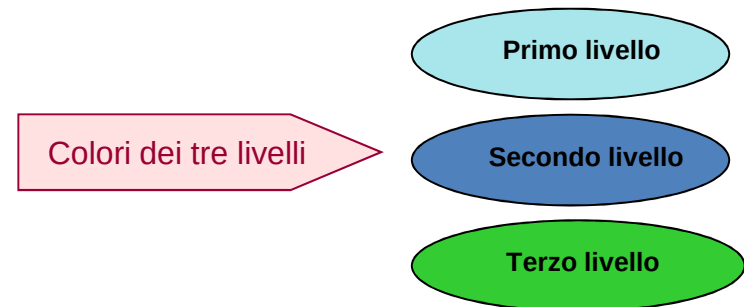


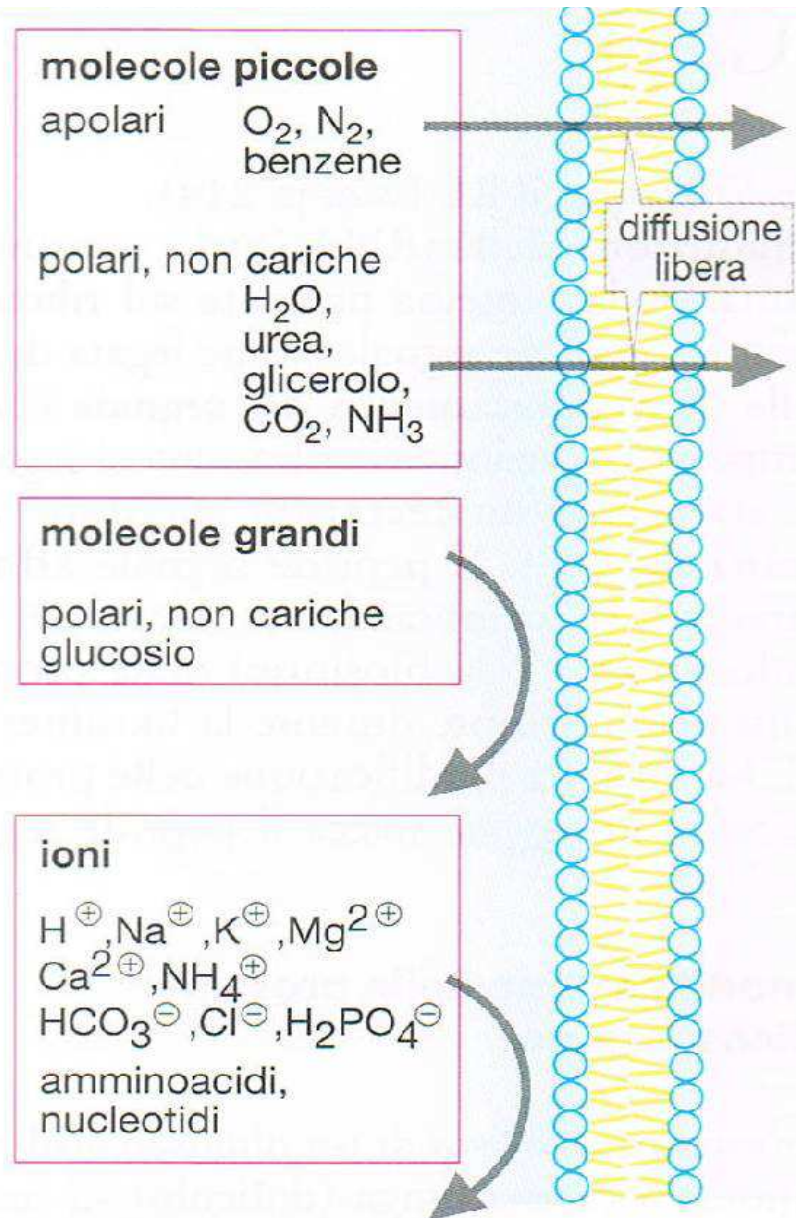
Il trasporto di membrana

Il controllo da parte della cellula delle molecole che attraversano le membrane permette alla cellula di governare le proprie attività metaboliche.



Cecilia Mazzocchi

Le membrane semipermeabili



Le membrane sono impermeabili a proteine, a molecole cariche ed alla maggior parte di piccole molecole.

Le sostanze per le quali le membrane sono permeabili diffondono semplicemente attraverso le membrane seguendo il gradiente di concentrazione: si spostano dalla maggiore alla minore concentrazione senza bisogno di trasporto.

Poche sono le molecole che diffondono liberamente e per di più lo fanno piuttosto lentamente.

Anche l'acqua, piccola molecola polare attraversa le membrane per diffusione libera, ma se questo fosse l'unico modo possibile, per le cellule sarebbe un guaio!



Velocità di diffusione libera

I fattori che influenzano la velocità di diffusione libera dipendono:

per la sostanza che attraversa la membrana

- Solubilità nei lipidi
- Dimensione molecolare
- Gradiente di concentrazione

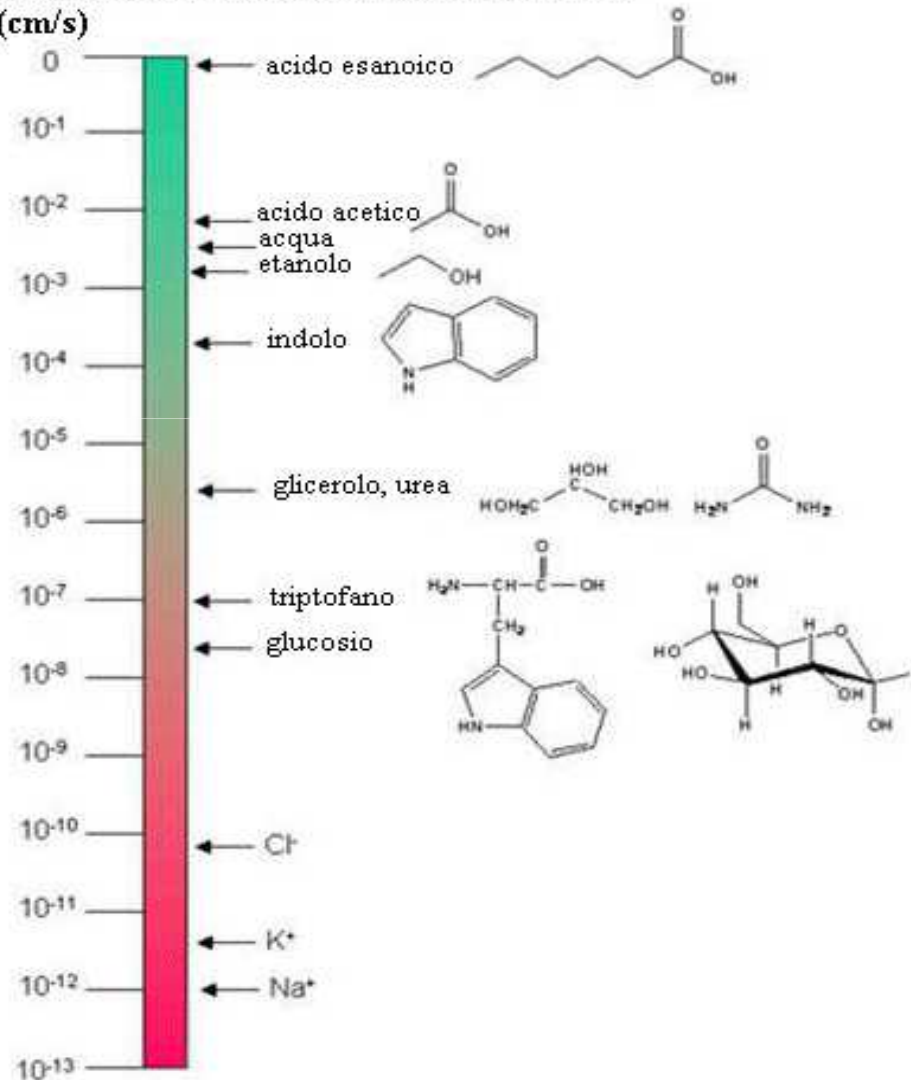
per la membrana da attraversare

- Composizione dello strato lipidico
- Spessore della membrana
- Area di superficie di membrana disponibile



Permeabilità di membrana

Coefficienti di permeabilità di membrana (cm/s)

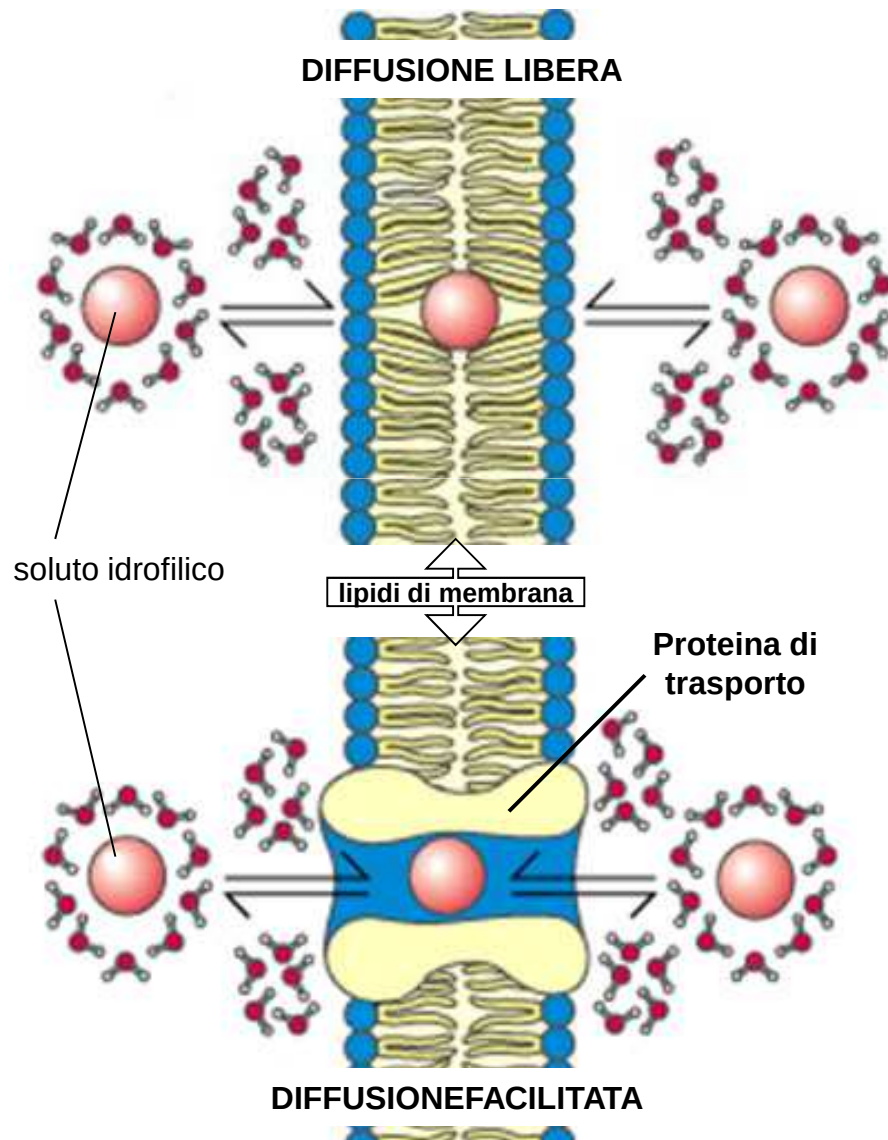


La possibilità di attraversare liberamente le membrane dipende, oltre che dalla dimensione delle molecole, dalla polarità o dalla carica.

Ioni anche piccoli fanno molta fatica ad attraversare la membrana, come si può valutare dai coefficienti di permeabilità di membrana.



Diffusione libera e facilitata



La maggior parte di sostanze (polari o ioniche), che diffondono liberamente, possono attraversare le membrane utilizzando delle proteine intrinseche, chiamate trasportatori o permeasi.

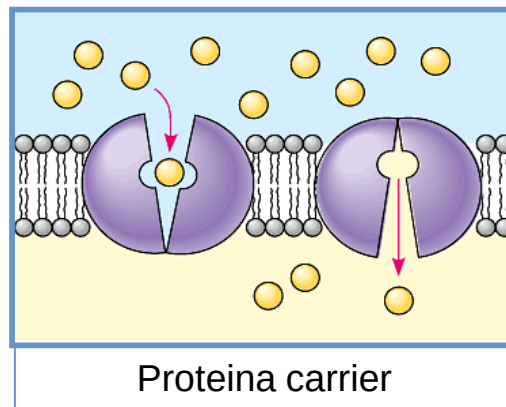
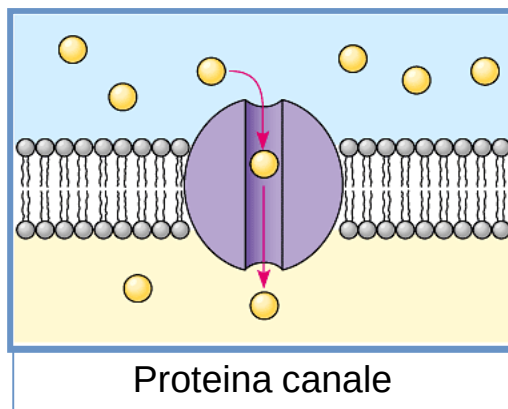
In questo caso si realizza una forma di trasporto chiamata diffusione facilitata: le permeasi offrono a soluti polari o ionici una via alternativa più facile di attraversamento della membrana creando passaggi idrofilici.

Diffusione libera e facilitata non comportano dispendio energetico da parte della cellula.



Proteine di trasporto

Quando una sostanza ha bisogno di una proteina di trasporto può utilizzare una proteina canale oppure una proteina carrier. Le proteine canale permettono il trasporto perché generano un canale che attraversa la membrana e attraverso il quale passano le molecole. I carriers sono proteine che si legano alla molecola da trasportare e cambiano conformazione; in questo caso il passaggio attraverso la membrana non è mai aperto su entrambi i lati.

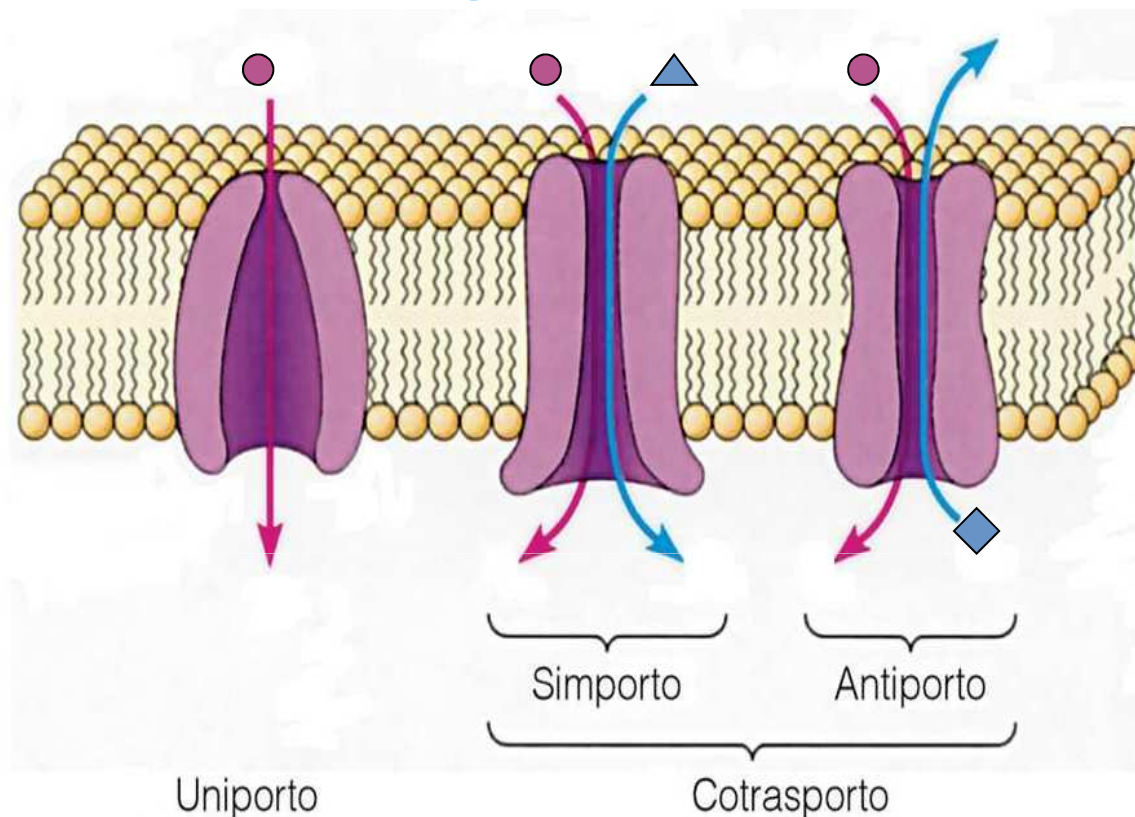


N.B.: l'esempio in figura si riferisce ad una diffusione facilitata poiché avviene secondo gradiente.



Sistemi di trasporto

Il trasporto può avvenire come **uniporto** quando molecole di un solo tipo attraversano la membrana con l'aiuto di una proteina, come **cotrasporto** quando due specie chimiche attraversano la membrana usando la stessa proteina; in questo ultimo caso si distingue il **simporto** se passano entrambe nella stessa direzione, **antiporto** in direzione opposta.



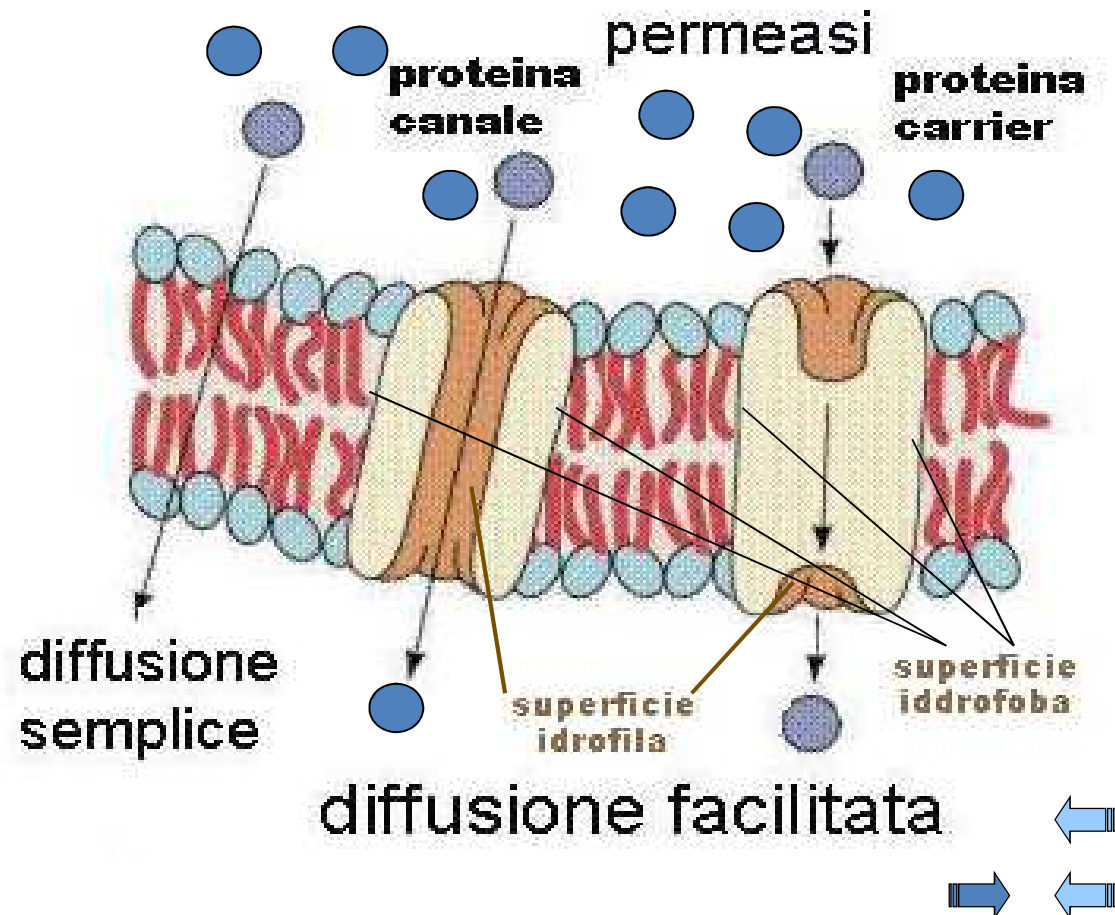
Tale classificazione vale sia per proteine canale che carriers e per diverse modalità di trasporto.



Permeasi

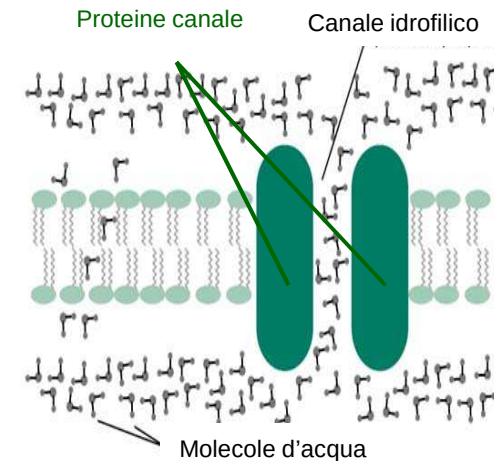
Le permeasi sono proteine di membrana (proteine canale o carriers), che realizzano la diffusione facilitata cioè accelerano il passaggio transmembrana di sostanze polari e di ioni, abbassando l'energia di attivazione necessaria per il trasporto secondo gradiente e formando passaggi idrofilici.

Non sono enzimi perché non modificano le molecole trasportate, ma come gli enzimi legano uno specifico substrato e formano con esso molte interazioni deboli non covalenti. In questo modo si rende disponibile energia per compensare i legami idrogeno con l'acqua che si risolvono durante la deidratazione e quindi si riduce l'energia di attivazione per la diffusione.



Pori e proteine canale

Nella membrana più esterna di batteri Gram-negativi si trovano numerose proteine intrinseche chiamate **porine** che formano canali aperti, riempiti di molecole d'acqua, che permettono la diffusione di nutrienti in entrata e rifiuti in uscita. Il canale consente la diffusione facilitata di molecole idrofile delle dimensioni di fosfati, disaccaridi.... attraverso la membrana esterna: sarebbe rovinoso se collegasse direttamente con l'interno della cellula.



Nella membrana plasmatica di cellule di piante e animali esistono proteine che formano pori più stretti per facilitare il passaggio dell'acqua (le **acquaporine** AQP) e altamente selettivi per il trasporto di ioni inorganici (**canali ionici**) o di altre molecole. Questo permette a molecole specifiche di diffondere rapidamente attraverso il doppio strato lipidico in modo selettivo, secondo gradiente e senza spendere energia.

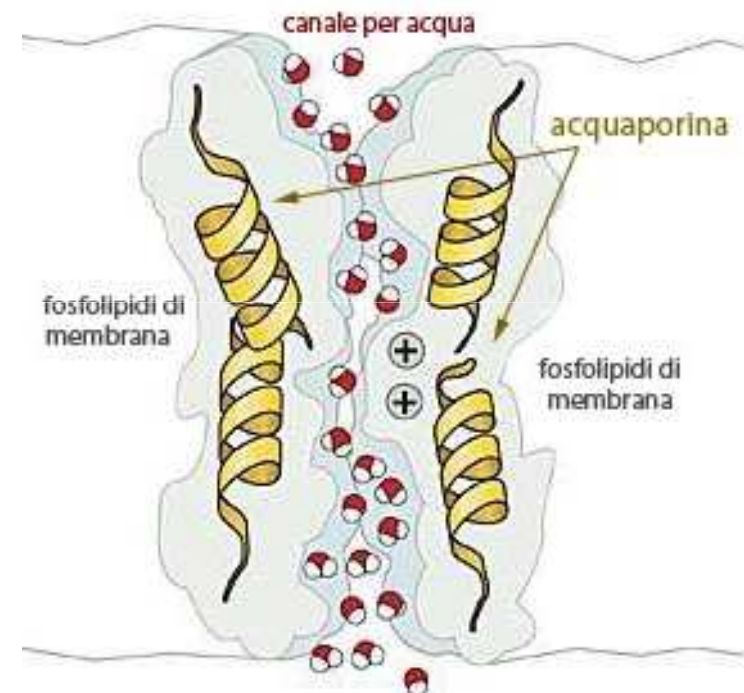
I pori sono poco selettivi (ioni e piccoli metaboliti) e controllati solo dal gradiente di concentrazione, mentre i canali sono selettivi e controllati da altre molecole o dal potenziale di membrana.



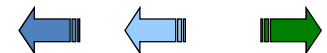
Le acquaporine

Sono proteine di membrana molto diffuse: ne possiedono insetti, piante e batteri e ne sono state identificate 13 nell'uomo.

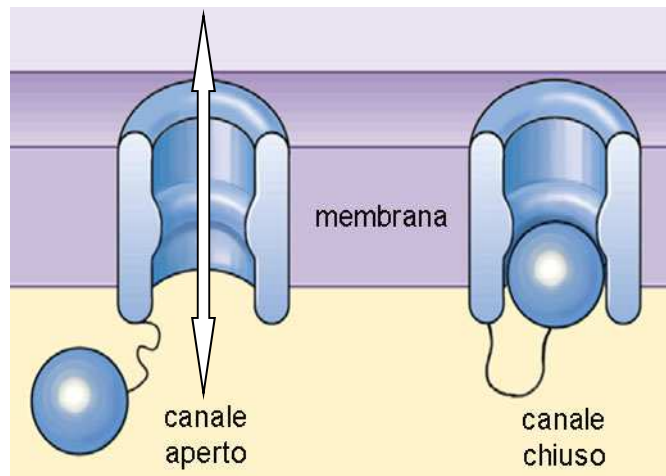
- Sono divise in 2 sottogruppi a seconda che trasportino solo H₂O (AQP0,1,2,4,5,6,8) o anche altre molecole (es. glicerolo, CO₂, NH₃ e urea)
- Sono presenti in tutte le membrane cellulari (AQP1,2,5,8) o solo in quelle intracellulari (AQP6,11 e 12)
- Alcune sono molto diffuse, altre sono specifiche (AQP0 solo nel cristallino, AQP2 solo nel rene)



Le AQP sono formate da quattro polipeptidi uguali o diversi, disposti in modo da delimitare un poro centrale in grado di trasferire molecole di acqua e probabilmente altre molecole polari e ioni. La struttura tetramERICA sembra stabilizzare le AQP.

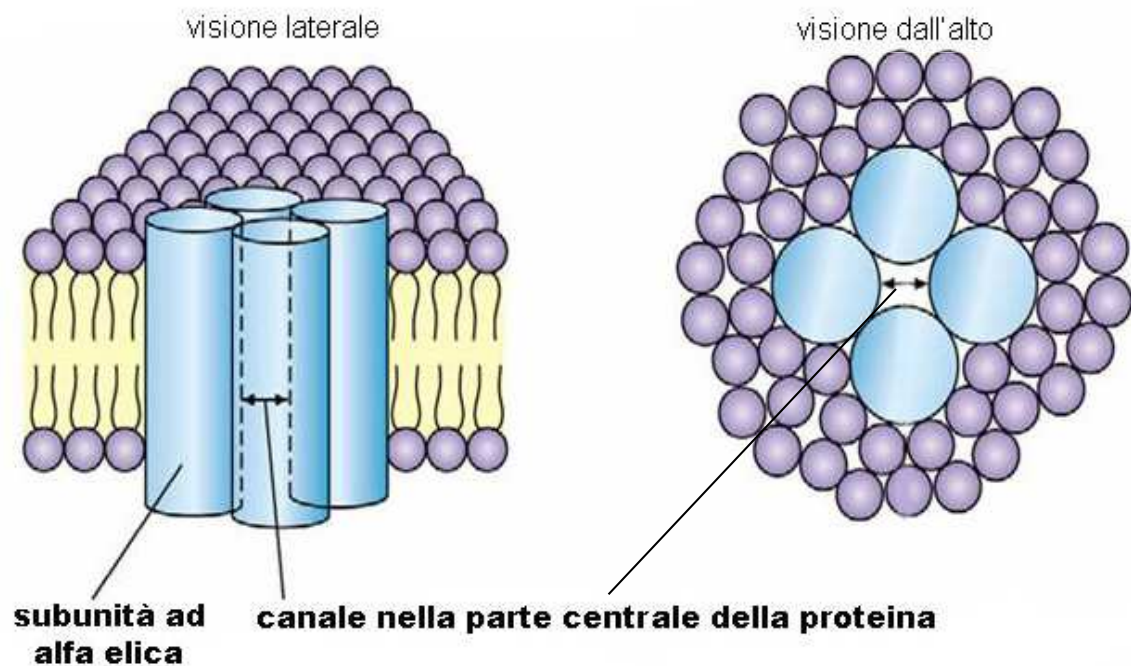


Proteine canale

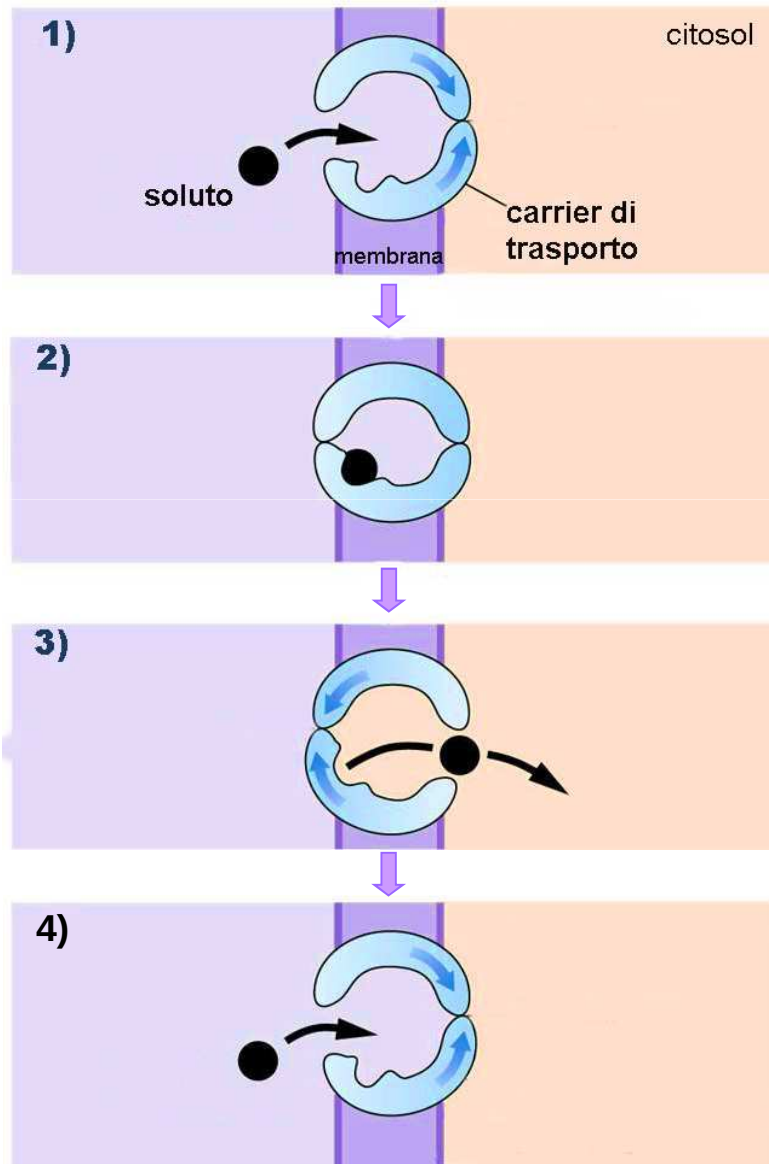


Nelle proteine canale, il canale pieno di acqua si apre in seguito ad un segnale chimico, meccanico o elettrico. L'apertura del canale determina un passaggio aperto su entrambi i lati della membrana.

Molti canali sono costituiti da più subunità polipeptidiche ad α elica assemblate nella membrana in modo da delimitare un canale centrale.



Carriers di trasporto



I carriers di trasporto legano il loro substrato, cioè la molecola che deve essere trasportata, sul lato aperto ove si trova il sito specifico ①. Il legame determina un cambiamento di conformazione che comporta la chiusura del passaggio da quel lato ② e successivamente l'apertura di un passaggio dal lato opposto ove avviene il rilascio del substrato ③. A questo punto riprendono la conformazione originale ④ pronti ad aprirsi quando ci sia altro substrato da legare.

I carriers realizzano il trasporto mantenendo separati i due ambienti delimitati dalla membrana.



Trasporto mediante carriers

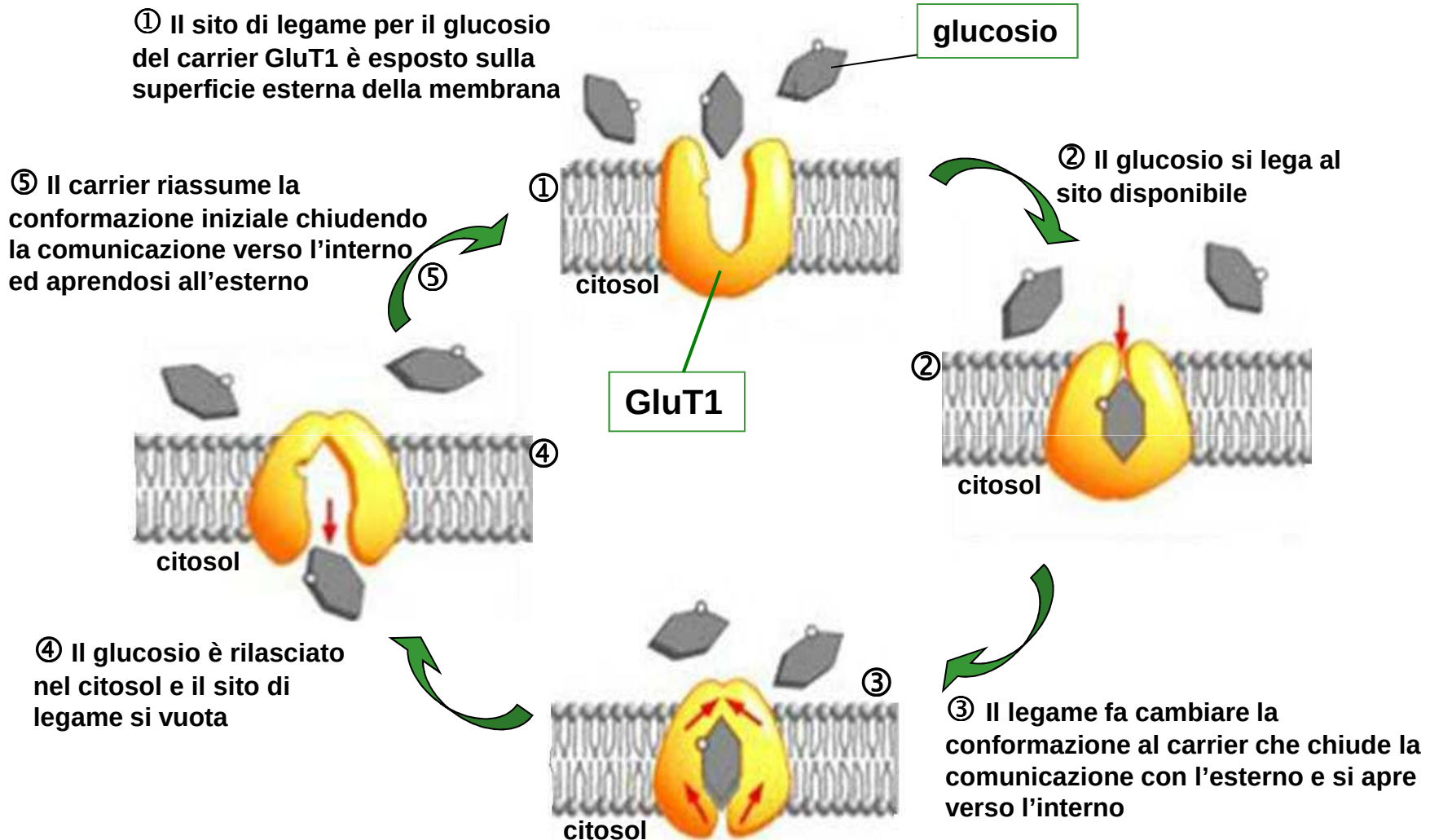
Questa modalità di trasporto segue il comportamento degli enzimi anche se le molecole trasportate non vengono modificate.

Come gli enzimi il carrier di trasporto:

- ✓ ha siti specifici per i soluti da trasportare
- ✓ è soggetto a saturazione
- ✓ può andare incontro ad inibizione competitiva
- ✓ è influenzato da variazioni di temperatura e di pH

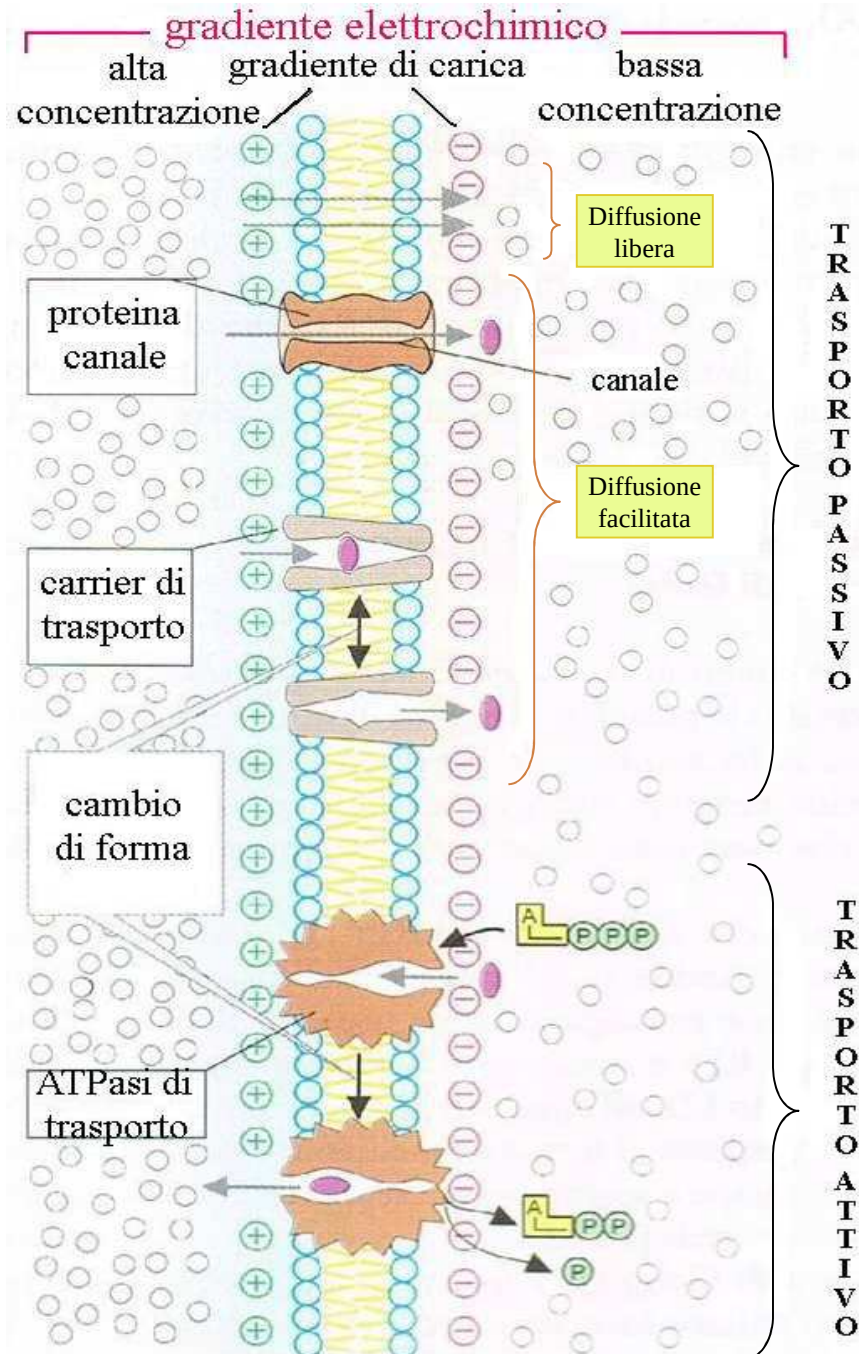


Diffusione facilitata del glucosio



Finché la concentrazione interna di glucosio si mantiene bassa (come avviene in cellule che lo utilizzano man mano che entra) continua il processo di diffusione, altrimenti si ferma all'equilibrio e può anche procedere al contrario qualora si abbia una concentrazione di glucosio maggiore nel citosol.

Trasporto passivo e attivo



Quando il trasporto si realizza secondo gradiente, come nella diffusione libera o facilitata, e senza dispendio energetico si parla di trasporto passivo.

Quando il trasporto si realizza contro gradiente e comporta dispendio energetico si parla di trasporto attivo.

Il gradiente è in genere di concentrazione ma anche di carica se il soluto è uno ione, perciò si parla di **gradiente elettrochimico**.



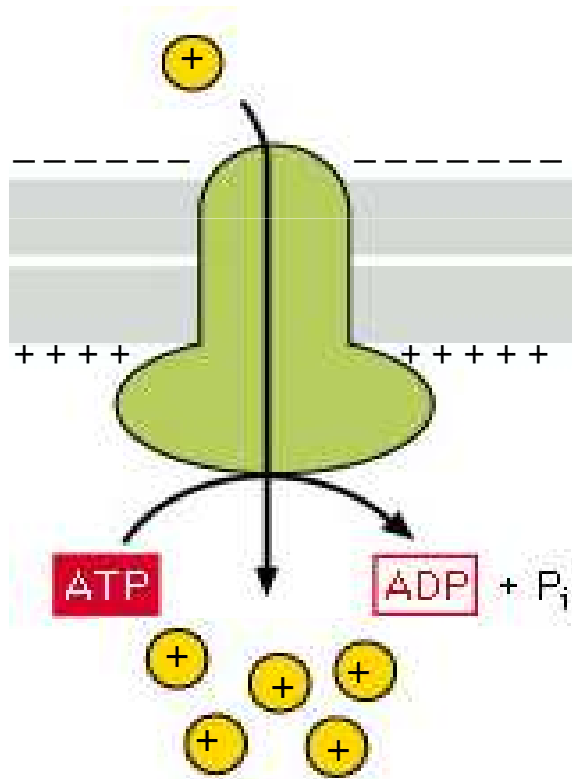
Il gradiente elettrochimico

- Ai due lati della membrana della maggior parte delle cellule c'è una diversa distribuzione di cariche che caratterizza un gradiente elettrico detto *potenziale di membrana* (espresso in V o mV)
- Il potenziale di membrana, di solito rappresentato dal lato citoplasmatico con potenziale più negativo rispetto all'esterno, influenza il movimento transmembrana di tutte le molecole cariche (ioni), favorendo i movimenti nella direzione che tende a ridurlo
- La forza elettrostatica spinge i cationi nella cellula e gli anioni fuori
- Quindi, quando consideriamo la diffusione passiva di *soluti carichi* attraverso una membrana, due forze devono essere considerate:
 - ⇒ la differenza di concentrazione del soluto (gradiente chimico)
 - ⇒ la differenza di potenziale (gradiente elettrico)
- I due fattori considerati insieme diventano il gradiente elettrochimico



Canali e pompe ioniche

Atomi e molecole elettricamente cariche possono attraversare le membrane solo con l'aiuto di specifiche proteine di trasporto sotto forma di canali (trasporto passivo e solo secondo gradiente) o pompe (trasporto attivo e contro gradiente).



Sono le pompe ioniche che, trasportando attivamente ioni (H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{++}) attraverso le membrane, ne determinano il gradiente elettrochimico, cioè una diversa distribuzione di carica ai due lati della membrana.

Le pompe ioniche vengono anche chiamate ATPasi perché l'energia per il trasporto è accoppiata alla scissione di ATP.



Trasporto elettrogenico

Quando il soluto è uno ione (atomo o molecola) il suo trasferimento da una parte all'altra della membrana senza il contemporaneo passaggio in direzione contraria di un altro ione di carica opposta determina la separazione endoergonica delle cariche positive da quelle negative producendo un potenziale elettrico.

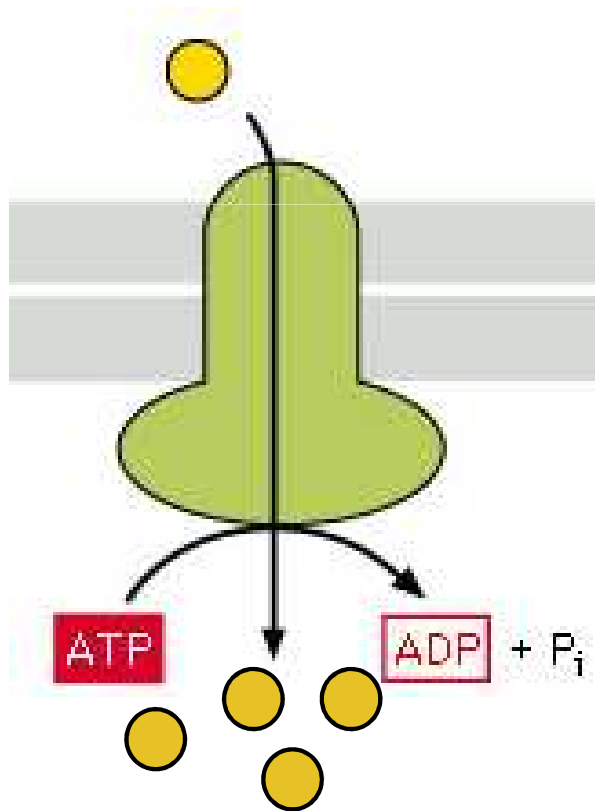
Sono le pompe ioniche che con consumo di energia creano una distribuzione di carica ineguale ai due lati della membrana e formano il gradiente elettrochimico.

Questo tipo di trasporto, realizzato dalle pompe ioniche, viene chiamato **elettrogenico**.



ATPasi di trasporto

Il trasporto attivo, che sposta un soluto contro il suo gradiente elettrochimico, è un processo endoergonico ed avviene solo se accoppiato ad un processo esoergonico che di solito è l'idrolisi di ATP.

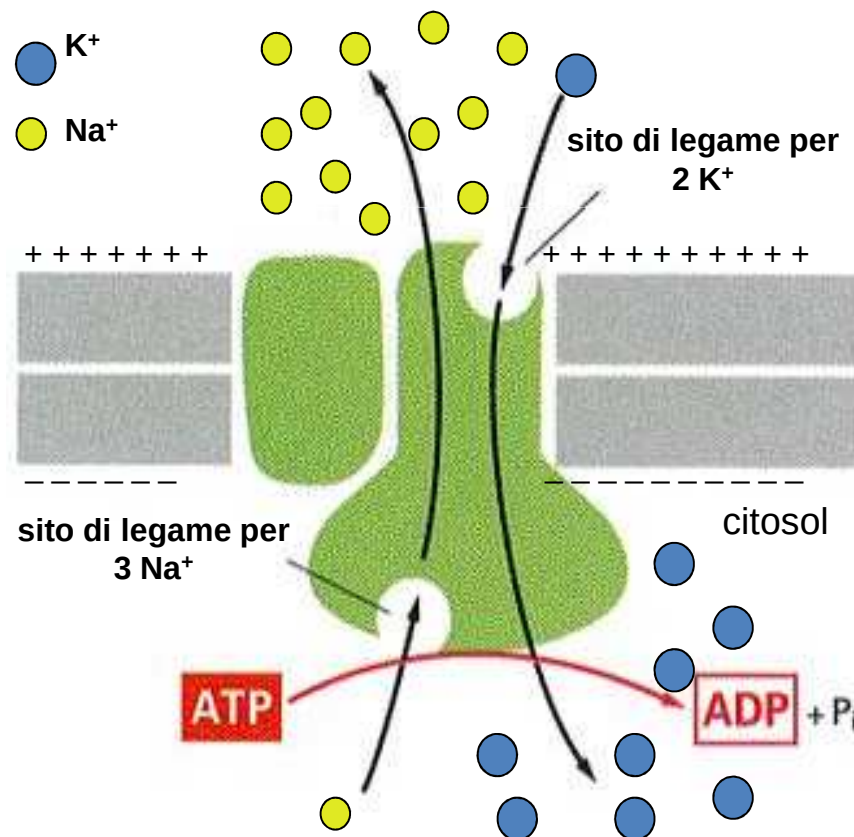


La maggior parte delle cellule riesce a mantenere tra i lati delle loro membrane plasmatiche o intracellulari gradienti di concentrazione maggiori di dieci volte e per molti tipi di cellule e tessuti il trasporto attivo rappresenta il principale processo di consumo energetico sottoforma di molecole di ATP.



ATPasi di scambio Na^+/K^+

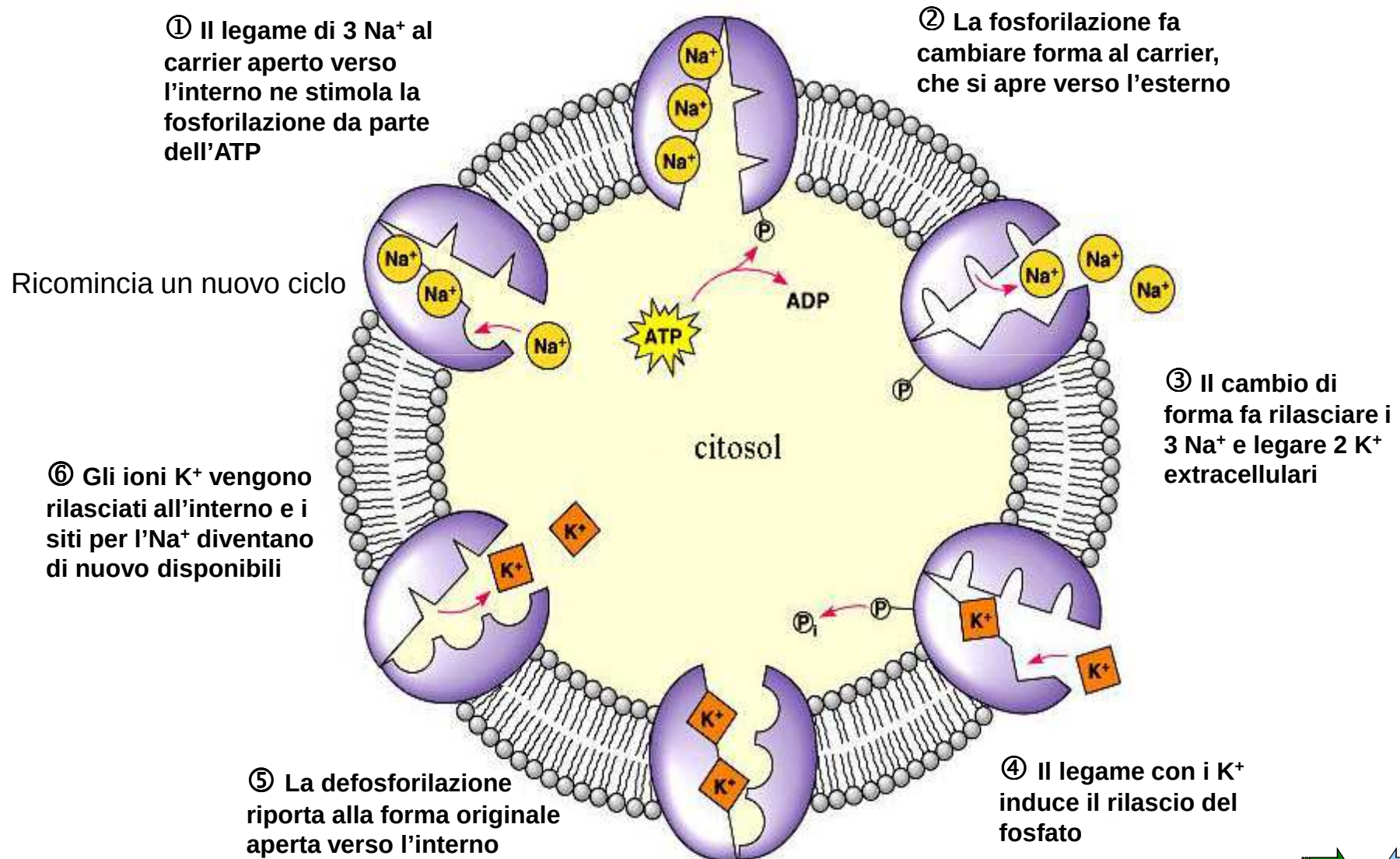
Questo carrier di trasporto, chiamato pompa sodio potassio, è il principale responsabile del mantenimento delle concentrazioni intracellulari di ioni sodio e potassio e della generazione del potenziale elettrico di membrana (pompa elettrogenica).



È una ATPasi presente nella membrana plasmatica di tutte le cellule animali ed accoppia l'idrolisi dell'ATP al contemporaneo movimento di 3 ioni Na^+ verso l'esterno della cellula e 2 ioni K^+ verso l'interno, contro il loro gradiente di concentrazione (è un esempio di antiporto).

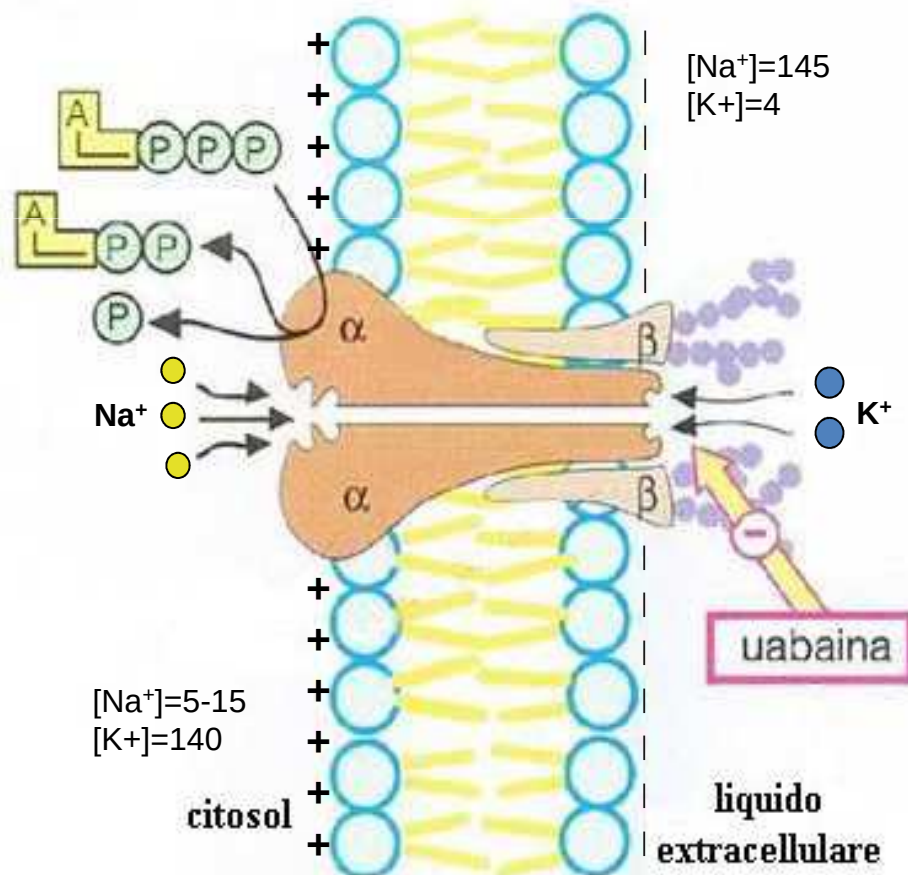


ATPasi Na^+/K^+ in azione



ATPasi Na^+/K^+ pompa ionica

La pompa sodio potassio è una glicoproteina formata da 4 subunità (α_2, β_2): la componente glucidica sporge all'esterno, all'interno si trova un sito specifico per il legame con il gruppo fosfato. La defosforilazione K dipendente viene inibita da un glicoside, uabaina.



Poiché vengono espulsi tre Na^+ ogni due K^+ che entrano, il processo è elettrogenico e crea una separazione di carica tra lato interno ed esterno della membrana che corrisponde ad un potenziale transmembrana con un valore tra -50 e -70 mV e con l'interno della cellula più negativo rispetto all'esterno.



Diverse ATPasi

Le ATPasi, sempre utilizzate per trasportare ioni contro gradiente utilizzando l'energia di idrolisi di ATP, sono di diversi tipi:

➤ Le ATPasi di tipo P, deputate principalmente al trasporto di ioni (Na^+/K^+ , H^+/K^+ , Ca^{++}), sono presenti sia sulla membrana plasmatica che sulle membrane del reticolo endoplasmatico. Sono in genere composte da un'unica catena polipeptidica con un sito di fosforilazione specifico, ove si trasferisce il residuo fosfato: nelle due diverse forme apre e chiude il canale per lo ione positivo. La funzione idrolitica si realizza insieme a quella trasportatrice.

➤ Le ATPasi di tipo V e di tipo F, deputate al trasporto di protoni, hanno una struttura più complessa, essendo formate da più subunità proteiche che si assemblano sulla membrana degli organuli cellulari. A differenza delle ATPasi di tipo P, non hanno un sito specifico di fosforilazione.

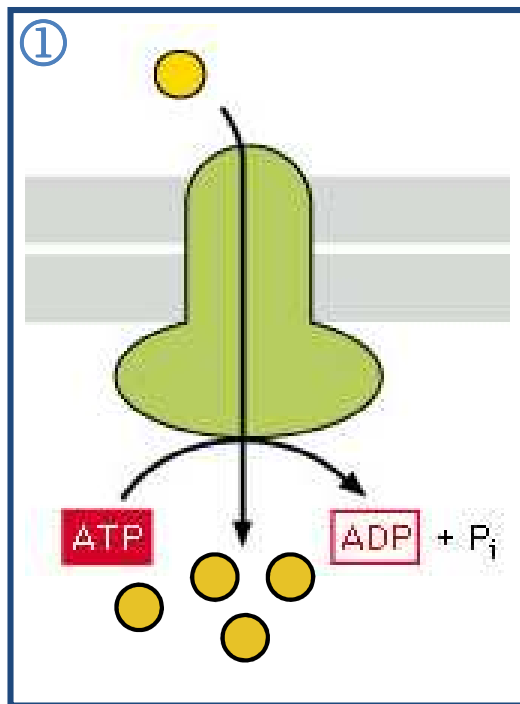
Le ATPasi di tipo F si trovano nelle membrane mitocondriali, dove sono responsabili della movimentazione di protoni per la sintesi di ATP.

Le ATPasi di tipo V sono presenti nelle membrane di vacuoli e lisosomi, dove con il trasporto di protoni favoriscono la determinazione di un pH acido.

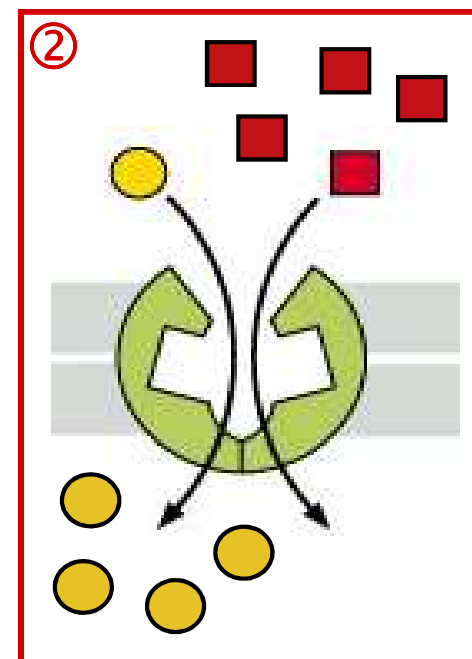


Energia del trasporto attivo

Il trasporto attivo, oltre che accoppiato all'idrolisi di ATP (①) come per le ATPasi, può utilizzare l'energia della luce, di reazioni di ossidazione o del flusso concomitante di un altro soluto nella direzione del suo gradiente (②): questo è un trasporto attivo accoppiato (*nello schema è rappresentato un caso di simporto, ma può esserci anche un antiporto ove il gradiente del soluto concomitante avesse direzione opposta*).

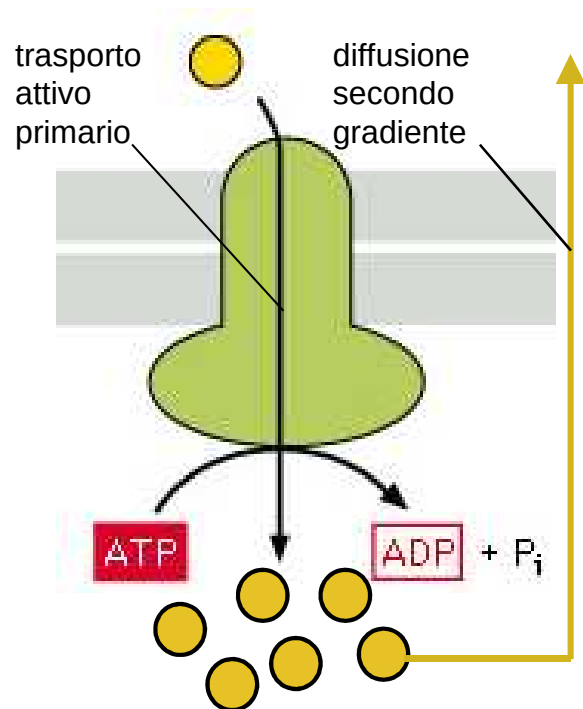


- soluto trasportato contro gradiente
- soluto trasportato secondo gradiente

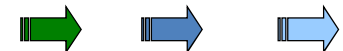


Trasporto attivo primario e secondario

Quando l'energia viene utilizzata direttamente per trasportare un soluto contro gradiente come con le ATPasi, si parla di trasporto attivo primario. Tale trasporto genera un gradiente del soluto che lo fa diffondere in direzione opposta.

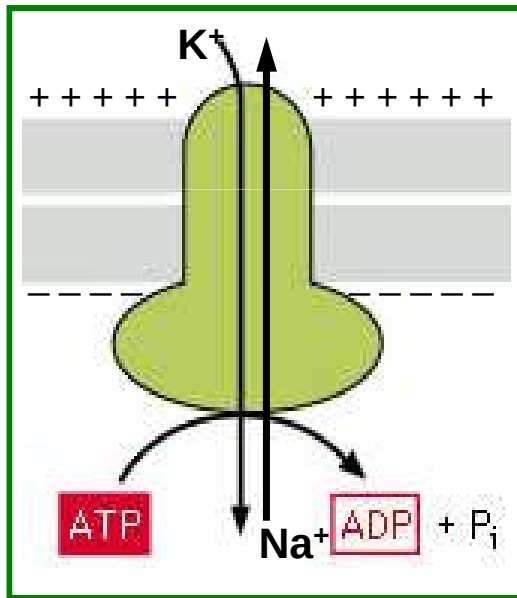


Spesso questo gradiente viene utilizzato dalla cellula per trasportare mediante cotrasporto un altro soluto contro gradiente: questo è un trasporto attivo secondario perché l'energia utilizzata non è direttamente quella dell'ATP.

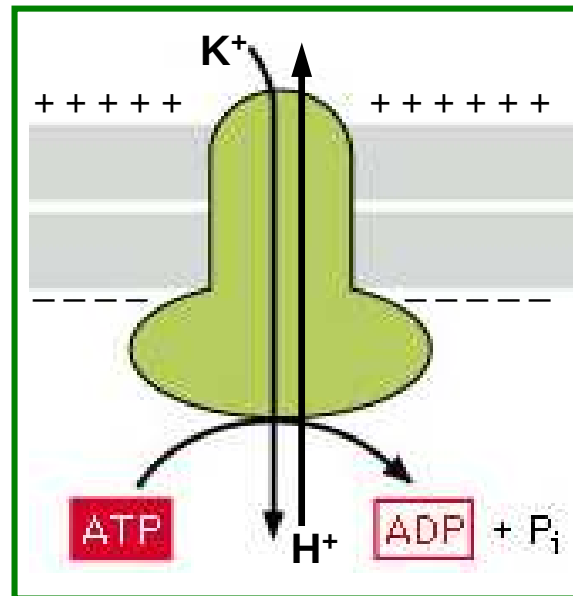


Altri trasporti attivi primari

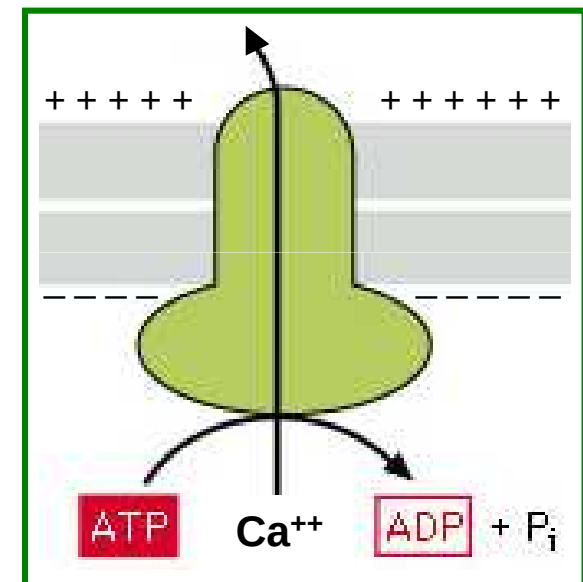
Oltre alla pompa di scambio sodio potassio, sono esempi di trasporto attivo primario altre importanti pompe ioniche quali la pompa di scambio protoni potassio e quella degli ioni calcio.



antiporto



antiporto

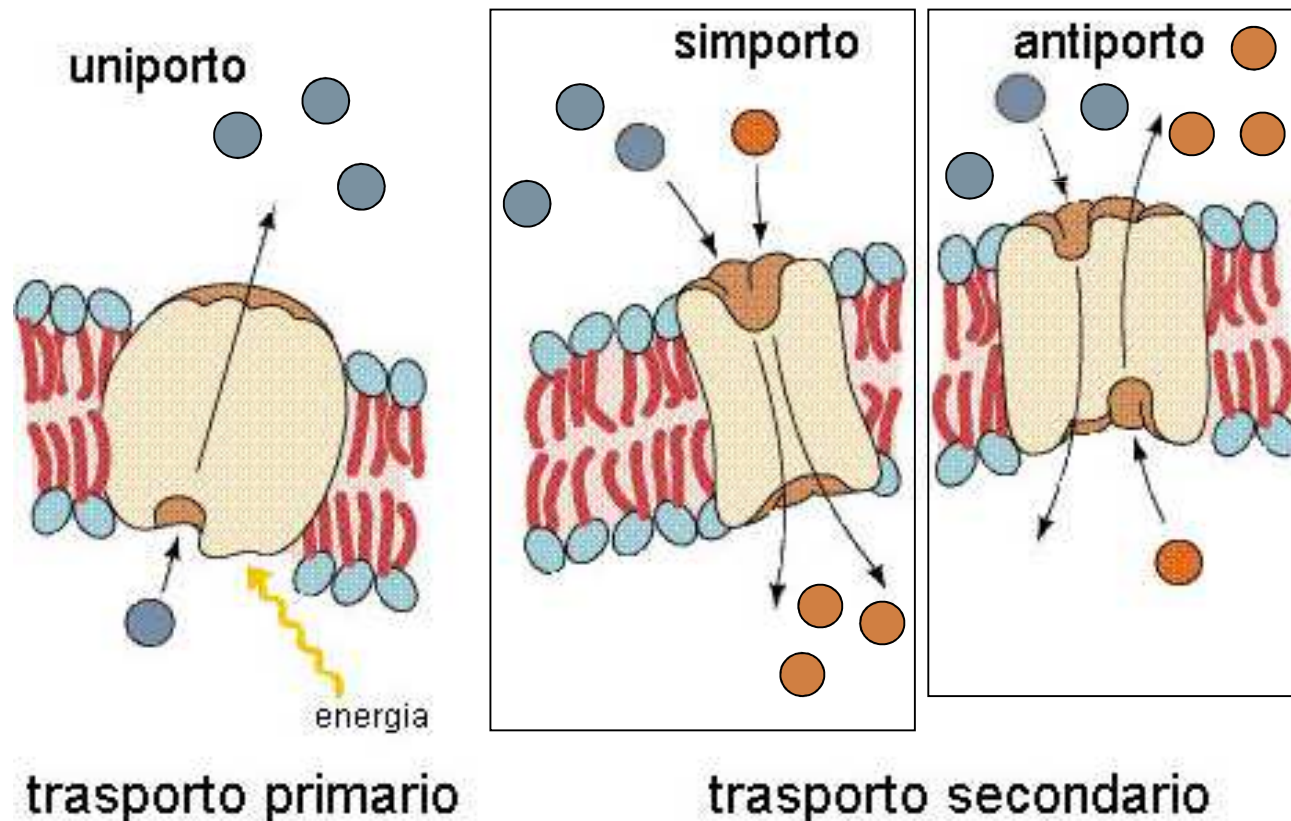


uniporto

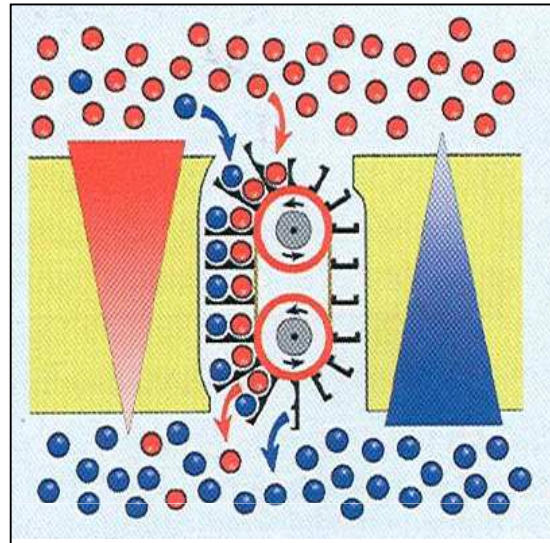


Trasporto attivo secondario

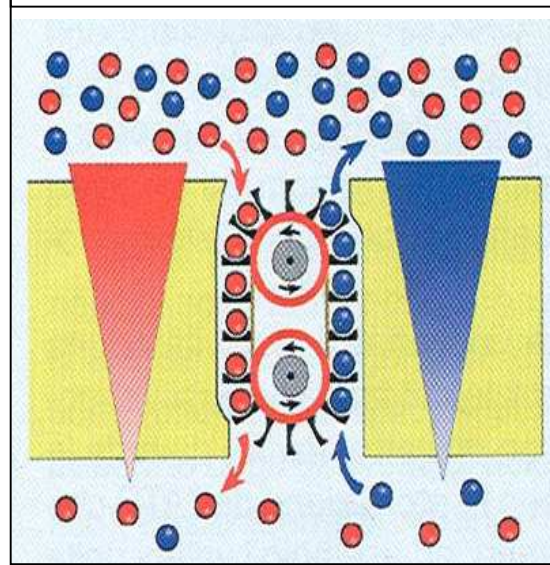
Quando il gradiente di concentrazione di un soluto generato da un trasporto attivo viene utilizzato per un trasporto contro gradiente di un altro soluto, si parla di **trasporto attivo secondario**, che si può realizzare come simporto oppure come antiporto.



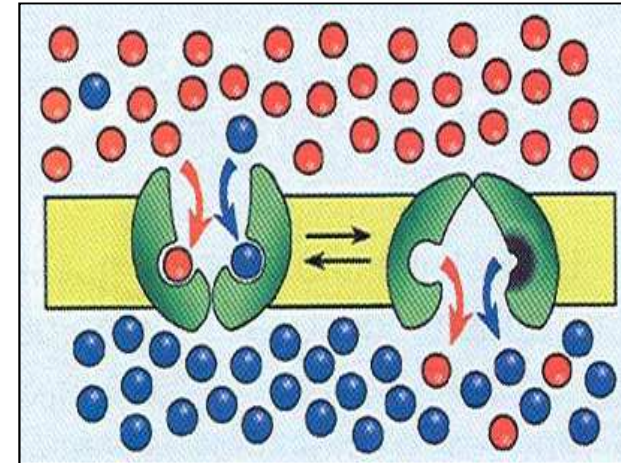
Modalità di trasporto attivo secondario



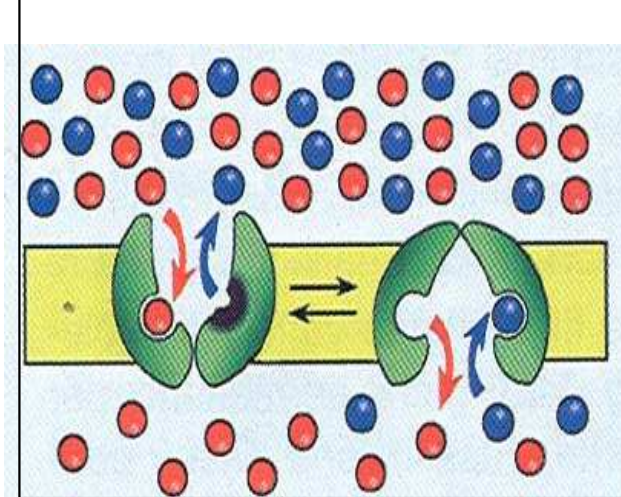
TRAMITE PROTEINE CANALI



← simporto →



TRAMITE CARRIER DI TRASPORTO



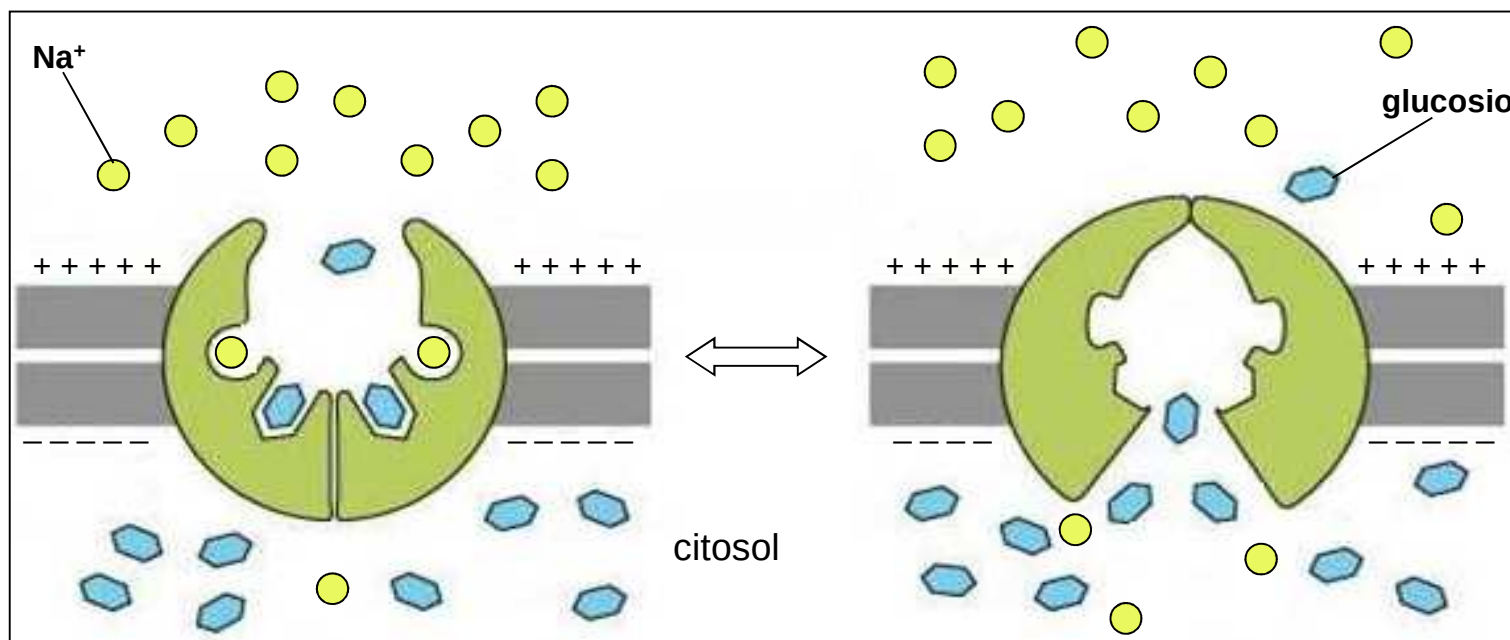
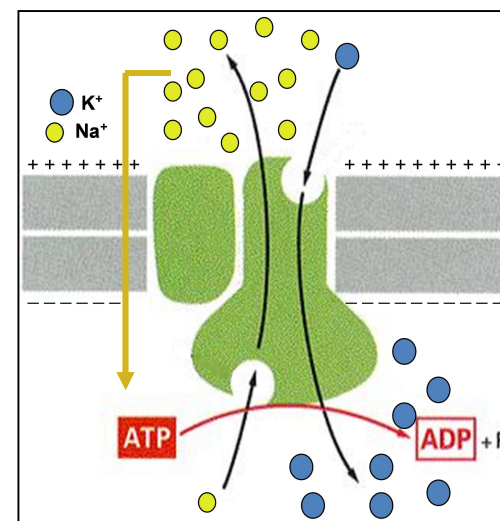
← antiporto →



Trasporto attivo di glucosio

Il glucosio, può venire trasportato contro gradiente utilizzando l'energia accumulata nel gradiente del sodio, più concentrato all'esterno grazie al lavoro della pompa Na^+/K^+ .

Il sodio si lega ai siti attivi del carrier cui si lega anche il poco glucosio presente nell'ambiente esterno; il carrier cambia forma e si apre verso l'interno dove rilascia i due soluti. In questo modo il glucosio viene trasportato contro il suo gradiente per trasporto attivo secondario, mediante simporto.



fine secondo livello



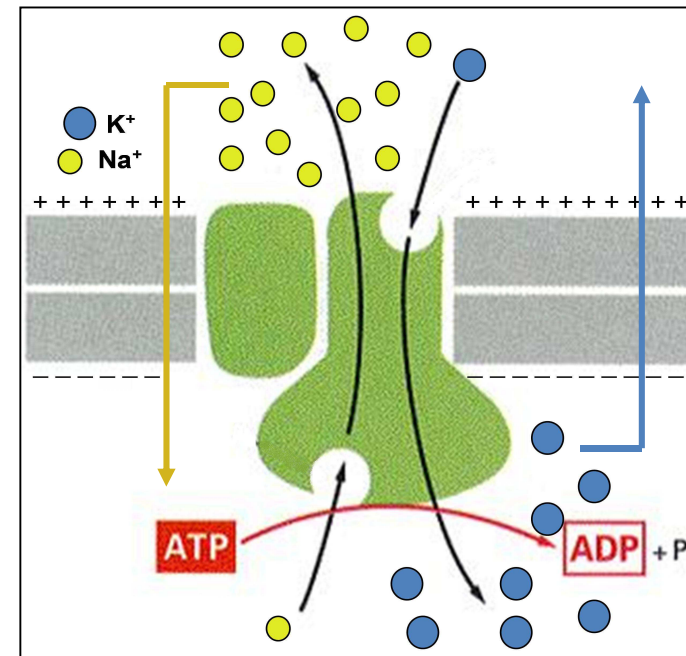
Altri trasporti attivi secondari

Grazie al gradiente del sodio, il glucosio può venire assorbito dal lume delle cellule intestinali e dei tubuli renali.

Sempre sfruttando l'energia del gradiente del sodio e mediante simporto, vengono assorbiti gli amminoacidi dal lume intestinale; mentre con un meccanismo di antiporto vengono rilasciati H^+ nel lume dei tubuli renali e Ca^{++} all'esterno di tutte le cellule.

Meno numerosi i trasporti attivi che dipendono dal flusso di gradienti diversi dal sodio.

Per esempio dal gradiente del potassio (che tende ad uscire dalla cellula dove è più concentrato) dipende il trasporto di ioni cloro all'esterno per simporto.



fine terzo livello



Trasporto attivo per la cellula

L'ambiente cellulare, sempre più o meno diverso sia per quantità che per qualità dei suoi costituenti dall'ambiente esterno, viene mantenuto tale con notevole consumo di energia da parte della cellula.

Con il trasporto attivo primario e secondario e le diverse modalità di cotrasporto, la cellula riesce a mantenere sotto controllo la concentrazione dei costituenti presenti nel citosol ed in tutti i suoi compartimenti interni.

Tiene sotto controllo anche la diffusione, libera o facilitata che sia, ed il trasferimento dell'acqua. Spostando contro gradiente un soluto, aumenterà la concentrazione dell'ambiente ove verrà richiamata acqua per osmosi: ciò diminuisce la differenza di concentrazione tra i due ambienti e permette il controllo della pressione osmotica.

Non ultima, la specificità dei trasportatori che guida tutte le attività metaboliche: la presenza di un metabolita induce o inibisce processi biochimici.

fine primo livello

