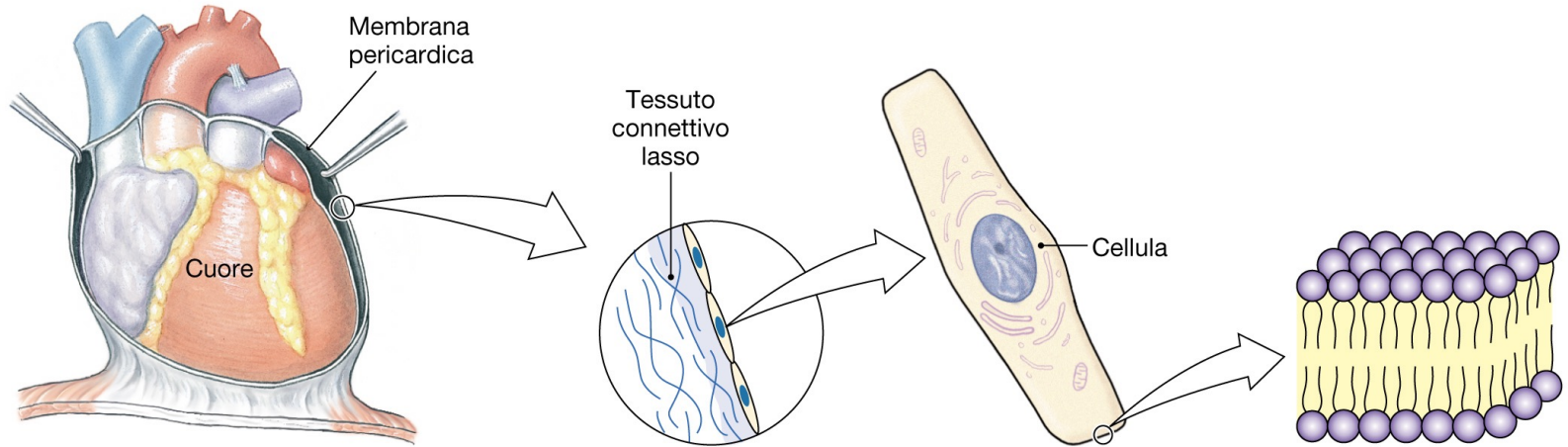


Le “MEMBRANE” in biologia

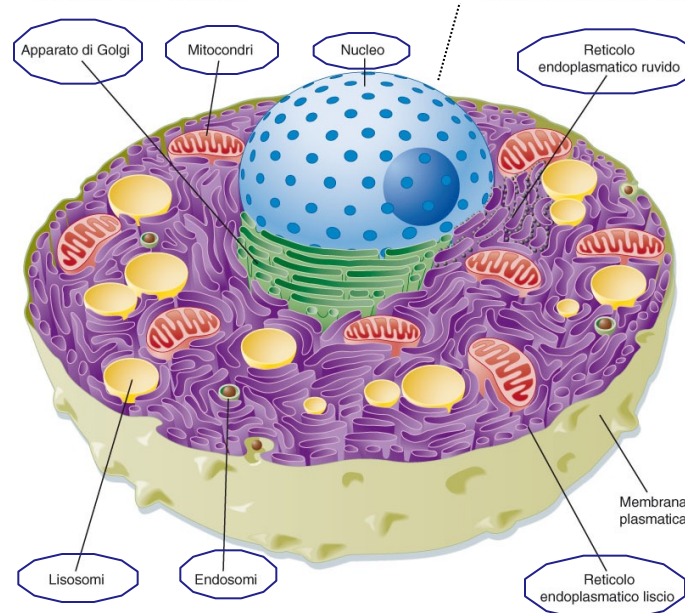


La **membrana pericardica** è un tessuto che circonda il cuore.

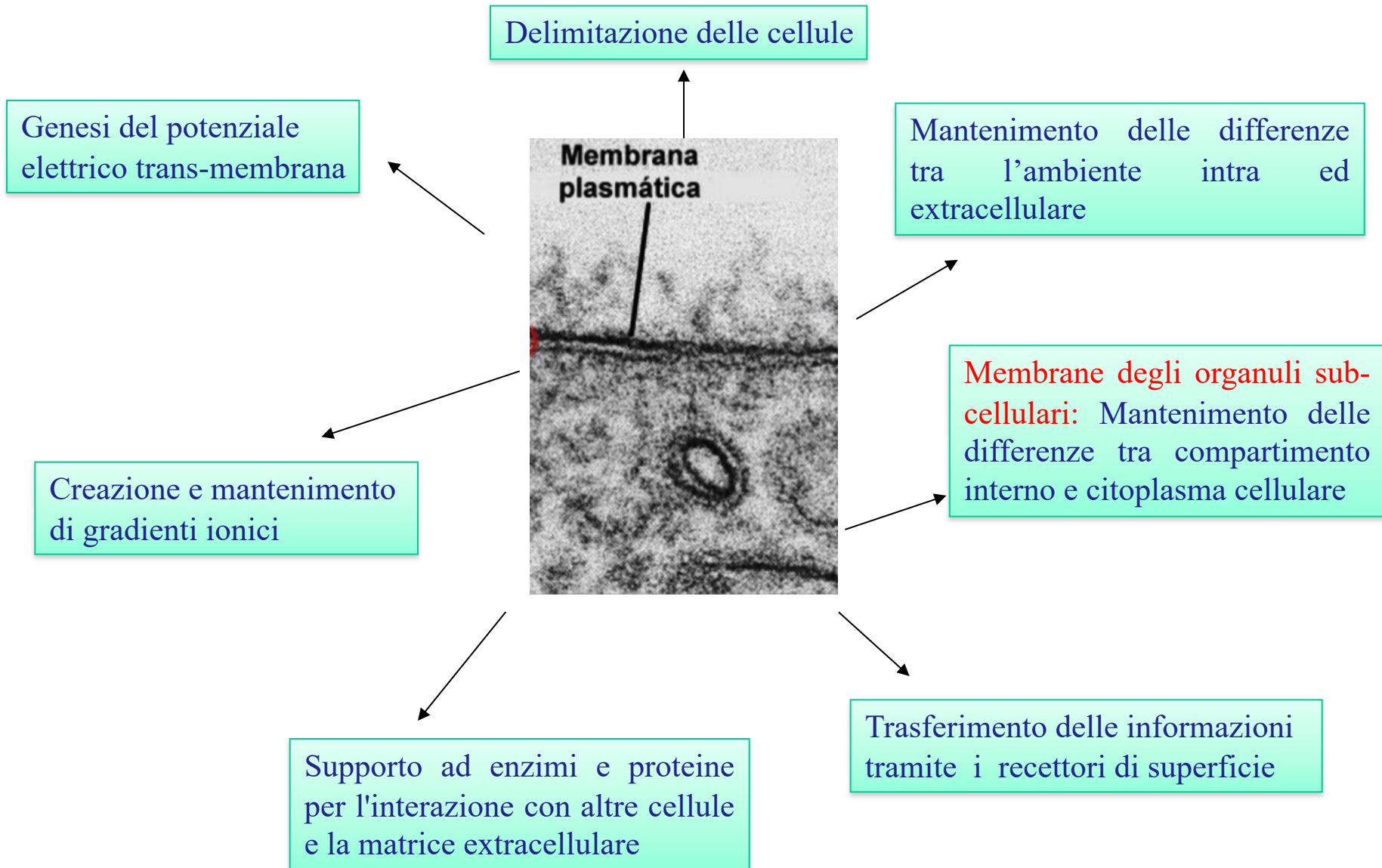
Nella vista ingrandita, la membrana pericardica è uno strato di cellule epiteliali appiattite sostenute da tessuto connettivo.

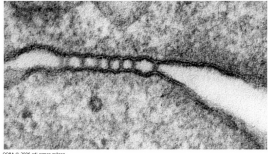
Ciascuna cellula della membrana pericardica ha una membrana cellulare che la circonda.

La **membrana cellulare** è un doppio strato fosfolipidico.



Le membrana plasmatica

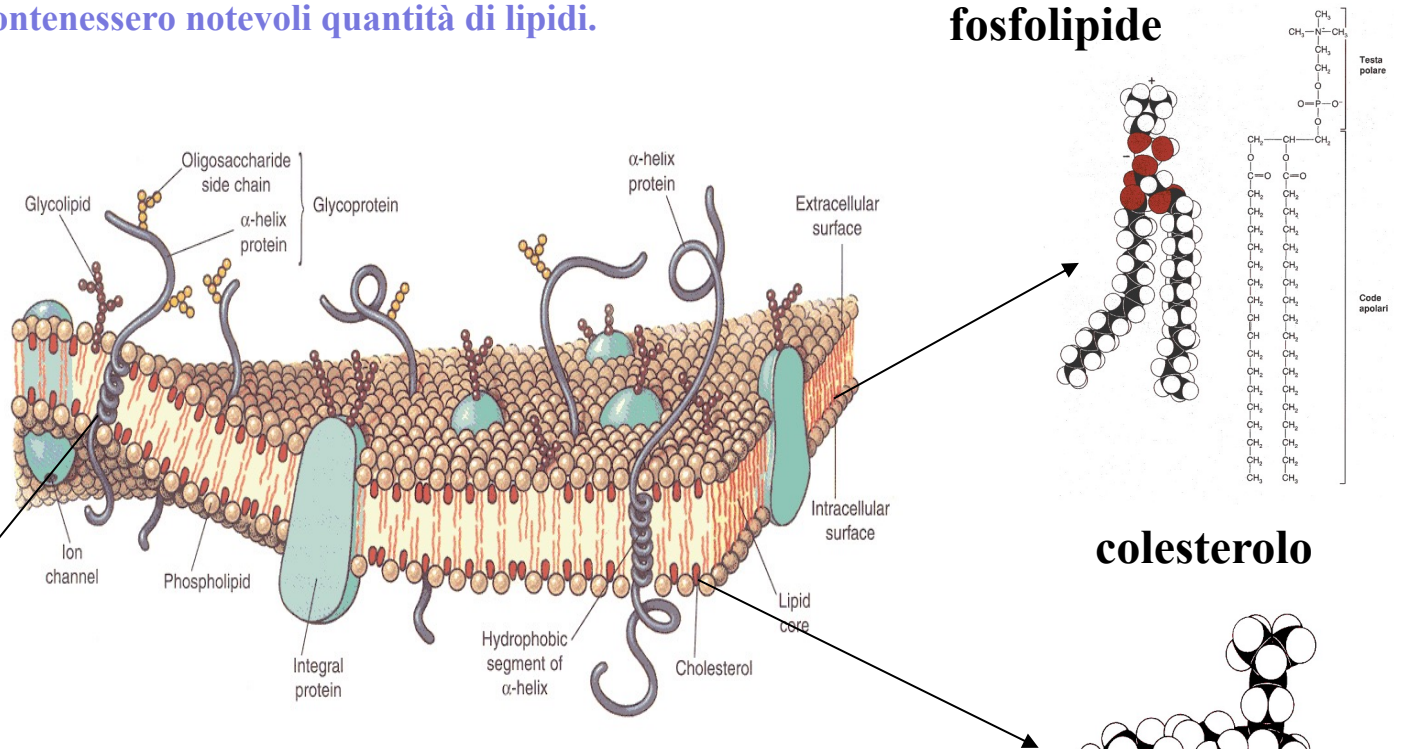




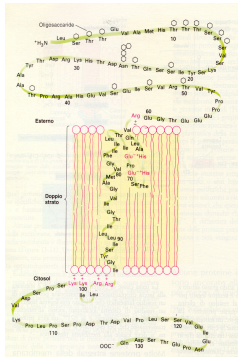
Le membrane cellulari: **Organizzazione**

1972: Singer e Nicolson propongono il modello a mosaico fluido

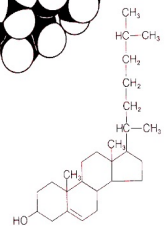
Overton (fine del XIX secolo), usando eritrociti come osmometri, scoprì che maggiore è la solubilità di una sostanza nei lipidi, maggiore è la sua capacità di penetrare la membrana cellulare e minore è la sua capacità di produrre raggrinzimento osmotico della cellula. Da ciò dedusse che le membrane contenessero notevoli quantità di lipidi.

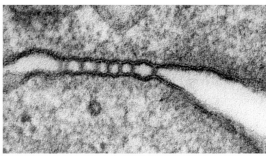


Proteina



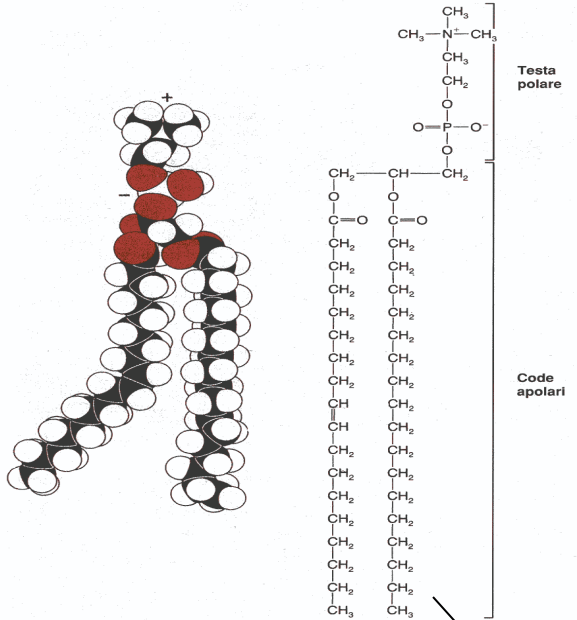
La struttura di base delle membrane biologiche è costituita da un doppio strato fosfolipidico, colesterolo e proteine



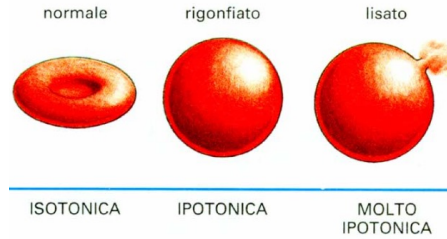


Le membrane cellulari: Prove a sostegno della struttura a doppio strato

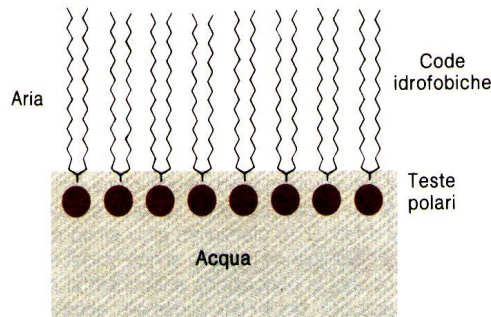
fosfolipide



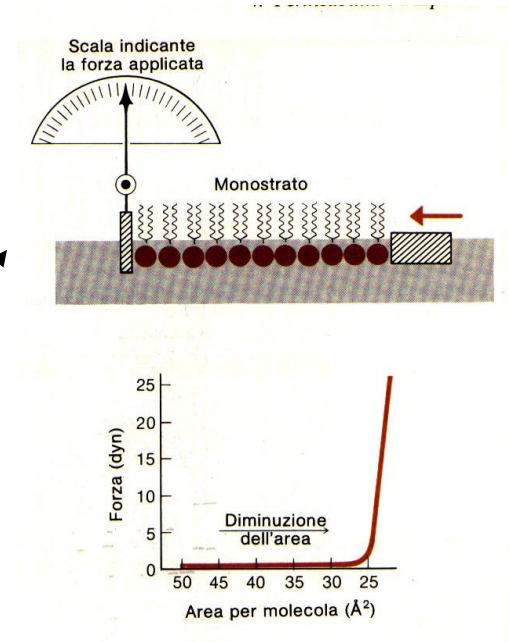
I fosfolipidi vengono estratti da "fantasmi" di globuli rossi (lisati osmoticamente)



Orientamento delle molecole fosfolipidiche



Esperimento di Gorter and Grendel



I fosfolipidi occupano un'area pari a circa il doppio di quella dei globuli rossi di partenza
(In: Randall et al, Fisiologia Animale)

SCHEDA 4.1

Perché una membrana a doppio strato lipidico?

Esiste una notevole quantità di prove a favore dell'esistenza della membrana a doppio strato lipidico:

1. Il **contenuto lipidico delle membrane** giustifica un doppio strato di molecole lipidiche orientate, come fu originariamente dimostrato da Gorter e Grendel nel 1925.
2. La **facilità di diffusione** di anelettroliti attraverso la membrana è in accordo con la presenza di una barriera lipidica, data la tendenza di queste molecole a passare da una fase acquosa ad una fase lipidica, come avviene nella separazione tra acqua e olio. Quanto maggiore sarà questa tendenza, tanto più permeante sarà la molecola. Inoltre, certe sostanze insolubili nei lipidi debbono essere convertite ad una forma liposolubile (legandole ad una molecola liposolubile) prima di poter attraversare la membrana.
3. La **capacità** elettrica delle membrane biologiche, tipicamente 10^{-6} F/cm², è la stessa di quella di uno strato lipidico il cui spessore equivalga a due molecole fosfolipidiche sovrapposte longitudinalmente estremità contro estremità (vale a dire, 6,0-7,5 nm).
4. Se si fissano con permanganato, le membrane appaiono come profili a tre strati: una zona centrale chiara compresa

tra due strati esterni elettrondensi (Fig. 4.1), con uno spessore totale di circa 7,5 nm. Nel 1955, J. David Robertson dette a questa struttura tristratificata il nome di **membrana unitaria**. Il concetto di membrana unitaria è in accordo con uno strato bimolecolare di lipidi compreso tra due strati di proteine.

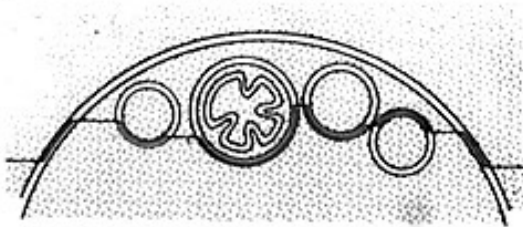
5. Lo **spessore** di un doppio strato lipidico, calcolato come il doppio della lunghezza di una singola molecola lipidica di membrana, si accorda strettamente con le dimensioni della membrana unitaria come appare nelle fotografie al microscopio elettronico.

6. La microscopia elettronica associata alla tecnica di *freeze-etching* dimostra che le membrane hanno un **piano di rottura preferenziale** disposto medialmente, caratteristica che è coerente con la separazione di un doppio strato in due monostrati.

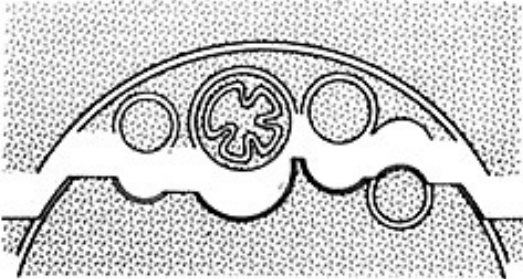
7. I **doppi strati lipidici artificiali** (Scheda 4.2), doppi strati lipidici ricostituiti di spessore e struttura simili al centro bimolecolare lipidico del modello a mosaico fluido della membrana, hanno caratteristiche di permeabilità e proprietà elettriche fondamentalmente simili a quelle delle membrane cellulari. Le differenze esistenti possono essere ricondotte alla presenza di canali e trasportatori presenti nelle membrane naturali.

FREEZE-FRACTURE AND ETCHING

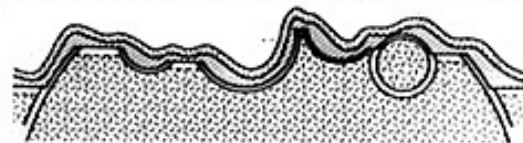
Frozen Cell



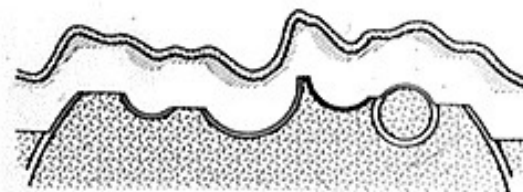
Fracturing and Etching



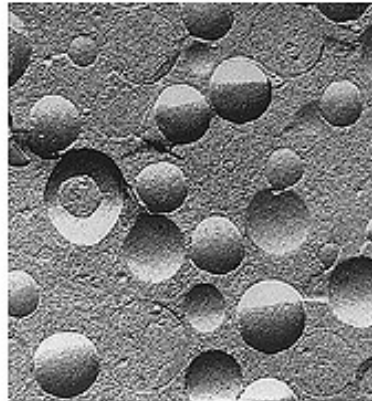
Replication of Fractured Surface



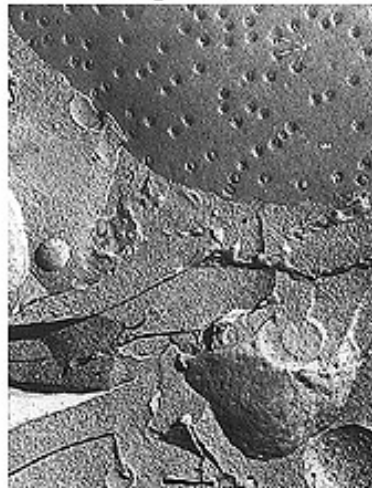
Clearing of Replica



Replica of Fractured Membraneous Vacuoles



Replica of Fractured Eukaryotic Cell



SCHEDA 4.1

Perché una membrana a doppio strato lipidico?

Esiste una notevole quantità di prove a favore dell'esistenza della membrana a doppio strato lipidico:

1. Il **contenuto lipidico delle membrane** giustifica un doppio strato di molecole lipidiche orientate, come fu originariamente dimostrato da Gorter e Grendel nel 1925.
2. La **facilità di diffusione** di anelettroliti attraverso la membrana è in accordo con la presenza di una barriera lipidica, data la tendenza di queste molecole a passare da una fase acquosa ad una fase lipidica, come avviene nella separazione tra acqua e olio. Quanto maggiore sarà questa tendenza, tanto più permeante sarà la molecola. Inoltre, certe sostanze insolubili nei lipidi debbono essere convertite ad una forma liposolubile (legandole ad una molecola liposolubile) prima di poter attraversare la membrana.
3. La **capacità** elettrica delle membrane biologiche, tipicamente 10^{-6} F/cm², è la stessa di quella di uno strato lipidico il cui spessore equivalga a due molecole fosfolipidiche sovrapposte longitudinalmente estremità contro estremità (vale a dire, 6,0-7,5 nm).
4. Se si fissano con permanganato, le membrane appaiono come profili a tre strati: una zona centrale chiara compresa

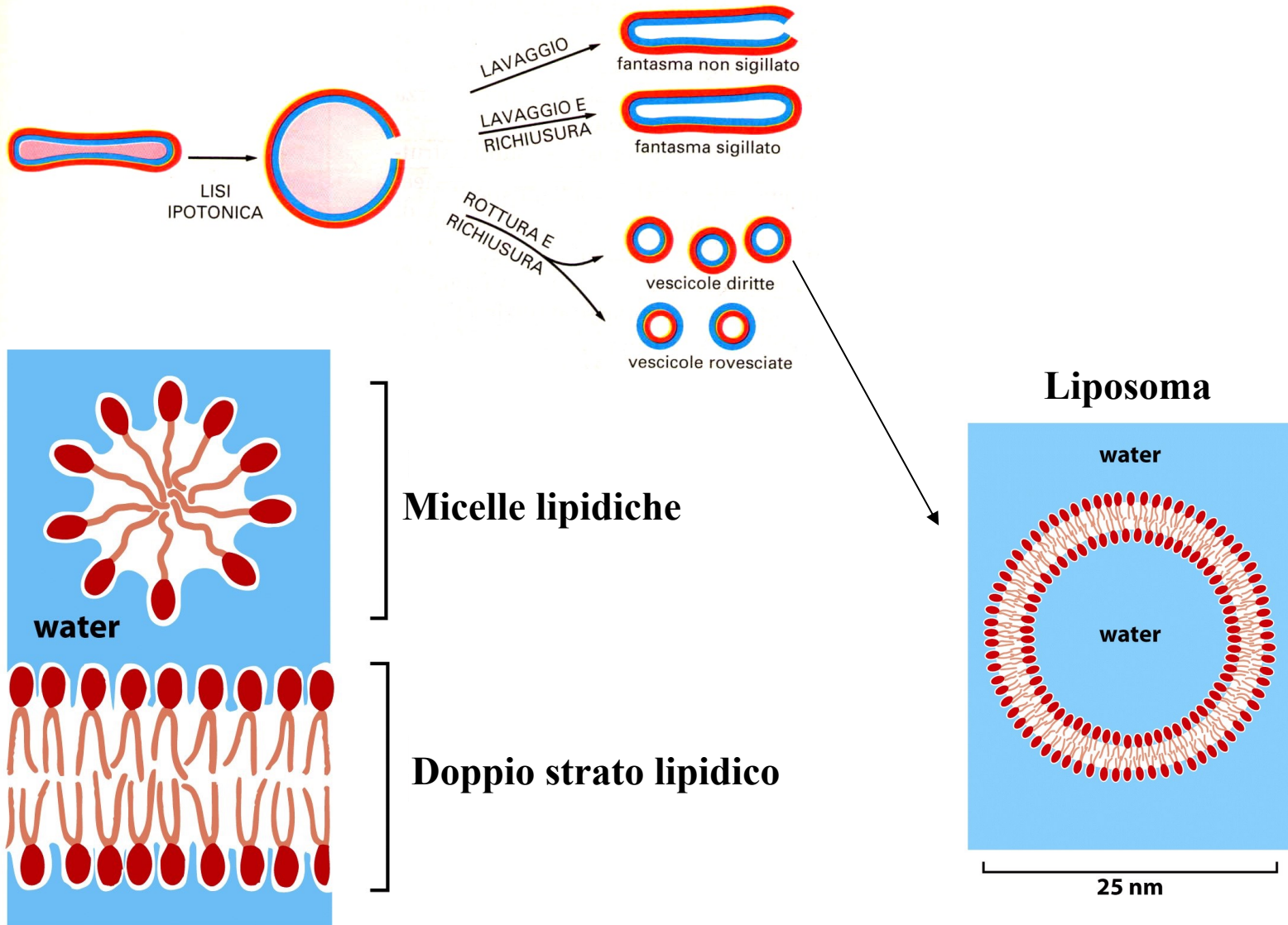
tra due strati esterni elettrondensi (Fig. 4.1), con uno spessore totale di circa 7,5 nm. Nel 1955, J. David Robertson dette a questa struttura tristratificata il nome di **membrana unitaria**. Il concetto di membrana unitaria è in accordo con uno strato bimolecolare di lipidi compreso tra due strati di proteine.

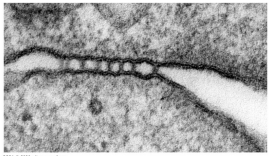
5. Lo **spessore** di un doppio strato lipidico, calcolato come il doppio della lunghezza di una singola molecola lipidica di membrana, si accorda strettamente con le dimensioni della membrana unitaria come appare nelle fotografie al microscopio elettronico.

6. La microscopia elettronica associata alla tecnica di *freeze-etching* dimostra che le membrane hanno un **piano di rottura preferenziale** disposto medialmente, caratteristica che è coerente con la separazione di un doppio strato in due monostrati.

7. I **doppi strati lipidici artificiali** (Scheda 4.2), doppi strati lipidici ricostituiti di spessore e struttura simili al centro bimolecolare lipidico del modello a mosaico fluido della membrana, hanno caratteristiche di permeabilità e proprietà elettriche fondamentalmente simili a quelle delle membrane cellulari. Le differenze esistenti possono essere ricondotte alla presenza di canali e trasportatori presenti nelle membrane naturali.

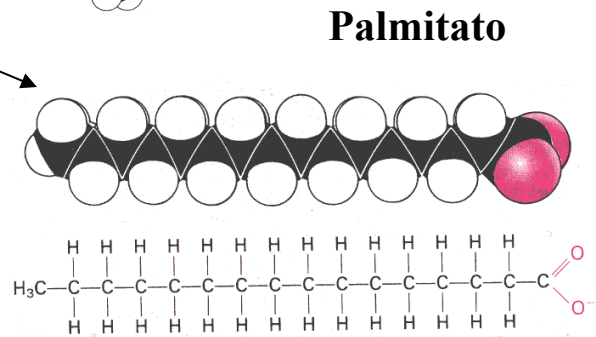
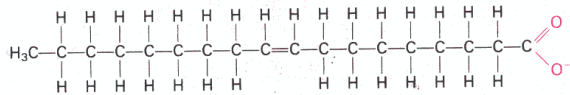
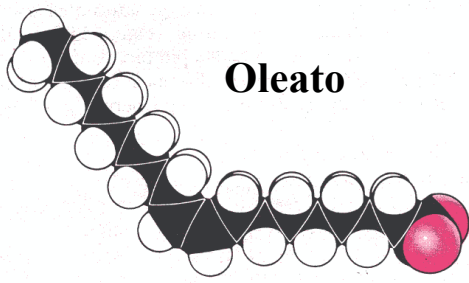
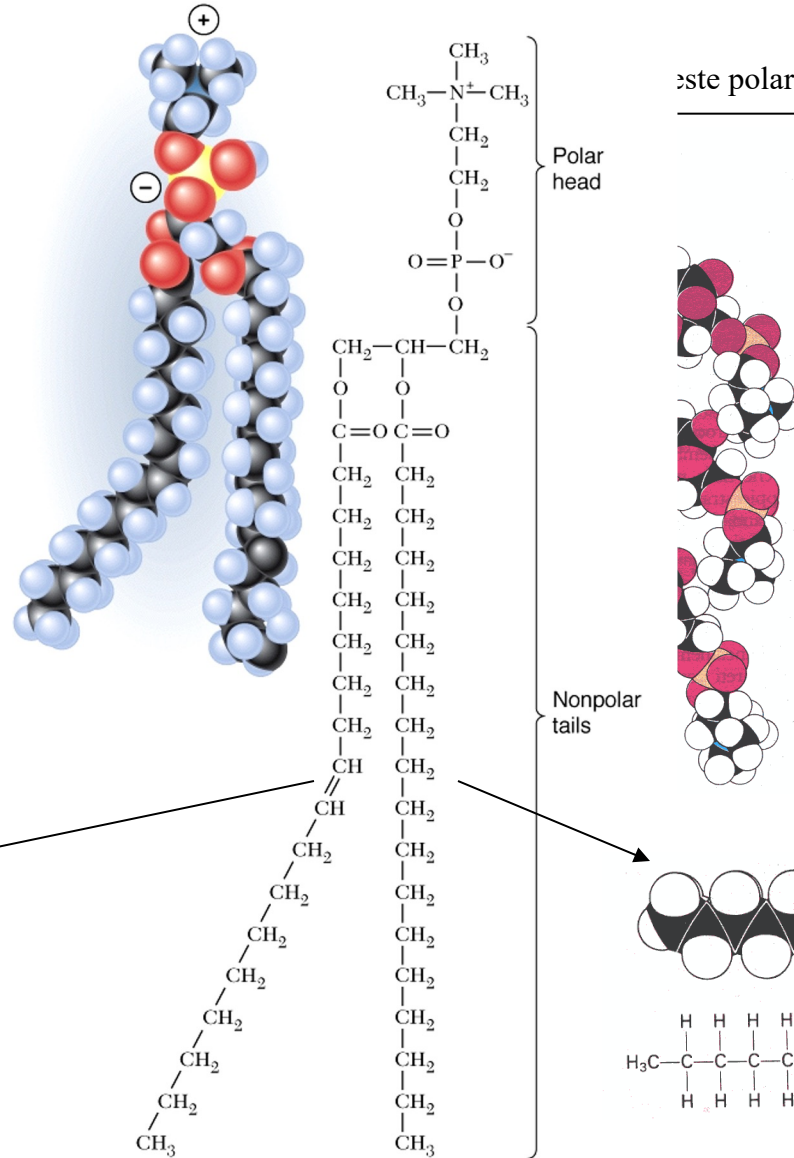
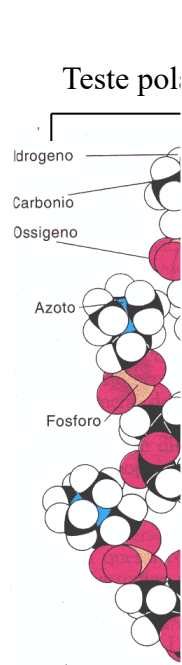
Preparazione di compartimenti di membrana



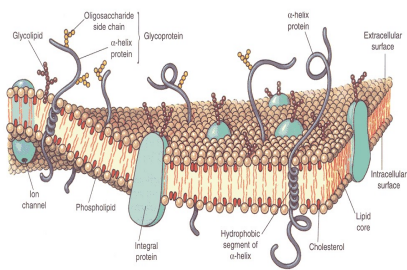


Le membrane cellulari: Modello spaziale di un doppio strato lipidico

Fosfolipidi
Glicolipidi
Colesterolo

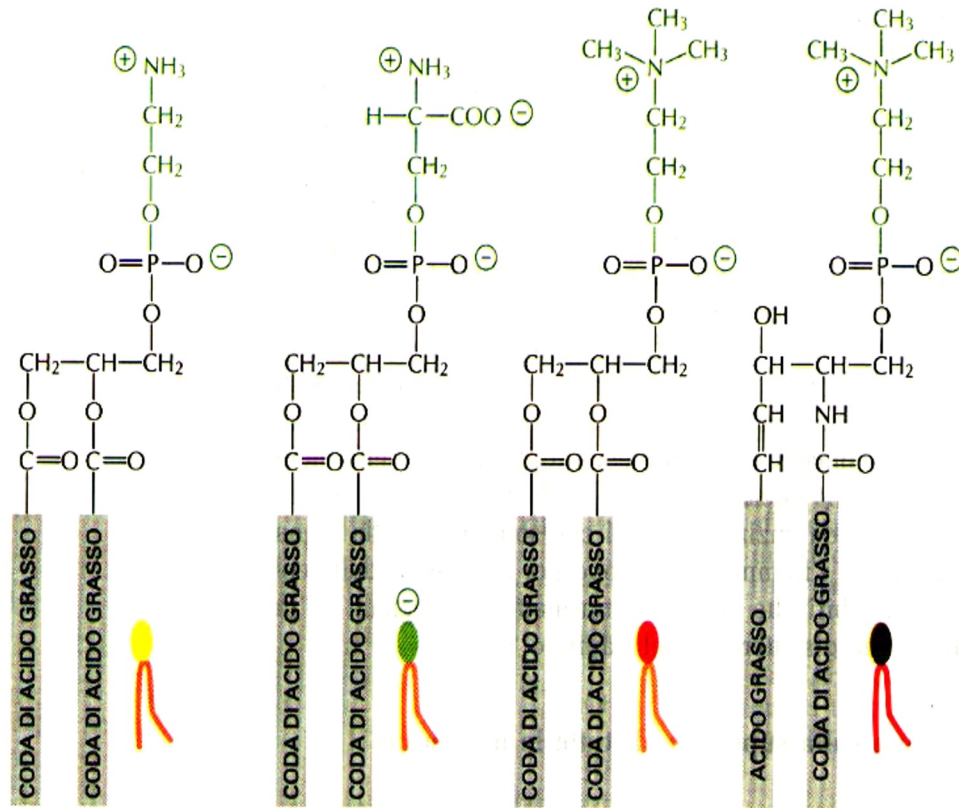


- Lunghezza media degli acidi grassi: 12-24 atomi di carbonio
- Le catene aciliche insature hanno di solito un doppio legame, ma possono averne anche 2, 3, 4 o addirittura 6



Le membrane cellulari: **La componente fosfolipidica**

Quattro fosfolipidi predominano nelle membrane cellulari



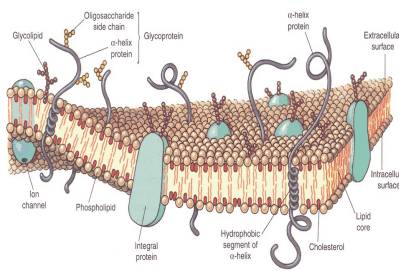
Fosfatidil-Etanolamina
(base azotata)

Fosfatidil-serina
(aminoacido)

Fosfatidil-Colina
(base azotata)

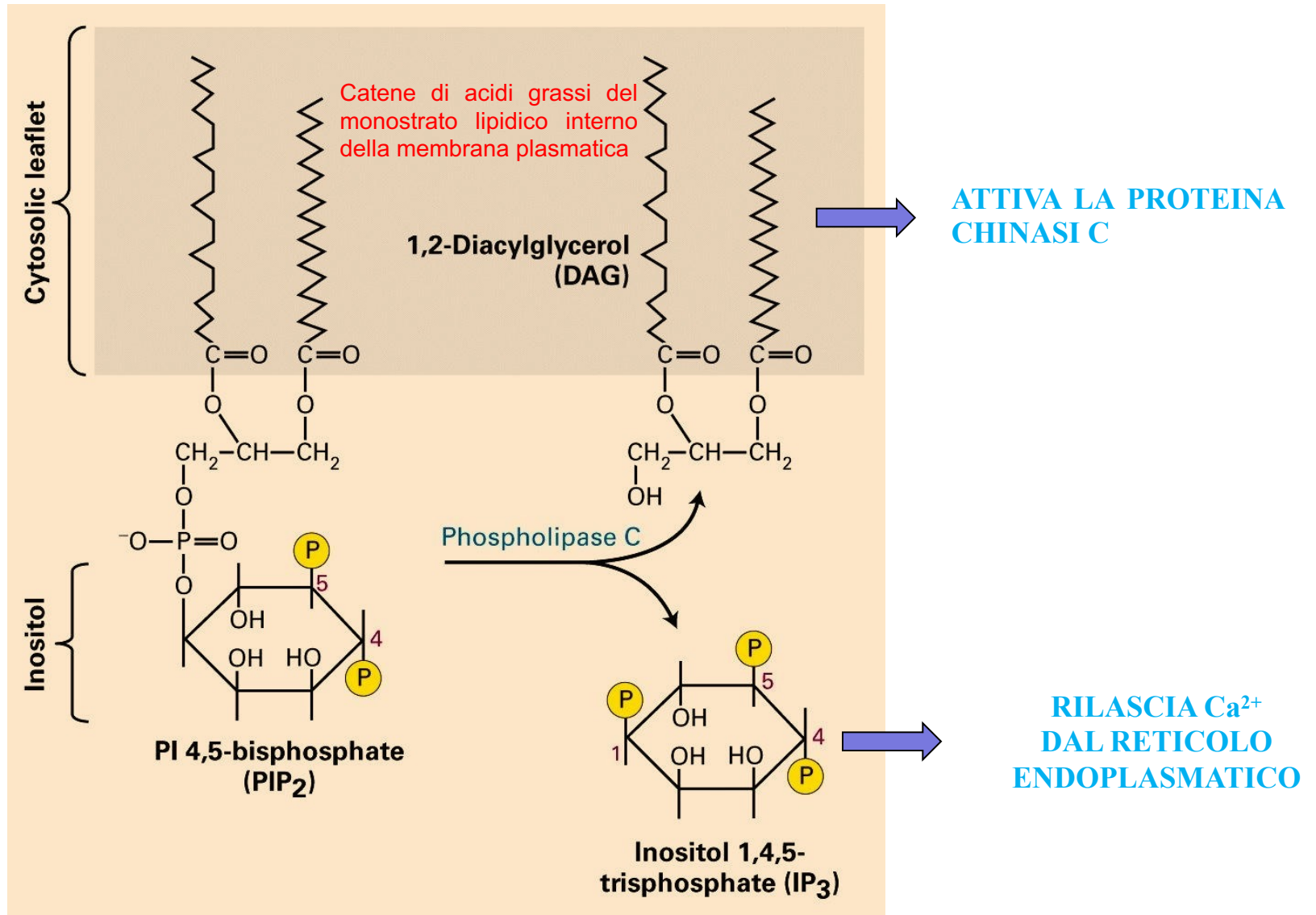
Sfingomielina
(contiene l'acido grasso sfingolo al posto del glicerolo)

- I fosfatidil-inositoli sono presenti in quantità inferiore, ma sono molto importanti funzionalmente, giocando un ruolo cruciale nella segnalazione intracellulare



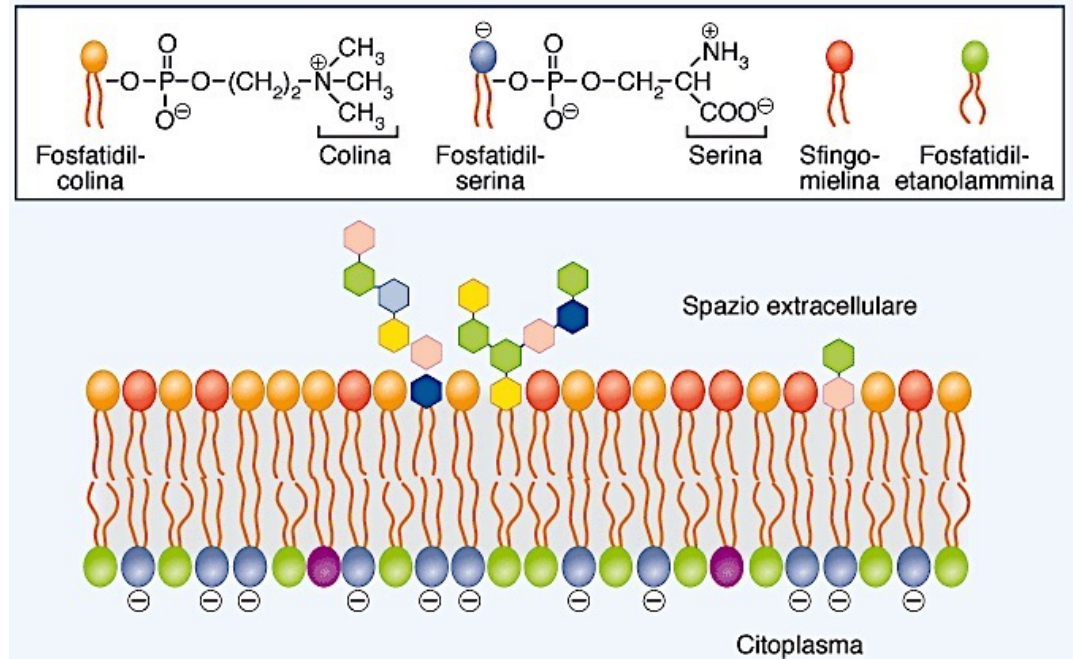
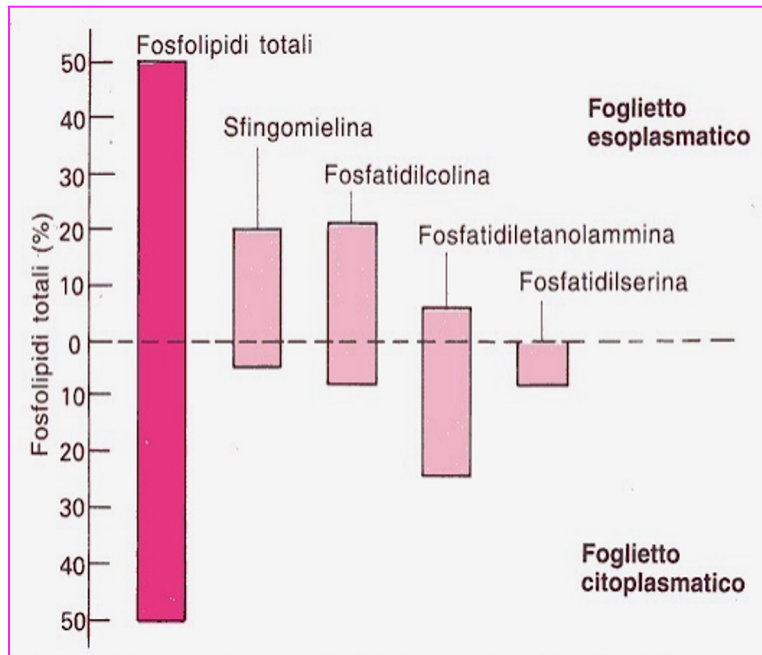
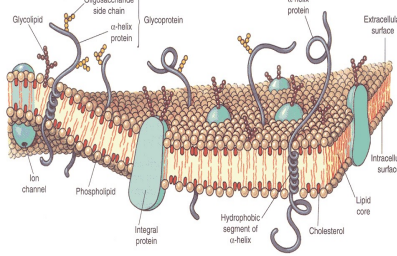
Le membrane cellulari:

Ruolo dei fosfatidil-inositoli nella trasduzione del segnale

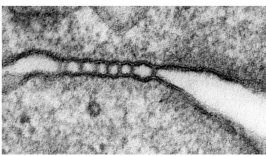


Le membrane cellulari:

Distribuzione dei fosfolipidi nei due foglietti della membrana eritrocitaria

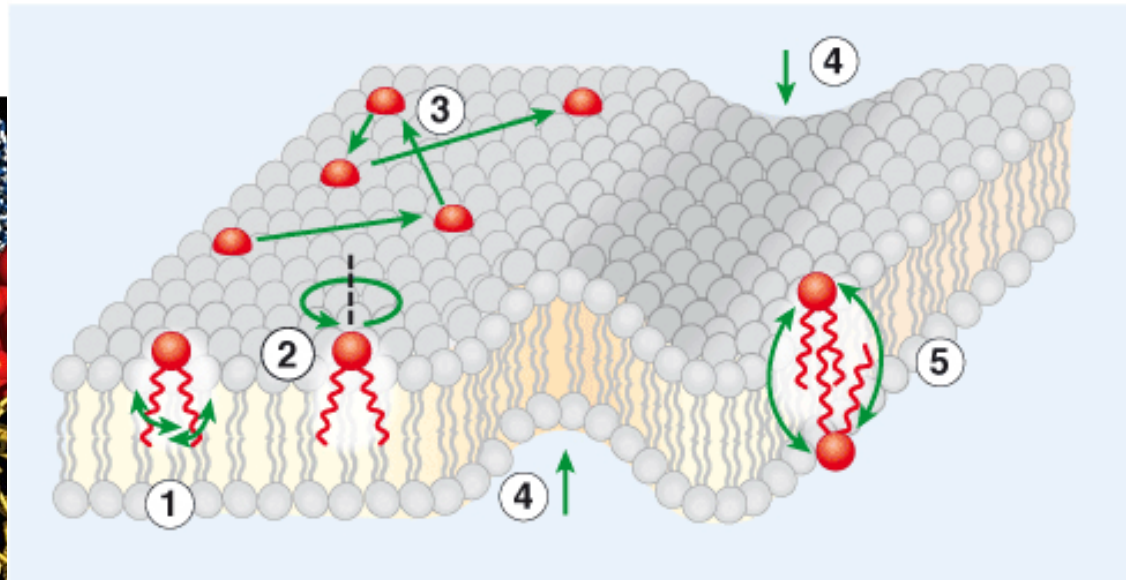
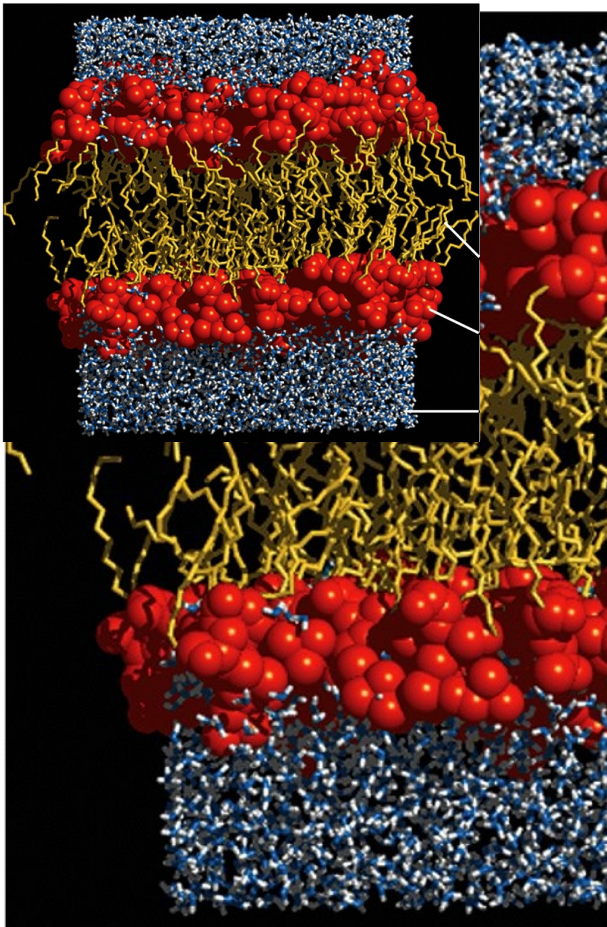


Tutti i fosfolipidi sono elettricamente neutri a pH fisiologico, tranne la fosfatidilserina, che ha una carica negativa

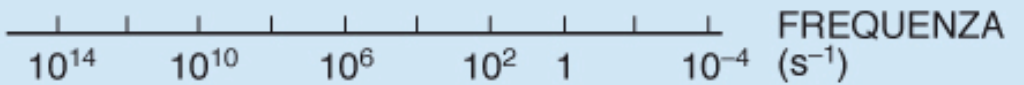


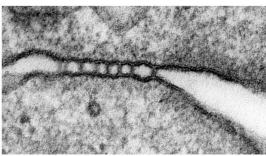
Le membrane cellulari:

I doppi strati fosfolipidici formano un fluido bidimensionale

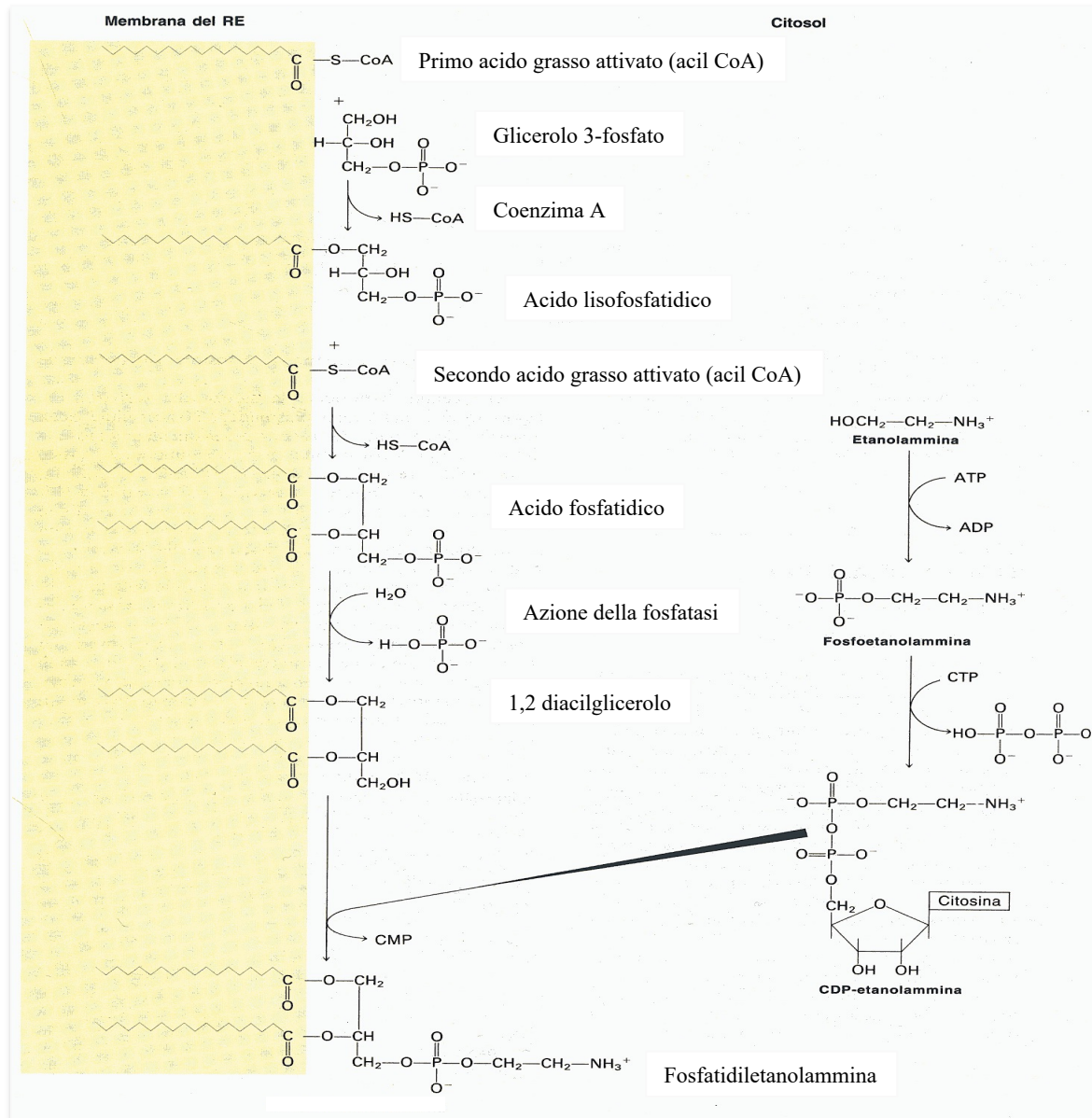


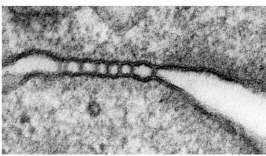
- ⑤ Flip-flop (raro)
- ④ Corrugamenti
- ③ Diffusione laterale (diversi $\mu\text{m/s}$)
- ② Rotazione
- ① Flessione delle catene
- Vibrazioni intramolecolari





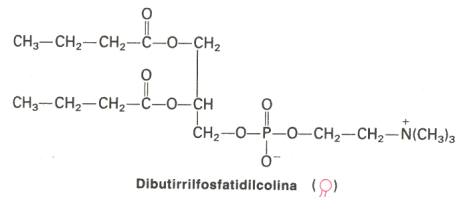
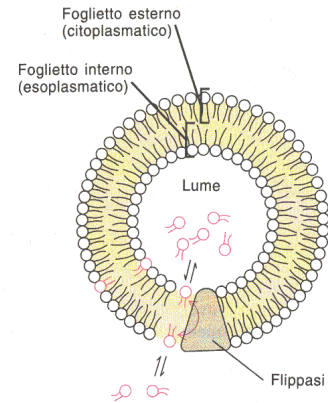
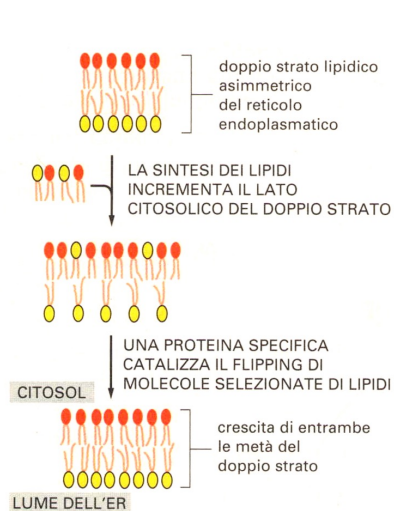
Le membrane cellulari: Sintesi dei lipidi di membrana



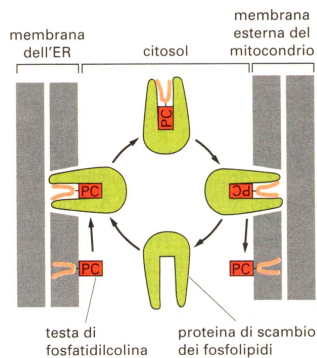


Le membrane cellulari: Sintesi dei lipidi di membrana

Le flippasi

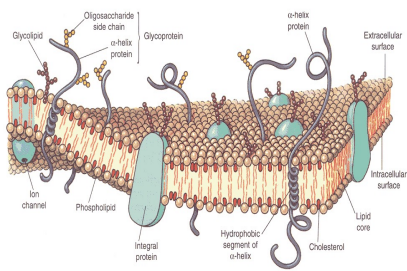


Le flippasi consentono ai fosfolipidi di equilibrarsi in entrambi i foglietti della membrana del reticolo endoplasmatico

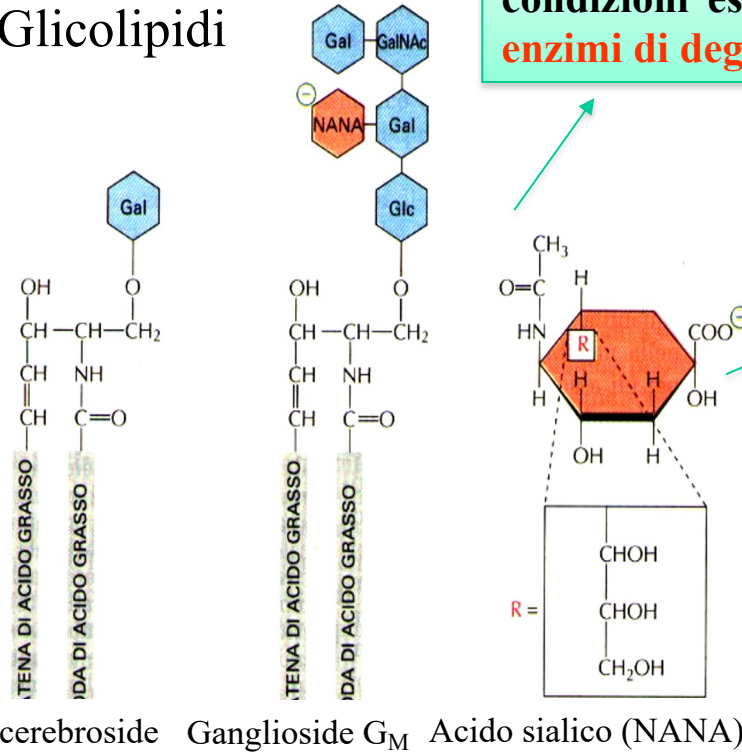


Le proteine che scambiano i fosfolipidi li trasferiscono dal RE ad altri compartimenti di membrane cellulari

Le membrane cellulari: Ruolo dei glicolipidi



Glicolipidi



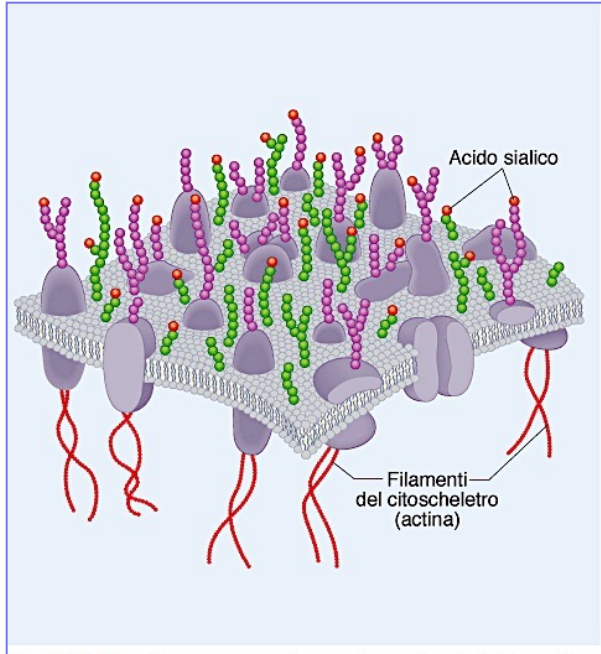
protezione della membrana da condizioni estreme: **basso pH;** **enzimi di degradazione**

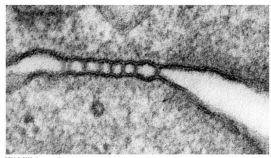
alterazione **campo elettrico** e **concentrazione ionica**

funzione di legame con la matrice extracellulare

processi di riconoscimento cellulare: (**ganglioside G_{M1} agisce come recettore tossina colerica**)

isolamento elettrico nella membrana mielinica





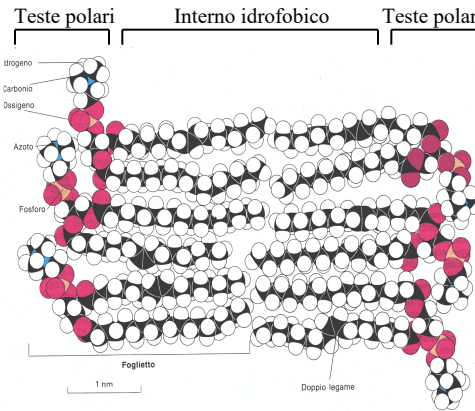
Le membrane cellulari:

Fattori che determinano la fluidità del doppio strato

Temperatura

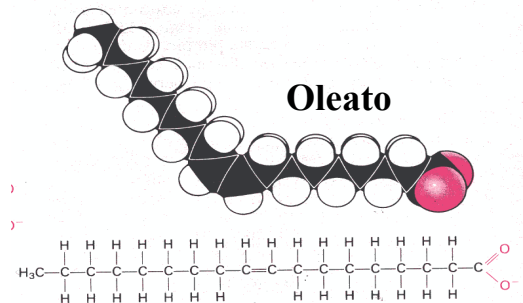
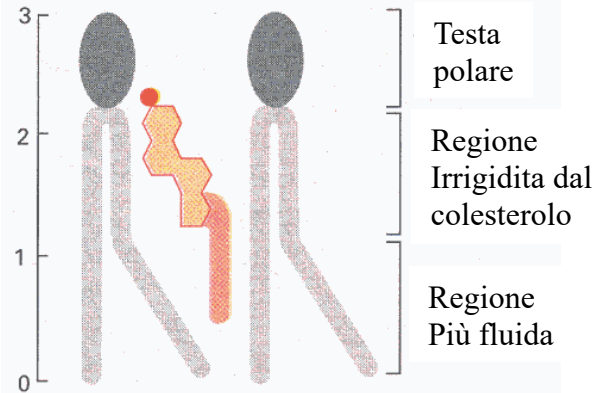
Lunghezza delle catene aciliche

Proteine



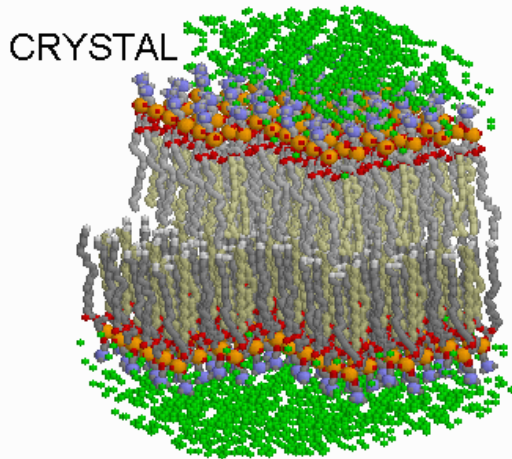
colesterolo

Insaturazione degli acidi grassi



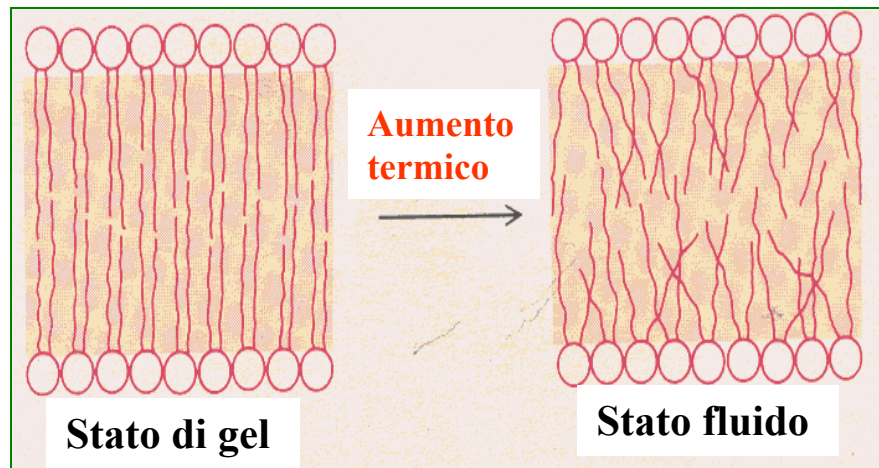
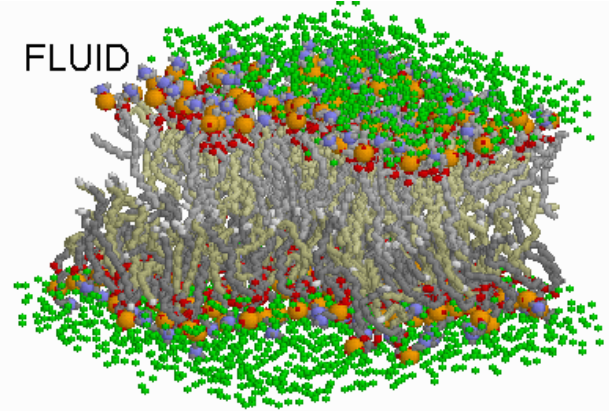
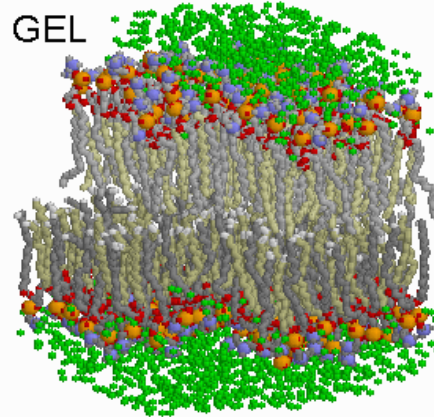
Le membrane cellulari

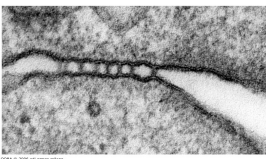
Fattori che determinano la fluidità del doppio strato: temperatura



Molecular Dynamics Simulation
of Phosphatidyl Choline Bilayer

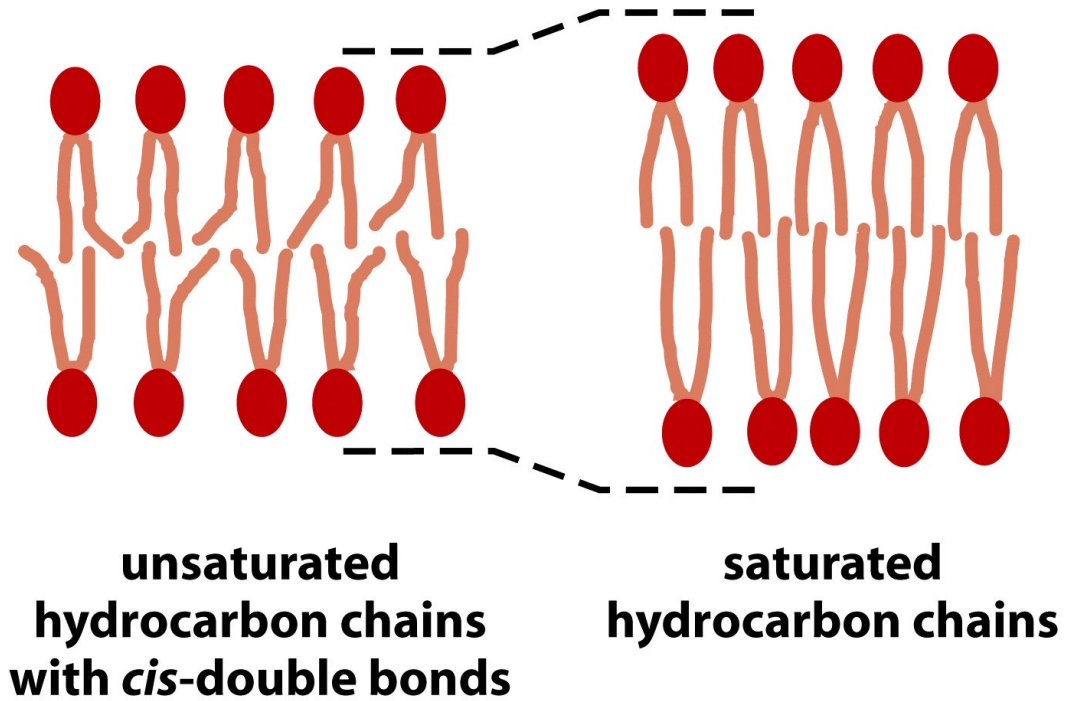
Carbon/Palmitic Water Oxygens
Nitrogen Oleic Phosphorus
Oxygen



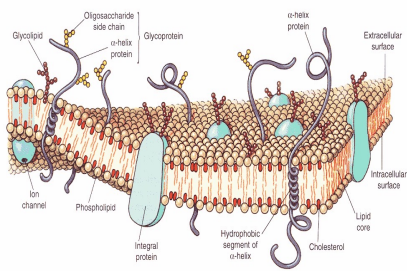


Le membrane cellulari

**Fattori che determinano la fluidità del doppio strato:
insaturazione degli acidi grassi**

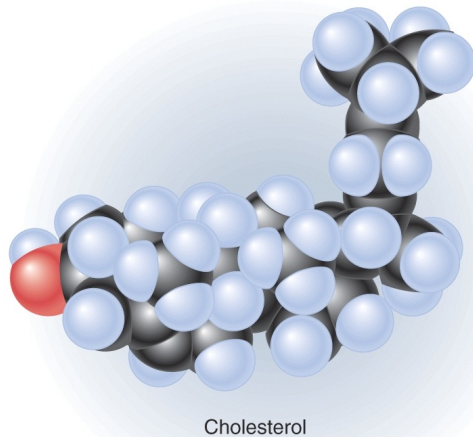


Le membrane cellulari: **Il colesterolo**

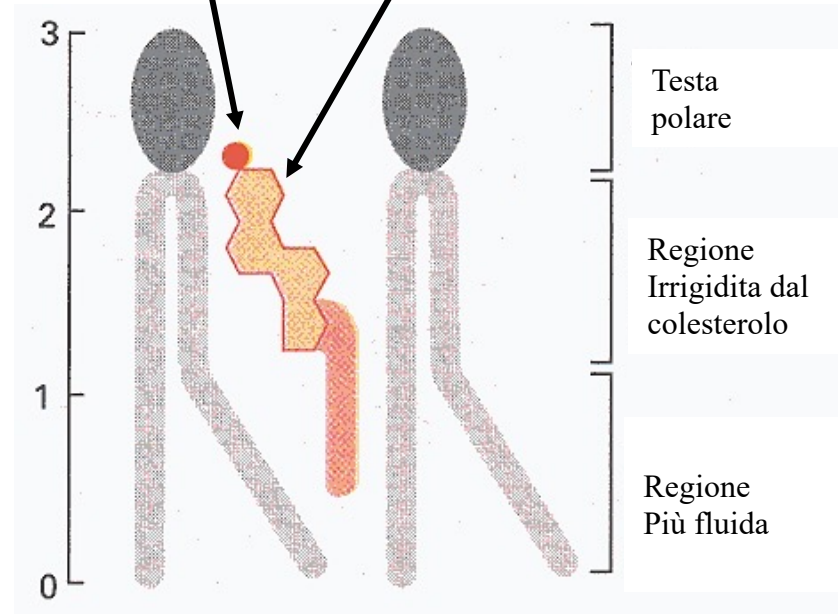
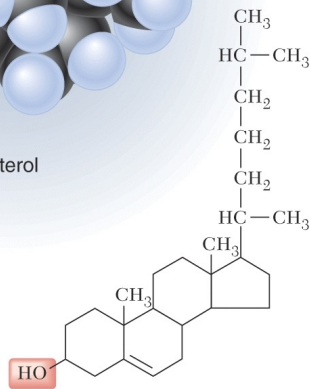


gruppi ossidrilici

anelli steroidi rigidi



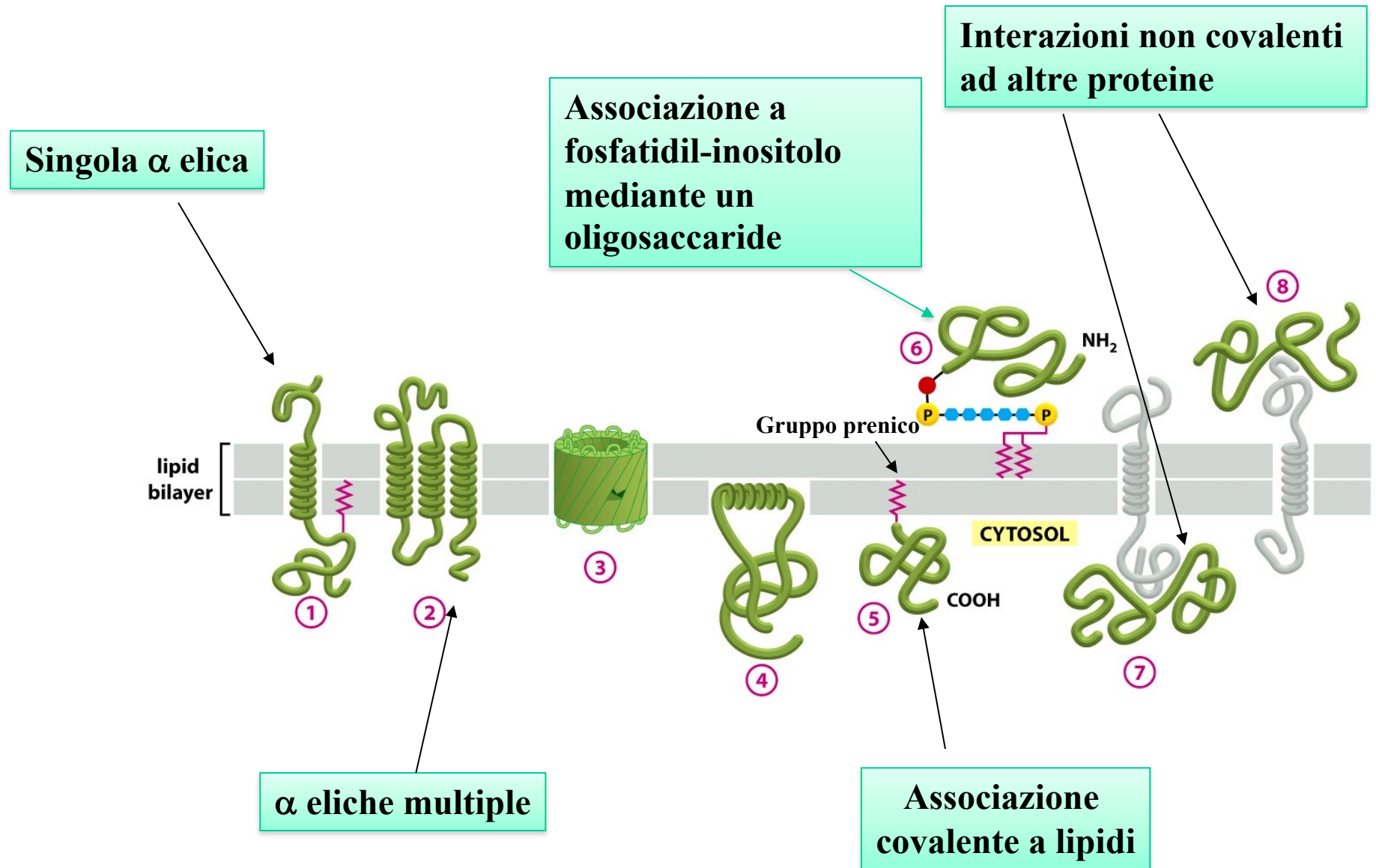
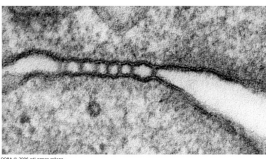
Cholesterol

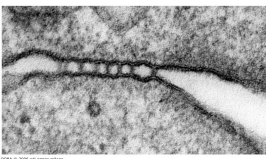


- 1. Diminuisce la permeabilità del doppio strato a piccole molecole solubili in acqua**
- 2. Rende il doppio strato fosfolipidico meno fluido (ma ne aumenta la fluidità ad alte temperature)**
- 3. Impedisce alle catene idrocarburiche di avvicinarsi e cristallizzare a basse temperature**
- 4. Impedisce possibili transizioni di fase (stato fluido >>> gel)**

Le membrane cellulari

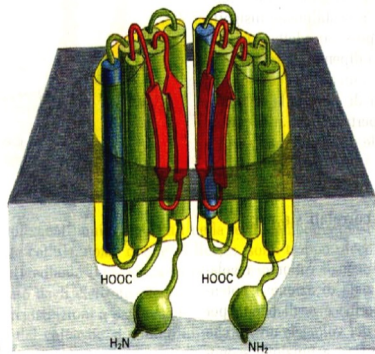
La componente proteica: Associazione delle proteine al doppio strato lipidico





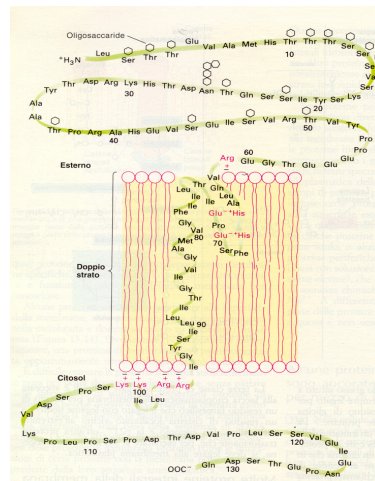
Le membrane cellulari: Esempi di proteine transmembrana, singole od organizzate in oligomeri

Canali ionici

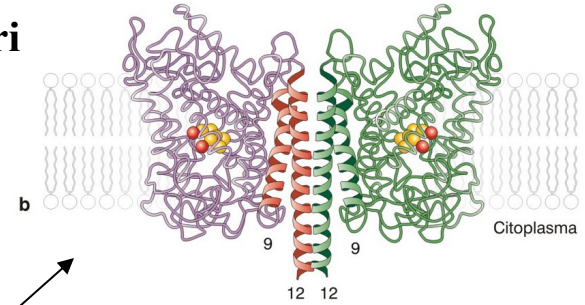
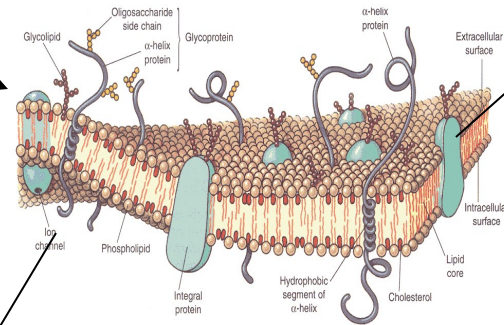


Oligomeri e eteroligomeri

Proteine a passaggio singolo

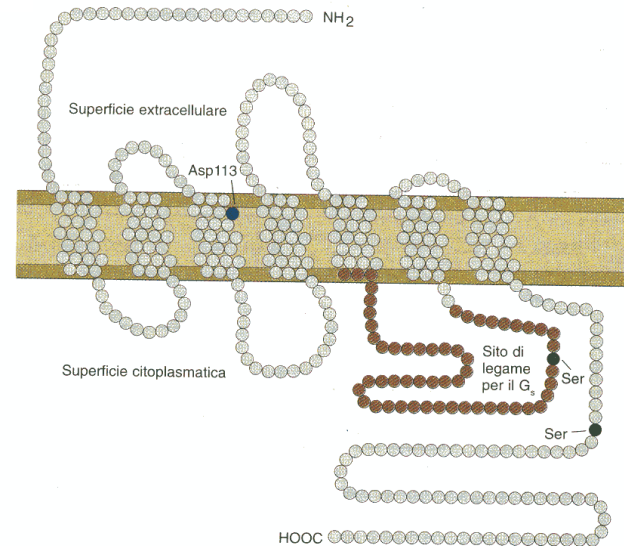


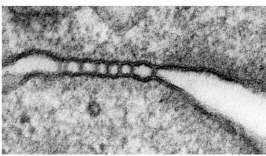
Trasportatori



eteroligomeri

Proteine a passaggio multiplo: recettori a 7 α -eliche transmembrana





Le membrane cellulari

La componente proteica: Proteine a passaggio singolo

Glicoforina

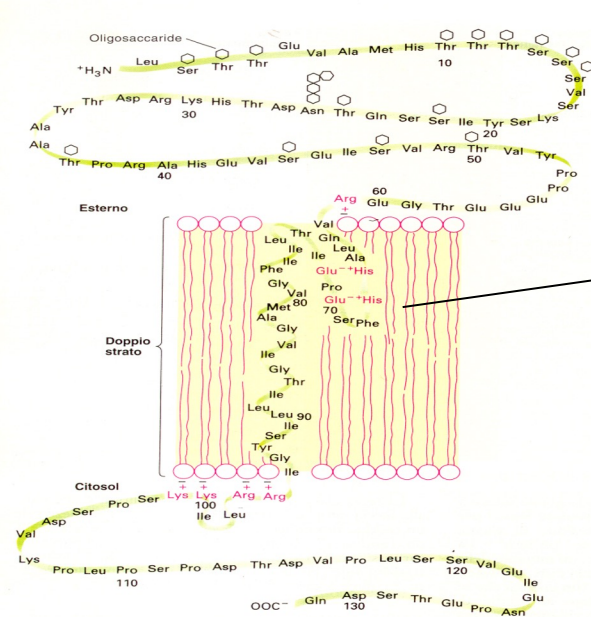
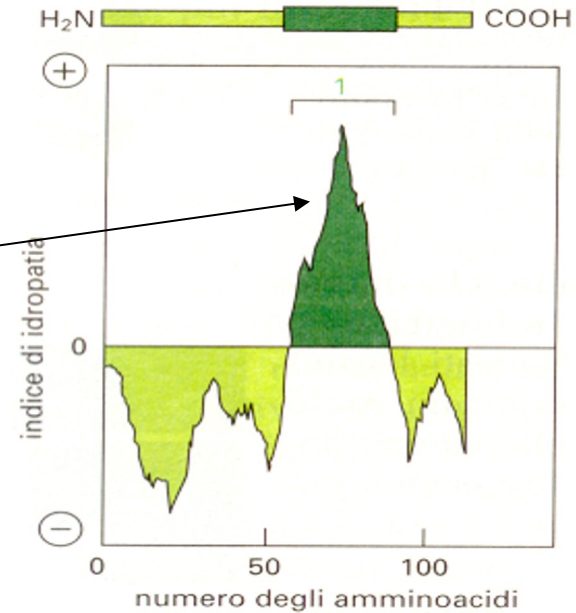
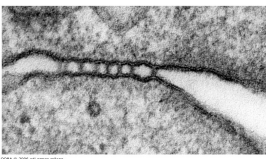


Grafico di idropatia

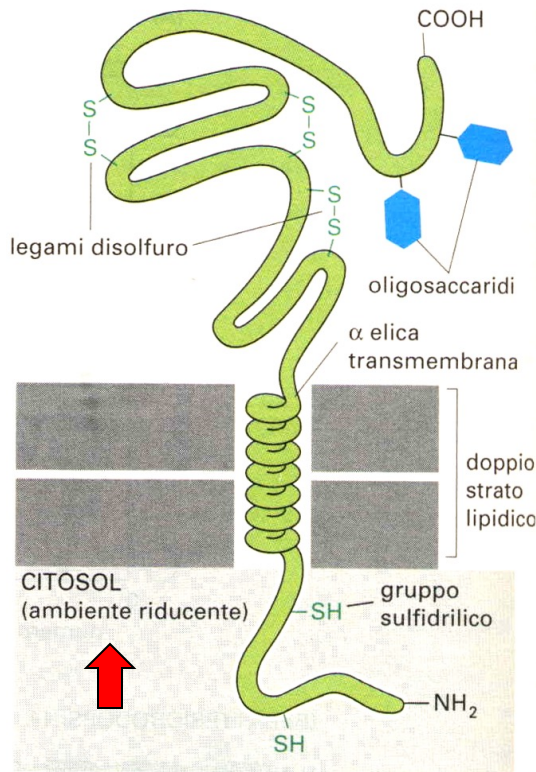
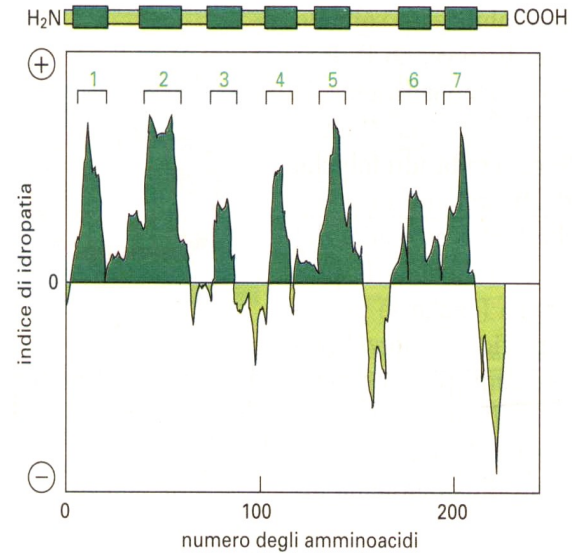


Un valore + del grafico di idropatia indica che è **necessaria energia libera** per il trasferimento del segmento proteico nel compartimento acquoso: il segmento è idrofobico



Le membrane cellulari: **La componente proteica**

Esempio di grafico di idropatia di una proteina a passaggio multiplo: la batteriorodopsina



Le proteine transmembrana sono asimmetriche