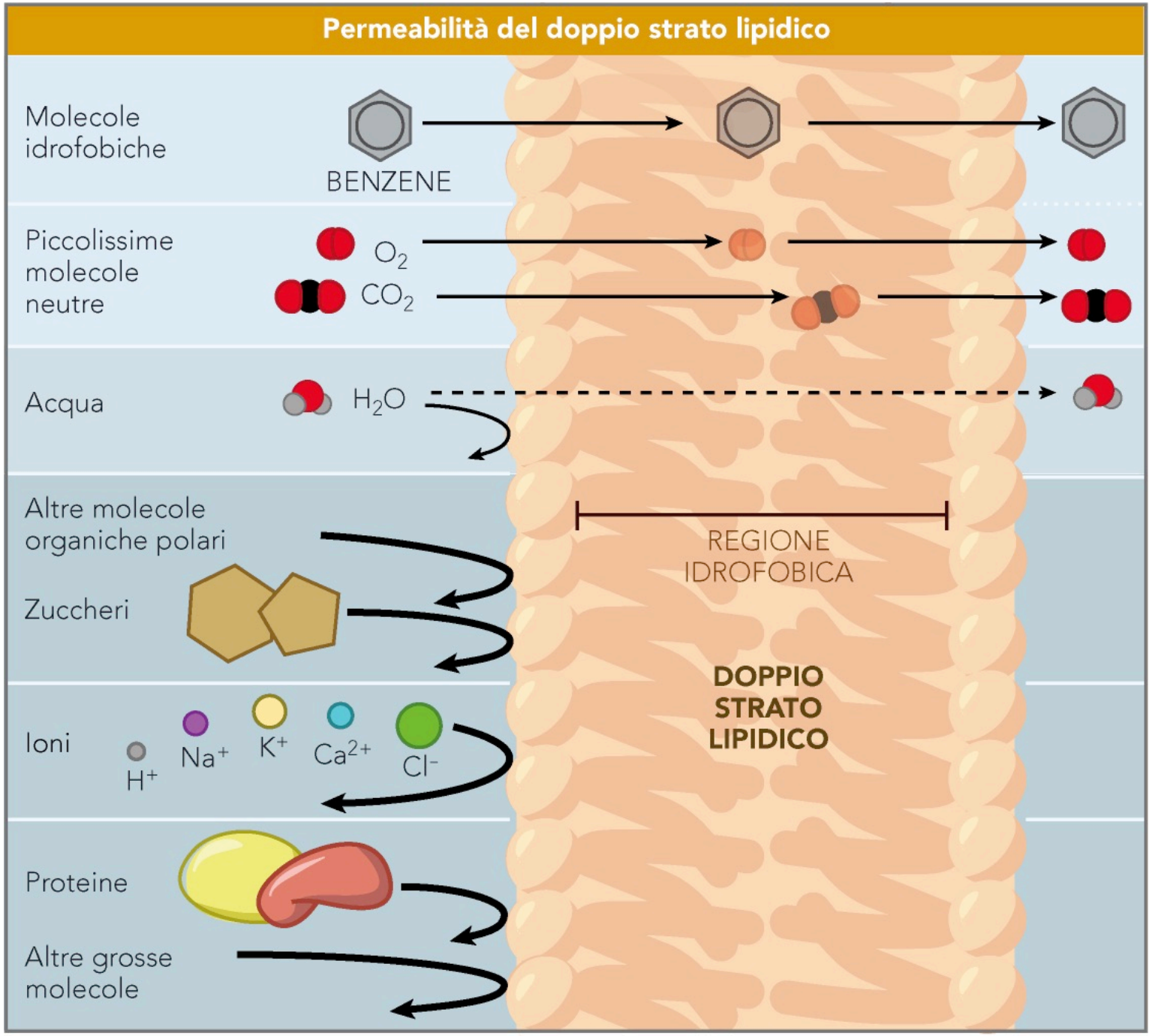
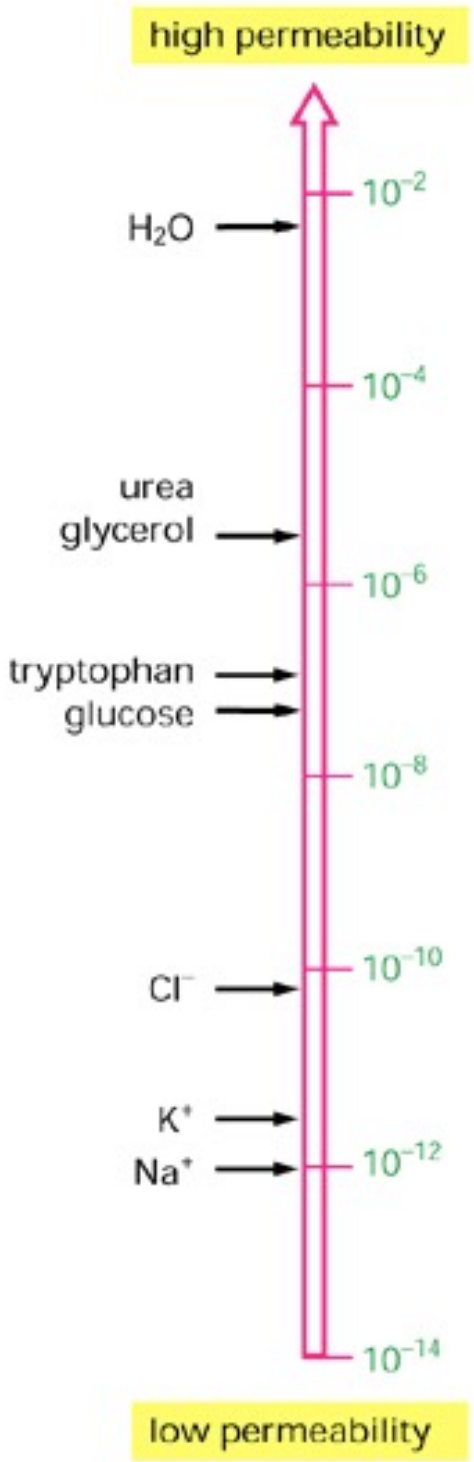
PROPRIETA' DELLE MEMBRANE

Maraldi-Tacchetti, cap. 4
Alberts, cap. 11
Lewin, cap. 2
Karp, cap. 4


Permeabilità del doppio strato lipidico
Molecole idrofobiche
BENZENE
Piccolissime molecole neutre
O_2
CO_2
Acqua
H_2O
Altre molecole organiche polari
Zuccheri
Ioni
H^+
Na^+
K^+
Ca^{2+}
Cl^-
Proteine
Altre grosse molecole
REGIONE IDROFOBICA
DOPPIO STRATO LIPIDICO



Piccole molecole non polari (O_2, CO_2) e molecole parzialmente idrofobiche passano agevolmente attraverso le membrane.

Gli ioni passano molto difficilmente attraveso le membrane.

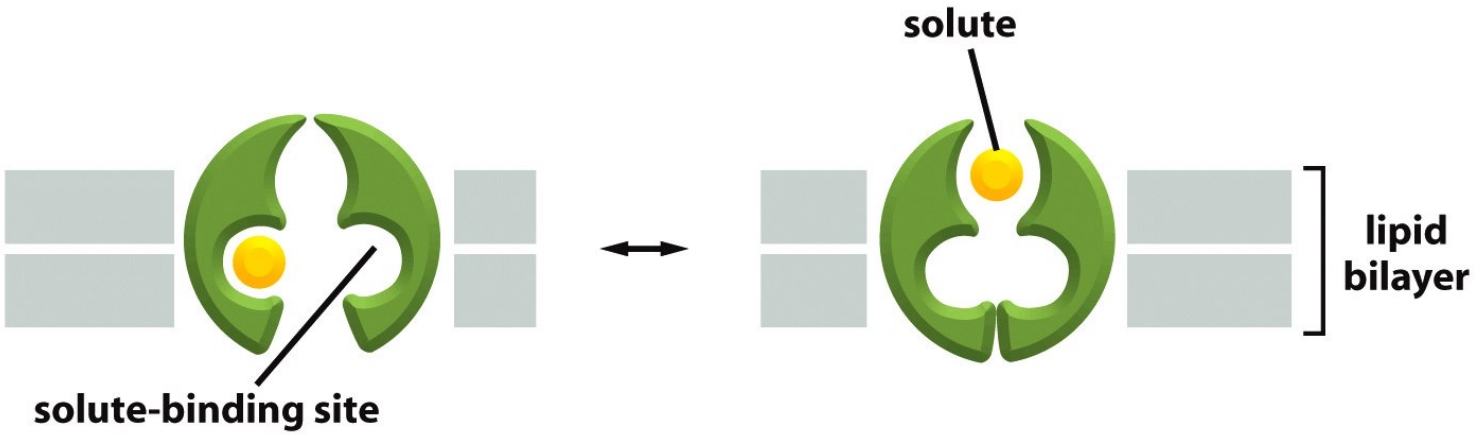
L'impossibilità di diffusione degli ioni attraverso il plasmalemma consente di mantenere nel citosol concentrazioni ioniche differenti da quelle dell'ambiente esterno

Component	Intracellular Concentration (mM)	Extracellular Concentration (mM)
Cations		
Na^+	5–15	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	0.5	1–2
Ca^{2+}	10^{-4}	1–2
H^+	7×10^{-5} ($10^{-7.2}$ M or pH 7.2)	4×10^{-5} ($10^{-7.4}$ M or pH 7.4)
Anions*		
Cl^-	5–15	110

Occhio alla “fisiologica” somministrata in grandi quantità e per lungo tempo

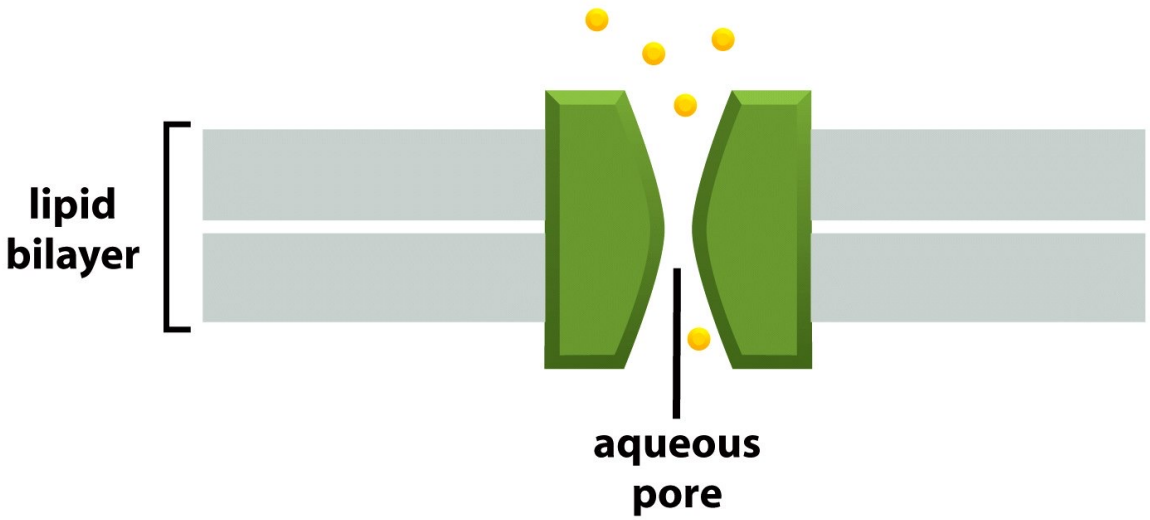
Solution	Na^+ (mmol/L)	K^+ (mmol/L)	Cl^- (mmol/L)	Ca^{2+} (mg/dl)	Mg^{2+} (mg/dl)
Normal serum*	135–145	3.6–5.2	98–107	8.9–10.1	1.7–2.3
Saline	154	0	154	0	0

Ipercloremia
Acidosi Ipercloremica
Sbilanciamento dell’equilibrio K+
Alterazione funzioni renali



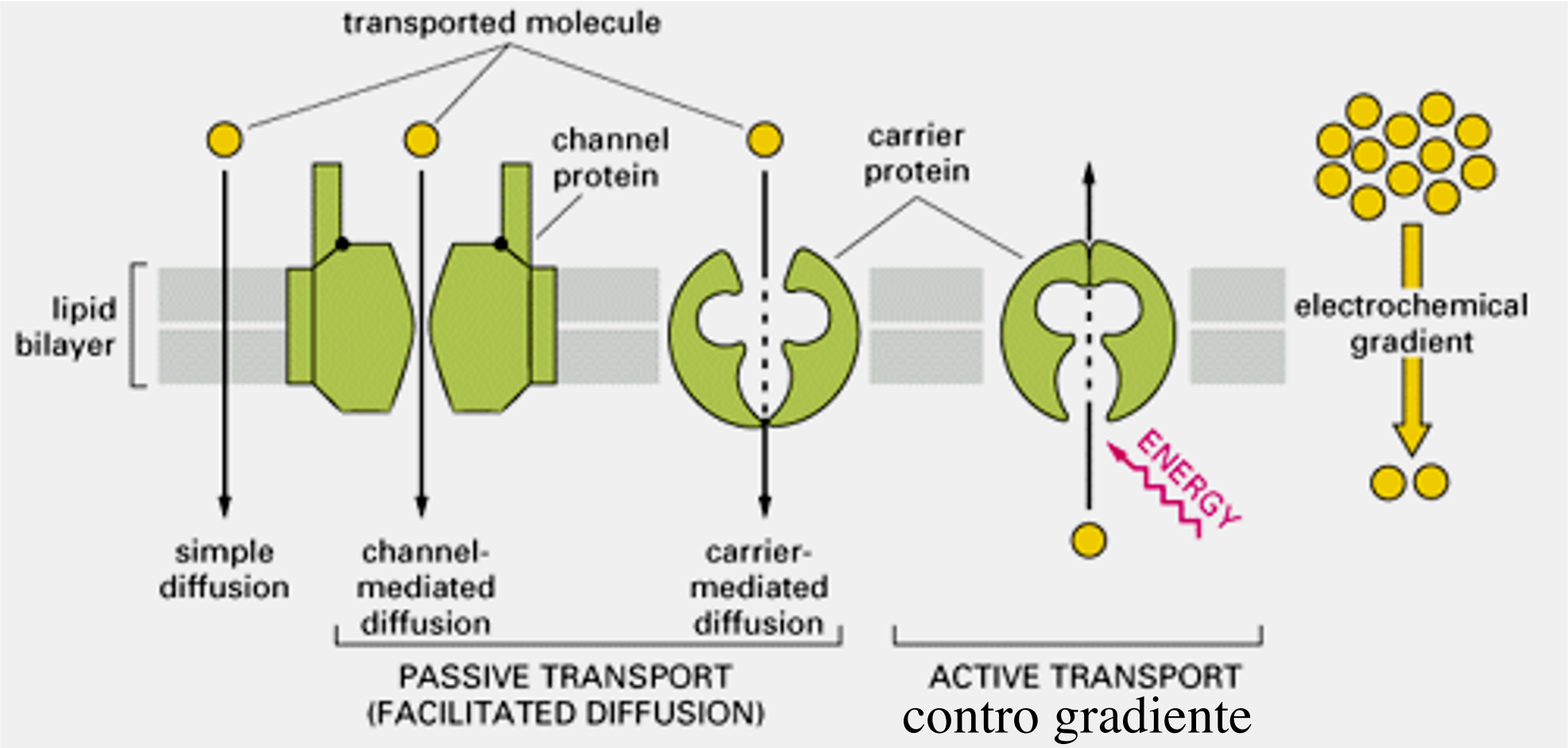
TRANSPORTER

TRASPORTATORI E CANALI

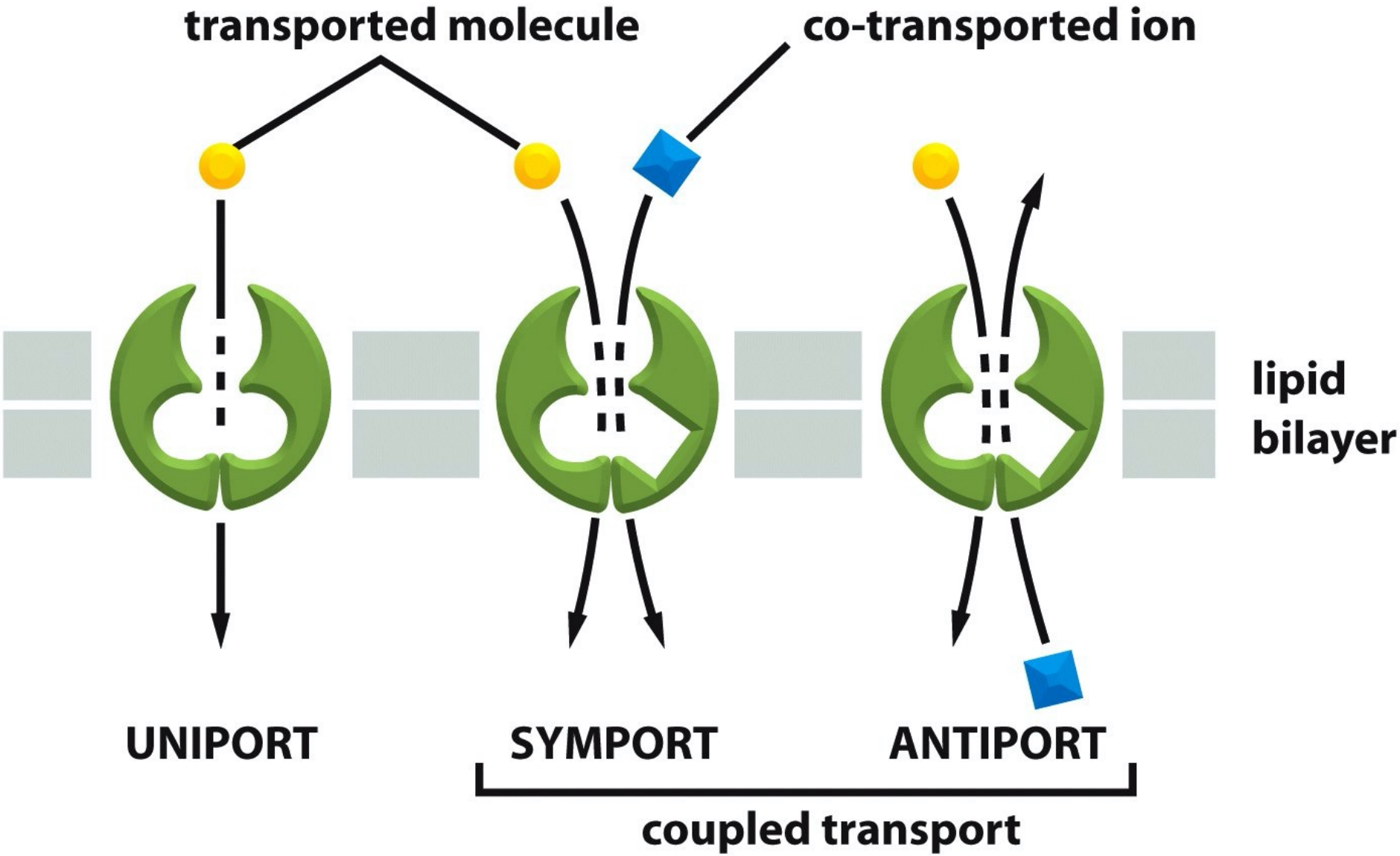


CHANNEL PROTEIN

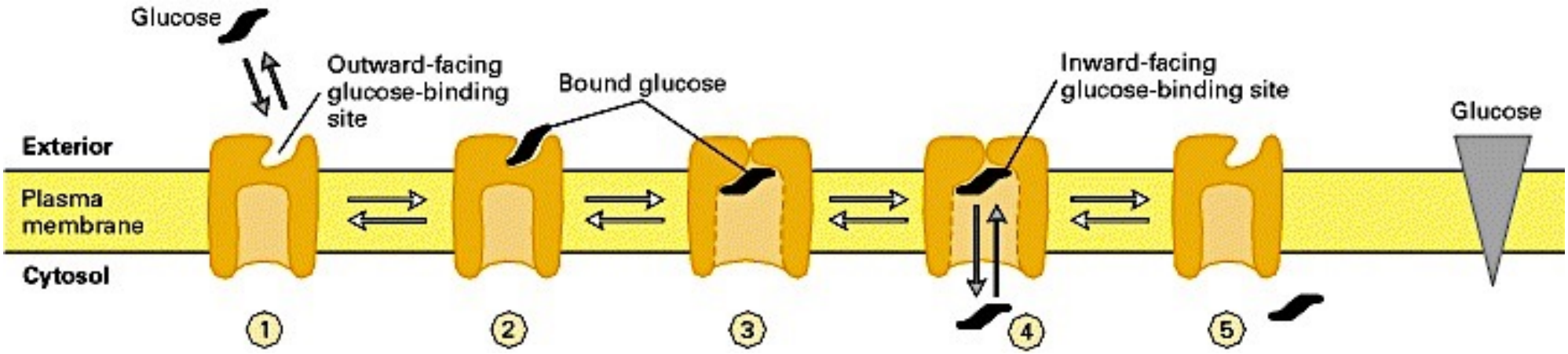
MODALITA' DI TRASPORTO ATTRAVERSO LE MEMBRANE



TRASPORTATORI

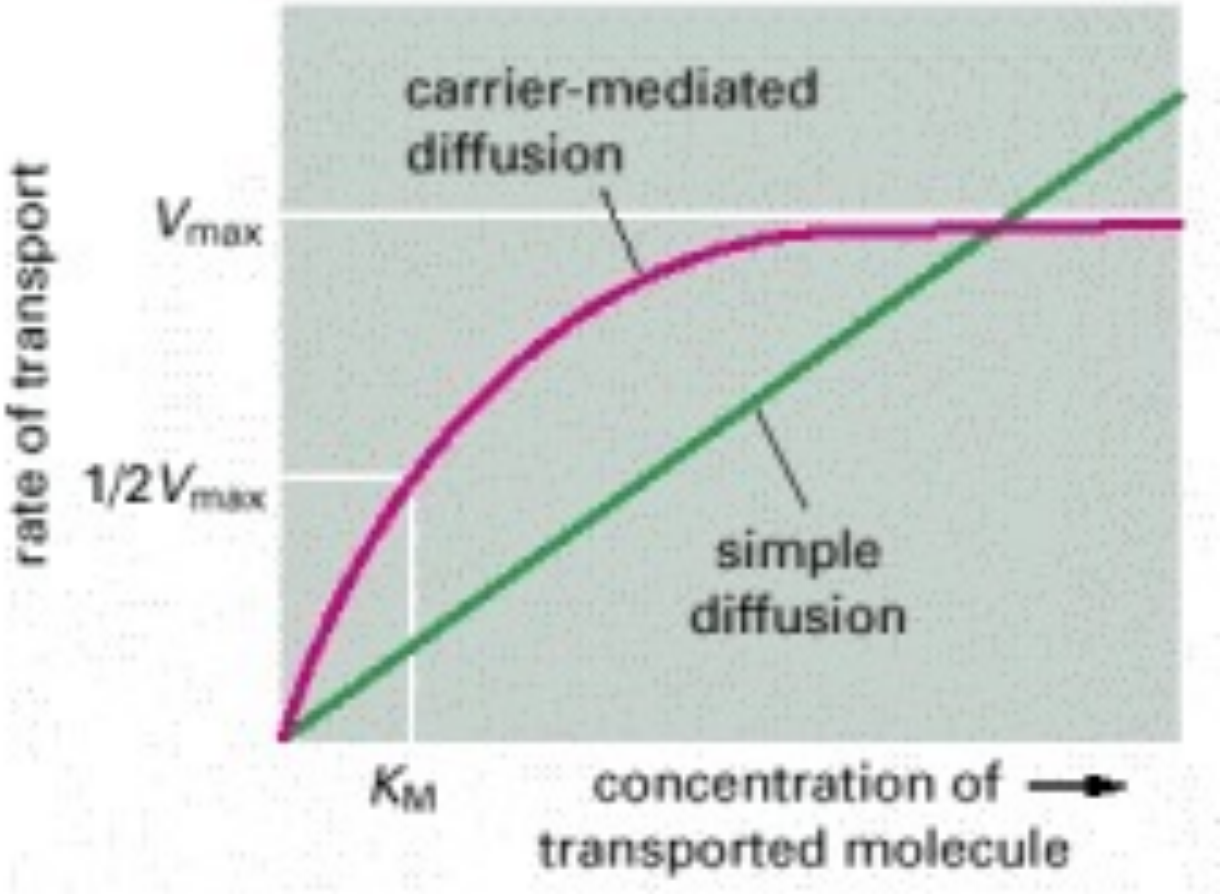


Trasportatore passivo del Glucosio (uniporto)



Trasporto passivo: il glucosio entra nella cellula secondo il suo gradiente di concentrazione (più alta all'esterno della cellula e più bassa nel citosol)

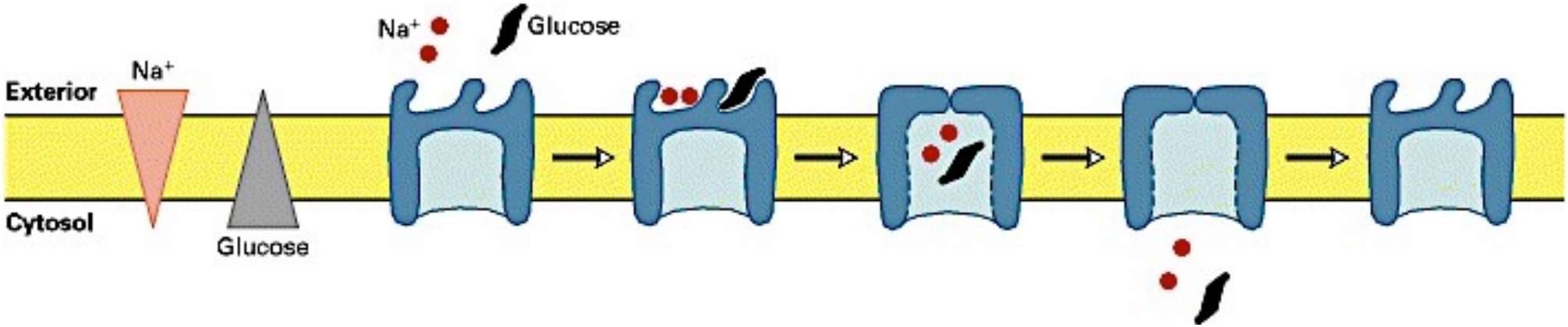
La cinetica del trasporto segue una cinetica enzimatica



saturazione di tutti i trasportatori di membrana

(in questo caso si intende la cinetica del trasporto passivo, senza l'accoppiamento tra diversi sistemi)

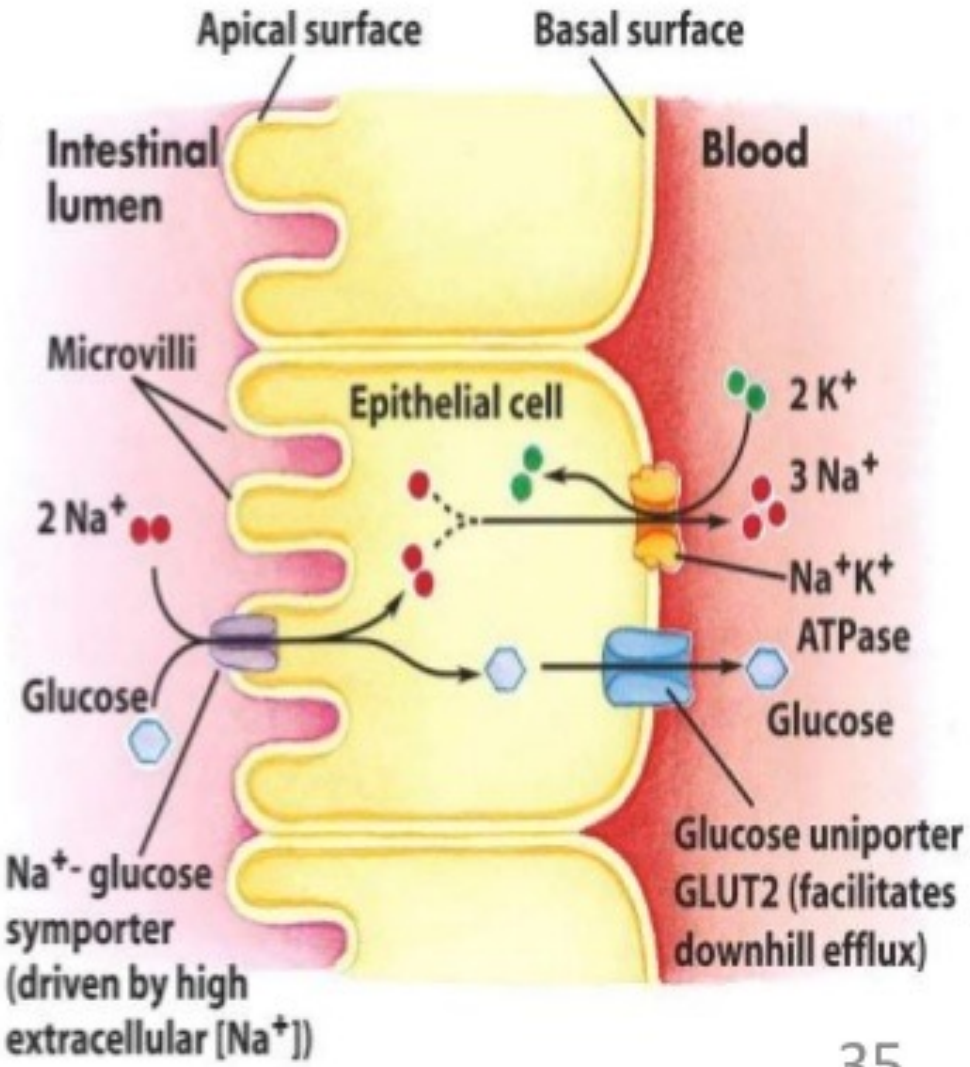
Trasportatore facilitato del Glucosio (simporto)



Il gradiente di Na+ “spinge” il trasporto di glucosio contro gradiente

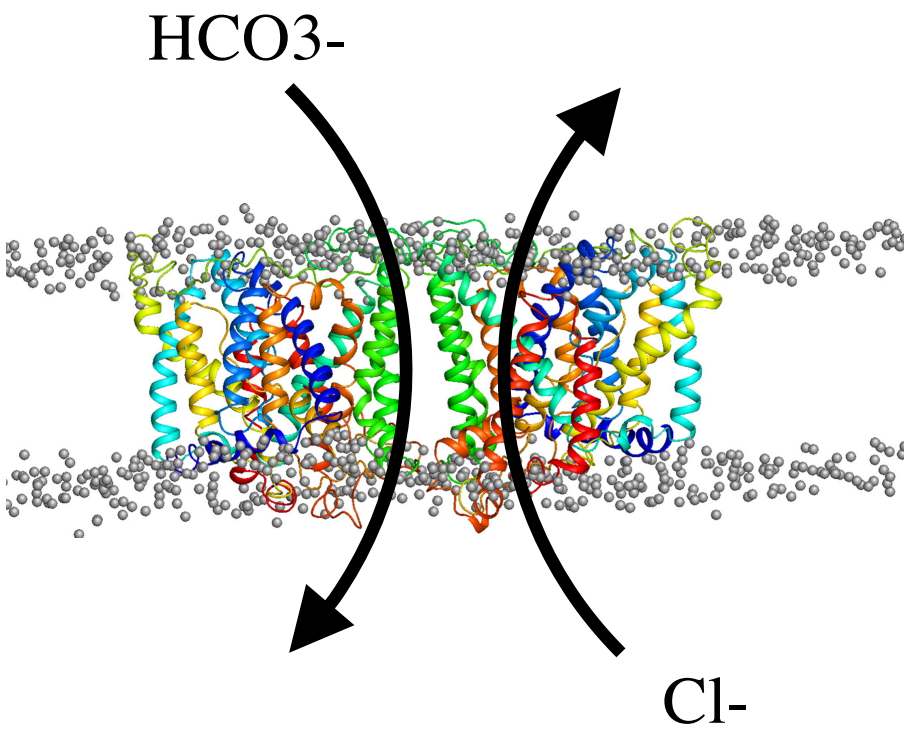
Na+/K+ ATPasi mantiene bassa [Na+] intracellulare
[Na+] + alta nel lume intestinale = Na+ tende ad entrare
Trasporto facilitato permette di avere alta [Glucosio] intracellulare
Il Glucosio può uscire secondo gradiente solo verso il sangue

Trasporto "attivo secondario"

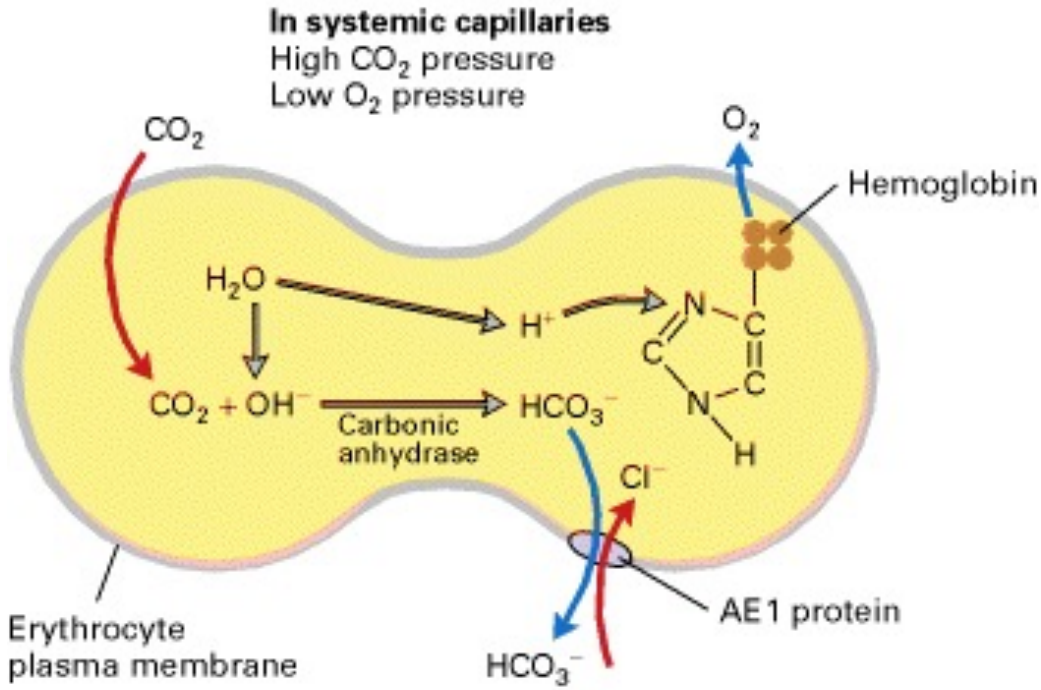


Trasportatore Carbonato/Cloro (antiporto)

Band 3 or Anion Exchanger 1 (AE1), è la principale glicoproteina presente sulla membrana plasmatica dei globuli rossi, e uno dei trasportatori meglio studiati

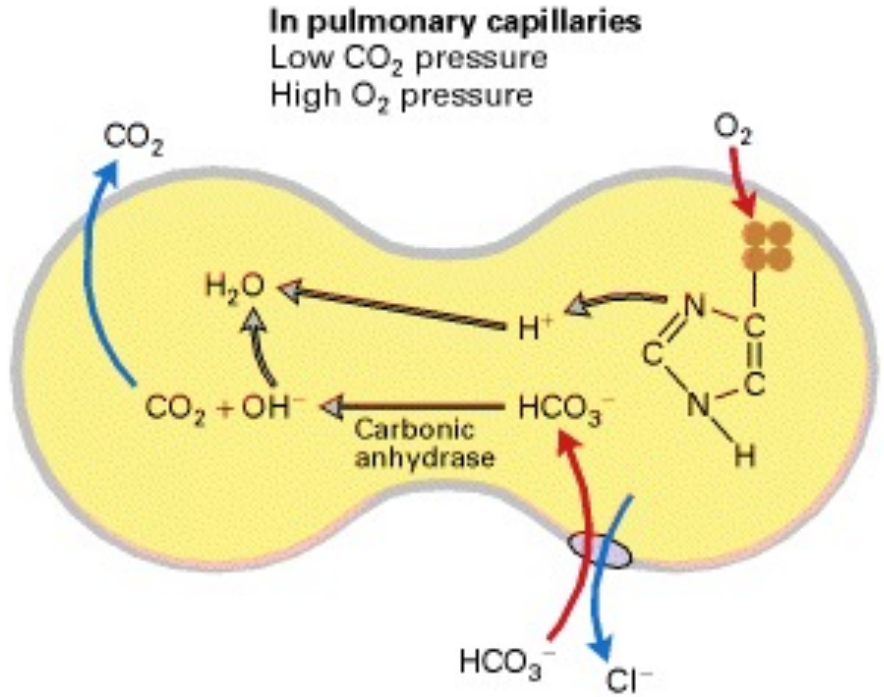


Il trasporto nei globuli rossi



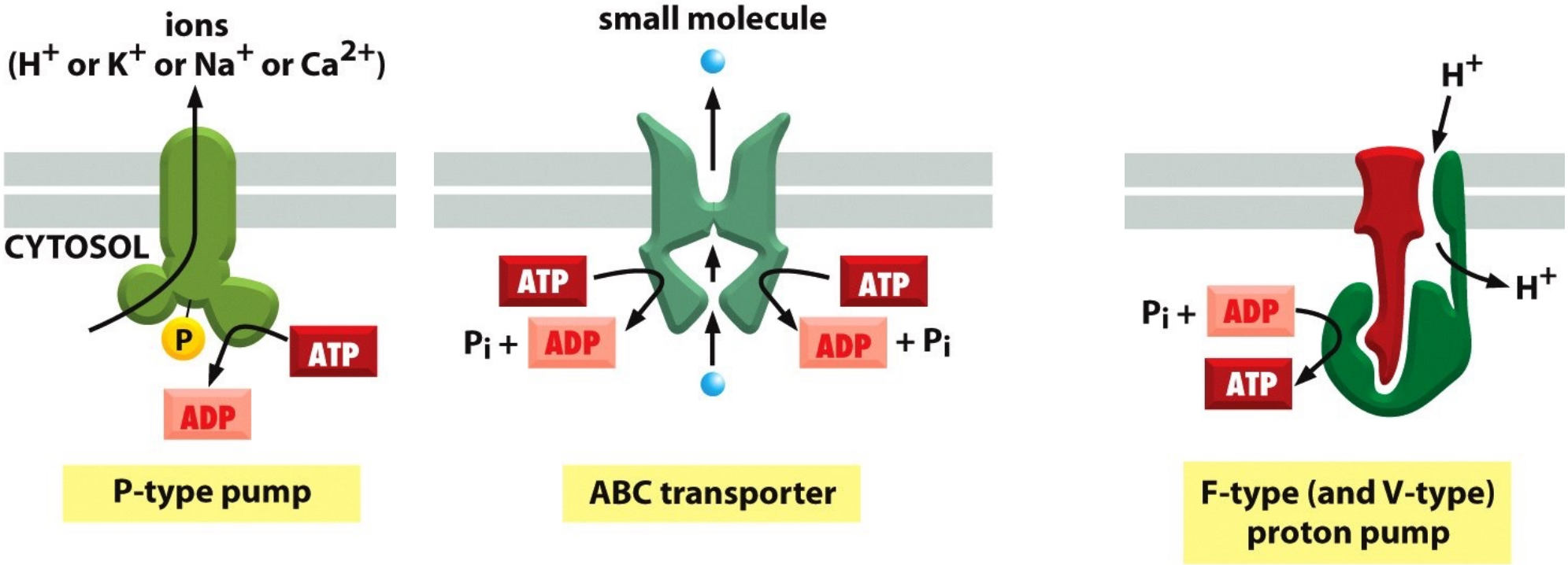
A livello dei tessuti la CO2 è altamente concentrata e entra nei globuli rossi, dove viene trasformata in bicarbonato **dall'anidrasi carbonica** (enzima citosolico). Questo libera uno ione H+ che combinandosi all'emoglobina aiuta a liberare l'ossigeno.

É essenziale per questo che lo ione HCO3- non si accumuli nel citosol: viene scambiato in antiporto con lo ione Cl-



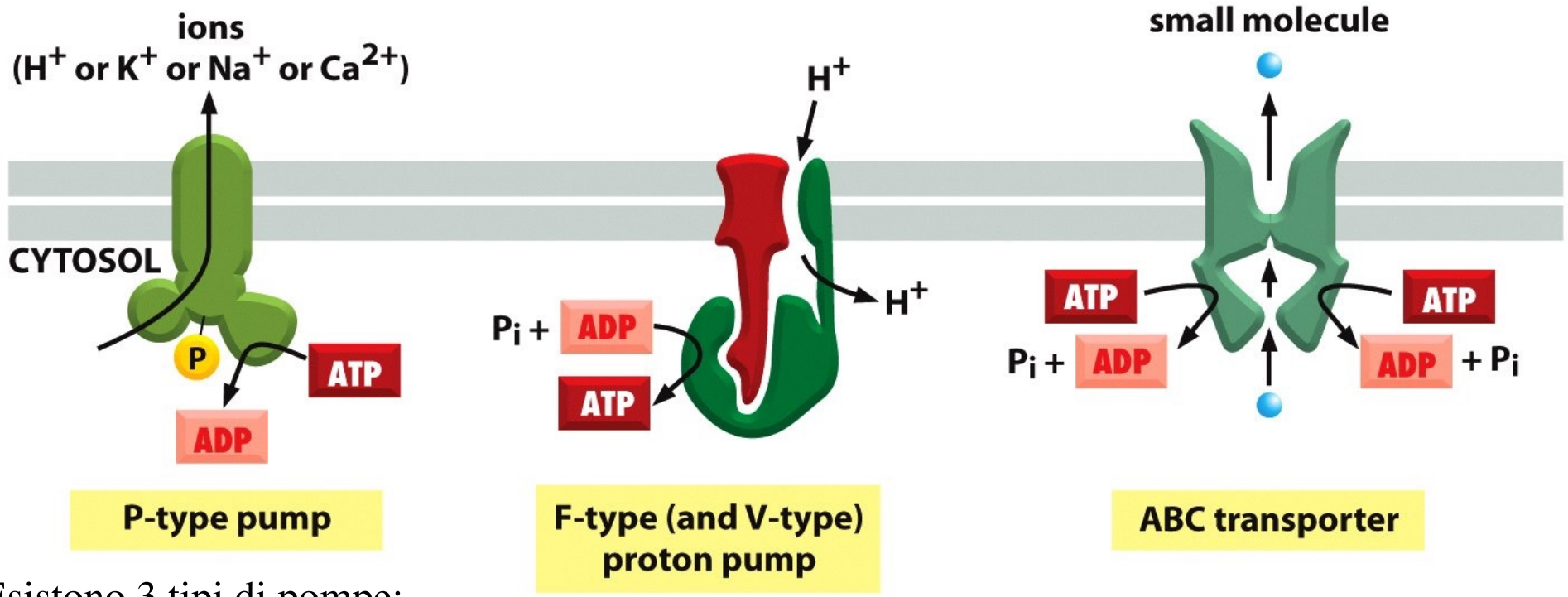
A livello dei polmoni l'ossigeno è altamente concentrato e si lega all'emoglobina, che cede ioni H+. Questi vengono utilizzati dall'anidrasi carbonica per trasformare gli ioni bicarbonato in CO2 e acqua. La CO2 esce poi dai globuli rossi e viene ceduta all'aria. É essenziale per questo che lo ione HCO3- entri nel citosol: viene scambiato in antiporto con lo ione Cl- che è accumulato nel citosol.

POMPE = TRASPORTATORI ATTIVI
(consumano ATP)



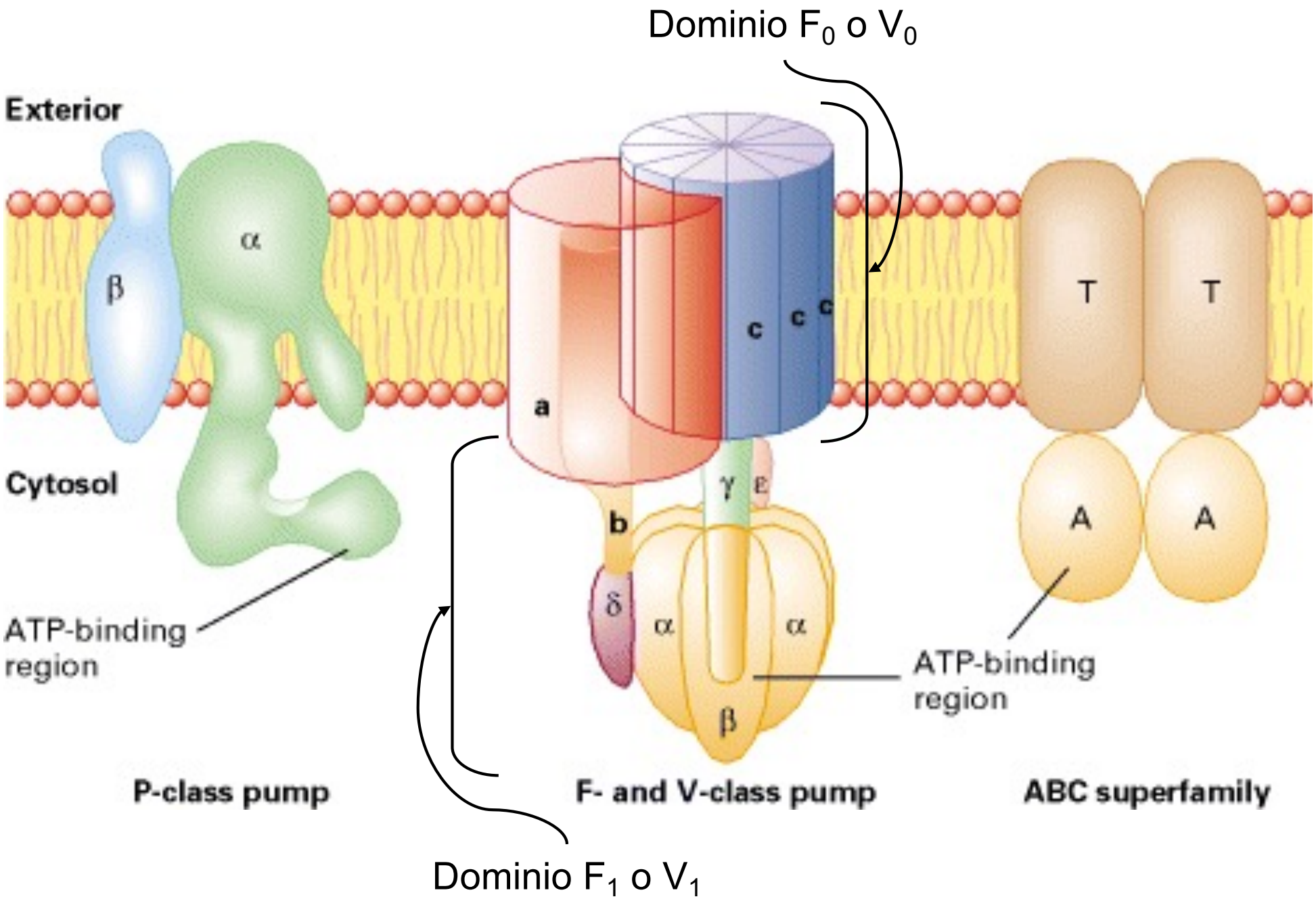
Le pompe utilizzano l'energia sprigionatasi dall'idrolisi dell'ATP in ADP per trasportare ioni o molecole da un versante all'altro di una membrana.

oppure sfruttano il meccanismo al contrario per produrre ATP

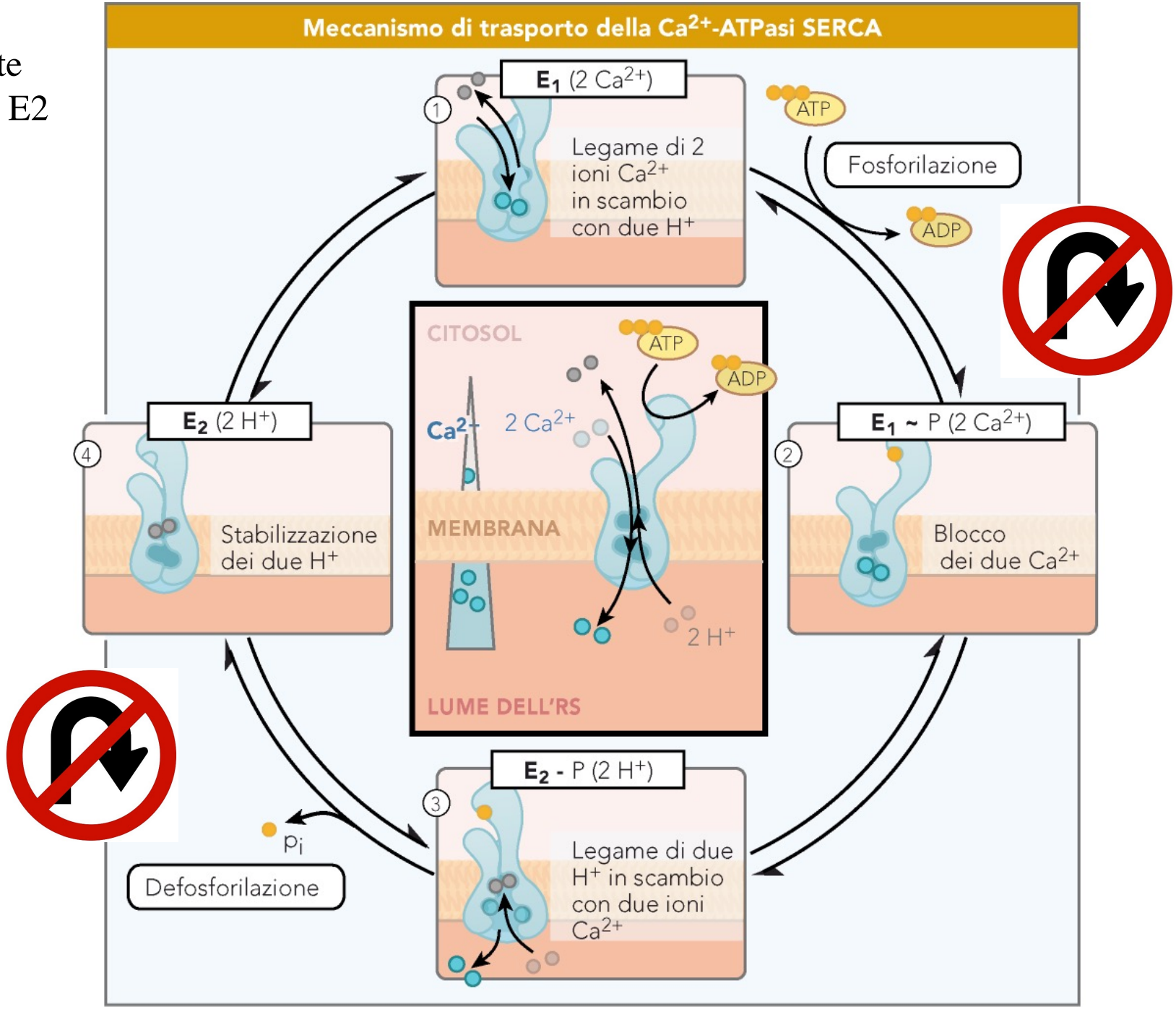


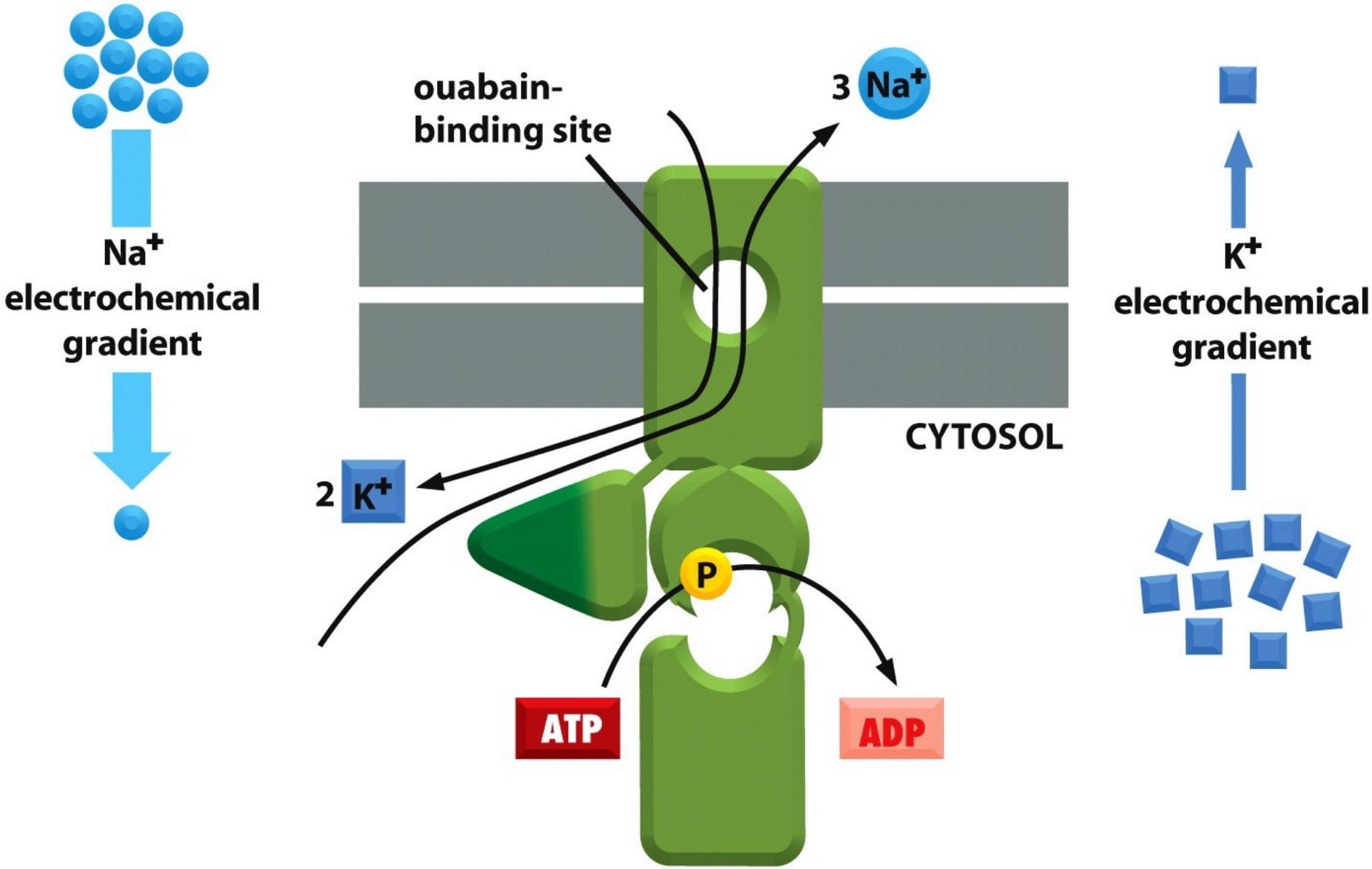
Esistono 3 tipi di pompe:

- **Pompe di tipo P**: trasportano ioni, tipicamente in antiporto con altri ioni. L'ATP viene utilizzato per fosforilare un dominio proteico della pompa, portando alla modificazione allosterica della stessa, il che consente il trasporto. Esempi: pompa SERCA (Ca2+ nel reticolo sarcoplasmatico) e pompa sodio/potassio
- **Pompe di tipo V**: trasportano ioni idrogeno e sono strutturalmente simili alle pompe di tipo F. Esempio: pompa protonica lisosomiale.
- **Pompe di tipo F**: trasportano ioni idrogeno. In questo caso è il legame all'ATP o all'ADP a provocare le modificazioni allosteriche necessarie per il trasporto. Esempio: ATP-sintasi mitocondriale
- **Pompe di tipo ABC**: trasportano piccole molecole non cariche. Sono utilizzate per detossificare le cellule e per il trasporto di alcuni metaboliti.

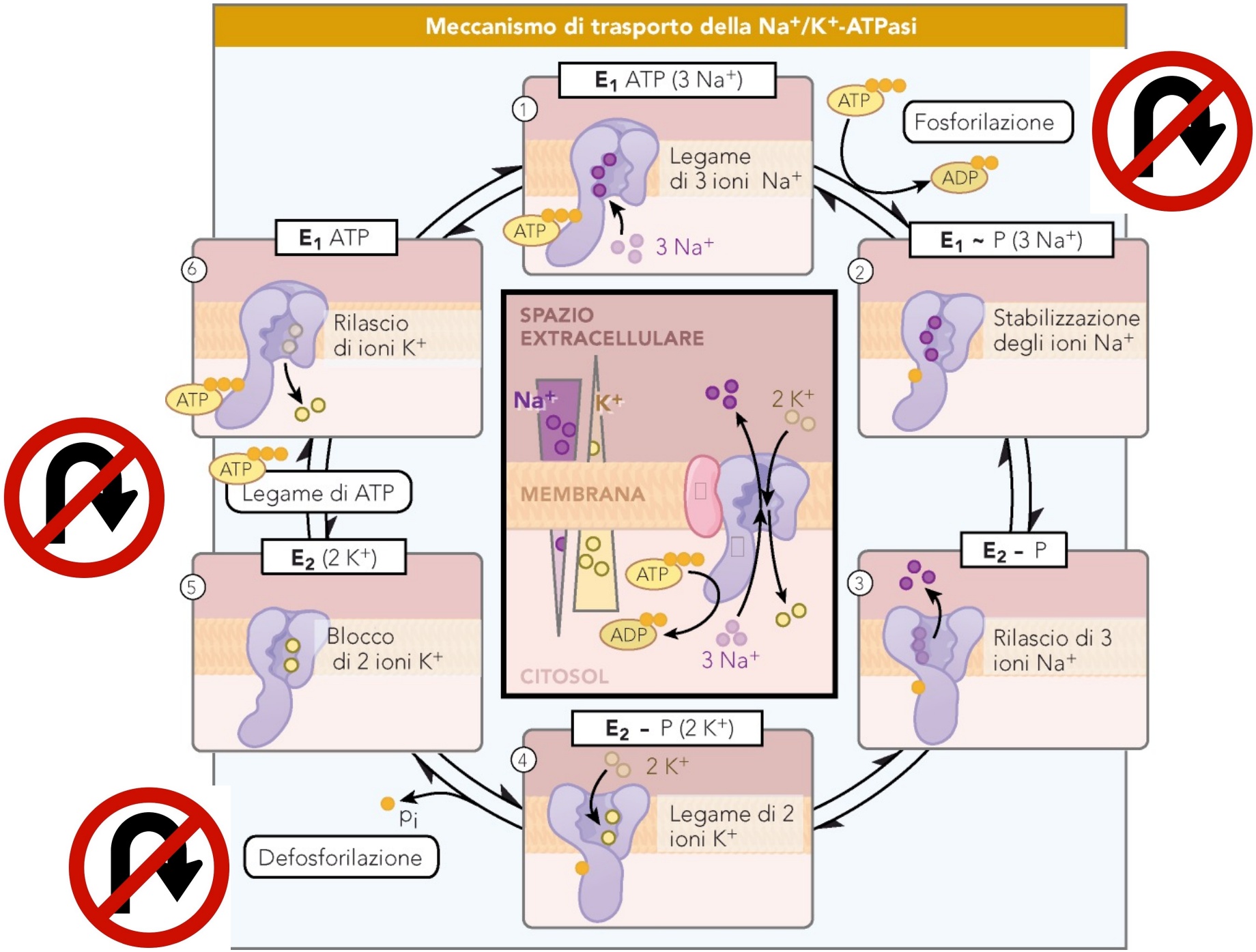

Dominio F_0 o V_0
Exterior
Cytosol
β
α
a
c
c
c
γ
ε
b
δ
α
α
β
T
T
A
A
ATP-binding region
ATP-binding region
P-class pump
F- and V-class pump
ABC superfamily
Dominio F_1 o V_1

Le pompe P vengono descritte in due stati E1 e E2





Pompa sodio/potassio


Meccanismo di trasporto della Na+/K+-ATPasi
E1 ATP (3 Na+)
1
Legame di 3 ioni Na+
ATP
3 Na+
ATP
Fosforilazione
ADP
E1 ~ P (3 Na+)
2
Stabilizzazione degli ioni Na+
E2 - P
3
Rilascio di 3 ioni Na+
E2 - P (2 K+)
4
2 K+
Legame di 2 ioni K+
pi
Defosforilazione
E2 (2 K+)
5
Blocco di 2 ioni K+
ATP
Legame di ATP
E1 ATP
6
Rilascio di ioni K+
ATP
SPAZIO EXTRACELLULARE
Na+
K+
2 K+
MEMBRANA
ATP
ADP
3 Na+
CITOSOL

Pompa di tipo ABC

es: sostanza tossica solubile nelle membrane

es: farmaco anticancro

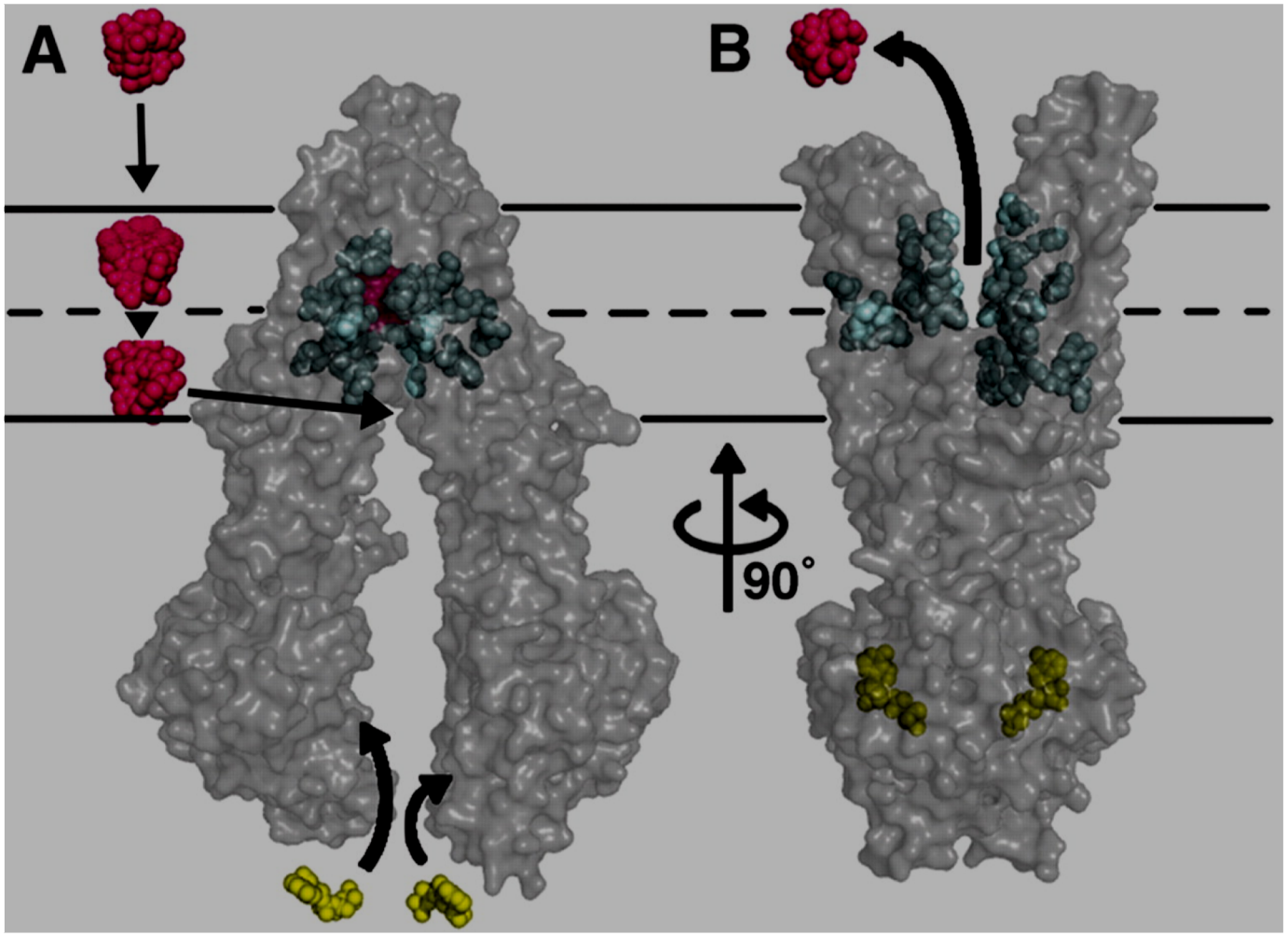
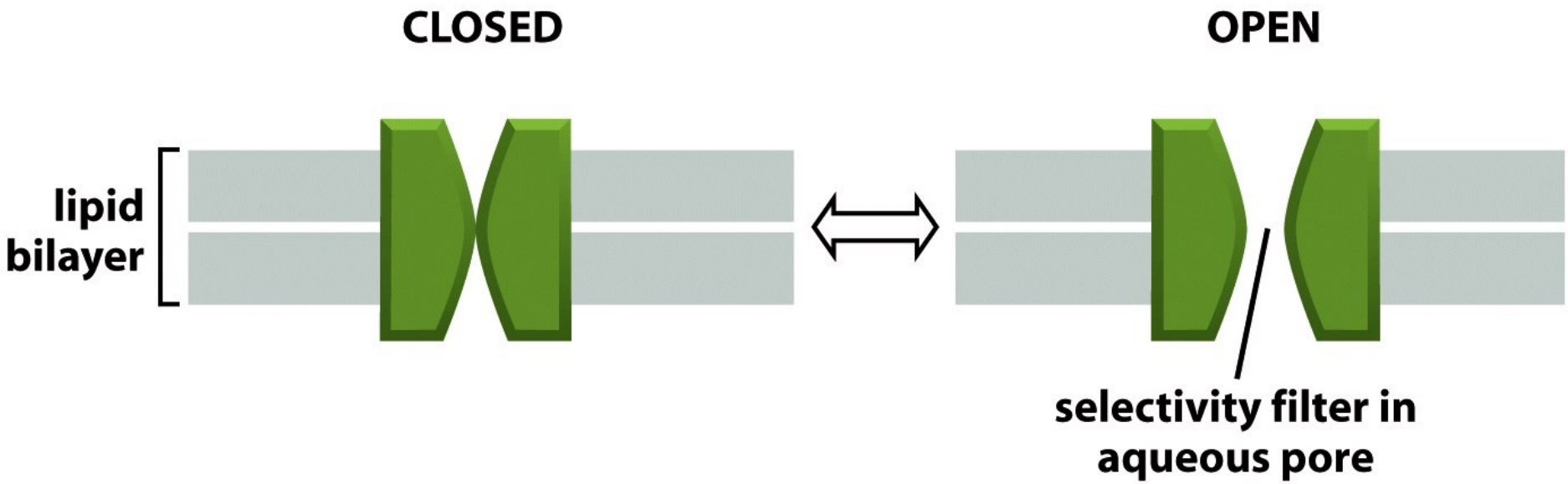


Fig. 4. Model of substrate transport by P-gp. (**A**) Substrate (magenta) partitions into the bilayer from outside of the cell to the inner leaflet and enters the internal drug-binding pocket through an open portal. The residues in the drug-binding pocket (cyan spheres) interact with QZ59 compounds and verapamil in the inward-facing conformation. (**B**) ATP (yellow) binds to the NBDs causing a large conformational change presenting the substrate and drug-binding site(s) to the outer leaflet and/or extracellular space.

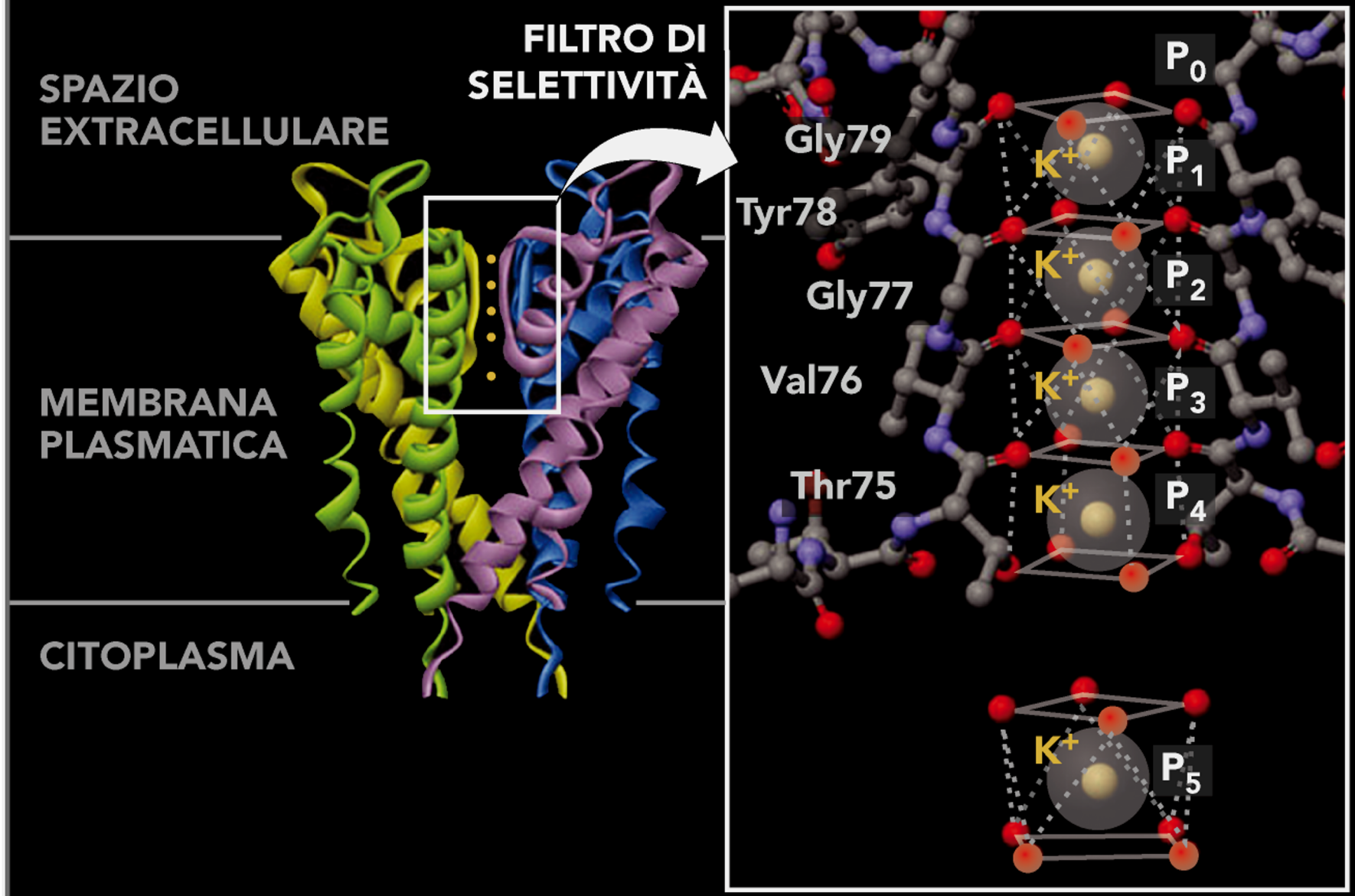
CANALI

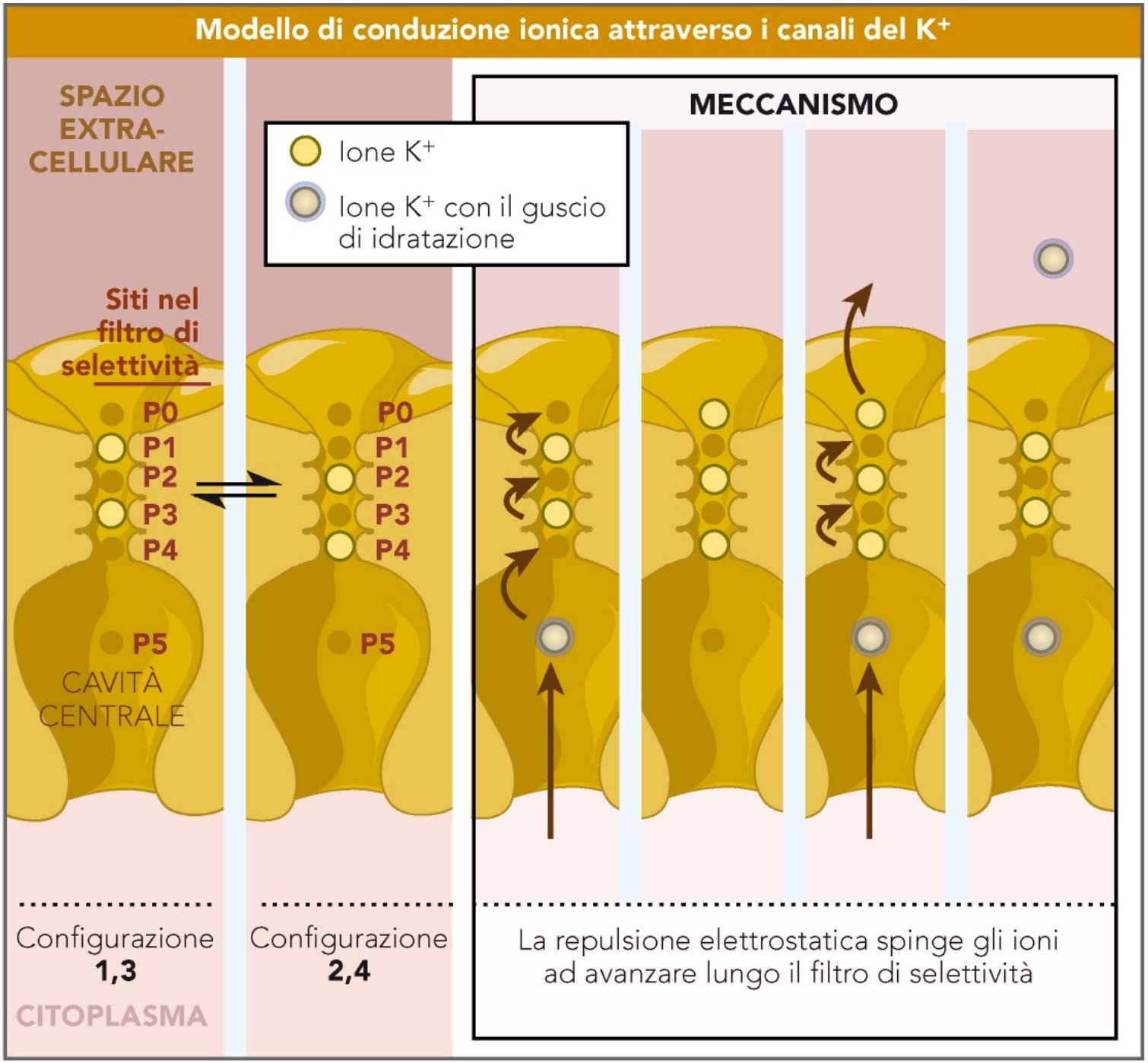


I ***canali*** consentono di creare dei passaggi **selettivi** attraverso le membrane = solo alcuni soluti o tipo di soluti potranno passare attraverso il canale

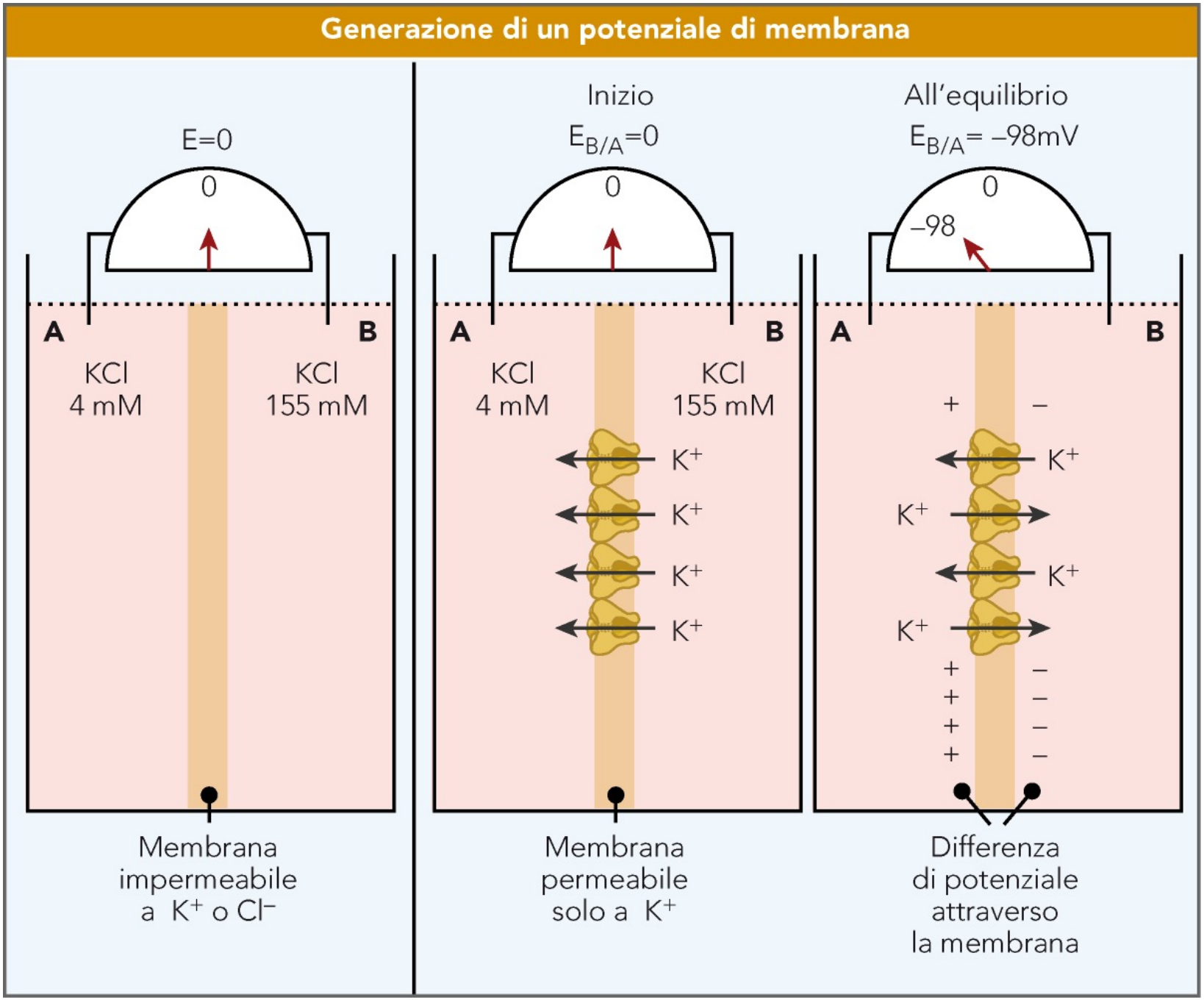
I ***pori*** creano passaggi non selettivi. Esempio: porine della membrana mitocondriale esterna

Struttura del filtro di selettività del canale del K^+




Modello di conduzione ionica attraverso i canali del K+
SPAZIO EXTRA-CELLULARE
Ione K+
Ione K+ con il guscio di idratazione
MECCANISMO
Siti nel filtro di selettività
P0
P1
P2
P3
P4
P5
CAVITÀ CENTRALE
Configurazione 1,3
CITOPLASMA
Configurazione 2,4
La repulsione elettrostatica spinge gli ioni ad avanzare lungo il filtro di selettività

Potenziale di membrana



Potenziale di riposo della membrana plasmatica

Il potenziale di riposo della membrana plasmatica è dovuto prevalentemente al flusso di ioni K^+ attraverso i canali di riposo del K+, che sono sempre aperti. Pertanto, il potenziale di riposo è molto vicino al potenziale per il K^+ calcolabile dalla equazione di Nernst.

Viene mantenuto nel tempo per la presenza della pompa Na^+-K^+

The Nernst equation is

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_o}{C_i}$$

V = the equilibrium potential in volts (internal potential minus external potential)

C_o and C_i = outside and inside concentrations of the ion, respectively

R = the gas constant (2 cal mol^{-1} $°K^{-1}$)

T = the absolute temperature (°K)

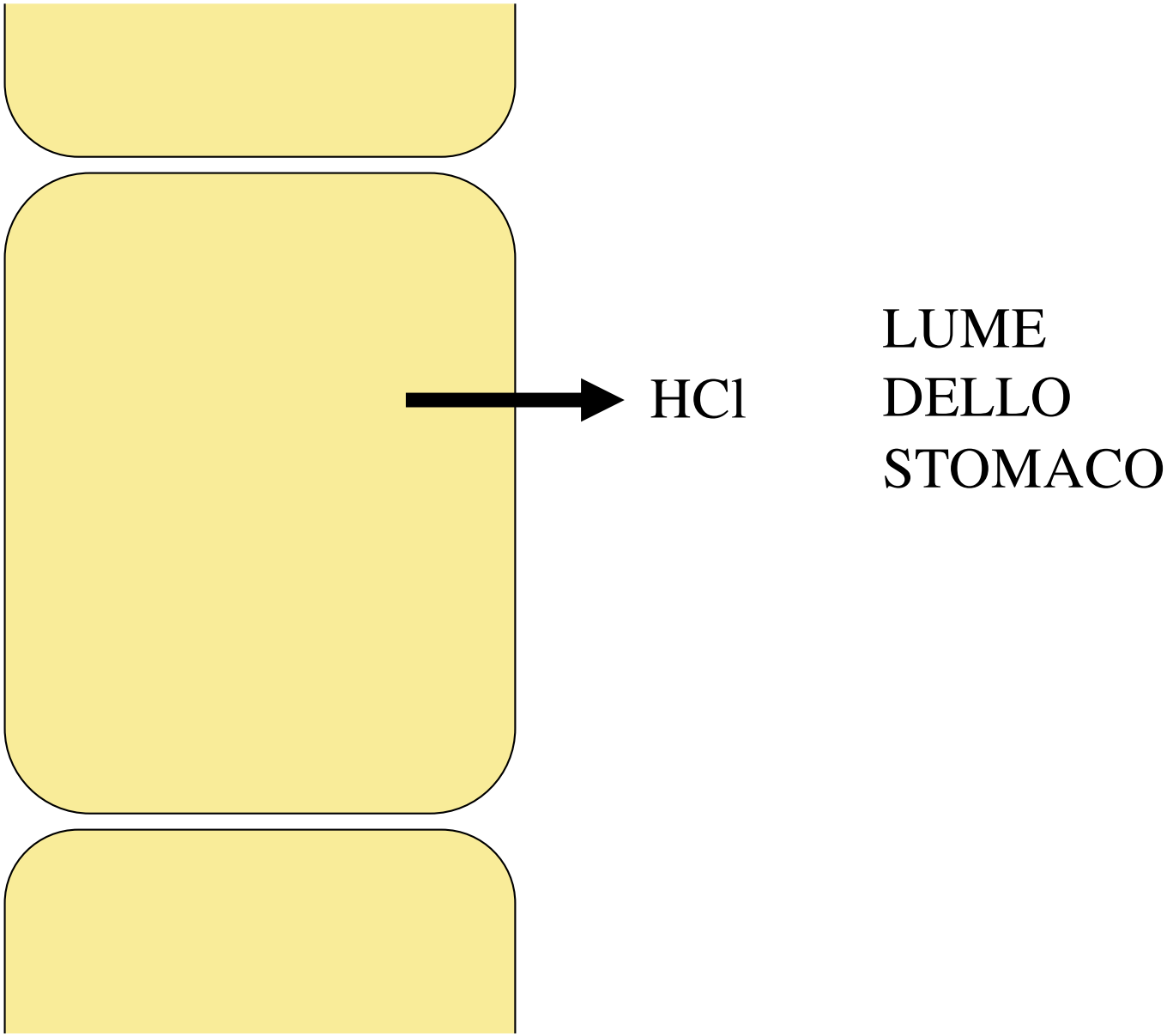
F = Faraday's constant (2.3×10^4 cal V^{-1} mol^{-1})

z = the valence (charge) of the ion

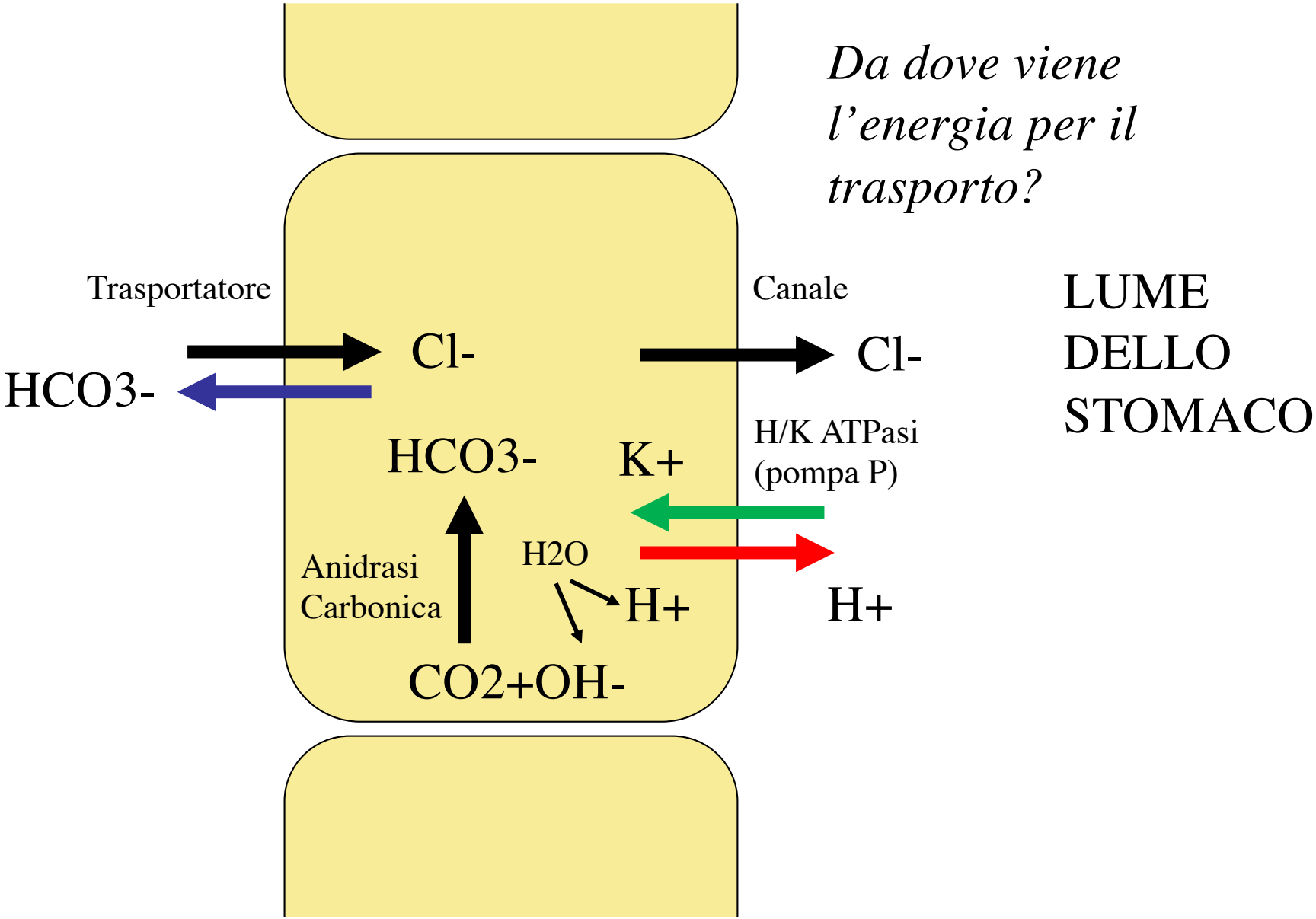
ln = logarithm to the base e

V_K= -70/90 mV

Esempio di utilizzo dei canali: produzione di HCl nello stomaco

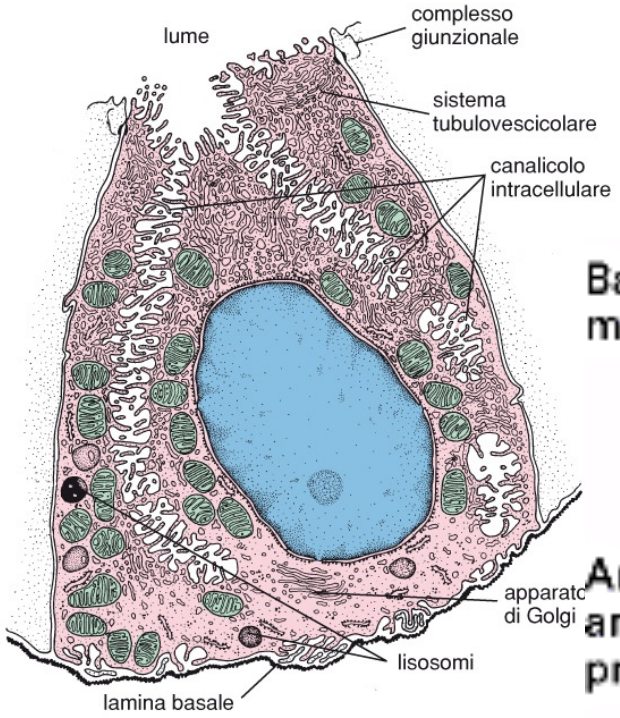


Esempio di utilizzo dei canali: produzione di HCl nello stomaco

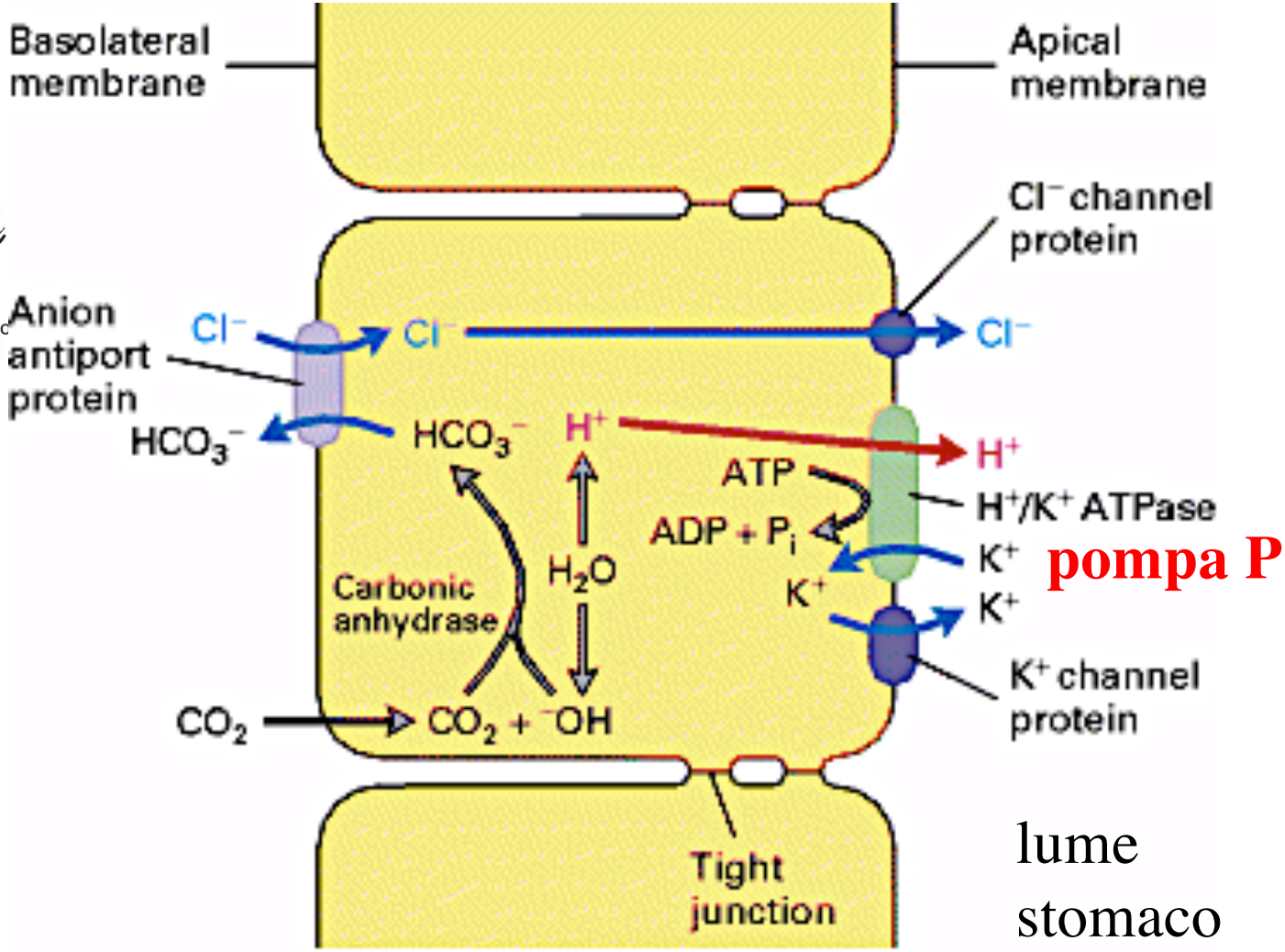


Da dove viene l'energia per il trasporto?

La produzione di HCl nello Stomaco



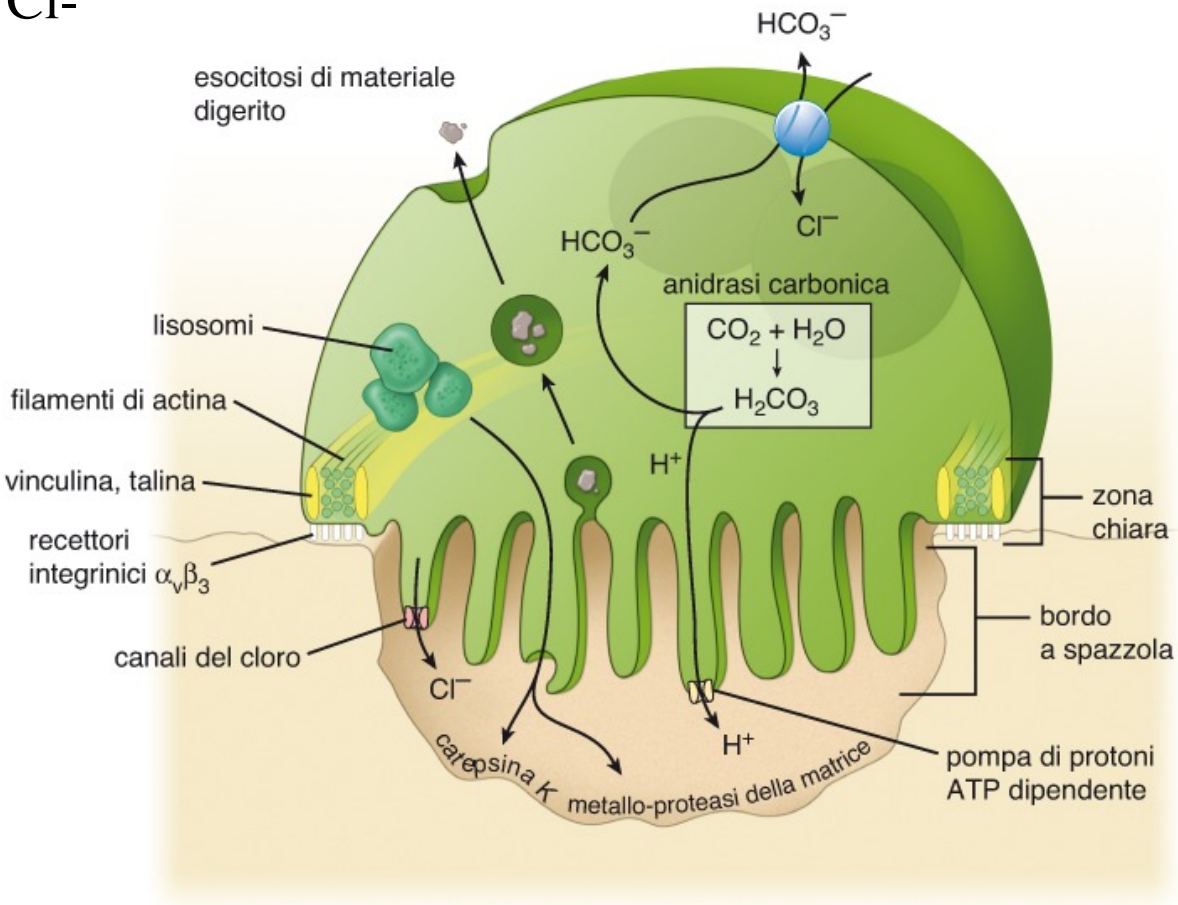
CELLULA PARIETALE



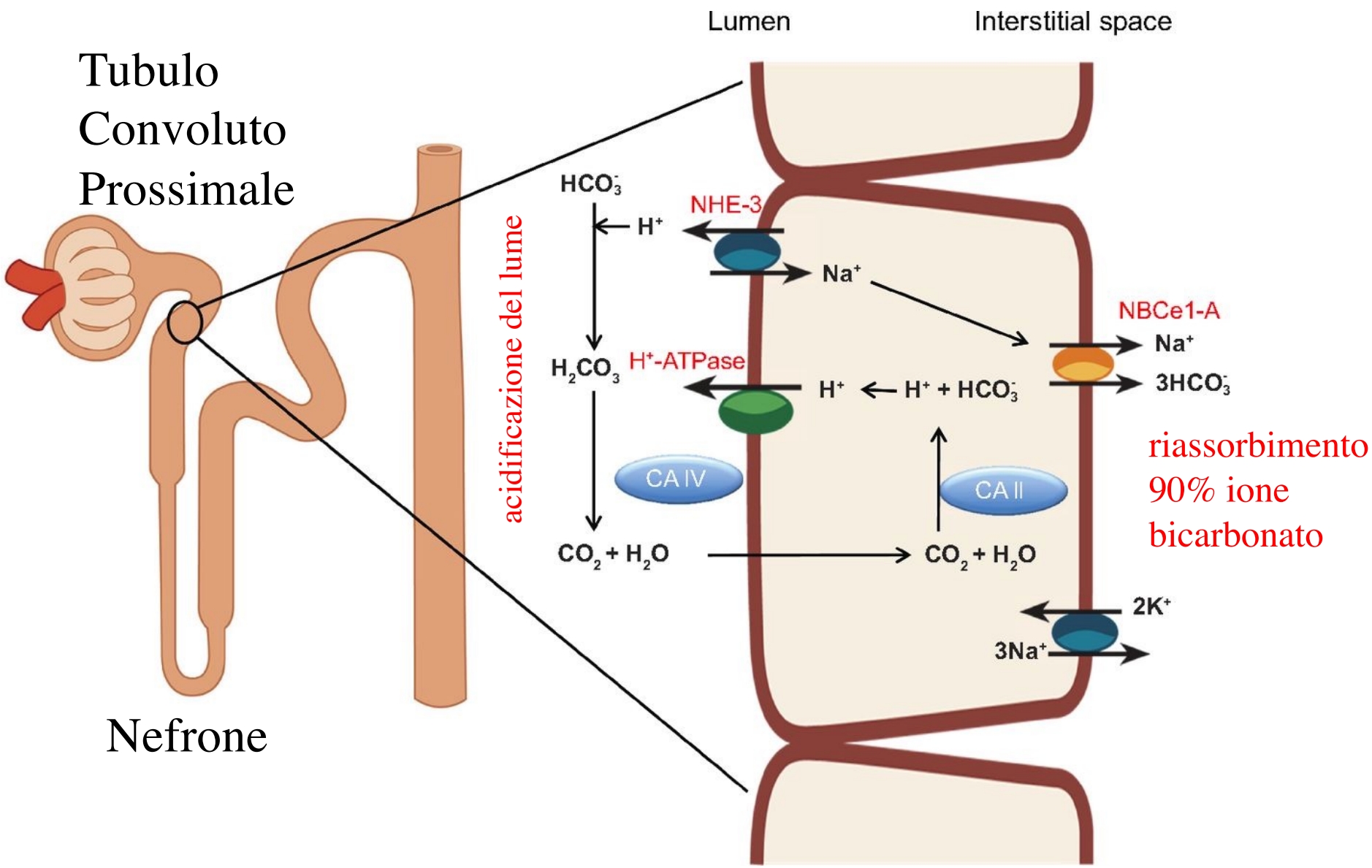
Gli osteoclasti degradano la matrice ossea

Acidificazione per dissolvere la componente minerale

- produzione acido carbonico
  (anidrasi carbonica)
- pompa ATP-dipendente trasporta H+
- canali accoppiati trasportano Cl-
  (microvilli + mitocondri)
- antiporto Cl- / Carbonato



meccanismo simile allo stomaco ma basato su una pompa protonica di tipo V



Mutazione della CA2 = Type 2 Renal Tubular Acidosis
+ Osteopetrosis

Regolazione del passaggio attraverso i canali

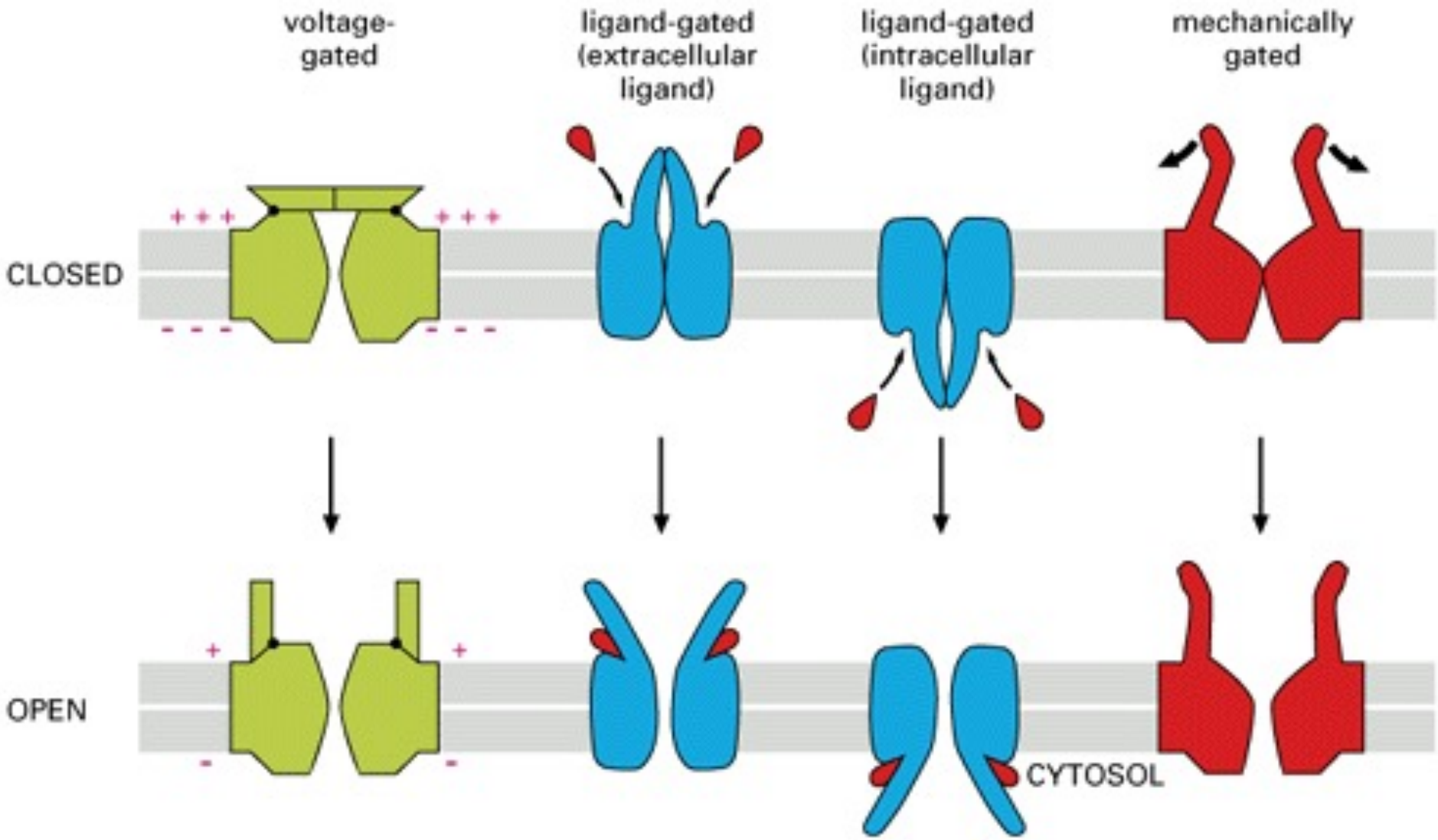
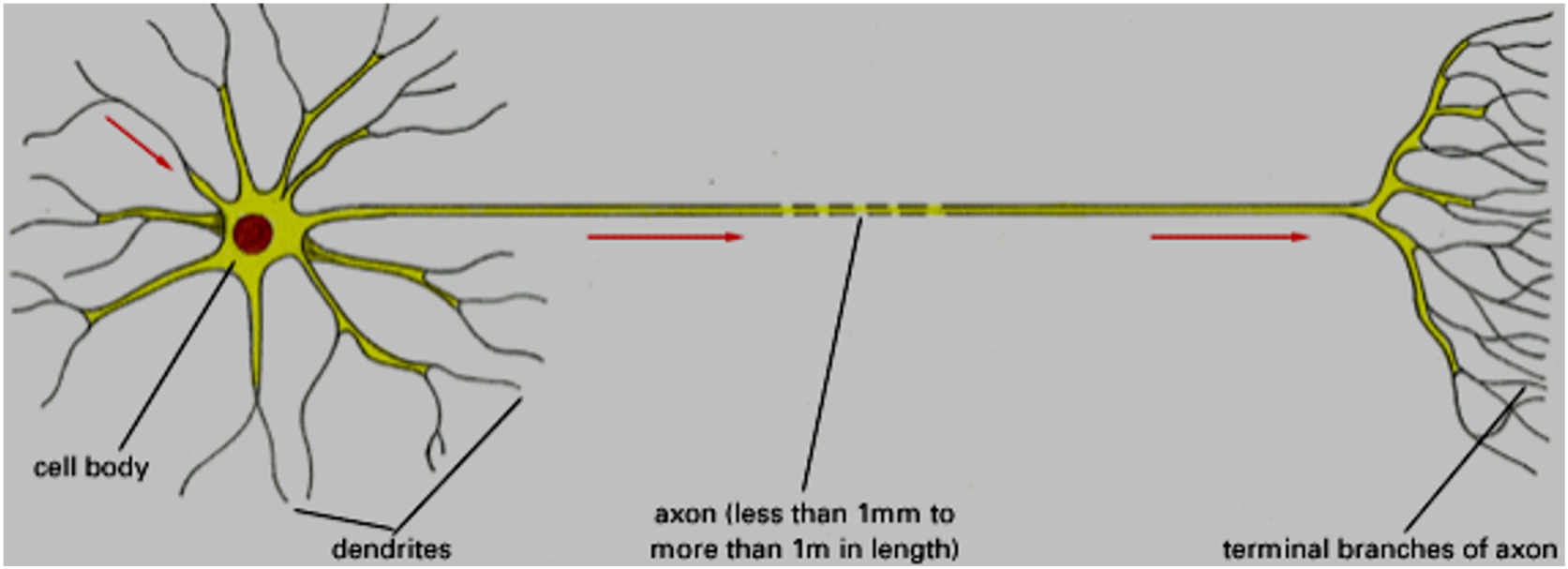
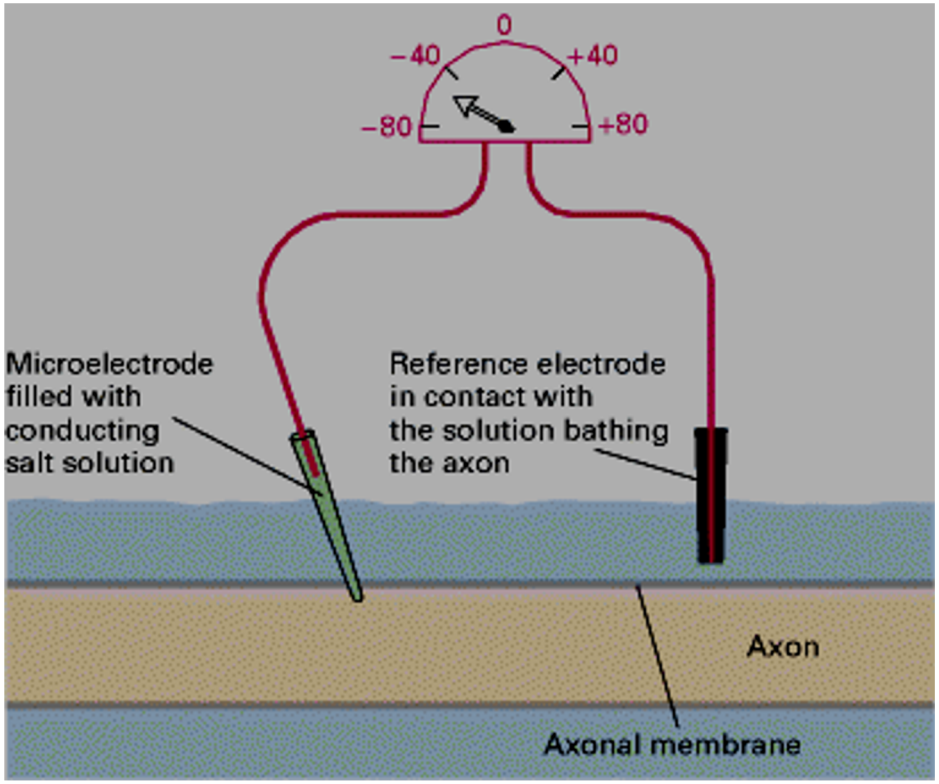


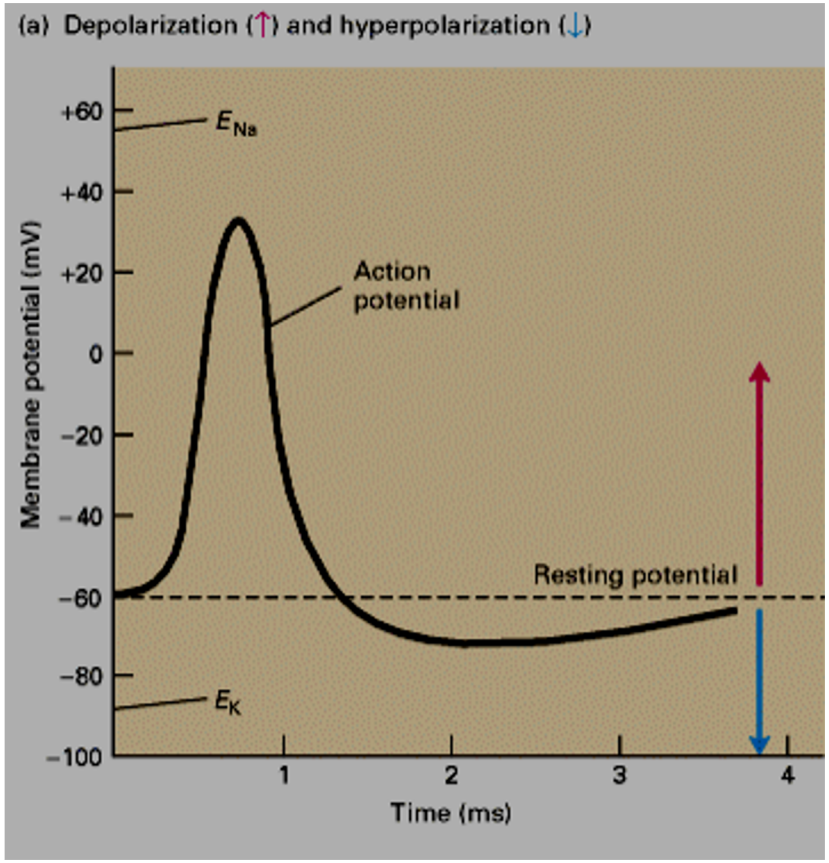
Table 11–3 Some Ion Channel Families

Family*	Representative Subfamilies	
Voltage-gated cation channels	voltage-gated Na^+ channels	
	voltage-gated K^+ channels (including delayed and early)	
	voltage-gated Ca^{2+} channels	
Transmitter-gated ion channels	acetylcholine-gated cation channels	excitatory
	serotonin-gated cation channels	excitatory
	glutamate-gated cation channels**	excitatory
	GABA-gated Cl^- channels	inhibitory
	glycine-gated Cl^- channels	inhibitory

*The members of a family are similar in amino acid sequence and, therefore, are thought to have derived from a common ancestor; within subfamilies the resemblances are usually even closer.
**These channels are formed by a distinct family of subunits but are thought to have a similar overall structure to the other transmitter-gated ion channels.


cell body
dendrites
axon (less than 1mm to
more than 1m in length)
terminal branches of axon

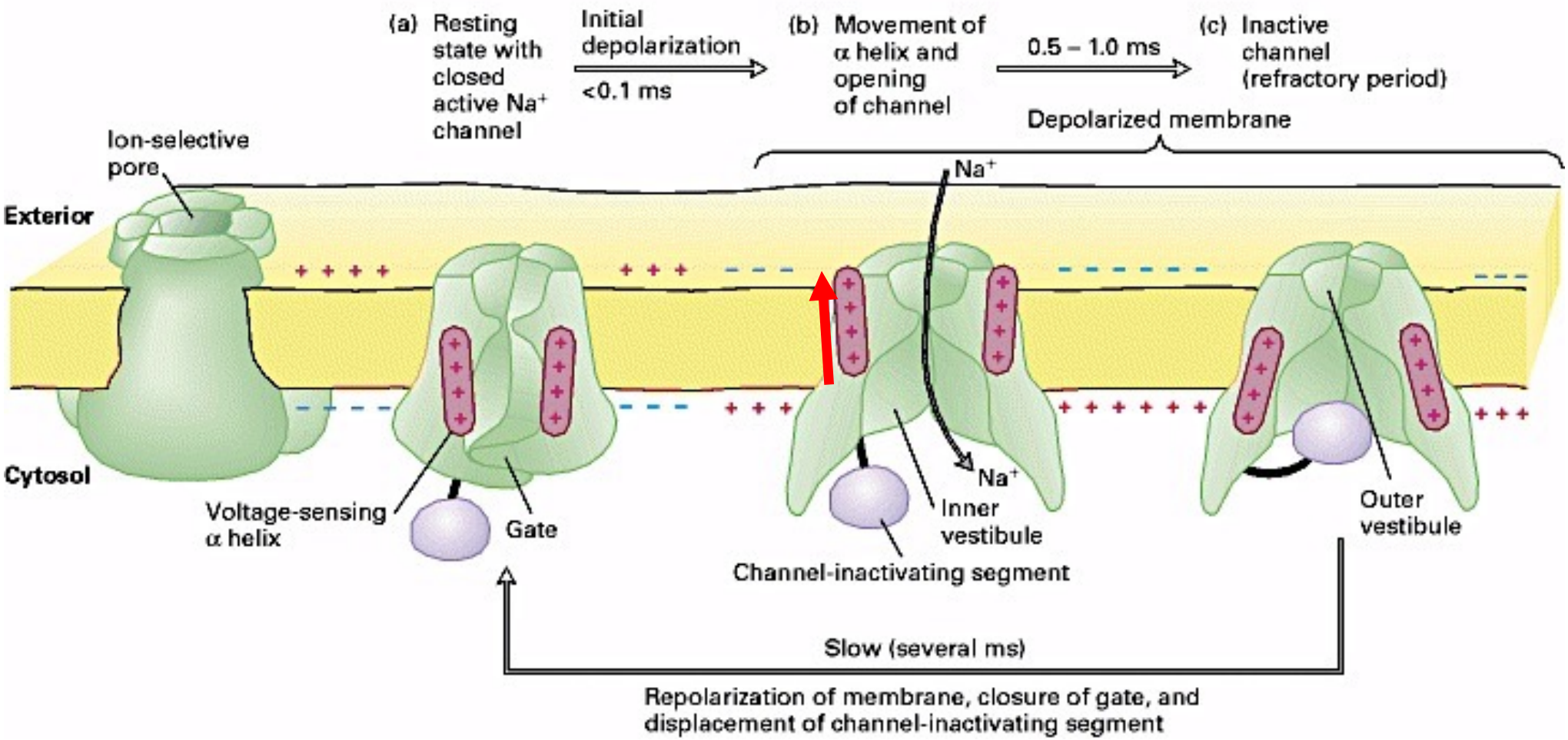

0
−40
+40
−80
+80
Microelectrode
filled with
conducting
salt solution
Reference electrode
in contact with
the solution bathing
the axon
Axon
Axonal membrane


(a) Depolarization (↑) and hyperpolarization (↓)
Membrane potential (mV)
+60
+40
+20
0
−20
−40
−60
−80
−100
E_{Na}
E_K
Action
potential
Resting potential
1
2
3
4
Time (ms)

Il ciclo dei canali sodio

qualcosa depolarizza
la membrana

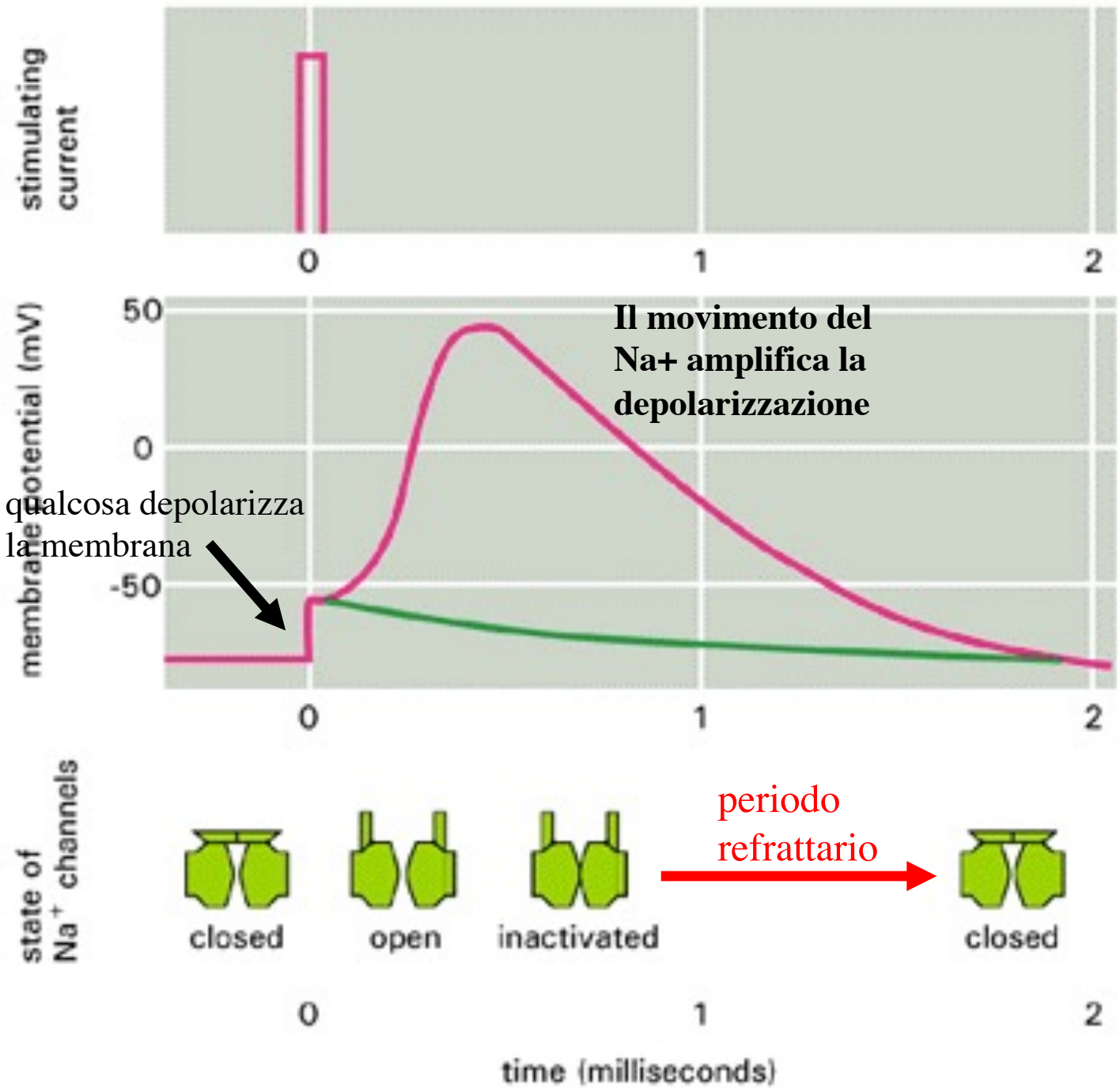
Na^+ **Il movimento del Na+ amplifica la depolarizzazione**



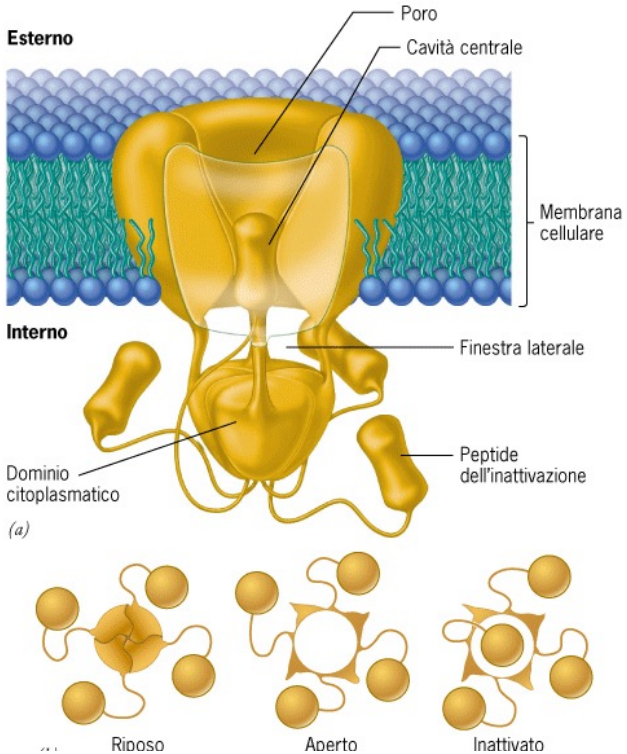
Chiuso
apribile

Aperto

Inattivato
non apribile

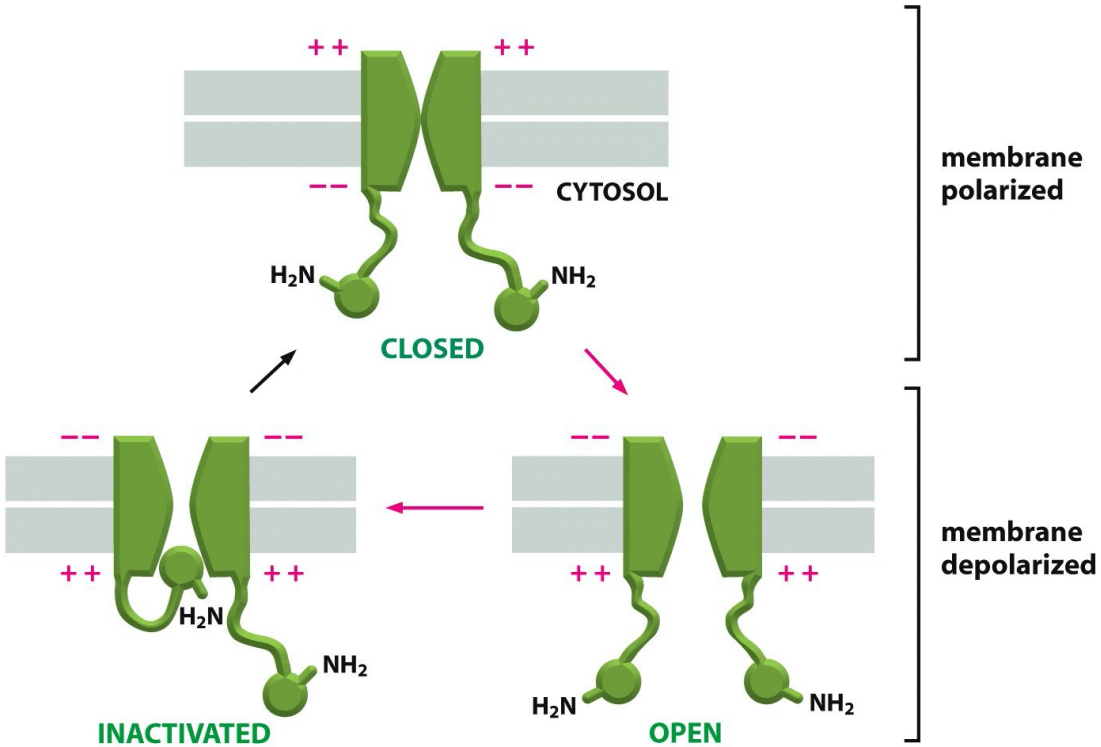


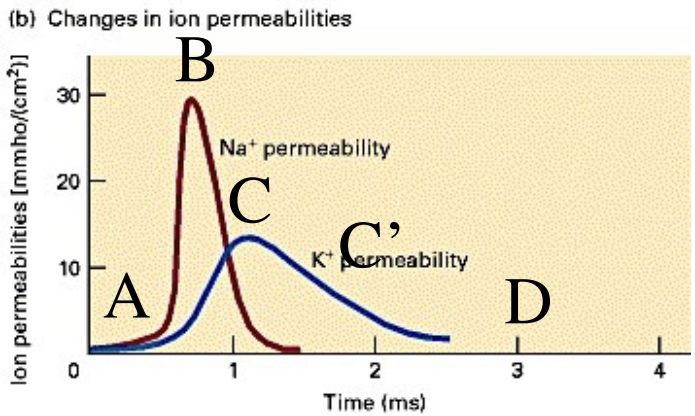
Ci vuole del tempo perchè un canale inattivato torni nello stato chiuso

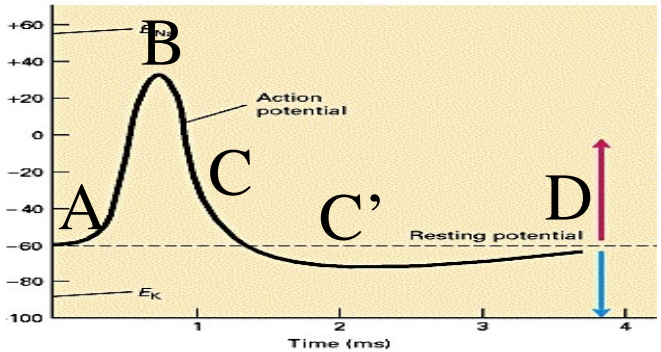


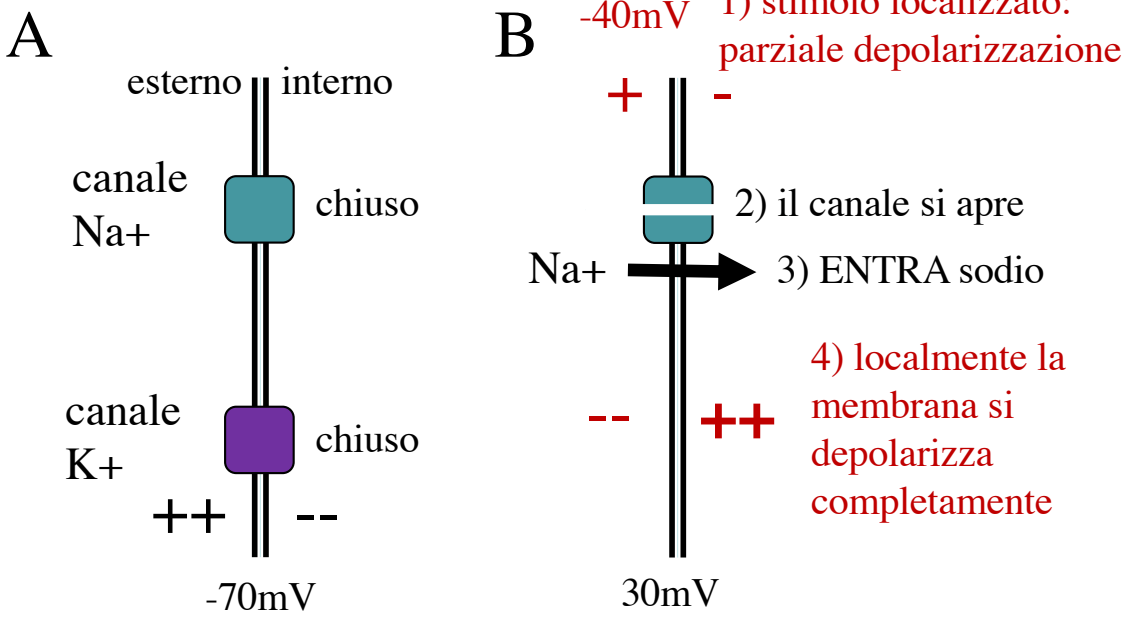
Lungo l'assone esistono anche dei Canali per il K+ Voltaggio-dipendenti

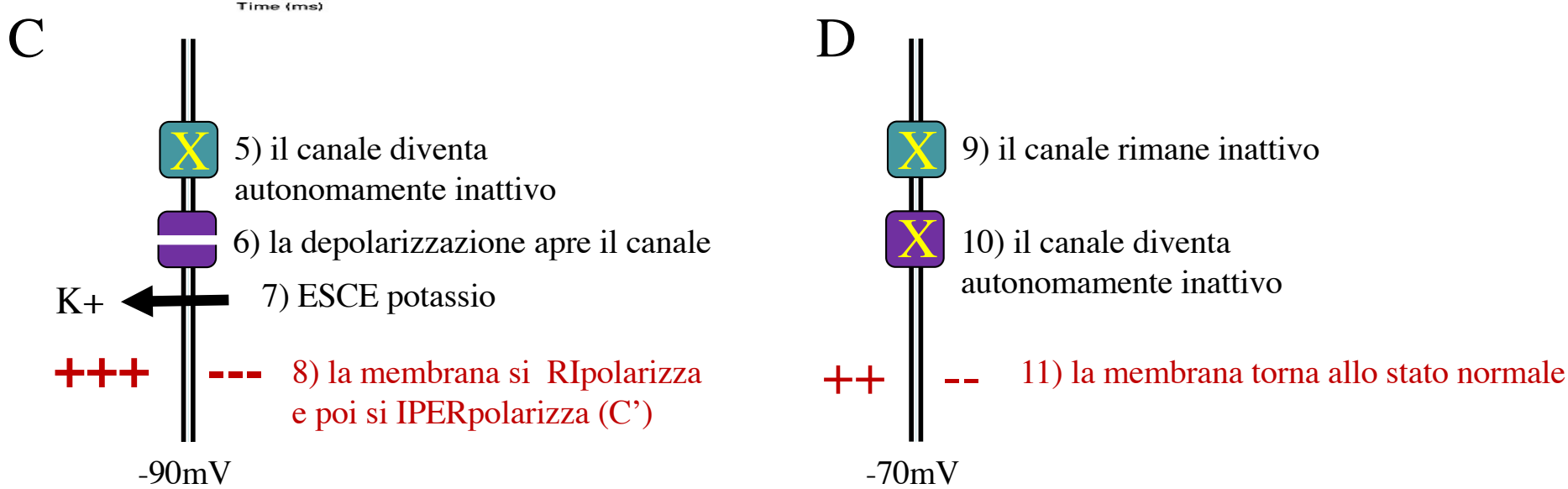
Anche questi canali hanno un periodo refrattario

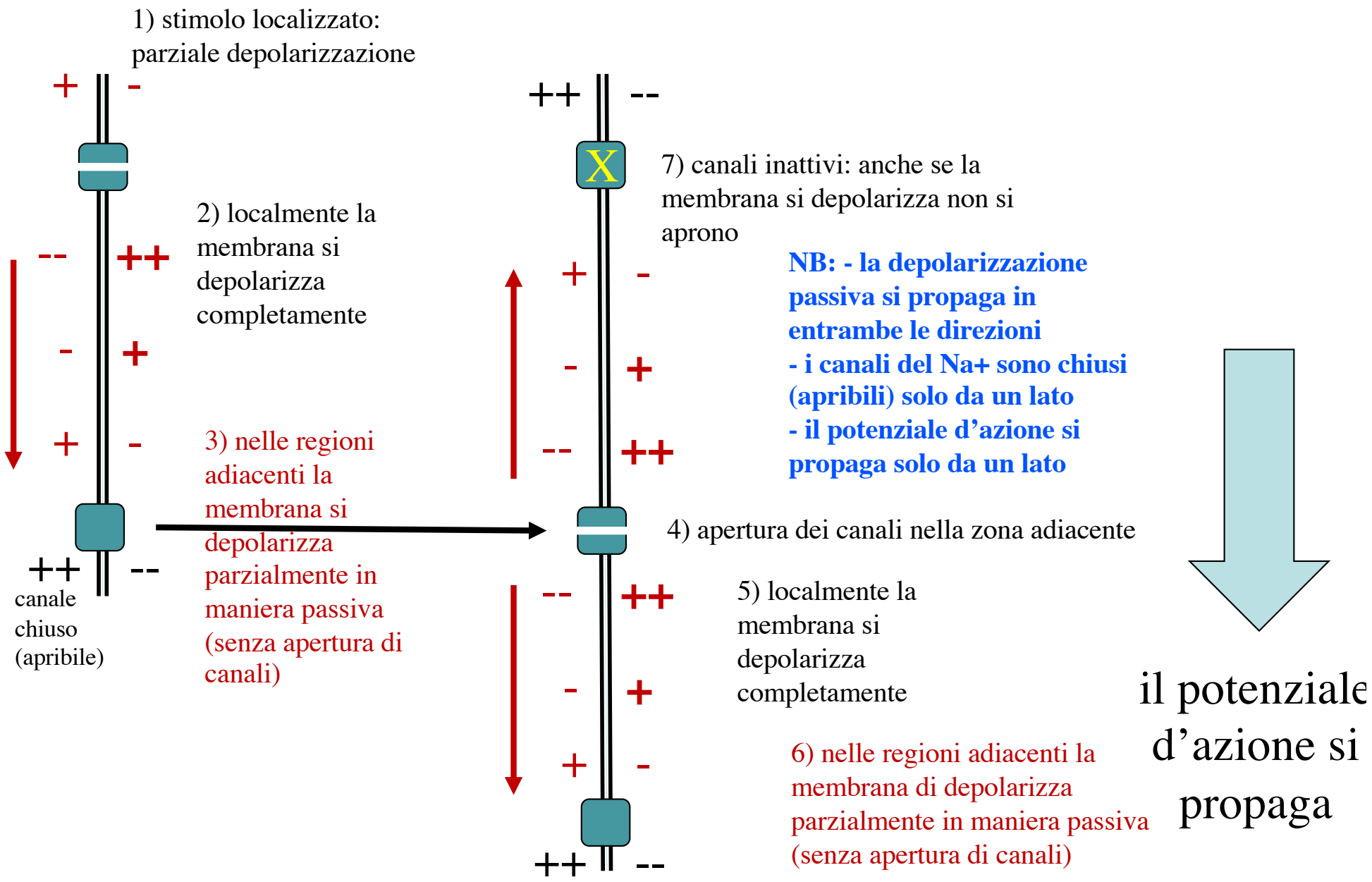


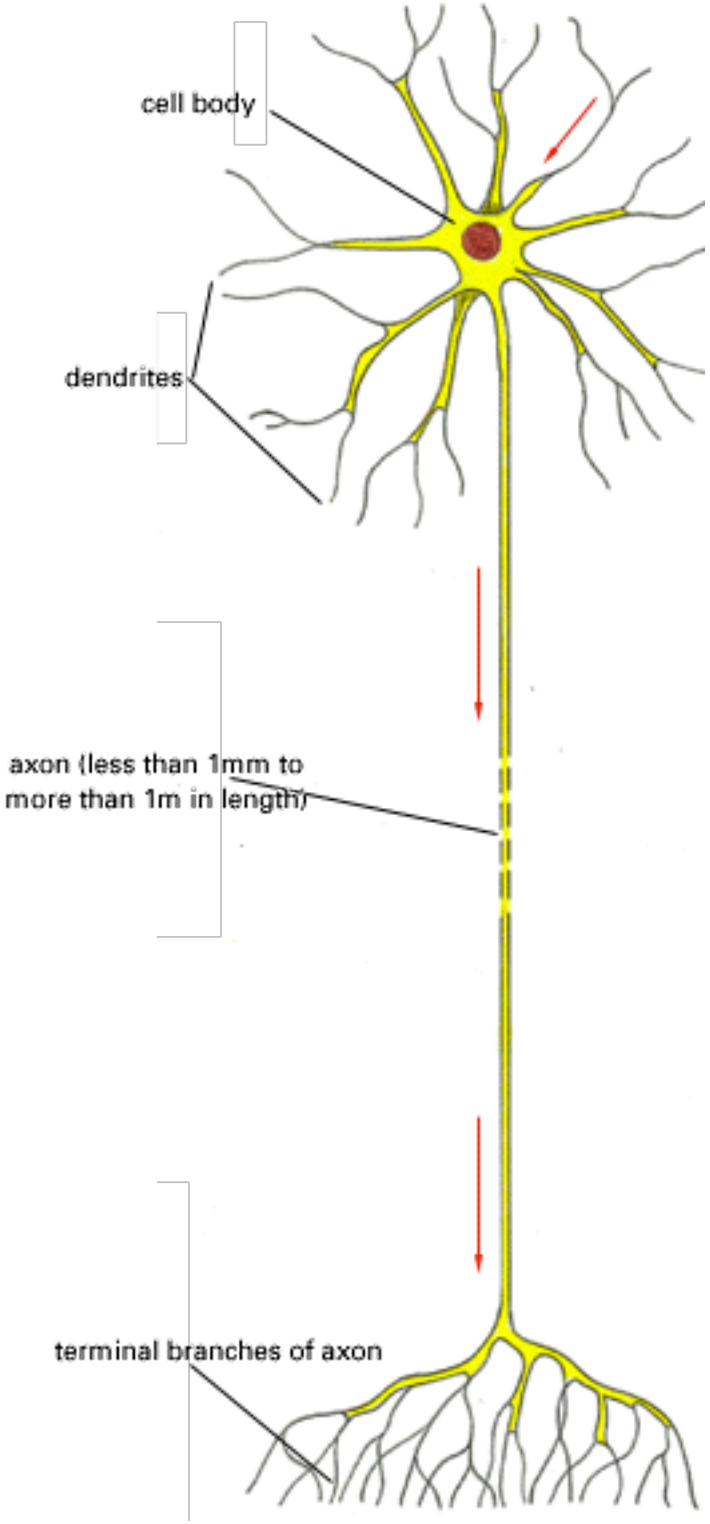

(b) Changes in ion permeabilities
Ion permeabilities [mmho/(cm²)]
Na⁺ permeability
K⁺ permeability
A
B
C
C'
D
Time (ms)

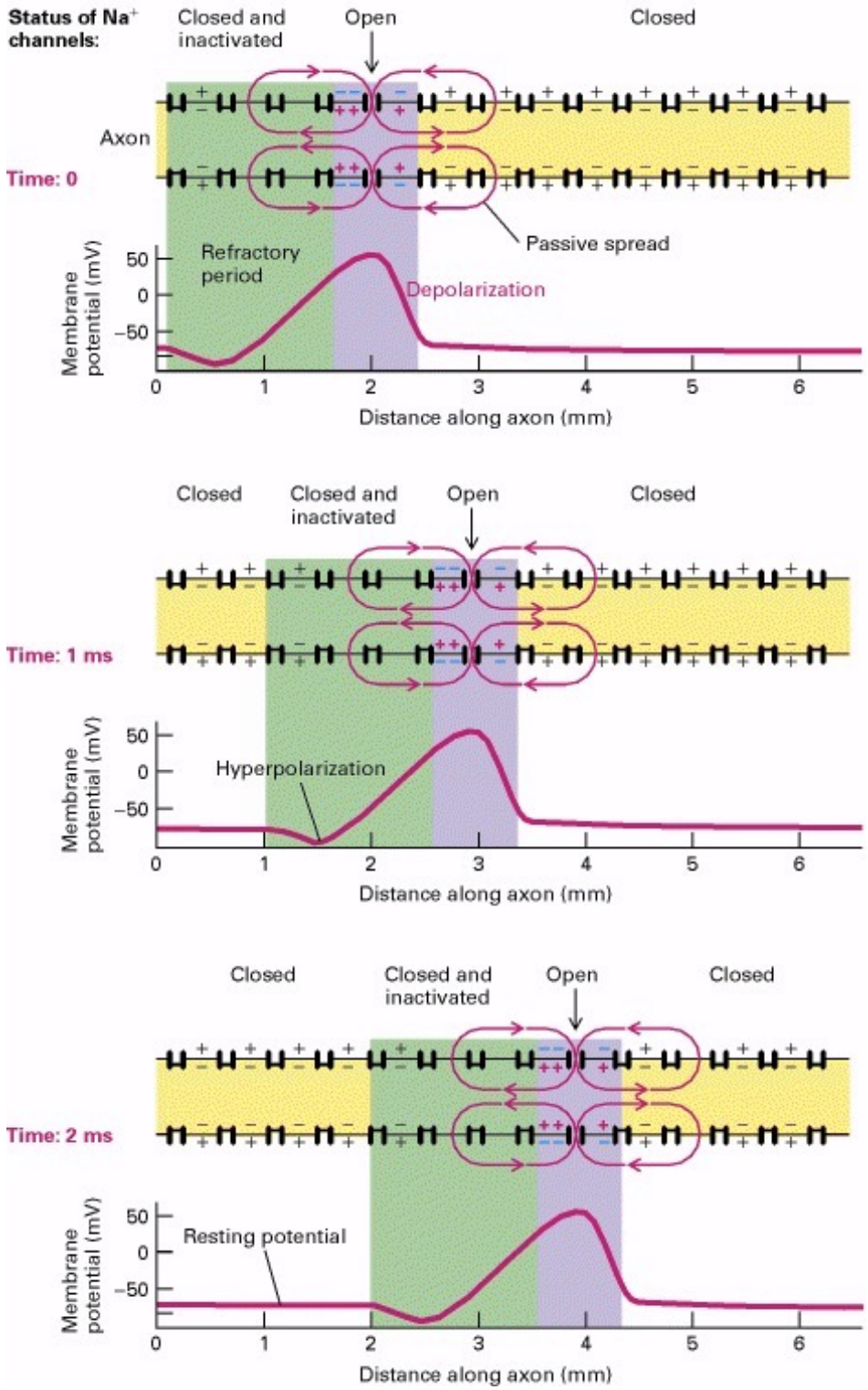

+60
+40
+20
0
−20
−40
−60
−80
−100
Action potential
Resting potential
A
B
C
C'
D
Time (ms)


A
esterno
interno
canale Na+
chiuso
canale K+
chiuso
++
--
-70mV
B
-40mV
1) stimolo localizzato: parziale depolarizzazione
+
-
2) il canale si apre
Na+
3) ENTRA sodio
4) localmente la membrana si depolarizza completamente
--
++
30mV

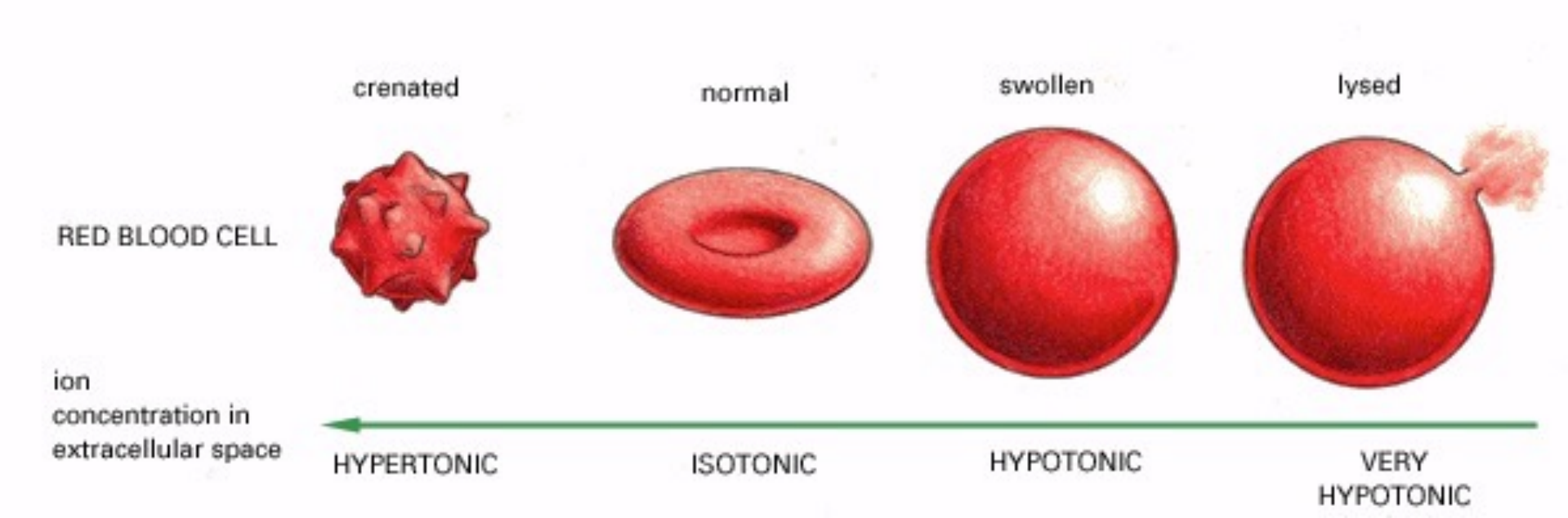

C
X
5) il canale diventa autonomamente inattivo
6) la depolarizzazione apre il canale
K+
7) ESCE potassio
+++
---
8) la membrana si RIpolarizza e poi si IPERpolarizza (C')
-90mV
D
X
9) il canale rimane inattivo
X
10) il canale diventa autonomamente inattivo
++
--
11) la membrana torna allo stato normale
-70mV


1) stimolo localizzato:
parziale depolarizzazione
2) localmente la membrana si depolarizza completamente
3) nelle regioni adiacenti la membrana si depolarizza parzialmente in maniera passiva (senza apertura di canali)
canale chiuso (apribile)
4) apertura dei canali nella zona adiacente
5) localmente la membrana si depolarizza completamente
6) nelle regioni adiacenti la membrana di depolarizza parzialmente in maniera passiva (senza apertura di canali)
7) canali inattivi: anche se la membrana si depolarizza non si aprono
X
NB: - la depolarizzazione passiva si propaga in entrambe le direzioni
- i canali del Na+ sono chiusi (apribili) solo da un lato
- il potenziale d'azione si propaga solo da un lato
il potenziale d'azione si propaga


cell body
dendrites
axon (less than 1mm to more than 1m in length)
terminal branches of axon


Status of Na+ channels:
Closed and inactivated
Open
Closed
Axon
Time: 0
Passive spread
Refractory period
Depolarization
Membrane potential (mV)
50
0
−50
0
1
2
3
4
5
6
Distance along axon (mm)
Closed
Closed and inactivated
Open
Closed
Time: 1 ms
Hyperpolarization
Membrane potential (mV)
50
0
−50
0
1
2
3
4
5
6
Distance along axon (mm)
Closed
Closed and inactivated
Open
Closed
Time: 2 ms
Resting potential
Membrane potential (mV)
50
0
−50
0
1
2
3
4
5
6
Distance along axon (mm)

L'EQUILIBRIO OSMOTICO E IL TRASPORTO DELL'ACQUA



L'acqua esce dal globulo rosso

Alta concentrazione salina

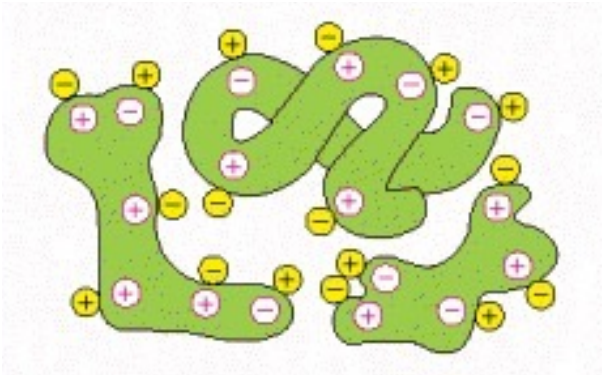
L'acqua entra nel globulo rosso

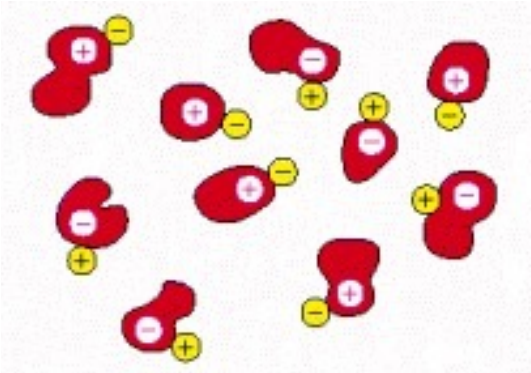
Bassa concentrazione salina

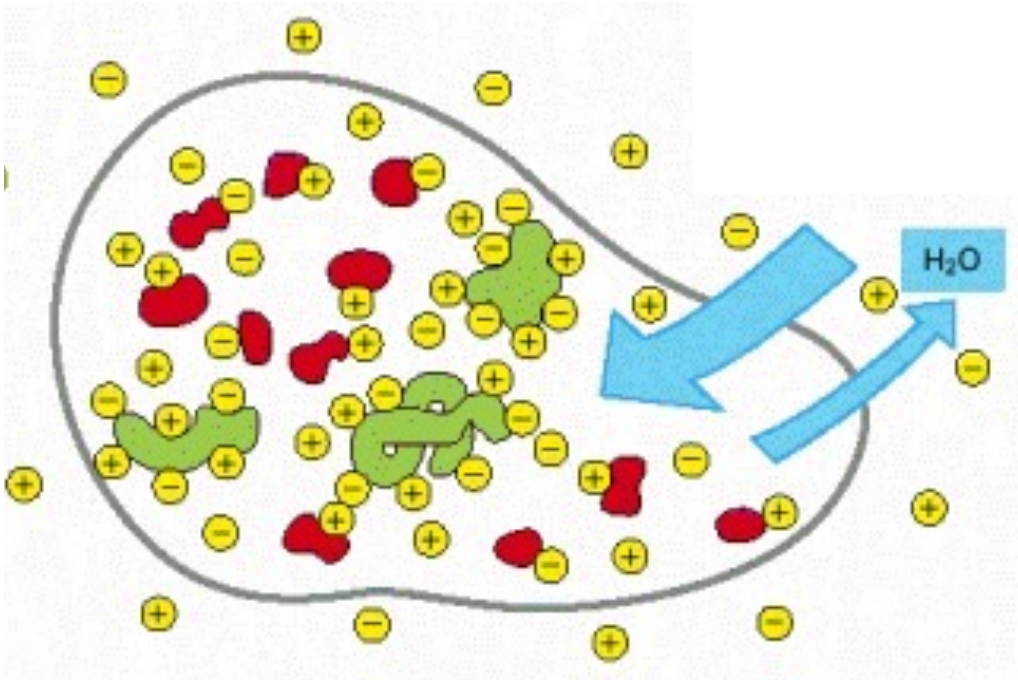
La cellula per sua natura contiene una grande quantità di macromolecole e metaboliti

Molti di questi sono carichi negativamente, e causano quindi un accumulo di controioni +

Questo però genera uno squilibrio della concentrazione dell'acqua, che tende a entrare

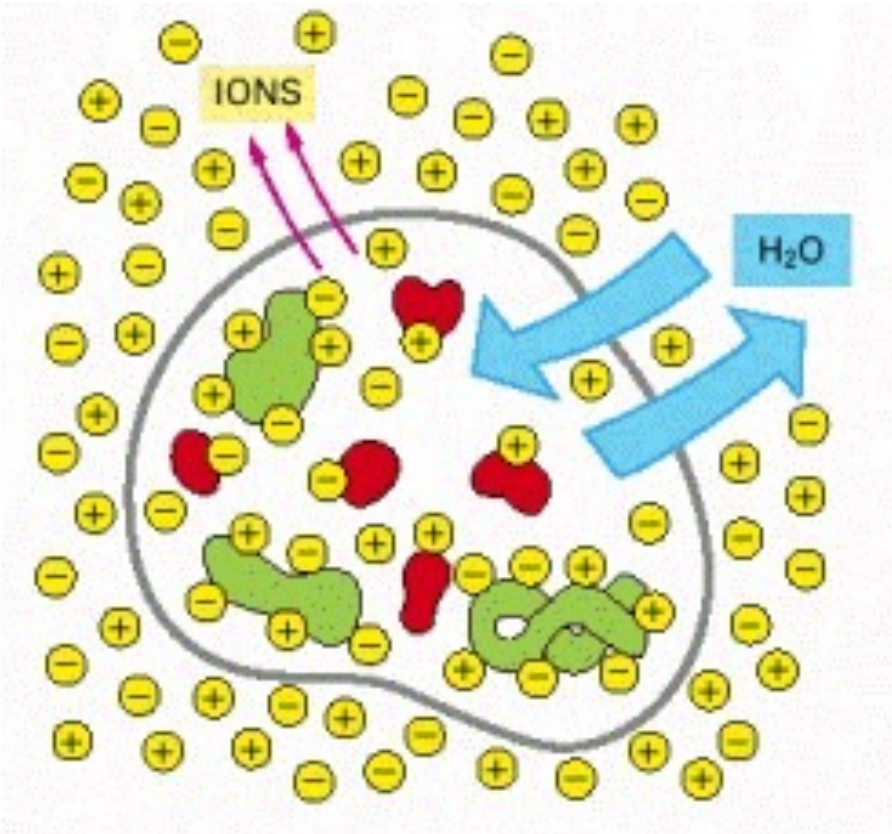






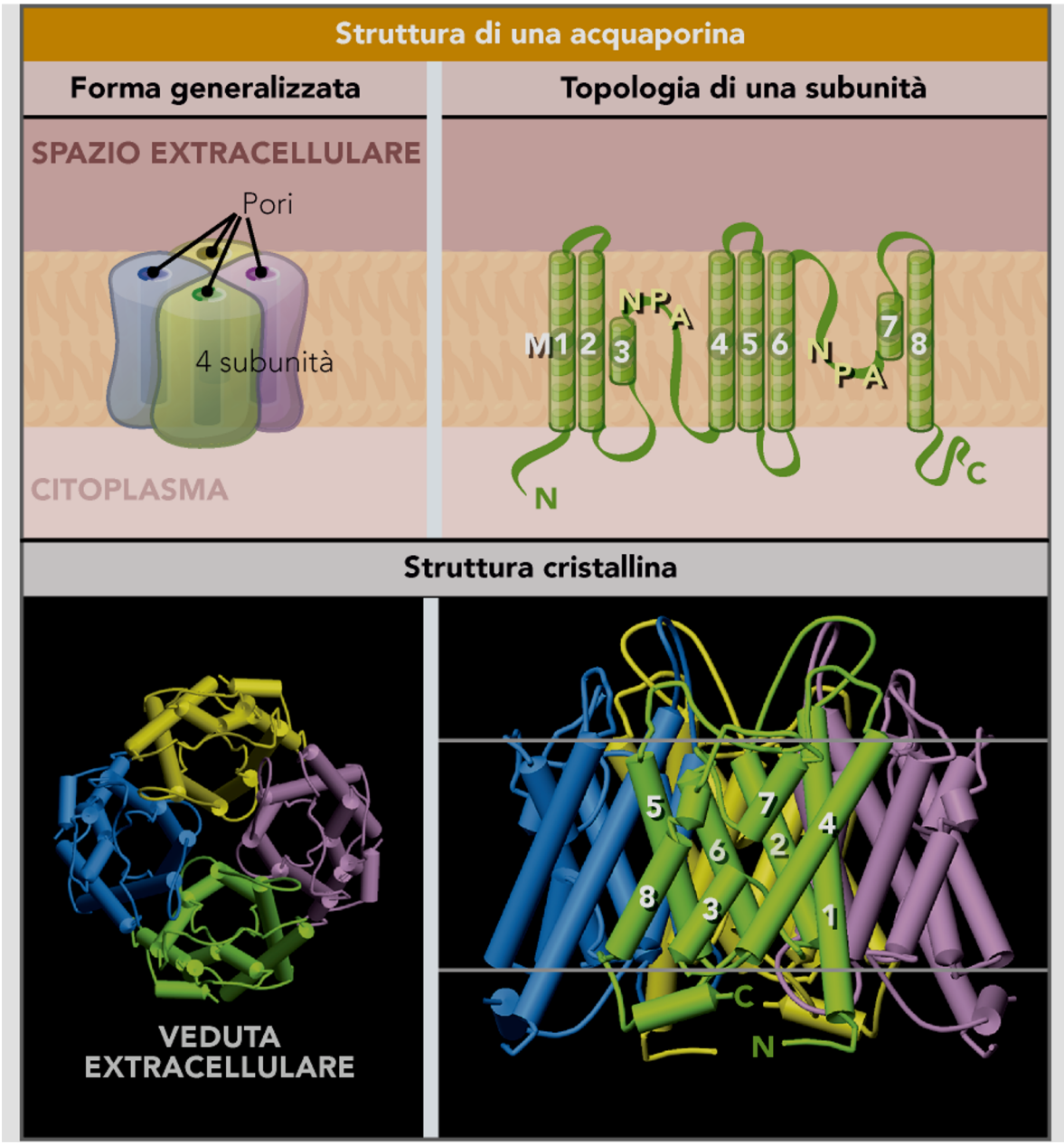
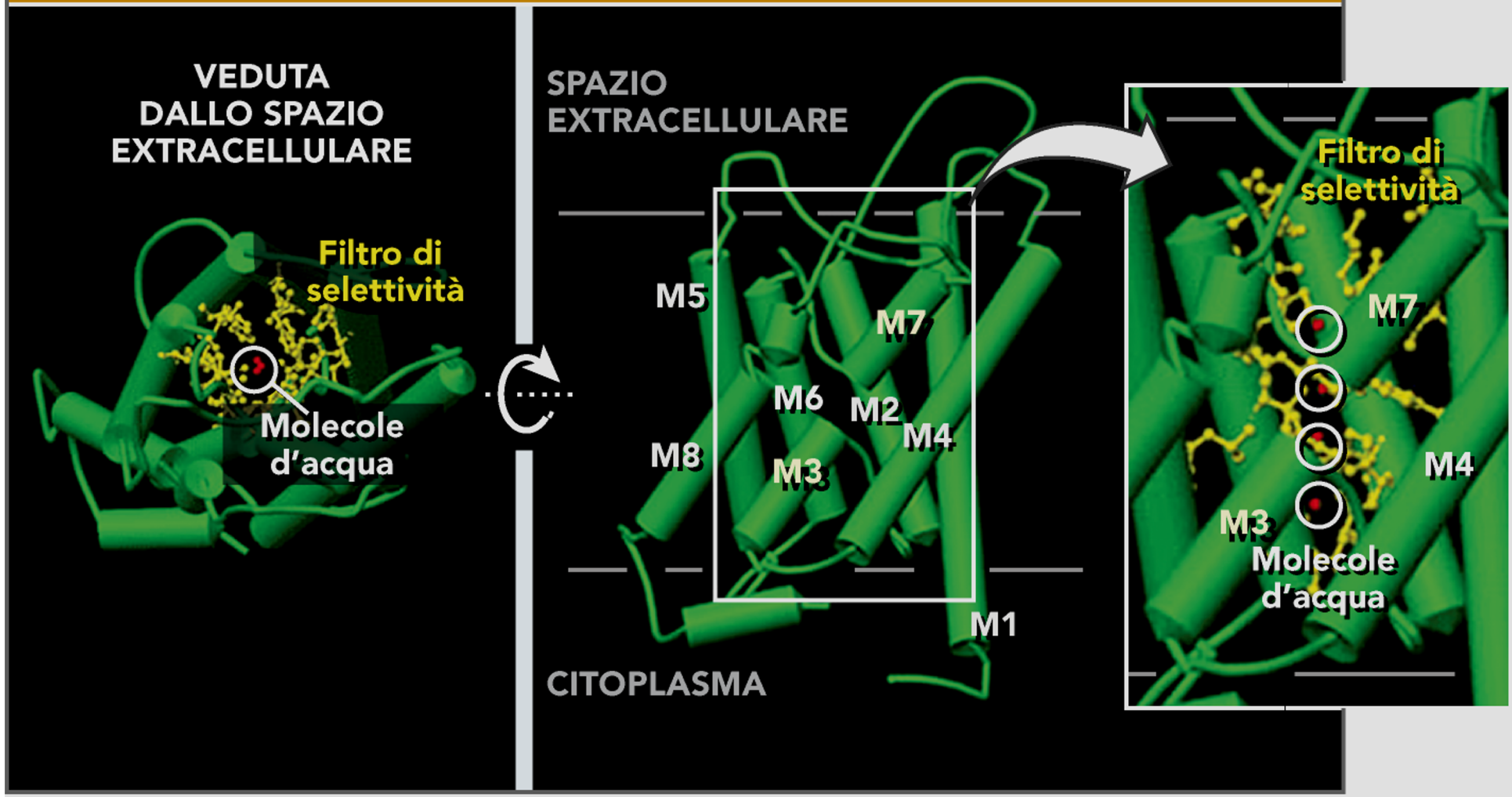
La soluzione: pompaNa/K muove 1 ione positivo netto verso l'esterno

mantiene l'osmolarità intracellulare



Ouabaina = la cellula si gonfia

Le acqua"porine" sono *canali* specifici per l'acqua



Il filtro di selettività di un'acquaporina