

Canali ionici

CANALI IONICI

- Trasportano ioni
- Costituiti da proteine tetrameriche porose
- Specificità per lo ione trasportato

Classificazione:

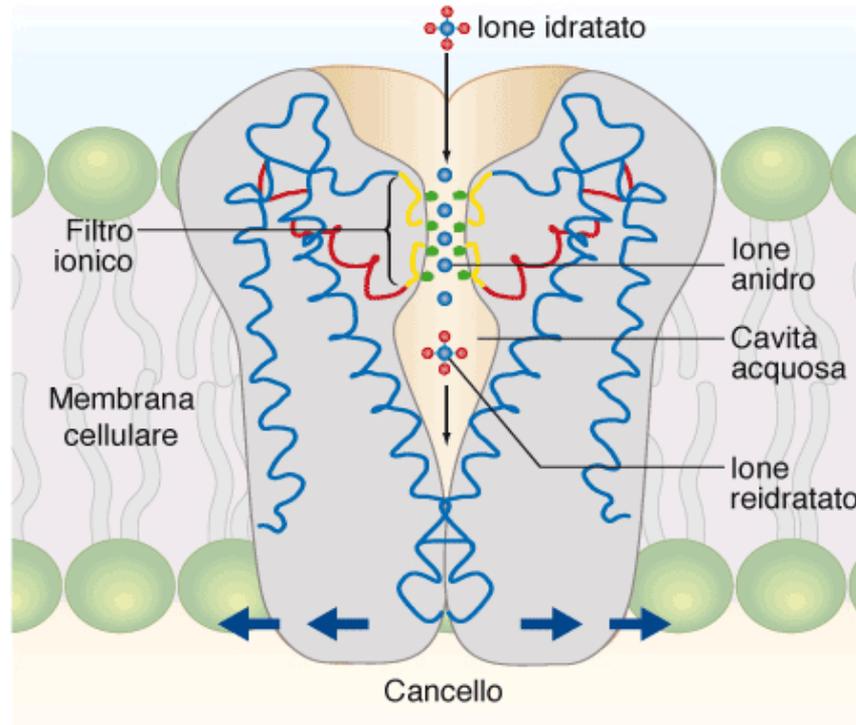
Canali selettivi cationici: selettivi per K^+ , selettivi per Ca^{2+} , poco selettivi per altri cationi monovalenti o divalenti.

Canali selettivi anionici: selettivi per cloruro o malato, poco selettivi per altri anioni

Selettività ionica dipendente dall'ampiezza del poro e da cariche di superficie all'interno del poro

CANALI

Due conformazioni: aperti/chiusi



Ampiezza del poro e
cariche di superficie
= selettività

Nel caso dei canali per K^+ , una regione conservata **glicina-tirosina-glicina** è responsabile della selettività. Atomi di ossigeno di questi residui creano siti di legame ionico, dove lo ione potassio si associa in stato disidratato. Le dimensioni del sito di legame ionico escludono cationi più piccoli o più grandi.

Gating regolato: voltaggio (potenziale di membrana), ormoni, luce, temperatura, ligandi, stress meccanico (e.g. variazioni del turgore).

Arabidopsis: 70 geni che codificano per canali ionici, 57 sono canali cationici.

Table 1. Cation channels identified *in vivo* in *Arabidopsis*

Type ^a	Activation	Permeability	Inhibitors ^b	Conductance ^c	Localization	Refs	Putative genes ^{d,e}	
Inward o outward rectifying	IR, K-indep	K ⁺	Cs ⁺ , TEA	9 pS (150 K _o ⁺)	Guard cell	[60,61]	<i>KAT1</i> , <i>KAT2</i> (<i>AKT1</i> ?)	
	IR, K-indep	K ⁺	Ba ²⁺ , TEA	NK	Pollen	[62]	<i>SPIK</i>	
	IR	K ⁺	NK	NK	Root hair	[38]	<i>AKT1</i>	
	IR	K ⁺	NK	16 pS (30 K _o ⁺)	Root cortex	[37]	<i>AKT1</i>	
	IR, K-dep	K ⁺ , Rb ⁺ (NH ₄ ⁺)	Cs ⁺ , Ba ²⁺ , TEA	12 pS (30 K _o ⁺)	Root cortex, epidermis, stele	[1,2]	NK	
	OR, K-dep	K ⁺ (Ca ²⁺)	Ba ²⁺	28 pS (100/100 K ⁺)	Mesophyll	[63]	NK	
	OR	K ⁺ (not Na ⁺)	NK	66 pS (50/220 K ⁺)	Mesophyll	[7]	NK	
	OR, K-dep	K ⁺	Ba ²⁺ , verapamil	NK	Guard cell	[5,6]	<i>GORK</i>	
	OR	K ⁺	NK	20 pS (30/150 K ⁺)	Guard cell	[64]	<i>GORK</i>	
	OR	K ⁺ (Ca ²⁺ , not Cs ⁺)	Ca ²⁺ , Ca ²⁺ _{cyt} alkaline pH _{cyt}	NK	Guard cell	[4]	<i>GORK?</i>	
Solo trasporto verso il citosol. Verso l'esterno solo tramite trasporto attivo	OR, K-dep	K ⁺ , NH ₄ ⁺ (Rb ⁺ , Na ⁺)	Cs ⁺ , Ba ²⁺ , TEA 4AP _{cyt} , quinidine _{cyt}	38 pS (10/100 K ⁺)	Root cortex, epidermis, stele	[1,2]	NK	
	OR, K-dep	K ⁺	Ba ²⁺	12 pS (30/150 K ⁺)	Root hair	[38]	<i>GORK</i>	
	Weakly IR	K ⁺ (not Na ⁺)	NK	44 pS (50/220 K ⁺)	Mesophyll	[7]	<i>AKT2?</i>	
	Cation	Depol-act	K ⁺ , Na ⁺	NK	109 pS (50/250 K ⁺)	Mesophyll	[7]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i>
	Ca ²⁺	Depol-act	Ca ²⁺	NK	NK	Root	[15]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i> <i>TPC1?</i>
		Hyp-act	Ca ²⁺ , Ba ²⁺ (not K ⁺)	NK	23 pS (50/50 Ba ²⁺)	Mesophyll	[65]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i> <i>TPC1?</i>
		Hyp-act	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺	La ³⁺ , verapamil	NK	Guard cell	[21]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i> <i>TPC1?</i>
		Hyp-act	Ca ²⁺	La ³⁺ , Al ³⁺	NK	Root apex	[19]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i> <i>TPC1?</i>
		Hyp-act	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺ (Mn ²⁺ , not K ⁺)	La ³⁺ , Al ³⁺ , Gd ³⁺ (not Cs ⁺)	22 pS (10 Ca _o ²⁺)	Root hair	[18]	<i>CNGC?</i> <i>GLR?</i> <i>TPC1?</i>

^aChannels are sorted according to their ionic permeability: K⁺ (K⁺ channels), Cation (poorly selective cation channels) and Ca²⁺ (Ca²⁺ channels).

^bExcept where otherwise mentioned, inhibitors were added externally.

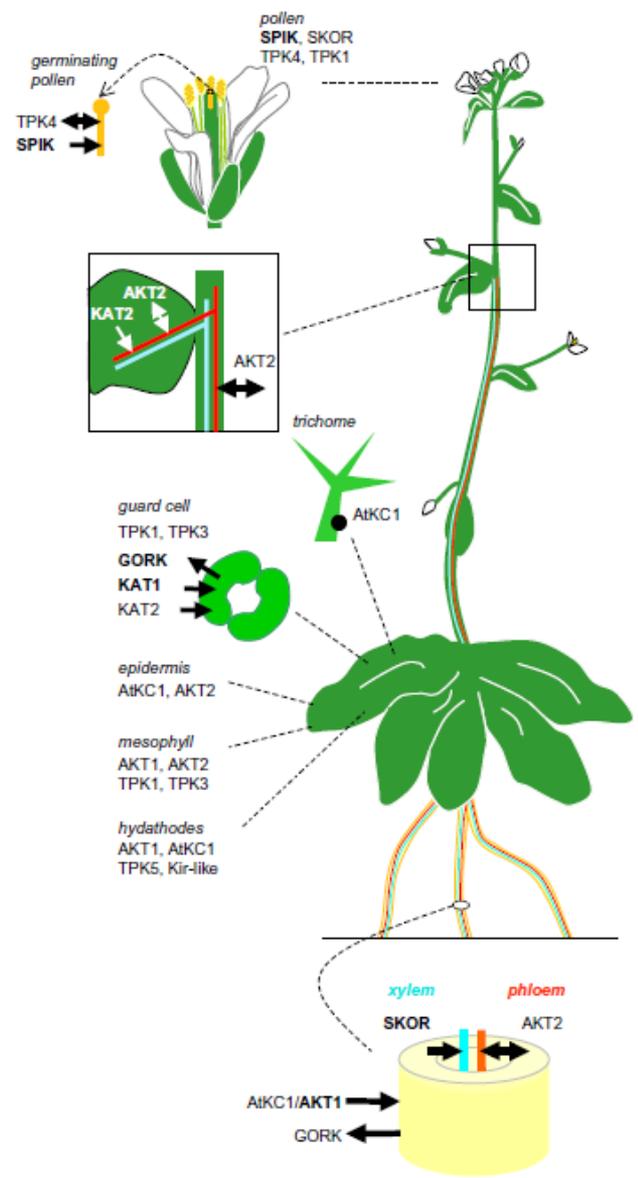
^cConcentrations (external/internal) used for conductance determination are given in mmol.l⁻¹.

^dFor references concerning the putative genes encoding the cation channels identified *in vivo*, see Table 2 and Fig. 2.

^eA putative gene followed by a question mark indicates that this gene family has not been shown to be involved but that it is a good candidate.

Abbreviations: 4AP, 4-aminopyridine; _{cyt}, in the cytosol; depol-act (hyperpol-act), depolarization-activated (hyperpolarization-activated) channel; IR, inwardly rectifying channel; K-indep (K-dep), K⁺-independent (K⁺-dependent) activation; NK, not known; _o, outside; OR, outwardly rectifying channel; pS, pico Siemens; TEA, tetraethylammonium.

Canali per K⁺



- Flowers**
- TPK1 [14]
 - TPK4 [33]
 - AKT2 [32]
 - SKOR [86]
 - SPIK [26]
 - AKT6 [32]
 - GORK [101]

Accrescimento per distensione: SPIK, AKT1

- Leaf**
- TPK1 [102] [14]
 - TPK3 [102]
 - TPK5 [11]
 - Kir-like [11]
 - GORK [103]
 - AKT1 [79]
 - AKT2 [32]
 - AtKC1 [56]
 - KAT1 [104]
 - KAT2 [53]

Movimenti stomatici:
 -ingresso di potassio mediato da KAT1, KAT2, AKT1, AKT2
 - uscita di potassio mediato da GORK

- Root**
- TPK1 [14]
 - TPK5 [11]
 - Kir-like [11]
 - SKOR [86]
 - AKT2 [32]
 - GORK [103]
 - AKT1 [79]
 - AtKC1 [55]

Prelievo di potassio a livello radicale: AKT1 (di tipo IR)

Secrezione di potassio nella linfa xilematica da parte delle cellule parenchimatiche: SKOR

Caricamento e scaricamento del potassio dal floema: AKT2

Fig. 3. Expression patterns of *Arabidopsis* K⁺-selective channels. In bold are channels whose roles in planta have been determined based on complementary approaches, including localization at the tissue/cell level, functional characterization of K⁺ transport activity in heterologous systems and reverse genetics analyses. In roots, AKT1 is involved in K⁺ uptake from the soil solution [80] and the outward channel SKOR in K⁺ secretion into the xylem sap [86]. In phloem, AKT2 has been proposed to be involved in both K⁺ loading in sources and unloading in sinks. It would also control the membrane potential, favoring sugar loading in source leaves [31,32,91]. In guard cells, KAT1 plays a role in K⁺ influx during stomatal opening [54,98], whereas GORK mediates most K⁺ efflux during stomatal closure [97]. In pollen, SPIK mediates K⁺ influx into the growing tube which plays a role in tube development [26]. See the references mentioned in the figure for more details.

CANALI PER K⁺ “SHAKER”

Gating regolato da voltaggio

Inward rectifying:

si aprono a potenziali di membrana più negativi del potenziale di equilibrio per il potassio

Outward rectifying:

si aprono a potenziali di membrana meno negativi del potenziale di equilibrio per il potassio

Espressi in cellule di guardia, radici, parenchima xilematico, floema, cellule in accrescimento, polline

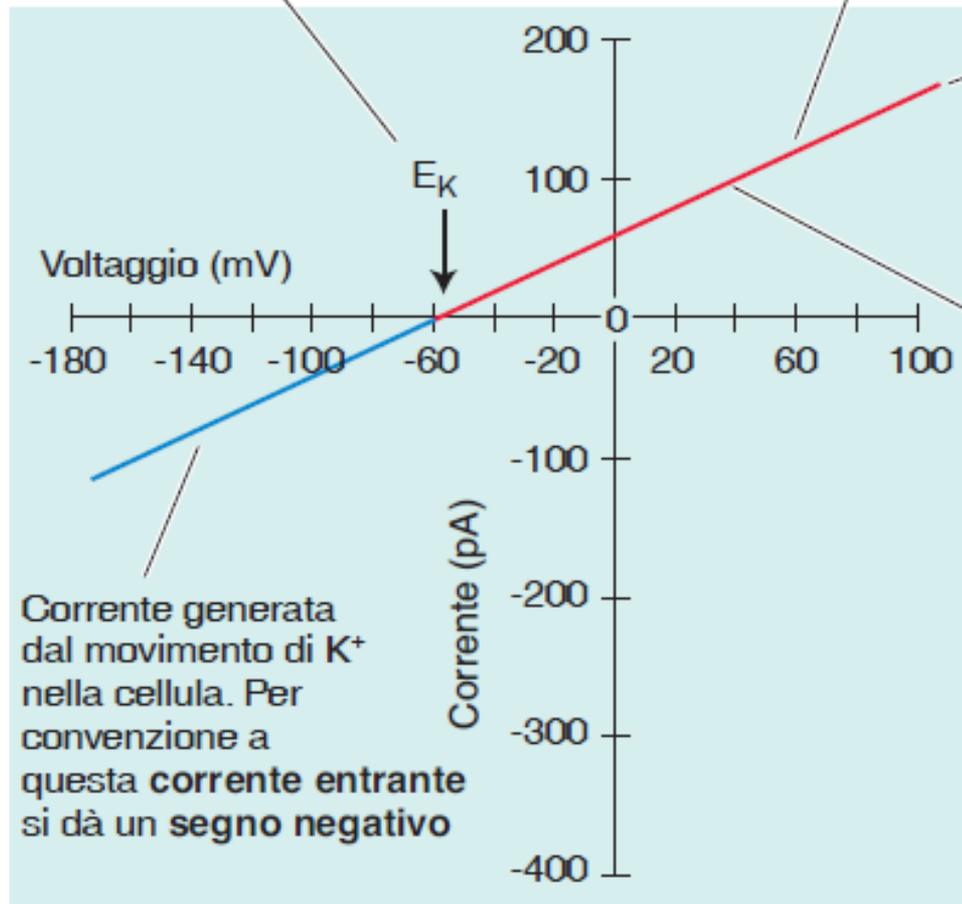
Ipotetico canale per potassio, non regolato dal voltaggio, ugualmente permeabile sia in entrata che in uscita

[K⁺] nella cellula = 100 mM

[K⁺] extra-cellulare = 10 mM

Potenziale di equilibrio di Nernst per K⁺: per definizione nessun flusso di K⁺, quindi nessuna corrente

Corrente generata dal movimento di K⁺ fuori dalla cellula. Per convenzione si dà un **segno positivo** a questa **corrente uscente**.

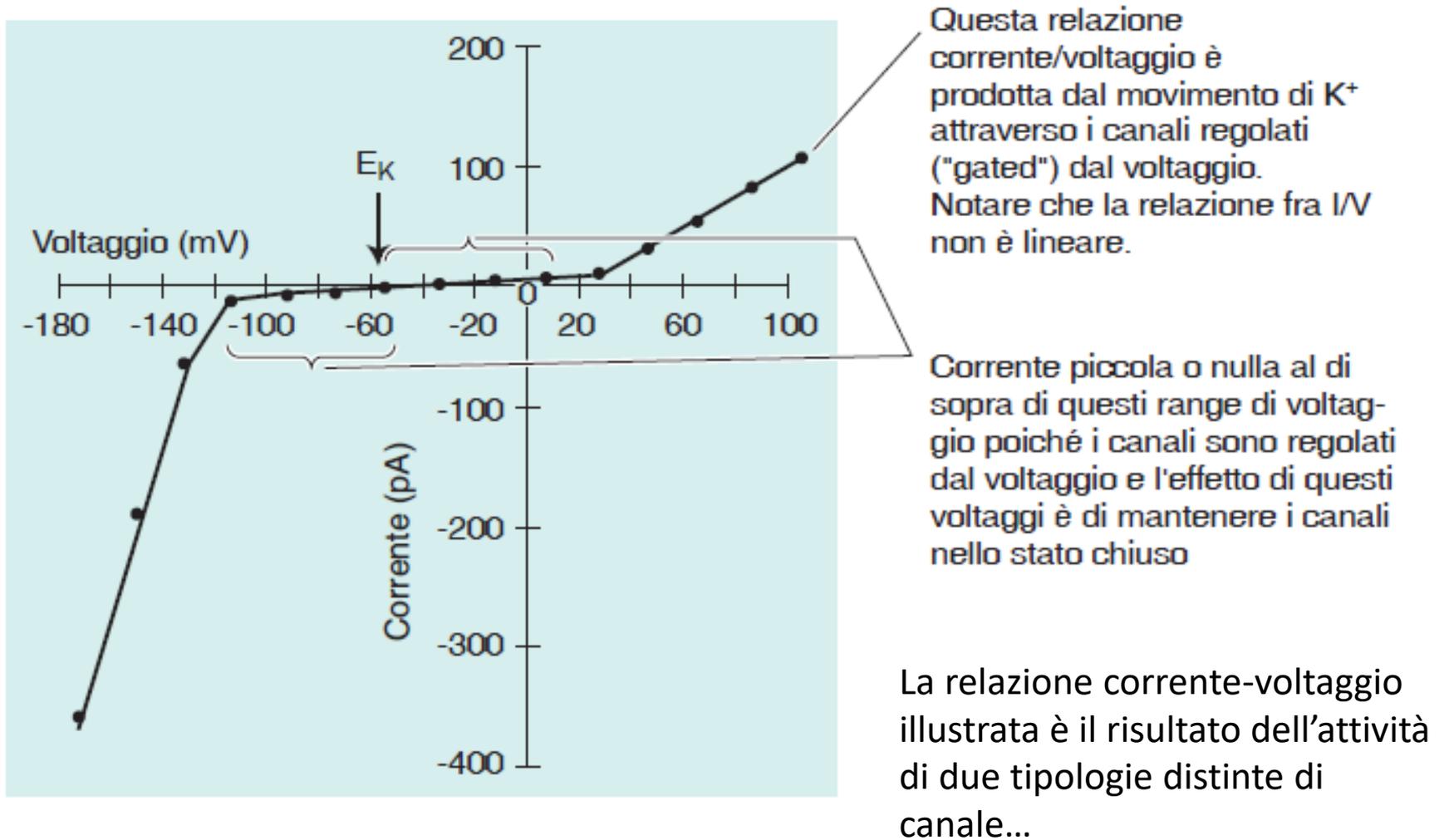


L'apertura e la chiusura o "gating" di questi canali non è regolata dal voltaggio. Quindi la corrente attraverso il canale è una funzione lineare del voltaggio.

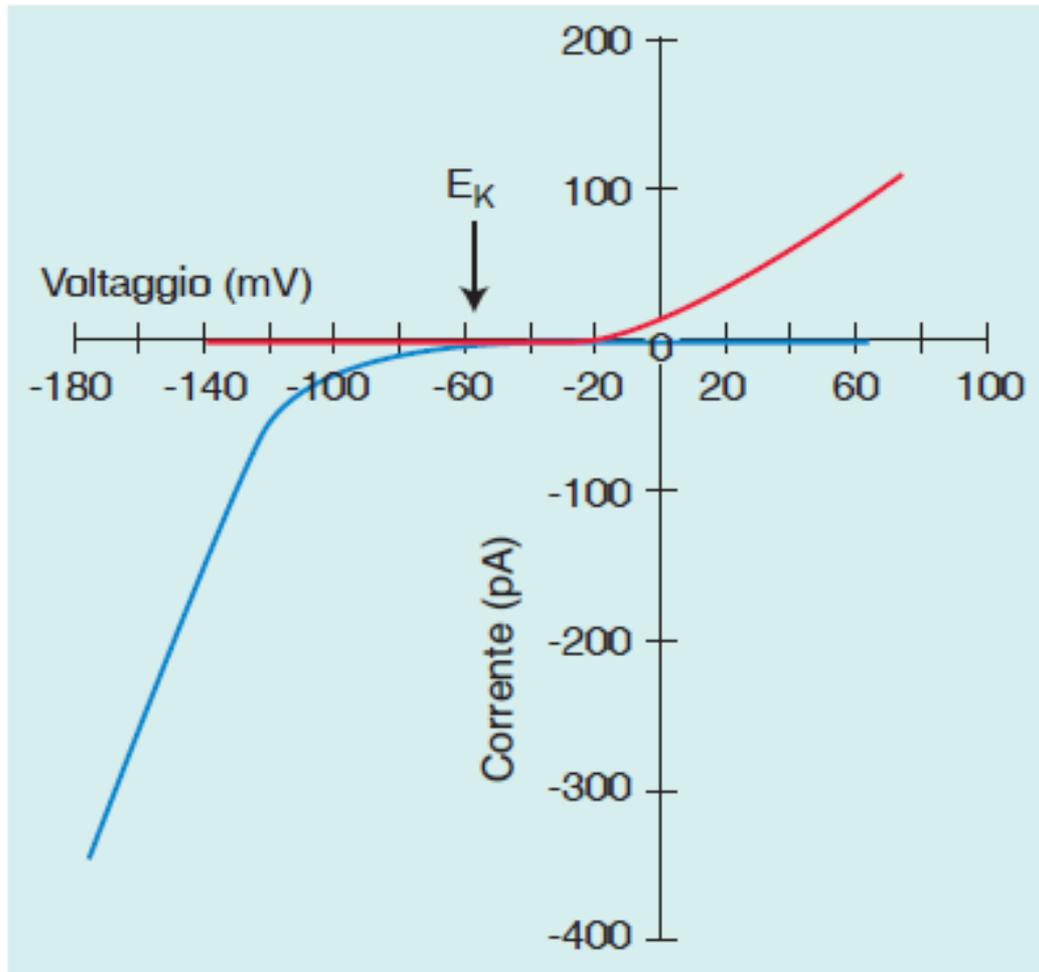
La pendenza della linea ($\Delta I/\Delta V$) fornisce la **conduttanza** dei canali che mediano questa corrente di K⁺

$$E_K = RT/ZF \cdot \ln \left\{ \frac{[K_{out}]}{[K_{in}]} \right\}$$
$$E_K = 0,025 \cdot \ln \{ 10/100 \}$$
$$E_K = -59 \text{ mV}$$

Corrente elettrica generata dall'attività di canali del potassio regolati dal voltaggio



Canali per potassio, regolati dal voltaggio e rettificatori verso l'interno (linea blu) o verso l'esterno (linea rossa)



La risposta alla corrente illustrata in (B) è qui mostrata e deriva dall'attività di due distinti tipi molecolari di canali del K^+ . I canali del K^+ uscenti (in rosso) sono regolati dal voltaggio così si aprono solo a potenziali di membrana $> E_K$; così questi canali mediano l'efflusso di K^+ dalla cellula. I canali entranti del K^+ (in blu) sono regolati dal voltaggio così si aprono solo a potenziali di membrana $< E_K$; così questi canali mediano l'assorbimento di K^+ nella cellula.

Struttura e funzione di una canale per K^+ rettificatore verso l'interno (trasportano ioni potassio solo verso l'interno della cellula, mediante l'assunzione di potassio dalle soluzioni extracellulari). Si attivano quando $V_m < E_K$ cioè in caso di iperpolarizzazione della membrana

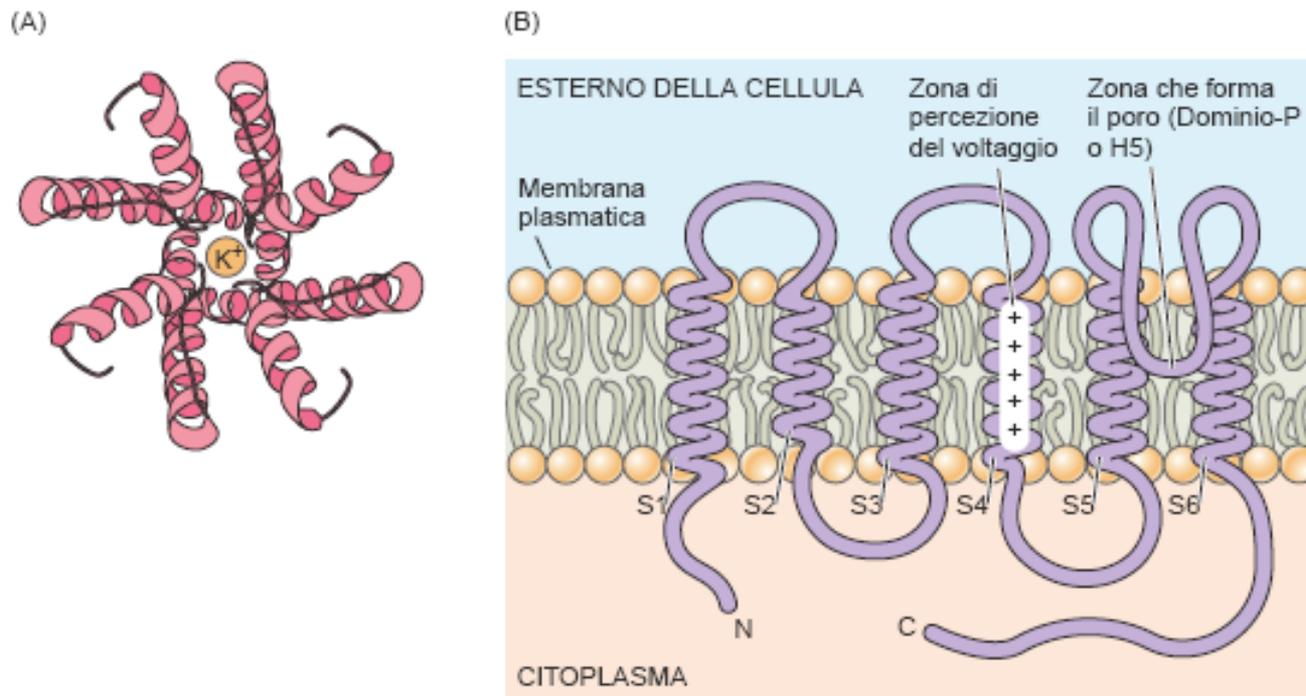
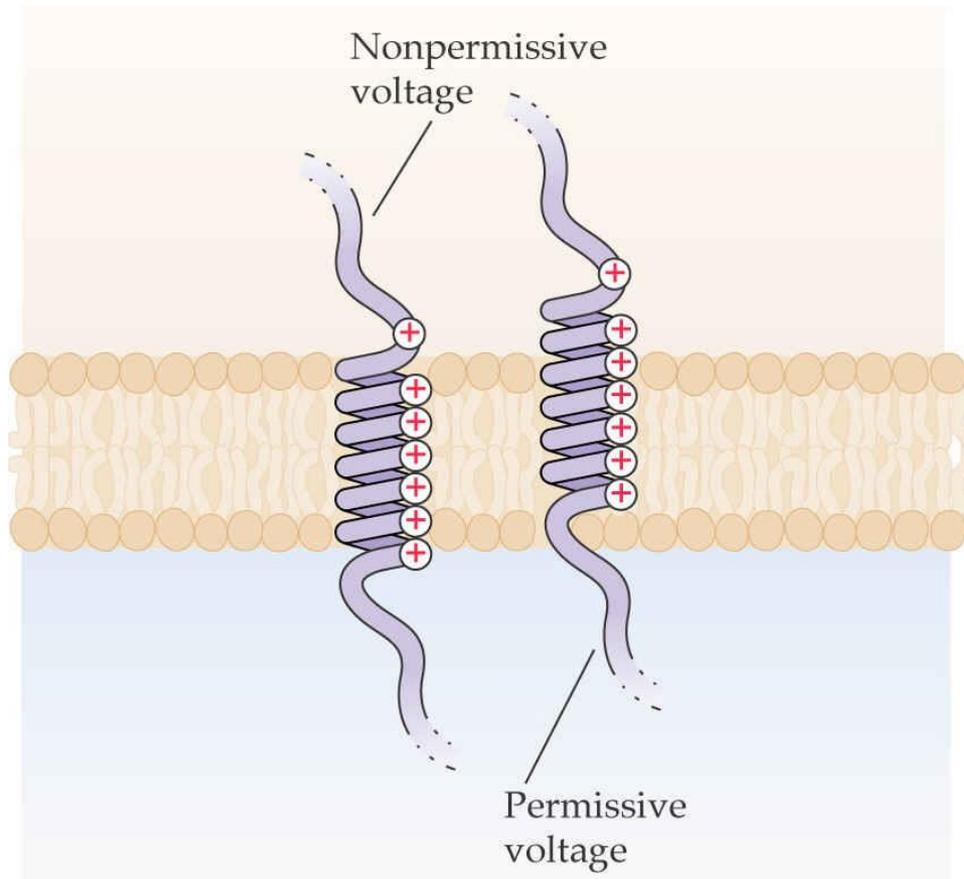


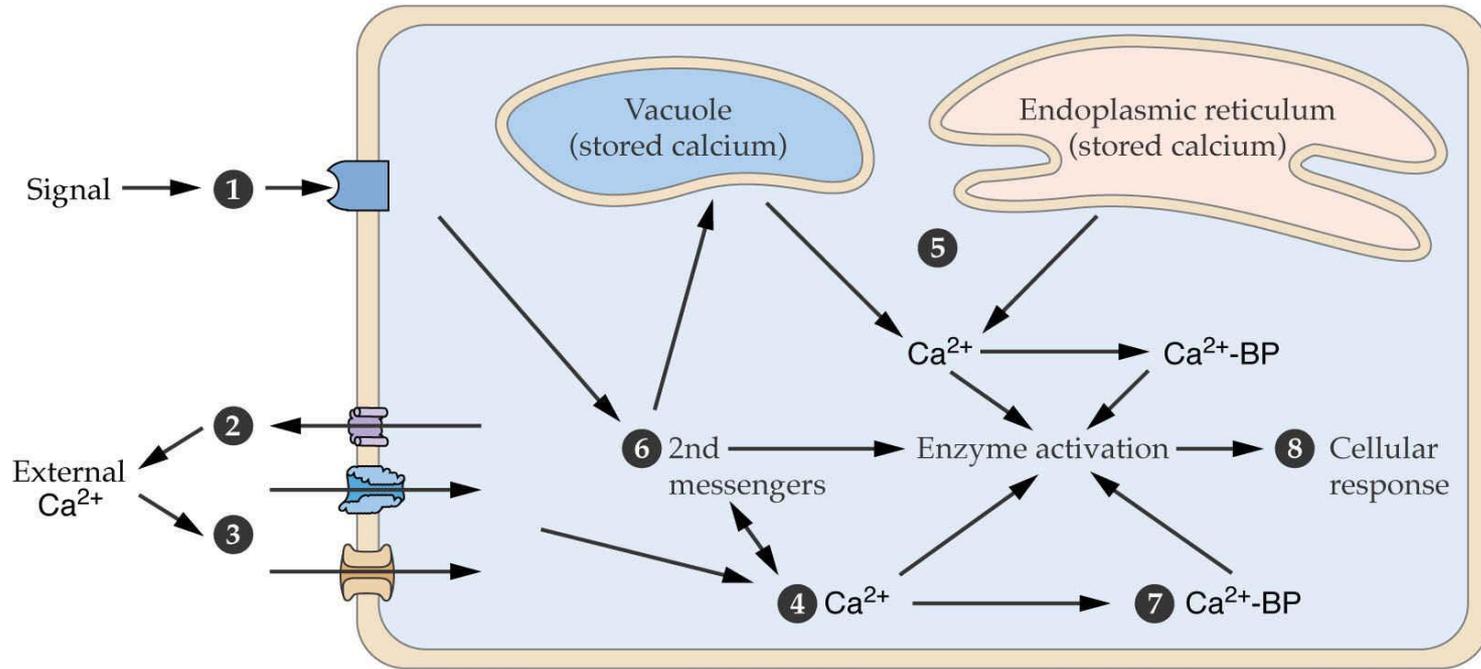
Figura 6.8 Modelli di canali del K^+ nelle piante. (A) Visione dall'alto di un canale, guardando attraverso il poro della proteina. Eliche che si espandono nella membrana di quattro subunità si uniscono come una tenda indiana capovolta con il poro al centro. Le regioni che formano il poro delle quattro subunità sono affondate nella membrana, con una regione digitiforme di specificità per il K^+ che si forma nella parte esterna (vicina) del poro (Da Leng *et al.* 2002). (B) Visione laterale del canale rettificante entrante del K^+ che mostra la catena polipeptidica di una subunità con sei eliche (S1-S6) che attraversano la membrana. La quarta elica contiene amminoacidi carichi positivamente e agisce da sensore di voltaggio. La zona che forma il poro è un anello fra le eliche 5 e 6 (Da Buchanan *et al.* 2000).



Sensore del voltaggio

La regione S4 presenta una sequenza regolare in cui ogni tre residui amminoacidici, il terzo è carico positivamente (lisina o arginina) e i gruppi carichi emergono dallo stesso lato dell'elica. La iperpolarizzazione induce un movimento torsionale di S4. Questa variazione conformazionale determina l'apertura del canale per gli ioni potassio.

Canali per Ca^{2+}

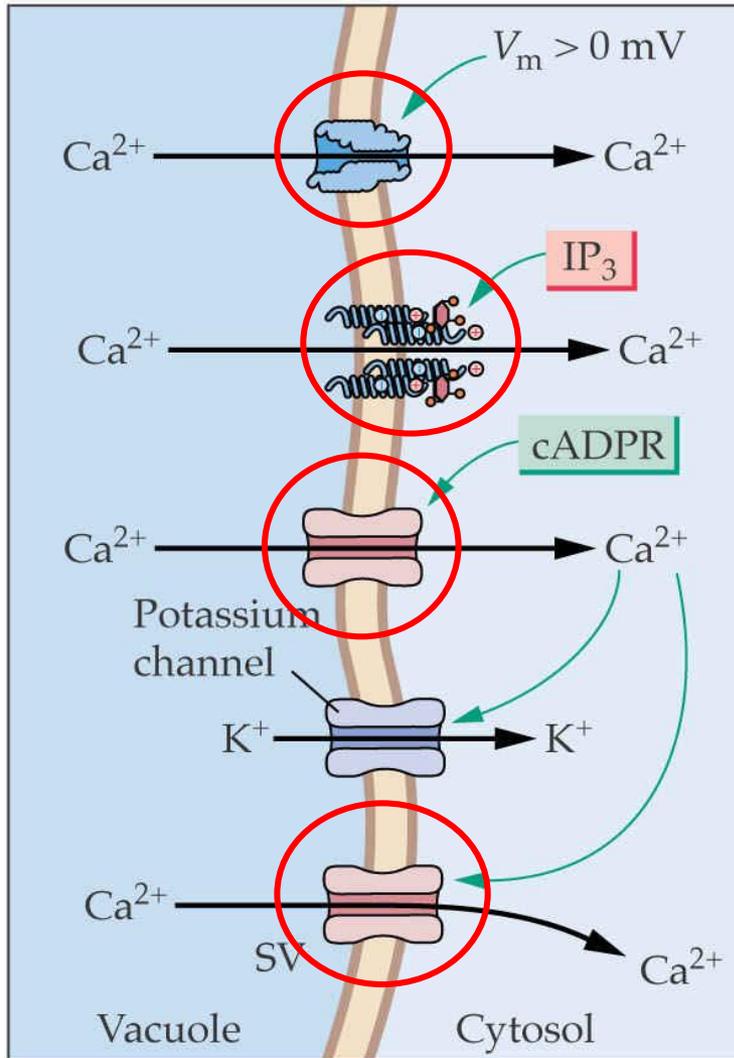


Segnale extracellulare (1), che può portare a variazioni dell'attività della pompa per il calcio (2) o apertura dei canali localizzati sul plasmalemma (3).

La variazione della concentrazione di calcio nel citosol (4) può risultare anche dall'apertura di canali presenti su endomembrane (5), attivati da secondi messaggeri (6).

Il calcio, eventualmente interagendo con specifiche proteine (7), scatena una o più vie di trasduzione del segnale che conducono alla risposta cellulare (8)

(A) The guard cell vacuolar membrane during ABA-induced stomatal closure



Canali per Ca²⁺ attivati da ligandi (inositolo 1,4,5-trifosfato, ADP-ribosio ciclico) e da voltaggio

Canali anionici

Ubiquitari su plasmalemma e tonoplasto

Nella membrane plasmatica di cellule radicali di *Arabidopsis*: efflusso (passivo) -> canali selettivi per Cl^- e canali permeabili a diversi altri anioni inorganici e organici

Efflusso di ioni inorganici nella rizosfera:

Omeostasi delle cariche elettriche nella cellula (controbilancia efflusso di H^+)

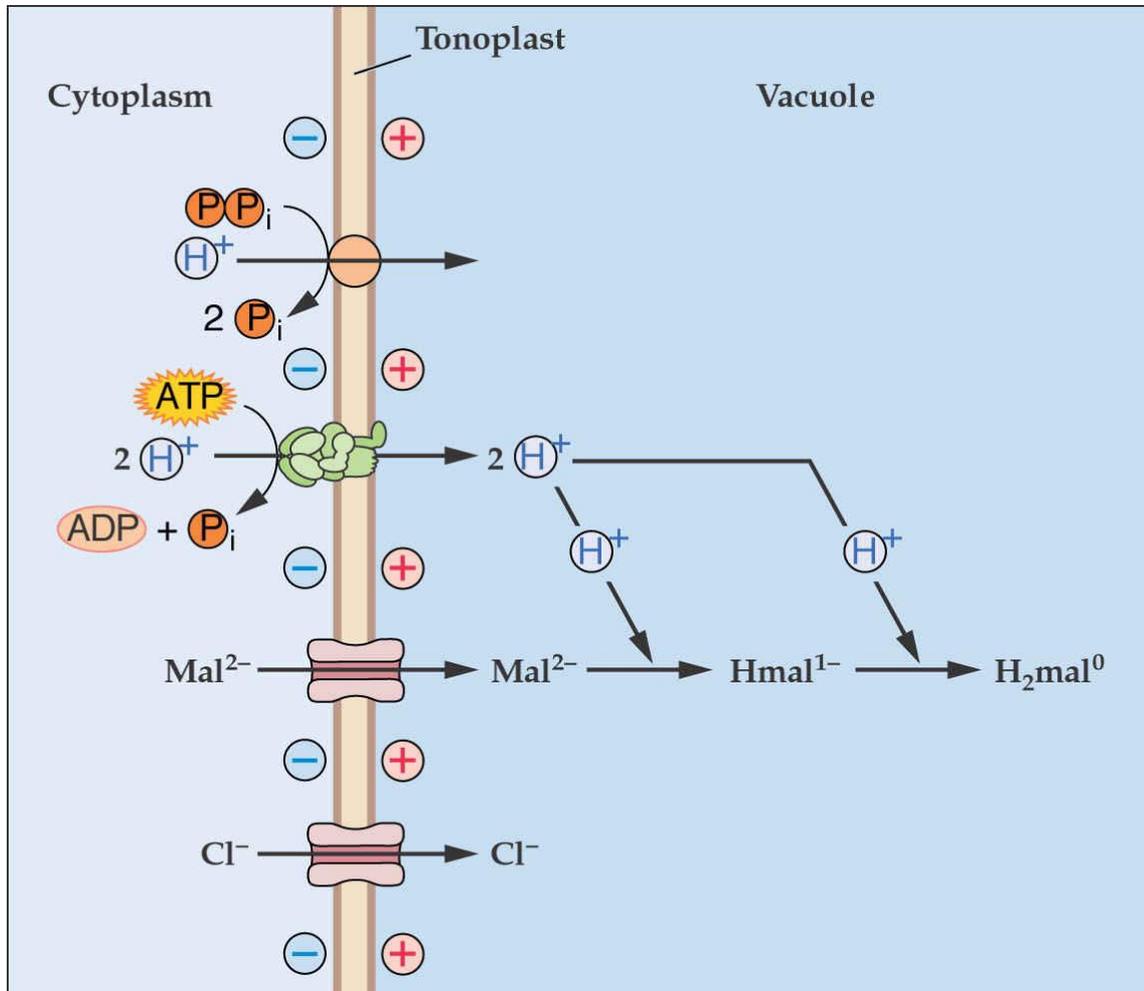
Ruolo nel controllo del potenziale elettrico di membrane plasmatica per l'acquisizione di nutrienti

Efflusso di Cl^- mediato da canali regolati da Ca^{2+} o dal voltaggio. Importante in condizioni di elevate salinità del suolo

Efflusso di NO_3^- mediato da canali: se eccedenza (squilibrio tra assorbimento e richiesta metabolica)

Efflusso di ioni organici (es. malato) nella rizosfera:

Chelano ioni metallici tossici (Al^{3+} , Cd^{2+} ..); acidificano la sz. del suolo



Canali anionici VMAL, specifici per malato²⁻