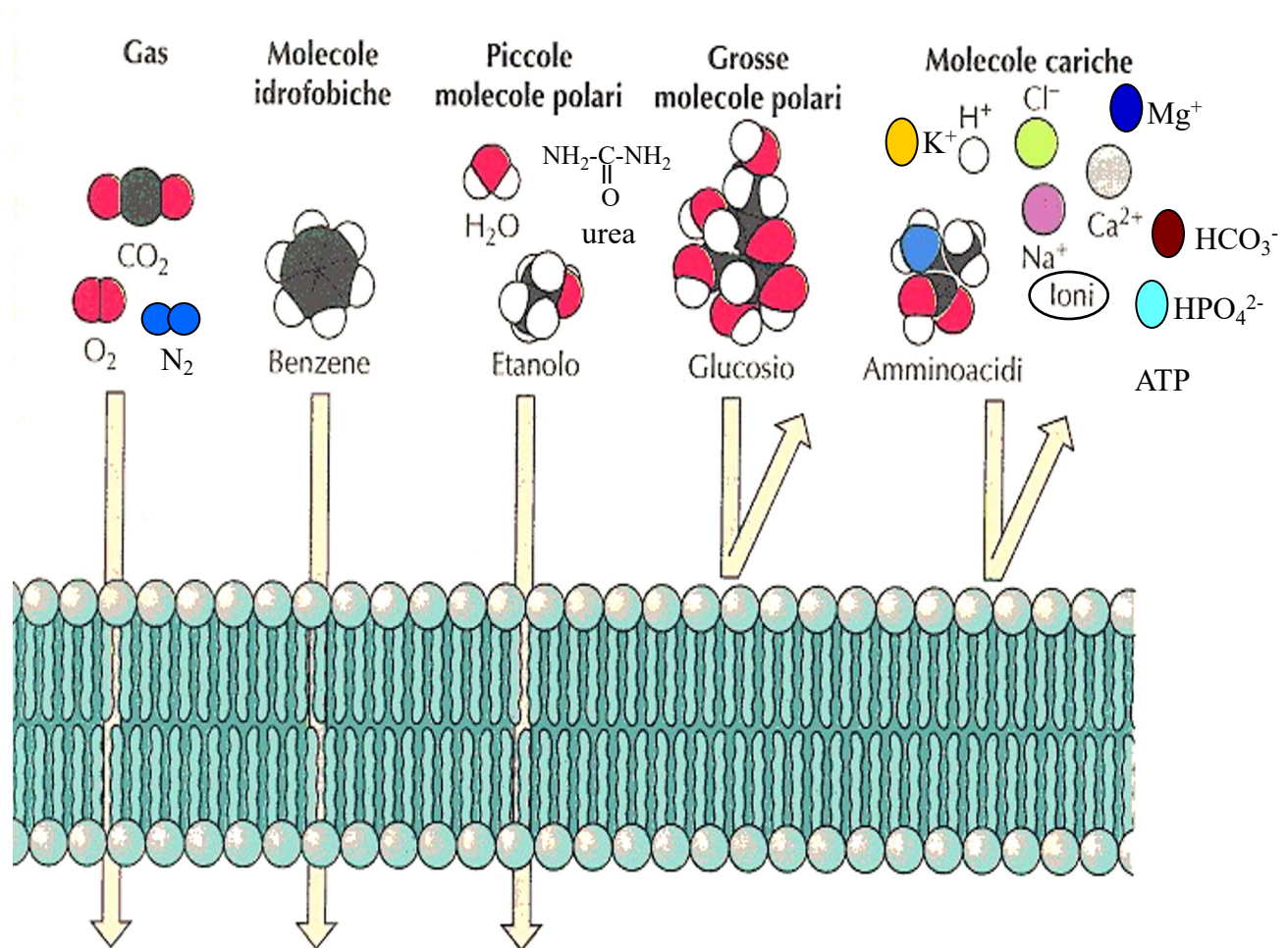


La membrana plasmatica è una barriera selettiva!

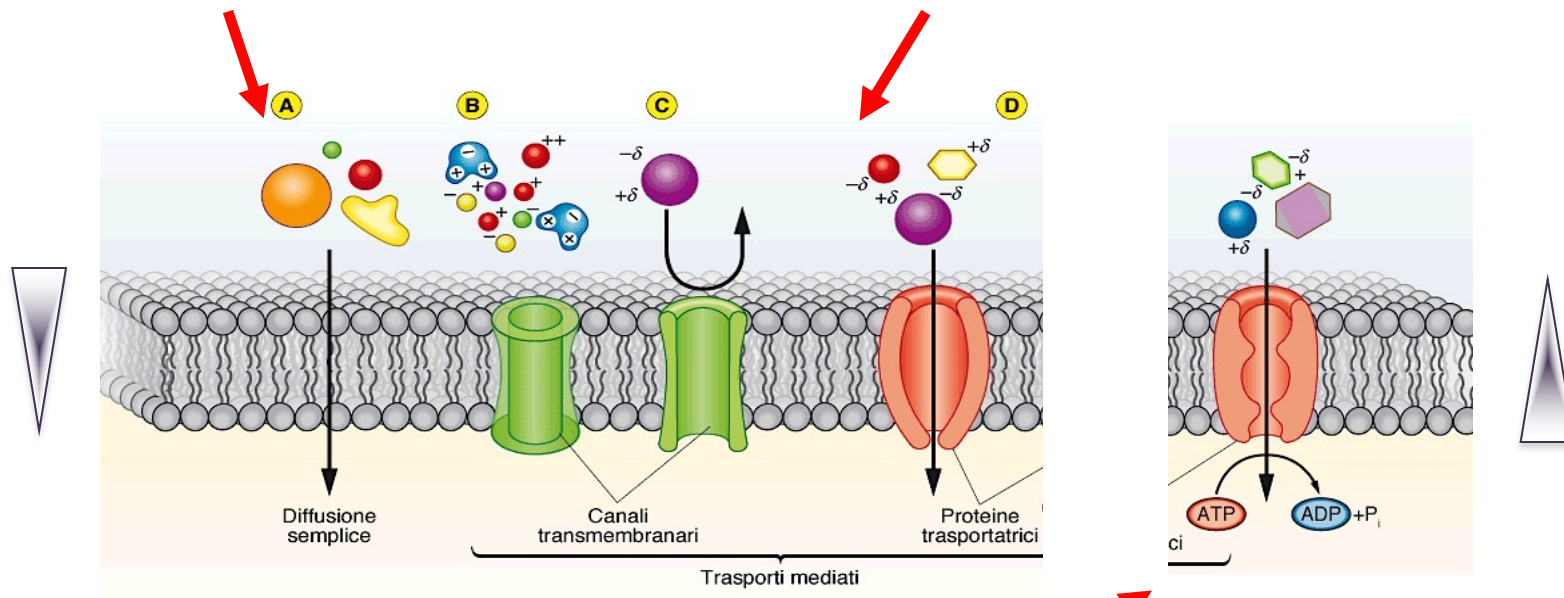


Caratteristiche di permeabilità della membrana plasmatica

Ioni, piccole e grandi molecole possono attraversare la barriera della membrana plasmatica mediante:

TRASPORTO PASSIVO (diffusione semplice o facilitata)

Avviene secondo gradiente (di concentrazione o elettrochimico)



TRASPORTO ATTIVO

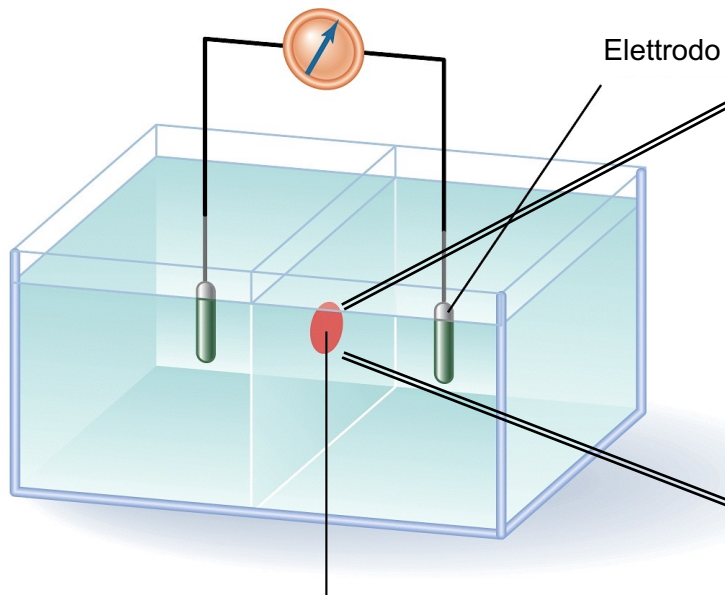
Avviene in assenza e contro gradiente (di concentrazione o elettrochimico)

ENDOCITOSI – ESOCITOSI

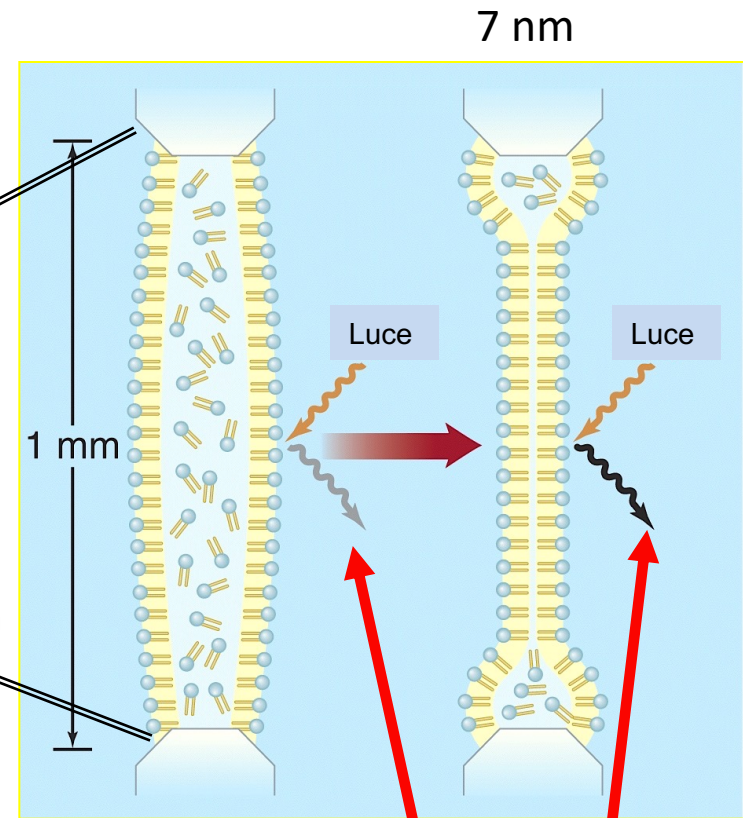
Avviene mediante formazione di vescicole (macromolecole)

Membrane artificiali

(a)

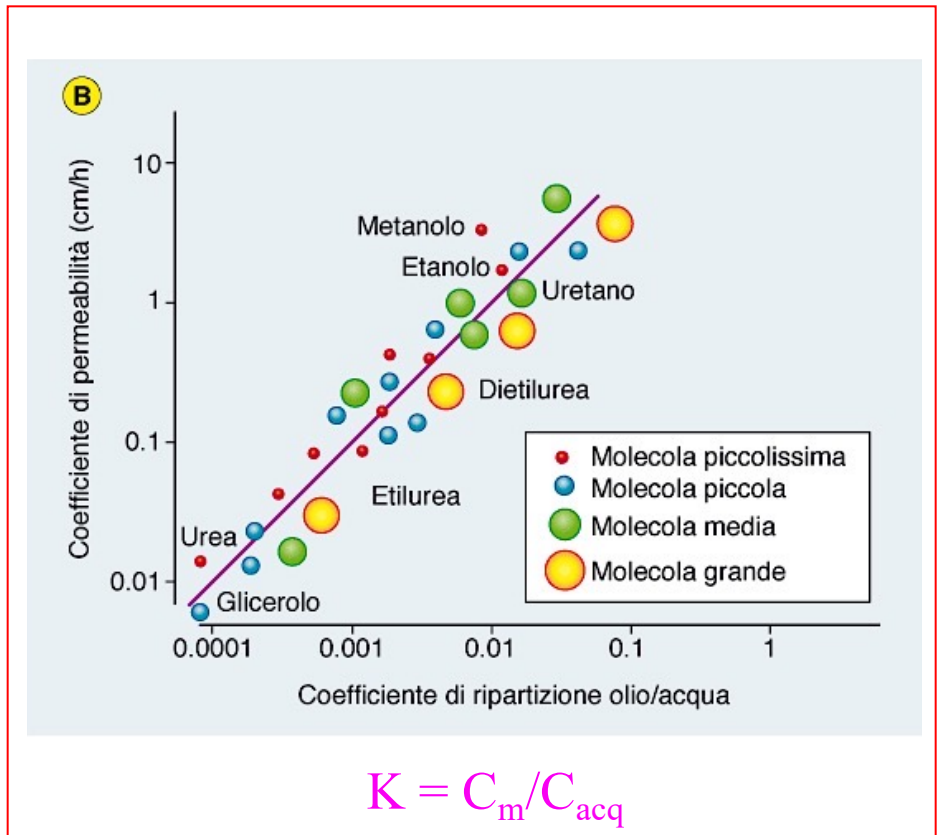
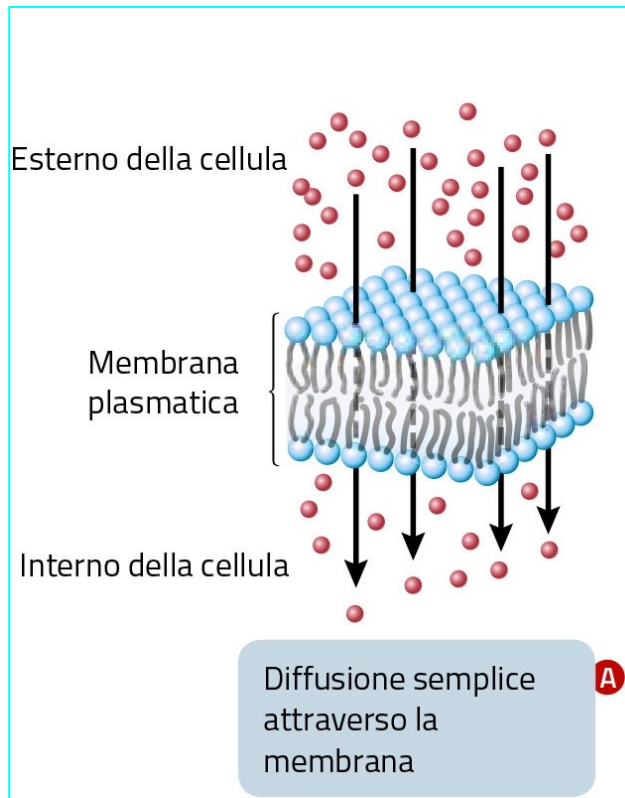


Foro di 1 mm riempito con un doppio strato fosfolipidico



(colore di interferenza)

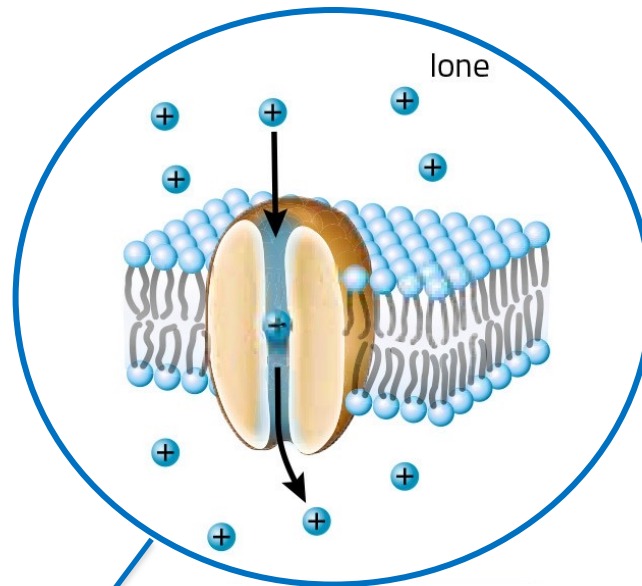
Diffusione semplice



- Per abbandonare la fase acquosa e passare attraverso la fase lipidica, un soluto deve rompere i suoi legami idrogeno con l'acqua (circa 5 kcal per legame idrogeno)
- La mobilità di un anaelettrolita nella membrana è influenzata dal suo peso molecolare e dalla forma
- La permeabilità relativa di una molecola attraverso un doppio strato lipidico è proporzionale al suo coefficiente di ripartizione "K" tra la fase di olio e la fase acquosa

Diffusione facilitata

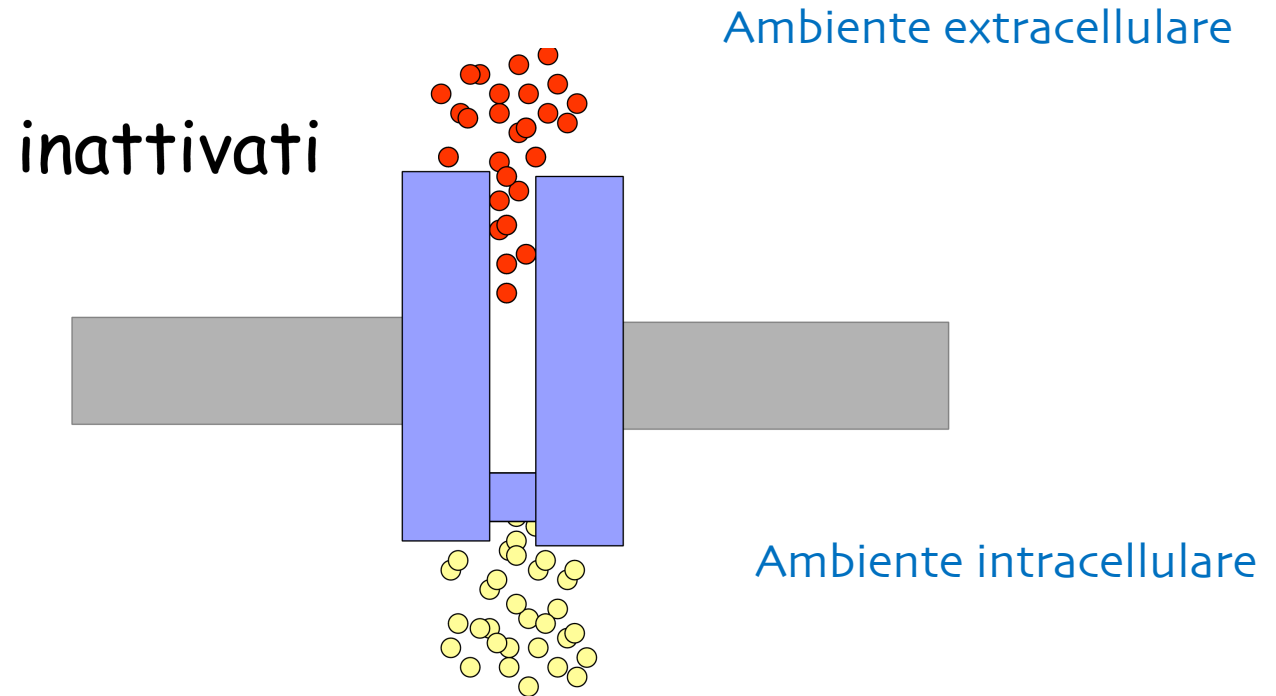
Trasporti mediati da proteine di membrana: i canali ionici



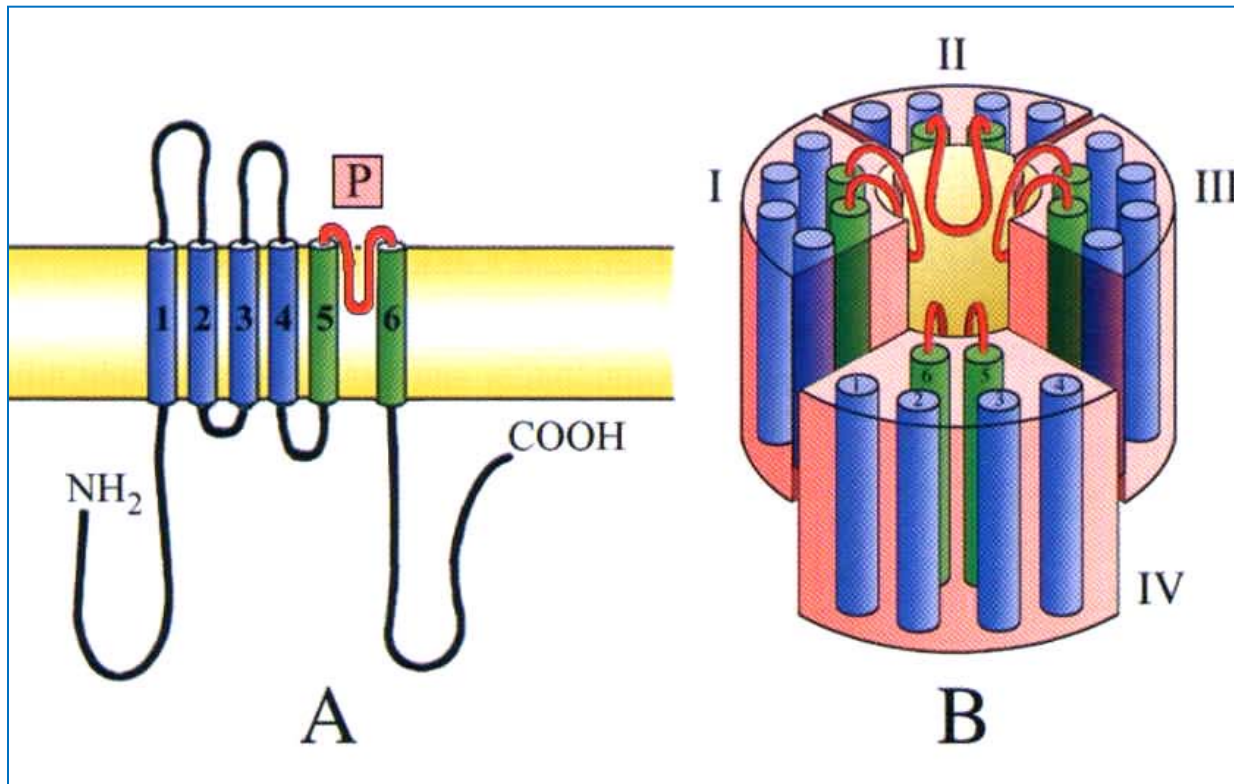
Fino a 100 milioni di ioni al secondo!

- Trasportano H_2O e ioni secondo gradiente di concentrazione
- Le proteine che li compongono formano dei canali che attraversano la membrana
- Sono di solito regolati da stimoli specifici
- L'apertura di un canale ionico ed il conseguente passaggio di migliaia di ioni origina delle correnti unitarie, misurabili con un amperometro

I canali possono essere.....



Struttura di base di un canale ionico



Classi di canali:

- ✓ **Passivi:** si aprono spontaneamente e sono quasi sempre aperti
- ✓ **Ligando-dipendenti:** si aprono in seguito al legame con il proprio ligando
- ✓ **Voltaggio-dipendenti:** si aprono in risposta a variazioni del potenziale di membrana (V_m)
- ✓ **Dipendenti dallo stiramento:** si aprono in seguito alla deformazione della membrana
- ✓ **Dipendenti da secondi messaggeri:** si aprono in seguito al legame con secondi messaggeri

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

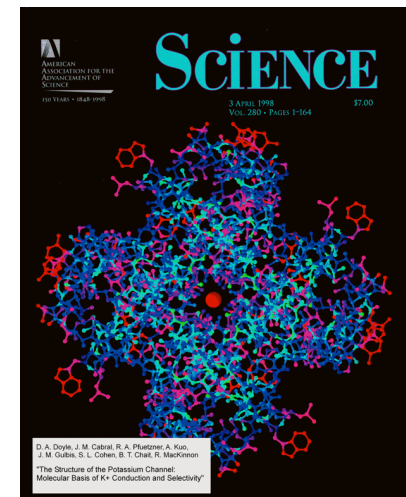
Fino al 1998:

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)

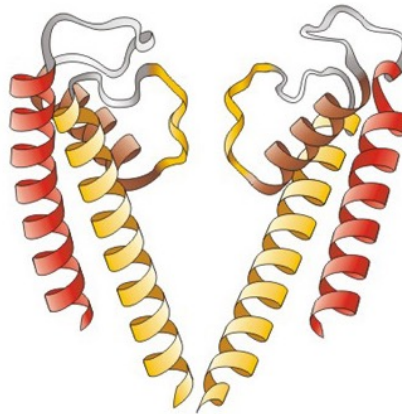
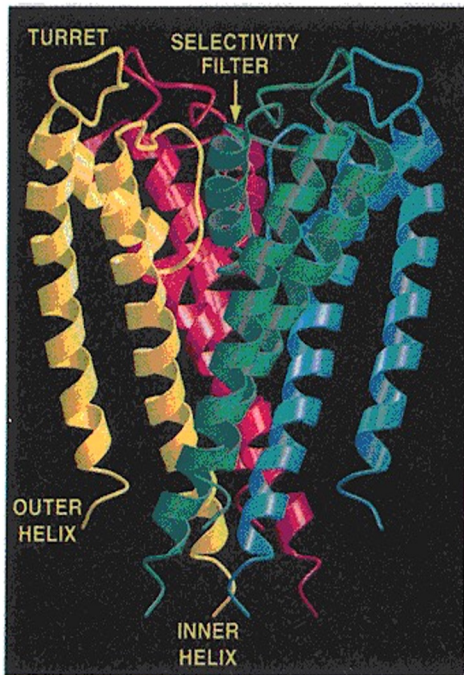
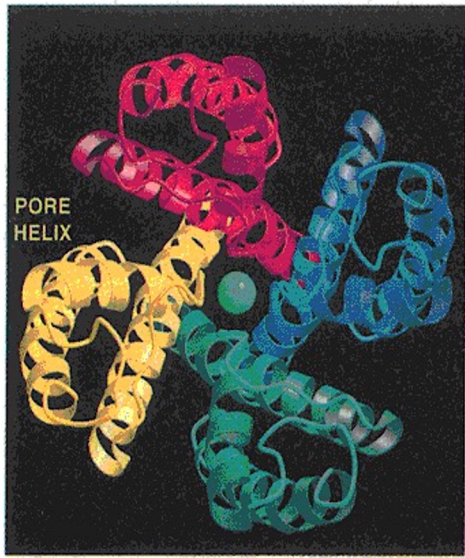
Con tecniche di biologia molecolare: isolamento del gene sotto forma di DNA complementare (cDNA) all'RNA messaggero. Trasfezione del cDNA in linee cellulari

Dal 1998:

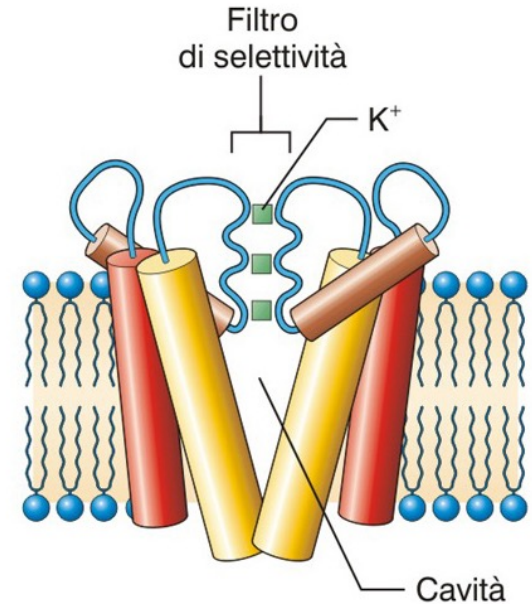
Cristallografia con risoluzione atomica: ottenuta per la prima volta da R. MacKinnon per un canale del K^+ batterico



Canale del K^+ batterico KcsA

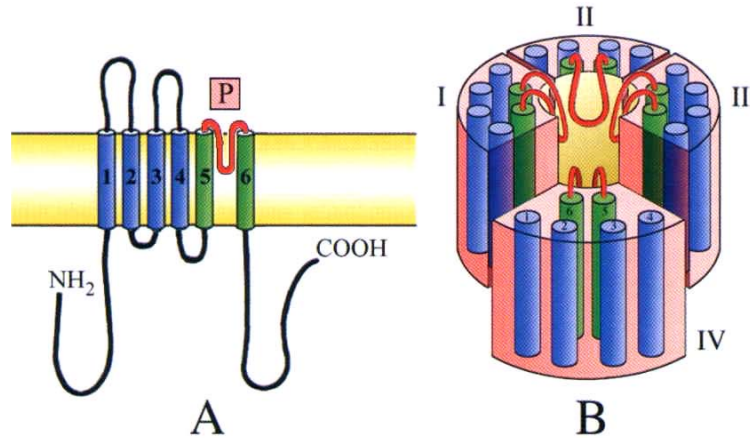


© 2006 edi.ermes milano

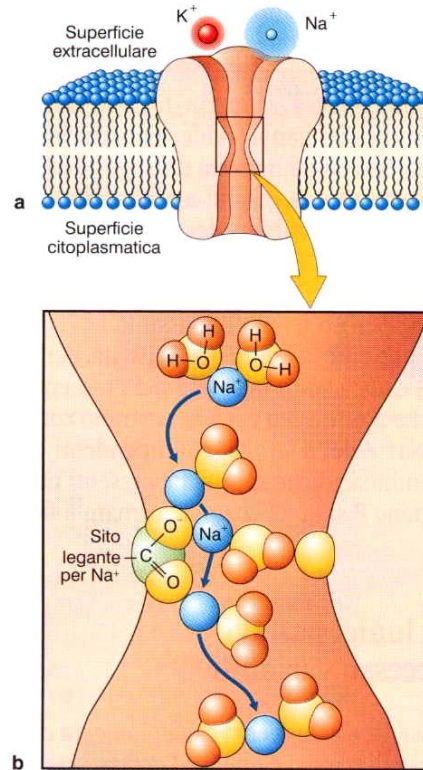


Quattro subunità con due segmenti transmembrana
connessi da un'ansa P (poro canale)

Selettività dei canali ionici

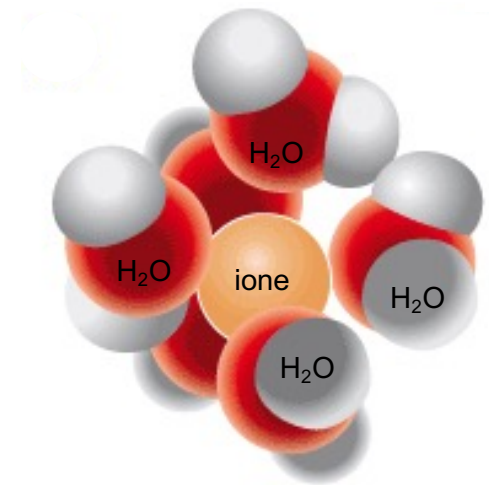


1. Carica

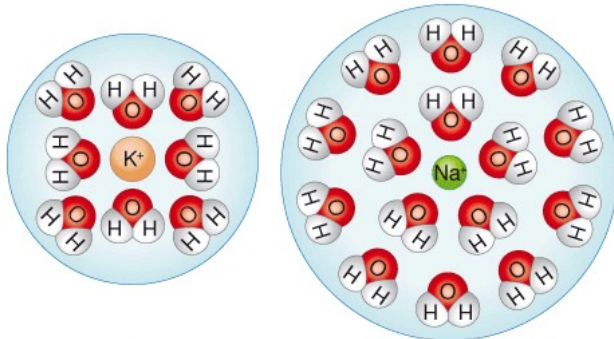


2. Dimensione

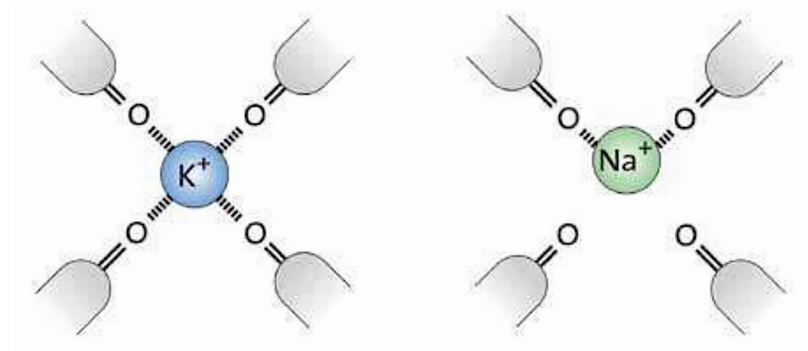
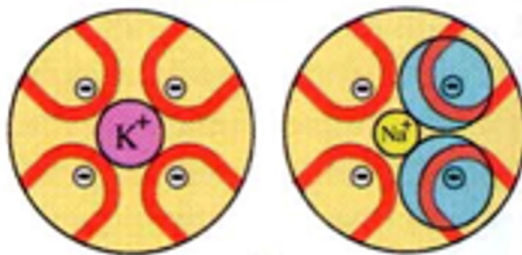
ione	raggio anidro	raggio idrato	strato idrico
Na^+	0.98	2.91	1.93
K^+	1.33	1.88	0.55
NH_4^+	1.45	1.89	0.44
Cl^-	1.80	1.92	0.12



In soluzione acquosa

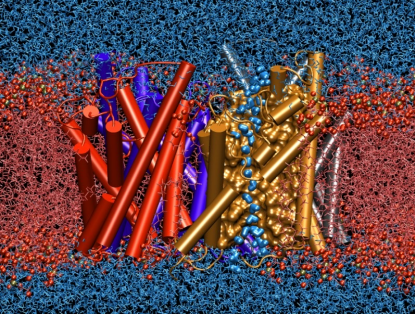


Nel canale del K^+



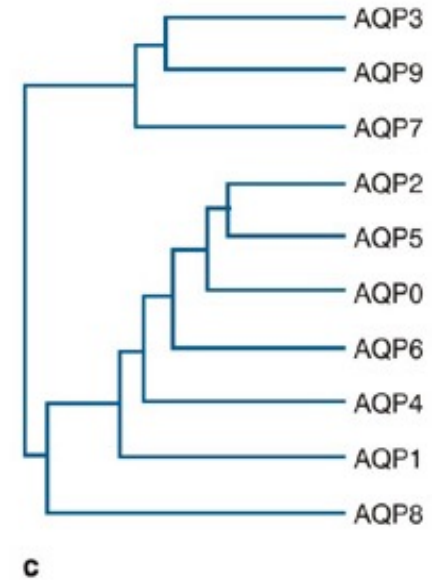
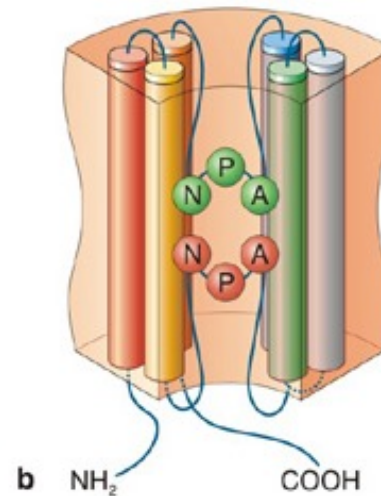
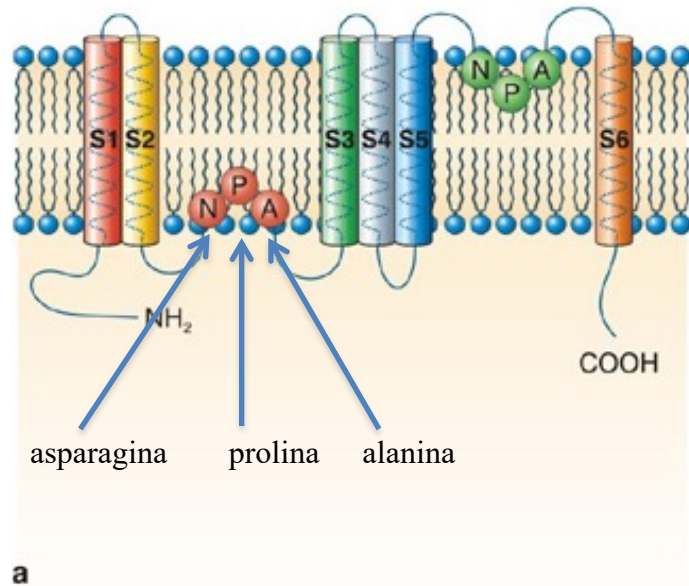
Influenze elettriche sulla distribuzione degli ioni

- Il movimento di uno ione attraverso la membrana è guidato da un **gradiente elettrochimico**
- All'equilibrio (cioè quando non vi è un flusso netto trans-membrana per un dato ione) esisterà una **differenza di potenziale** esattamente sufficiente a bilanciare e contrastare il gradiente chimico agente sullo ione
- Il potenziale al quale uno ione si trova in equilibrio elettrochimico è detto **potenziale di equilibrio**
- Una specie ionica può diffondere contro il proprio gradiente di concentrazione se il gradiente elettrico (differenza di potenziale) attraverso la membrana è orientato in direzione opposta ed esercita una forza maggiore rispetto al gradiente di concentrazione



Il canale per l'acqua e le acquaporine

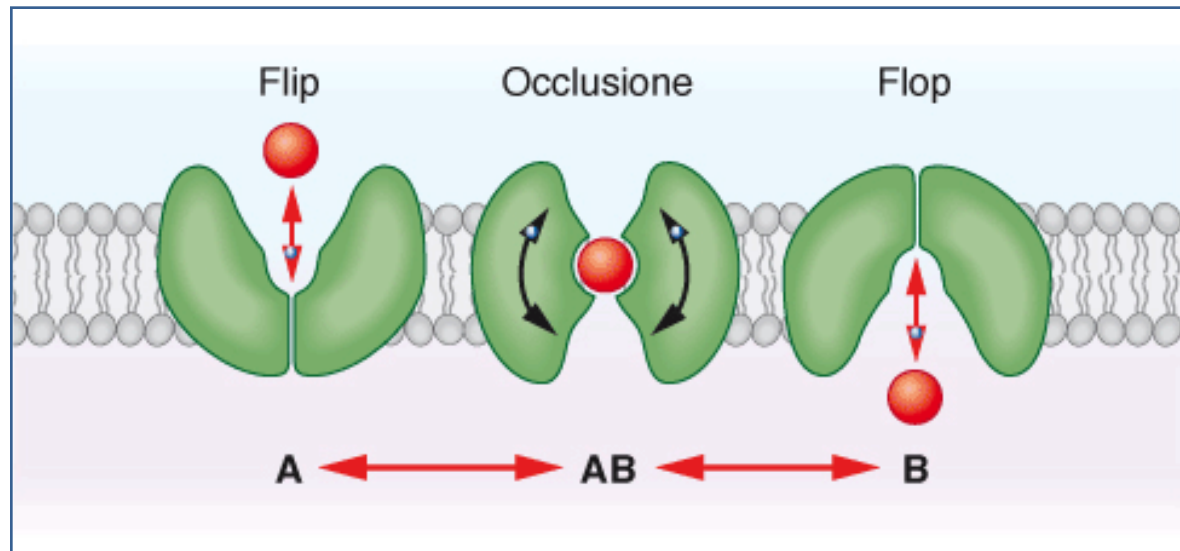
- ✓ Dieci diverse proteine (AQP0-AQP9), che costituiscono i canali per l'acqua
- ✓ Elevata permeabilità: paragonabile alla libera diffusione
- ✓ Elevata selettività: escluso il passaggio di ioni (particolarmente OH^- e H_3O^+)
- ✓ Bloccati dallo ione mercurio



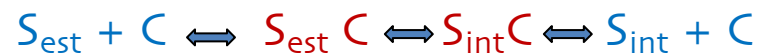
Sono presenti come tetrameri, con quattro pori per l'acqua formati dalle quattro coppie di anse

Diffusione facilitata

Trasporti mediati da proteine di membrana: i trasportatori

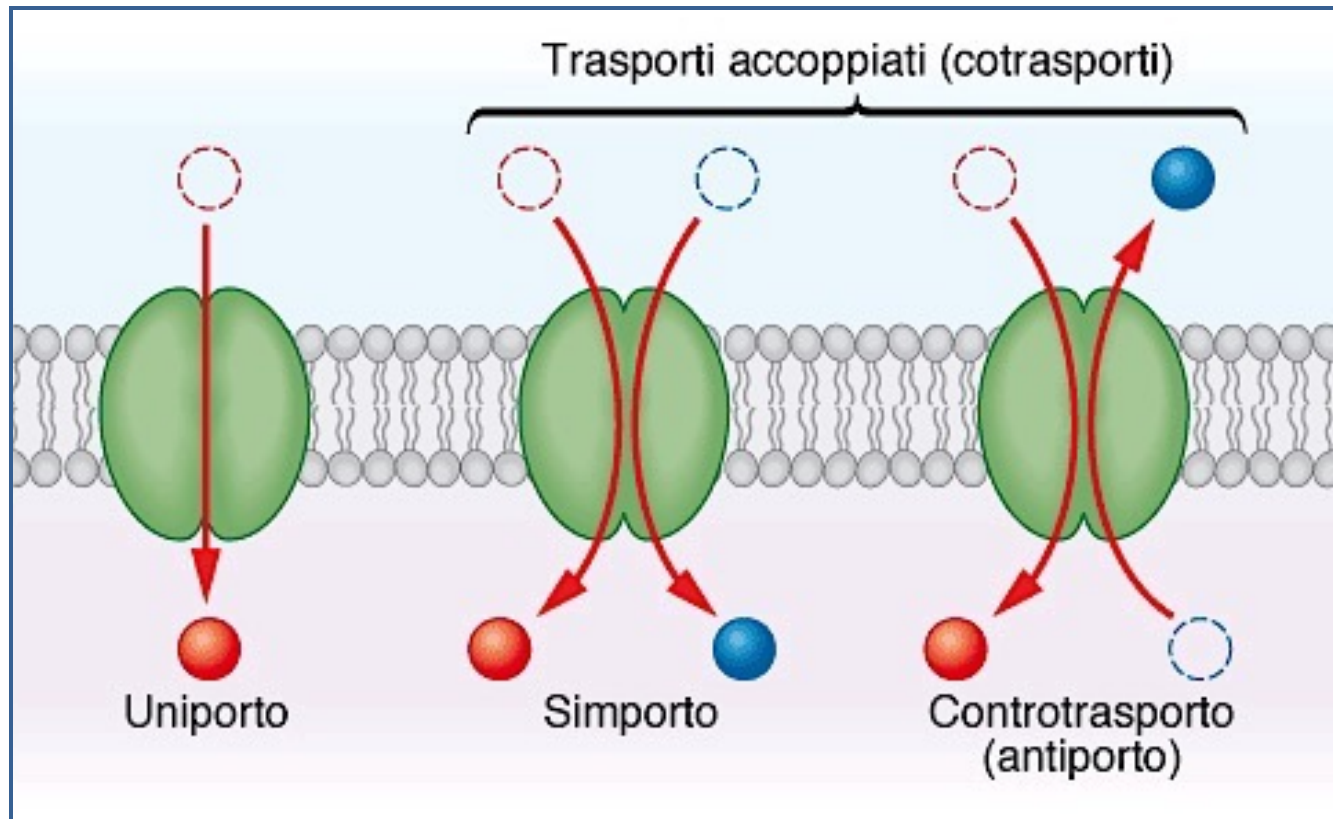


I trasportatori somigliano agli enzimi: “catalizzano” la traslocazione dei substrati da una parte all’altra della membrana secondo la reazione:



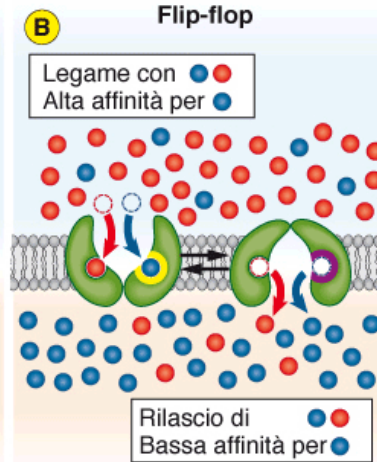
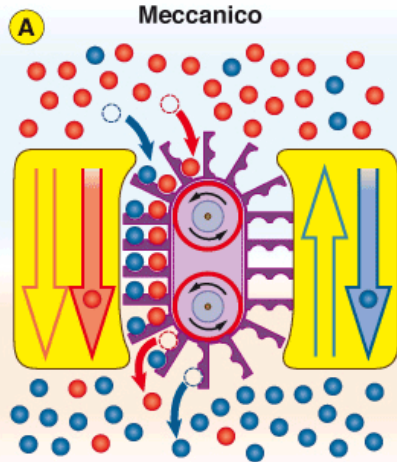
TRASPORTATORI LEGANO IONI E/O MOLECOLE SPECIFICHE

Il legame con la molecola trasportata provoca un cambiamento conformazionale e quindi il passaggio

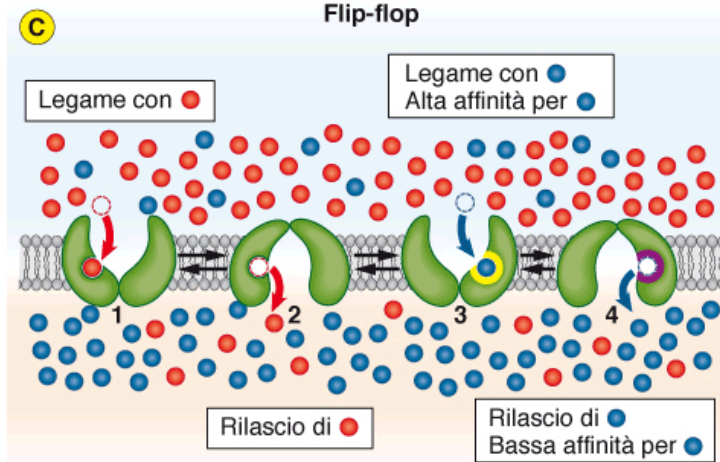


SIMPORTO

Trasporto simultaneo

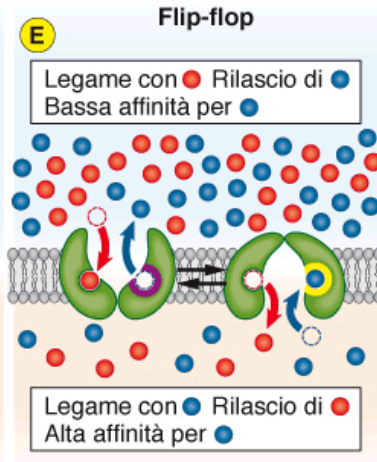
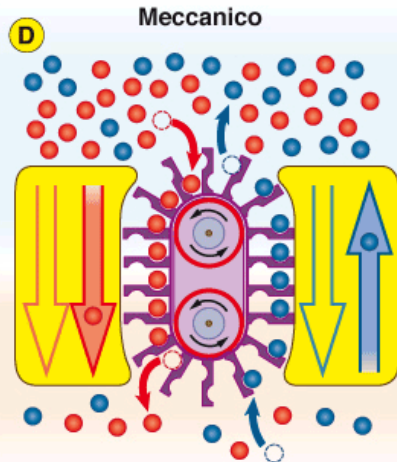


Trasporto consecutivo

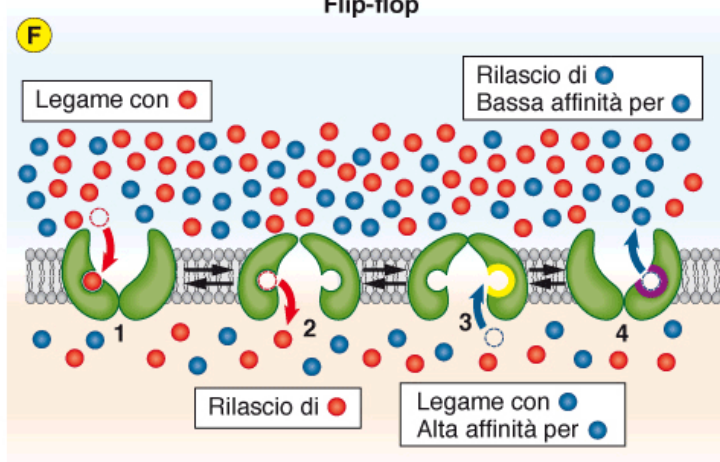


ANTIPORTO

Trasporto simultaneo

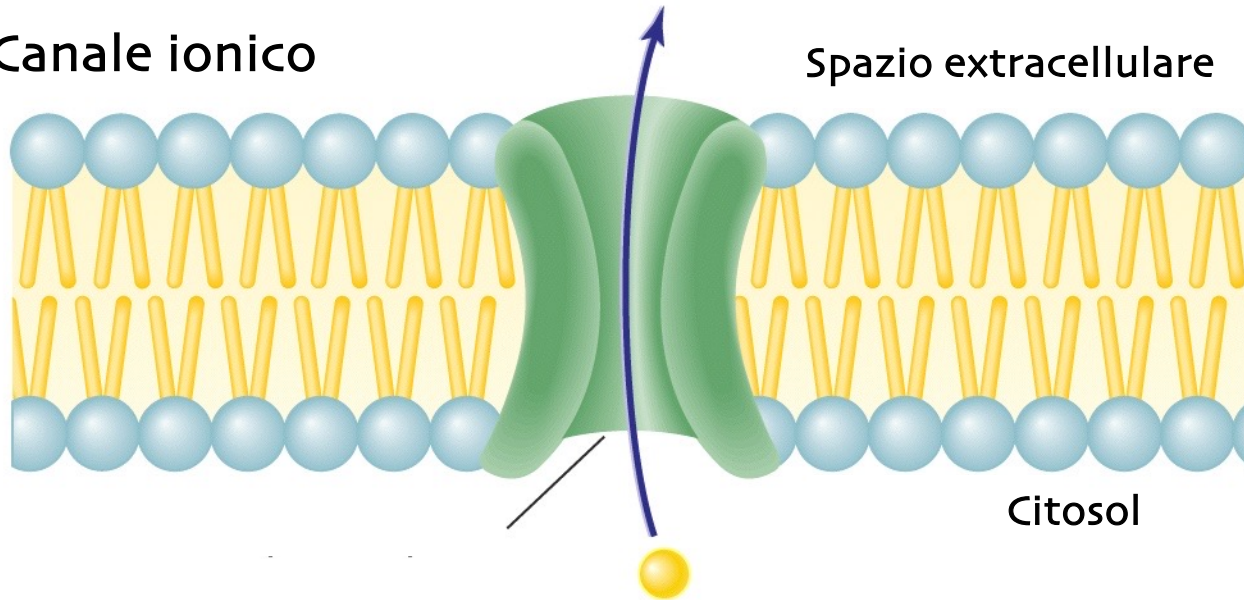


Trasporto consecutivo



Canale ionico

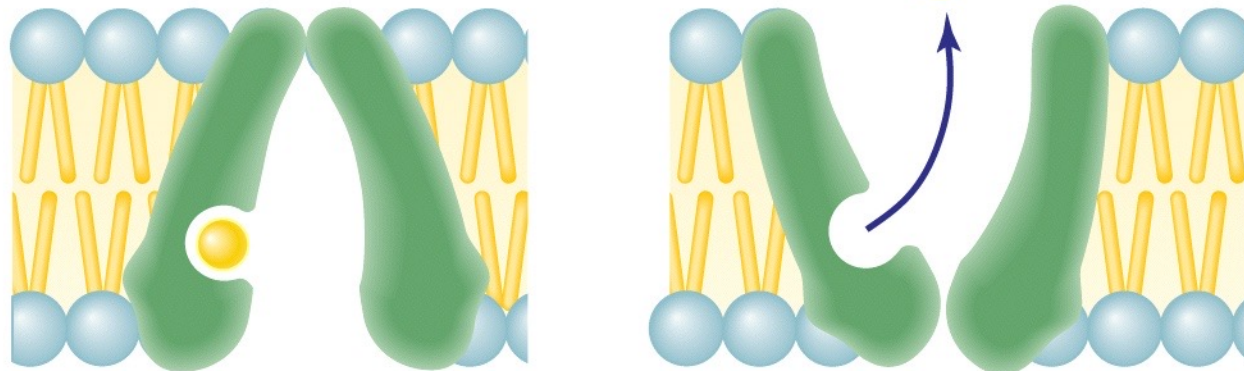
Spazio extracellulare



Citosol

Trasportatore

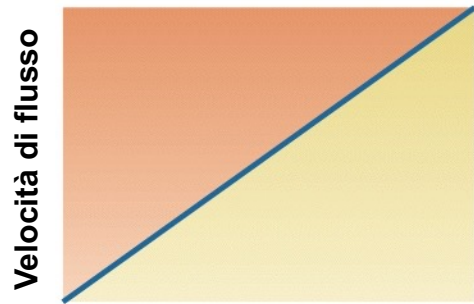
Da 10 a 100 milioni di ioni/sec



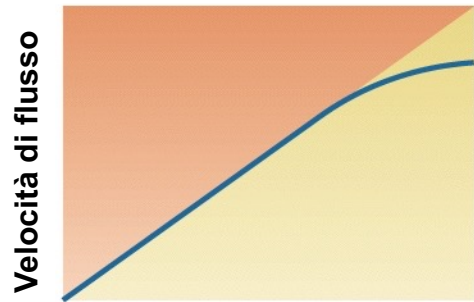
Cambiamento
conformazionale

Da 100 a 10.000 molecole/sec

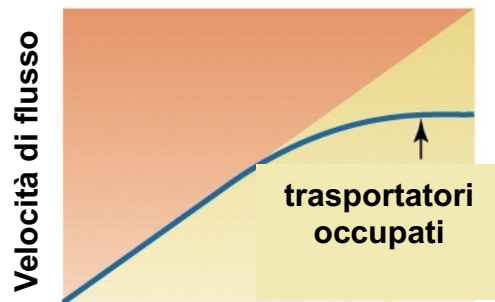
(a) Diffusione passiva attraverso la membrana



(b) Trasporto passivo attraverso canali



(c) Trasporto mediato da “carrier” (passivo o attivo)



Concentrazione extracellulare di substrato

L'entità del trasporto facilitato di una sostanza dipende dalla **velocità** con cui ogni singolo trasportatore effettua il proprio ciclo e dal **numero di proteine trasportatrici** presenti nella membrana cellulare

$$J = \frac{J_{\max} C_s}{K_m + C_s}$$

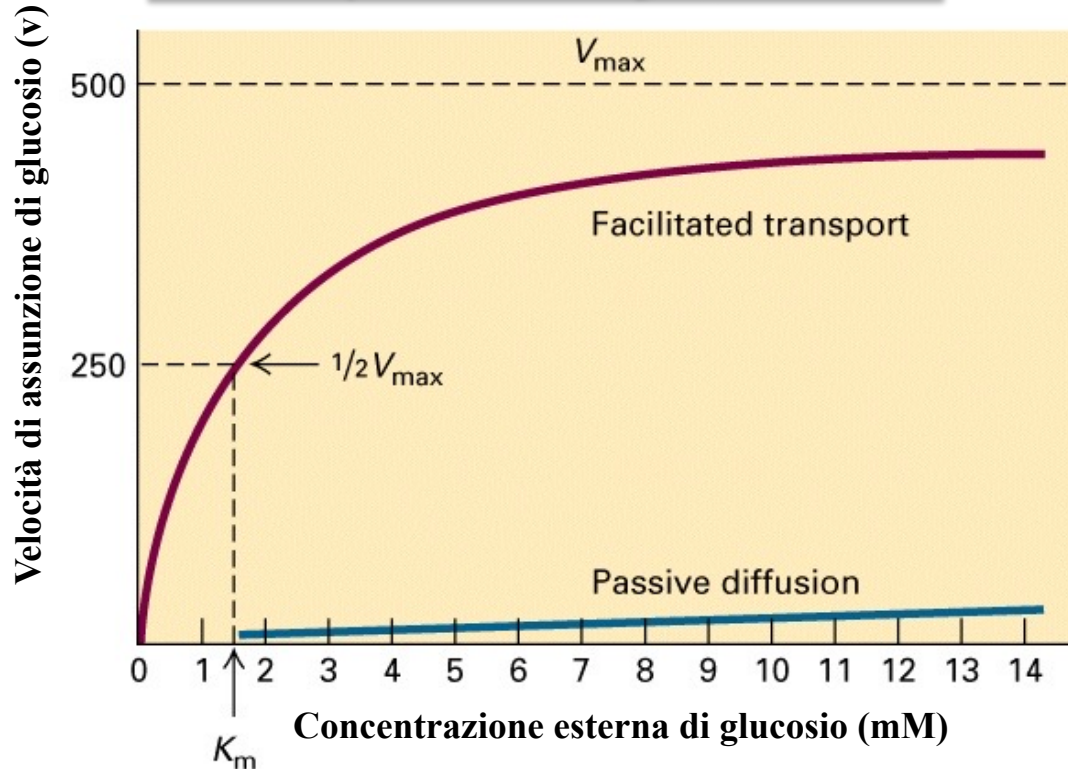
J = flusso unidirezionale, numero di molecole/tempo

$J_{\max}$ = flusso unidirezionale massimo (tutti i trasportatori sono occupati)

C_s = concentrazione del substrato

K_m = costante di Michaelis-Menten. Corrisponde alla concentrazione di substrato che dà luogo ad un flusso pari alla metà di $J_{\max}$

Trasporto del glucosio

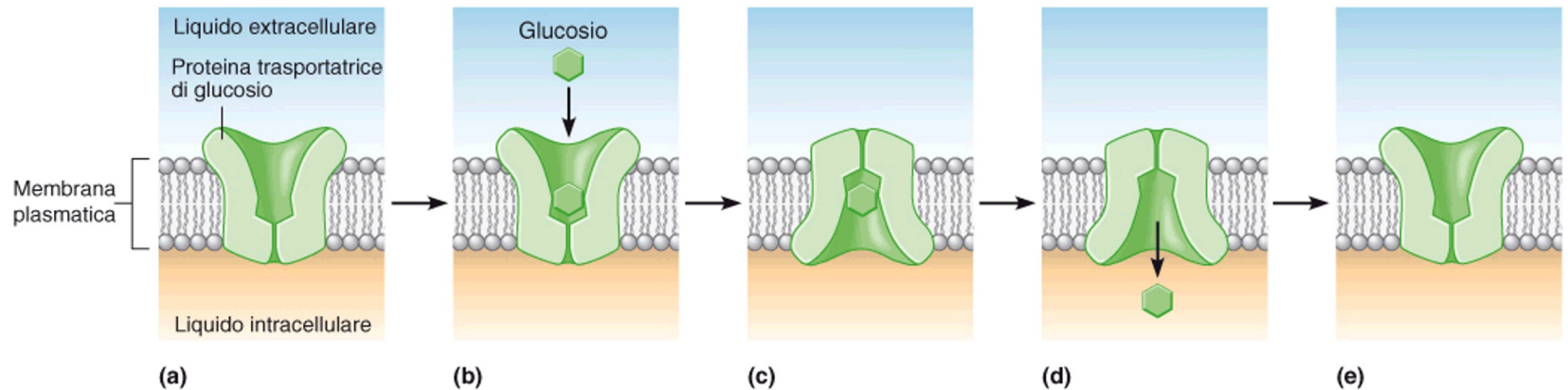


Tre principali caratteristiche distinguono un trasporto dalla diffusione passiva:

- La velocità della diffusione facilitata è molto maggiore di quella della diffusione passiva
- Il trasporto è specifico
- Il trasporto avviene attraverso un numero limitato di “porte”

Il trasporto facilitato mediato da *carrier* è: selettivo, saturante, stereospecifico e presenta inibizione competitiva

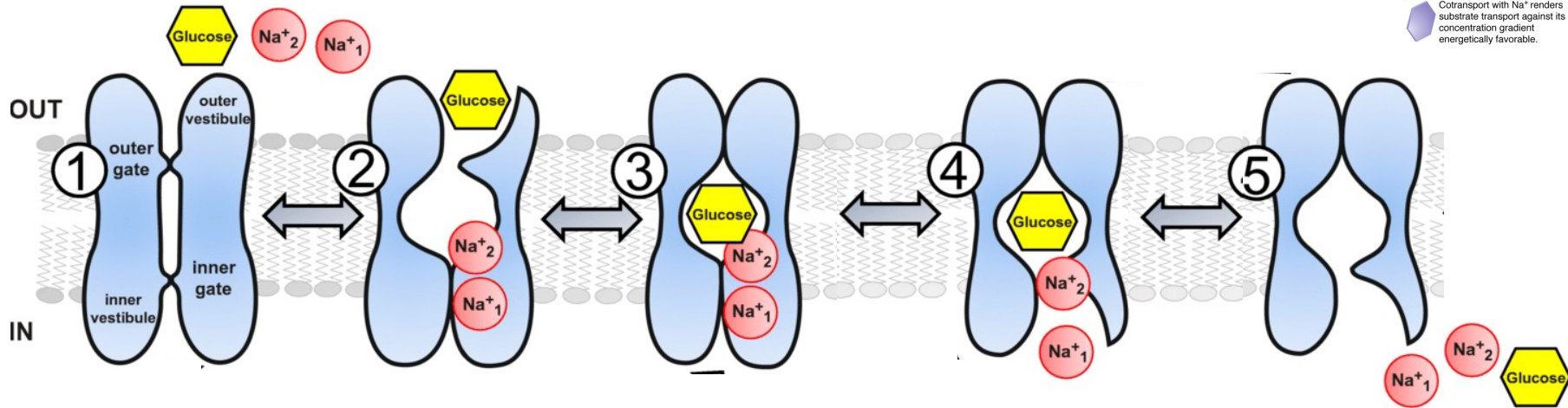
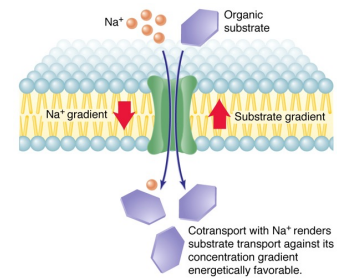
Uniporto: GLUT1 (ubiquitario)



- Famiglia di dodici trasportatori: GLUT (*glucose transporter*)
- GLUT1 è il primo ad essere stato caratterizzato
- 12 segmenti transmembrana
- Estremità N e C terminali citoplasmatiche
- Presenta due siti putativi di N-glicosilazione

SGLT (sodium dependent glucose transporter)

Cotrasporto: Simporto



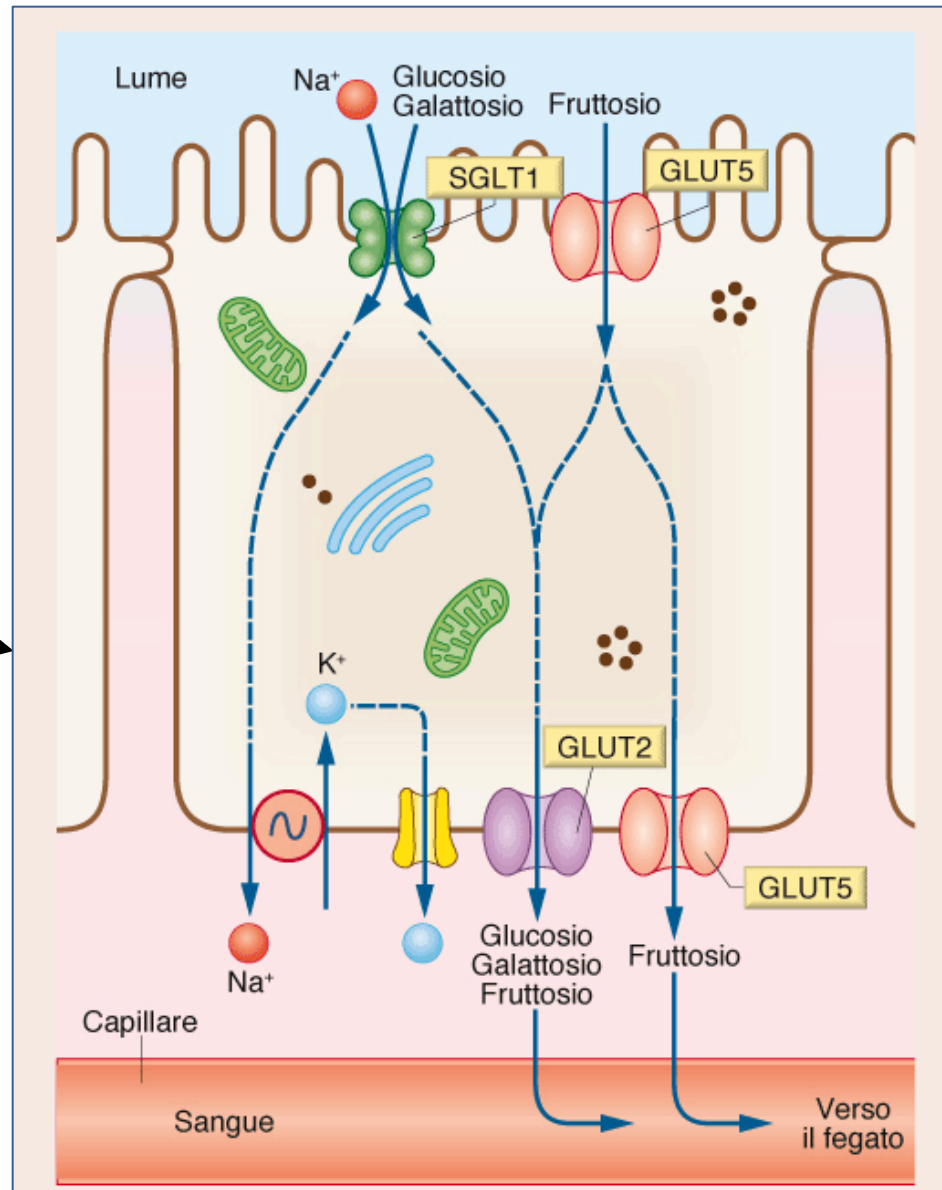
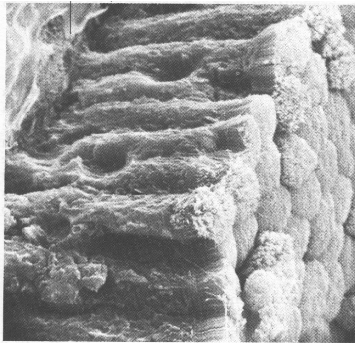
- ✓ Il funzionamento del trasportatore è dipendente dal gradiente di concentrazione del Na⁺: il blocco uscita Na⁺ dalla cellula (riduzione [Na⁺]_e) riduce il funzionamento dei trasportatori Na⁺-dipendenti
- ✓ Se la direzione del gradiente di Na⁺ viene invertita sperimentalmente si inverte anche la direzione del trasporto
- ✓ Trasporto dipende dalla presenza dello zucchero

Esempi altri trasportatori: Na⁺/amminoacido alanina
Na⁺-Cl⁻/neurotrasmettitori

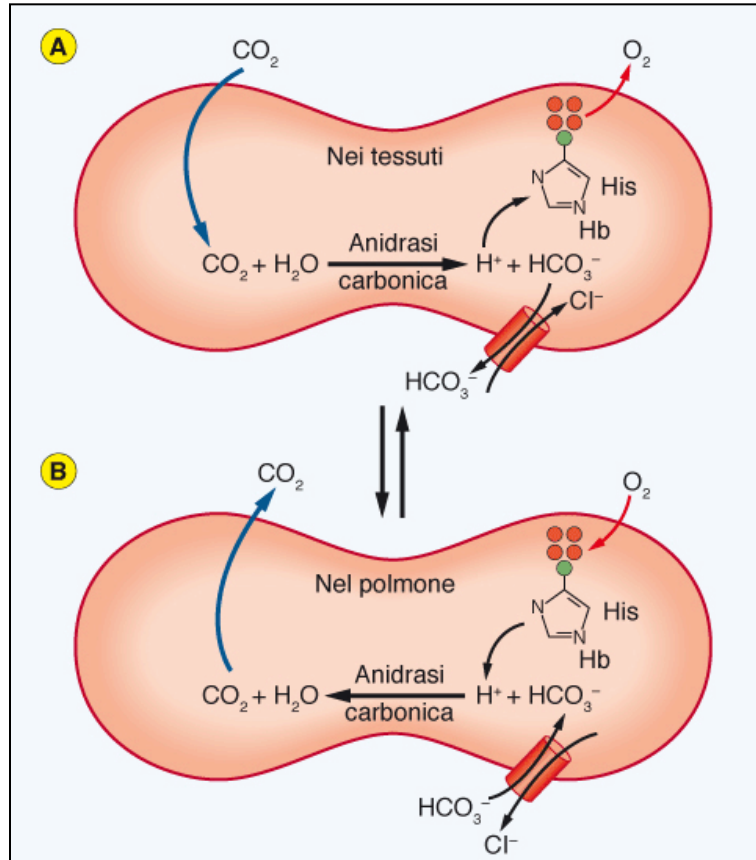
Trasporto attivo secondario

Il co-trasporto Na^+ -D-glucosio determina l'assorbimento intestinale ed il riassorbimento renale del glucosio

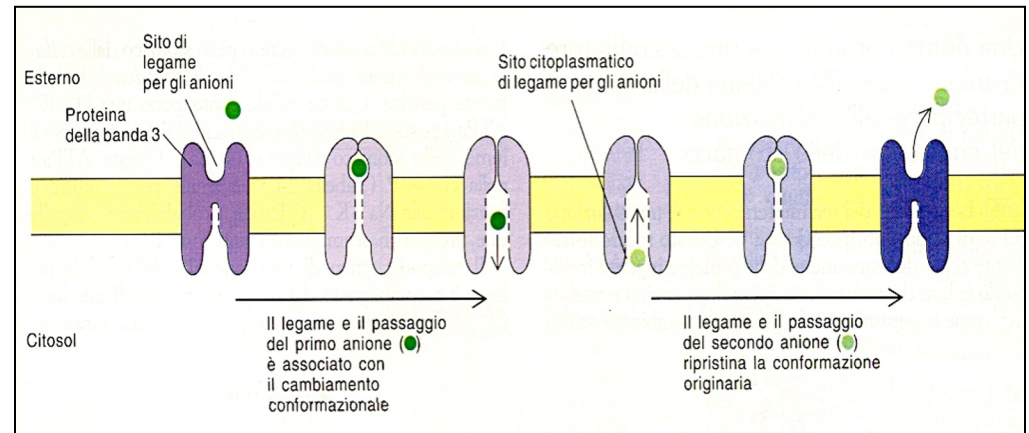
Enterociti



Antiporto $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$



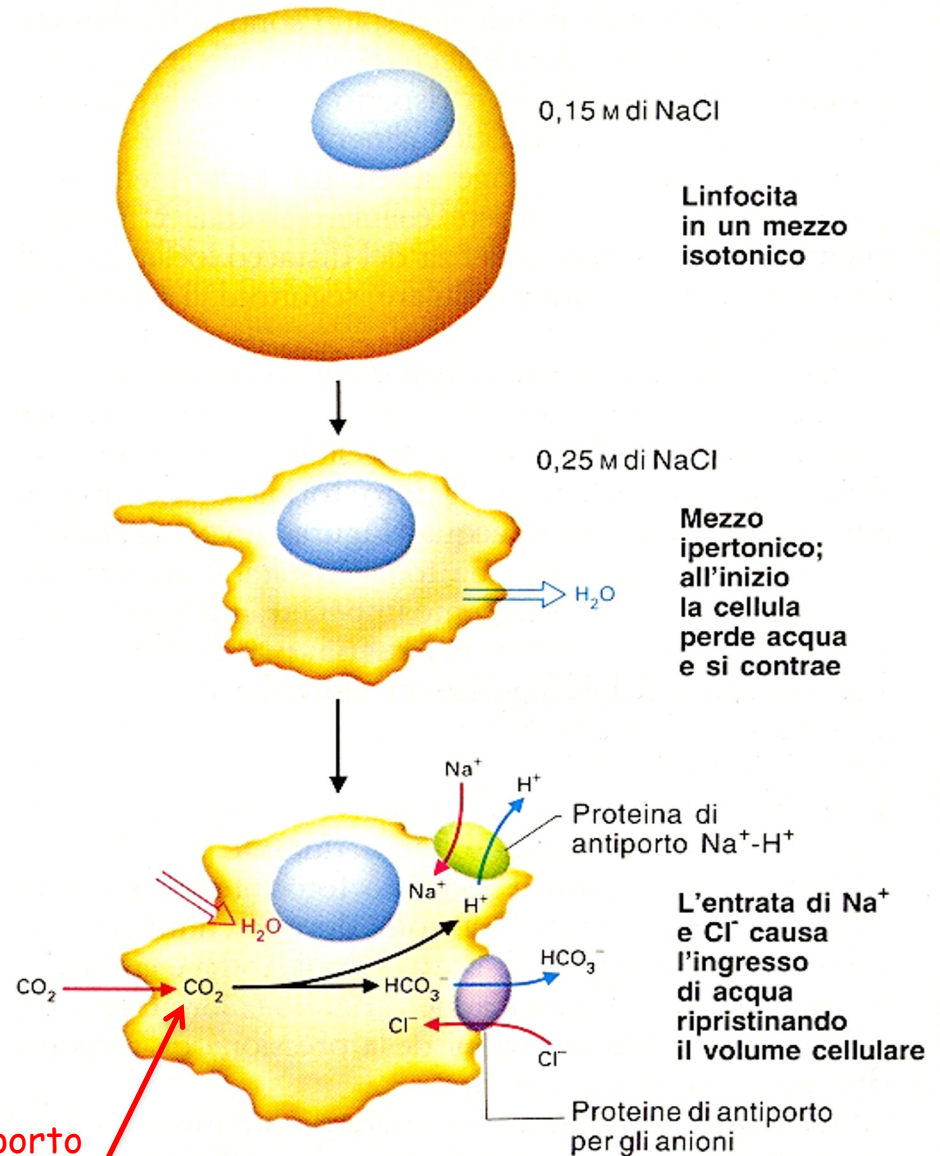
Meccanismo flip-flop consecutivo



Altri esempi antiporto:
 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (membrana cellule)
 Na^+/H^+ (tubulo prossimale rene mammiferi)

Trasportatori nella regolazione osmotica del volume cellulare

Gli scambiatori Na^+/H^+ e $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ la $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPasi}$ intervengono nella regolazione del volume cellulare



<< pH attiva sistemi trasporto