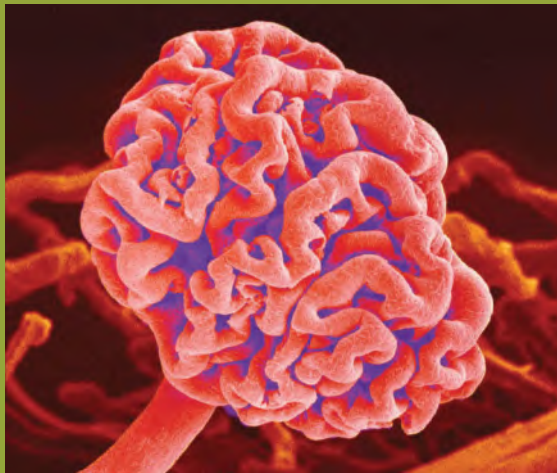




ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

Μεμβρανική μεταφορά

Ηλεκτρονικό μικρογράφημα σάρωσης που απεικονίζει ένα νεφρικό σπείραμα, δομή που φιλτράρει τα μικρά μόρια από το αίμα. Προκειμένου να εξαλειφθούν τα απόβλητα υλικά και να διατηρηθούν τα θρεπτικά συστατικά στο διήθημα, τα νεφρικά κύτταρα βασίζονται σε μια κατηγορία μεμβρανικών πρωτεϊνών για τη μεταφορά του νερού, των ιόντων και άλλων ουσιών.

Περιεχόμενα Κεφαλαίου

1. Η θερμοδυναμική της μεταφοράς
2. Παθητική διαμεσολαβούμενη μεταφορά
 - A. Τα ιοντοφόρα μεταφέρουν ιόντα διαμέσου μεμβρανών
 - B. Οι πορίνες περιέχουν β-βάρηλια
 - Γ. Οι ιοντικοί διάλυοι είναι εξαιρετικά επιλεκτικοί
 - Δ. Οι ακουαπορίνες μεσολαβούν στη διαμεμβρανική κίνηση του νερού
 - E. Οι πρωτεΐνες μεταφοράς εναλλάσσονται μεταξύ δύο διαμορφώσεων
3. Ενεργός μεταφορά
 - A. Η ATPάση Na^+-K^+ μεταφέρει ιόντα σε αντίθετες κατευθύνσεις
 - B. Η ATPάση Ca^{2+} αντλεί Ca^{2+} από το κυττοσόλιο
 - Γ. Οι μεταφορείς ABC είναι υπεύθυνοι για την ανθεκτικότητα σε φάρμακα
 - Δ. Η ενεργός μεταφορά μπορεί να καθοδηγείται από τη βαθμίδωση των ιόντων

Τα κύτταρα διαχωρίζονται από το περιβάλλον τους με τις πλασματικές μεμβράνες. Επιπλέον, τα ευκαρυωτικά κύτταρα διαμερισματοποιούνται από τις ενδοκυττάρειες μεμβράνες που σχηματίζουν τα σύνορα και τις εσωτερικές δομές των διάφορων οργανιδίων τους. Οι βιολογικές μεμβράνες παρουσιάζουν αξιοθαύμαστους φραγμούς στη διέλευση των ιοντικών και πολικών ουσιών, ώστε αυτές οι ουσίες να μπορούν να διέρχονται από τις μεμβράνες μόνο μέσω της δράσης μιας ειδικής **πρωτεΐνης μεταφοράς (transport protein)**. Τέτοιες πρωτεΐνες, συνεπώς, απαιτούνται ως μεσολαβητές της διαμεμβρανικής κίνησης των ιόντων, όπως των Na^+ , K^+ , Ca^{2+} και Cl^- , καθώς επίσης και μεταβολιτών όπως το πυροσταφυλικό οξύ, τα αμινοξέα, τα σάκχαρα και τα νουκλεοτίδια, ακόμη και το νερό. Οι πρωτεΐνες μεταφοράς είναι επίσης υπεύθυνες για όλα τα βιολογικά ηλεκτροχημικά φαινόμενα, όπως είναι η νευροδιαβίβαση. Για τη μετακίνηση μεγαλύτερων ουσιών, όπως πρωτεΐνες και μακρομοριακά συσσωματώματα, διαμέσου των μεμβρανών απαιτούνται πιο περίπλοκες διεργασίες (π.χ. ενδοκυττάρωση).

Η συζήτησή μας θα ξεκινήσει με τη μεμβρανική μεταφορά, λαμβάνοντας υπόψη τη θερμοδυναμική αυτής της διεργασίας. Έπειτα, θα μελετήσουμε τις δομές και τους μηχανισμούς αρκετών διαφορετικών ειδών των συστημάτων μεταφοράς.

1. Η θερμοδυναμική της μεταφοράς

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

- Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας για τη μετακίνηση μιας ουσίας διαμέσου μιας μεμβράνης εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις της σε κάθε πλευρά της μεμβράνης και, για τα ιόντα, από το δυναμικό της μεμβράνης.
- Για μια ουσία που δεν μπορεί να διαχυθεί κατευθείαν κατά μήκος μιας μεμβράνης, η μεταφορά μπορεί να υποβοηθηθεί από μια πρωτεΐνη και μπορεί να απαιτεί την εισαγωγή ελεύθερης ενέργειας.

Η διάχυση μιας ουσίας μεταξύ των δύο πλευρών μιας μεμβράνης

$$A(\text{έξω}) \rightleftharpoons A(\text{μέσα})$$

θερμοδυναμικά μοιάζει με μια χημική αντίδραση. Είδαμε στην Ενότητα 1–3Δ ότι η ελεύθερη ενέργεια μιας διαλυμένης ουσίας, A , μεταβάλλεται με τη συγκέντρωσή της:

$$\bar{G}_A = \bar{G}_A^{\circ'} RT \ln[A] \quad [10-1]$$

όπου $\bar{G}_A$ είναι το **χημικό δυναμικό (chemical potential)** — η μερική μοριακή ελεύθερη ενέργεια — της A (η γραμμή υποδεικνύει την ποσότητα ανά γραμμομόριο) και $\bar{G}_A^{\circ'}$ είναι το χημικό δυναμικό της πρότυπης κατάστασής της. Έτσι, μια διαφορά στις συγκεντρώσεις της ουσίας στις δύο πλευρές μιας μεμβράνης δημιουργεί μια **διαφορά χημικού δυναμικού (chemical potential difference)**:

$$\Delta \bar{G}_A = \bar{G}_A(\mu\epsilon\sigma\alpha) - \bar{G}_A(\epsilon\zeta\omega) = RT \ln \left(\frac{[A]_{\mu\epsilon\sigma\alpha}}{[A]_{\epsilon\zeta\omega}} \right) \quad [10-2]$$

Συνεπώς, εάν η συγκέντρωση της A έξω από τη μεμβράνη είναι μεγαλύτερη από αυτήν στο εσωτερικό της μεμβράνης, η $\Delta \bar{G}_A$ για τη μεταφορά της ουσίας από το εξωτερικό στο εσωτερικό θα ήταν αρνητική και η αυθόρμητη καθαρή ροή της A θα ήταν προς το εσωτερικό. Ωστόσο, εάν η [A] είναι μεγαλύτερη στο εσωτερικό απ' ό,τι στο εξωτερικό, η $\Delta \bar{G}_A$ θα ήταν θετική και μια καθαρή ροή προς το εσωτερικό θα μπορούσε να εμφανιστεί μόνο εάν μια εξεργονική διεργασία, όπως η υδρόλυση του ATP, συνδεόταν με αυτήν για να καταστήσει τη συνολική μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας αρνητική (βλ. Υπόδειγμα Υπολογισμού 10-1).

Η διαμεμβρανική κίνηση των ιόντων οδηγεί επίσης σε διαφορές φορτίου εκατέρωθεν της μεμβράνης, δημιουργώντας κατά συνέπεια μια διαφορά του ηλεκτρικού δυναμικού, $\Delta \Psi = \Psi(\mu\epsilon\sigma\alpha) - \Psi(\epsilon\zeta\omega)$, όπου $\Delta \Psi$ είναι το **μεμβρανικό δυναμικό (membrane potential)**. Συνεπώς, εάν η A είναι ένα ιόν, η Εξίσωση 10-2 πρέπει να τροποποιηθεί για να συμπεριλάβει το ηλεκτρικό έργο που απαιτείται για τη μεταφορά ενός γραμμομορίου της A μέσω της μεμβράνης από το εξωτερικό στο εσωτερικό:

$$\Delta \bar{G}_A = RT \ln \left(\frac{[A]_{\mu\epsilon\sigma\alpha}}{[A]_{\epsilon\zeta\omega}} \right) + Z_A \mathcal{F} \Delta \Psi \quad [10-3]$$

όπου Z_A είναι το ιοντικό φορτίο της A, $\mathcal{F}$, η σταθερά Faraday, είναι το φορτίο ενός γραμμομορίου ηλεκτρονίων ($96,485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$, όπου C είναι το σύμβολο για Coulomb) και $\bar{G}_A$ είναι πλέον το **ηλεκτροχημικό δυναμικό (electrochemical potential)** της A (βλ. Υπόδειγμα Υπολογισμού 10-2). Τα μεμβρανικά δυναμικά των ζωντανών κυττάρων είναι συνήθως τόσο μεγάλα όσο είναι η τιμή -100 mV (στο εσωτερικό είναι αρνητικό· παρατηρήστε ότι $1 \text{ V} = 1 \text{ J} \cdot \text{C}^{-1}$), που για μια μεμβράνη πάχους $50 \text{ \AA}$ αντιστοιχεί σε μια βαθμίδωση δυναμικού ίση με $200.000 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$. Ως εκ τούτου, ο τελευταίος όρος στην Εξίσωση 10-3 είναι συχνά σημαντικός για ιοντικές ουσίες, κυρίως σε μιτοχόνδρια (Κεφάλαιο 18) και στη νευροδιαβίβαση (Ενότητα 10-2Γ).

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ 10-1

Αποδείξτε ότι $\Delta G < 0$ όταν τα ιόντα Ca^{2+} μετακινούνται από το ενδοπλασματικό δίκτυο (όπου $[\text{Ca}^{2+}] = 1 \text{ mM}$) στο κυτοσόλιο (όπου $[\text{Ca}^{2+}] = 0,1 \text{ }\mu\text{M}$). Λάβετε υπόψη σας ότι $\Delta \Psi = 0$.

Το κυτοσόλιο είναι μέσα και το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι έξω.

$$\Delta G = RT \ln \frac{[\text{Ca}^{2+}]_{\mu\epsilon\sigma\alpha}}{[\text{Ca}^{2+}]_{\epsilon\zeta\omega}} = RT \ln \frac{10^{-7}}{10^{-3}} = RT(-9,2)$$

Επομένως, η ΔG είναι αρνητική.

ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ 10-2

Υπολογίστε την ελεύθερη ενέργεια που απαιτείται για να μετακινηθεί ένα 1 γραμμομόριο ιόντων Na^+ από το εξωτερικό του κυττάρου (όπου $[\text{Na}^+] = 150 \text{ mM}$) στο εσωτερικό (όπου $[\text{Na}^+] = 5 \text{ mM}$), όταν το μεμβρανικό δυναμικό είναι -70 mV και η θερμοκρασία 37°C .

Χρησιμοποιήστε την Εξίσωση 10-3:

$$\begin{aligned} \Delta G &= RT \ln \frac{[\text{Na}^+]_{\mu\epsilon\sigma\alpha}}{[\text{Na}^+]_{\epsilon\zeta\omega}} + Z_A \mathcal{F} \Delta \Psi \\ &= (8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})(310 \text{ K}) \ln(0,05/0,150) \\ &\quad + (1)(96,485 \text{ J} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})(-0,070 \text{ V}) \\ &= -8763 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} - 6754 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \\ &= -15.500 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} = -15,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

Η μεταφορά μπορεί να είναι διαμεσολαβούμενη ή μη διαμεσολαβούμενη. Υπάρχουν δύο τύποι διαδικασιών μεταφοράς: η **μη διαμεσολαβούμενη μεταφορά (nonmediated transport)** και η **διαμεσολαβούμενη μεταφορά (mediated transport)**. Η μη διαμεσολαβούμενη μεταφορά συμβαίνει με απλή διάχυση. Αντίθετα, η διαμεσολαβούμενη μεταφορά συμβαίνει με τη δράση ειδικών πρωτεϊνών μεταφοράς. Η κατευθυντήρια δύναμη για τη μη διαμεσολαβούμενη μεταφορά μιας ουσίας μέσω ενός μέσου είναι η βαθμίδωση του χημικού δυναμικού της. Έτσι, η ουσία διαχέεται προς την κατεύθυνση που μειώνει τη βαθμίδωση συγκέντρωσής της, με έναν ρυθμό ανάλογο προς το μέγεθος της βαθμίδωσης. Ο βαθμός της διάχυσης μιας ουσίας επίσης εξαρτάται από τη διαλυτότητά της στον μη πολικό πυρήνα της μεμβράνης. Συνεπώς, οι μη πολικές ουσίες όπως τα στερεοειδή και το O_2 διαχέονται εύκολα διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών με μη διαμεσολαβούμενη μεταφορά, σύμφωνα με τις βαθμίδώσεις της συγκέντρωσής τους διαμέσου των μεμβρανών. Η διαμεσολαβούμενη μεταφορά κατατάσσεται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη θερμοδυναμική του συστήματος:

1. Η **παθητική διαμεσολαβούμενη μεταφορά (passive-mediated transport)** ή **διευκολυνόμενη διάχυση (facilitated diffusion)**, στην οποία ένα συγκεκριμένο μόριο ρέει από υψηλή προς χαμηλή συγκέντρωση.
2. Η **ενεργός μεταφορά (active transport)**, στην οποία ένα συγκεκριμένο μόριο μεταφέρεται από χαμηλή προς υψηλή συγκέντρωση, δηλαδή ενάντια στη βαθμίδωση της συγκέντρωσής του. Μια τέτοια ενδεργονική διαδικασία πρέπει να συνδυαστεί με μια επαρκώς εξεργονική διαδικασία για να καταστεί ευνοϊκή (δηλ. $\Delta G < 0$).

ΣΗΜΕΙΟ ΕΜΠΕΔΩΣΗΣ

- Πώς μπορεί να προβλεφθεί τότε η μετακίνηση μιας αφόρτιστης ουσίας από τη μια πλευρά της μεμβράνης στην άλλη θα είναι θερμοδυναμικά ευνοούμενη;
- Εάν η ουσία είναι φορτισμένη, ποια πρόσθετη πληροφορία χρειάζεστε για να προβλέψετε τότε η διαμεμβρανική μετακίνησή της θα είναι αυθόρμητη;
- Δώστε ένα παράδειγμα μιας ουσίας που μπορεί να διαχέεται διαμέσου μιας μεμβράνης. Δώστε ένα παράδειγμα μιας ουσίας που πρέπει να διασχίσει μια μεμβράνη με διαμεσολαβούμενη μεταφορά.

2. Παθητική διαμεσολαβούμενη μεταφορά

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

- Η παθητική διαμεσολαβούμενη μεταφορά επιτελείται από ιοντοφόρα, πορίνες, ιοντικούς διαύλους, ακουαπορίνες και πρωτεΐνες μεταφοράς.
- Τα ιοντοφόρα μπορεί να μεταφέρουν ιόντα ή να σχηματίζουν διαύλους.
- Οι πορίνες παρέχουν μια δίοδο για τα ιόντα ή τις μη πολικές διαλυόμενες ουσίες.
- Οι ιοντικοί διαύλοι είναι εξαιρετικά επιλεκτικοί και μπορούν να οριοθετηθούν.
- Το συντονισμένο άνοιγμα και κλείσιμο των ιοντικών διαύλων δημιουργεί ένα δυναμικό ενέργειας στα νευρικά κύτταρα.
- Οι ακουαπορίνες μεσολαβούν στη διαμεμβρανική δίοδο των μορίων του νερού.
- Οι πρωτεΐνες μεταφοράς μπορούν να μεσολαβήσουν στη μονο-, στη συν- και στην αντι-μεταφορά.

Οι ουσίες που είναι πολύ μεγάλες ή πολύ πολικές για να διαχέονται διαμέσου λιπιδικών διπλοστιβάδων από μόνες τους, μπορούν να μεταφερθούν διαμέσου μεμβρανών μέσω πρωτεϊνών ή άλλων μορίων που ορίζονται με ποικίλες ονομασίες ως **φορείς (carriers)**, **περμεάσες (permeases)**, **διαύλοι (channels)** και **μεταφορείς (transporters)**. Αυτοί οι μεταφορείς λειτουργούν υπό τις ίδιες θερμοδυναμικές αρχές, διαφέρουν όμως σε μεγάλο βαθμό ως προς τη δομή και τον μηχανισμό, ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά την επιλεκτικότητά τους.

A. Τα ιοντοφόρα μεταφέρουν ιόντα διαμέσου μεμβρανών

Τα **ιοντοφόρα (ionophores)** είναι οργανικά μόρια διαφόρων τύπων, βακτηριακής συνήθως προέλευσης, που αυξάνουν τη διαπερατότητα των μεμβρανών στα ιόντα. Αυτά τα μόρια ασκούν συχνά μια αντιβιοτική επίδραση αποφορτίζοντας τις ζωτικές βαθμίδωσεις της συγκέντρωσης των ιόντων τις οποίες διατηρούν ενεργά τα κύτταρα.

Υπάρχουν δύο τύποι ιοντοφόρων:

1. Οι **μεταφορείς ιοντοφόρων (carrier ionophores)**, οι οποίοι αυξάνουν τις διαπερατότητες των μεμβρανών ως προς το επιλεγμένο ιόν τους με το να το προσδένουν, να το διαχέουν διαμέσου της μεμβράνης και στη συνέχεια να το απελευθερώνουν στην άλλη πλευρά (**Εικόνα 10-1α**). Για να υπάρξει μια καθαρή μεταφορά, το μη συμπλοκοποιημένο ιοντοφόρο πρέπει να επιστρέψει στην αρχική πλευρά της μεμβράνης, έτοιμο να επαναλάβει τη διαδικασία. Οι μεταφορείς, συνεπώς, μοιράζονται την κοινή ιδιότητα ότι τα ιοντικά σύμπλοκά τους είναι διαλυτά σε μη πολικούς διαλύτες.
2. Τα **ιοντοφόρα που σχηματίζουν διαύλους (channel-forming ionophores)**, τα οποία σχηματίζουν διαμεμβρανικούς διαύλους ή πόρους μέσω των οποίων τα επιλεγμένα ιόντα τους μπορούν να διαχέονται (**Εικόνα 10-1β**).

Και οι δύο τύποι ιοντοφόρων μεταφέρουν ιόντα με αξιοσημείωτο ρυθμό. Για παράδειγμα, ένα μεμονωμένο άτομο του μεταφορέα ιοντοφόρου **βαλινομυκίνη (valinomycin)** μπορεί να μεταφέρει μέχρι 10^4 ιόντα K^+ ανά δευτερόλεπτο διαμέσου της μεμβράνης. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα ιοντοφόρα επιτρέπουν παθητικά τη διάχυση των ιόντων διαμέσου της μεμβράνης και στις δύο κατευθύνσεις, η επίδρασή τους μπορεί να είναι μόνο ως προς την εξισορρόπηση των συγκέντρωσεων των επιλεγμένων ιόντων τους διαμέσου της μεμβράνης.

Η βαλινομυκίνη, η οποία είναι μια από τα καλύτερα χαρακτηριζόμενα ιοντοφόρα, προσδένει ειδικά ιόντα K^+ . Είναι ένα κυκλικό μόριο που περιέχει κατάλοιπα D-αμινοξέων και L-αμινοξέων που συμμετέχουν στους εστερικούς δεσμούς, καθώς επίσης και στους πεπτιδικούς δεσμούς (**Εικόνα 10-2α**). Η δομή του συμπλόκου K^+ της βαλινομυκίνης, όπως προέκυψε με ακτίνες X, (**Εικόνα 10-2β**) υποδεικνύει ότι το ιόν K^+ είναι οκταεδρικά συντονισμένο από τις καρβονυλικές ομάδες των έξι καταλοίπων Val και ότι η κυκλική ραχοκοκαλιά της βαλινομυκίνης περιβάλλει το περίβλημα συντονισμού του ιόντος K^+ . Οι πλευρικές αλυσίδες μεθυλίου και ισοπροπυλίου εκτείνονται προς τα έξω, παρέχοντας στο σύμπλοκο ένα μη πολικό εξωτερικό περιβάλλον που το καθιστά διαλυτό στους υδρόφοβους πυρήνες των λιπιδικών διπλοστιβάδων.

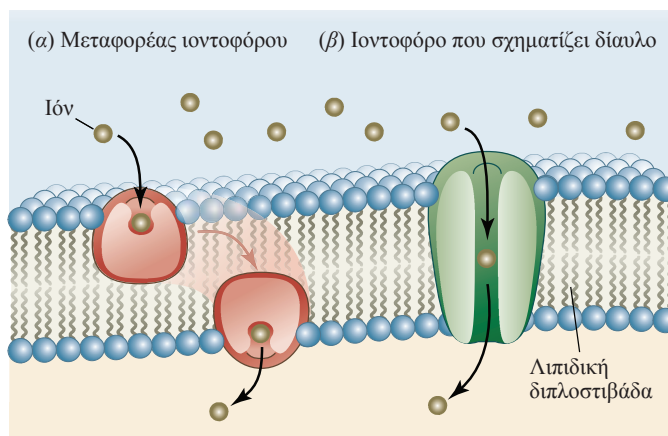
Το ιόν K^+ (ιοντική ακτίνα, $r = 1,33 \text{ \AA}$) χωράει άνετα στη θέση συντονισμού της βαλινομυκίνης, αλλά αυτή η θέση είναι πολύ μεγάλη για να μπορέσει το Na^+ ($r = 0,95 \text{ \AA}$) ή το Li^+ ($r = 0,60 \text{ \AA}$) να συντονιστεί και με τα έξι οξυγόνα καρβονυλίου. Η βαλινομυκίνη, επομένως, έχει 10.000 φορές μεγαλύτερη συγγένεια πρόσδεσης για το K^+ σε σχέση με το Na^+ . Καμιά άλλη γνωστή ουσία δεν διαφοροποιείται καλύτερα μεταξύ Na^+ και K^+ .

B. Οι πορίνες περιέχουν β-βαρέλια

Οι πορίνες, οι οποίες παρουσιάστηκαν στην Ενότητα 9–3Α, είναι δομές β-βαρελίων με έναν κεντρικό υδάτινο διάυλο. Στην πορίνη OmpF της *E. coli* (Εικόνα 9–23), ο διάυλος συσφίγγεται για να σχηματίσει έναν ελλειπτικό πόρο με ελάχιστη διατομή $7 \times 11 \text{ \AA}$. Συνεπώς, οι διαλυόμενες ουσίες πάνω από $\sim 600 \text{ D}$ είναι πολύ μεγάλες για να περάσουν διαμέσου του διαύλου. Η OmpF είναι ασθενώς επιλεκτική ως προς τα κατιόντα. Άλλες πορίνες είναι περισσότερο επιλεκτικές ως προς τα ανιόντα. Γενικά, το μέγεθος του διαύλου και τα κατάλοιπα που σχηματίζουν τα τοιχώματά του καθορίζουν τον τύπο των ουσιών που μπορούν να διέλθουν.

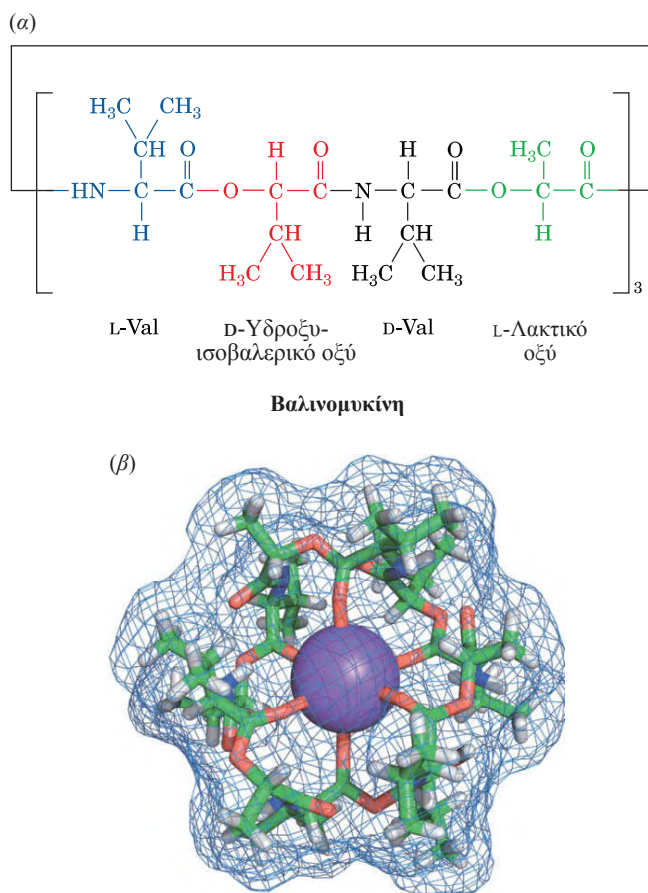
Η επιλεκτικότητα της διαλυμένης ουσίας απεικονίζεται εκλεπτυσμένα από τη **μαλτοπορίνη (maltoporin)**. Αυτή η βακτηριακή πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης διευκολύνει τη διάχυση των **μαλτοδεξτρινών (maltodextrins)**, οι οποίες είναι οι $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -συνδεδεμένοι ολιγοσακχαρίτες γλυκόζης, προϊόντα αποικοδόμησης του αμύλου (Ενότητα 8–2Γ). Η δομή της μαλτοπορίνης της *E. coli* που προέκυψε με χρήση ακτίνων X αποκαλύπτει ότι η πρωτεΐνη είναι δομικά όμοια με την πορίνη OmpF, αλλά αποτελεί ένα ομοτρίμερες από αντιπαράλληλα β-βαρέλια με 18 και όχι 16 κλώνους. Τρεις μεγάλοι βρόχοι από την εξωκυττάρια επιφάνεια κάθε υπομονάδας μαλτοπορίνης αναδιπλώνονται προς το εσωτερικό του βαρελιού, περιορίζοντας έτσι τον διάυλο κοντά στο κέντρο της μεμβράνης σε μια διάμετρο $\sim 5 \text{ \AA}$ και προσδίδοντας στον διάυλο μια διατομή τύπου κλεψύδρας. Ο διάυλος ευθυγραμμίζεται στη μια πλευρά με μια σειρά έξι συνεχόμενων αρωματικών πλευρικών αλυσίδων που είναι διατεταγμένες σε ένα αριστερόστροφο ελικοειδές τμήμα που ταιριάζει με την αριστερόστροφη ελικοειδή καμπύλη της α -αμυλόζης (Εικόνα 8–10). Αυτή η λεγόμενη λιπαρή διαφάνεια εκτείνεται από το ένα άκρο του διαύλου, μέσω της σύσπασής του, στο άλλο άκρο (Εικόνα 10–3).

Πώς λειτουργεί η λιπαρή διαφάνεια; Οι υδρόφοβες όψεις των καταλοίπων γλυκόζης της μαλτοδεξτρίνης προσκολλώνται στις αρωματικές πλευρικές αλυσίδες, όπως παρατηρείται συχνά στα σύμπλοκα σακχάρων με πρωτεΐνες. Οι υδροξυλικές ομάδες γλυκόζης, οι οποίες είναι διατεταγμένες σε δύο λωρίδες κατά μήκος των αντίθετων ακρών της μαλτοδρεξτρίνης, σχηματίζουν πολυάριθμους δεσμούς υδρογόνου με τις πολικές και φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες οι οποίες ευθυγραμμίζουν τον διάυλο.



ΕΙΚΟΝΑ 10–1 Δράση ιοντοφόρων. (α) Τα ιοντοφόρα μεταφέρουν ιόντα με διάχυση μέσω της λιπιδικής διπλοστιβάδας. (β) Τα ιοντοφόρα που σχηματίζουν διαύλους διαπερνούν τη μεμβράνη με τον διάυλο μέσω του οποίου μπορούν να διαχθούν τα ιόντα.

? Τι κάνουν τα ιοντοφόρα όταν η συγκέντρωση των ιόντων είναι η ίδια και στις δύο πλευρές της μεμβράνης;



ΕΙΚΟΝΑ 10–2 Βαλινομυκίνη. (α) Το κυκλικό ιοντοφόρο περιέχει εστερικούς και αμιδικούς δεσμούς, καθώς επίσης D- και L-αμινοξέα. (β) Η δομή της βαλινομυκίνης, όπως προέκυψε με ακτίνες X, ως σύμπλοκο με ένα ένα ιόν K^+ είναι χρωματισμένη σύμφωνα με τον τύπο του ατόμου (το C με πράσινο, το H με λευκό, το N με μπλε, το O με κόκκινο και το K^+ με μωβ) και είναι ενσωματωμένη στη μοριακή επιφάνειά του (μπλε πλέγμα). Παρατηρήστε ότι το ιόν K^+ είναι οκταεδρικά συντονισμένο από τα άτομα οξυγόνου του καρβονυλίου των έξι καταλοίπων της Val και ότι η επιφάνεια του συμπλόκου καλύπτεται σε μεγάλο βαθμό με μεθυλικές και ισοπροπυλικές ομάδες. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τον Mark Dobler, ETH, Zürich, Switzerland.]

Η Tyr 118, η οποία προεξέχει μέσα στον διάυλο απέναντι από τη λιπαρή διαφάνεια, προφανώς λειτουργεί ως ένας στερεοχημικός φραγμός που επιτρέπει τη διέλευση μόνο των σχεδόν επίπεδων ομάδων, όπως είναι τα κατάλοιπα γλυκοσυλίου. Έτσι, η σακχαρόζη που έχει σχήμα άγκιστρου (ένανς δισακχαρίτης γλυκόζης–φρουκτόζης) διέρχεται μόνο πολύ αργά διαμέσου του διαύλου μαλτοπορίνης.

Στην αρχή της διαδικασίας μετατόπισης, το εισερχόμενο κατάλοιπο γλυκοσυλίου αλληλεπιδρά με το εύκολα προσβάσιμο άκρο της λιπαρής διαφάνειας στον εξωκυττάριο προθάλαμο του διαύλου. Η περαιτέρω μετατόπιση κατά μήκος του ελικοειδούς διαύλου απαιτεί να ακολουθήσει η μαλτοδεξτρίνη μια οδό που μοιάζει με κοχλία, η οποία διατηρεί την ελικοειδή δομή του ολιγοσακχαρίτη, μια διαδρομή που μοιάζει με την κίνηση ενός κοχλία διαμέσου του περικοχλίου, αποκλείοντας έτσι τα μόρια του συμβατού μεγέθους που έχουν διαφορετικές μορφές. Η διαδικασία της μετατόπισης είναι απίθανο να συναντήσει οποιονδήποτε μεγάλο ενεργειακό φραγμό λόγω της λείας επιφάνειας της λιπαρής διαφάνειας και των πολλαπλών πολικών ομάδων στο σημείο στένωσης του διαύλου που θα επέτρεπαν την ουσιαστικά συνεχή ανταλλαγή δεσμών υδρογόνου κατά τη μετακίνηση μιας μαλτοδεξτρίνης μέσω σύσπασης.

ΣΧΟΛΙΑ Ισορροπία

Όλα τα αντιδρώντα συστήματα προχωρούν προς την ισορροπία, η οποία, στην περίπτωση των διαλυμένων ουσιών σε κάθε πλευρά της μεμβράνης, σημαίνει ισοδύναμες συγκεντρώσεις και στις δύο πλευρές. Αλλά η ταχύτητα με την οποία μετακινούνται οι διαλυμένες ουσίες εξαρτάται από το πώς διαπερνούν τη μεμβράνη. Στα κύτταρα, οι διαλυμένες ουσίες μπορούν να κινούνται γρήγορα ή αργά, αλλά στην πραγματικότητα πολύ σπάνια φτάνουν στην κατάσταση ισορροπίας.

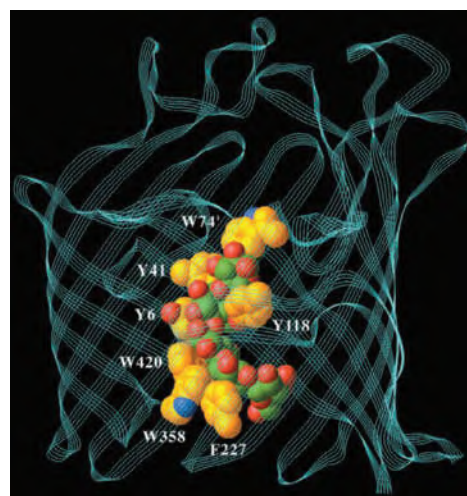
Γ. Οι ιοντικοί διάυλοι είναι εξαιρετικά επιλεκτικοί

Όλα τα κύτταρα περιέχουν ειδικούς για ιόντα διαύλους, οι οποίοι επιτρέπουν την ταχεία διέλευση ιόντων όπως Na^+ , K^+ και Cl^- . Η κίνηση αυτών των ιόντων διαμέσου αυτών των διαύλων, μαζί με την κίνησή τους μέσω των ενεργών μεταφορέων (που αποτελούν αντικείμενο συζήτησης της Ενότητας 10–3) είναι ουσιώδεις για τη διατήρηση της ωσμωτικής πίεσης, τη μεταγωγή του σήματος (Ενότητα 13–4A) και την πρόκληση αλλαγών στο δυναμικό της μεμβράνης που ευθύνεται για τη νευροδιαβίβαση. Για παράδειγμα, τα κύτταρα των θηλαστικών διατηρούν μια κατανομή ιόντων χωρίς ισορροπία σε κάθε πλευρά της πλασματικής μεμβράνης: $\sim 150 \text{ mM Na}^+$ και $\sim 4 \text{ mM K}^+$ στο εξωκυττάριο υγρό, ενώ $\sim 12 \text{ mM Na}^+$ και $\sim 140 \text{ mM K}^+$ στο εσωτερικό του κυττάρου.

Η δομή του διαύλου KcsA K^+ εξηγεί την επιλεκτικότητα και την ταχύτητά του.

Τα ιόντα καλίου διαχέονται παθητικά από το κυτταρόπλασμα στον εξωκυττάριο χώρο μέσω διαμεμβρανικών πρωτεϊνών, που είναι γνωστές ως **διάυλοι K^+ (channels K^+)**. Παρότι υπάρχει μια μεγάλη ποικιλομορφία διαύλων K^+ , ακόμη και εντός ενός μεμονωμένου οργανισμού, όλοι τους έχουν παρόμοιες αλληλουχίες, εμφανίζουν συγκρίσιμα χαρακτηριστικά διαπερατότητας και κυρίως είναι τουλάχιστον 10.000 φορές πιο διαπερατοί στο K^+ σε σχέση με το Na^+ . Δεδομένου ότι αυτή η υψηλή επιλεκτικότητα (περίπου ίδια με εκείνη της βαλινομυκίνης, Ενότητα 10–2A) υποδηλώνει ενεργειακά ισχυρές αλληλεπιδράσεις μεταξύ K^+ και πρωτεΐνης. Πώς μπορεί ο διάυλος K^+ να διατηρήσει τον παρατηρούμενο ρυθμό διαπερατότητας μέχρι 10^8 ιόντα ανά λεπτό σε συνθήκες σχεδόν περιορισμένης διάχυσης (έναν ρυθμό 10^4 φορές μεγαλύτερος από αυτόν της βαλινομυκίνης);

Ένας από τους καλύτερα χαρακτηριζόμενους ιοντικούς διαύλους είναι ένας διάυλος K^+ που προέρχεται από το βακτήριο *Streptomyces lividans* και ονομάζεται **KcsA**. Αυτή η ενσωματωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη που αποτελείται από 158 κατάλοιπα, όπως όλοι οι γνωστοί διάυλοι K^+ , λειτουργεί ως ένα ομοτετραμερές. Η δομή του N–τελικού τμήματος του KcsA που προέκυψε με χρήση ακτίνων X αποτελείται από 125 κατάλοιπα, καθορίστηκε από τον Roderick MacKinnon και αποκάλυψε ότι καθεμία από τις υπομονάδες του περιέχει δύο σχεδόν αντιπαράλληλες διαμεμβρανικές έλικες συν μια μικρότερη έλικα (Εικόνα 10–4α). Τέσσερις τέτοιες υπομονάδες συνδέονται για να σχηματίσουν μια τετραπλή συμμετρική συνάθροιση γύρω από έναν κεντρικό πόρο. Οι τέσσερις εσωτερικές έλικες, που σε μεγάλο βαθμό σχηματίζουν τον πόρο, στοιχίζονται η μία απέναντι στην άλλη κοντά στην κυτταροπλασματική πλευρά της μεμβράνης, λίγο πολύ όπως οι πόλοι μιας ανεστραμμένης ινδιάνικης σκηνής (teepee). Οι τέσσερις εξωτερικές έλικες, οι οποίες αντικρίζουν τη λιπιδική διπλοστιβάδα, υποστηρίζουν τις εσωτερικές έλικες. Ο κεντρικός πόρος μπορεί να φιλοξενήσει αρκετά ιόντα K^+ (Εικόνα 10–4β).

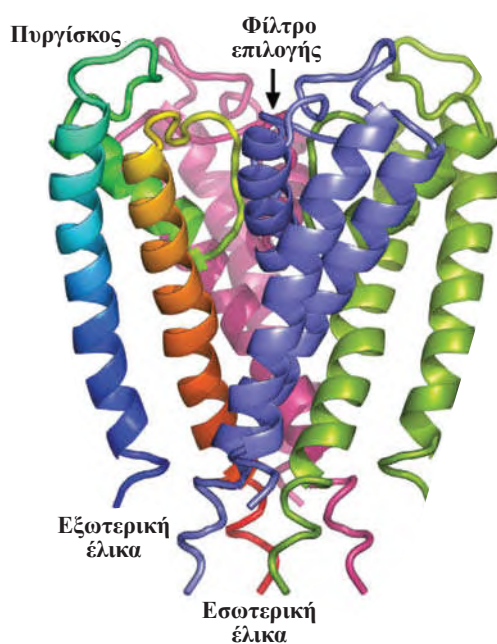


ΕΙΚΟΝΑ 10–3 Δομή του συμπλόκου μιας υπομονάδας μαλτοπορίνης και μιας μαλτοδεξτρίνης με έξι μονάδες. Η πολυπεπτιδική ραχοκοκαλιά αυτής της πρωτεΐνης της *E. coli* αντιπροσωπεύεται από την πολυνηματική κορδέλα κυανού χρώματος. Πέντε κατάλοιπα γλυκόζης της μαλτοδεξτρίνης και οι αρωματικές πλευρικές αλυσίδες που ευθυγραμμίζουν τη μεταφορά του διαύλου απεικονίζονται με χωροπληρωτική μορφή με το N να έχει μπλε χρώμα, το O κόκκινο, η πρωτεΐνη C χρυσαφί και ο C του γλυκοσυλίου πράσινο. Η «λιπαρή διαφάνεια» αποτελείται από τις αρωματικές πλευρικές αλυσίδες καταλοίπων. Η Tyr 118, η οποία προεκτείνεται εντός του διαύλου, βοηθά στον περιορισμό της διέλευσης των καταλοίπων γλυκοσυλίου. [Βάσει της δομής που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τον Iman Schirmer, University of Basel, Basel, Switzerland, PDBid 1MPO]

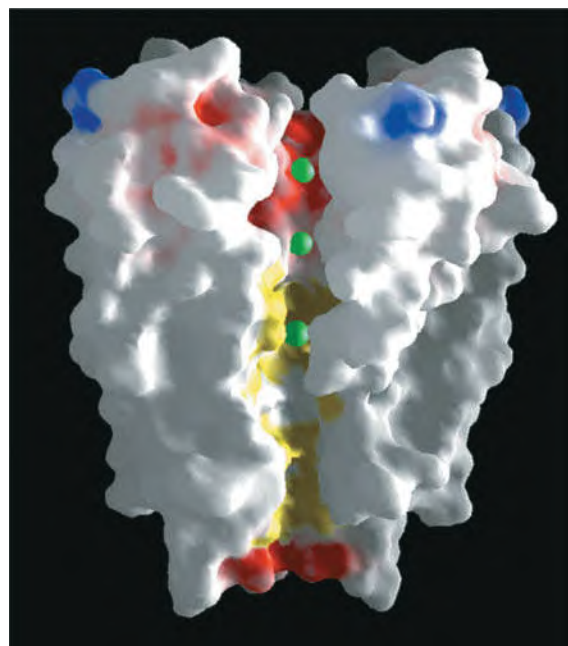
Ο κεντρικός πόρος μήκους 45 Å έχει μεταβλητό πλάτος: αρχίζει στην κυτταροπλασματική πλευρά του ως ένα τούνελ διαμέτρου ~6 Å, του οποίου η είσοδος είναι ευθυγραμμισμένη με τέσσερις ανιοντικές πλευρικές αλυσίδες (κόκκινη περιοχή στη βάση της Εικόνας 10–4β) που προφανώς ελκύουν τα κατιόντα και απωθούν τα ανιόντα. Ο πόρος έπειτα διευρύνεται σχηματίζοντας μια κοιλότητα διαμέτρου 10 Å. Αυτές οι περιοχές του κεντρικού πόρου είναι αρκετά μεγάλες, έτσι ώστε να μπορεί να διέρχεται από αυτές ένα ιόν K^+ στην ενυδατωμένη κατάστασή του. Ωστόσο, το άνω μέρος του πόρου, που ονομάζεται φίλτρο επιλογής, στενεύει στα 3 Å, αναγκάζοντας έτσι ένα διερχόμενο ιόν K^+ να απωθήσει τα νερά της ενυδάτωσής του. Τα τοιχώματα του πόρου και της κοιλότητας ευθυγραμμίζονται με τις υδρόφοβες ομάδες που αλληλεπιδρούν ελάχιστα με τα ιόντα διάχυσης (η κίτρινη περιοχή του πόρου στην Εικόνα 10–4β). Ωστόσο, το φίλτρο επιλογής (η κόκκινη περιοχή του πόρου στην Εικόνα 10–4β) ευθυγραμμίζεται με στενά διατεταγμένα οξυγόνα καρβονυλίου κύριας αλυσίδας που προέρχονται από την «αλληλουχία–υπογραφή» TVGYG, η οποία είναι εξαιρετικά συντηρημένη στους διαύλους K^+ .

Πώς ο διάυλος K^+ διαχωρίζει με τέτοια ακρίβεια μεταξύ των ιόντων K^+ και Na^+ ; Τα άτομα O της κύριας αλυσίδας ευθυγραμμίζουν το φίλτρο επιλογής από μια συστοιχία δακτυλίων (Εικόνα 10–5, άνω μέρος) που παρέχουν μια σειρά από στενά διατεταγμένες θέσεις κατάλληλων διαστάσεων για τον συντονισμό των αφυδατωμένων ιόντων K^+ , όχι όμως των μικρότερων ιόντων Na^+ . Η δομή της πρωτεΐνης που περιβάλλει το φίλτρο επιλογής υποδηλώνει ότι η διάμετρος του πόρου διατηρείται άκαμπτη, καθιστώντας έτσι την ενέργεια του αφυδατωμένου Na^+ στο φίλτρο επιλογής σημαντικά υψηλότερη από αυτή του ενυδατωμένου Na^+ και συνεπώς δικαιολογεί την υψηλή επιλεκτικότητα του διαύλου K^+ για τα ιόντα K^+ .

Ποια είναι η λειτουργία της κοιλότητας; Διάφοροι υπολογισμοί ενέργειας υποδεικνύουν ότι ένα ιόν που κινείται δι-αμέσου ενός στενού διαμεμβρανικού πόρου πρέπει να υπερβεί έναν ενεργειακό φραγμό που είναι μέγιστος στο κέντρο της μεμβράνης. Η ύπαρξη της κοιλότητας μειώνει αυτή την ηλεκτροστατική αποσταθεροποίηση περιβάλλοντας το ιόν με πολωμένα μόρια νερού (Εικόνα 10–5, κάτω μέρος). Η κοιλότητα συγκρατεί ~40 πρόσθετα μόρια νερού, τα οποία είναι αποδιατεταγμένα και γι' αυτό δεν φαίνονται στη δομή ακτίνων X. Παραδόξως, το ιόν K^+ που καταλαμβάνει την κοιλότητα προσδένεται με 8 διατεταγμένα μόρια νερού που είναι τοποθετημένα στις γωνίες ενός τετράγωνου αντι-πρίσματος (έναν κύβο με τη μια του πλευρά στραμμένη κατά 45° ως προς την αντίθετη πλευρά). Το K^+ στα υδατικά διαλύματα είναι γνωστό ότι έχει μια τέτοια εσωτερική στιβάδα ενυδάτωσης, αλλά δεν είχε απεικονιστεί ποτέ μέχρι τότε.



(α)



(β)

Roderick MacKinnon, Rockefeller University, PDBid 1BL8

ΕΙΚΟΝΑ 10–4 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής του διαύλου KcsA. (α) Διάγραμμα κορδέλας του τετραμερούς, όπως φαίνεται μέσα από το επίπεδο της μεμβράνης, με το κυτταρόπλασμα από κάτω και την εξωκυτάρια περιοχή από πάνω. Ο τετραπλάσιος άξονας περιστροφής της πρωτεΐνης είναι κατακόρυφος και καθεμία από τις ταυτόσημες υπομονάδες της είναι χρωματισμένες με διαφορετικό χρώμα, με αυτές στα αριστερά να είναι χρωματισμένες με τα χρώματα του ουράνιου τόξου από το N–τελικό (μπλε χρώμα) ως το C–τελικό (κόκκινο χρώμα). Κάθε υπομονάδα έχει μια εσωτερική έλικα που σχηματίζει ένα μέρος του κεντρικού πόρου, μια εξωτερική έλικα που έρχεται σε επαφή με το εσωτερικό της μεμβράνης και έναν πυργίσκο που προεξέχει εντός του εξωκυτάριου χώρου. Το φίλτρο επιλογής στο εξωκυτάριο άκρο της πρωτεΐνης επιτρέπει τη διέλευση ιόντων K^+ , όχι όμως ιόντων Na^+ . [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τον Roderick MacKinnon, Rockefeller University. PDBid 1BL8.] (β) Εσωτερικό διάγραμμα που απεικονίζεται όμοια με το μέρος α, στο οποίο ο διάυλος K^+ αντιπροσωπεύεται από την επιφάνειά του που είναι προσβάσιμη στον διαλύτη. Η επιφάνεια χρωματίζεται βάσει φυσικών ιδιοτήτων με κόκκινο χρώμα για τις αρνητικά φορτισμένες περιοχές, άσπρο για τις αφόρτιστες περιοχές, μπλε για τις θετικά φορτισμένες περιοχές και κίτρινο για τις υδρόφοβες περιοχές του κεντρικού πόρου. Τα ιόντα K^+ συμβολίζονται με πράσινες σφαίρες.



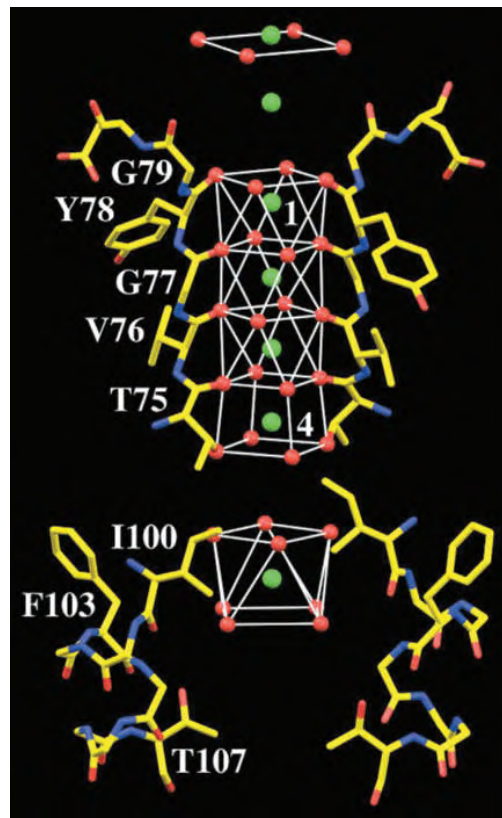
Εξηγήστε γιατί μεγάλο μέρος της πρωτεϊνικής επιφάνειας είναι μη πολικό.

Πώς ο KcsA υποστηρίζει μια τέτοια υψηλή διακίνηση ιόντων K^+ (μέχρι 10^8 ιόντα ανά λεπτό); Η Εικόνα 10–5 απεικονίζει μια σειρά από κανονικά διατεταγμένα ιόντα K^+ : τέσσερα στο φίλτρο επιλογής και δύο επιπλέον ακριβώς έξω από αυτό στην εξωκυττάρια πλευρά του (κορυφή). Τέτοιου είδους στενά διατεταγμένα θετικά ιόντα θα απωθούσαν ισχυρά το ένα το άλλο και ως εκ τούτου θα αντιπροσώπευαν μια υψηλή ενεργειακή κατάσταση. Ωστόσο, η δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X είναι ένας μέσος όρος πολλών μορίων KcsA, και ποικίλες ενδείξεις υποδεικνύουν ότι εντός ενός διαύλου, τα ιόντα K^+ στον πόρο εναλλάσσονται στην πραγματικότητα με άλλα μόρια νερού. Αυτή η διάταξη σημαίνει ότι κάθε ιόν K^+ περιβάλλεται από άτομα O (από το H_2O ή τις πρωτεϊνικές καρβονυλικές ομάδες) σε κάθε θέση κατά μήκος του φίλτρου επιλογής. Καθώς ένα ιόν K^+ κινείται εντός ενός φίλτρου επιλογής από την κοιλότητα, ανταλλάσσει μερικά από τα μόρια ενυδάτωσης του νερού του για πρωτεϊνικούς προσδέτες και έπειτα κάνει το αντίστροφο για να ανακτήσει τη στιβάδα ενυδάτωσης του, όταν εξέρχεται από το φίλτρο επιλογής για να εισέλθει στο εξωκυττάριο διάλυμα. Εντός του φίλτρου επιλογής, οι προσδέτες είναι διατεταγμένοι και προσανατολισμένοι έτσι ώστε να υπάρχει μια μικρή μεταβολή ελεύθερης ενέργειας ($< 12 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), καθώς ένα ιόν K^+ κινείται σε διαδοχικές θέσεις. Αυτό το επίπεδο ελεύθερης ενέργειας πεδίου επιτρέπει τη γρήγορη κίνηση των ιόντων K^+ διαμέσου του ιοντικού διαύλου. Επιπλέον, οι αμοιβαίες ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ διαδοχικών ιόντων K^+ ισορροπούν τις ελκτικές αλληλεπιδράσεις κρατώντας αυτά τα ιόντα στο φίλτρο επιλογής και συνεπώς διευκολύνουν την περαιτέρω ταχεία διέλευσή τους. Ωστόσο, επισημαίνεται ότι αυτός ο μηχανισμός δεν επιβάλλει μια κατεύθυνση στη μετανάστευση των ιόντων K^+ . Η καθαρή ροή (flux) —ρυθμός μεταφοράς ανά μονάδα επιφάνειας— των ιόντων K^+ εξαρτάται μόνο από το ηλεκτροστατικό δυναμικό διαμέσου της μεμβράνης, δηλαδή τα ιόντα K^+ υφίστανται παθητική διαμεσολαβούμενη μεταφορά (Ενότητα 10–1).

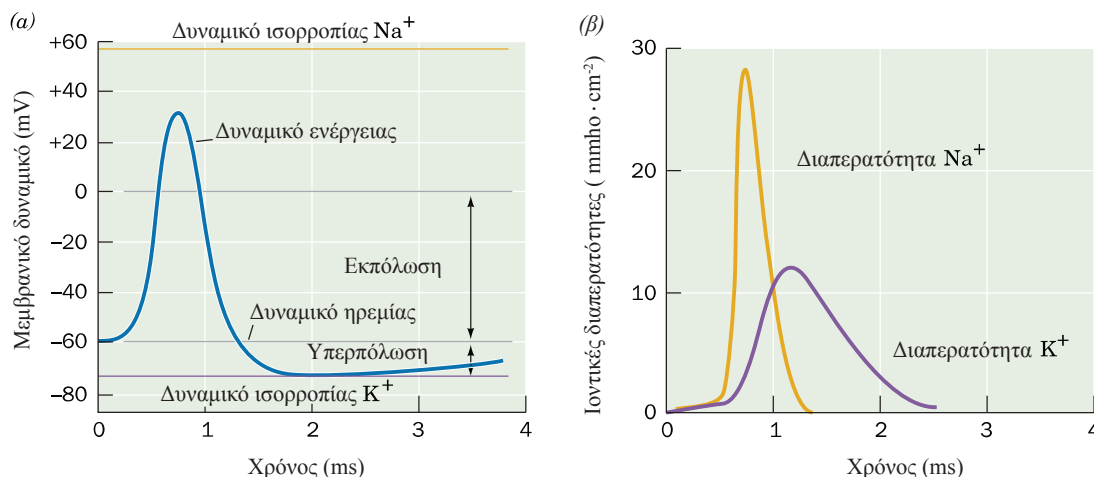
Ρύθμιση πύλης ιοντικών διαύλων. Οι φυσιολογικές λειτουργίες των ιοντικών διαύλων εξαρτώνται όχι μόνο από την εξαιρετική ιοντική επιλεκτικότητά τους και από την ταχύτητα της μεταφοράς αλλά και από την ικανότητά τους να είναι επιλεκτικά ανοιχτοί ή κλειστοί. Για παράδειγμα, οι ιοντικές βαθμιδώσεις εκατέρωθεν των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες δημιουργούνται από ειδικές ενεργειακά καθοδηγούμενες αντλίες (Ενότητα 10–3), αποφορτίζονται από τους διαύλους K^+ και Na^+ . Ωστόσο, οι αντλίες δεν θα μπορούσαν να συμβαδίζουν με τις μαζικές ροές των ιόντων που διέρχονται διαμέσου των ανοιχτών διαύλων, έτσι οι ιοντικοί διάυλοι είναι κανονικά κλειστοί και ανοίγουν μόνο παροδικά για να εκτελέσουν κάποια συγκεκριμένη εργασία του κυττάρου. Το άνοιγμα και το κλείσιμο των ιοντικών διαύλων, μια διαδικασία που είναι γνωστή ως **ρύθμιση πύλης διαύλου (gating)**, μπορεί να εμφανιστεί ως απόκριση σε μια ποικιλία ερεθισμάτων:

1. **Μηχανοευαίσθητοι διάυλοι (mechanosensitive channels)**, οι οποίοι ανοίγουν ως απόκριση σε τοπικές παραμορφώσεις στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Έτσι, ανταποκρίνονται σε άμεσα φυσικά ερεθίσματα όπως το άγγιγμα, ο ήχος και οι αλλαγές της ωσμωτικής πίεσης.
2. **Διάυλοι πύλης από προσδέτη (ligand-gated channels)**, οι οποίοι ανοίγουν ως απόκριση σε ένα εξωκυττάριο χημικό ερέθισμα, όπως ένας νευροδιαβιβαστής.
3. **Διάυλοι πύλης από σήματα (signal-gated channels)**, οι οποίοι ανοίγουν στην ενδοκυττάρια πρόσδεση του ιόντος Ca^{2+} ή κάποιου άλλου μορίου σηματοδότησης (Ενότητα 13–4B).
4. **Διάυλοι πύλης από διαφορά δυναμικού (voltage-gated channels)**, οι οποίοι ανοίγουν ως απόκριση σε μια μεταβολή μεμβρανικού δυναμικού. Οι πολυκύτταροι οργανισμοί περιέχουν πολυάριθμους και ποικίλους διαύλους πύλης από διαφορά δυναμικού, συμπεριλαμβανομένων αυτών που είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία νευρικών ερεθισμάτων.

Τα νευρικά ερεθίσματα διαδίδονται από τα δυναμικά ενέργειας. Ως παράδειγμα των λειτουργιών των διαύλων πύλης από διαφορά δυναμικού, ας θεωρήσουμε τα γεγονότα ηλεκτρικής σηματοδότησης στους νευρώνες (νευρικά κύτταρα). Η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών κατά μήκος ενός συναπτικού συνδέσμου (Εικόνα 9–45) προκαλεί το άνοιγμα των διαύλων Na^+ που βρίσκονται στη μετασυναπτική μεμβράνη, ώστε να εισρεύσουν αυθόρμητα τα ιόντα Na^+ στον επόμενο νευρώνα. Η επακόλουθη τοπική αύξηση στο μεμβρανικό δυναμικό προκαλεί το άνοιγμα των γειτονικών διαύλων Na^+ πύλης από διαφορά δυναμικού.



ΕΙΚΟΝΑ 10–5 Τα μέρη του διαύλου KcsA που είναι υπεύθυνα για την επιλεκτικότητά του ως προς τα ιόντα. Η πρωτεΐνη απεικονίζεται όπως και στην Εικόνα 10–4 με τις μπροστινές και τις πίσω υπομονάδες να παραλείπονται για λόγους σαφήνειας. Τα κατάλοιπα που σχηματίζουν την κοιλότητα (κάτω μέρος) και το φίλτρο επιλογής (άνω μέρος) φαίνονται με τα άτομα να είναι χρωματισμένα σύμφωνα με τον τύπο (για τον C κίτρινο χρώμα, για το N μπλε, για το O κόκκινο και τα ιόντα K^+ αντιπροσωπεύονται από πράσινες σφαίρες). Το νερό και τα άτομα O της πρωτεΐνης που προσδέουν τα ιόντα K^+ , συμπεριλαμβανομένων αυτών που συνεσφαιρώνονται από τις μπροστινές και τις πίσω υπομονάδες, αντιπροσωπεύονται από κόκκινες σφαίρες. Ο πολυέδρος συντονισμός που σχηματίζεται από αυτά τα άτομα O σκιαγραφείται από λεπτές λευκές γραμμές. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τον Robert MacKinnon, Rockefeller University, PDBid 1K4C.]



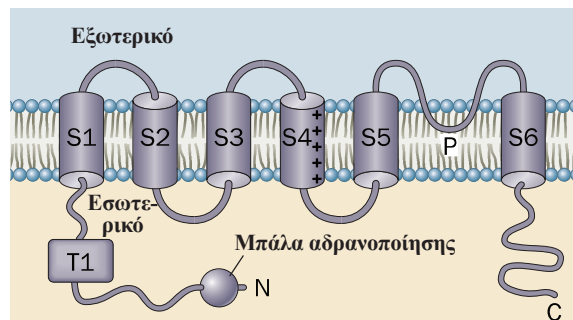
ΕΙΚΟΝΑ 10-6 Χρονική πορεία ενός δυναμικού ενέργειας. (α) Η μεμβράνη του νευρώνα, της οποίας το δυναμικό ηρεμίας μεμβράνης είναι αρνητικό στο εσωτερικό, υφίσταται ταχεία εκπόλωση, ακολουθούμενη από μια σχεδόν εξίσου ταχεία υπερπόλωση και έπειτα μια αργή ανάκτηση στο δυναμικό ηρεμίας του. (β) Η εκπόλωση προκαλείται από παροδική αύξηση της διαπερατότητας των Na^+ (αγωγιμότητα), ενώ η υπερπόλωση προκύπτει από μια πιο παρατεταμένη αύξηση της διαπερατότητας των K^+ που ξεκινά ένα κλάσμα του χιλιοστού του δευτερολέπτου αργότερα. [Κατά Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F., *J. Physiol.* **117**, 530 (1952).]

? Εξηγήστε γιατί τα ιόντα Na^+ ρέουν μέσα στο κύτταρο, ενώ τα ιόντα K^+ έξω από αυτό.

Η προκύπτουσα τοπική **εκπόλωση (depolarization)** της μεμβράνης προκαλεί το άνοιγμα των γειτονικών διαύλων K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού. Αυτό επιτρέπει στα ιόντα K^+ να ρέουν αυθόρμητα έξω από το κύτταρο με μια διαδικασία που ονομάζεται **υπερπόλωση (hyperpolarization)** (Εικόνα 10-6). Βέβαια, πριν καλά ισορροπήσει η κατανομή των ιόντων Na^+ και K^+ εκατέρωθεν της μεμβράνης, οι διάλυοι Na^+ και K^+ κλείνουν αυθόρμητα. Ωστόσο, επειδή η εκπόλωση ενός μεμβρανικού τμήματος προκαλεί το άνοιγμα των διαύλων Na^+ πύλης από διαφορά δυναμικού που βρίσκονται σε ένα γειτονικό μεμβρανικό τμήμα, γεγονός το οποίο στη συνέχεια προκαλεί το άνοιγμα των γειτονικών διαύλων πύλης από διαφορά δυναμικού κ.ο.κ., ένα κύμα παροδικής αλλαγής στο μεμβρανικό δυναμικό, που ονομάζεται **δυναμικό ενέργειας (action potential)**, ταξιδεύει κατά μήκος του νευρικού κυττάρου (του οποίου το μήκος μπορεί να είναι πάνω από 1 m). Το δυναμικό ενέργειας, το οποίο ταξιδεύει με ~10 m/s, διαδίδεται μόνο ως προς τη μια κατεύθυνση, επειδή, μετά το αυθόρμητο κλείσιμο των ιοντικών διαύλων, οι διάλυοι αντιστέκονται στο να ξανανοίξουν, μέχρι το δυναμικό της μεμβράνης να ανακτήσει την κατάσταση ηρεμίας του, η οποία διαρκεί μερικά χιλιοστά του δευτερολέπτου.

Καθώς διαδίδεται ένα δυναμικό ενέργειας κατά μήκος ενός νευρικού κυττάρου, αυτό ανανεώνεται συνεχώς, ώστε η ισχύς του σήματός του να παραμένει σταθερή (αντίθετα, ένα ηλεκτρικό ερέθισμα που ταξιδεύει κατά μήκος ενός καλωδίου διασκορπίζεται ως συνέπεια των φαινομένων αντίστασης και χωρητικότητας). Παρ' όλα αυτά, η σχετική ανισορροπία ιόντων που είναι υπεύθυνη για το δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης είναι μικρή. Μόνο ένα μικρό μέρος των βαθμιδώσεων $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ του νευρικού κυττάρου (το οποίο δημιουργείται από αντλίες ιόντων, Ενότητα 10-3A) αποφορτίζεται με ένα μεμονωμένο νευρικό ερέθισμα (μόνο ένα ιόν K^+ ανά 3.000–300.000 στο κυτοσόλιο ανταλλάσσεται με εξωκυττάρια Na^+ , όπως υποδεικνύουν οι μετρήσεις με ραδιενεργό Na^+). Ένα νευρικό κύτταρο μπορεί συνεπώς να μεταδώσει ένα νευρικό ερέθισμα αδιάκοπα κάθε λίγα χιλιοστά του δευτερολέπτου. Αυτή η ικανότητα να διεγείρονται τόσο γρήγορα αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό της νευρικής επικοινωνίας: δεδομένου ότι όλα τα δυναμικά ενέργειας έχουν το ίδιο εύρος, το μέγεθος ενός ερεθίσματος μεταφέρεται με τον ρυθμό με τον οποίο διεγείρεται ένα νεύρο.

Η ρύθμιση της πύλης των διαύλων K^+ από διαφορά δυναμικού ενεργοποιείται από την κίνηση μιας θετικά φορτισμένης πρωτεϊνικής έλικας. Οι υπομονάδες όλων των διαύλων K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού περιέχουν μια N-τελική κυτταροπλασματική περιοχή ~220 καταλοίπων, μια διαμεμβρανική περιοχή ~250 καταλοίπων που αποτελείται από έξι έλικες, S1 έως S6, και μια C-τελική κυτταροπλασματική περιοχή ~150 καταλοίπων (Εικόνα 10-7). Οι S5 και S6 είναι αντίστοιχα ομόλογες ως προς τις εξωτερικές και εσωτερικές διαμεμβρανικές έλικες του διαύλου KcsA (Εικόνα 10-4), και η ανεστραμμένη θηλιά τους P, η οποία σχηματίζει το φίλτρο επιλογής, περιλαμβάνει την ίδια αλληλουχία-υπογραφή TVGYG που υπάρχει στον KcsA. Στους διαύλους K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού, που είναι γνωστοί ως **διαύλοι Kv** , μια διατηρημένη, κυτταροπλασματική περιοχή T1, όπως αποκαλείται, που αποτελείται από ~110 κατάλοιπα προηγείται της διαμεμβρανικής περιοχής.



ΕΙΚΟΝΑ 10-7 Τοπολογία των υπομονάδων ενός διαύλου K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού

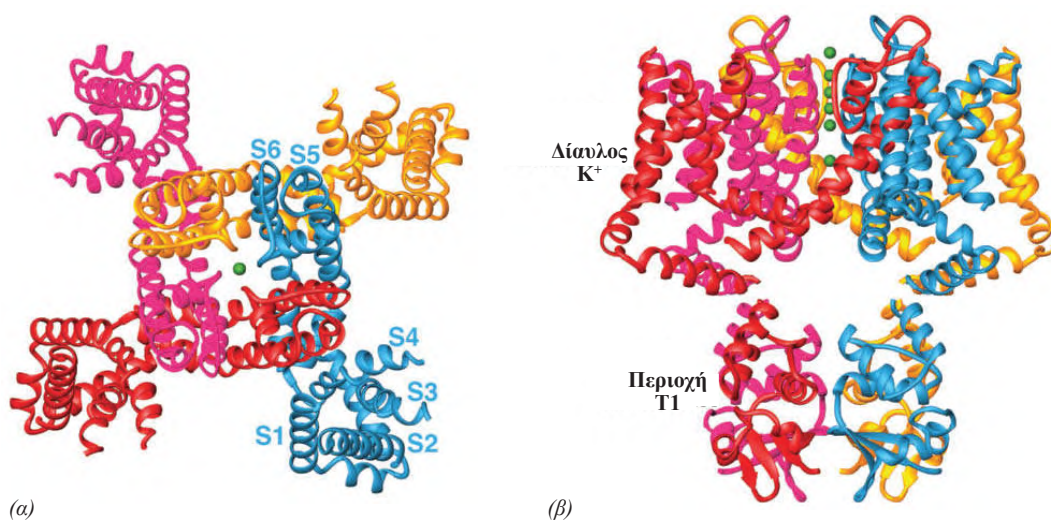
Οι διάυλοι Kν μοιάζουν πολύ με τον διάυλο KcsA στην τετραμερή δομή του πόρου τους, όμως ποια είναι η φύση αυτής της μηχανής ελέγχου στους διαύλους ιόντων πύλης από διαφορά δυναμικού; Η έλικα S4 ~19 καταλοίπων, η οποία περιέχει γύρω στις πέντε θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες που είναι διατεταγμένες περίπου κάθε τρία κατάλοιπα σε ένα διαφορετικό υδρόφοβο πολυπεπτιδίο, φαίνεται να δρα ως ένας αισθητήρας τάσης. Διάφορες πειραματικές προσεγγίσεις υποδεικνύουν ότι όταν αυξάνεται το μεμβρανικό δυναμικό (το εσωτερικό γίνεται λιγότερο αρνητικό), η έλικα S4 έλκεται προς την εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης.

Η δομή που αποδόθηκε με χρήση ακτίνων X του διαύλου Kν από τον εγκέφαλο ποντικού, αποκαλούμενη **Kv1.2 (Εικόνα 10–8)**, αποδεικνύει πώς μπορεί να πραγματοποιείται αυτός ο έλεγχος. Καθώς η μεμβράνη αρχίζει να εκπολώνεται, τα τέσσερα συντηρημένα κατάλοιπα Arg στην έλικα S4 σύρονται προς την εξωκυττάρια επιφάνεια (**Εικόνα 10–9, πάνω**), έλκοντας τη συνδετική έλικα S4–S5 (η οποία δεν φαίνεται στην Εικόνα 10–7) και μαζί με αυτήν και την έλικα S5. Αυτό επιμηκώνει τα άκρα των ελίκων S6, ώστε να διευρυνθεί η ενδοκυττάρια είσοδος στον διάυλο K⁺ (**Εικόνα 10–9β**). Κατά τη διάρκεια της εκπόλωσης, καθώς το εσωτερικό του κυττάρου αρχίζει να γίνεται περισσότερο αρνητικό, η θετικά φορτισμένη έλικα S4 πέφτει πίσω προς την κυτταροπλασματική πλευρά της μεμβράνης, πιέζοντας προς τα κάτω τον μοχλοβραχίονα S4–S5 για να κλείσει ο διάυλος (**Εικόνα 10–9γ**).

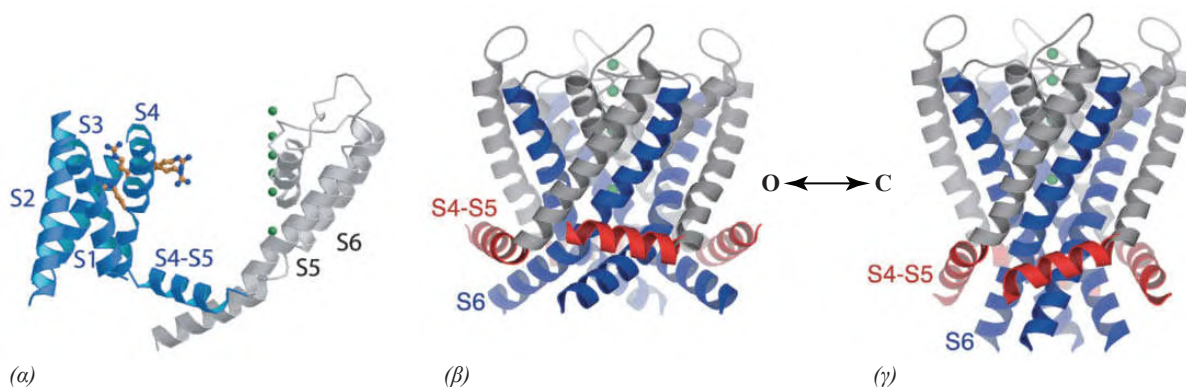
Οι ιοντικοί διάυλοι διαθέτουν μια δεύτερη πύλη. Ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι διάυλοι Kν κλείνουν αυθόρμητα λίγα χιλιοστά του δευτερολέπτου μετά το άνοιγμα και δεν ξαναανοίγουν, μέχρις ότου να ανακτήσει η μεμβράνη το δυναμικό ηρεμίας της. Προφανώς, ο διάυλος Kν περιέχει δύο πύλες ευαίσθητες στην τάση, μία που ανοίγει τον διάυλο, όταν αυξάνεται το μεμβρανικό δυναμικό, και μία που τον αδρανοποιεί λίγο αργότερα. Αυτή η αδρανοποίηση του διαύλου Kν καταργείται με την πρωτεολυτική αποκοπή του N–τελικού τμήματος που περιέχει 20 κατάλοιπα, του οποίου η δομή NMR είναι ένα συσσωμάτωμα που μοιάζει με μπάλα. Στον ανέπαφο διάυλο Kν, η «μπάλα αδρανοποίησης» είναι δεμένη με το άκρο ενός ευκαμπτου πεπτιδικού τμήματος 65 καταλοίπων (**Εικόνα 10–7**), υποδηλώνοντας ότι η αδρανοποίηση του διαύλου συμβαίνει φυσιολογικά, όταν η μπάλα ταλαντεύεται για να προσδεθεί στο στόμιο του ανοιχτού πόρου K⁺, φράσσοντας έτσι τη διέλευση ιόντων K⁺. Η κινητικότητα αυτού του συσσωματώματος «μπάλας και αλυσίδας» είναι πιθανότατα ο λόγος για τον οποίο δεν είναι ορατή η δομή του Kv1.2 με χρήση ακτίνων X (**Εικόνα 10–8**).

Το τετραμερές T1 δεν έχει έναν αξονικό διάυλο, γι' αυτό η μπάλα αδρανοποίησης πρέπει να βρει έναν τρόπο να φράξει τον κεντρικό πόρο μέσω των πλευρικών πυλών μεταξύ του τετραμερούς T1 και του κεντρικού πόρου (**Εικόνα 10–8β**). Αυτές οι πύλες, οι οποίες είναι από 15 έως 20 Å από τη μια πλευρά στην άλλη, ευθυγραμμίζονται με τις αρνητικά φορτισμένες ομάδες που πιθανότατα ελκύουν τα ιόντα K⁺.

Η κυτταροπλασματική είσοδος στον πόρο του διαύλου K⁺ έχουν διάμετρο μόνο 6 Å, που είναι πολύ στενή για να δεχθεί την μπάλα αδρανοποίησης. Συνεπώς, φαίνεται ότι αυτή η πεπτιδική μπάλα πρέπει να ξεδιπλωθεί για να εισαχθεί στον πόρο. Τα πρώτα 10 κατάλοιπα της ξεδιπλωμένης πεπτιδικής μπάλας είναι κυρίως υδρόφοβα και πιθανότατα έρχονται σε επαφή με τα υδρόφοβα κατάλοιπα που ευθυγραμμίζουν τον πόρο του διαύλου Kν.



ΕΙΚΟΝΑ 10–8 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής του διαύλου K⁺ πύλης από διαφορά δυναμικού Kv1.2. (α) Προβολή κατά μήκος του τετραπλάσιου άξονα της τετραμερούς πρωτεΐνης από την εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης στην οποία είναι ενσωματωμένος. Καθεμία από τις τέσσερις πανομοιότυπες υπομονάδες του είναι διαφορετικά χρωματισμένες και η περιοχή T1 έχει παραλειφθεί για λόγους σαφήνειας. Η διαιρεμένη εμφάνιση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων οφείλεται στις υψηλές κινητικότητες των ελλειπόντων τμημάτων. Οι έλικες S5 και S6 με τις παρεμβλλόμενες θηλίες P σχηματίζουν τον πόρο για τα ιόντα K⁺ (οριοθετημένος με πράσινες σφαίρες). Οι έλικες S1 έως S4 σχηματίζουν μια ξεχωριστή ενδομεμβρανική περιοχή που ανιχνεύει την τάση, η οποία συνδέεται με τις έλικες S5 και S6 της δεξιόστροφης γειτονικής υπομονάδας, οδηγώντας σε ανοιγοκλείσιμο του διαύλου K⁺ που μοιάζει με αυτό της ίριδας. (β) Προβολή κάθετη ως προς αυτή του μέρους α με την εξωκυττάρια περιοχή της μεμβράνης από πάνω. Ο πόρος και οι περιοχές ανίχνευσης τάσης καλύπτουν μια απόσταση 30 Å, το πάχος του υδρόφοβου πυρήνα της μεμβράνης. Η περιοχή T1, η οποία καταλαμβάνει το κυτταρόπλασμα, σχηματίζει τον προθάλαμο του διαμεμβρανικού διαύλου K⁺. Τα τέσσερα μεγάλα ανοίγματα μεταξύ της περιοχής T1 και του διαύλου K⁺ είναι οι πύλες από τις οποίες τα ιόντα K⁺ εισέρχονται στον διάυλο K⁺. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με τη χρήση ακτίνων X από τον Roderick MacKinnon, Rockefeller University. PDBid 2A79.]



ΕΙΚΟΝΑ 10-9 Λειτουργία της διαμεμβρανικής περιοχής του διαύλου K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού Kv1.2. (α) Πλευρική προβολή μιας μεμονωμένης υπομονάδας με την εξωκυττάρια πλευρά στην κορυφή. Οι έλικες που σχηματίζουν τον πόρο (S5 και S6) είναι γκρι και η περιοχή ανίχνευσης της τάσης (έλικες S1–S4) είναι μπλε. Η συνδετική έλικα S4–S5 (δεν είναι σχεδιασμένη στην Εικόνα 10-7), η οποία είναι παράλληλη προς τη μεμβρανική επιφάνεια, συνδέει την περιοχή ανίχνευσης της τάσης με την περιοχή που σχηματίζει τον πόρο K^+ (οριοθετημένος με τις πράσινες σφαίρες). Τέσσερα κατάλοιπα Arg στην S4 απεικονίζονται με μορφή σφαιρών και ράβδων με το άτομο του C να έχει χρυσαφί χρώμα και τα άτομα N μπλε. Δύο από αυτά τα κατάλοιπα αλληλεπιδρούν με την πρωτεΐνη και δύο προεκτείνονται στη λιπιδική διπλοστιβάδα. (β) Πλευρική προβολή του τετραμερούς διαύλου στην ανοιχτή στερεοδιαμόρφωσή του. Οι έλικες S5 είναι γκρι, οι έλικες S6 είναι μπλε και η συνδετική έλικα S4–S5 είναι κόκκινη. (γ) Υποθετικό μοντέλο του διαύλου στην κλειστή στερεοδιαμόρφωσή του, χρωματισμένο όπως στο μέρος β. Η καθοδική κίνηση της έλικας S4 που φέρει Arg (η οποία δεν φαίνεται στο σχέδιο) πιέζει προς τα κάτω τη συνδετική έλικα S4–S5 για να δεσμεύσει τον πόρο στο κυτταροπλασματικό άκρο του (βάση). [Ευγενική προσφορά από τον Roderick MacKinnon, Rockefeller University. PDBid 2A79.]

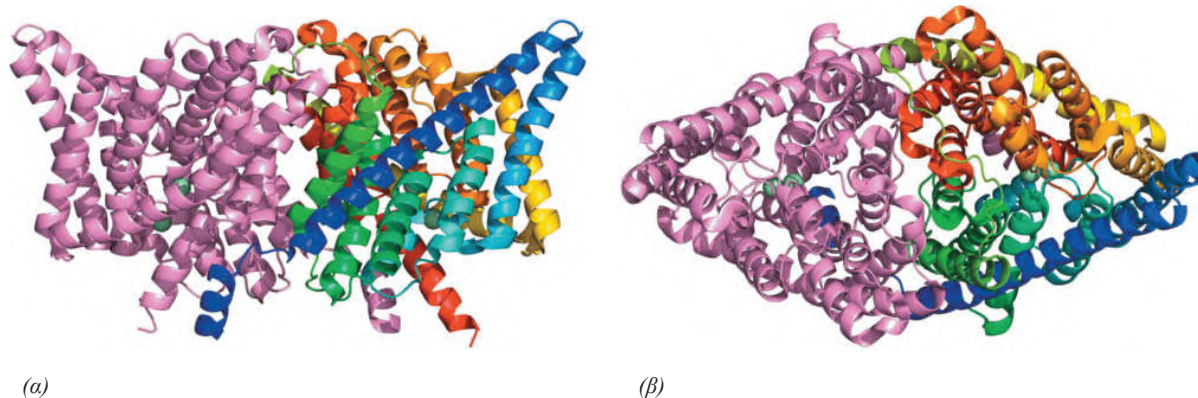
Τα επόμενα 10 κατάλοιπα, τα οποία σε μεγάλο βαθμό είναι υδρόφιλα και περιέχουν αρκετές κατιοντικές ομάδες, προσδένονται στις ανιοντικές ομάδες ευθυγραμμίζοντας την είσοδο στις πλευρικές πύλες του T1. Έτσι, το πεπτιδίο αδρανοποίησης δρα λίγο πολύ ως φίδι παρά ως μπάλα και αλυσίδα. Ένας διάυλος Kv που είναι κατασκευασμένος έτσι ώστε μόνο μια υπομονάδα να έχει το πεπτιδίο αδρανοποίησης εξακολουθεί να αδρανοποιείται, αλλά στο ένα τέταρτο του ποσοστού των φυσιολογικών διαύλων Kv. Προφανώς, οποιοδήποτε από τα τέσσερα πεπτιδία αδρανοποίησης των φυσιολογικών διαύλων Kv μπορεί να φράσσει τον διάυλο και είναι απλώς θέμα τύχης ποιο από αυτά θα το πράξει.

Άλλοι διάυλοι κατιόντων πύλης από διαφορά δυναμικού που περιέχουν έναν κεντρικό πόρο. Οι διάυλοι Na^+ και K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού μοιάζουν με τους διαύλους K^+ , παρόλο που δεν σχηματίζουν ομοτετραμερή, πρόκειται για μονομερή τεσσάρων διαδοχικών περιοχών, όπου η καθεμία είναι ομόλογη ως προς μια υπομονάδα του διαύλου K^+ , που συχνά είναι διαχωρισμένες από μεγάλους κυτταροπλασματικούς βρόχους. Αυτές οι περιοχές πιθανότητα λαμβάνουν μια ψευδοτετραμερή διάταξη γύρω από έναν κεντρικό πόρο που μοιάζει με εκείνη των διαύλων K^+ πύλης από διαφορά δυναμικού. Αυτή η δομική ομολογία υποδηλώνει ότι οι ιοντικοί διάυλοι πύλης από διαφορά δυναμικού μοιράζονται μια κοινή αρχιτεκτονική δομή στην οποία οι διαφορές της επιλεκτικότητας των ιόντων προέρχονται από ακριβείς στερεοχημικές παραλλαγές εντός του πόρου. Ωστόσο, έξω από τον διατηρημένο διαμεμβρανικό πυρήνα τους, οι διάυλοι πύλης από διαφορά δυναμικού που εμφανίζουν διαφορετική επιλεκτικότητα ιόντων είναι εξαιρετικά παρεκκλίνοντες. Για παράδειγμα, η περιοχή T1 των διαύλων Kv είναι απύουσα σε άλλους τύπους ιοντικών διαύλων πύλης από διαφορά δυναμικού.

Οι διάυλοι Cl^- διαφέρουν από τους διαύλους κατιόντων. Οι διάυλοι Cl^- , οι οποίοι υπάρχουν σε όλα τα είδη κυττάρων, επιτρέπουν τη διαμεμβρανική κίνηση των ιόντων χλωρίου κατά μήκος της βαθμίδωσης της συγκέντρωσής τους. Στα θηλαστικά, η εξωκυττάρια συγκέντρωση Cl^- είναι περίπου 120 mM και η ενδοκυττάρια συγκέντρωση είναι περίπου 4 mM.

Οι διάυλοι Cl^- σχηματίζουν μια μεγάλη οικογένεια διαύλων ανιόντων που εμφανίζονται ευρέως σε αμφοτέρους τους προκαρυώτες και τους ευκαρυώτες. Οι δομές των διαύλων Cl^- από δύο είδη βακτηρίων, όπως προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια ακτίνων X από τους Raimund Dutzler και MacKinnon, αποκάλυπτουν, όπως βιοφυσικές μετρήσεις είχαν προηγουμένως υποδηλώσει, ότι οι διάυλοι Cl^- είναι ομοδιμερή με κάθε υπομονάδα να σχηματίζει έναν πόρο επιλεκτικό στα ανιόντα (Εικόνα 10-10). Κάθε υπομονάδα αποτελείται κυρίως από 18 διαμεμβρανικές α-έλικες που παρουσιάζουν αξιοσημείωτη κλίση σε σχέση με το επίπεδο της μεμβράνης και διαθέτουν ποικίλα μήκη σε σύγκριση με τις διαμεμβρανικές έλικες σε άλλες ενσωματωμένες πρωτεΐνες γνωστών δομών.

Η εξειδίκευση των διαύλων Cl^- προκύπτει από ένα ηλεκτροστατικό πεδίο που καθιερώνεται από κοινά αμινοξέα στην επιφάνεια των πρωτεϊνών, το οποίο βοηθά τα ανιόντα να διοχετευθούν προς τον πόρο, και από ένα φίλτρο επιλογής που σχηματίζεται από τα N-τελικά άκρα διάφορων α-ελίκων. Επειδή οι πολικές ομάδες μιας α-έλικας είναι ευθυγραμμισμένες (Εικόνα 6-7), σχηματίζει ένα ισχυρό δίπολο με τα N-τελικά άκρα του να είναι θετικά φορτισμένα. Το χαρακτηριστικό αυτό του φίλτρου επιλογής βοηθά στην προσέλκυση ιόντων Cl^- , τα οποία είναι ειδικά συντονισμένα από το άζωτο αμιδίων της κύριας αλυσίδας και από υδροξύλια της πλευρικής αλυσίδας των καταλοίπων Ser και Tyr. Το θετικά φορτισμένο κατάλοιπο, όπως η Lys ή Arg, εάν ήταν παρόν στο φίλτρο επιλογής, πιθανότατα θα δέσμευε ένα ιόν Cl^- πολύ σφιχτά για να διευκολύνει την ταχεία διέλευσή του μέσω του διαύλου.



ΕΙΚΟΝΑ 10–10 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων Χ της δομής του διαύλου CIC Cl^- που προέρχεται από το βακτήριο *Salmonella typhimurium*. Κάθε υπομονάδα του ομοδιμερούς περιέχει 18 α έλικες μεταβλητών μηκών. Οι υπομονάδες είναι σχεδιασμένες με μορφή κορδέλας, με τη μια να είναι χρωματισμένη με τη σειρά των χρωμάτων του ουράνιου τόξου από το Ν–τελικό της (μπλε χρώμα) μέχρι το C–τελικό της (κόκκινο χρώμα) και η άλλη να είναι ροζ. Τα δύο ιόντα Cl^- που είναι προσδεμένα στο φίλτρο επιλογής της κάθε υπομονάδας αντιπροσωπεύονται από ανοιχτόχρωμες πράσινες σφαίρες. (α) Προβολή από το εσωτερικό της μεμβράνης με την εξωκυττάρια επιφάνεια από πάνω και ο διπλάσιος άξονας που συσχετίζει τις δύο υπομονάδες κατακόρυφος. (β) Προβολή από την εξωκυττάρια πλευρά της μεμβράνης κατά μήκος του μοριακού διπλάσιου άξονα. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με τη χρήση ακτίνων Χ από τους Raimund Dutzler και Roderick MacKinnon, Rockefeller University, PDBid 1OTS.]

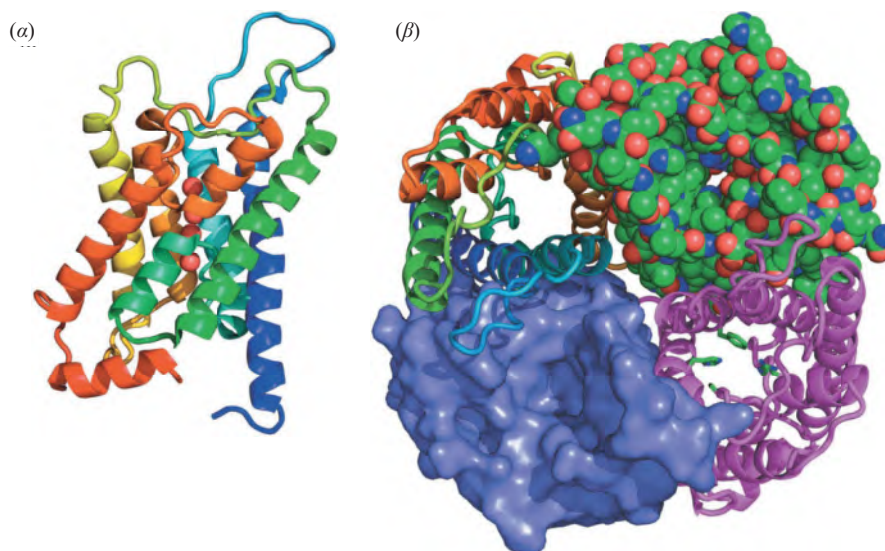
Σε αντίθεση με τον διάυλο K^+ , ο οποίος διαθέτει μια κεντρική υδατική κοιλότητα (Εικόνα 10–4β), ο διάυλος Cl^- έχει μορφή κλεψύδρας, με το στενότερο τμήμα του να είναι στο κέντρο της μεμβράνης και να πλαισιώνεται από ευρείς υδατικούς «προθαλάμους». Η διατηρημένη πλευρική αλυσίδα Glu προβάλλεται εντός του πόρου. Αυτή η ομάδα θα απωθούσε άλλα ανιόντα, υποδηλώνοντας ότι η ταχεία ροή του Cl^- απαιτεί μία αλλαγή στερεοδιαμόρφωσης της πρωτεΐνης στην οποία η πλευρική αλυσίδα Glu παραμερίζει. Ένα άλλο ανιόν θα μπορούσε να ωθήσει μακριά την Clu, γεγονός το οποίο εξηγεί γιατί ορισμένοι διάυλοι Cl^- φαίνεται να ενεργοποιούνται από τα ιόντα Cl^- , δηλαδή να ανοίγουν ως απόκριση σε μια συγκεκριμένη συγκέντρωση του Cl^- στο εξωκυττάριο υγρό.

Δ. Οι ακουαπορίνες μεσολαβούν στη διαμεμβρανική κίνηση του νερού

Η παρατηρούμενη ταχεία διέλευση των μορίων του νερού διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών θεωρούνταν για πολύ καιρό ότι συνέβαινε μέσω της απλής διάχυσης, η οποία ήταν δυνατή λόγω του μικρού μεγέθους των μορίων του νερού και των υψηλών συγκεντρώσεών τους στα βιολογικά συστήματα. Ωστόσο, ορισμένα κύτταρα, όπως αυτά των νεφρών, μπορούν να υποστηρίξουν ιδιαίτερα ταχείς ρυθμούς μεταφοράς νερού, οι οποίοι μπορούν να ανασταλούν αναστρέψιμα από ιόντα υδραργύρου. Αυτό υποδήλωνε την ύπαρξη των πρωτύτερα μη αναγνωρίσιμων πρωτεϊνικών πόρων που μεταφέρουν το νερό διαμέσου βιολογικών μεμβρανών. Η πρώτη από αυτές τις ασαφείς πρωτεΐνες ανακαλύφθηκε το 1992 από τον Peter Agre, ο οποίος την ονόμασε **ακουαπορίνη (aquaporin)**.

Οι ακουαπορίνες είναι ευρέως κατανεμημένες στη φύση. Τα φυτά μπορεί να έχουν περίπου 50 διαφορετικές ακουαπορίνες. Οι 13 γνωστές ακουαπορίνες των θηλαστικών εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στους ιστούς που μεταφέρουν ταχύτατα νερό, συμπεριλαμβανομένων των νεφρών, των σιελογόνων αδένων, των ιδρωτοποιών αδένων και των δακρυϊκών αδένων (οι οποίοι παράγουν τα δάκρυα). Στην πραγματικότητα, ο νεφρός περιέχει επτά διαφορετικές ακουαπορίνες, καθεμία από τις οποίες έχει μια ειδική τοποθεσία, λειτουργία και ρυθμιστικές ικανότητες. Οι ακουαπορίνες επιτρέπουν τη διέλευση μορίων του νερού με έναν εξαιρετικά υψηλό ρυθμό ($\sim 3 \times 10^9$ ανά λεπτό), αλλά δεν επιτρέπουν τη διέλευση των ιόντων, συμπεριλαμβανομένων, παραδόξως, των πρωτονίων (πραγματικά ιόντα υδροξωνίου, H_3O^+), των οποίων η ελεύθερη διέλευση θα αποφόρτιζε το μεμβρανικό δυναμικό του κυττάρου. Αρκετές ακουαπορίνες επιτρέπουν επίσης τη διέλευση μικρών ουδέτερων διαλυμένων ουσιών, όπως της ουρίας και της γλυκερόλης.

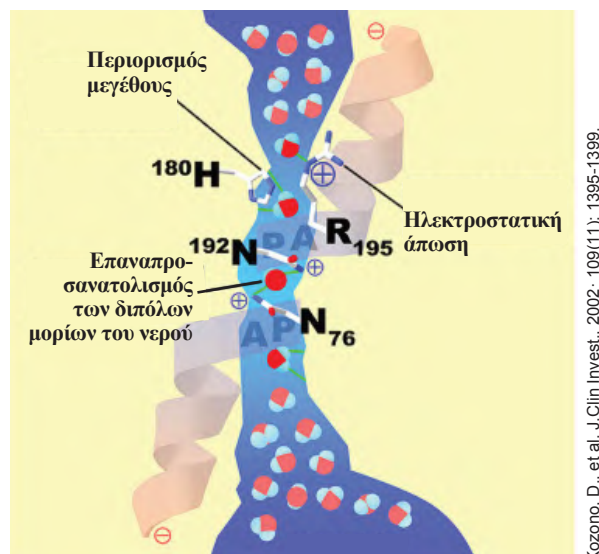
Η πρωτεΐνη **AQP1**, ένα από τα πιο εκτενώς χαρακτηρισμένα μέλη της οικογένειας των ακουαπορινών, είναι μια ομοτετραμερής γλυκοπρωτεΐνη. Οι δομές που προέκυψαν με χρήση ακτίνων Χ και ηλεκτρονική κρυσταλλογραφία αποκαλύπτουν ότι καθεμία από τις υπομονάδες της αποτελείται κυρίως από έξι διαμεμβρανικές α–έλικες συν δύο μικρότερες έλικες που βρίσκονται εντός της λιπιδικής στιβάδας (Εικόνα 10–11). Αυτές οι έλικες είναι διατεταγμένες έτσι ώστε να σχηματίζουν έναν επιμηκυμένο κεντρικό πόρο με μορφή κλεψύδρας, ο οποίος στο στενότερο σημείο του, τη λεγόμενη περιοχή σύσπασης, έχει εύρος $\sim 2,8 \text{ \AA}$, που αποτελεί τη διάμετρο van der Waals των μορίων του νερού (Εικόνα 10–12). Το μεγαλύτερο μέρος του πόρου είναι ευθυγραμμισμένο με υδρόφοβες ομάδες, των οποίων η έλλειψη ισχυρών αλληλεπιδράσεων με τα μόρια του νερού επισπεύδει τη διέλευσή τους διαμέσου του πόρου. Ωστόσο, για να διέλθει ένα μόριο νερού από την περιοχή σύσπασης, πρέπει να διαχωριστεί από άλλα μόρια νερού με τα οποία είναι συνδεδεμένο με δεσμούς υδρογόνου. Αυτό διευκολύνεται από τις πλευρικές αλυσίδες των εξαιρετικά συντηρημένων καταλοίπων Arg και His, καθώς επίσης από τις καρβονυλικές ομάδες της ραχοκοκαλιάς οι οποίες σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με ένα διερχόμενο μόριο νερού και, ως εκ τούτου, εκτοπίζουν ταχύτατα τα συνδεδεμένα μόρια νερού του, λίγο πολύ όπως συμβαίνει με τα ιόντα K^+ στο φίλτρο επιλογής του διαύλου KcsA (Ενότητα 10–2Γ).



ΕΙΚΟΝΑ 10–11 Απεικόνιση με τη βοήθεια ακτίνων X της δομής της ακουαπορίνης AQP1 που προέρχεται από βόεια ερυθροκύτταρα.

(α) Διάγραμμα κορδέλας μιας υπομονάδας ακουαπορίνης που είναι χρωματισμένη με τη σειρά των χρωμάτων του ουράνιου τόξου από το N–τελικό άκρο (μπλε χρώμα) έως το C–τελικό άκρο (κόκκινο χρώμα). Η προβολή γίνεται από το εσωτερικό της μεμβράνης με την εξωκυττάρια επιφάνεια από πάνω. Τα τέσσερα μόρια νερού που καταλαμβάνουν το κεντρικό τμήμα του διαύλου μεταφοράς νερού συμβολίζεται με κόκκινες σφαίρες. (β) Προβολή του τετραμερούς της ακουαπορίνης από την εξωκυττάρια επιφάνεια. Η υπομονάδα που βρίσκεται στο πάνω μέρος δεξιά απεικονίζεται με χωροπληρωτική μορφή με το άτομο C να έχει πράσινο χρώμα, το N μπλε και το O κόκκινο. Η υπομονάδα στο άνω μέρος αριστερά είναι σχεδιασμένη με μορφή κορδέλας και χρωματισμένη με τη σειρά των χρωμάτων του ουράνιου τόξου από το N–τελικό (μπλε χρώμα) έως το C–τελικό (κόκκινο χρώμα). Η υπομονάδα στο κάτω μέρος αριστερά αντιπροσωπεύεται από την προσβάσιμη σε διαλύτη επιφάνειά του, ενώ η υπομονάδα στο κάτω μέρος δεξιά παρουσιάζει τις πλευρικές αλυσίδες (πράσινο χρώμα) στη θέση σύσπασης. Κάθε υπομονάδα σχηματίζει έναν διάυλο μεταφοράς νερού, ο οποίος είναι σαφώς ορατός στην υπομονάδα που είναι σχεδιασμένη με χωροπληρωτική μορφή. [Με βάση τη δομή που προέκυψε με χρήση ακτίνων X από τον Bing Jap, University of California at Berkeley. PDBid 1J4N.]

Εάν τα μόρια του νερού ήταν να διέλθουν από την ακουαπορίνη ως μια αδιάκοπη αλυσίδα μορίων συνδεδεμένα με δεσμούς υδρογόνου, τότε τα πρωτόνια θα διέρχονταν ακόμη πιο γρήγορα από τον διάυλο μέσω της διαπίδυσης πρωτονίων (Εικόνα 2–15). Προκειμένου να συμβούν περισσότερες από μία τέτοιες διαπιδύσεις πρωτονίων, κάθε μόριο νερού στην αλυσίδα πρέπει να αναπροσανατολιστεί, έτσι ώστε ένα από τα πρωτόνια του να σχηματίζει έναν δεσμό υδρογόνου με το επόμενο μόριο νερού στην αλυσίδα. Ωστόσο, η ακουαπορίνη διακόπτει αυτή τη διαδικασία σχηματίζοντας δεσμούς υδρογόνου από τις ομάδες NH_2 της πλευρικής αλυσίδας των δύο εξαιρετικά συντηρημένων καταλοίπων Asn σε ένα μόριο νερού που είναι κεντρικά τοποθετημένο στον πόρο (Εικόνα 10–12). Συνεπώς, παρόλο που αυτό το κεντρικό μόριο νερού μπορεί ταχύτατα να προσφέρει δεσμούς υδρογόνου στα γειτονικά μόρια νερού του στην αλυσίδα των δεσμών υδρογόνου, δεν μπορεί να δεχθεί ένα από αυτά ούτε να επαναπροσανατολιστεί, κόβοντας κατά συνέπεια το «νήμα αγωγιμότητας των πρωτονίων».



ΕΙΚΟΝΑ 10–12 Σχηματικό διάγραμμα του πόρου που μεταφέρει νερό στην ακουαπορίνη AQP1. Ο πόρος προβάλλεται από το εσωτερικό της μεμβράνης με την εξωκυττάρια επιφάνεια από πάνω. Υποδεικνύονται οι θέσεις των καταλοίπων που είναι κρίσιμες για την παρεμπόδιση της διέλευσης των πρωτονίων, άλλων ιόντων και των μικρών μορίων των διαλυόμενων ουσιών.

Kozono, D., et al. J.Clin Invest., 2002; 109(11): 1395–1399.

Ε. Οι πρωτεΐνες μεταφοράς εναλλάσσονται μεταξύ δύο στερεοδιαμορφώσεων

Μέχρι αυτό το σημείο, έχουμε εξετάσει τις δομές και τις λειτουργίες των μεμβρανικών πρωτεϊνών που σχηματίζουν μια φυσική οδό διέλευσης για τα μικρά μόρια, τα ιόντα ή το νερό. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες που είναι γνωστές ως **συνδετίνες (connexins)** σχηματίζουν επίσης διαύλους, υπό τη μορφή **χασμοσυνδέσμων (gap junctions)** μεταξύ των κυττάρων (βλ. Πλαίσιο 10–1). Ωστόσο, δεν προσφέρουν όλες οι μεμβρανικές πρωτεΐνες μεταφοράς έναν διακριτό πόρο που να εκτείνεται στη διπλοστιβάδα. Αντιθέτως, ορισμένες πρωτεΐνες υφίστανται αλλαγές στερεοδιαμόρφωσης για να μετακινήσουν ουσίες από τη μια πλευρά της μεμβράνης στην άλλη. Ο **μεταφορέας γλυκόζης των ερυθροκυττάρων (erythrocyte glucose transport)** —γνωστός ως **GLUT1**— αποτελεί μια τέτοια πρωτεΐνη.