

LA MEMBRANA

www.fisiokinesiterapia.biz

Struttura della membrana

- ✓ Le membrane sono fondamentali per la vita della cellula
- ✓ Racchiudono la cellula definendone i confini e mantenendo le differenze fondamentali fra citosol e l'ambiente extracellulare

- ✓ Hanno una struttura generale comune: ognuna è un film sottile di molecole lipidiche e proteiche, tenute insieme principalmente da interazioni non covalenti
- ✓ Sono strutture dinamiche fluide e la maggior parte delle loro molecole sono capaci di muoversi all'interno di essa
- ✓ Le molecole lipidiche sono disposte come un doppio strato continuo spesso circa 5 nm, fungendo da barriera relativamente impermeabile al passaggio della maggior parte delle molecole solubili in acqua

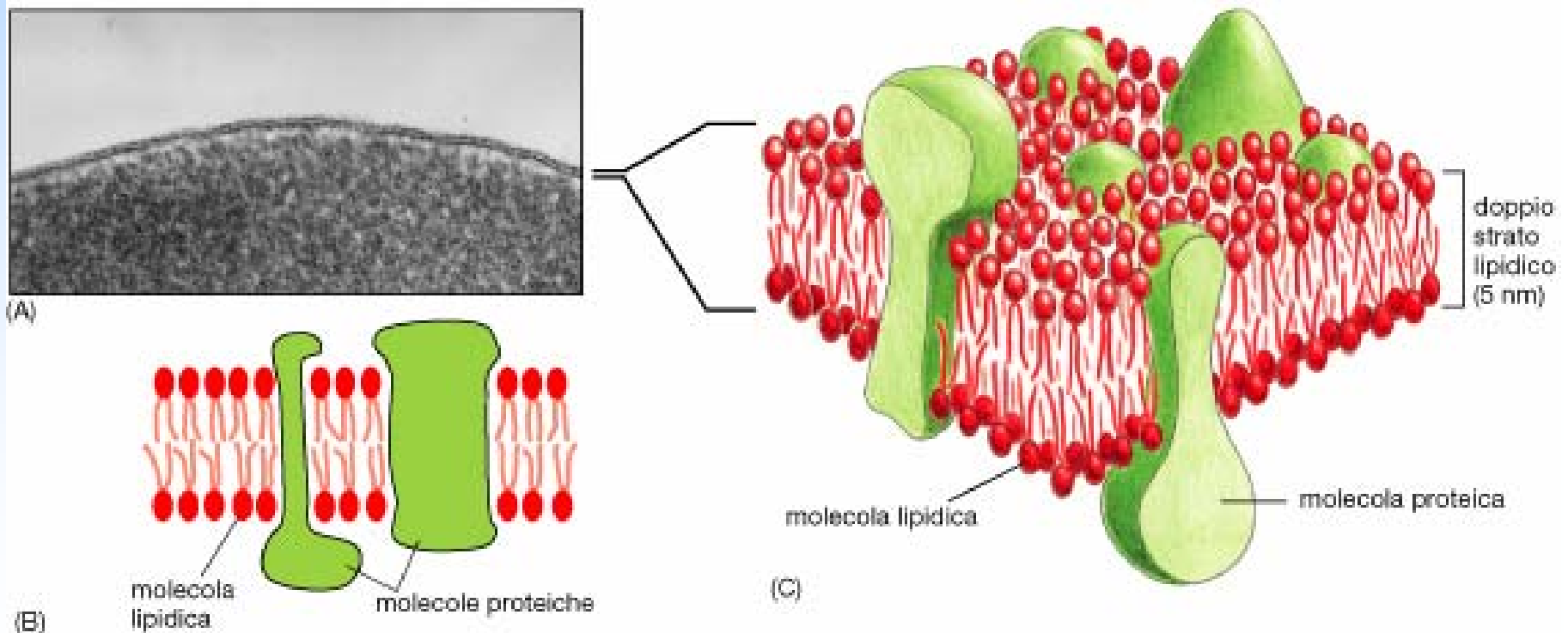
✓ Le molecole proteiche che attraversano il doppio strato lipidico mediano importanti funzioni della membrana:

- trasporto di molecole specifiche;
- catalizzano reazioni associate alla membrana (es: sintesi di ATP);
- recettori che rilevano e trasducono segnali chimici all'interno della cellula;
- alcune servono da collegamenti strutturali che connettono il citoscheletro alla matrice extracellulare o ad una cellula adiacente.

- Si stima che circa il 30% delle proteine che sono codificate nel genoma di una cellula animale siano proteine di membrana

Il doppio strato lipidico

E' la base universale della struttura delle membrane cellulari



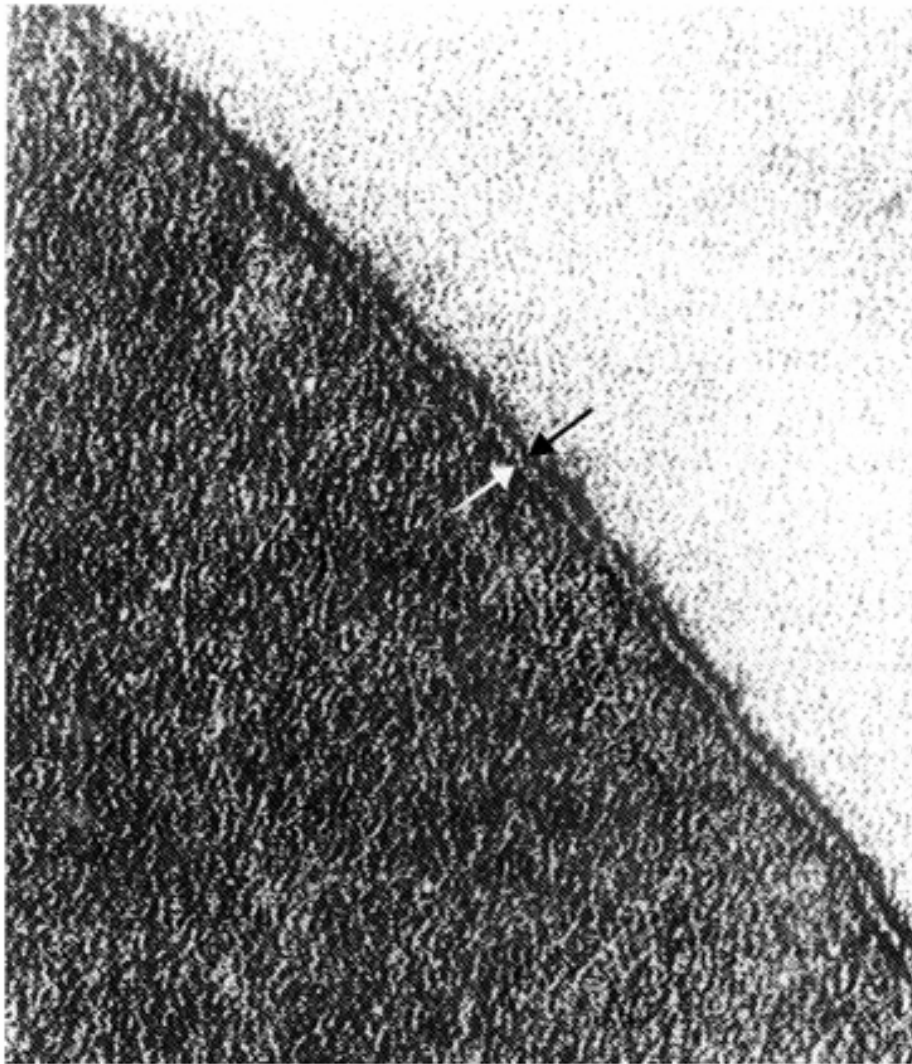
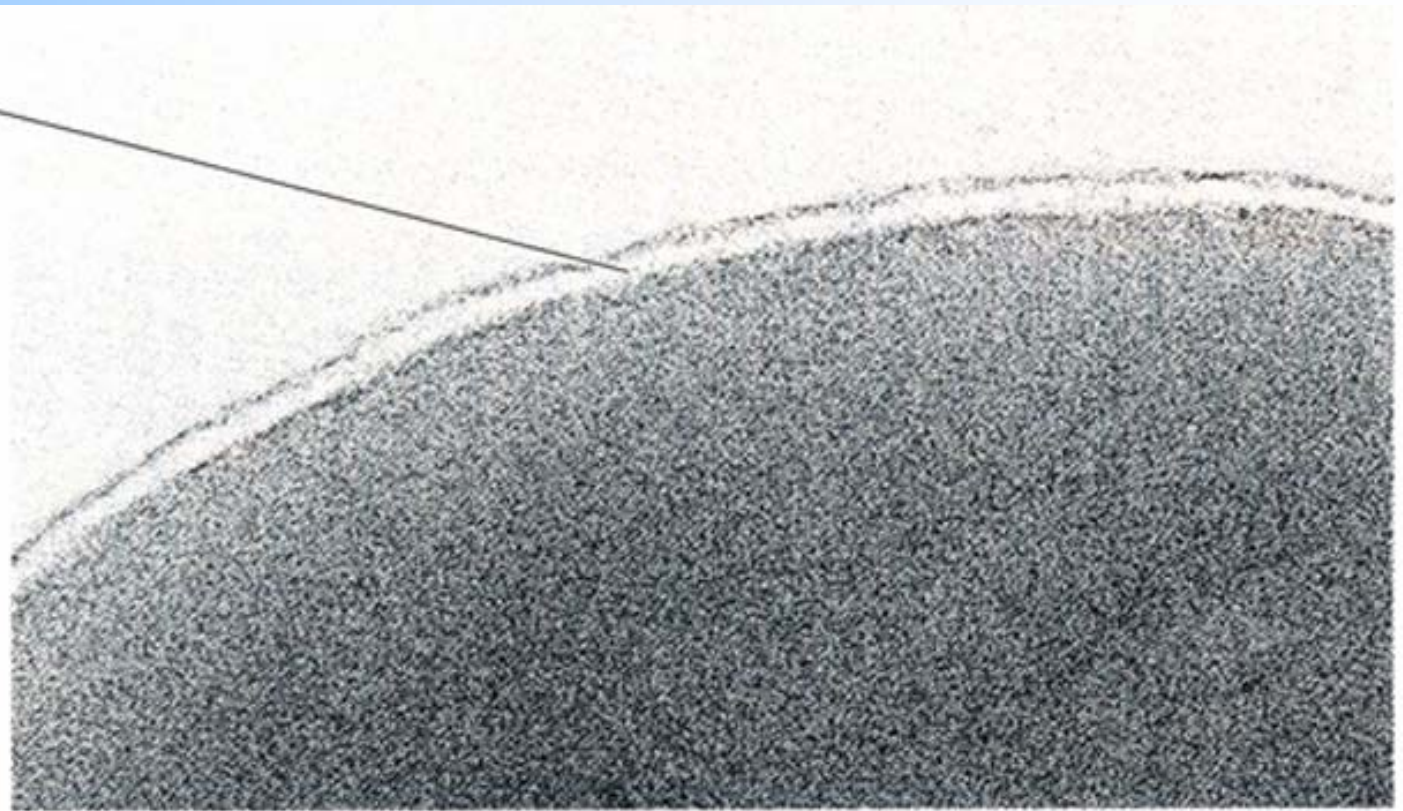


Immagine di plasmalemma al MET.
Ingrandimento di 190.000 volte.
Struttura a sandwich.

Contrasto dovuto all'azione
dell'osmio che, legandosi alle
proteine e alle teste dei fosfolipidi
(entrambe polari), forma e
demarca due linee dense.

Membrana



20 nm

Struttura a doppio strato della membrana plasmatica

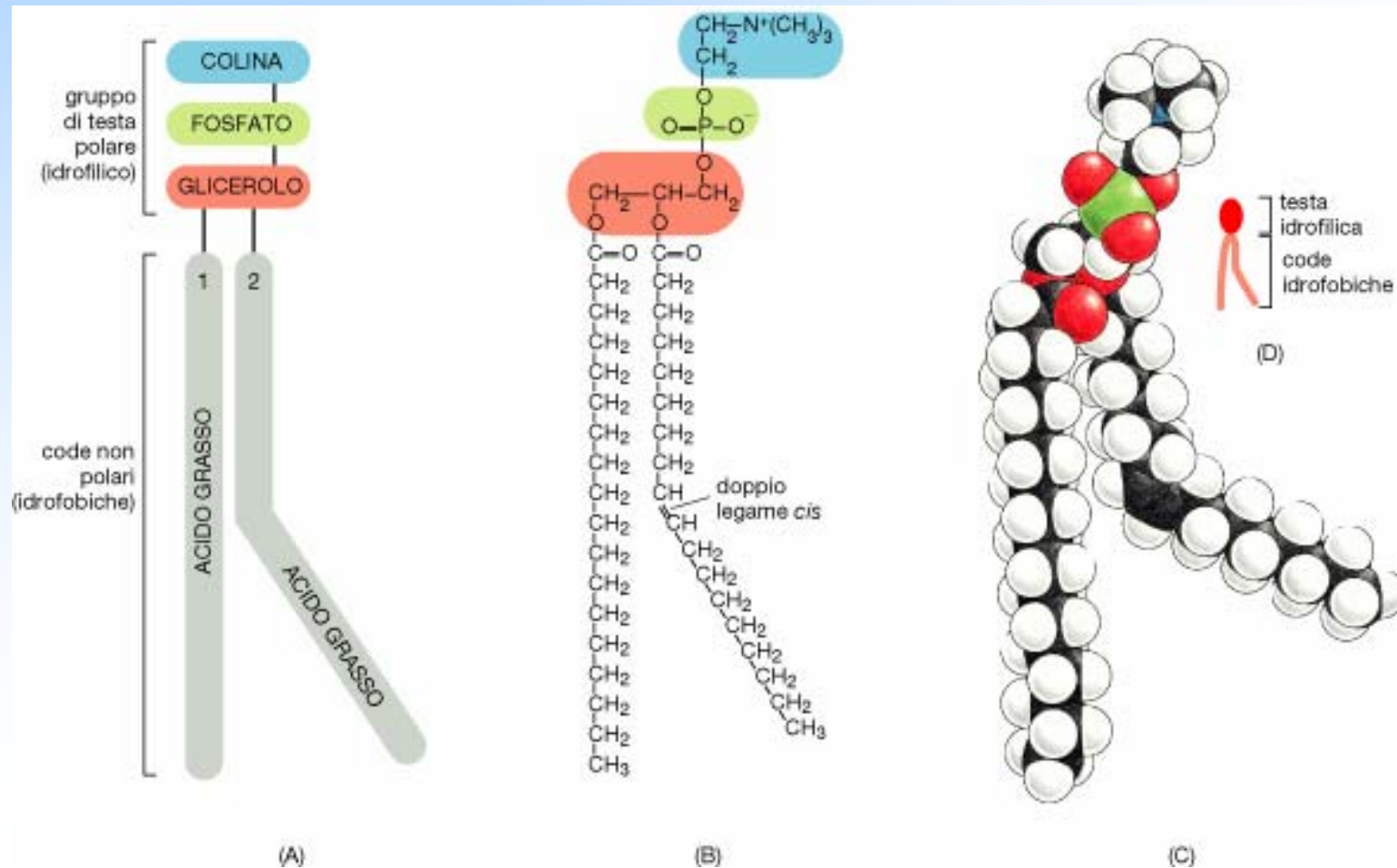
Fotografia al microscopio elettronico di un globulo rosso umano. Si noti l'aspetto a binario della membrana plasmatica. (Gentile concessione di J. David Robertson, Duke University Medical Center.)

- Le molecole lipidiche costituiscono il 50% della massa delle membrane
- Ci sono circa 5×10^6 molecole di lipidi in $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ di doppio strato lipidico e circa 10^9 molecole lipidiche nella membrana plasmatica di una piccola cellula animale

- ✓ Tutte le molecole lipidiche nelle membrane cellulari sono *anfipatiche* (o anfifiliche)
- ✓ I lipidi più abbondanti sono i fosfolipidi

I **fosfolipidi** hanno un gruppo di testa polare e due code idrocarburiche *idrofobiche*

Le code sono di solito acidi grassi e possono differire in lunghezza

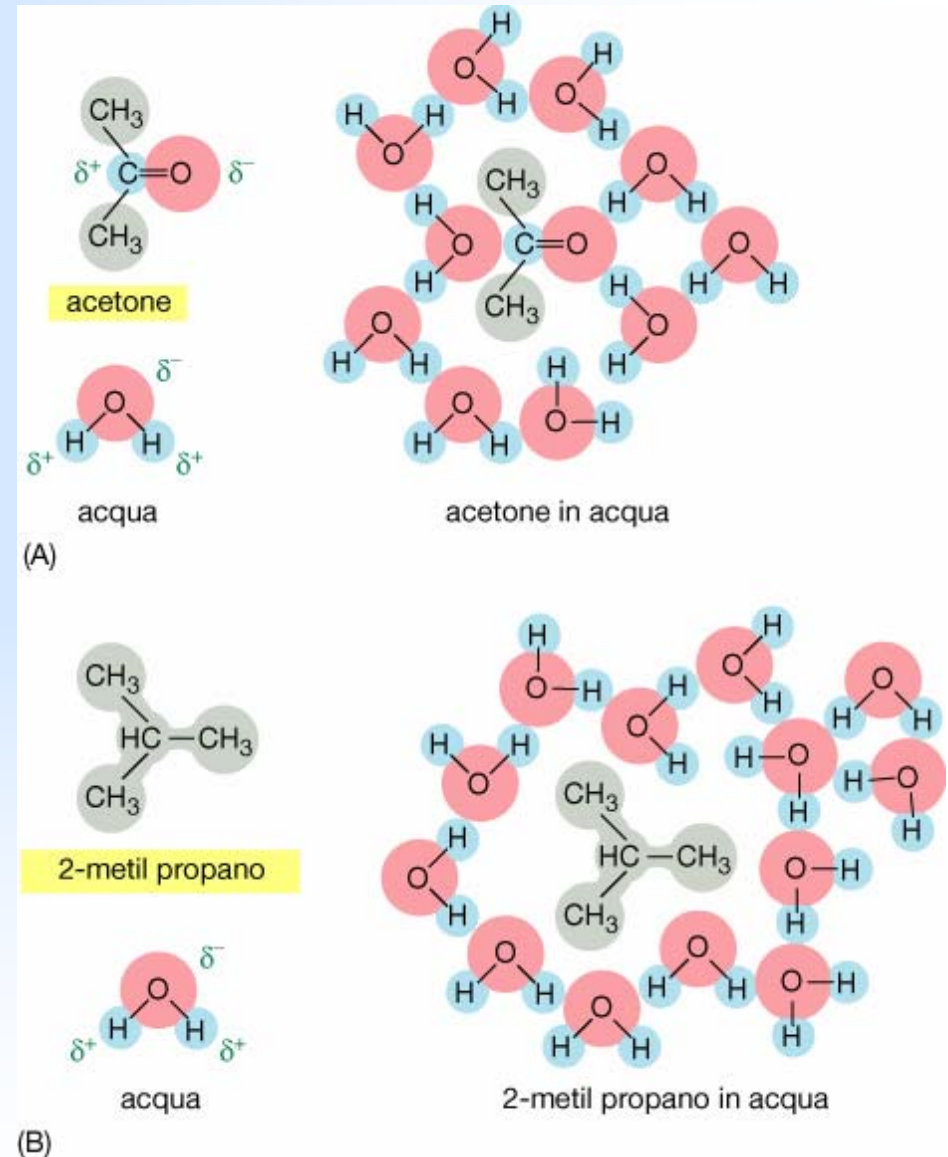


- ✓ Differenze della lunghezza e della saturazione delle code degli acidi grassi sono importanti perché influenzano la capacità delle molecole fosfolipidiche di compattarsi fra di loro
- ✓ Sono la forma e la natura anfipatica delle molecole lipidiche che fanno formare loro spontaneamente doppi strati in ambienti acquosi

- Le molecole **idrofiliche** si dissolvono prontamente in acqua perché contengono gruppi carichi o gruppi polari privi di carica che possono formare interazioni elettrostatiche favorevoli o legami idrogeno con l'acqua
- Le molecole **idrofobiche** invece sono insolubili in acqua perché tutti, o quasi tutti, i loro atomi sono privi di carica e non polari; perciò non possono formare interazioni energeticamente favorevoli con l'acqua

A) L'acetone è polare quindi può formare interazioni elettrostatiche favorevoli con l'acqua

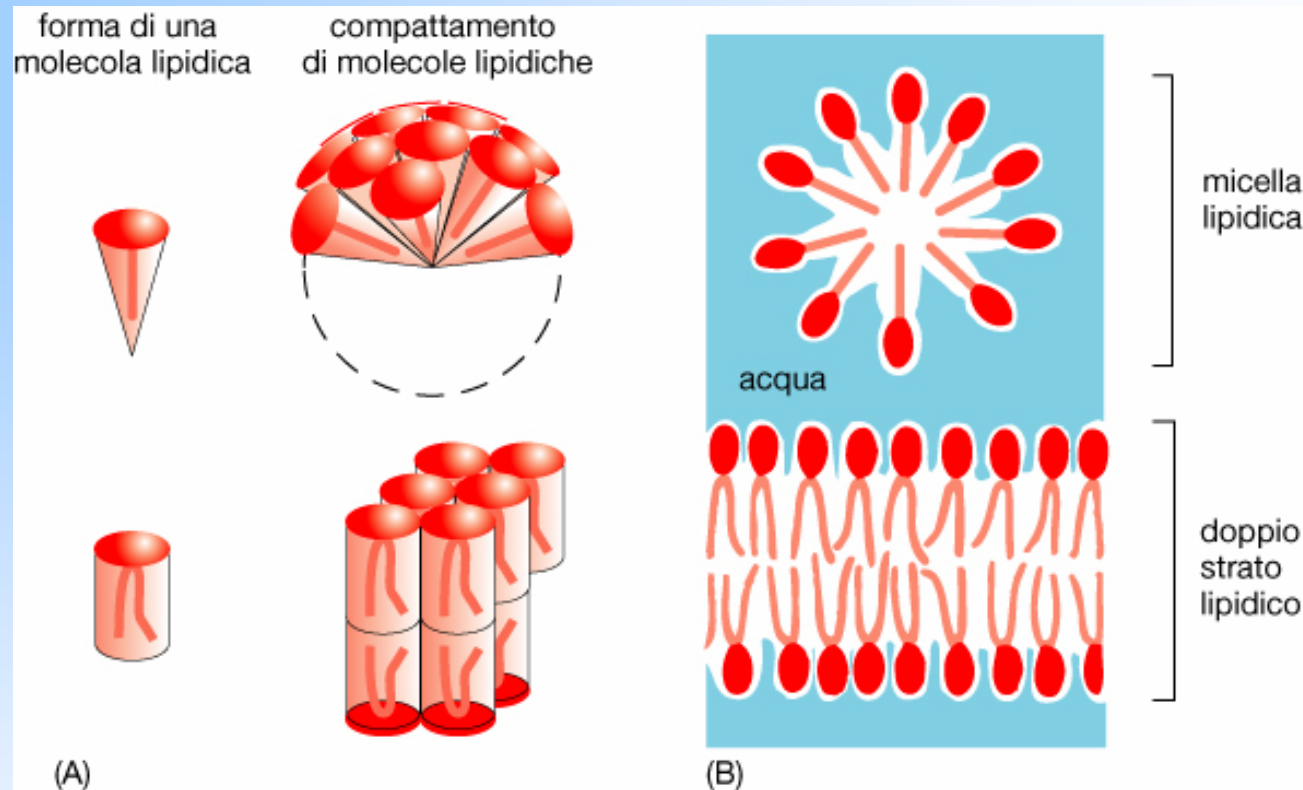
B) Il 2-metil propano è completamente idrofobico e non può formare interazioni favorevoli con l'acqua, perciò forzerebbe le molecole d'acqua a riorganizzarsi in strutture a gabbia che aumentano l'energia libera.



- Le molecole lipidiche si aggregano spontaneamente per racchiudere le loro code idrofobiche all'interno ed esporre le loro teste idrofiliche all'acqua

Possono formare:

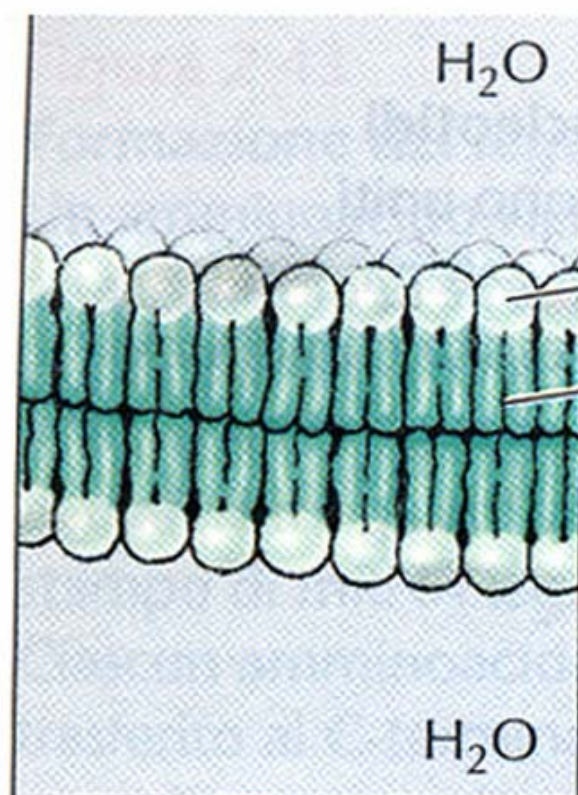
- ❑ micelle sferiche
- ❑ doppi strati



Compattamento dei lipidi in ambiente acquoso

(A) Molecole lipidiche a forma conica formano **micelle**

(B) molecole fosfolipidiche a forma di cilindro si dispongono in un **doppio strato lipidico**



Gruppo polare
di testa

Coda idrofobica

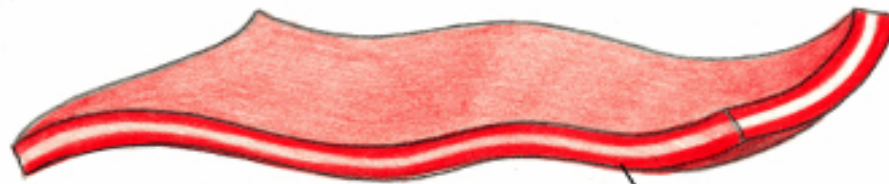
Un doppio strato lipidico

I fosfolipidi formano spontaneamente doppi strati stabili, con i loro gruppi polari di testa esposti all'acqua e le loro code idrofobiche sepolte all'interno della membrana.

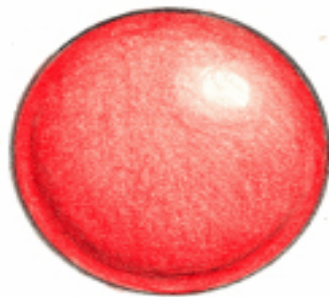
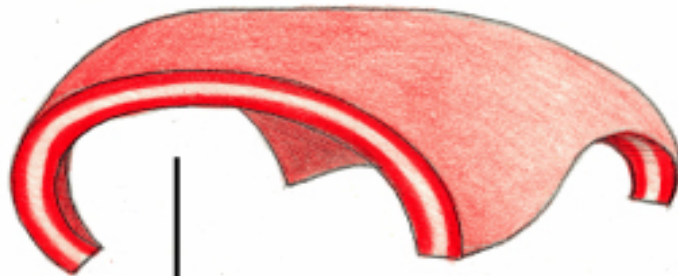
- ✓ Nella disposizione energeticamente più favorevole, le teste idrofiliche sono a contatto con l'acqua su ciascuna superficie
- ✓ Le stesse forze che spingono i fosfolipidi a formare i doppi strati forniscono anche una proprietà di autoriparazione

- ✓ *Proibizione dei bordi liberi*: l'unico modo per un doppio strato di evitare di avere bordi liberi è quello di chiudersi su se stesso e di formare un compartimento sigillato
- ✓ Questo comportamento, fondamentale per la creazione di una cellula vivente, è una conseguenza diretta della forma e della natura anfipatica dei fosfolipidi

ENERGETICAMENTE SFAVOREVOLE



doppio strato planare
fosfolipidico con bordi
esposti all'acqua

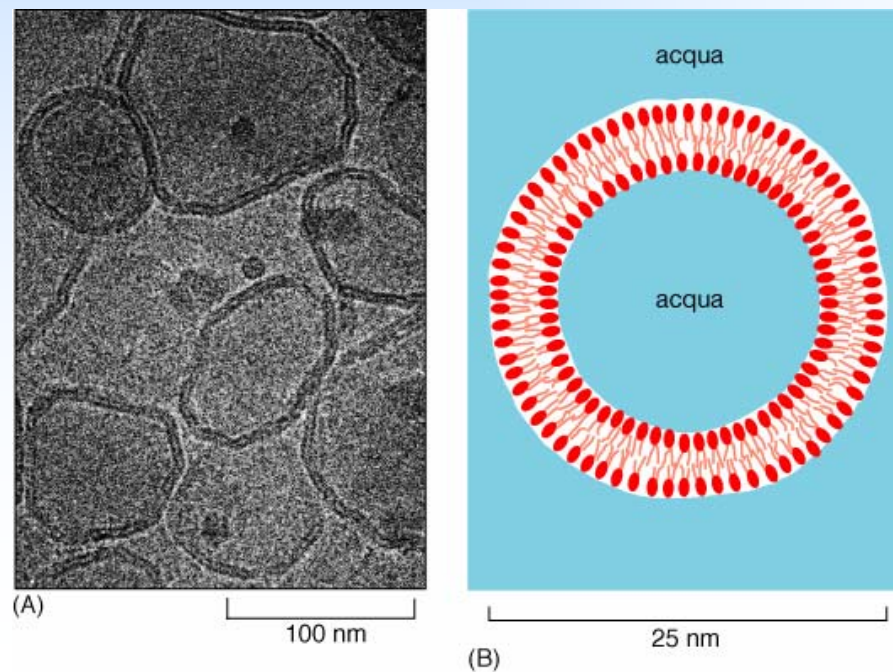


compartimento sigillato
formato dal doppio
strato fosfolipidico

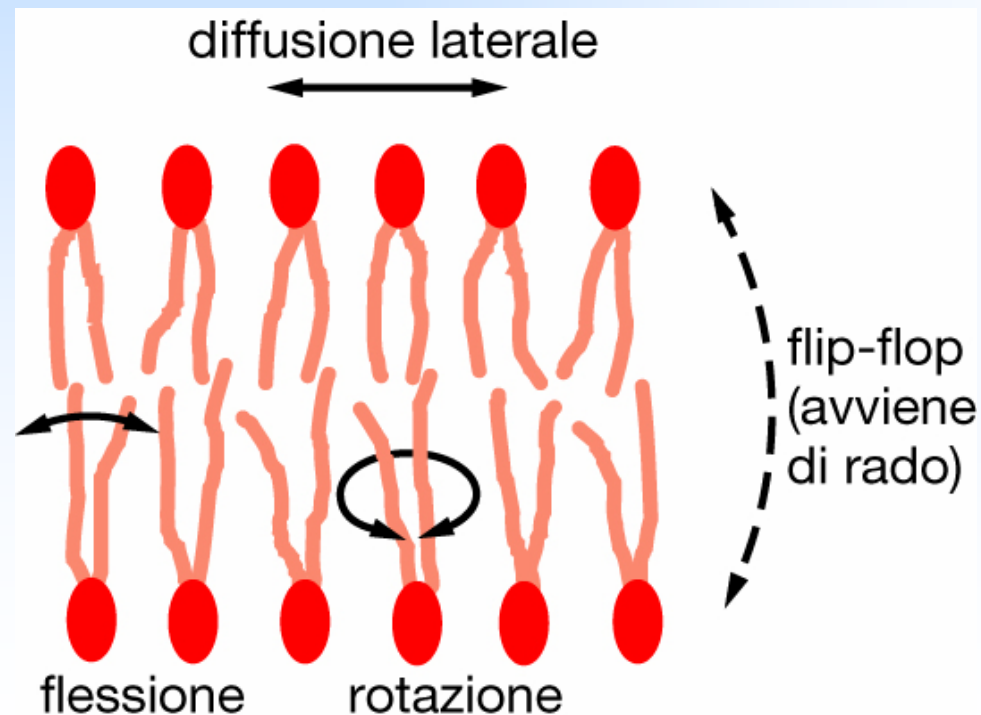
ENERGETICAMENTE FAVOREVOLE

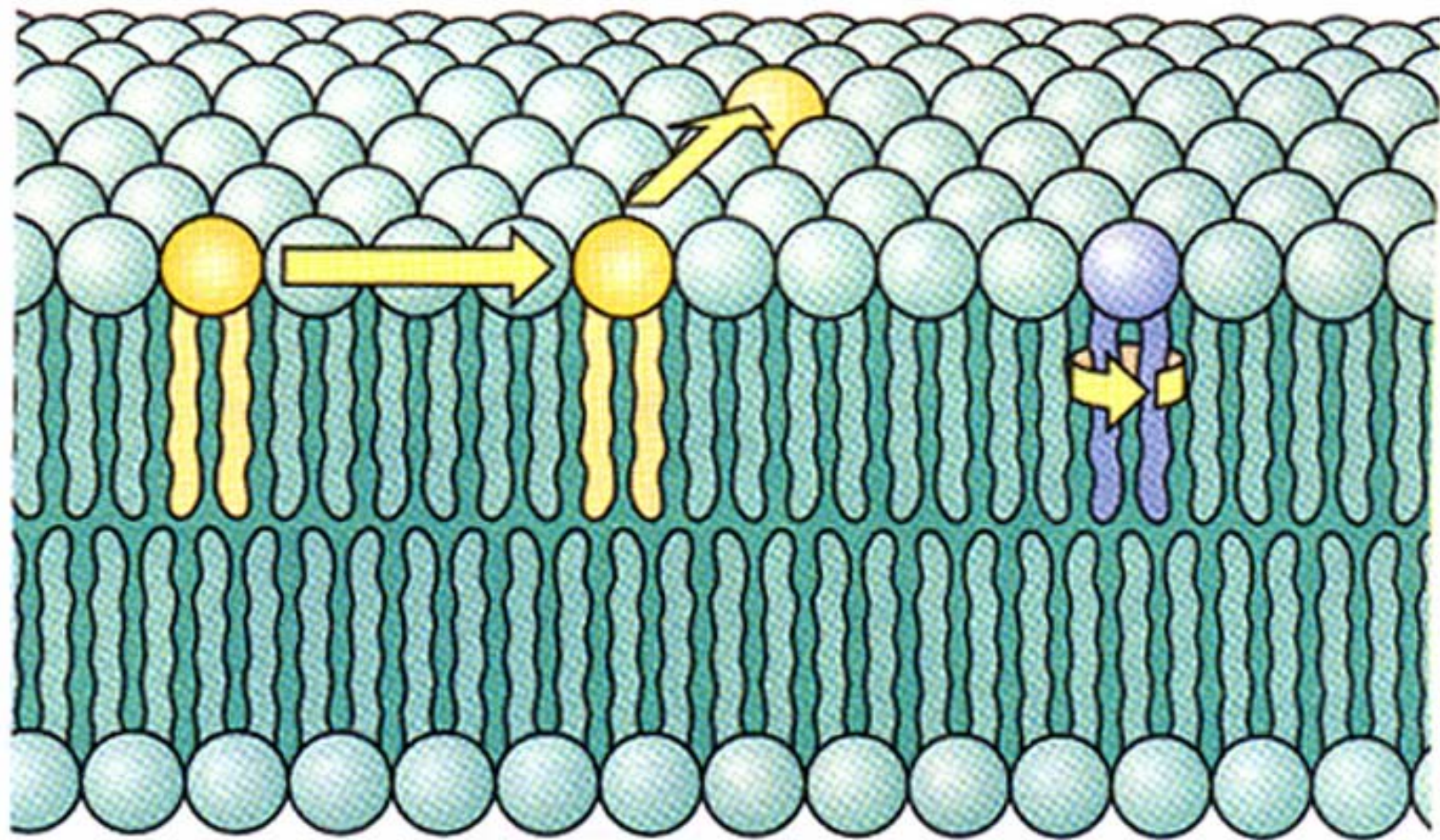
La chiusura spontanea di un
doppio strato fosfolipidico
che dà origine a un
compartimento sigillato

- ✓ Il doppio strato lipidico è un **fluido bidimensionale**
- ✓ Studi condotti sui liposomi, vescicole sintetiche che variano da 25 nm a 1000 nm, hanno dimostrato che le molecole fosfolipidiche nei doppi strati lipidici migrano molto raramente da un lato all'altro (flip-flop)



- ✓ Le molecole lipidiche cambiano rapidamente posto con i loro vicini all'interno di un monostrato (10^7 volte al secondo)
- ✓ Le singole molecole lipidiche ruotano molto rapidamente intorno al proprio asse

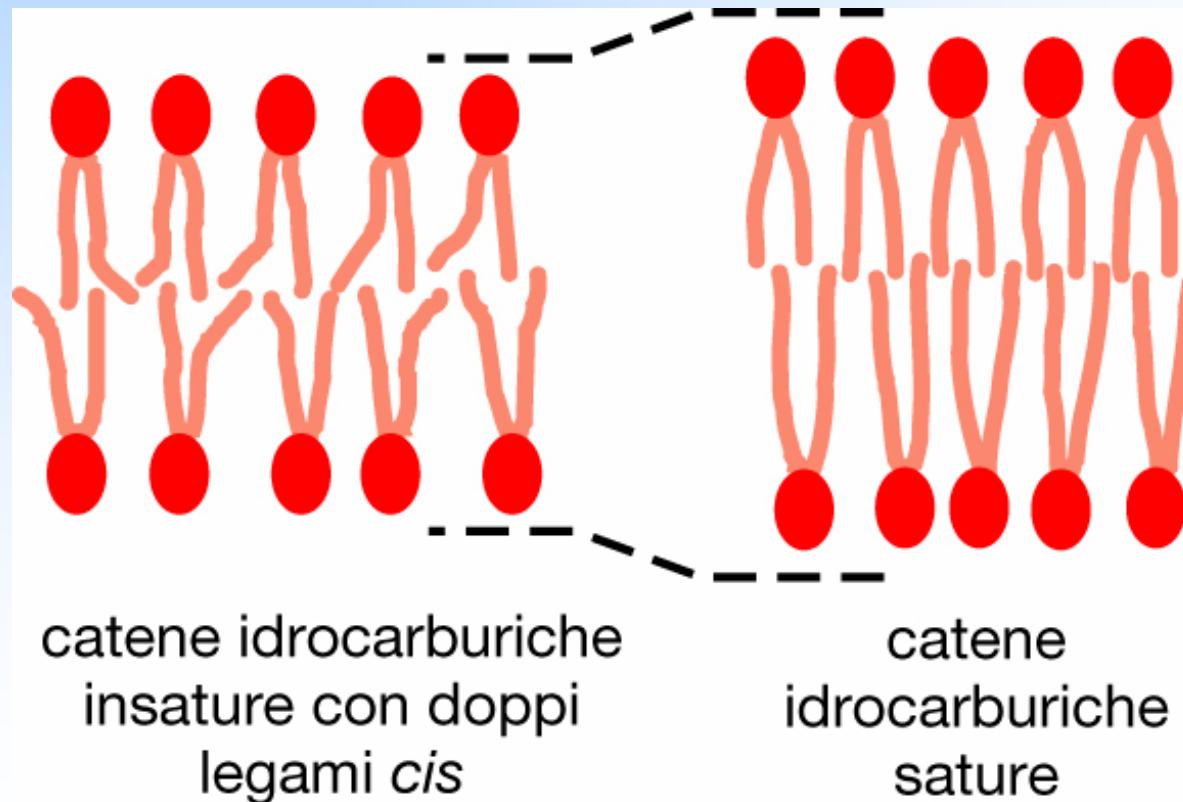




- ✓ Il confinamento dei fosfolipidi crea un problema per la loro sintesi, in quanto sono prodotti soltanto sul versante citosolico del REL
- ✓ Il problema è risolto da una classe speciale di enzimi di membrana chiamati traslocatori dei fosfolipidi (**flippasi**)

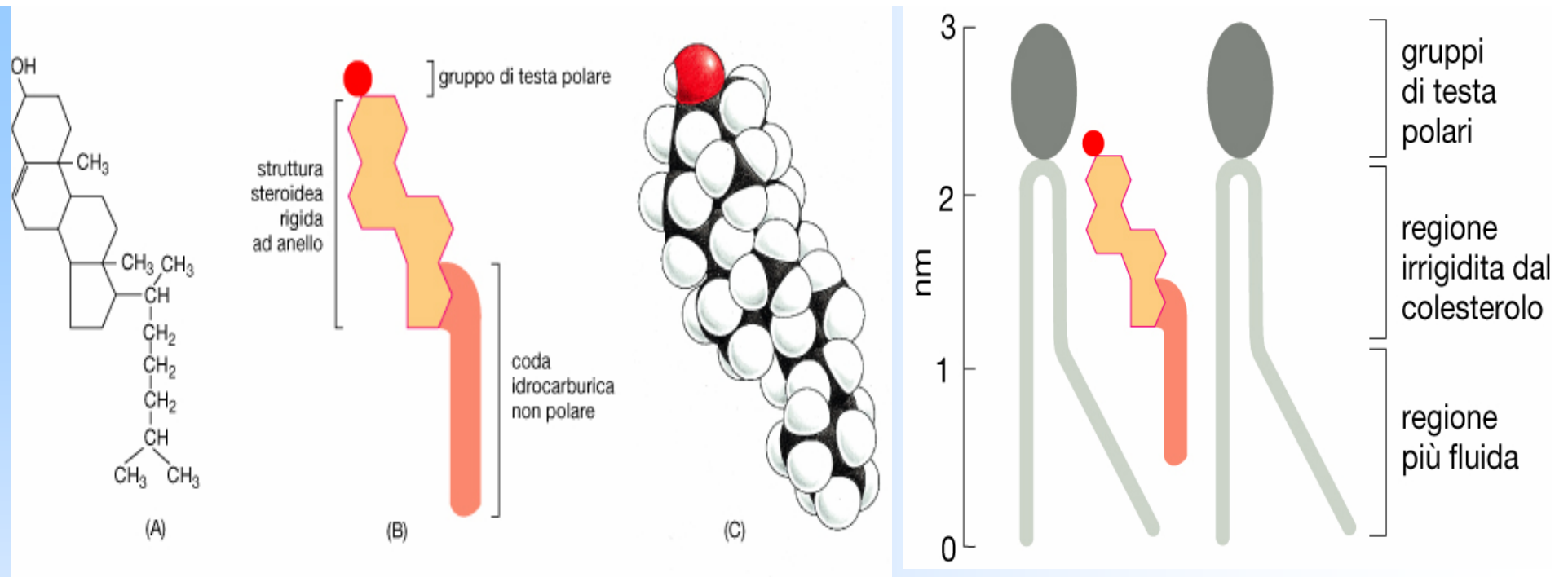
- La fluidità delle membrane cellulari deve essere regolata precisamente: certi processi di trasporto di membrana e certe attività enzimatiche cessano quando la viscosità del doppio strato viene aumentata oltre un certo valore
- La fluidità della membrana dipende dalla sua composizione e dalla sua temperatura, infatti passa da uno stato liquido ad uno stato bidimensionale rigido cristallino (gel) ad un punto di congelamento caratteristico

- ✓ Questo cambiamento di stato si chiama **transizione di fase** e la temperatura è più bassa se le catene idrocarburiche sono corte o hanno doppi legami



- Il doppio strato lipidico di molte membrane cellulari non è composto solamente da fosfolipidi, ma spesso contiene anche **colesterolo** e **glicolipidi**
- Le membrane plasmatiche di cellule eucariote contengono quantità elevate di colesterolo, fino quasi al 50%

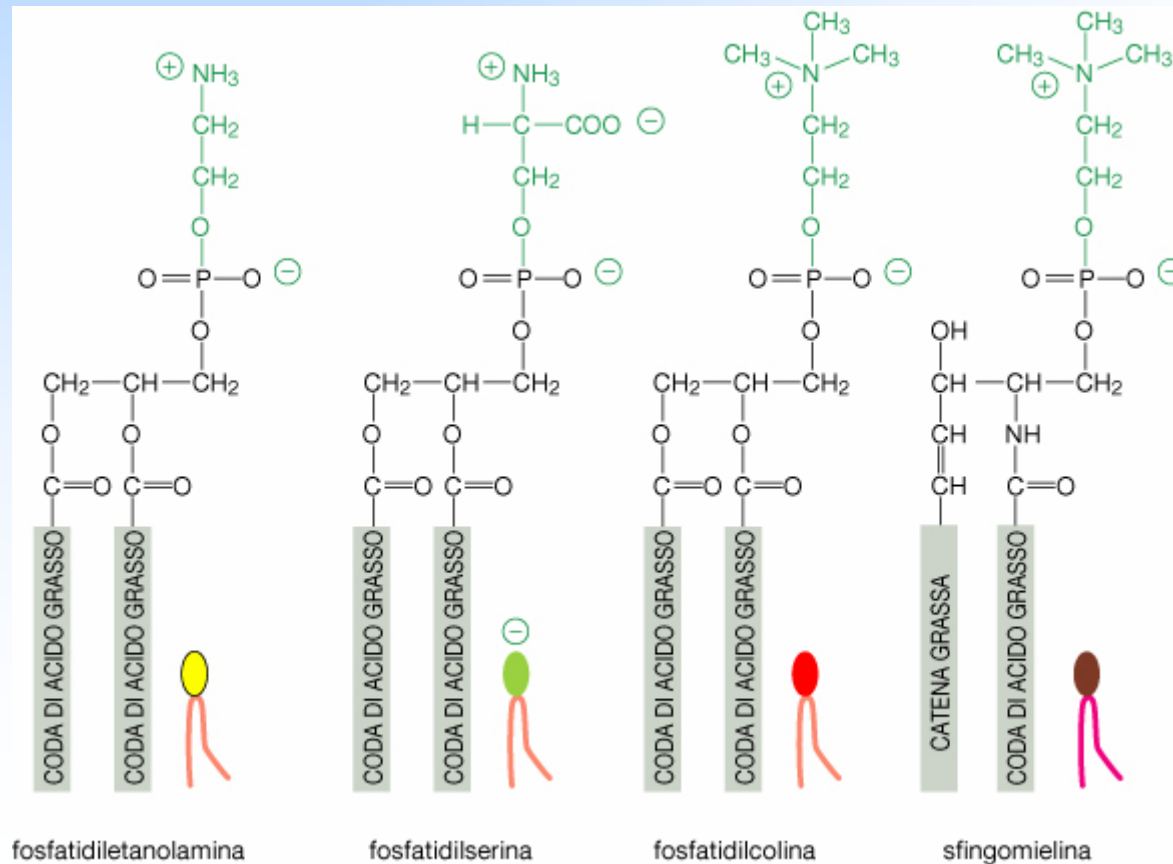
- ✓ Le molecole di colesterolo aumentano le proprietà di barriera di permeabilità del doppio strato fosfolipidico
- ✓ Esse si orientano nel doppio strato con i gruppi ossidrilici vicino ai gruppi di testa polari delle molecole fosfolipidiche



- Il colesterolo rende il doppio strato meno deformabile e fa diminuire la permeabilità delle piccole molecole solubili in acqua
- Impedisce però alle catene alifatiche dei fosfolipidi di unirsi e cristallizzare

Oltre al colesterolo, 4 principali fosfolipidi:

- fosfatidil-colina
- fosfatidil-etanolamina
- fosfatidil-serina
- sfingomielina



Altri fosfolipidi, come gli **inositol fosfolipidi** sono presenti in quantità modeste ma sono funzionalmente molto importanti (es: segnalazione cellulare)

Tabella Composizione in lipidi delle membrane cellulari

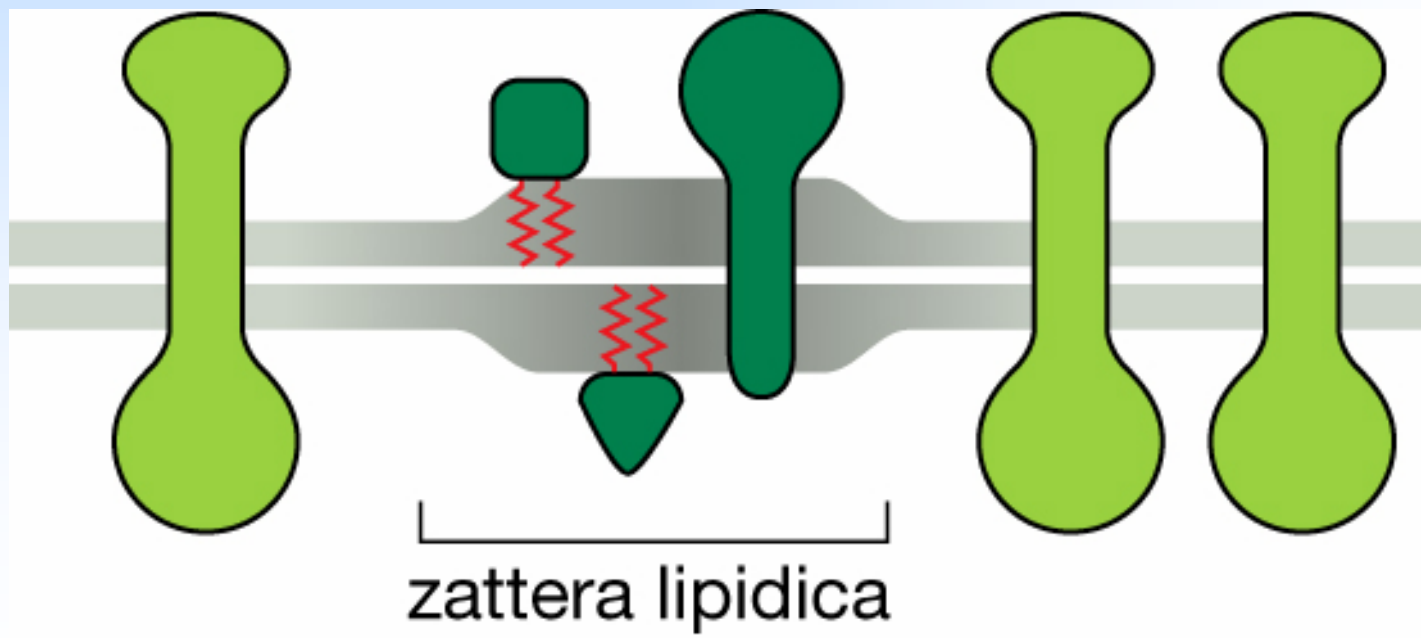
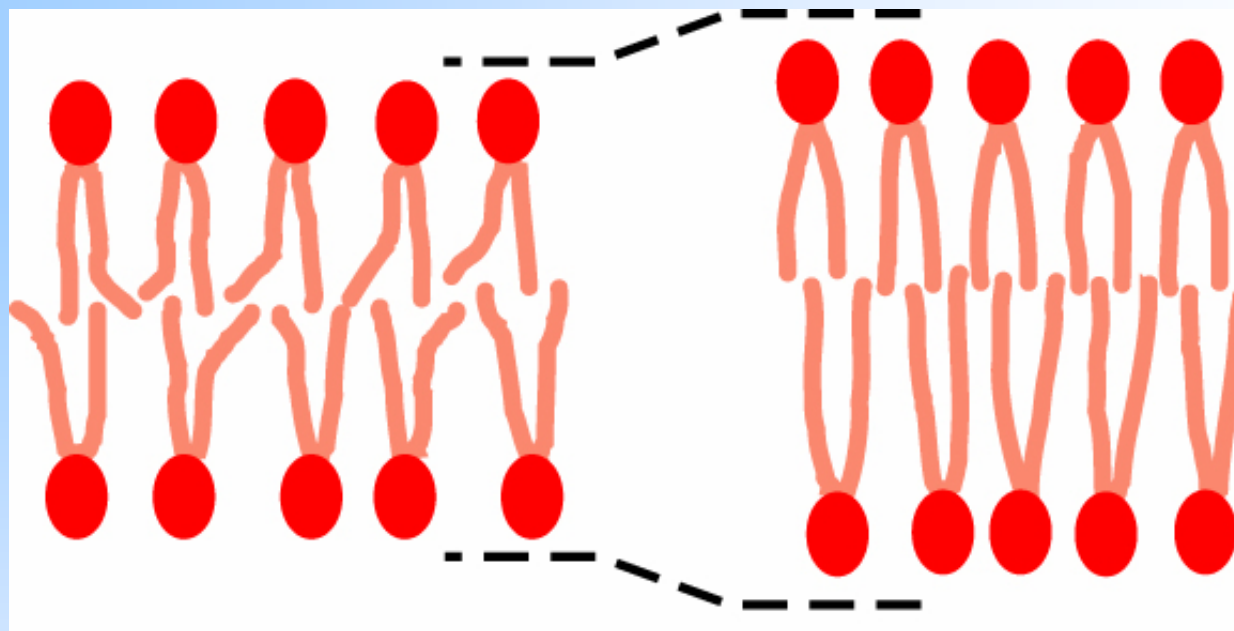
Lipide	Membrana plasmatica		Reticolo endo-plasmatico ruvido	Membrana mitocondriale esterna
	<i>E. coli</i>	Eritrocita		
Fosfatidilcolina	0	17	55	50
Fosfatidilserina	0	6	3	2
Fosfatidil-etanolamina	80	16	16	23
Sfingomielina	0	17	3	5
Glicolipidi	0	2	0	0
Colesterolo	0	45	6	<5

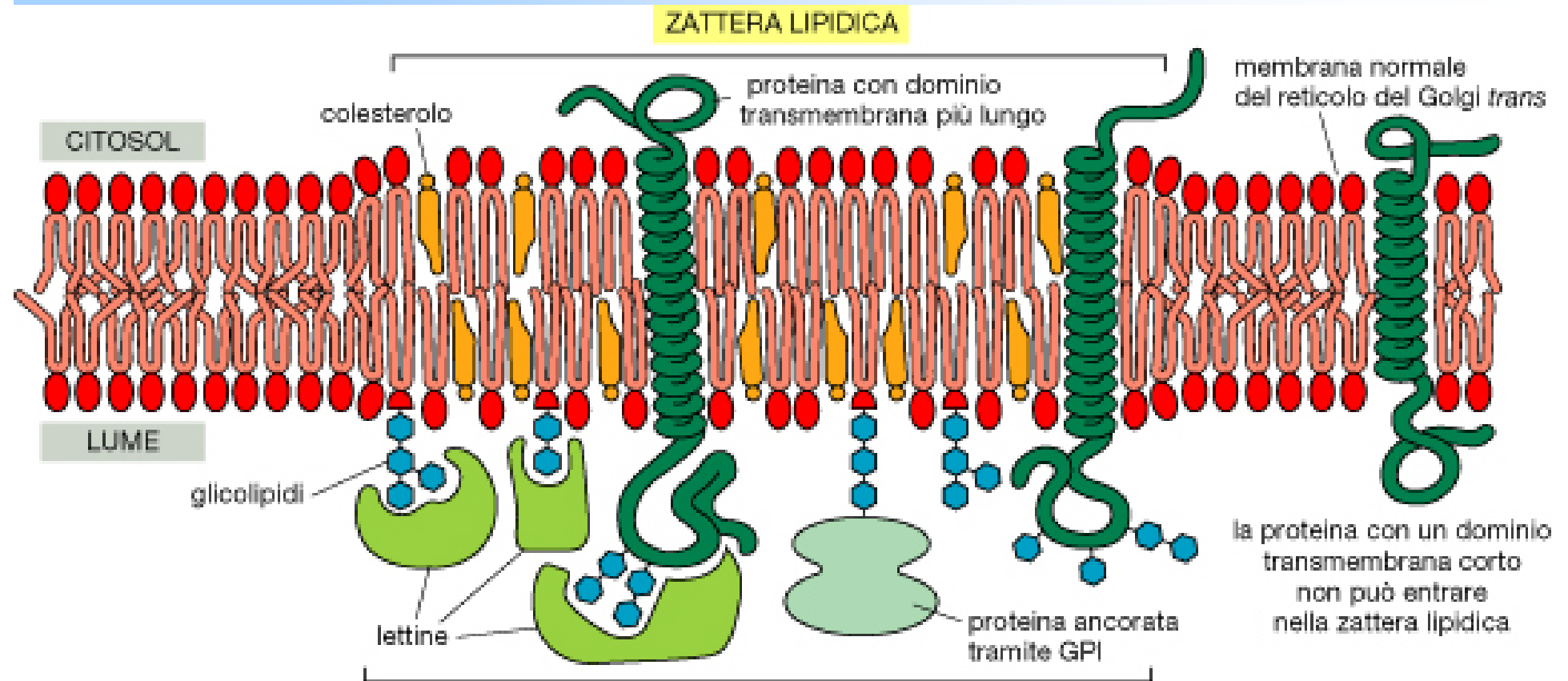
❖ Perché le membrane plasmatiche eucariote contengono una tale varietà di fosfolipidi?

I lipidi di membrana rappresentano un solvente bidimensionale per le proteine di membrana ed alcune di queste possono svolgere la loro funzione soltanto in presenza di gruppi di testa di fosfolipidi specifici

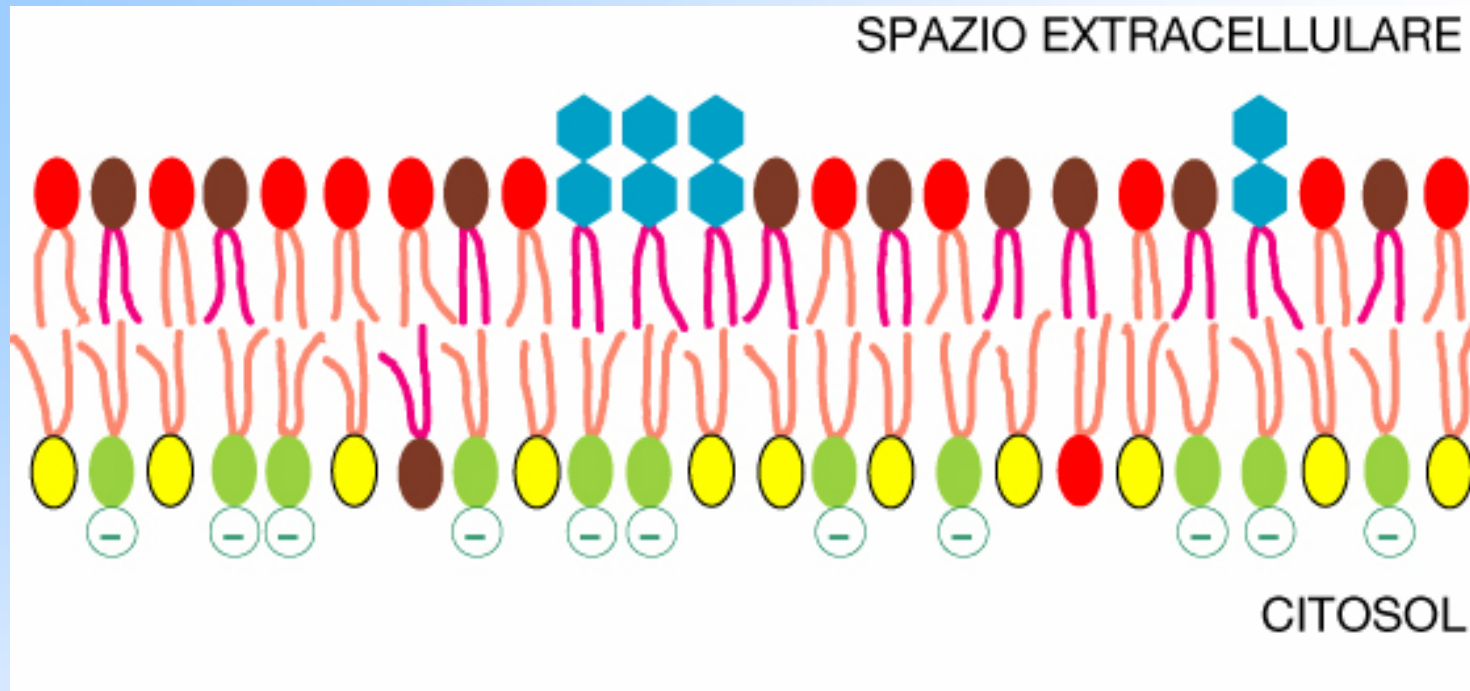
- ✓ La maggior parte delle molecole lipidiche nelle membrane cellulari è mescolata casualmente nel monostrato lipidico in cui si trova
- ✓ Per alcune molecole lipidiche però come gli **sfingolipidi**, che tendono ad avere catene alifatiche lunghe, le forze attrattive sono abbastanza forti da tenere insieme molecole adiacenti in piccoli **microdomini**

- ✓ Questi **microdomini** o **zattere lipidiche**, hanno diametro di 70 nm e sono ricche sia di **sfingolipidi** che di **colesterolo** ed essendo più spesse possono ospitare meglio certe proteine di membrana





- ✓ Le membrane lipidiche dei due monostrati lipidici hanno *composizione diversa*
- ✓ Nel globulo rosso tutte le molecole lipidiche contenenti **colina** nel gruppo di testa sono nel *monostrato esterno*, mentre quasi tutte le molecole che contengono **fosfatidilserina** (carica negativamente) si trova nel *monostrato interno*



L'asimmetria dei lipidi è funzionalmente importante

Molte proteine citosoliche si legano a gruppi lipidici di testa specifici presenti nel monostrato citosolico. La proteina chinasi C (PKC), attivata in risposta a vari segnali extracellulari, si lega alla faccia citosolica dove è concentrata la fosfatidilserina

➤ Nell'*apoptosi*, la **fosfatidiliserina**, che è normalmente confinata al monostrato citosolico, trasloca rapidamente al monostrato extracellulare

Ciò provoca un segnale che induce cellule come i macrofagi a fagocitare la cellula morta e digerirla

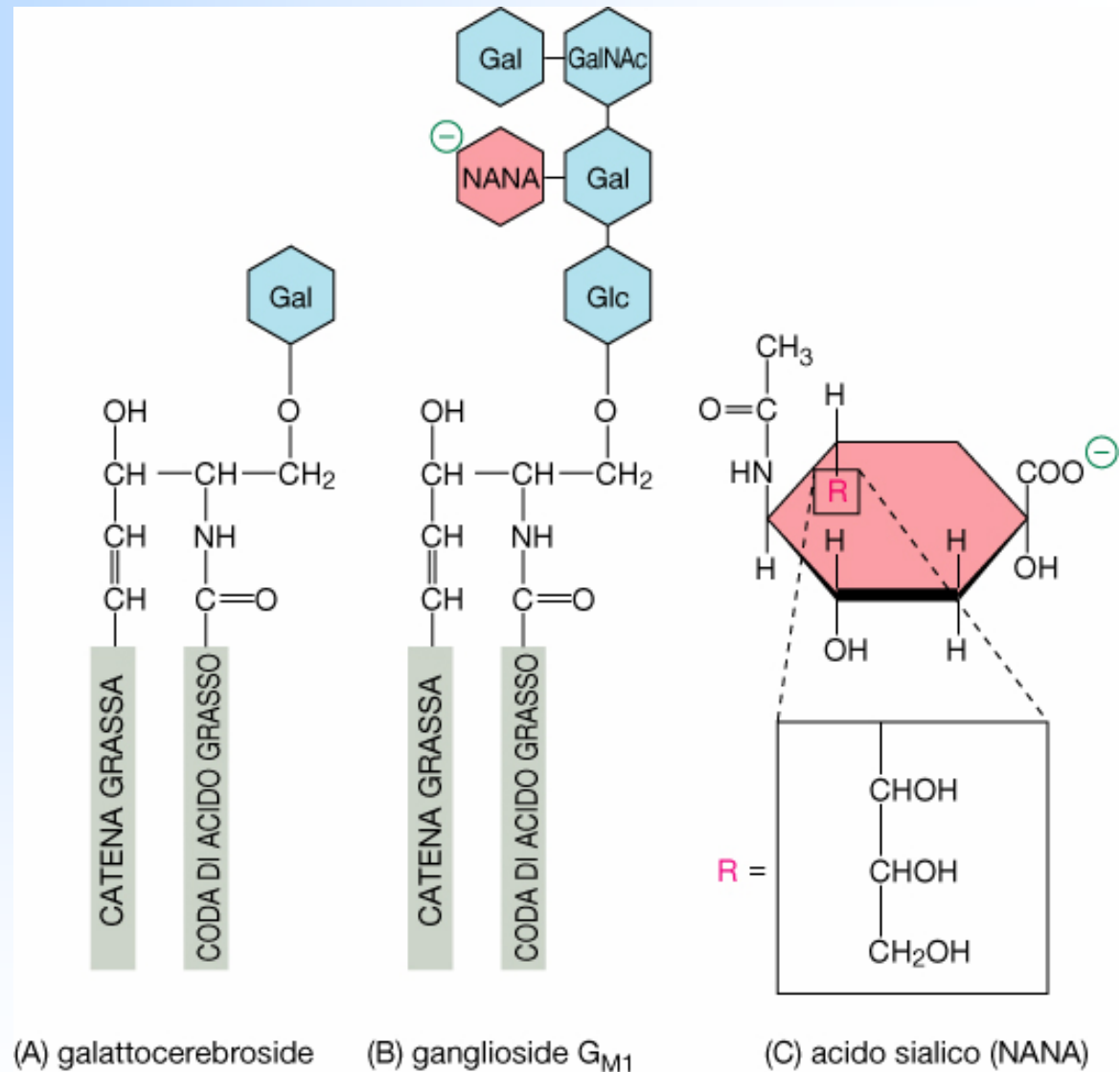
La traslocazione della fosfatidilserina avviene con due meccanismi:

- 1) è inattivato il traslocatore di fosfolipidi che normalmente trasporta il lipide dal monostrato extracellulare al citosolico
- 2) è attivata una scramblasi che trasferisce non specificatamente fosfolipidi in entrambe le direzioni fra i due monostrati

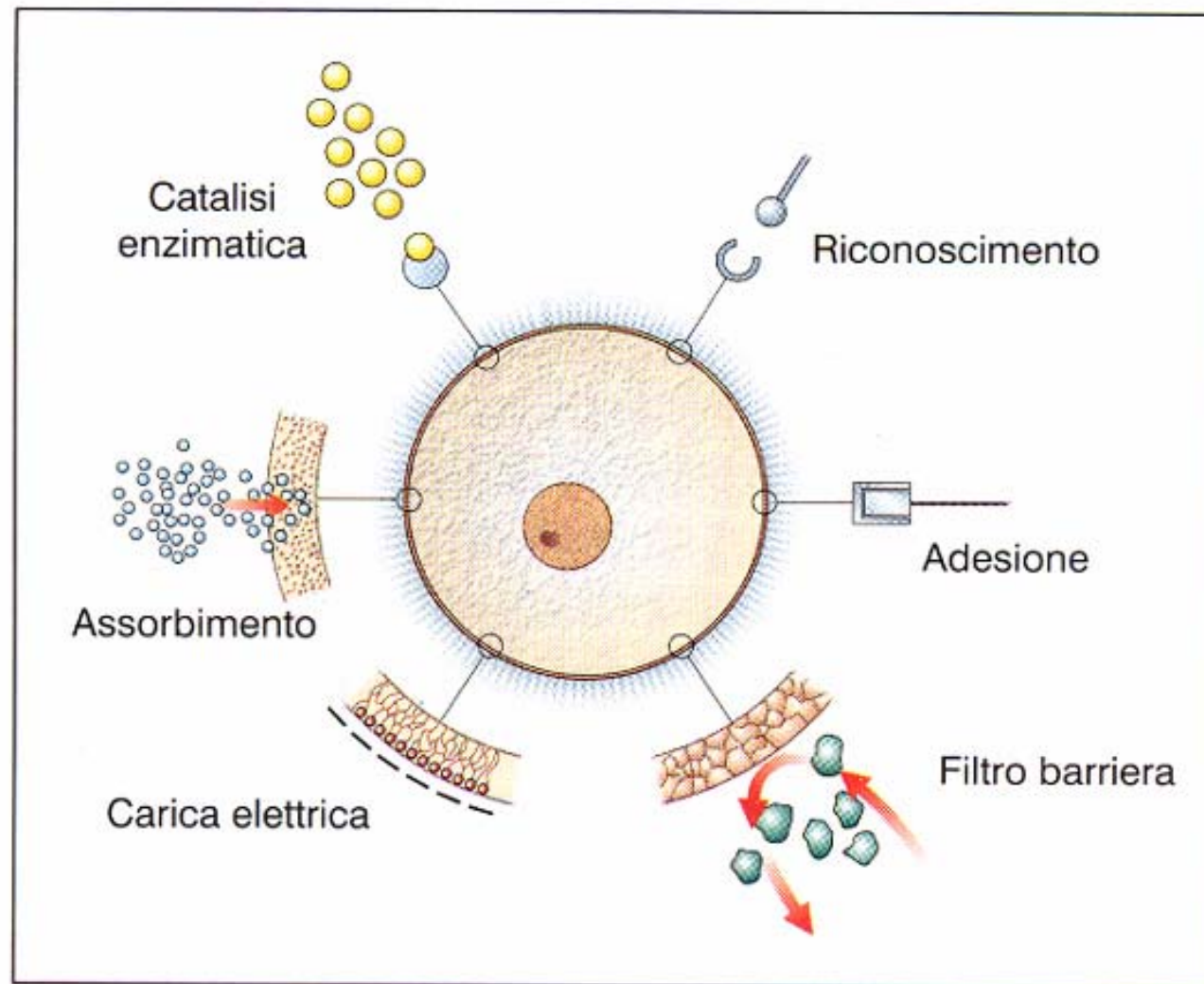
I glicolipidi

Molecole
lipidiche
contenenti
zuccheri

Presentano la
asimmetria più
estrema nella
distribuzione di
membrana



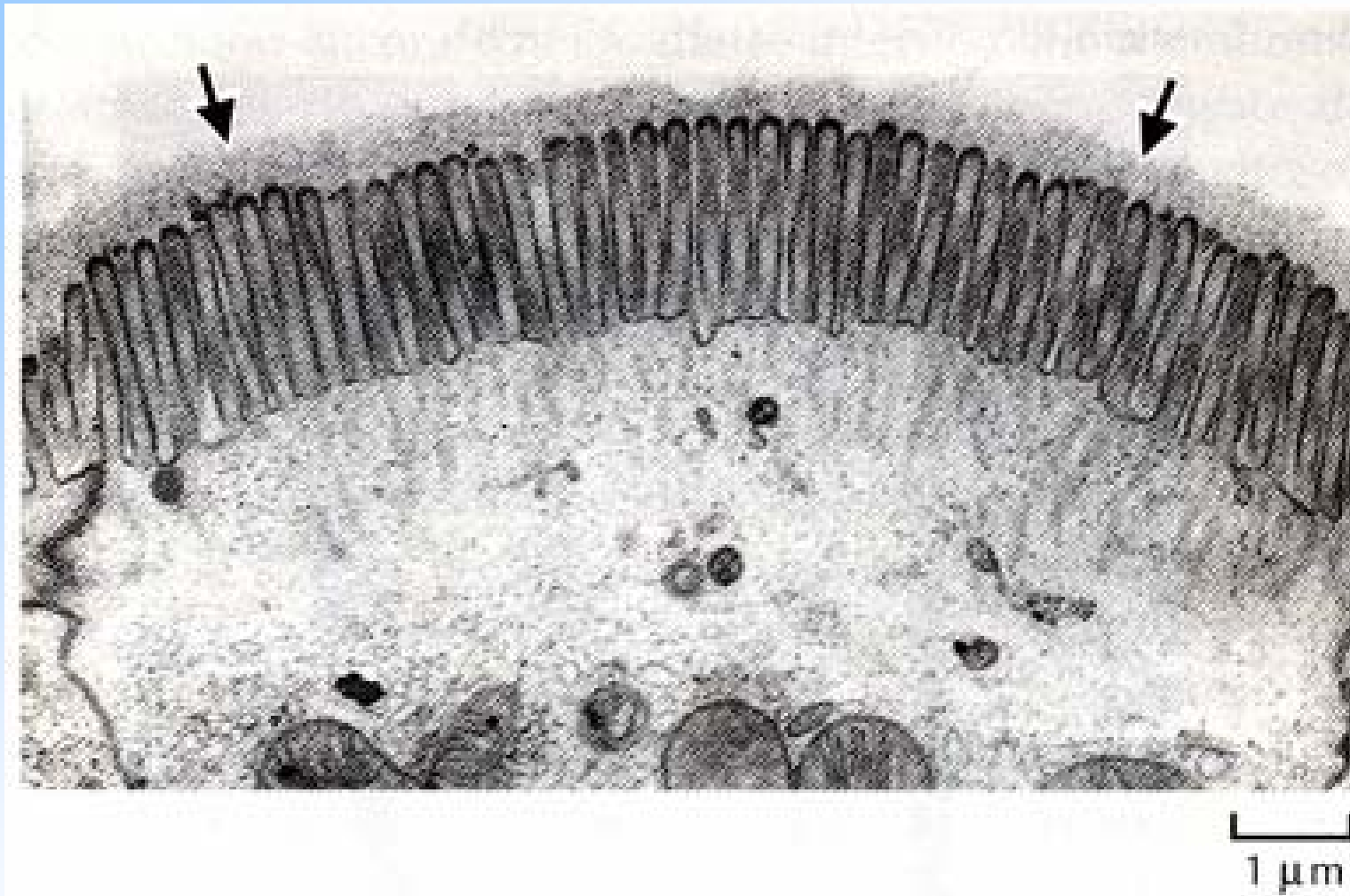
- ✓ La distribuzione asimmetrica dei **glicolipidi** nel doppio strato è determinata dall'aggiunta di zuccheri alle molecole lipidiche nel lume dell'apparato di Golgi
- ✓ Nella membrana plasmatica gli zuccheri sono esposti sulla superficie cellulare, dove hanno ruoli importanti nelle interazioni della cellula con l'ambiente
- ✓ I glicolipidi costituiscono il 5% dei lipidi di membrana



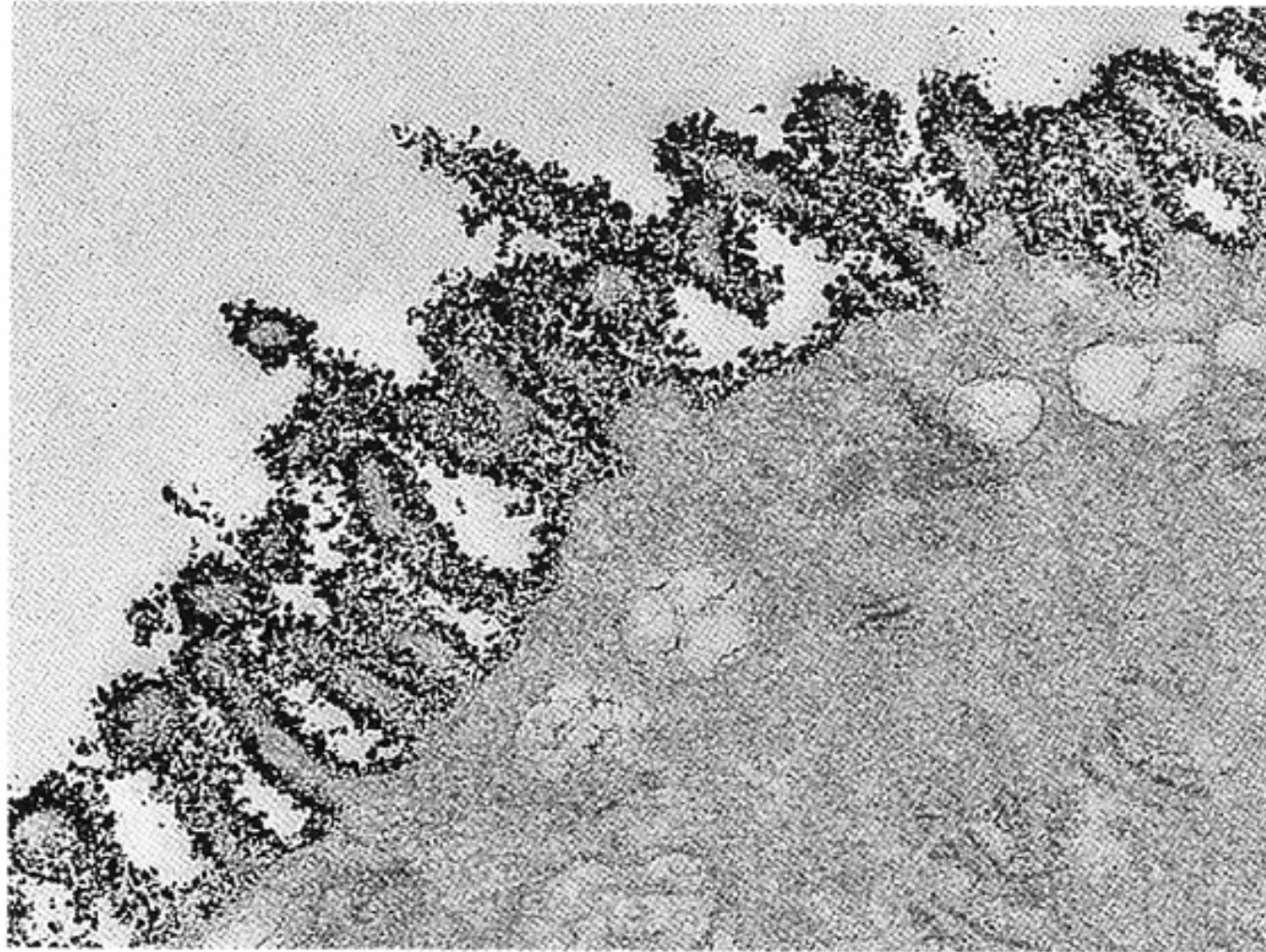
Schema che riassume le funzioni del glicocalice.

- I **gangliosidi** contengono oligosaccaridi con uno o più residui di acido sialico, che conferiscono ai gangliosidi stessi una carica netta negativa
- Sono più abbondanti nella membrana plasmatica delle cellule nervose, dove costituiscono il 5-20% della massa lipidica totale

- ✓ Nella membrana plasmatica delle cellule epiteliali i glicolipidi sono confinati nella superficie apicale esposta, dove possono aiutare a proteggere la membrana dalle condizioni estreme che spesso si trovano in quel punto (pH basso o enzimi degradativi)



Fotografia al microscopio elettronico che illustra il glicocalice (frecce)



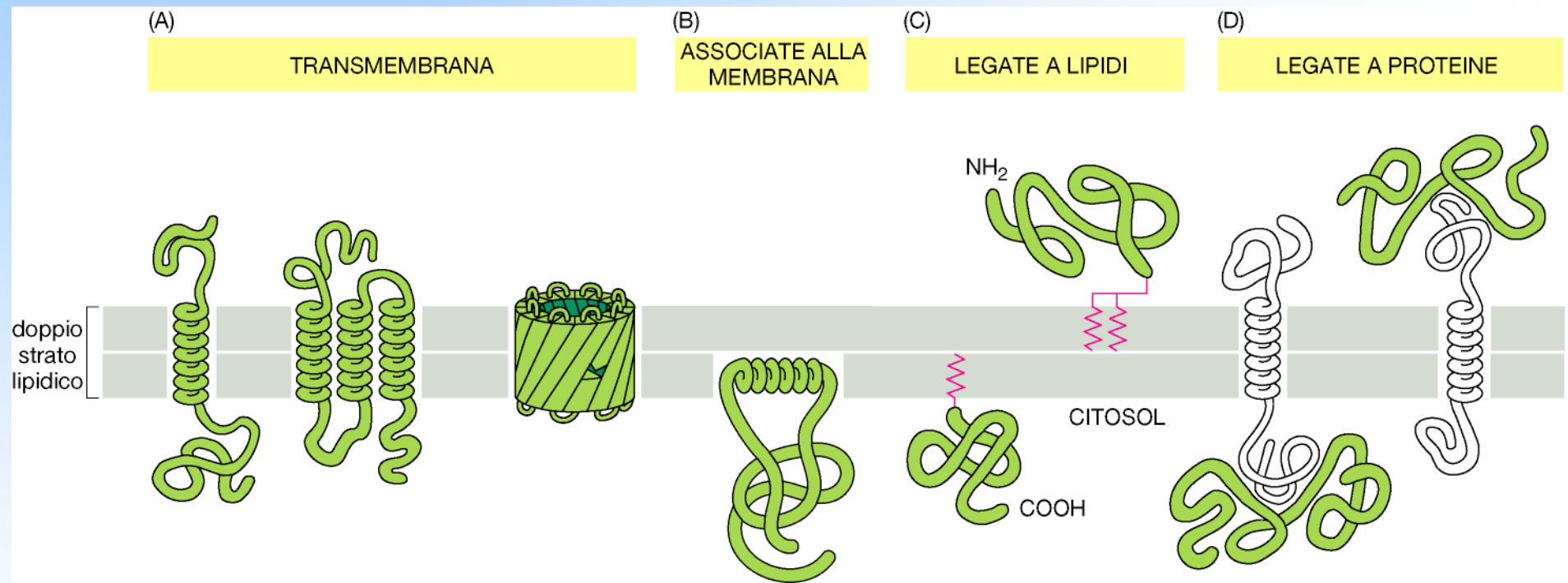
Dimostrazione del glicocalice in microscopia elettronica mediante reazione acido periodico-tiocarboi-drazide-proteinato di argento. $\times 20.000$ (p.g.c. di A. Riva).

- Il ganglioside **GM1** agisce da recettore di superficie per la tossina batterica che causa la diarrea debilitante del colera
Il suo ingresso in una cellula porta ad un aumento della concentrazione di AMP ciclico intracellulare, che a sua volta causa un grande afflusso di Na^+ e di acqua nell'intestino

Le proteine di membrana

- ✓ Svolgono la maggior parte delle funzioni specifiche delle membrane
- ✓ Conferiscono alle membrane caratteristiche proprietà funzionali
- ✓ Nella membrana mielinica, che serve soprattutto da isolante elettrico, meno del 25% della massa di membrane è costituito da proteine

- ✓ Nelle membrane interne dei mitocondri, coinvolte nella produzione di ATP, il 75% è costituito da proteine
- ✓ Una tipica membrana plasmatica ha composizione intermedia (50%)
- ✓ Poiché le molecole lipidiche sono più piccole rispetto alle proteine si hanno circa 50 molecole lipidiche per 1 molecola proteica

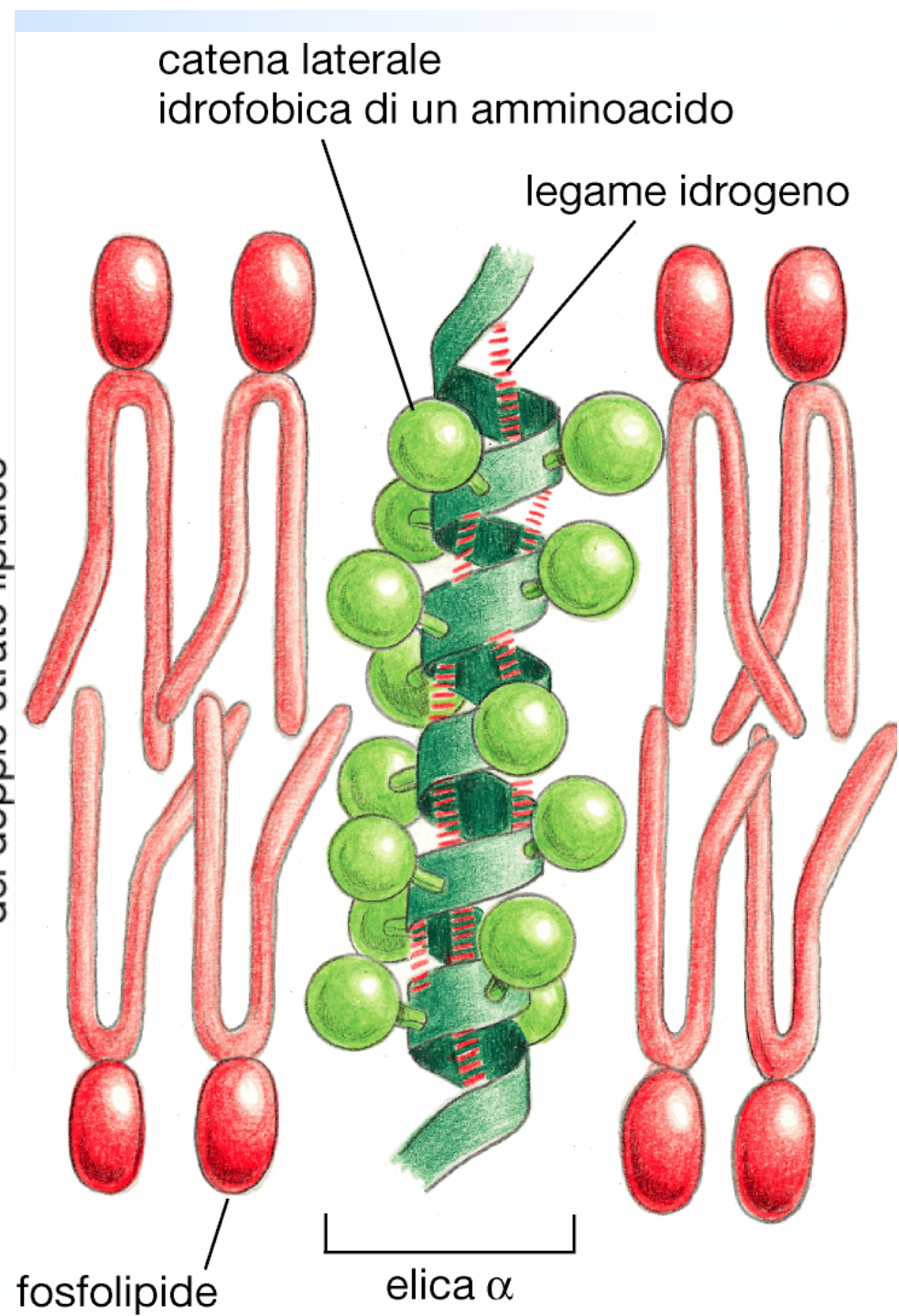
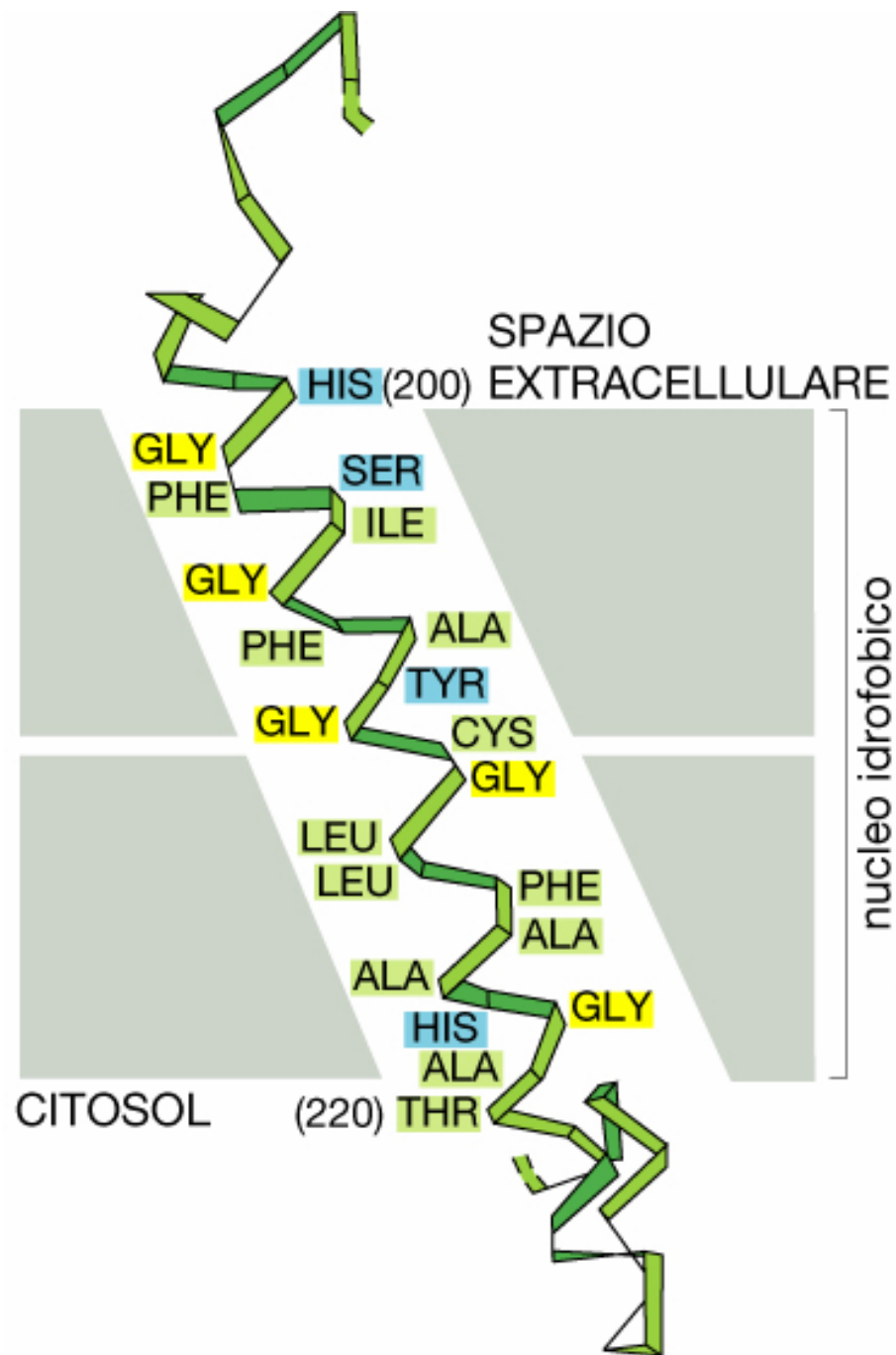


- Una proteina transmembrana ha sempre un orientamento unico nella membrana, che riflette sia la maniera asimmetrica con cui è sintetizzata e inserita nel doppio strato lipidico del RER, sia le diverse funzioni dei suoi domini citosolici e non citosolici.

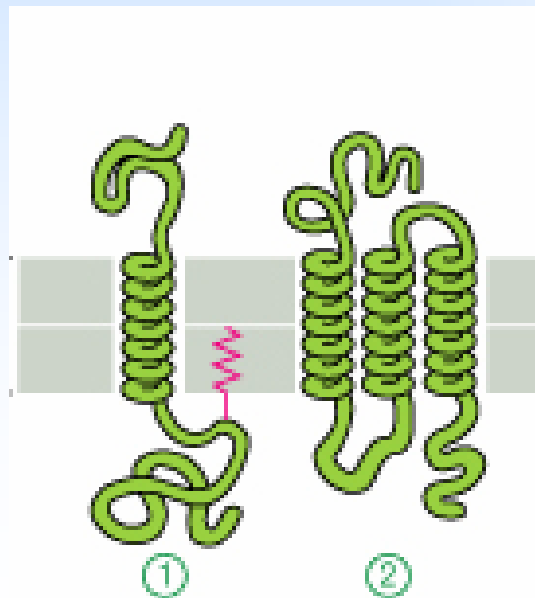
Questi domini sono separati dai segmenti della catena polipeptidica che attraversa la membrana.

Proteine transmembrana

- ✓ I segmenti transmembrana sono composti in gran parte da residui di aminoacidi non polari
- ✓ La formazione di legami idrogeno fra i legami peptidici è massimizzata se la catena forma un'alfa elica regolare



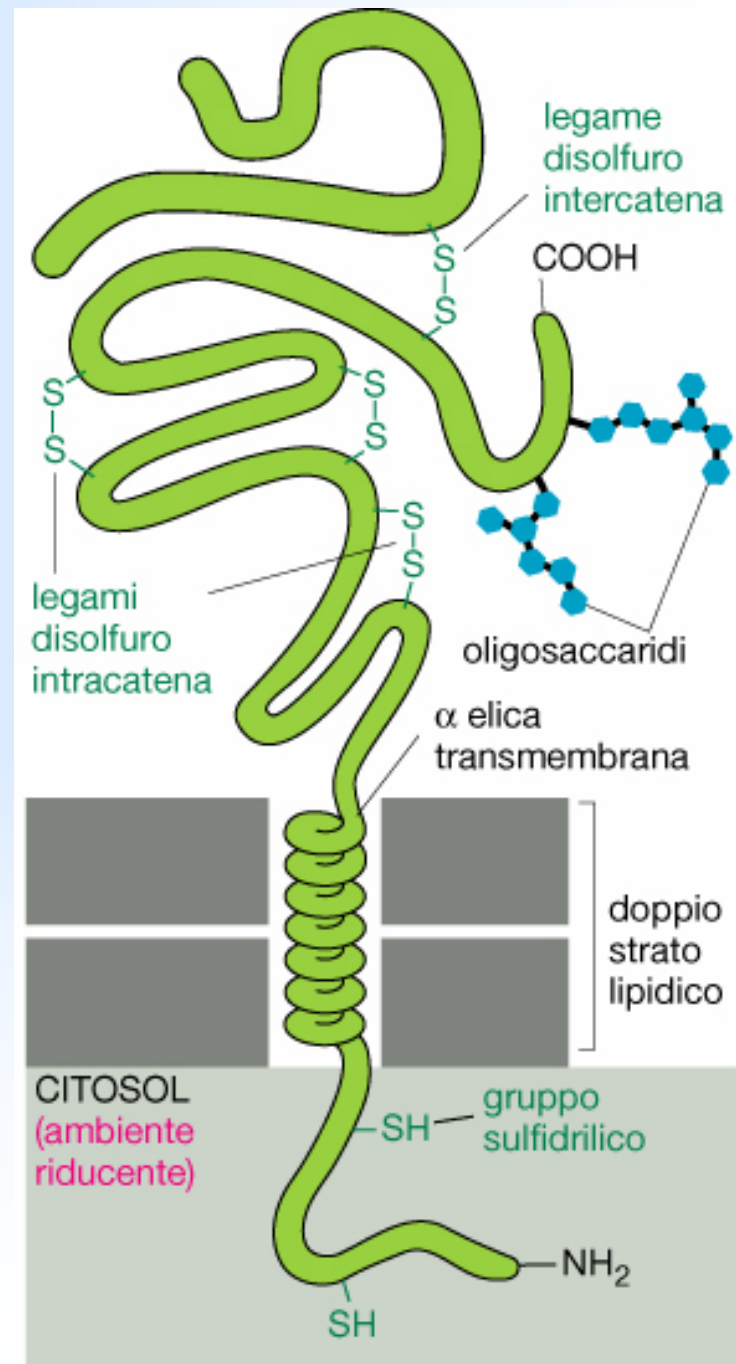
Nelle proteine transmembrana a **singolo passaggio**, il polipeptide attraversa soltanto una volta, mentre nelle proteine transmembrana a passaggi multipli (**multipass**) la catena polipeptidica attraversa più volte la membrana



Un modo alternativo per massimizzare i legami idrogeno è quello di disporre i filamenti transmembrana come un foglietto beta sottoforma di barile chiuso (barile beta)

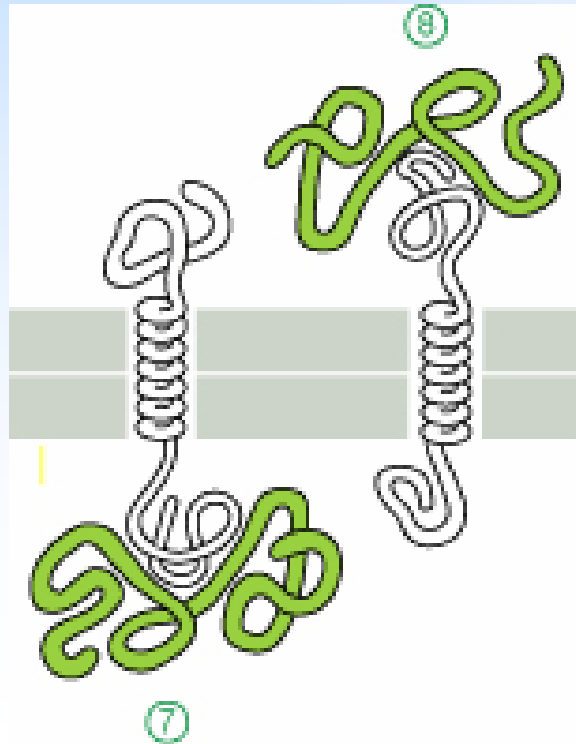


- Moltissime
proteine sono
glicosilate

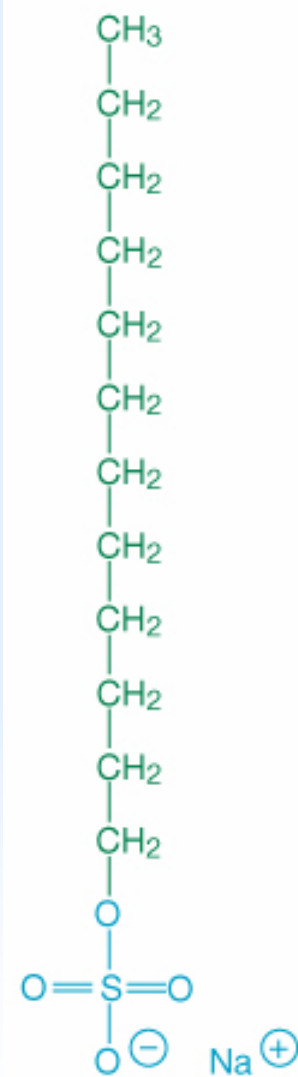
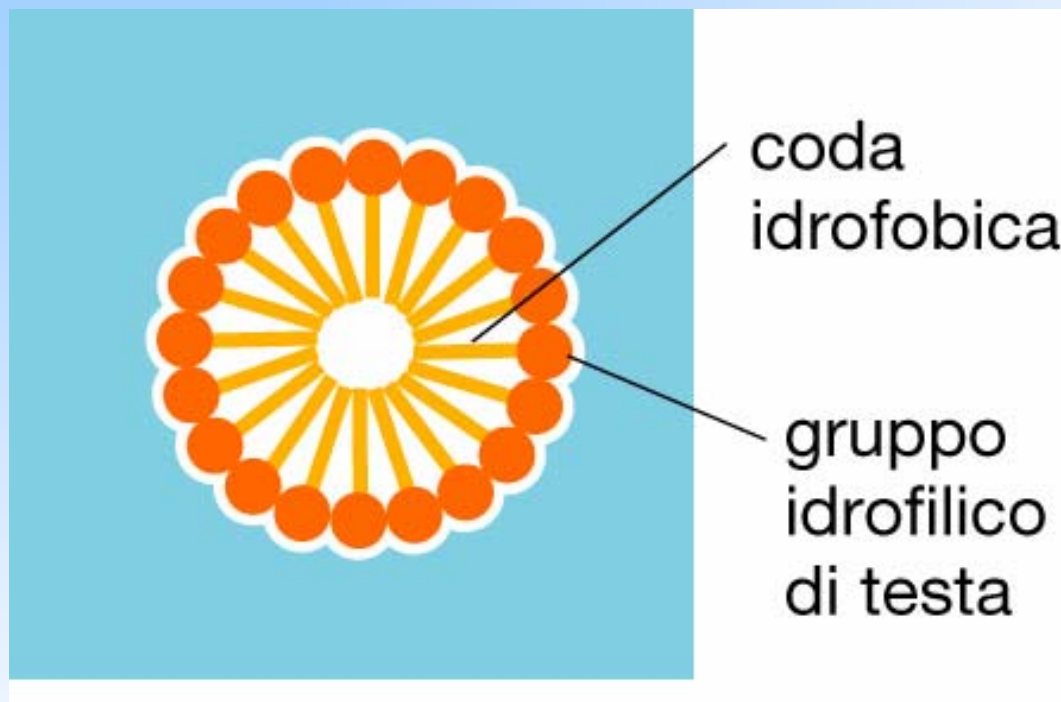


❑ *Le proteine periferiche di membrana possono essere solubilizzate e purificate:*

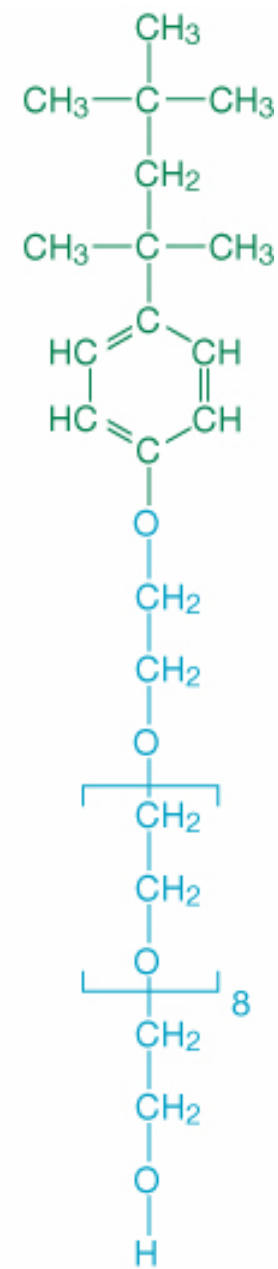
- alterando la forza ionica o il pH
- mediante detergenti



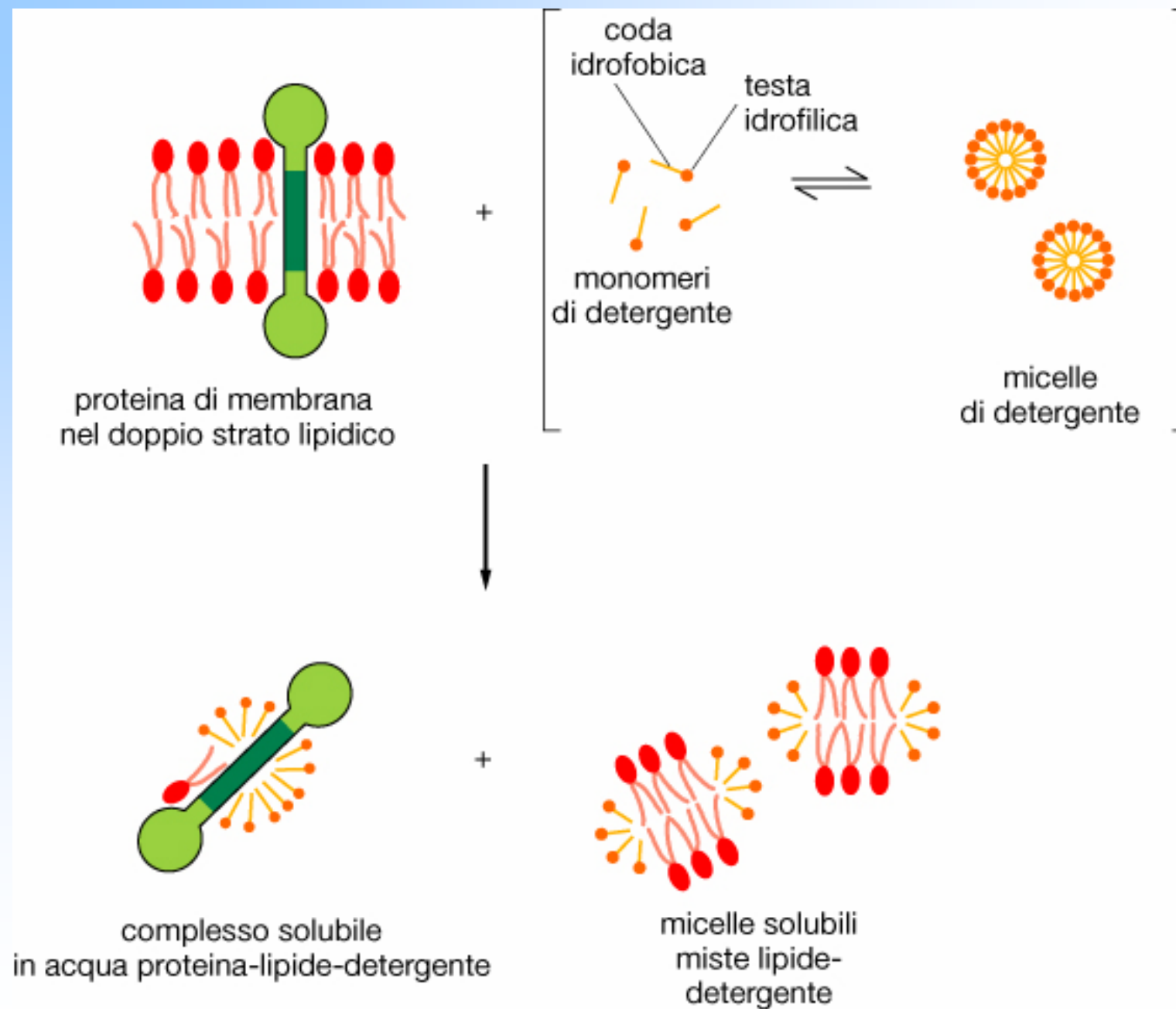
❑ *Le proteine integrali di membrana non*
possono essere solubilizzate e
purificate con i metodi
precedentemente descritti

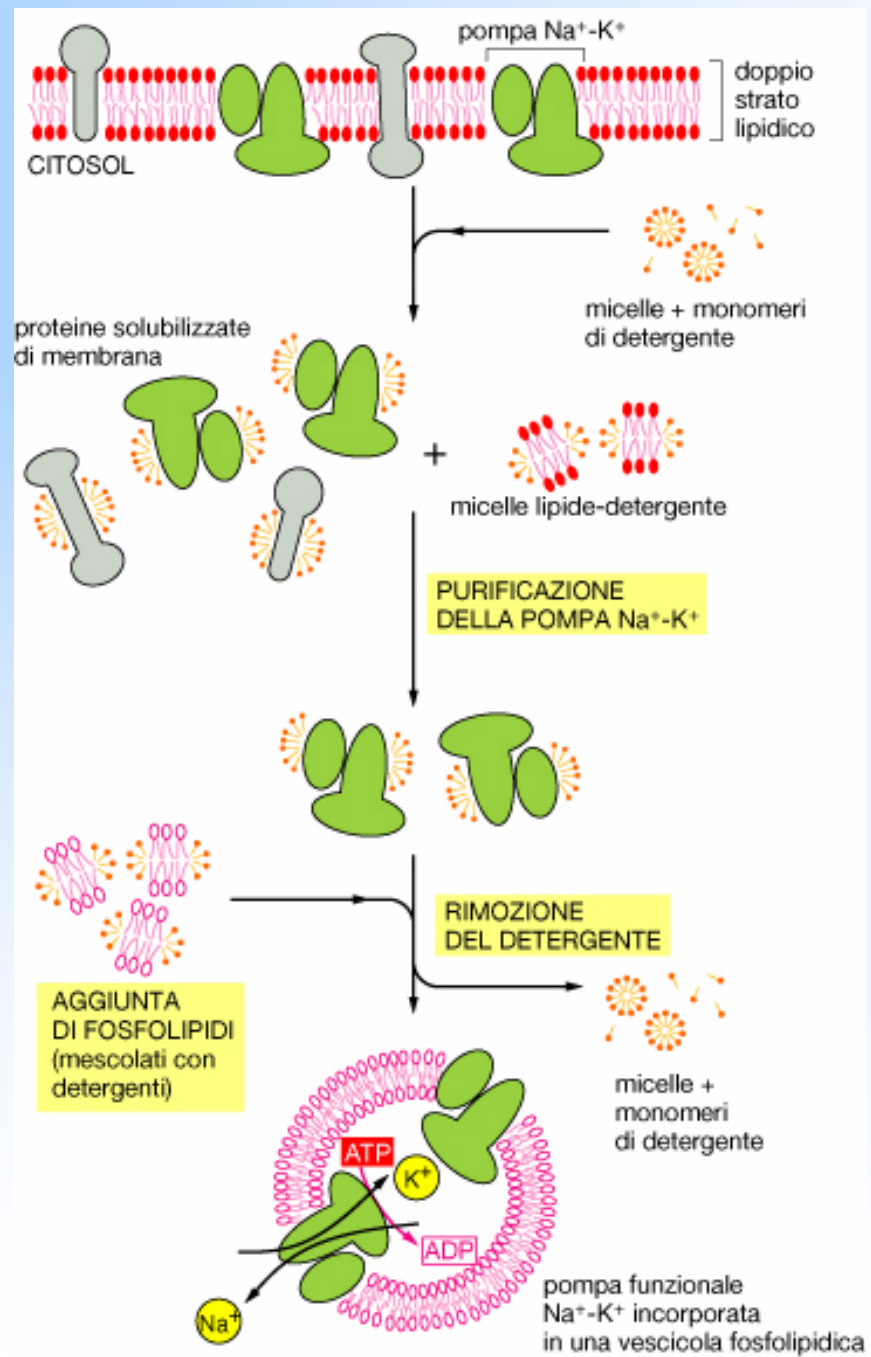


sodio dodecil
solfato (SDS)

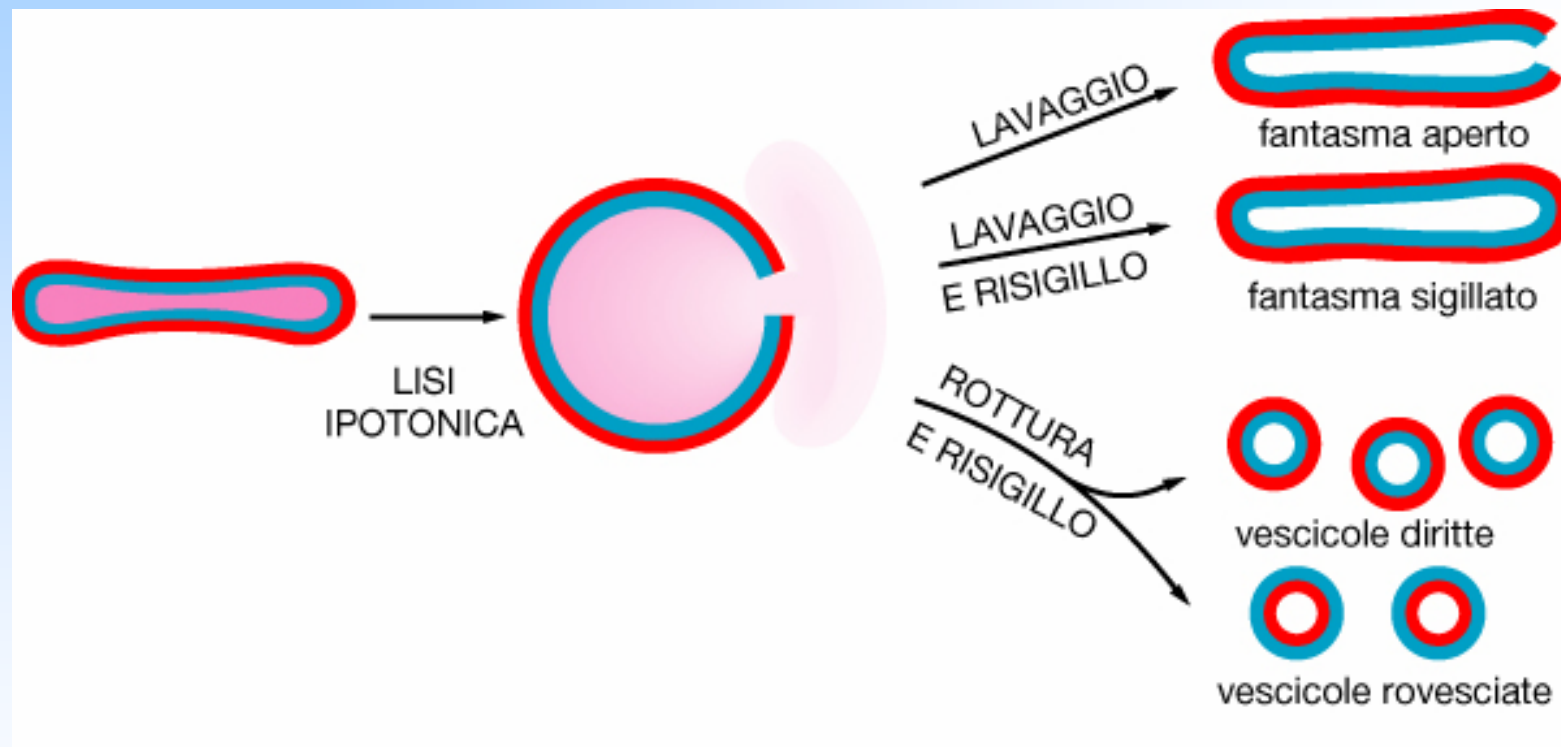


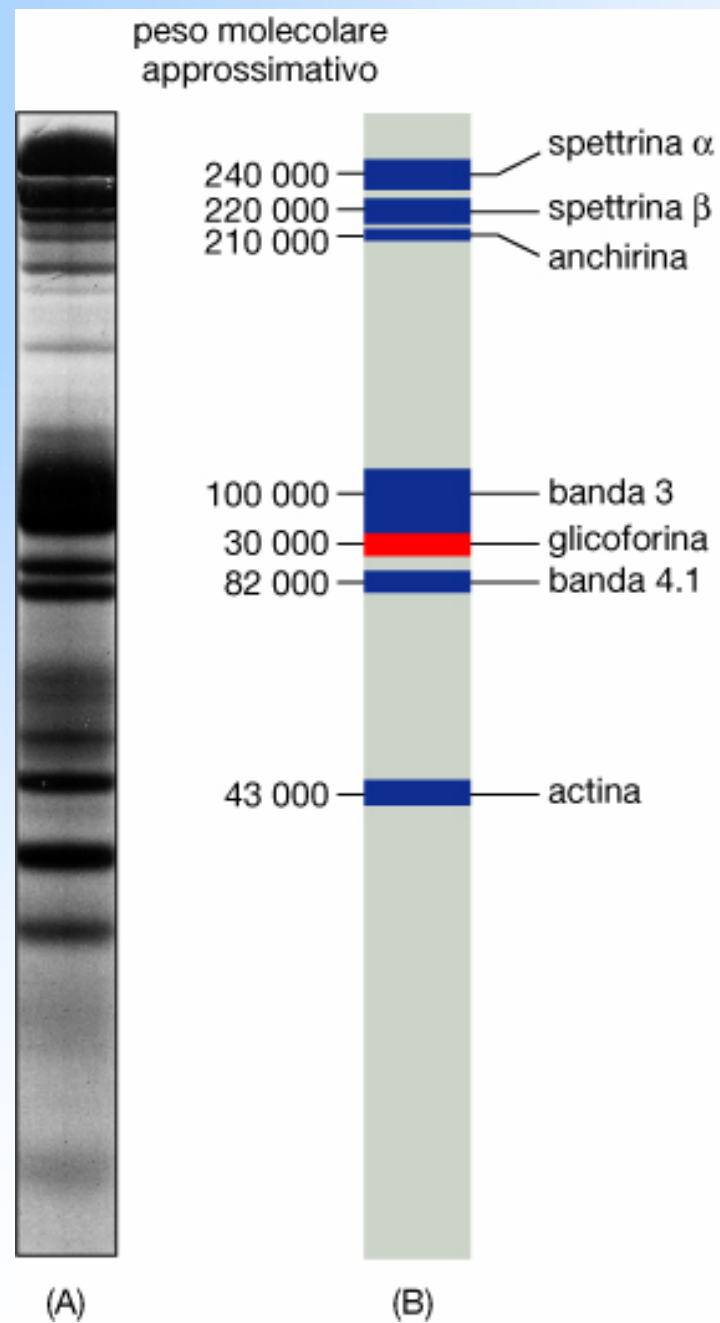
Triton X-100

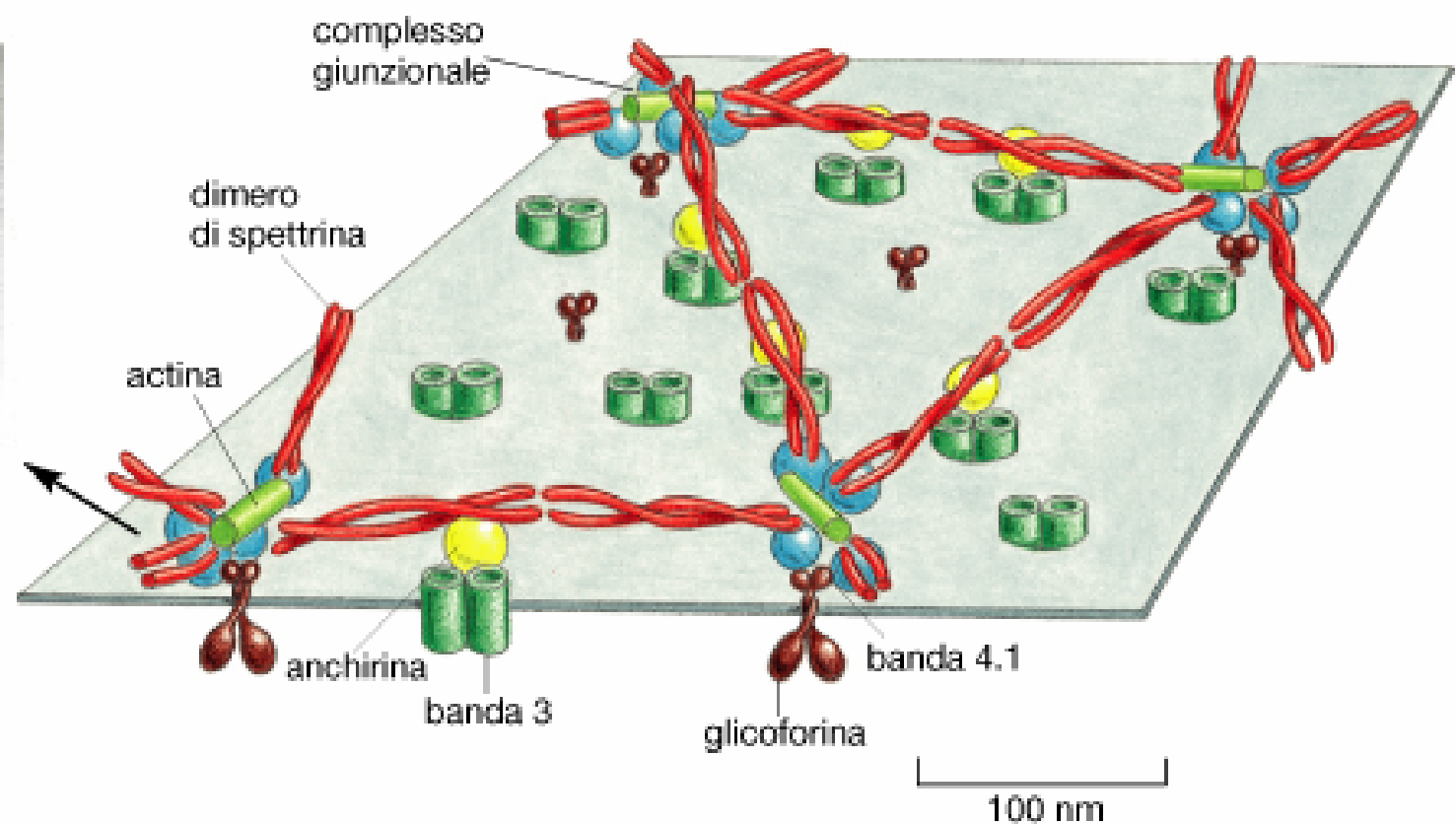
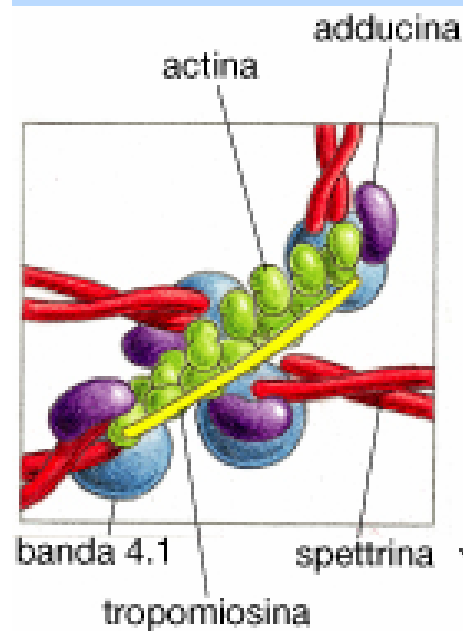
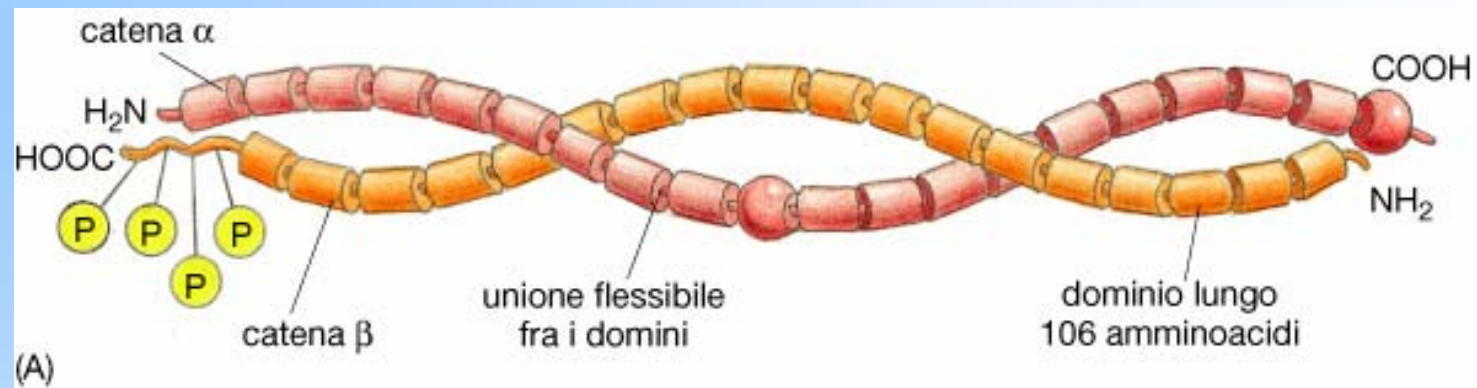




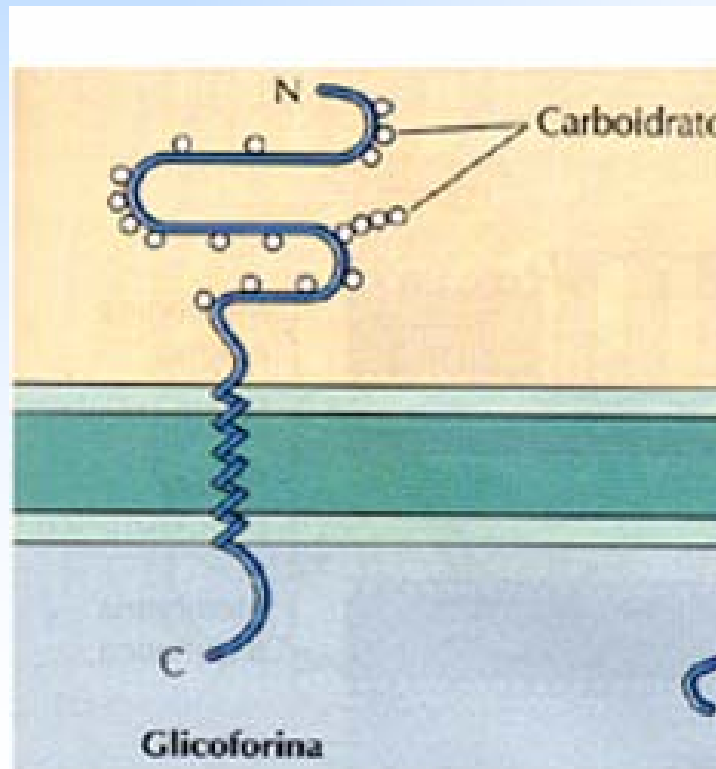
Studio delle proteine dei globuli rossi





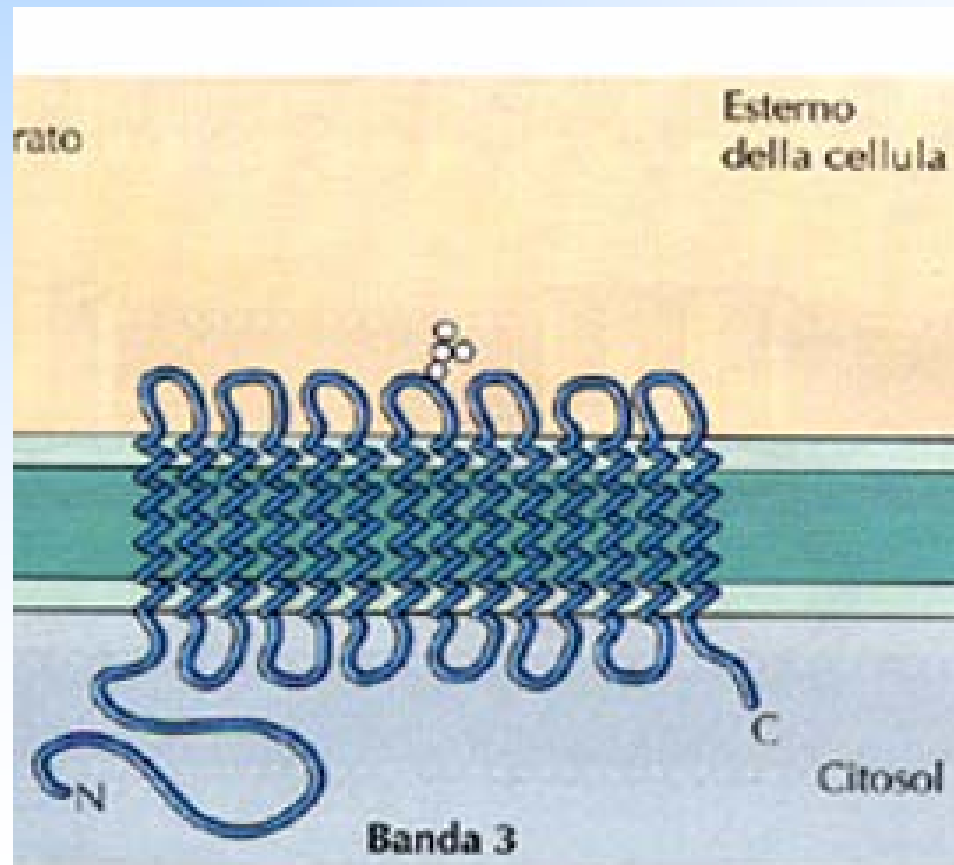


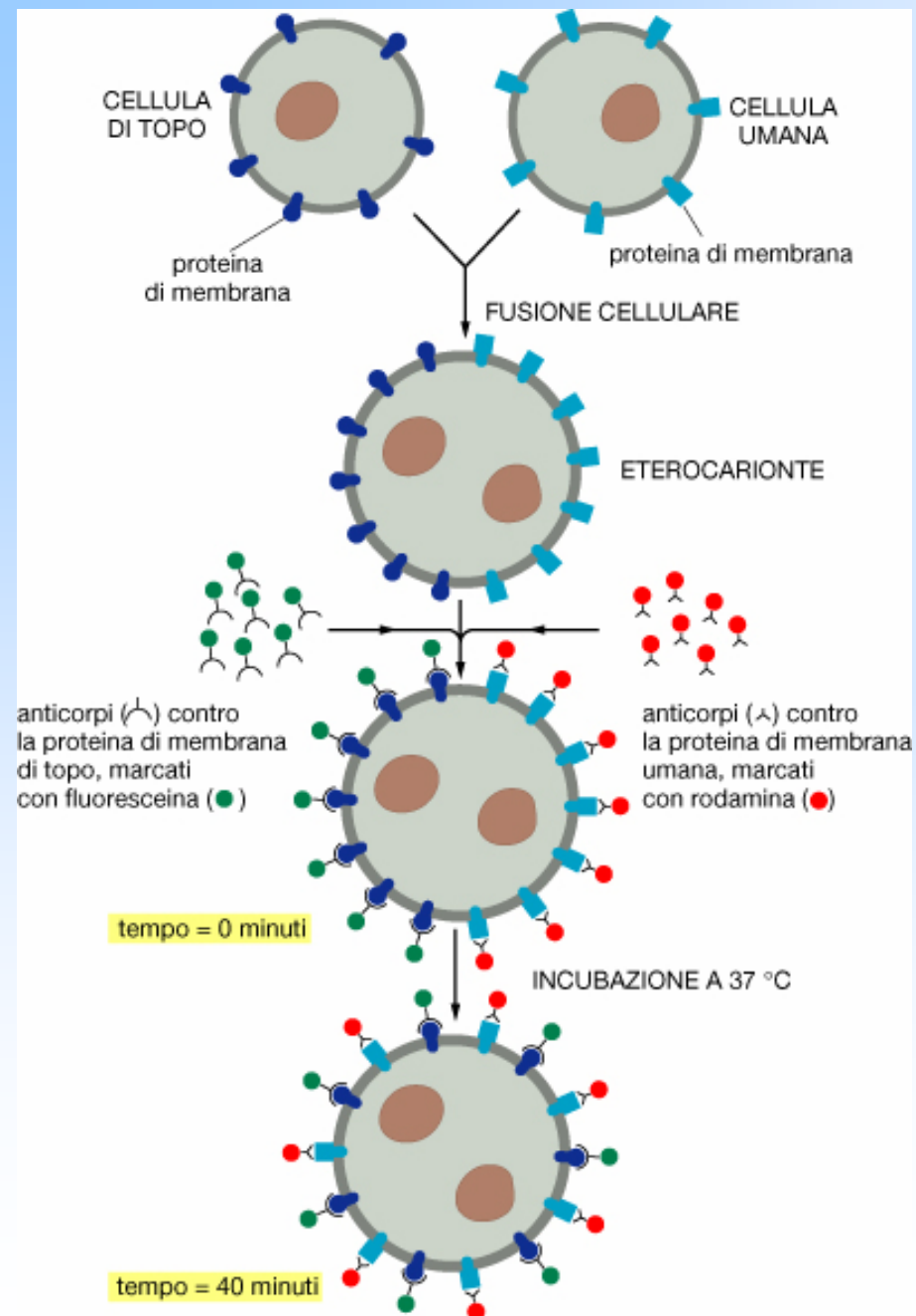
La **glicoforina** è una proteina a singolo passaggio (131 aa). Presenta carica negativa esterna dovuta all'acido sialico esposto. La funzione è ignota.



La **banda 3** è una proteina di membrana multipass (930 aa).

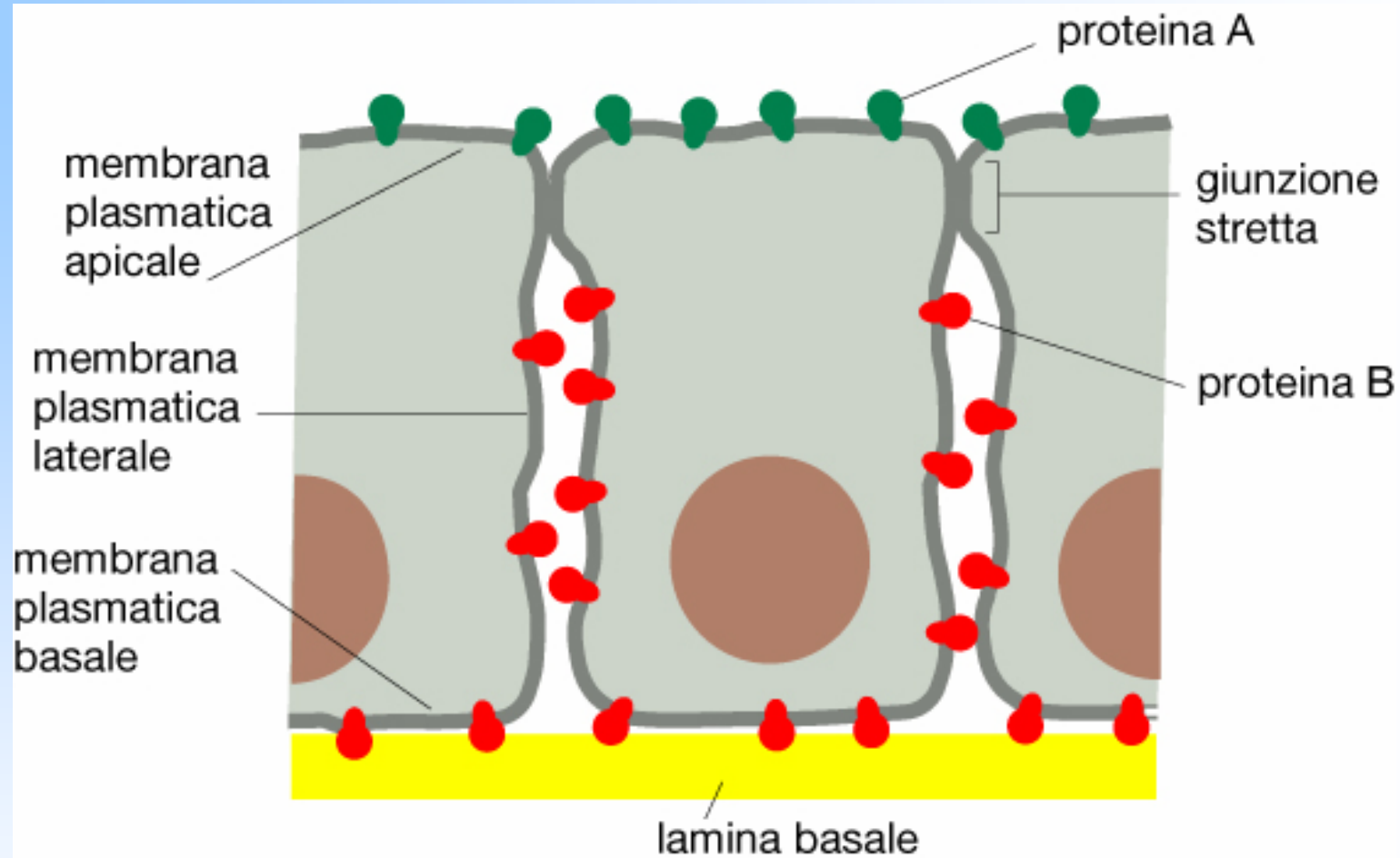
Agisce come trasportatore di anioni esportando HCO_3^- e importando Cl^- favorendo la respirazione.





Molte proteine di membrana diffondono nel piano della membrana

- Nelle cellule epiteliali, come quelle che rivestono l'intestino e i tubuli renali, certi enzimi di membrana e proteine di trasporto sono confinati alla superficie apicale delle cellule, mentre altri sono confinati alle superfici baso-laterali
- La distribuzione asimmetrica di proteine di membrana è spesso essenziale per il funzionamento dell'epitelio



Il dominio apicale è separato dal dominio baso-laterale da giunzioni intercellulari strette

