

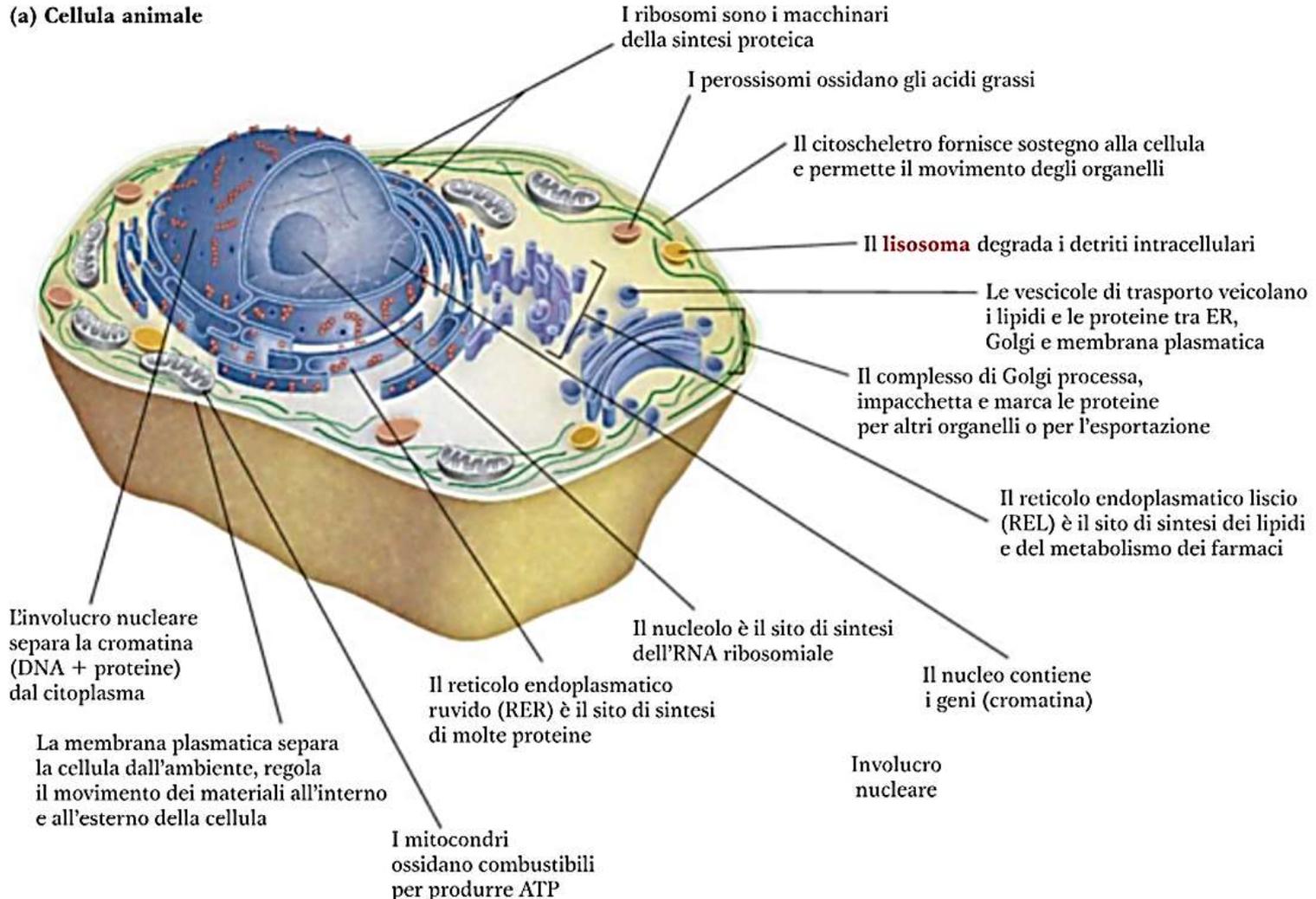
Membrane biologiche e trasporto



La **BIOCHIMICA** le cerca di descrivere le leggi alla base della vita degli organismi viventi

→ descrive le strutture e i meccanismi che governano le funzioni cellulari scendendo nel più intimo dettaglio: le **biomolecole**

(a) Cellula animale



Tratto da: Nelson D, Cox MM. *Introduzione alla biochimica del Lehninger*. VI edizione a cura di Edon Melloni. Editore: Zanichelli.

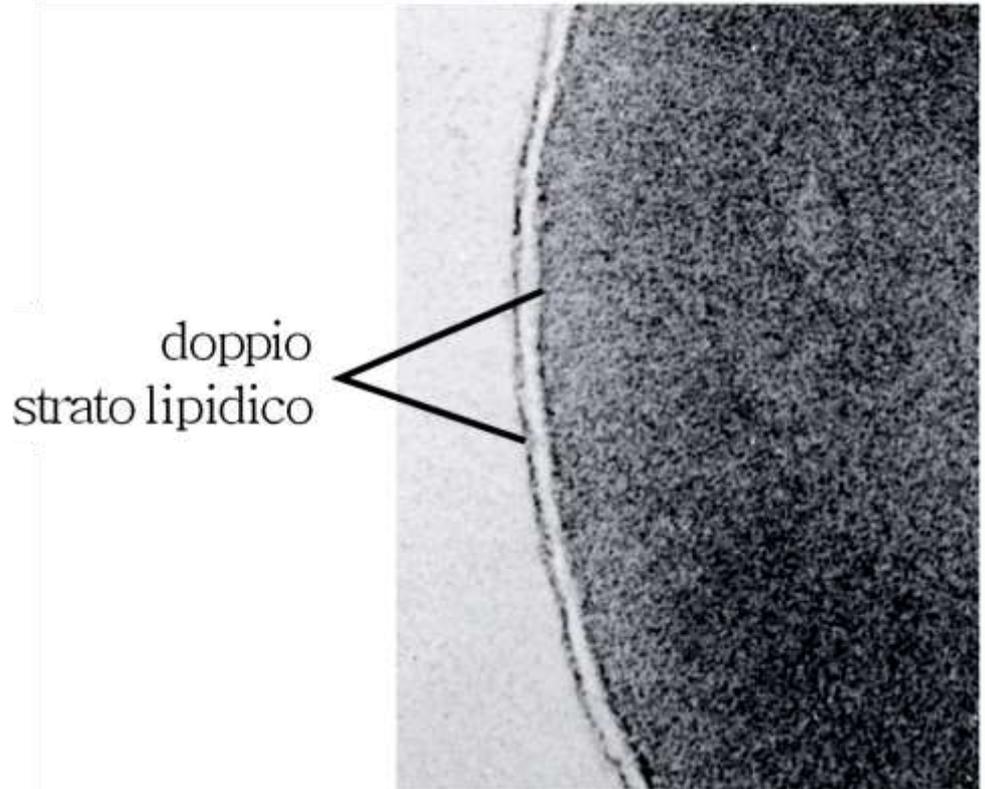
Le membrane

- **Definiscono i confini**
delle cellule

- **Regolano il traffico**
delle molecole

- **Dividono lo spazio**
interno in

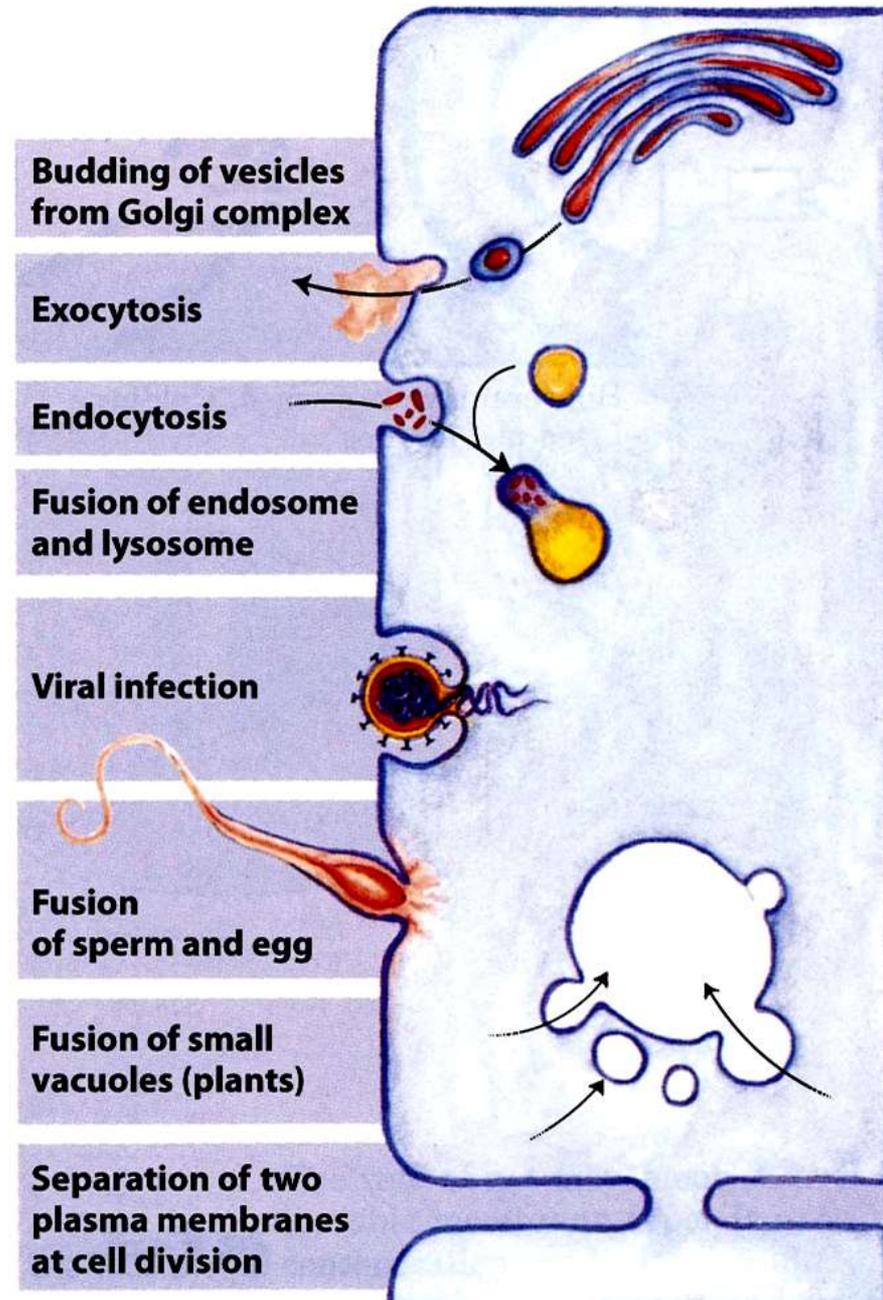
compartimenti (negli eucarioti), segregando in essi
specifici componenti e processi biologici



Proprietà delle membrane

- Sono **resistenti** e **flessibili**
- **Autosigillanti** (vescicole di endocitosi o di esocitosi)
-

Autosigillanti (vescicole di endocitosi o di esocitosi)



Proprietà delle membrane (continua

- Delimitano dei **comparti** (**citosol, mitocondri, ...**) che contengono una serie di proteine specializzate (**enzimi**) che insieme collaborano in una specifica funzione o via metabolica cellulare.
- in generale sono **impermeabili alle molecole polari**, ma possono essere **selettivamente permeabili ad alcuni di loro** (**Na, K, Ca**), permettendo di accumularli all'interno della cellula (**K, potenziale di membrana**) o in compartimenti cellulari (**Ca, contrazione muscolare**), e di rilasciarli per svolgere una determinata funzione cellulare (**K, propagazione dell'impulso lungo la membrana; Ca, spostamento della tropomiosina → aggancio miosina**).

Proteine specializzate presenti nelle membrane

- **Trasportatori e canali**, spostano da un lato all'altro della membrana o permettono il passaggio di **specifiche molecole cariche** o **piccoli ioni**, che normalmente non la attraverserebbero
- **Recettori**, interagiscono con **specifici ligandi** (**ormoni, citochine**, etc). La loro interazione determina una cascata di eventi molecolari a catena che infine produce modificazioni all'interno della cellula (p.e. **insulina, glucagone** → **attivazione di una specifica via metabolica; citochine, proliferazione cellulare**)
- **Molecole di adesione** tengono adese le cellule ad una matrice biologica (p.e. integrine con il collagene)
- **Complessi enzimatici** (p.e. la catena di trasporto degli elettroni sulla membrana interna mitocondriale)

Le membrane creano compartimenti che svolgono funzioni specialistiche, permettendo di:

- **separare vie metaboliche altrimenti non compatibili**: la **biosintesi dei lipidi** avviene nel citosol, ma la **degradazione dei lipidi** avviene nei mitocondri (in caso contrario si innescherebbero cicli futili).
- **produrre proteine modificate (p.e. glicosilate)**: la **biosintesi delle proteine** cellulari avviene nel citosol, ma **quelle che debbono essere esportate** (secrete o collocate sulla superficie esterna della membrana citoplasmatica) **vengono modificate** all'interno del reticolo endoplasmatico e dell'apparato di Golgi prima di essere riversate all'esterno della cellula.
- **creare gradienti chimici o elettrici** (p.e. la doppia membrana che riveste i mitocondri crea uno spazio in cui vengono immagazzinati i **protoni** necessari per la **produzione di ATP.**)

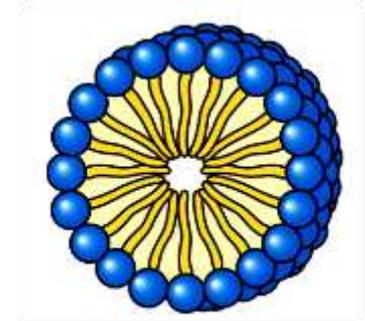
I componenti delle membrane

- **lipidi polari**
- **proteine**
- **carboidrati** (sottoforma di **glicoproteine** e **glicolipidi**)

I lipidi polari (fosfolipidi) sono anfipatici e quando entrano in contatto con l'acqua si dispongono con la porzione carica a contatto con essa e la porzione idrofobica il più lontano possibile da essa, per formare un MONOSTRATO (Micelle) o un DOPPIO STRATO (Liposoma)

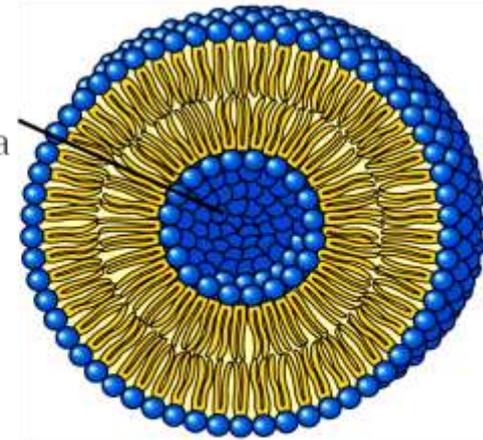
- **Micelle:** le catene idrofobiche degli acidi grassi sono sequestrate all'interno della sfera, lontano dall'acqua

- **Liposomi:** i lipidi si dispongono a doppio strato che racchiude una cavità riempita d'acqua; all'interno del doppio strato le catene lipidiche sono protette dall'interazione con l'acqua, mentre le loro teste polari entrano in contatto con essa.



Micella

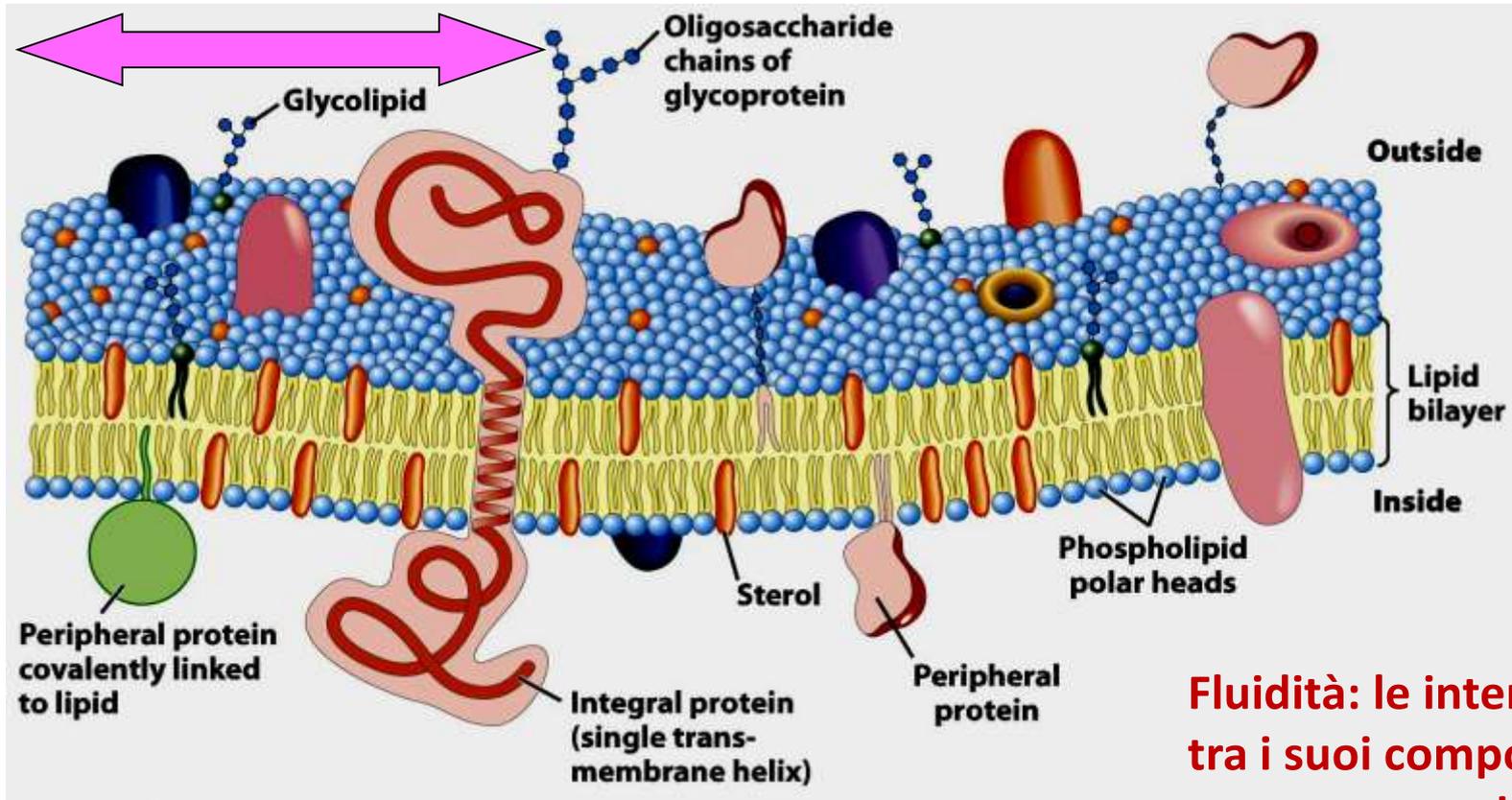
cavità
acquosa



vescicola (liposoma)

Le membrane cellulari sono formate da un **DOPPIO STRATO**

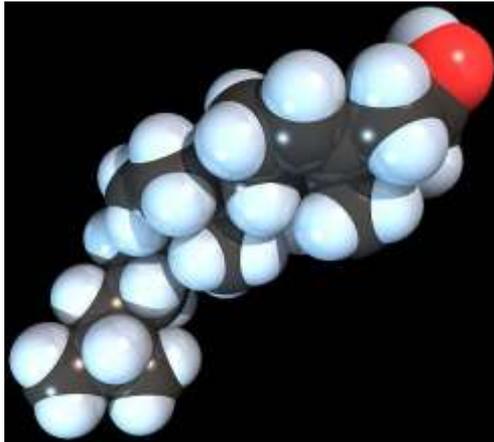
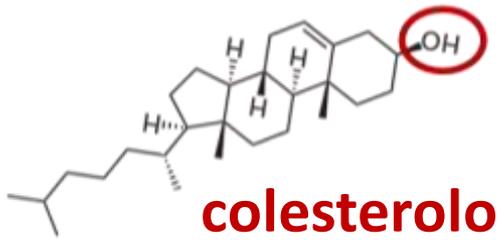
Struttura delle Membrane Biologiche: modello a mosaico fluido



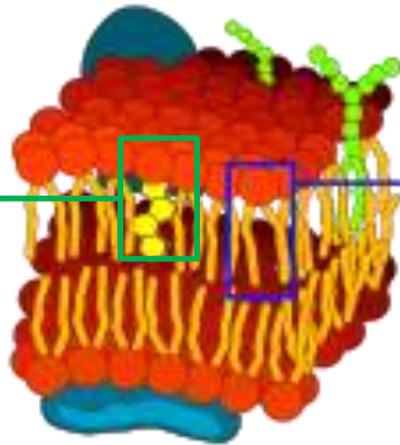
Fluidità: le interazioni tra i suoi componenti non sono covalenti

- I fosfolipidi formano una membrana a doppio strato lipidico.
- Le proteine sono immerse o appoggiate ad essa, sono vincolate alla membrana.
- Le proteine e i lipidi sono liberi di muoversi lateralmente nel piano del doppio strato (mosaico fluido), ma il movimento da un foglietto all'altro è assai limitato.
- Gli zuccheri (glicoproteine e lipoproteine) di membrana sono presenti solo sul lato extracellulare.

Lipidi polari della membrana

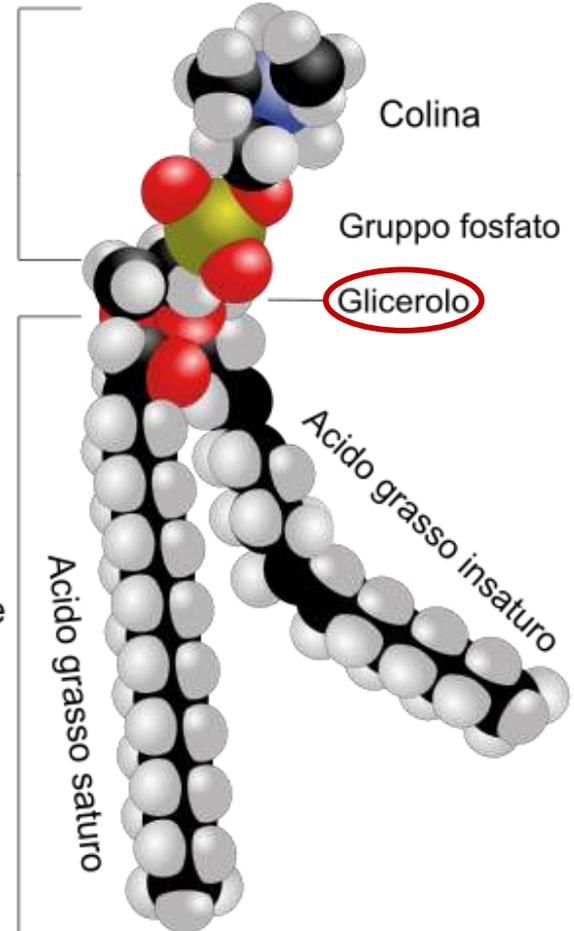


fosfolipide

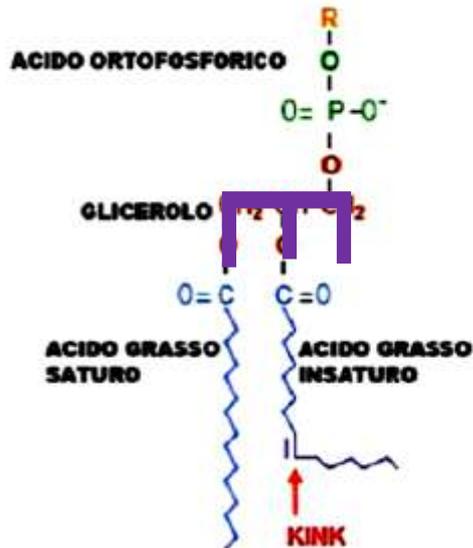


Fosfolipide di membrana (fosfatidilcolina)

Testa polare (idrofila)

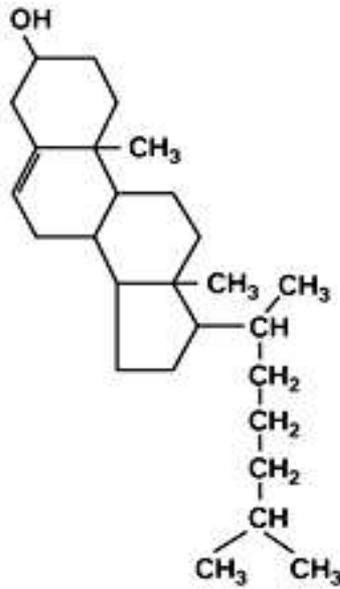


Coda apolare (idrofoba)

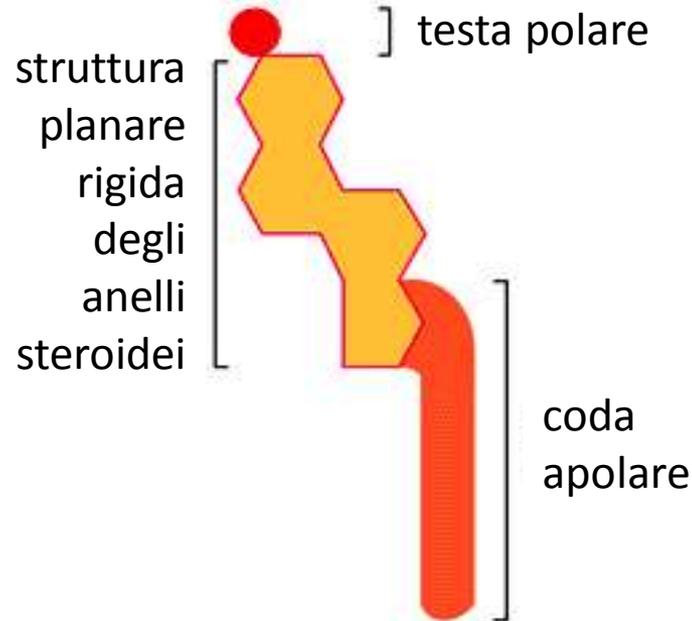


R (RADICALE)	FORMULA
COLINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3$
ETANOLAMINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{H}_3^+$
SERINA	$\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{N}-\text{H}_3^+$

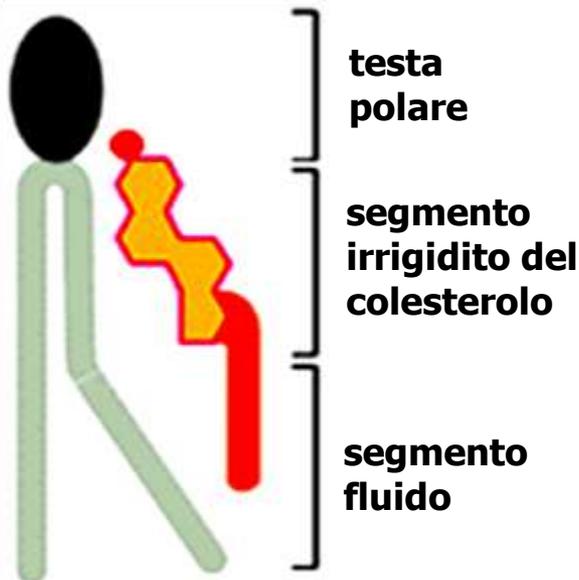
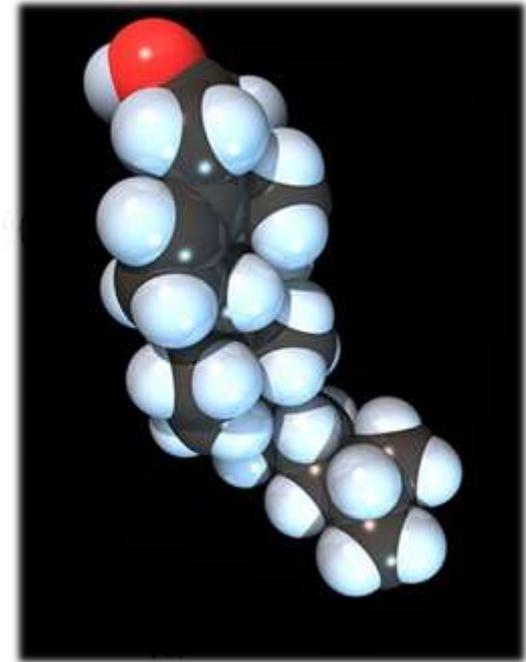
Le membrane biologiche contengono colesterolo



(A)



(B)



Il **Colesterolo** nel doppio strato lipidico regola la fluidità della membrana **in un ampio intervallo di temperature (una sorta di anticongelante):**

- **aumenta la fluidità alle T basse**
- **riduce la fluidità alle T alte**

Gli organismi viventi cercano di mantenere costante la fluidità delle membrane biologiche al variare della temperatura ambientale anche modificando le catene di acidi grassi nei fosfolipidi.

TABLE 11-2

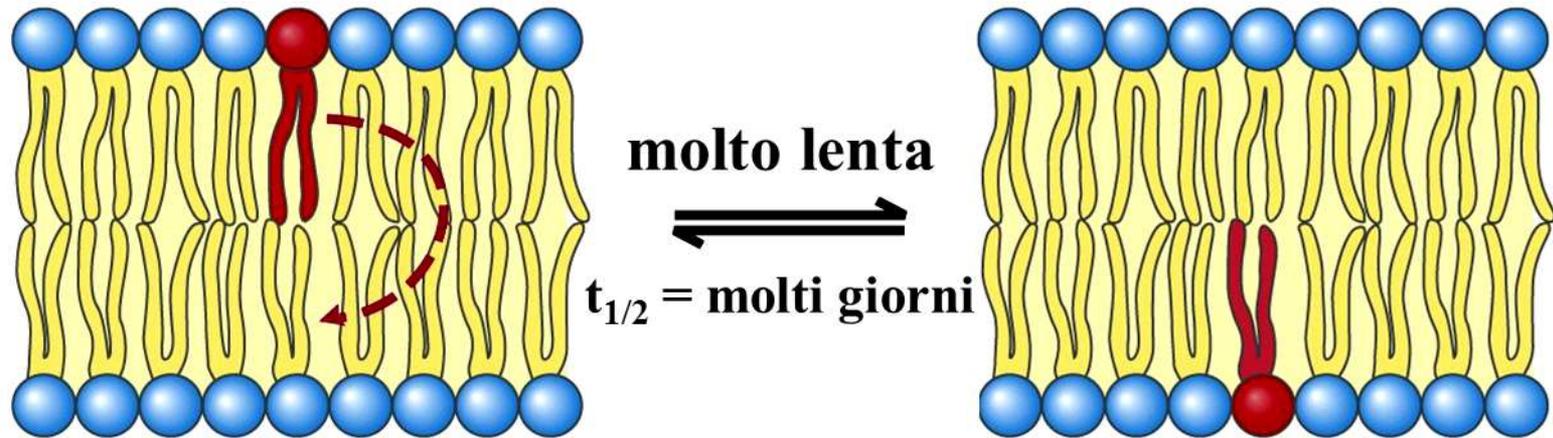
Composizione in acidi grassi delle membrane dei batteri al variare della temperatura

	Percentage of total fatty acids*			
	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C
Myristic acid (14:0)	4	4	4	8
Palmitic acid (16:0)	18	25	29	48
Palmitoleic acid (16:1)	26	24	23	9
Oleic acid (18:1)	38	34	30	12
Hydroxymyristic acid	13	10	10	8
Rapporto tra insaturi e saturi	2.9	2.0	1.6	0.38

$\frac{16:1}{16:0}$ ← Aumenta la fluidità alle basse temperature
 ← Diminuisce la fluidità alle alte temperature

I fosfolipidi si possono muovere da un foglietto all'altro?

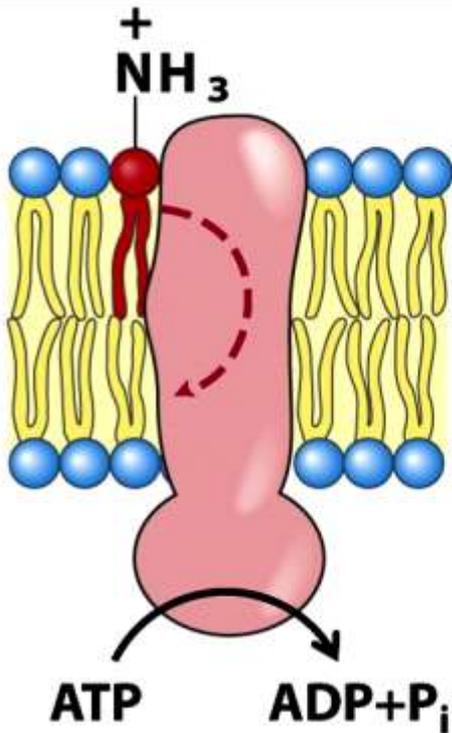
Diffusione trasversale spontanea (non catalizzata)



La diffusione trasversale spontanea è molto lenta e quindi non avviene.

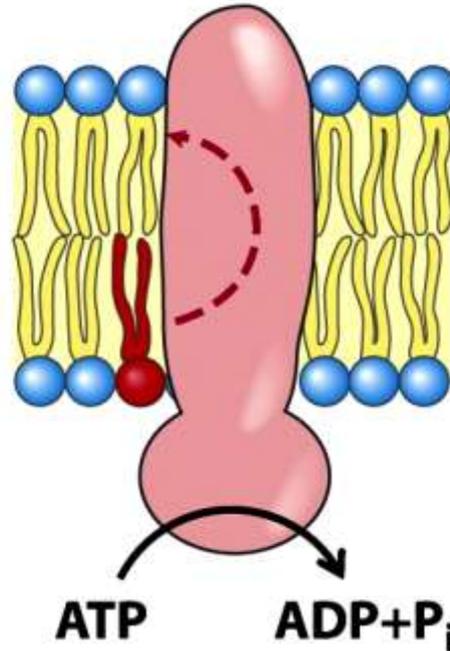
Il trasferimento di un fosfolipide da un foglietto all'altro non è un processo spontaneo.

Traslocazione trasversale catalizzata



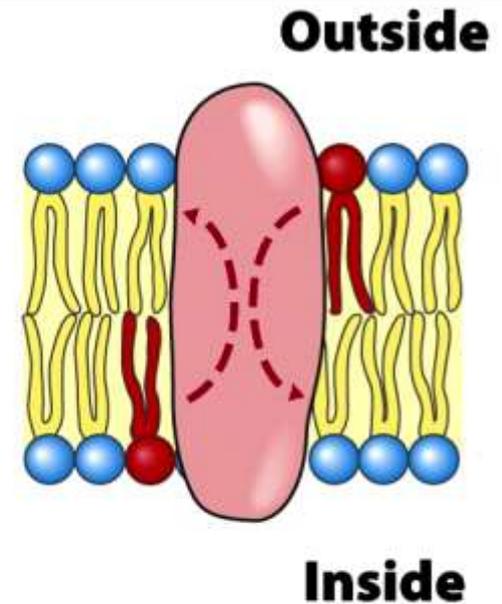
Flippase

muove i fosfolipidi dallo strato esterno a quello citosolico interno



Floppase

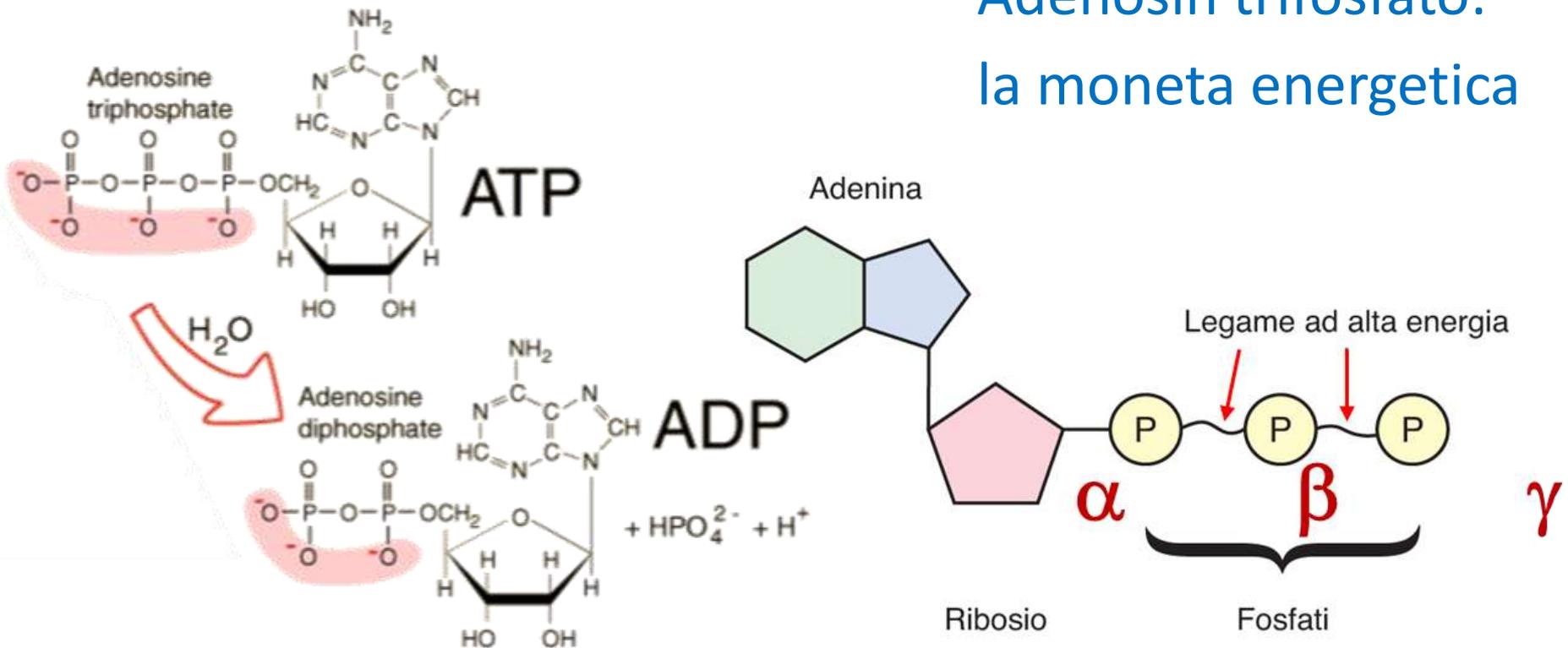
muove i fosfolipidi dallo strato citosolico a quello esterno



Scramblase

muove fosfolipidi in entrambe le direzioni in modo bilanciato

Adenosin trifosfato: la moneta energetica

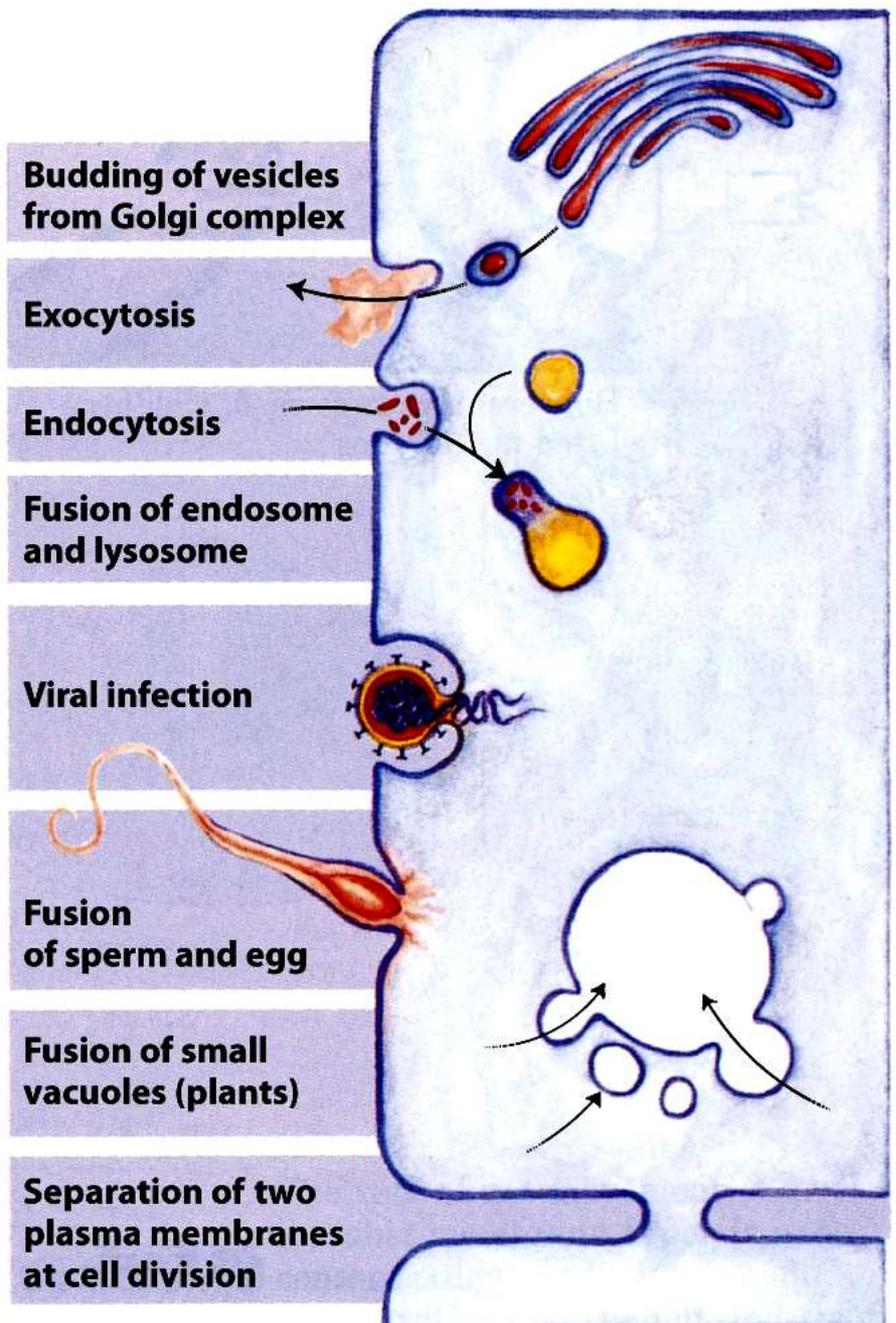


Biochimica metabolica dello sport e dell'esercizio fisico: D. MacLaren, J. Morton
© *edi.ermes*
Copia data in licenza a Prof. Carlo Mischiati

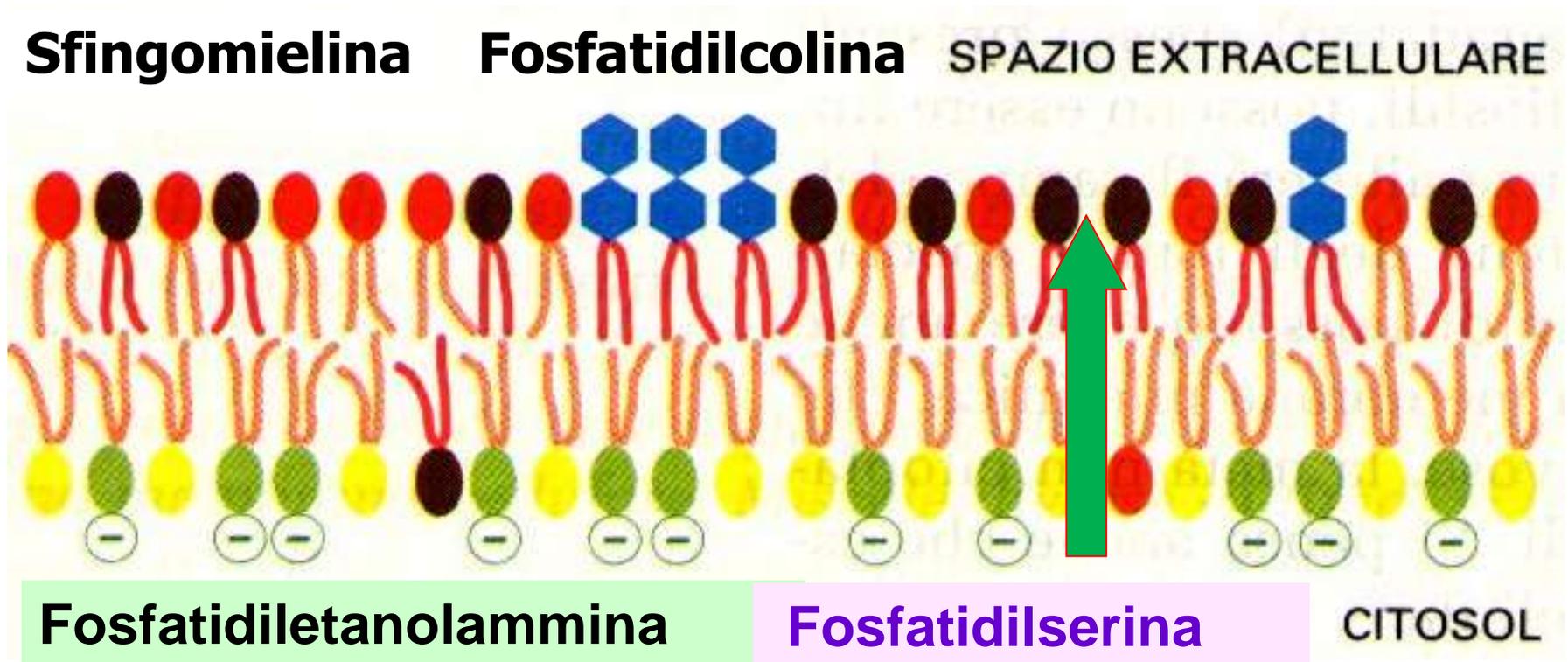
- La **struttura** di una molecola di ATP è formata da una base (**adenina**) legata a una molecola di zucchero (**ribosio**) che, a sua volta, è legato a **tre molecole di fosfato**.

Il trasporto dei fosfolipidi su uno dei due foglietti del doppio strato è essenziale per generare curvature della membrana

La fusione tra membrane interessa molti processi cellulari.



La distribuzione dei fosfo- e glicolipidi nel doppio strato è asimmetrica



→ **Apoptosi**: l'esposizione di fosfatidilserina sul foglietto extracellulare (flopping) indirizza la cellula alla distruzione per morte programmata;

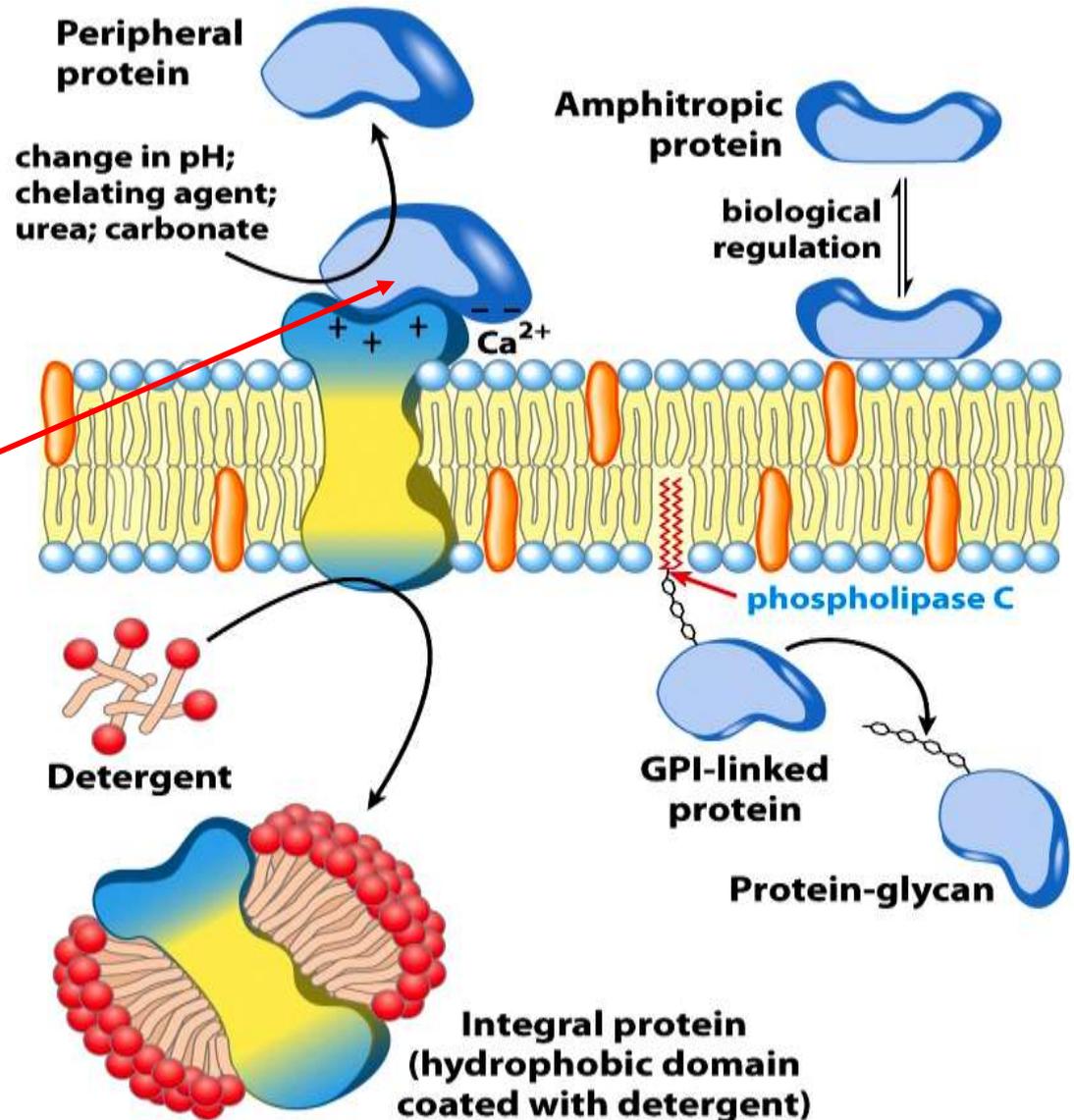
→ **Trombi**: le piastrine si possono aggregare per formare il trombo solo dopo esposizione extracellulare di fosfatidilserina.

Proteine di membrana periferiche e integrali

Integrali: strettamente associate al doppio strato lipidico – rimosse da detergenti e solventi organici che rompono le interaz. idrofobiche

Periferiche:

- **associate alla membrana**, in contatto con le proteine integrali attraverso legami deboli (interazioni elettrostatiche, legami idrogeno) ;
- **anfotropiche**, in contatto con i lipidi della membrana, anche attraverso legami forti



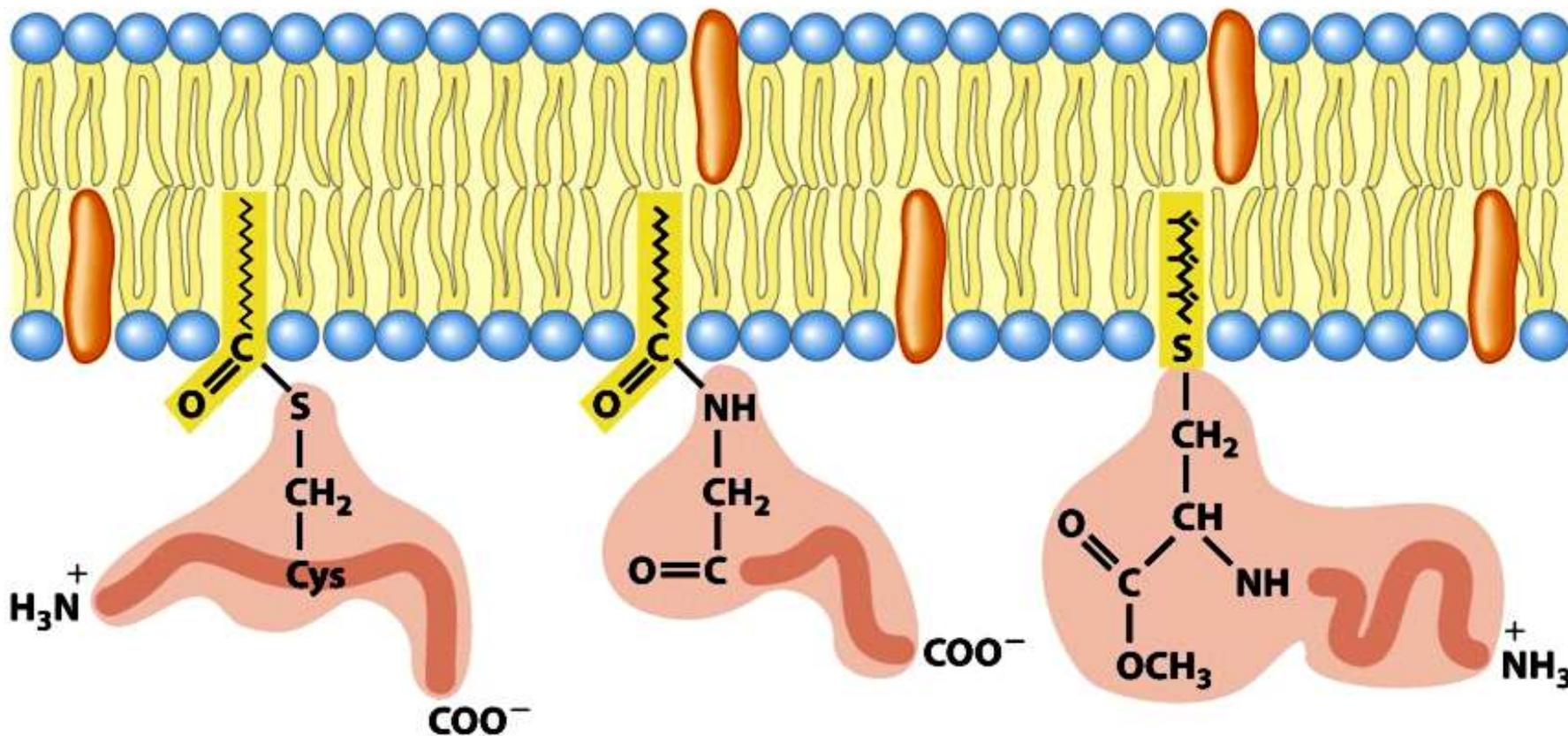
Proteine di membrana legate a lipidi (anfotropiche)

– legame diretto con i lipidi di membrana (legame covalente).

Palmitato legato al
gruppo R di Cys o
Ser

N-miristilico
legato all'N-
terminale di una Gly

farnesilico
legato al C-terminale
di una Cys



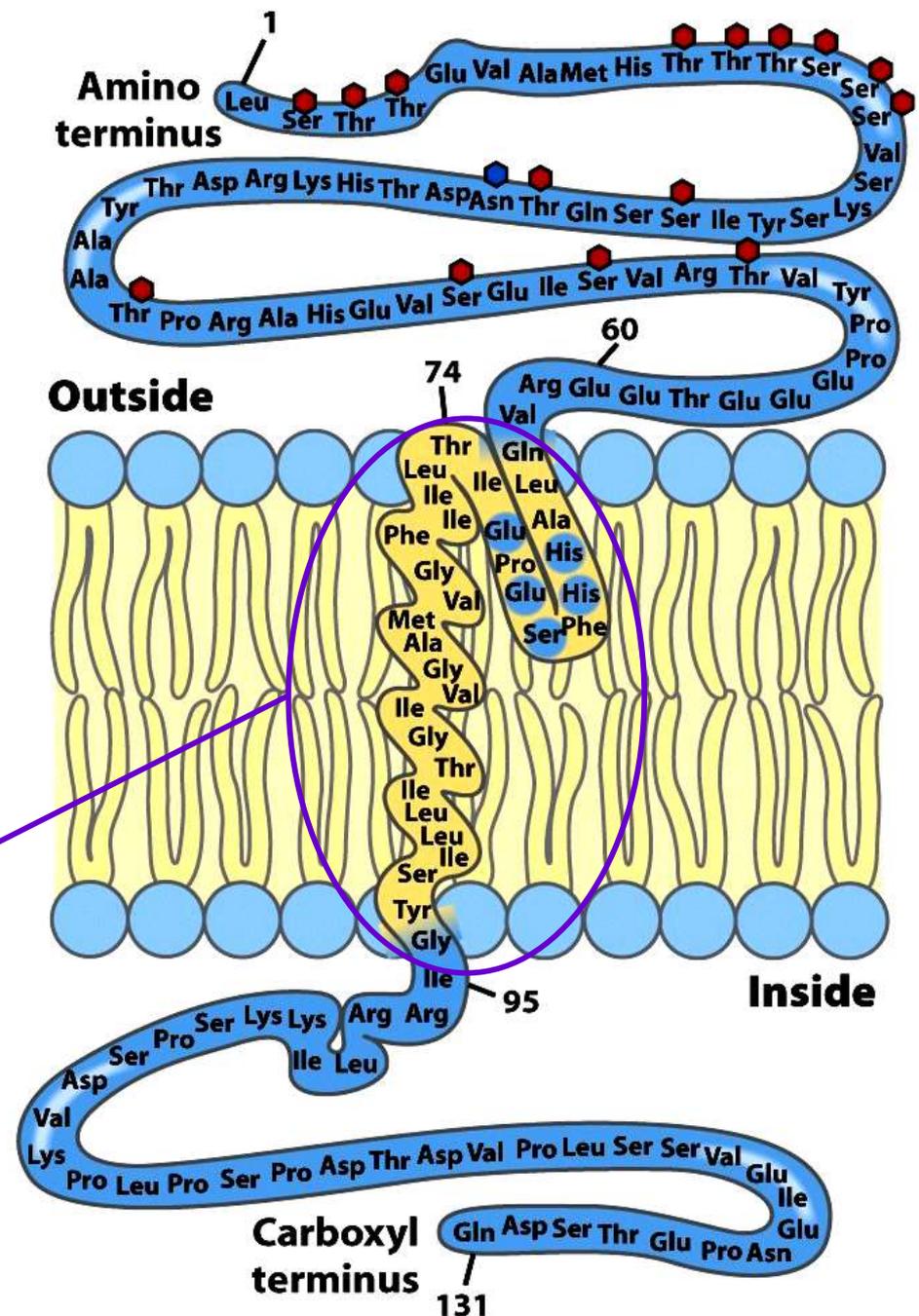
Le lipoproteine si trovano **solo sul lato citosolico** della membrana

Proteine integrali possono essere legate ad oligosaccaridi

la Glicoforina

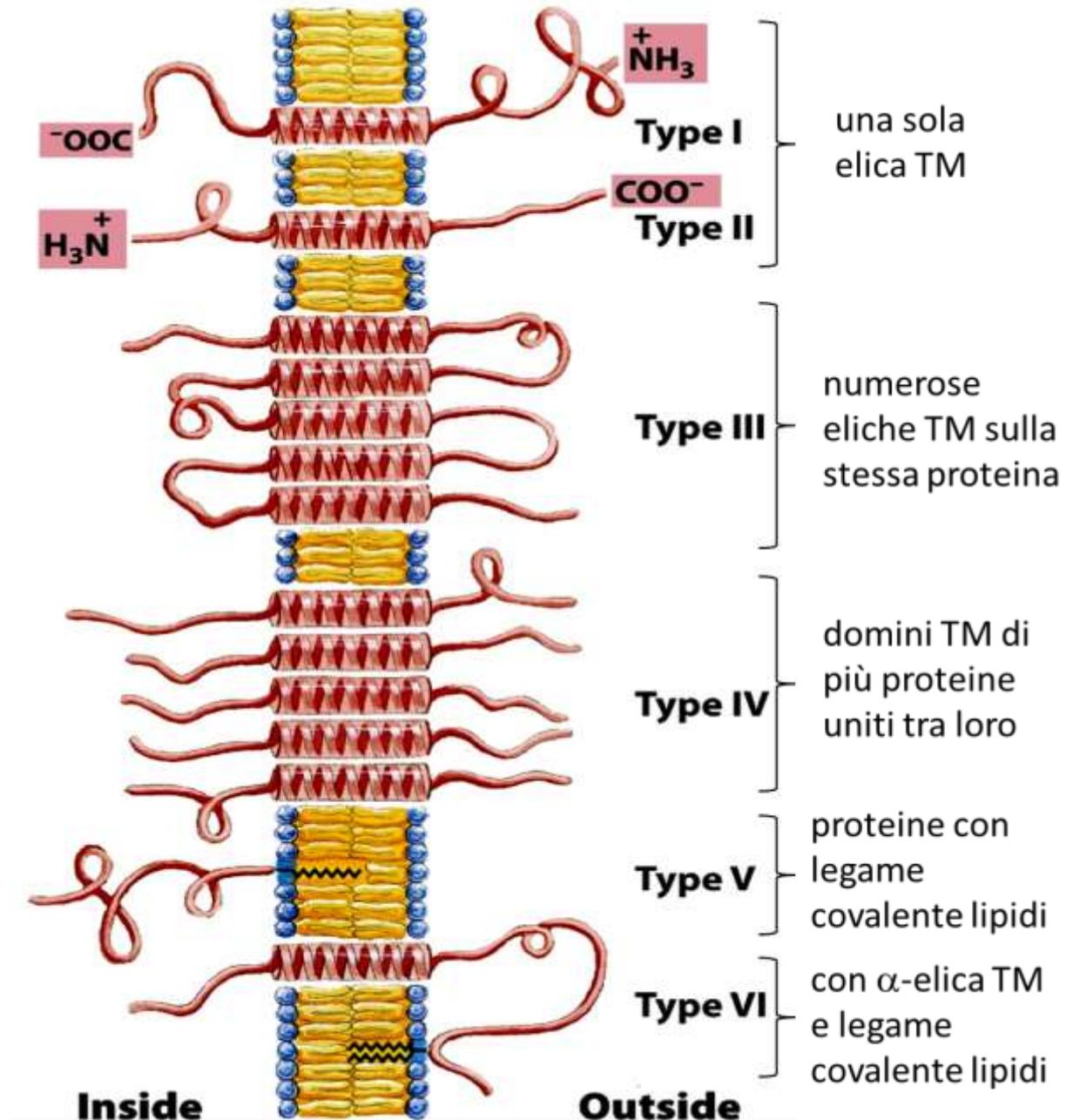
è una glicoproteina ricca in AA (serina, treonina, asparagina) legati ad oligosaccaridi (esagoni) attraverso legame covalente

è un esempio di proteina integrale con una sola sequenza idrofobica



Proteine integrali di membrana

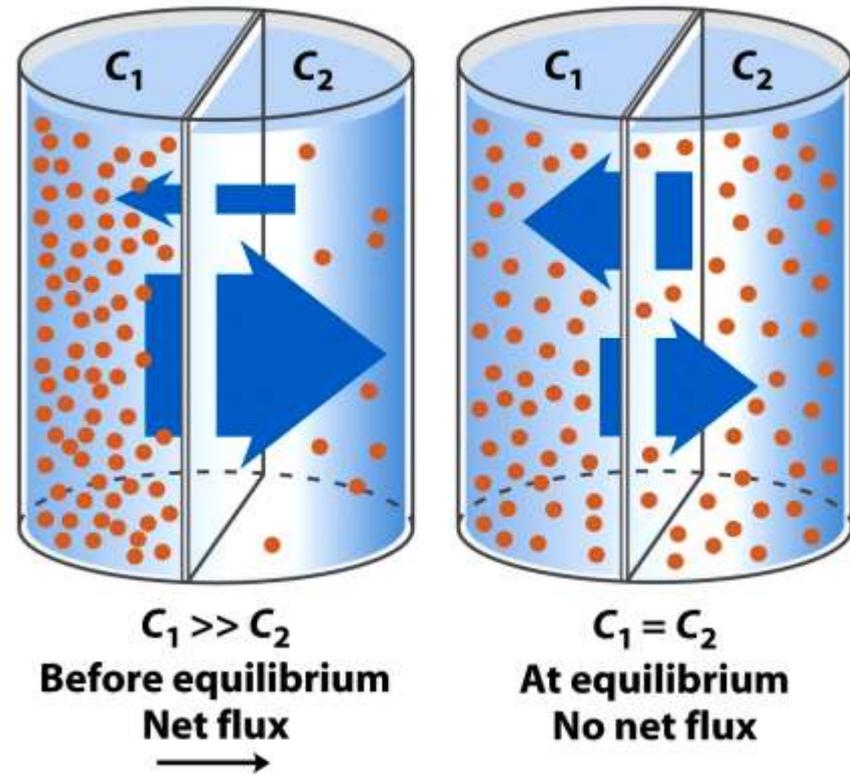
Possono avere una o numerose sequenze idrofobiche ad α -elica, lunghe abbastanza (20-25 aa) da attraversare la membrana



Movimento di soluti attraverso una membrana permeabile

Diffusione
semplice

**soliti
apolari**



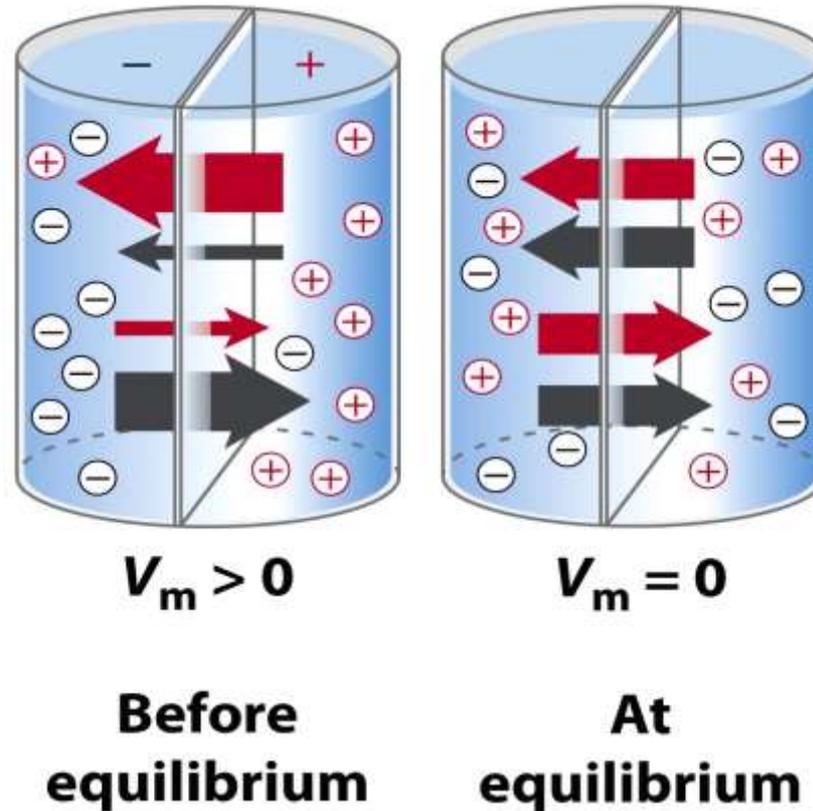
movimento netto di un **soluto elettricamente neutro** verso il lato a minore concentrazione \Rightarrow **secondo gradiente chimico di concentrazione**, fino all'equilibrio.

La velocità del movimento transmembrana (indicato dalle frecce) è proporzionale al gradiente di concentrazione.

Movimento di soluti attraverso una membrana permeabile

Diffusione
semplice

**soliti
polari**



movimento netto di un **soluto elettricamente carico** verso il lato a carica opposta \Rightarrow **secondo gradiente elettrico**, fino all'equilibrio delle cariche.

Canali



- **non sono saturabili** (se si aprono sono come l'autostrada)
- consentono il **passaggio dei soluti polari secondo gradiente**
- garantiscono **flussi molto elevati** (paragonabili alla **diffusione libera**, sono gallerie scavate nella membrana)



SALDI !!!



- garantiscono **flussi molto elevati**
(paragonabili alla diffusione libera)

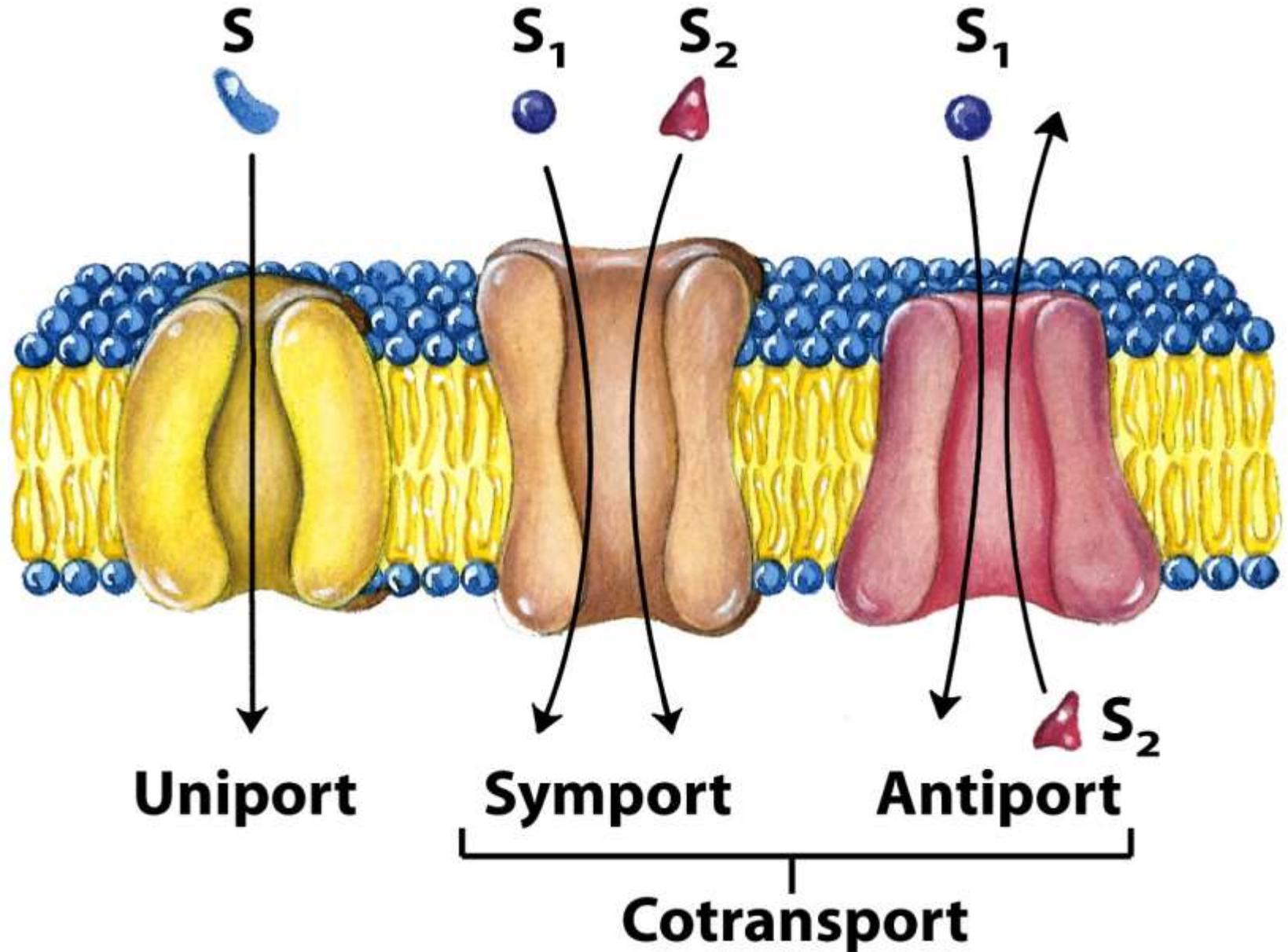
Trasportatori

- **legano soluti polari e li veicolano attraverso la membrana** (fanno il lavoro del boy-scout che accompagna la vecchietta sulle strisce pedonali)
- **sono saturabili** (entra una sola persona per volta)



SALDI ad accesso controllato

Le tre classi generali di trasportatori.



**A loro volta ognuna di loro si
suddivide in:**

**A. Trasportatori passivi: diffusione
soluti a favore di gradiente**

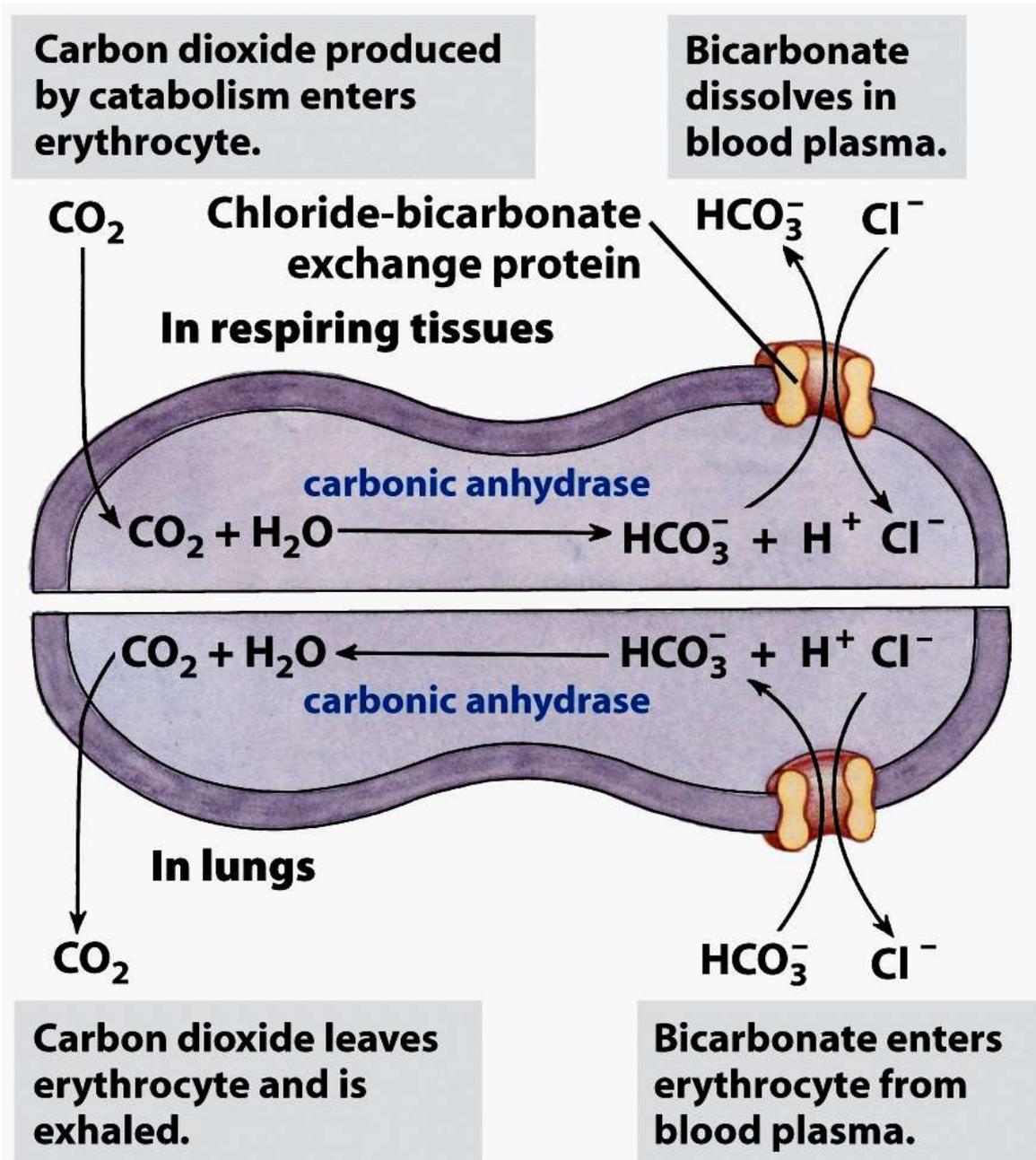
**B. Trasportatori attivi (primari e
secondari): diffusione soluti
contro gradiente**

Trasportatore passivo

Scambiatore cloruro-bicarbonato sulla membrana eritrocitaria.

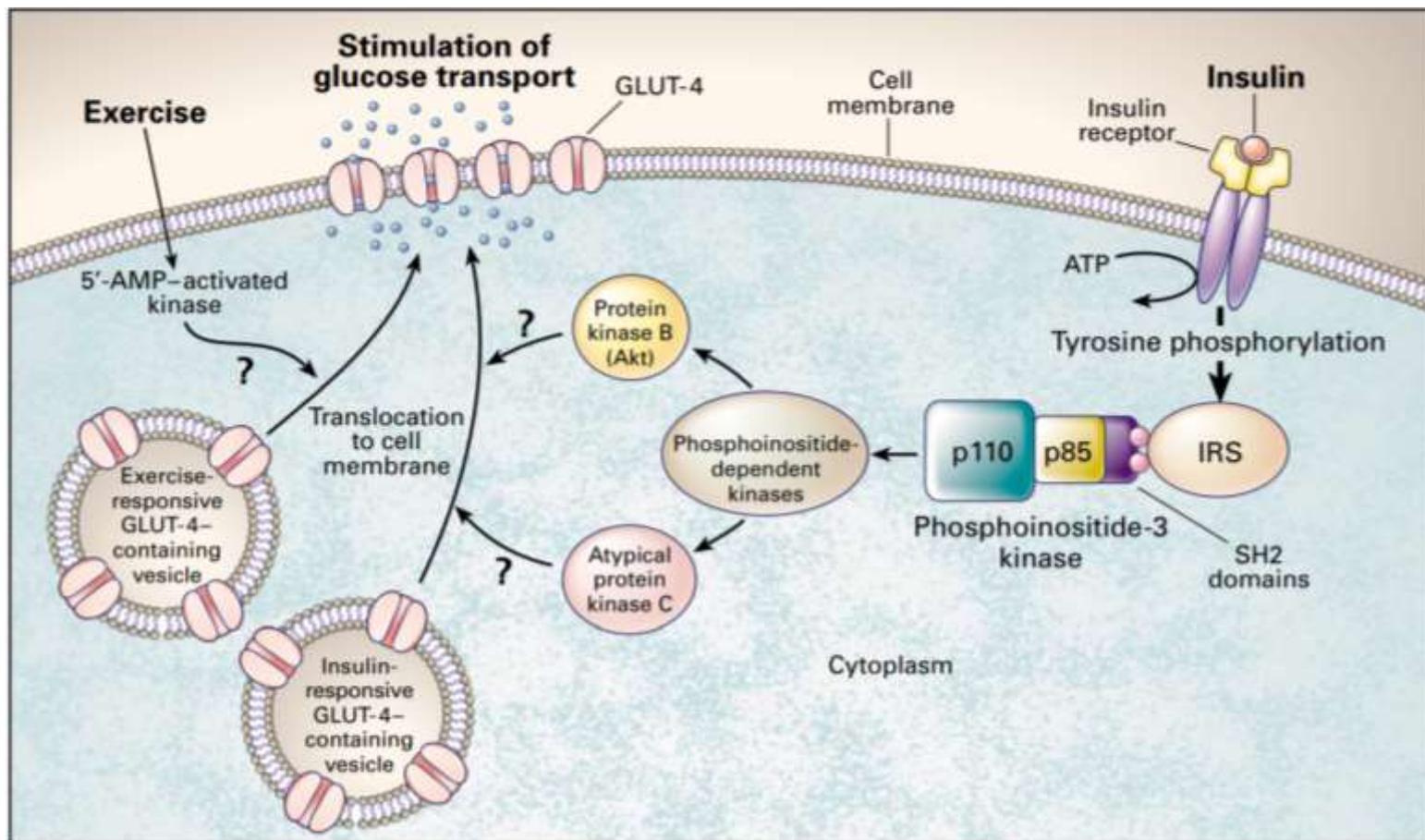
Questo sistema di anti-porto (secondo gradiente di concentrazione) permette l'entrata di ioni Cl^- e l'uscita di HCO_3^- (non modifica il potenziale di membrana).

Acidifica il citosol del globulo rosso (ha effetto sul rilascio di O_2 dall'emoglobina)



Il trasportatore del glucosio nelle fibre muscolari

Sulla superficie cellulare, GLUT4 permette la diffusione facilitata del glucosio circolante lungo il suo gradiente di concentrazione in cellule muscolari e adipose.



Tratto da: Shepherd PR and Kahn BB. N Engl J Med. 1999; 341:248-57.

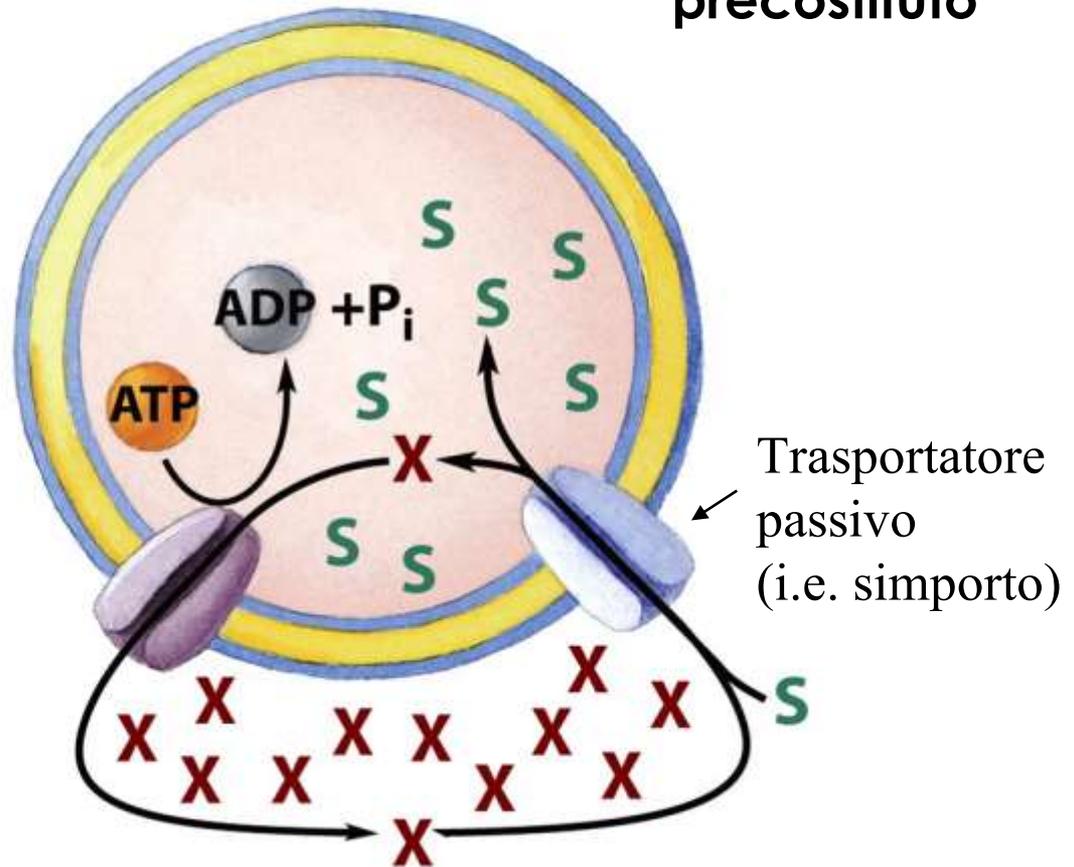
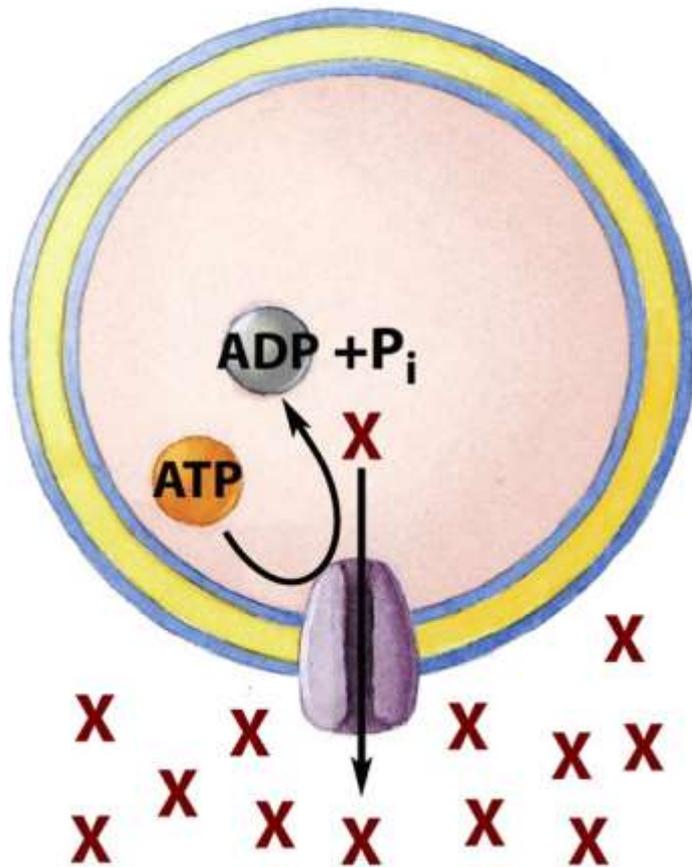
Trasportatore attivo

contro gradiente elettrochimico

Primario

Secondario

sfrutta un gradiente precostituito



Trasportatore attivo primario

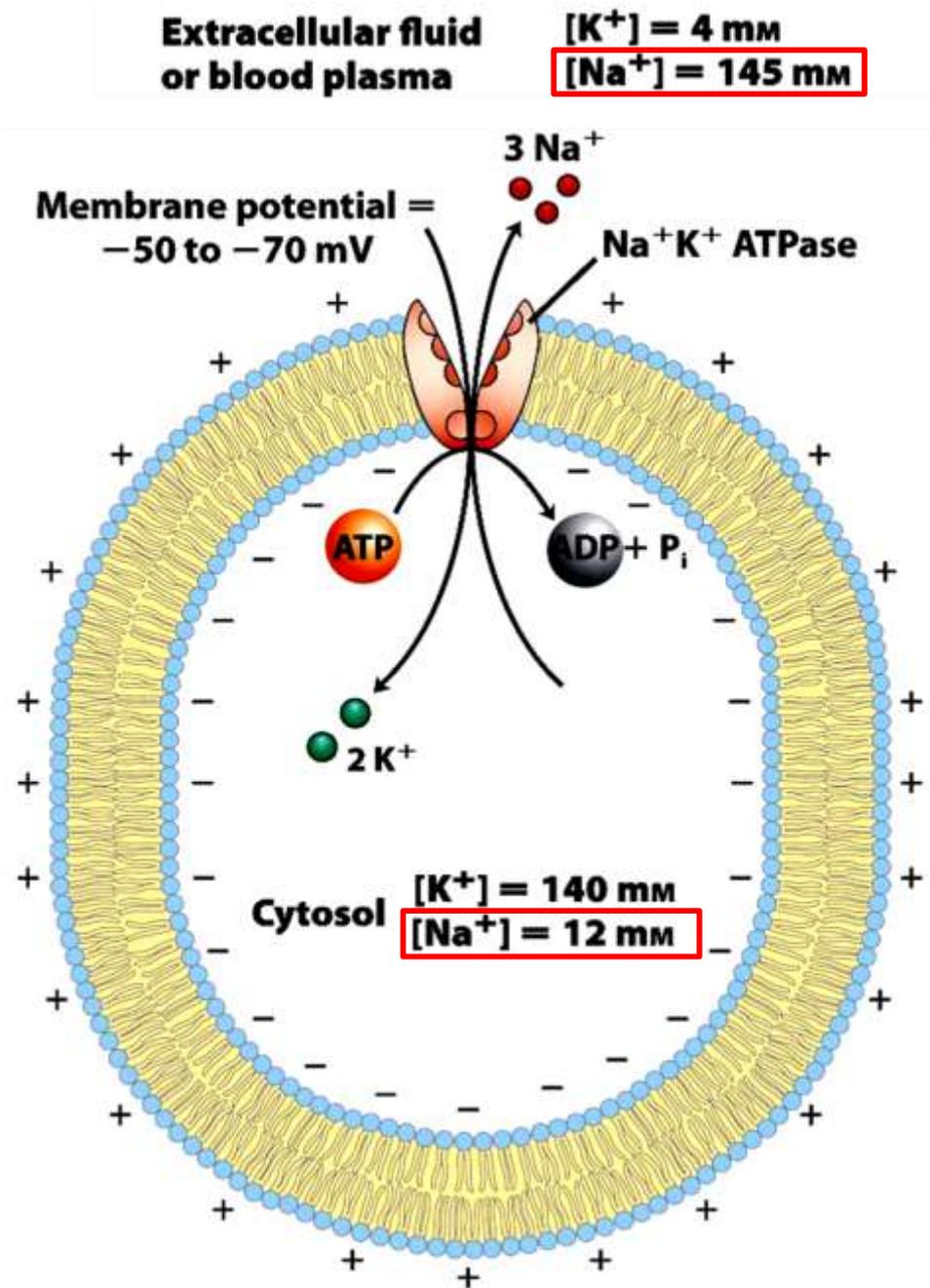
pompa Na^+/K^+

ATPasica

Trasporto K^+ e Na^+ contro gradiente

crea un gradiente elettrochimico del Na^+ e del K^+

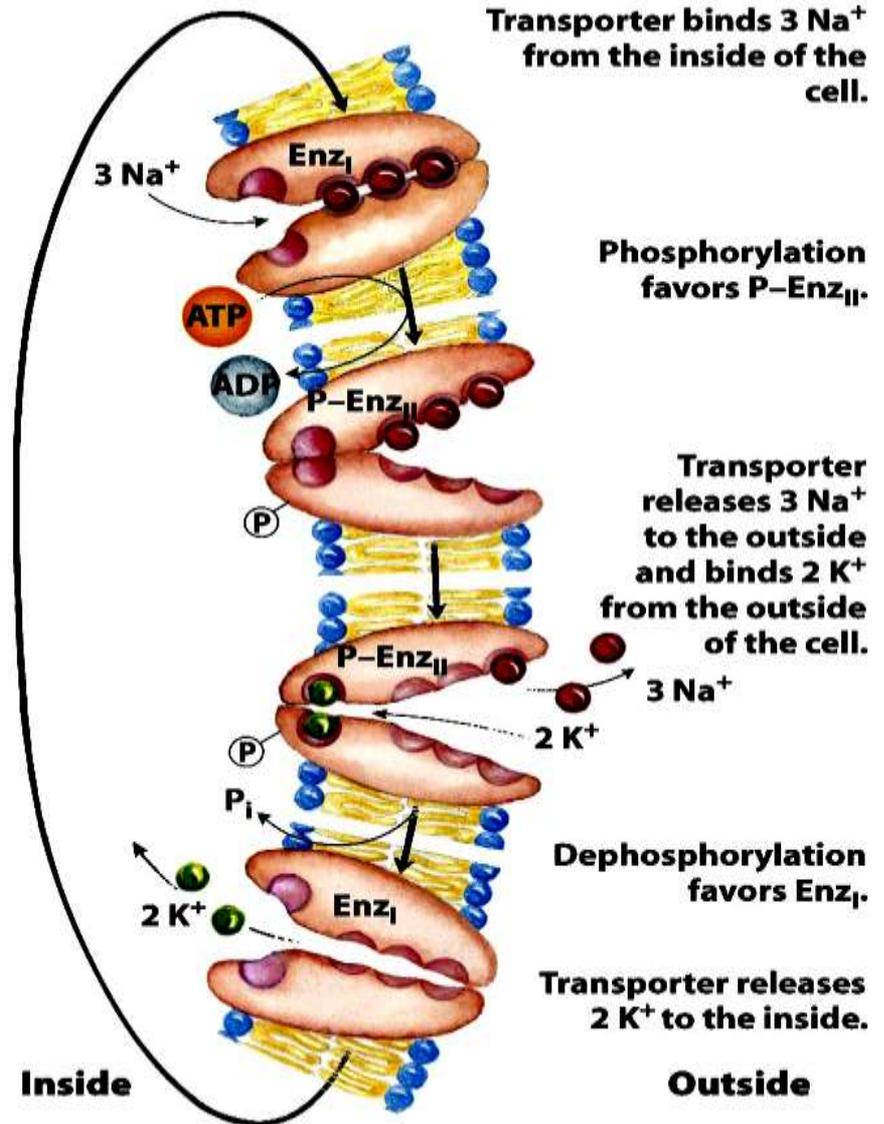
provoca la polarizzazione della membrana



Meccanismo 3x2 della pompa Na^+/K^+ ATPasica

- Sulla trasportatore prendono posto 3 Na^+
- un aa della proteina (Aspartato) viene fosforilato (idrolisi di un ATP) e il trasportatore cambia conformazione strutturale, il Na^+ viene rilasciato all'esterno;
- al suo posto entrano 2 K^+ , l'aspartato si defosforila e il trasportatore ritorna alla struttura iniziale, rilasciando il K^+ all'interno

promuove il trasporto di K^+ e Na^+ contro gradiente.



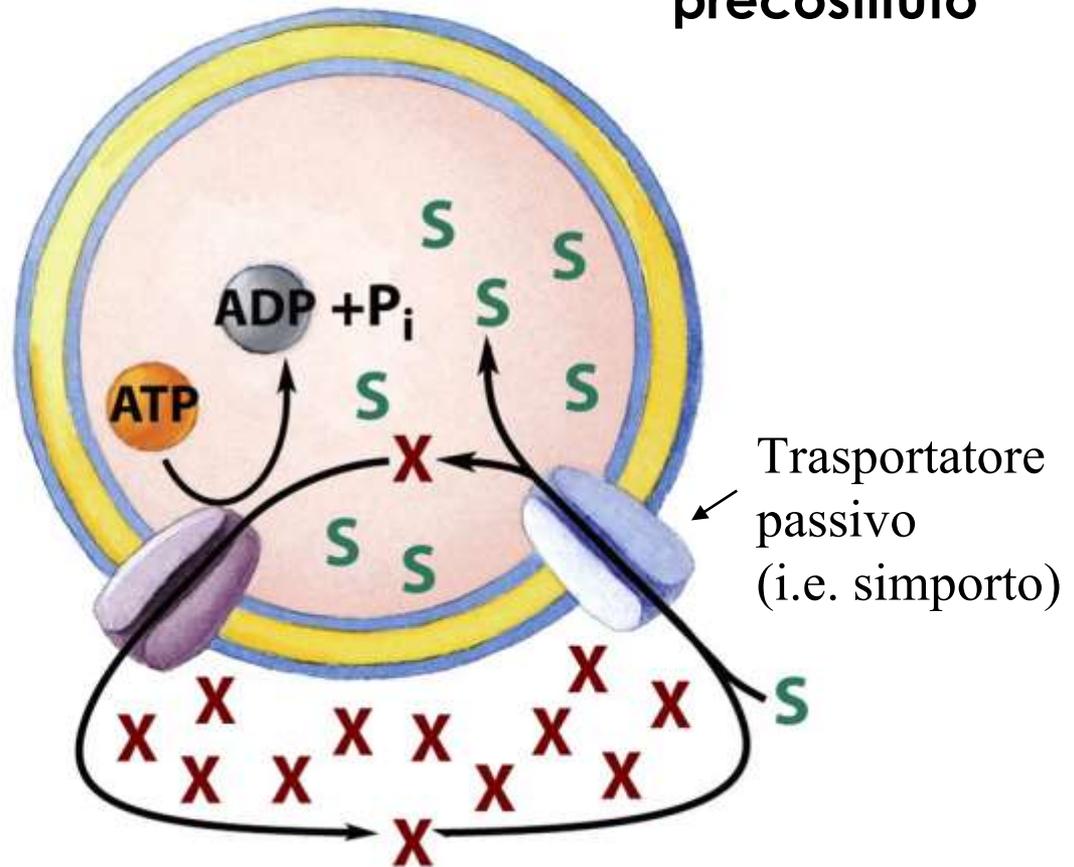
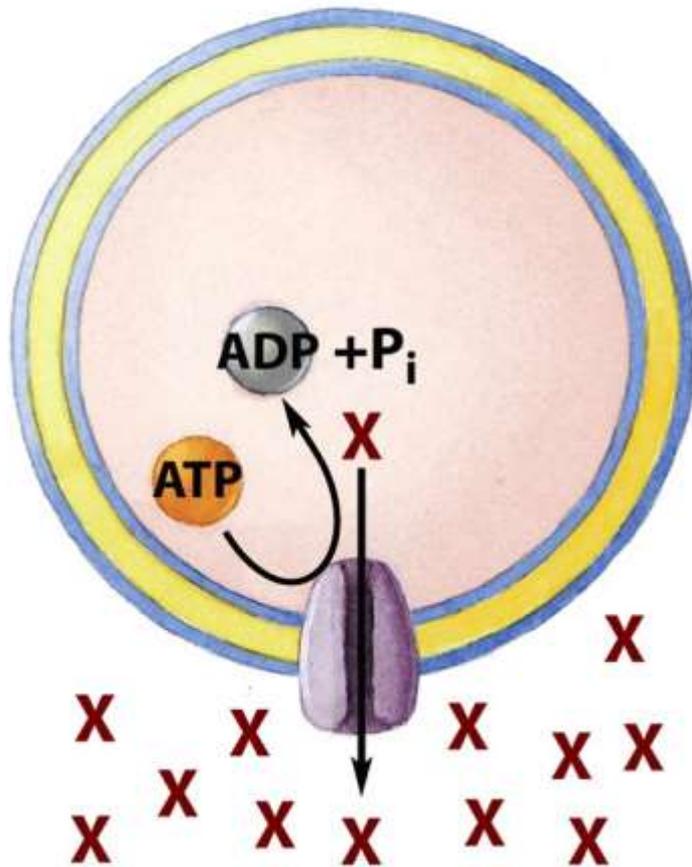
Trasportatore attivo

contro gradiente elettrochimico

Primario

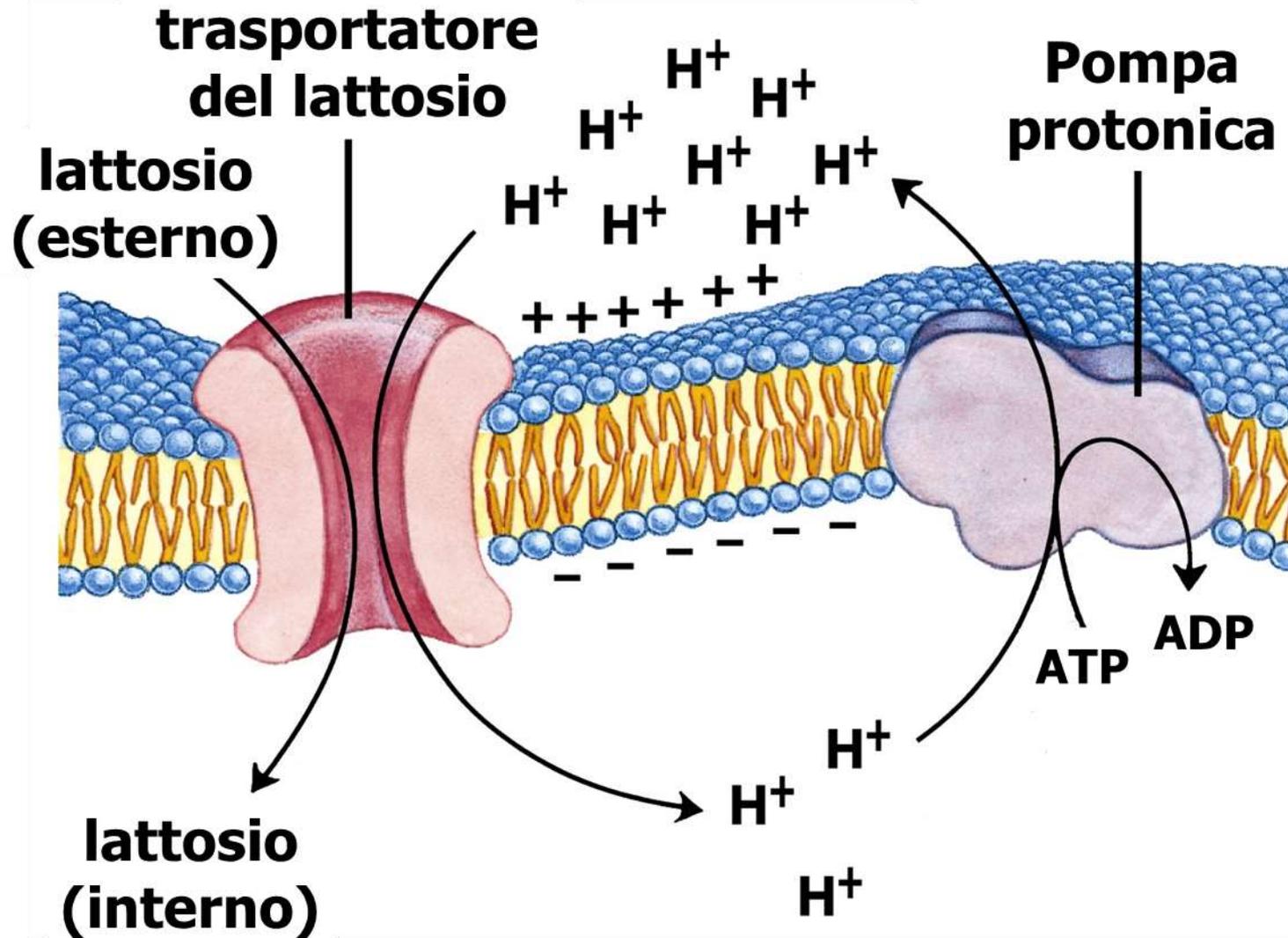
Secondario

sfrutta un gradiente precostituito



Trasportatore Attivo Secondario

Captazione del
lattosio in *E. coli*.



Esistono numerosi tipi di trasportatori del glucosio

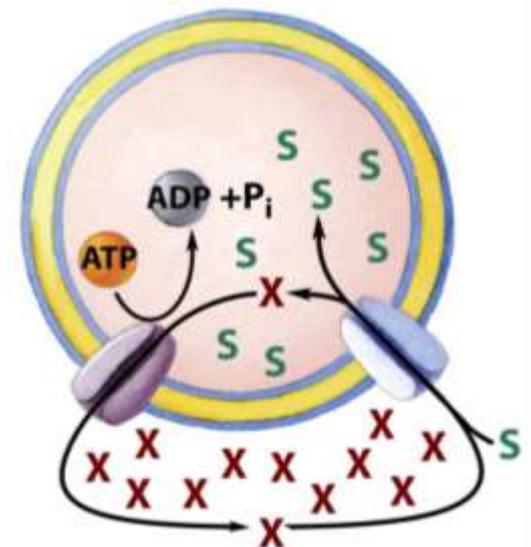
TABLE 11-3

Trasportatori del glucosio presenti nell'uomo

Transporter	Tissue(s) where expressed	Role*
GLUT1	Ubiquitous	Basal glucose uptake
GLUT2	<u>Liver</u> , <u>pancreatic islets</u> , <u>intestine</u>	In liver, removal of excess glucose from blood; in pancreas, regulation of insulin release
GLUT3	Brain (neuronal)	Basal glucose uptake
GLUT4	<u>Muscle</u> , <u>fat</u> , <u>heart</u>	Activity increased by insulin

Trasportatori passivi

Nel rene - trasporto attivo secondario del glucosio
 → il GLUT2 cotrasporta glucosio e sodio (simporto): il sodio (uscito grazie alla pompa Na/K ATPasica) rientra nelle cellule secondo gradiente e cotrasporta il glucosio controgradiente



I canali ionici sono + veloci dei trasportatori, non sono saturabili, sono aperti o chiusi in risposta a eventi cellulari (ligandi, Δ potenziale di membrana).

Es. Recettore canale dell'acetilcolina,

Canali ionici difettosi possono causare patologie.

Ion channel	Disease
Na ⁺ (voltage-gated, skeletal muscle)	Hyperkalemic periodic paralysis (or paramyotonia)
Na ⁺ (voltage-gated, neuronal)	Generalized epilepsy with febrile seizures
Na ⁺ (voltage-gated, cardiac muscle)	Long QT syndrome 3 ARITMIA
Ca ²⁺ (neuronal)	Familial hemiplegic migraine
Ca ²⁺ (voltage-gated, retina)	Congenital stationary night blindness
Ca ²⁺ (polycystin-1)	Polycystic kidney disease
K ⁺ (neuronal)	Dominant deafness
K ⁺ (voltage-gated, neuronal)	Benign familial neonatal convulsions
Nonspecific cation (cGMP-gated, retinal)	Retinitis pigmentosa
Acetylcholine receptor (skeletal muscle)	Congenital myasthenic syndrome
Cl ⁻	Cystic fibrosis

Materiale didattico di supporto

- Materiale delle lezioni sarà reperibile nel minisito dell'insegnamento; esso è utile come traccia degli argomenti svolti, ma non sostituisce il libro di testo
- Piattaforma on line Moodle: approfondimenti e test di autovalutazione

Raccomandazione importante: Il materiale delle lezioni è per USO PERSONALE dello studente iscritto al corso di Biochimica per le Scienze Motorie UniFE ed è fatto divieto di diffonderlo in qualsiasi maniera, potendo contenere immagini/filmati per i quali valgono i diritti di copyright.

