FACULTAD DE CIENCIAS
UDELAR | fcien.edu.uy

Curso
Biología Celular
2020

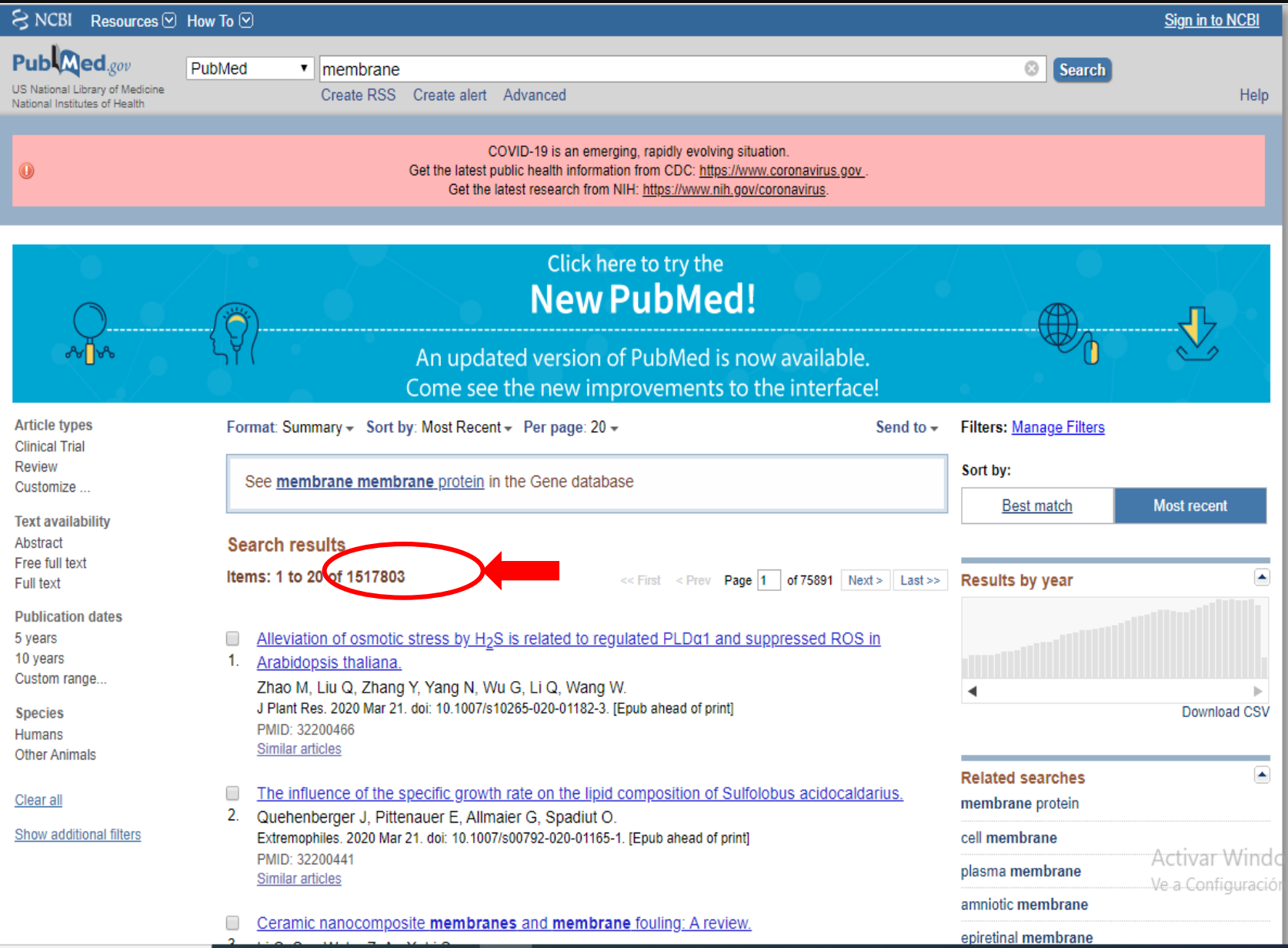
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

# *Membrana plasmática*

## 1. estructura
## 2. función

María José Arezo

# Los teóricos: ¿qué esperar de esta instancia?




2019
1.465.781

# 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

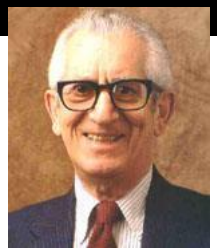
Preguntas de examen:
basadas en información del libro recomendado

# 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



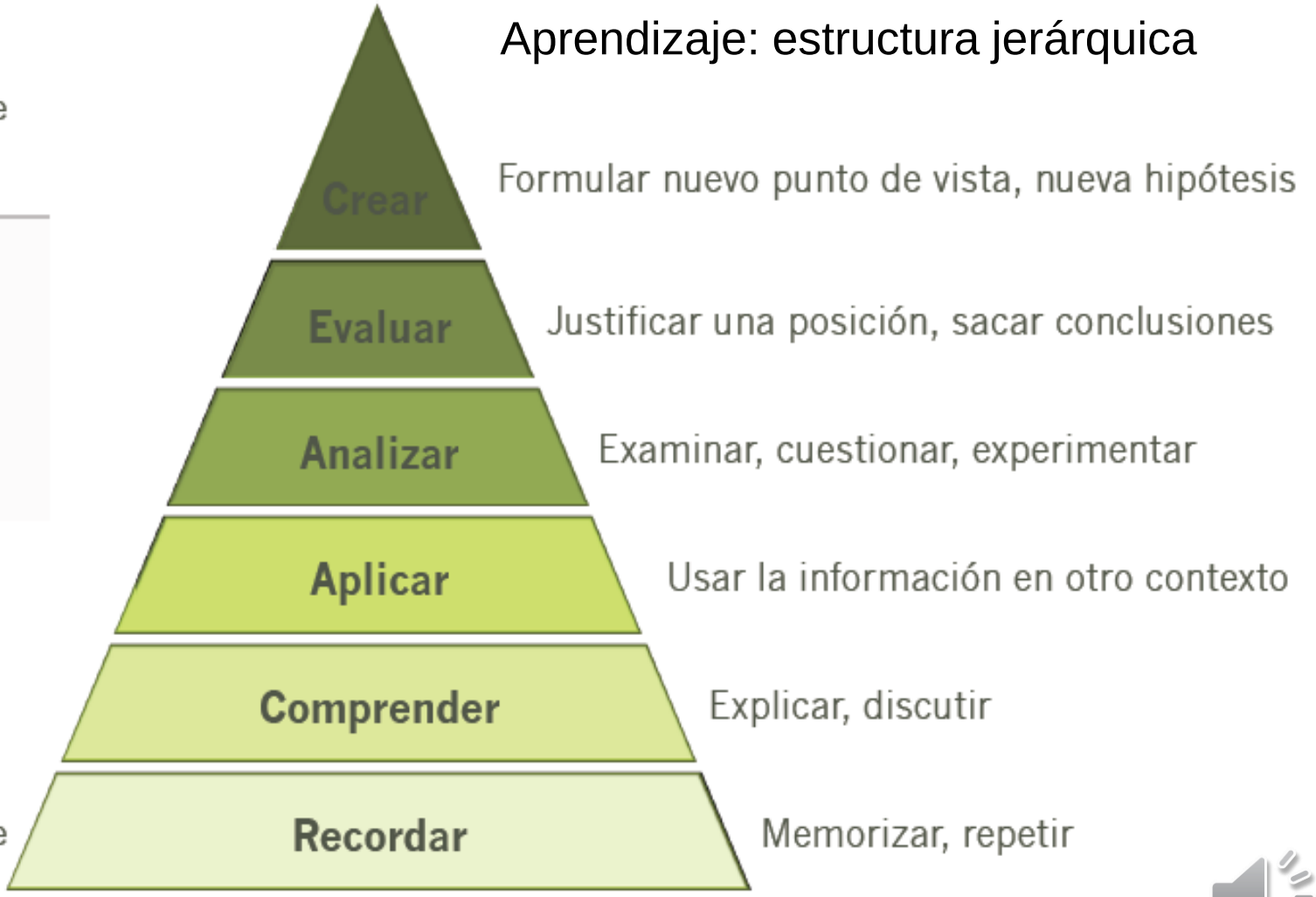
Dr. Benjamín Bloom
1913 – 1999

# Taxonomía de Bloom

## Clasificación de objetivos de la enseñanza y el aprendizaje

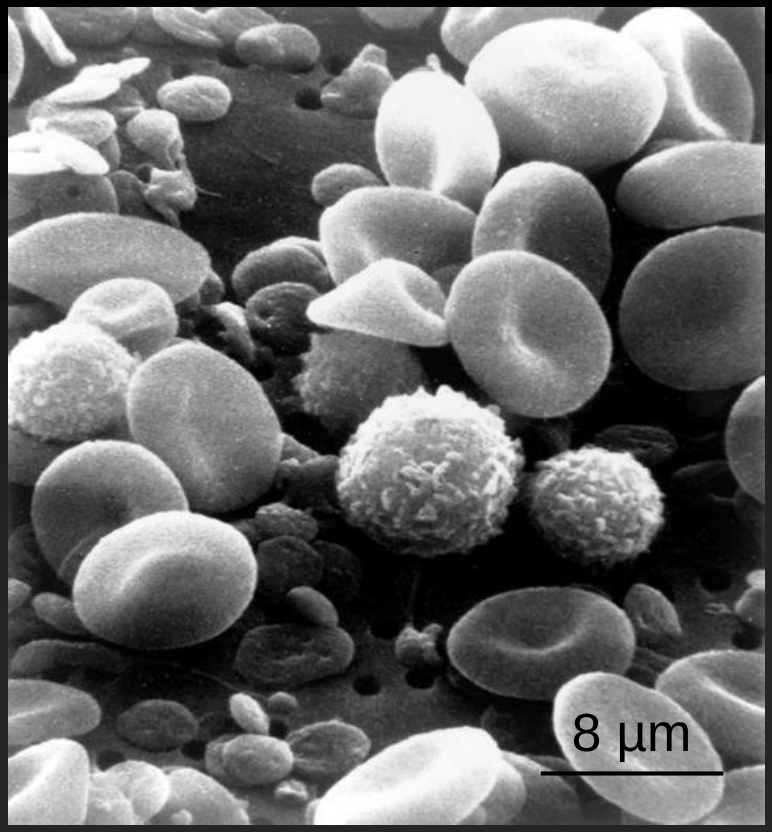
Aprendizaje: estructura jerárquica

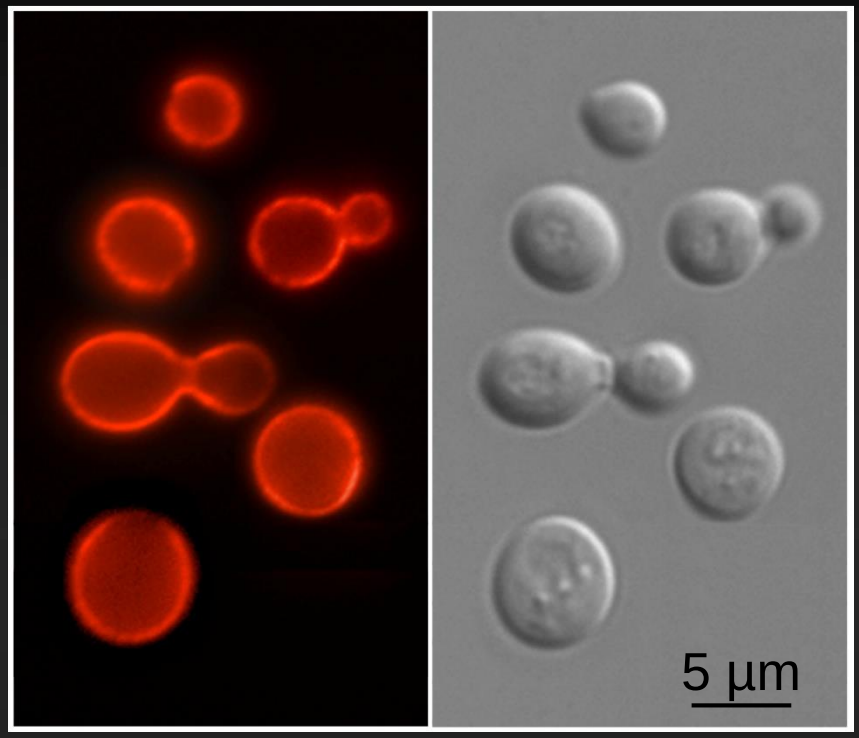
Pensamiento de Orden Superior




Pensamiento de Orden Inferior

(tomado de Taller Educación Científica, febrero de 2014)




- rodea a las células
- primer paso evolutivo en la construcción de la vida
- diferencias citoplasma / medio extracelular
- 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].

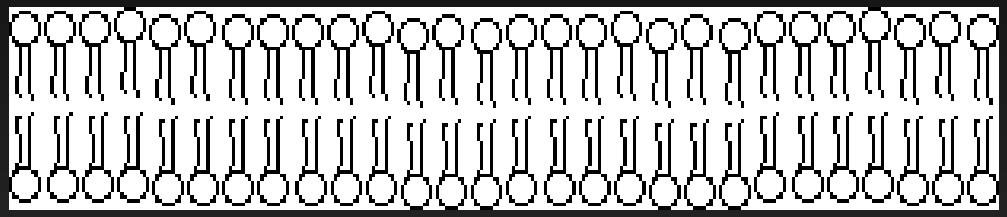
**1990s** — The fact that membrane lipid and protein domains have various cell functions begins to be appreciated[30,36].

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

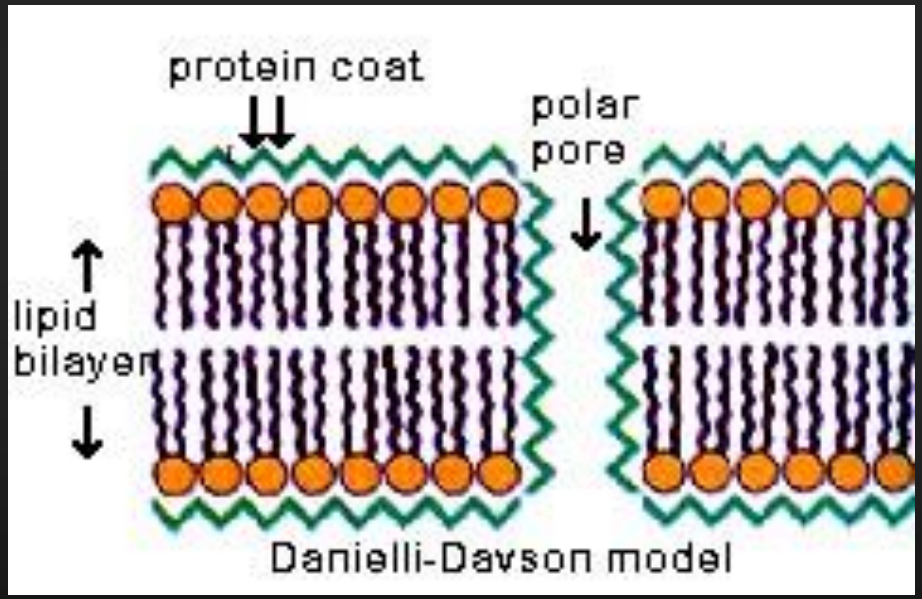
*Michael Edidin is at the Department of Biology, Johns Hopkins University, 3400 North Charles Street, Baltimore, Maryland 21218, USA.*

Edidin, 2003. Nature

# Modelos estructurales de las membranas biológicas

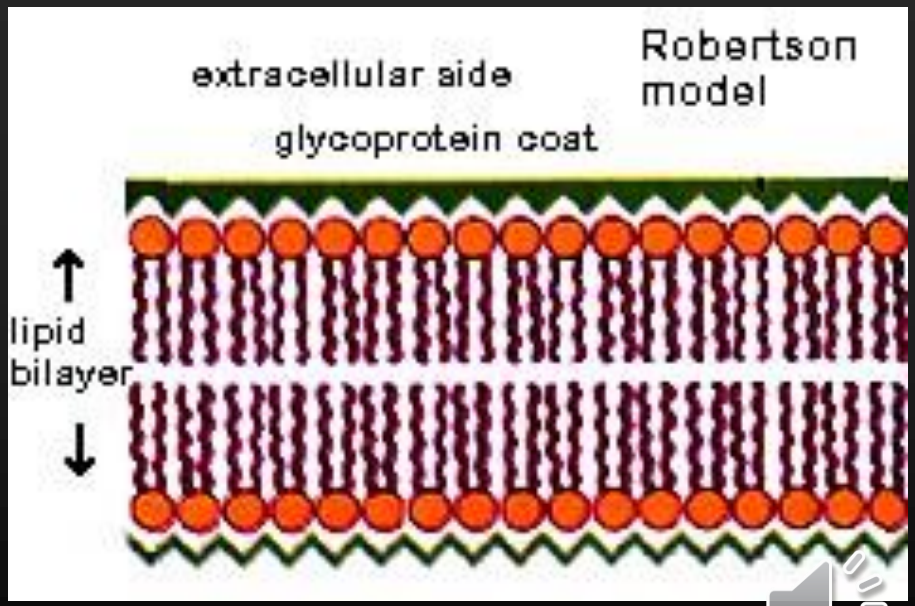


**1925**
**Gorter y Grendel**




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].

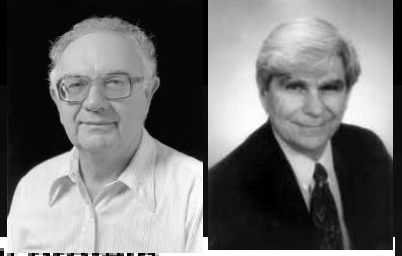
**1980s** — The importance of membrane trafficking to the steady-state plasma-membrane structure begins to be appreciated[32–34,39].

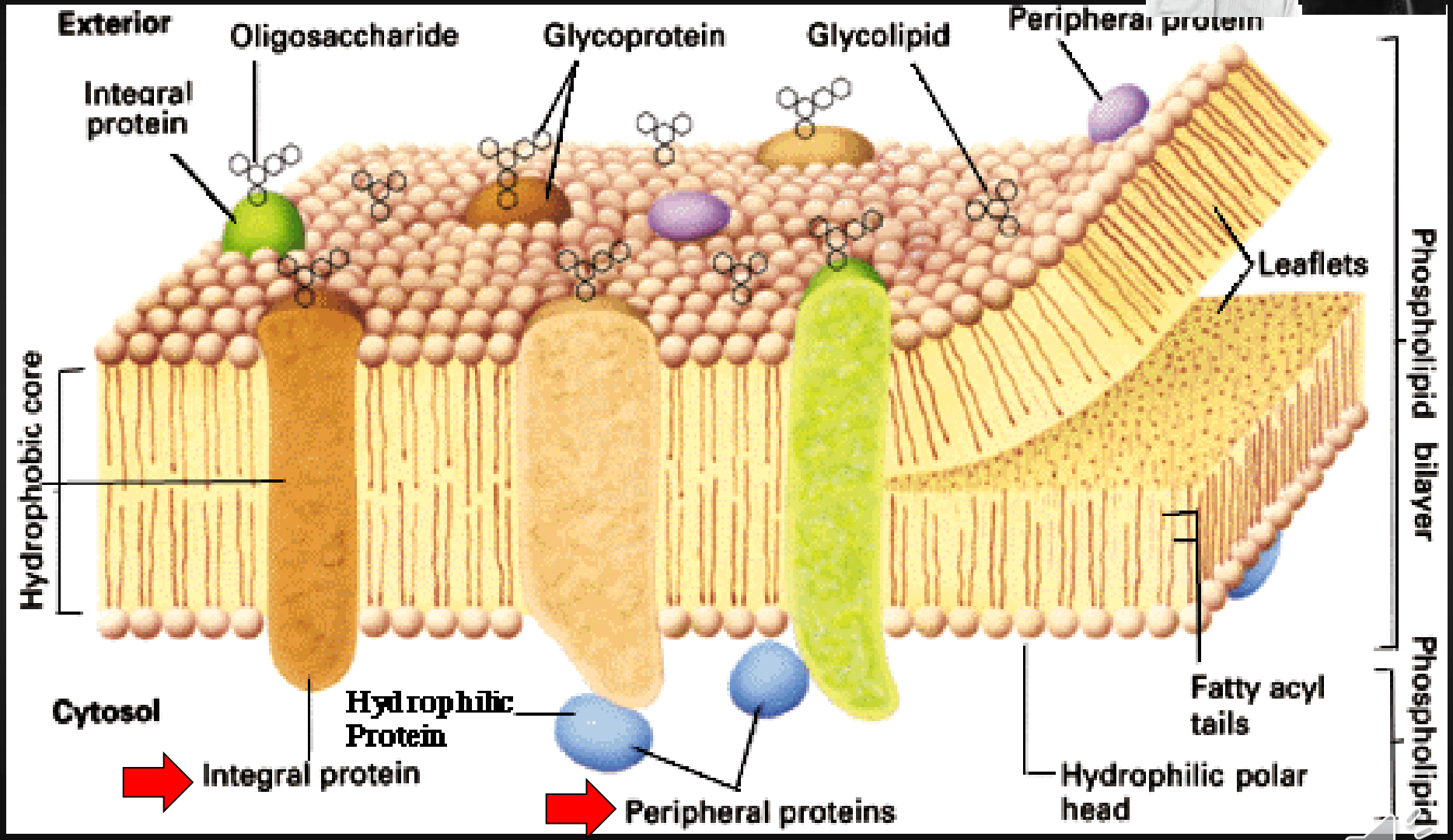
**1990s** — The fact that membrane lipid and protein domains have various cell functions begins to be appreciated[30,36].

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

Edidin, 2003. Nature

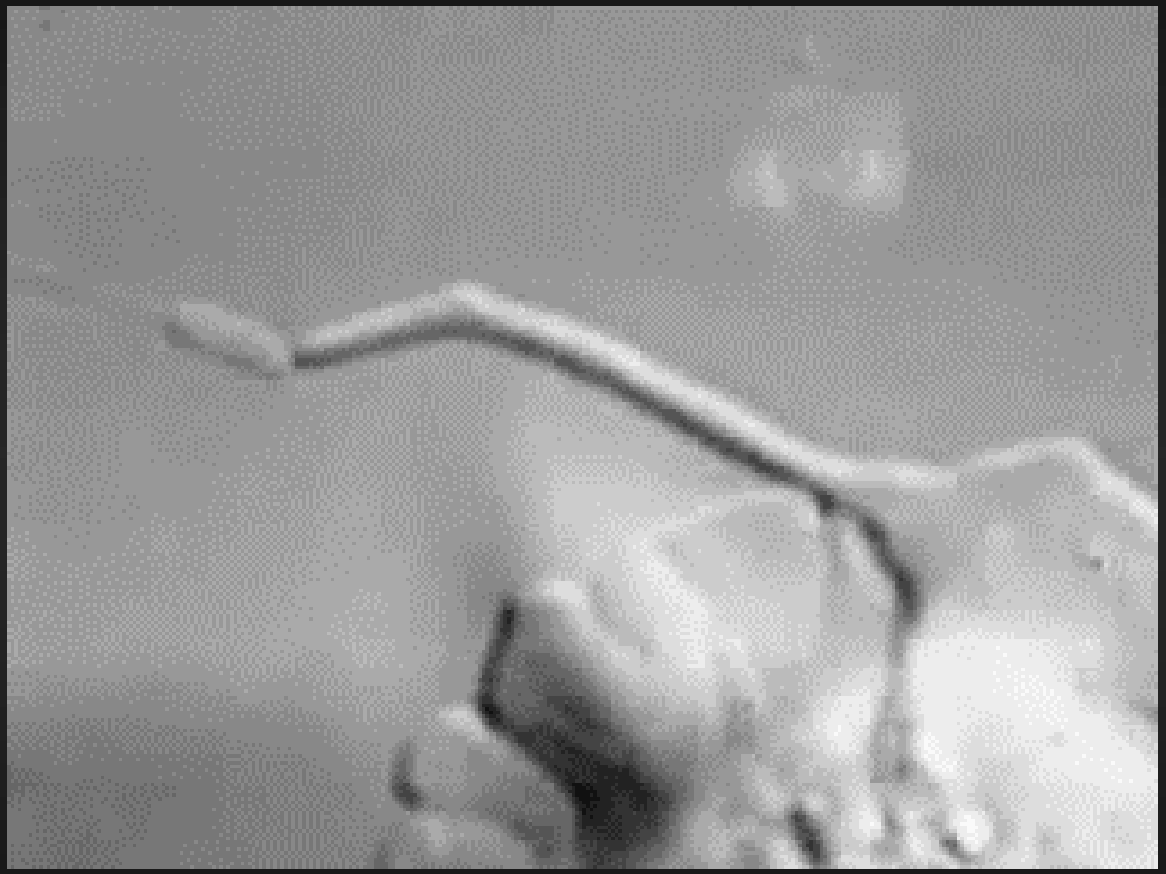
# **“Mosaico fluído”**, Singer y Nicolson, 1972






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

Cuidado con el volumen del video, puede estar alto



## 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].

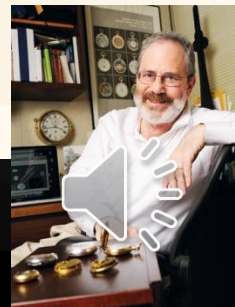
**1973** — After considerable debate[10,11], a consensus is reached that cell-membrane lipids are organized as bilayers as proposed in REF. 19.

**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.



Edidin, 2003. Nature

# Bicapa lipídica

- **Lípidos**

  - aprox. 50%  de la masa  de membrana celular

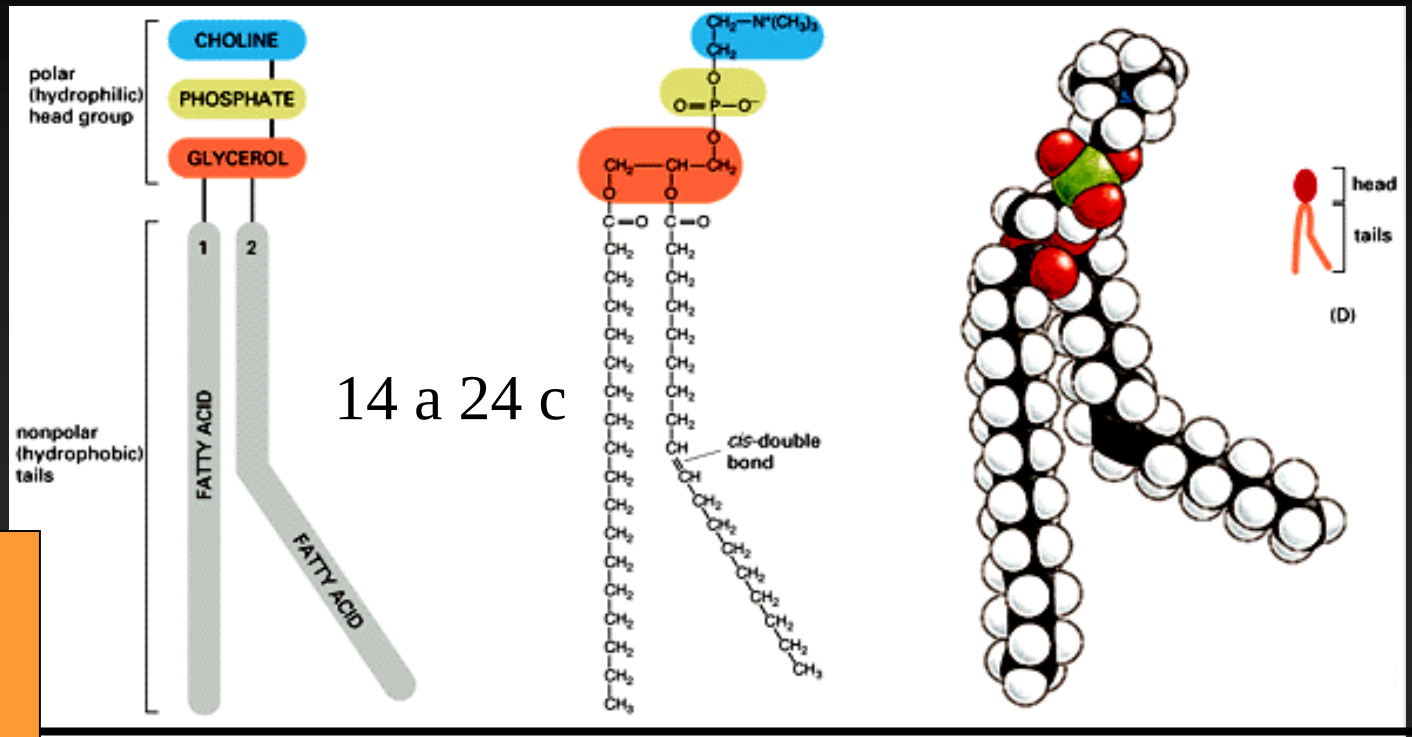
  - moléculas **anfipáticas**

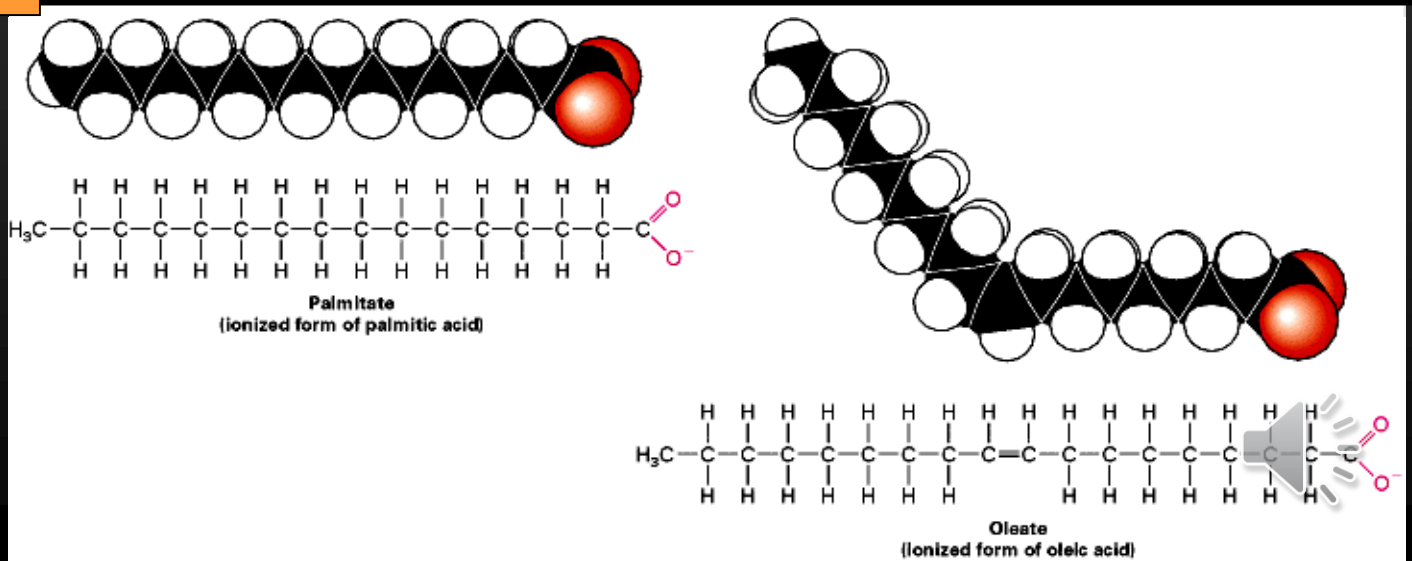
cabeza:  hidrofílica o polar

cola:  hidrofóbica o no polar

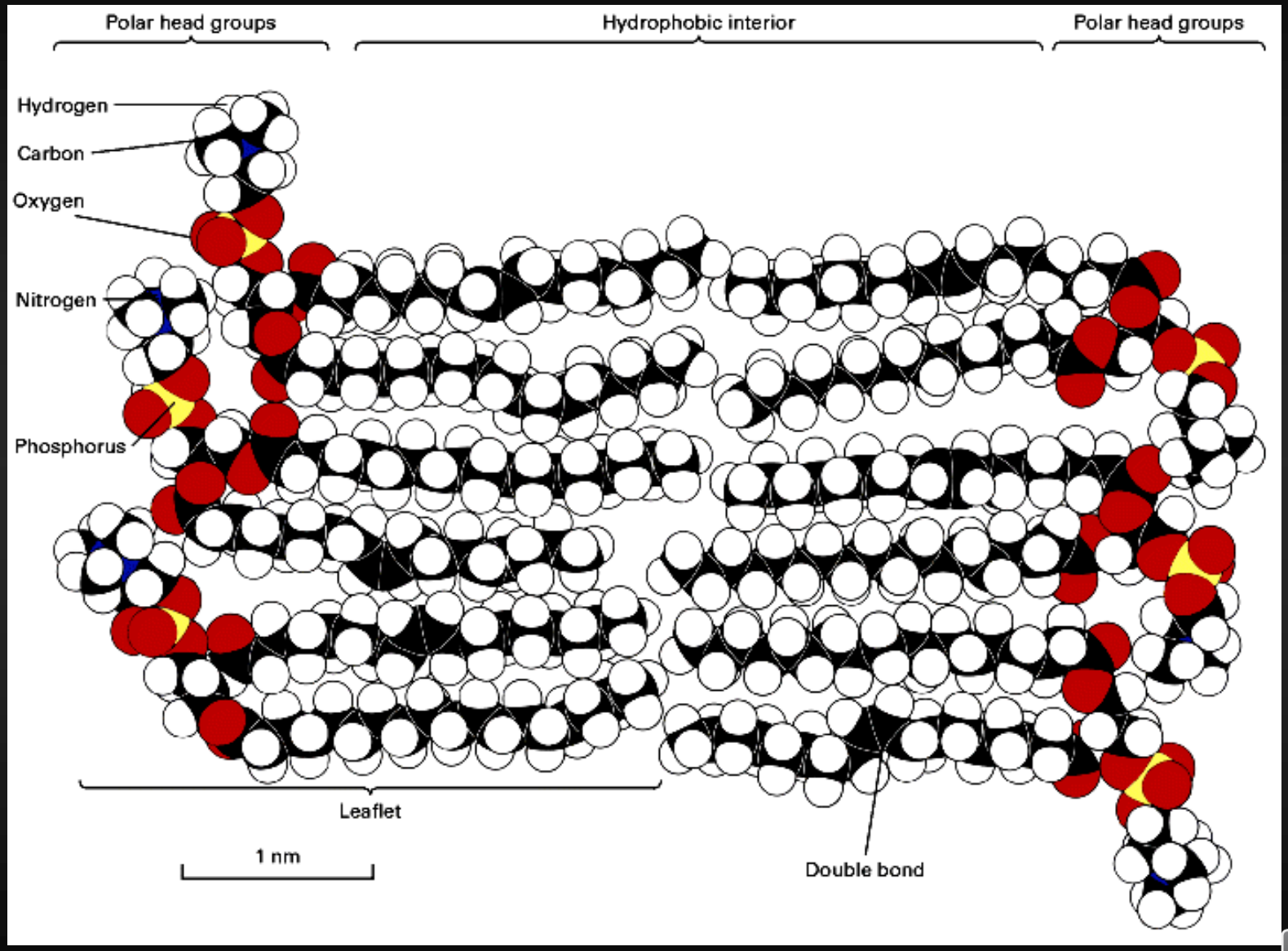
# Lípidos de membrana: estructura básica

**fosfolípidos**



# La bicapa lipídica: modelo tridimensional




Disposición energéticamente más favorable

# Naturaleza anfipática

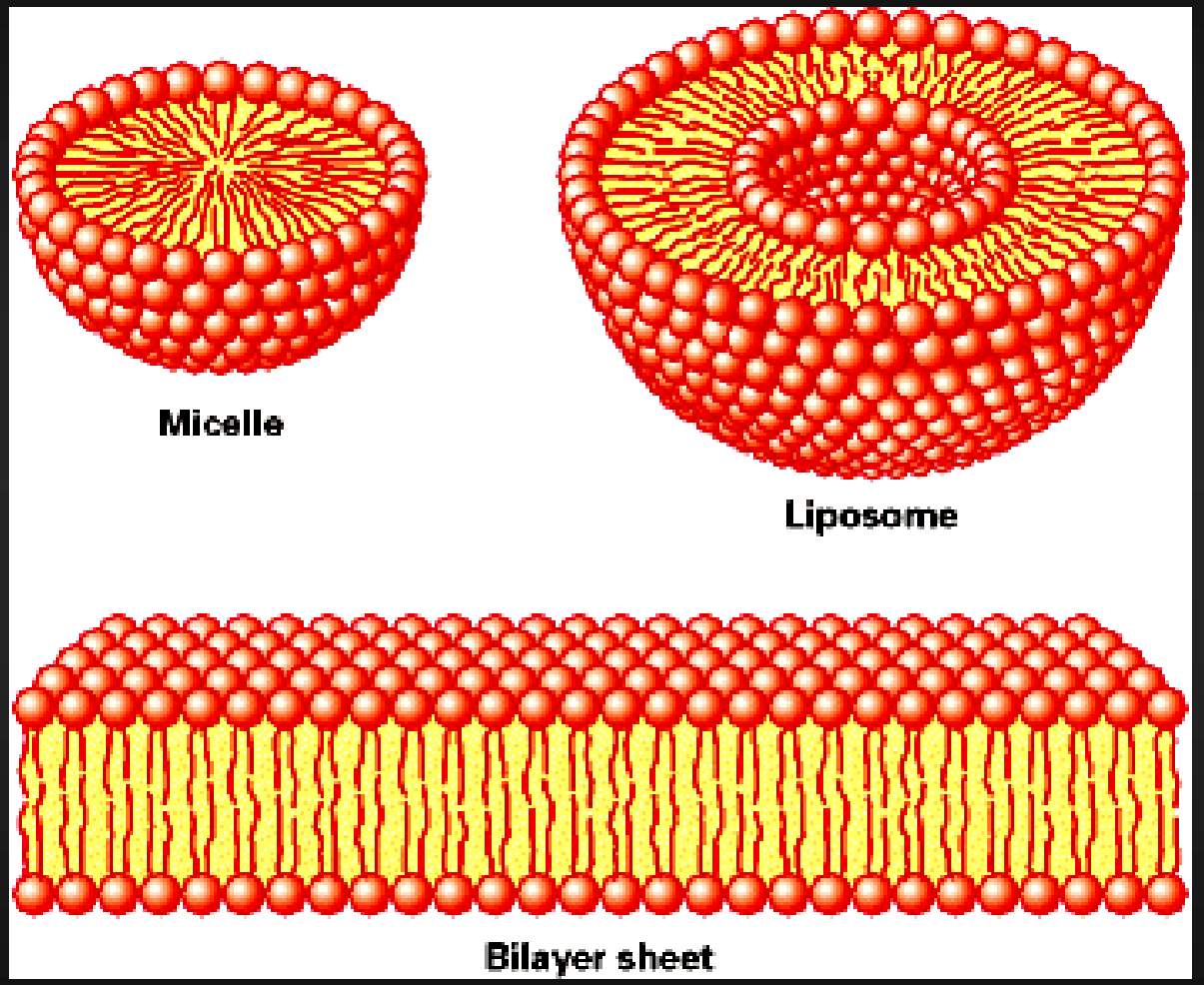
agregación espontánea
(medio acuoso)

enmascaran colas y exponen
cabezas

Formación y estabilidad de membranas:
base termodinámica

# Disposición de las moléculas anfipáticas en una solución acuosa

Micelas




liposomas

bicapas

comportamiento espontáneo: sella compartimentos

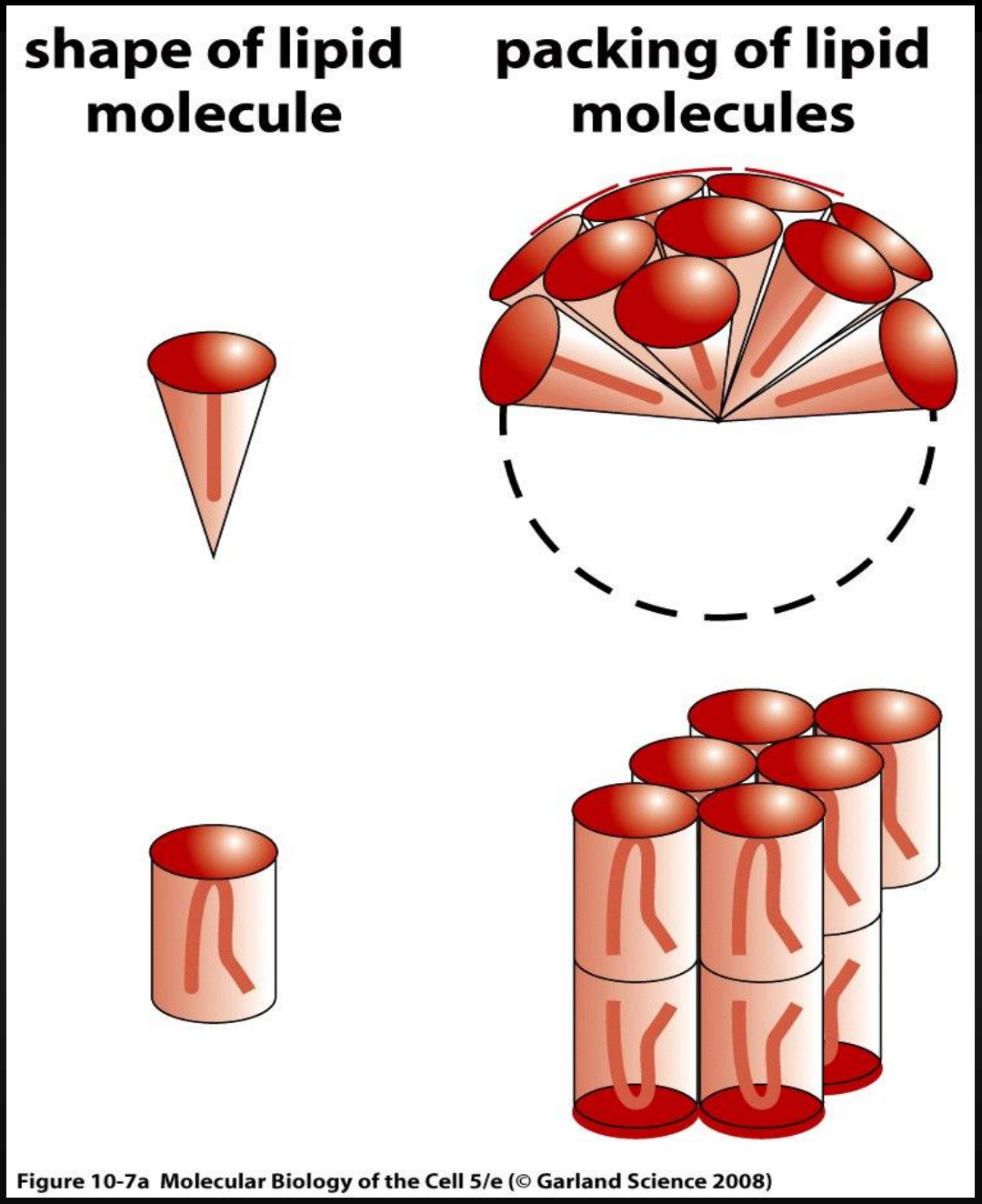


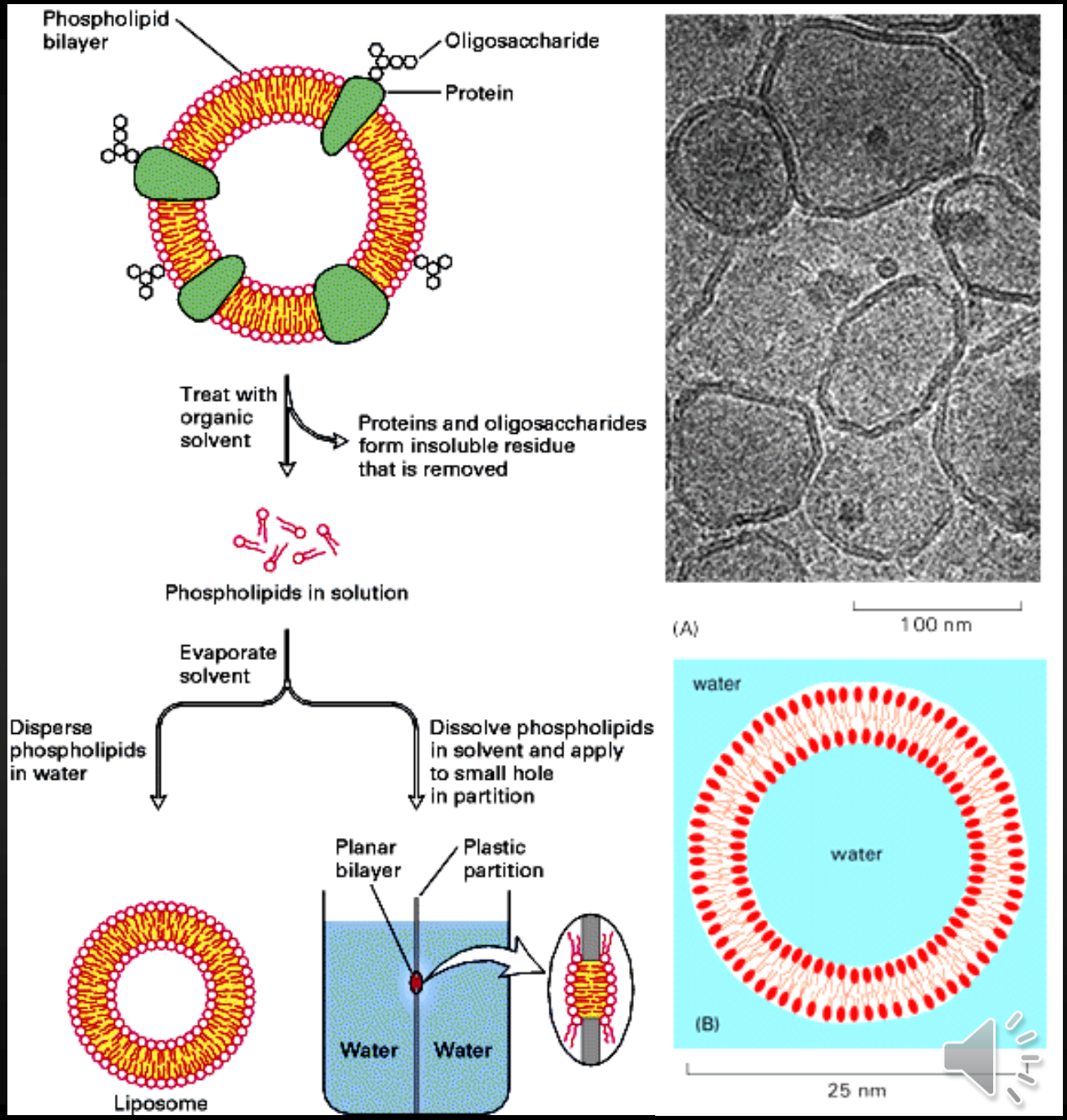

Figure 10-7a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Membranas artificiales

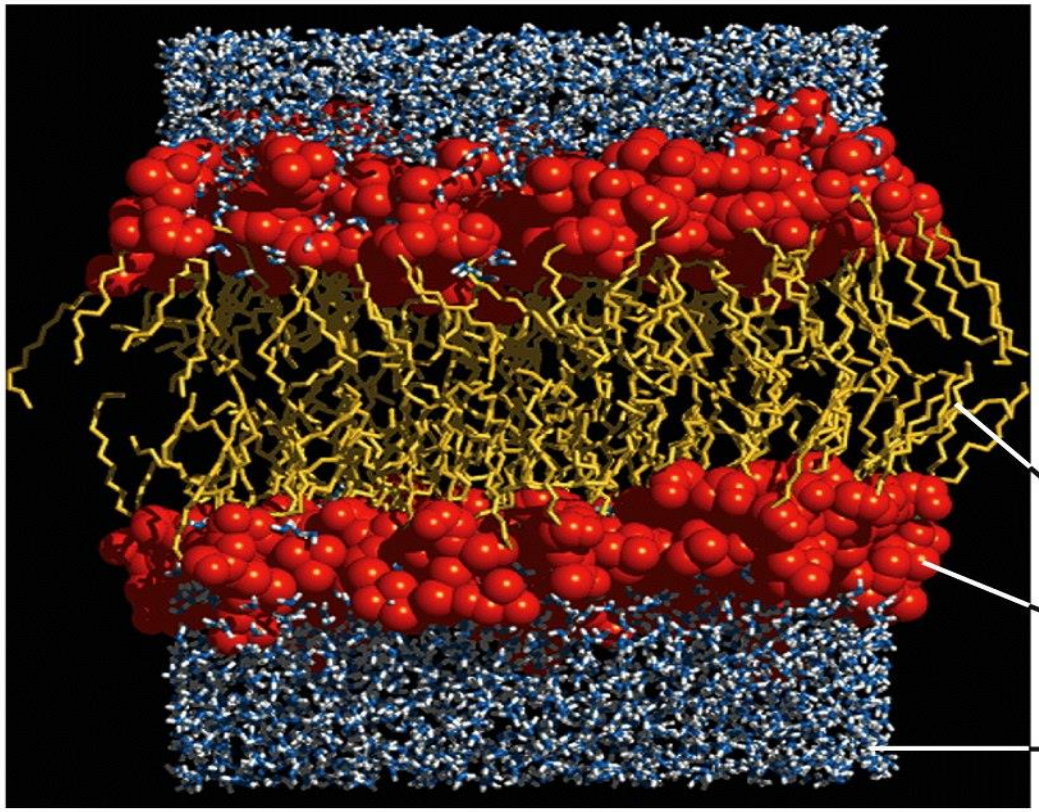
(bicapas sintéticas)

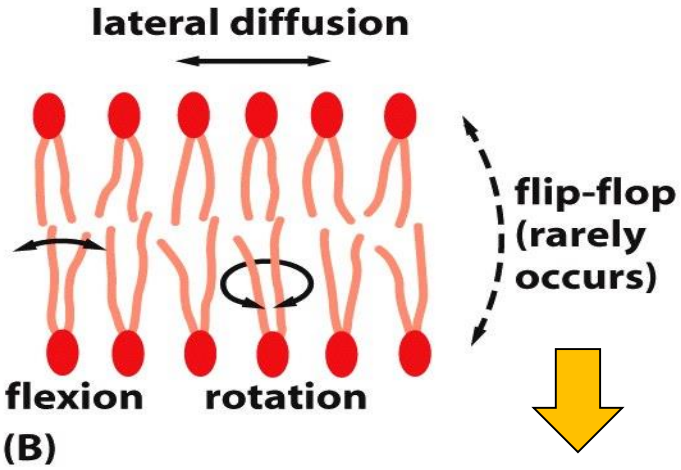
- difusión de lípidos marcado (grupo nitroxilo, fluorocromo u oro coloidal: cabeza)

- 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

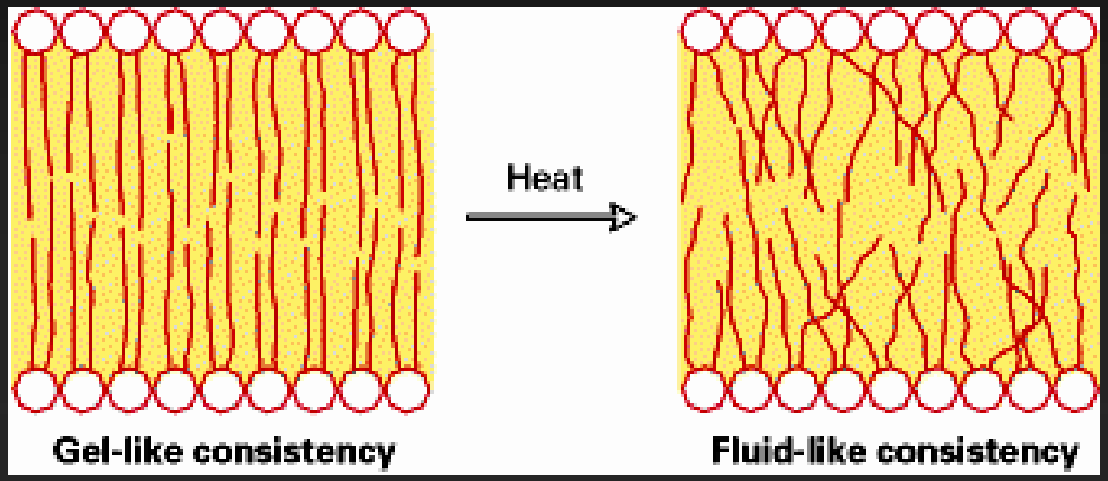
# *¿membranas biológicas?*

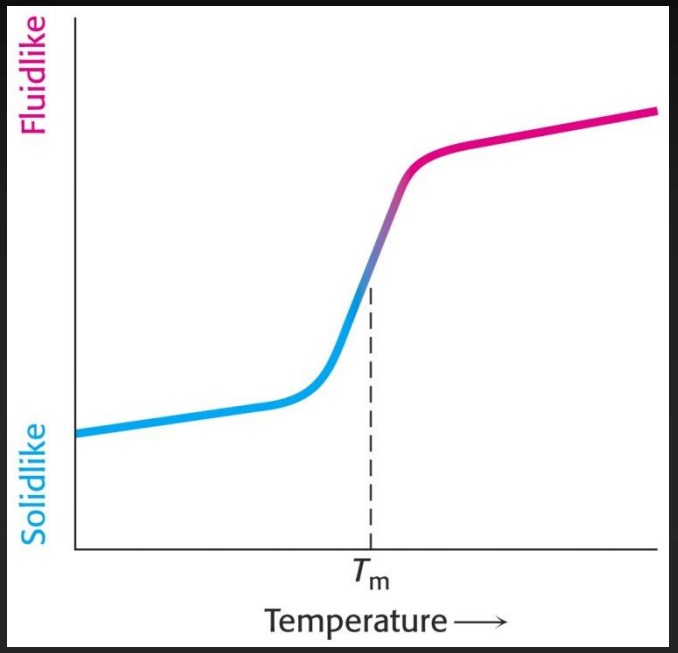
- membranas aisladas

- células *in vivo*

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

# Fluidez de la bicapa lipídica



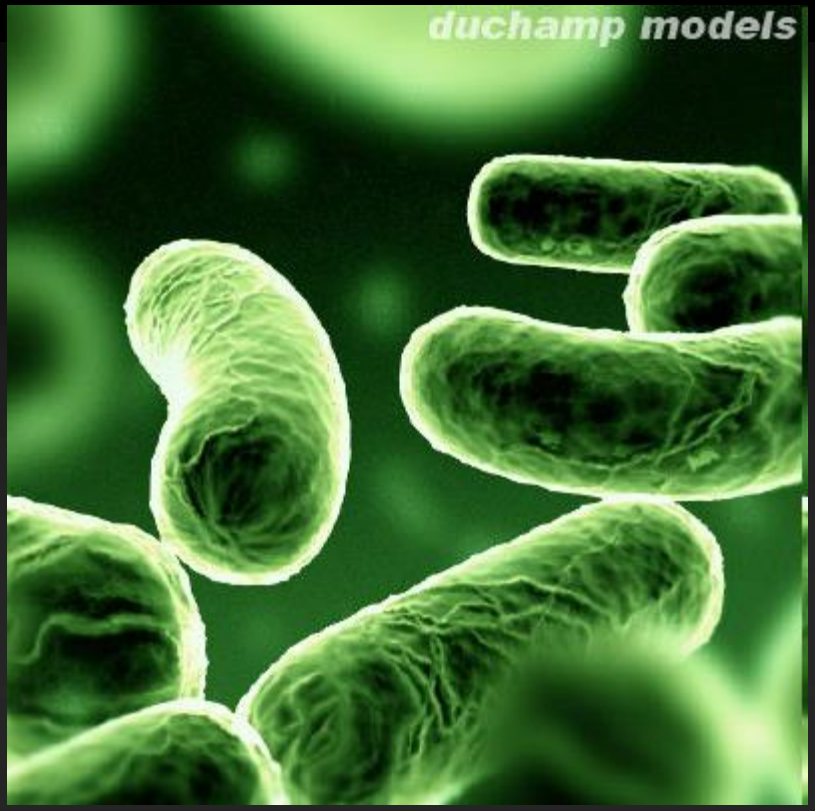




Cambio de estado: **transición de fase**

- depende de la composición de lípidos

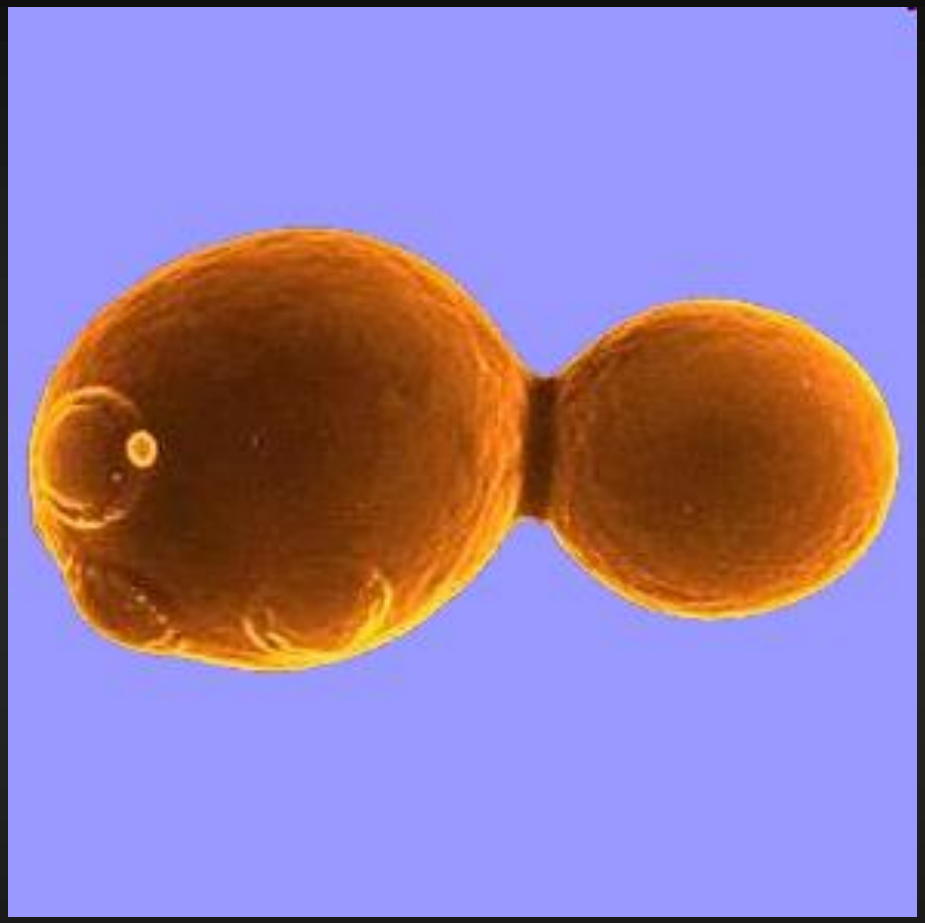
temperatura: específica para cada lípido

(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**

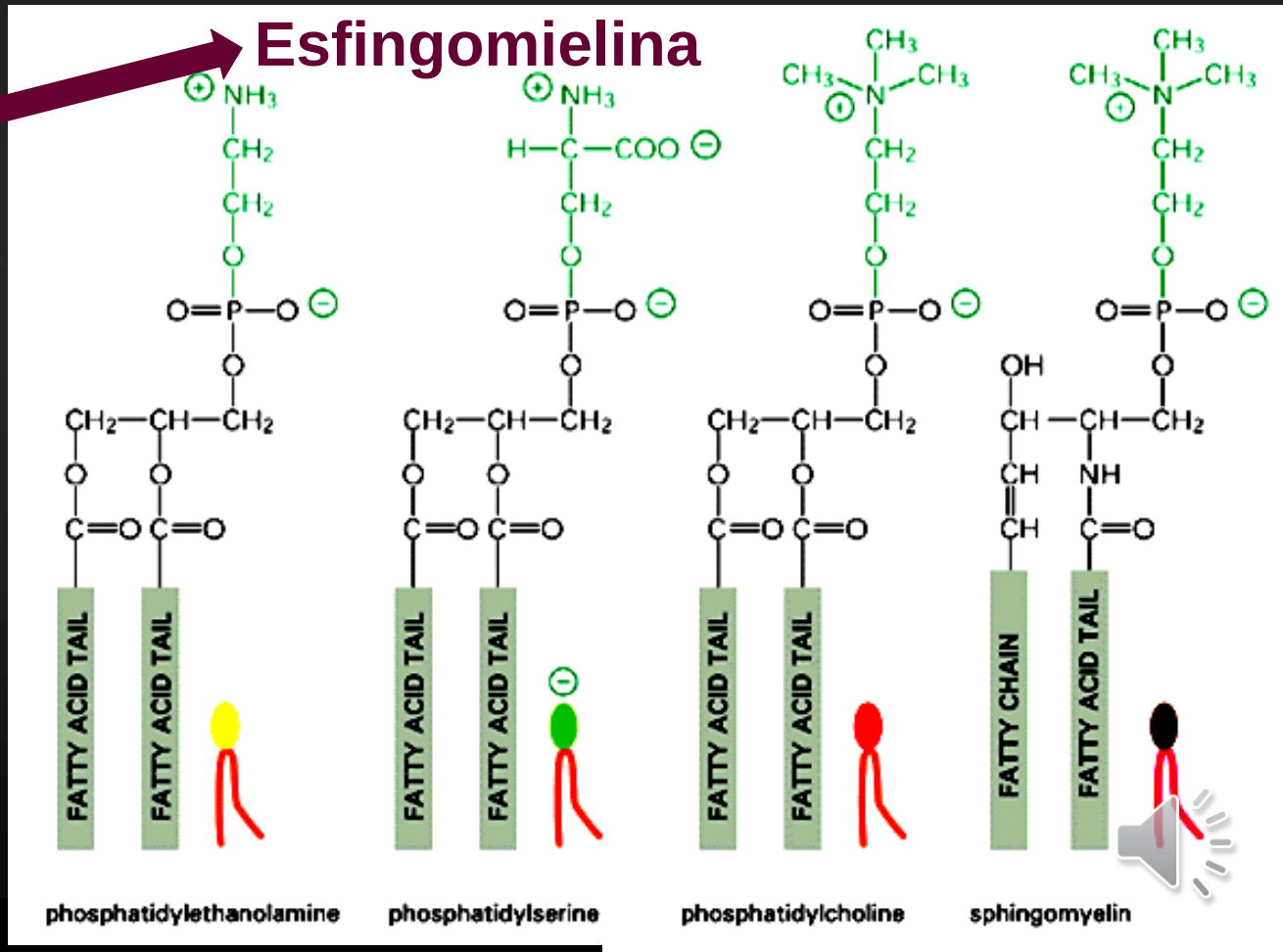
Derivados de glicerol

**Esfingomielina**

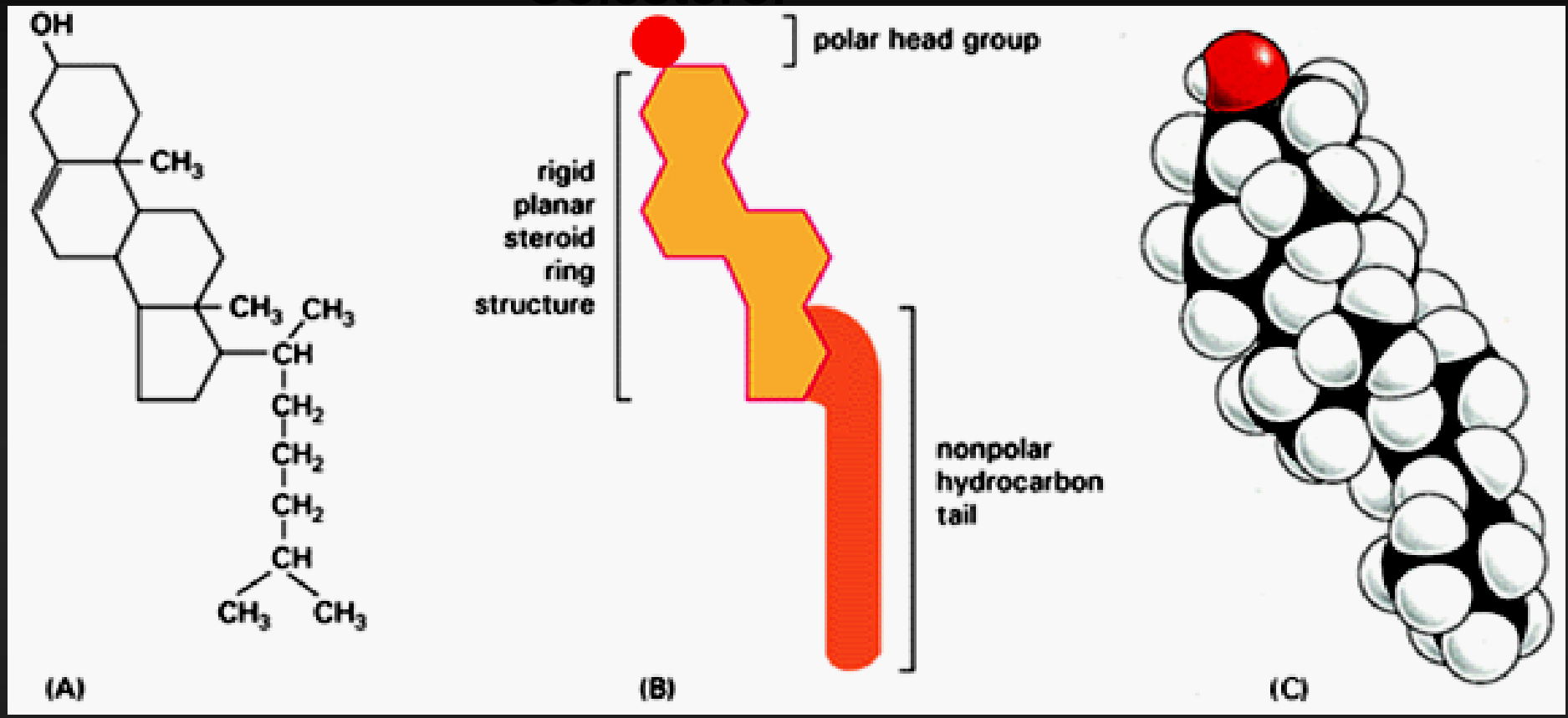
- *Fosfolípido derivado de esfingosina (esfingolípido)*

- *Fosfolípidos con inositol*

*(mamíferos)*

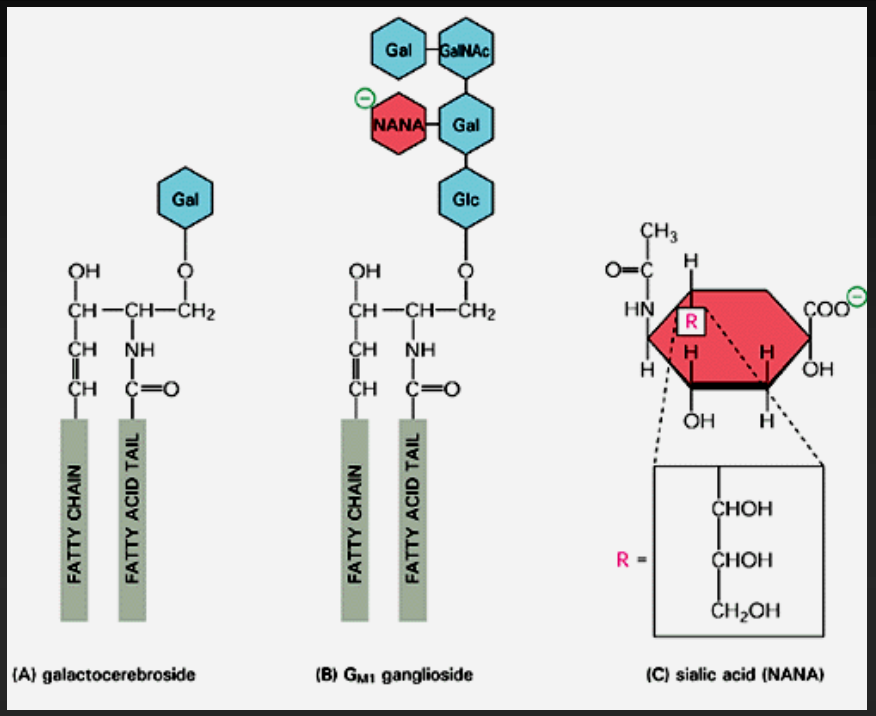


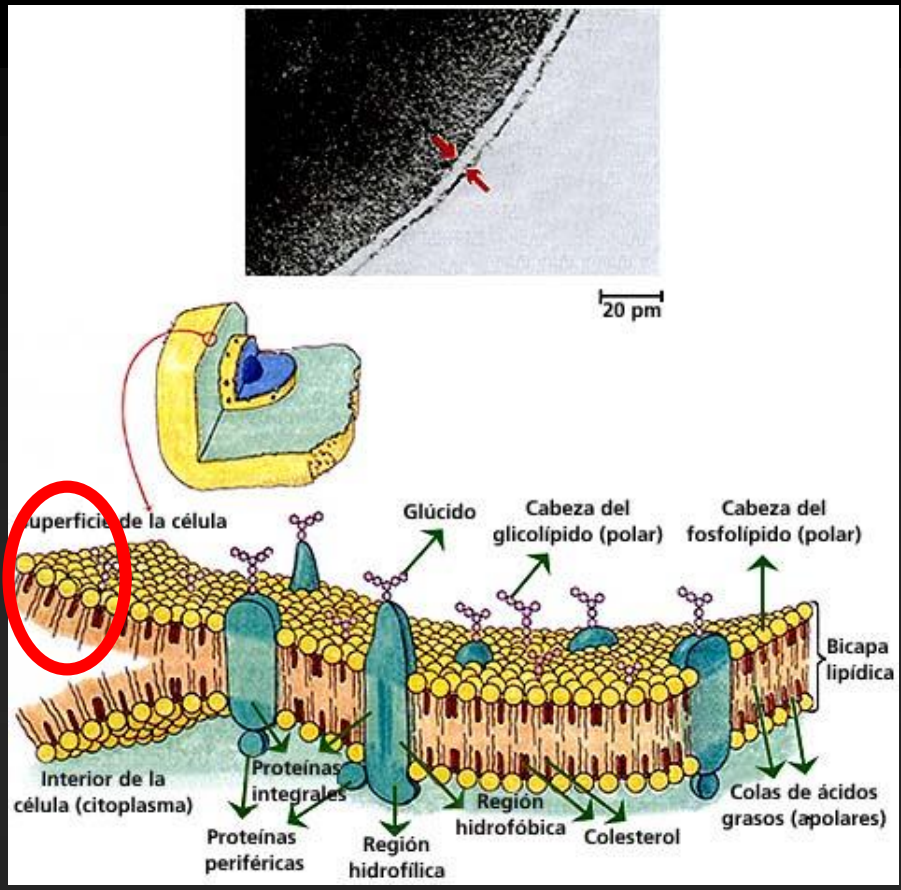
# Colesterol




- 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

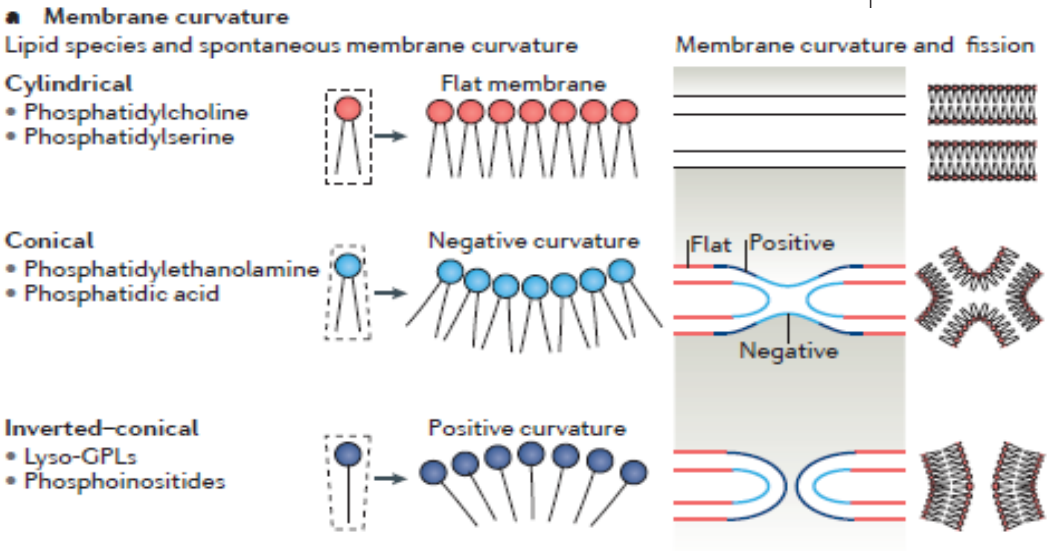
REVIEWS
NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY

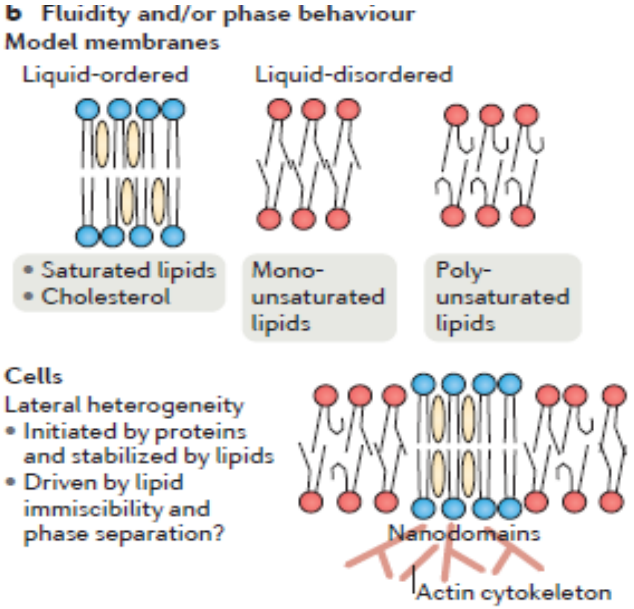

Balance de tamano cabeza/cola:
afecta curvatura espontánea

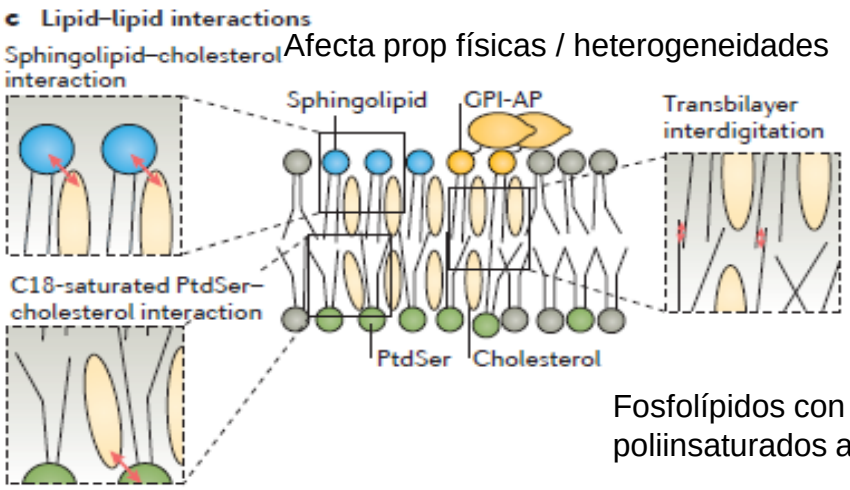
## Understanding the diversity of membrane lipid composition

*Takeshi Harayama and Howard Riezman*

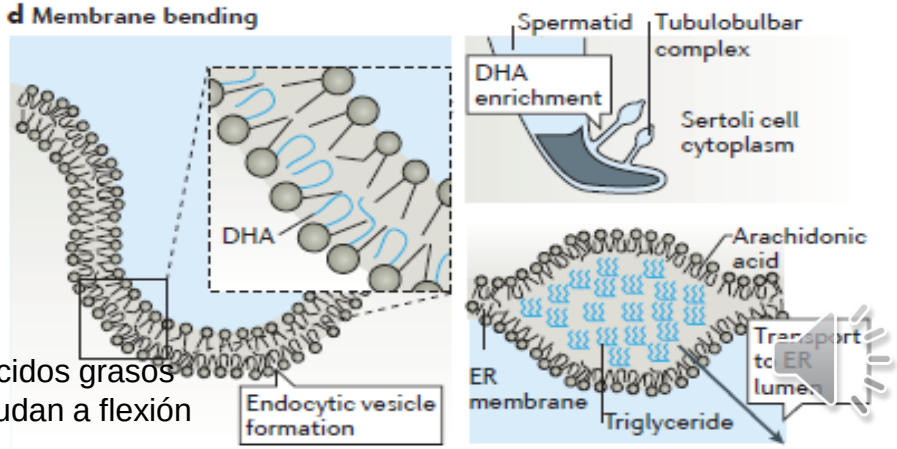
Insaturación aumenta fluidez




Afecta prop físicas / heterogeneidades




Fosfolípidos con ácidos grasos
poliinsaturados ayudan a flexión

# ¿Cómo se distribuyen los lípidos en las membranas celulares?

- Monocapas:  al azar

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

  - enriquecidos en esfingolípidos y colesterol
  - son transitorios (vida media 10 a 20 ms)
  - reportados en diversos 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)

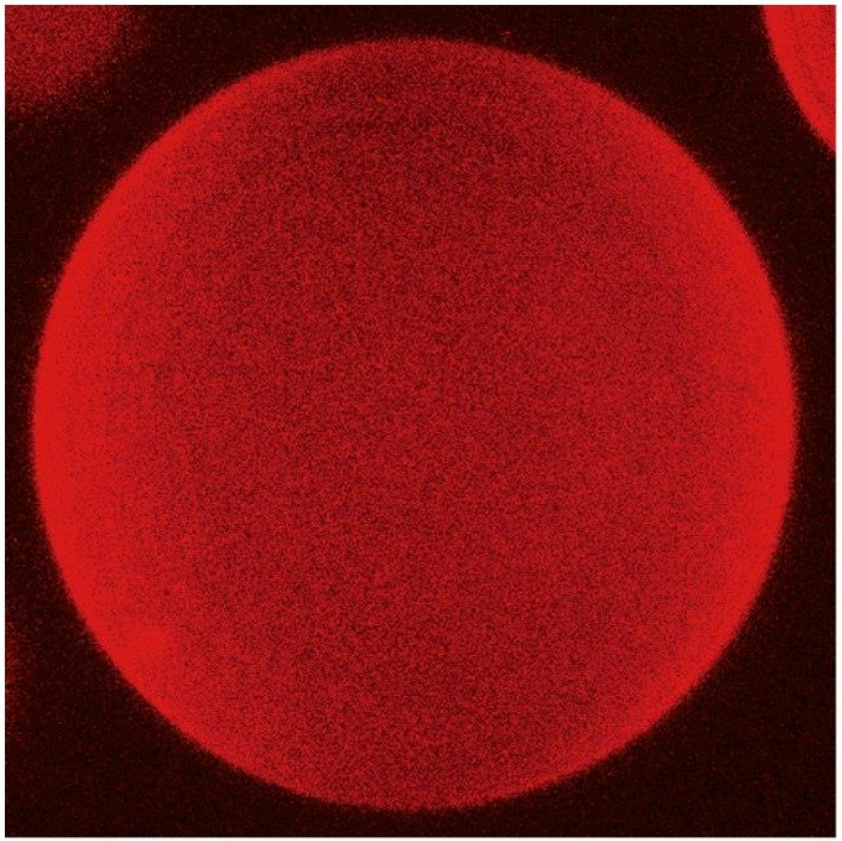
**Hipótesis**

- ayudarían a organizar proteínas de membrana

  a) concentración para transporte en vesículas

  b) concentración para transducción de señales

# Liposomas



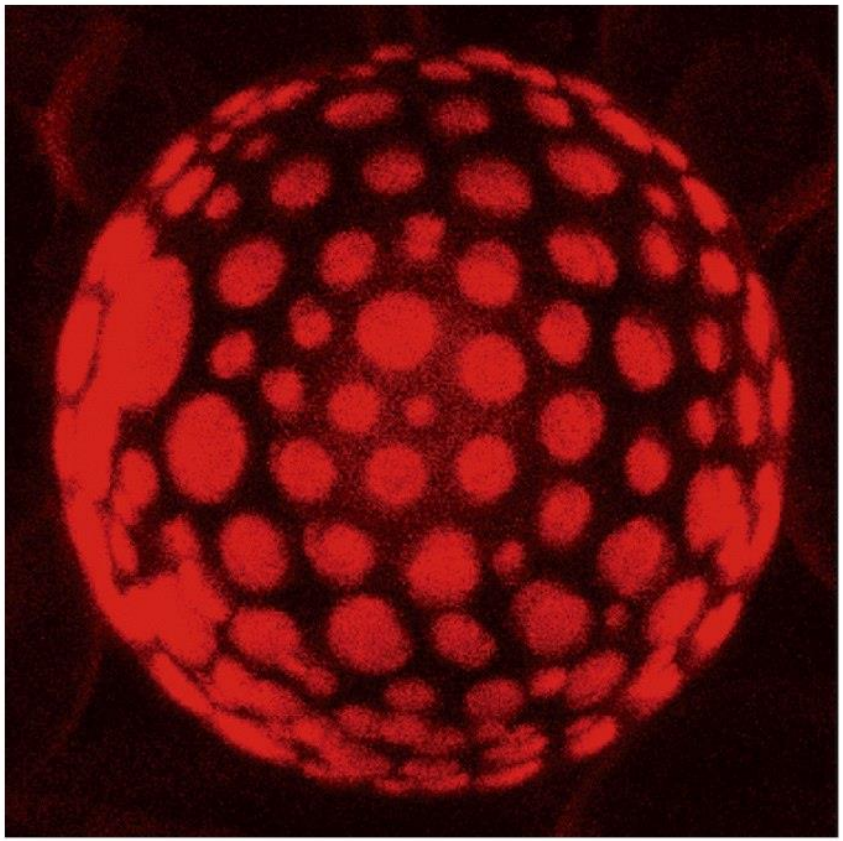




Figure 10-13 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Fosfatidilcolina / esfingomielina
1:1

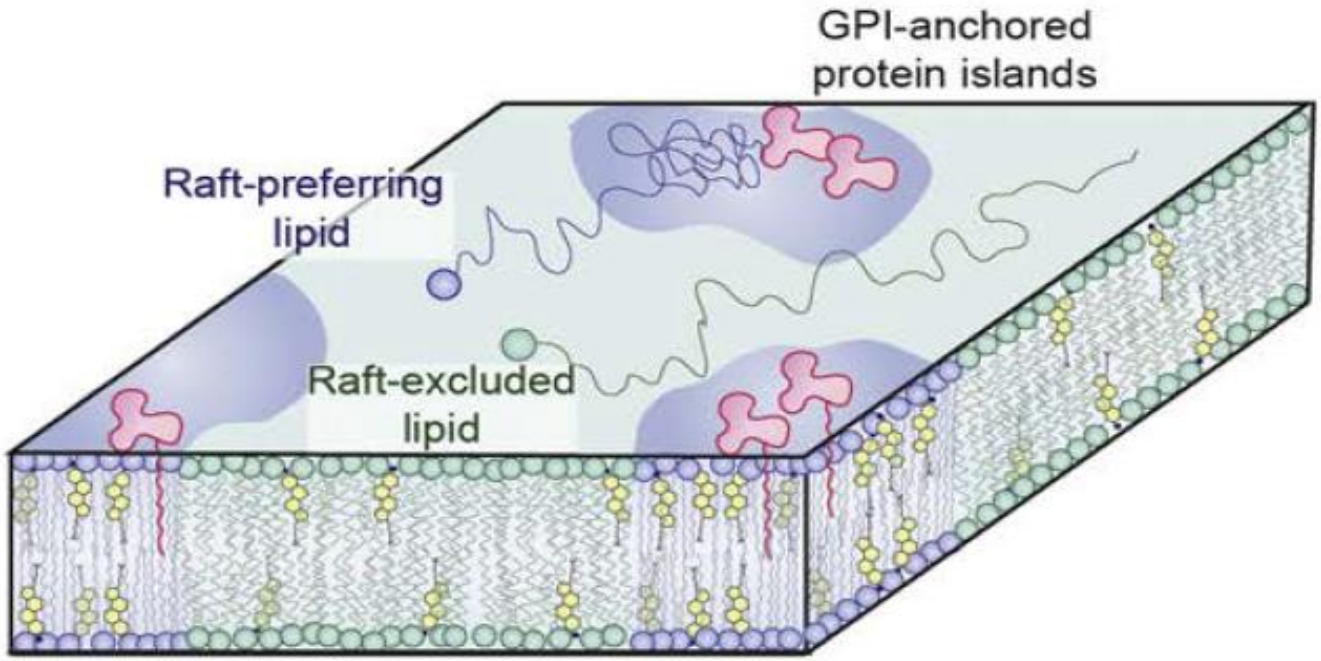
Fosfatidilcolina/esfingomielina/colesterol
1:1:1

**Controversia / Nicolson, 2013 y Levental y col. 2020: rol biológico**

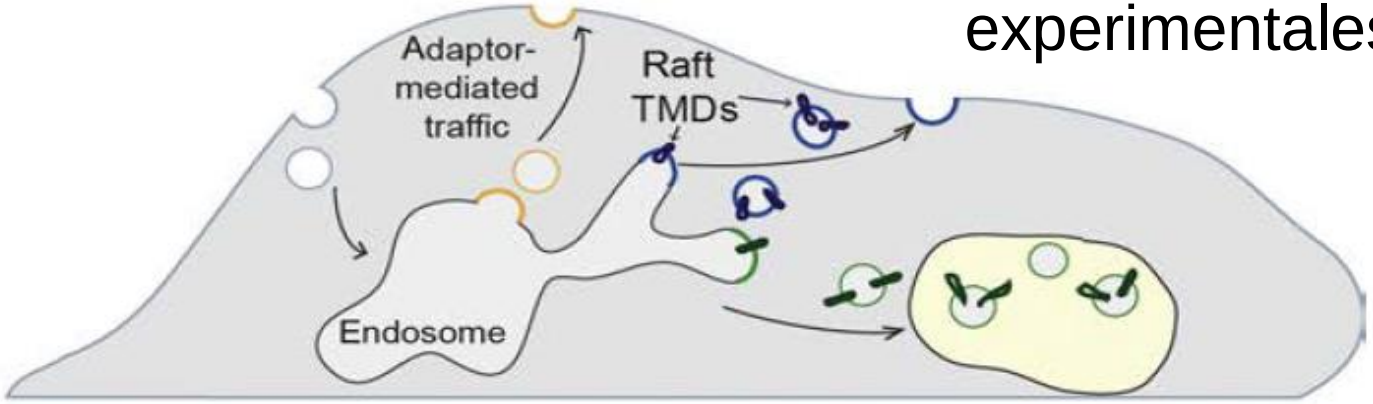
Trends in Cell Biology

Levental y col. 2020

CellPress REVIEWS

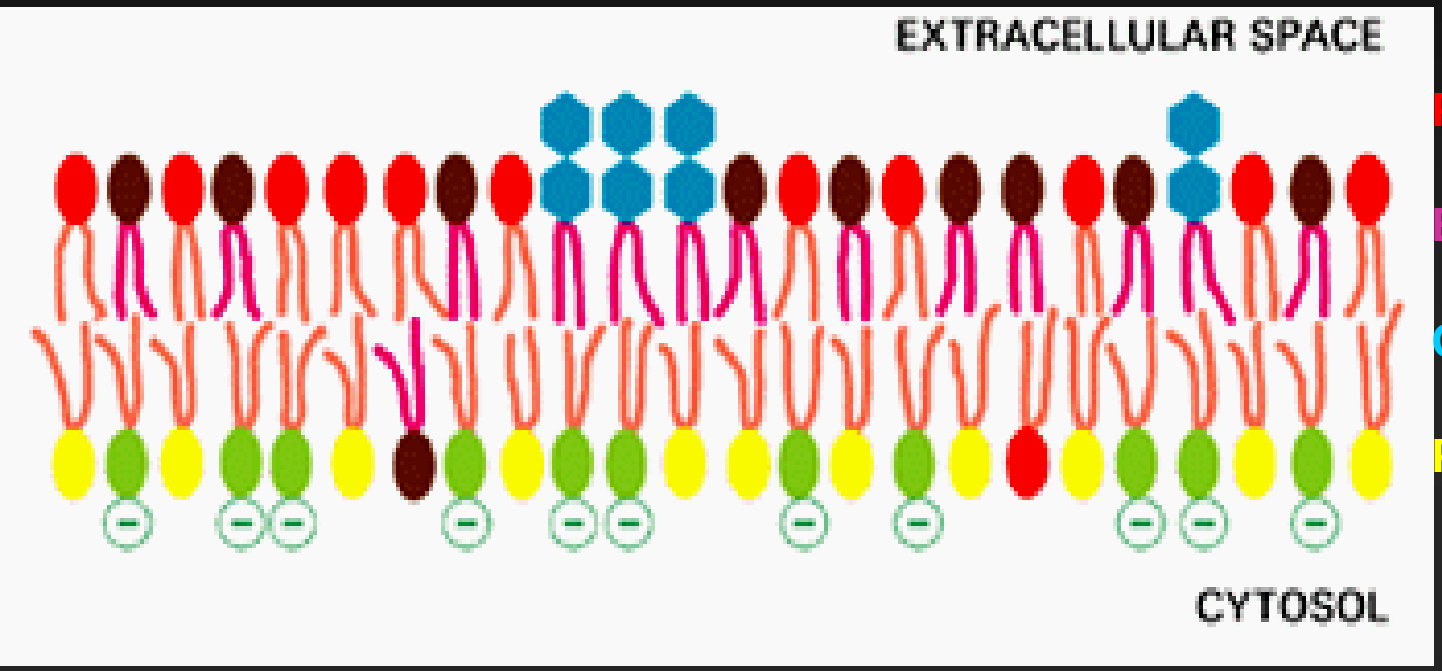



Algunas evidencias experimentales



# 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*

# Composición de algunas membranas

| Membrana | %proteinas | % lípidos | %carbohid. |
|---|---|---|---|
| | | | |
| M. mitocond. interna | 76 | 22 | 2 |
| M. mitocond. externa | 52 | 46 | 2 |
| MP bacteriana | 60-70 | 40-30 | 0-10 |
| MP hepatocito | 50-60 | 45-35 | 5 |
| MP eritrocito | 50 | 40 | 10 |
| Mielina | 18 | 79 | 3 |

- menor concentración de proteínas
- mayor cantidad de lípidos
- menor complejidad funcional

# Asociación con la bicapa lipídica

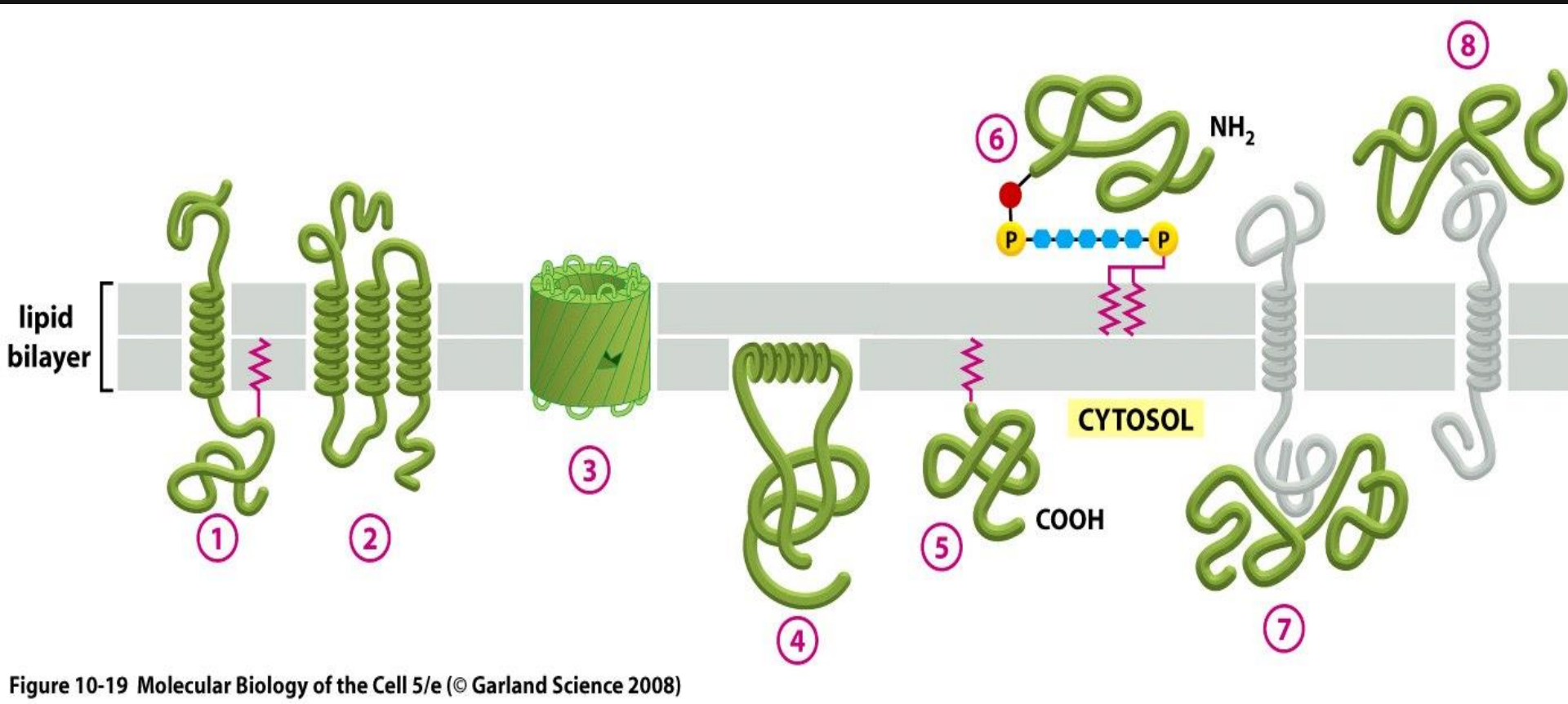



Figure 10-19 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- Proteínas integrales de membrana
- Proteínas periféricas

# 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

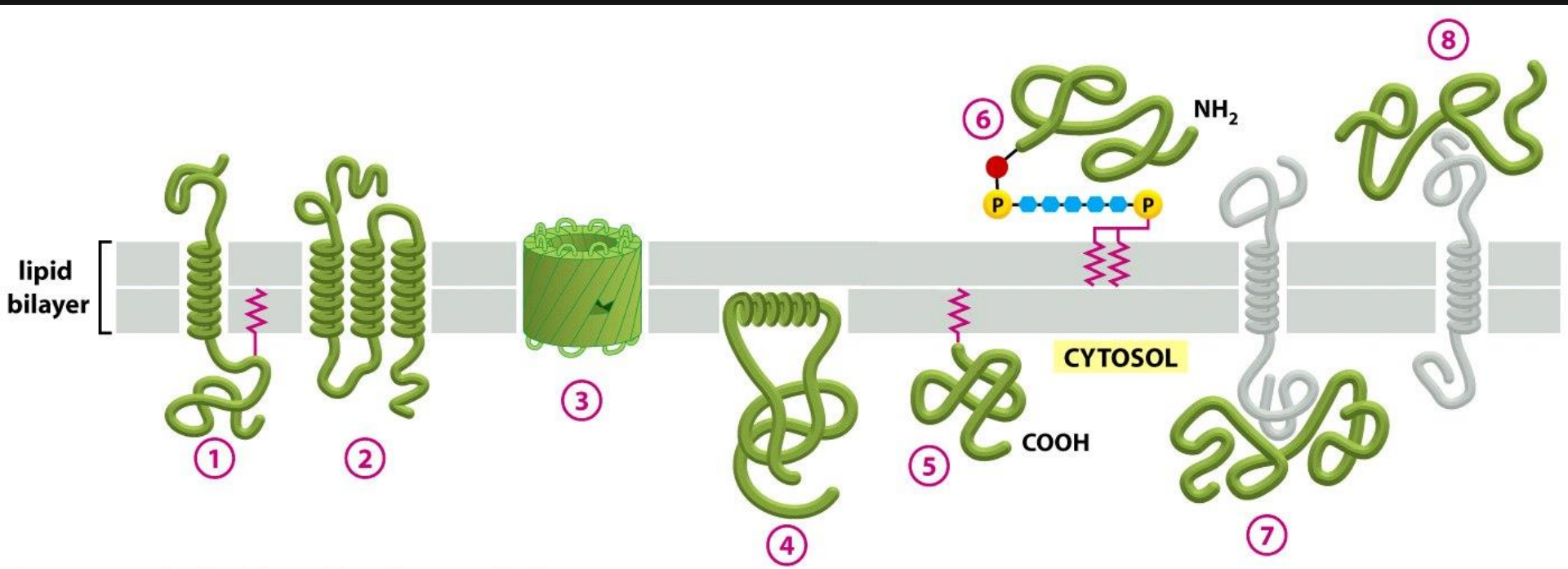
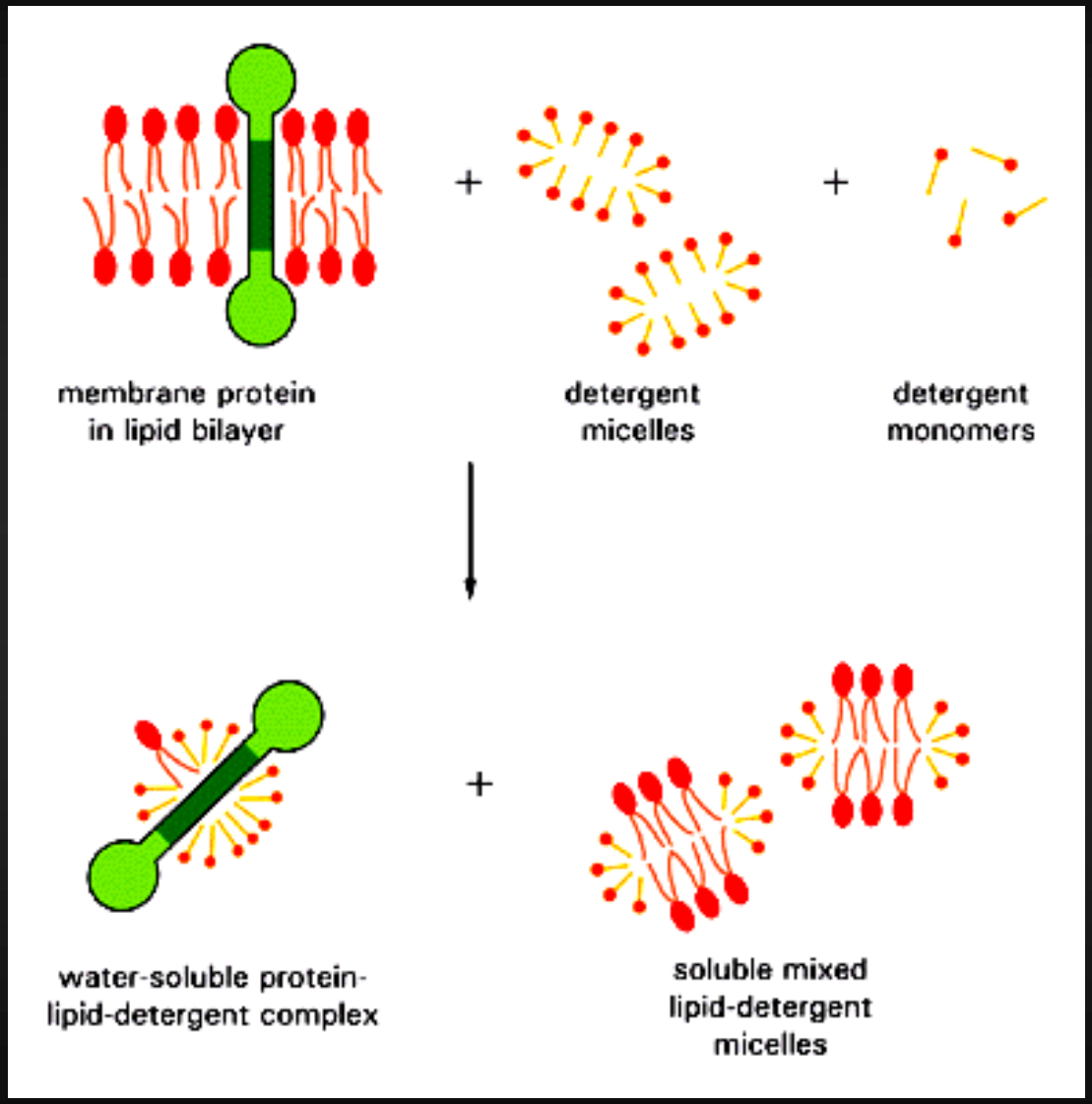



Figure 10-19 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

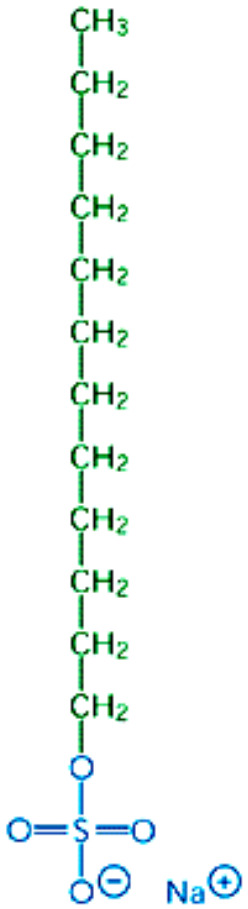
**asociación proteína – bicapa lipídica**

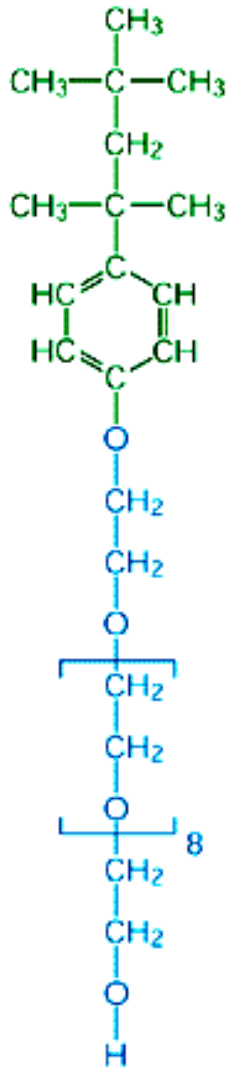
**función de la proteína**

# Proteínas de membrana: solubilización

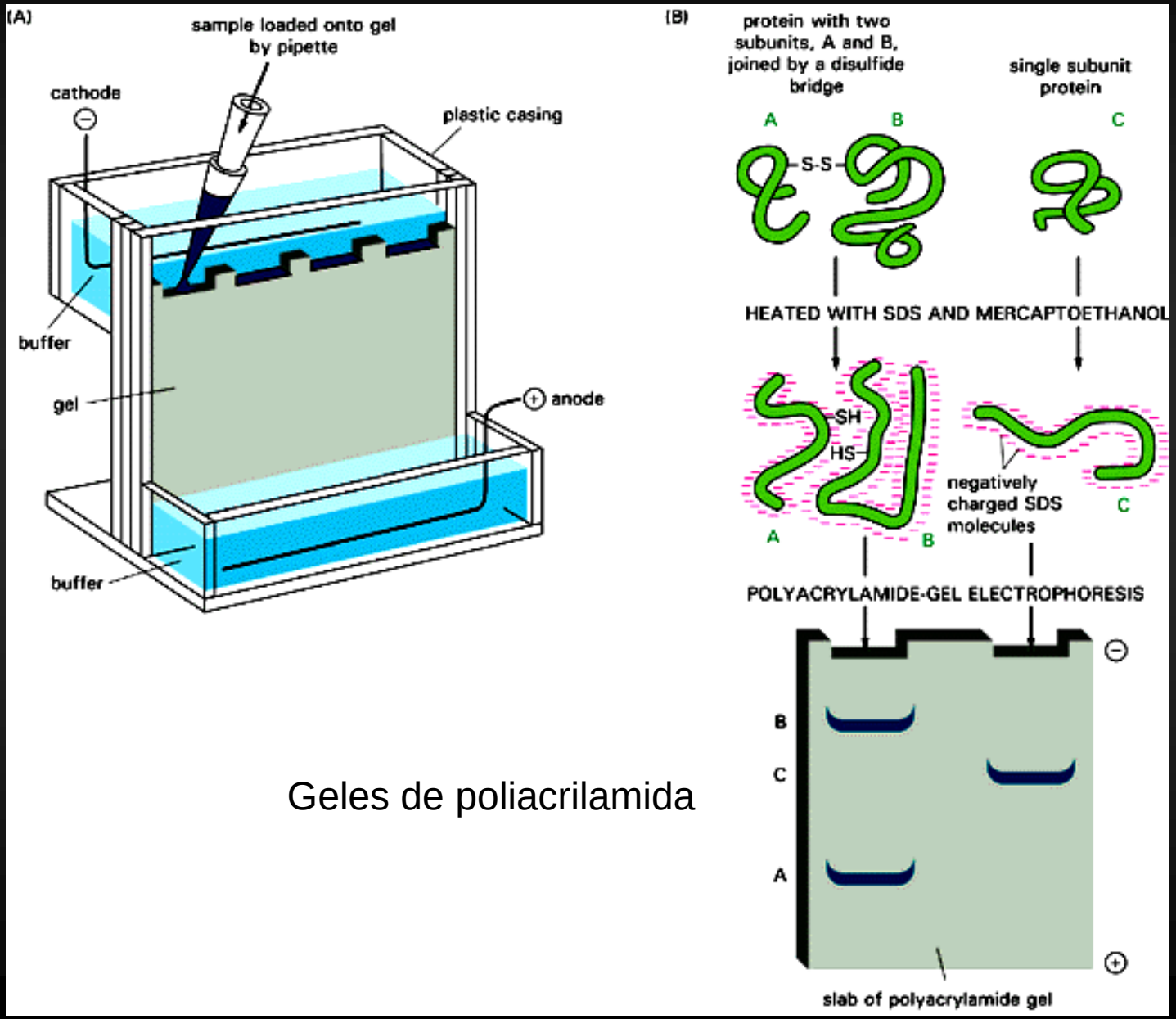



Detergentes
(anfipáticos)



# Proteínas de membrana: electroforesis



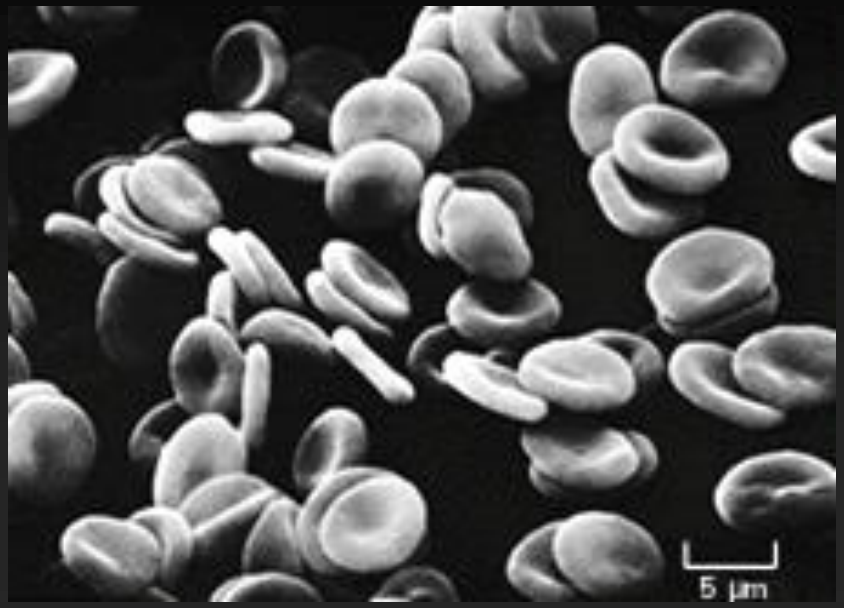

Geles de poliacrilamida

# La membrana plasmática de los eritrocitos humanos


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

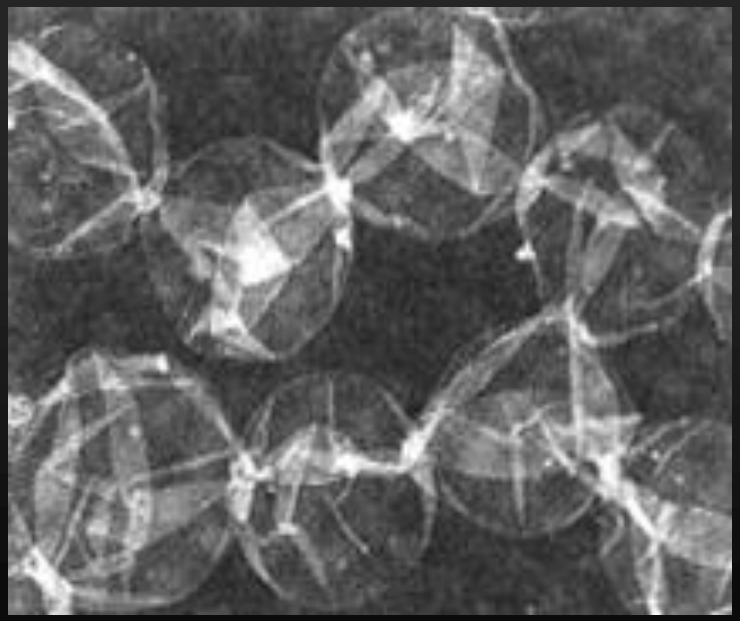
- disponibles en grandes cantidades
- relativamente puros
- no poseen núcleo * (mamíferos)
- es posible aislar membranas celulares

## Membranas celulares de eritrocitos aisladas:



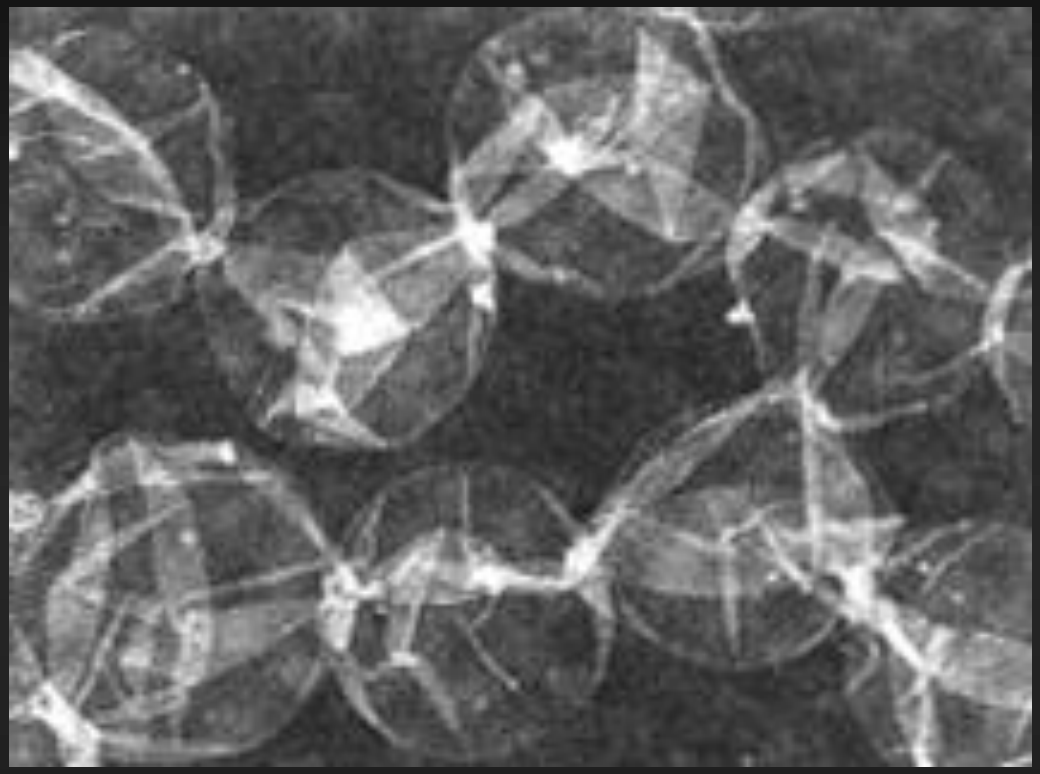

exposición a medios hipotónicos

lisis celular

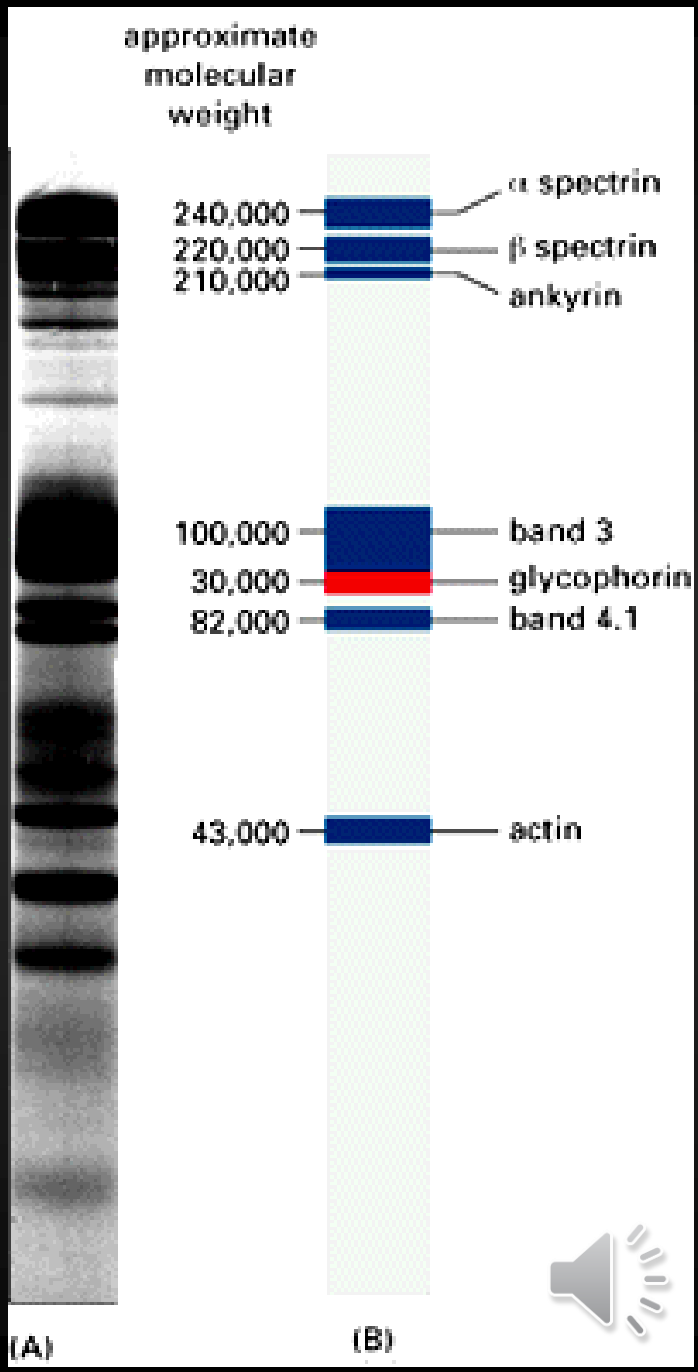


Solubilización con detergentes

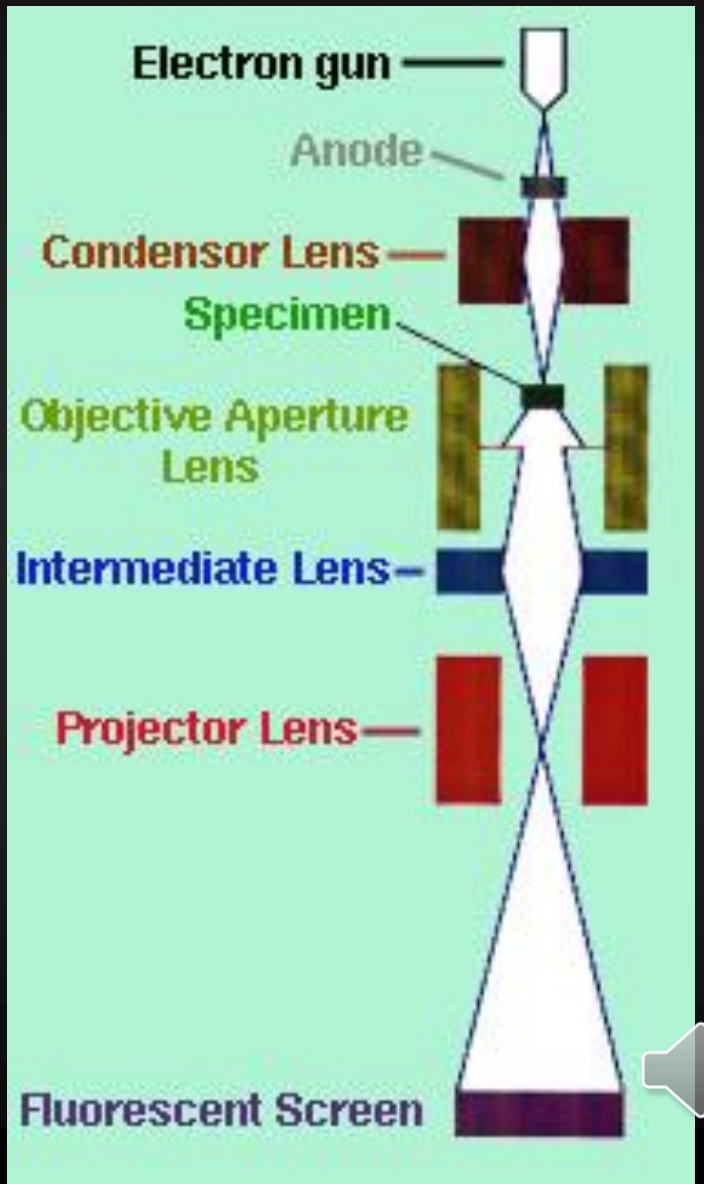
# Eritrocitos



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



# Microscopio electrónico de transmisión (MET)



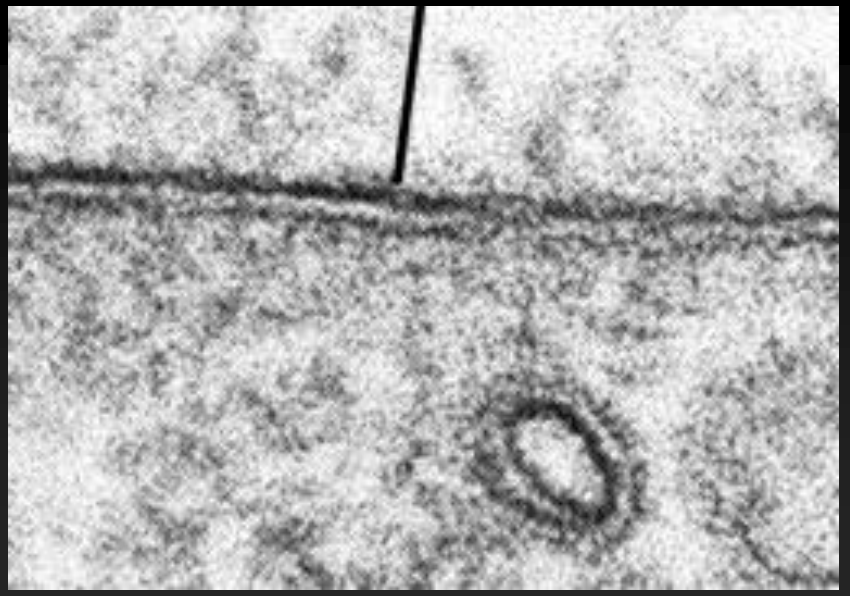

Análisis de membranas celulares
Límite de resolución adecuado
Distintas preguntas : distintas técnicas

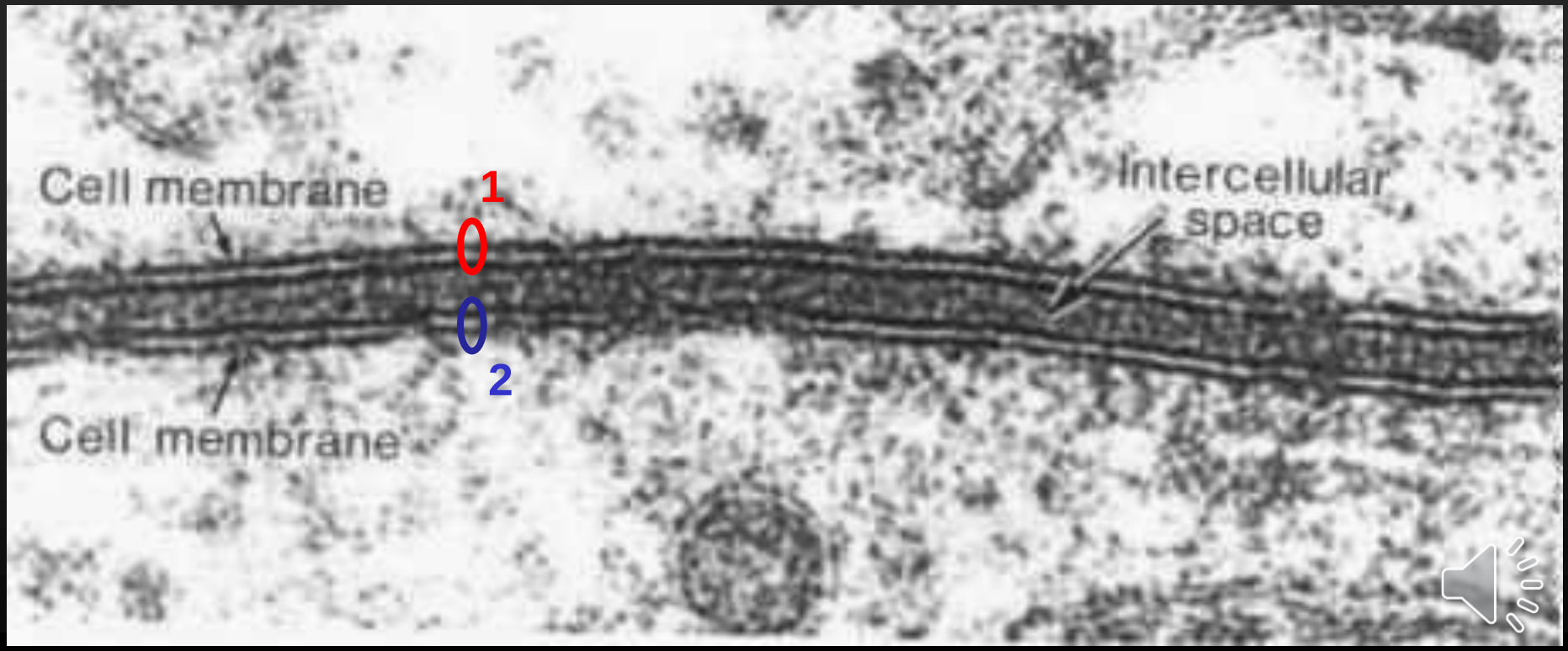
# Membranas celulares

## imagen trilaminar

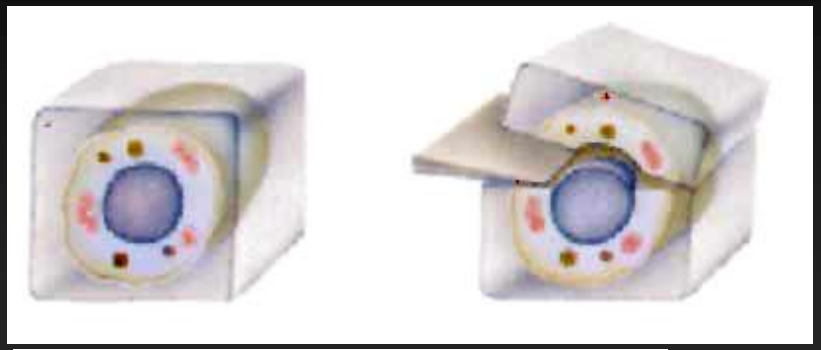
zonas electron-densas (oscuras)

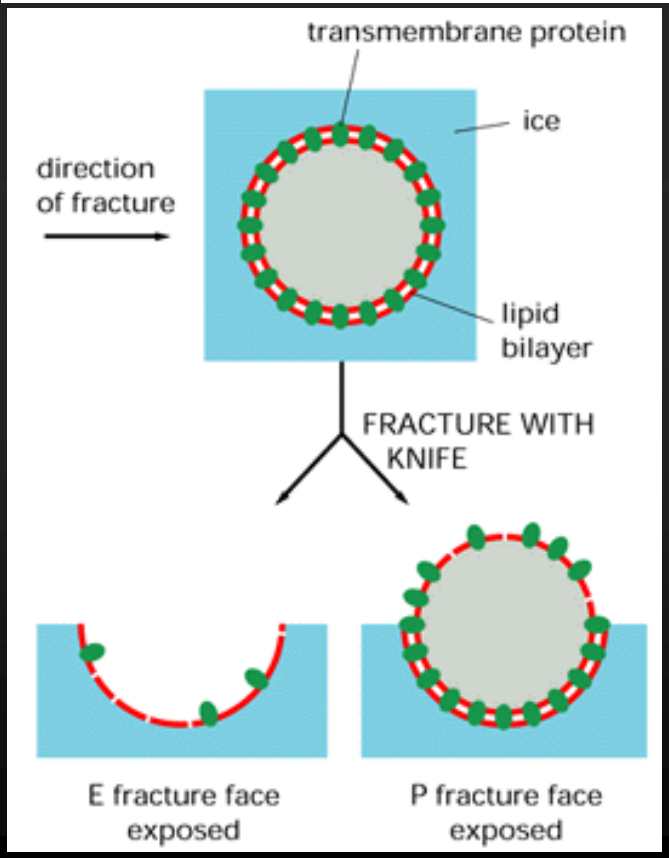
zonas electron-lúcidas (claras)

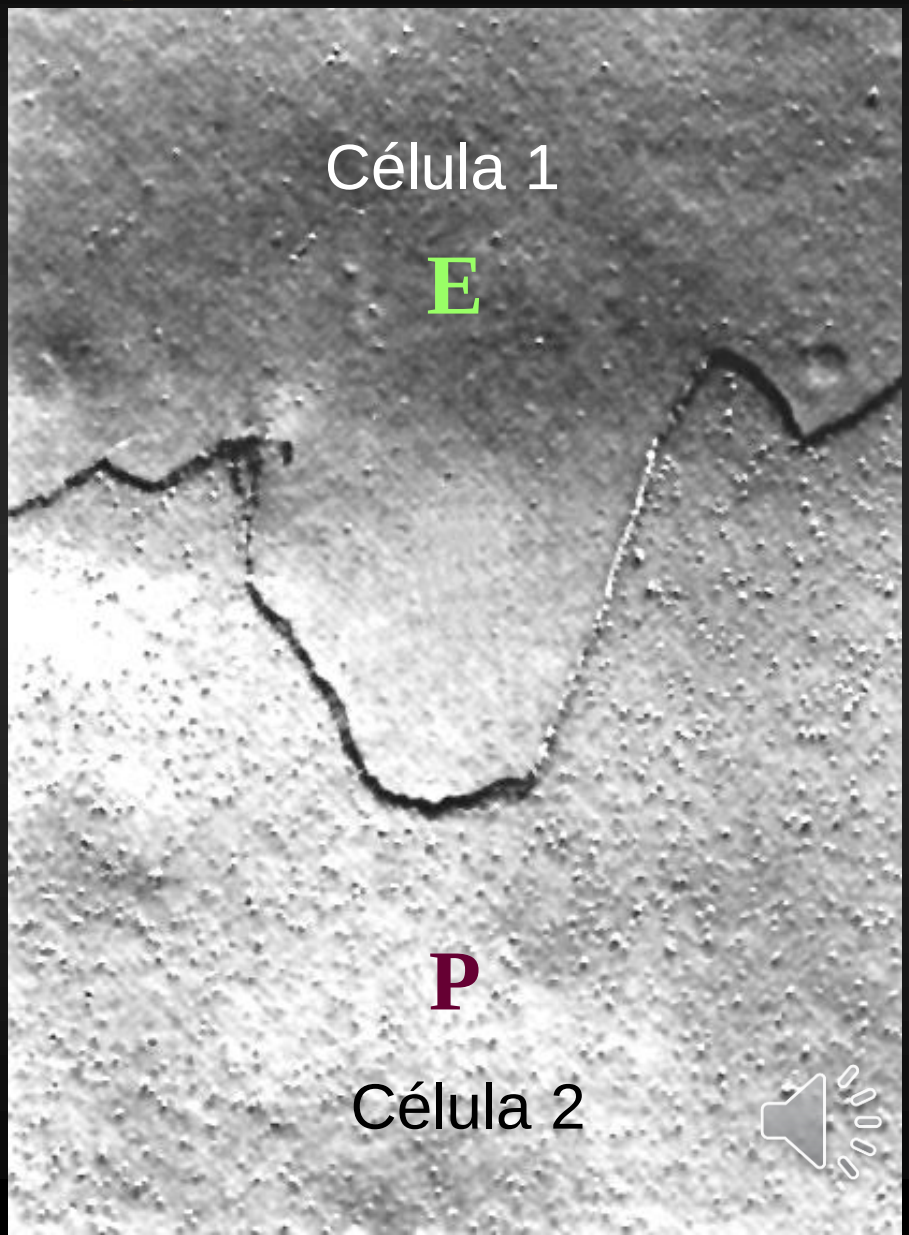


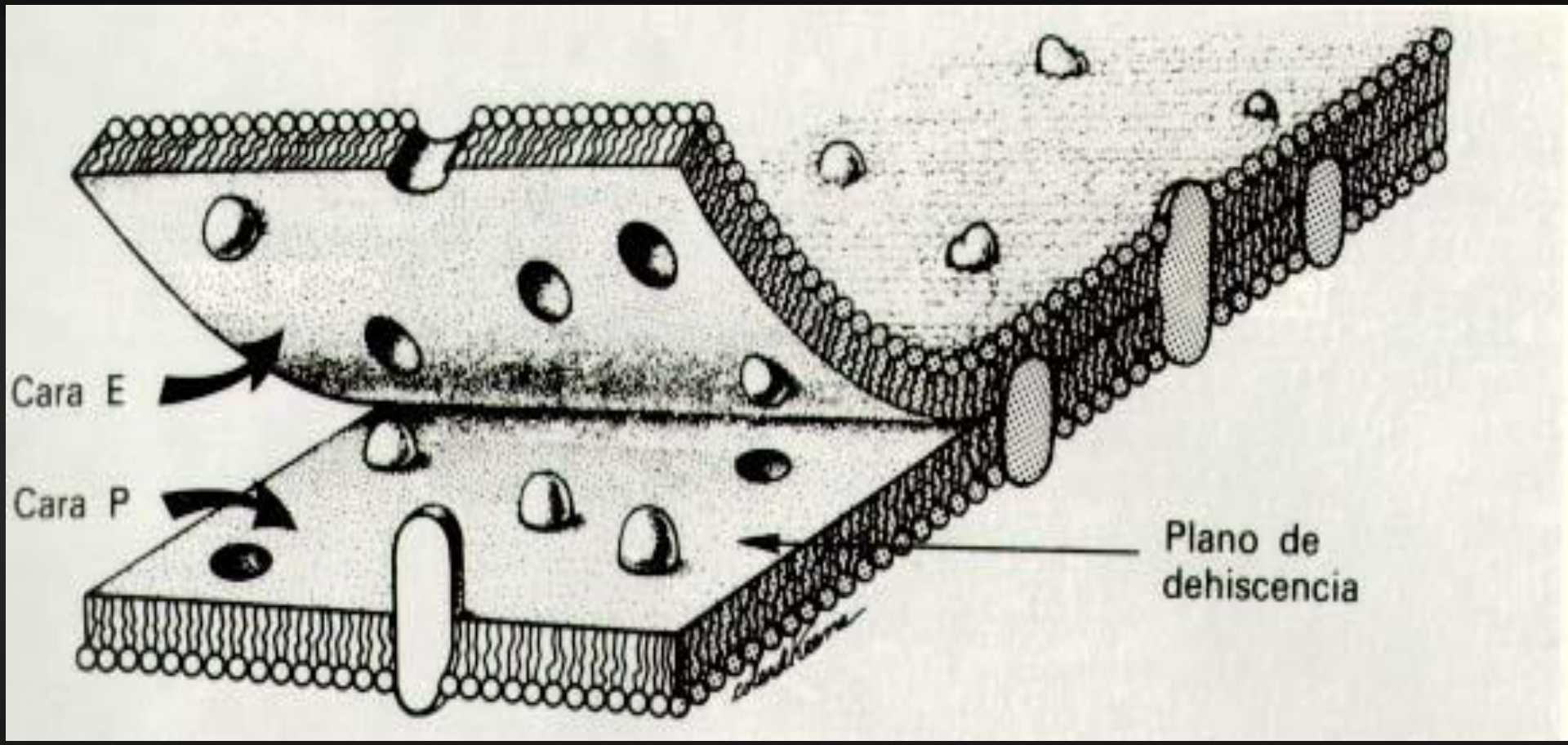


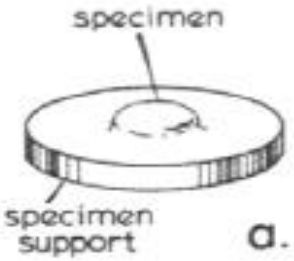
# Microscopía electrónica de transmisión criofractura-réplica

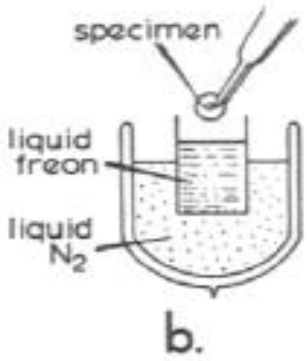


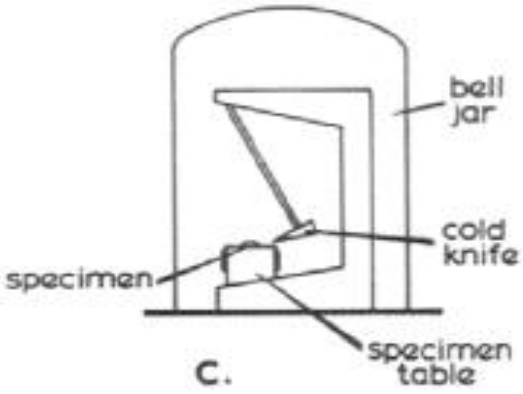


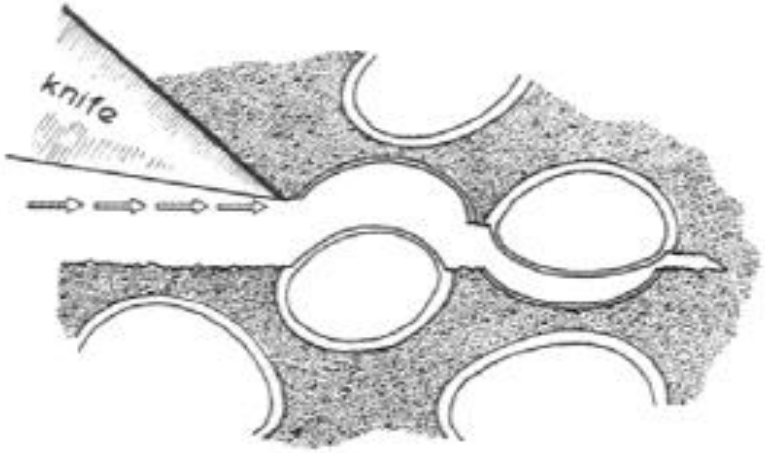

Cara E
Cara P
Plano de
dehiscencia



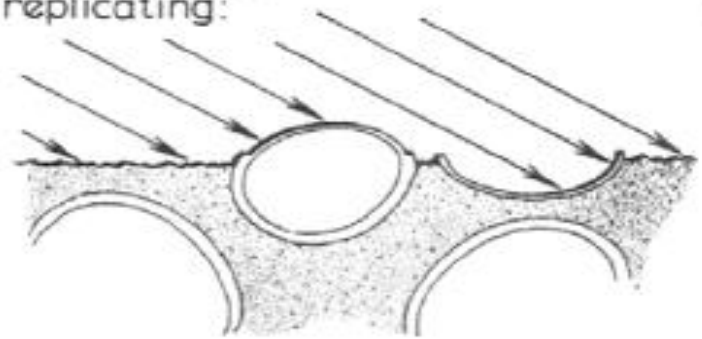

d.
fracturing:



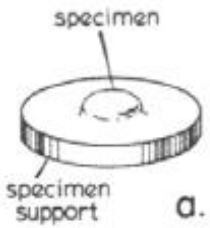

e.
etching:

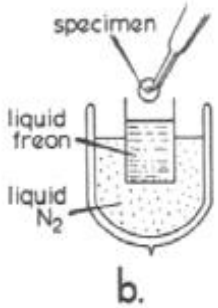
(sublimado: opcional)

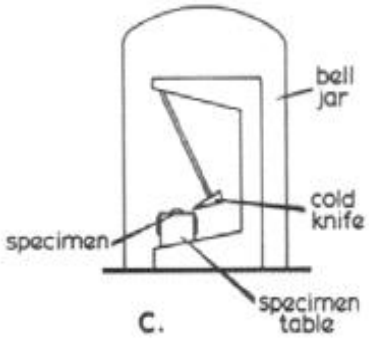
f.
shadowing &
replicating:

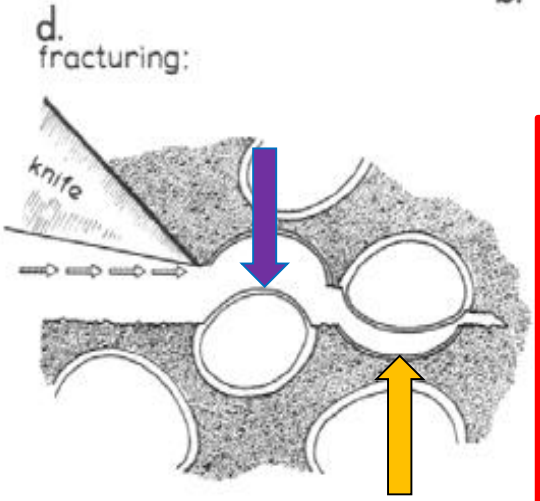


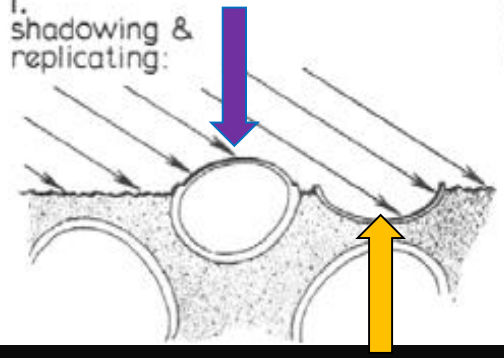
g.
replica viewed in
electron microscope:


specimen
specimen support
a.

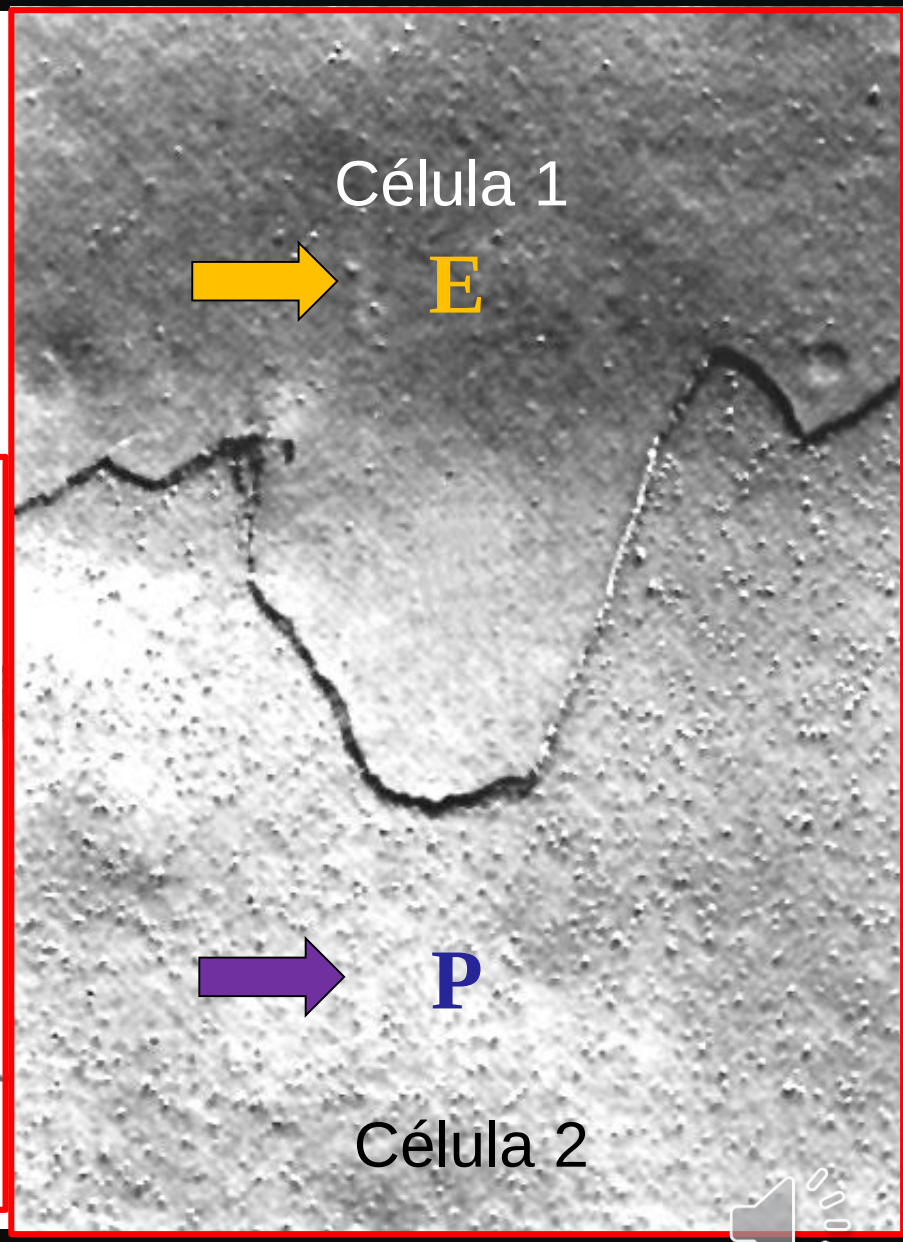

specimen
liquid freon
liquid $N_2$
b.

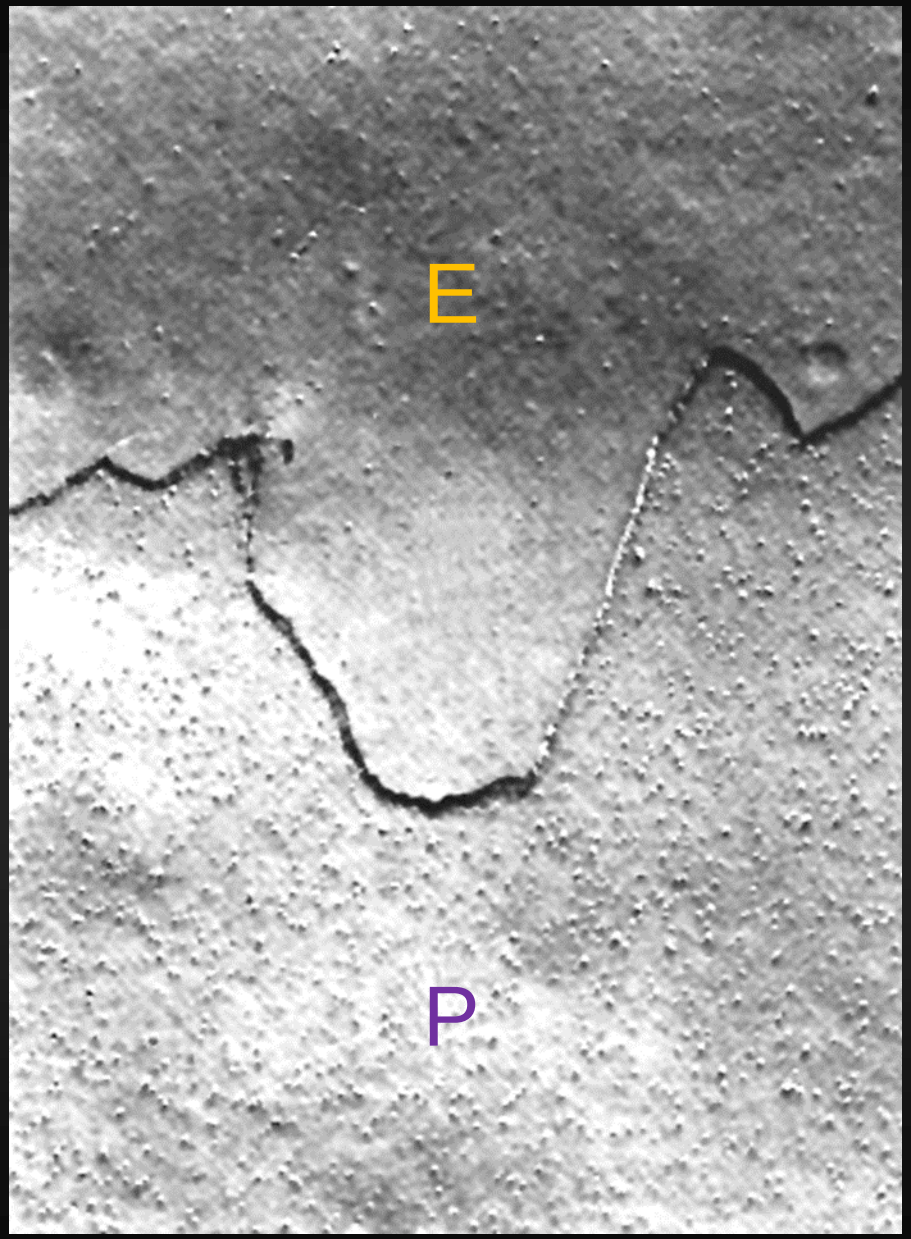

bell jar
cold knife
specimen
specimen table
c.


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?

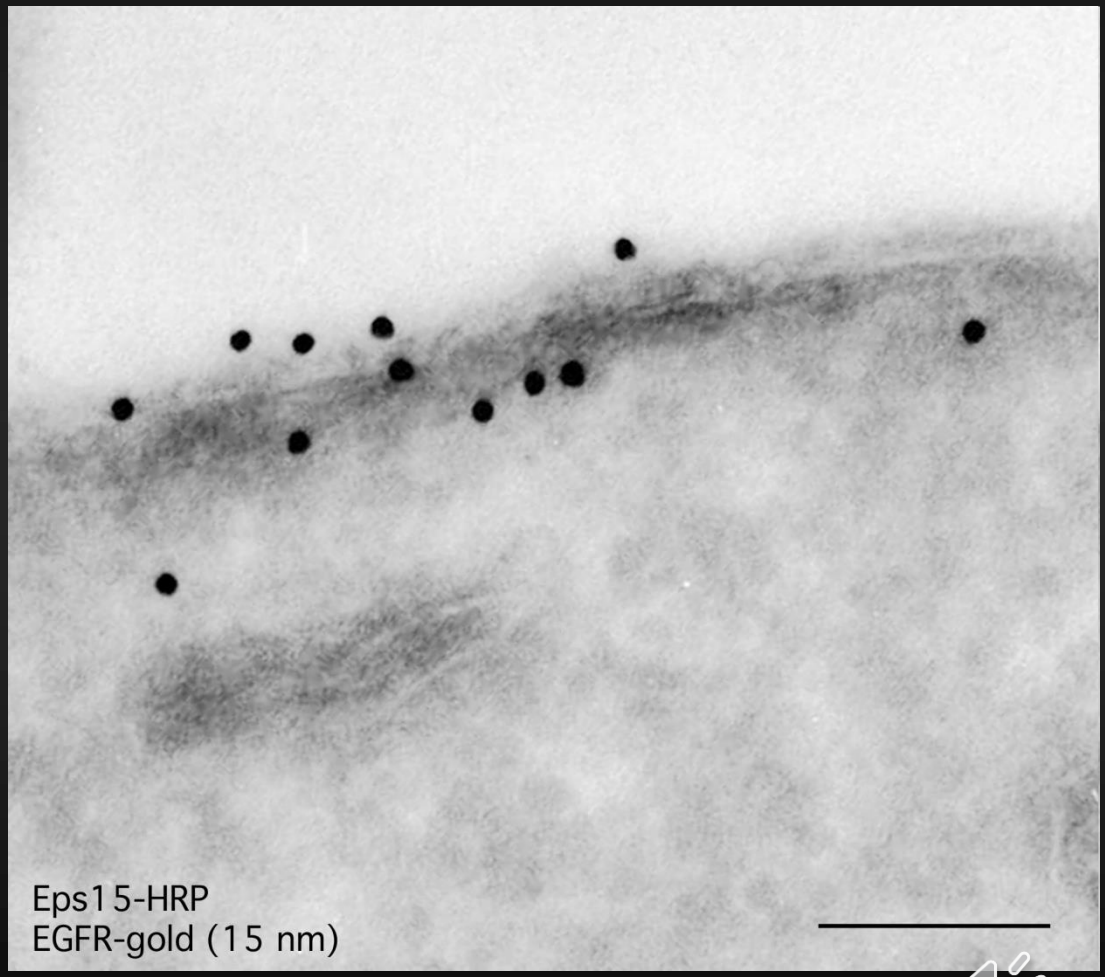
# Localización de proteínas específicas a nivel ultraestructural

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

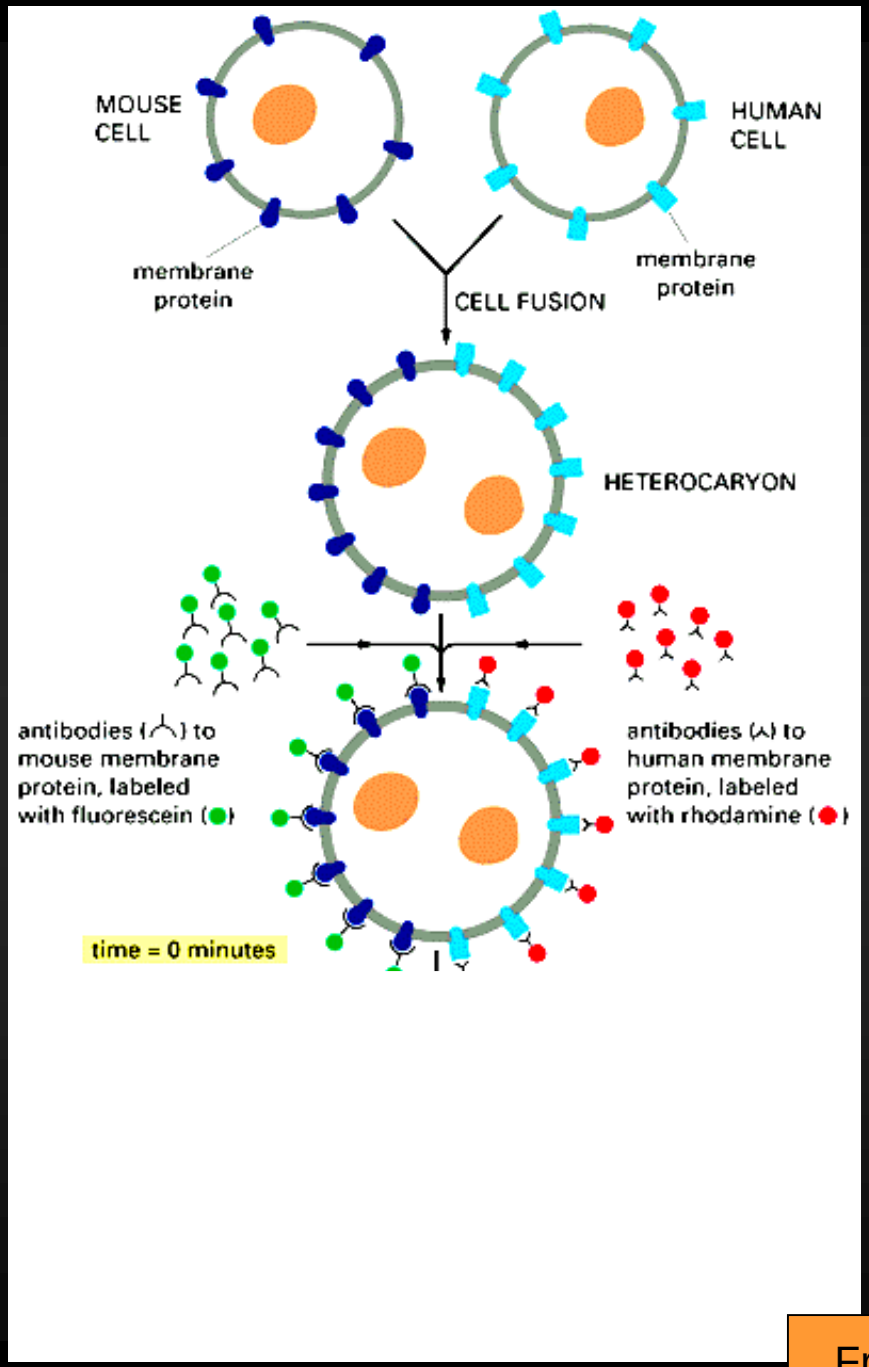
+

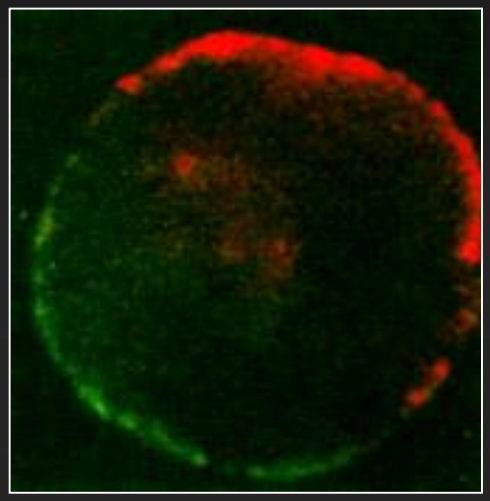
**heterocarionte**

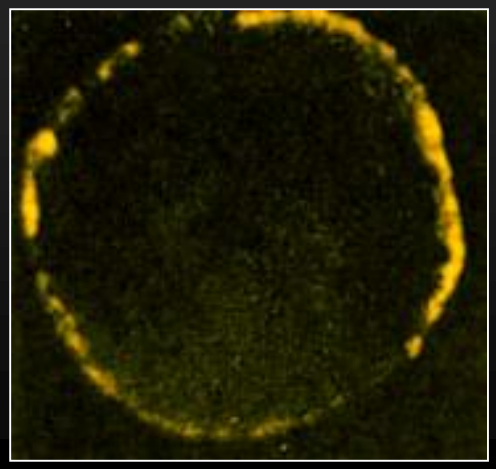
Michael Edidin, PhD

# Movilidad de las proteínas de membrana

*Respuesta de tipo cualitativo*





Frye y Edidin, 1970

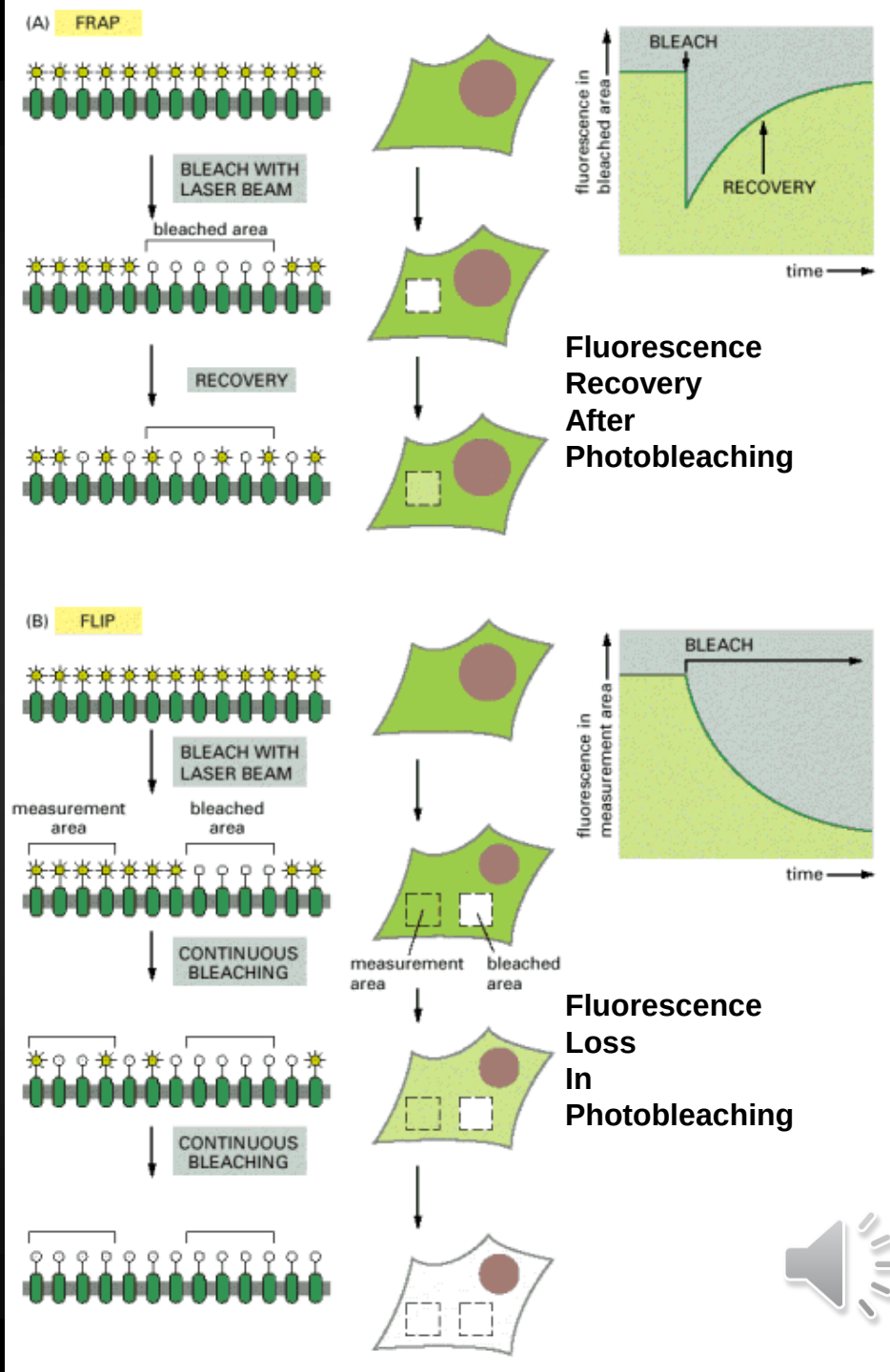
# Tasa de difusión lateral de las proteínas de membrana

cálculo del coeficiente
de difusión
de la proteína marcada

muy variables

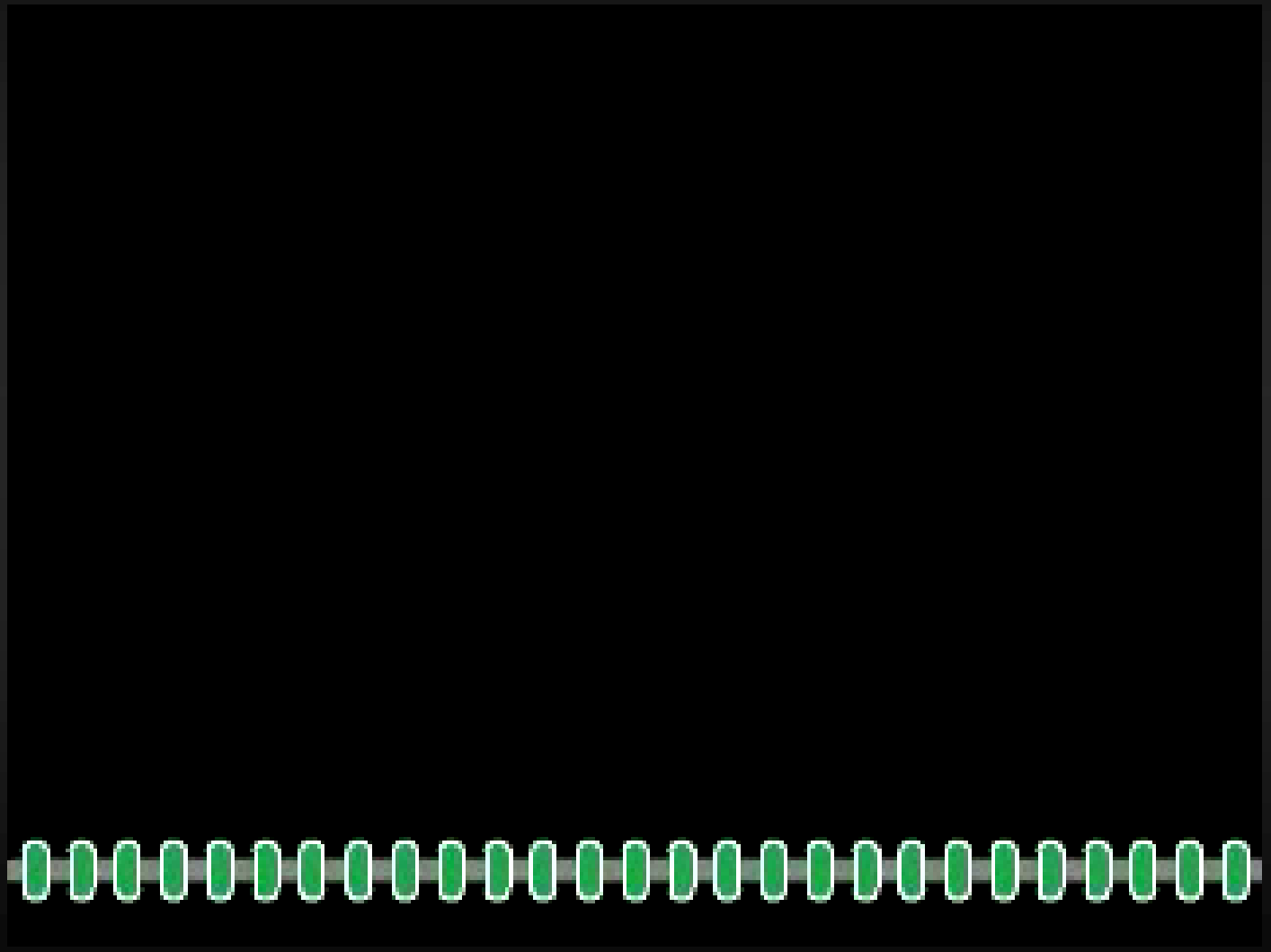
(interacciones proteína – proteína)

*Respuesta de tipo cuantitativo*



FRAP:  fluorescence recovery after photobleaching

Cuidado con el volumen de la animación, puede estar alto



# 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:

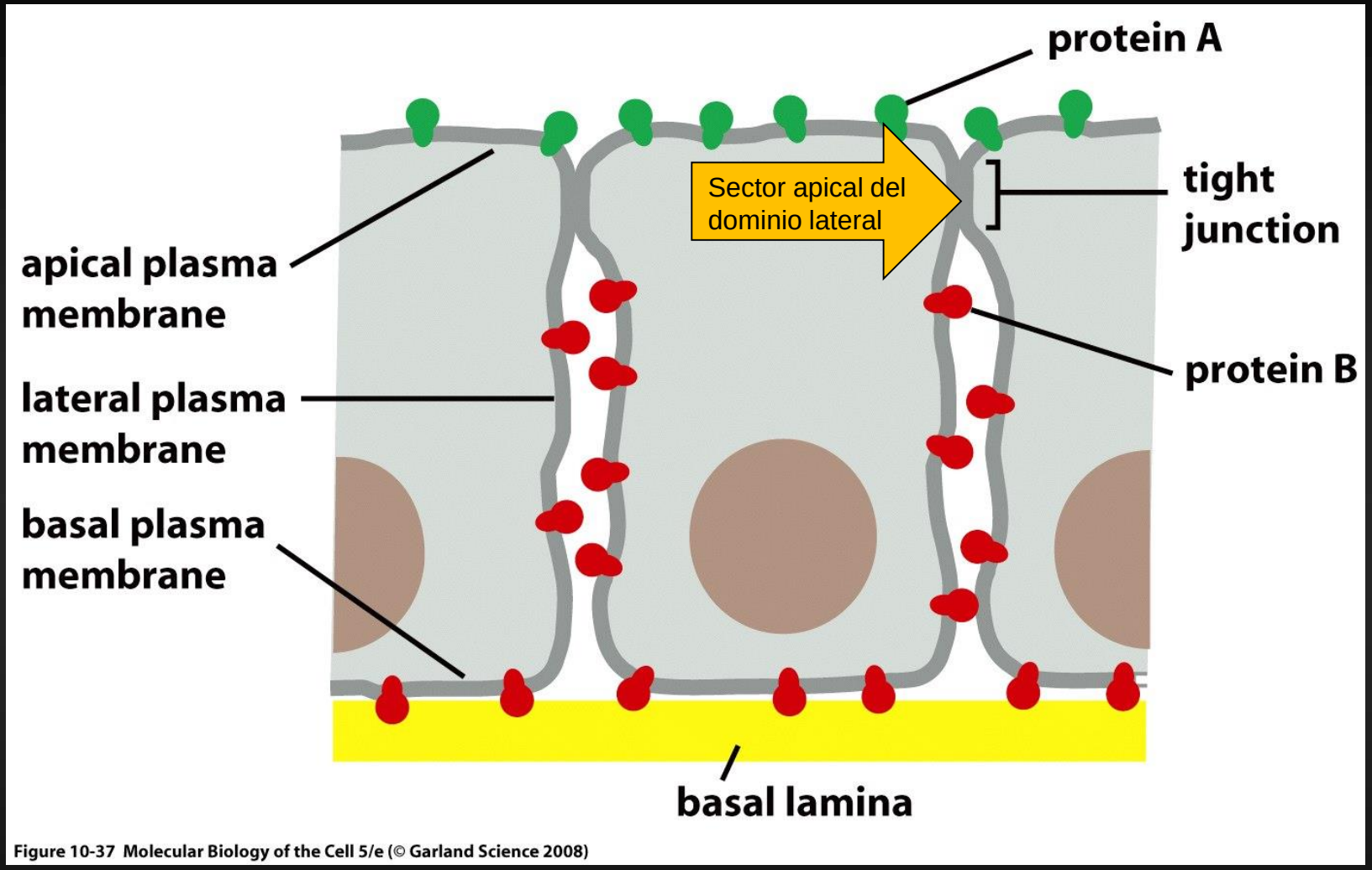
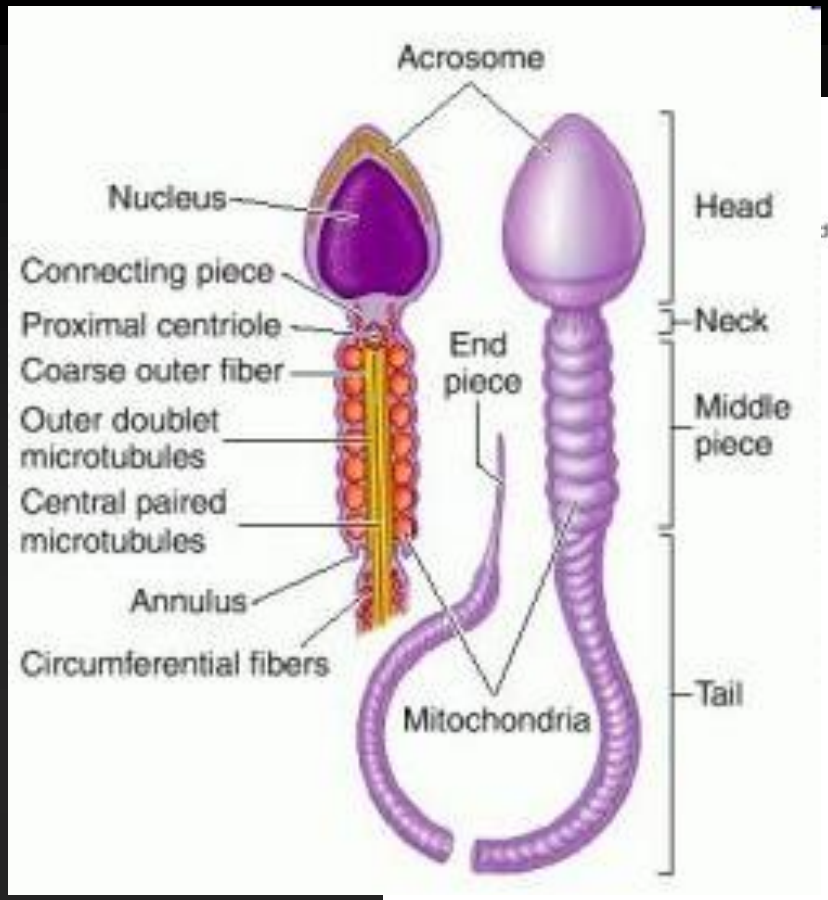
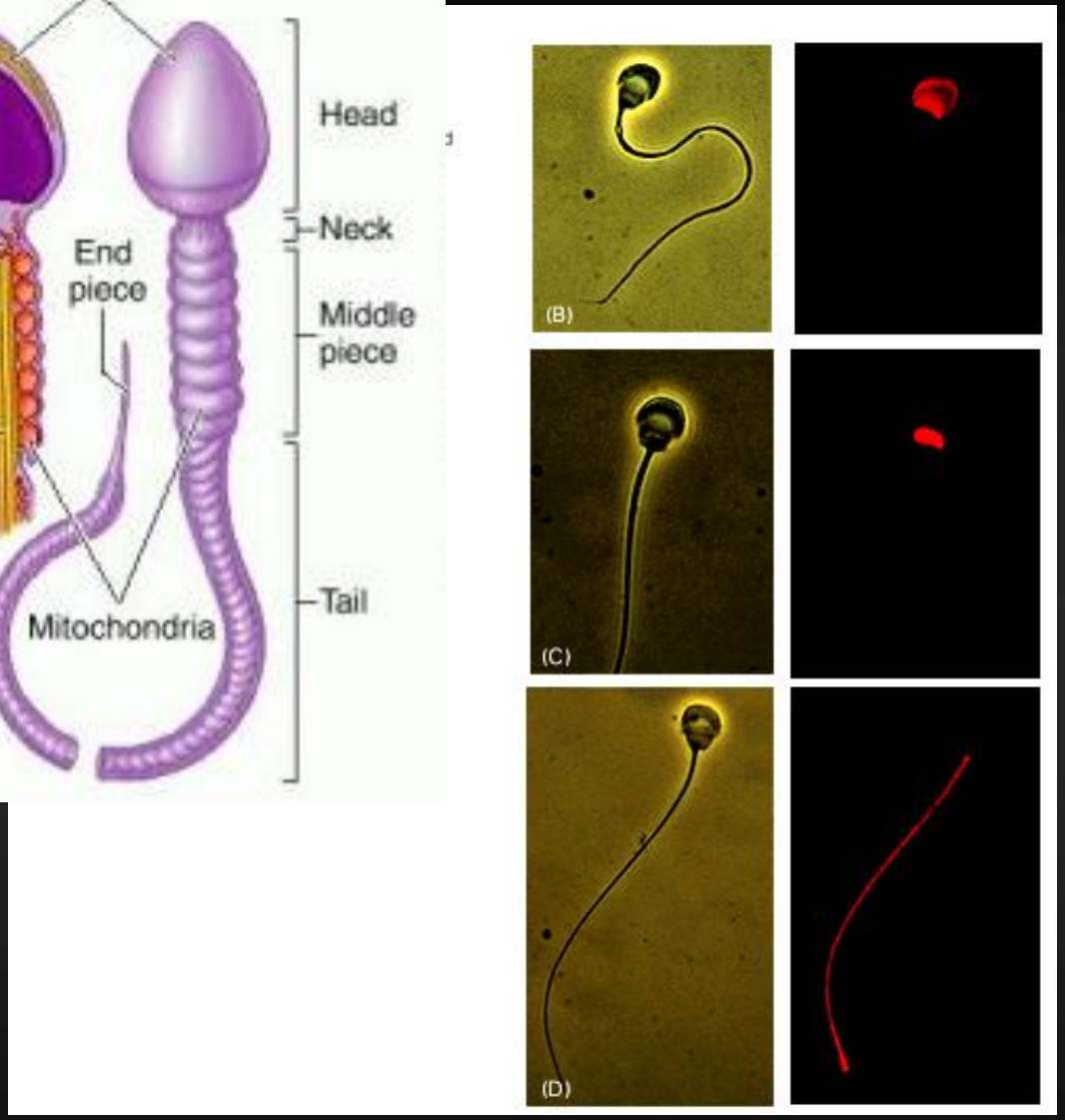



Figure 10-37 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

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

## Ensamblaje en cristales

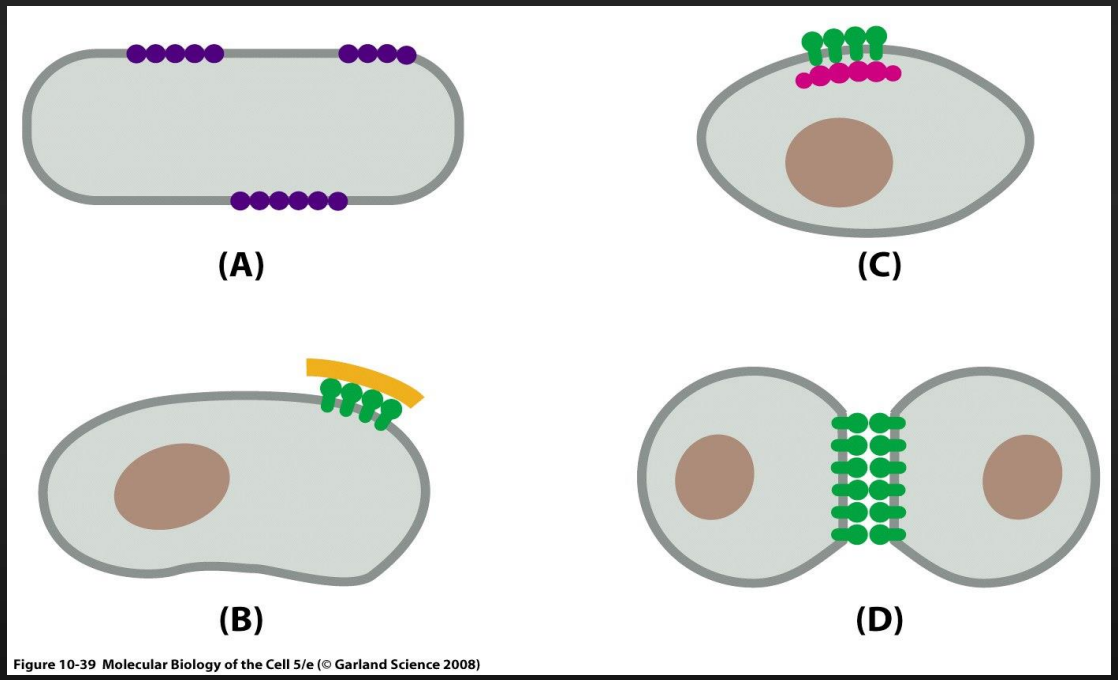


Figure 10-39 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

## Anclaje a ensamblados macromoléculares

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

## Entre células

# Proteínas con dominios hacia el exterior

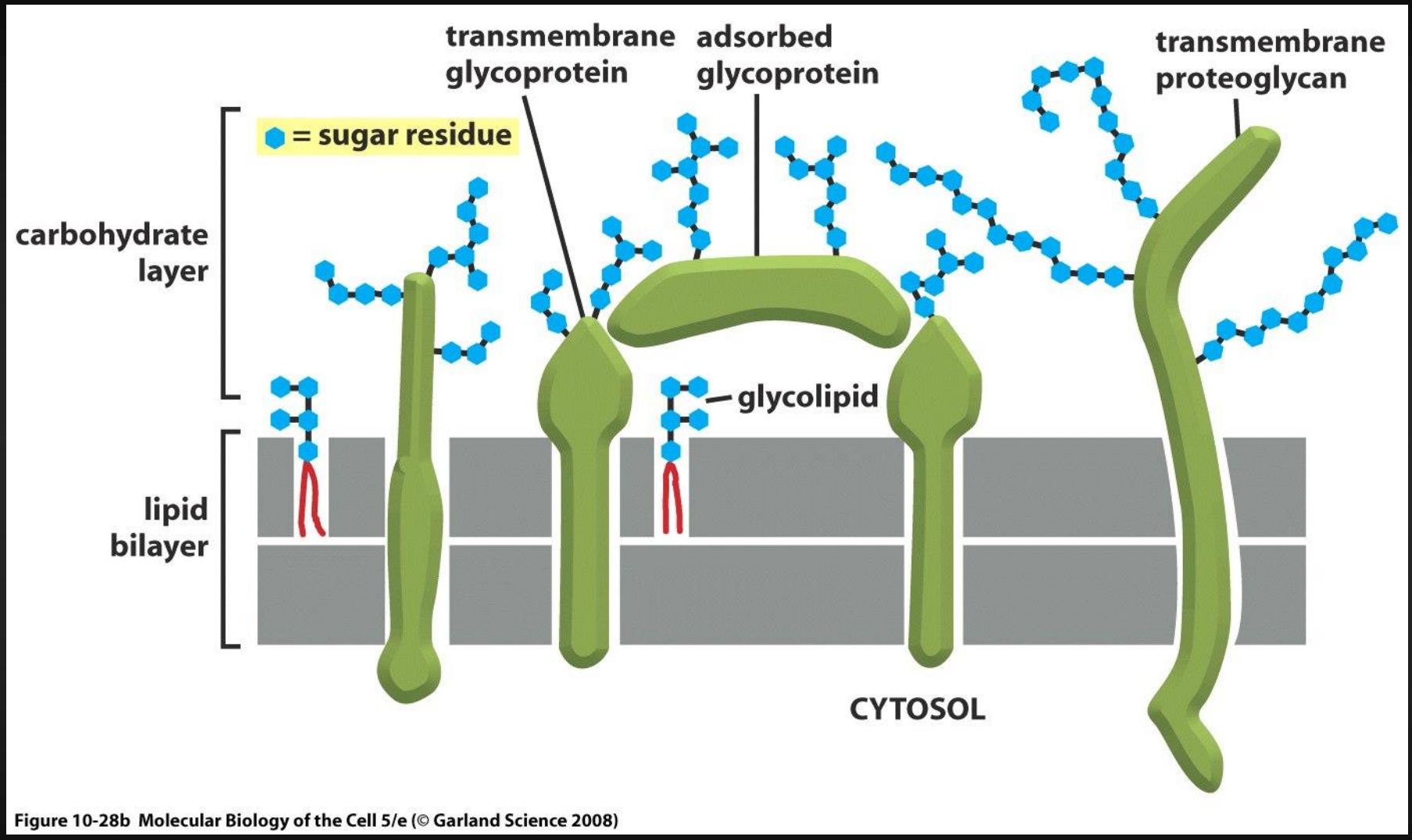



Figure 10-28b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

- no se exponen desnudas hacia el exterior de la célula

- carbohidratos asociados:

proteínas (glucoproteínas)
lípidos (glucolípidos)
proteoglucanos

**Cubierta celular o glucocáliz**

Oligosacáridos
Polisacáridos - proteoglucanos

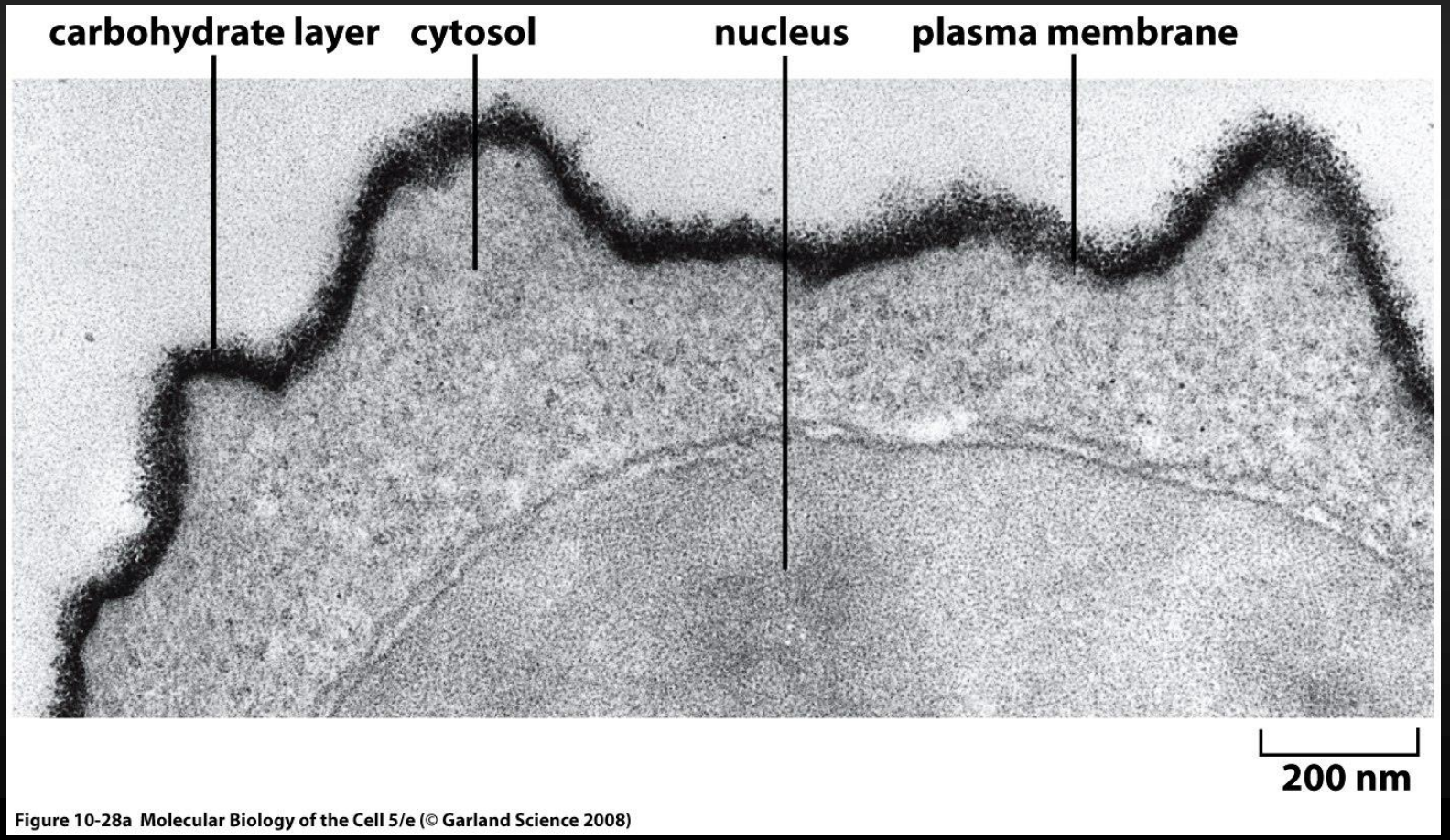



Figure 10-28a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

## 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☆,☆☆

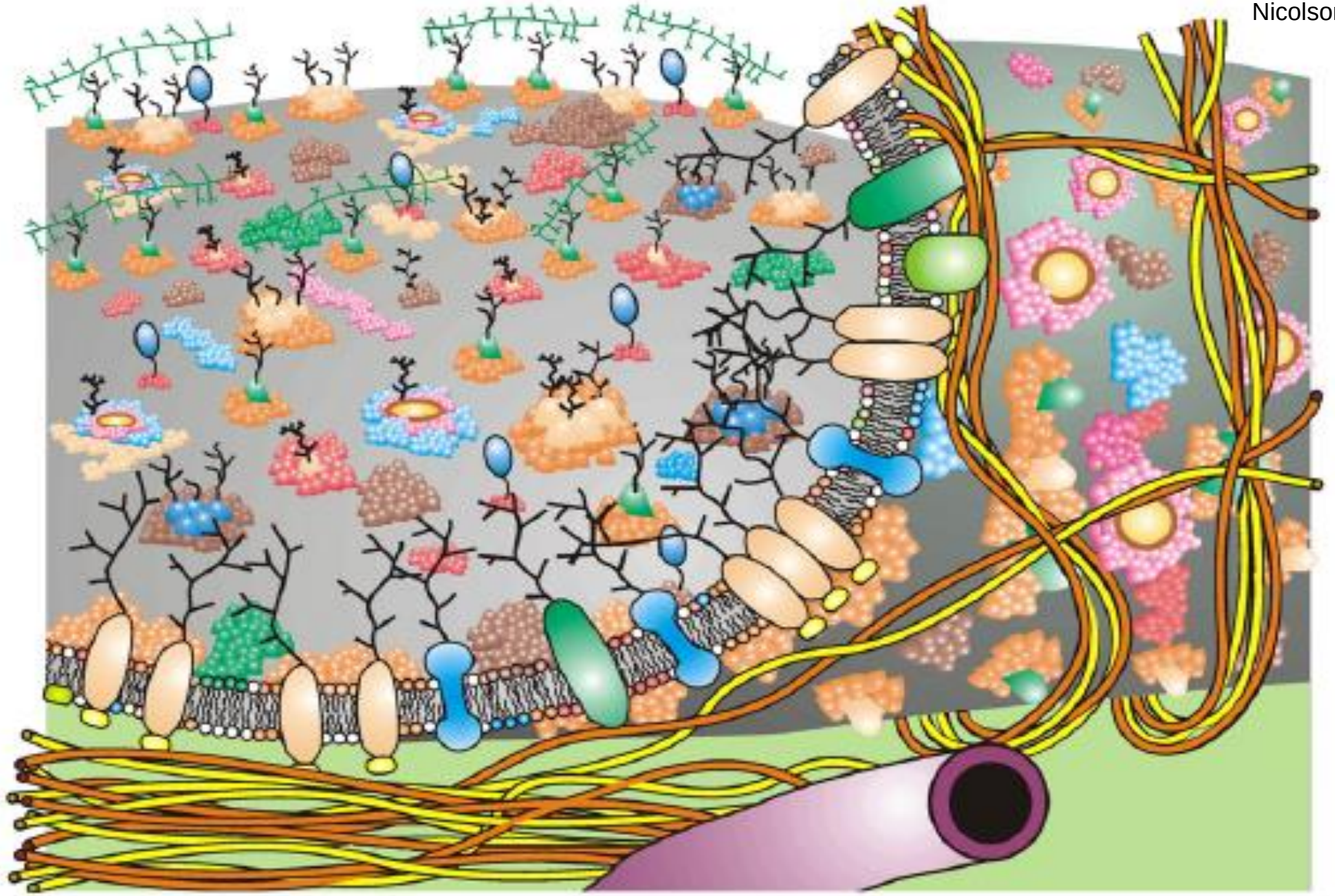
Garth L. Nicolson *

*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 reversibles, balsas lipídicas
2) Asociación con citoesqueleto

Nicolson, 2013



3) arquitectura dinámica: respuesta rápida a claves internas y externas
4) no autónomas: integradas a su entorno
5) moléculas: organización cooperativa,  no al azar, dominios reversibles

# En resumen:

- ***estructura de la membrana plasmática***

- son delgadas,  fluidas, muy dinámicas e integradas a su entorno
- evolución de los modelos
- capacidad de autosellado espontáneo en medio acuoso
- características de los lípidos y proteínas. Diversos/as, presentes en diferentes proporciones, definen las funciones biológicas que cumplen las membranas.
- distribución asimétrica en monocapas de componentes
- existencia de dominios específicos
- capacidad de difusión lateral
- aproximaciones experimentales