

# Organizarea moleculară a membranelor celulare

*De la molecule la o ultrastructură funcțională*

## Membrana celulară

Definiția

*Ultrastructura care  
separă celula de mediu  
dar o și unește cu acesta*

## Semnificația (filosofia biologiei)

Bruce Lipton: *'membrana celulară [...] este „pielea” unei celule. Fără îndoială că ați auzit mai multe despre nucleul celulei, care conține ADN-ul, decât ați auzit despre membrana acesteia. Însă știința de graniță dezvăluie și mai multe detalii despre ceea ce am descoperit eu, cu peste douăzeci de ani în urmă – anume, că membrana este adevăratul creier al funcționării la nivelul celulei.'*

(Lipton B. *Biologia credinței*, București: Editura For You; 2008. p. 37.)

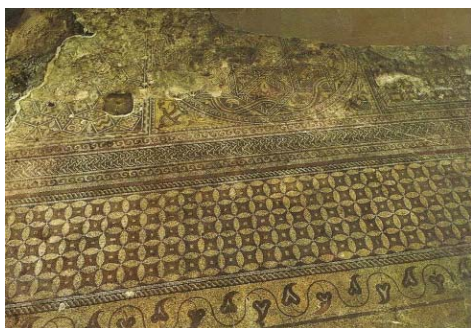
# Considerații generale asupra organizării moleculare a membranelor

- Apă: 20-30%
- Reziduu uscat: 70-80%
  - Substanțe minerale: ~1%
  - Substanțe organice: ~99%
    - Lipide: 40-50%
    - Proteine: 50-60%
    - Componentă glucidică: 1-10%

*De ce puțină apă?*

Aranjarea componentelor chimice în membrane  
conform **modelului în mozaic fluid**

Singer SJ, Nicolson GL (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 175: 720-731.

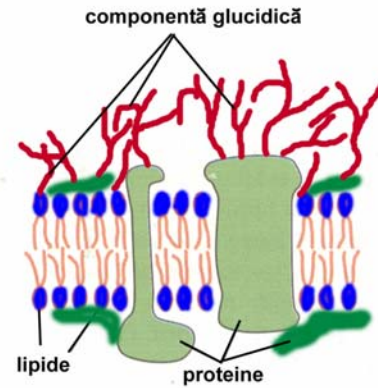
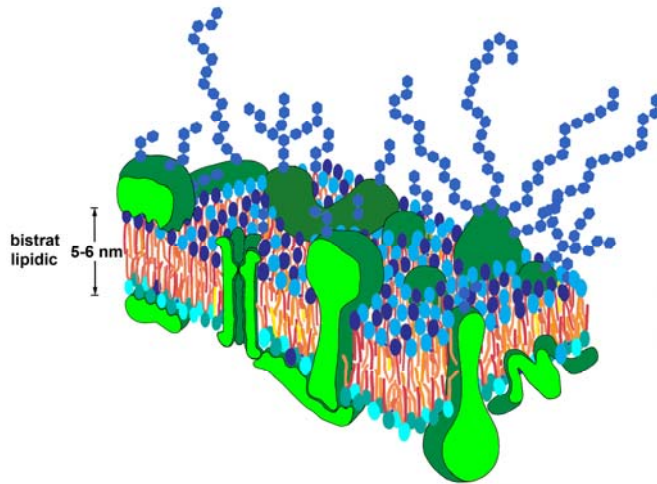


**Imagini de mozaic**

# Modelul în mozaic fluid

Conceptul actual privind organizarea moleculară a membranelor

Singer SJ, Nicolson GL (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 175: 720-731.



Funcțiile de bază ale membranei celulare:

1. **Funcție de barieră**
2. **Funcție metabolică**

Discoveries Journals  
publishing the future

Home Editorial Board DISCOVERIES DISCOVERIES REPORTS Submit Manuscript Contact Us

DISCOVERIES - 2014, No. 3  
(JULY-SEPTEMBER); Special issue on  
"Cell Secretion and Membrane Fusion"

News & Events  
Latest news from Discoveries

**August 2014** | Special Issue  
DISCOVERIES will publish the SPECIAL ISSUE entitled "CELL SECRETION & MEMBRANE FUSION" on September 30, 2014. Initially scheduled for publication between October 2014-March 2015, we are happy to announce that the issue will successfully be published earlier than scheduled.

Special Issue

**April 2014** | Indexed by Google Scholar  
All our published articles are now indexed by Google Scholar! First citations to Discoveries articles are included! Search for the article's title (recommended) or the authors:

Google Scholar Search

**2014** | DISCOVERIES  
DOIs (Digital Object Identifiers) are now assigned to all our published manuscripts in Discoveries. DOI uniquely identifies an article and is provided by CrossRef.

**DISCOVERIES**  
ISSN 2358-7232

2014, No. 3 (July-September)

All manuscripts for this issue were published before September 30th, 2014.

Special Issue: "CELL SECRETION & MEMBRANE FUSION"

LEADING GUEST EDITORS

**Prof. Mircea Leabu, PhD**  
Head of Cell Biology Laboratory, "Victor Babeș" National Institute and Associate Professor, "CAROL DAVILA" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania. ([read more](#))

**Prof. Garth L. Nicolson, PhD**  
Professor Emeritus, President and Founder of the Institute for Molecular Medicine, CA, USA, formerly David Bruton Jr. Chair in Cancer Research and Chairman of the Department of Tumor Biology at University of Texas, M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA. ([read more](#))

**Discoveries Journals**  
*publishing the future*

DISCOVERIES 2014, Jul-Sep, 2(3): e30  
DOI: 10.15190/d.2014.22

**EDITORIAL**

**Cell secretion and membrane fusion:  
highly significant phenomena in the life of a cell**

Mircea Leabu<sup>1,2,3,\*</sup>, Garth L. Nicolson<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Department of Cellular and Molecular Medicine, 8, Eroilor Sanitari Blvd., 050474, Bucharest, Romania  
<sup>2</sup>"Victor Babes" National Institute of Pathology, 99101, Splaiul Independentei, 050096, Bucharest, Romania  
<sup>3</sup>University of Bucharest, Research Center for Applied Ethics, 204, Splaiul Independentei, 060024, Bucharest, Romania  
<sup>4</sup>Department of Molecular Pathology, Institute for Molecular Medicine, Huntington Beach, California, 92647 USA

*\*Corresponding authors:*  
Mircea Leabu, PhD, "Victor Babes" National Institute of Pathology, 99-101, Splaiul Independentei, 050096, Bucharest, Romania; E-mail: mircea.leabu@ivb.ro;  
Garth L. Nicolson, PhD, The Institute for Molecular Medicine, P.O. Box 9355, S. Laguna Beach, CA 92652 USA. Email: gnicolson@immed.org

Submitted: Sept. 10, 2014; Revised: Sept. 14, 2014; Accepted: Sept. 17, 2014; Published: Sept. 18, 2014;  
Citation: Leabu M, Nicolson GL. Cell Secretion and membrane fusion: highly significant phenomena in the life of a cell. Discoveries 2014, Jul-Sep; 2(3): e30. DOI: 10.15190/d.2014.22

**Keywords:** cell secretion, membrane fusion, porosome, exosomes, electron microscopy, cancer, mathematical approach, secretory vesicle, science history

**Introduction**

Is there any cell that does not secrete something necessary for maintenance of the organism? Secretion involves membrane fusion, which is every cell's existence, and they must be very well coordinated and controlled. Membrane trafficking, which involves vesicular budding of the source membrane, directed transport and eventually fusion with the target membrane is a very specific process. All of these processes depend, in particular, on basic principals of biological membrane structure and dynamics, a topic that was reviewed recently in this journal<sup>1</sup>.

**Discoveries Journals**  
*publishing the future*

DISCOVERIES 2014, Jul-Sep, 2(3): e29  
DOI: 10.15190/d.2014.21

**REVIEW Article**

**Porosome: a membrane microdomain  
acting as the universal secretory portal in exocytosis**

Mircea Leabu\*, Cristina Mariana Nicolite

University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", and "Victor Babes" National Institute of Pathology, Bucharest, Romania

*\*Corresponding author:* Mircea Leabu, PhD, "Victor Babes" National Institute of Pathology, 99-101, Splaiul Independentei, 050096, Bucharest, Romania; E-mail: mircea.leabu@ivb.ro

Submitted: Sept. 10, 2014; Revised: Sept. 22, 2014; Accepted: Sept. 22, 2014; Published: Sept. 23, 2014;  
Citation: Leabu M, Nicolite CM. Porosome: a membrane microdomain acting as the universal secretory portal in exocytosis. Discoveries 2014, Jul-Sep; 2(3): e29. DOI: 10.15190/d.2014.21

**ABSTRACT**

Most, if not all, cells in the organism, at least in some period of their lifetime, secrete materials that are produced within the cell. Cell secretion is a phenomenon requiring membrane fusion at a specialized plasma membrane structure called the 'porosome,' which allows the material stored within secretory vesicles to be delivered to the cell's exterior environment. This is achieved when the secretory vesicles fuse at the base of the porosome complex, establishing a fusion pore or fluid continuity between the vesicle interior and the cell's exterior. Besides cell secretion, membrane fusion is necessary for intracellular membrane traffic and vesicular transport from one endomembrane bound structure to another. In addition to cell secretion, membrane fusion is necessary for intracellular membrane trafficking and vesicle transport from

**Keywords:** porosome, membrane fusion, cell secretion, exocytosis, membrane traffic

**Abbreviations:** Soluble N-ethyl-maleimide-sensitive factor attachment protein receptor (SNARE); N-ethyl-maleimide sensitive factor (NSF); plasma membrane (PM); Atomic Force Microscopy (AFM); electron microscopy (EM); chloride channels (ClC); 4,4'-Diisothiocyanato-2,2'-stilbenedisulfonic acid disodium salt (DIDS)

**SUMMARY**

1. Introduction
2. Corner stones in the history of cell secretion and membrane fusion
3. Ultrastructure of the porosome
4. Molecular organization of the porosome
5. Porosome or fusion pore, or porosome and fusion pore

# Caracteristici fizice, chimice și biologice ale membranelor celulare

- Eterogenitate
  - Asimetrie
  - Fluiditate bidimensională
- 
- *Cine și cum participă la asigurarea acestor caracteristici?*
  - *Care este semnificația biologică a acestor caracteristici?*

## Eterogenitatea de organizare moleculară a membranelor celulare

Prima provocare: diversitatea lipidelor (peste 1000 de entități moleculare diferite într-o celulă eucariotă)

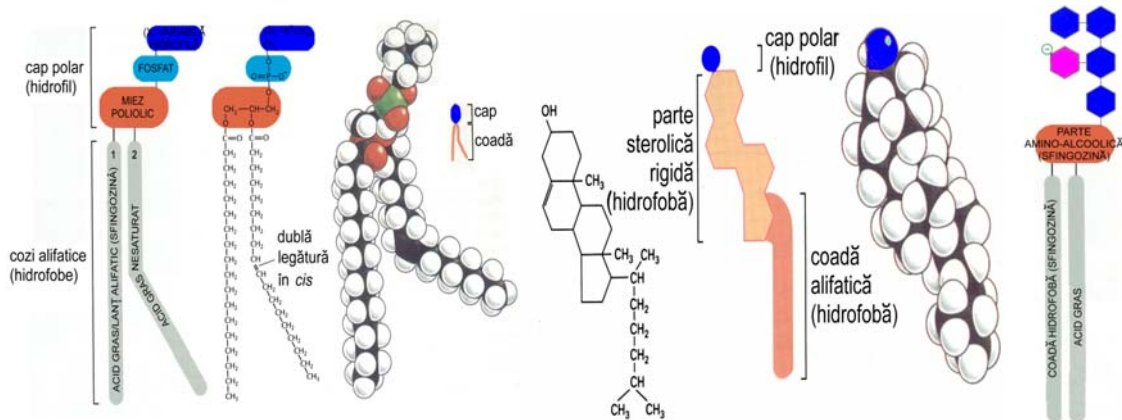
- Clasificări
  - Clasificări ale lipidelor membranare
  - Clasificări ale proteinelor membranare
  - Clasificări ale componentei glucidice membranare
- Conceptul logic de clasificare
  - Stabilirea criteriului/criteriilor

# Eterogenitate

## Contribuția lipidelor (I) Clasificări ale lipidelor:

### 1. În funcție de structura chimică globală:

- fosfolipide 70-75%;
- colesterol 20-25%;
- glicolipide 1-10%.



# Eterogenitate

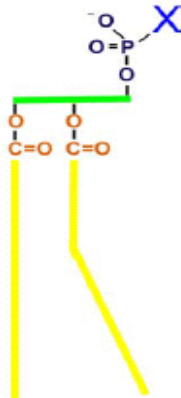
## Contribuția lipidelor (II) Alte clasificări ale lipidelor:

### Clasificarea fosfolipidelor:

#### 1. În funcție de poliolul din structură:

- fosfogliceride (glicerofosfatide);
- fosfosfingozide (sfingofosfatide).

#### 2. În funcție de X



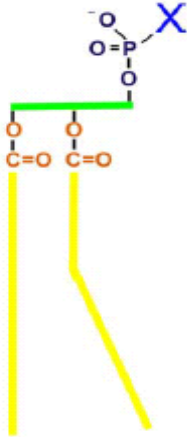
- X - colină → fosfatidilcoline (PC); 20-25%
- X - etanolamină → fosfatidiletanolamine (PE); 20-25%
- X - serină → fosfatidilserine (PS); 20-25%
- X - inozitol → fosfatidilinozitol (PI); 10-15%
- X - hidrogen → acizi fosfatidici (PA); ~1%

#### Alte fosfolipide:

- sfingomieline (SM); 20-25%
- cardiolipine: 1,3-difosfatidil-glicerine.
- plasmalogene

# Mai multă eterogenitate la nivelul lipidelor

## Contribuția acizilor grași



(a) În poziția 1 a glicerinei: un acid gras saturat ( $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ );  
ordinea abundenței:  $C_{16} > C_{18} > C_{14}$ .

(b) În poziția 2 a glicerinei: un acid gras nesaturat ( $C_{18:1}$ ,  $C_{18:2}$ ,  
 $C_{18:3}$ ,  $C_{20:4}$ )

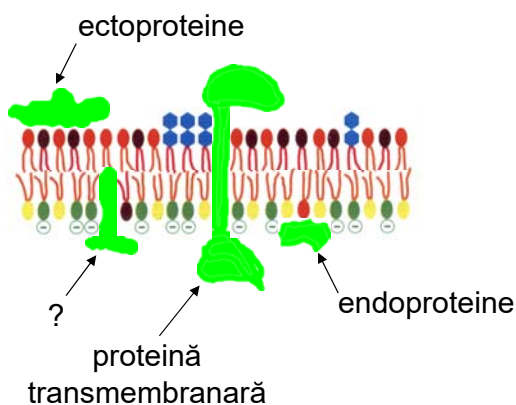
**N.B. Limitări pentru acizii grași: între  $C_{12}$  și  $C_{22}$ !**

# Eterogenitate

## Contribuția proteinelor (I) Clasificări ale proteinelor:

### În funcție de poziția față de bistrat

- periferice (extrinseci) – ~25%;
- integrale (intrinseci) – ~75%.



### Proteinele extrinseci:

- ectoproteine;
- endoproteine.

### Proteinele intrinseci:

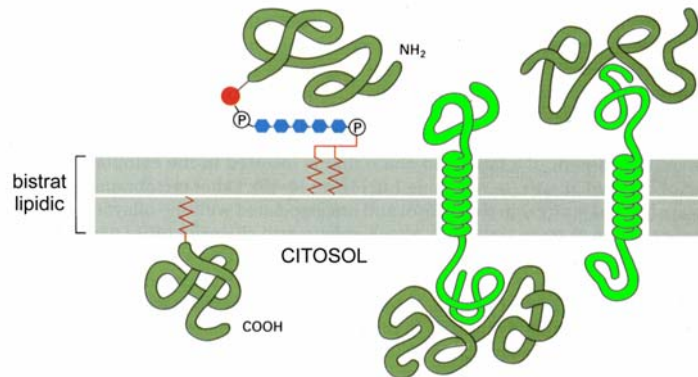
- transmembranare;
- ?

# Eterogenitate

## Contribuția proteinelor (II)

### Caracteristicile fizico-chimice ale proteinelor periferice

- Extractibile cu soluții saline, sau agenți chelatori;
- Au caracter hidrofил;
- După extracție nu poartă lipide asociate și își pastrează solubilitatea în apă;



Preluat din "Molecular Biology of the Cell", editori: Bruce Alberts et al., ediția a III-a, 1994

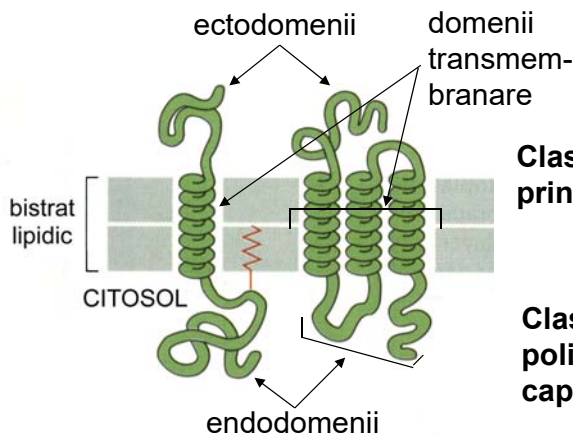
# Eterogenitate

## Contribuția proteinelor (III)

### Caracteristicile fizico-chimice ale proteinelor transmembranare

- se pot extrage din structura membranelor numai cu detergenți;
- rămân asociate permanent cu lipide;
- sunt insolubile în apă;
- au caracter amfifil.

### Definirea domeniilor structurale



1. ectodomeniu;
2. endodomeniu;
3. domeniu transmembranar.

### Clasificare în funcție de numărul de treceri prin bistratul lipidic:

1. unipas;
2. multipas.

### Clasificare în funcție de orientarea lanțului polipeptidic față de bistratul lipidic (poziția capătului amino-terminal):

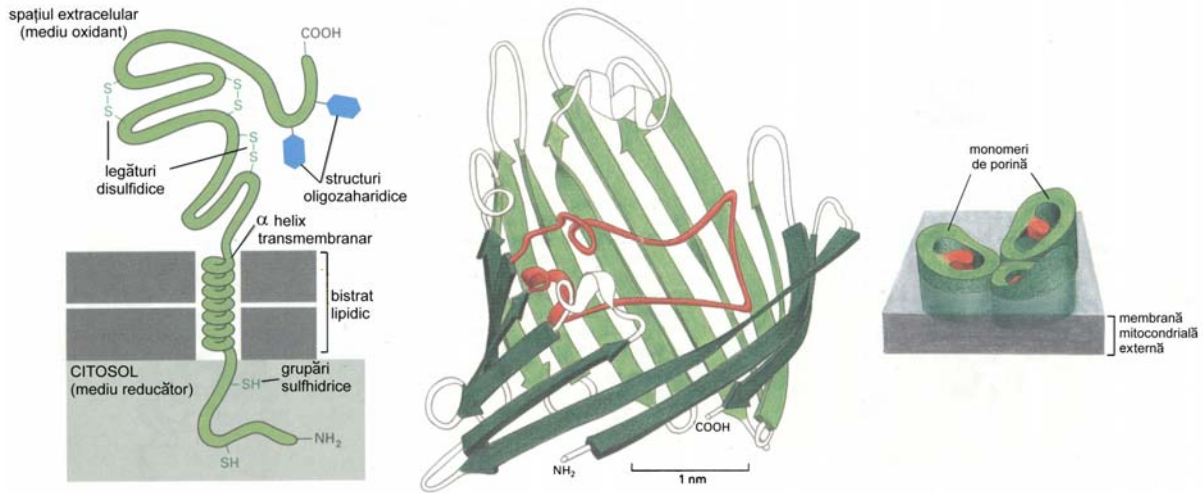
1. tip I – NH<sub>2</sub> terminal în ectodomeniu;
2. tip II – NH<sub>2</sub> terminal în endodomeniu.

Preluat din "Molecular Biology of the Cell", editori: Bruce Alberts et al., ediția a III-a, 1994



# Eterogenitate

## Modalități de structurare a domeniului transmembrantar

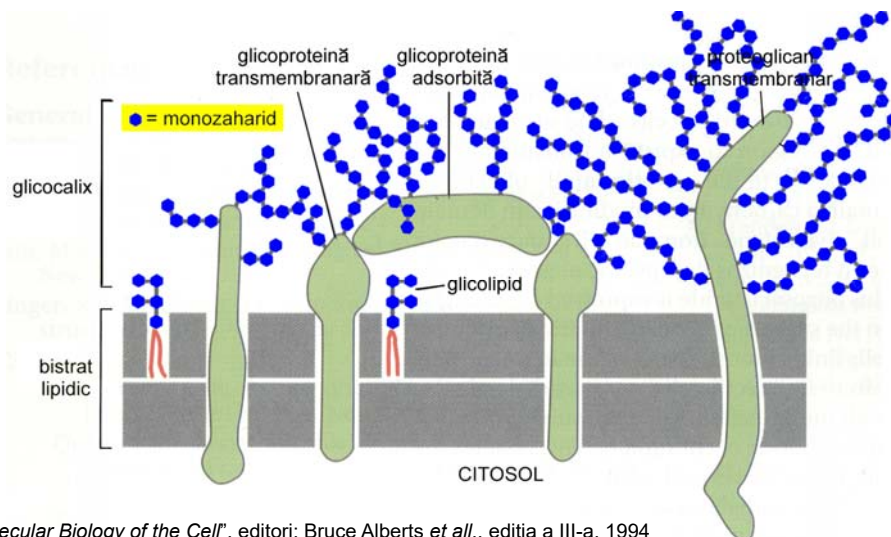


Preluat din "Molecular Biology of the Cell", editori: Bruce Alberts et al., ediția a III-a, 1994

# Eterogenitate

## Contribuția componentei glucidice Clasificări ale structurilor glucidice:

1. Glicolipide – componenta glucidică pe lipid; (?)
2. Glicoproteine – componenta glucidică (oligozaharid) pe proteină;
3. Proteoglicani – componenta glucidică (polizaharid) pe proteină.

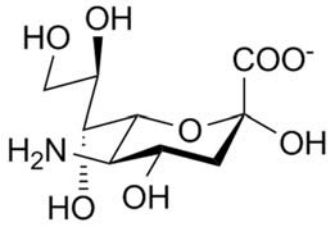


Preluat din "Molecular Biology of the Cell", editori: Bruce Alberts et al., ediția a III-a, 1994

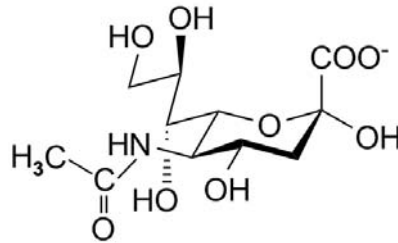
# Eterogenitate

## Compoziția glucidică a glicocalixului

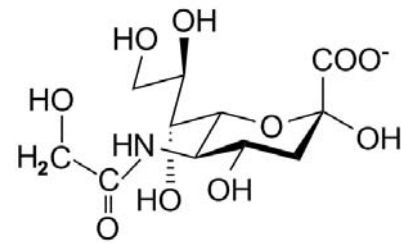
- Monozaharide componente: Glc, GlcNAc, Gal, GalNAc, Man, Fuc, acizi sialici (SA)



Acid neuraminic



Acid N-acetil-neuraminic



Acid N-glicolil-neuraminic

# Eterogenitate

## Compoziția glucidică a glicocalixului

- Glicolipidele: 1 lanț oligozaharidic, neramificat
- Glicoproteinele: mai multe lanțuri oligozaharidice, ramificate, inserate *N*-, sau *O*-glicozidic
- Proteoglicanii: mai multe lanțuri polizaharidice neramificate (glicozaminoglicani)
- Considerații structurale asupra secvenței glucidice
  - Glucoza niciodată în poziție terminală
  - Acizii sialici întotdeauna în poziție terminală

# Asimetrie

## Contribuția lipidelor

### Asimetria distribuției lipidelor membranare

- PC și SM – foia externă a bistratului lipidic
- PE, PS și PI – foia internă a bistratului lipidic
- Colesterolul – echilibrat între cele două foie
- Glicolipidele – foia externă a bistratului lipidic; exclusiv

# Asimetrie

## Contribuția proteinelor

### Proteinele extrinseci

- Ectoproteine
- Endoproteine

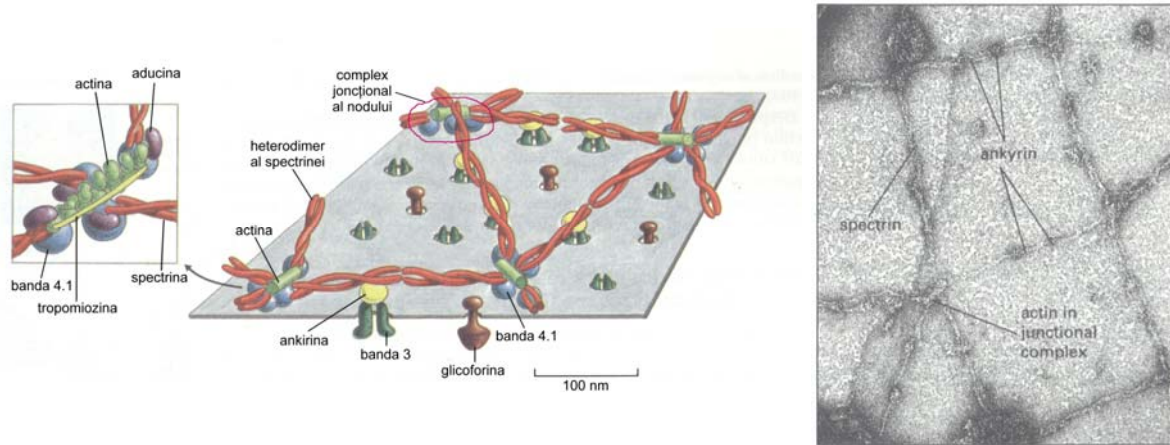
### Proteinele integrale

- Transmembranare
- ?

# Asimetrie

## Contribuția proteinelor

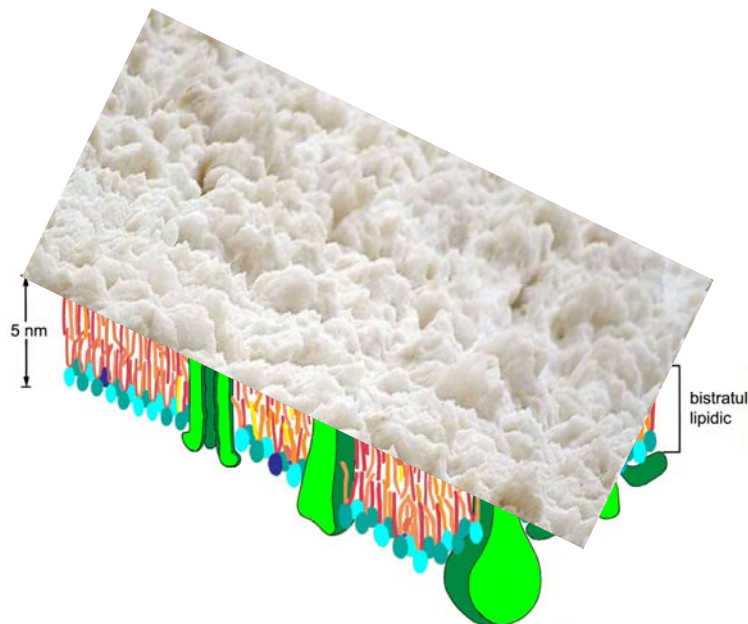
### Scheletul asociat membranei organizare spațială (eritrocit)



Preluat din "Molecular Biology of the Cell", editori: Bruce Alberts *et al.*, ediția a III-a, 1994

# Asimetrie

## Contribuția componentei glucidice



# Semnificații biologice

- Eterogenitate
  - Multitudine de componente – multitudine de posibilități de acțiune (diversitate de funcții)
- Asimetrie
  - Fenomene diferite posibile pe cele două fețe
  - Disjungere sau solidaritate de acțiune între cele două fețe

**Pe săptămâna viitoare!**

# Caracteristici fizice, chimice și biologice ale membranelor celulare

- Eterogenitate
  - Asimetrie
  - Fluiditate bidimensională
- 
- *Cine și cum participă la asigurarea acestor caracteristici?*
  - *Care este semnificația biologică a acestor caracteristici?*



„Oamenii învățați dar fără talent propriu, adică purtătorii științei moarte, mi-i închipuiesc ca o sală întunecată cu o ușă de intrare și una de ieșire. Ideile streine intră printr-o ușă, trec prin întunericul sălii și ies prin cealaltă, indiferente, sigure și reci... Capul unui om de talent e ca o sală iluminată, cu pereți și oglinzi. De afară vin ideile într-adevăr reci și indiferente – dar ce societate, ce petrecere găsesc!”

(Mihai Eminescu, *Manuscris 2289*, fila 15)

# **Fluiditatea bidimensională**

## **Dinamicitatea membranelor celulare**

- *Cum trebuie înțeleasă?*
- *Care este semnificația biologică a acestei caracteristici a biomembranelor?*

# **Fluiditate bidimensională**

## **Starea fizică și dinamica bistratului lipidic**

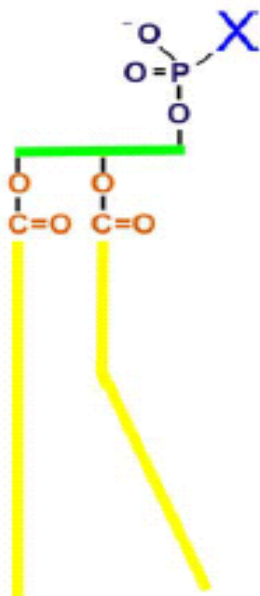
- Proprietăți fluide manifestate bidimensional

## **Mișcările lipidelor în cadrul bistratului**

1. Mișcări intramoleculare
2. Mișcări intermoleculare

# Fluiditate bidimensională

## Mișcările intramoleculare



1. Mișcări de rotație  $10^7$ - $10^9$  rotații/s

2. Mișcări de flexie  $10^6$ - $10^8$  flexii/s

# Fluiditate bidimensională

## Mișcările intermoleculare

1. Mișcări de translație  $10^7$  schimbări direcție/s

2. Mișcări flip-flop extrem de rare



# Fluiditate bidimensională

## Modularea fluidității membranelor

### Factori de modulare a fluidității membranelor

#### Fizici

- Presiunea
- Temperatura

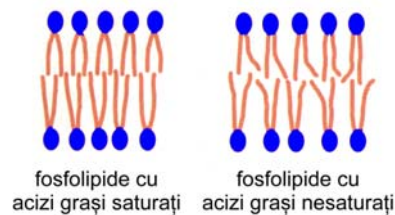
#### Chimici

- Intrinseci (reglare)
- Extrinseci

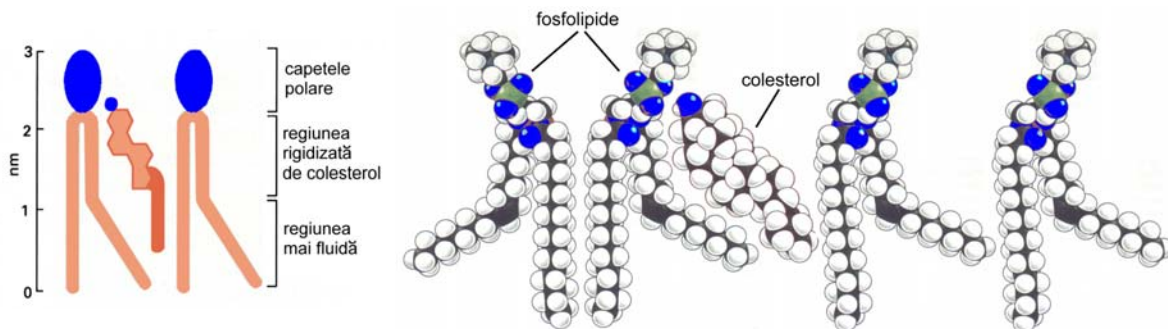
## Reglarea fluidității membranelor

### prin factori celulari intrinseci

#### Rolul acizilor grași nesaturați



#### Rolul colesterolului

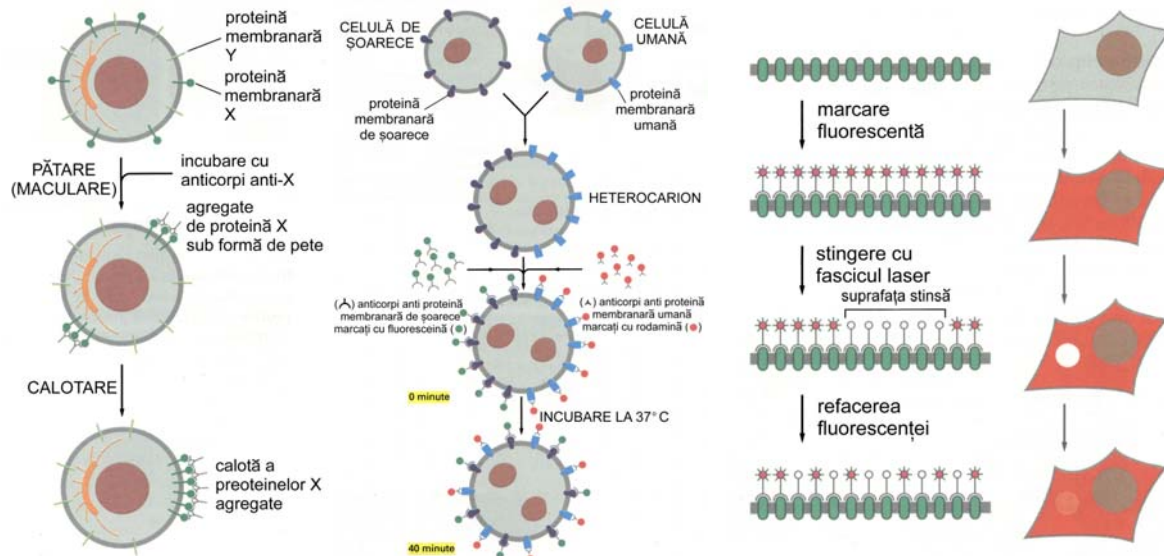


# Factori chimici extrinseci de modulare/reglare a fluidității membranelor

- Fiziologici
- Patologici
- Terapeutici

## Fluiditate bidimensională

### Mobilitatea proteinelor membranare



# Fluiditate bidimensională

Caracterul mezomorf al bistratului lipidic

Microdomenii de membrană

Plute lipidice

Caveole

## Eterogenitatea plutei lipidice

Evidențiată prin interpretarea rezultatelor diferitelor metode de obținere:

- diferiți detergenți neionici
- sonicarea preparatelor de membrane și analizarea fracțiunii ușoare
- analize imunocitochimice

## **Caracteristici compoziționale generale ale pluteilor lipidice**

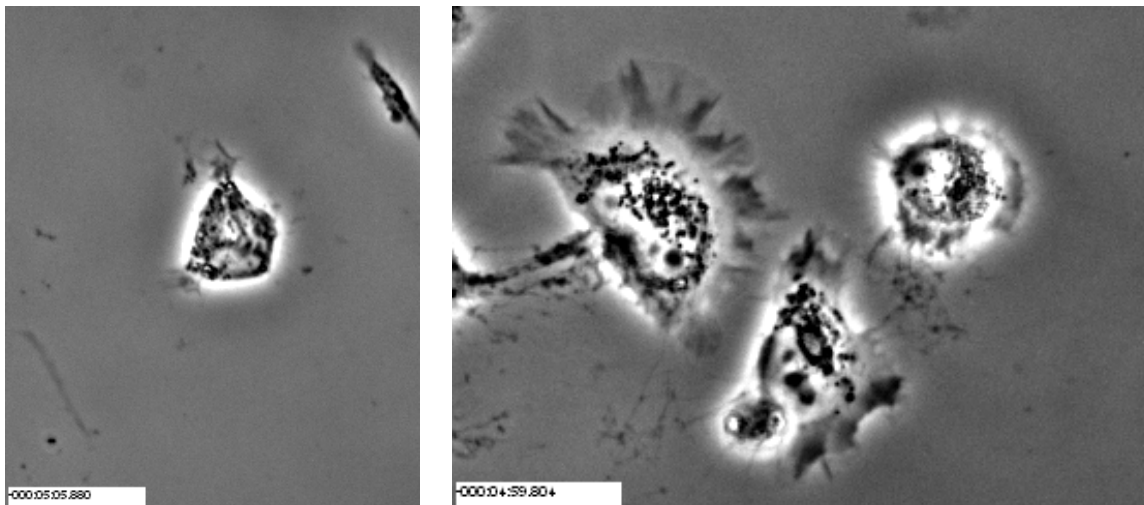
- colesterolul de 3-5 ori mai abundent decât în restul membranei și reprezintă 33-50% din totalul lipidelor la acest nivel
- sfingolipidele (SM și glicolipidele) sunt îmbogățite și reprezintă 30-35% dintre lipidele din plute
- glicerofosfolipidele sunt sărac reprezentate (în comparație cu restul membranei);  $\leq 30\%$  pentru PC + PE
- lipidele specifice foșei interne a bistratului (PS, PI) sunt slab reprezentate la nivelul pluteilor
- în foșea internă de la nivelul pluteilor, lipidele conșin preferențial acizi grași saturați; asta ar putea realiza necesarul de rigiditate corespunzător celei a foșei externe, unde sfingolipidele sunt bogat reprezentate
- proteine acilate, respectiv ancorate prin glicofosfatidilinozitol

## **Dinamicitatea membranelor**

*- semnificație biologică -*

- Componentele membranei se pot întâlni mai ușor
- Componentele membranei se pot asocia selectiv în funcție de context
- Se crează microdomeniile de membrană, cu o dinamică permanentă
- Rezultatul: funcționarea componentelor și a membranelor în ansamblu se eficientizează și se diversifică

# Dinamicitatea și maleabilitatea membranei



## Funcțiile membranelor aspecte generale

- Barieră
- Implicațiile metabolice ale funcțiilor membranei

Funcția de barieră: absolut *versus* selectiv  
Funcțiile metabolice: responsabilitatea proteinelor,  
dar implică și celelalte componente, exploatănd în  
mod divers și nuanțat organizarea moleculară

# Roluri ale lipidelor membranare

1. Rol structural – asigură funcția de barieră;

2. Roluri metabolice:

(i) Modularea activității proteinelor integrale

(ii) Recunoaștere și semnalizare intercelulară (glicolipide)

(iii) Semnalizarea prin acțiunea fosfolipazelor

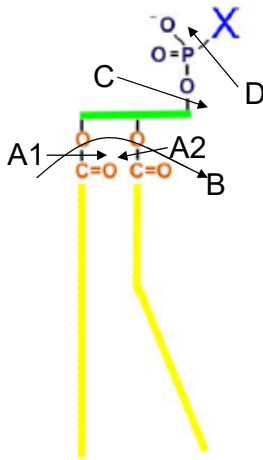
- Fosfolipaza A1 (PLA1) – elimină AG din poziția 1 a glicerinei;

- Fosfolipaza A2 (PLA2) – elimină AG din poziția 2 a glicerinei;

- Fosfolipaza B (PLB) – elimină ambii AG simultan;

- Fosfolipaza C (PLC) – taie între glicerină și fosfat;

- Fosfolipaza D (PLD) – scoate componenta X



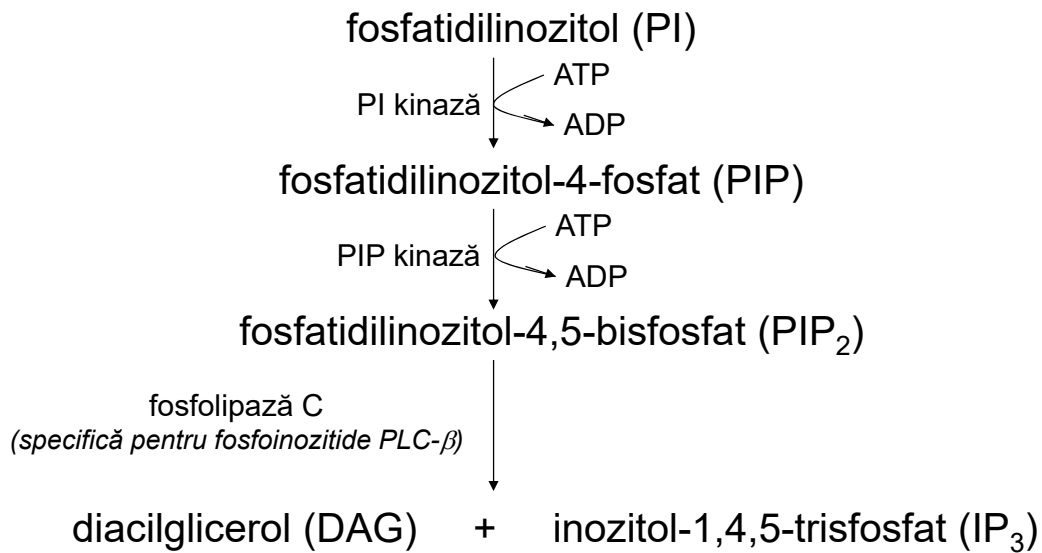
## Acidul arahidonic

sursă de molecule implicate în semnalizare

1. Calea ciclooxygenazei:   
 → (i) prostaglandine  
 → (ii) prostaciline  
 → (iii) tromboxani

2. Calea lipooxygenazei: → leucotriene

# Cascada fosfoinozitudelor



## Rolul proteinelor membranare

Asigură funcțiile metabolice ale membranelor, dar au și rol structural.

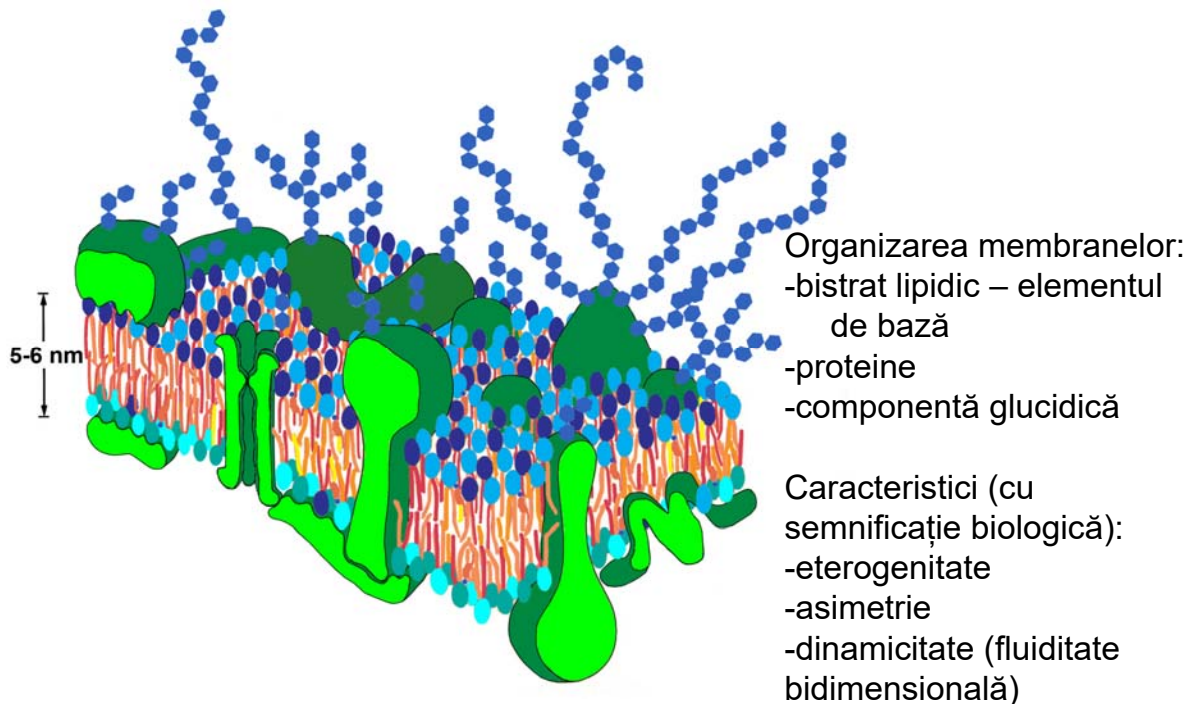
Funcții ale proteinelor membranare:

- Transport prin membrană (canale, pompe, conexoni);
- Transport cu membrană (clatrină, caveolină);
- Receptori de semnale (hormoni, factori de creștere, citokine, chemokine);
- Molecule de adeziune (integrine, caderine);
- Enzime (metaloproteinaze de matrice extracelulară, fosfolipaze, adenilat-ciclază);
- Proteine de semnalizare (proteine adaptoare, proteine platformă);
- Proteine structurale (spectrină, ankirină).

# Rolul componentei glucidice membranare

- Rol de protecție a membranei
- Participă la sarcina electrică negativă a suprafeței celulare (semnificația biologică?)
- Necesare, dar nu neapărat suficiente funcționării receptorilor
- Participă la fenomene de recunoaștere celulară:
  - Purtătoarele antigenelor de grup sanguin
  - Extravazarea leucocitelor
  - Fertilizarea (fuzionarea spermatozoidului cu ovocitul)

## Rezumat



Alte elemente: microdomenii de membrană; domenii de membrană



# Perspectiva obținută prin cunoașterea membranei celulare?



## Invitație

Ira H. Pastan și Mark C. Willingham

***Journey to the Center of the Cell:  
Role of the Receptosome***

Science, **214**, 504-509 (1981)