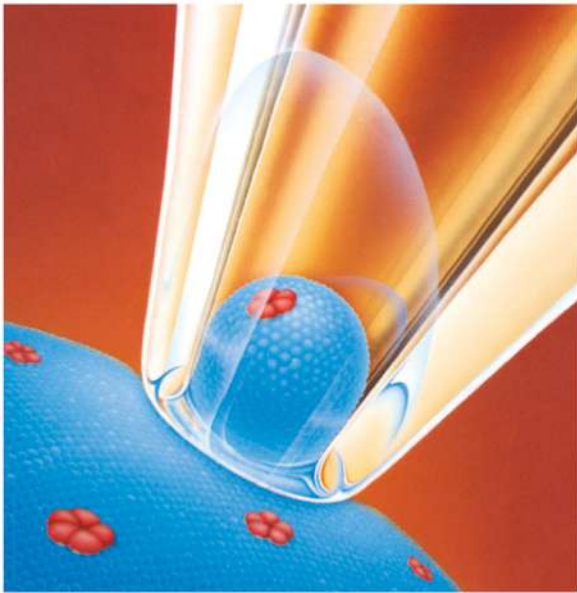


Βιοχημεία I

Κεφάλαιο 13

Μεμβρανικοί διάυλοι και αντλίες



Η διαπερατότητα της λιπιδικής διπλοστιβάδας οφείλεται σε τρεις κατηγορίες μεμβρανικών πρωτεϊνών:

- αντλίες (pumps)
- φορείς (carriers)
- διάυλοι (channels)

13.0 Μεμβρανικές πρωτεΐνες

Αντλίες

- Πηγή ενέργειας, η υδρόλυση του ATP ή η απορρόφηση τους φωτός
- Θερμοδυναμικά μη επιτρεπτή μεταφορά («ανοδική») ιόντων και μορίων
- Ενεργός μεταφορά

Φορείς

- Χωρίς την κατανάλωση ATP
- Χρησιμοποιούν την βαθμίδωση της συγκέντρωσης ενός ιόντος για να ωθήσουν την μεταφορά ενός άλλου μορίου ενάντια στην βαθμίδωση της συγκέντρωσης του
- Δευτερογενής ενεργός μεταφορά

Δίαυλοι

- Χωρίς την κατανάλωση ATP
- Μεμβανικός πόρος
- Θερμοδυναμικά επιτρεπτή κατεύθυνση («καθοδική»)
- Παθητική μεταφορά

13.1 Η μεταφορά μορίων διαμέσου μια μεμβράνης μπορεί να είναι ενεργός ή παθητική

Πολλά μόρια χρειάζονται πρωτεϊνικούς μεταφορείς για να διαπεράσουν τις μεμβράνες

- **απλή διάχυση:** Λιπόφιλα μόρια (π.χ. στεροειδείς ορμόνες) μπορούν να μετακινηθούν διάμεσου της κυτταρικής μεμβράνης

Τί είναι αυτό που καθορίζει την κατεύθυνση προς την οποία θα κινηθούν;

υψηλή συγκέντρωση  χαμηλή συγκέντρωση

- **διευκολυνόμενη διάχυση (παθητική μεταφορά):** Η διάχυση διαμέσου της μεμβράνης διευκολύνεται από κάποιο δίαυλο

Το ιόντα του Na^+ στο εξωτερικό του κυττάρου βρίσκονται συγκέντρωση 143 mM ενώ στο εσωτερικό 14 mM
Εισέρχεται στο κύτταρο;

13.1 Η μεταφορά μορίων διαμέσου μια μεμβράνης μπορεί να είναι ενεργός ή παθητική

Πολλά μόρια χρειάζονται πρωτεϊνικούς μεταφορείς για να διαπεράσουν τις μεμβράνες

Πως επιτεύχθηκε αρχικά αυτή η βαθμίδωση συγκέντρωσης του Na^+

Κάπως πρέπει να μετακινήθηκε ή αντλήθηκε ενάντια στην βαθμίδωση της συγκέντρωσης του

- **ενεργός μεταφορά:** Οι πρωτεϊνικοί μεταφορείς είναι ικανοί να χρησιμοποιήσουν μια πηγή ενέργειας για να μετακινήσουν ένα μόριο ενάντια στη βαθμίδωση της συγκέντρωσης του

υψηλή συγκέντρωση ← χαμηλή συγκέντρωση

13.1 Η μεταφορά μορίων διαμέσου μια μεμβράνης μπορεί να είναι ενεργός ή παθητική

Η ελεύθερη ενέργεια που είναι αποθηκευμένη στις βαθμιδώσεις συγκεντρώσεων μπορεί να ποσοτικοποιηθεί

Μη φορτισμένο μόριο

$$\Delta G = RT \ln(c_2/c_1)$$

Φορτισμένο μόριο

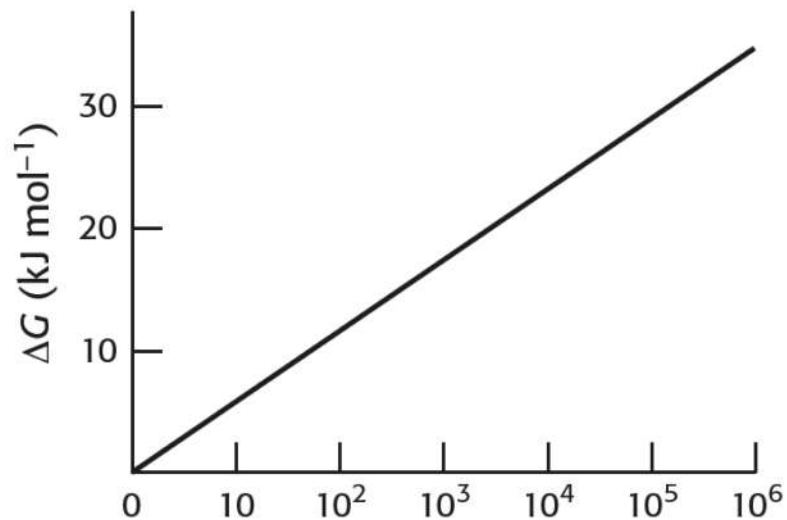
$$\Delta G = RT \ln(c_2/c_1) + ZF\Delta V$$

Z: το ηλεκτρικό φορτίο του μορίου

F: σταθερά Faraday

ΔV : το μεμβρανικό δυναμικό

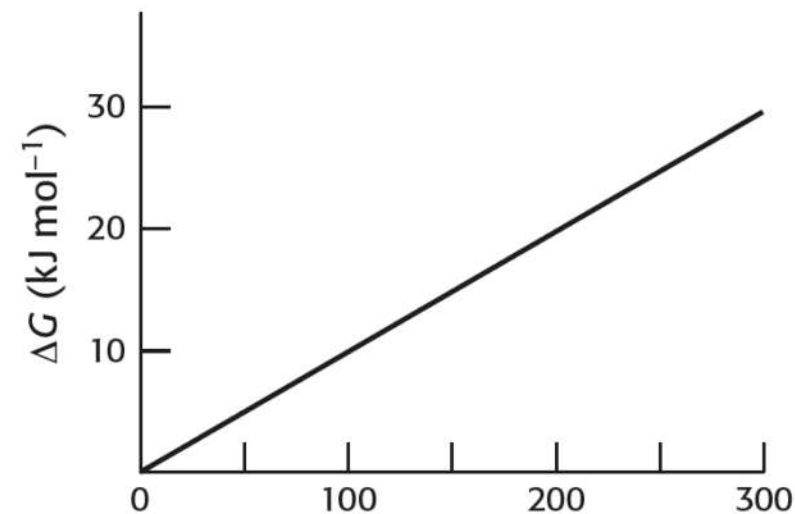
Μεταφορά αφόρτιστου μορίου
από C_1 σε C_2



(A)

Λόγος συγκεντρώσεων (c_2/c_1)

Μεταφορά φορτισμένου μορίου
στην πλευρά μεμβράνης που έχει
το ίδιο φορτίο



(B)

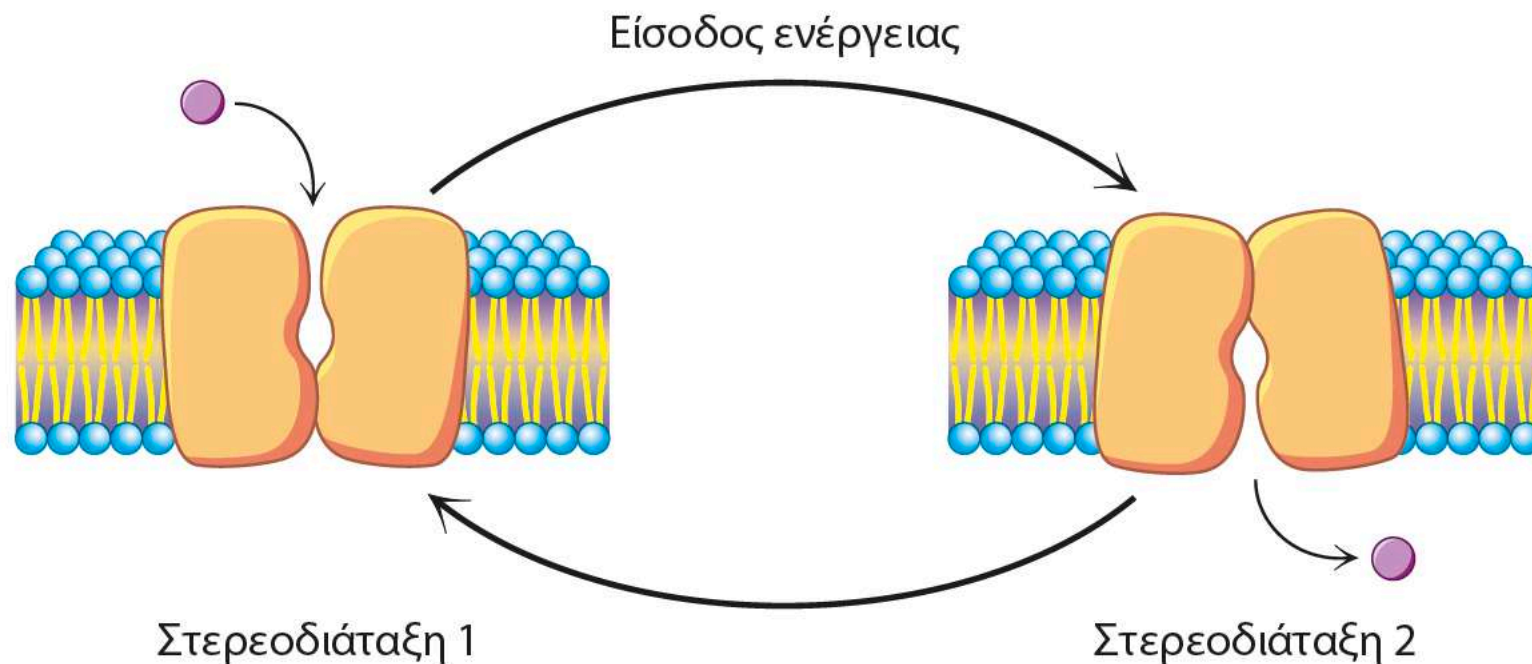
Μεμβρανικό δυναμικό (mV)

13.2 Δύο οικογένειες μεμβρανικών πρωτεϊνών χρησιμοποιούν την υδρόλυση της ATP για την άντληση ιόντων και μορίων διαμέσου μεμβρανών

Οι **ΑΤΡάσεις τύπου P** συζευγνύουν την φωσφορυλίωση με μεταβολές στερεοδιάταξης για την άντληση ιόντων Ca^{2+}

Γενικά ισχύει ότι...

Κάθε αντλία μπορεί να υπάρχει (και αλληλομετατρέπεται) σε δύο κύριες διαμορφώσεις, η μία με τις θέσεις δέσμευσης ιόντων ανοιχτές προς τη μία πλευρά της μεμβράνης και η άλλη με θέσεις δέσμευσης ιόντων ανοιχτές προς την άλλη πλευρά

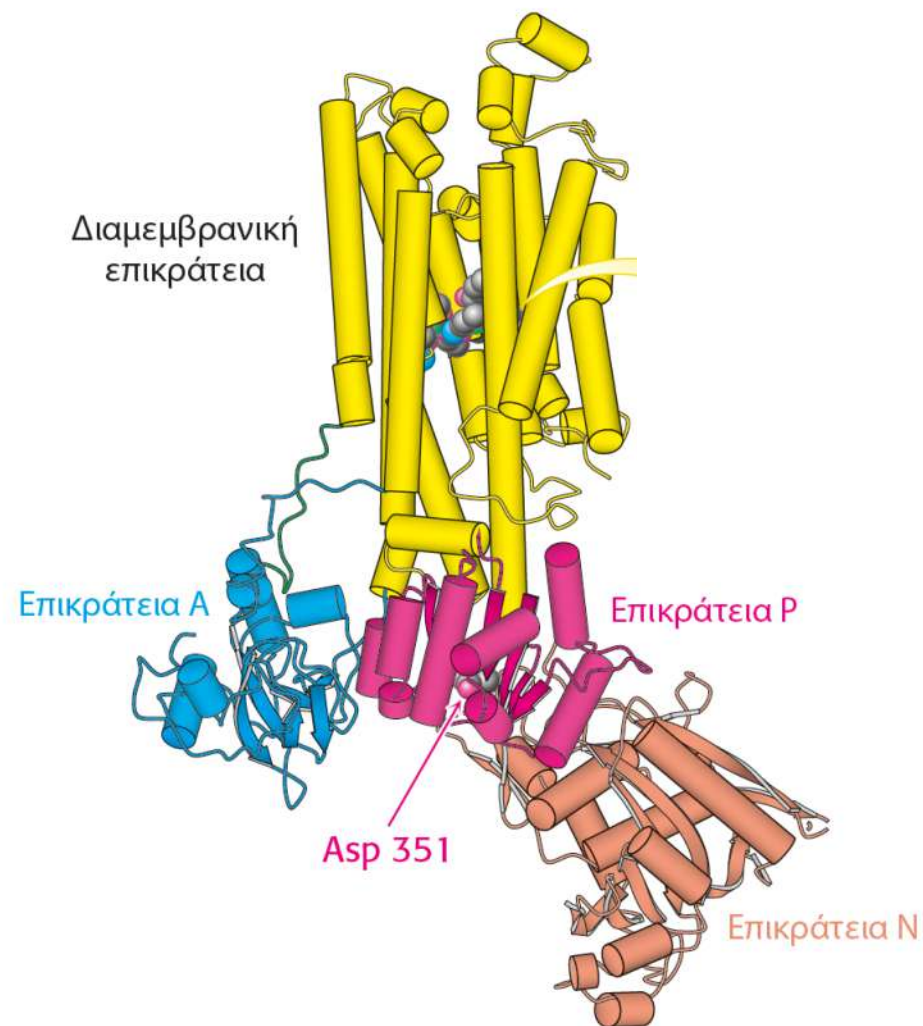


13.2 Αντλίες καθοδηγούμενες από ATP

Η δομή της αντλίας Ca^{2+} του σαρκοπλασματικού δικτύου (ΣΔ)

Παίζει ρόλο στην μυϊκή σύσπαση, ο οποία προκαλείται από μια απότομη αύξηση των κυτταροπλασματικών επιπέδων του Ca^{2+}

Η μυϊκή χαλάρωση εξαρτάται από την ταχεία μετακίνηση του Ca^{2+} από το κυτταρόπλασμα στο ΣΔ



13.2 Αντλίες καθοδηγούμενες από ATP

Η δομή της αντλίας Ca^{2+} του ΣΔ

110 KDa

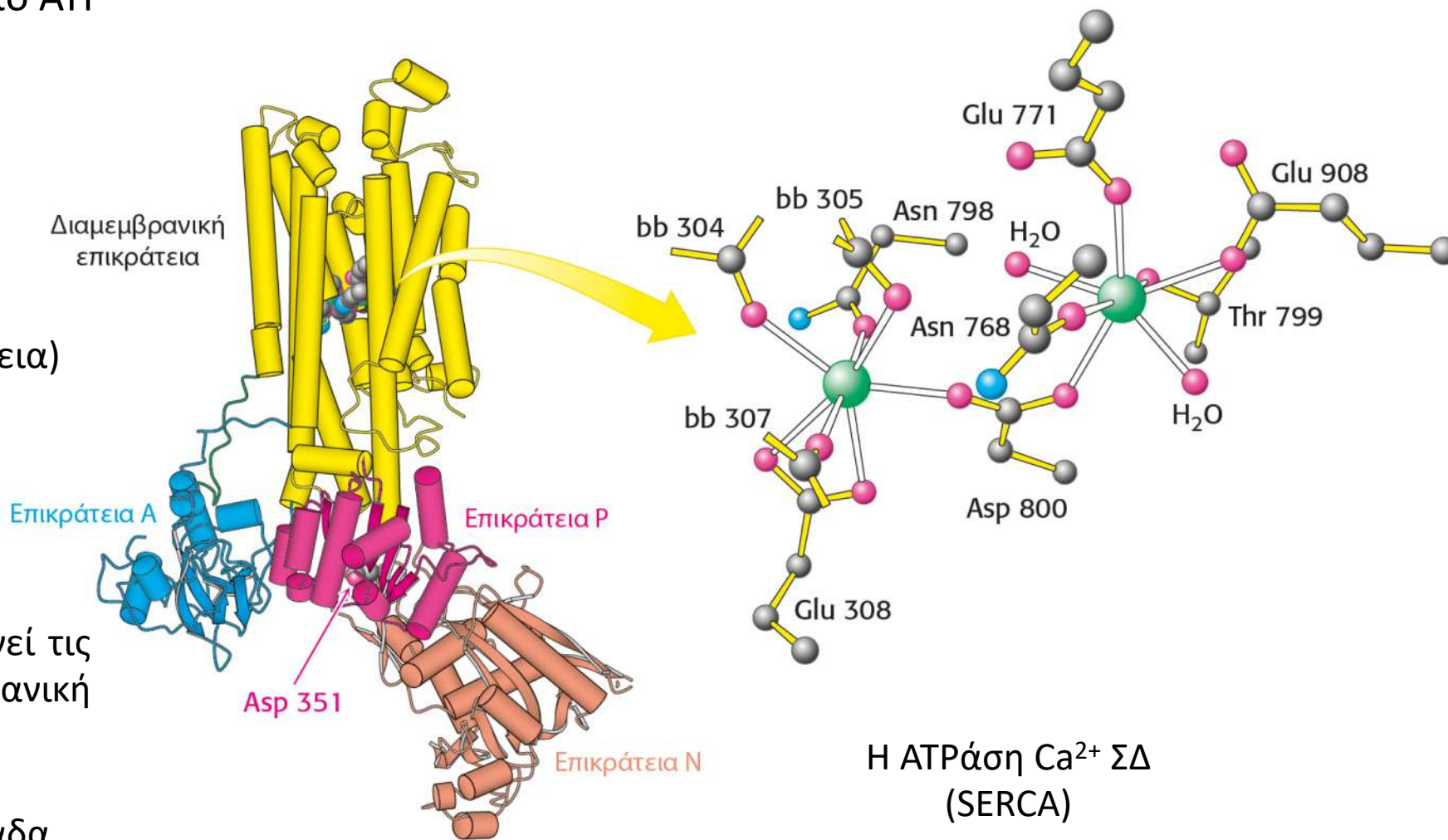
10 α-έλικες (διαμεμβρανική επικράτεια)

N δεσμεύει το ATP

P δέχεται την φωσφορική ομάδα

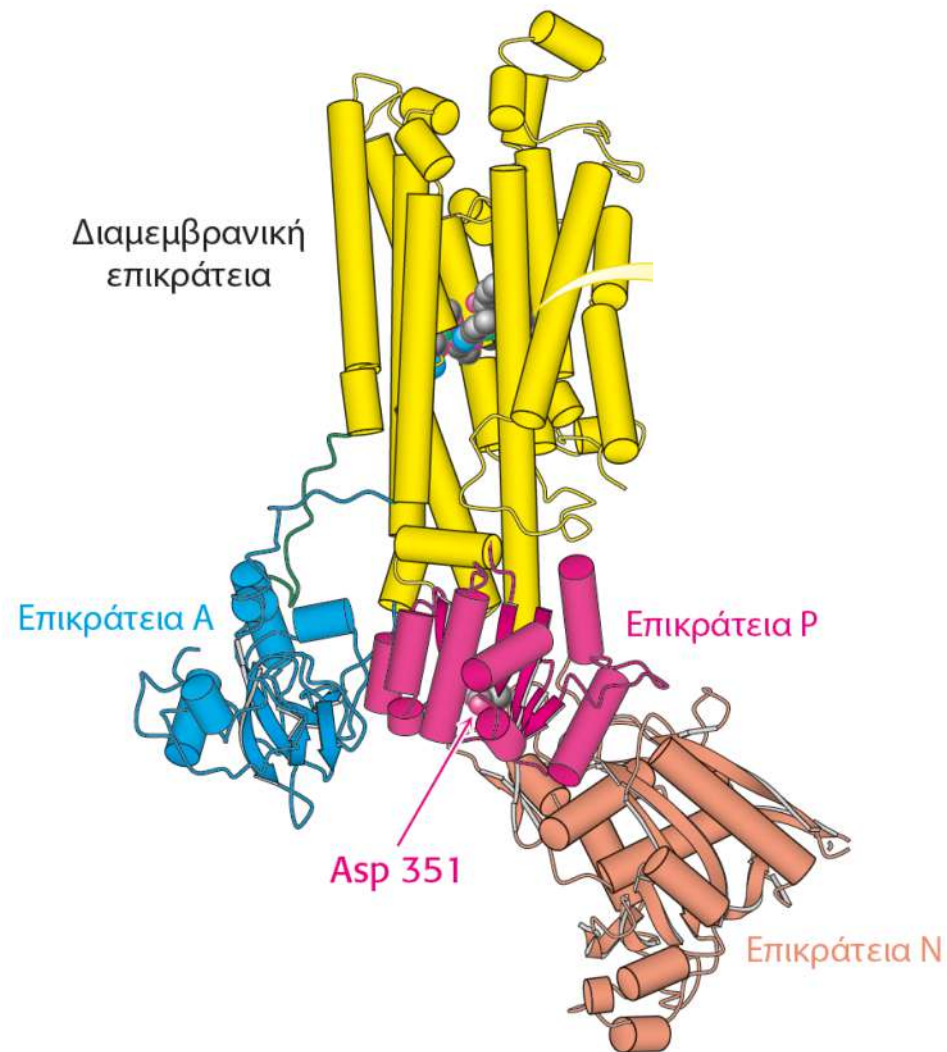
A δρα ως ενεργοποιητής, επικοινωνεί τις αλλαγές της N και P στην διαμεμβρανική επικράτεια

Asp 351 δέχεται την φωσφορική ομάδα



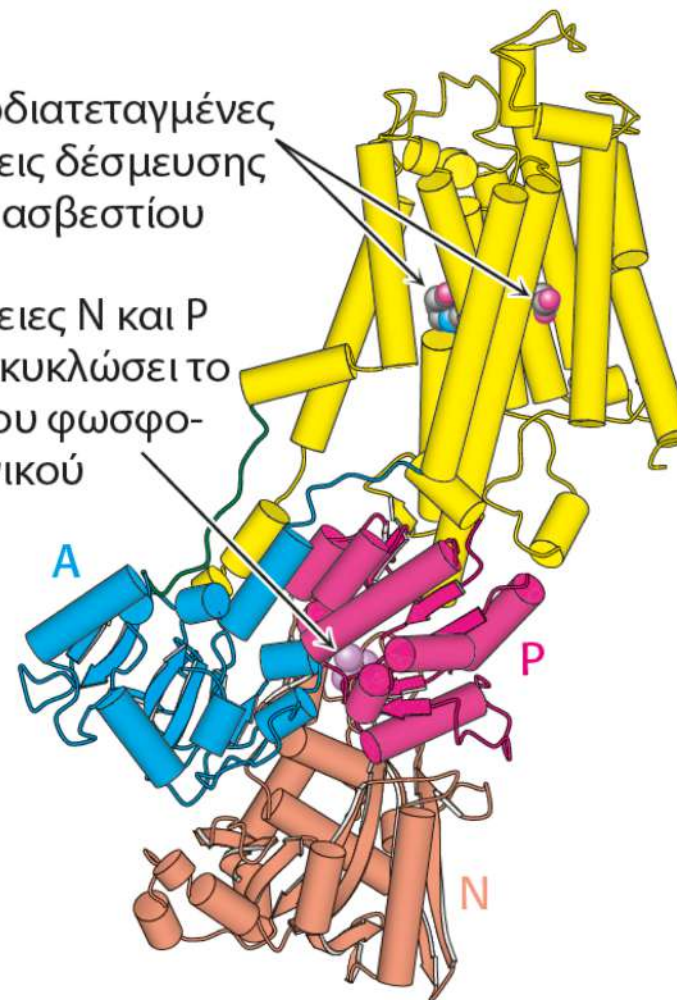
Η δομή της αντλίας Ca^{2+} και μεταβολές της στερεοδιάταξης

13.2



Αποδιατεταγμένες θέσεις δέσμησης του ασβεστίου

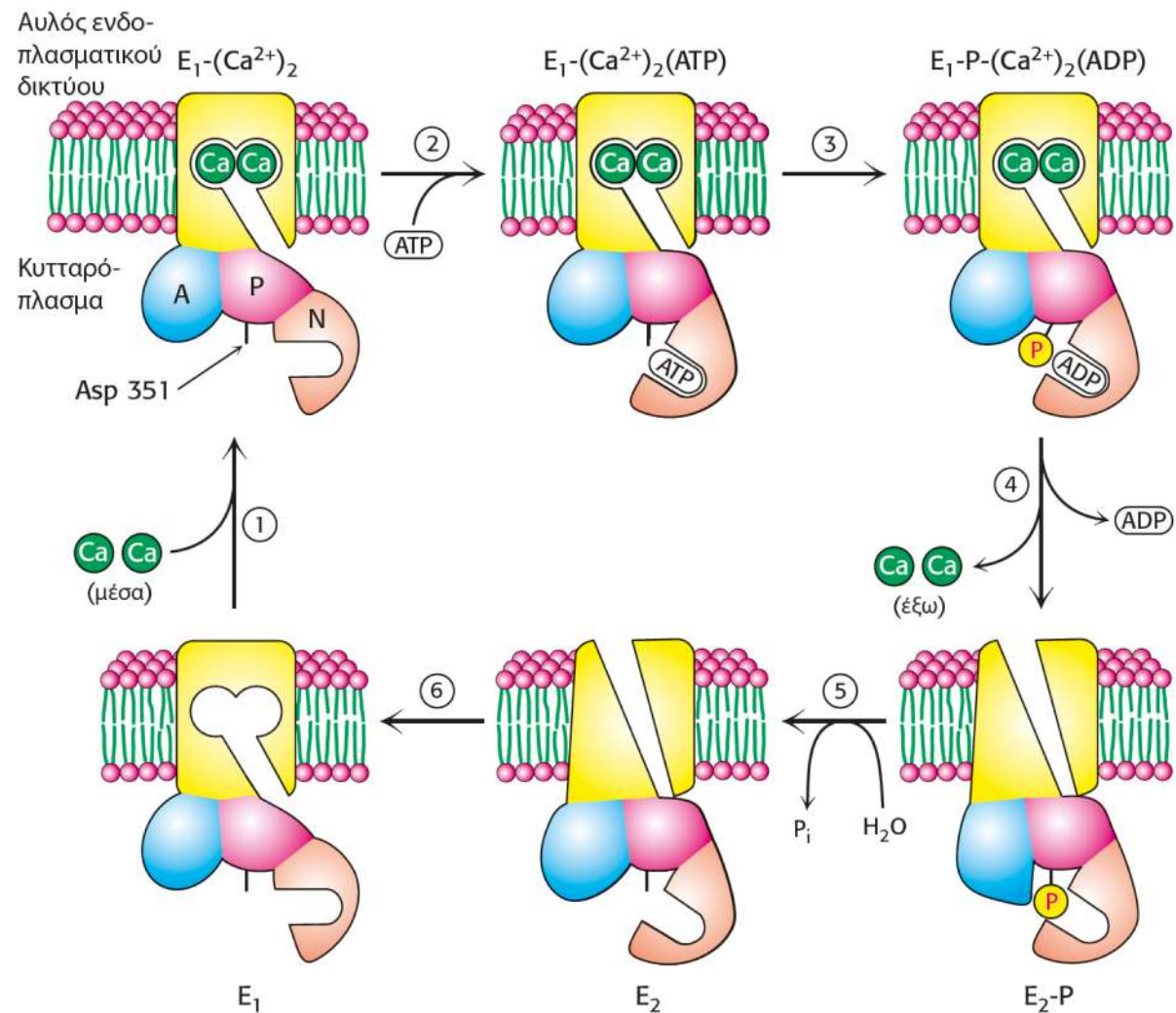
Οι επικράτειες N και P έχουν περικυκλώσει το ανάλογο του φωσφοασπαραγινικού



13.2 Αντλίες καθοδηγούμενες από ATP

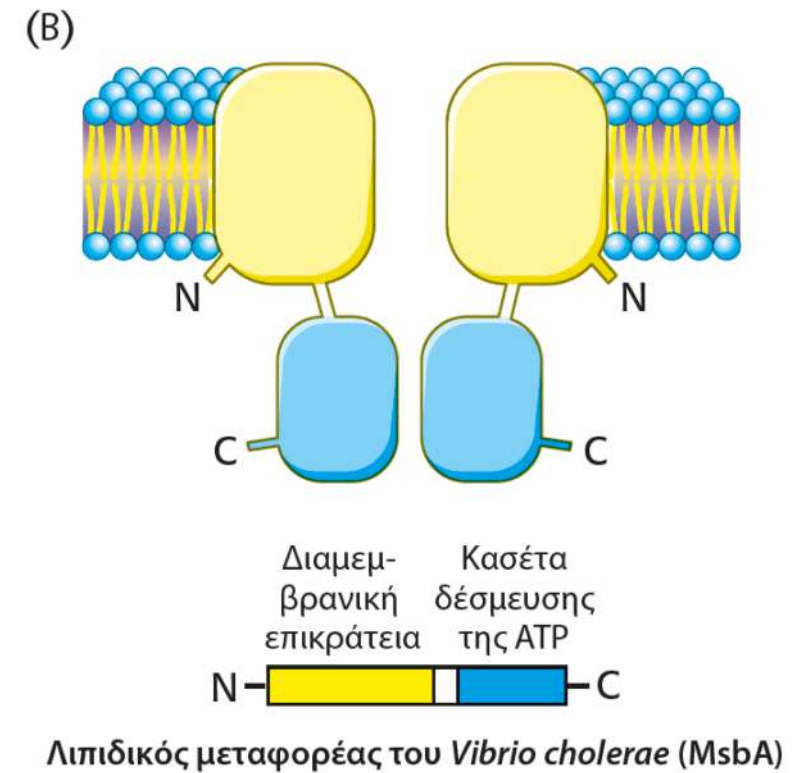
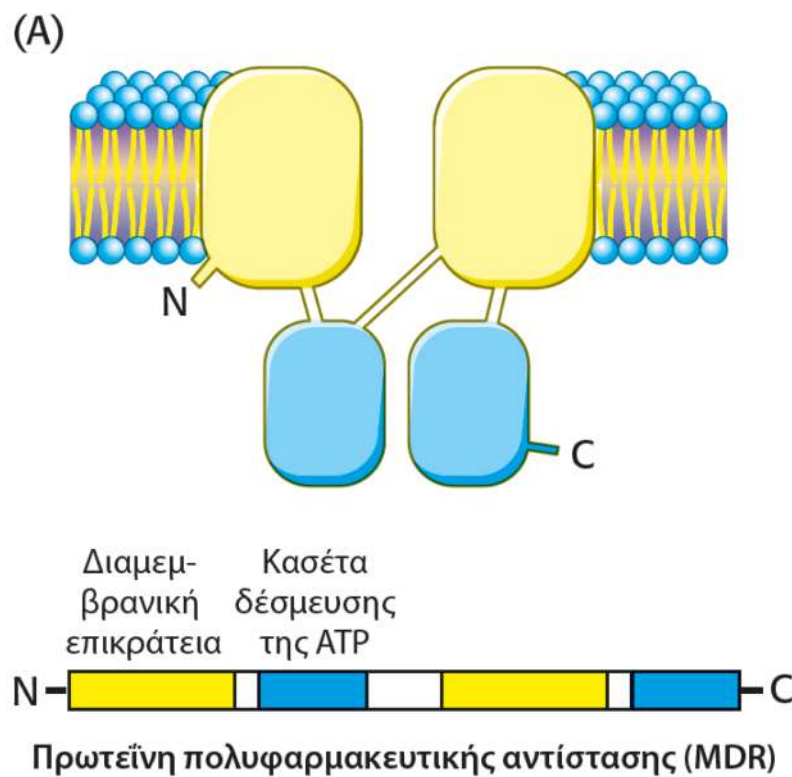
Μηχανισμός άντλησης Ca^{2+} από την ATPάση Ca^{2+} ΣΔ

1. δέσμευση του Ca^{2+} από το κυτταρόπλασμα
2. δέσμευση της ATP
3. υδρόλυση της ATP με μεταφορά φωσφορικής ομάδας στο Asp 351 του ενζύμου
4. απελευθέρωση της ADP και εκτροπή του ενζύμου για να απελευθερώσει Ca^{2+} στην αντίθετη πλευρά της μεμβράνης
5. υδρόλυση του φωσφοασπαργινικού
6. εκτροπή του ενζύμου για νέο κύκλο



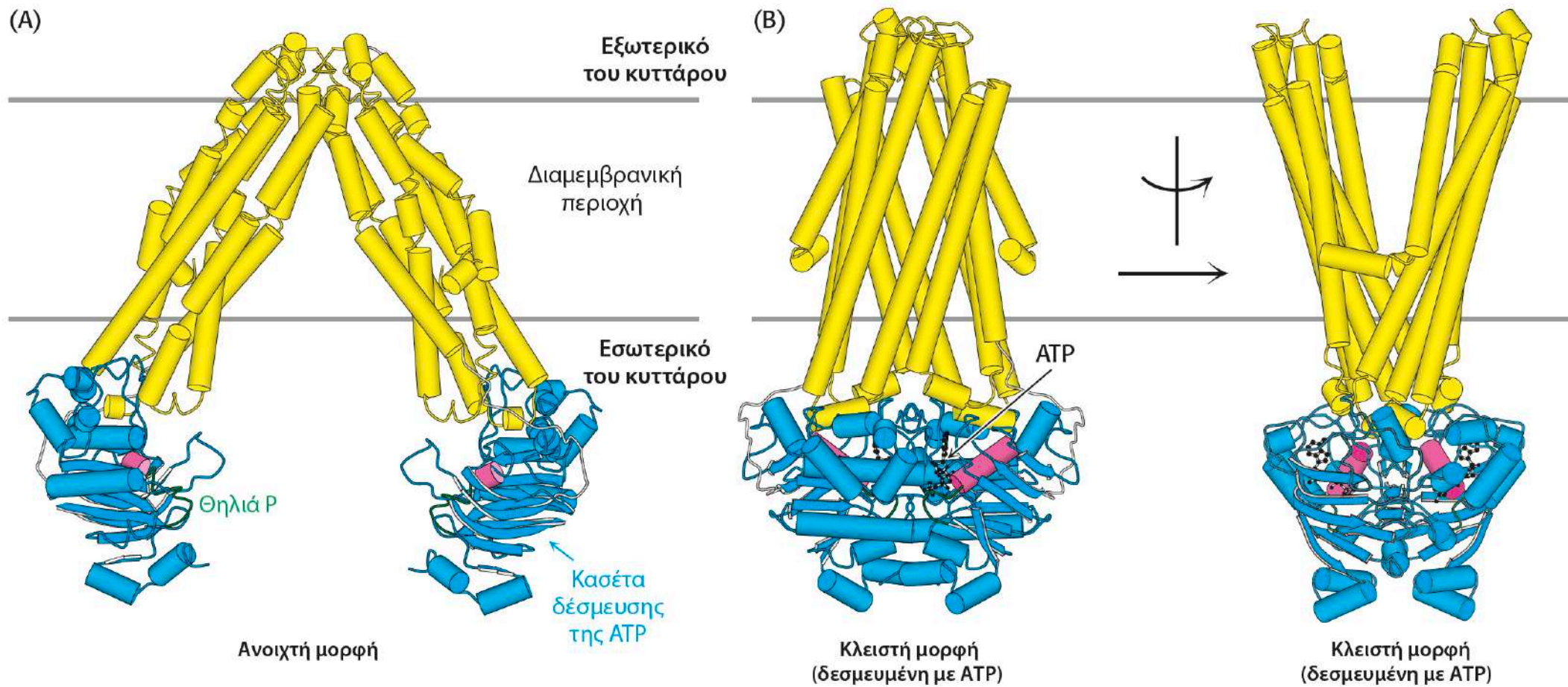
13.2 Αντλίες καθοδηγούμενες από ATP

Μεταφορείς ABC: Οικογένεια μεμβρανικών πρωτεϊνών με δομικές περιοχές κασέτας δέσμησης της ATP (ATP-binding cassettes)



13.2

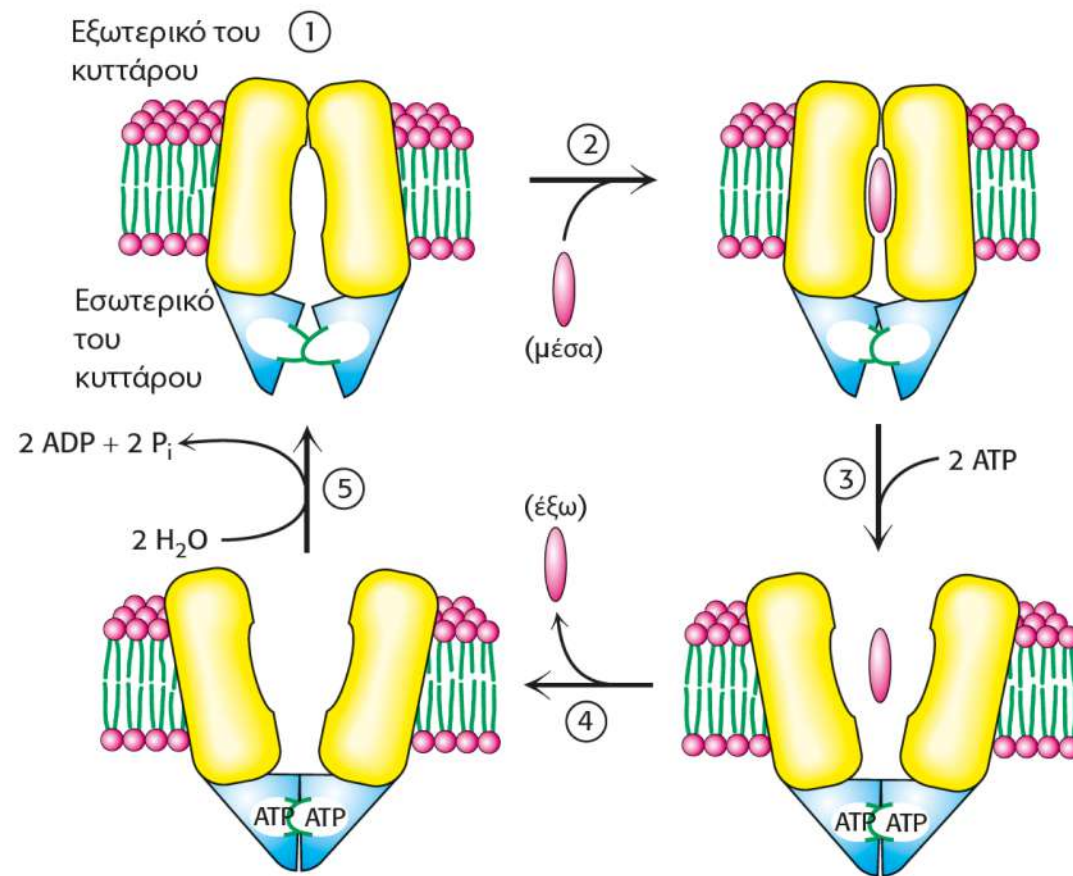
Η δομή του μεταφορέα ABC



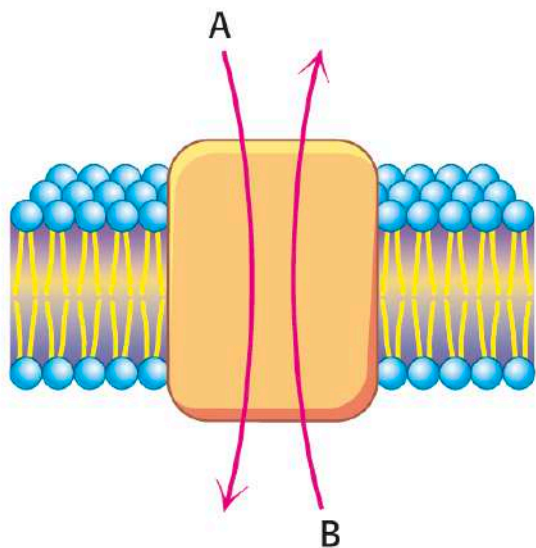
13.2 Αντλίες καθοδηγούμενες από ATP

Ο μηχανισμός δράσης του μεταφορέα ABC

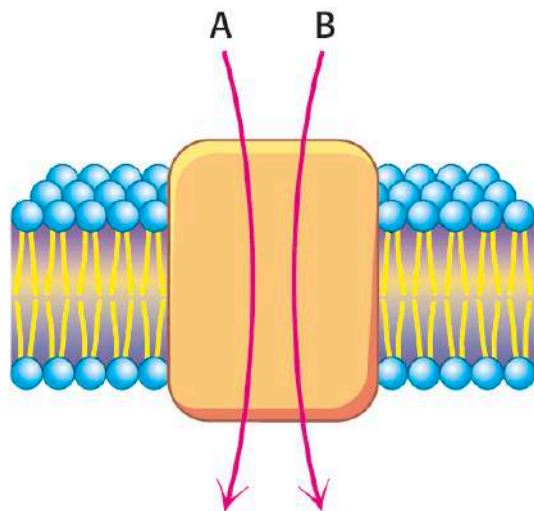
1. άνοιγμα του διαύλου προς το εσωτερικό του κυττάρου
2. δέσμευση του υποστρώματος και μεταβολές της στερεοδιάταξης στις κασέτες της ATP
3. δέσμευση της ATP και άνοιγμα του διαύλου στην άλλη πλευρά της μεμβράνης
4. απελευθέρωση του υποστρώματος στο εξωτερικό του κυττάρου
5. υδρόλυση της ATP και επαναφορά του μεταφορέα στην αρχική κατάσταση



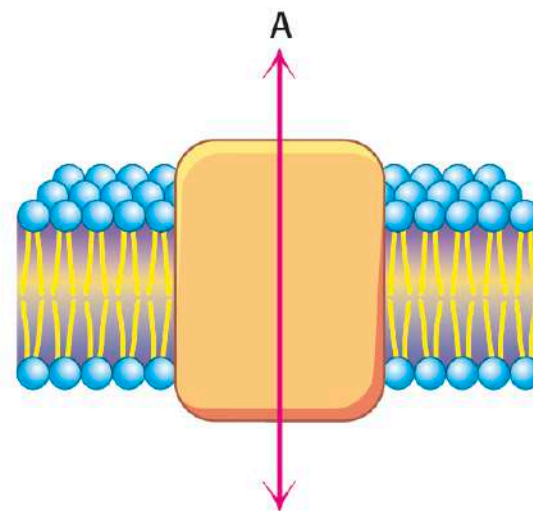
13.3 Η διαπέραση της λακτόζης είναι ένα αρχέτυπο δευτερογενών μεταφορέων οι οποίοι χρησιμοποιούν μια βαθμίδωση συγκέντρωσης για να ενεργοποιήσουν τον σχηματισμό μιας άλλης



Αντιμεταφορέας



Συμμεταφορέας



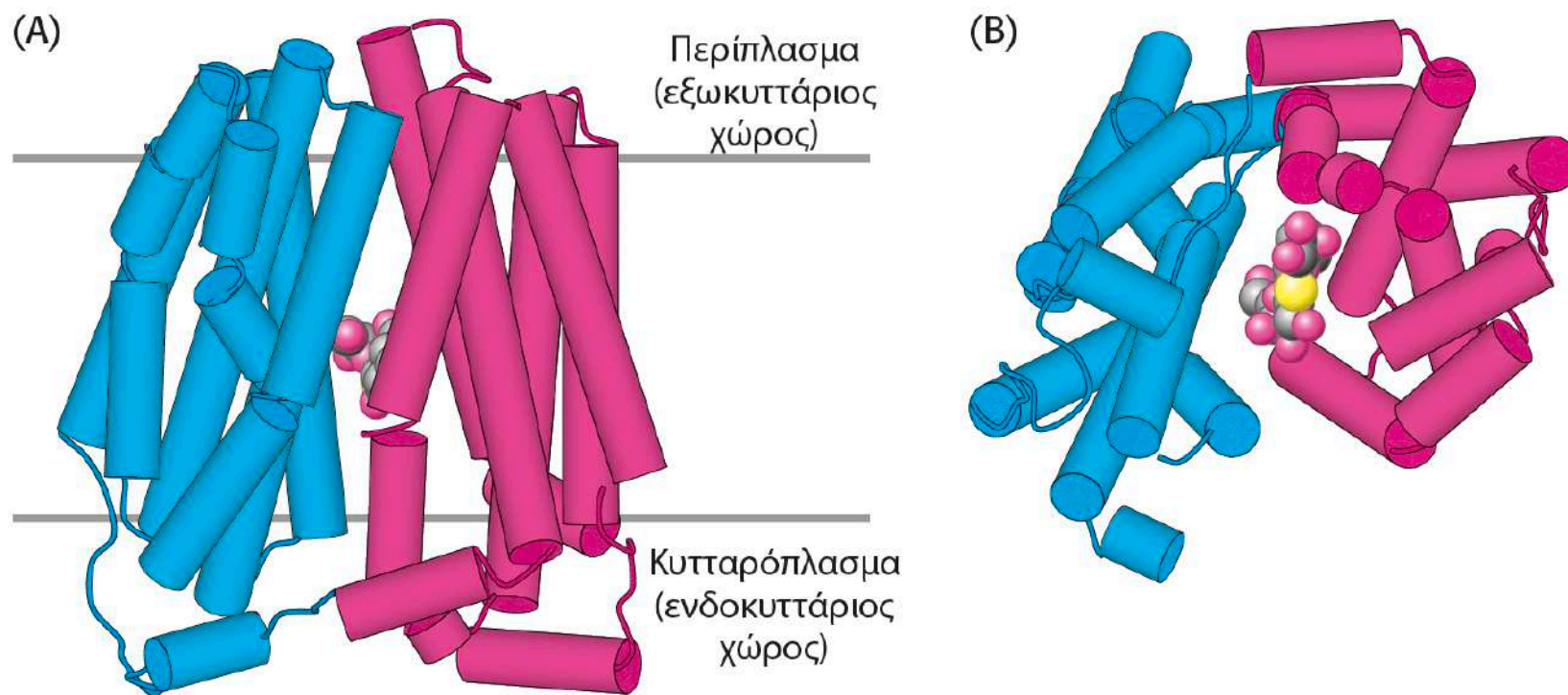
Μονομεταφορέας

Σύζευξη της θερμοδυναμικά μη ευνοϊκής ανοδική ροή ενός ιόντος ή μορίου με την θερμοδυναμικά ευνοϊκή καθοδική ροή ενός διαφορετικού ιόντος ή μορίου

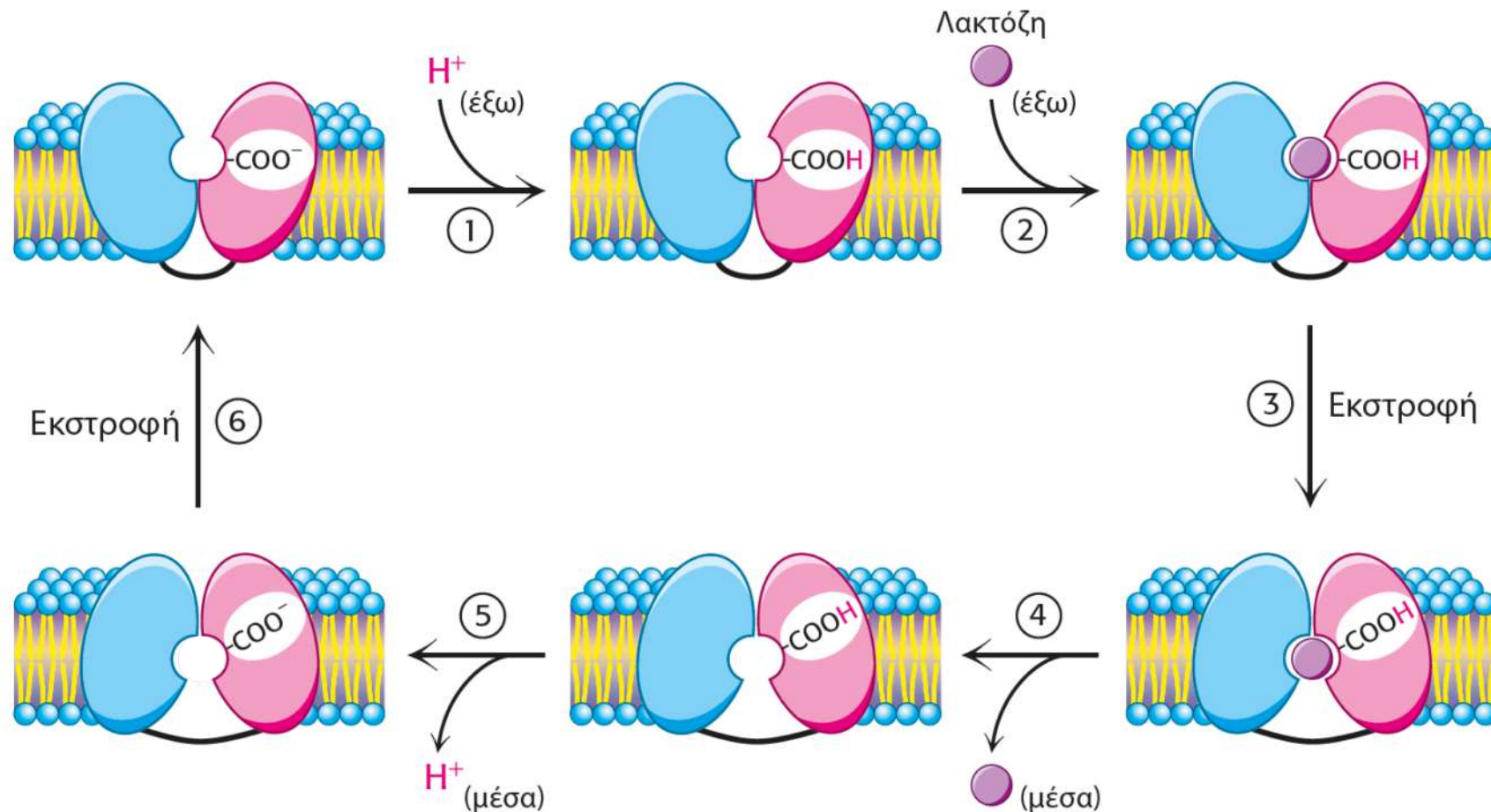
Μεταφορά ενός ιόντος ή μορίου προς τις δύο κατευθύνσεις, και η επιλογή εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του ίδιου του ιόντος ή μορίου σε κάθε πλευρά

13.3 Η διαπέραση της λακτόζης είναι ένα αρχέτυπο δευτερογενών μεταφορέων οι οποίοι χρησιμοποιούν μια βαθμίδωση συγκέντρωσης για να ενεργοποιήσουν τον σχηματισμό μιας άλλης

Η δομή της διαπεράσεως της λακτόζης (συν-κρυσταλλωμένο με ένα ανάλογο λακτόζης)



13.3 Η διαπέραση της λακτόζης είναι ένα αρχέτυπο δευτερογενών μεταφορέων οι οποίοι χρησιμοποιούν μια βαθμίδωση συγκέντρωσης για να ενεργοποιήσουν τον σχηματισμό μιας άλλης



Ο μηχανισμός δράσης της διαπεράσεως της λακτόζης (ένας συµμεταφορέας)

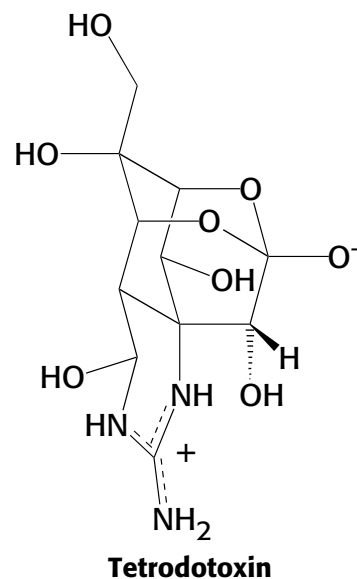
13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Η δομή ενός διαύλου καλίου είναι αρχέτυπο για πολλές δομές ιοντικών διαύλων

Ο διάυλος Na^+ απομονώθηκε για πρώτη φορά από το ηλεκτροφόρο χέλι



Βάση της ικανότητάς του να δεσμεύει



Που απομονώθηκε από τα φουσκόψαρα

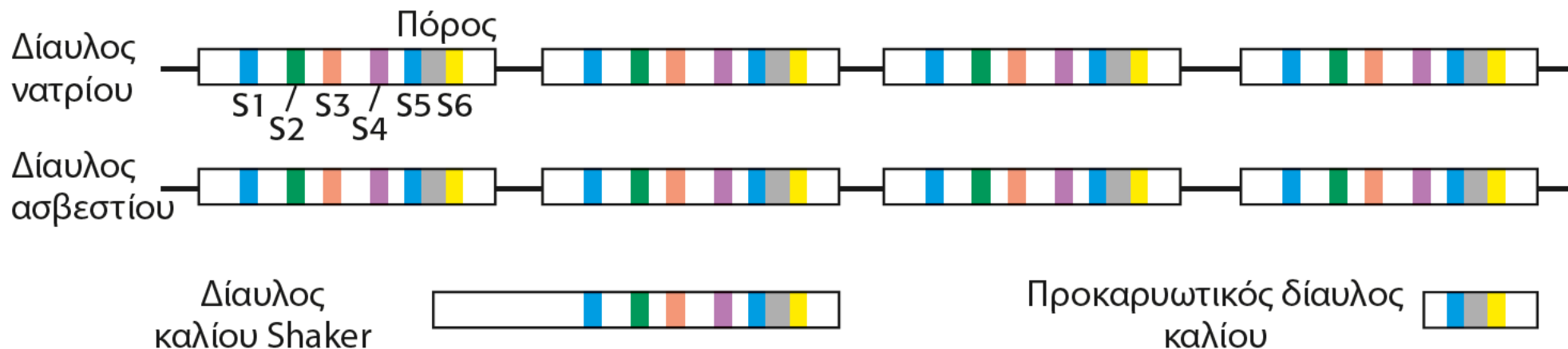


10 ng: Τόσο χρειάζεται για να γίνει το μοιραίο...

13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

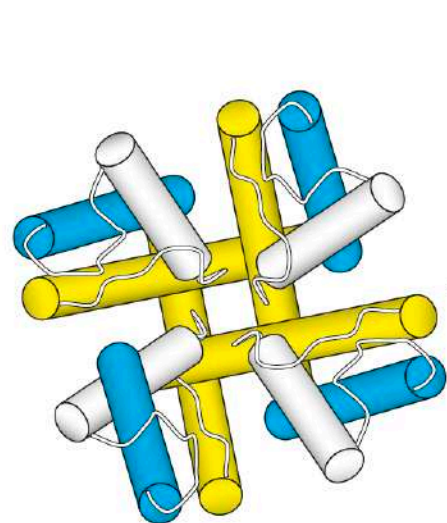
Σχέσεις των αλληλουχιών των ιοντικών διαύλων

- 4 επαναλαμβανόμενες μονάδες
- Κάθε επανάληψη σχηματίζει 6 μεμβρανικές αλυσίδες
- Μεταξύ των S5 και S6 είναι ο πόρος
- Τα S4 είναι πολύ θετικά τμήματα καθώς περιέχουν Arg ή Lys – αισθητήρες δυναμικού του διαύλου

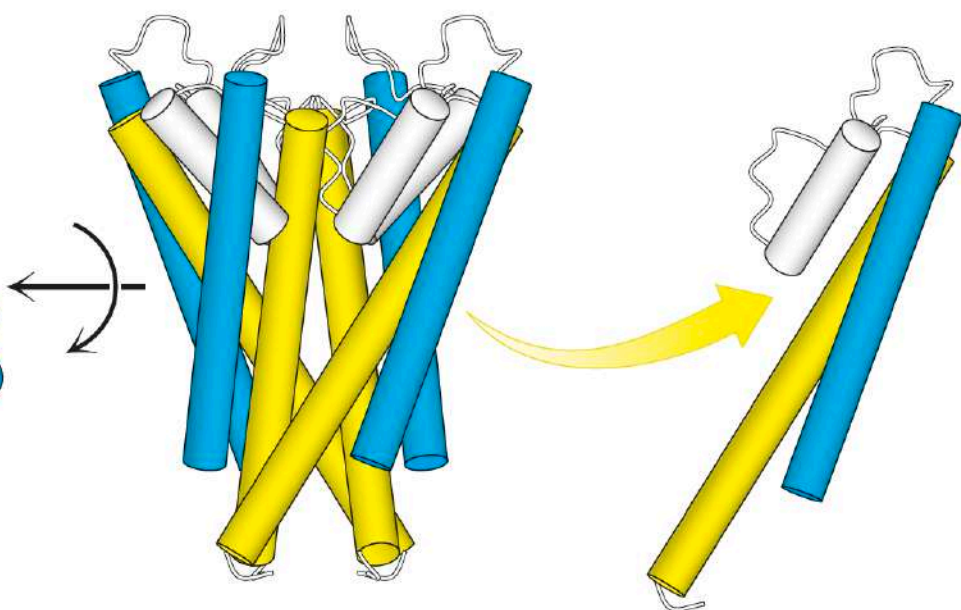


13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Η δομή του ιοντικού διαύλου του καλίου

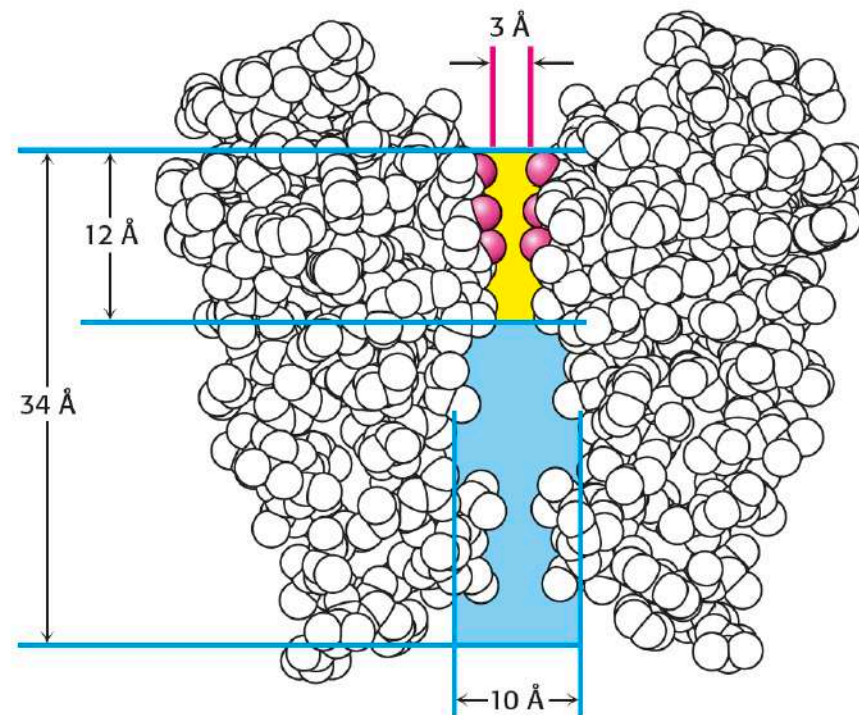


Κάτοψη του πόρου



Πλάγια όψη

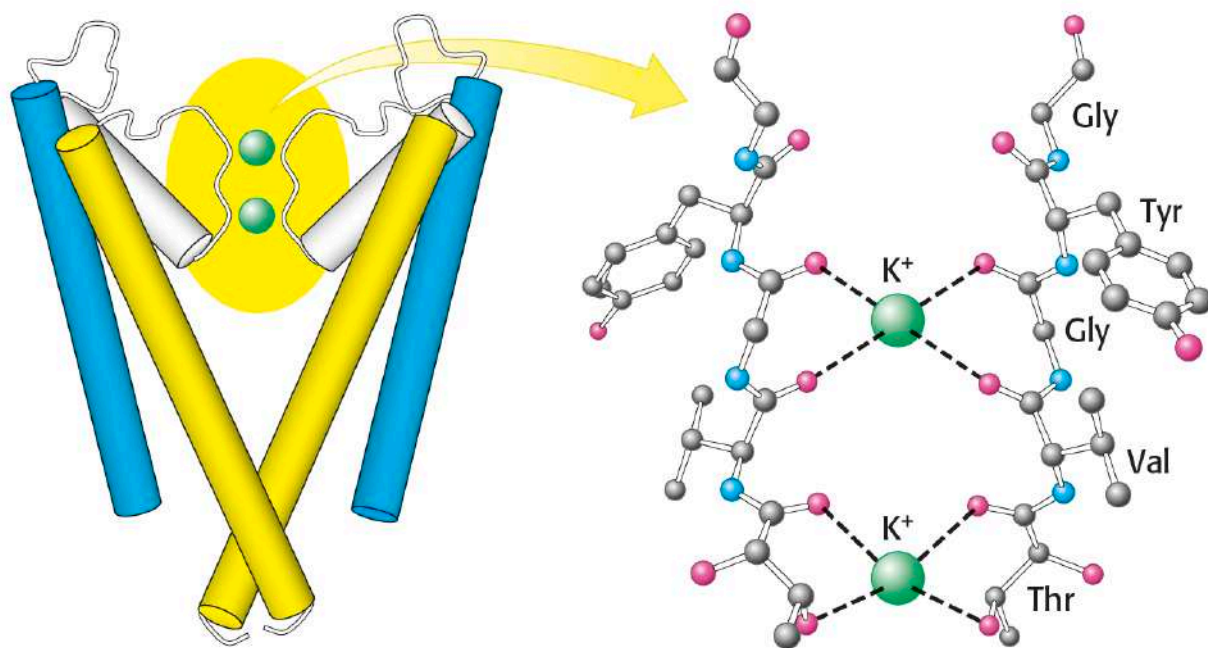
Μεμονωμένη υπομονάδα



13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Το φίλτρο επιλογής του ιοντικού διαύλου καλίου

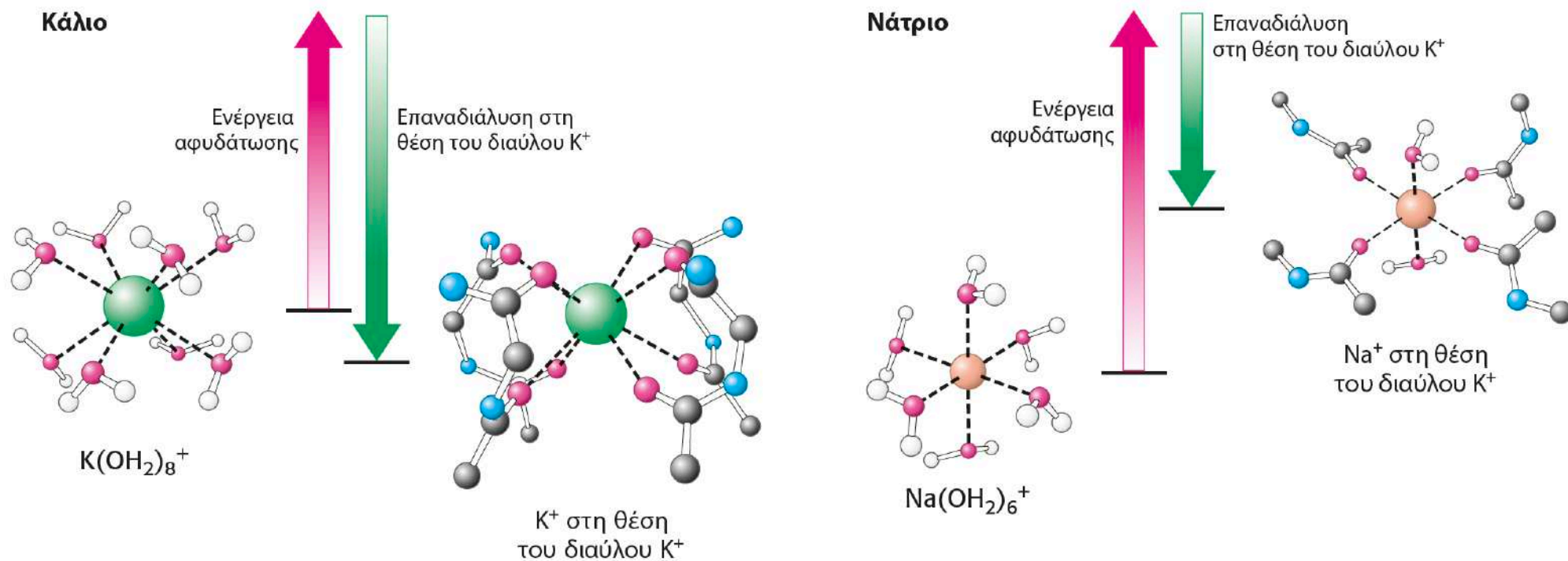
Πως απορρίπτεται το Na^+ ;
Αφού είναι αρκετό μικρό ώστε να περάσει.



Ιόν	Ιοντική ακτίνα (Å)	Ελεύθερη ενέργεια ενυδάτωσης kcal mol^{-1} (kJ mol^{-1})
Li^+	0,60	-98 (-410)
Na^+	0,95	-72 (-301)
K^+	1,33	-55 (-230)
Rb^+	1,48	-51 (-213)
Cs^+	1,69	-47 (-197)

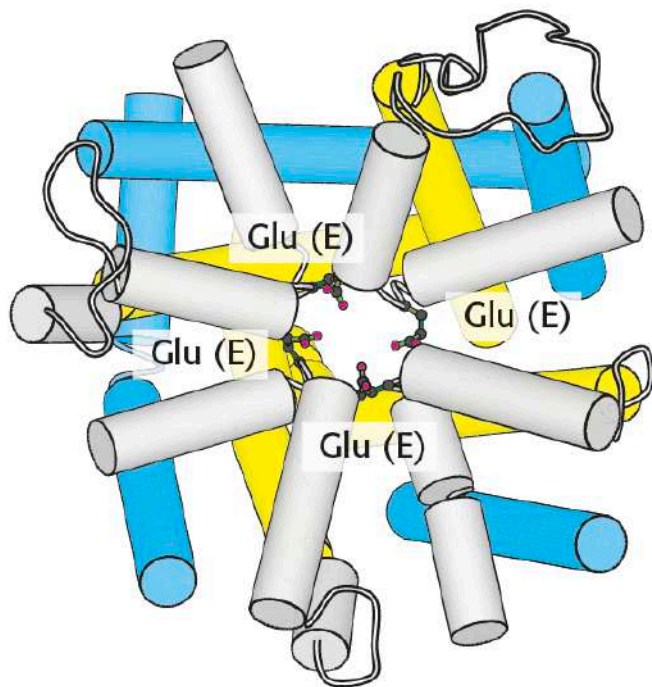
13.4 Ειδικοί διάλυτοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Πως απορρίπτεται το Na^+ ;

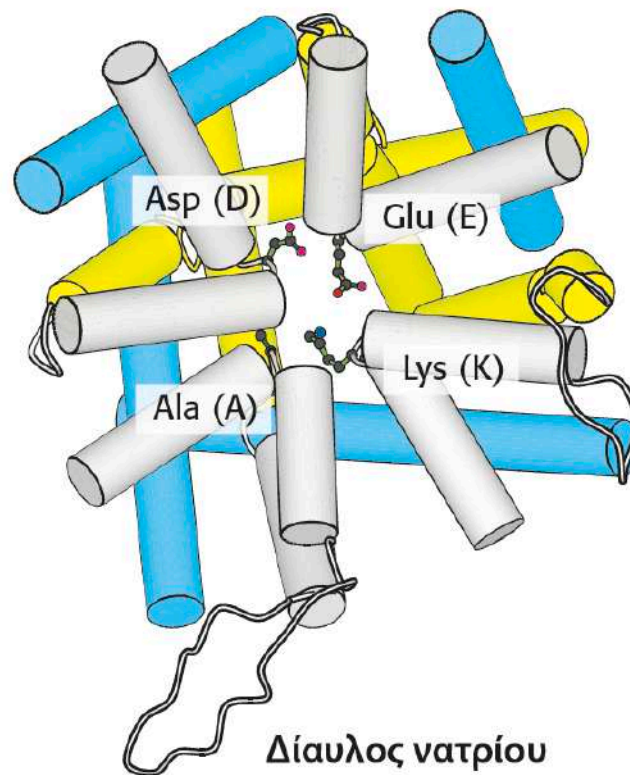


13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Φίλτρα επιλογής για τους διαύλους ασβεστίου και νατρίου



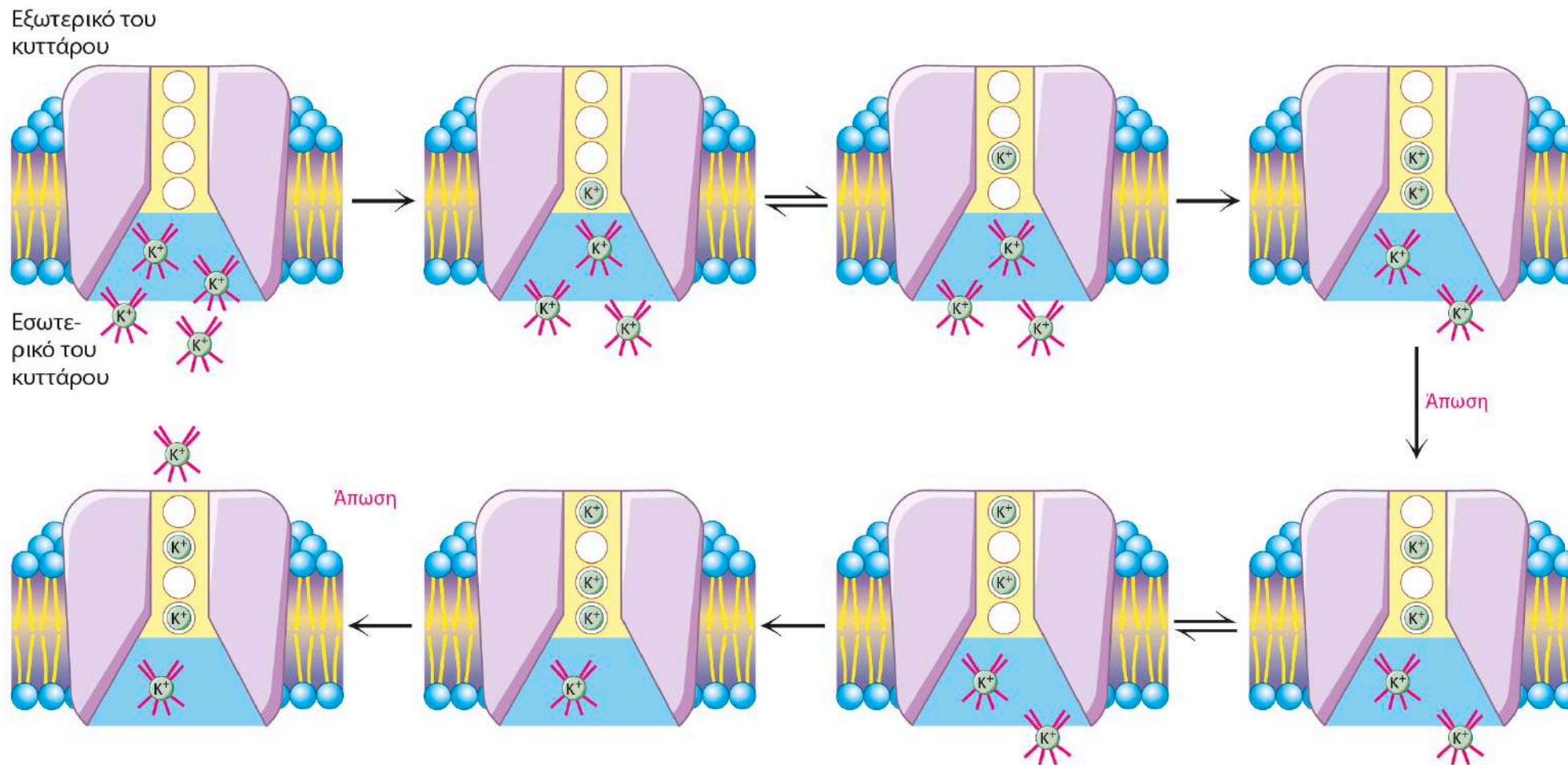
Δίαυλος ασβεστίου



Δίαυλος νατρίου

13.4

Μοντέλο ιοντικής μεταφοράς από τον διάλυλο του καλίου



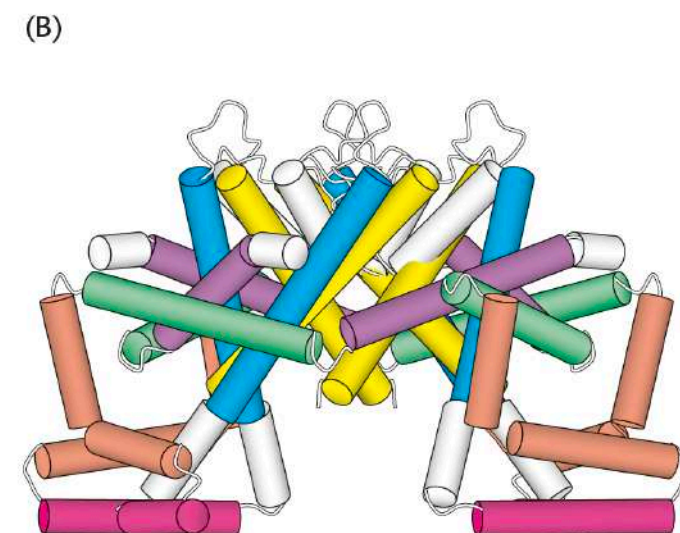
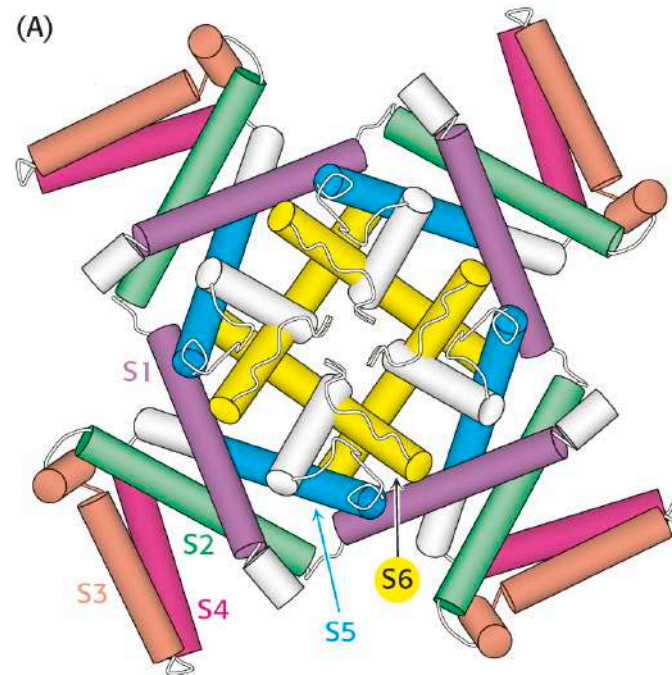
13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Οι μεταπτώσεις από την ανοιχτή στην κλειστή κατάσταση ελέγχονται

Δυο τάξεις ιοντικών διαύλων:

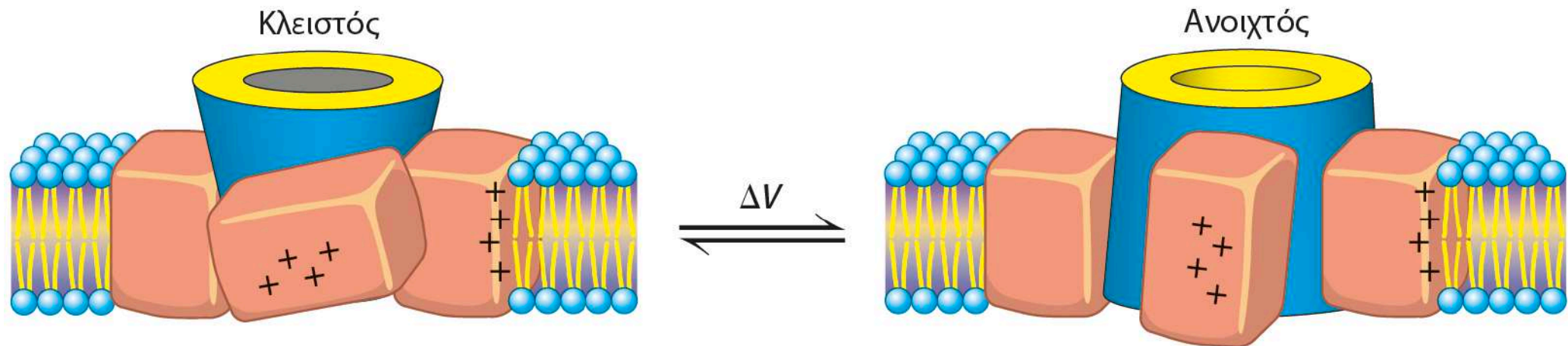
- a) ελεγχόμενους από πρόσδεμα διαύλους
- b) τασεοελεγχόμενους διαύλους

Ο έλεγχος της τάσης απαιτεί ουσιώδες μεταβολές της στεροδιάταξης ειδικών επικρατειών των ιοντικών διαύλων



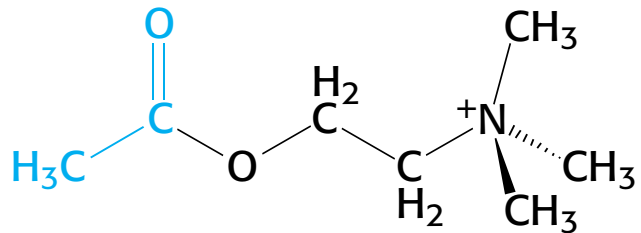
13.4 Ειδικό διάλυμα μπορούν να μεταφέρουν ταχύως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Ο έλεγχος της τάσης απαιτεί ουσιώδες μεταβολές της στεροδιάταξης ειδικών επικρατειών των ιοντικών διαύλων



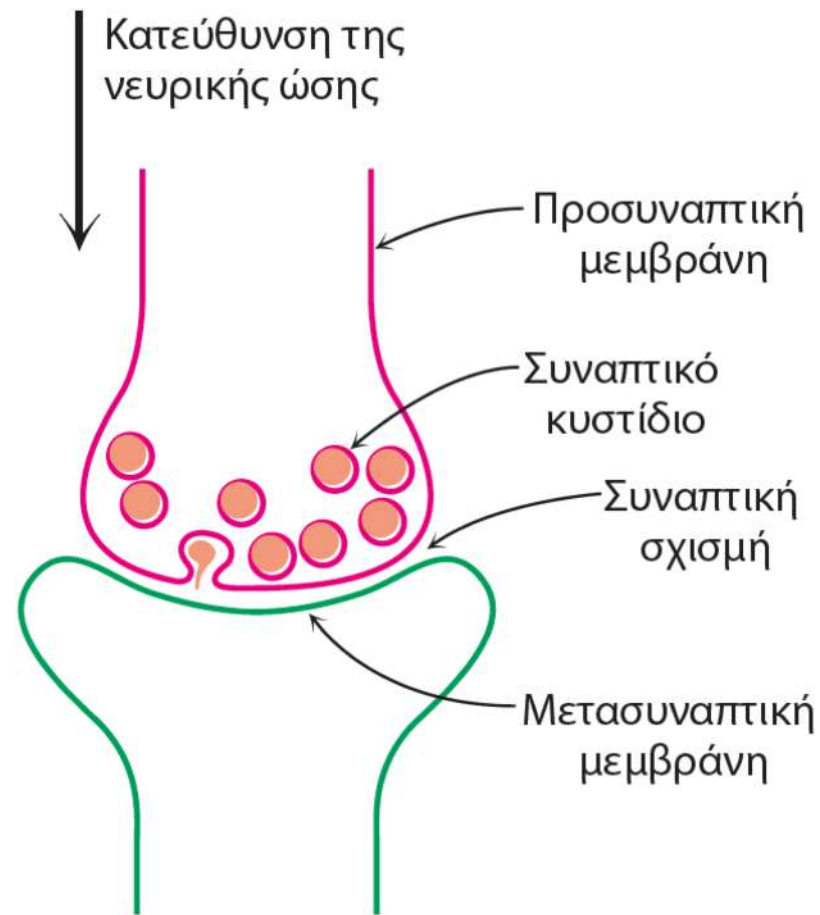
13.4 Ειδικοί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Ο υποδοχέας της ακετυλοχολίνης είναι ο καλύτερα κατανοητός διάυλος ελεγχόμενος από πρόσδεμα (ακετυλοχολίνη, ένας νευροδιαβιβαστής)



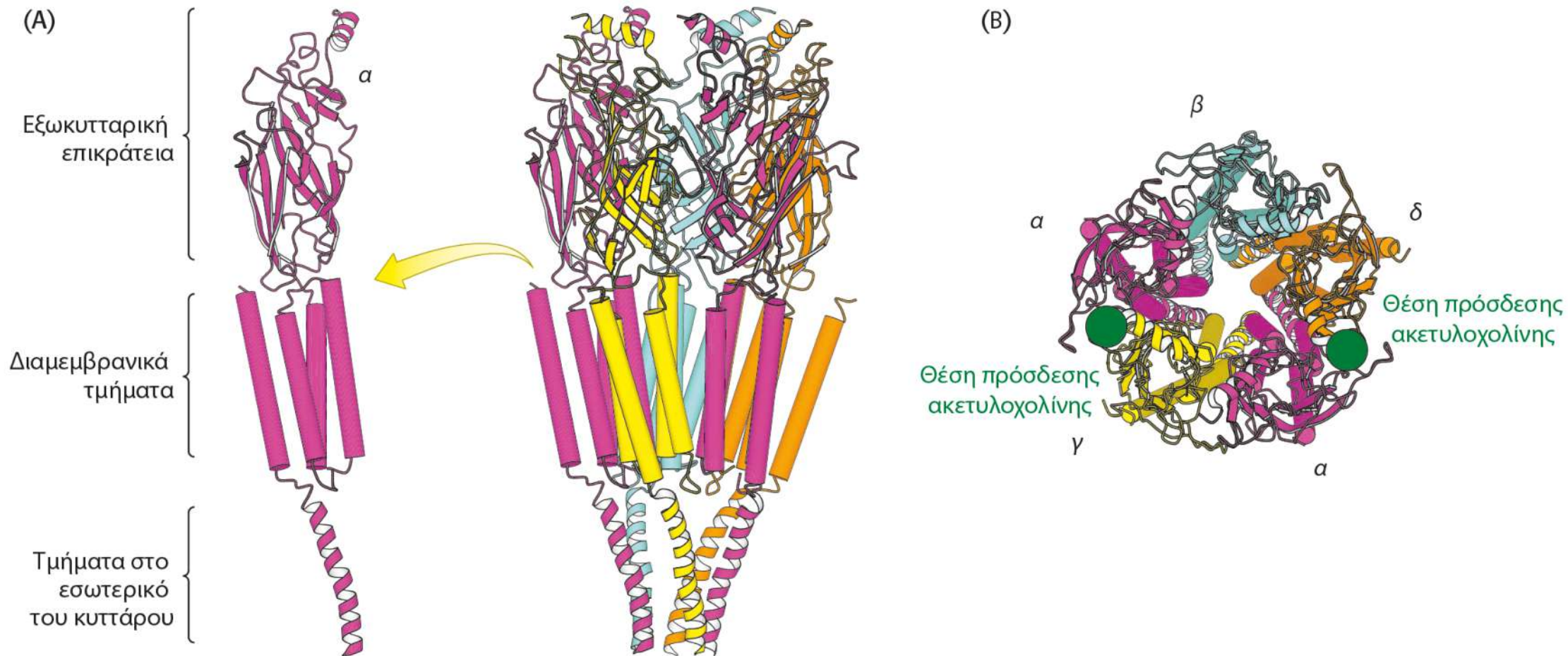
Acetylcholine

Ανοίγει ένα είδος κατιονικού διαύλου εξ ίσου διαπερατός από τα Na^+ και K^+



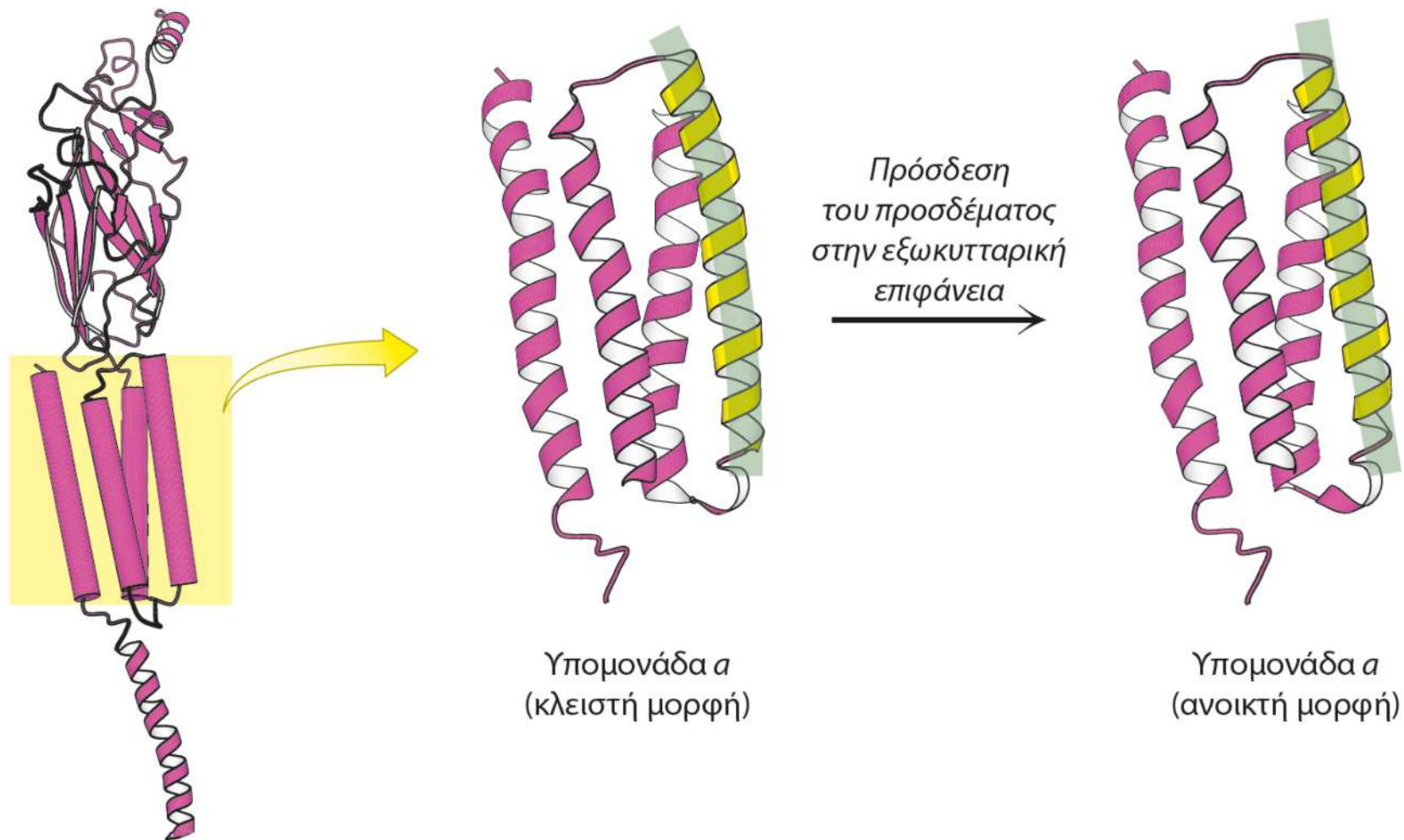
13.4

Η δομή του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης



13.4 Ειδικόί διάυλοι μπορούν να μεταφέρουν ταχέως ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Το άνοιγμα του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης





Άσκηση 1

Επωάζω την ΑΤΡάση Ca^{2+} ΣΔ με $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (περιέχει ραδιενεργό ^{32}P στην τελευταία φωσφορική ομάδα) στους 0°C για 20 δευτερόλεπτα και μετά τρέχω το δείγμα μου σε πηκτή με ηλεκτροφόρηση.

Παρατηρώ μια ραδιοσημασμένη ζώνη που αντιστοιχεί σε μοριακό βάρος της πρωτεΐνης.

1. Γιατί το βλέπω αυτό;
2. Θα περιμέναμε να δούμε μια αντίστοιχη ραδιοσημασμένη ζώνη αν κάναμε το ίδιο πείραμα με μια MDR πρωτεΐνη;