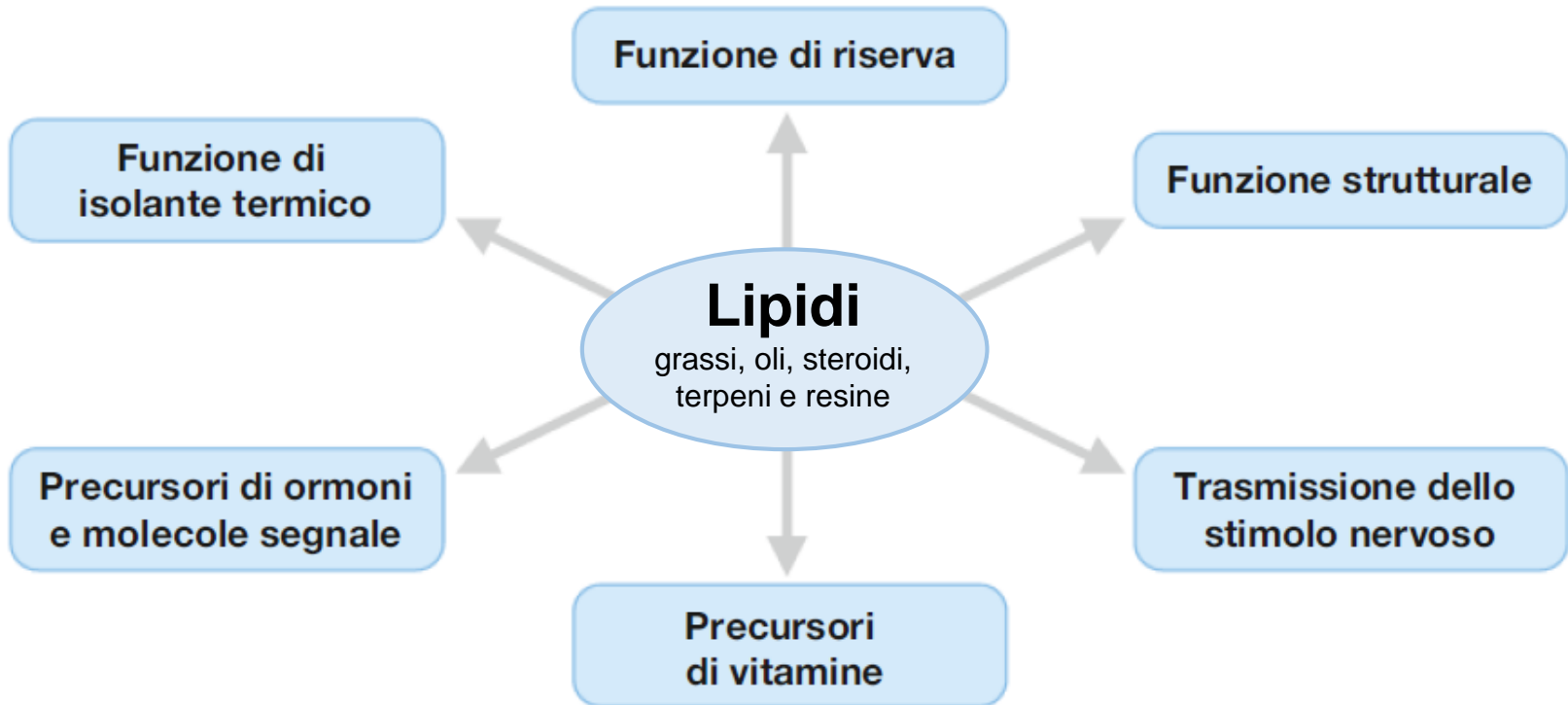




Lipidi

I **lipidi** sono un gruppo eterogeneo di sostanze che hanno in comune la caratteristica di essere insolubili in acqua e solubili in solventi organici apolari come etere, cloroformio e cicloesano.

I lipidi svolgono importanti funzioni nel mondo vivente, prima fra tutte quella di riserva energetica, hanno un ruolo strutturale partecipando alla formazione delle membrane biologiche, inoltre, sono precursori di numerose molecole dotate di attività biologica, quali vitamine e ormoni.



CLASSIFICAZIONE

L'eterogeneità strutturale dei lipidi rende necessaria una loro classificazione in **lipidi semplici** e **lipidi complessi**.

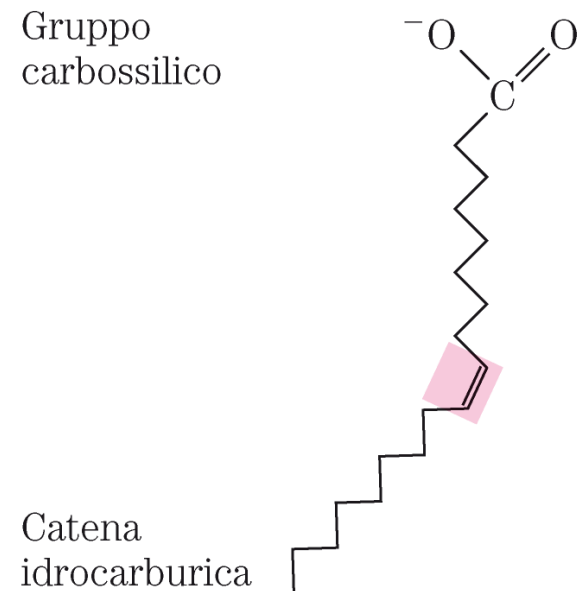
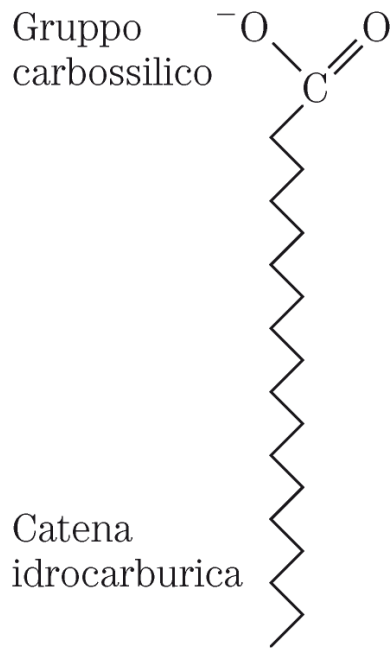
Un altro criterio consente di distinguere i lipidi a seconda che le loro molecole siano o meno in grado di dare saponi a seguito di trattamento a caldo con basi forti, quali NaOH o KOH:

- **lipidi saponificabili** (per esempio trigliceridi, fosfogliceridi, sfingolipidi);
- **lipidi non saponificabili** (per esempio steroidi, terpeni).

Classificazione dei lipidi in base alla loro complessità strutturale.

| Classe | Caratteristiche | Esempi |
|--------------------------------|--|--|
| Lipidi semplici | Esteri di acidi grassi con alcoli. | Grassi: esteri di acidi grassi con glicerolo. Cere: esteri di acidi grassi con alcoli ad alto peso molecolare. |
| Lipidi complessi | Esteri di acidi grassi con alcoli che contengono anche altri gruppi atomici. | Fosfolipidi: contengono gruppi fosfato. Fra questi si riconoscono i <i>glicerofosfolipidi</i> , in cui l'alcol è il glicerolo, e gli <i>sfingofosfolipidi</i> , in cui l'alcol è la sfingosina. Glicosfingolipidi: contengono carboidrati, oltre ad un acido grasso e all'alcol sfingosina. Altri lipidi complessi: solfolipidi e amminolipidi; lipoproteine. |
| Precursori e derivati lipidici | Composti che non rientrano nelle due categorie precedenti. | Precursori lipidici: acidi grassi, sfingosina, alcoli ad alto peso molecolare. Derivati lipidici: vitamine, ormoni, sali biliari, eicosanoidi, steroidi, terpeni. |

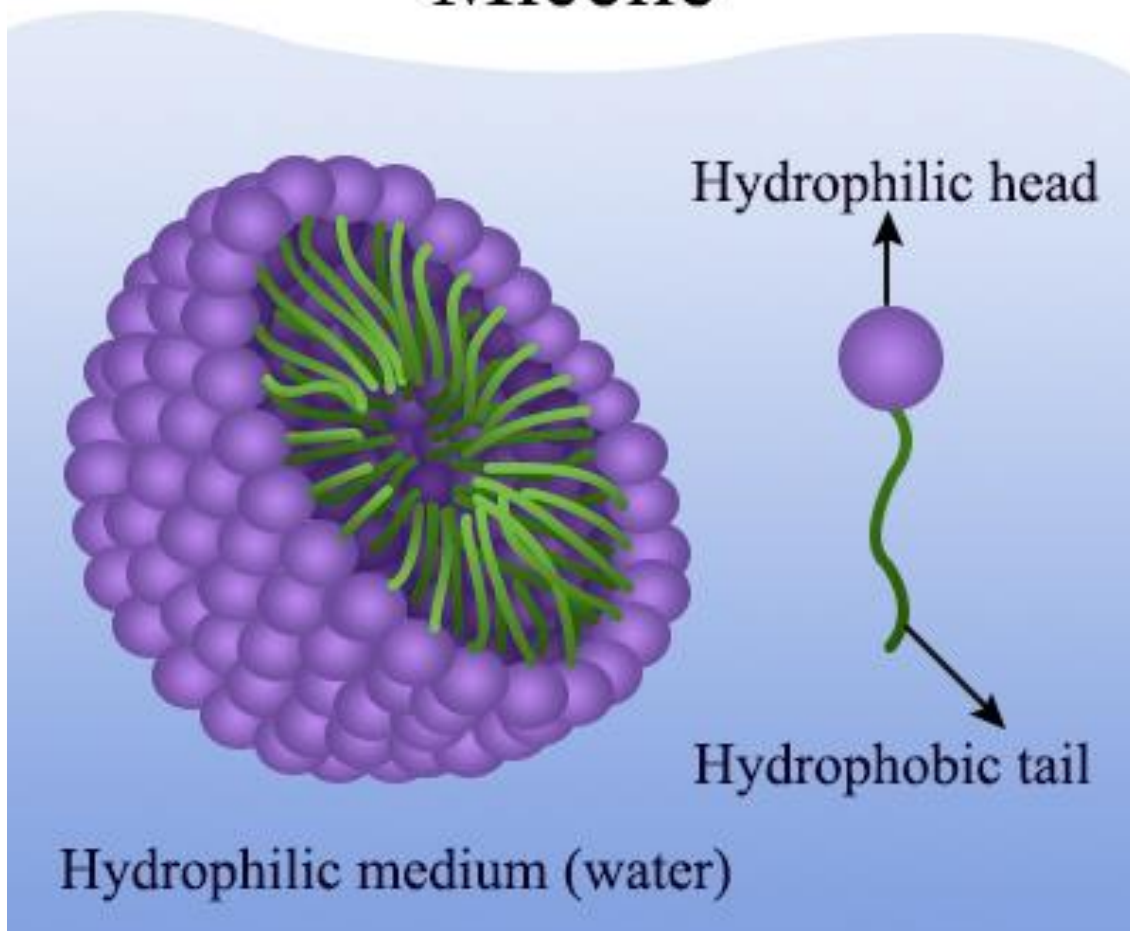
Gli acidi carbossilici che possiedono quattro o più atomi di carbonio sono detti **acidi grassi**. Hanno formula generale **R—COOH**, dove R contiene 11 o più atomi di carbonio. La catena R può essere satura, se non sono presenti doppi legami fra gli atomi di carbonio, o insatura, se sono presenti uno o più doppi legami in configurazione cis. Gli acidi grassi sono molecole **anfipatiche**, perché il gruppo carbossilico è idrofilo e la catena idrocarburica è idrofobica. La maggior parte degli acidi grassi presenti in un sistema vivente contiene un numero pari di atomi di carbonio e la catena idrocarburica non è ramificata.



Aggregati di lipidi anfipatici che si formano in acqua

Gli acidi grassi non si trovano liberi ma in forma legata altre classi di lipidi, in genere tramite legame estere.

Micelle

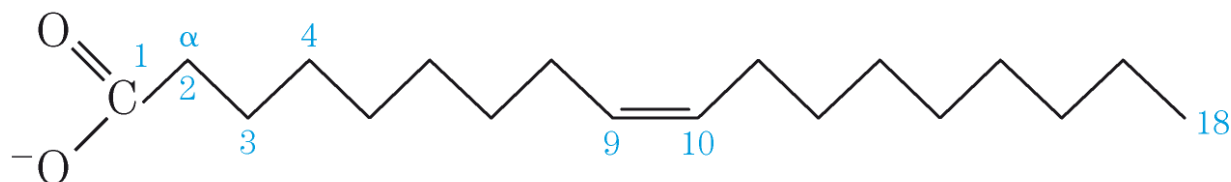


**Testa polare:
gruppo carbossilico**

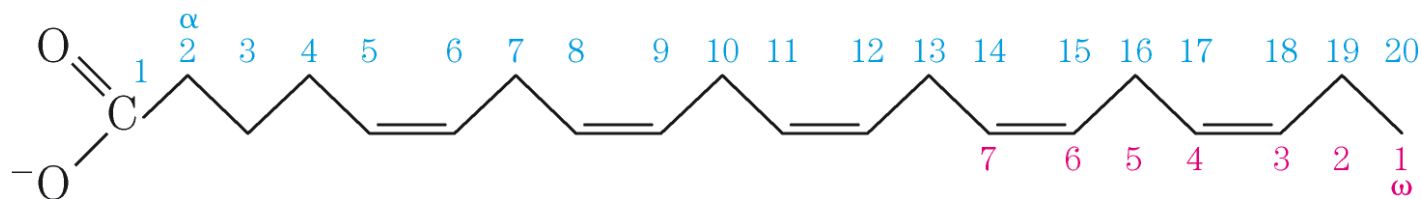
**Catena
idrocarburica
apolare**

Due convenzioni per la nomenclatura degli acidi grassi

In chimica organica, la catena carboniosa degli acidi grassi si numera a partire dall'atomo di carbonio del gruppo carbossile (carbonio C-1). In biochimica, si usano invece le lettere greche, attribuendo la lettera α al carbonio adiacente al gruppo carbossile (carbonio C-2) per terminare con la lettera ω , attribuita al carbonio metilico posto all'altra estremità della catena.



(a) 18:1(Δ^9) Acido *cis*-9-ottadecanoico

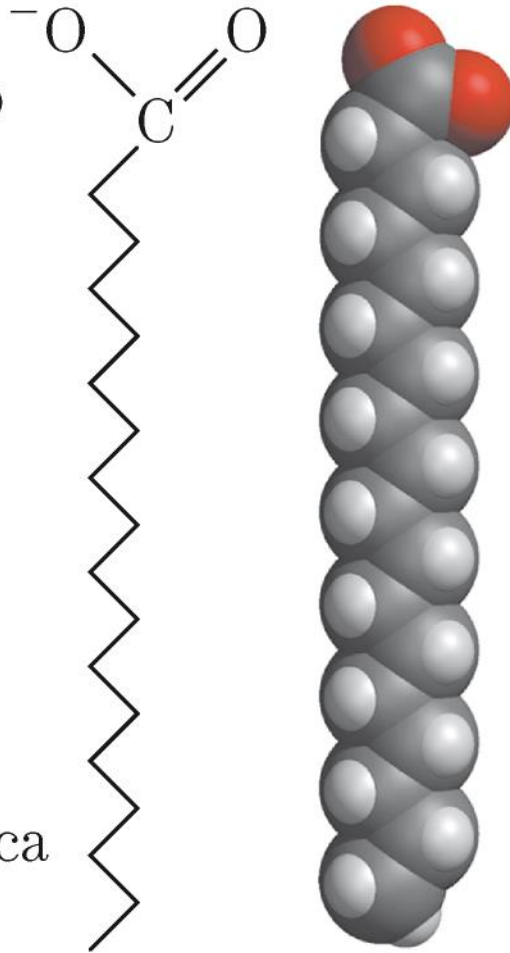


(b) 20:5($\Delta^{5,8,11,14,17}$) Acido eicosapentaenoico (EPA),
un acido grasso omega-3

Gli acidi grassi insaturi sono talvolta classificati in base alla distanza in atomi di carbonio fra l'ultimo doppio legame della catena e l'estremità metilica della molecola (carbonio ω). Questo tipo di suddivisione è nota con il nome di denominazione ω ed è particolarmente utile dal punto di vista nutrizionale.

L'Impacchettamento degli acidi grassi dipende dal loro stato di saturazione

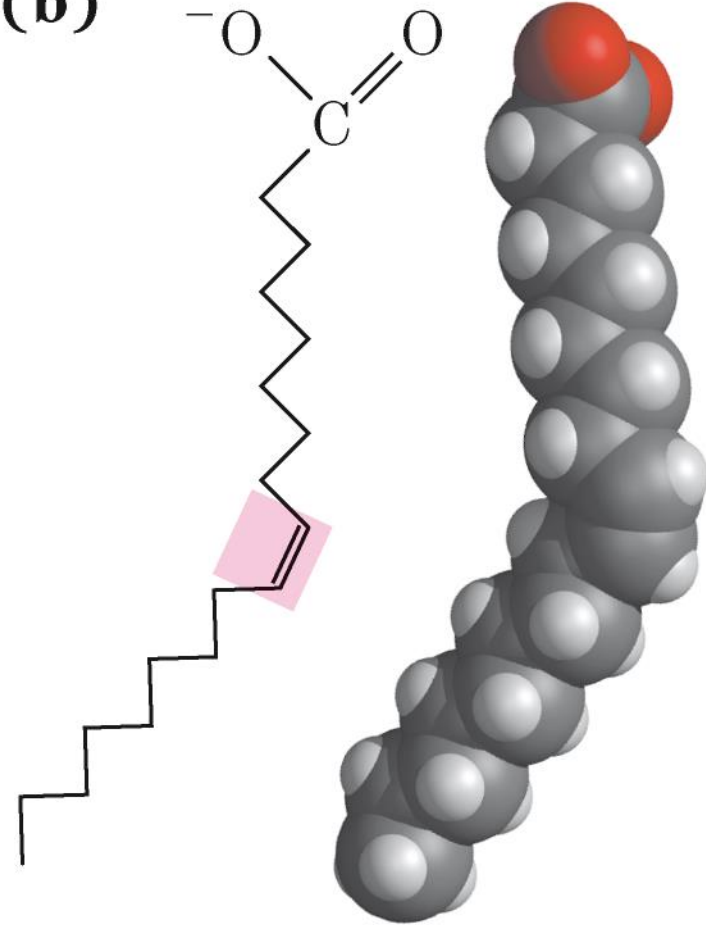
(a) Gruppo
carbossilico



Catena
idrocarburica

Acido stearico 18:0

(b)

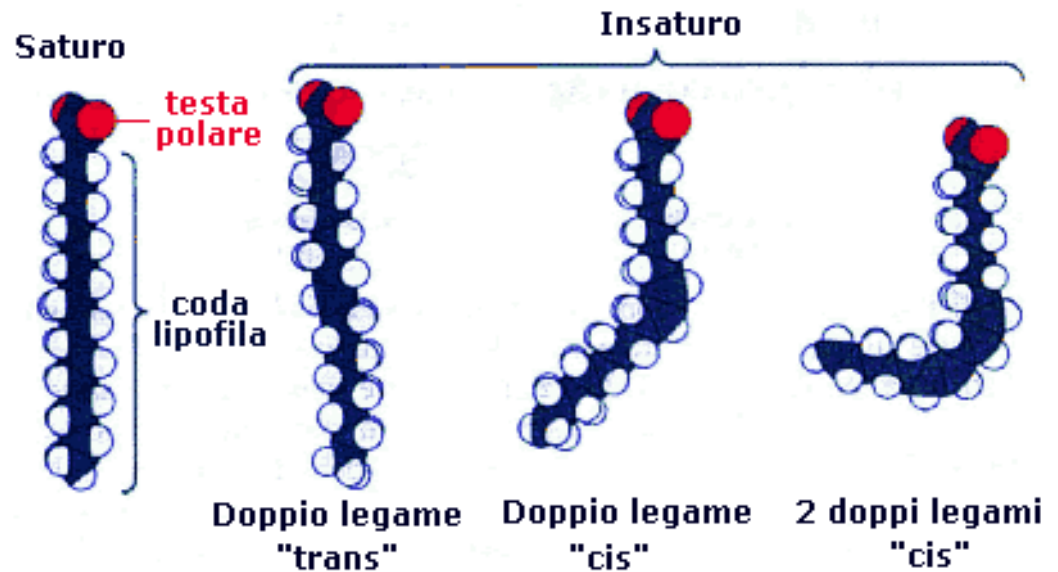


Acido oleico 18:1 Δ^9

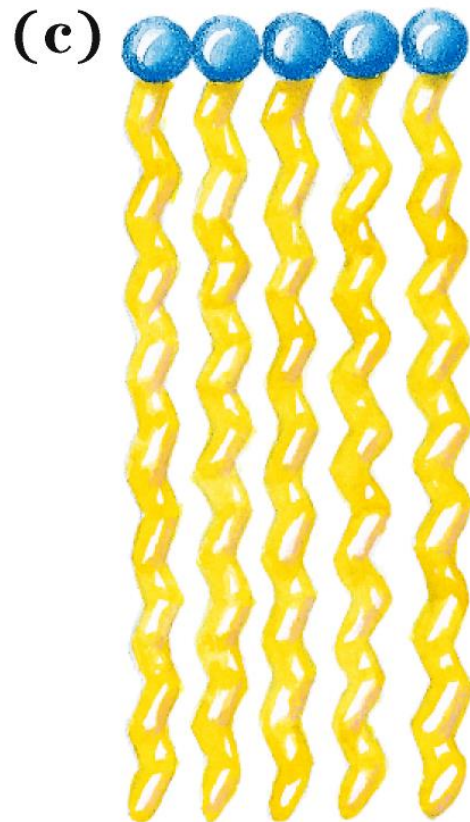
L'acido stearico completamente saturo 18:0 e il doppio legame cis nell'acido oleico 18:1 Δ^9 , non permette rotazione e determina un ripiegamento rigido nella coda idrocarburica. Tutti gli altri legami possono ruotare liberamente.

L'Impacchettamento degli acidi grassi dipende dal loro stato di saturazione

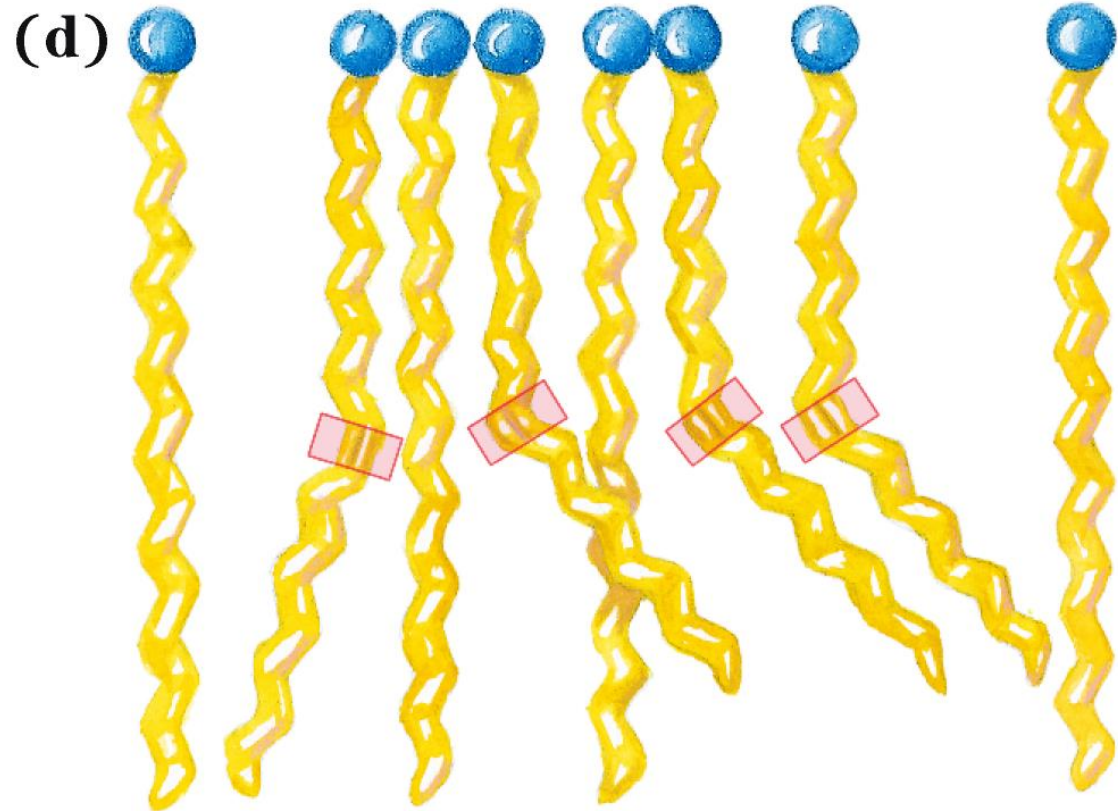
- Un doppio legame cis inserisce una torsione nella coda idrocarburica catena lunga, mentre una conformazione trans è completamente estesa, simile a un acido grasso saturo.



Acidi grassi



Acidi grassi saturi



Miscela di acidi grassi saturi e insaturi

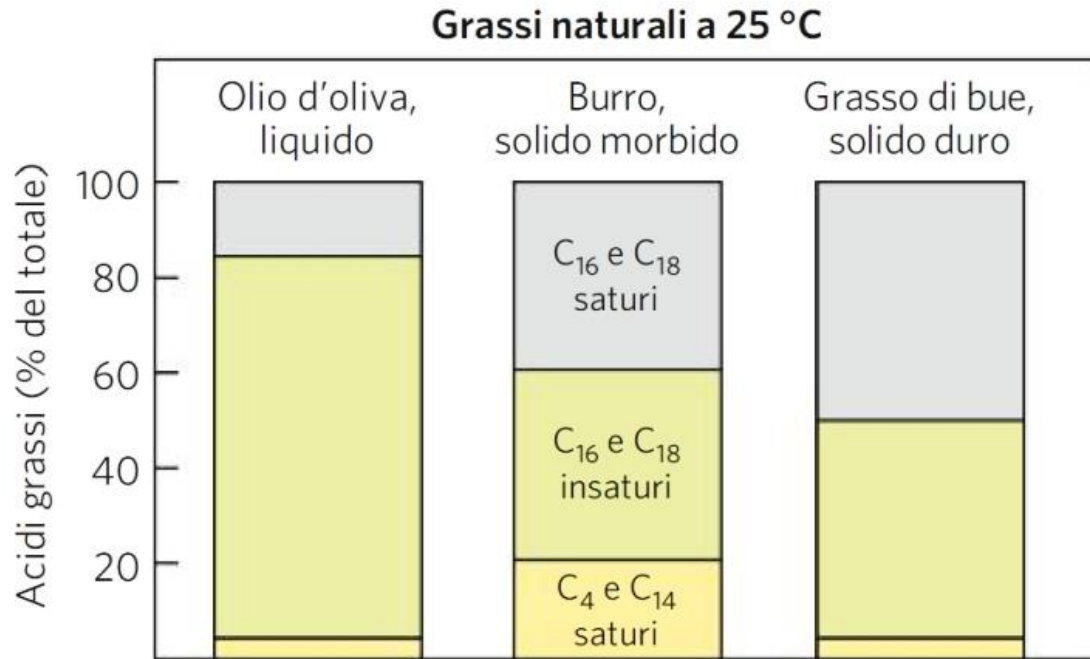
Gli acidi grassi saturi nella forma completamente estesi si impacchettano con una disposizione quasi cristallina stabilizzata da interazioni idrofobiche. La presenza di uno o più doppi legami cis produce aggregati meno stabili.

| Atomi di carbonio/ Doppi legami* | Struttura | Nome comune | Punto di fusione (°C) |
|-------------------------------------|---|--------------------|-----------------------------|
| Acidi grassi saturi | | | |
| 12:0 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ | Acido laurico | 44 |
| 14:0 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ | Acido miristico | 58 |
| 16:0 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ | Acido palmitico | 63 |
| 18:0 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ | Acido stearico | 70 |
| 20:0 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$ | Acido arachidico | 77 |
| Acidi grassi insaturi | | | |
| 16:1 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | Acido palmitoleico | 1 |
| 18:1 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ | Acido oleico | 16 |
| 18:2 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ | Acido linoleico | -5 |
| 18:3 | $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ | Acido linolenico | -11 |
| 20:4 | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ | Acido arachidonico | -49 |

Il punto di fusione di questi grassi, ovvero il loro stato fisico a temperatura di 25°C, dipende dalla loro composizione in acidi grassi.

Gli acidi grassi insaturi hanno punti di fusione più bassi di quelli saturi.

Composizione in acidi grassi dei lipidi presenti in tre cibi: olio di oliva, burro e grasso di bue

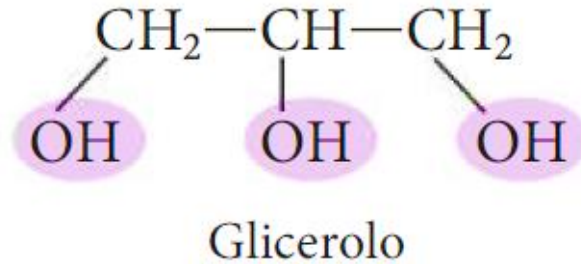


Sono costituiti da una miscela di triacilgliceroli, con una diversa composizione in acidi grassi.

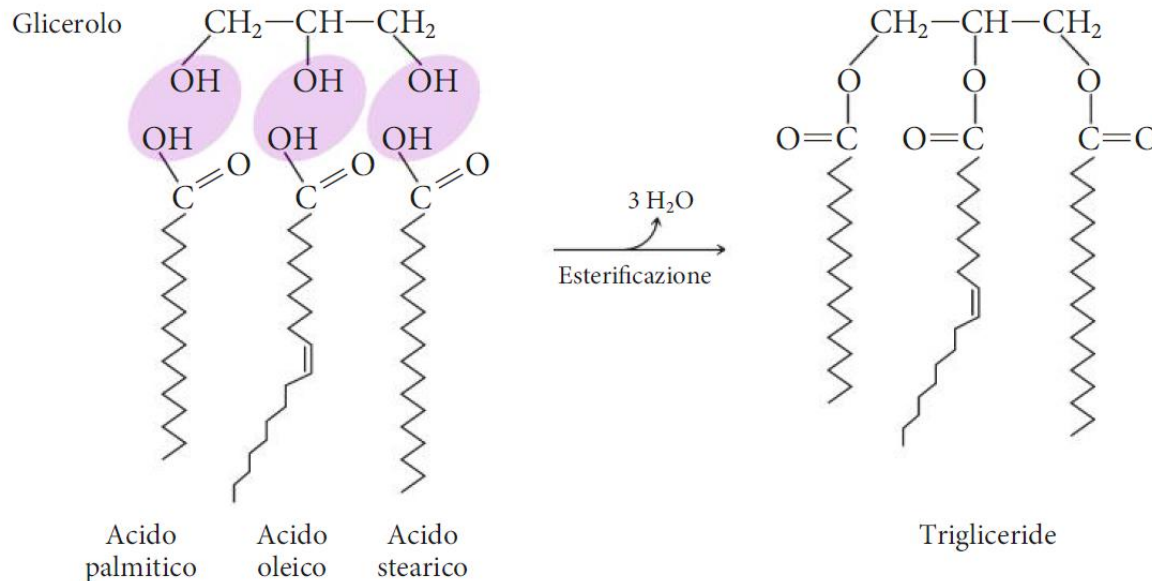
- L'olio d'oliva contiene molte catene lunghe C16 e C18 insature ed è quindi liquido a 25°C.
- La grande quantità di catene lunghe C16 e C18 sature nel burro aumenta il suo punto di fusione e lo rende solido ma morbido a 25°C.
- Il grasso di bue, che contiene ancora più catene lunghe sature è un solido duro.

Trigliceridi: Sono una riserva energetica metabolica in tutte le cellule eucariotiche.

L'impalcatura strutturale di base dei trigliceridi è data dal glicerolo, una molecola in cui sono presenti tre funzioni alcoliche.



Nei trigliceridi, la molecola di glicerolo lega tre molecole di acido grasso attraverso reazioni di esterificazione in cui vengono eliminate tre molecole di acqua.

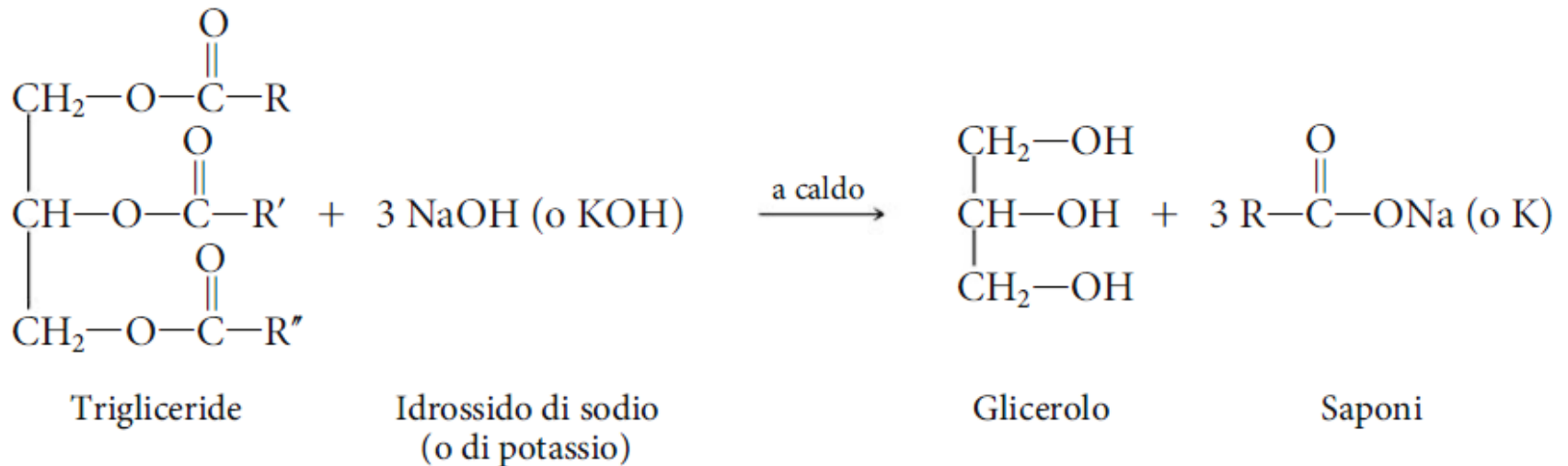


I trigliceridi sono una famiglia di molecole molto simili che differiscono per il tipo di acido grasso legato. Sono divisi in:

- **Semplici**, i tre acidi grassi sono uguali
- **Misti**, i tre acidi grassi sono diversi

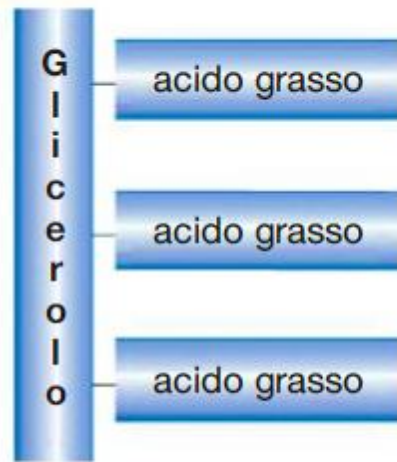
La reazione di saponificazione dei trigliceridi:

- Il trattamento a caldo di una miscela di grassi o oli con una soluzione concentrata di NaOH o KOH dà luogo ad una reazione di saponificazione in cui si formano saponi (sali di acidi grassi e glicerolo):

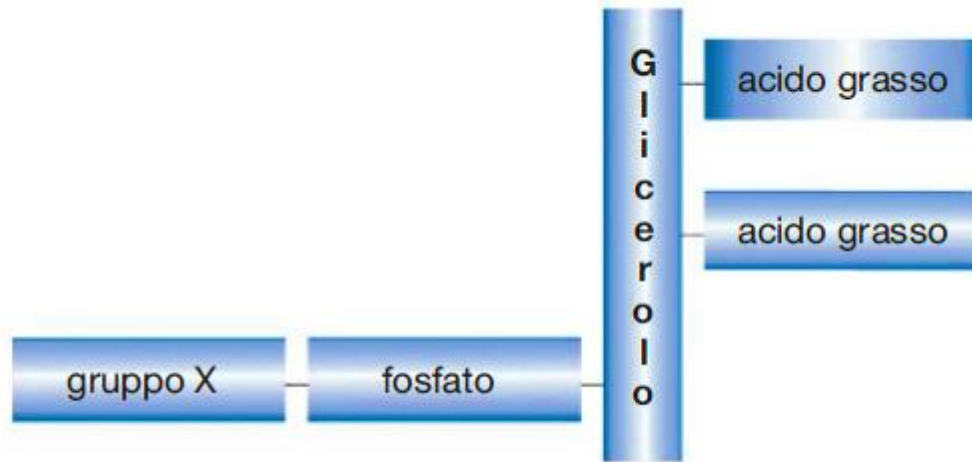


Fosfogliceridi

- I **fosfogliceridi** sono lipidi di membrana e contengono uno scheletro di base costituito dal glicerolo con due molecole di acido grasso esterificate sui primi due atomi di carbonio. Tuttavia, il glicerolo esterifica in terza posizione anche un gruppo fosfato, legato a sua volta a un gruppo X, in genere un amminoalcol, la cui natura è spesso ionica o polare.

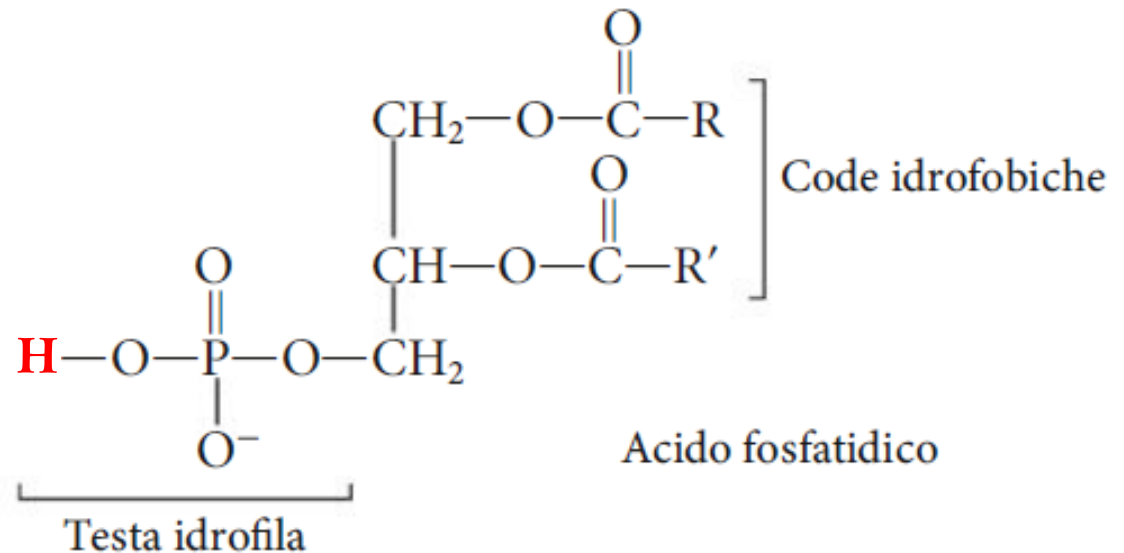


struttura generale
di un trigliceride

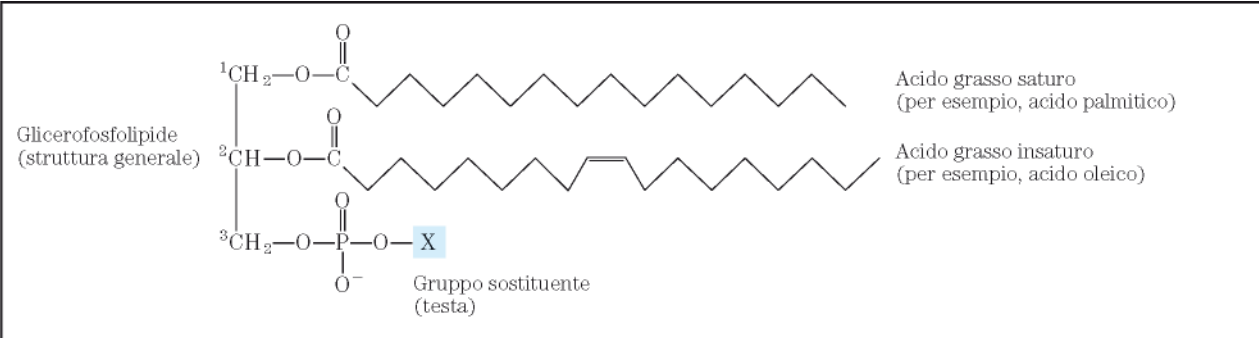


struttura generale
di un fosfogliceride

-
- L'acido fosfatidico è il fosfogliceride più semplice:
il gruppo **X** è un atomo di idrogeno.

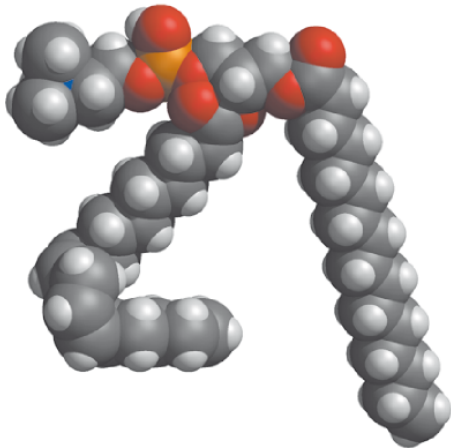
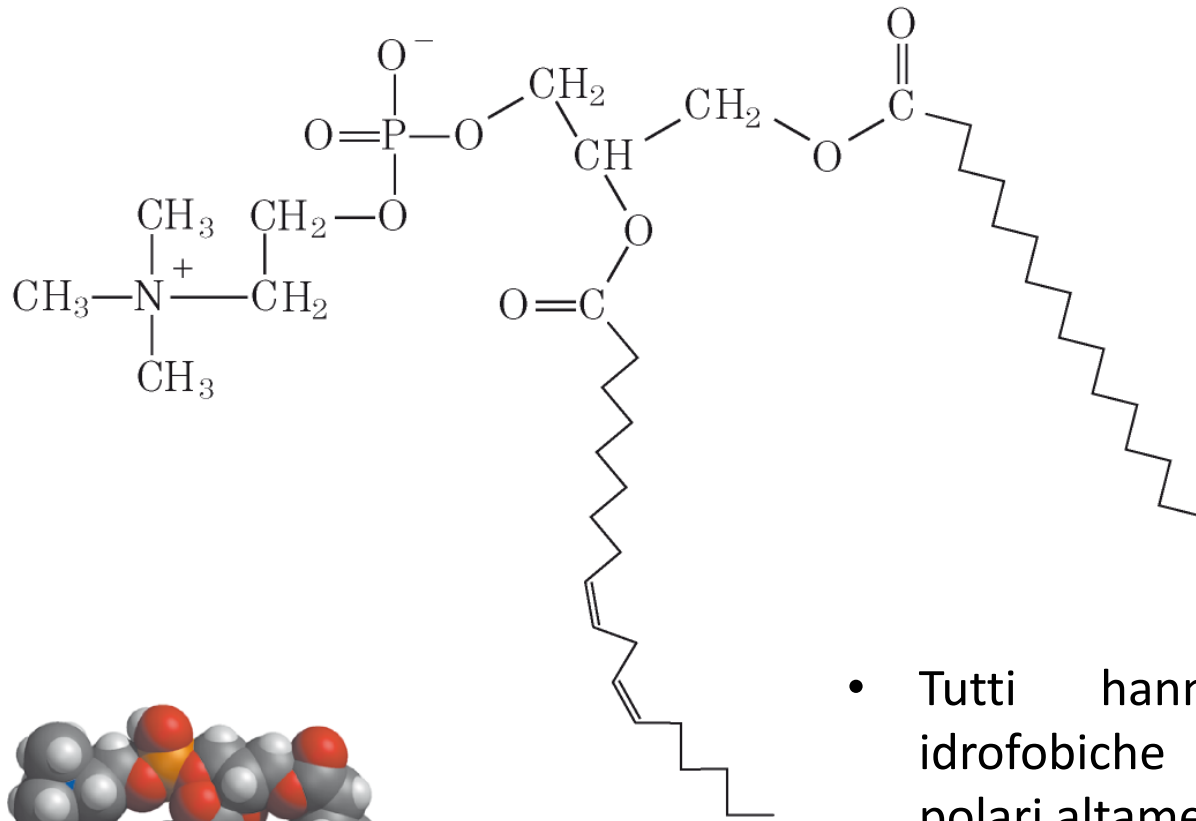


I glicerofosfolipidi o fosfoacilgliceroli



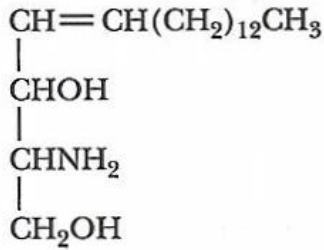
| Nome del glicerofosfolipide | Nome di X—O | Formula di X | Carica netta (a pH 7,0) |
|------------------------------------|--------------------------------------|--|-------------------------|
| Acido fosfatidico | — | — H | -1 |
| Fosfatidiletanolammina | Etanolammina | — CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺ | 0 |
| Fosfatidilcolina | Colina | — CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ (CH ₃) ₃ | 0 |
| Fosfatidilserina | Serina | — CH ₂ —CH—NH ₃ ⁺ COO ⁻ | -1 |
| Fosfatidilglicerolo | Glicerolo | — CH ₂ —CH—CH ₂ —OH OH | -1 |
| Fosfatidilinositolo 4,5-bisfosfato | <i>mio</i> -Inositolo 4,5-bisfosfato | | -4 |
| Cardiolipina | Fosfatidilglicerolo | — CH ₂ — CHOH CH ₂ —O—P(=O)(O ⁻)—O—CH ₂ — CH—O—C(=O)—R ¹ CH ₂ —O—C(=O)—R ² | -2 |

Glicerofosfolipidi: fosfatidilcolina

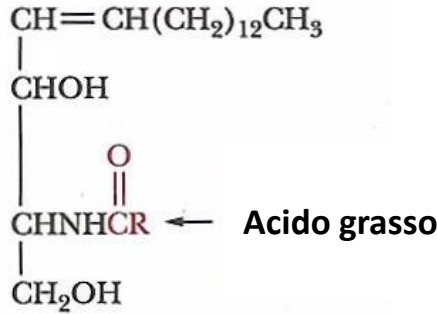


Fosfatidilcolina

- Tutti hanno lunghe code idrofobiche non polari e teste polari altamente idrofile.
- In un fosfoglicerolo il gruppo polare è carico poiché il gruppo fosfato è ionizzato a pH neutro.

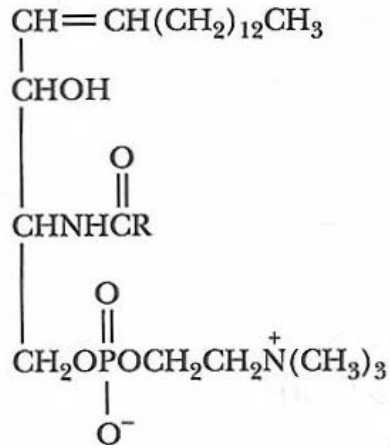


Sfingosina



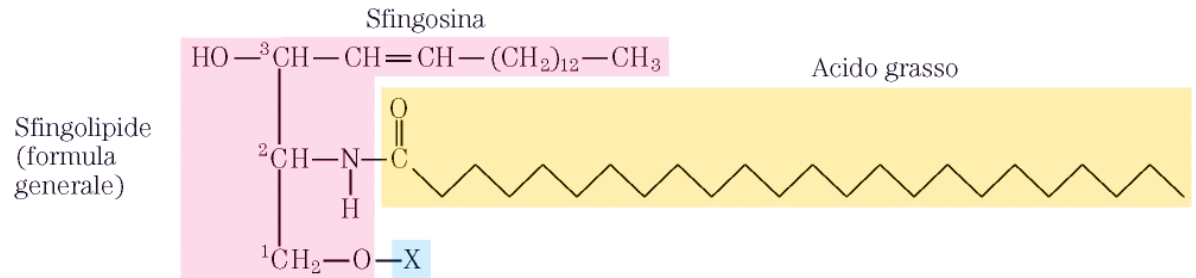
**Un ceramide
(N-acilsfingosina)**

Sfingolipidi



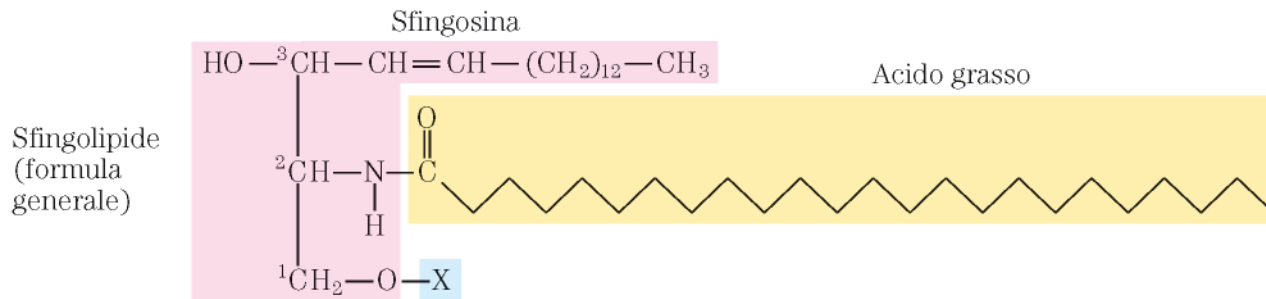
Una sfingomielina

Struttura di sfingolipidi



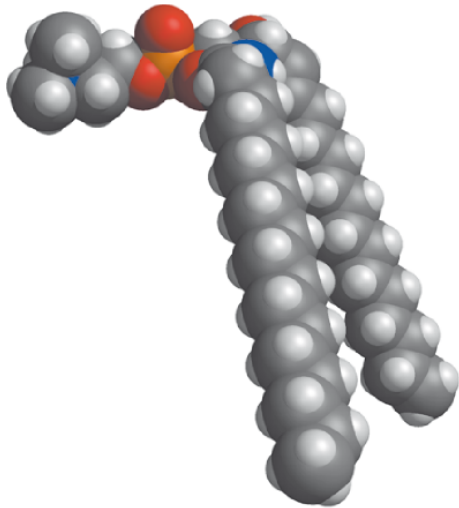
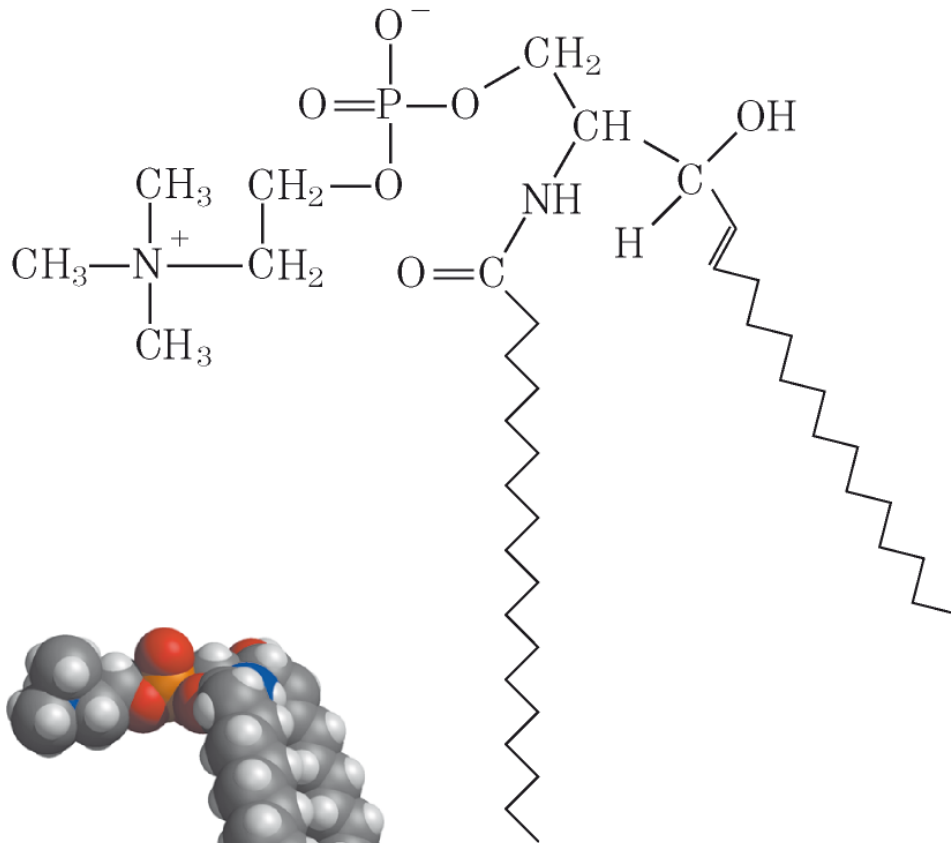
Contengono una molecola di sfingosina che è un amminoalcol a catena lunga o una molecola di acido grasso a catene lunga e da una testa polare unita in alcuni casi da un legame glicosidico, in altri da un ponte fosfodiester.

Gli sfingolipidi



| Nome dello sfingolipide | Nome di X—O | Formula di X |
|---|---------------------------------|--|
| Ceramide | — | —H |
| Sfingomielina | Fosfocolina | $ \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{—P—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}^+(\text{CH}_3)_3 \\ \\ \text{O}^- \end{array} $ |
| Glicolipidi neutri Glicosilcerebroside | Glucosio | |
| Lattosilceramide (un globoside) | Di-, tri- oppure tetrasaccaride | |
| Ganglioside GM2 | Oligosaccaride complesso | |

Sfingolipidi: Sfingomieline

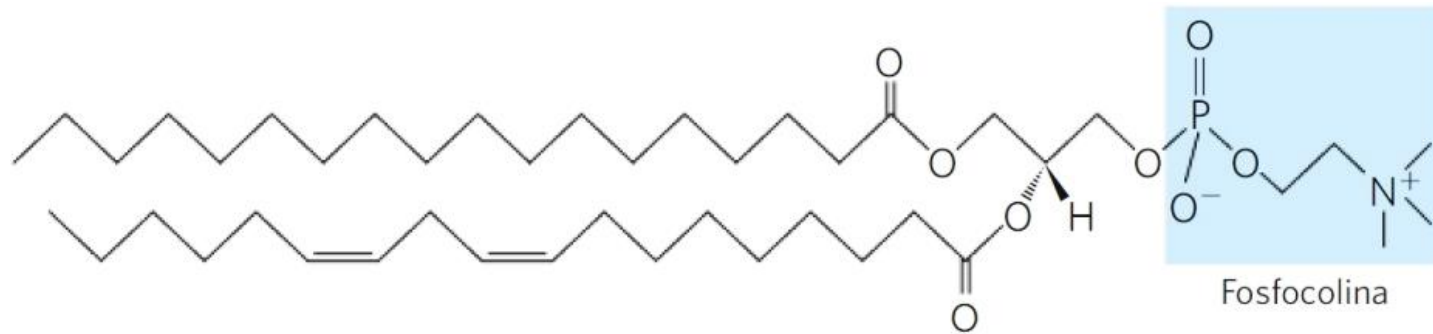


Sfingomieline

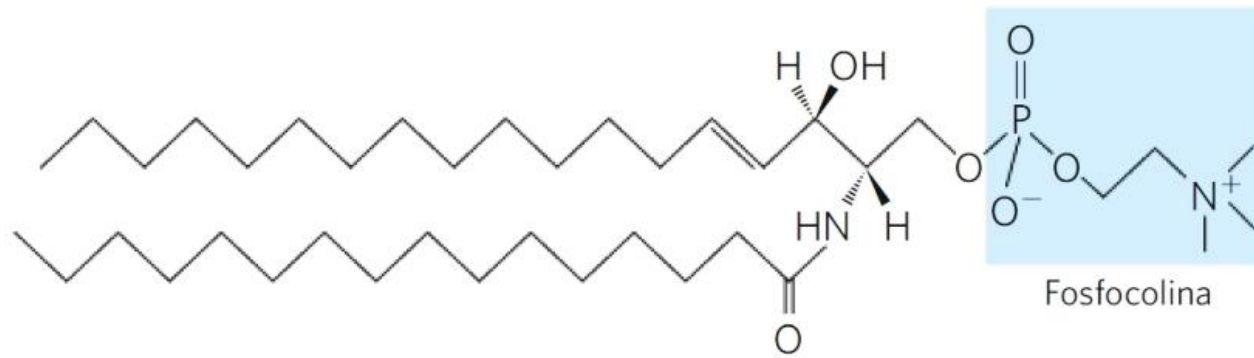
- Il gruppo alcolico primario della sfingosina è esterificato con l'acido fosforico.
- La testa polare è formata da una fosfocolina o una fosfoetanolamina per cui possono essere classificati come fosfolipidi.
- Le sfingomieline sono anfipatiche.

Le strutture molecolari di due classi di lipidi di membrana:

- Fosfatidilcolina (glicerofosfolipide) e la Sfingomieline (sfingolipide).

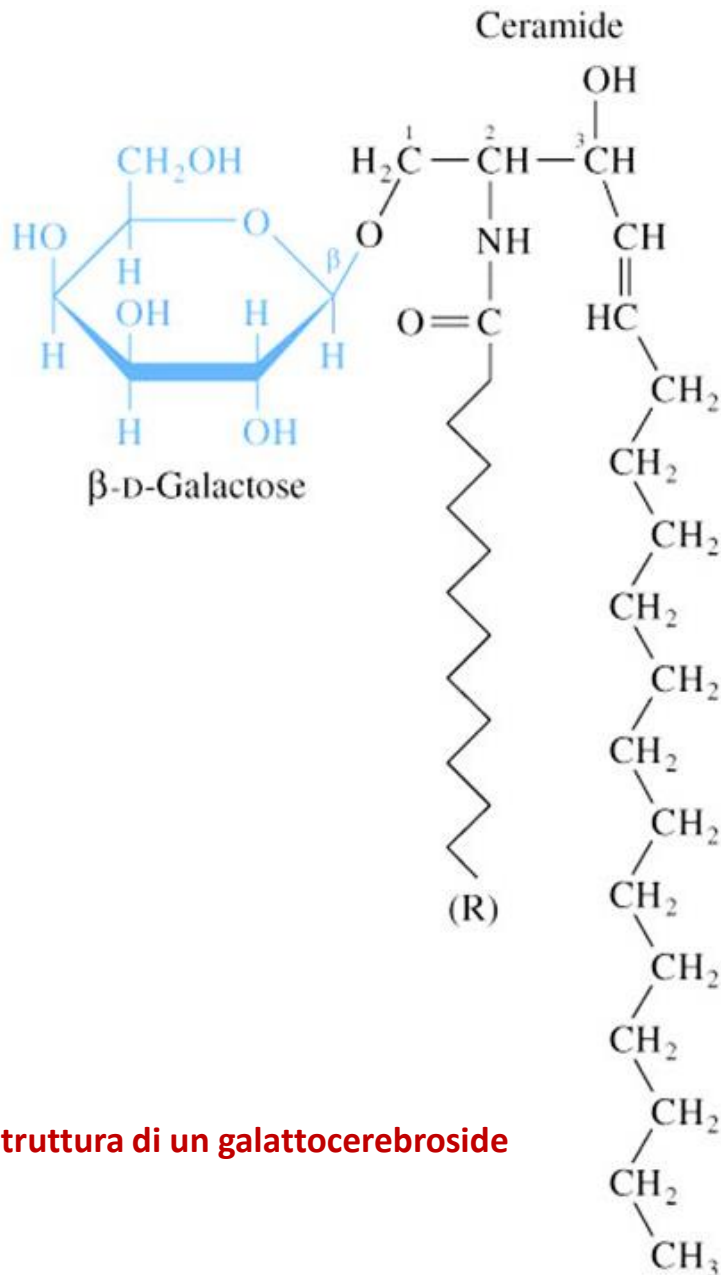


Fosfatidilcolina



Sfingomieline

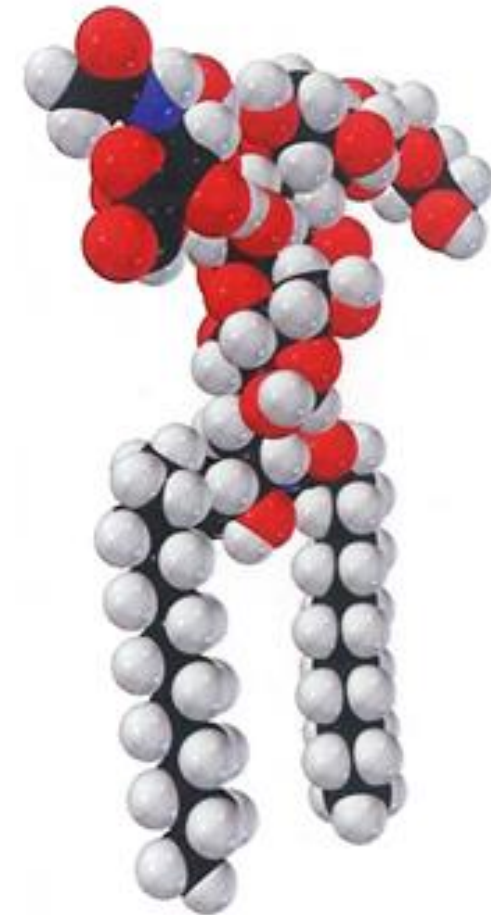
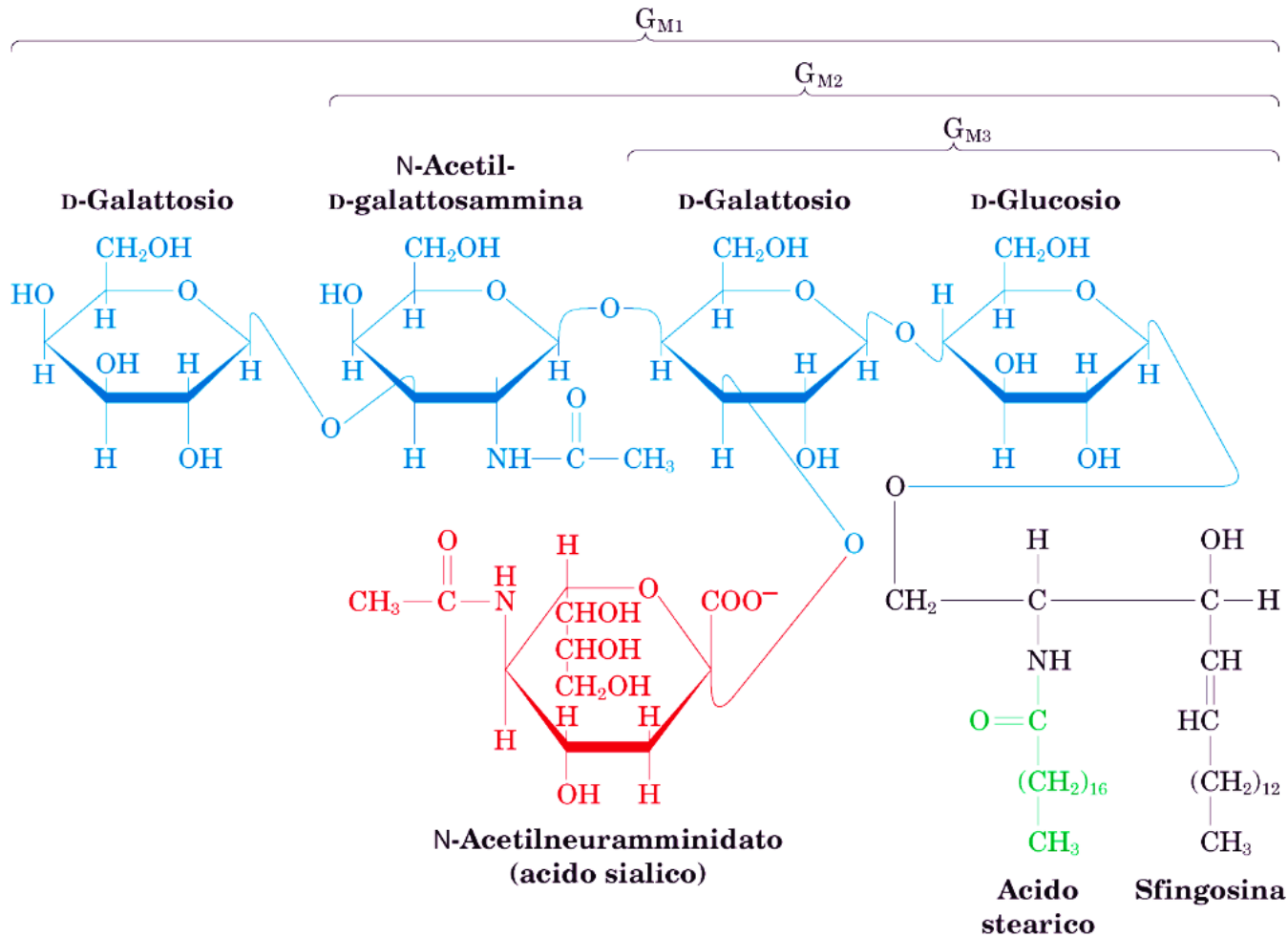
Glicosfingolipidi



Struttura di un galattocerebroside

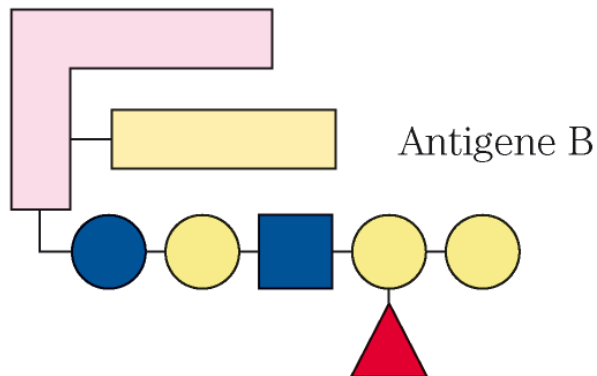
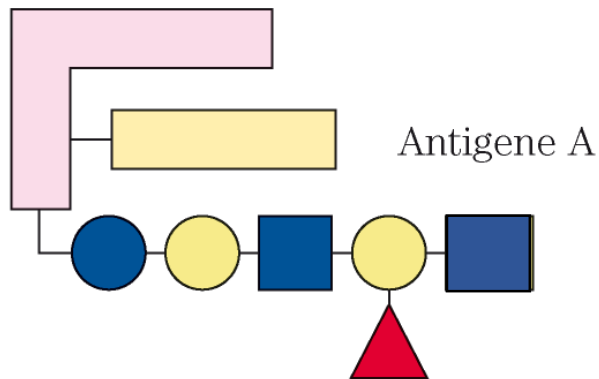
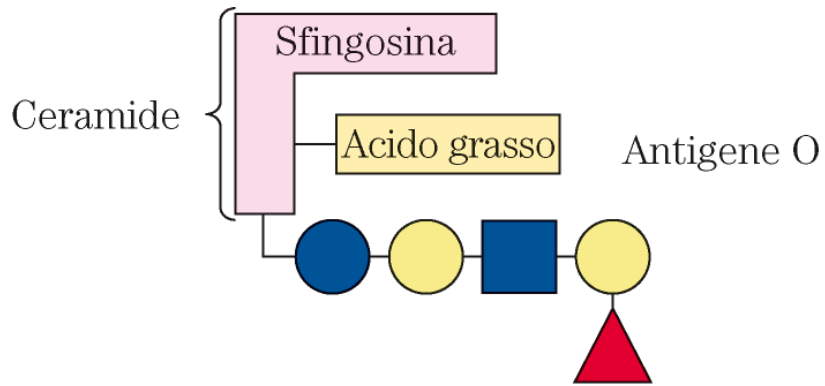
- Hanno una testa polare costituita da uno o più zuccheri legati direttamente al gruppo OH del C1 del ceramide e non contengono fosfato.
- Nella maggior parte dei casi lo zucchero è il glucosio o galattosio.

Struttura di alcuni gangliosidi: sono sfingolipidi complessi



Gangliosidi

I glicosfingolipidi come determinanti dei gruppi sanguigni

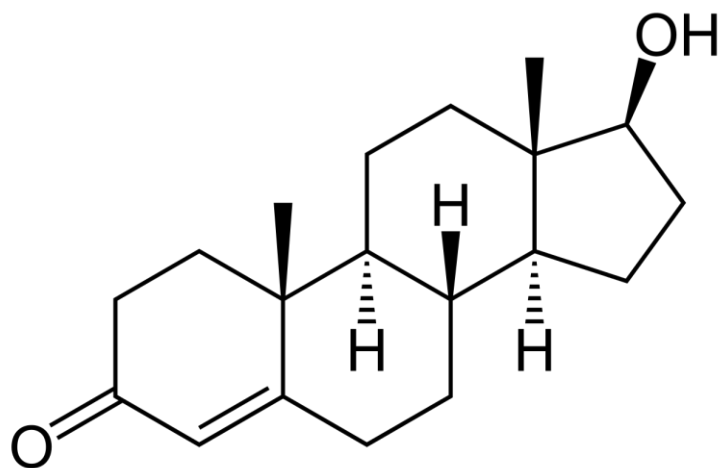
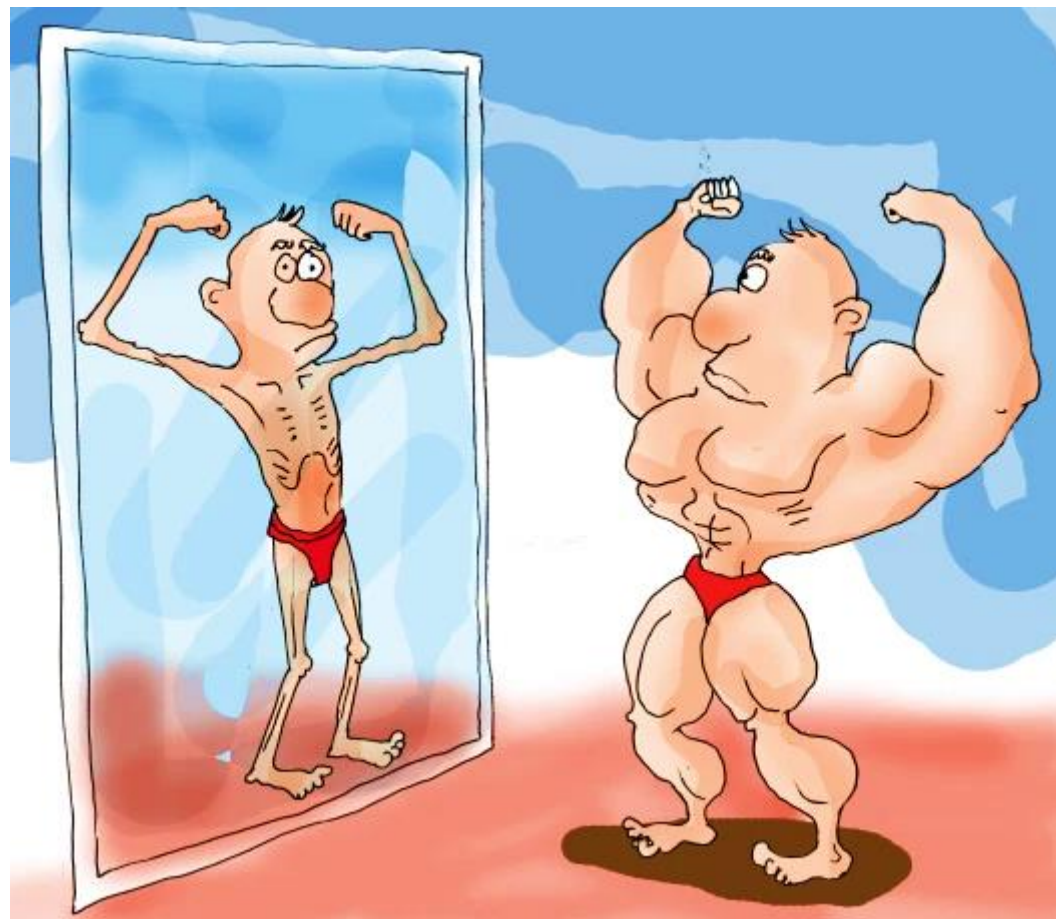


Le proteine e i lipidi sulla superficie dei globuli rossi sono legati a catene di carboidrati che formano un film protettivo attorno alla cellula.

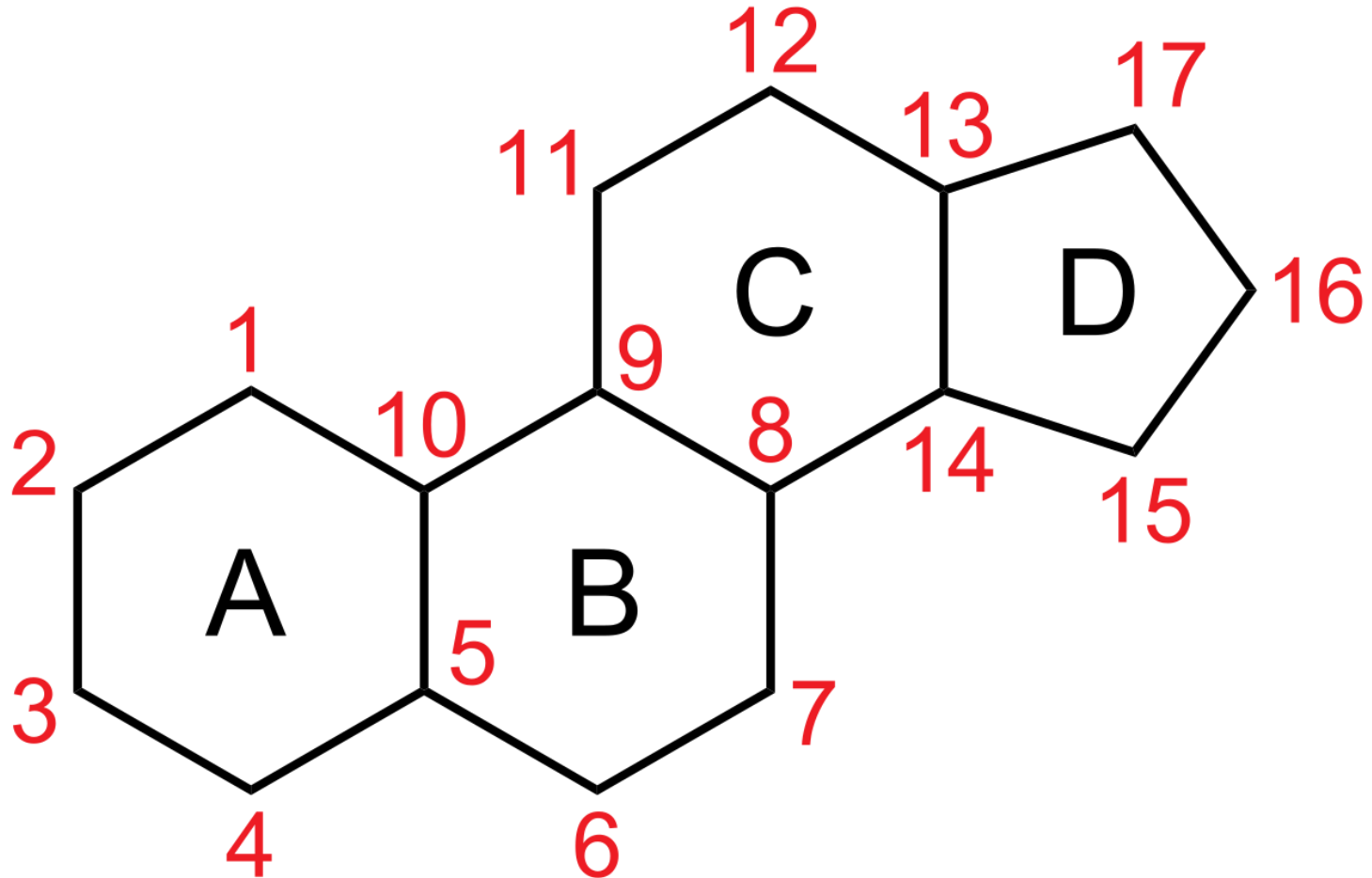
Gli sfingolipidi sulla superficie cellulare servono come siti di riconoscimento biologico.

- Glc (glucosio)
- Gal (galattosio)
- GalNAc (*N*-acetilgalattosammina)
- ▲ Fuc (fucosio)

Steroidi



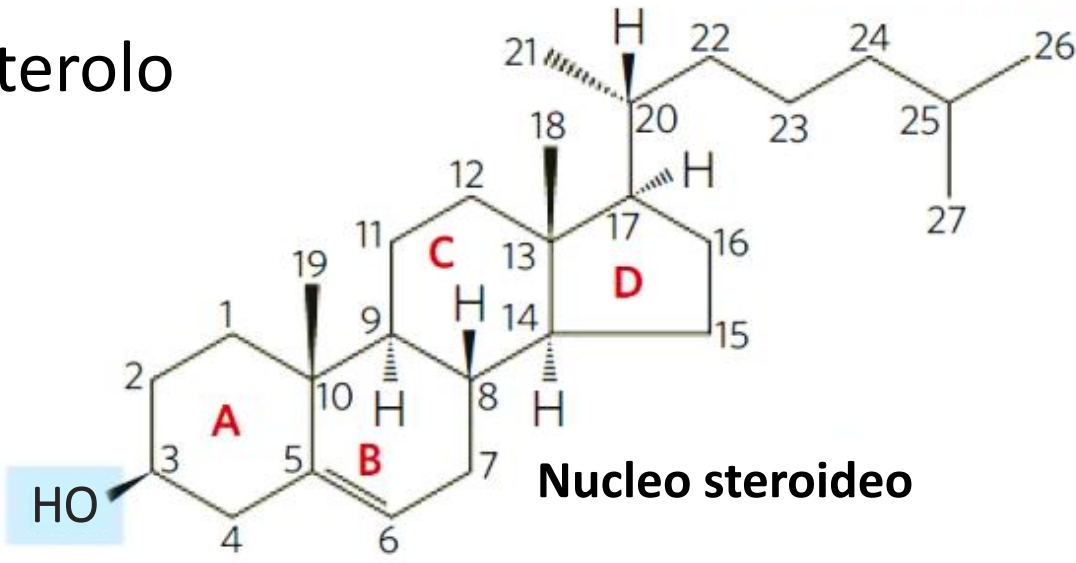
Struttura dello sterano. È un sistema ad anelli fusi che consiste di tre anelli a sei atomi (A, B e C) e un anello a cinque atomi (D).



Colesterolo

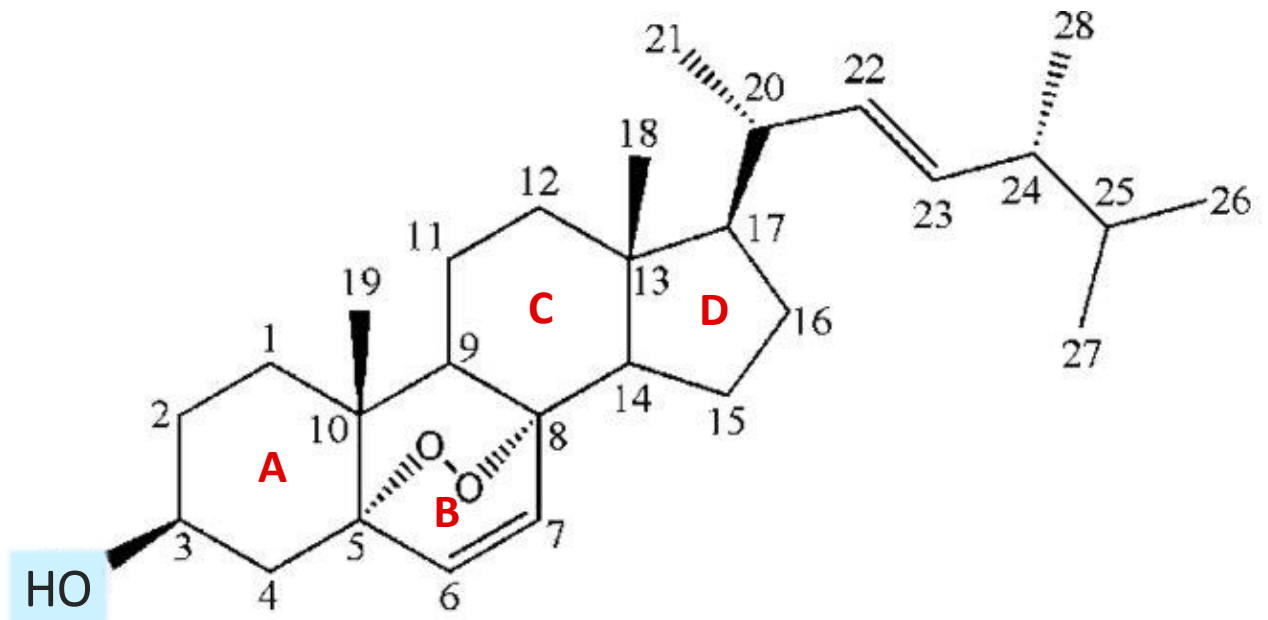
Catena laterale alchilica

Gruppo polare
HO



Nucleo steroideo

Ergosterolo



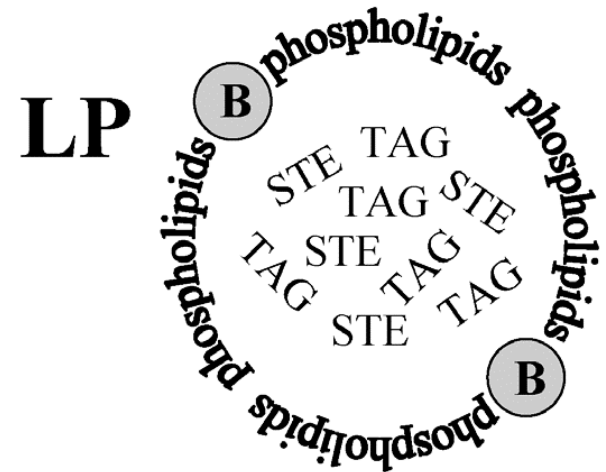
Particelle lipidiche nei lieviti:

Una volta che i TAG e gli STE sono sintetizzati si accumulano in organelli noti come particelle lipidiche.

Queste particelle sono caratterizzate da una struttura semplice costituita da un nucleo altamente idrofobico di lipidi neutri circondato da un monostrato fosfolipidico con una piccola quantità di proteine incorporate (enzimi delle vie metaboliche dei lipidi).

Il rapporto tra TAG e STE è di circa 1:1

Nel *S. cerevisiae* il 70% del contenuto lipidico totale della cellula si accumula nelle goccioline lipidiche all'inizio della fase stazionaria. Questi organelli sono importanti per la biosintesi, il metabolismo, la degradazione e il traffico dei lipidi all'interno della cellula.



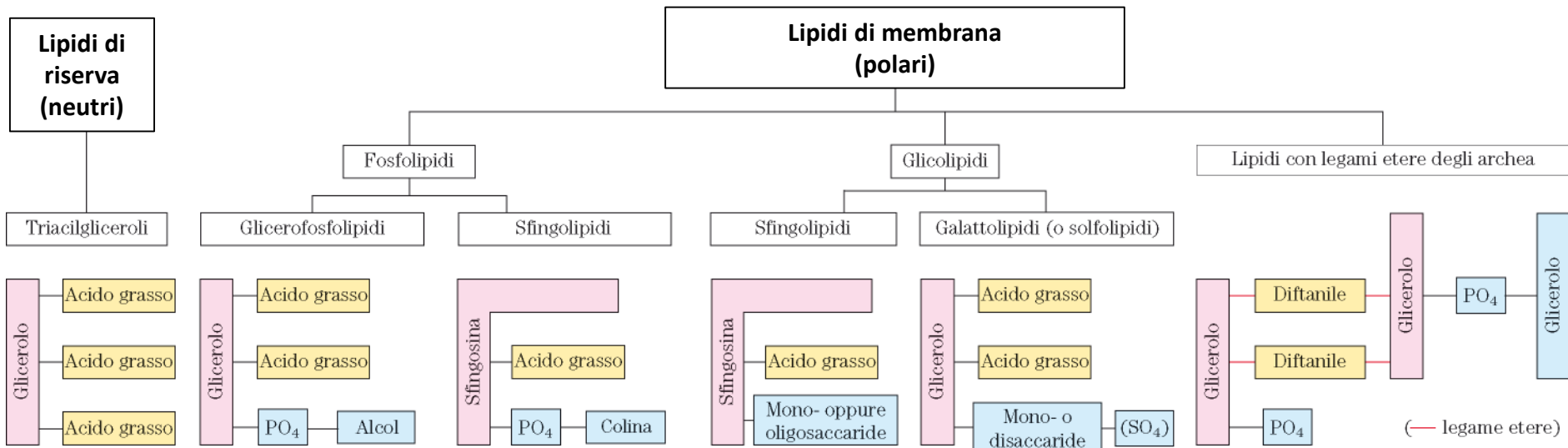
B, proteina senza il dominio di transmembrana; ER, reticolo endoplasmatico; LP, particella lipidica; TAG, trigliceridi; STE, steroli esterificati

H. Müllner and G. Daum, Dynamics of neutral lipid storage in yeast. *Acta Biochimica Polonia*. Vol. 51 No. 2/2004 323–347

Particelle lipidiche nei lieviti

- Tutte le proteine identificate nelle particelle lipidiche e nel RE sono enzimi delle vie metaboliche dei lipidi.
- Il RE contiene tutti gli enzimi che sintetizzano per i TAG e gli enzimi di sintesi dell'ergosterolo, solo tre di questi enzimi sono localizzati nelle particelle lipidiche.
- Un altro ruolo delle particelle lipidiche è il trasporto dell'ergosterolo alla membrana plasmatica.
- Le particelle lipidiche del lievito possono svolgere un ruolo regolatorio nell'omeostasi degli steroli attraverso un meccanismo di esterificazione/idrolisi.

Alcuni tipi comuni di lipidi di riserva e di membrana



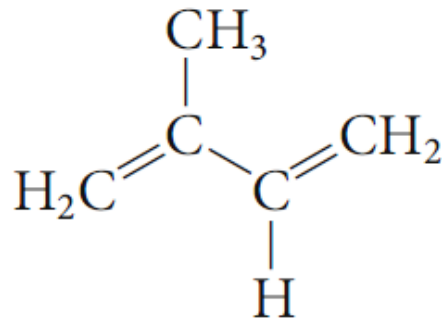
- Nei triacilgliceroli, nei glicerofosfolipidi nei galattolipidi e nei solfolipidi i gruppi alchilici sono acidi grassi legati con legame estere.
- Gli sfingolipidi contengono un singolo acido grasso unito da un legame ammidico allo scheletro della sfingosina.



TERPENI



I **terpeni** sono un gruppo di lipidi non saponificabili che derivano dal 2-metil-1,3-butadiene, noto come **isoprene**:



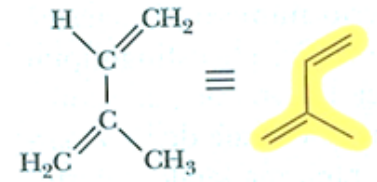
Isoprene

Questa molecola è piuttosto instabile e ha una spiccata tendenza alla polimerizzazione, che porta alla formazione di composti sia lineari sia ciclici.

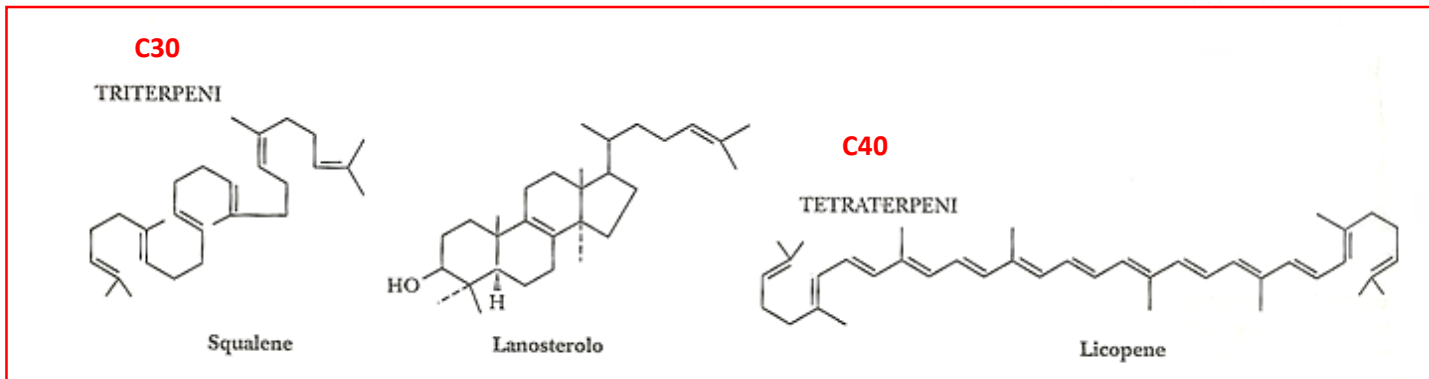
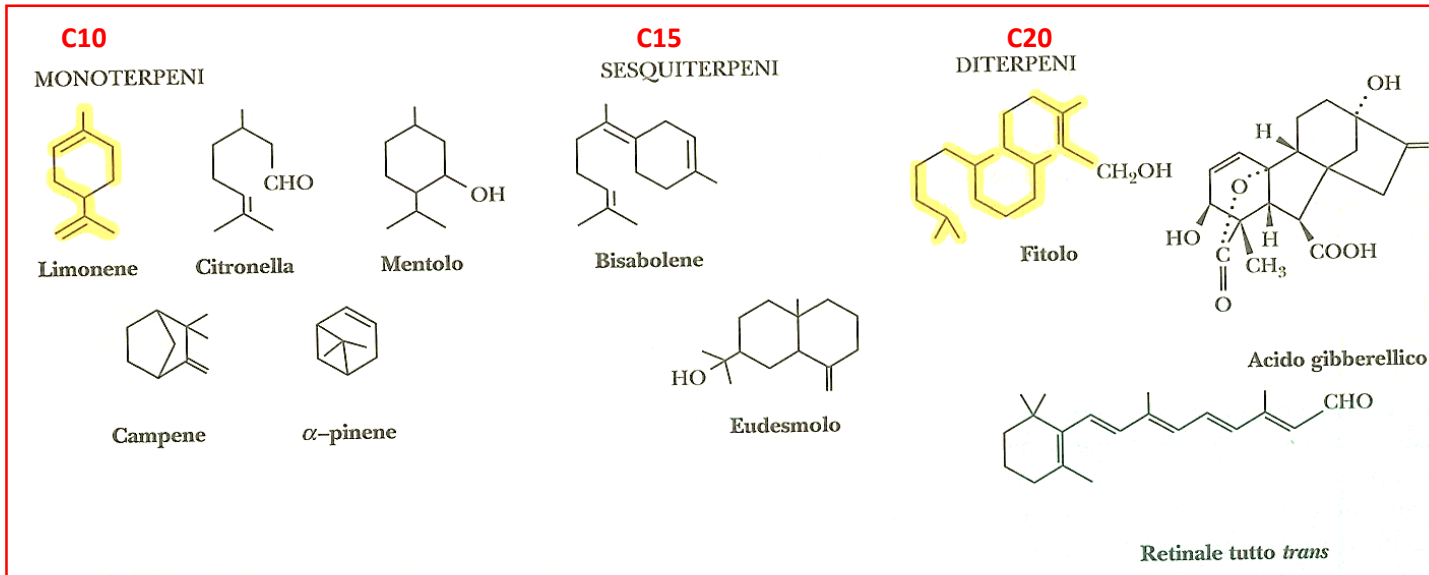
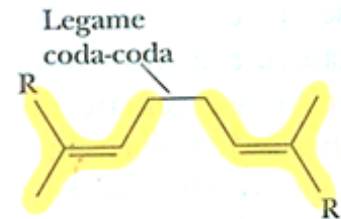
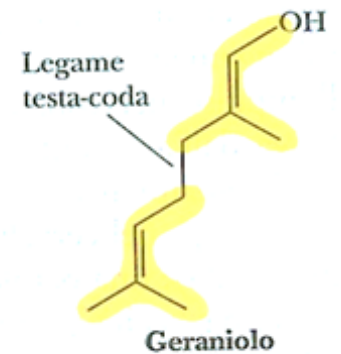
Alcuni **terpeni** sono dotate di un odore intenso, come il geraniolo e il mentolo, responsabili del profumo di queste piante.

I terpeni vengono indicati con la formula generale $(C_5H_8)_n$

- Essi possono essere classificati sulla base del valore di n o del numero di unità isopreniche presenti nella struttura.
- I monoterpeni sono costituiti da due unità isopreniche $(C_{10}H_{16})$ legate tra loro

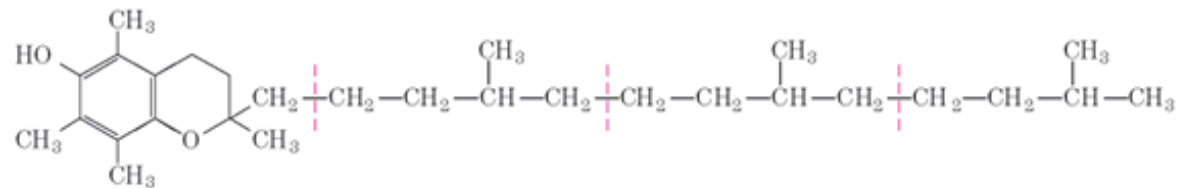


Isoprene

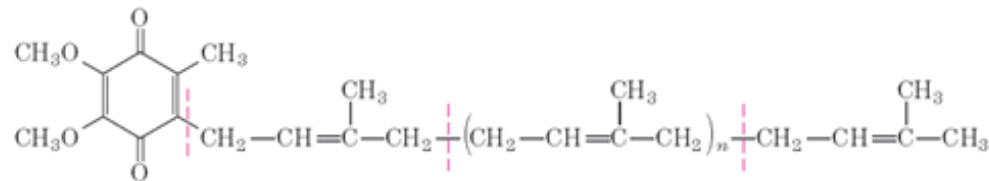


Altri composti isoprenoidi o loro derivati biologicamente attivi

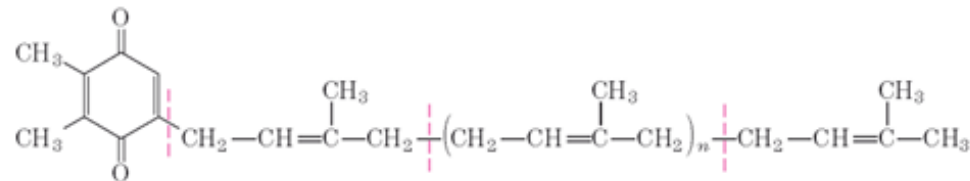
Vitamina E: un antiossidante



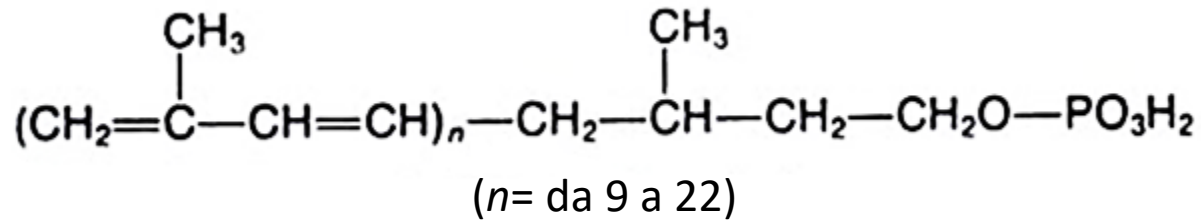
Ubichinone: un trasportatore di elettroni nei mitocondri (coenzima Q)



Plastoquinone: un trasportatore di elettroni nei cloroplasti

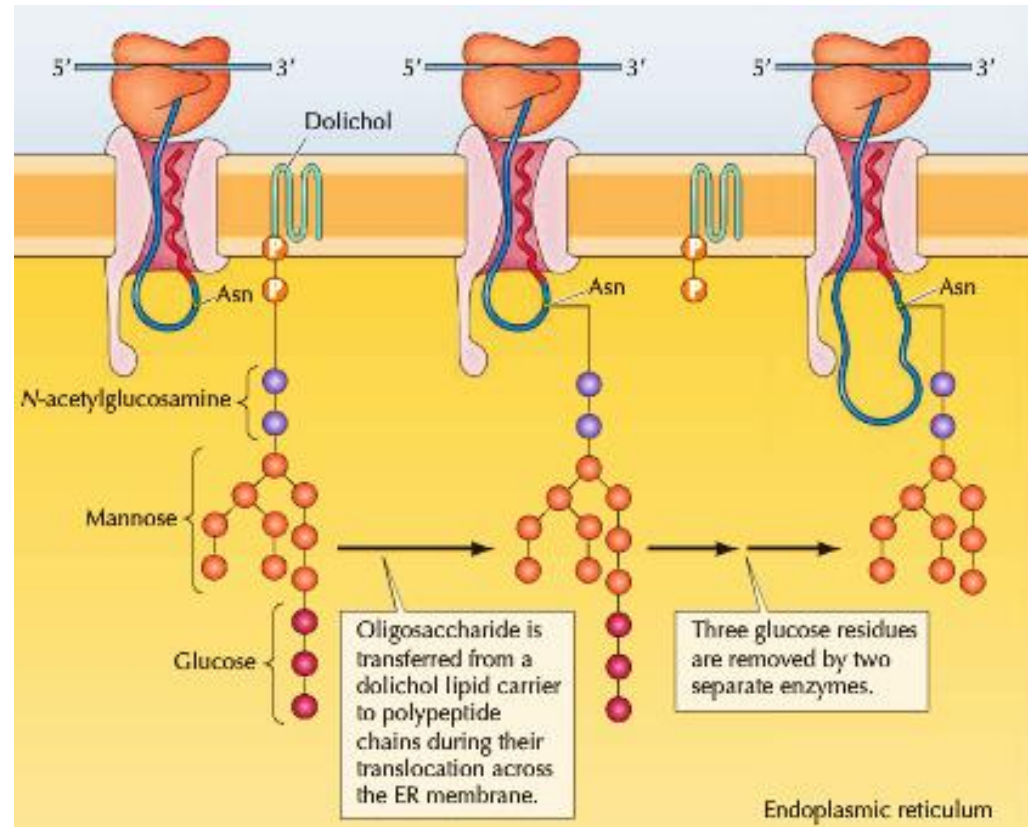


Dolicolo fosfato



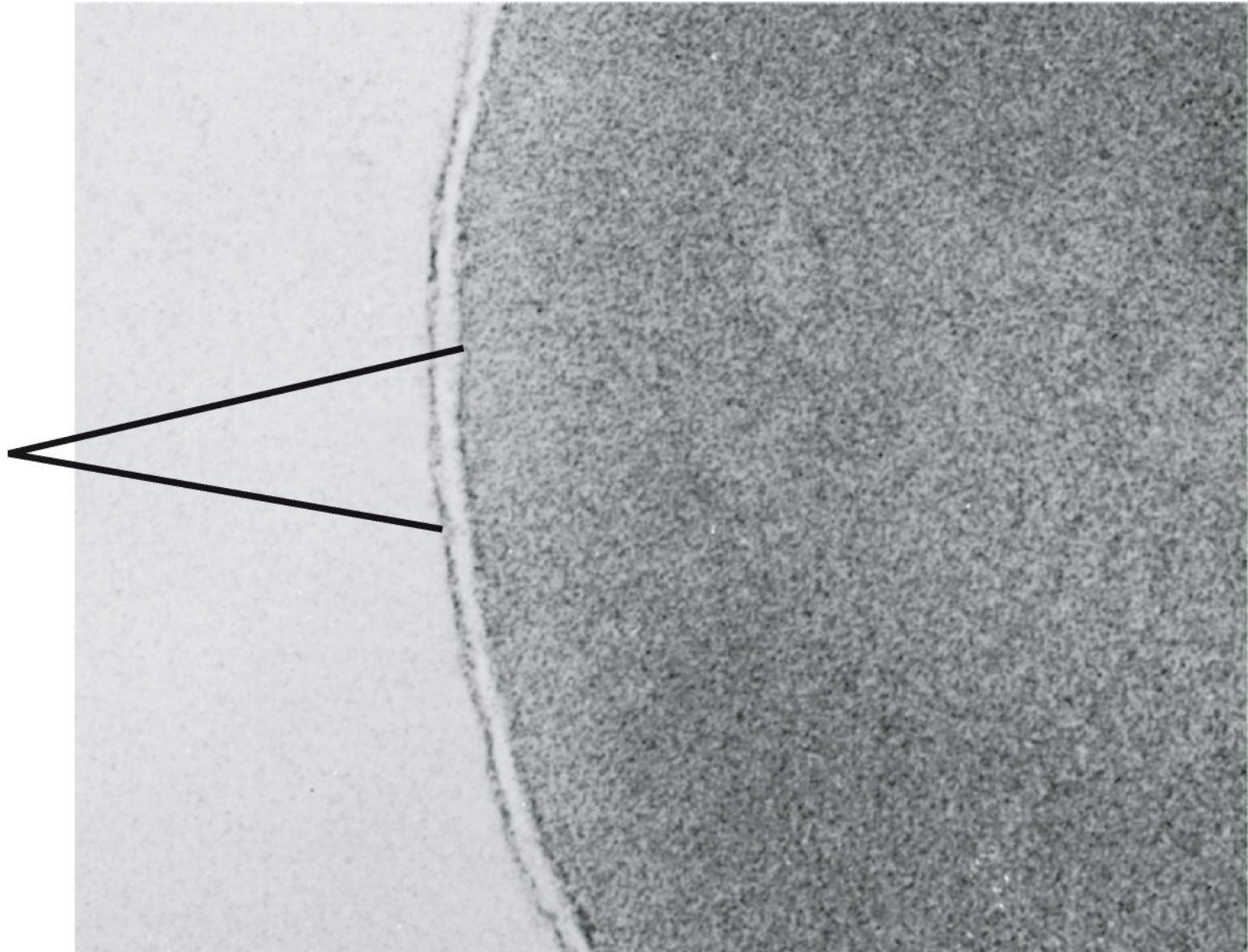
I dolicoli sono formati da 16-22 unità isopreniche e svolgono la funzione di trasportatore di glucidi nella sintesi delle glicoproteine.

I dolicoli si legano ai lipidi di membrana tramite forti interazioni idrofobiche, ancorando gli zuccheri alla membrana, per poi partecipare a reazioni di trasferimento degli zuccheri.

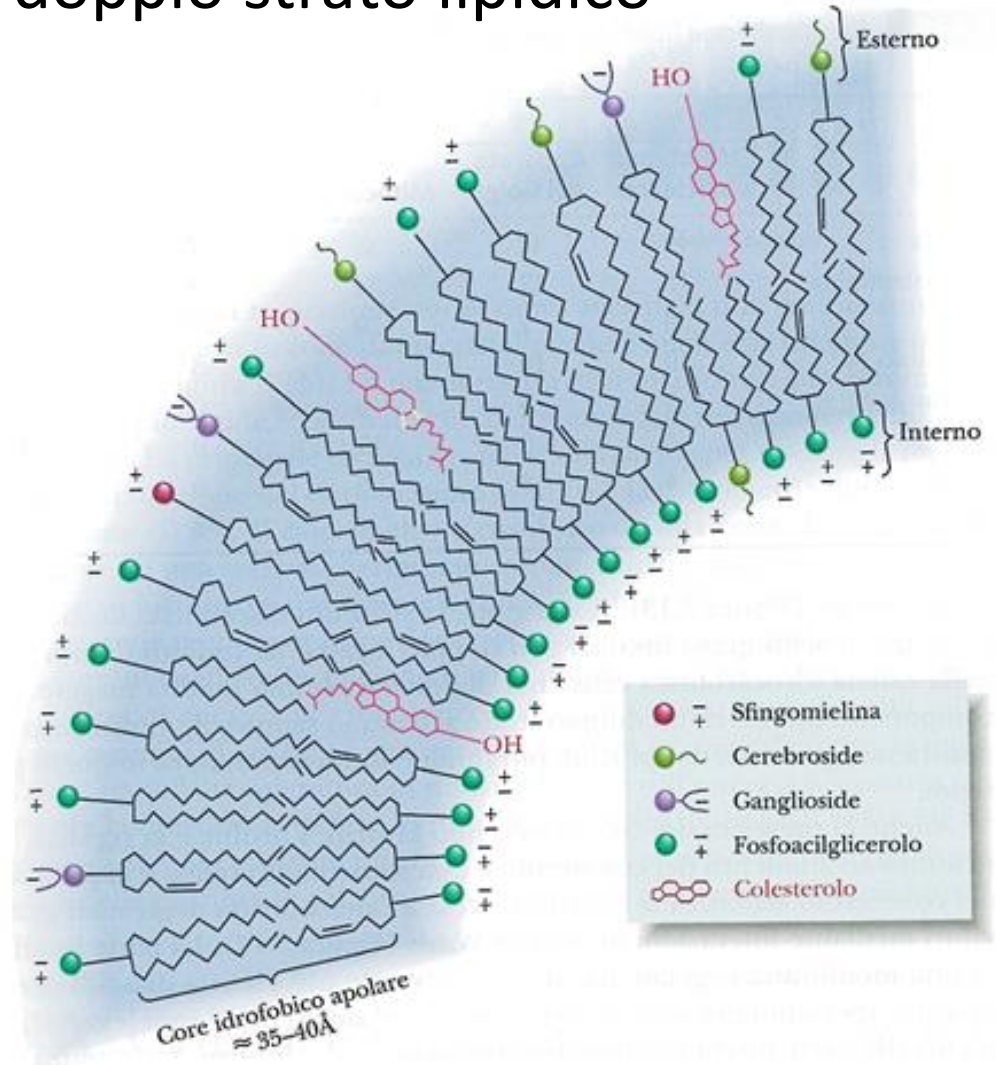
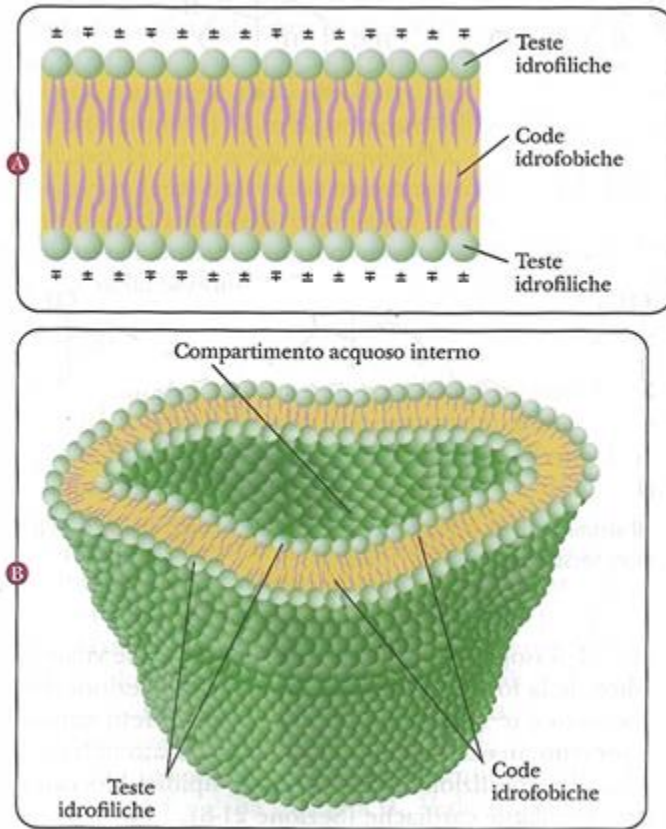


Membrane biologiche

Doppio
strato
lipidico
della
membrana



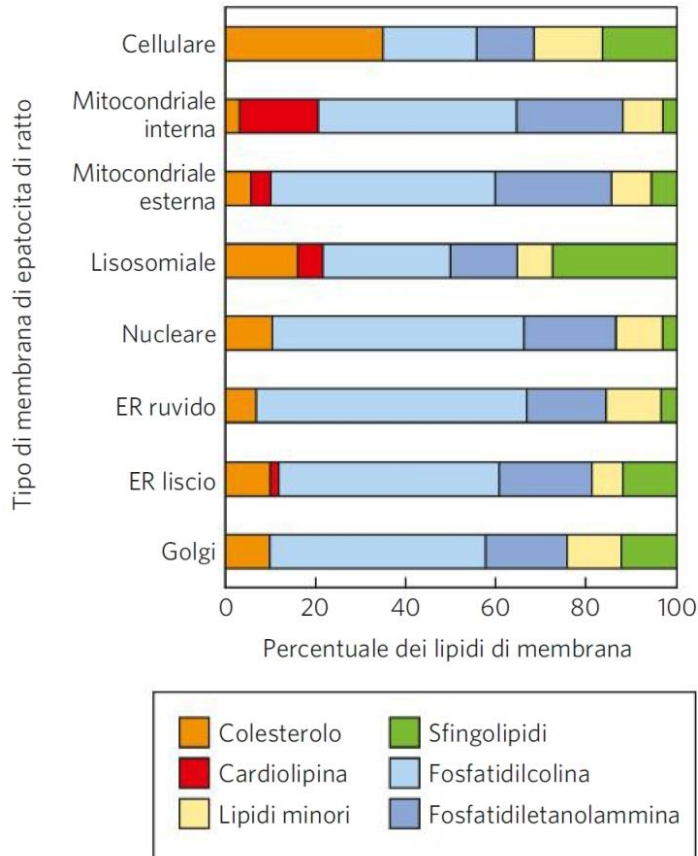
Struttura del doppio strato lipidico



La concentrazione di molecole più voluminose è maggiore nello strato esterno, che ha più spazio disponibile

Asimmetria del doppio strato lipidico

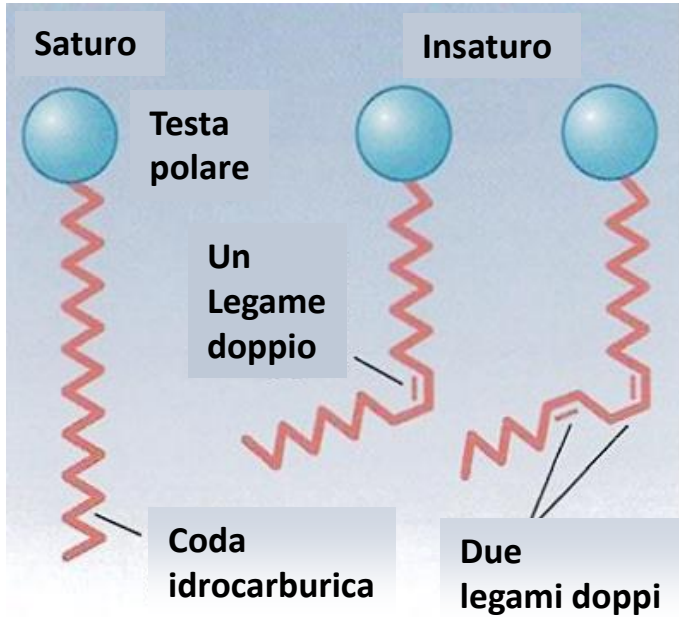
Composizione lipidica della membrana plasmatica



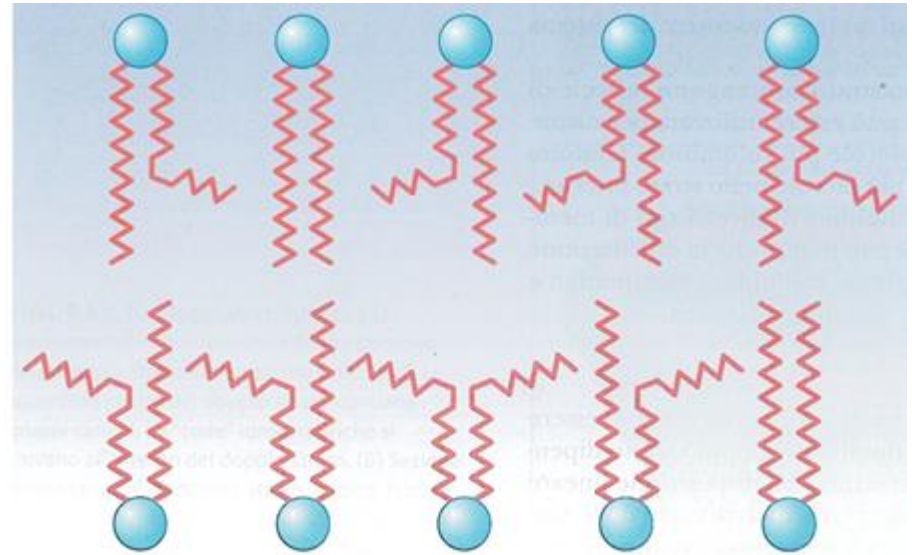
Composizione lipidica delle membrane in cellule epatiche di ratto (% in peso)

| Tipo di lipide | Tipi di membrana | | | | Membrana plasmatica |
|-----------------------|-------------------|--------------------|------------|----------|---------------------|
| | Membrana nucleare | Apparato del Golgi | Mitocondri | Lisosomi | |
| Fosfatidilcolina | 49 | 42 | 38 | 27 | 28 |
| Fosfatidiletanolamina | 13 | 17 | 34 | 9 | 16 |
| Sfingolipidi | 3 | 7 | 0 | 13 | 12 |
| Fosfatidilinositolo | 10 | 10 | 5 | 3 | 6 |
| Fosfatidilserina | 3 | 5 | 0 | 0 | 6 |
| Cardiolipina | 3 | 0 | 17 | 0 | 0 |
| Lipidi minori | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Colesterolo | 15 | 17 | 4 | 33 | 28 |

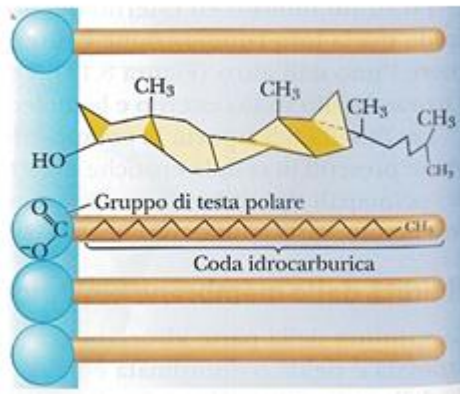
Fluidità delle membrane biologiche



Effetto dei doppi legami sulla conformazione della coda idrocarburica degli acidi grassi



Strato fosfolipidico fluido. Le torsioni delle catene laterali insature impediscono un rigido impaccamento delle porzioni idrocarburiche dei fosfolipidi

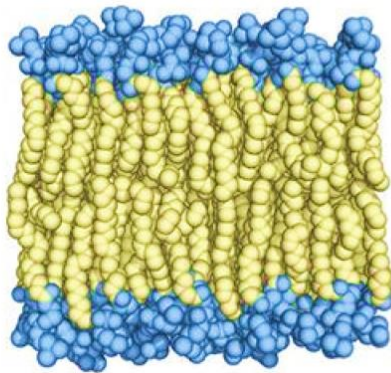


Rigidità del doppio strato lipidico dovuta al colesterolo/ergosterolo

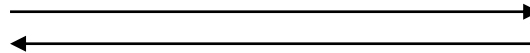
Transizione della fase di gel a cristallo liquido, avviene quando una membrana è riscaldata sopra la temperatura di transizione (T_m)

La temperatura alla quale ha luogo la transizione di fase in un doppio strato lipidico dipende principalmente dalla lunghezza e dal grado di saturazione delle catene aciliche. In generale, quanto più sono lunghe tanto maggiore sarà la temperatura di fusione del doppio strato.

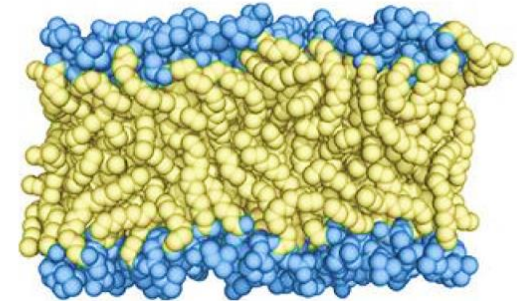
(a) Stato liquido ordinato L_o



Calore che produce un movimento termico delle catene aciliche



(b) Stato liquido disordinato L_d

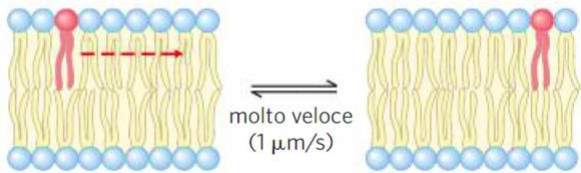


Nello stato liquido ordinato L_o , le teste polari dei lipidi sono disposte uniformemente sulla superficie e le catene aciliche sono quasi immobili e impacchettate secondo una geometria regolare

Nello stato liquido disordinato L_d o stato fluido, le catene aciliche vanno incontro a un intenso movimento termico e non mostrano alcuna organizzazione regolare

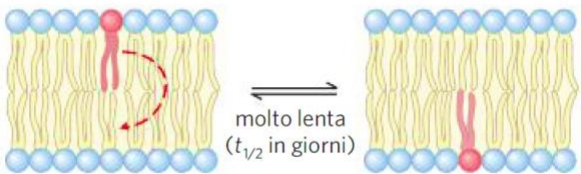
Movimento dei fosfolipidi di membrana

(a) Diffusione laterale non catalizzata

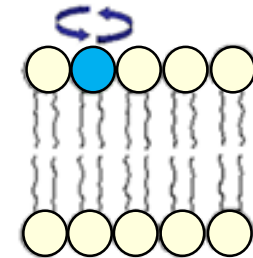


Diffusione laterale non catalizzata
(veloce piegamento delle code idrofobiche degli acidi grassi)

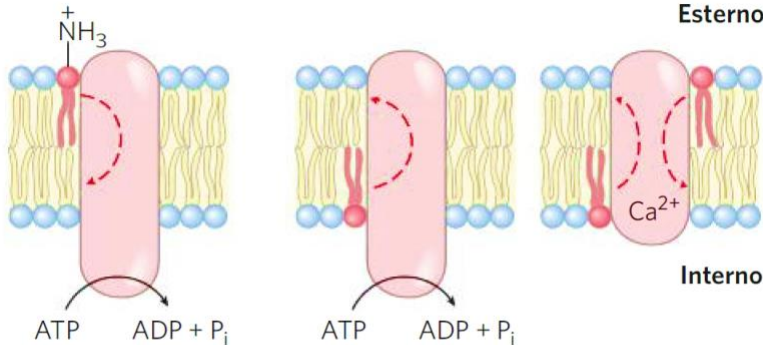
(b) Diffusione trasversale non catalizzata ("flip-flop")



Diffusione trasversale non catalizzata
(flip-flop) molto lento



(c) Traslocazione trasversale catalizzata



Traslocazione trasversale catalizzata
(veloce)

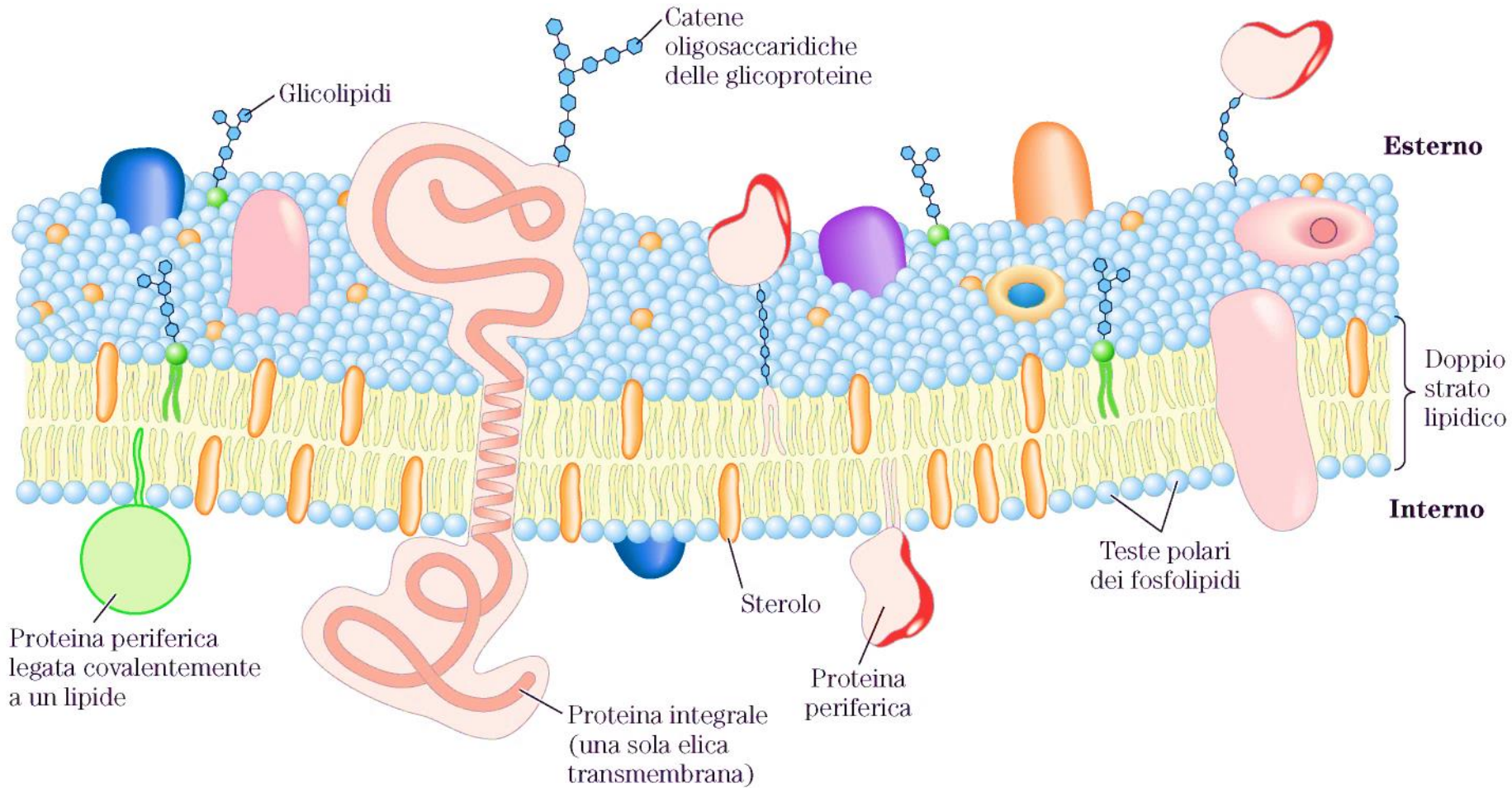
Movimento rotazionale
(veloce)

Flippasi
(ATPasi di tipo P)
trasferisce la PE e la PS
dal foglietto esterno
a quello citosolico

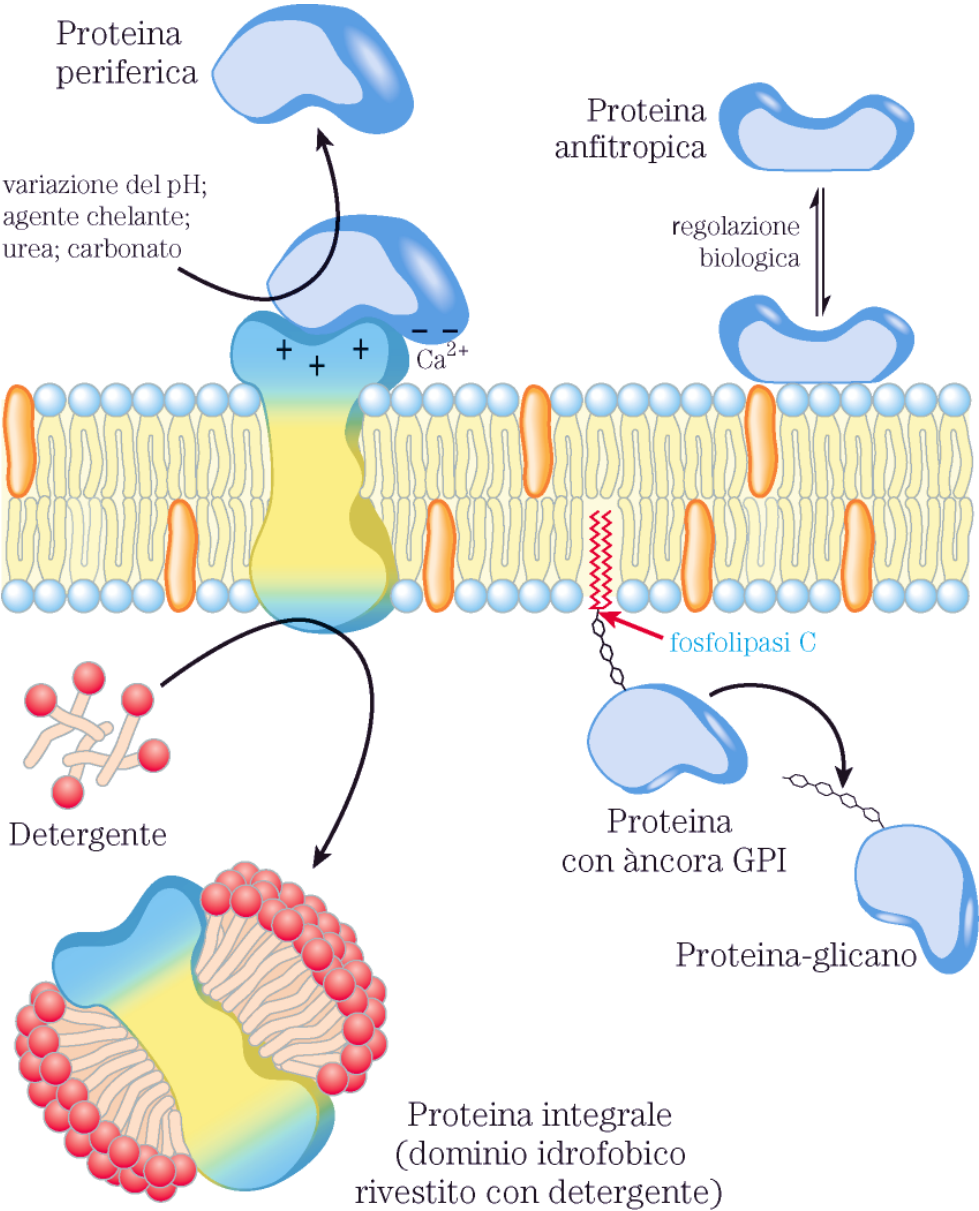
Floppasi
(trasportatore ABC)
trasporta i fosfolipidi
dal lato citosolico
a quello esterno

Scramblasi
trasferisce i lipidi
in ambedue
le direzioni,
verso l'equilibrio

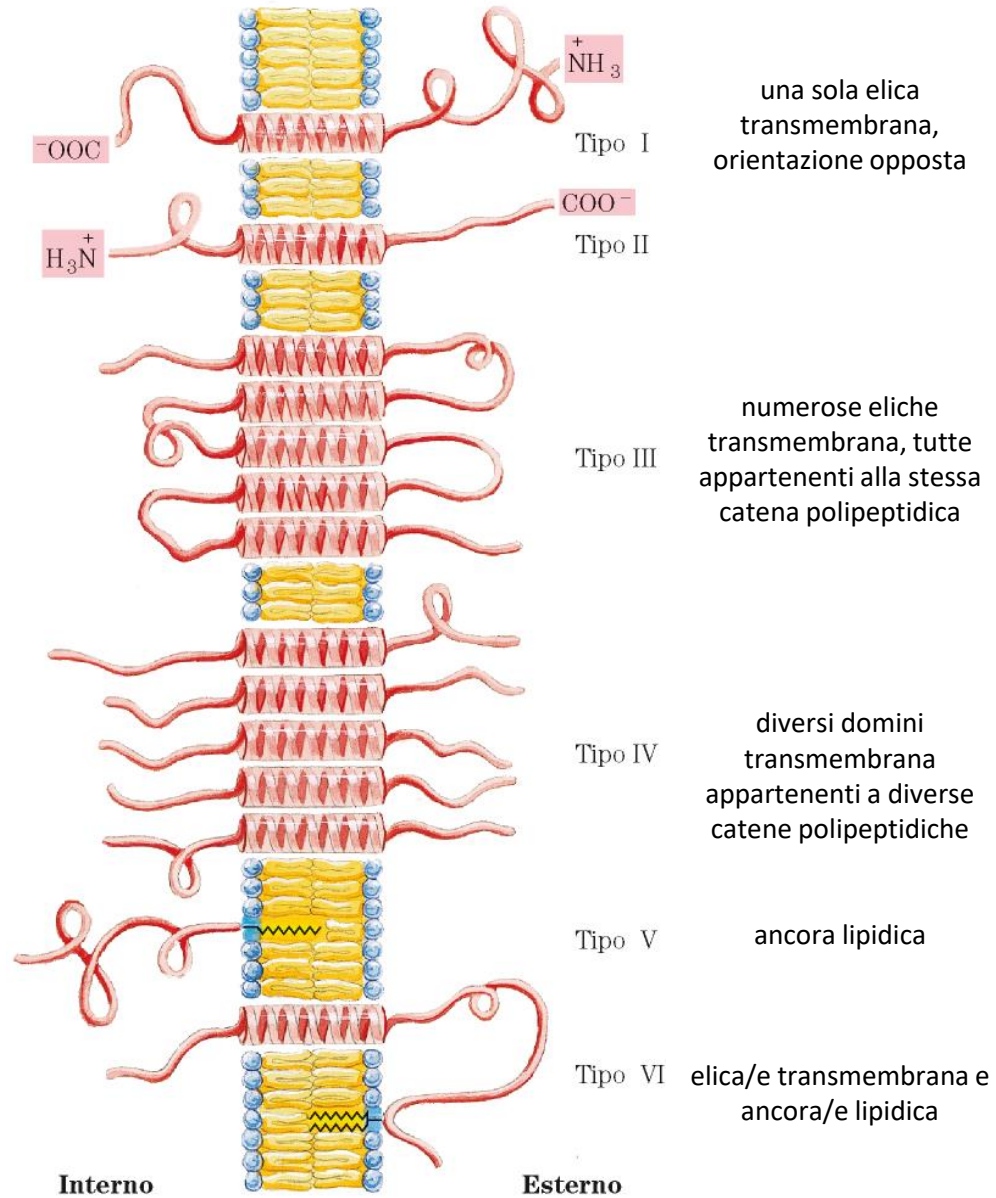
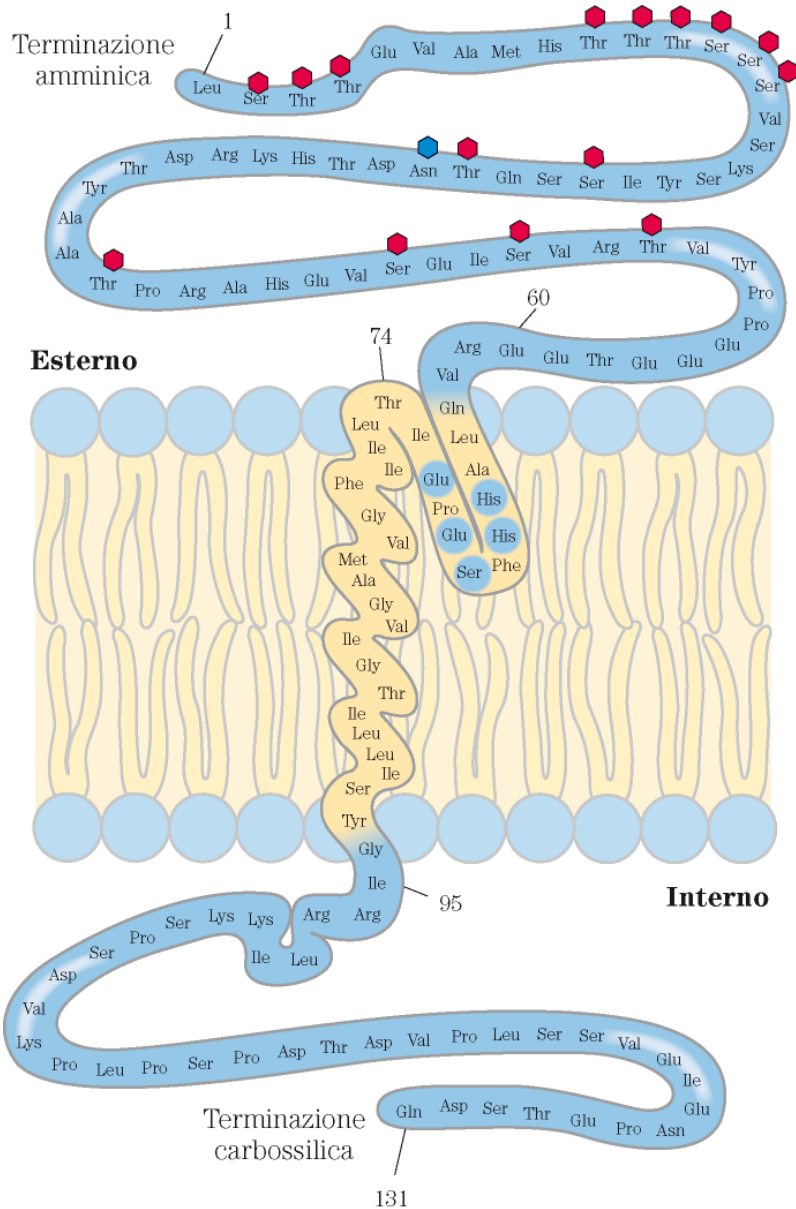
Modello a mosaico fluido della struttura della membrana

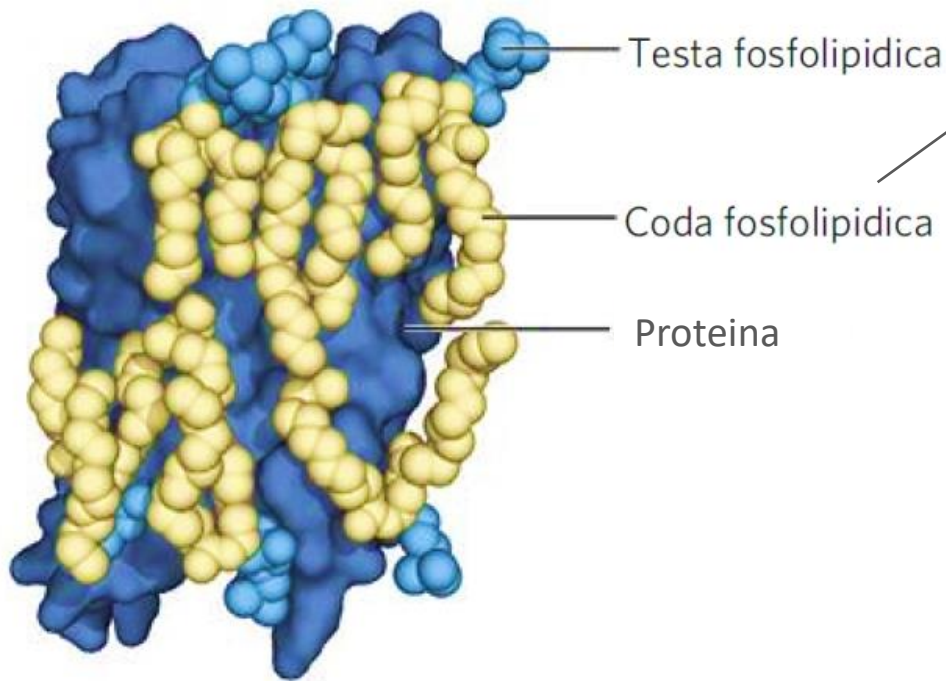


Si possono associare in due modi:
proteine periferiche sulla superficie
della membrana, oppure integrali,
all'interno del doppio strato lipidico.

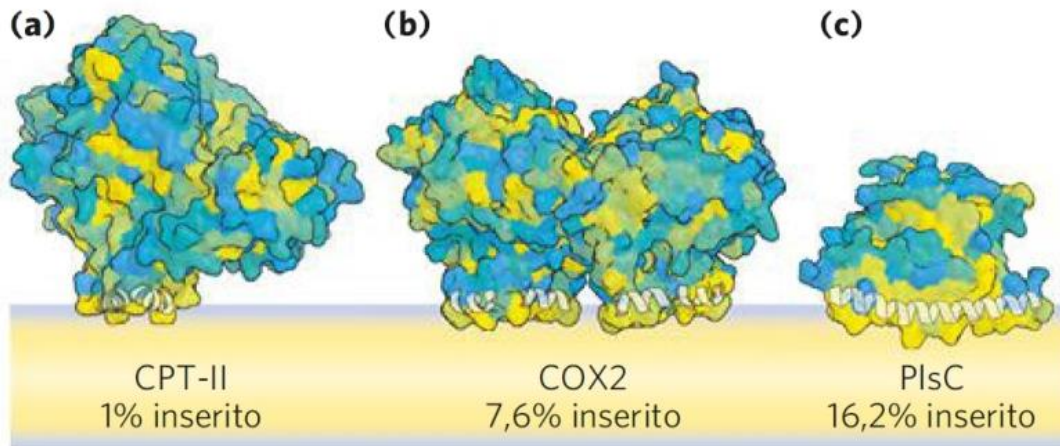
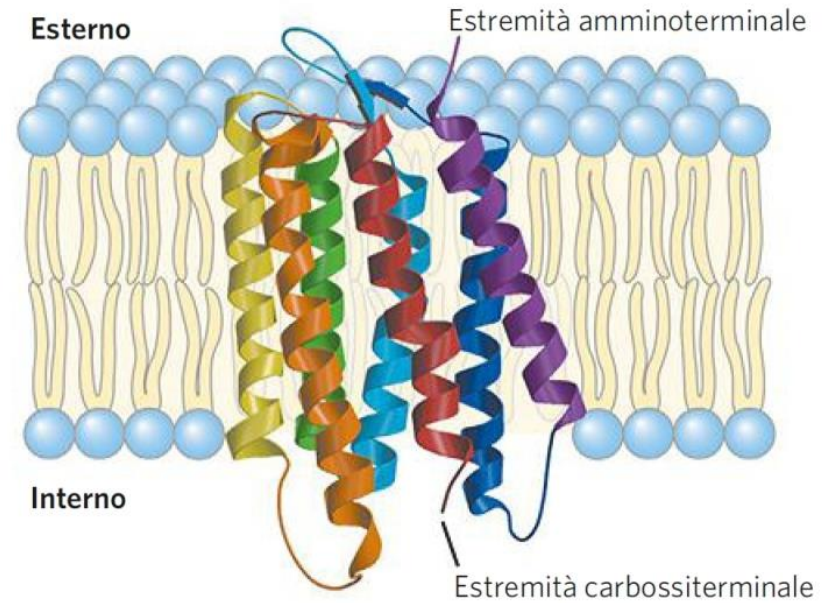


Proteine integrali di membrana



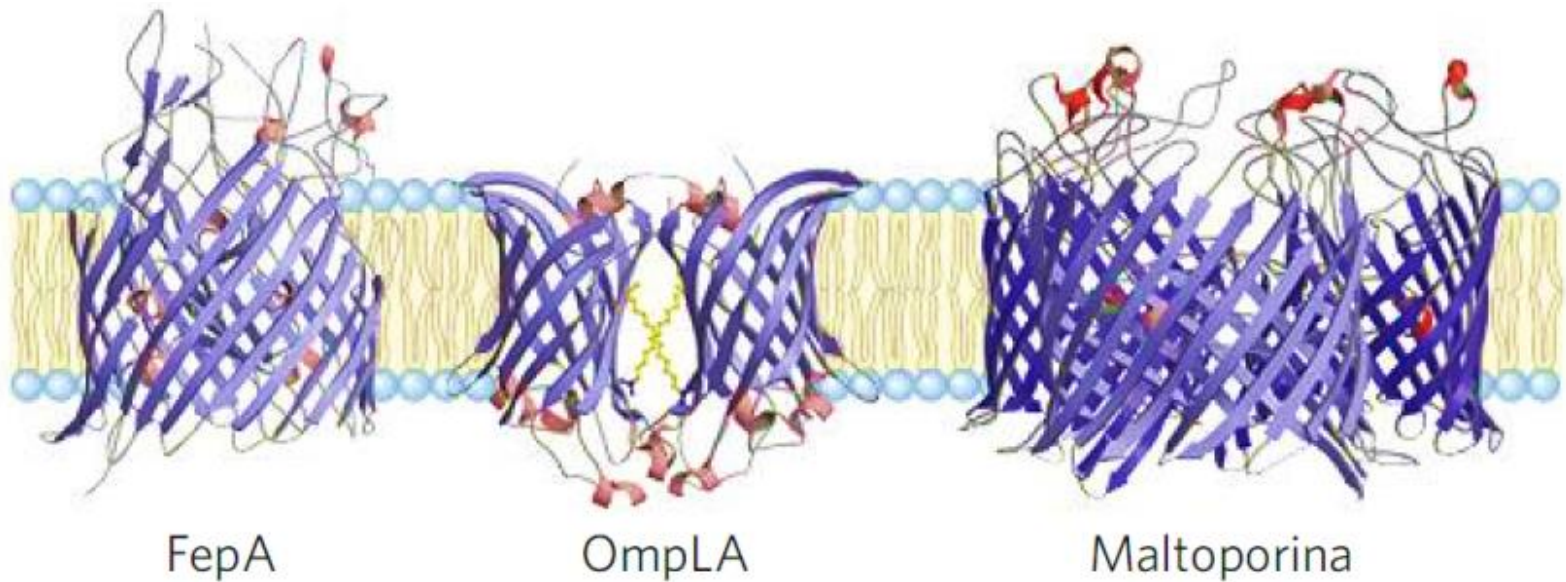


Anelli lipidici associati a una proteina integrale di membrana.



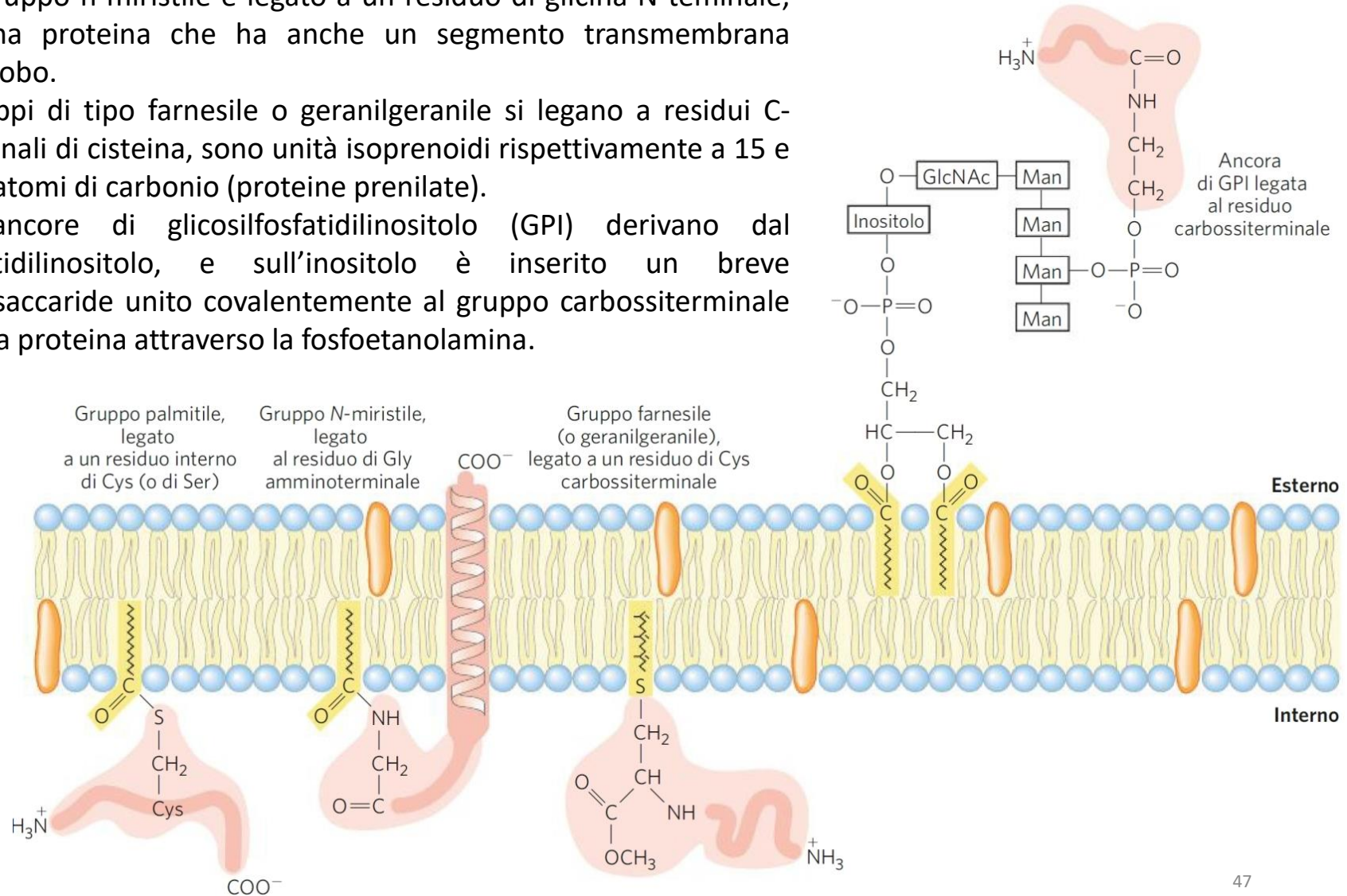
Tre tipiche proteine di membrana che hanno una percentuale relativamente piccola della loro struttura associata ai lipidi di un singolo foglietto del doppio strato

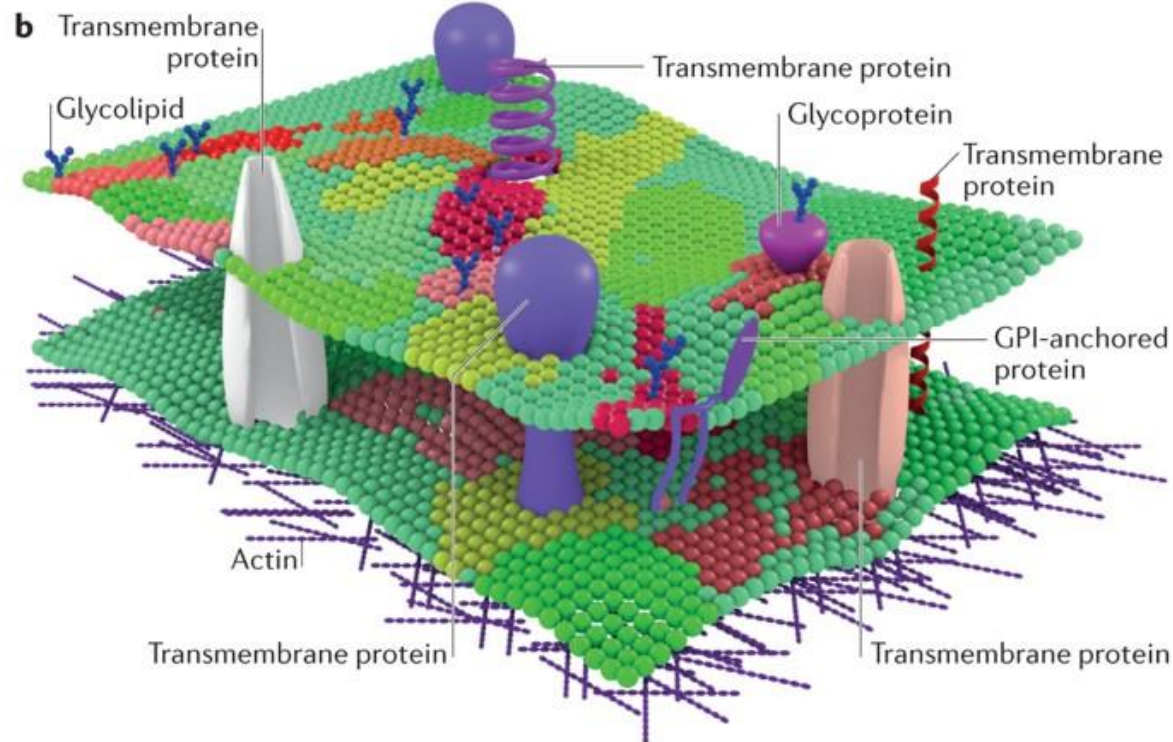
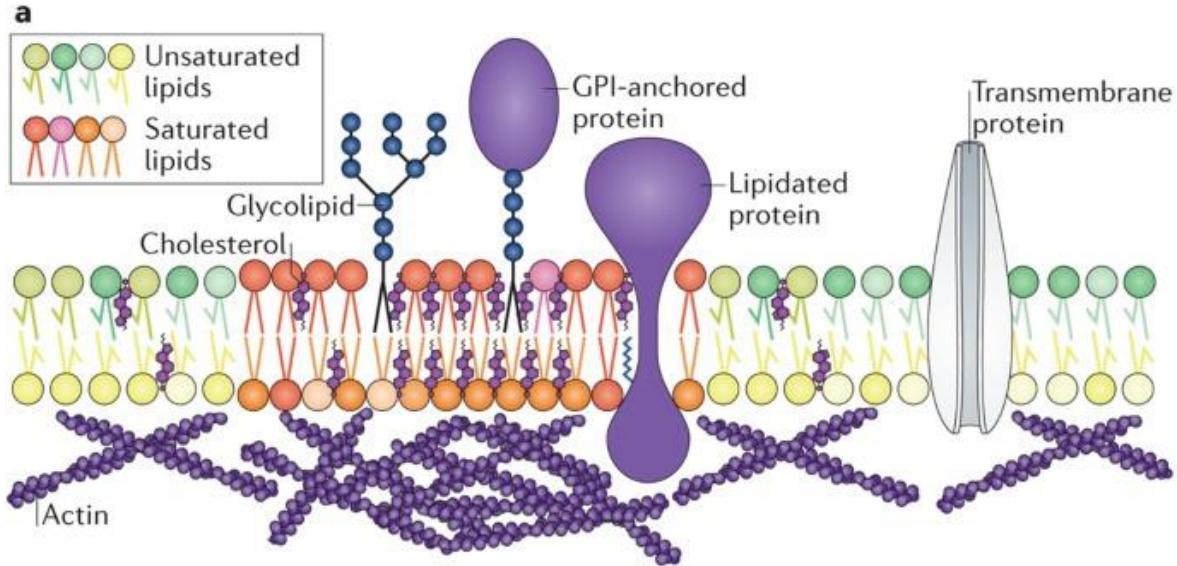
Proteine di membrana con struttura a barile β



I lipidi ancorano le proteine di membrana al doppio strato lipidico:

- Un gruppo palmitile è unito mediante un legame tioestere a un residuo di cisteina.
- Un gruppo n-miristile è legato a un residuo di glicina N-terminale, di una proteina che ha anche un segmento transmembrana idrodobo.
- I gruppi di tipo farnesile o geranilgeranile si legano a residui C-terminali di cisteina, sono unità isoprenoidi rispettivamente a 15 e a 20 atomi di carbonio (proteine prenilate).
- Le ancore di glicosilfosfatidilinositolo (GPI) derivano dal fosfatidilinositolo, e sull'inositolo è inserito un breve oligosaccaride unito covalentemente al gruppo carbossiterminale di una proteina attraverso la fosfoetanolamina.

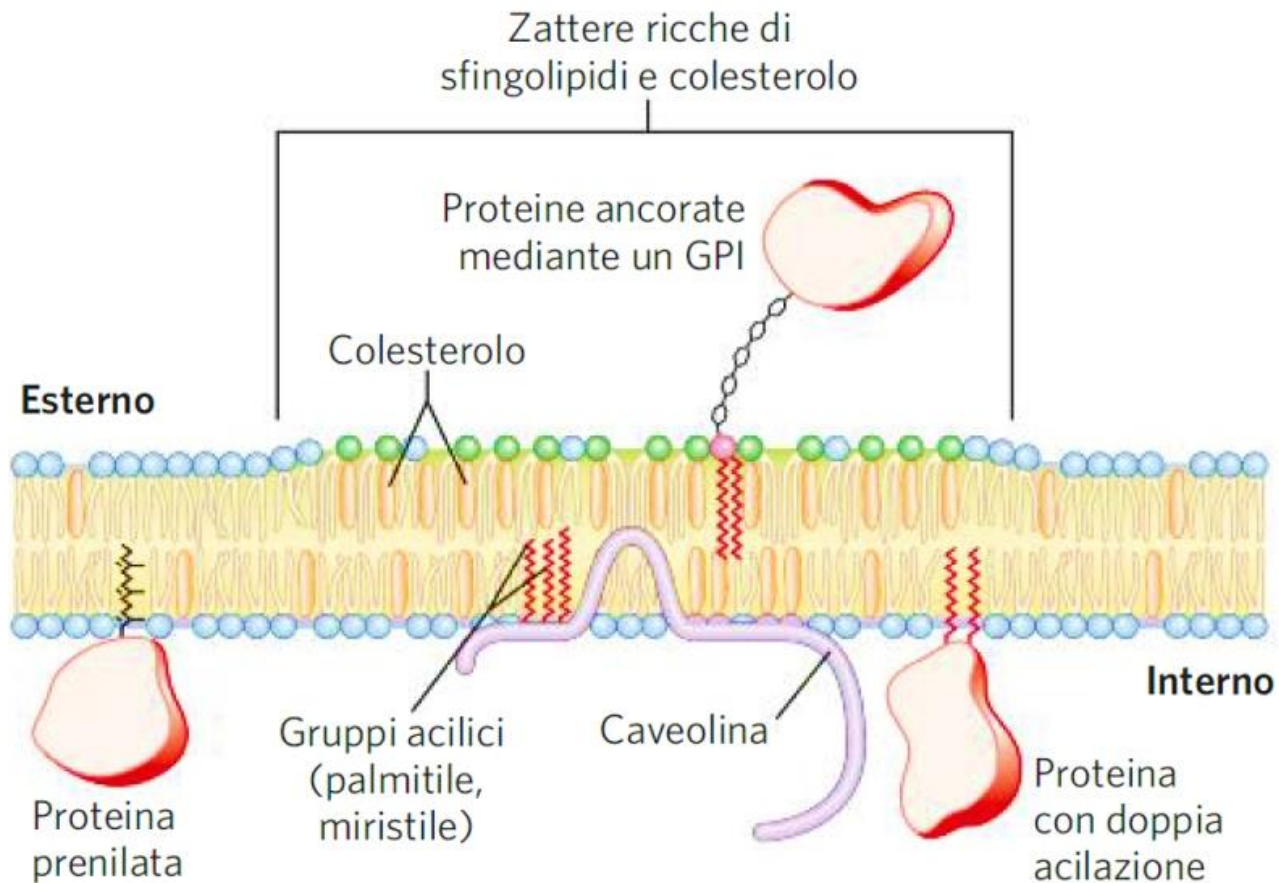




Lipidi e proteine integrali di membrana si associano a formare le cosiddette **zattere lipidiche** che costituiscono unità funzionali su cui si basa la specificità della membrana.

Le zattere lipidiche sono microdomini altamente dinamici e transitori, ricchi di fosfolipidi saturi, sfingolipidi, glicolipidi, colesterolo, proteine e glicosilfosfatidilinositolo.

Erdinc Sezgin, Ilya Levental, Satyajit Mayor and Christian Eggeling. The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *NATURE REVIEWS MOLECULAR CELL BIOLOGY*, VOLUME 18 JUNE 2017 (doi: 10.1038/nrm.2017.16.)
Link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5500228/>

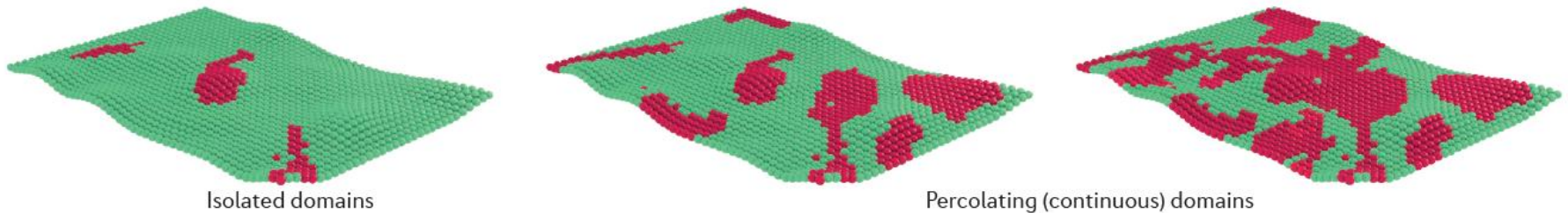


Le zattere lipidiche: le associazioni stabili di sfingolipidi e colesterolo nel foglietto esterno producono dei microdomini, leggermente più densi delle altre regioni di membrana, queste strutture sono ricche di specifici tipi di proteine di membrana. Le proteine ancorate mediante un GPI si trovano principalmente nel foglietto esterno di ogni zattera mentre le proteine con una o più catene lunghe di gruppi acilici legate covalentemente sono comuni nel foglietto interno. Una particolare sottoclasse di zattere lipidiche è costituita dalle caveole, invaginazioni della membrana plasmatica del diametro. Queste sono forme specializzate di zattere lipidiche che si associano a specifiche proteine integrali di membrana denominate caveoline.

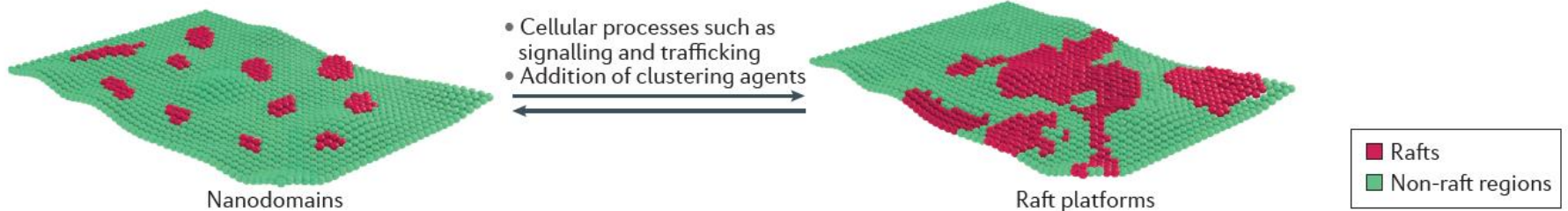
Modelli di membrane con diversa disposizione delle zattere lipidiche

può variare ampiamente, da piccoli domini isolati a zattere di dimensioni maggiori

a Varying raft coverage



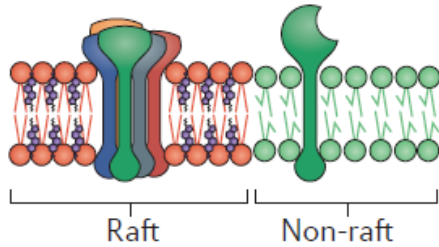
b Raft clustering and declustering



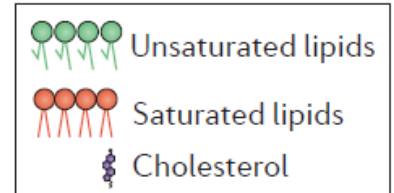
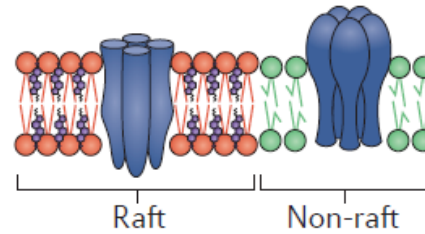
Le dimensioni e/o la durata dei singoli domini possono essere influenzate da diverse condizioni cellulari specifiche come il ciclo cellulare, endocitosi ed esocitosi, il metabolismo lipidico. Inoltre, l'associazione anticorpi e tossine ai loro recettori possono promuovere la formazione di grandi domini di membrana.

Funzioni delle zattere lipidiche

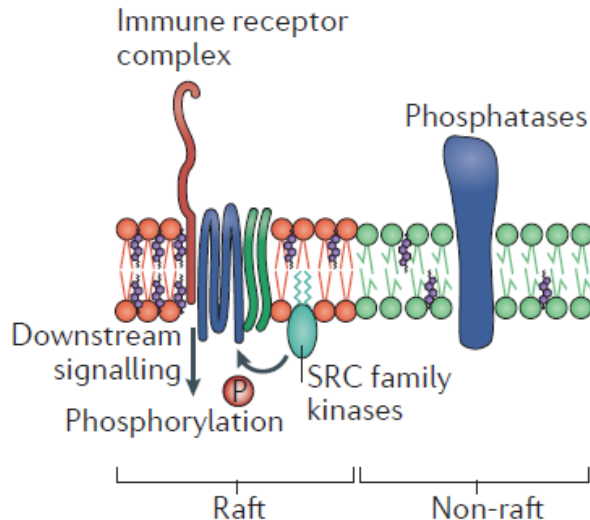
a Increasing the concentration of signalling molecules



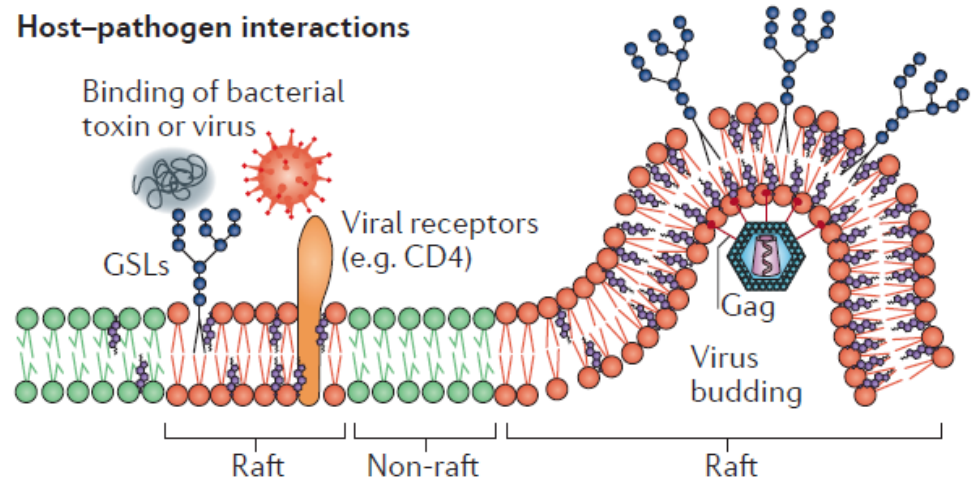
Induction of a conformational change



b Immune signalling



Host-pathogen interactions



Una possibilità è correlata al ambienti fisico-chimici fornito dalle zattere lipidiche che potrebbero influenzare direttamente la conformazione delle proteine e quindi regolare la loro attività.

Funzioni delle membrane:

Trasporto

Attivo:

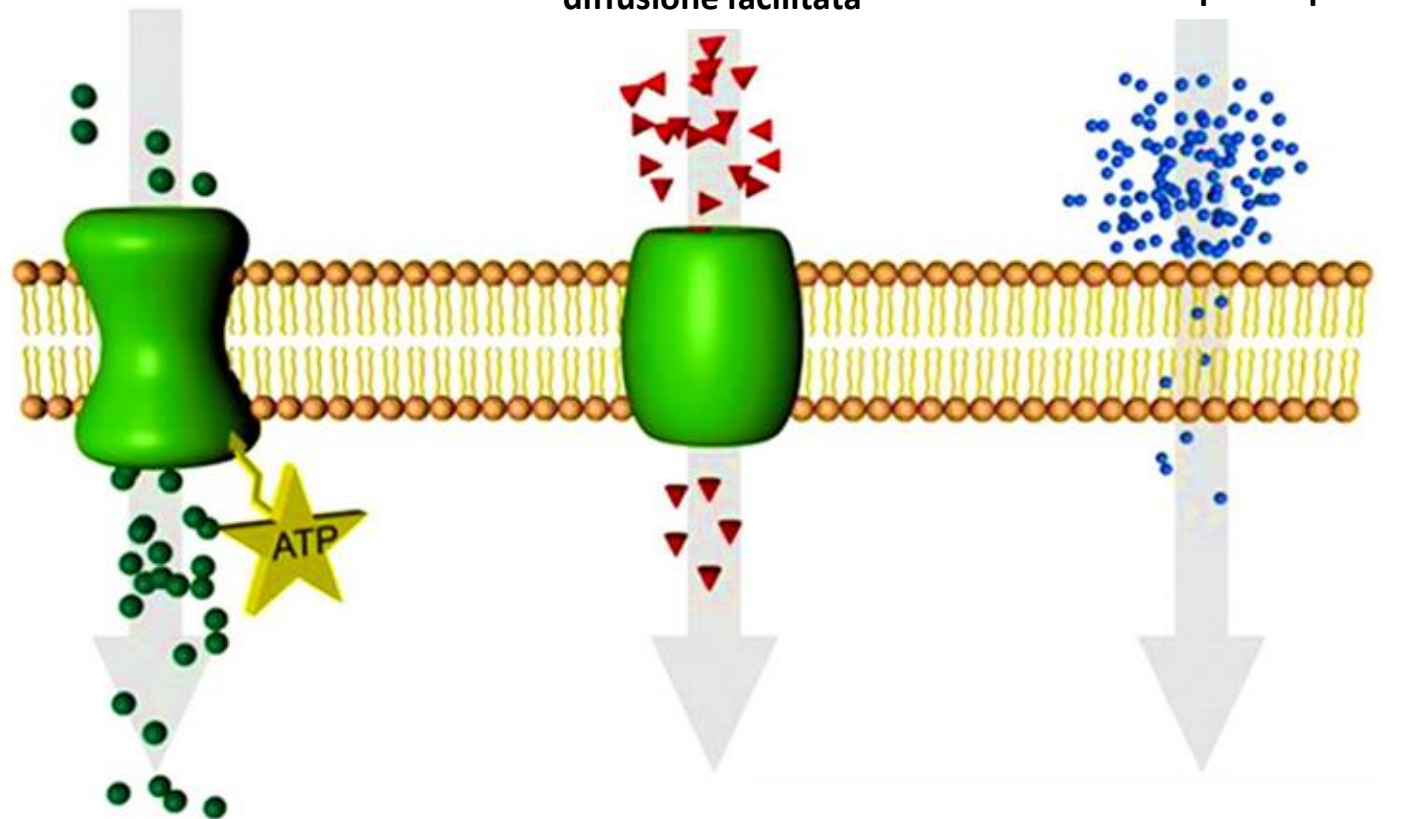
- trasporto attivo primario
- trasporto attivo secondario

Passivo:

- diffusione semplice o passiva
- diffusione facilitata

Trasporto passivo

Trasporto attivo

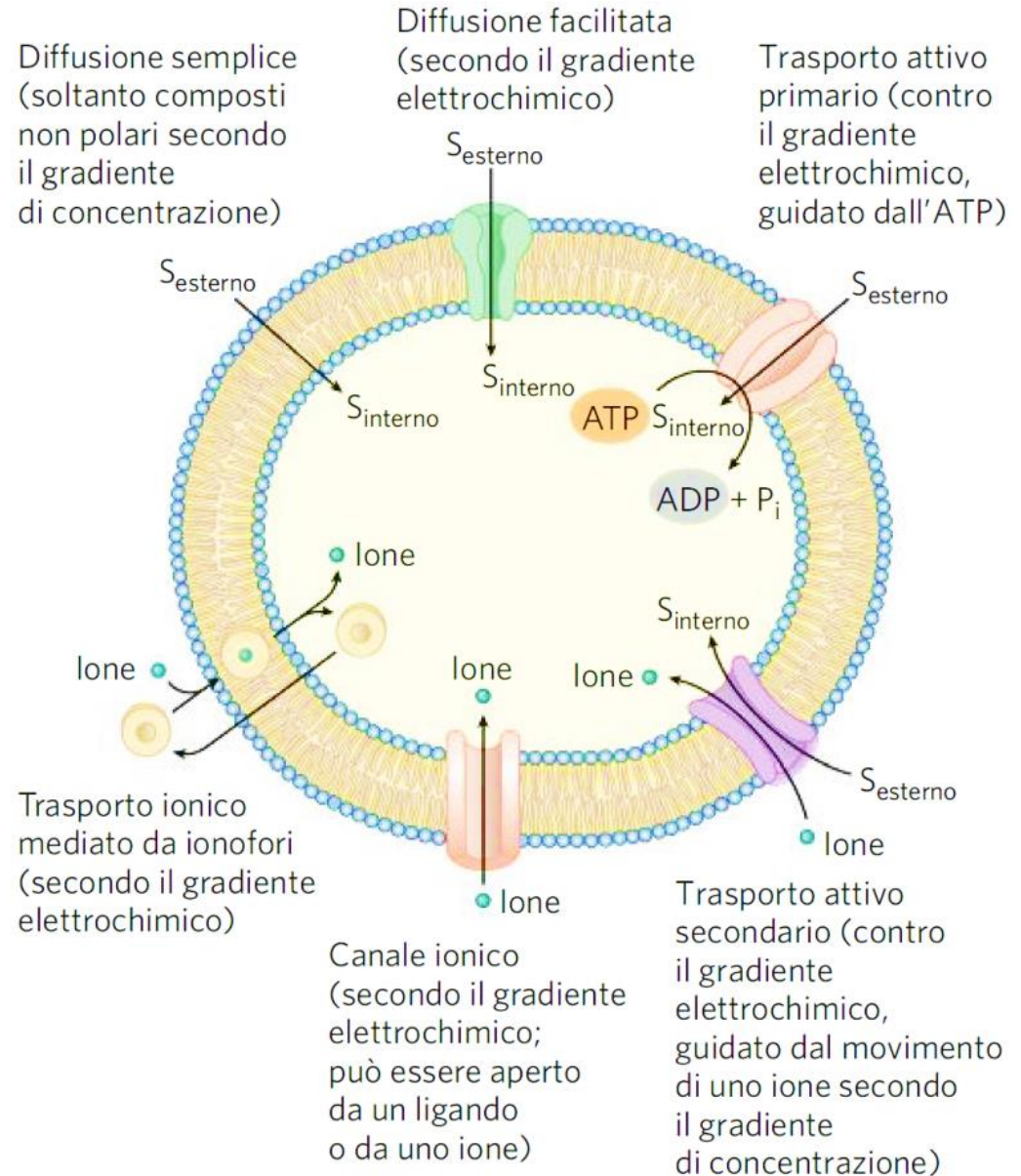


Sistemi di trasporto

All'interno della cellula eucariotica i vari compartimenti hanno diverse concentrazioni di ioni e di intermedi metabolici, che a loro volta devono attraversare le membrane intracellulari secondo processi strettamente regolati.

Qualunque composto polare, ione, ha bisogno di una proteina di trasporto di membrana.

In alcuni casi la proteina di membrana facilita il trasporto all'interno della cellula secondo il gradiente di concentrazione, ma accade spesso che il trasporto avvenga contro un gradiente di concentrazione, di cariche elettriche o di entrambi. In questi casi il processo di trasporto richiede energia.

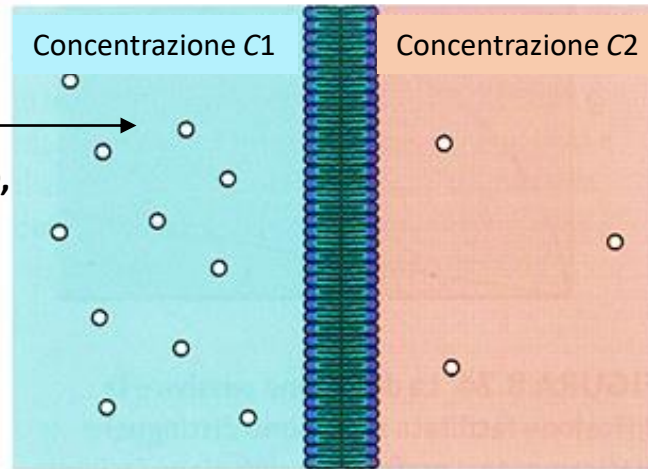


Trasporto passivo

Diffusione semplice

Diffusione passiva di una specie non carica attraverso la membrana dipende solo dalle concentrazione C_1 e C_2 sui due lati della membrana

Lato 1 Membrana Lato 2



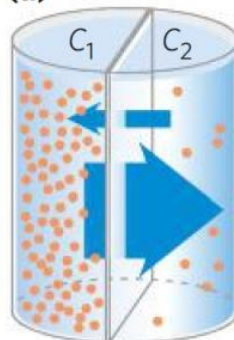
Gas: O_2 , N_2 , CO_2

Piccole molecole polari
prive di carica: etanolo, H_2O ,
glicerolo

$$\Delta G = RT \ln [C_2]/[C_1]$$

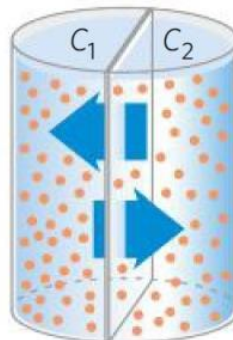
Soluto elettricamente neutro

(a)



$C_1 \gg C_2$

Prima
dell'equilibrio
Flusso netto

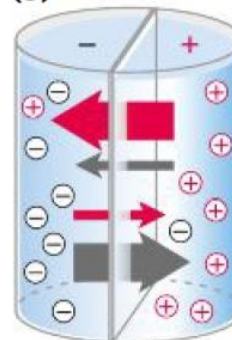


$C_1 = C_2$

All'equilibrio
Flusso netto
pari a zero

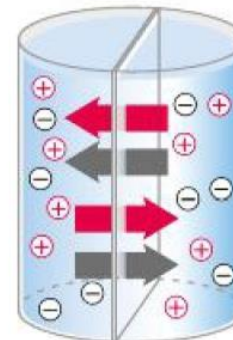
Soluto elettricamente carico

(b)



$V_m > 0$

Prima
dell'equilibrio

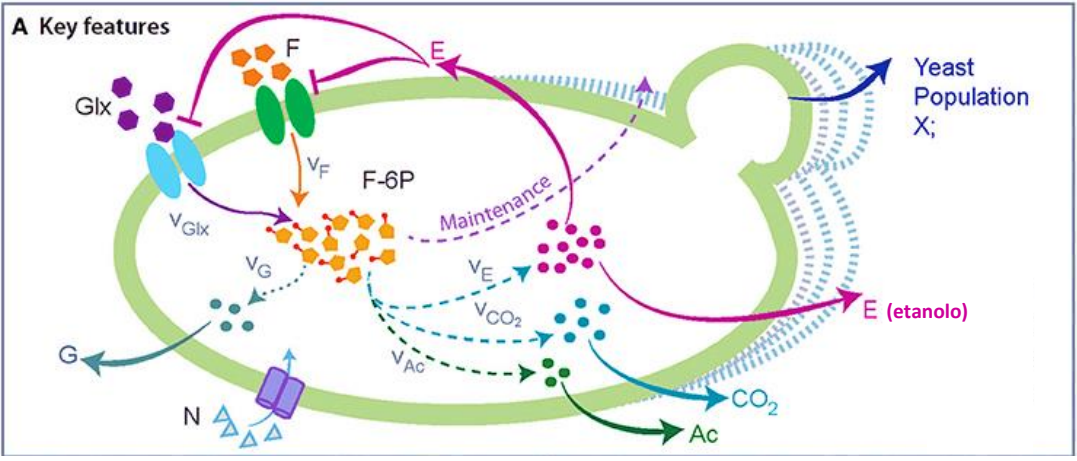


$V_m = 0$

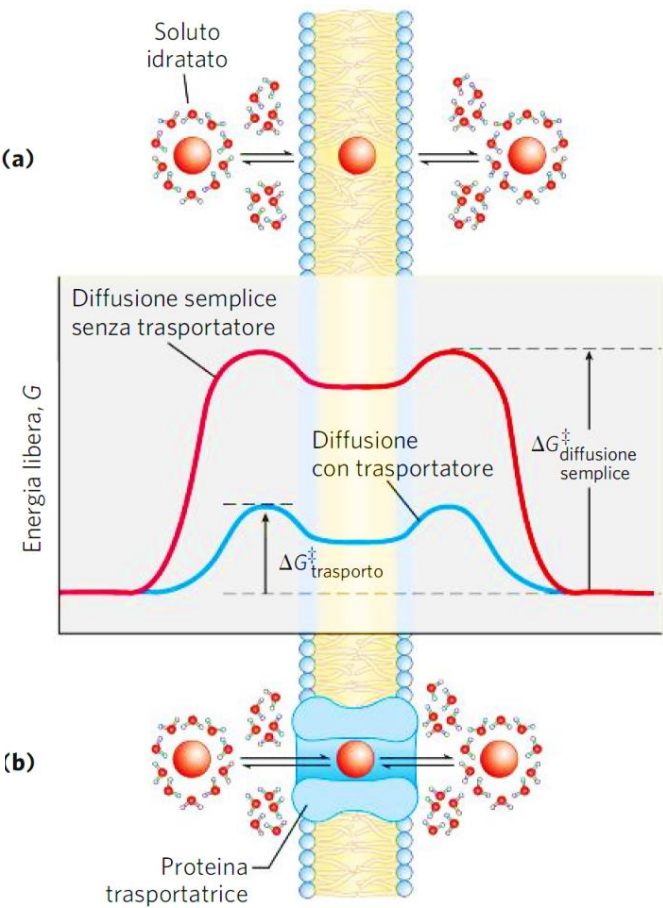
All'equilibrio

Trasporto passivo

Diffusione facilitata



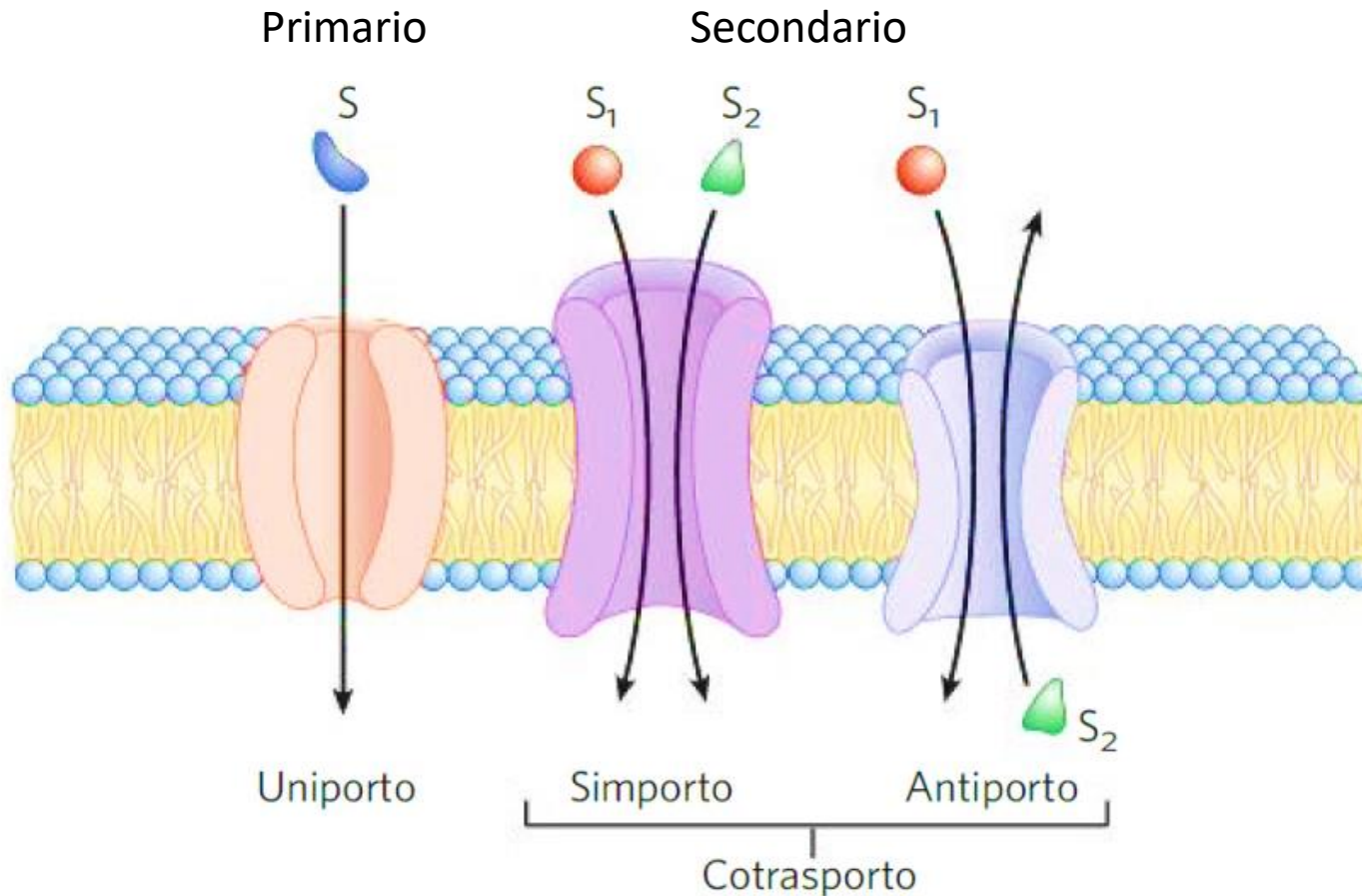
Modificato da: David Henriques *et al.*, *Saccharomyces cerevisiae* and *S. kudriavzevii* Synthetic Wine Fermentation Performance Dissected by Predictive Modeling. *Front. Microbiol.*, 02 February 2018

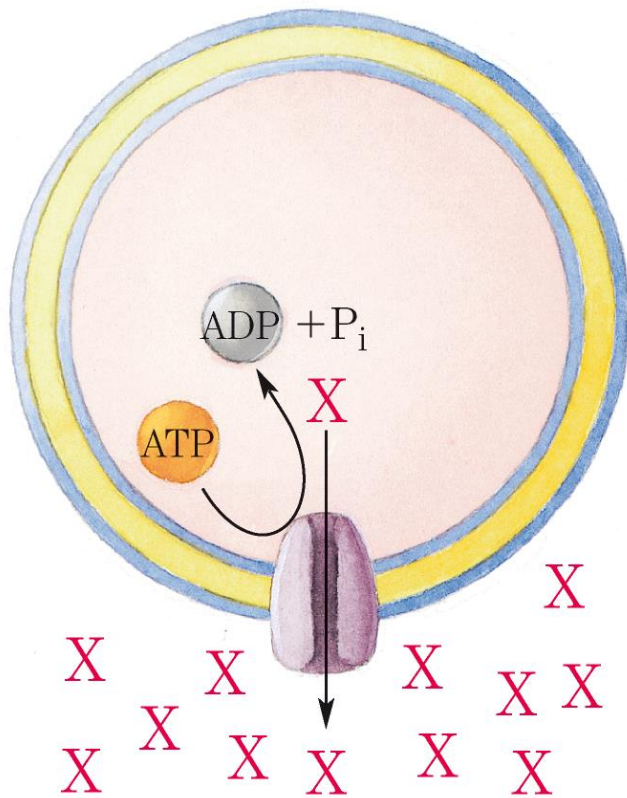


Diffusione facilitata, il glucosio entra in una cellula di lievito mediante una proteina glucosio permeasi utilizzando il suo gradiente di concentrazione tramite un trasporto passivo facilitato. La traslocazione di una molecola di zucchero all'interno della cellula richiede prima il legame e poi il riconoscimento dello zucchero da parte del trasportatore.

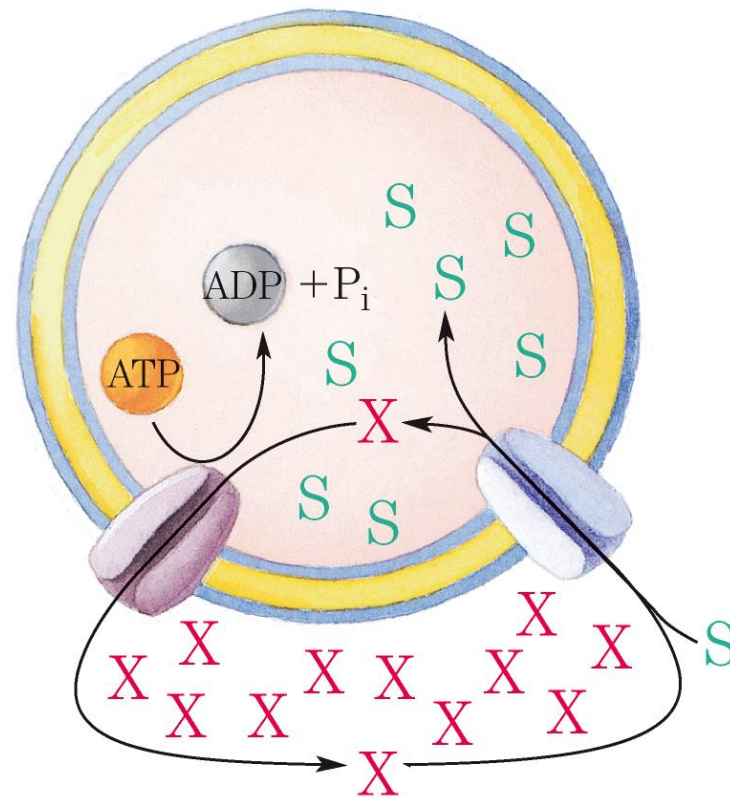
Nella diffusione semplice la rimozione delle molecole di acqua di idratazione è fortemente endoergonica e l'energia di attivazione $\Delta G^{\circ'}$ per la diffusione attraverso il doppio strato è molto elevata. Una proteina trasportatrice riduce il valore di $\Delta G^{\circ'}$ per la diffusione transmembrana del soluto.

Le tre classi generali di sistemi di trasporto attivo primario e secondario





(a) Trasporto attivo primario



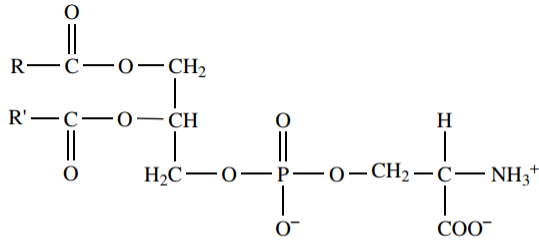
(b) Trasporto attivo secondario

(a) Nel trasporto attivo primario l'energia rilasciata dall'idrolisi dell'ATP guida il movimento del soluto **X** contro un gradiente elettrochimico.

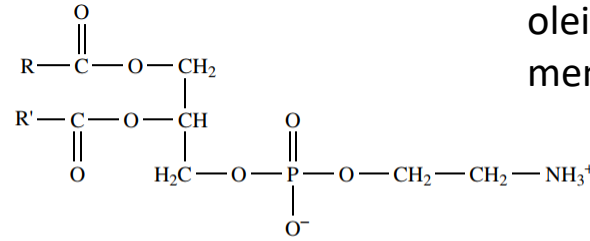
(b) Nel trasporto attivo secondario il gradiente di uno ione **X** viene stabilito da un trasporto attivo primario. Il movimento di **X**, secondo il suo gradiente elettrochimico, fornisce l'energia necessaria per il co-trasporto di un secondo soluto **S** contro gradiente elettrochimico.

La membrana plasmatica di *S. cerevisiae* contiene circa il 40% di lipidi e il 50% di proteine

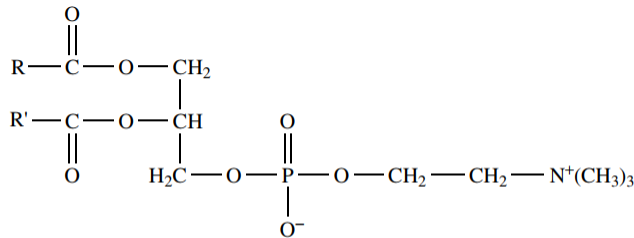
La frazione lipidica in *S. cerevisiae*, in condizioni di fermentazione, è essenzialmente formata da trigliceridi, fosfogliceridi (acido palmitico, acido oleico, acido linolenico) e steroli di membrana.



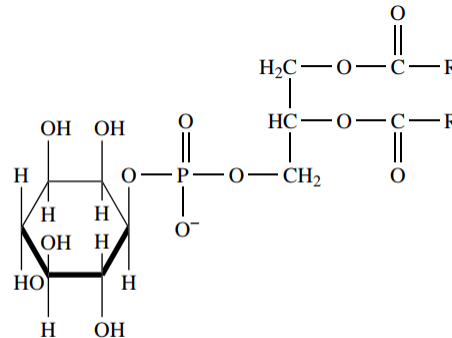
Fosfatidilserina



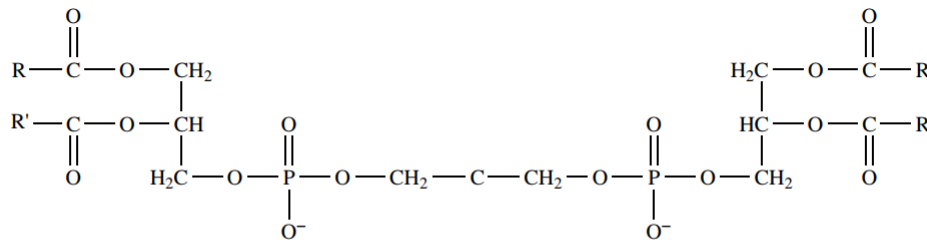
Fosfatidiletanolamina



Fosfatidilcolina



Fosfatidilinositolo



Difosfatidil glicerolo (cardiolipina)

Gli acidi grassi dei fosfolipidi di membrana contengono da 14 a 24 atomi di carbonio. I più abbondanti sono gli acidi C16 e C18

Rappresentano il 70-85% del totale:

- Fosfatidiletanolamina
- Fosfatidilcolina
- Fosfatidilinositolo

Poco diffuso:

- Fosfatidilserina
- Cardiolipina

Fig. 1.5. Yeast membrane phospholipids

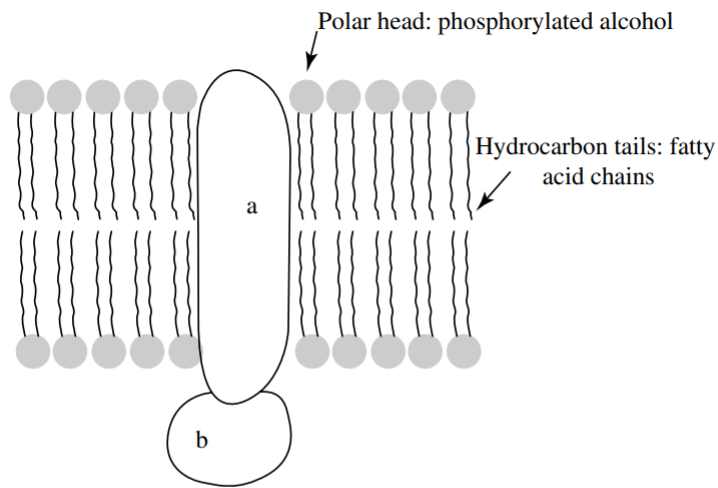


Fig. 1.6. A membrane lipid bilayer. The integral proteins (a) are strongly associated to the non-polar region of the bilayer. The peripheral proteins (b) are linked to the integral proteins

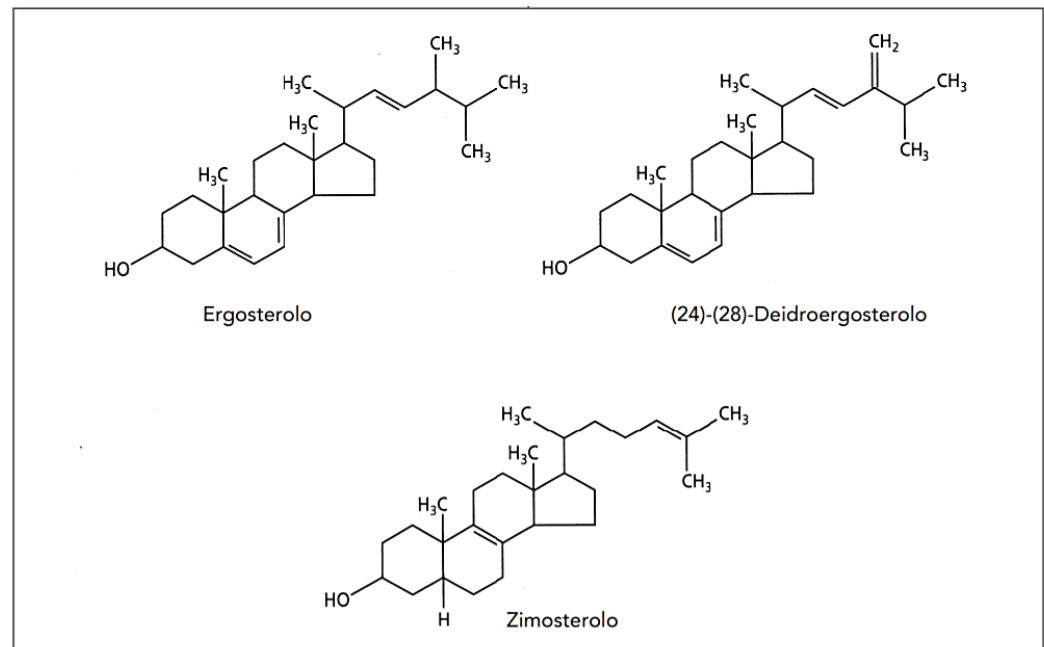


Fig. 1.7 - I principali steroli di membrana dei lieviti.

La membrana plasmatica costituisce una barriera idrofobica tra il citoplasma e l'ambiente esterno alla cellula, controlla anche gli scambi tra la cellula e il mezzo. La membrana plasmatica contiene anche numerosi proteine o glicoproteine con diversi pesi molecolari (da 10.000 a 120.000 Da)

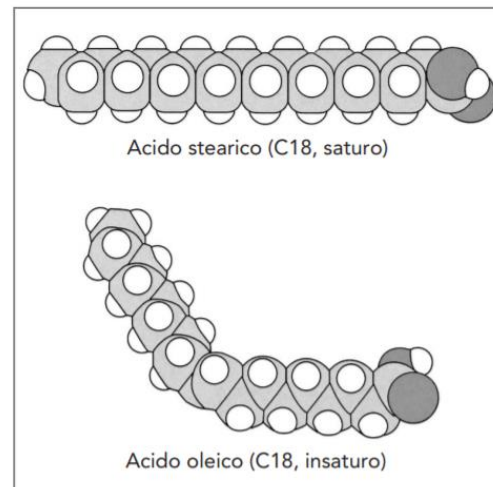
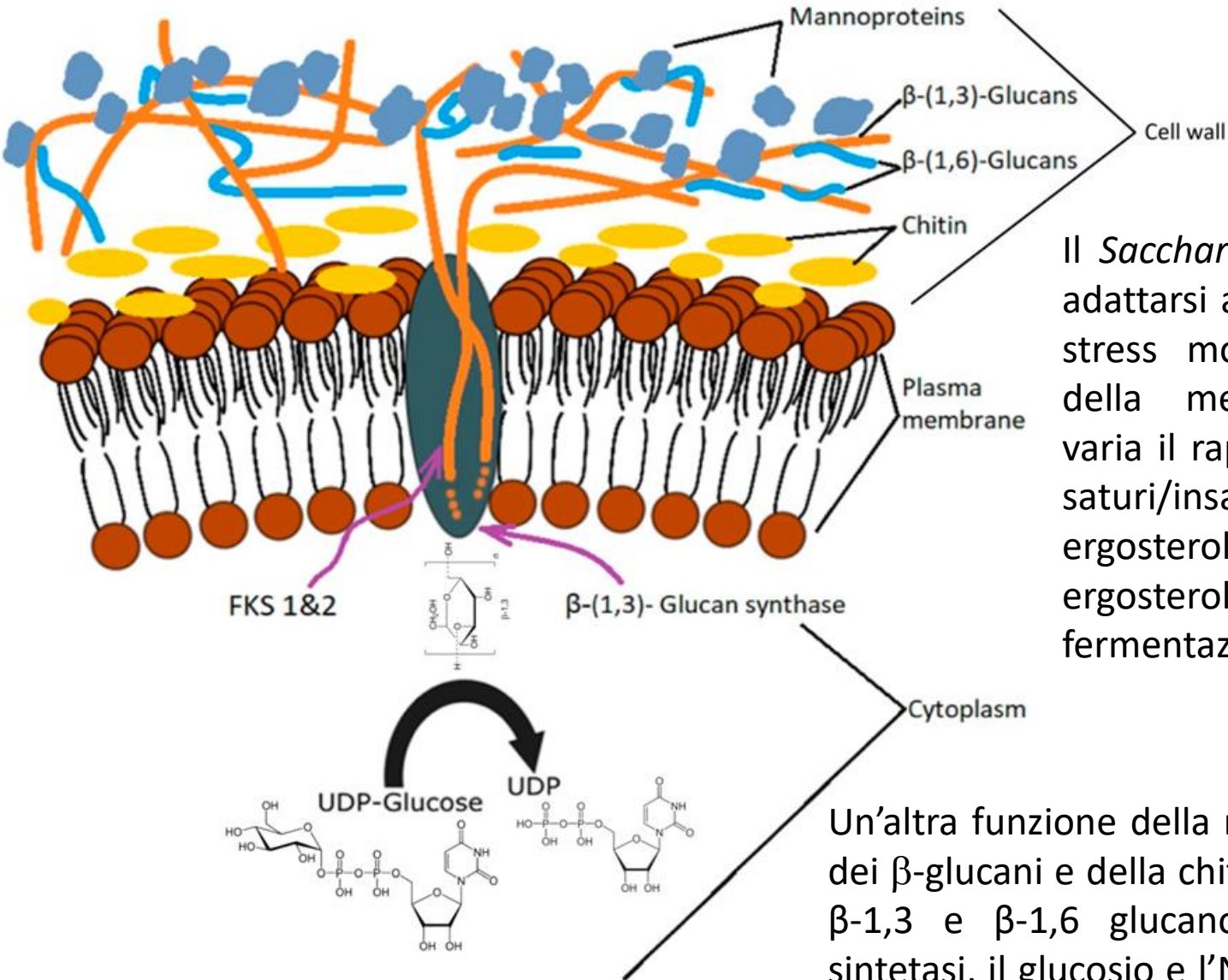


Fig. 1.8 - Modelli molecolari della struttura tridimensionale dell'acido stearico e dell'acido oleico. La configurazione cis del doppio legame dell'acido oleico determina la curvatura della catena di atomi di carbonio.

L'ergosterolo è lo sterolo primario della membrana plasmatica del lievito. In quantità minori, esistono anche il deidroergosterolo e lo zimosterolo.

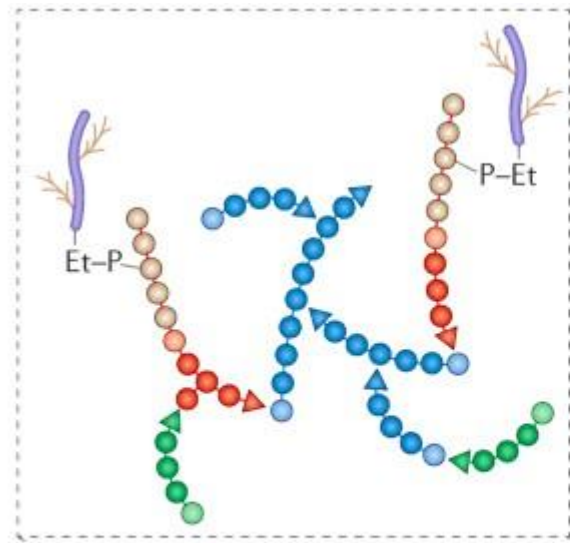
Gli steroli sono sintetizzati nei mitocondri esclusivamente in aerobiosi, durante la fase di crescita dei lieviti.

Funzioni della membrana del lievito



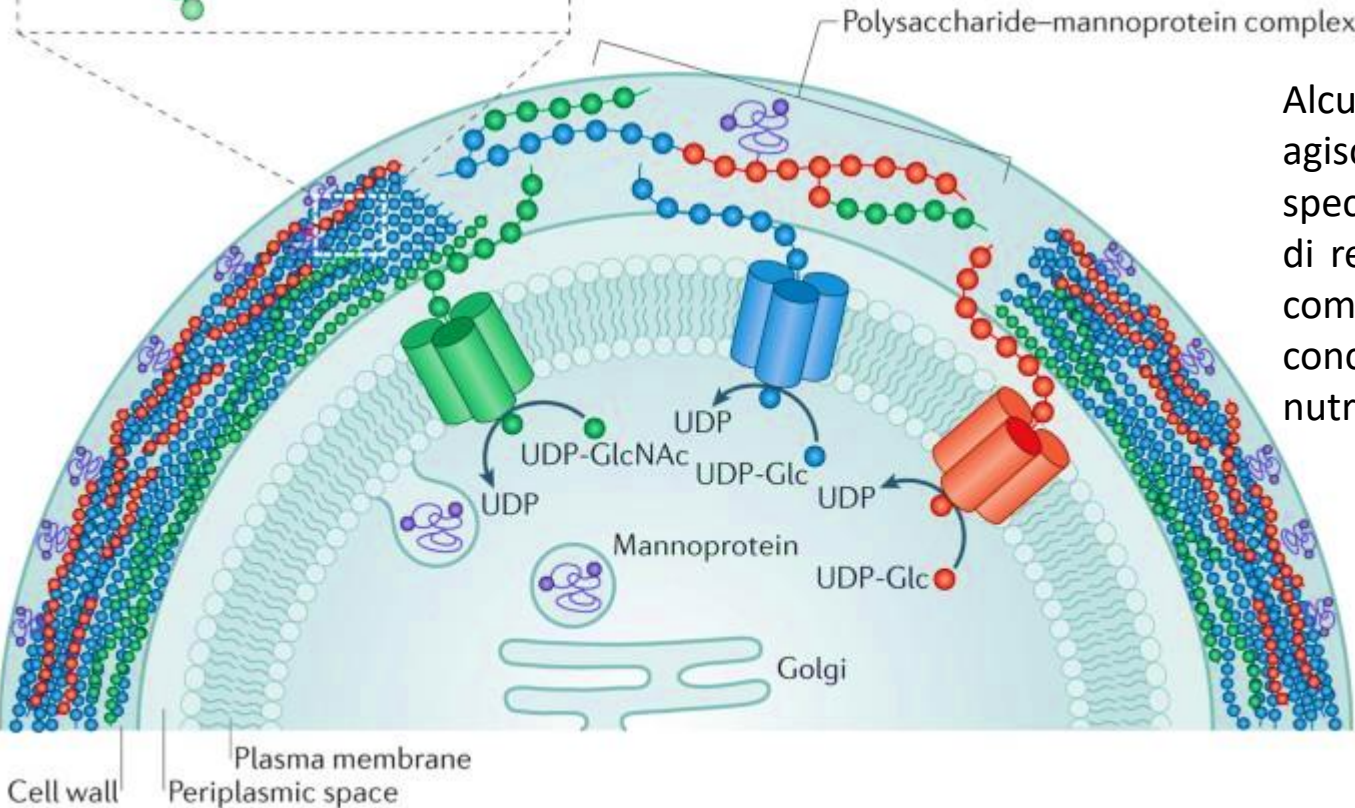
Il *Saccharomyces* è in grado di adattarsi a diverse condizioni di stress modificando la fluidità della membrana plasmatica, varia il rapporto tra acidi grassi saturi/insaturi ed il contenuto di ergosterolo. In mancanza di ergosterolo si ha l'arresto della fermentazione alcolica.

Un'altra funzione della membrana è la sintesi dei β -glucani e della chitina, grazie agli enzimi β -1,3 e β -1,6 glucano sintetasi e chitina sintetasi, il glucosio e l'N-acetil-glucosammina vengono polimerizzati a partire dalle loro forme attivate (UDP).



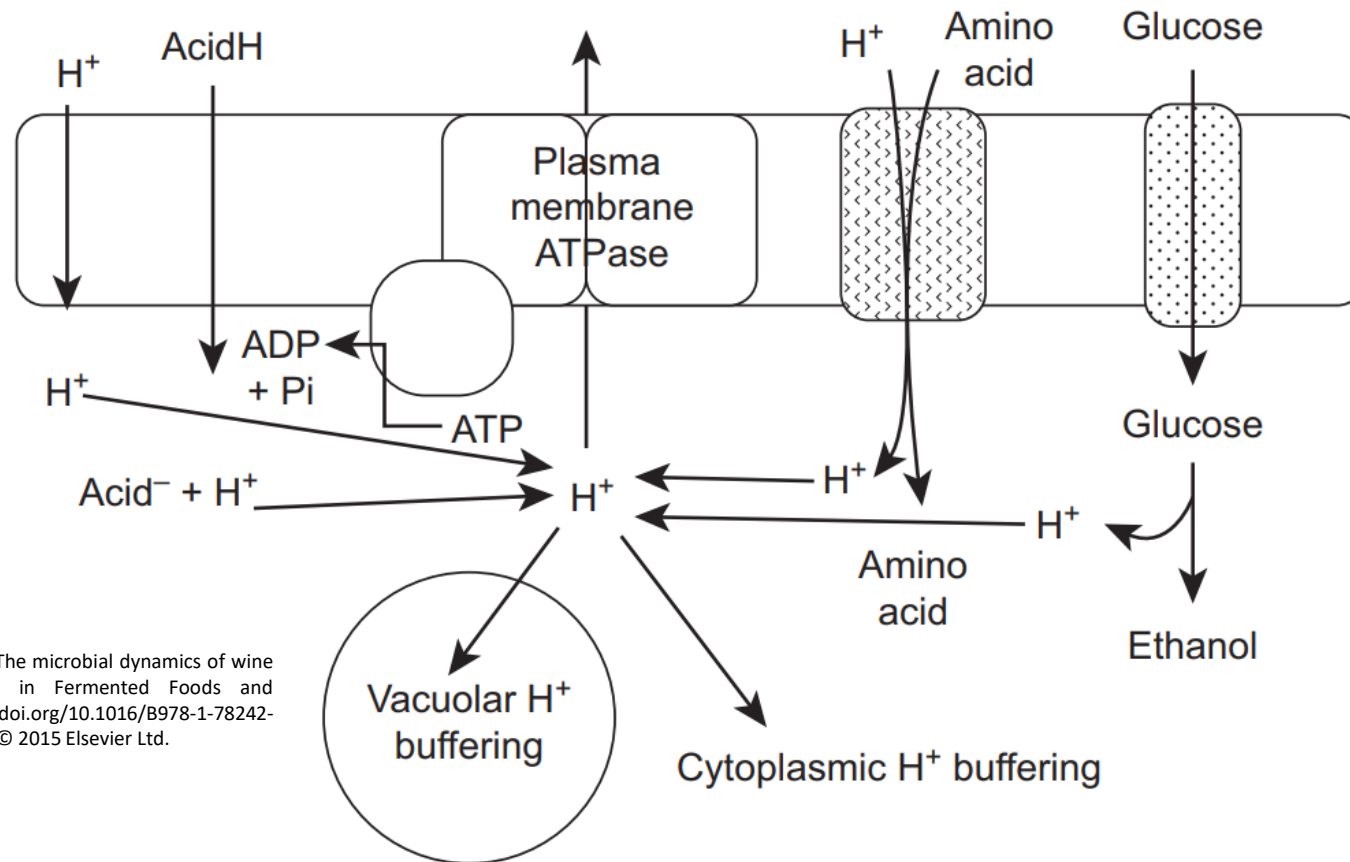
- β -1,3-glucan
- β -1,6-glucan
- Chitin
- Mannose
- Protein

Le mannoproteine sono essenzialmente prodotte nel reticolo endoplasmatico/apparato del Golgi e trasportate da vescicole lipidiche che, fondendosi con la membrana plasmatica, depositano il loro contenuto all'esterno.



Alcune proteine di membrana agiscono come recettori cellulari specifici, che permettono al lievito di reagire a diversi stimoli esterni come i cambiamenti di concentrazione esterna dei nutrienti.

Ruolo centrale dell'ATPasi della membrana plasmatica nel mantenimento dell'omeostasi

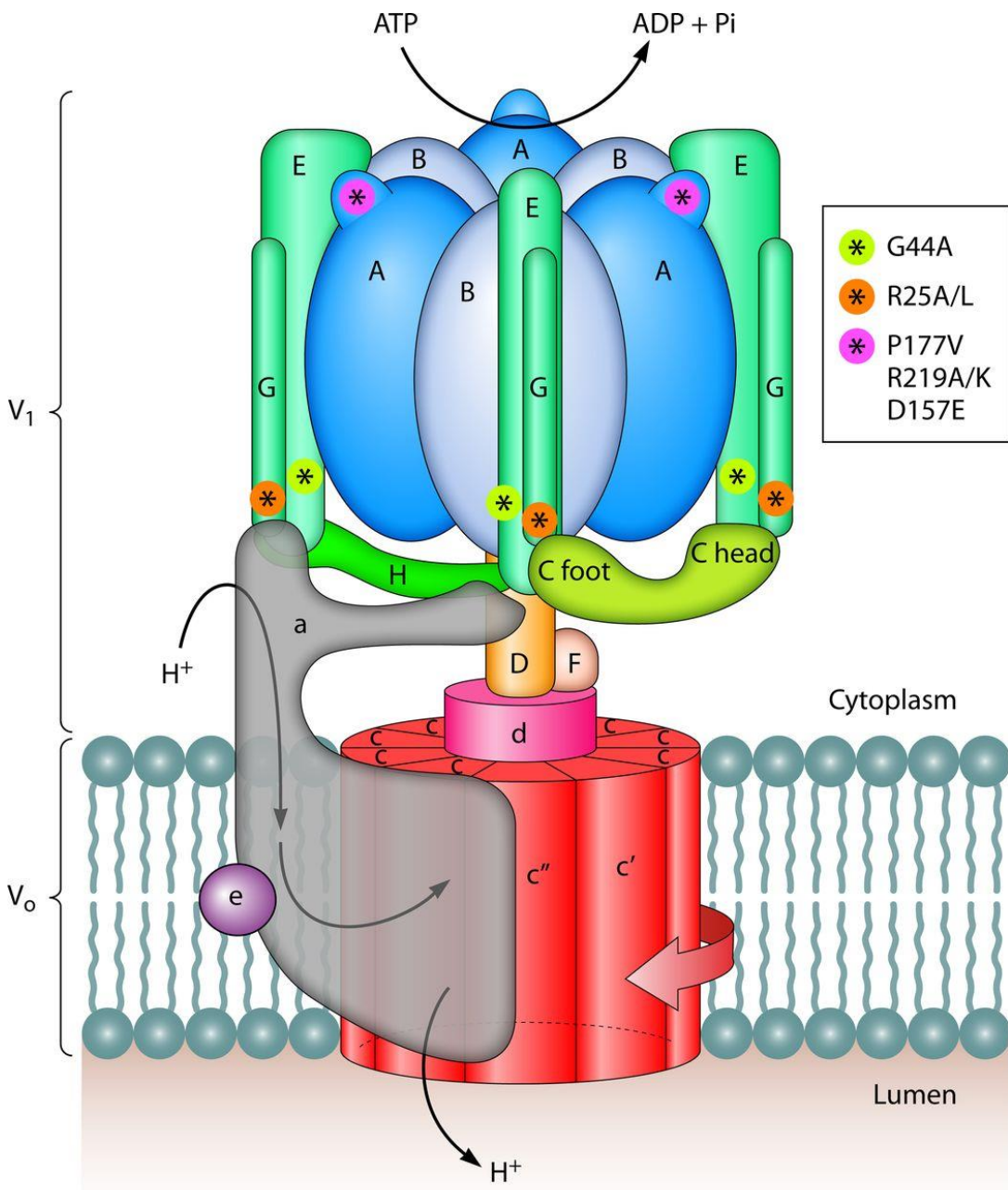


L.F. Bisson, G.A. Walker. The microbial dynamics of wine fermentation. *Advances in Fermented Foods and Beverages*. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-015-6.00019-0> Copyright © 2015 Elsevier Ltd.

I protoni entrano nel citoplasma attraverso la diffusione passiva, anche l'aumento dell'etanolo aumenta il flusso di protoni dall'esterno all'interno della cellula:

- assorbimento dei protonati acidi
- ingresso degli aminoacidi (sistema di simporto)
- metabolismo (catabolismo degli zuccheri e trasporto degli aminoacidi)

Il citoplasma e il vacuolo possono tamponare i livelli di protoni, anche se la principale attività tampone è fornita dall'azione dell'ATPasi.



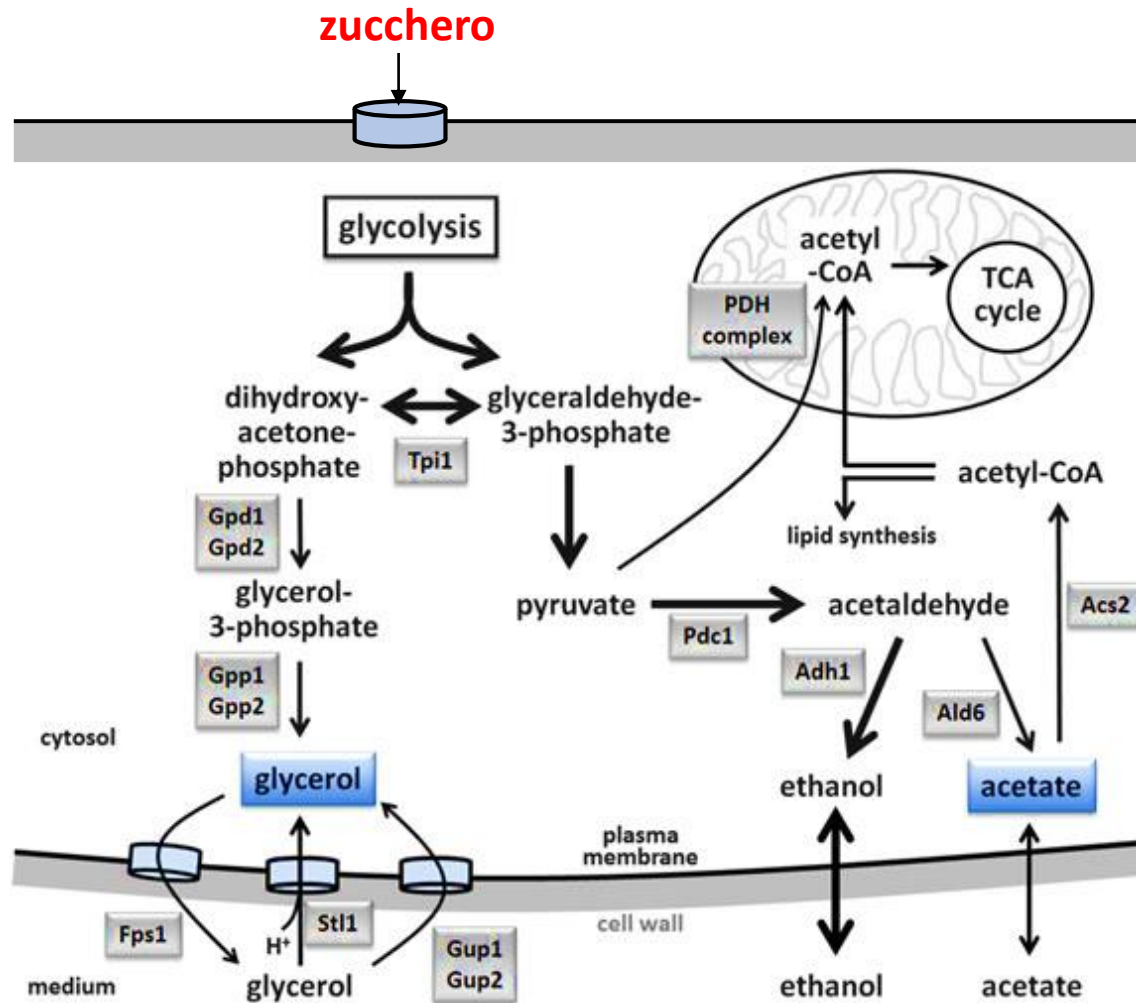
Il lievito possiede tre ATPasi:

- una del mitocondrio, ATPasi di tipo F
- una del vacuolo, ATPasi di tipo V
- una della membrana plasmatica, ATPasi di tipo P

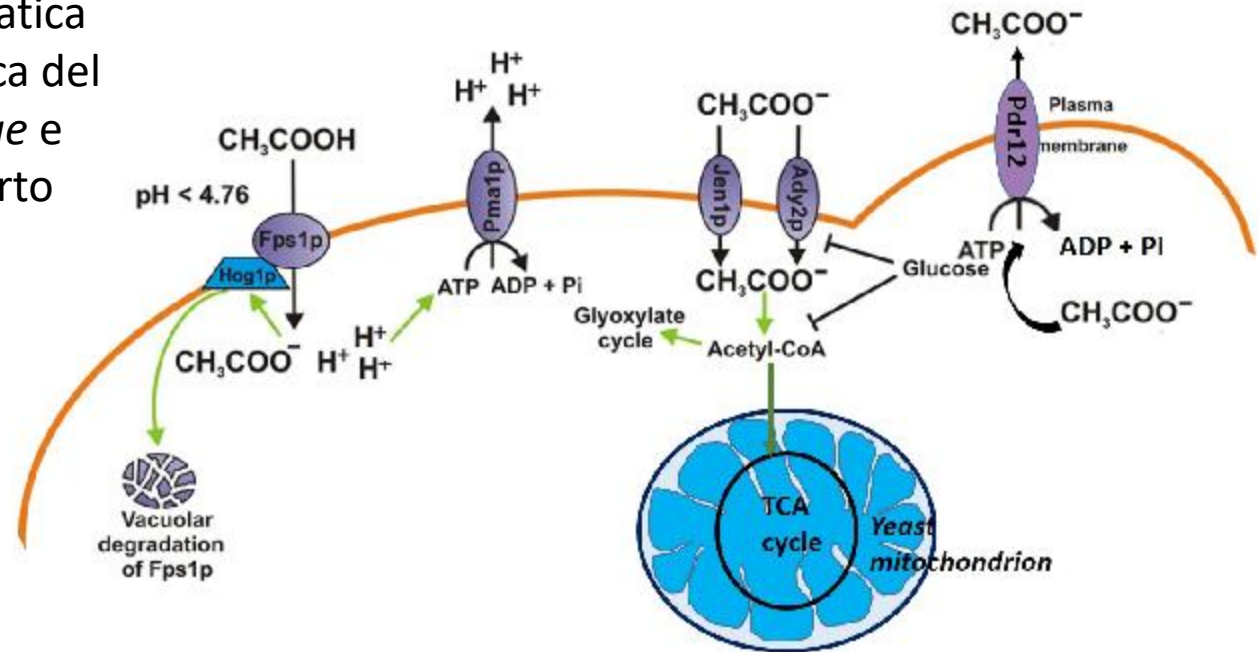
L'ATPasi di tipo P è una proteina integrale, l'idrolisi dell'ATP è catalizzata da questo enzima che fornisce l'energia necessaria per il trasporto attivo dei soluti attraverso la membrana.

l'idrolisi dell'ATP crea un passaggio di protoni dall'interno verso l'esterno della cellula. Le ATPasi nel lievito sono pompe protoniche guidate dall'ATP.

Rappresentazione schematica della membrana plasmatica del *Saccharomyces cerevisiae* e diversi sistemi di trasporto



Rappresentazione schematica della membrana plasmatica del *Saccharomyces cerevisiae* e diversi sistemi di trasporto



Targeting Demalication and Deacetication Methods: The Role of Carboxylic Acids Transporters Alice Vilela. Biochem Physiol 2017, 6:3 DOI: 10.4172/2168-9652.1000224

Quando è l'acido acetico ad essere utilizzato come unica fonte di carbonio, l'acetato (CH_3COO^-) entra nelle cellule attraverso alcune proteine trasportatrici (Jen1p o Ady2p). Nel citoplasma viene metabolizzato in acetil coenzima A (acetil-CoA), quest'ultimo può entrare nel mitocondrio e successivamente ossidato nel ciclo del TCA oppure può entrare nel ciclo del glicosilato. In presenza di glucosio è inibito il trasporto e il metabolismo dell'acetato. A bassi valori di pH e in presenza di glucosio, l'acido acetico entra nelle cellule sotto forma indissociata (CH_3COOH) per diffusione facilitata mediante una proteina canale (l'acquagliceroporina Fps1p). Il pH citosolico, più neutro, lo dissocia a (CH_3COO^-) e protoni (H^+). Ciò provoca l'acidificazione del citoplasma che induce l'attivazione di un'ATPasi della membrana plasmatica (Pma1p) che pompa i protoni fuori dalla cellula.

Esempi di trasporto dal citoplasma al mitocondrio nel *Saccharomyces cerevisiae*

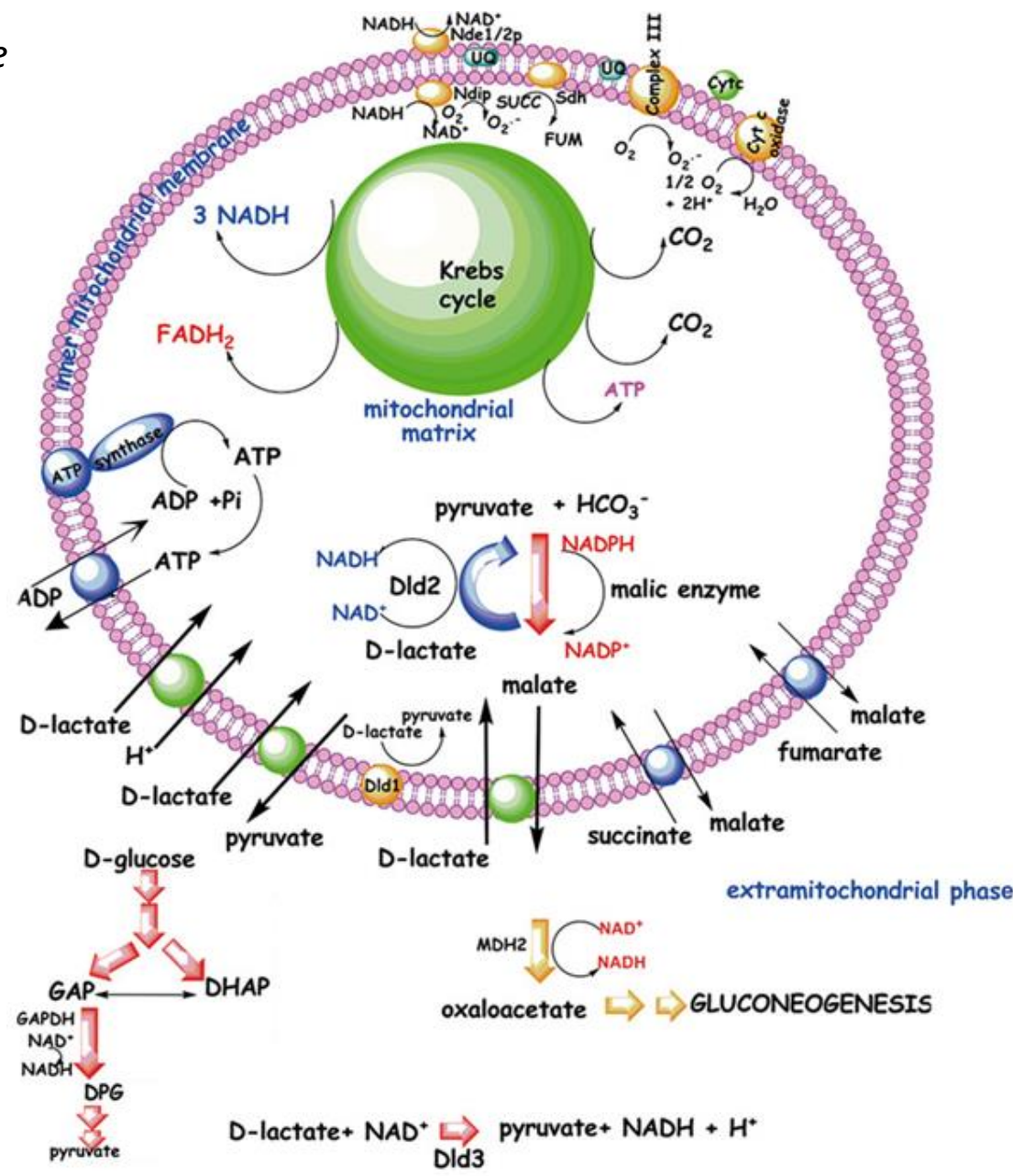
Il *S. cerevisiae* presenta diverse isoforme di D-lattato deidrogenasi citosoliche e mitocondriali.

Il D-lattato citoplasmatico può essere trasportato nel mitocondrio utilizzando un trasportatore simporto D-lattato/H⁺ oppure trasportatori antiporto come D-lattato/piruvato; una volta nella matrice diventa piruvato, tramite l'enzima D-lattato deidrogenasi mitocondriale ed infine quest'ultimo si trasforma in malato con l'enzima malico.

Quando la concentrazione mitocondriale di malato aumenta, questo metabolita esce con un sistema di trasporto antiporto.

Lo scambio può avvenire tra i sistemi malato/lattato, malato/succinato oppure malato/fumarato.

Il D-lattato citoplasmatico si trasforma in piruvato per azione dell'enzima D-lattato deidrogenasi citoplasmatico.



Maria Luigia Pallotta. Mitochondrial involvement to methylglyoxal detoxification: D-Lactate/Malate antiporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *Antonie van Leeuwenhoek* (2012) 102:163–175. DOI 10.1007/s10482-012-9724-0



- **Lipidi dell'uva**

La maggior parte dei lipidi dell'uva sono esteri di acidi grassi insaturi e il contenuto totale è circa **350 mg/kg**, generalmente diminuiscono con la maturità.

La frazione lipidica della polpa delle uve rappresenta circa il 0,1 % del peso fresco, mentre nelle **bucce** la quantità presente è di tre volte superiore.

Per quanto riguarda il contenuto di acidi grassi, **nella polpa e nella buccia** degli acini predominano i **fosfolipidi**, mentre i **lipidi neutri sono presenti nei semi**.

Il contenuto lipidico è differente a seconda della varietà delle uve ed in particolare è maggiore nelle uve a buccia nera rispetto a quelle a buccia bianca.

L'autolisi dei lieviti porta ad un incremento di lipidi. I vini contengono piccole quantità in quanto i processi di chiarifica causano la loro rimozione.

Le fecce dei mosti contengono in media 8% di lipidi:

Acido palmitico C16:0

Acido oleico C18:1

Acido linoleico C18:2

Sono i precursori degli aromi del vino



Contenuto di lipidi nei vini

- I lipidi dell'uva tendono ad aggregarsi rimanendo dentro la cellula se il pH è compreso fra 5 e 6. In queste condizioni, solo il 3% del contenuto iniziale di lipidi è rilasciato dalla cellula.
- Il principale enzima nell'uva coinvolto nella ossidazione di lipidi insaturi, [acido linoleico (C18:2) ed acido linolenico (C18:3)] che gli ossida nei corrispondenti idroperossidi è la Lipossigenasi, mentre l'idroperossido-liasi dell'uva gli scindi in composti con 6 atomi di C dai quali deriverà l'aroma, come l'esanale.
- L'acido oleico (18:1) e il linoleico si comportano come attivatori della fermentazione, così come gli steroli.



Contenuto di lipidi nei vini

- I lipidi liberati durante l'autolisi sono importanti perché coinvolti nella formazione di composti volatili (esteri, aldeidi e chetoni).
- Gli acidi grassi sono molto importanti nei vini spumanti (Champagne), per la dimensione delle bolle, per la qualità della spuma e per le influenze sensoriali. L'acido palmitico (C16:0) ha un effetto benefico sulla dimensione delle bolle.
- Acidi grassi a catena corta (C4-C5) sono volatili con effetto organolettico, quelli a media e lunga catena (C6, C8, C10, C12 e alcuni C16) hanno effetti inibenti nei confronti della attività fermentativa dei lieviti e dei batteri.
- Gli acidi grassi più comuni che si trovano nei vini di riserva sono: il palmitico (C16:0), lo stearico (C18:0) e il palmitoleico (C16:1).



Contenuto di lipidi nella birra

- Nel lievito della birra, gli acidi grassi sono dei buoni markers dell'autolisi dei lieviti.
- Nella birra la Lipossigenasi ossida l'acido linoleico velocemente durante la fase di ammostamento formando il precursore del trans-2-nonenale (T2N). Quest'aldeide, ha una soglia di percezione molto bassa, anche se presente in piccolissima concentrazione, riesce a conferire aromi sgradevoli.
- Nella birra la presenza di acido palmitico (C16:0) ha un effetto negativo sulla dimensione delle bolle.

