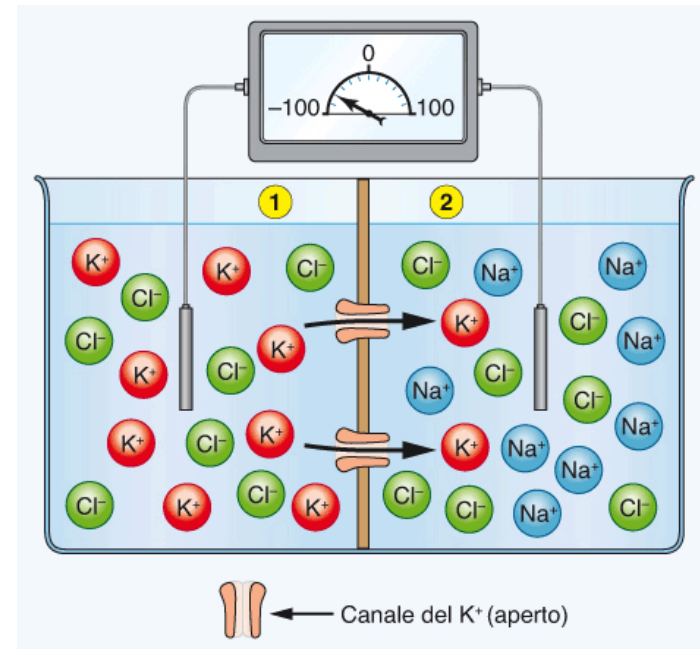
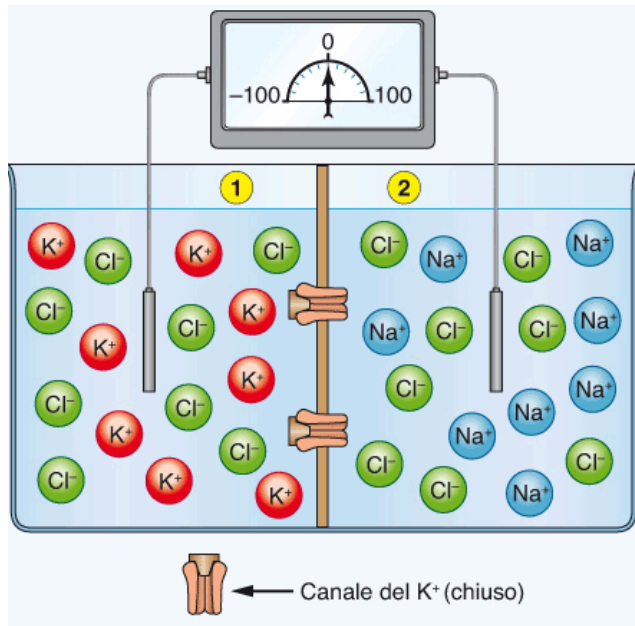


La differenza di potenziale transmembrana è un Potenziale Electrochimico

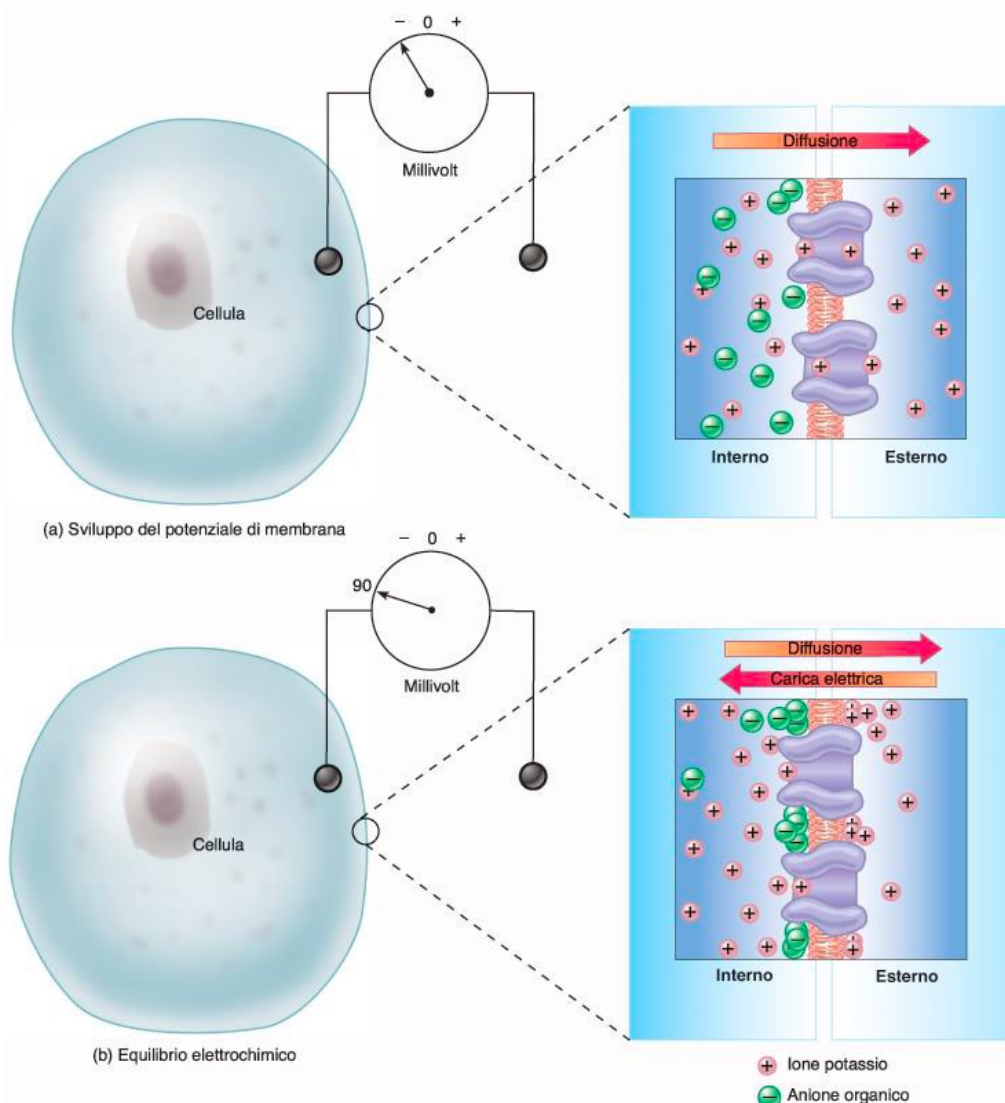
Il potenziale elettrochimico si genera perché:

- le membrane sono *selettivamente permeabili* ad alcuni ioni
- ci sono *differenze di concentrazione* di ioni specifici ai due lati della membrana mantenuto con dispendio energetico



Equilibrio elettrochimico

gradiente di concentrazione e quello elettrico sono uguali e opposti



K⁺ più concentrato nel LIC: **gradiente chimico** che favorisce la diffusione nel LEC (membrana plasmatica è molto permeabile a K⁺)

- Gli anioni macromolecolari rimangono nel citoplasma

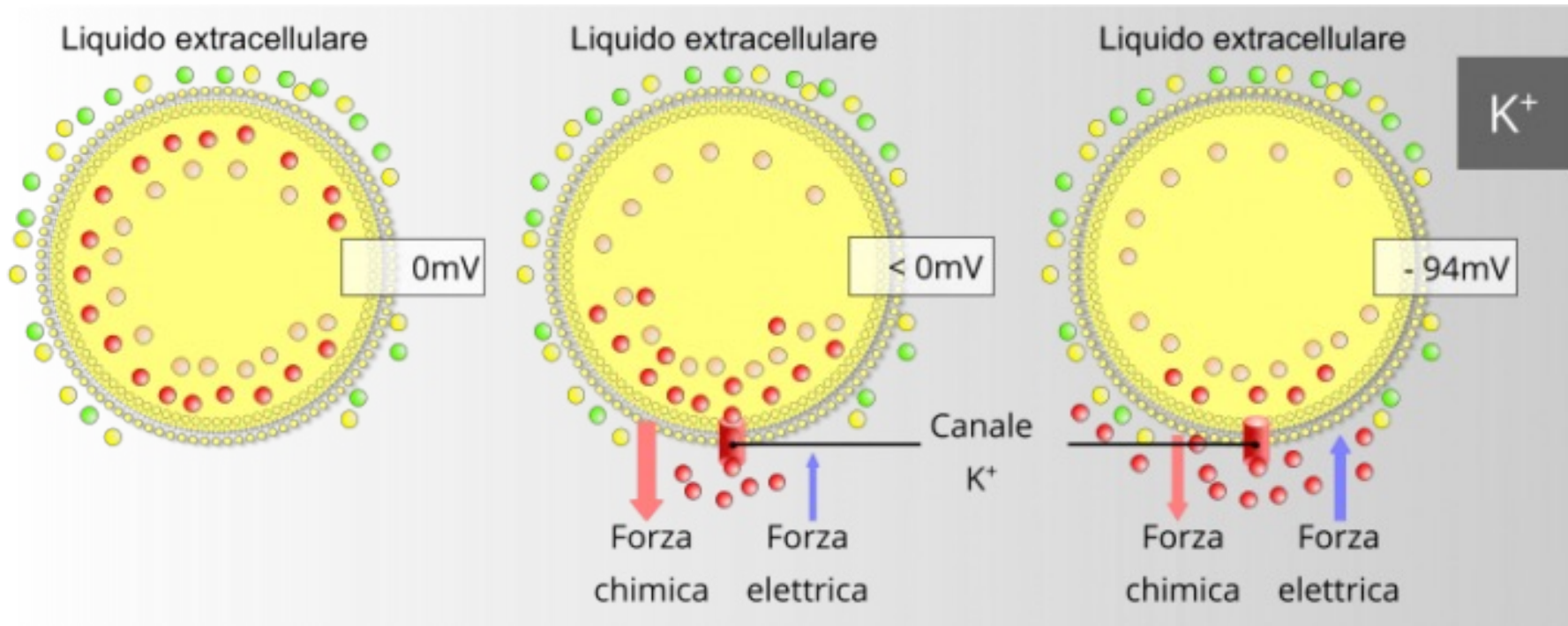
- Cariche negative in eccesso si concentrano sulla superficie interna della membrana plasmatica **attraendo cationi**, ovvero K⁺ (attraggono anche Na⁺, ma la membrana plasmatica è relativamente impermeabile al Na⁺ in condizioni passive)

- **Il gradiente chimico** è quindi bilanciato dalla **forza elettrica**

- Se i due gradienti diventassero uguali (potenziale elettrochimico sia annullato), allora cesserebbe la diffusione netta di K⁺ e si raggiungerebbe il *potenziale di equilibrio per K⁺*

Equilibrio elettrochimico

gradiente di concentrazione e quello elettrico sono uguali e opposti



L' equilibrio elettrochimico di uno singolo ione (x) corrisponde al suo potenziale di equilibrio (E_x)

Come calcolare il potenziale di equilibrio di uno ione: L'Equazione di Nernst

L'Equazione di Nernst stabilisce una relazione quantitativa tra la differenza di potenziale elettrico e il rapporto di concentrazione di un singolo ione tra i due lati della membrana plasmatica

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

E_x : potenziale di equilibrio per lo ione X

R: costante dei gas (8,314 Joule/mol x K) →

il lavoro che una mole di gas compie quando si espande in seguito all'aumento di temperatura (in kelvin) a pressione costante

T: temperatura assoluta (Kelvin)

F costante di Faraday (96.485 coulomb/mol)

Z: valenza dello ione

$[X]_e$ e $[X]_i$: concentrazioni dello ione ai due lati della membrana

Ad una temperatura di 311,15 Kelvin (pari a 38 °C) e con il ln trasformato in log (ln = 2,302 log)

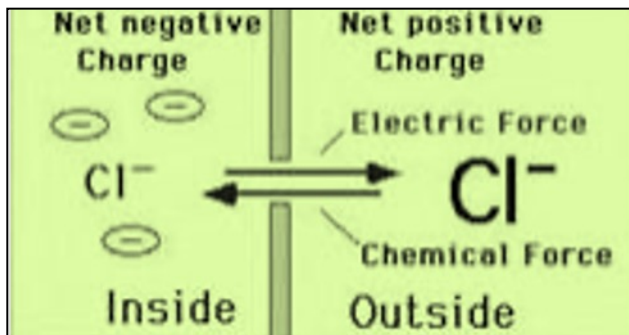
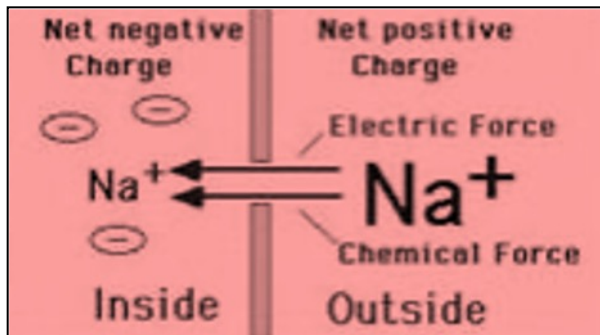
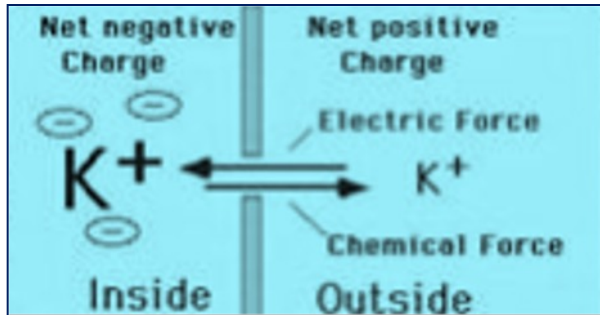
$$E_x = \frac{8,314 \times 311,15 \times 2,302}{z \times 96.485} \log \frac{[X]_e}{[X]_i} = 0,061 \log \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

$$E_x = RT/zF \log [X]_e / [X]_i$$

$$E_K = 0,061 \times \log 4 \text{ mM}/140 \text{ mM} = -94 \text{ mV}$$

$$E_{Na} = 0,061 \times \log 120 \text{ mM}/10 \text{ mM} = +65 \text{ mV}$$

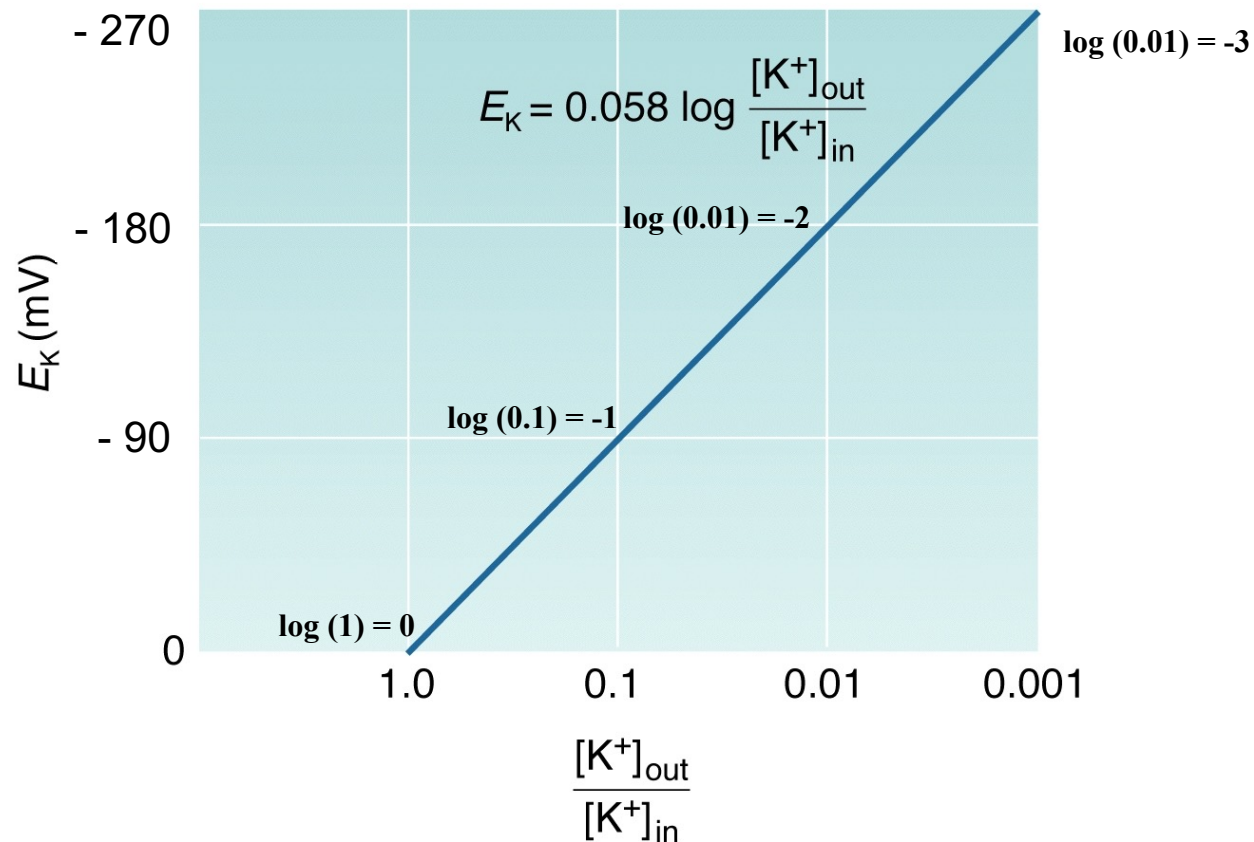
$$E_{Cl} = -0,061 \times \log 120 \text{ mM}/4 \text{ mM} = -90 \text{ mV}$$



In base all' equazione di Nernst:

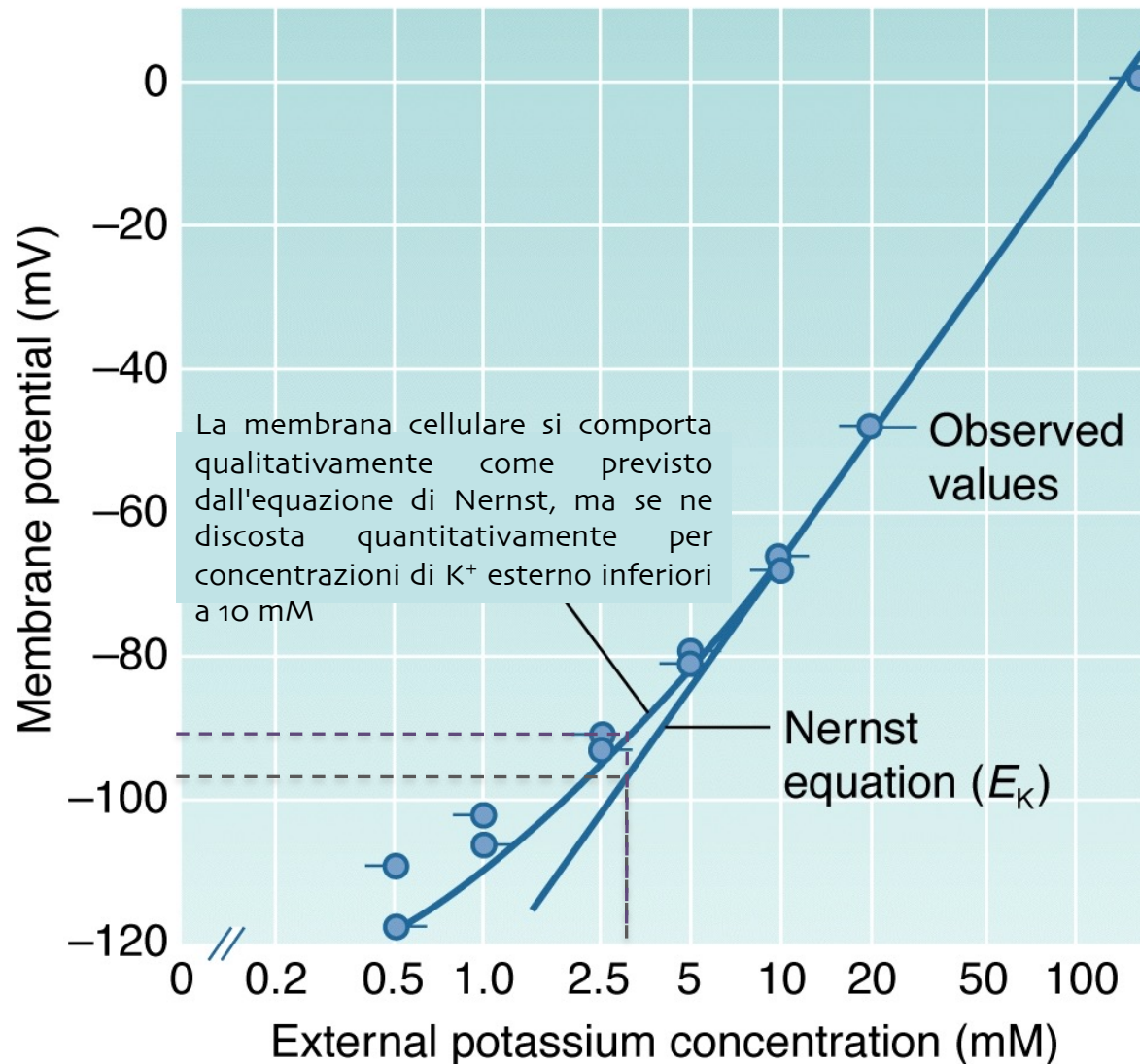
quando il gradiente di concentrazione di uno ione attraverso una membrana aumenta, aumenterà anche il suo potenziale all' equilibrio

(a)



Il potenziale di equilibrio è proporzionale al log del rapporto delle concentrazioni nei due compartimenti

Ma nelle misurazioni reali, per bassi valori di concentrazione di K^+ esterno la curva si discosta da quella predetta con l'equazione di Nernst



Il potenziale di membrana è determinato da più specie ioniche

Equazione di Goldman, Hodgkin e Katz

$$E_{\text{ioni}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_e + {}^+P_{Na} [Na^+]_e + {}^-P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + {}^+P_{Na} [Na^+]_i + {}^-P_{Cl} [Cl^-]_e}$$

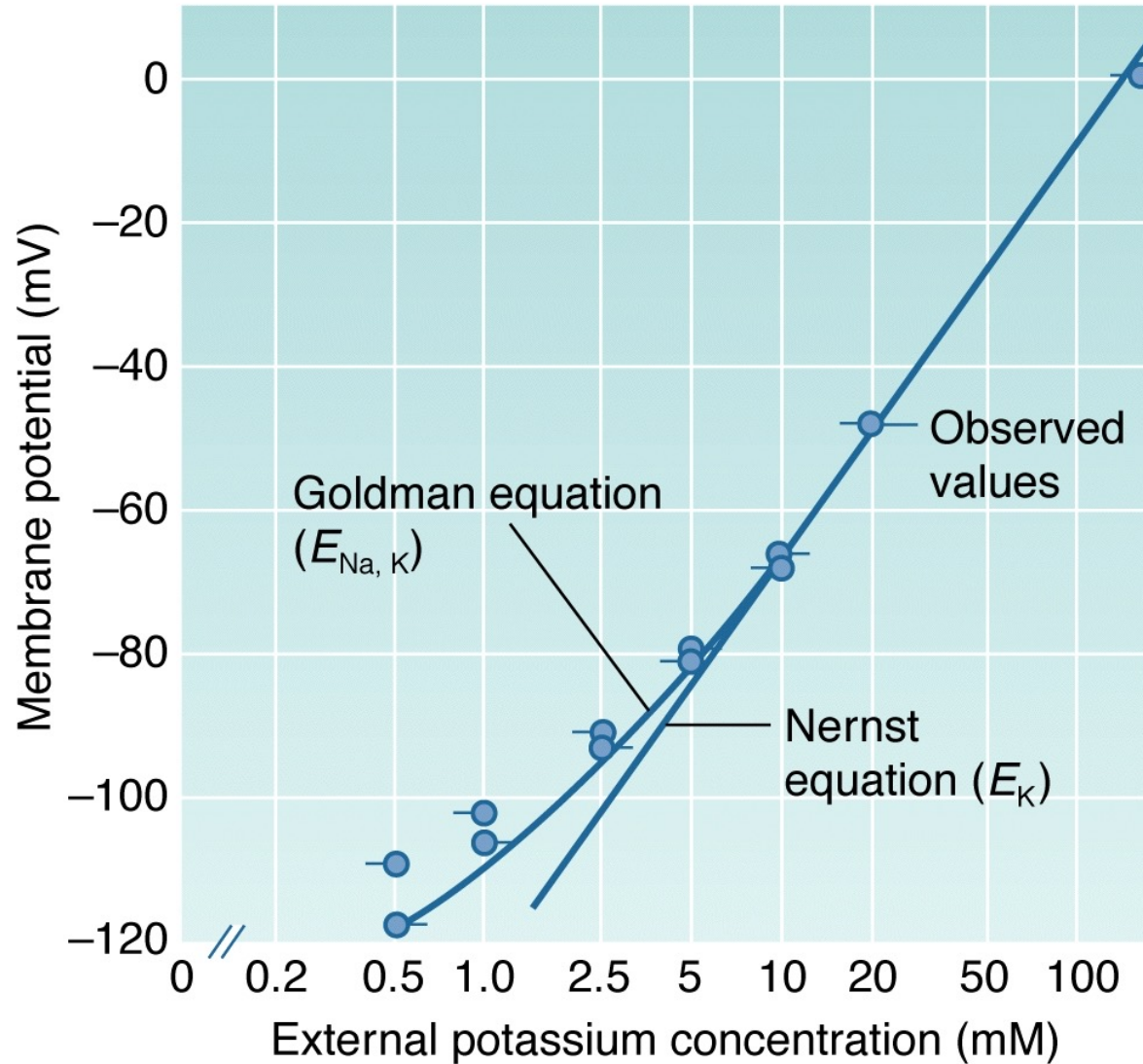
- Dove " ${}^+$ " rappresenta la permeabilità passiva per lo ione Na^+ o Cl^- relativa alla permeabilità passiva del K^+
- Il Cl^- è invertito perché ha carica negativa

Esempio di sviluppo Equazione di GHK con K^+ e Na^+

$$E_{Na,K} = 0,061 \log \frac{1 [K^+]_e + 0,01 [Na^+]_e}{\log 1 [K^+]_i + 0,01 [Na^+]_i} = 0,061 \log \frac{2,5 \text{ mM} + (0,01 \times 120 \text{ mM})}{140 \text{ mM} + (0,01 \times 10 \text{ mM})} = -96 \text{ mV}$$

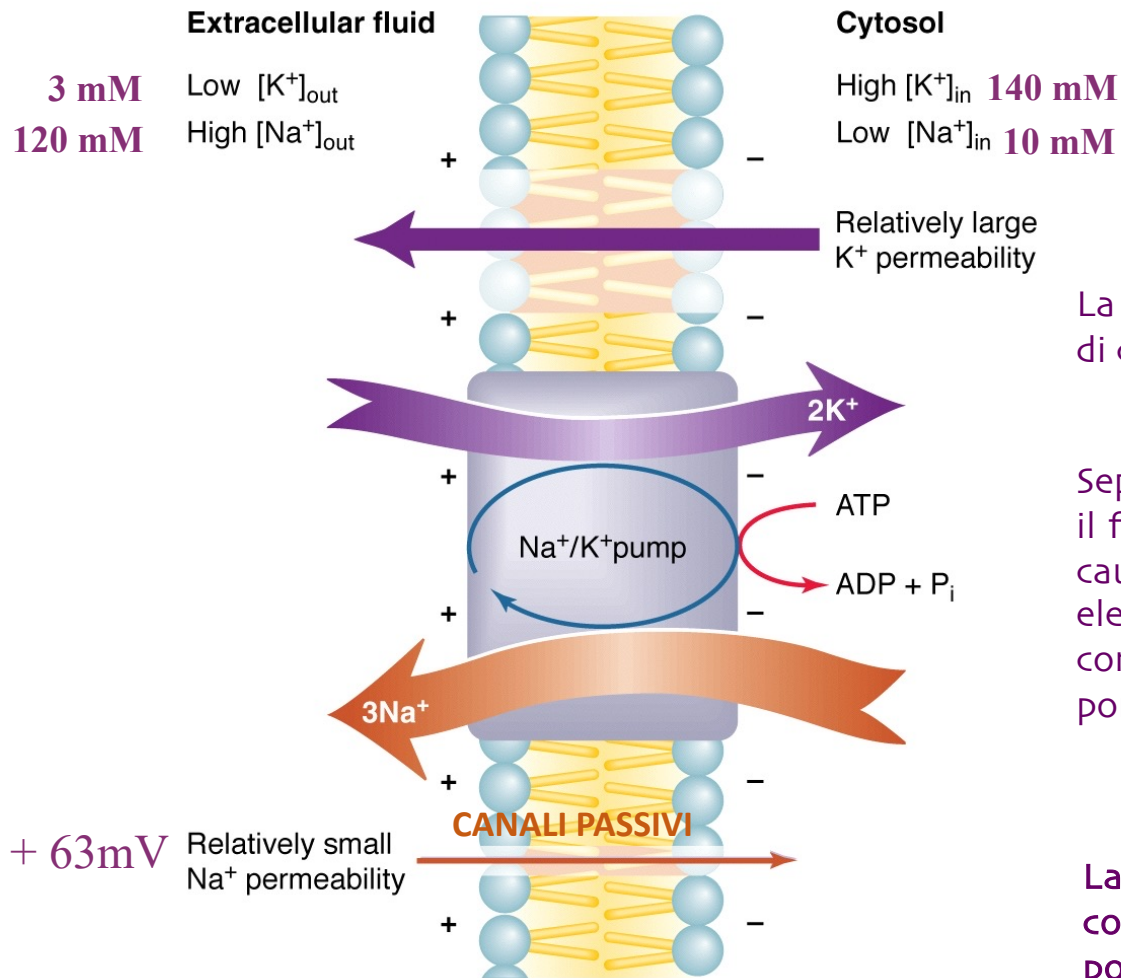
La permeabilità al K^+ in condizioni passive è la più alta tra gli ioni $\Rightarrow P_K = 1$
 se consideriamo la permeabilità al Na^+ 100 volte inferiore alla $P_K \Rightarrow P_{Na} = 0,01$

A basse concentrations extracellulaires de K^+ , le produit $P_{Na}[Na^+]_e$ s'approche de la valeur du produit $P_K[K^+]_e$, permettant au Na^+ d'apporter un plus grand apport à V_{rip}



Teoria del campo costante

Nella condizione di stato stazionario, il potenziale di membrana e le concentrazioni degli ioni coinvolti rimangono costanti nel tempo, anche a costo di dispendio energetico



La pompa produce un trasporto netto di carica: **trasporto elettrogenico**

Seppure con una minore permeabilità, il flusso Na^+ è 1,5 volte quello del K^+ a causa della elevata forza elettromotrice (*fem*), controbilanciando l'azione della pompa

La pompa Na^+/K^+ ATPasi contribuisce indirettamente al potenziale di riposo

$$E_{Na} = +63mV$$

$$fem (V_m - E_{Na}) \text{ è pari a } -150mV$$

Ricapitolando:

Il valore negativo del potenziale di riposo attraverso la membrana cellulare dipende dai seguenti fattori

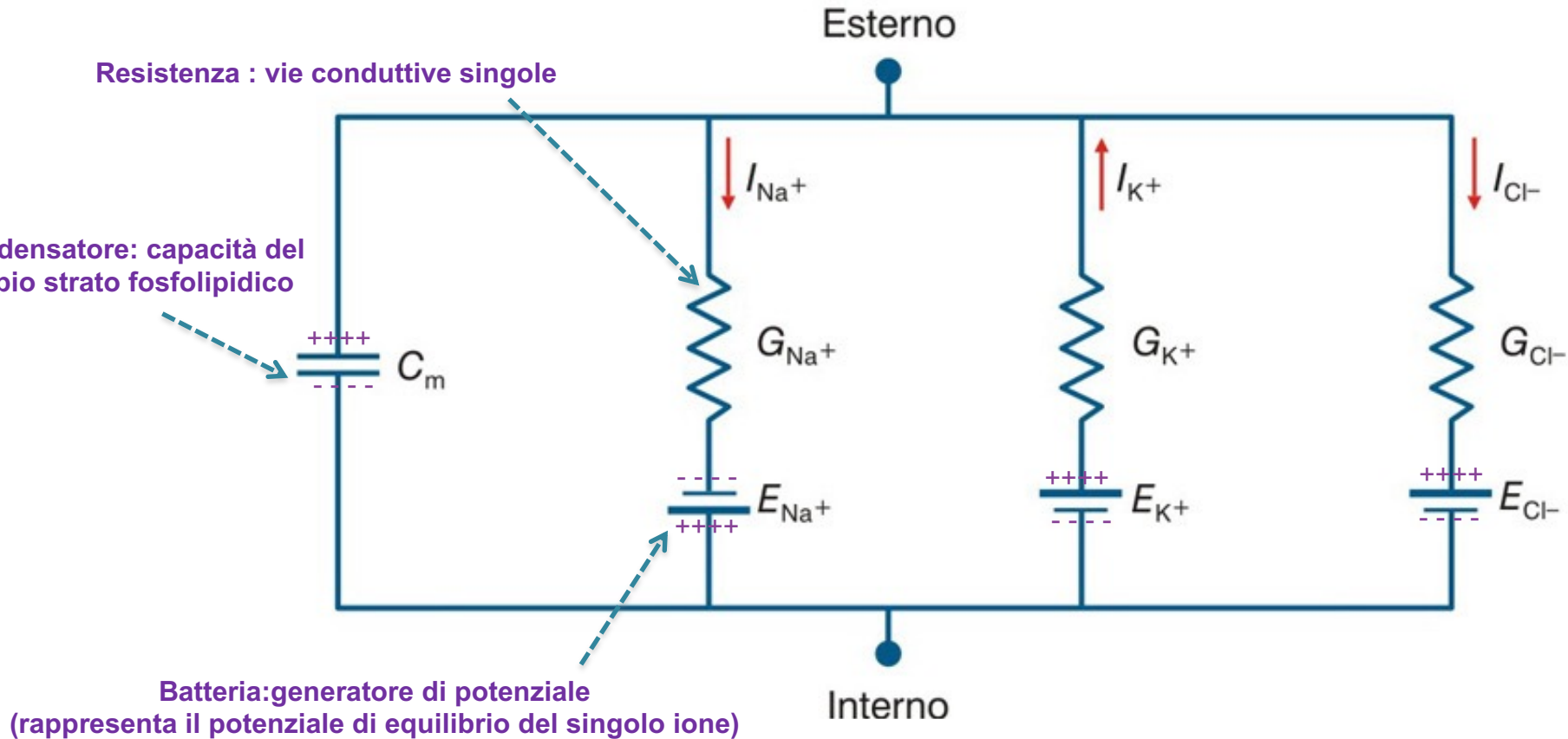
- La concentrazione intracellulare del K^+ è elevata rispetto a quella extracellulare, in concomitanza con **una elevata P_k**
- Gli ioni K^+ tendono a fluire passivamente fuori dalla cellula attraverso canali selettivi aperti in condizioni di riposo, lasciando sul lato interno una carica netta negativa
- I canali per il Na^+ aperti in condizioni di riposo sono pochi: **il Na^+ contribuisce in modo irrilevante al V_{rip}**
- Il contributo del Cl^- è variabile
- La pompa Na^+/K^+ , mantenendo basse la $[Na^+]_i$ fa sì che il K^+ sia il catione predominante all'interno della cellula. Una piccola componente del V_{rip} deriva direttamente dal pompaggio di una carica netta positiva fuori dalla cellula

Più la membrana plasmatica è permeabile ad uno ione in condizioni passive (passaggio attraverso canali passivi) più la carica di quello ione inciderà sul valore finale del V_m

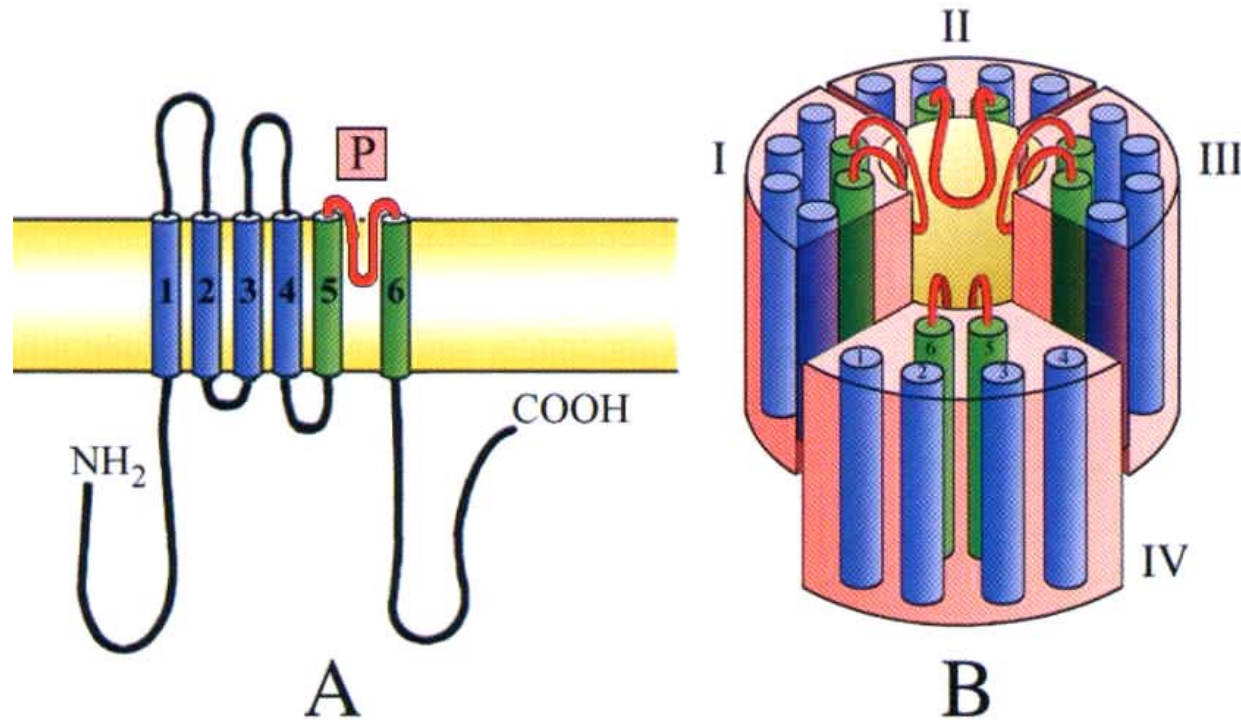
Il K^+ è lo ione che più condiziona il valore di V_m perché è lo ione per cui le membrane sono più permeabili

L'equazione di Goldman permette di combinare i concetti base sulla generazione e mantenimento del potenziale di membrana in una rappresentazione elettrica circuitale:

Il Circuito Equivalente della membrana cellulare



Struttura di base di un canale ionico



Classi di canali:

- ✓ Passivi: si aprono spontaneamente e sono quasi sempre aperti
- ✓ Ligando-dipendenti
- ✓ Voltaggio-dipendenti
- ✓ Dipendenti dallo stiramento
- ✓ Dipendenti da secondi messaggeri

Come si è compresa la struttura e il meccanismo d'azione dei canali ionici?

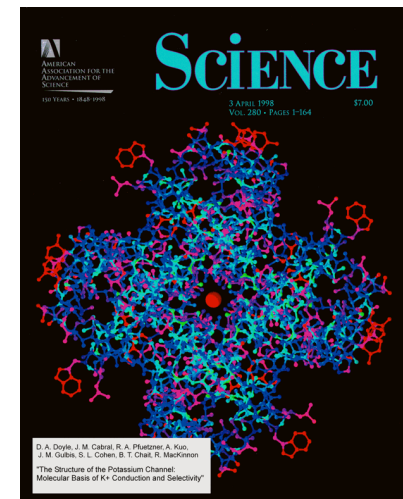
Fino al 1998:

con tecniche di biochimica: purificazione da un tessuto che li contenesse in maniera abbondante, determinazione della sequenza amminoacidica (questo permette di disegnare un grafico di idropatia e ipotizzare la loro conformazione)

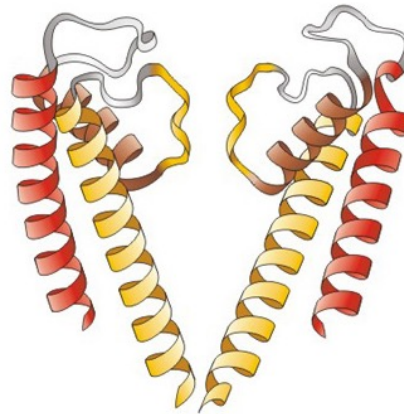
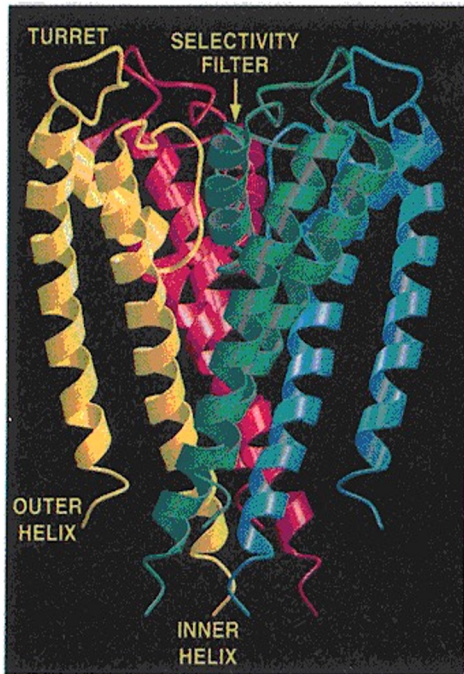
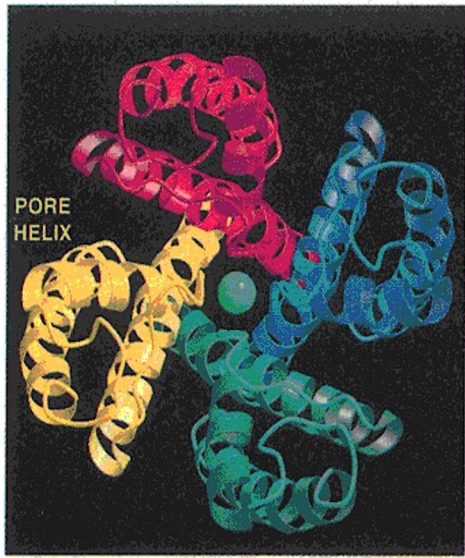
Con tecniche di biologia molecolare: isolamento del gene sotto forma di DNA complementare (cDNA) all'RNA messaggero. Trasfezione del cDNA in linee cellulari

Dal 1998:

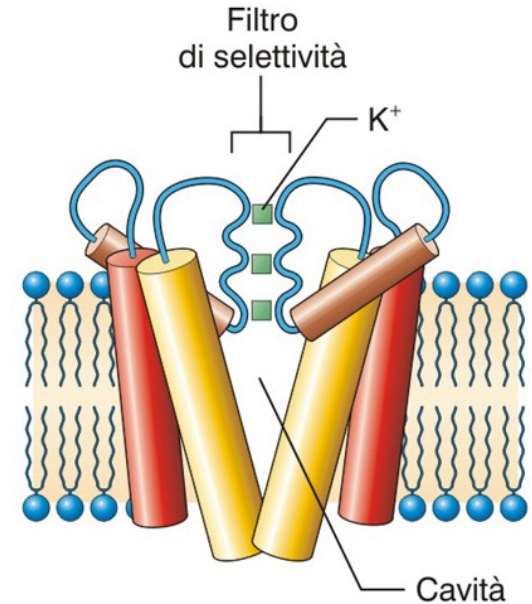
Cristallografia con risoluzione atomica: ottenuta per la prima volta da R. MacKinnon per un canale del K^+ batterico



Canale del K⁺ batterico KcsA

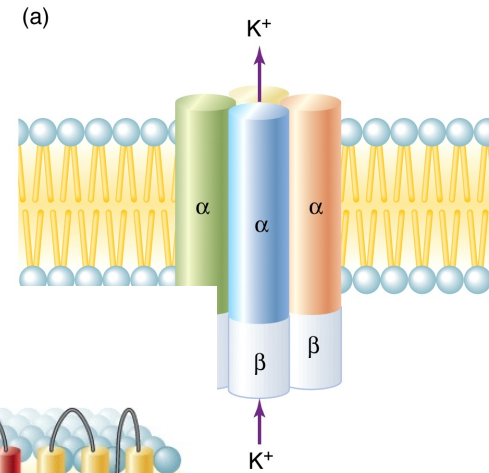
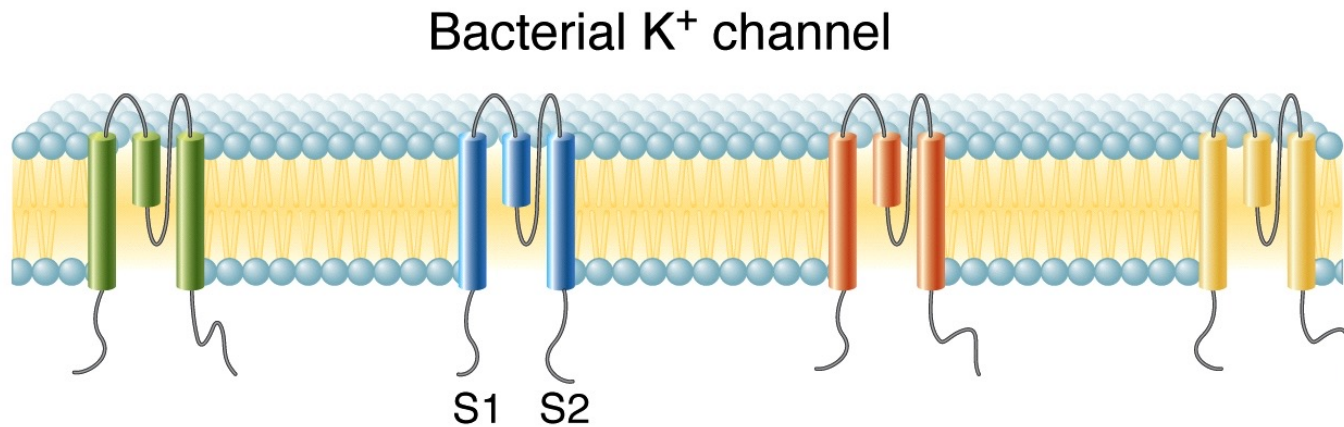
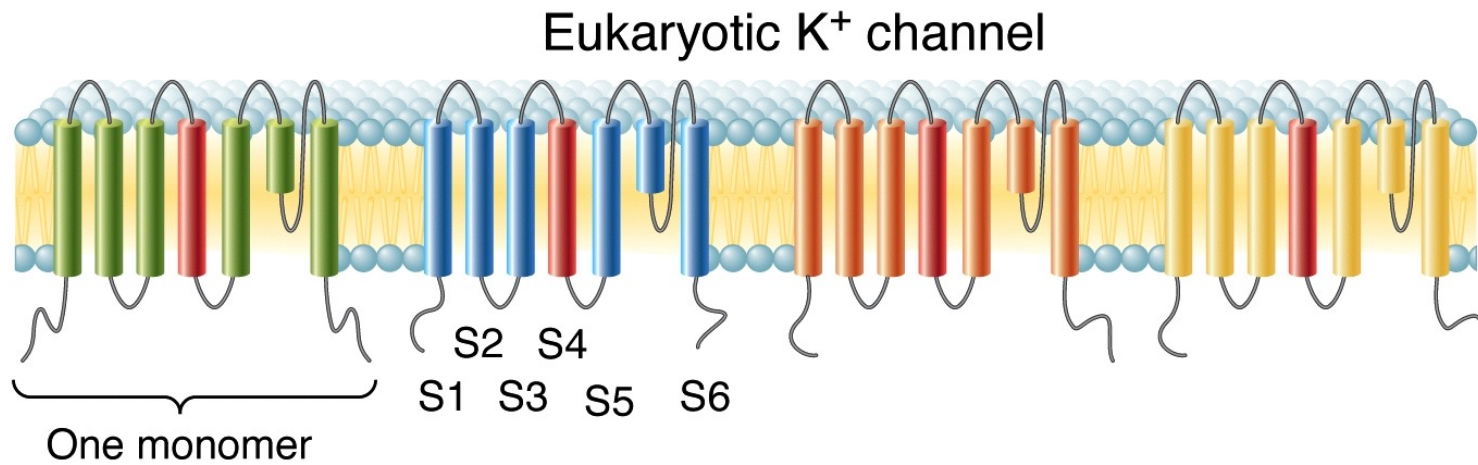


© 2006 edi.ermes milano



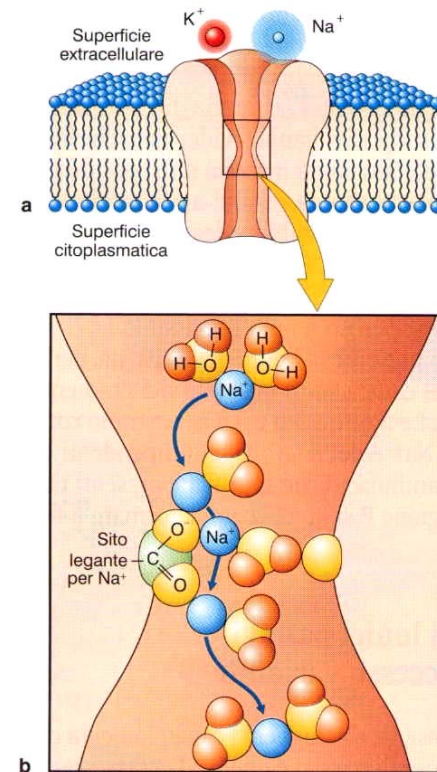
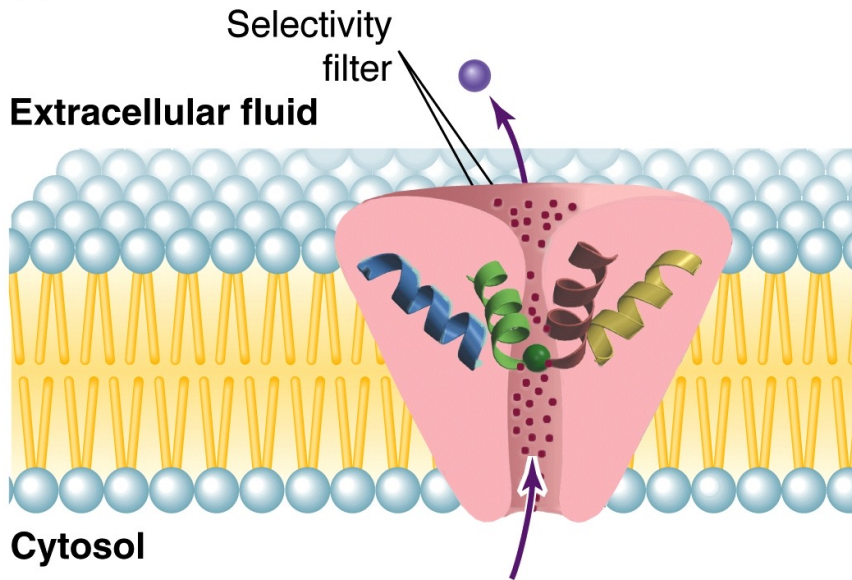
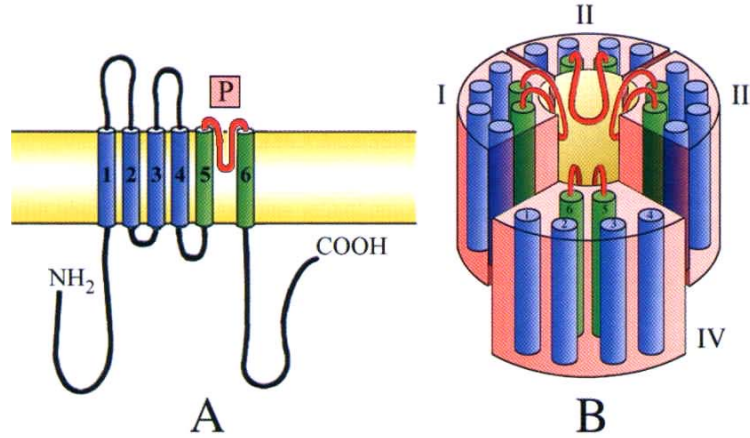
Quattro subunità con due segmenti transmembrana connessi da un ansa P (*poro canale*)

Canale del K^+ eucariotico e batterico



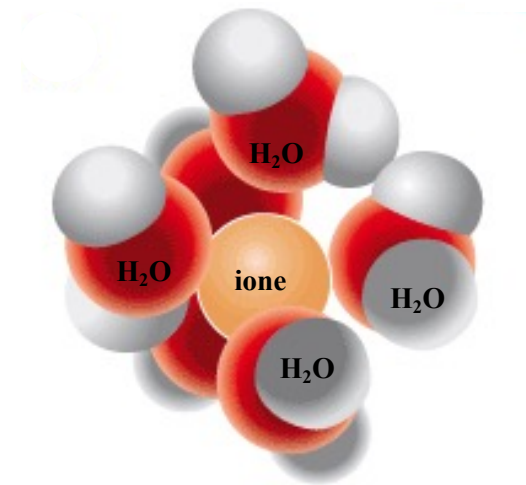
Selettività dei canali ionici

1. Carica

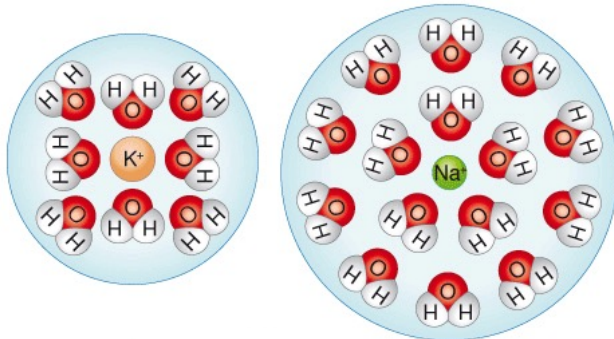


2. Dimensione

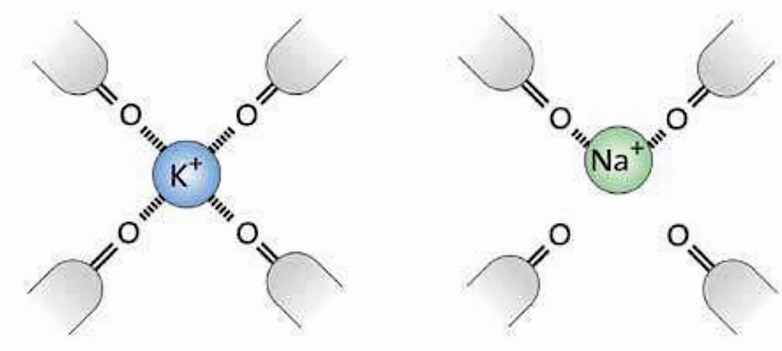
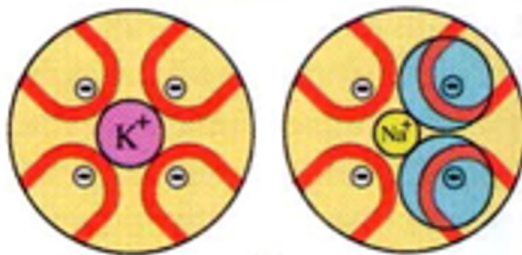
| Ione | raggio anidro | raggio idrato | strato idrico |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| Na^+ | 0.98 | 2.91 | 1.93 |
| K^+ | 1.33 | 1.88 | 0.55 |
| NH_4^+ | 1.45 | 1.89 | 0.44 |
| Cl^- | 1.80 | 1.92 | 0.12 |



In soluzione acquosa

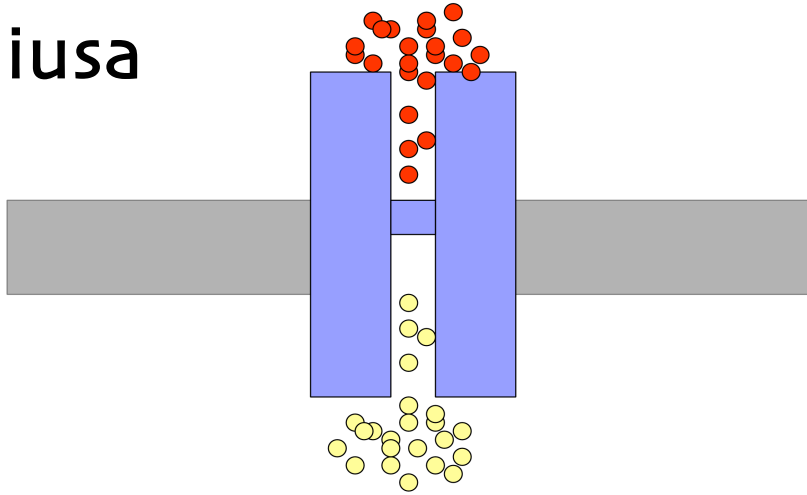


Nel canale del K^+



I canali ionici si spostano da una configurazione

chiusa



aperta

