

Σύσταση και Αρχιτεκτονική των μεμβρανών

Η μελέτη της σύστασης είναι καθοριστικό για την κατανόηση της λειτουργίας κοινά συστατικά είναι τα πολικά λιπίδια και οι πρωτεΐνες και αντιπροσωπεύουν την μεγαλύτερη μάζα σε όλες τις κυτταρικές μεμβράνες άλλες ενώσεις είναι οι υδατάνθρακες που υπάρχουν στις γλυκοπρωτεΐνες και γλυκολιπίδια

ανάλογα τον τύπο της μεμβράνης η αναλογία σε πρωτεΐνες και λιπίδια διαφέρει σημαντικά

ΠΙΝΑΚΑΣ 11-1 Κύρια Συστατικά της Κυτταρικής Μεμβράνης σε Ποικίλους Οργανισμούς

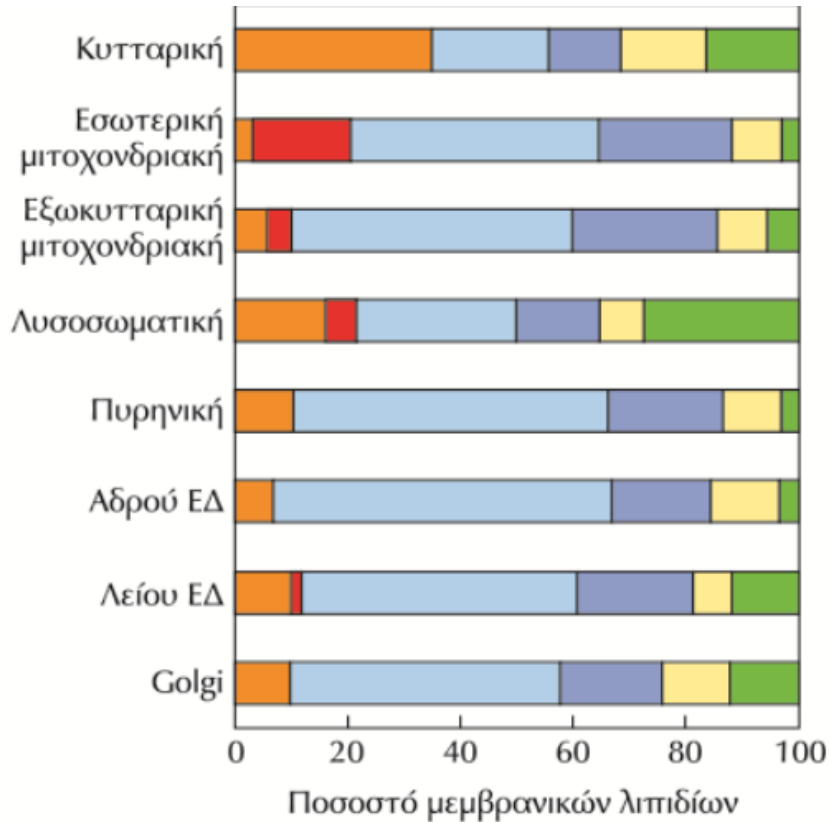
| | Συστατικά (% του βάρους) | | | Τύπος στερόλης | Άλλα λιπίδια |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------|----------|----------------|---------------------------------|
| | Πρωτεΐνες | Φωσφολιπίδια | Στερόλες | | |
| Μυελίνη ανθρώπου | 30 | 30 | 19 | Χοληστερόλη | Γαλακτολιπίδια, πλασματογόνα |
| Ήπαρ ποντικού | 45 | 27 | 25 | Χοληστερόλη | — |
| Φύλλο καλαμποκιού | 47 | 26 | 7 | Σιτοστερόλη | Γαλακτολιπίδια |
| Ζυμομύκητας | 52 | 7 | 4 | Εργοστερόλη | Τριγλυκερίδια, εστέρες στερολών |
| Paramecium (βλεφαριδοφόρο πρώτιστο) | 56 | 40 | 4 | Στιγμαστερόλη | — |
| <i>E. coli</i> | 75 | 25 | 0 | — | — |

Σημείωση: Το άθροισμα δεν είναι πάντοτε 100%, επειδή μπορεί να υπάρχουν και άλλα συστατικά εκτός από πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια και στερόλες. Για παράδειγμα, τα φυτά έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε γλυκολιπίδια.

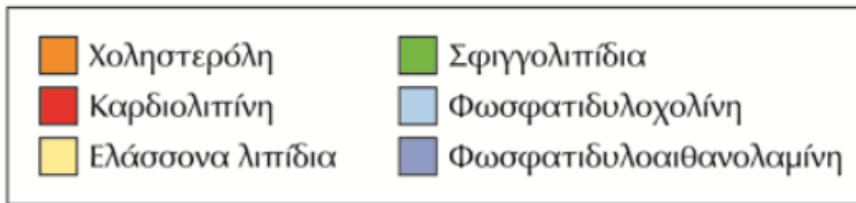
εφόσον υπάρχουν διαφορετικές αναλογίες και έτσι η μεμβράνες διαφοροποιούνται θα πρέπει να υπάρχουν και μηχανισμοί που ελέγχουν την περιεκτικότητα αυτών των συστατικών και την μεταφορά τους στην κατάλληλη θέση (οργανίδια)

Η λιπιδιακή σύσταση αντικατοπτρίζει τη λειτουργική εξειδίκευση της κάθε μεμβράνης (ηπατοκυττάρο αρουραίου)

Τύπος μεμβράνης ηπατοκυττάρου αρουραίου



η **χοληστερόλη** (δίνει πλαστικότητα σε διαφορετικές θερμοκρασίες) ανιχνεύεται ελάχιστα στην μιτοχονδριακή αλλά υπάρχει σε μεγάλες ποσότητες στην κυτταρική, η **καρδιολιπίνη** είναι κύριο συστατικό των εσωτερικών μεμβρανών η **φωσφατιδυλοϊνσιτόλη** (ελάσσονα) παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταβίβαση σήματος (πυροδοτούν οι ορμόνες)



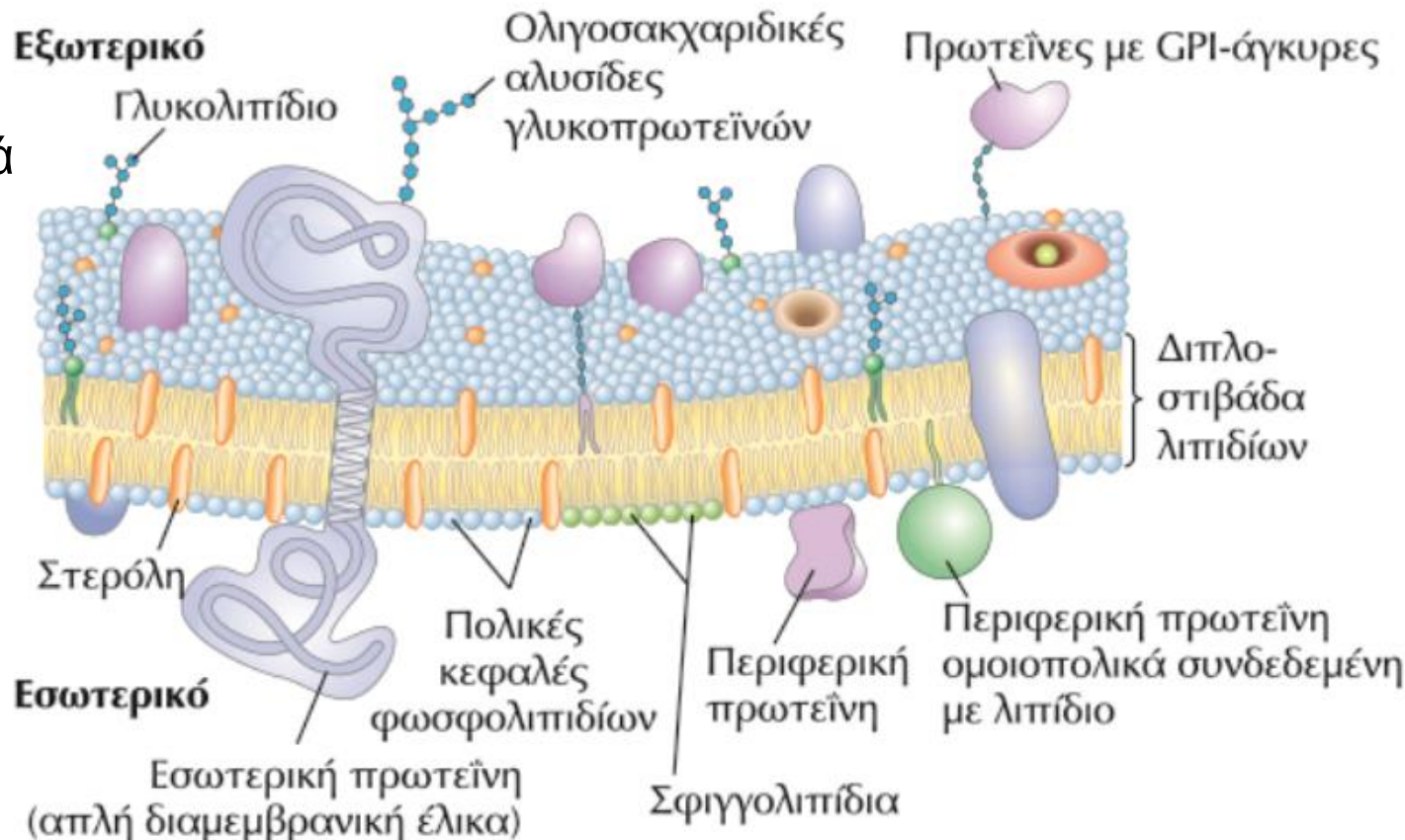
ορισμένες πρωτεΐνες συνδέονται ομοιοπολικά με ολιγοζαχαρίτες π.χ. στη γλυκοφορίνη (γλυκοπρωτεΐνη της κυτταρικής μεμβράνης των ερυθροκυττάρων) το 60% της μάζας αποτελείται περίπλοκους ολιγοσακχαρίτες μονάδες ομοιοπολικά συνδεδεμένο με κατάλοιπα αμινοξέων (Ser, Thr, Asn) παίζουν ρόλο στην σύνδεση με ειδικούς γλυκοπρωτεϊνικούς υποδοχείς

κοινές θεμελιώδεις ιδιότητες των βιολογικών μεμβρανών (ρευστό μωσαϊκό)

1. Έχουν δομή λεπτού φύλλου- κλειστό σύνορο πάχους 50-80Å (5 και 8 nm)
2. Σχηματίζονται από λιπίδια με μια υδρόφιλη και μια υδρόφοβη ομάδα, κλειστά διμοριακά λεπτά φύλλα = διπλοστοιβάδες
3. Οι μη πολικές περιοχές φέρονται προς το κέντρο της διπλοστοιβάδας ενώ οι πολικές ομάδες (κεφαλές) φέρονται προς τα έξω αλληλοεπιδρώνοντας με την υδατική φάση
5. Είναι ρευστές δομές- χωρίς δυνατότητα εγκάρσιας διάχυσης.

4. Είναι μη ομοιοπολικά συγκροτήματα.

6. Είναι ασύμμετρες.



Λιπιδική διπλοστιβάδα είναι το βασικό των στοιχείο το μεμβρανών

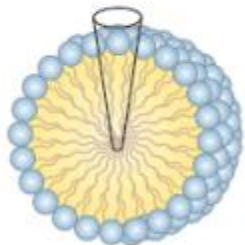
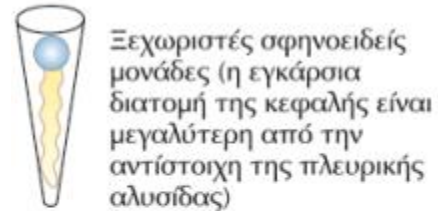
Γλυκερόφωσφολιπίδια, σφιγγολιπίδια και στερόλες είναι ουσιαστικά αδιάλυτα στο νερό.

Όταν αναμιχθούν με νερό σχηματίζουν σε αυθόρμητα μικροσκοπικές λιπιδικές συμπλέγματα με τα υδρόφοβα τμήματά τους να εφάπτονται μεταξύ τους ενώ οι υδρόφιλες ομάδες στο αλληλοεπιδρούν με το νερό

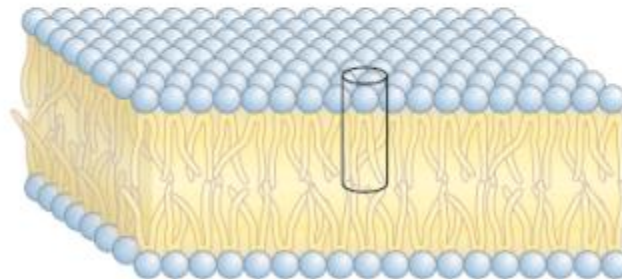
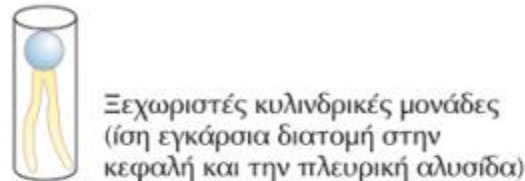
η συνάθροιση ευνοεί την μείωση της υδρόφοβης επιφάνειας και οδηγεί σε αύξηση εντροπίας το φαινόμενο συμβαίνει αυθόρμητα $\Delta G < 0$

...με τις διπλοστοιβάδες να έχουν τρεις σημαντικές βιολογικές συνέπειες

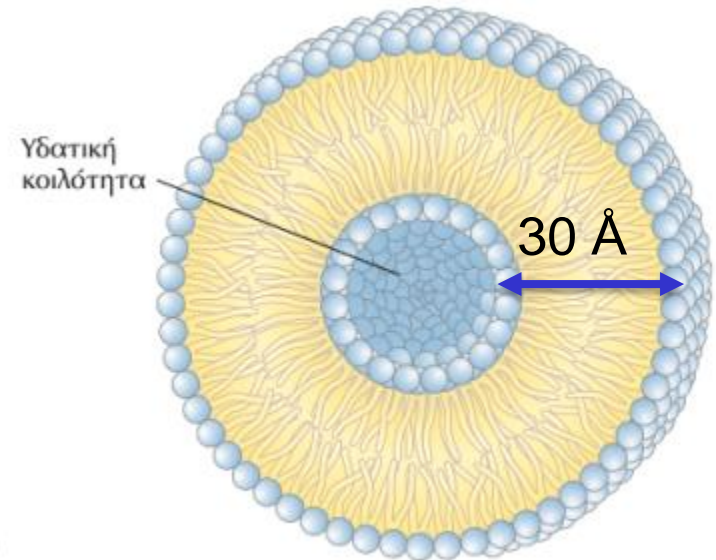
1. Έχουν την εγγενή τάση να είναι εκτεταμένες
2. Έχουν την τάση να ενώνουν τα άκρα (διαμερισματοποίηση)
3. Κλείνουν από μόνες τους- η σπές δεν ευνοούνται ενεργειακά
4. Είναι υδρόφιλες και εξωτερικά και εσωτερικά (αντίθετα με τα μικκύλια)



(α) Μικήλλιο

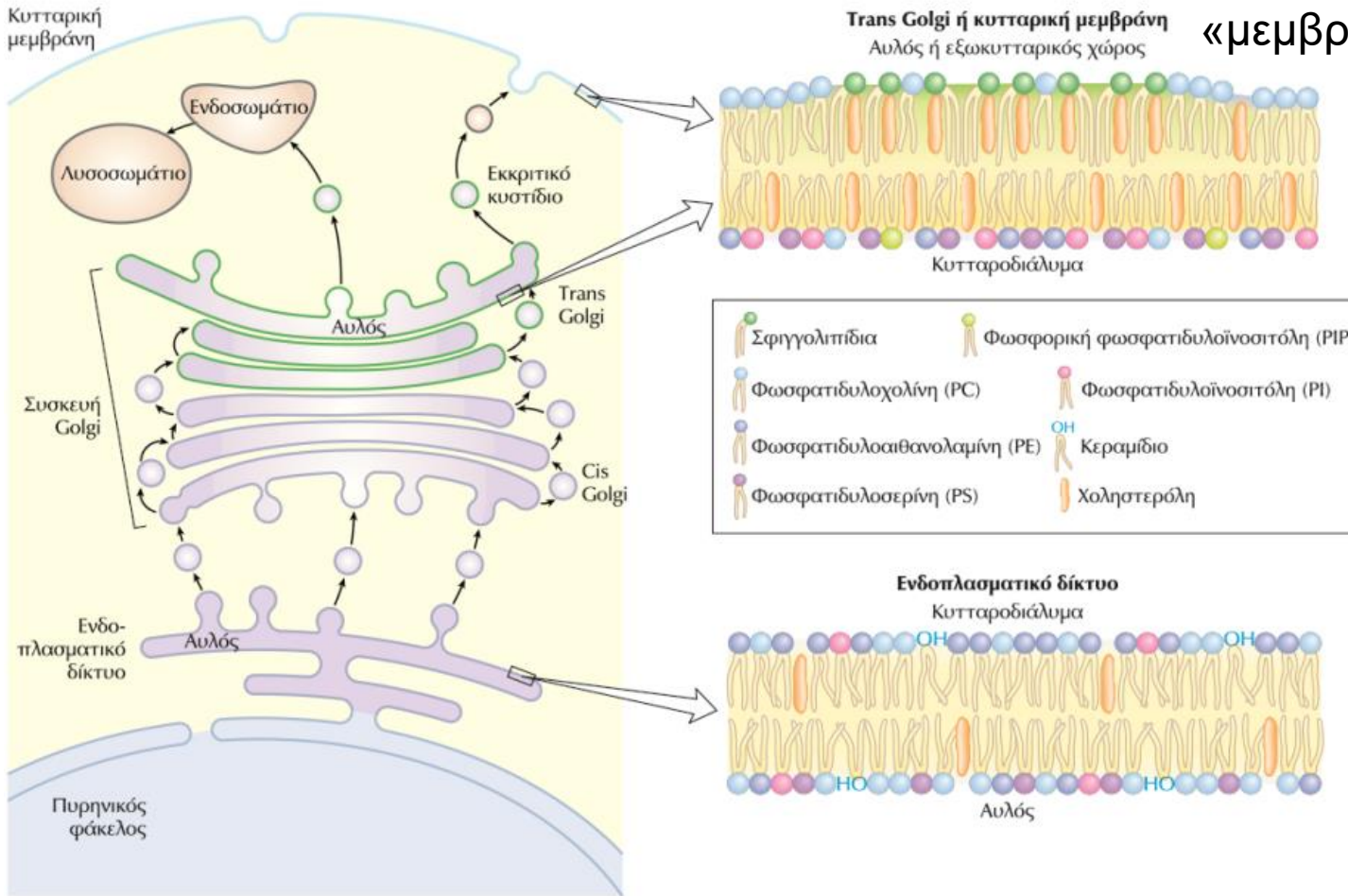


(β) Διπλοστιβάδα



(γ) Λιποσωμάτιο

τα περισσότερα λιπίδια και πρωτεΐνες της μεμβράνης συντίθενται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) και μετακινούνται προς τα οργανίδια και την κυτταρική μεμβράνη κατά τη διάρκεια της «μεμβρανικής διακίνησης»

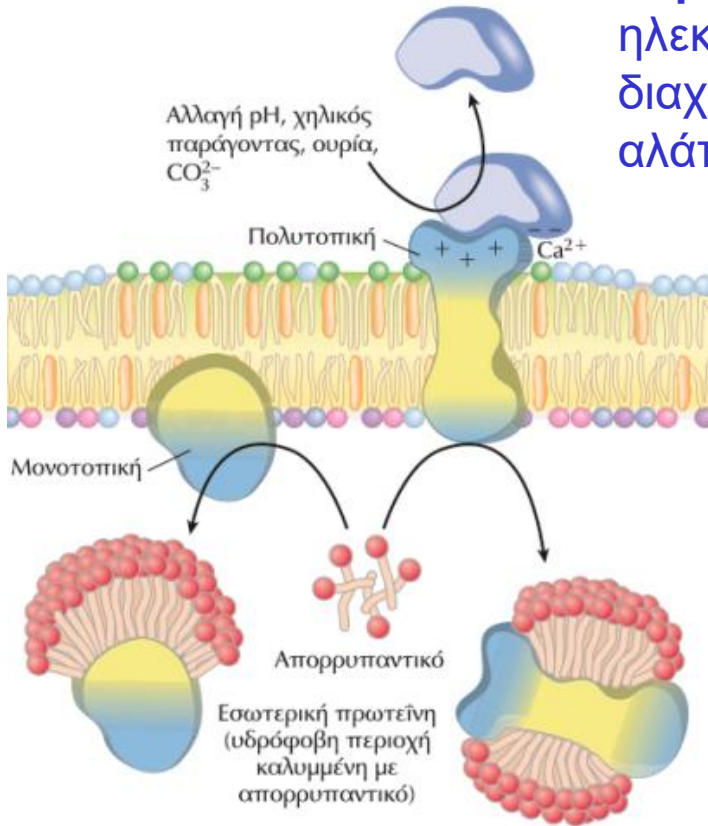


Τύποι μεμβρανικών πρωτεϊνών

Εσωτερικές πρωτεΐνες (integral proteins) διαχωρίζονται με απορρυπαντικά **Μονοτοπικές** (monotopic) αλληλεπιδρούν με μια στοιβάδα ή **Πολυτοπικές** (polytopic) διαθέτουν μια πολυπεπτιδική αλυσίδα που διασχίζει εγκάρσια την μεμβράνη

Εσωτερικές πρωτεΐνες

Περιφερειακές πρωτεΐνες (συγκρατούνται με ηλεκτροστατικές δυνάμεις) διαχωρίζονται με προσθήκη αλάτων

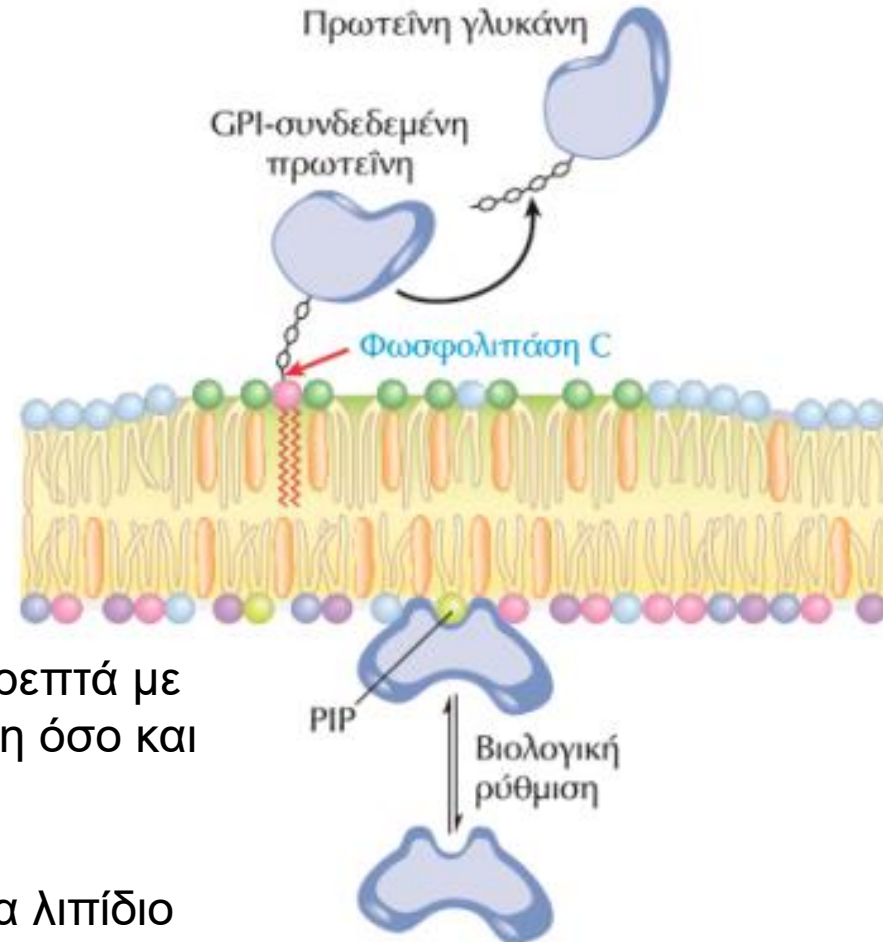


Αμφιτροπικές πρωτεΐνες

Πρωτεΐνη γλυκάνη

GPI-συνδεδεμένη πρωτεΐνη

Φωσφολιπάση C



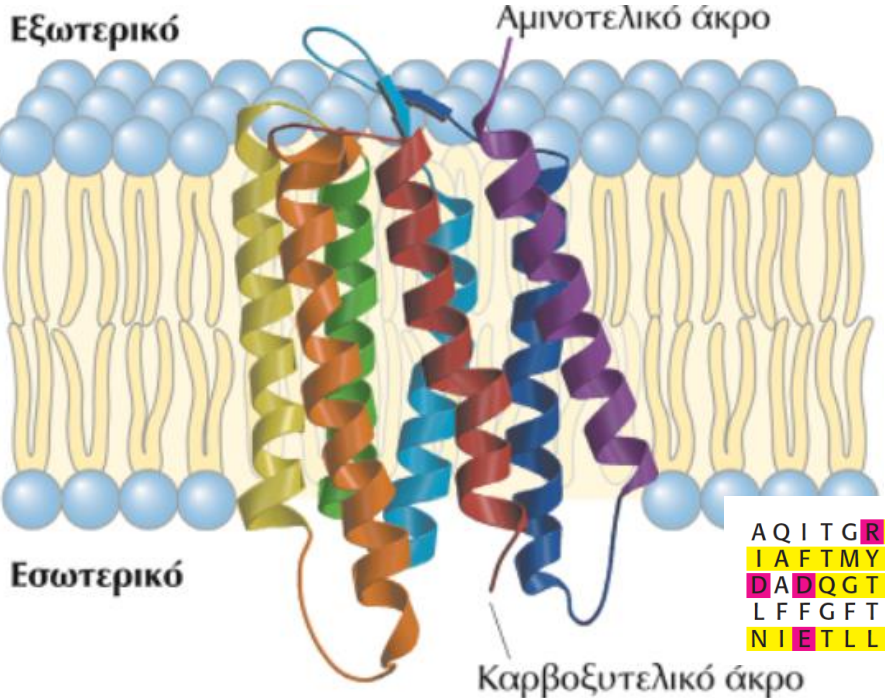
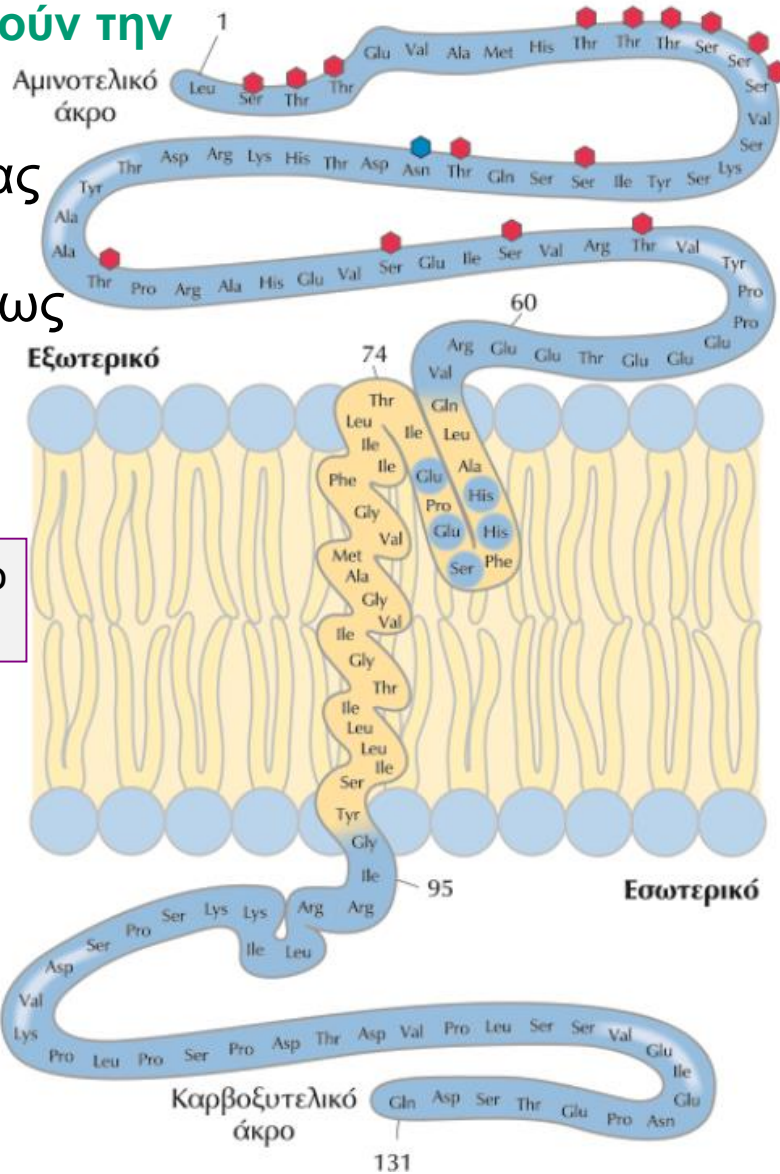
Αμφιτροπικές πρωτεΐνες συσχετίζονται αντιστρεπτά με τις μεμβράνης εντοπίζονται τόσο στην μεμβράνη όσο και στο κυτταρόπλασμα.

Σε ορισμένες περιπτώσεις συνδέονται με μη ομοιοπολικές ή με ομοιοπολική σύνδεση με ένα λιπίδιο

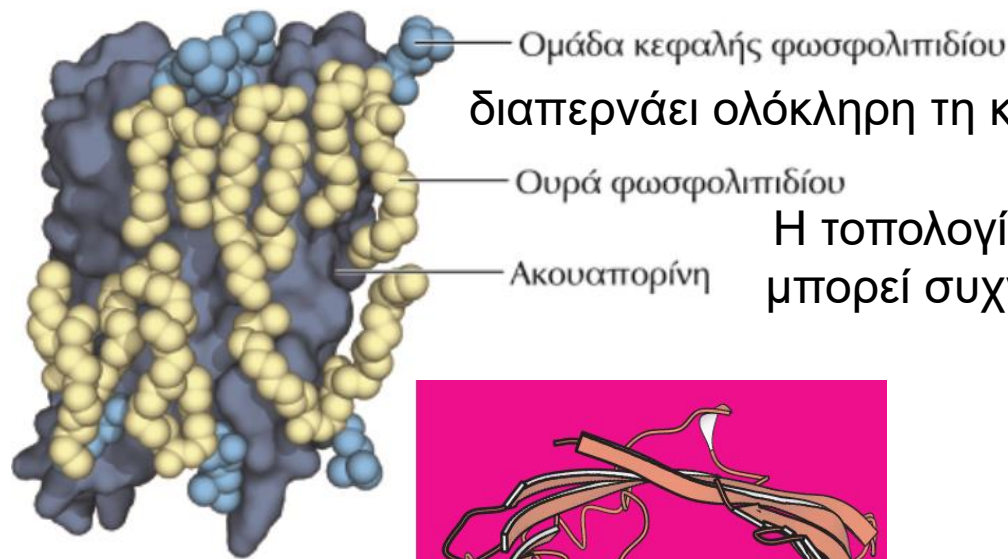
εσωτερικές μεμβρανικές πρωτεΐνες που διαπερνούν την λιπιδική διπλοστοιβάδα

μπορούμε να διαπιστώσουμε την τοπολογία μιας πρωτεΐνης (γλυκοφορίνη) είτε προσθέτοντας αντιδραστήρια που αντιδρούν με κατάλοιπα όπως η Lys (πρωτογενής αμίνες) είτε προσθέτοντας πρωτεάσες όπως οι *θρυψίνη* που διασπούν πρωτεΐνες

Τα **υδρόφοβα** και **υδρόφιλα** αμινοξέα κατατάσσονται στο περιβάλλον που ευνοεί τις κατάλληλες αλληλεπιδράσεις

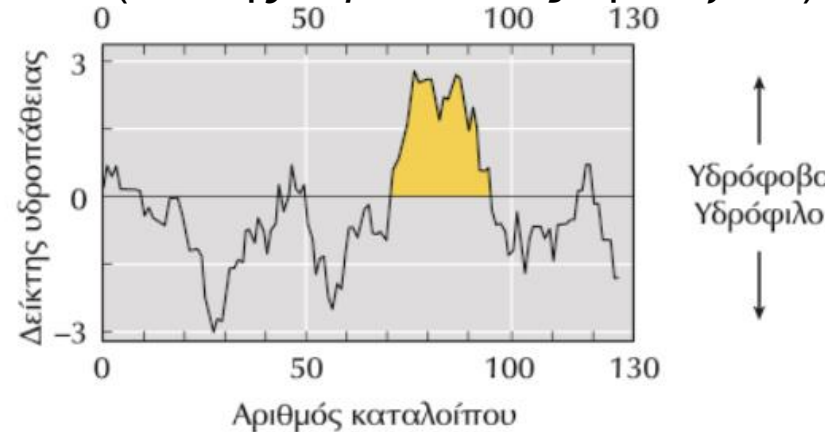


AQITGRPEWIIWLAGTALMGLGTLYFLVKGMGVSDPDAKKFYAITTLVPA
 IAFITMYLSMLLIGYGLTMVPPFGGEQNPITYWARYADWLF TTP LLLL D LALLV
 DADQGTILALVGADGIMIGTGLVGALTKVYSYRFVWVAISTAAML Y ILYV
 LFFGFTSKAESMRPEVASTFKVLRNVTVVLWSAYVVVWLI GSEGAGIVPL
 NIETLLFMVLDVSAKVGFGLLLRSR AIFGEAEAPEPSADGAAATS

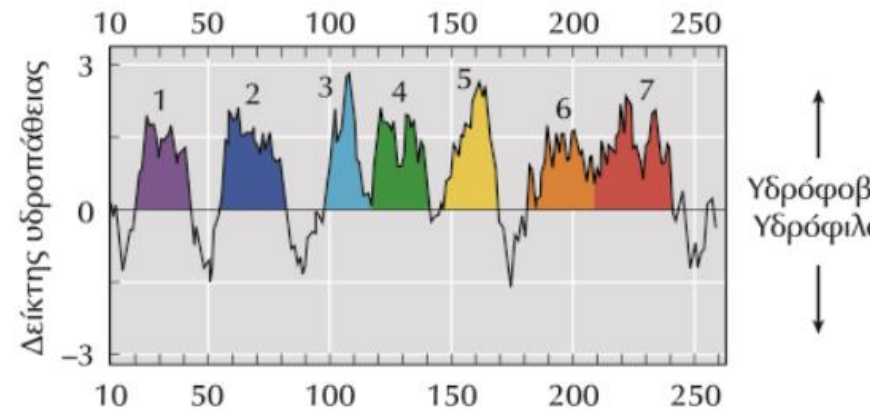
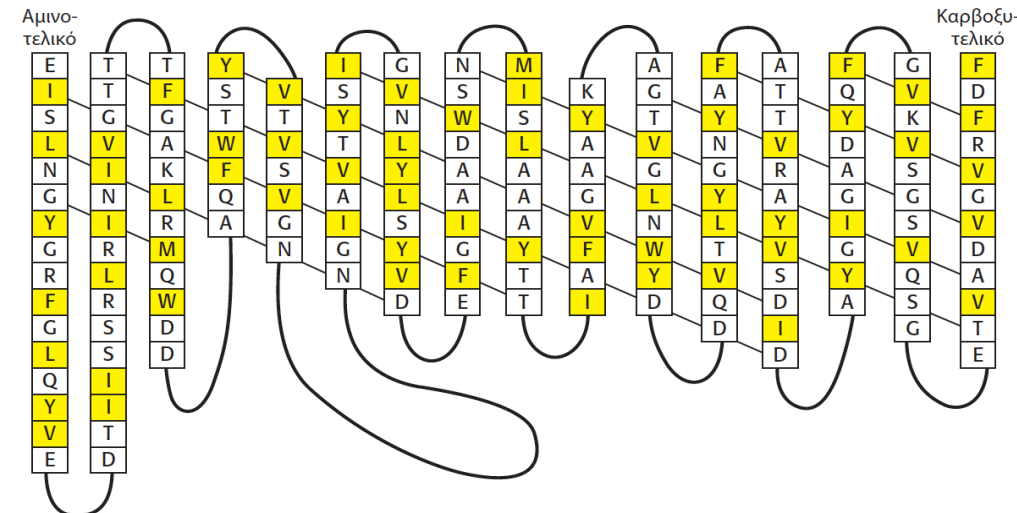


διαπερνάει ολόκληρη τη κυτταρική μεμβράνη και αφήνει εσωτερικά έναν υδρόφοβο/πολικό διάυλο νερού

Η τοπολογία μιας εσωτερικής μεμβρανικής πρωτεΐνης μπορεί συχνά να προβλεφθεί από την αλληλουχία της (δείκτης υδροπάθειας αμινοξέων)



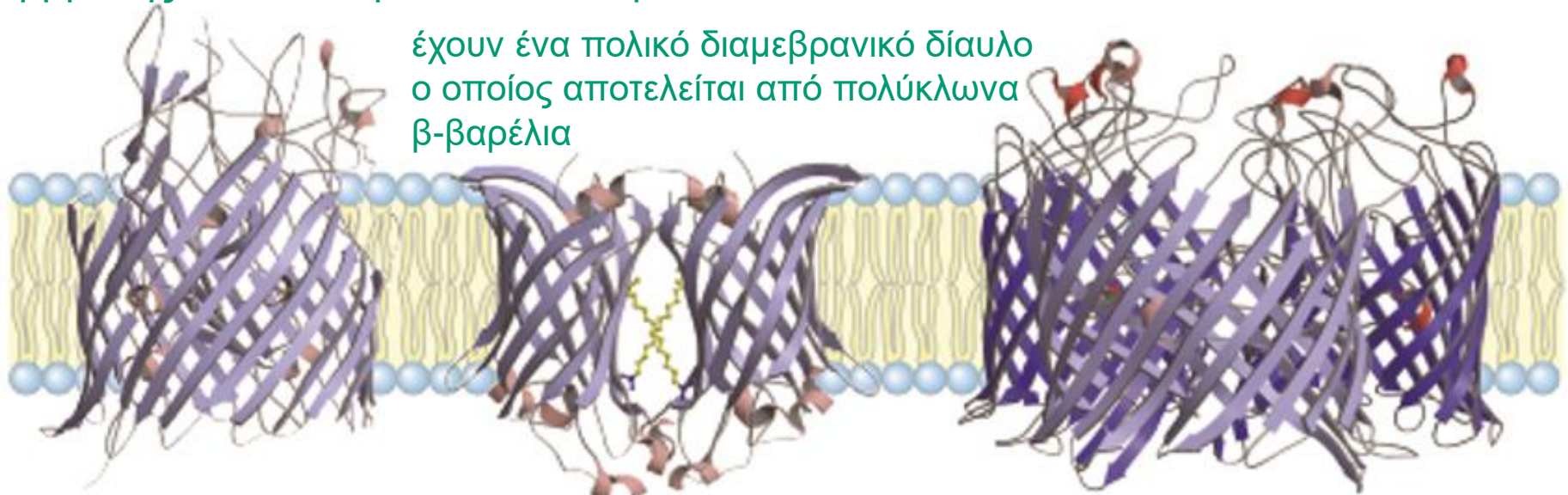
(α) Γλυκοφορίνη



(β) Βακτηριοροδοψίνη

Οι πορίνες επιτρέπουν τη δίοδο επιλεγμένων ουσιών από την εξωτερική μεριά της μεμβράνης στο εσωτερικό του κυττάρου

έχουν ένα πολικό διαμεμβρανικό διάυλο ο οποίος αποτελείται από πολύκλινα β-βαρέλια



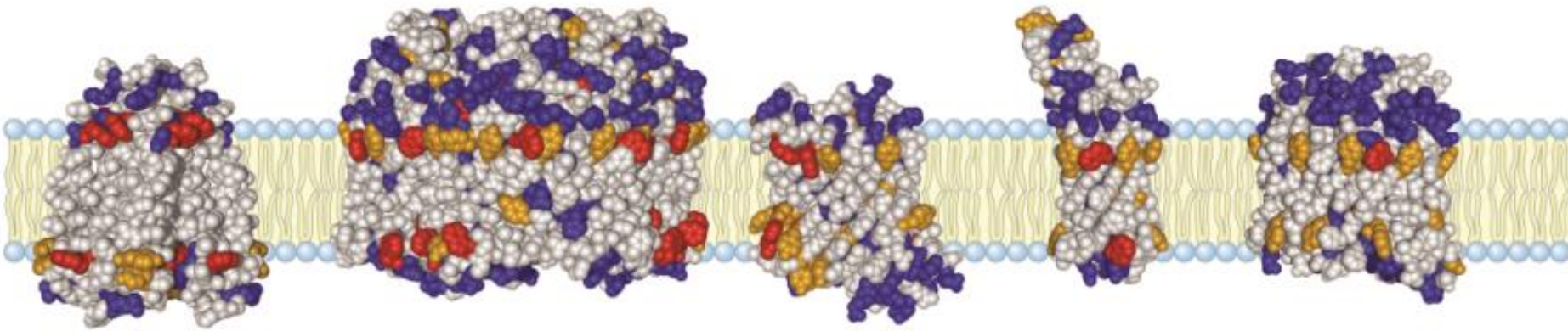
FepA

OmpLA

Μαλτοπορίνη

ένα άλλο χαρακτηριστικό είναι η παρουσία κατάλοιπων Tyr και Trp στην διάφραση λιπιδίων/νερού καθώς και θετικά φορτισμένων αμινοξέων (Lys, Arg) στην εξωτερική & εσωτερική πλευρά της μεμβράνης

● Φορτισμένα κατάλοιπα ● Trp ● Tyr



Δίαυλος K⁺

Μαλτοπορίνη

OmpLA

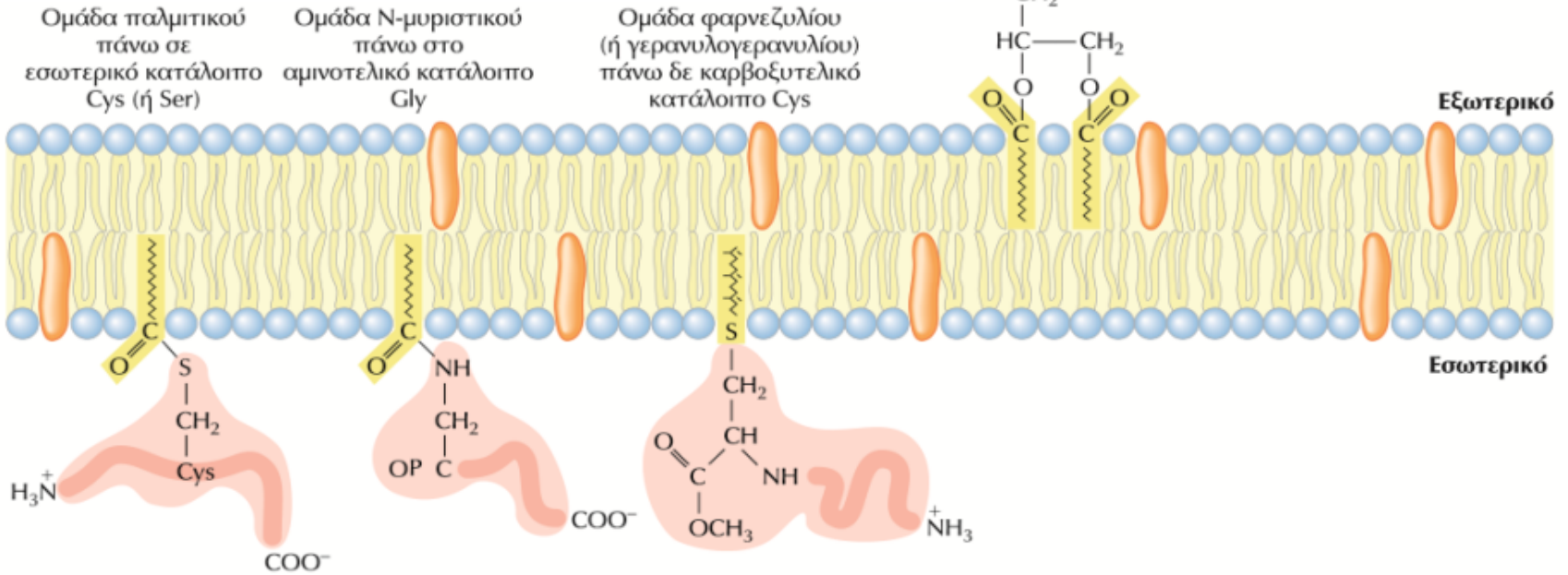
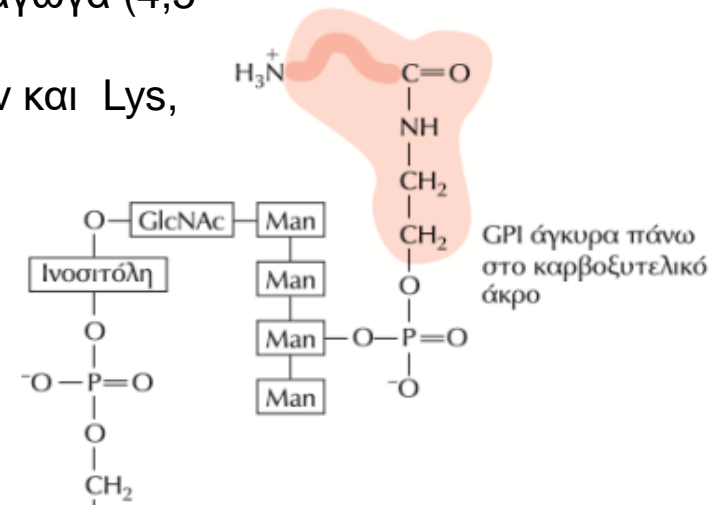
OmpX

Φωσφοπορίνη E

ομοιοπολικά συνδεδεμένα λιπίδια αγκυροδοτούν μεμβρανικές πρωτεΐνες

επιμήκη ΛΟ, ισοπρενοειδή, στερόλες ή γλυκολυζωμένα παράγωγα (4,5 P-ινοσιτόλη/ PIP₂) ισχυρές υδροφοβικής αλληλεπιδράσεις σε συνδυασμό με ιοντικές έλξεις μεταξύ (-) κεφαλές των λιπιδίων και Lys, Arg των πρωτεϊνών

Πρωτεΐνες με GPI άγκυρα βρίσκονται αποκλειστικά στην εξωτερική μεριά της μεμβράνης. Η -PO₄⁻ της PIP₃ μπορεί να αφαιρεθεί ενζυμικά και η πρωτεΐνη να απομακρυνθεί από την μεμβράνη. Άλλες πρωτεΐνες διαθέτουν για περιοχή που προσδένει PIP₃ το οποίο σχηματίζεται & αποδομείται σαν ανταπόκριση σε ορμονικά και άλλα σήματα



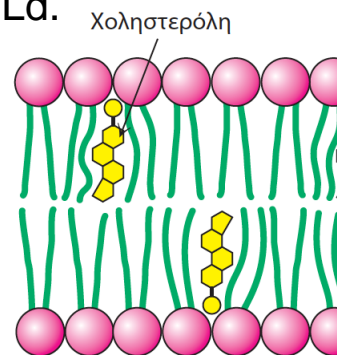
Δυναμική της μεμβράνης

στο εξωτερικό της διπλοστιβάδας οι ακυλομάδες εμφανίζουν ποικίλη διάταξη

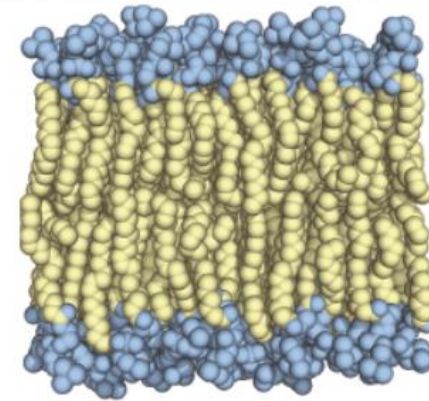
πυκνωματώδη υγρή οργανωμένη κατάσταση (L_o)

υγρή αποδιοργανωμένη κατάσταση (L_d)

στη ρευστότητα της μεμβράνης συμβάλλουν και άλλοι παράγοντες. Στερόλες όπως οι χοληστερόλη αλληλεπιδρούν με ακόρεστες ακυλομάδες και από L_d δημιουργούν L_o αντίθετα με μακριές ακυλομάδες από L_o δημιουργούν L_d .

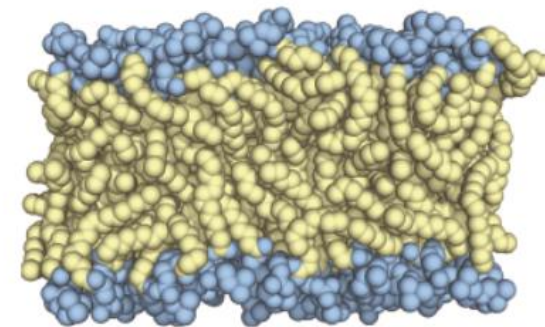


(α) Υγρή οργανωμένη κατάσταση (L_o)



↑ Η θερμότητα προκαλεί θερμική κίνηση των πλευρικών αλυσίδων (μετάβαση $L_o \rightarrow L_d$)

(β) Υγρή αποδιοργανωμένη κατάσταση (L_d)



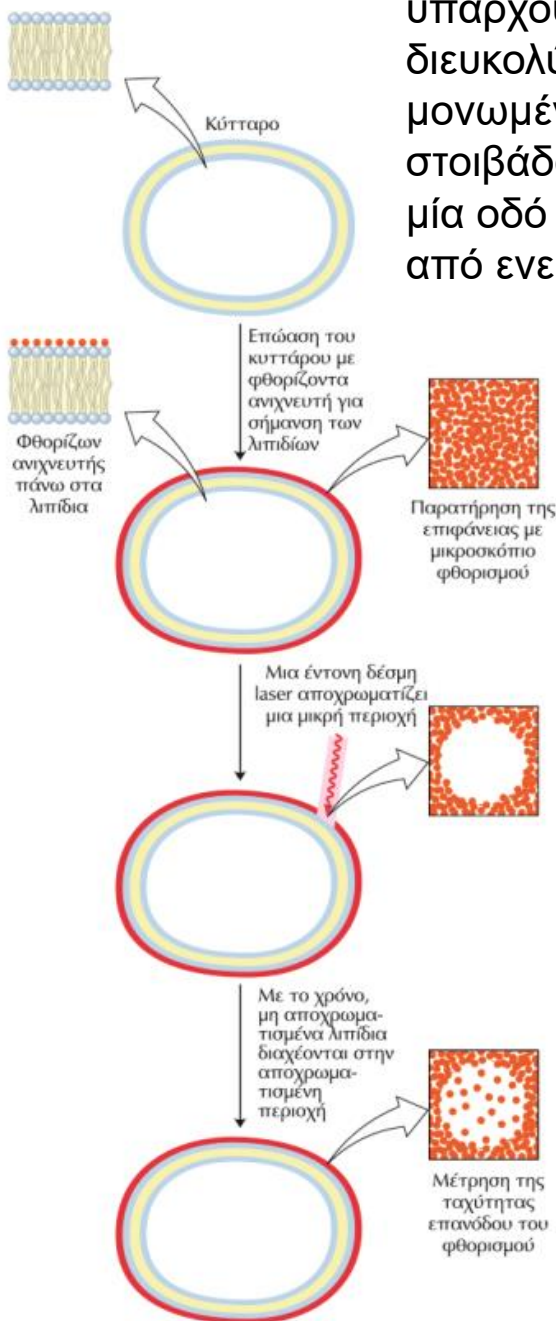
τα κύτταρα ρυθμίζουν την σύστασή τους σε λιπίδια ώστε να επιτύχουν μεβρανική ρευστότητα σε διάφορες συνθήκες ανάπτυξης και θερμοκρασίας

ΠΙΝΑΚΑΣ 11-2 Η Σύσταση σε Λιπαρά Οξέα Κυττάρων *E. coli* που Υποβάλλονται σε Καλλιέργεια σε Διαφορετική Θερμοκρασία

| | Ποσοστό συνολικών λιπαρών οξέων* | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|------|------|------|
| | 10°C | 20°C | 30°C | 40°C |
| Μυριστικό οξύ (14:0) | 4 | 4 | 4 | 8 |
| Παλμιτικό οξύ (16:0) | 18 | 25 | 29 | 48 |
| Παλμιτοελαϊκό οξύ (16:1) | 26 | 24 | 23 | 9 |
| Ελαϊκό οξύ (18:1) | 38 | 34 | 30 | 12 |
| Υδροξυμυριστικό οξύ | 13 | 10 | 10 | 8 |
| Λόγος κορεσμένων προς ακόρεστα† | 2,9 | 2,0 | 1,6 | 0,38 |

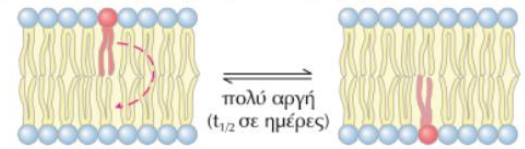
μετακίνηση λιπιδίων στην διπλοστιβάδα

υπάρχουν ειδικές πρωτεΐνες που διευκολύνουν την μετακίνηση σε μονωμένα λιπιδίων από την εξωτερική στοιβάδα στην εσωτερική παρέχοντας μία οδό η οποία είναι πιο ευνοϊκή από ενεργειακής άποψης

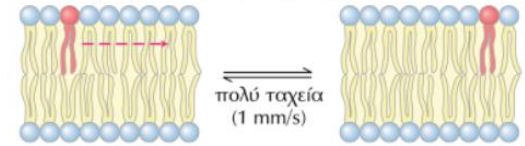


Ένα μόριο λιπιδίου στο εξωτερικό φύλλο της μεμβράνης του ερυθροκυττάρου μπορεί να διαχυθεί πλευρικά τόσο γρήγορα ώστε καλύπτει την περίμετρο του κυττάρου μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα!

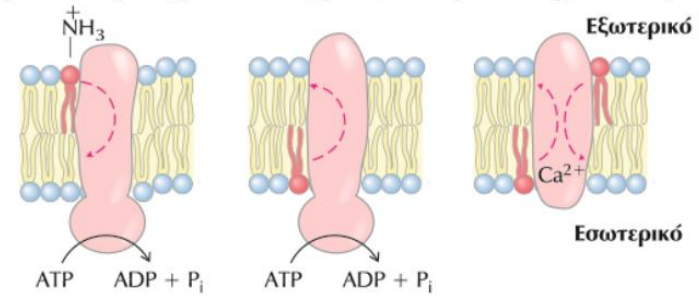
(α) Μη καταλύμενη διάχυση (αναπήδηση) μεταξύ των στιβάδων



(β) Μη καταλύμενη πλευρική διάχυση



(γ) Καταλύμενες μετατοπίσεις μεταξύ των φύλλων της διπλοστιβάδας



Φλιππάση
(ΑΤΡαση τύπου-P)
μετακινεί ΡΕ και PS από το εξωτερικό στο κυτταροπλασματικό φύλλο

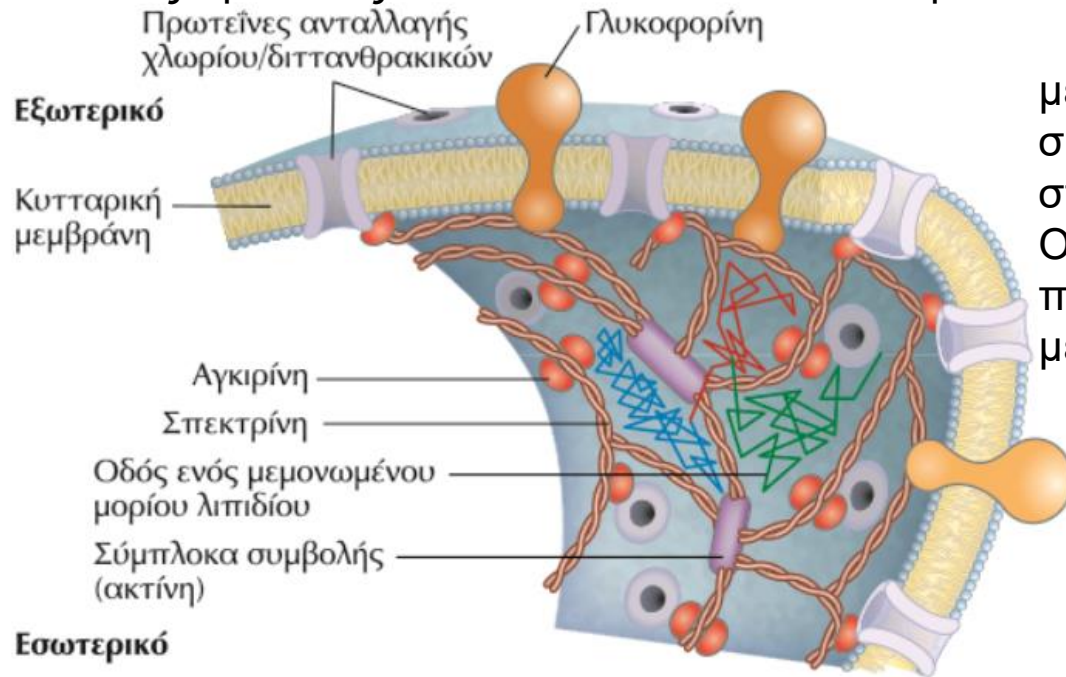
Φλοππάση
(μεταφορέας ABC)
μετακινεί φωσφολιπίδια από το κυτταροπλασματικό στο εξωτερικό φύλλο

Σκραμπλάση
μετακινεί λιπίδια και προς τις δύο κατευθύνσεις, προς την ισορροπία

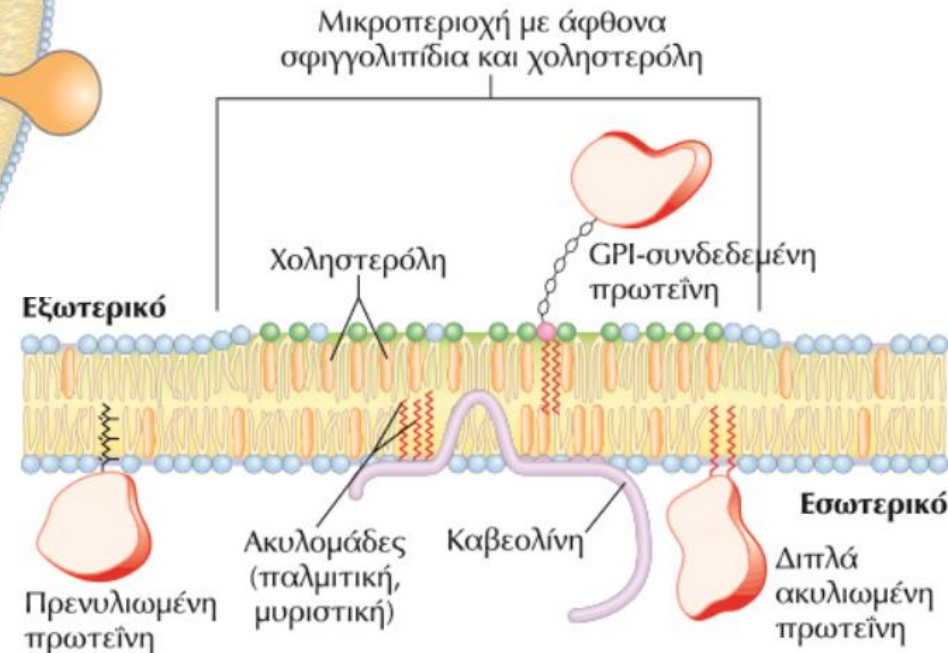
έχουν επίδραση και σε σημαντικούς μηχανισμούς του κυττάρου, καμπυλοτητα μεμβράνης. Διατήρηση της φωσφατιδυλοσερίνης στο εξωκυττάριο φύλλο (μη δράση της φλιππάσης) οδηγεί σε απόπτωση

Κινητικότητα λιπιδίων και πρωτεϊνών στην κυτταρική μεμβράνη

πολλές πρωτεΐνες κινούνται σαν επιπλέον σε μια θάλασσα λιπιδίων, άλλες χρειάζεται να είναι σταθερά δεσμευμένες σε ένα σημείο



μερικές μεμβρανικές πρωτεΐνες σχηματίζουν συναθροίσματα/πλάκες (patches) πάνω στην επιφάνεια ενός κυττάρου ή οργανιδίου. Οι υποδοχές της ακετοχολίνης σχηματίζουν πυκνές πλάκες πάνω στην κυτταρική μεμβράνη στην περιοχή των συνάψεων.



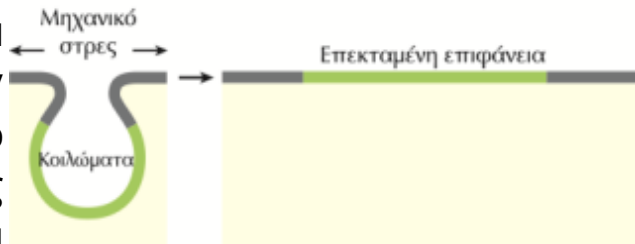
Άλλες πρωτεΐνες αγκυροδετούνται σε τις εσωτερικές δομές που παρεμποδίζουν τη διάχυση. Στο ερυθροκυττάρο η γλυκοφορίνη και η πρωτεΐνη ανταλλαγής Cl⁻/HCO₃⁻ είναι “δεμένες” στην σπεκτρίνη (ινώδη πρωτεΐνη κυτταροσκελετού)

Τοπική διαφοροποίηση: Η μικροπεριοχή (ΜΠ) περιέχει περισσότερα μακριάς αλυσίδας κορεσμένα λιπαρά οξέα και χοληστερόλη με αποτέλεσμα παχύτερη διπλοστοιβάδα και λιγότερο ρευστή. Συχνά στο εξωτερικό φύλλο τέτοιων ΜΠ βρίσκονται GPI-πρωτεΐνες, ενώ στο εσωτερικό βρίσκονται μία ή περισσότερες ομοιοπολικά συνδεδεμένες με μακριές ακυλομάδες πρωτεΐνες

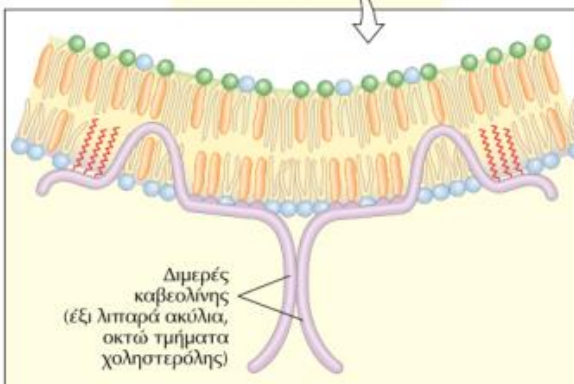
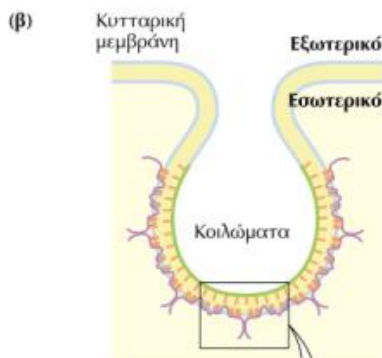
η καβεολίνη αφθονεί ιδιαίτερα σε εκείνες τις περιοχές που καλούνται κοιλώματα ενώ πρωτεΐνες με πρενύλια αποκλείονται συνήθως από αυτές τις περιοχές

καμπυλότητα και σύνταξη μεμβρανών και βιολογικές διεργασίες

δύο **καβεολίνες** (μοιάζει με φουρκέτα) όταν έρθουν κοντά με το υδρόφοβο μέρος σχηματίζουν διμερή και αναγκάζουν την διπλοστιβάδα να σχηματίσει μικρά κοιλώματα



Τα κοιλώματα έχουν λειτουργικούς ρόλους μπορούν πάνω τους να υπάρχουν υποδοχείς GTPs, ενδοκυτταρική μετακίνηση μεμβρανών μπορούν να ανταποκρίνονται σε ωσμωτικό στρες επιτρέποντας στο κύτταρο να επεκταθεί χωρίς να σπάσει.



Εκβλάστηση κυστιδίων από το σύμπλοκο Golgi

Εξωκυττάρωση

Ενδοκυττάρωση

Σύντηξη ενδοσωματίου-λυσσωματίου

Ιογενής λοίμωξη

Σύντηξη σπερματοζωαρίου-ωαρίου

Σύντηξη μικρών κενοτοπίων (φυτά)

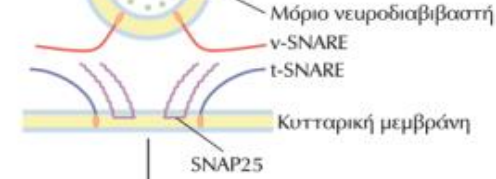
Διαχωρισμός δύο κυτταρικών μεμβρανών κατά την κυτταρική διαίρεση

η καβεολίνες δεν είναι τα μοναδικά μόρια που προσδίνουν καμπυλότητα στις μεμβράνες οι οποίες είναι σταθερές αλλά καθόλου στατικές. Υπάρχει μία πληθώρα βιολογικών διεργασιών απαιτούν κινητικότητα των μεμβρανών

παράδειγμα σύνταξης μεμβρανών

Εκκριτικό κυστίδιο

Ένα κυστίδιο γεμάτο νευροδιαβιβαστή πλησιάζει στην κυτταρική μεμβράνη



Μόριο νευροδιαβιβαστή

v-SNARE

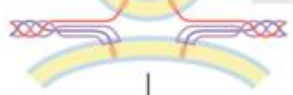
t-SNARE

Κυτταρική μεμβράνη

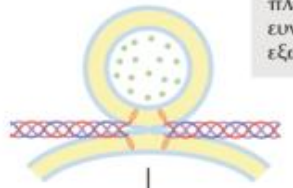
SNAP25

όταν απαιτείται να εξέλθουν (συνάψεις νευρωνικών κυττάρων) από το κύτταρο πολλά υδρόφιλα μόρια. Αντί να φτιαχτούν εκατοντάδες πόροι για να τα διακινούν μπορούν εκκριθούν απευθείας από ένα *κυστίδιο*

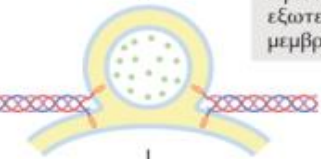
Η v-SNARE συνδέεται με την t-SNARE: καθώς η μια πρωτεΐνη τυλίγεται γύρω από την άλλη, οι δύο μεμβράνες συμπλησιάζουν



Το τύλιγμα προκαλεί κάμψη και πλευρική τάση στις διπλοστιβάδες, ευνοώντας την ημισύντηξη μεταξύ των εξωτερικών φύλλων



Ημισύντηξη: έρχονται σε επαφή οι εξωτερικές στιβάδες και των δύο μεμβρανών



Η πλήρης σύντηξη δημιουργεί έναν πόρο σύντηξης



Ο πόρος διευρύνεται: το περιεχόμενο του κυστιδίου απελευθερώνεται στον εξωτερικό χώρο



εμπλέκονται πρωτεΐνες της οικογένειας SNAREs. Οι συγκεκριμένες ονομάζονται v-SNARE (vehicle) όταν *συντήκονται* τα κυστίδια ονομάζονται t-SNARE (target).

η πρωτεΐνη NSF ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των SNAREs. Κατά την διάρκεια της σύντηξης παράγεται μια δέσμη λεπτών μακριών ραβδίων αποτελούμενη από έλικες v- και t-SNARE και SNAP25

Οι SNAREs και SNAP25 είναι στόχος πολυάριθμων νευροτοξινών. Η τοξίνη του *Clostridium Botulinum* μια βακτηριακή πρωτεάση που διασπά ειδικά δεσμούς στις πρωτεΐνες SNAREs αναστέλλει την νευροδιαβίβαση (παράλυση και θάνατος)

λόγω της υψηλής εξειδίκευσης η τοξίνη χρησιμοποιήθηκε σαν εργαλείο για τη διαλεύκανση του μηχανισμού έκλυσης των νευροδιαβαστών.

Χρησιμοποιείται σε μικρές ποσότητες στην ιατρική και στην αντιμετώπιση μη μυϊκών διαταραχών αλλά και αφαίρεση ρυτίδων

το νόμπελ φυσιολογίας του 2013 απονεμήθηκε για την αποσαφήνιση της μοριακής βάσης της διακίνησης και της σύνταξης των μεμβρανών

Μεταφορά Ουσιών Διαμέσου της Μembrάνης

κάθε κύτταρο θα πρέπει να προμηθευτεί από το περιβάλλον όλες τις πρώτες ύλης για βιοσύνθεση και παραγωγή ενέργειας και να απελευθερώσει στο περιβάλλον τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού κι όλα τα παραπάνω πρέπει να γίνουν ελεγχόμενα

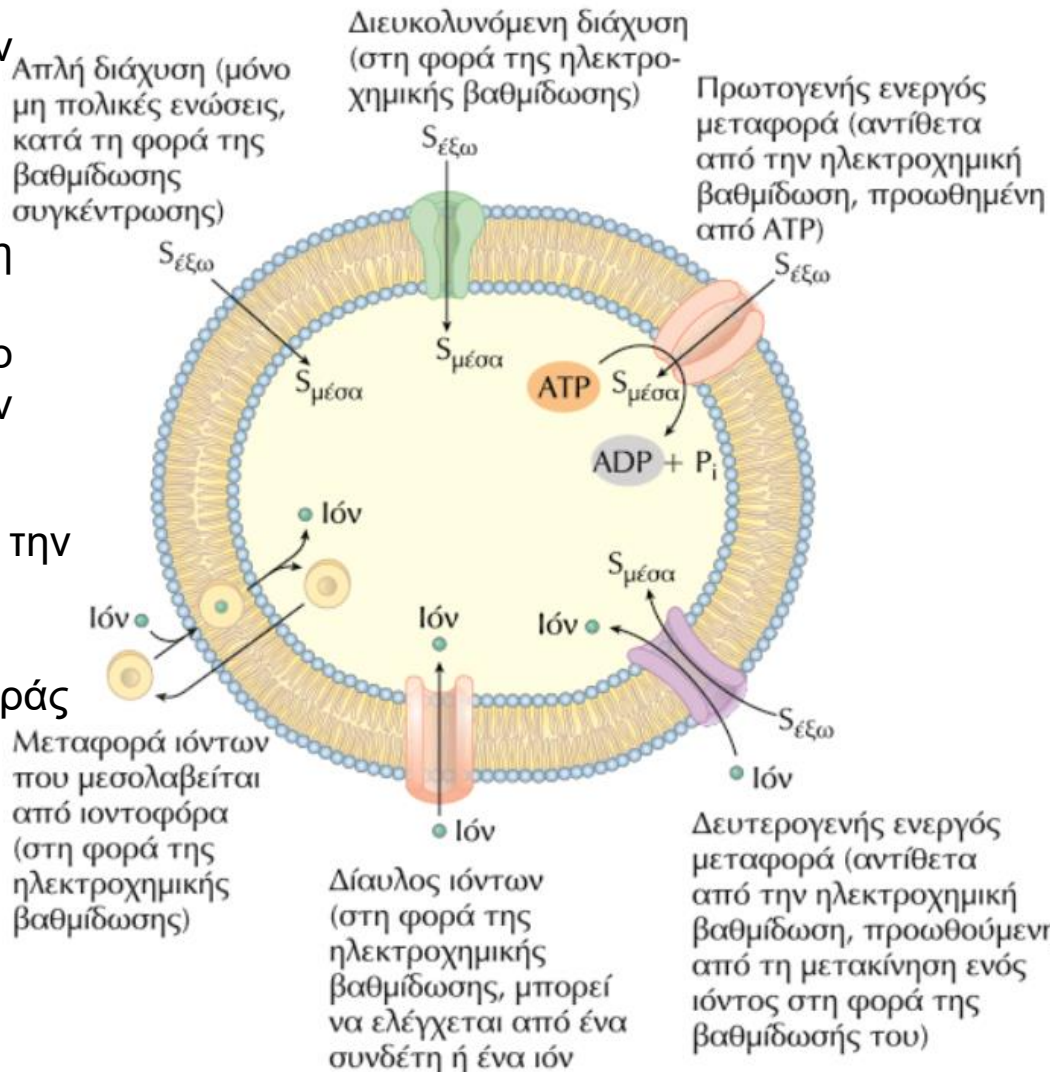
ελάχιστες μη πολικές ενώσεις διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη χωρίς βοήθεια (με διάχυση). Οι πολικές ενώσεις και τα ιόντα για να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη απαιτείται πρωτεΐνη φορέας.

Περίπου 2000 γονίδια στον άνθρωπο κωδικοποιούν πρωτεΐνες που μεταφέρουν διαλυμένες ουσίες διαμέσου των μεμβρανών

Η μεταφορά μπορεί να συμβεί αντίθετα προς την βαθμίδωση συγκέντρωσης ή του ηλεκτρικού δυναμικού ή και των δύο.

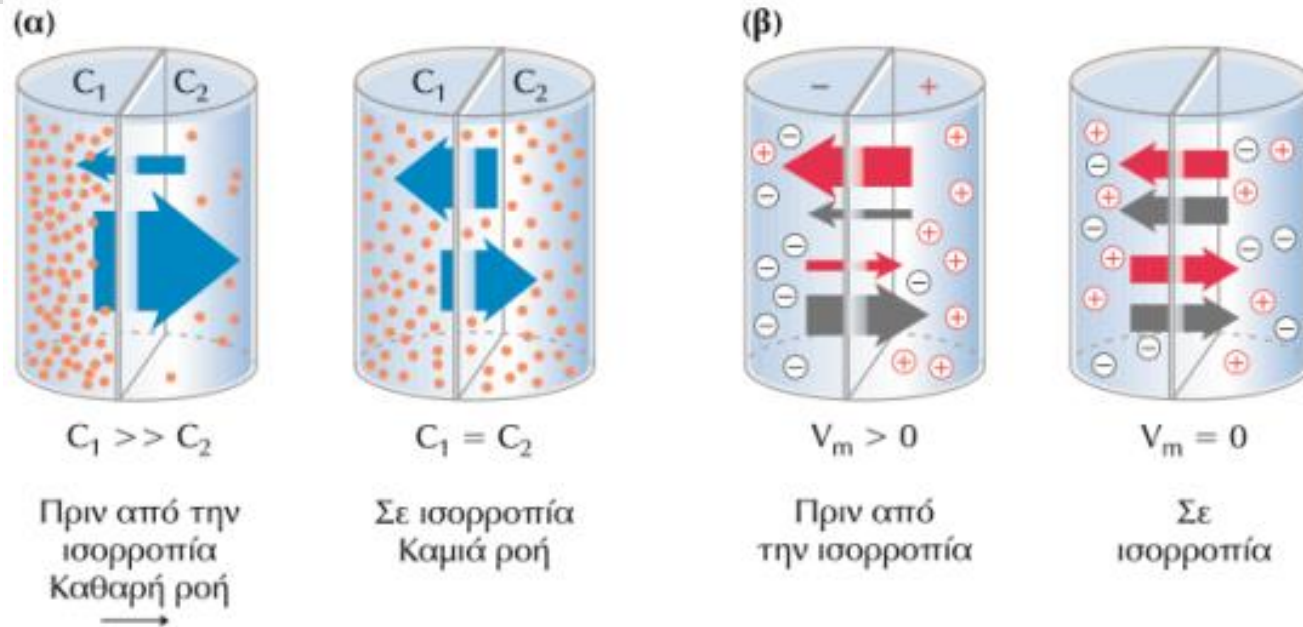
Σε αυτές τις περιπτώσεις η διεργασία μεταφοράς απαιτεί **ενέργεια**.

Τα ιόντα μεταφέρονται μέσω **ιοντικών διαύλων** (πρωτεΐνες) αλλά μπορούν να μεταφερθούν και οι με **ιοντοφόρα** μικρά μόρια που τους επιτρέπουν τη διάλυση τους στην διπλοστιβάδα



Ενεργητική ή Παθητική μεταφορά μορίων διαμέσου μεμβράνης

Σε μια ημιπερατή μεμβράνη μια ένωση θα κινηθεί από την υψηλή στην χαμηλή βαθμίδα συγκέντρωσης. Ιόντα αντίθετου φορτίου δημιουργούν ηλεκτρική βαθμίδωση με $V_m > 0$ ή μεμβρανικό δυναμικό και θα μετακινηθούν μέχρι το $V_m = 0$



συνδυασμός των δύο φαινόμενων/παραγόντων δημιουργούν την **ηλεκτροχημική βαθμίδωση** ή **ηλεκτροχημικό δυναμικό**. Ακολουθούν τον 2ο νόμο της θερμοδυναμικής τα μόρια τείνουν να αποκτήσουν αυθόρμητα κατανομή της μέγιστης τυχαιότητας (εντροπίας) & της ελάχιστης ενέργειας
Η ανάγκη μετακίνησης ουσιών/ιόντων διαμέσου των μεμβρανών

δημιούργησε τις μεμβραμικές πρωτεΐνες που βοηθούν στις μετακινήσεις τους

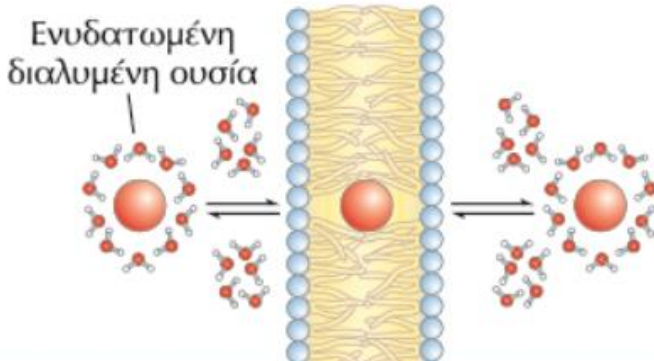
παθητικούς μεταφορείς: επιτρέπουν την μεταφορά ουσιών, **χωρίς την ανάγκη ενέργειας**, διαμέσου των μεμβρανών (εκλεκτικά-συγκεκριμένες ουσίες ή ιόντα) από υψηλή σε χαμηλή συγκέντρωση (βαθμίδωση) περιγράφεται και σαν **παθητική μεταφορά / διευκολυνόμενη διάχυση** και τους

ενεργούς μεταφορείς (πρωτογενείς): χρησιμοποιούν μια **πηγή ενέργειας** (συνήθως ATP ή φωτόνια) με σκοπό την μεταφορά ουσιών (ή ιόντων) από χαμηλή σε υψηλή συγκέντρωση (βαθμίδωση) περιγράφεται και σαν **ενεργή μεταφορά**.

Οι **δευτερογενείς ενεργοί μεταφορές** συζευγνύουν την ανοδική μεταφορά ενός υποστρώματος με χρησιμοποιώντας την ενέργεια από την καθοδική μεταφορά ενός άλλου

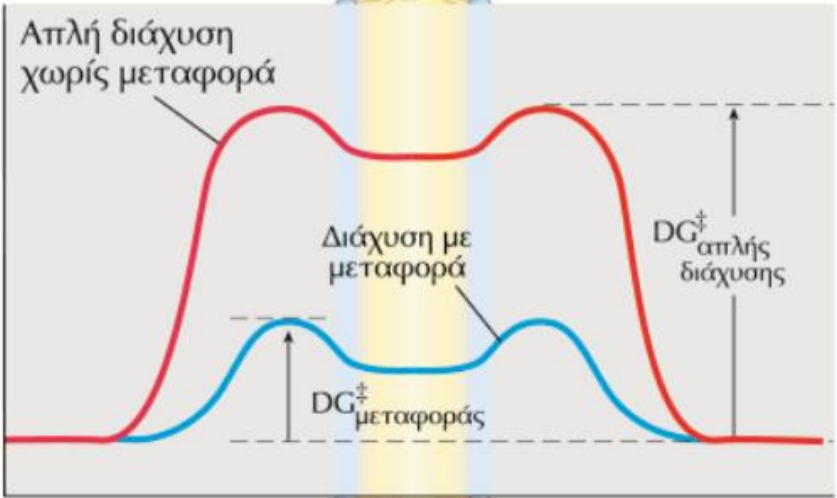
μηχανισμοί μεταφοράς διαμέσου των μεμβρανών δίαυλοι και αντλίες

α)

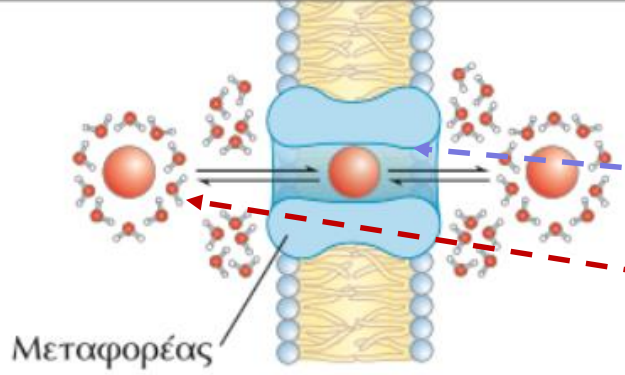


για να διαπεράσει μία λιπιδική διπλοστιβάδα μια πολική ουσία ή ένα ιόν θα πρέπει να διασπαστούν όλες οι πολικές αλληλεπιδράσεις (δεσμοί-Η, ιοντικοί δεσμοί) με τον διαλύτη νερό. Αυτό στοιχίζει σε ενέργεια $\Delta G > 0$ και για αυτό ουσιαστικά είναι αδιαπέραστες οι μεμβράνες από αυτές τις ουσίες.

Ελεύθερη ενέργεια, G



β)



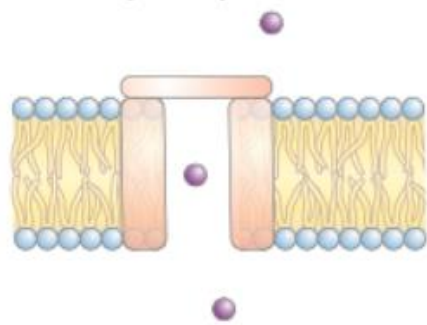
Ωστόσο όπως και στο παράδειγμα της μεταβατικής κατάστασης στις αντιδράσεις των ενζύμων κάτι αντίστοιχο συμβαίνει και με τις πρωτεΐνες δίαυλους που χαμηλώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης για τη μεταφορά πολικών ενώσεων και ιόντων. Η αρνητική μεταβολή της $\Delta G_{\text{πρόσδεσης}}$ αντισταθμίζει (υδρόφιλες αλληλεπιδράσεις) την θετική μεταβολή της ενέργειας ενυδάτωσης $\Delta G_{\text{ενυδάτωσης}}$

Δίαυλοι και μεταφορείς (αντλίες) διαφορές

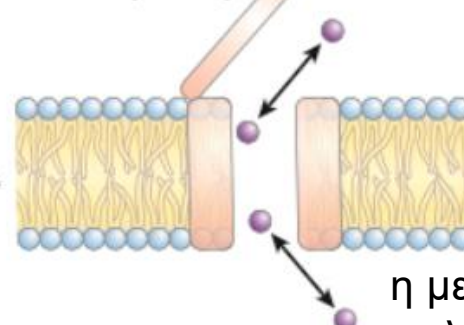
Οι διάυλοι παρέχουν μία υδάτινη οδό διαμέσου της μεμβράνης. Οι περισσότεροι έχουν μία πύλη που ρυθμίζεται μέσω ενός βιολογικού σήματος. Με την πύλη ανοιχτή τα ιόντα μετακινούνται λόγω της ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης και πλησιάζουν την ταχύτητα της ελεύθερης διάχυσης

(α) Ιοντικός διάυλος: μοναδική πύλη

Κλειστή πύλη

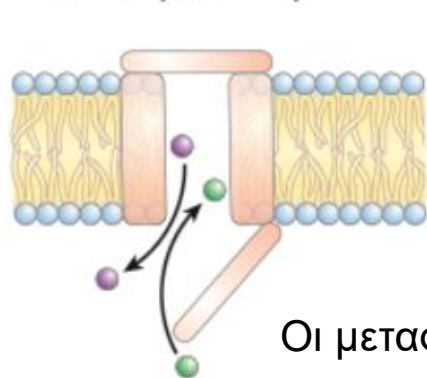


Ανοικτή πύλη

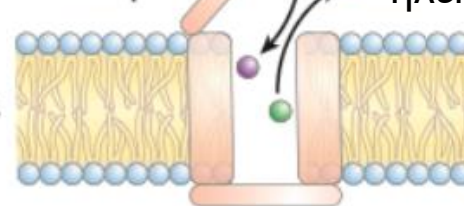


(β) Μεταφορέας (αντλία): εναλλασσόμενες πύλες

Μία πύλη ανοικτή



Άλλη πύλη ανοικτή



η μετακίνηση των ιόντων (10×10^6 /sec) είναι πολύ μεγαλύτερη ενός τυπικού μεταφορέα και σταματάει όταν κλείσει η πύλη (λόγω σήματος) ή όταν δεν υπάρχει πλέον ηλεκτροχημική βαθμίδωση

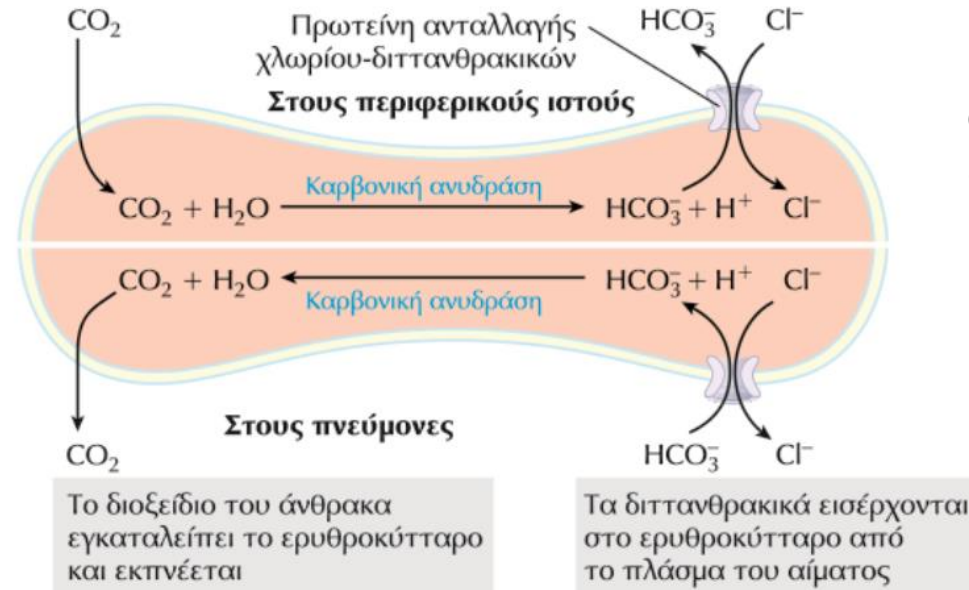
Οι μεταφορείς κορένονται όπως και τα ένζυμα από κάποιο σημείο και πάνω όσο και να αυξάνεται η συγκέντρωση του υποστρώματος (ιόν ή ουσία) δεν αυξάνεται η ταχύτητα μεταφοράς. Έχουν δυο πύλες που ποτέ δεν είναι ανοιχτές ποτέ ταυτόχρονα. Ρυθμίζονται και αυτοί από ένα σήμα.

Το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται από τον καταβολισμό εισέρχεται στο ερυθροκύτταρο

Τα διττανθρακικά διαλύονται στο πλάσμα του αίματος

ο ανταλλάκτης $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ καταλύει την ηλεκτρικώς ουδέτερη συμμεταφορά ανιόντων διαμέσου της μεμβράνης

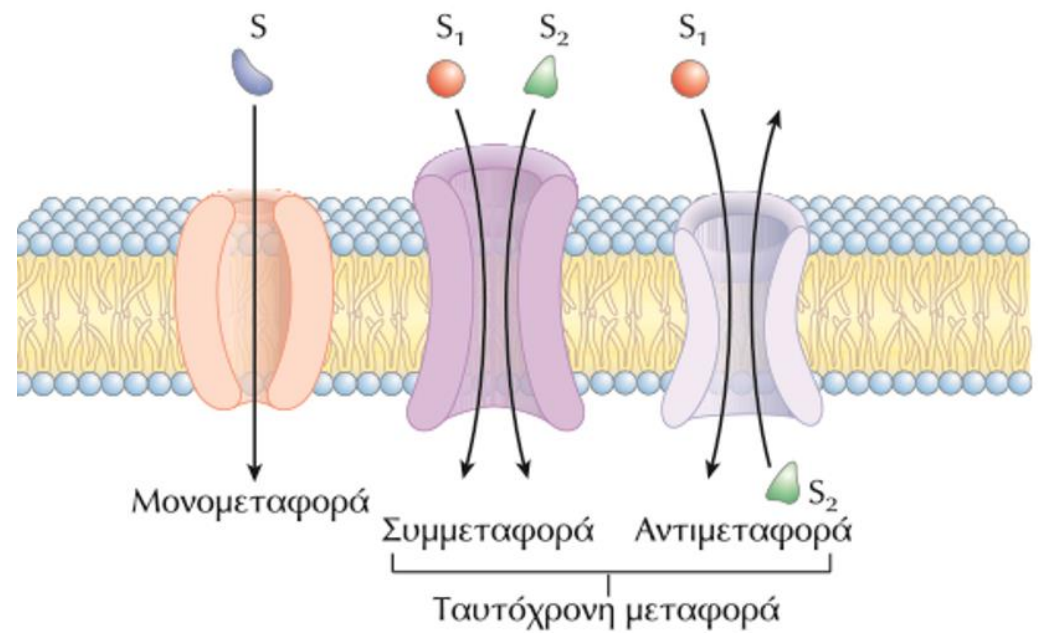
αυξάνει την διαπερατότητα της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων κατά 10^6



τα όξινα-ανθρακικά ή διττανθρακικά είναι το κύριο ρυθμιστικό μέσω του pH του αίματος. Ταυτόχρονα είναι η κύρια μορφή διαλυμένου CO_2 σε υδατικό διάλυμα (αίμα) για να μεταφερθεί από τους πνεύμονες (παράλληλα με το μηχανισμό δέσμωσης από την αιμοσφαιρίνη)

ο μεταφορέας $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ είναι ένα τυπικό παράδειγμα συστήματος **αντιμεταφορέα ταυτόχρονης μεταφοράς** (μεταφέρει ταυτόχρονα δύο ουσίες) διαμέσου μιας μεμβράνης σύστημα **αντί-μεταφοράς**. Στην **συμμεταφορά** δύο υποστρώματα μετακινούνται ταυτόχρονα προς την ίδια κατεύθυνση.

Υπάρχουν και τα συστήματα της **μόνο μεταφοράς**



ενεργός μεταφορά μεταφορείς μετακινούν ουσίες/ιόντα αντίθετα στη βαθμίδων συγκέντρωσης (απαιτεί ενέργεια) από χαμηλές συγκεντρώσεις σε υψηλές

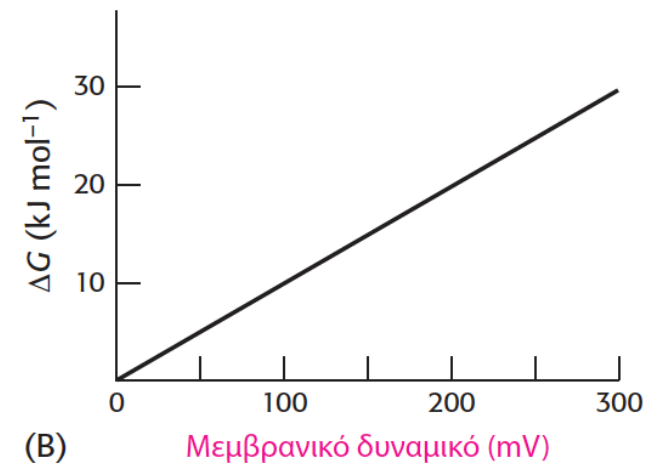
Η συγκέντρωση P_i (ολικά $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) στο περιβάλλον ανάπτυξης του κυττάρου βακτηριδίου *E. coli* είναι 1μM, στο εσωτερικό του κυττάρου η συγκέντρωση είναι σε επίπεδα mM.

Μπορεί να ποσοτικοποιηθεί η ελεύθερη ενέργεια ΔG από την διαφορά συγκέντρωσης

Η βαθμίδωση συγκέντρωσης (έξω C_1 /μέσα C_2) δημιουργεί διαφορά ενέργειας ΔG $C_1 \leftrightarrow C_2$ C_2/C_1
 $\Delta G = RT \ln K = 2,303RT \log(C_2/C_1)$ $R = 8,3 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ deg}^{-1}$
 $T = \text{βαθμοί Kelvin } 25^\circ C (298^\circ K)$



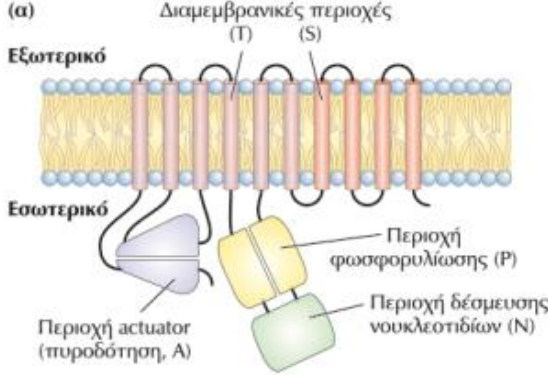
Στην περίπτωση που έχουμε ιόντα λόγο φορτίου έχουμε επιπλέον ενέργεια λόγω διαφοράς δυναμικού ΔV
 $\Delta G = 2,303RT \log(C_2/C_1) + ZF\Delta V$
 $Z = \text{ηλεκτρικό φορτίο, } F = \text{σταθερά Faraday (96,1 kJ/V*mol)}$



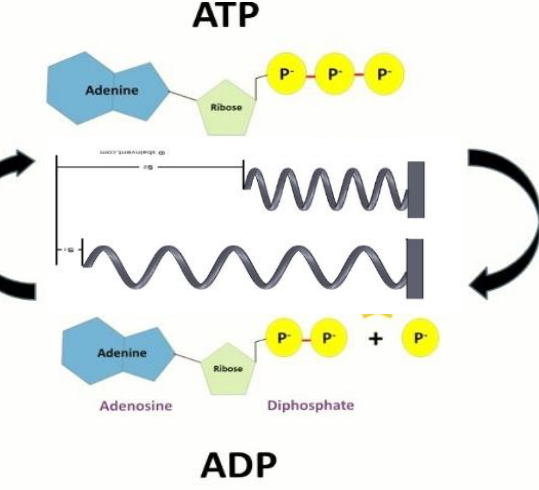
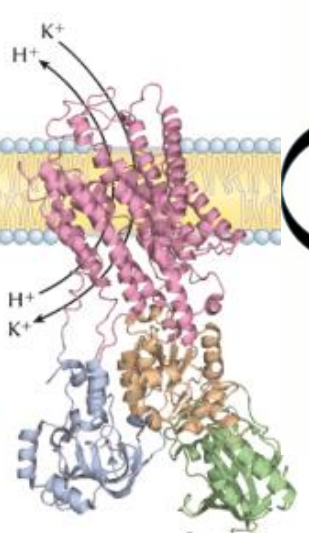
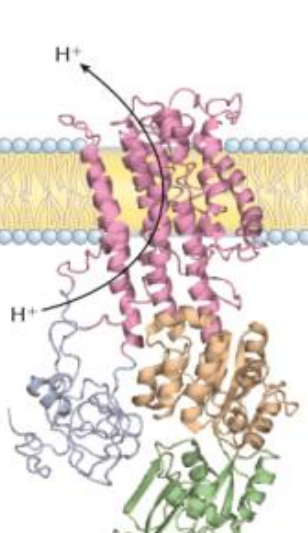
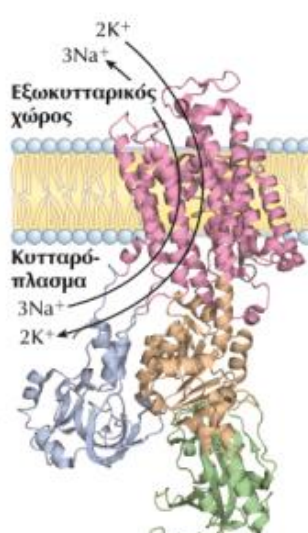
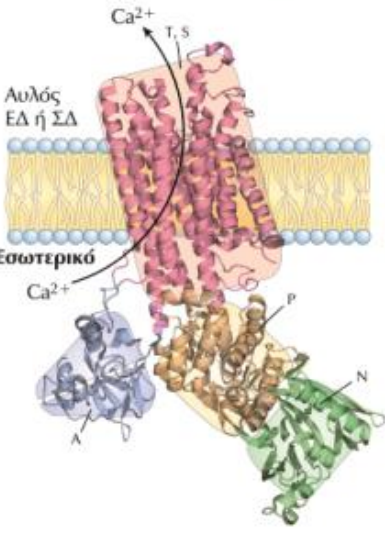
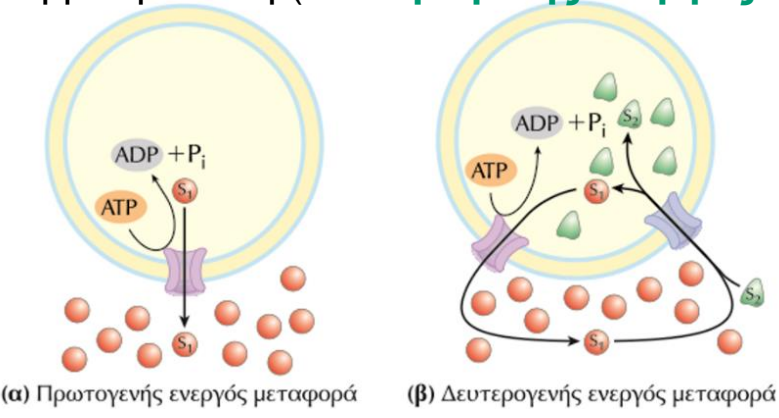
Παράδειγμα ($C_1 = 1 \text{ mM}$ έξω και μέσα $C_2 = 10 \text{ mM}$)

$$\Delta G = 2,303RT \log(C_2/C_1) = 2,303 \times 10^{-3} \times 8,3 \times 298 \times \log(10) = 5,7 \text{ kJ}$$

Αρα η **ενεργός μεταφορά** είναι θερμοδυναμικά μη ευνοϊκή και θα πρέπει να συνδεθεί (άμεσα ή έμμεσα) με μια εξώθερμη διεργασία (απορρόφηση φωτός, οξειδωτική αντίδραση, αποδόμησή ATP) ή ταυτόχρονα ροή μιας άλλης ουσίας κατά την ηλεκτροχημική βαθμίδωση (**δευτερογενής ενεργός μεταφορά**)



οι ATPασες P-τύπου (σχηματίζουν ένα ενδιάμεσο φωσφοριλιωμένο προϊόν) είναι ενεργοί μεταφορείς. Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί τουλάχιστον 70



(β) Ca²⁺ ATPase (αντλία SERCA)

(γ) Na⁺K⁺ ATPάση

H⁺ ATPάση της κυτταρικής μεμβράνης

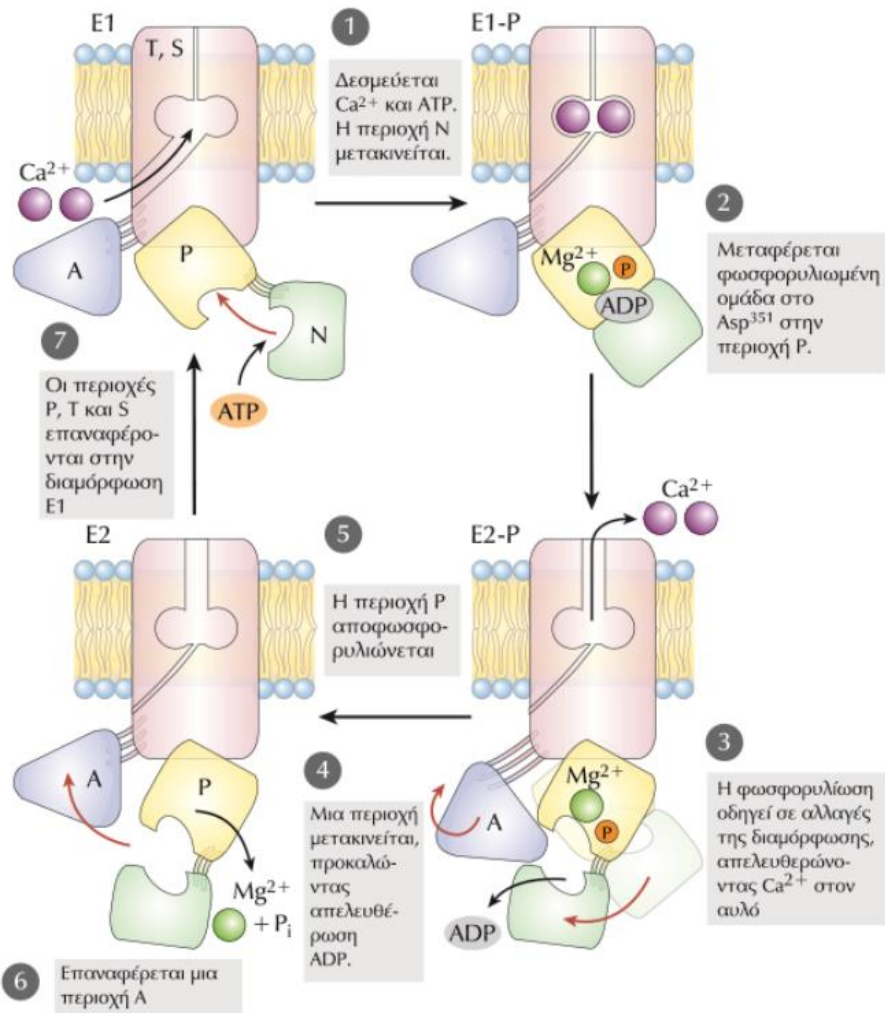
Γαστρική H⁺K⁺ ATPάση

ATPάση Ca²⁺ : το 80% των μεμβρανών του σαρκοπλάσματικού δικτύου (ΣΔ) Ca²⁺ (ΚΠ) 0,1μΜ, 1,5mM (ΣΔ) διατηρείται από την ATPάση Ca²⁺

Η μυϊκή σύσπαση και χαλάρωση εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις Ca²⁺

Μηχανισμός ATPase Ca^{2+}

καταστάσεις στερεοδιάταξης E1 E1-P, E2-P και P



1) E1 Η δέσμευση του Ca^{2+} γίνεται αυθόρμητα ($\Delta G < 0$) άρα η αποδέσμευση θα απαιτεί ενέργεια που προέρχεται από το ATP

2) Η γ-φωσφορική ομάδα μεταφέρεται στο Asp (μόνο όταν έχει δεσμευτεί Ca^{2+})

3) μετάπτωση από την E1 στην μορφή E2-P το Ca^{2+} εάν ελευθερωθεί μπορεί να πάει μόνο στο ΣΔ

4) Η μορφή E2-P έχει χαμηλή συγγένεια με το Ca^{2+}

5) Με την απελευθέρωση του Ca^{2+} μπορεί να υδρολυθεί το Asp-PO₄

6) Το ένζυμο χωρίς την PO₄ ομάδα δεν είναι σταθερό στην E2 μορφή και επανέρχεται στην E1

A=actuator,
P=phosphorylation,
N=nucleotide binding,
T,S= transport and support

Τα Ca^{+2} για να μένουν σταθερά στην πρωτεΐνη πρέπει να είναι δεσμευμένα

Πιθανώς με κάτι αρνητικά φορτισμένο (-) αφού το Ca^{+2} έχει θετικό φορτίο (2+)

Γιατί αφού τα Ca^{+2} είναι συνδεδεμένο, ενδεχομένως σε κάτι A^- να αποδεσμευτεί από αυτό; δεν στέκει ούτε ενεργειακά ούτε από χημικής άποψης

Εκτός εάν αυτό το αρνητικό κέντρο A^- κέντρο ενωθεί με κάτι περισσότερο θετικό Arg^{+2}

Άρα τελικό ερώτημα είναι:

γιατί κάτι που έχει δεσμευτεί (χαμηλή ενέργεια) να αποδεσμευτεί (υψηλή ενέργεια)

Ρόλος του ATP να προσφέρει την απαιτούμενη ενέργεια

Πώς μπορεί να γίνει η απελευθέρωση και δέσμευση Ca^{+2}

$\text{A}^- \text{Ca}^{+2} \rightarrow \text{A}^- + \text{Ca}^{+2}$ για συμβεί πρέπει το A^- να συνδεθεί με κάτι πιο θετικό

$\text{A}^- + 2\text{Arg}^+ \rightarrow \text{A}^- 2\text{Arg}^+$

Εάν σταματούσε εδώ η αντίδραση (διαδικασία) το $\text{A}^- \text{Arg}^{+2}$ δεν θα δέσμευε άλλο Ca^{+2} πρέπει να ξαναγίνει ελεύθερο A^-

Συνεχίζεται με

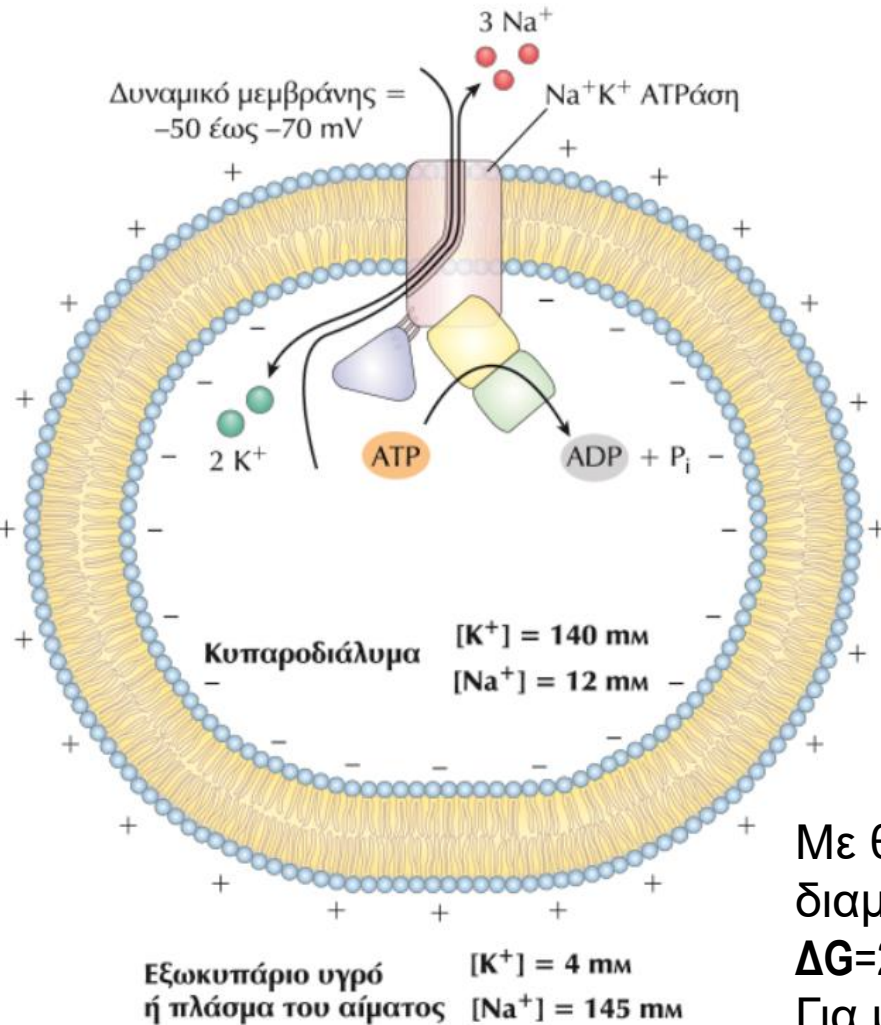
$\text{B}^- + \text{ATP} \rightarrow \text{BP}^{-3} + \text{ADP}^{-3}$ σύνδεση P_i^- με αμινοξύ B^- (μέρος της ενέργειας του ATP μεταφέρεται στο BP^{-3})

$\text{A}^- 2\text{Arg}^+ + \text{BP}^{-3} \rightarrow \text{A}^- + (\text{2Arg}^+ \text{BP}^{-3})^{-1}$ Η Arg^{+2} ενώνεται με $\text{B} \text{ATP}^{-2}$ απελευθερώσει A^-
εάν η Arg^{+2} δεν απελευθερωθεί η διαδικασία δεν προχωράει

Τελικό στάδιο απελευθέρωση Arg^{+2} με προσθήκη **ενέργειας**

$+ (\text{2Arg}^+ \text{BP}^{-3})^{-1} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow + \text{B}^- + 2\text{Arg}^{+2} + \text{P}_i^{-2}$ (υδρόλυση BP^{-3} μέρος της ενέργειας του ATP που έμεινε στον δεσμό)
άρα εάν μπορώ να προσθέτω ή να αφαιρώ φορτίο στο B μπορούν να γίνουν τα παραπάνω αυτό βέβαια απαιτεί ενέργεια ATP

Ο ίδιος μηχανισμός χρησιμοποιείται και στην αντλία $\text{Na}^+\text{-K}^+$



Εξωκυττάριο υγρό ζωικών κυττάρων: τα ιόντα παρόμοια με θαλασσινό νερό.

Εσωτερικά (EK) και εξωτερικά τα ιόντα πρέπει να ελέγχονται, K^+ υψηλό, Na^+ χαμηλό

ρυθμίζονται από ένζυμο **αντλία $\text{Na}^+\text{-K}^+$** ή **ATPάση $\text{Na}^+\text{-K}^+$** (γιατί η υδρόλυση συμβαίνει μόνο εάν δεσμευτούν $\text{Na}^+\text{-K}^+$).

Το 1/3 του ATP σε ένα ζωντανό οργανισμό καταναλώνεται για την άντληση αυτών των δυο Ιόντων

Με θερμοκρασία 37°C και τιμή του διαμεμβρανικού δυναμικού -50 έως -70 mV

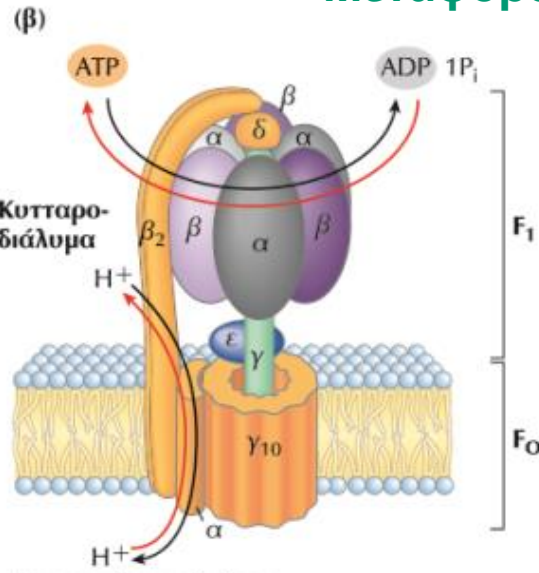
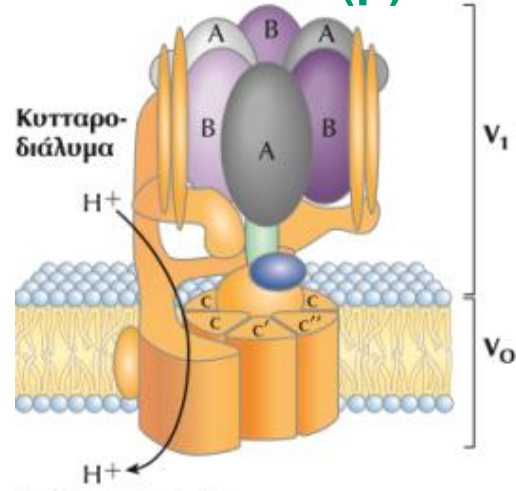
$$\Delta G = 2,303RT \log(C_2/C_1) + ZF\Delta V$$

Για μεταφορά 3mol Na^+ έξω και 2mol K^+ μέσα υπολογίζεται σε +8,8 Kcal/mol

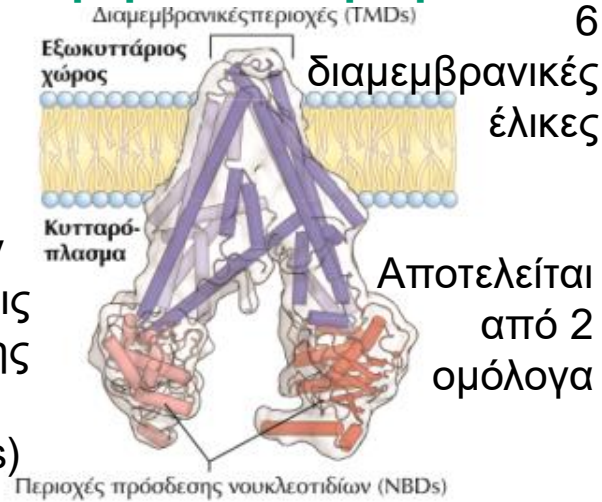
Η υδρόλυση ATP δίνει -12Kcal/mol σε φυσιολογικές κυτταρικές συνθήκες που είναι αρκετή για την ώθηση της ανοδικής μεταφοράς των ιόντων αυτών

Μεταφορείς ABC μεταφορά υποστρωμάτων

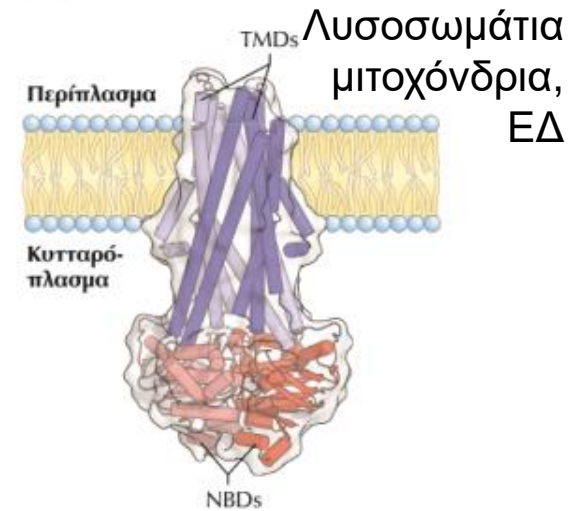
ΑΤΡάσες V-τύπου (α) και F- τύπου (β)



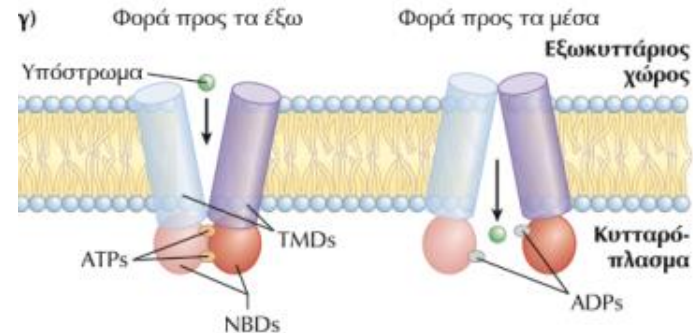
Περιέχουν 2 θέσεις πρόσδεσης ATP (cassettes)



β)



γ)



Αυλός κενотоπίου

Μεταφορά H⁺: διατηρούν το pH πολύ χαμηλότερο (μεταξύ 3 -6) από το κυτταροδιάλυμα (7,5) στα κενотоπία (μυκήτων), οξίνιση των λυσοσωμάτων, ενδοσωματίων και του συμπλόκου Golgi και τον εκκριτικών και κυστιδίων το ζωικών κυττάρων

Μιτοχονδριακή μήτρα

Μεταφέρουν (αντλούν) αντίθετα από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πεπτιδία, αμινοξέα, άλατα, υδροφοβες ενώσεις, φάρμακα.

όταν η διαφορά τη συγκέντρωσης των πρωτονίων είναι μεγάλη η αντλία μπορεί να λειτουργήσει προς την αντίστροφη κατεύθυνση και να παραγει ATP σε αυτή την περίπτωση καλούνται συνθάσες της ATP

Μηχανισμός: πρόσδεση με υψηλή συγγένεια υδρόλυση ATP, αλλαγή διαμόρφωσης και μειωμένη συγγένεια απελευθέρωση με απλή διάχυση υποστρώματος

Οι μεταφορείς έχουν φαρμακευτική και θεραπευτική σημασία, καθώς αντλούν φάρμακα έξω από τα κύτταρα. Η εντυπωσιακή αντοχή μερικών τύπων καρκίνου σε ορισμένα αποτελεσματικά αντικαρκινικά φάρμακα οφείλεται για παράδειγμα στην πρωτεΐνη MDR1 που αντλεί τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα έξω από το κύτταρο, αναστέλλοντας τη θεραπευτή δράση. Η υπερέκφραση της MDR1 συχνά σχετίζεται με την αποτυχία θεραπείας σε καρκίνους του ήπατος των νεφρών, και του παχέος εντέρου. Εξειδικευμένοι αναστολείς αυτών των μεταφορέων αναμένεται να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων

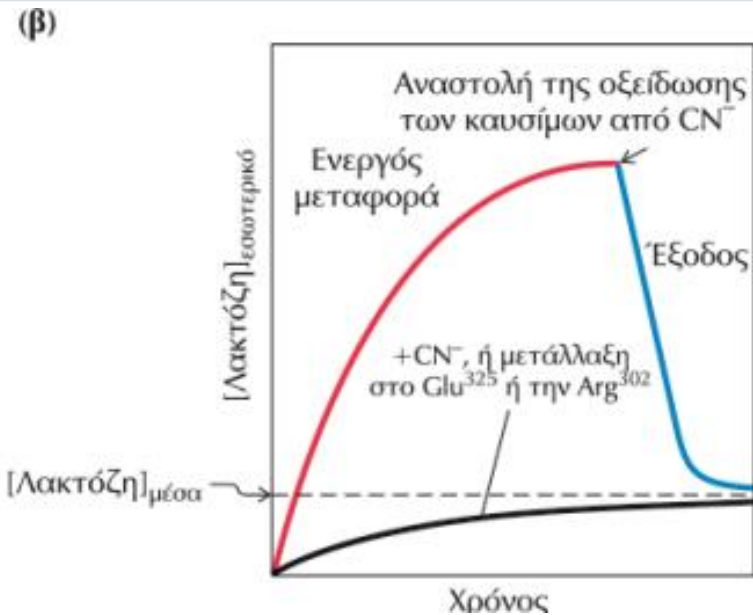
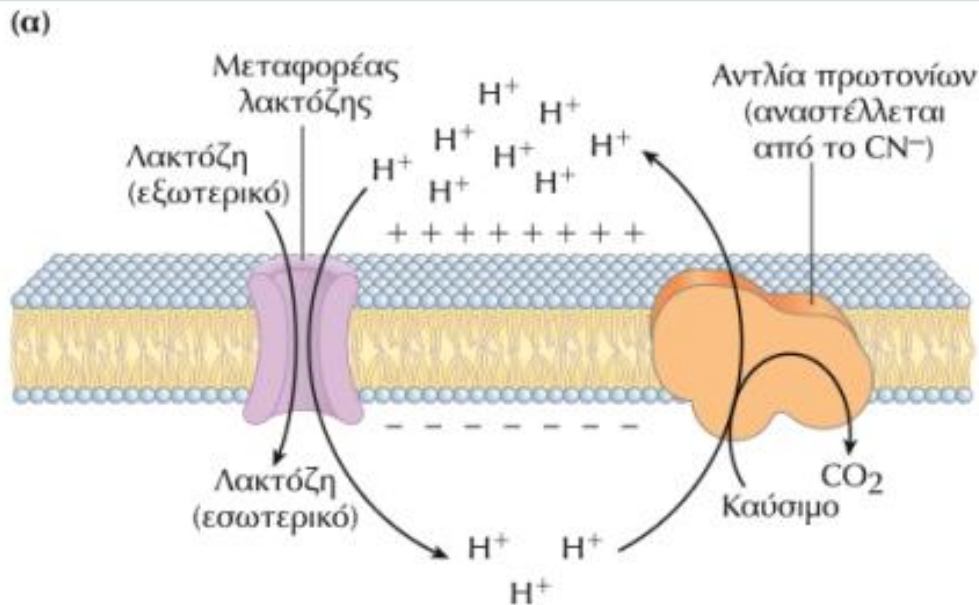
Ο ζυμομύκητας έχει 31 γονίδια που κωδικοποιούν μεταφορείς ABC, η *Drosophila* 56, το *E. coli* 80, όλοι υποθετικοί εξελικτικοί πρόγονοι του MDR. Ορισμένοι μεταφορείς προσδίδουν επίσης σε ορισμένα μικρόβια αντοχή στα αντιβιοτικά

βαθμιδώσεις ιόντων παρέχουν ενέργεια για δευτερογενή ενεργό μεταφορά

η βαθμίδωση ιόντων που σχηματίζονται (Na^+ , H^+) από την πρωτογενή μεταφορά μπορούν με τη σειρά τους να εξασφαλίσουν προωθητική δύναμη για συμμεταφορά άλλων ουσιών

ΠΙΝΑΚΑΣ 11-5 Συστήματα Ταυτόχρονης Μεταφοράς που Προωθούνται από Βαθμιδώσεις Na^+ ή H^+

| Οργανισμός/ιστός/κυτταρικός τύπος | Μεταφερόμενη διαλυμένη ουσία (κινούμενη αντίθετα από τη βαθμίδωσή της) | Συμμεταφερόμενη διαλυόμενη ουσία (ακολουθώντας τη βαθμίδωσή της) | Τύπος μεταφοράς |
|-----------------------------------|--|--|---|
| <i>E. coli</i> | Λακτόζη Προλίνη Δικαρβοξυλικά οξέα | H^+ H^+ H^+ | Συμμεταφορά Συμμεταφορά Συμμεταφορά |
| Έντερο, νεφροί (σπονδυλωτά) | Γλυκόζη Αμινοξέα | Na^+ Na^+ | Συμμεταφορά Συμμεταφορά |
| Κύτταρα σπονδυλωτού (πολλά είδη) | Ca^{2+} | Na^+ | Αντιμεταφορά |
| Ανώτερα φυτά | K^+ | H^+ | Αντιμεταφορά |
| Μύκητες (<i>Neurospora</i>) | K^+ | H^+ | Αντιμεταφορά |



το σχήμα β υποδεικνύει το μηχανισμό αλλά και τους τρόπους ανακάλυψης αυτού του μηχανισμού είτε με αναστολέα είτε με μετάλλαξη

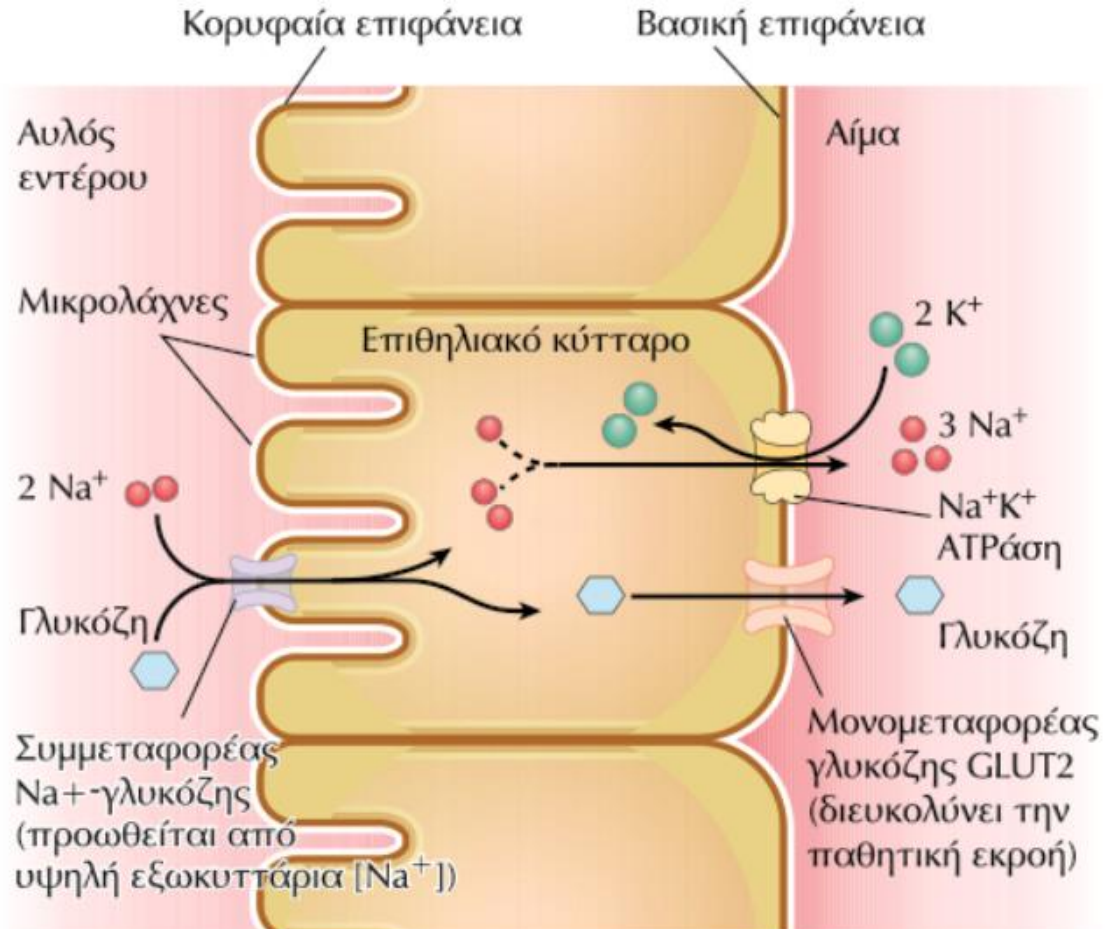
τα **αμινοξέα** που εμπλέκονται αλλάζουν φορτίο ανάλογα με το pH (**Glu¹²⁵, Arg³⁰²**)



Δευτερογενής μεταφοράς λακτόζης

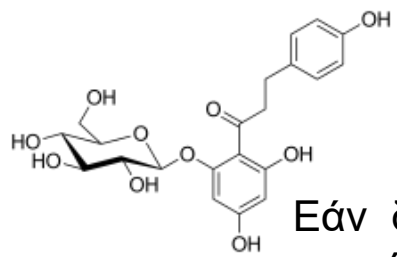
ΕΙΚΟΝΑ 11-40 Ο μεταφορέας λακτόζης (περμεάση της λακτόζης) από το *E. coli*. (α) Αναπαράσταση κορδέλας στην οποία φαίνονται οι 12 διαμεμβρανικές έλικες που

Συμμεταφορέας Na⁺ - γλυκόζης

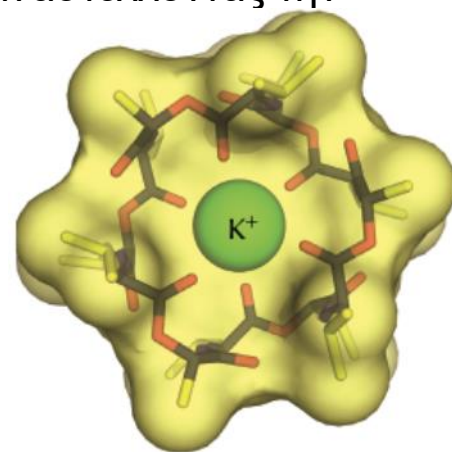


Η ισχυρή θερμοδυναμική τάση να κινείται το Na⁺ στο κύτταρο παρέχει την ενέργεια που απαιτείται για τη μεταφορά της γλυκόζης στο κύτταρο

Ξέροντας την συγκέντρωση του Na⁺ έξω (145mM) και μέσα (12mM) καθώς και την διαφορά ΔV (50mV) μπορούμε να υπολογίσουμε την διαθέσιμη ενέργεια $\Delta G = 2,303RT \log(C_2/C_1) + ZF\Delta V = 11,2 \text{ kJ/mol}$ για την μεταφορά της γλυκόζης $11,2 = \Delta G = RT \ln K = 2,303RT \log(C_2/C_1)$ άρα μπορούμε να υπολογίσουμε τον λόγο $C_2/C_1 = 5,94 \times 10^{-3}$



ο συμμεταφορέας Na^+ και γλυκόζης στους νεφρούς, αποτελεί στόχο φαρμάκων (gliflozins) για την αντιμετώπιση του διαβήτη τύπου 2 αναστέλλοντας την αναρρόφηση μειώνουν τη γλυκόζη του αίματος



Εάν διαταράξουμε τον (ευρέως διαδεδομένο) μηχανισμό μπορεί να επέλθει και θάνατος. Ιονοφόρα όπως οι *βαλινομυκίνη* (κυκλικό εξωτερικά υδρόφοβο πεπτιδίο) που μεταφέρει K^+ διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και η *μονενσίνη* (μεταφέρει Na^+) είναι αντιβιοτικά. Διαταράσσουν την διεργασία της δευτερογενούς μεταφοράς. Η δεύτερη χρησιμοποιείται ευρέως ως αντιμυκητιασικός και αντιπαρασιτικός παράγοντας

υδατοπορίνες διάλυοι διέλευσης νερού

τα θηλαστικά διαθέτουν 11 AQP's κάθε μία με ιδιαίτερη εντόπιση και εξειδίκευση

ΠΙΝΑΚΑΣ 11-6

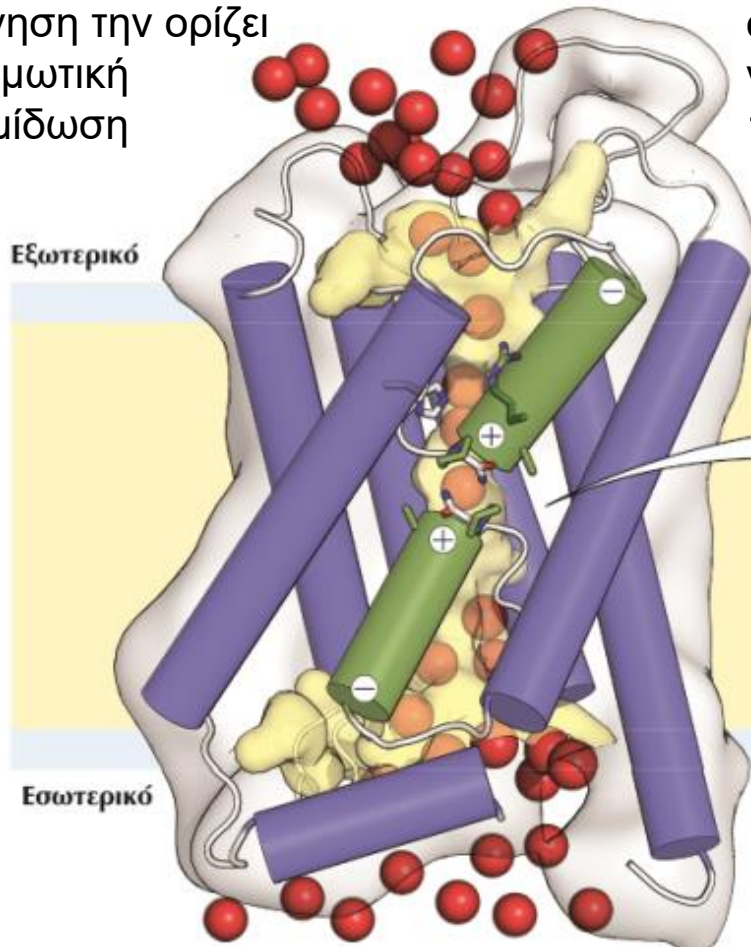
Χαρακτηριστικά Διαπερατότητας και Κύρια Κατανομή Γνωστών Ακουαπορινών των Θηλαστικών

| Ακουαπορίνη | Διαπερατή (διαπερατότητα) | Κατανομή στους ιστούς | Κύρια υποκυτταρική κατανομή ^a |
|-------------------|--|---|--|
| AQP0 | Νερό (χαμηλή) | Φακοί | Κυτταρική μεμβράνη |
| AQP1 | Νερό (υψηλή) | Ερυθροκύτταρα, νεφροί, πνεύμονες, αγγειακό ενδοθήλιο, εγκέφαλος, οφθαλμοί | Κυτταρική μεμβράνη |
| AQP2 | Νερό (υψηλή) | Νεφροί, σπερματικός πόρος | Κορυφαία κυτταρική μεμβράνη, ενδοκυττάρια κυστίδια |
| AQP3 | Νερό (υψηλή), γλυκερόλη (υψηλή), ουρία (μέτρια) | Νεφροί, δέρμα, πνεύμονες, οφθαλμοί, παχύ έντερο | Βασεοπλευρική κυτταρική μεμβράνη |
| AQP4 | Νερό (υψηλή) | Εγκέφαλος, μύες, νεφροί, πνεύμονες, στομάχι, λεπτό έντερο | Βασεοπλευρική κυτταρική μεμβράνη |
| AQP5 | Νερό (υψηλή) | Σιελογόνοι αδένες, δακρυϊκοί αδένες, ιδρωτοποιοί αδένες, πνεύμονες, κερατοειδής | Κορυφαία κυτταρική μεμβράνη |
| AQP6 | Νερό (χαμηλή), ανιόντα ($\text{NO}_3^- > \text{Cl}^-$) | Νεφροί | Ενδοκυττάρια κυστίδια |
| AQP7 | Νερό (υψηλή), γλυκερόλη (υψηλή), ουρία (υψηλή) | Λιπώδης ιστός, νεφροί, όρχεις | Κυτταρική μεμβράνη |
| AQP8 ^b | Νερό (υψηλή) | Όρχεις, νεφροί, ήπαρ, πάγκρεας, λεπτόέντερο, παχύ έντερο | Κυτταρική μεμβράνη, ενδοκυττάρια κυστίδια |
| AQP9 | Νερό (χαμηλή), γλυκερόλη (υψηλή), ουρία (υψηλή) | Ήπαρ, λευκοκύτταρα, εγκέφαλος, όρχεις | Κυτταρική μεμβράνη |
| AQP10 | Νερό (χαμηλή), γλυκερόλη (υψηλή), ουρία (υψηλή) | Λεπτό έντερο | Ενδοκυττάρια κυστίδια |

Τα ερυθροκύτταρα διογκώνονται/συρρικνώνονται ανάλογα με την ωσμωμοριακότητα του εξωκυττάριου υγρού και έχουν αυξημένη συγκέντρωση AQP1 (2×10^5 ανά κύτταρο). Αντίστοιχα οι εξωκρινείς αδένες που παράγουν ιδρώτα, τα δάκρυα. Ειδικά στο νεφρικό σύστημα η AQP2 ρυθμίζεται από τη *βαζοπρεσσίνη* (αντιδιουρητική ορμόνη) επαναροφά περισσότερο νερό από τον πόρο στους νεφρικούς ιστούς.

τι κίνηση την ορίζει η οσμωτική βαθμίδωση

Ταχύτητα ροής 10^9 s^{-1} όταν ο υψηλότερος βαθμός ανακύκλωσης (καταλάση) $4 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ για ένζυμα είναι συνήθως 10^4 s^{-1} έως 1 s^{-1}

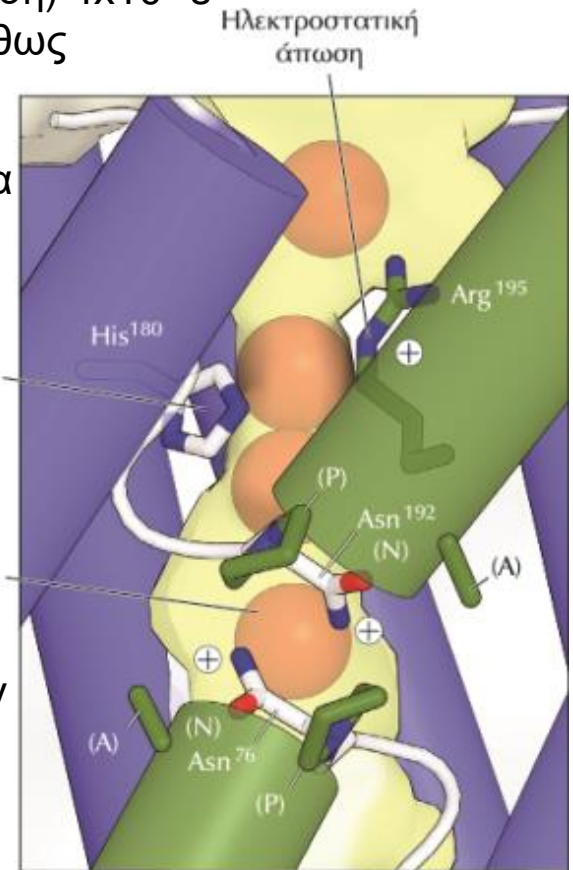


ο διάυλος πρέπει να διασφαλίσει ότι δεν θα μετακινηθούν άλλες

Περιορισμός μεγέθους

Επαναπροσανατολισμό ύδατος-διπόλου

ουσίες που μοιάζουν με H_2O όπως H_3O^+



Στο κέντρο έχει διάμετρο $2,8 \text{ \AA}$. Μια Arg απωθεί τα θετικά φορτία (H_3O^+). Επίσης έχουν μια διάταξη (-, +, +, -) που διασπά τους θεσμούς υδρογόνου του νερού άρα επαναπροσανατολίζει τα μόρια νερό που θα περάσουν. Όλες ακουοπορίνες έχουν την αλληλουχία Asn-Pro-Ala στο κέντρο τους. Κάποιες επιτρέπουν και διέλευση γλυκερόλης, ουρίας.

Εκλεκτικοί Δίαυλοι

Μεταφορά ιόντων ταχέως δια μέσου μεμβρανών

Η νευρική ώση οφείλεται και στους διαύλους και πρωτοαναγνωρίστηκαν στους νευρώνες

Η πυροδότηση της μυϊκής συστολής ωθείτε από τους διαύλους Ca^{++} του σαρκοπλασματικού δικτύου

Παθητικά μεταφορικά συστήματα

Μεταφέρουν ιόντα με ρυθμούς 10000 φορές υψηλότερα από τις αντλίες και του φορείς ($10^7/\text{sec}$ όταν η $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ έχει $10^2/\text{sec}$)

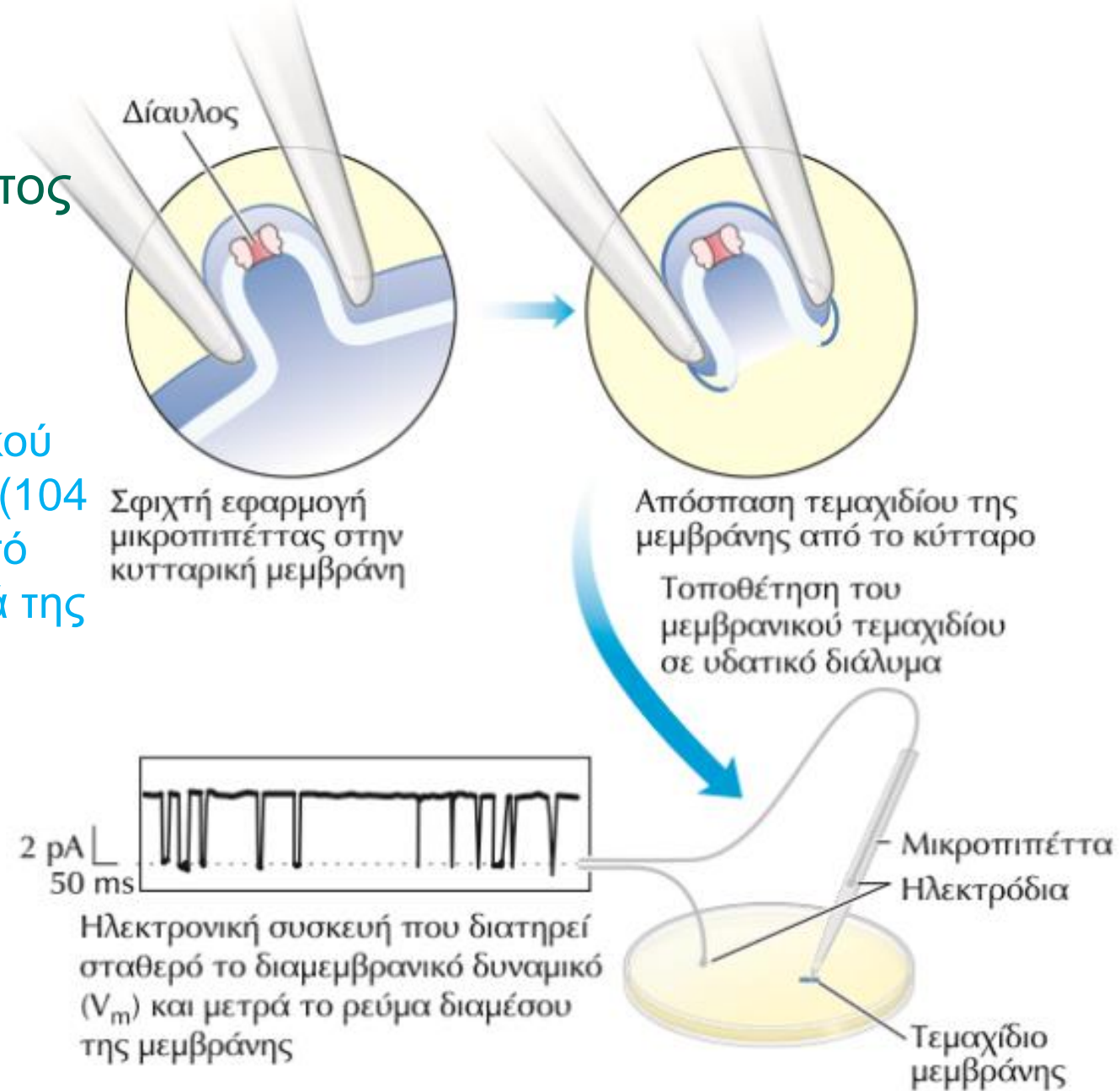
δεν υπόκειται σε κορεσμό δηλαδή ταχύτητα τους δεν έχει κάποιο μέγιστο όριο σε υψηλή συγκέντρωση υποστρώματος (ιόντων)

Δεν είναι απλοί διαμεμβρανικοί σωλήνες αλλά πολύπλοκες μηχανές που αποκρίνονται σε αλλαγές (φυσικές-χημικές) του περιβάλλοντος υπόκειται σε έλεγχο σε απάντηση κάποιου κυτταρικού συμβάντος

στους συνδετο-ελεγχόμενους διαύλους σε πρόσδεση ενός εξωκυτταρικού ή ενδοκυτταρικού μικρού μορίου και στους τάσο-ελεγχόμενους διαύλους σε μια αλλαγή στο διαμεμβρανικό ηλεκτρικό δυναμικό (V_m)

οι μελέτες έγιναν με
καθήλωση
μεμβρανικού τμήματος

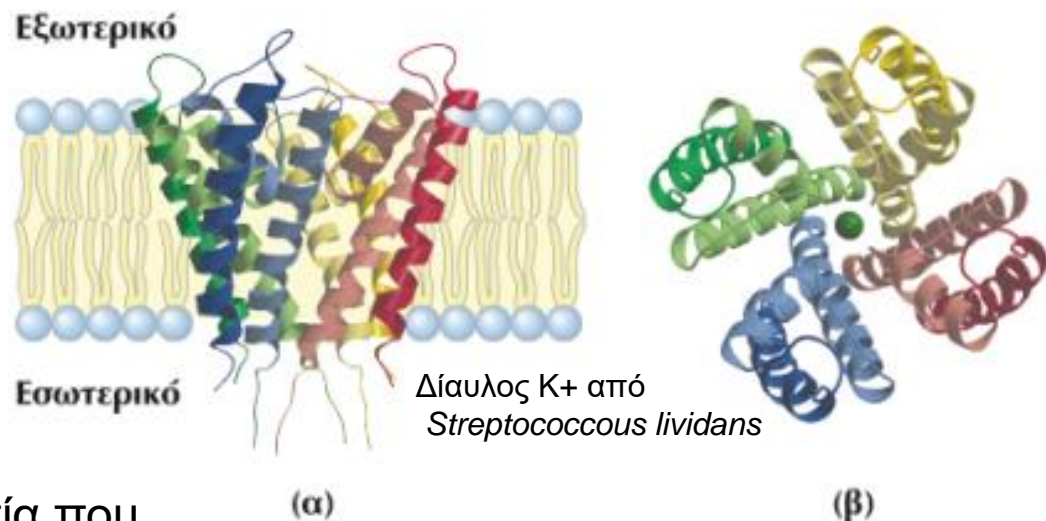
Και στην συνέχεια
παρατήρηση και
καταγραφή του δυναμικού
(mV) και του Ρεύματος (10⁴
ιόντα) που διέρχεται από
την μια στην άλλη μεριά της
μεμβράνης σε msec



σε άλλη περίπτωση όπως ο διάυλος του υποδοχέα της ακετοχολίνης
χρειάζεται μόνο 2 μόρια και το ακετοχολίνης για να ανοίξει

Η δομή του δίαυλου αποκαλύπτει την βάση εξειδικευμένης τάχιστης ιοντικής ισχύος

Οι δίαυλοι K^+ είναι 10000 φορές πιο διαπερατοί από το K^+ (ακτίνα 1,33 Å) από ότι από Na^+ είναι (ακτίνα 0,95 Å) 4 ταυτόσημες υπομονάδες που σχηματίζουν ένα κώνο μέσα σε έναν άλλο κώνο με διάμετρο



Εξωτερικά ο πόρος έχει αρνητικά φορτία που αυξάνουν την συγκέντρωση το K^+ αλλά Na^+ Η στενή διάμετρος (3 Å) απορρίπτει ιόντα με ακτίνα μεγαλύτερη από 1,5 Å. Ένα απογυμνωμένο ιόν (χωρίς δεσμευμένα H_2O) Na^+ χωράει και αυτό μέσα από τον πόρο Άρα πώς πετυχαίνετε η εξειδίκευση;

Πόρος με διάμετρο 10 Å καταλήγει σε 3 Å όπου το ιόν καλίου αλληλεπιδρά με πλευρικές ομάδες Φίλτρο επιλογής TVGYG αλληλουχία πλήρως συντηρημένη και χρήσιμη για ταυτοποίηση διαύλων K^+

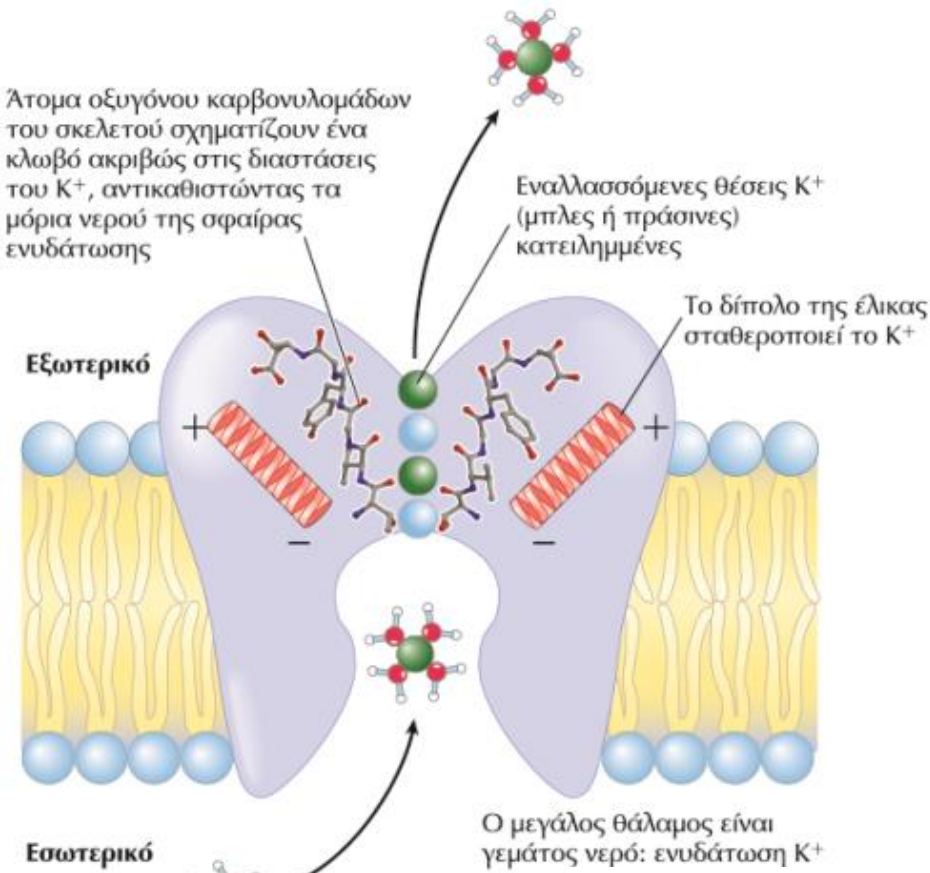
| Ιόν | Ιοντική ακτίνα (Å) | Ελεύθερη ενέργεια ενυδάτωσης σε $kJ mol^{-1}$ ($kcal mol^{-1}$) |
|--------|--------------------|---|
| Li^+ | 0,60 | -410 (-98) |
| Na^+ | 0,95 | -301 (-72) |
| K^+ | 1,33 | -230 (-55) |
| Rb^+ | 1,48 | -213 (-51) |
| Cs^+ | 1,69 | -197 (-47) |

πώς πετυχαίνετε η εξειδίκευση;

Με

μέγιστες αποστάσεις ατόμων

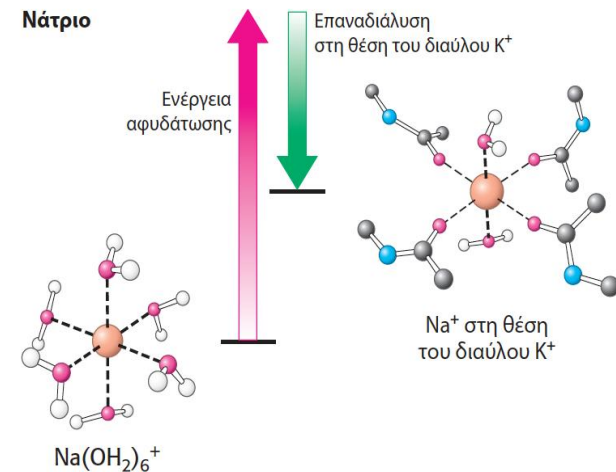
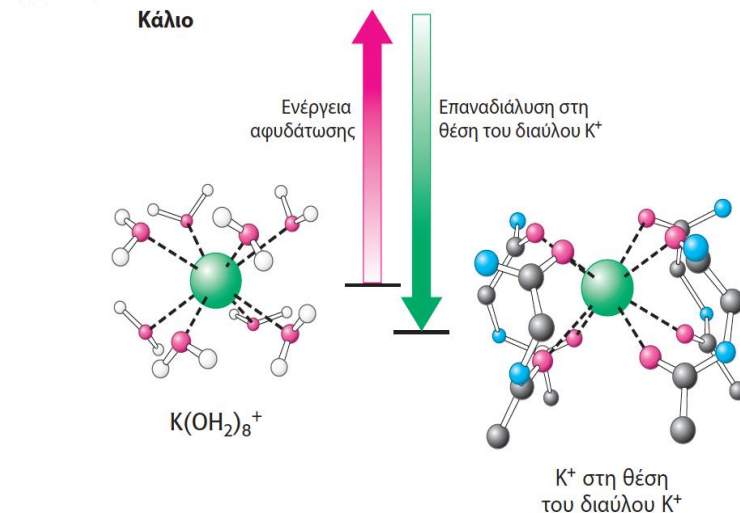
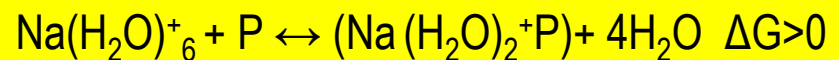
ακτίνα $-O$, K^+ και Na^+ είναι 1,4, 1,33, 0,95 Å αντίστοιχα, οι δεσμοί μεταξύ των ατόμων έχουν συγκεκριμένη απόσταση (ακτίνα ατόμου 1 + ακτίνα ατόμου 2). Οι αποστάσεις μεταξύ των οξυγόνων και του νατρίου δεν είναι ιδανικές (σε σχέση με αυτές που είχε με το νερό)



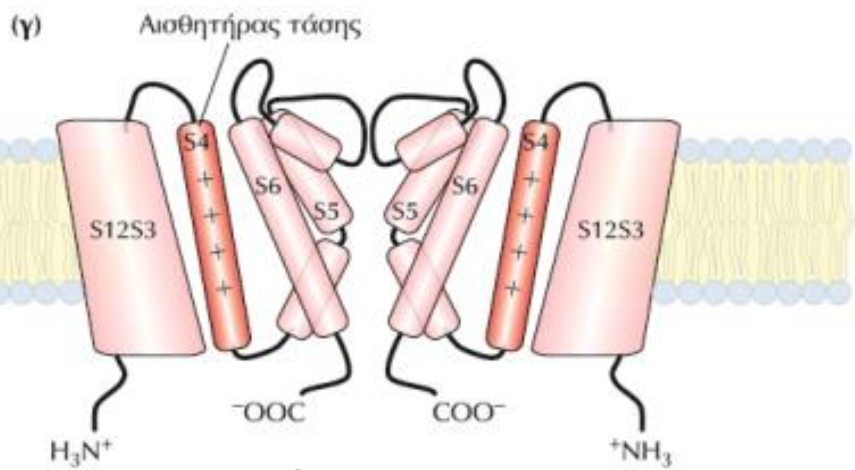
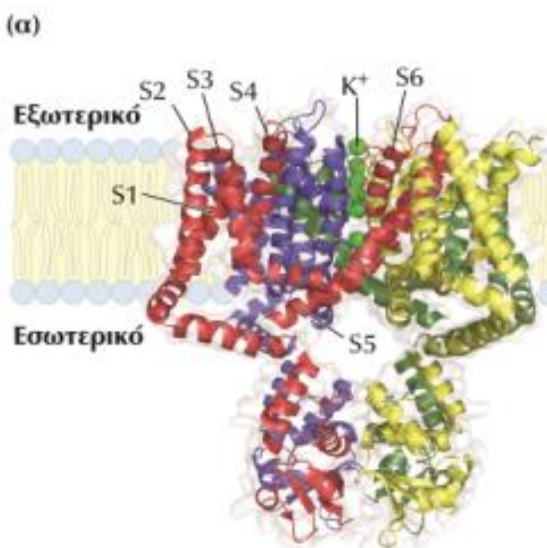
πώς συνδέονται αυτά με όλα όσα έχουμε μάθει;



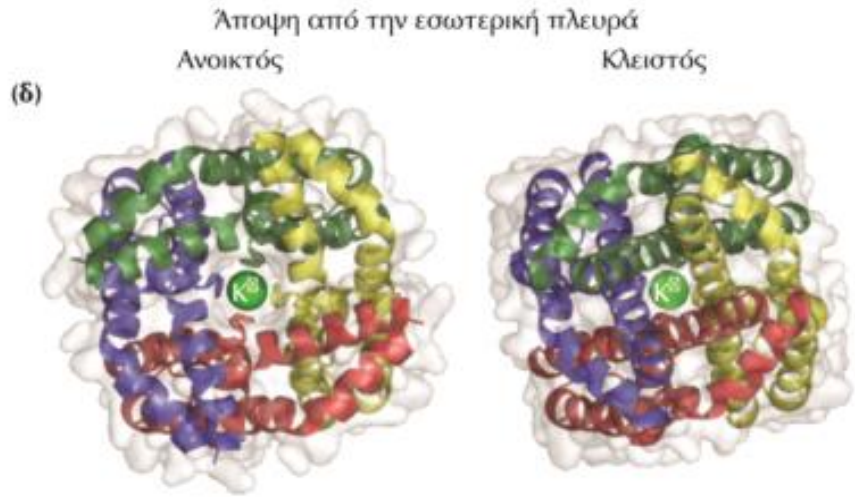
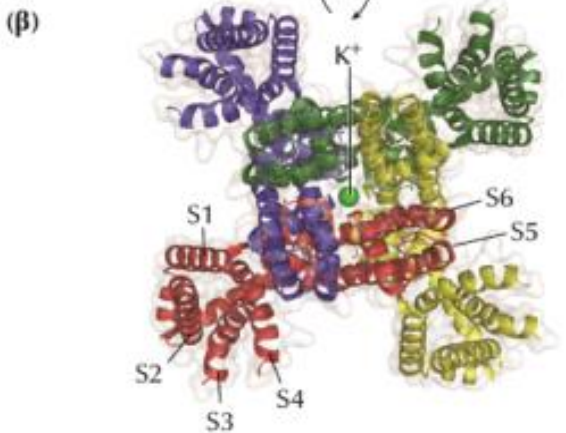
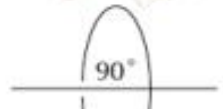
ενώ



οι τασο-ελεγχόμενοι διάυλοι καλίου είναι πιο πολύπλοκες δομές από αυτή που παρουσιάστηκε αλλά στηρίζονται στην ίδια αρχή,



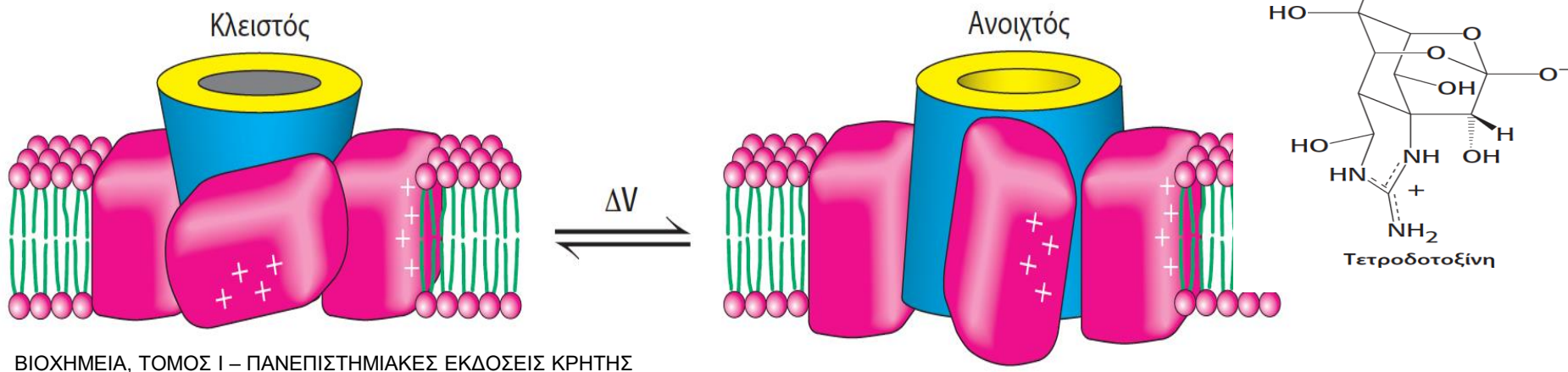
ο διάυλος καλίου το θηλαστικών της οικογένειας *shaker* είναι παρόμοιός (S5, S6) αλλά διαθέτει επιπλέον πρωτεΐνες που ανιχνεύουν το δυναμικό της μεμβράνης (S4 κατάλοιπα Arg)



πχ ο διάυλος Na^+ έχει εκλεκτικότητα >100 έναντι άλλων μονοσθενών ή δισθενών ιόντων και ταχύτητα ροής $>10^7$ ιόντα/sec

Για μελέτη βιολογικών μηχανισμών χρησιμοποιούμε τα κατάλληλα (ακραία) βιολογικά εργαλεία

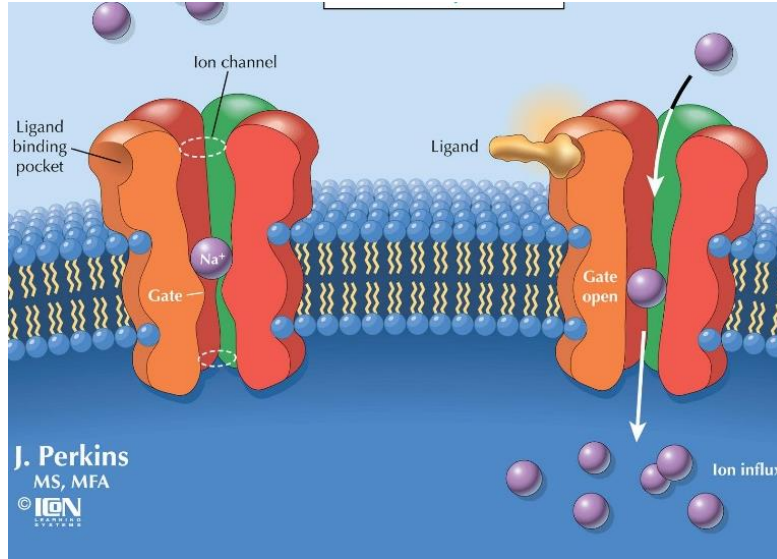
Ο διάυλος νατρίου (πολυπεπτιδική αλυσίδα MB 260 kd) απομονώθηκε (από το ηλεκτρικό χέλι) με τη βοήθεια της τετροδοτοξίνης ψάρι *τετρόδους* ($K_i \sim 1 \text{ nM}$) η οποία είναι θανατηφόρος σε 10 ng σε ενήλικα.



Με την εκπόλωση (ροή Na^+) η κυτταροπλασματική μεριά της μεμβράνης γίνεται περισσότερο θετικό και οι κοπές από οριζόντια (λόγο άπωσης) γυρνάνε σε κάθετες θέσεις

Το αρχικό σήμα ξεκινάει από ένα διάυλο ακετοχολίνης

ελεγχόμενος από (νευροδιαβιβαστής) πρόσδεμα διάυλος μεταδίδει την νευρική ώση

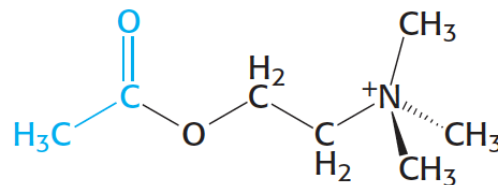


Υποδοχέας ακετοχολίνης πενταμερές διαμεβρανικών υπομονάδων που δημιουργούν έναν πόρο μέσα στην μεμβράνη εξ ίσου διαπερατός από Na^+ και K^+

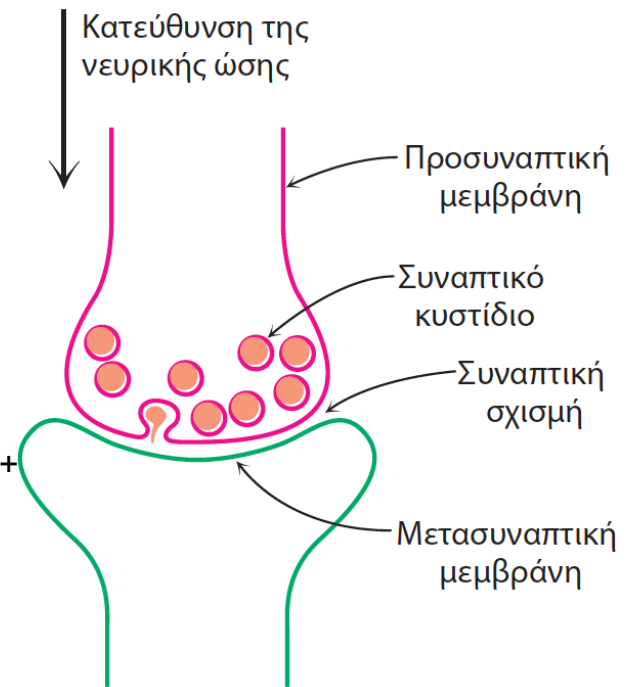
Δέσμευση της ακετοχολίνης \leftrightarrow αλλαγή στερεοδιάταξης (περιστροφή α -έλικας) και άνοιγμα του εσωτερικού υδρόφοβου δακτυλίου

Ταυτόχρονη απελευθέρωση 300 συναπτικών κυστιδίων (10^4 μόρια το καθένα) τα όποια αυξάνουν την συγκέντρωση στην συναπτική σχισμή από 10nM σε 500nM σε $<1\text{ms}$

Αποτέλεσμα αλλαγή της διαπερατότητας Na^+ και K^+ (ανοίγουν οι διάυλοι σε 0,1 ms) μεγάλο ρεύμα εισροής Na^+ και μικρό εκροής K^+



Ακετυλοχολίνη



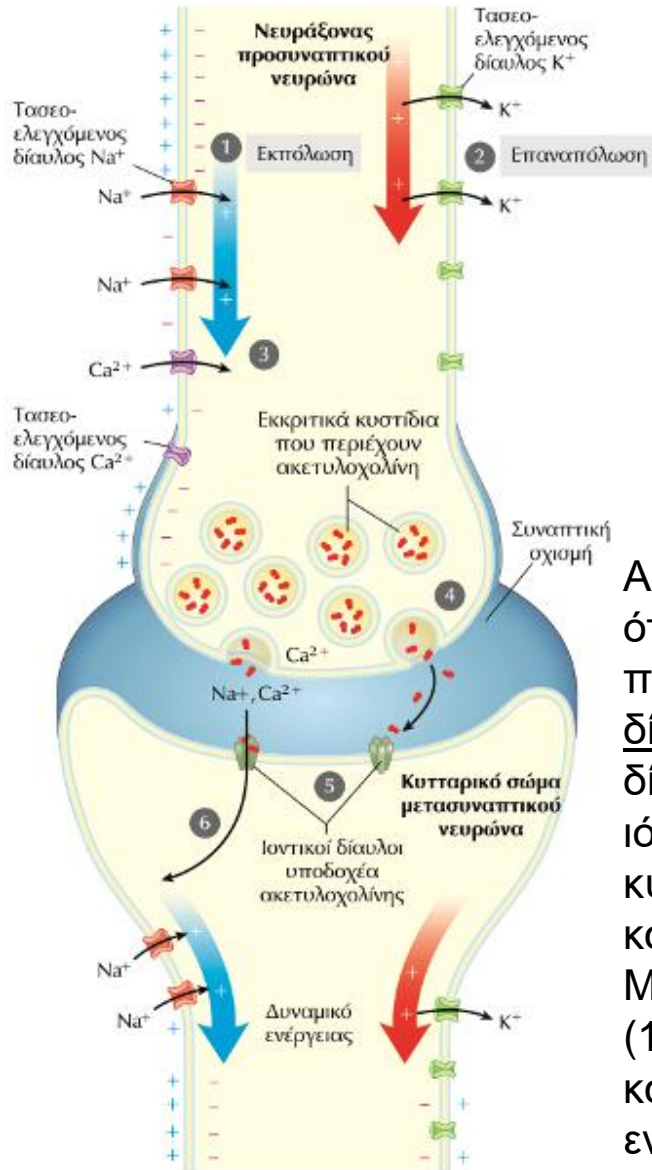
Η πυκνή διάταξη των υποδοχέων ακετυλοχολίνης στο συγκριμένο ψάρι το έκανε ιδανικό βιολογικό υλικό για την απομόνωση και μελέτη του υποδοχέα



Η μουδιάστρα *νάρκη η μαρμαίρουσα* (*Torpedo marmorata*, επίσης γνωστή ως ηλεκτροφόρο σελάχι) έχει ένα ηλεκτρικό όργανο, πλούσιο σε υποδοχείς ακετυλοχολίνης, το οποίο μπορεί να μεταδώσει ένα ηλεκτρικό σοκ 200 V σε χρόνο περίπου ενός δευτερολέπτου. [Yves Gladu / Jacana / Photo Researchers.]

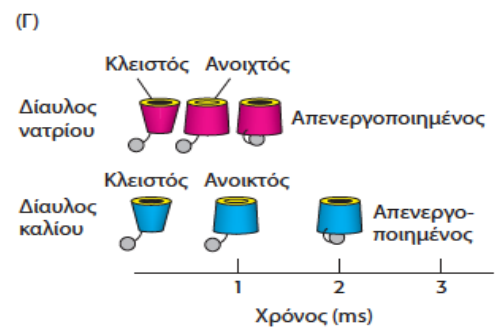
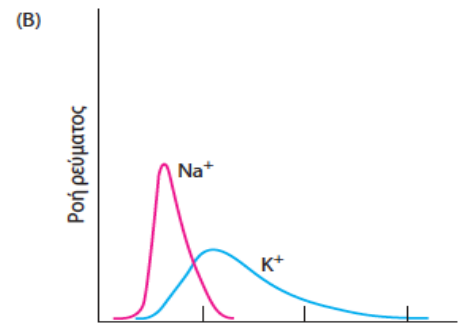
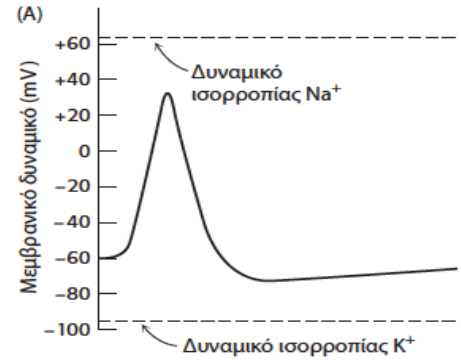
Ένα επίσης εξωτικό βιολογικό υλικό νευροτοξίνη του φιδιού (τοξίνη της κόμπρας) που δεσμεύεται πολύ ισχυρά στον υποδοχέα

Τασοελεγχόμενοι διάυλοι προωθούν την νευρική ώση

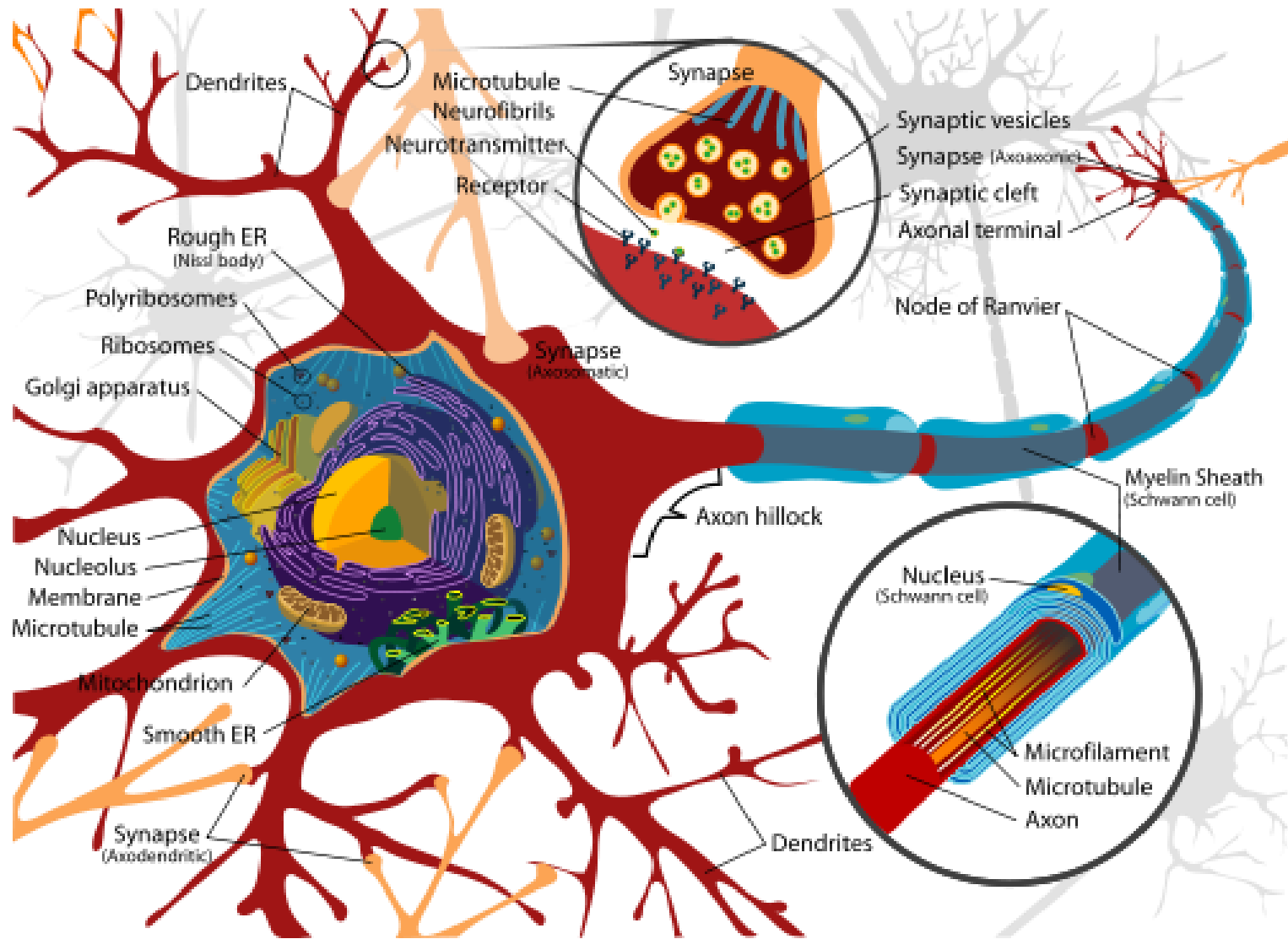


Κατάσταση ηρεμίας μεμβρανικό δυναμικό -60mV .
 Νευρική ώση ή *δυναμικό ενεργείας*: δημιουργείται όταν το δυναμικό πέσει κάτω από μια τιμή (π.χ. -60 σε -40 mV) ανοίγουν οι διάυλοι (τασοελεγχόμενοι) Na^+ και παραμένουν ανοικτοί μέχρι (μέσα σε 1ms) $+30\text{mV}$

Αρχικά εισέρχονται ιόντα Na^+ τα οποία ρίχνουν το δυναμικό και πολώνουν περισσότερους (γειτονικούς διάυλους) στα $+30\text{mV}$ κλείνουν οι διάυλοι Na^+ και ανοίγουν οι διάυλοι ιόντων K^+ τα οποία εξέρχονται στο κύτταρο και το δυναμικό στην κατάσταση ηρεμίας των -60mV . Μόνο ένα μικρό ποσοστό 1% ιόντων (10^6 ιόντα) διαπερνά την μεμβράνη κατά την διάρκεια του δυναμικού ενεργείας



Η νευρική ώση για να μεταφερθεί χρησιμοποιεί διαύλους

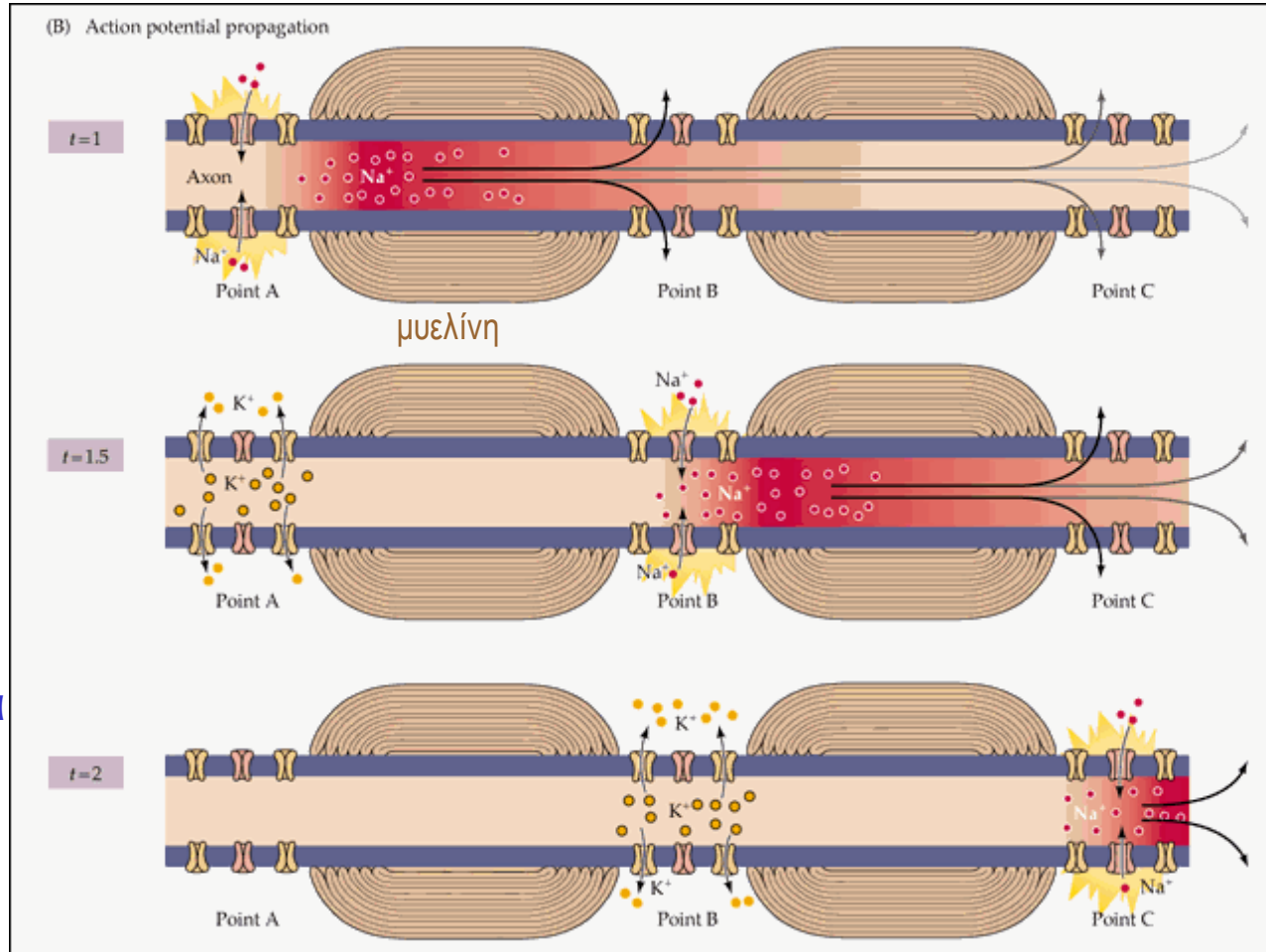


από κύτταρο σε κύτταρο η νευρική ώση γίνεται από ελεγχόμενους από πρόσδεμα διαύλους
από την μια άκρη του κυττάρου στην άλλη με ελεγχόμενους από τάση διαύλους (τασοελεγχόμενους)

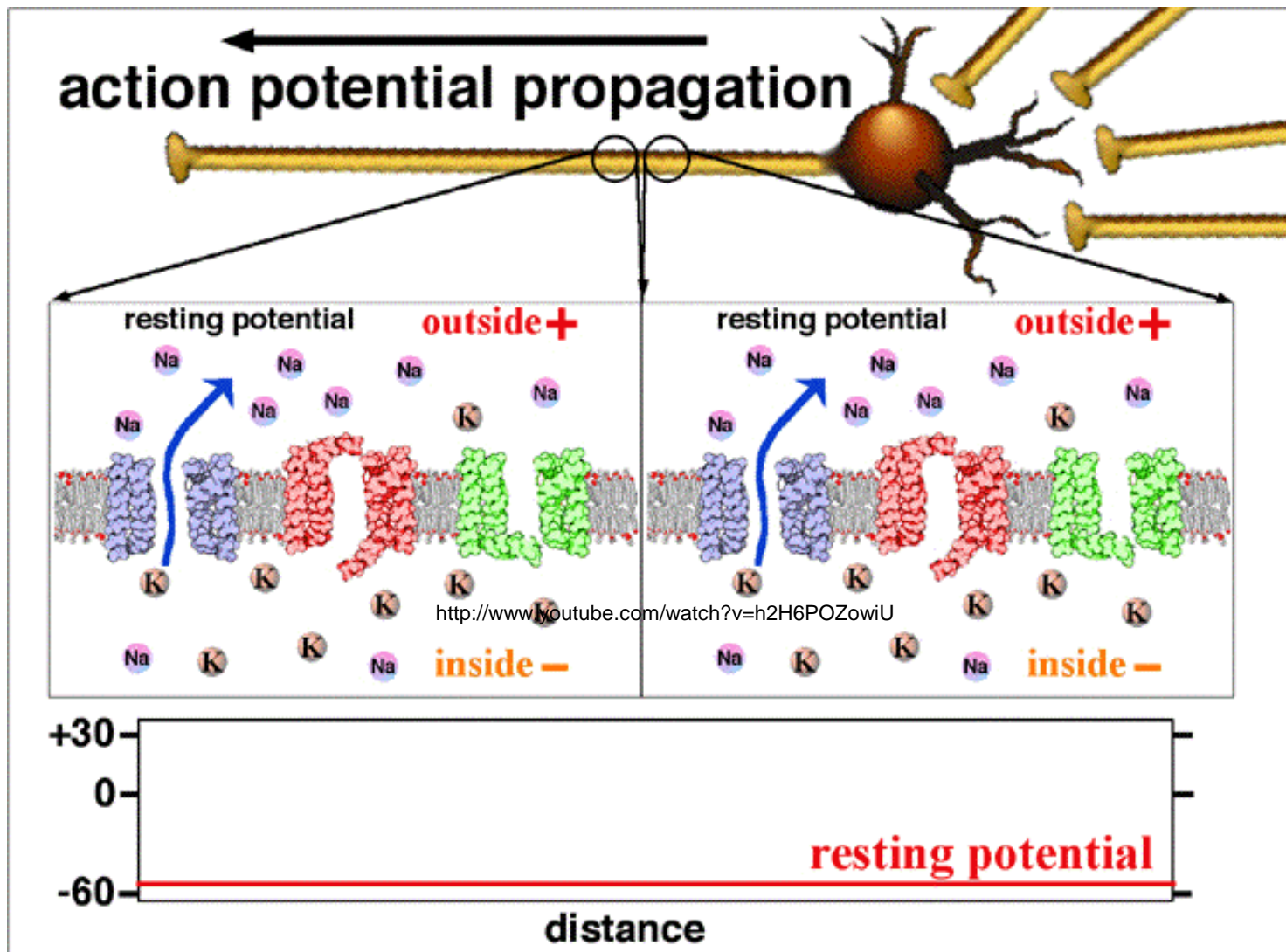
Μετάδοση της νευρικής ώσης

Ξεκινάει λόγω νευροδιαβιβαστή (μεμβρανική εκπόλωση). Οι Τασοελεγχόμενοι διάυλοι ανοίγουν ιόντα Na^+ εισρέουν στο εσωτερικό

Η διάφορα δυναμικού ανοίγει τους γειτονικούς τασοελεγχόμενους διάυλους. Οι προηγούμενοι κλείνουν και παραμένουν κλειστοί χάρη στην (επαναπόλωση) με την βοήθεια των διάυλων K^+ , ταυτόχρονα η ΑΤΡάση αρχίζει να αποκαθιστά την ισορροπία)



Η διαδικασία συνεχίζεται μέχρι την άλλη άκρη του νευρικού κυττάρου, όπου θα ενεργοποιηθεί ο νευροδιαβιβαστής του γειτονικού νευρικού κυττάρου



Η ταχύτητα μεταφοράς του σήματος μπορεί να είναι από 1-100 m/sec (3,6-360 Km/h)

Video και περιγραφή πως ξεκινάει το σήμα και σε πια κατεύθυνση προχωράει

<http://www.youtube.com/watch?v=h2H6POZowiU>

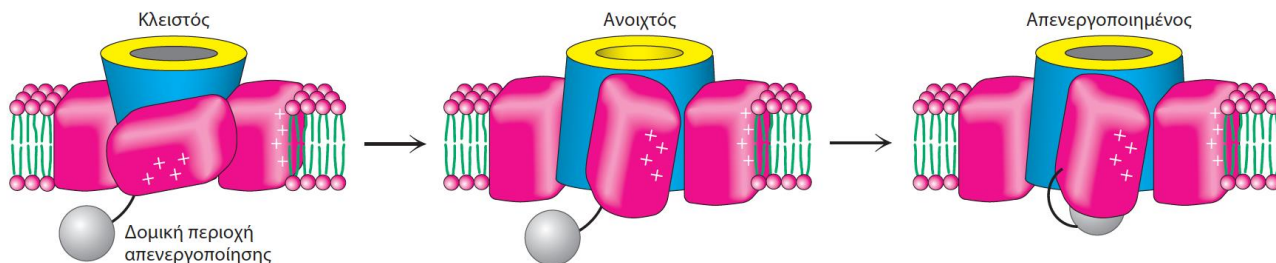
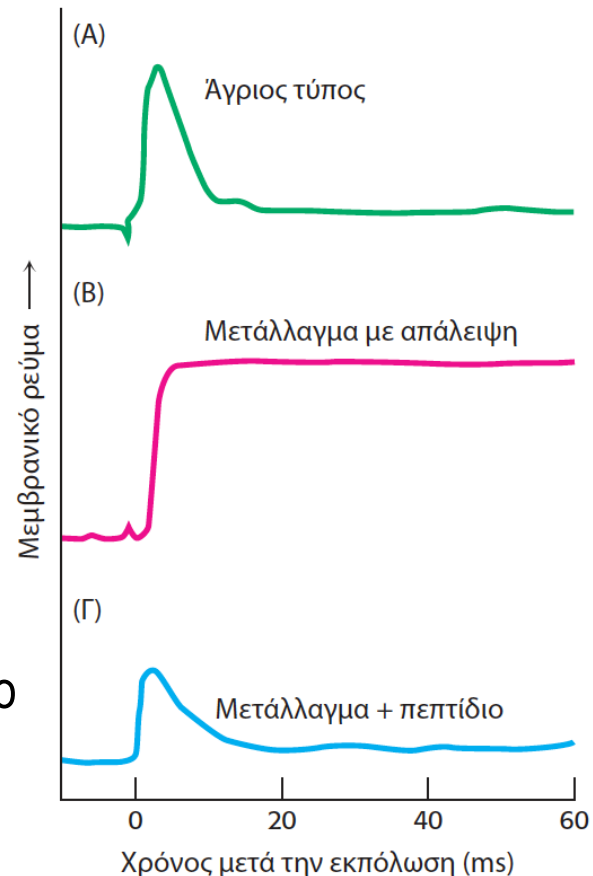
<https://www.youtube.com/watch?v=liiz5CpFCQo>

Έλεγχος λειτουργίας δίαυλου

Πώς μπορεί ένας δίαυλος να ανοίγει και να κλείνει σε ms;
Έκθεση σε θρυψίνη (στην εξωτερική πλευρά) δημιουργεί έναν δίαυλο που παραμένει μόνιμα ανοικτός.

Ένας μεταταγμένος δίαυλος τύπου shaker (έλειπαν 42 αμινοξέα στο N-τελικό άκρο) ανοίγει με απόκριση στην εκπόλωση αλλά δεν απενεργοποιείται

Μπορεί να απενεργοποιηθεί εάν προσθέσουμε στο διάλυμα ένα συνθετικό πεπτίδιο ανάλογο των 20 πρώτων αμινοξέων στο N-τελικού άκρου



Εικόνα 13.25 Το μοντέλο της σφαίρας και της αλυσίδας. Η δομική περιοχή απενεργοποίησης ή η «σφαίρα» (γκρι) είναι προσδεμένη στον δίαυλο μέσω μιας εύκαμπτης «αλυσίδας». Στην κλειστή κατάσταση, η σφαίρα βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Η εκπόλωση της μεμβράνης ανοίγει τον δίαυλο και δημιουργεί μια αρνητικά φορτισμένη θέση δέσμευσης για τη θετικά φορτισμένη σφαίρα, κοντά στο άνοιγμα του διαύλου. Η μετακίνηση της σφαίρας σε αυτή τη θέση απενεργοποιεί τον δίαυλο, αποφράσσοντάς τον.