

Lezione 10

Le Membrane e i loro componenti

- Il modello a mosaico fluido
- L'importanza del glicocalice
- Asimmetria di membrana

Il Trasporto attraverso la membrana plasmatica

- Osmosi, diffusione, trasporto passivo
- Le proteine canale e i trasportatori
- Il trasporto attivo
- L'esempio dei trasportatori ABC e della pompa Na/K
- Il potenziale di membrana
- Il potenziale d'azione

Le Membrane Biologiche

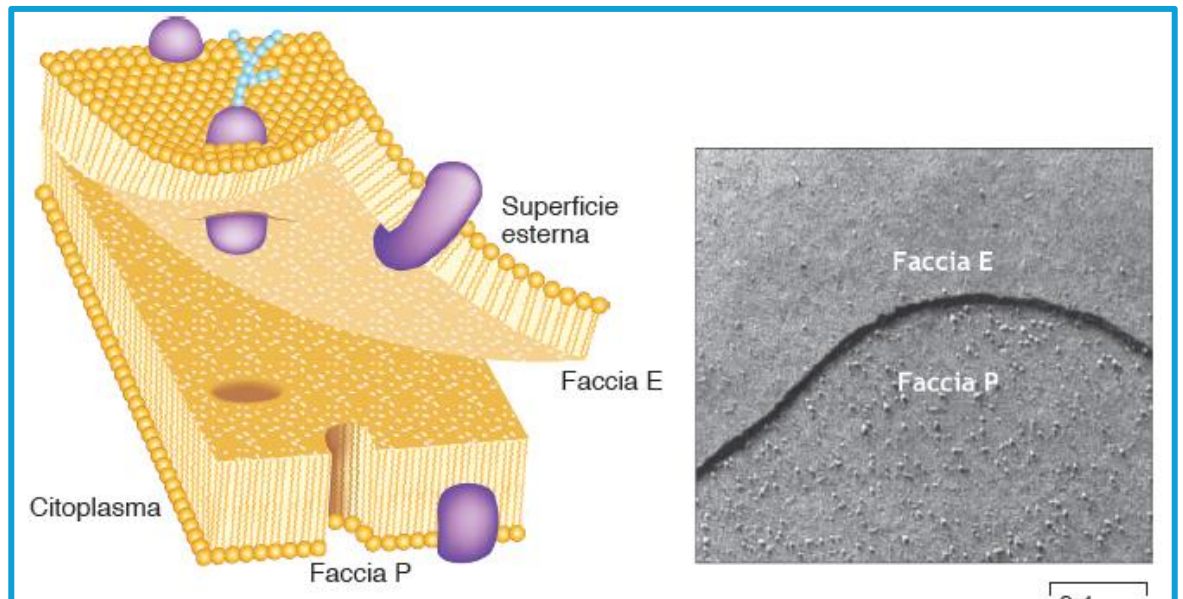
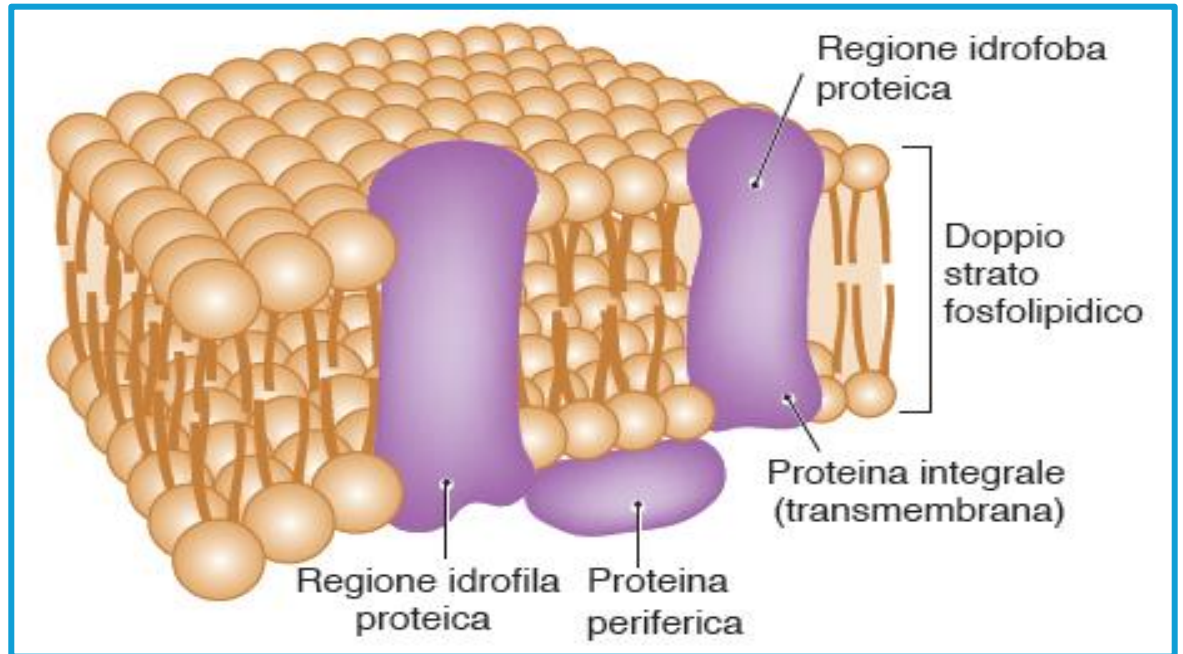
Le membrane biologiche sono strutture **complesse e dinamiche** che separano compartimenti cellulari con differente contenuto molecolare.

La **membrana plasmatica** delimita la cellula e la separa dall'ambiente esterno. Composizione:

- **Doppio strato fosfolipidico** (5–8 nm)
- **Proteine** abbondanti
- **Glucidi** pochi (glicoproteine, glicolipidi)
- **Colesterolo** (nelle cellule animali)

Funzioni:

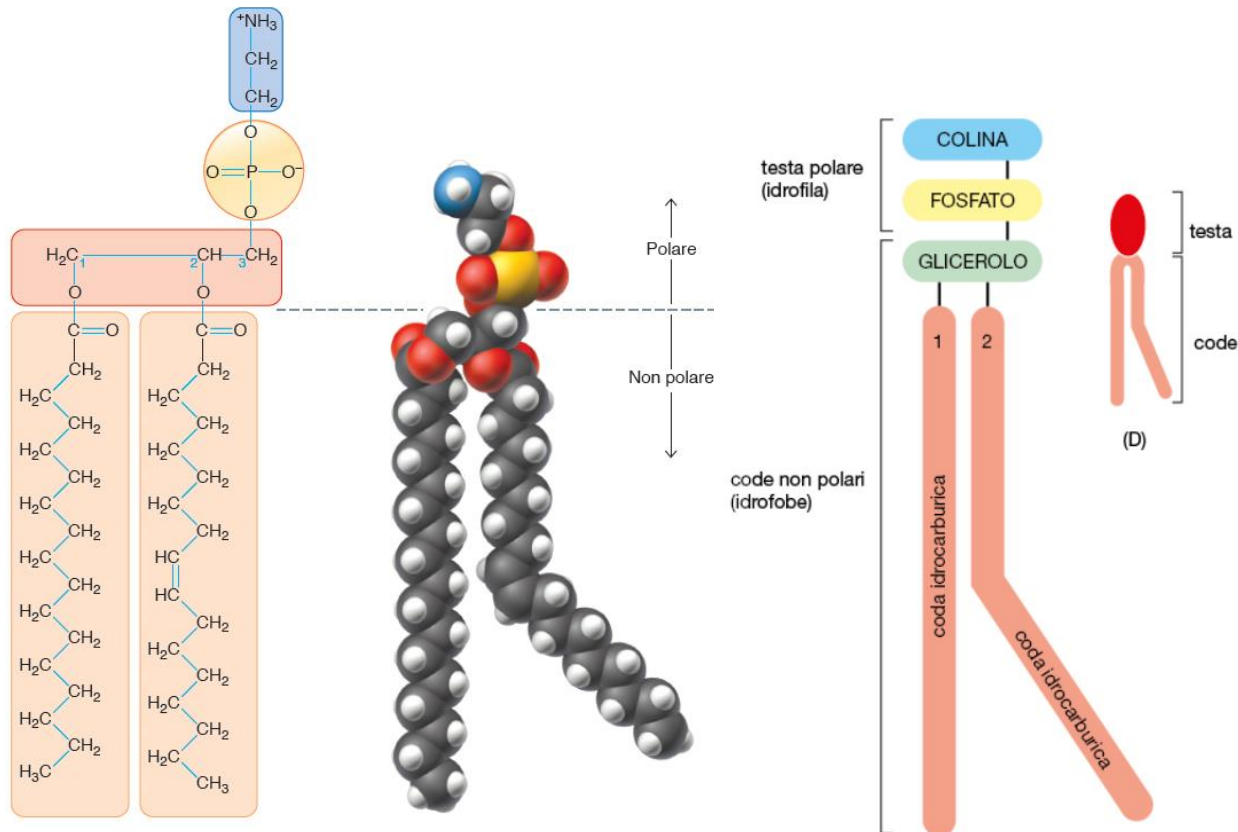
- Regola trasporto di sostanze
- Trasferisce segnali intra/extracellulari
- Permette interazioni cellula-cellula e cellula-matrice



Componente lipidica: Fosfolipidi

I Fosfolipidi sono **molecole anfipatiche (glicerofosfolipidi)** tra le più abbondanti nelle membrane plasmatiche:

- **Teste polari idrofile** → verso l'acqua
- **Code apolari idrofobe** → verso l'interno
- Tendono **spontaneamente** a **formare doppi strati** o **liposomi** in acqua.



Teste polari idrofile → Diversi sostituenti

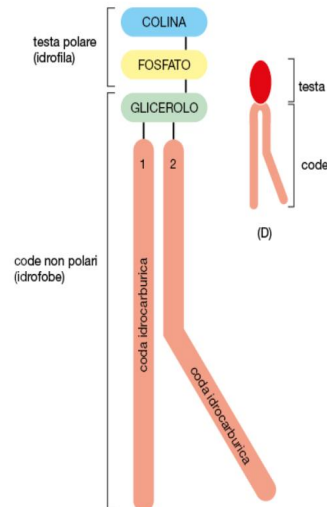
Fosfatidilcolina (lecitina)	$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	$\text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}$
Fosfatidilserina	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{COO}^-)-\text{CH}_2-$	$\text{HC}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}'$
Fosfatidiletanolamina (cefalina)	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	$\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)-\text{O}-\text{CH}_2-$
Fosfatidilinositolo		

Code apolari idrofobe → **due**, una contenente un acido grasso **saturo** e uno **(poli)insaturo** con **uno o più doppi legami in cis**

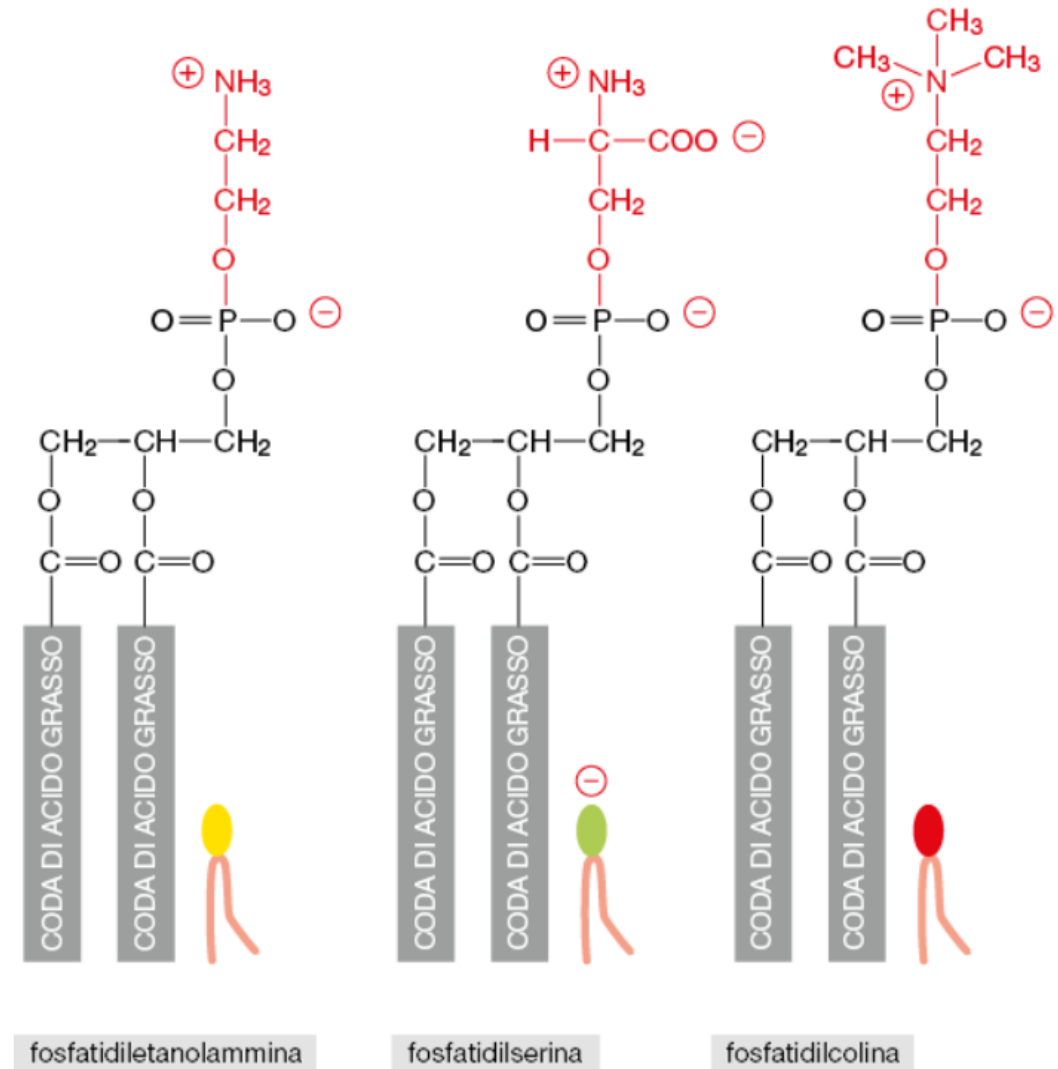
Ciascun **doppio legame** in cis crea una piccola piega nella coda ed **aumenta la fluidità** della membrana.

Componente lipidica: Fosfolipidi

Fosfatidilcolina (lecitina)	$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	$\text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}$
Fosfatidilserina	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{COO}^-)-\text{CH}_2-$	$\text{HC}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}'$
Fosfatidiletanolamina (cefalina)	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	$\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)-\text{O}-\text{CH}_2-$
Fosfatidilinositolo		



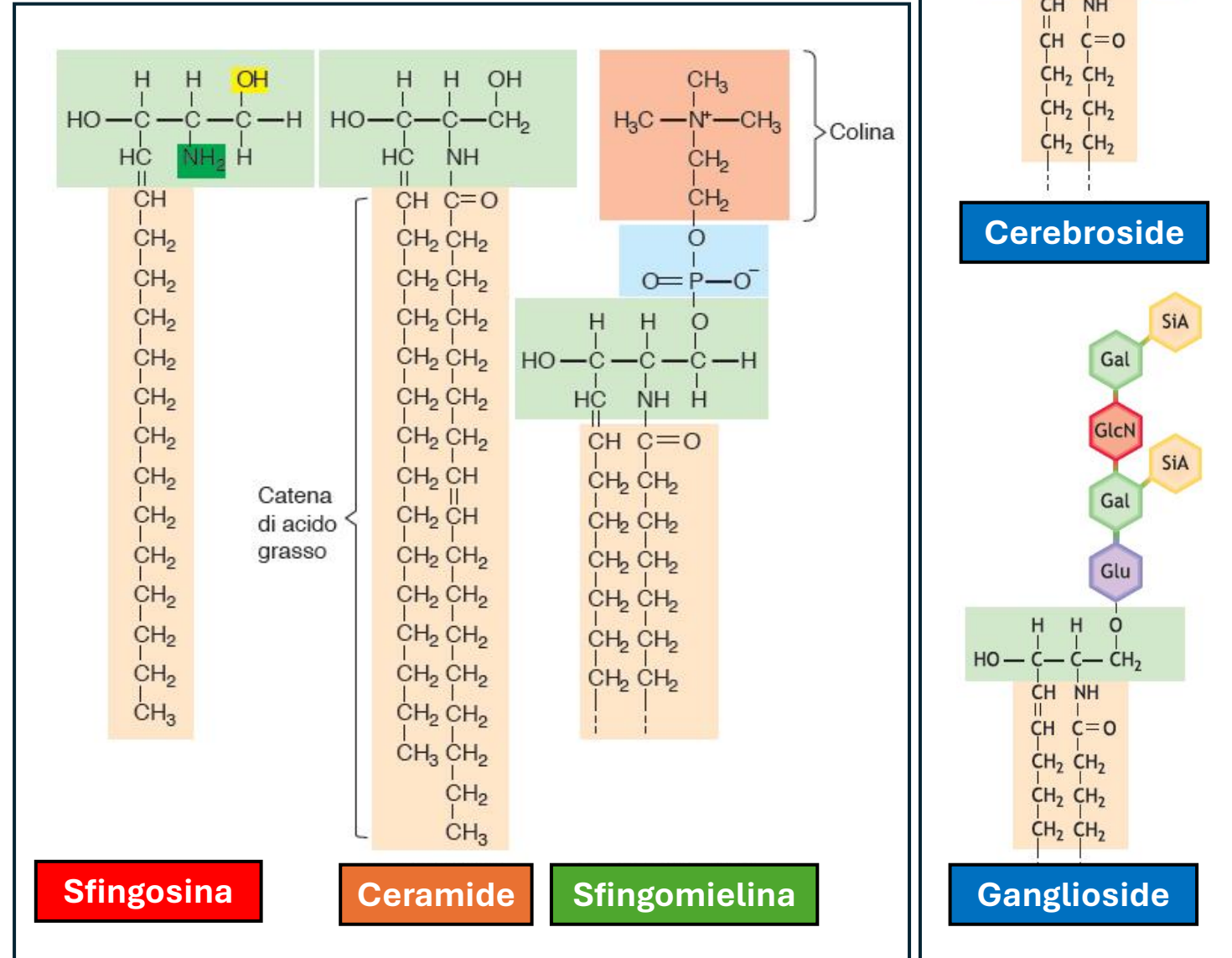
Combinando acidi grassi
e gruppi di testa differenti
si ottengono parecchi
glicerofosfolipidi diversi



Componente lipidica: Sfingolipidi

Hanno la **Sfingosina** (amminoalcol a lunga catena) **al posto del glicerolo**.

- **Ceramide** → Sfingosina + Acido Grasso
- **Sfingomielina** → Ceramide + Gruppo P + Colina
- **Glicosfingolipidi** → Sfingolipe + Residui Glucidici
 - **Cerebrosidi** → contengono molti residui di carboidrati **neutri**
 - **Gangliosidi** → contengono residui di **acido sialico (carica negativa)**
 - Localizzazione prevalente: **membrane delle cellule nervose** (da cui i nomi *cerebrosidi* e *gangliosidi*).



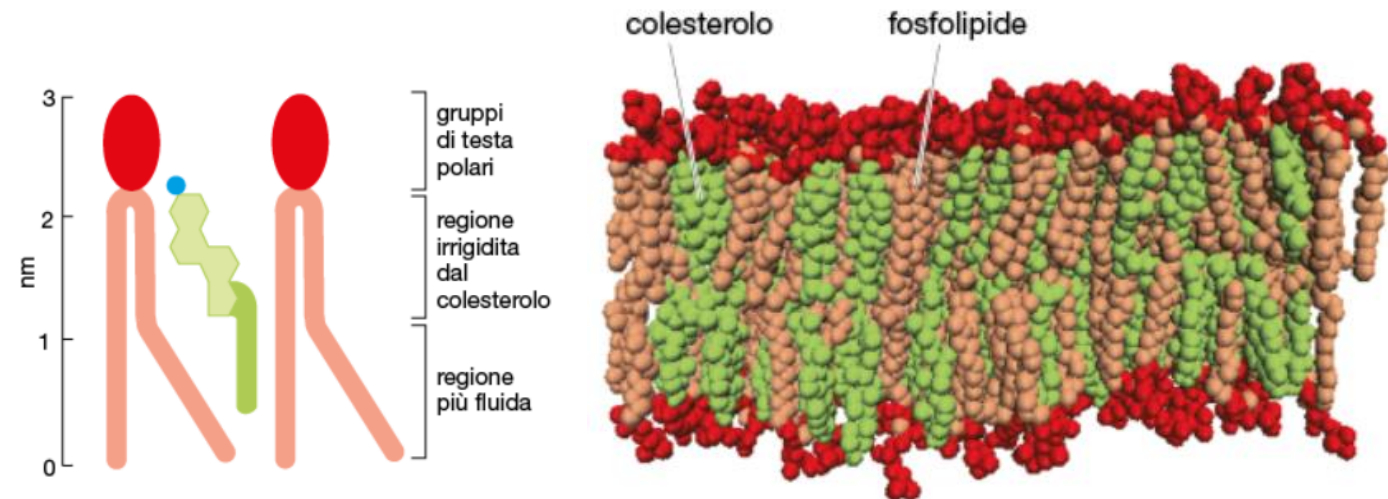
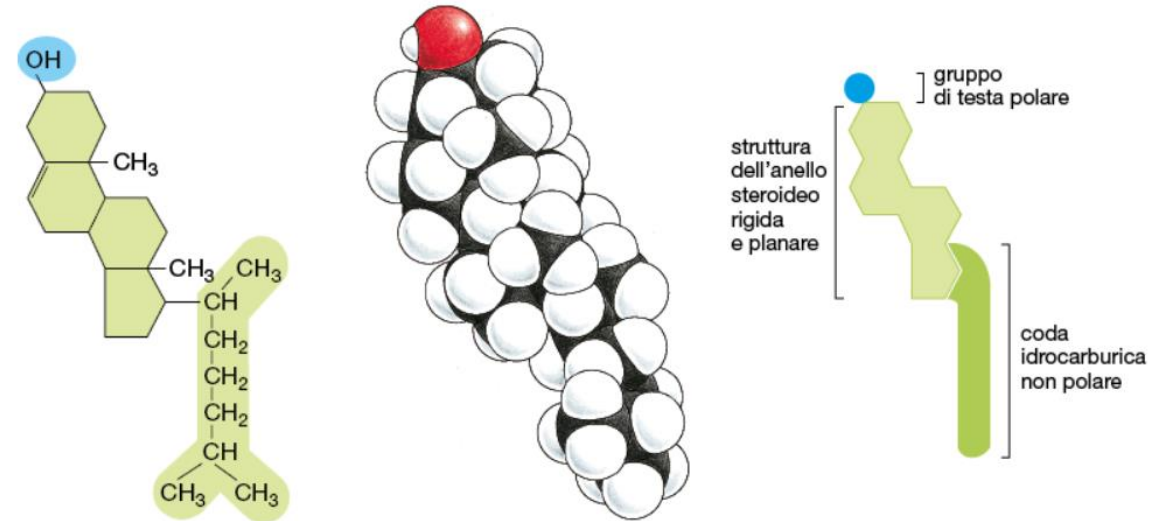
Componente lipidica: Steroli

Gli steroli sono molecole **anfipatiche** che hanno una **rigida struttura ad anello** correlata agli steroidi:

- un **singolo gruppo ossidrile polare (-OH)**
- una **breve catena idrocarburica non polare**

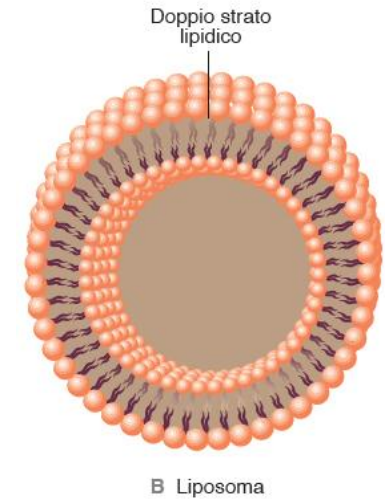
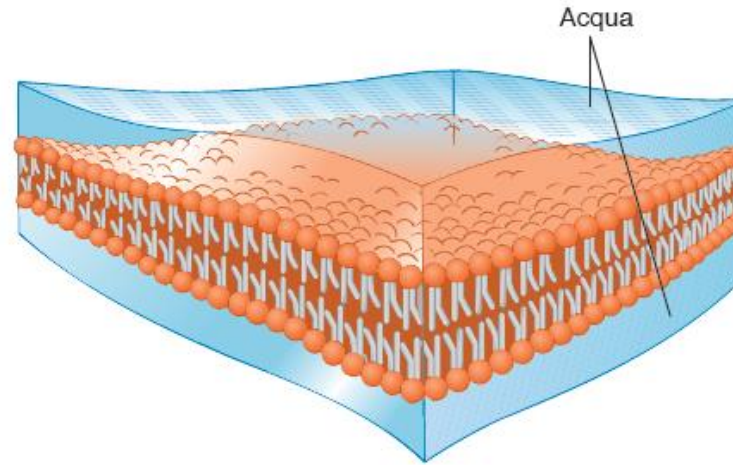
Steroli e membrane plasmatiche

- Le membrane plasmatiche **eucariote** contengono **alte quantità di steroli** → fino a **1 molecola di sterolo per ogni fosfolipide**
- una molecola di colesterolo interagisce con **due molecole di fosfolipidi**, stabilizzando la membrana modulando **fluidità e permeabilità**.



I Fosfolipidi Formano Spontaneamente Doppi Strati in Acqua

- I fosfolipidi formano **spontaneamente doppi strati** in ambiente acquoso.
- Motivo: la loro **natura anfipatica** → parte idrofila + parte idrofoba.
- Risultato: struttura ordinata e stabile, base delle **membrane biologiche**.



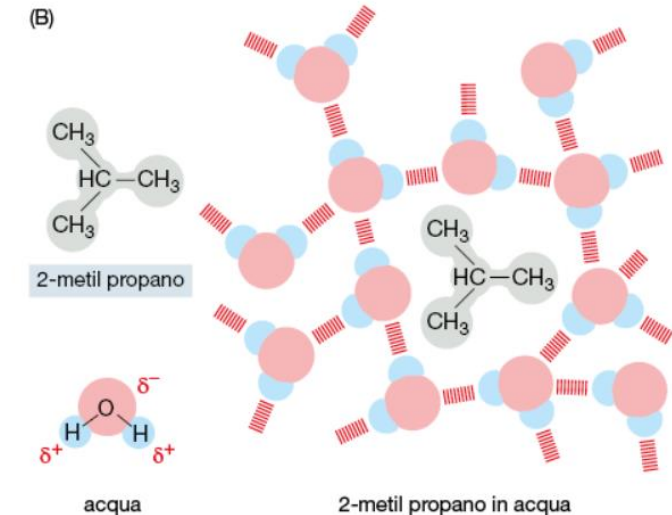
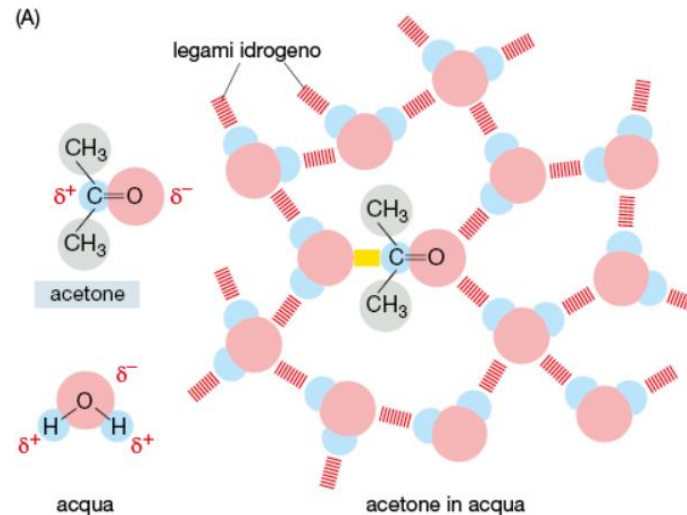
Molecole idrofile vs idrofobe

Idrofile:

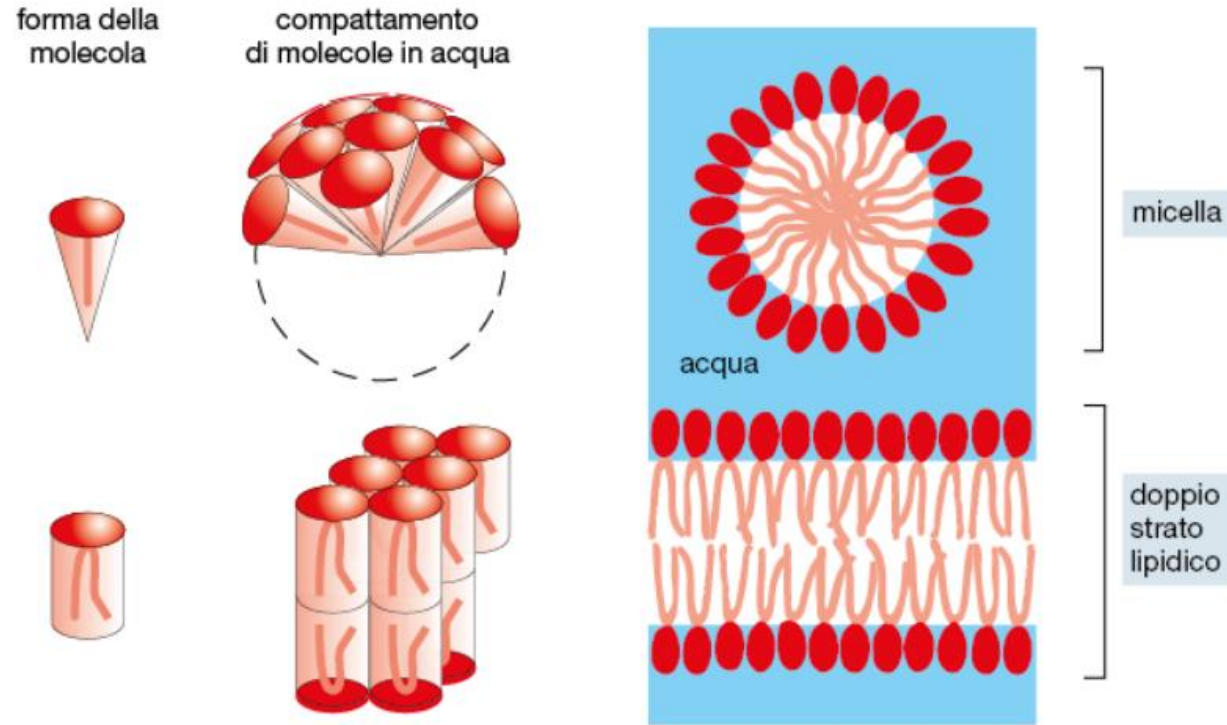
- si dissolvono in acqua → interazioni elettrostatiche e legami idrogeno.

Idrofobe:

- insolubili in acqua, non possono formare legami con H_2O .
- Inducono formazione di **strutture a gabbia** nelle molecole d'acqua (aumento energia libera).



Aggregazione dei Fosfolipidi



Conseguenze dell'effetto idrofobico

- Le molecole idrofobe tendono a **raggrupparsi** → minimizzazione del contatto con H_2O .
- Riduzione del **costo entropico**.
- Nelle molecole anfipatiche:
 - teste idrofile esposte all'acqua.
 - code idrofobe aggregate e schermate.

Due forme principali:

- **Micelle** (code all'interno, teste all'esterno).
- **Doppi strati** (code racchiuse, teste esposte).

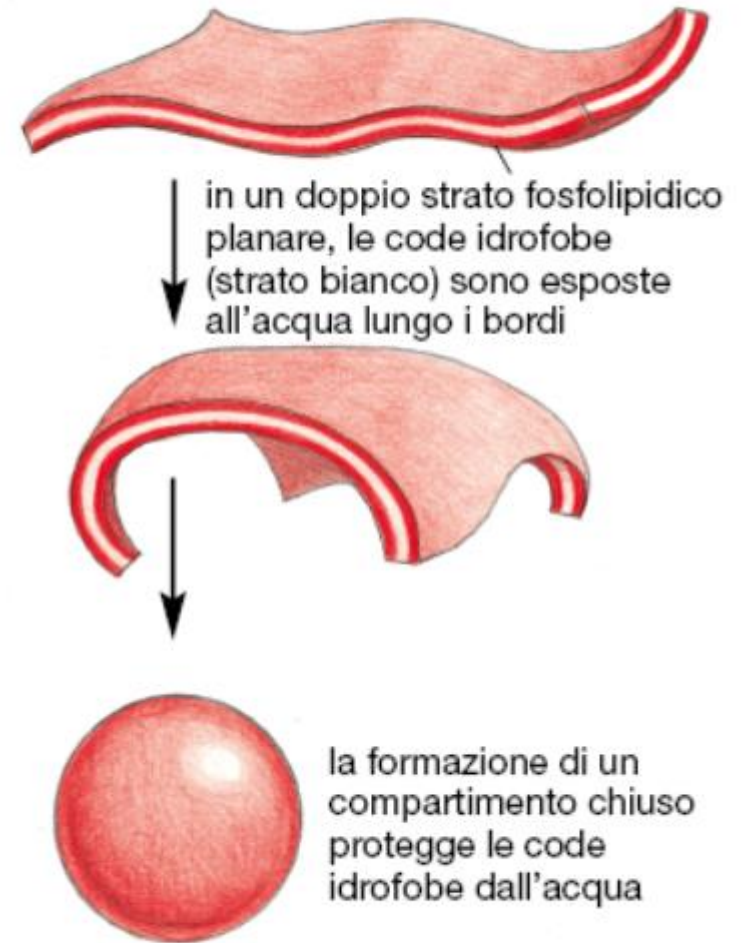
Determinante: **forma della molecola** (cono vs cilindro)

Aggregazione dei Fosfolipidi: Proprietà di Autoriparazione

Chiusura dei doppi strati

- Un doppio strato **non può avere bordi liberi**.
 - Soluzione: **il doppio strato si chiude su sé stesso** → compartimento sigillato.
 - Risultato: **vescicole stabili, base per la compartimentazione cellulare**.
 - Concetto chiave: **la forma e la natura anfipatica dei fosfolipidi** → **origine delle cellule viventi**.
-
- Piccola rottura = formazione di **bordo libero** → sfavorevole energeticamente.
 - I lipidi si riorganizzano **spontaneamente** per chiudere il bordo.
 - Questo rende le membrane **autoriparanti**.

ENERGETICAMENTE SFAVOREVOLE



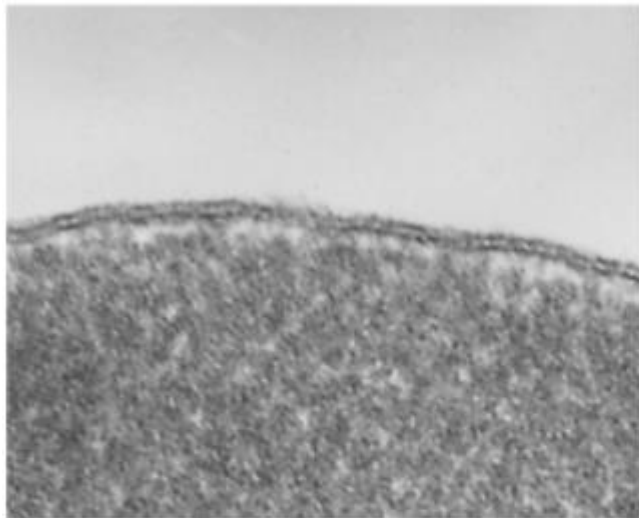
ENERGETICAMENTE FAVOREVOLE

Modello a Mosaico Fluido

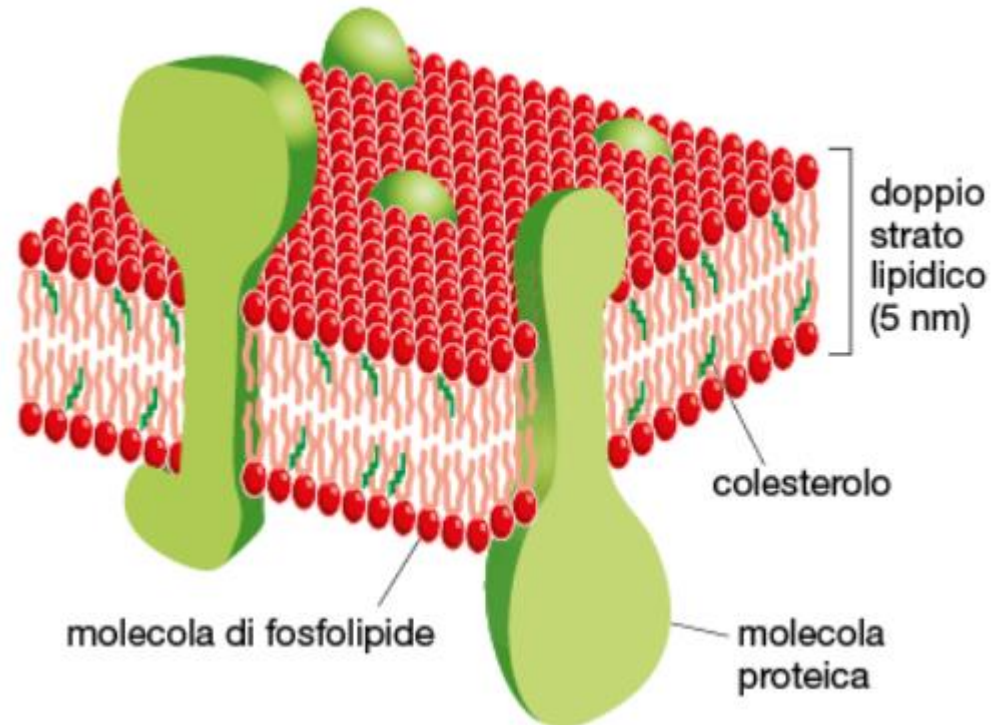
Modello a mosaico fluido (Singer e Nicolson, 1972):

- Doppio strato fosfolipidico "fluido"
- Proteine immerse come unità globulari discrete
- Confermato da tecniche come la **criofrattura** → osservazione diretta delle proteine inserite nel doppio strato lipidico.

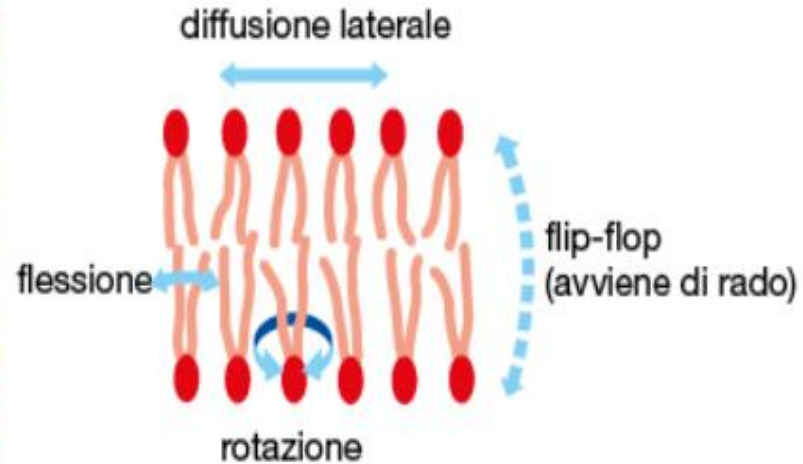
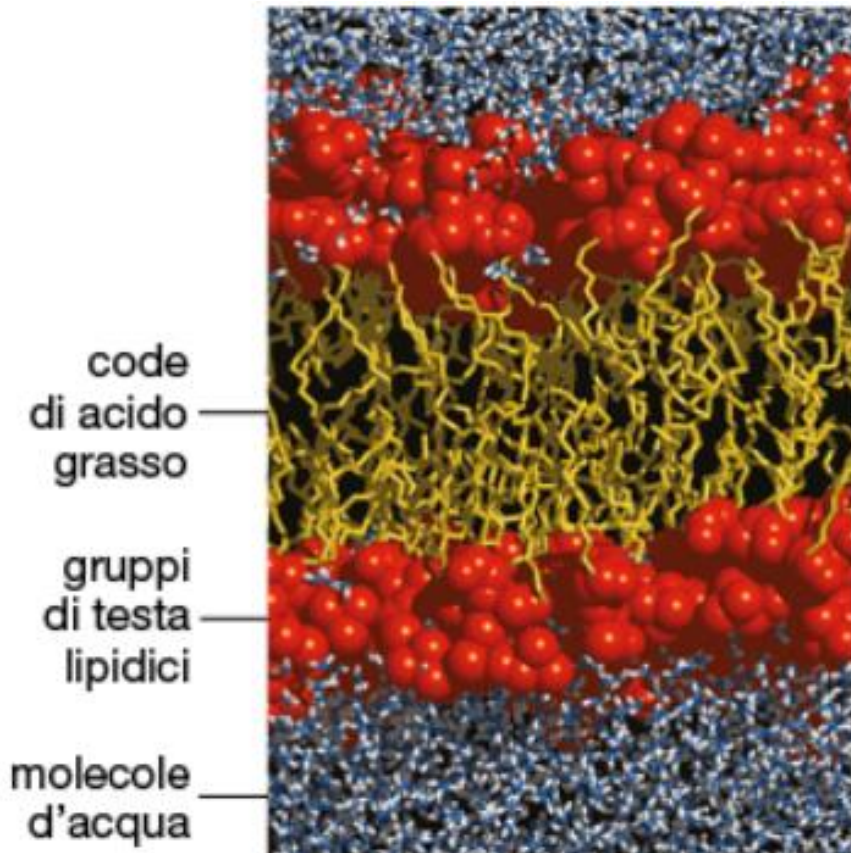
La membrana plasmatica è definita "**modello a mosaico fluido**" perché, come un mosaico, è **composta da diverse componenti** (fosfolipidi, proteine e carboidrati) **distribuite in modo non uniforme**, e poiché questa **struttura è "fluida"**, i fosfolipidi e alcune proteine **possono muoversi lateralmente** all'interno del doppio strato lipidico, conferendo dinamicità alla membrana.



100 nm



La Fluidità delle Membrane Biologiche



La **fluidità** è cruciale per molte **funzioni della membrana**:

- **diffusione laterale dei lipidi**
- **interazioni dinamiche delle proteine di membrana**
- **processi di trasporto e attività enzimatiche**
- il **flip-flop**, cioè la migrazione **da un foglietto all'altro** dei fosfolipidi
- il **colesterolo** è un'eccezione → **flip-flop rapido (piccola testa polare)**

La fluidità consente:

- **Riparazione spontanea** di rotture da stress meccanici.
- **Mantenimento integrità** delle membrane biologiche.

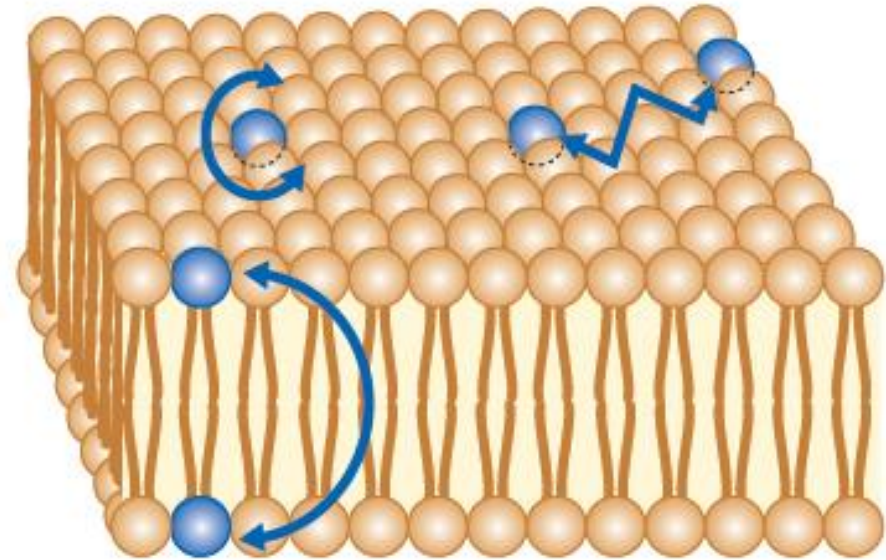
Fluidità del Doppio Strato Lipidico e il Flip-Flop

Flip-flop = passaggio di un **fosfolipide** da un **emistrato all'altro**.

Nei doppi strati artificiali (usati per studiare la fluidità delle membrane) è molto lento (ore-giorni) → energeticamente sfavorito.

Nelle **membrane cellulari** è **rapido** grazie a **enzimi specifici (flippasi)**.

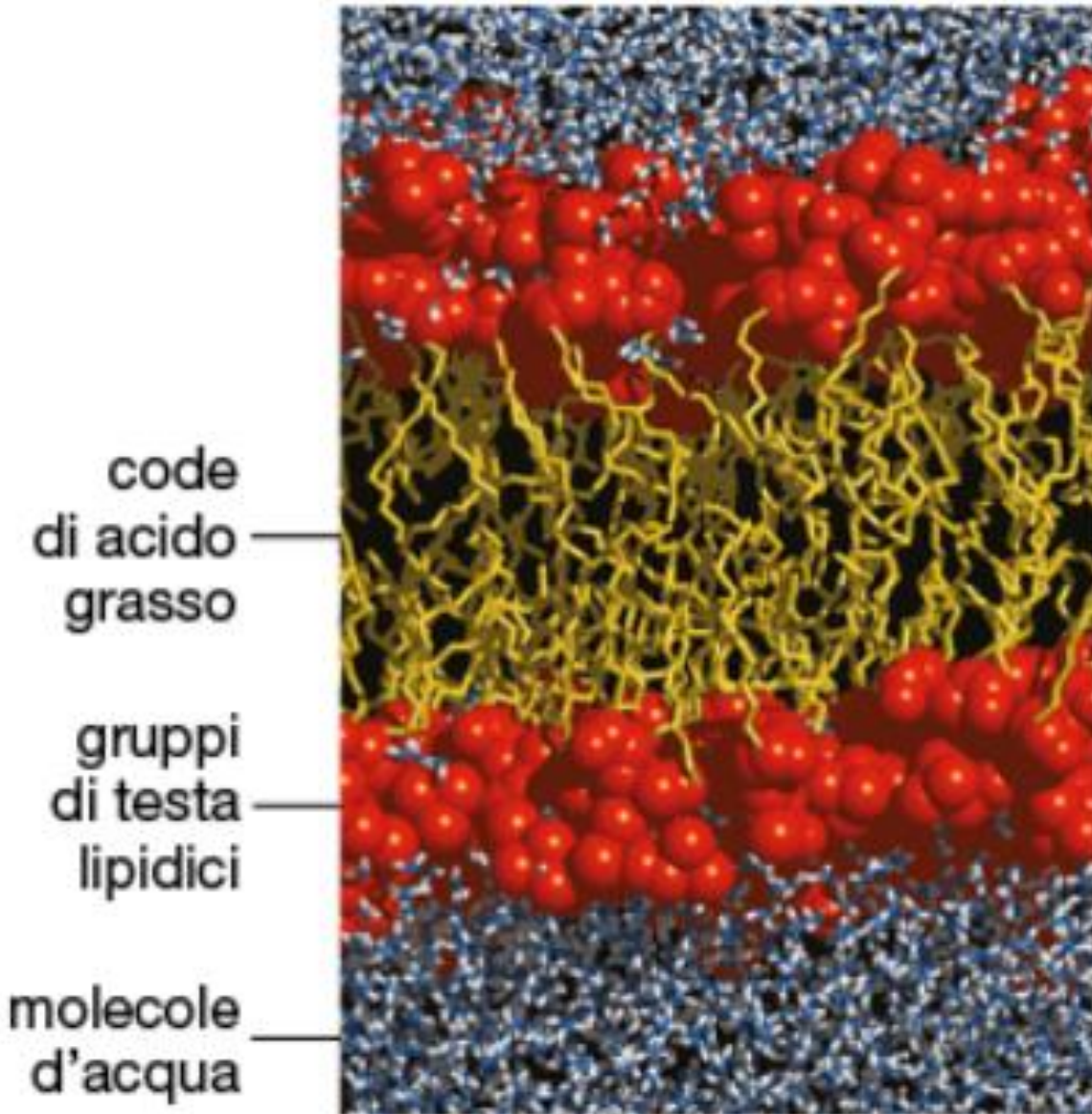
Le **flippasi** facilitano il **flip-flop** e mantengono la **distribuzione asimmetrica** dei fosfolipidi.



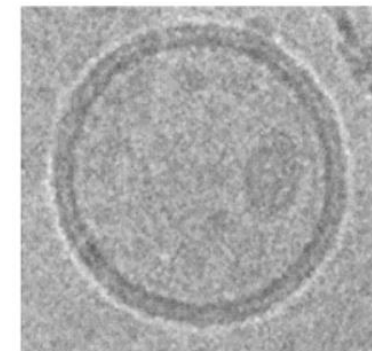
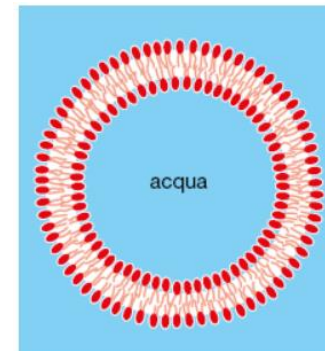
Traslocatori lipidici

- **Nuovi fosfolipidi** prodotti nel monostrato citosolico **del RE**.
- Problema: **impossibilità di distribuirsi spontaneamente all'altro foglietto**.
- Soluzione: proteine traslocatrici: **flippasi** e **scramblasi**

Fusione delle Membrane?



- Nonostante la fluidità, i liposomi **non si fondono spontaneamente**.
- Motivo: presenza di un **guscio di idratazione** (teste polari + proteine).
- Prevenzione: evita **fusioni incontrollate delle membrane degli organelli**.
- La fusione avviene solo con (mediante l'interazione di):
 - **proteine di fusione**
 - meccanismi regolati → **rimozione dello strato d'acqua**.



Fattori che Influenzano la Fluidità

Le membrane biologiche **possono passare attraverso due stati al variare della temperatura** (transizione di fase):

- **A basse temperature → Fase di gel (cristallina)**
- → catene aciliche strette e rigide.
- **Ad alte temperature → Fase fluida (liquido-cristallina)** → aumento movimento, membrana funzionale.

A temperature fisiologiche, le membrane sono in fase fluida

→ lipidi compiono **rotazioni e diffusione laterale**.

1. Composizione lipidica.

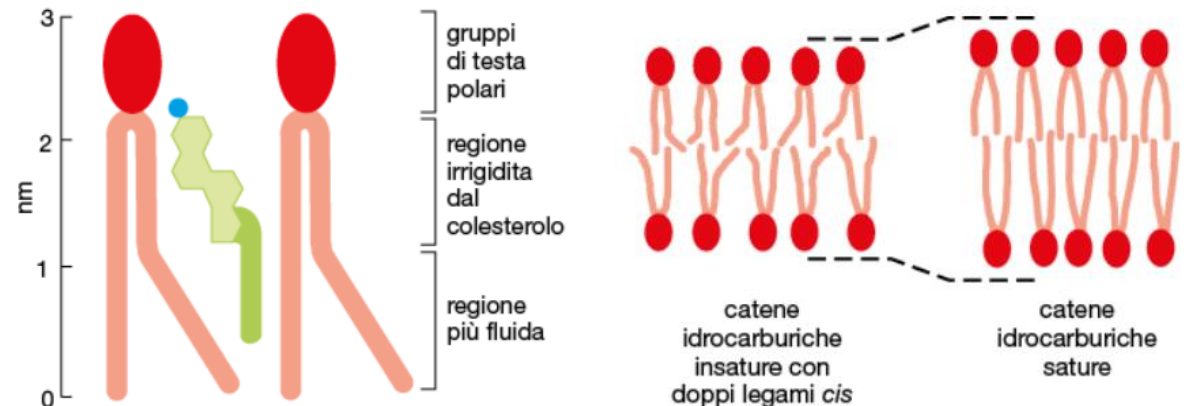
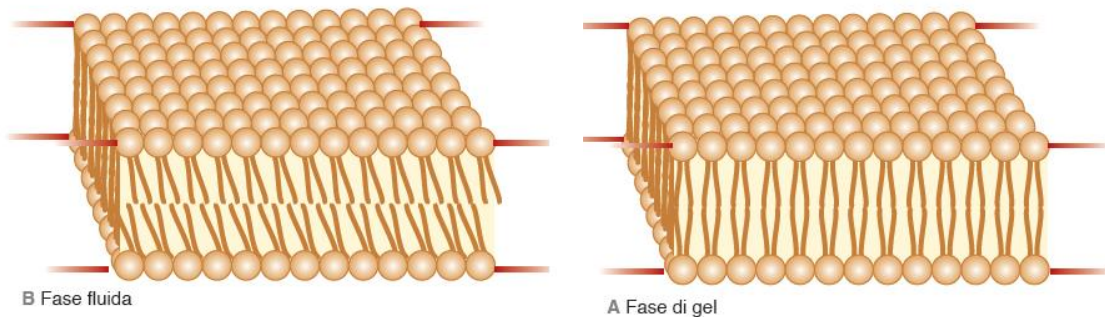
2. Temperatura.

Acidi grassi insaturi = doppi strati più **sottili**

- Catene corte = ↑ fluidità
- Doppi legami cis = ↑ fluidità

Il colesterolo agisce come un "regolatore di fluidità" :

- **A temperature basse, aumenta la fluidità** della membrana (**impedisce cristallizzazione** → mantiene fluidità).
- .
- **A temperature alte, riduce la fluidità** limitando il movimento delle catene lipidiche (**irrigidisce le regioni vicine** → ↓ permeabilità).



Componente lipidica: Steroli

Nelle cellule animali, il principale steroide è il **colesterolo**:

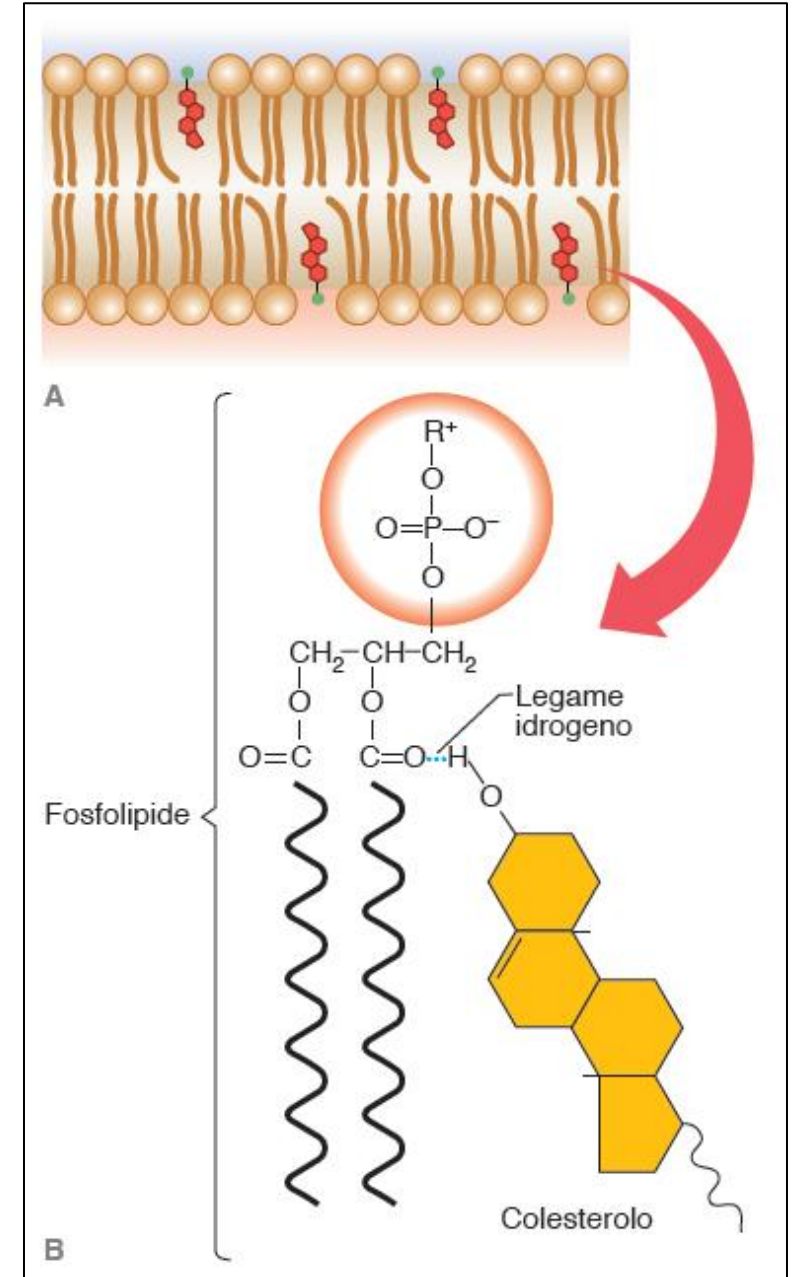
- **Regione apolare (4 anelli + catena laterale idrocarburica)**
- **Piccola regione polare (gruppo -OH)**
- Meno anfipatico rispetto ai fosfolipidi (**si frappone ai fosfolipidi**)
- **Può raggiungere rapporti molari 1:1 con i fosfolipidi** nella membrana plasmatica

Ruolo funzionale:

- Mantiene la **fluidità prevenendo l'eccessivo compattamento** delle code lipidiche.
- In tal modo **evita la comparsa della fase Gel**
- **Aumenta la stabilità e flessibilità della membrana.**

Negli altri organismi:

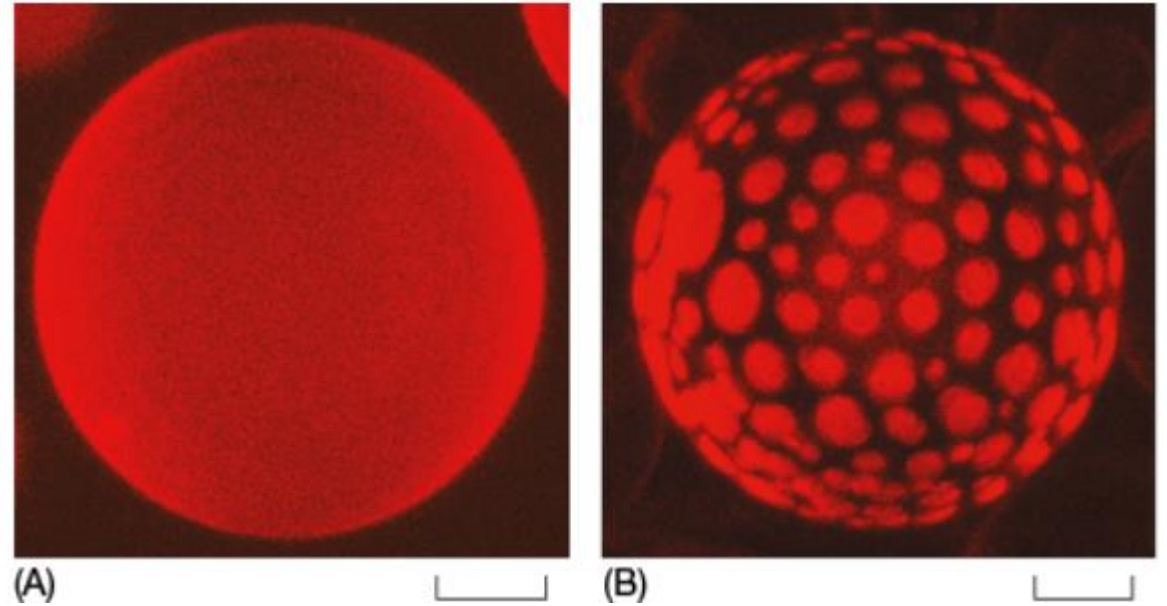
- **Fitosteroli** nelle cellule vegetali
- **Opanoidi** in batteri e cianobatteri (analoghi agli steroli)



Distribuzione dei Lipidi

- Nel doppio strato lipidico fluido **ci si aspetterebbe una distribuzione casuale** delle molecole.
- **In realtà**, in alcune condizioni si osservano:
 - **transizioni di fase** → **segregazione laterale**.
 - **formazione di domini lipidici** con proprietà diverse

- Si osservano **raggruppamenti dinamici e transitori**.
- Formazione facilitata da:
 - **interazioni proteina-proteina**
 - **cooperazione tra lipidi e proteine**.



(A) I liposomi giganti prodotti da una miscela **1:1** di **fosfatidilcolina e sfingomieline** formano doppi strati uniformi,

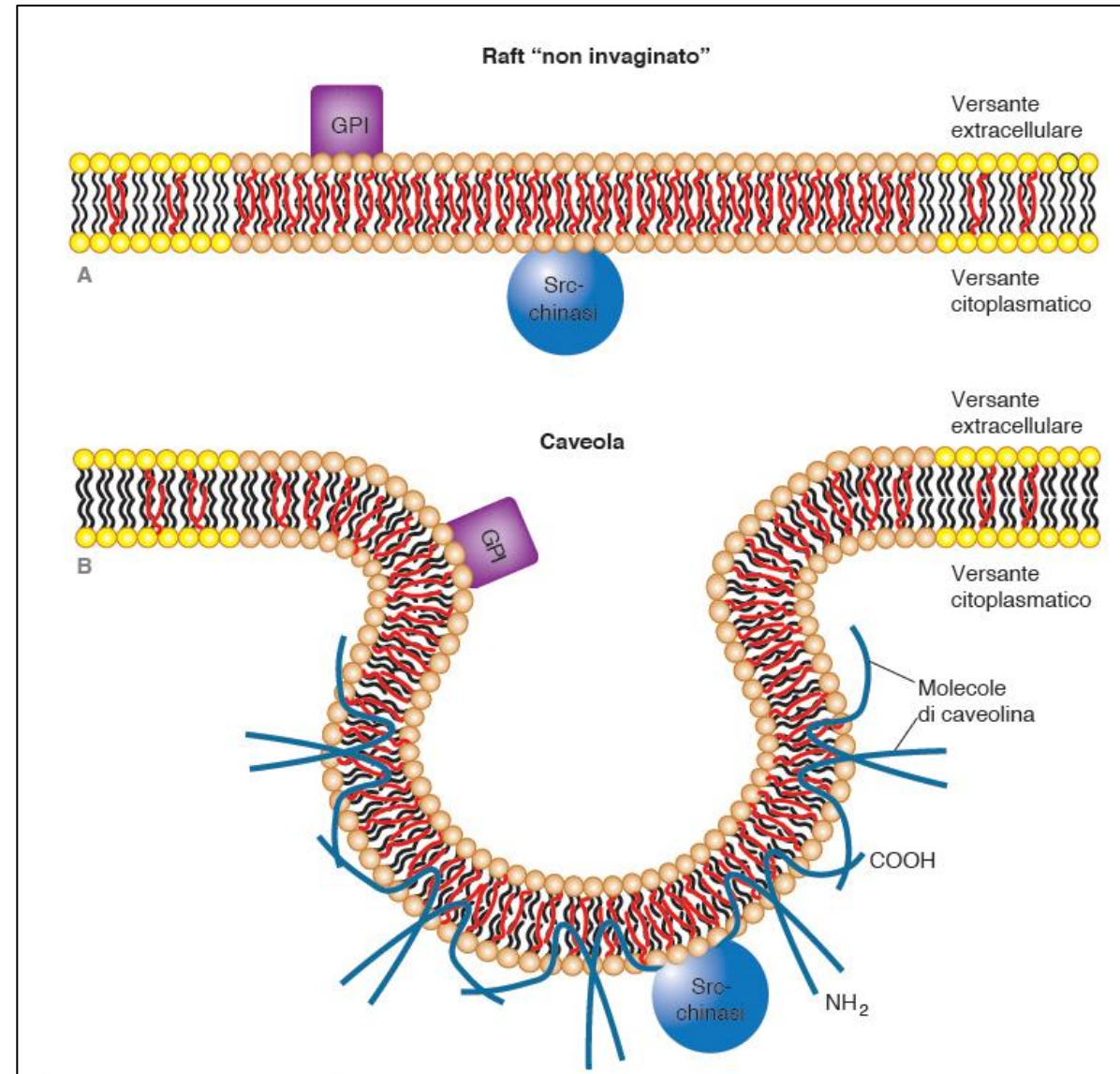
(B) I liposomi prodotti da una miscela **1:1:1** di **fosfatidilcolina, sfingomieline e colesterolo** formano doppi strati con due fasi separate

Zattere (Raft) Lipidiche

Il doppio strato lipidico non è omogeneo, ma contiene **microdomini specializzati** → le **zolle lipidiche (rafts)**.

Elevate concentrazioni di **colesterolo** e **glicosfingolipidi** → più rigidi ma molta **mobilità laterale**.

- **Caveole:** invaginazioni della membrana plasmatica **stabilizzate dalla caveolina**; riconoscibili morfologicamente.
- **Rafts non invaginati:** piani e non distinguibili dal resto della membrana con microscopia standard.



Zattere (Raft) Lipidiche

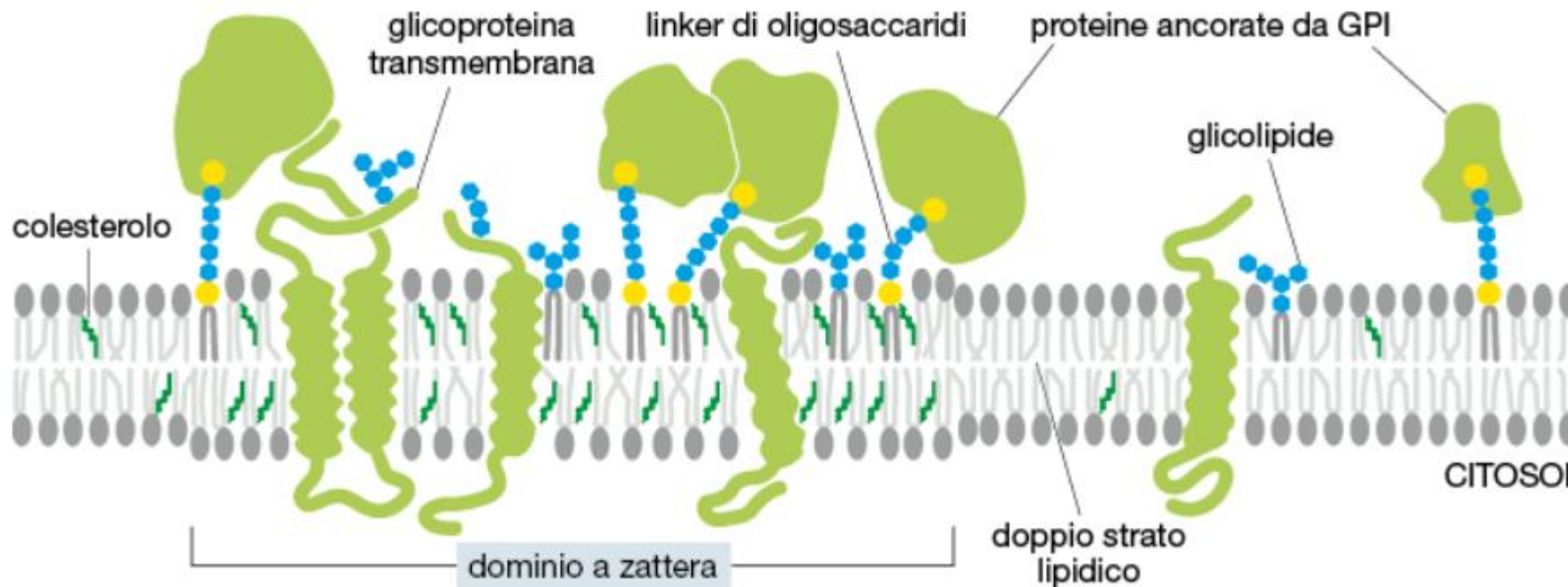
Funzioni delle zattere lipidiche

Organizzazione della membrana per:

- traffico vescicolare
- **assemblaggio di complessi proteici.**
- **trasduzione del segnale:** conversione di segnali extracellulari → intracellulari

Composizione tipica delle zattere Arricchite in:

- **colesterolo**
- **sfingolipidi**
- **glicolipidi**
- proteine ancorate da **GPI** (**glicosilfosfatidilinositolo**)
- alcune **proteine transmembrana**



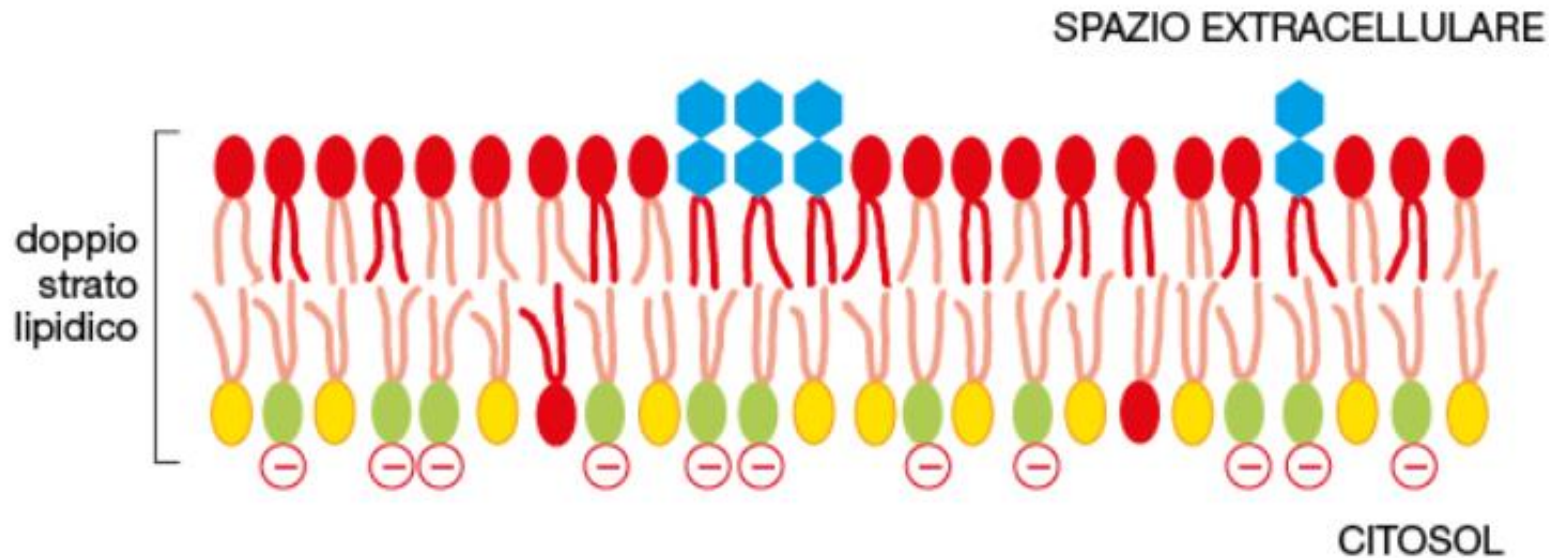
Caratteristica:
maggiore **spessore del doppio strato** rispetto alle regioni circostanti.

Asimmetria del Doppio Strato Lipidico

- I due monostrati del doppio strato hanno **composizioni diverse**.
- Esempio: globuli rossi umani.
 - Foglietto esterno: **fosfatidilcolina** e **sfingomielina**.
 - Foglietto interno: **fosfatidiletanolamina** e **fosfatidilserina**.
- Risultato: **differenza di carica** (fosfatidilserina negativa → lato interno).

Funzioni dell'asimmetria

- **Segnalazione e reclutamento proteine:**
 - PKC (proteina chinasi C) → richiede fosfatidilserina interna per attivarsi.
- **Modifiche temporanee → creano siti di legame** (es. fosfatidilinositolo fosforilato).
 - segnalazione intracellulare
 - traffico vescicolare



Asimmetria della Membrana Plasmatica

I due foglietti lipidici hanno **composizione diversa**:

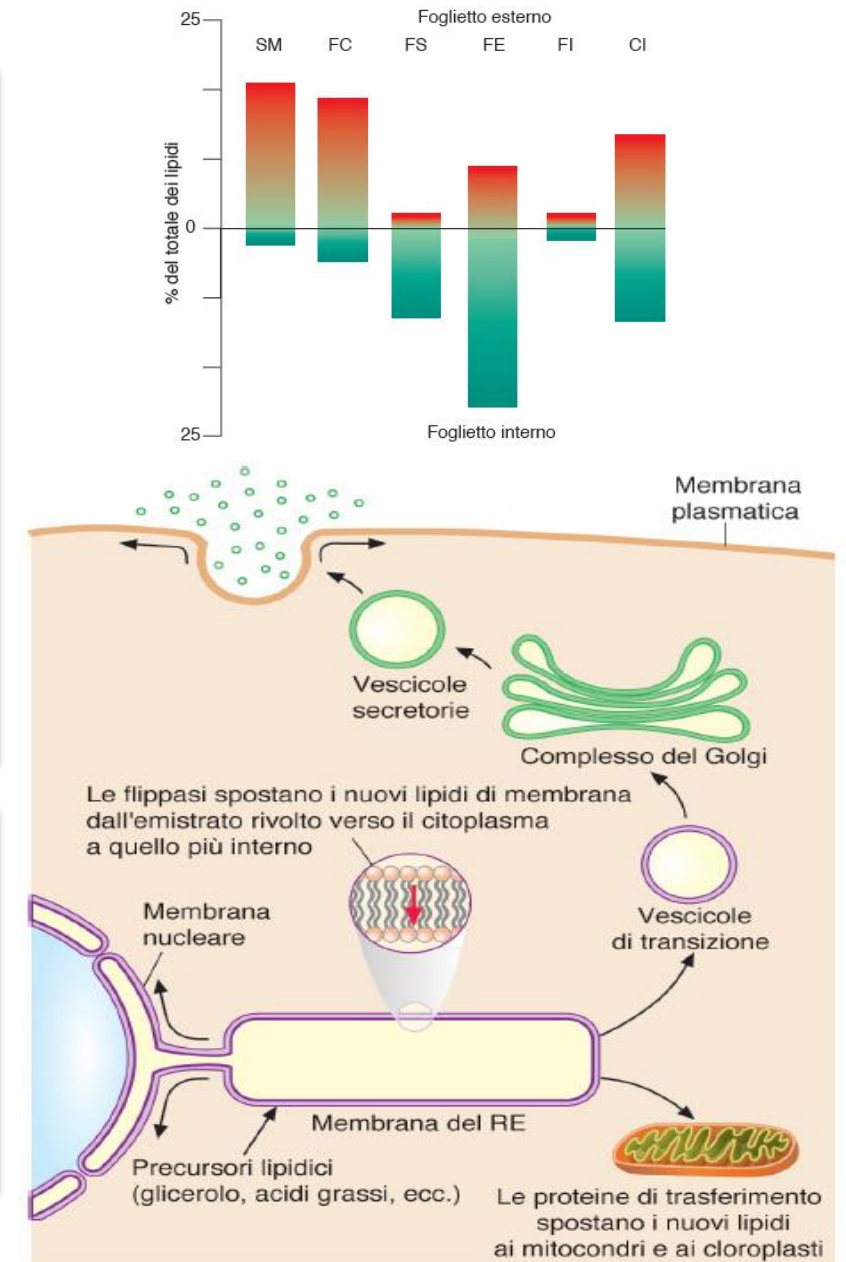
- **Esterno** → ricco in **fosfatidilcolina (FC)** e **sfingomieline (SM)** (~80%)
- **Interno** → ricco in **fosfatidiletanolammina (FE)**, **fosfatidilserina (FS)** e **fosfatidilinositolo (FI)** (~90%) **negativamente carico**

Origine:

- Lipidi **sintetizzati** nel **RE** sul **versante citoplasmatico della cellula**.
- **Flippasi** ed altri trasportatori li portano **sul versante interno del RE** (che equivale al versante esterno della cellula, dopo la fusione delle vescicole)
- **Trasferimento in vescicole** → **Golgi** → **membrana plasmatica**.
- Lipidi diretti ai mitocondri/cloroplasti → trasporto mediato da proteine specifiche.

Funzionale:

- **Endocitosi/esocitosi dipendono** dalla **differente distribuzione** dei fosfolipidi.
- Asimmetria **necessaria al riconoscimento di segnali** e **interazioni molecolari**.
 - Proteine e Glicoproteine presenti solo in un foglietto
 - Proteine transmembrana hanno orientamento fisso

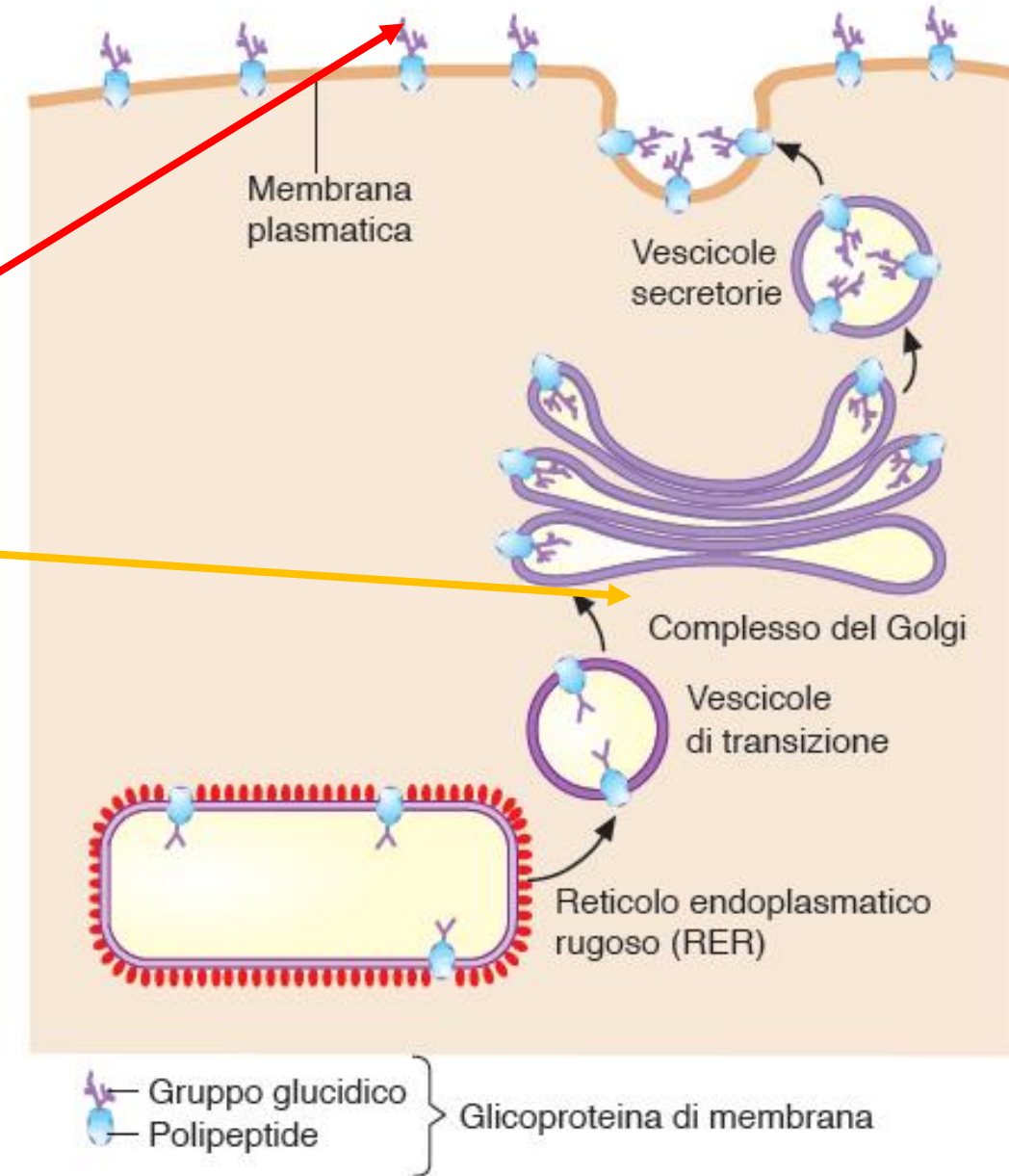


Carboidrati di Membrana: il Glicocalice

- **Distribuzione asimmetrica** estrema: presenti **solo nel monostrato esterno (extracellulare)**.
- Tendenza ad aggregarsi in **zattere lipidiche**.

I **carboidrati** sono presenti **solo sul versante esterno** della membrana plasmatica e delle membrane degli organuli **(rivolti verso il lume delle vescicole)** → equivalenti all'esterno della cellula).

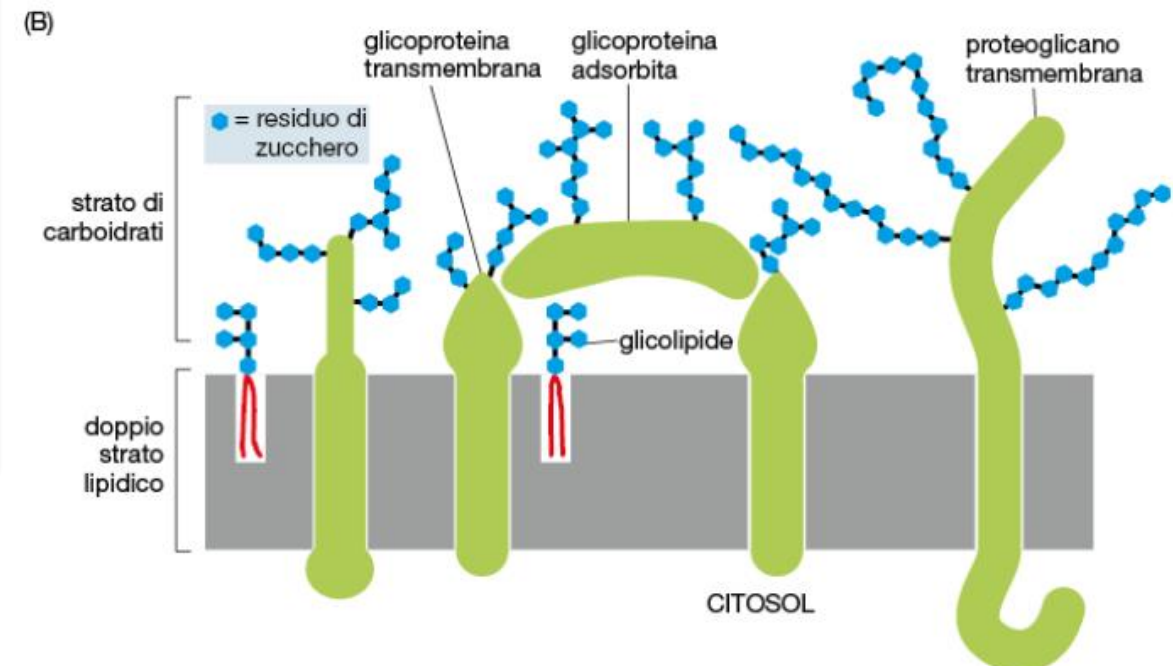
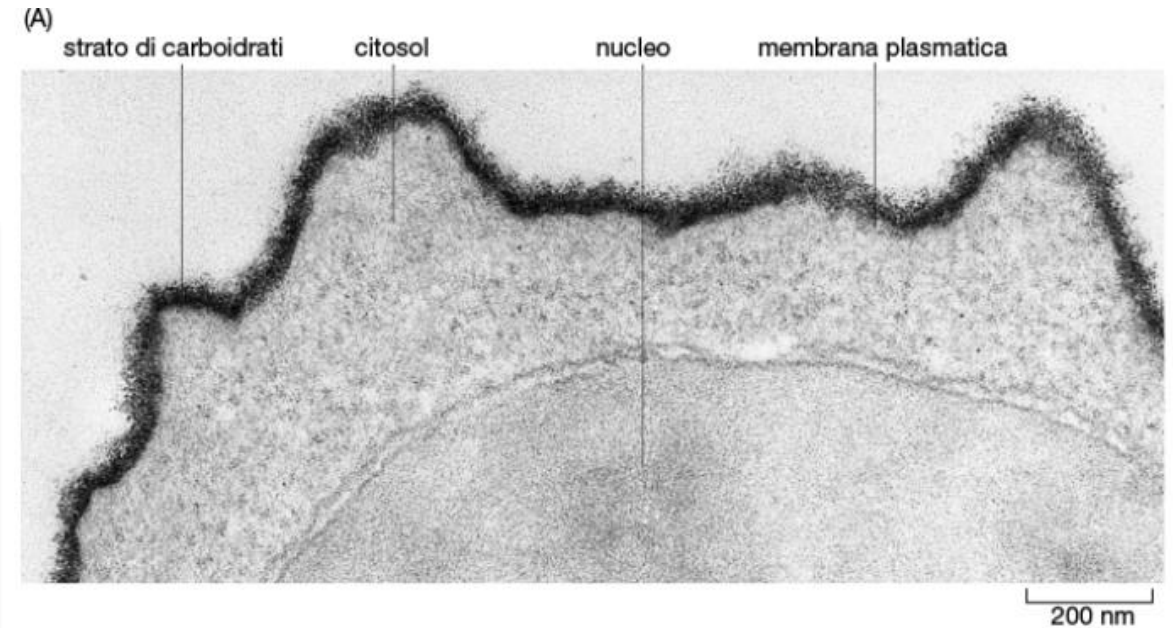
- I glicolipidi acquisiscono gli zuccheri nel **lume del Golgi**.
- Topologia: il lume del Golgi è equivalente all'**esterno della cellula**.
- Quando trasportati alla membrana plasmatica → zuccheri esposti sulla superficie cellulare.



Carboidrati di Membrana: il Glicocalice

Funzioni dei glicolipidi

- **Protezione:** superficie apicale delle cellule epiteliali → barriera contro pH basso ed enzimi degradativi.
- **Effetti elettrici:** alterano il campo elettrico e influenzano concentrazione di ioni (es. Ca^{2+}).
- **Riconoscimento cellulare:**
 - interazioni carboidrati–lectine.
 - adesione cellula–cellula.
 - Ruolo **antigenico** (es. sistema AB0)
 - Punti di legame per **virus e batteri**



The diagram illustrates the classification of membrane proteins into integral and peripheral proteins, and their association with the lipid bilayer.

Proteine di membrana integrali (Integral Membrane Proteins):

- A Proteina integrale monotopica**: A single-pass transmembrane protein.
- B Proteina monopasso**: A single-pass transmembrane protein.
- C Proteina multipasso**: A multi-pass transmembrane protein.
- D Proteina multi-merica**: A multi-meric transmembrane protein.

Proteine di membrana ancorate ad un lipide (Lipid-anchored Membrane Proteins):

- E Proteina di membrana periferica**: A peripheral membrane protein.
- F Àncora di acido grasso o di gruppo prenile**: A lipid anchor (fatty acid or prenyl group).
- G Àncora di GPI**: A GPI anchor.

Caratteristiche generali (General Characteristics):

- Le proteine di membrana sono anfipatiche (Membrane proteins are amphipathic).
- Diversità strutturale e funzionale = diversi modi di associazione al doppio strato lipidico (Structural and functional diversity = different ways of association with the lipid bilayer).

Diagramma di dettaglio (Detail Diagram):

The diagram shows a cross-section of the lipid bilayer with various proteins embedded or associated. Key features include:

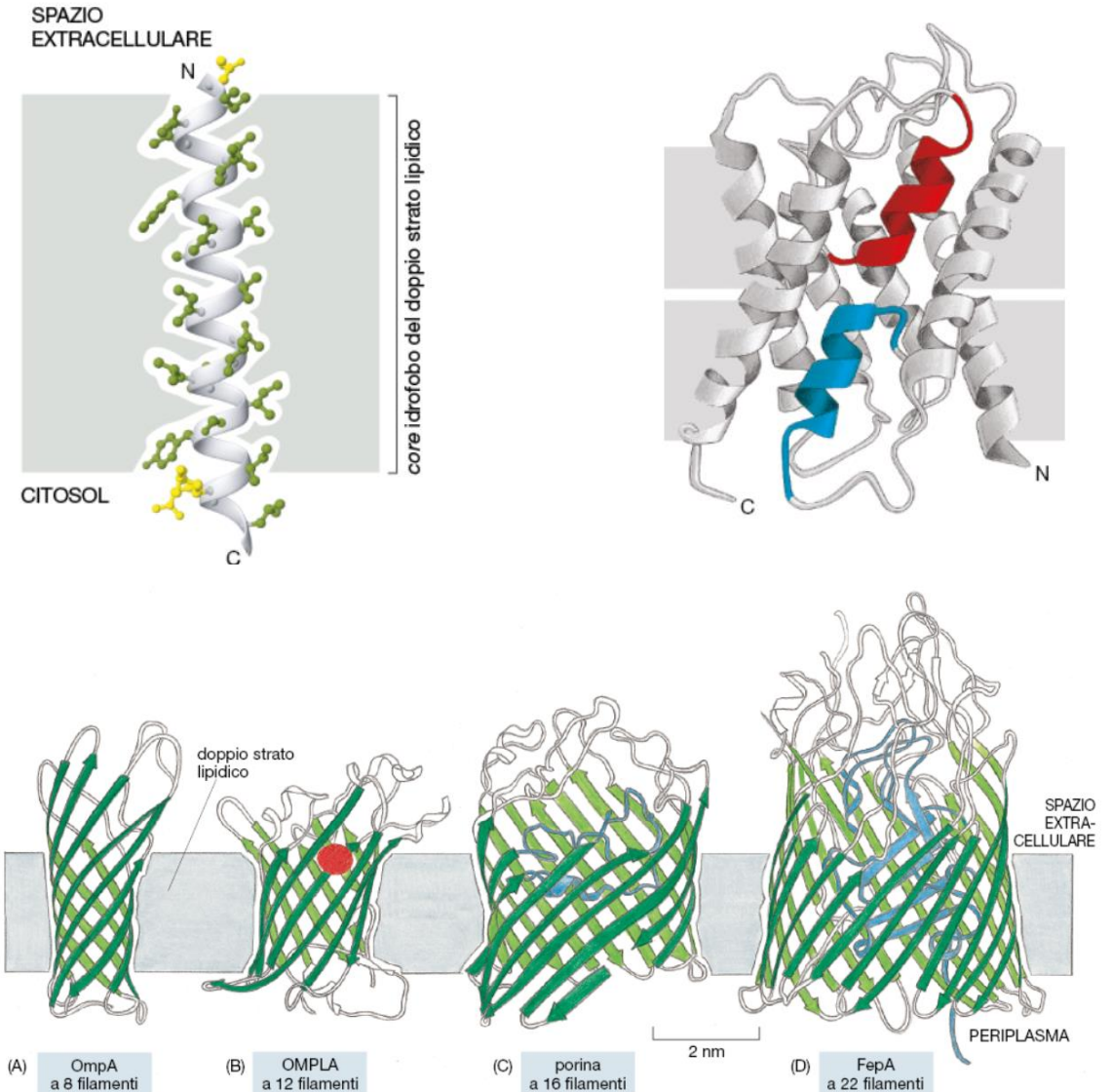
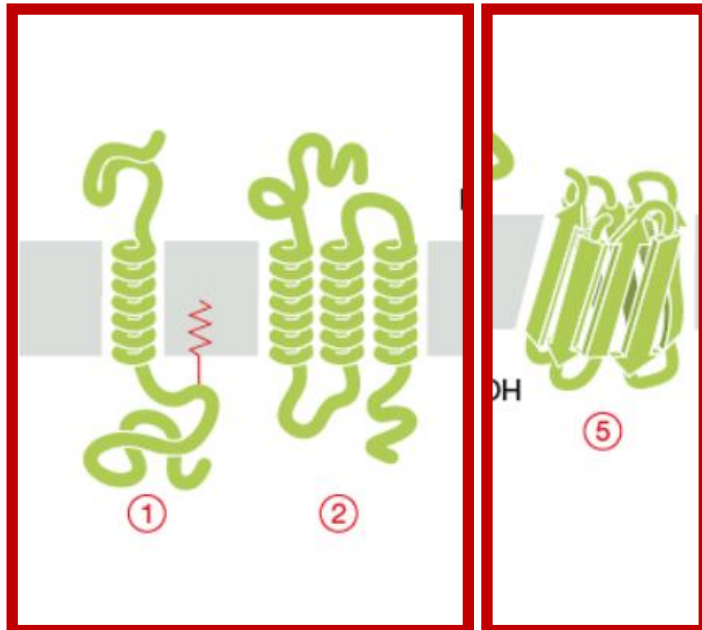
- Superficie esterna** (External surface) and **Superficie interna** (Internal surface).
- Segmento trans-membrana** (Transmembrane segment).
- Canale protonico** (Proton channel).
- Batteriorodopsina** (Bacteriorhodopsin).
- COOH** (Carboxyl group) and **NH₂** (Amino group) labels.
- doppio strato lipidico** (Lipid bilayer).
- CITOSOL** (Cytosol).

Struttura e Funzioni delle Proteine di Membrana

Alcune di queste proteine a “singolo passaggio” e a “passaggi multipli” hanno una **catena di acido grasso** attaccata **inserita nel monostrato lipidico citosolico (1)**

Tipologie

1. **Singola α -elica** (single-pass).
2. **Multiple α -eliche** (multi-pass).
5. **β -barile** (β -sheet arrotolato).



Struttura e Funzioni delle Proteine di Membrana

Le proteine di membrana determinano le funzioni specifiche

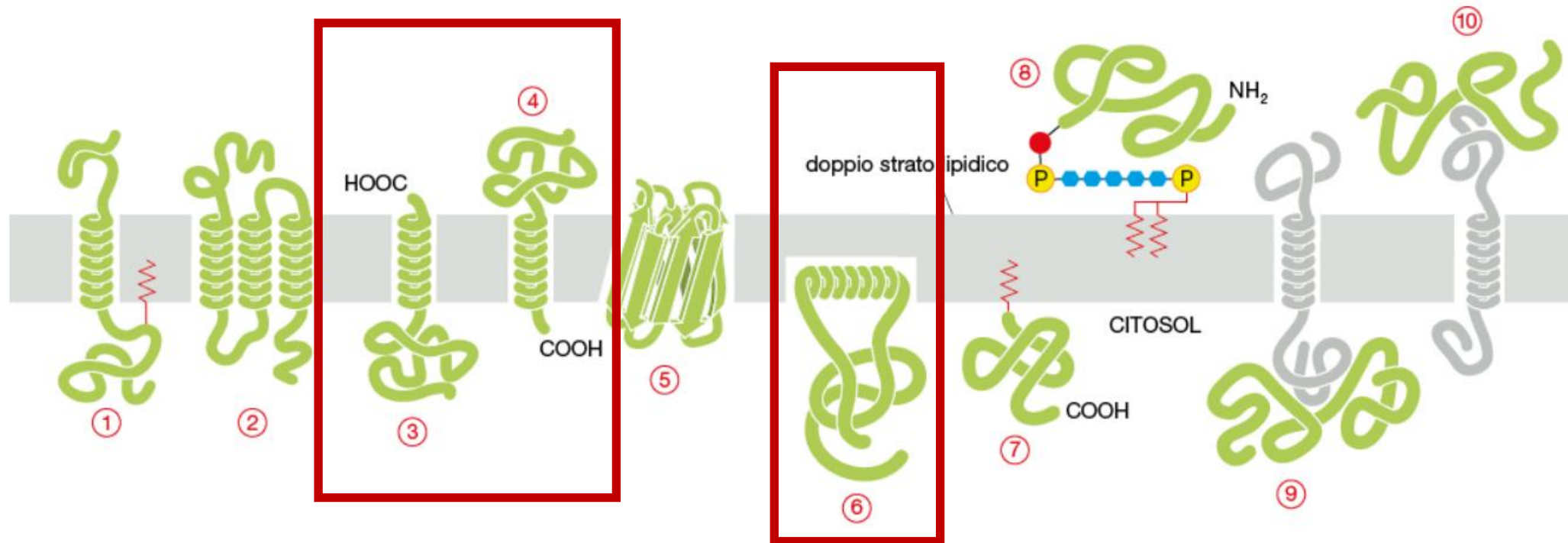
Tipologie - Esposte principalmente su un lato:

3. Glicosiltransferasi (glicosilazione nell'apparato Golgi).

4. Proteine SNARE (fusione di membrane).

6. Proteine ancorate alla superficie citosolica da un' α -elica anfipatica che si inserisce nel monostrato con la faccia idrofoba dell'elica.

Regioni idrofobe → attraversano parzialmente il doppio strato.



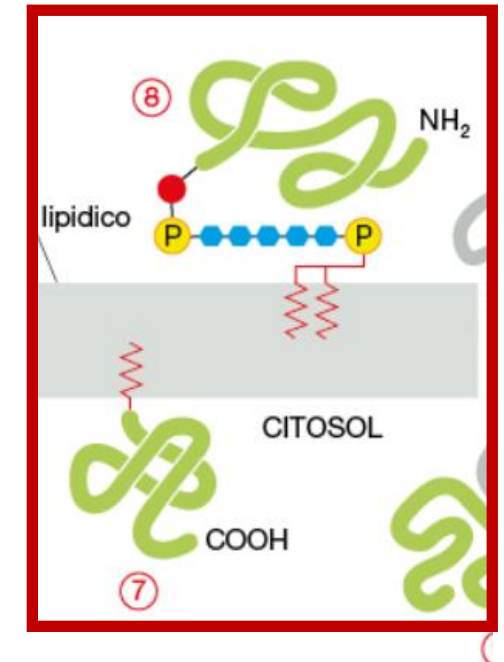
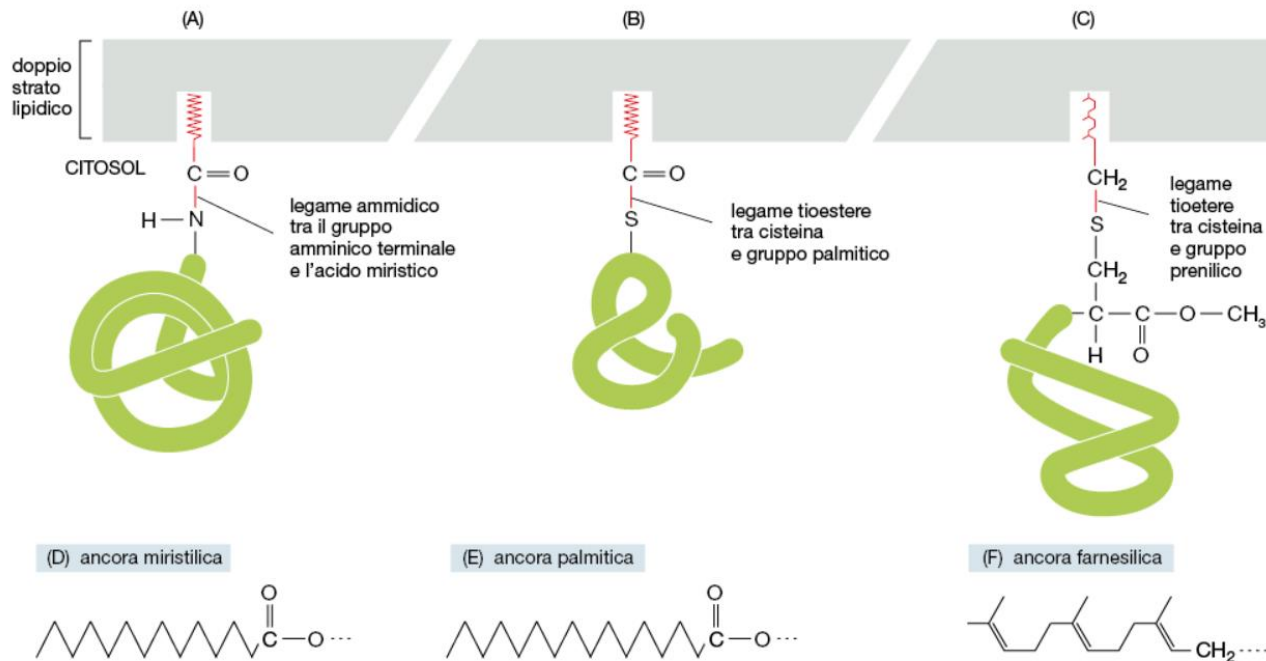
Struttura e Funzioni delle Proteine di Membrana

Le proteine di membrana determinano le funzioni specifiche

Tipologie

7. Proteine attaccate al doppio strato esclusivamente da un lipide di collegamento legato covalentemente – una catena di **acido grasso** o un **gruppo prenilico** nel monostrato citosolico

8. Proteine attaccate al doppio strato **tramite un oligosaccaride, al fosfatidilinositolo** del monostrato non citosolico, **chiamato ancora di GPI**.

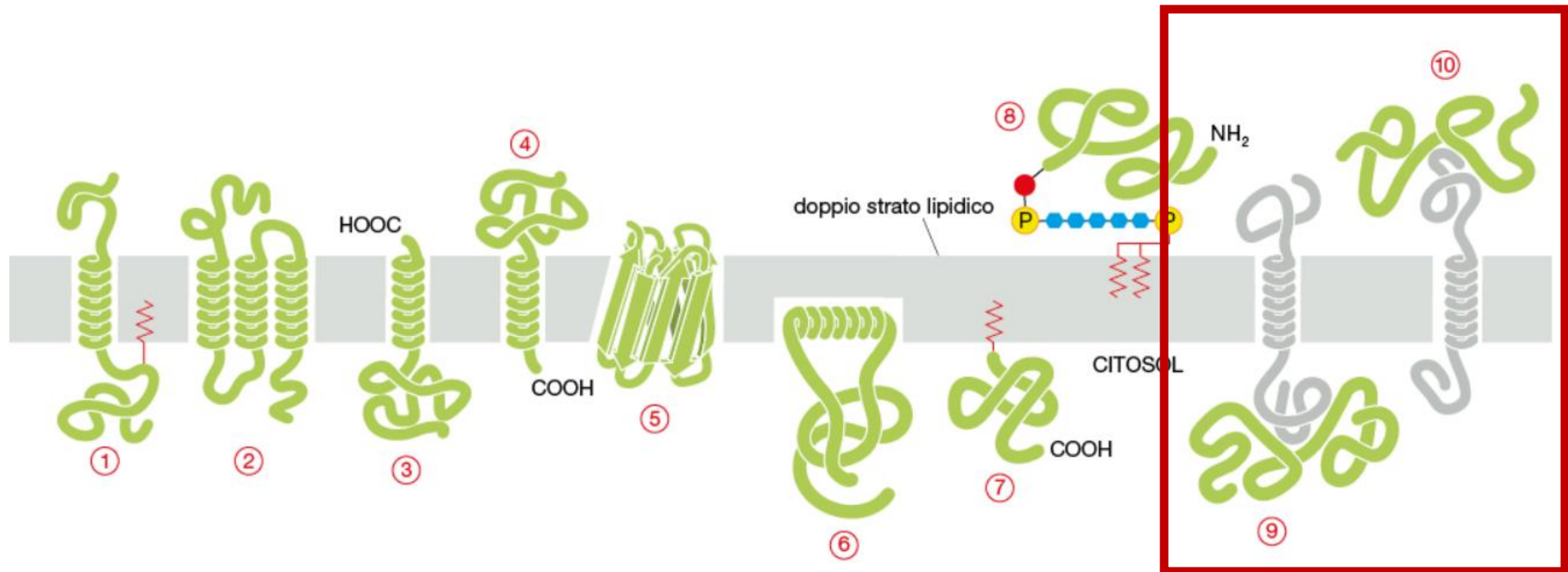


Struttura e Funzioni delle Proteine di Membrana

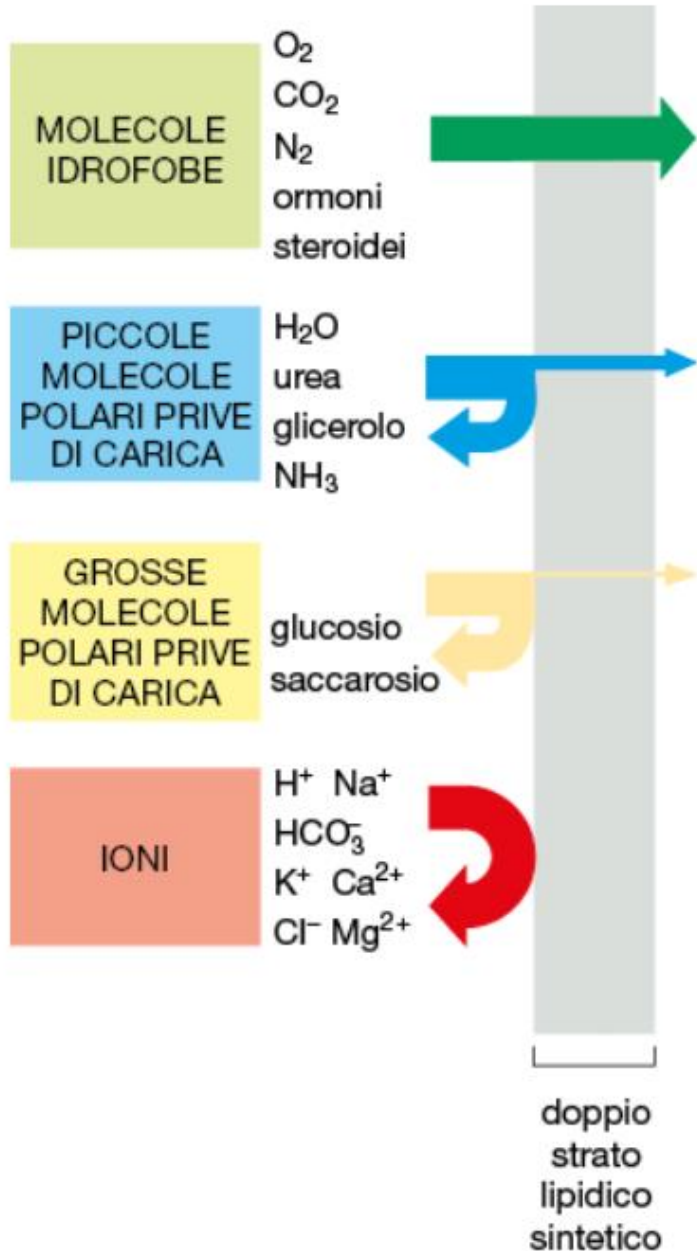
Le proteine di membrana determinano le funzioni specifiche

Tipologie

9-10. Infine molte proteine sono **legate alla membrana soltanto da interazioni non covalenti con altre proteine** di membrana



Diffusione Attraverso la Membrana

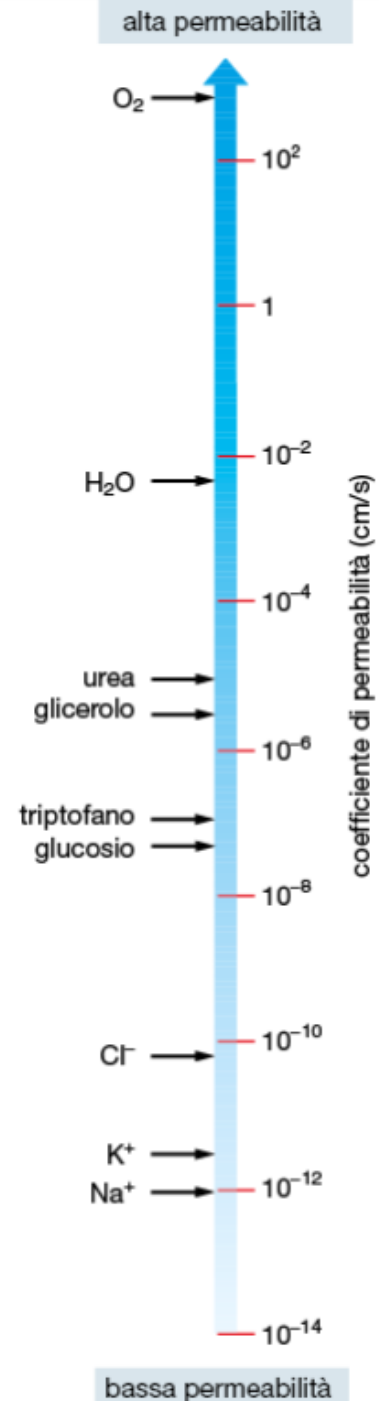


- Con tempo sufficiente, **qualsunque molecola** può diffondere secondo il **gradiente di concentrazione**.
- Ma la **velocità di diffusione** varia in base a:
 - dimensioni della molecola.
 - **idrofobicità relativa**.

Molecole piccole, idrofobiche e non polari passano velocemente attraverso il doppio strato

Molecole polari non cariche
Piccole molecole polari senza carica possono diffondere, ma più lentamente.

Impermeabilità agli ioni
Anche ioni molto piccoli non riescono ad attraversare a causa della loro carica elettrica e forte **idratazione**

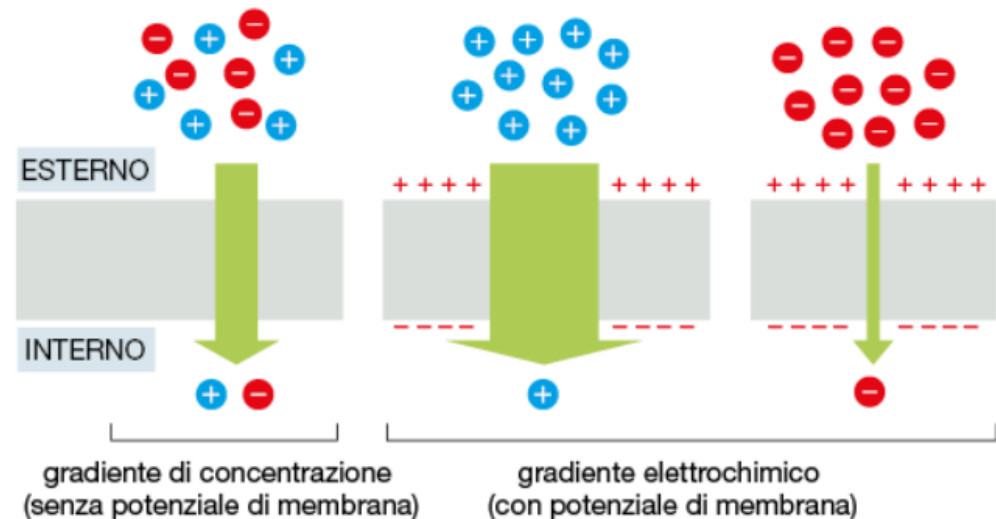
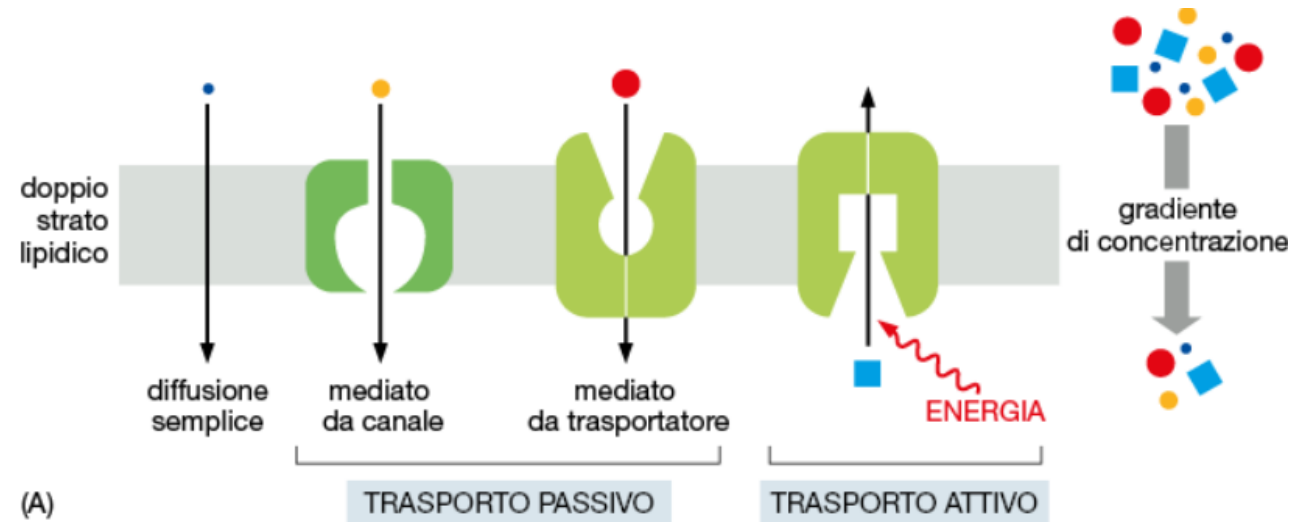


Trasporto e Diffusione Attraverso la Membrana

Il **trasporto** attraverso la membrana plasmatica si suddivide in **passivo e attivo**.

- Il **trasporto passivo** non richiede energia e include:
 - la **diffusione semplice** (attraversamento diretto da parte di piccole molecole),
 - la **diffusione facilitata** (mediata da proteine di trasporto, come canali e carrier),
 - l'**osmosi** (diffusione dell'acqua)
 - e la filtrazione.

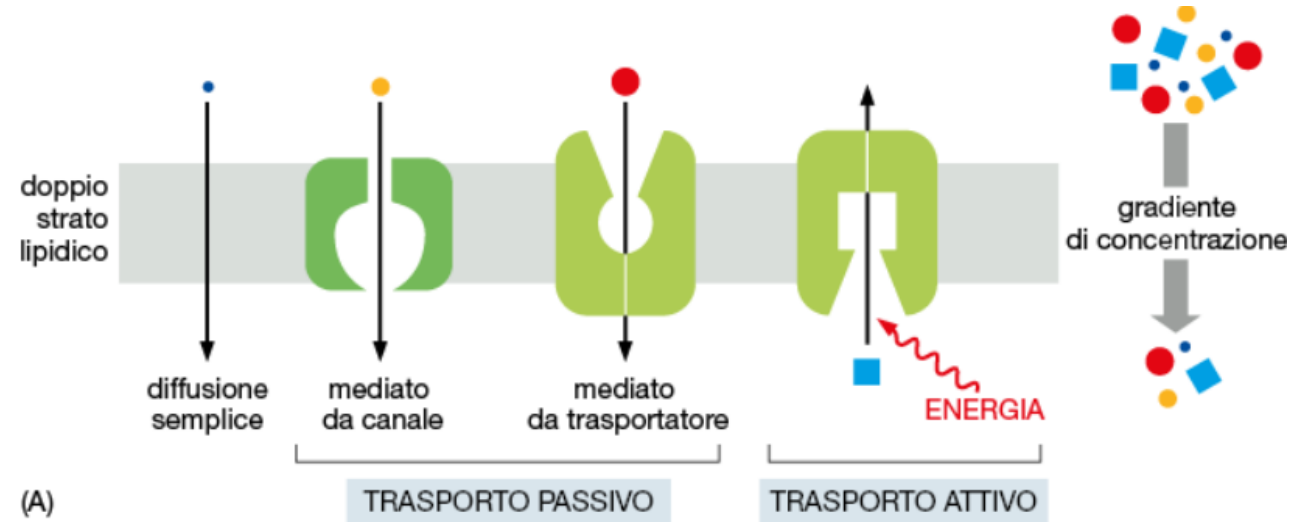
- Il **trasporto attivo** utilizza energia (es. ATP) per spostare sostanze contro il loro gradiente di concentrazione e comprende:
 - il trasporto **attivo primario** (es. pompa sodio-potassio)
 - e **secondario** (o **co-trasporto**),
 - e i **trasporti vescicolari** (endocitosi ed esocitosi).



Trasporto Passivo

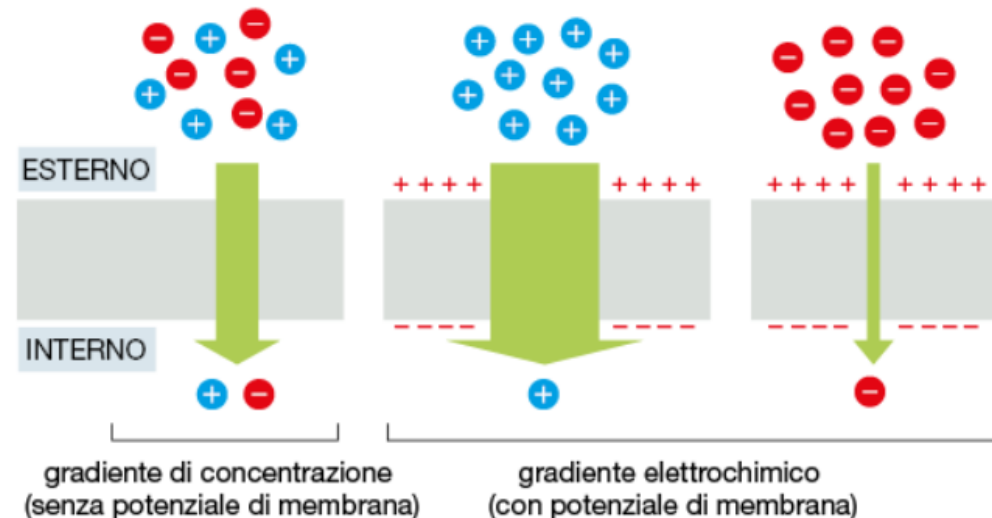
Trasporto passivo

- Definizione: movimento di soluti **“in discesa”** lungo il **gradiente**.
- Diffusione diretta attraverso il doppio strato lipidico.
- Trasporto mediato da **canali** o **trasportatori passivi**.
- Dipende dal:
 - gradiente di concentrazione** (soluti neutri).
 - gradiente elettrochimico** (soluti carichi).



Gradiente elettrochimico

- Forza netta che guida il movimento di uno ione.
- Risultato della combinazione di:
 - gradiente di concentrazione**.
 - potenziale di membrana**.
- In genere:
 - interno della cellula = **negativo** rispetto all'esterno.
 - favorisce ingresso di ioni positivi.
 - ostacola ingresso di anioni e uscita di cationi.



Trasporto attraverso le membrane: Diffusione semplice

Le membrane cellulari regolano il flusso di **ioni e molecole** tra interno ed esterno.

La **membrana** è quindi una **barriera selettivamente permeabile**.

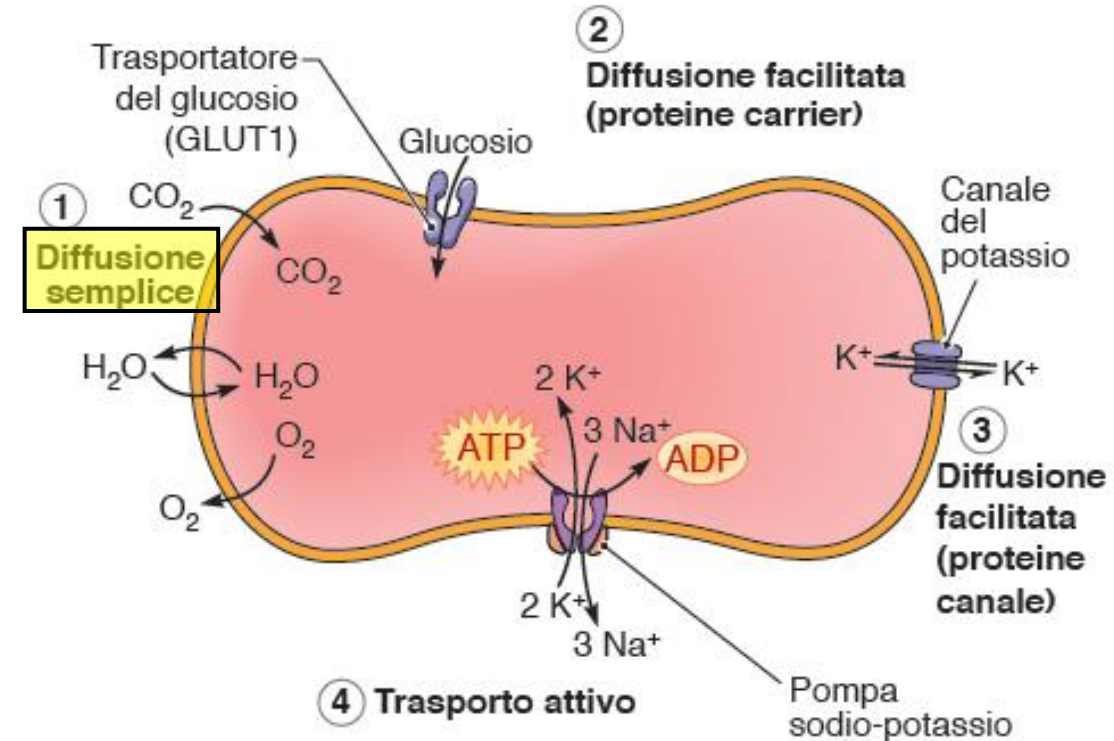
1. Diffusione Semplice:

Movimento spontaneo **secondo gradiente di concentrazione**, **(non richiede ATP)** che è influenzato da:

- **Dimensioni e lipofilia** della molecola.
(Gas e molecole apolari, steroidi)
- **Temperatura** → maggiore mobilità lipidica, più spazi intermolecolari.

Esempi:

- **Ossigeno**: entra nei polmoni (alta concentrazione) → rilasciato nei tessuti.
- **CO₂**: movimento inverso (dai tessuti ai polmoni).
- Molecole più idrofobiche diffondono più rapidamente (es. dietilurea vs urea).



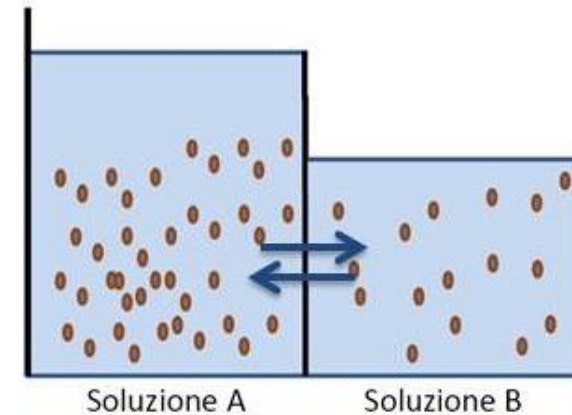
Osmosi

2. **Membrana semi-permeabile:** permeabile al solvente, ma non al soluto

Osmosi



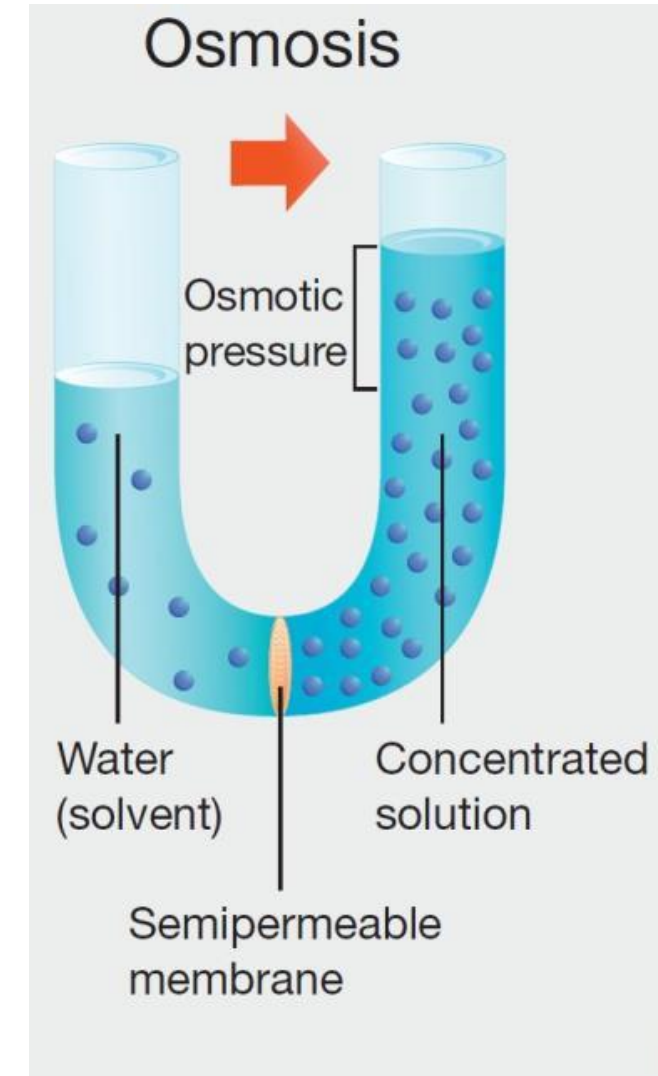
Nessun passaggio netto



Passaggio netto di solvente (acqua) da B a A

L'osmosi è il **passaggio spontaneo di un solvente** (che nei sistemi biologici di solito è l'acqua), **dalla soluzione in cui i soluti sono più diluiti a quella in cui sono più concentrati**;

questo movimento - che avviene **attraverso una membrana semipermeabile** - continua **fino al raggiungimento di una situazione di equilibrio**, in cui **entrambe le soluzioni** guadagnano e mantengono **la stessa concentrazione**.



Osmosi

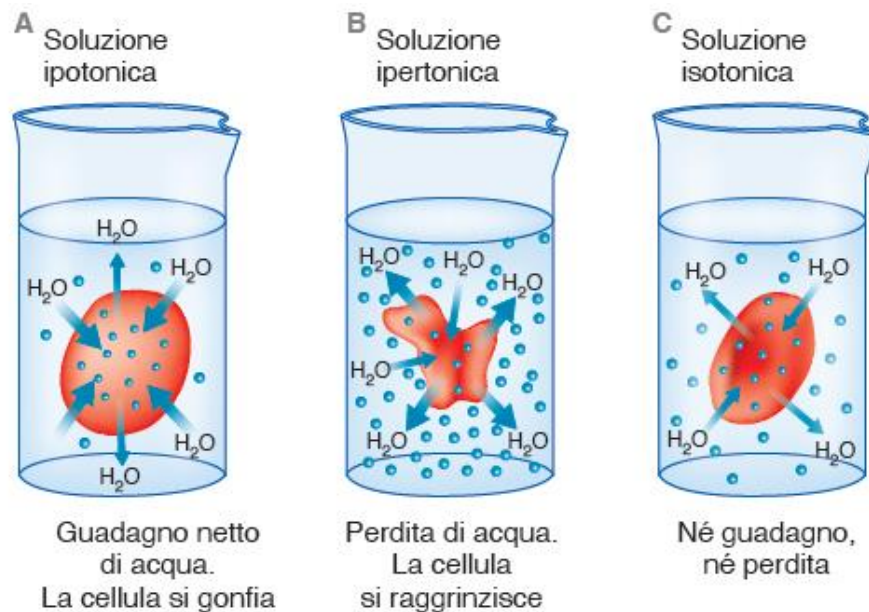
Tipo particolare di diffusione: **movimento dell'acqua** attraverso una **membrana semipermeabile**.

Direzione:

dall'ambiente a **minore concentrazione** di soluto (ipotonico) → a quello a **maggiore concentrazione** (ipertonico).

Condizioni:

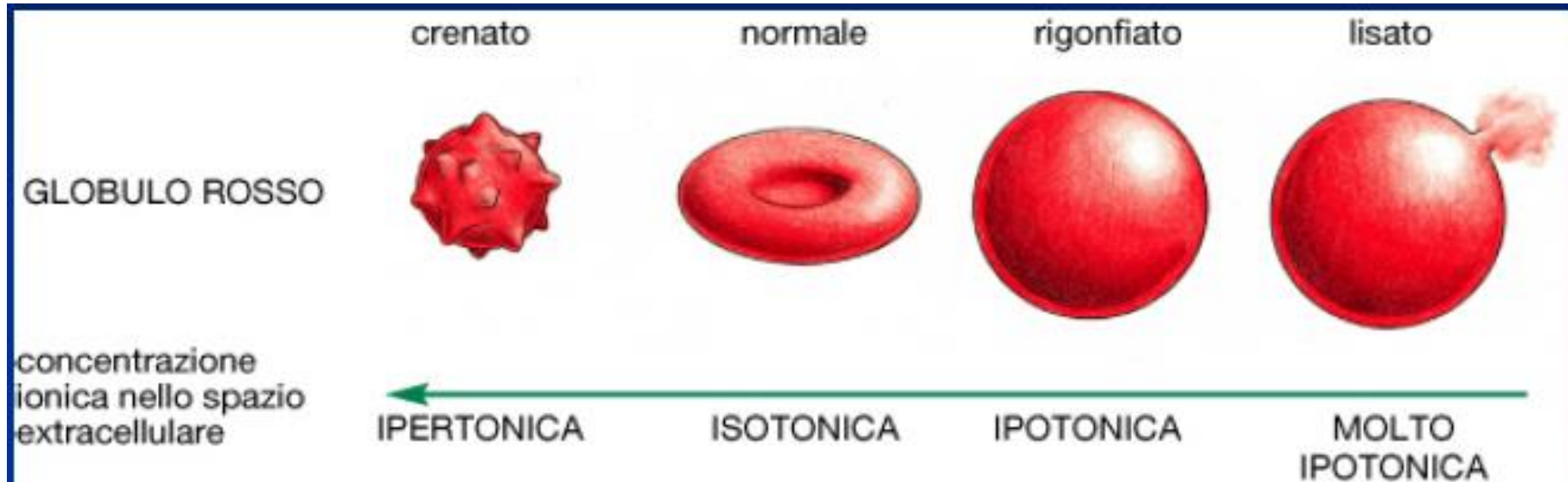
- **Ipotoniche (< conc)**: la cellula assorbe acqua (**Diluisce**) → si **rigonfia** fino a scoppio.
- **Ipertoniche (> conc)**: la cellula perde acqua (**Concentra**) → si **restringe**.
- **Isotoniche (= conc)**: equilibrio, nessun flusso netto.



Adattamenti:

- Cellule animali → regolano volume grazie alla **pompa Na^+/K^+** .
- Cellule vegetali → sfruttano l'osmosi per sviluppare la **pressione di turgore**, che sostiene fusto e foglie.

Osmosi



Se una cellula si trova in una **soluzione ipertonica**, cioè con una concentrazione di soluti maggiore rispetto a quella intracellulare, vedrà i suoi fluidi uscire all'esterni e si «raggrinzirà».

Se una cellula si trova in una **soluzione isotonica**, cioè con una concentrazione di soluti pari a quella intracellulare, il flusso di acqua in uscita è pari a quello in entrata .

Se una cellula si trova in una **soluzione ipotonica**, cioè con una concentrazione di soluti minore rispetto a quella intracellulare, l'acqua tenderà ad entrare nella cellula e a gonfiarla. Se la soluzione è eccessivamente ipotonica, la cellula si gonfierà sino a «scoppiare».

Diffusione Facilitata Necessita di Proteine di Trasporto o Canali

Caratteristiche delle proteine di trasporto

- Presenti in tutti i tipi di membrane biologiche.
- Altamente **specifiche**: spesso trasportano una singola molecola o una classe di molecole.
- Struttura: sempre **transmembrana a passaggi multipli**; creano un **percorso proteico idrofilo** attraverso il doppio strato.

Due classi principali

1. Trasportatori (carrier, permeasi)

1. Legano specificamente il soluto.
2. Subiscono **cambiamenti conformazionali ciclici**.
3. **Espongono alternativamente il sito di legame da un lato o dall'altro** della membrana.
4. **Trasporto** relativamente **lento**.

2. Canali

1. Formano un **pore continuo** attraverso la membrana.
2. Interazione soluto-canale = **transitoria**.
3. **Apertura regolata da cambiamenti conformazionali** → **soluto diffonde liberamente**.
4. Trasporto **molto più rapido** dei trasportatori.



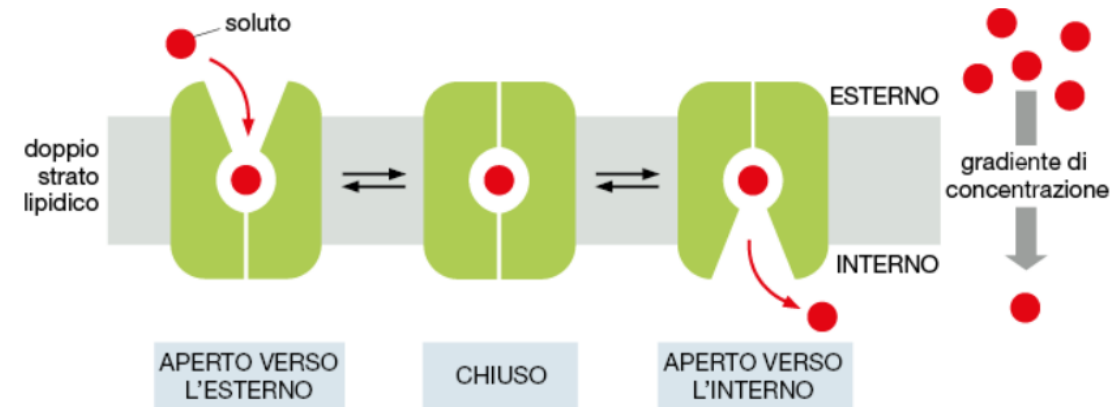
(A) TRASPORTATORE



(B) PROTEINA CANALE

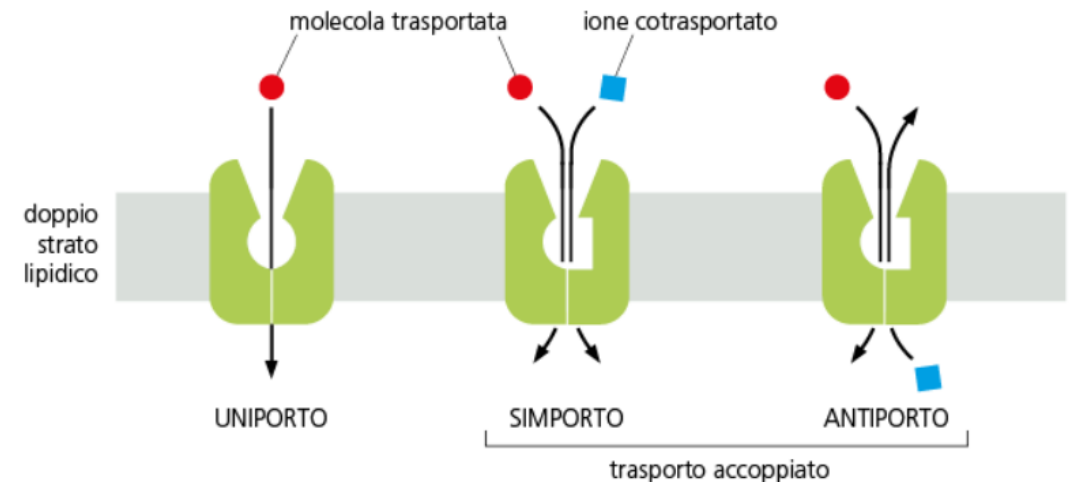
Diffusione Facilitata Caratteristiche

- ❖ Serve per **molecole grandi, polari o cariche** → non passano con diffusione semplice.
- ❖ Avviene **secondo gradiente di concentrazione** (esoergonica, senza ATP).
- ❖ Mediata da **proteine di membrana**:
 - **Carrier (permeasi)** → legano il soluto e cambiano conformazione.
 - **Canali ionici** → pori selettivi, apertura/chiusura regolata.



Il passaggio del Soluto è regolato da alcune caratteristiche generali:

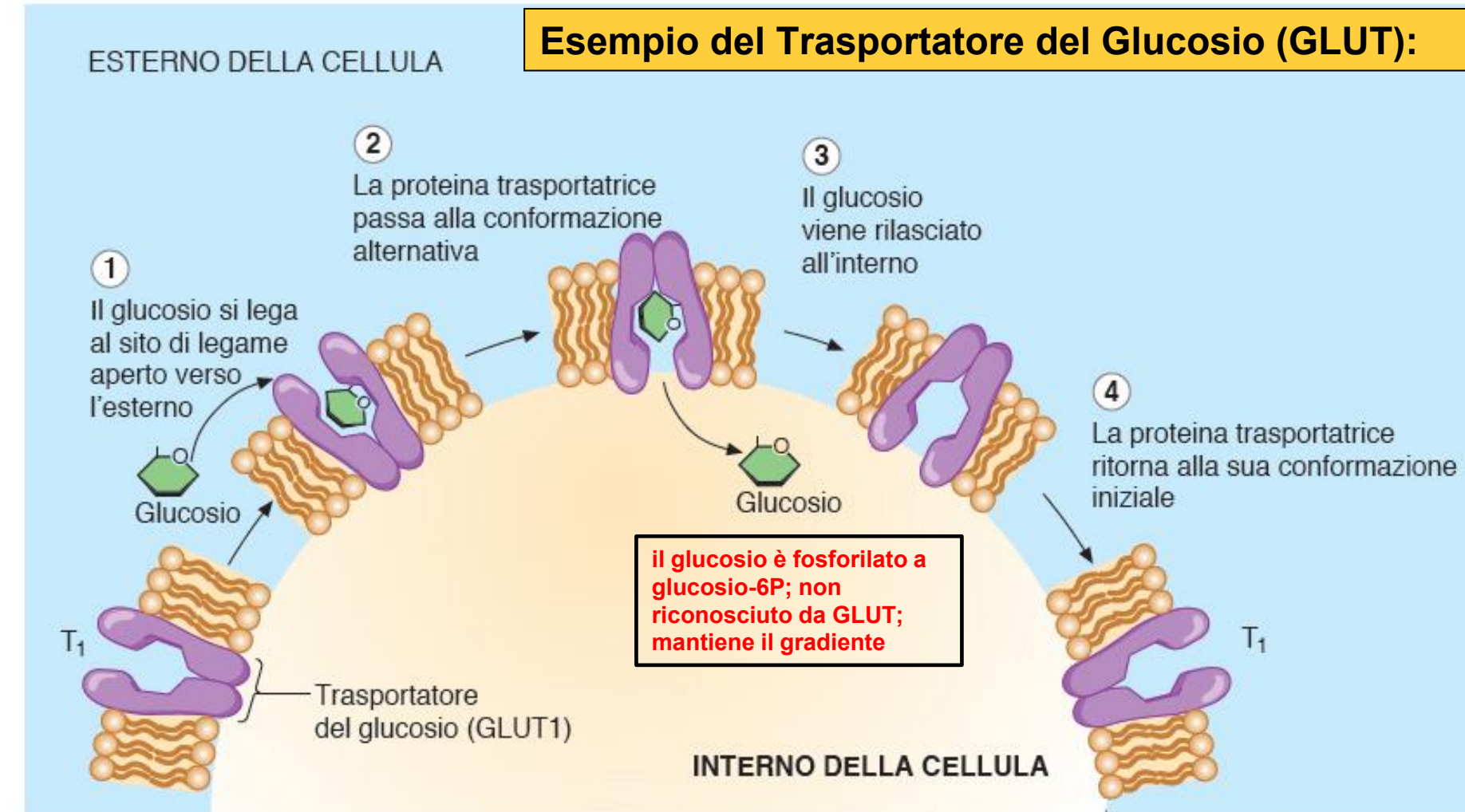
1. **Specificità**: interazione **soluto-sito di legame** (legami deboli → rilascio rapido).
2. **Saturabilità**: velocità **limitata dal numero di carrier** (analogia con enzimi): **nei carrier** dipende dal **legame** del soluto, **nei canali**, la saturazione dipende da **ampiezza del poro** o gating.
3. **Inibizione**: altri soluti possono bloccare il trasporto.
4. **Cooperazione**: altri soluti possono stimolarlo.
5. **Effetto trans** (**regola la direzione**): **soluti presenti sul lato opposto** della membrana **modulano il passaggio**.



Diffusione Facilitata: Trasportatore del Glucosio

Sono **proteine inglobate nella membrana** cellulare, che **si combinano temporaneamente** con le particelle da trasportare **accelerandone il movimento** attraverso il doppio strato fosfolipidico

- **GLUT1**: trasporta **glucosio secondo gradiente**.
- **Legame glucosio** lato esterno → **cambiamento conformazionale** → **rilascio** lato interno.
- Poi ritorno alla **conformazione iniziale**.
- Struttura → 12 α -eliche transmembrana formano una cavità centrale.



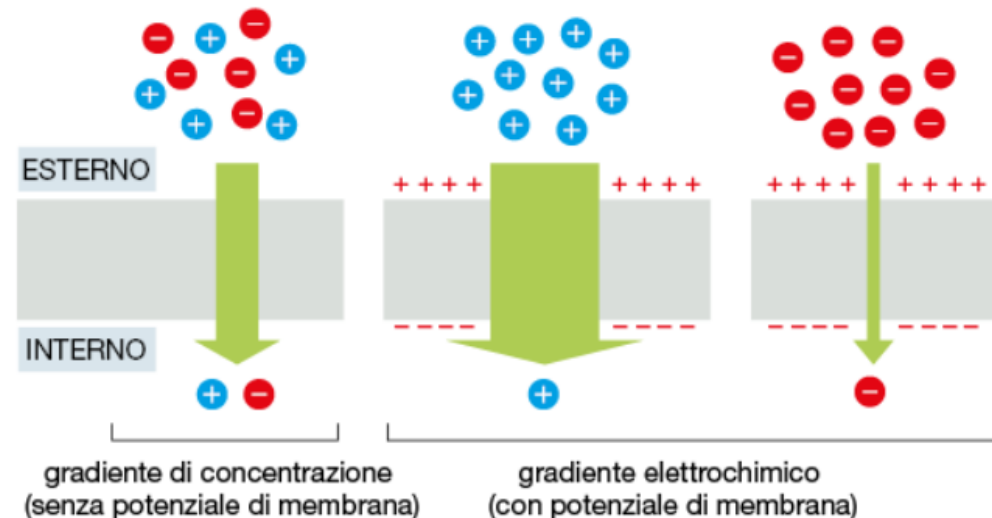
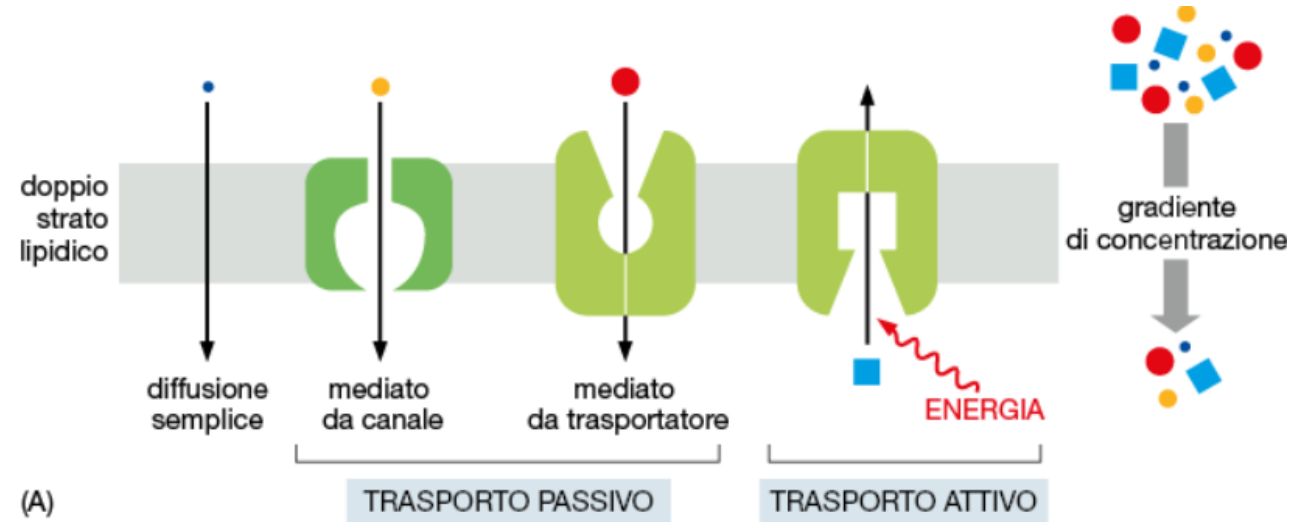
Trasporto Attivo

Trasporto attivo

- Definizione: movimento di soluti **“in salita”** **contro il gradiente elettrochimico**.
- Richiede energia** → pompaggio direzionale.
- Fonte di energia:
 - idrolisi di ATP**.
 - gradiente ionico pre-esistente** (accoppiamento).
- Mediato esclusivamente da **trasportatori attivi**.

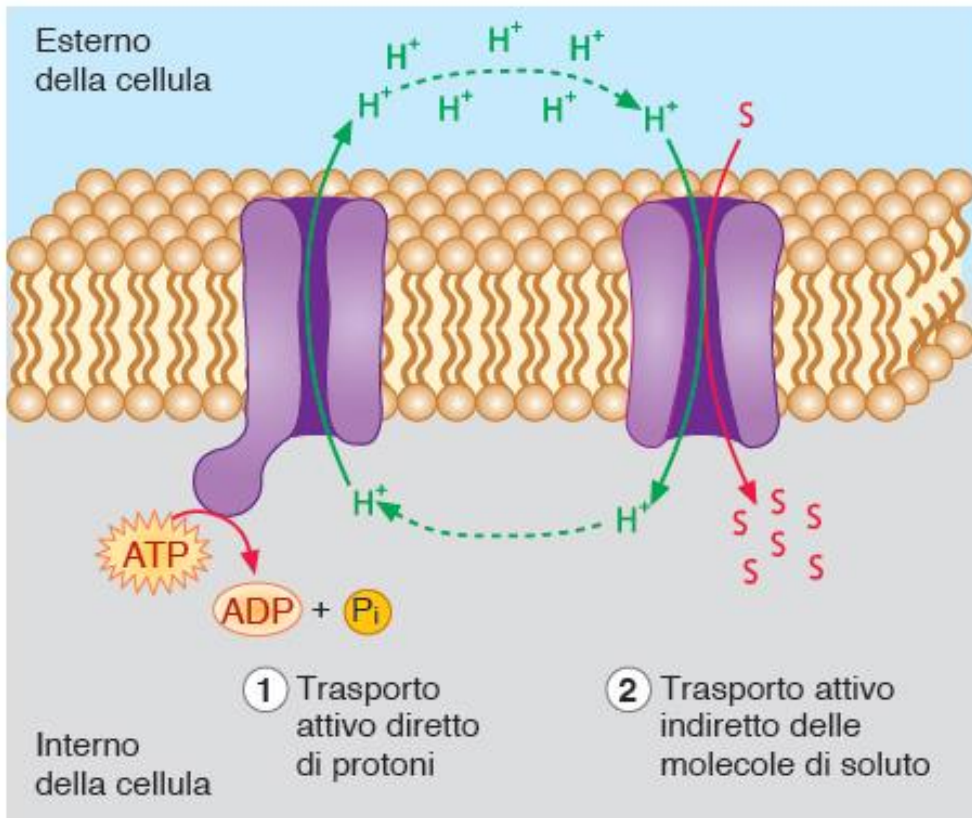
Differenze canali vs trasportatori

- Canali**: trasporto sempre **passivo**.
- Trasportatori**: trasporto sia **passivo** che **attivo**.



Trasporto Attivo

- Permette il movimento di ioni e molecole **contro gradiente di concentrazione ed elettrochimico**.
- Richiede **energia**: accoppiato all'idrolisi di ATP.
- Mediato da **pompe ATP-dipendenti (ATPasi)** → proteine transmembranarie con modifiche conformazionali.



Due tipi:

- **Diretto (primario)** → usa direttamente ATP.
- **Indiretto (secondario)** → **sfrutta il gradiente** generato da un **trasporto primario**.

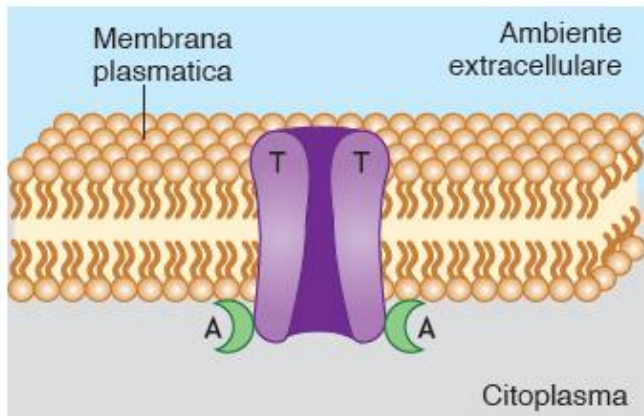
- ✓ **Na⁺**: 150 mM fuori / 10–20 mM dentro.
- ✓ **K⁺**: 5 mM fuori / 100 mM dentro.
- ✓ **Ca²⁺**: concentrazione citosolica 10.000 volte inferiore a quella extracellulare.

Questi gradienti sono mantenuti dalle **pompe attive**.

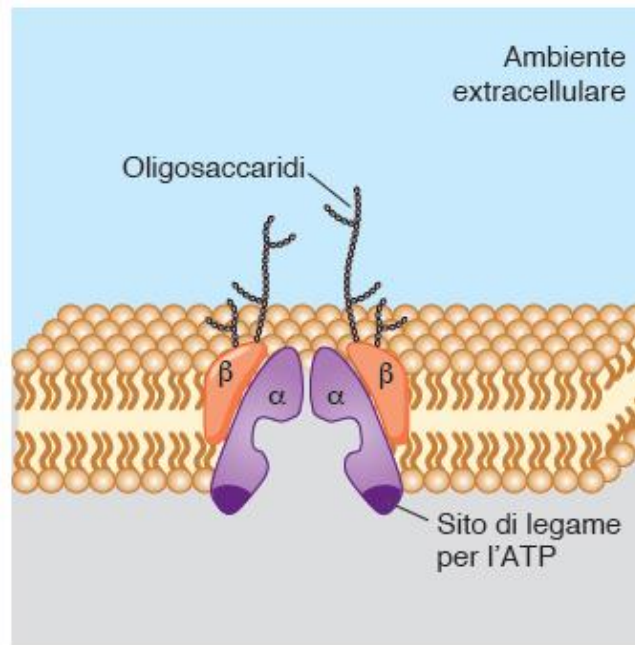
Trasporto Attivo Diretto

Il trasporto attivo diretto dipende da tre classi di **Pompe ATPasi**:

1. **ATPasi di tipo P** $\rightarrow \text{Na}^+/\text{K}^+$, Ca^{2+} , H^+ .
2. **ATPasi di tipo V** $\rightarrow$ trasporto protoni in vescicole/endosomi. / **ATPasi di tipo F** $\rightarrow$ sintesi di ATP nei mitocondri/cloroplasti (inverso del trasporto).
3. **ATPasi di tipo ABC** $\rightarrow$ trasporto di ioni, zuccheri, aminoacidi e molecole varie.

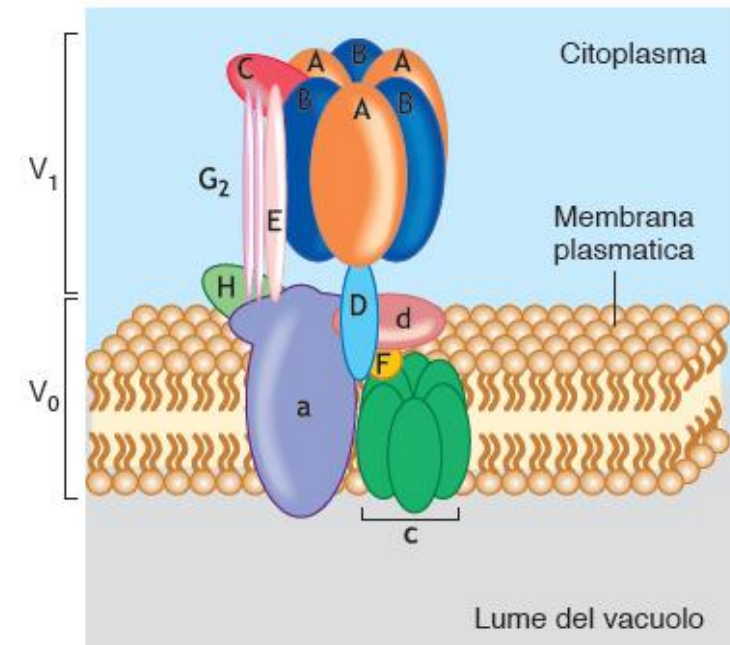


ATPasi di tipo P



ATPasi di tipo V

ATPasi di tipo F



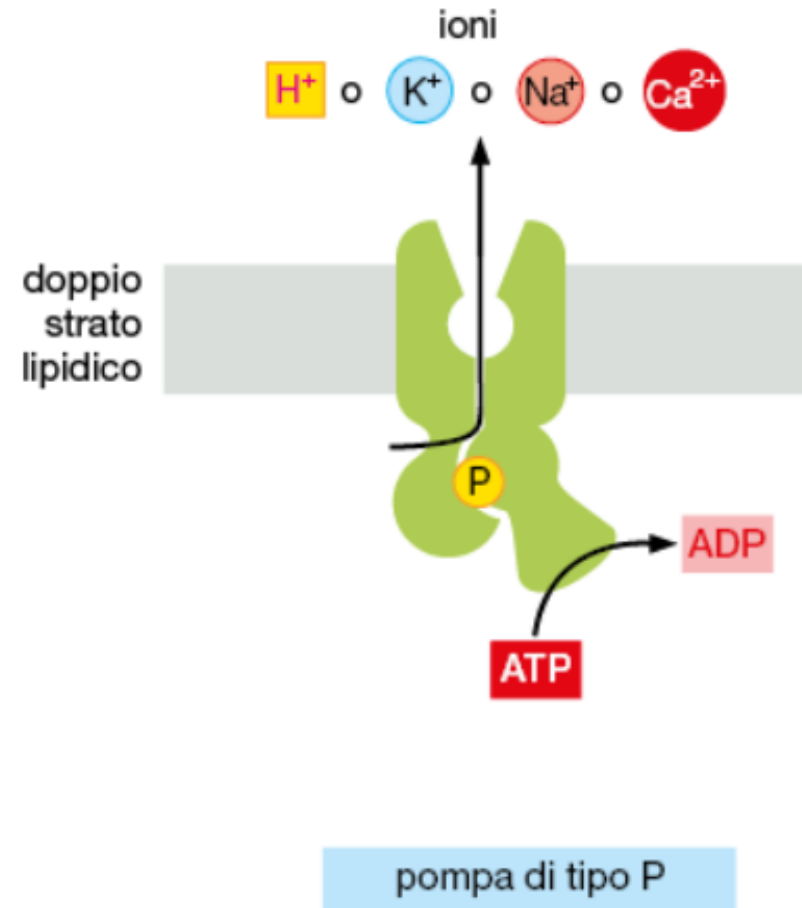
ATPasi di tipo ABC

Pompe spinte da ATP: Pompe di Tipo P

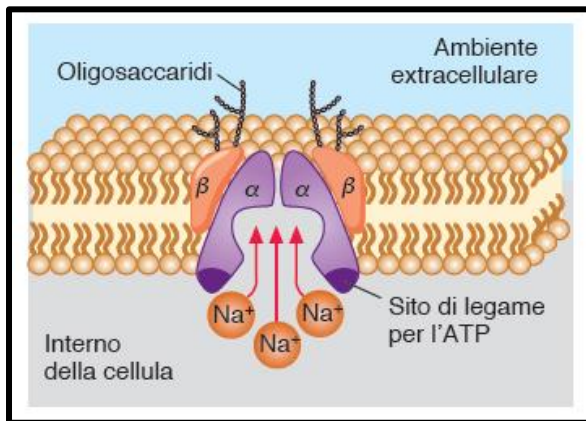
- **Pompe ATP-driven** = ATPasi di trasporto
- Funzione: idrolizzano **ATP → ADP + Pi**
- Usano l'energia rilasciata per **pompate ioni o soluti** contro gradiente.<

Pompe di tipo P

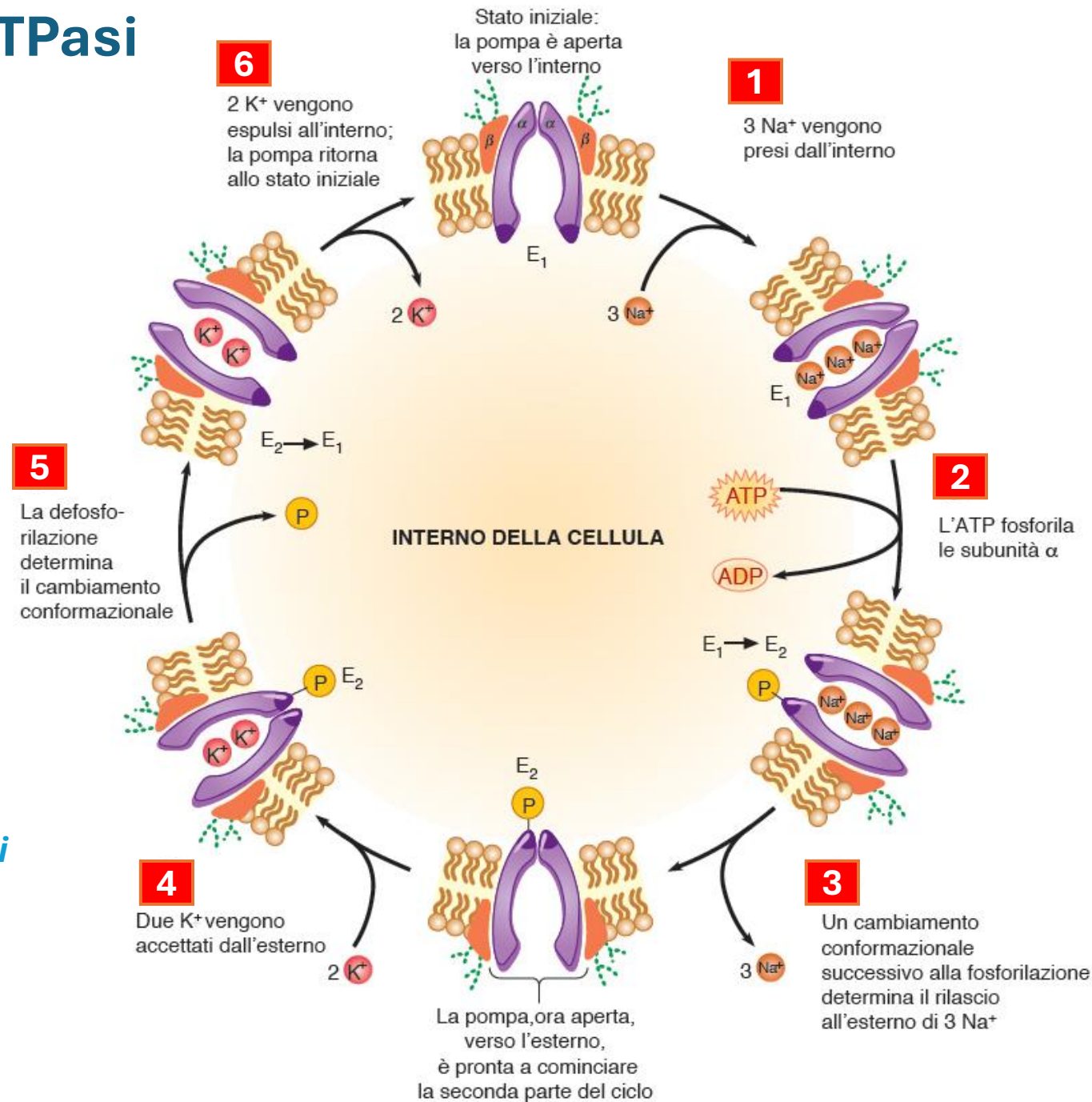
- **P = phosphorus** → si **autofosforilano** durante il ciclo di pompaggio.
- Proteine transmembrana a passaggi multipli.
- Ruolo: **costituzione e mantenimento di gradienti ionici fondamentali**.
- Ioni trasportati: **Na⁺, K⁺, H⁺, Ca²⁺**.
- Esempi:
 - **Pompa Na⁺/K⁺-ATPasi** (membrana plasmatica cellule animali).
 - **Pompa Ca²⁺-ATPasi** (reticolo sarcoplasmatico, regola contrazione muscolare).



ATPasi di tipo P: Pompa Na^+/K^+ ATPasi



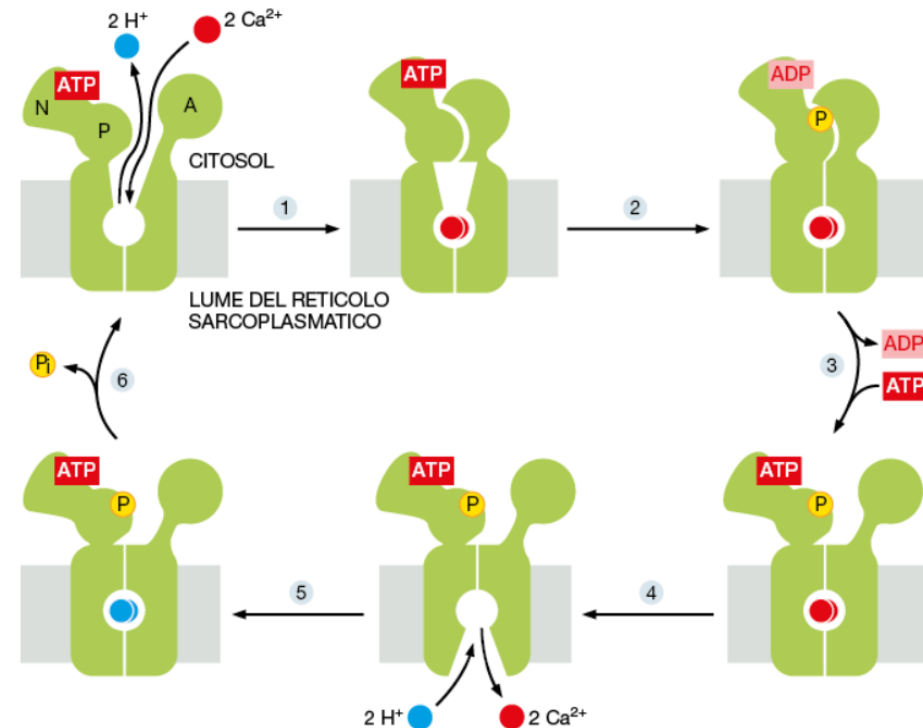
- Presente in quasi tutte le cellule animali.
- Struttura: eterotetramero $\alpha_2\beta_2$.
- **Ciclo di trasporto:**
 - $3 \text{ Na}^+ \rightarrow$ fuori
 - $2 \text{ K}^+ \rightarrow$ dentro
 - Consumo: 1 ATP
- **Pompa elettrogenica** $\rightarrow$ *mantiene potenziale di membrana, equilibrio osmotico e gradienti energetici per trasporti secondari.*
- Inibitore specifico: **ouabaina** $\rightarrow$ provoca lisi osmotica.



ATPasi di tipo P: Altri Esempi

Pompa Ca^{2+} ATPasi → rimuove Ca^{2+} intracellulare mediante efflusso dalla membrana plasmatica (PMCA) o reticolo sarcoplasmatico (SERCA)

- Il suo ruolo è quello di regolare il trasporto attivo degli ioni Ca^{2+} verso lo spazio extracellulare e il lume del RE, così da **mantenere bassa la concentrazione citosolica di questo ione** ($< 0,1-0,2 \text{ mM}$). Anche piccoli aumenti della $[\text{Ca}^{2+}]_i$ innescano diverse risposte cellulari (trasduzione del segnale, contrazione muscolare).
- La subunità α , oltre a presentare il sito di legame per lo ione e per l'ATP, è associata alla **Calmodulina**, una proteina con funzione regolativa che lega il Ca^{2+} quando aumenta la sua concentrazione.



Pompa H^+ ATPasi → in cellule vegetali, batteri e funghi (al posto della Na^+/K^+ ATPasi), o negli animali nella parete delle cellule della mucosa gastrica.

- **Pompa H^+/K^+ ATPasi.** È responsabile del **trasporto contro gradiente elettrochimico di ioni H^+** che dal citoplasma si muovono verso l'ambiente extracellulare **accoppiato** ad un meccanismo di **antiporto di K^+** .
- L'eliminazione degli ioni H^+ consente di **mantenere il pH citoplasmatico intorno ad un valore neutro**, che non compromette la funzionalità cellulare; inoltre, il gradiente elettrochimico degli ioni H^+ , generato da questa pompa protonica, viene **utilizzato per il trasporto attivo indiretto di altri soluti**.

ATPasi di tipo V (Vacuolare)

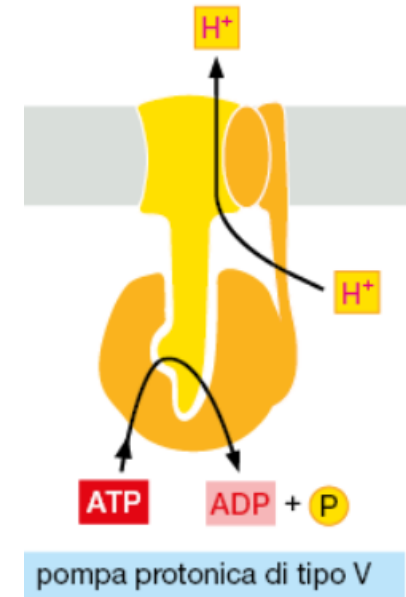
Trasportano H^+ dal citoplasma → lume di lisosomi, endosomi, vacuoli.

Determinano:

- **pH acido** negli organuli.
- **pH neutro** nel citoplasma.

1 ATP idrolizzato = 2 H^+ trasportati.

Diversamente dalle P-ATPasi, **non formano un intermedio fosforilato**.

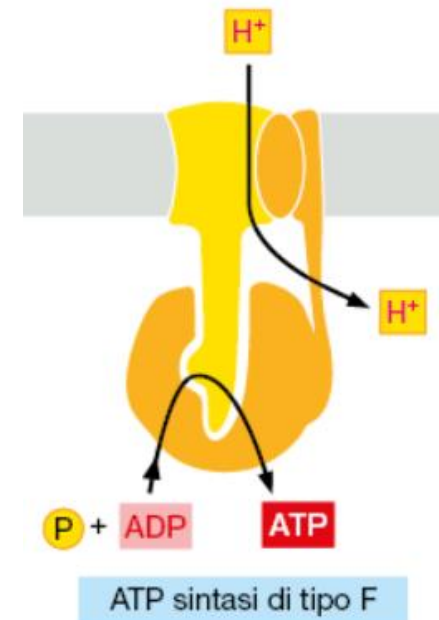


ATPasi di tipo F (ATP sintasi)

Omologhe alle pompe V-ATPasi (struttura simile).

- **Funzione inversa:**
- V-ATPasi → usa ATP per pompare H^+ controgradiente.
- **F-ATPasi → usa gradiente H^+ per sintetizzare ATP (ADP + P_i).**

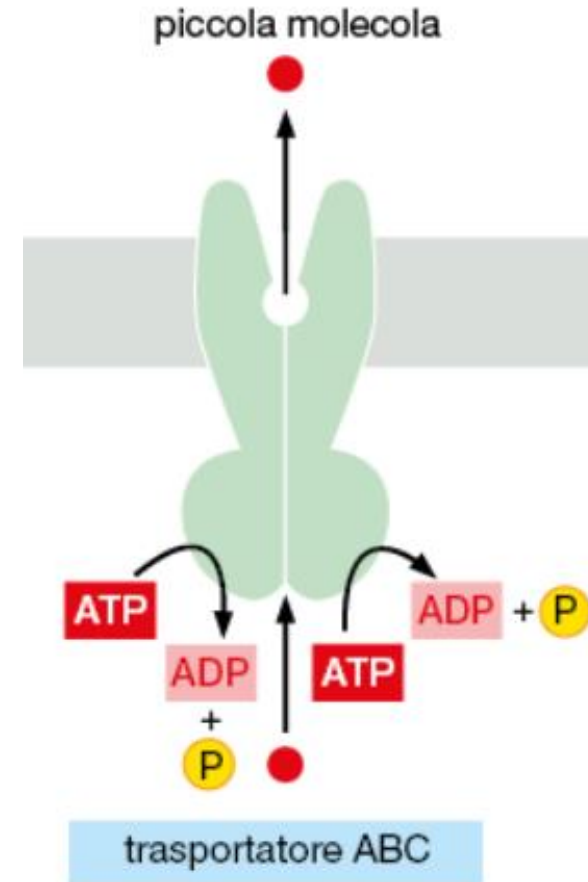
Localizzazione: **mitocondri, cloroplasti, batteri**.



Pompe spinte da ATP: Trasportatori ABC (ATP-Binding Cassette)

Trasportatori ABC (ATP-Binding Cassette)

- **Struttura:** 4 domini → 2 transmembrana (T) + 2 citoplasmatici leganti ATP (A).
- **Funzione:** trasporto attivo di ioni, nutrienti, zuccheri, amminoacidi, farmaci.
- Ruolo clinico:
 - **Multidrug resistance (MDR)** → **espellono farmaci** chemioterapici nelle cellule tumorali.
 - **Permeasi batteriche** → Permette l'ingresso di nutrienti **contro gradiente** anche in ambienti poveri.



MDR (P-glicoproteina) → **Espelle soluti**; Responsabile della **multiresistenza** delle cellule tumorali.

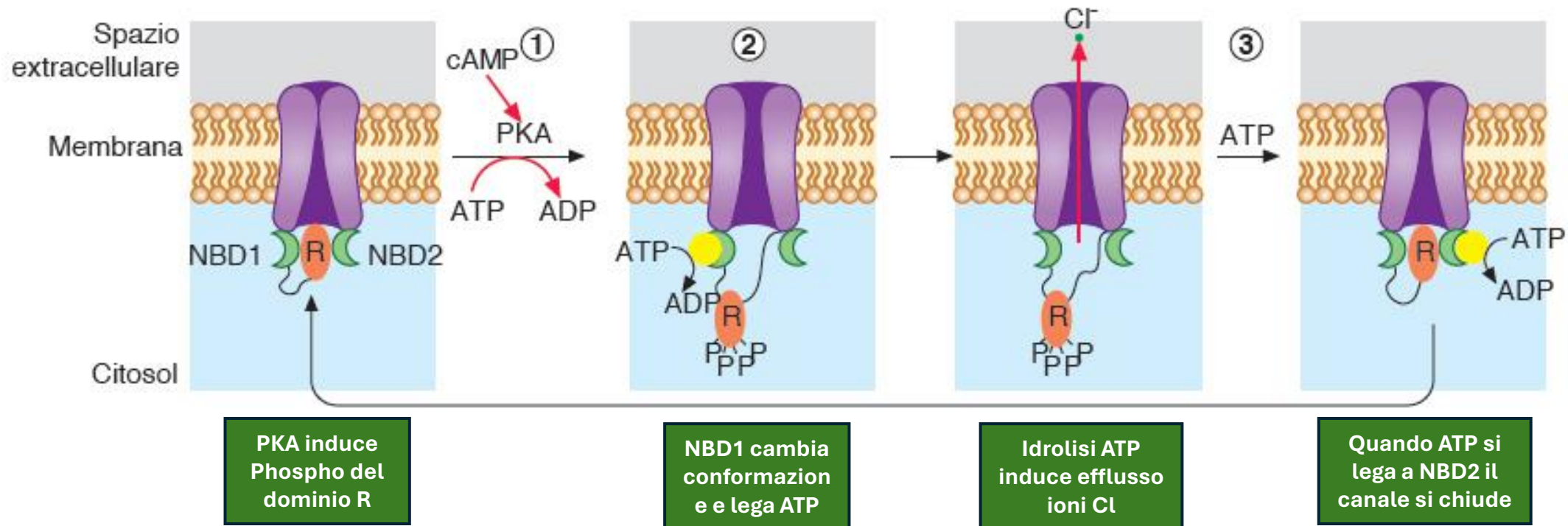
ATPasi di tipo ACB: Permeasi Batteriche e Multidrug-resistace

CFTR = **canale del Cl^-** appartenente alla famiglia ABC.

- Attivazione: Regolata da **AMPc/PKA** → fosforilazione dominio R → apertura del canale.

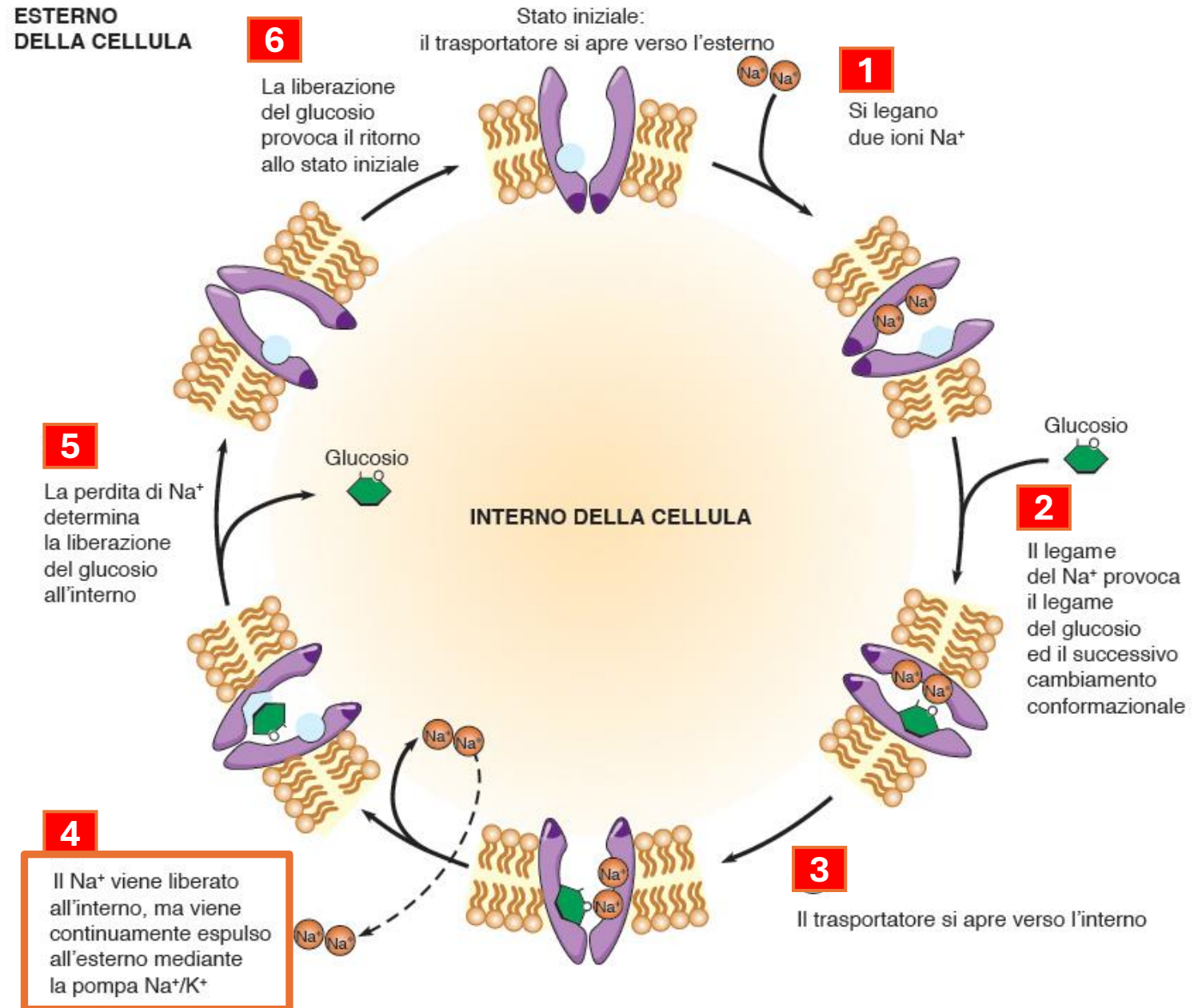
Fibrosi Cistica → **Mutazioni CFTR (ΔF508)** → il **Canale non raggiunge la membrana**.

- Risultato: ↓ **efflusso Cl^-** → ↓ **acqua** → **muco denso**.
- Organi colpiti: apparato respiratorio, pancreas, intestino, ghiandole sudoripare, apparato riproduttivo.

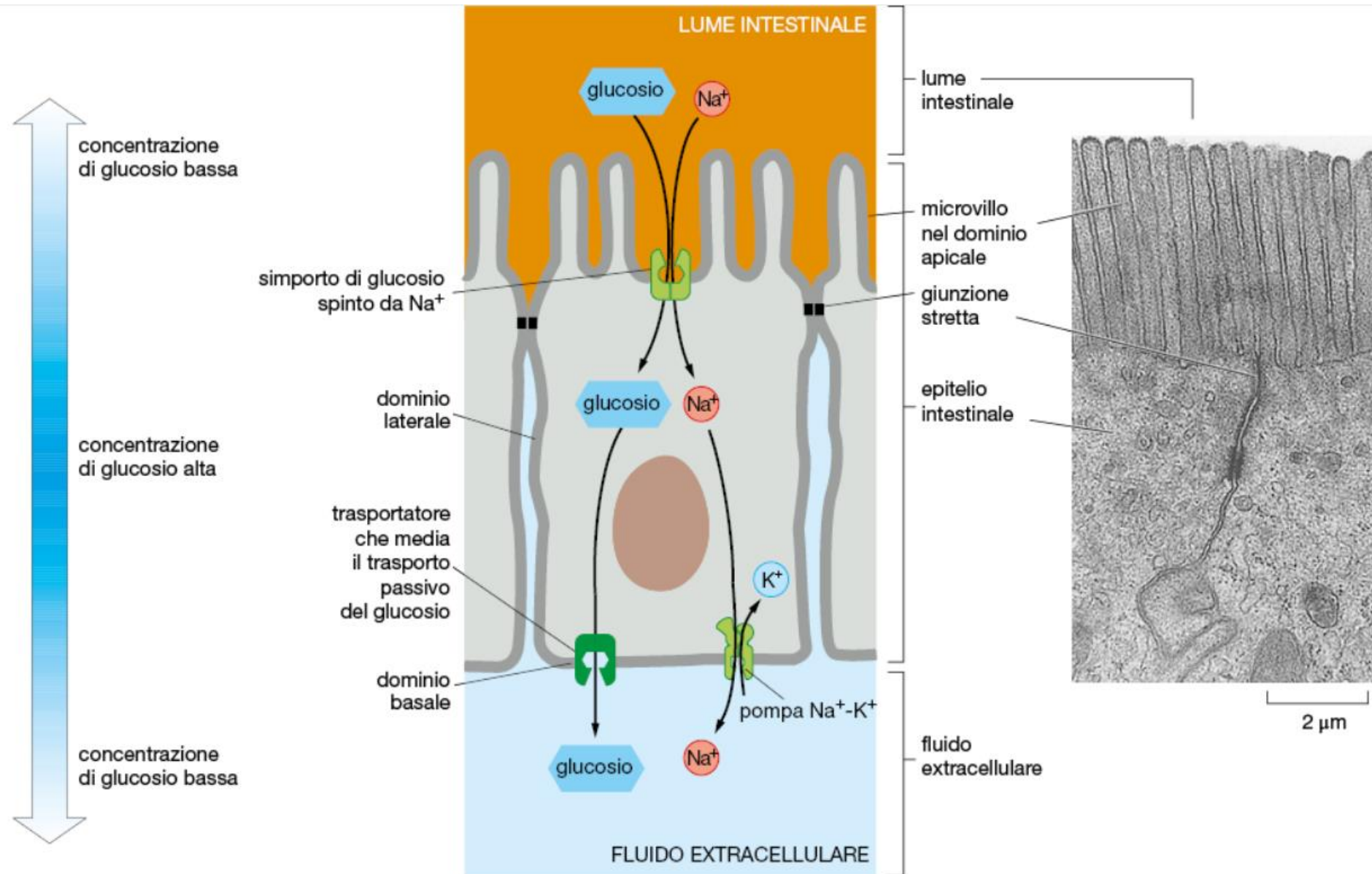


Trasporto Attivo Secondario o Indiretto

- Usa energia dei gradienti di Na^+ o H^+ creati da pompe primarie.
- Meccanismi:
 - **Simporto** → soluto e ione nella stessa direzione.
 - **Antiporto** → soluto e ione in direzioni opposte.
- Esempio chiave: **assorbimento intestinale del glucosio**
 - **Glucosio + Na^+ → entrano nell'enterocita (simporto).**
 - **Glucosio → passa al sangue tramite diffusione facilitata (GLUT2).**



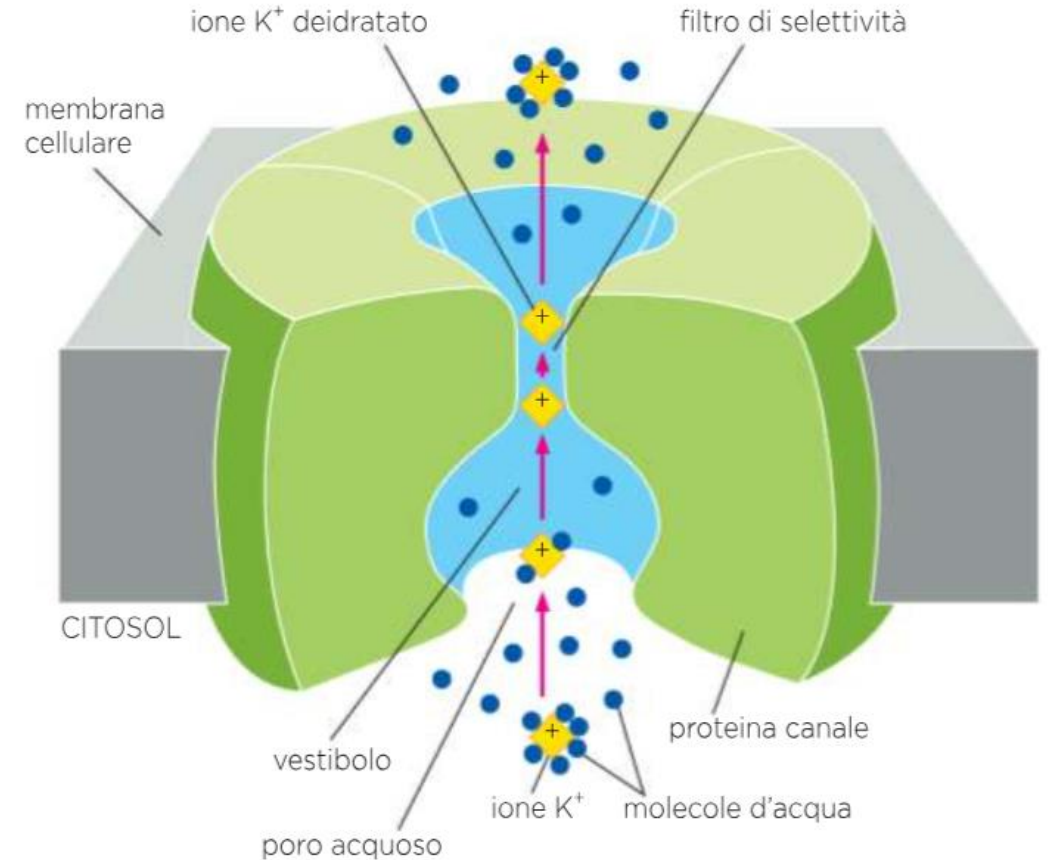
Trasporto Attivo Secondario o Indiretto



Canali Ionici

Presenti in quasi tutte le cellule; **trasportano solo ioni.**

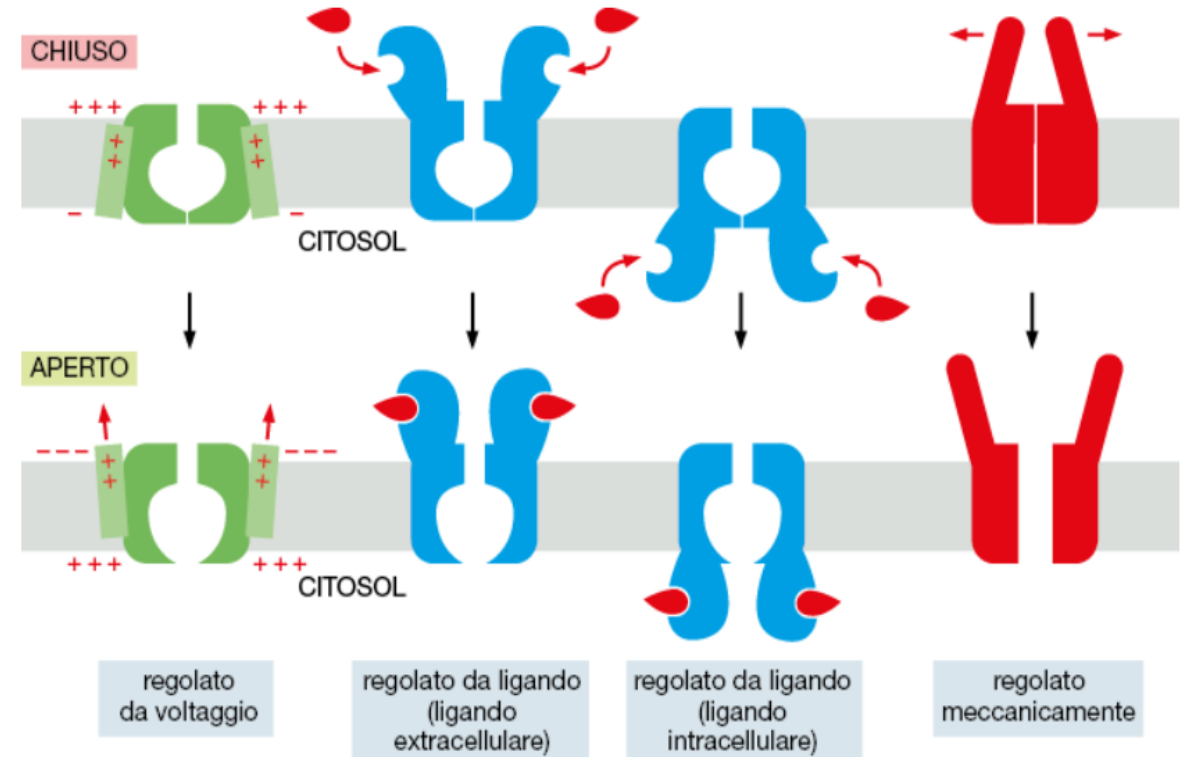
- **Selettività** dipende da:
 - **Dimensione,**
 - Stato di **idratazione**
 - **Interazioni con i residui del canale.**
- **Gating (apertura/chiusura)** regolato da:
 - **Receptor Operated Channel (ROC)** → Ligandi
 - **Second Messenger Operated Channel (SMOC)** → Secondi Messaggeri
 - **Voltage Operated Channels (VOC)** → Potenziale elettrico
 - **Mechanosensitive channels (MSCs)** → Stimoli meccanici.



Canali Ionici

Presenti in quasi tutte le cellule; **trasportano solo ioni.**

- **Selettività** dipende da:
 - **Dimensione,**
 - **Stato di idratazione**
 - **Interazioni con i residui del canale.**
- **Gating (apertura/chiusura)** regolato da:
 - **Receptor Operated Channel (ROC)** → Ligandi
 - **Second Messenger Operated Channel (SMOC)** → Secondi Messaggeri
 - **Voltage Operated Channels (VOC)** → Potenziale elettrico
 - **Mechanosensitive channels (MSCs)** → Stimoli meccanici.<



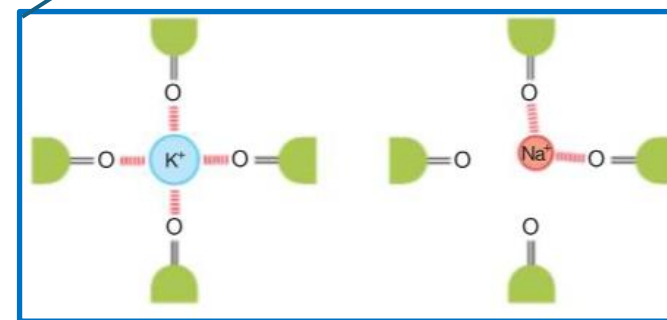
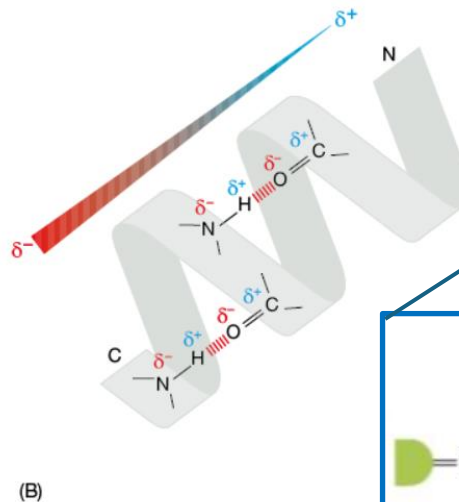
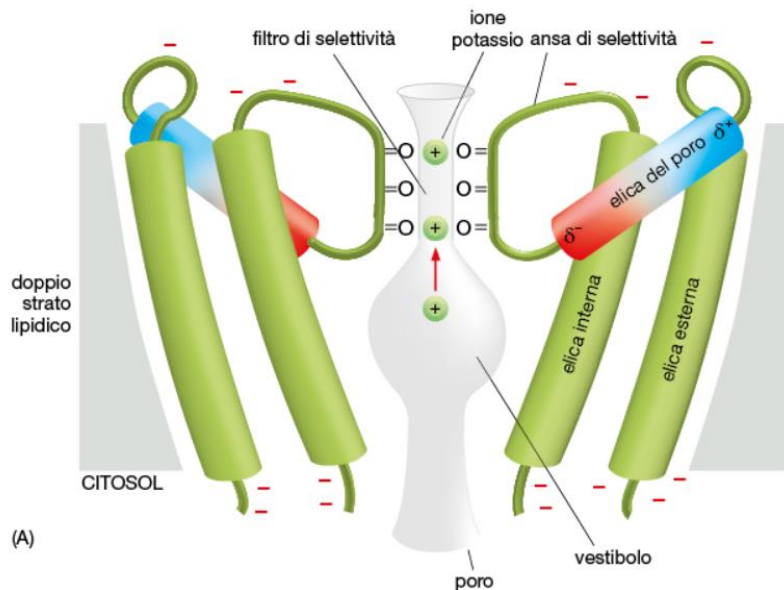
I canali non possono effettuare un trasporto attivo, accoppiando il flusso di ioni ad una fonte di energia.

La funzione della maggior parte dei canali ionici è semplicemente **di rendere la membrana plasmatica temporaneamente permeabile a particolari ioni inorganici**

Canali Ionici

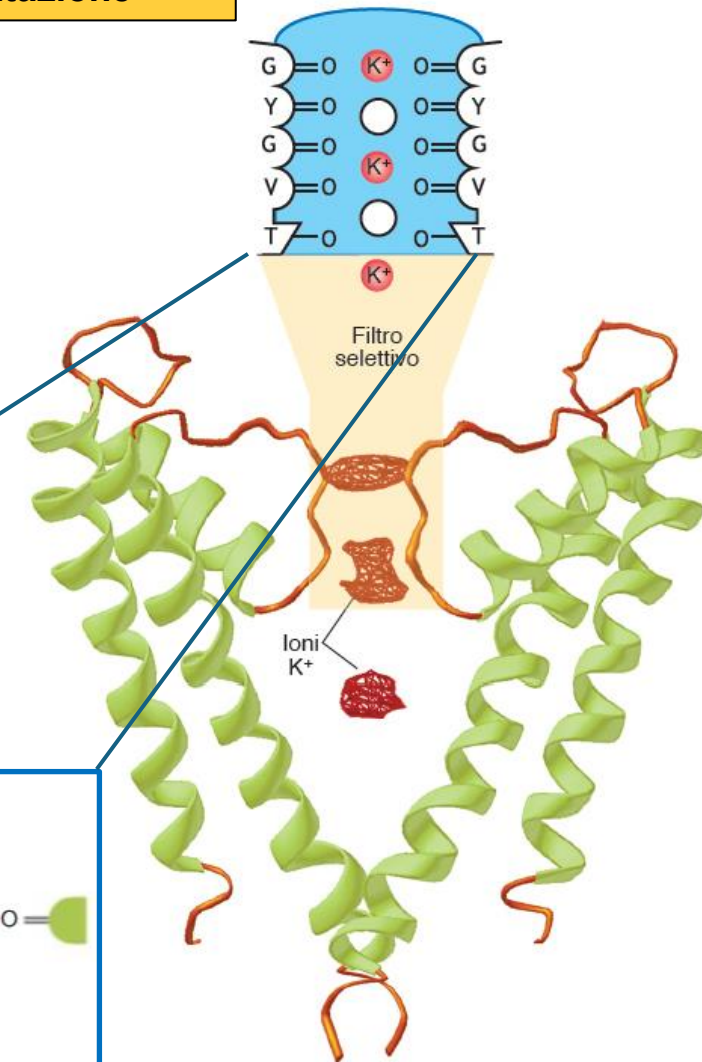
Es: KcsA → canale K^+ con filtro selettivo (sequenza TVGYG) che discrimina K^+ vs Na^+ .

- Due α -eliche con carica positiva → le cariche positive del K^+ respingono le eliche aprendo il canale
- Na^+ è più piccolo di K^+ (0,3 nm) e non causa sufficiente repulsione delle cariche per aprire il canale



Spessore del K^+ privo di guscio di idratazione

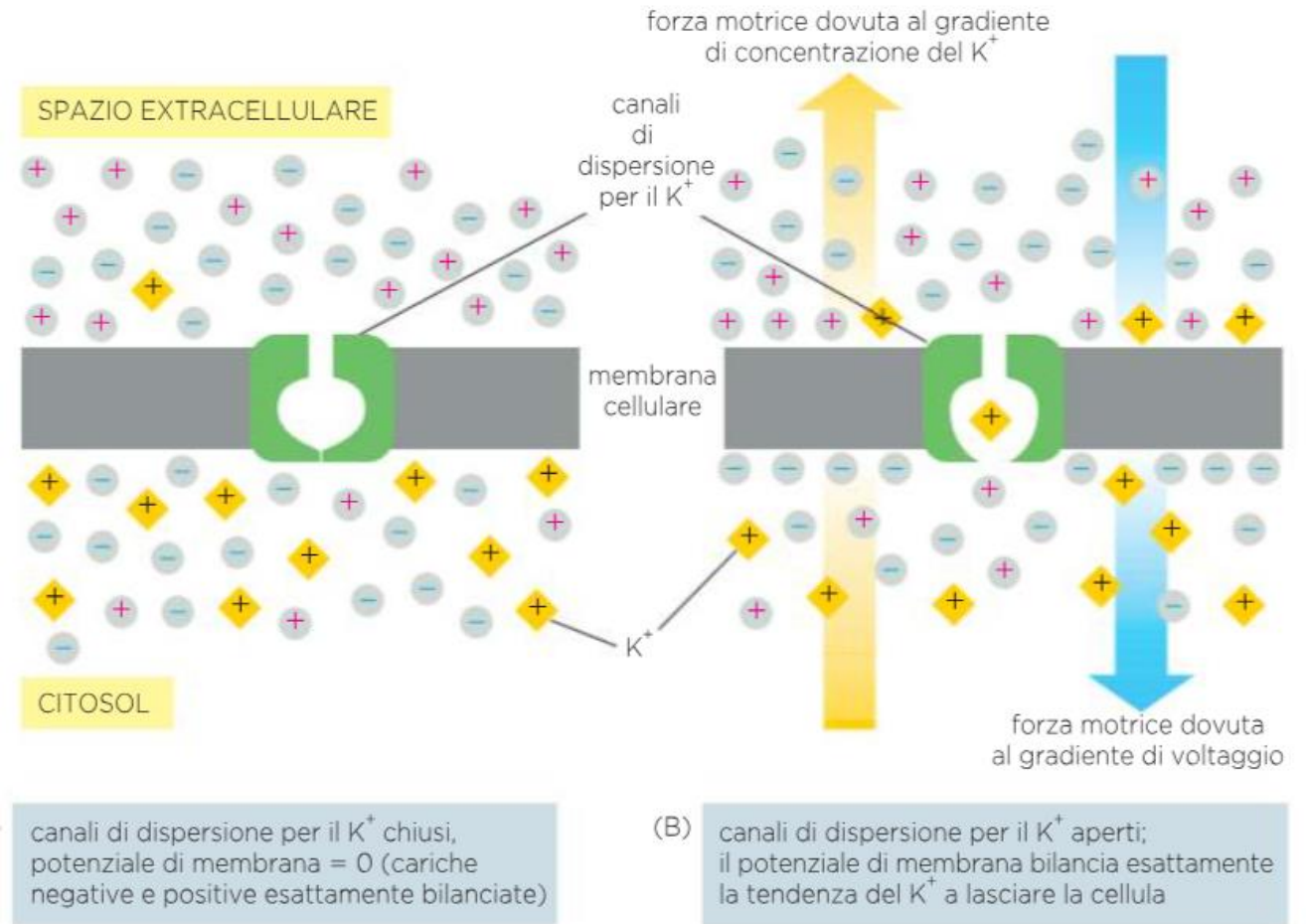
0,3 nm



Potenziale di membrana

Il **potenziale di membrana** è la differenza di potenziale elettrico tra l'interno e l'esterno di una cellula, causata dalla diversa distribuzione di ioni come sodio, potassio e cloro. In condizioni di riposo, il potenziale è negativo (potenziale di riposo), tipicamente intorno a -70 mV, e nelle cellule eccitabili (come neuroni e muscoli) può cambiare rapidamente in risposta a uno stimolo per generare un impulso elettrico. Questo processo è fondamentale per la trasmissione di segnali nervosi e per altre funzioni cellulari.

- Interno cellulare → più **negativo**.
- Esterno cellulare → più **positivo**.

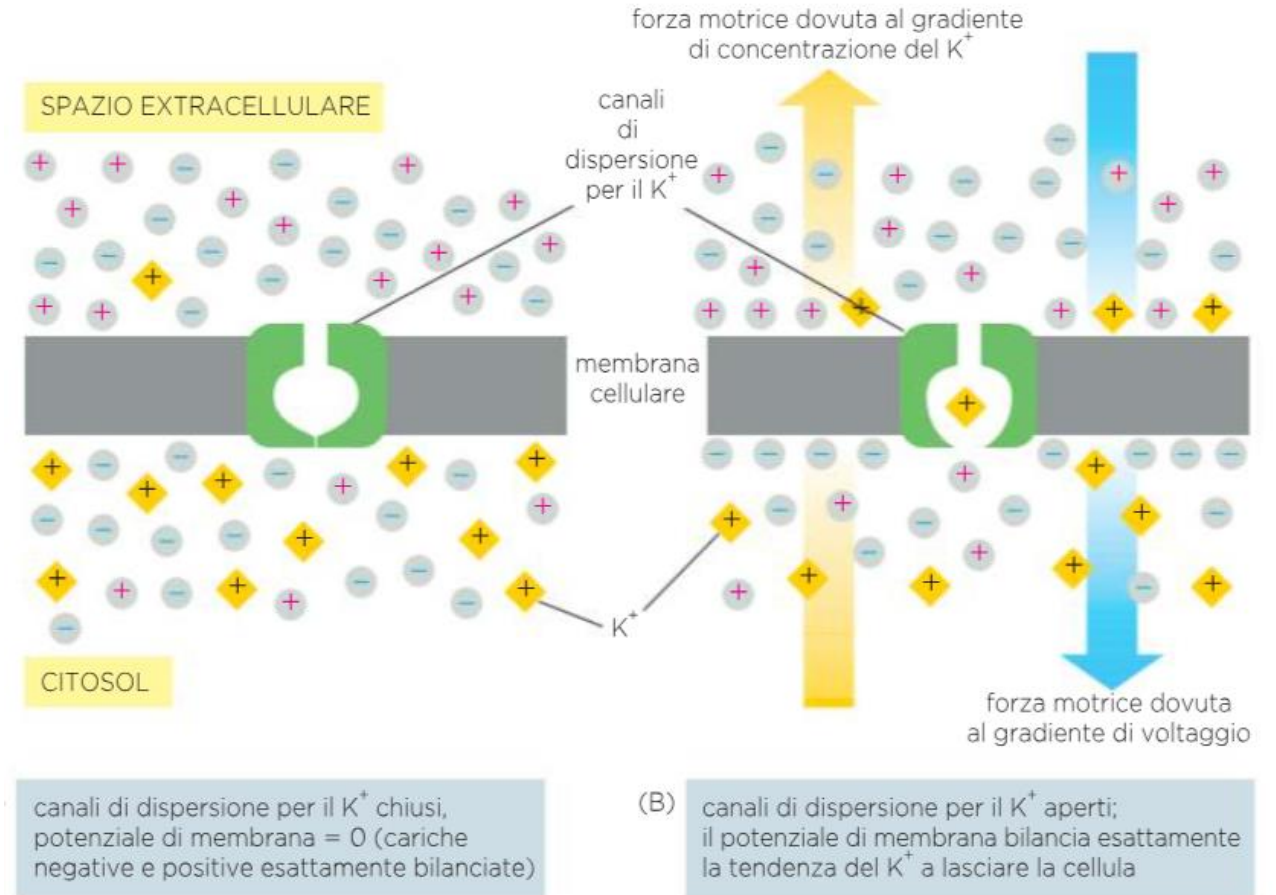


Come si crea il Potenziale di membrana

Distribuzione ionica: Le concentrazioni di ioni sono diverse tra l'interno e l'esterno della cellula. Ad esempio, c'è più potassio all'interno e più sodio all'esterno.

Pompa sodio-potassio: Questa pompa ionica consuma energia (ATP) per trasportare attivamente tre ioni di sodio fuori dalla cellula per ogni due ioni di potassio che entrano, mantenendo così i gradienti di concentrazione.

Permeabilità selettiva: La membrana è più permeabile al potassio che al sodio. Il potassio tende a uscire dalla cellula seguendo il suo gradiente di concentrazione, portando via cariche positive e rendendo l'interno della cellula negativo rispetto all'esterno.



- Interno cellulare → più **negativo**.
- Esterno cellulare → più **positivo**.

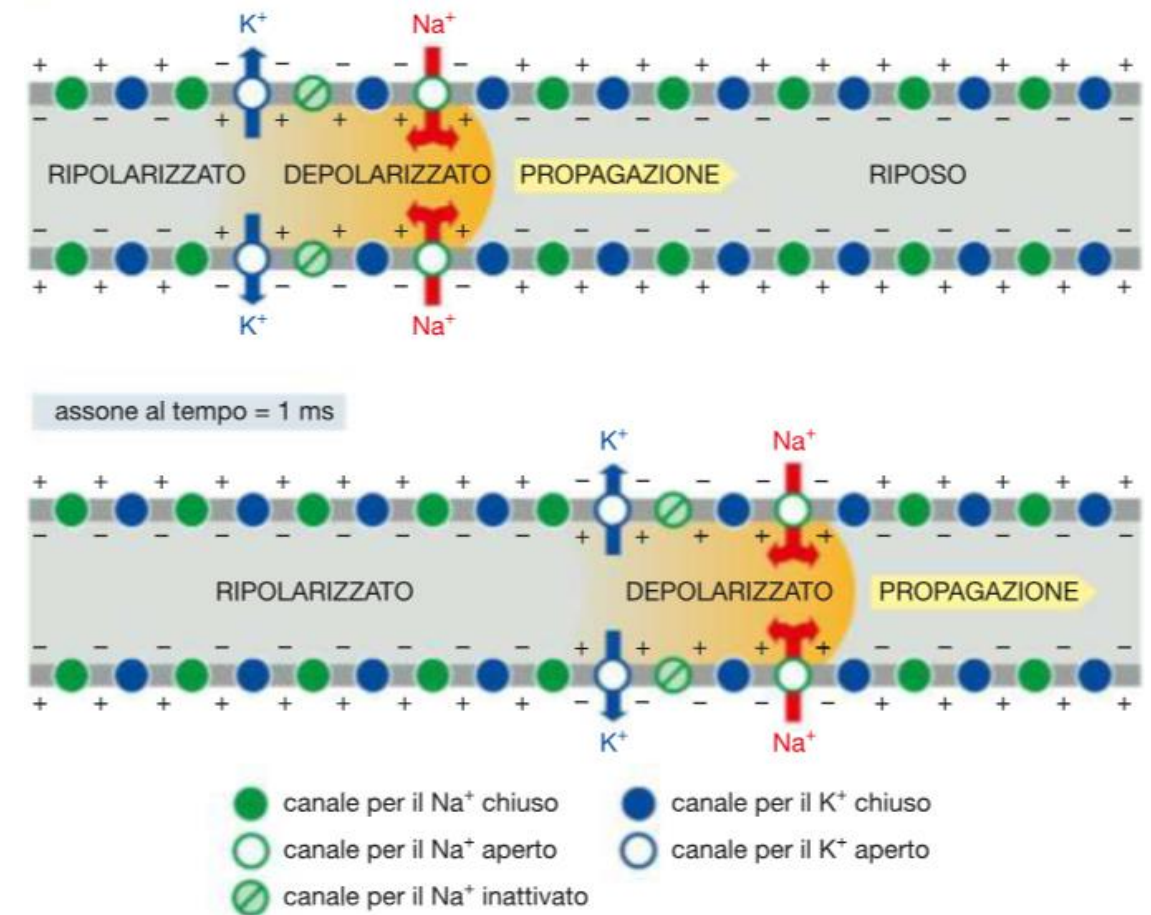
Potenziale d'Azione

Il **potenziale d'azione** è un impulso elettrico rapido e temporaneo che **si propaga lungo la membrana di cellule eccitabili** come i neuroni.

Viene generato quando **uno stimolo depolarizza la membrana fino a un valore di soglia** (circa -55 mV), provocando **un'ondata di ioni di sodio (Na^+) che entrano nella cellula**.

Questo flusso **inverte la carica di membrana**, che **diventa positiva**, e il **potenziale d'azione si propaga** lungo l'assone.

Successivamente, i canali del sodio si chiudono, si aprono quelli del potassio (K^+), che escono dalla cellula, e la **membrana ritorna al suo potenziale di riposo negativo**.



Potenziale d'Azione

Fasi del potenziale d'azione

1. **Potenziale di riposo:** La membrana è polarizzata (negativa all'interno e positiva all'esterno) grazie alla pompa sodio-potassio e a canali ionici passivi. Il potenziale di riposo è di circa -70 mV.
2. **Stimolo e soglia:** Uno stimolo depolarizzante (come un neurotrasmettitore, un cambiamento di temperatura o uno stiramento meccanico) aumenta il potenziale di membrana. Se raggiunge il valore di soglia di -55 mV, si attiva un potenziale d'azione.
3. **Depolarizzazione:** Se la soglia viene raggiunta, i canali del sodio voltaggio-dipendenti si aprono e un enorme flusso di ioni Na^+ entra nella cellula, rendendo l'interno positivo (fino a circa $+40$ mV).
4. **Ripolarizzazione:** I canali del sodio si inattivano e i canali voltaggio-dipendenti del potassio si aprono. Gli ioni K^+ escono dalla cellula, riportando il potenziale a valori negativi.
5. **Iperpolarizzazione:** La membrana diventa temporaneamente più negativa del potenziale di riposo a causa dell'eccessivo efflusso di potassio.
6. **Ritorno al potenziale di riposo:** La pompa sodio-potassio interviene per ristabilire l'equilibrio ionico e il potenziale di membrana ritorna a -70 mV. 

