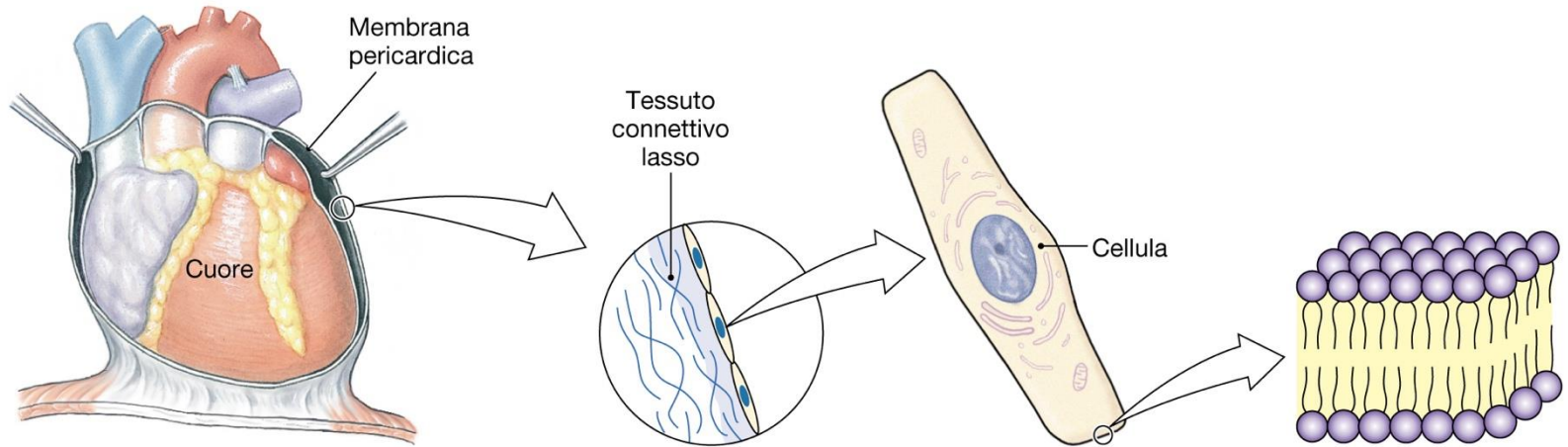


Le “MEMBRANE” in biologia

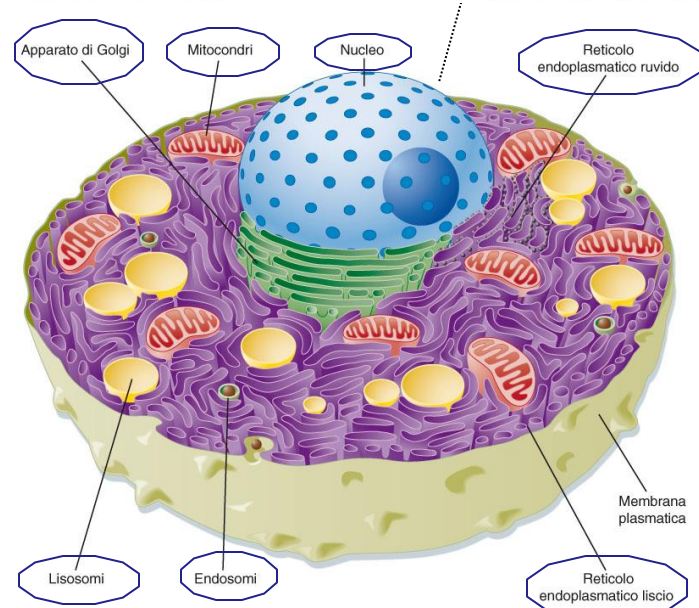


La **membrana pericardica** è un tessuto che circonda il cuore.

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

Delimitazione delle cellule

Genesis del potenziale elettrico trans-membrana

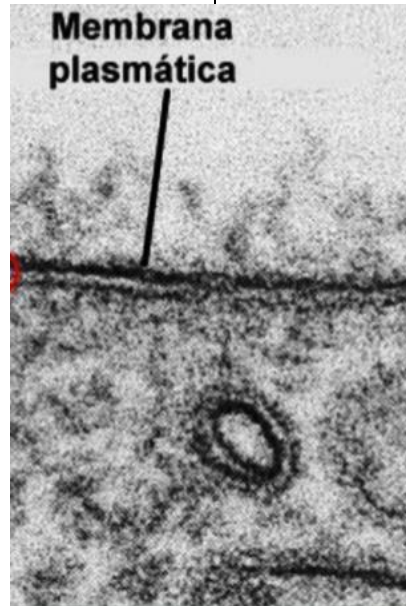
Mantenimento delle differenze tra l'ambiente intra ed extracellulare

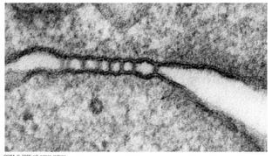
Membrane degli organuli sub-cellulari: Mantenimento delle differenze tra compartimento interno e citoplasma cellulare

Creazione e mantenimento di gradienti ionici

Trasferimento delle informazioni tramite i recettori di superficie

Supporto ad enzimi e proteine per l'interazione con altre cellule e la matrice extracellulare



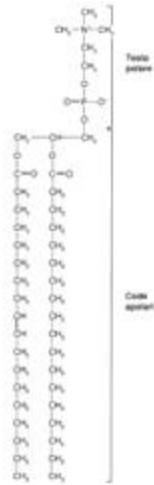


Le membrane cellulari: **Organizzazione**

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.

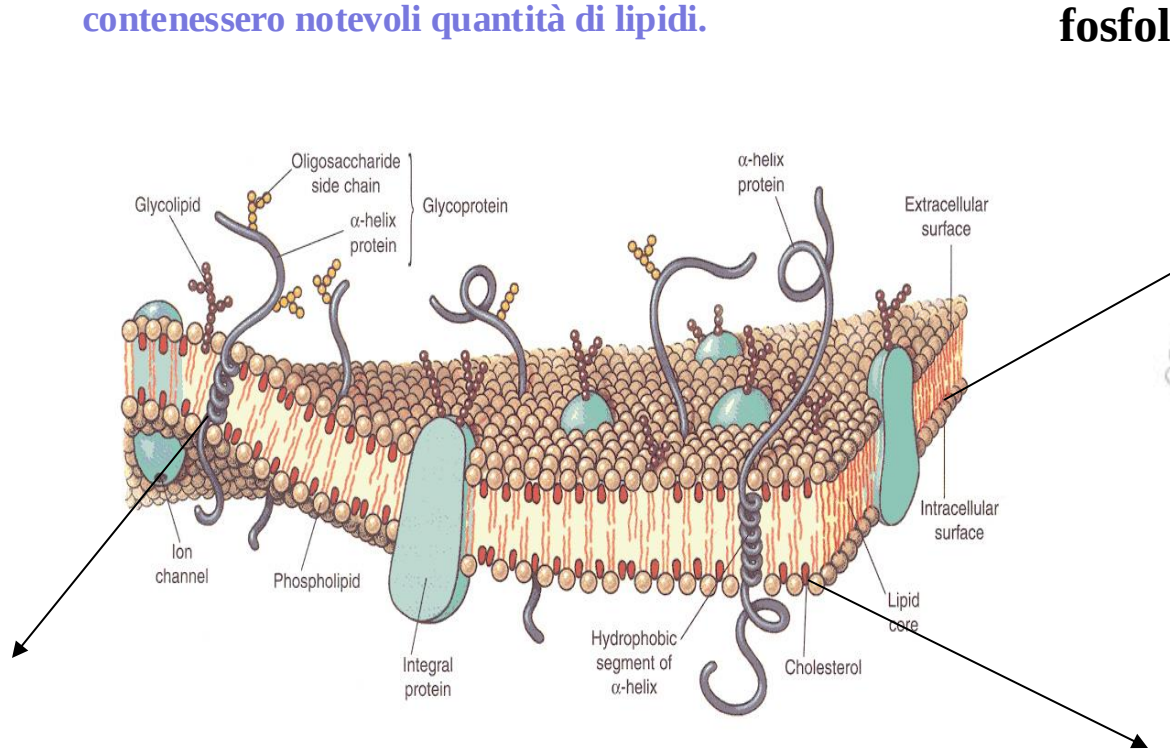
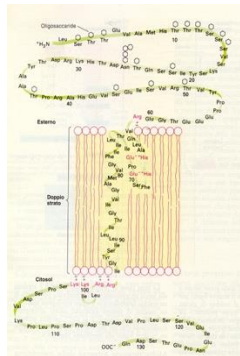
fosfolipide



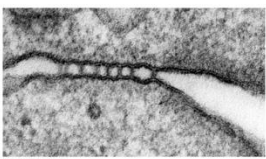
colesterolo



Proteina



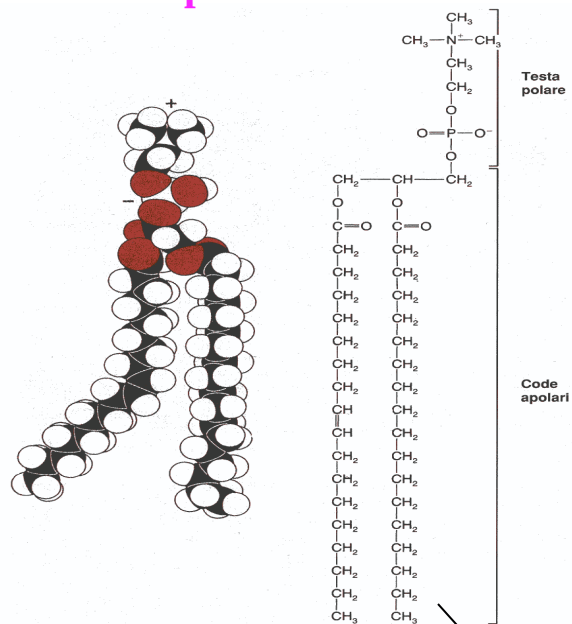
La struttura di base delle membrane biologiche è costituita da un doppio strato fosfolipidico, colesterolo e proteine



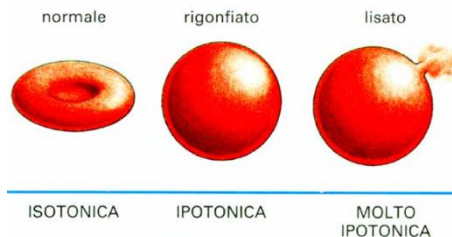
Le membrane cellulari:

Prove a sostegno della struttura a doppio strato

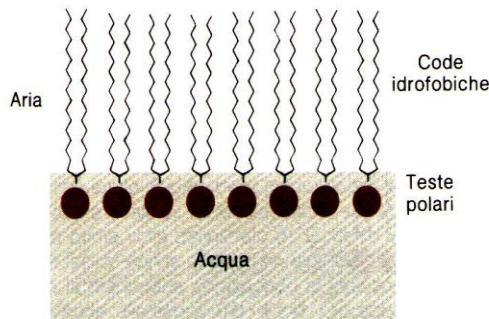
fosfolipide



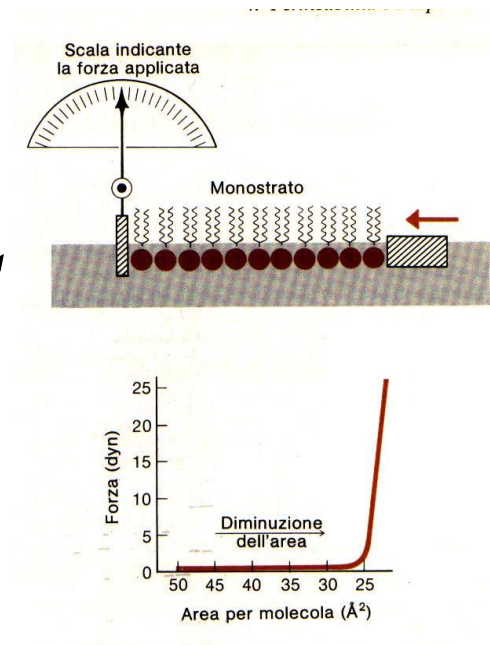
I fosfolipidi vengono estratti da
“fantasmi” di globuli rossi
(lisati osmoticamente)



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.

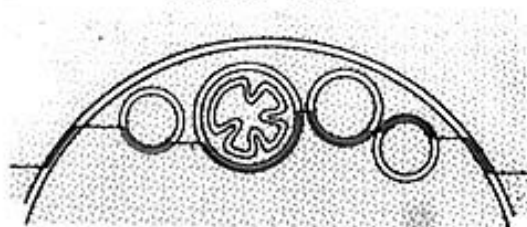
5. Lo **spessore** di un doppio strato lipidico, calcolato come il doppio della lunghezza di una singola molecola lipidica di membrana, si accorda strettamente con le dimensioni della membrana unitaria come appare nelle fotografie al microscopio elettronico.

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.

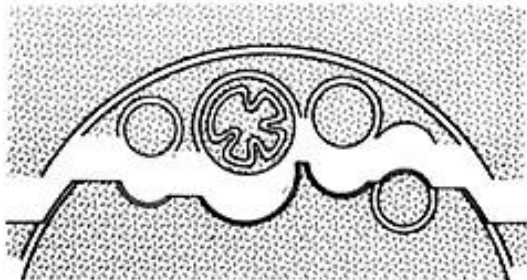
7. I **doppi strati lipidici artificiali** (Scheda 4.2), doppi strati lipidici ricostituiti di spessore e struttura simili al centro bimolecolare lipidico del modello a mosaico fluido della membrana, hanno caratteristiche di permeabilità e proprietà elettriche fondamentalmente simili a quelle delle membrane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

FREEZE-FRACTURE AND ETCHING

Frozen Cell



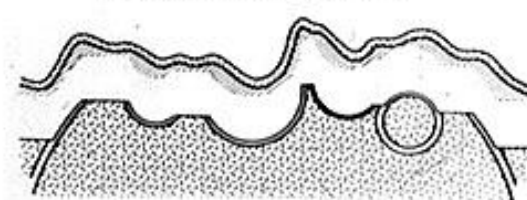
Fracturing and Etching



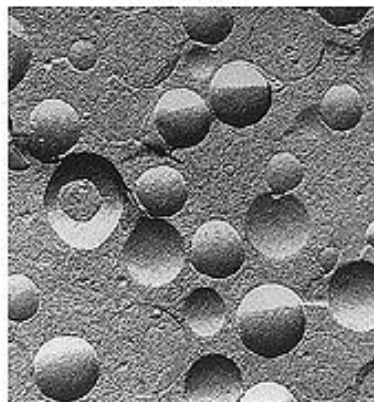
Replication of Fractured Surface



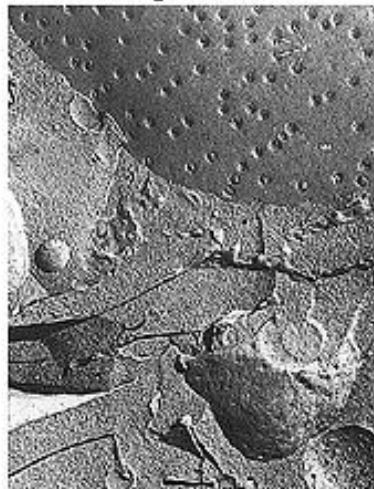
Clearing of Replica



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

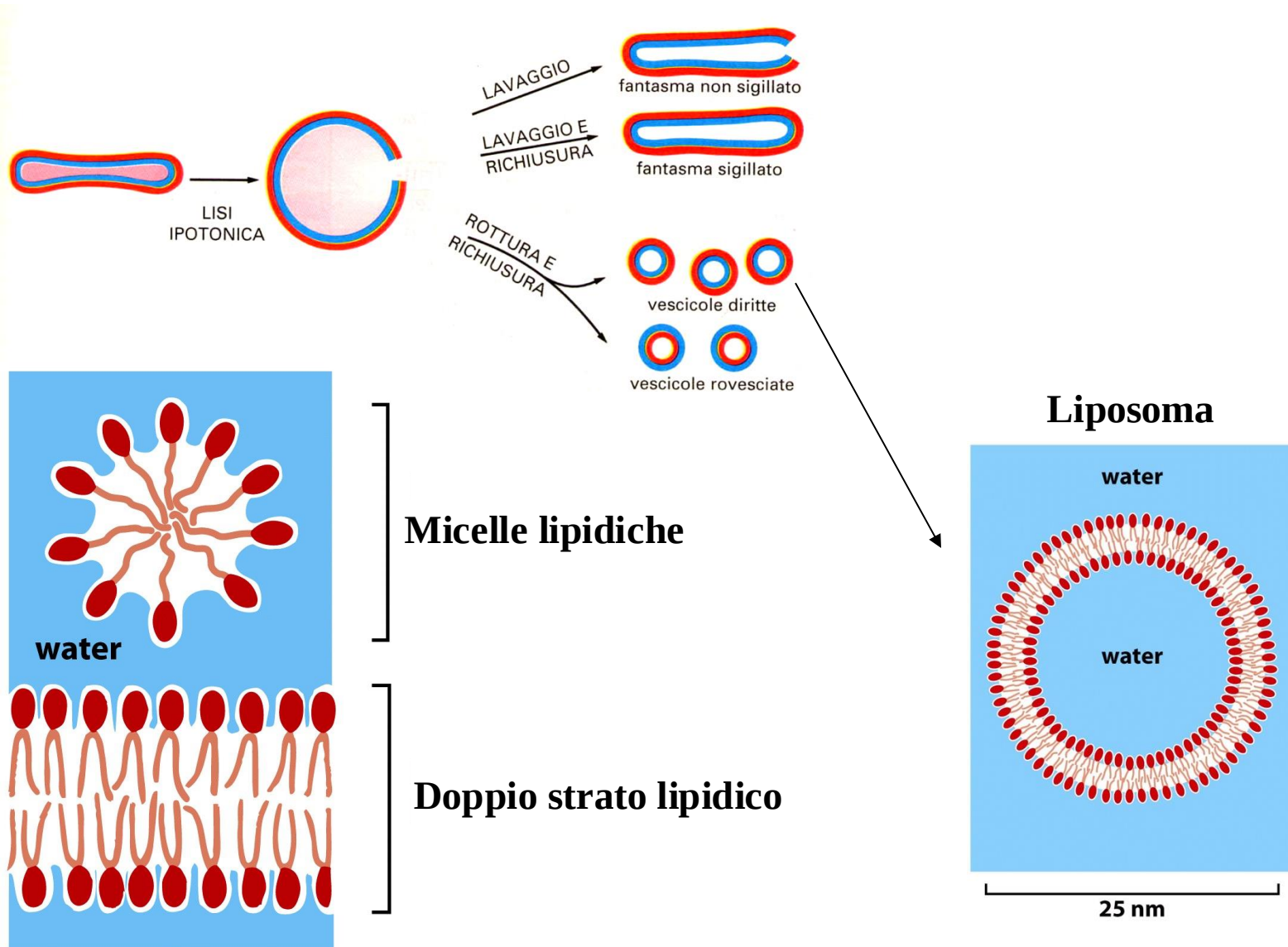
tra due strati esterni elettrondensi (Fig. 4.1), con uno spessore totale di circa 7,5 nm. Nel 1955, J. David Robertson dette a questa struttura tristratificata il nome di **membrana unitaria**. Il concetto di membrana unitaria è in accordo con uno strato bimolecolare di lipidi compreso tra due strati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

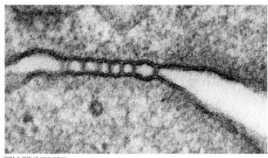
5. Lo **spessore** di un doppio strato lipidico, calcolato come il doppio della lunghezza di una singola molecola lipidica di membrana, si accorda strettamente con le dimensioni della membrana unitaria come appare nelle fotografie al microscopio elettronico.

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

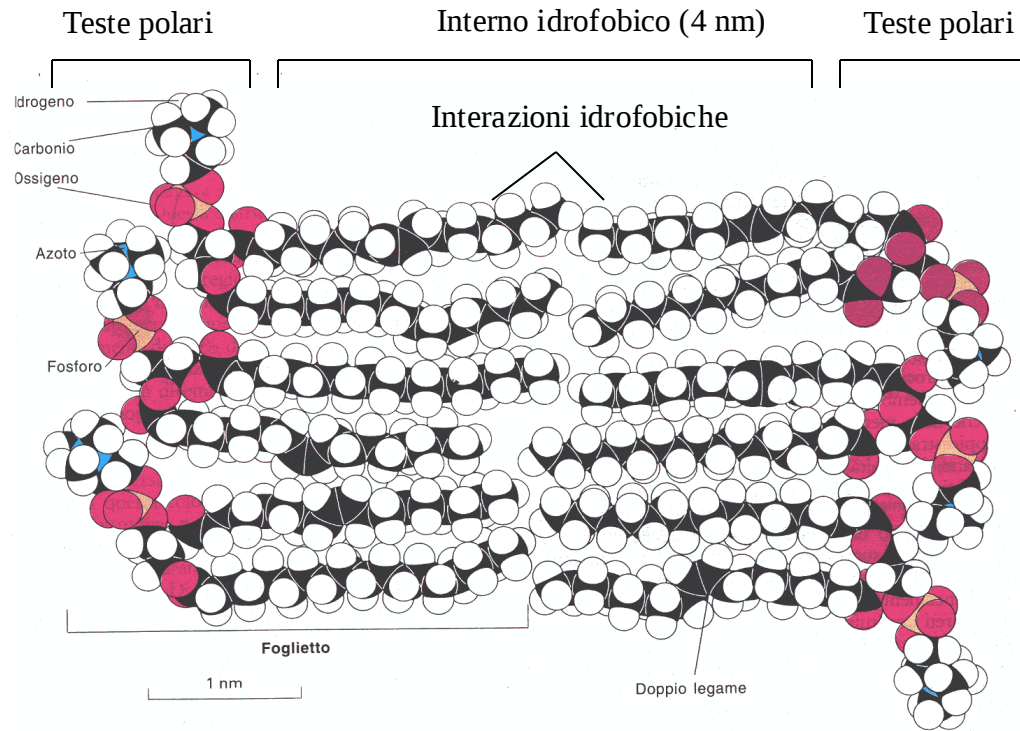




Le membrane cellulari:

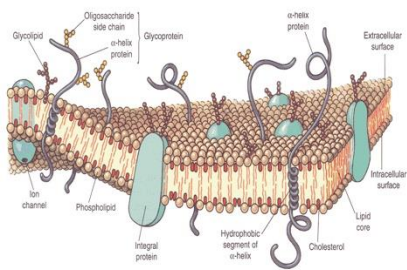
Modello spaziale di un doppio strato lipidico

Fosfolipidi
Glicolipidi
Colesterolo



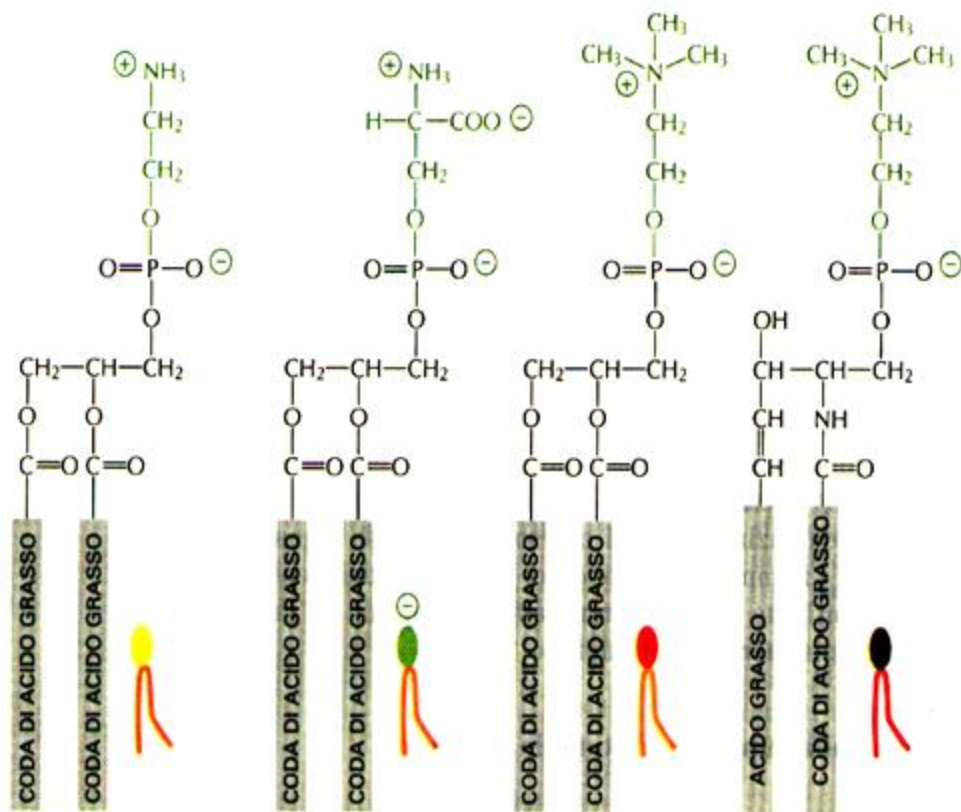
Fosfogliceridi
Sfingolipidi

- 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



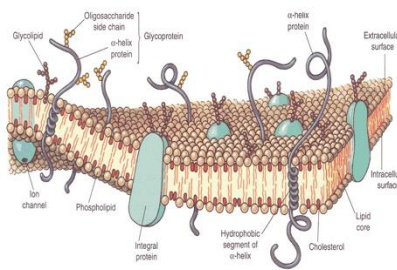
Fosfatidil-Etanolamina
(base azotata)

Fosfatidil-serina
(aminoacido)

Fosfatidil-Colina
(base azotata)

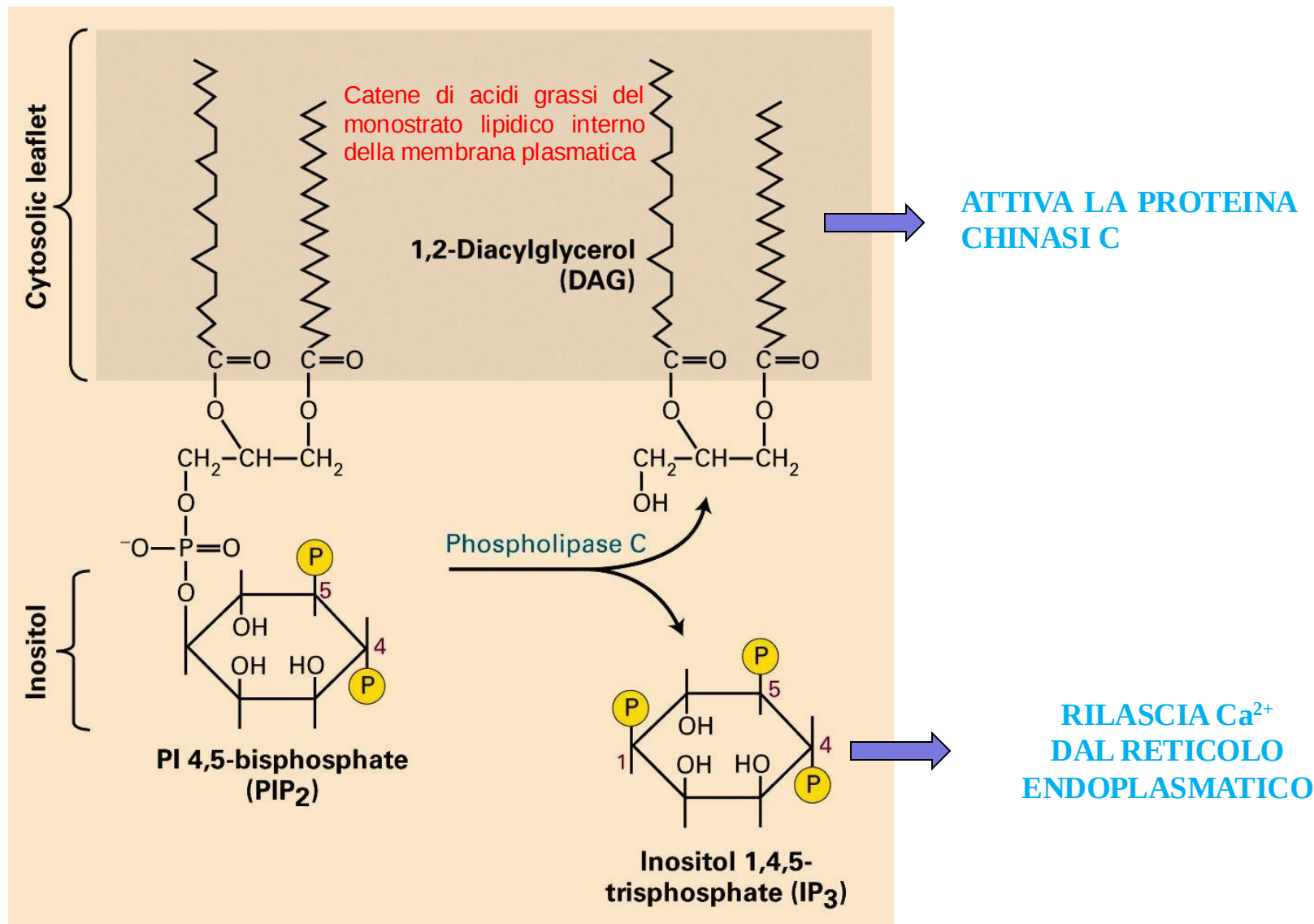
Sfingomielina
(contiene l'acido grasso
sfingolo al posto del glicerolo)

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



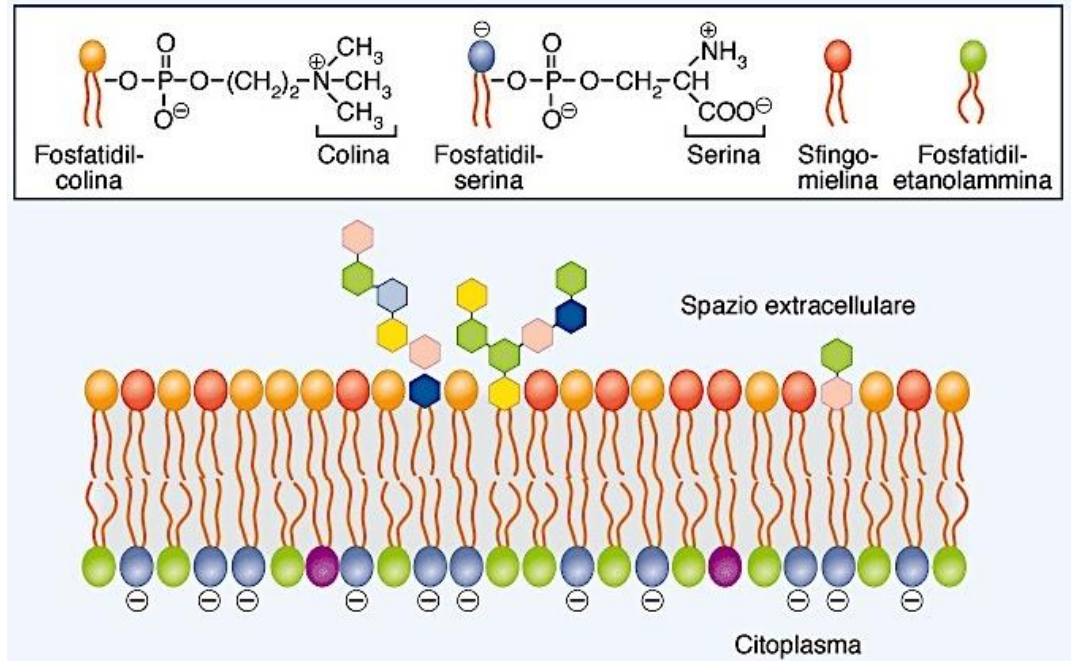
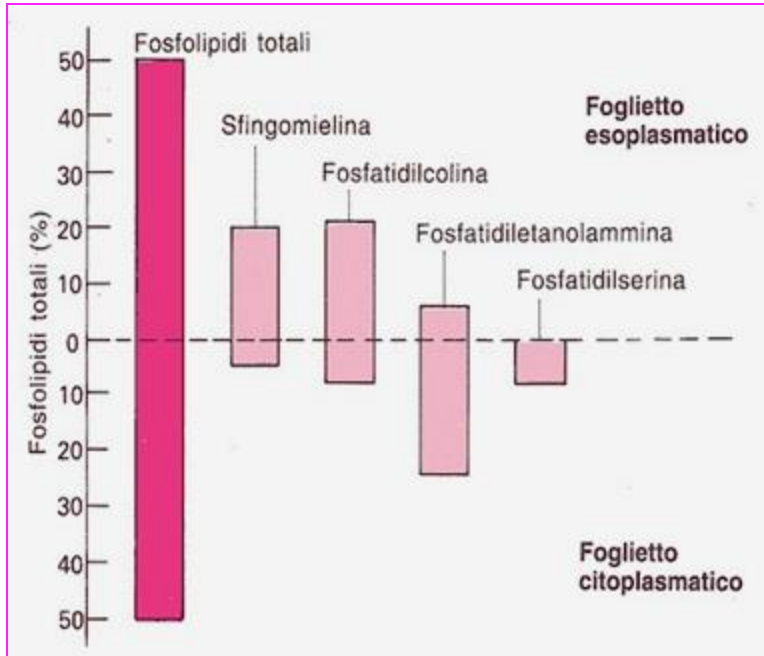
Le membrane cellulari:

Ruolo dei fosfatidil-inositoli nella trasduzione del segnale

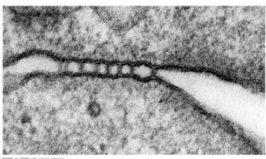


A detailed diagram of a cell membrane cross-section. The lipid bilayer is shown with orange heads and yellow tails. A large teal integral protein spans the membrane. A blue channel protein is embedded. Glycoproteins with branched oligosaccharide side chains and alpha-helix proteins are on the extracellular surface. Phospholipids and cholesterol are also labeled. The diagram distinguishes between the extracellular and intracellular surfaces and the hydrophobic segment of the alpha-helix.

Distribuzione dei fosfolipidi nei due foglietti della membrana eritrocitaria

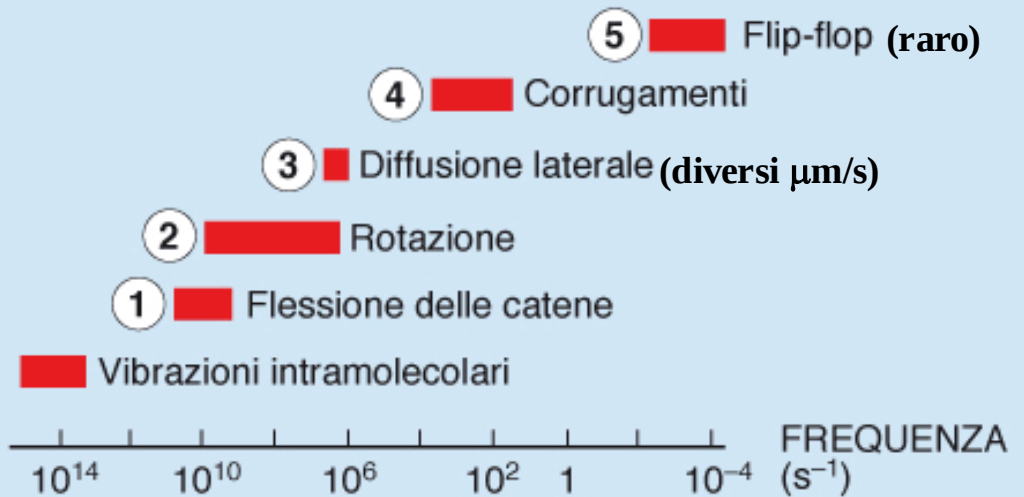
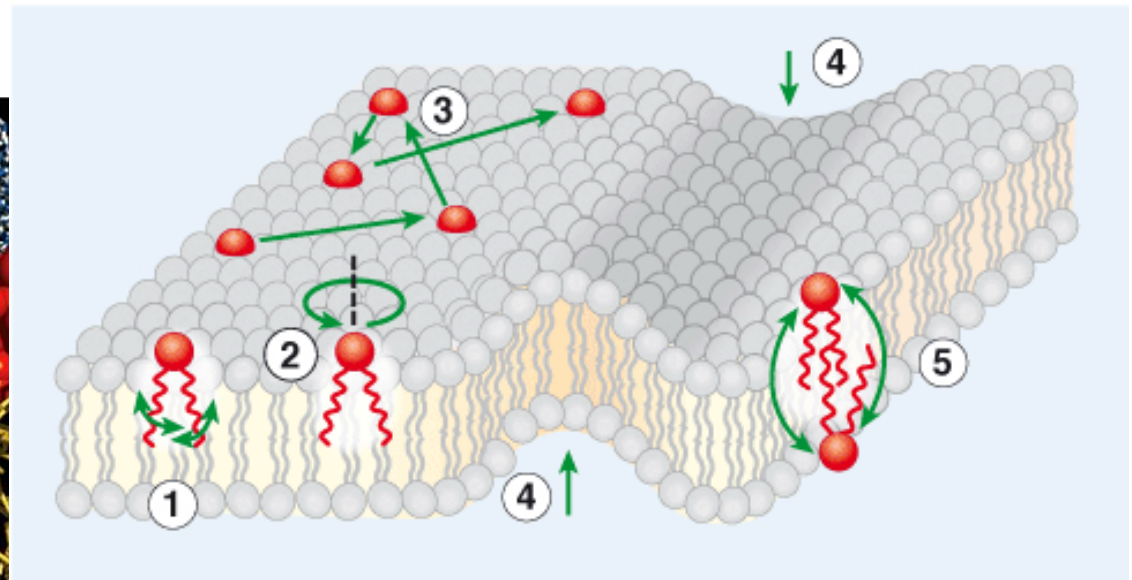
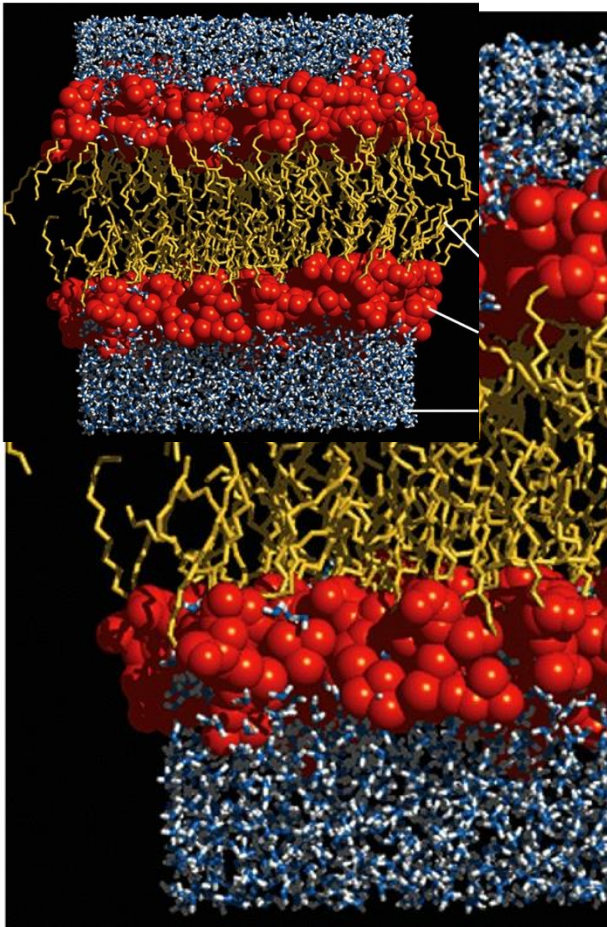


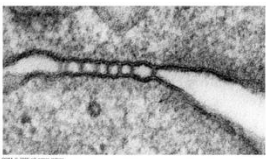
Tutti i fosfolipidi sono elettricamente neutri a pH fisiologico, tranne la fosfatidilserina, che ha una carica negativa



Le membrane cellulari:

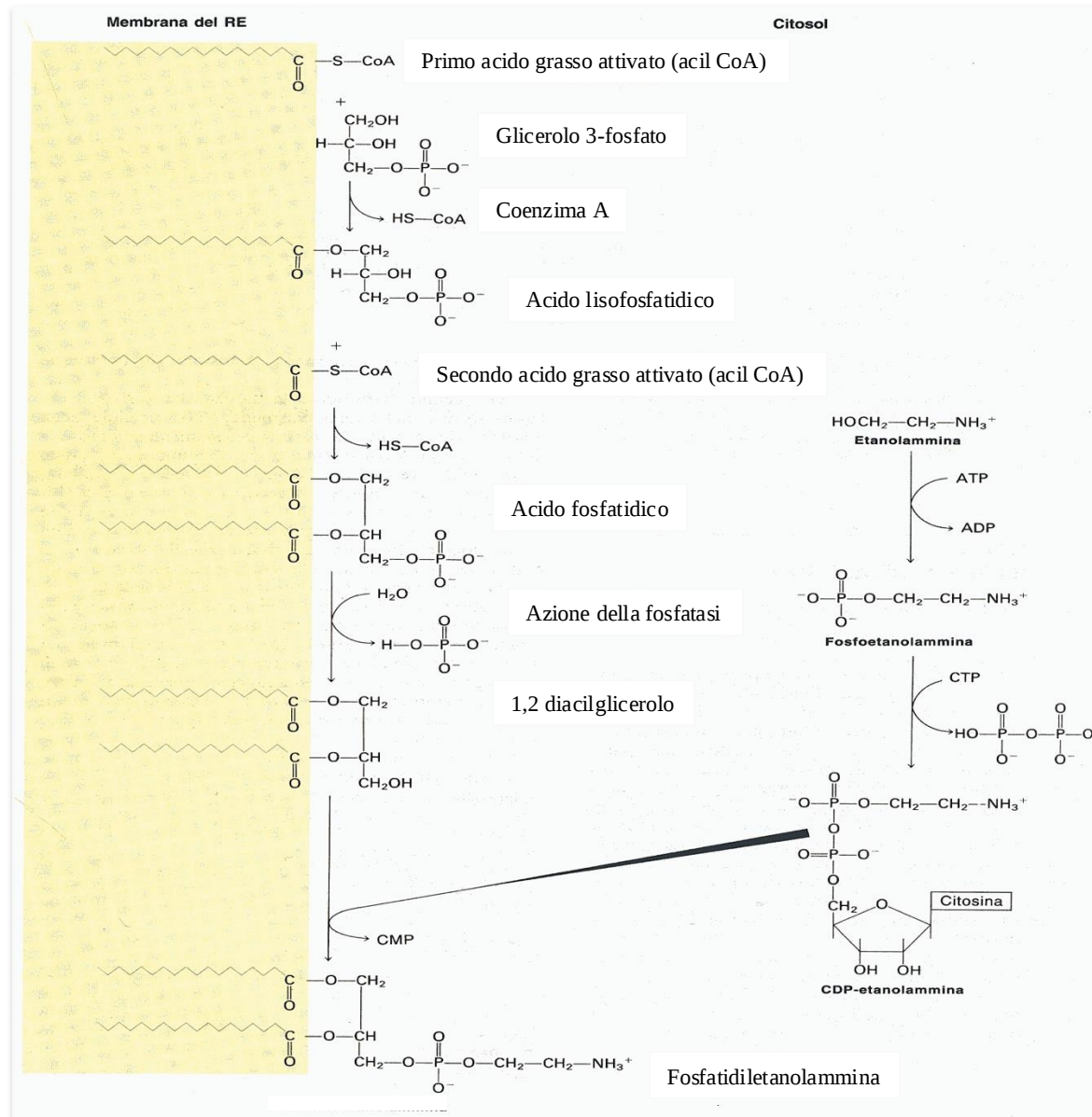
I doppi strati fosfolipidici formano un fluido bidimensionale

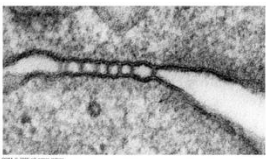




Le membrane cellulari:

Sintesi dei lipidi di membrana

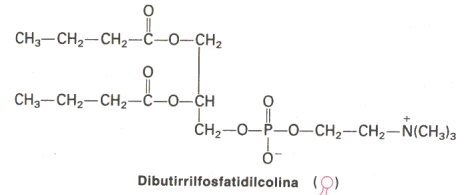
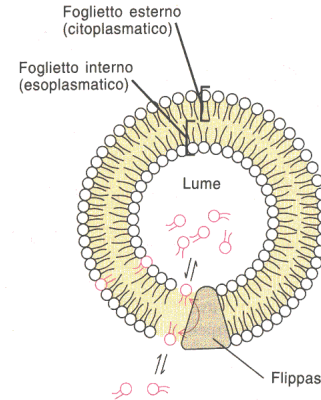
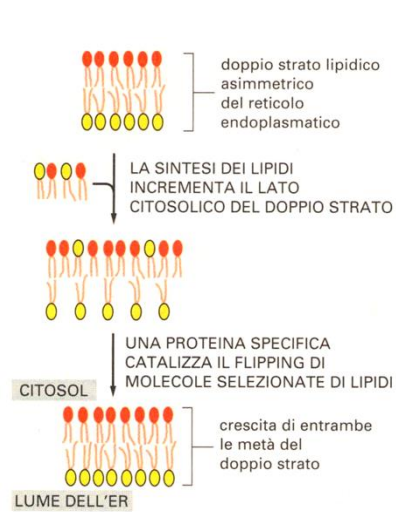




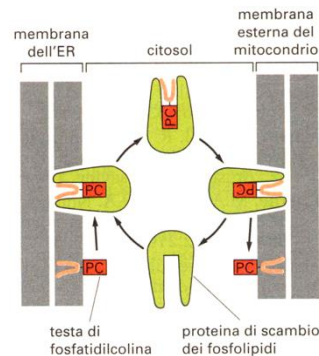
Le membrane cellulari:

Sintesi dei lipidi di membrana

Le flippasi

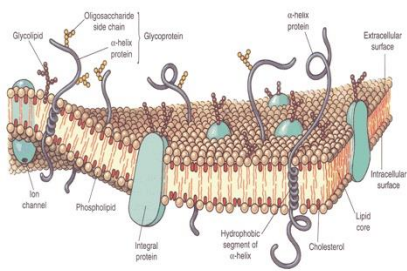


Le flippasi consentono ai fosfolipidi di equilibrarsi in entrambi i foglietti della membrana del reticolo endoplasmatico



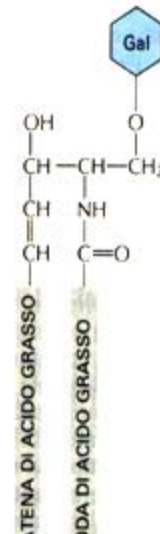
Le proteine che scambiano i fosfolipidi li trasferiscono dal RE ad altri compartimenti di membrane cellulari

Le membrane cellulari: **Ruolo dei glicolipidi**

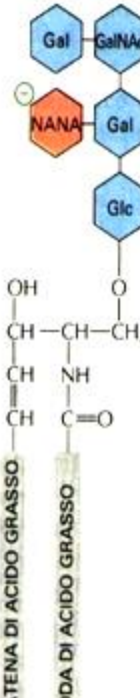


Glicolipidi

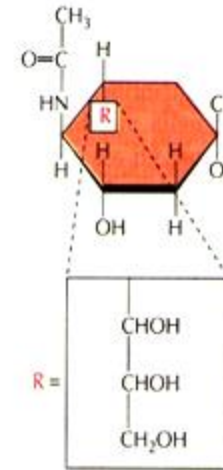
funzione di legame
con la matrice
extracellulare



Galattocerebroside



Ganglioside G_M1



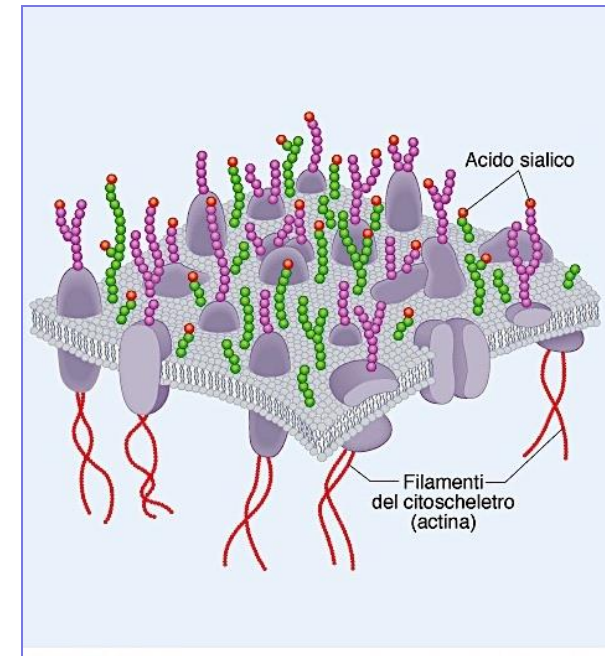
Acido sialico (NANA)

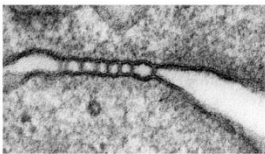
protezione della membrana da
condizioni estreme: **basso pH;**
enzimi di degradazione

alterazione **camp**o
elettrico **e** della
concentrazione ionica

processi di riconoscimento
cellulare: (**ganglioside G_M1**
agisce come recettore tossina
colerica)

isolamento elettrico nella
membrana mielinica





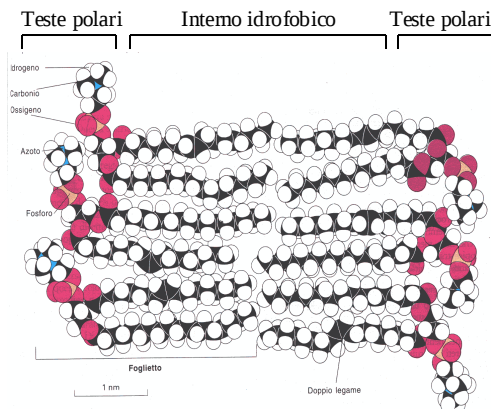
Le membrane cellulari:

Fattori che determinano la fluidità del doppio strato

Temperatura

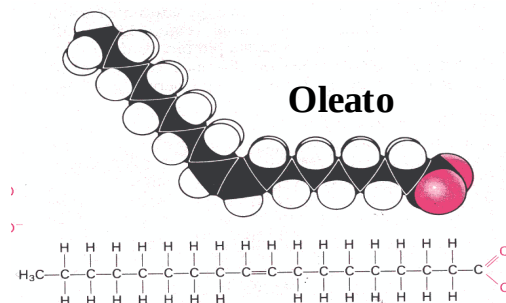
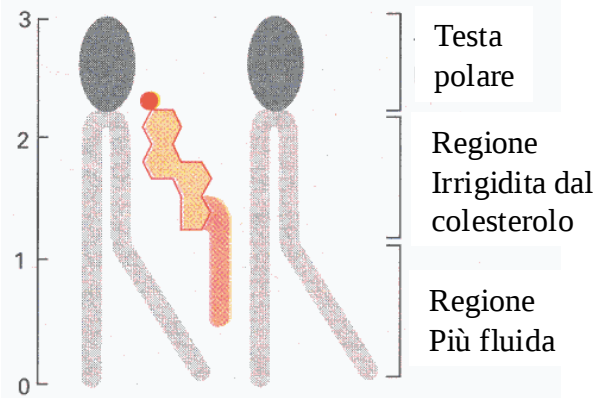
Lunghezza delle catene aciliche

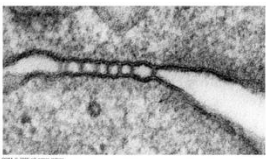
Proteine



colesterolo

Insaturazione degli acidi grassi

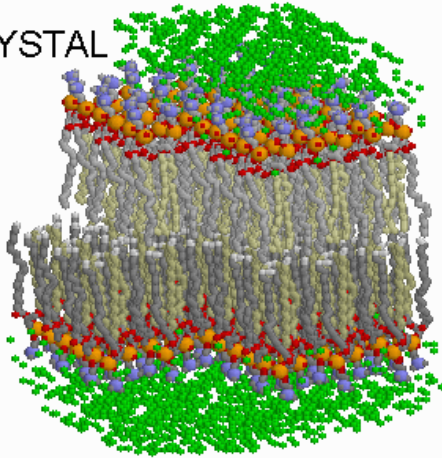




Le membrane cellulari

Fattori che determinano la fluidità del doppio strato: temperatura

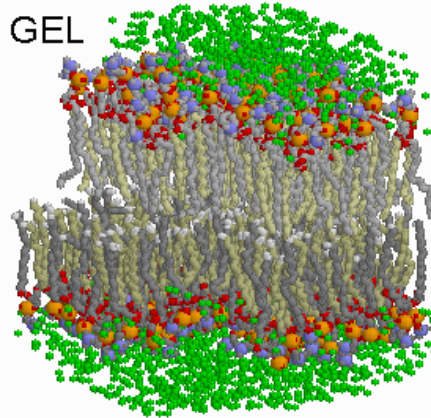
CRYSTAL



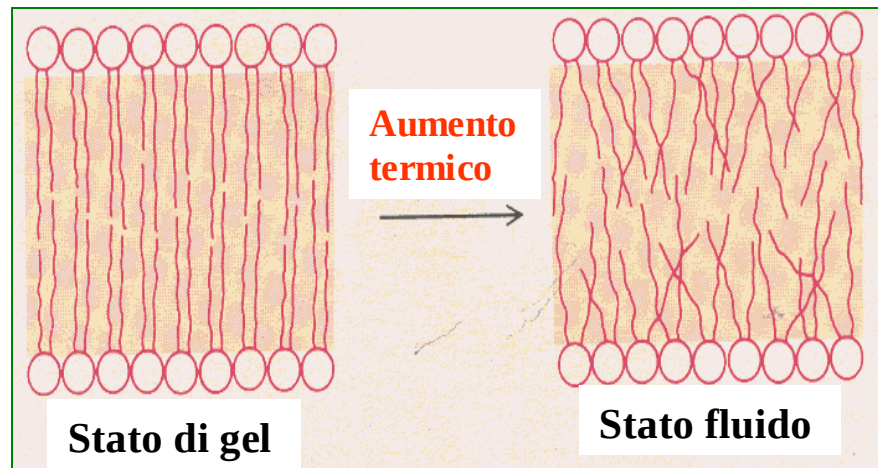
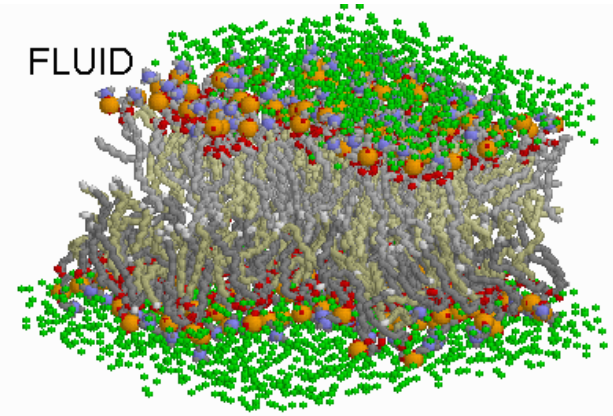
Molecular Dynamics Simulation
of Phosphatidyl Choline Bilayer

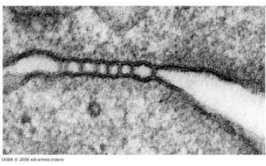
Carbon/Palmitic Water Oxygens
Nitrogen Oleic Phosphorus
Oxygen

GEL



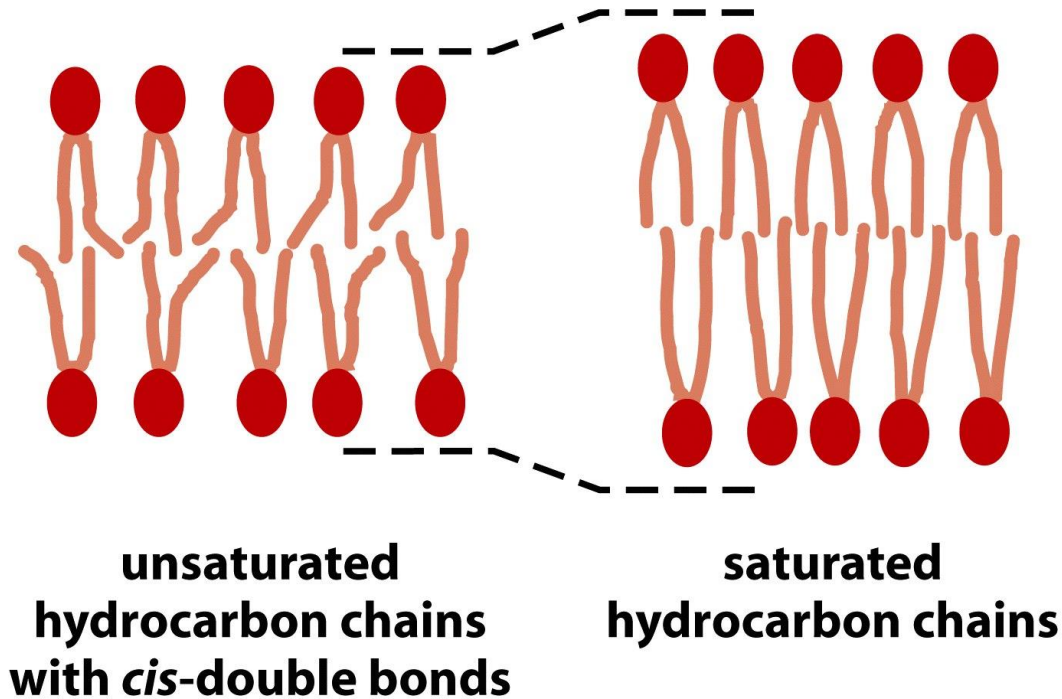
FLUID





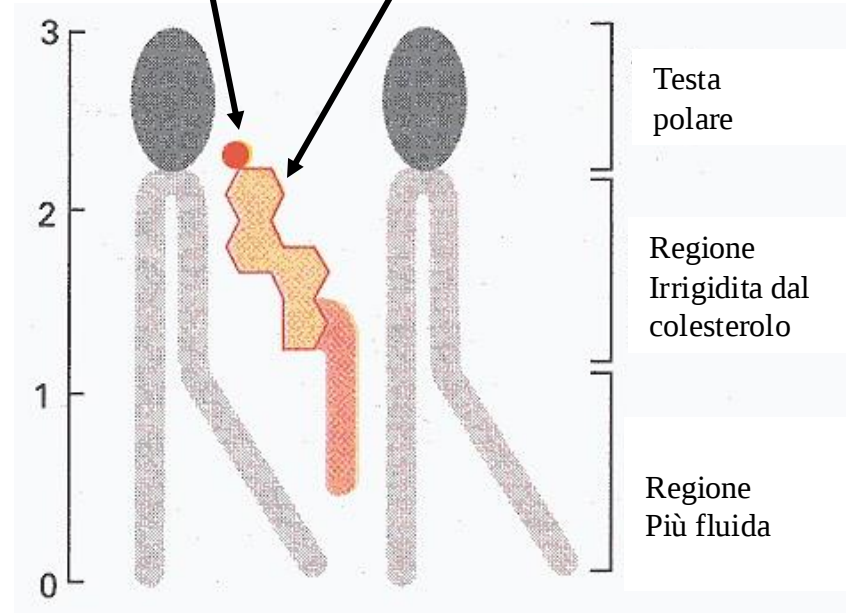
Le membrane cellulari

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

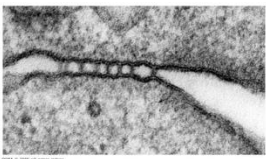


The diagram illustrates the structure of a cell membrane. It shows a phospholipid bilayer with a hydrophobic core of tails. Various proteins are embedded: a large integral protein with multiple α-helices and an oligosaccharide side chain (glycophorin) on the extracellular surface; a smaller integral protein with an α-helix; and an ion channel. Cholesterol molecules are interspersed within the lipid core. The membrane separates the extracellular surface from the intracellular surface.

anelli steroidi rigidi

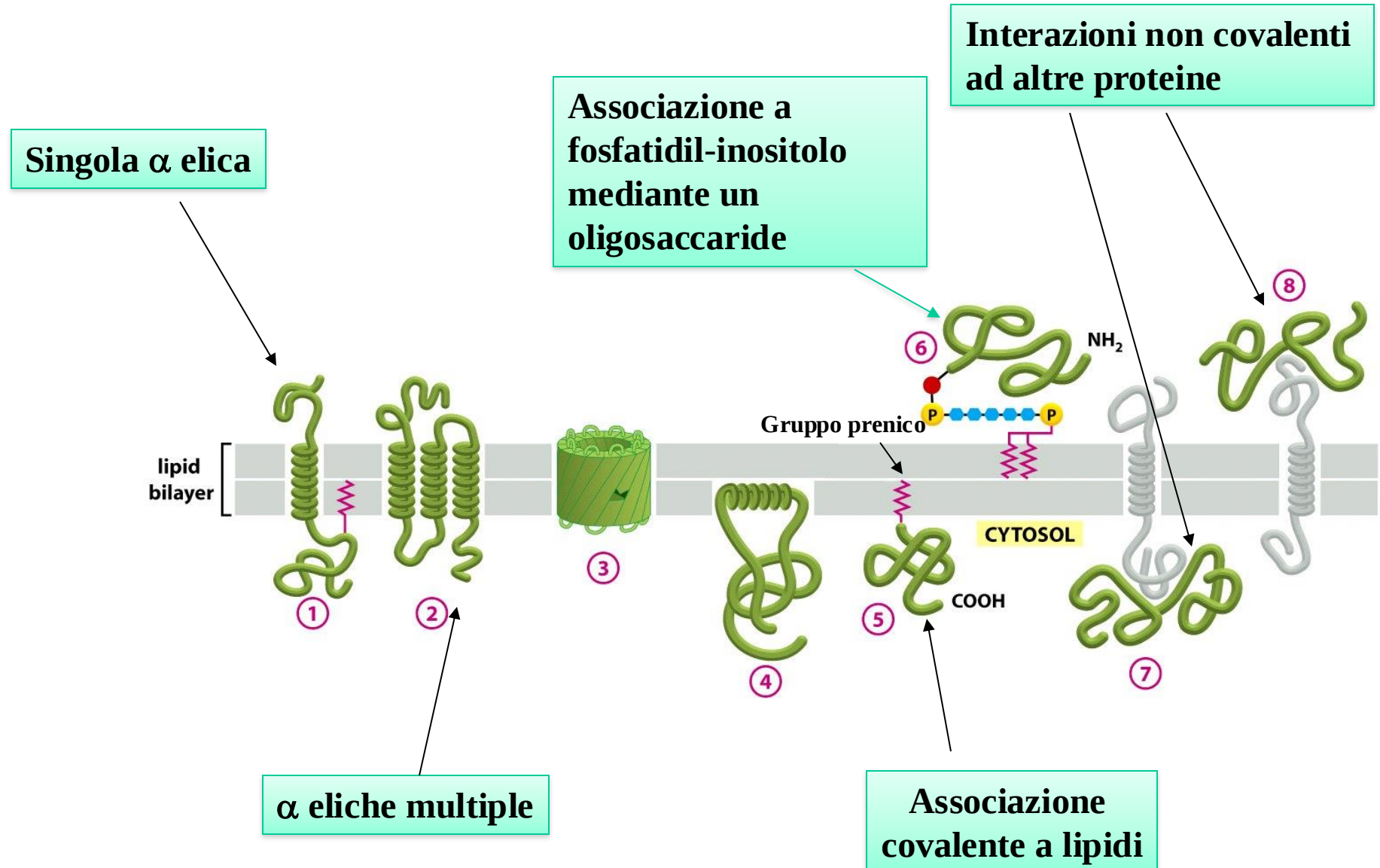


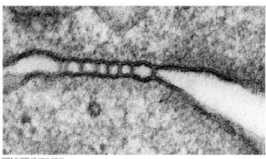
1. Diminuisce la permeabilità del doppio strato a piccole molecole solubili in acqua
2. Rende il doppio strato fosfolipidico meno fluido (ma ne aumenta la fluidità ad alte temperature)
3. Impedisce alle catene idrocarburiche di avvicinarsi e cristallizzare a basse temperature
4. Impedisce possibili transizioni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



Le membrane cellulari

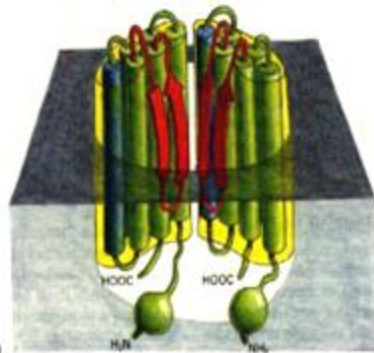
La componente proteica: Associazione delle proteine al doppio strato lipidico



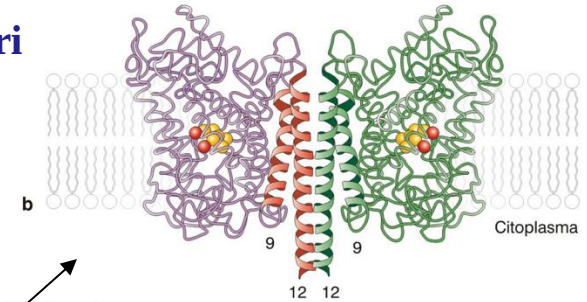


Le membrane cellulari: Esempi di proteine transmembrana, singole od organizzate in oligomeri

Canali ionici



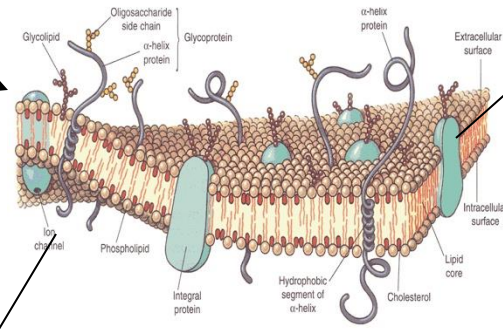
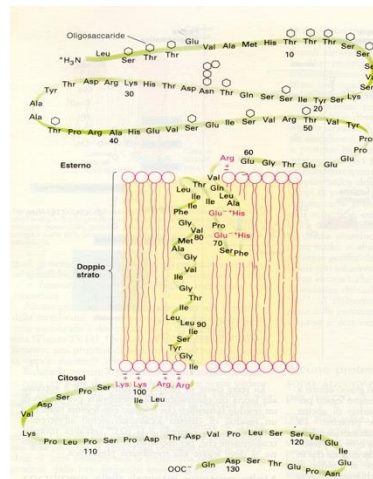
Trasportatori



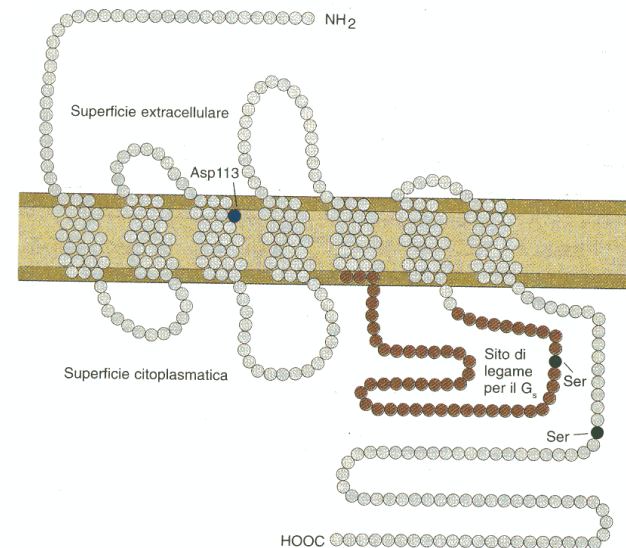
eteroligomeri

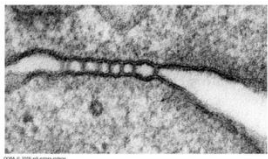
Omoligomeri e eteroligomeri

Proteine a passaggio singolo



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





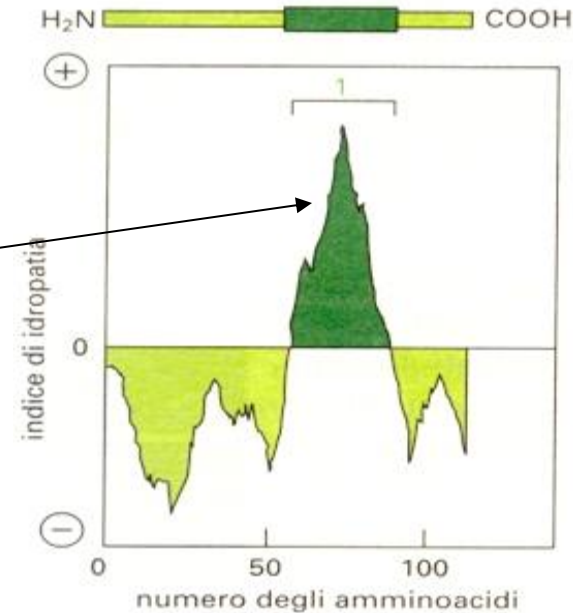
Le membrane cellulari

La componente proteica: Proteine a passaggio singolo

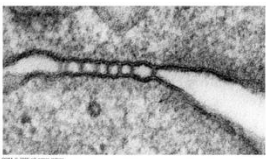
Glicoforina



Grafico di idropatia

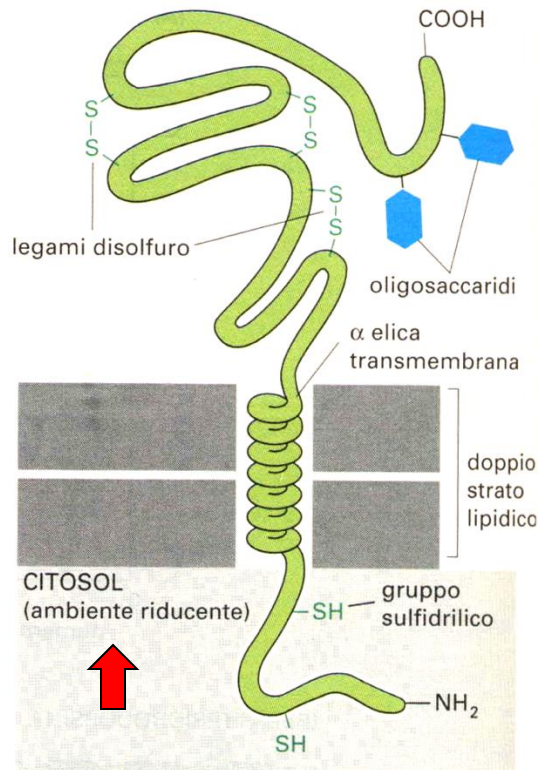
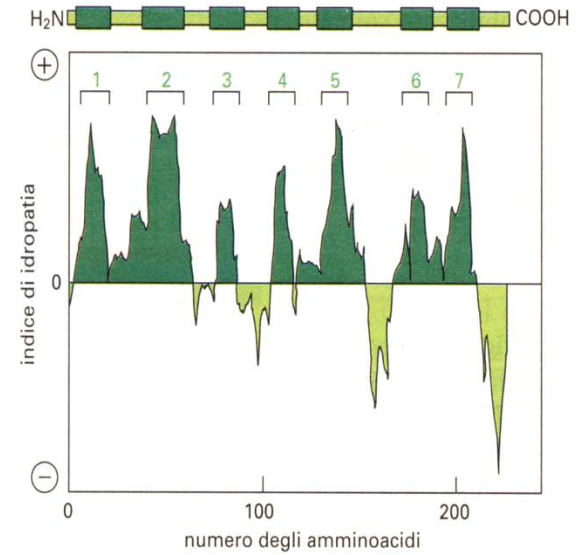


Un valore + del grafico di idropatia indica che è necessaria energia libera per il trasferimento del segmento proteico nel compartimento acquoso: il segmento è idrofobico



Le membrane cellulari: La componente proteica

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



Le proteine transmembrana sono asimmetriche