

Da: Winnikoff et al., *Homeocurvature adaptation of phospholipids to pressure in deep-sea invertebrates* (Science, 2024)

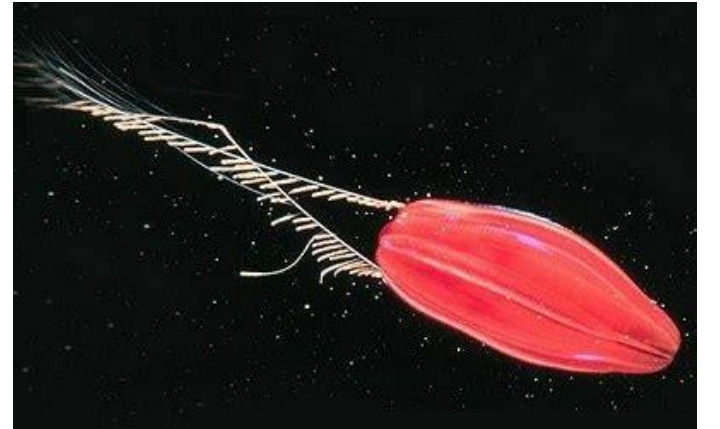
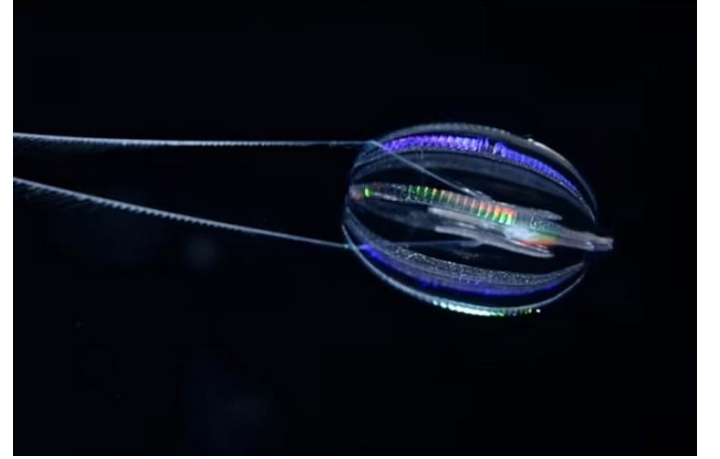
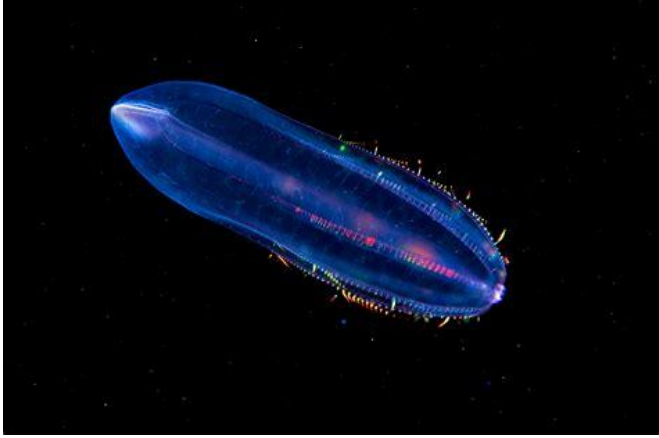
L'omeocurvatura

come le membrane degli ctenofori abissali
funzionano grazie alla pressione estrema

Dipartimento di Scienze della Vita
Ecologia e Sostenibilità dei Cambiamenti Globali

-

Impatti dei fattori ambientali sugli animali



Adattamento omeoviscoso: gli organismi modificano le loro membrane cellulari in risposta alla temperatura

Sintesi di catene di acidi grassi più corte

Desaturasi che inseriscono insaturazioni tra le catene

Si è finora pensato che questo fenomeno spiegasse anche le risposte alle variazioni di pressione ma...

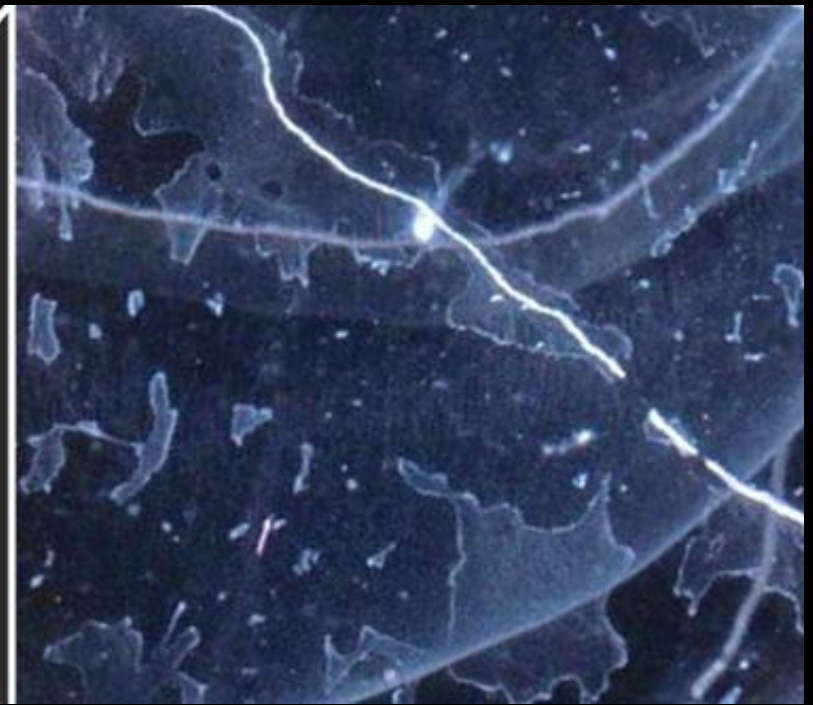
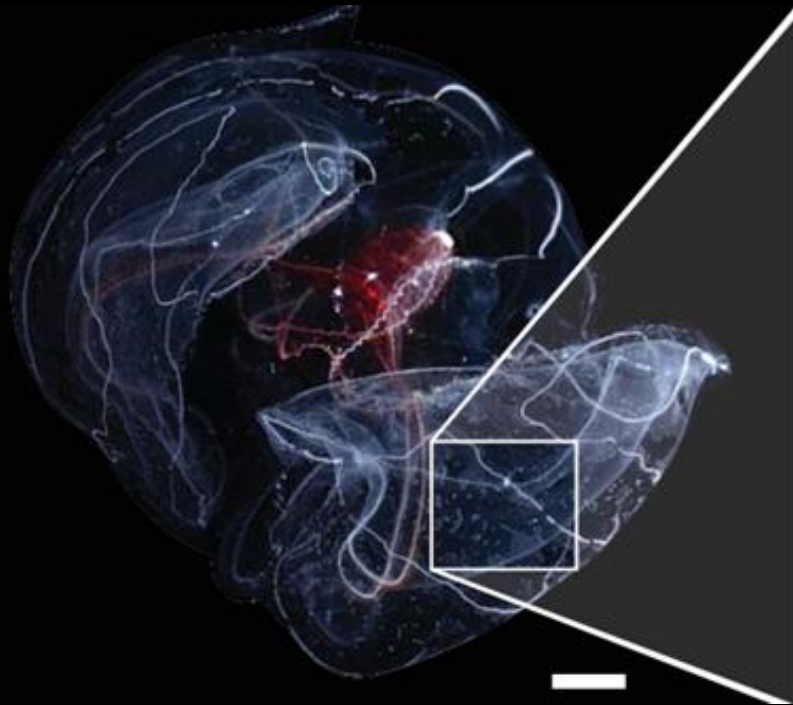
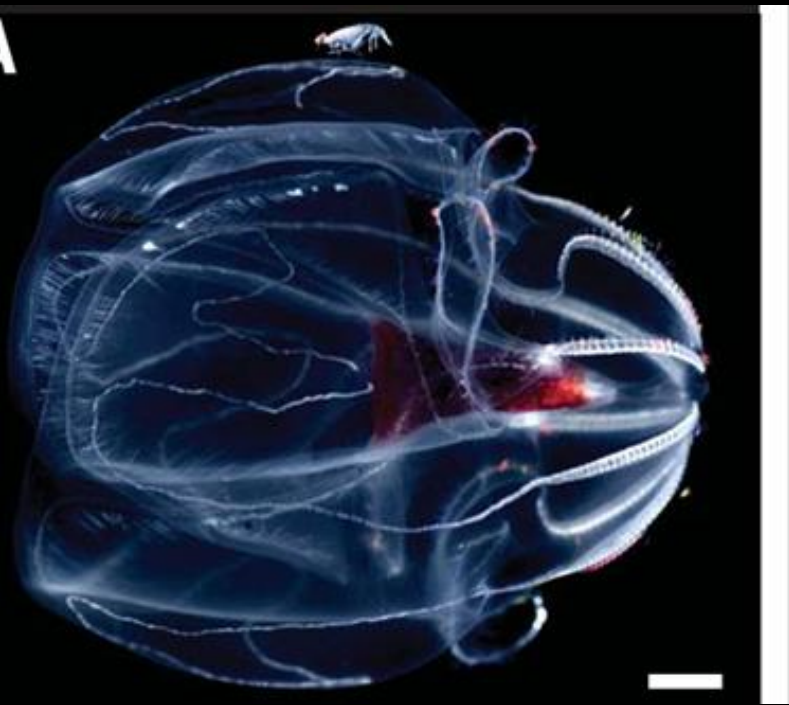
...la membrana degli ctenofori di profondità non si fluidifica con l'aumento di temperatura

..gli ctenofori di profondità mostrano adattamenti specifici alla pressione, indipendenti dalla temperatura

...la lunghezza delle catene di acidi grassi non segue l'andamento atteso con la profondità

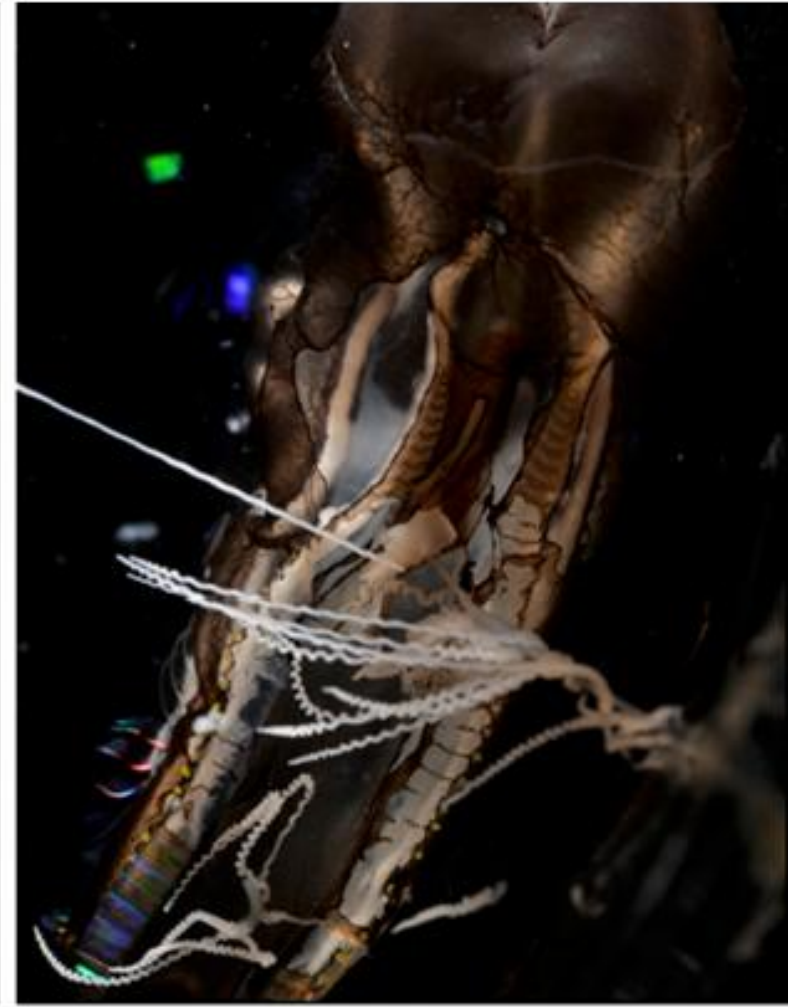
L'adattamento omeoviscoso non è una spiegazione sufficiente

A



Bathocyroe

C



<15 min post-surfacing

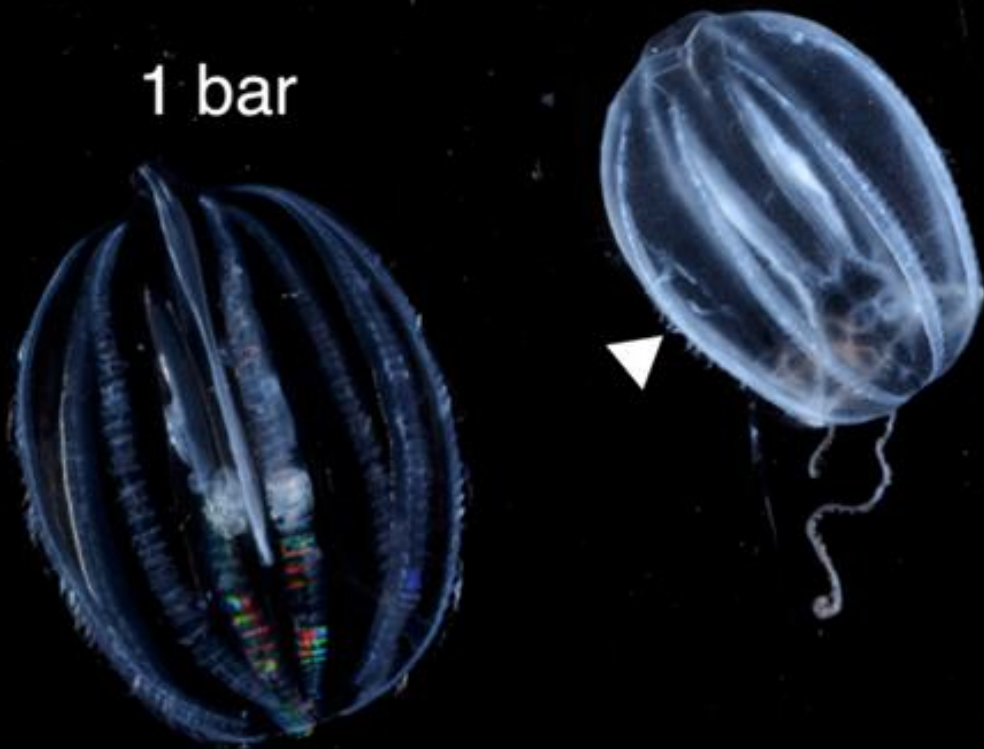
~1 h post-surfacing

Mertensiidae sp. K

A

2 h @ 400 bar

1 bar

*Hormiphora californensis***B**

2 h @ 600 bar

1 bar

*Beroe aff. abyssicola*

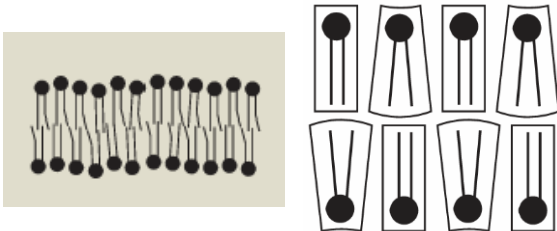
**Pre-compression
1 bar**

Hormiphora californensis

Diversi stati fisici (fasi)

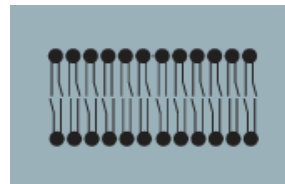
Fase lamellare fluida (L_α):

stato fisiologico di tutte le membrane biologiche, che garantisce le funzioni cellulari, rapporto rigidità/fluidità ottimale



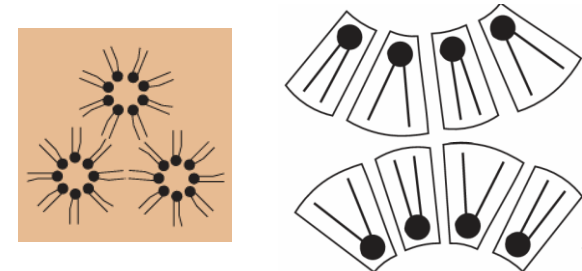
Fase di gel (L_β):

stato L_α sottoposto a pressione, i fosfolipidi vengono compressi e la fluidità della membrana diminuisce



Fase non lamellare o esagonale (H_{II}):

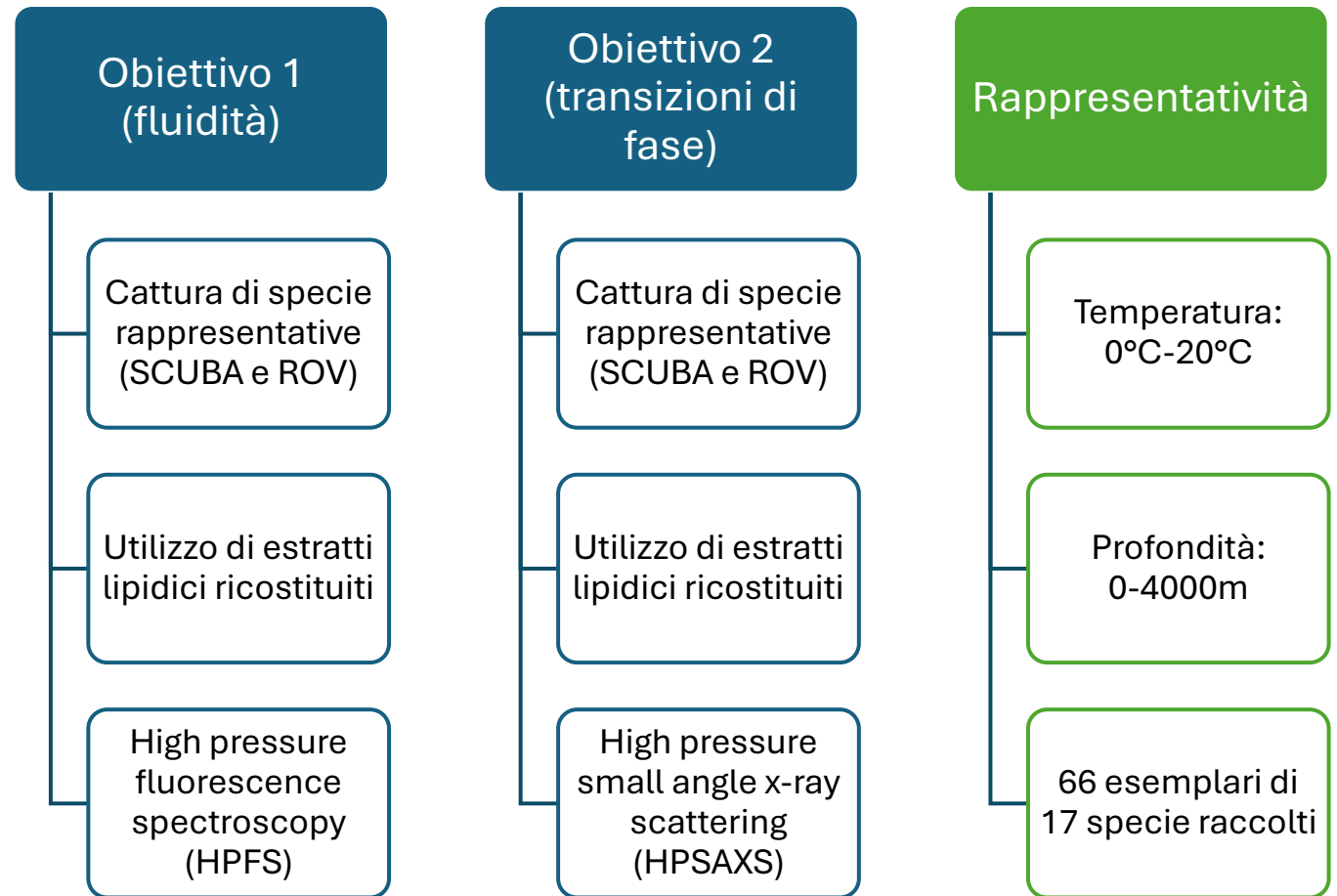
favorita da membrane contenenti plasmalogeni (i.e. PPE), permette processi cellulari come distacco e fusione delle vescicole e il fenomeno dell'omeocurvatura



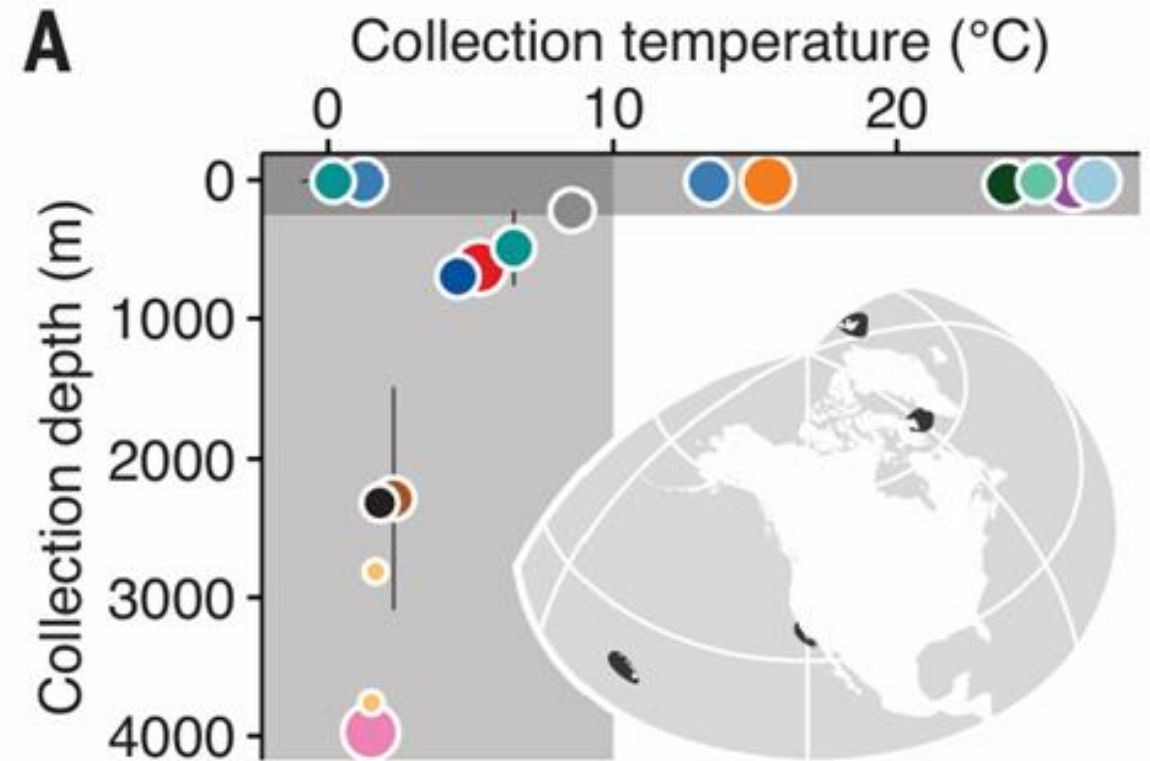
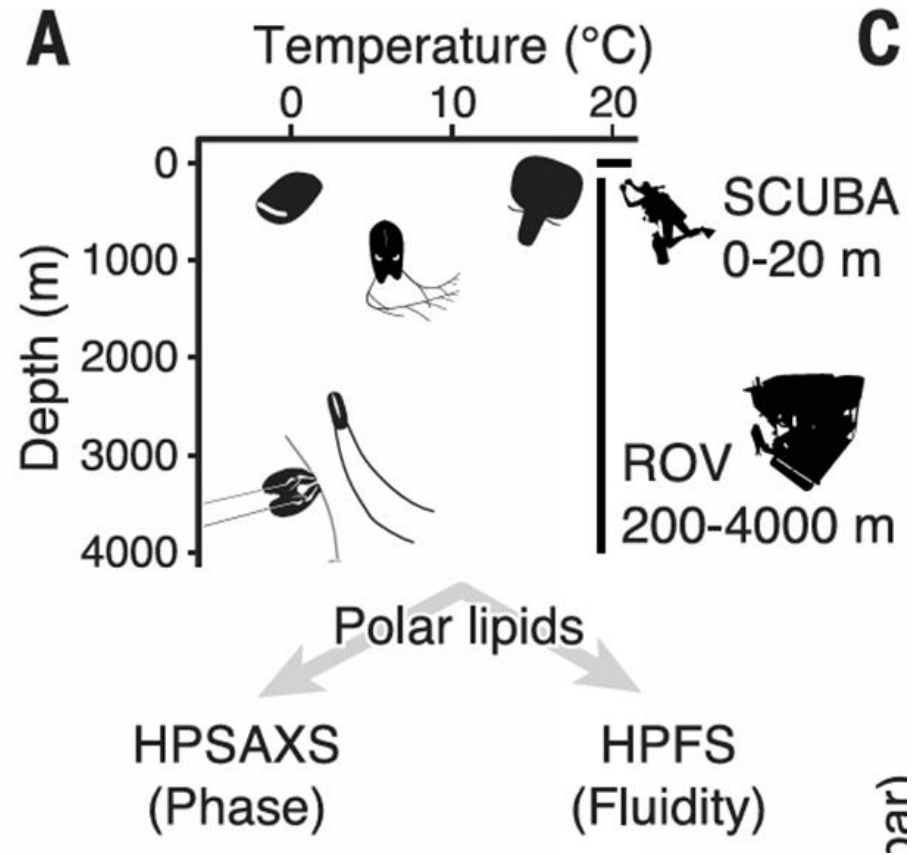
Design sperimentale

Gli obiettivi:

- 1) Determinare la **fluidità** delle membrane nello stato L_α a seconda delle condizioni ambientali
- 2) Capire a quali **transizioni di fase** sono sottoposte le membrane tra gli stati L_α , L_β e H_{II} in diverse condizioni di temperatura e pressione in ctenofori di ambienti diversi
- 3) Elaborare un modello che spieghi gli andamenti osservati in natura nella **struttura** dei lipidi di membrana



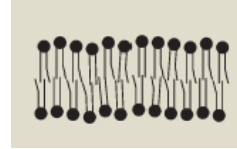
Design sperimentale



Risultati

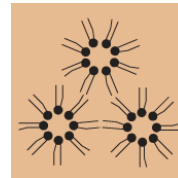
Le membrane di tutti gli ctenofori analizzati sono in fase L_α nelle condizioni native.

Le membrane di organismi abissali e di ambienti freddi hanno maggiore fluidità di quelli di acque calde superficiali



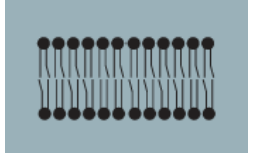
adattamento omeoviscoso confermato

Le membrane di ctenofori abissali, se sottoposte a pressioni via via inferiori, passano da $L_\alpha \rightarrow H_{II}$ più facilmente



correlazione tra le condizioni di P-T naturali degli organismi e la propensione alla transizione alla fase esagonale delle loro membrane

La transizione $L_\alpha \rightarrow L_\beta$ in risposta all'aumento di pressione è invece uguale in tutti gli organismi



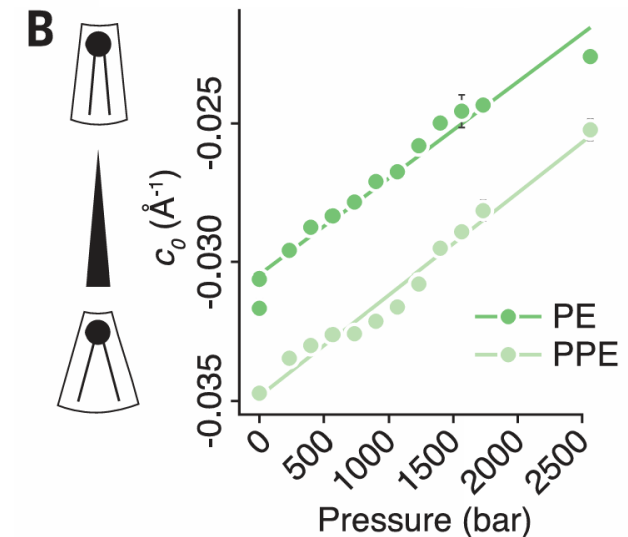
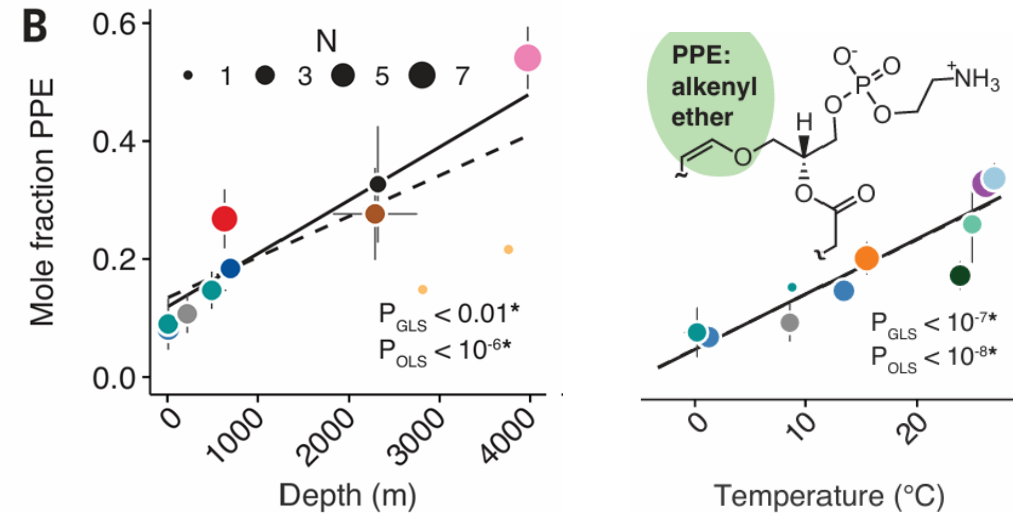
La transizione alla fase di gel dipende dalla fluidità della membrana. **La transizione alla fase non lamellare dipende invece dal profilo sterico dei lipidi** di cui essa è composta

Risultati

Ctenofori di profondità possiedono nelle loro membrane il plasmalogeno **plasmeniletanolamina (PPE)** in quantità fino a 5 volte superiore rispetto a organismi di superficie. Il PPE costituisce in questi organismi fino al **73% dei lipidi di membrana** (solo il 18% nell'uomo)

Il PPE possiede un profilo sterico conico, il che lo rende il fosfolipide di membrana con la curvatura più negativa in assoluto (espressa dal parametro c_0). Occorre una pressione minima di 700bar affinché il PPE acquisisca la stessa curvatura della PE a 1bar e quindi formi una membrana funzionale.

C_0 = parametro di curvatura spontanea del monostrato, dà indicazione di quanto un lipide abbia caratteristiche coniche o cilindriche, quindi della sua curvatura

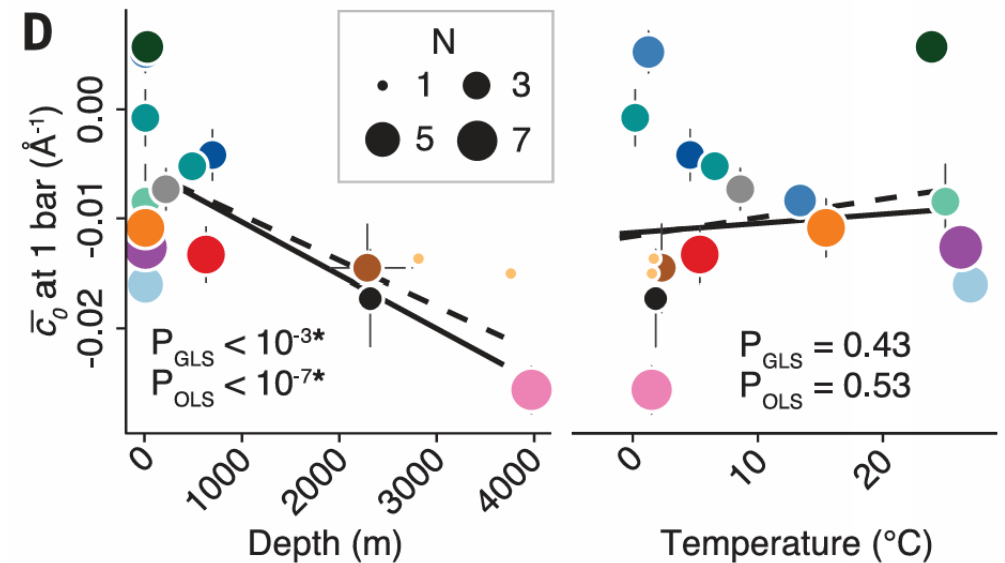


Il modello

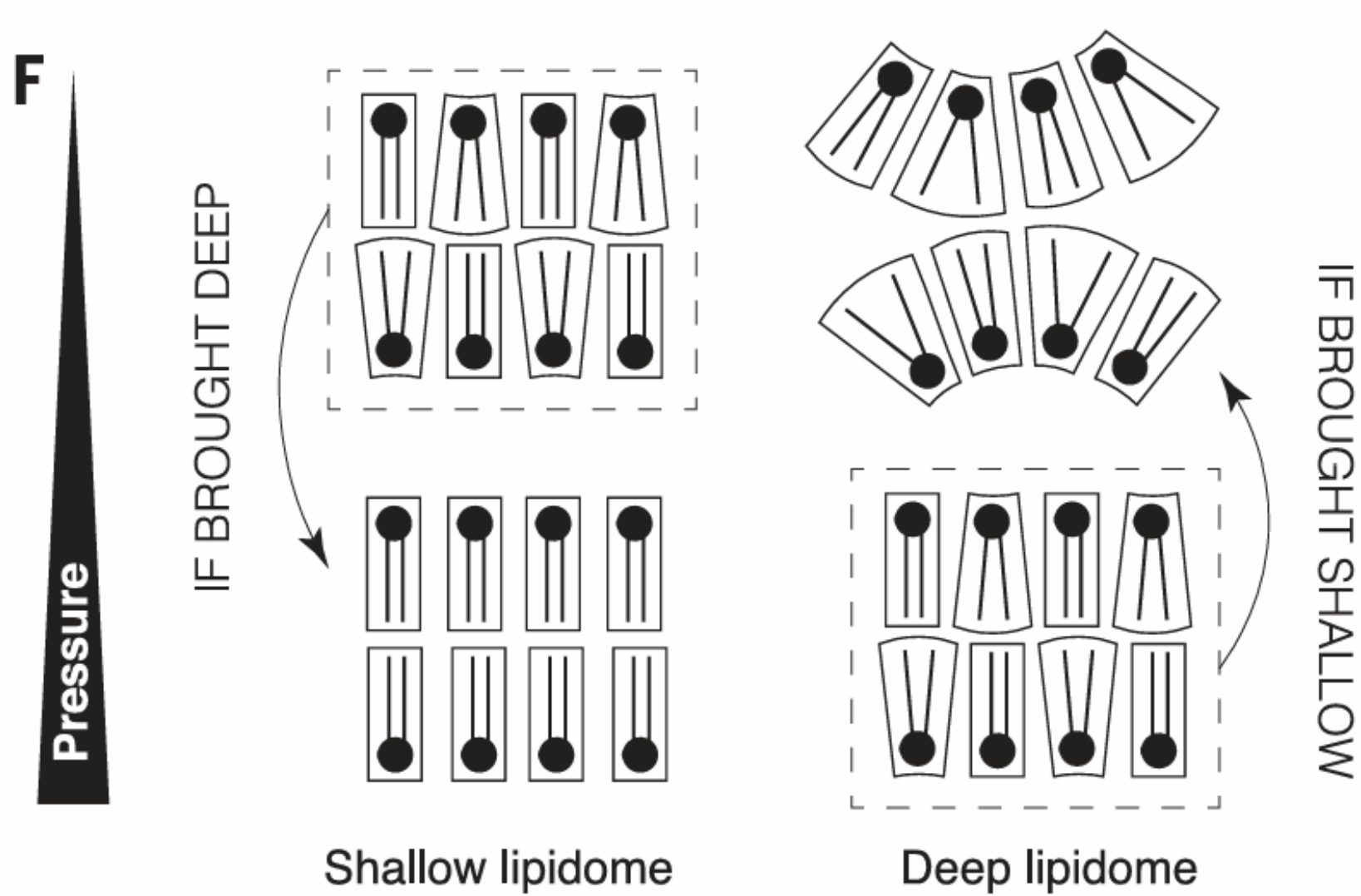
Sulla base dei dati raccolti è stato costruito un modello che esprime la **curvatura media della membrana** (data dalla forma dei lipidi) **alla pressione di 1 bar: $\bar{c}_0$** . Secondo il modello, $\bar{c}_0$ **diventa più negativo con l'aumentare della profondità** sia in specie adattate a grandi profondità sia in tutte le altre specie prese in considerazione nello studio

$\bar{c}_0$ **non è correlato alla temperatura** dell'habitat.

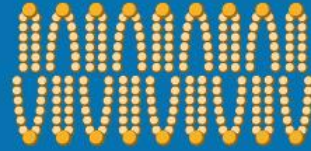
In ctenofori di acque calde superficiali la curvatura negativa del PPE viene compensata da altri lipidi con curvatura positiva, permettendo il mantenimento dell'integrità della membrana in questi ambienti a bassa pressione.



Il modello



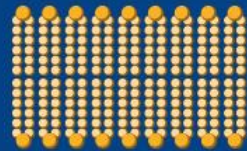
Membrana di
organismo di superficie



Membrana sana



Portata in
acque profonde



Membrana compressa

Quando i lipidi
di superficie sono portati
in acque profonde, la
membrana cellulare
è troppo rigida per
funzionare correttamente.

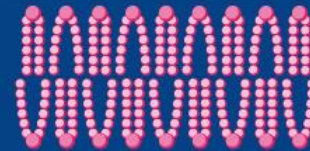
Membrana di
organismo abissale



Membrana disintegrata



Portata in
acque superficiali



Membrana sana

Quando i lipidi abissali
sono portati
in acque superficiali, la
membrana cellulare è
troppo flessibile
e si disintegra.

AUMENTO DELLA PRESSIONE

Test del modello

Per testare l'importanza della curvatura nella tolleranza delle membrane alla pressione



Batteri manipolati per esprimere PPE al posto di PE sottoposti a pressione crescente vs controllo (senza PPE)

PPE synthesis cassette (plsAR) da *Clostridium perfringens* in *E. coli*

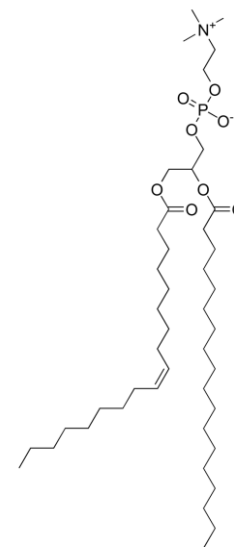
Per dimostrare l'indipendenza della curvatura dalla fluidità delle membrane, ovvero per distinguere tra gli adattamenti alla pressione vs adattamenti alla temperatura



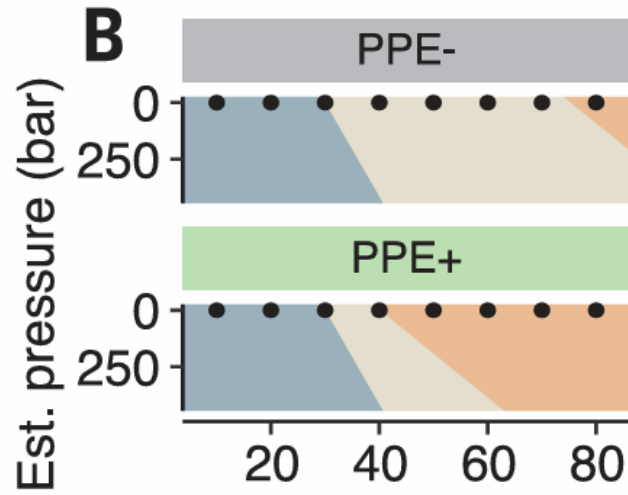
Batteri manipolati per esprimere PC al posto di PE vs controllo (senza PC)

P_{BAD}-PC synthase cassette da *Legionella pneumophila* in *E. coli*

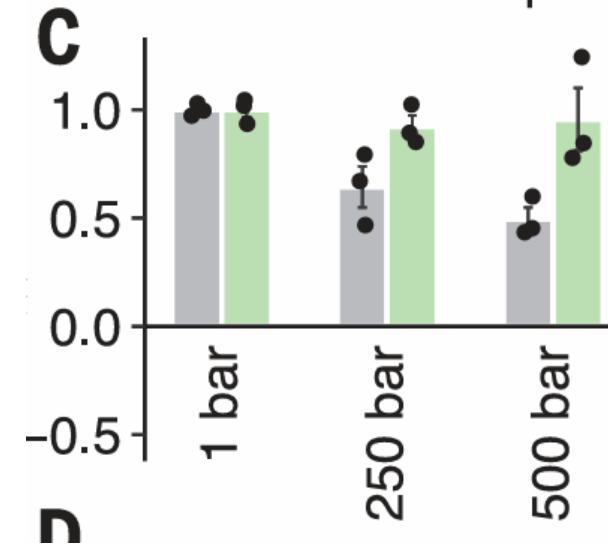
PC è un lipide più fluido di PE, ma ha un profilo più cilindrico: ciò dovrebbe conferire resistenza al passaggio alla fase di gel sotto pressione e allo stesso tempo impedire transizioni a H_{II} della membrana



Test del modello

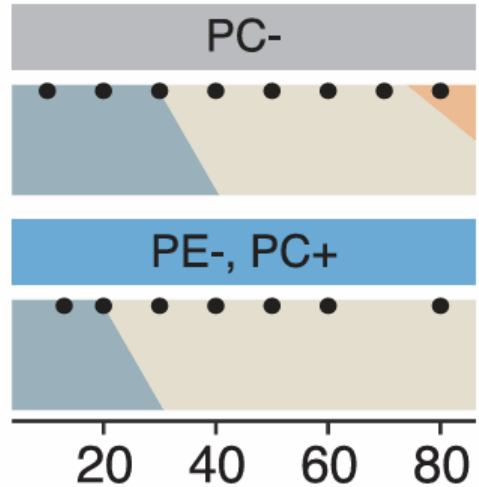


I batteri PPE+ subiscono transizione alla fase non lamellare a T inferiori rispetto al controllo, in accordo con il modello di omeocurvatura

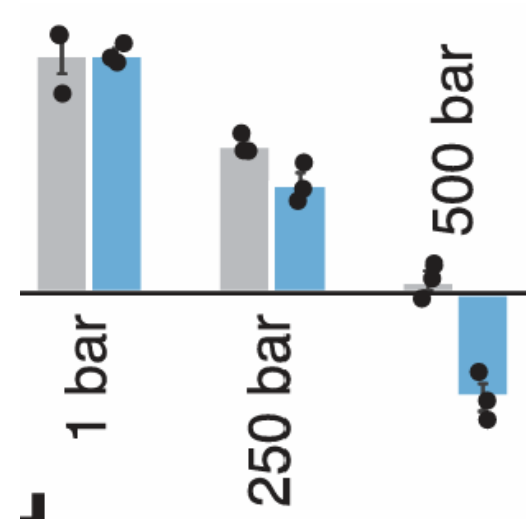


I batteri PPE+ hanno tassi di crescita costanti ad alte pressioni, mentre nel controllo la crescita è diminuita

Test del modello



Batteri PC+ non esprimono la fase non lamellare, anche ad alte temperature, mentre sono più resistenti alla transizione alla fase di gel



Batteri PC+ crescono meno a 250bar, mentre non crescono affatto a 500bar

Conclusioni

- Gli ctenofori abissali presentano molti più plasmalogeni PPE e insaturazioni nelle catene di acidi grassi
- queste membrane hanno una forte tendenza a curvarsi spontaneamente a 1bar
 - l'alta pressione riduce questa curvatura e permette la formazione di membrane funzionali
- la pressione determina la curvatura della membrana, mentre la temperatura la sua fluidità
 - l'adattamento alle grandi profondità è indipendente dall'adattamento alle basse temperature negli ctenofori
- **L'adattamento alle grandi profondità può aver spinto gli ctenofori verso l'evoluzione di membrane che necessitano dell'alta pressione per funzionare**