

Proprietà della membrana plasmatica

Delimita il citoplasma formando una barriera meccanica

Controlla l'accesso dei soluti e dei solventi permettendo che le caratteristiche del citoplasma differiscano da quello dei liquidi esterni

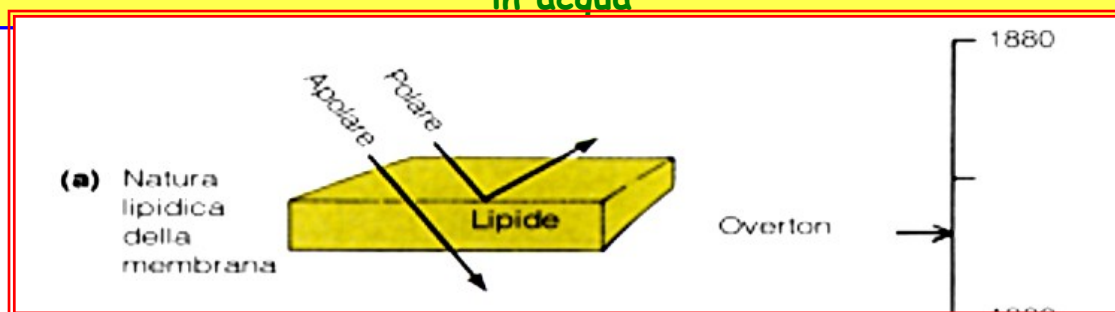
Permette l'entrata e l'uscita di macromolecole e strutture di dimensioni maggiori

Risponde alla presenza di molecole segnale presenti all'esterno innescando reazioni interne di risposta

Presenta molecole specifiche che permettono alla cellula di essere riconosciuta

I primi indizi sulla natura chimica della membrana furono ottenuti da Ernest OVERTON (1890).

OVERTON si rese conto che le cellule erano circondate da una sorta di strato selettivamente permeabile che permetteva ad alcune sostanze di entrare ed uscire con velocità significativamente differenti: le sostanze solubili nei lipidi penetravano più facilmente di quelle solubili in acqua



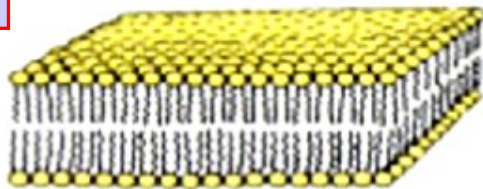
OVERTON concluse che i lipidi erano presenti sulla superficie cellulare, come se si trattasse di un rivestimento.

Due fisiologi olandesi *Gorter e Grendel* (1925) furono i primi a proporre che le membrane contenessero un **doppio strato di fosfolipidi**

estrassero i lipidi da **un numero noto di eritrociti (OMBRE)** e misurarono la superficie occupata dai lipidi dopo che erano stati sparsi sulla superficie dell'acqua: il rapporto tra l'area della superficie acquosa occupata dai lipidi e l'area calcolata come superficie dei globuli rossi da cui i lipidi erano stati estratti variava da **1,8 a 1 e 2,2 a 1** essi conclusero che il rapporto effettivo fosse di **2:1**

BILAYER

Doppio strato lipidico

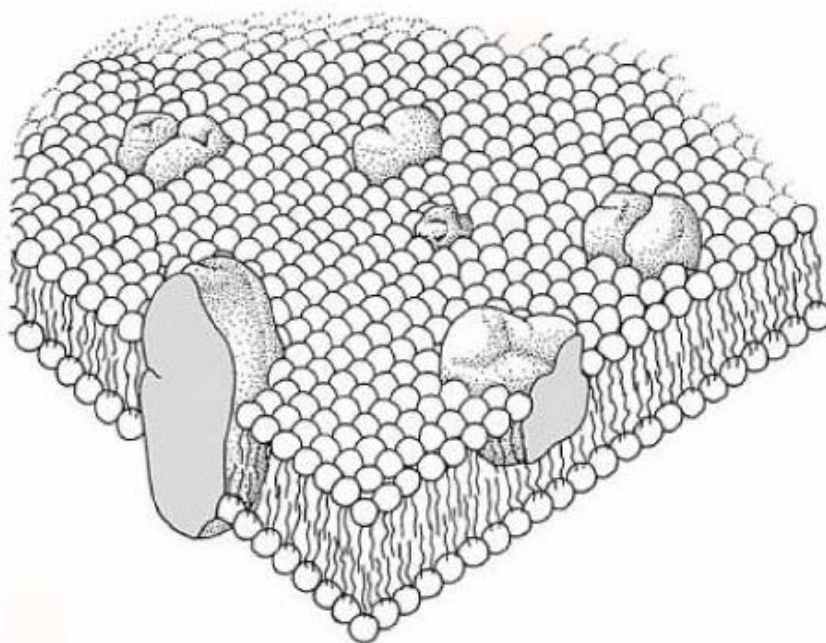


Gorter e Grendel

1925

J.Singer e G.Nicolson (*modello a mosaico fluido*) 1972

È stato il “dogma fondamentale” della biologia delle membrane per circa 30 anni

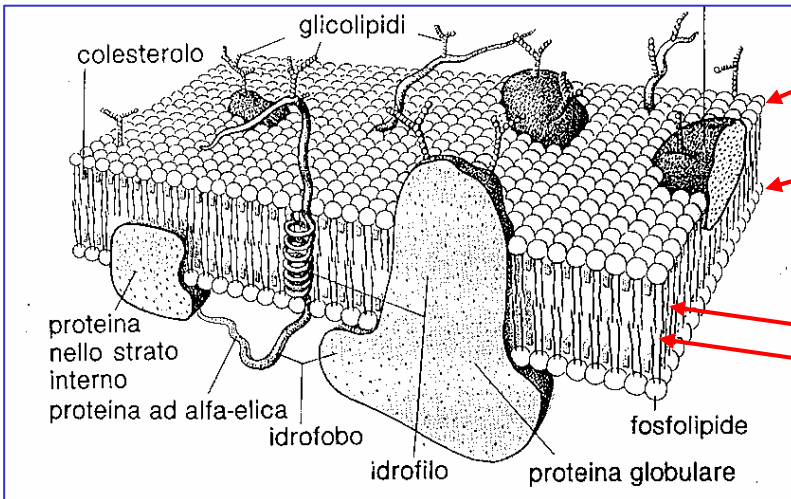


A differenza degli altri modelli le **proteine PENETRANO** lo strato lipidico. Esse sono disposte in un **MOSAICO discontinuo**.

Reprinted with permission from S. J. Singer and G. L. Nicolson, *Science* 175:720, 1972;

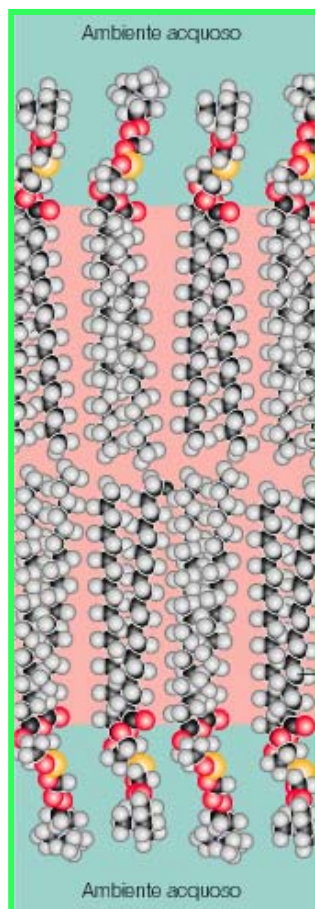
La membrana plasmatica è composta da:

- **un doppio strato di fosfolipidi:**
 - fosfogliceridi derivati dal glicerolo
 - sfingolipidi derivati dalla sfingosina
- **proteine associate alla membrana**
 - **intrinseche (o integrali)**



Le **teste polari** dei fosfolipidi sono **idrofile** e sono quindi rivolte verso **l'interno e l'esterno** della cellula a contatto con le **soluzioni acquose**

Le **code apolari** sono **idrofobiche** e sono rivolte verso **l'interno** della membrana



Il doppio strato di fosfolipidi

Il legami di tipo apolare (**forze di van der Waals**) che si formano tra le lunghe catene di acidi grassi e assieme alla loro tendenza a sfuggire il mezzo acquoso **forniscono grande stabilità alla membrana**

Tuttavia i singoli fosfolipidi **si muovono** di continuo *navigando* tra gli altri e **permettendo alla membrana plasmatica di deformarsi**

Acidi grassi e FLUIDITA': lunghezza delle code aciliche e grado di saturazione

L'asimmetria della membrana:

si stabilisce durante la biogenesi nel reticolo endoplasmatico e viene mantenuta grazie alla presenza di traslocatori di membrana.

(Il movimento spontaneo di un lipide da uno strato all'altro (flip -flop) è raro).

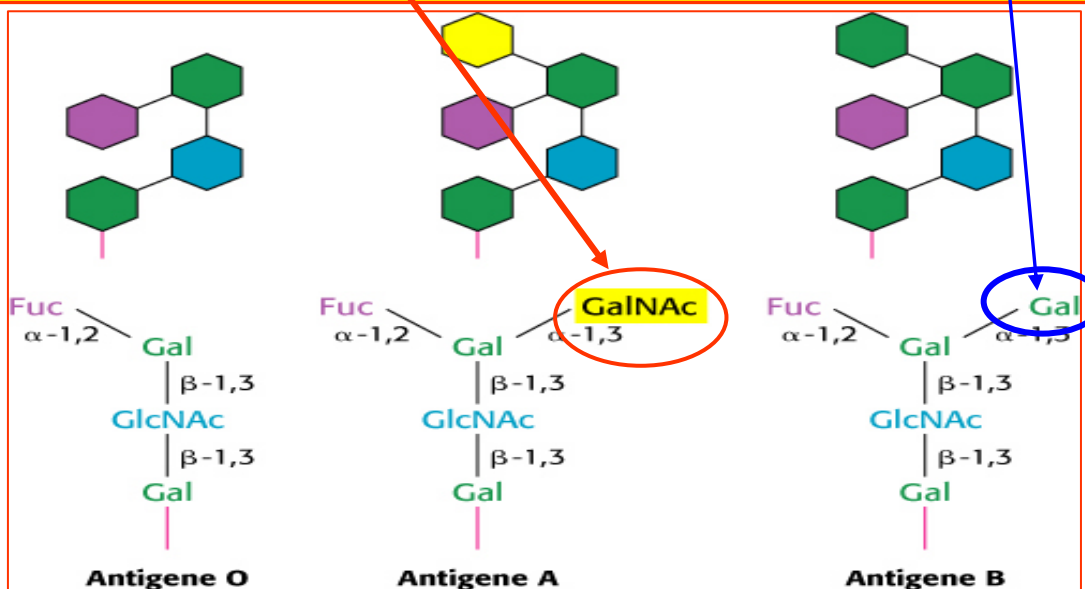
Fosfatidilcolina e sfingomieline sono sul lato esterno, fosfatidilserina sulla faccia interna.

Colinici → Esterno
Amminici → Interno

GRUPPI SANGUIGNI A - B - 0

Sulla superficie degli eritrociti si trovano carboidrati legati a glicoproteine e glicolipidi, che caratterizzano tre differenti strutture, denominate A, B e 0, le quali hanno in comune una base oligosaccaridica

L'antigene A e l'antigene B differiscono dall'antigene 0 perché, - l'antigene A porta una unità di N - acetilgalattosamina, l'antigene B una unità di Galattosio. Queste unità sono legate al Galattosio dell'antigene 0, con legame glicosidico

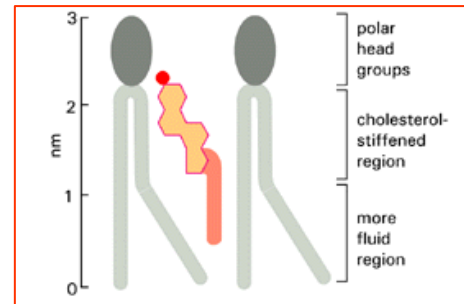


La membrana è un ambiente fluido. La fluidità dipende dalla temperatura e dalla percentuale di lipidi "insaturi"

LA TRANSIZIONE DI FASE DERIVA DA UNA ALTERAZIONE NELLA MOBILITA' DELLE CATENE ACILICHE (CARBONIOSE) DEI FOSFOLIPIDI, INDOTTA DALLE VARIAZIONI DI TEMPERATURA:

A BASSE TEMPERATURE LE CATENE CARBONIOSE SONO STRETTAMENTE IMPACCHETTATE (I MOVIMENTI SONO LIMITATI) CON L'AUMENTO DELLA TEMPERATURA I MOVIMENTI AUMENTANO BRUSCAMENTE

Il colesterolo



Tra i fosfolipidi sono inserite molecole di **colesterolo**. Il colesterolo dà particolari proprietà alle membrane fosfolipidiche **impedendo ad esempio di irrigidirsi con l'abbassarsi della temperatura** o di **divenire troppo fluide al suo aumentare**

EFFETTI DEL COLESTEROLO

Quando viene aggiunto in piccole quantità (→ 20%) dei lipidi totali il **COLESTEROLO** amplia l'intervallo di temperatura entro il quale si verifica la **transizione di fase**. A livelli superiori del 20% **elimina del tutto la fase di GEL**.

Parallelamente, il **colesterolo LIMITA** la **velocità di movimento delle catene aciliche dei fosfolipidi** (a causa della posizione che assume nella membrana).

IL COLESTEROLO HA QUINDI UN DUPLICE EFFETTO:

- AUMENTARE LA FLUIDITÀ DELLA MEMBRANA ALLE BASSE TEMPERATURE**
- DIMINUIRE LA FLUIDITÀ DELLA MEMBRANA ALLE ALTE TEMPERATURE**

Gli animali utilizzano l'asimmetria dei fosfolipidi delle membrane plasmatiche per distinguere fra cellule vive e cellule morte. Infatti, quando una cellula animale subisce la morte cellulare programmata, o **apoptosi**, la **fosfatidilserina**, che normalmente è confinata nel monostrato citosolico della membrana plasmatica, viene rapidamente traslocata al monostrato extracellulare. La fosfatidilserina esposta sulla superficie cellulare serve come segnale per indurre le cellule vicine, (ad esempio i macrofagi) a fagocitare la cellula morta e digerirla.

L'asimmetria della membrana:

si stabilisce durante la biogenesi nel reticolo endoplasmatico e viene mantenuta grazie alla presenza di **traslocatori di membrana**. (Il movimento spontaneo di un lipide da uno strato all'altro (**flip -flop**) è raro).

Fosfatidilcolina e sfingomieline sono sul lato esterno, **fosfatidilserina** sulla faccia interna.

Colinici → Esterno
Amminici → Interno

Lipidi e Proteine



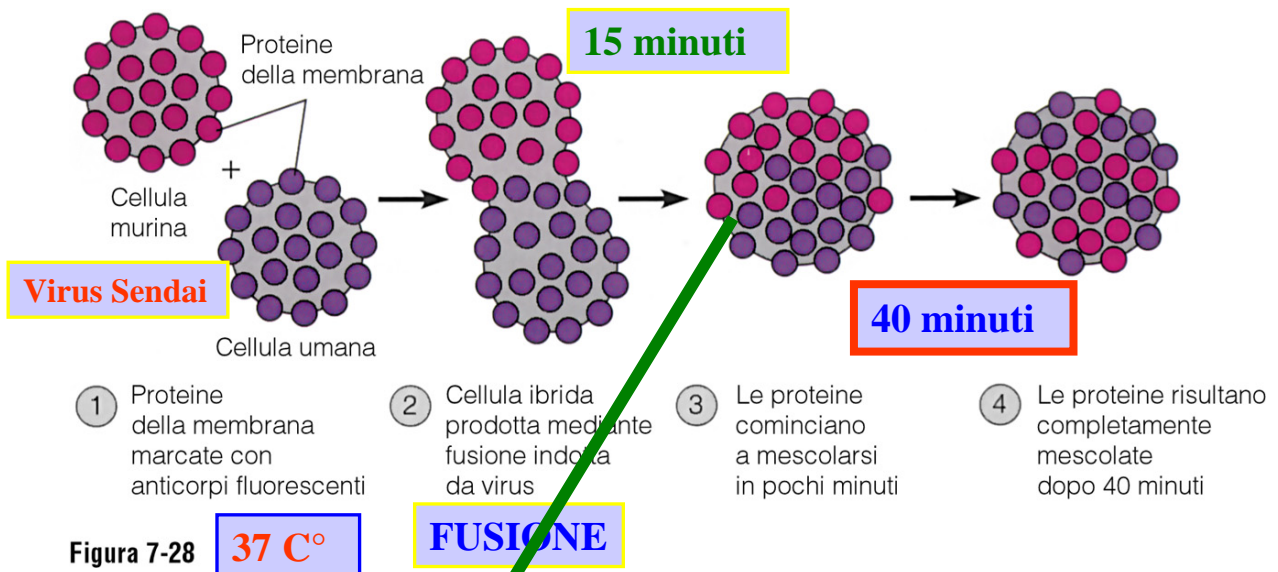
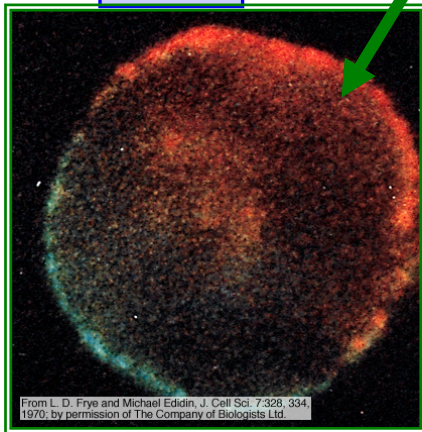
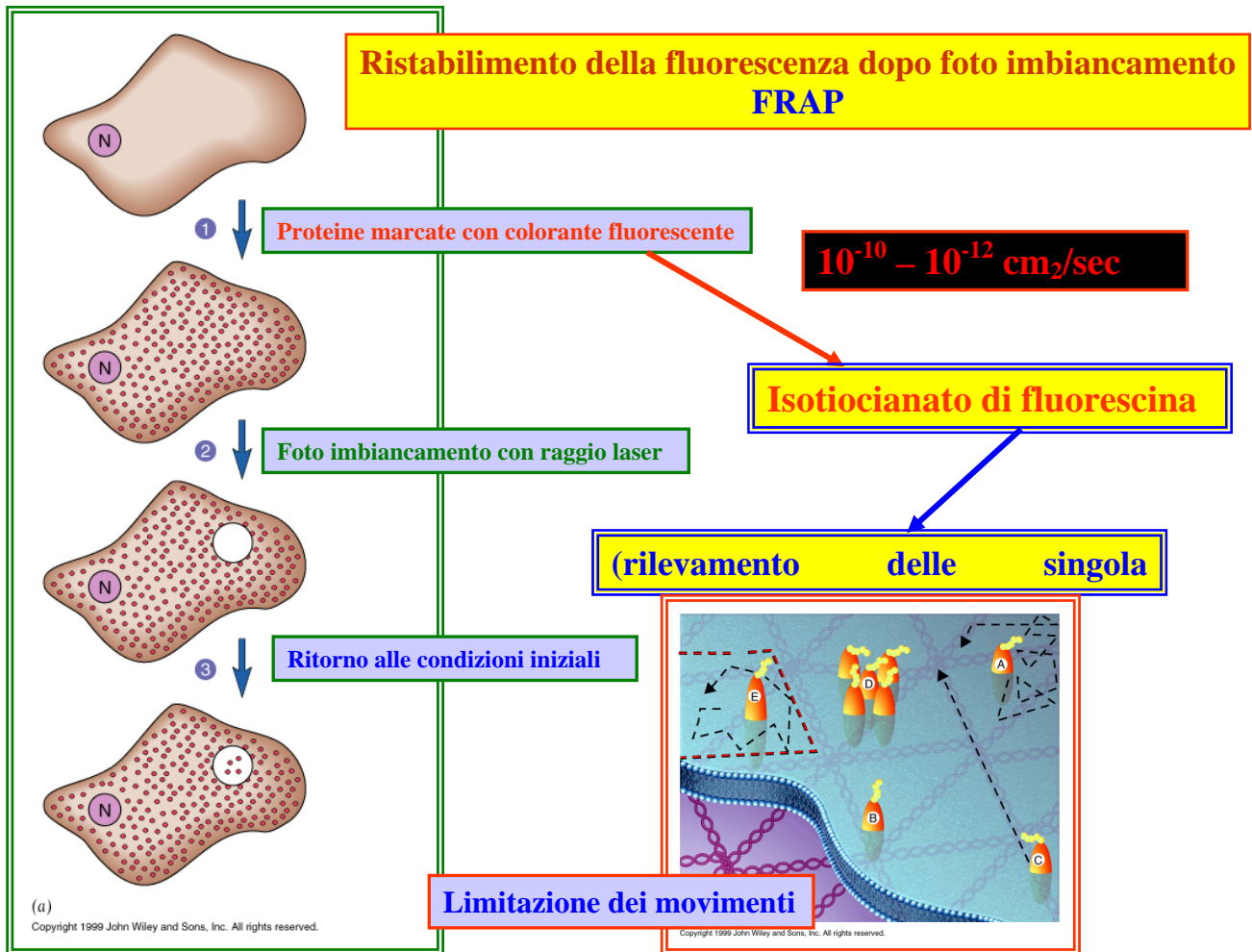


Figura 7-28



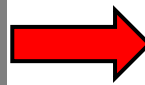
Esperimento di Frye e Edidin, 1970

Cosa accadrebbe a temperature basse?



Caratteristiche di permeabilità della membrana plasmatica

Se un solvente è più concentrato in un punto della soluzione esso tenderà a diffondersi lungo il gradiente di concentrazione, dalla parte più concentrata a quella meno concentrata



Diffusione

In sintesi la diffusione semplice attraverso una membrana fosfolipidica è un processo selettivo. Molecole piccole e apolari (quindi liposolubili e idrofobiche) diffondono molto velocemente (si dice anche la membrana è molto permeabile a queste sostanze).

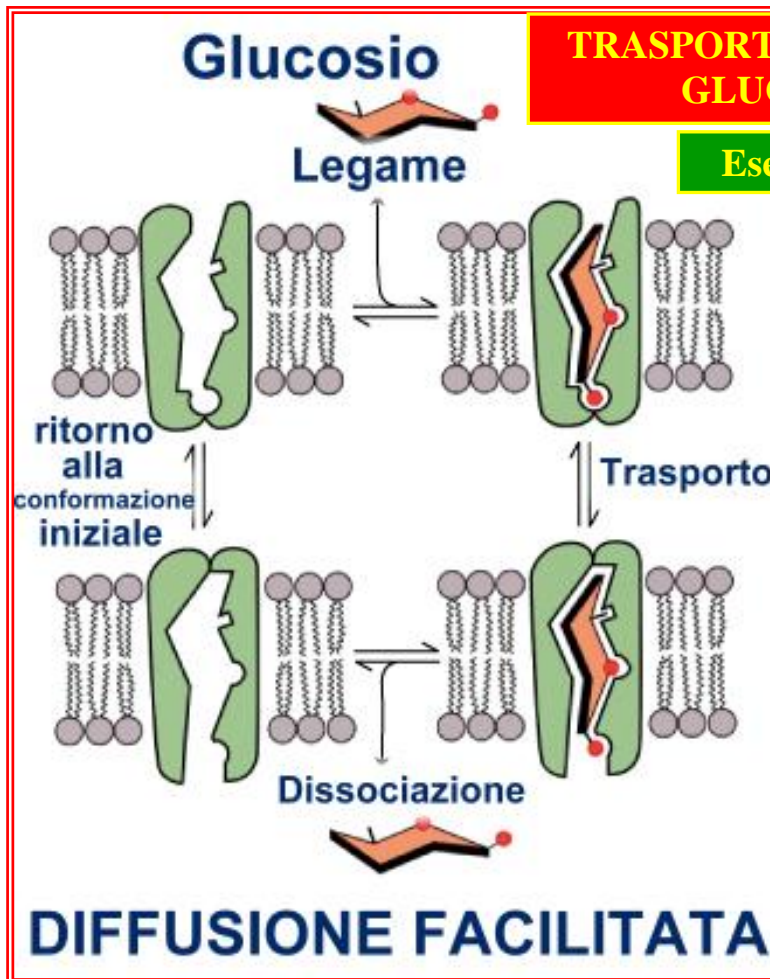
Al diminuire dell'affinità con i lipidi e all'aumentare della dimensione, rallenta la velocità di diffusione. Gli ormoni sessuali per esempio (steroidi e quindi grandi molecole affini al colesterolo) impiegano ore per penetrare in tutte le cellule

1*- ANALOGIA DEI TRASPORTATORI CON IL COMPORTAMENTO DEGLI ENZIMI
**2 - ANALOGIA DOVUTA ALLA SPECIFICITÀ (es. ZUCCHERI-ISOMERI IN FORMA D
E NON QUELLI IN FORMA L)**

***TALE COMPORTAMENTO CONTRASTA CON QUELLO DELLE MOLECOLE
APOLARI CHE HANNO UNA VELOCITA' DI PENETRAZIONE, ATTRAVERSO
LE MEMBRANE, DIRETTAMENTE PROPORZIONALE ALLA LORO
CONCENTRAZIONE.**

**ALL'AUMENTARE DELLA CONCENTRAZIONE DIMINUISCE
L'INCREMENTO DEL FLUSSO FINO A CHE, AD UN CERTO PUNTO,
IL MECCANISMO VA IN SATURAZIONE (ulteriori INCREMENTI DI
CONCENTRAZIONE NON PROVOCANO UN CORRISPONDENTE
AUMENTO DELLA VELOCITÀ DI DIFFUSIONE*).**

**I TRASPORTATORI VANNO INCONTRO A TRANSIZIONI
CONFORMAZIONALI CHE FANNO TROVARE IL SITO DI LEGAME
PER LA MOLECOLA DA TRASPORTARE RIVOLTO O VERSO
L'ESTERNO O VERSO L'INTERNO DELLA MEMBRANA.**



TRASPORTATORE DEL GLUCOSIO

Esempio di T. facilitato

I mammiferi hanno 6 isoforme del trasportatore per il glucosio e altri zuccheri a 6 atomi di -C, codificati da geni diversi (GLUT-1 → GLUT-6) e sono tessuto specifici.

Trucco del Glucosio-6-P

Per conservare la differenza di concentrazione (7 volte maggiore in circolo rispetto l'interno delle cellule) si ricorre ad un trucco: si aggiunge **al glucosio un fosfato al -C₆** non appena entra nel citoplasma, in questo modo il trasportatore **non può più riportarlo indietro** (le molecole fosforilate generalmente non passano le membrane)



L'ormone **insulina** regola alcuni trasportatori del glucosio come quelli delle cellule adipose e muscolari che in presenza dell'ormone (quando c'è **elevata concentrazione di glucosio nel sangue**) sono stimolati ad inserire nella membrana un maggior numero di proteine che trasportano il glucosio. In alcune forme di **diabete** sono state evidenziate delle mutazioni nelle sequenze transmembranarie di queste proteine trasportatrici in modo tale da non consentire il riconoscimento del glucosio con la massima efficienza bloccando o diminuendo il suo trasporto, come risultato si ha un accumulo del glucosio a livello ematico.

Il trasportatore del glucosio è stato estratto e purificato, questo ha permesso di poterlo inserire in membrane artificiali in modo da studiare le modalità di trasporto del glucosio.

I canali ionici sono di fondamentale importanza per il funzionamento della cellula nervosa

Ogni attività del sistema nervoso, dalla percezione di uno stimolo sonoro, al richiamo di una memoria precedente, all'esecuzione di un movimento della mano **dipendono dal gioco combinato dei canali ionici che si trovano sulla membrana plasmatica**

Alcuni canali sono sempre



Canali passivi

Altri si aprono e si chiudono in risposta a determinati



Canali ad accesso variabile

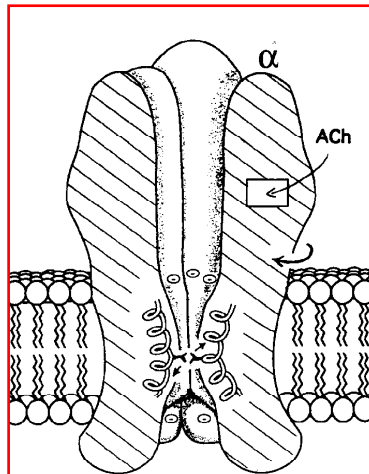
➤ **Permettono il passaggio degli ioni**

Sono estremamente selettivi (lasciano passare di solito un solo tipo di ione)

I canali ionici sono proteine di membrana

Tuttavia:

Essi sono troppo piccoli per essere studiati con metodi tradizionali



5 nanometri

6 nanometri

2 nanometri

Appartengono a non più di 3-4 diverse famiglie e i diversi tipi di canali si assomigliano nella struttura

Sono ben conservati a livello filogenetico (lo stesso canale si può trovare nella drosophila o nell'uomo)

Ci sono vari tipi di canali ad accesso variabile

Il meccanismo di passaggio di ioni attraverso le **proteine canale** non è ancora ben chiaro ma si pensa che possa essere sicuramente di tipo "**controllato**": i canali possono essere aperti o chiusi a seconda del caso. L'accesso può anche essere **modulato** permettendo un maggiore o minore flusso ionico. Nelle cellule animali sono stati descritti **3 tipi di canali ionici**:

1 - a controllo di potenziale (si apre o chiude in risposta a variazioni di voltaggio -“cellule **eccitabili**, molte neurotossine contenute nei veleni inibiscono questi canali alterando **in maniera grave** le funzioni del SN e Muscolare”- i canali del Ca^{+2} insieme alla calmodulina regolano molte funzioni citoplasmatiche)

2 - a controllo di ligando (si apre o chiude in seguito all'interazione con molecole specifiche di controllo [**ormoni, neurotrasmettitori etc.**]) (il malfunzionamento **del canale del cloro** fa aumentare le secrezioni a livello respiratorio ed un accumulo di sodio e cloro nel sudore) (**Fibrosi cistica**)

3 - a controllo meccanico (stimoli meccanici della membrana inducono modifiche conformazionali che aprono o chiudono il canale)

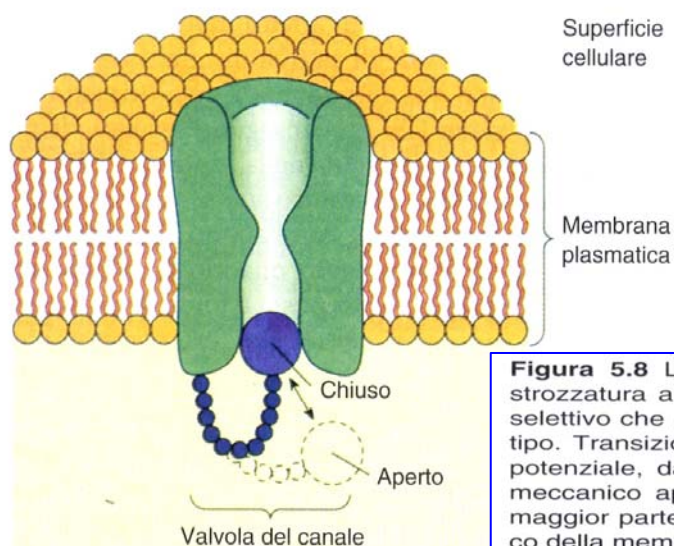


Figura 5.8 La struttura di un canale ionico regolato. La strozzatura al centro del canale può funzionare come filtro selettivo che permette soltanto il trasporto di ioni di un certo tipo. Transizioni conformazionali indotte da modificazioni di potenziale, dall'interazione con ligandi o da stimoli di tipo meccanico aprono il canale al passaggio degli ioni. Nella maggior parte dei canali, la "valvola" è sul lato citoplasmatico della membrana, come mostrato nella figura.

L'apertura o chiusura di questi canali "**a sbarramento**" viene regolata da una proteina terminale (20 AA) che può formare una struttura globulare all'estremità della catena (**VALVOLA DEL CANALE**)

delezioni o mutazioni -della proteina- aprono il canale

co della membrana, come mostrato nella figura.

Trasporto attivo

Ci sono meccanismi diversi che presiedono al trasporto attivo

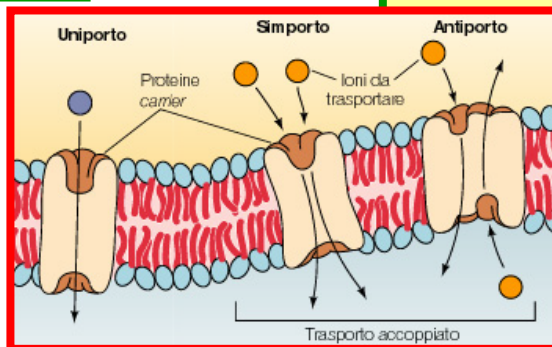
Essi hanno in comune:

- Sono specifici per una data specie molecolare
- Richiedono energia perché trasportano contro gradiente di concentrazione

ENERGIA
(per il trasporto contro gradiente)

ATP

Co-trasporto
(o trasporto accoppiato)



L'energia può essere ottenuta accoppiando il trasporto di una molecola contro gradiente a quello di un'altra che segue il suo gradiente di concentrazione

- 1) VA CONTRO GRADIENTI DI POTENZIALE CHIMICO O ELETTRICO
- 2) RICHIEDE "ENERGIA METABOLICA" ED È SENSIBILE AI VELENI METABOLICI [OUABAINA = INIBIZIONE SOLO DAL VERSANTE EXTRACELLULARE]
- 3) DIPENDE DALLA PRESENZA E DALL'ATTIVITÀ DI PROTEINE DI MEMBRANA ED
- 4) E' SPECIFICO PER DETERMINATE SOSTANZE O PER GRUPPI DI SOSTANZE STRETTAMENTE AFFINI.

NEGLI EUCARIOTI SI VERIFICA SECONDO 2 MODALITÀ:

***DIPENDENTE DIRETTAMENTE DALL'IDROLISI DELL' ATP**

- **POMPE DI TIPO P** (che richiedono Mg^{++}):

- 1) H^+ ATPasi
- 2) Ca^{++} ATPasi
- 3) Na^+/K^+ ATPasi

**** DIPENDENTE IN MODO INDIRETTO DALL'IDROLISI DELL'ATP**

IN TUTTI E DUE I CASI **L'ENERGIA LIBERATA** VIENE UTILIZZATA DAL TRASPORTATORE PER **SPINGERE** LE SOSTANZE ATTRAVERSO LA MEMBRANA

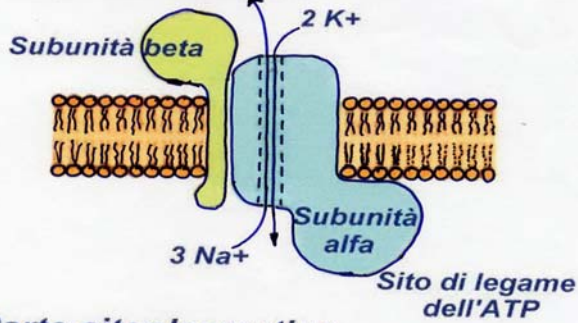
POMPA Na⁺/K⁺-ATPasi

Formata da 2 polipeptidi:

[*subunità alfa*] con un pm di 112.000 dalton è formata da 1020 AA, contiene il **dominio di idrolisi dell'ATP**, 3 siti di legame con il sodio e 2 siti di legame con il potassio.

[*subunità beta*] **glicoproteina** con un pm di 50.000 dalton, è formata da 300 AA e svolge una funzione **accessoria** o di regolazione

Parte extracellulare



Parte citoplasmatica

La **pompa sodio potassio** serve a mantenere le concentrazioni interne degli ioni.

Essa è di **fondamentale importanza** per il funzionamento del neurone

Na⁺ = 150

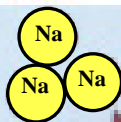
pompa sodio potassio

K⁺ = 5

ESTERNO

Gradiente di concentrazione del sodio

Più basso



Canale di trasporto attivo



ADP + P_i

Citoplasma

Più basso

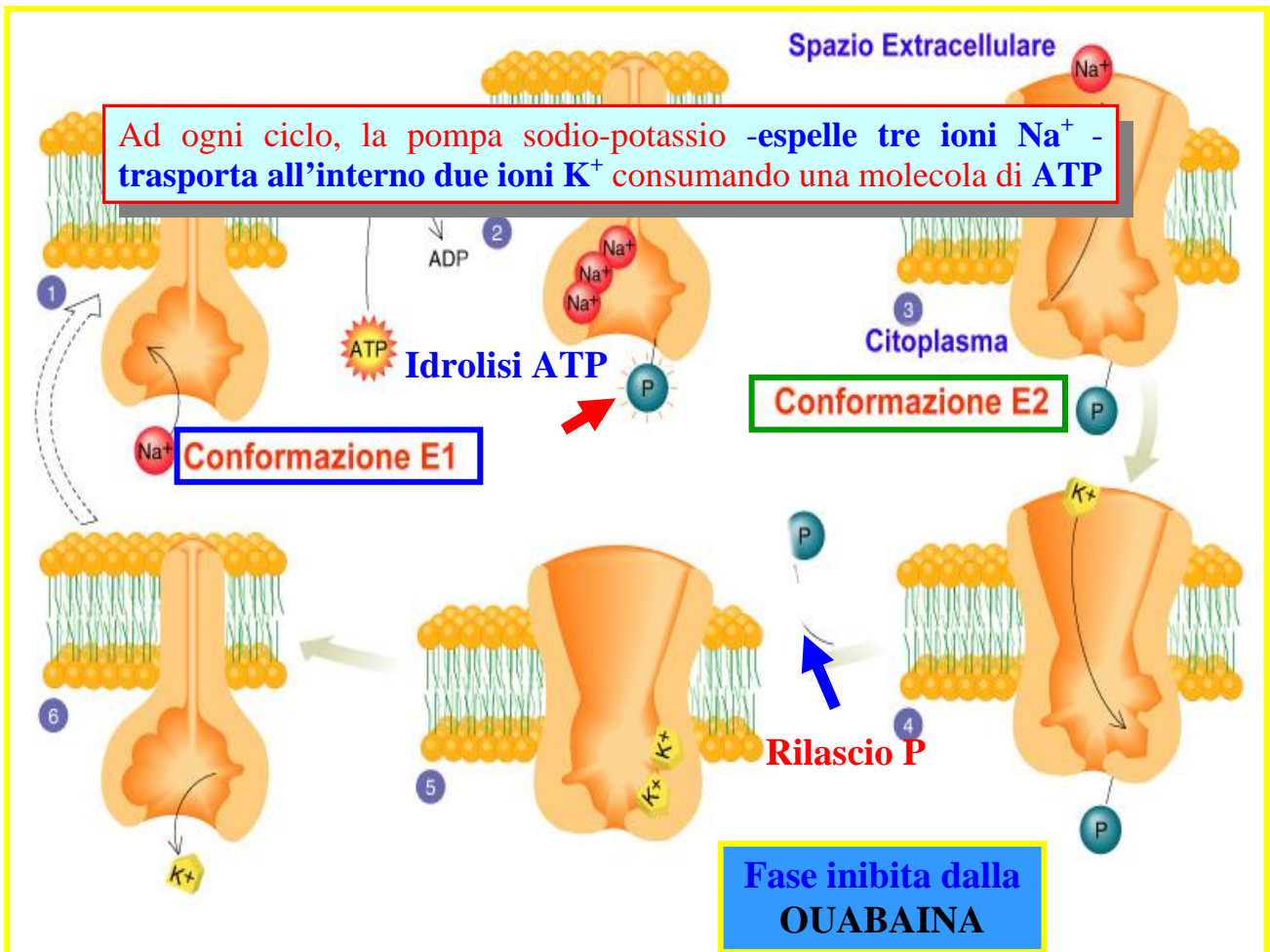
Gradiente di concentrazione del potassio

Più alto



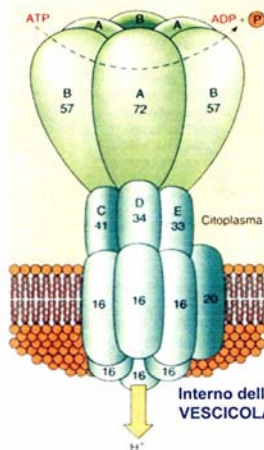
Na⁺ = 10 - 20

K⁺ = 140



POMPE DI TIPO V:

Proteine transmembrana presenti nelle membrane delle vescicole interne. (trasporto **Diretto** come le *tipo P*)



Utilizzano ATP senza legare il gruppo -P. Spingono gli H^+ dal citoplasma verso lo spazio racchiuso dall'organulo (mem. est. Mitochondrio) o dalla vescicola (vacuolo), determinando un **abbassamento del pH** del contenuto della vescicola o del vacuolo e contribuendo anche al **mantenimento della neutralità del pH citoplasmatico**.

Sono strutture complesse. Somigliano alle ATPasi F_0/F_1 dei batteri e dei mitocondri. Dove funzionano in maniera **inversa (formano ATP)**

Sono state riscontrate pompe simili negli *archeobatteri*. Le somiglianze con le pompe trovate nei batteri indicano che le pompe di tipo V si sono evolute da un unico tipo ancestrale.