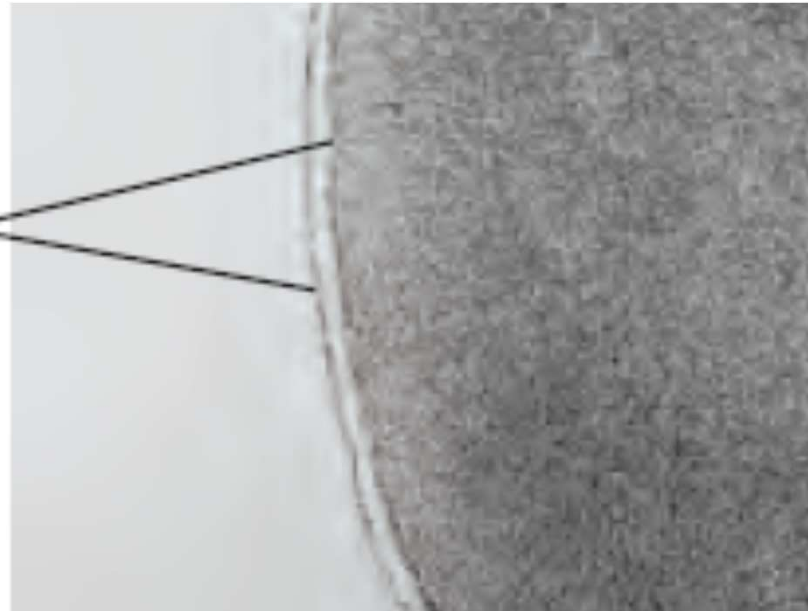


Le proteine di membrana

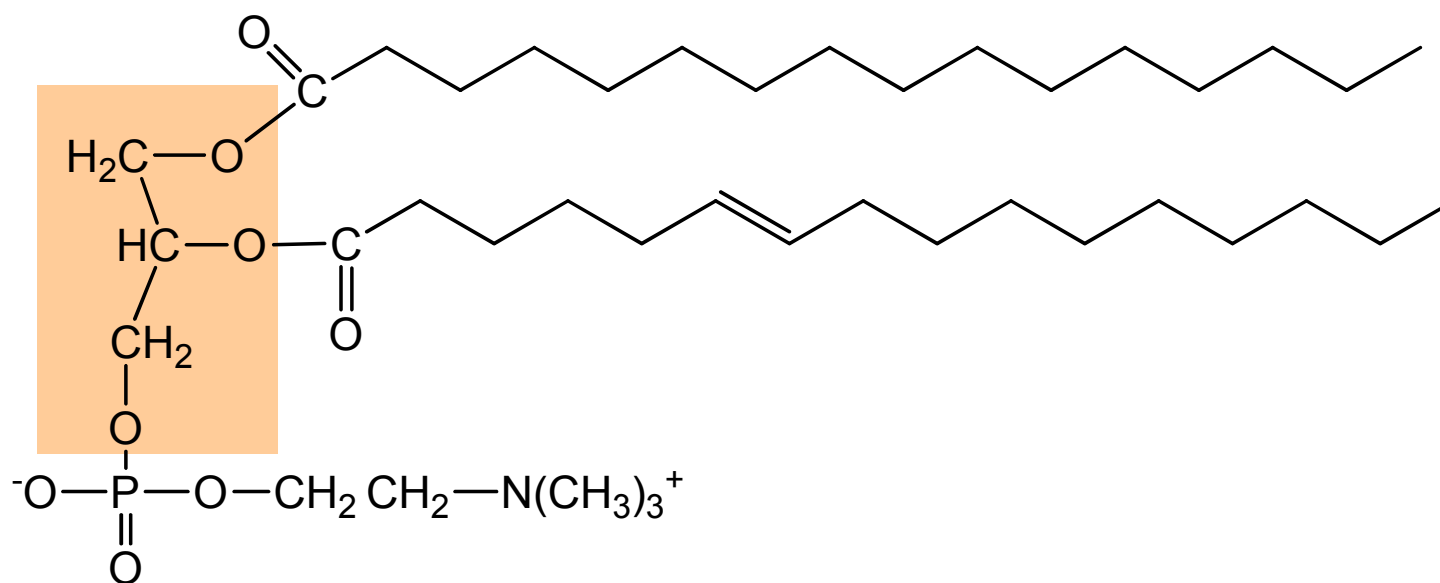
Esempi di struttura e funzione

Le membrane biologiche

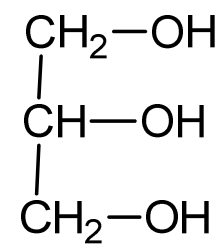
Membrana cellulare al
microscopio elettronico
(spessore = circa 7 nm)

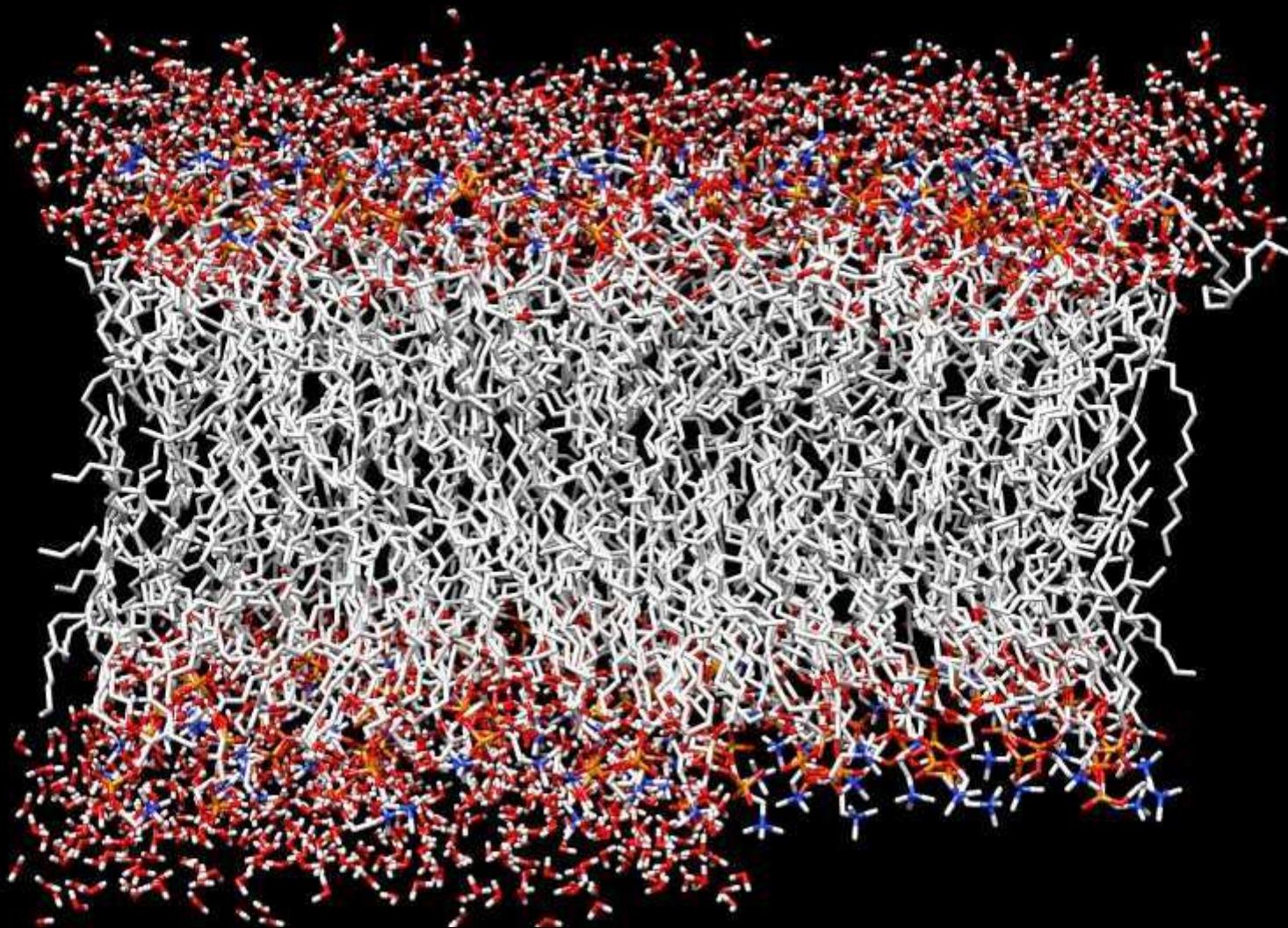


Fosfatidilcolina



glicerolo



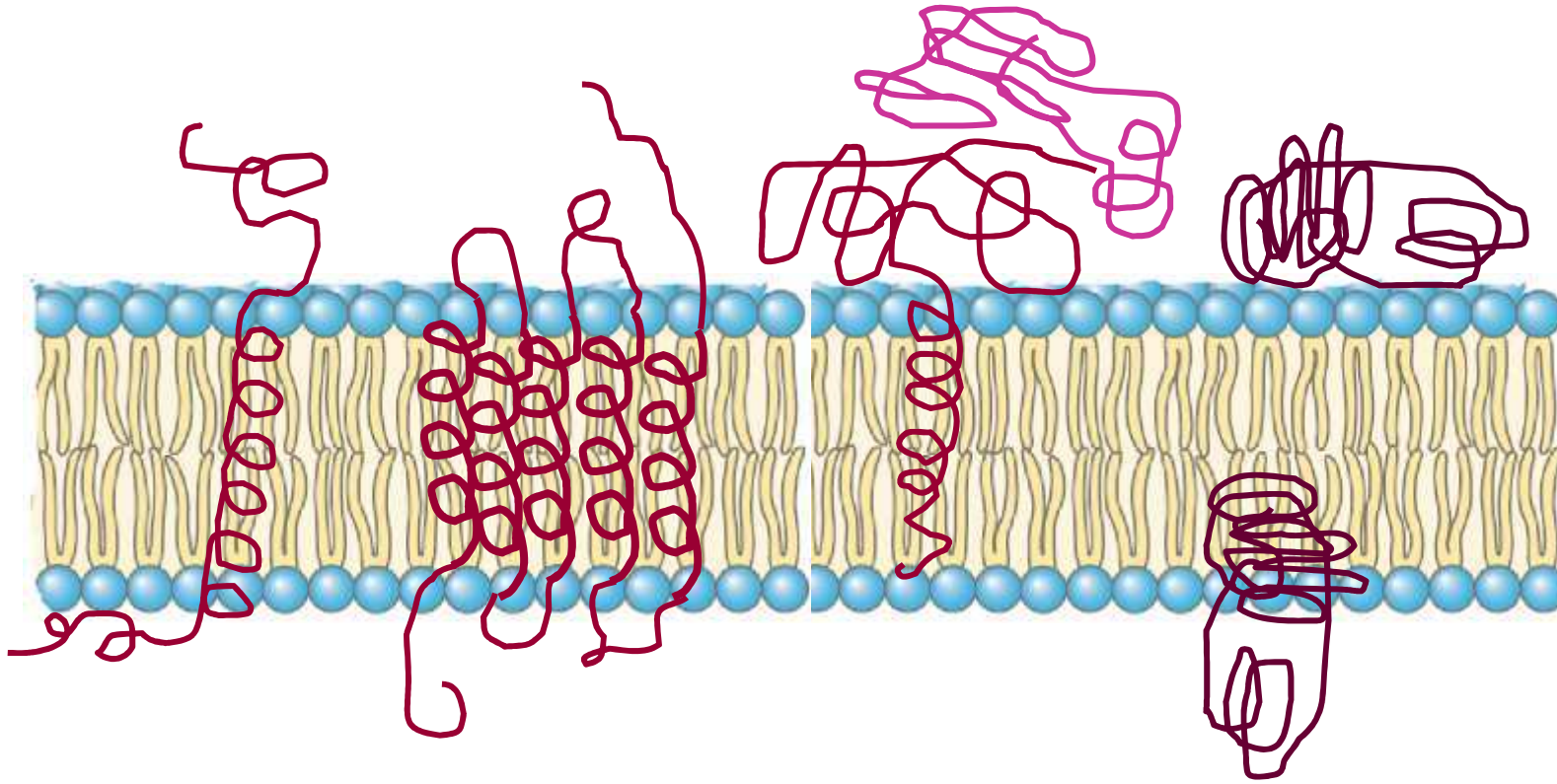


Doppio strato (*bilayer*) di fosfatidilcolina con molecole di acqua

Principali componenti delle plasmamembrane di alcuni organismi

	<i>proteine</i>	<i>fosfolipidi</i>	<i>steroli</i>
Mielina umana	30	31	19 (colesterolo)
Fegato di topo	46	27	25 (colesterolo)
Foglia di mais	47	26	7
Paramecio	56	40	4
<i>Escherichia coli</i>	75	25	-

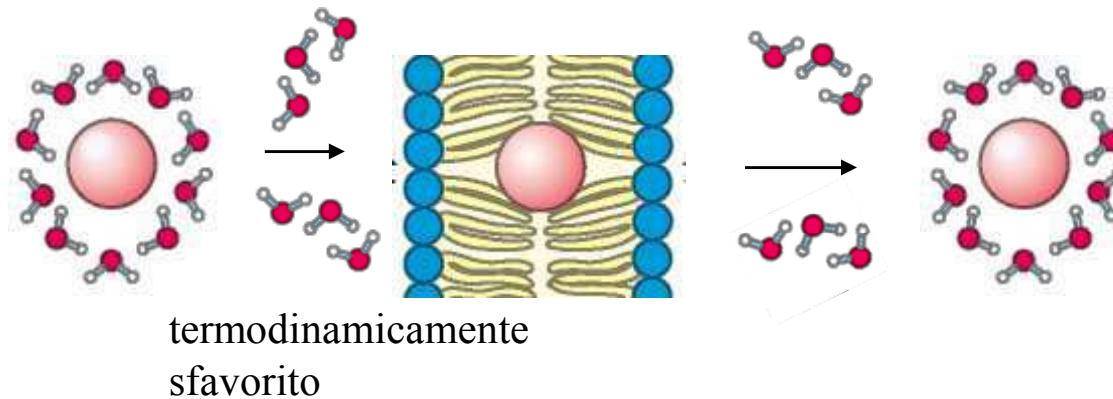
Proteine di membrana: associazioni con il bilayer



Principali classi funzionali di proteine di membrana

- Trasportatori di soluti
- Recettori
- Enzimi

Il doppio strato lipidico è pressoché impermeabile alla maggior parte dei soluti organici (polari) e agli ioni



La membrana deve poter selezionare chi entra e chi esce

Occorrono proteine specifiche che riconoscano le molecole e ne consentano il passaggio

I trasportatori di membrana

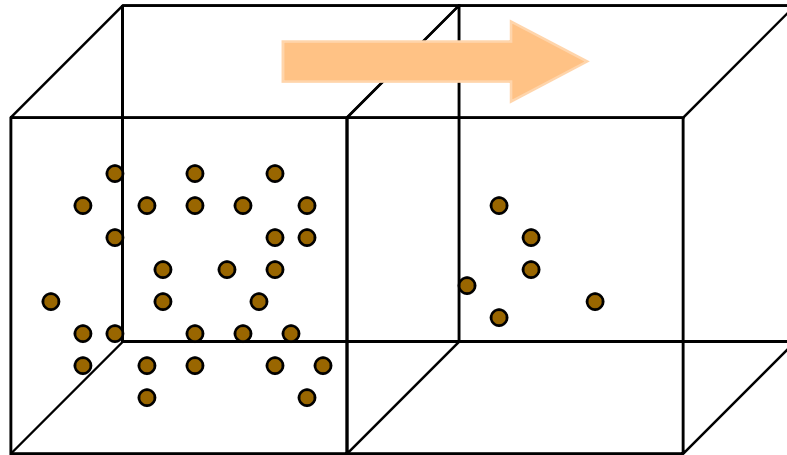
Carrier (saturabili da substrato; seguono le leggi della cinetica enzimatica)

1. attivi primari dipendono da ATP
2. attivi secondari dipendono da gradienti ionici preformati
3. passivi mediano la diffusione facilitata

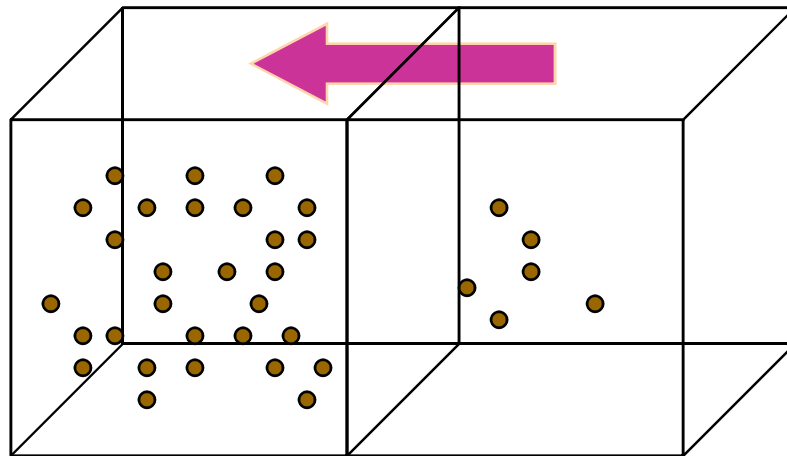
Canali ionici

(non saturabili: 10-100 milioni di ioni al secondo)

Alcuni semplici concetti



Trasporto secondo
gradiente di
concentrazione



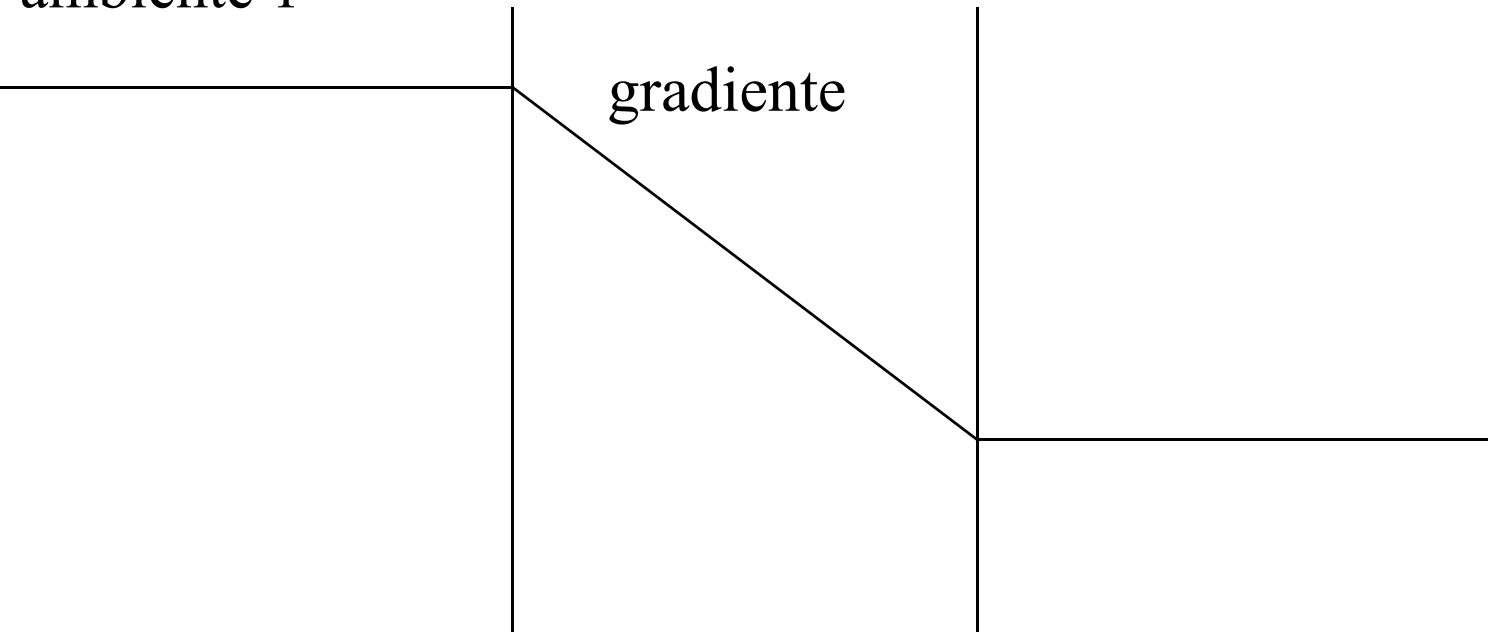
Trasporto **contro**
gradiente di
concentrazione

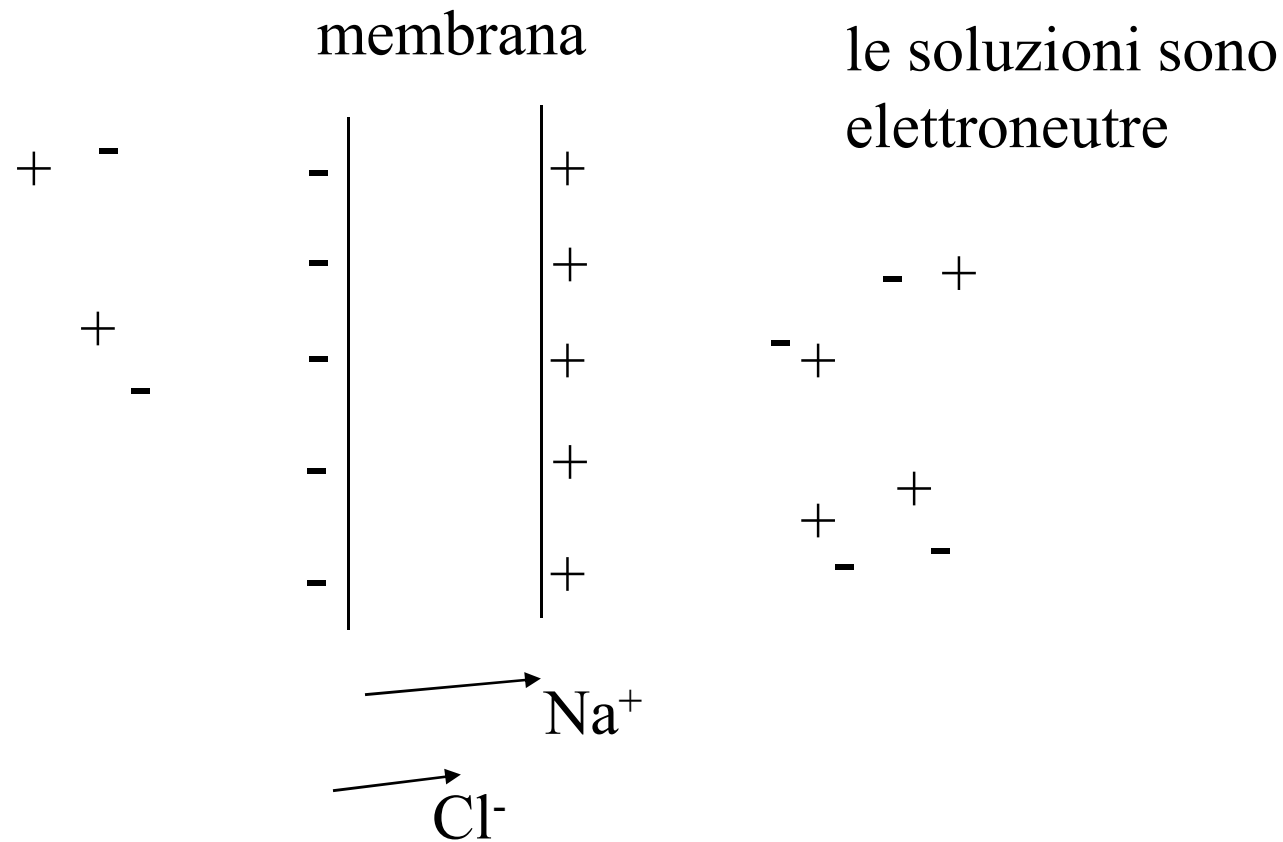
ambiente 1

ambiente 2

gradiente

membrana





la diversa permeabilità crea un gradiente di cariche a cavallo della membrana
Si genera una differenza di potenziale di transmembrana

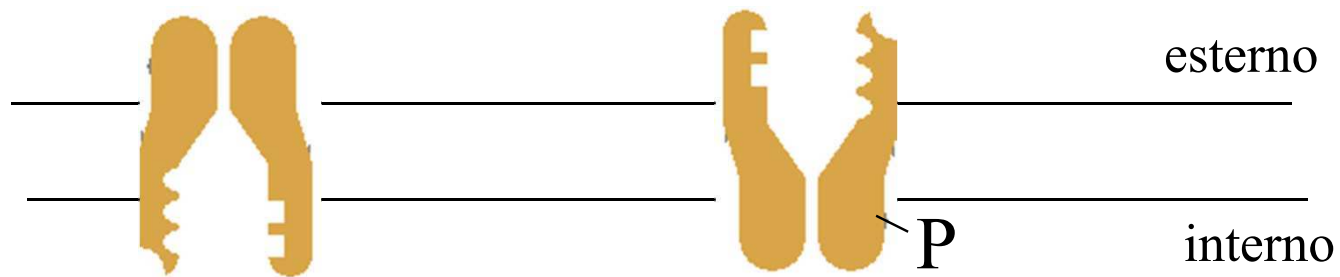
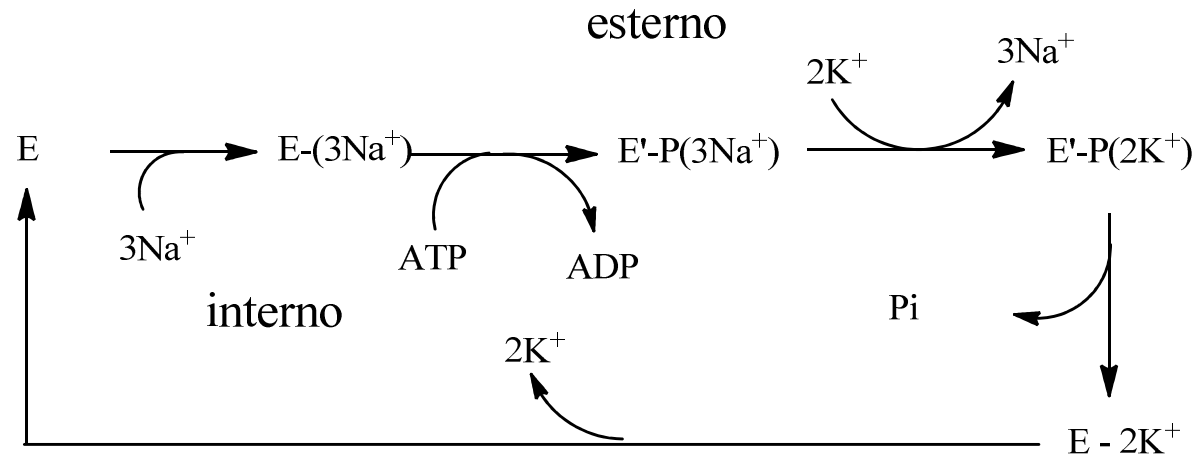
Trasportatori attivi primari: trasportano soluti a spese di ATP

A) Trasportano ioni da un lato all'altro della membrana contro gradiente di concentrazione.

B) Trasportatori ABC (*ATP Binding Cassette*), ubiquitari

- per aminoacidi, vitamine, peptidi e molti altri
- per xenobiotici (*multi-drug resistance transporter*)

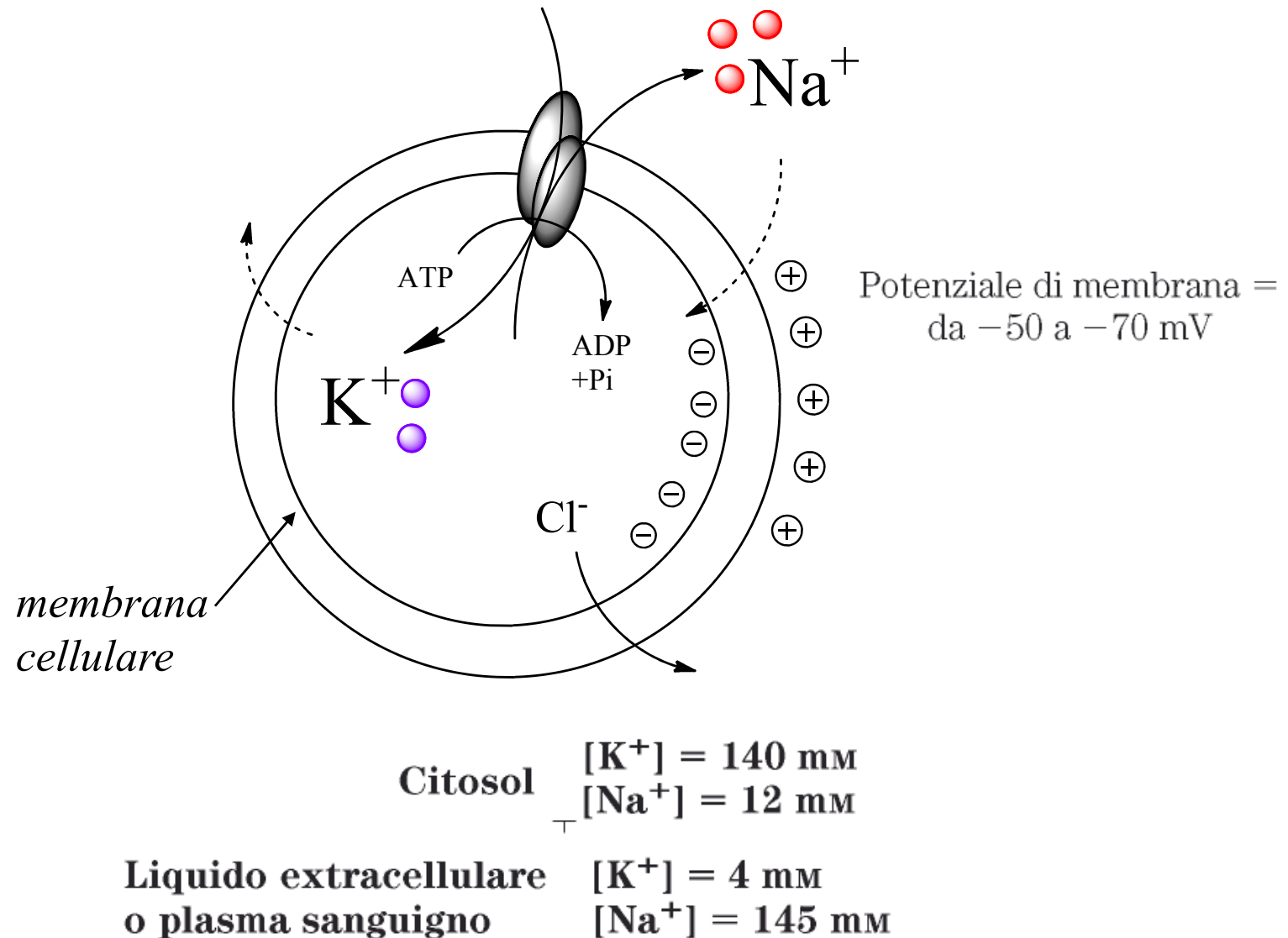
La pompa sodio, potassio



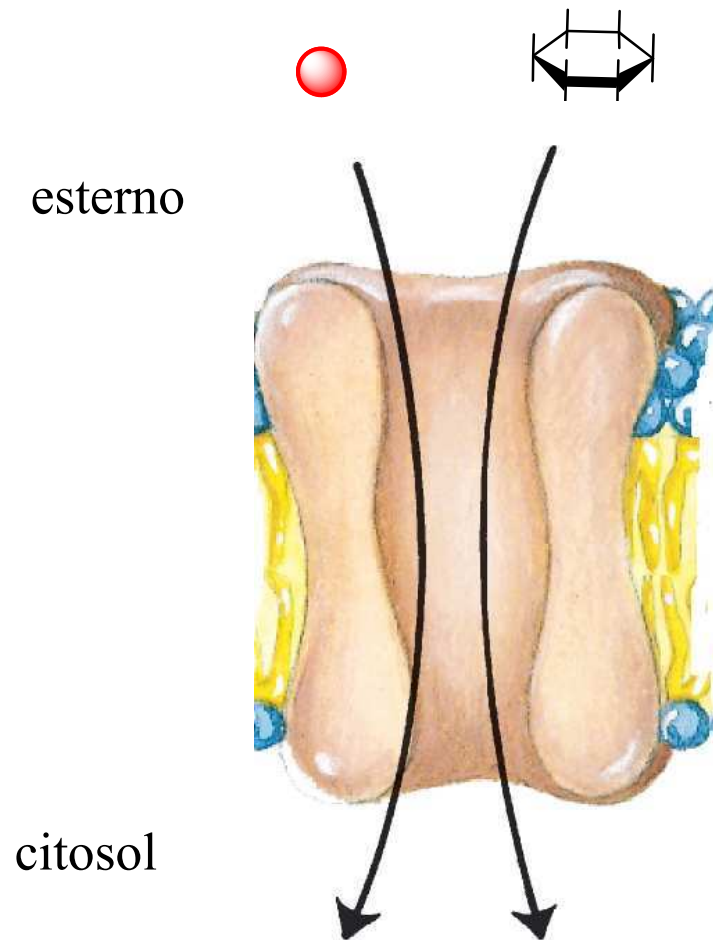
forma E
poca affinità
per K^+

forma E'
poca affinità
per Na^+

La pompa sodio, potassio genera un gradiente elettrochimico di sodio e di potassio. Lavora in continuo poiché i gradienti tendono a dissiparsi.



Attivo secondario: tipo cotrasporto, sottotipo simporto

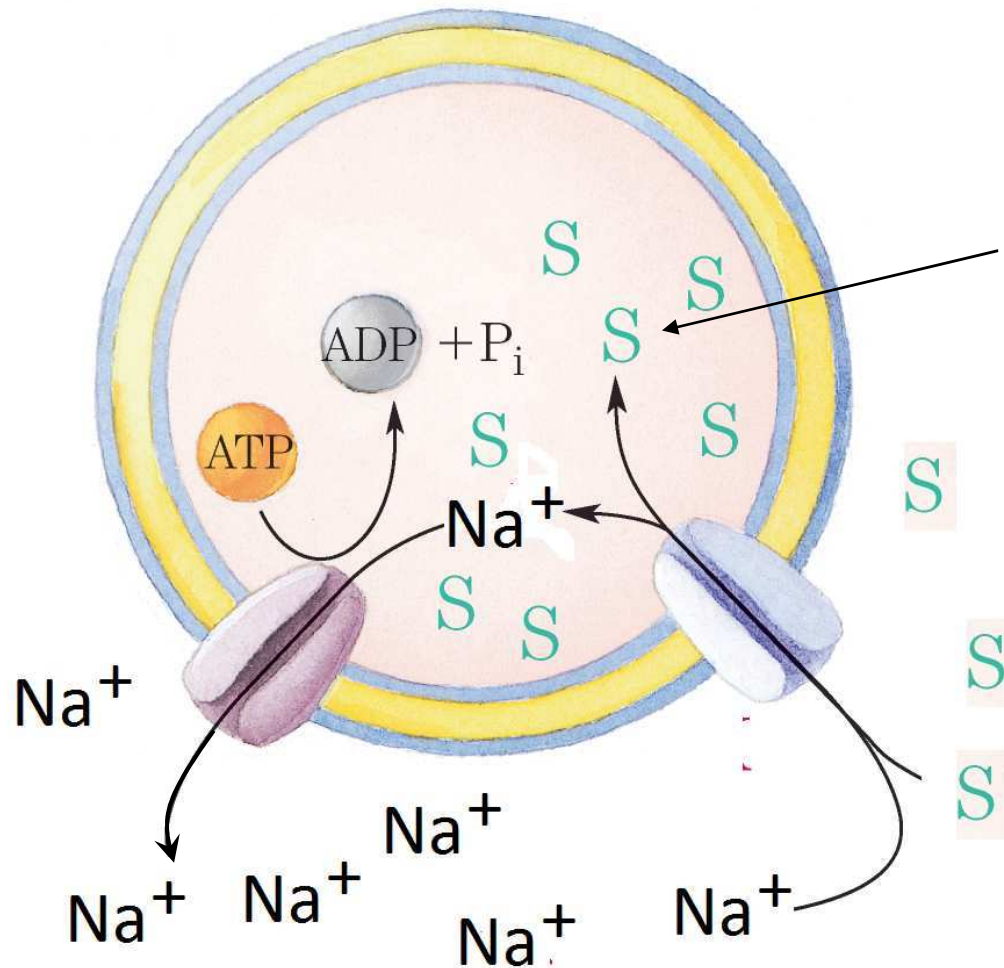


● Ione: Na^+ (vertebrati e molti invertebrati)
 K^+ (intestino delle larve dei lepidotteri)
 H^+ (piante)

⬮ zuccheri, aminoacidi, acidi organici, fosfato, etc...
(elevata specificità)

Tutte le cellule; ad alta densità negli epiteli assorbimenti

Trasporti attivi secondari: trasportano contro gradiente un soluto sfruttando come fonte di energia un gradiente elettrochimico di uno ione (ad es. sodio).



il soluto cotrasportato
si accumula in cellula;
il cotrasporto dissipa
il gradiente di sodio

1. Per un soluto neutro:

$$\Delta G_t = RT \ln \frac{C_2}{C_1}$$

2. Per un soluto con carica:

$$\Delta G_t = RT \ln \frac{C_2}{C_1} + Z \mathcal{F} \Delta \psi$$

$\Delta \psi$ (ad es. = -0.05 V)

$\mathcal{F} = 96 \text{ kJ/V mol}$

$Z = \text{n. di cariche}$



$$\Delta G = RT \ln \frac{[\text{Na}^{+}]_{\text{in}}}{[\text{Na}^{+}]_{\text{out}}} + n\mathcal{F}\Delta\psi$$

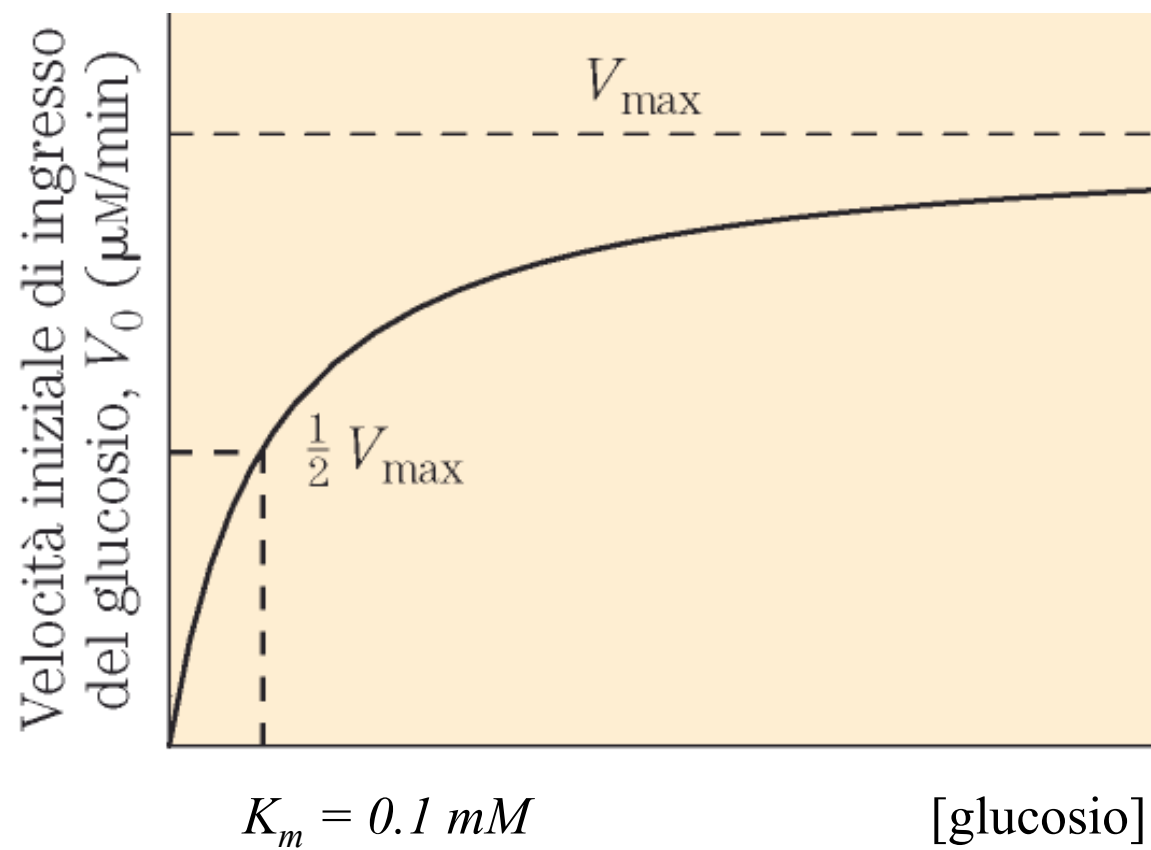
$$\text{Na}_{\text{in}} = 12 \text{ mM}; \text{Na}_{\text{out}} = 145 \text{ mM}$$

$$\Delta\psi = -50 \text{ mV}$$

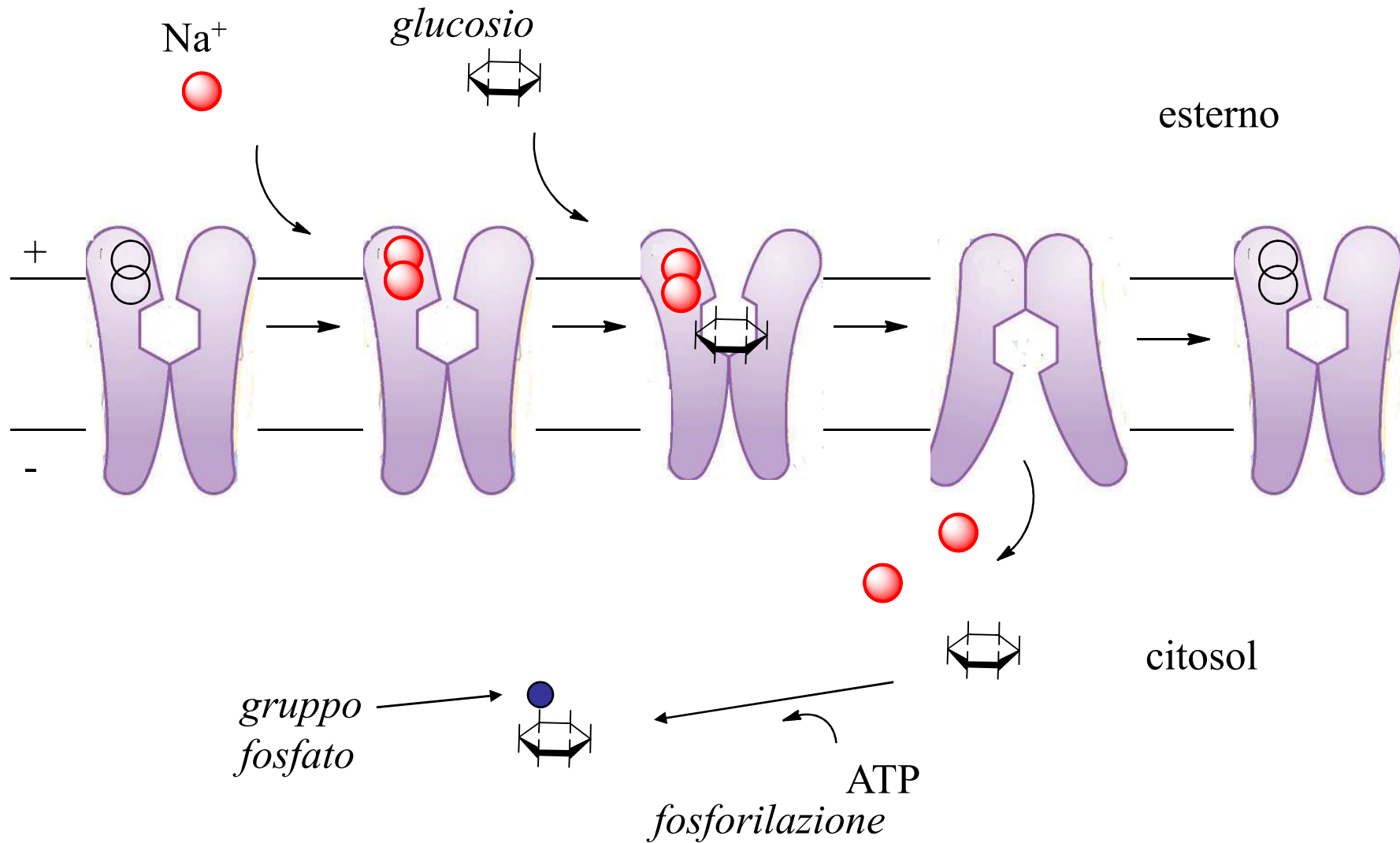
$$\mathcal{F} = 96 \text{ kJ/V mol}$$

$$\Delta G_{\text{t}} = -22.5 \text{ kJ} = RT \ln \frac{[\text{glucose}]_{\text{in}}}{[\text{glucose}]_{\text{out}}}$$

$$\frac{[\text{Glucose}]_{\text{in}}}{[\text{Glucose}]_{\text{out}}} \approx 6.000$$

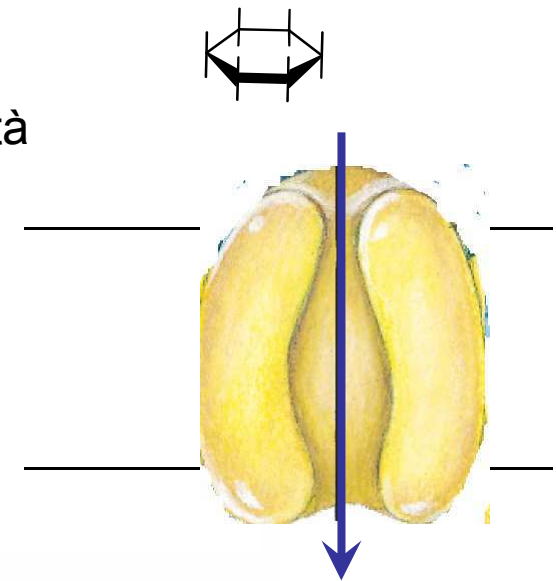
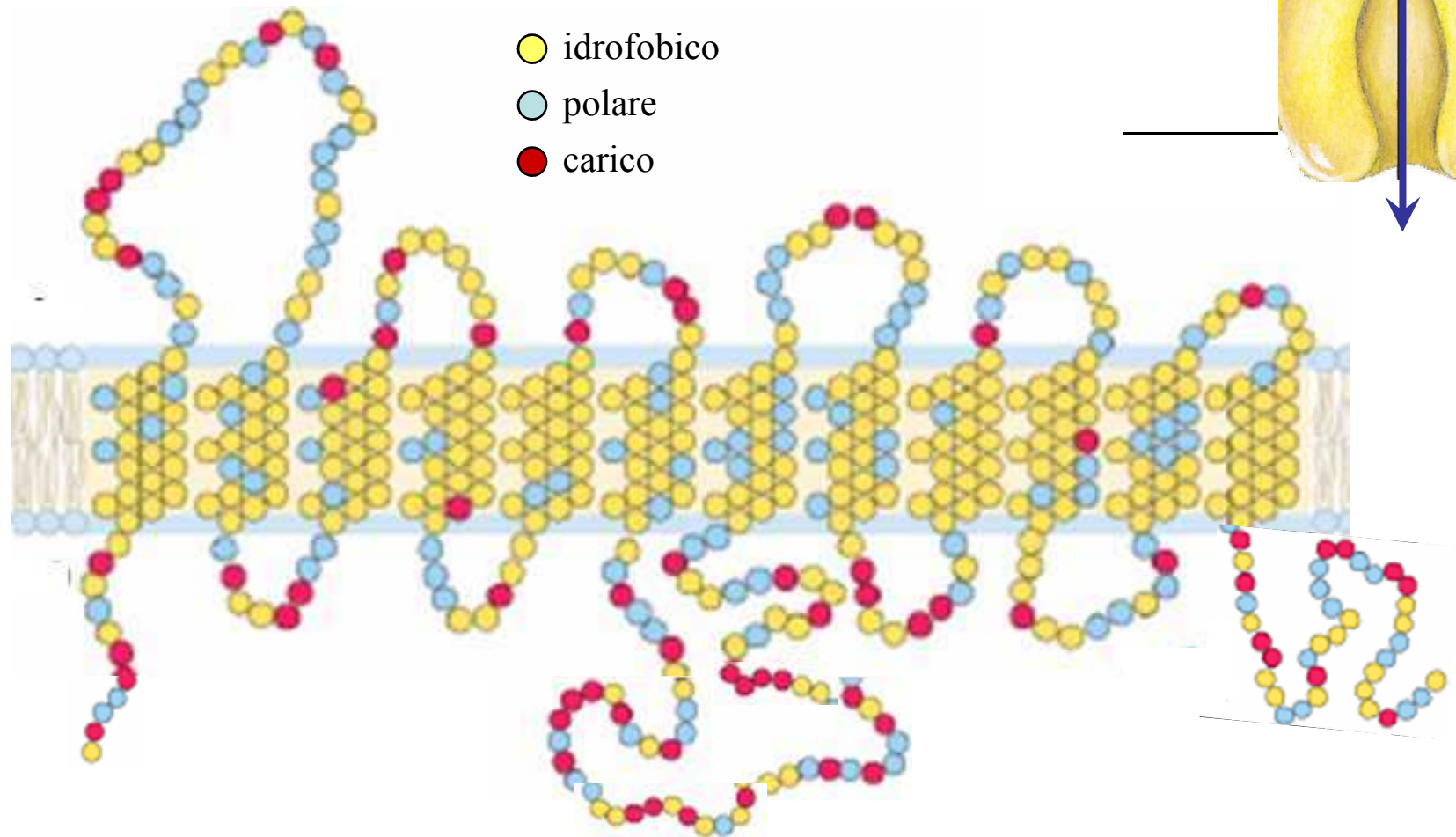


Il meccanismo del cotrasporto sodio-glucosio è di tipo ordinato;
una volta entrato in cellula il glucosio è subito intrappolato per fosforilazione

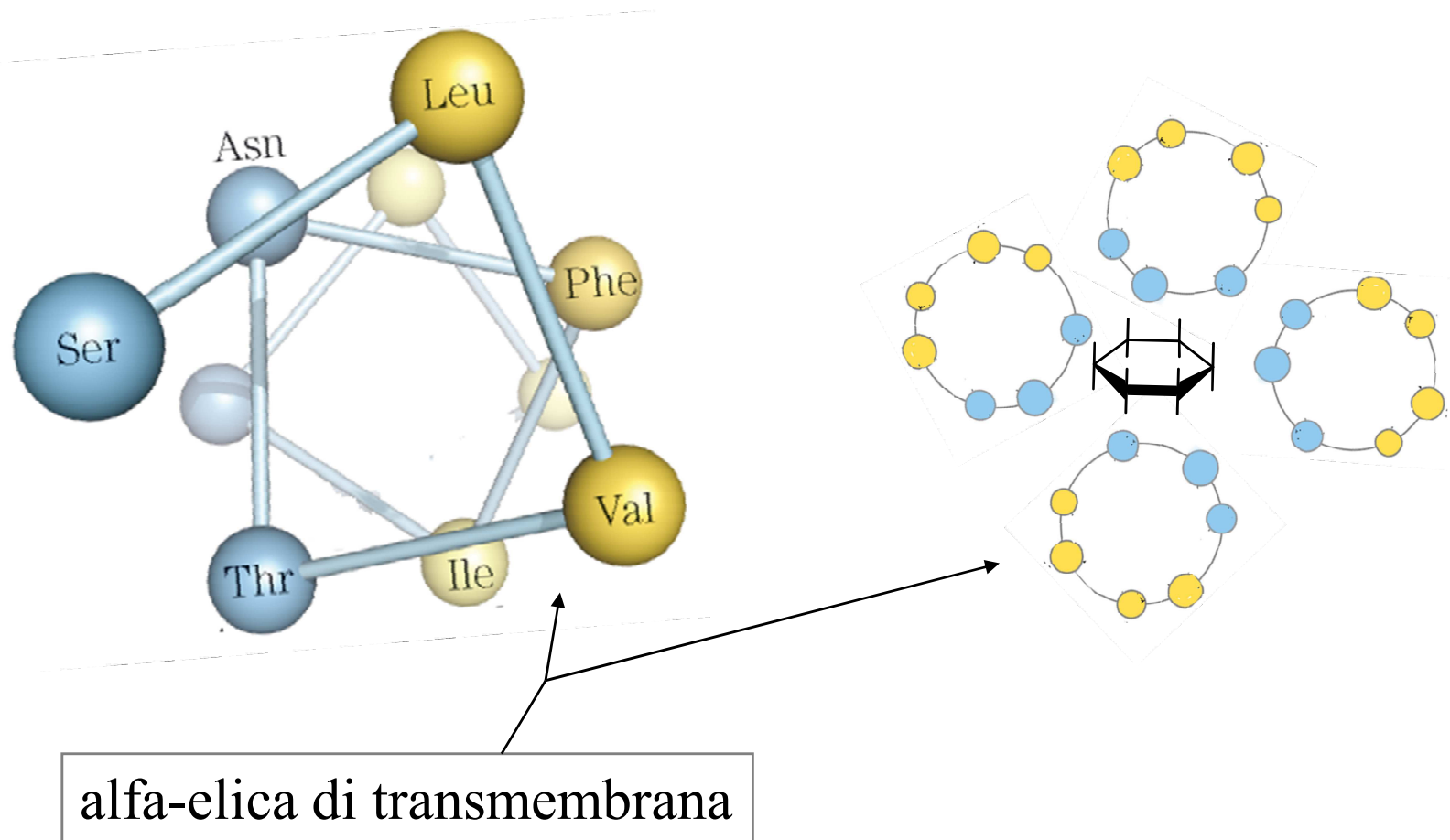


Il trasportatore del glucosio dei globuli rossi è un **uniporto**

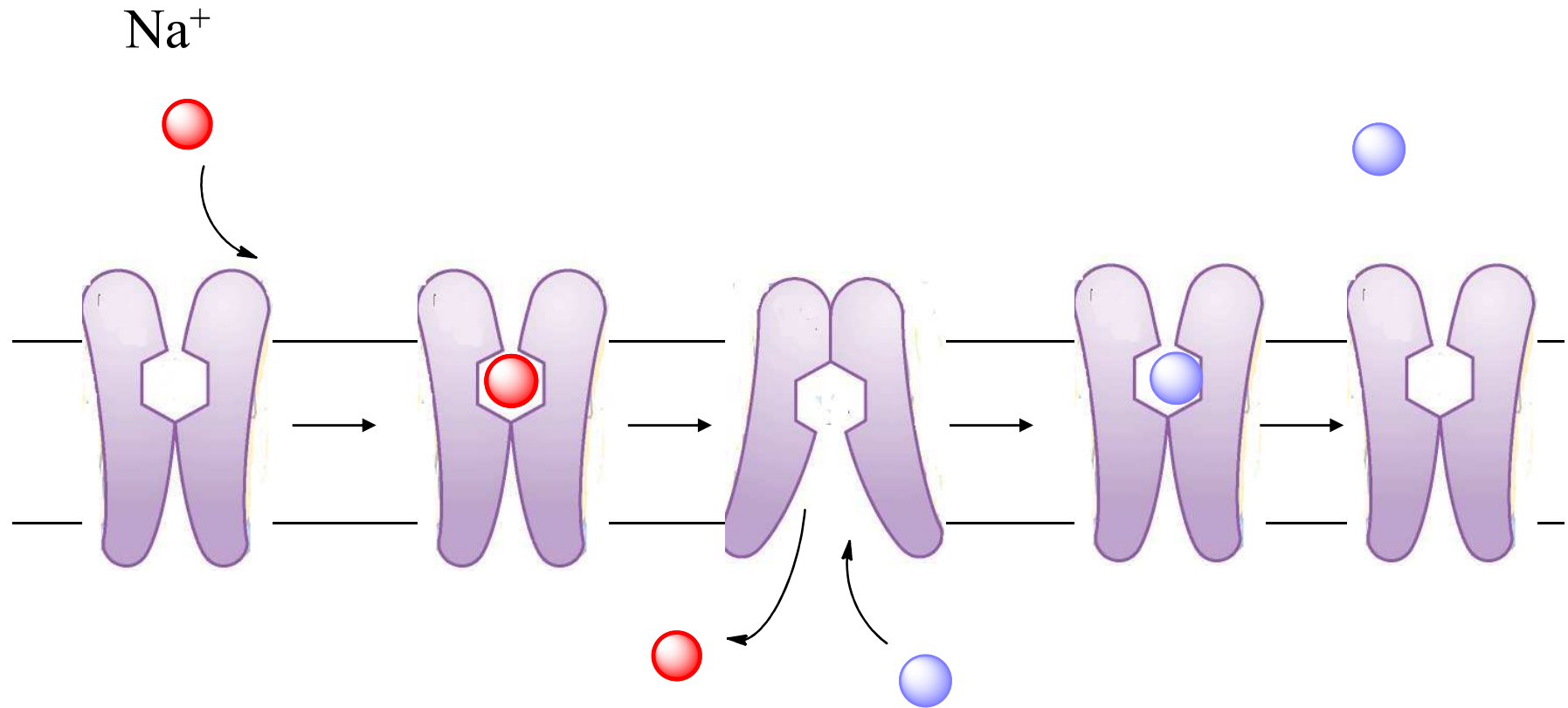
Struttura secondaria dedotta in base all'indice di idrofobicità degli aminoacidi



Modello del poro idrofilico dell'uniporto del glucosio
(in azzurro gli aa polari, in giallo quelli non polari)

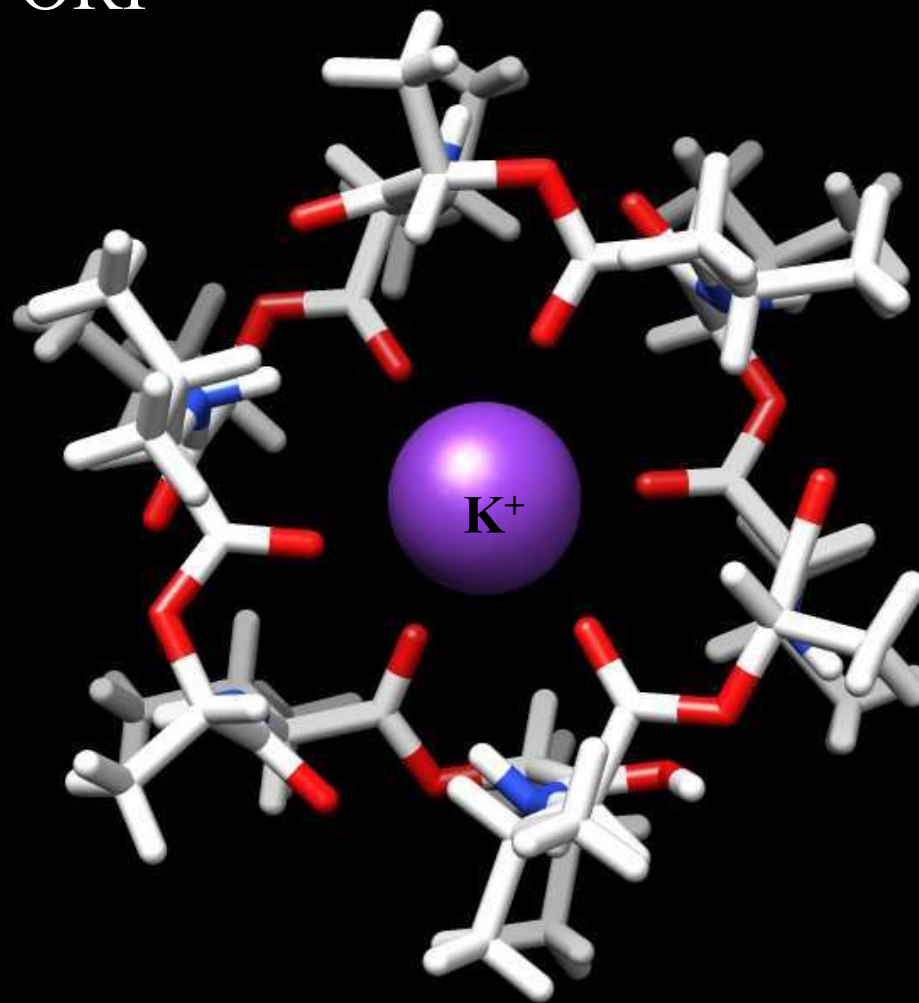


Attivo secondario: tipo cotrasporto, sottotipo antiporto



$\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$
acidi dicarbossilici
ATP/ADP

IONOFORI



Valinomicina

Recettori

1. Proteine di transmembrana
2. Mediano il trasferimento di informazioni provenienti dall'ambiente extracellulare legando:
 - ormoni
 - fattori di crescita
 - trasmettitori
3. Meccanismi:
 - apertura di canali ionici
 - attivazione di secondi messaggeri (ad es AMPciclico)

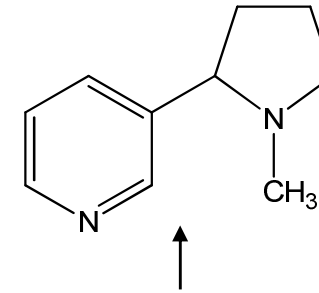
Recettori dell'acetilcolina (colinergici)

	Vertebrati	Insetti
1. Nicotinici	muscolo scheletrico (cervello)	cervello

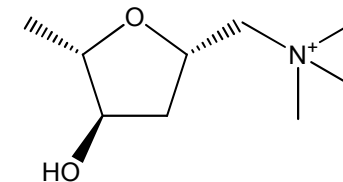
recettori ionotropi: aprono canali ionici

1. Muscarinici	cuore intestino cervello	(cervello)
----------------	--------------------------------	------------

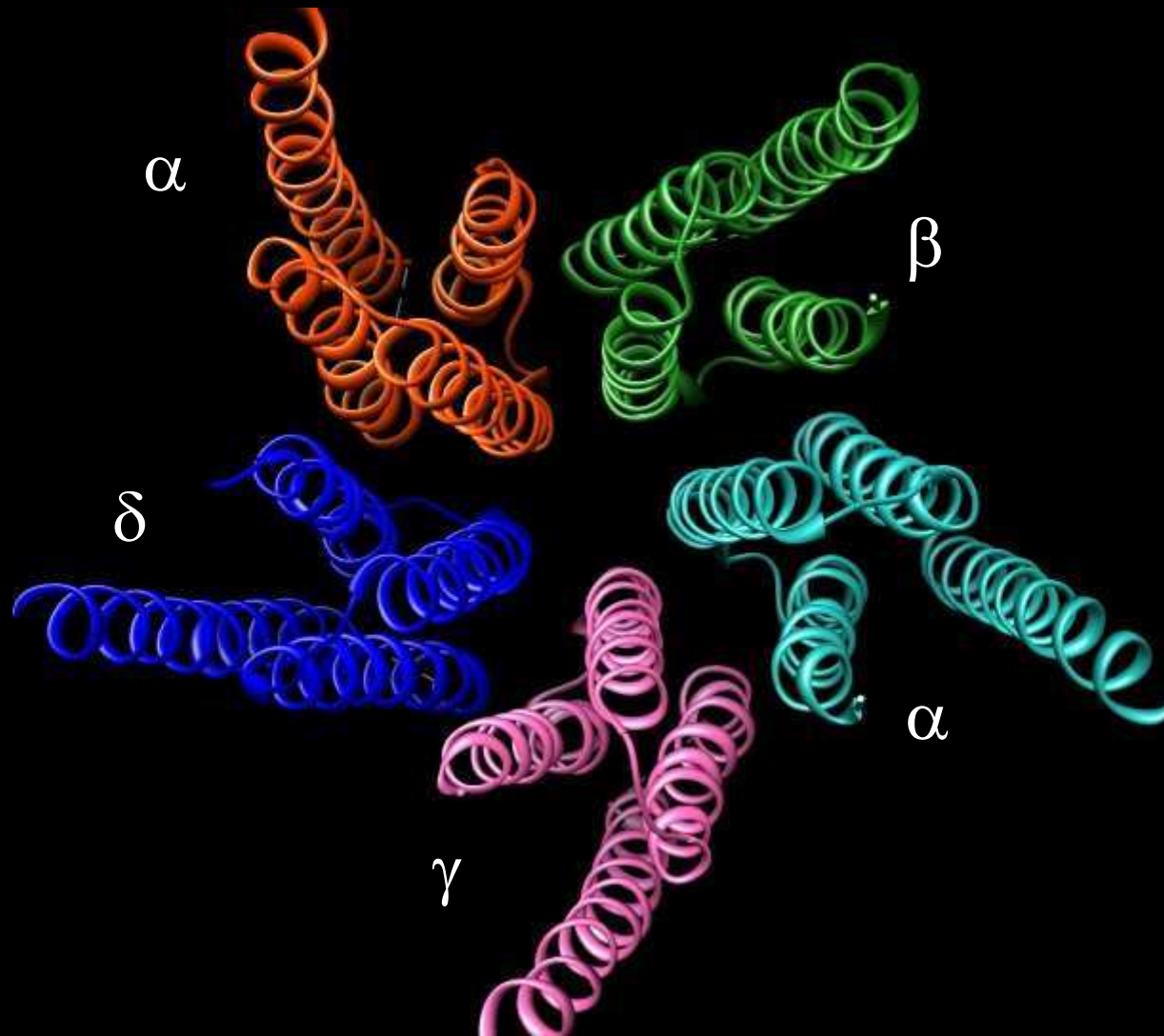
recettori metabotropi: attivano secondi
messaggeri

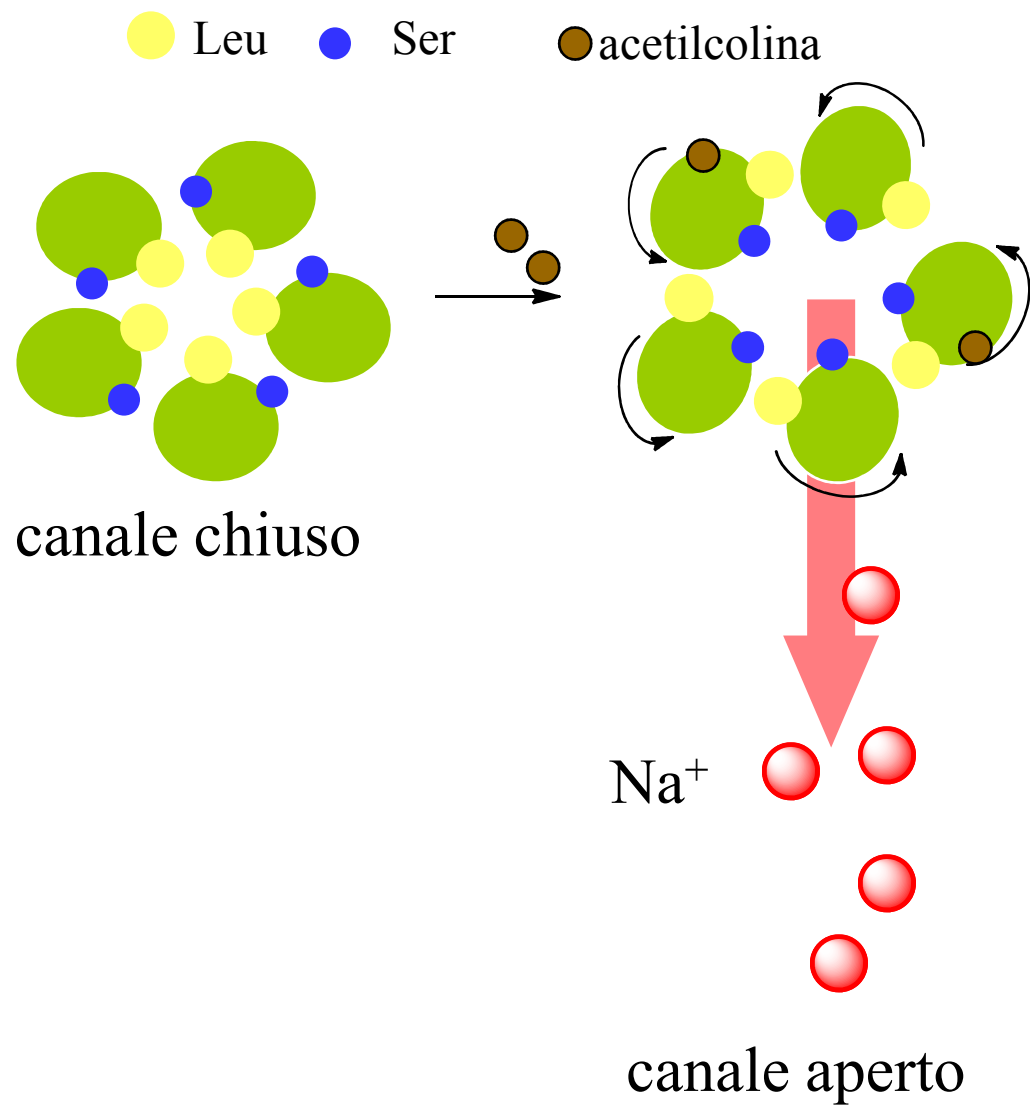
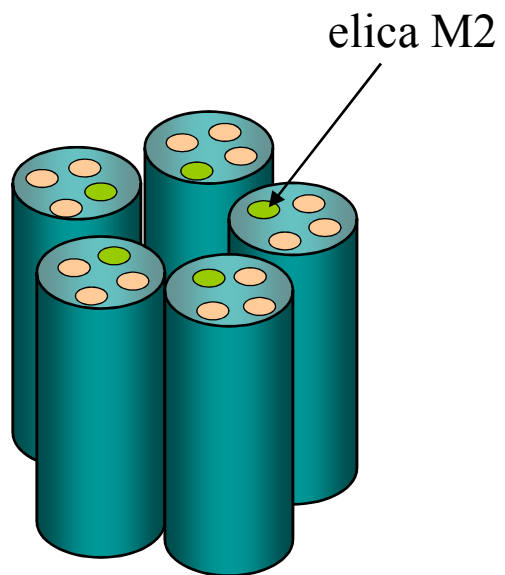


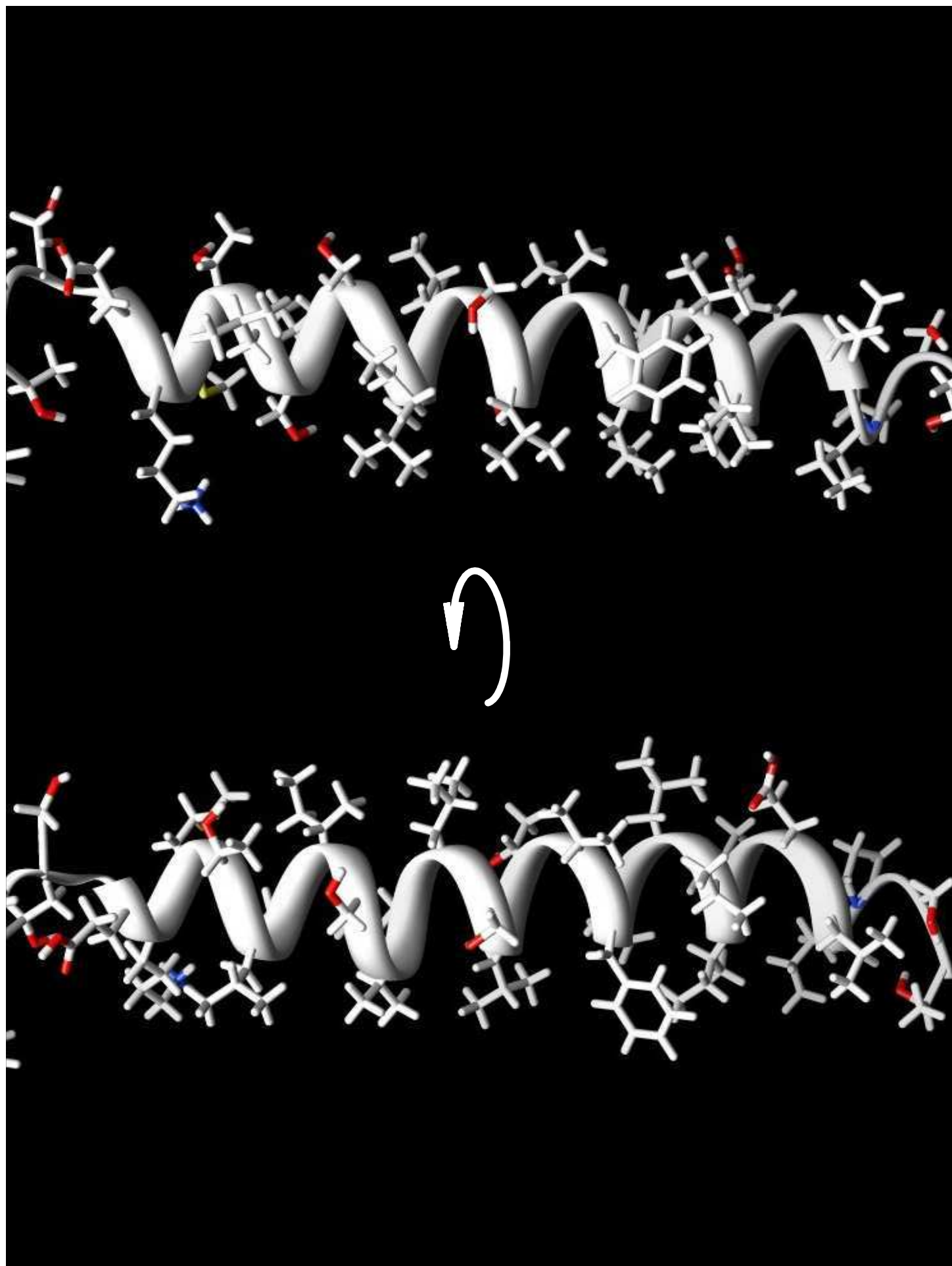
*Nicotina e muscarina
a basse dosi mimano
l'acetilcolina, ma ad
alte dosi bloccano
il canale regolato
dall'acetilcolina*



Recettore nicotinico dell'acetilcolina

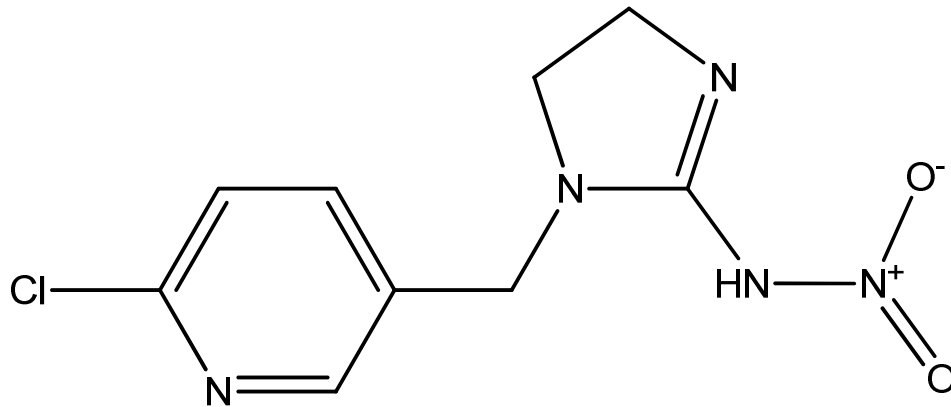






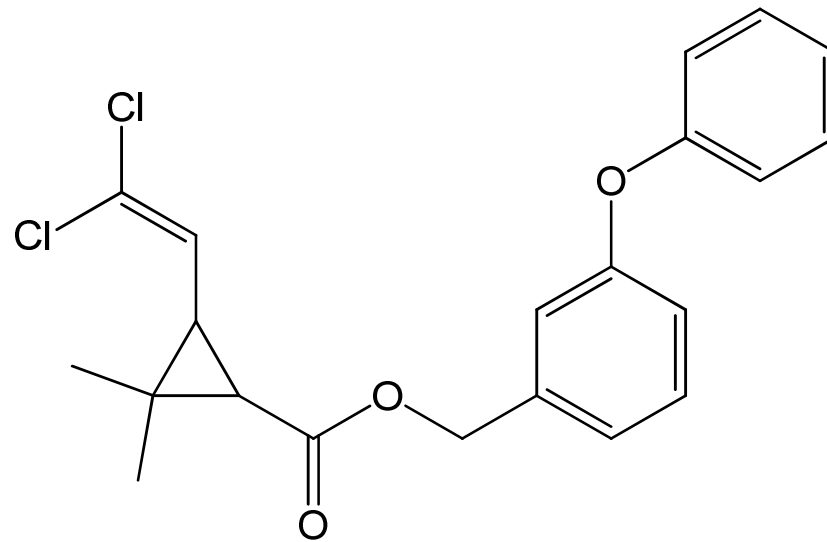
Due modalità di bloccare l'impulso nervoso negli insetti

Insetticidi neonicotinoidi: blocco dei recettori nicotinici dell'acetilcolina



Imidacloprid
inibitore irreversibile

Insetticidi piretroidi: blocco dei canali del sodio neuronali



Permetrina



Recettori:

analisi quantitativa del *binding* (*legame*)

Saturazione

Linearizzazione

Emoglobina

eq. di Hill

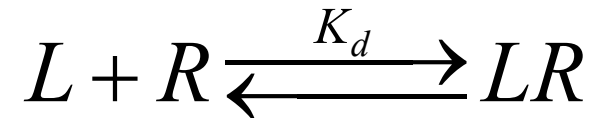
Henri-M-M.

eq. dei doppi reciproci

Recettori

eq. di Scatchard

Interazione Ligando (L)-Recettore (R)



$$K_d = \frac{[L][R]}{[LR]}$$

Dato che il numero totale di siti di legame risulta essere:

$$[R]_T = [LR] + [R]$$

Moltiplicando per $[L]$ e utilizzando la K_d si ottiene:

$$[LR][L] + [R][L] = [R]_T [L]$$

$$[LR][L] + [LR]K_d = [R]_T [L]$$

$$[LR] = \frac{[R]_T [L]}{[L] + K_d}$$

Se indico con B (*=bound*) la concentrazione di ligando legato, $[LR]$,
con B_{max} la concentrazione di siti totali $[R]_T$
e con F (*=free*) la concentrazione di ligando libera $[L]$,
ottengo l'equazione di *binding*:

$$B = \frac{B_{\max} F}{K_d + F}$$

Linearizzazione dell'equazione di *binding*

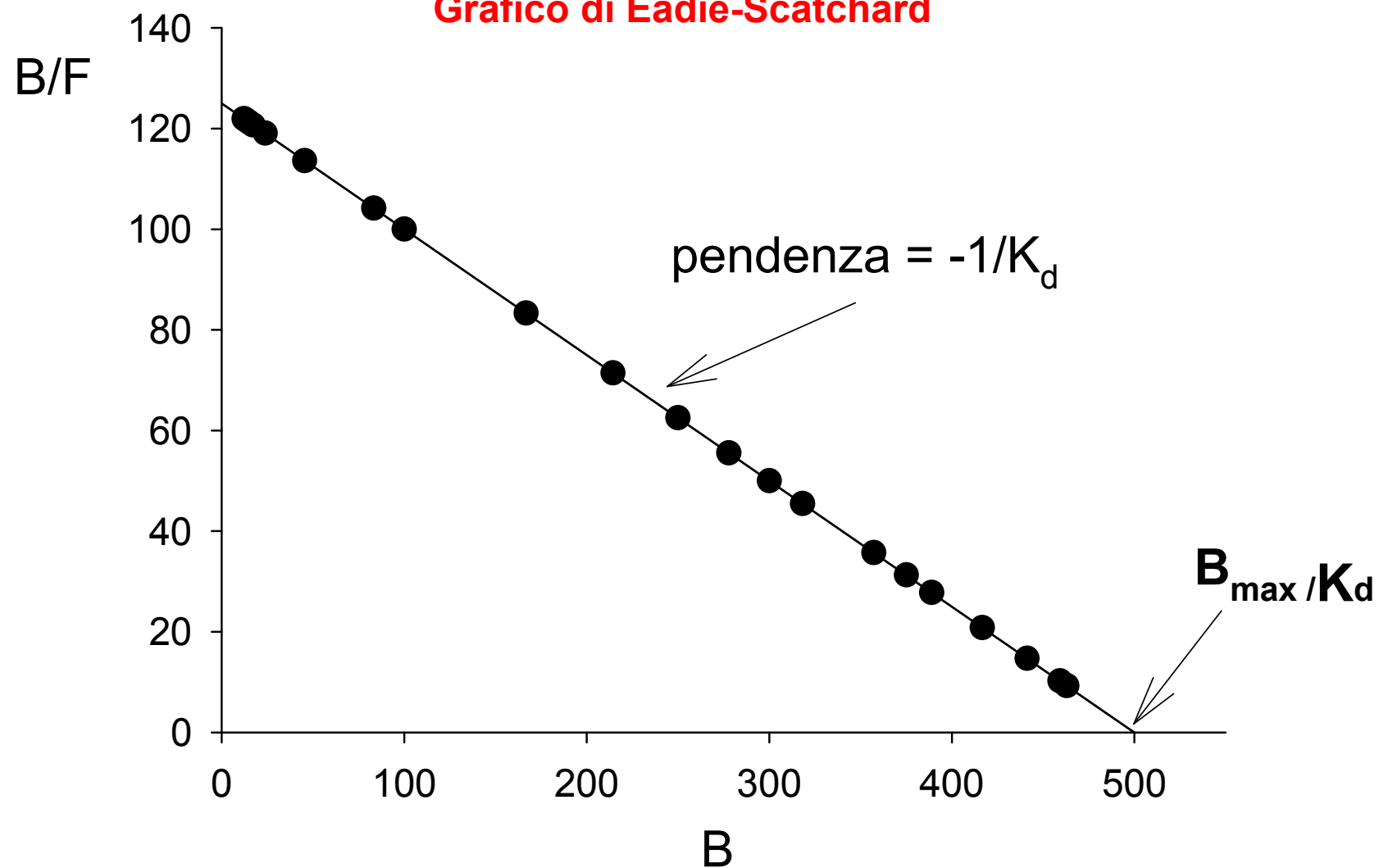
$$B (K_d + F) = B_{\max} F$$

$$\frac{B}{F} K_d + B = B_{\max}$$

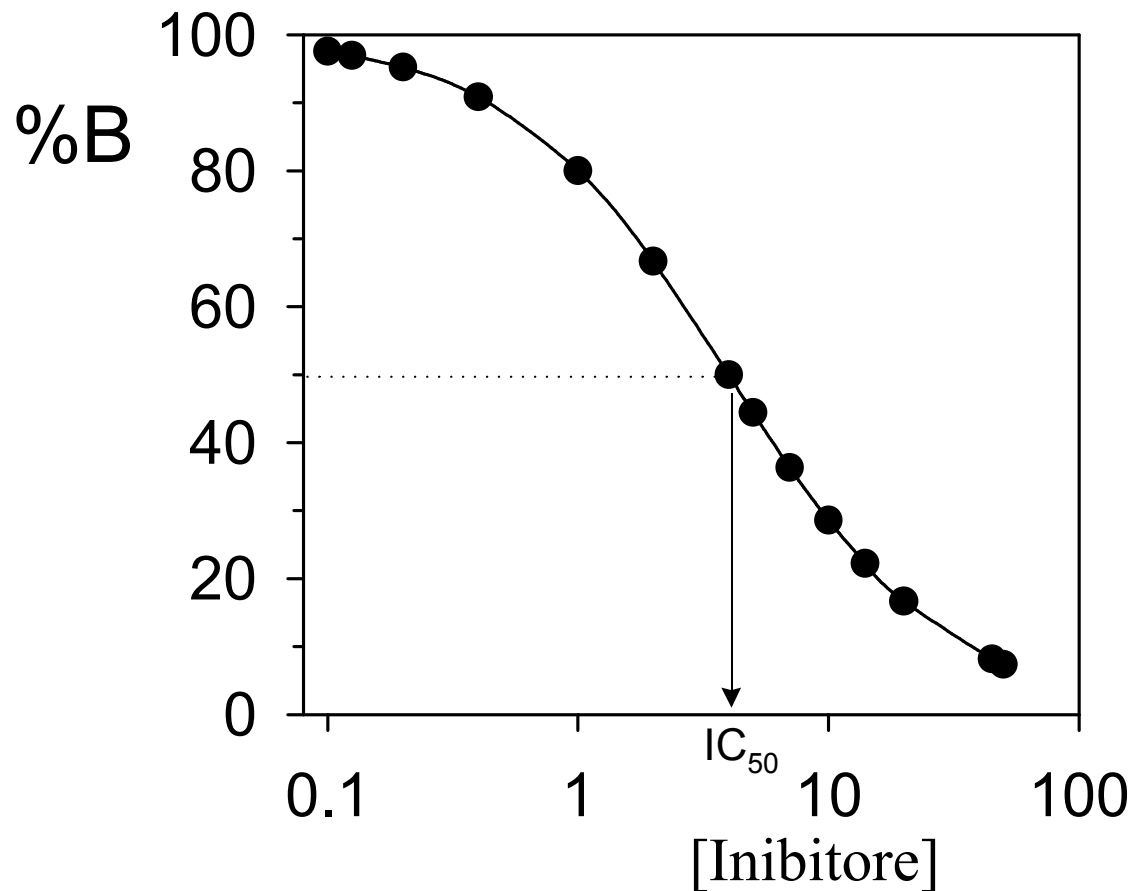
$$\frac{B}{F} = -\frac{1}{K_d} B + \frac{B_{\max}}{K_d}$$

$$y = -m x + q$$

Grafico di Eadie-Scatchard



Analisi di competizione.



Equazione di
Cheng-Prusoff:

$$IC_{50} = K_I \left(1 + \frac{L}{K_d} \right)$$

condizioni:

[ligando] $\approx K_d$; concentrazioni crescenti di inibitore