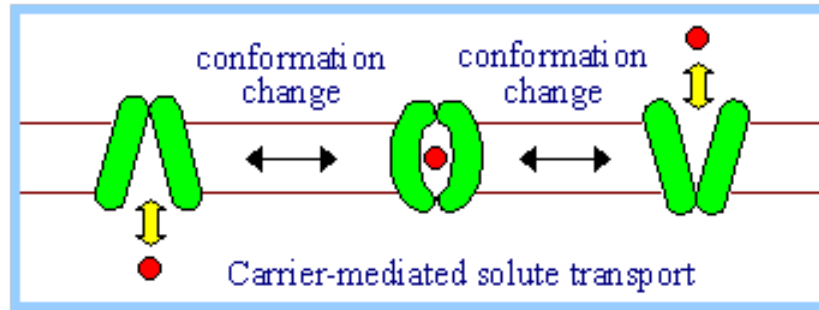
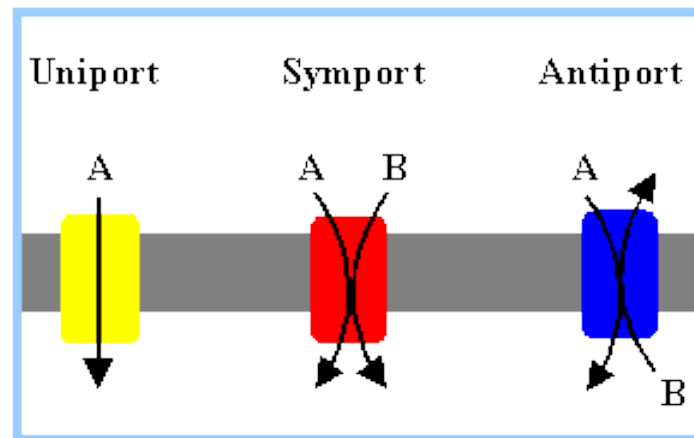


Proteínas de transporte (carriers)



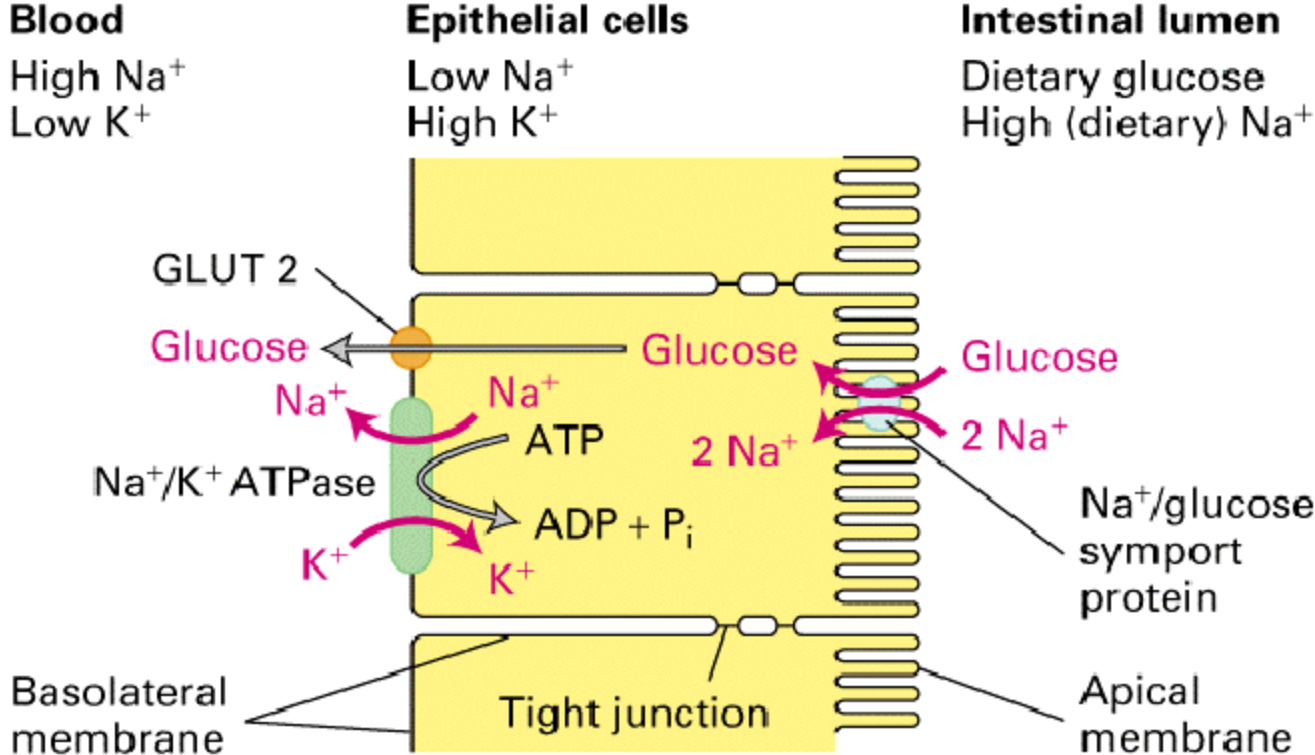
Las proteínas de transporte cambian de conformación permitiendo que el sitio de ligadura esté accesible, en algunos instantes, del lado interno de la célula y en otros del lado externo. Con estas proteínas no hay nunca un “canal abierto” a través de la membrana.

La tasa de transporte es menor que a través de canales.

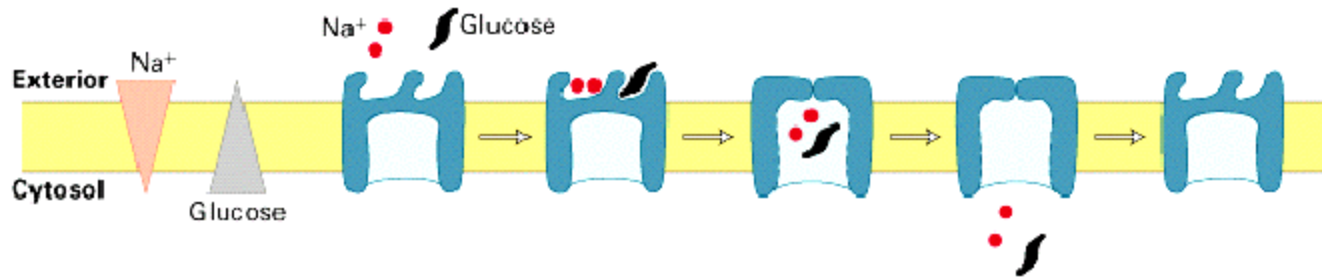


Ejemplo de co-transporte(symport): Na^+ y glucosa (carrier GLUT1)

Transport of glucose from the intestinal lumen into the blood



**The Na⁺ glucose symport protein:
Coupled downhill movement of Na⁺ and uphill
movement of glucose**



Usa el gradiente favorable de Na⁺ para transportar la glucosa desde el lumen del intestino a las células epiteliales (puede hacerlo en contra del gradiente de glucosa).

Posteriormente la glucosa pasa a la sangre, a favor de su gradiente, usando otro “carrier”.

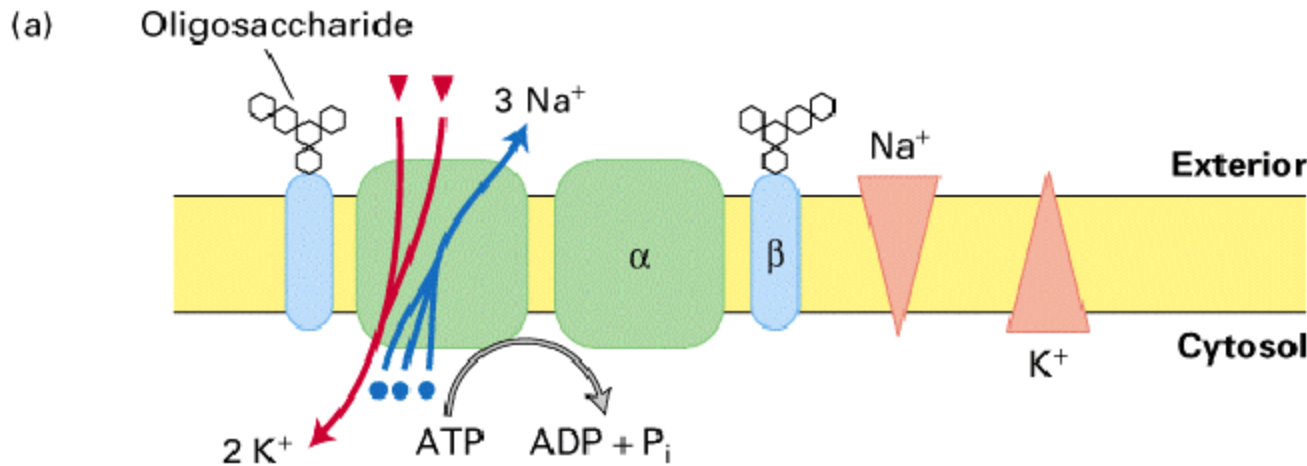
La distribución espacialmente inhomogénea de las proteínas de acarreo contribuye al transporte desde el lumen hacia la sangre.

Pero la existencia del gradiente favorable de Na^+ depende de una bomba que usa energía proveniente de la hidrólisis del ATP:

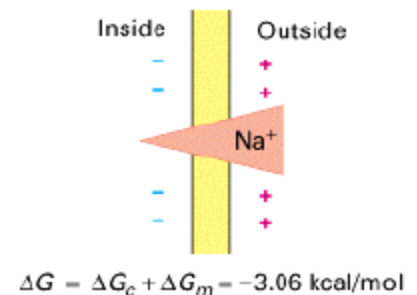
ATP- powered Na^+/K^+ Pump

Generates Na^+ and K^+ gradients:

$$\text{Na}^+_{\text{outside}} > \text{Na}^+_{\text{inside}}$$
$$\text{K}^+_{\text{inside}} > \text{K}^+_{\text{outside}}$$



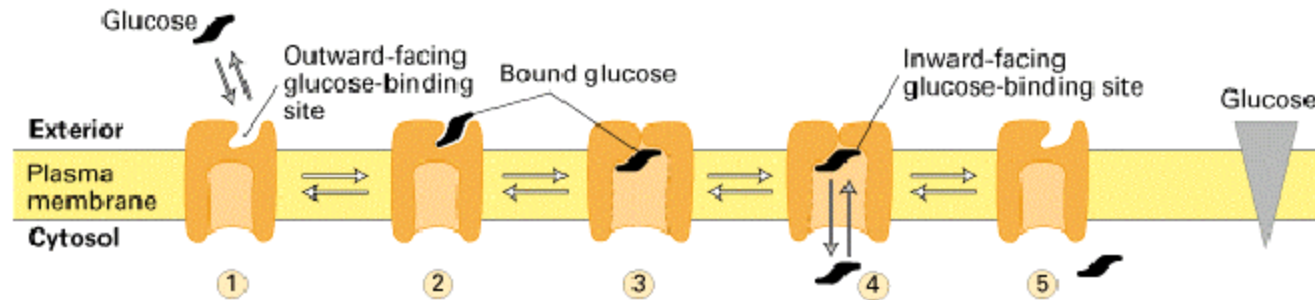
Free-energy change during transport of Na^+ from outside to inside



La bomba de Na^+/K^+

Por otro lado, para que luego la glucosa pase de la sangre al interior de otras células, la glucosa es transportada por una proteína tipo uniport:

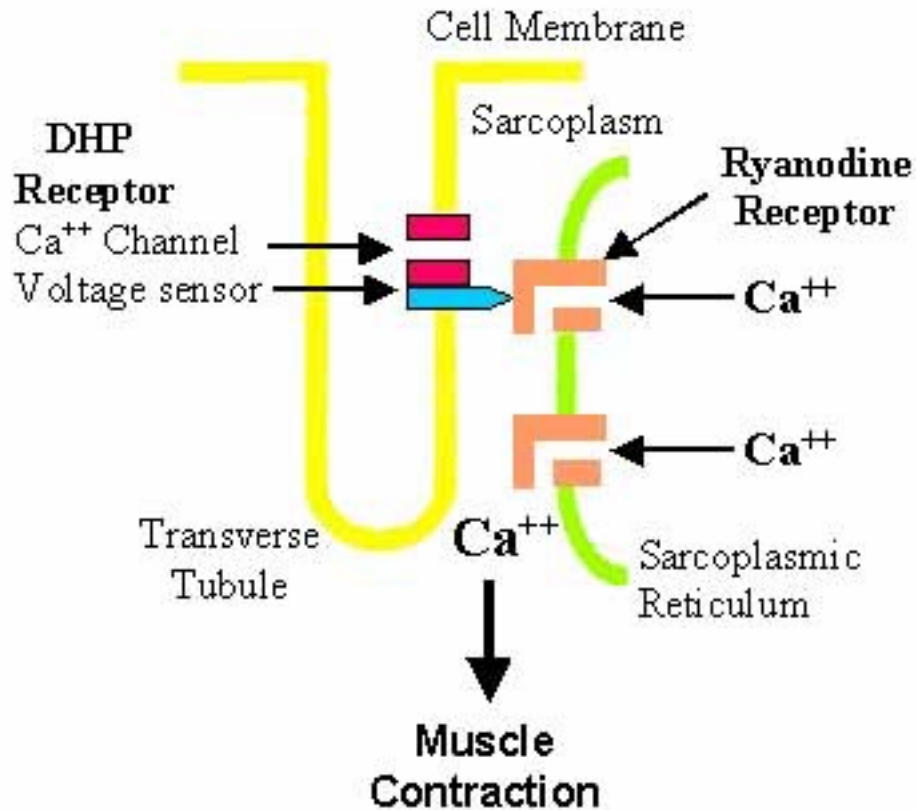
**Glucose transport (uniport) protein:
Catalyzed “downhill” movement of glucose
into or out of a cell.**



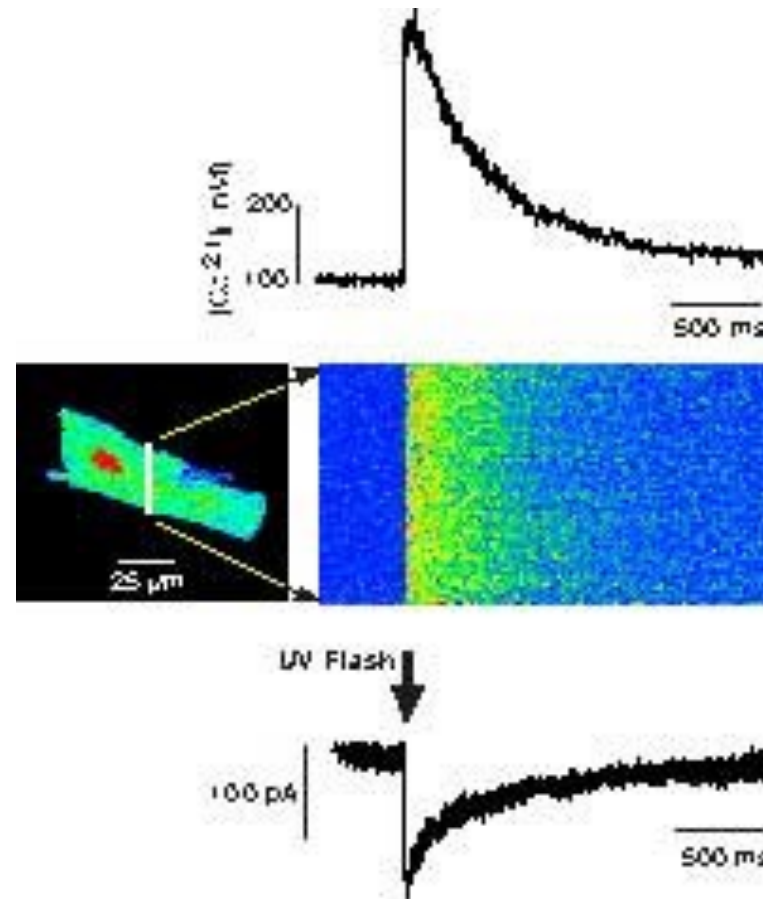
En este caso el transporte es a favor del gradiente de glucosa.

Ejemplo de contra-transporte (antiport)

Intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$: ubicado en la membrana de casi todas las células de mamífero. Transporta Ca^{2+} en contra de su gradiente (lo saca de la célula) usando el gradiente favorable del Na^+ (entra sodio a la célula). Es esencial en miocitos cardíacos para mantener la concentración adecuada de Ca^{2+} y para la relajación del músculo luego de cada contracción.

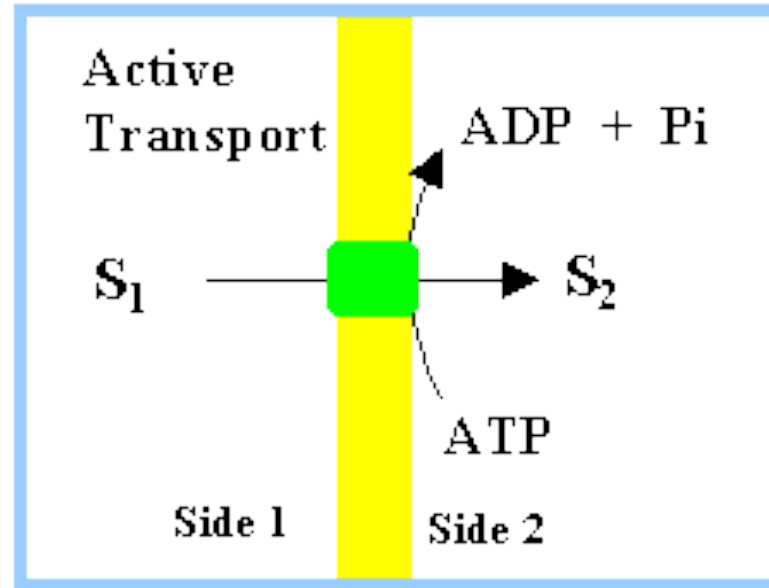


Es un intercambiador electrogénico: se puede medir la corriente eléctrica para cuantificar el transporte.

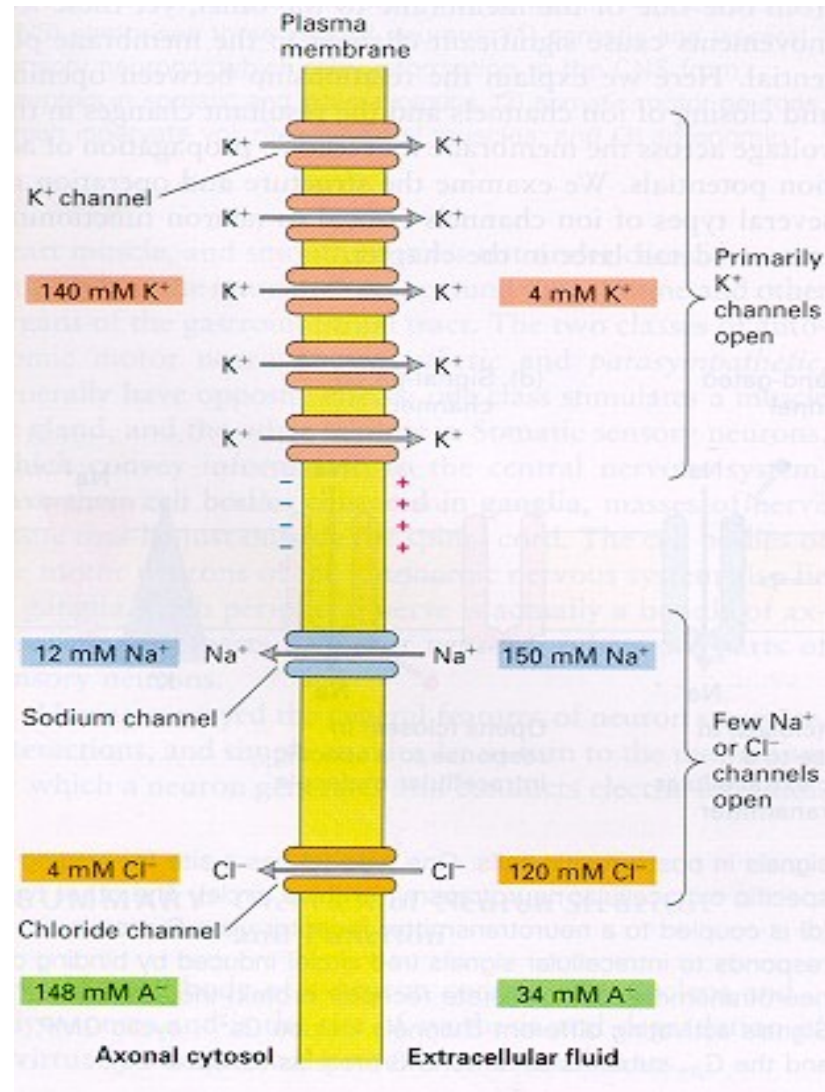


This figure shows an experiment performed on an isolated guinea pig ventricular myocyte (left panel). The cell was loaded with fluo-3 (to measure Ca^{2+}) and DM-nitrophen (to photorelease Ca^{2+}). During a confocal line-scan a UV-flash was triggered (arrow) to elicit a Ca^{2+} transient (upper panel) and to activate Na^+/Ca^{2+} current (lower panel) (Ernst Niggli's Group)

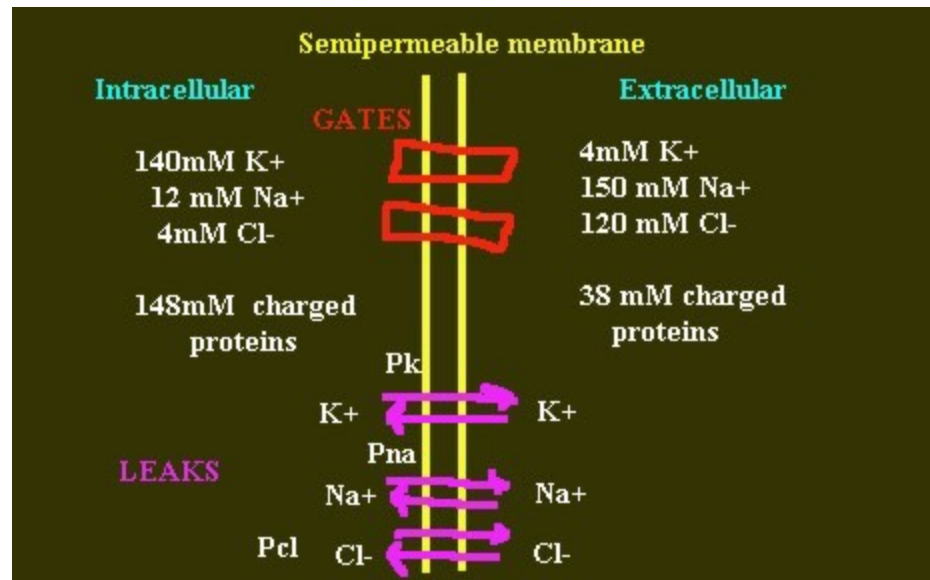
Además de este transporte a favor del gradiente de alguna sustancia, hay transporte activo que usa energía para “remontar” un gradiente desfavorable.



Las bombas de este tipo pueden ser “uniport” o “antiport”.
Ejemplo del segundo tipo: bomba de Na^+/K^+ .



Concentraciones a un lado y otro de la membrana plasmática en el axón gigante de calamar.



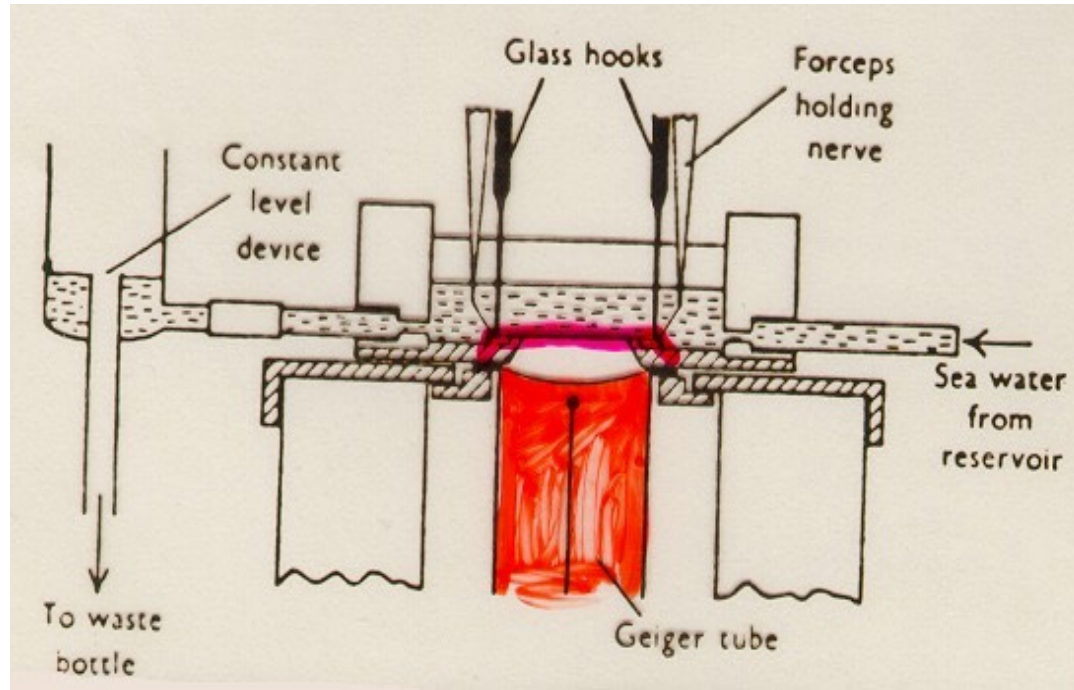
En el músculo de la rana, el potencial en reposo está entre -90 y -100mV , y en el axón gigante de calamar, alrededor de -60mV .

El potencial de equilibrio para las concentraciones intra y extracelulares de K⁺, Na⁺ y Cl⁻ son (en mV): -101 , 59 y -99 .

¿Por qué puede mantenerse esta diferencia entre las concentraciones de Na⁺?

Una respuesta posible: la membrana es impermeable al Na⁺. Sin embargo, experimentos con Na⁺ radioactivo muestran que hay un flujo de Na⁺ aún en el estado “en reposo” ($35\text{pmol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Hay algo que extrae el Na^+ .



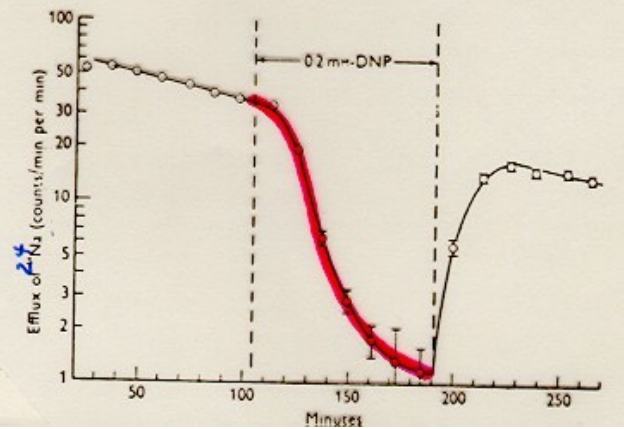
Aparato para medir el flujo hacia fuera de Na^+ radioactivo (Hodgkin & Keynes, 1955)

Ventaja: no se mide el flujo hacia los costados, y sólo se mide el que proviene de una región de largo conocido.

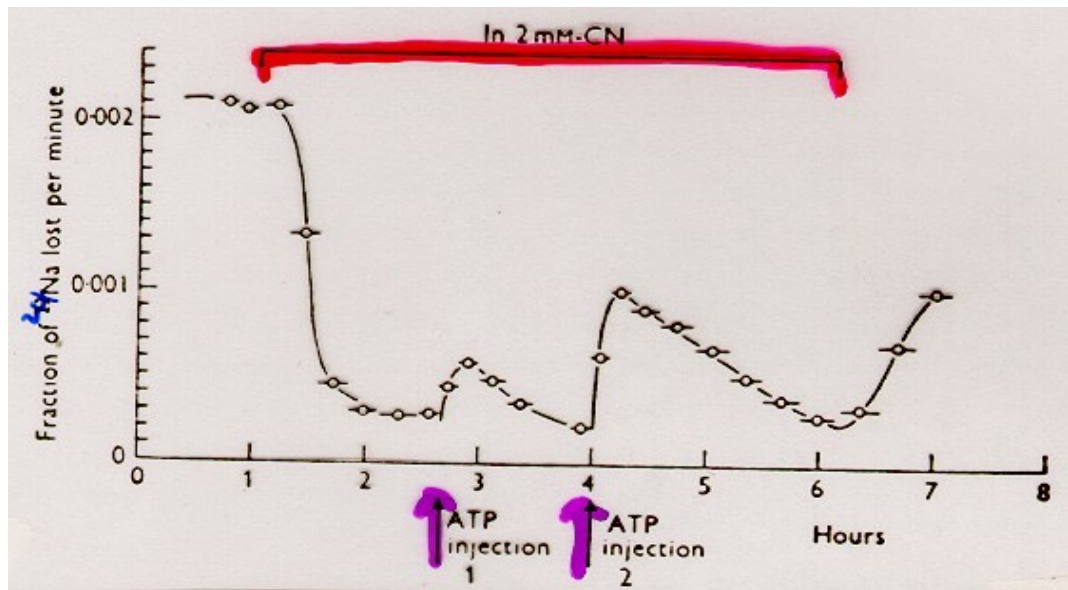
Encontraron que el flujo decaía exponencialmente.

Mostraron que el flujo desaparecía cuando se agregaba un inhibidor de la actividad metabólica al agua. Hace falta ATP para sacar al Na^+ .

EFFLUX OF Na^+ (CPM)



Hodgkin & Keynes, axón gigante de Sepia.



Caldwell et al, 1960. Axón gigante del calamar. Usan cianuro y después agregan ATP.

Post & Jolly: experimentos en glóbulos rojos.

Detuvieron la actividad de las bombas bajando la temperatura a 2° durante dos días. De ese modo, pudo entrar Na⁺ y salir K⁺ de la célula. Después la subieron a 37° y luego de unas horas midieron la variación en la concentración de Na⁺ y K⁺. Los resultados mostraron que habían sido extraídos 3 Na⁺ por cada 2 K⁺ que habían entrado.

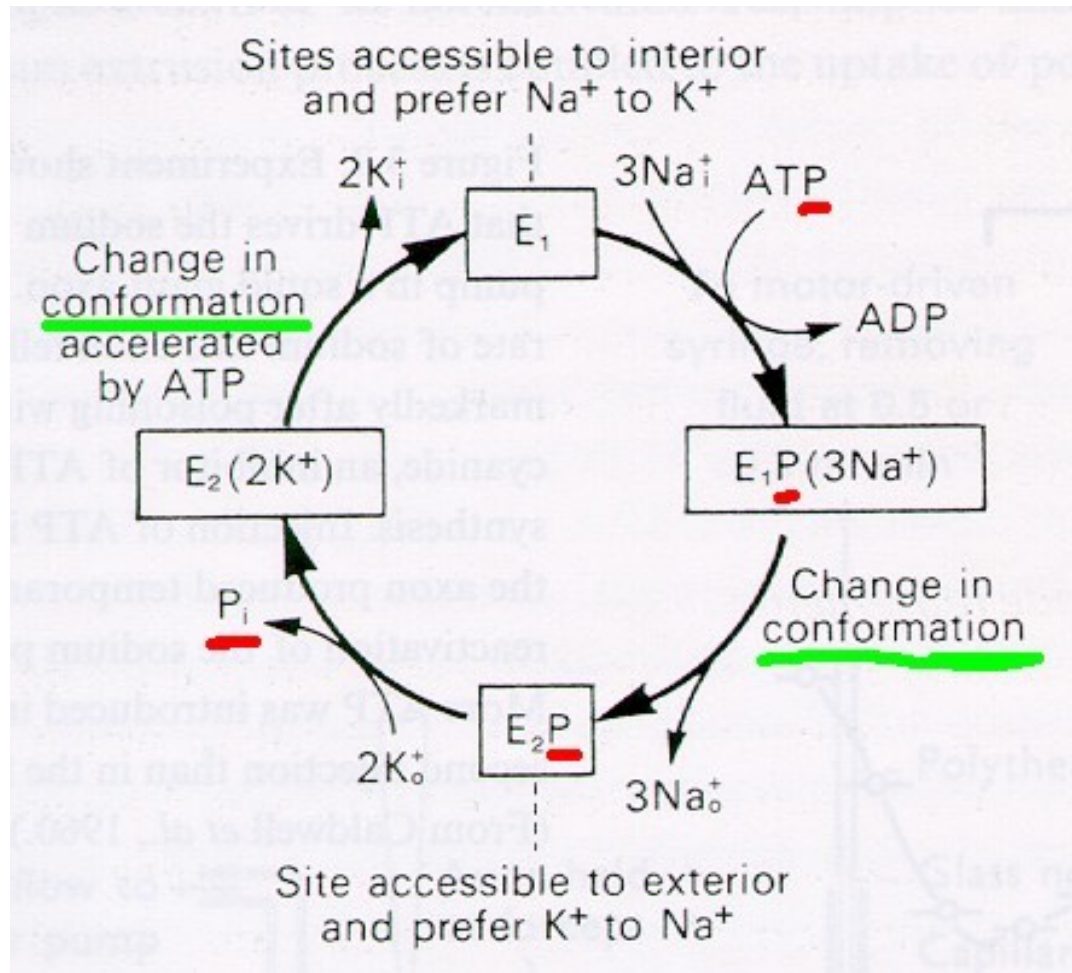
Garrahan & Glynn (67): se consume 1 ATP en cada paso.

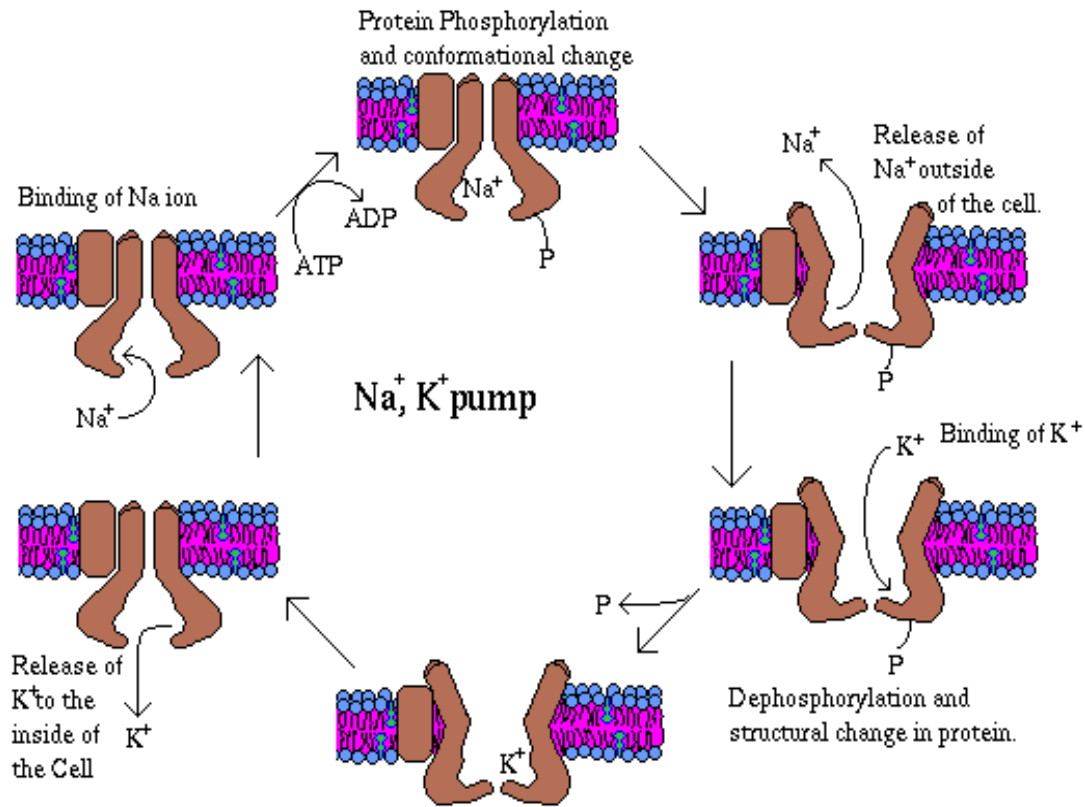
Skou (57): aísla una ATPasa que es estimulada por Na⁺ y K⁺.

Otros experimentos: ATP con fósforo radioactivo. Se ve que Na⁺ cataliza la fosforilación por ATP de la bomba y K⁺ su desfosforilación.

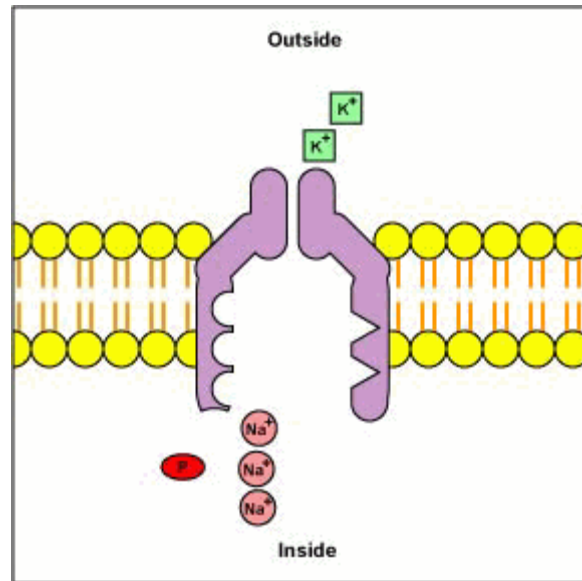
Parecería que la ATPasa cambia entre dos conformaciones, una (E₁) que “corta” el ATP y se fosforila en una reacción catalizada por Na⁺, y otra (E₂) que pierde su fosfato en presencia de K.

Modelo de Albers-Post





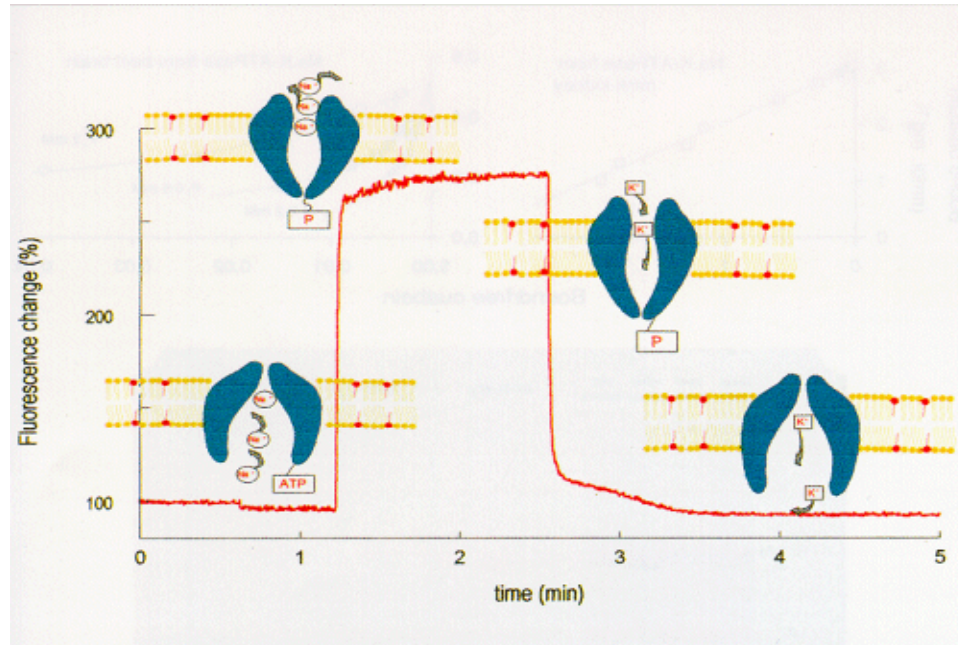
- The Top is the Outer membrane.
- The Bottom is the inner membrane (inside of the Cell)



Animacion:

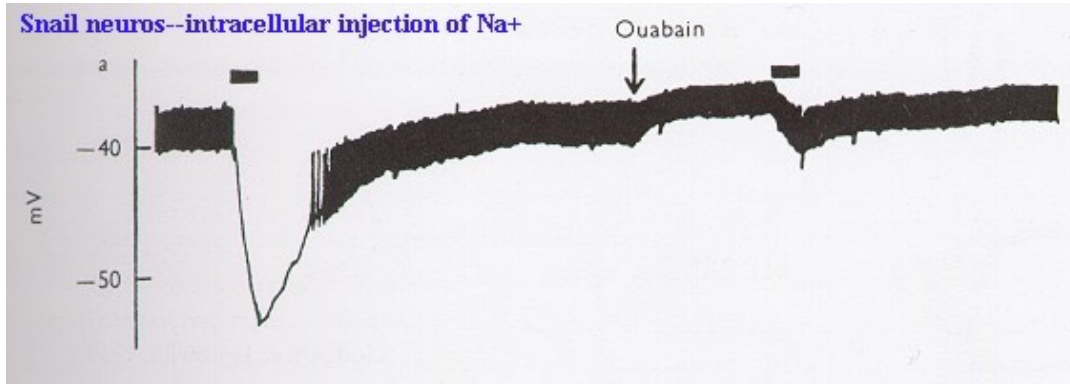
<http://www.cat.cc.md.us/courses/bio141/lecguide/unit1/eustruct/sppump.html>

Siguiendo los cambios conformacionales usando sustancias fluorescentes sensibles a voltaje.

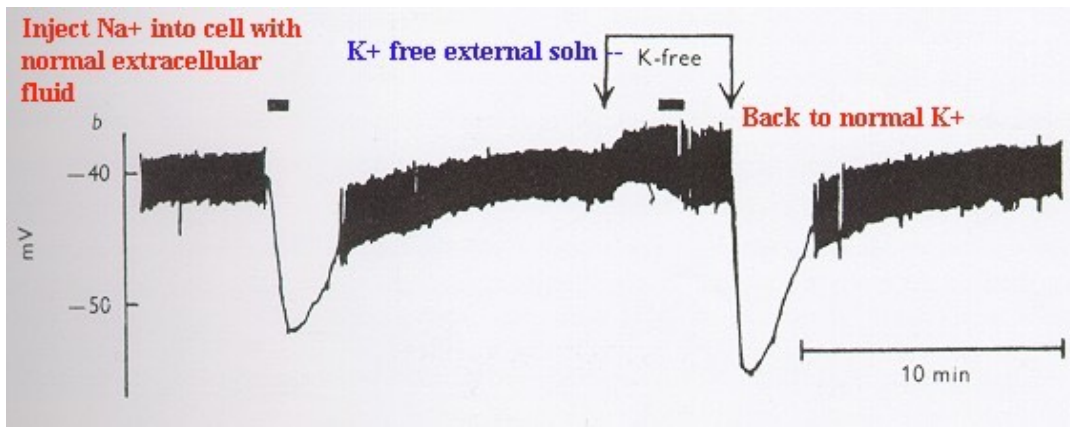


Klodos, I. (1994) Partial reactions in Na⁺/K⁺- and H⁺/K⁺-ATPase studied with voltage-sensitive fluorescent dyes. *In* The sodium pump: structure mechanism, hormonal control and its role in disease. (Bamberg, E. and Schoner, W., eds.) Darmstadt: Steinkopff; New York: Springer, pp. 517-528.

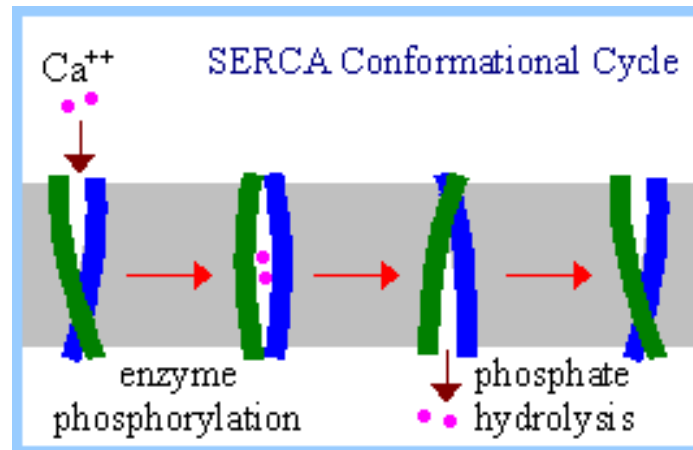
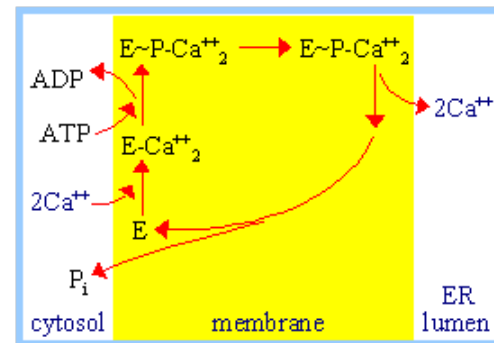
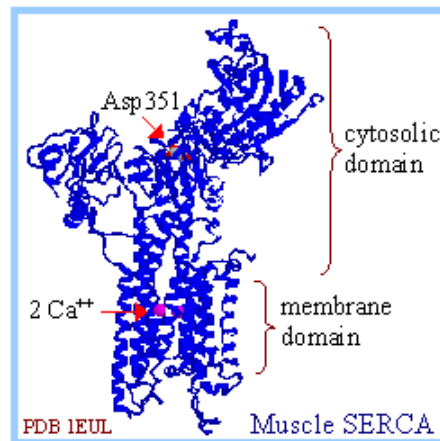
Como esta bomba transporta 3 Na⁺ por cada 2 K⁺, hay una corriente neta mientras ella trabaja (si no hay nada que la compense). Por eso se la llama electrogénica. Esta propiedad fue confirmada en una serie de experimentos en neuronas de caracoles.



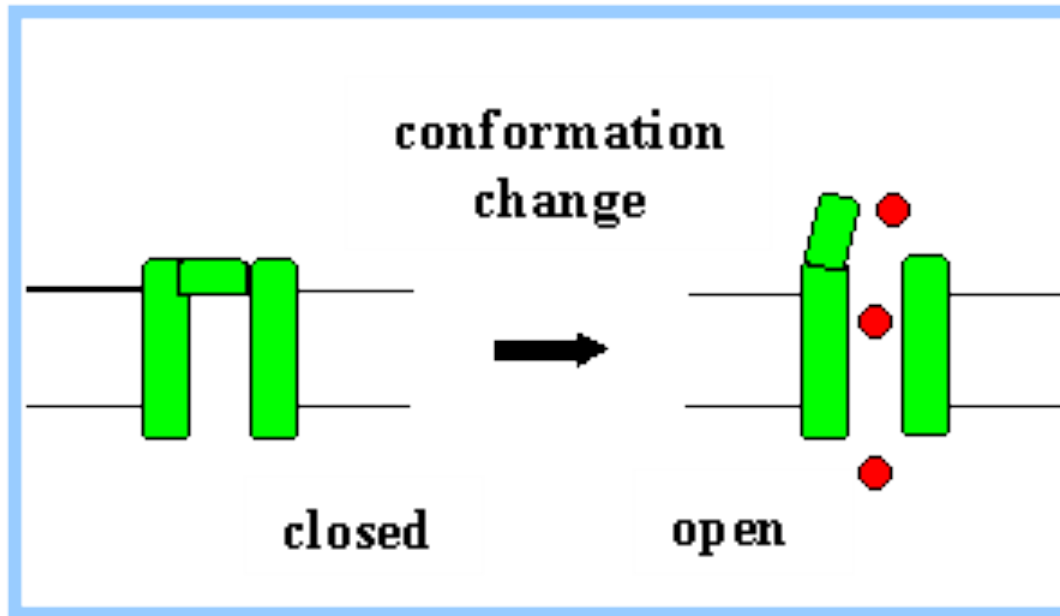
Se inyecta Na⁺ dentro de la célula donde aparecen los “guiones”. Se mide el potencial de membrana. La hiperpolarización no se observa si se agrega un inhibidor de la bomba o si se quita el K⁺.



Otra bomba "famosa": la que transporta **Ca⁺⁺** desde el citosol hacia el interior del retículo endoplasmático o sarcoplasmático (importante en músculo). Se la llama **SERCA** (**S**arco(**E**ndo)plasmic **R**eticulum **Ca⁺⁺-ATPase**).



En el caso de iones, además de “carriers”, el transporte puede ocurrir a través de canales



Cuando los canales están abiertos hay un poro que atraviesa la membrana de un lado a otro.