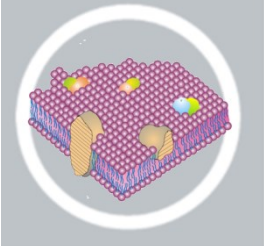


Modulo 6A

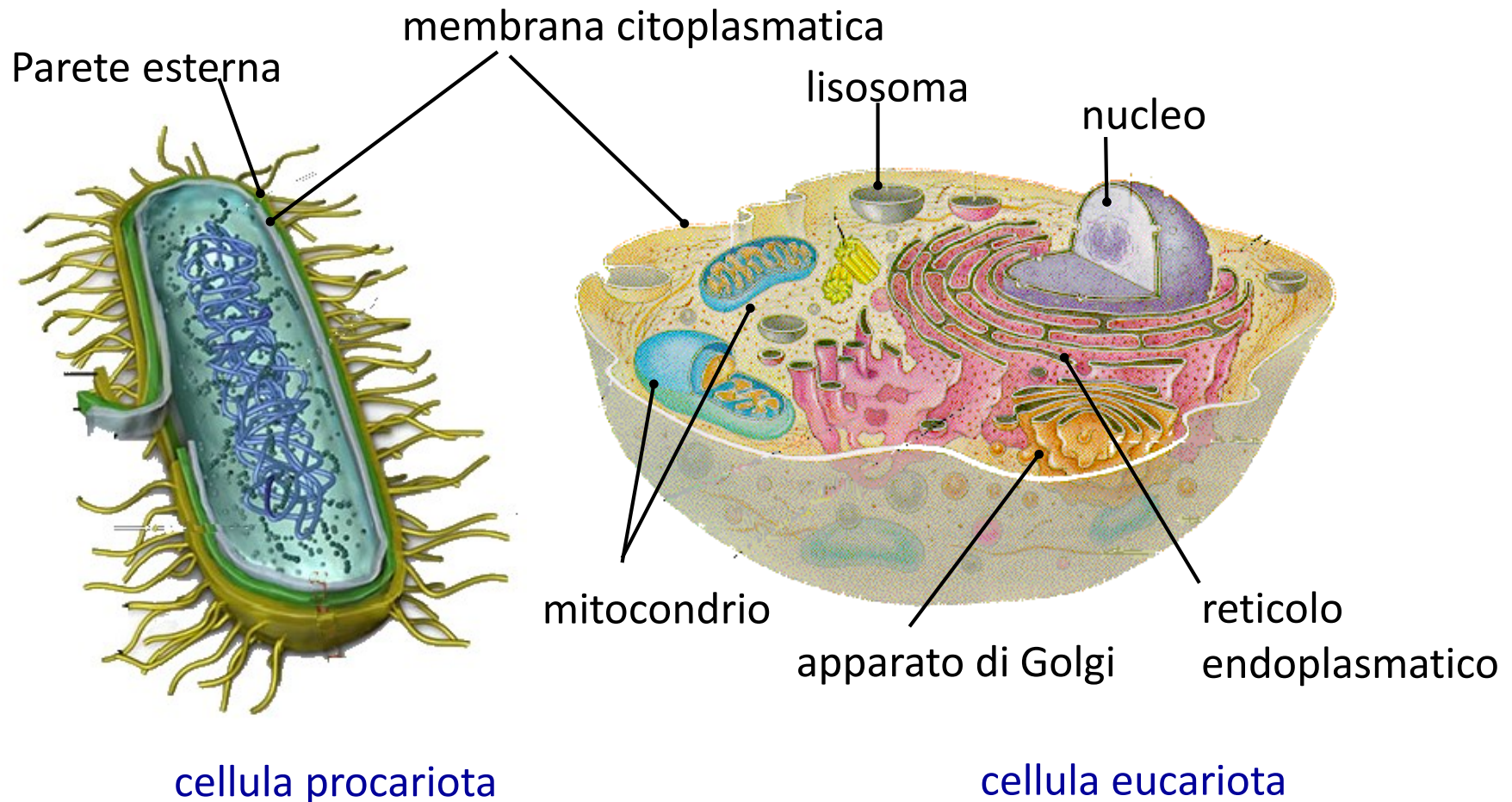
Membrane biologiche



2022-23

# Le membrane biologiche

- ▶ Le membrane biologiche sono una componente fondamentale delle pareti cellulari :
  - nelle cellule eucariotiche delimitano anche i compartimenti intracellulari (nucleo, reticolo endoplasmatico, mitocondri, ecc.)



# Funzioni delle membrane biologiche

► Le membrane biologiche hanno diverse importanti funzioni:

## 1) Permeabilità Selettiva

- **separano il citosol dall'ambiente esterno** e lo proteggono da sostanze tossiche
- **permettono l'accumulo di nutrienti cellulari e ioni**, evitando la dispersione di metaboliti
- **permettono la formazione di gradienti chimici ed elettrochimici** (potenziali elettrici)
- **separano i compartimenti interni**

## 2) Comunicazione intercellulare

- sistemi proteici associati alla membrana permettono la **trasduzione e la generazione di segnali chimici**

## 3) Conversione Di Energia

- sistemi proteici associati alla membrana (plasmatica nei procarioti, mitocondriale negli eucarioti) producono **gradienti protonici transmembrana** usati da altri complessi proteici **per produrre ATP**

## 4) Locomozione Cellulare

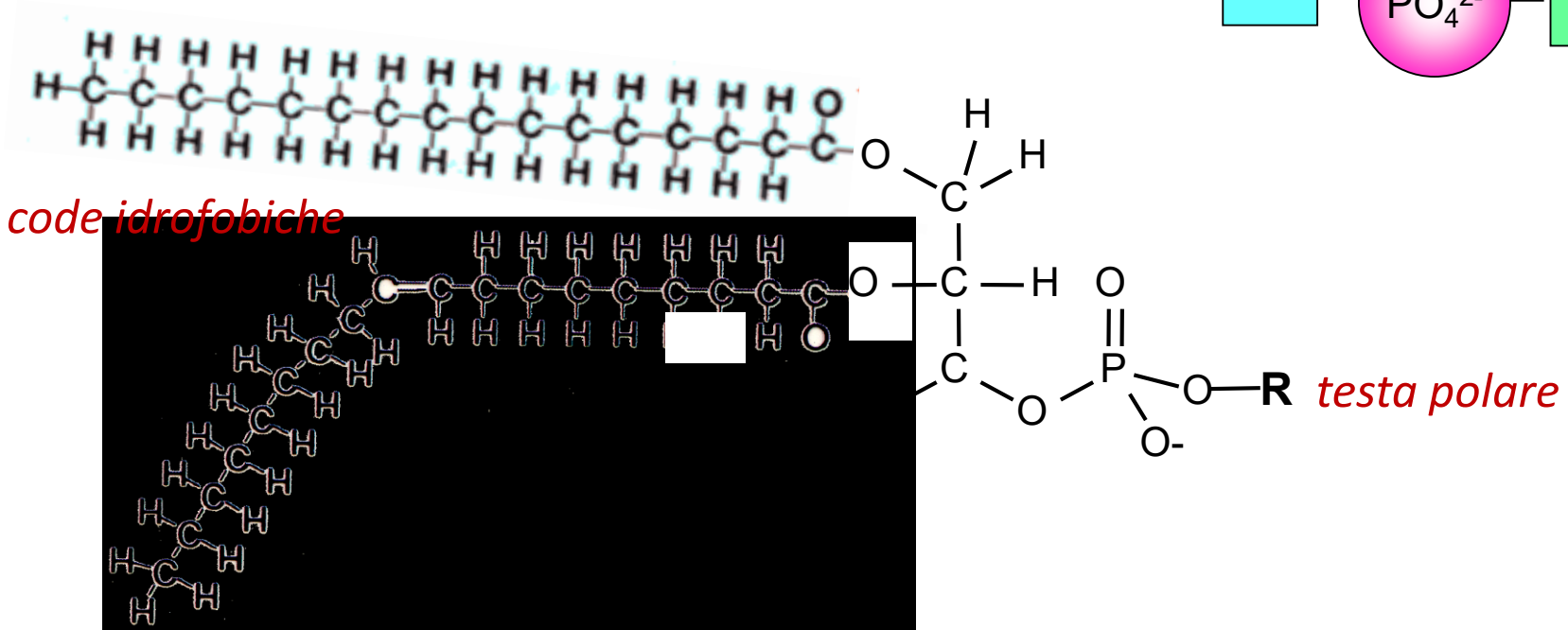
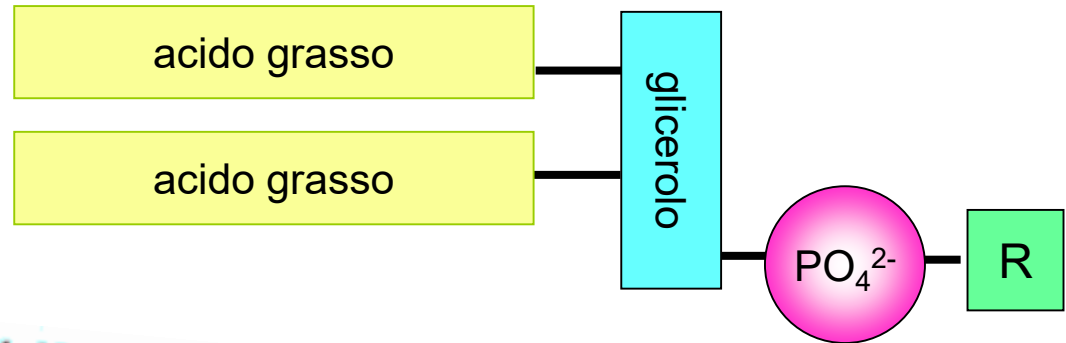
- le membrane di alcune cellule sono dotate di sistemi proteici che **convertono energia (ATP) in movimento**

# Componenti lipidici delle membrane: i fosfolipidi

► Molecole anfipatiche formate da due 'code' idrofobiche e una 'testa' polare fosforilata legate ad una molecola di glicerolo

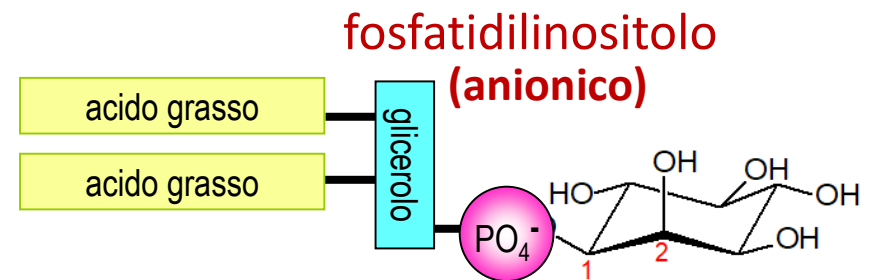
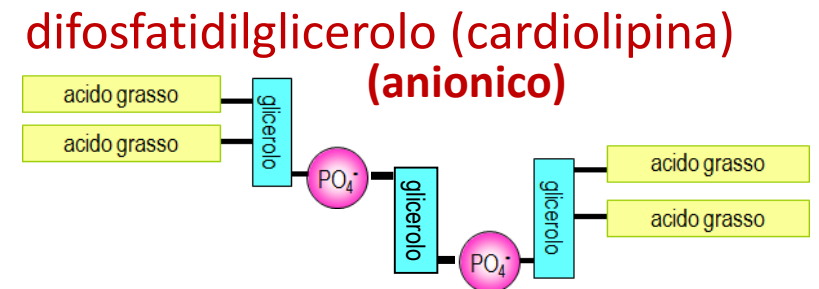
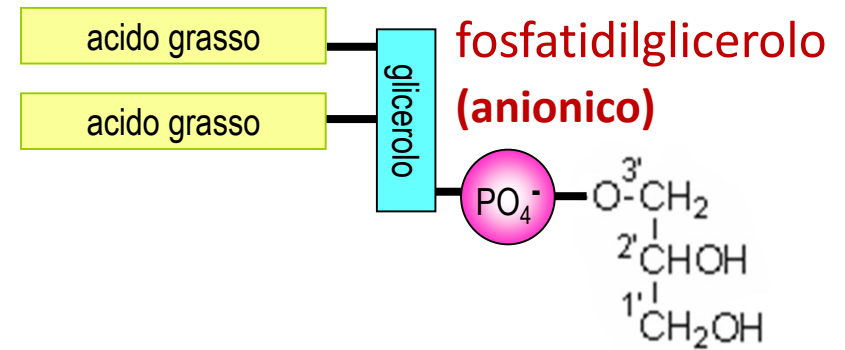
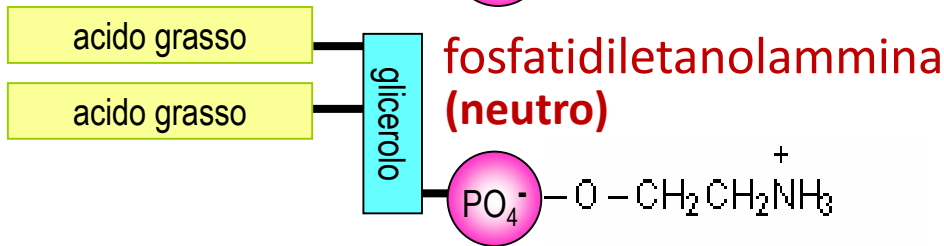
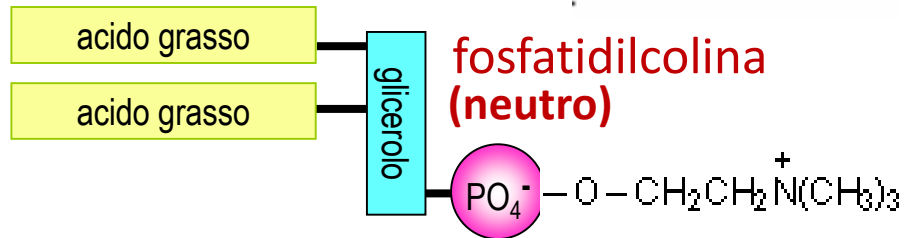
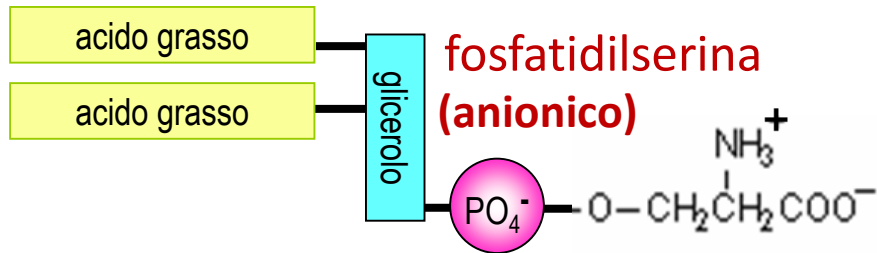
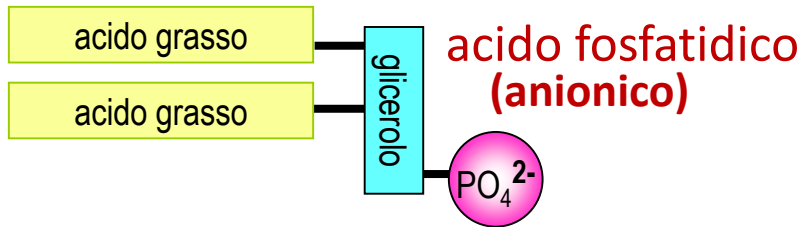
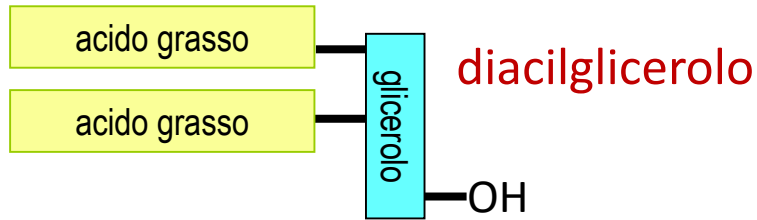
- le **code idrofobiche** sono **acidi grassi saturi** o **insaturi**
- la **testa polare** può essere serina colina, etanolamina, inositolo o glicerolo

STRUTTURA  
GENERALE



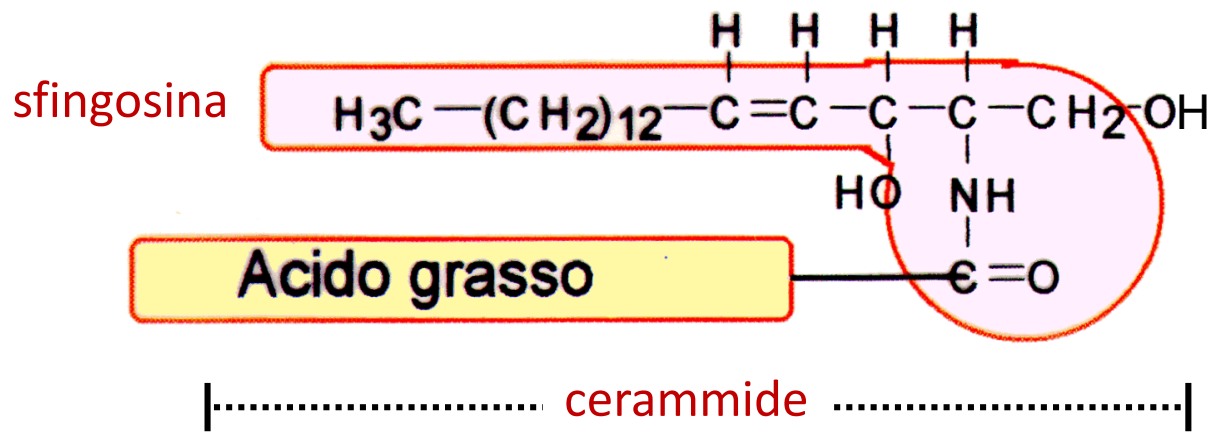
# Diversi tipi di fosfolipidi

► L'unità costitutiva del fosfolipide è l'acido fosfatidico (poco abbondante) al quale è connessa la testa da un legame fosfodiester



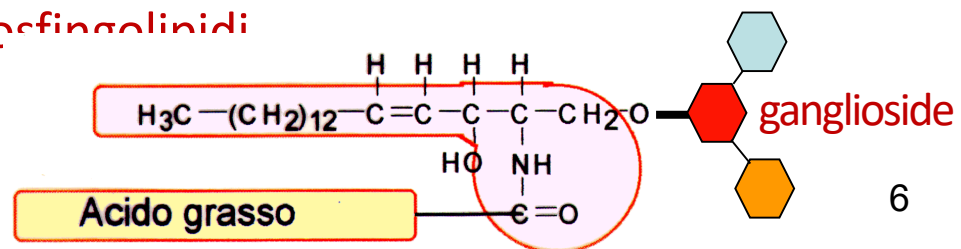
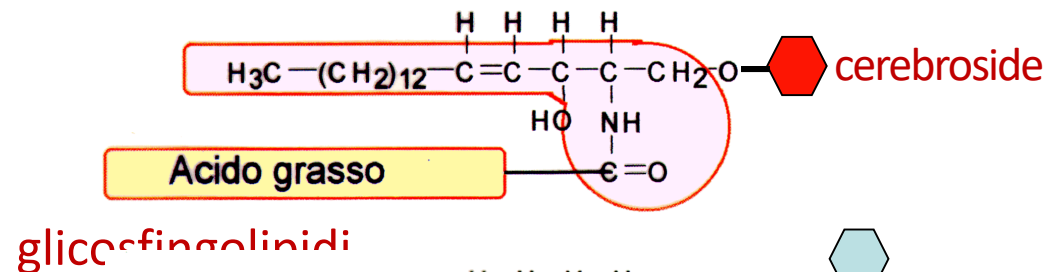
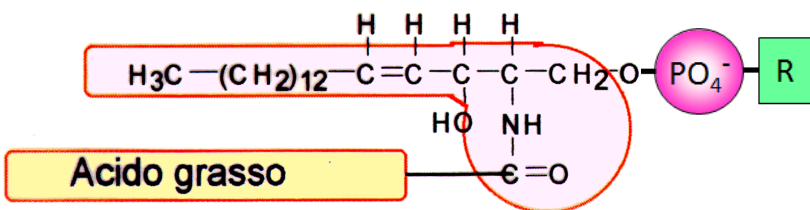
# Componenti lipidici delle membrane: glicolipidi e sfingolipidi

- ▶ Molecole anfipatiche con una coda lipidica formata da acido grasso legato alla sfingosina
- l'acido grasso e sfingosina sono legati da un legame ammidico per formare il ceramide



- Il ceramide può formare un legame fosfodiester con colina o etanolamina (sfingomieline) oppure forma un legame glicosidico con uno zucchero o oligosaccaride (glicosfingolipidi)

sfingomielina (R = colina, etanolamina)

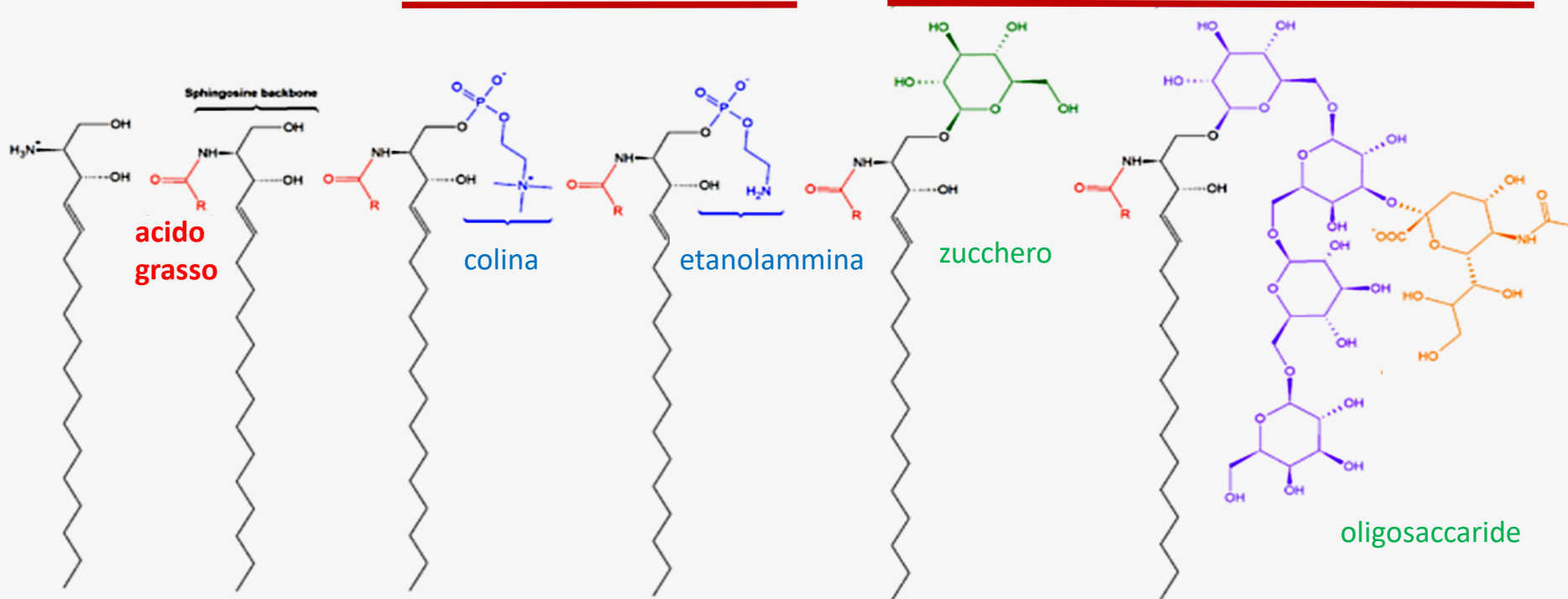


# Componenti lipidici delle membrane: glicolipidi e sfingolipidi

- ▶ Gli sfingolipidi hanno ruoli importanti nella trasduzione del segnale e riconoscimento cellulare.
  - aumentano la stabilità del foglietto esterno e partecipano nella formazione di domini di membrana. Sono importanti nelle membrane delle cellule neuronali.

## fosfosfingolipidi

## glicosfingolipidi



sfingosina    ceramide

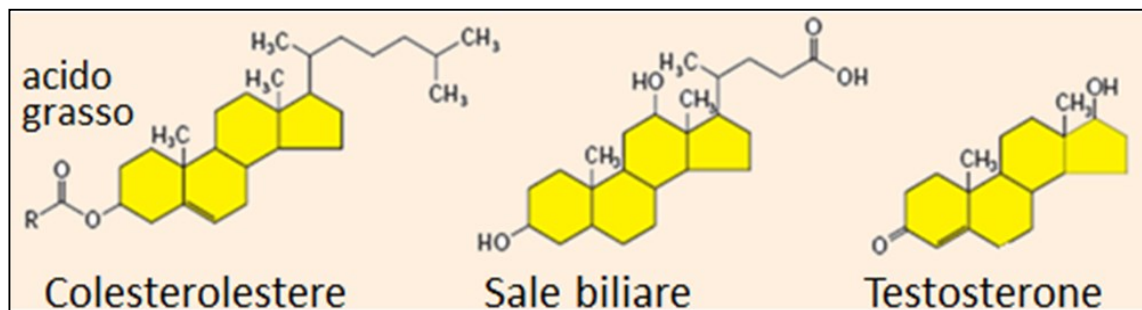
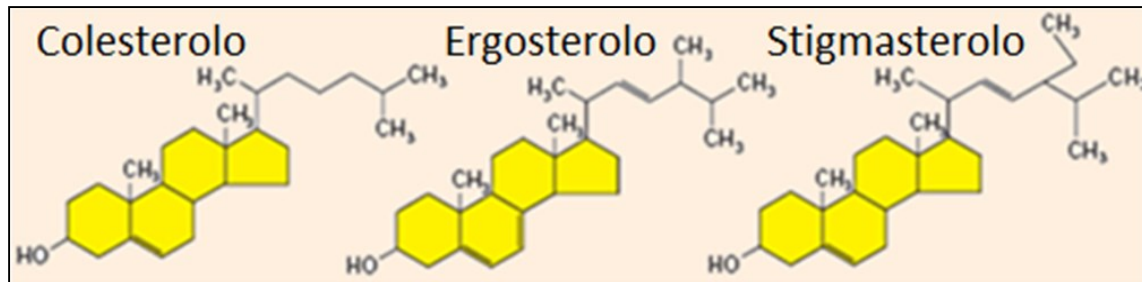
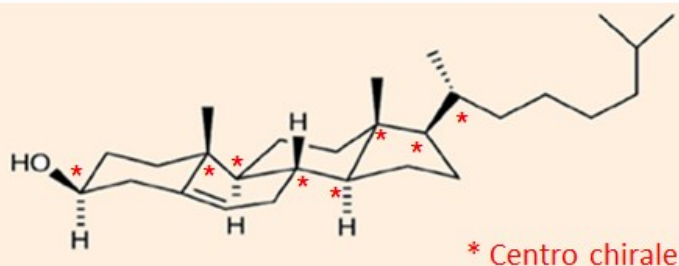
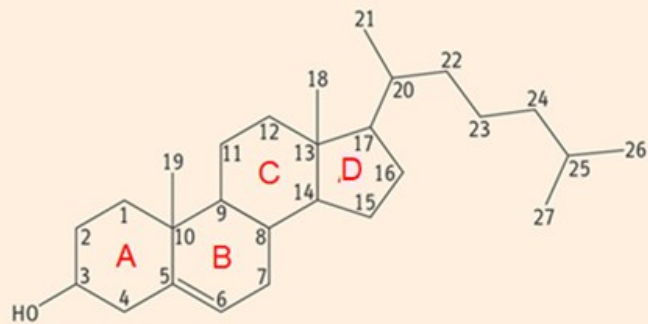
sfingomieline

ganglioside

cerebroside

# Componenti lipidici delle membrane: colesterolo

- ▶ Il colesterolo è una molecola idrofobica formata da 27 C disposti in 4 anelli, con un solo gruppo polare (OH). La struttura ha numerosi centri chirali e non è planare
- modula la struttura delle membrane biologiche in molteplici modi (modificando la sua fluidità, lo spessore, la compressibilità, e la curvatura)
- molecole simili sono presenti in piante (stigmasterolo) e funghi (ergosterolo)
- è convertito in **colesterolestere (CLE)**, legandolo ad un acido grasso, per il trasporto
- oltre al ruolo nelle membrane, dal colesterolo derivano anche i **sali biliari**, diversi **ormoni steroidei** (es.testosterone), i **glucocorticoidi** e la **vitamina D**



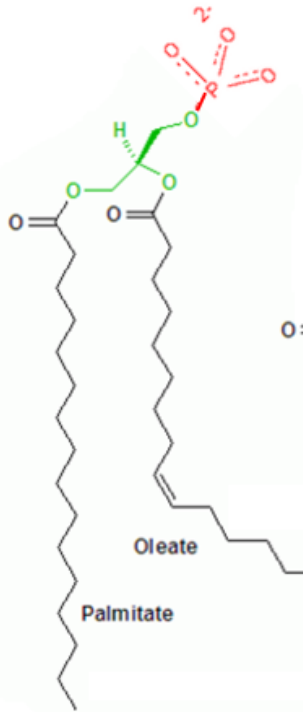


# Componenti lipidici delle membrane: scheda riassuntiva

## fosfolipidi

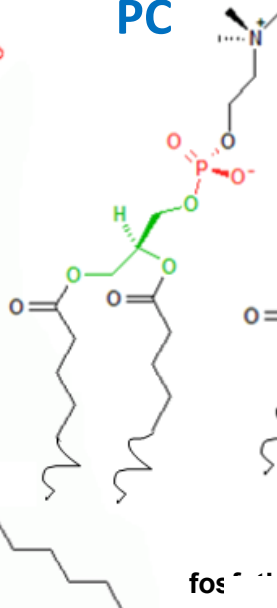
## sfingolipidi

acido fosfatidico



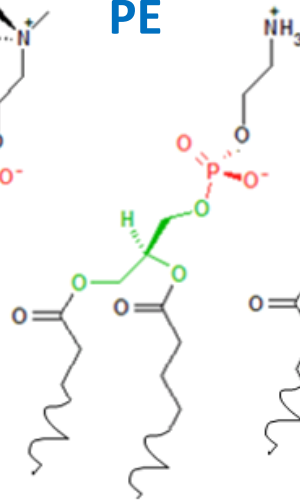
fosfatidilcolina

**PC**



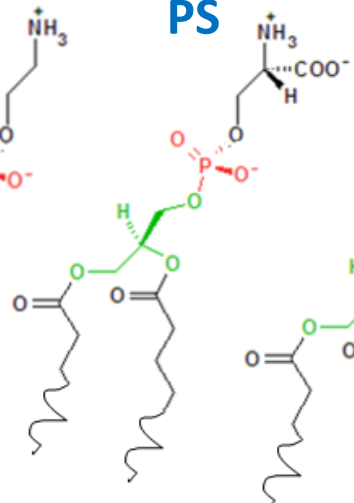
fosfatidiletanolamina

**PE**



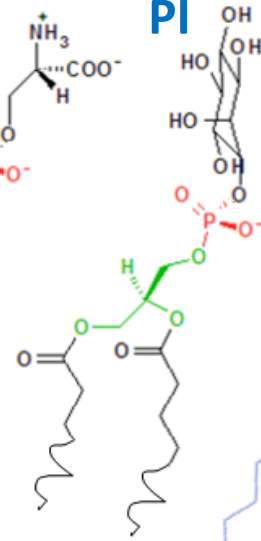
fosfatidilserina

**PS**



fosfatidilinositolo

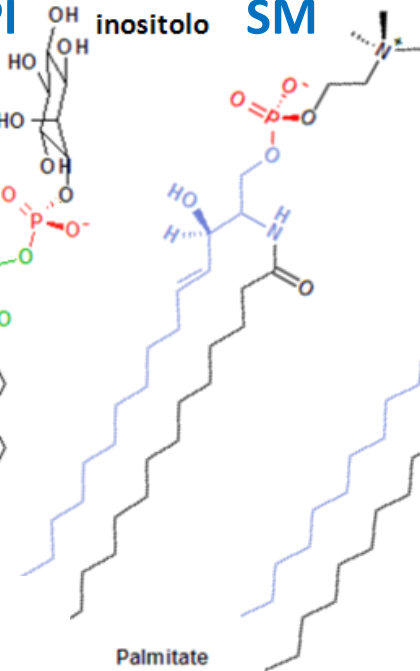
**PI**



inositolo

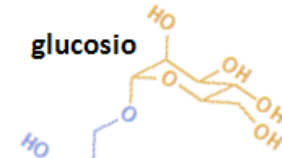
sfingomiolina

**SM**



glucosilcerebroside

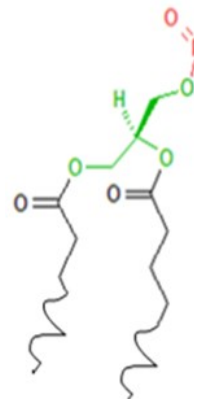
glucosio



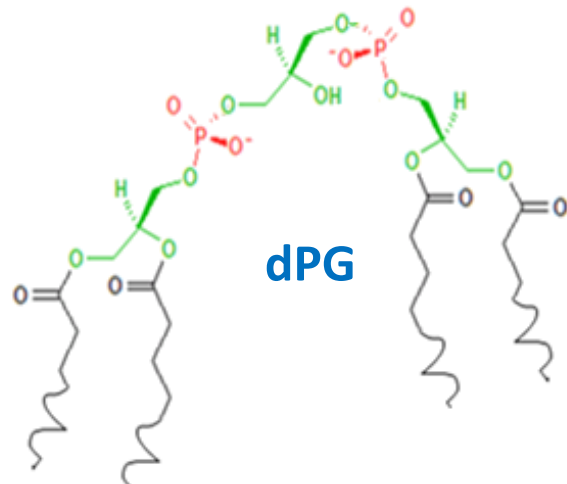
glicolipide

**GL**

**PG**

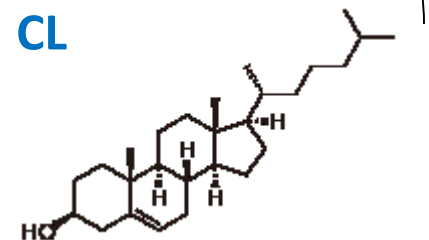


**dPG**



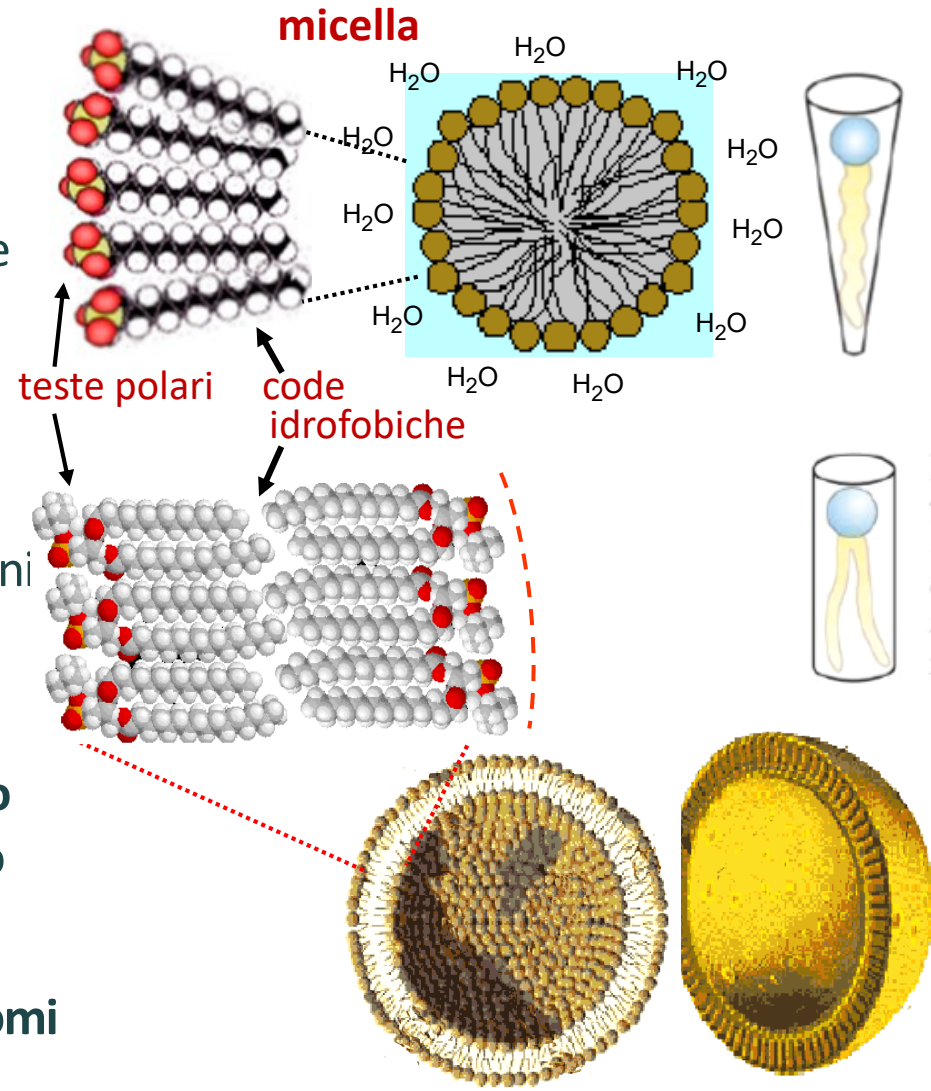
colesterolo

**CL**



# STRUTTURA DELLE MEMBRANE

- ▶ Le membrane si formano per associazione spontanea delle molecole fosfolipidiche anfipatiche in un doppio strato lipidico (*phospholipid bilayer*)
  - si formano a causa di **interazioni non-covalenti** (idrofobiche e di VDW per le code, legami H ed elettrostatici per le teste).
  - le **micelle** formate dal **dodecil solfato** (SDS, lauril solfato), sono un semplice modello di associazione spontanea di molecole lipidiche
  - La micella ha una **superficie polare** ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) e un **nucleo (core) idrofobico** (catena C12)
  - I fosfolipidi non possono formare le superfici altamente ricurve come le micelle) per ragioni steriche; avrebbero un nucleo con  $\text{H}_2\text{O}$  a contatto catene le C12 (non ammesso)
  - Per questa ragione si forma un **doppio strato lipidico**, con una superficie polare all'esterno (teste polari) e un'altra all'interno.
  - I fosfolipidi formano spontaneamente **liposomi**

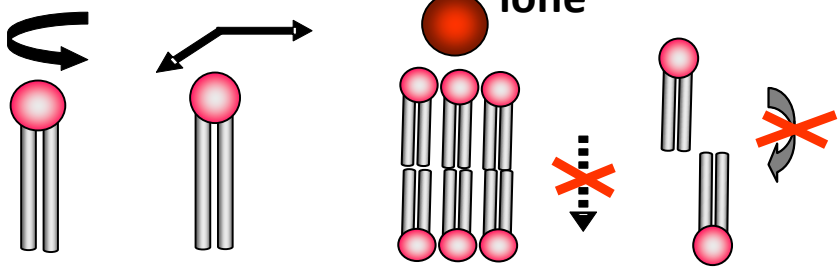
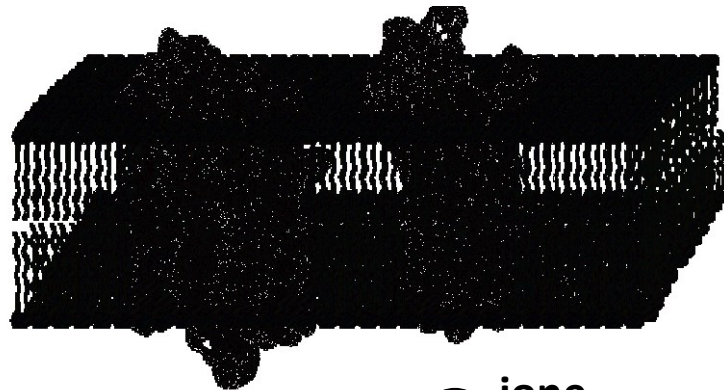


# Struttura delle membrane: modello a Mosaico Fluido

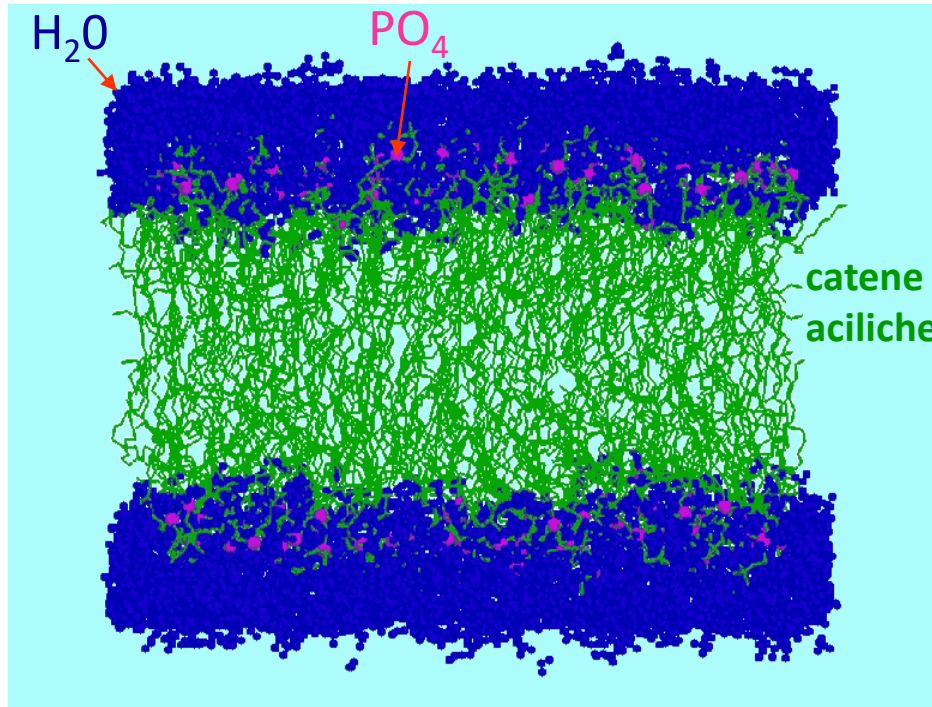
► Nel 1972 Singer e Nicholson proposero che le membrane non fossero strutture statiche:

“Le membrane biologiche sono soluzioni bidimensionali di lipidi e proteine globulari orientati”

- le molecole lipidiche sono **libere di muoversi** (ruotare su se stesse o migrare lateralmente) come anche le proteine (più lentamente), ma **non possono passare da un lato all'altro** del doppio strato lipidico (sono orientate) perché le parti polari non possono entrare nello strato lipidico



<b>rotazione</b>	<b>diffusione laterale</b>	<b>traslocazione</b>	<b>flip/flop</b>
SI	SI	NO	NO
molto rapida (ns)	1 $\mu\text{m/s}$		giorni



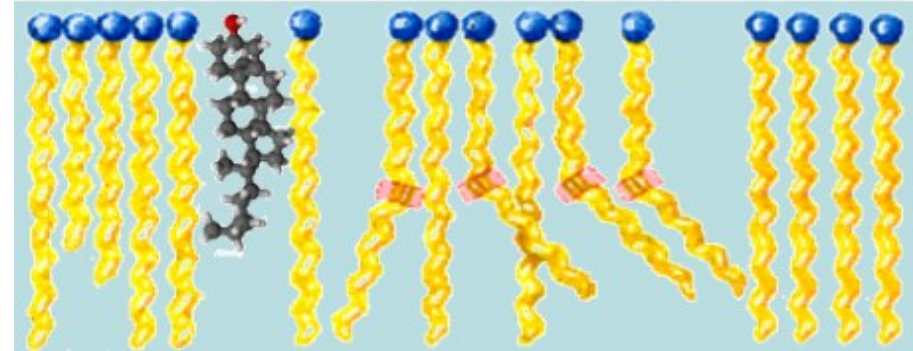
La struttura delle membrane è DINAMICA, non statica

# Caratteristiche delle membrane biologiche

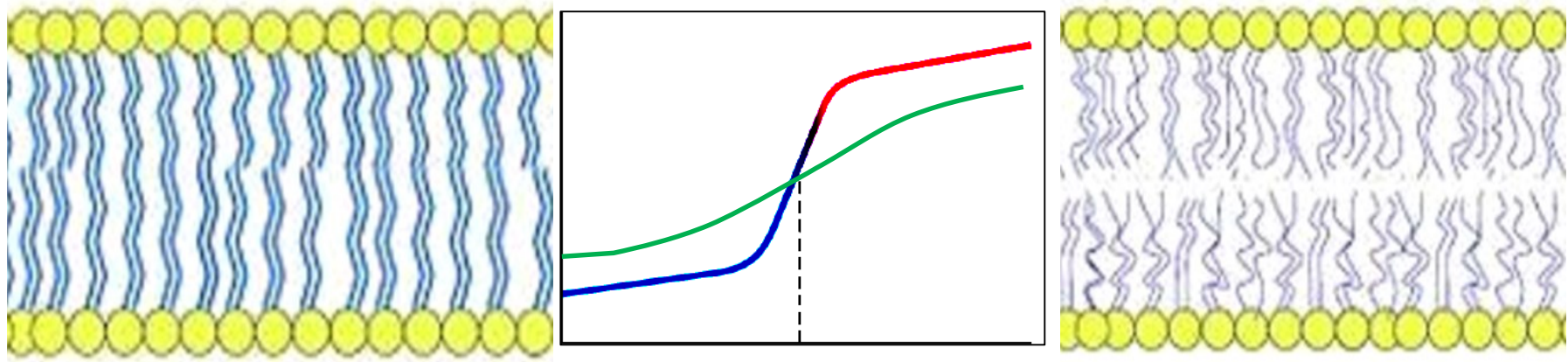
## ► Le membrane biologiche sono strutture fluide

- la fluidità ( $\Phi$ ) dipende da:

- 1) Lunghezza delle catene aciliche (  $l \uparrow \Phi \downarrow$  )
- 2) Grado di insaturazione (  $\text{—//—} \uparrow \Phi \uparrow$  )
- 3) Temperatura (  $T \uparrow \Phi \downarrow$  )
- 4) Colesterolo (  $CL \uparrow \Phi \leftrightarrow$  )



## ► La fluidità della membrana è riflessa nella sua temperatura di fusione (*melting T* o $T_M$ )



FASE CRISTALLINA (GEL)

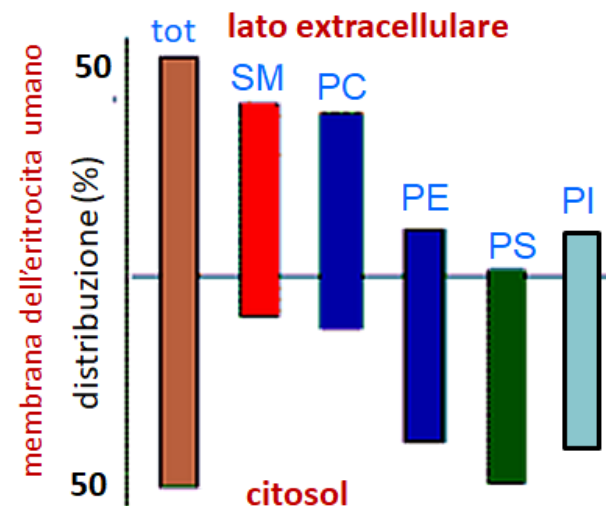
$T_M$  (°C)

FASE LIQUIDO-CRISTALLINA

# Caratteristiche delle membrane biologiche

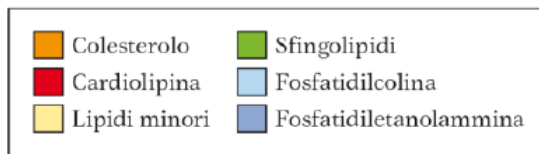
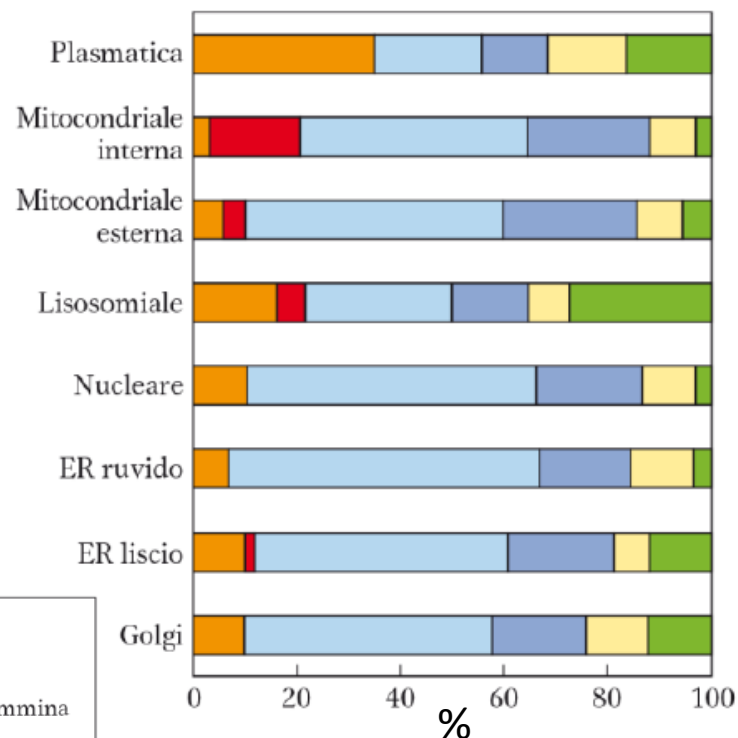
## ▶ Le membrane biologiche hanno strutture ASIMMETRICHE

- proteine e glicolipidi hanno un **orientamento assoluto** (oligosaccaridi sempre esterni)
- anche i **fosfolipidi** tendono ad essere **disposti in maniera asimmetrica**
- le membrane sono biosintetizzate **aggiungendo componenti a membrane preesistenti** e ne **mantengono l'asimmetria**



## ▶ La composizione lipidica varia in base alla funzione

- La composizione **varia nei diversi compartimenti**
- per es. La membrana interna mitocondriale ha un elevato contenuto proteico perché i macchinari per la produzione di energia sono localizzati nella membrana (flusso  $e^-$  mitocondriale, ATP sintasi sistemi di trasporto)

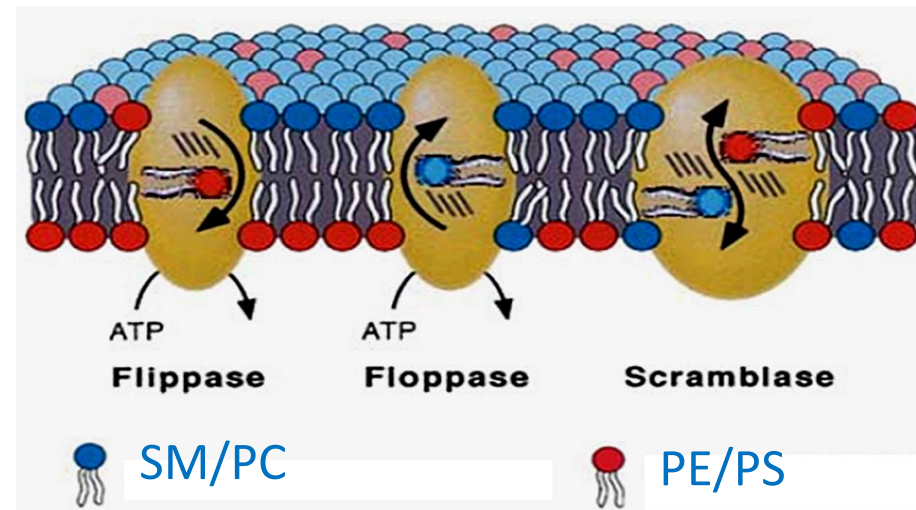
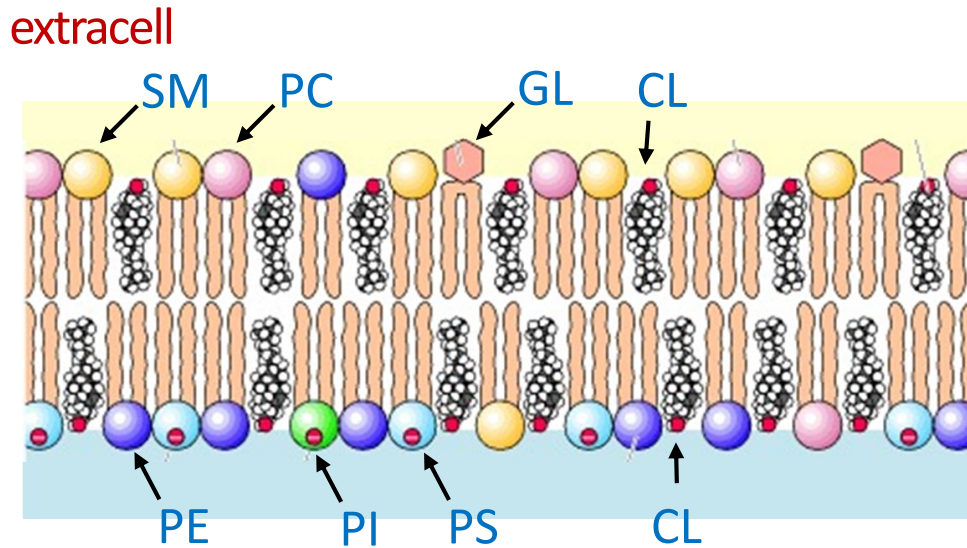


# Caratteristiche delle membrane biologiche (cont.)

## ► Il foglietto esterno della membrana ha una composizione diversa dal foglietto interno

- Queste diverse composizioni sono **necessarie per le funzioni della membrana**; l'integrità e composizione della membrana è mantenuta nel tempo, a meno di lesioni
- **lesioni alla membrana** (es rottura) sono causa primaria di **morte cellulare** (necrosi)
- eventi come un flusso eccessivo di  $\text{Ca}^{2+}$  verso il citoplasma ( $> 5 \text{ mM}$ ) attiva lo «**scrambling**» di fosfolipidi, che **contribuisce all'apoptosi**
- specifici **enzimi mediano la traslocazione di fosfolipidi** da un foglietto all'altro della membrana

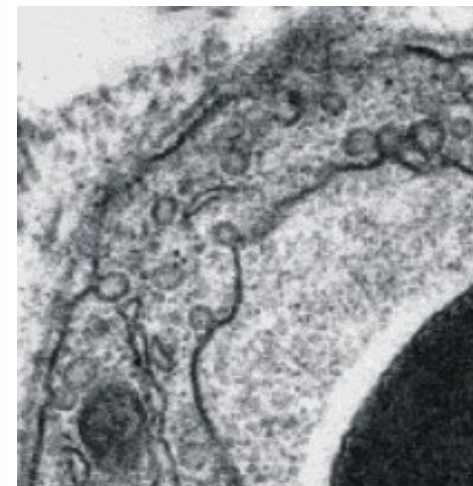
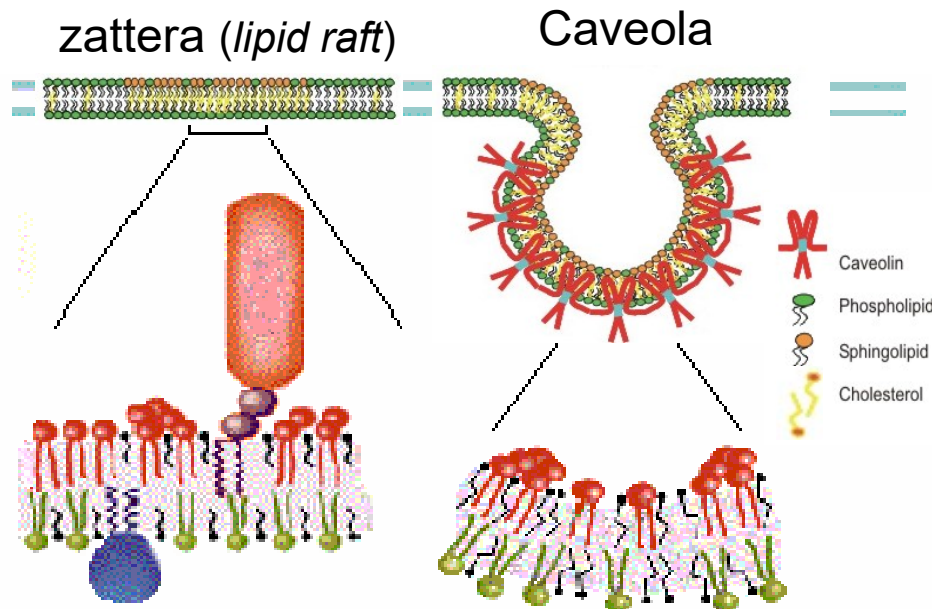
### Corretta asimmetria



# Caratteristiche delle membrane biologiche (cont.)

## ► Anche se fluide, nelle membrane si formano micro-domini lipidici

- questi **micro-domini** hanno concentrazioni localmente elevate di alcuni tipi di molecole lipidiche (es. sfingoglycosfingolipidi e colesterolo sul lato esterno )
- esistono due principali tipi di microdomini: **zattere lipidiche** (lipid rafts) e **caveole**
- le zattere hanno **struttura piatta**, mentre la caveola è una **struttura invaginata**
- sono di piccole dimensioni (70-100 nm), sono **punti di ancoraggio per proteine** di membrana (es. recettori) e svolgono ruoli importanti nel **signalling** (zattere) e nell'**importazione di materiale** all'interno della cellula (caveole)



# Le membrane biologiche separano ambienti chimici

## ► Le concentrazioni di ioni all'esterno delle cellule sono diverse da quelle all'interno

- Si formano gradienti chimici e potenziali elettrochimici che sono molto importanti per diverse funzioni cellulari (sono sfruttabili come forma di energia)
- Le membrane sono quindi elettricamente polarizzate (potenziale elettrico di membrana misurato in mV)

<b>Ione</b>	<b>Fluido extracellulare</b>	<b>Fluido intracellulare</b>	<b>rapporto</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>140 mM</b>	<b>10 mM</b>	<b>14</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>4 mM</b>	<b>140 mM</b>	<b>1/35</b>
<b>Ca<sup>++</sup></b>	<b>2.5 mM</b>	<b>0.1 μM</b>	<b>25000</b>
<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>100 mM</b>	<b>4 mM</b>	<b>1/25</b>



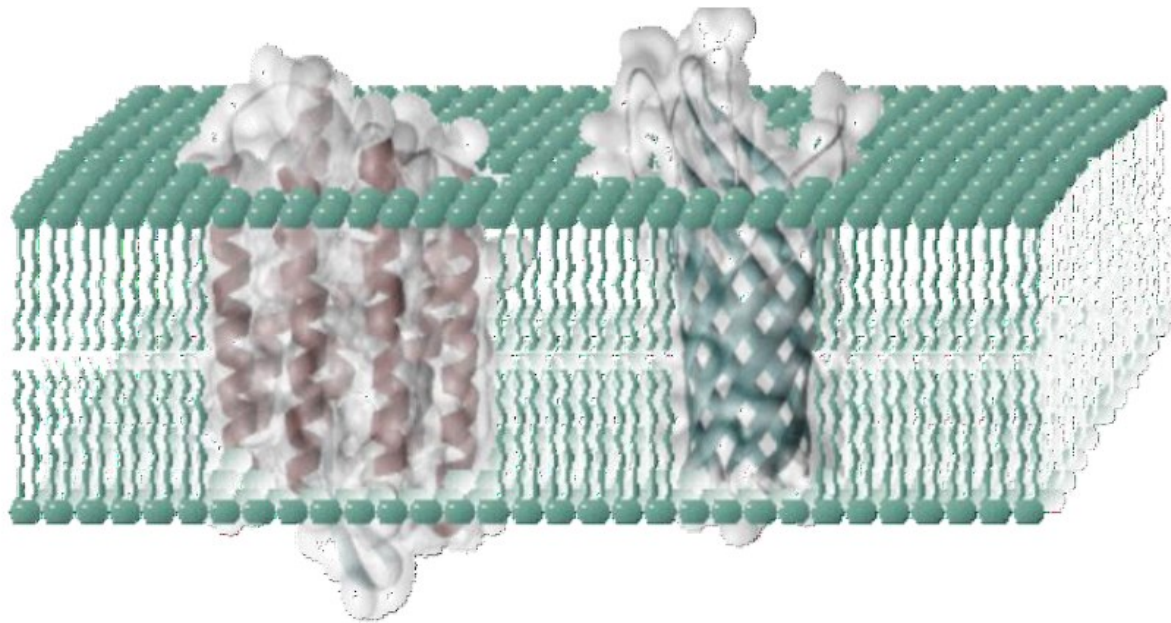
# PROTEINE DI MEMBRANA: componenti fondamentali delle membrane

► Le proteine sono un componente fondamentale delle membrane e svolgono diversi importanti ruoli biologici:

**trasporto transmembrana, comunicazione (signalling), produzione di energia, movimento**

- le membrane sono paragonate a un **liquido bidimensionale** nel quale le proteine “galleggiano” o al quale sono associate

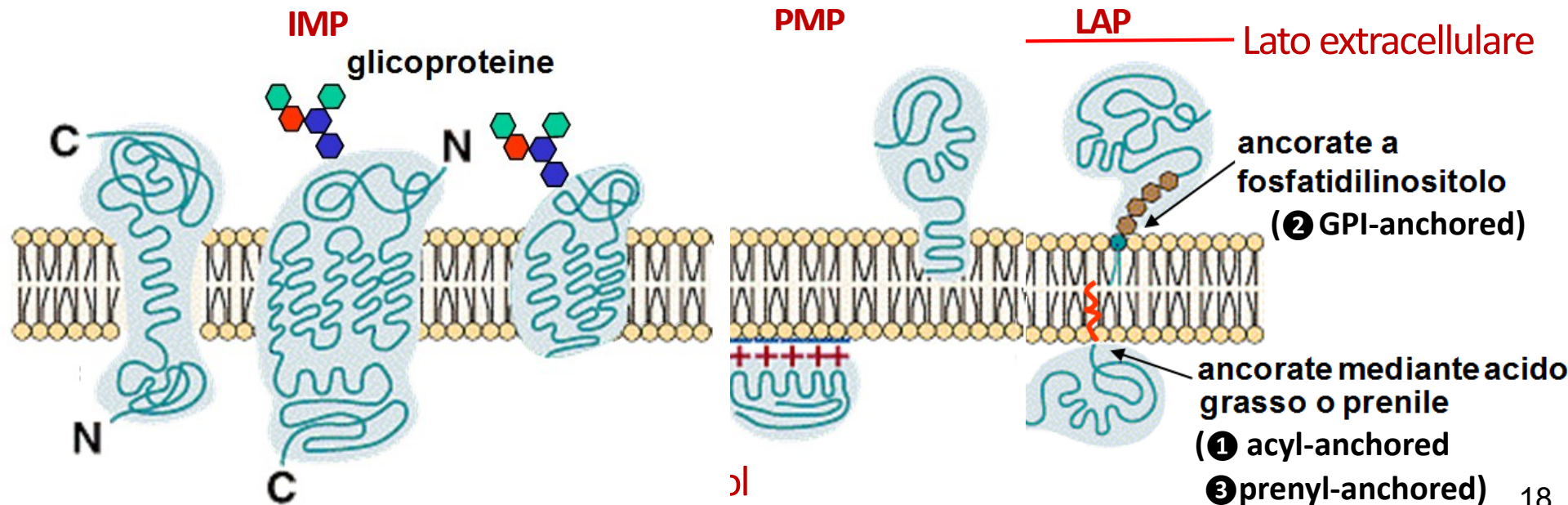
- ci sono diversi tipi di **proteine di membrana (membrane protein o MP)**



# PROTEINE DI MEMBRANA: diversi tipi

► le MP sono classificate in base al tipo di interazione che hanno con la membrana

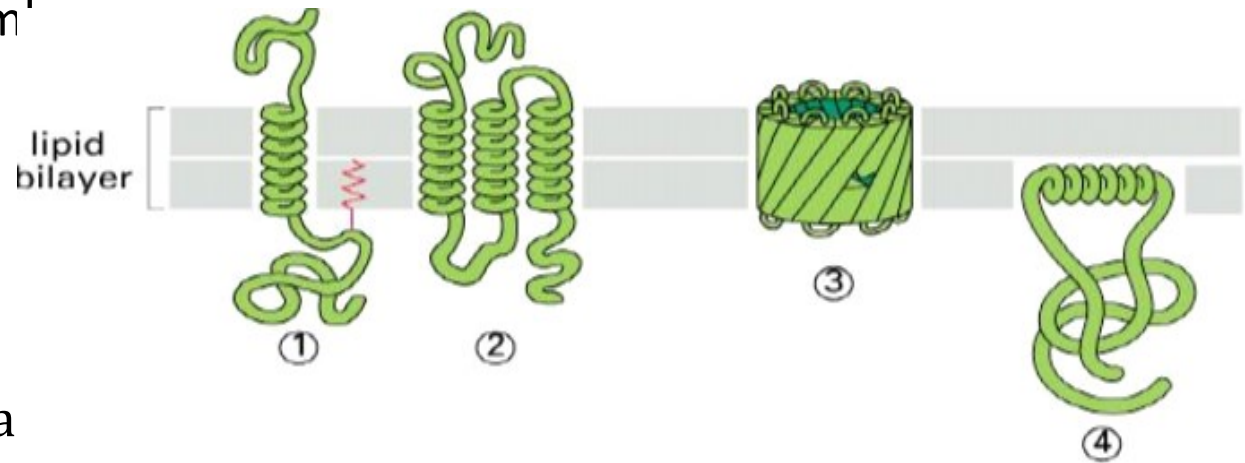
- 1) **MP integrali** (IMP, note anche come **MP intrinseche**) hanno un dominio immerso nello strato lipidico che spesso lo oltrepassa (**dominio transmembrana** o TM)
- 2) **MP periferiche** (PMP note anche come **PM estrinseche**) sono debolmente associate con IMP e/o con la superficie della membrana (rimosse da trattamento con sali)
- 3) **Lipid-anchored proteins (LAP)** legate covalentemente a molecole lipidiche inserite nella membrana (ancore); diversi tipi con es. legame tioestere al palmitato o legame ammidico al miristato ❶, o legame glicosidico al fosfatidilinositolo ❷, o legame al prenile (un poliisoprene) ❸



# PROTEINE DI MEMBRANA: integrali e periferiche

► Le proteine integrali di membrana (PIM) attraversano lo strato lipidico formando interazioni idrofobiche con i lipidi

- possono oltrepassare il doppio strato lipidico una o più volte, o essere inserite in un lato a l'altro della mem'

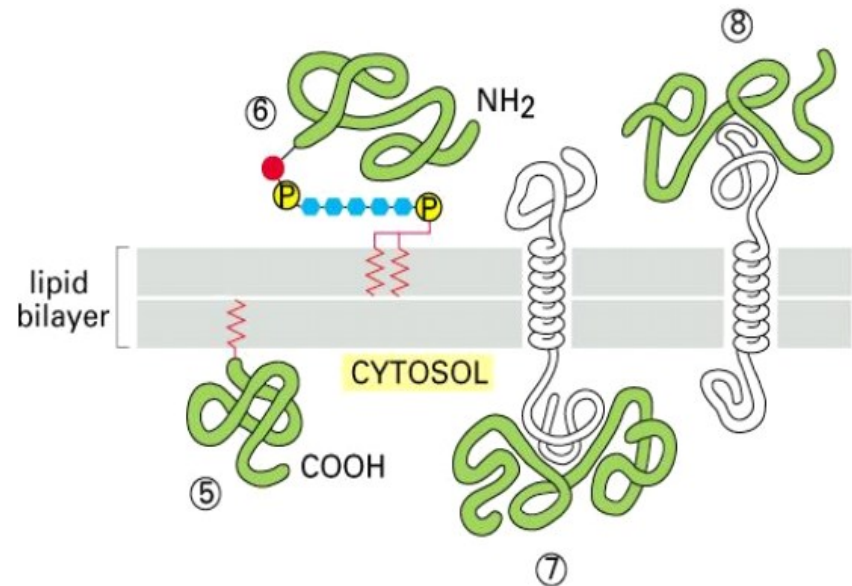


① monopasso, ② multipa

► Le proteine periferiche sono associate alle membrane attraverso interazione con PIM o per ancoraggio

⑤ ancorata ad AG, ⑥ ancorata a PL

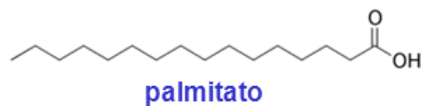
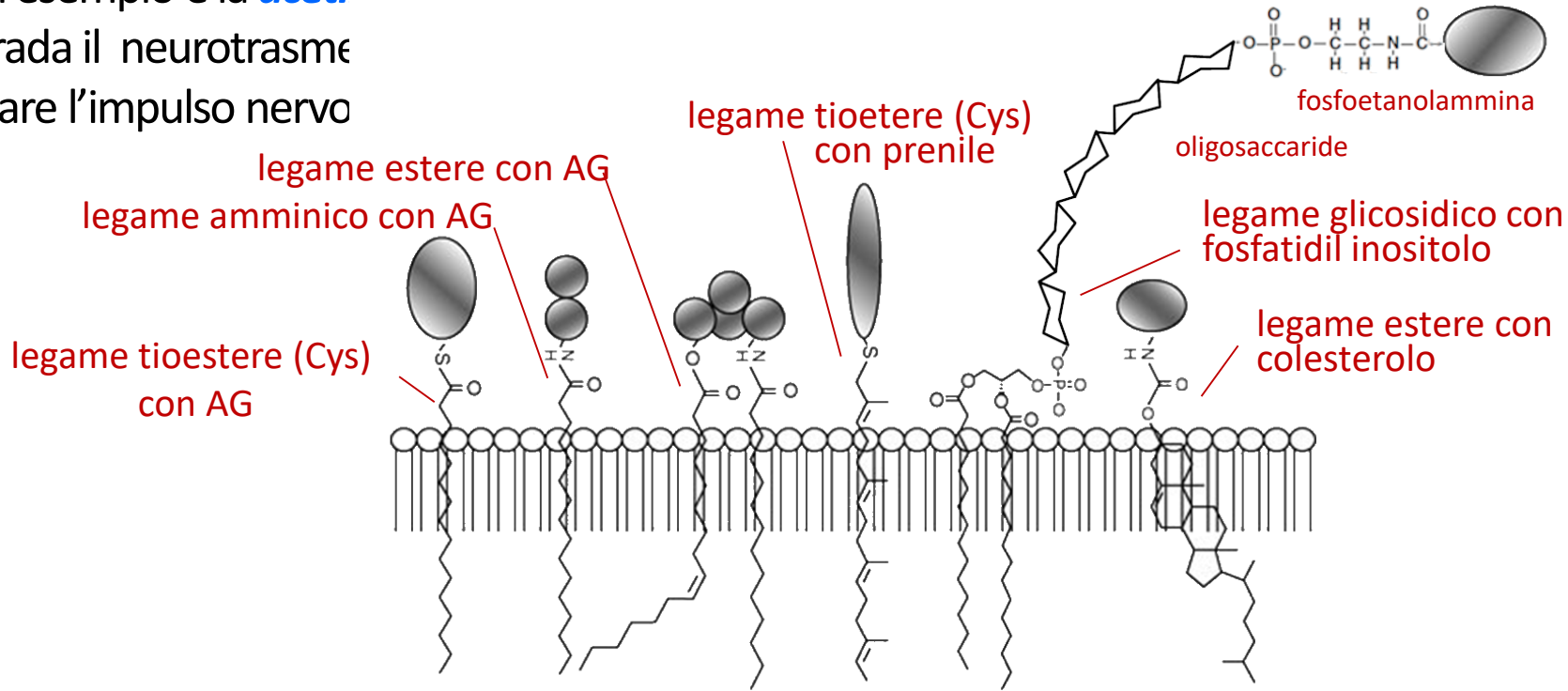
⑦ ⑧ interazione con PIM



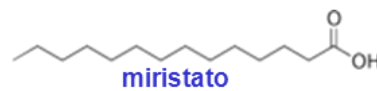
# PROTEINE DI MEMBRANA: ancorate

## Le proteine ancorate sono molto libere di muoversi nella membrana

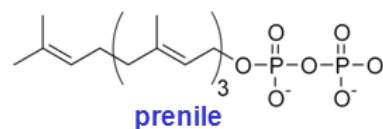
- diversi tipi di **ancore lipidiche** si inseriscono nel doppio strato lipidico della membrana
- Enzimi ancorati in questo modo si muovono in modo bidimensionale sulla superficie della membrana, che 'pattugliano' efficientemente i cerca di substrato
- Un buon esempio è la **acetylcholinesterase** che degrada il neurotrasmettitore per limitare l'impulso nervoso



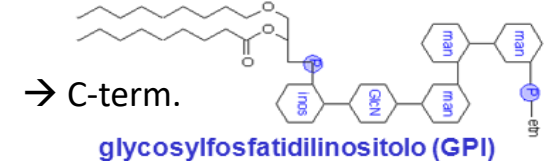
→ HO-Ser, HS-Cys



→  $\text{H}_2\text{N}_\alpha\text{-Gly(N-term)}$



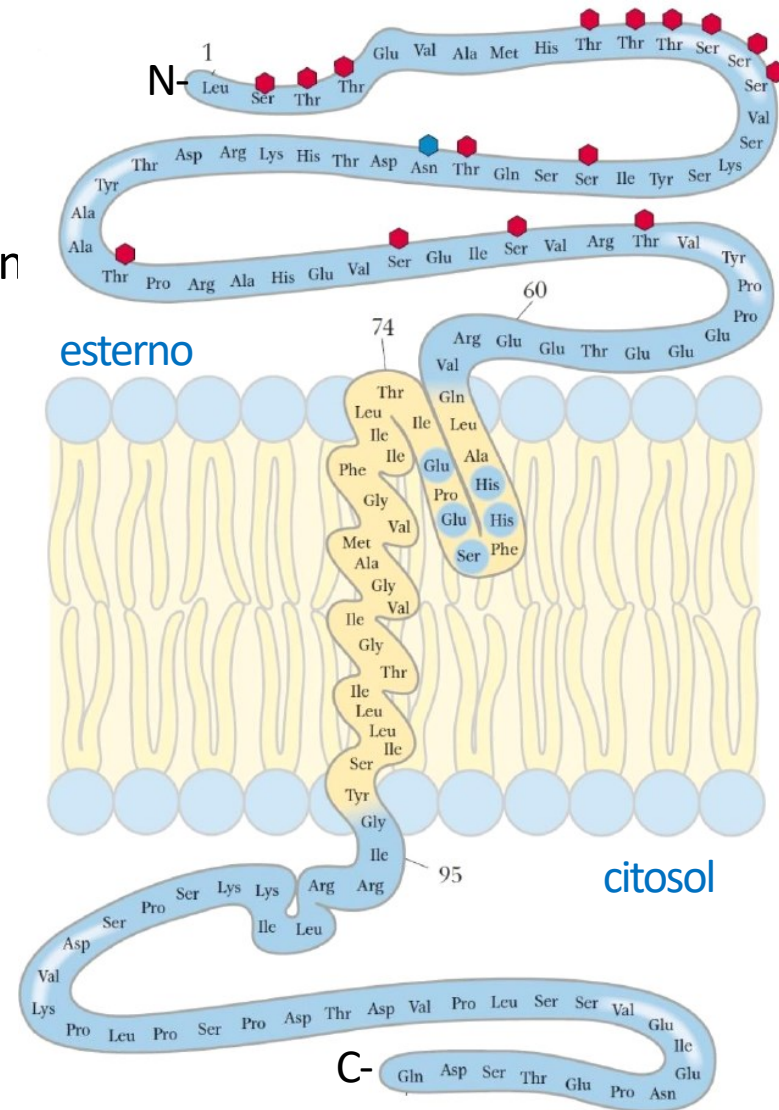
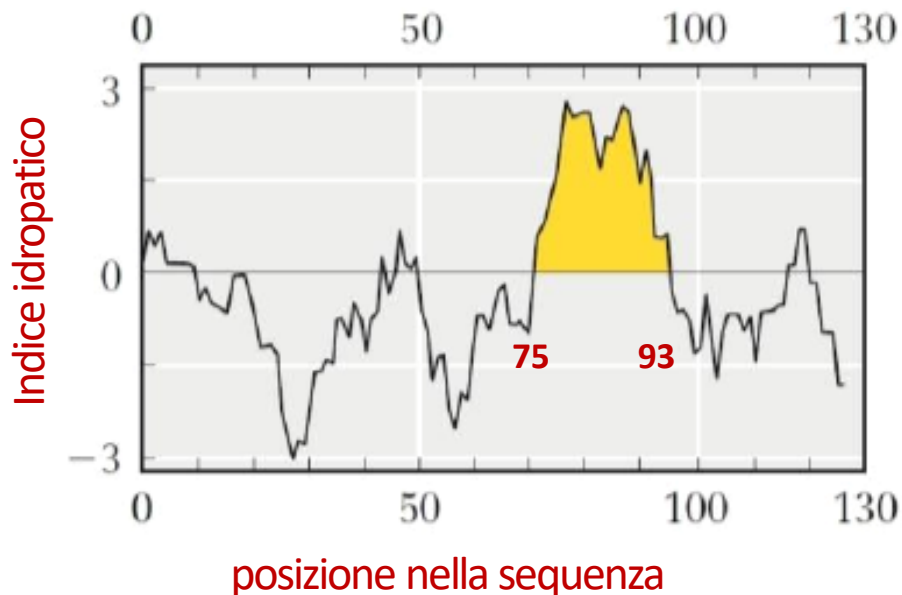
→ (C-term) HS-Cys



# PROTEINE DI MEMBRANA: predizione dei diversi domini

► È possibile predire la disposizione dei vari domini in una proteina integrale di membrana (PIM) dalle caratteristiche della sua sequenza

- I profili di idrofobicità o polarità dei residui permettono di individuare il dominio transmembrana (TM) (indice idropatico: idrofilici = valore - idrofobici = valore +)
- I domini ricchi in residui glicosilati sono sempre sul lato extracellulare

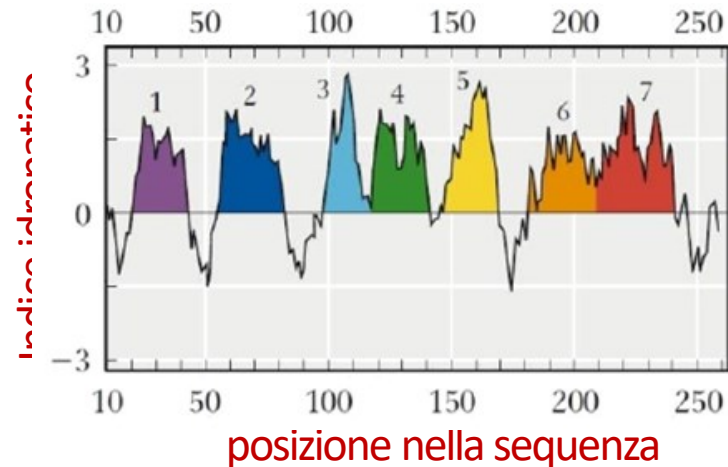
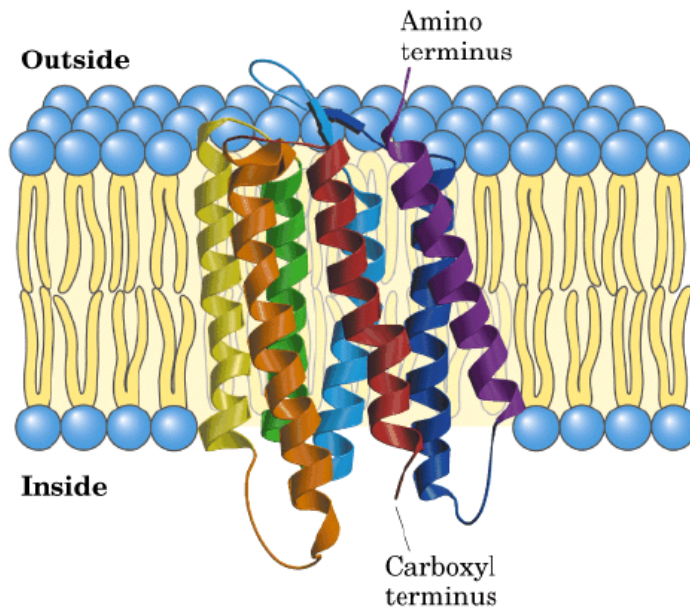


licoforina, una delle principali PIM negli eritrociti

# PROTEINE DI MEMBRANA: predizione dei diversi domini (cont.)

## ► Le PIM multipasso attraversano la membrana con diversi segmenti

- il doppio strato lipidico ha una larghezza di ca. 3nm (30 Å) e può essere attraversato da un segmento ad  $\alpha$ -elica di ca. 30 residui, con elevato contenuto di AA idrofobici
- molte PM hanno domini TM formati da segmenti multipli ad  $\alpha$ -elica idrofobica; alcuni trasportatori hanno 12 segmenti, la più grande classe di recettori ne ha 7 (7TM receptors)
- i 7 segmenti TM possono essere individuati analizzando la sequenza aa (indice idropatico)

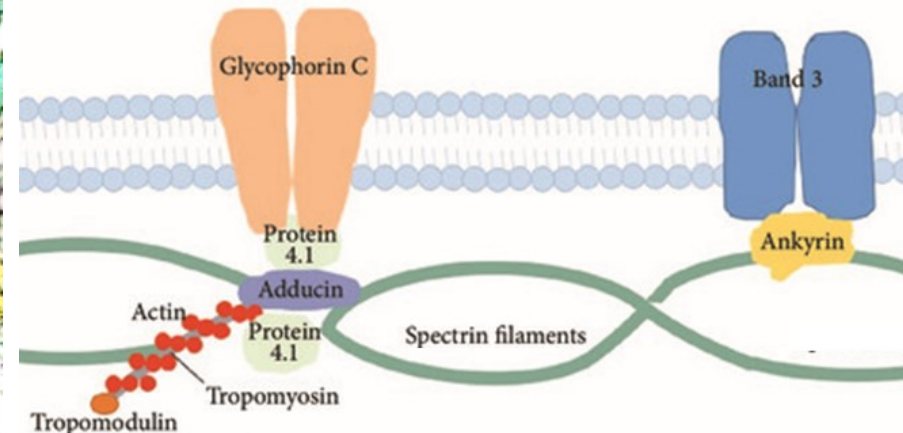
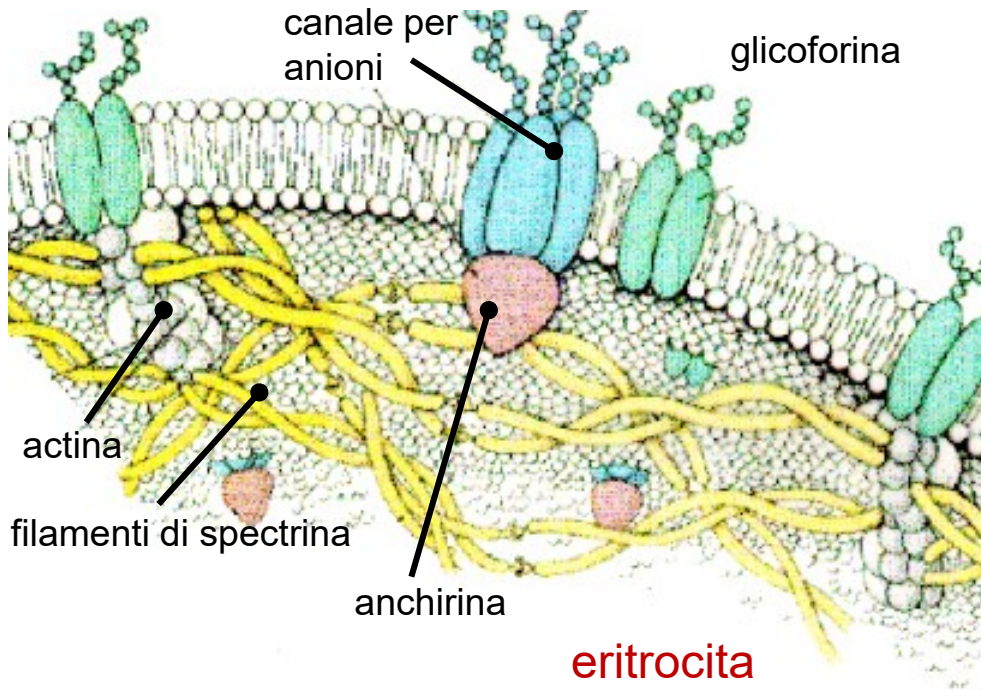
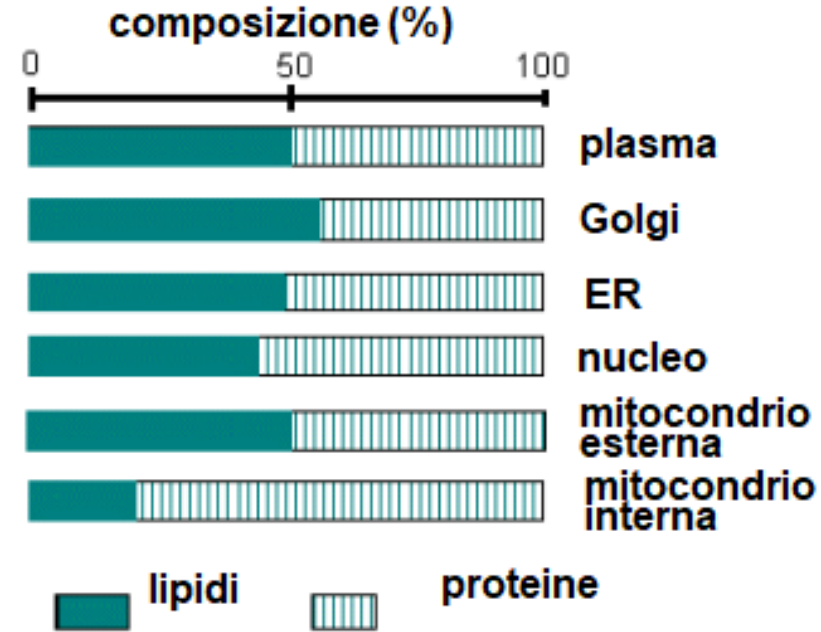


AQITGRPEWIWLAALGTALMGLGTYFLVKGMGVS D P D A K K F Y A I T T L V P A  
I A F T M Y L S M L L G Y G L T M V P F G G E Q N P I Y W A R Y A D W L F T T P L L L L D L A L L V  
D A D Q G T I L A L V G A D G I M I G T G L V G A L T K V Y S Y R F V W W A I S T A A M L Y I L Y V  
L F F G F T S K A E S M R P E V A S T F K V L R N V T V V L W S A Y V V V W L I G S E G A G I V P L  
N I E T L L F M V L D V S A K V G F G L I L L R S R A I F G E A E A P E P S A D G A A A T S

# Le membrane dei diversi compartimenti hanno diverse composizioni

► Nelle cellule eucariotiche, la composizione in proteine delle membrane riflette la funzione del compartimento che delimitano

- generalmente, le proteine di membrana formano ca. 50% del peso della membrana
- questo aumenta in membrane dove si svolgono importanti funzioni cellulari (es. mitocondri)
- La membrana citoplasmatica (molto estesa) è sorretta da una impalcatura proteica interna



# Fusione delle membrane

## ► Le curvature e la fusione della membrana sono fondamentali in molti processi biologici

- le membrane hanno la capacità di fondersi con membrane diverse senza perdere continuità.
- i diversi compartimenti cellulari rivestiti da membrane si scambiano materiale per mezzo di **vescicole** che si formano su una membrana (donatrice) e si fondono con un'altra (accettrice)
- Questo processo coinvolge le membrane del ER, apparato di Golgi e membrana citoplasmatica
- l'**esocitosi**, l'**endocitosi**, la **fusione** dello spermatozoo con la cellula uovo, la **divisione** cellulare avvengono tutti attraverso la **fusione di membrane**

