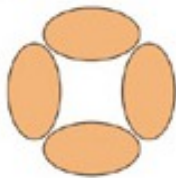
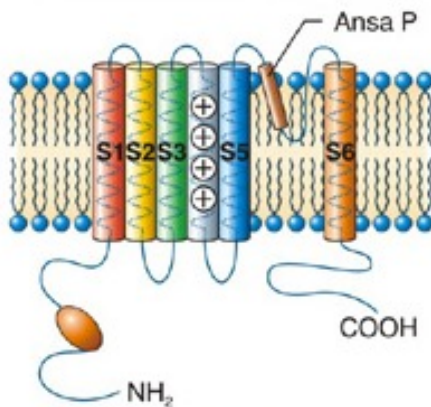


# Canali del $K^+$ voltaggio-dipendente, $Ca^{2+}$ -dipendenti, di *background* e rettificanti interni

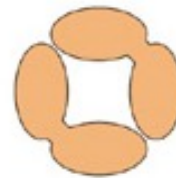
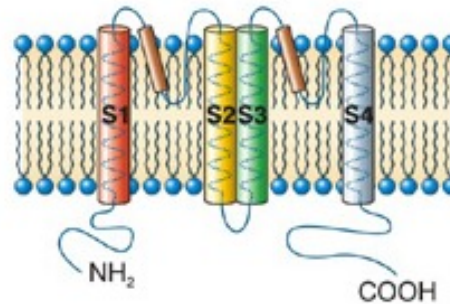
Tipologia 6TM

Canali del  $K^+$  voltaggio-dipendenti  
Canali del  $K^+$   $Ca^{2+}$ -dipendenti



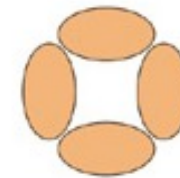
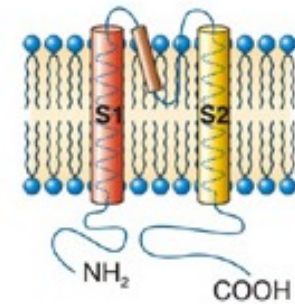
Tipologia 4TM

Canali del  $K^+$  *background*



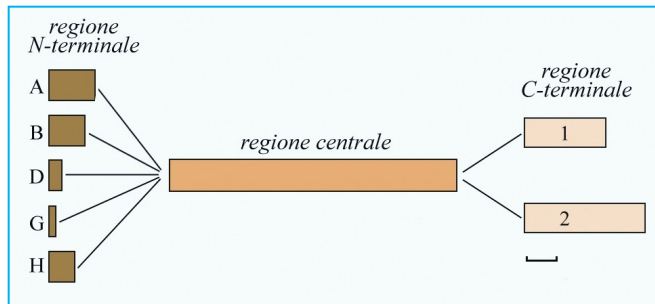
Tipologia 2TM

Canali del  $K^+$  rettificanti interni



# Tra tutti i canali ionici, quelli del K<sup>+</sup> sono i più diversificati

- hanno in genere struttura tetrameric (4 *subunità proteiche*, ognuna codificata da un suo proprio mRNA), e possono essere non solo *omotetrameri*, ma anche *eterotetrameri* (anche se non tutte le combinazioni sono possibili)
- ogni organismo ha *numerosi geni* che codificano per subunità dei canali del K<sup>+</sup>
- ogni gene può dar luogo ad isoforme diverse per *splicing alternativo*



Il caso più noto è il gene *Shaker* di *Drosophila*, che contiene 23 esoni.

Ogni subunità del canale *Shaker* si può presentare in *10 varianti*, con una stessa regione centrale (S1-S5, con regione P) e 5 diverse estremità N- e 2 diverse estremità C-terminali.

- alle 4 subunità  $\alpha$  possono essere associati molti tipi di *subunità accessorie* ( $K_v\beta$ , SUR, mink, ecc.).

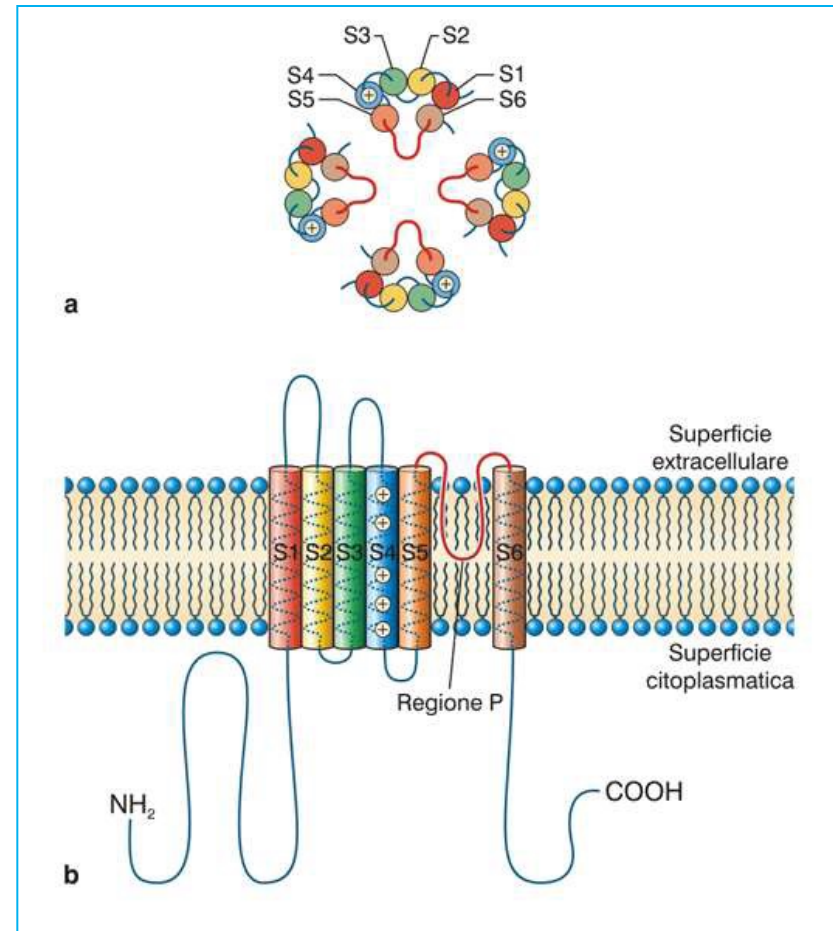
# Canali del potassio voltaggio-attivati

➤ Famiglia dei  $K_v$  ( $K_v1-K_v9$ , ognuna con diverse varianti). Conducono :

• corrente macroscopica rettificante ritardata (DRK), non inattivante, sebbene dopo diverse centinaia di ms di stimolazioni vada incontro ad una lentissima inattivazione (descritto per la prima volta nell'assone gigante di calamaro)

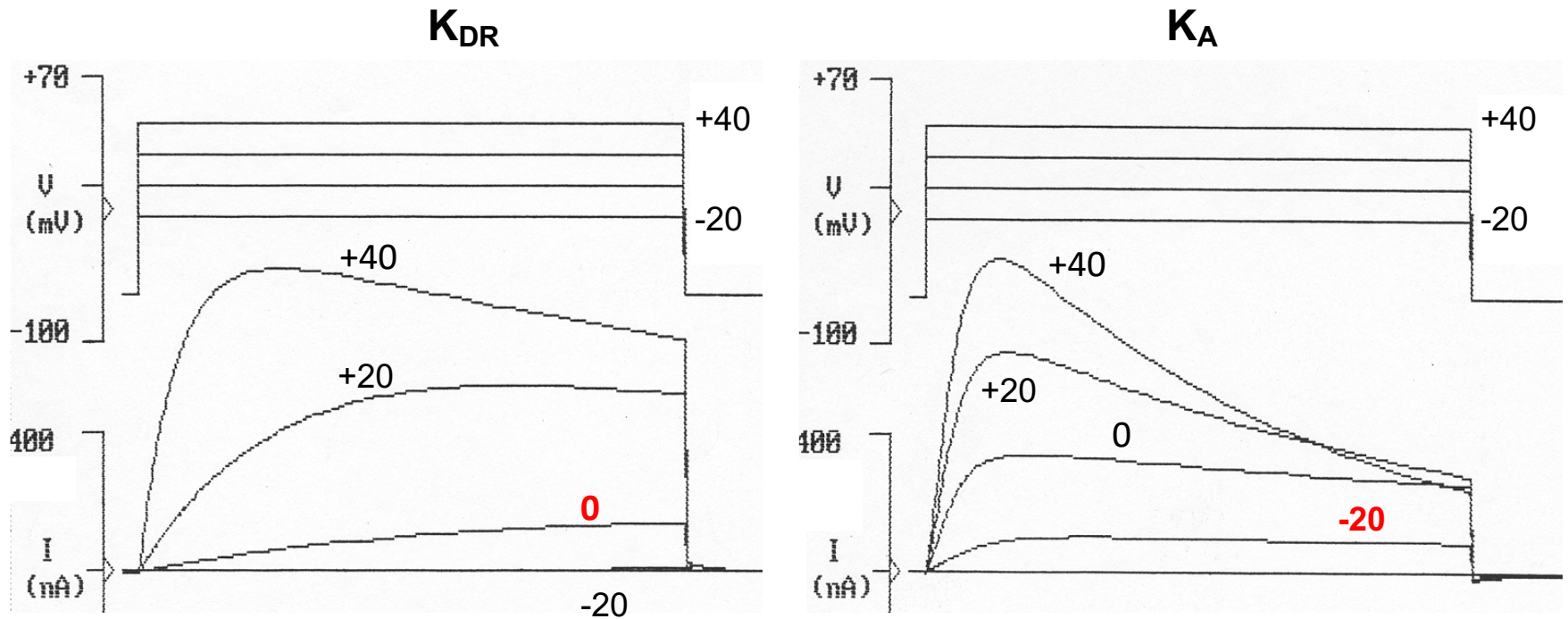
• corrente macroscopica transiente (corrente di tipo A,  $K_A$ ), si instaura rapidamente e si inattiva; quasi insensibile al TEA, ma sensibile alla 4-amino-piridina (descritto per la prima volta nel mutante di *Drosophila Shaker*)

• corrente di tipo M di più lenta attivazione e non inattivante (scoperta nei neuroni parasimpatici)



# Caratteristiche elettrofisiologiche dei canali DRK e KA

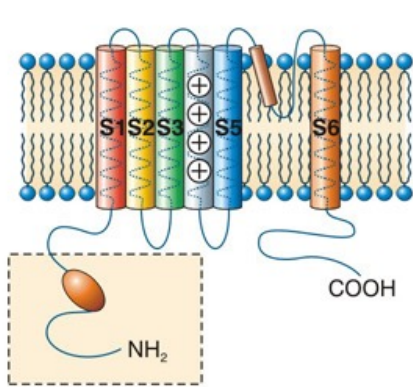
## Correnti di $K^+$ in voltage-clamp



Il canale  $K_A$ , come il canale  $K_{DR}$  (*delayed rectifier*), è selettivo per il  $K^+$ , ma:

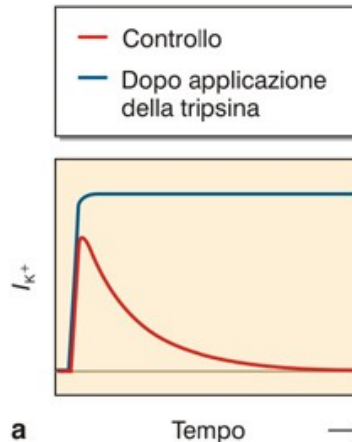
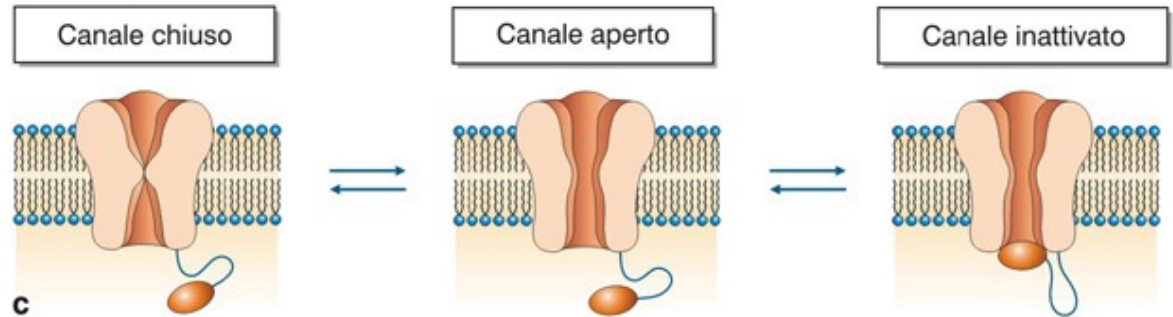
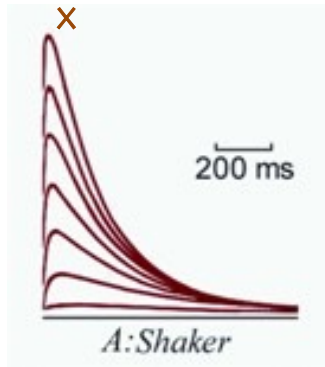
- Si attiva a potenziali più negativi di  $K_V$  (attivazione precoce)
- Si inattiva tanto più rapidamente quanto maggiore è la depolarizzazione

# Canale del K<sup>+</sup> voltaggio-dipendente *shaker*, un canale con modulo di inattivazione



Dominio d'inattivazione

Gene sul cromosoma X

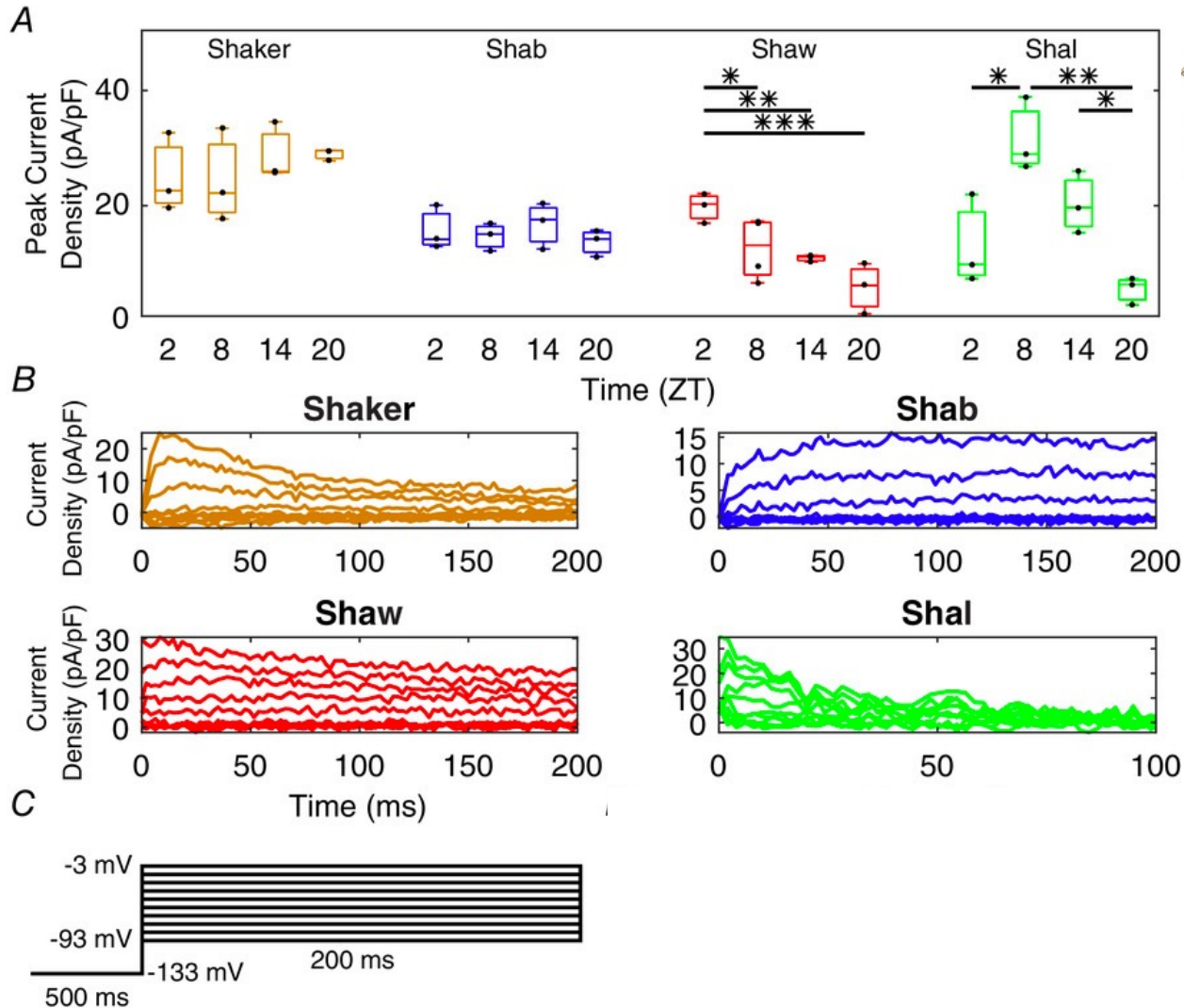


Canali del K codificati da altri 3 geni in *Drosophila* con caratteristiche intermedie tra un canale K<sub>A</sub> e DRK. Sono tutti omomericici e possono coesistere nella stessa cellula

• Il primo canale del K<sup>+</sup> V-dipendente fu clonato da un mutante del moscerino *Drosophila* (*Shaker*), detto così perché caratterizzato da un tremito delle zampe durante anestesia con etere per difetto di conduzione del canale del K. Simile al K<sub>A</sub>

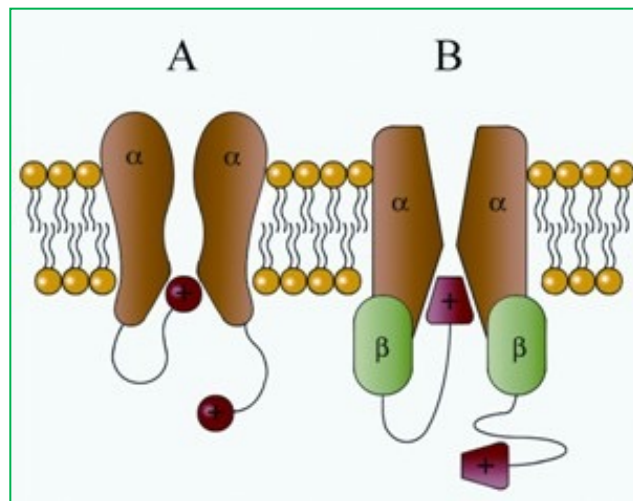
• Formati da quattro catene polipeptidiche, con 6 segmenti trans-membrana e un sensore del voltaggio (S4), che si aggregano a formare una struttura tetramericca

# Canali del K<sup>+</sup> voltaggio-dipendenti in *Drosophila shaker*, Shal, Shab e Shaw hanno una diversa consuttanza



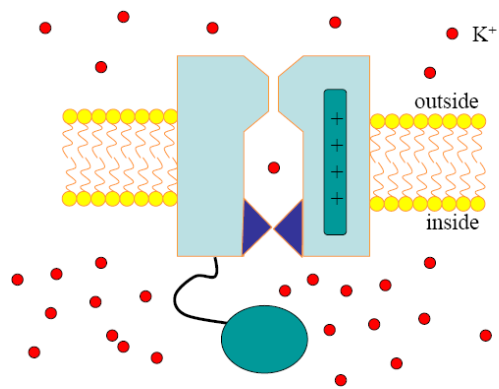
## I “cancelli” di inattivazione dei canali $K_v$

- In alcuni canali del  $K^+$ , l’inattivazione è causata da un meccanismo “a tappo” esercitato da un peptide che costituisce l’estremità N-terminale delle subunità  $\alpha$  (in totale 4) – meccanismo “ball and chain”
- In altri canali del  $K^+$ , il peptide è l’estremità N-terminale di una subunità accessoria  $\beta$
- Il peptide è dotato di cariche parziali positive che prendono contatto con cariche negative all’imboccatura intracellulare del canale.
- Per i canali del Na e del  $Ca^{2+}$  il cancello di inattivazione è un’ansa intracellulare

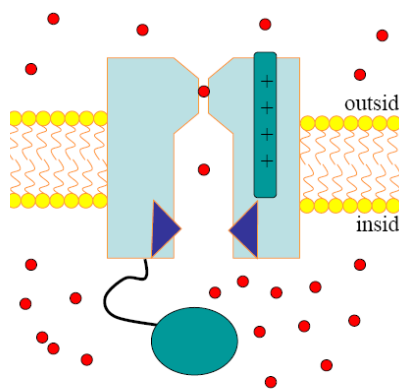


Questo tipo di inattivazione, viene chiamato *inattivazione di tipo-N*

**Channel Gating**  
**CLOSED**

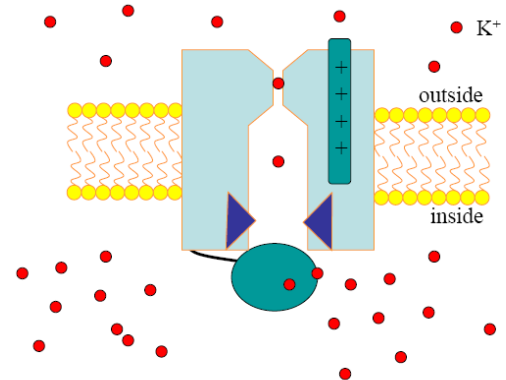


**Channel Gating**  
**OPEN**



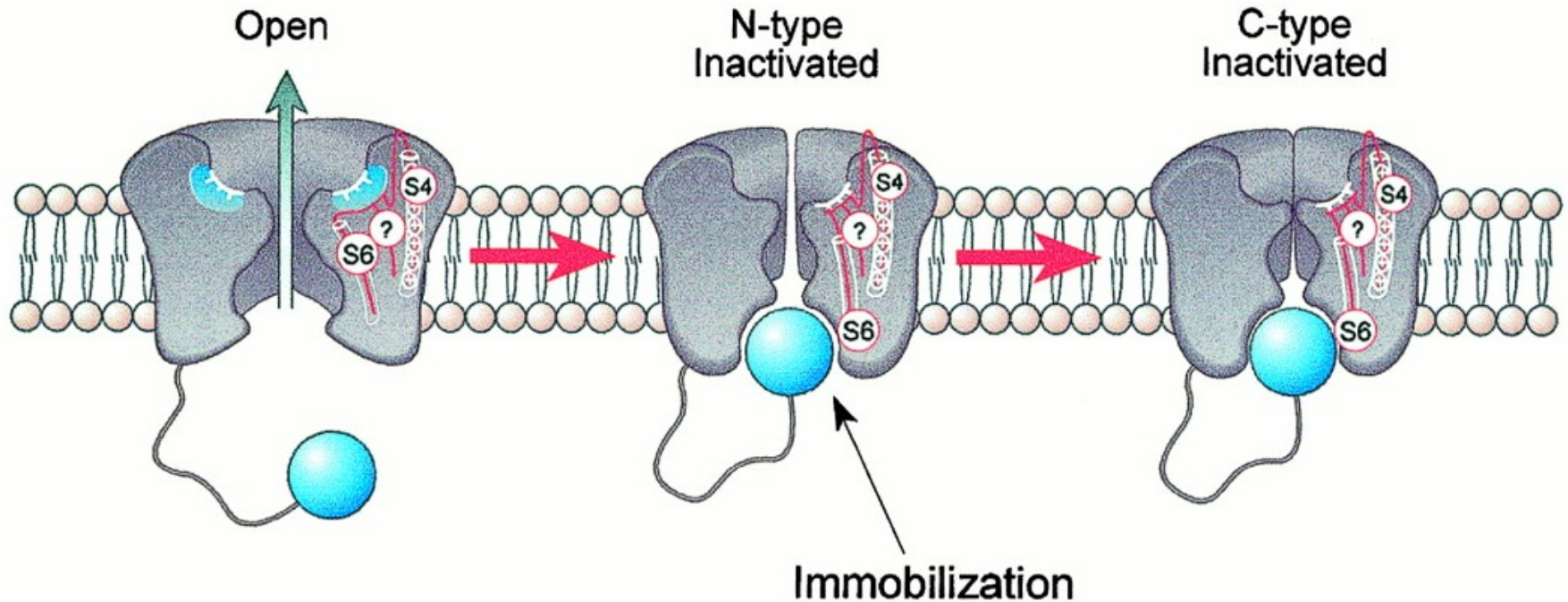
**Channel Gating**

**INACTIVATED**





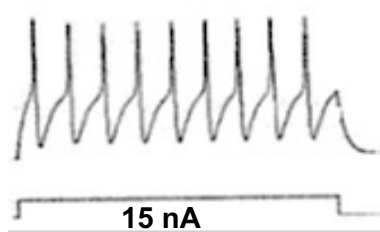
# Inattivazione lenta o di tipo C



## Allosteric Mechanism

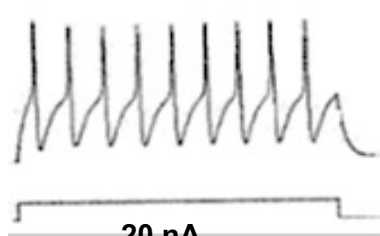
Probabilmente l'inattivazione "di tipo C" è dovuta al movimento voltaggio-dipendente della porzione esterna del segmento S6, che *restringe il filtro di selettività*

# La codificazione dell'intensità di uno stimolo e la sua regolazione da parte dei $K_A$



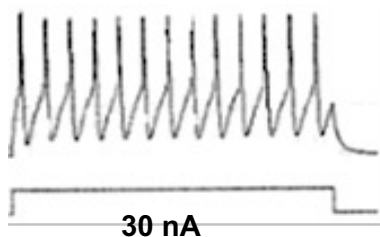
9 spk/1.2 s

- Se uno stimolo depolarizzante è duraturo, invece di un solo potenziale d'azione se ne può generare una serie in sequenza: **treno di potenziali d'azione**



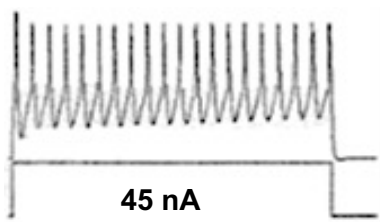
13 spk/1.2 s

- Il processo di codificazione si realizza variando la frequenza di scarica al variare dell'intensità dello stimolo: **all'aumentare dell'intensità dello stimolo aumenta la frequenza di scarica**



17 spk/1.2 s

- I canali  $K_A$  operano un "freno" voltaggio-dipendente sulla frequenza di scarica dei potenziali d'azione

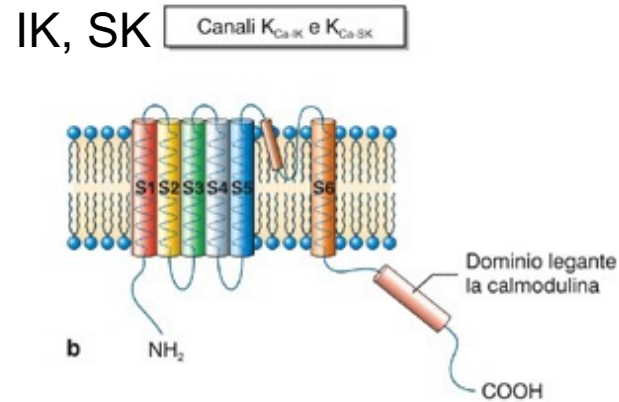
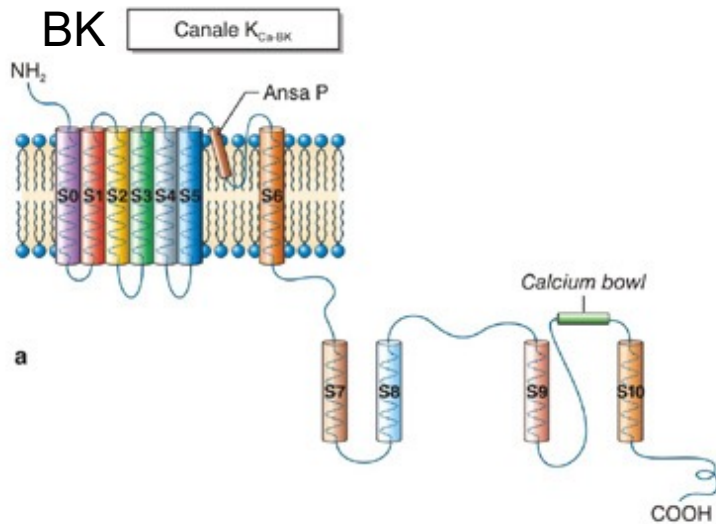


20 spk/1.2 s

- L'attivazione dei canali  $K_A$  è piuttosto precoce e contrasta l'azione depolarizzante dello stimolo: **frena l'insorgenza dello *spike***

- Ma l'inattivazione dei canali  $K_A$  è tanto più veloce quanto più intensa è la depolarizzazione: **lo stimolo depolarizzante prevale sull'uscita di cariche  $K^+$**

# Canali del potassio calcio-attivati



➤ Sono divisi in tre sottofamiglie: alta conduttanza (BK, *big* 100-200 pS), conduttanza intermedia (IK, *intermediate* 20-80 pS) e bassa conduttanza (SK, *small* < 20 pS)

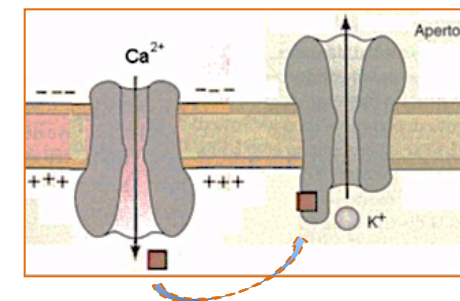
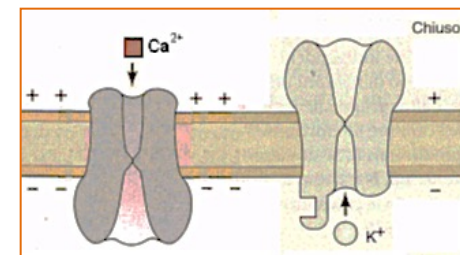
➤ Regolati dalla concentrazione di  $Ca^{2+}$  intracellulare

➤ Si aprono durante il potenziale d'azione in seguito agli influssi di  $Ca^{2+}$  ➔

➤ Mancano del sensore del voltaggio

➤ Partecipano alla ripolarizzazione, all'iperpolarizzazione postuma e alla modulazione della frequenza di scarica

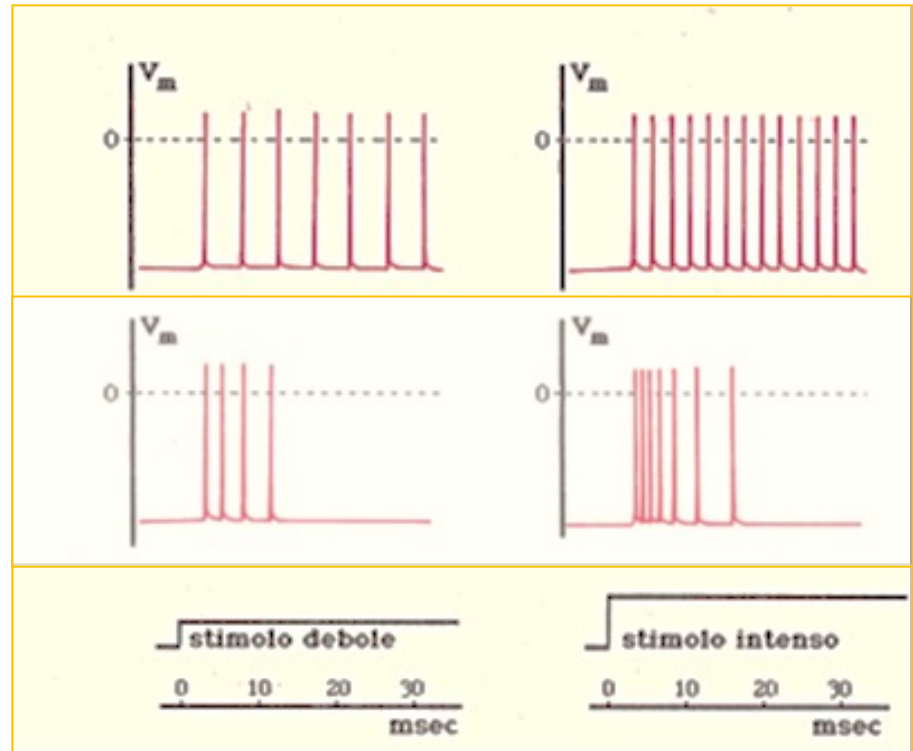
➤ Presenti anche in cellule non eccitabili, partecipano a processi di proliferazione e controllo del volume cellulare



# Neuroni diversi possono presentare modalità di scarica diverse

➤ **Scarica tonica:** la frequenza di scarica si mantiene costante durante la stimolazione ed è **proporzionale all'intensità** dello stimolo

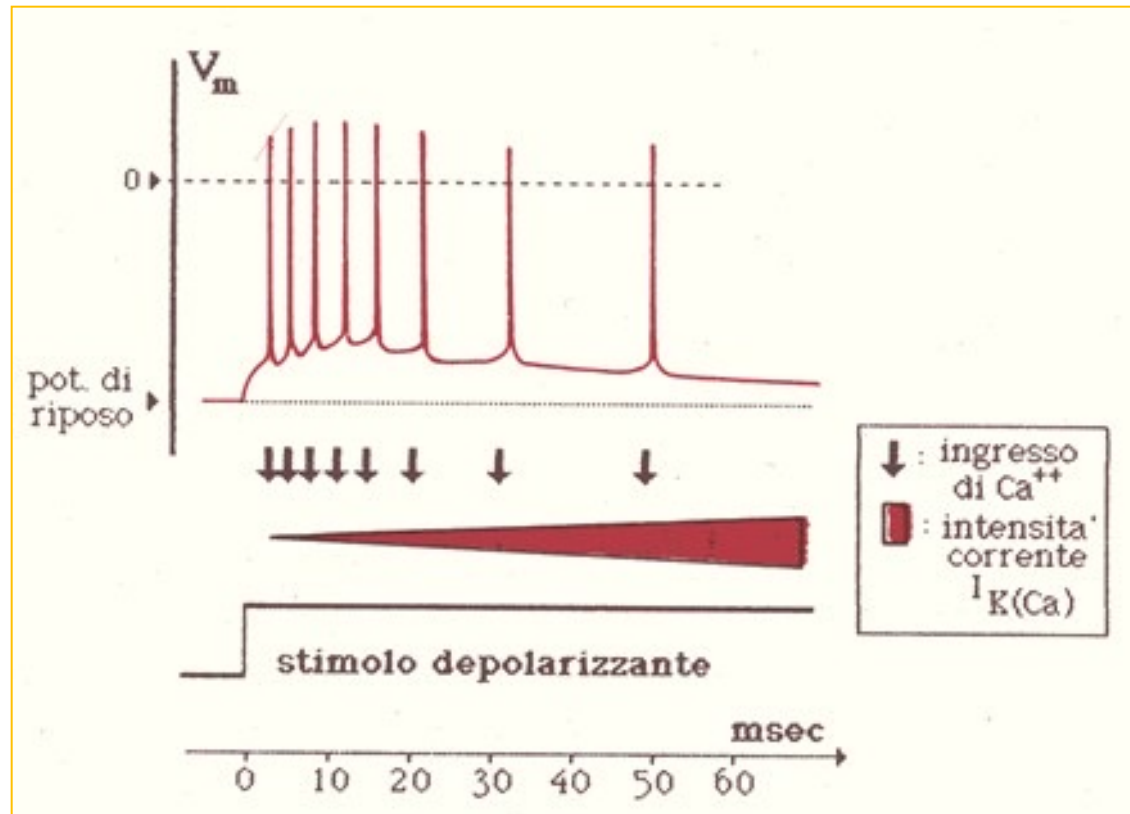
➤ **Scarica fasica:** la frequenza di scarica è proporzionale alla **variazione di intensità** dello stimolo



➤ Nei recettori della sensibilità somatica **l'adattamento** aumenta la percezione dei cambiamenti di pressione. Così, ad esempio, la pressione costante degli abiti sul corpo non viene quasi più percepita

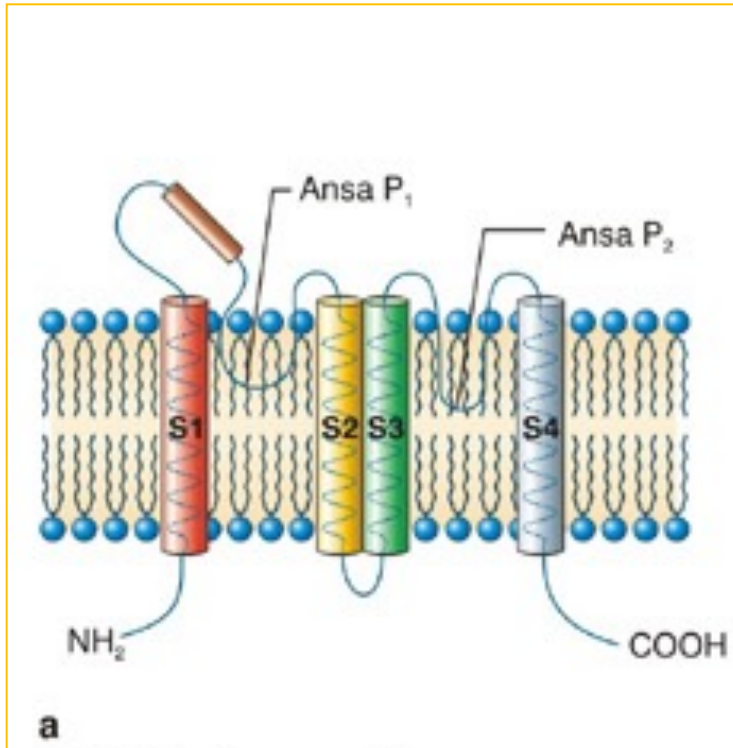
# Il processo di adattamento

- Stimoli prolungati nel tempo comportano un fenomeno di adattamento quando la scarica è di tipo fasico



- Il processo di adattamento si realizza in seguito all'interazione di almeno tre diversi tipi di canali ionici selettivi per il  $K^+$  ( $K_v$ ,  $K_A$ ,  $K_{Ca}$ ) e di canali per il  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti

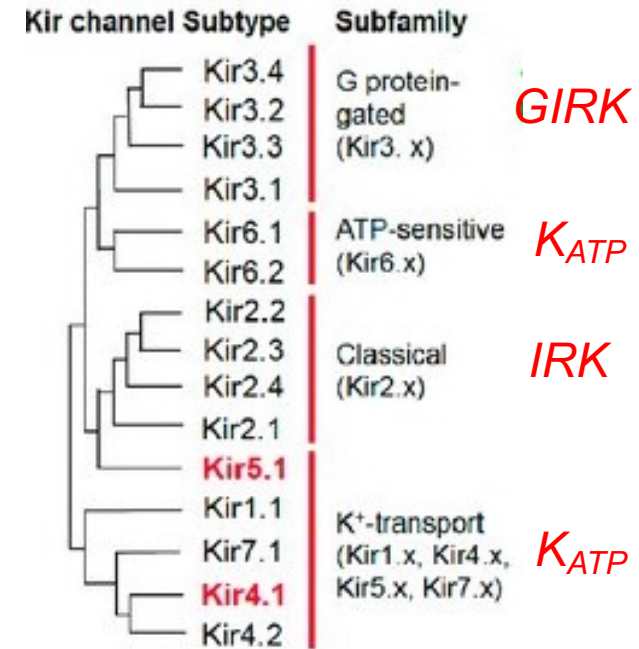
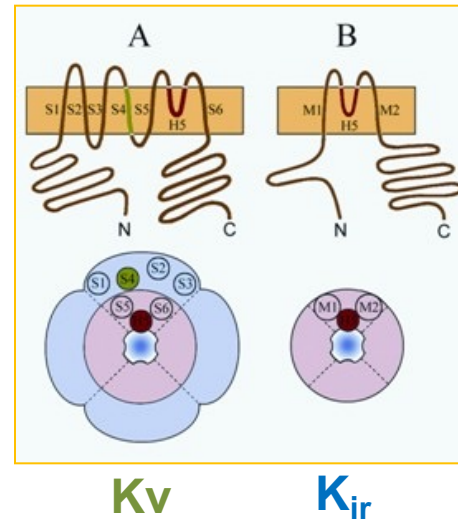
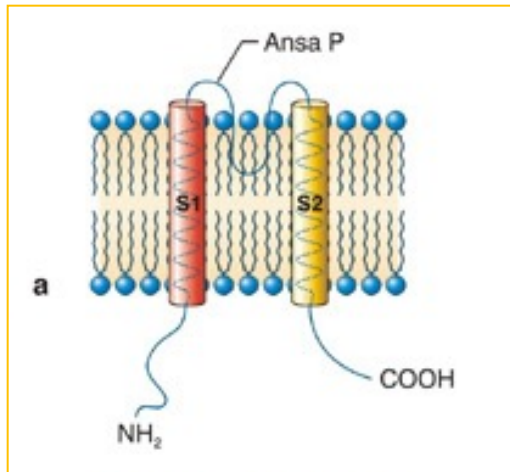
# Canali del potassio di *background* (*leakage*)



- Sei sottofamiglie (14 membri)
- Mancano del sensore di voltaggio
- Sono normalmente aperti al potenziale di riposo
- Contribuiscono a stabilizzare il  $V_m$  a riposo, in prossimità del  $E_k$
- Sono modulati da numerosi messaggeri: ad esempio, sono attivati da anestetici gassosi e non gassosi, e da anestetici locali

# Canali del potassio *inward rectifier* ( $K_{IR}$ ), o *anomalous rectifier*

Il processo di *inward-rectification* (rettificazione entrante) è stato scoperto negli anni '60 da Noble nel muscolo cardiaco e nel 1970 da Hodgkin e Adrian nel muscolo scheletrico



➤ Sette famiglie ( $K_{IR1}$ - $K_{IR7}$ )

➤ Sono equivalenti alla porzione interna dei canali  $K_v$ , quindi mancano del modulo contenente il sensore del voltaggio

➤ Hanno una relazione corrente macroscopica-voltaggio dipendente opposta a quella dei  $K_v$ , ossia conducono più  $K^+$  verso l'interno che in direzione opposta

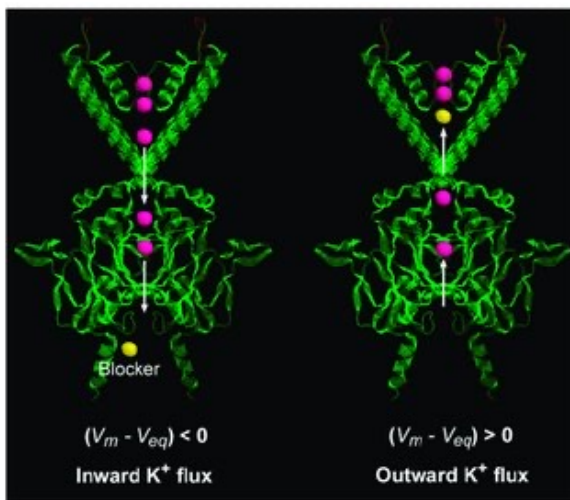
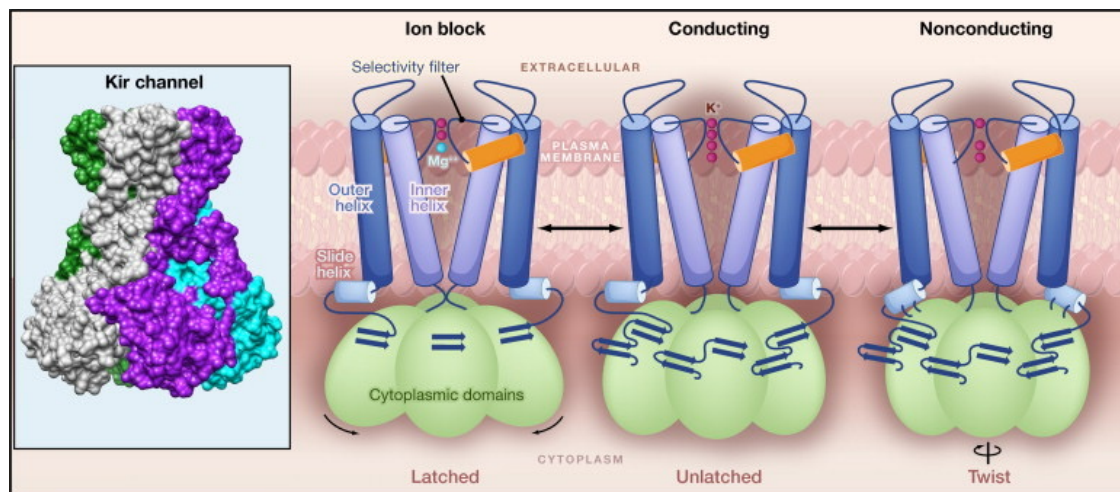
➤ Questa proprietà non è il risultato di una voltaggio-dipendenza invertita, perché di fatto i canali  $K_{IR}$  sono insensibili alle variazioni di potenziale e sono parzialmente attivi a riposo (partecipano alla corrente di *leakage*)

# Canali del potassio *inward rectifier* ( $K_{IR}$ ), o *anomalous rectifier*

➤ La voltaggio dipendenza di questi canali è determinata da un **blocco** voltaggio-dipendente della conduzione esercitato sul versante intracellulare da **ioni inorganici ( $Mg^{2+}$ )** e **molecole organiche cariche positivamente** (poliammine) che ne **bloccano il poro a potenziali positivi**

➤ Il **blocco è rimosso a potenziali negativi** (attirano le cariche positive), consentendo l'entrata di  $K^+$

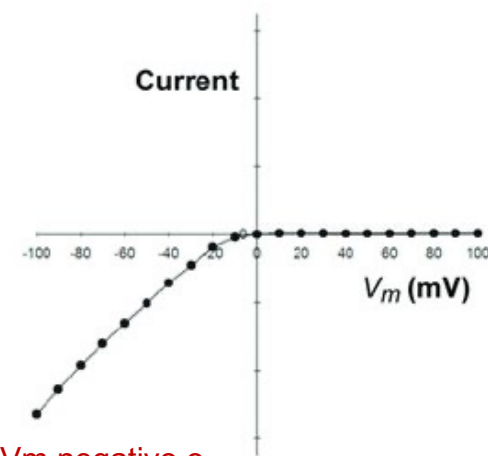
➤ Contribuiscono a mantenere il  $V_m$  a valori di riposo, vicini ad  $E_K$



$V_m$  negativo

(a)

$V_m$  positivo



$V_m$  negativo o iperpolarizzato

(b)