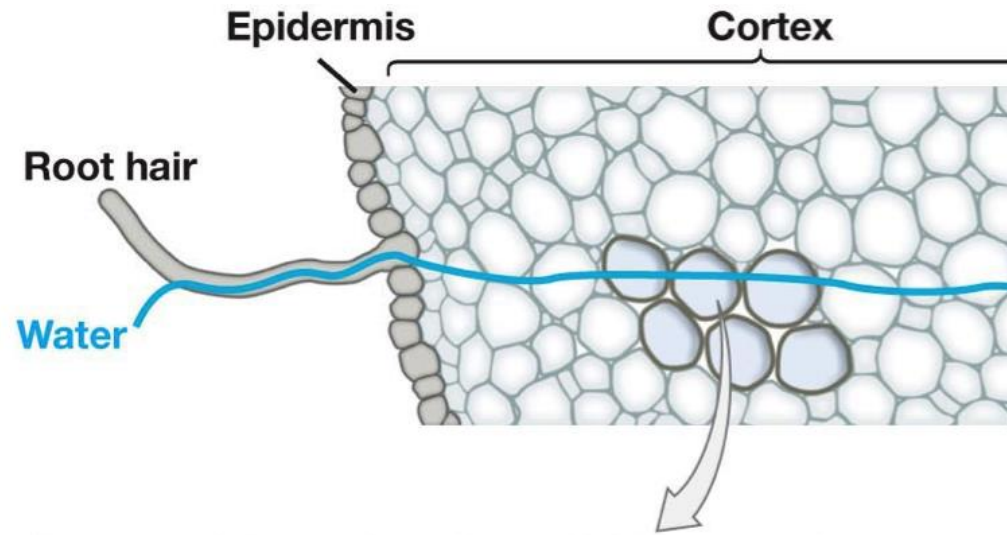
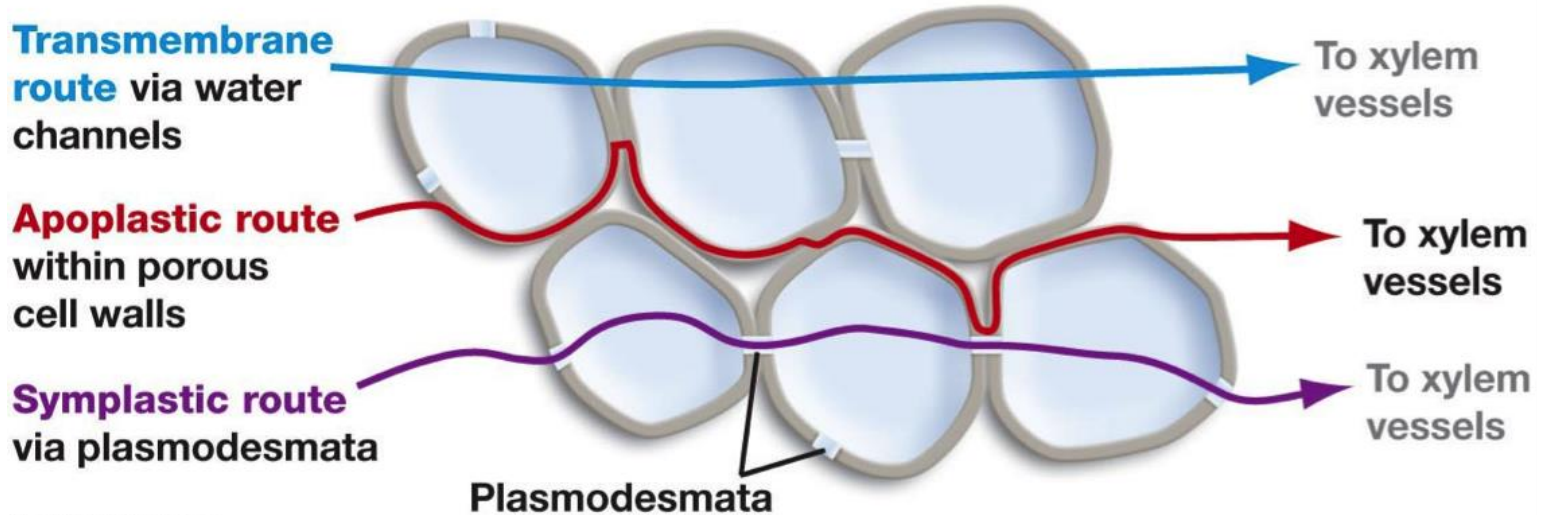
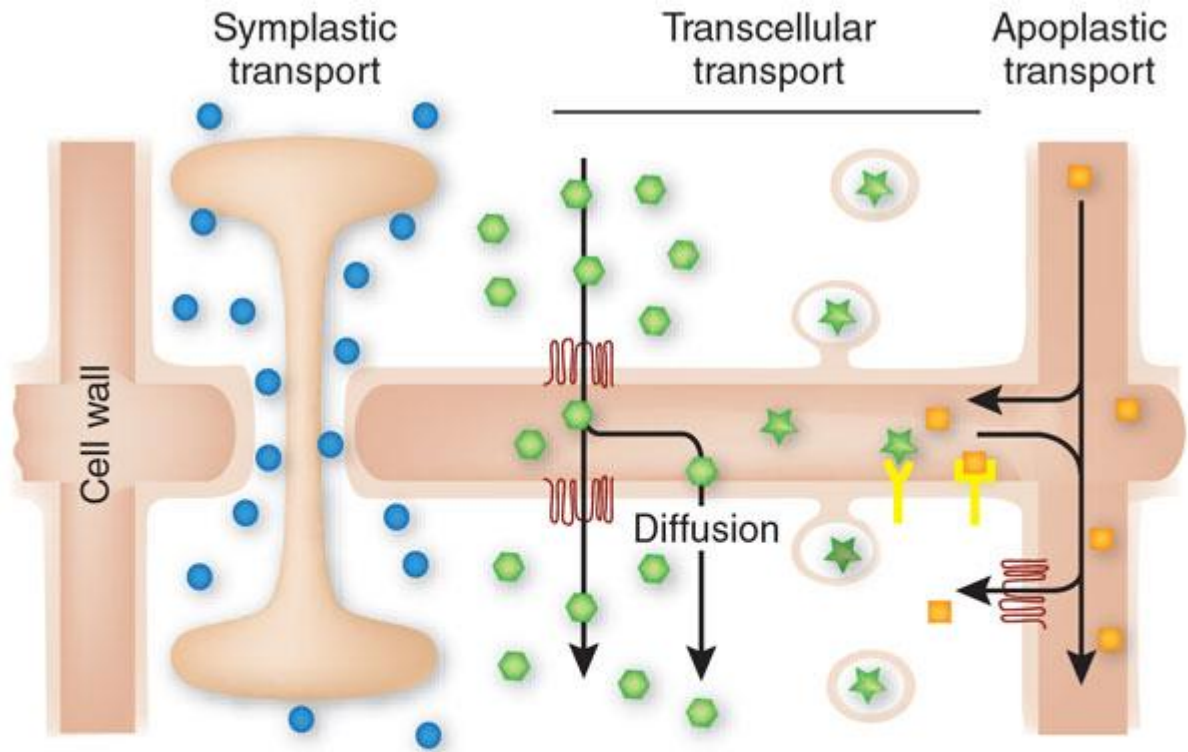




Trasporto di acqua a livello cellulare:
plasmodesmi e aquaporine








(a) Water travels from root hairs to xylem via three routes.



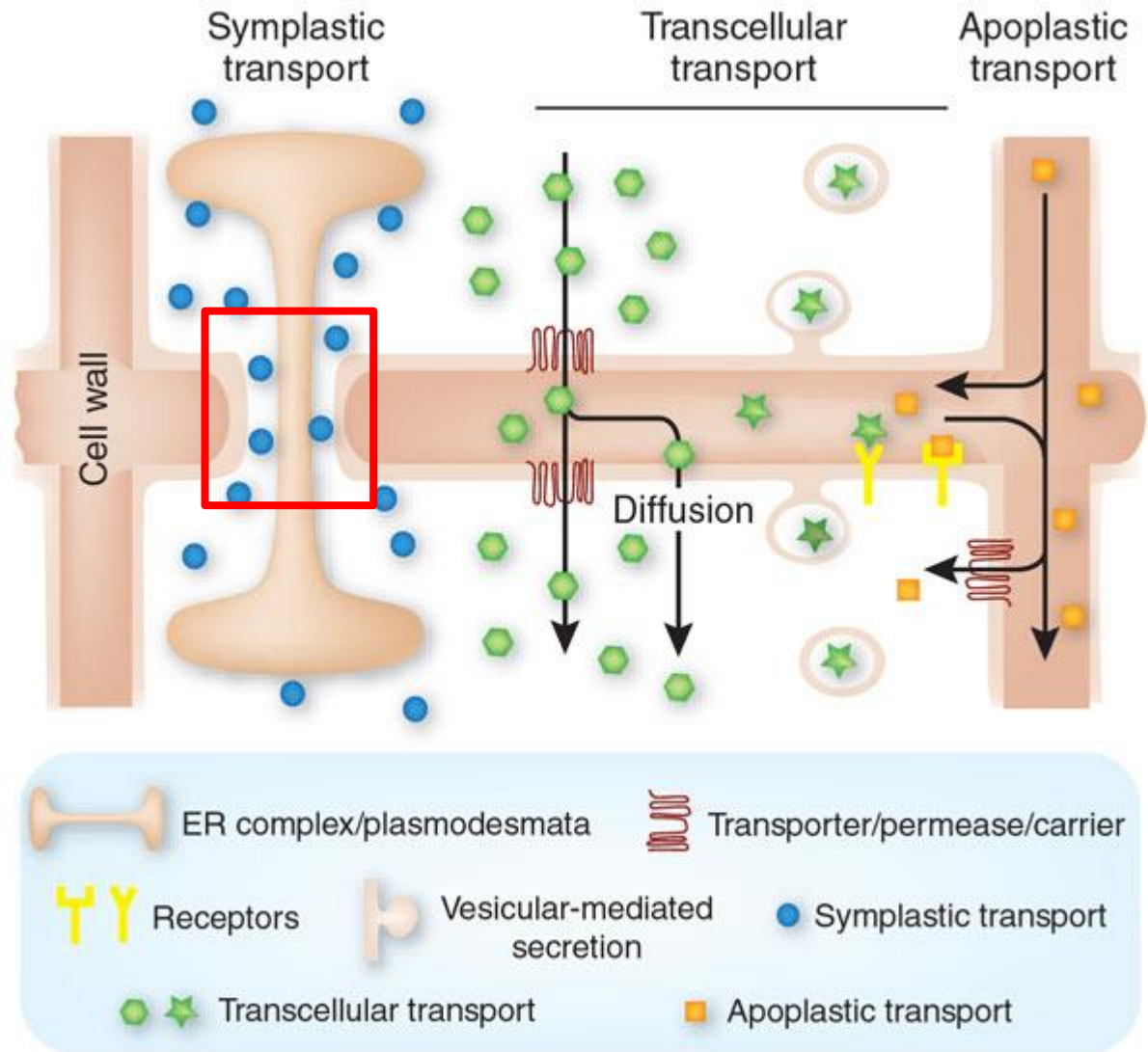


 ER complex/plasmodesmata
  Transporter/permease/carrier

 Receptors
  Vesicular-mediated secretion
  Symplastic transport

 Transcellular transport
  Apoplastic transport

I plasmodesmi



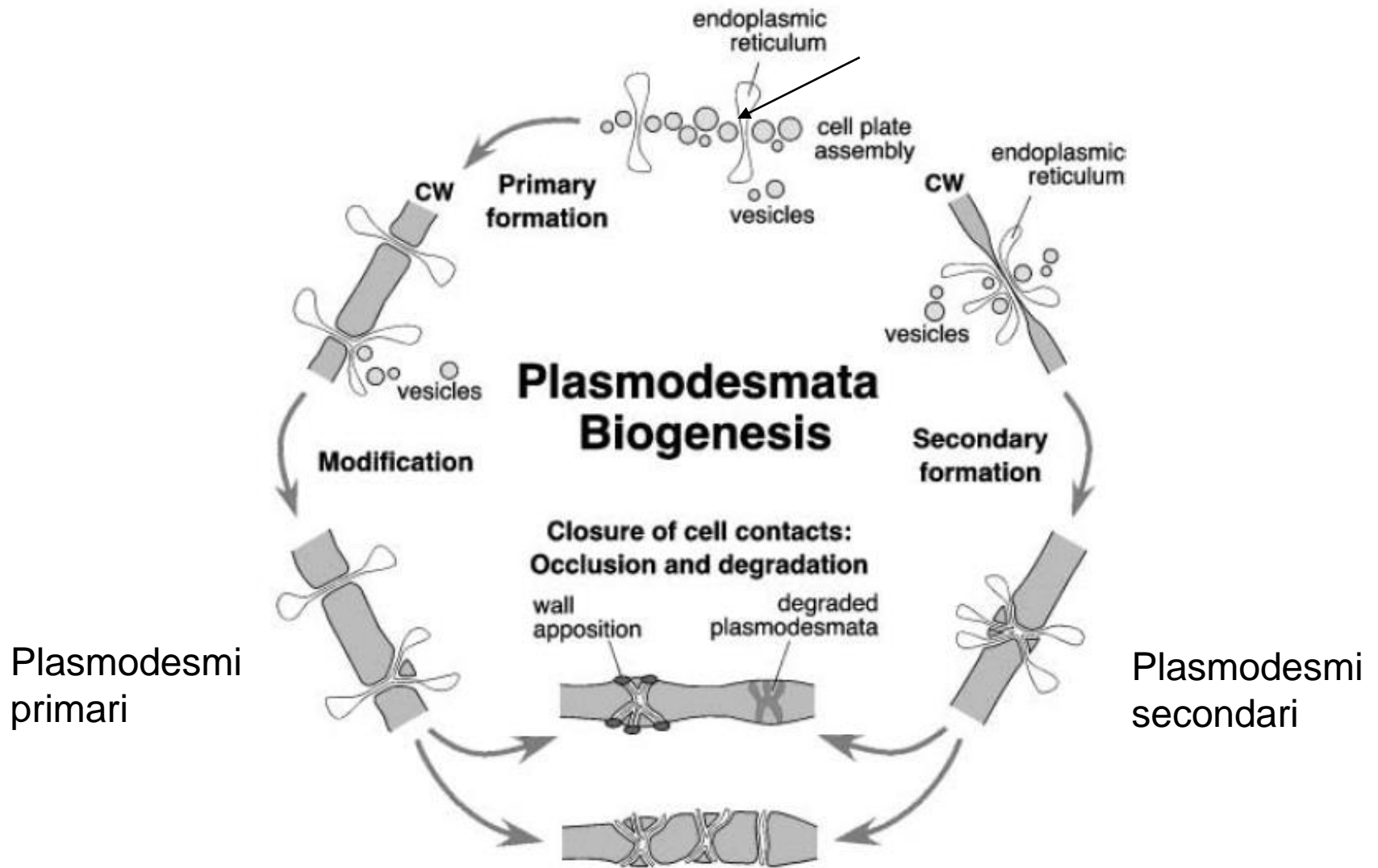
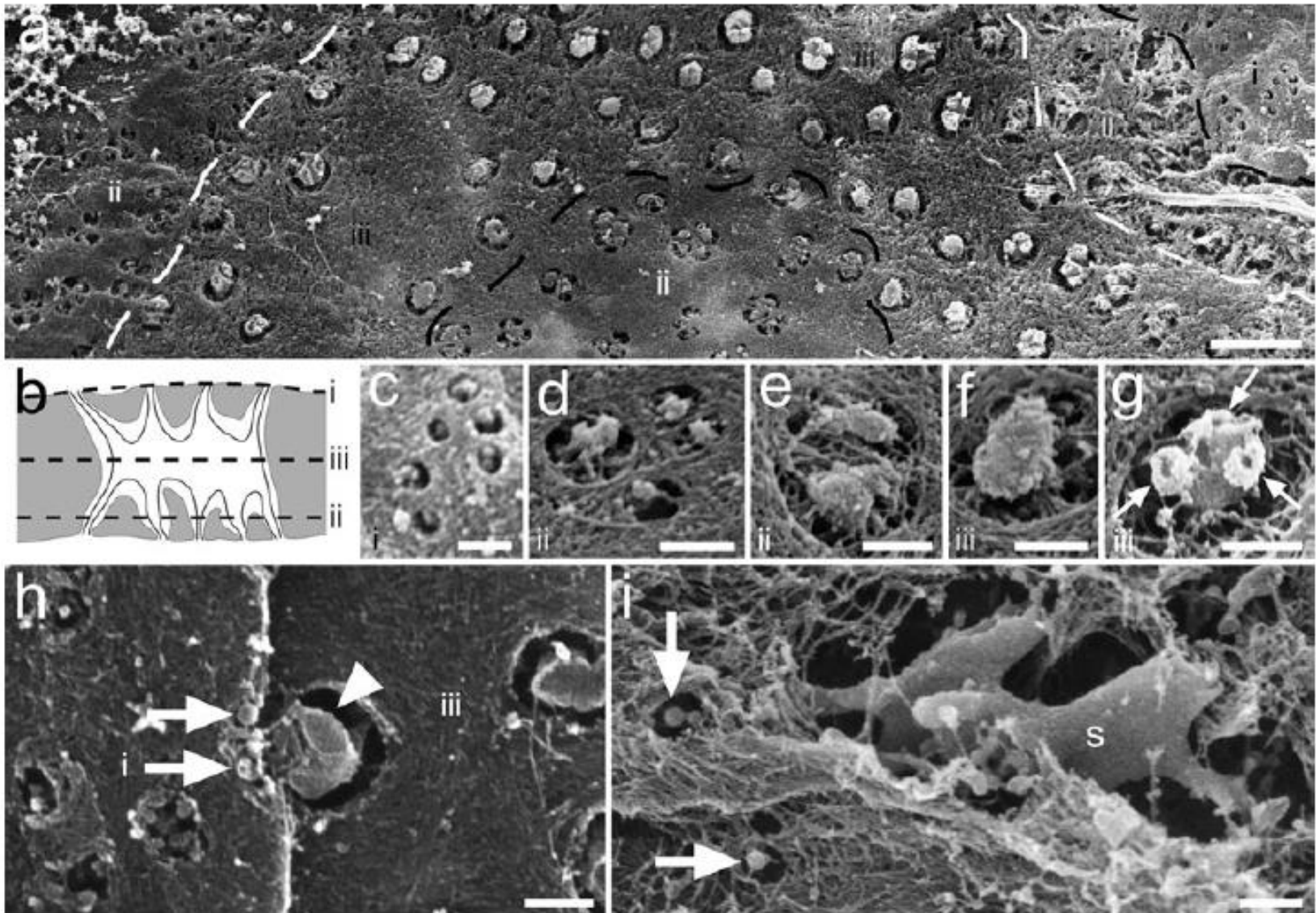


Figure 1. Formation of Primary and Secondary PD.

Formation of primary and secondary PD, in conjunction with PD occlusion and degradation, allows the plant to adjust the extent of the symplasmic/supracellular pathway interconnecting the cells of a tissue. CW, cell wall. (Adapted from Kragler et al., 1998a.)

Punteggiature



Densità comprese tra 0.1 e 10-60 plasmodesmi μm^{-2}

Casi particolari di assenza di connessioni via plasmodesmi tra cellule adiacenti:

Cellule di guardia – Cellule epidermiche

Peli radicali – Cellule del rizoderma

Apice radicale – Cuffia radicale

Fusto – Picciolo

Sacco embrionale - Ovulo

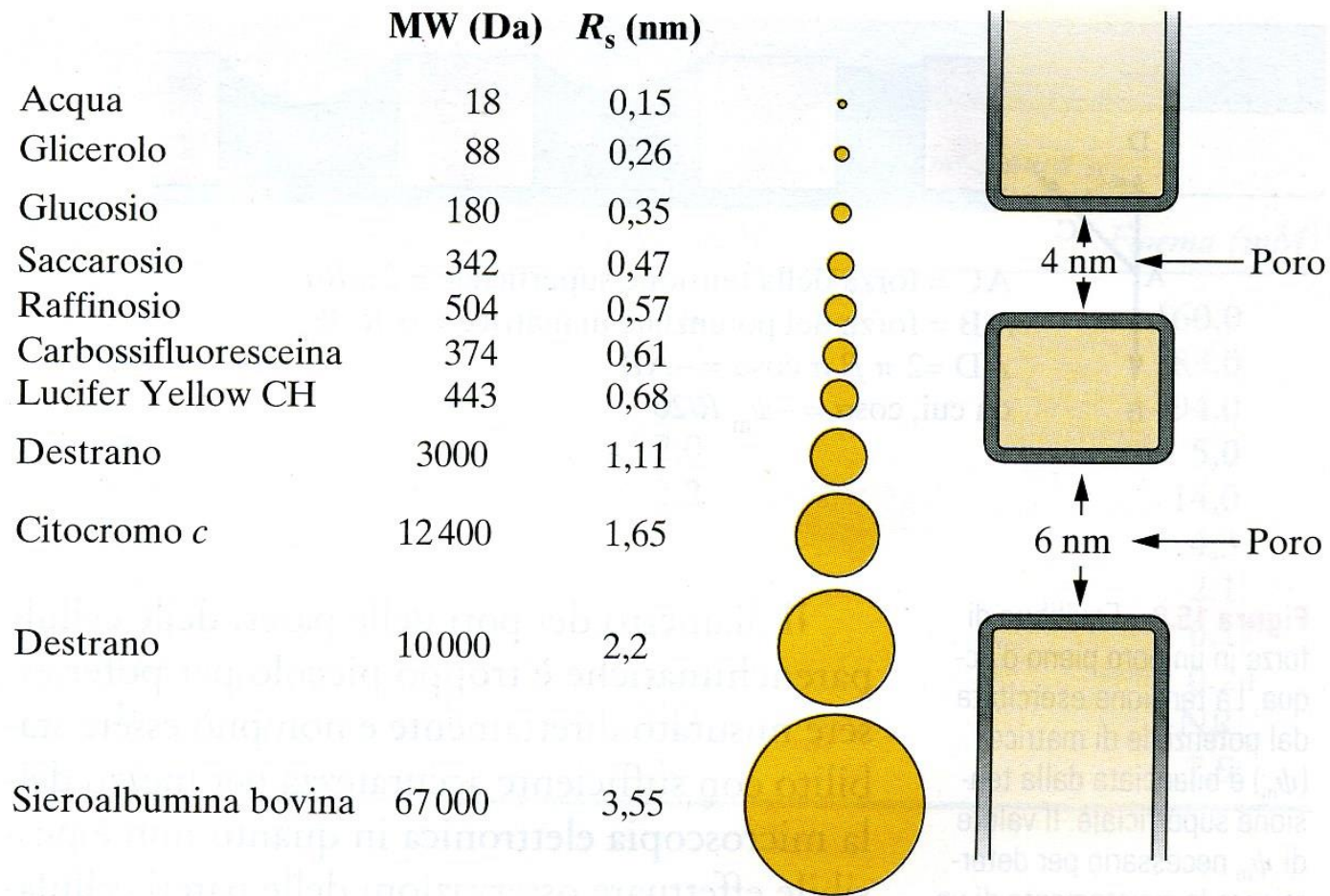
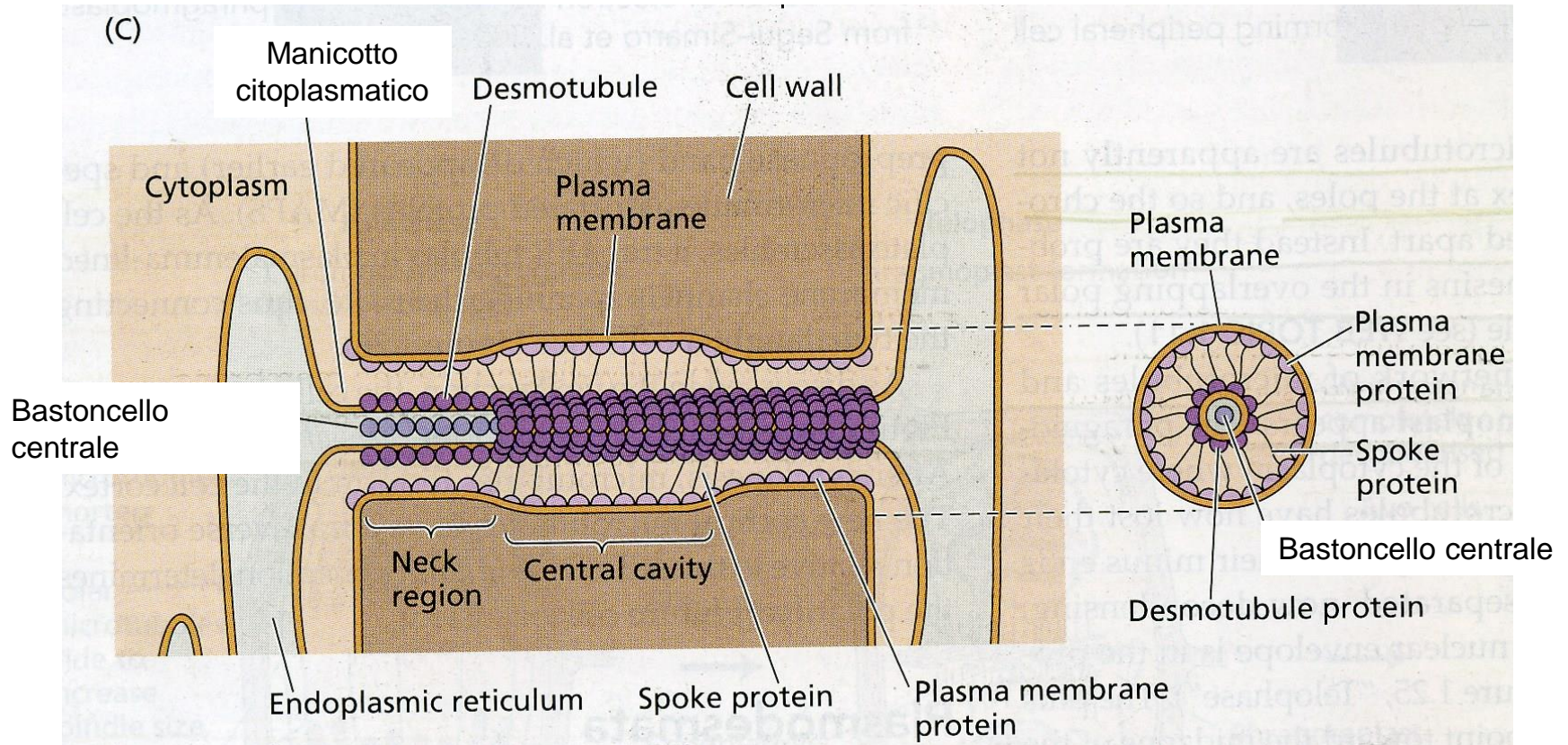


Figura 15.6 Valori del raggio di Stokes di alcune molecole di diverso peso molecolare. I valori di R_s sono messi a confronto con pori del diametro di 4 nm e 6 nm, valori limite della grandezza dei pori nel simplasto. Nelle pareti cellulari la grandezza dei pori è compresa tra 5 e 7 nm. MW, peso molecolare.

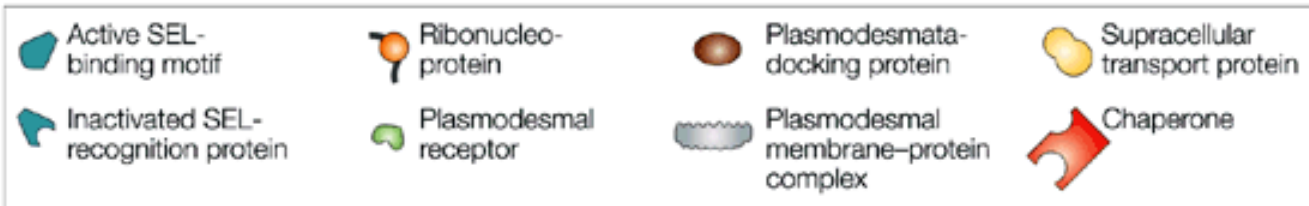
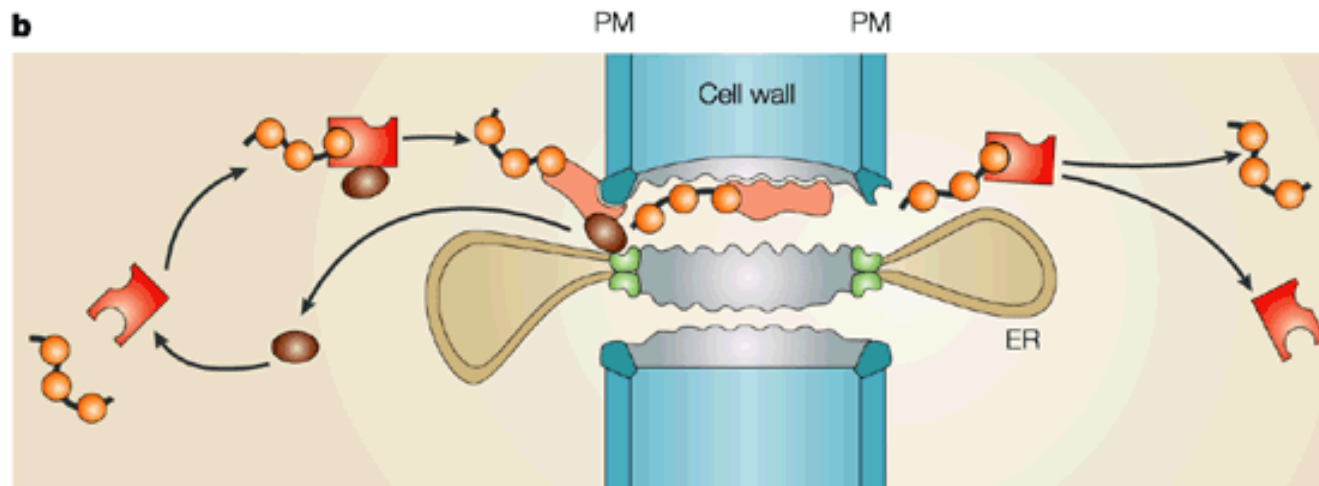
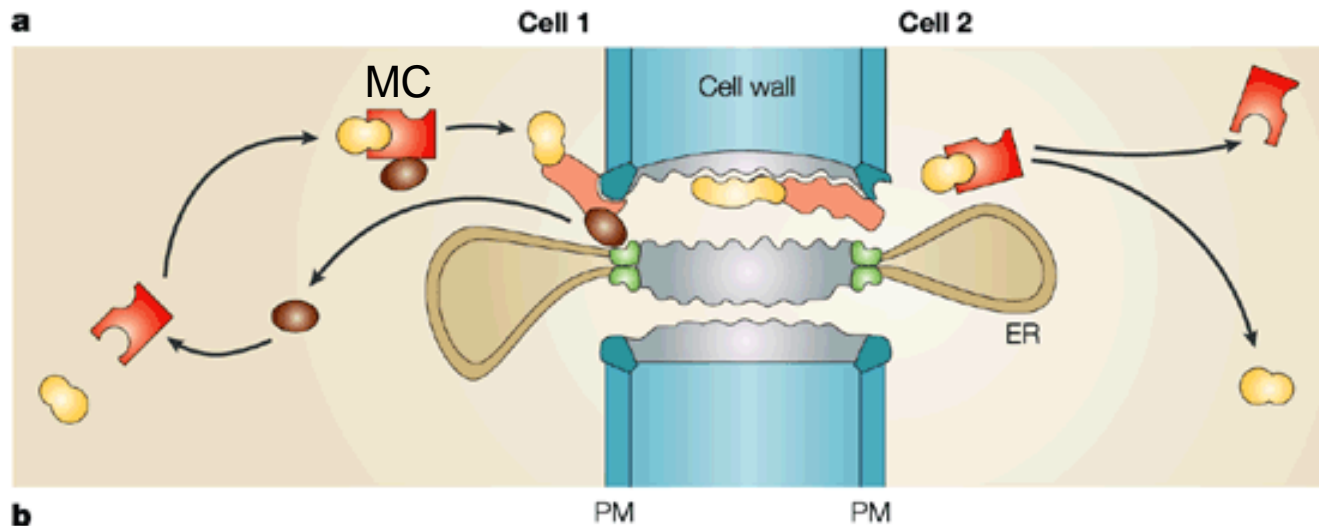


Limite di esclusione di massa (SEL= size exclusion limit): 700-1000 Da (molecole di 1.5-2.0 nm)

L'acqua attraversa liberamente i plasmodesmi

Il limite di esclusione di massa dei plasmodesmi può essere regolato

Il virus del mosaico del tabacco riesce a passare attraverso i plasmodesmi, pur avendo massa pari a 30 kDa, grazie alla sintesi di proteine di movimento

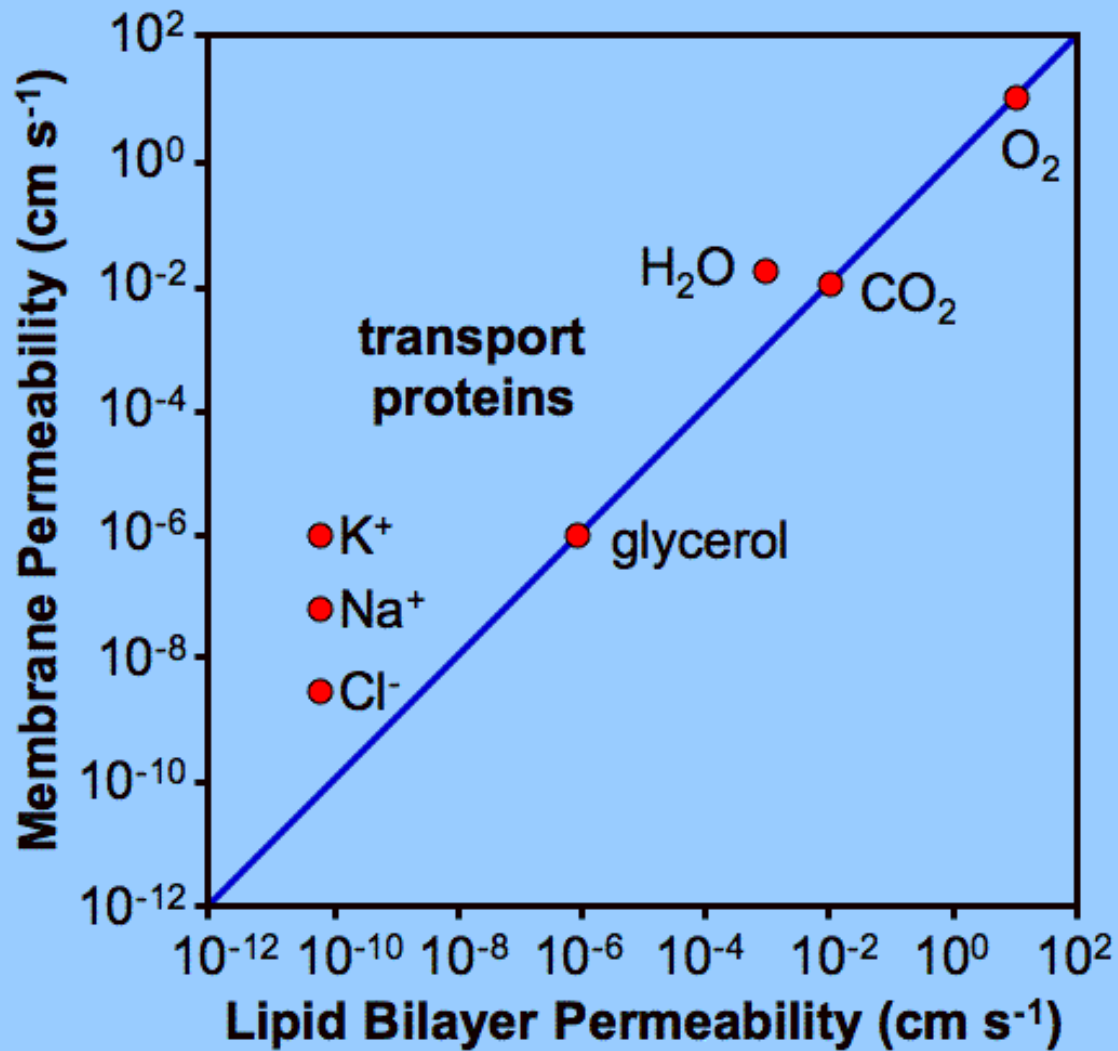


L'acqua può muoversi a livello cellulare seguendo una via simplastica attraverso i plasmodesmi.

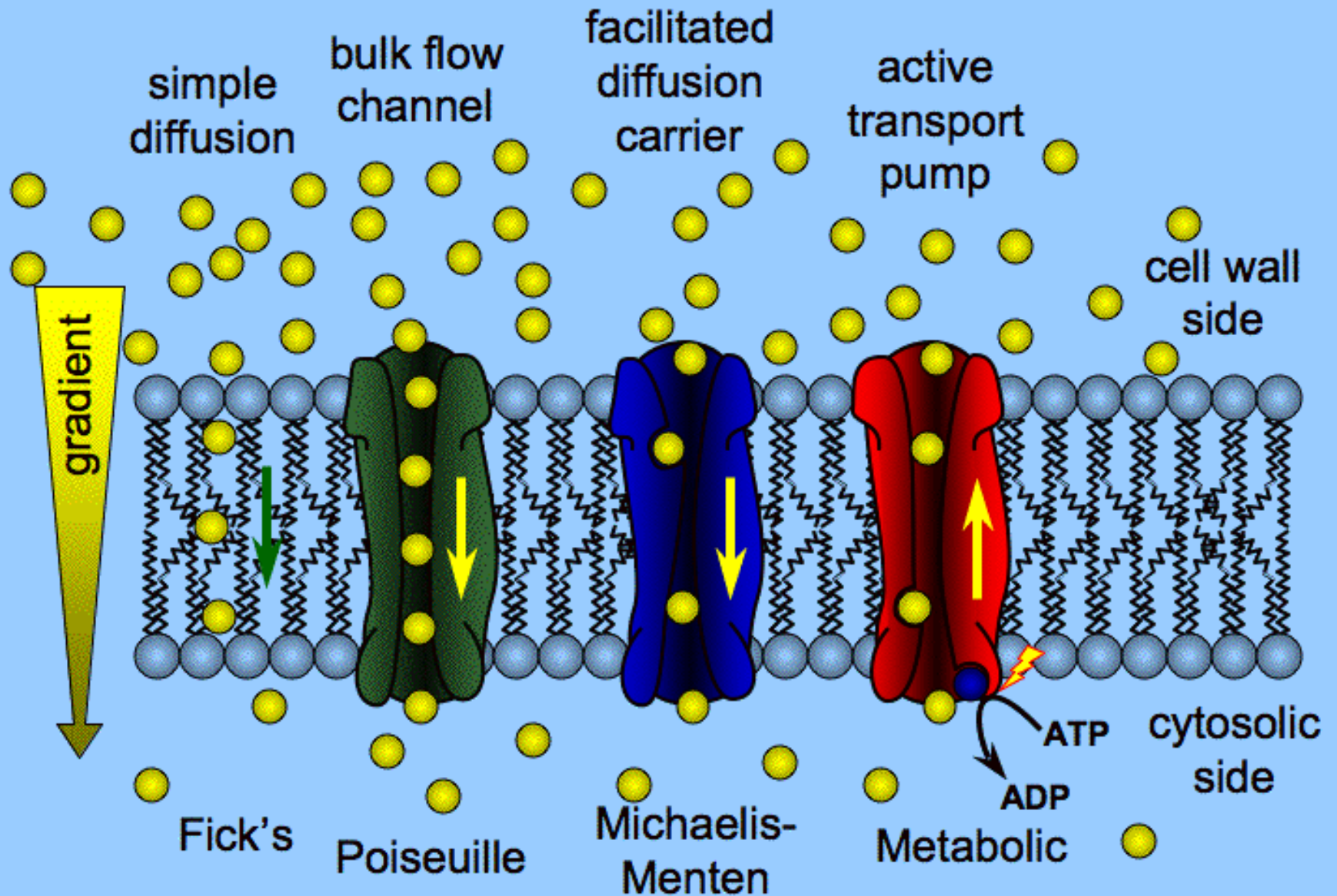
Tuttavia, l'area disponibile per il passaggio di acqua attraverso plasmodesmi è relativamente piccola rispetto all'area complessiva della membrana cellulare.

L'acqua può attraversare le membrane cellulari?

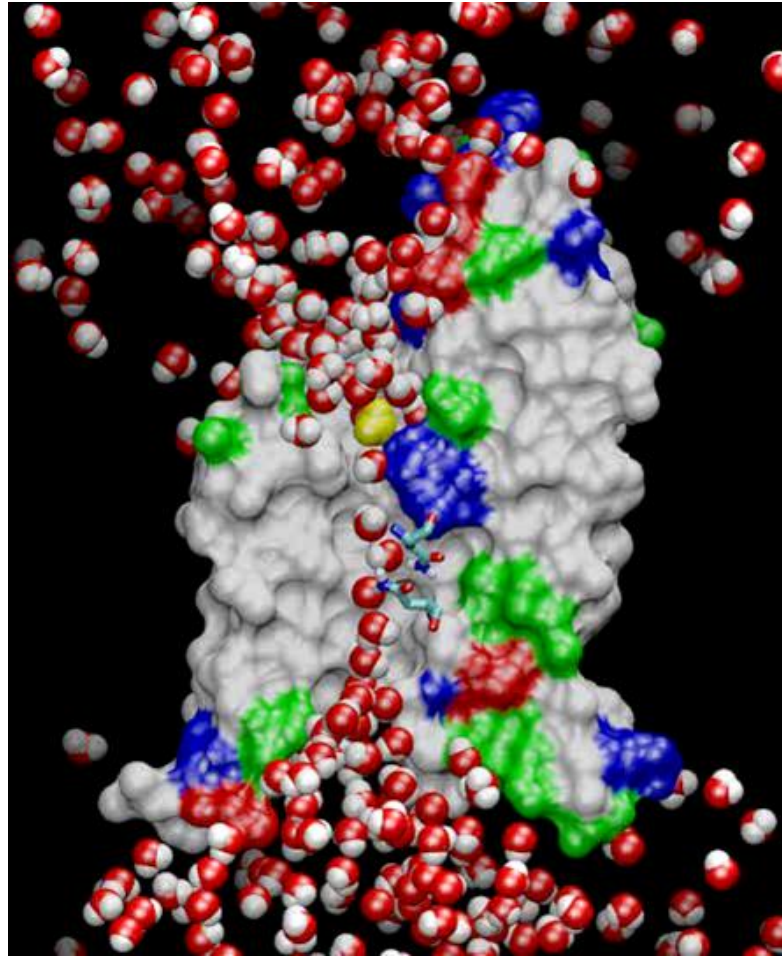
Membranes are differentially permeable to solutes



Solute movement across a membrane



Le aquaporine



Antica famiglia multi-genica di proteine MIP (Major Intrinsic Proteins)

Presenti in animali, piante e micro-organismi

Scoperte da Peter Agre et al. nel 1992 (Nobel per la Chimica nel 2003)



Espressione di un'aquaporina (allora chiamata Chip28) in oociti di *Xenopus laevis*

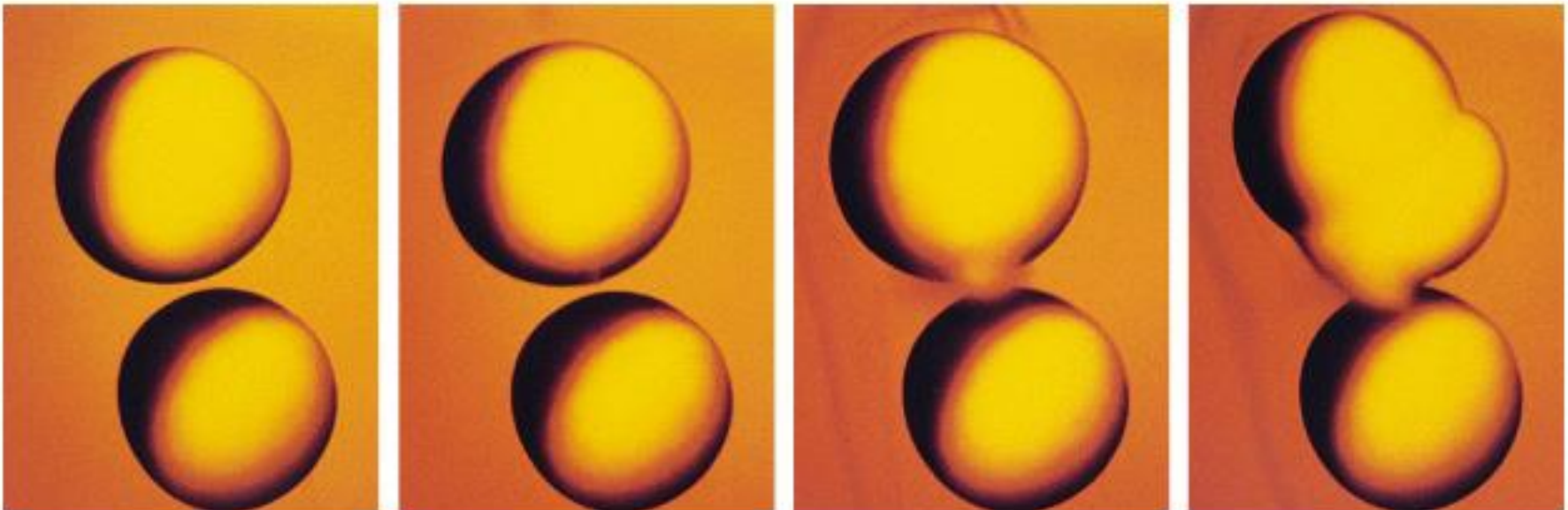
0.5 min

1.5 min

2.5 min

3.5 min

Controllo



Aquaporine

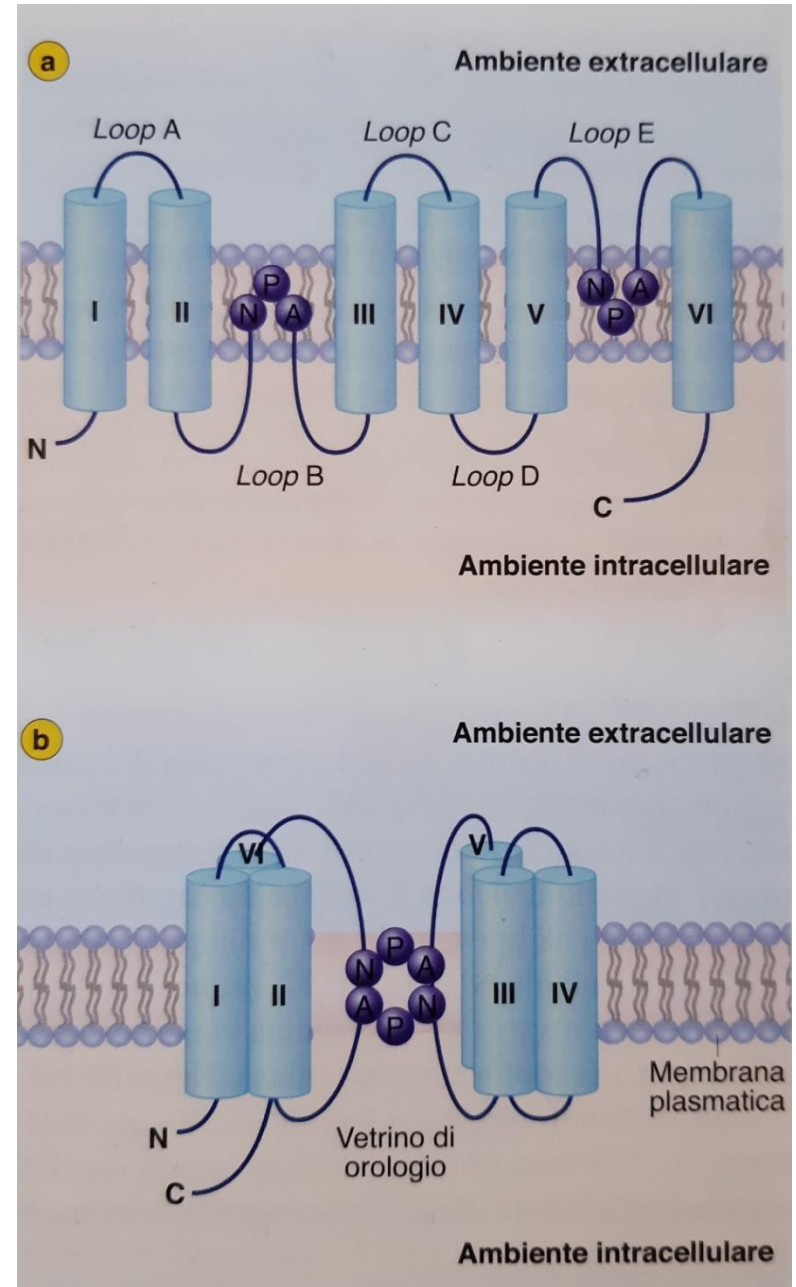
- Codificate da una famiglia multigenica
- In *Arabidopsis* identificate 35 isoforme
- 4 gruppi principali nelle piante vascolari:
 - PIP (plasmalemma intrinsic proteins)
 - TIP (tonoplast intrinsic proteins)
 - NIP (nodulin intrinsic proteins)
 - SIP (small basic intrinsic proteins)
- PIP e TIP native sono presenti nelle membrane come tetrameri
- Facilitano il passaggio di acqua attraverso le membrane biologiche, secondo gradiente di potenziale dell'acqua (= **trasporto solo passivo**)
- Altissima permeabilità all'acqua. Sino a 3×10^9 molecole di H₂O al secondo

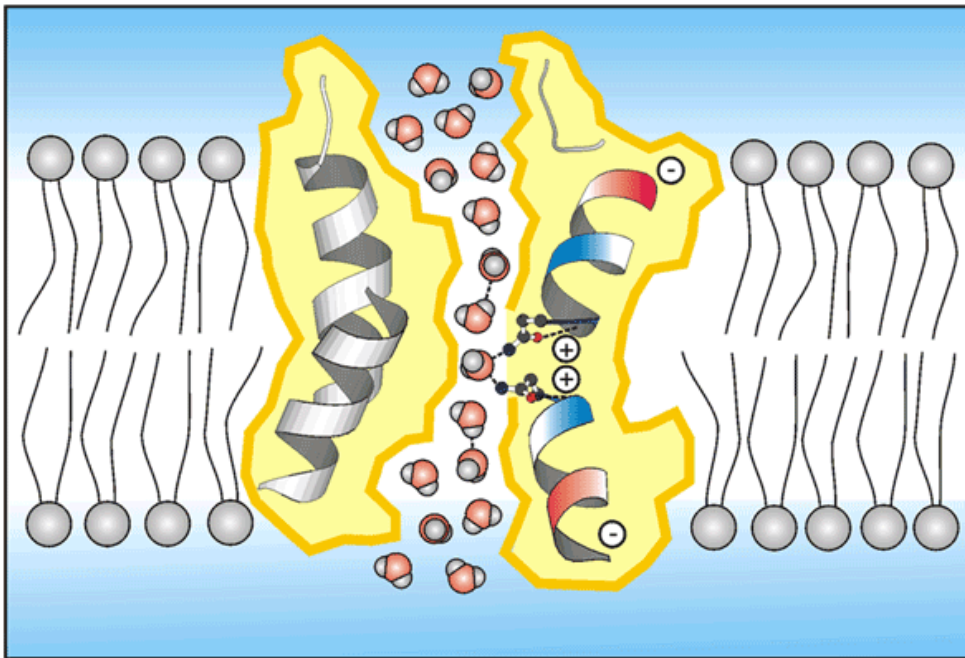
Aquaporine

Struttura altamente conservata:
proteine di 23-31 kDa con 6 domini transmembrana collegati da 5 loops. Terminazioni N- e C- verso il citosol.

Il poro di passaggio dell'acqua è delineato dall'interfaccia tra i domini 2 e 5, dove si trovano residui conservati di Asn-Pro-Ala.

Selettività per l'acqua data da due siti di costrizione:
1°: interazione delle due regioni NPA (struttura a «vetrino di orologio»- «hourglass fold»)
2°: filtro di selettività (regione ar/R = aromatic/arginine)

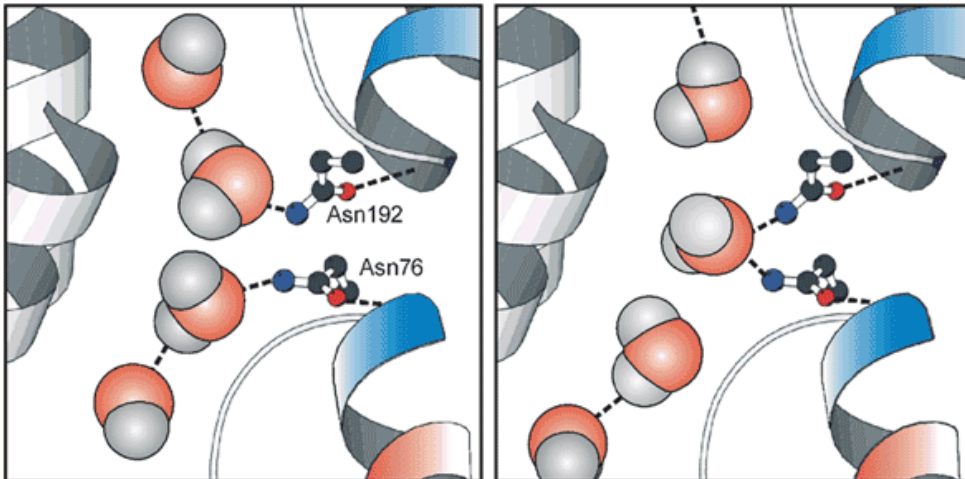




Elevata specificità delle aquaporine per il substrato:

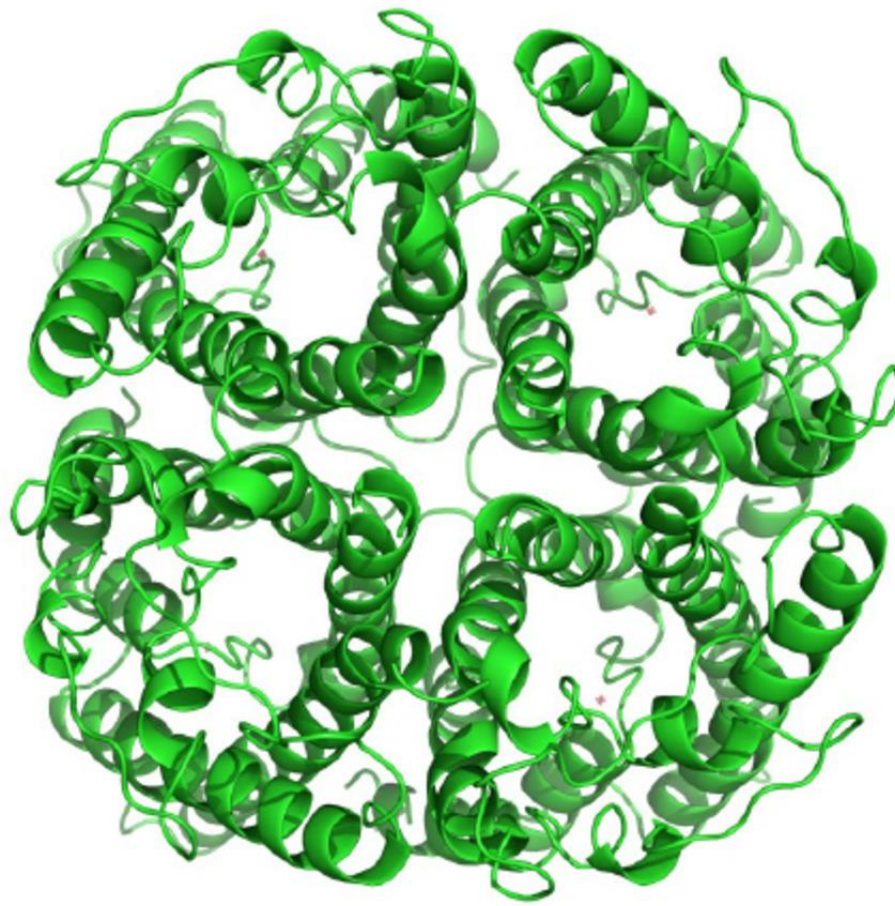
esclusione dimensionale a livello dei 2 siti di costrizione (Ar/R e NPA)

Riconoscimento stereo-specifico del substrato mediante legami idrogeno e interazioni idrofobiche



Asn76 e Asn192 formano legami idrogeno con gli atomi di ossigeno della molecola di acqua, orientando i due atomi di idrogeno e facilitando il movimento delle molecole d'acqua in una fila (single-row).

Trasporto di H^+ bloccato dalla repulsione elettrostatica nella regione NPA



Omotetramero (PIP e TIP)

Ciascun monomero forma un poro per l'acqua + un quinto centrale meno specifico

L'attività delle aquaporine dipende da:

- **Abbondanza:** regolata da fattori endogeni (es. fitoormoni) ed ambientali (es. stress idrico, salino..)
- **Gating:** regolazione apertura-chiusura del poro

Gating (= regolazione apertura e chiusura del poro per ciascun monomero): dipende dalla posizione del loop D

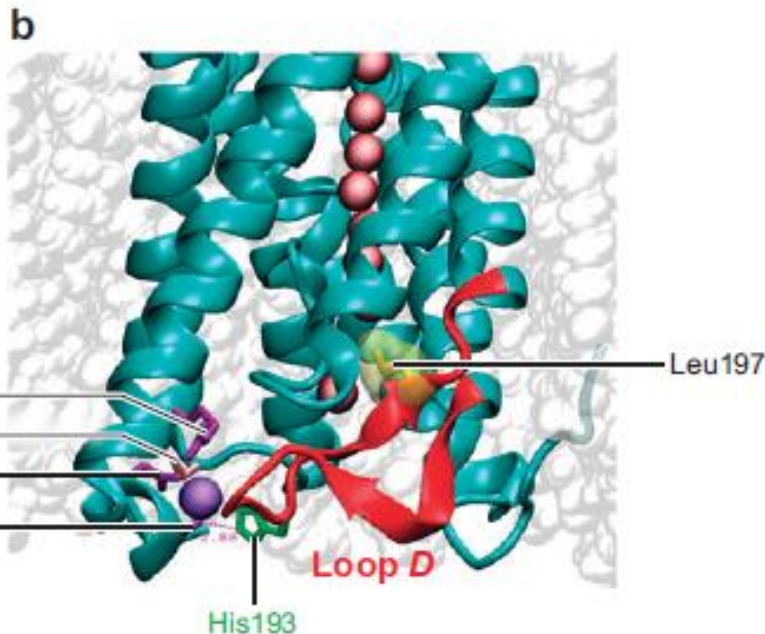
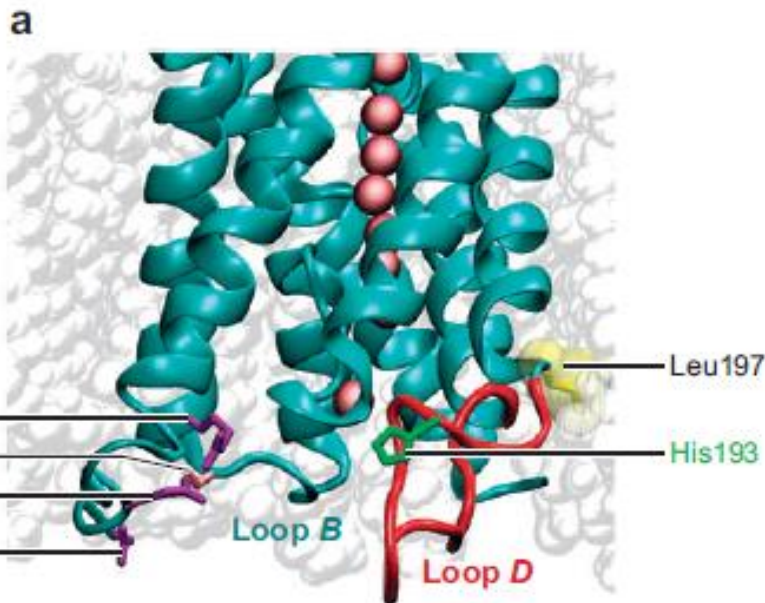
Processo:

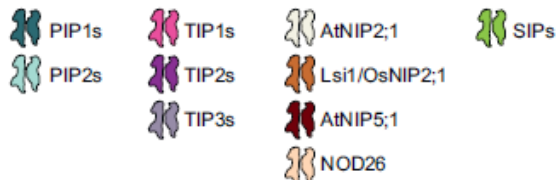
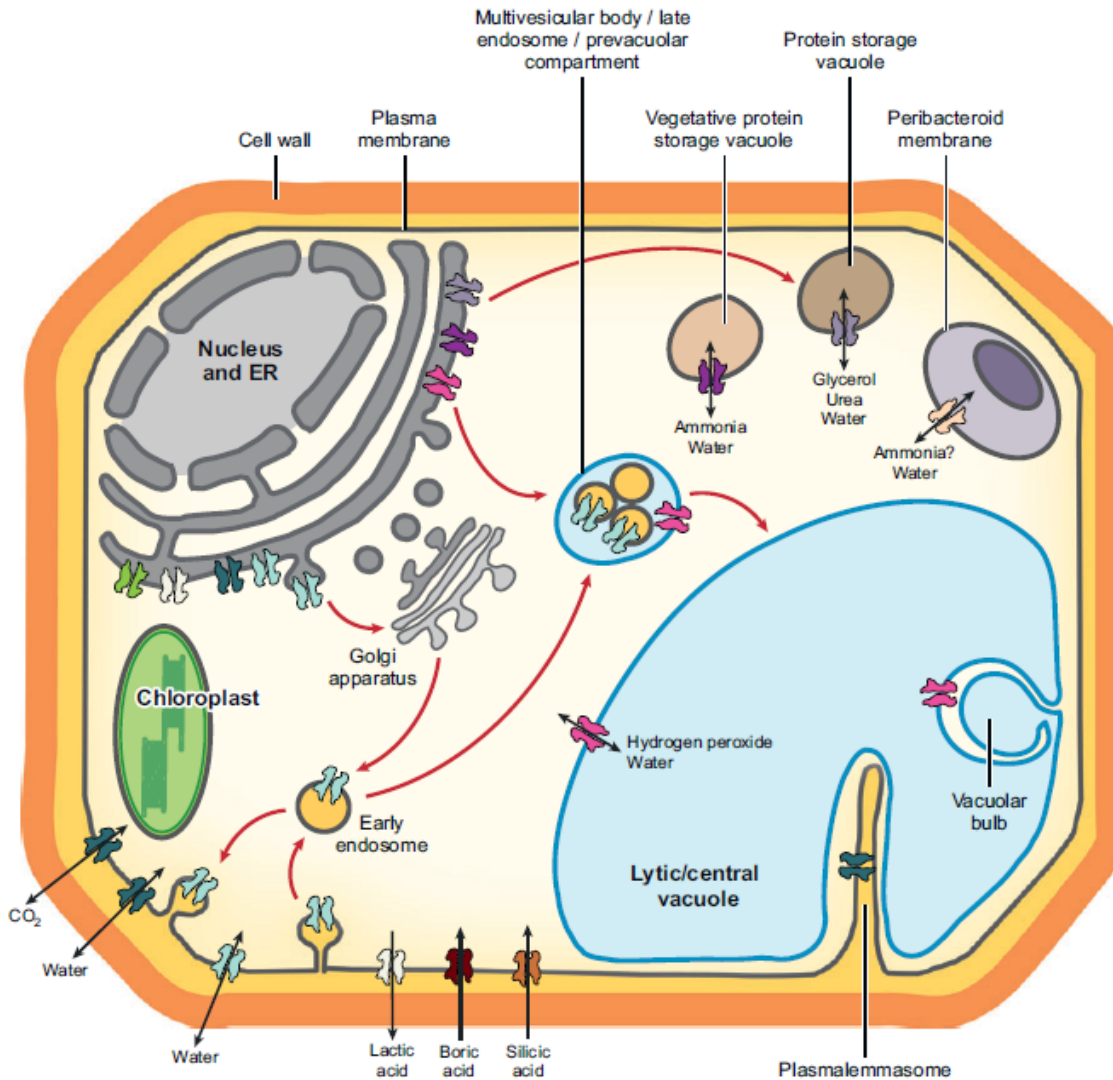
Legame H^+ con His 193 → spostamento loop D e chiusura del poro da parte di Leu197

Legame cationi divalenti (es Ca^{2+}) con Asp28 e Glu31 → stabilizzazione della conformazione chiusa (sfera color porpora)

Fosforilazione di Ser115 su Loop B (rosa) → rilascio del loop D e apertura del poro

Fosforilazione di Ser274 su terminazione C → impedimento transizione verso conformazione chiusa





Aquagliceroporine: alcune aquaporine vegetali possono trasportare oltre all'acqua altri piccoli soluti non carichi: CO_2 , NH_3 , H_2O_2 , urea, H_4SiO_4 ..

PIP (plasmamembrane intrinsic proteins)

TIP (tonoplast intrinsic proteins)

NIP (nodulin intrinsic proteins)

SIP (small basic intrinsic proteins)

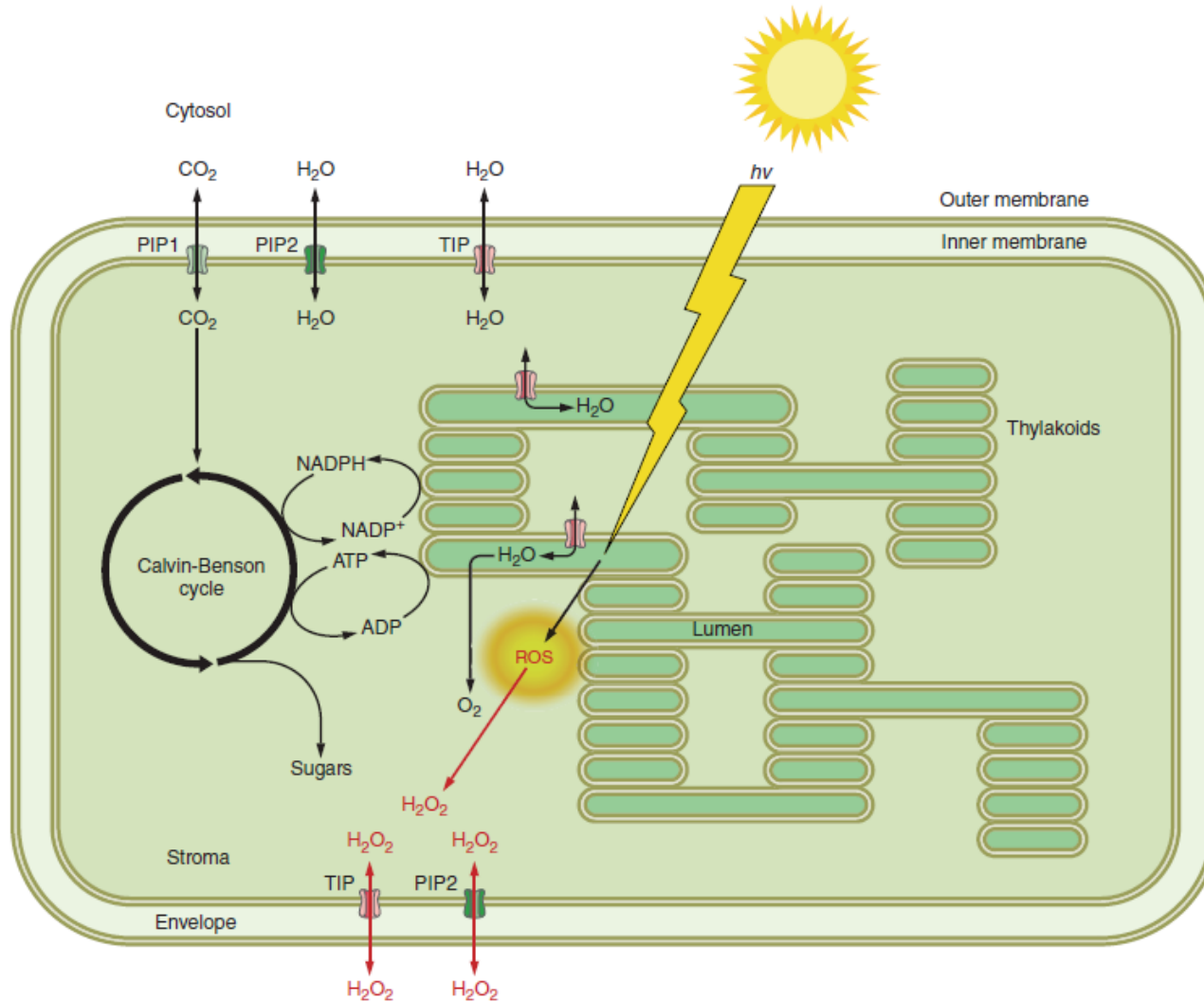


FIGURE 8. Putative functions of aquaporins in the chloroplast. Several PIPs and TIPs have been tentatively localized in the inner envelope and thylakoid membranes. They may contribute to water transport into the stroma and thylakoid lumen. In the latter compartment, photosynthesis leads to oxidation of water to molecular oxygen. Changes in incident light can result in adjustments of thylakoid and overall chloroplast volumes. A role of PIP1s in CO_2 transport across the inner envelope membrane is also indicated. Carbon fixation occurs in the stroma through carboxylation reactions within the Calvin-Benson cycle. Finally, ROS can be formed as by-products of photosynthetic activities. A putative role of PIP and TIP in facilitating H_2O_2 export from the chloroplast is shown.

Table 1. Diversity of aquaporin gene family in plants

Species	Common Name	PIPs	TIPs	NIPs	SIPs	XIPs	HIPs	GIPs	Total	Reference Nos.
<i>Selaginella moellendorffii</i>	Spike moss	3	2	8	1	3	2		19	8
<i>Physcomitrella patens</i>	Moss	8	4	5	2	2	1	1	23	59
<i>Oryza sativa</i>	Rice	11	10	10	2				33	252
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Mouse ear-cress	13	10	9	3				35	121, 235
<i>Solanum lycopersicum</i>	Garden tomato	14	11	12	4	6			47	239
<i>Populus trichocarpa</i>	Black cottonwood	15	17	11	6	6			55	93
<i>Glycine max</i>	Soybean	22	23	13	6	2			66	334
<i>Gossypium hirsutum</i>	Upland cotton	28	23	12	7	1			71	224

Shown for all plant species, the genome of which was fully sequenced, are the number of homologs present in each of the indicated aquaporin subclasses.

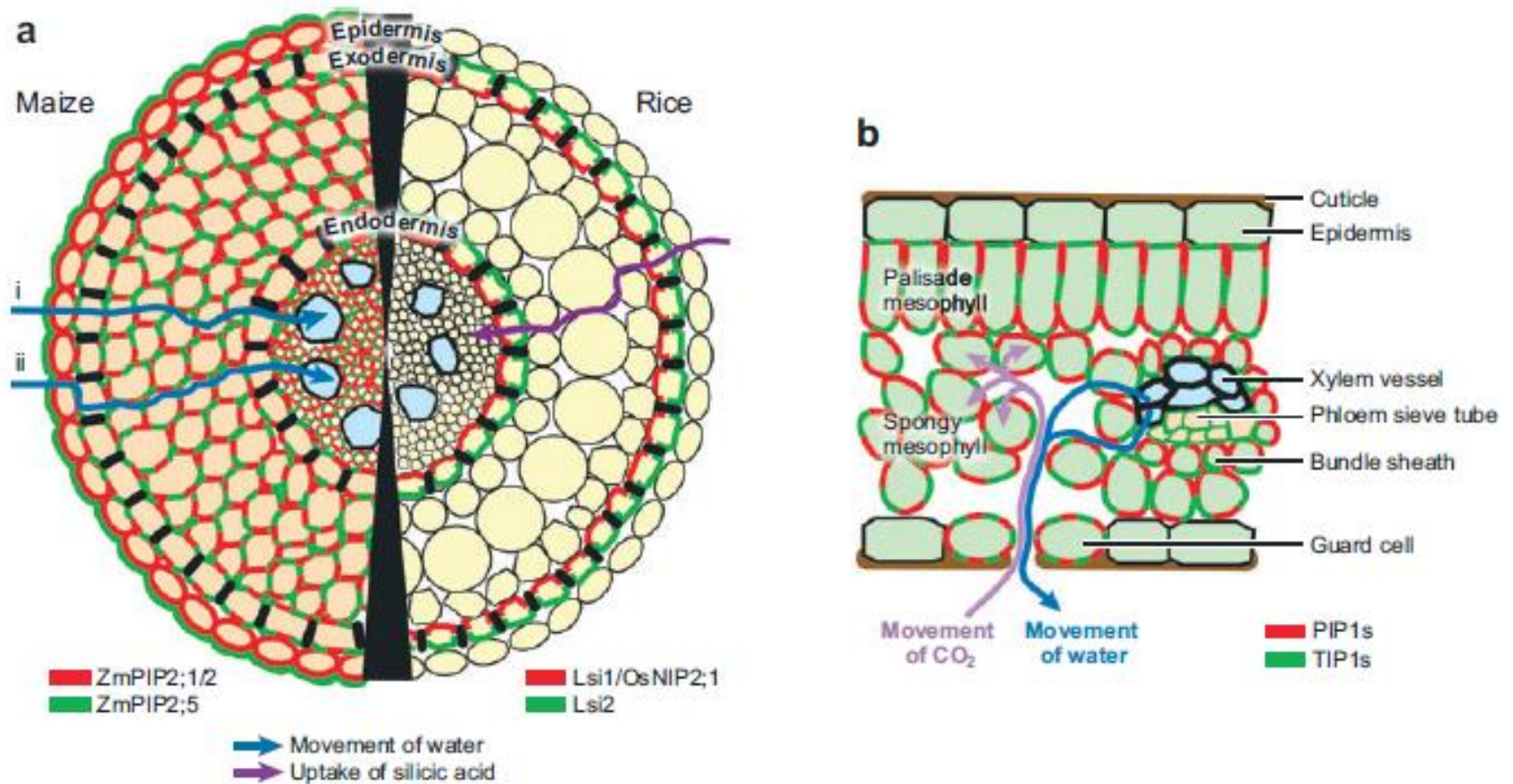


Figure 4

Aquaporin-mediated transport of water and solutes in roots (*a*) and leaves (*b*). Schematic cross sections with representations of the tissue-specific expression patterns of aquaporins and paths of transport are shown. Aquaporin expression and water transport in maize roots is summarized according to Reference 46, whereas uptake of silicic acid in rice roots by *Oryza sativa* Lsi1 (*OsNIP2;1*) in combination with the efflux transporter Low silicon rice 2 (*Lsi2*) is drawn according to References 82 and 83. Expression of plasma membrane intrinsic protein 1s (PIP1s) and tonoplast intrinsic protein 1s (TIP1s) in *Brassica napus* leaves was summarized according to Reference 35. The movement of water can follow the cell-to-cell (symplastic and transcellular) (*i*) or apoplastic (*ii*) path.

La permeabilità delle radici all'acqua dipende fortemente dalla presenza di aquaporine

Processi in cui sono coinvolte aquaporine e relativi fattori endogeni e ambientali che ne regolano l'attività

