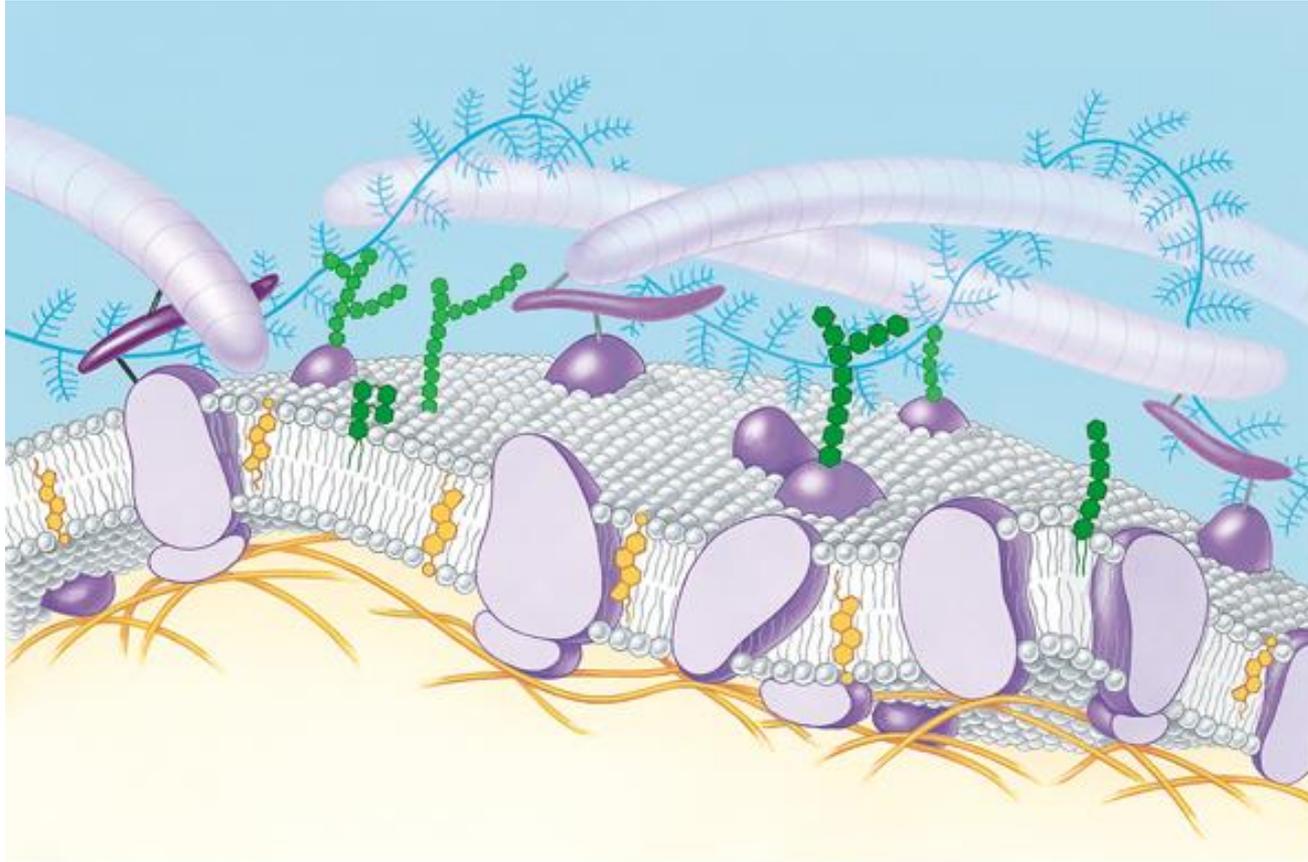


Le membrane cellulari



“Isole di proteine in un mare di lipidi”

Fonte: Sadava et al., 2014; 2019

Complessità delle membrane cellulari

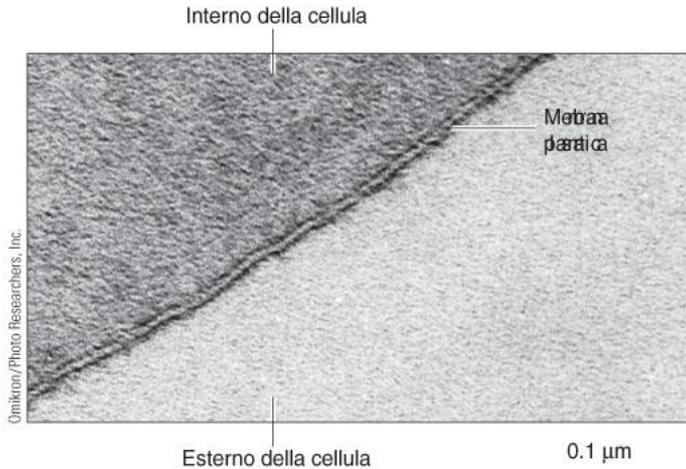
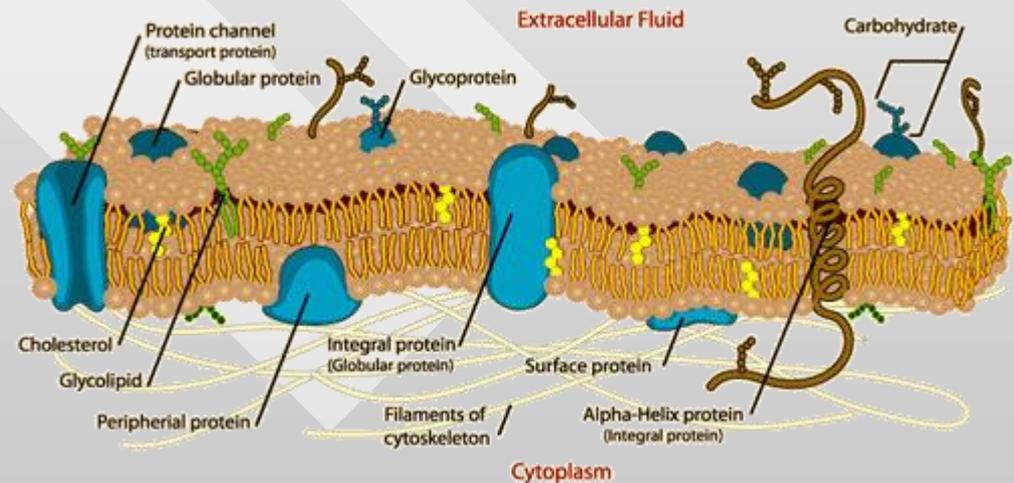
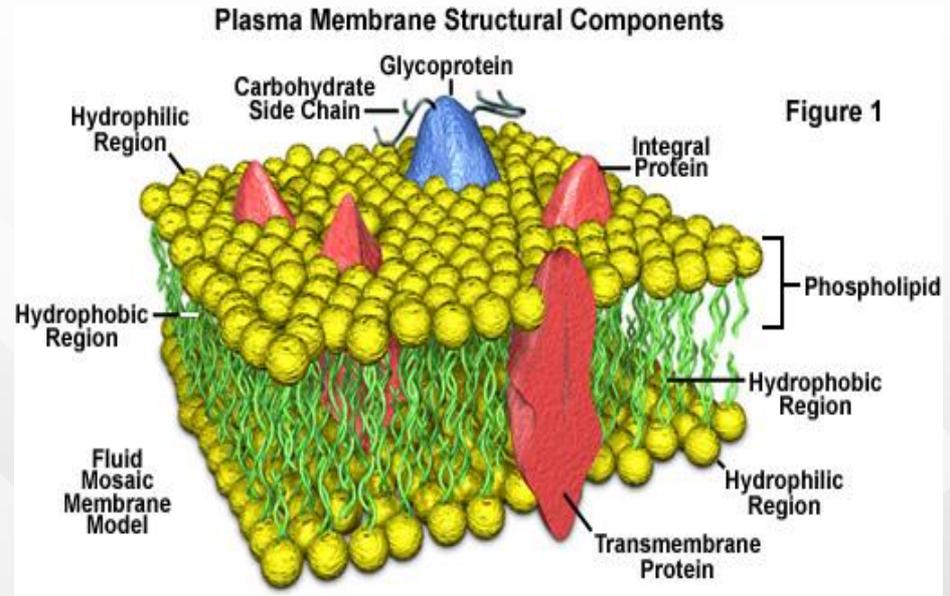


FIGURA 5-3

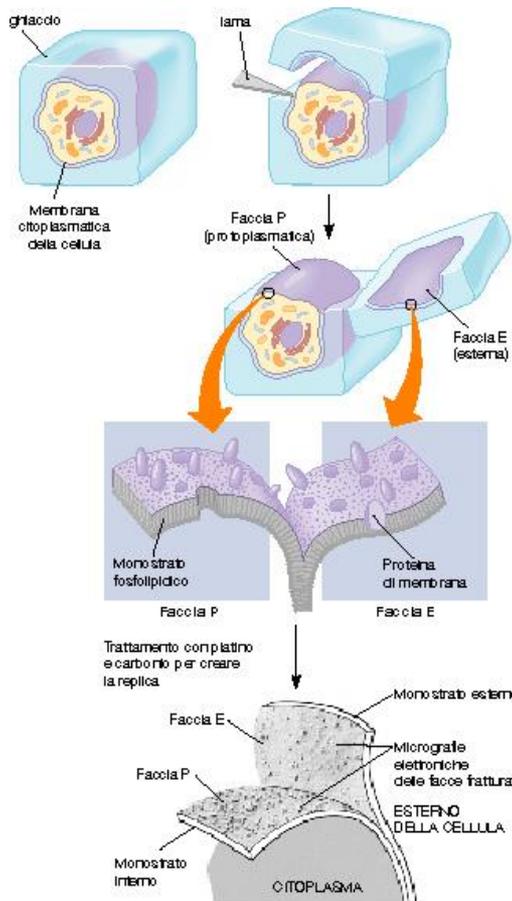
Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione della membrana plasmatica di un eritrocita di mammifero.

La membrana plasmatica separa il citoplasma (*regione più scura*) dall'ambiente esterno (*regione più chiara*). Le due linee scure parallele rappresentano le teste idrofile dei fosfolipidi, mentre la zona chiara tra esse compresa rappresenta le code idrofobe.

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al., 2012



Studio della membrana tramite “freeze-fracture” (criodecappaggio)



(a) Il ricercatore congela il campione alla temperatura dell'azoto liquido e quindi rompe la cellula con una lama raffreddata. La lama non taglia in modo netto la cellula congelata; spazza, invece, il campione in modo che il piano di frattura segua le regioni a minor resistenza.

(b) Il piano di frattura passa spesso attraverso la regione idrofoba all'interno della membrana, dividendo il doppio strato lipidico approssimativamente a metà e creando una faccia P ("protoplasmatica" - ovvero citoplasmatica) ed una faccia E (esterna). Le proteine di membrana non vengono spezzate ma rimangono immerse in uno dei due strati fosfolipidici. La topografia della superficie soggetta a frattura può essere esaltata attraverso la tecnica dell'incisione (*etching*), che consiste nella sottrazione dell'acqua congelata per evaporazione diretta (sublimazione).

(c) Sulla superficie della cellula viene quindi spruzzato, con una certa angolazione, un leggero velo di platino nebulizzato. Vi sarà "un'ombreggiatura" dove le regioni in rilievo della cellula fratturata impediscono la diffusione del platino. L'aggiunta di una pellicola di carbonio fissa il rivestimento al platino. Il campione originale è completamente eliminato con acidi ed enzimi, lasciando una pellicola di platino e carbonio come una replica della superficie di frattura. È questa replica, e non la membrana stessa, che viene osservata al microscopio elettronico. Micrograte elettroniche sono state sovrapposte su questo disegno della membrana delaminata. Si notino le particelle proteiche (le "gibbosità").

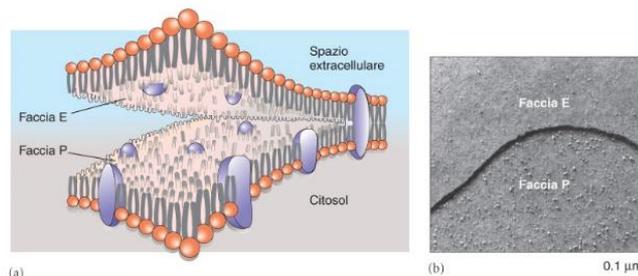
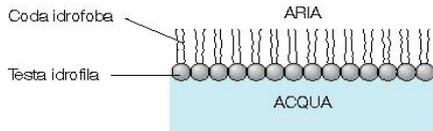


FIGURA 5-7 Asimmetria della membrana plasmatica.

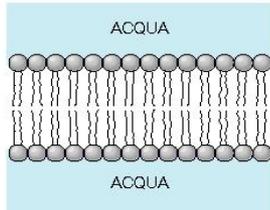
(a) Mediante la tecnica della “freeze-fracture”, l'interno idrofobo del doppio strato lipidico viene tagliato con formazione di due facce complementari: (1) una emi-membrana interna relativa alla faccia P (o faccia protoplasmatica) dalla quale fuoriesce la maggior parte delle proteine; (2) una emi-membrana esterna corrispondente alla faccia E (o faccia esterna), relativamente più liscia, in cui

si vedono meno particelle proteiche. Le particelle sono le proteine transmembrana inserite nel doppio strato lipidico. I doppi strati lipidici senza proteine, o i lipidi da soli, analizzati con questo metodo non presentano particelle sulle superfici fratturate. (b) Fotografia al microscopio elettronico a trasmissione dopo “freeze-fracture”; è da notare il gran numero di proteine sulla faccia P della membrana.

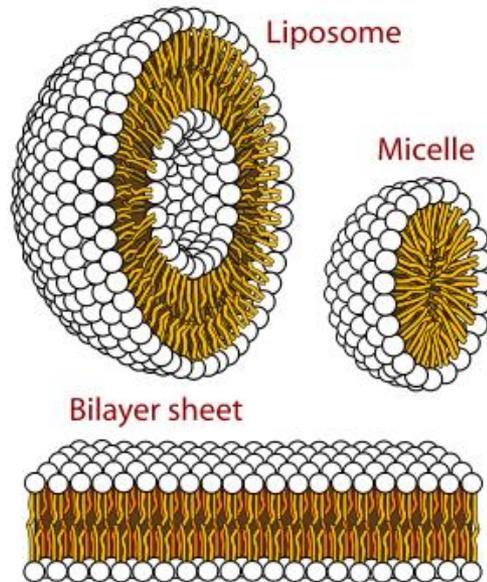
Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al., 2012



(a) Le teste idrofile dei fosfolipidi sono immerse nell'acqua mentre le code idrofobe sono escluse dal contatto con l'acqua.



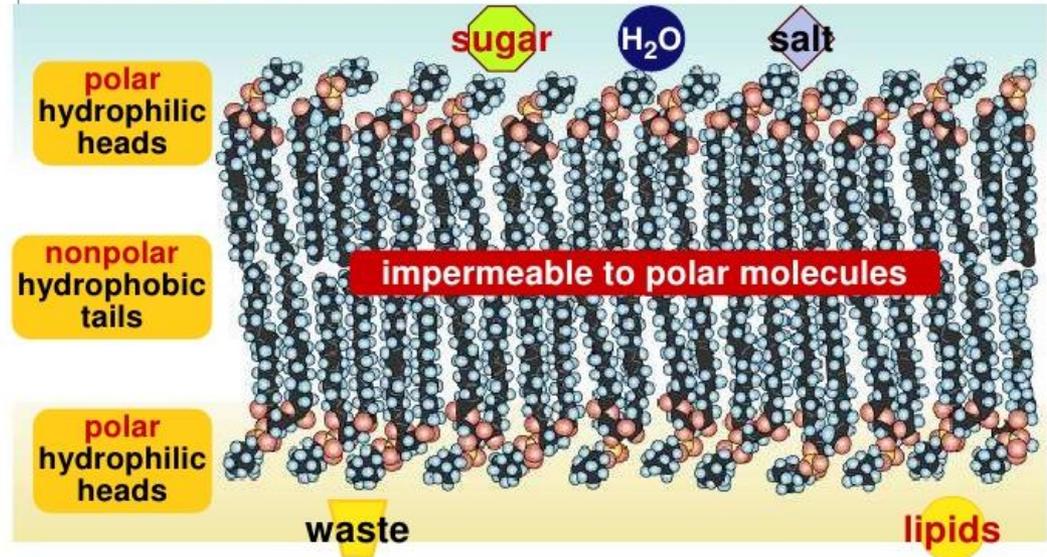
(b) Un doppio strato di fosfolipidi forma un confine stabile tra due compartimenti acquosi, in quanto espone le porzioni idrofile delle molecole verso l'acqua e scherma le porzioni idrofobe dal contatto con l'acqua.



Un componente fondamentale delle membrane: la “**barriera idrofoba**”, costituita dal doppio strato (‘**bilayer**’) di fosfolipidi

Arranged as a Phospholipid bilayer

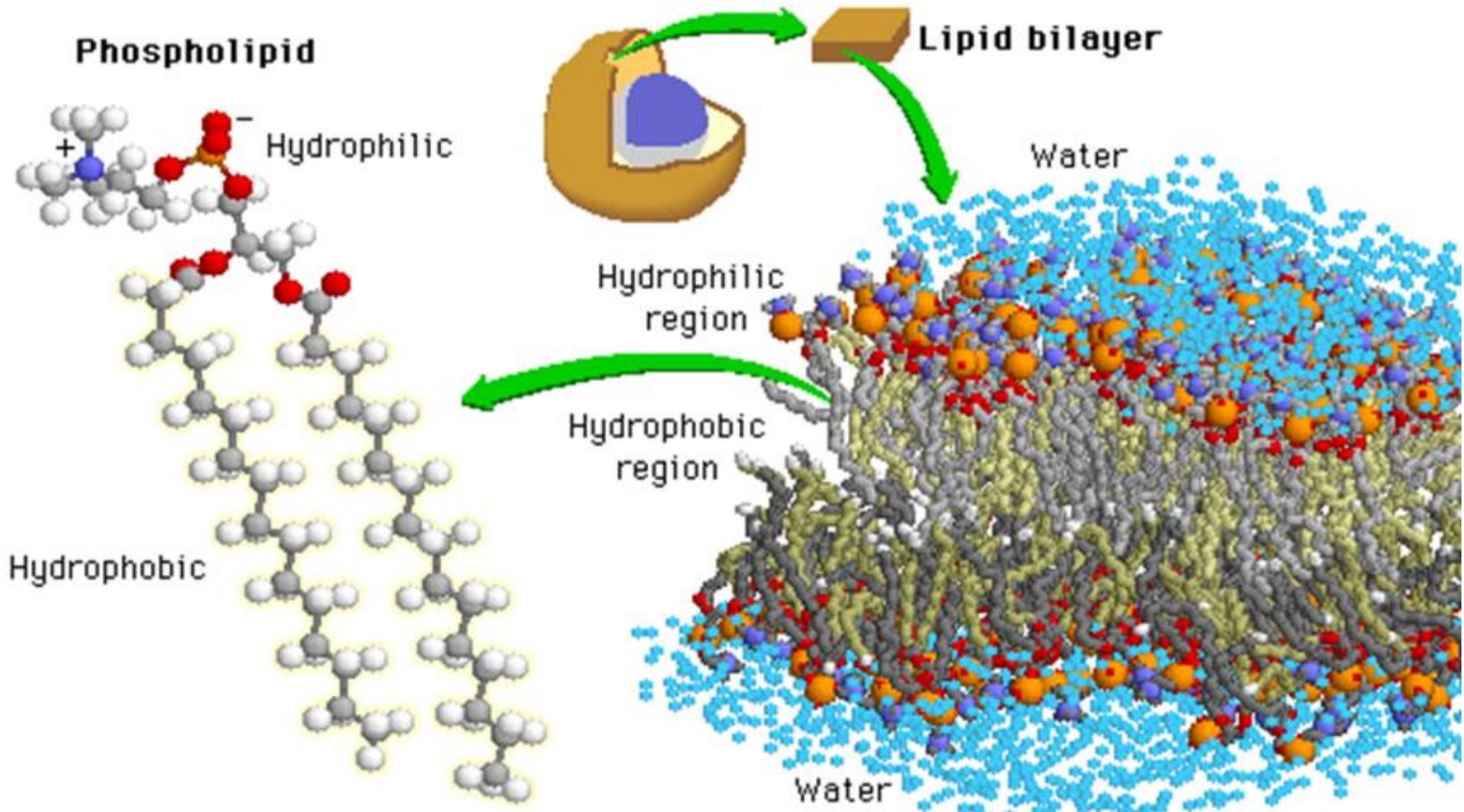
▪ Serves as a cellular barrier / border



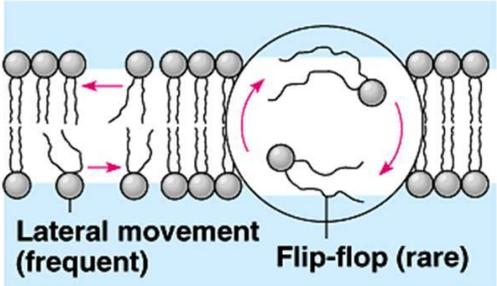
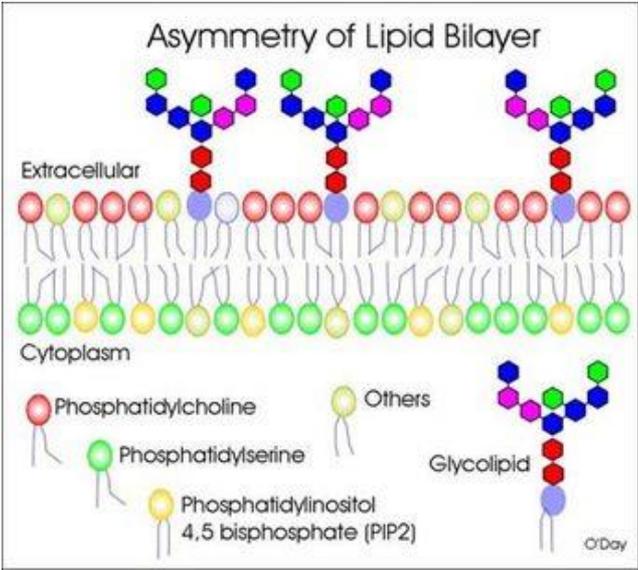
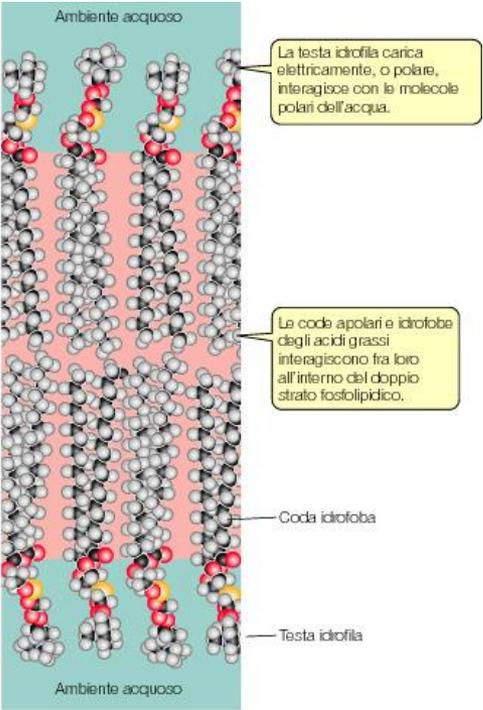
AP Biology

La “barriera idrofoba” è impermeabile alle molecole polari

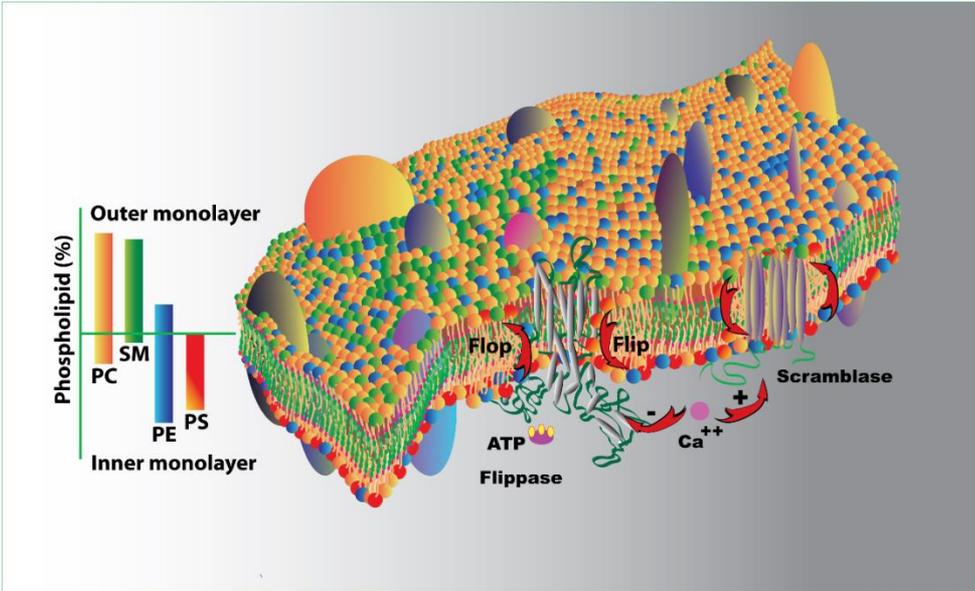
Aspetto **maggiormente realistico** (ricostruito al computer)
del doppio strato lipidico



Asimmetria e movimenti dei fosfolipidi di membrana



(a) Movement of phospholipids



Fonti: Sadava et al., 2014; 2019; Solomon et al., 2012

Struttura a “mosaico fluido” della membrana (modello di J.C. Singer e G. Nicholson, 1972)

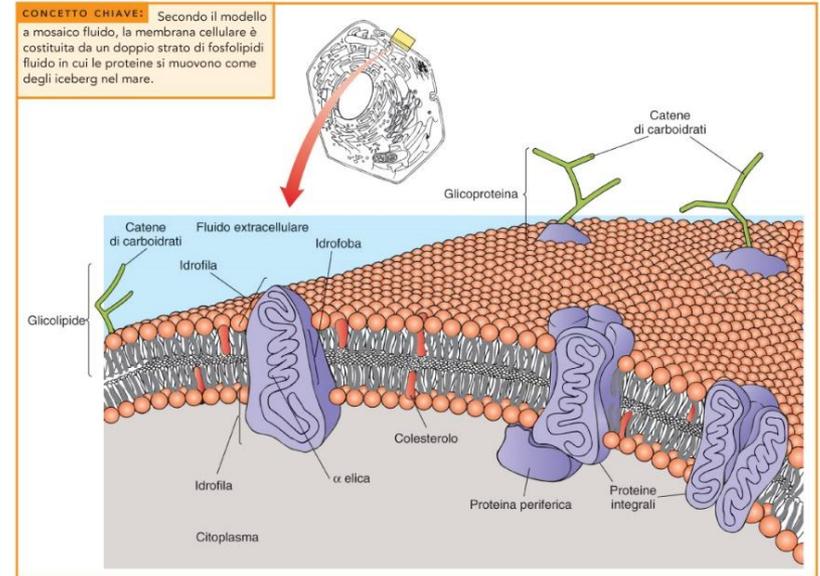
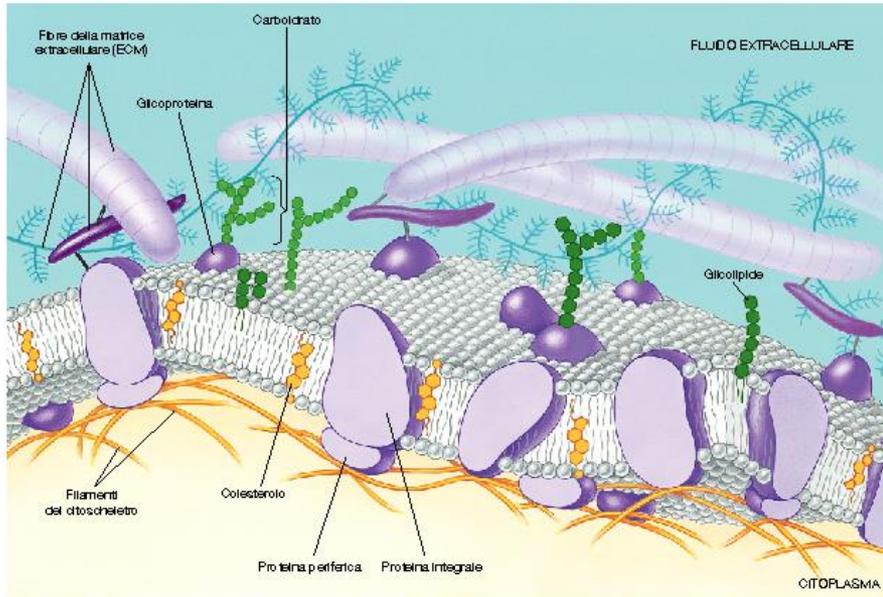


FIGURA 5-6 Struttura dettagliata della membrana plasmatica.

Anche se il doppio strato lipidico è costituito principalmente da fosfolipidi, vi si trovano altri lipidi come il colesterolo e i glicolipidi. Le proteine periferiche sono debolmente associate al doppio strato, mentre le proteine integrali sono strettamente legate ad esso. Le proteine integrali qui illustrate sono del tipo transmembrana e si estendono attraverso il doppio strato. Esse sono caratterizzate da

due regioni idrofile su entrambe le facce del doppio strato, connesse da una α -elica che attraversa la membrana. I glicolipidi (carboidrati attaccati ai lipidi) e le glicoproteine (carboidrati attaccati alle proteine) sono esposti sulla superficie extracellulare; entrambi hanno un ruolo importante nel riconoscimento e nella adesione cellulare.

Il modello di Singer e Nicholson è detto a ‘mosaico fluido’ per il **continuo scorrimento delle proteine di membrana** (come ‘isole galleggianti’) nel doppio strato lipidico

Se i doppi strati lipidici di due cellule appartenenti a specie diverse si fondono tra loro, le proteine di membrana delle singole cellule **si mescolano nella nuova cellula "ibrida"**

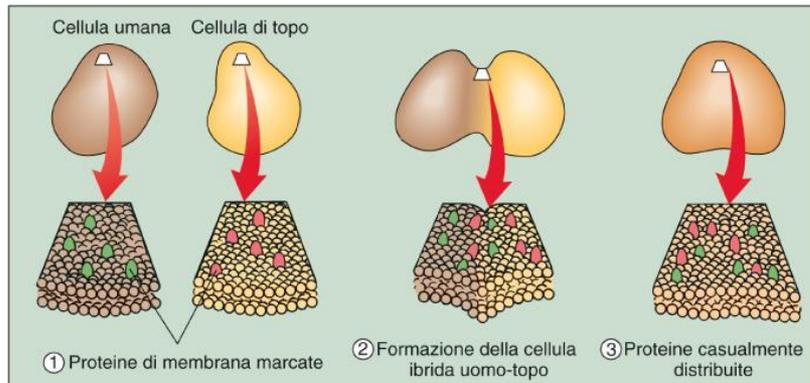
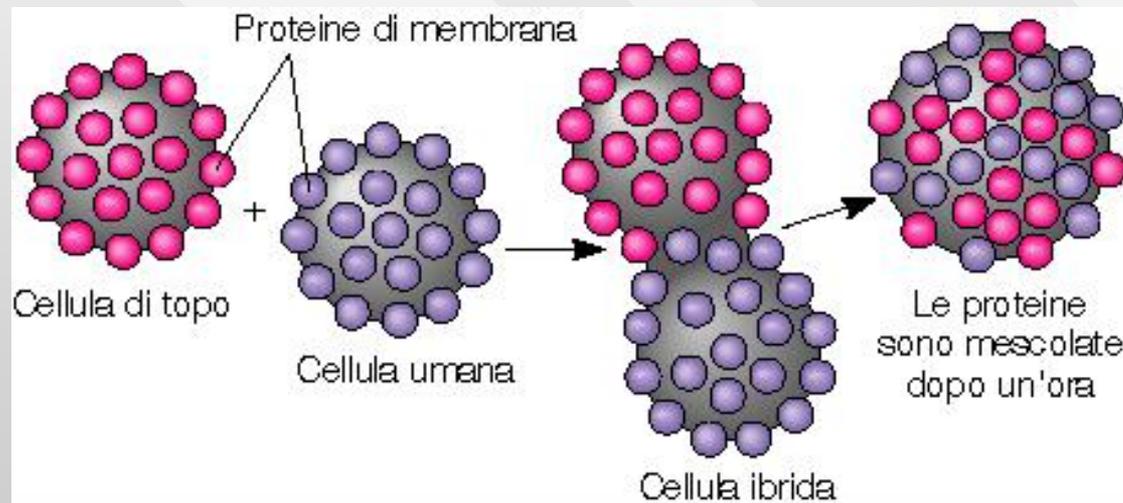


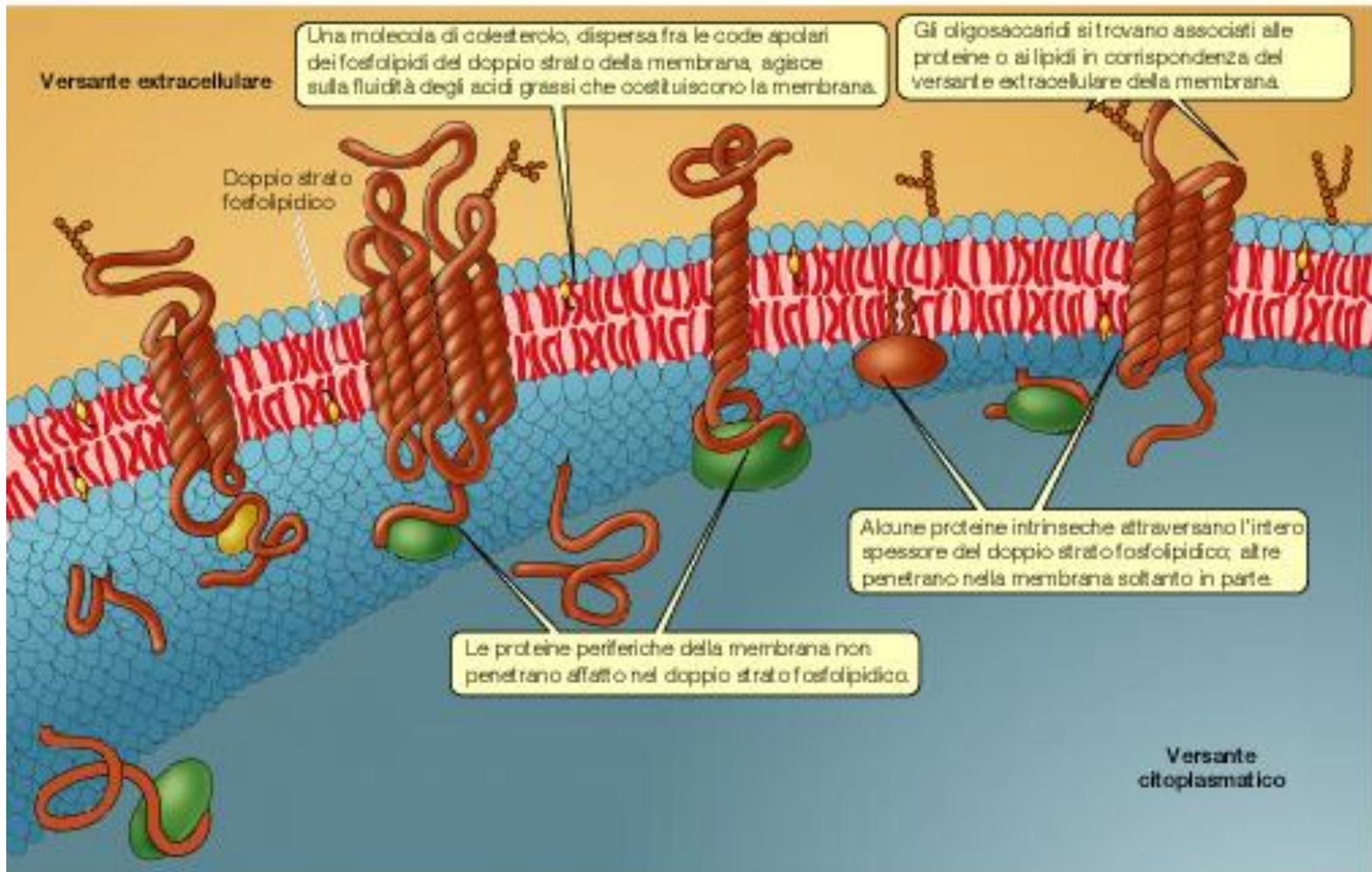
FIGURA 5-5

Esperimento di Frye e Edidin.

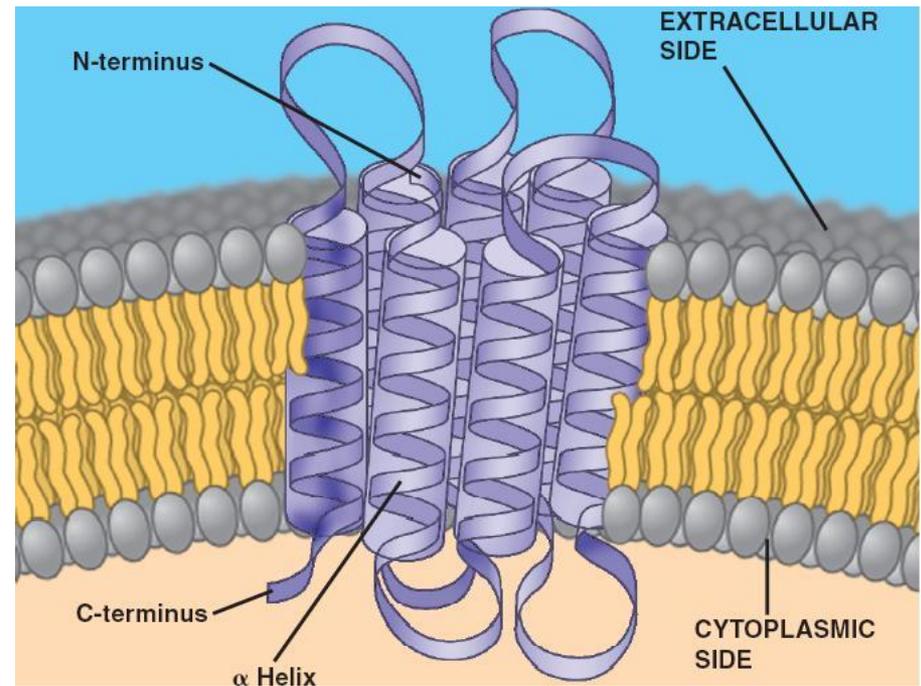
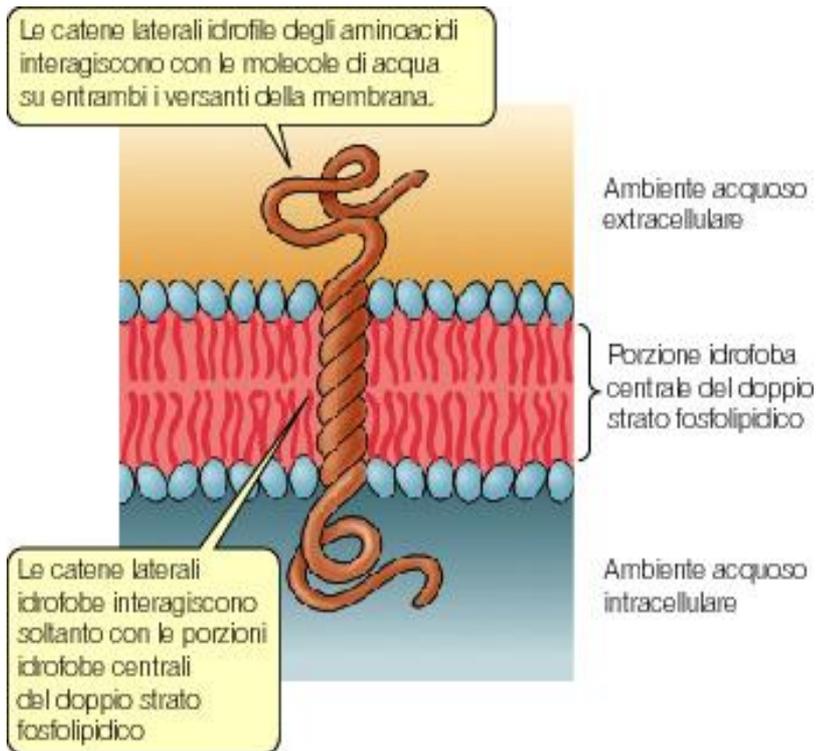
① Le proteine di membrana di una cellula di topo e di una cellula umana vengono marcate con coloranti fluorescenti di diverso colore. ② Dopo che le membrane plasmatiche della cellula umana e di topo si sono fuse, si è visto che le proteine di topo migrano verso la cellula umana e viceversa. ③ Dopo un breve periodo di tempo le proteine umane e di topo sono distribuite a caso sulla superficie cellulare.



Struttura e funzioni delle proteine di membrana



Proteine transmembrana

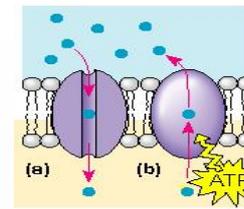


- Sono **proteine politopiche** che si estendono da un lato all'altro della membrana cellulare
- Sono caratterizzate da **una o più regioni idrofobiche ad α -elica**
- Sono a catena singola o multipla, ed hanno il ruolo di **canali, trasportatori o enzimi**

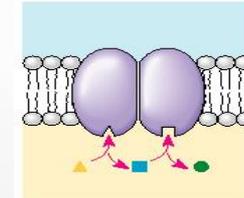
Funzioni delle proteine di membrana

- Trasporto
- Attività enzimatica
- Trasduzione (trasmissione) del segnale
- Adesione tra cellule (“giunzioni”)
- Riconoscimento tra cellule
- Adesione al citoscheletro e alla matrice extracellulare

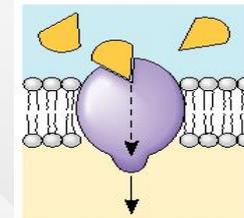
Fonte: Sadava et al., 2014



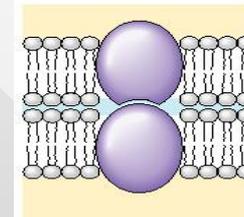
Trasporto. (a) Una proteina che attraversa a tutto spessore la membrana può formare un canale idrofilo selettivo per un determinato soluto. (b) Alcune proteine di trasporto idrolizzano ATP come fonte di energia per pompare attivamente una sostanza attraverso la membrana.



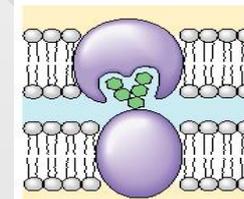
Attività enzimatica. Una proteina di membrana può avere una funzione enzimatica, con il sito attivo esposto alle sostanze presenti nell'ambiente circostante. In alcuni casi, diversi enzimi di membrana sono associati per formare un complesso, catalizzando tappe in sequenza di una via metabolica.



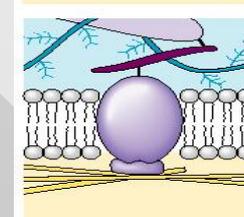
Trasduzione del segnale. Una proteina di membrana può avere un sito di legame di forma complementare rispetto ad un messaggero chimico, come ad esempio un ormone. Il messaggero esterno (il segnale) induce un cambiamento conformazionale della proteina che trasmette il messaggio all'interno della cellula.



Adesione intercellulare. Le proteine di membrana di cellule adiacenti possono unirsi per formare diversi tipi di giunzione (vedi la Figura 7.30).

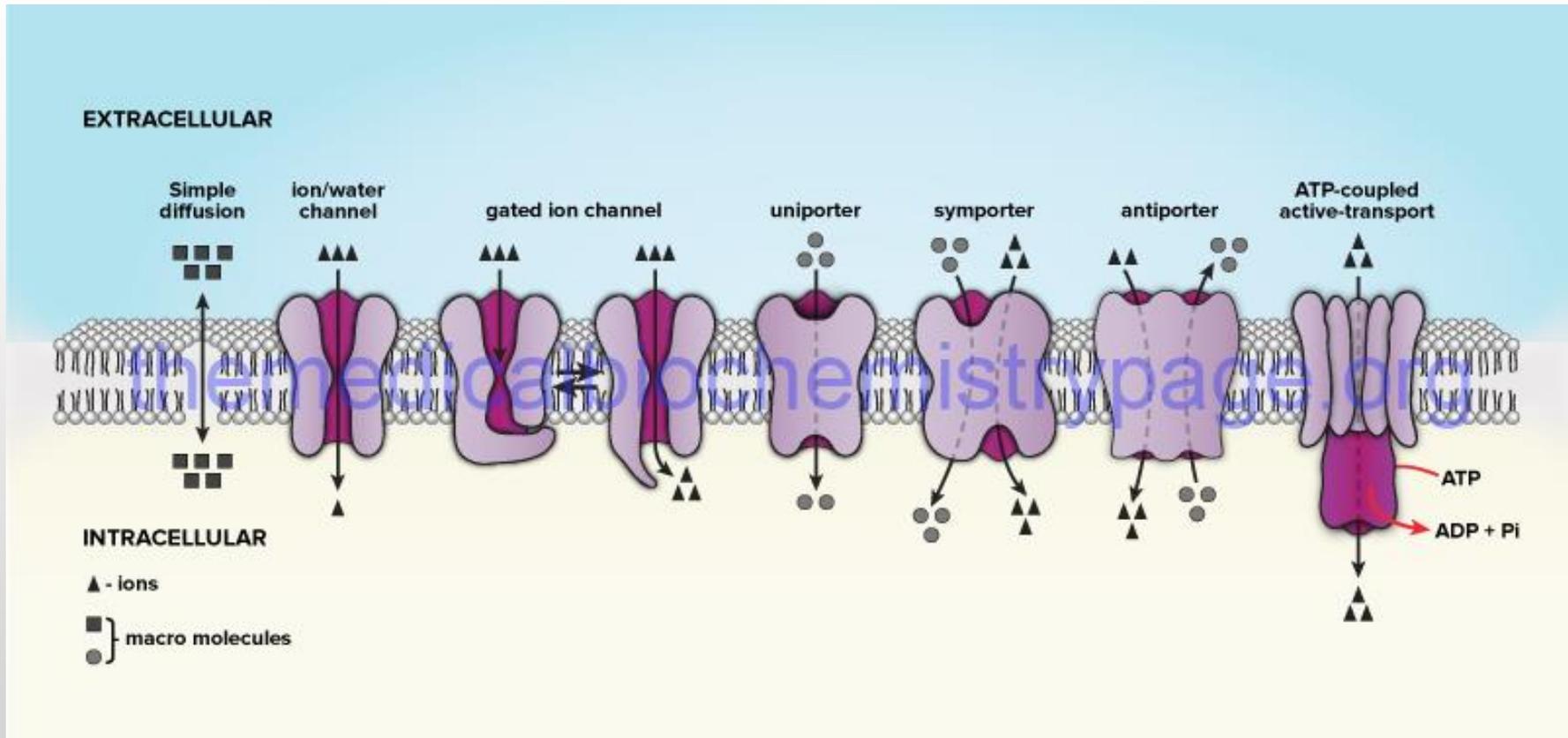


Riconoscimento tra cellule. Alcune glicoproteine (proteine con brevi catene glicidiche) agiscono da segnali di identificazione riconosciuti da altre cellule.



Adesione al citoscheletro e alla matrice extracellulare (MEC). I microfilamenti o altri elementi del citoscheletro possono essere legati alle proteine di membrana, fissandone la posizione e contribuendo al mantenimento della forma della cellula. Le proteine che aderiscono alla MEC possono coordinare cambiamenti extra- ed intracellulari.

Le proteine di membrana possono trasportare molecole e ioni attraverso la membrana



Il trasporto può avvenire in modo **passivo** (senza consumo di energia) oppure in modo **attivo** (che richiede e consuma energia)

Filmato

Produzione e “spedizione” delle proteine di membrana

Le proteine di membrana sono prodotte nel reticolo endoplasmatico tramite la sintesi proteica, ed in seguito sono modificate ed “**etichettate per la spedizione**” nell'apparato di Golgi

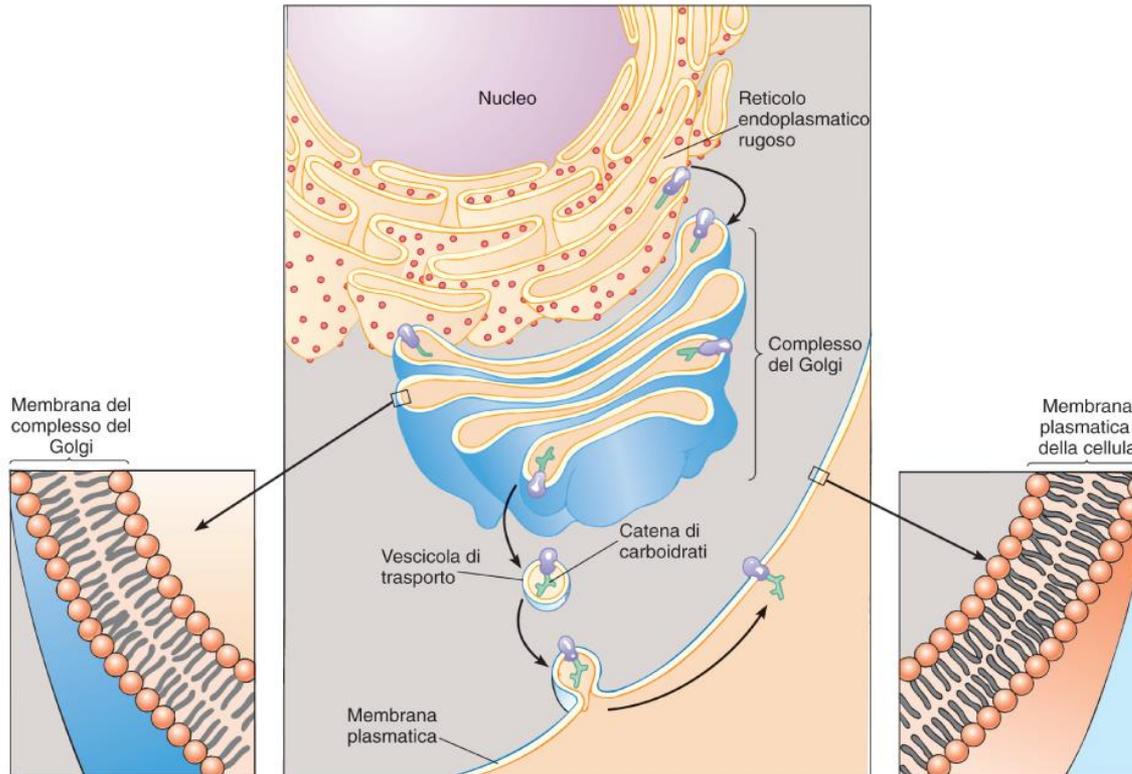
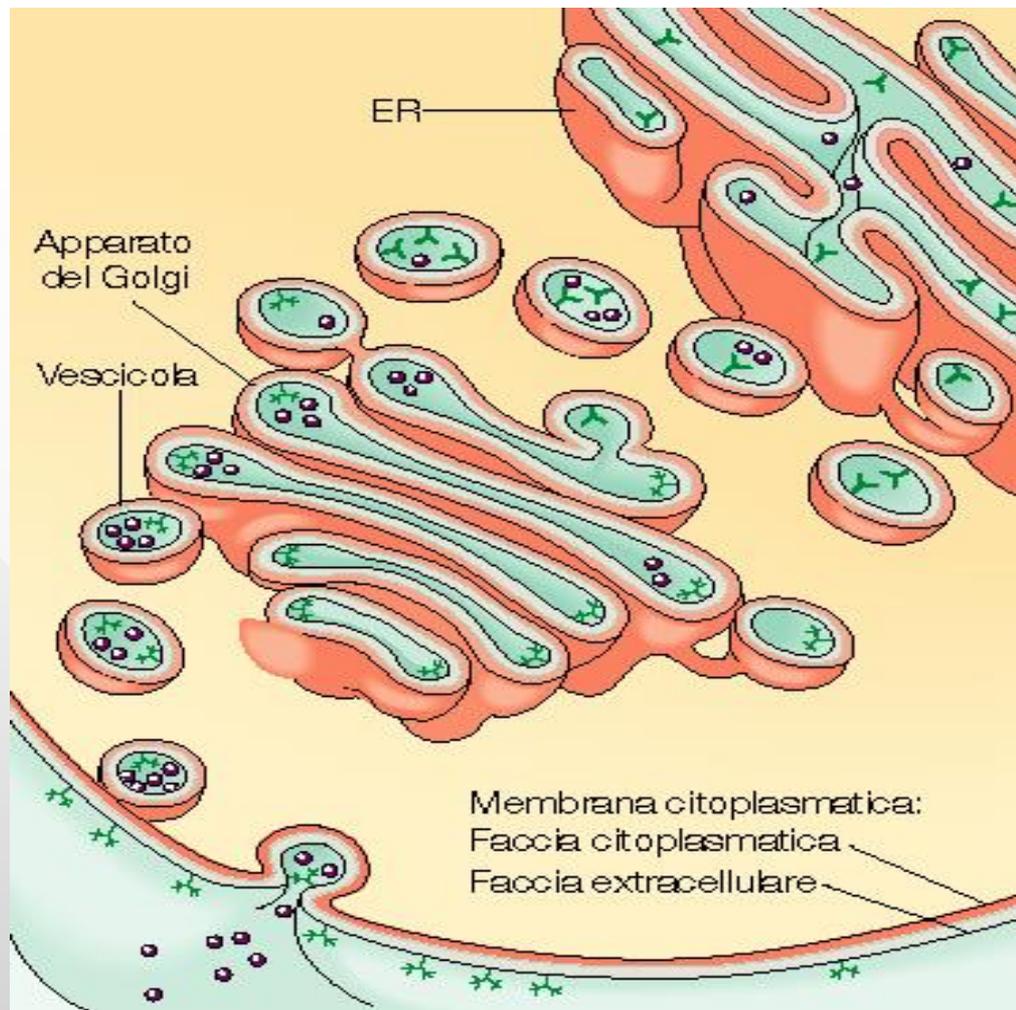


FIGURA 5-8 | Formazione di una proteina della membrana plasmatica.

L'orientamento di una proteina nella membrana plasmatica è una conseguenza della modalità di sintesi e di trasporto nella cellula. La superficie della membrana del RER che guarda il lume, guarda anche il lume del complesso del Golgi e delle vescicole. Quando una vescicola si fonde con la membrana plasmatica, la sua superficie interna

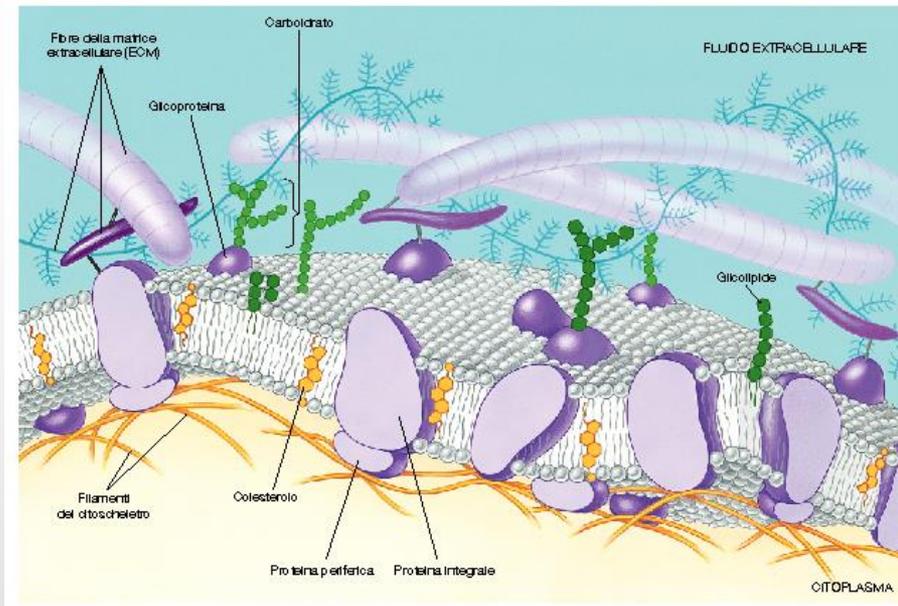
diventa la superficie extracellulare della membrana plasmatica. I carboidrati, aggiunti alle proteine nel RE e poi modificati nel complesso del Golgi, sono associati alla superficie extracellulare della membrana plasmatica.



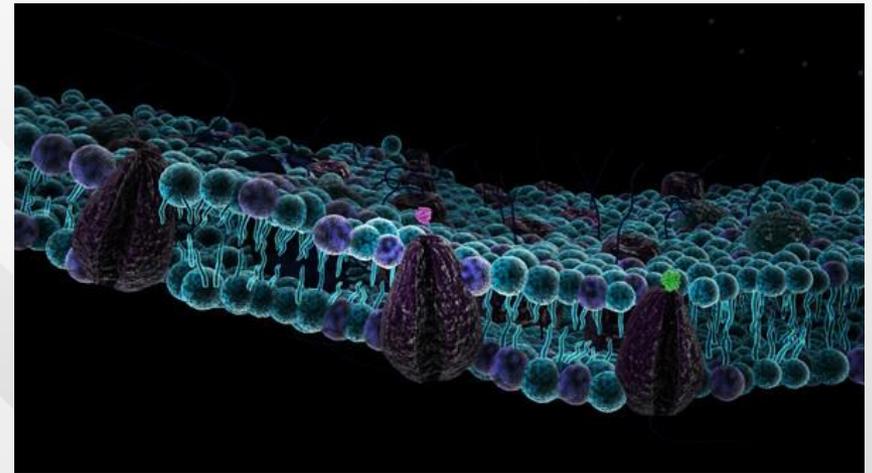
L'apparato di Golgi regola quindi non solo il traffico vescicolare, ma anche **la modificazione e la distribuzione delle proteine** tra le diverse membrane della cellula eucariotica



Trasporto attraverso le membrane



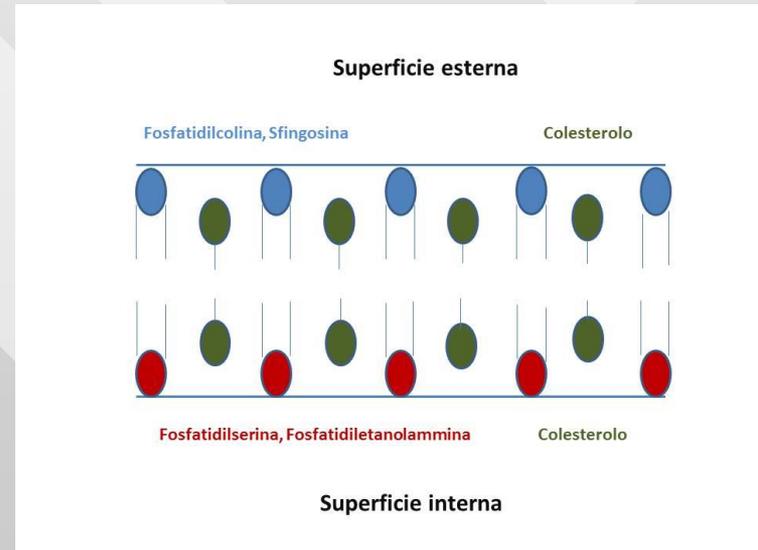
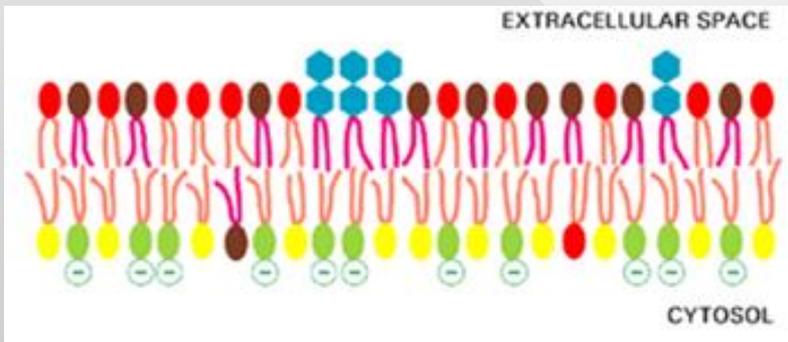
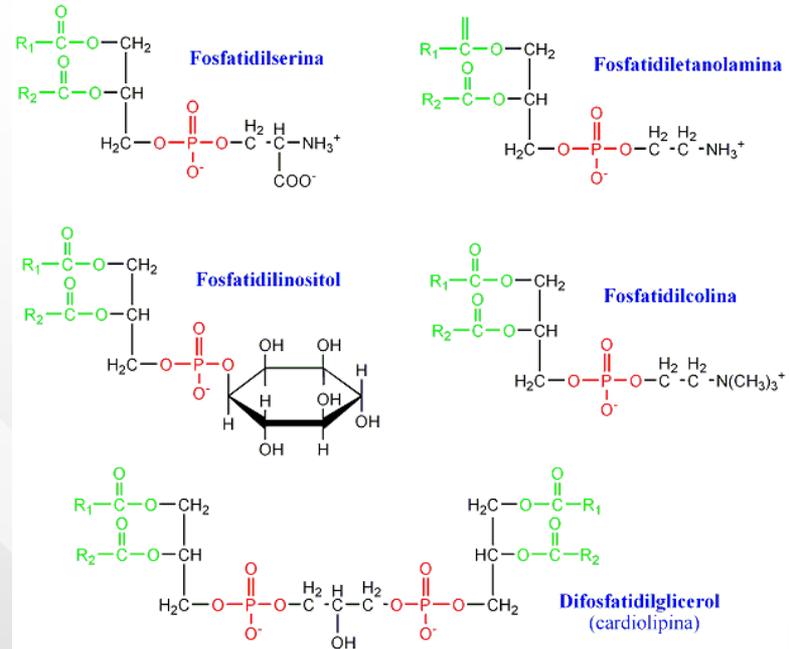
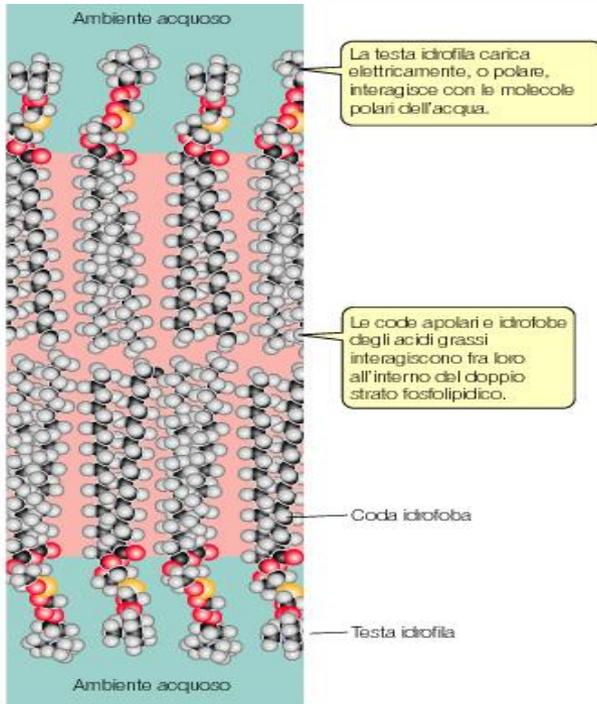
Le membrane custodiscono l'omeostasi cellulare (“costanza del mezzo interno”) nei Procarioti e negli Eucarioti



Nelle membrane i ruoli dei fosfolipidi e delle proteine sono diversi, ma entrambe le categorie di molecole sono **essenziali per il complessivo funzionamento**

Fonte: Sadava et al., 2014, 2019

Asimmetria dei fosfolipidi di membrana



Fonti: Sadava et al., 2014; Alberts et al., 2002

Tipi e strutture delle proteine della membrana cellulare

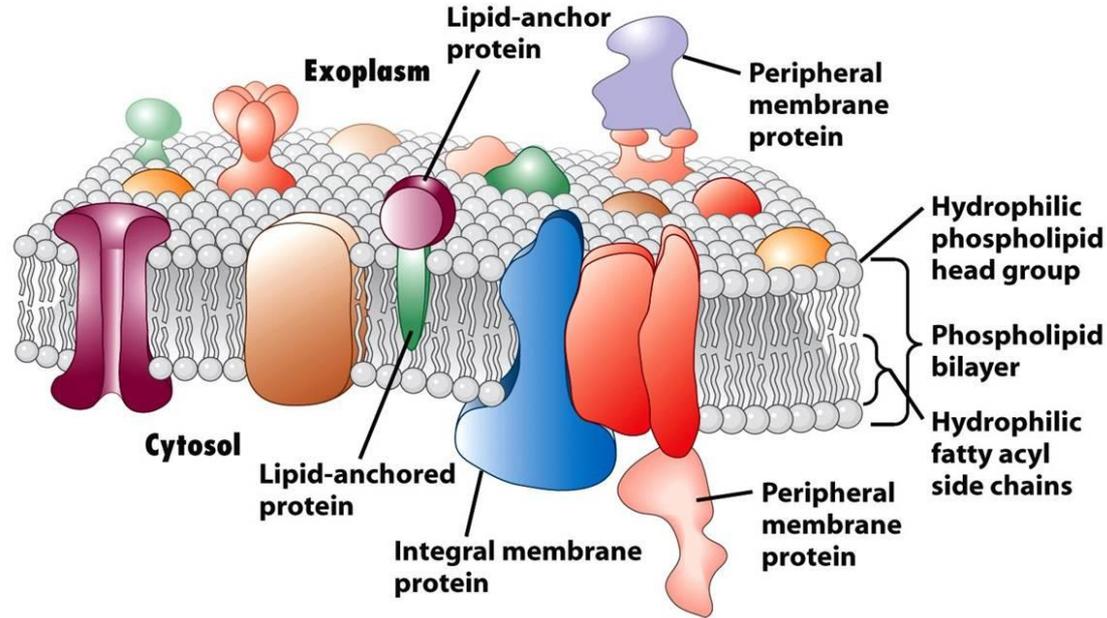
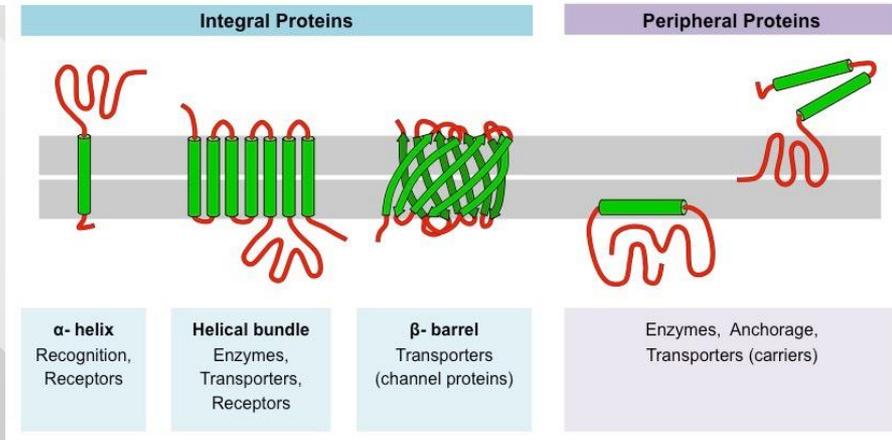
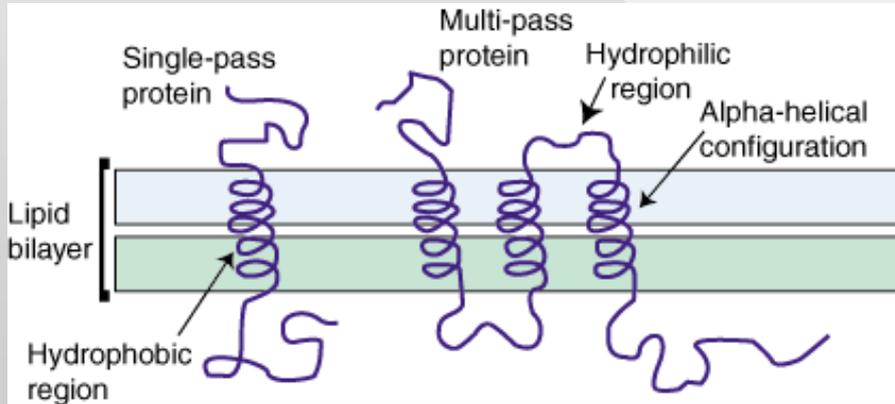
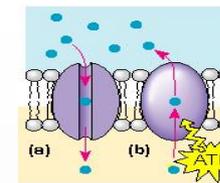


Figure 10-1
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

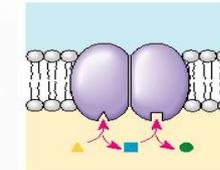


Funzioni delle proteine di membrana

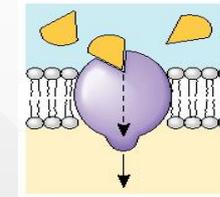
- Trasporto
- Attività enzimatica
- Trasduzione (trasmissione) del segnale
- Adesione tra cellule (“giunzioni”)
- Riconoscimento tra cellule
- Adesione al citoscheletro e alla matrice extracellulare



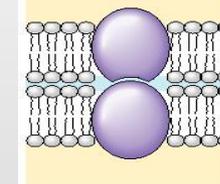
Trasporto. (a) Una proteina che attraversa a tutto spessore la membrana può formare un canale idrofilo selettivo per un determinato soluto. **(b)** Alcune proteine di trasporto idrofilizzano ATP come fonte di energia per pompare attivamente una sostanza attraverso la membrana.



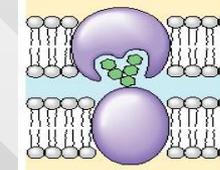
Attività enzimatica. Una proteina di membrana può avere una funzione enzimatica, con il sito attivo esposto alle sostanze presenti nell'ambiente circostante. In alcuni casi, diversi enzimi di membrana sono associati per formare un complesso, catalizzando tappe in sequenza di una via metabolica.



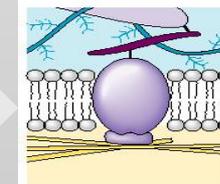
Trasduzione del segnale. Una proteina di membrana può avere un sito di legame ad un messaggero chimico, come ad esempio un ormone. Il messaggero esterno (il segnale) induce un cambiamento conformazionale della proteina che trasmette il messaggio all'interno della cellula.



Adesione intercellulare. Le proteine di membrana di cellule adiacenti possono unirsi per formare diversi tipi di giunzione (vedi la Figura 7.30).



Riconoscimento tra cellule. Alcune glicoproteine (proteine con brevi catene glicidiche) agiscono da segnali di identificazione riconosciuti da altre cellule.



Adesione al citoscheletro e alla matrice extracellulare (MEC). I microfilamenti o altri elementi del citoscheletro possono essere legati alle proteine di membrana, fissandone la posizione e contribuendo al mantenimento della forma della cellula. Le proteine che aderiscono alla MEC possono coordinare cambiamenti extra- ed intracellulari.

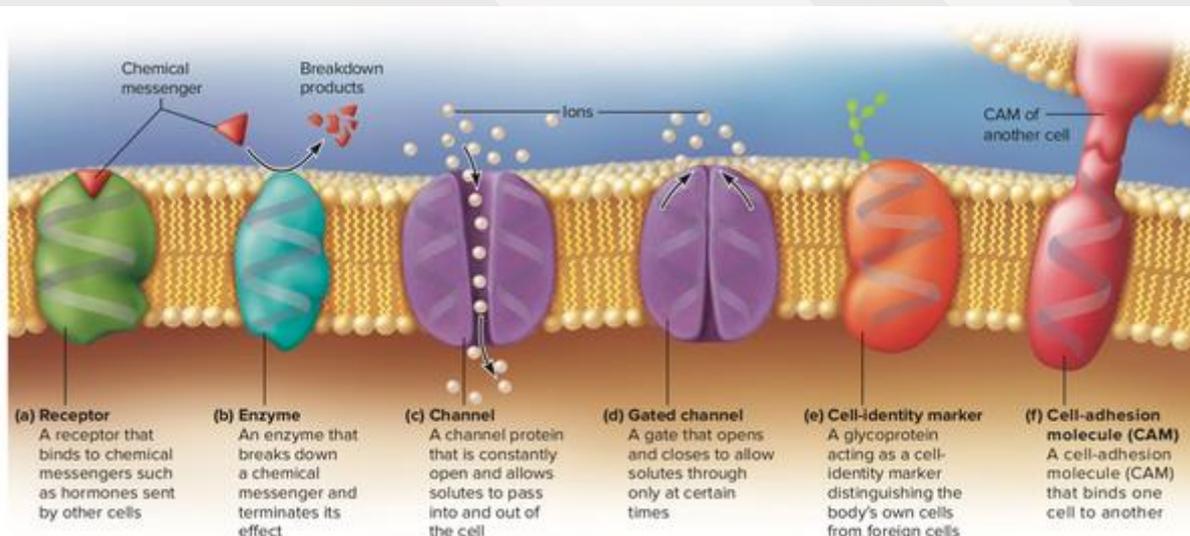
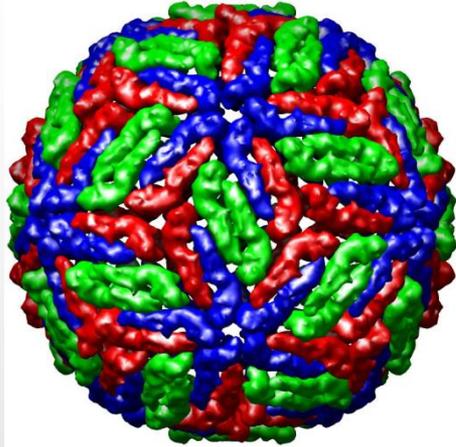


FIGURE 3.8 Some Functions of Membrane Proteins.

Un tipico evento legato all'attività delle proteine di membrana: l'endocitosi mediata da recettore



Filmato:

il flavovirus agente della “dengue”
entra nella cellula tramite
endocitosi mediata da recettore

Fonti:
Solomon et al., 2014;
<https://www.hhmi.org/biointeractive>

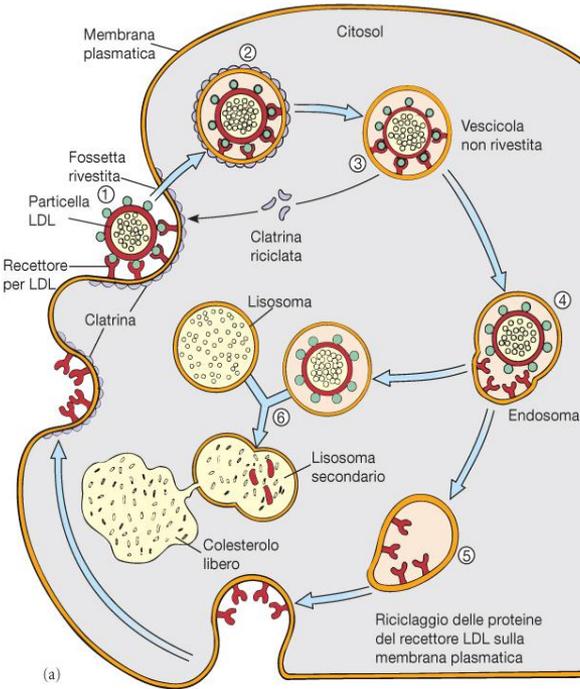
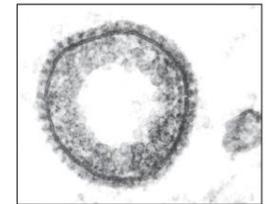
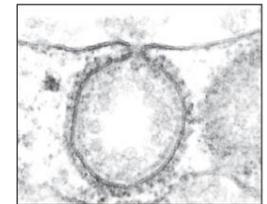
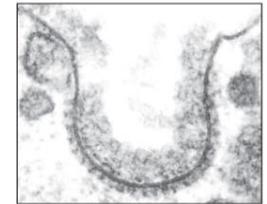


FIGURA 5-20 Endocitosi mediata da recettore.

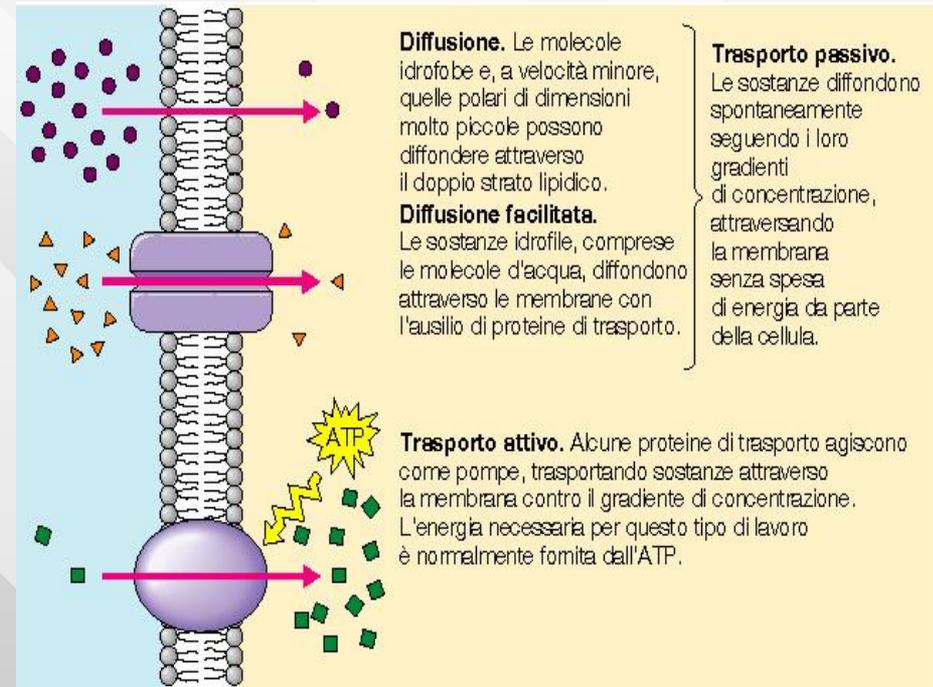
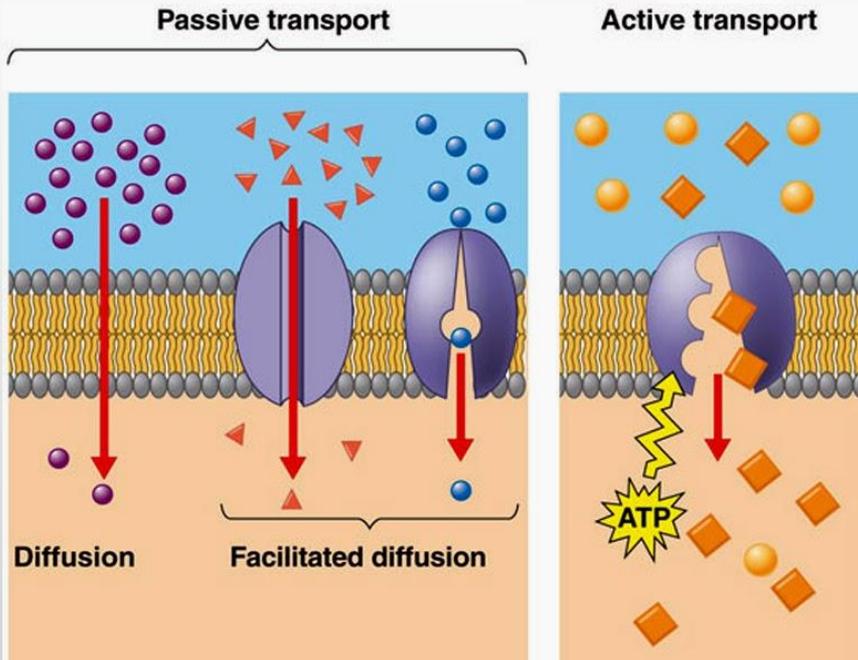
(a) Assorbimento delle lipoproteine a bassa densità (LDL), particelle che trasportano il colesterolo nel sangue: ① L'LDL si attacca a recettori specifici che si trovano sulle fossette rivestite della membrana plasmatica. ② L'endocitosi dà origine a vescicole rivestite nel citosol. ③ Qualche secondo dopo, il rivestimento viene rimosso. ④ La vescicola trasferisce il suo contenuto ad un endosoma. ⑤ I recettori vengono riciclati e ritornano sulla membrana plasmatica. ⑥ Le vescicole contenenti LDL si fondono con i lisosomi per formare un lisosoma secondario. Gli enzimi idrolitici rilasciano quindi il colesterolo, che viene poi utilizzato dalla cellula. (b) Serie di fotografie al microscopio elettronico a trasmissione che mostrano la formazione di vescicole rivestite a partire da fossette rivestite.



(b) 0.25 μ m

Trasporto di membrana:

trasporto passivo e trasporto attivo



Fonti: Sadava et al., 2014, 2019

Trasporto passivo: diffusione

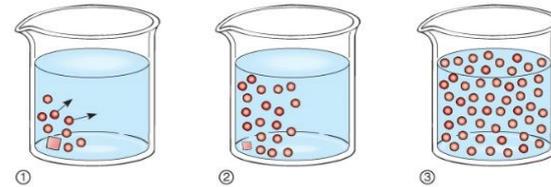
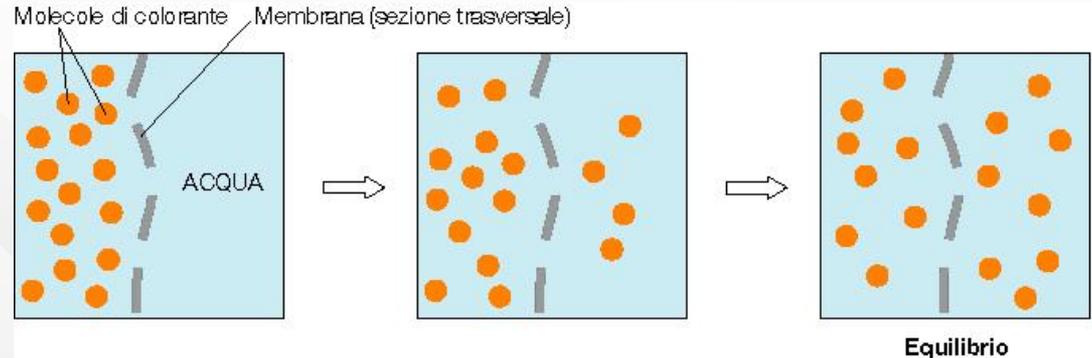
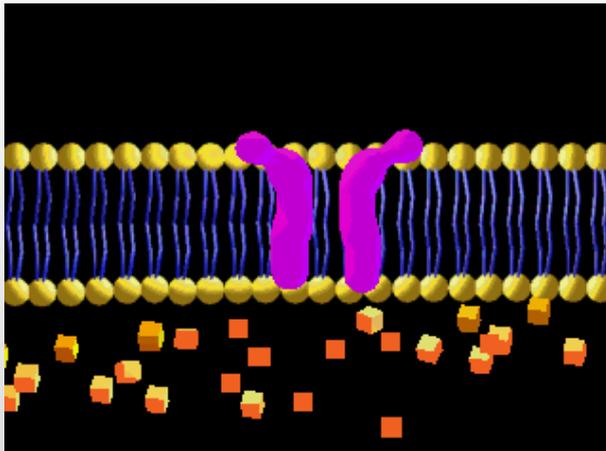
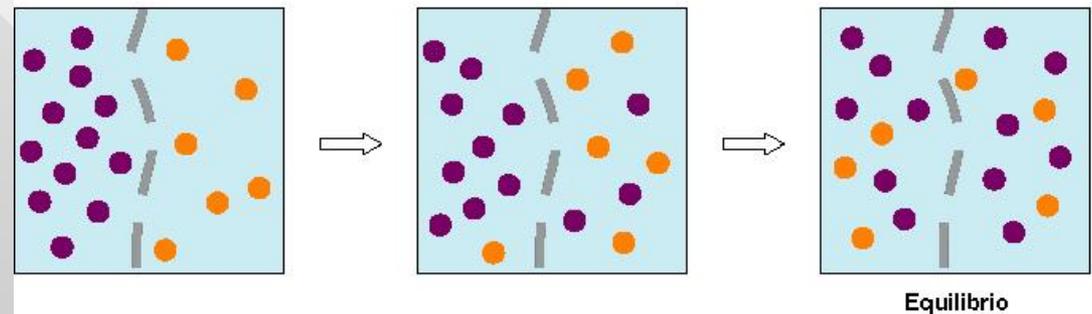


FIGURA 5-10 Diffusione.
 ① Quando una zolletta di zucchero viene immersa in un beaker di acqua pura, ② le sue molecole si disperdono e cominciano a diffondere nell'acqua. ③ Alla fine, le molecole di zucchero risultano uniformemente distribuite nella massa di acqua.



(a) Diffusione di un soluto. La membrana possiede pori abbastanza grandi per essere attraversata dalle molecole di un colorante. Il colorante diffonde da dove è maggiormente concentrato a dove è meno concentrato (cioè secondo il suo gradiente di concentrazione). Questo conduce ad una situazione di equilibrio dinamico: le molecole di soluto continuano ad attraversare la membrana, ma lo fanno alla stessa velocità in entrambe le direzioni.



(b) Diffusione di due soluti. Due soluzioni di coloranti diversi sono separate da una membrana permeabile ad entrambi i coloranti. Ognuno dei due coloranti diffonde secondo il proprio gradiente di concentrazione. Ci sarà una diffusione netta del colorante arancione verso sinistra anche se la concentrazione totale di soluti era inizialmente maggiore sul lato sinistro.

Fonti: Sadava et al., 2014, 2019;
Solomon et al., 2012, 2014

Osmosi:

spostamento del **solvente** ma **non del soluto**

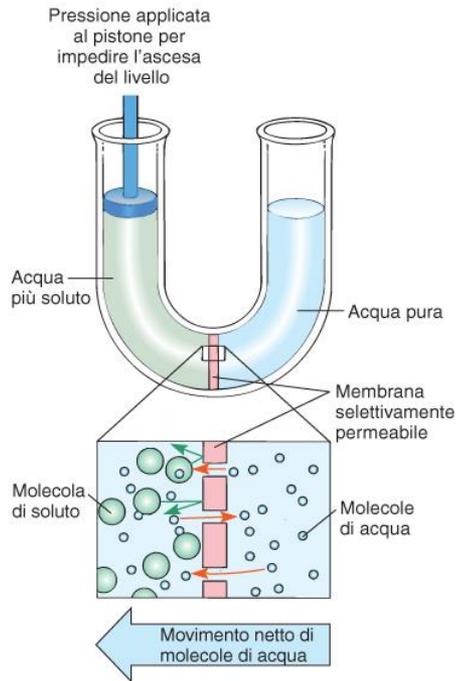
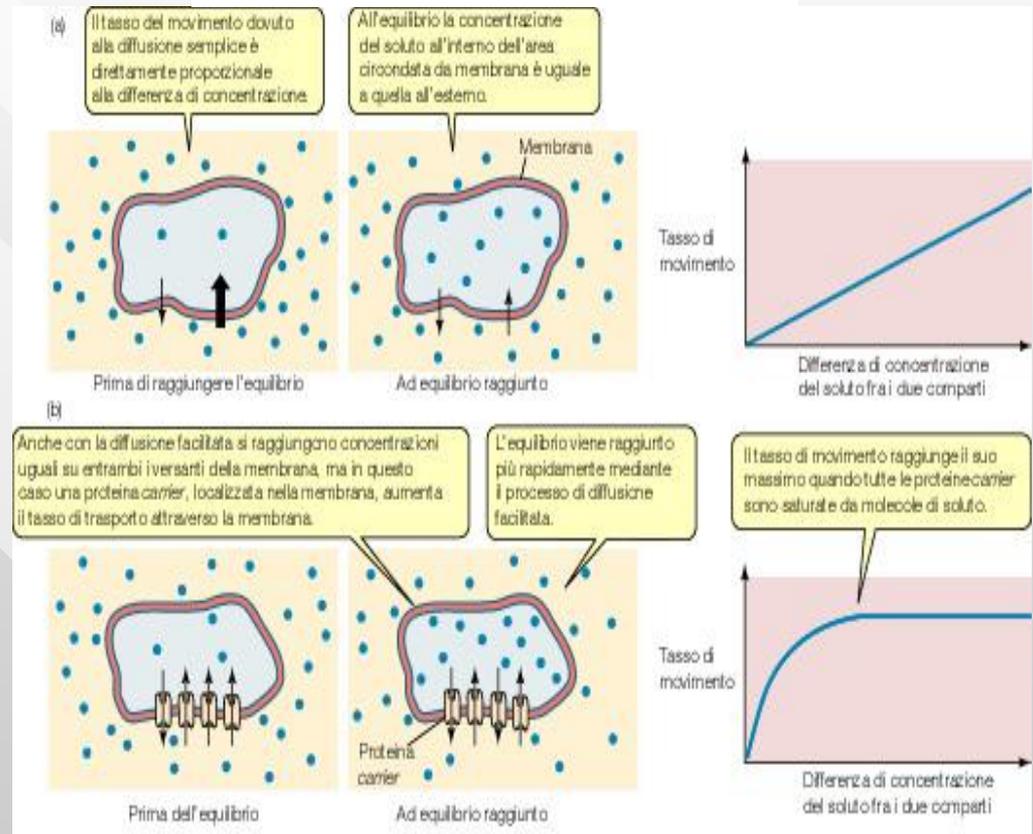
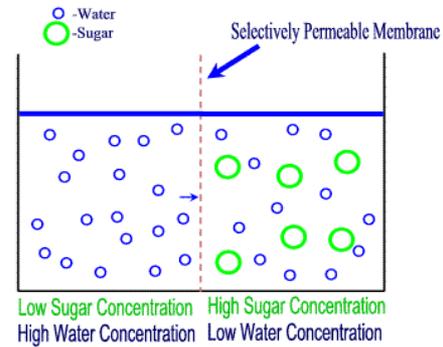


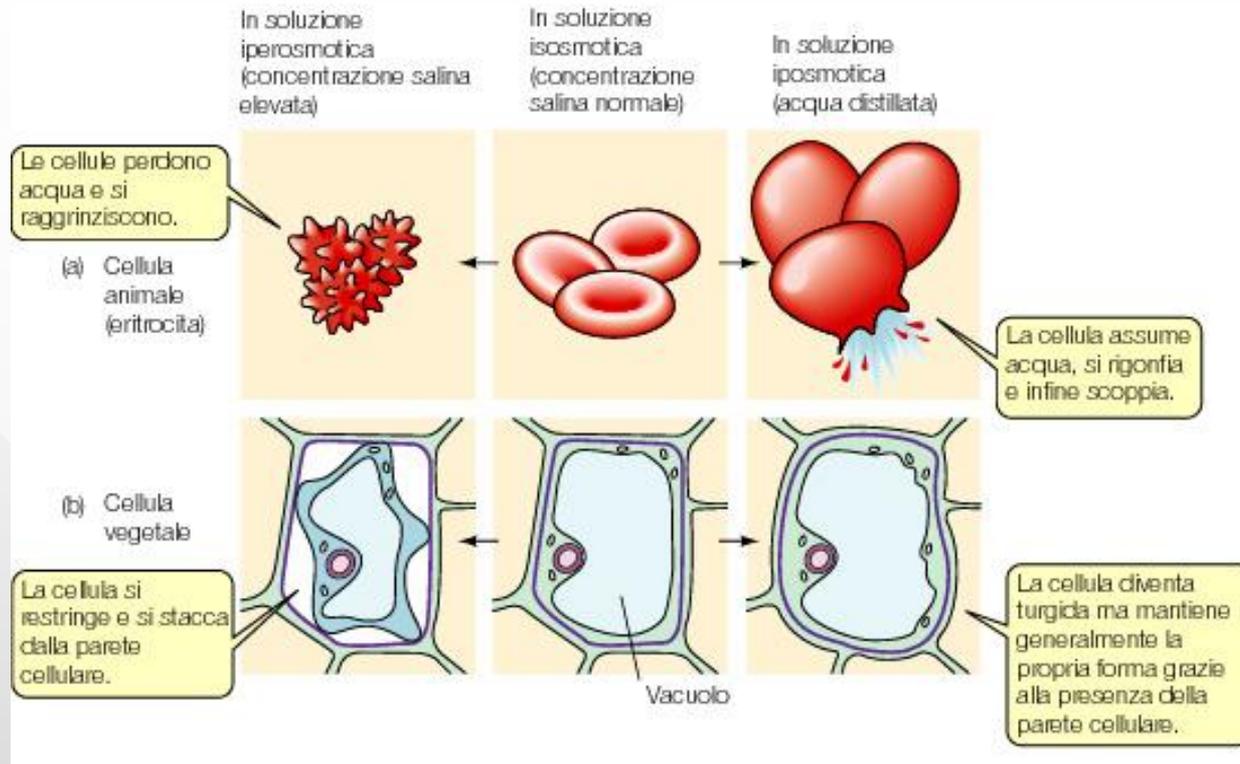
FIGURA 5-11 Osmosi.

Un tubo ad U contiene acqua pura nel braccio destro e acqua più soluto nel sinistro. Le due soluzioni sono tenute separate da una membrana selettivamente permeabile che permette il passaggio delle molecole di acqua in entrambe le direzioni (freccie rosse), ma non delle molecole di soluto (freccie verdi). Il livello del fluido aumenta a sinistra e cala a destra perché esiste un movimento netto di acqua (freccia blu) verso sinistra. La forza che deve essere applicata al pistone per impedire l'ascesa del livello del fluido è uguale alla pressione osmotica della soluzione.

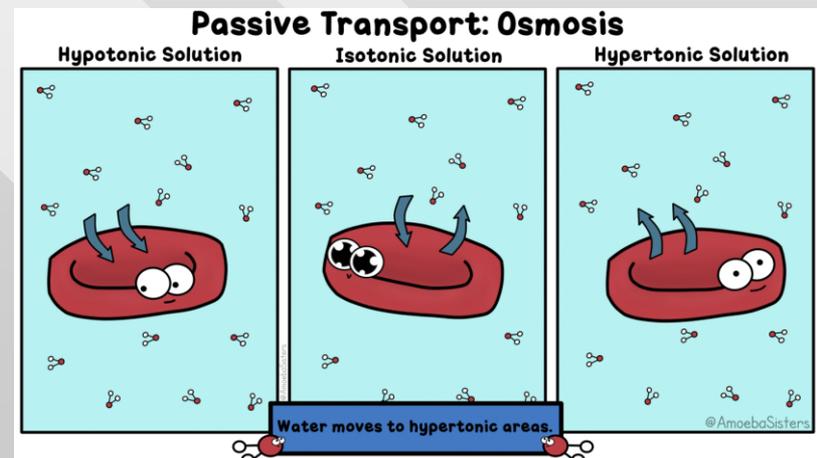
Osmosis



Soluzioni ipo-osmotiche (ipotoniche) ed iper-osmotiche (ipertoniche)



Fonti:
Sadava et al., 2012, 2014; Solomon et al., 2012



Pressione di turgore nelle cellule vegetali

FIGURA 5-13 Pressione di turgore e plasmolisi.

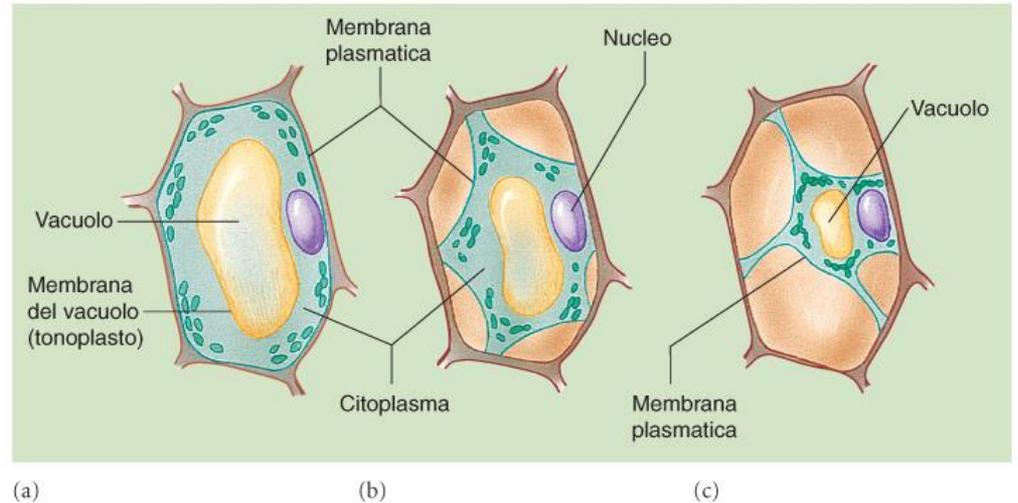
(a) In un ambiente ipotonico, il vacuolo di una cellula vegetale si riempie, ma la rigida parete cellulare impedisce alla cellula di espandersi. Le cellule di questa pianta di begonia sono turgide. (b e c) Quando la pianta è esposta ad una soluzione ipertonica, le sue cellule vanno incontro a plasmolisi in seguito a perdita di acqua. La pianta appassisce e muore.



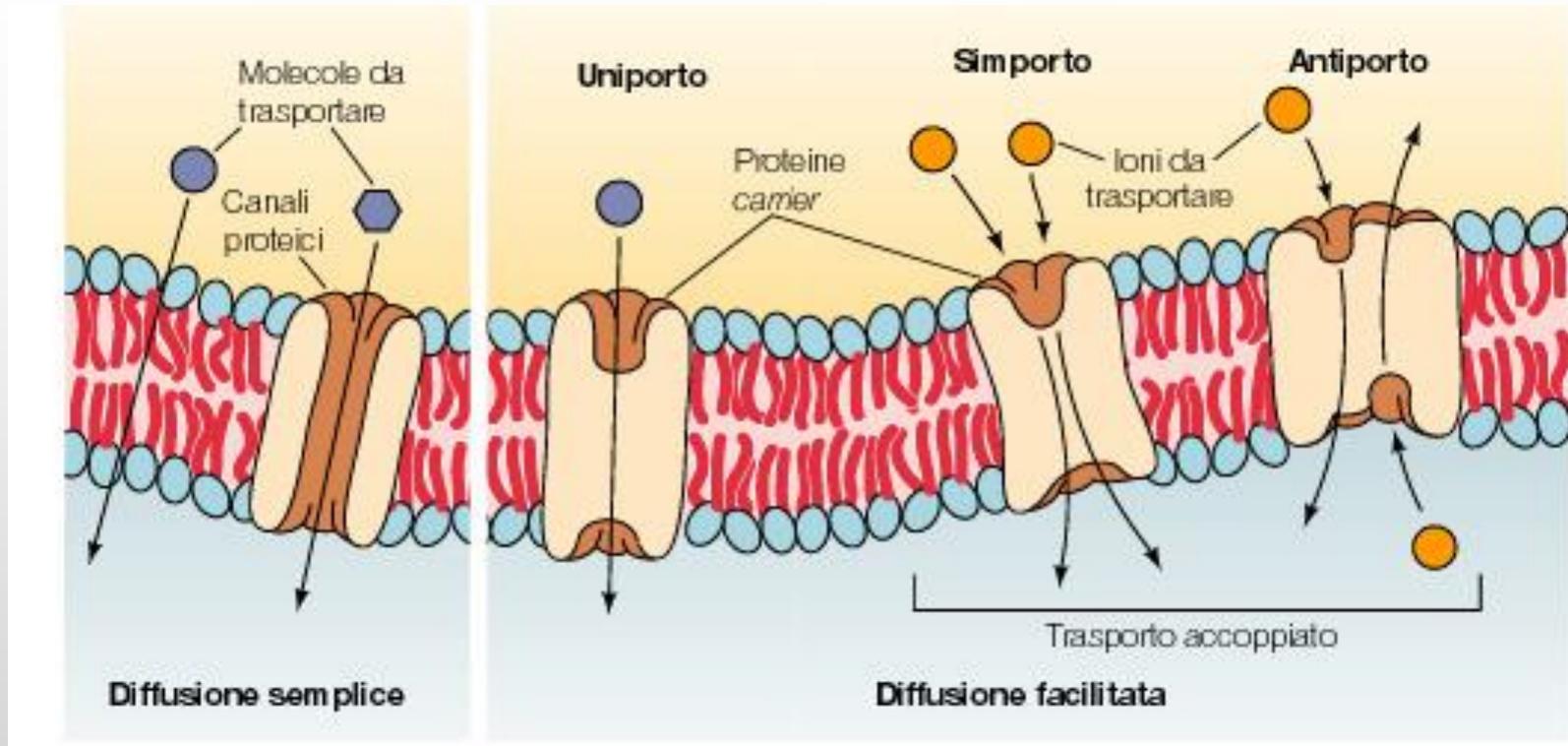
Dennis Dremer



Spathiphyllum wallisii
(Liliopsida Araceae)



Tipi di trasporto attraverso la membrana



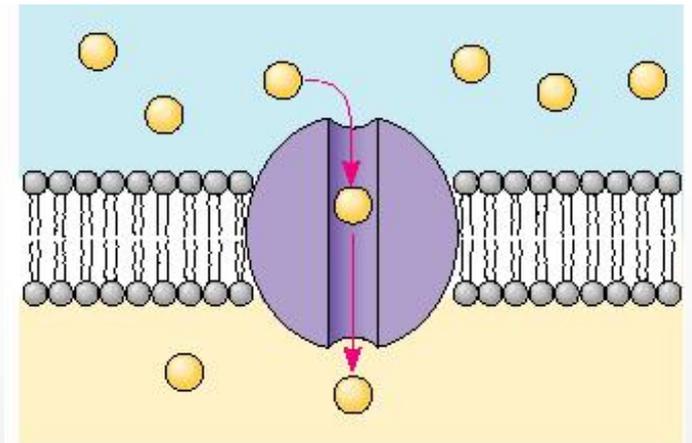
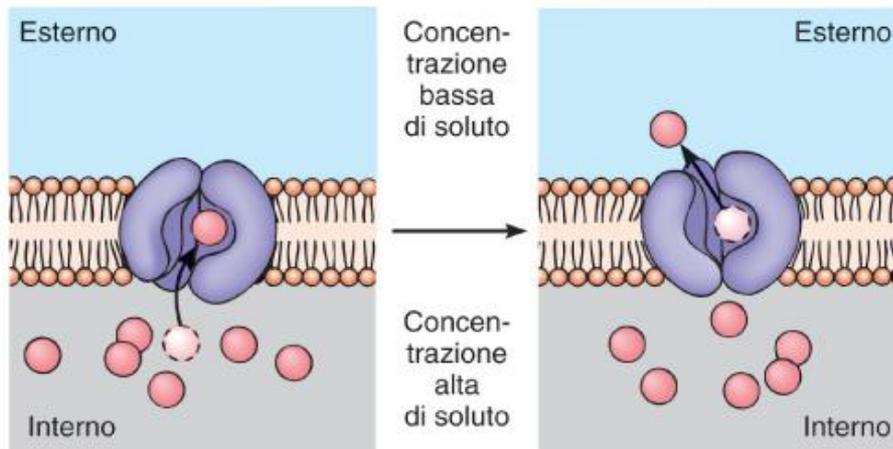
La diffusione semplice e la diffusione facilitata avvengono lungo il gradiente di concentrazione

Diffusione facilitata

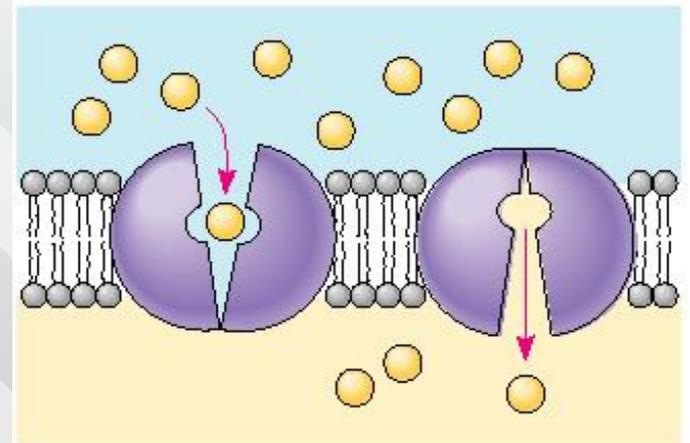
La diffusione facilitata avviene tramite **proteine “canale”** ad apertura controllata (da parte di un **ligando**) oppure tramite **proteine trasportatrici (“carrier”)**

FIGURA 5-14 Diffusione facilitata.

Una proteina di trasporto della membrana si lega ad una particella di soluto. La proteina di trasporto modifica la sua forma ed apre un canale che attraversa la membrana. Alcuni soluti possono essere trasportati dall'interno della cellula all'esterno o viceversa, tuttavia il movimento netto è sempre dalla regione in cui i soluti sono più concentrati verso la regione dove sono più diluiti. È necessaria l'energia potenziale del gradiente di concentrazione.



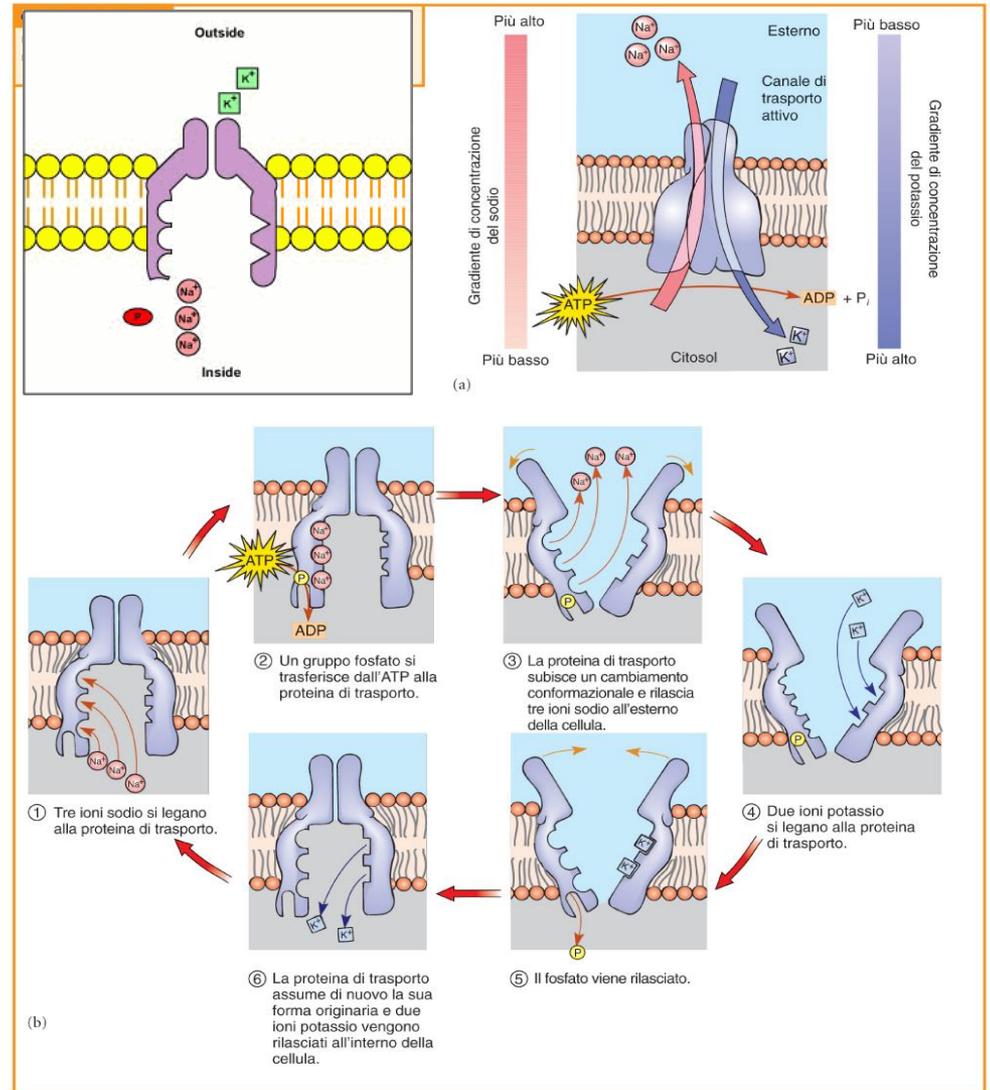
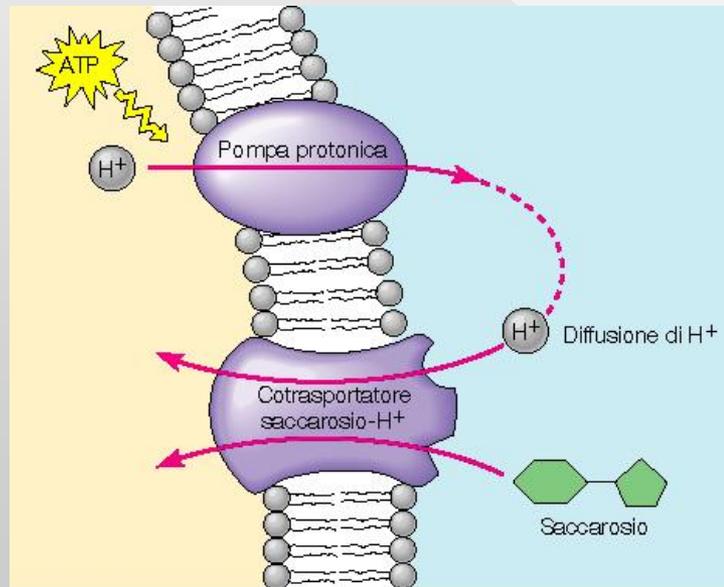
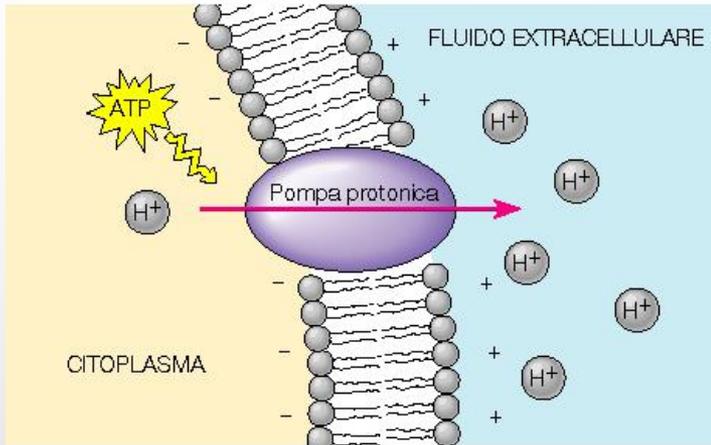
(a) La proteina di trasporto (in viola) forma un canale attraverso cui possono passare le molecole d'acqua o di uno specifico soluto.

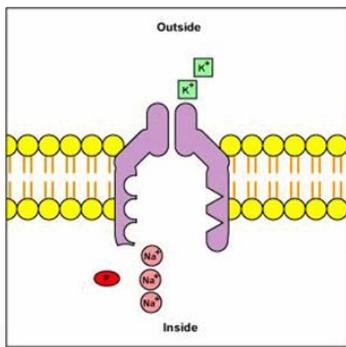


(b) La proteina di trasporto assume alternativamente due conformazioni, trasportando il soluto attraverso la membrana nel momento in cui cambia di forma. La proteina può trasportare il soluto in entrambe le direzioni ed il movimento netto segue il gradiente di concentrazione del soluto.

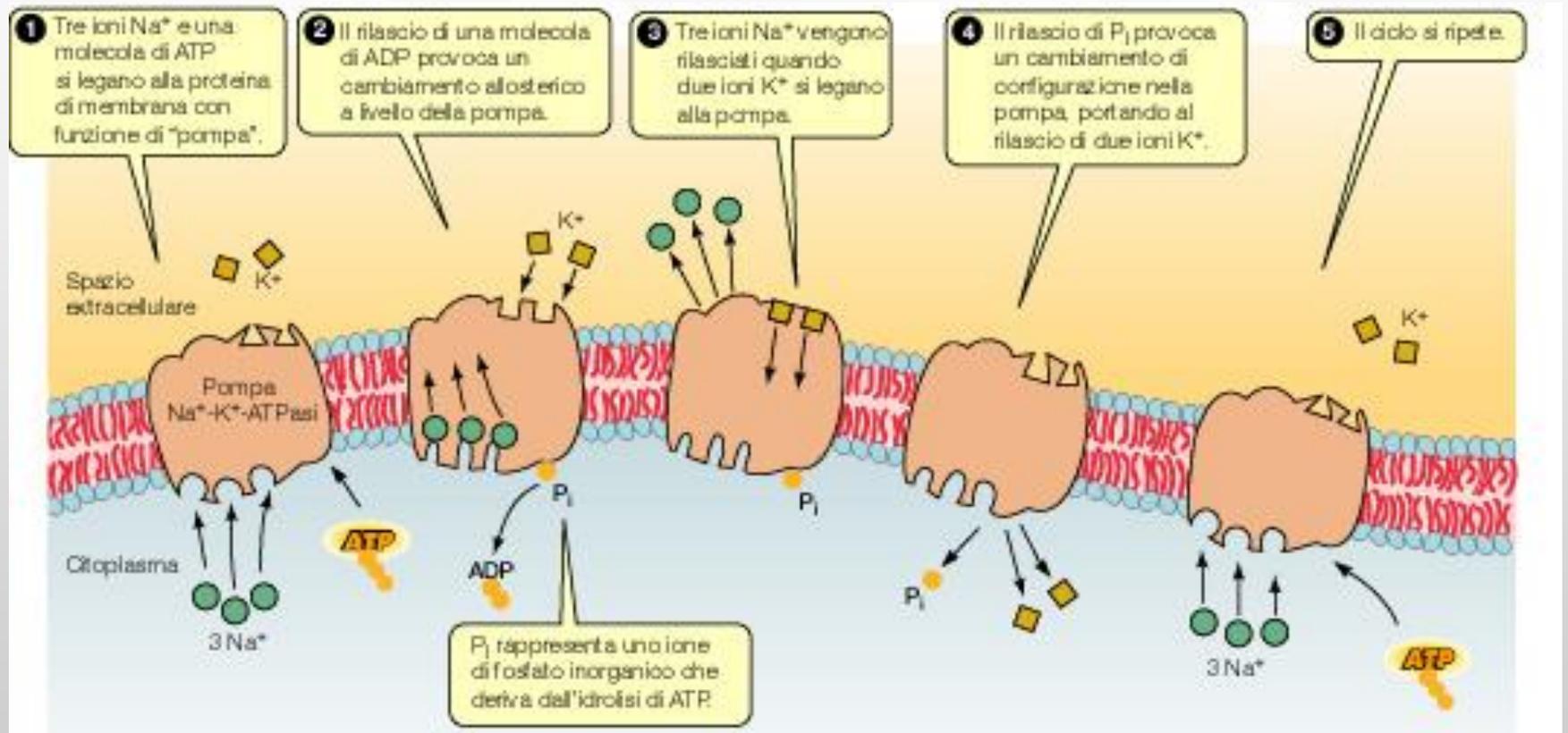
Trasporto attivo:

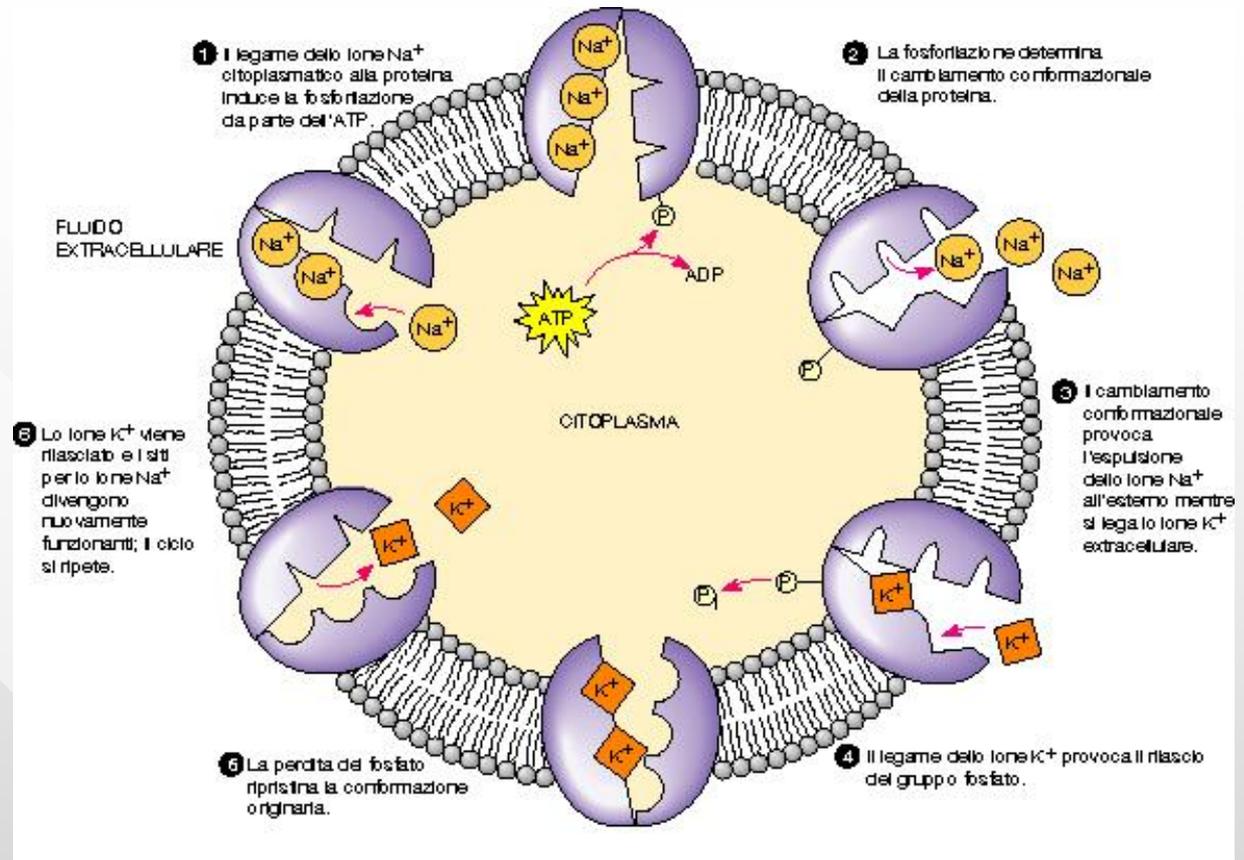
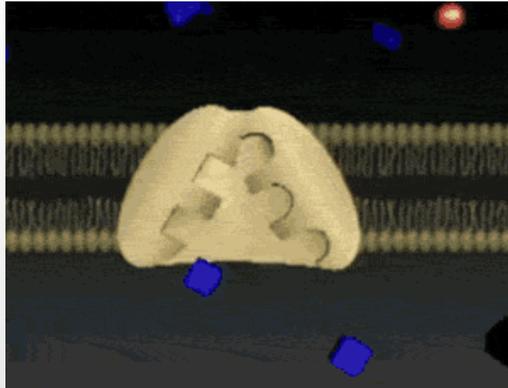
le pompe di membrana





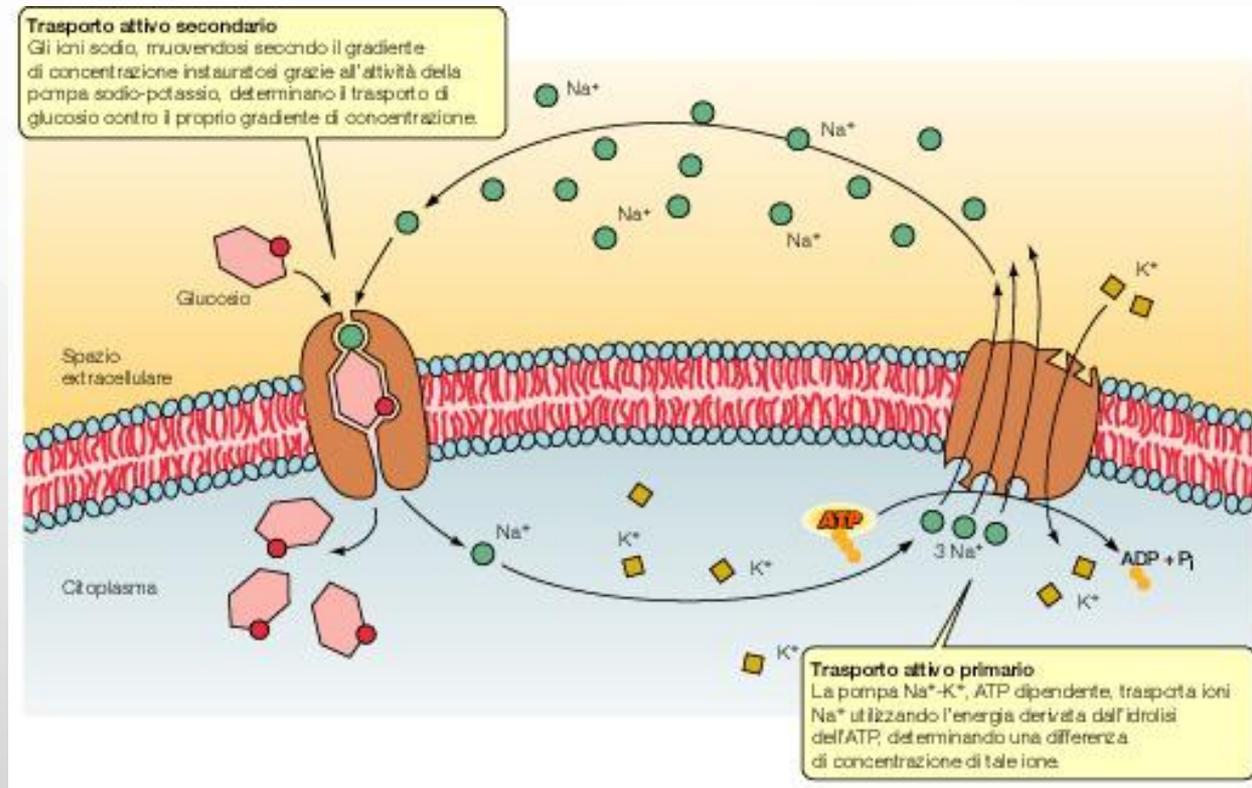
Trasporto attivo primario con idrolisi diretta di ATP:
la **pompa sodio-potassio** (pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$)





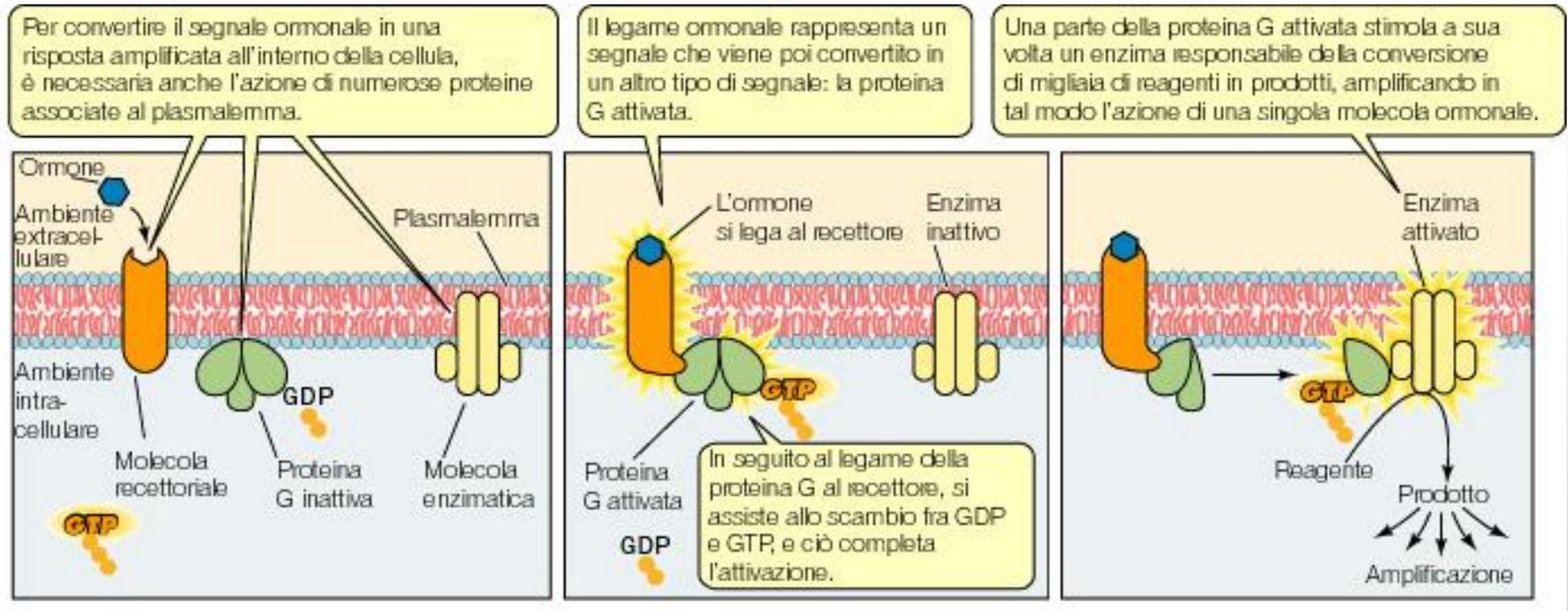
La pompa sodio-potassio trasporta tre Na^+ dall'interno della cellula all'esterno e due K^+ dall'esterno all'interno, **contro il gradiente di concentrazione** e **con idrolisi di ATP**

Trasporto attivo secondario con uso indiretto di ATP:
il co-trasportatore di sodio e glucosio (“sodium-glucose linked transporter, **SGLT**)



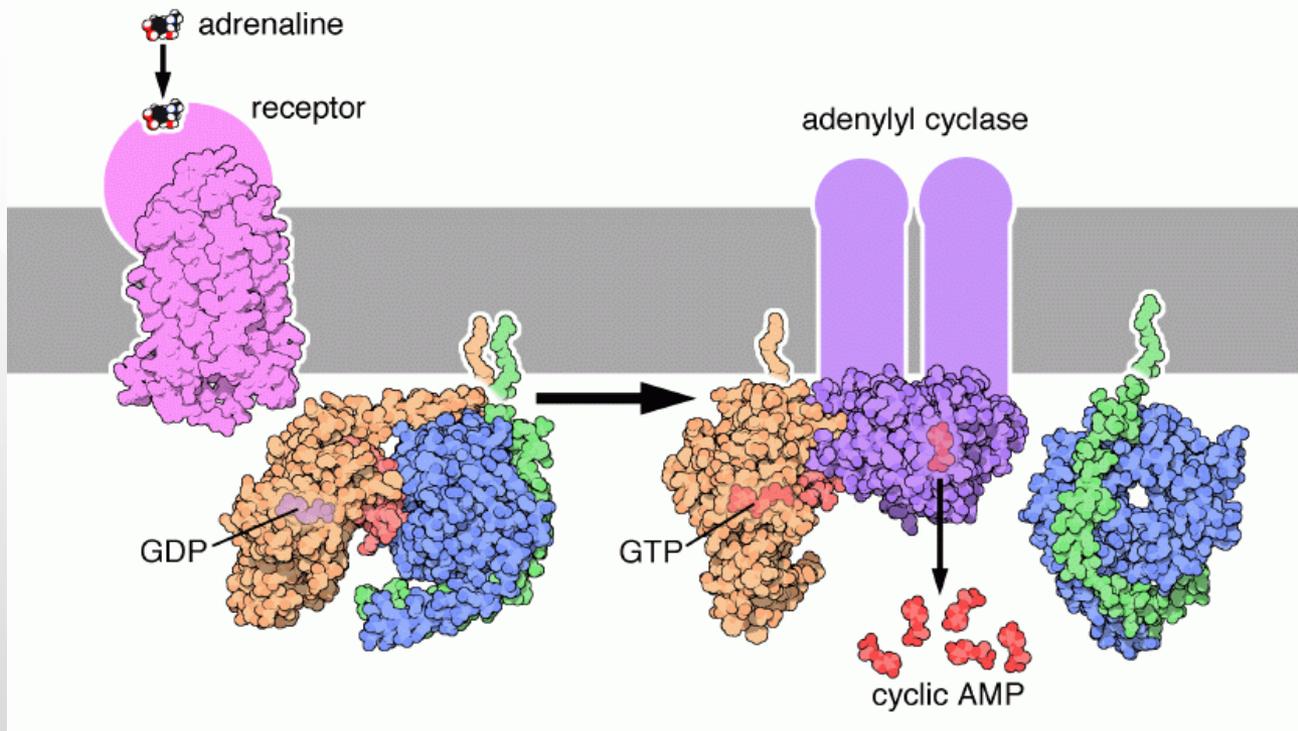
Il trasporto attivo degli ioni Na⁺ tramite la pompa sodio-potassio è usato nei tubuli renali per **co-trasportare il glucosio contro il gradiente di concentrazione** tramite la proteina trasportatore **SGLT**, riassorbendo tutto il glucosio prima dell'escrezione dell'urina (la comparsa di glucosio nelle urine è segno di **diabete mellito**)

Trasduzione a livello di membrana del segnale ricevuto dall'esterno ed amplificazione dello stesso segnale nel citoplasma



Ad esempio, un ormone può legarsi ad un recettore di membrana, modificandone la conformazione in modo che possa a sua volta attivare altre molecole di segnalazione ed altre proteine, **amplificando il segnale all'interno della cellula**

L'adrenalina e l'adenilato ciclasi: un esempio classico di trasduzione ed amplificazione del segnale



L'**adrenalina** (o epinefrina) è un ormone e mediatore di segnale che può legarsi al proprio **recettore di membrana**: il recettore attiva una **proteina GTPasi** (proteina G), che si lega all'enzima **adenilato ciclasi** (trasduzione del segnale)

L'adenilato ciclasi produce a sua volta **numeroso molecole di AMP ciclico** a partire da ATP, **amplificando il segnale** all'interno della cellula