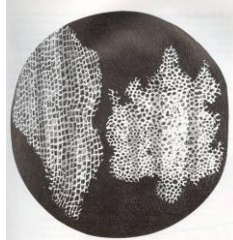


LA TEORIA CELLULARE

E' il principio unificante della Biologia

Cellula = piccola cella (Hook, 1665)

Disegno ottenuto da una **fettina di sughero** osservata al microscopio (traforata e separata da pareti)



Sviluppo
microscopio
Leeuwenhoek
(fine 1600)

"Ogni cellula deriva da un'altra cellula"
(Virchow, 1859)

Tre capisaldi (validi ancora oggi):

- Le cellule sono le unità fondamentali della vita (la vita avviene nella cellula)
- Tutti gli organismi sono costituiti da cellule
- Tutte le cellule derivano da cellule preesistenti (continuità ed evoluzione)

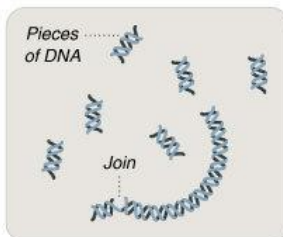
LA PRIMA CELLULA ARTIFICIALE

Esperimento che ha dimostrato in laboratorio i requisiti minimi di una cellula
(Venter e Smith, 2010)

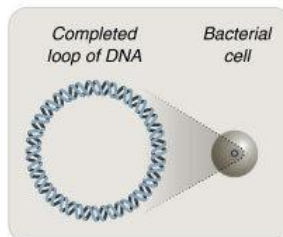
Determinazione al computer della **sequenza di DNA minima** per la vita di un batterio (solo processi biochimici essenziali, p.e. si replicazione DNA, no resistenza antib.)

Synthesizing a Functional Genome

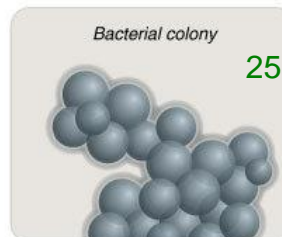
A team led by J. Craig Venter has succeeded in creating a synthetic bacterial genome and using it to control a cell.



ASSEMBLY The team began with small pieces of laboratory-made DNA, then used a new technique to join them together into the largest piece of DNA synthesized so far, a loop one million units in length.



INSERTION The loop of DNA was designed to closely replicate the genetic sequence of a species of bacterium. To test the DNA, the team inserted it into an empty cell of a different species of bacterium.

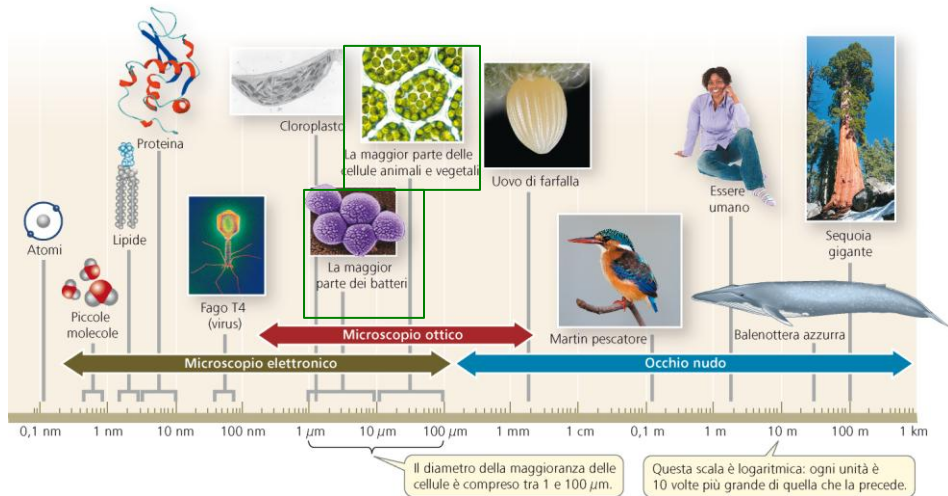


256 geni

SELF-REPLICATION The synthetic DNA proved accurate enough to take over the bacterial cell and substitute for the cell's own DNA. The "synthetic cell" then replicated itself to form a bacterial colony.

LE DIMENSIONI DELLA CELLULA

Diametro tra 1 e 100 micrometri (μm)



Eccezioni alle dimensioni delle cellule?

3

LE CELLULE DEL CORPO UMANO

Il corpo umano contiene 10^{14} cellule (100 mila miliardi)

Un organismo più piccolo contiene cellule più piccole?

Tessuti:

gruppi di cellule che adempiono ad una medesima funzione

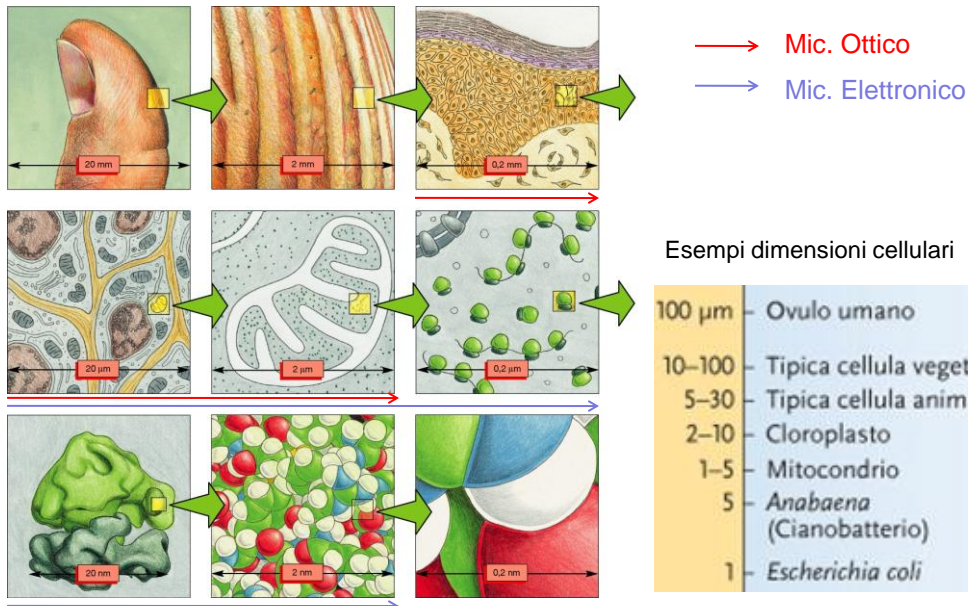
- Epiteliale
- Connettivo
- Muscolare
- Nervoso

Organismi:

tessuti uniti strutturalmente e coordinati nella loro attività

4

INGRANDIMENTO PROGRESSIVO



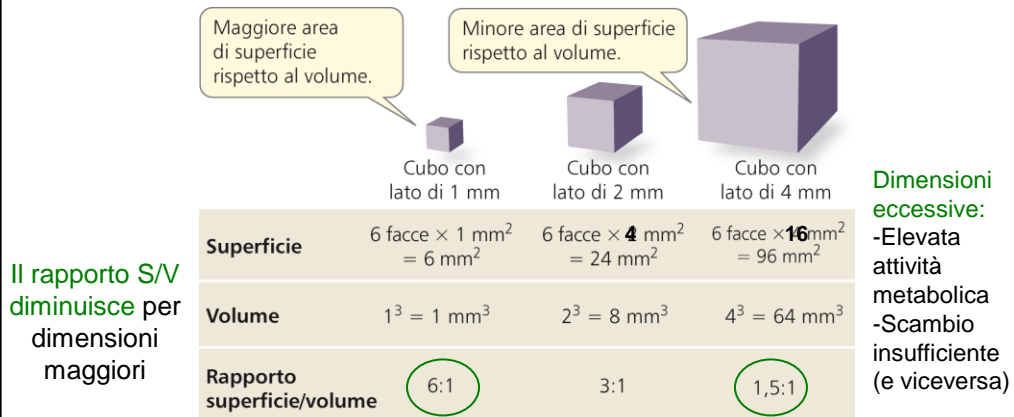
5

PERCHE' QUESTE DIMENSIONI?

Le dimensioni sono dettate dal **rapporto tra superficie/volume**

Superficie: determina la quantità di sostanze che la cellula può **scambiare** con l'ambiente esterno.

Volume: determina la quantità di **attività metabolica** svolta per unità di tempo.



Per aumentare l'attività metabolica: non cellule più grandi ma **più cellule**.

6

METODI DI STUDIO: MICROSCOPI

Proprietà dei microscopi

- **Ingrandimento**: dimensione dell'immagine/dimensione effettiva dell'oggetto
- **Risoluzione**: distanza minima tra due punti alla quale essi possono essere distinti

Bassa
risoluzione



Alta
risoluzione

Stesso ingrandimento

Microscopi Ottici

- Sfruttano la luce visibile e un sistema di lenti
- Ingrandimento: 1500 volte
- Risoluzione: 0.2µm

Microscopi Elettronici

- Sfruttano fasci di elettroni concentrati
- Ingrandimento: 1,000,000 di volte
- Risoluzione: 2nm

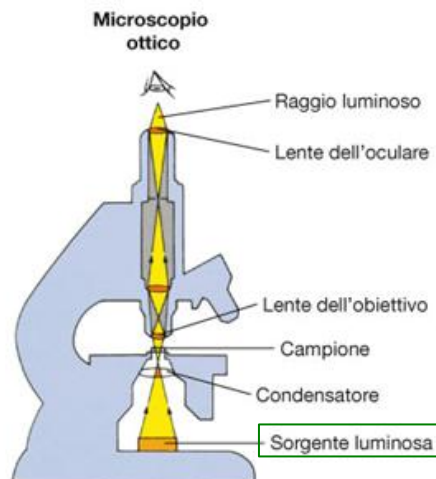


7

MICROSCOPI OTTICI

Sono composti da diverse lenti, la luce passa attraverso le lenti ed il campione

Perchè non ha senso aumentare l'ingrandimento aumentando il numero di lenti?



Il limite è imposto dalla **risoluzione** che a sua volta dipende dalla **sorgente dei raggi**. La lunghezza d'onda dei **raggi di luce visibile** è tra 400nm (violetto) - 700 nm (rosso). Se due punti sono a distanza minore, i **raggi di luce** si sovrappongono.

8

TIPI DI MICROSCOPI OTTICI

In campo chiaro



100 μ m

La luce **attraversa** il campione. Colorazione. Densità variabile.

In campo scuro



100 μ m

La luce è diretta **di lato**. Solo la luce riflessa attraversa le lenti.

Contrasto di fase o di interferenza



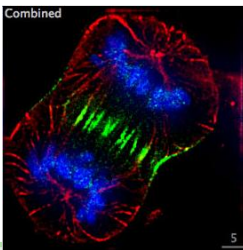
100 μ m

Le onde luminose sono **scomposte** (fuori fase o polarizzate). Esaltate differenze di densità. Genera un aumento del contrasto.



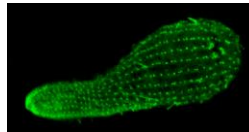
100 μ m

Fluorescenza



Marcatura con **fluorocromi**. Le onde luminose emesse sono rilevate separatamente

Confocale



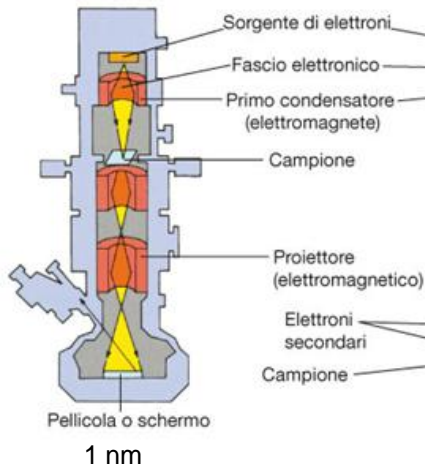
Anche fuorocromi. Onde luminose proiettate su differenti piani e rilevate separatamente (**sezioni ottiche**) per ricostruire immagine 3D

9

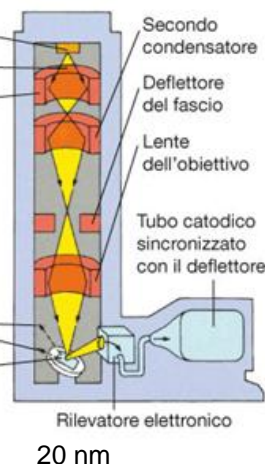
MICROSCOPI ELETTRONICI

Sfruttano la lunghezza d'onda di **fasci elettronici**: aumento di risoluzione e quindi di ingrandimento

Microscopio elettronico a trasmissione



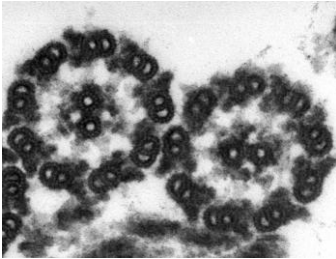
Microscopio elettronico a scansione



10

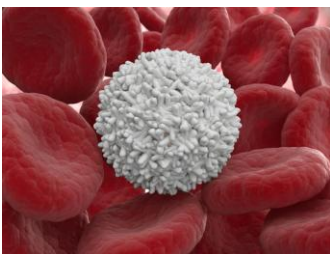
TIPI di MICROSCOPI ELETTRONICI

A trasmissione



Gli elettroni **attraversano** il campione.
Sezioni colorate con **particelle di oro** (bloccano il fascio elettronico).
Osservazione delle **singole componenti** della cellula.

A scansione



Gli elettroni non attraversano il campione ma **sono riflessi** (elettroni secondari).
Rivestimento con **strato di oro** (riflette elettroni secondari con intensità che varia al variare dei contorni).
Osservazione della **superficie** della cellula.



11

“MICRO MONSTERS”

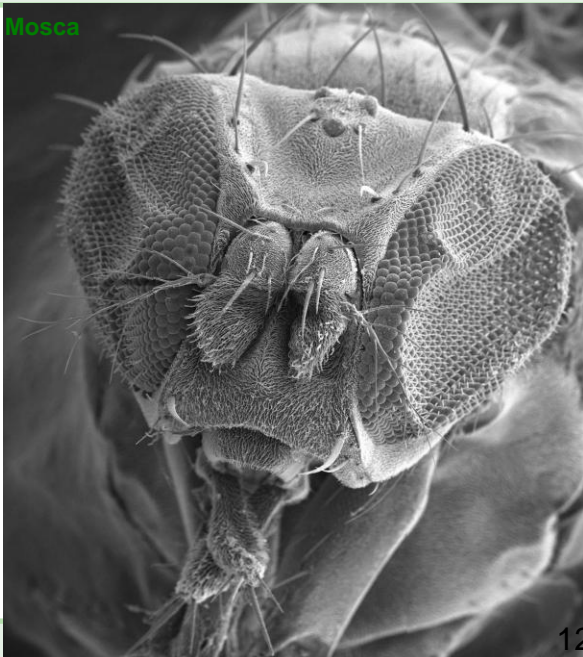
Nematode



Acaro



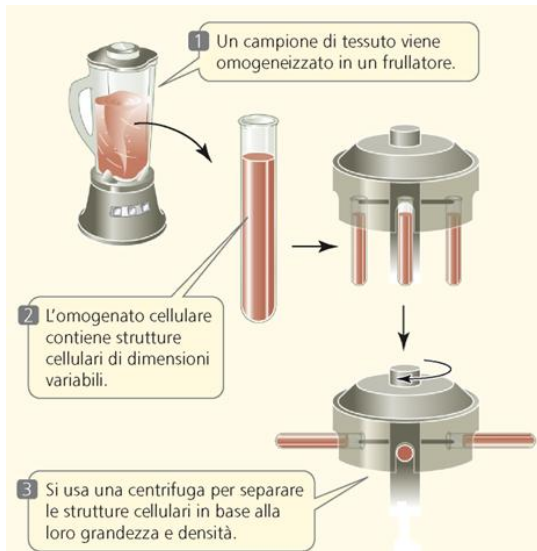
Mosca



12

METODI DI STUDIO: FRAZIONAMENTO

Il frazionamento cellulare serve a separare le varie componenti di una cellula



Omogeneizzazione:

Rottura dei tessuti e delle membrane cellulari

Centrifugazione:

Velocità: 100,000 rpm

Forza centrifuga: fino a 500,000 G

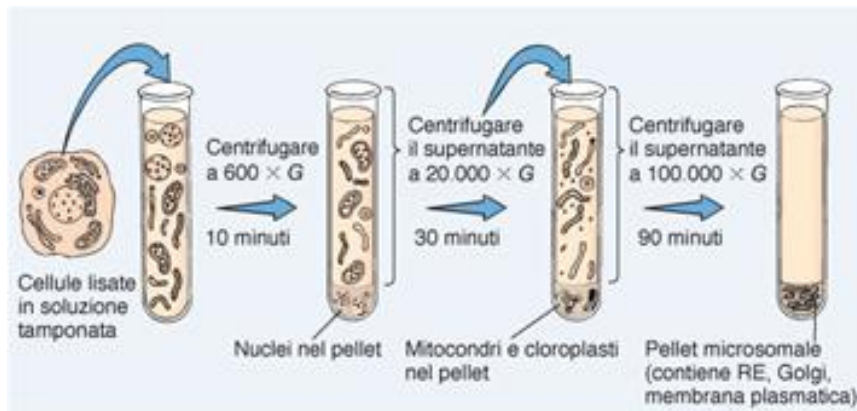
Le strutture cellulari vengono separate in base a **grandezza e densità**

13

CENTRIFUGAZIONE DIFFERENZIALE

La soluzione ha densità uniforme.

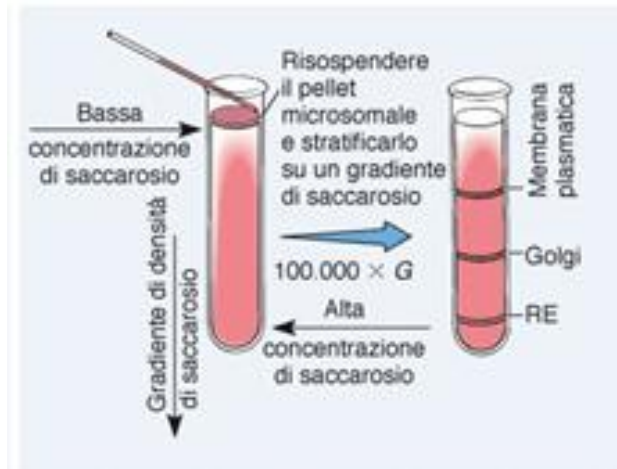
Le strutture cellulari possono precipitare (**pellet**) o rimanere in soluzione (**supernatante**)



14

CENTRIFUGAZIONE SU GRADIENTE DI DENSITA'

La soluzione stessa ha un gradiente di densità.



Le strutture cellulari si fermano ad una **certa altezza del gradiente** (a seconda della loro densità)