

Unità di misura per riferimento

- ⬇ **Metro** – m
- ⬇ **Milimetro** – mm = 10^{-3} m
- ⬇ **Micron** - μm : 10^{-6} m
- ⬇ **Nanometro** – nm: 10^{-9} m = 10^{-3} μm [millimicron, obsoleto]
- ⬇ **Ångstrom** – Å = 10^{-10} m = 10^{-1} nm

■ **Ångstrom**: Unità spesso usata in Scienze Naturali e nella tecnologia per esprimere le **dimensioni di atomi, molecole, e strutture biologiche microscopiche**, le dimensioni dei legami chimici, la disposizione degli atomi nei cristalli, la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica e le dimensioni dei componenti dei circuiti integrati (elettronica).

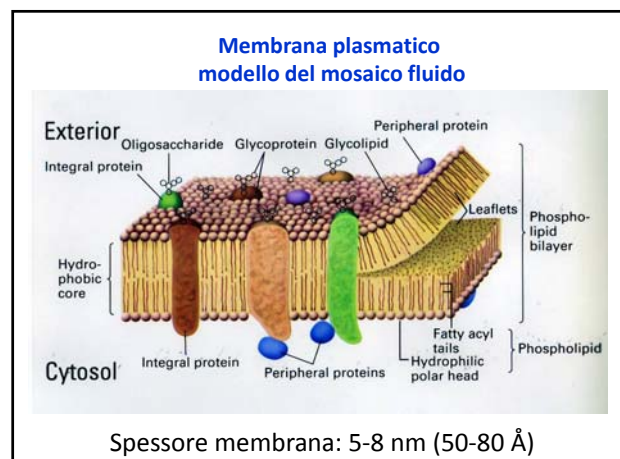


Table 2.3 Lipid Composition of Cell Membranes ^a

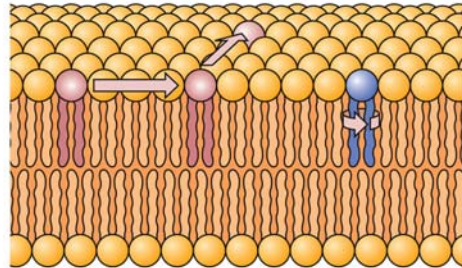
Lipid	Plasma membrane			
	E. coli	Erythrocyte	Rough endoplasmic reticulum	Outer mitochondrial membranes
Phosphatidylcholine	0	17	55	50
Phosphatidylserine	0	6	3	2
Phosphatidylethanolamine	80	16	16	23
Sphingomyelin	0	17	3	5
Glycolipids	0	2	0	0
Cholesterol	0	45	6	<5

Source Data from P. L. Yeagle, 1993. *The Membranes of Cells*, 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press.

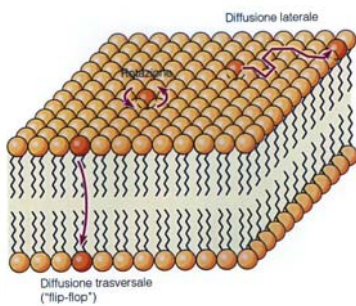
^a Membrane compositions are indicated as the mole percentages of major lipid constituents.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9928/table/A326/?report=objectonly>

Nell'ambito di ogni foglietto, i fosfolipidi hanno libertà di movimento

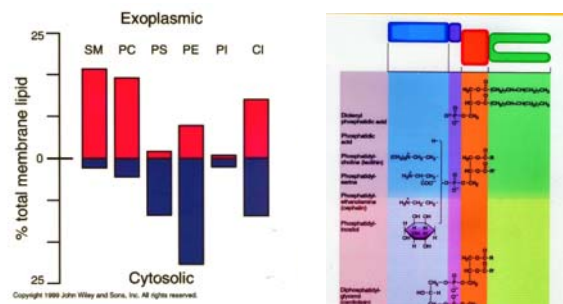


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9928/figure/A327/>

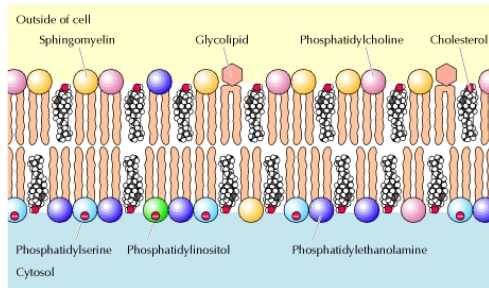


- Il movimento da un foglietto all'altro («flip-flop») è **difficoltato dal carattere anfipatico dei lipidi** e quindi ha bassa probabilità di avvenire.
- Può essere facilitato da appositi enzimi («flippasi», «scramblasi»)

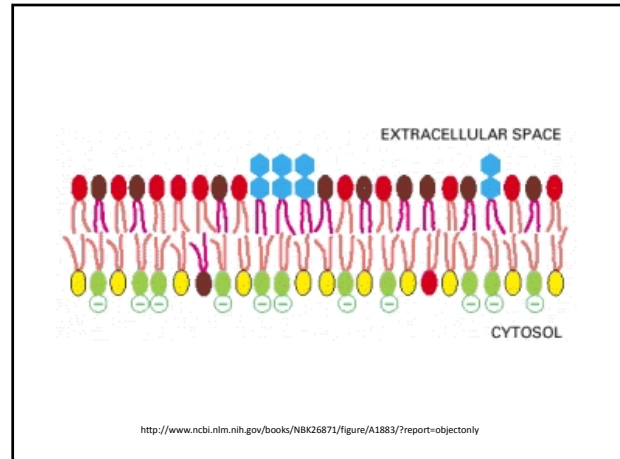
Nella membrana plasmatica la distribuzione dei fosfolipidi è **asimmetrica**



Asimmetria della membrana



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9898/figure/A1970/?report=objectonly>

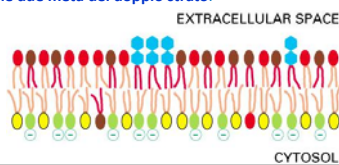


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26871/figure/A1883/?report=objectonly>

IMPORTANZA BIOLOGICA DELL'ASSIMMETRIA DEI LIPIDI DELLE MEMBRANE (1)

Le composizioni dei due monostrati del bilayer lipidico sono marcatamente diverse.

Es: nella membrana degli eritrociti umani, quasi tutte le molecole lipidiche che hanno la **colina** ($(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ nel loro gruppo di testa (fosfatidilcolina e sfingomielina) si trovano nel **foglietto esterno**, mentre quasi tutte le molecole di fosfolipidi che contengono un **aminogruppo terminale primario** (fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina) si trovano nel **monostrato interno**. Poichè la fosfatidilserina, carica negativamente, è localizzata nel monostrato interno, vi è una significativa **differenza di cariche** fra le due metà del doppio strato:



Importanza dell'assimmetria (2)

L'assimmetria dei lipidi è funzionalmente importante.

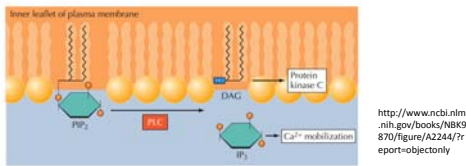
Molte proteine del citosol si legano a specifici gruppi di testa di lipidi presenti sul monostrato citosolico del bilayer lipidico:

Ad es., l'enzima proteina chinasi C (PKC) viene attivata in risposta a diversi segnali extracellulari. La PKC si lega alla faccia citosolica della membrana plasmatica, dove è concentrata la fosfatidilserina, e richiede questo fosfolipide carico negativamente per la sua attività.

Importanza dell'assimmetria (3)

In altri casi, il **gruppo di testa dei lipidi deve essere prima modificato in modo da creare siti di aggancio per le proteine** in una posizione e momento determinati.

- Ad esempio, il **fosfatidilinositolo**, che è un fosfolipide poco rappresentato, concentrato nel **monostrato citosolico** delle membrane cellulari. Diversi enzimi detti **chinasi** dei lipidi possono legare gruppi fosfato in posizioni distinte dell'anello di inositolo. Gli inositolo-fosfolipidi fosforilati fungono da siti di legame che reclutano proteine specifiche dal citosol fino alla membrana.



Seminario

Importanza dell'assimmetria (4)

- Un importante esempio di chinasi dei lipidi è la **fosfatidilinositolo chinasi (PI₃-chinasi)**, che è attivata in risposta a segnali extracellulari ed **aiuta a reclutare specifiche proteine di segnalamento fino alla faccia citosolica** della membrana plasmatica.
- Proteina **chinasi** simili **fosforilano** gli inositolfosfolipidi delle **membrane intracellulari** e quindi aiutano a reclutare proteine che guidano il trasporto di membrana.
- I fosfolipidi della membrana plasmatica sono usati anche in un altro modo nella risposta ai segnali extracellulari.

Seminario

Importanza dell'assimmetria (5)

La membrana plasmatica contiene diversi enzimi detti **fosfolipasi** che sono attivate da segnali extracellulari per **scindere molecole di fosfolipidi specifiche**, generando **frammenti** di queste molecole che fungono da **mediatori intracellulari a corta vita**.

- Ad esempio, la fosfolipasi C, scinde un inositolo fosfolipide del monostrato citosolico della membrana plasmatica per generare due frammenti, uno dei quali rimane nella membrana ed aiuta ad attivare la proteina chinasi C, mentre l'altro è rilasciato nel citosol dove stimola il rilascio di Ca₂⁺ dal reticolo endoplasmatico.

Seminario

Importanza dell'assimmetria (6)

- Gli animali sfruttano l'assimmetria dei fosfolipidi delle membrane plasmatiche per **distinguere fra cellule vive e cellule morte**. 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 di segnale per indurre le cellule vicine, come ad esempio i macrofagi, a fagocitare la cellula morta e a digerirla**. La traslocazione della fosfatidilserina nelle cellule apoptotiche ha luogo mediante due meccanismi:

- Il traslocatore di fosfolipidi che normalmente trasporta i lipidi dal monostrato non citosolico al monostrato citosolico viene **inattivato**.
- Una "scramblase" che trasferisce i fosfolipidi non specificamente in entrambe le direzioni fra i due monostrati viene **attivata**.

Final stage of apoptosis

White blood cell

Morte cellulare per apoptosi

Apoptotic cell

U.S. National Library of Medicine

Extracellular

Cytoplasmic

Normal cell

Extracellular

Cytoplasmic

Apoptotic cell

Phosphatidylserine

Annexin-V-conjugate

Seminario

<http://www.roche-applied-science.com/sis/apoptosis/images/products/annexin01.gif>

La membrana come condensatore elettrico

- Il doppio strato fosfolipidico è un **isolante** quasi perfetto
- Esso può **separare le cariche elettriche fra l'interno e l'esterno della cellula**: la membrana funziona come un condensatore elettrico
- Le proprietà capacitive della membrana creano una differenza di distribuzione di cariche che porta alla formazione di un **potenziale di membrana**:
 - Il numero di cariche negative è maggiore all'interno della cellula
 - La membrana plasmatica è polarizzata: ha una distribuzione di ioni e di molecole con carica elettrica diversa nei due lati.
 - Le cellule eccitabili possono scaricarsi in quanto hanno pori attraverso i quali gli ioni possono passare: canali ionici "gated"

Seminario

Membrane

PROTEINE DI MEMBRANA

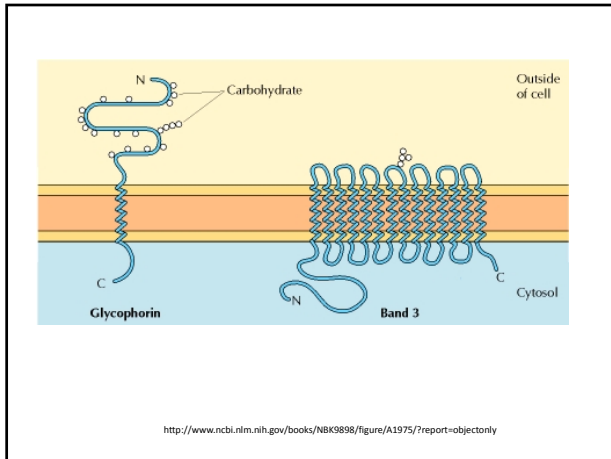
Peripheral membrane protein

Carbohydrate

Integral membrane protein

Peripheral membrane protein

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9898/figure/A1972/>



Modello del mosaico fluido

- ⚡ Le membrane biologiche consistono di **proteine inserite in un doppio strato lipidico**.
- ⚡ Le **proteine integrali di membrana** sono inserite nella membrana, di solito tramite regioni ad α -elica con 20-25 aminoacidi idrofobici.
- ⚡ Alcune proteine transmembrana **attraversano la membrana solo una volta**, altre hanno **diverse regioni che attraversano la membrana**.
- ⚡ Altre proteine sono **ancorate alla membrana** mediante lipidi che sono legati covalentemente alla catena polipeptidica.
- Queste proteine possono essere **ancorate alla faccia extracellulare** della membrana plasmatica mediante **glicolipidi** e alla **faccia citosolica** mediante **acidi grassi saturi** o **gruppi prenilici (insaturi)**.
- ⚡ Le **proteine periferiche** non sono inserite nella membrana ma sono attaccate mediante **interazioni non covalenti** con proteine integrali di membrana.

FUNZIONI PRINCIPALI DELLE MEMBRANE (1)

TUTTE LE CELLULE

- ⚡ **Trasporto di nutrienti** verso l'interno
- ⚡ **Trasporto di prodotti** di scarto e di proteine di secrezione verso l'esterno
- ⚡ **Impedimento della perdita di metaboliti** necessari alla cellula
- ⚡ **Mantenimento della composizione ionica e del pH** (circa 7.2) adeguati nel citosol

FUNZIONI PRINCIPALI DELLE MEMBRANE (2)

ORGANISMI MULTICELLULARI

- ⚡ Zone specializzate contengono glicolipidi e glicoproteine che formano **zone di contatto** e giunzioni tra cellule per rendere i tessuti piú resistenti e permettere lo scambio di metaboliti direttamente tra le cellule
- ⚡ Zone di **ancoraggio con le proteine del citoscheletro**: conferiscono forma e resistenza alle cellule
- ⚡ Zone di **ancoraggio cellule/matrice extracellulare**: conferiscono forza e rigidità ai tessuti
- ⚡ **Microambiente** adatto per alcuni **enzimi e trasportatori di elettroni**
- ⚡ Zona di **accumulo di recettori** per molecole di segnalamento (ormoni, fattori di crescita, neurotrasmettitori, ecc.)

FUNZIONI DELLE PROTEINE DI MEMBRANA

ENZIMI

TRASPORTO DI ELETTRONI

TRASPORTO

- Trasportatori facilitati
- Canali ionici
- ATPasi di trasporto

RECETTORI per:

- Ormoni (tranne quegli steroidi)
- Neurotrasmettitori
- Fattori di crescita e differenziamento

Funzione delle proteine delle membrane (2)

COMUNICAZIONE CELLULA-CELLULA:

- Connessioni delle giunzioni comunicanti ("Gap junctions")
- Desmotubuli dei plasmodesmi (cellule vegetali)

ASSORBIMENTO (endocitosi) e SECREZIONE (esocitosi)

DESTINAZIONE, SELEZIONE e MODIFICAZIONE di proteine all'interno del reticolo endoplasmatico e dell'apparato di Golgi ("sorting")

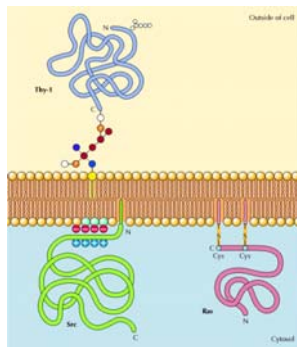
RILEVAZIONE DELLA LUCE (ad es. occhio)

ADESIONE CELLULA-CELLULA nei tessuti

ADESIONE CON LA MATRICE EXTRACELLULARE

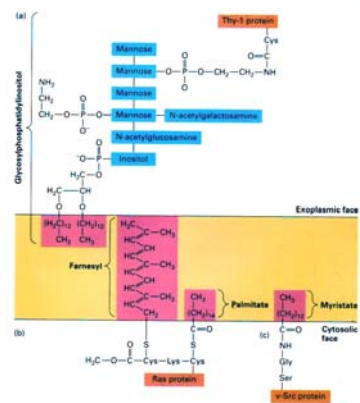
SOSTEGNO E MODELLAMENTO DELLA MEMBRANA PLASMATICA

Proteine ancorate alla membrana da lipidi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9898/figure/A1979/?report=objectonly>

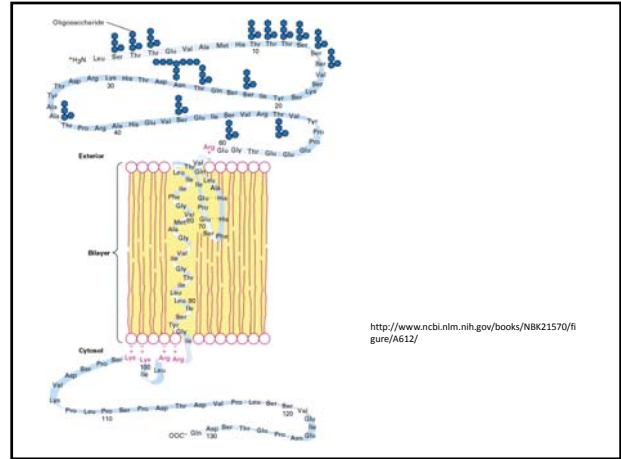
Ancore lipidiche



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21570/figure/A618/?report=objectonly>

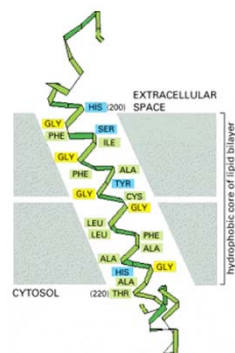
Nella maggior parte delle proteine transmembrana la catena polipeptidica attraversa il doppio strato lipidico in conformazione ad α -elica (1)

- Una proteina transmembrana ha sempre un orientamento caratteristico nella membrana.
- Questo riflette il **modo asimmetrico con cui è sintetizzato ed inserito nel doppio strato del Reticolo Endoplasmatico ruvido** e le **diverse funzioni dei suoi domini citosolici e non-citosolici**.
- I domini citosolici e non-citosolici sono separati da segmenti della catena polipeptidica che **attraversano la membrana**, che sono in contatto con l'ambiente idrofobico del doppio strato lipidico, e sono composti in gran parte di residui di aminoacidi con catene laterali non polari.



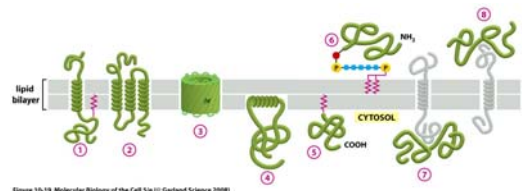
Proteine transmembrana (2)

- Dato che i **legami peptidici stessi sono polari** e dato che l'acqua è assente, **tutti i legami peptidici nell'ambito del doppio strato sono portati a formare legami di idrogeno gli uni con gli altri**.
- Il **legame di idrogeno fra i legami peptidici viene massimizzato se la catena polipeptidica forma una α -elica regolare nell'attraversamento**; si ritiene che sia in questo modo che la grande maggioranza dei segmenti che attraversano la membrana delle catene polipeptidiche attraversano il doppio strato.



Proteine transmembrana (3)

- Nelle proteine a **passo singolo** il polipeptide attraversa un'unica volta il doppio foglietto
- Nelle proteine transmembrana **multipasso** la catena polipeptidica l'attraversa diverse volte.



Proteine transmembrana (4)

- Una modalità alternativa per ché i legami peptidici del doppio strato lipidico soddisfino alle esigenze di formare ponti di idrogeno è che i segmenti molteplici delle catene polipeptidiche si dispongono a **β -foglietto** in modo da formare un barile chiuso (il cosiddetto barile- β)
- Questa forma di struttura multipasso è tipica delle proteine **porine**.
- La **forte tendenza a massimizzare i ponti di idrogeno in assenza di acqua** significa inoltre che una catena polipeptidica che entra nel doppio strato probabilmente lo attraversa integralmente prima di cambiare direzione, dato che il piegamento della catena implica la perdita delle interazioni regolari necessarie per la formazione dei legami di idrogeno.

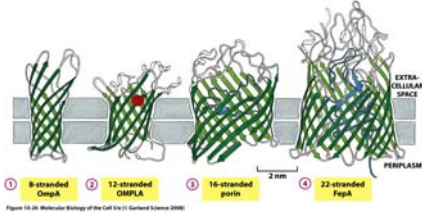


Figure 10-38. Molecular Biology of the Cell, 5e (© Garland Science 2008)

GLICOCALICE

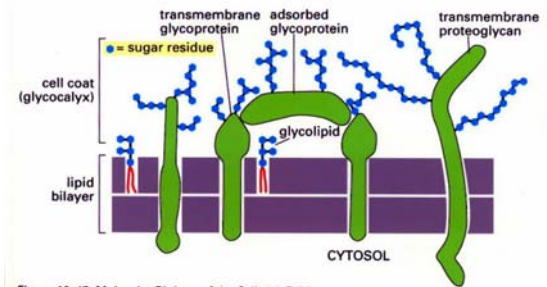
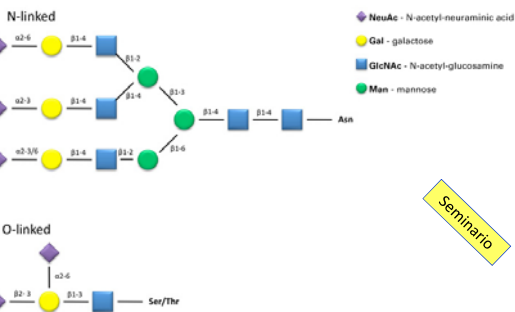
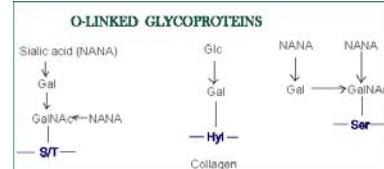
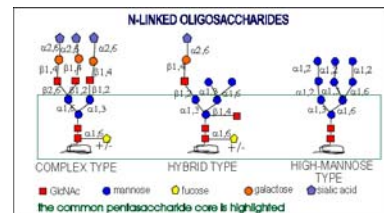


Figure 10-45. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

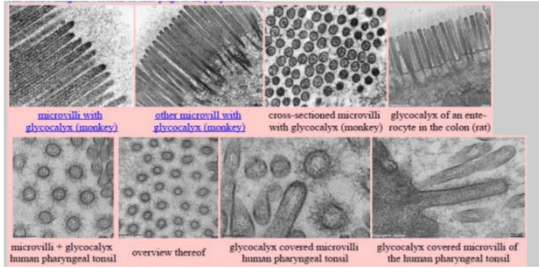


http://www.lifesci.com/bio/applications/odyssey_applications/images/gly-two.jpg

Seminario

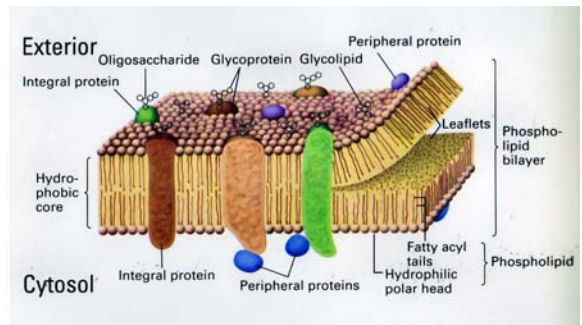


Glicocalice

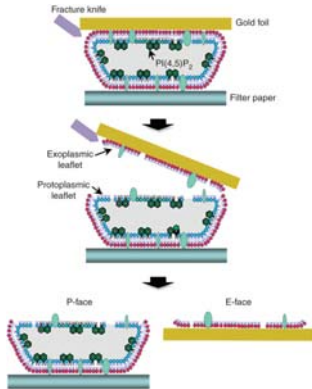


<http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMglykoxalxE.html>

«Freeze fracture» (Criodecapaggio)



Tecnica di freeze-fracture



http://www.nature.com/nprot/journal/v5/n4/fig_tab/nprot.2010.20_F2.html

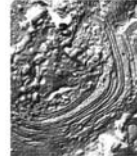
Freeze-Fracture Views of Organelles

Low temperature fracturing appears to preferentially expose extended en face views of membranous organelles which are thus easily identified. Both face views and cross fractures of the nucleus, golgi and mitochondria yield relatively unmistakable images.

Freeze-Fracture of Entire Cell Exhibiting Nucleus and Nuclear Pores



Freeze-Fracture of Golgi Apparatus



Cross-Fracture of Mitochondria



<http://www.udel.edu/biology/Wags/b617/ffe/ffe5.gif>