LIPIDI E

MEMBRANE BIOLOGICHE

Definizione (la parola deriva dal greco *lípos,* grasso):

MOLECOLE INSOLUBILI IN ACQUA

SOLUBILI NEI SOLVENTI ORGANICI NON POLARI

Molecole con struttura chimica e funzioni molto diverse
Prevalenza di gruppi non polari
Scarsa presenza di atomi elettronegativi

Lipidi lineari
Lipidi ciclici (steroidi)

Lipidi carichi (gruppi ionizzati)
Lipidi neutri (privi di carica)

Costituiscono una delle quattro principali classi di sostanze di interesse biologico
(con carboidrati, proteine e acidi nucleici)

Funzioni dei lipidi

Molecole con struttura chimica e funzioni molto diverse

Immagazzinare “energia” (Tessuto adiposo)

Costituire le membrane cellulari

- ☞Creare una barriera con l’esterno
- ☞ Creare compartimenti specializzati
- ☞Controllare il flusso di materiale

Comunicazione tra cellule (segnali)

Vitamine (cofattori di attività proteiche).

LIPIDI LINEARI

LIPIDI SEMPLICI:

ACIDI GRASSI

acidi carbossilici con una catena idrocarburica da 4 a 36 atomi di C

LIPIDI COMPLESSI:

TRIACILGLICEROLI (trigliceridi)

FOSFOLIPIDI

CEREBROSIDI O GLICOLIPIDI

CERE

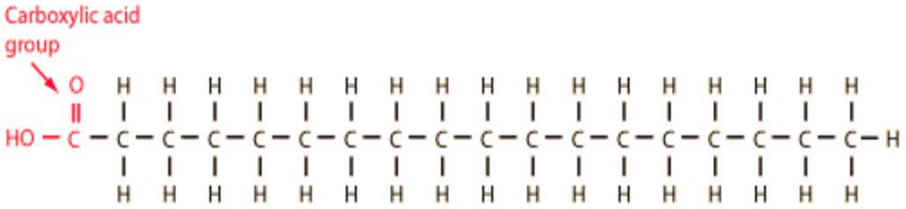
ACIDI GRASSI

$CH_3 — (CH_2)_n — COOH$

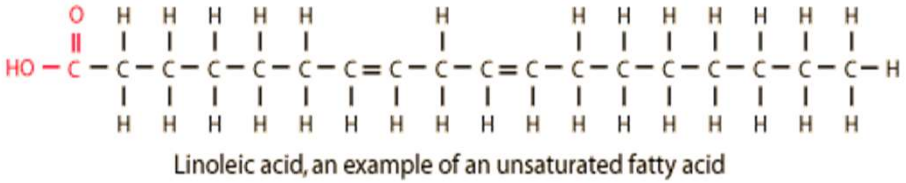
acidi carbossilici con una catena idrocarburica da 4 a 36 atomi di C

Gli acidi grassi più frequenti nei tessuti di mammifero hanno catena a numero pari di atomi di carbonio

Componenti della maggior parte dei lipidi naturali
la catena alifatica può essere satura,



Stearic acid, an example of a saturated fatty acid



Linoleic acid, an example of an unsaturated fatty acid

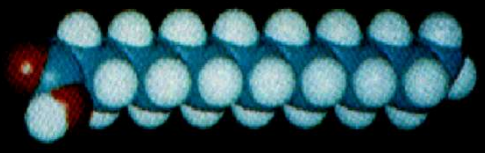
o insatura
(da 1 a 6 doppi legami C-C in CIS)

Il punto di fusione è proporzionale al numero di atomi di carbonio

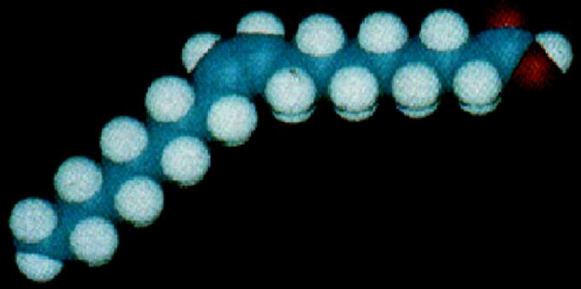
Il punto di fusione è inversamente proporzionale al numero di insaturazioni

punti di fusione

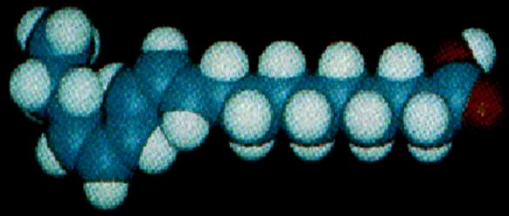
acido stearico (18:0)



acido oleico (18:1)



acido linoleico (18:2)

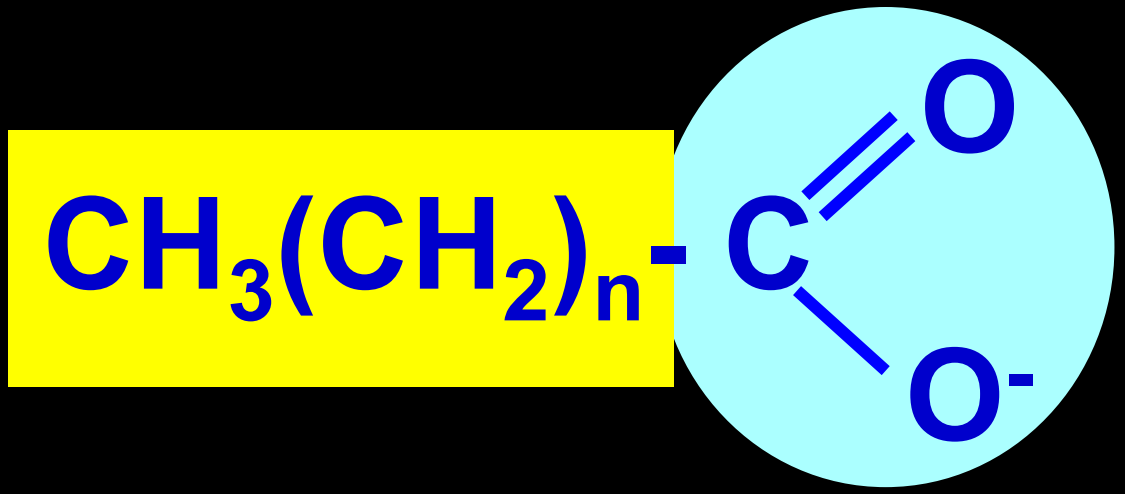


gli acidi grassi sono acidi deboli

$R\text{-}COOH + H_2O \rightleftharpoons R\text{-}COO^- + H_3O^+$

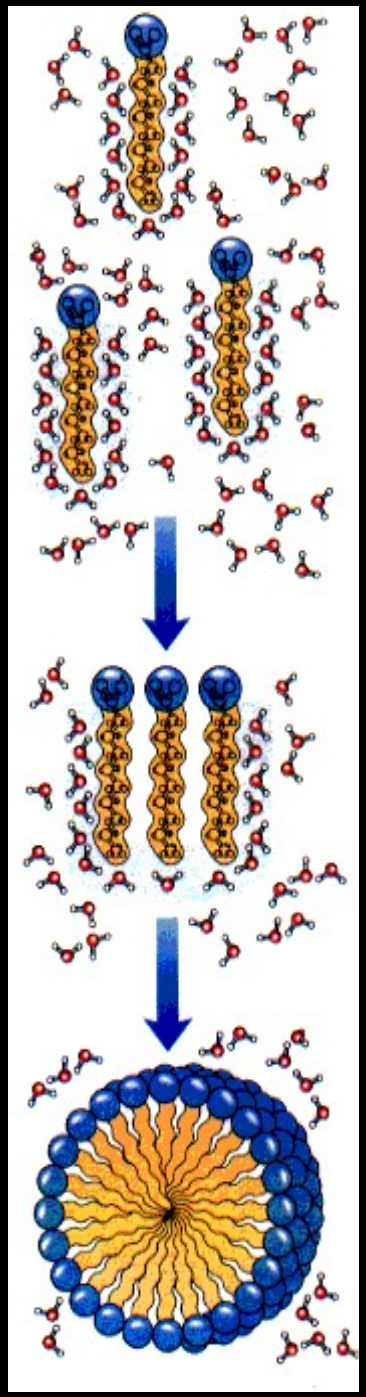
$10^{-4} > Ka < 10^{-5}$

Molecole Anfi-Patiche



porzione idrofobica

porzione idrofilica



Il **sistema** tende spontaneamente ad organizzarsi nella struttura sopramolecolare a **minor energia**

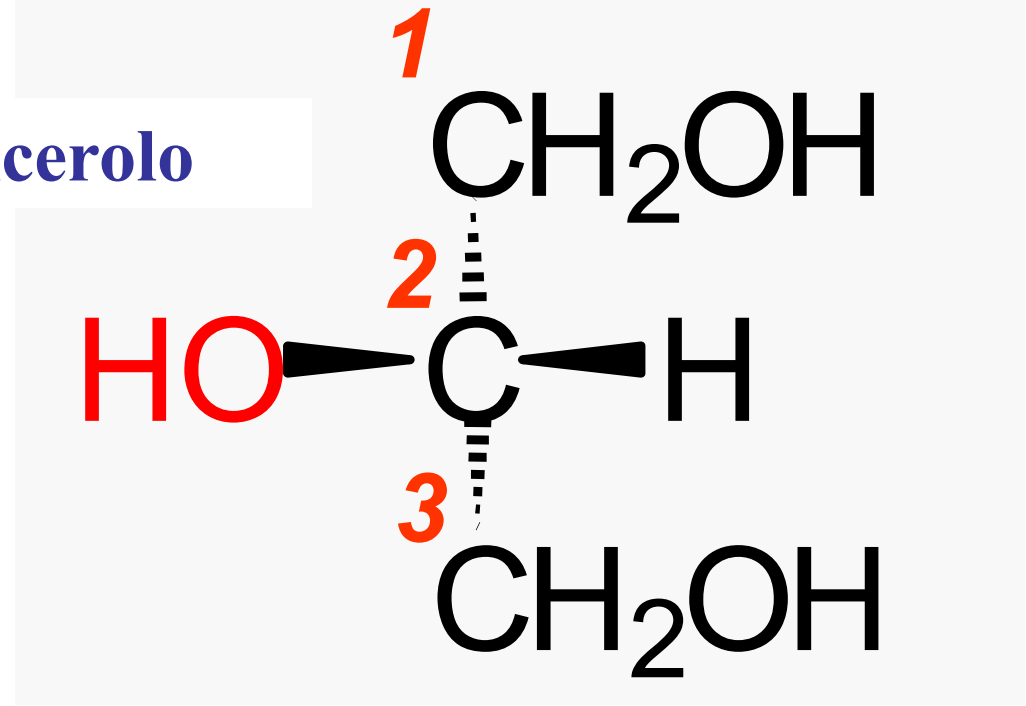
micella

Trigliacilgliceroli (trigliceridi)

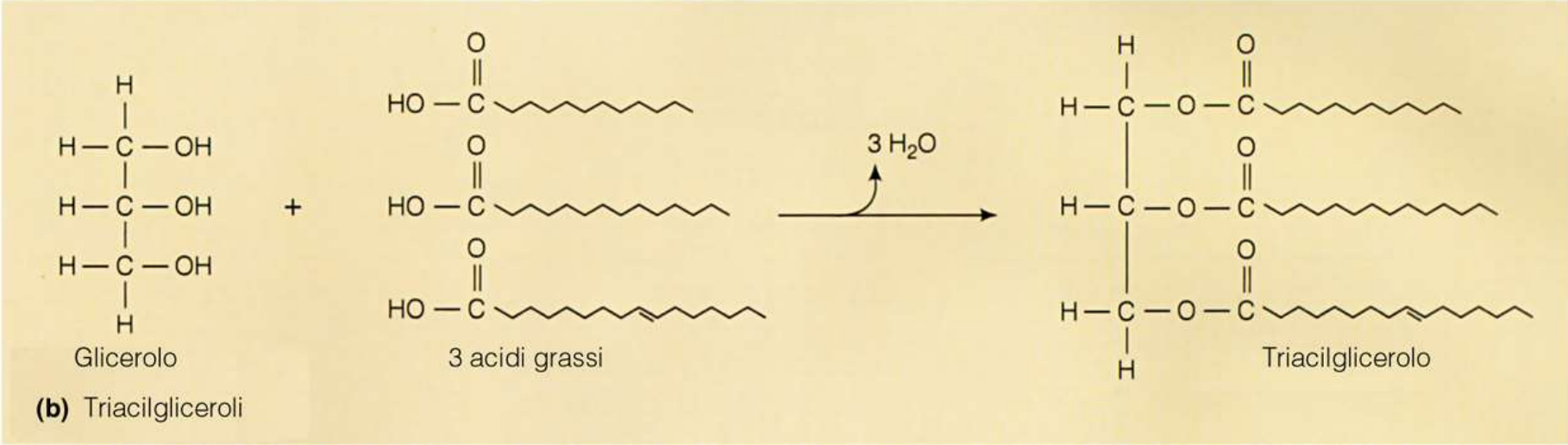
Grassi ed oli sono triesteri del glicerolo
TRIGLICERIDI.

GLICEROLO

Gliceridi: esteri del glicerolo

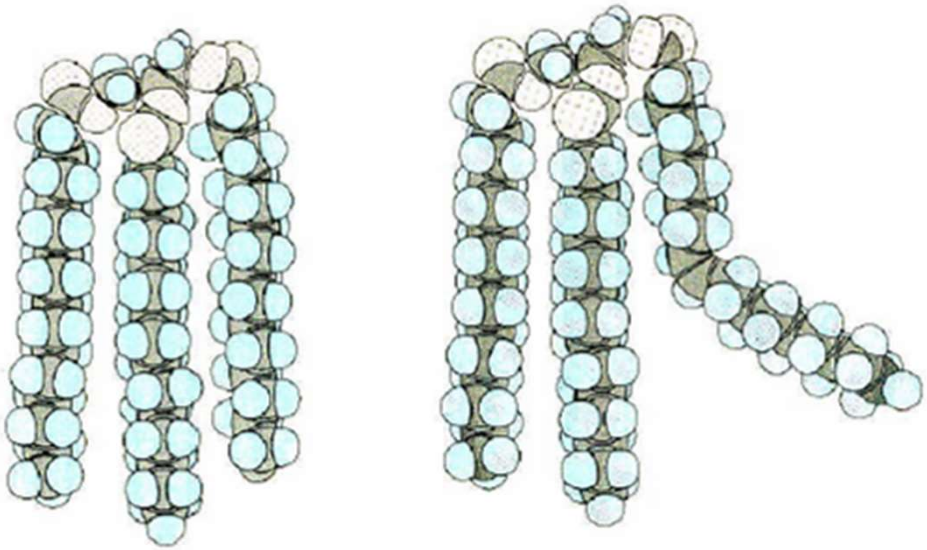


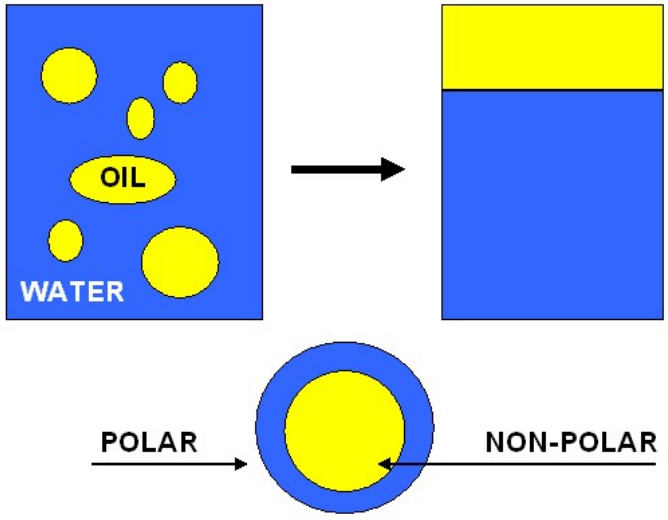
TRIACILGLICEROLI (trigliceridi)

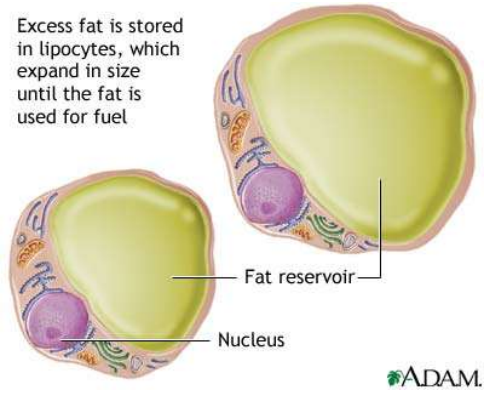


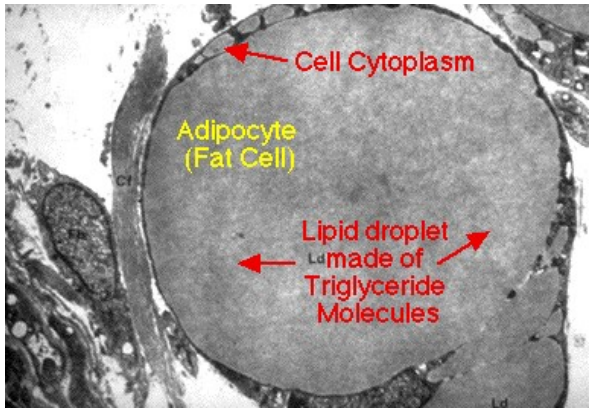
LIPIDI NEUTRI e totalmente INSOLUBILI:
l'esterificazione elimina sia gli ossidrili che gli acidi carbossilici

Altamente insolubili in acqua









Importanza biologica:

-Riserva energetica
-Isolamento termico
-Protezione meccanica

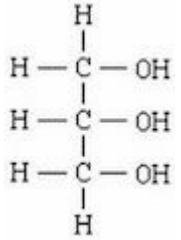
FOSFOLIPIDI

I fosfolipidi costituiscono circa il 40% delle membrane cellulari (l'altro 60% sono proteine);

Si distinguono in

GLICEROFOSFOLIPIDI

costituiti da glicerolo, acidi grassi, fosfato

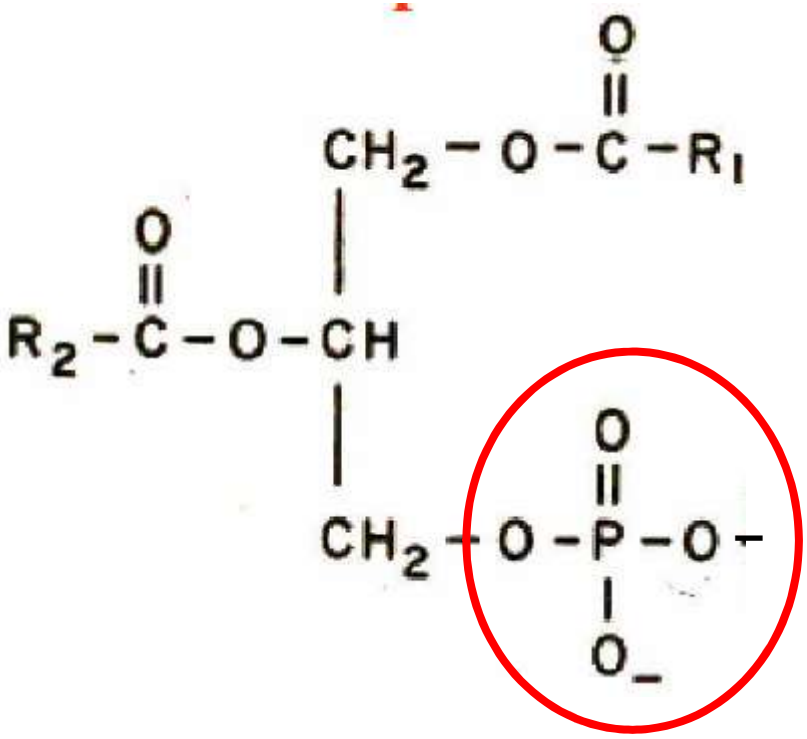


SFINGOFOSFOLIPIDI

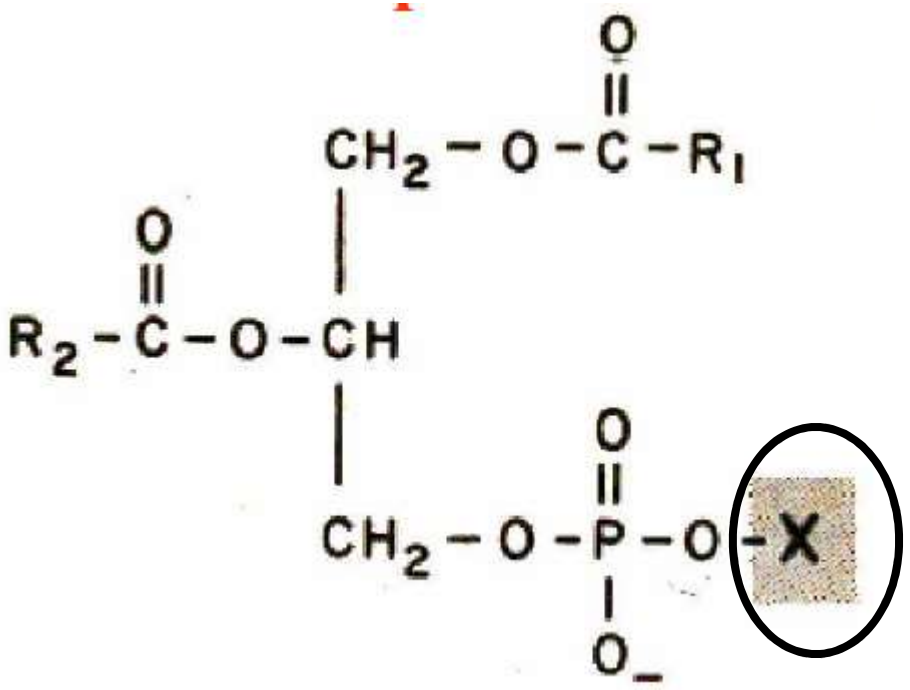
costituiti da sfingosina ,acidi grassi, fosfato

GLICEROFOSFOLIPIDI

Derivati dell'ACIDO FOSFATIDICO

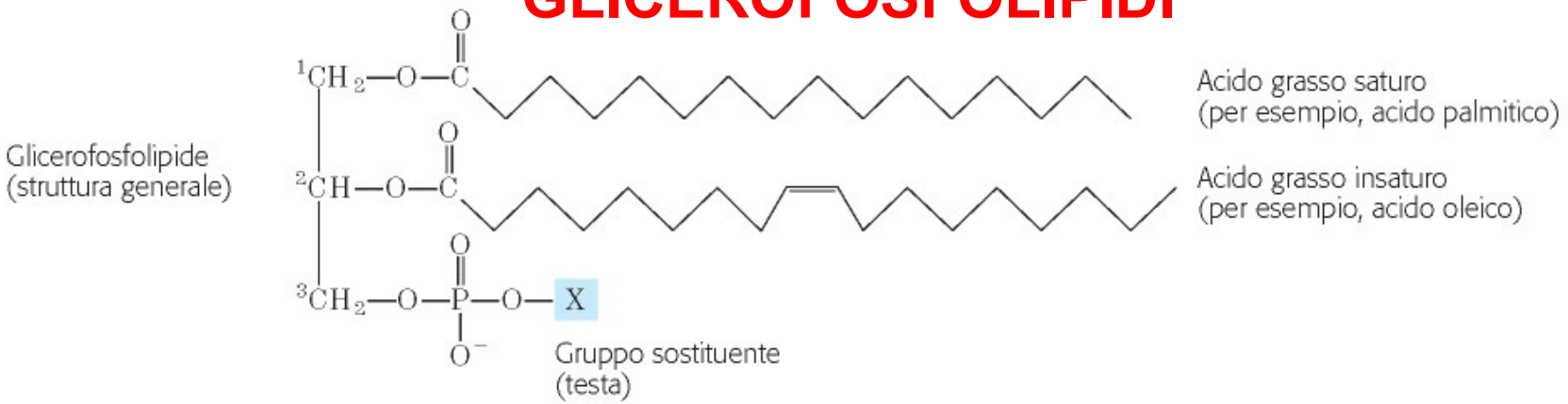


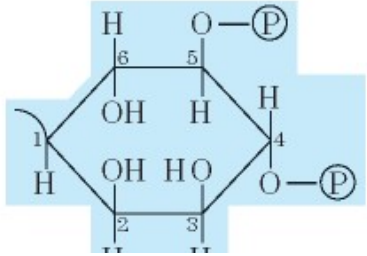
Legame FOSFO-Estere

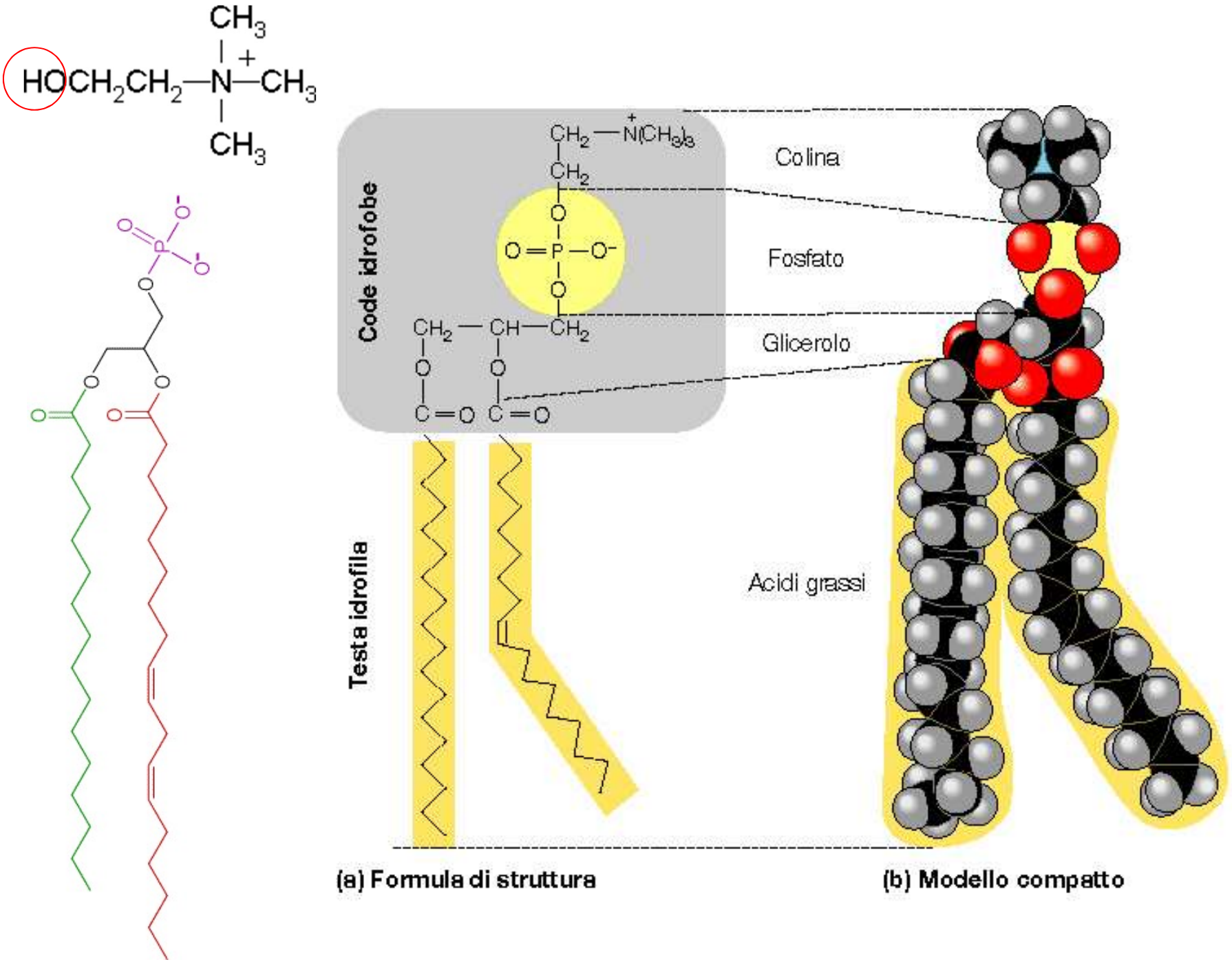


Il legame fosfoestere con un alcol

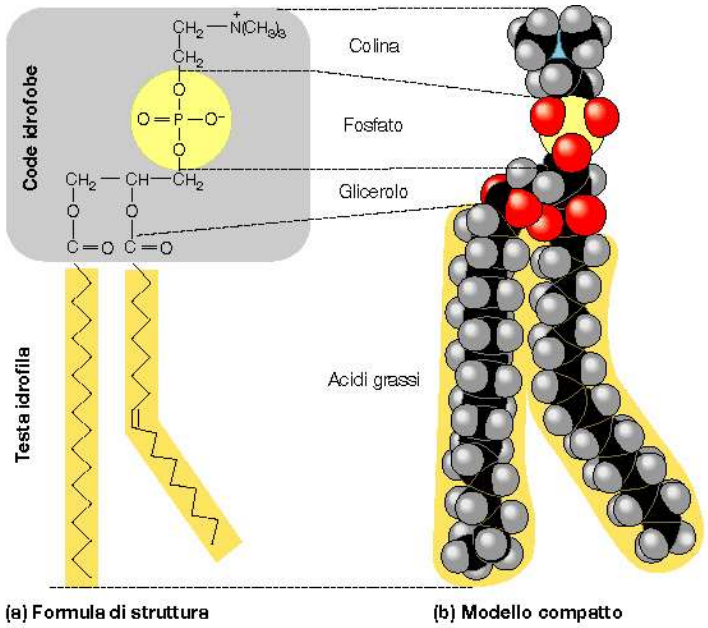
GLICEROFOSFOLIPIDI



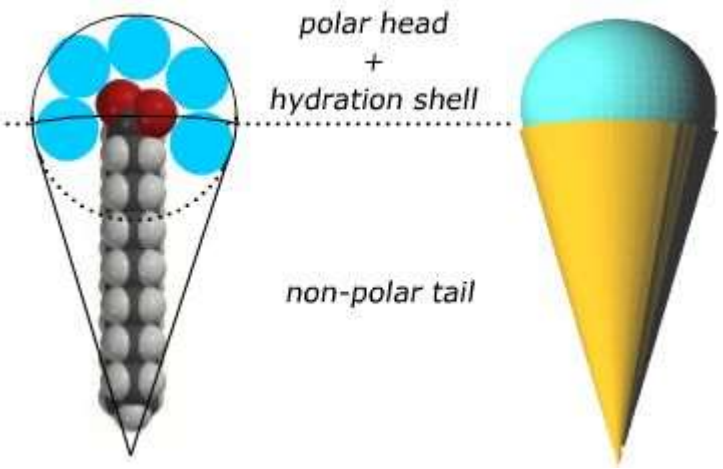
Nome del glicerofosfolipide	Nome di X	Formula di X	Carica netta (a pH 7,0)
Acido fosfatidico	—	—H	−1
Fosfatidiletanolammina	Etanolammina	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$	0
Fosfatidilcolina	Colina	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(CH_3)_3$	0
Fosfatidilserina	Serina	$-CH_2-\underset{\displaystyle COO^-}{\underset{\displaystyle |}{CH}}-\overset{+}{N}H_3$	−1
Fosfatidilglicerolo	Glicerolo	$-CH_2-\underset{\displaystyle OH}{\underset{\displaystyle |}{CH}}-CH_2-OH$	−1
Fosfatidilinositolo 4,5-bisfosfato	*mio*-Inositolo 4,5-bisfosfato		−4


Code idrofobe
Testa idrofila
Colina
Fosfato
Glicerolo
Acidi grassi
(a) Formula di struttura
(b) Modello compatto

MEMBRANE BIOLOGICHE

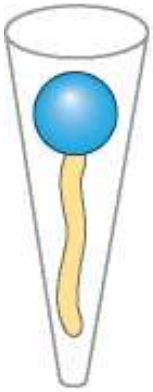


Acido Grasso

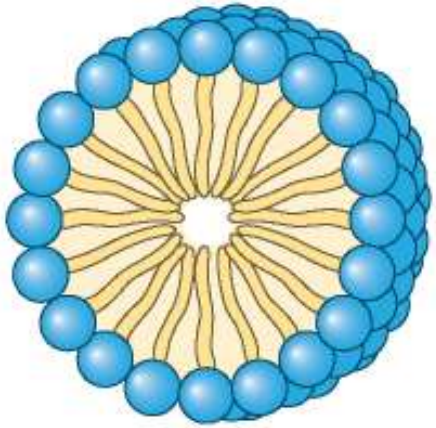


Acido Grasso

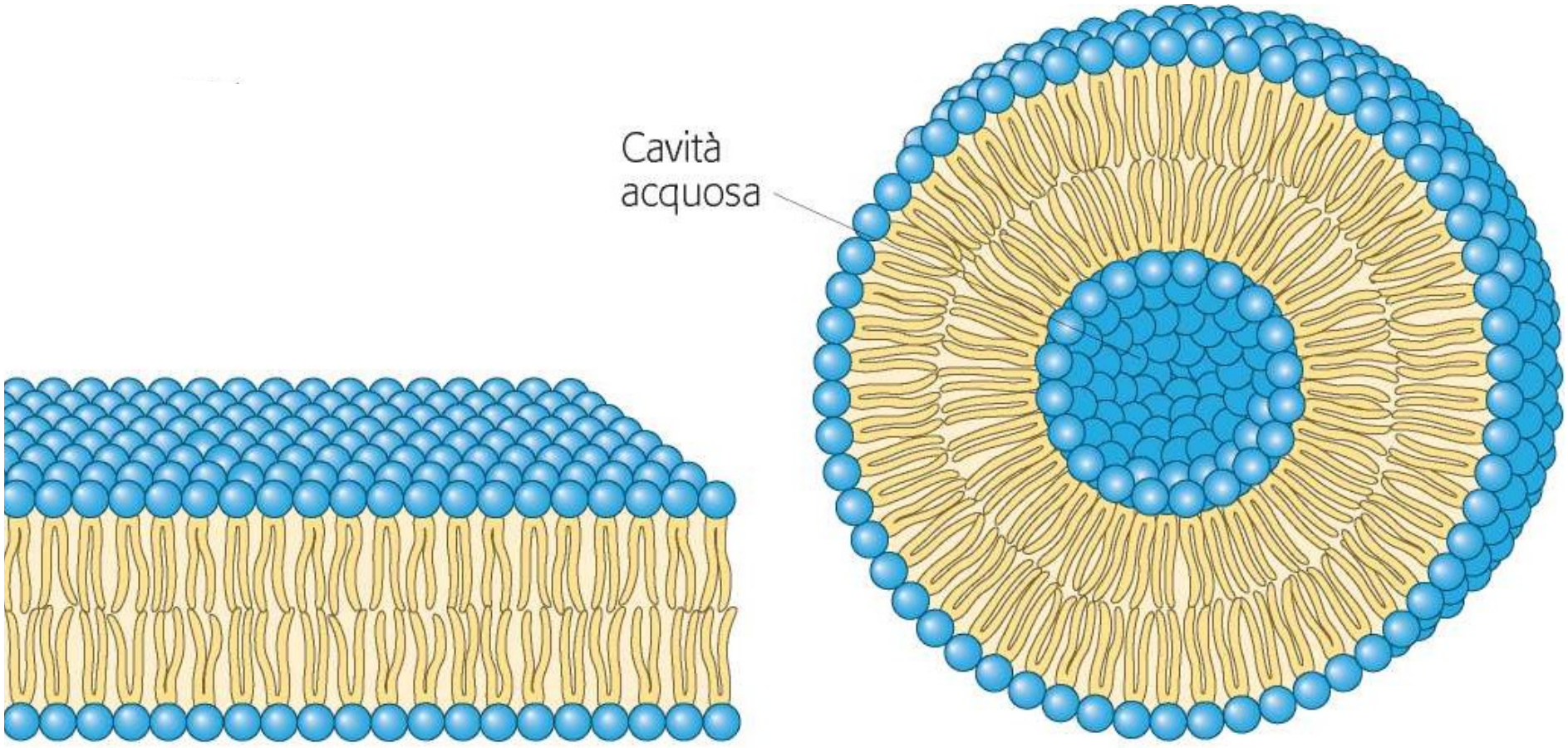
Fosfolipide



Le singole unità hanno una forma a cuneo (la sezione trasversale della testa è più grande di quella della catena idrofobica)



(a) Micella



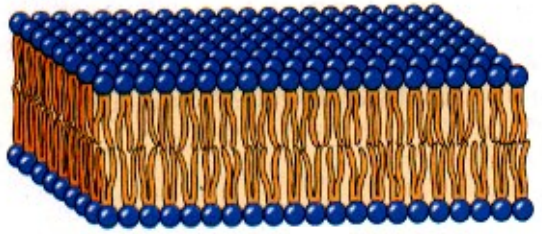
(b) Doppio strato

(c) Liposoma

Strutture sopramolecolari dei lipidi polari

micella

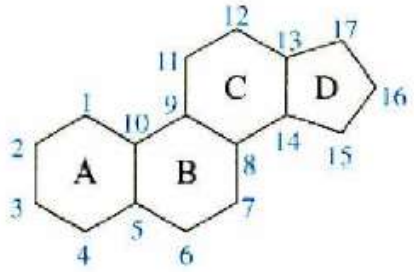
doppio strato



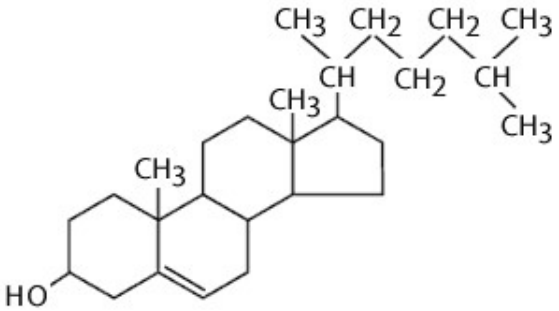
liposoma

Steroidi

La caratteristica strutturale comune a tutti gli steroidi è un sistema di quattro anelli condensati.

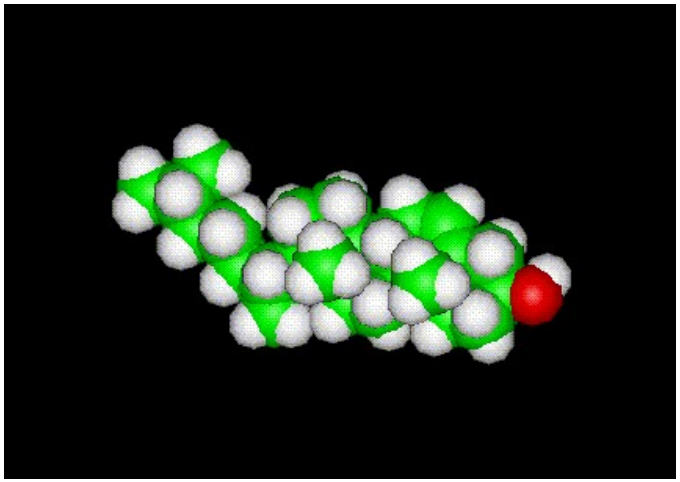


Gli anelli A, B e C sono a sei termini, l'anello D è a cinque termini.
STRUTTURA PLANARE e RIGIDA



COLESTEROLO
27 atomi di carbonio

Componente essenziale di tutte le membrane delle cellule animali.



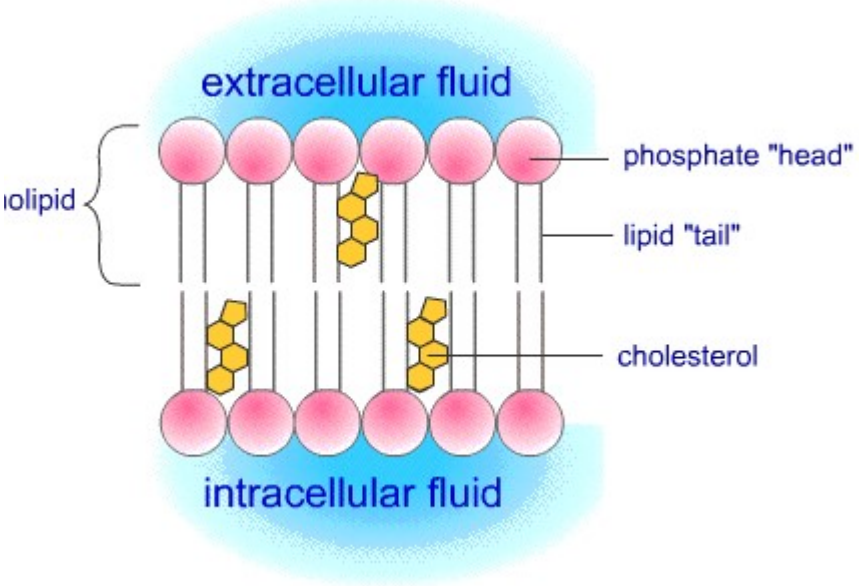
Precursore di
•Acidi biliari
•Ormoni steroidei

C'è una relazione diretta fra un'eccessiva concentrazione del colesterolo nel sangue e le malattie coronariche e cardiache.

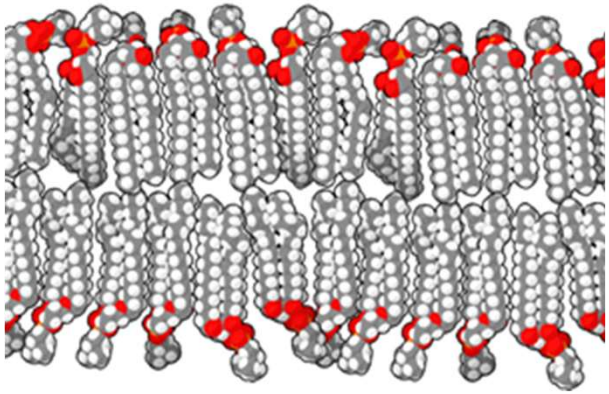
• Le membrane biologiche sono strutture fluide e dinamiche -

la fluidità dipende dalla *LUNGHEZZA* e *GRADO di INSATURAZIONE* delle catene aciliche nei fosfolipidi, dalla *TEMPERATURA* e dalla presenza di *COLESTEROLO*

Massima RIGIDITA':
AG saturi
Molto colesterolo

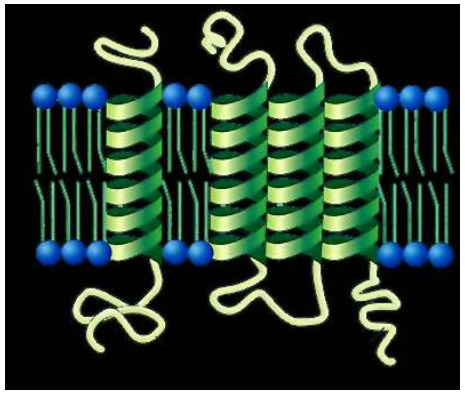


Massima FLUIDITA':
AG insaturi
Niente colesterolo

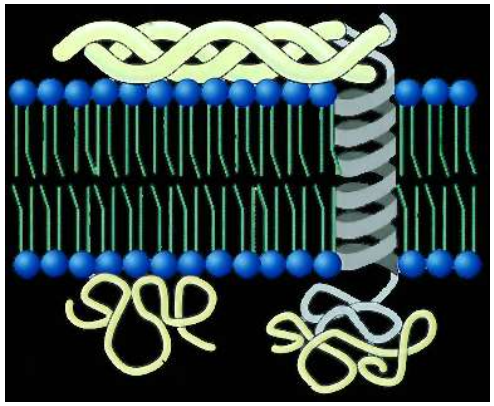


Proteine di Membrana: strutture

- ***Proteine Intrinseche***
  - Sono *Anfipatiche*
  - Alcune attraversano completamente la membrana, altre solo in parte.



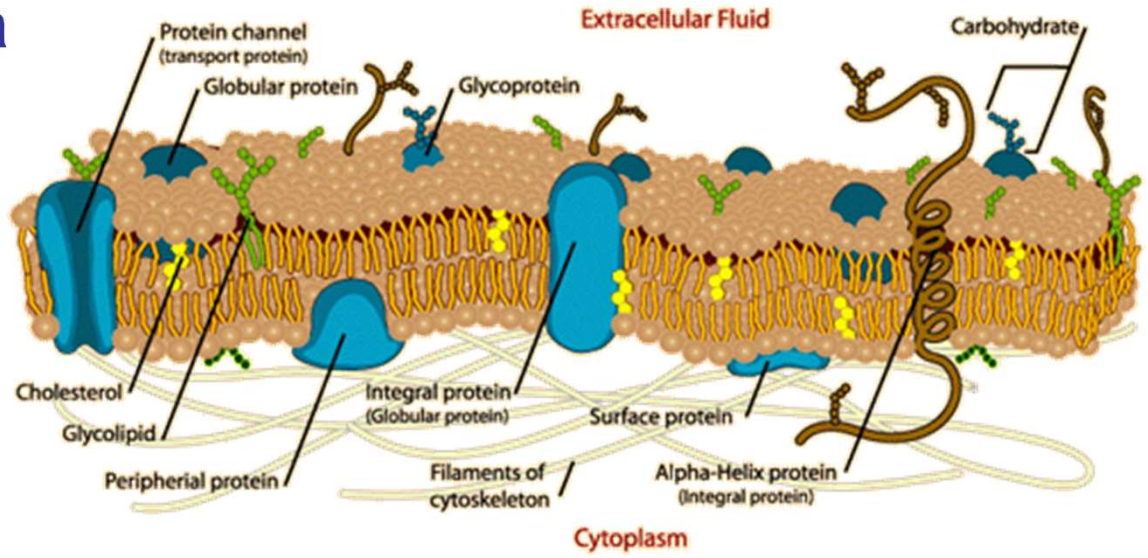
- ***Proteine Estrinseche***
  - Non sono incluse nel doppio strato lipidico, ma sulla superficie interna o esterna.
  - Interagiscono con le proteine intrinseche attraverso interazioni non-covalenti.



Proteine di Membrana

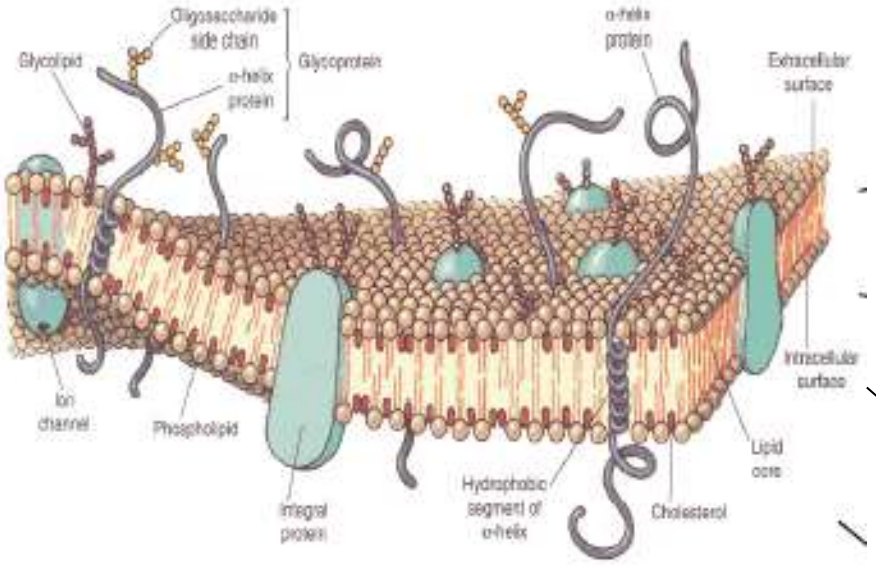
- **Le proteine costituiscono circa il 60% della massa della membrana.**

Sono gli esecutori di tutte le attività della membrana.



- *Trasporto*
- *Catalisi*
- *Recettori*
  - ☞ *di molecole*
  - ☞ *di altre cellule*
- *Adesione (ad altre cellule)*
- *Ancoraggio*
  - –alla matrice extra-cellulare

MECCANISMI di TRASPORTO di MEMBRANA

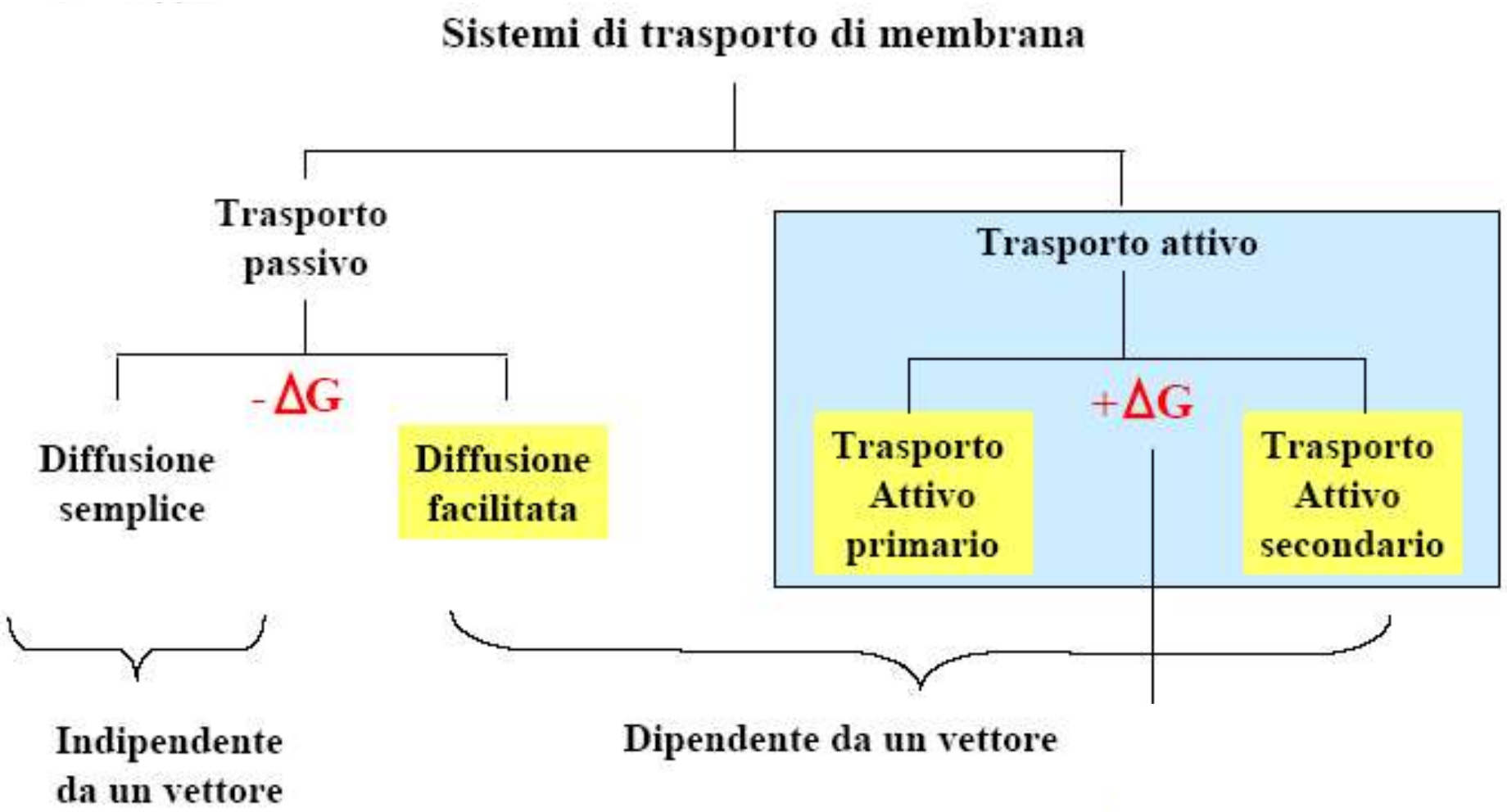


Barriera di selettività tra cellule e ambiente extracellulare

Mantenimento delle differenze tra l'ambiente intra ed extracellulare

Scambio SELETTIVO di materia tra l'ambiente intra ed extracellulare

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


Sistemi di trasporto di membrana
Trasporto passivo
Trasporto attivo
-ΔG
+ΔG
Diffusione semplice
Diffusione facilitata
Trasporto Attivo primario
Trasporto Attivo secondario
Indipendente da un vettore
Dipendente da un vettore

TRASPORTO PASSIVO

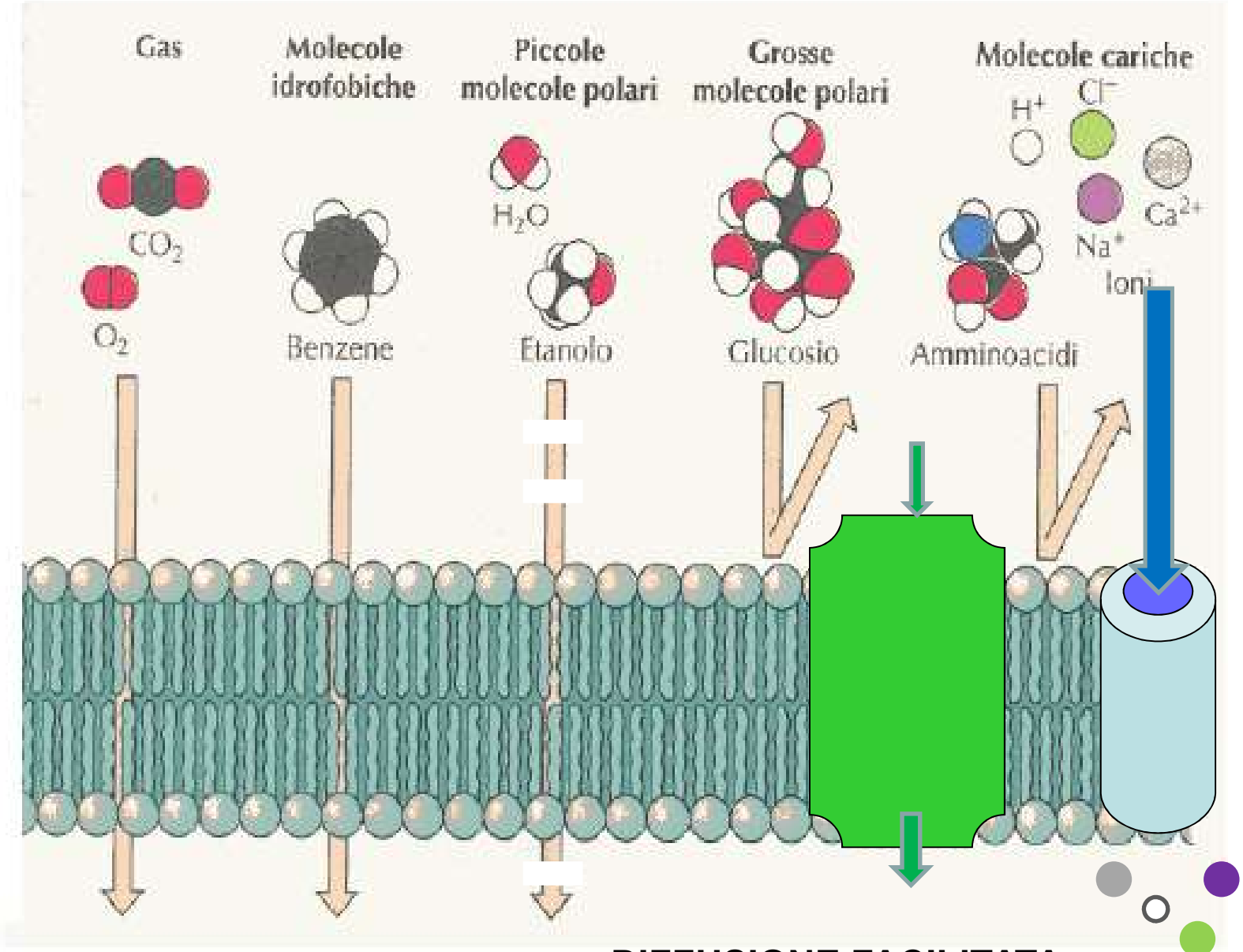
☞ DIFFUSIONE (semplice o facilitata)

AVVIENE SECONDO GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE

☞ **l'equilibrio si raggiunge quando la concentrazione è uniforme**

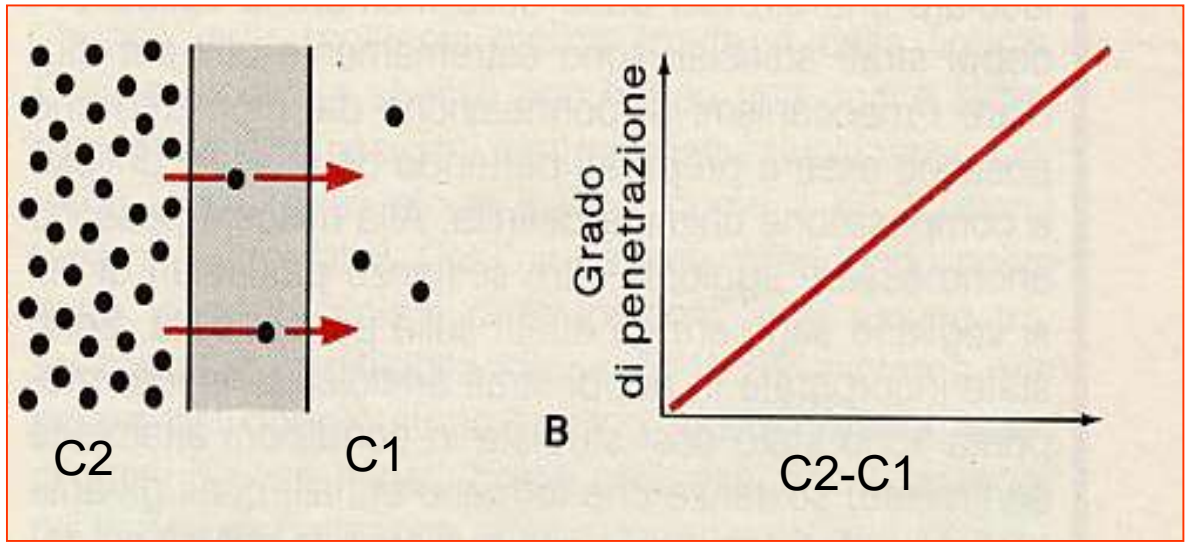
☞ **PROCESSO SPONTANEO ($\Delta G<0$)**

Permeabilità dei doppi strati lipidici



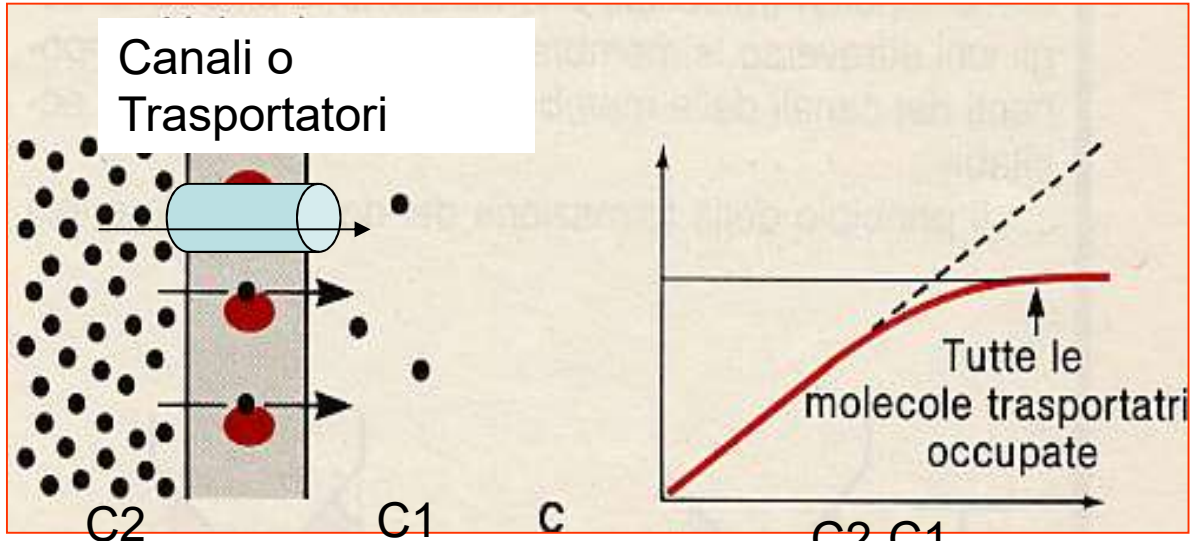
DIFFUSIONE SEMPLICE **DIFFUSIONE FACILITATA**

Differenze cinetiche tra la diffusione semplice e la diffusione facilitata



DIFFUSIONE SEMPLICE
il flusso è proporzionale al gradiente

C2-C1 = G



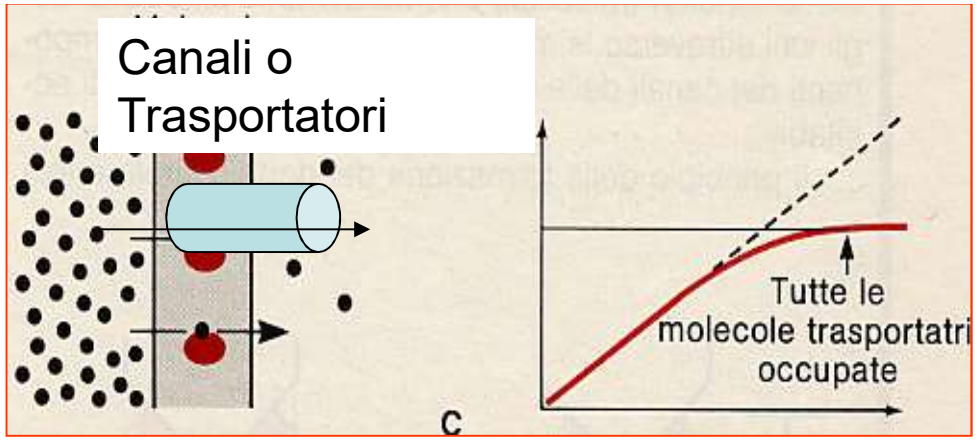
DIFFUSIONE FACILITATA
ad elevate concentrazioni si ha saturazione delle molecole trasportatrici

Il trasporto è specifico e la sua velocità dipende da
-Gradiente di concentrazione
- Quantità di trasportatore
-Affinità del trasportatore

$$LT \leftrightarrow L + T$$

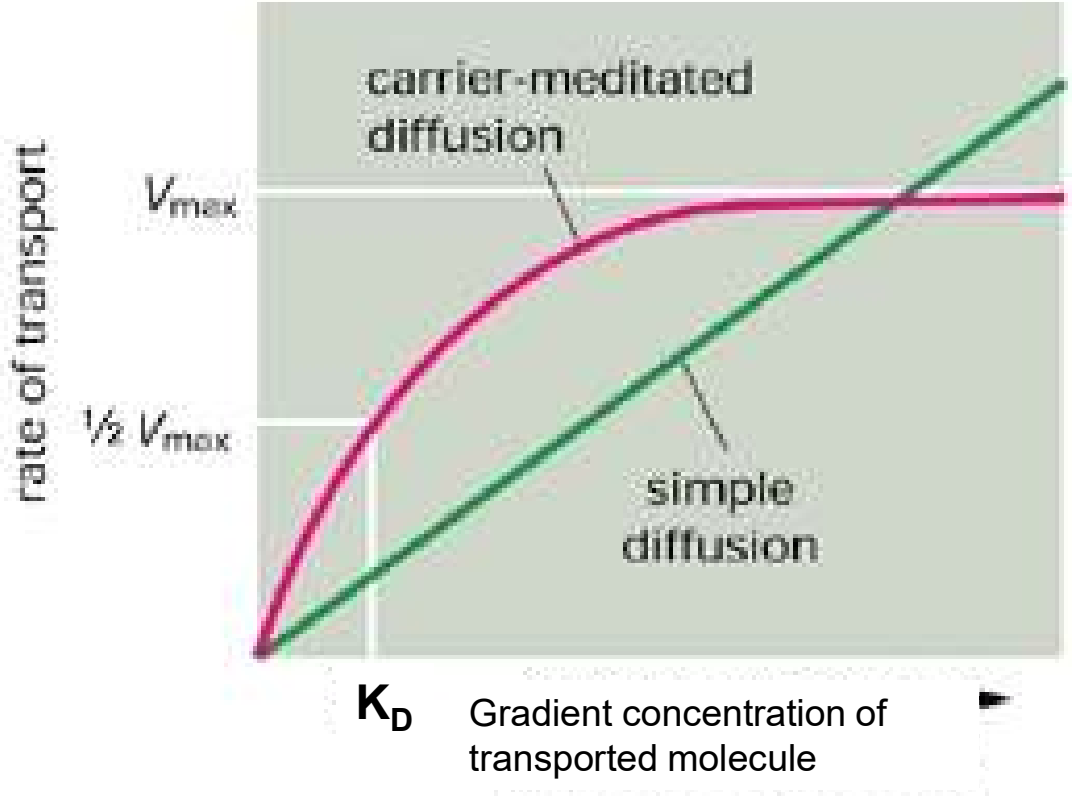
$$K_D = \frac{[L][T]}{[LT]}$$

$$V_{trasporto} = \frac{V_{max}\, G}{K_D + G}$$



C2 C1 C2-C1

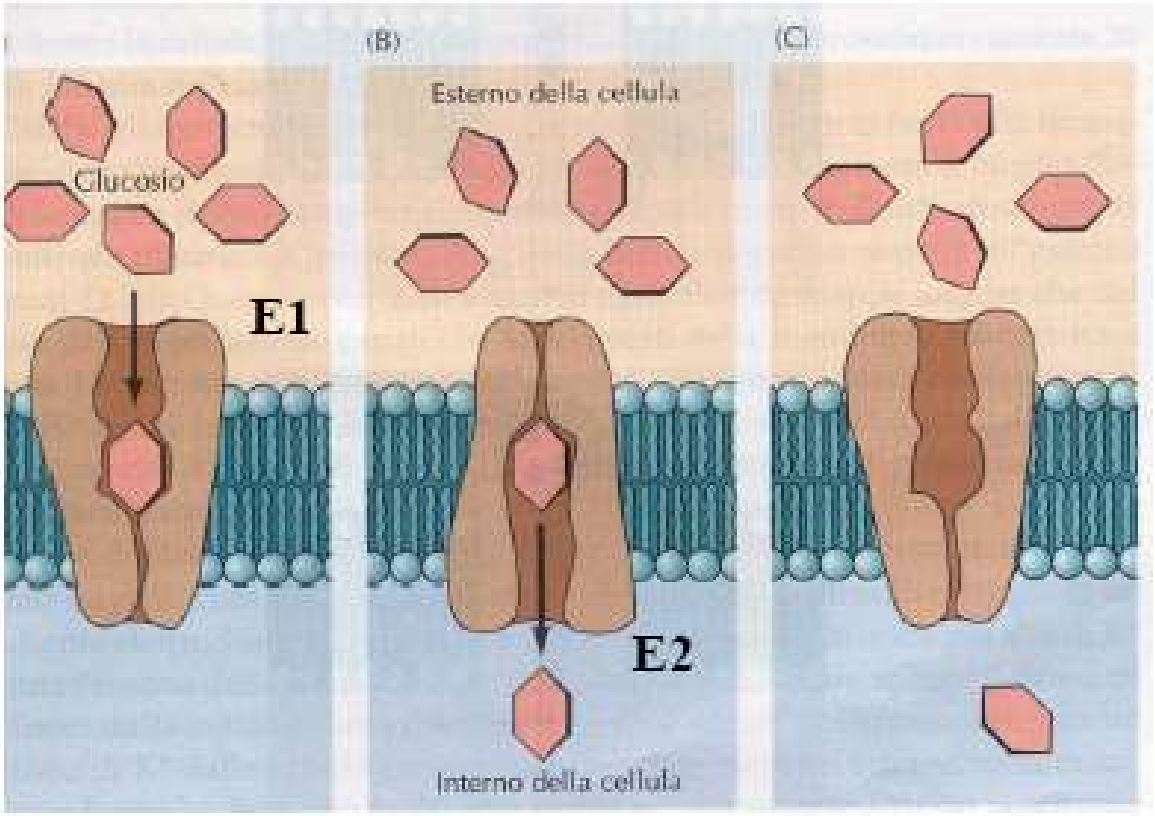
Se C1 è costante G è proporzionale a [C2]



A. Utilizzo del grafico dei doppi reciproci per calcolare K_D e Vmax
B. Inibizione da parte di molecole esogene (es. farmaci)
C. Cinetiche di inibizione competitiva e non competitiva

I trasportatori hanno generalmente due stati conformazionali (E1 e E2),

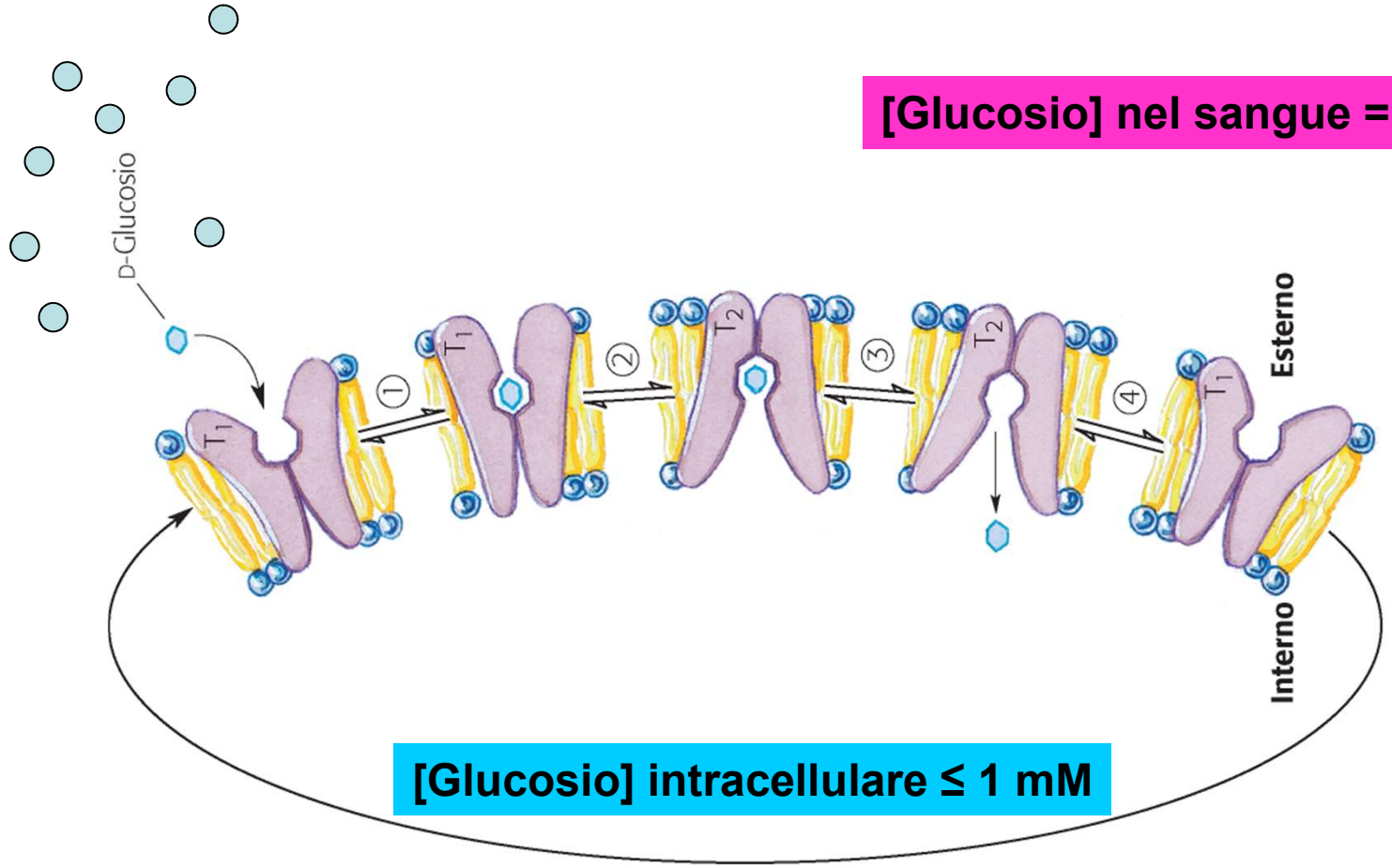
uno con i siti leganti rivolti all'esterno E1
l'altro con i siti leganti rivolti internamente E2.



L'effetto del ligando è quello di stabilizzare lo stato E2

ESEMPIO: la PERMEASI del GLUCOSIO

[Glucosio] nel sangue = 4-7 mM



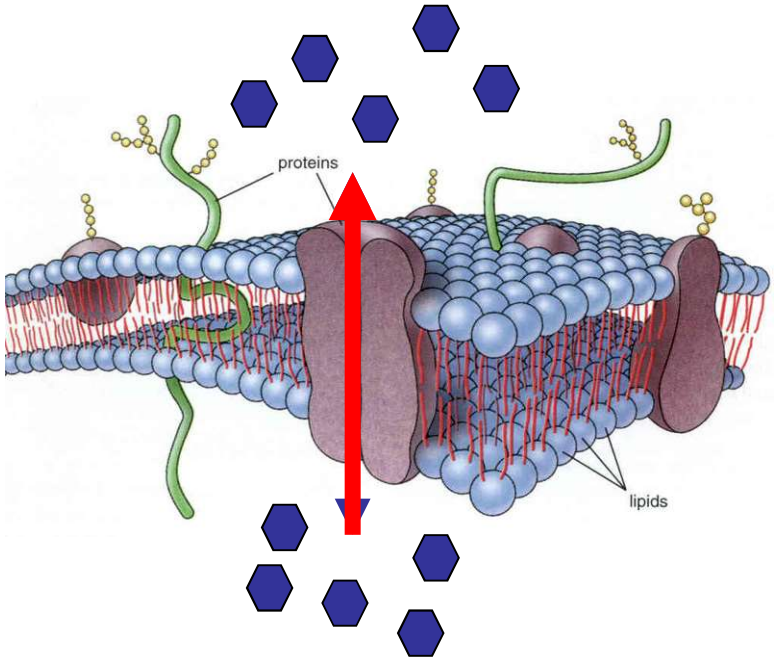
[Glucosio] intracellulare ≤ 1 mM

IMPORTANTE:

Sia nel caso della diffusione semplice che in quella della diffusione facilitata la direzione del trasporto è SEMPRE quella del GRADIENTE di CONCENTRAZIONE

La molecola si muoverà SEMPRE dal compartimento a concentrazione maggiore al compartimento a concentrazione minore

- ☞ **Dissipa il gradiente di concentrazione**
- ☞ **Tende a raggiungere l'equilibrio**
- ☞ **PROCESSO SPONTANEO ($\Delta G<0$)**



Se non c'è gradiente di concentrazione il flusso si arresta

Se il gradiente si inverte, si inverte anche la direzione del trasporto

La cinetica di trasporto del glucosio è stata misurata a diverse concentrazioni di ligando in presenza ed in assenza di un inibitore.

I valori ottenuti dall'esperimento sono i seguenti:

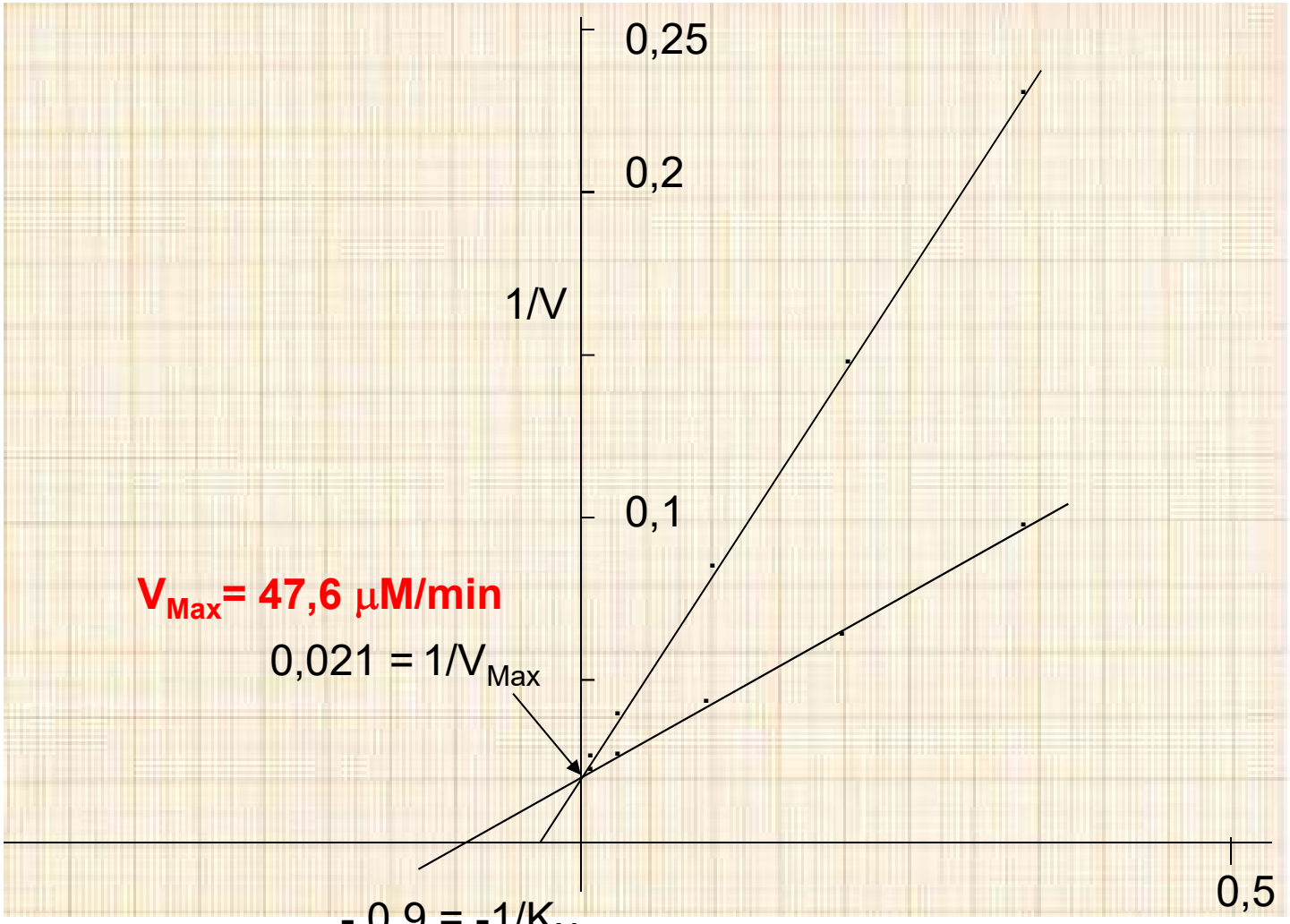
[L] μmol/L	**Trasporto (μmol/L)min^{-1}**	
	Senza inibitore	**Con inibitore**
3	10,4	4,1
5	14,5	6,4
10	22,5	11,3
30	33,8	22,6
90	40,5	33,8

a) Determinare K_d e V_T in assenza e in presenza di inibitore

b) Definire di che tipo di inibizione si tratta

1/[S] =	**1/Vt =**	**1/Vt* =**
0,334	**0,096**	**0,243**
0,200	**0,069**	**0,156**
0,100	**0,044**	**0,088**
0,030	**0,029**	**0,044**
0,011	**0,024**	**0,029**

1/[S] =	1/Vt =	1/Vt* =
0,334	0,096	0,243
0,200	0,069	0,156
0,100	0,044	0,088
0,030	0,029	0,044
0,011	0,024	0,029



K_M = 1,1μM

K_{M*} = 3,1 μM

INIBIZIONE COMPETITIVA

Sistemi di trasporto di membrana

Trasporto passivo

$-\Delta G$

Diffusione semplice

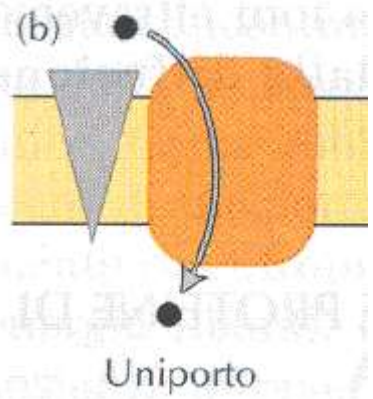
Diffusione facilitata

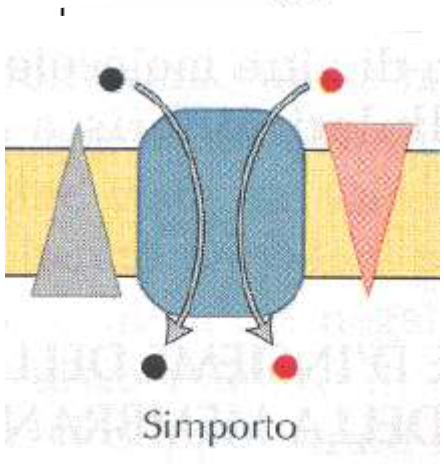
Indipendente da un vettore

Dipendente da vettore proteico

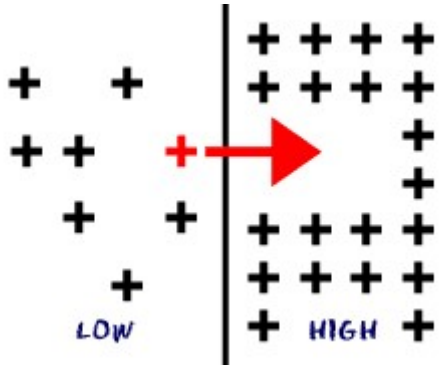
Canali ionici

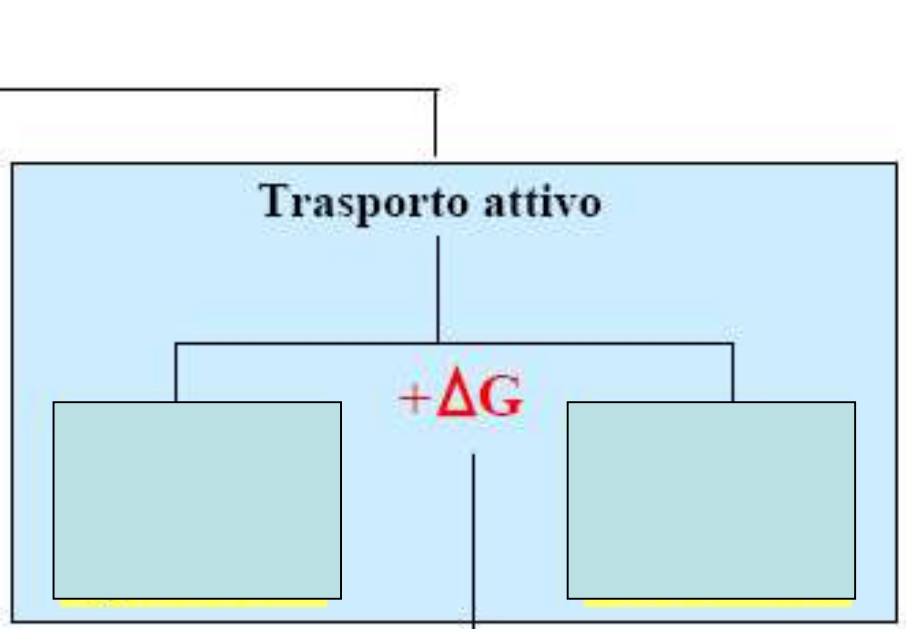
Permeasi





TRASPORTO ATTIVO



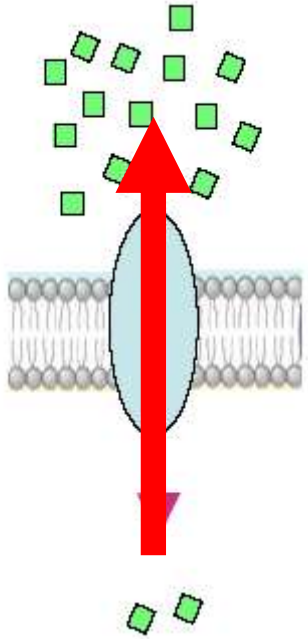


Sempre mediato da PROTEINE

AVVIENE CONTRO GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE

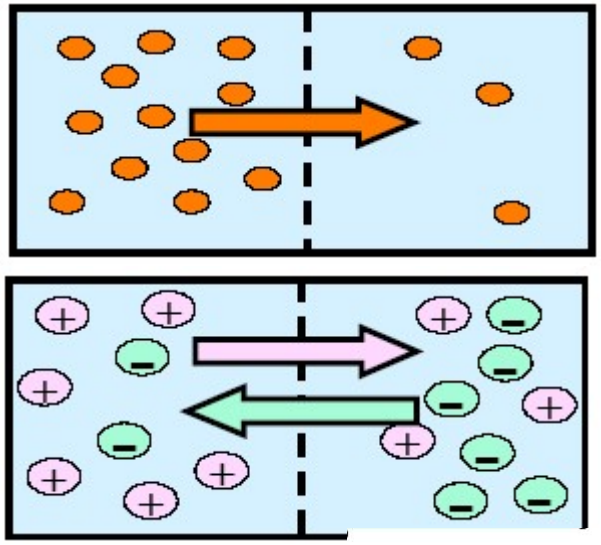
- **Preserva il gradiente di concentrazione**
- **Non permette di raggiungere l'equilibrio**
- **PROCESSO non SPONTANEO (ΔG>0)**

Richiede ENERGIA



TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

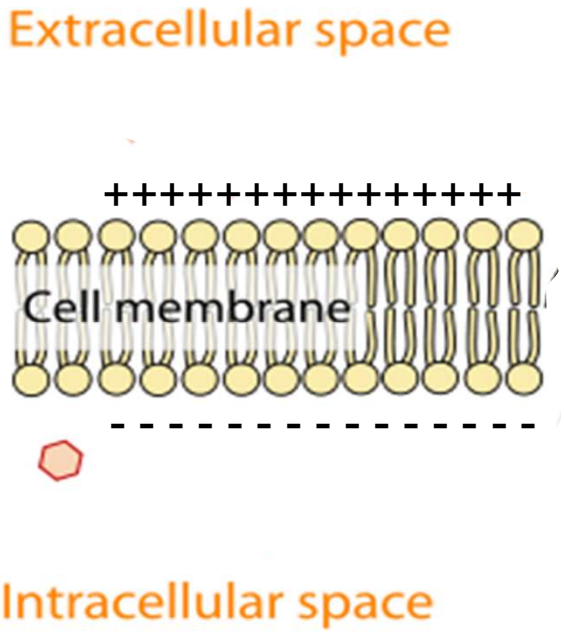
Sono 2 le forze che guidano il trasporto di ioni:



1. GRADIENTE DI CONCENTRAZIONE (CHIMICO)

→ **GRADIENTE ELETTRO-CHIMICO**

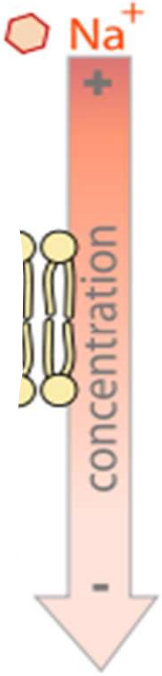
2. GRADIENTE ELETTRICO

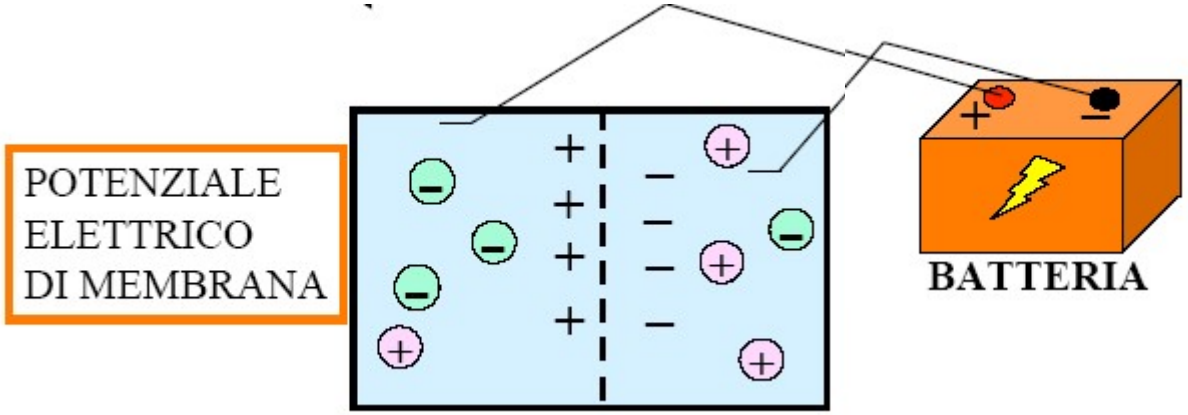


[Na] = 140 mM

$\Delta\Phi$ = - 60 mV (media)

[Na] = 10 mM





Forma di conservazione di energia (potenziale)

TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

L'energia per il trasporto contro gradiente è data dalla contemporanea diffusione di Na^+

L'energia, conservata sotto forma di gradiente ELETTROCHIMICO di Na^+, viene utilizzata permettendone la diffusione.

- ☞ **Il gradiente di Na^+ tende a dissiparsi**
- ☞ **Si mantiene un gradiente a spese di un altro**
- ☞ **Se il gradiente di Na^+ si dissipa, l'altra molecola non viene trasportata**

Es:

- **co-trasporto Na^+/glucosio**

Epitelio intestinale, tubulo prossimale del rene

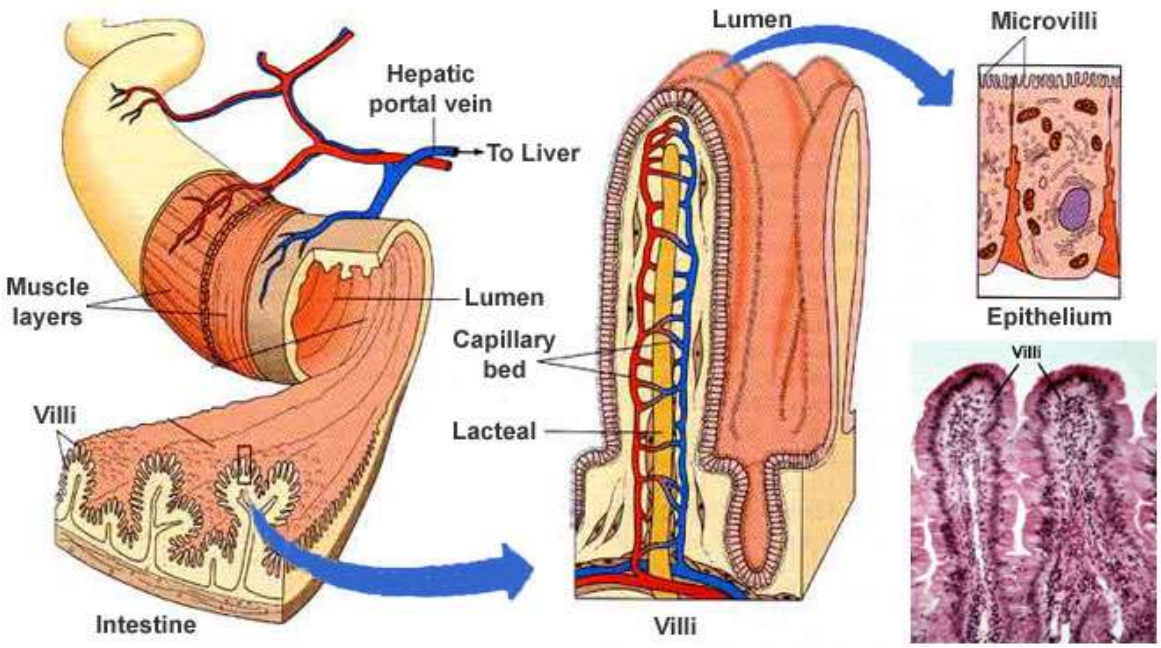
- **co-trasporto Na^+/aminoacidi**

tutti i tessuti

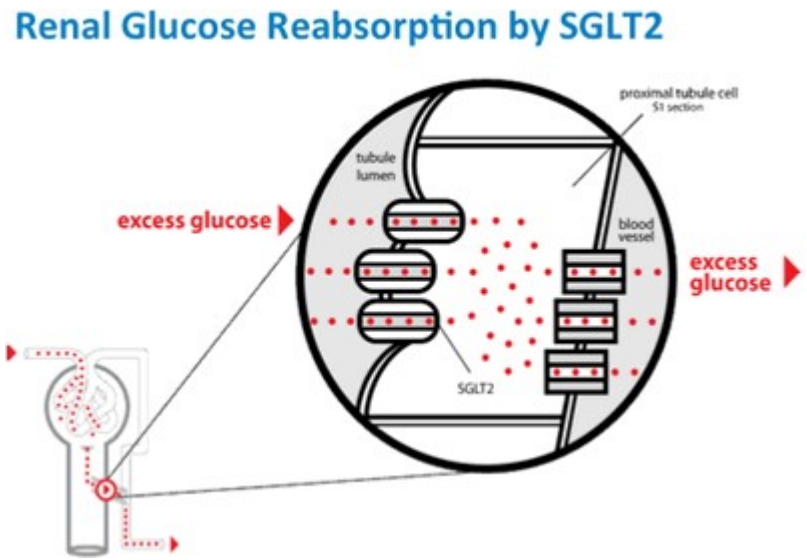
Lume Intestinale:

GRANDE VOLUME

Bassa concentrazione di soluti (glucosio, AA)



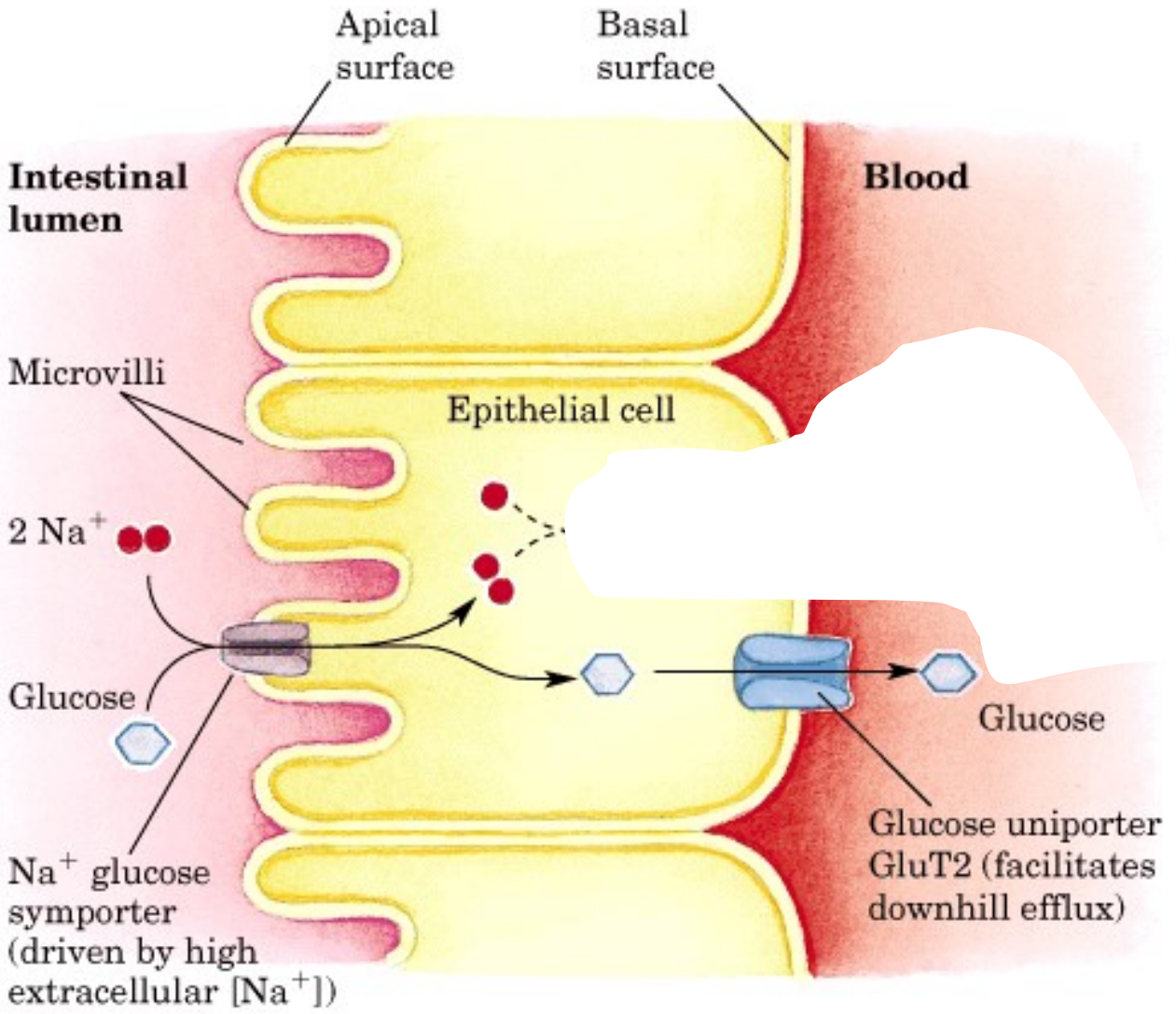
Tubulo prossimale renale:
permette il riassorbimento del glucosio contro gradiente di concentrazione, limitandone l'escrezione



Glucosio e aminoacidi sono assorbiti grazie a un meccanismo di trasporto attivo secondario Na^+-dipendente

Lume Intestinale:

bassa concentrazione (glucosio, AA)



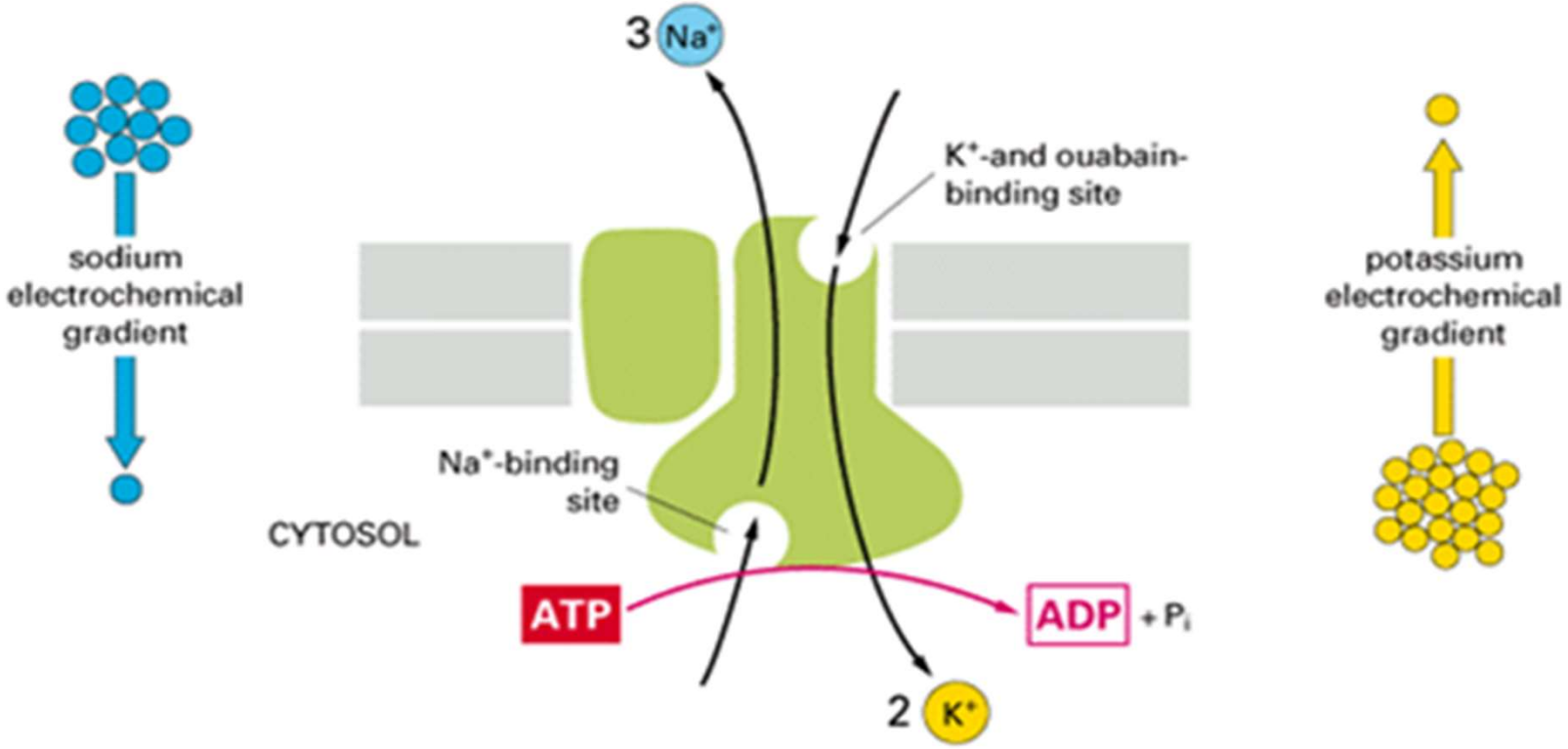
TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO

L'energia per il trasporto contro gradiente è data dall'IDROLISI dell'ATP associata alla fosforilazione transitoria del trasportatore

Trasporto attivo di ioni (POMPE IONICHE) = Na^+, K^+, Ca^{2+}, H^+.

La Na+/K+-ATPasi (Pompa Na+/K+) mantiene i gradienti di Na+ e K+ tra l'ambiente intra e quello extra-cellulare

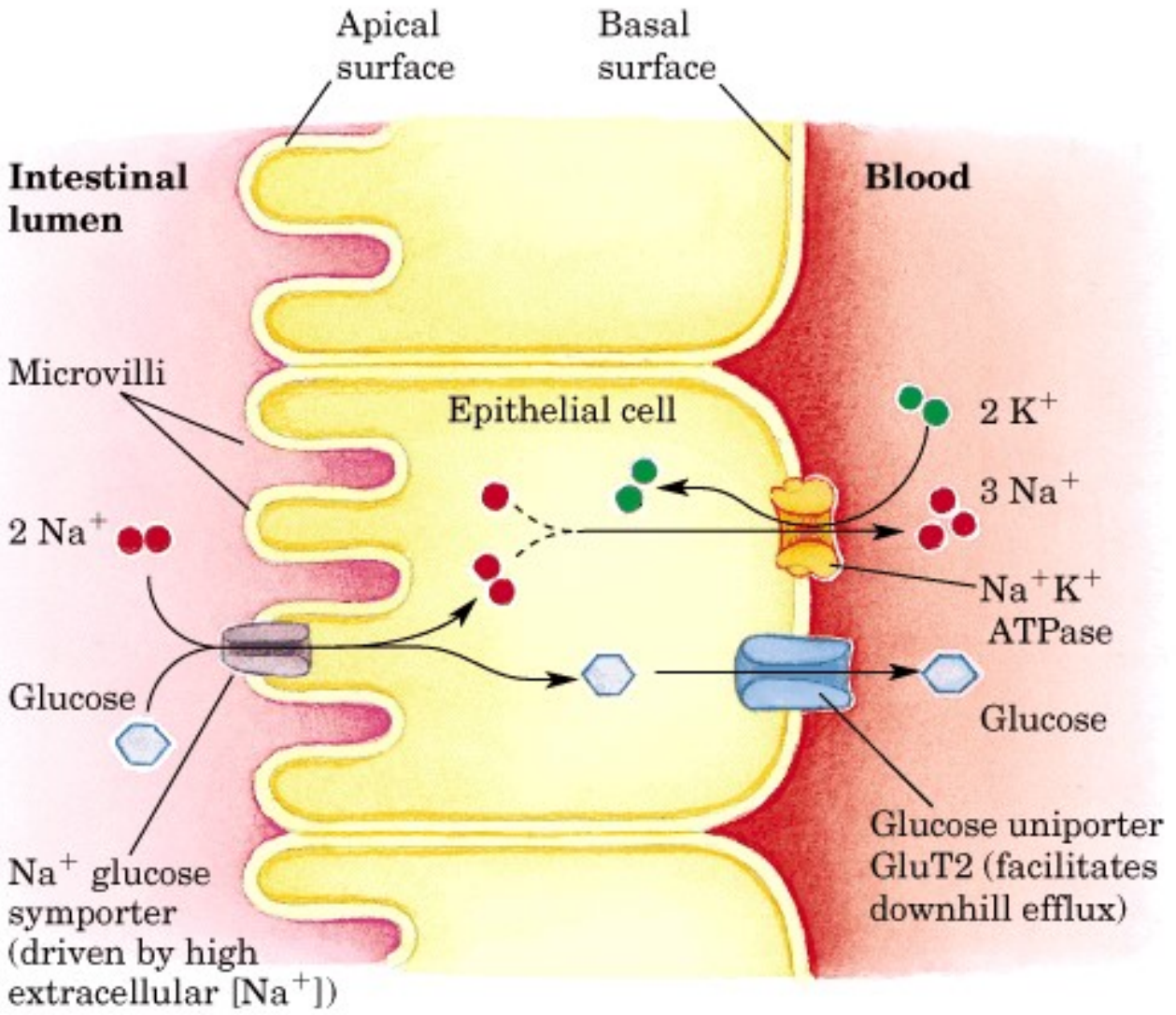
Tali gradienti tendono ad essere dissipati quando si aprono dei canali di membrana specifici per il Na^+ e per il K^+ o quando opera un trasportatore Na+ dipendente



Glucosio e aminoacidi sono assorbiti grazie a un meccanismo di trasporto attivo secondario Na^+-dipendente

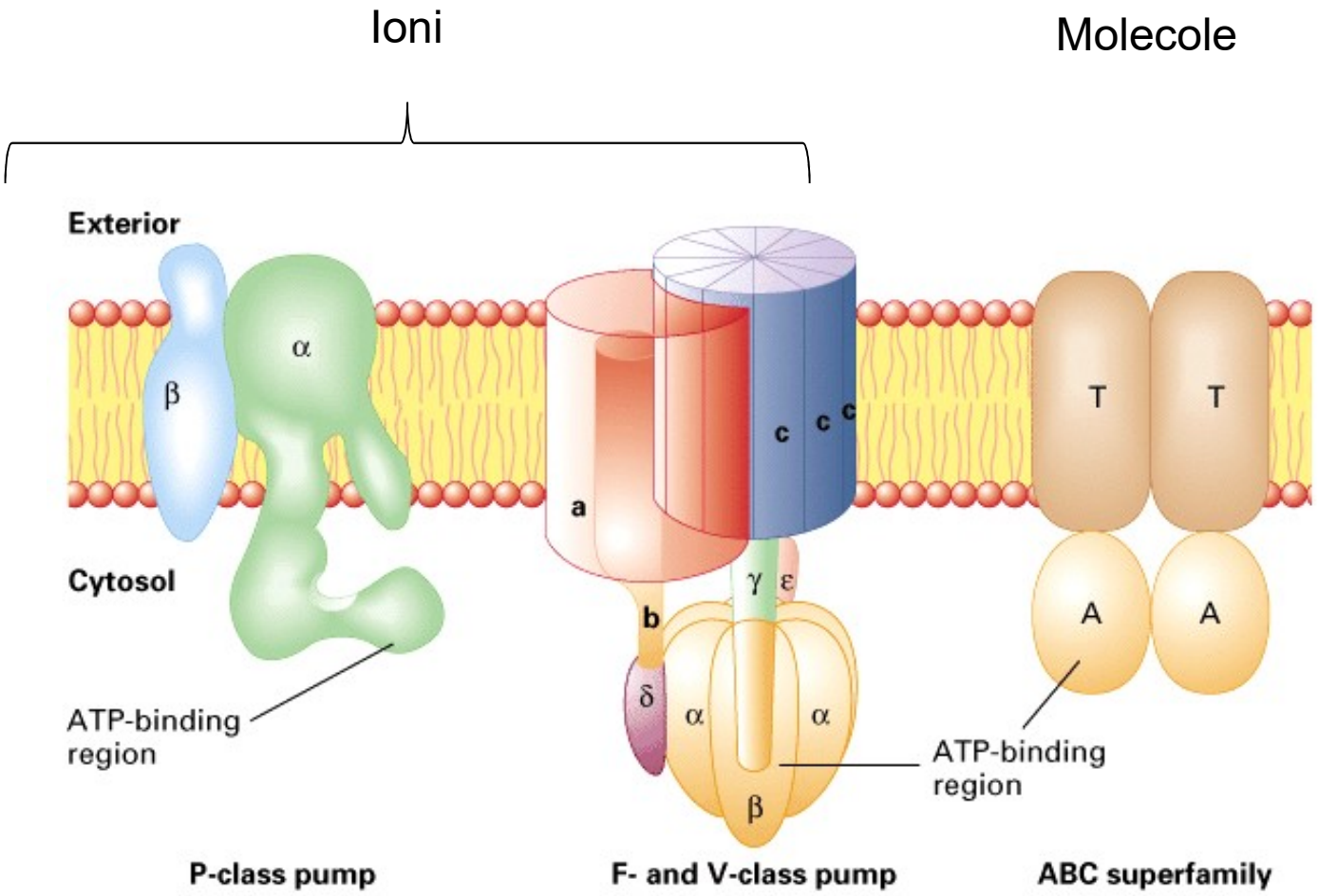
Lume Intestinale:

bassa concentrazione (glucosio, AA)

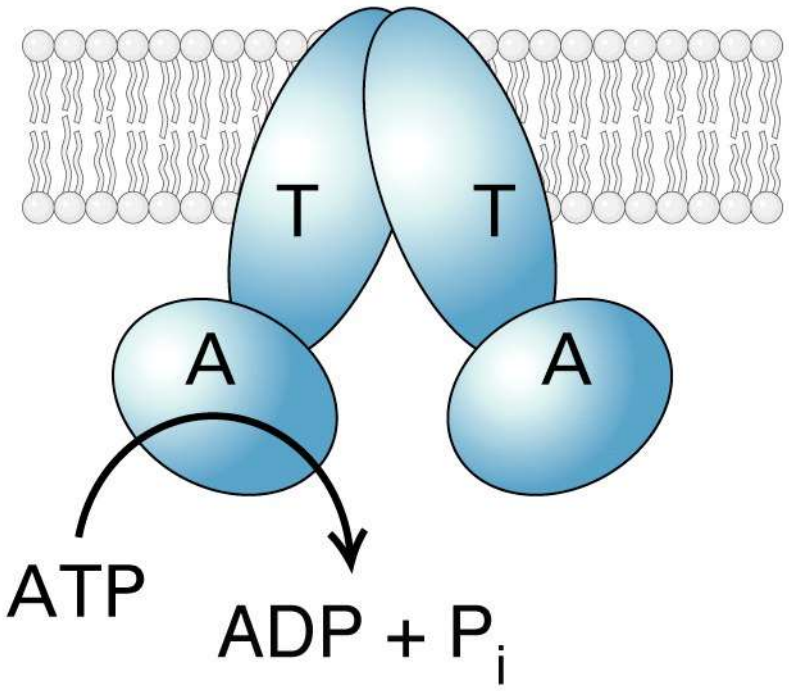


TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO

L'energia per il trasporto contro gradiente è data dall'IDROLISI dell'ATP associata alla fosforilazione transitoria del trasportatore



ABC = **A**TP **B**inding **C**assette



ABC superfamily

Bacterial plasma membranes (amino acid, sugar, and peptide transporters)

Mammalian plasma membranes (transporters of phospholipids, small lipophilic drugs, cholesterol, other small molecules)

I RECETTORI

Un sistema vivente è capace di **ricevere, rispondere e adattarsi** ai cambiamenti dell'ambiente circostante.
I cambiamenti si manifestano sotto forma di **SEGNALI** (fisici o chimici).
Il "contatto" con un segnale genera una **RISPOSTA** da parte del sistema.

Le modificazioni dell'ambiente sono codificate da

SEGNALI EXTRACELLULARI

Fisici:

radiazione elettromagnetica

deformazione

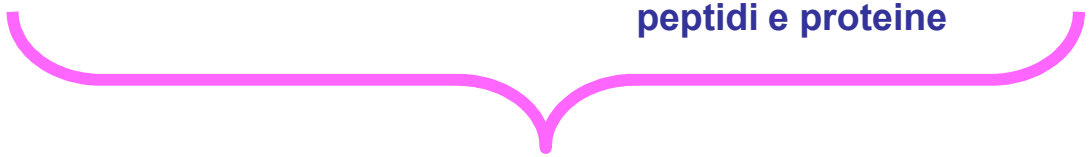
pressione

CHIMICI :

aminoacidi e loro derivati

piccole molecole idrofiliche o idrofobiche (steroidi)

peptidi e proteine



RECETTORI:

PROTEINE la cui espressione

definisce la *cellula bersaglio*

Sono le "antenne" in grado di captare il segnale in arrivo

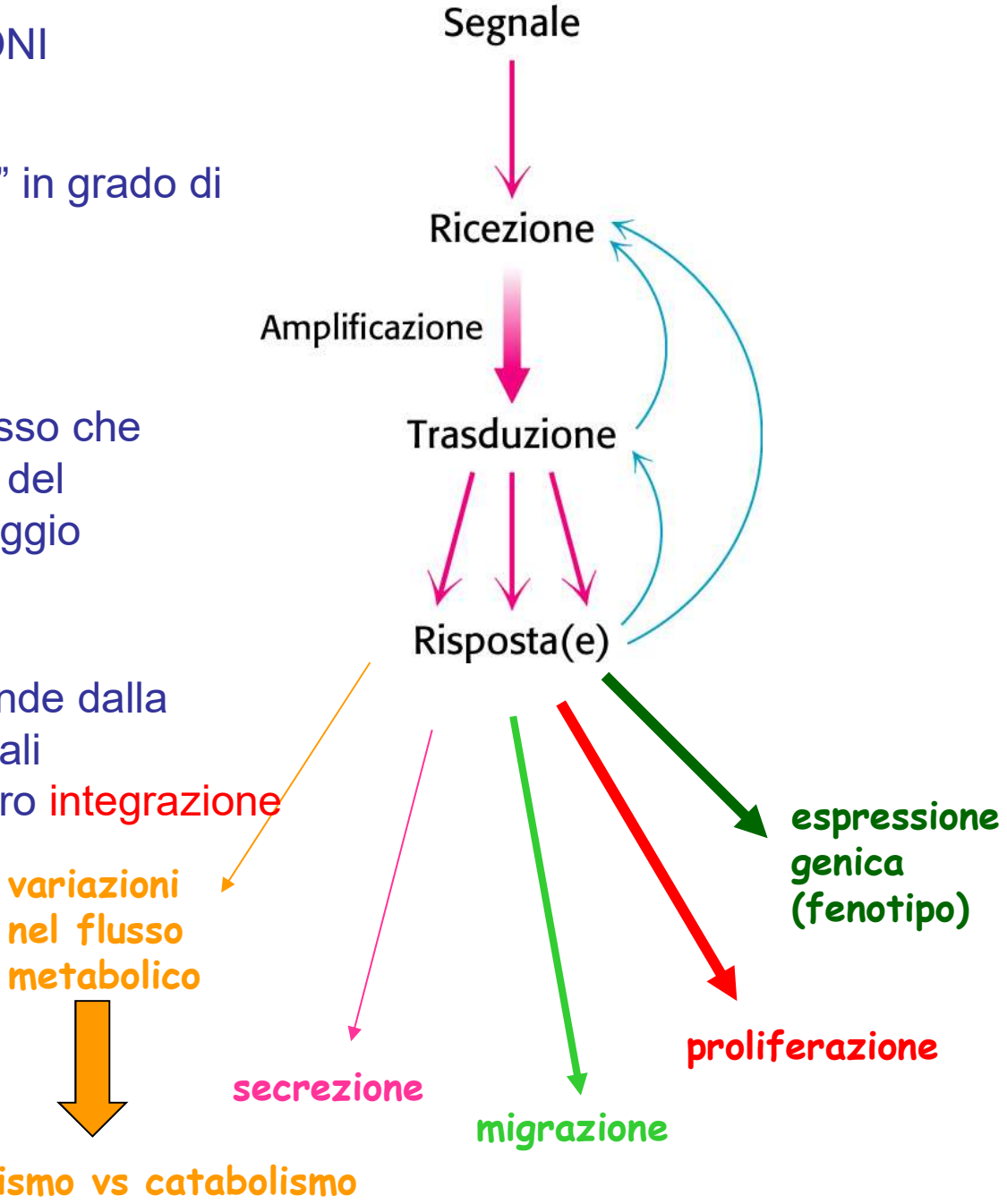
“TRASDUZIONE DEL SEGNALE”

FLUSSO DELLE INFORMAZIONI

I recettori sono le “antenne” in grado di captare il segnale in arrivo

La trasduzione è il processo che decodifica l’informazione del segnale captato in linguaggio biochimico

La risposta cellulare dipende dalla decodifica di diversi segnali contemporanei e dalla loro integrazione



Segnali liposolubili → Le membrane biologiche NON costituiscono una barriera alla loro diffusione

→ **RECETTORI INTRACELLULARI**

Segnali idrosolubili → Le membrane biologiche costituiscono una barriera alla loro diffusione

→ **RECETTORI DI MEMBRANA**

Segnali liposolubili

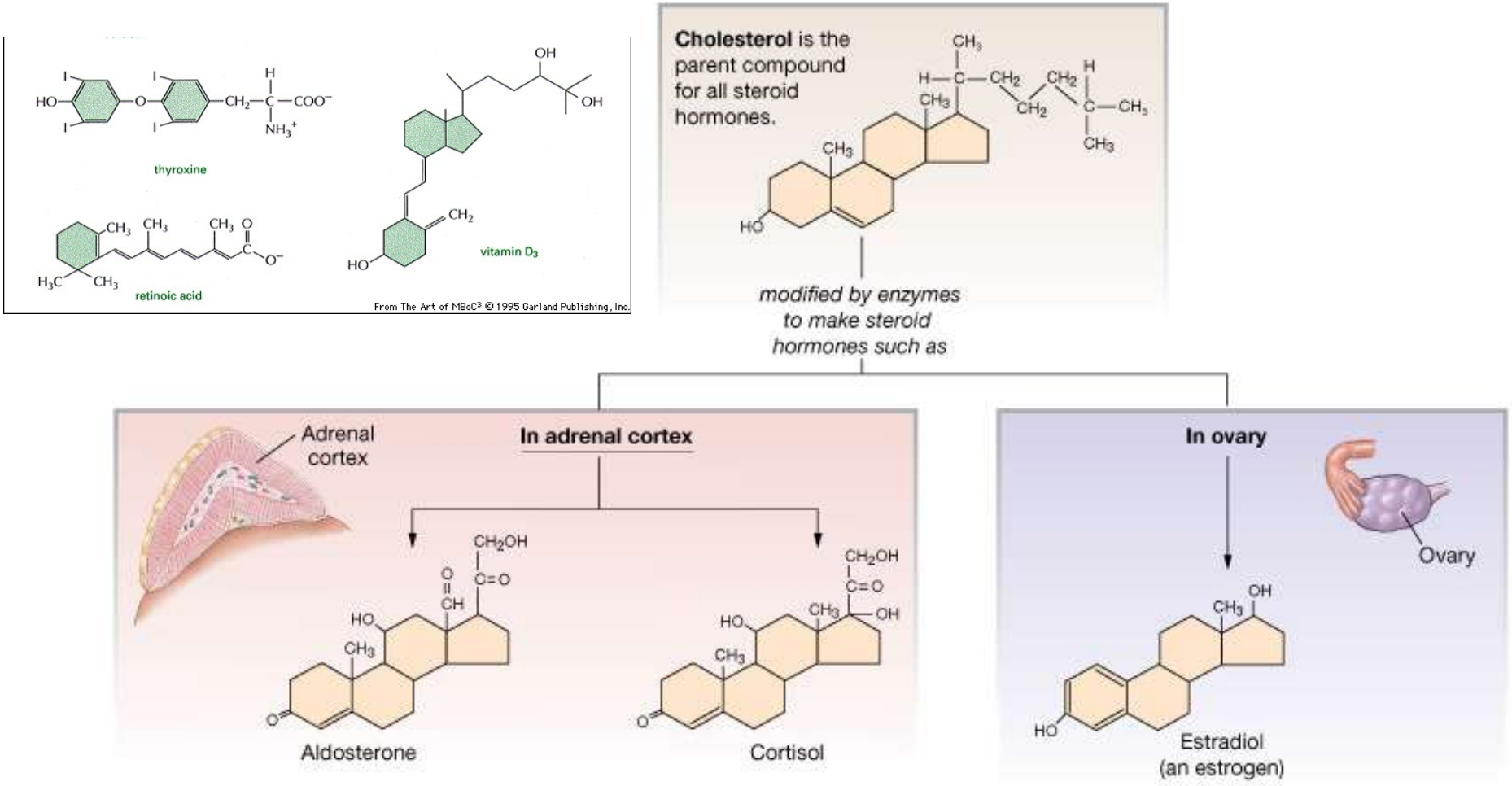
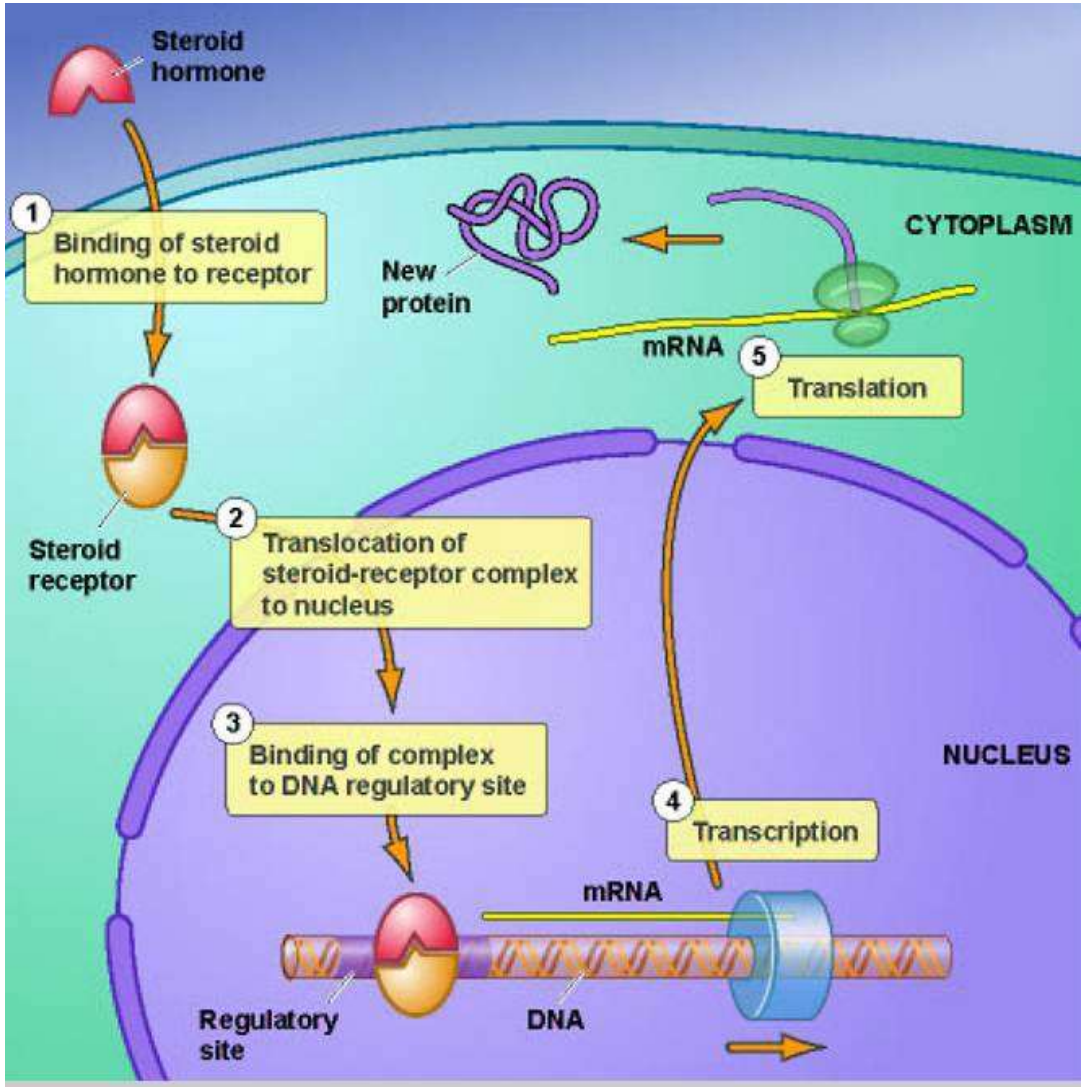


Figure 7-6: Steroid hormones are derived from cholesterol

I recettori intracellulari legano la molecola segnale nel citoplasma, subiscono una transizione allosterica e traslocano nel nucleo dove mediano la trascrizione genica.

Il controllo della trascrizione rappresenta un livello cruciale per la regolazione dell'espressione genica perché con esso le cellule eucariote determinano quali geni devono essere attivati o spenti e di conseguenza **quali proteine devono essere sintetizzate** in ogni preciso momento della vita cellulare.



Source: "Module 6," < http://www.thepepproject.net/ >

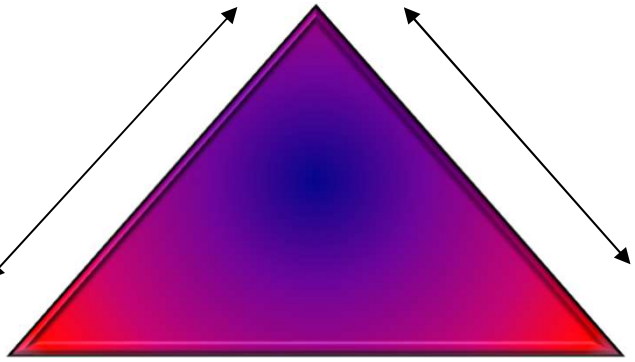
Molecole idrosolubili → Le membrane biologiche costituiscono una barriera alla loro diffusione

↓

RECETTORI DI MEMBRANA → Le molecole segnale non entrano nella cellula. L'informazione contenuta nel complesso Segnale-Recettore viene DECODIFICATA

Variazione di 3 parametri

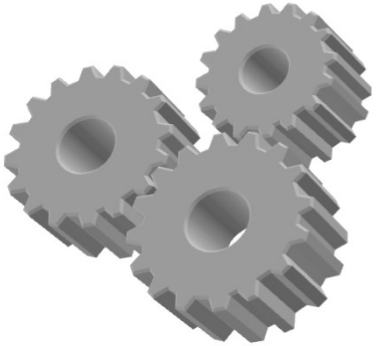
Permeabilità ionica



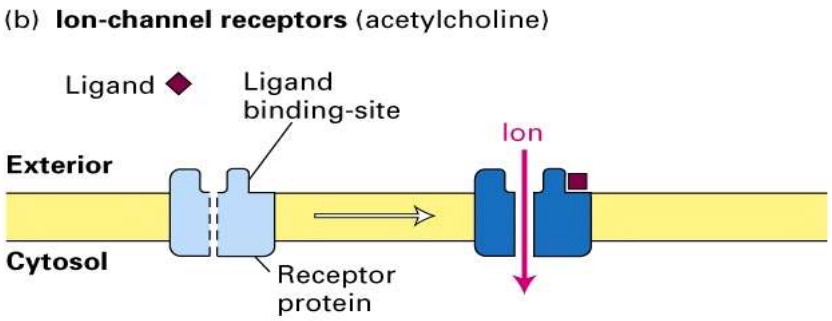
Fosforilazione delle proteine

Secondi messaggeri

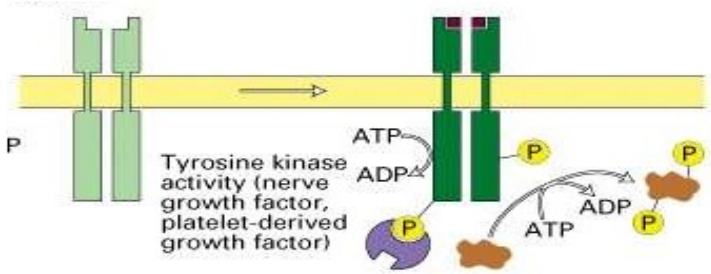
3 parametri interdipendenti



I recettori di membrana si dividono in 3 grandi famiglie

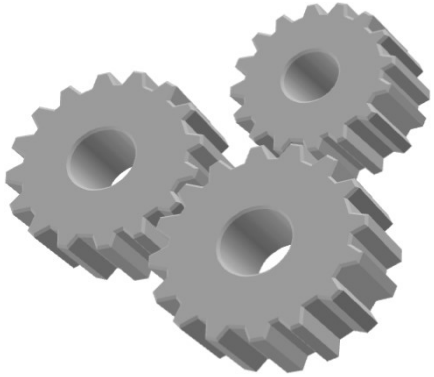


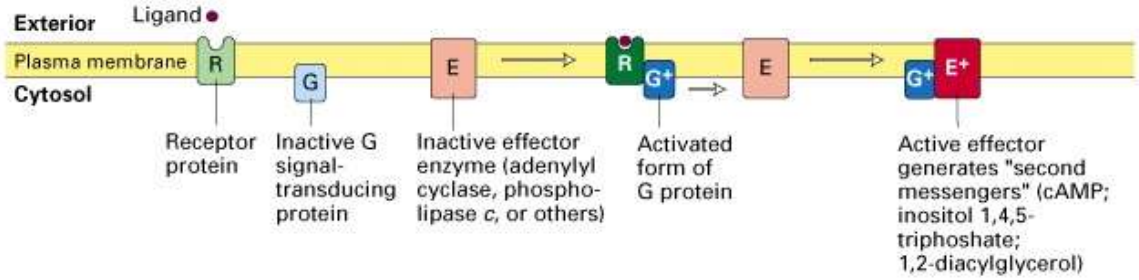
Recettori protein chinasici



Permeabilità ionica

Fosforilazione delle proteine



Secondi messaggeri

(a) Recettori associati a proteine G