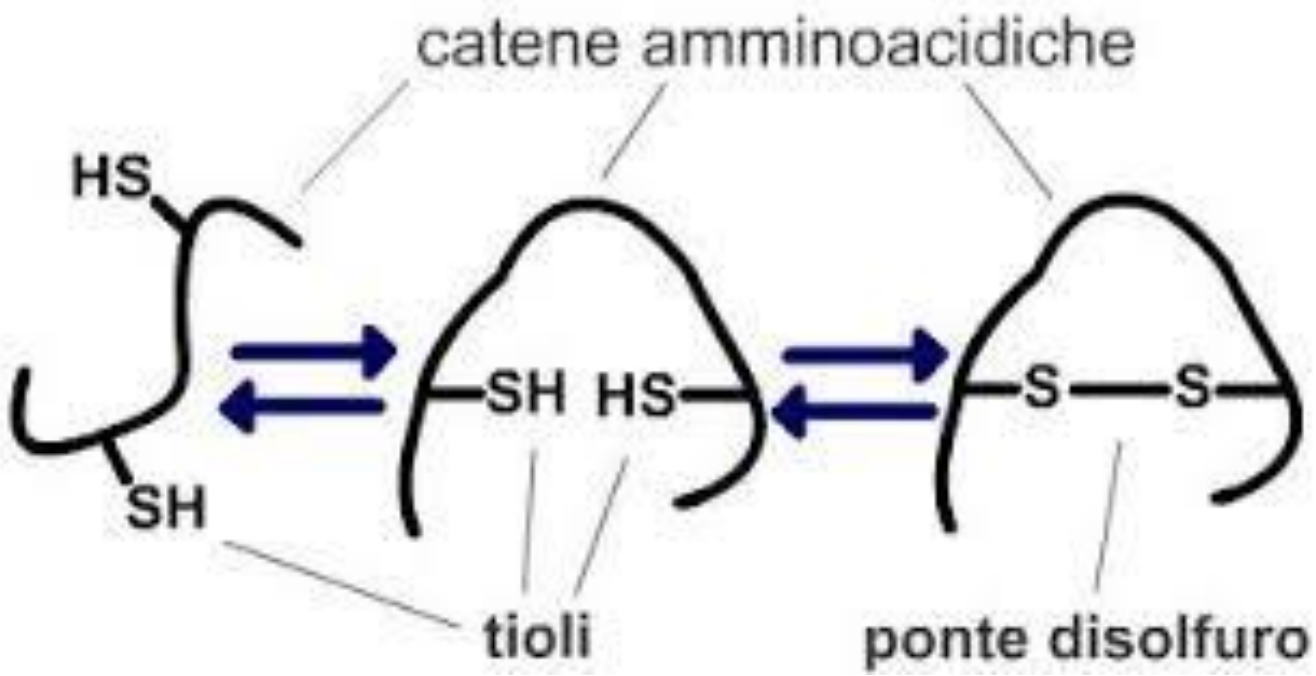
L'ingresso e l'uscita di ioni calcio nella fibra muscolare durante la contrazione sono regolati dall'attività del reticolo endoplasmatico liscio.

(RETICOLO SARCOPLASMATICO)

MODIFICAZIONE delle PROTEINE ALL'INTERNO DEL RER

La formazione dei ponti disolfuro (S-S) tra due residui di CISTEINA, importante per il ripiegamento di molte proteine, avviene nel RER

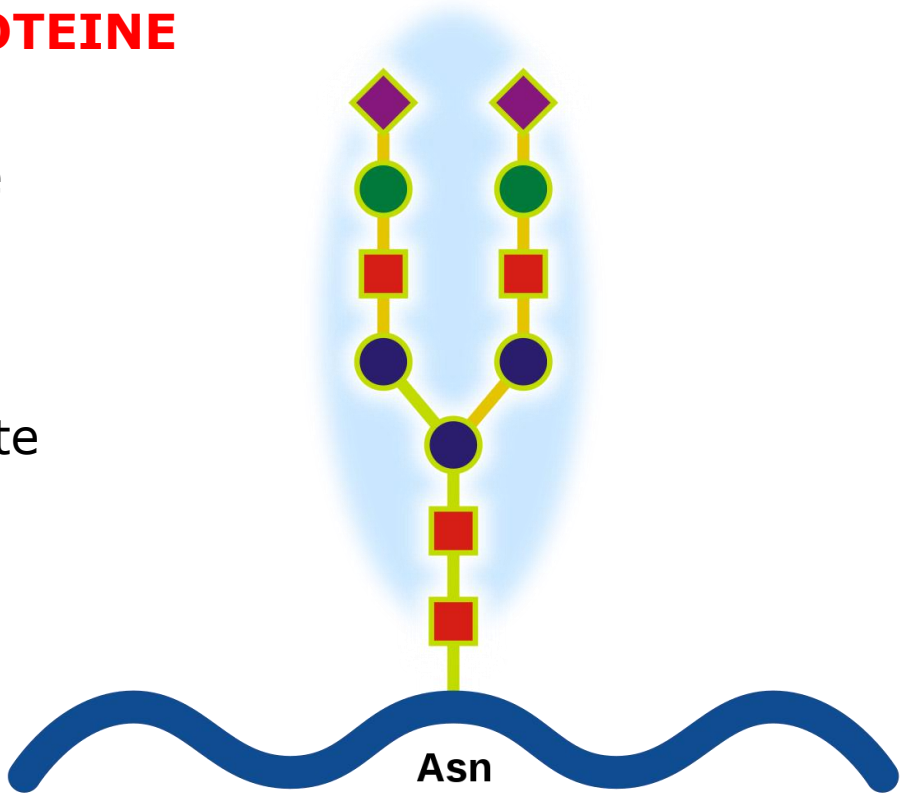
Proteina



MODIFICAZIONE delle PROTEINE ALL'INTERNO DEL RER

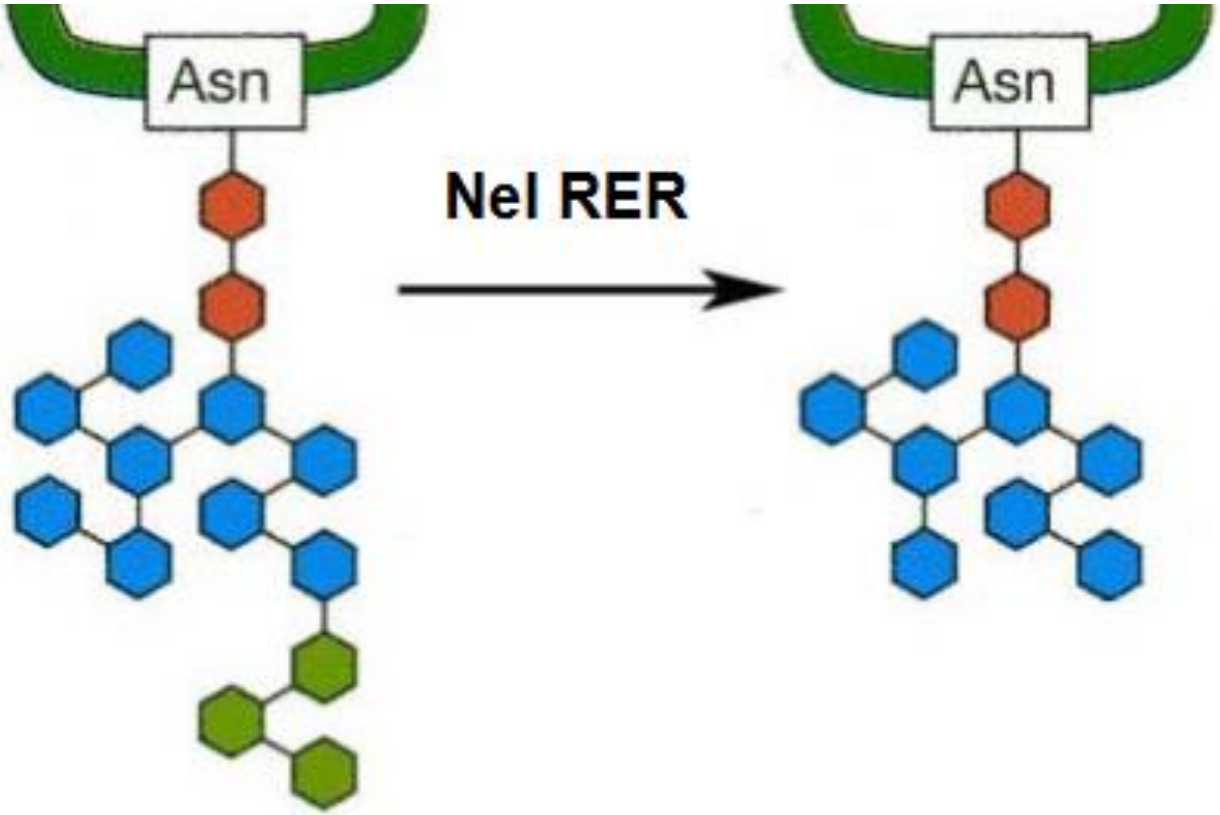
Una delle modificazioni più importanti è la aggiunta di oligosaccaridi su particolari aminoacidi (**glicosilazione**), per produrre delle **GLICOPROTEINE**

Molte proteine di membrana e molte proteine secretorie presentano catene oligosaccaridiche legate tramite legami covalenti: sono quindi GLICOPROTEINE



MODIFICAZIONE delle PROTEINE ALL'INTERNO DEL RER

- L'oligosaccaride viene semplificato nel RER
- Altre modifiche si verificheranno nell'Apparato di Golgi



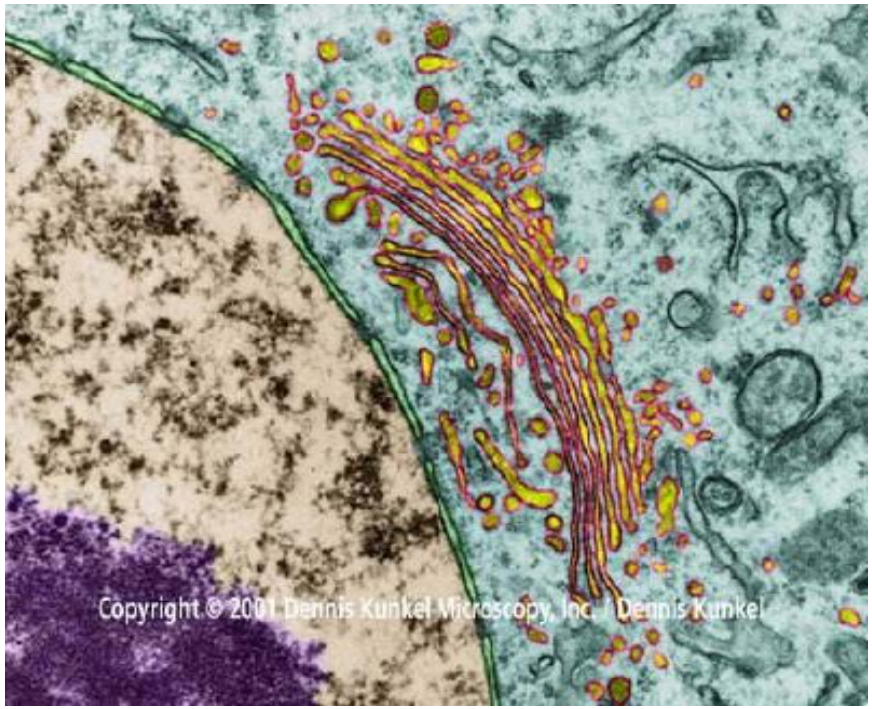
APPARATO

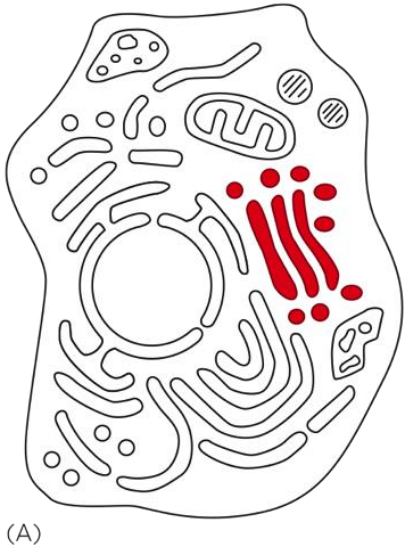
(o COMPLESSO)

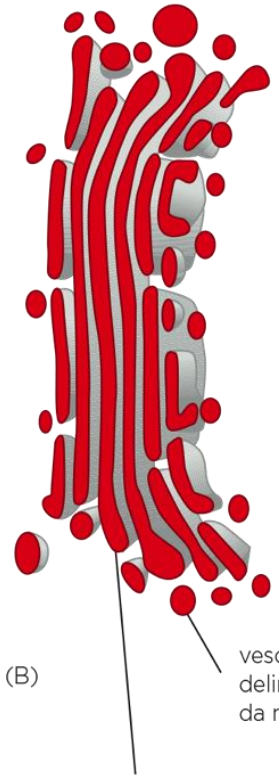
di GOLGI

APPARATO di GOLGI

Scoperto alla fine dell'800 da Camillo Golgi in cellule nervose. Formato da un sistema di **membrane impilate**; circa 100 per cellula. Concentra e "impacchetta" le proteine che presentano un flusso preciso di ingresso e di uscita dalla faccia *cis* a quella *trans* delle membrane del Golgi







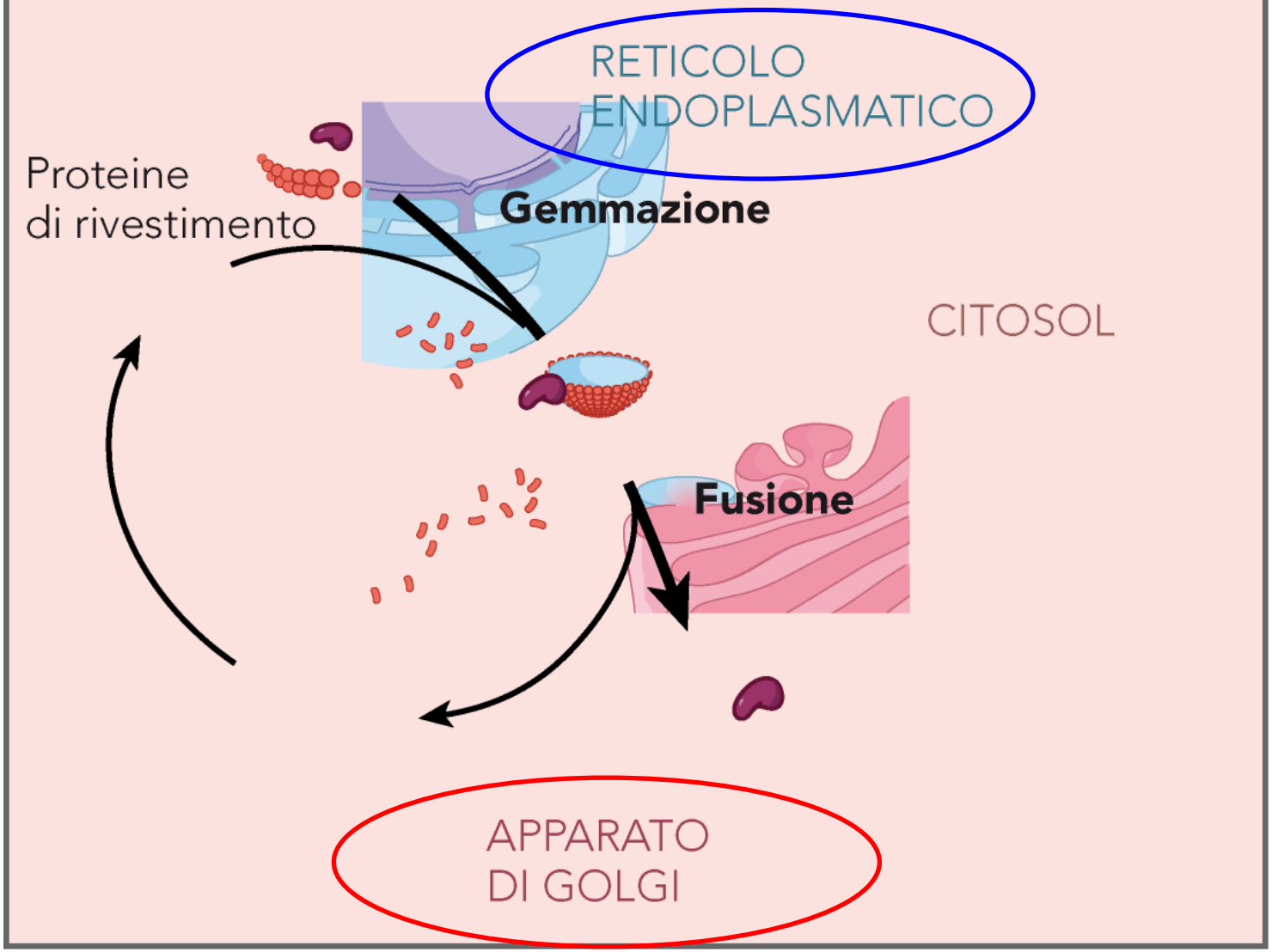
APPARATO DI GOLGI

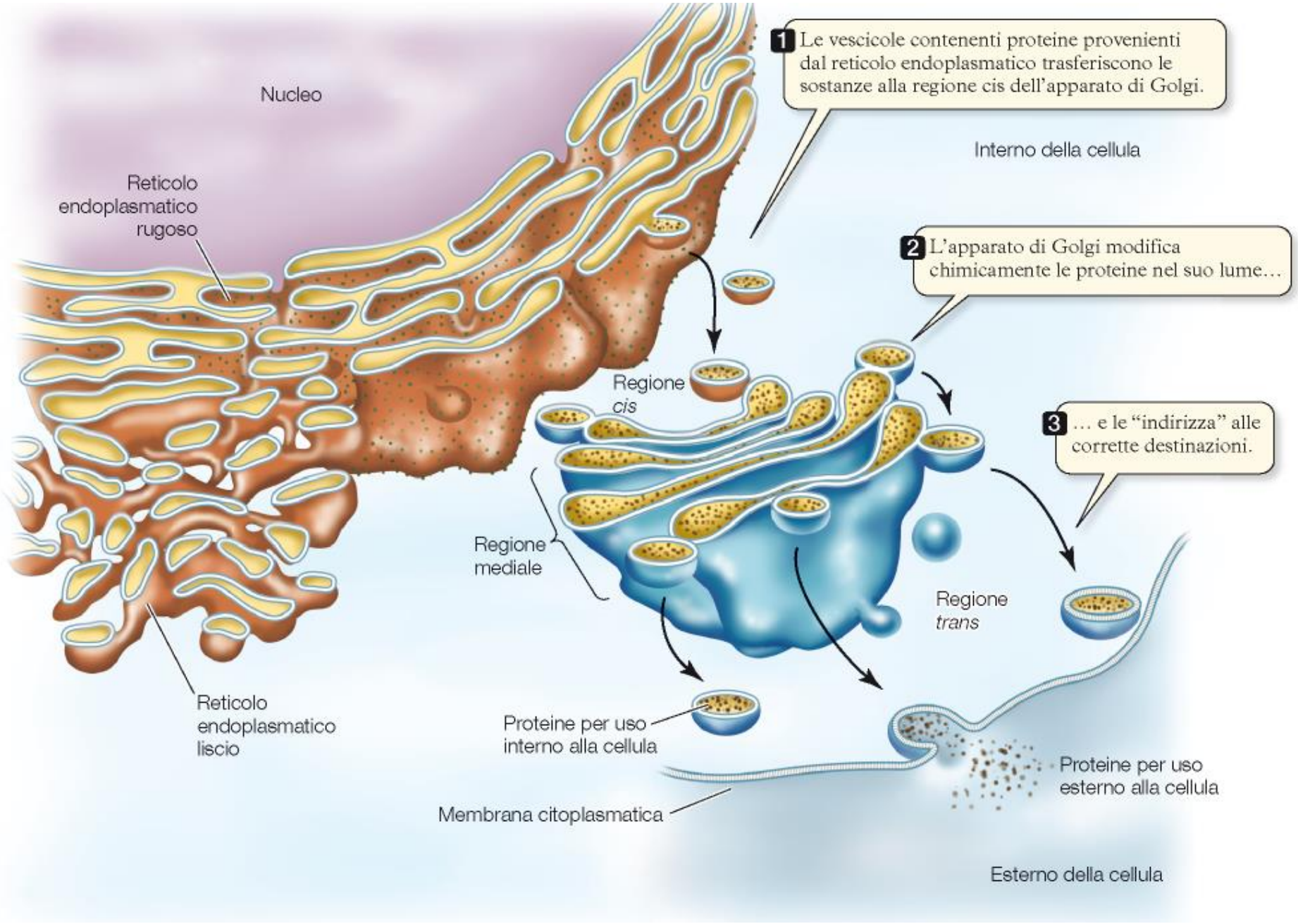
E' dal punto di vista funzionale un **intermediario** tra reticolo endoplasmatico e il resto della cellula.

Sede della **maturazione** e **smistamento** delle **biomolecole**.

Particolarmente **sviluppato** in **cellule** con **intensa attività secretoria**

Le vescicole si formano dalle membrane per gemmazione



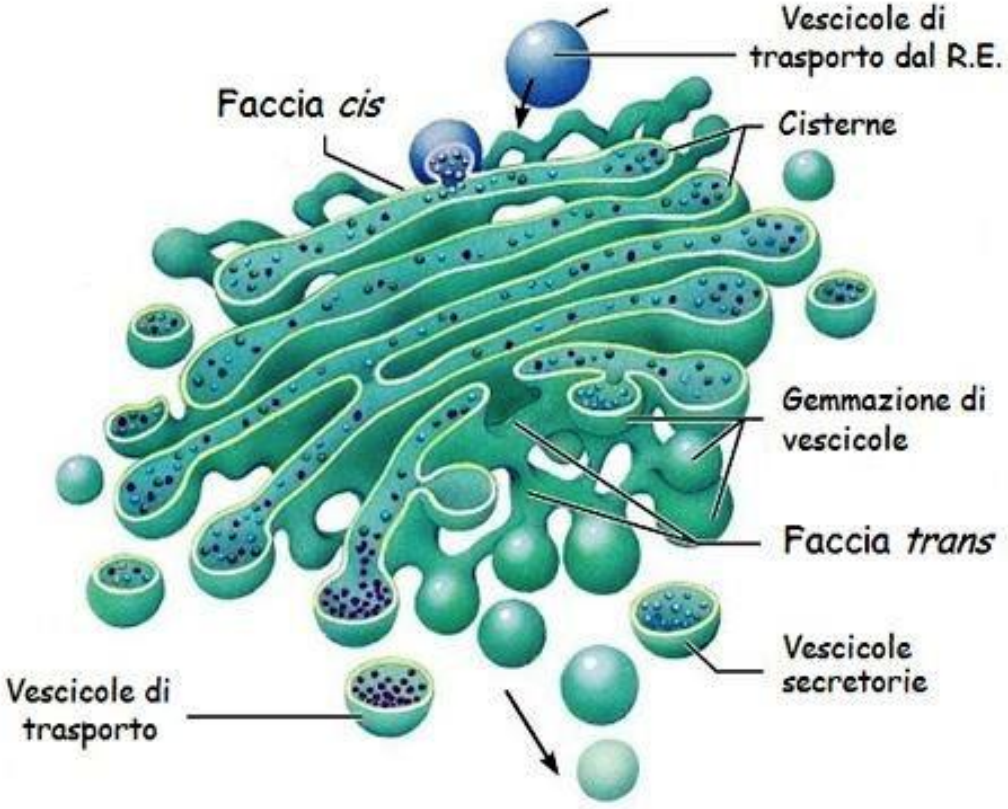

Nucleo
Reticolo endoplasmatico rugoso
1 Le vescicole contenenti proteine provenienti dal reticolo endoplasmatico trasferiscono le sostanze alla regione cis dell'apparato di Golgi.
Interno della cellula
2 L'apparato di Golgi modifica chimicamente le proteine nel suo lume…
Regione cis
3 … e le "indirizza" alle corrette destinazioni.
Regione mediale
Regione trans
Reticolo endoplasmatico liscio
Proteine per uso interno alla cellula
Proteine per uso esterno alla cellula
Membrana citoplasmatica
Esterno della cellula

APPARATO di GOLGI

L'apparato del Golgi è costituito da una **serie di cisterne** (**pile golgiane** o, nelle cellule vegetali, **dittiosiomi**) ciascuna contenente un **distintivo set di enzimi**, in maggioranza glicosidasi. Nelle pile golgiane si distinguono:

- **faccia CIS o prossimale** contigua al RE, da cui riceve le microvescicole;
- **cisterne mediane** - Le cisterne interposte tra le CIS e TRANS nella regione mediale.
- **faccia trans o distale** lontana RE. Dalla cisterna si staccano vescicole per uso interno o di secrezione

APPARATO di GOLGI



Le vescicole che si trovano in prossimità della **regione cis** contengono **proteine neosintetizzate**, che si staccano dal reticolo endoplasmatico e penetrano nell'apparato di Golgi.

A livello della **regione trans** si accumulano vescicole contenenti proteine che verranno distribuite nella cellula o devono essere escrete all'esterno di essa.

Destino delle proteine prodotte nel RER

Sintesi della proteina nei ribosomi del RER

Aggiunta della componente carboidratica nel lume del RER

Passaggio della glicoproteina nel complesso di Golgi

Ulteriori modifiche della glicoproteina

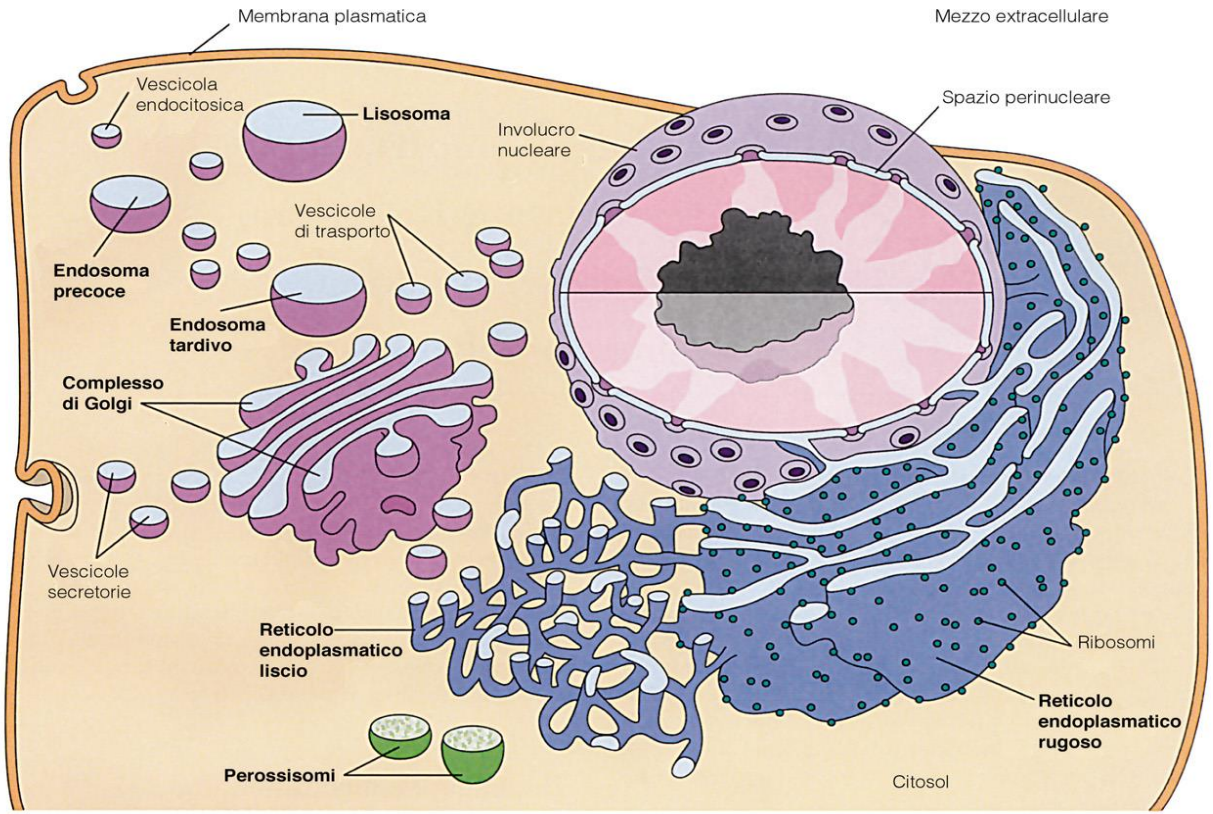


Figura 12-1

Trasporto della proteina, tramite vescicole, dall'apparato di Golgi alla membrana plasmatica e rilascio all'esterno della cellula (esocitosi)

ANTIGENI dei GRUPPI AB0 UMANI

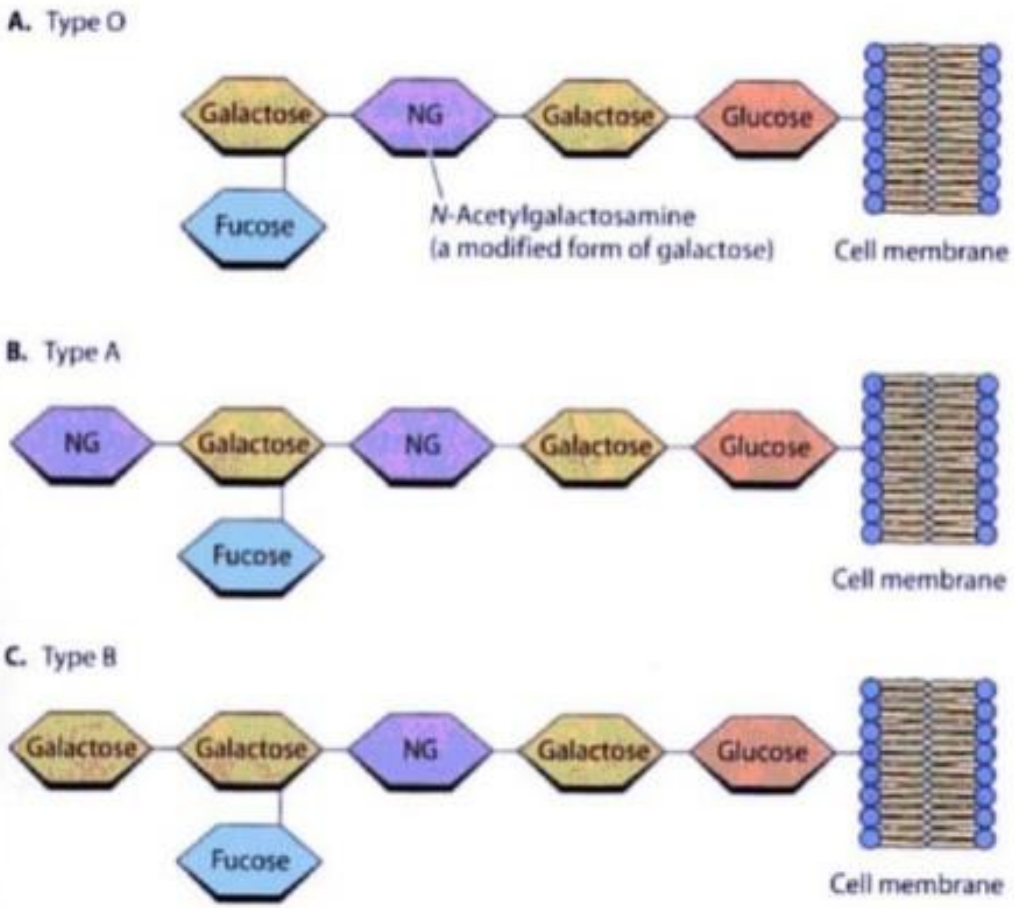
Sintetizzati nell'apparato di Golgi.

L'enzima fucosil-transferasi aggiunge un fucosio ad un prercursore prodotto ad opera di altri enzimi, formando l'**antigene 0**

0

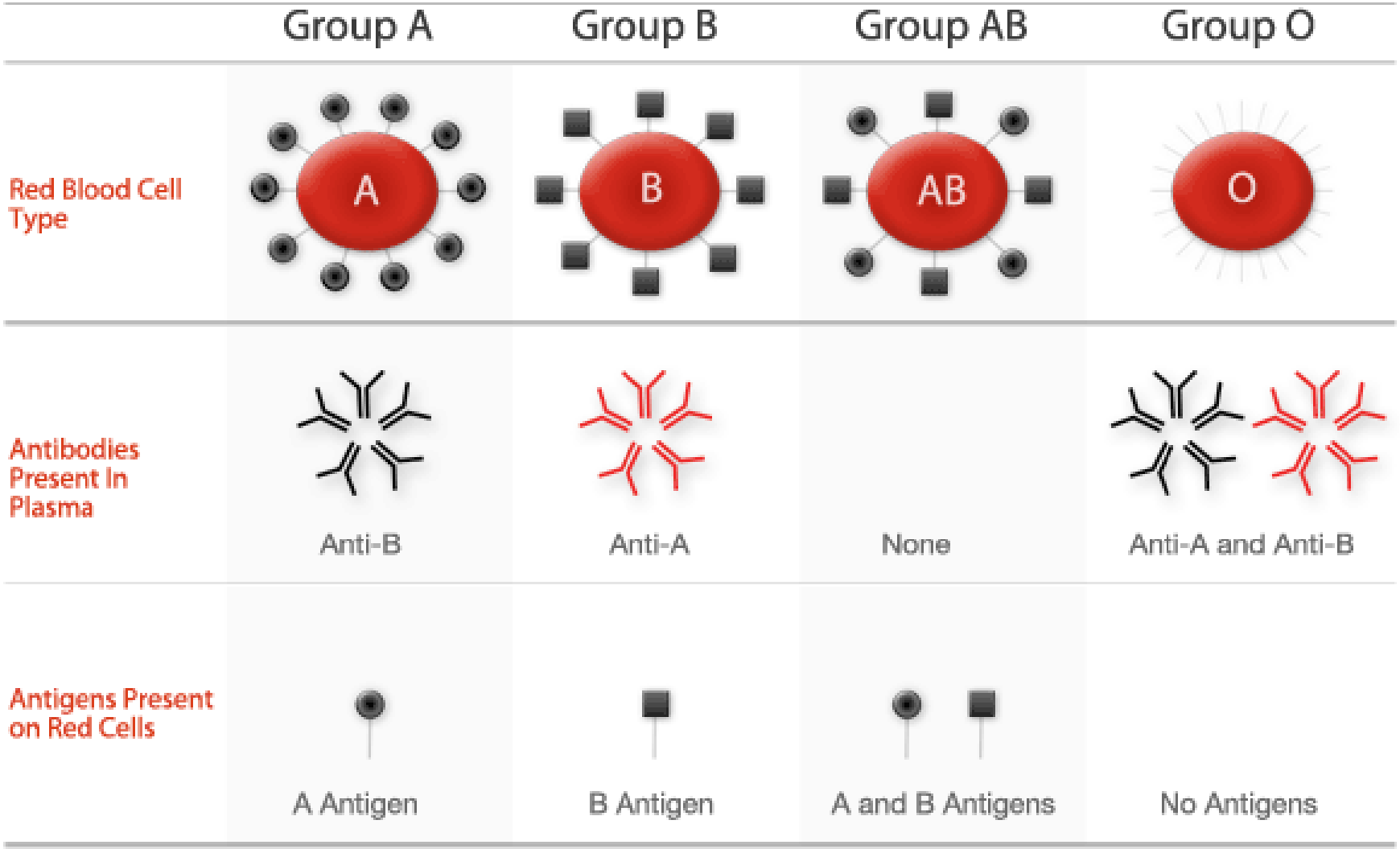
A

B



- La struttura degli zuccheri terminali del componente oligosaccaridico di questi glicolipidi e glicoproteine distingue i tre antigeni.
- La presenza o assenza di particolari glicosiltrasferasi determina il gruppo sanguigno di un individuo.

MODIFICAZIONE delle PROTEINE ALL'INTERNO DEL RER

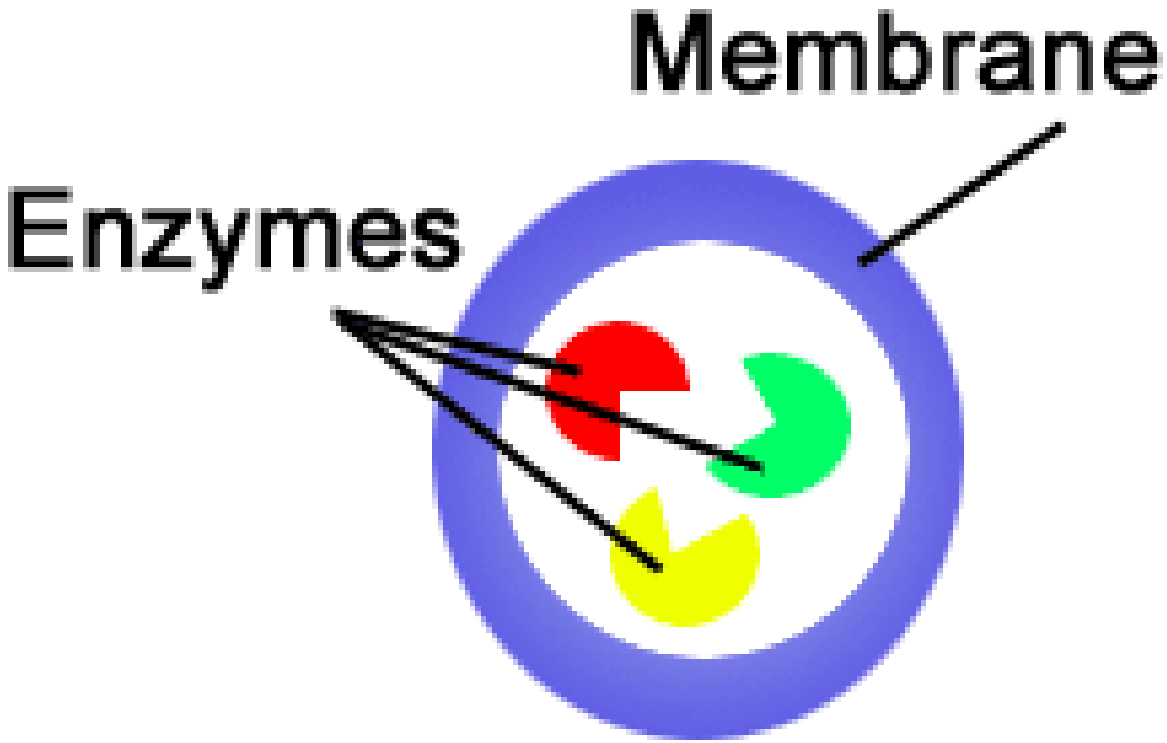


LISOSOMI

e

ENDOSOMI

I LISOSOMI

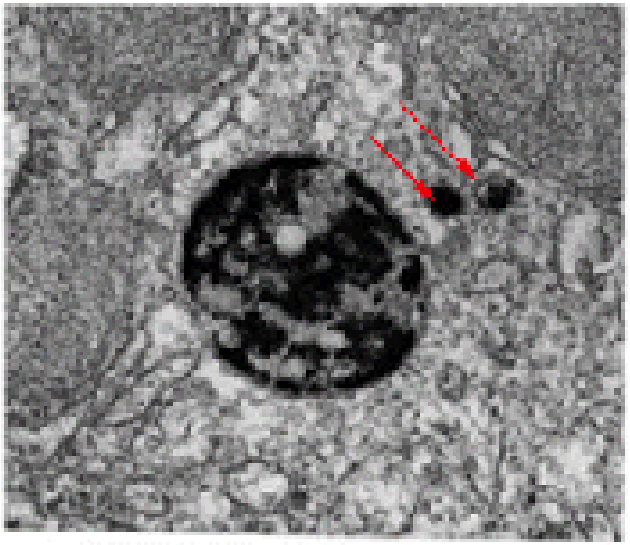


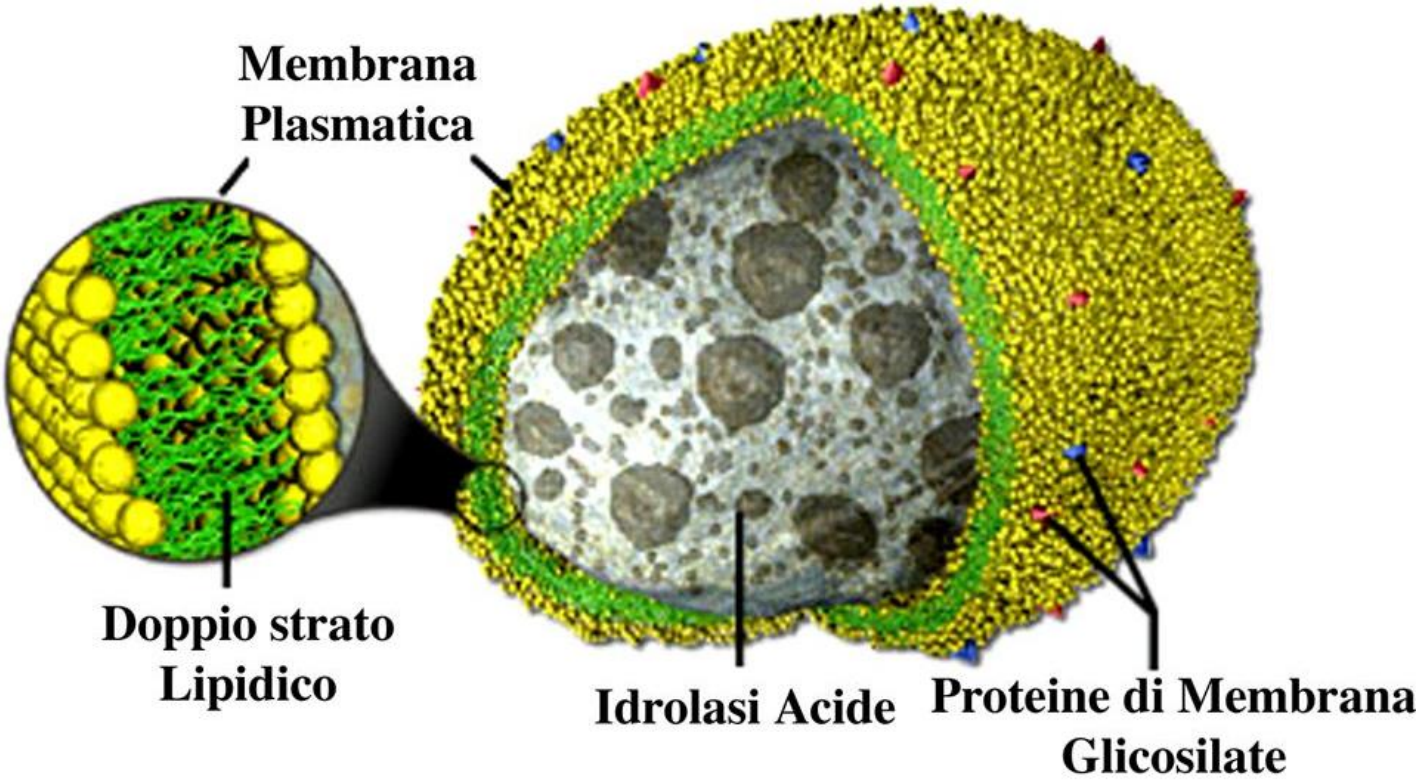
I lisosomi sono vescicole membranose contenenti **enzimi idrolitici** utilizzati per la **digestione intracellulare** di macromolecole.

I LISOSOMI

Sono piccole vescicole rotondeggianti (delimitati da una membrana a doppio strato lipidico) contenenti **enzimi digestivi**, capaci cioè di sciogliere numerose sostanze. La parola significa "corpi che disciolgono". Essi **si formano nell'Apparato di Golgi**. Sono presenti solo nelle cellule eucarioti.

Se i lisosomi si rompono, la cellula stessa viene distrutta, poiché gli enzimi che essi contengono sono capaci di scindere tutti i composti principali presenti nella cellula.





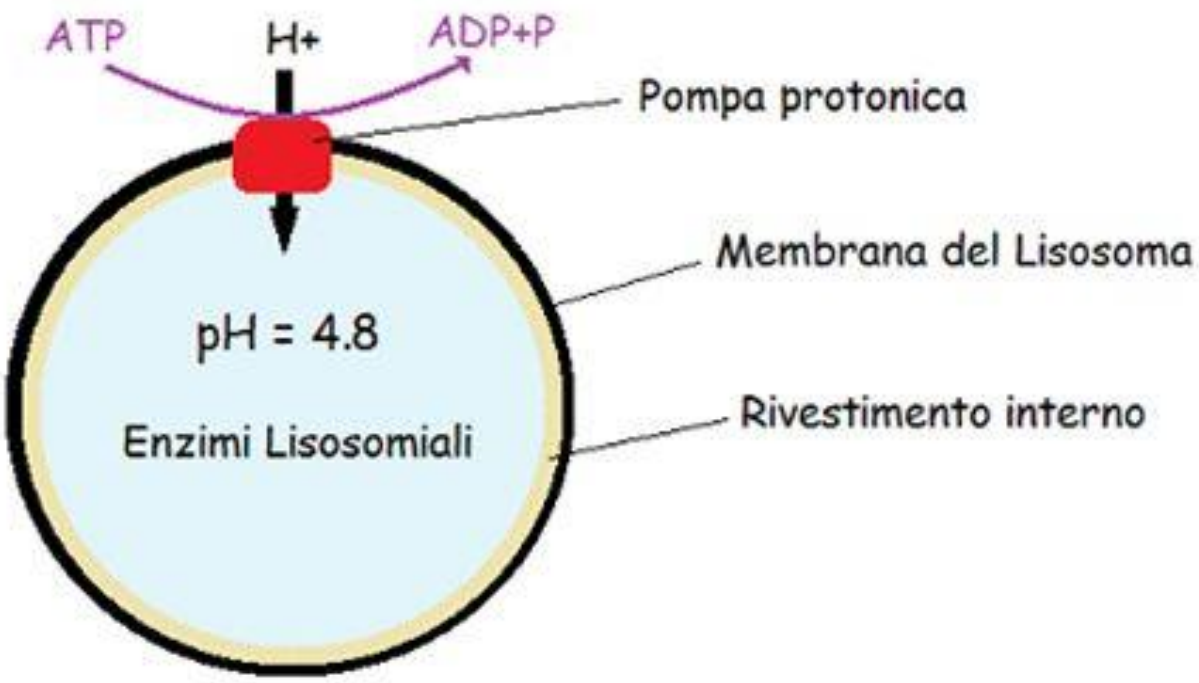
La funzione è quella di **digerire materiali extracellulari** introdotti per **endocitosi** (**fagocitosi**) e/o macromolecole che sono danneggiate o non più necessarie (**autofagocitosi**).

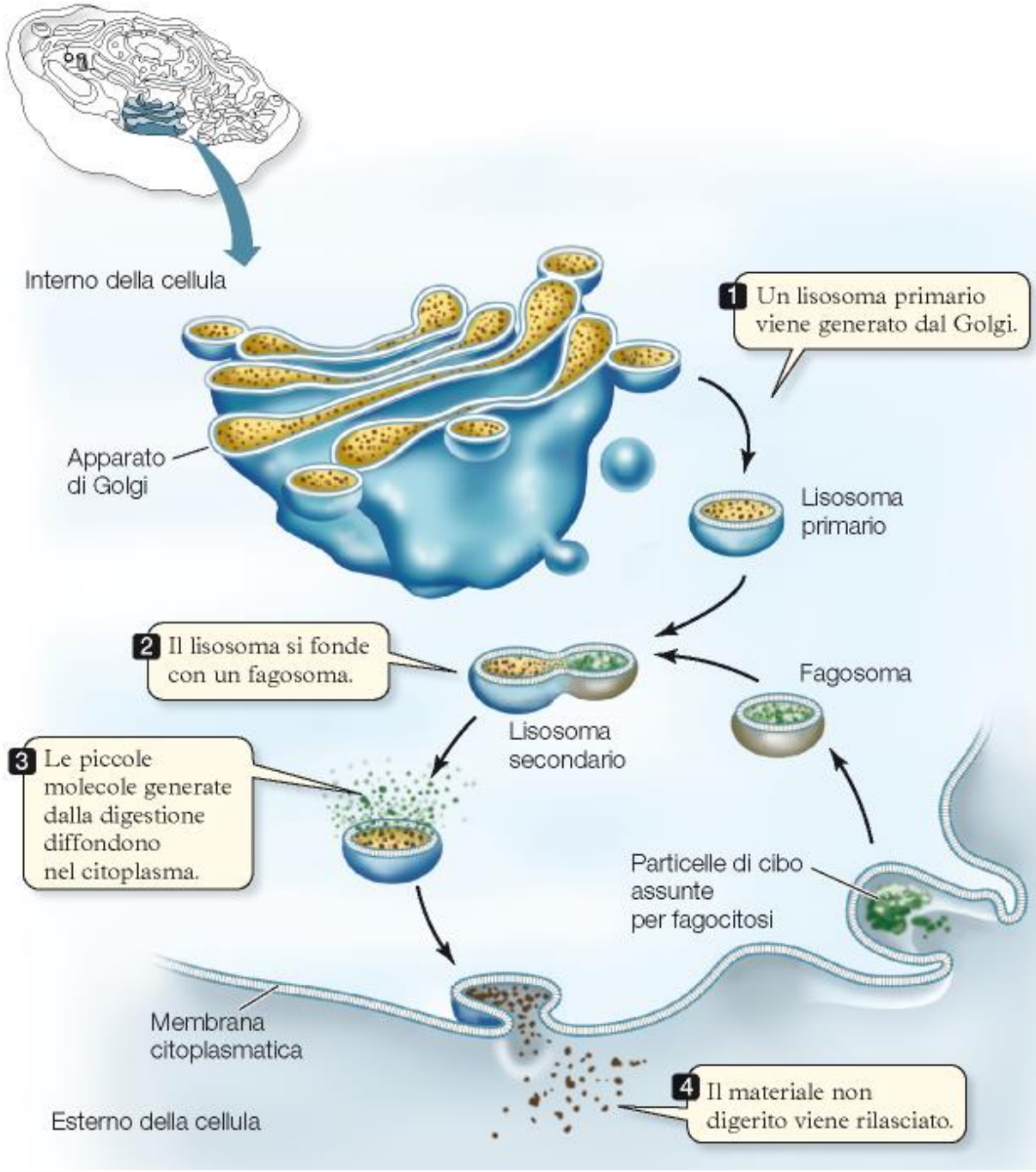
La natura degli enzimi varia a seconda del tipo cellulare

I LISOSOMI

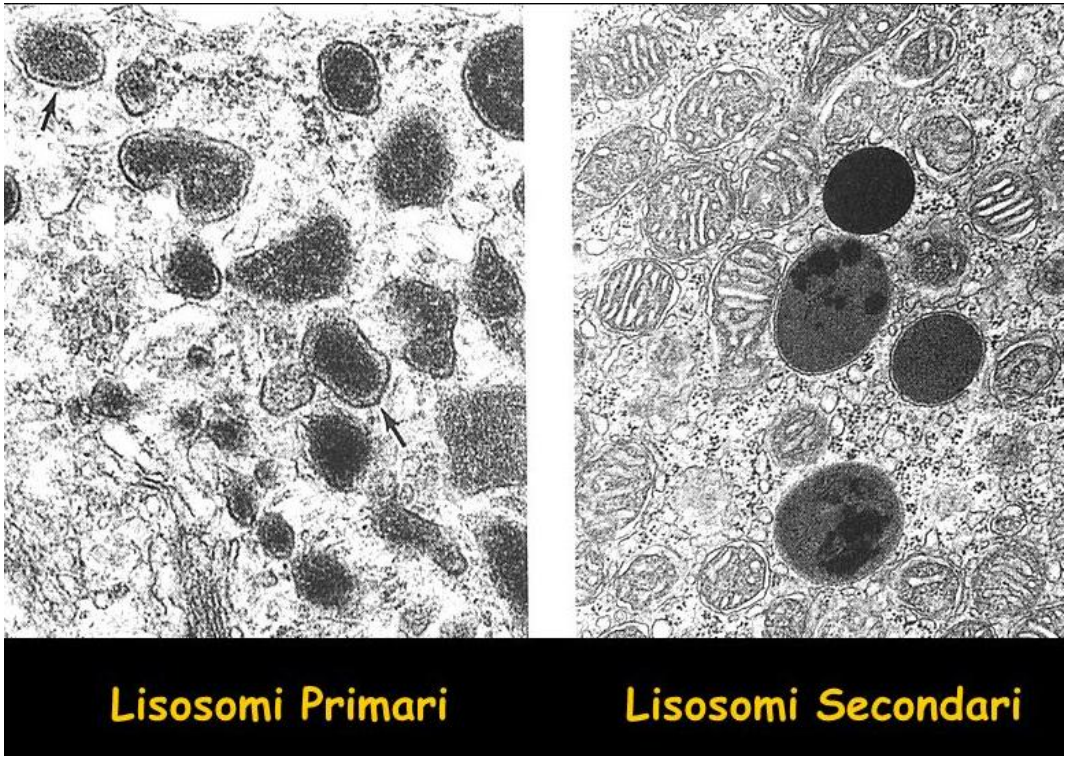
Gli enzimi idrolitici dei lisosomi sono detti **idrolasi acide** e comprendono **proteasi** (che tagliano le proteine), **nucleasi** (che tagliano gli acidi nucleici), **glicosidasi**, **lipasi** ecc.

In tutti i casi, però, è sempre presente la **fosfatasi acida**, che è quindi **l'enzima marcatore** dei lisosomi.




Interno della cellula
1 Un lisosoma primario viene generato dal Golgi.
Apparato di Golgi
Lisosoma primario
2 Il lisosoma si fonde con un fagosoma.
Fagosoma
Lisosoma secondario
3 Le piccole molecole generate dalla digestione diffondono nel citoplasma.
Particelle di cibo assunte per fagocitosi
Membrana citoplasmatica
4 Il materiale non digerito viene rilasciato.
Esterno della cellula

I LISOSOMI



Si riconoscono:

Lisosomi primari, neoformati dall'apparato di Golgi, non hanno ancora attaccato il substrato da digerire.

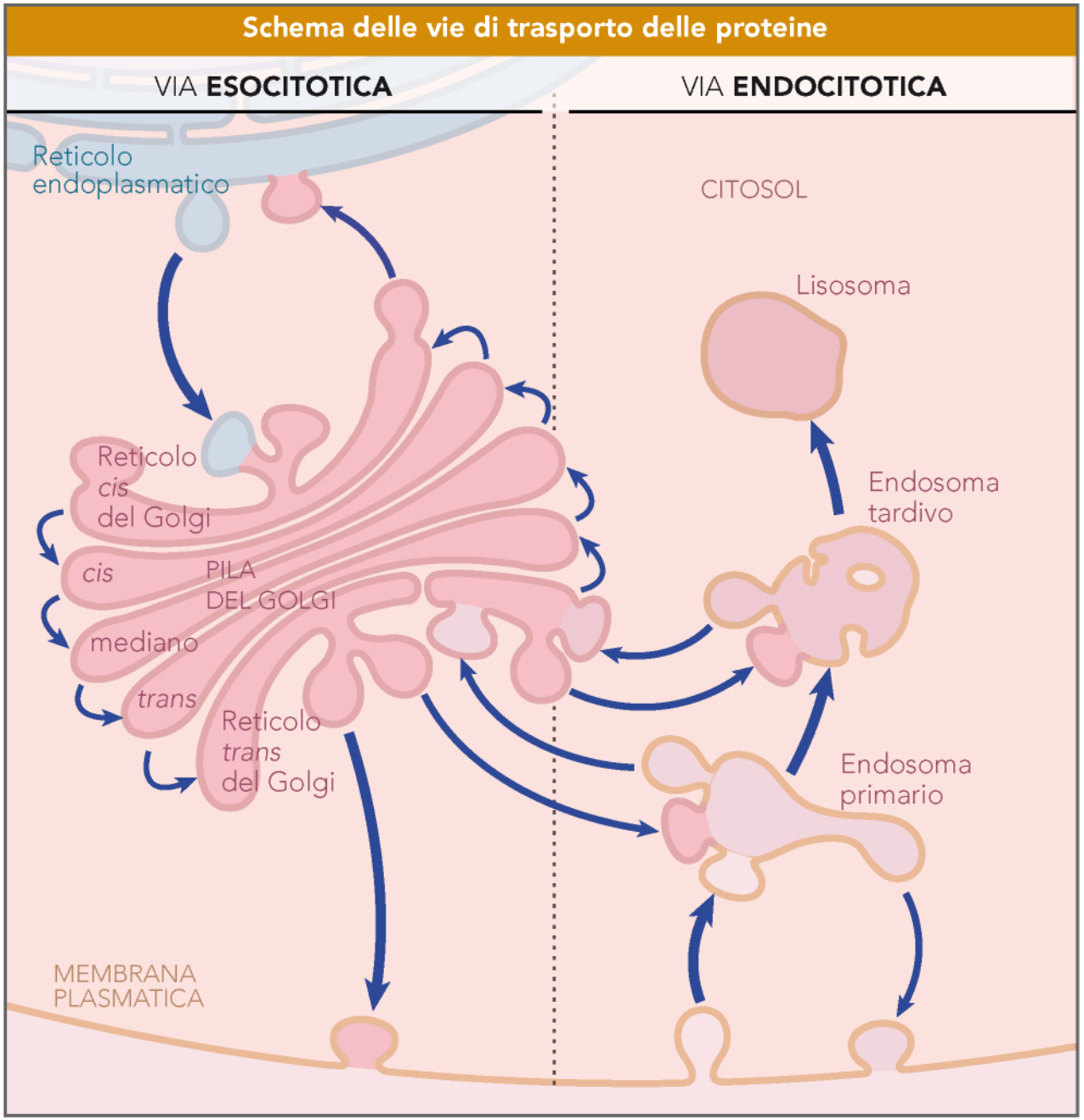
Lisosomi secondari, contengono substrati ed enzimi, sono quelli in cui si sta verificando un processo di digestione.

Corpi residui , contenenti materiali non digeriti.

I LISOSOMI PRIMARI

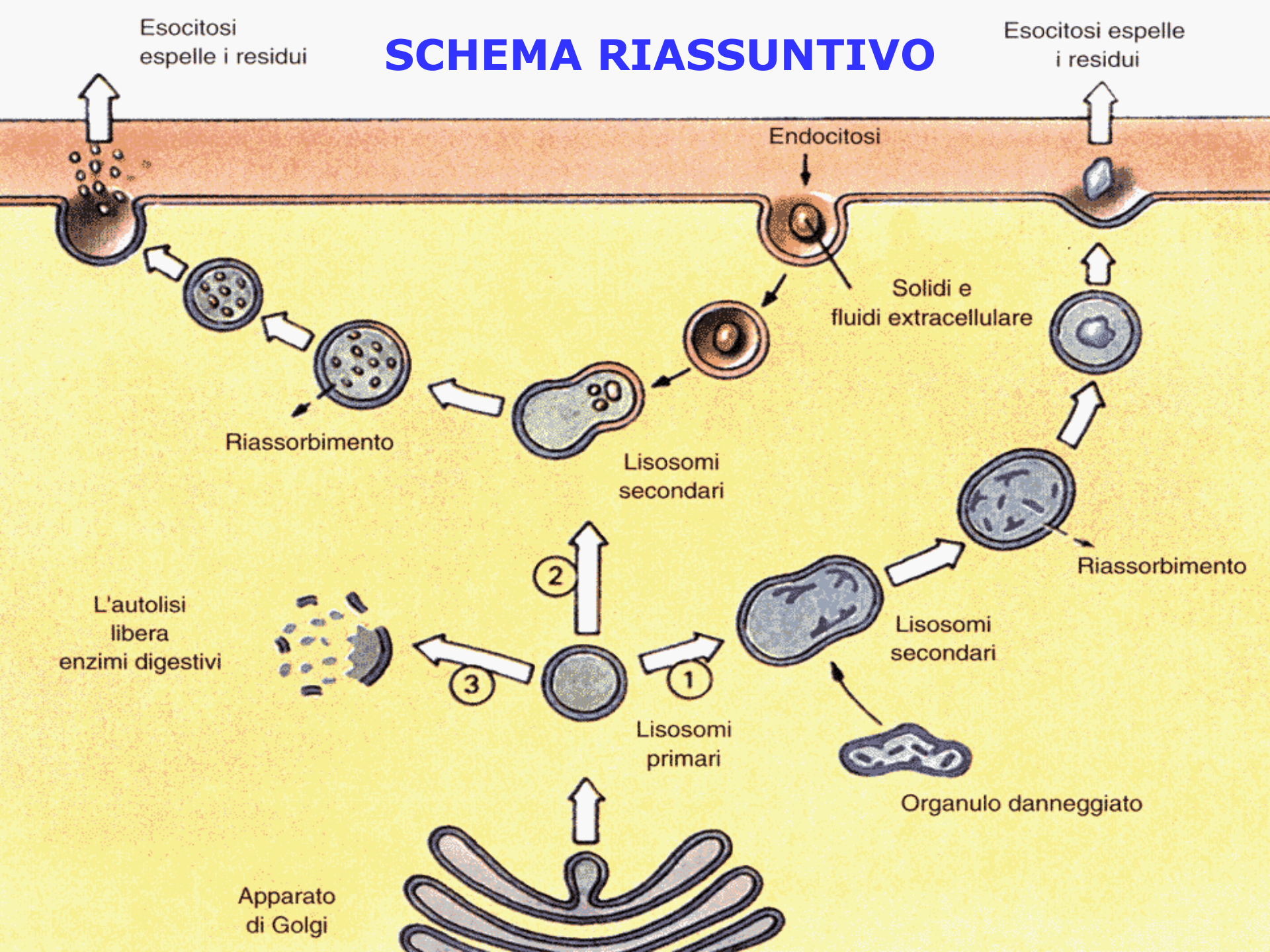
Le **idrolasi non digeriscono i lisosomi primari** per vari motivi:

- ✓ la **scarsità di acqua** disponibile
- ✓ **pH** circa 6,5 (quello ottimale è pH 3 - 5)
- ✓ la membrana è resistente all'azione delle idrolasi grazie a specifiche **glicoproteine transmembrana** che rivestono la sua superficie interna (Mannosio-6-fosfato, M6P).
- ✓ il **fosforo** legato al mannosio **inattiva tutte le idrolasi**, eccetto la fosfatasi che tuttavia non può agire per la scarsità di acqua e per il pH non ottimale.



La **fusione** tra **lisosomi primari** ed **endosomi tardivi** permette alle idrolasi lisosomiali di trovare le condizioni ottimali per la loro azione (l'acqua e il pH tra 3 e 5).

SCHEMA RIASSUNTIVO



MALATTIE LISOSOMIALI

L'importanza dei lisosomi è dimostrata dallo studio di un gruppo di malattie note come **malattie da accumulo lisosomiale**, quando una cellula non è in grado di digerire (idrolizzare) una più macromolecole, queste si accumulano nei lisosomi. (es. malattia di Tay-Sachs)

Questi fenomeni sono particolarmente gravi nelle **cellule nervose**, ma molti organi vengono coinvolti.

Individui carenti dell'enzima che fosforila il mannosio presentano malattie da deposito lisosomiale (**Malattia delle cellule I**) pur non essendo carenti dei geni per la sintesi degli enzimi lisosomiali

Malattie da accumulo lisosomiale

Patologia	Sintomo	Difetto enzimatico	Sostanza accumulata
Glicogenosi di tipo II	Debolezza muscolare	α-glucosidasi	Glicogeno
Malattia di Gaucher	Epatosplenomegalia, erosione ossea	Sfingomielidasi	Glucocerebroside
Leucodistrofia metacromatica	Ritardo mentale	Solfatidasi	Solfatide
Malattia di Fabry	Eritemi, disfunzioni renali	α-galattosidasi	Ceramide triesoside
Malattia di Tay-Sachs	Ritardo mentale, cecità, debolezza muscolare	β-N-acetileossaminasi	Ganglioside
Malattia pseudo-Hurler	Epatosplenomegalia, deformità scheletriche	α-galattosidasi	Ganglioside
Malattia di Nieman-Pick	Epatosplenomegalia, ritardo mentale	β-N-acetileossaminasi	Ganglioside

I PEROSSISOMI

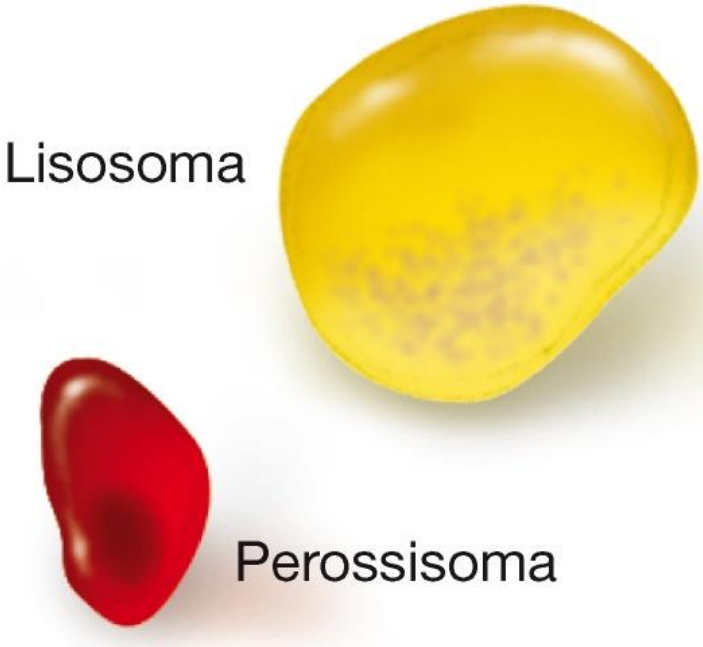
I PEROSSISOMI

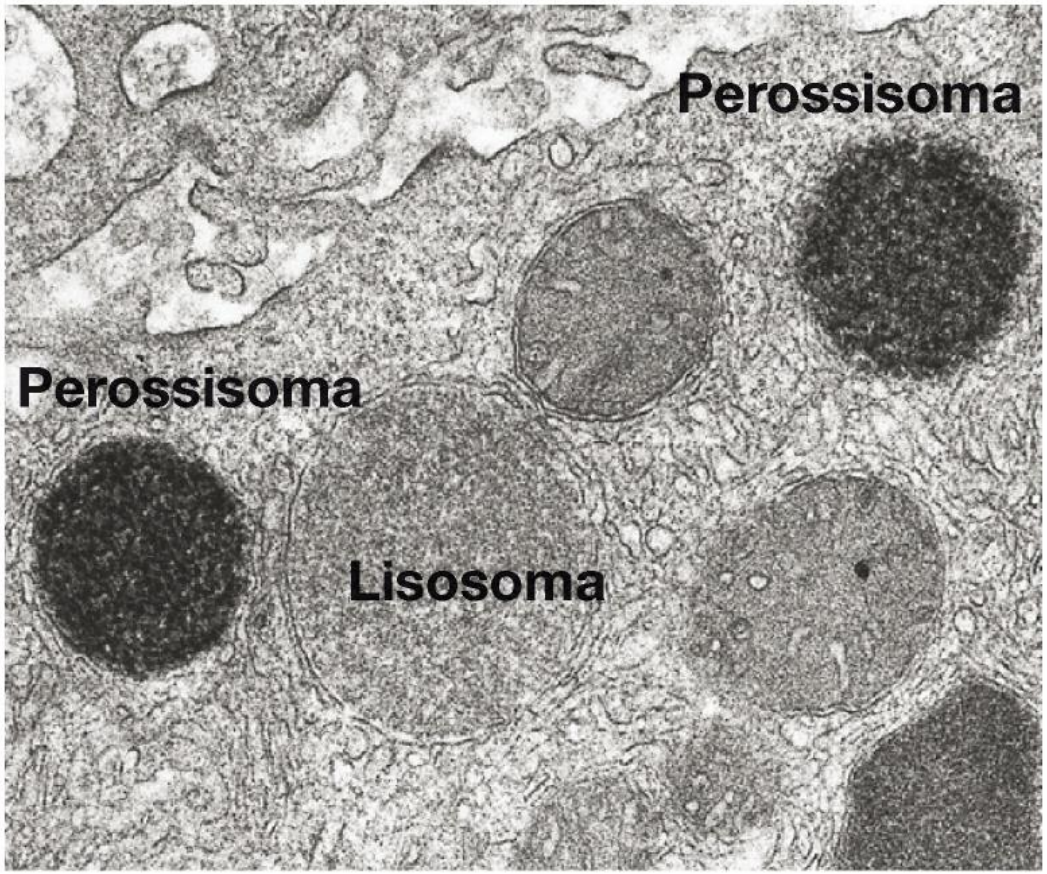
Simili ai lisosomi, differiscono per il contenuto enzimatico.

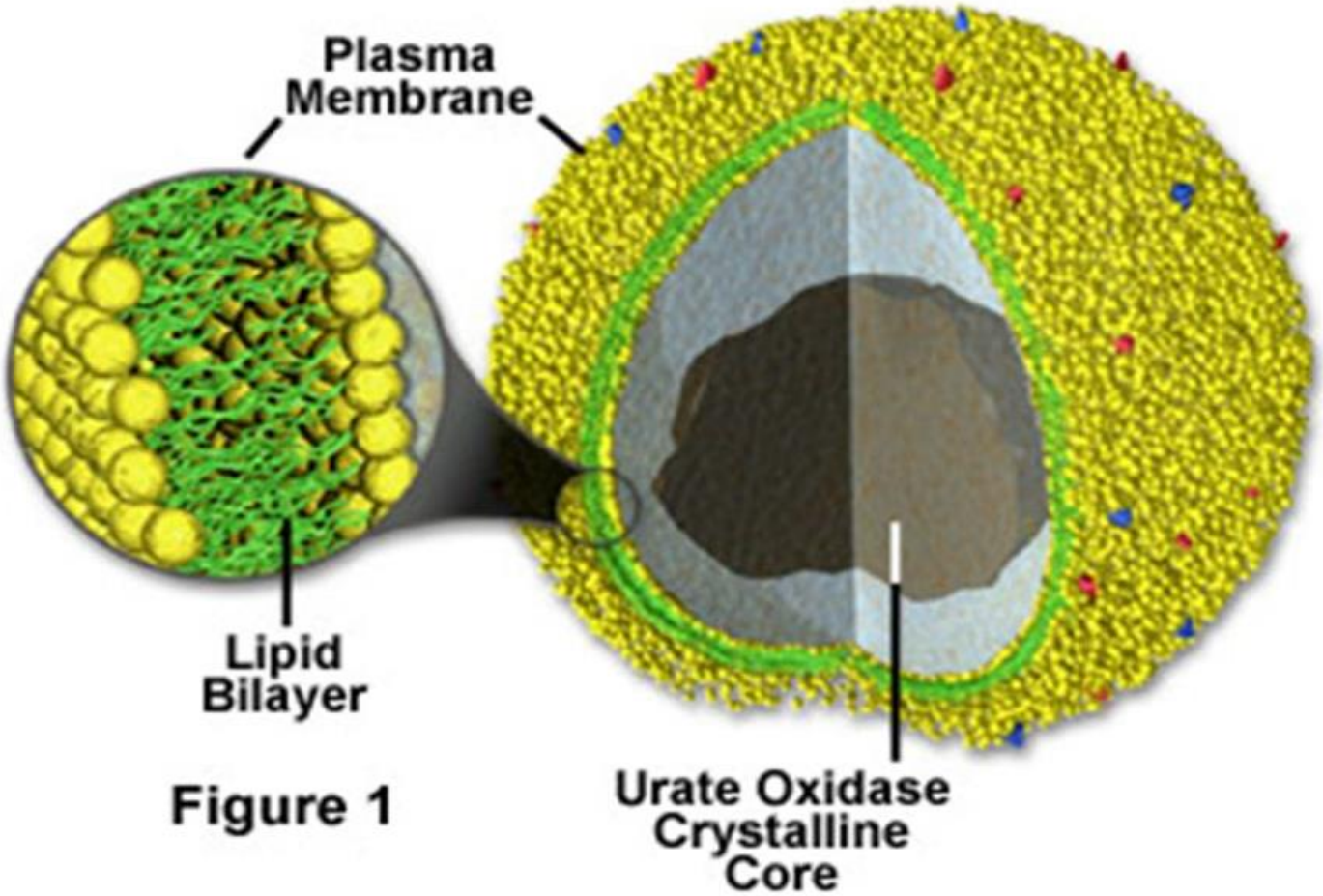
I perossisomi contengono le **catalasi**, **enzimi specializzati per effettuare reazioni ossidative**, che impiegano l'ossigeno molecolare.

- ✓ Il perossisoma, con il mitocondrio, è il principale sito di utilizzazione dell'ossigeno nella cellula.
- ✓ Grossi perossisomi delle cellule del fegato e del rene sono importanti nel **neutralizzare la tossicità di numerose molecole che vengono ossidate** (per esempio, quasi la metà dell'**alcol** che beviamo viene neutralizzata nei perossisomi).

I PEROSSISOMI





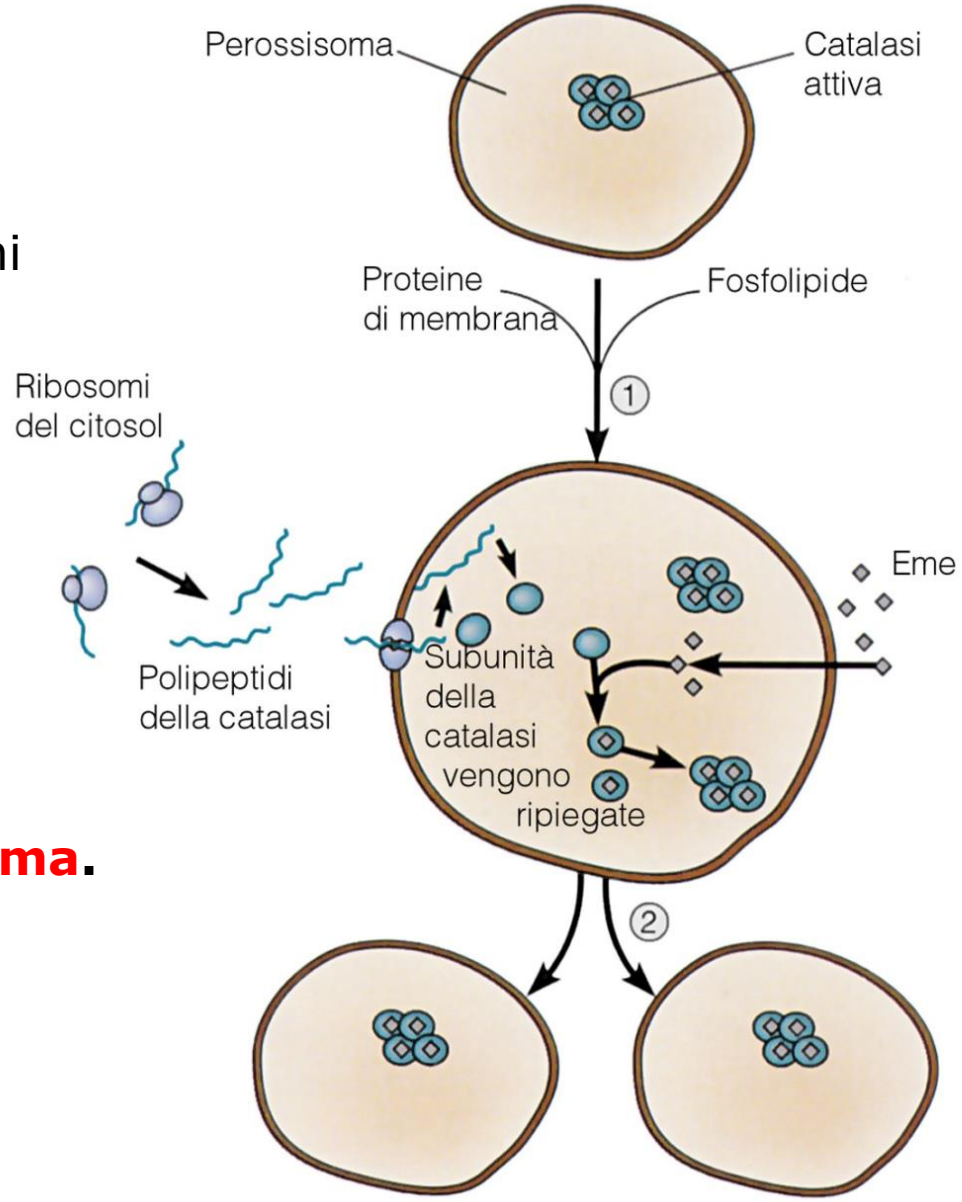


I perossisomi assorbono e **scindono** **acidi grassi e altri composti organici**; viene generato **perossido di idrogeno (H_2O_2)** poi scisso in ossigeno e acqua dalla **catalasi** che è l'enzima più caratteristico di questi organelli (40%).

BIOGENESI dei PEROSSISOMI

La biogenesi avviene per suddivisione di perossisomi preesistenti.

Le **proteine** provengono **da ribosomi liberi** nel citoplasma e le proteine **maturano nel perossisoma**.



PRINCIPALI FUNZIONI DEI PEROSSISOMI

DETOSSIFICAZIONE

- nei perossisomi vengono **degradate sostanze nocive** introdotte nell'organismo, quali alcol etilico, alcol metilico, fenoli, nitriti...

RIMOZIONE DEI RADICALI LIBERI E ROS

- in collaborazione con enzimi citoplasmatici, i perossisomi provvedono a rimuovere i **radicali liberi** e le **forme reattive dell'ossigeno** (**ROS**) che si formano durante le normali attività metaboliche della cellula.

PRINCIPALI FUNZIONI DEI PEROSSISOMI

OSSIDAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI:

- Avviene **in tutti gli eucarioti, eccetto i mammiferi**.

Nei mammiferi, la degradazione degli acidi grassi a catena lunga (C16-24) o ramificati inizia nei perossisomi fino alla produzione di acidi grassi a catena corta (C12) o lineari, che vengono degradati a acetilcoenzima A nei mitocondri.

OSSIDAZIONE DELL'ACIDO URICO

- l'acido urico è **prodotto nella degradazione delle purine degli acidi nucleici**. Nelle specie che possiedono l'enzima urato-ossidasi, l'acido urico è **trasformato in allantoina**, che a sua volta è degradata ed espulsa. I primati, non possedendo l'urato-ossidasi, espellono l'acido urico tal quale nelle urine.

I PEROSSISOMI

Perossisomi nelle cellule animali

Perossisomi nelle cellule vegetali

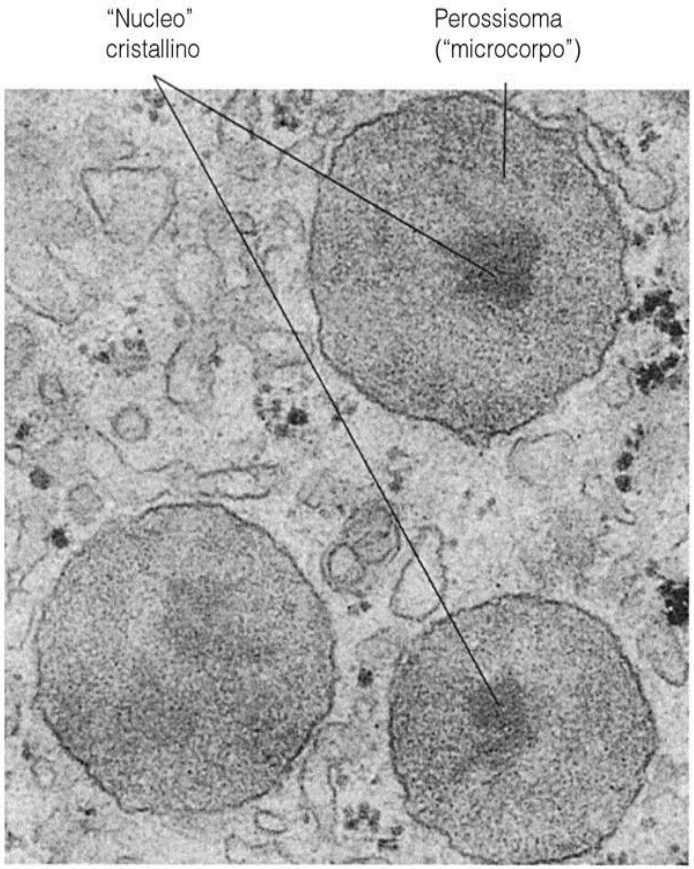


Figura 12-24

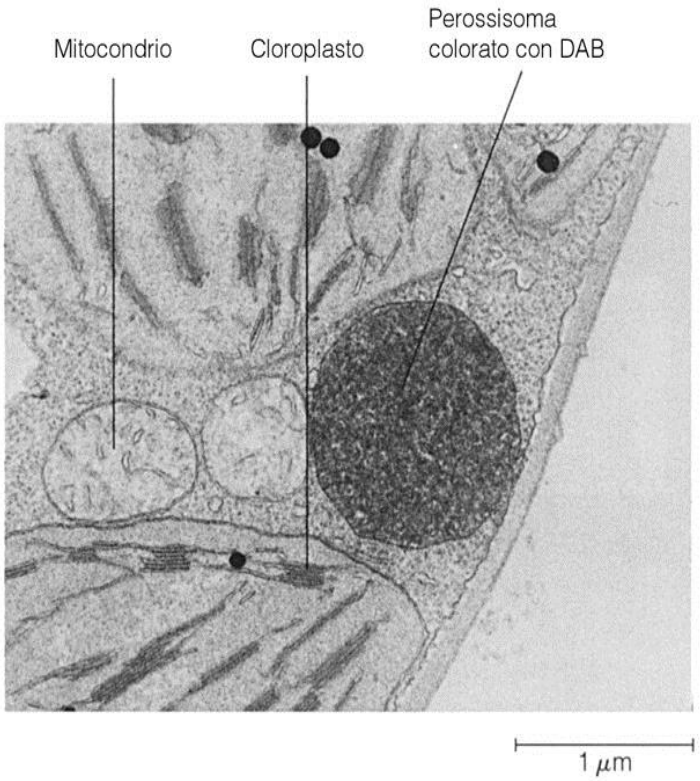
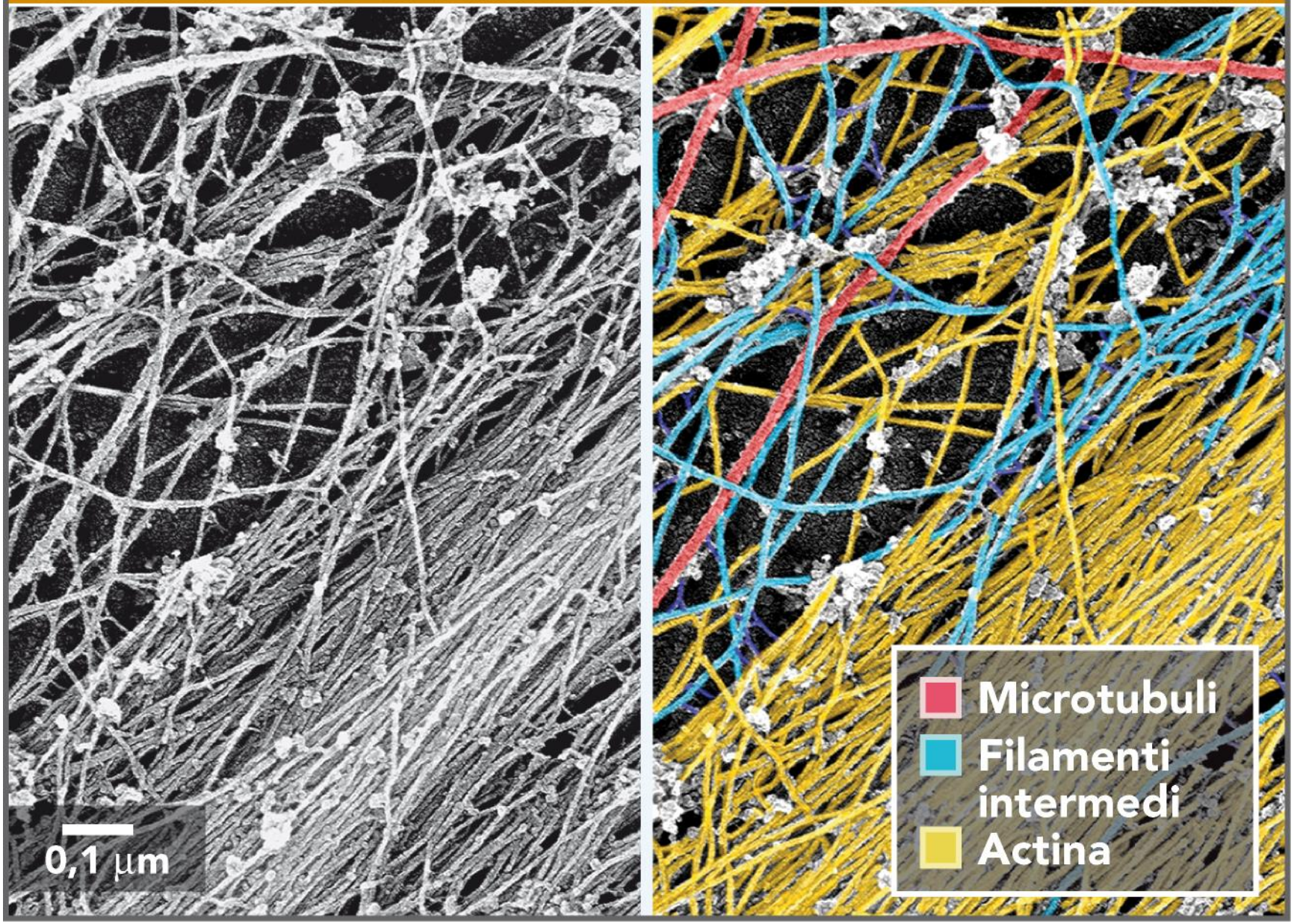


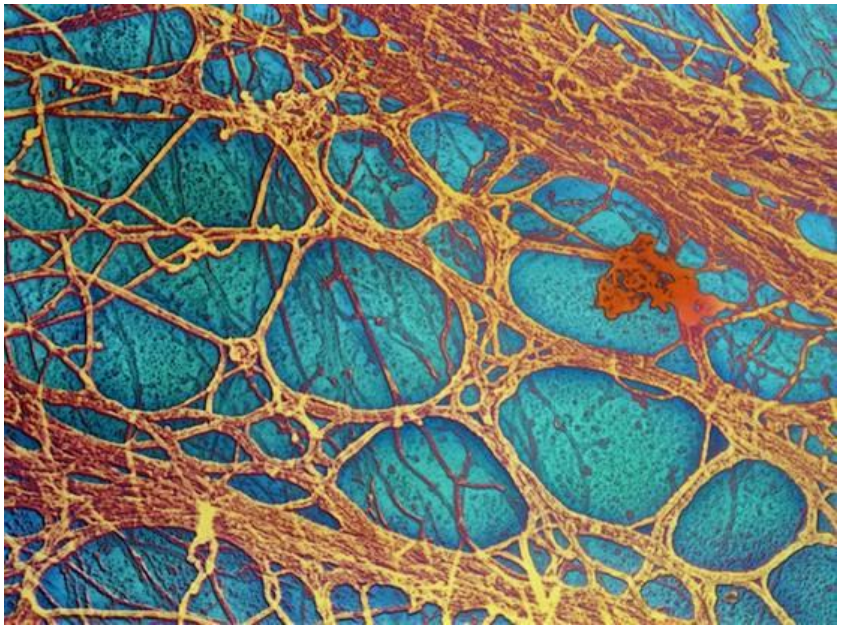
Figura 12-25

IL CITOSCHELETRO

Il citoscheletro



IL CITOSCHELETRO



E' costituito da 3 tipi di strutture proteiche:

1. **Microfilamenti**
2. **Filamenti intermedi**
3. **Microtubuli**

Svolge **3 funzioni** :

- mantiene la **forma cellulare**
- provvede a vari tipi di **movimento cellulare**
- contribuisce allo **spostamento di corpi** all'interno della cellula

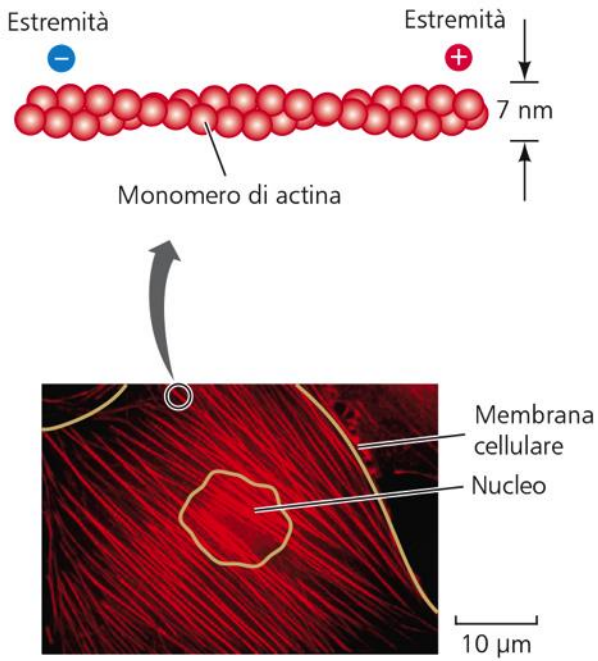
COMPONENTI del CITOSCHELETRO

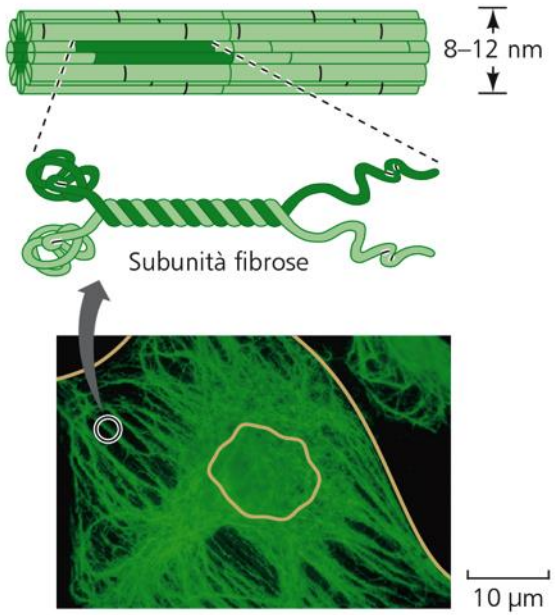
MICROFILAMENTI: sono la **componente contrattile**. Sono costituiti da monomeri di **actina** assemblati a formare fibre del diametro di 5 nm in attiva polimerizzazione e depolimerizzazione.

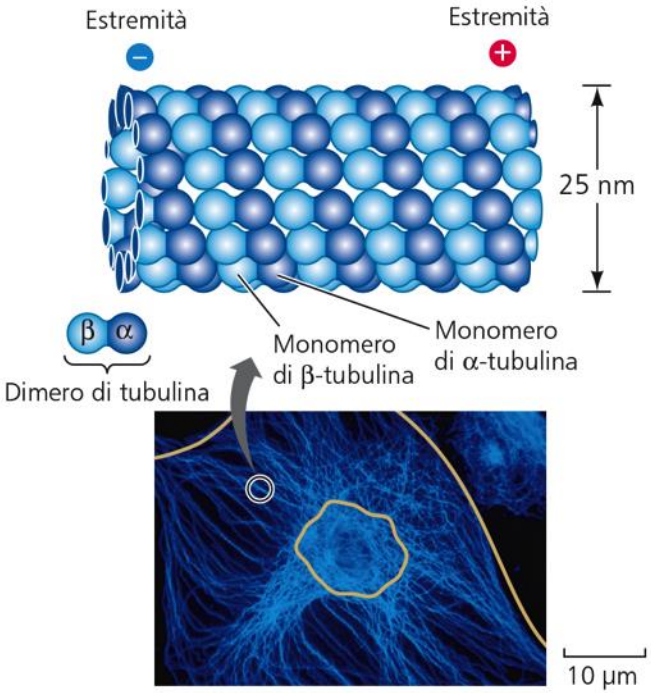
FILAMENTI INTERMEDI: servono per il **mantenimento della forma cellulare**. Presentano **natura chimica specifica** per ogni tipo cellulare. Hanno un diametro fra 8 e 10 nm e sono formati dall'avvolgimento di subunità fibrose (α e β).

MICROTUBULI: servono a determinare i **cambiamenti di forma** ed a permettere il **movimento delle vescicole**. Sono costituiti da **dimeri di α e β tubulina,** organizzati in tubuli del diametro di 25 nm.

IL CITOSCHELETRO





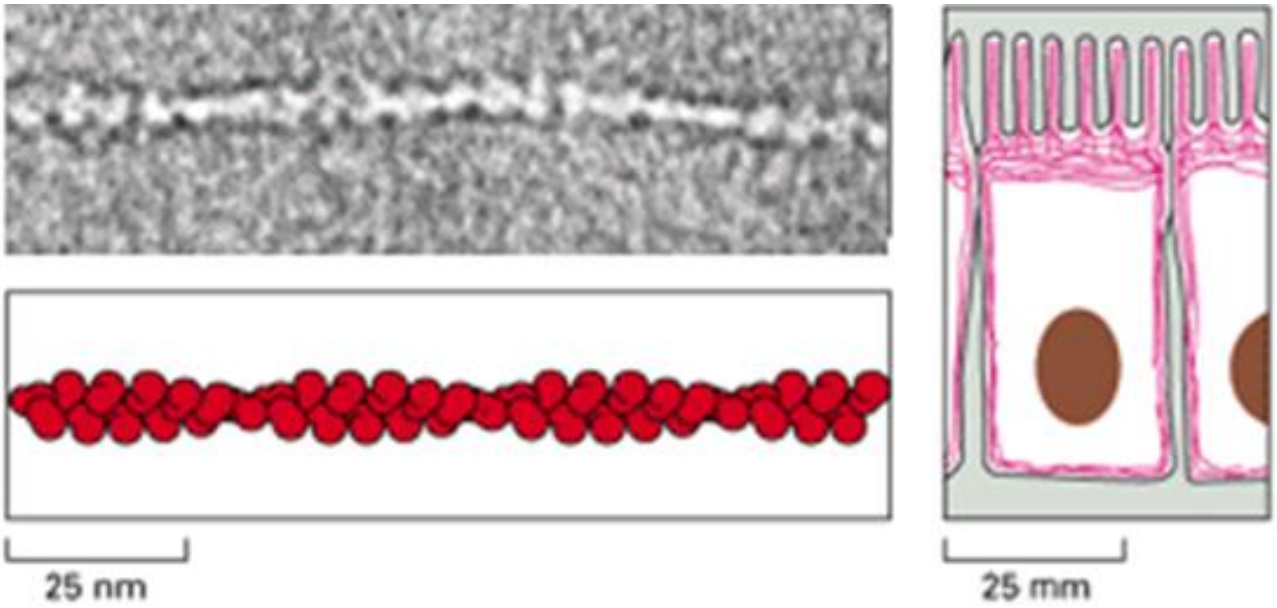


A **Microfilamenti**
Consistono di filamenti composti di actina; spesso interagiscono con filamenti di altre proteine.

B **Filamenti intermedi**
Sono composti da proteine fibrose organizzate in strutture robuste, simili a corde, che stabilizzano e mantengono la forma della cellula.

C **Microtubuli**
Lunghe strutture cilindriche cave composte da molte molecole di tubulina. La tubulina è una proteina costituita da due subunità: l'α-tubulina e la β-tubulina.

I MICROFILAMENTI



Sono composti dalla proteina **ACTINA**.

Hanno 2 funzioni principali :

- **Ancoraggio** del citoscheletro alle proteine di membrana
- Contribuiscono al **movimento della cellula** intera o di parti di essa.

I **filamenti di actina** si legano alla membrana plasmatica tramite uno svariato numero di proteine che fanno da ponte a **proteine transmembrana**, ad esempio le **integrine**.

Le integrine a loro volta si legano a specifici componenti della **matrice extracellulare**.

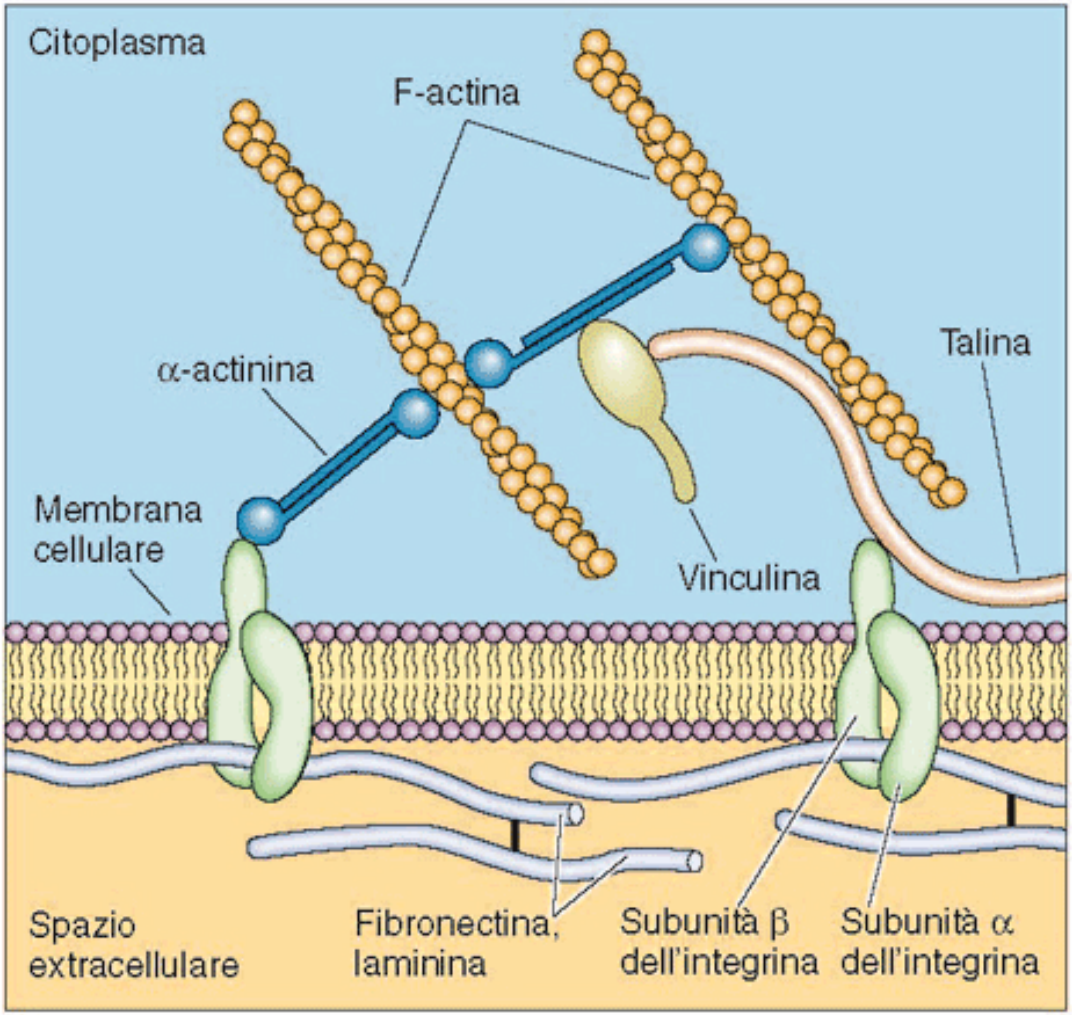
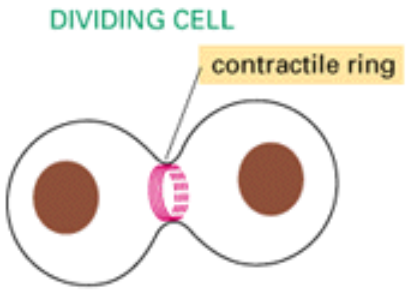
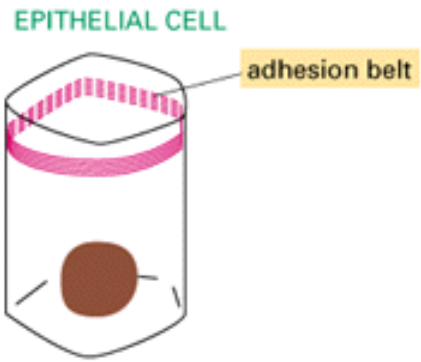


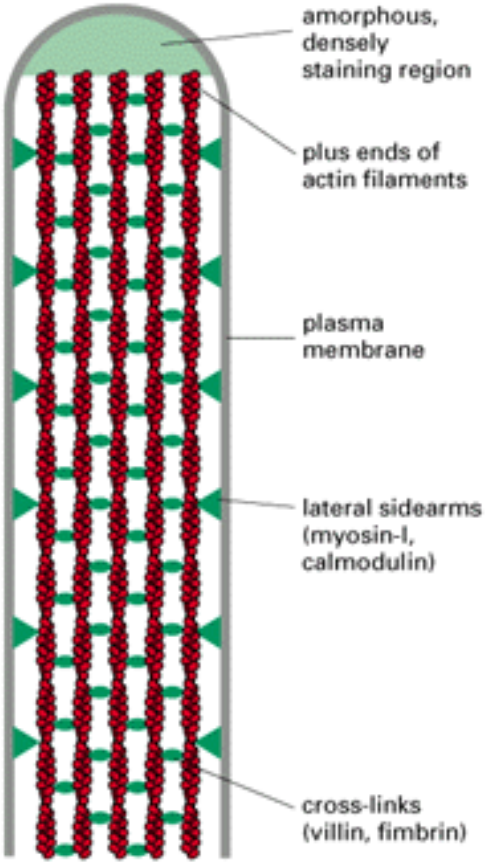
Figura 2–29 Rappresentazione schematica del citoscheletro. I recettori cellulari per la laminina e la fibronectina, presenti nelle molecole delle integrine, si legano a queste molecole presenti nello spazio extracellulare. La regione intracellulare di questi recettori si lega alla talina o alla a-actinina. In questo modo le integrine fanno da ponte fra il citoscheletro e la matrice extracellulare.

I MICROFILAMENTI

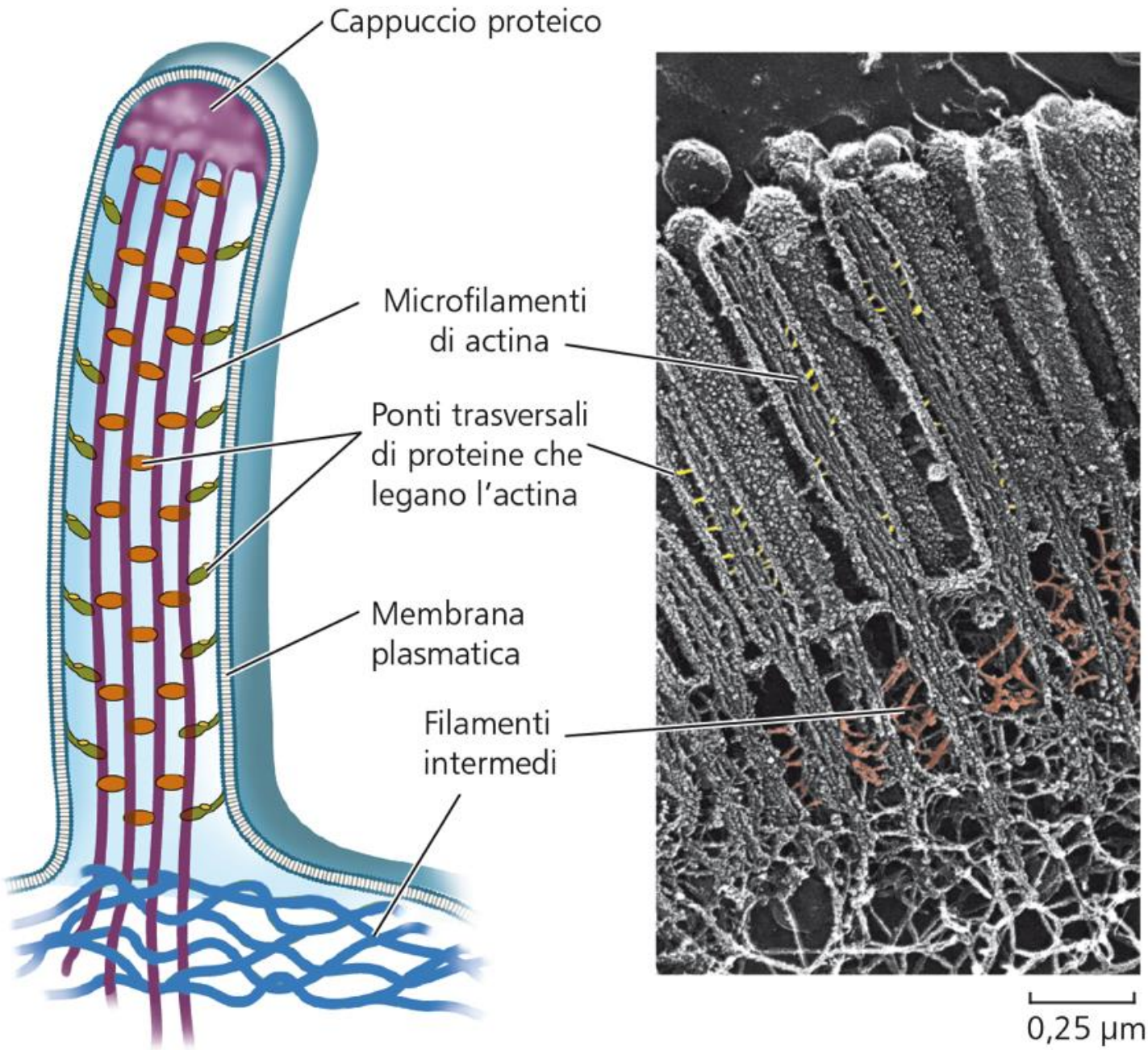


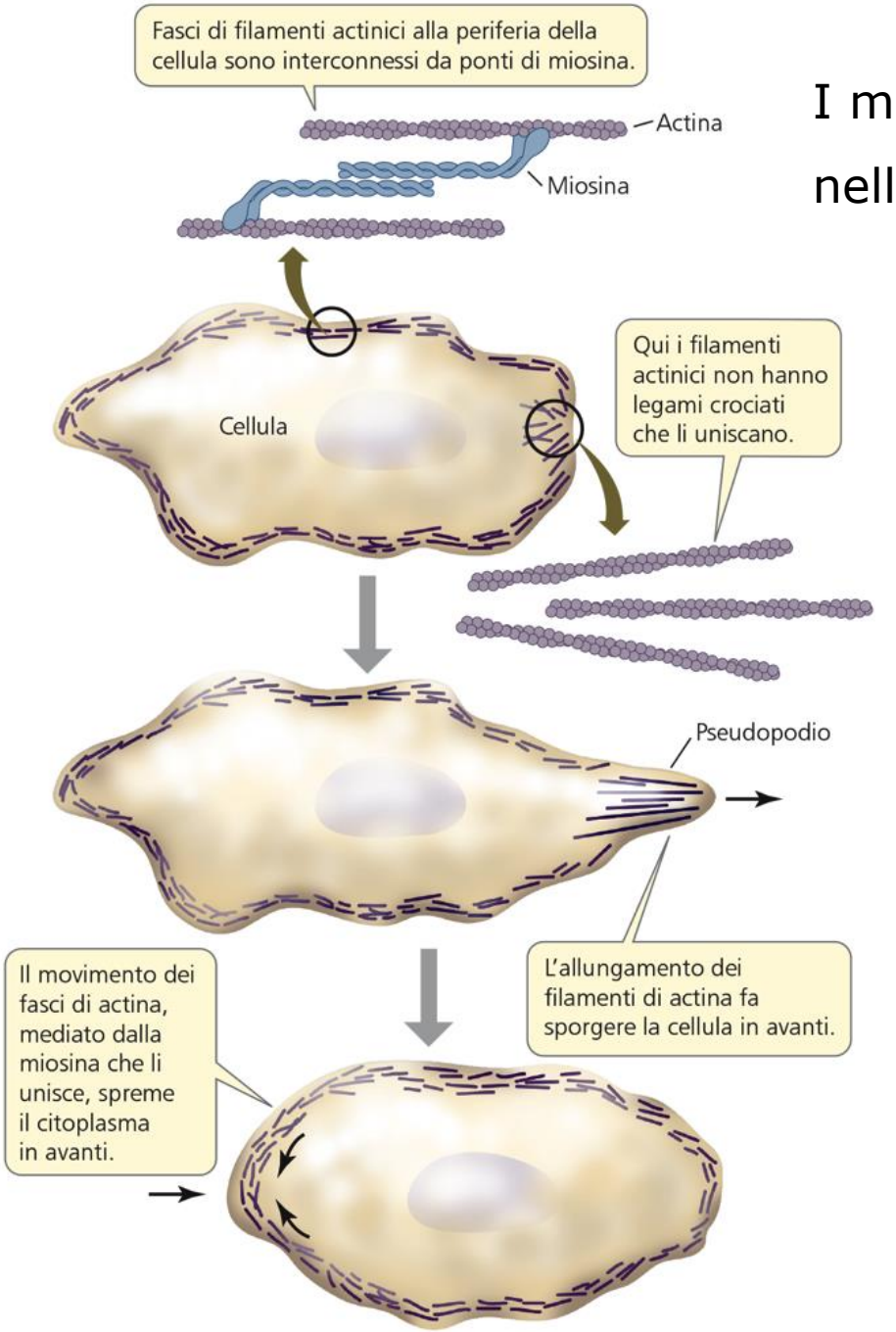


I microfilamenti sono **implicati nella divisione cellulare** , dove la contrazione di un anello di actina associata alla miosina causa al costrizione della cellula per dare origine a due cellule figlie.



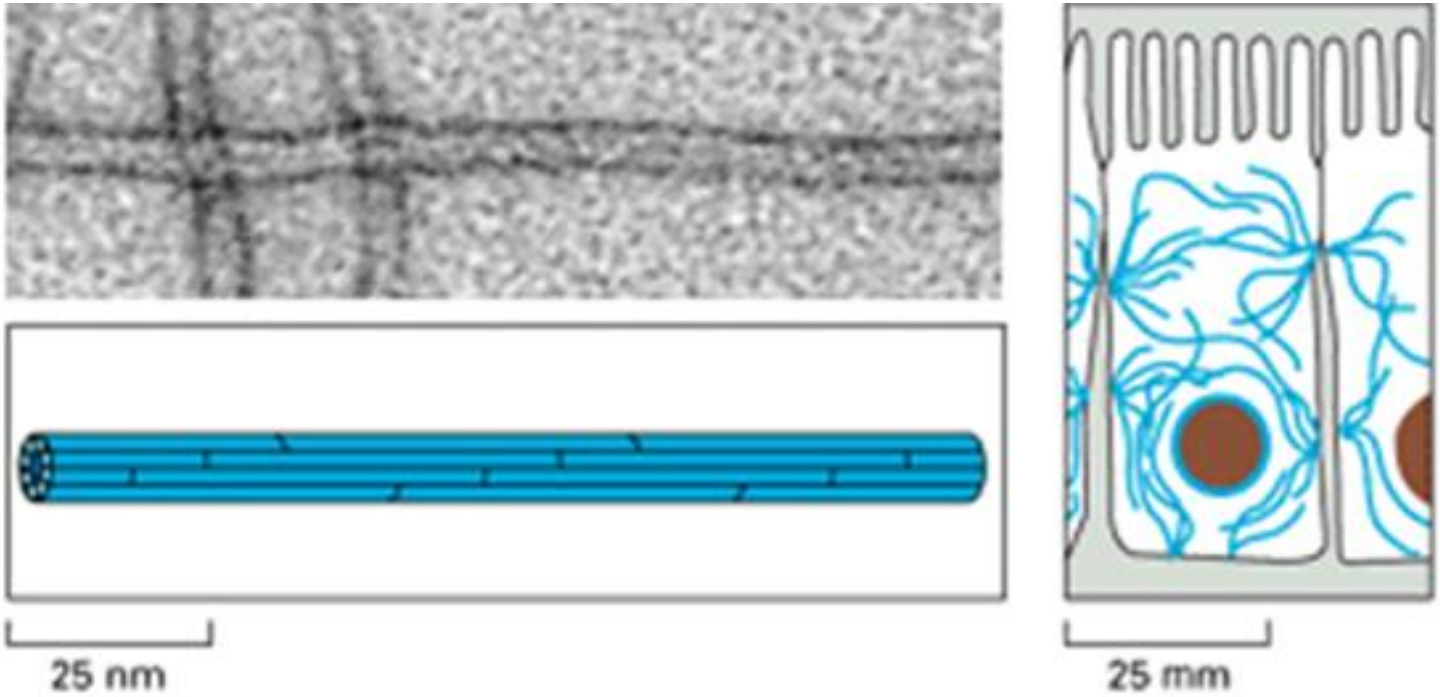
I microfilamenti costituiscono lo scheletro dei microvilli intestinali


Cappuccio proteico
Microfilamenti di actina
Ponti trasversali di proteine che legano l'actina
Membrana plasmatica
Filamenti intermedi
0,25 µm



I microfilamenti sono coinvolti anche nella formazione di **pseudopodi**

I FILAMENTI INTERMEDI



I filamenti intermedi sono costituiti da **proteine organizzate in fasci** durevoli e resistenti (sono le strutture più stabili del citoscheletro).

FUNZIONI dei FILAMENTI INTERMEDI

Svolgono due funzioni:

- ✓ **stabilizzano la struttura cellulare**
- ✓ **resistono alla tensione**

TIPOLOGIE di FILAMENTI INTERMEDI

FILAMENTI INTERMEDI

CITOPLASMATICI

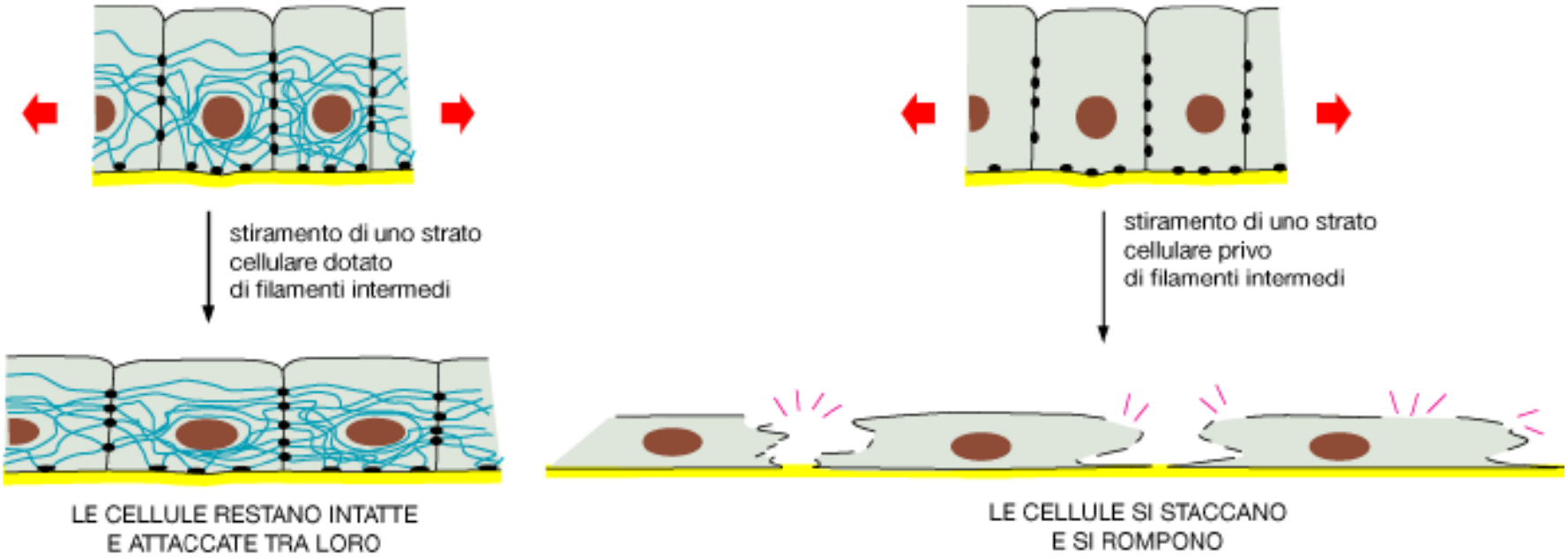
NUCLEARI

cheratine	vimentina e vimentino-simili	neurofilamenti	lamìne nucleari
negli epiteli	nel tessuto connettivo, muscolare e neurogliale	nelle cellule nervose	in tutte le cellule animali

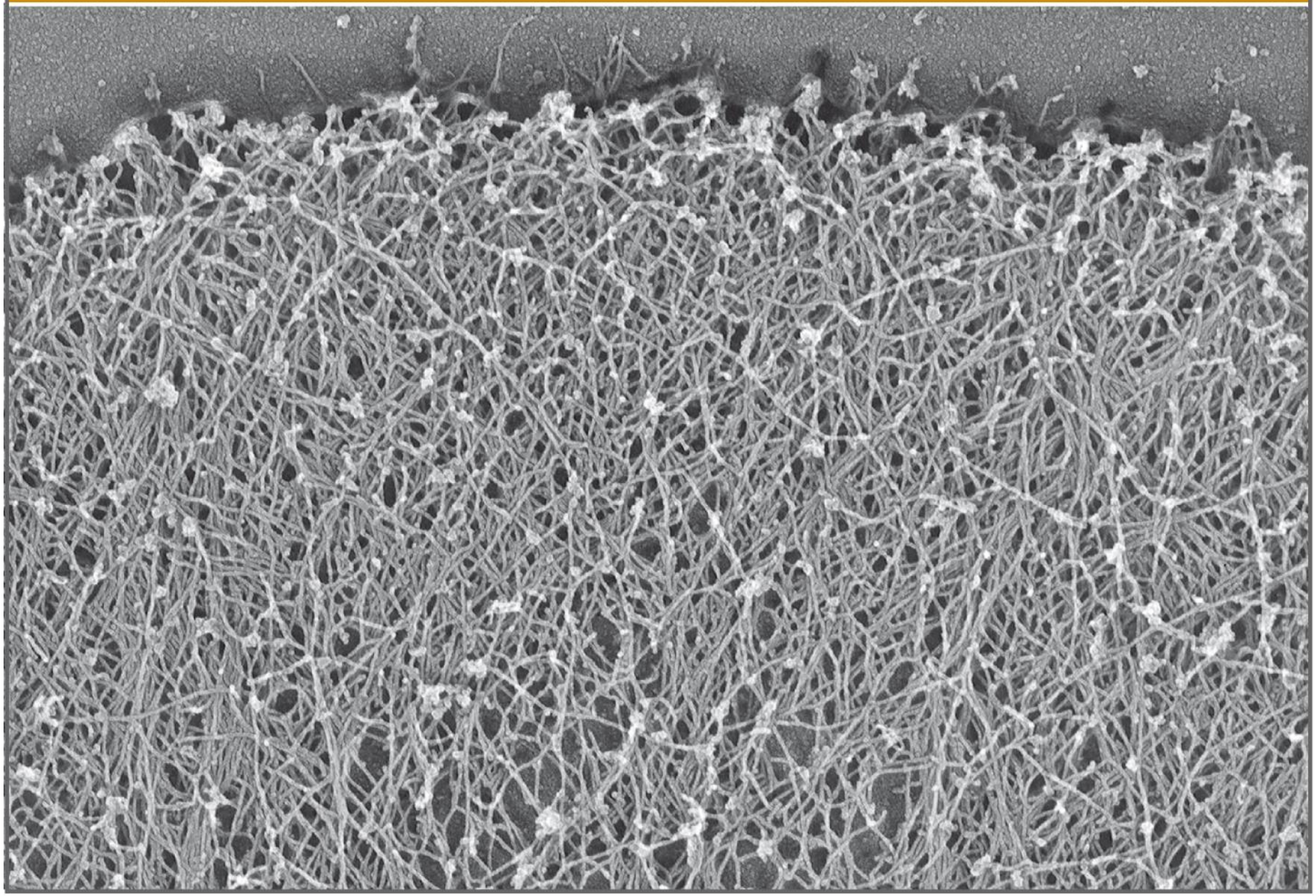
FUNZIONE dei FILAMENTI INTERMEDI

Formano un reticolo in tutto il citoplasma ed un intreccio a canestro intorno al nucleo.

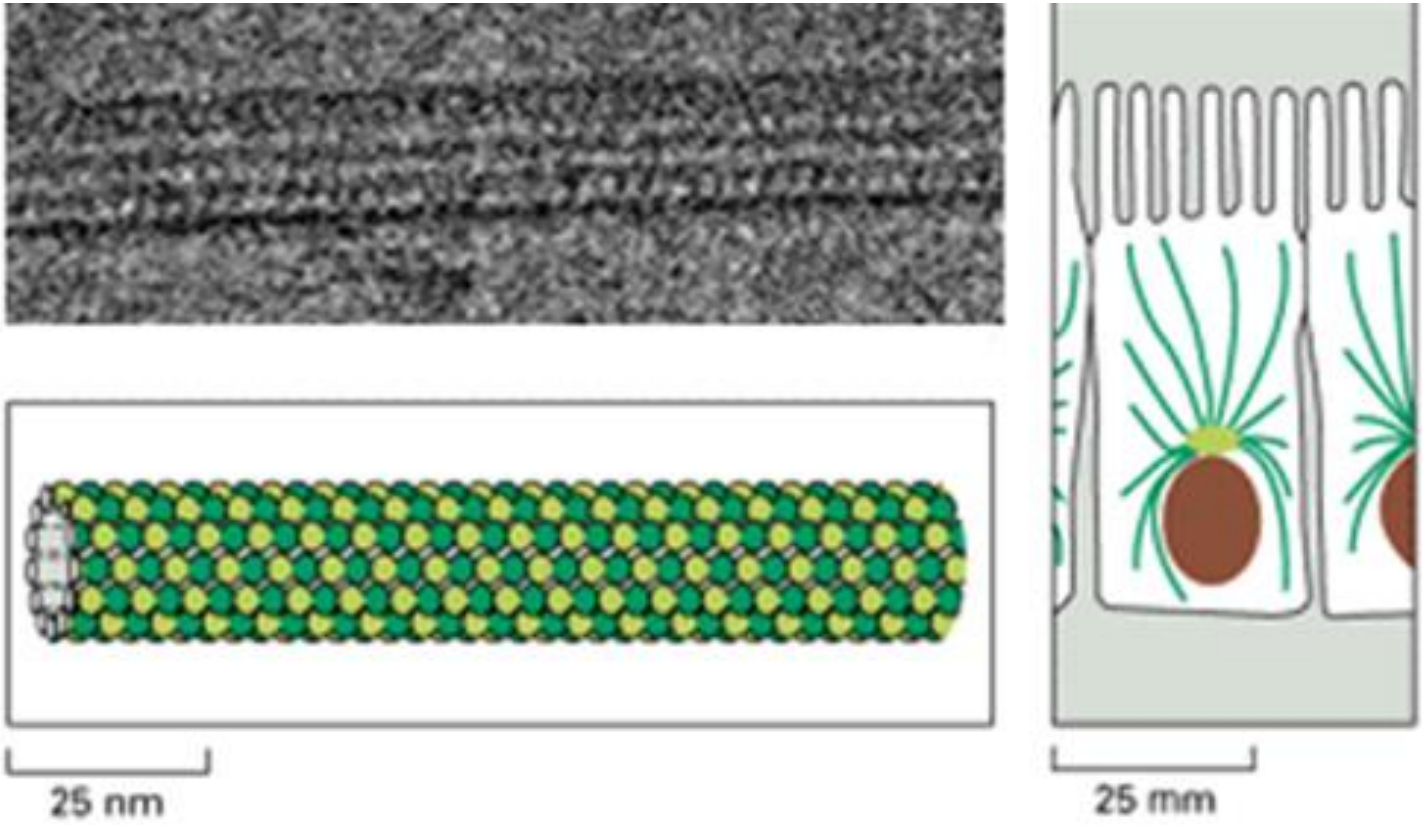
Proteggono le cellule dalle sollecitazioni meccaniche e sono quindi particolarmente sviluppate in cellule sottoposte a sollecitazioni (ad es. tessuto epiteliale)



Un fibroblasto ha una rete di filamenti



I MICROTUBULI



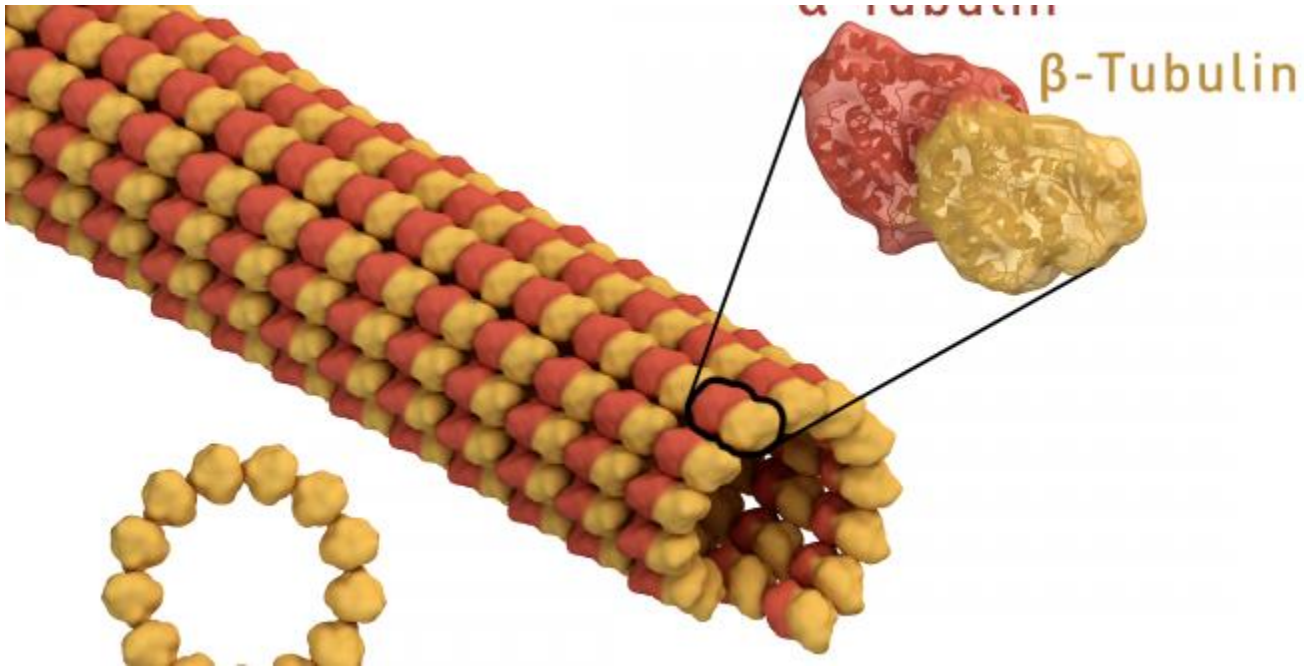
Sono i **filamenti più spessi del citoscheletro**.

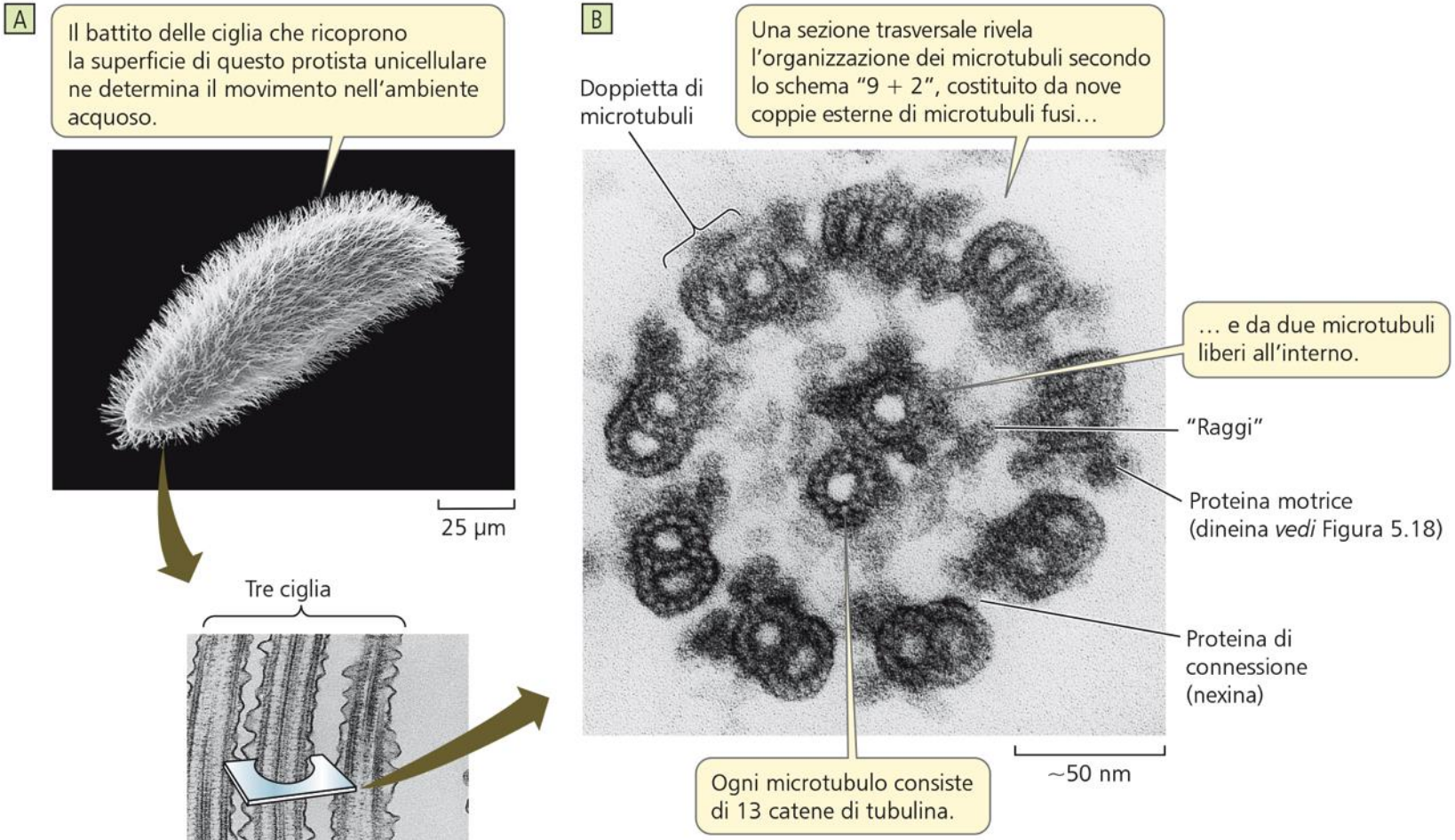
Sono cilindri cavi formati dalla proteina **tubulina**.

FUNZIONI dei MICROTUBULI

Svolgono due funzioni:

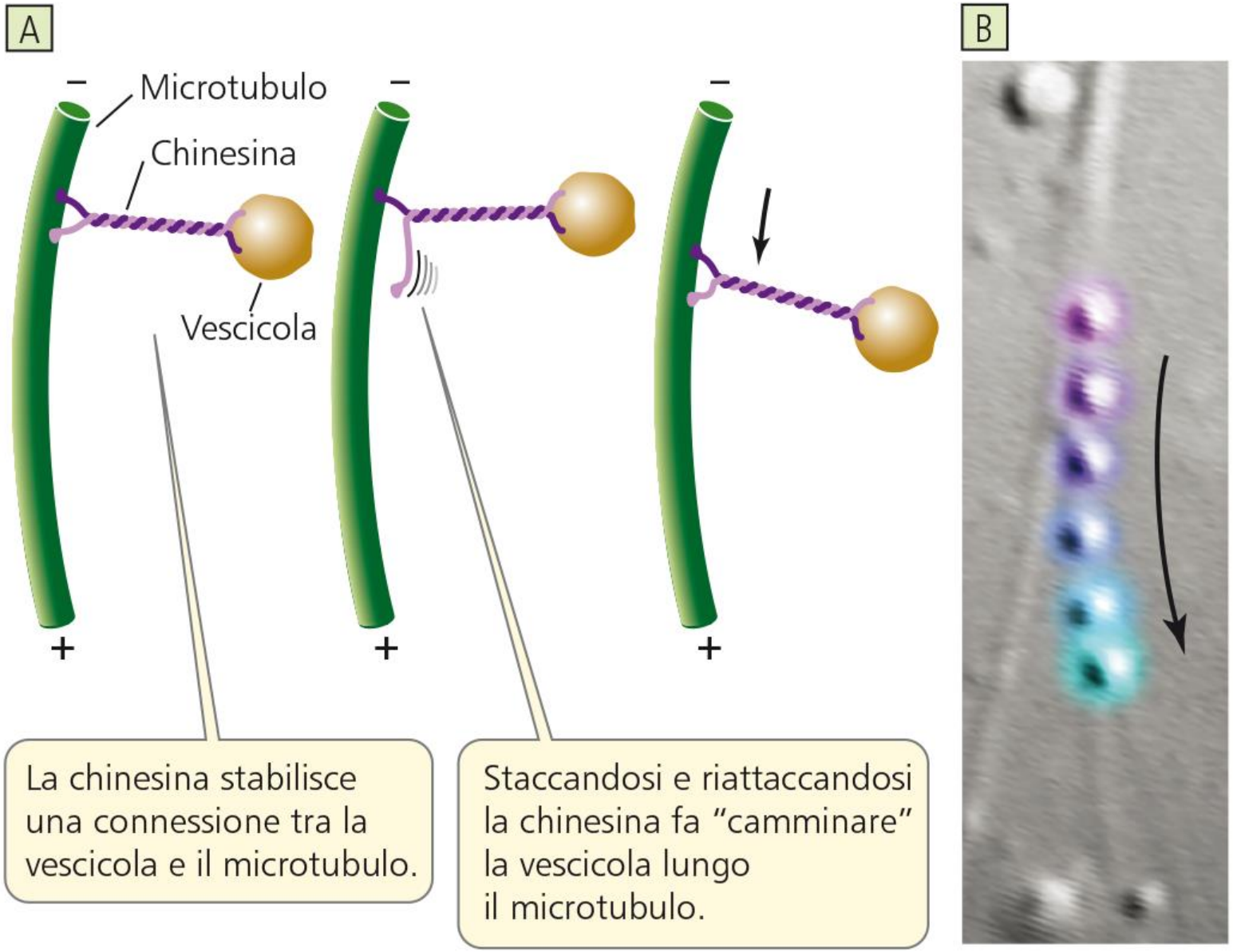
- ✓ In alcune cellule formano un **rigido scheletro interno**
- ✓ In altre fungono da **binari** lungo i quali le proteine motore possono **muovere alcune strutture all'interno della cellula**.



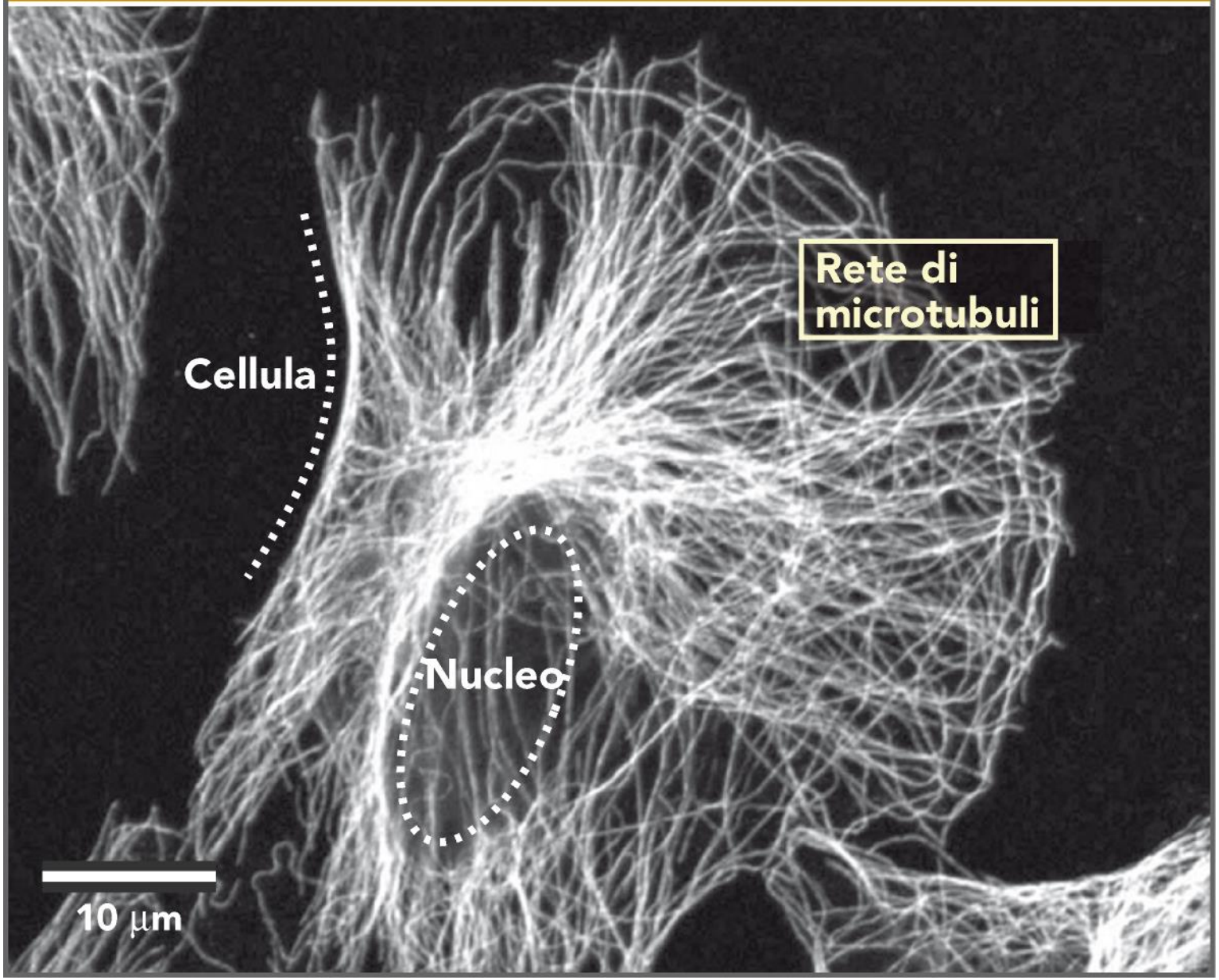


I microtubuli costituiscono inoltre i componenti principali di **strutture specializzate** nel movimento cellulare (**ciglia e flagelli**)

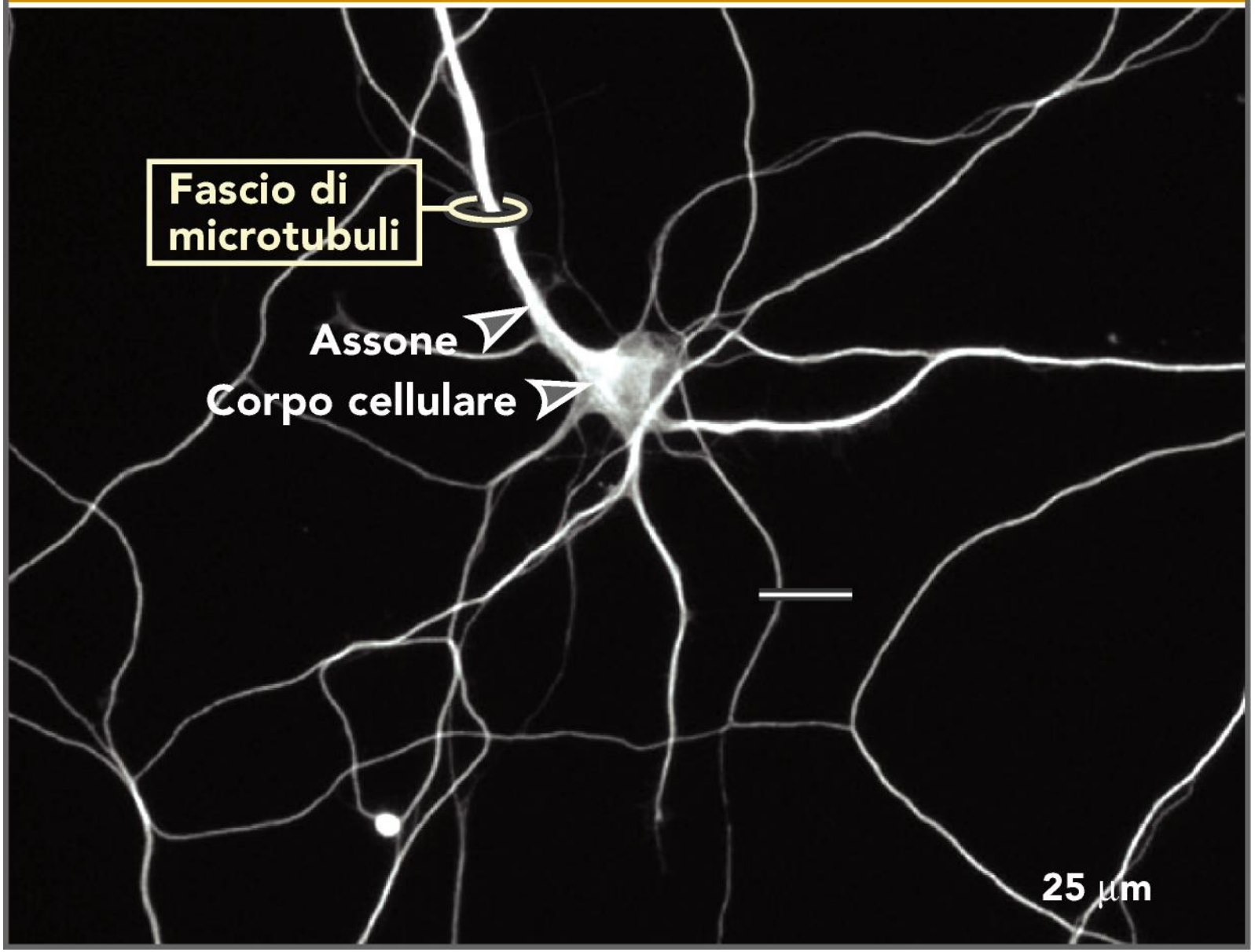
TRASPORTO VESCICOLARE



Un fibroblasto possiede una rete di microtubuli



I neuroni hanno microtubuli molto lunghi



DIVISIONE CELLULARE

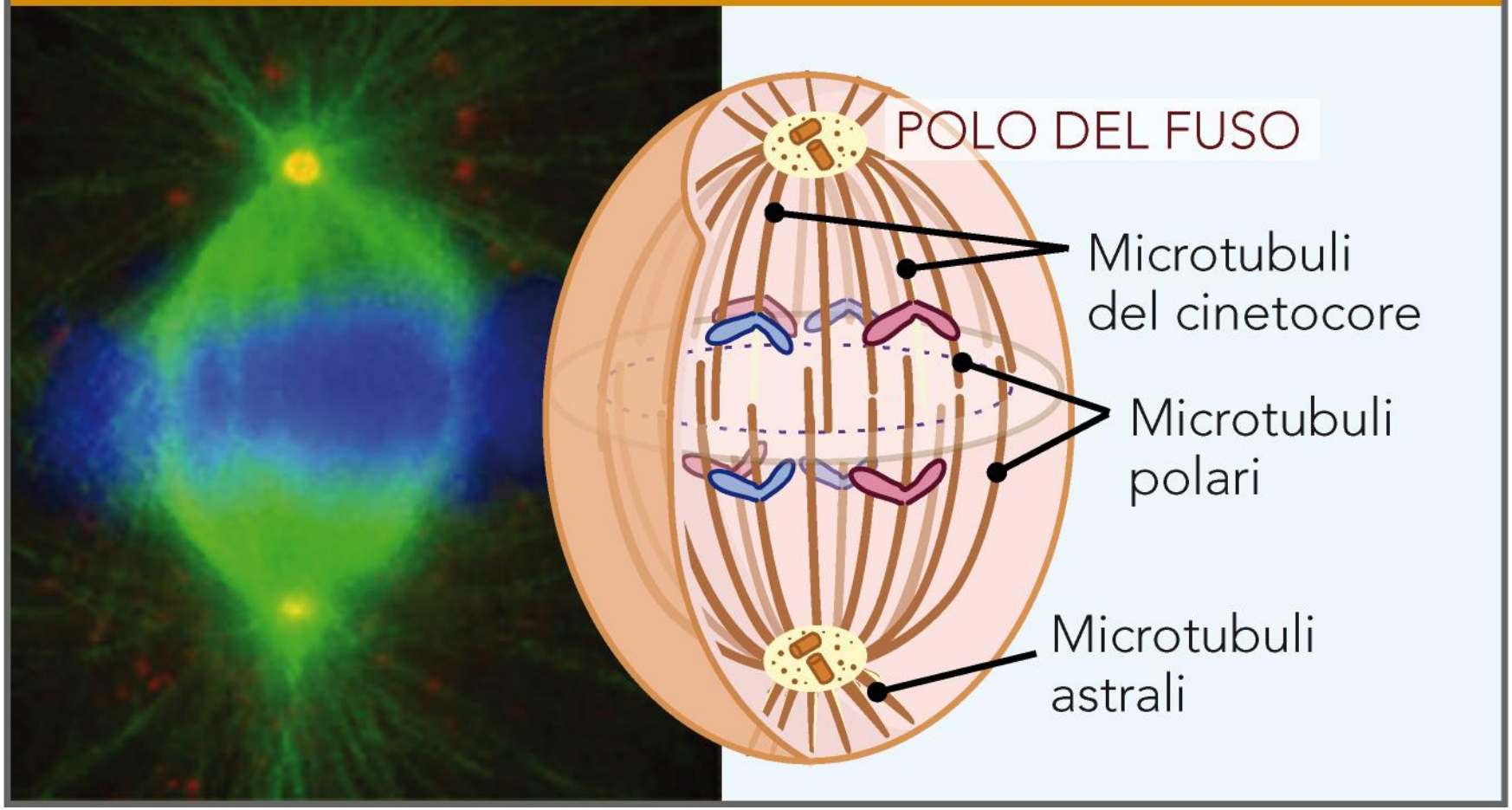
I componenti citoscheletrici sono coinvolti anche nei processi cellulari della MITOSI, che genera due cellule figlie dalla divisione di una singola cellula

Microfilamenti: coinvolti nei movimenti di divisione cellulare (**movimenti di contrazione**)

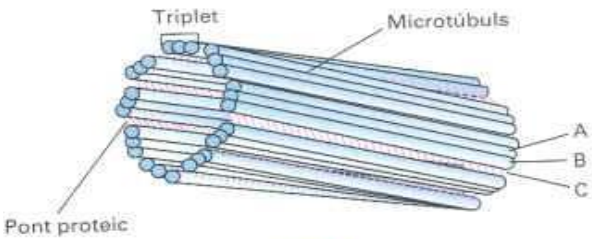
Microtubuli: coinvolti nella formazione del fuso mitotico per la segregazione dei cromosomi (**movimenti di trazione**)

La Mitosi verrà trattata nelle prossime lezioni

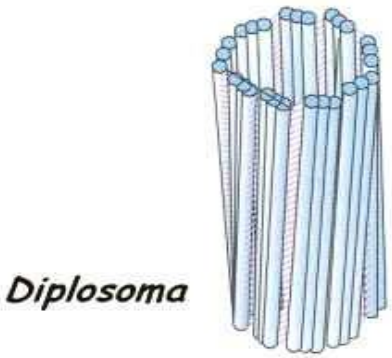
Fuso mitotico di una cellula in divisione

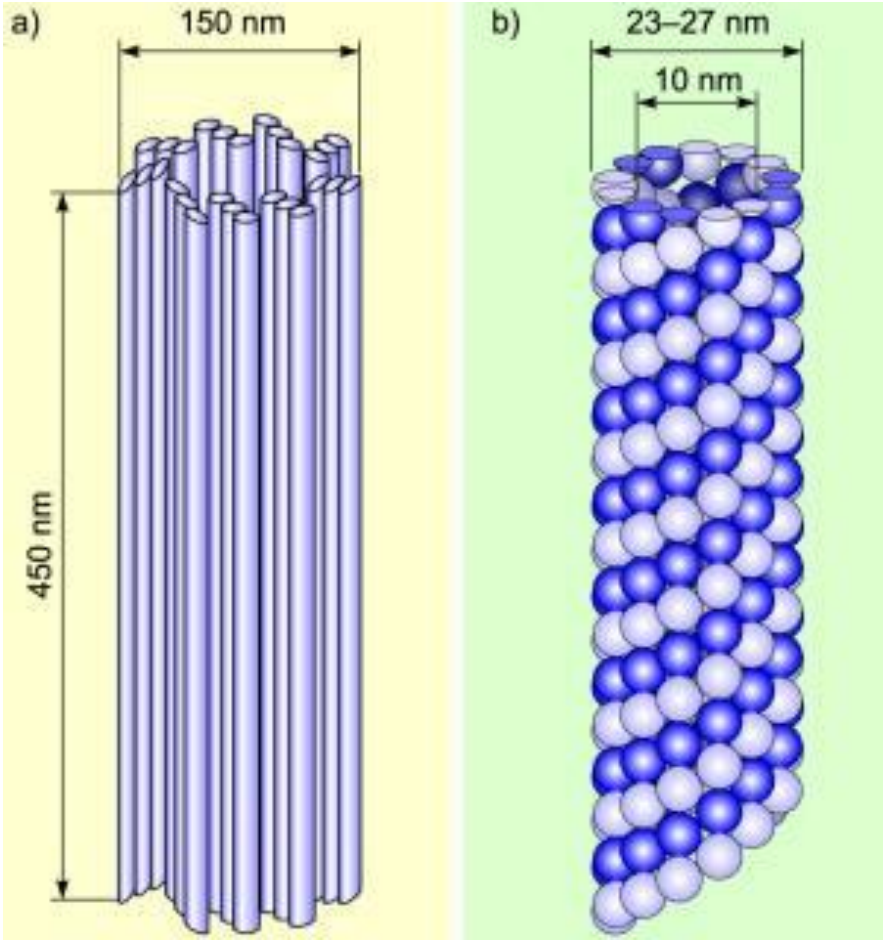


I CENTRIOLI



Sono organuli cilindrici con pareti costituite da 9 triplette di microtubuli (struttura 9x3).



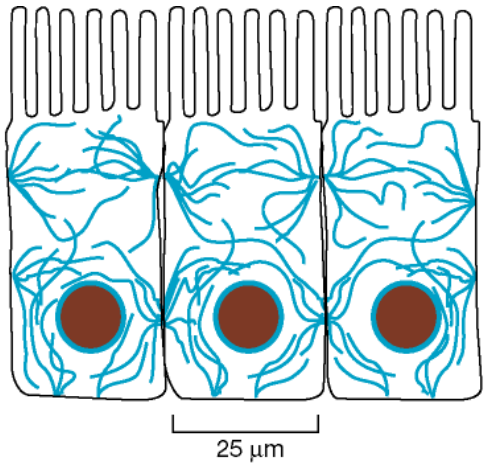


I centrioli si duplicano prima della divisione cellulare e svolgono un ruolo importante nell'assemblaggio dei microtubuli del fuso mitotico.

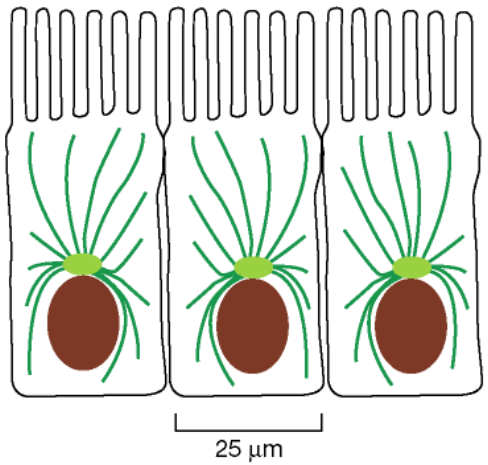
Centrosoma:

I centrioli, circondati da un involucro proteico, costituiscono il *centrosoma*, organulo preposto alla crescita dei microtubuli del fuso mitotico.

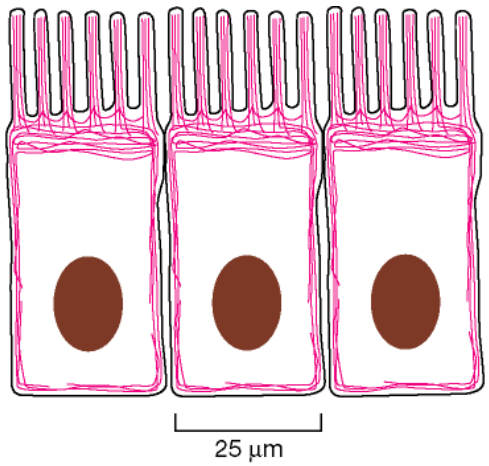
Esempio del tessuto epiteliale intestinale



FILAMENTI INTERMEDI



MICROTUBULI

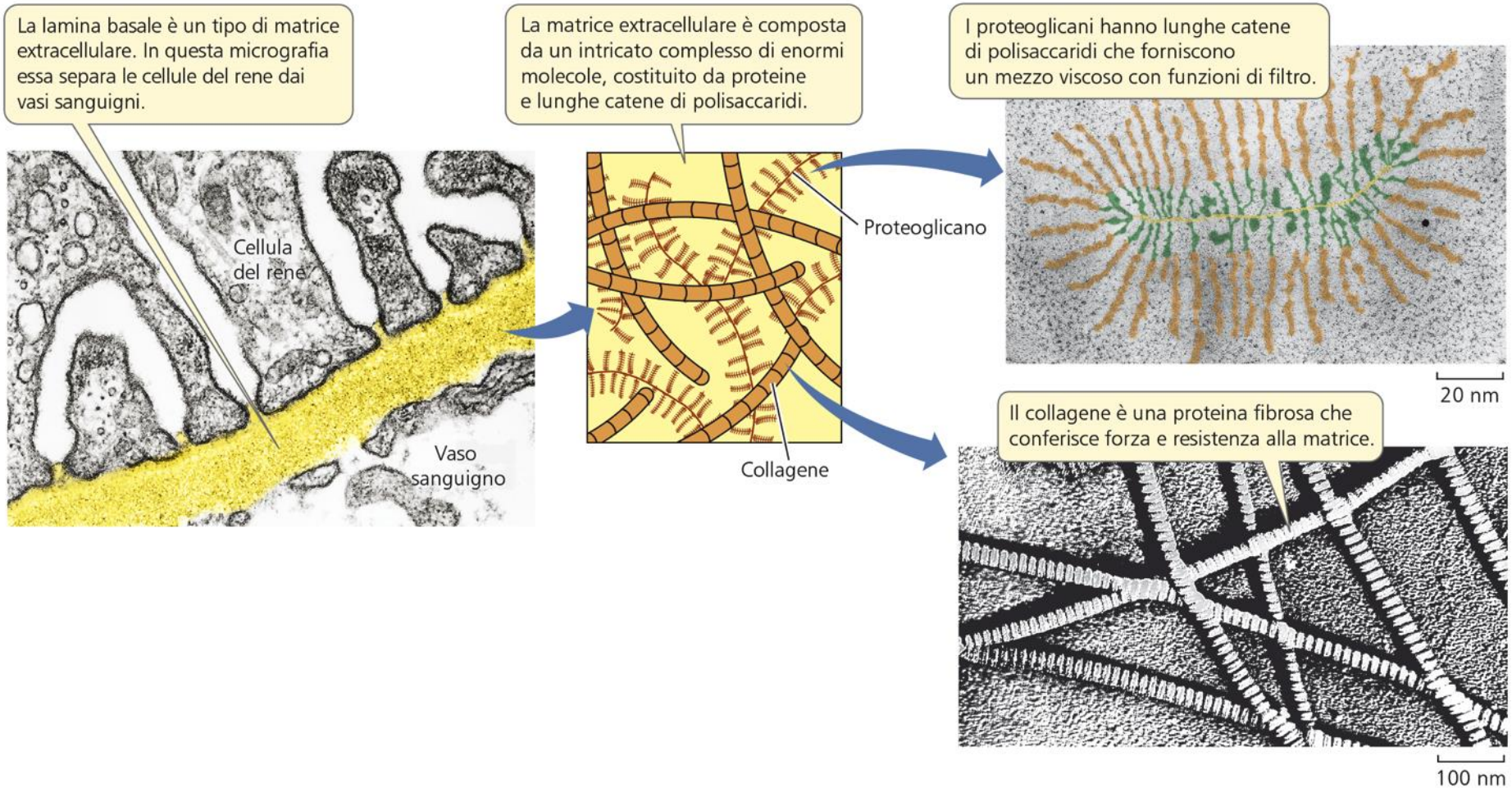
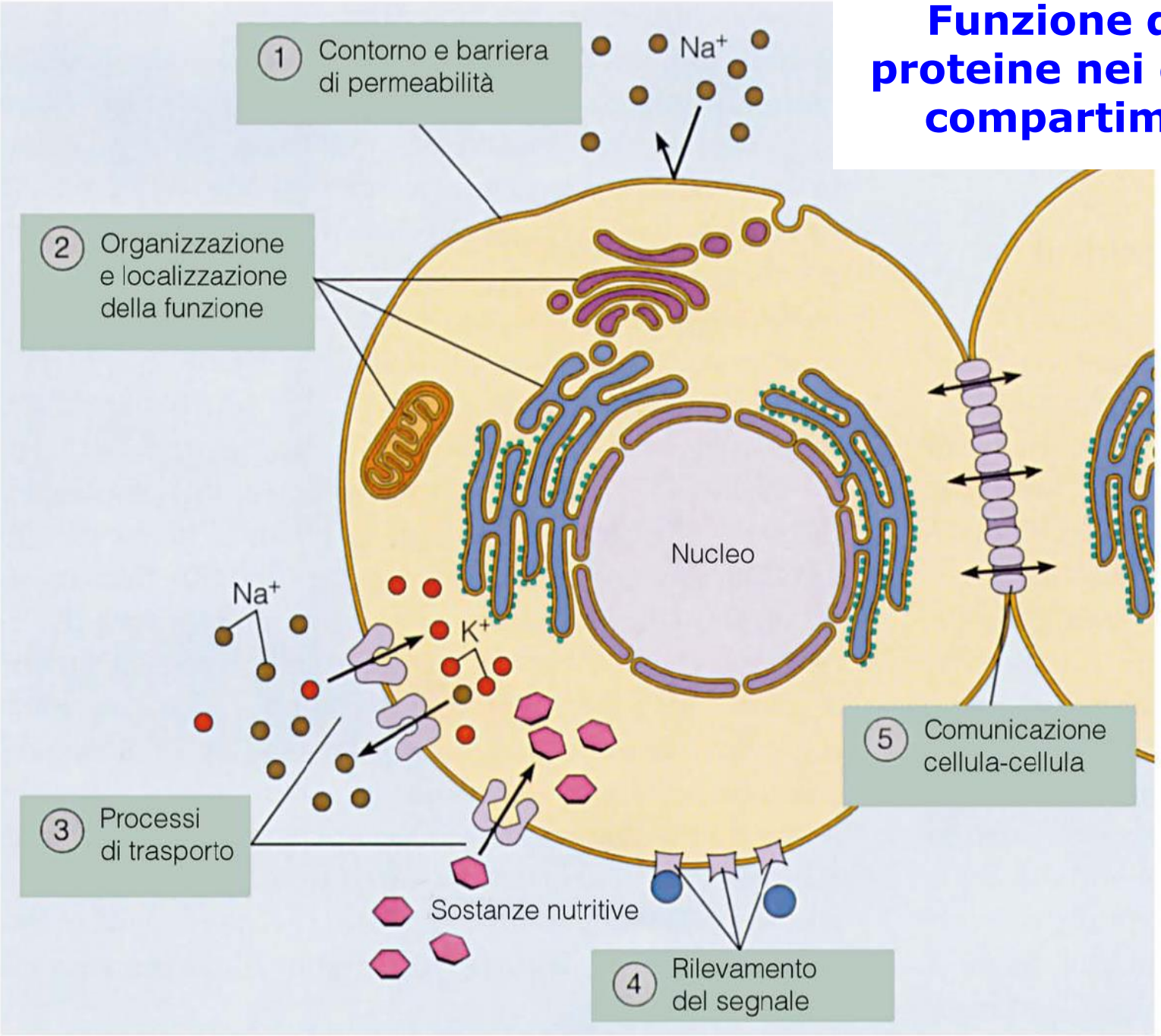


FILAMENTI ACTINICI

MATRICE EXTRACELLULARE

Costituisce il tessuto extracellulare degli organismi viventi

Diverse funzioni tra cui l'**ancoraggio** delle cellule e la **regolazione** e il **riconoscimento** extracellulare



Funzione delle proteine nei diversi compartimenti