FACULTAD DE CIENCIAS
UDELAR | fcien.edu.uy

Curso
Biología Celular
2021

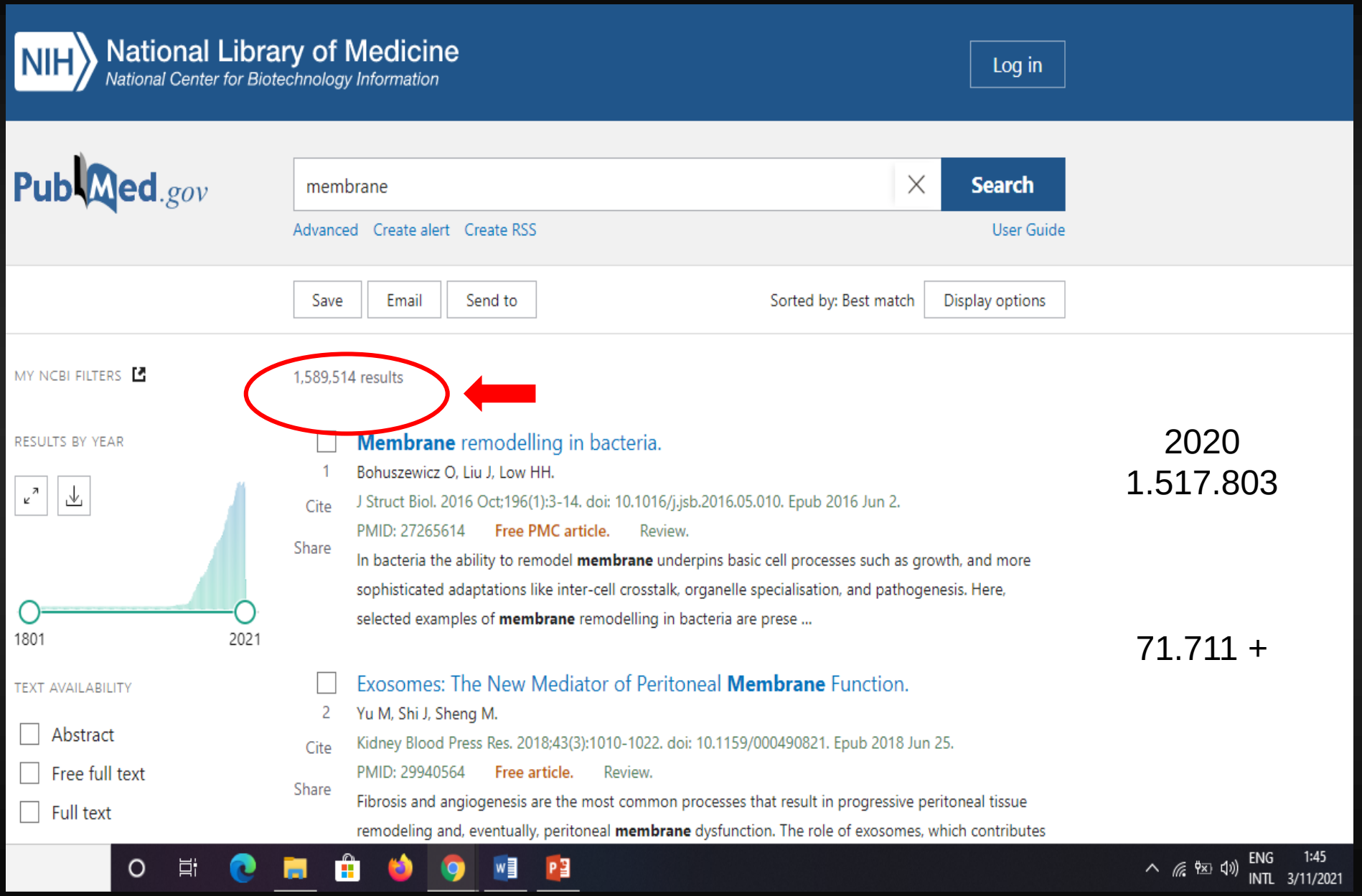
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Membrana plasmática

1. estructura
2. función

María José Arezo

Los teóricos: ¿qué esperar de esta instancia?



2020
1.517.803

71.711 +

Los teóricos: ¿qué esperar de esta instancia?

- Guía que colabora en la jerarquización de la información relevante para el curso

- Contenido: libro de texto, artículos científicos, experiencia del docente

- Posibilidad de interacción

- Rol docente: facilitadores / motivadores

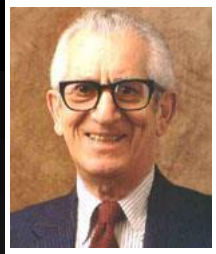
Preguntas de examen:
basadas en información del libro recomendado

Objetivos de la clase

1. Establecer un marco conceptual básico:
   desde el ***enfoque de un biólogo celular***

2. Conocer herramientas experimentales:
   resolución de preguntas

3. Ejercitar el pensamiento crítico:
   análisis y discusión fundamentada



Dr. Benjamín Bloom
1913 – 1999

Taxonomía de Bloom

Clasificación de objetivos de la enseñanza y el aprendizaje

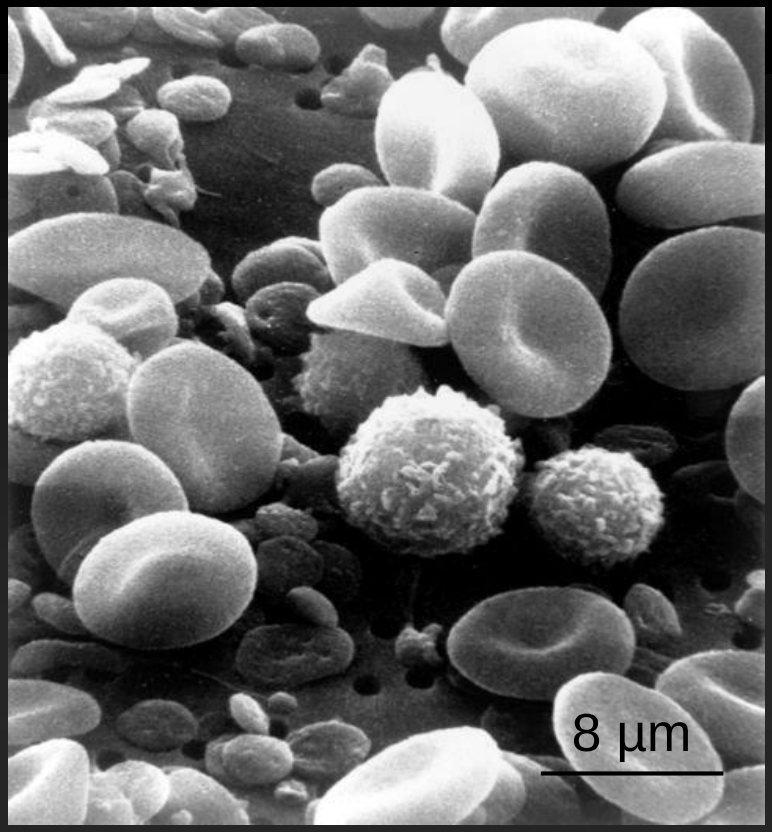
Aprendizaje: estructura jerárquica

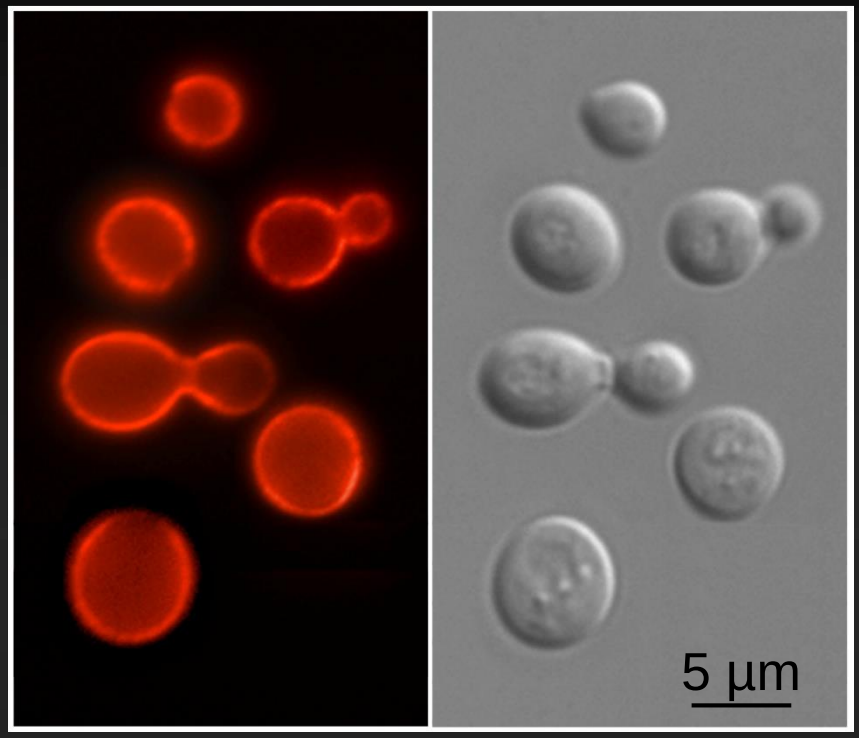
Pensamiento de Orden Superior

Pensamiento de Orden Inferior

Crear	Formular nuevo punto de vista, nueva hipótesis
Evaluar	Justificar una posición, sacar conclusiones
Analizar	Examinar, cuestionar, experimentar
Aplicar	Usar la información en otro contexto
Comprender	Explicar, discutir
Recordar	Memorizar, repetir

(tomado de Taller Educación Científica, febrero de 2014)





- rodea a las células
- diferencias citoplasma / medio extracelular
- primer paso evolutivo en la construcción de la vida
- presentan una estructura general común

Arquitectura general:

1. composición:

lípidos organizados como bicapa continua (5nm de espesor aprox.)

↓

barrera

proteínas → median las demás funciones

2. estructuras fluidas y dinámicas

Timeline | **A century of cell-membrane bilayers**

1880s — Lord Rayleigh, Agnes Pockels and many others begin to investigate the spreading of oil on water.

1899 — Overton[1] describes a lipid barrier between the eukaryotic cell cytoplasm and the outside world. This work also focuses attention on the cell-surface membrane as the membrane that is most accessible to experimental study.

1917 — Langmuir[7] publishes a model of how oil molecules are orientated at the water/air interface, which is based on the experiments of Agnes Pockels but with an improved apparatus (BOX 1).

1925 — Gorter and Grendel[8] use Langmuir's methods to infer that erythrocyte membranes are bilayers.

1935 — Danielli and Davson[6] describe an influential membrane model that integrates lipids and proteins.

1959 — Robertson[2] argues that all cell membranes have a common structure.

1969 — The fluidity of membrane lipids begins to be detected by several methods (for a review, see REF. 14). Lateral and rotational diffusion of membrane proteins begin to be demonstrated in several laboratories[13,15–17].

1972 — Data on membrane protein composition and mobility are fused in the fluid mosaic model of cell membranes[19].

1973 — After considerable debate[10,11], a consensus is reached that cell-membrane lipids are organized as bilayers as proposed in REF. 19.

1977 — A domain model is proposed, which indicates that membranes can be mosaic rather than fluid[27].

1980s — The importance of membrane trafficking to the steady-state plasma-membrane structure begins to be appreciated[32–34,39].

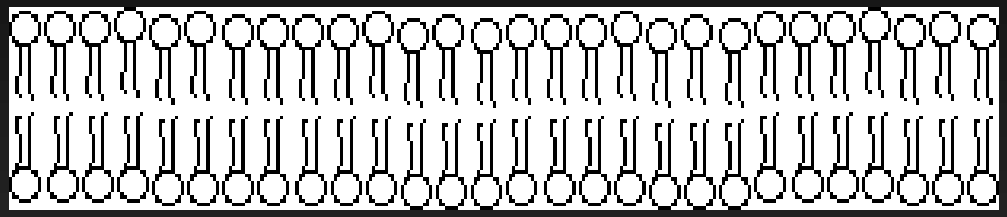
1990s — The fact that membrane lipid and protein domains have various cell functions begins to be appreciated[30,36].

2003 — We are awaiting a new model that integrates the numerous features of eukaryotic cell membranes, which have emerged since they were first characterized.

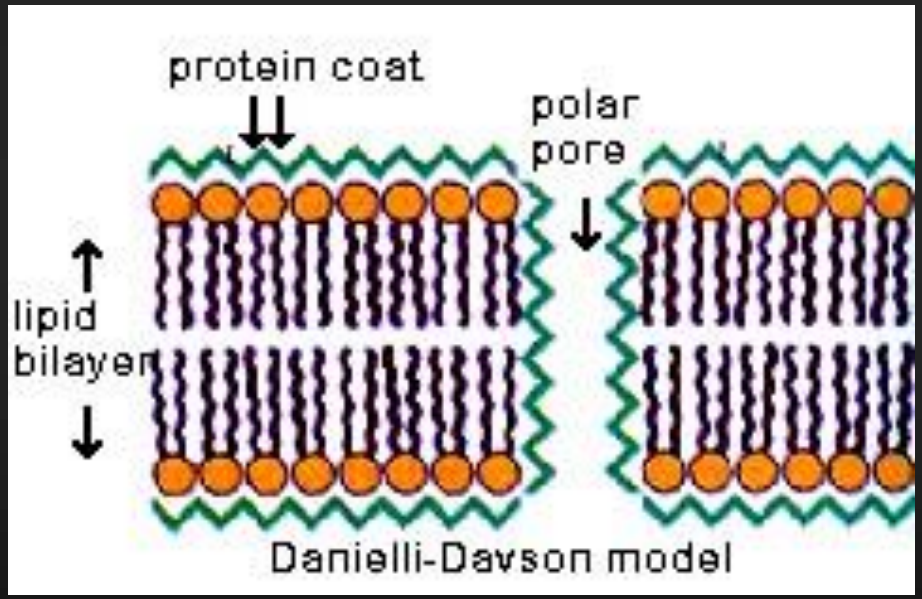
Michael Edidin is at the Department of Biology, Johns Hopkins University, 3400 North Charles Street, Baltimore, Maryland 21218, USA.

Edidin, 2003. Nature

Modelos estructurales de las membranas biológicas

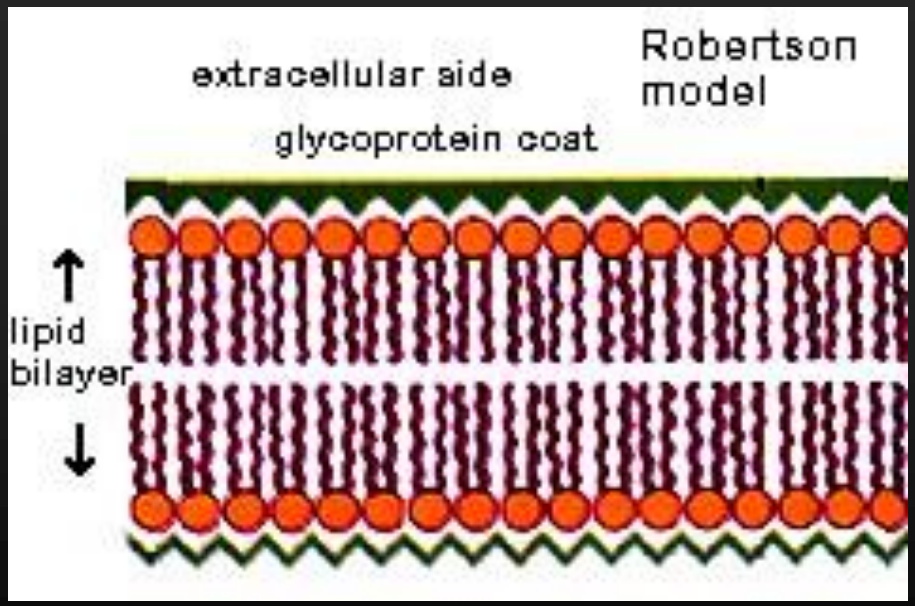


1925
Gorter y Grendel



1935
Danielli y Davson

"estructura de membrana: universal"



1959 Robertson

Timeline | A century of cell-membrane bilayers

1880s — Lord Rayleigh, Agnes Pockels and many others begin to investigate the spreading of oil on water.

1899 — Overton[1] describes a lipid barrier between the eukaryotic cell cytoplasm and the outside world. This work also focuses attention on the cell-surface membrane as the membrane that is most accessible to experimental study.

1917 — Langmuir[7] publishes a model of how oil molecules are orientated at the water/air interface, which is based on the experiments of Agnes Pockels but with an improved apparatus (BOX 1).

1925 — Gorter and Grendel[8] use Langmuir's methods to infer that erythrocyte membranes are bilayers.

1935 — Danielli and Davson[6] describe an influential membrane model that integrates lipids and proteins.

1959 — Robertson[2] argues that all cell membranes have a common structure.

1969 — The fluidity of membrane lipids begins to be detected by several methods (for a review, see REF. 14). Lateral and rotational diffusion of membrane proteins begin to be demonstrated in several laboratories[13,15–17].

1972 — Data on membrane protein composition and mobility are fused in the fluid mosaic model of cell membranes[19].

1973 — After considerable debate[10,11], a consensus is reached that cell-membrane lipids are organized as bilayers as proposed in REF. 19.

1977 — A domain model is proposed, which indicates that membranes can be mosaic rather than fluid[27].

1980s — The importance of membrane trafficking to the steady-state plasma-membrane structure begins to be appreciated[32–34,39].

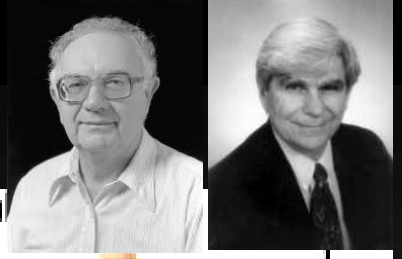
1990s — The fact that membrane lipid and protein domains have various cell functions begins to be appreciated[30,36].

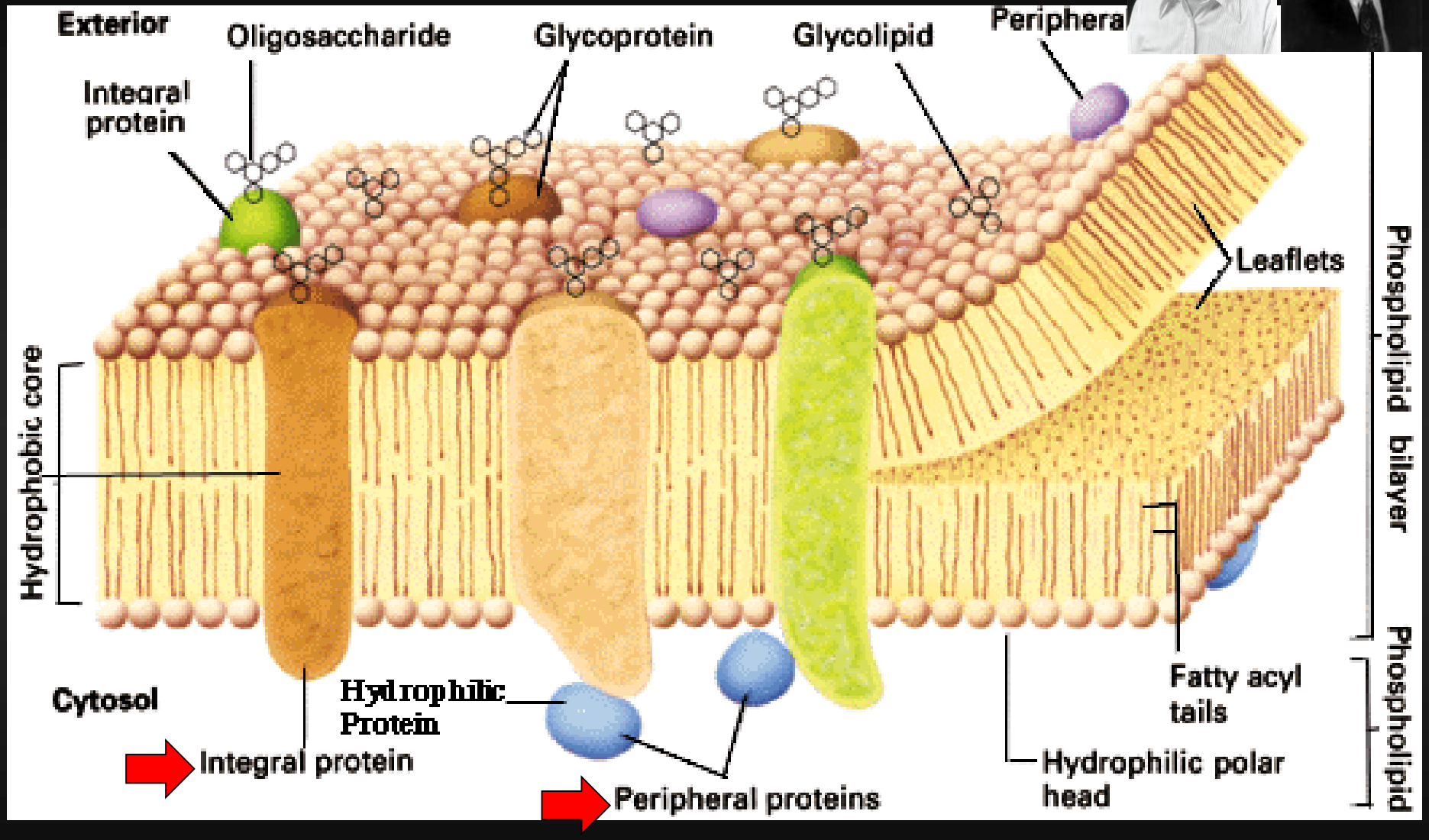
2003 — We are awaiting a new model that integrates the numerous features of eukaryotic cell membranes, which have emerged since they were first characterized.

Michael Edidin is at the Department of Biology, Johns Hopkins University, 3400 North Charles Street, Baltimore, Maryland 21218, USA.

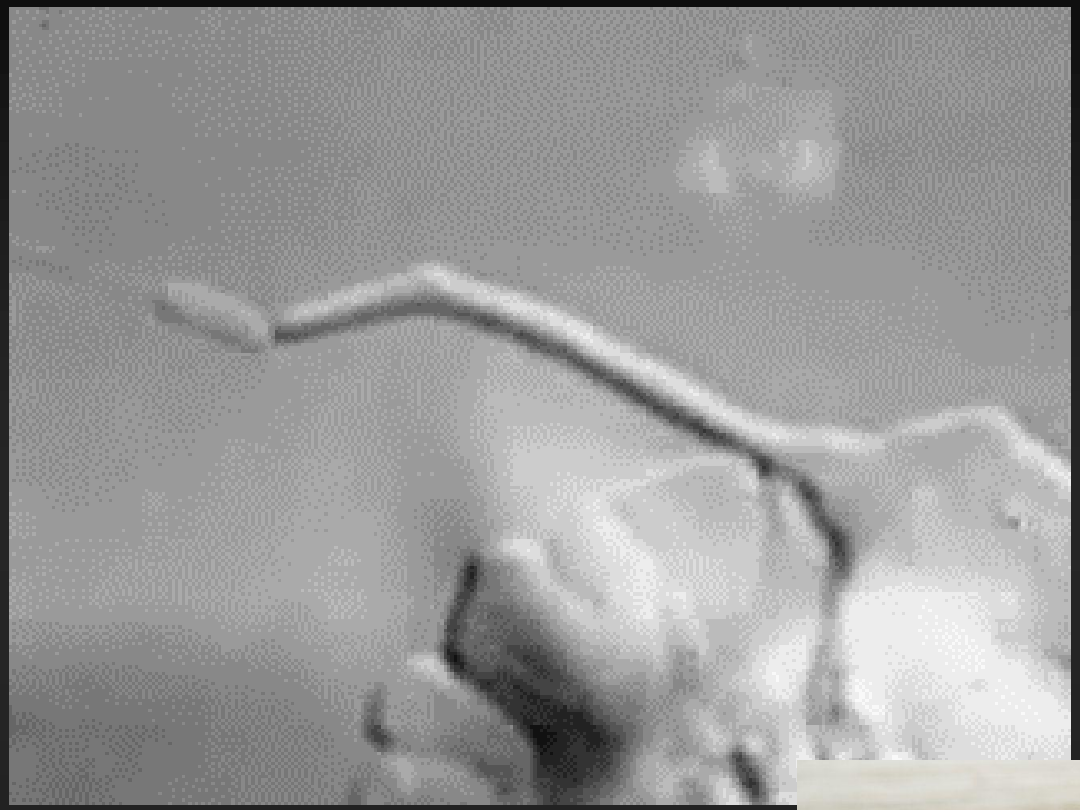
Edidin, 2003. Nature

“Mosaico fluído”, Singer y Nicolson, 1972





Disposición de los componentes: ***al azar***



Timeline | **A century of cell-membrane bilayers**

1880s — Lord Rayleigh, Agnes Pockels and many others begin to investigate the spreading of oil on water.

1899 — Overton[1] describes a lipid barrier between the eukaryotic cell cytoplasm and the outside world. This work also focuses attention on the cell-surface membrane as the membrane that is most accessible to experimental study.

1917 — Langmuir[7] publishes a model of how oil molecules are orientated at the water/air interface, which is based on the experiments of Agnes Pockels but with an improved apparatus (BOX 1).

1925 — Gorter and Grendel[8] use Langmuir's methods to infer that erythrocyte membranes are bilayers.

1935 — Danielli and Davson[6] describe an influential membrane model that integrates lipids and proteins.

1959 — Robertson[2] argues that all cell membranes have a common structure.

1969 — The fluidity of membrane lipids begins to be detected by several methods (for a review, see REF. 14). Lateral and rotational diffusion of membrane proteins begin to be demonstrated in several laboratories[13,15–17].

1972 — Data on membrane protein composition and mobility are fused in the fluid mosaic model of cell membranes[19].

1973 — After considerable debate[10,11], a consensus is reached that cell-membrane lipids are organized as bilayers as proposed in REF. 19.

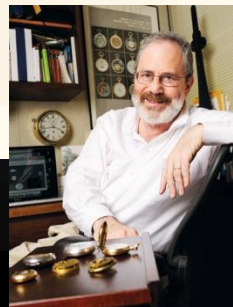
1977 — A domain model is proposed, which indicates that membranes can be mosaic rather than fluid[27].

1980s — The importance of membrane trafficking to the steady-state plasma-membrane structure begins to be appreciated[32–34,39].

1990s — The fact that membrane lipid and protein domains have various cell functions begins to be appreciated[30,36].

2003 — We are awaiting a new model that integrates the numerous features of eukaryotic cell membranes, which have emerged since they were first characterized.

Michael Edidin is at the Department of Biology, Johns Hopkins University, 3400 North Charles Street, Baltimore, Maryland 21218, USA.



Edidin, 2003. Nature

Bicapa lipídica

- **Lípidos**

  - aprox. 50% de la masa de membrana celular

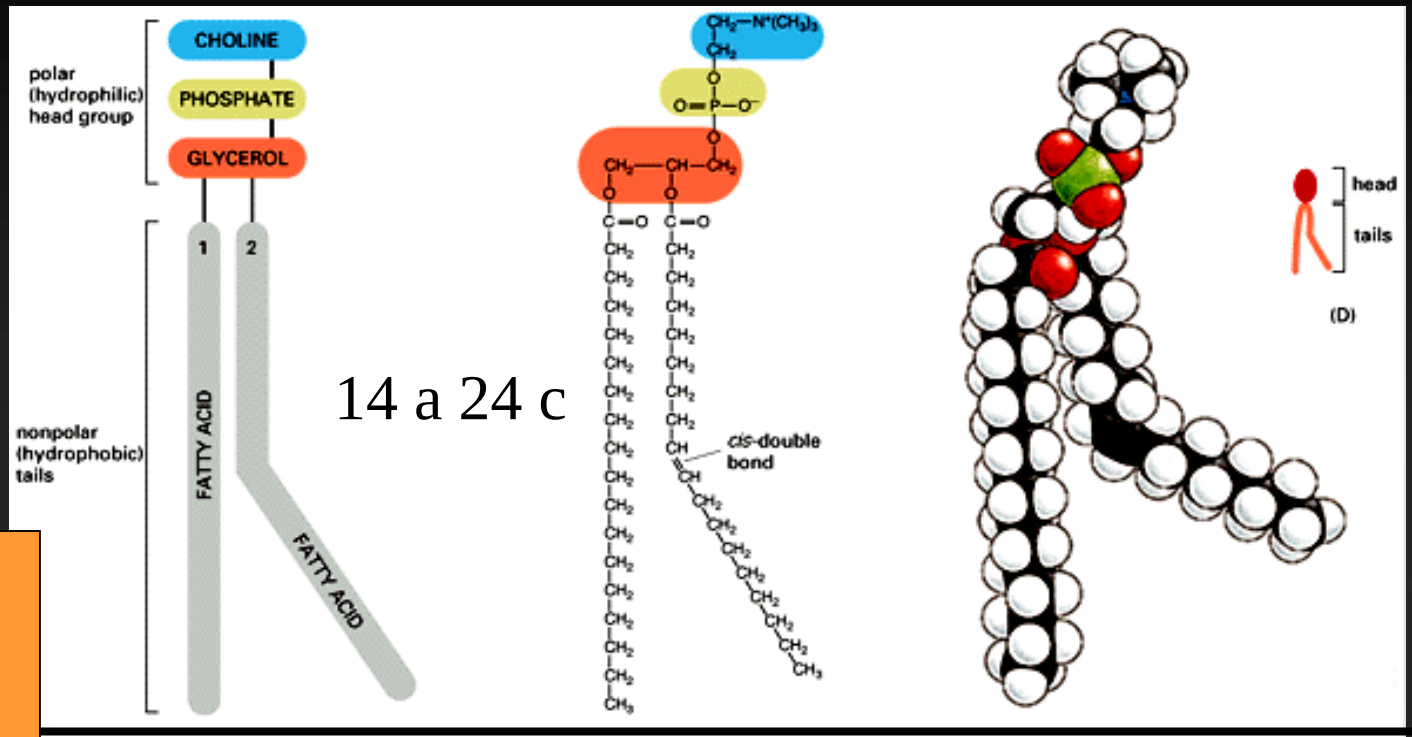
  - moléculas **anfipáticas**

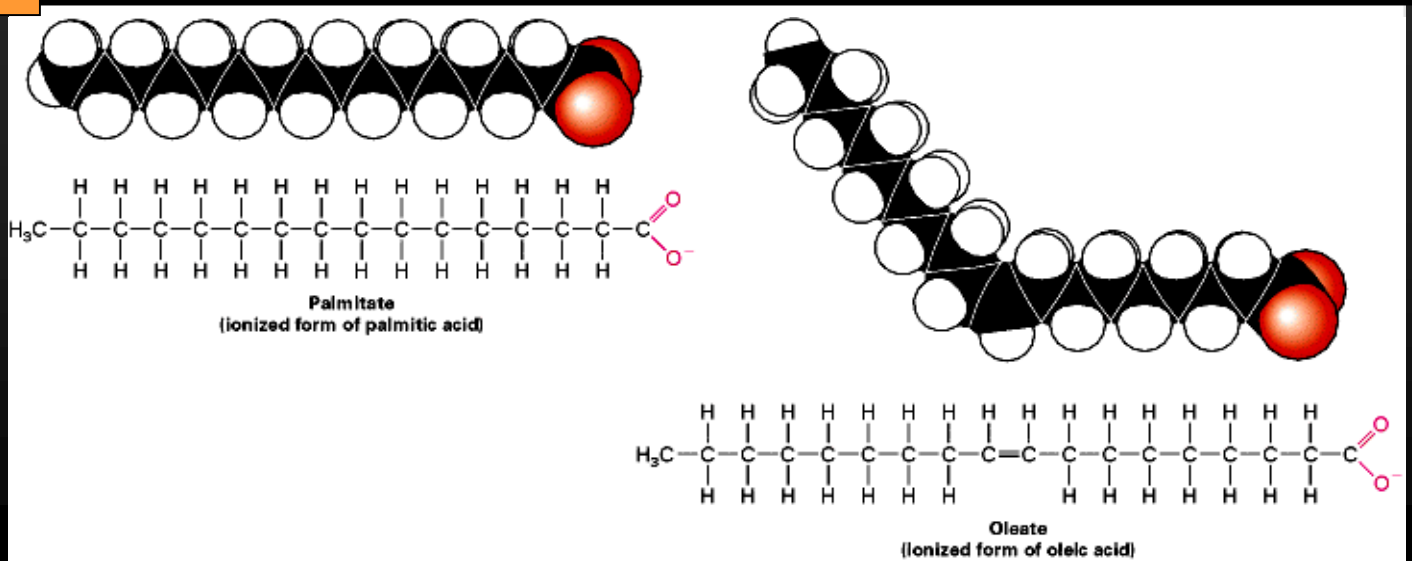
cabeza: hidrofílica o polar

cola: hidrofóbica o no polar

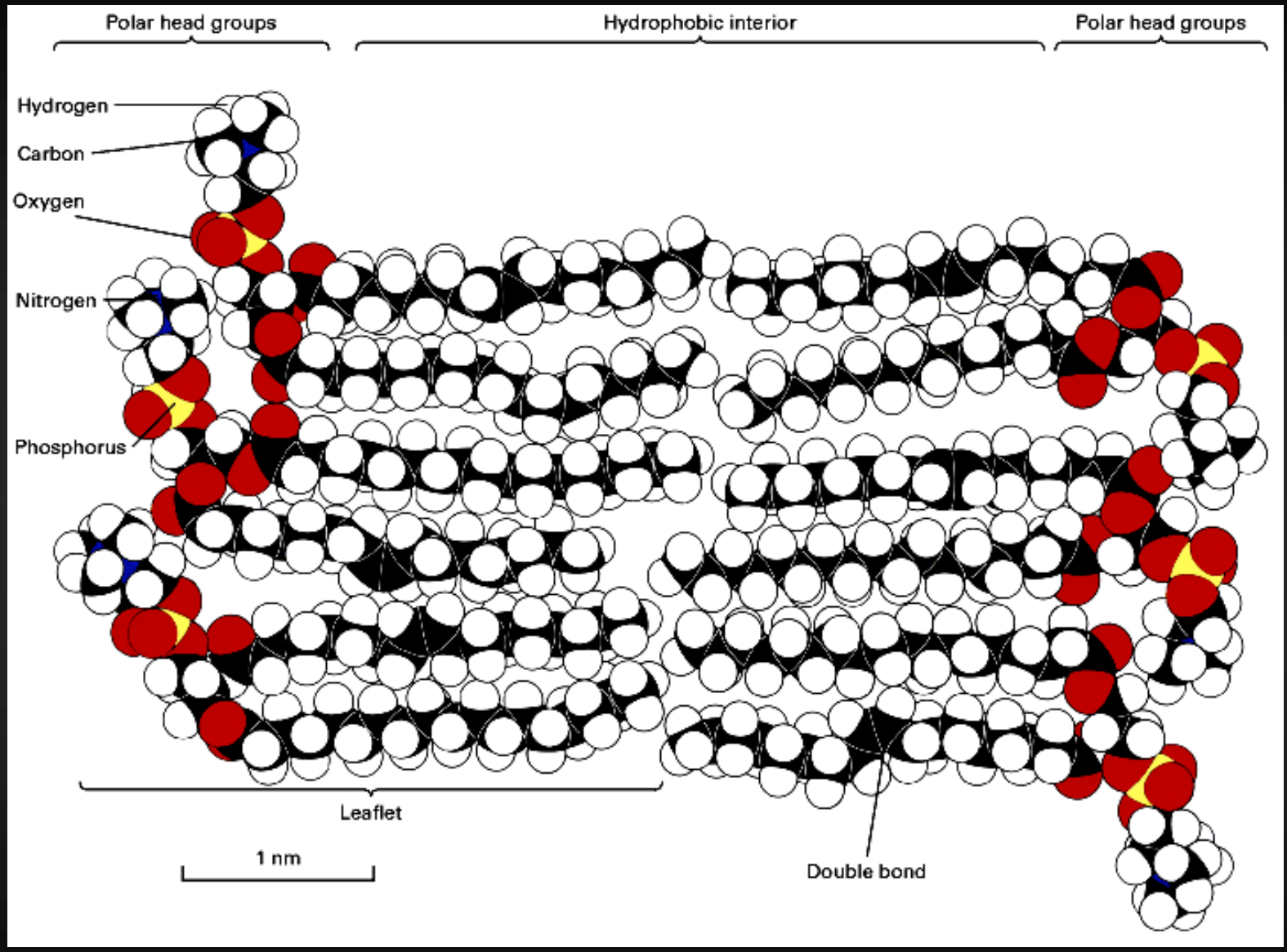
Lípidos de membrana: estructura básica

fosfolípidos





La bicapa lipídica: modelo tridimensional



Disposición energéticamente más favorable

Naturaleza anfipática

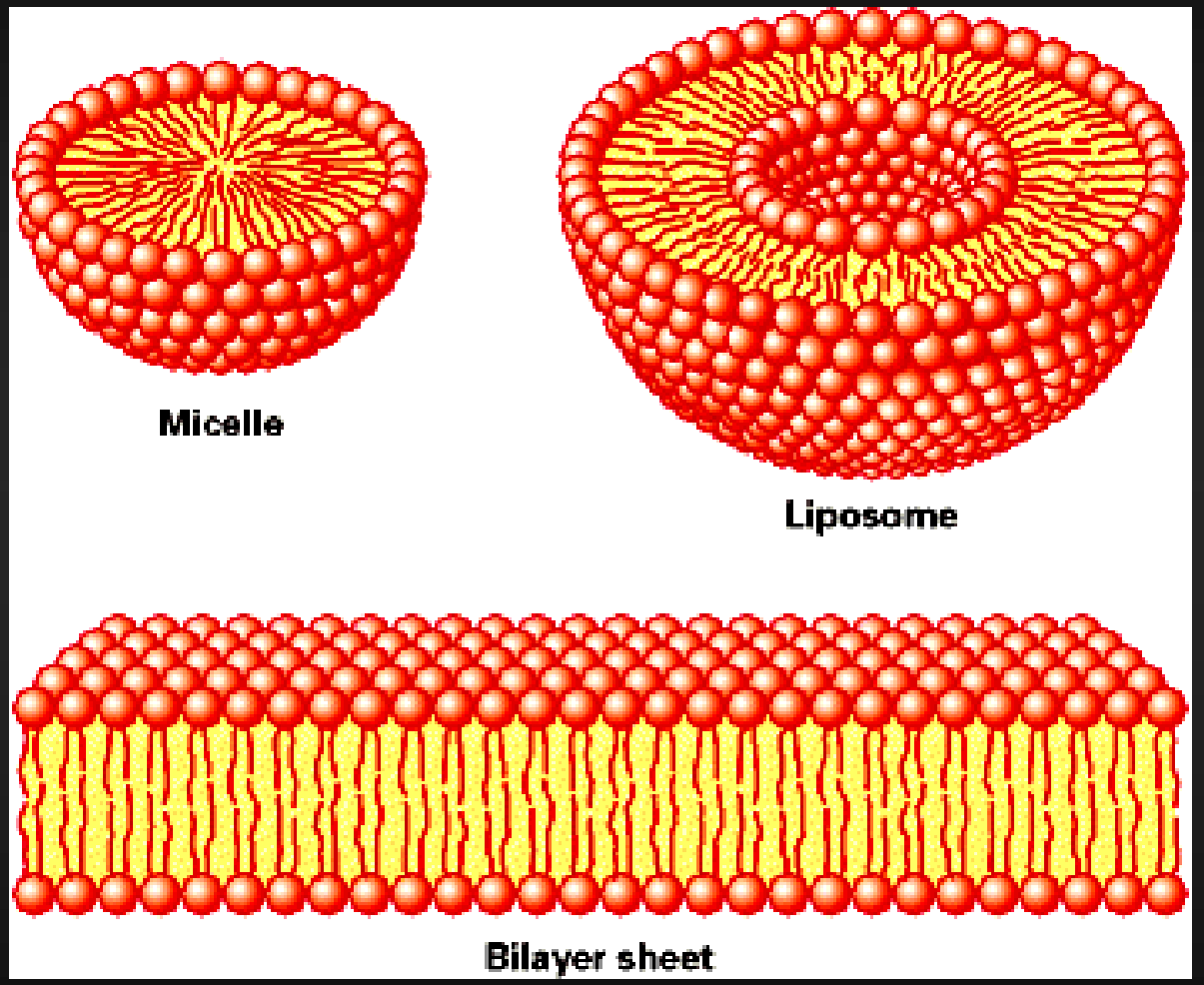
agregación espontánea
(medio acuoso)

enmascaran colas y exponen
cabezas

Base termodinámica
formación y estabilidad de membranas

Disposición de las moléculas anfipáticas en una solución acuosa

Micelas



liposomas

bicapas

comportamiento espontáneo: sella compartimentos

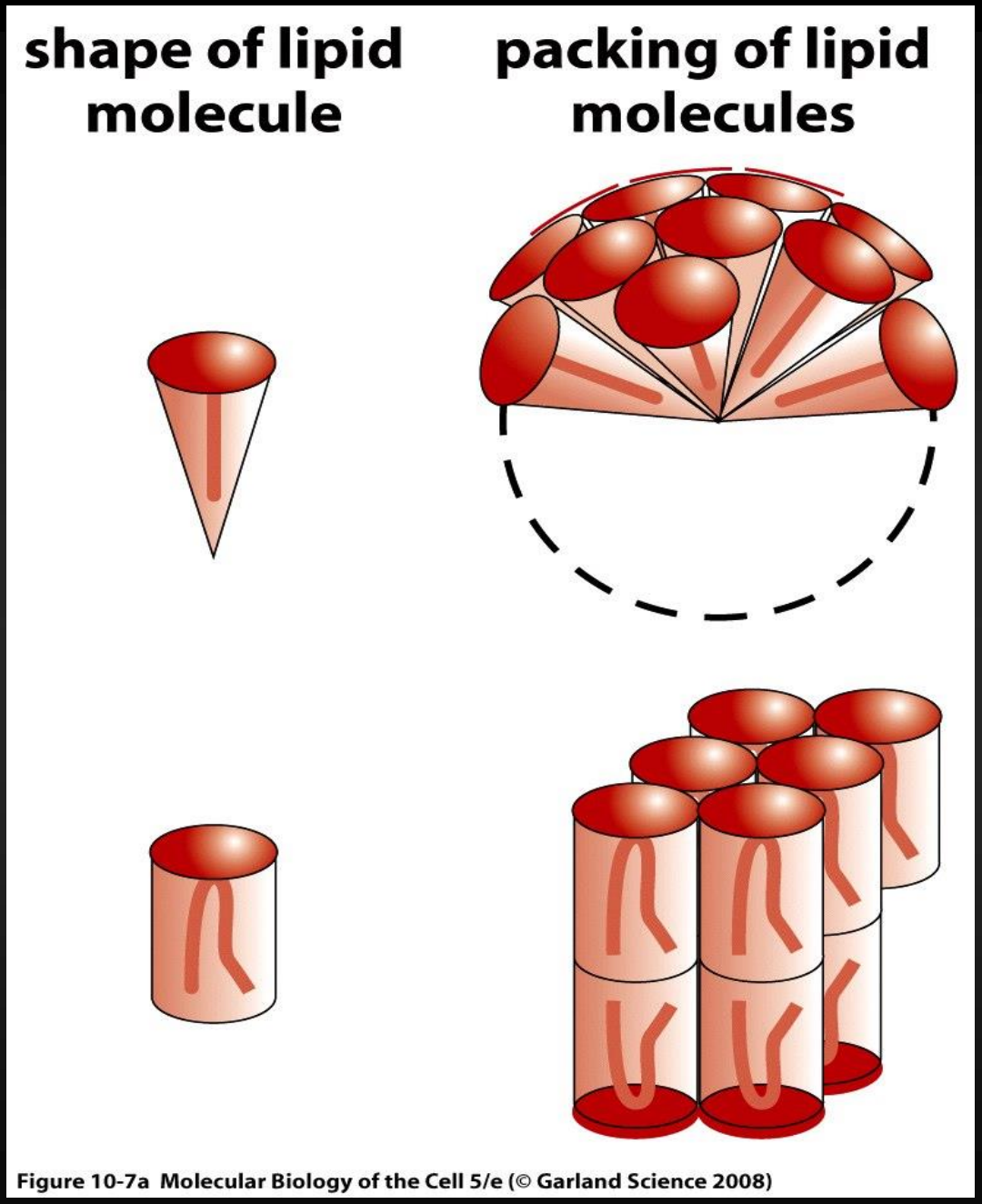


Figure 10-7a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Objetivo:

Estudiar el componente lipídico de mp

¿estrategia experimental?

Paso 1: separar lípidos de proteínas

Paso 2: marcar lípidos de interés

Membranas artificiales

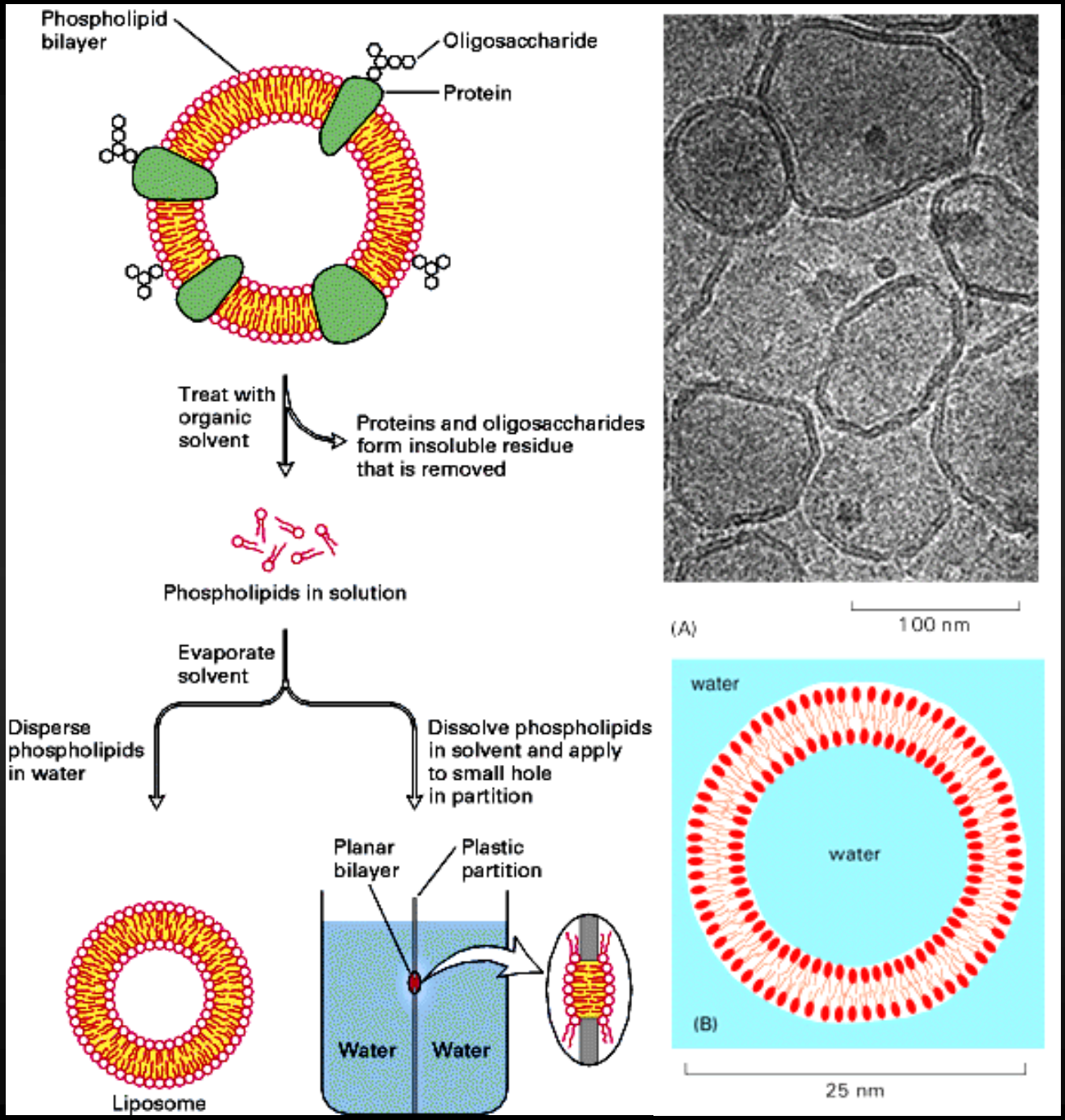
(bicapas sintéticas)

- difusión de lípidos marcado

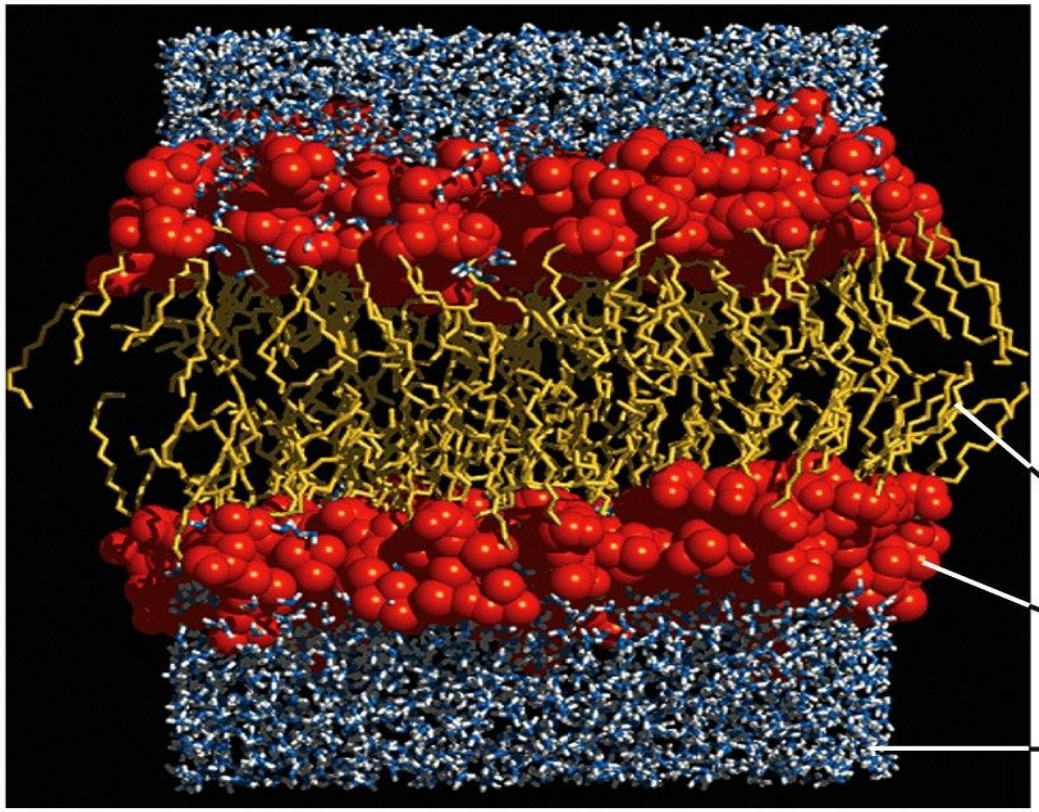
(grupo nitroxilo, fluorocromo u oro coloidal: cabeza)

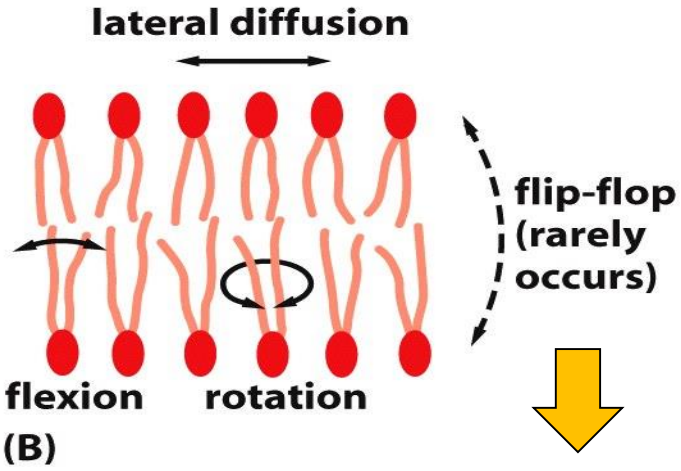
Cuidado:
alteraciones = artefactos

- permeabilidad



Movilidad de los lípidos en una bicapa lipídica





Proteínas:
Flipasas
Flopasas
Escramblasas

Figure 10-11 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- migración entre monocapas: ocurre rara vez ¿por qué?
- intercambio de sitios en monocapa: 10^7 / segundo
  difusión lateral: rápida
- rotación sobre su eje: rápido

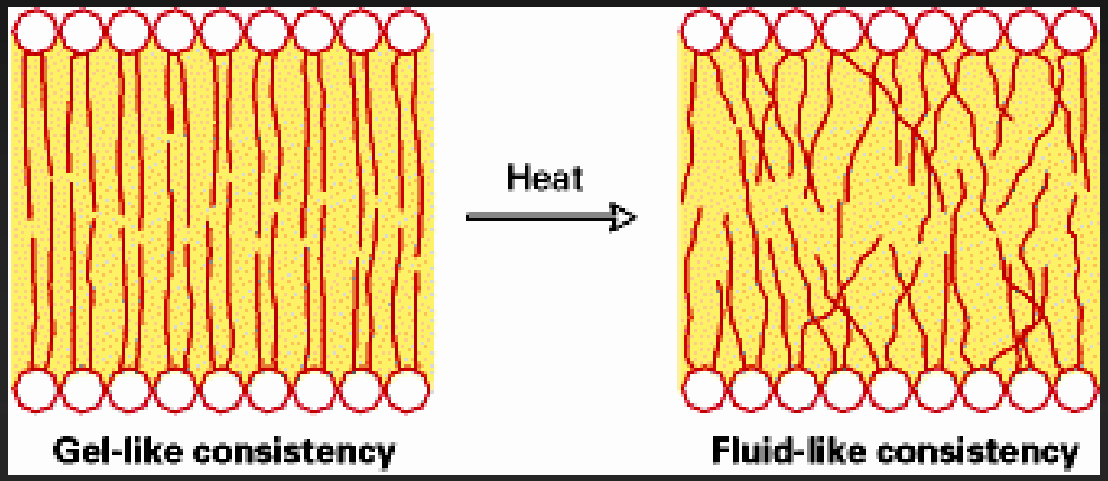
¿membranas biológicas?

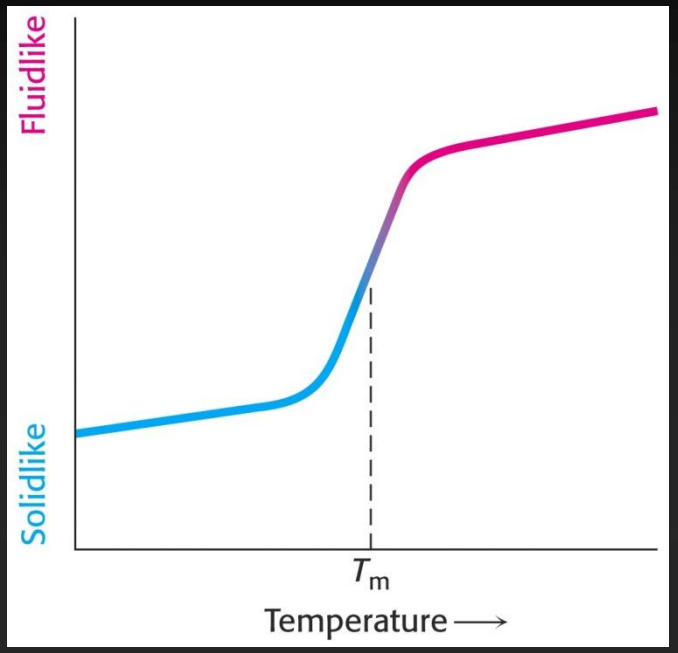
Validación de resultados:

- membranas aisladas
- células *in vivo*

En general, se cumplen los mismos principios definidos en las artificiales

Fluidez de la bicapa lipídica



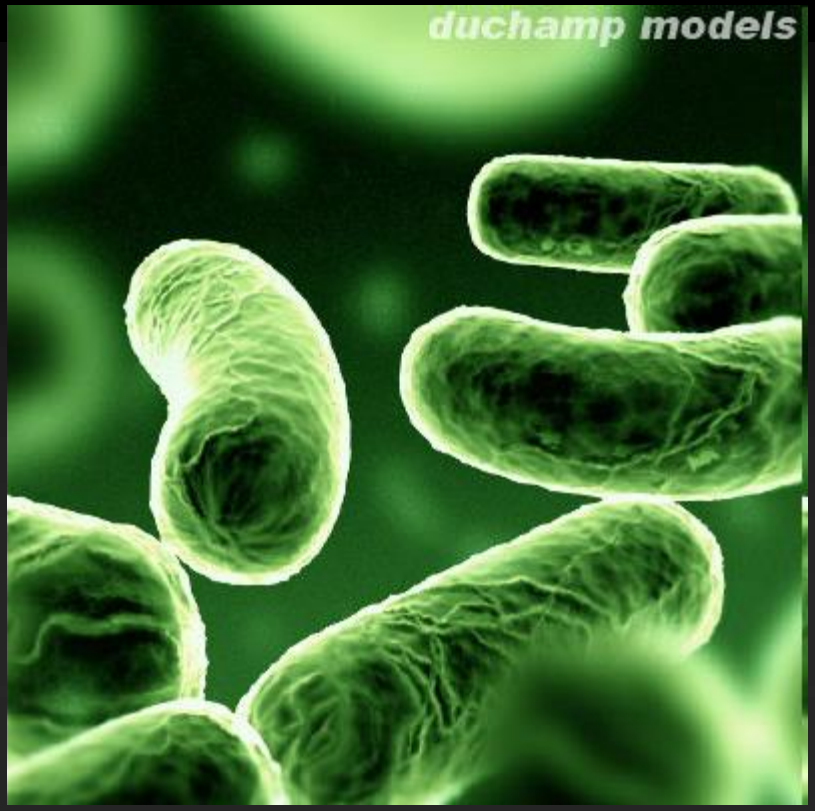


Cambio de estado: **transición de fase**

- depende de la composición de lípidos

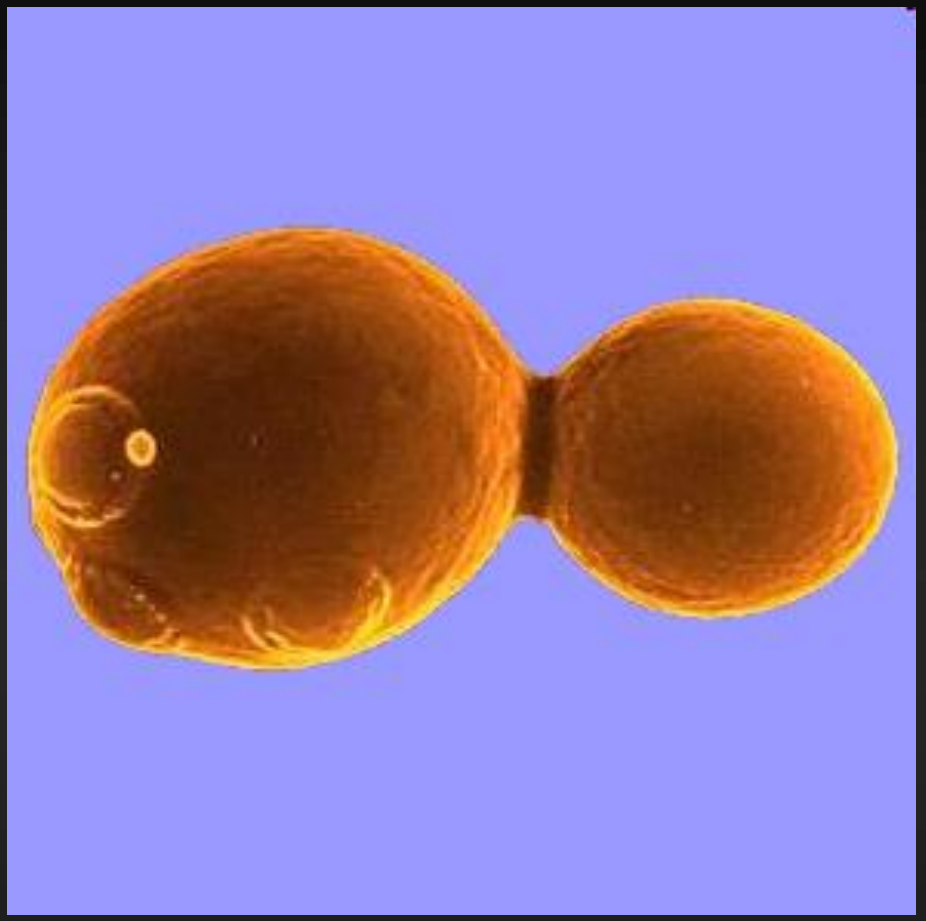
temperatura: específica para cada lípido

(colas más cortas y/o con doble enlaces = temperatura de TF menor)



Bacterias

Levaduras



Ajsute en la composición de ácidos grasos de lípidos: mantenimiento de fluidez cte.

Importancia: procesos de transporte / actividades enzimáticas

Lípidos de las membranas biológicas

Fosfolípidos

- son los más abundantes
- 4 tipos principales:

Fosfatidiletanolamina

Fosfatidilserina

Fosfatidilcolina

Derivados de glicerol

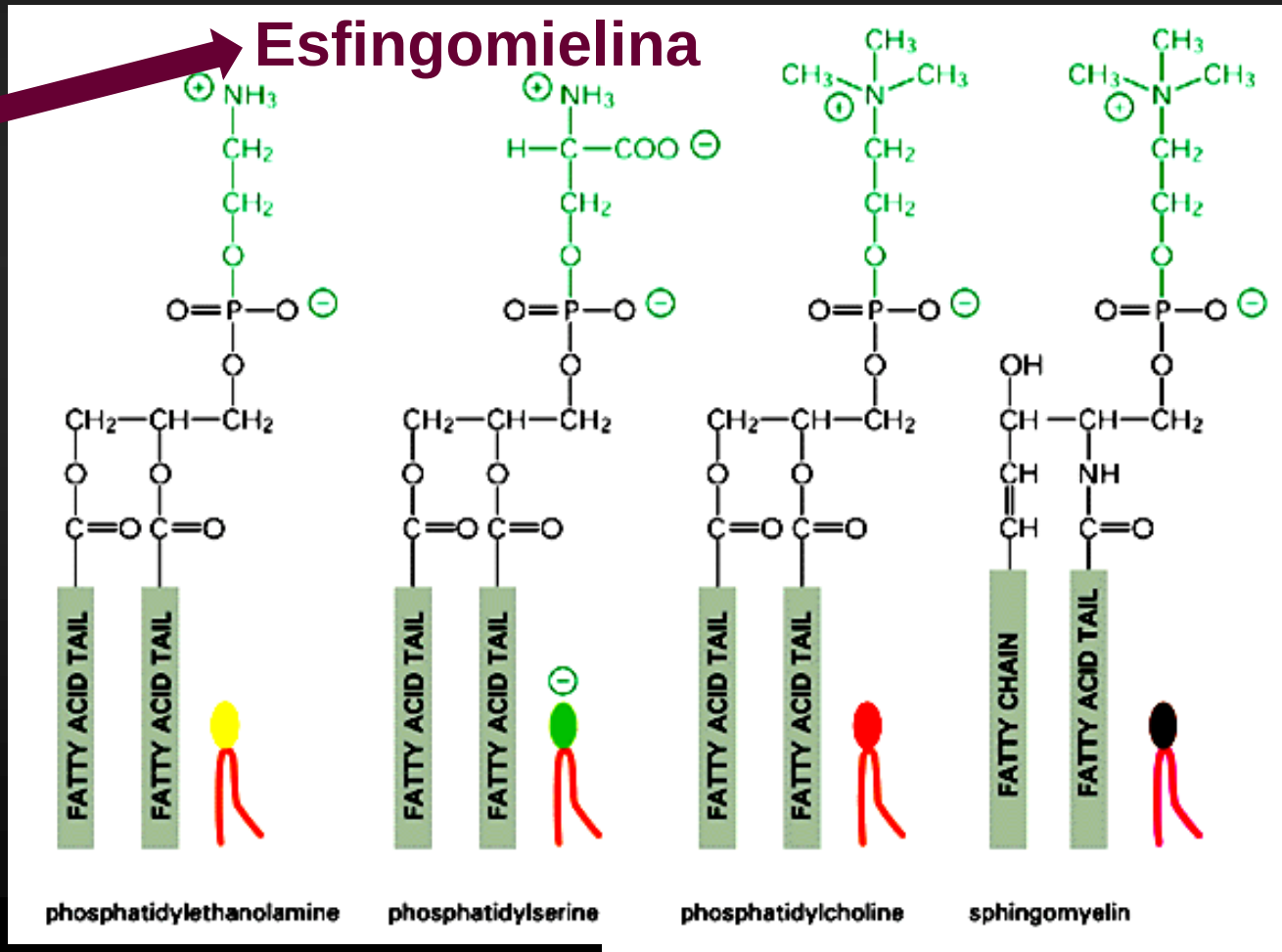
Esfingomielina

- *Fosfolípido derivado de esfingosina (esfingolípido)*

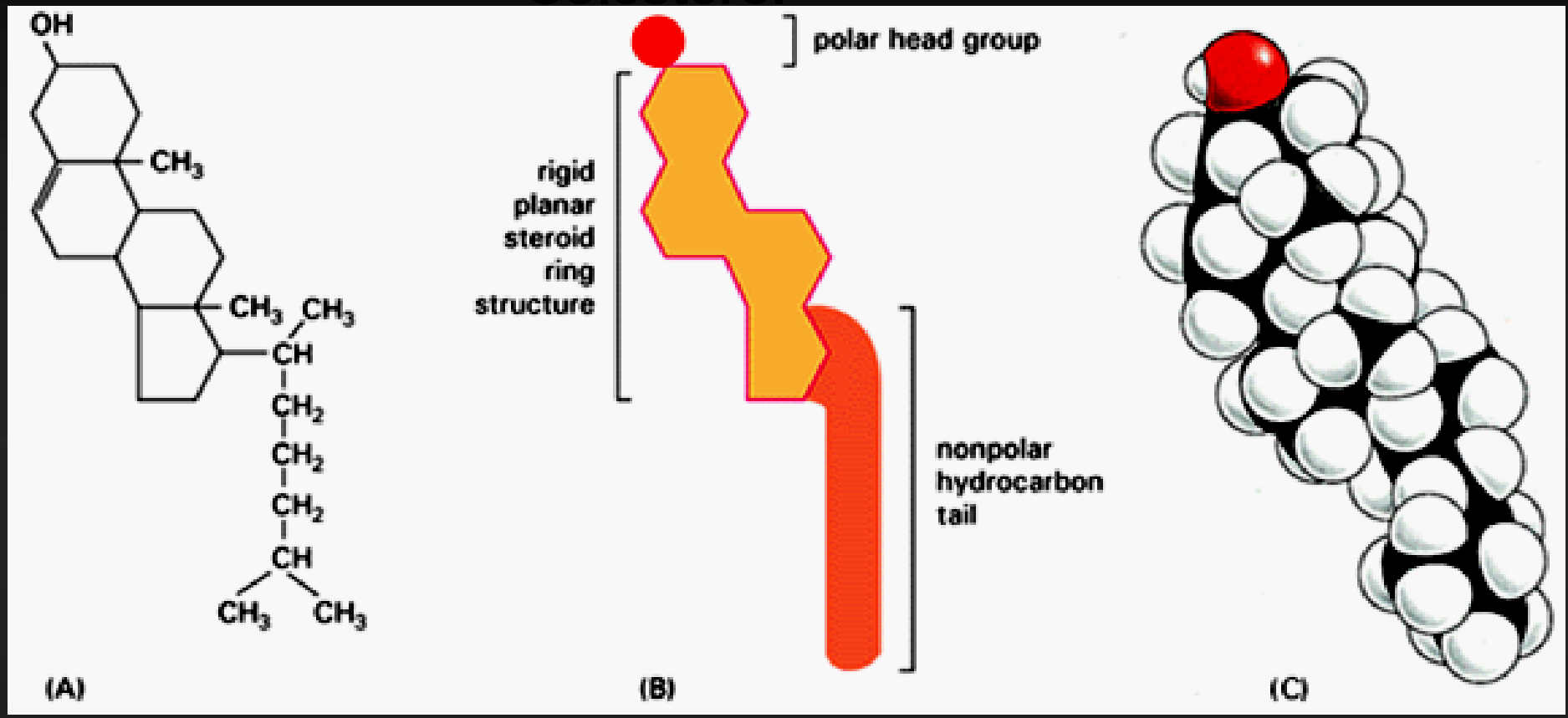
- *Fosfolípidos con inositol*

(señalización)

(mamíferos)

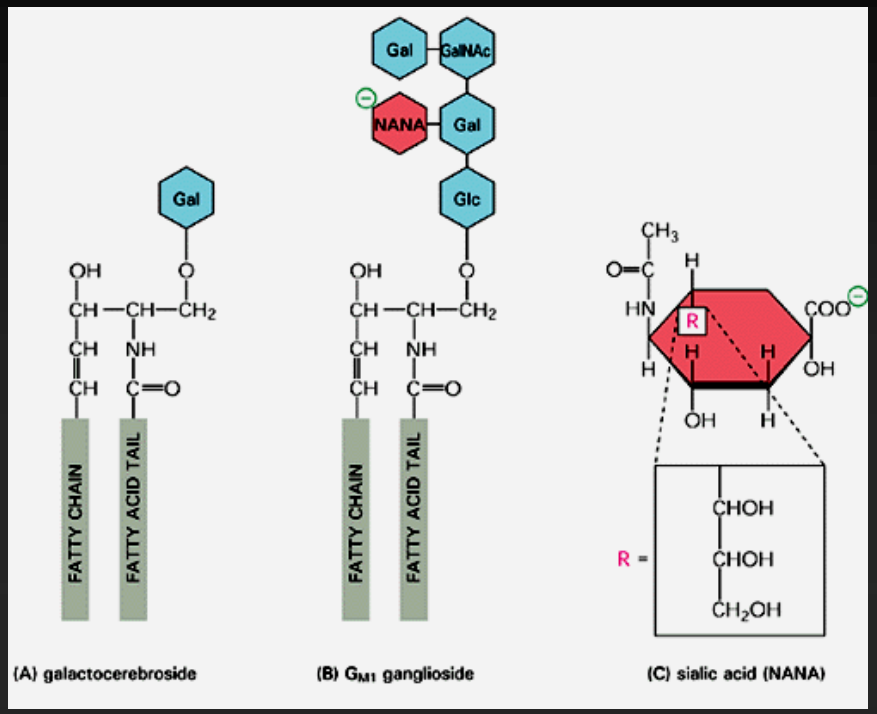


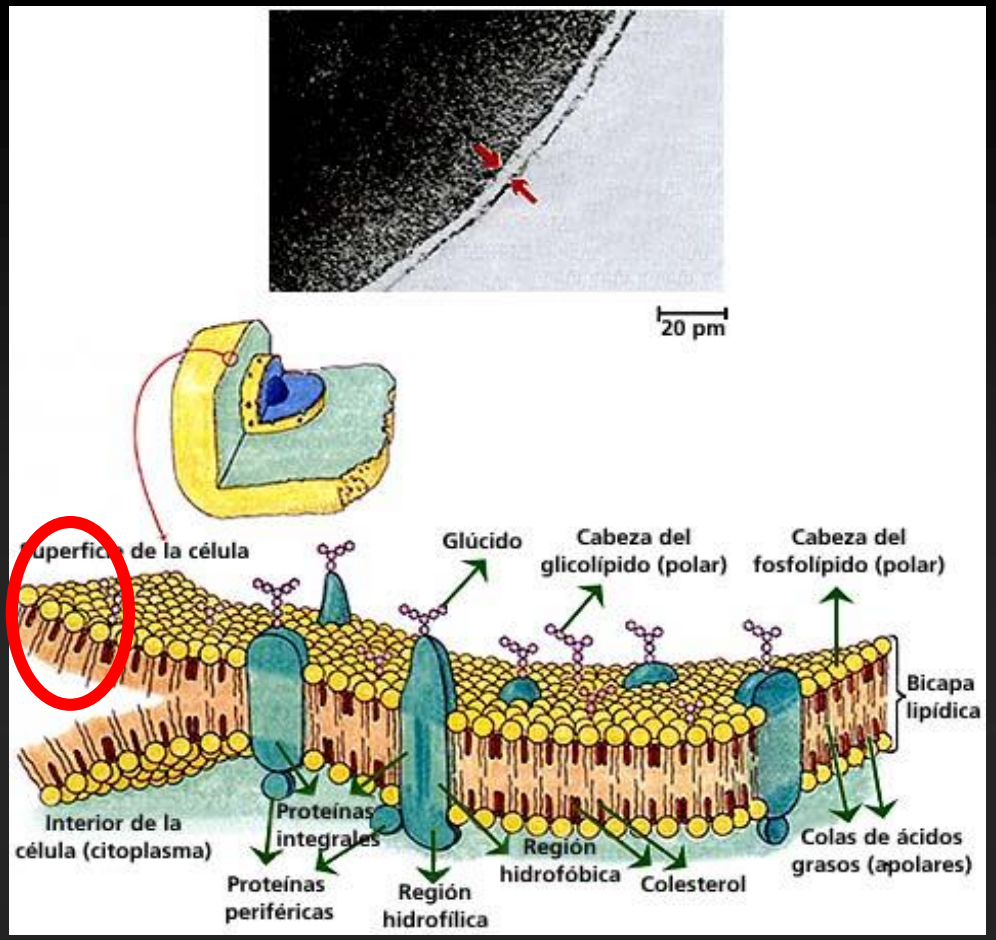
Colesterol



- células eucariotas animales: abundante (relacionado con función de barrera)
- bacterias: ausente

Glucolípidos





- sector externo de la bicapa lipídica
- 5% de las moléculas lipídicas
- distribución muy amplia (células animales, plantas y bacterias)
- grupos azúcares expuestos hacia exterior
  interacciones célula – entorno / protección (células epiteliales)

TABLE 10–1 Approximate Lipid Compositions of Different Cell Membranes

Lipid	Percentage of total lipid by weight					
	Liver cell plasma membrane	Red blood cell plasma membrane	Myelin	Mitochondrion (inner and outer membranes)	Endoplasmic reticulum	*E. coli* bacterium
Cholesterol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidylethanolamine	7	18	15	28	17	70
Phosphatidylserine	4	7	9	2	5	trace
Phosphatidylcholine	24	17	10	44	40	0
Sphingomyelin	19	18	8	0	5	0
Glycolipids	7	3	28	trace	trace	0
Others	22	14	8	23	27	30

Diversidad de lípidos a dos niveles:

- química confiere propiedades específicas a lípidos
- composicional afecta comportamiento colectivo de lípidos en la membrana

(entre especies, entre tejidos y/o entre células de un mismo organismo, distintos organelos, distintas monocapas)

Lípidos regulan procesos biológicos

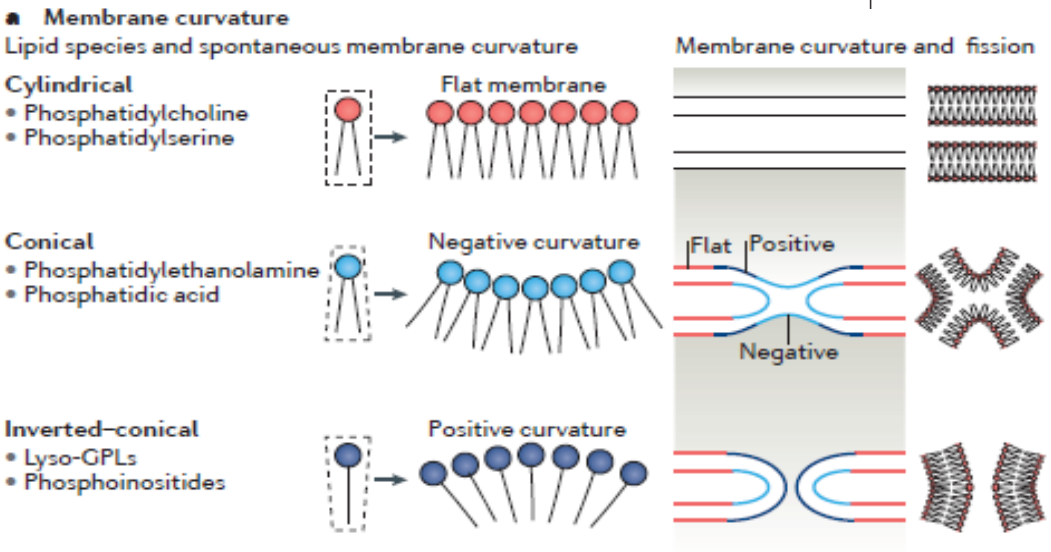
REVIEWS
NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY
© 2018 Macmillan Publishers Limited,

Balance de tamano cabeza/cola: afecta curvatura espontánea

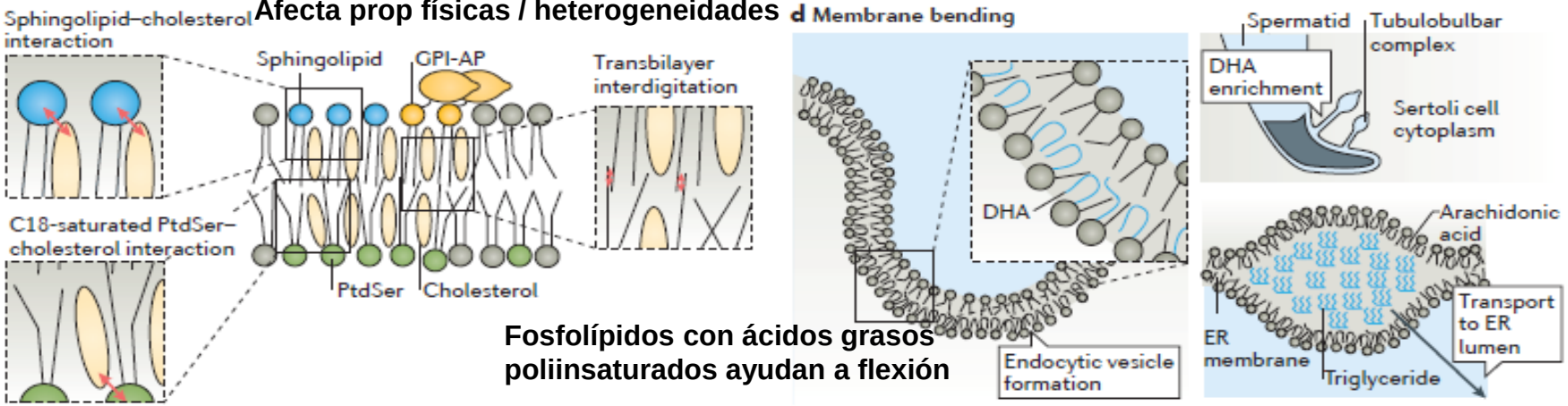
Understanding the diversity of membrane lipid composition

Takeshi Harayama and Howard Riezman

Insaturación aumenta fluidez



Afecta prop físicas / heterogeneidades



Fosfolípidos con ácidos grasos poliinsaturados ayudan a flexión

¿Cómo se distribuyen los lípidos en las membranas celulares?

- Al azar y formando dominios

- Microdominios de membrana o balsas lipídicas (*lipid* ***rafts)***

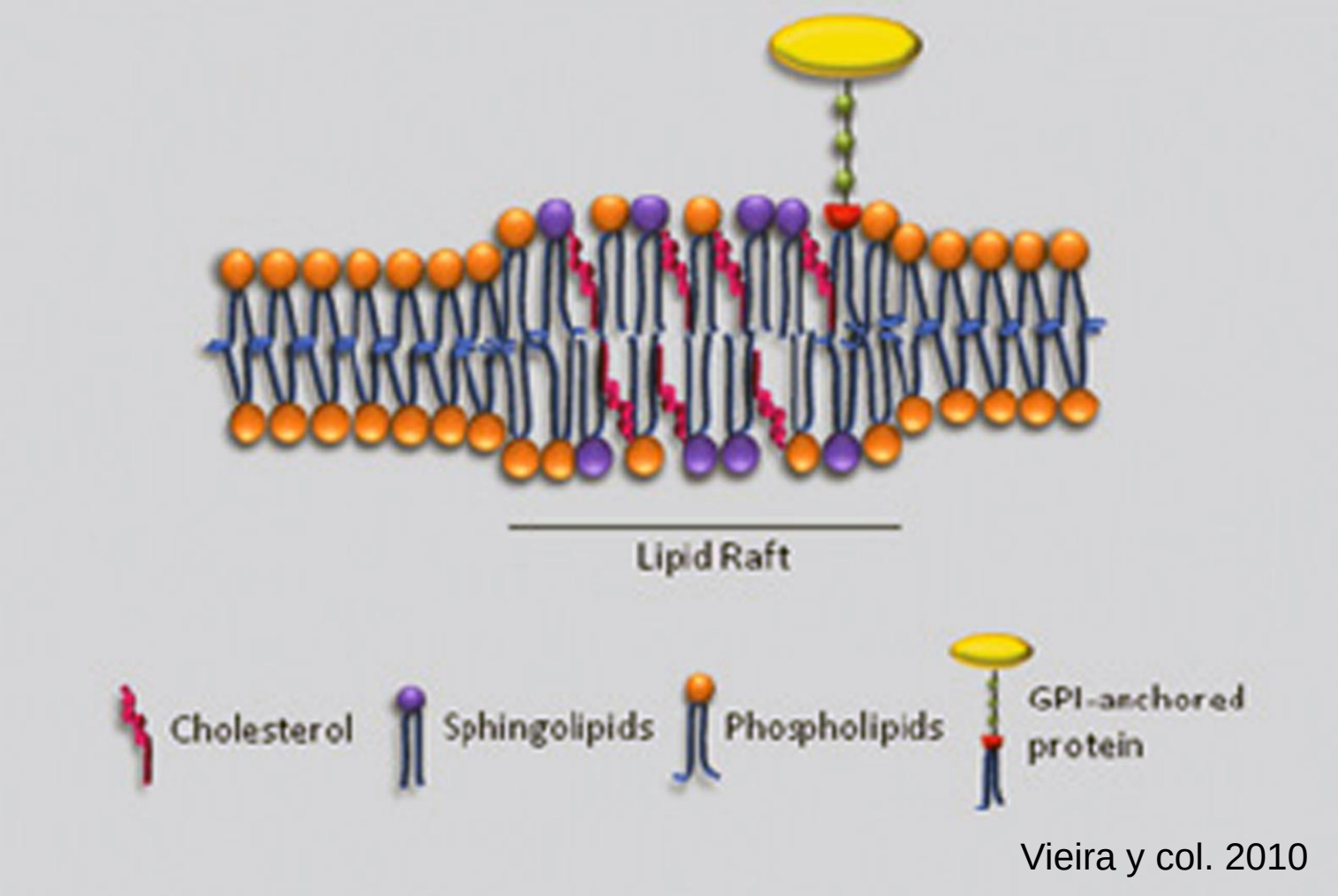
  - enriquecidos en esfingolípidos y colesterol
  - son transitorios (vida media 10 a 20 ms)
  - reportados en diversos organismos y tipos celulares (conservación)
  - mecanismo de generación aún en debate:
    1. nucleación iniciada por proteínas
    2. estabilización por interacciones proteína-lípido y lípido-lípido

(Harayama y Riezman, Nature Rev.2018)

Hipótesis

- ayudarían a organizar proteínas de membrana
  - a) concentración para transporte en vesículas
  - b) concentración para transducción de señales

Modelo de balsa lipídica



Vieira y col. 2010

Esfingolípidos: colas más largas = zona engrosada

Membranas artificiales: liposomas

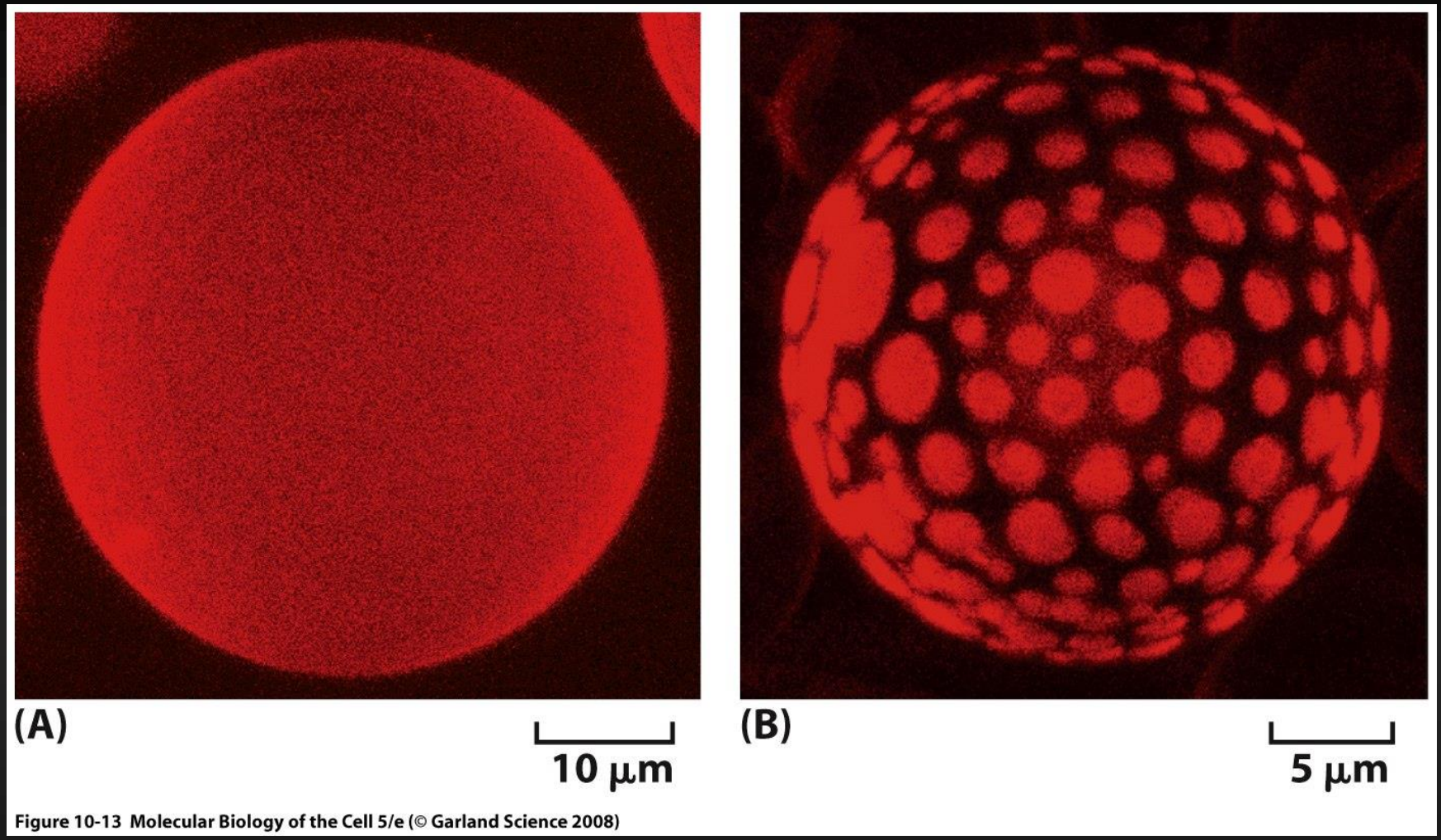


Figure 10-13 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Fosfatidilcolina / esfingomielina
1:1

Fosfatidilcolina/esfingomielina/colesterol
1:1:1

Controversia: artefacto de técnica / rol biológico

Trends in Cell Biology

CellPress
REVIEWS

Review

Lipid Rafts: Controversies Resolved, Mysteries Remain

Ilya Levental,[1,*] Kandice R. Levental,[1] and Frederick A. Heberle[2,3]

2020

Grupo de científicos escépticos

- no observables en células viables
- evidenciables en membranas artificiales
- métodos de aislamiento muy agresivos

(solubilización: detergents en frío)

Artefacto de técnica

Grupo de científicos a favor rol biológico

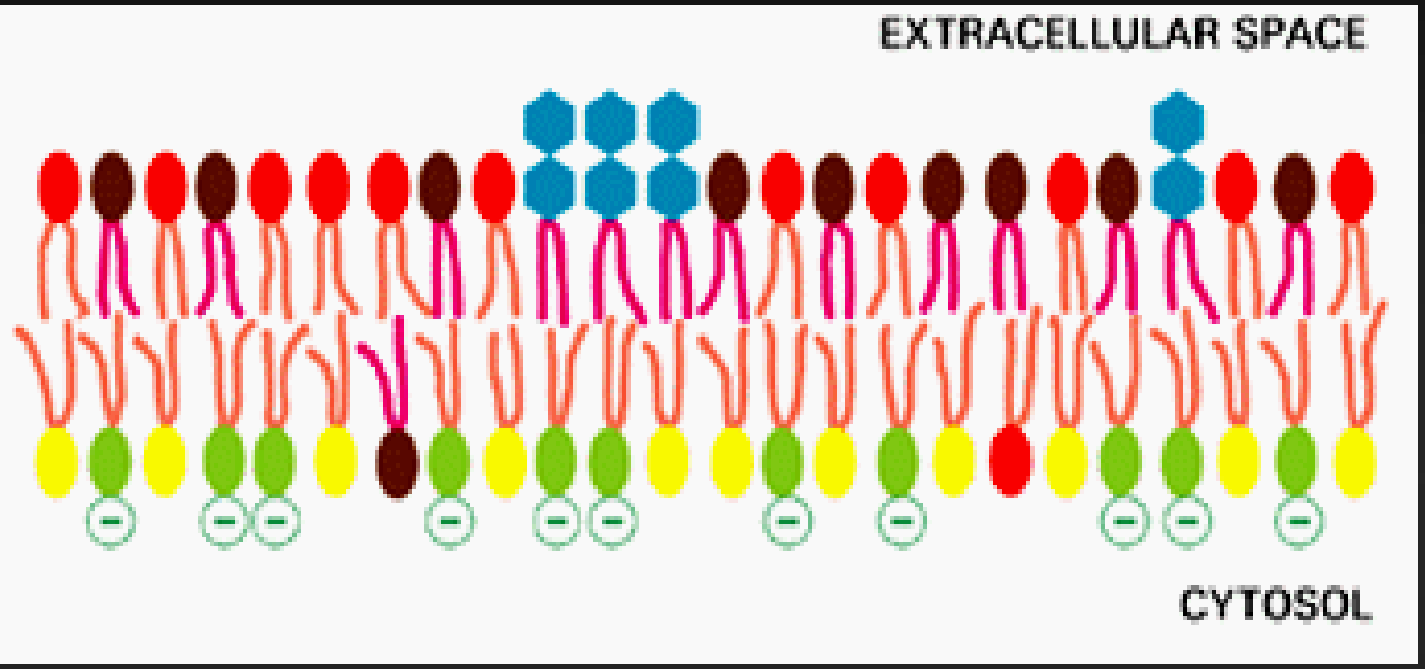
- conservación
- inaccesibles con las metodologías disponibles

(sensibilidad, escala nanométrica y milisegundos)

Limitantes técnicas

Asimetría en la distribución de lípidos en ambas monocapas

Ej: bicapa lipídica de glóbulo rojo humano



Fosfatidilcolina

Esfingomielina

Glucolípidos

Fosfatidiletanolamina

Fosfatidilserina

- existen diferencias entre la monocapa interna y externa
  - fosfolípidos y glucolípidos
- colesterol: distribución homogénea
- importancia: funcional
  - protección, unión de proteínas a ciertos lípidos, apoptosis

Proteínas de membrana

- Estructura básica de las membranas biológicas: bicapa lipídica

Proteínas de membrana

- responsables de la mayoría de las funciones específicas de las membranas

- imponen a cada membrana sus propiedades funcionales características

➡ cantidad y tipos presentes en las membranas: *muy variable*

Asociación con la bicapa lipídica

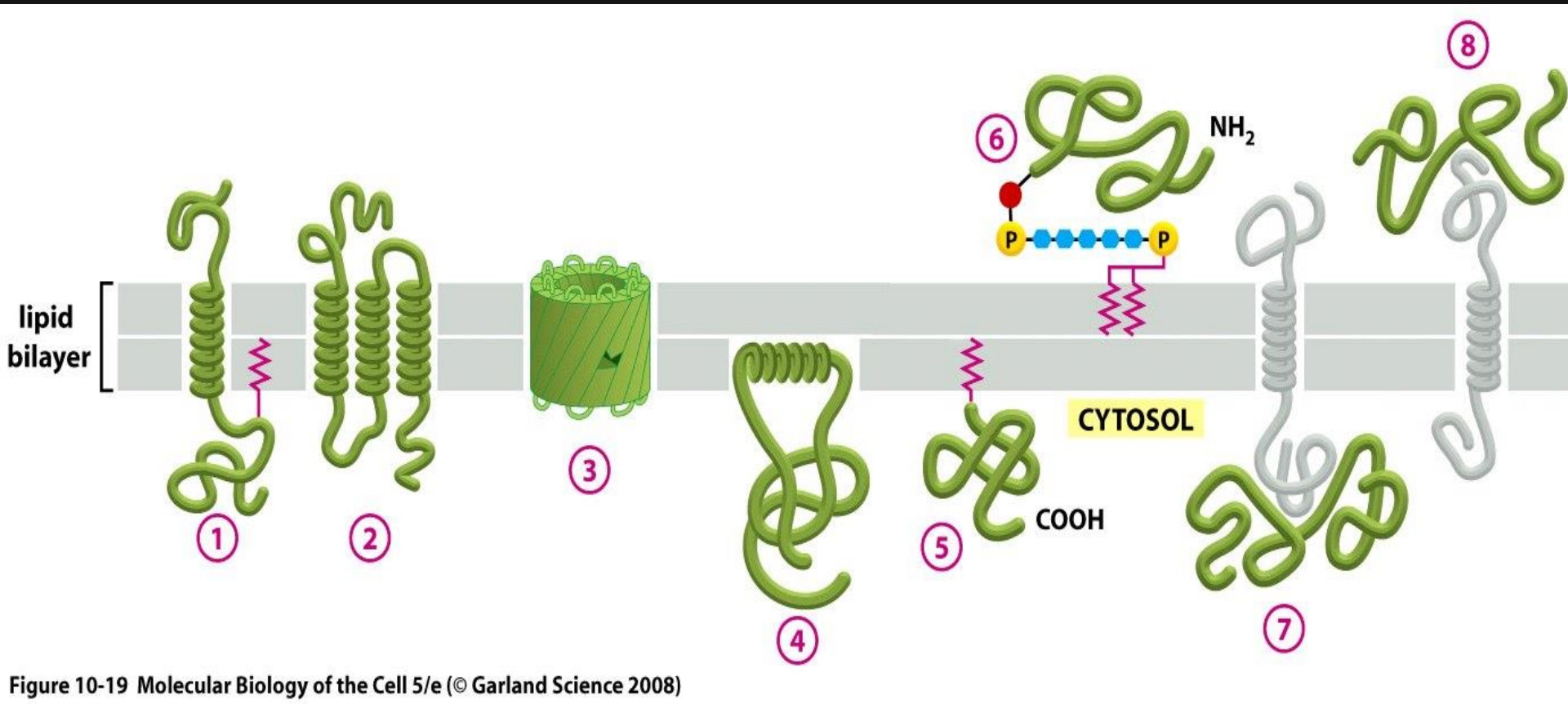


Figure 10-19 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- Proteínas integrales de membrana
- Proteínas periféricas

Clasificar 1 al 8…

Proteínas integrales de membrana

1. **Proteínas transmembrana (1,2 y 3)**

   - atraviesan la bicapa lipídica
   - son anfipáticas

2. **Proteínas ancladas a región citosólica de bicapa (4 y 5)**

   - alfa hélice anfipática
   - unión covalente a lípido

3. **Proteínas ancladas a región externa de la bicapa (6)**

   - unión por enlace covalente

Proteínas periféricas

- asociación **no** covalente a cualquier cara de la bicapa lipídica

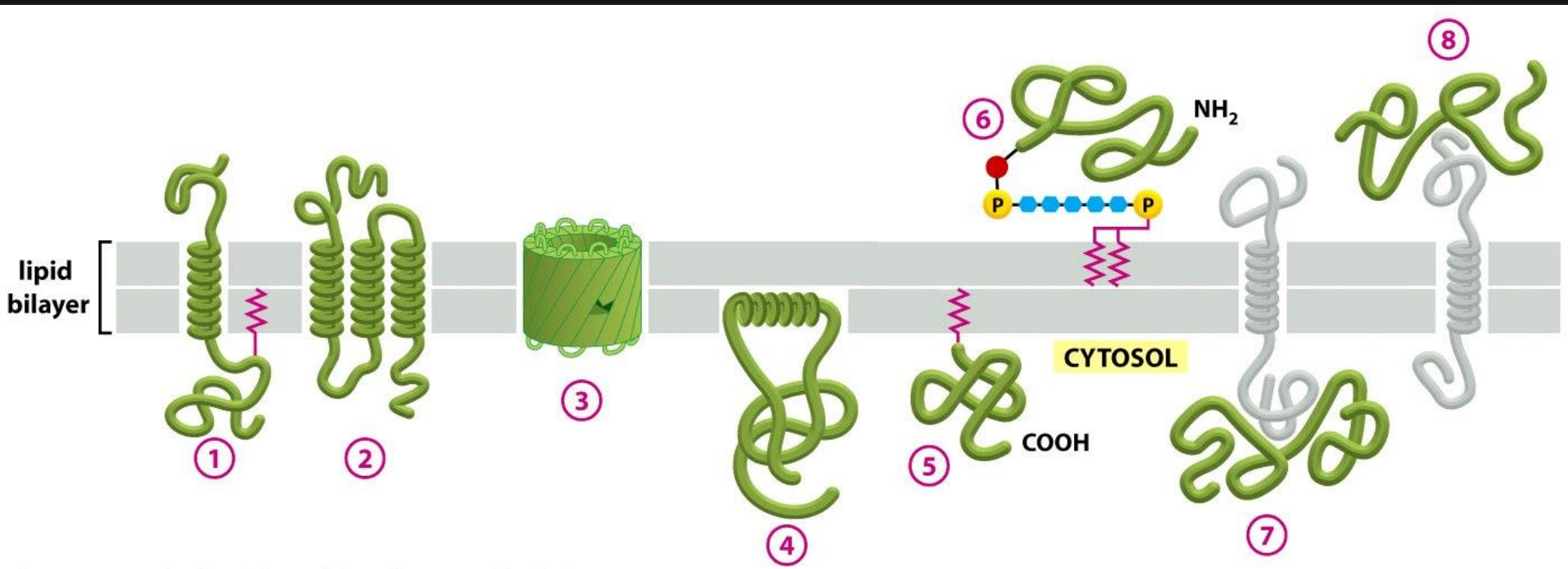


Figure 10-19 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

asociación proteína – bicapa lipídica

función de la proteína

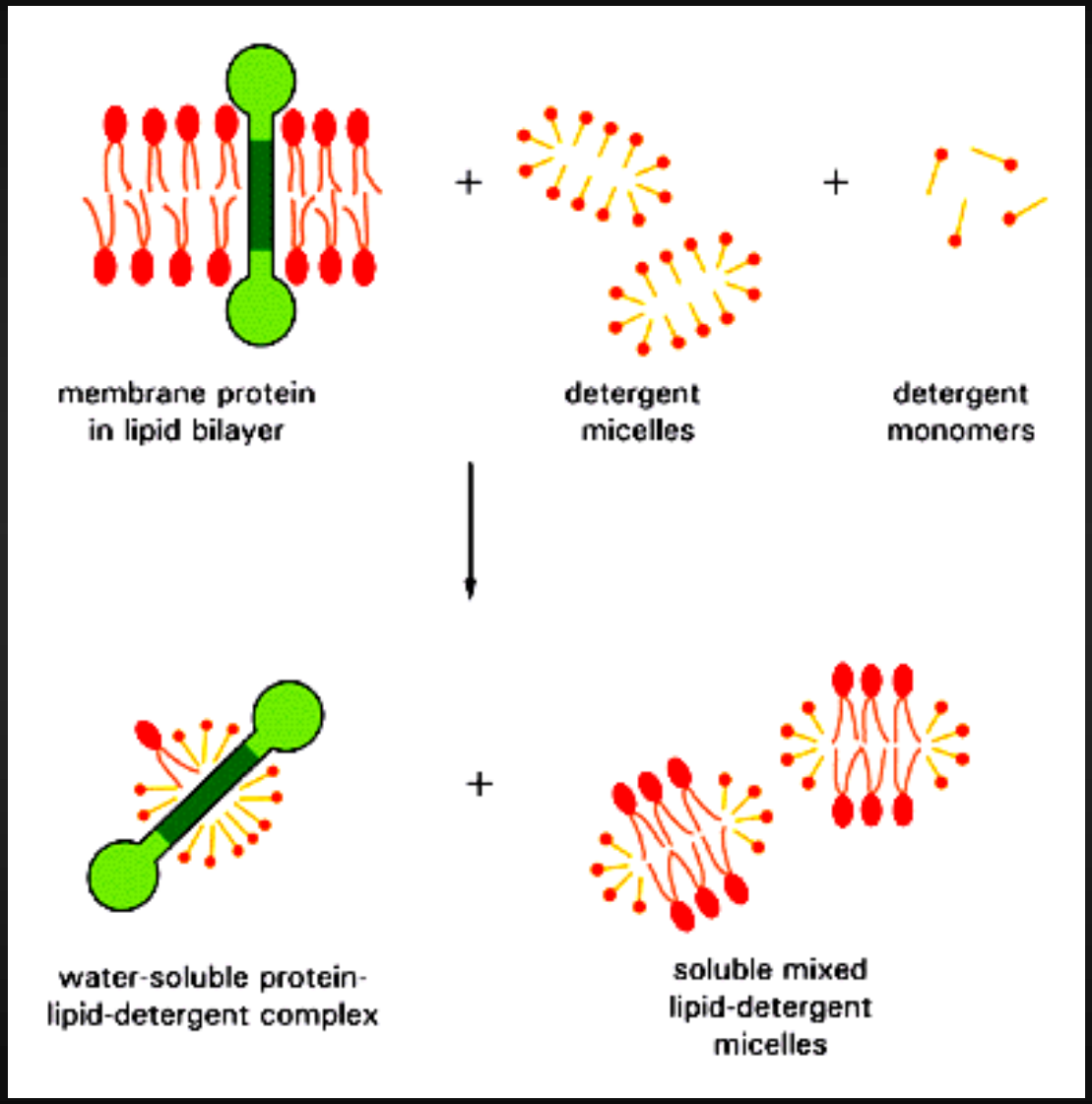
Objetivo:

Estudiar el componente proteico de mp

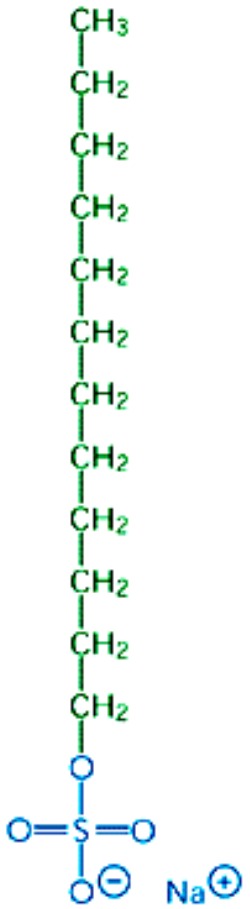
Paso 1: separar proteínas de lípidos

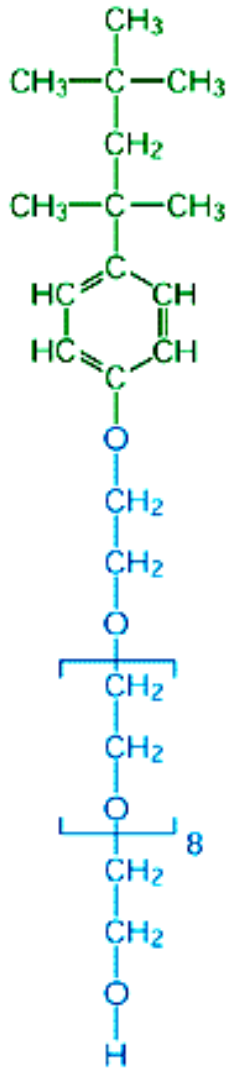
Paso 2: identificar las proteínas de interés

Proteínas de membrana: solubilización

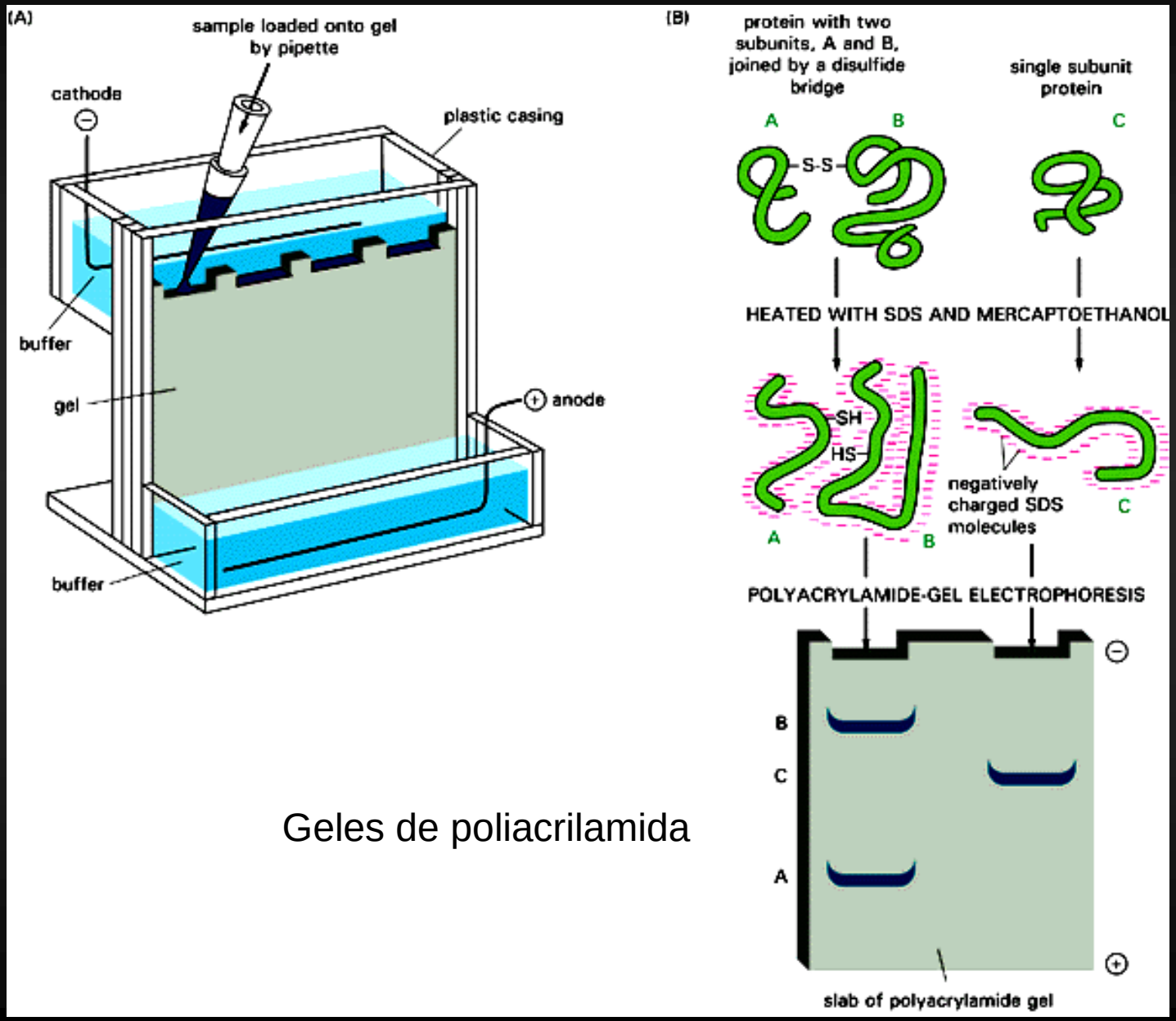


Detergentes
(anfipáticos)





Proteínas de membrana: electroforesis



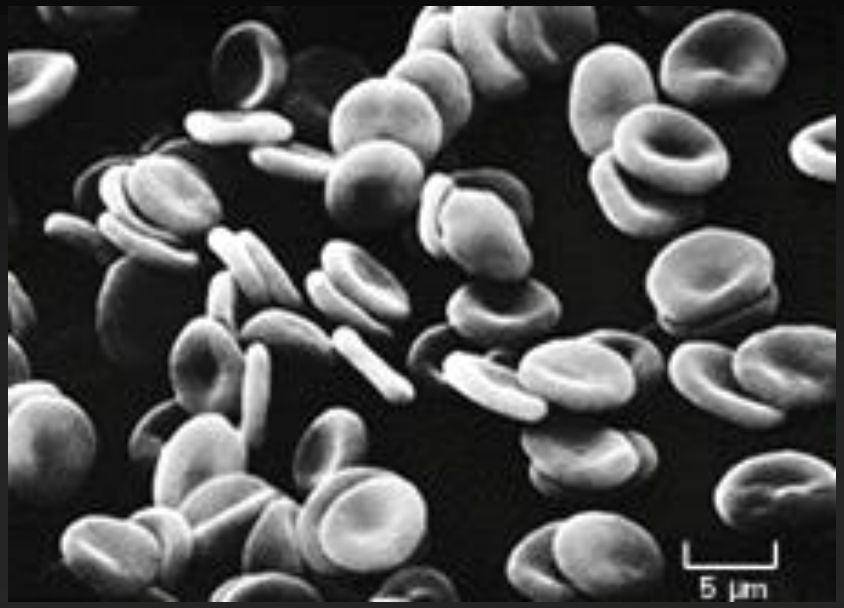
Geles de poliacrilamida

La membrana plasmática de los eritrocitos humanos

Figure 10-40 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- disponibles en grandes cantidades
- relativamente puros
- no poseen núcleo * (mamíferos)
- es posible aislar membranas celulares

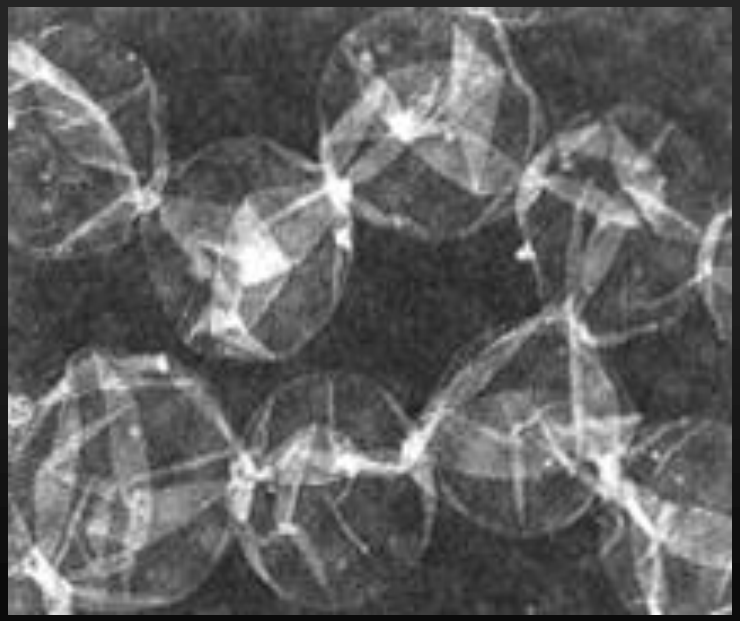
Membranas celulares de eritrocitos aisladas:



exposición a medios hipotónicos

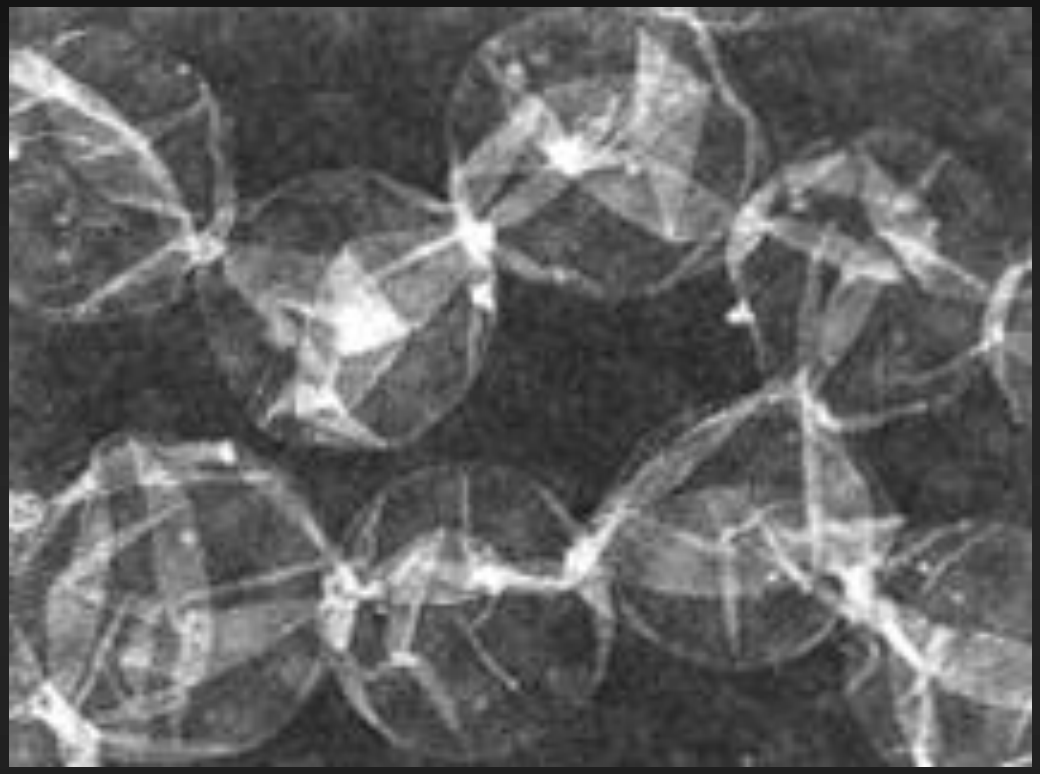
↓

lisis celular

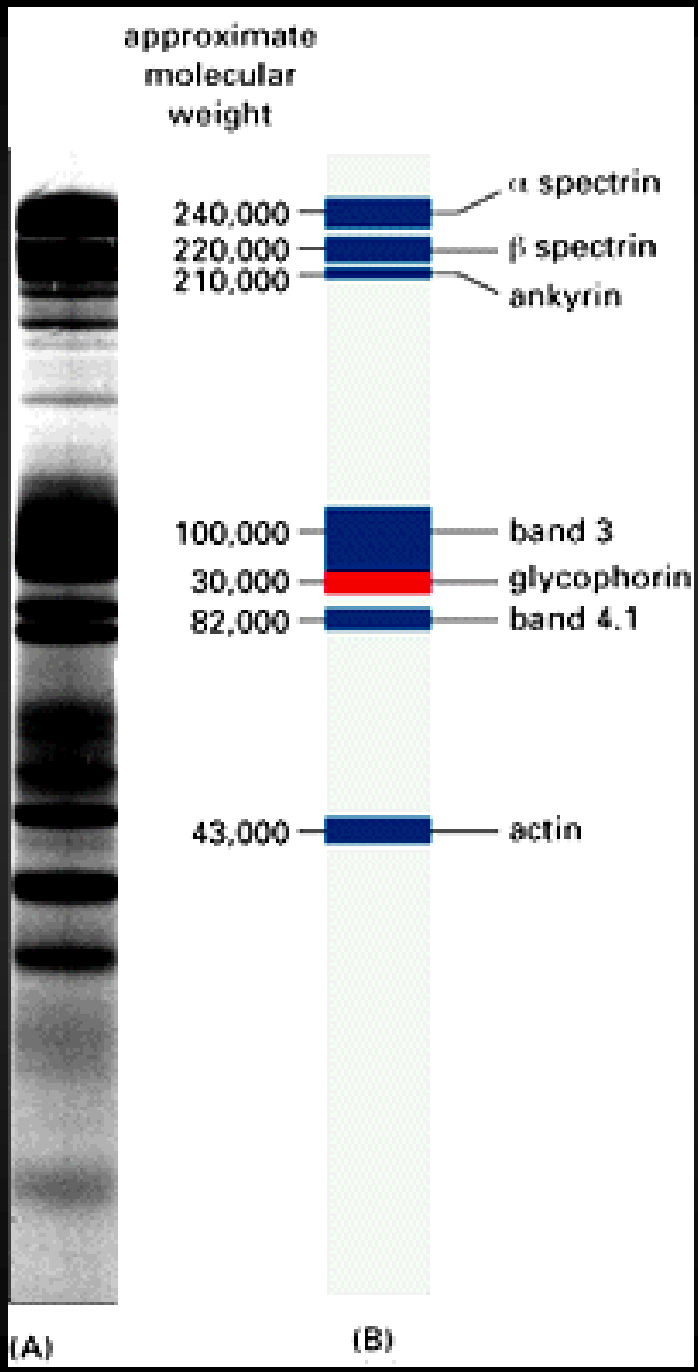


→ Solubilización con detergentes

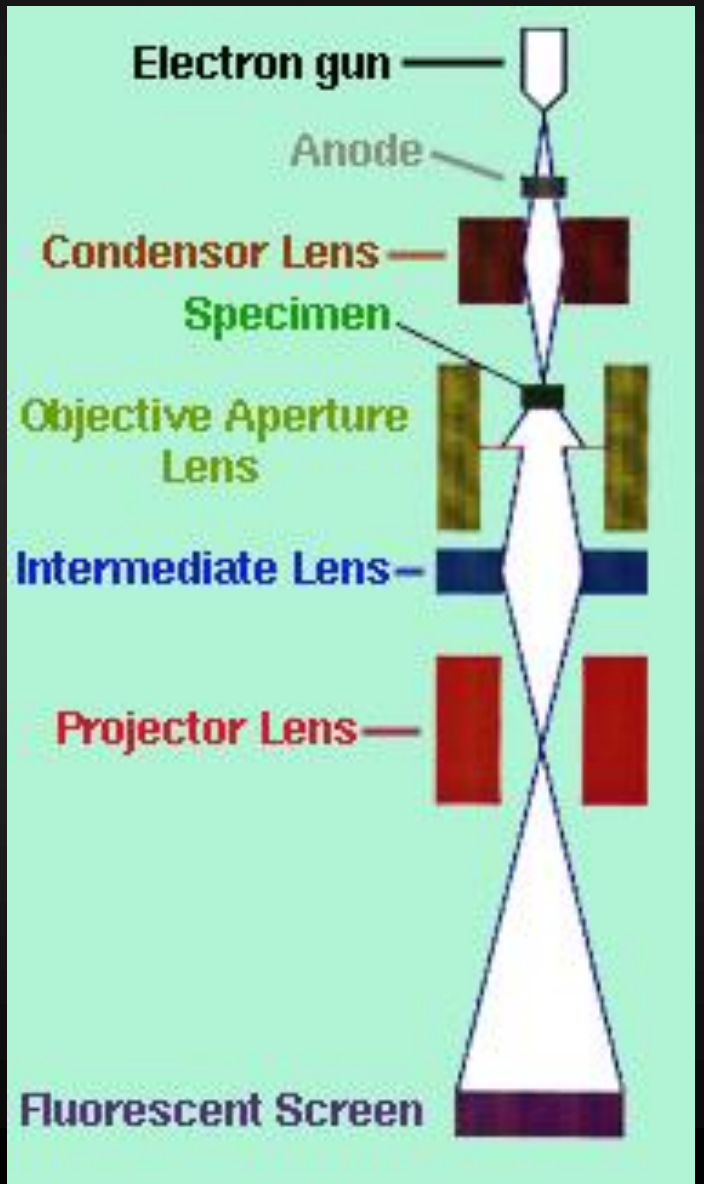
Eritrocitos



Esta técnica, ¿nos permite saber la identidad o localización de las proteínas en la membrana?



Microscopio electrónico de transmisión (MET)



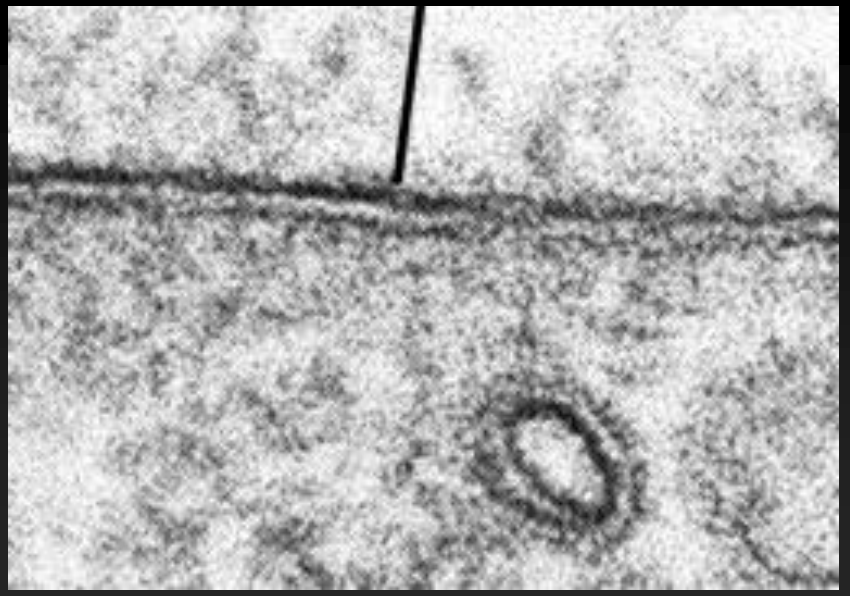
Análisis de membranas celulares
Límite de resolución adecuado
Distintas preguntas : distintas técnicas

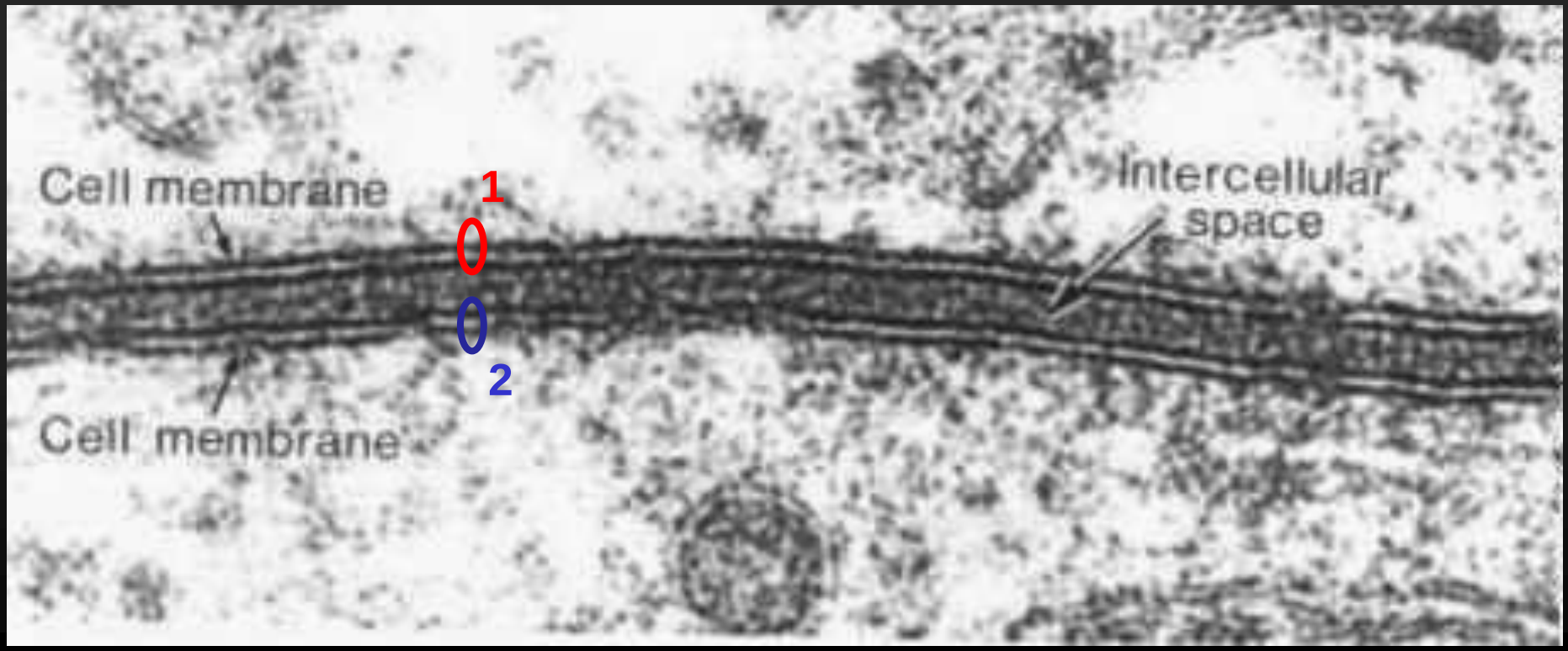
Membranas celulares

imagen trilaminar

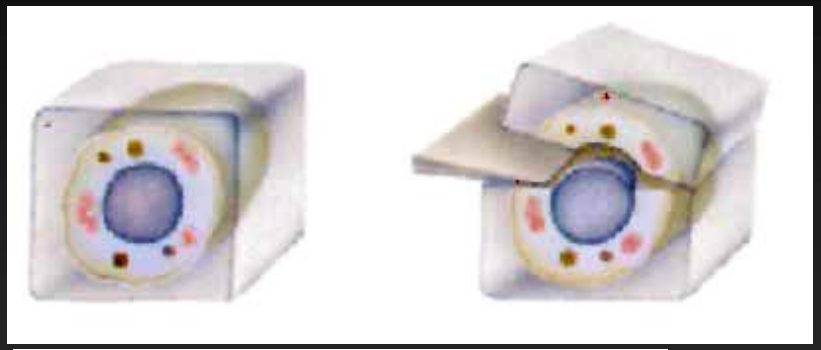
zonas electron-densas (oscuras)

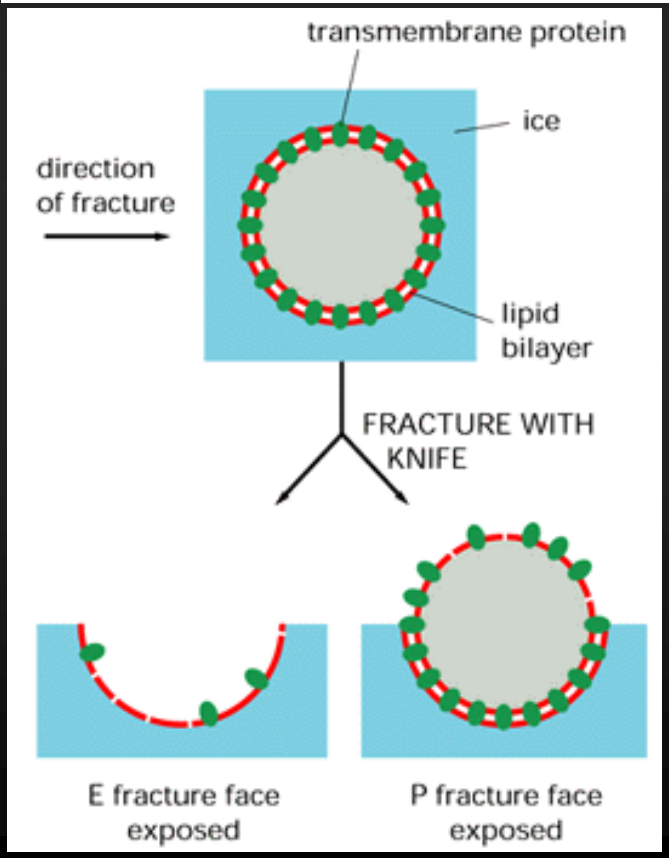
zonas electron-lúcidas (claras)

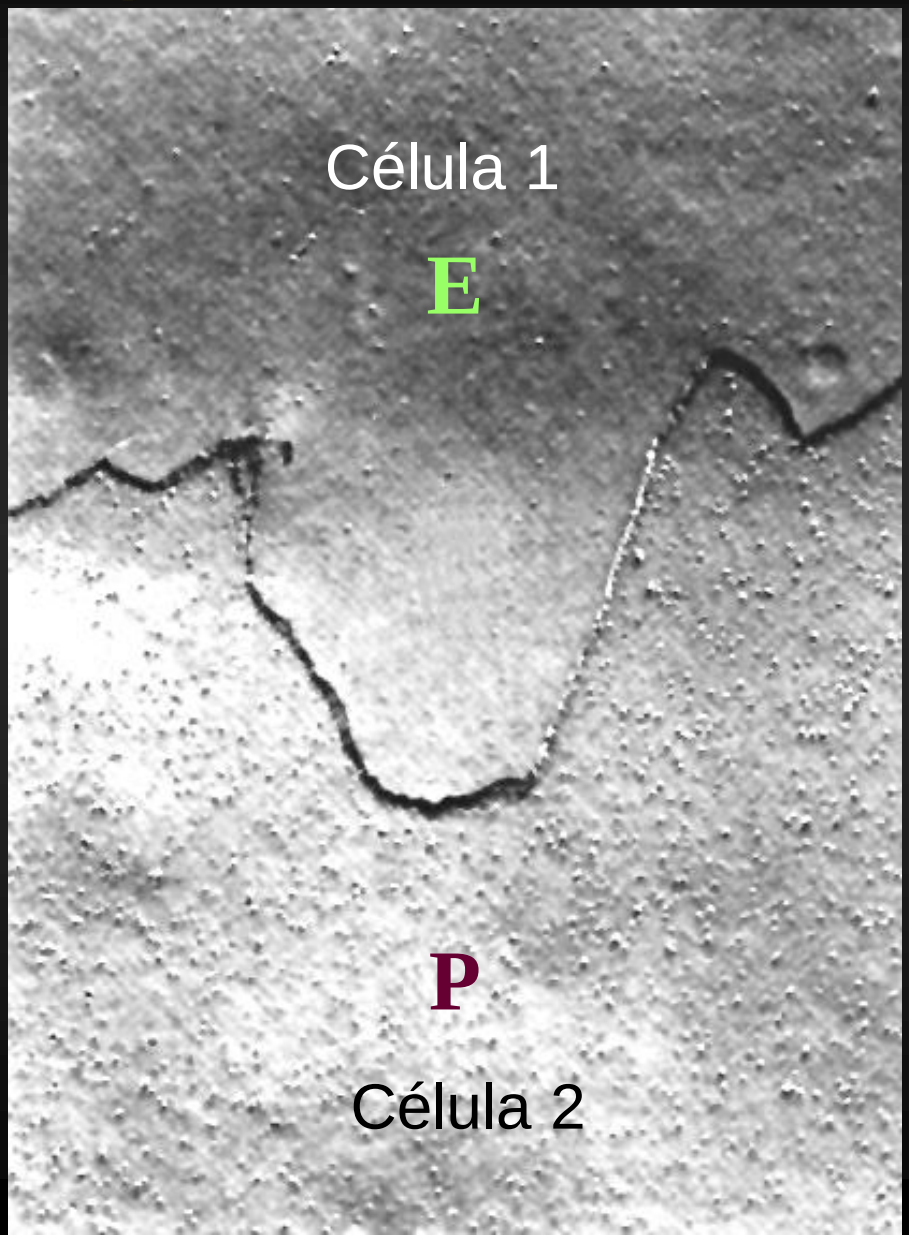


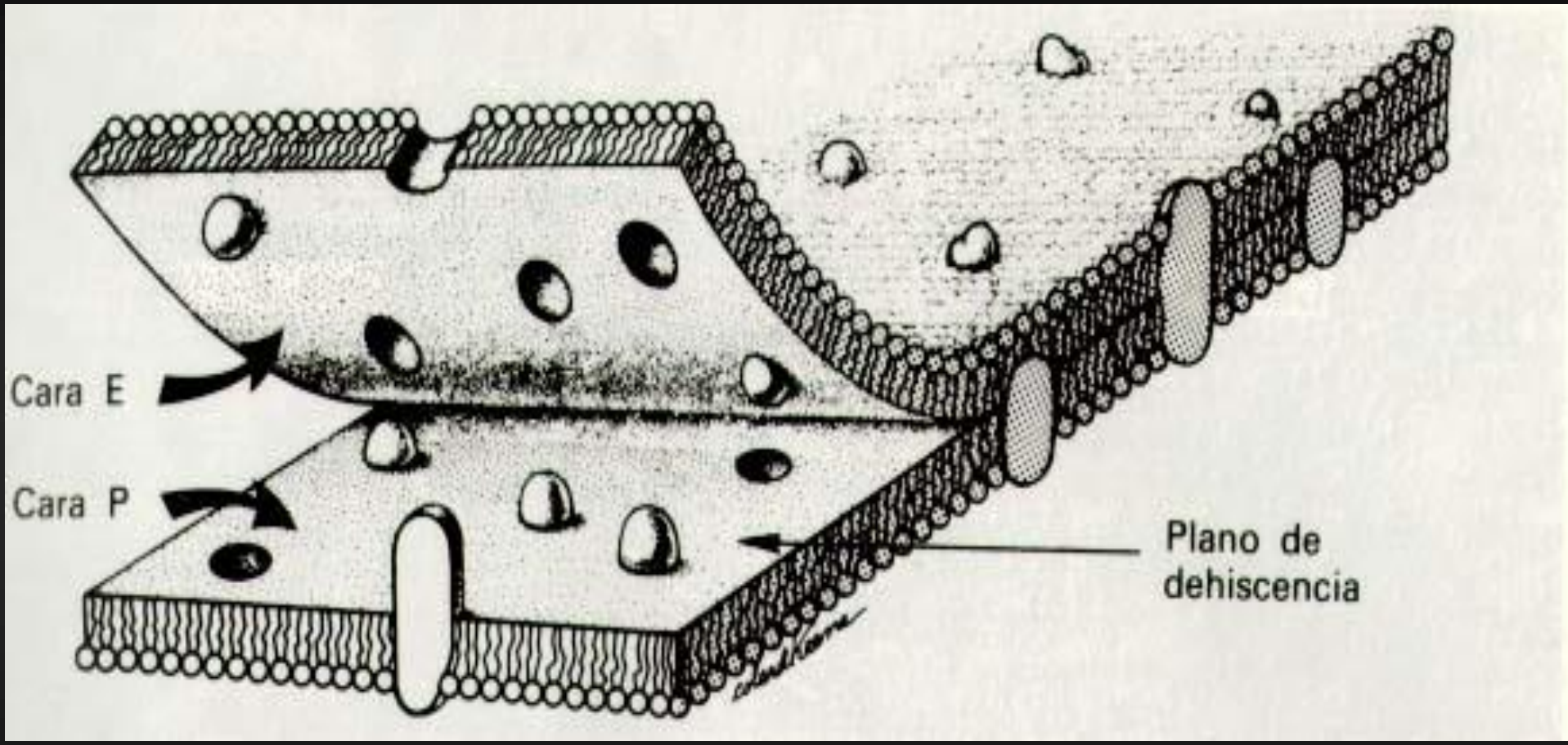


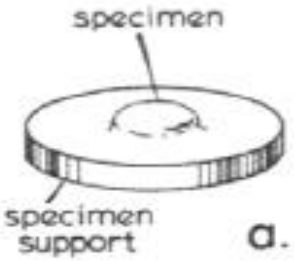
Microscopía electrónica de transmisión criofractura-réplica

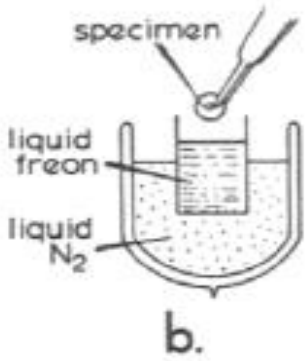


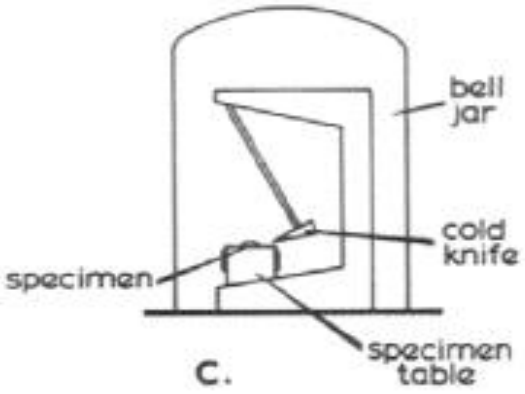




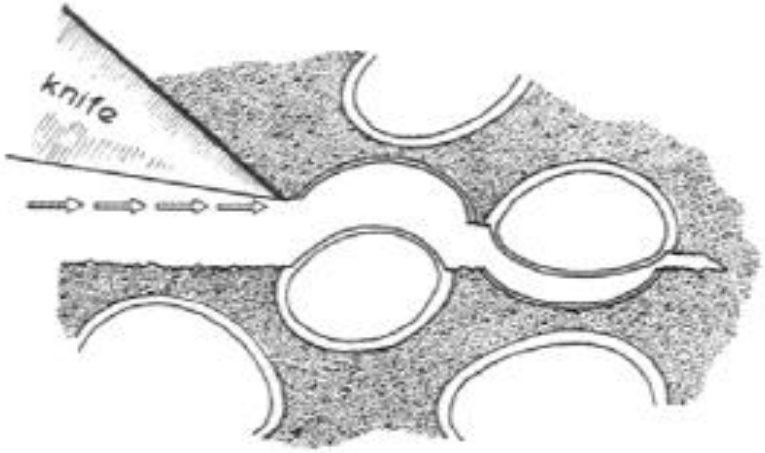

Cara E
Cara P
Plano de
dehiscencia







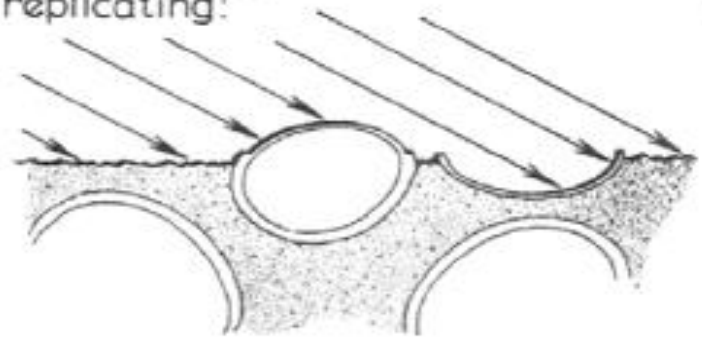
d.
fracturing:



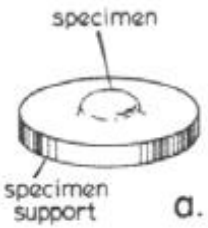
e.
etching:

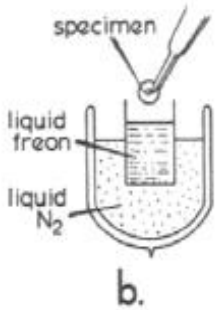
(sublimado: opcional)

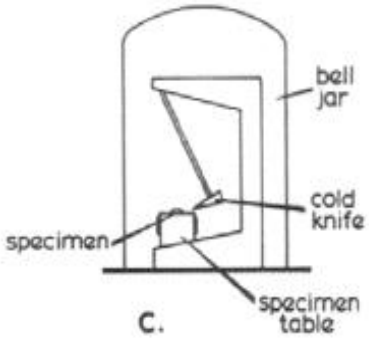
f.
shadowing &
replicating:

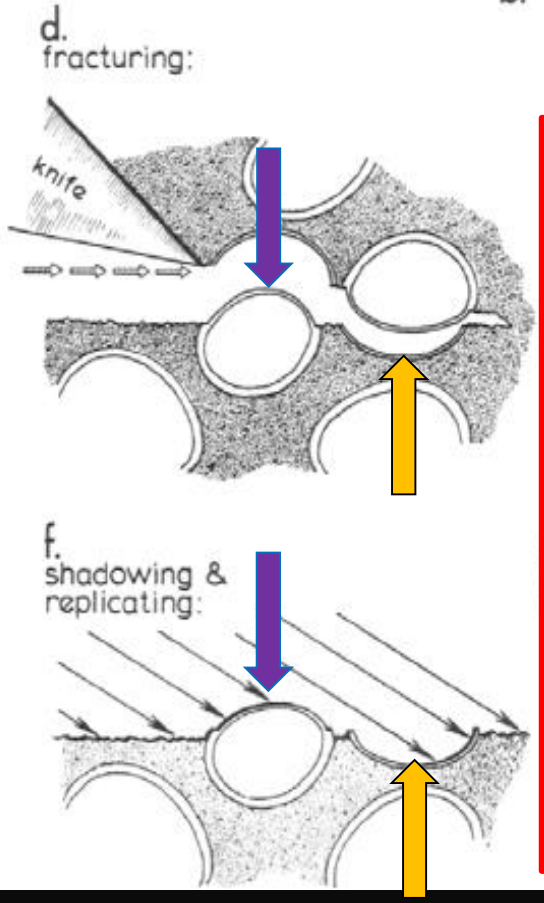


g.
replica viewed in
electron microscope:

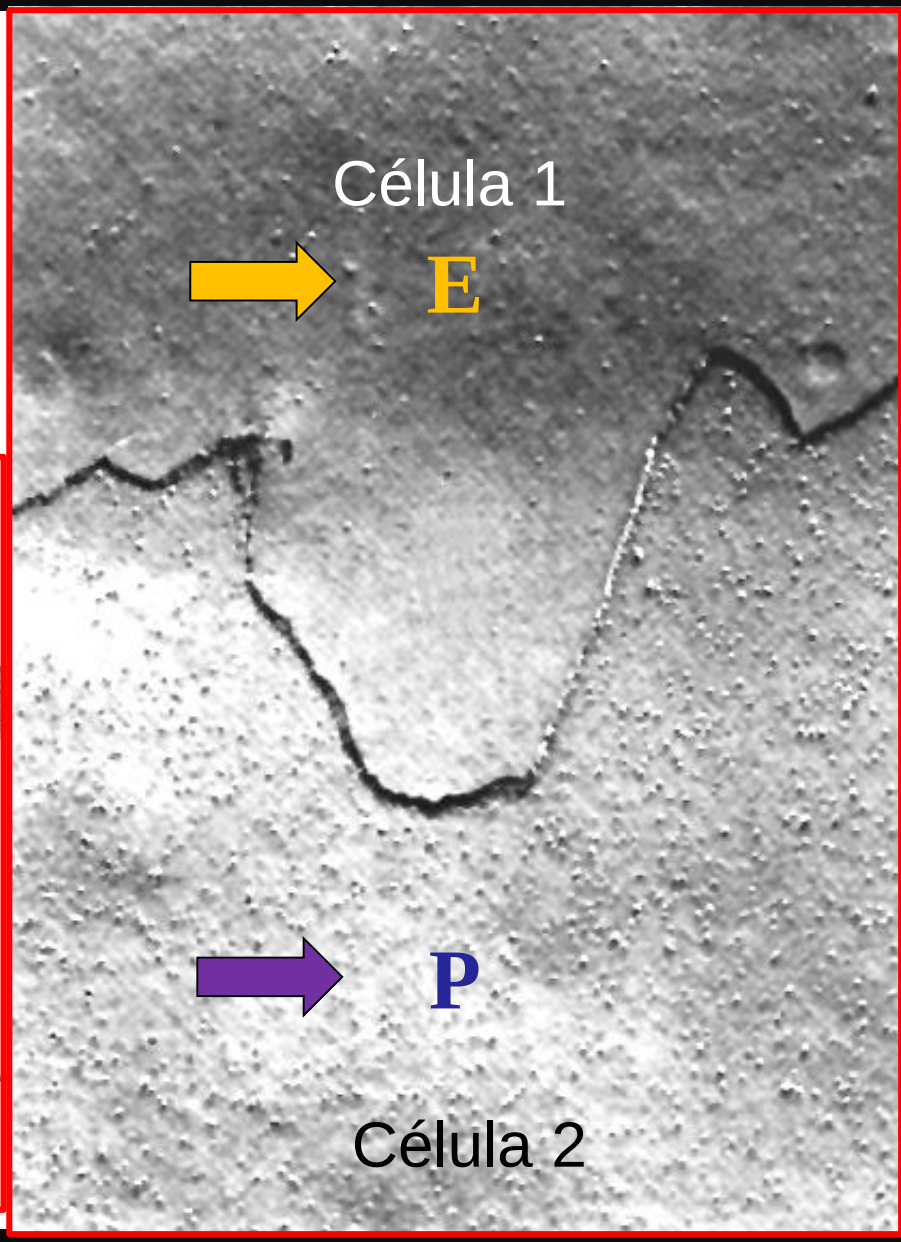

specimen
specimen support
a.

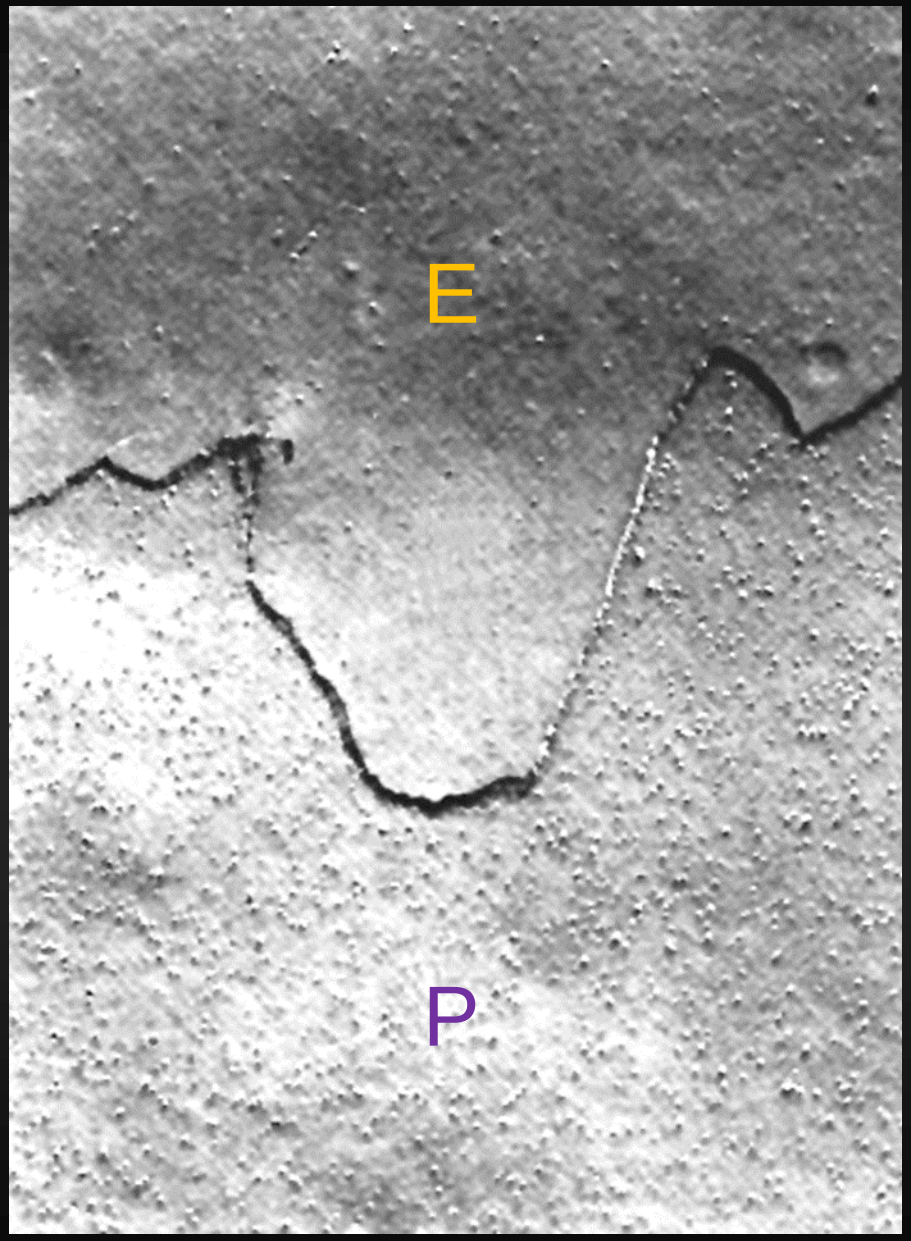

specimen
liquid freon
liquid N_2
b.


bell jar
cold knife
specimen
specimen table
c.


d.
fracturing:
knife
f.
shadowing &
replicating:

P
E


Célula 1
E
P
Célula 2



¿por qué la cara P presenta más partículas que la cara E?

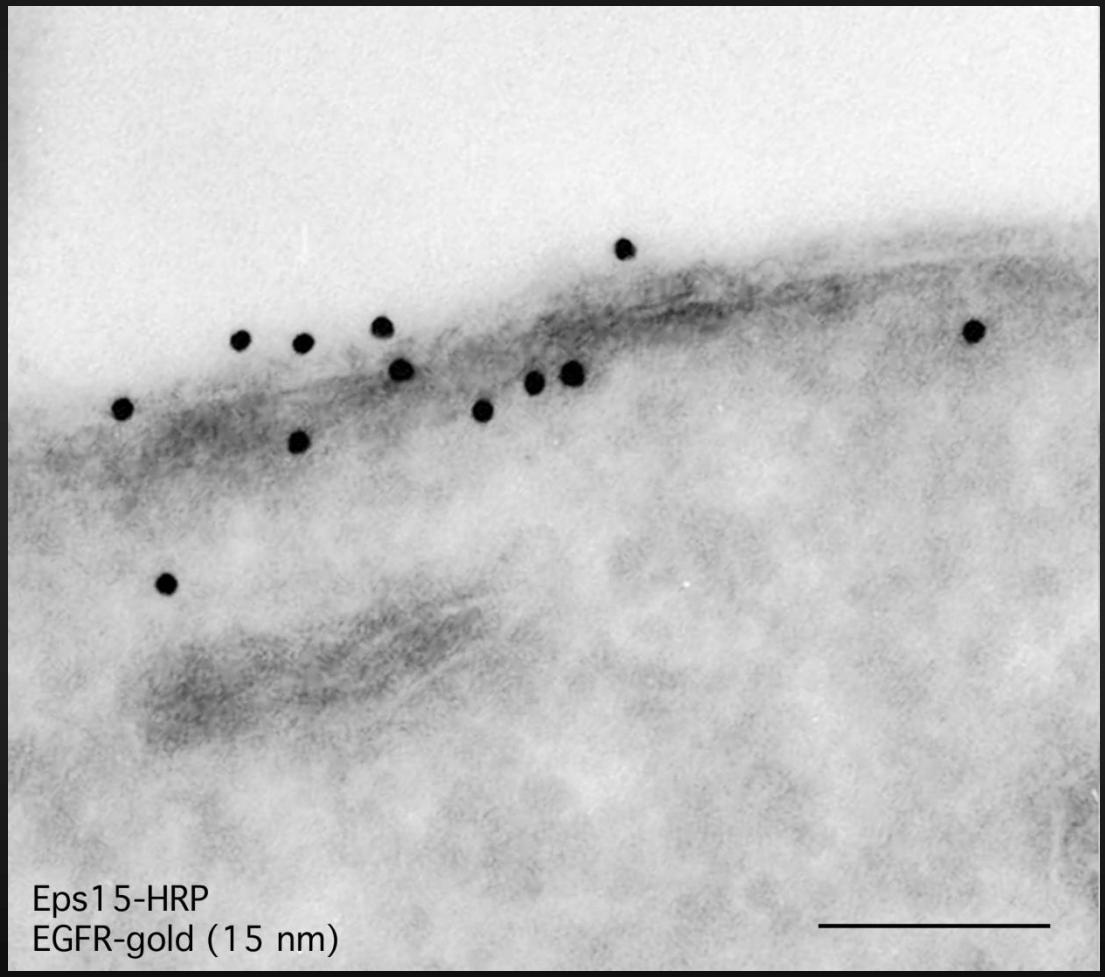
Localización de proteínas específicas a nivel ultraestructural

http://www.ifom-ieo-campus.it/research/tacchetti.php

Anticuerpo primario específico

Anticuerpo secundario + oro coloidal

Microscopía Electrónica de Transmisión



Receptor de EGF (factor de crecimiento epidérmico)

Las proteínas de membrana, ¿son capaces de moverse en el plano de la bicapa lipídica?

J. Cell Sci. **7**, 319–335 (1970)
Printed in Great Britain

THE RAPID INTERMIXING OF CELL SURFACE ANTIGENS AFTER FORMATION OF MOUSE-HUMAN HETEROKARYONS

L. D. FRYE* AND M. EDIDIN†
Department of Biology, The Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland 21218, U.S.A.

+

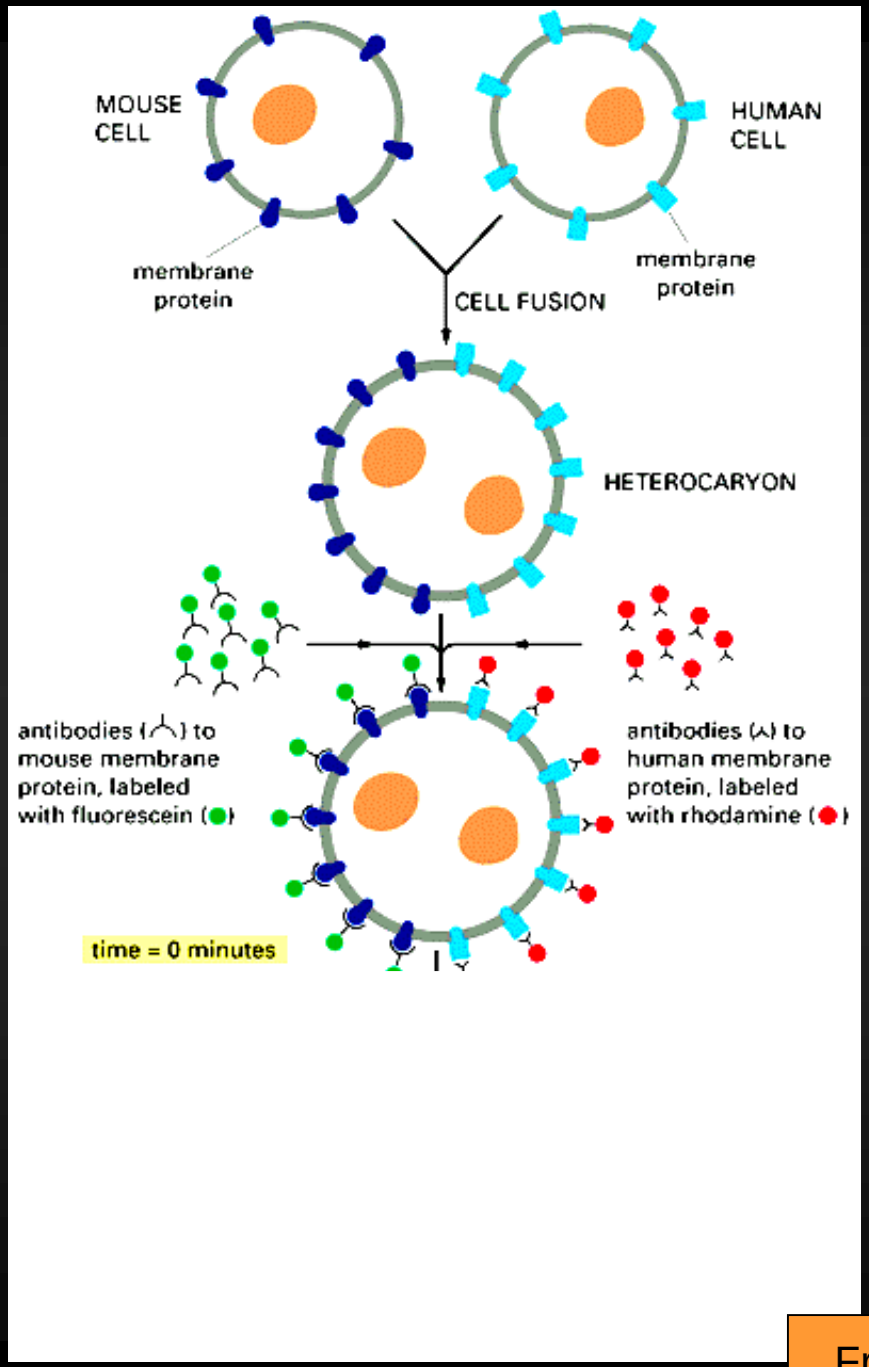
Líneas celuares cIID y VA-2

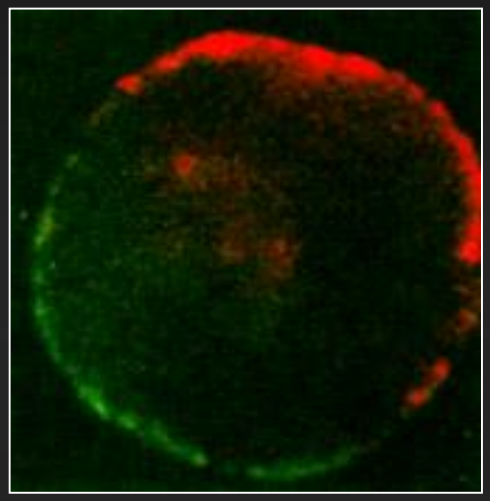
heterocarionte

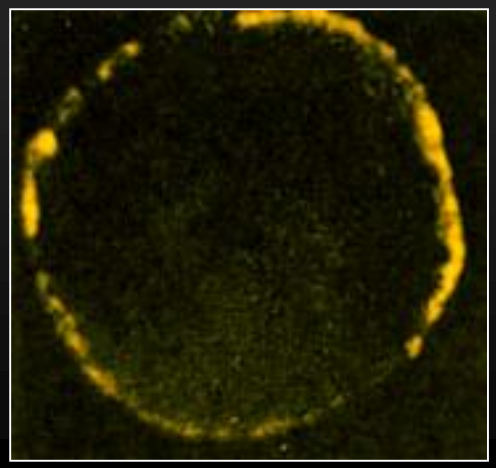
Michael Edidin, PhD

Movilidad de las proteínas de membrana

Respuesta de tipo cualitativo







Frye y Edidin, 1970

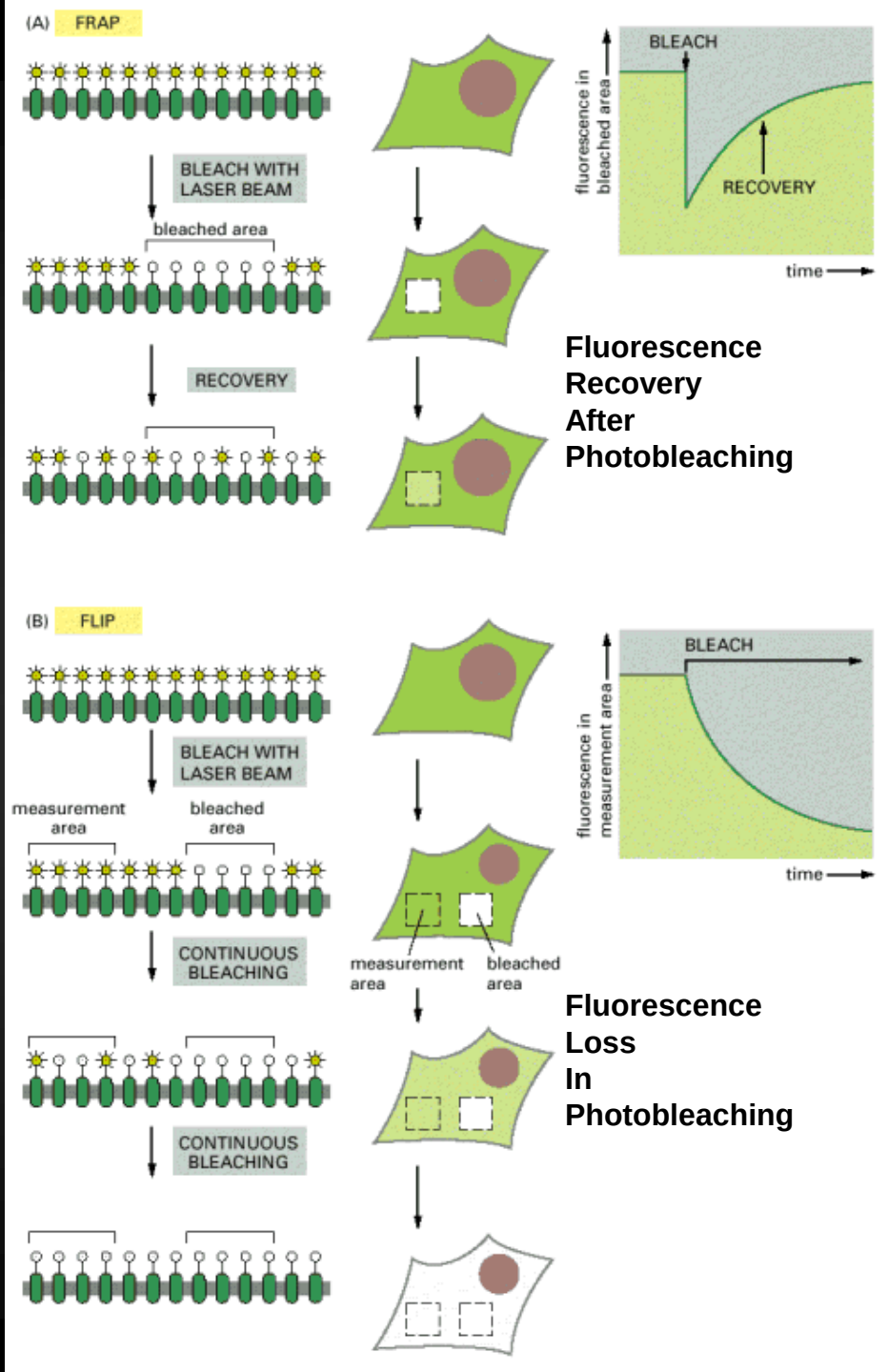
Tasa de difusión lateral de las proteínas de membrana

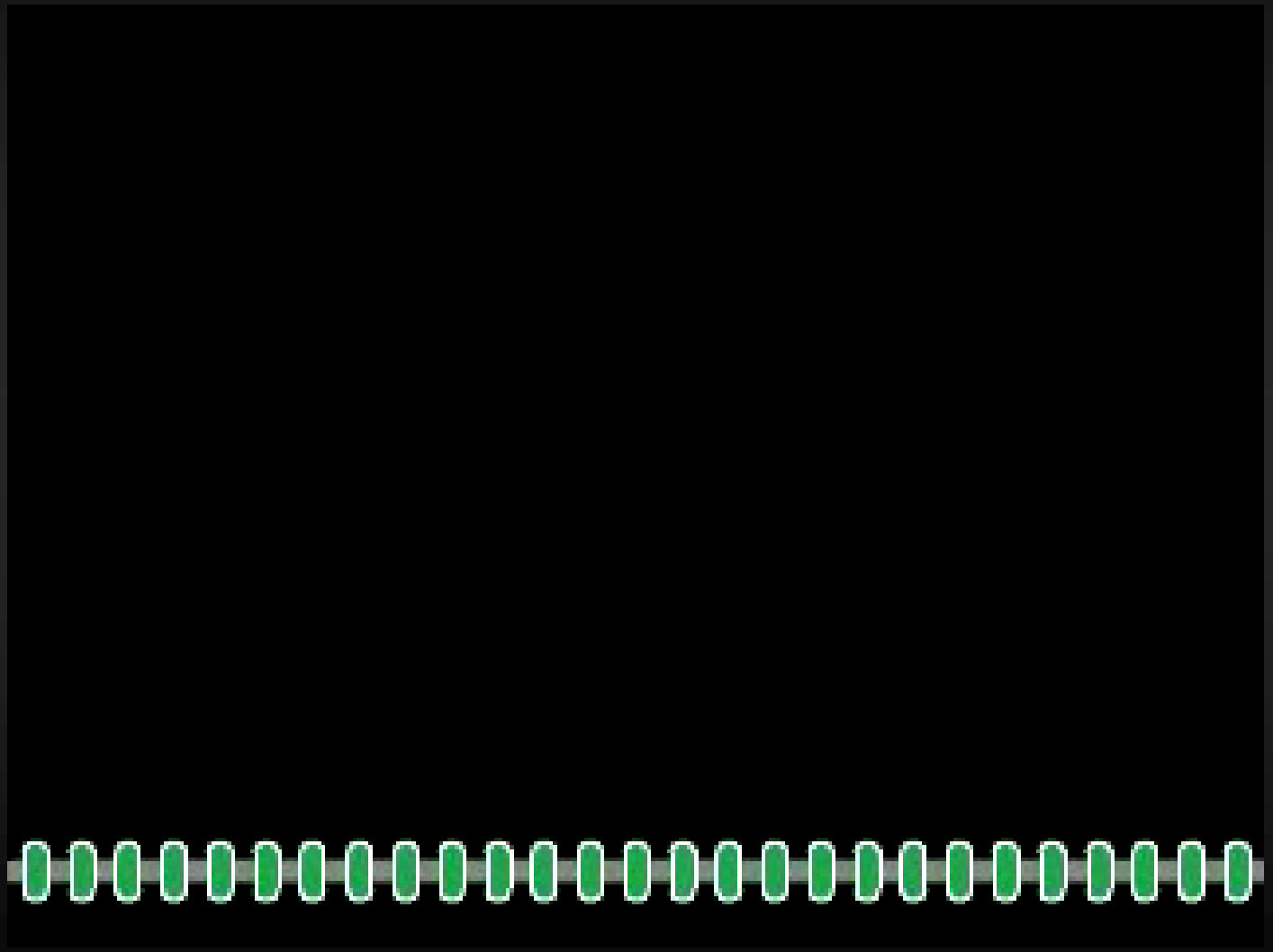
cálculo del coeficiente
de difusión
de la proteína marcada

muy variables

(interacciones proteína – proteína)

Respuesta de tipo cuantitativo





Cálculo de la tasa de difusión lateral por FRAP:

¿será igual al valor *in vivo*
para una proteína X*?*

- Considerar: células aisladas o en su contexto
  alteración potencial por marcado de las proteínas

¿es deseable que todas las proteínas difundan al azar en la bicapa lipídica?

Movilidad de las proteínas de membrana:

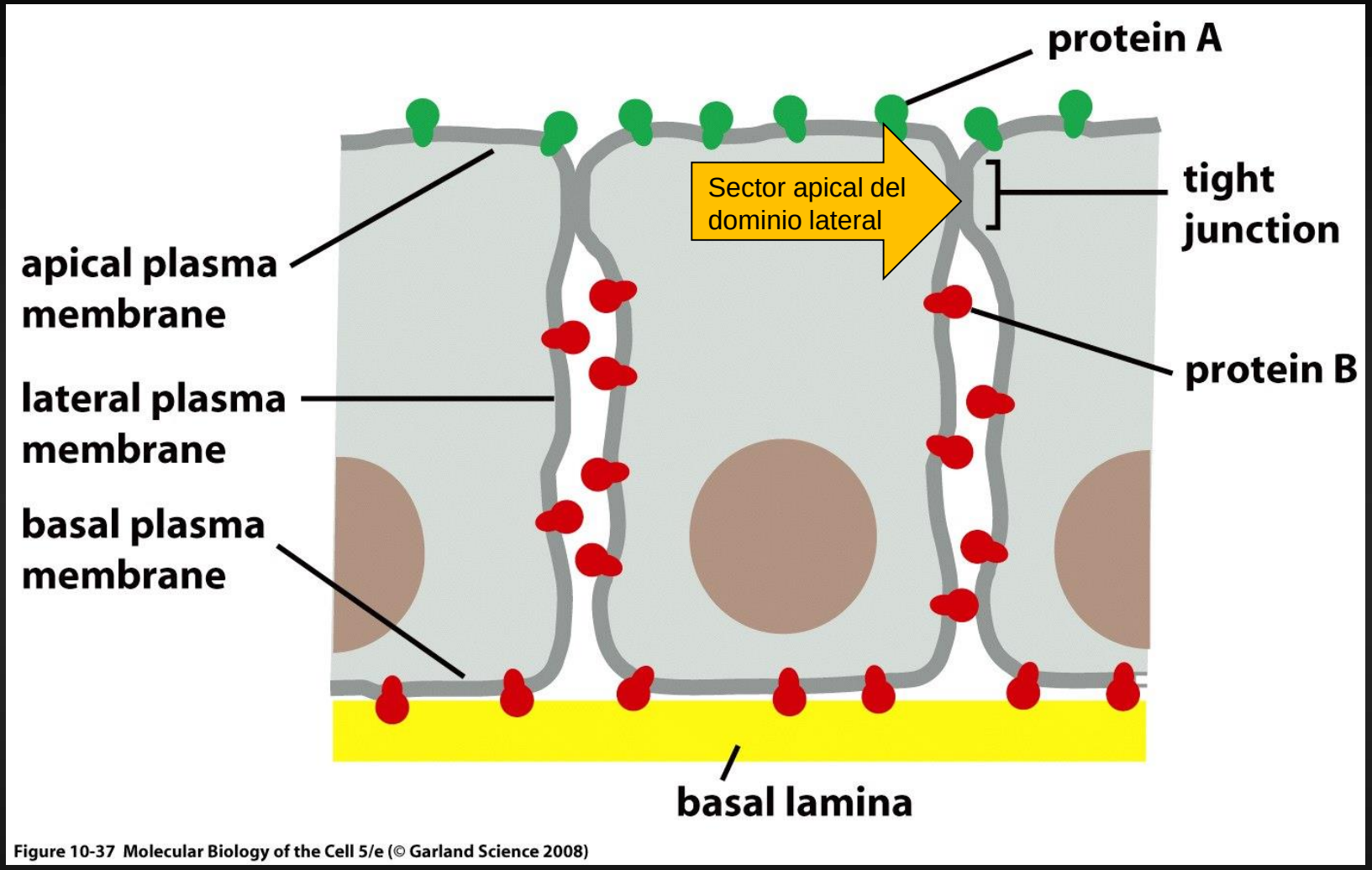
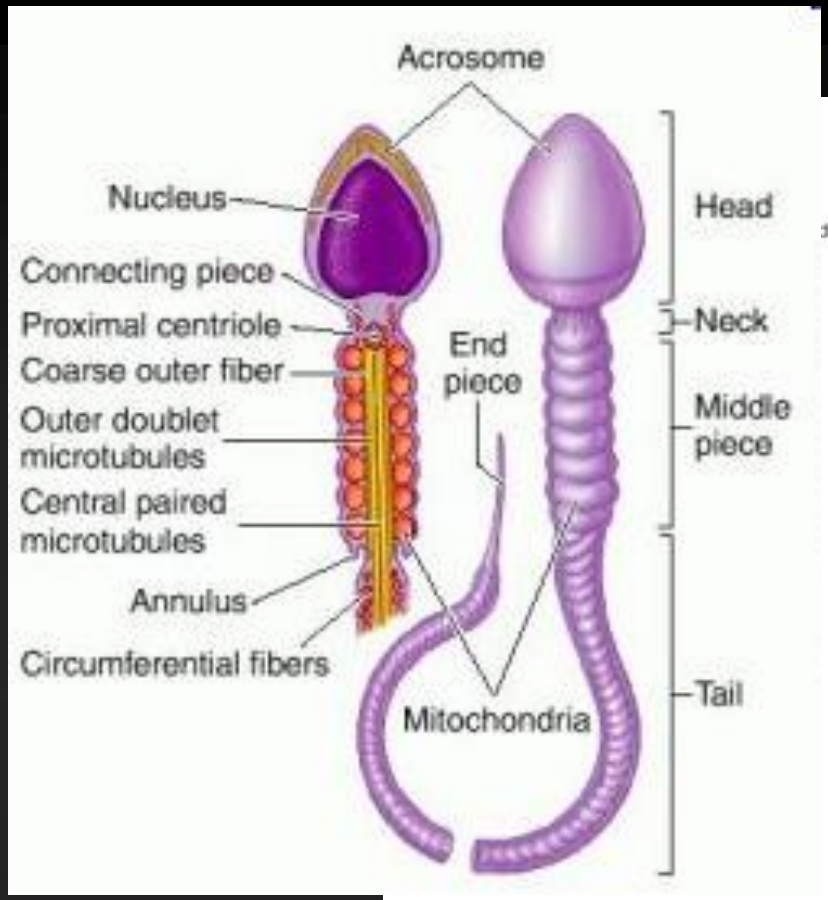


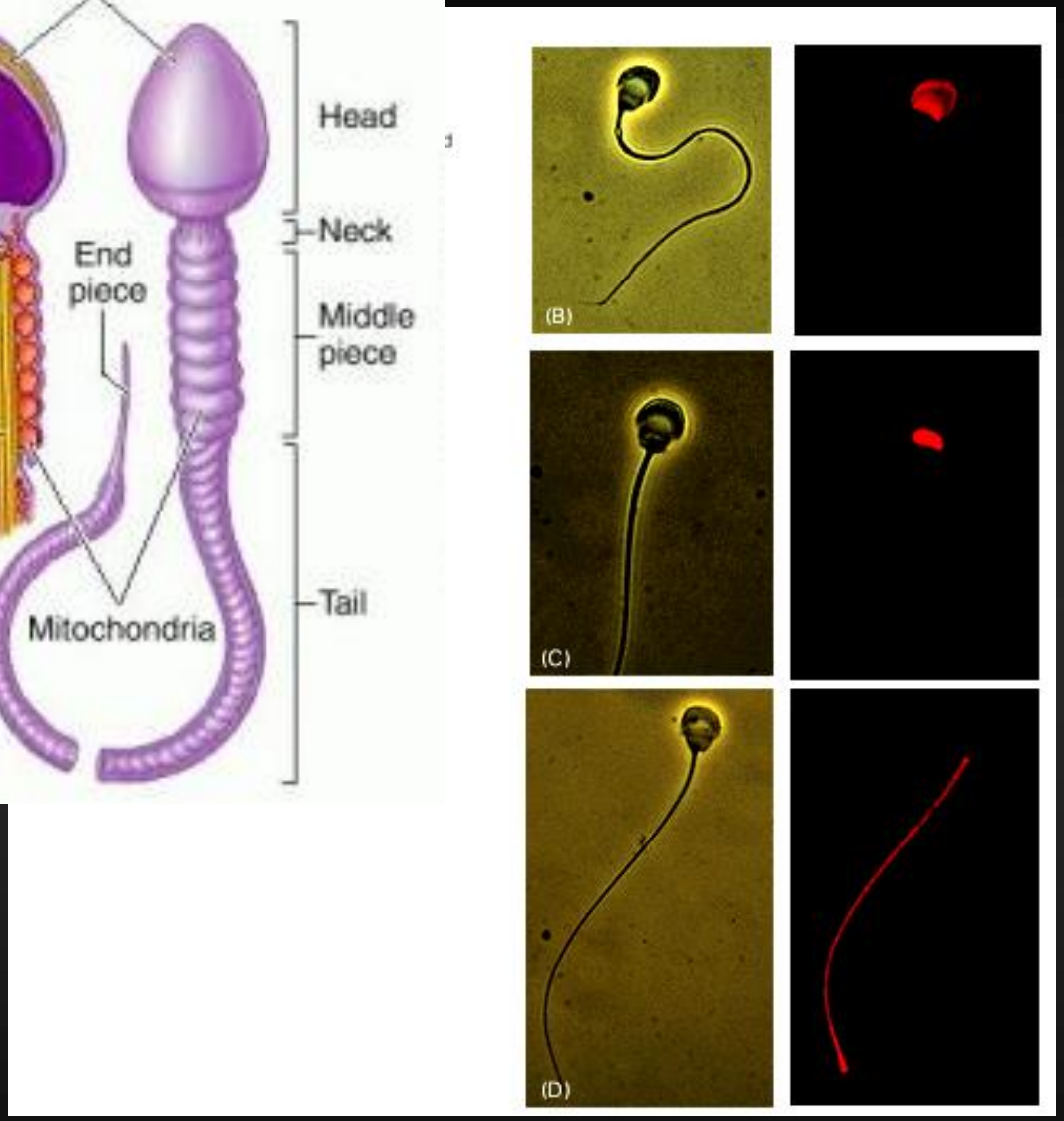
Figure 10-37 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Células epiteliales

- dominios específicos (apical, lateral, basal): distribución proteica asimétrica

  uniones intercelulares de tipo ocluyente





Espermatozoide mamífero

Difusión lateral de lípidos y proteínas confinada a dominios específicos dentro de una membrana plasmática continua

¿Qué mecanismos están involucrados?

Mecanismos de inmovilización de proteínas de membrana

A) Ensamblaje en cristales

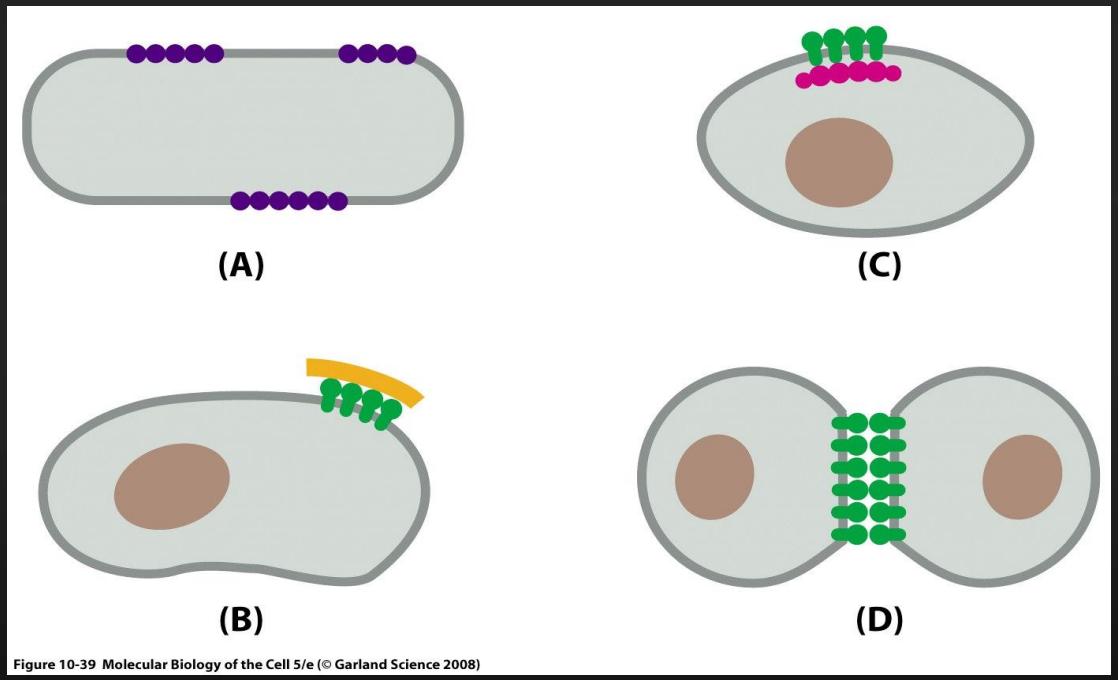


Figure 10-39 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Anclaje a ensamblados macromoléculares

B) externos (matriz extracelular)
C) internos (citoesqueleto)

D) Entre células

Proteínas con dominios hacia el exterior

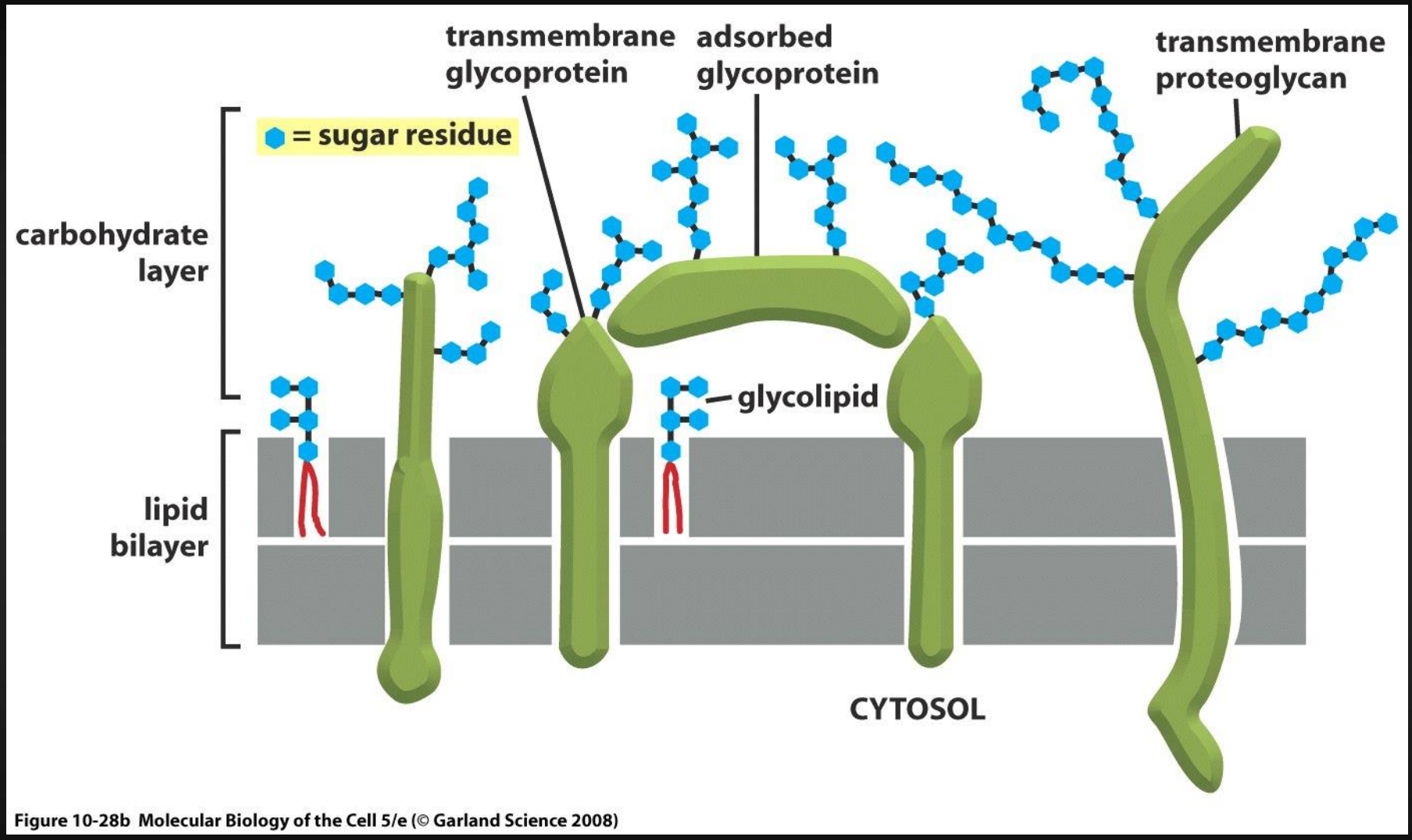


Figure 10-28b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- no se exponen desnudas hacia el exterior de la célula

- carbohidratos asociados:

proteínas (glucoproteínas)
lípidos (glucolípidos)
proteoglucanos

Cubierta celular o glucocáliz

Oligosacáridos
Polisacáridos - proteoglucanos

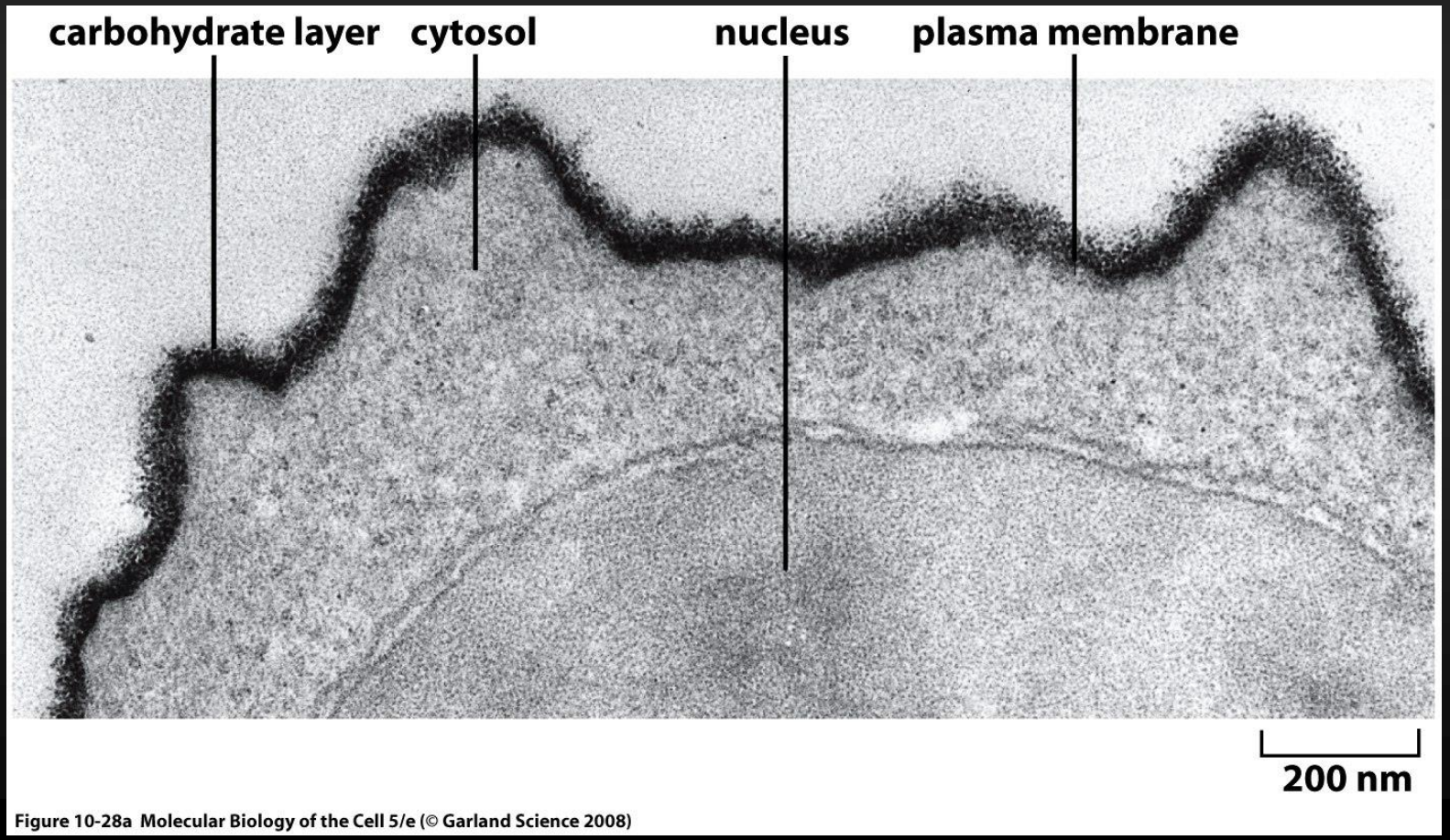
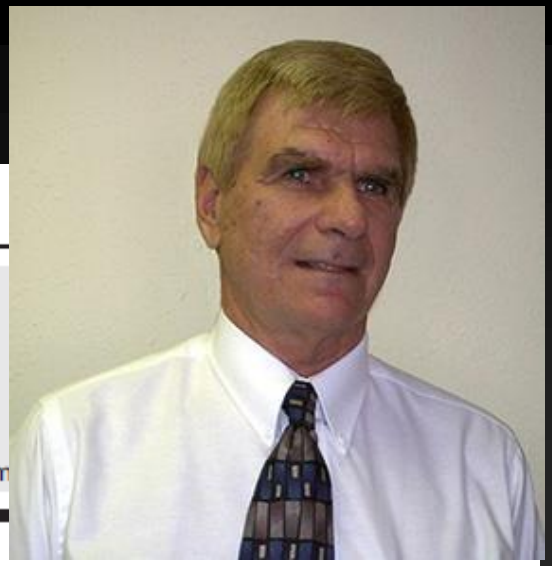


Figure 10-28a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Funciones de la cubierta

- protección (daño químico y mecánico)
- impedir interacciones proteína - proteína
- procesos de reconocimiento celular
  (diversidad de oligosacáridos)

Modelo integrador



Biochimica et Biophysica Acta xxx (2013) xxx–xxx

Contents lists available at ScienceDirect

Biochimica et Biophysica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbamem

Review

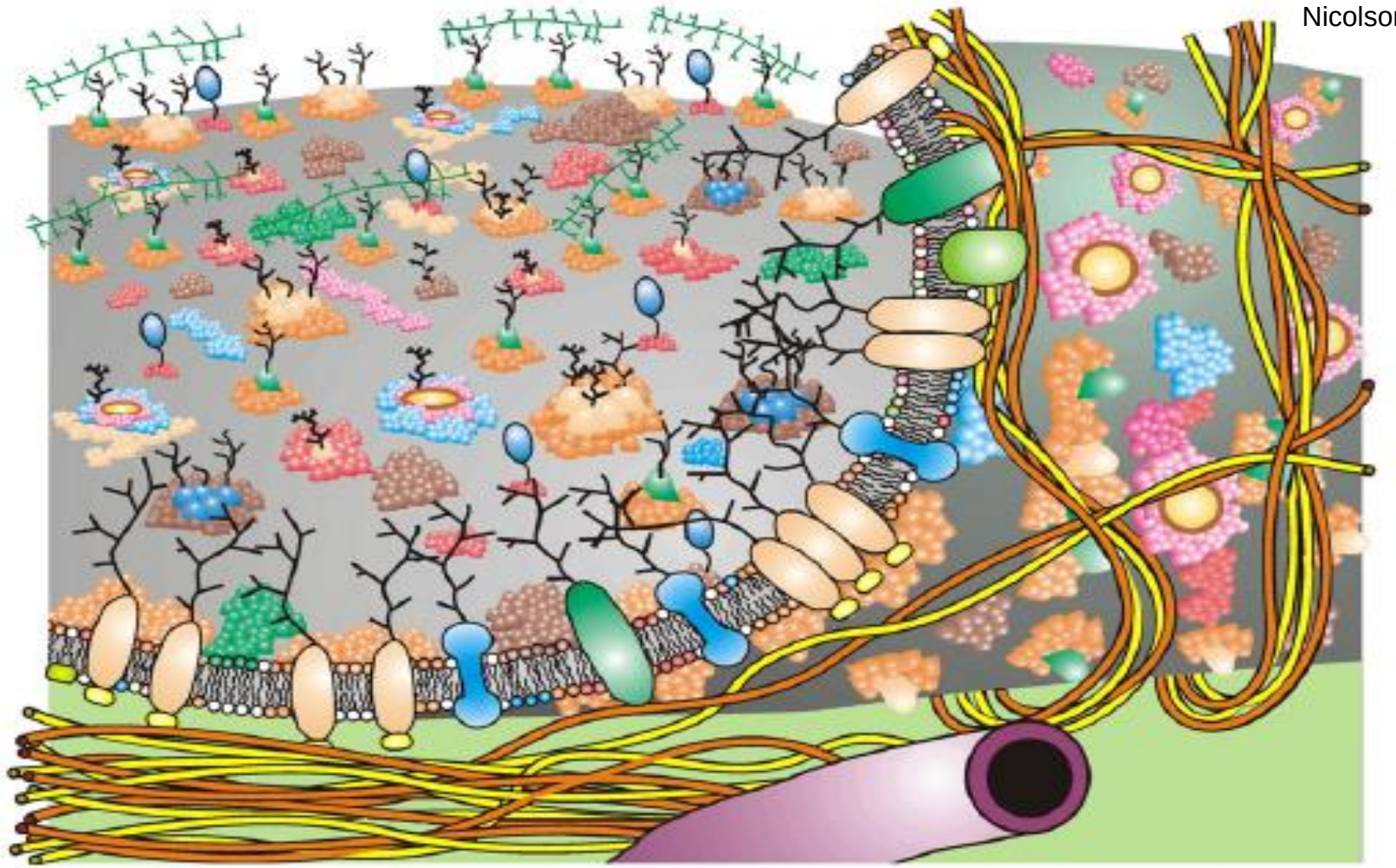
The Fluid—Mosaic Model of Membrane Structure: Still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years☆,☆☆

Garth L. Nicolson *

Department of Molecular Pathology, The Institute for Molecular Medicine, Huntington Beach, CA 92649, USA

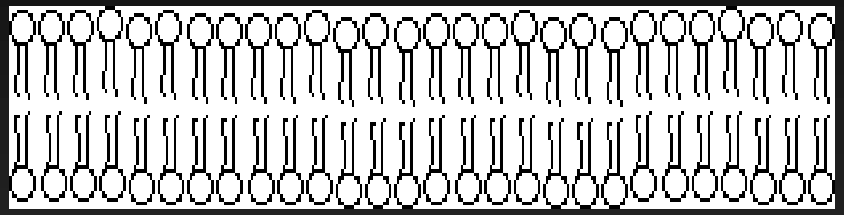
Evolución del modelo propuesto por él mismo:

1) Existencia de dominios de membrana reversible (balsas lipídicas)
2) Asociación con citoesqueleto

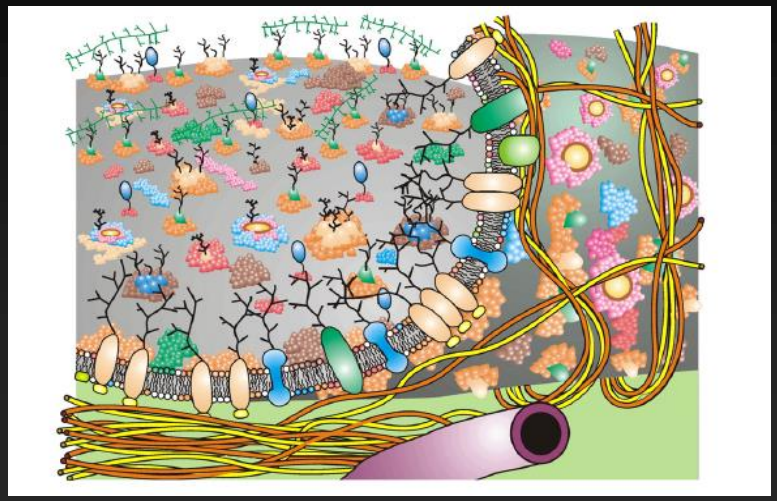


3) No autónomas: integradas a su entorno (barrera y comunicación)
4) Arquitectura dinámica: respuesta rápida a claves internas y externas
5) Moléculas: organización cooperativa, no al azar, dominios reversibles

Evolución modelo de organización MP



Gorter y Grendel, 1925



Nicolson, 2013

Trends in
Cell Biology

CellPress
OPEN ACCESS

Review

Dynamic Plasma Membrane Organization: A Complex Symphony

Sjoerd van Deventer,[1,2] Abbey B. Arp,[1,2] and Annemiek B. van Spriel,[1,*]

2020

https://www.cellsignal.com/pathways/cellular-landscapes/cellular-landscape-rtk