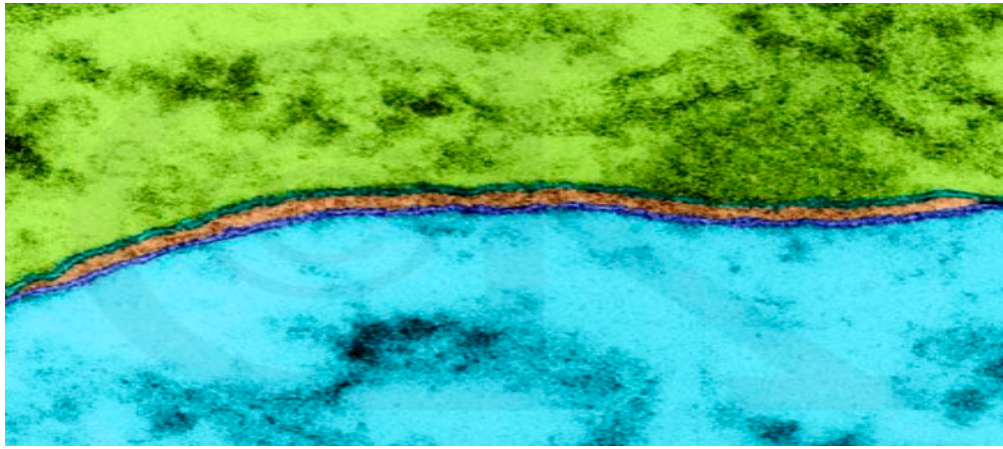
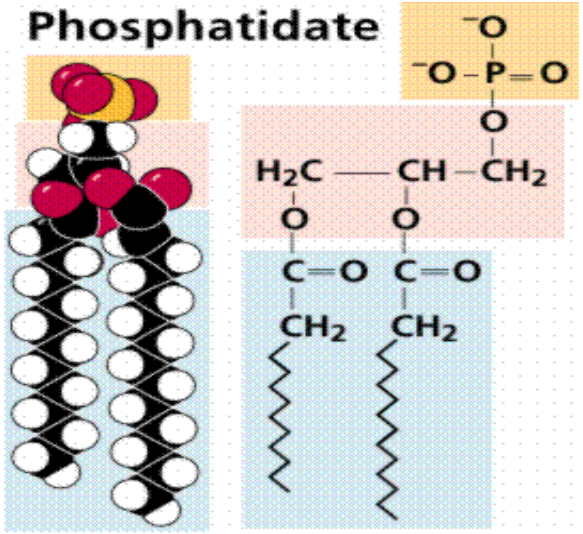
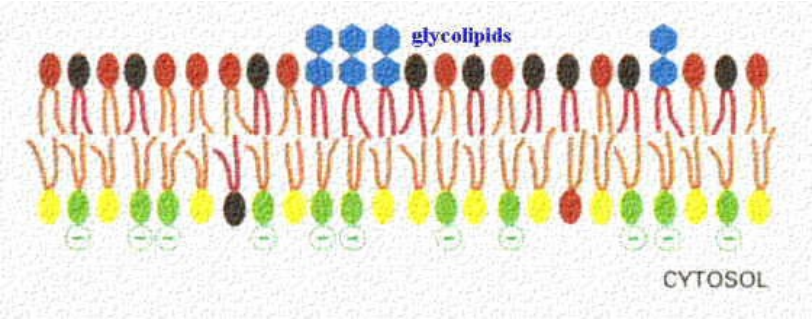
La membrana celular (membrana plasmática)

La membrana celular funciona como una barrera semipermeable.

Las moléculas más comunes en ella son los fosfolípidos (50% de la masa de la membrana son lípidos).



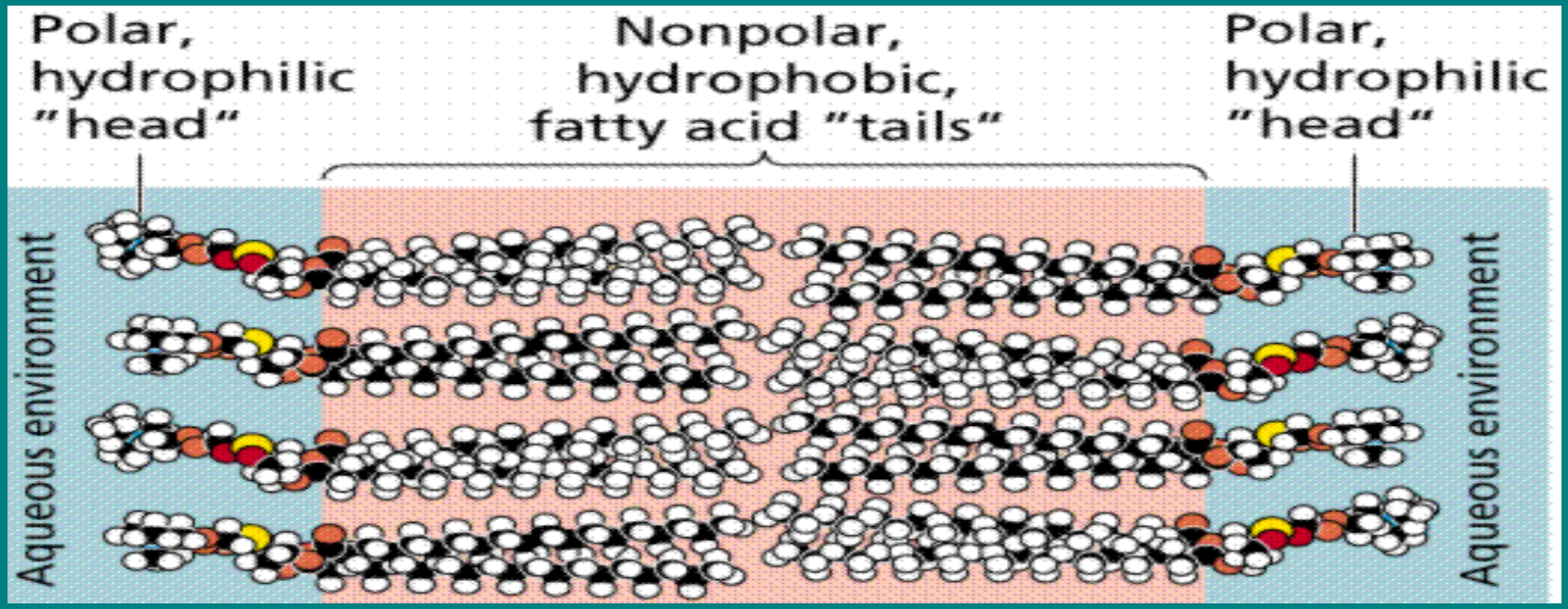




Hay aproximadamente $5x10^9$ moléculas de lípidos por um^2

Los fosfolípidos tienen una cabeza hidrofílica y dos colas hidrofóbicas y por eso forman una bicapa.

En la bicapa, los fosfolípidos están alineados “cola a cola”. Las zonas no polares forman una región hidrofóbica entre las cabezas hidrofílicas que apuntan hacia uno y otro lado de la membrana.



La bicapa lipídica le da a la membrana características de fluido. A temperaturas bajas, la bicapa está en un estado tipo “gel” con los lípidos muy empaquetados. A temperaturas más altas la bicapa es más fluida, lo que permite que las moléculas se desplacen (difundan) y roten.

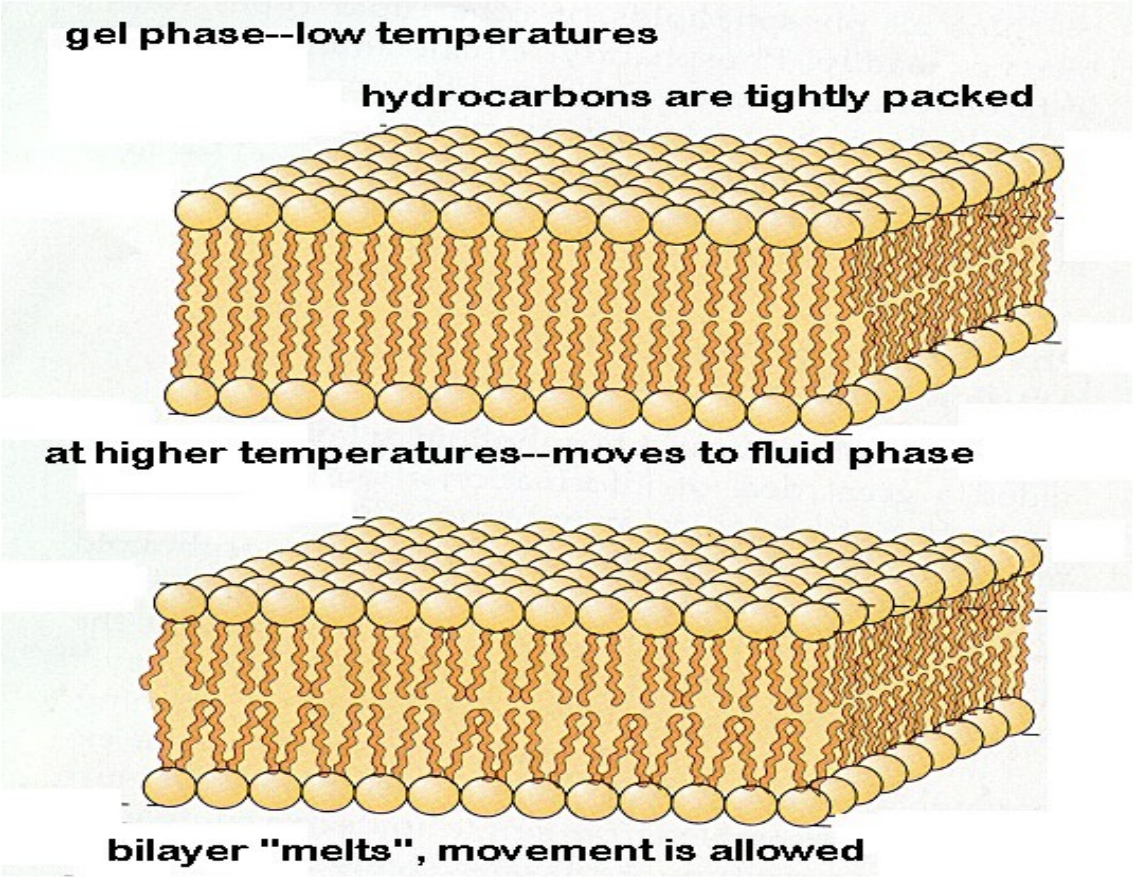
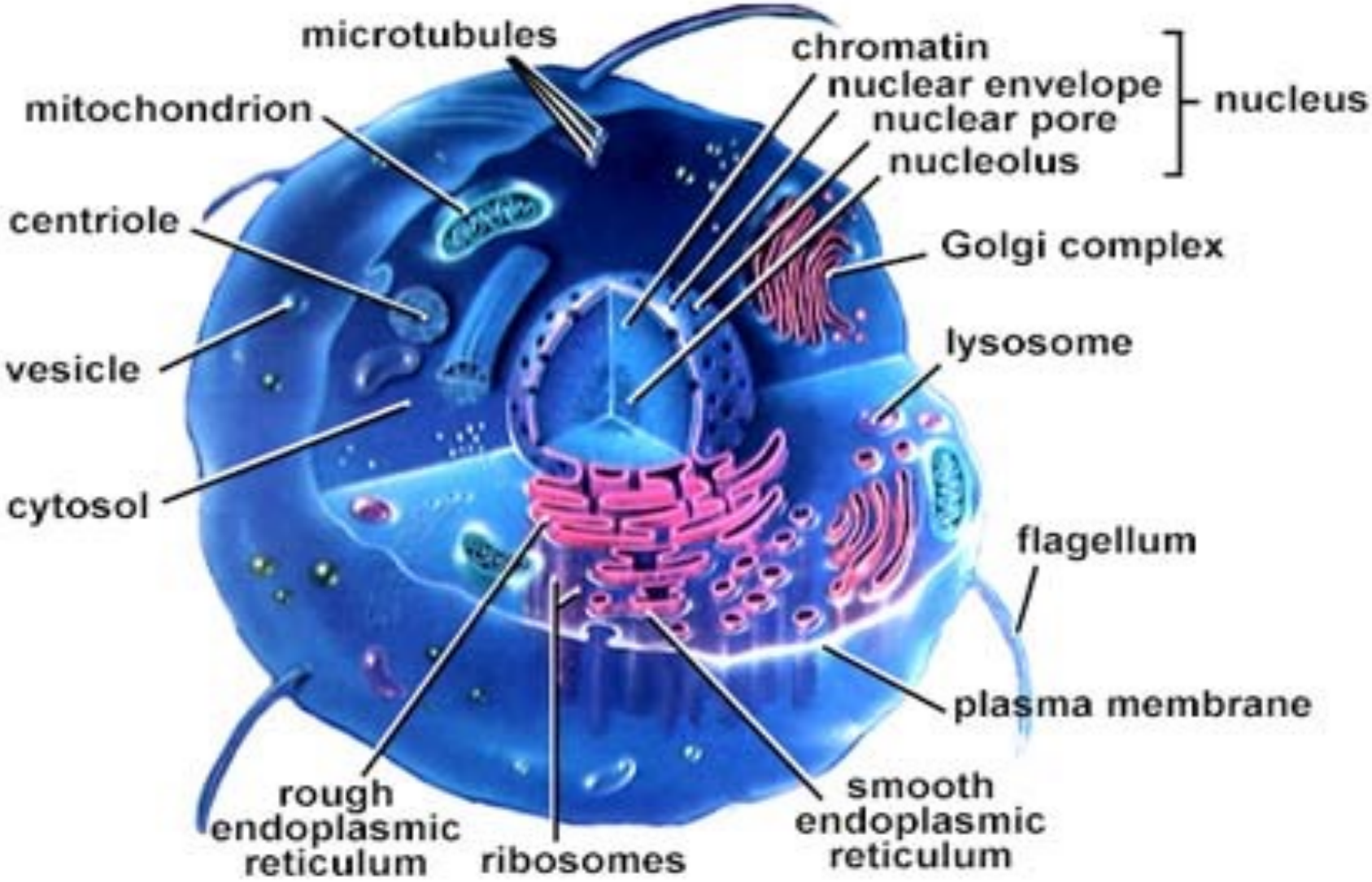


Figura de *Wolfe S.L., Molecular and Cellular Biology, Wadsworth Publishing Company, 1993.*

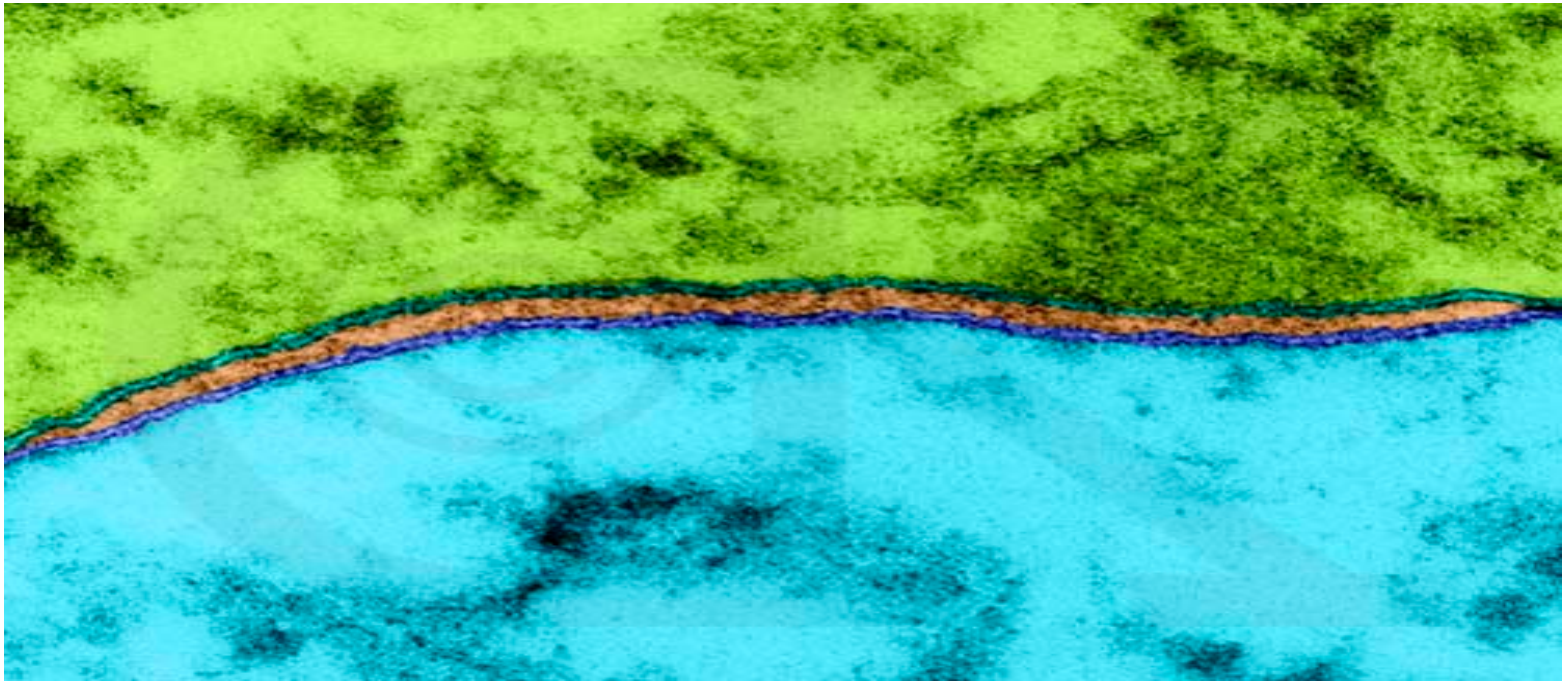
Las membranas aíslan distintas regiones.

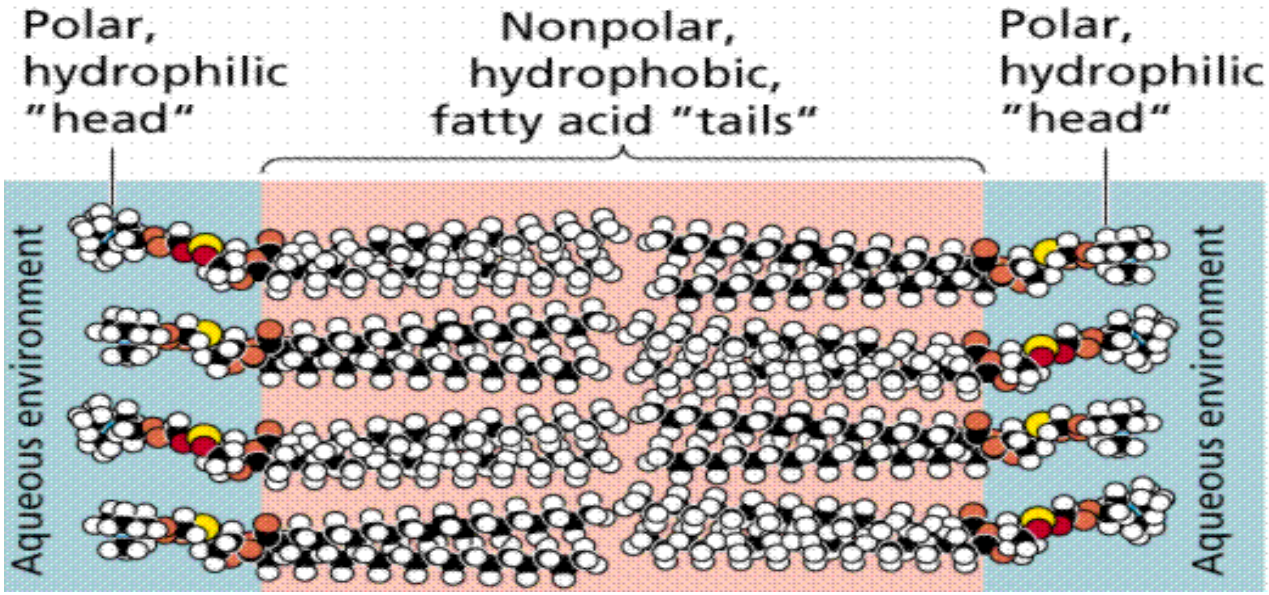


Animal cell

From http://www.biosci.uga.edu/almanac/bio_103/notes/may_15.html.

Membrana celular

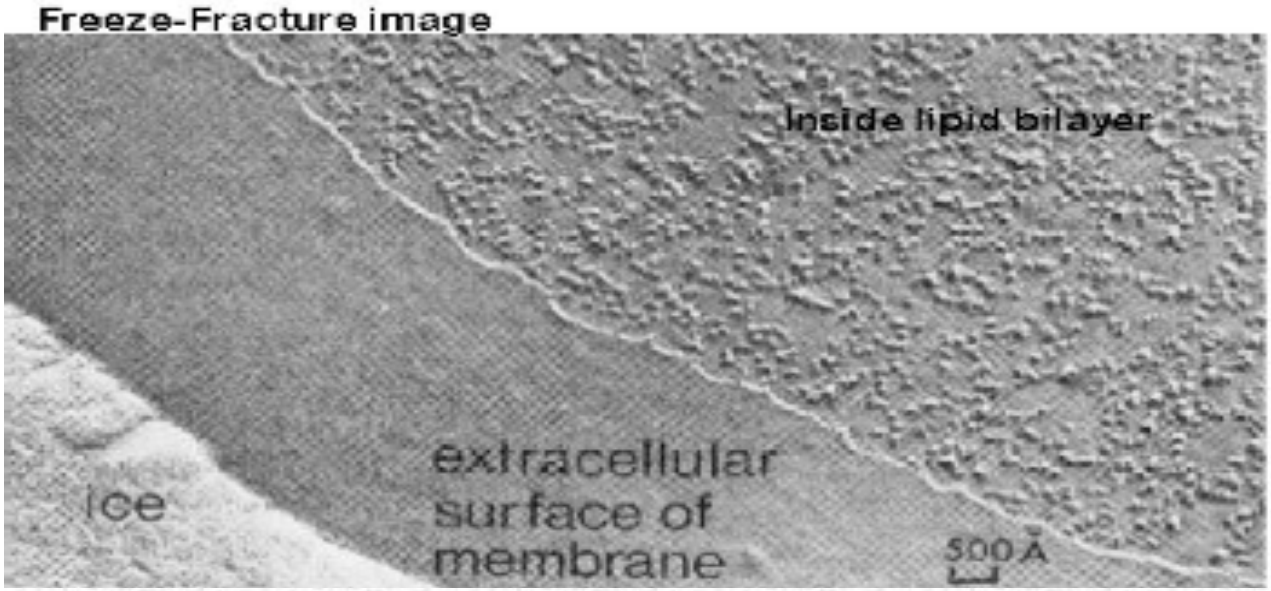


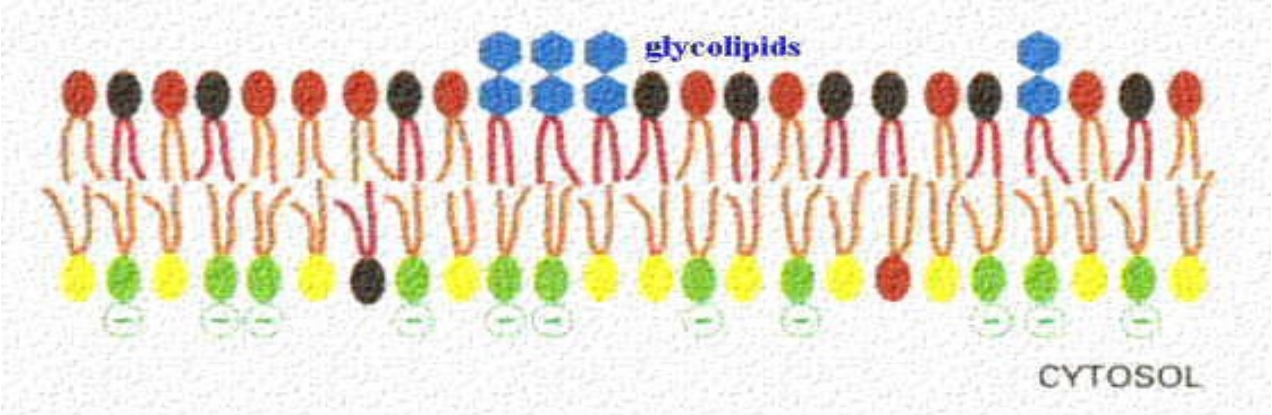


Un poco de historia

En 1930's-40's, Danielli y Dawson estudiaron las bicapas lipídicas sobre una superficie acuosa. Encontraron que se organizaban espontáneamente formando “gotas” con las cabezas polares apuntando hacia fuera. La tensión superficial de las gotas era mayor que la de las células, pero la misma disminuía si se agregaban proteínas. En ese caso las membranas se “achataban”.

Interior de la membrana que muestra todas sus “irregularidades”, las que corresponden a proteínas que se encuentran insertas en ella.





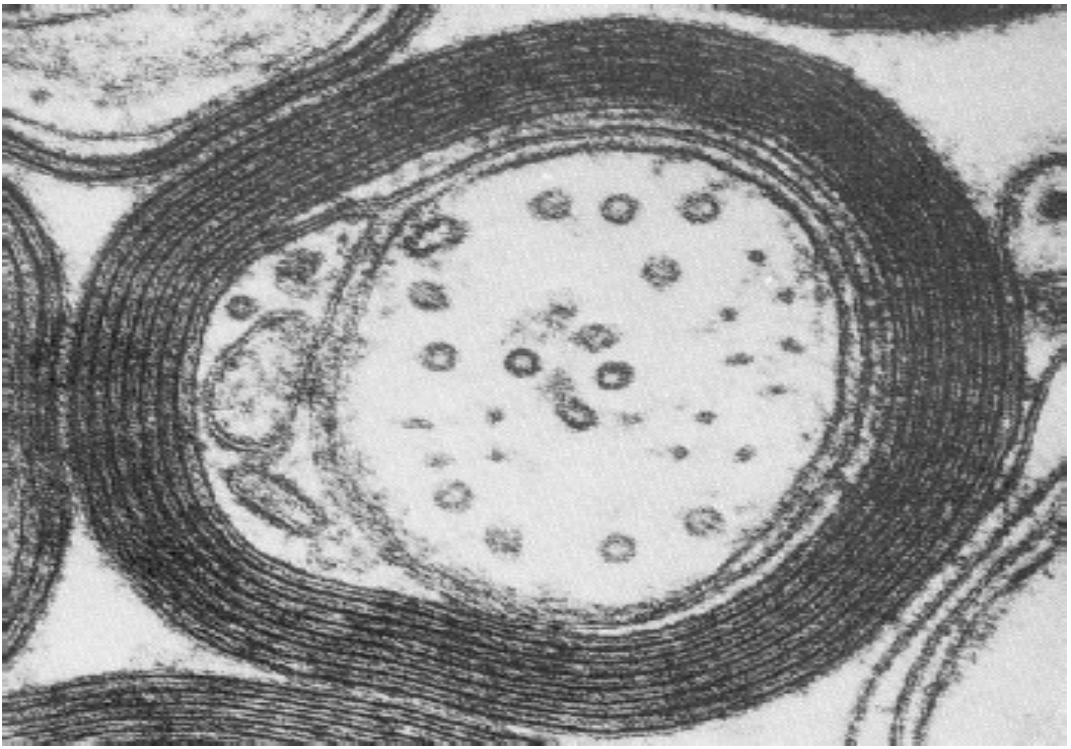
La membrana es asimétrica. Está compuesta por distintos tipos de lípidos. Algunos están siempre de uno de los lados.

Todas las membranas contienen proteínas y lípidos en proporciones que dependen de la membrana de que se trate:

•La mielina, que aísla fibras nerviosas, contiene 18% de proteína y 76% de lípidos.

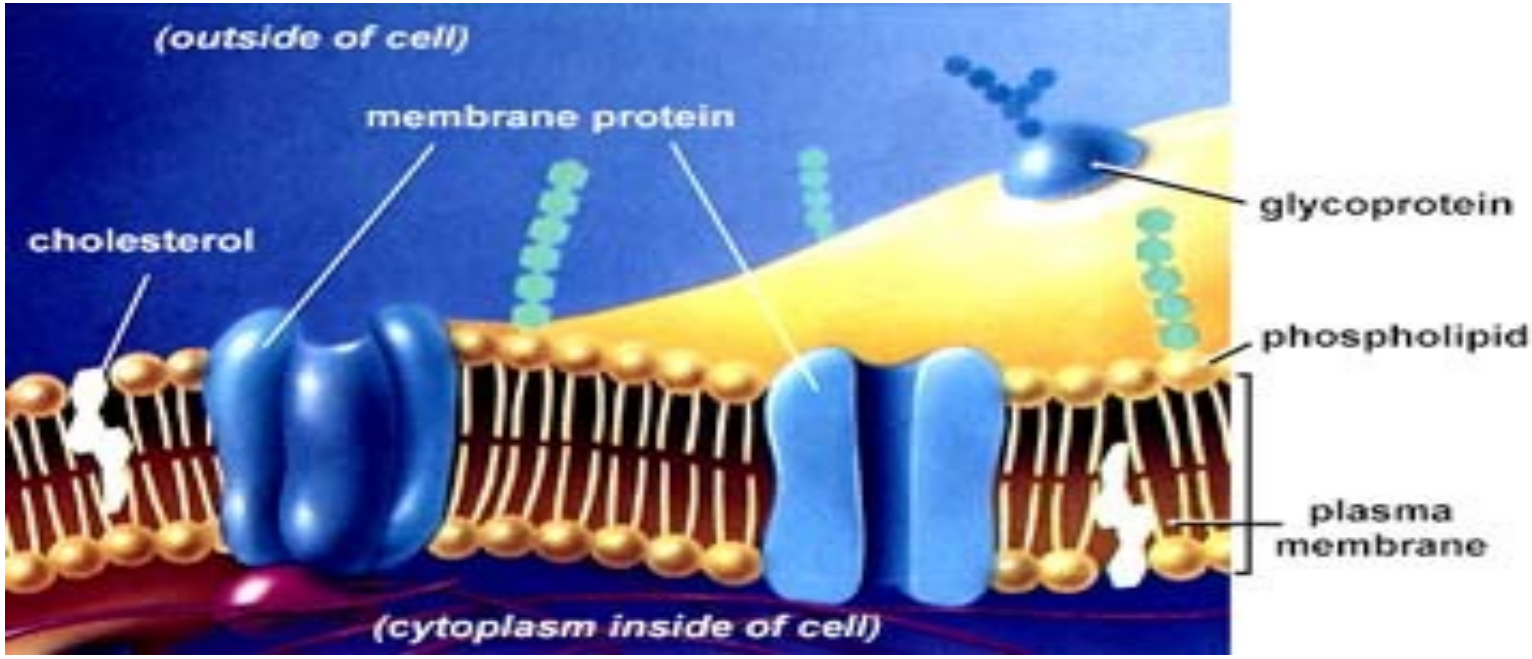
•La membrana interna de las mitocondrias contiene 76% de proteína y 24% de lípidos.

•La membrana plasmática de los glóbulos rojos de los humanos contienen 44.5% de proteínas y 43.5% de lípidos.

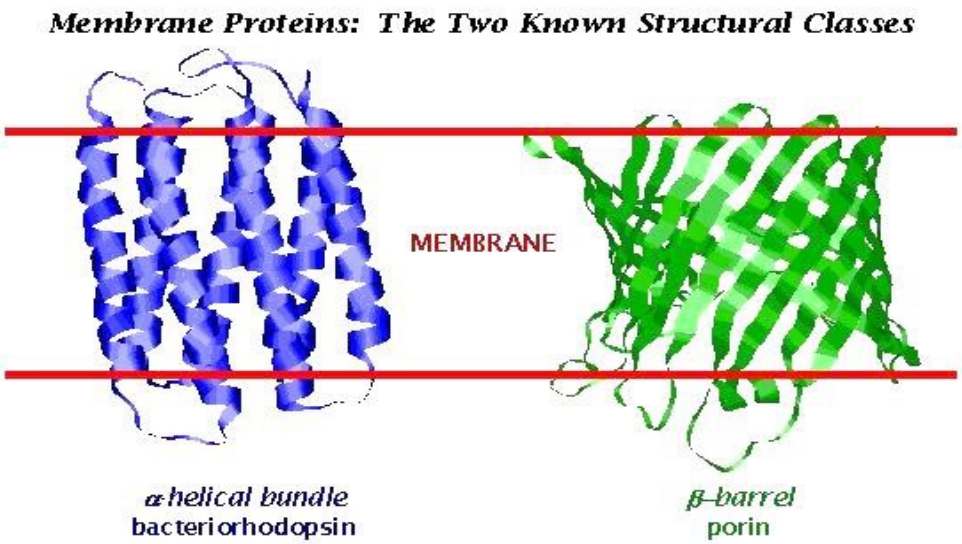


An electron micrograph of myelin

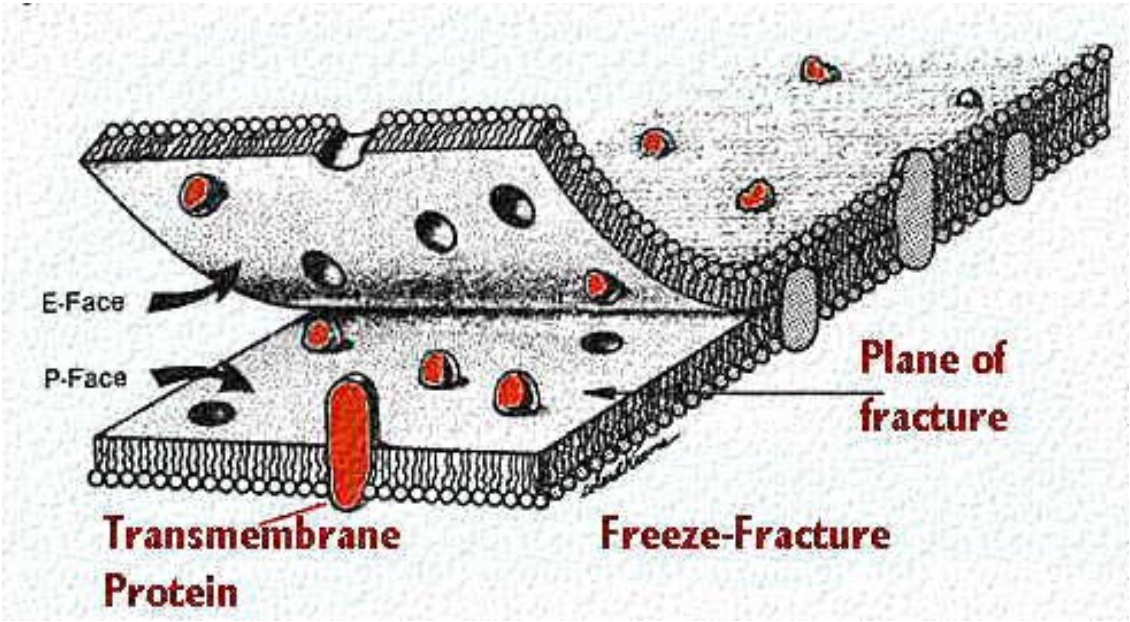
La membrana es una barrera para el paso de iones o moléculas polares.



El transporte de iones inorgánicos y de moléculas pequeñas solubles en agua se lleva a cabo a través de proteínas especializadas.



Este transporte es llevado a cabo por proteínas transmembranales.

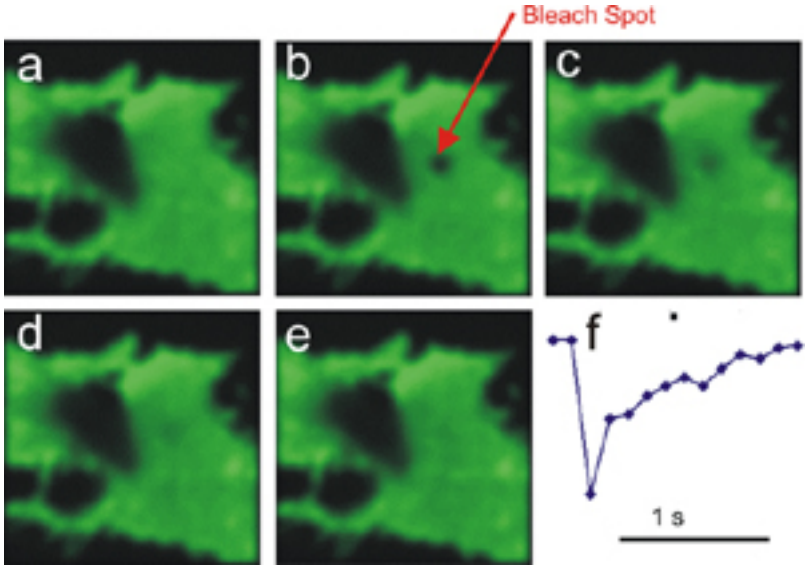


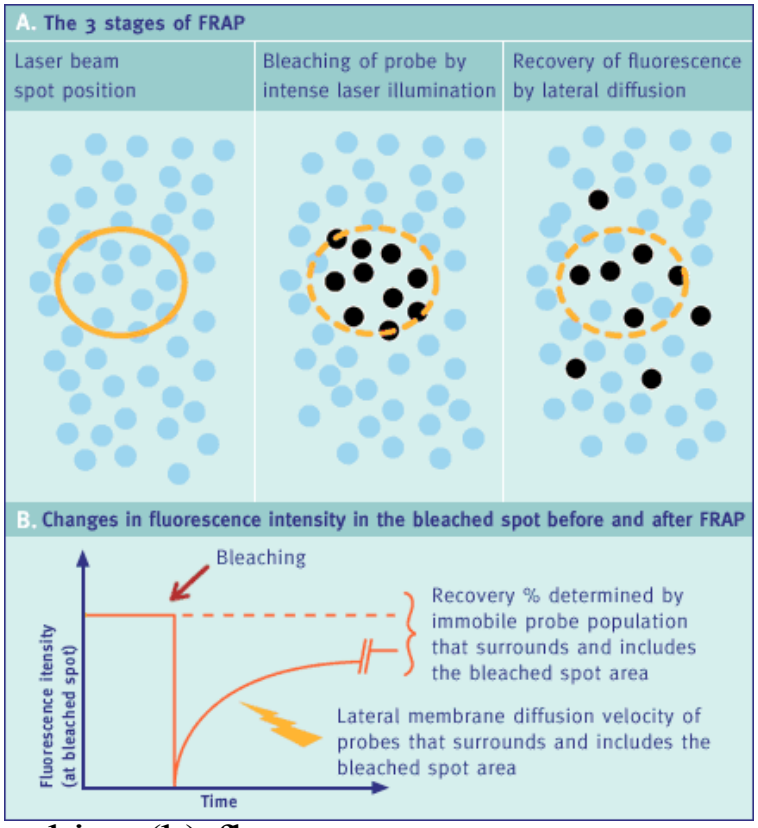
Las proteínas transmembranales atraviesan la membrana de un lado a otro.
Las proteínas de membrana pueden rotar o difundir lateralmente (muy muy lentamente) en la membrana.
Las células pueden confinar algunas proteínas de membrana a regiones específicas.

Ya vimos que una técnica muy utilizada para estudiar transporte de proteínas en membranas es:

Fluorescence Recovery after Photobleaching (FRAP)

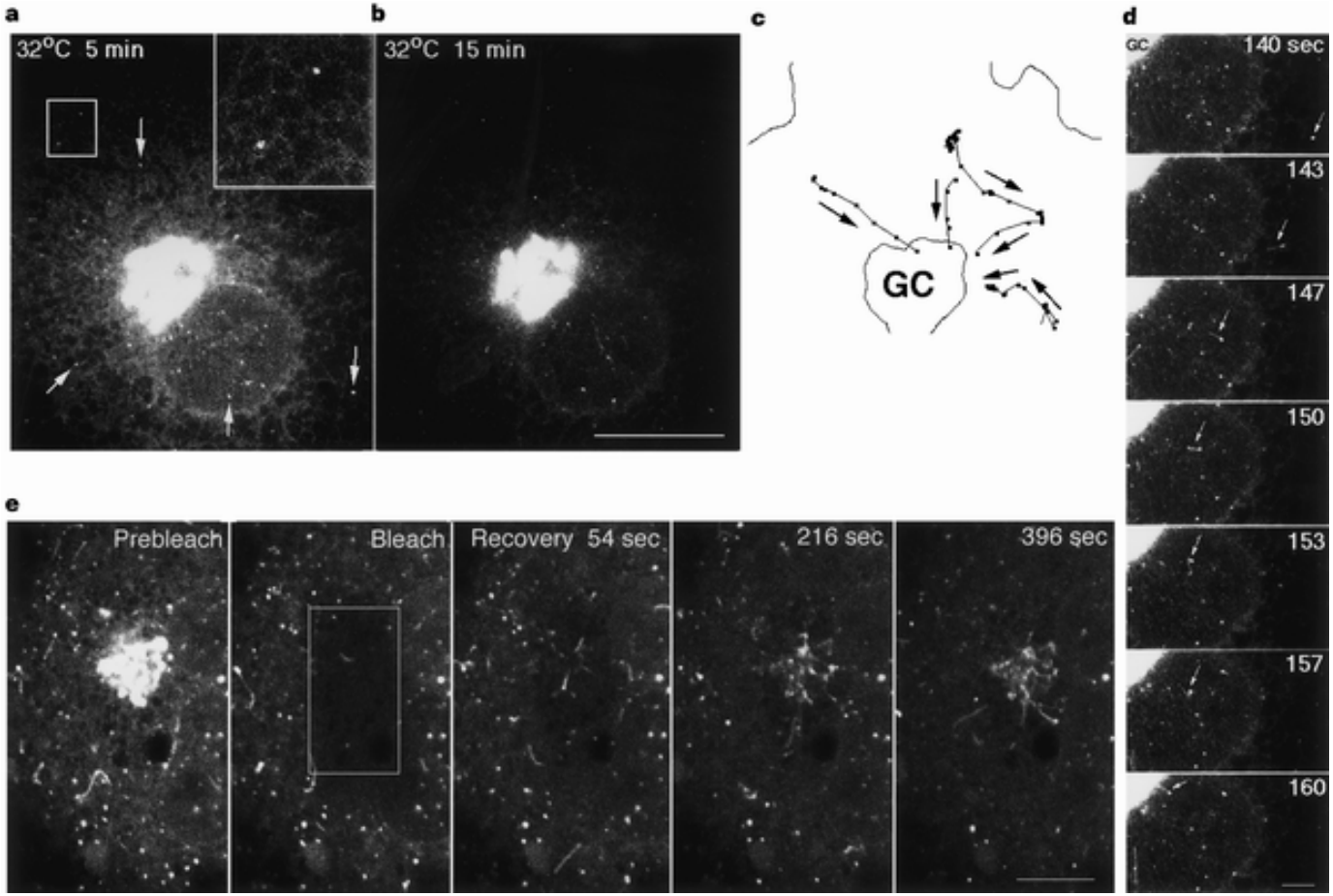
Es muy usada para estimar difusión de proteínas.



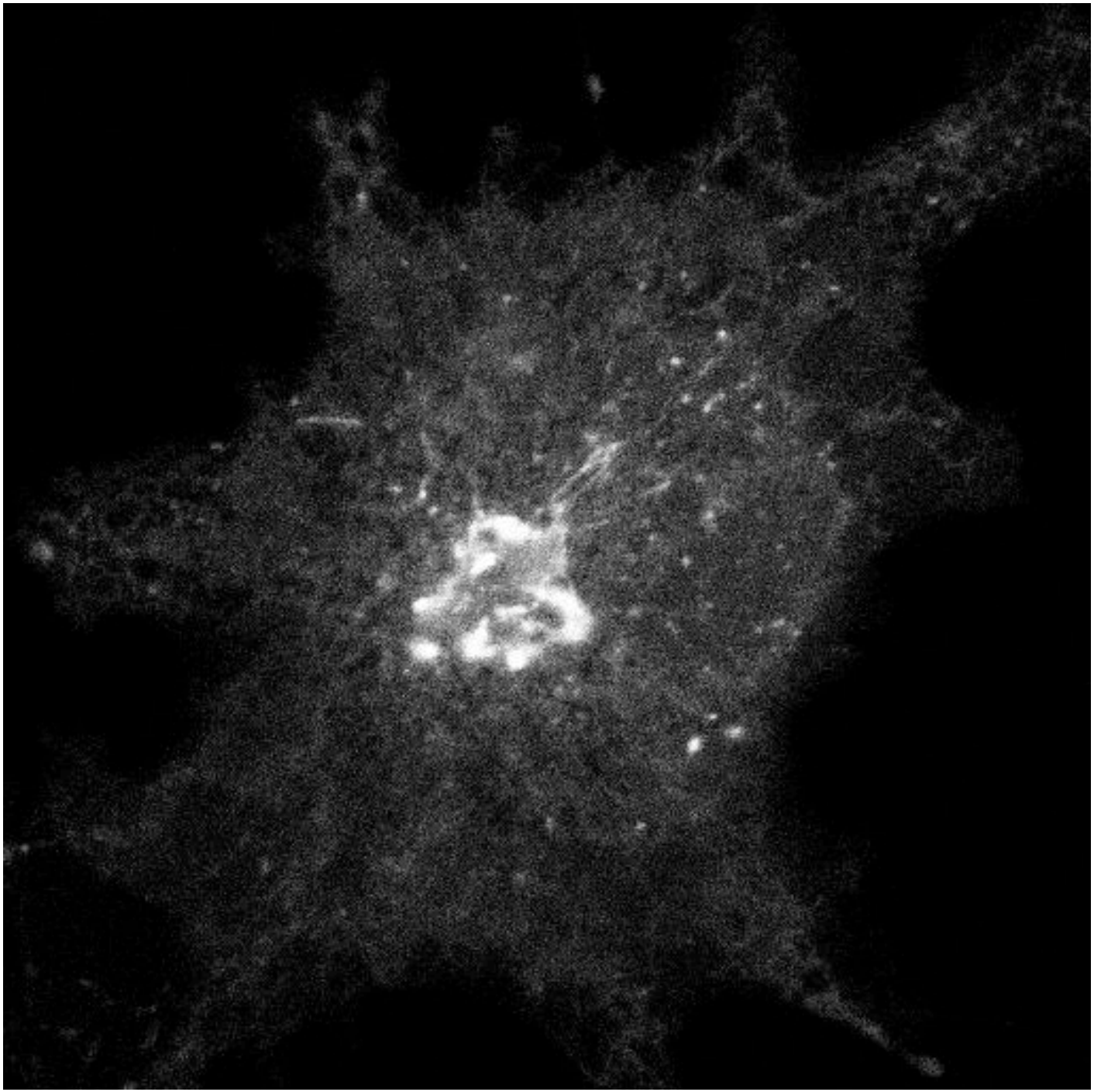


A N1E-115 cell, labelled with fluorescent PIP2. After bleaching (b) fluorescence recovers within a second in the bleach sport (f)
De: http://research.nki.nl/jalinklab/Homepage%20Phys&ImgGrp%20FRAP-FLIP.htm

La técnica puede usarse para estudiar otros tipos de transporte también

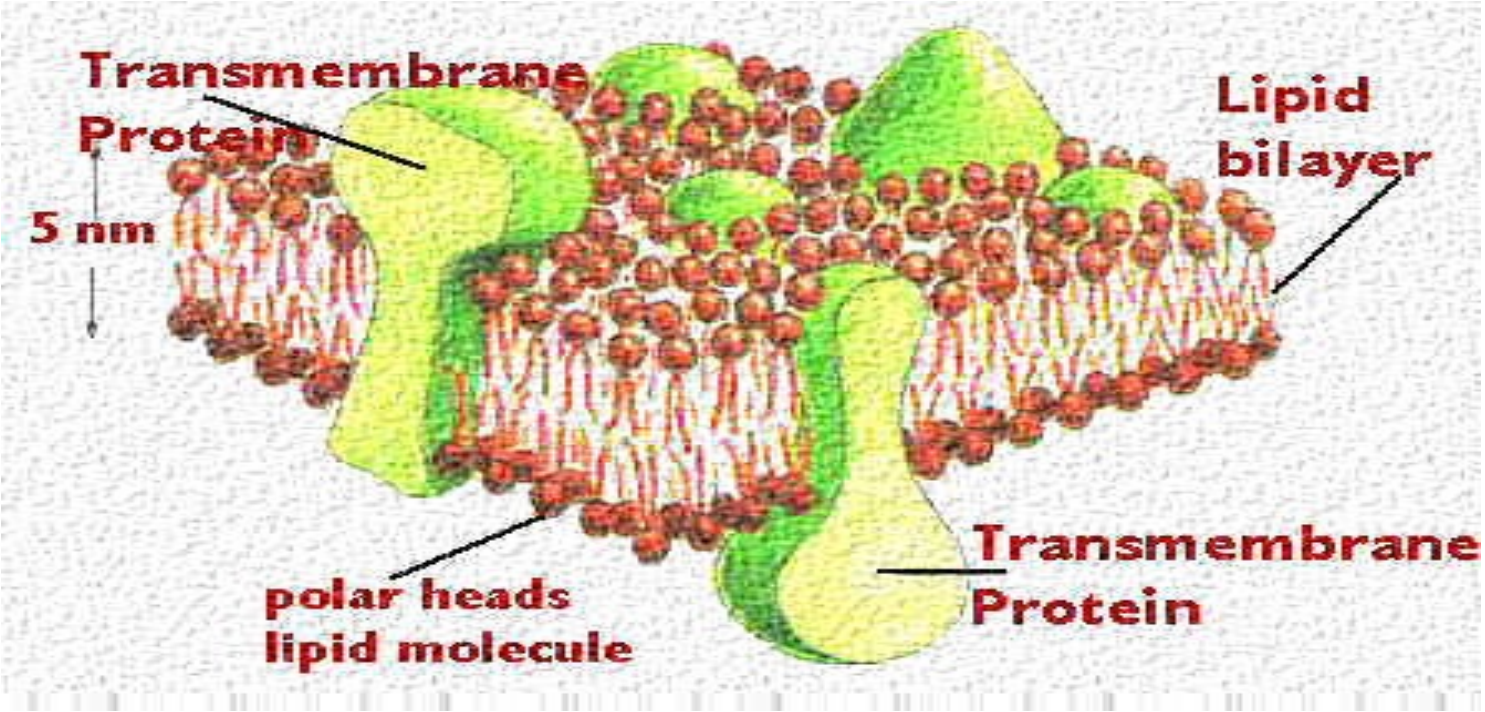


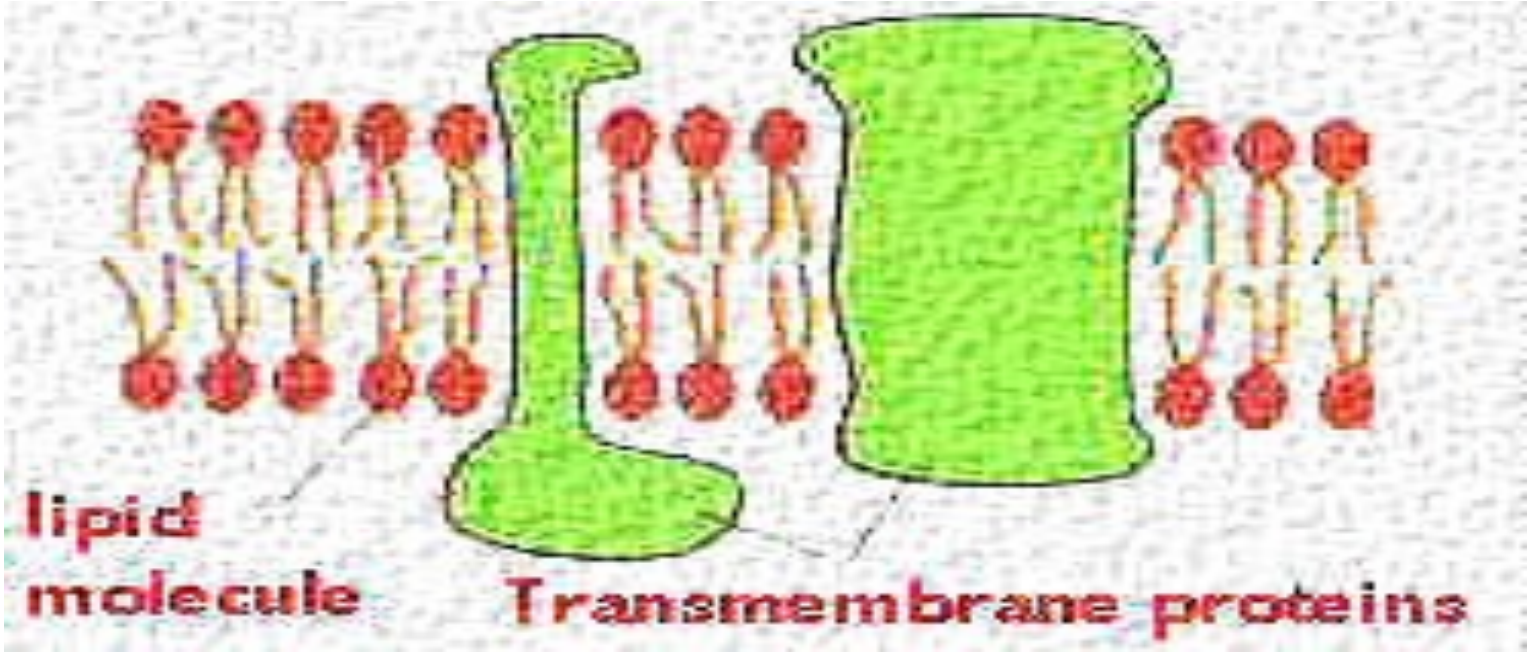
e,VSVG-GFP-expressing COS cells were incubated for 12 h at 40°C, shifted to 15°C for 3h and then warmed to 32°C. Fluorescence associated with the Golgi complex was photobleached with high-intensity laser light and subsequent inward delivery of VSVG-GFP from pre-Golgi intermediates followed over the time periods indicated. Scale bar, 9.6 m. De Presley et al, Nature 389 81-85 (1997)



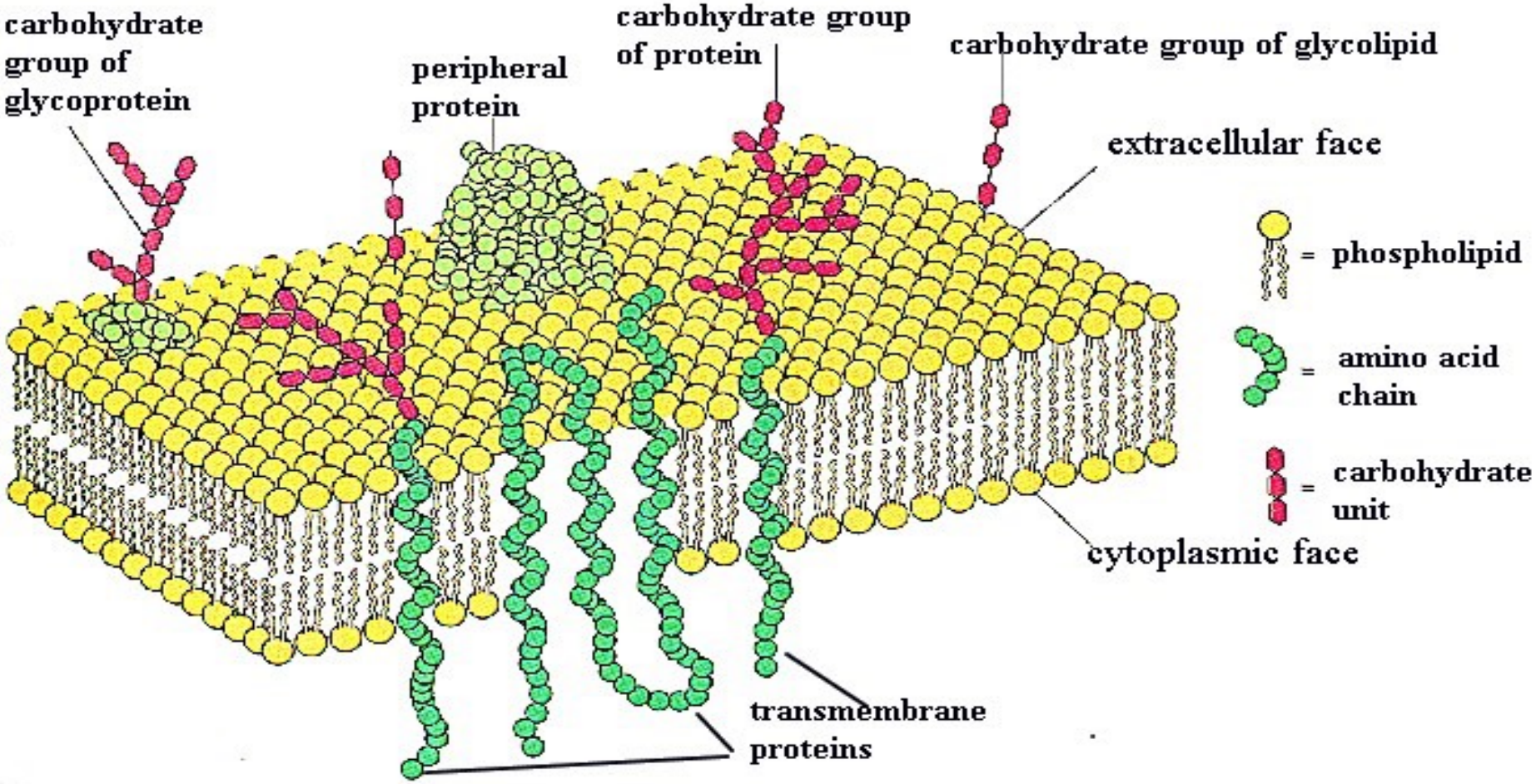
De Presley et al,
Nature 389
81-85 (1997)

Volvamos a las membranas





Las proteínas transmembranales tienen regiones hidrofóbicas y otras hidrofílicas.



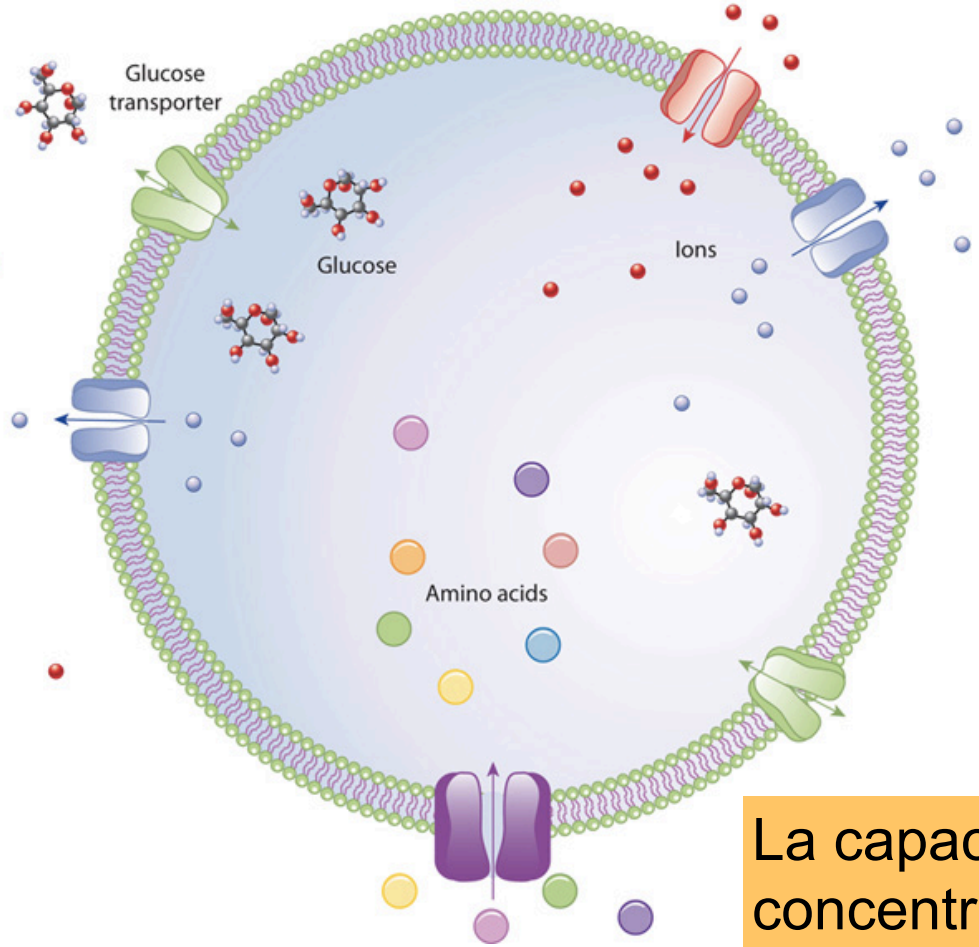
No todas las proteínas membranales atraviesan las membranas de lado a lado. Son proteínas periféricas.

La existencia de membranas permite:

- La segregación de sustancias
- La existencia de altas concentraciones de ciertas sustancias en regiones específicas
- La existencia de gradientes de concentraciones que pueden ser usados como fuente de energía.

Si bien las células son globalmente neutras, puede haber un pequeño desbalance de carga sobre las superficies de la membrana. En este caso hay un campo eléctrico dentro de la membrana.

El aislamiento tiene sus aspectos positivos, pero la célula necesita pasar sustancias (hidrofílicas) a través de la membrana. Esta tarea es usualmente llevada a cabo por las proteínas transmembranales.

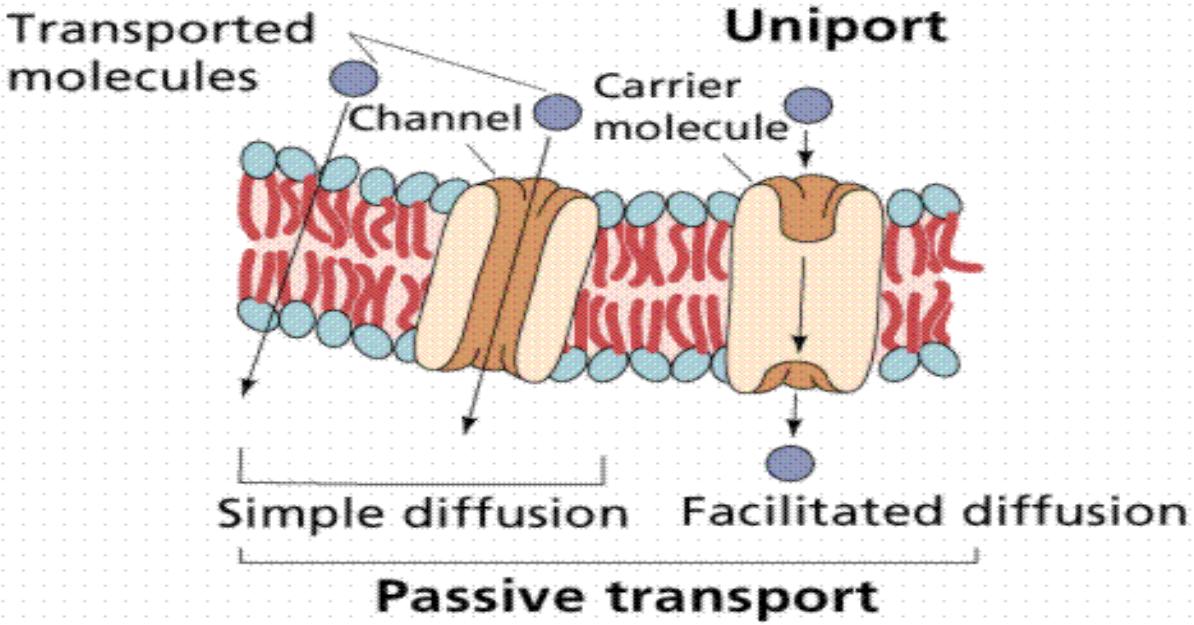


Las proteínas transmembranales encargadas del transporte de sustancias son específicas y selectivas para las moléculas que mueven. A veces usan energía para catalizar el paso. En otros casos transportan sustancias contra sus gradientes de concentración, lo que requiere energía adicional.

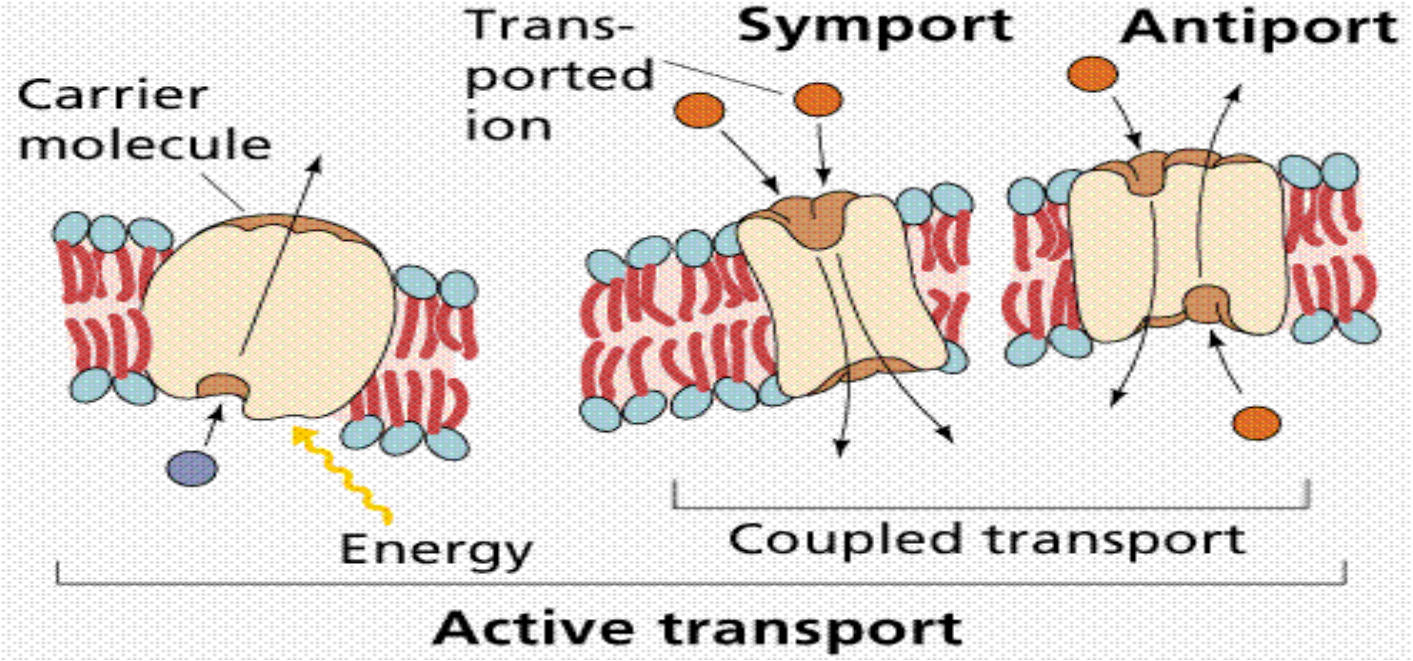
La capacidad de mantener gradientes de concentración y, a veces, mover materiales contra ellos es vital para la salud y el mantenimiento de las células.

Gracias a las barreras de membrana y las proteínas de transporte, la célula puede acumular nutrientes en concentraciones superiores a las que existen en el medio ambiente y, a la inversa, deshacerse de los productos de desecho.

El transporte puede ser pasivo o activo.

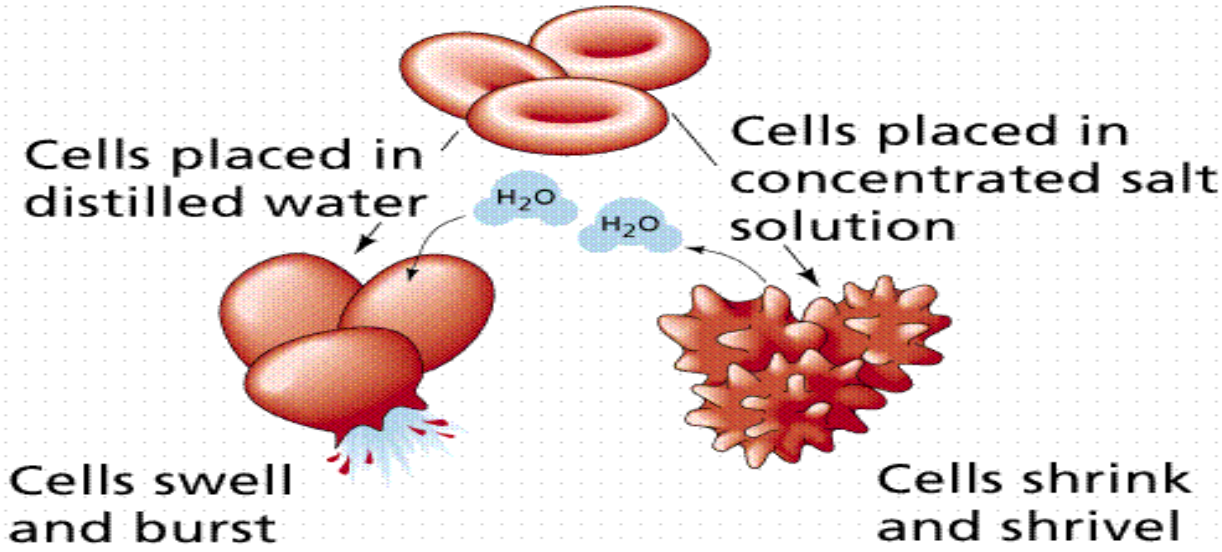


Canales se cierran y se abren
Las proteínas de acarreo tienen partes móviles para llevar "cosas" un lado a otro (su comportamiento se parece al de las reacciones enzimáticas. Pueden ser inhibidas).
Difusión facilitada: la sustancia se asocia a otra para poder pasar.



Necesita acoplar el transporte a la hidrólisis de ATP. Algunos autores llaman transporte activo al de la derecha, donde se "usa"el gradiente electroquímico de una sustancia para transportar otra contra su gradiente.

Las membranas no son impermeables a todas las sustancias. Ej: O_2 y CO_2 (no polares, se disuelven en los lípidos). Agua y urea (polares pero "chicas").

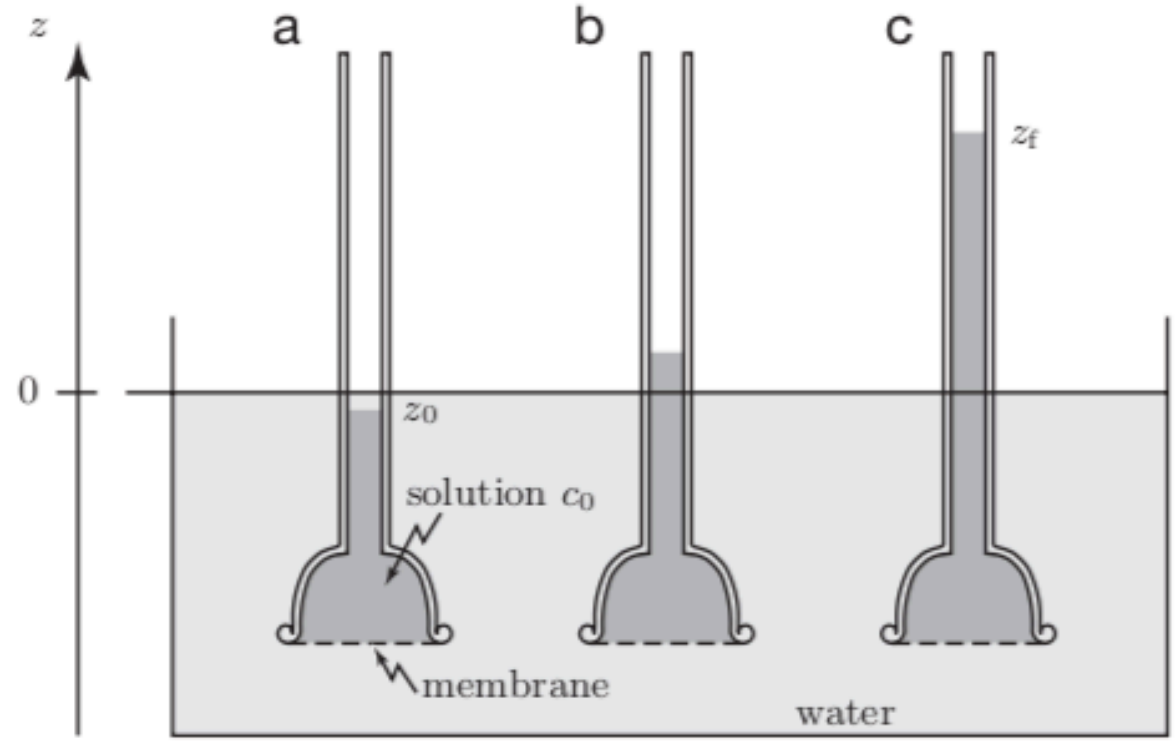


Osmosis

Es necesario mantener las concentraciones adecuadas de solutos para evitar que el volumen de la célula varíe dramáticamente.

Permeabilidad de la membrana al agua ~ 10^{-2} cm/s (D/l)

Impermeables a los iones



Supongamos una membrana semipermeable que deja pasar las moléculas de agua pero no las de soluto disueltas en ella (figura libro P. Nelson).

Aparece entonces una presión osmótica que hace que pase agua hacia el lado de la solución para compensarla.

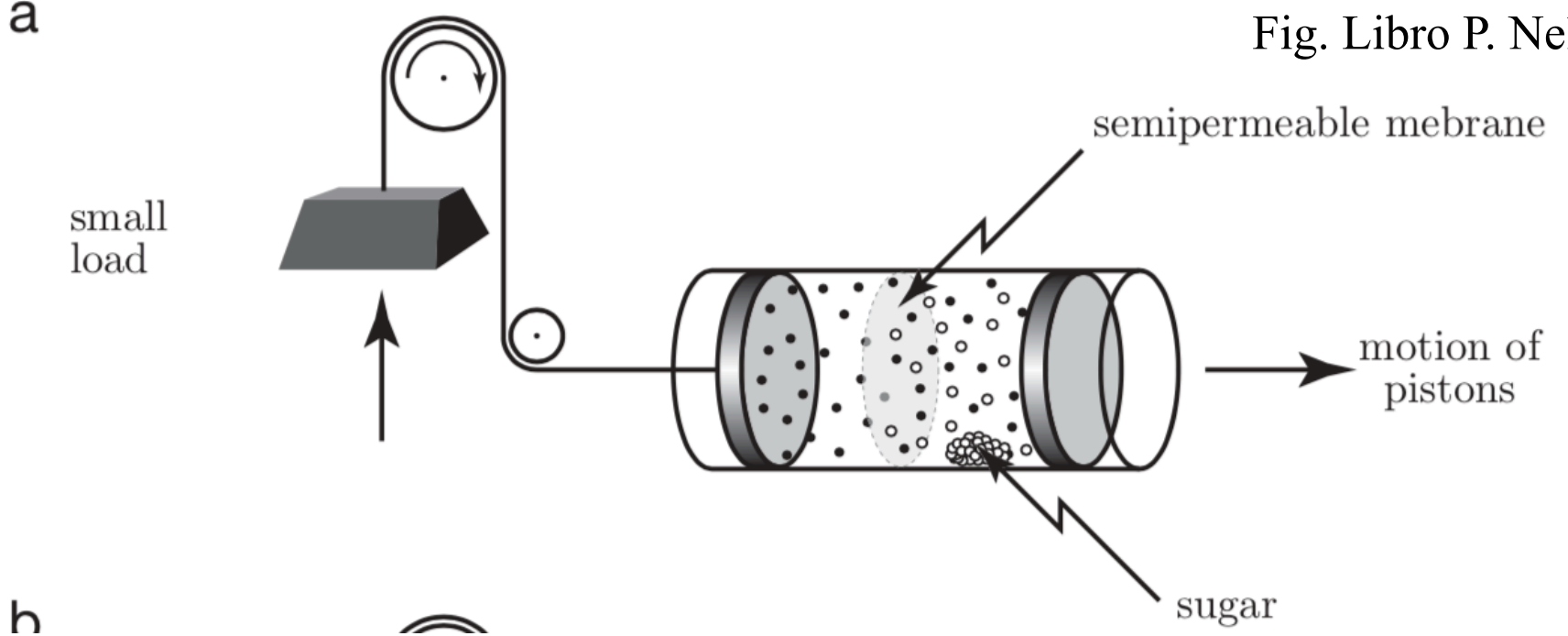
La presión osmótica está dada por:

$$p_{\text{equil}} = ck_{\text{B}}T.$$

van 't Hoff relation

Con c el número de moléculas de soluto por unidad de volumen

Fig. Libro P. Nelson

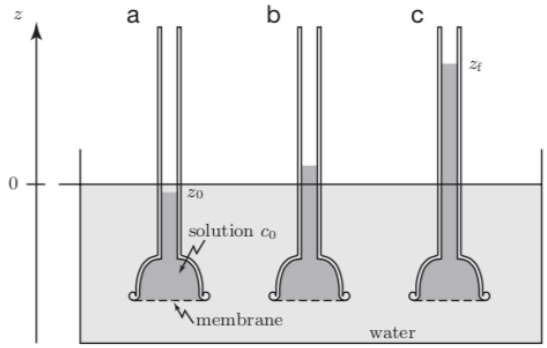


Un cilindro lleno de agua está separado en dos cámaras por una membrana semipermeable fija al cilindro. Dos pistones se deslizan libremente, lo que permite variar los volúmenes de las cámaras a medida que las moléculas de agua (círculos negros) cruzan la membrana. Los pistones deben deslizarse juntos porque el agua es incompresible. Las moléculas de azúcar (círculos abiertos) permanecen confinadas en la cámara de la derecha. (a) Si el peso no es grande, al soltar los pistones el agua cruza la membrana, forzando ambos pistones hacia la derecha y levantando el peso. Las moléculas de azúcar luego se esparcen en el mayor volumen de agua a la derecha.

Lo podemos pensar mecánicamente como consecuencia de la mayor cantidad de momento lineal que intercambia el sistema con el pistón de la derecha en comparación con el de la izquierda sumado a la incompresibilidad del agua.

Se puede pensar termodinámicamente: este movimiento permite aumentar el desorden (al aumentar el volumen donde se pueden mover las moléculas de soluto), es decir, aumenta la entropía. Entonces la energía libre (U-TS) puede disminuir aun cuando aumente la energía potencial de la masa (algo que sucede cuando ésta sube). Para que el aumento de entropía compense el de la energía potencial de la masa esta última no debe ser muy grande.

La presión osmótica es tal que P_{osm} V = N k T, como en un gas ideal, para soluciones diluidas porque las moléculas de soluto no interactúan entre sí (como las moléculas de un gas ideal).



Volviendo al experimento típico como el de la figura, el agua pasa a través de la membrana hacia la zona donde están los solutos aumentando P_{hidro} de ese lado (+) de modo que $P_{hidro}(+) - P_{osm} = P_{hidro}(-)$.

¿Cuán importante es en las células?

Supongamos una célula que tiene un 30% de su volumen ocupado por proteínas y que son todas globulares (esferas de radio ~10nm). Esto significa que el número de esas proteínas en el volumen, V, de la célula es: $0.3V/(4\,\pi\,10^3 nm^3/3)$ por lo que su concentración en número de moléculas por unidad de volumen es: $7\ 10^{-5}/nm^3 = (7\ 10^{-5}\ /nm^3)\ mol/(6\ 10^{23}) * 10^{24}\ nm^3/l = 1.2\ 10^{-4}\ M = 0.12\ mM$.

Suponiendo que la célula está inmersa en agua pura, la presión osmótica en este caso es: $7\ 10^{-5}/nm^3\ k\ T = 7\ 10^{-5}/nm^3\ k\ T = 7\ 10^{-5}\ 1.38\ 10^{-23} * 298$ Joule $10^{27}/m^3$ ~288 Newton/m^2 ~300 Pa

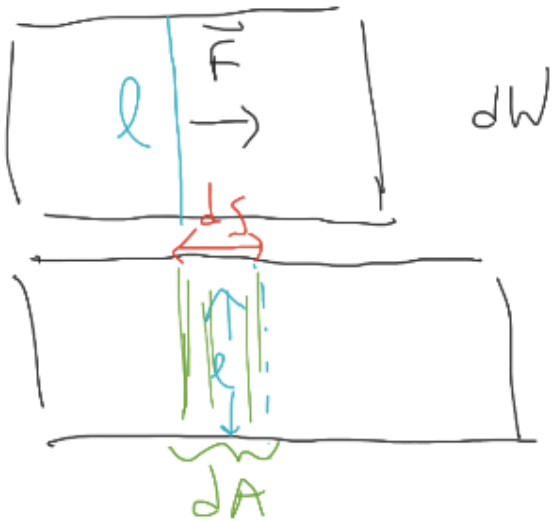
La presión osmótica es el término de “desbalance” de presión a un lado y otro de la membrana.

¿Quién lo balancea? La tensión superficial

Sin embargo, no siempre alcanza y ahi la célula explota o se super achica. ¿Qué pasa en el ejemplo?

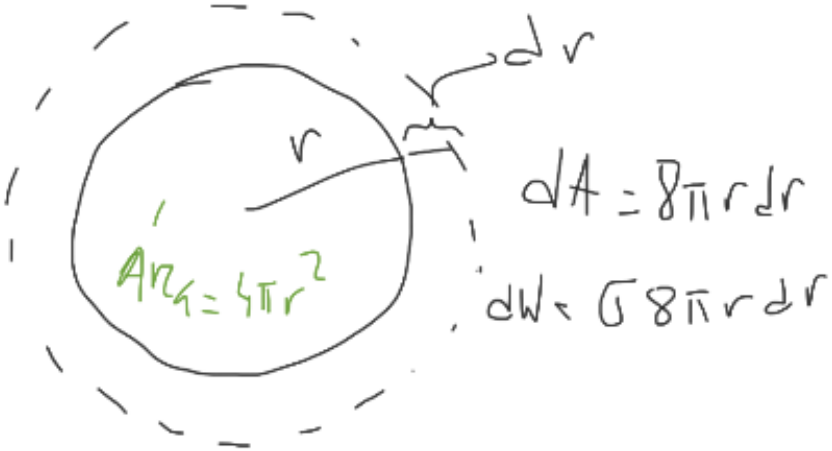
Supongamos que la célula tiene 10um de radio y calculemos cuánto debería valer la tensión superficial para compensar esto.

El trabajo que hay que hacer para aumentar un área depende de la tensión superficial, σ (que trata de minimizar el área).



$$dW = F\,ds = \sigma\, l\, ds = \sigma\, dA$$

En el caso de una célula esférica de radio a, el trabajo que hay que hacer para variar su radio en dr (contra la tensión superficial) es:



$dW = \sigma\, dA = \sigma\, 8\, \pi\, r\, dr$. Este trabajo debe ser igual al de la expansión debido a la presión osmótica, $pdV = p\, d(4\, \pi\, r^3/3) = p\, 4\, \pi\, r^2\, dr$, es decir:

$$\sigma = r\, p/2$$

Ésta es la fórmula de Laplace.

Para el ejemplo:

Presión osmótica ~300 Pa, para una célula de radio r=10um

$r\ p\ /2 = 10um * 300\ Pa/2 = 1.5\ 10^{-3}\ N/m$

Y la tensión superficial máxima para romper un eritrocito por ejemplo es ~ 10^{-4} N/m

Es decir, las células deben mantener un balance muy cuidado de sus concentraciones.

Presión osmótica e interacción de “depleción”

Dentro de las células hay muchas cosas y de muchos tamaños distintos.

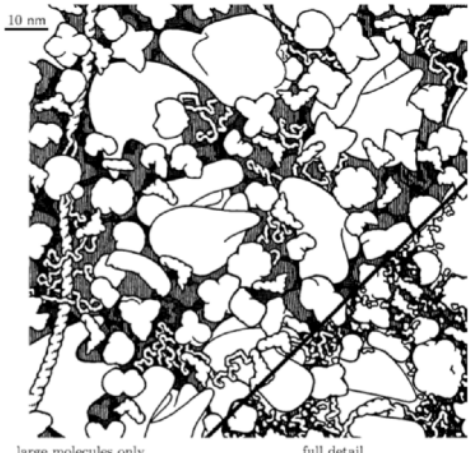
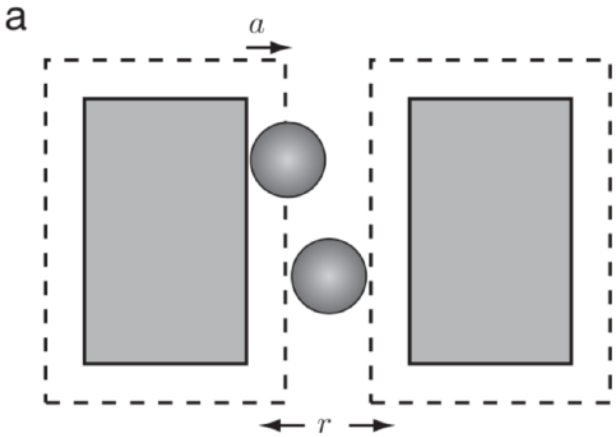
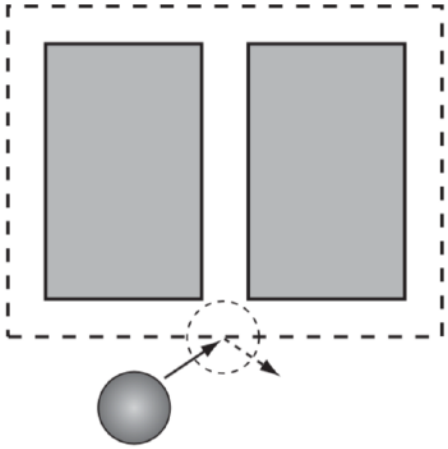


Imagen del libro de P. Nelson con un esquema del interior de E. Coli tomado de Goodsell, 1993.

Asakura y Oosawa observaron que cuando hay moléculas grandes y pequeñas hay una región de “depleción” alrededor de las grandes del tamaño del radio de las pequeñas.

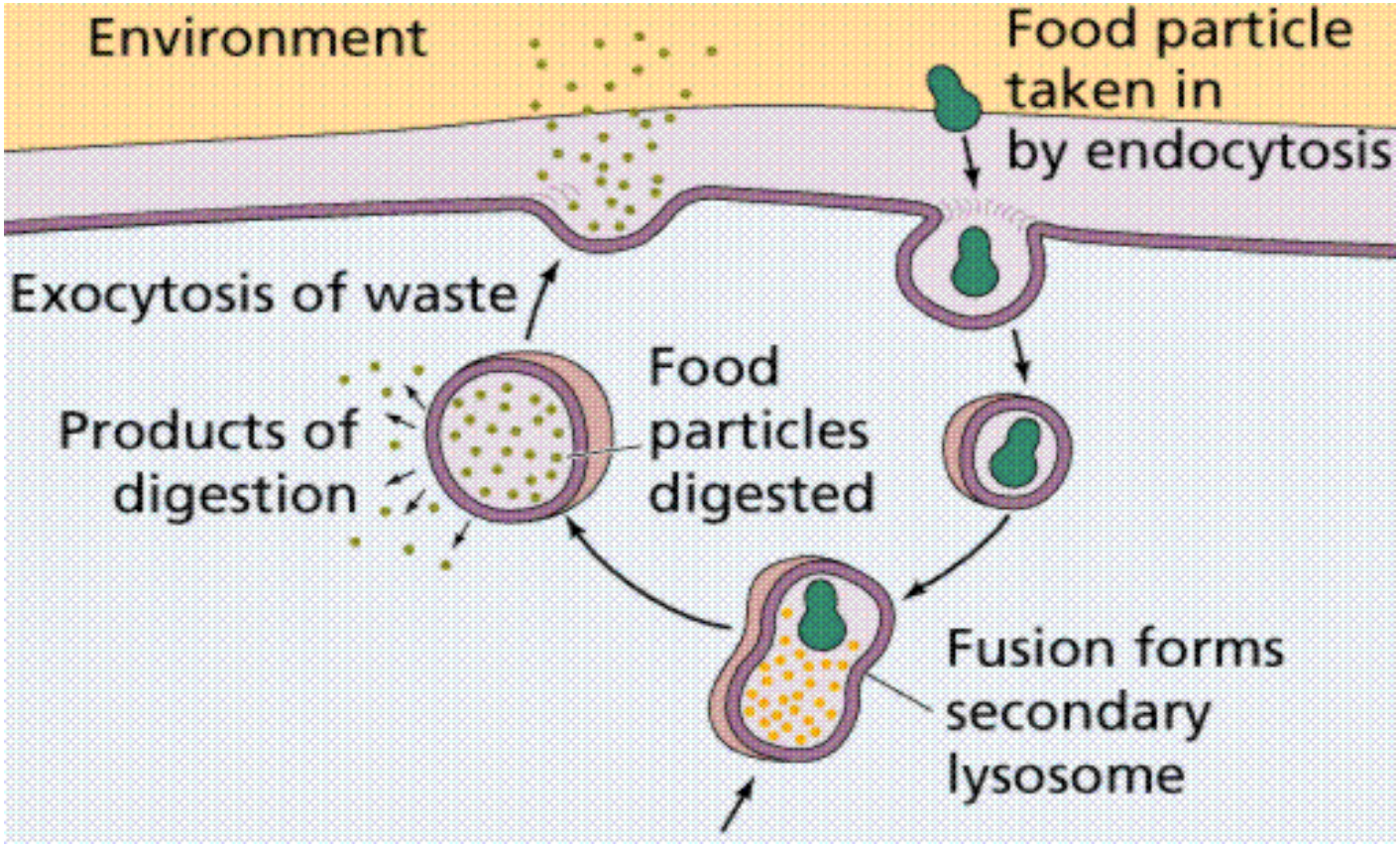


Esto disminuye el volumen disponible para las moléculas pequeñas.



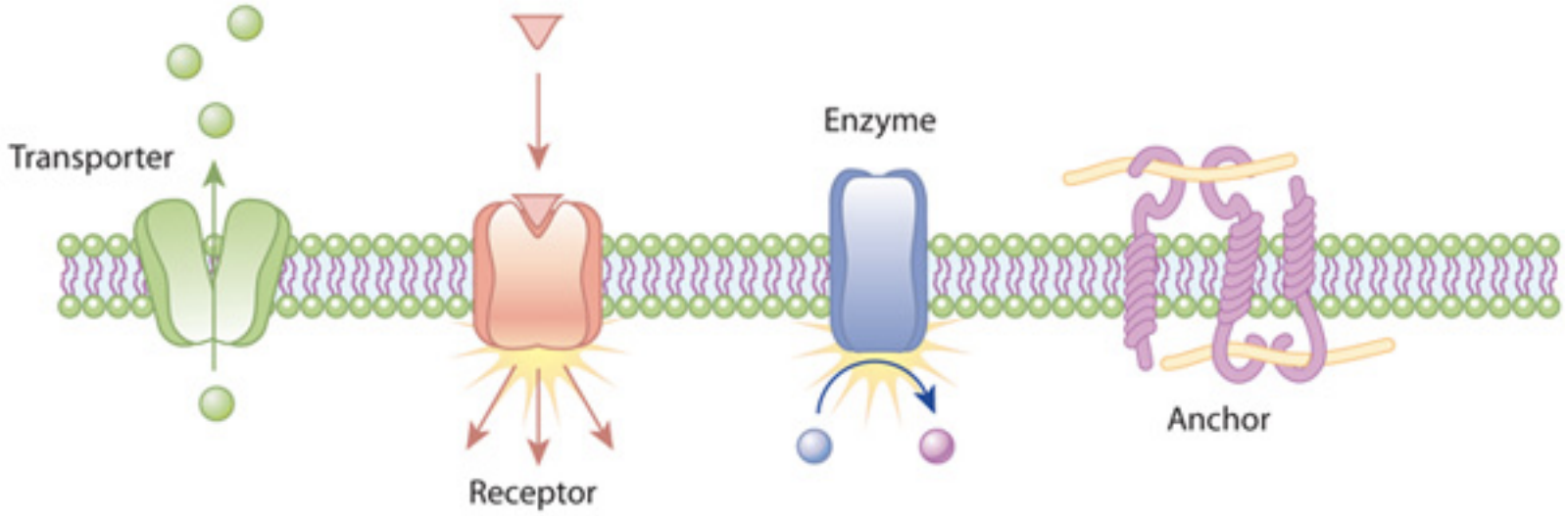
Cuando dos moléculas de tamaños similares están cerca entre sí, sus “regiones de depleción” se unen disminuyendo el volumen no disponible para las moléculas chicas (lo que aumenta S y disminuye F).

El borde de la zona de “depleción” es como una barrera semipermeable y, por P_{osm}, el agua la atraviesa para irse a la zona con solutos.



Otra forma de transportar sustancias a través de membranas (exo y endocitosis).

Otras proteínas transmembranales tienen funciones relacionadas con la comunicación.



Estas proteínas unen sustancias tales como hormonas, neurotransmisores u otras especies a sitios de ligadura que poseen del lado extracelular.

La unión provoca un cambio conformacional en la proteína que transmite una señal a otras moléculas mensajeras intracelulares.

Al igual que las proteínas de transporte, las proteínas receptoras son específicas y selectivas para las moléculas a las que se unen.