

# Biologie celulara

# Obiective

- Cunoștințe generale de bază în ceea ce privește structura celulei, procesele celulare, rolul acestora în structurarea și funcționarea organismului.
- Integrarea cunoștințelor anterioare achiziționate la celelalte discipline biologice cu privire la celulă
- Să cunoască structurile subordonate și integrate celulei
- Să cunoască substanțele biochimice care participă la alcătuirea și funcționalitatea celulei (acizi nucleici, peptide, proteine, polizaharide, lipide)
- Să coreleze noțiunile legate de structură și funcțiile celulei într-un sistem unitar
- Să poată explica procesele de transfer la nivelul membranei celulare
- Să explice procesele energetice celulare
- Să explice conexiuni ifuncționale între nucleu și informația genetică din acesta și procesele celulare citoplasmatică

# Matricea extracelulara

- Unele bacterii, si celulele vegetale, celulele animale lipsite un perete celular, deci multe dintre celulele tesuturilor organismelor pluricelulare sunt incluse intr-o matrice extracelulara ”**extracellular matrix**” (**ECM**) constand in proteine secretate si polizaharide
- ECM ocupa spatiul intercelular si leaga celulele in tesuturi

- Un exemplu de ECM este un strat subtire numit: lamina sau membrana bazala "**basal laminae**" (**BL**) "**basement membrane**", deasupra careia sunt asezate celulele epiteliale
- O membrana "bazala" similara, inconjoara, de asemenea, celulele musculare, adipoase si nervii periferici
- Totusi ECM, este mai bine reprezentata in tesuturile de legatura (conjunctive), in stratele epiteliale scufundate, constand predominant intr-o ECM in care fibroblastii sunt dispers distribuiti
- Alte tipuri de tesuturi de legatura precum oasele, tendoanele si cartilagiile, sunt constituite in mod similar dintr-o ECM care conteaza, in mod esential, pentru structura si functiile tesutului .

- Cea mai importanta proteina structurala a ECM este colagenul, proteina singulara intalnita in cea mai mare abundenta in celulele animale
- Sunt 19 tipuri diferite de colagen. Sunt caracterizate prin formarea unui triplu helix in care trei lanturi polipetidice sunt strans rasucite unul in jurul celuilalt intr-o structura circulara de roata
- Domeniul triplului helix consta in repetarea secventei aminoacidice Gly-X-Y. Un mic reziduu Gly este necesar in fiecare a treia pozitie pentru a asigura "impachetarea" stransa a moleculei.
- Orice aminoacid poate fi gasit in pozitia X sau Y, dar Pro este frecvent intalnita in pozitia X si hidroxiprolina in pozitia Y; datorita structurii inelare, prolina si hidroxiprolina, stabilizeaza conformatia helicoidala a lanturilor polipetidice.

- Enzima prolin-hidroxilaza convertește reziduurile de prolină în colagen la hidroxiprolina în RE.
- Reziduurile de lizina din colagen sunt de asemenea frecvent convertite la hidroxilizina
- grupările OH ale acestor aminoacizi modificați sunt destinate să stabilizeze triplul helix al colagenului formând punți de H între lanțurile polipeptidice

- **Tipul I al colagenului** este unul dintre tipurile fibroase. Lanturile polipetidice contin ~ 1000 amino acizi sau ~ 330 Gly-X-Y secvente reetitive. Colagenurile sunt sintetizate ca precursori moleculari numiti procolageni care contin segmente non helicoidale la capatul lanturilor.
- Dupa secretie procolagenii sunt clivati in colageni si acestia asamblati in fibrile de colagen in care moleculele triple helicoidale sunt asociate in siruri in zig-zag.
- Fibrilele de colagen sunt suplimentar intarite de o formatie de legaturi covalente intre fetele lanturilor intre rezxiduurile de lizina si de hidroxilizina



- Tesuturile de legatura contin, de asemenea fibrile asociate colagenului, care leaga pe suprafata fibrilelor de colagen si le leaga una de cealalta si cu alte componente ale matricei
- BL formeaza un tip diferit de colagen (**tipul IV de colagen**), fiind un colagen in retea.
- Secventele repetitive Gly-X-Y ale acestui colagen sunt frecvent intrerupte de catre secvente non-helicoidale, prin aceasta facandu-le mai flexibile decat fibrilele formate de colagen.
- Aici aceste tipuri de colagen asambleaza in retele incrucisat –legate 2D in locul fibrilelor.
- Un alt tip de colagen tipul VII, formeaza fibrile ancorate care leaga cateva BL in tesuturile de legatura de dedesupt.

- Tesuturile de legatura, contin, de asemenea, fibre elastice care sunt particular mai abundente in organele elastice, care se intind, iar paoi revin la forma originala (e.g. plamani, artere).
- Fibrele elastice sunt formate in principal dintr-o proteina numita elastina care este legata intr-o retea prin legaturi covalente formate intre lisina dintre unul si altul dintre lanturile colagenului.
- Aceasta retea se comporta ca o banda de cauciuc, intinzandu-se sub tensiune si revenindu-si la relaxare

- Structurale fibrilare ale matricei extracelulare ECM sunt incanjurate intr-un gel format din polizaharide numite **glycozaminoglicani (GAGs)**, care se constituie din unitati repetitive de dizaharide.
- Unul dintre zaharurile dizaharidei este N-acetilglucozamina sau N-acetilgalactozamina si pe locul al doilea este de obicei un zahar acid acid (ambii acidul glucronic sau acidul iduronic).
- Cu exceptia **hialuronanului**, acest zahar este modificat prin aditia unor grupari sulfat. Aici, GAGs este incarcat negativ
- Hialuronanul este singurul GAG care apare intr-un singur lant polizaharidic.
- Toti ceilalti GAGs sunt legati cu proteine sub forma de **proteoglicani**, care pot contine cateva lanturi GAG atasand reziduuri de serina, ca miez proteic, de la unul (decorina) pana la peste 100 precum (e.g. aggrecan), realizand marimi intre 10 to >500 kDa.
- **Perlacan si agrin** sunt sulfo - proteoglicani majoriare major heparan sulfatate in BL.

- Prototipul adeziunii proteinelor responsabile de legarea matricei la suprafata celulei si in cadrul ei, este **fibronectina**. Fibronectina este un dimer similar lanturilor polipeptidice legate prin puncti disulfidici langa C terminal.
- Fibronectina a legat siturile atat pentru colagen cat si pentru GAGs, deci, leaga aceste componente ale matricei.
- Un loc distinct pe molecula de fibronectina este recunoasterea de catre receptorii suprafetei celulare si in felul acesta conteaza pentru atasarea celulelor la ECM.
- BL contine o proteina adeziva distincta numita **laminina**, care constain trei polipeptide (A1, B1 and B2) aranjate in forma incrucisata. Ca si colagenul, laminina se poate asambla singura intr-o retea ca si polimer.
- Lamininele de asemenea au situri de legatura pentru receptorii suprafetei celulare, pentru tipul IV de colagen, perlacan, agrin.
- In plus lamininele sunt strans asociate cu o alta proteina de adeziune numita **entactina sau nidogen**, care de asemenea leaga doua tipuri de colagen IV. Ca rezultata al acestor multiple interactiuni, laminina, entactina, colagenul IV si perlacanul formeaza retele stranse in BL(membrana bazala).

- Dincolo de suportul sau structural, matricea extracelulara joaca un rol important de semnalizare. Un exemplu semnificativ este asigurat de agrina, o proteina a membranei bazale care dirijeaza formarea aparatului postsinaptic la jonctiunile neuromusculare ale vertebratelor. Primele experimente au stabilit ca membrana bazala existenta la nivelul jonctiunilor neuromusculare este suficienta pentru a determina diferentierea terminala a nervului la nivelul jonctiunii originale in absenta fibrei musculare, si este de asemenea suficienta pentru a induce formarea aparatului postsinaptic al jonctiunii originale cand fibra musculara se regenereaza in absenta nervului.
- Agrina a fost purificata de catre organele electrice Torpedo, o sursa bogata in proteine sinaptice colinergice si a fost observata atat in vitro cat si in vivo, suficient pentru a fi raspunzatoare pentru efectele sinaptice ale membranei bazale sau diferentierea postsinaptica.

- Integrinele sunt cei mai importanti receptori ai suprafetei celulare responsabili de atasarea celulelor la matricea extracelulara.
- Ei sunt o familie de proteine transmembranare constand in doua subunitati a si b. Au fost identificate cca 20 de integrine diferite, formate din combinarea a 14 subunitati a si a 8 unitati cunoscute b.
- Integrinele leaga secvente scurte de AA prezenti in proteinele ECM ca si colagenul, fibronectina, si laminina.
- Prima, ca site poate fi caracterizat ca secventa RDG (**for arginine-glycine-aspartic acid**). O secventa DGEA in colagen si fibronectin a fost de asemenea identificata ca legand un alt set de integrine.
- In plus, in rolul lor structural, integrinele servesc ca receptori care activeaza calea semnalizarii intracelulare, prin aceasta controland expresia genelor si alte aspecte ale comportamentului celular ca raspuns la interactiunile de adeziune.
- Ca exemplu, legaturile de contact focalizate intre integrine si fibronectine activeaza proteinele non-receptoare tyrosine-kinase numite **FAK (focal adhesion kinase)**, care e eventuala activeaza Ras si calea kinasei MAP, care final se remarca in cresterea transcriptiei unui grup selectat de gene.

## 2. Adeziunea celulara

- Adeziunea celulara este un proces selectiv deoarece celulele adera doar la alte celule din acelasi tip.
- Adeziunea celulara selectiva este mediata de catre proteinele membranare numite **CAMs (cell adhesion molecules)**, care pot fi impartite in 4 grupe majore: **selectinele**, integrinele, **immunoglobulinele (Ig) superfamilia**, si **cadherinele**. Adeziunea celulara este mediata de catre toate aceste proteine, exceptand superfamilia care reclama **Ca<sup>2+</sup> sau Mg<sup>2+</sup>**.
- **Adeziunea tranzitorie a celulelor:** selectinele recunosc carbohidratii de pe suprafata celulara (lecitinele) si mediaza evenimentele adezivitatii celulare tranzitorii ca o interactiune initiala a leucocitelor cu endoteliul celular in capilare.
- Integrinele in leucocite leaga ICAMs (intercellular adhesion molecules) in celulele endoteliului, care sunt membri ai superfamiliei Ig, apoi permit penetrarea leucocitelor prin peretele capilarelor. Legatura este un exemplu a interactiei heterofilice (i.e. Doua molecule diferite se leaga una de cealalta). Alti membri ai superfamiliei Ig (e.g. NCAM din neuronal-CAM), mediaza o interactie **homophilica**, in care aceeasi proteina din doua celule diferite care interactioneaza se leaga una de alta.
- **Adeziunea stabila celula-celula: este mediata prin interactiuni homophilice cadherine.** Aceste legaturi celulare sunt de doua tipuri: aderente jonctionale, prin desmozomi. In aderentele jonctionale cadherinele sunt legate la manunchiurile de filamente de actina **prin intermediul cateninelor**. In desmozomi, placa proteica densa leaga membri ai superfamiliei cadherinelor (**desmogleins and desmocollins**) la filamentele intermediare ca filamentele de keratina. In **hemidesmozomi**, integrina leaga lamina bazala la filamentele intermediare.

# Jonctiuni celulare

- **Jonctiunile stranse.** Ele previn trecerea moleculelor prin celulele epiteliale si separa domeniul apical de cel bazolateral al citoplasmei celulare .
- Aceste jonctiuni sunt contactul cel mai inchis cunoscut intre celule adiacente, deci inchiderea a fost descrisa ca un sit ca o aparenta fuziune intre stratul membranei plasmaticice a celulelor adiacente .
- Este evident ca ele nu fuzioneaza, in schimb jonctiunea stransa este formata printr-o interactiune homofilica intre proteinele transmembranare numite ocludine.
- **Jonctiunile de tip Gap** – canale deschise care conecteaza citoplasma celulelor adiacente, cupland prin urmare, atat metabolismul,cat si fenomenele electrice. Jonctiunile de tip Gap (GJs) sunt construite de catre proteine transmembranare numite **connexine. Ansamblul format din sase** connexine formeaza o structura cilindrica cu un por apos in centru si car elasa sa treaca molecule mai mici de ~1000 da.



# Bibliografia selectivă:

- 1. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., Molecular Biology of the Cell, 4ed., New York, Garland Publishing, 2002.
- 2. Benga & Tager, Biomembranes – Basic and medical research, Springer – Verlag, 1988.
- 3. Benga Gh., Biologie Celulara si Moleculara, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1985. nd
- 4. Cooper G.M., The Cell -A Molecular Approach, 2ed., Sunderland (MA), Sinauer Associates, Inc.; 2000.
- 5. Cruce M., Biologie Celulara si Moleculara, Ed. Aius Craiova, 2002.
- 6. Diculescu I., Onicescu D., Benga Gh., Popescu L.M., Biologie Celulara, Ed. D.P. Buc., 1983.
- 7. Frasinel N., Verdes D., Biologie Celulara si Moleculara, Ed. Mirton, Timisoara, 1994.
- 8. Ionescu-Varo M., Biologie Celulara, Ed. D.P. Bucuresti, 1971.
- 9. Lodish H., Berk A., Zipursky S., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J., Molecular Cell Biology, 4ed., New York, W. H. Freeman & Co., 1999.
- 10. Mixich F., Ardelean A., Principii fundamentale de biologie moleculara, Ed. Med. Univ. Craiova, 2002.
- 11. Pollard T., Earnshaw W., Cell Biology, 2002.
- 12. Strachan T., Read A.P., Human Molecular Genetics, 2ed. Oxford, UK, BIOS Scientific Publishers Ltd; 1999.
- 13. Referinte electronice:
  - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books&itool=toolbar>
  - <http://www.cellsalive.com>
  - <http://www.pubmed.com>