ΕΠΙΔΡΑΣΗ 25 ...ΣΤΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ: Δίαυλοι ιόντων

Η ελεγχόμενη μεταφορά μορίων και ιόντων διά μέσου βιολογικών μεμβρανών βρίσκεται στην καρδιά πλήθους σημαντικών κυτταρικών διεργασιών, όπως η μετάδοση των νευρικών ώσεων, η μεταφορά της γλυκόζης στα ερυθρά αιμοσφαίρια, και η σύνθεση του ATP μέσω οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Εδώ εξετάζουμε μερικούς από τους τρόπους με τους οποίους τα ιόντα διαπερνούν το περιβάλλον της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Η θερμοδυναμική τάση του να μεταφερθεί ένα ιόν διά μέσου της μεμβράνης καθορίζεται εν μέρει από μια βαθμίδα συγκέντρωσης (ακριβέστερα, μια βαθμίδα ενεργότητας) εκατέρωθεν της μεμβράνης, η οποία οδηγεί σε μια διαφορά στη γραμμομοριακή ενέργεια Gibbs μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού του κυττάρου, και σε μια διαμεμβρανική βαθμίδα δυναμικού, η οποία οφείλεται στη διαφορετική δυναμική ενέργεια των ιόντων στις δύο πλευρές της διπλοστιβάδας. Η τάση ενός είδους να κινείται αυθόρμητα προς την κατεύθυνση μειούμενης συγκέντρωσης και μειούμενου δυναμικού, ονομάζεται **παθητική μεταφορά**. Είναι επίσης δυνατόν ένα είδος να μετακινηθεί αντίθετα, αλλά τώρα η ροή δεν είναι αυθόρμητη και πρέπει να οδηγηθεί από κάποια εξώεργη διεργασία, όπως η υδρόλυση του ATP. Η διεργασία αυτή ονομάζεται **ενεργητική μεταφορά**.

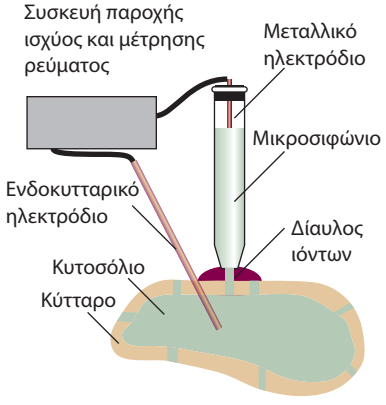
Η μεταφορά ιόντων προς ή από το εσωτερικό του κυττάρου χρειάζεται κάποιον ενδιάμεσο (δηλαδή πρέπει να διευκολυνθεί από άλλα είδη) διότι το υδρόφοβο περιβάλλον της μεμβράνης δεν είναι φιλόξενο για τα ιόντα. Υπάρχουν δύο μηχανισμοί για μεταφορά ιόντων: η διαμεσολάβηση ενός μορίου μεταφορέα και η μεταφορά μέσω ενός «δημιουργού διαύλου», μιας πρωτεΐνης που δημιουργεί έναν υδρόφιλο πόρο διά μέσου του οποίου το ιόν μπορεί να περάσει. Ένα παράδειγμα δημιουργού διαύλου είναι το πολυπεπτίδιο γραμισιδίνη A, το οποίο αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης σε κατιόντα όπως τα H^+, K^+ και Na^+.

Οι **δίαυλοι ιόντων** είναι πρωτεΐνες που επηρεάζουν την κίνηση συγκεκριμένων ιόντων προς την κατεύθυνση μείωσης του δυναμικού σε μια μεμβρανική βαθμίδα δυναμικού. Είναι πολύ επιλεκτικά, έτσι υπάρχει μια πρωτεΐνη-δίαυλος για το Ca^{2+}, μια άλλη για το Cl^-, κ.ο.κ. Το άνοιγμα του διαύλου μπορεί να πυροδοτηθεί από διαφορές δυναμικού μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης ή από την πρόσδεση ενός «μορίου ενεργοποιητή» σε μια συγκεκριμένη θέση υποδοχέα στο δίαυλο.

Ιόντα όπως τα H^+, Na^+, K^+ και Ca^{2+} συχνά μεταφέρονται ενεργά διά μέσου των μεμβρανών από πρωτεΐνες που ονομάζονται **αντλίες ιόντων**. Οι αντλίες ιόντων είναι μοριακές μηχανές που λειτουργούν υιοθετώντας διαμορφώσεις διαπερατές από ένα ιόν αλλά όχι από άλλα, ανάλογα με την κατάσταση φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης. Επειδή η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης απαιτεί διφωσφορυλίωση του ATP, η μετατροπή διαμόρφωσης που ανοίγει η κλείνει την αντλία είναι ενδόεργη και απαιτεί τη χρήση τής αποθηκευμένης κατά τον μεταβολισμό ενέργειας.

Η δομή ενός αριθμού πρωτεΐνών-διαύλων έχει βρεθεί με τις συνήθεις πλέον τεχνικές της περίθλασης ακτίνων X που περιγράφηκαν στην Ενότητα 19B. Πληροφορίες σχετικά με τη ροή ιόντων διά μέσου διαύλων και αντλιών παρέχονται από την **τεχνική καθήλωσης κηλίδων** (patch clamp technique). Μια από τις πολλές δυνατές πειραματικές διατάξεις φαίνεται στο Σχ. 1. Με μια ασθενή αναρρόφηση, ένα τμήμα μεμβράνης από ένα ολόκληρο κύτταρο ή από μια μικρή τομή ενός διασπασμένου κυττάρου μπορεί να προσκολληθεί σφιχτά στο άκρο ενός μικροσιφωνίου που έχει πληρωθεί με ένα ηλεκτρολυτικό διάλυμα και περιέχει ένα μεταλλικό ηλεκτρόδιο. Μια διαφορά δυναμικού εφαρμόζεται μεταξύ του ηλεκτροδίου και ενός ενδοκυτταρικού ηλεκτρονικού αγωγού που βρίσκεται σε επαφή με το κυτοσόλιο του κυττάρου. Αν η μεμβράνη είναι διαπερατή σε ιόντα στην εφαρμοζόμενη διαφορά δυναμικού, ρεύμα ρέει διά μέσου του κλειστού κυκλώματος. Χρησιμοποιώντας μικροσιφώνια με λεπτές ακίδες διαμέτρου λιγότερο από 1 μm, έχουν μετρηθεί ρεύματα ιόντων λίγων picoampere (1 pA = 10^{-12} A) διά μέσου τομών μεμβρανών που περιέχουν μόνο μία πρωτεΐνη-δίαυλο.

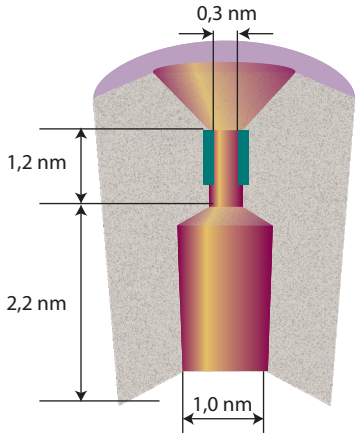
Μια λεπτομερής εικόνα του μηχανισμού δράσης των διαύλων ιόντων έχει προκύψει από την ανάλυση των δεδομέ-



Σχήμα 1 Μια αναπαράσταση της τεχνικής καθήλωσης κηλίδων για τη μέτρηση των ιοντικών ρευμάτων διά μέσου μεμβρανών σε άθικτα κύτταρα. Μια τομή της μεμβράνης που περιέχει έναν δίαυλο ιόντος είναι σε στενή επαφή με το άκρο ενός μικροσιφωνίου που περιέχει ηλεκτρολυτικό διάλυμα και το ηλεκτρόδιο. Ένας ενδοκυτταρικός ηλεκτρονικός αγωγός τοποθετείται στην κυτοσόλη του κυττάρου και οι δύο αγωγοί συνδέονται σε μια συσκευή παροχής ισχύος και μέτρησης του ρεύματος.

νων από την τεχνική καθήλωσης κηλίδων καθώς και των δομικών δεδομένων. Εδώ επικεντρωνόμαστε στην πρωτεΐνη-δίαυλο για το ιόν K^+, η οποία, όπως όλα τα άλλα ενδιάμεσα για μεταφορά ιόντων, διασχίζει τη διπλοστιβάδα της μεμβράνης (Σχ. 2). Ο πόρος μέσω του οποίου κινούνται τα ιόντα έχει μήκος 3,4 nm και διαιρείται σε δύο περιοχές: μια ευρεία περιοχή με μήκος 2,2 nm και διάμετρο 1,0 nm και μια στενή περιοχή μήκους 1,2 nm και διαμέτρου 0,3 nm. Η στενή περιοχή ονομάζεται «φίλτρο επιλογής» του διαύλου ιόντος K^+ επειδή επιτρέπει μόνο σε ιόντα K^+ να περάσουν.

Το φιλτράρισμα είναι μια λεπτή διεργασία που εξαρτάται από το μέγεθος του ιόντος και τη θερμοδυναμική τάση ενός ιόντος να απολέσει τα μόρια νερού που το ενυδατώνουν. Εισερχόμενο στο φίλτρο επιλογής, το K^+ απογυμνώνεται από τον ενυδατικό του φλοιό και στη συνέχεια προσανατολίζεται από καρβονυλικές ομάδες της πρωτεΐνης. Η αφυδάτωση του ιόντος K^+ είναι ενδόεργη ($\Delta_{\text{αφυδ.}}G^{\ominus}$= +203 kJ mol^{-1}), αλλά οδηγείται από την ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ του ιόντος και της πρωτεΐνης. Το ιόν Na^+, αν και μικρότερο από το ιόν K^+, δεν περνά από το φίλτρο επιλογής του διαύλου του ιόντος K^+ επειδή οι αλληλεπιδράσεις με την πρωτεΐνη δεν επαρκούν για να παράσχουν την υψηλή ενέργεια Gibbs της αφυδάτωσης του Na^+ ($\Delta_{\text{αφυδ.}}G^{\ominus}$ = +301 kJ mol^{-1}). Πιο συγκεκριμένα, ένα αφυδατωμένο ιόν Na^+ είναι πολύ μικρό και δεν μπορεί να συγκρατηθεί ισχυρά από τις καρβονυλικές ομάδες της πρωτεΐνης, οι οποίες έχουν θέση ιδανική για αλληλεπιδράσεις με το μεγαλύτερο ιόν K^+. Στην ενυδατωμένη του μορφή, το ιόν Na^+ είναι πολύ μεγάλο (μεγαλύτερο από ένα αφυδατωμένο ιόν K^+), δεν χωράει στο φίλτρο επιλογής και επομένως δεν διαπερνά τη μεμβράνη.



Σχήμα 2 Μια σχηματική αναπαράσταση της διατομής μιας πρωτεΐνης-διαύλου ιόντων K^+ που διασχίζει μια μεμβράνη. Το φίλτρο επιλογής έχει έναν αριθμό καρβονυλικών ομάδων (που φαίνονται με σκούρο πράσινο) που προσανατολίζουν τα ιόντα K^+.

Αν και πολύ επιλεκτικός, ένας δίαυλος ιόντος K^+ μπορεί να αφήσει και άλλα ιόντα να περάσουν. Παραδείγματος χάριν, τα ιόντα K^+ και Tl^+ έχουν παρόμοιες ακτίνες και ενέργειες Gibbs αφυδάτωσης, έτσι τα ιόντα Tl^+ μπορούν να διαπεράσουν τη μεμβράνη. Ως αποτέλεσμα, το Tl^+ είναι μια νευροτοξίνη, διότι αντικαθιστά το K^+ σε πολλές νευρωνικές λειτουργίες.

Η αποτελεσματική μεταφορά ιόντων K^+ διά μέσου του διαύλου μπορεί επίσης να εξηγηθεί μέσω των δομικών χαρακτηριστικών της πρωτεΐνης. Για να συμβεί αποτελεσματική μεταφορά, το ιόν K^+ πρέπει να εισέλθει στην πρωτεΐνη, αλλά μετά δεν πρέπει να του επιτραπεί να παραμείνει στο εσωτερικό της για πολύ έτσι ώστε, καθώς ένα ιόν K^+ μπαίνει στον δίαυλο από τη μια πλευρά, ένα άλλο ιόν K^+ να βγαίνει από την άλλη. Ένα ιόν έλκεται προς το εσωτερικό του διαύλου από μόρια νερού σχεδόν έως το μισό του μήκους της μεμβράνης. Συνεπώς, το θερμοδυναμικό κόστος της μετακίνησης ενός ιόντος από το υδατικό περιβάλλον στο λιγότερο υδρόφιλο εσωτερικό της πρωτεΐνης ελαχιστοποιείται. Το ιόν «ενθαρρύνεται» να εγκαταλείψει την πρωτεΐνη μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μέσα στο φίλτρο επιλογής, το οποίο μπορεί να προσδέσει ταυτόχρονα δύο ιόντα K^+, συνήθως με ένα συνδετικό μόριο νερού. Η ηλεκτροστατική άπωση εμποδίζει τα ιόντα να προσδεθούν πολύ ισχυρά, ελαχιστοποιώντας τον χρόνο παραμονής κάθε ιόντος στο φίλτρο επιλογής, με αποτέλεσμα να μεγιστοποιείται ο ρυθμός μεταφοράς.