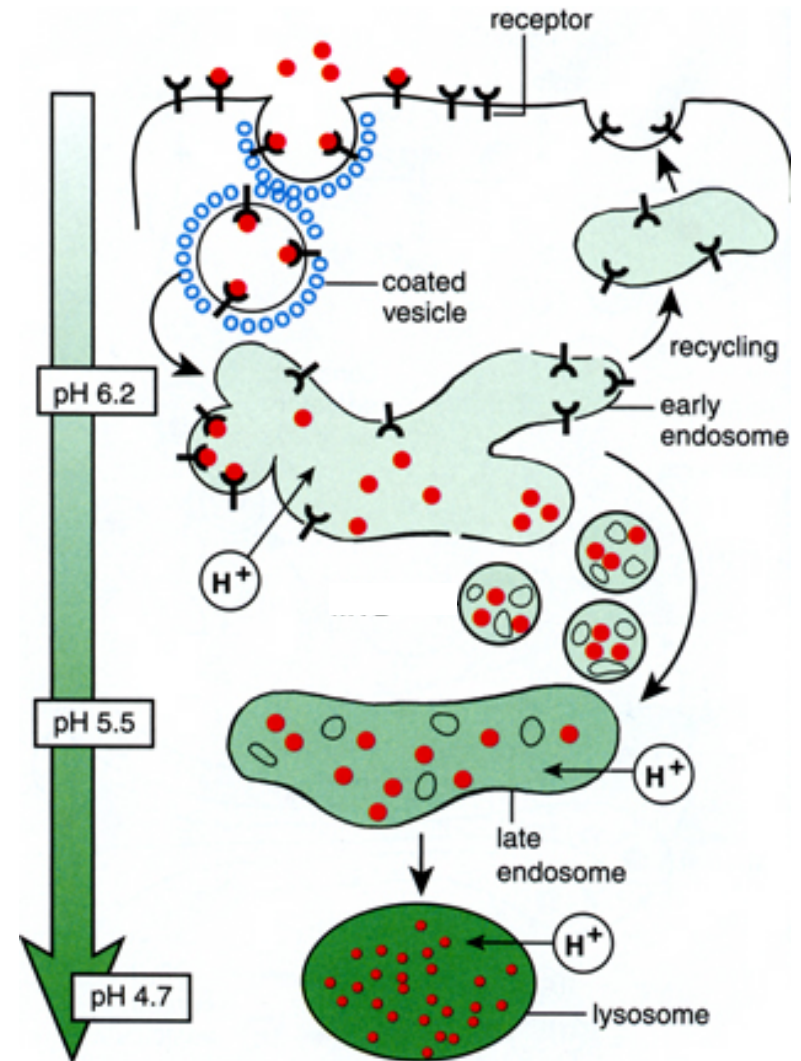
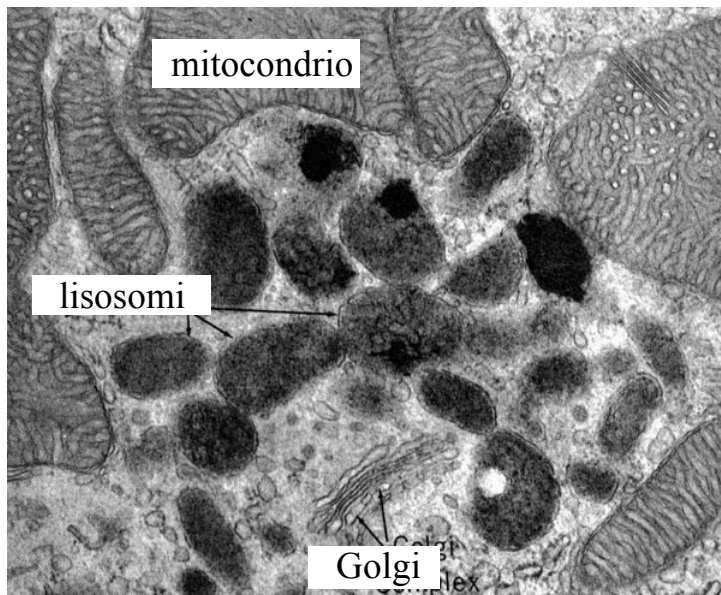
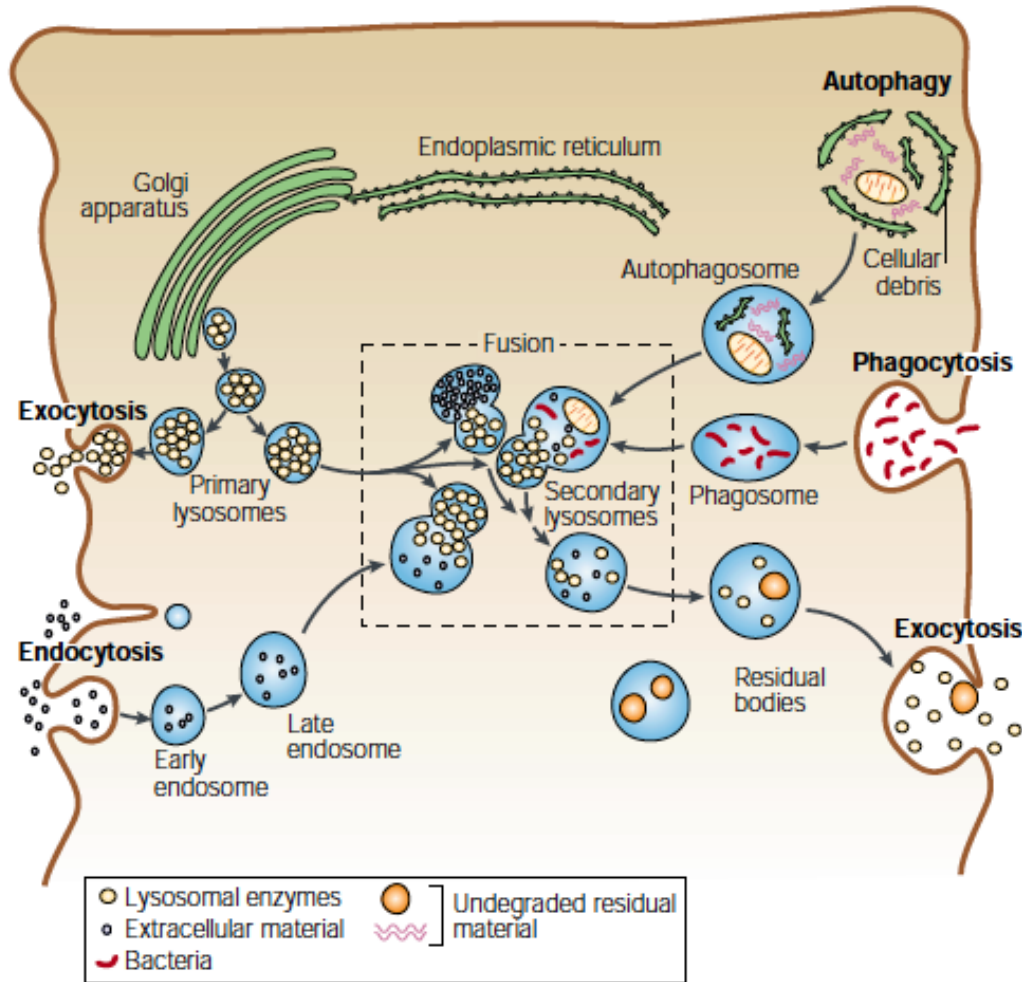


Vescicola di endocitosi---->endosoma precoce--->endosoma tardivo---->lisosoma

I lisosomi si formano dalla fusione di vescicole lisosomali con endosomi, caveosomi, fagosomi, autofagosomi.... La fusione delle vescicole di endocitosi con vescicole lisosomali porta al progressivo aumento del numero di pompe protoniche e al conseguente abbassamento del pH. L'abbassamento del pH favorisce il distacco tra ligando e recettore, la denaturazione delle molecole e infine la loro degradazione quando il pH raggiunge il valore di circa pH 5.0 al quale sono attivi gli idrossilasi acidi.



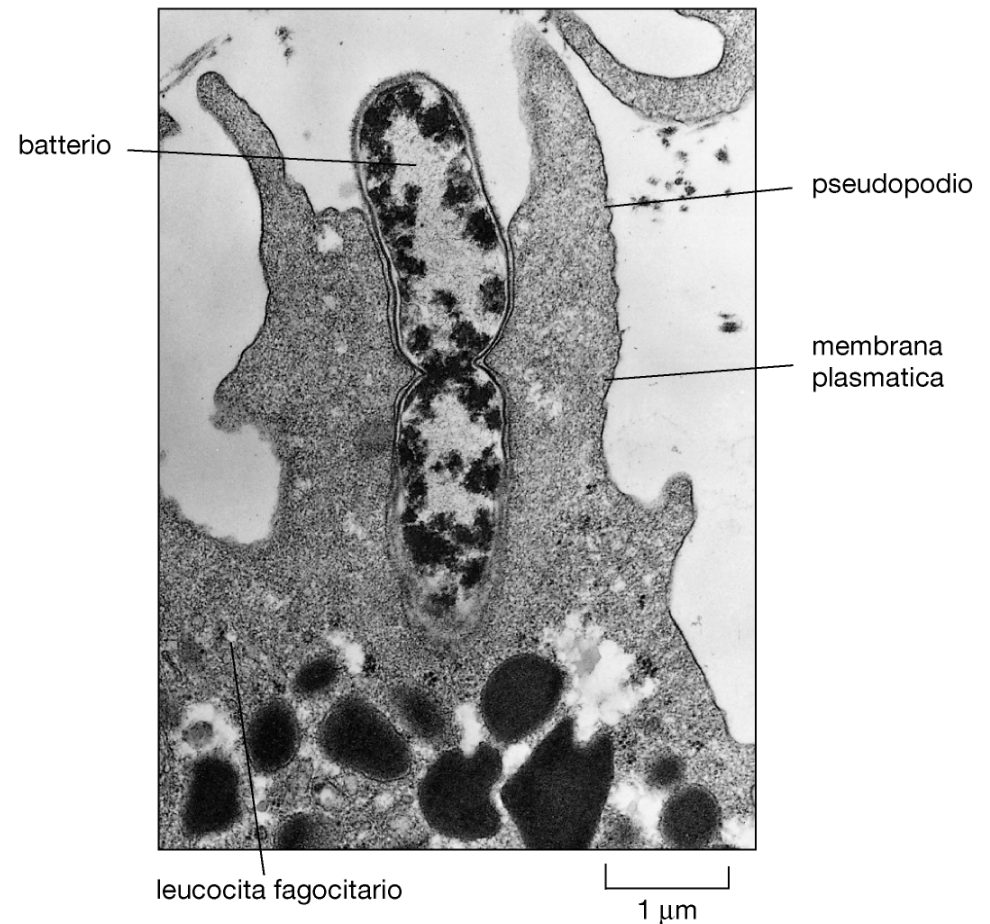
corpi residuali



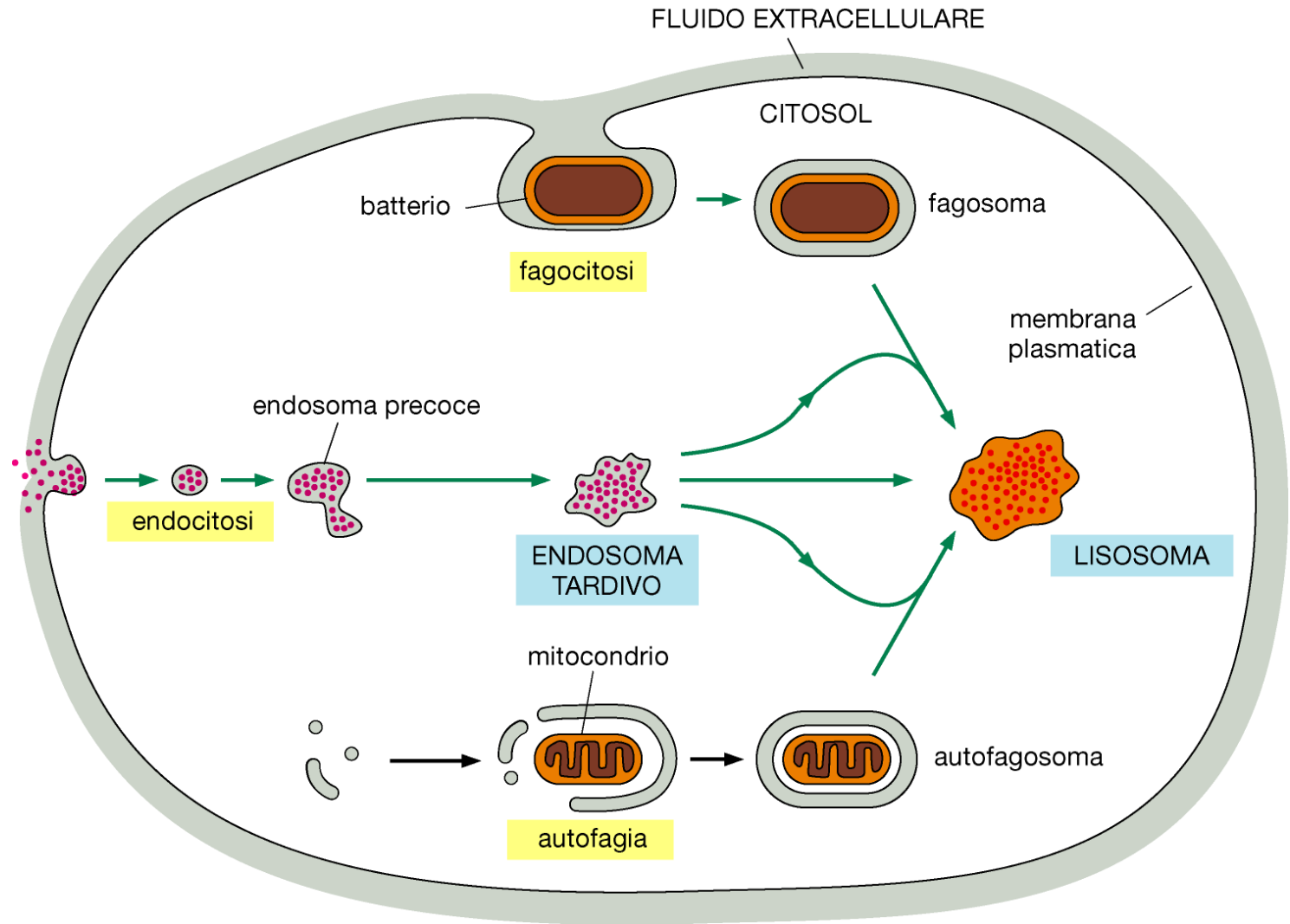
Il materiale residuo della degradazione idrolitica è concentrato in “corpi residuali” ed eliminato dalla cellula per esocitosi.

fagocitosi

La fagocitosi è un'attività presente soprattutto in cellule specializzate, come per esempio i leucociti fagocitari (macrofagi o i granulociti) dei vertebrati ed è mirata all'ingestione a scopo di difesa di oggetti come batteri, cellule o frammenti cellulari. Dopo l'adesione con la particella da fagocitare, la membrana della cellula si solleva in pseudopodi che svolgono un'azione avvolgente, mentre la porzione di membrana sottostante alla particella si introflette, trascinando infine la preda verso l'interno contenuta in un fagosoma



Nota : la membrana del fagosoma è singola mentre quella dell'autofagosoma è doppia.



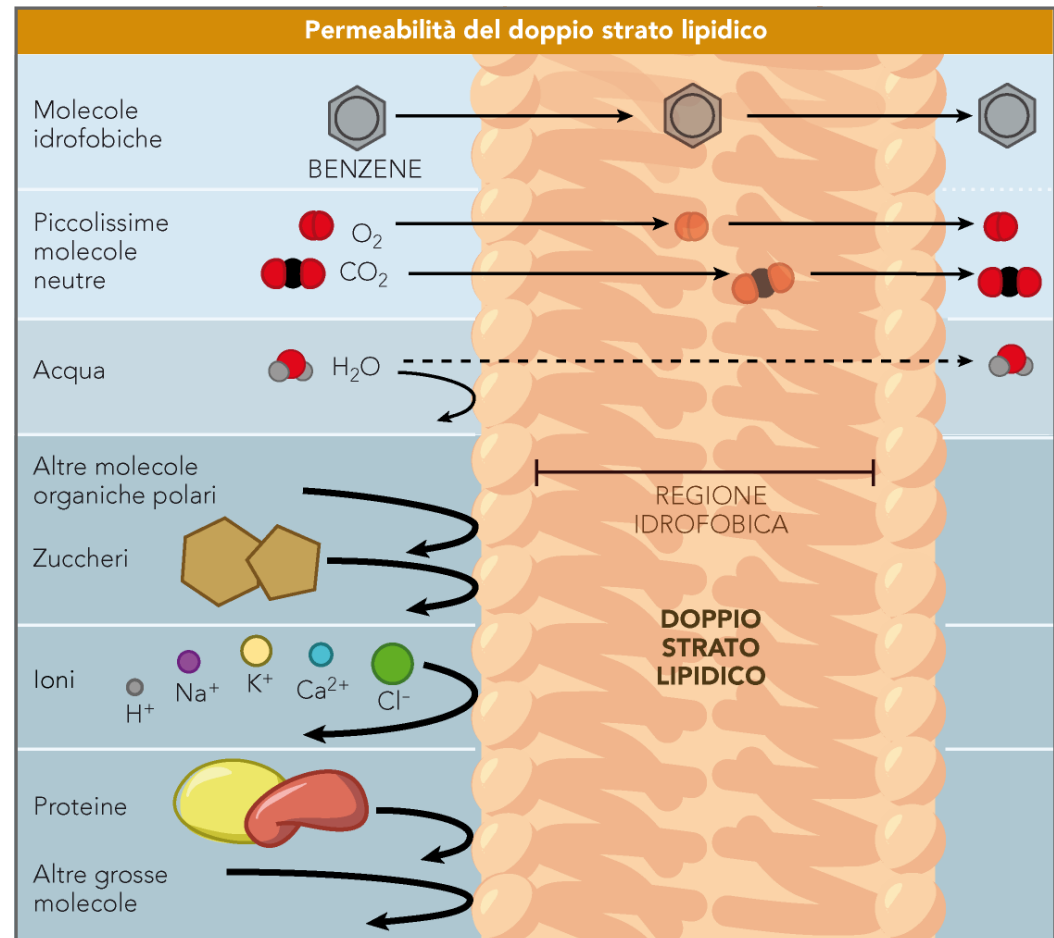
Membrana plasmatica:

Trasporto di materiale
all'interno della cellula

2- trasportatori e canali

Permeabilità relativa di un doppio strato lipidico sintetico (privo di proteine) a classi diverse di molecole.

Più piccola è la molecola e, cosa più importante, meno fortemente si associa all'acqua, più rapidamente la molecola diffonde attraverso il doppio strato lipidico. Dato un tempo sufficiente, qualunque molecola diffonderà attraverso il doppio strato lipidico privo di proteine attraverso il suo gradiente di concentrazione. La velocità varia a seconda delle dimensioni e della solubilità in olio; piccole molecole non polari (O_2 , CO_2) diffondono rapidamente; piccole molecole polari, ma prive di carica (acqua, urea) diffondono ma più lentamente; i doppi strati lipidici sono invece altamente impermeabili a molecole cariche (ioni), non importa quanto piccole

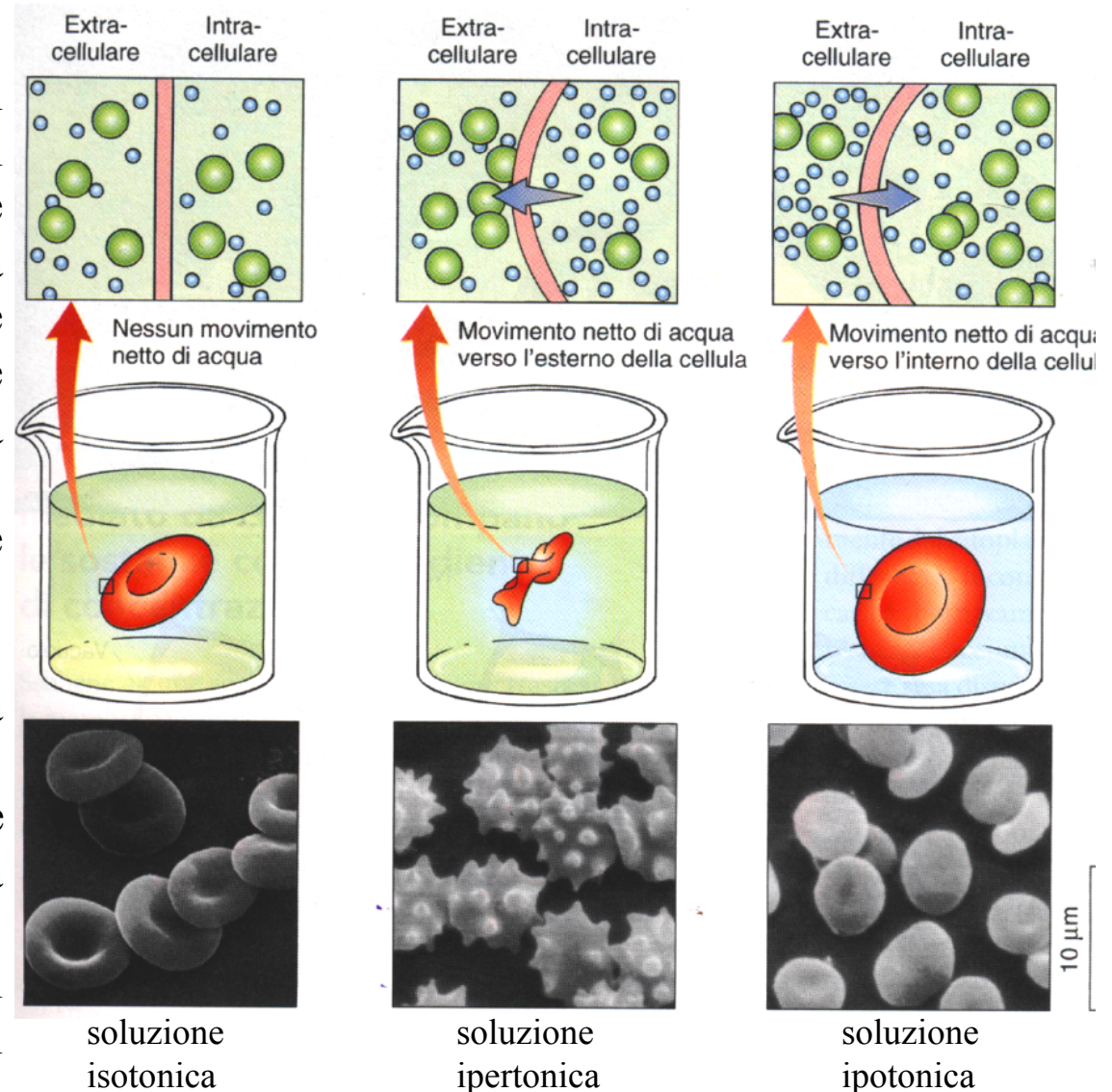


La permeabilità della membrana

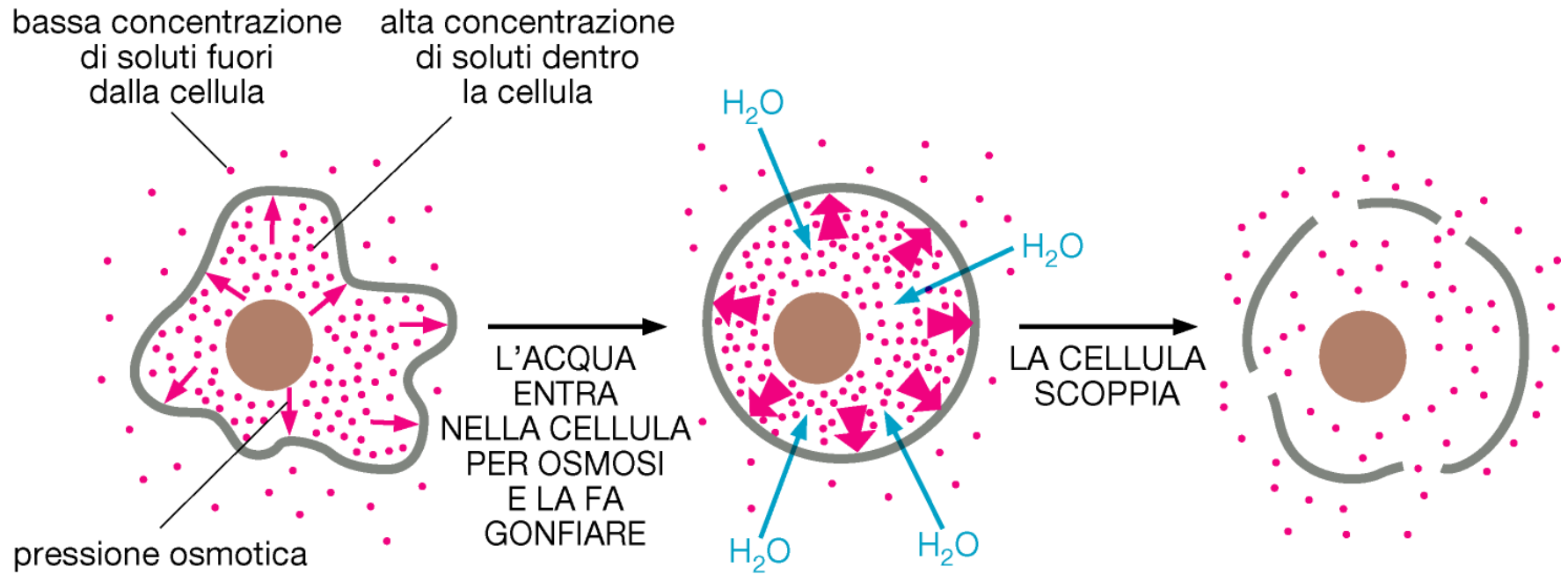
Il doppio strato lipidico a causa del suo core idrofobico impedisce il passaggio alla maggior parte delle molecole polari. La membrana plasmatica ha funzioni di barriera e permette alla cellula di mantenere differenti concentrazioni di soluti fra l'interno e l'esterno della cellula

- Il passaggio di ioni e molecole attraverso la membrana plasmatica è altamente regolato
- La membrana plasmatica è definita come una barriera semipermeabile
- L'acqua diffonde passivamente attraverso la membrana plasmatica seguendo leggi fisiche (osmosi): movimento netto di molecole di acqua in risposta a gradiente di concentrazione

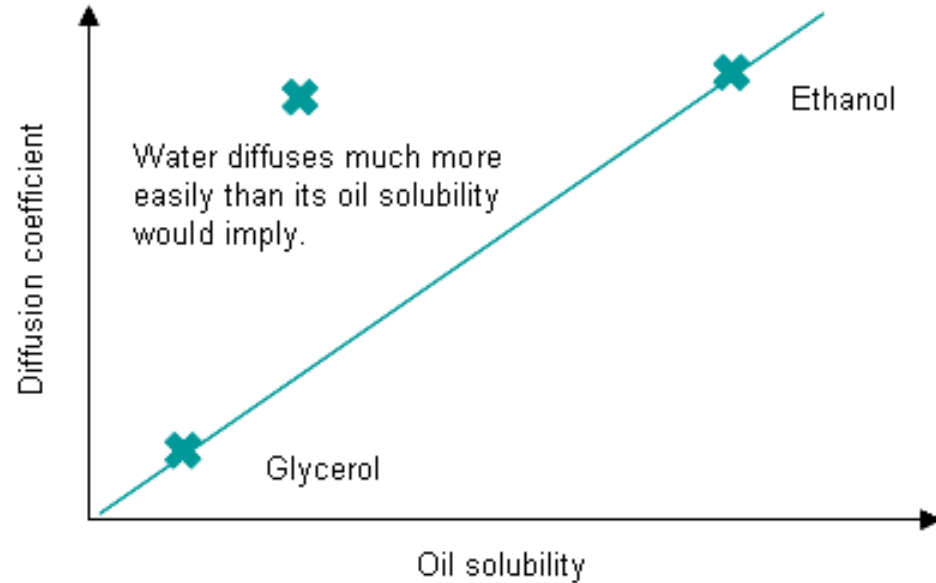
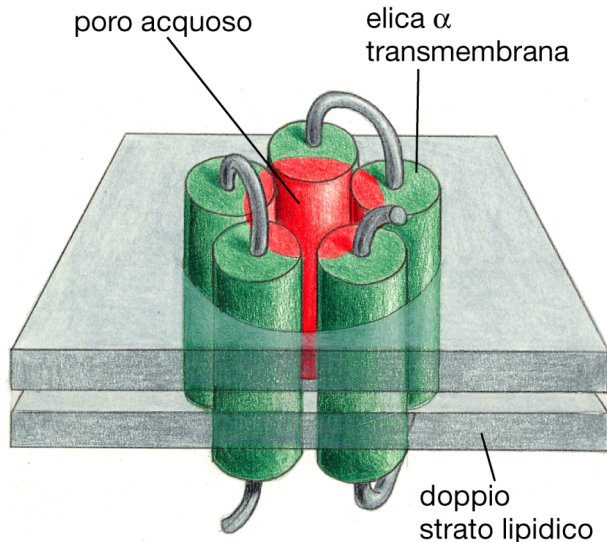
Definizione di ambiente isotonico/ ipotonico/ ipertonico



soluzione ipotonica



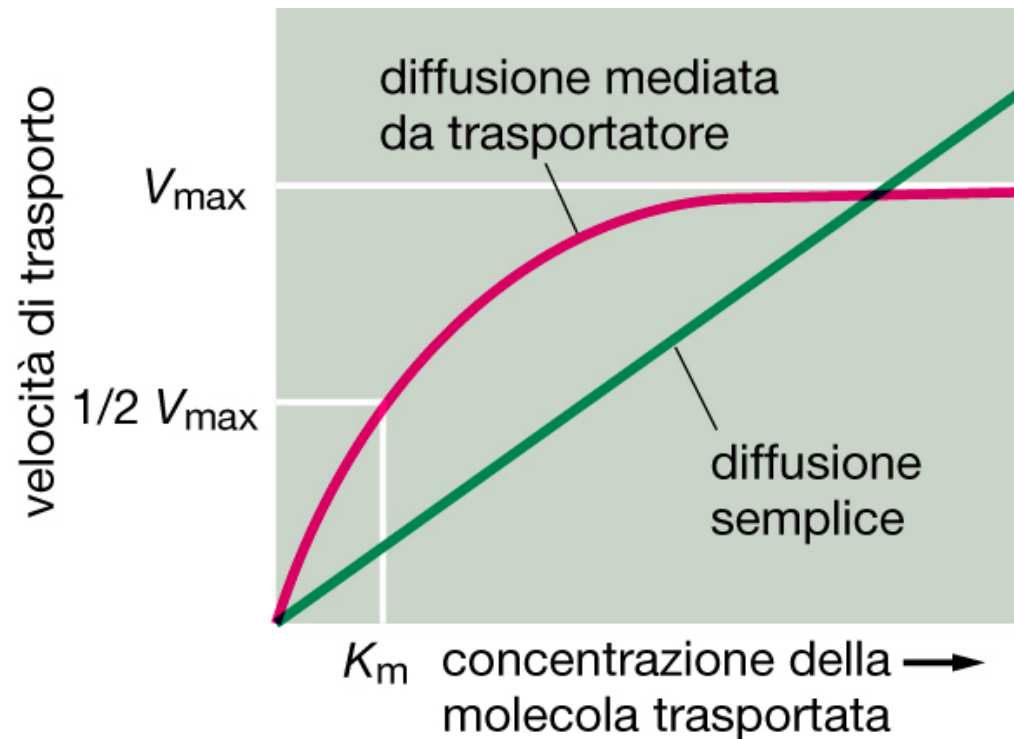
l'acqua diffonde molto di più nelle membrane biologiche che in doppi strati lipidici sintetici (senza proteine).



Nelle membrane biologiche l'acqua attraversa la membrana plasmatica per trasporto passivo facilitato dalla proteina acquaporina che forma un poro o canale idrofobico. L'aquaporina lascia passare selettivamente l'acqua per la sua piccola dimensione (non lascia passare altre molecole tipo l'etanolo).

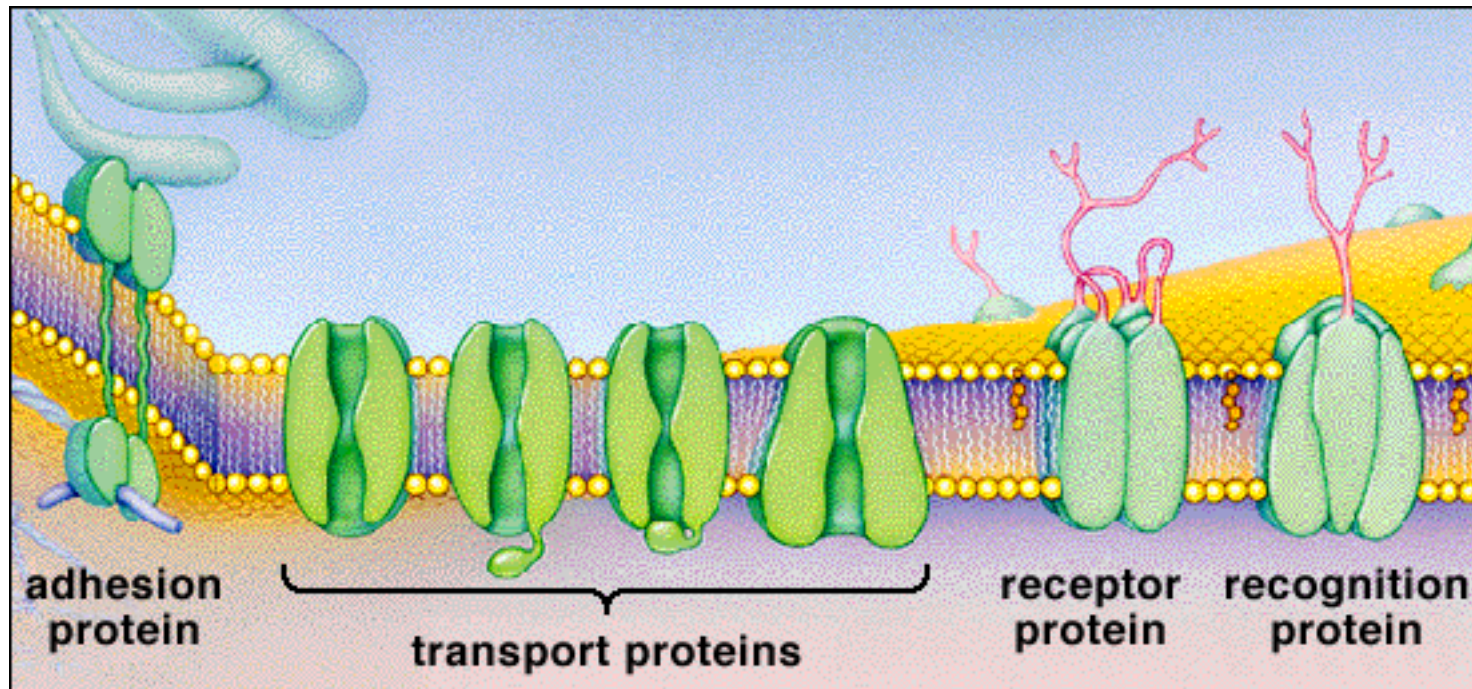
Caratteristiche del trasporto facilitato (mediato da carrier)

- **SATURABILITA'**: il meccanismo è simile a quello degli enzimi
- **SPECIFICITA'**: ciascun trasportatore è specifico per una determinata sostanza



Le membrane biologiche non sono barriere impermeabili (la cellula non è un sistema isolato!) ed hanno sviluppato una varietà molto efficiente di sistemi di trasporto

- Tra il 15 ed il 30% di tutti i geni codifica per proteine di membrana
- Circa il 66-70% dell'energia metabolica a disposizione della cellula eucariote è impiegata nel trasporto di membrana e nel controllo di questo



Proteine di trasporto e proteine canali

Il trasporto di ioni inorganici e di piccole molecole organiche solubili in acqua attraverso il doppio strato lipidico si realizza mediante proteine transmembrana specializzate, ciascuna delle quali è responsabile del trasferimento di uno ione, di una molecola, o di un gruppo di ioni o molecole correlati fra loro. Si tratta quindi di un processo altamente selettivo.

Ci sono due classi principali di proteine di trasporto di membrana:

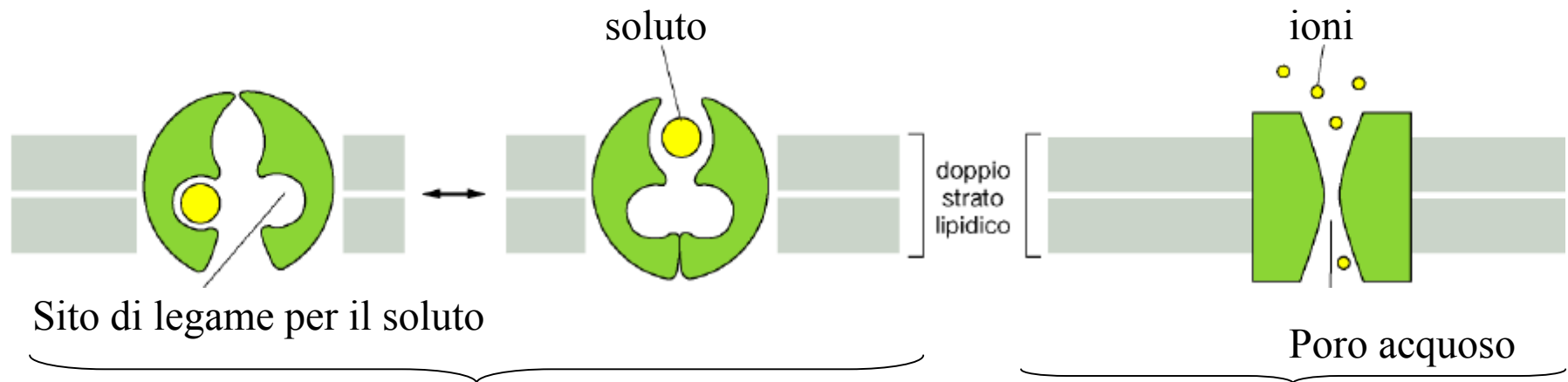
1. Le proteine trasportatrici (carrier o permeasi) che si legano al soluto specifico da trasportare e subiscono una serie di cambiamenti conformazionali per trasferire il soluto legato attraverso la membrana.
2. Le proteine canale, invece, interagiscono con il soluto da trasportare molto più debolmente. Esse formano dei pori acquosi che si estendono attraverso il doppio strato lipidico

Tutte le proteine di trasporto di membrana sono risultate proteine a passaggi multipli.

Nota: Le cellule possono anche trasferire macromolecole e anche grosse particelle attraverso le membrane, ma in questo caso i meccanismi coinvolti (pinocitosi e fagocitosi) sono diversi da quelli usati per trasferire piccole molecole.

Differenze fra proteine di trasporto e proteine canale?

La principale differenza fra carrier e proteine canale consiste nel fatto che i carrier si legano al soluto e durante il trasporto di questo subiscono una serie di cambiamenti conformazionali funzionali all'attraversamento della membrana, mentre le proteine canale interagiscono con il soluto solo debolmente e non si modificano strutturalmente durante il trasporto.



proteina di trasporto (carrier o permeasi)

Si alterna fra due conformazioni così il sito di attacco del soluto è accessibile alternativamente su un lato del doppio strato e sull'altro

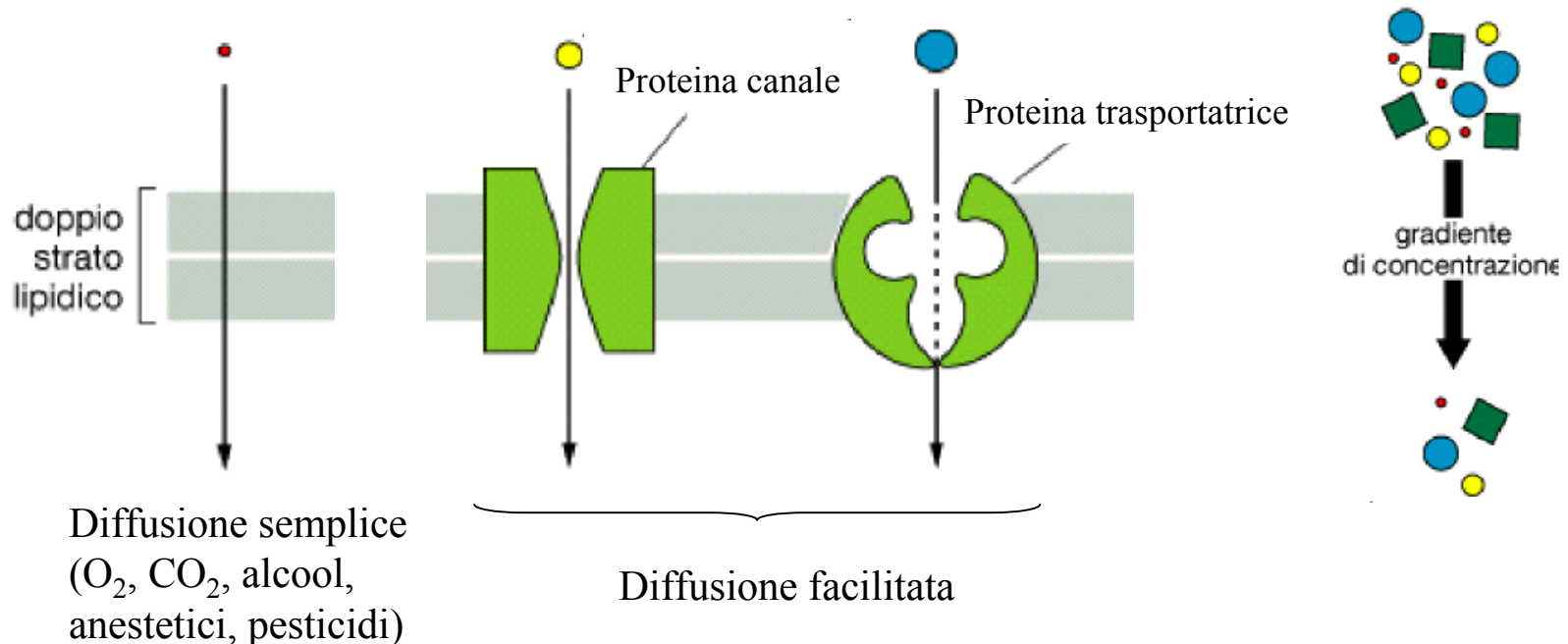
proteina canale

forma poro pieni di acqua attraverso il doppio strato lipidico che permettono il passaggio di ioni

Diffusione facilitata: Trasporto passivo

Tutte le proteine canale e molte (non tutte) proteine trasportatrici permettono ai soluti di attraversare la membrana soltanto passivamente (in discesa), ossia per trasporto passivo (o diffusione facilitata).

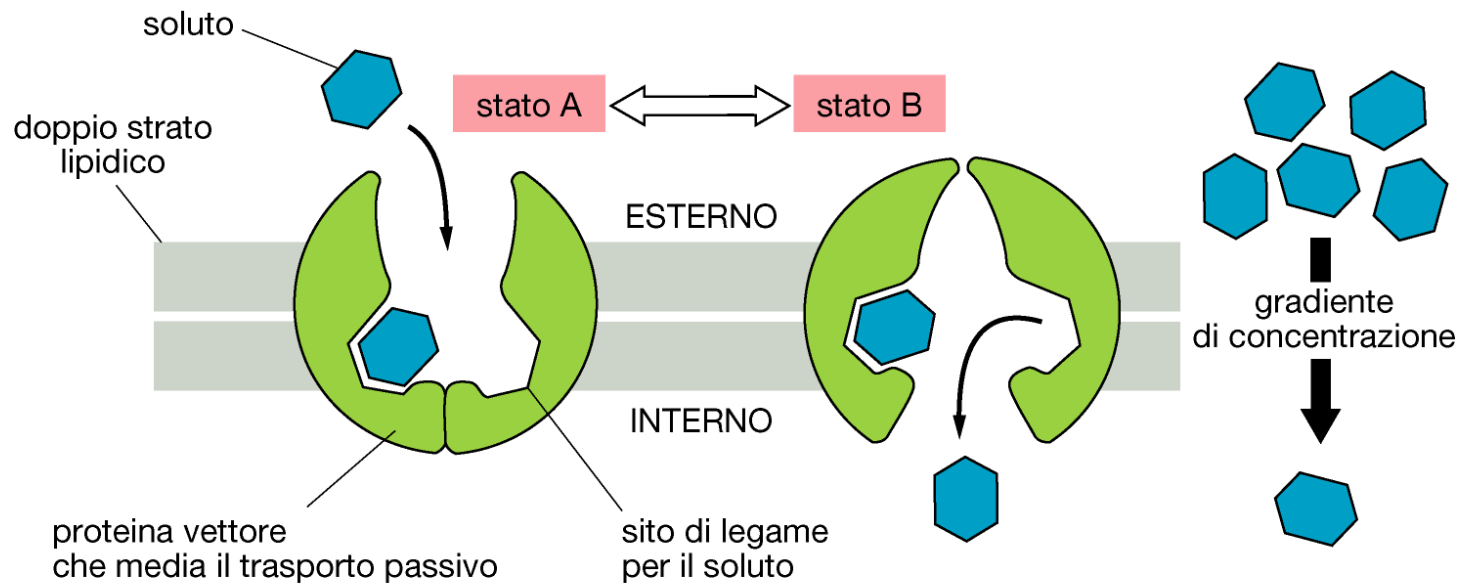
Se una molecola è priva di carica è la differenza di concentrazione sui due lati della membrana (ossia il suo gradiente di concentrazione) che spinge il trasporto passivo. Il trasporto passivo lungo un gradiente elettrochimico avviene spontaneamente, sia per semplice diffusione attraverso il doppio strato lipidico che per diffusione facilitata attraverso canali e trasportatori passivi



Trasporto passivo e carrier

Questo modello presuppone che:

- La transizione fra i 2 stati avvenga casualmente
- La transizione non dipende dal fatto che il soluto occupi oppure no il sito di legame
- La transizione deve essere completamente reversibile
- Quindi il carrier legherà maggiormente il soluto dove il soluto è presente in maggiore concentrazione

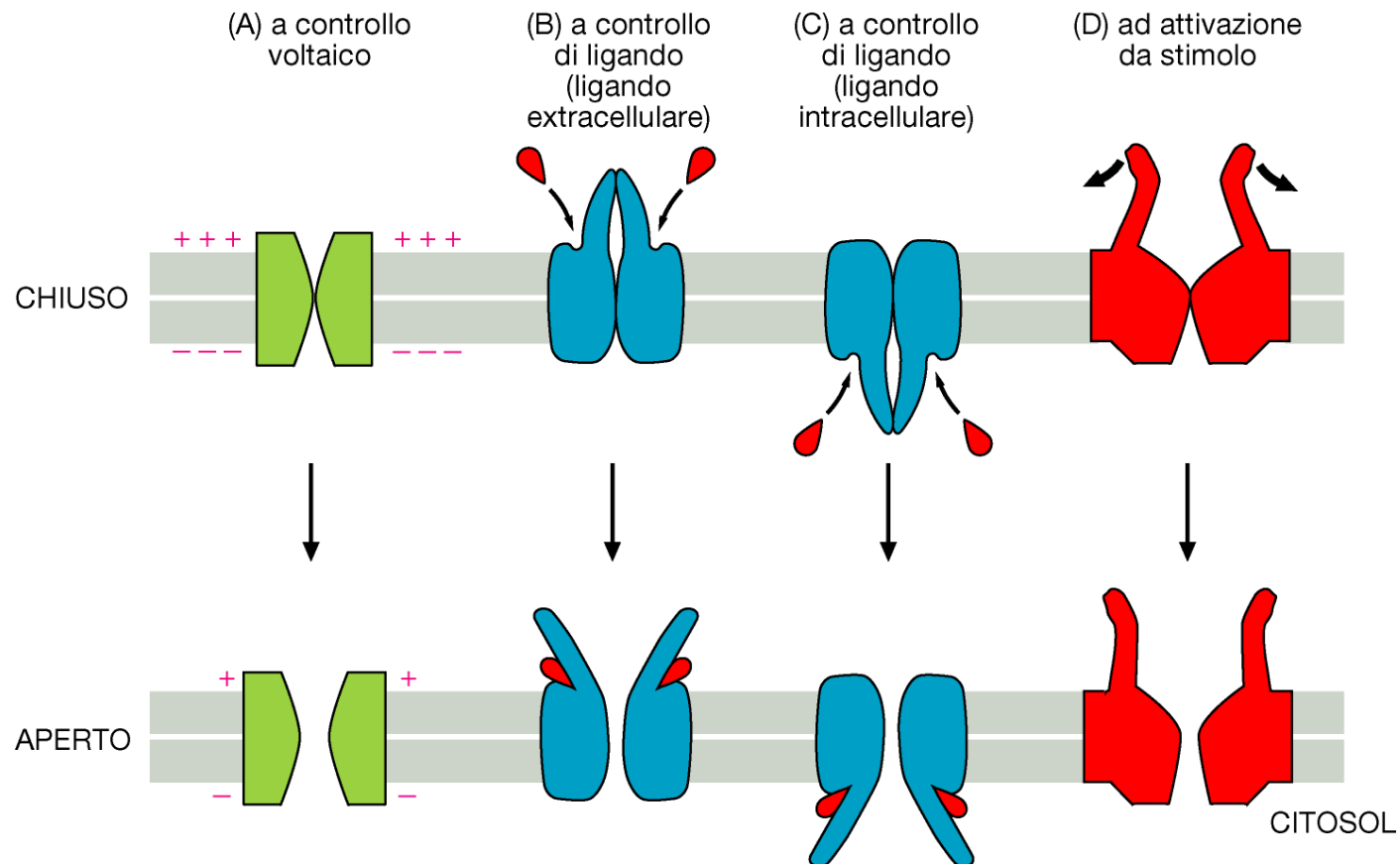


I canali ionici e le proprietà elettriche della membrana

I canali ionici sono “gated” (cioè provvisti di porta) e si aprono provvisoriamente solo in risposta a specifiche perturbazioni nella membrana come:

- Cambi nel potenziale elettrico della membrana (voltage gated channels)
- Dopo un legame con una molecole trasmettitore (transmitted gated channels)

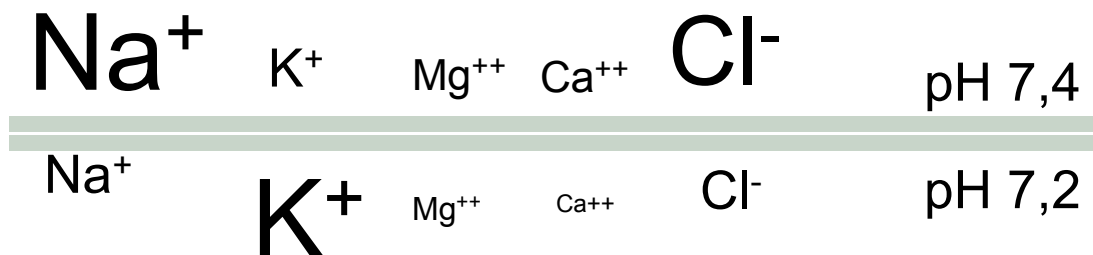
Questo meccanismo è tipico delle cellule nervose e delle cellule muscolari



Differenze di concentrazione di alcuni ioni fra l'ambiente esterno ed interno delle cellule di mammifero.

Generando differenze di concentrazioni ioniche attraverso il doppio strato lipidico le membrane cellulari possono conservare energia potenziale sotto forma di gradienti elettrochimici, che sono usati per spingere vari processi di trasporto, per portare segnali elettrici in cellule eccitabili elettricamente, per produrre la maggior parte dell'ATP della cellula (mitocondri, cloroplasti, batteri).

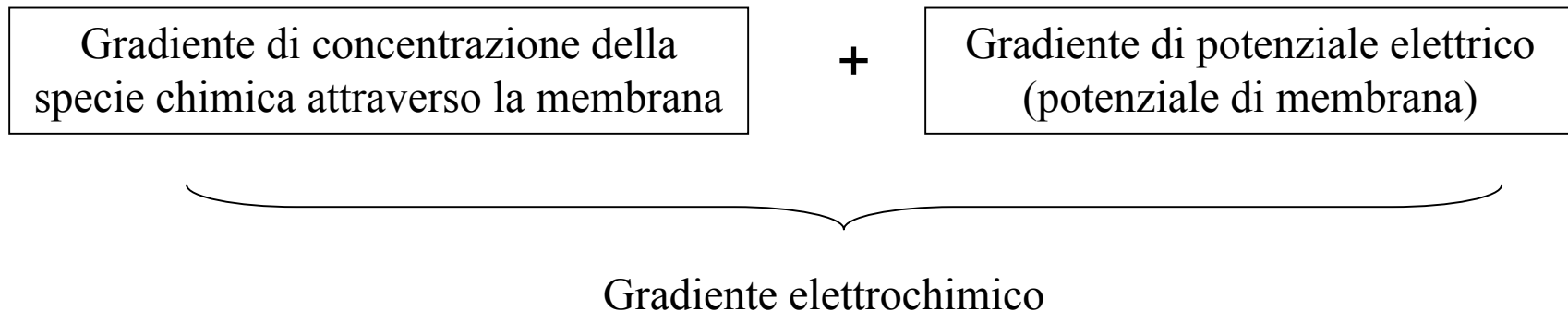
ione	Concentrazione intracellulare (mM)	Concentrazione extracellulare (mM)
Na ⁺	5-15	145 ←
K ⁺	140 ←	5
Mg ²⁺	0,5	1-2
Ca ²⁺	0,0001	1-2
H ⁺	pH 7,2	pH 7,4
Cl ⁻	5-15	110



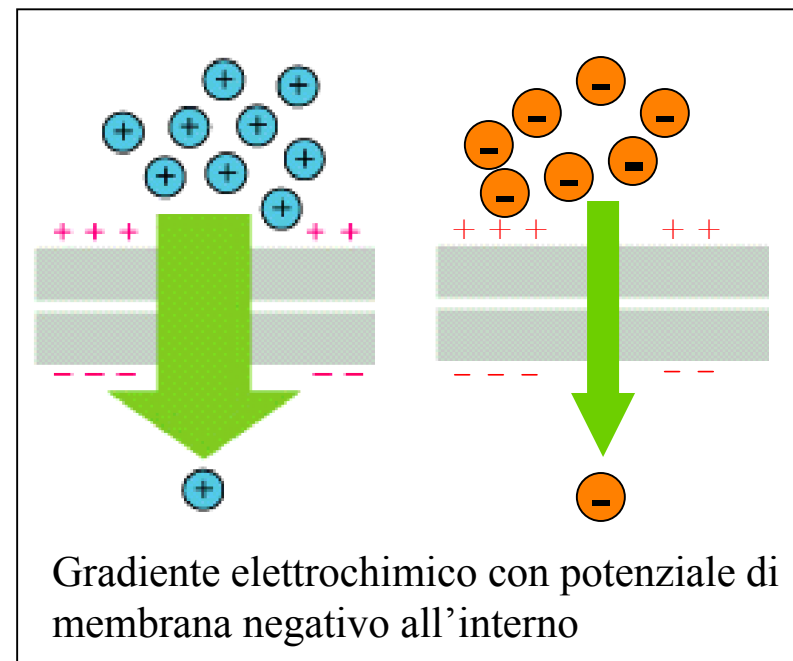
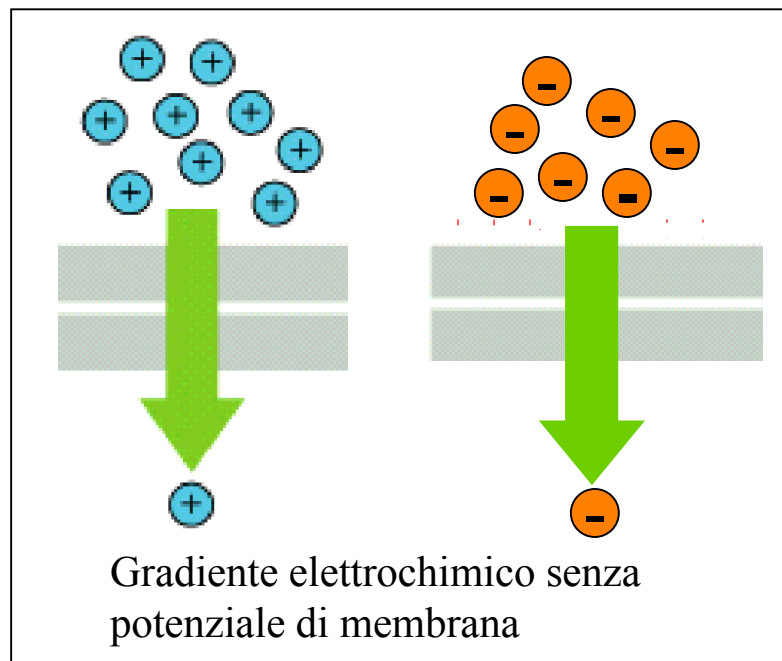
Gradiente elettrochimico

Se il soluto ha una carica netta, sia il suo gradiente di concentrazione sia la differenza di potenziale elettrico attraverso la membrana (potenziale di membrana) influenzano il trasporto. Il gradiente di concentrazione ed il gradiente elettrico danno origine al gradiente elettrochimico per ciascun soluto carico.

La diffusione facilitata o trasporto passivo è regolato dal gradiente elettrochimico e quindi dipende dal potenziale elettrochimico della sostanza trasportata



Tutte le membrane hanno una differenza di potenziale elettrico (gradiente di voltaggio) attraverso di esse, con l'interno in genere negativo rispetto all'esterno. Questa differenza favorisce l'ingresso di ioni carichi positivamente nella cellula, ma si oppone all'ingresso di ioni carichi negativamente



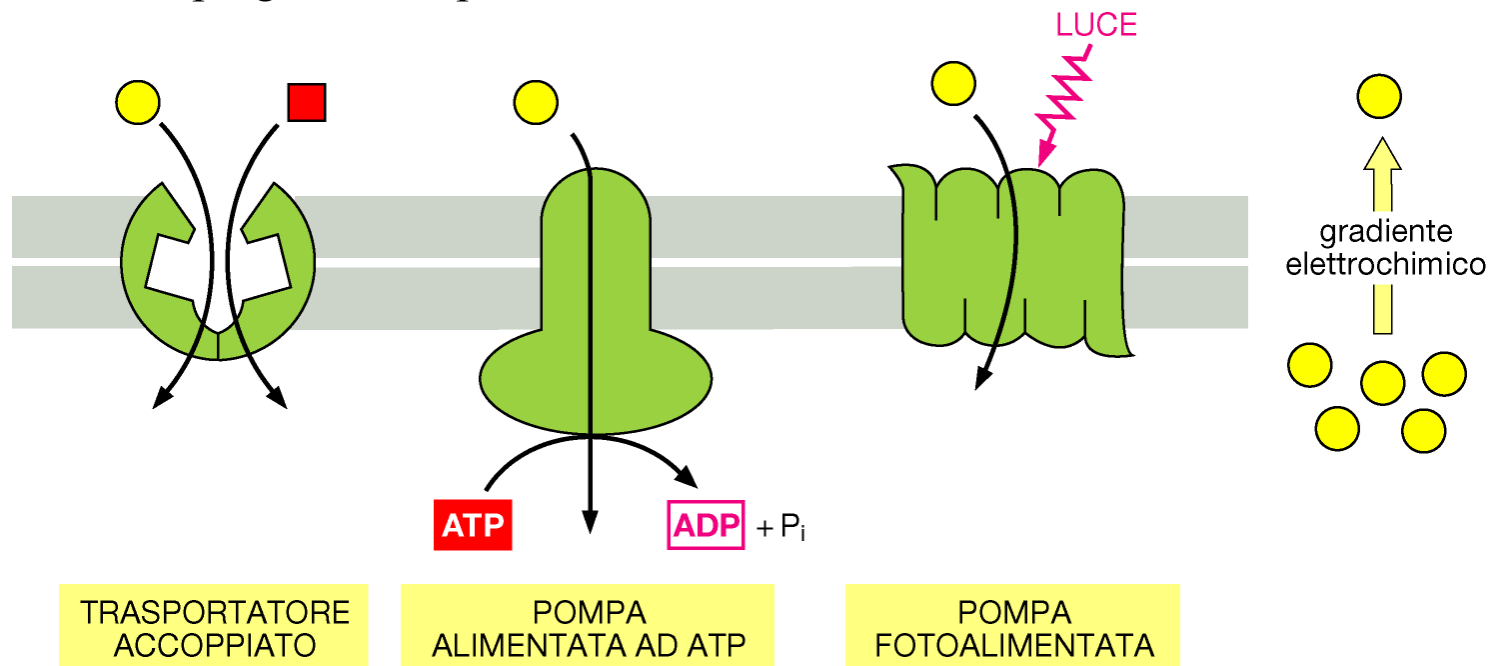
Caratteristiche dei meccanismi di trasporto

Caratteristica	Diffusione semplice	Diffusione facilitata	Trasporto attivo
Componente della membrana responsabile del trasporto	Lipidi	Proteine	Proteine
Interazione con la sostanza trasportata	No	Sì	Sì
Fonte di energia	Gradienti di concentrazione	Gradienti di concentrazione	Idrolisi di ATP o gradiente di concentrazione
Direzione di trasporto	Secondo gradiente	Secondo gradiente	Contro gradiente
Specificità per molecole o classi di molecole	Aspecifica	Specifica	Specifica
Saturazione a concentrazioni elevate della sostanza veicolata	No	Sì	sì

Trasporto attivo

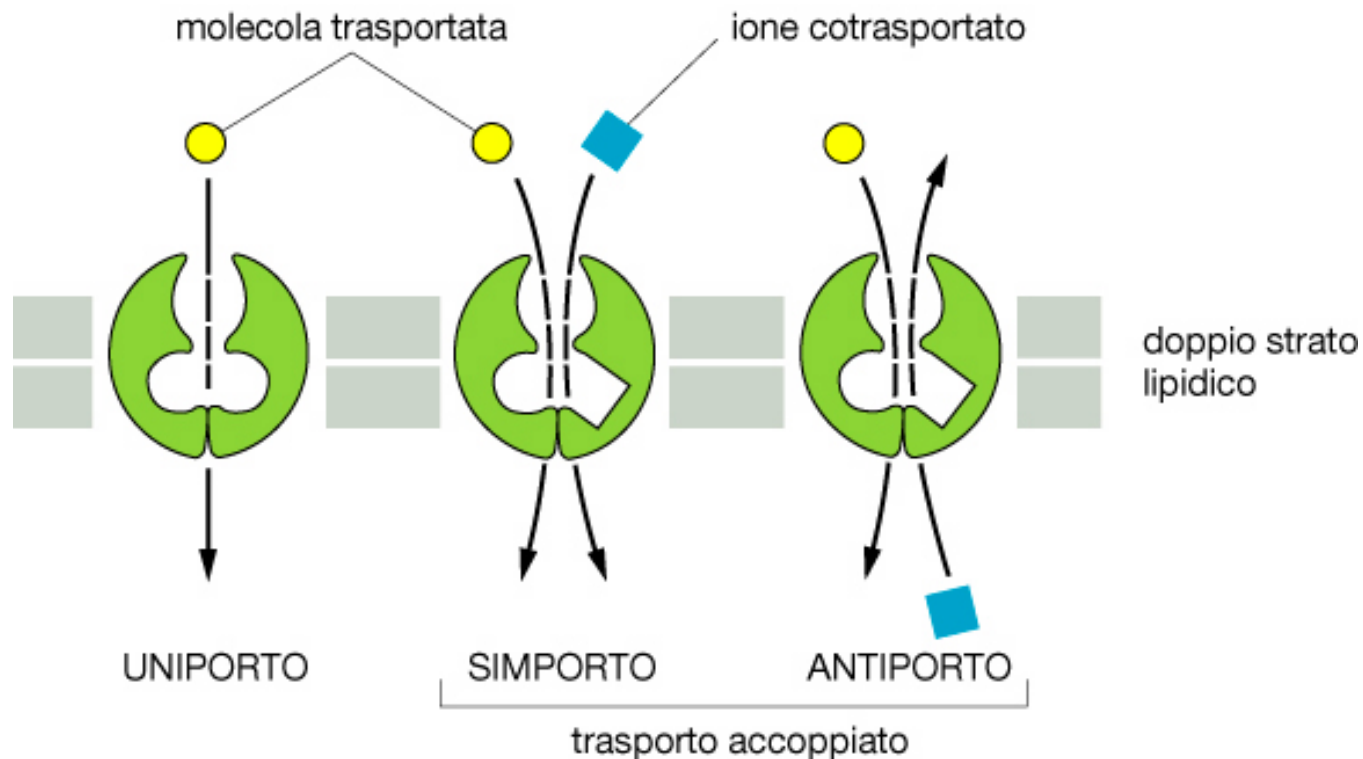
Molto spesso le cellule richiedono alle proteine di trasporto di pompare certi soluti attraverso la membrana **CONTRO IL LORO GRADIENTE ELETTROCHIMICO**. Il trasporto di sostanze contro gradiente è sempre strettamente associato ad una fonte di energia metabolica. L'attività di pompaggio è accompagnata da una fonte di energia metabolica (idrolisi di ATP o ad un gradiente ionico).

Tre modi di spingere il trasporto attivo



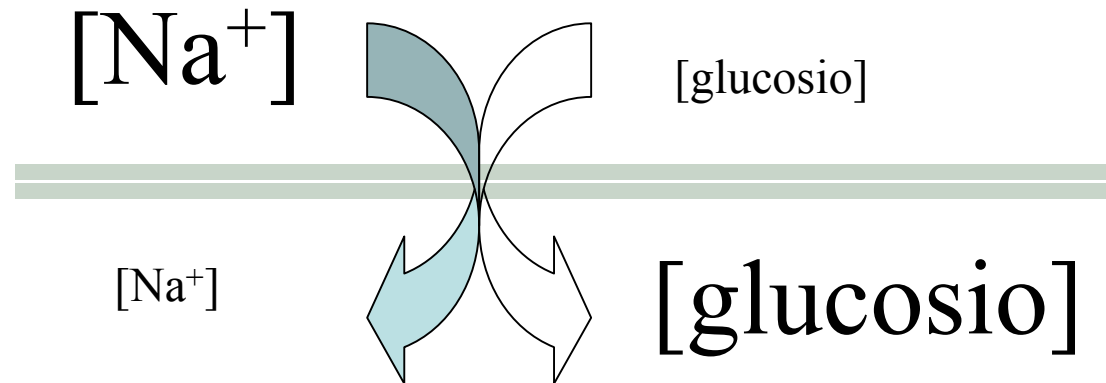
Tre tipi di trasporto mediato da trasportatore

Alcuni trasportatori trasportano un singolo soluto (uniporto), altri fungono da trasportatori accoppiati in cui il trasferimento di un soluto dipende strettamente dal trasporto di un secondo soluto nella stessa direzione (simporto) o in direzione opposta (antiporto). Lo stretto accoppiamento tra il trasporto dei due soluti permette a questi trasportatori di raccogliere l'energia conservata nel gradiente elettrochimico di un soluto (generalmente uno ione), per trasportare l'altro.



La pompa Na^+ /Glucosio: simporto

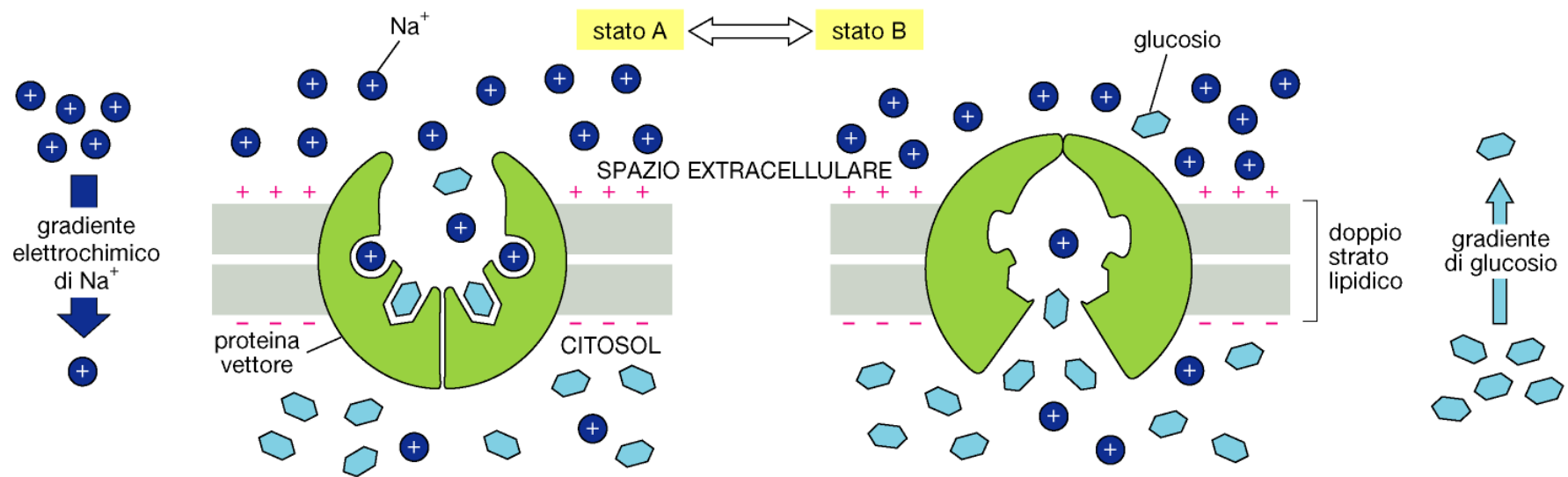
Nella membrana plasmatica delle cellule animali Na^+ è il tipico ione cotrasportato il cui gradiente elettrochimico fornisce una grande forza che spinge il trasporto attivo di una seconda molecola, come ad esempio il glucosio.



Nota: Al contrario, nei batteri e nei lieviti, oltre che in molti organelli della cellula animale rivestiti da membrana, la maggior parte dei sistemi di trasporto attivo spinti da gradienti ionici dipende da gradienti di H^+ e non di Na^+ , riflettendo l'assenza quasi totale di pompe Na^+ in queste membrane

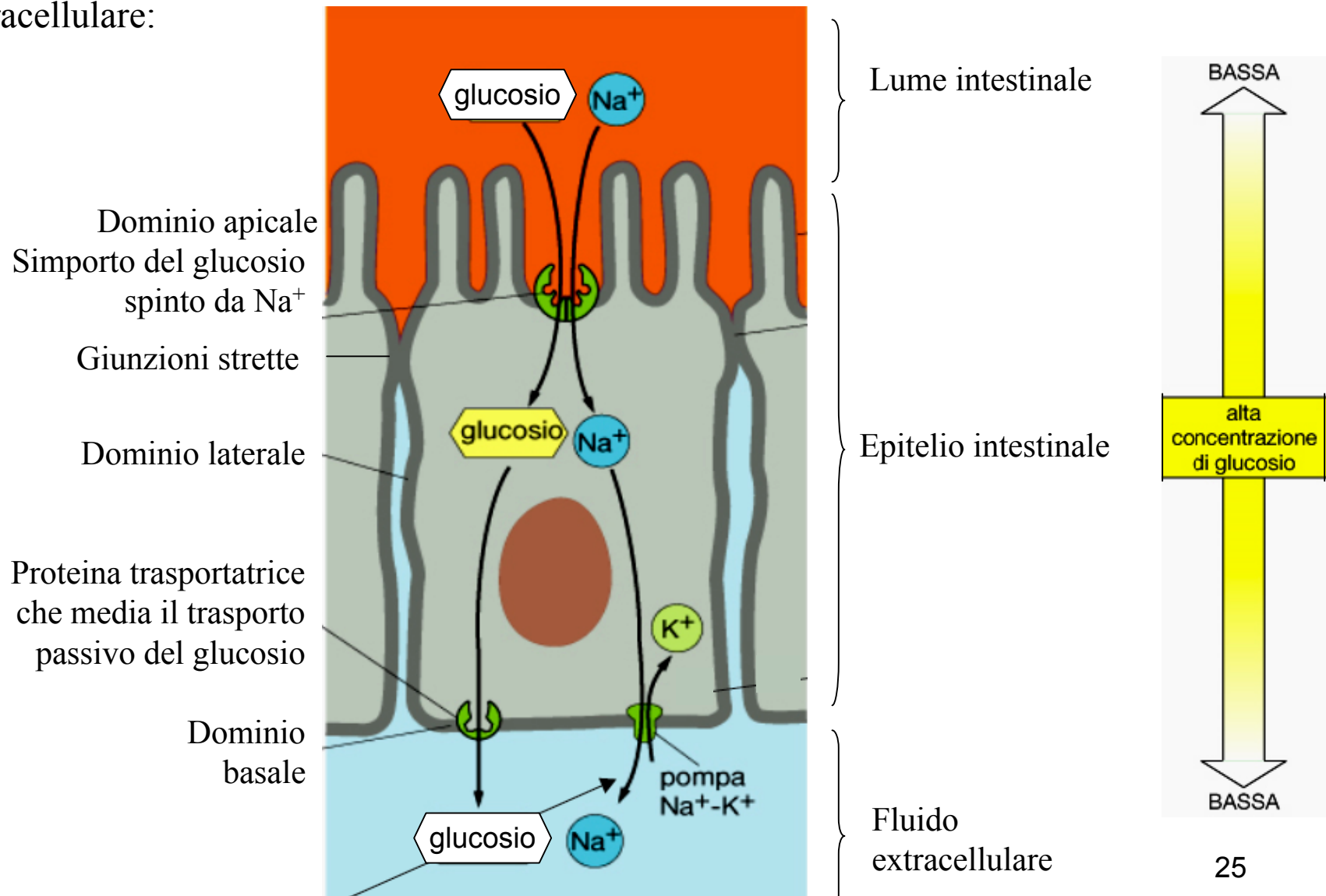
La pompa Na⁺/Glucosio: simporto

Il trasportatore oscilla fra due stati alternativi (A e B); nello stato A la proteina è aperta nello spazio extracellulare, nello stato B è aperta sul citosol. Il trasporto del glucosio è spinto dal gradiente di Na⁺. Il legame del Na⁺ e del glucosio è di tipo cooperativo per cui maggiore è la quantità di Na⁺ che si lega al carrier più facilmente il glucosio si legherà all'esterno della membrana sul carrier stesso. Risultato globale : trasporto sia di Na⁺ che di glucosio nella cellula



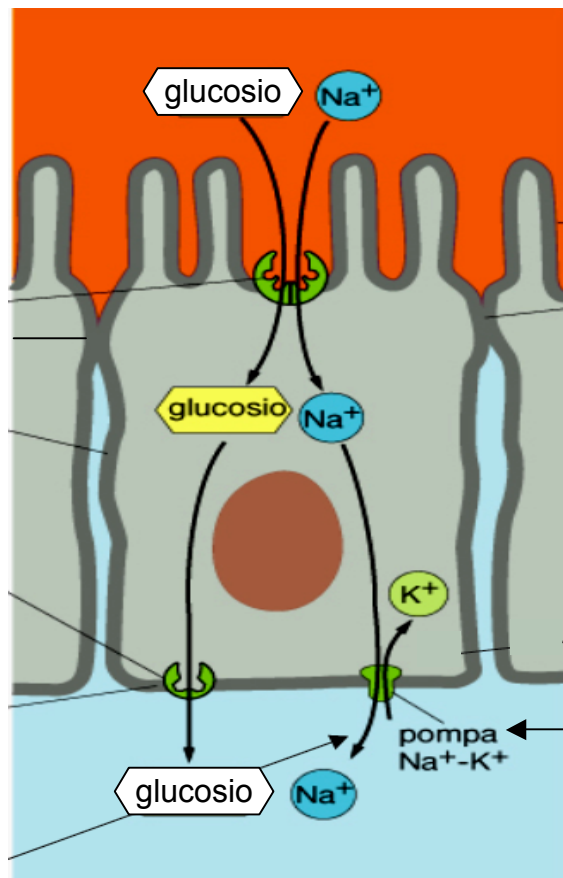
Nota: Se manca uno dei due soluti la pompa si blocca

Una distribuzione asimmetrica di proteine trasportatrici nelle cellule epiteliali e' alla base del trasporto transcellulare di soluti. Trasporto di glucosio dal lume intestinale al fluido extracellulare:



L'epitelio intestinale è altamente polarizzato

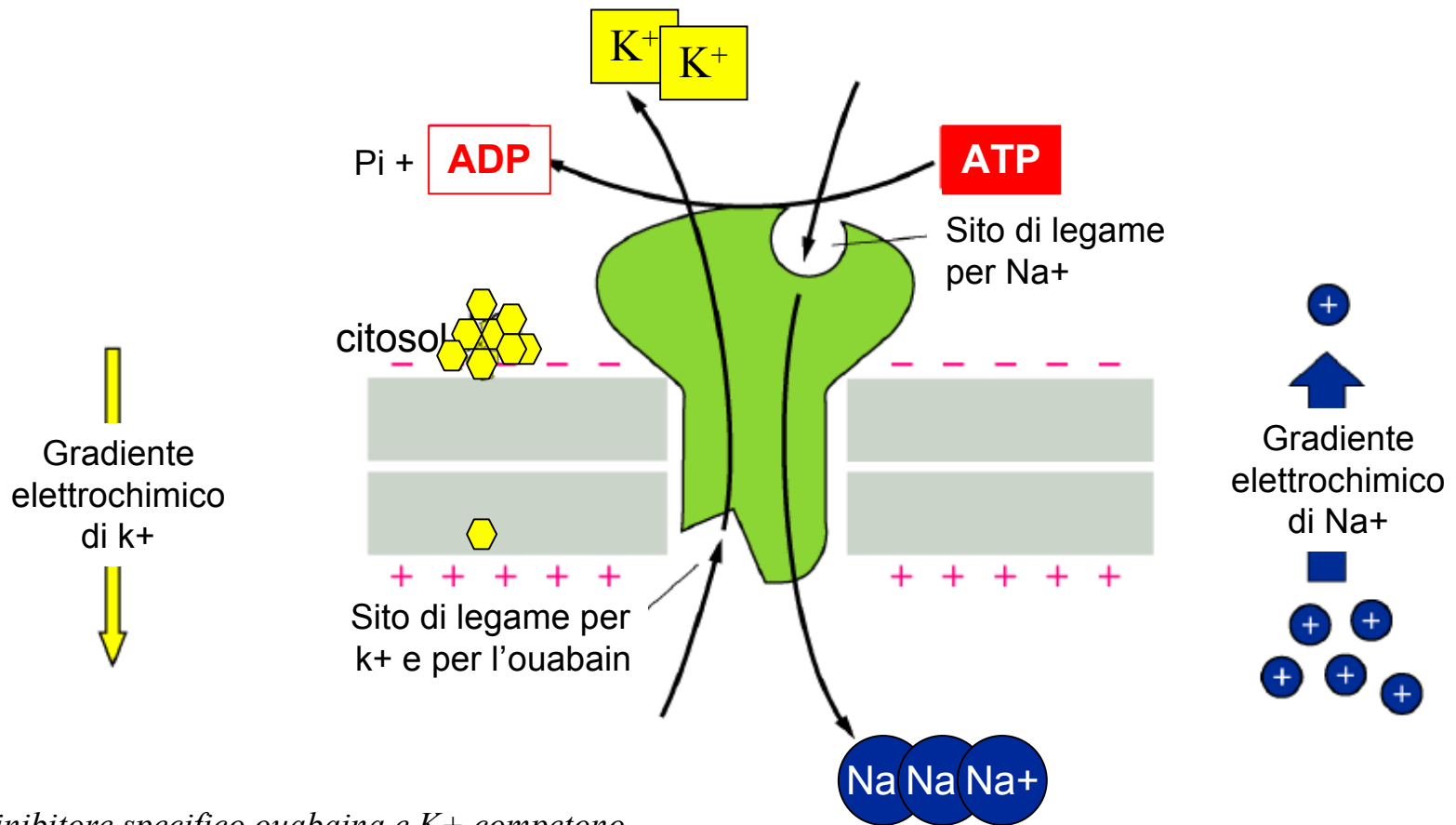
Le giunzioni strette (tight junctions) impermeabili connettono cellule adiacenti impedendo ai soluti di attraversare l'epitelio fra cellule ed impediscono anche la diffusione delle proteine all'interno della membrana plasmatica, così le differenti proteine trasportatrici restano confinate nelle loro sedi



La pompa Na^+ e K^+ mantiene bassa la concentrazione interna di Na^+

La pompa Na^+ / K^+

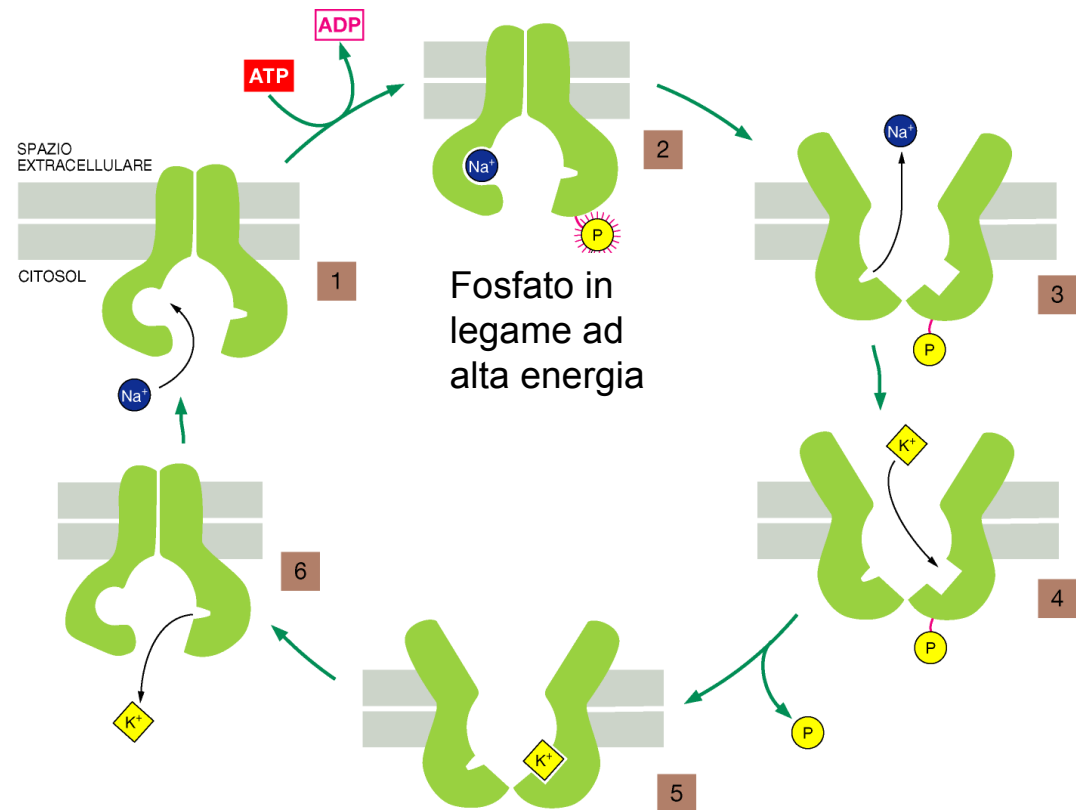
Questa proteina trasportatrice pompa attivamente Na^+ fuori dalla cellula e K^+ dentro la cellula contro i loro gradienti elettrochimici. Per ogni molecola di ATP idrolizzata nella cellula, 3 Na^+ sono pompati fuori e due K^+ sono pompati dentro.



Nota: L'inibitore specifico ouabaina e K^+ competono per lo stesso sito sul lato extracellulare della pompa

La pompa Na^+ / K^+ della membrana plasmatica è una ATPasi, è presente nella membrana plasmatica di tutte le cellule animali pompa sodio fuori, potassio all'interno: ENTRAMBI CONTRO GRADIENTE

- ha bisogno di ATP da cui ricavare energia per funzionare
- è praticamente ubiquitaria
- è fondamentale per mantenere inalterata la concentrazione interna degli ioni sodio e quindi, di fatto, controlla il funzionamento di tutti i carrier ad esso correlati
- genera un potenziale elettrico
- controlla il volume della cellula

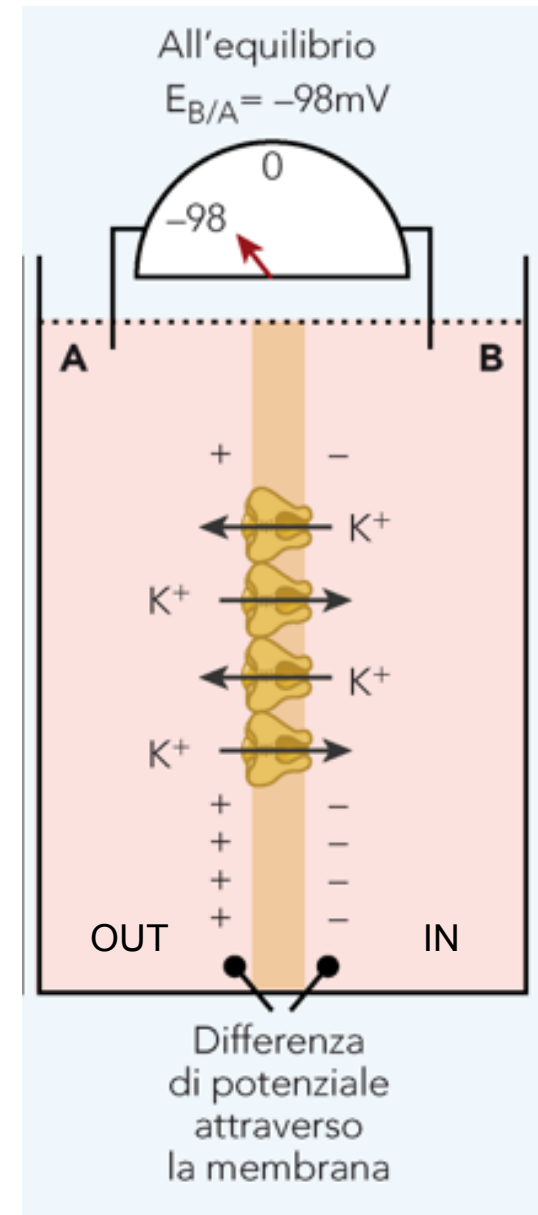


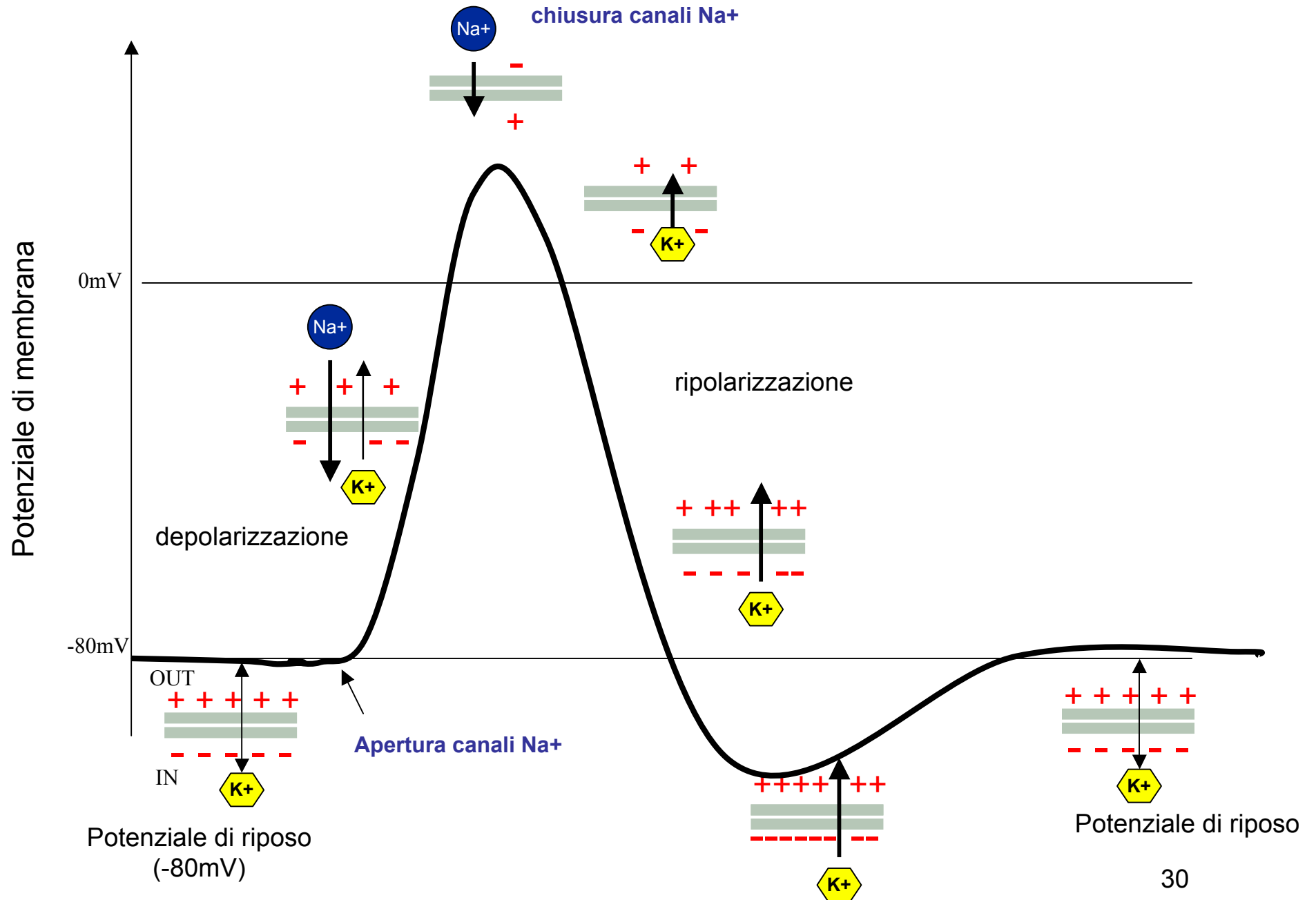
Una caratteristica della pompa $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ è che il ciclo di trasporto dipende da autofosforilazione della proteina: ad ogni ciclo escono 3 ioni sodio ed entrano 2 ioni potassio e viene consumato 1 ATP

Potenziale di membrana a riposo

In quasi tutte le cellule dell'organismo è possibile rilevare dei potenziali elettrici a livello della membrana. Il potenziale di membrana viene generato in particolari condizioni e quando vi sia una differenza nella concentrazione di ioni attraverso una membrana semipermeabile.

Per misurare il potenziale di riposo della membrana è possibile inserire un microelettrodo all'interno della cellula ed uno al suo esterno, misurandone la differenza. Attraverso la membrana è possibile, con l'ausilio di elettrodi, far passare un impulso di corrente, che può essere depolarizzante (se vi è una riduzione della differenza di potenziale es. da -90 a -60) o iperpolarizzante (se vi è un aumento della differenza di potenziale es. da -60 a -90).





I canali di membrana possono essere aperti o chiusi dall'interazione con un ligando extracellulare oppure dal cambio di voltaggio.

