

**Membrana citoplasmatica** è sede di scambio di materia, energia e informazione con l'ambiente esterno



**TRASPORTO:** *qualsunque tipo di passaggio di sostanze attraverso la membrana cellulare.*

### TRASPORTI NELLA MEMBRANA CELLULARE

Trasporti in forma libera



-Diffusione nella matrice fosfolipidica

-Migrazione in canali membranali

Trasporti Mediati



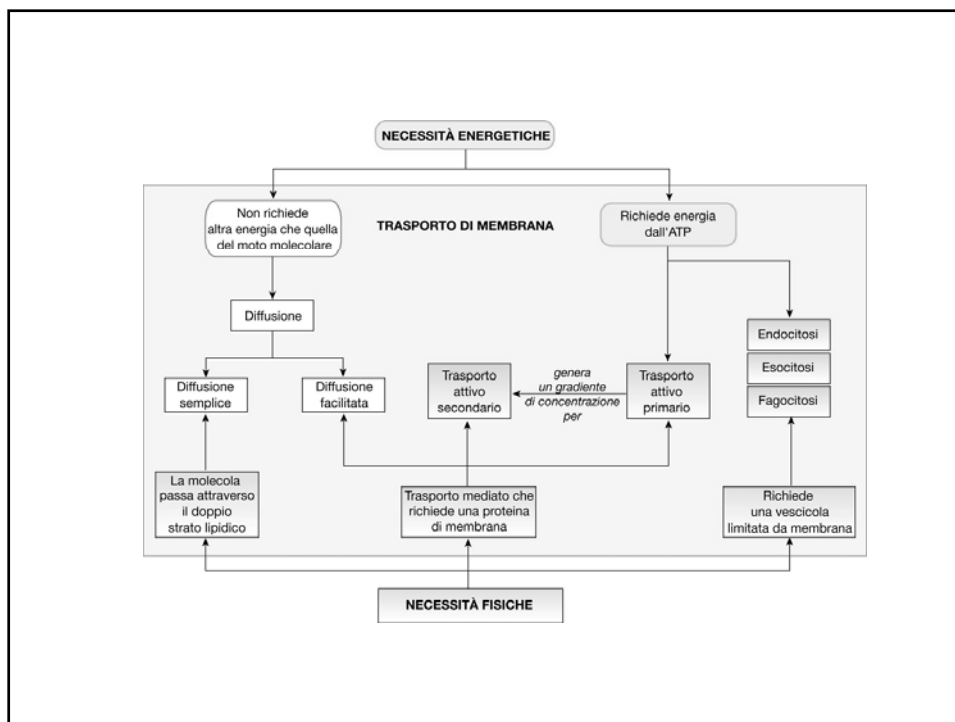
-Diffusione facilitata

-Trasporto attivo primario

-Trasporto attivo secondario

Passivi (equilibranti)

Attivi (non equilibranti)



**Higher concentration**      **Lower concentration**

**Diffusion through the lipid layer**  
Lipid-soluble molecules such as O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> diffuse freely through the plasma membrane.

**Diffusion through channels**  
Some polar and charged molecules diffuse through protein channels that span the membrane. Water is a typical example.

**Facilitated transport**  
Certain molecules bind to a protein, triggering a change in protein shape that transports the molecule across the membrane. Glucose typically enters cells by this method.

Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

**Sostanze liposolubili come gas respiratori, vitamine liposolubili, ormoni steroidei, etc.**

**Acqua e sostanze idrosolubili a basso peso molecolare le cui particelle o sono dotate di carica elettrica netta o sono fortemente polari**

**Sostanze idrosolubili a più alto peso molecolare**

### TRASPORTI IN FORMA LIBERA

Diffusione nella matrice lipidica

↓

1. Ingresso della sostanza nella struttura lipidica

↓

Coefficiente di ripartizione K

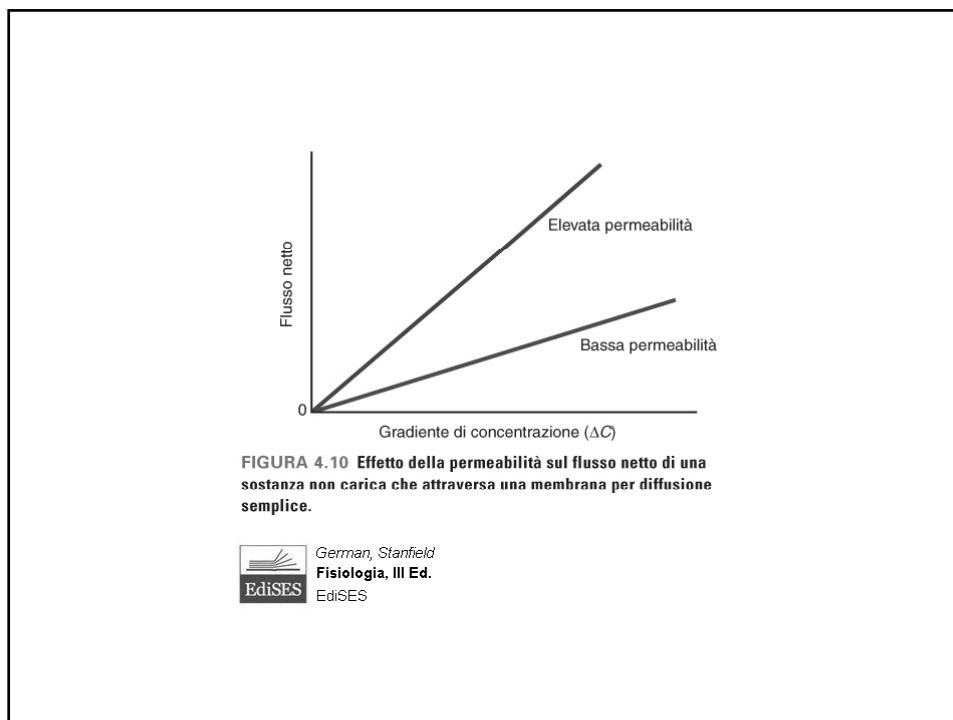
2. Diffusione nello spessore della membrana

↓

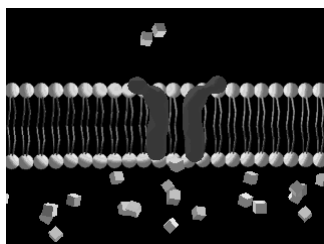
Coefficiente di diffusione D<sub>m</sub>

$$P = \frac{D_m K}{\Delta X}$$

Migrazione nei canali di membrana



### MIGRAZIONE ATTRAVERSO CANALI



Glicoproteine integrali di membrana  
Dimensioni: diametro non maggiore di  $8\text{\AA}$ , quindi non si lasciano attraversare da composti organici come glucosio, amminoacidi..., ma lasciano passare acqua e molti ioni inorganici  
Passaggio delle sostanze può avvenire per diffusione libera o per diffusione ristretta

-Selettività

-Meccanismi attraverso cui è regolata la loro apertura-chiusura



Canali passivi

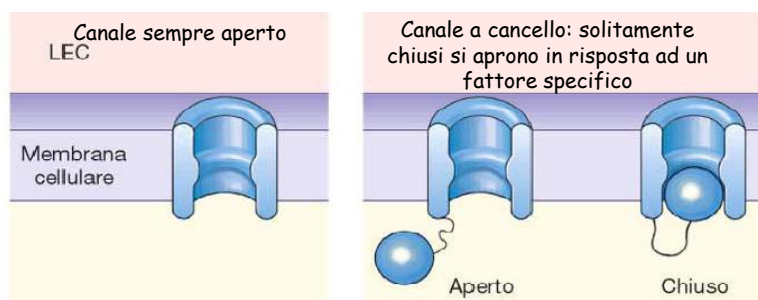
Canali attivi o ad accesso variabile:

Canali voltaggio-dipendenti

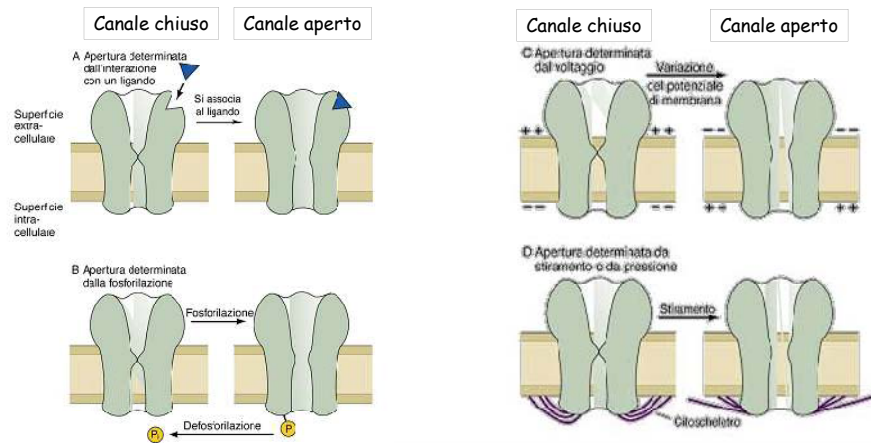
Canali ligando-dipendenti

**Passivi:** sempre aperti, il flusso ionico è determinato dalla **forza elettrochimica** esistente tra i due versanti della membrana. Coinvolti nella genesi del potenziale di membrana.

**Ad accesso variabile:** possiedono un meccanismo che ne regola l'apertura a seguito di stimoli specifici di natura elettrica (voltage-dipendenti), chimica (ligando dipendenti) o meccanici. Responsabili dell'insorgenza di segnali elettrici nelle cellule eccitabili



### Apertura e chiusura dei canali ionici ad accesso variabile



L'apertura di alcuni canali può essere regolata dallo stato di fosforilazione di siti specifici ad opera di secondi messaggeri intracellulari.

### Selettività

-in base alla carica, canali per anioni e canali per cationi

-per i cationi maggiore selettività,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$

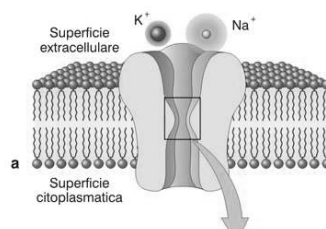
ipotesi del setaccio:  $P$  decresce con l'aumentare del diametro dello ione fino a diventare nullo quando è superiore a  $8\text{\AA}$ . Nel valutare le dimensioni di uno ione in soluzione acquosa, si deve ricordare che trattandosi di una particella fortemente polare, attrae intorno a sé un guscio di molecole di acqua (guscio di solvatazione) che è tanto maggiore quanto maggiore è la forza con cui lo ione attrae le molecole di acqua. Al crescere del raggio anidro diminuisce lo spessore dell'alone idrico, perchè le molecole di acqua sono trattenute tanto più debolmente quanto più lontane si trovano dal centro dello ione. Sulla base di ciò si è creato un modello di canale selettivo per  $\text{K}^+$ .

Filtro di selettività (densità delle cariche elettriche fisse disposte sulla parete interna dei canali): regione del canale in cui gli ioni si liberano del guscio di solvatazione e formano legami con residui di amminoacidi dotati di carica. Poichè la perdita dell'acqua di solvatazione comporta una perdita di energia libera, lo ione passerà attraverso il canale solo se l'energia acquisita dall'interazione con il filtro di selettività, compenserà quella perduta con l'acqua di solvatazione. Sulla base di ciò si è creato un modello di canale selettivo per  $\text{Na}^+$ .

Ione	raggio anidro	raggio idrato	strato idrico
$\text{Na}^+$	0.98	2.91	1.93
$\text{K}^+$	1.33	1.88	0.55
$\text{NH}_4^+$	1.45	1.89	0.44
$\text{Cl}^-$	1.80	1.92	0.12

A parità di carica, al crescere del raggio anidro diminuisce lo spessore dell'alone idrico; infatti, le molecole dell'acqua sono trattenute tanto più debolmente quanto più lontane si trovano dal centro dello ione.

## Ipotesi del setaccio



Gli ioni sono circondati da una corona di molecole di  $H_2O$  (solvatazione), la cui dimensione è proporzionale alla concentrazione della carica elettrica ionica.

Ione con raggio atomico piccolo  $\Rightarrow$   
 maggiore concentrazione carica  $\Rightarrow$   
 maggiore solvatazione

Carica:  $Na^+ = K^+$

Dimensioni (raggio atomico):  $Na^+ < K^+$

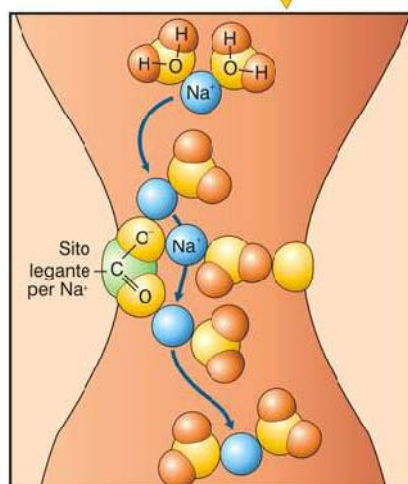
Idratazione (raggio solvatazione):

$Na^+ > K^+$

## Filtro di selettività

La **selettività** dipende da uno specifico filtro molecolare, costituito da residui aminoacidici polari (**regione P**), che stabiliscono legami labili con lo ione.

Lo ione lascia una parte rilevante di molecole di  $H_2O$ , si lega per un tempo brevissimo ( $< s$ ) al sito specifico e attraversa il canale spinto dal **gradiente elettrochimico**.



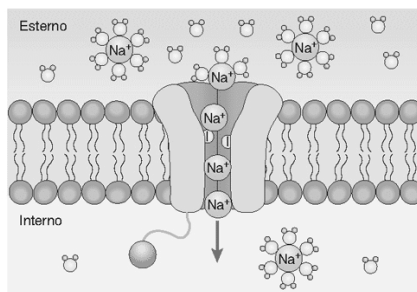


Figura 1.11 Modello di canale del Na<sup>+</sup>. Gli ioni Na<sup>+</sup> extracellulari spinti dal loro gradiente elettrochimico diffondono attraverso il canale aperto. Prima perdono le molecole di idratazione, poi si legano in successione alle cariche negative disposte sulle pareti interne del poro. Il movimento "in fila indiana" verso l'interno è imposto dall'alta concentrazione esterna di ioni Na<sup>+</sup>.



Carbone, Cicirata, Aicardi

Fisiologia: dalle molecole ai sistemi integrati

EdISES

-La **Permeabilità** di una membrana cellulare ad un determinato ione dipende dalla relativa abbondanza dei canali ionici selettivi per quello ione

-La **forza del legame** elettrostatico che si stabilisce tra ione e filtro di selettività è molto inferiore di quella che si stabilisce tra particella trasportata e sito attivo delle altre proteine di trasporto. Di conseguenza la durata del legame tra ione e canale è brevissima e per la maggior parte del tempo impiegato ad attraversare il canale, lo ione si trova in forma libera. Il ciclo operativo di un canale ionico è rapidissimo,  $10^4$ - $10^5$  ioni/sec, contro  $10^2$  particelle/sec per gli altri trasportatori.

## Movimenti di piccoli soluti attraverso le membrane

2 categorie generali

```
graph TD; A[2 categorie generali] --> B[Trasporto semplice]; A --> C[Trasporto mediato da carrier];
```

Trasporto semplice

Trasporto mediato da carrier

### Trasporto mediato da carrier

Il movimento ottenuto per mezzo delle proteine carrier è detto

**TRASPORTO MEDIATO.** Il trasporto mediato può essere passivo (diffusione facilitata) o attivo (trasporto attivo, primario e secondario).

- **Diffusione Facilitata**
- **Trasporto Attivo**

## Trasporto mediato

### PROPRIETA':

#### -SPECIFICITA'

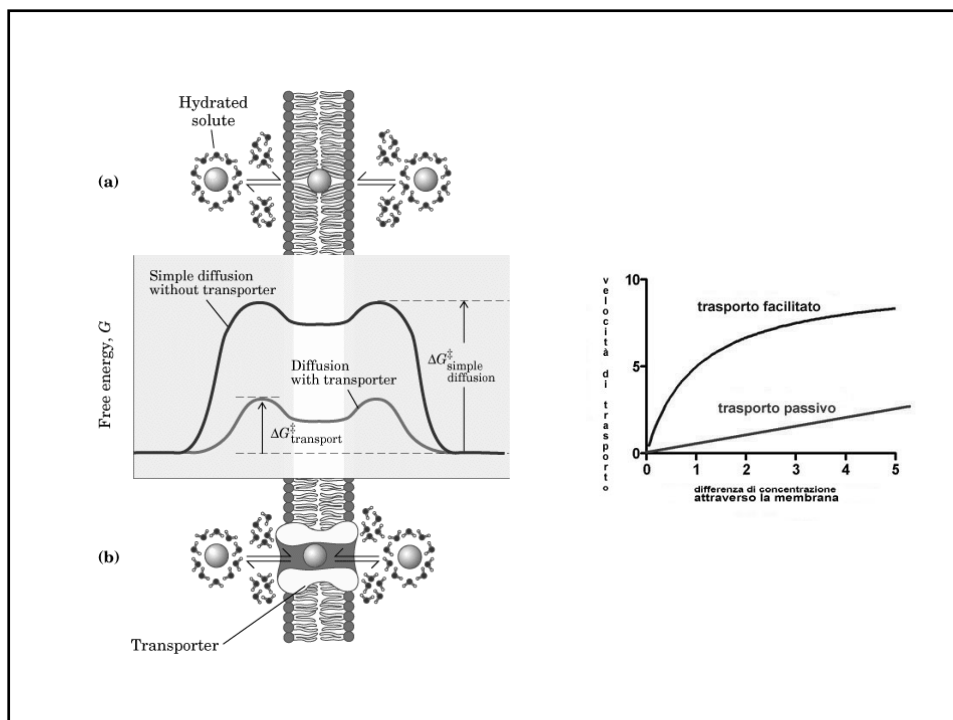
Ogni trasporto mediato è affidato ad un sistema che opera solo per una particolare sostanza o per un gruppo di sostanze simili. Es. il sistema di trasporto per gli AA è diverso da quello dei monosaccaridi

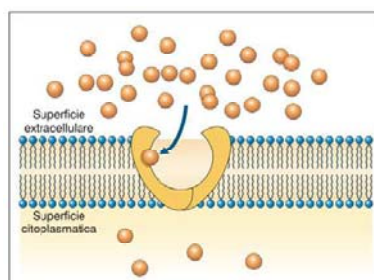
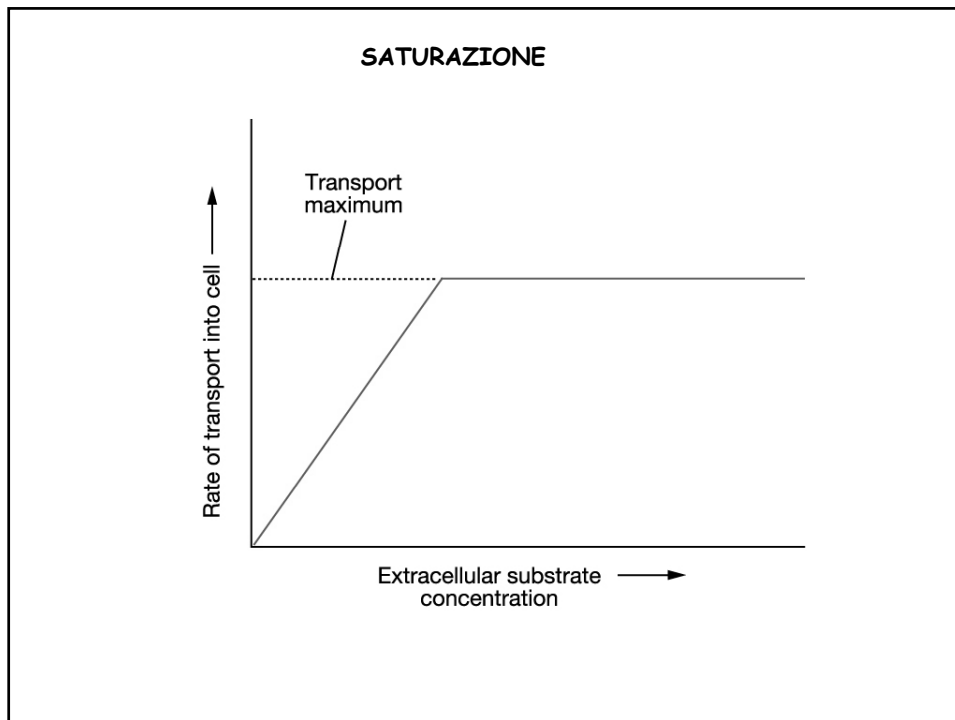
#### -SATURAZIONE

L'intensità del flusso non aumenta in modo proporzionale al  $\Delta C$  (legge di Fick) ma, al crescere del gradiente tende asintoticamente ad un limite massimo.

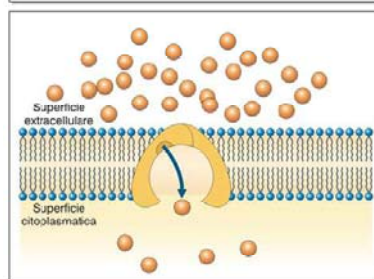
#### -COMPETIZIONE

Quando due sostanze simili utilizzano lo stesso sistema di trasporto, il trasporto dell'una tende a inibire il trasporto dell'altra





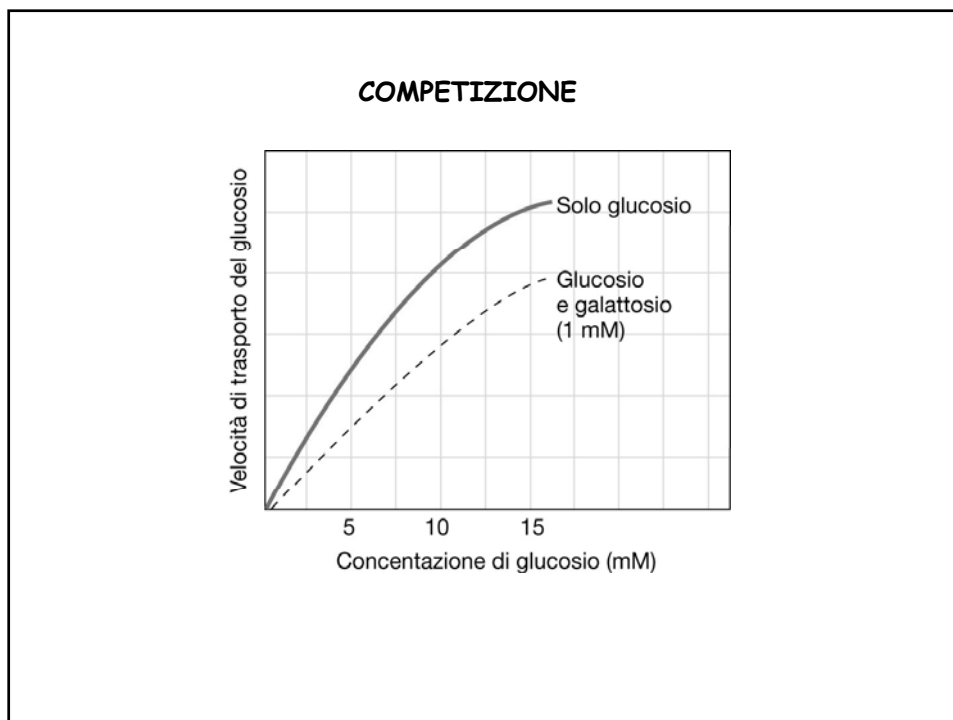
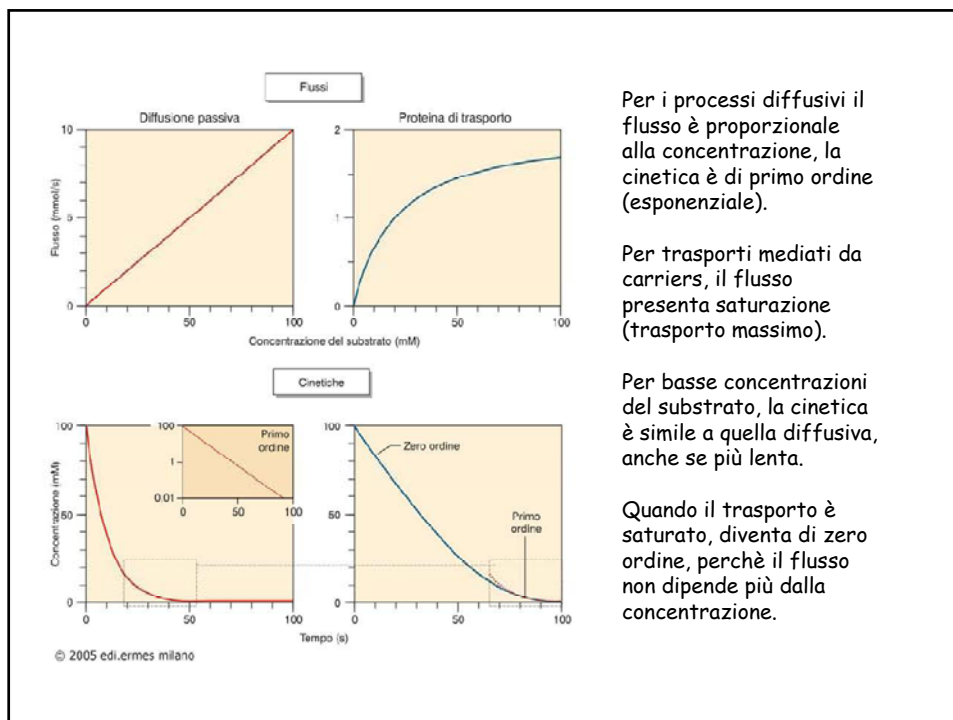
L'ingresso di una sostanza nella cellula è consentito dalla presenza di un trasportatore (carrier): proteina che lega e libera la sostanza, esponendo alternativamente il sito di legame sui due lati della membrana.



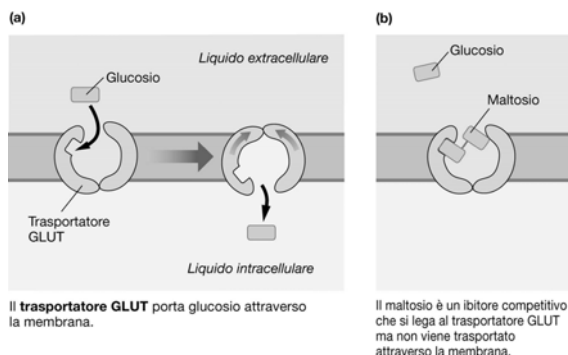
Per **basse concentrazioni**, la probabilità che il trasportatore carichi il substrato, prima di cambiare conformazione, è proporzionale alla concentrazione.

Per **alte concentrazioni**, il flusso è limitato da un **trasporto massimo**, che dipende dal numero dei trasportatori e non dalla concentrazione.

© 2005 ed. ermes milano



## INIBIZIONE

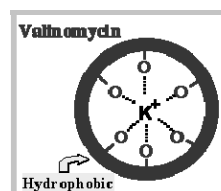
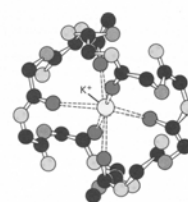
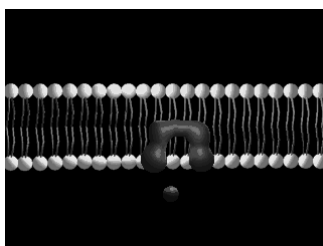


**Nel sistema di trasporto del glucosio, il maltosio è un inibitore: compete con il glucosio per il sito di legame, ma una volta legato è troppo grande per essere trasportato attraverso la membrana**

**Quando le molecole in competizione non vengono trasportate, ma ostacolano soltanto il trasporto di altri substrati, si parla allora di inibitori competitivi**

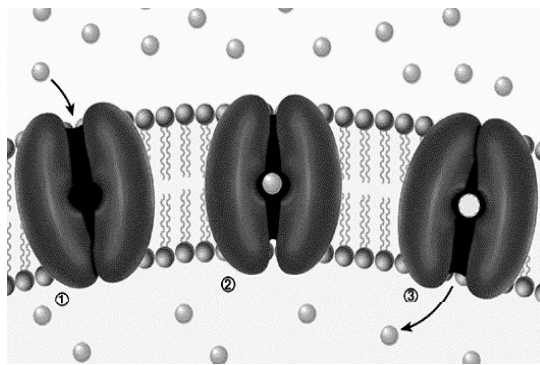
### Modello del Carrier Mobile:

Le molecole di trasportatore per potere fungere da veicoli all'interno della membrana cellulare devono avere la capacità di legarsi con la sostanza trasportata e muoversi, nello spessore della membrana, in accordo con le leggi della diffusione

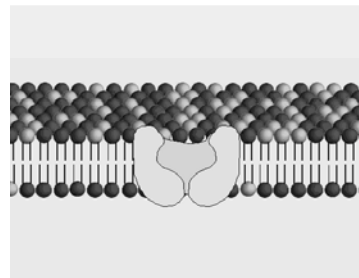


Applicabile solo per gli **ionofori**, oligopeptidi generalmente dotati di proprietà antibiotica, che aumentano fortemente la permeabilità ad alcune specie ioniche. Es. valinomicina che avvolge lo ione  $K^+$  schermandone la carica elettrica e forma un complesso liposolubile capace di diffondere nella tela fosfolipidica.

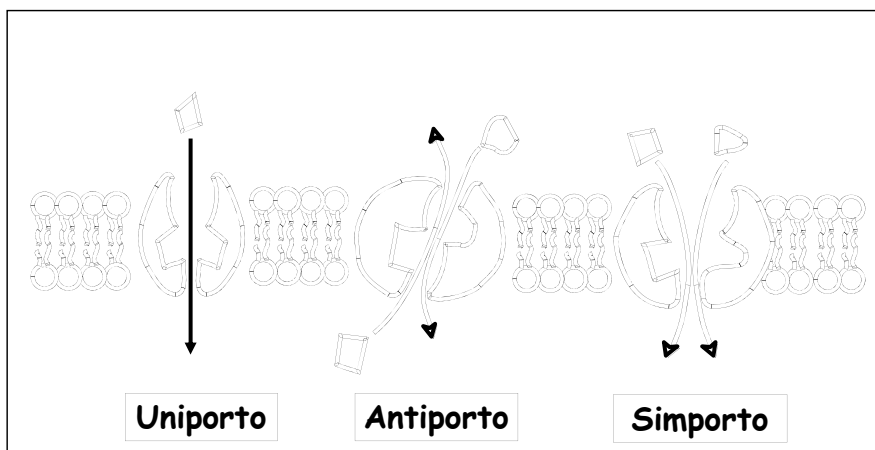
### Modello del flip-flop:



Può spiegare anche i trasporti mediati attivi ammettendo che la proteina trasportatrice, traendo energia direttamente o indirettamente dal metabolismo cellulare, subisca una variazione conformazionale che faccia variare l'affinità dei suoi siti quando sono esposti verso l'uno o verso l'altro versante della membrana



## Proteine di trasporto

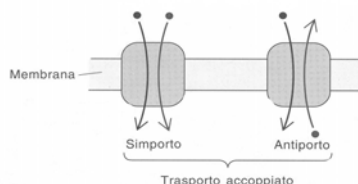


UNIORTO: il carrier può trasportare un solo tipo di sostanza

TRASPORTO ACCOPPIATO: il carrier trasferisce contemporaneamente due tipi di sostanza



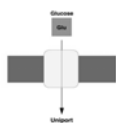
Co-trasporto (o simporto)  
Contro-trasporto (o antiporto)



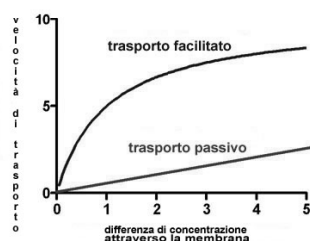
Il trasporto accoppiato non è un "uniporto poco selettivo" in cui la stessa proteina trasportatrice possa fungere da veicolo per particelle affini. Il trasferimento delle due sostanze diverse è obbligatorio, il trasporto dell'una non può avvenire senza l'altra. In genere almeno una delle particelle è uno ione, mentre l'altra può essere sia uno ione che una molecola organica.

### DIFFUSIONE FACILITATA

- Secondo gradiente di concentrazione
- No ATP (il processo non richiede energia)
- Raggiunto l'equilibrio il processo si ferma
- Trasporto mediato (specificità, saturazione, competizione)



Es. trasporto del glucosio  
trasporto degli aminoacidi



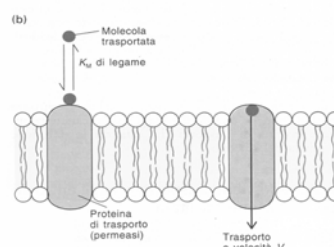
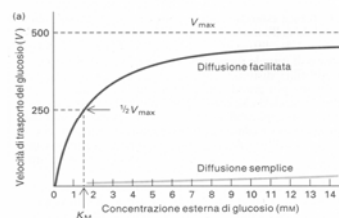
L'importanza funzionale della diffusione facilitata è relevantissima, perché in sua assenza le più importanti molecole organiche di interesse vitale (nutritizie, metaboliche ed anche farmacologiche) non potrebbero attraversare la membrana con la velocità richiesta.

## Trasporto del glucosio

Trasportatori di glucosio (Glu) espressi da tutte le cellule dell'organismo:  
**GLUT1 - GLUT12**

- Permettono il continuo flusso di Glu verso l'interno della cellula, dove la concentrazione è mantenuta bassa dalla trasformazione del Glu in Glicogeno

- Nelle cellule epitaliali, che assorbono attivamente Glu (intestino, tubuli renali) permettono il deflusso del Glu dalla cellula verso l'interstizio e quindi il sangue



### Glucosio-permeasi

pM 45000d

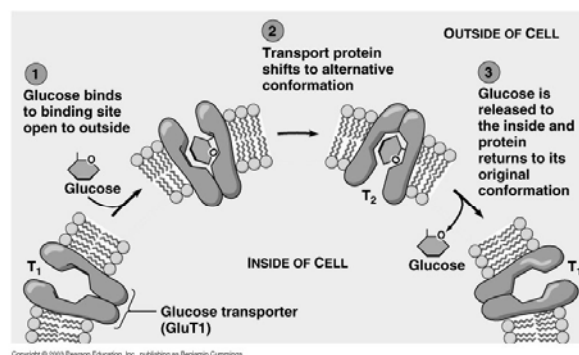
-Modello flip-flop

-Affinità del sito di legame è uguale ai due lati

-La direzione del trasporto dipende dal gradiente

-Affinità nulla per il glucosio-6-fosfato

-Trasporta anche altri zuccheri esosi (D-mannosio, D-galattosio) ma con affinità molto inferiore



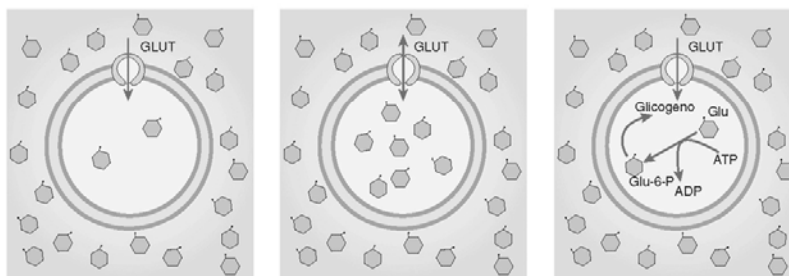


Figura 1.14 Diffusione di glucosio all'interno della cellula mediata da GLUT. La fosforilazione del glucosio (Glu) in glucosio-6-fosfato (Glu-6-P) permette l'accumulo di glucosio all'interno della cellula sotto forma di glicogeno, mantenendo bassa la concentrazione intracellulare di glucosio.



Carbone, Cicirata, Aicardi  
 Fisiologia: dalle molecole ai sistemi integrati  
 EdISES