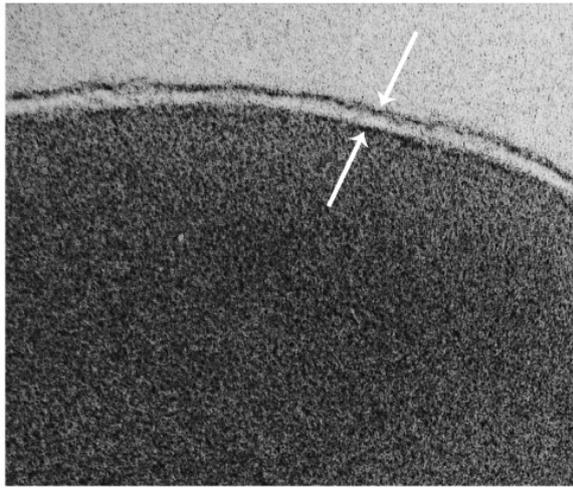


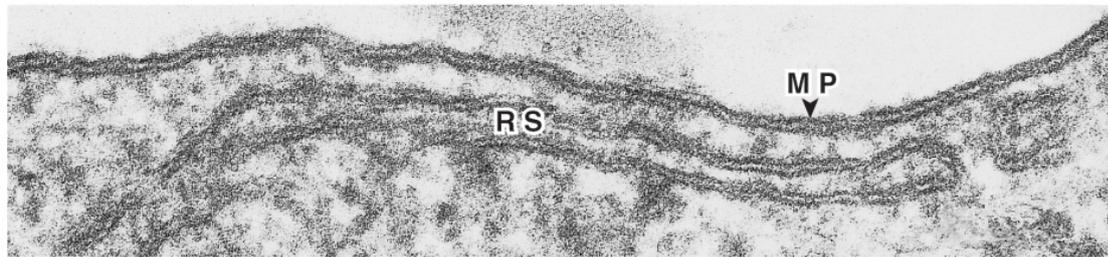
Figura 7-2 Funzioni delle membrane. Le membrane ① delimitano i contorni della cellula e dei suoi organuli, ② costituiscono i siti di specifiche proteine, principalmente enzimi e recettori, ③ assicurano e regolano i processi di trasporto, ④ contengono i recettori necessari per rilevare i segnali esterni e ⑤ forniscono i meccanismi per il contatto, la comunicazione e l'adesione cellula-cellula.



(a)

50 nm

FIGURA 4.1 L'aspetto trilaminare delle membrane. (a) Fotografia al microscopio elettronico in cui si nota la struttura a tre strati (trilaminare) della membrana plasmatica di un eritrocita dopo colorazione con osmio pesante. L'osmio si lega preferenzialmente ai gruppi di testa polari, producendo l'aspetto trilaminare. Le frecce indicano i margini interno ed esterno. (b) Il margine esterno di una cellula muscolare differenziata cresciuta in coltura, nel quale si nota la struttura trilaminare che appare simile nella membrana plasmatica (MP) e nelle membrane del reticolo sarcoplasmatico (RS), un compartimento citoplasmatico in cui viene immagazzinato il calcio. (A: PER GENT. CONC. DI J.D. ROBERTSON; B: DA ANDREW R. MARKS, ET AL., J. CELL BIOL. 114:305, 1991; PER GENT. CONC. DELLA ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS).



(b)

0,1 μm

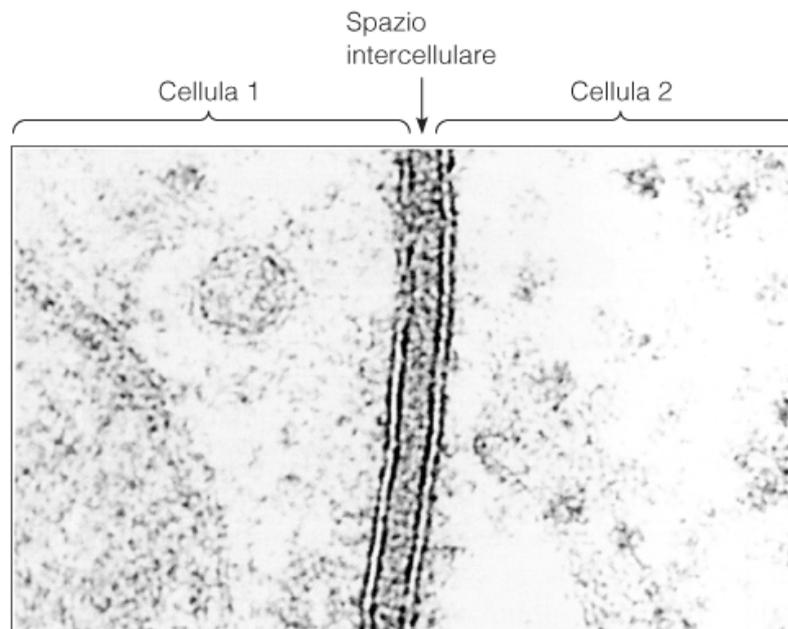


Figura 7-4 Aspetto trilaminare delle membrane cellulari. Questa micrografia elettronica mostra due cellule adiacenti con le loro membrane plasmatiche separate da un piccolo spazio intercellulare. Ciascuna membrana appare come formata da due linee scure separate da una zona centrale leggermente colorata, un quadro di colorazione che conferisce alla membrana un aspetto trilaminare, o “a binario ferroviario” (TEM).

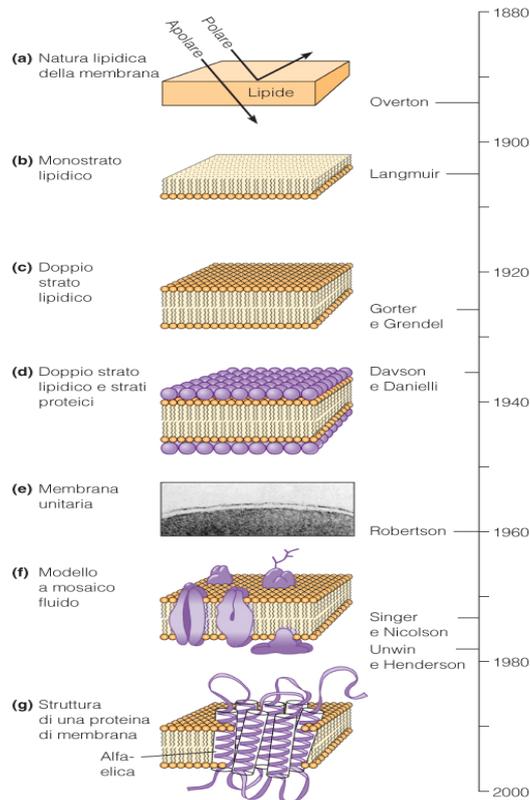


Figura 7-3 Cronologia dello sviluppo del modello a mosaico fluido. Il modello a mosaico fluido della struttura della membrana, che Singer e Nicolson proposero nel 1972, costituì il culmine di studi che risalgono al 1890 ed è stato poi significativamente rifinito mediante studi successivi.

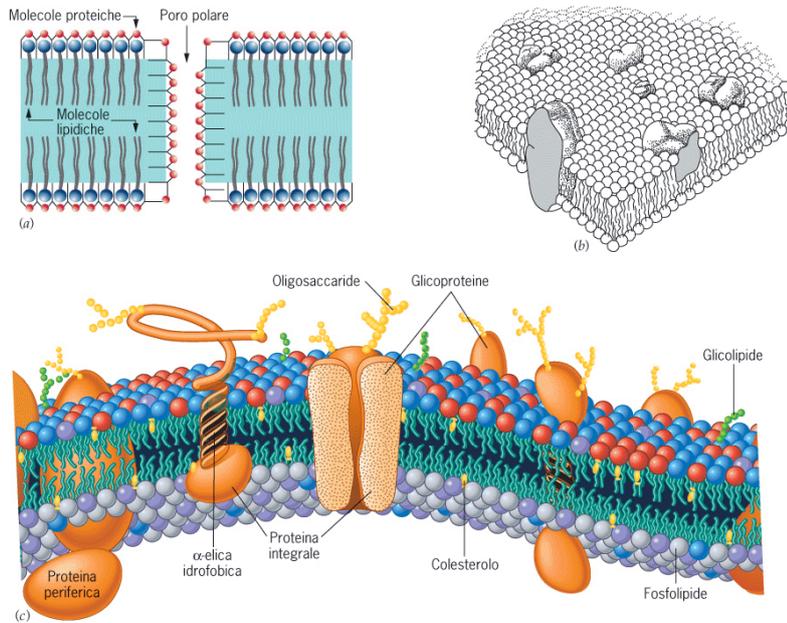
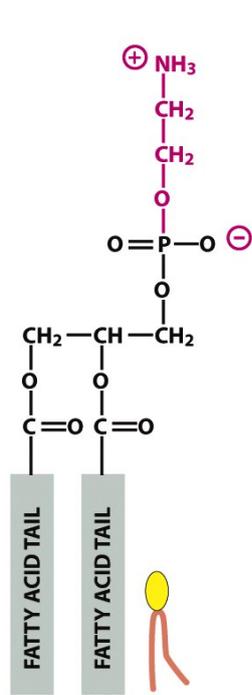
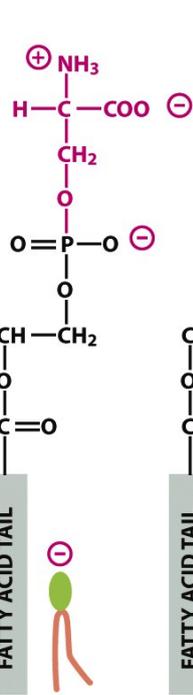


FIGURA 4.4 Breve storia della struttura della membrana plasmatica. (a) Una versione modificata del modello di Davson-Danielli del 1954, che illustra il doppio strato lipidico, in cui entrambe le superfici sono delimitate da uno strato monomolecolare di proteine che si estendono attraverso la membrana a formare dei canali delimitati da proteine. (b) Il modello a mosaico fluido della struttura della membrana fu inizialmente proposto da Singer e Nicolson nel 1972. Diversamente da quanto ipotizzato dai modelli precedenti, le proteine penetrano nel doppio strato lipidico. Sebbene il modello originale qui riportato illustri una proteina solo parzialmente inclusa nel doppio strato, in realtà tutte le proteine che penetrano nei lipidi studiate finora attraversano l'intero doppio strato. (c) Una rappresentazione moderna della membrana plasmatica che ha la stessa

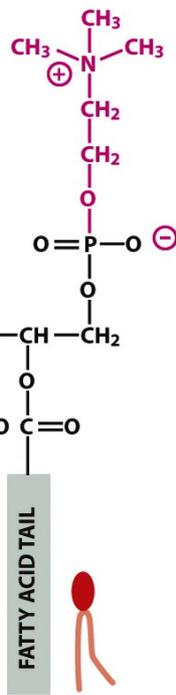
organizzazione fondamentale proposta da Singer e Nicolson. Ora sappiamo che le superfici esterne della maggior parte delle proteine di membrana ed una piccola percentuale dei fosfolipidi presentano brevi catene di carboidrati che li caratterizzano come glicoproteine e glicolipidi. Le parti delle catene polipeptidiche che si estendono attraverso il doppio strato lipidico sono tipicamente costituite da α -eliche di aminoacidi idrofobici. I due foglietti del doppio strato contengono differenti tipi di lipidi, come indicato dalle teste colorate diversamente. Il foglietto esterno può contenere microdomini (raft) consistenti di ammassi di specifiche specie lipidiche. (A: DA J.F. DANIELLI, COLLSTON PAPERS 7:8, 1954; B: RIPRODOTTO PER GENT. CONC. DI S.J. SINGER E G.L. NICOLSON, SCIENCE 175:720, 1972, COPYRIGHT 1972, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE).



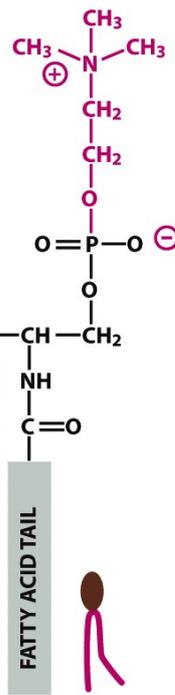
phosphatidyl-ethanolamine
(A)



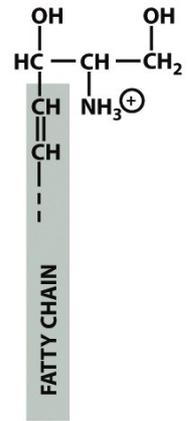
phosphatidyl-serine
(B)



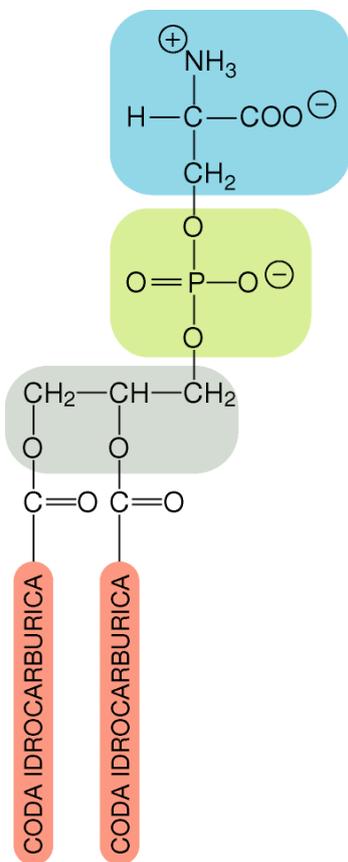
phosphatidyl-choline
(C)



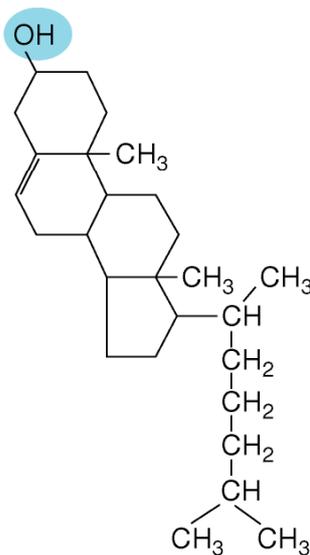
sphingomyelin
(D)



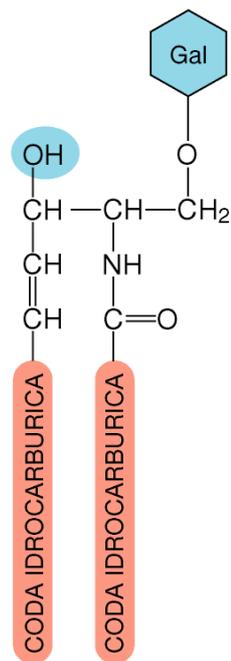
sphingosine
(E)



fosfatidilserina
(fosfolipide)



colesterolo
(sterolo)



galattocerebroside
(glicolipide)

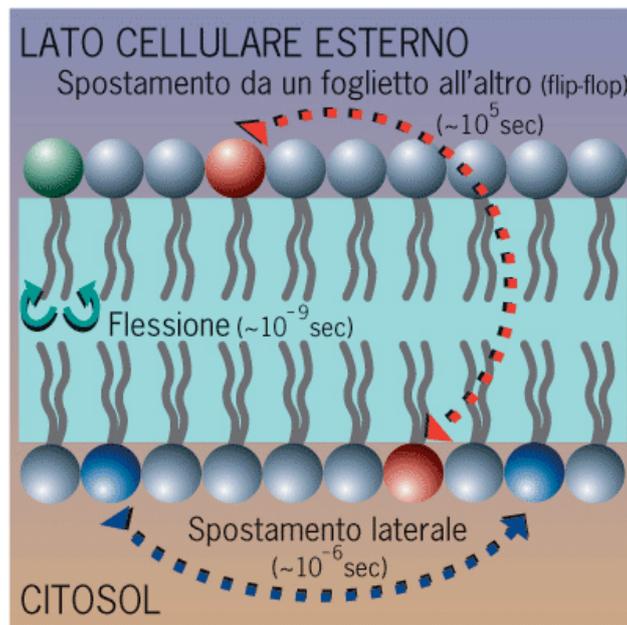
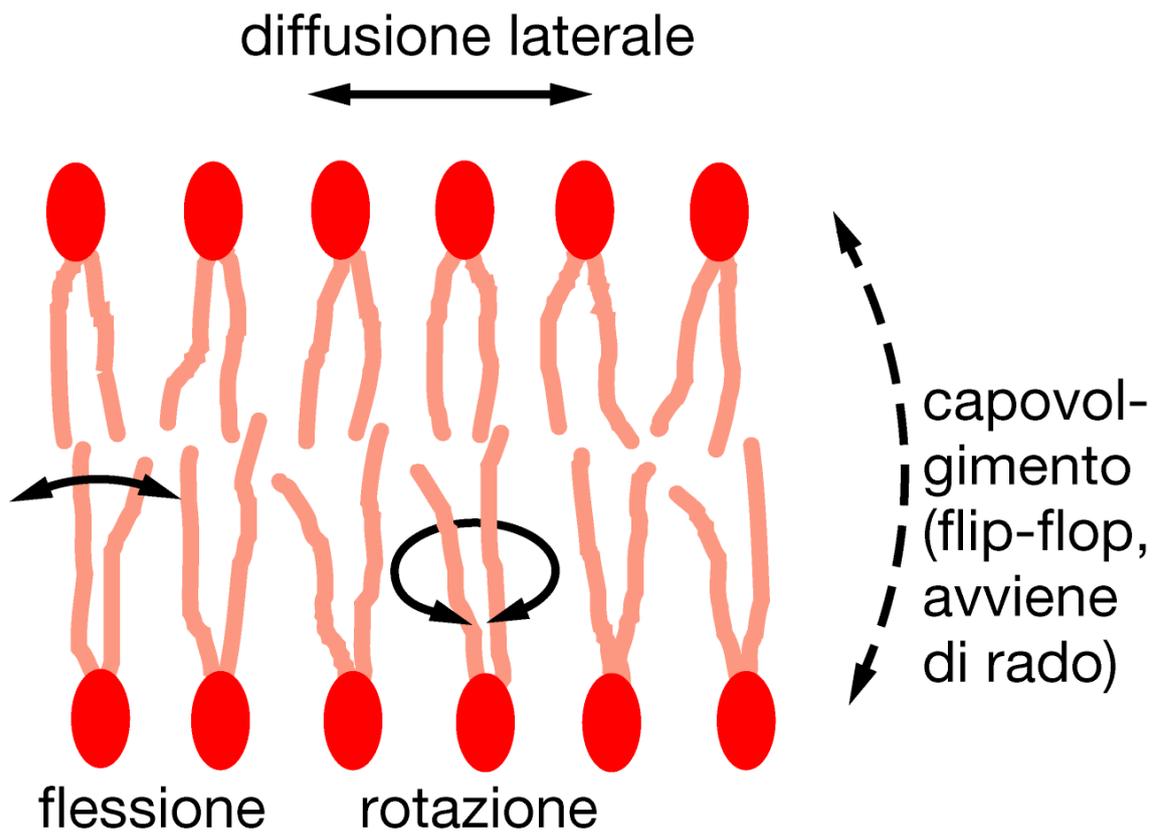
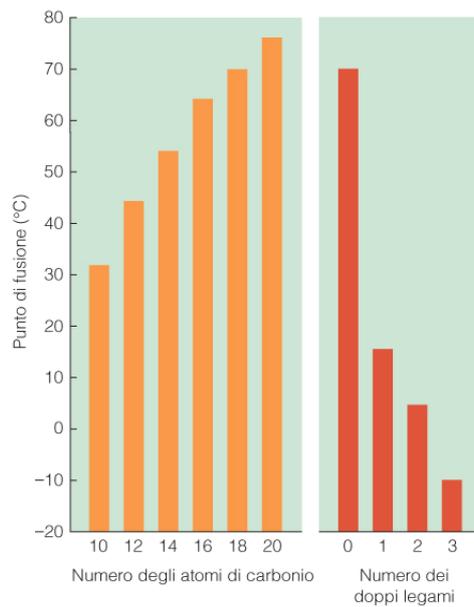
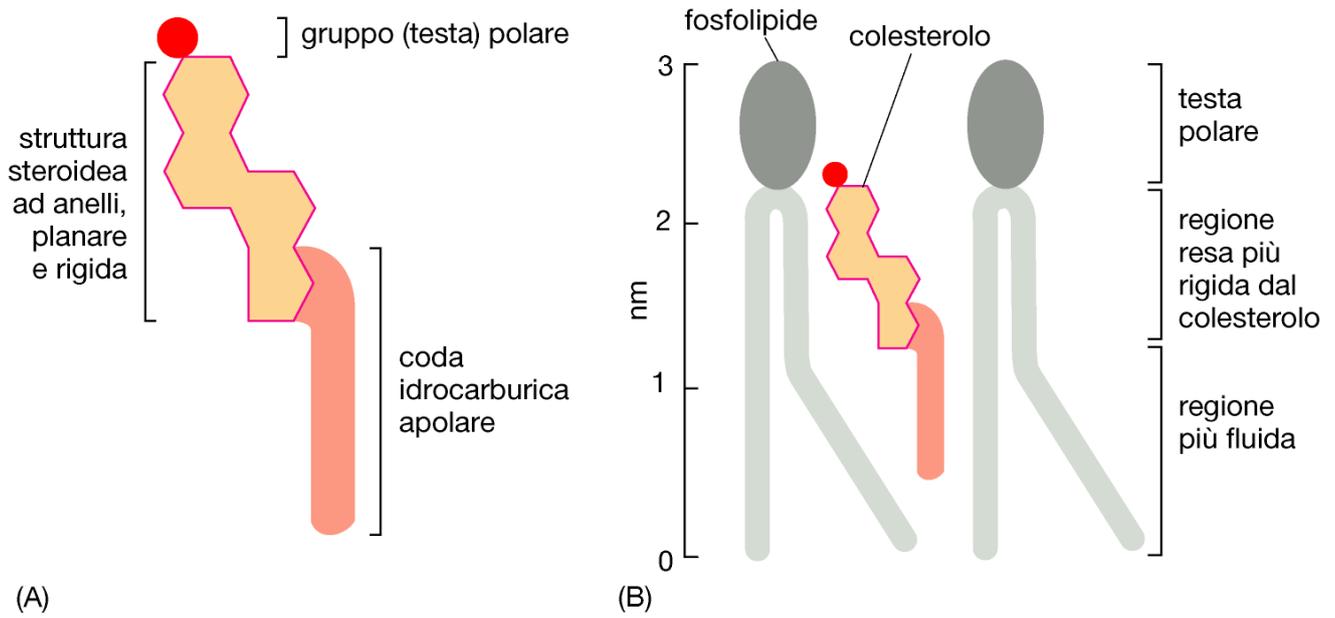
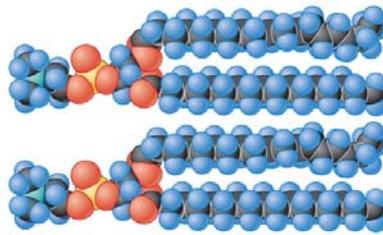


FIGURA 4.24 I possibili movimenti dei fosfolipidi in una membrana. Tipi di movimento che i fosfolipidi di membrana possono effettuare e frequenza approssimativa con cui avvengono. Mentre il movimento di un fosfolipide da un foglietto all'altro (movimento detto "flip-flop") avviene ad un ritmo molto lento, lo spostamento laterale dei fosfolipidi in un foglietto avviene rapidamente.

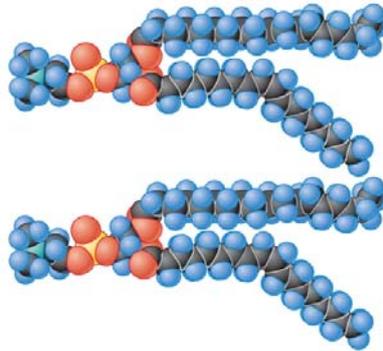


(a) Effetto della lunghezza della catena sul punto di fusione (b) Effetto dell'insaturazione sul punto di fusione

Figura 7-13 Effetto della lunghezza della catena e del numero dei doppi legami sul punto di fusione degli acidi grassi. Il punto di fusione degli acidi grassi (a) aumenta con l'aumentare della lunghezza della catena degli acidi grassi saturi e (b) diminuisce drasticamente con l'aumentare del numero dei doppi legami negli acidi grassi con una lunghezza fissa della catena. La parte (b) mostra i dati relativi agli acidi grassi a 18 atomi di carbonio stearato, oleato, linoleato e linolenato, rispettivamente con 0, 1, 2 e 3 doppi legami.

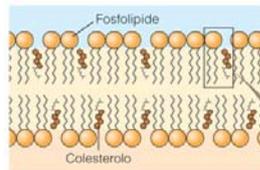


(a) I lipidi con acidi grassi saturi si impacchettano bene nella membrana

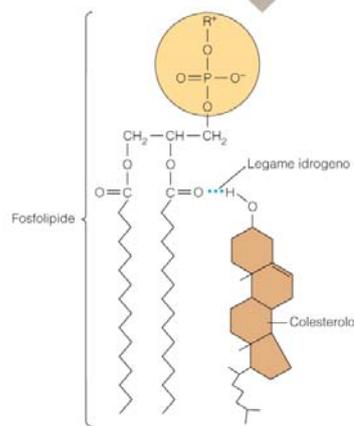


(b) I lipidi con una miscela di acidi grassi saturi e insaturi non si impacchettano bene nella membrana

Figura 7-14 Effetto degli acidi grassi insaturi sull'impacchettamento dei lipidi di membrana. (a) I fosfolipidi di membrana senza acidi grassi insaturi si associano strettamente perché le catene sono tra loro parallele. (b) I lipidi di membrana con uno o più acidi grassi insaturi non si associano così strettamente perché i doppi legami in *cis* determinano delle curvature nelle catene che interferiscono con l'impacchettamento. Le strutture mostrate rappresentano molecole di fosfatidilcolina, con due acidi grassi saturi a 18 atomi di carbonio (stearato) (parte a) o con due acidi grassi a 18 atomi di carbonio, di cui uno saturo (stearato) e l'altro con un doppio legame (oleato) (parte b).

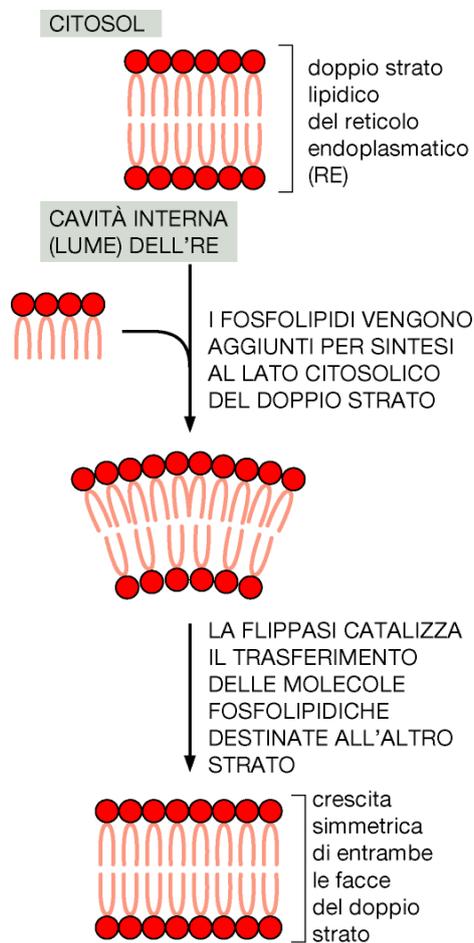
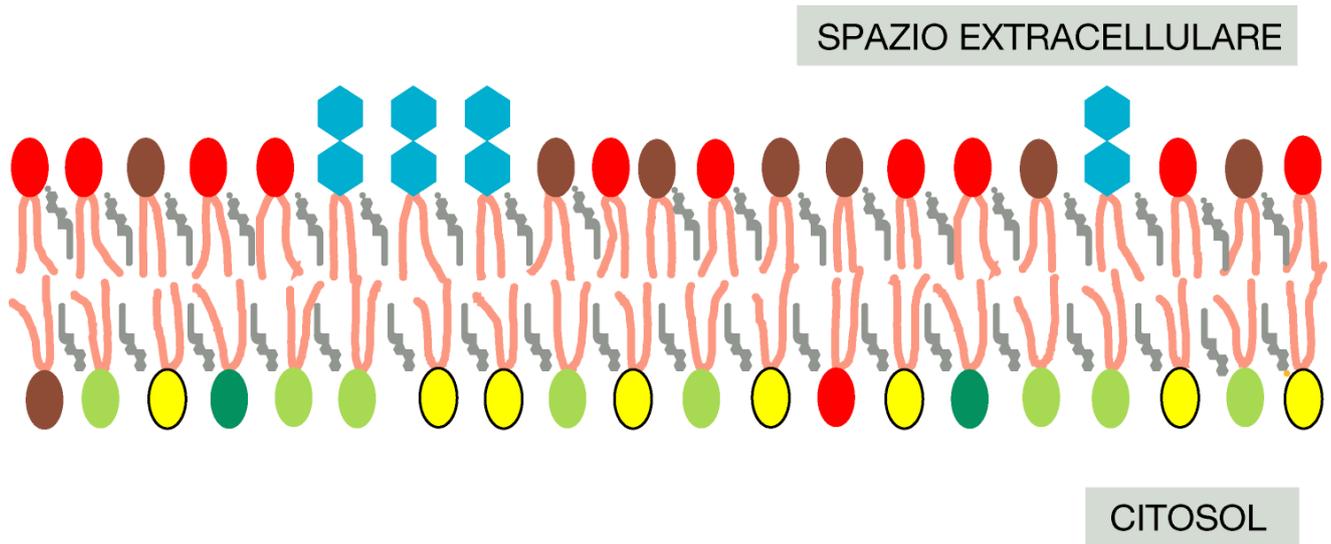


(a) Colesterolo nella membrana plasmatica



(b) Legame del colesterolo ad un fosfolipide

Figura 7-15 Orientamento delle molecole di colesterolo in un doppio strato lipidico. (a) Le molecole di colesterolo sono presenti in entrambi gli strati lipidici delle membrane plasmatiche della maggior parte delle cellule animali, ma una specifica molecola è confinata in uno dei due strati. (b) Ogni molecola si orienta nello strato lipidico in modo tale che il suo unico gruppo ossidrilico è vicino al gruppo polare di una molecola fosfolipidica adiacente, con cui forma un legame idrogeno con l'ossigeno del legame esterico tra lo scheletro del glicerolo ed un acido grasso. Gli anelli steroidei ed il gruppo laterale idrocarburico della molecola del colesterolo interagiscono con le catene idrocarburiche adiacenti dei fosfolipidi di membrana.



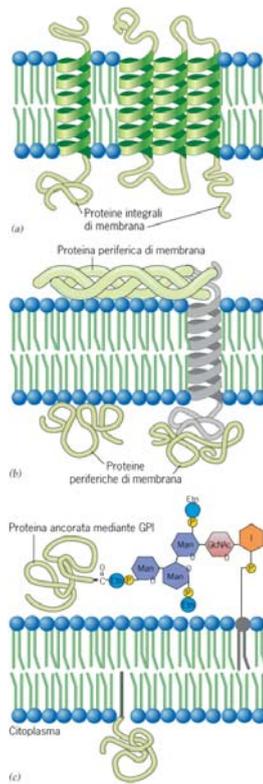


FIGURA 4.12 Le tre classi di proteine della membrana. (a) Proteine integrali, che possono contenere una o più eliche transmembrana (vedi Figura 5.4 per un'eccezione). (b) Le proteine periferiche sono legate con legami non covalenti ai gruppi polari della testa delle molecole lipidiche del doppio strato oppure ad una proteina integrale. (c) Proteine legate ai lipidi, con legami covalenti o ad un fosfolipide o ad un acido grasso incluso in uno dei due foglietti del doppio strato. I, inositolo; GlcNAc, N-acetilglucosamina; Man, mannosio; Em, etalonamina; GPI, glicosilfosfatidilinositolo.

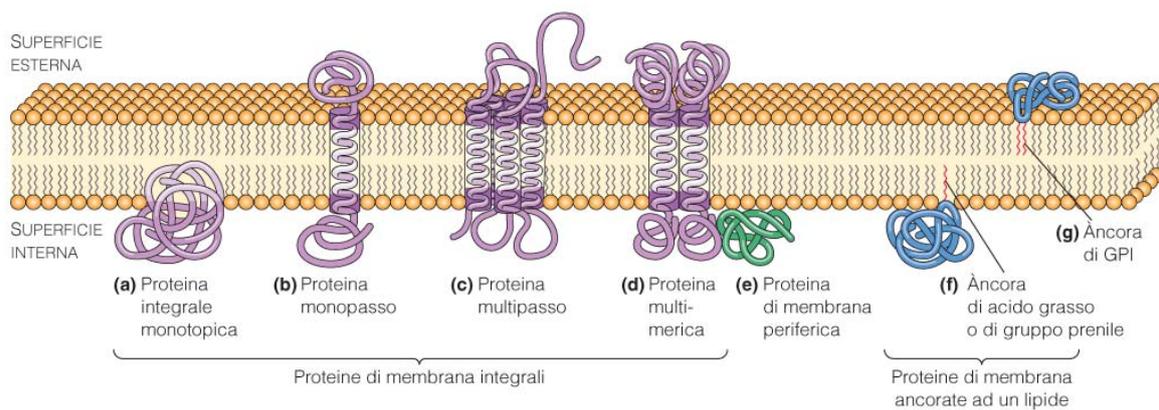


Figura 7-19 Principali classi di proteine di membrana. Le proteine di membrana sono classificate in base al loro modo di associarsi alla membrana. Le proteine integrali di membrana (a-d) contengono una o più regioni idrofobe che sono incluse nel doppio strato lipidico. (a) Poche proteine integrali sembrano essere associate alla membrana soltanto su un lato del doppio strato (proteine integrali monotopiche). Quasi tutte le proteine integrali, invece, sono proteine transmembrana, che attraversano da una

parte all'altra il doppio strato lipidico, (b) una volta (proteine monopasso) o (c) più volte (proteine multipasso). Le proteine multipasso possono essere costituite da un unico polipeptide, come nella parte c, o (d) da diversi polipeptidi tra loro associati (proteine con più subunità). (e) Le proteine periferiche di membrana sono troppo idrofile per penetrare nella membrana, ma si associano ad essa mediante legami elettrostatici e idrogeno, che le collegano alle proteine di membrana adiacenti o ai gruppi di testa dei

fosfolipidi. Le proteine ancorate ai lipidi (f-g) sono idrofile e non penetrano nella membrana; esse sono legate in maniera covalente alle molecole lipidiche incluse nel doppio strato. (f) Le proteine che si trovano sulla superficie interna della membrana sono di solito ancorate mediante un acido grasso o un gruppo prenile. (g) Sulla superficie esterna della membrana, l'ancora lipidica più frequente è il glicosilfosfatidilinositolo (GPI).

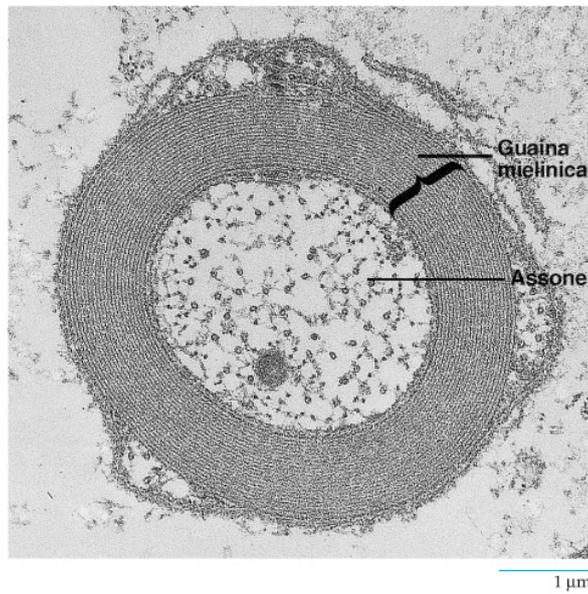
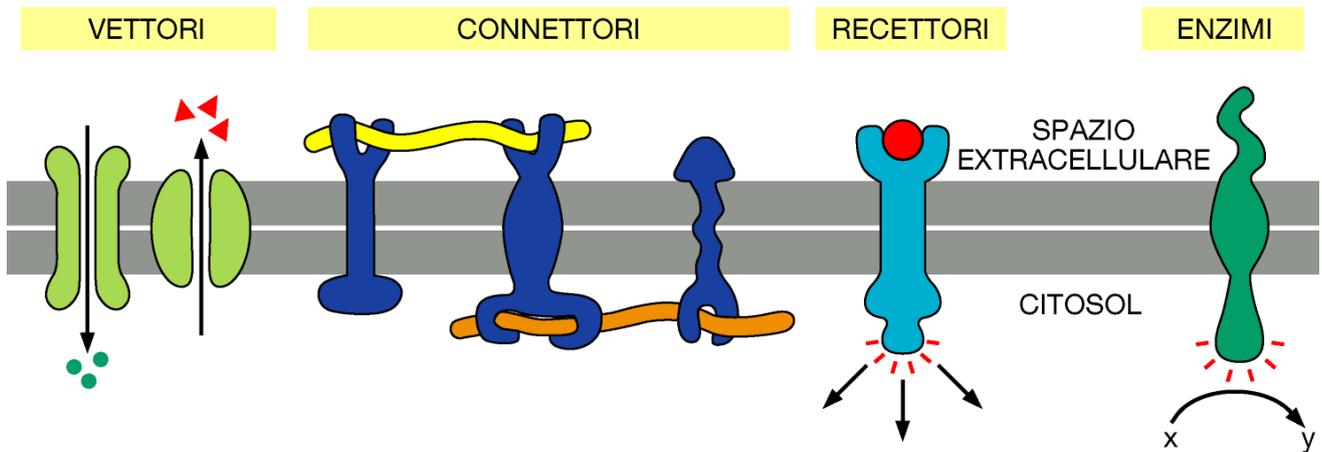
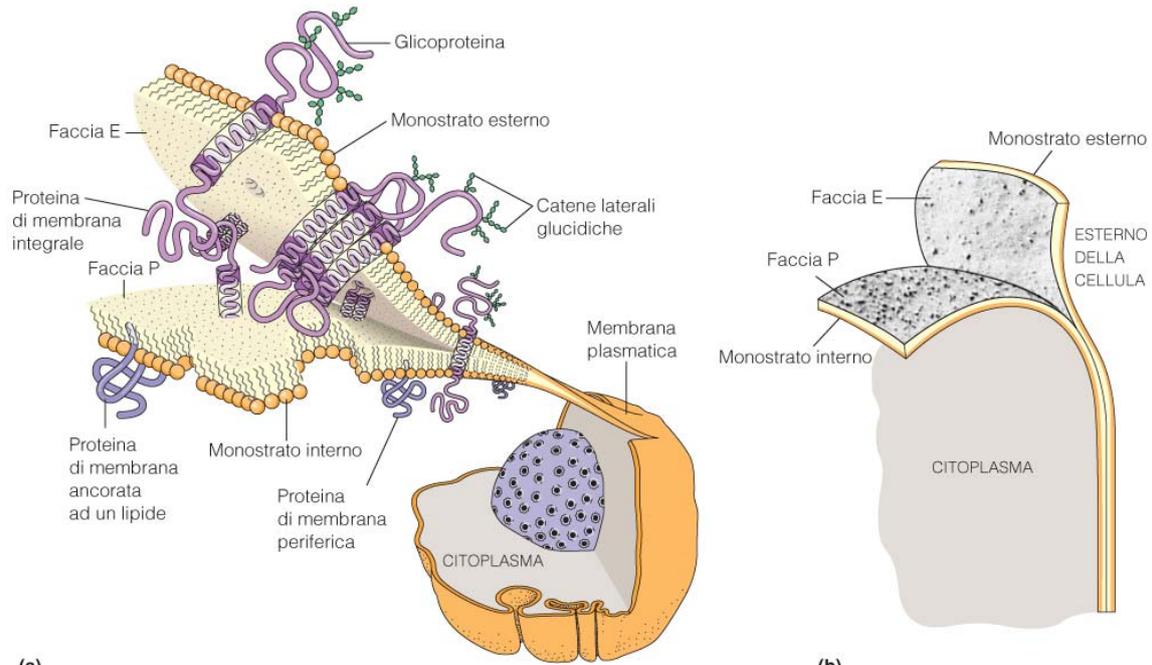


FIGURA 4.5 La guaina mielinica. Fotografia al microscopio elettronico dell'assone di una cellula nervosa avvolto da una guaina mielinica formata da strati concentrici di membrana plasmatica con un rapporto proteine/lipidi estremamente basso. La guaina mielinica isola l'assone dall'ambiente circostante, aumentando la velocità di conduzione dell'impulso che viaggia lungo l'assone. La perfetta spaziatura tra gli strati è mantenuta da molecole proteiche, dette P_0 , concatenate che sporgono da ogni membrana. (DA LEONARD NAPOLITANO, FRANCIS LEBARON E JOSEPH SCALETTI, J. CELL BIOL. 34:820, 1967; COPYRIGHT ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS).

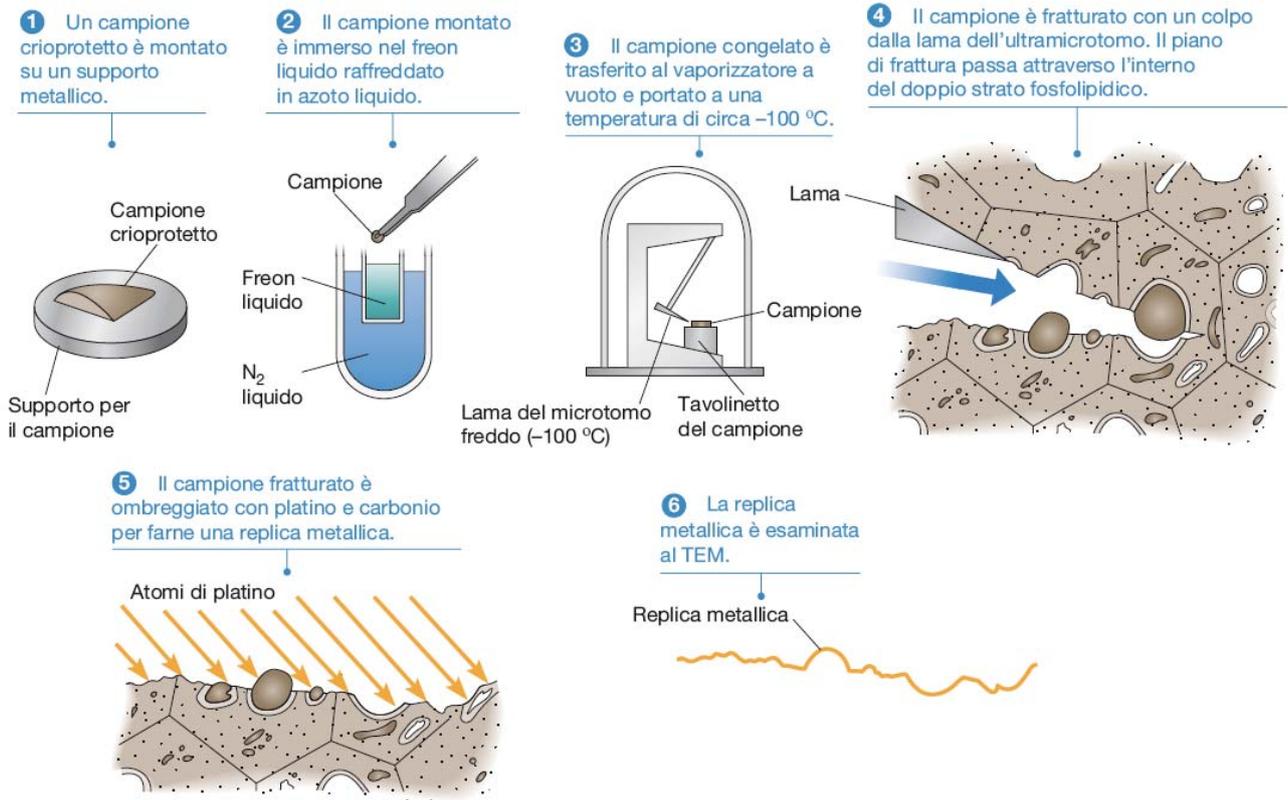




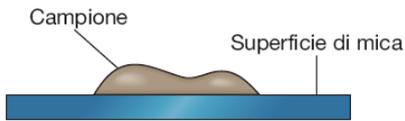
(a)
Figura 7-16 Analisi per criofrattura di una membrana. (a) Disegno di una membrana sottoposta a criofrattura, in cui il piano di frattura passa attraverso la regione interna idrofobica della membrana, evidenziando le superfici interne dei due monostrati. I seg-

menti idrofobi delle proteine sono mostrati in colore viola chiaro, i segmenti idrofili in colore viola scuro. Le proteine integrali di membrana che rimangono associate al monostrato esterno sono visibili sulla faccia E (esoplasmatica), mentre quelle che restano

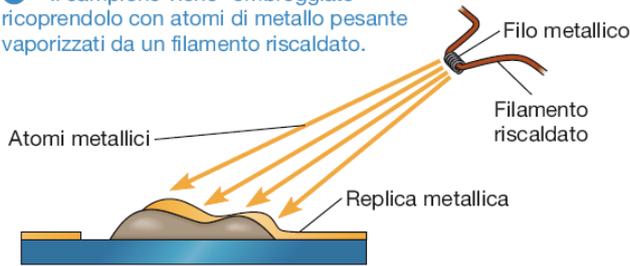
associate al monostrato interno sono visibili sulla faccia P (protoplasmatica). (b) Disegno di una membrana sottoposta a criofrattura, con micrografie elettroniche delle facce E e P della membrana plasmatica di una cellula tubulare di rene di topo sovrimposta al disegno.



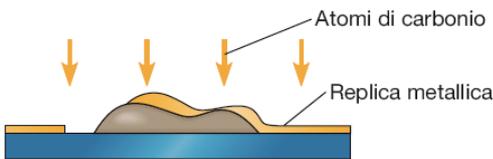
- 1 Il campione viene diffuso su una superficie di mica e fatto asciugare.



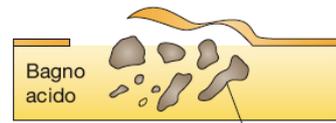
- 2 Il campione viene "ombreggiato" ricoprendolo con atomi di metallo pesante vaporizzati da un filamento riscaldato.



- 3 Il campione viene ricoperto con atomi di carbonio vaporizzati da un elettrodo surriscaldato.

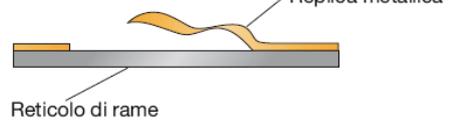


- 4 La replica viene quindi fatta galleggiare sulla superficie di un bagno acido per allontanare i residui di campione, lasciando una replica metallica pulita.

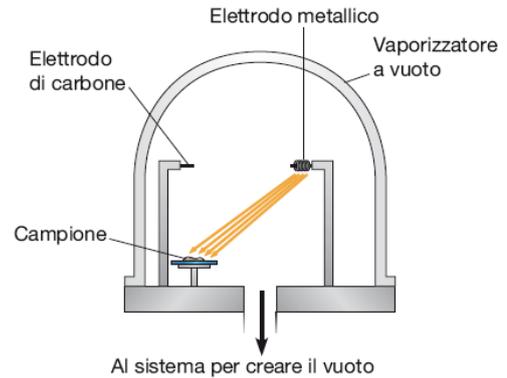


Campione che si dissolve

- 5 La replica viene lavata e sistemata sul reticolo standard di rame per l'esame al TEM.

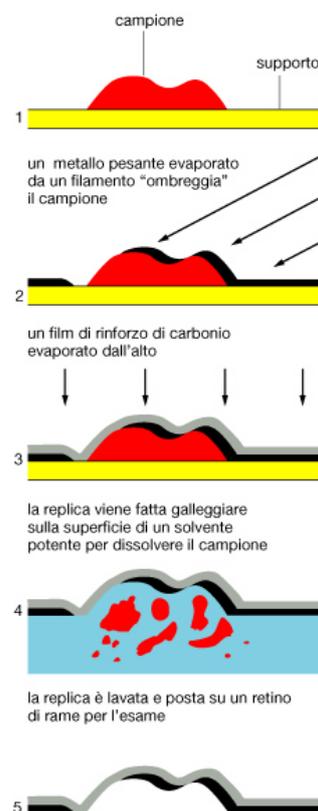


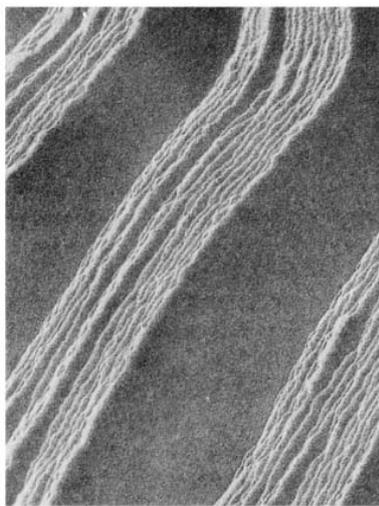
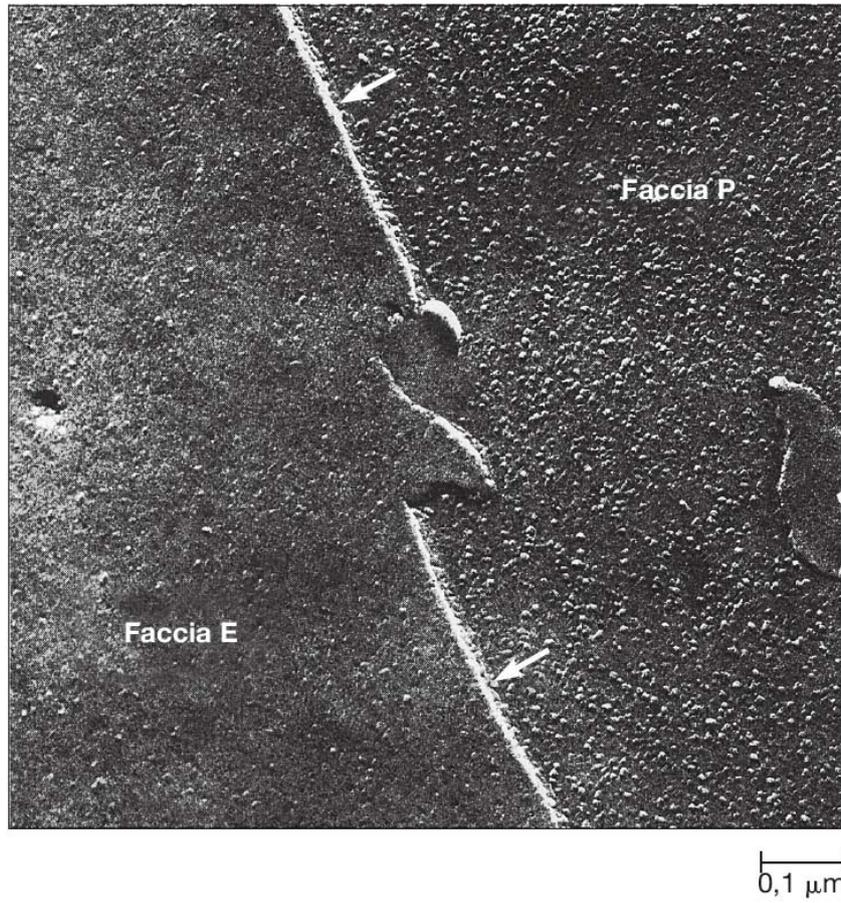
(a) Tecnica di ombreggiatura



Al sistema per creare il vuoto

(b) Vaporizzatore a vuoto





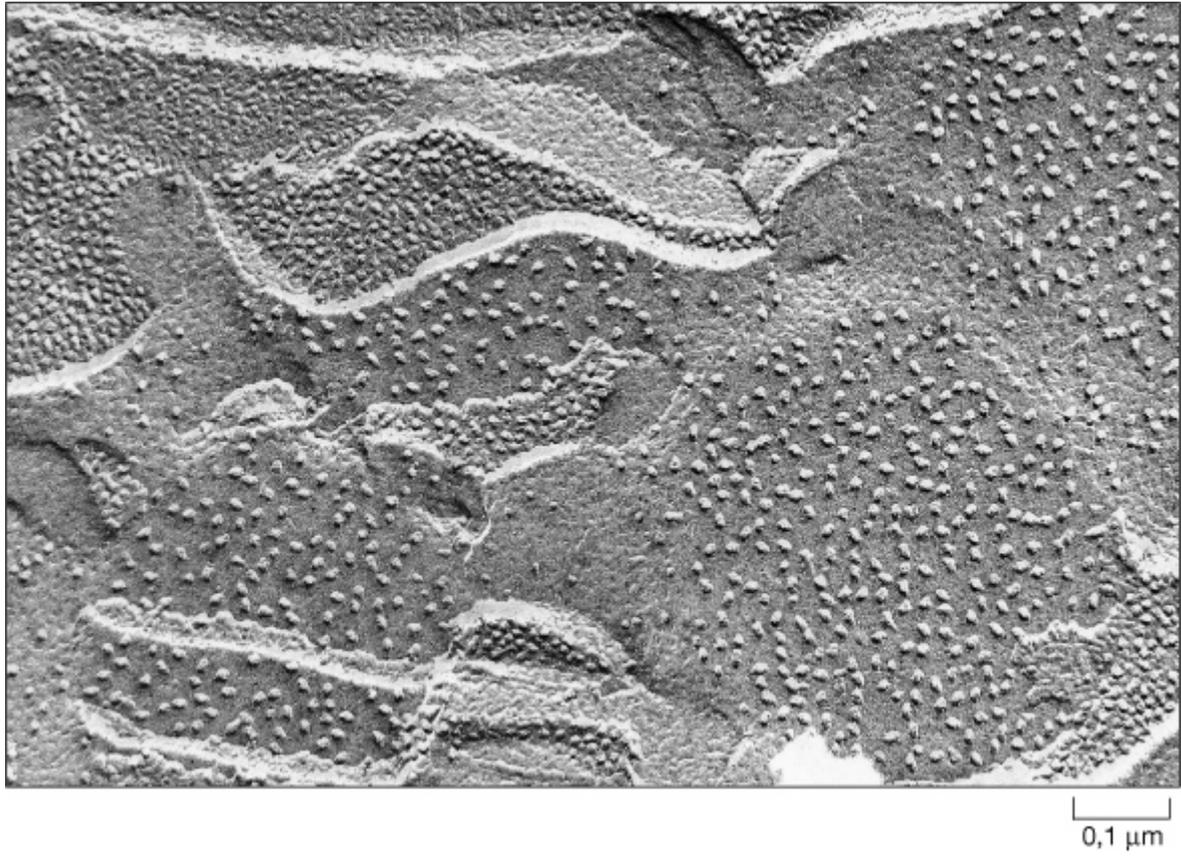
(a) Doppio strato artificiale senza proteine



(b) Doppio strato artificiale con proteine

0,1 μm

Figura 7-18 Confronto della criofrattura di doppi strati lipidici con e senza l'aggiunta di proteine. La figura compara (a) doppi strati lipidici artificiali privi di proteine con (b) doppi strati artificiali a cui sono state aggiunte delle proteine, in microscopia elettronica dopo criofrattura. Le linee bianche nelle membrane artificiali della parte a rappresentano singoli doppi strati lipidici in un campione pluristratificato, e le regioni in grigio mostrano dove i singoli doppi strati si sono spaccati fino a rivelare le superfici lisce. Al contrario, la membrana artificiale della parte b mostra un notevole numero di particelle globulari sulla superficie di frattura. Queste rappresentano le proteine che sono state aggiunte alla preparazione della membrana (TEM).



Tight junction

Microvilli



Figure 19-15a
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

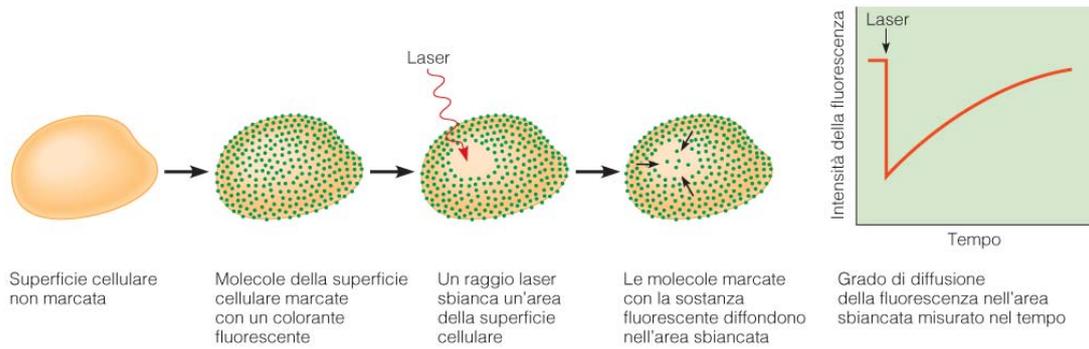
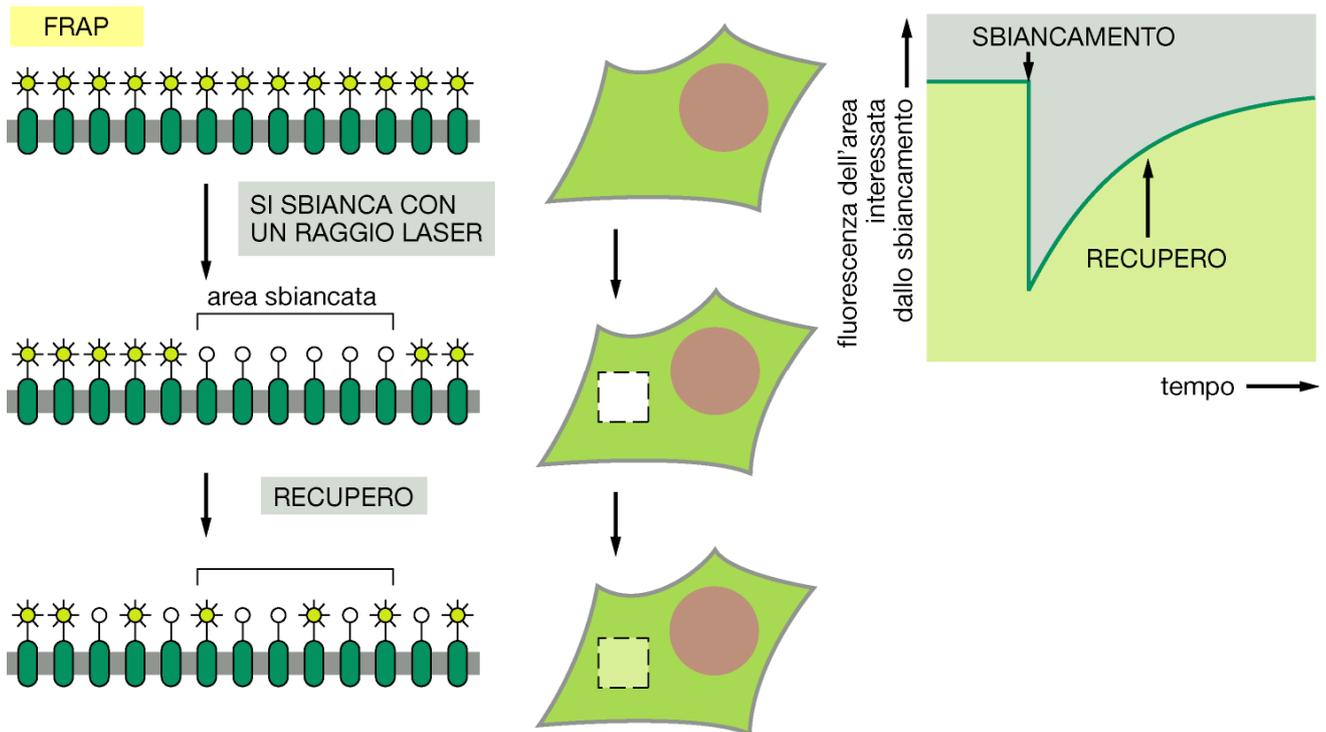


Figura 7-11 Misurazione della mobilità dei lipidi all'interno delle membrane mediante il recupero della fluorescenza dopo fotosbiancamento. I lipidi di membrana vengono marcati con un composto fluorescente e la fluorescenza in un'area ristretta viene poi sbiancata irradiando le cellule con un raggio laser. La fluidità della membrana viene misurata determinando la velocità con cui la diffusione delle molecole fluorescenti dalle regioni circostanti verso l'area sbiancata determina la ricomparsa della fluorescenza nella zona sbiancata con il raggio laser. Esperimenti analoghi possono essere effettuati con le proteine di membrana; si veda la Figura 7-28.



Becker, Kleinsmith, Hardin
Il Mondo della Cellula
 Edises



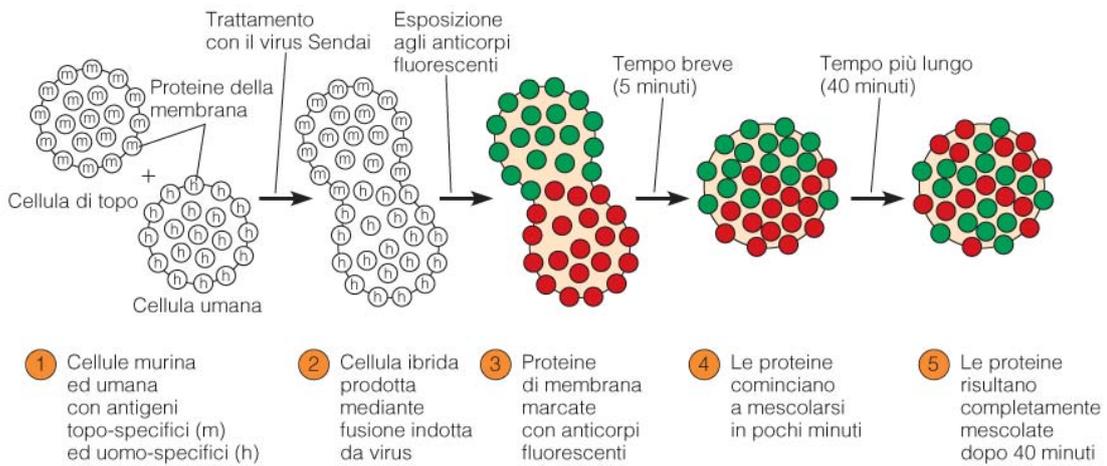
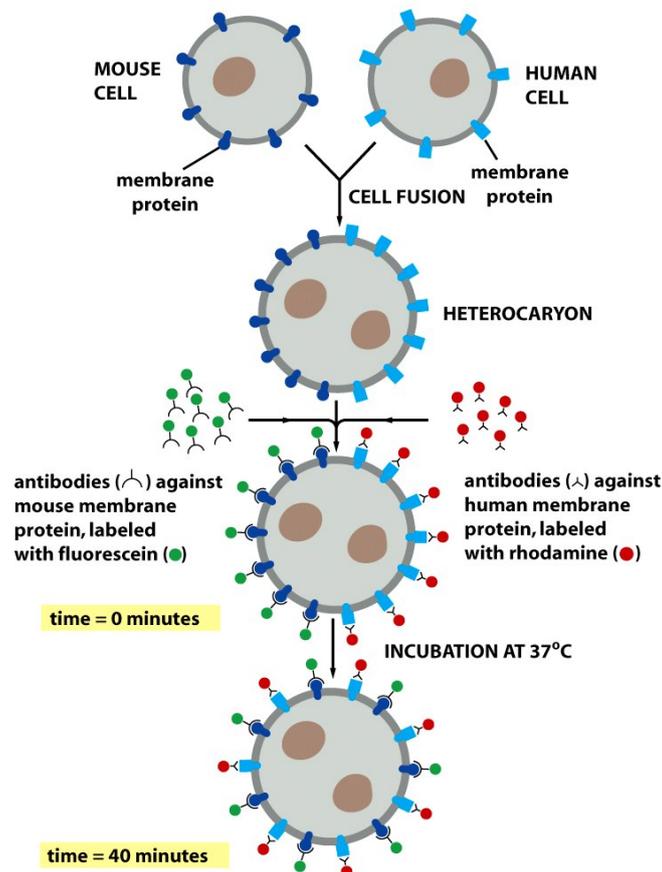
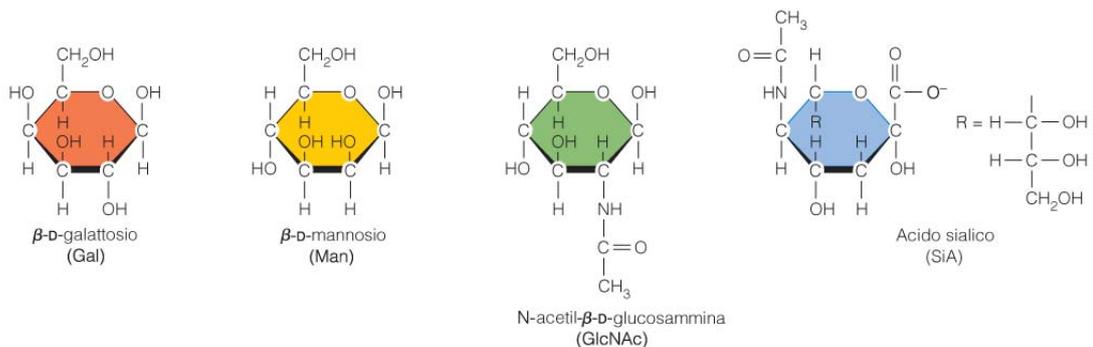
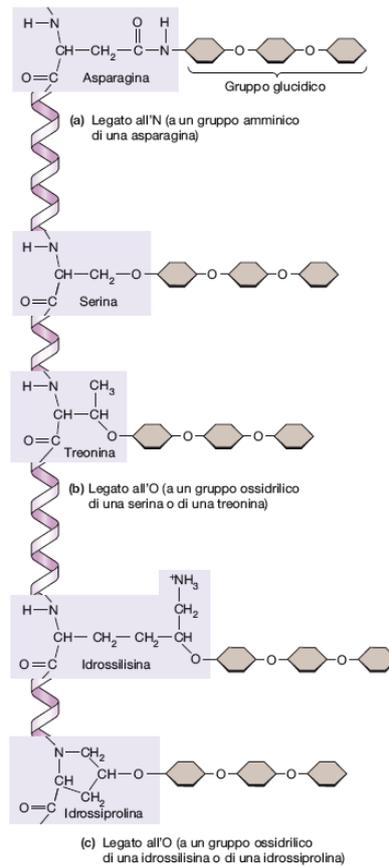


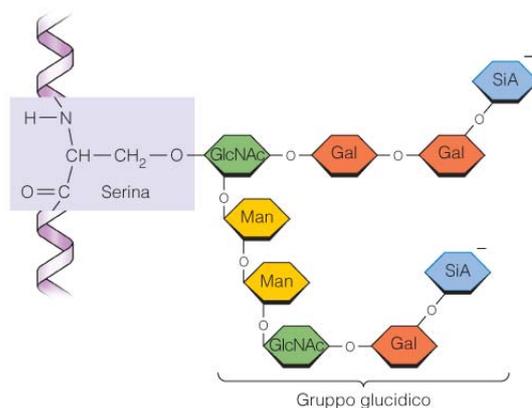
Figura 7-28 Dimostrazione della mobilità delle proteine di membrana mediante la tecnica della fusione cellulare. La mobilità delle proteine di membrana può essere dimostrata sperimentalmente dal mescolamento di tali proteine, che si verifica quando cellule provenienti da due specie differenti (topo e uomo) vengono fuse e le proteine di membrana vengono marcate con due serie di anticorpi fluorescenti, una specifica per le proteine di membrana murine e legata ad un colorante verde, l'altra specifica per le proteine di membrana umane e legata ad un colorante rosso. Le proteine cominciano a mescolarsi entro pochi minuti ed appaiono quasi completamente mescolate dopo 40 minuti.



Glicosilazione delle proteine di membrana

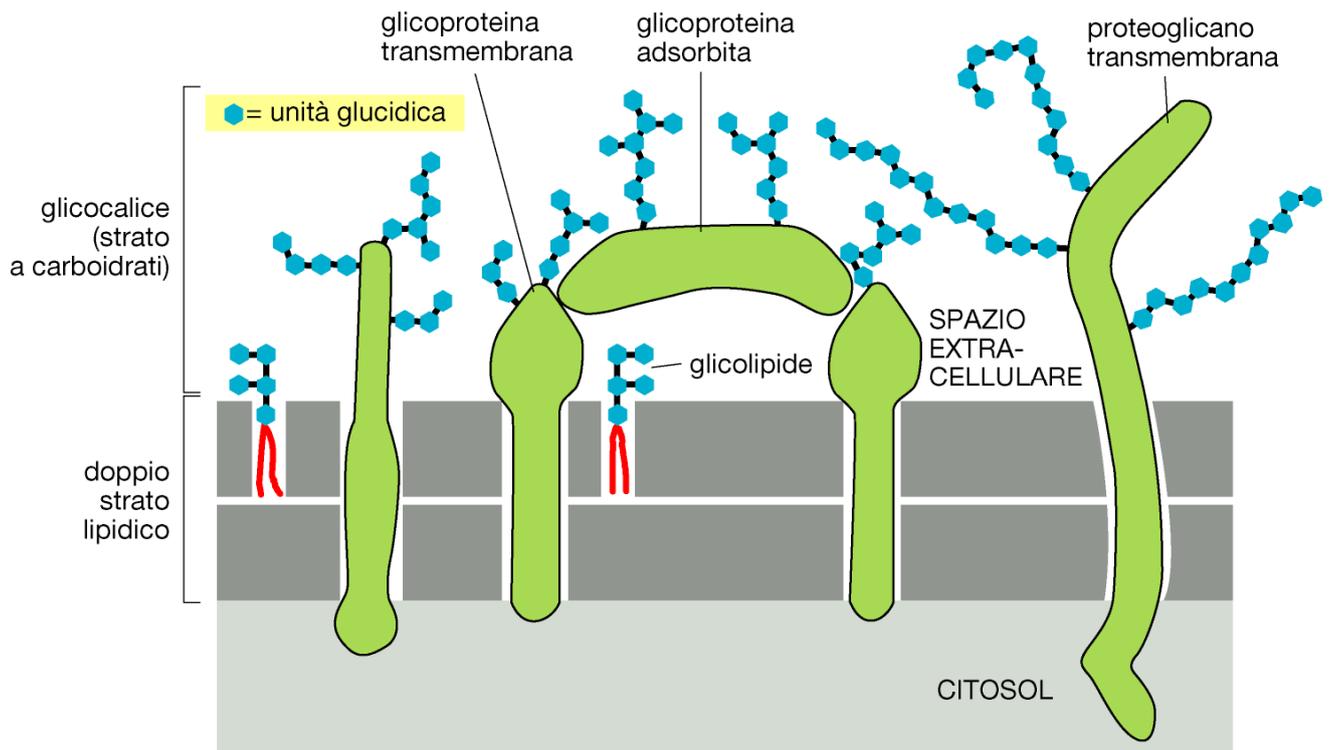


(a) Zuccheri comuni presenti nelle glicoproteine

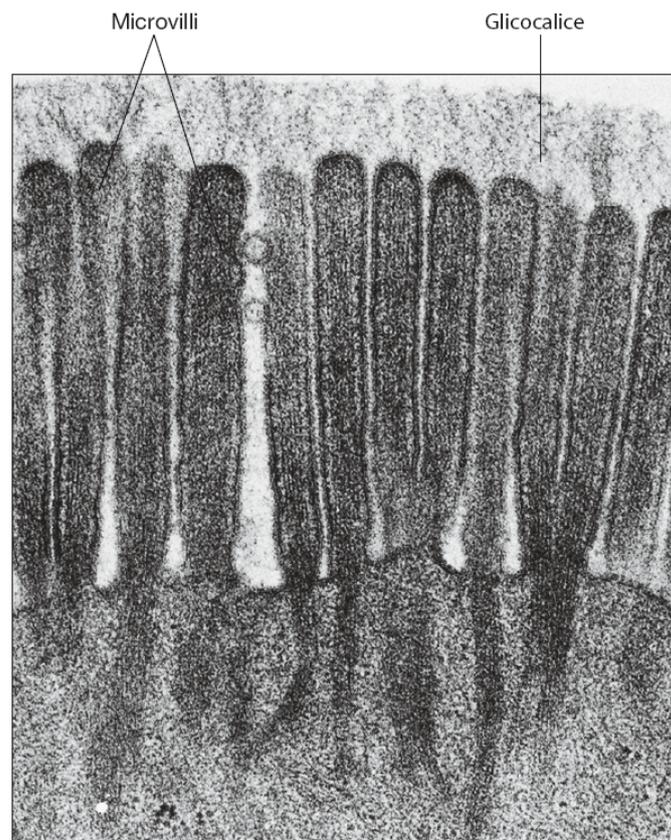


(b) Gruppo glucidico di una glicoforina

Figura 7-26 Esempi di carboidrati presenti nelle glicoproteine. (a) I quattro carboidrati piú frequenti nelle glicoproteine sono il galattosio (Gal), il mannosio (Man), l'*N*-acetilglucosammina (GlcNAc) e l'acido sialico (SiA). (b) 15 delle 16 catene glucidiche della glicoforina, per esempio, sono legate all'amminoacido serina nella porzione idrofila della proteina sulla superficie esterna della membrana plasmatica dell'eritrocita. Ciascuna di queste catene glucidiche è costituita da tre unità di Gal e due unità di GlcNAc, Man e SiA. I gruppi terminali di acido sialico hanno carica negativa.



Glicocalice



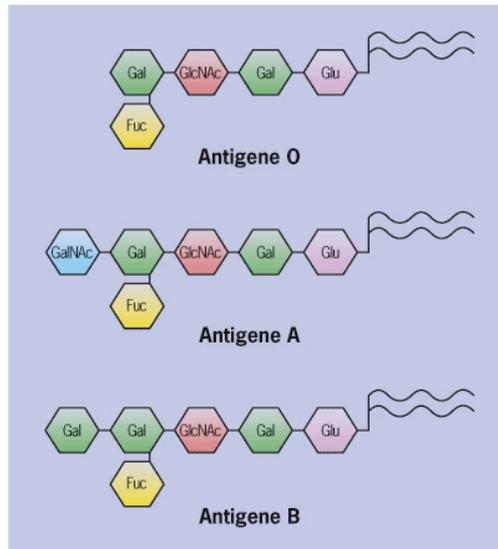


FIGURA 4.11 Gli antigeni dei gruppi sanguigni. Il fatto che un individuo abbia sangue di tipo A, B, AB o O è determinato da una breve catena oligosaccaridica legata con legame covalente ai lipidi ed alle proteine della membrana degli eritrociti. In questa figura sono illustrati gli oligosaccaridi legati ai lipidi di membrana (che costituiscono un ganglioside) responsabili dei gruppi sanguigni A, B, O. Un individuo con sangue di tipo AB possiede sia i gangliosidi con struttura A che quelli con struttura B. (Gal, galattosio; GlcNAc, *N*-acetilglucosamina; Glu, glucosio; Fuc, fucosio; GalNAc, *N*-acetilgalattosamina).