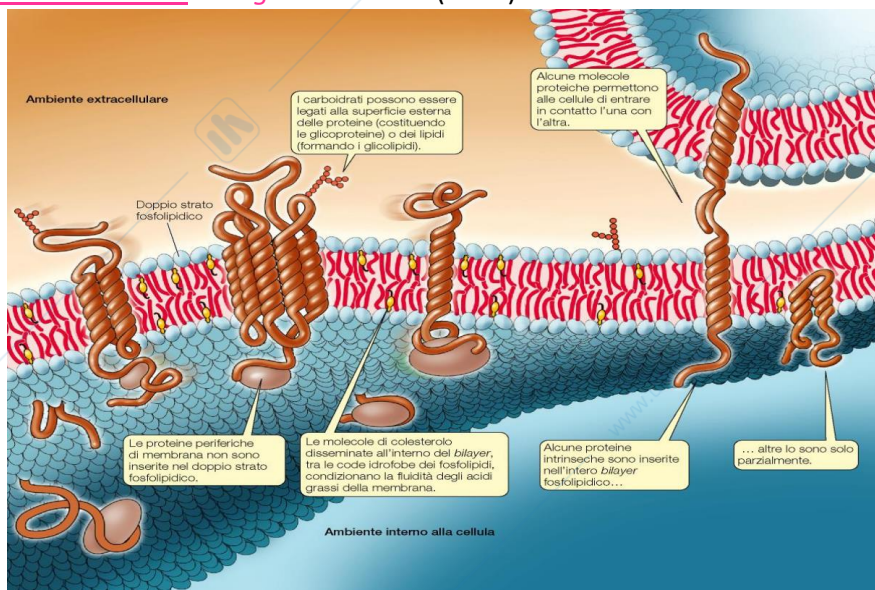


MEMBRANE BIOLOGICHE

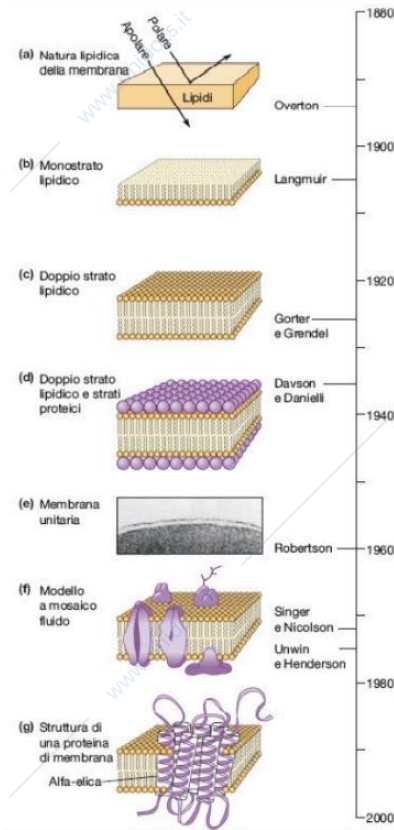
- Le **membrane biologiche lipidiche** sono presenti in grandissime quantità all'interno delle cellule (es. membrana plasmatica e compartimenti subcellulari).
- Le funzioni delle membrane biologiche sono:
 - Compartimentalizzazione la cellula
 - Regolazione di scambi esterni/interni, infatti è una membrana semipermeabile
 - Informazioni e segnali intracellulari fra cellule, es. recettori sono proteine di membrana
 - Energia
 - Reazioni enzimatiche catalizzate da enzimi inseriti nella membrana stessa
 - Comporti reattivi separati dal resto della cellula, in compartimenti subcellulari, in modo che non siano dannosi per la cellula
 - Concentrazione dei reagenti
- Le membrane biologiche sono strutture costituite da **fosfolipidi**, **glicolipidi** e **proteine** e sono in **costante movimento**, sono **strutture complesse e dinamiche**.
Le funzioni dei costituenti delle membrane biologiche sono:
 - **Lipidi**: barriera idrofobica, in particolare il core idrofobico che non consente scambi acquosi tra l'ambiente extra- e intra-cellulare e vv.
 - **Proteine**: regolano il trasporto specifico e il riconoscimento e la comunicazione cellulare
 - **Carboidrati**: regolano il riconoscimento e la comunicazione cellulare

1) MODELLO A MOSAICO FLUIDO – Singer e Nicolson (1972)



- Secondo il modello a mosaico fluido la membrana plasmatica è costituita un **doppio strato di fosfolipidi** che presentano **teste polari idrofiliche**, rivolte verso l'ambiente extracellulare, e **code apolare idrofobiche**, rivolte le une contro le altre a formare un **"core idrofobico"**, che è alla base della **selettività e semipermeabilità** della membrana plasmatica; infatti, non tutte le molecole disciolte nell'ambiente cellulare o nell'ambiente extracellulare possono attraversare spontaneamente la membrana, data la presenza del core con cui possono non avere affinità.
- S. e N. ipotizzarono che la membrana fosse fluida e che quindi i suoi costituenti (lipidi e proteine) riescano a muoversi lateralmente dando fluidità al modello (infatti **"FLUIDO"**).
- Il **"MOSAICO"** sta nel fatto che le proteine contenute nella membrana biologiche, sono presenti come tessere di un mosaico (come gli iceberg che si muovono all'interno del mare).
- Le modificazioni costituite da catene di carboidrati aggiunte a proteine o lipidi (glicoproteine e glicolipidi) riguardano solo il versante extracellulare e questo implica che la membrana sia **asimmetrica**.

1a) CRONOLOGIA DELLO SVILUPPO DEL MODELLO A MOSAICO FLUIDO



Il primo a supporre la natura lipidica della membrana su **Overton**, che si rese conto che all'interno della cellula era più semplice far passare molecole apolari, rispetto a molecole polari.

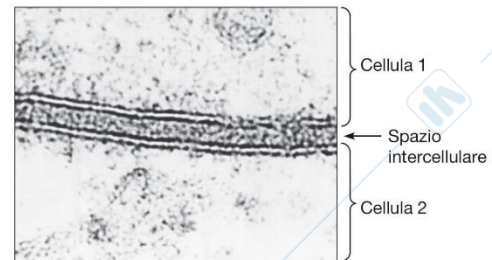
Langmuir prese dei fosfolipidi purificati monostrato e li stratificò sulla superficie acquosa; si rese conto che i fosfolipidi si orientano sull'acqua in modo da avere le teste polari idrofiliche rivolte verso l'acqua, mentre le code apolari idrofobiche si allontanano dallo strato di acqua.

Gorter e Grendel estrassero i lipidi da un n° noto di GB; una volta estratti li stratificarono come aveva fatto Langmuir e videro che si disponevano sull'acqua dando una doppia superficie molto più grande, un doppio strato fosfolipidico.

Davison e Daniell ipotizzarono la presenza di due strati proteici, uno extra- e uno intracellulare. Questo però non era supportato dai dati perché lo spessore della membrana e di circa 6-8 nm, troppo piccolo per ospitare proteine globulari con ampie regioni a α -elica.

Al contrario, venne dimostrato che il rapporto tra proteine e lipidi varia molto a seconda del tipo di membrana. Inoltre, venne scoperto che le proteine di membrana fossero insolubili in acqua e questo implicava che dovessero avere una porzione che interagisse con le code idrofobe.

Si arrivò poi al modello a mosaico fluido in cui **Singer e Nicolson** avevano osservato che colorando le singole membrane con osmio, queste erano rappresentate da una sorta di "binario ferroviario" dello spessore di 6-8 nm.



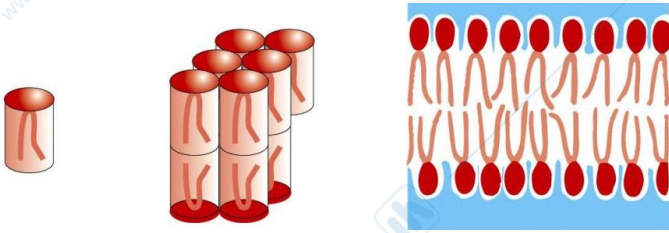
2) LIPIDI DI MEMBRANA

- I **lipidi di membrana** sono molecole anfipatiche, dotate di una porzione idrofilica e una porzione idrofobica.

Lipidi membrana		Disegno schematico	
FOSFOLIPIDI	GLICEROFOSFOLIPI (es. fosfatidilcolina, fosfatidilglicerolo)		Il glicerolo è esterificato con 2 dei g. ossidrilici con 2 acidi grassi (code apolari idrofobiche) mentre il 3° g. ossidrilico è legato a un g. fosfato a cui è legato un g. R idrofilico (testa polare idrofilica) . I glicerofosfolipidi si differenziano a seconda del g. idrofilico.
	SFINGOLIPIDI (es. sfingomielina)		La base è la singosina , aminoalcol a 18 atomi di C, il cui g. amminico è legato 1 acido grasso (code apolari idrofobiche) mentre il 3° g. ossidrilico è legato a un g. fosfato a cui è legato un g. R idrofilico (testa polare idrofilica) .
GLICOLIPIDI: sono lipidi modificati da zuccheri, hanno una parte glucidica sempre presente sul versante esterno della membrana e contribuiscono alla sua asimmetria			La singosina il cui g. amminico è legato 1 acido grasso (code apolari idrofobiche) mentre il 3° g. ossidrilico è legato a un solo zucchero (CEREBROSIDI) oppure a più zuccheri legati tra loro (GANGLOSIDI) .
STEROLI: non sono presenti nelle membrane dei procarioti, negli animali vi è il COLESTEROLO , nelle piante i FITOSTEROLI , nei funghi l' EGOSTEROLO che è bersaglio di farmaci antifungini che compromettono la vitalità dei funghi			Costituiti da 4 anelli (3 a 4 atomi di C e 1 a 5 atomi di C); ciò che identifica lo sterolo è la lunghezza e il tipo di catene laterali.

2a) FOSFOLIPIDI

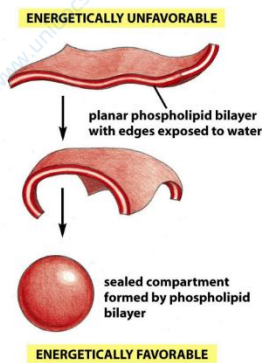
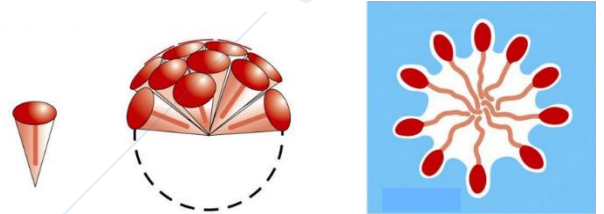
- I **fosfolipidi** in **ambiente acquoso** formano in modo **spontaneo** un doppio strato termodinamicamente più stabile che dipende da come sono strutturati i lipidi stessi.



Il **core idrofobico** è fondamentale per creare una **barriera** tra l'ambiente intra- ed extracellulare, responsabile della diversa composizione tra i due ambienti.

Il doppio strato fosfolipidico è una struttura assimilabile a un **cilindro**.

- Invece, fosfolipidi come i **detergenti** e **saponi** hanno una struttura chimica assimilabile a un **cono** poiché hanno una testa polare e un'unica coda apolare; al fine di minimizzare al massimo le interazioni delle code con l'**acqua**, formano delle **micelle** in cui le code sono concentrate verso l'interno dove intrappolano e disciolgono le sostanze apolari (es. grassi, oli).

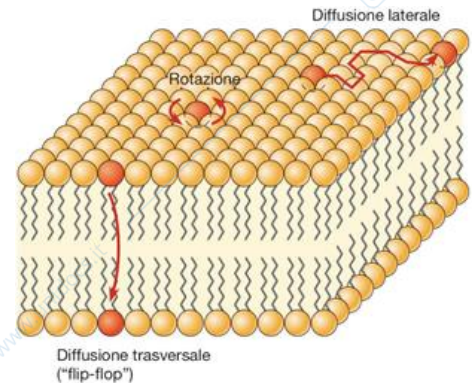


- Per rifuggire il contatto con l'acqua delle catene idrofobiche, il doppio strato fosfolipidico ("aperto" ed **energeticamente sfavorito**) si richiude a formare un compartimento chiuso, sigillato in cui le code idrofobiche non hanno contatto con l'acqua ("chiuso" ed **energeticamente favorito**).

Se rimanesse planare tutte le estremità del doppio strato esporrebbe il core idrofobico all'ambiente acquoso.

3) ASIMMETRIA DELLE MEMBRANE

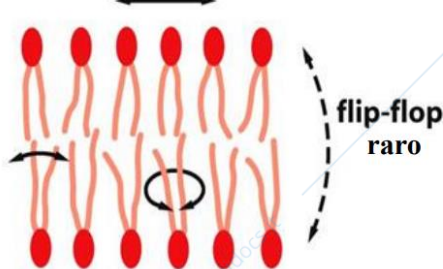
- L'**asimmetria** di membrana **viene determinata durante la biogenesi**, la formazione delle membrane. Questa riguarda sia il **tipo di lipidi** (**glicolipidi** nel versante esterno mentre **fosfatidilserina**, **fosfatidiletanolamina** e **fosfatidilinositolo** nel versante interno) sia il **grado di insaturazione degli acidi grassi**.



- L'asimmetria viene mantenuta nel tempo per il fatto che il movimento del lipide da un foglietto all'altro ("**flip-flop**", raro) è **energeticamente sfavorito**: questo perché la testa polare del lipide dovrebbe attraversare completamente il core idrofobico (apolare). Solo nel reticolo endoplasmatico (RE) sono presenti degli enzimi "**flippasi**" che catalizzano il movimento.

4) FLUIDITA' DELLA MEMBRANA

Diffusione laterale



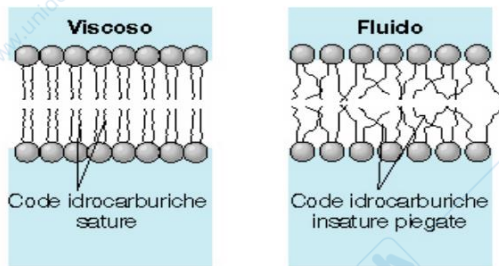
- All'interno di un foglietto delle membrane biologiche, i lipidi non sono statici ma sono liberi di **ruotare su se stessi** e di **muoversi lateralmente** (movimento **energeticamente favorito**). In particolare, possono scambiarsi di posto in un tempo dell'ordine di 10^{-7} s

- A T_{amb} , **anche le code idrofobiche sono in costante movimento** e questo è dovuto al fatto che la catena idrocarburica (coda idrofobica) è tenuta insieme da legami **singoli C-C che possono ruotare** su se stessi.

- Tutto ciò fa sì che le membrane biologiche abbiano una **struttura fluida bidimensionale** in costante movimento.

- La fluidità della membrana è strettamente legata a determinati parametri:

1. PRESENZA DI ACIDI GRASSI SATURI O INSATURI



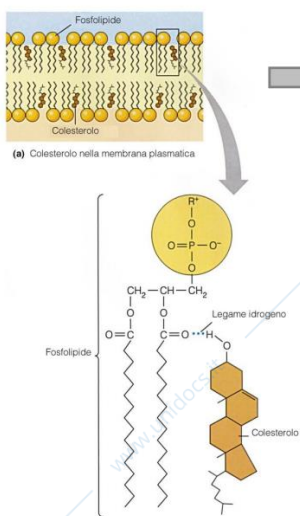
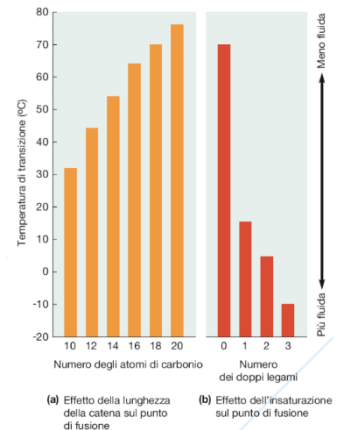
- Se la membrana fosse costituita solo da fosfolipidi con catene idrocarburiche sature, queste si potrebbero impacchettare in modo da ridurre la fluidità.
- La fluidità, invece, è favorita dalla presenza di catene idrocarburiche insature con doppi legami *cis*, che impongono una piegatura della catena.

Perciò **maggiore è il livello di insaturazione, maggiore sarà la fluidità della membrana.**

- In generale, i lipidi che costituiscono il doppio strato fosfolipidico, sono formati da acidi grassi hanno una lunghezza compresa **tra 12 e 20 atomi di C** (di solito 16-18), ottimale per la formazione del doppio strato.

- **T DI MELTING: T di transizione da stato solido di gel di membrana a stato fluido** (T a cui l'organismo vive, >T di melting), varia al variare del livello di insaturazione; in particolare, aumenta all'aumentare dei n° di C ma diminuisce all'aumentare dei doppi legami.

Questa T è imp se parliamo di **pecilotermi**, organismi a sangue freddo che non possono regolare la T interna e che risentono delle variazioni ambientali, che regolano la fluidità di membrana variandone la composizione lipidica, aumentando/diminuendo le insaturazioni (es. piante e organismi).



2. COMPOSIZIONE IN STEROLI – COLESTEROLO (cellule animali)

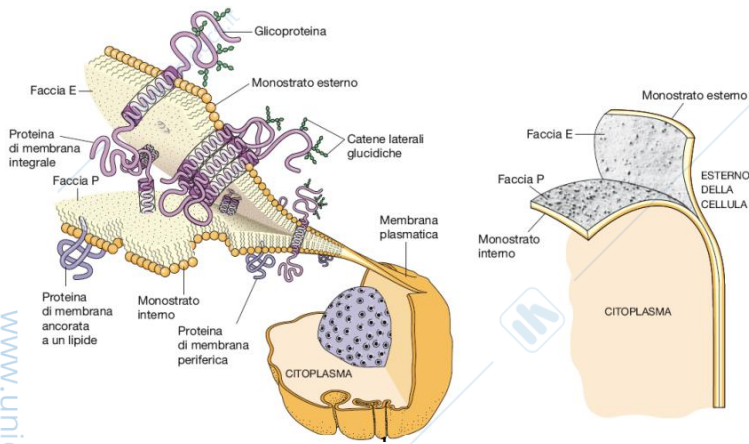
- Il **colesterolo** ha 4 anelli (3 a 6 atomi di C e 1 a 5 C) e ha una struttura rigida, catene laterali polari e un'unica porzione polare con g. idrossile. Quindi, nel doppio strato fosfolipidico, si orienterà con l'-OH rivolto verso l'ambiente acquoso e le teste mentre le code apolari rivolte verso il core idrofobico.

- La sua struttura rigida fa sì che il **colesterolo** funzioni da **spaziatore**, che si inserisca tra le code idrofobiche di entrambi i foglietti e impedisca lo spesso compattamento tra le code idrofobiche.
- Una cellula animale contiene fino al 50% M (molarità) rispetto al totale dei lipidi di membrana.

- Inoltre, il **colesterolo** aumenta la fluidità a $T < T$ di melting mentre la diminuisce a $T > T$ di melting (dà un supporto strutturale ai fosfolipidi prevenendo la fluidità, è una sorta di "tampone")
- Membrane che contengono meno **colesterolo** sono meno solubili rispetto a membrane che contengono colesterolo. Questo perché gli steroli diminuiscono la permeabilità del doppio strato lipidico agli ioni e alle piccole molecole polari, per il fatto che inserendosi riempiono gli spazi di passaggio.

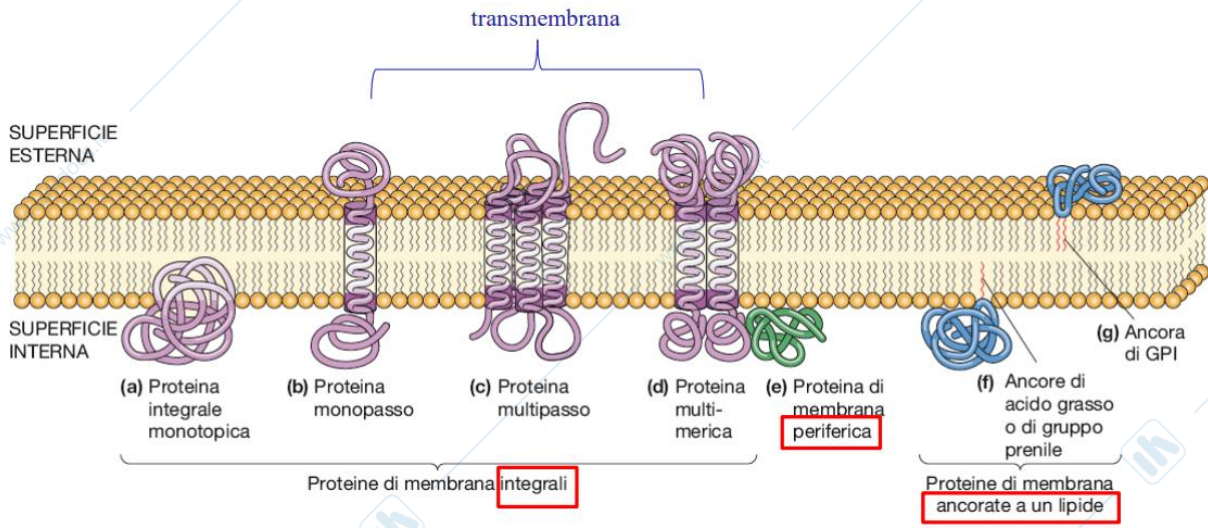
- Fino a pochi anni fa si pensava che all'interno di un foglietto la fluidità fosse omogenea e che uno strato fosfolipidico fosse uniformemente fluido. Tuttavia negli ultimi anni, attraverso studi molto accurati, sono state identificate delle **zone di eterogeneità laterale nel monostrato della membrana (foglietto intero o esterno)**: all'interno di uno strato la fluidità non è eterogenea, ma vi sono delle **lipid rafts (zattere lipidiche)** che sono aree poco fluide, costituite da lipidi (colesterolo e sfingolipidi, fosfolipidi e glicerofosfolipidi sono però costituiti da catene di acidi grassi più lunghe e più sature) che si impacchettano più fortemente tra loro.

La loro funzione è legata alla **segnalazione cellulare**, infatti vi si ritrovano molti recettori e il fatto che la fluidità sia ridotta garantisce che proteine di segnalazione li presenti hanno un'efficienza maggiore rispetto a quella che avrebbero se fossero liberamente mobile.



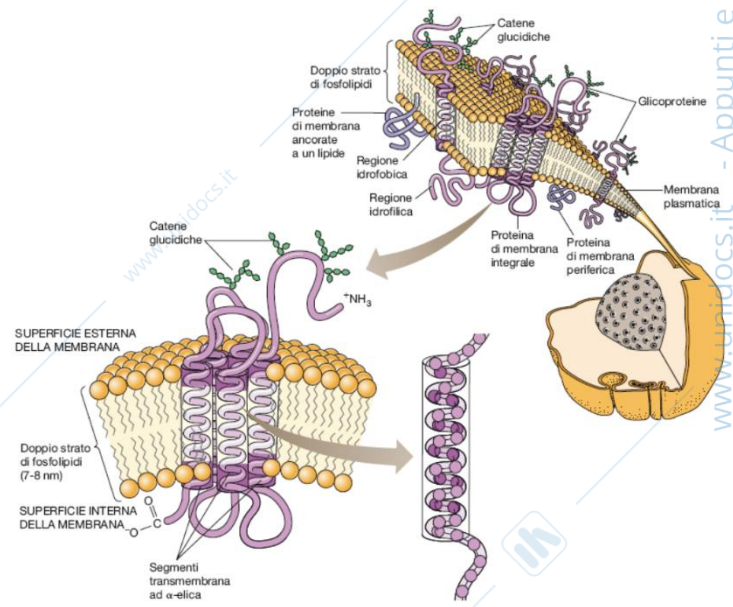
5) PROTEINE DI MEMBRANA: la parte "a mosaico delle membrane"

Analisi per criofrattura delle membrane al microscopio elettronico: esperimento che consiste nel congelare una membrana e sottoporla a un forte colpo di *lana di diamante*; questo fa sì che la forte frattura riesca ad aprire la membrana nei due monostrati esterno e interno. Così è stato possibile dimostrare che le proteine sono presenti e sospese all'interno del doppio strato fosfolipidi.



5a) PROTEINE DI MEMBRANA INTEGRALI

- Le **proteine di m. integrali** sono **proteine anfipatiche** che possono interagire da una sola parte del doppio strato fosfolipidico o attraversarlo completamente; infatti, sono costituite da almeno una porzione idrofobica che prende contatto con il core idrofobico e da una porzione con *N-terminale* extra- e intracellulare idrofilica.
- Possono essere **monotopiche** (le quali prendono contatto solo con un versante della membrana) o **transmembrana** (che attraversano completamente la membrana da **1-12 volte**) tra cui **monopasso**, **multipasso**, **multimerica** (costituite da α -elica di 20-30 residui idrofobi) o a **β -barile** (costituite da β -foglietti, es. acquaporine, che permettono il passaggio di acqua).
- Per poter isolare le proteine integrali, che interagiscono fortemente con la membrana, è necessario distruggere il doppio strato fosfolipidico con i **detergenti**.



5b) PROTEINE DI MEMBRANA PERIFERICHE

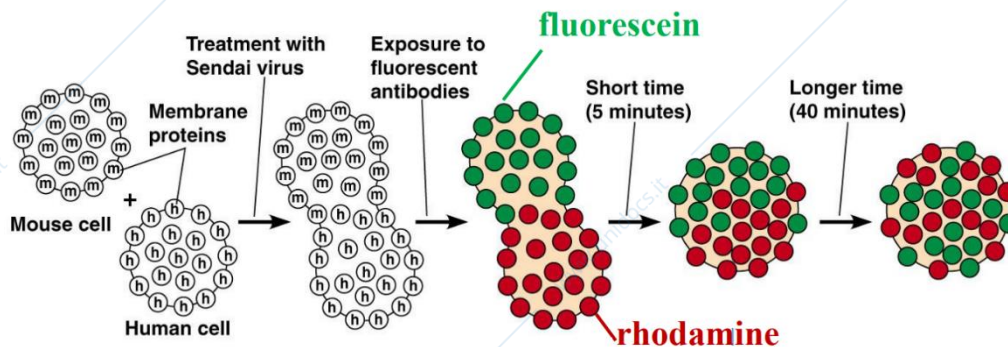
- Le **proteine di m. periferiche** sono **proteine associate e legate debolmente** alla superficie della membrana attraverso interazioni elettrostatiche deboli o con le teste polari extra- e intracellulare e/o la porzione idrofilica delle proteine integrali.

5c) PROTEINE DI MEMBRANA ANCORATE A UN LIPIDE

- Le **proteine di membrana ancorate a un lipide** sono ancorate e legate covalentemente a 1 o + lipidi di membrana.

5d) MODALITA' DELLE PROTEINE DI MEMBRANA

- Le proteine sono in grado di muoversi lateralmente all'interno del doppio strato fosfolipidico. Questa proprietà è stata dimostrata da *Frye* e *Edidin* (1970) attraverso un esperimento con il quale dimostrarono la mobilità delle proteine di membrana.
 - Presero cellule di topo (m) e cellule umane (h), ciascuna con i propri antigeni in superficie, cellule caratteristiche.
 - Attraverso un'infezione virale, provocarono la fusione della cellula m e la h.
 - Esposero la cellula fusa a due antibiotici fosforescenti: **fluoresceina** per identificare le **murine** (m) e **rodamina**, per le **proteine umane** (h).
 - Dopo 5 min notarono che le **proteine umane** (h) e le **murine** (m) si spostavano nella nuova membrana.
 - Dopo 40 minuti osservarono una **fluorescenza mischiata** e questo implicava che le proteine si muovessero lateralmente nel doppio strato fosfolipidico.



6) CARBOIDRATI DI MEMBRANA

- I **carboidrati** sono presenti in tracce nelle membrane biologiche come **glicoproteine** o **glicolipidi**, modificazioni presenti sempre nel versante extracellulare. La loro funzione è di riconoscimento e di segnalazione e, inoltre, contribuiscono all'asimmetria della membrana.

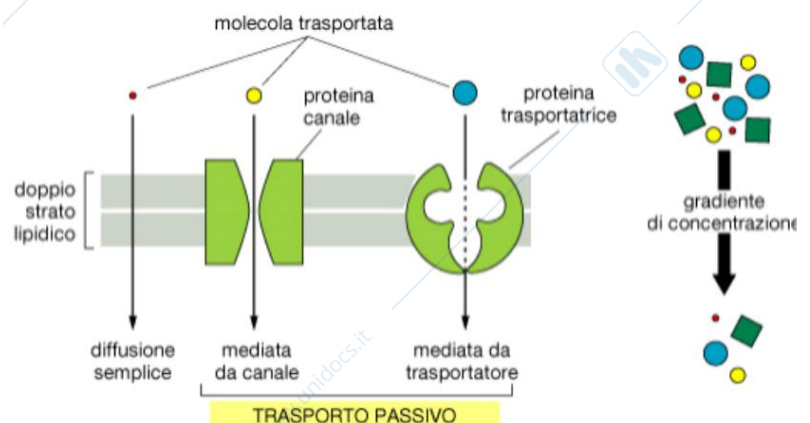
TRASPORTI DI SOLUTI ATTRAVERSO MEMBRANE SELETTIVAMENTE PERMEABILI

- Le cellule e i compartimenti subcellulari devono poter accumulare sostanze a conc diverse all'ambiente extracellulare/citoplasma. È perciò necessaria una regolazione della permeabilità (**di molecole e ioni**) da **proteine di trasporto**.

SI	Molecole idrofobiche	O ₂ , CO ₂ , N ₂ , benzene
	Molecole polari di piccole dimensioni (<100 MM)	H ₂ O, urea, glicerolo
NO	Molecole polari di dimensioni maggiori	glucosio, saccarosio
	Ioni	H ⁺ , Na ⁺ , HCO ₃ ⁻ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Cl ⁻ , Mg ²⁺

1) TRASPORTO PASSIVO

- Il **trasporto passivo** avviene **secondo gradiente di conc** (per le **molecole neutre**, queste si muoveranno da una zona dove sono più conc a una dove sono meno conc) oppure **secondo gradiente elettrochimico** (per gli ioni, che tiene conto sia delle diff di conc sia della distribuzione delle cariche all'interno e all'esterno della membrana), senza necessità di energia.
- DIFFUSIONE**: insieme di movimenti casuali che portano ad uno **stato di equilibrio**. I soluti avranno un **movimento netto** dalla regione a maggior conc a quella a minor conc.



1a) DIFFUSIONE SEMPLICE

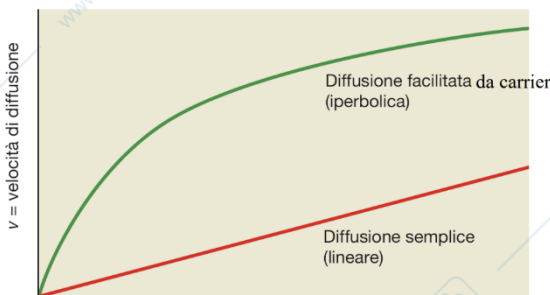
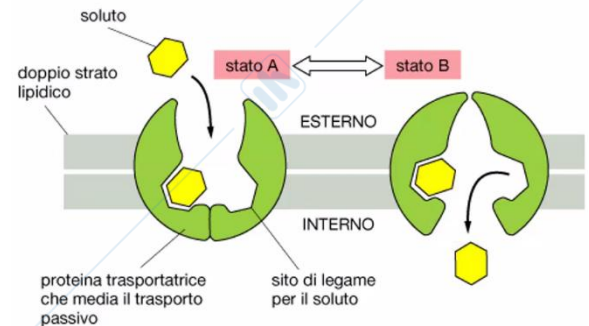
- La **diffusione semplice** è la diffusione libera attraverso la membrana che riguarda **molecole solubili nel doppio strato fosfolipidico** quindi, **molecole apolari con MM <100** (es. CO₂ e O₂ sono apolari, interagiscono meglio con le code e attraversano subito la membrana) o **polari di piccole dimensioni**.

1b) DIFFUSIONE FACILITATA

- La **diffusione facilitata** riguarda **molecole non solubili nel doppio strato fosfolipidico** quindi, **molecole di dimensioni maggiori (MM >100) e ioni**; è "facilitata" perché avviene attraverso delle proteine di trasporto:

- **TRASPORTATORI** (o **CARRIER**): le **molecole di grandi dimensioni** si legano alle proteine carrier dalla zona dove è più conc, per **trasportarle da una parte all'altra della membrana**; questo legame porta alla **modificazione conformazionale** del sito di legame del carrier, che recupera la conformazione iniziale una volta attraversata la membrana e rilasciata la molecola dalla parte a conc minore. I carrier hanno una **elevata specificità** di soluto ma sono **più lenti** (es. glucidi, amminoacidi, nucleosidi).

I trasportatori, inoltre, sono proteine allosteriche che si possono trovare in conformazioni diverse (di solito 2, 1 prima e 1 dopo il legame con il soluto) e sono soggette a inibizione competitiva.



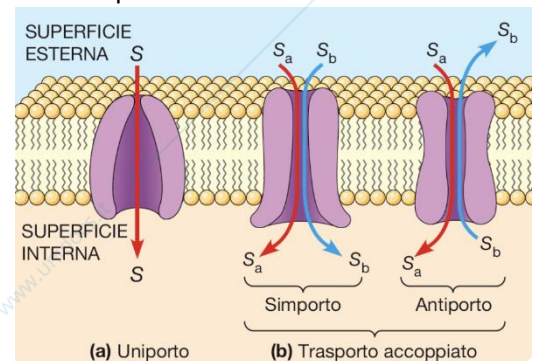
ΔS = gradiente di concentrazione del soluto

Nel grafico vediamo che:

- **d. semplice**: all'aumentare di ΔS, la v aumenta **linearmente**
- **d. facilitata da carrier**: la cinetica è di tipo **iperbolico**, soggetta a saturazione ovvero quando il soluto saturo tutti i siti di legame delle molecole carrier, anche aumentando la conc del soluto, la v non aumenta perché la cinetica dipende dal n° di carrier e dalla v del singolo carrier nel trasporto del soluto dall'altra parte della membrana

I carrier si distinguono in:

- ➔ **uniporto**: trasporto di 1 unica specie dall'esterno all'interno (es. GLUT1)
- ➔ **simporto**: trasporto accoppiato, di 2 specie diverse nella solita direzione
- ➔ **antiporto**: trasporto accoppiato, di 2 specie diverse in direzioni opposte

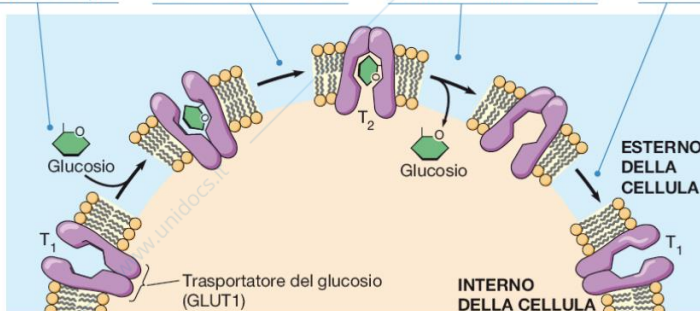


- es. **TRASPORTATORE GLUT1**: trasportatore specifico per il **glucosio** (assunto con l'alimentazione, è una molecola molto solubile in H₂O di conseguenza non passa facilmente il doppio strato fosfolipidico), **è una proteina integrale che attraversa completamente la membrana per 12 volte** e che facilita il trasporto del glucosio dall'esterno all'interno della cellula: in particolare nel sangue la

conc di glucosio (3,6-5 mM) è maggiore rispetto alla conc all'interno delle cellule (0,5-1 mM), abbiamo un forte gradiente di conc.

La presenza di GLUT1 **aumenta di 50k volte la velocità di trasporto del glucosio**.

- Il glucosio si attacca alla proteina trasportatrice GLUT1 che mostra il suo sito di legame all'esterno della cellula (conformazione T₁).
- Il legame del glucosio provoca la conversione del trasportatore nella sua conformazione T₂ con il sito di legame all'interno della cellula.
- Il glucosio viene rilasciato all'interno della cellula, dando il via a un secondo cambio conformazionale di GLUT1.
- Il rilascio del glucosio provoca il ritorno della proteina GLUT1 nella sua conformazione iniziale (T₁), pronta per un altro ciclo di trasporto.

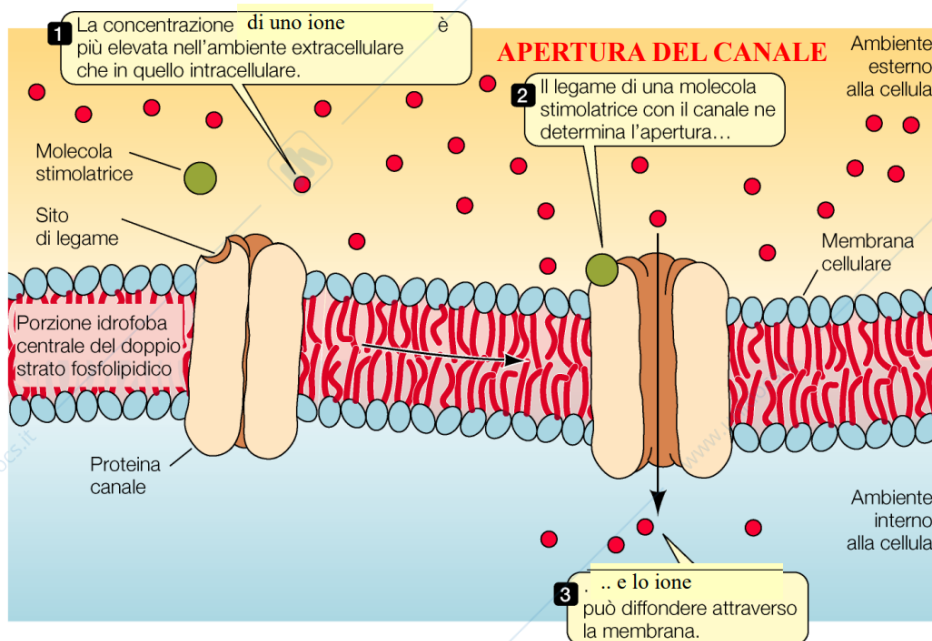
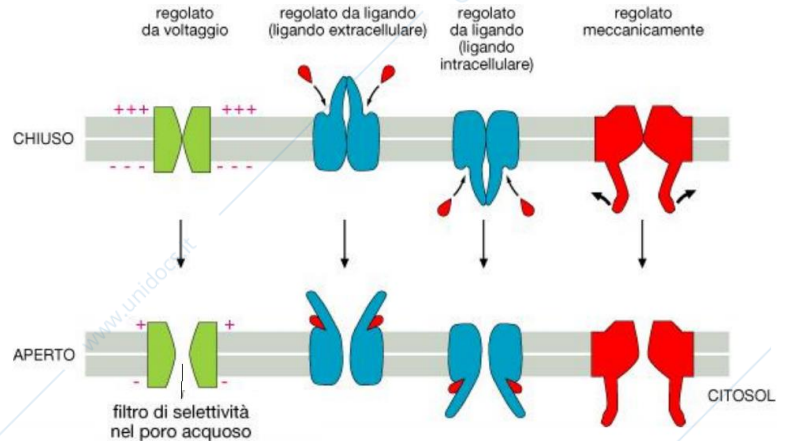


➤ **CANALI**: si estendono lungo la membrana formando un canale (che può avere una configurazione **aperta** o **chiusa**) attraverso il quale passano gli ioni, di conseguenza **non avviene nessun tipo di modificazione conformazionale e di interazione tra soluto e proteina**;
Sono **aspecifici** e permettono il passaggio di più tipi di cellule (es. acquaporine, sono inserite nelle membrane esterne di mitocondri e cloroplasti che permettono il passaggio di molecole anche fino a $MM = 600$).

Esistono però altri tipi di canali più piccoli e altamente selettivi, molto frequenti e spesso coinvolti nel passaggio di ioni: **CANALI IONICI**. Questi, se aperti, hanno una strozzatura centrale che seleziona e consente il passaggio di 1 o 2 specie sulla base di **carica** (dipende dalle catene laterali interne al canale) e **dimensione**. Sono inoltre molto più veloci: si arriva a **1M di ioni al sec.**

L'apertura è regolata da diversi stimoli:

- **voltaggio**: diversa distribuzione di carica ai due lati della membrana, selettivi per un solo tipo di ioni (es. sali coinvolti nell'impulso nervoso).
- **ligando**: esiste un **ligando** che si lega o sul versante extracellulare o intracellulare che provoca l'apertura del canale (es. foto sotto).
- **meccanicamente**: diversi piegamenti che subiscono le proteine

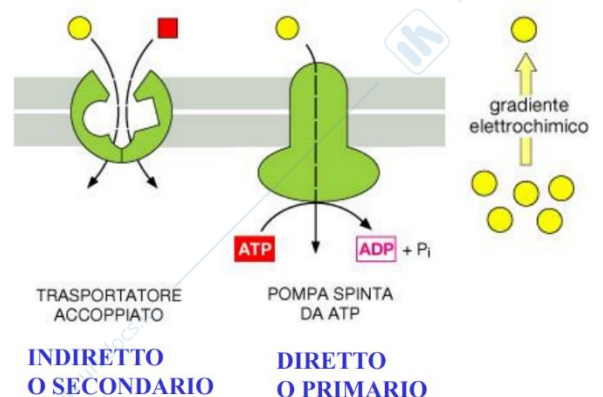


2) TRASPORTO ATTIVO

- Il **trasporto attivo** avviene **contro gradiente di conc** (per soluti non ionizzati, i quali si muoveranno da una zona dove sono meno conc a una dove sono più conc) oppure **contro gradiente elettrochimico** (nel caso degli ioni). In questo caso dovrà essere fornita **energia sotto forma di ATP**.

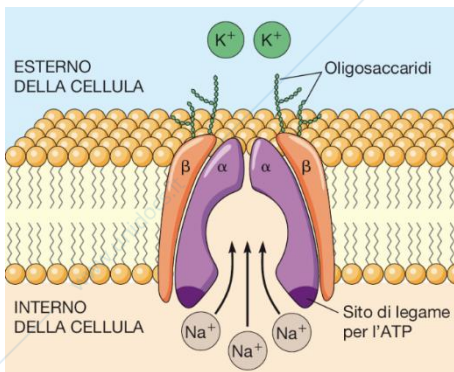
2a) TRASPORTO PRIMARIO o DIRETTO

- Il **trasporto primario** utilizza l'ATP o altre molecole energetiche, la cui **idrolisi** è accoppiata al trasporto contro gradiente. In particolare, la proteina è formata da due siti attivi, uno che lega la molecola da trasportare, l'altro l'ATP; l'idrolisi dell'ATP induce una **modificazione conformazionale** della proteina che permette di rilasciare la molecola dall'altra parte della membrana e rilasciare $ADP + P_i$, per poi tornare alla conformazione di partenza.



- Esistono 4 tipi di proteine di trasporto ATP dipendenti (**ATPasi**):

- **Tipo V**, utilizzano l'idrolisi dell'ATP per pompare H^+ all'interno di Vescicole o Vacuoli (endosomi o lisosomi)
- **Tipo F** o **ATP sintetasi**, si ritrovano nel mitocondrio e nel cloroplasto e sfruttano un gradiente protonico dissipato nelle membrane che fornisce l'energia per sintetizzare ATP
- **ABC** (**ATP Binding Cassette**), nei batteri sono coinvolte nell'assunzione di nutrienti mentre in altri esseri viventi come importatori (es. proteina MDR, che rende le cellule tumorali molto resistenti esportando i farmaci all'esterno delle cellule).
- **Tipo P**, l'idrolisi dell'ATP porta alla fosforilazione (reversibile) del trasportatore su un residuo di aspartico/aspartato al quale viene aggiunta una molecola di P_i .

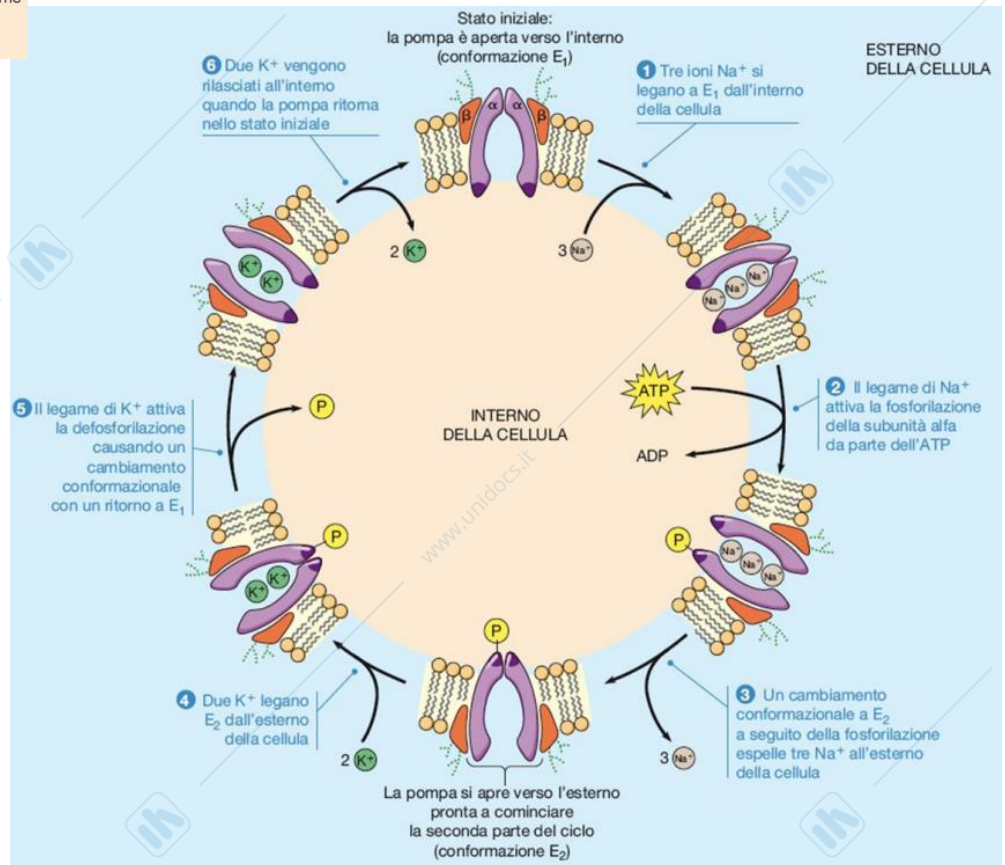


- es. **POMPA SODIO/POTASSIO** (ATPasi di tipo P):

Tipica delle **cellule eucariotiche animali**, costituita da una **subunità α** e una **subunità β** (glicoproteina glicosilata verso il versante extracellulare).

Sfruttando l'idrolisi dell'ATP trasporta **$3Na^+$** e **$2K^+$** contro gradiente di conc: in particolare, trasporta il **$2K^+$** all'interno della cellula (rapporto 30:1 tra esterno e interno) e l' **$3Na^+$** all'esterno (rapporto, 0.08:1 tra est e int).

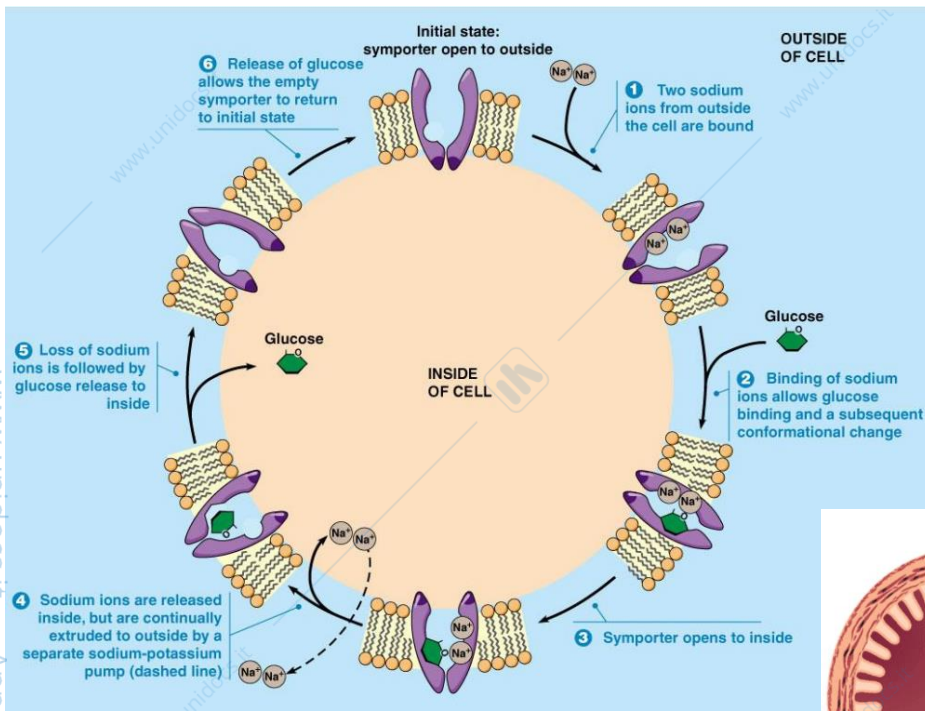
La pompa Na/K è fondamentale perché contribuisce al mantenimento del potenziale di membrana, ovvero alla separazione di cariche tra l'interno e l'esterno della membrana plasmatica (in questo caso risulta che le cariche + trasportate all'esterno sono maggiori, 3 all'esterno e 2 all'interno), fondamentale per la funzione delle cellule (es. gli impulsi nervosi o la contrazione dei muscoli). Inoltre, crea un forte **gradiente di Na** che può essere utilizzato come fonte di energia del trasporto attivo secondario



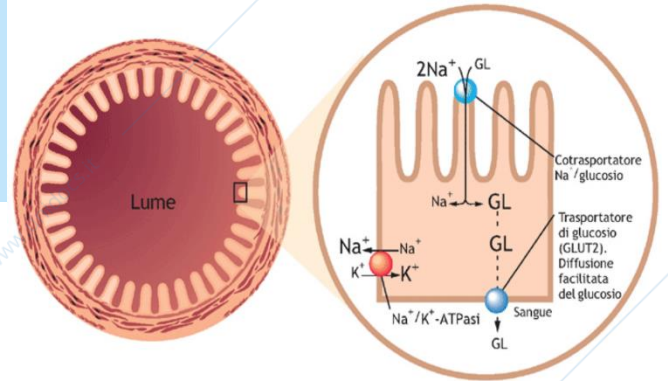
Nelle **cellule vegetali** e nei **batteri**, la pompa più importante è una pompa protonica che pompa gli H^+ all'interno della cellula, utilizzando come fonte energetica l'idrolisi dell'ATP.

2b) TRASPORTO SECONDARIO o INDIRETTO

- Il **trasporto secondario** in cui l'energia non viene fornita direttamente dall'ATP per trasportare un soluto contro gradiente viene fornita dalla dissipazione del gradiente di conc di un altro soluto, quindi ricava ATP indirettamente.



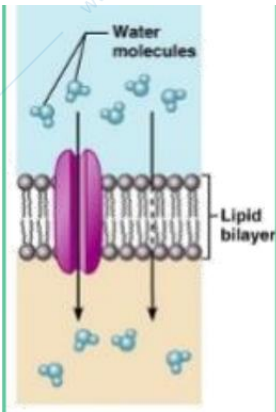
-es. **SIMPORTO SODIO/GLUCOSIO**:
 Tipica solo delle **cellule epiteliali dell'intestino (enterociti)** che devono assumere il lume intestinale dove la conc di glucosio è minore rispetto all'interno delle cellule. Per trasportare il **glucosio** contro gradiente viene sfruttata l'ATP della dissipazione del gradiente del Na (che si muovono secondo gradiente elettrochimico) creato dalla pompa Na/K.



3) DIFFUSIONE DELL'ACQUA

• La diffusione dell'acqua può avvenire per:

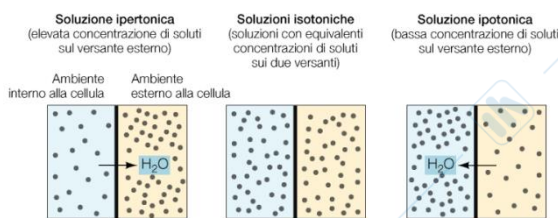
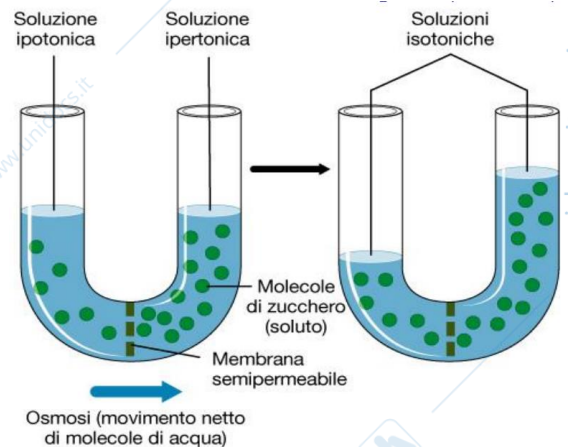
- **diffusione facilitata**: attraverso delle proteine canale (**acquaporine**) le quali sono particolarmente rappresentate in alcuni compartimenti dove è necessario che l'acqua si muova velocemente (es. cellule del tubulo renale, cellule delle radici delle piante, dove l'acqua è imp), sempre contro gradiente di conc.
- **diffusione semplice (OSMOSI)**: l'acqua può diffondere attraverso una membrana semipermeabile perché, pur essendo polare, ha piccole dimensioni



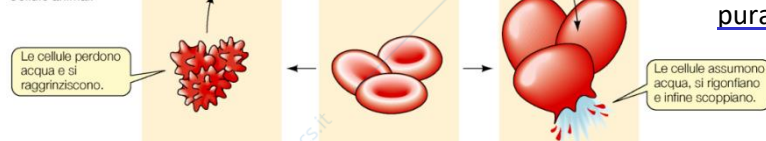
Attraverso la membrana semipermeabile, per osmosi, l'acqua tende a muoversi da una soluzione meno conc a una più conc al fine di rendere le due soluzioni uguali (**isotoniche**).

In foto, a sn vi è una soluzione meno conc (**ipotonica**), a dx vi è una soluzione dove il **soluto** ha una conc maggiore (**ipertonica**).

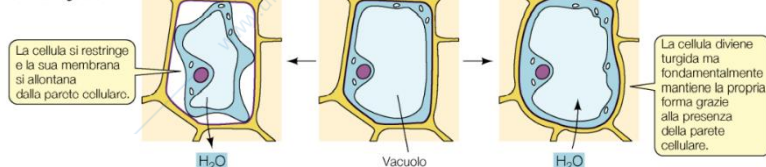
A sn l'acqua ha una conc maggiore mentre a dx ha una conc minore. Quindi, l'osmosi è il movimento dell'acqua da ipo a iper secondo il suo gradiente di conc.



Cellule animali



Cellula vegetale



PRESSIONE OSMOTICA: è una proprietà colligativa associata alle soluzioni ed è la tendenza dell'acqua pura a muoversi verso la soluzione per osmosi.

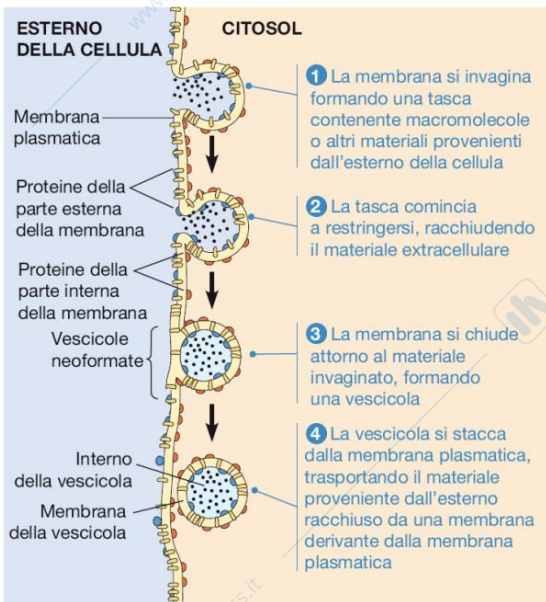
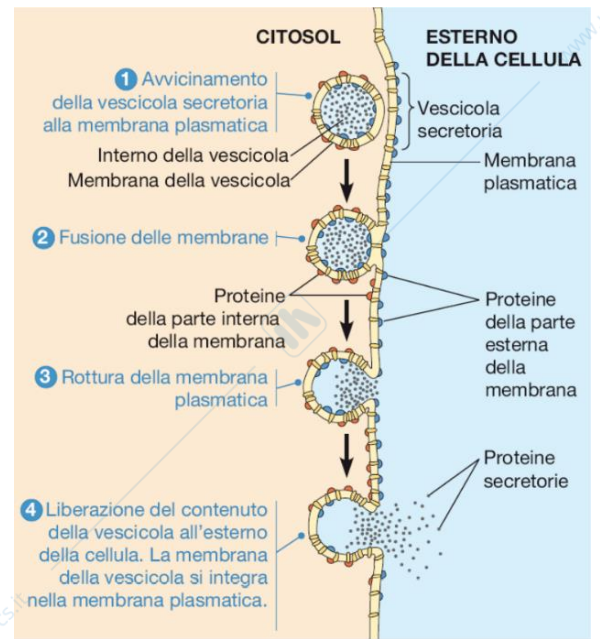
L'importanza della parete rigida di cellulosa

ESOCITOSI ED ENDOCITOSI

- **Esocitosi** ed **endocitosi** sono processi di trasporto esclusivi delle **cellule eucariotiche** che implicano eventi di **fusione tra membrane** e permettono di **scambiare materiale** di grandi dimensioni (es. macromolecole, microrganismi) fra l'esterno e l'interno della cellula.
- Infatti, **allo stato stazionario la composizione della membrana plasmatica dipende dall'equilibrio tra esocitosi ed endocitosi**.
- Sono, inoltre, implicati anche nell'invio, nel riciclo e nel ricambio delle **proteine di membrana**.

1) ESOCITOSI

- Le **cellule animali** **secernono materiali all'esterno** (es. ormoni, muco, proteine del latte, enzimi digestivi).
- Le **cellule delle piante** secernono enzimi e proteine associate alla parete cellulare.
- L'esocitosi è un **processo guidato da microtubuli**: un inibitore dell'assemblaggio dei microtubuli (**colchicina**) rende la cellula incapace di effettuare l'esocitosi.

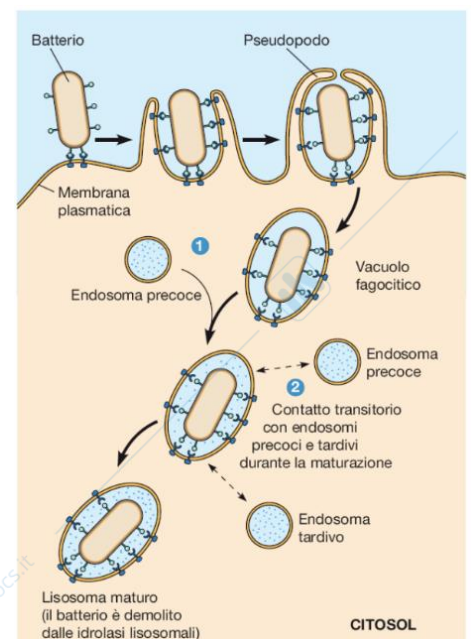


2) ENDOCITOSI

- L'**endocitosi** è un **processo grazie al quale la cellula trasporta materiale dall'esterno all'interno** della cellula stessa.
- Al termine della invaginazione, le proteine che si trovavano sul **versante citoplasmatico** della membrana plasmatica si ritrovano esposte verso il **citosol**, mentre quelle che erano esposte sul **versante extracellulare** si ritrovano nel **lume** della vescicola.
- L'endocitosi è fondamentale per gli **organismi unicellulari** per l'ingestione di nutrienti.
- Durante l'esocitosi le vescicole di secrezione si integrano con la membrana plasmatica perciò la cellula può **riciclarle** ed utilizzarle nell'endocitosi.
- L'endocitosi si può suddividere a seconda della grandezza delle particelle endocitate in:

2a) FAGOCITOSI (di particelle con $d > 0,5 \text{ mm}$)

- La **fagocitosi** viene effettuata negli **organismi pluricellulari** come **difesa immunitaria** da cellule del sistema immunitario per eliminare microrganismi patogeni (batteri o virus), cellule come **fagociti**, i **neutrofil** e i **macrofagi**.
- Se riconoscono la presenza di un batterio, fanno delle estroflessioni intorno al batterio di **membrana plasmatica (pseudopodi)** che si allungano fino a circondare il batterio; attraverso eventi di fusione di membrana degli pseudopodi, si origina una vescicola (**vacuolo fagocitico**) all'interno della quale è racchiuso il batterio. Il vacuolo poi si fonde con gli **endomi precoci** (vescicole che si originano dall'apparato del Golgi e che contengono degli enzimi **idrolasi acide** atti a degradare qualsiasi tipo di macromolecola) per formare il **LISOSOMA MATURO**, all'interno del quale il batterio viene degradato.
- In certe condizioni i **fibroblasti** presenti nel tessuto connettivo possono **internalizzare collagene** (per un **rimodellamento tissutale**) e le **cellule dendritiche** della milza possono ingerire batteri (risposta immunitaria).
- **Organismi unicellulari** (es. amebe) grazie a pseudopodi inglobano particelle formando un vacuolo fagocitico per l'acquisizione di nutrienti.



2b) PINOCITOSI

Nella **pinocitosi** ("cellula che beve") vengono introdotte piccole particelle in sospensione, materiale extracellulare contenente diversi materiali.

2c) ENDOCITOSI MEDIATA DA RECETTORI

Nell'**endocitosi mediata da recettori** le cellule presentano sulla membrana dei recettori che riconoscono le molecole da ingerire per poi attuare l'endocitosi.

3) SISTEMA DI ENDOMEMBRANE E IL MOVIMENTO (TRAFFICO) TRA GLI ORGANULI

- **TRASPORTO ANTEROGRADO**: le vescicole si muovono dal RER, passano alla porzione cis del Golgi, si spostano verso la porzione trans e poi verso la membrana dove effettuano l'esocitosi.
- **TRASPORTO RETROGRADO**: permette alla cellula di recuperare i componenti delle vescicole, quest'ultime possono ritornare al RER a seguito dell'endocitosi e al ritorno al Golgi.
- Il traffico è regolato da marcatori, da segnali specifici, da tag (es. zuccheri, segmenti idrofobici di una proteina, particolari sequenze amminoacidiche) che indicano alla cellula la destinazione della vescicola.
es. Sequenza di recupero **KDEL (Lys Asp Glu Leu)** - **trasporto retrogrado**
Sequenza di ritenzione nel RE: **RXR (Arg X Arg)**

Una teoria dice che le proteine che non lasciano mai il RE ma siano trattenute perché formano dei grandi complessi che le escludono fisicamente dalle vescicole.

