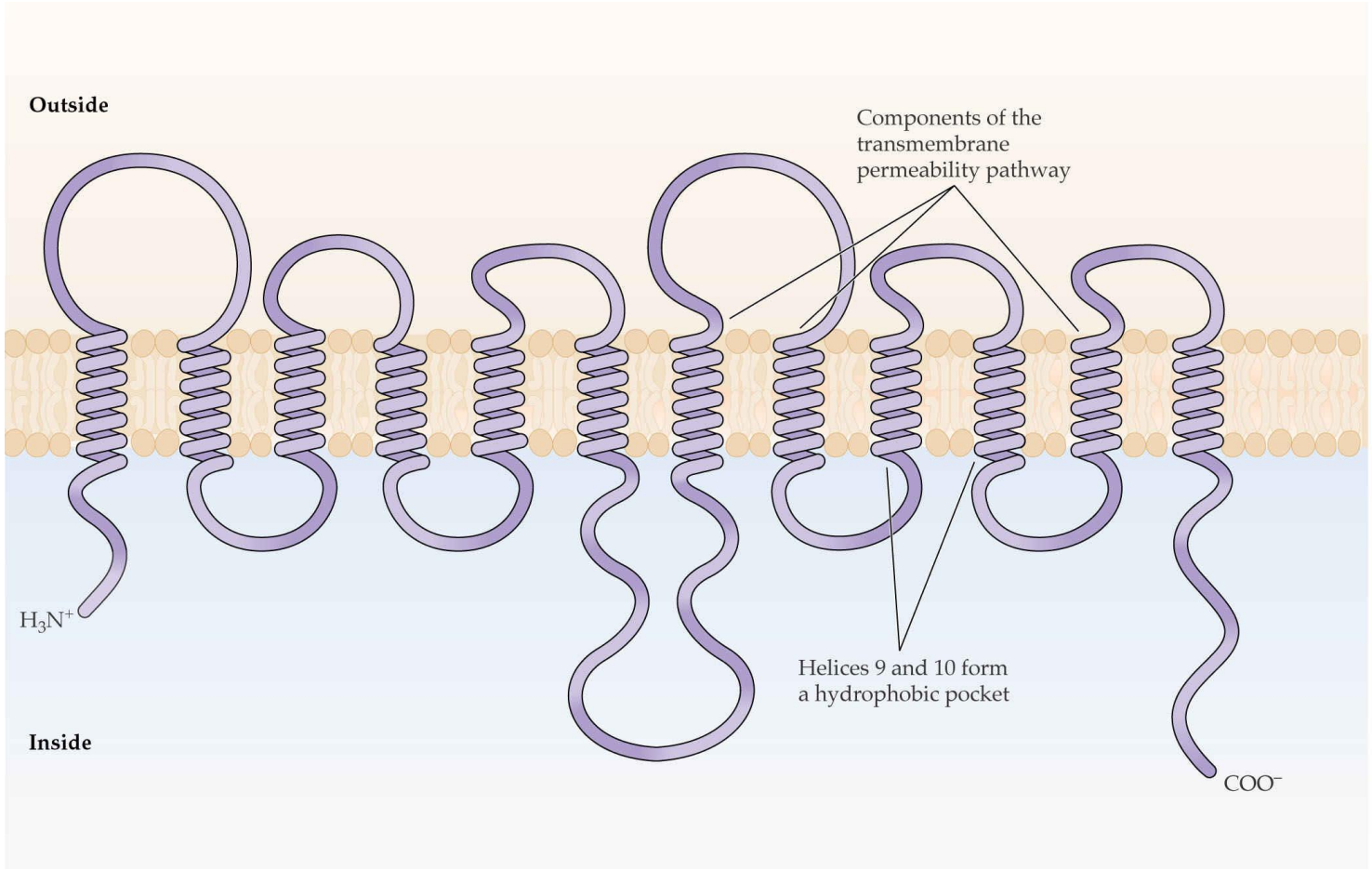
Traslocatori (o carriers)

Modello di struttura generale dei traslocatori

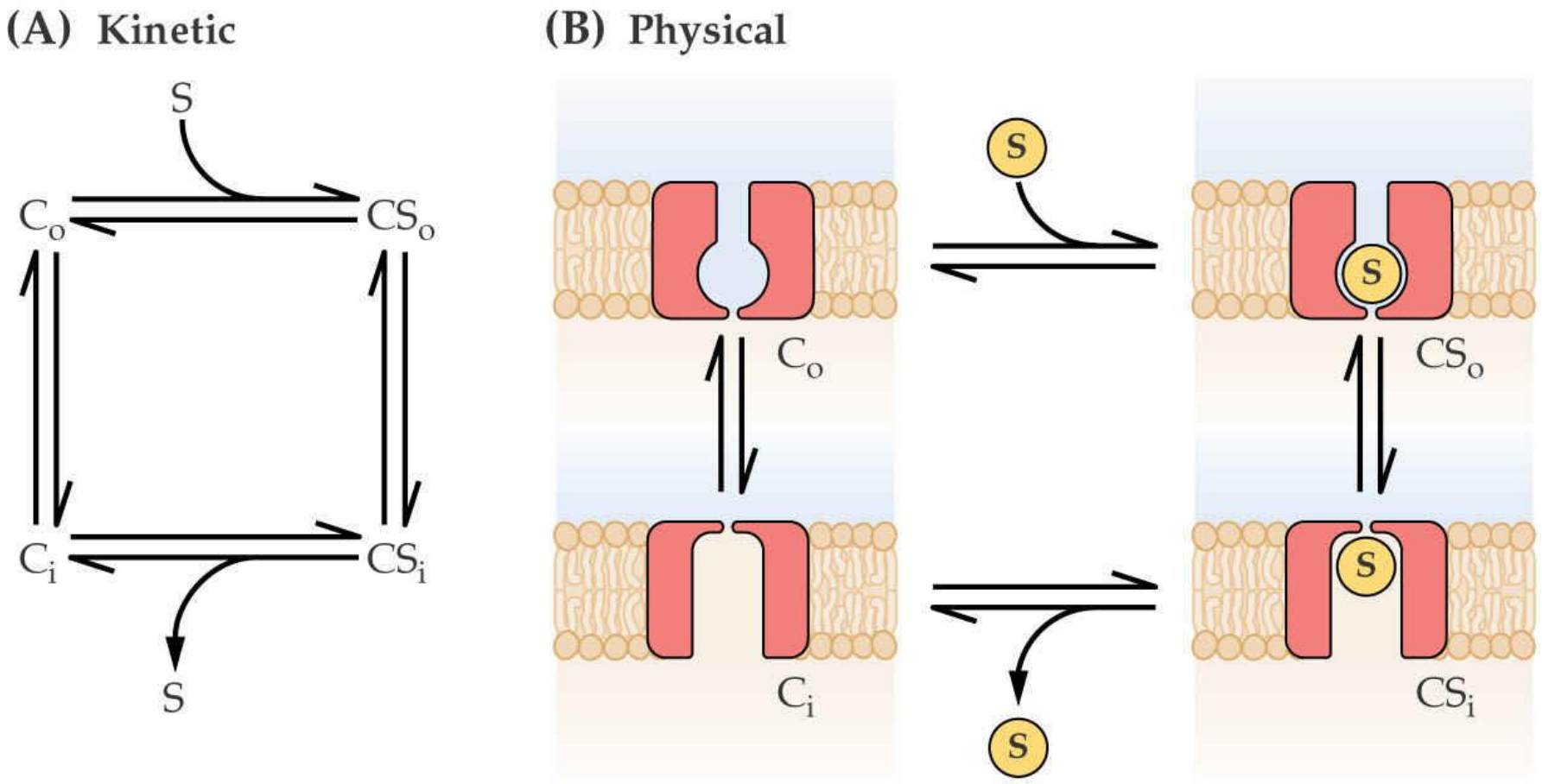


Proteine di 40-50 kDa, 12 regioni transmembrana, porzione idrofilica tra 6a e 7a

Membri della famiglia MFS (Major Facilitator Superfamily)

Controllo a livello trascrizionale e post-traduzionale

Diffusione facilitata: uniporto



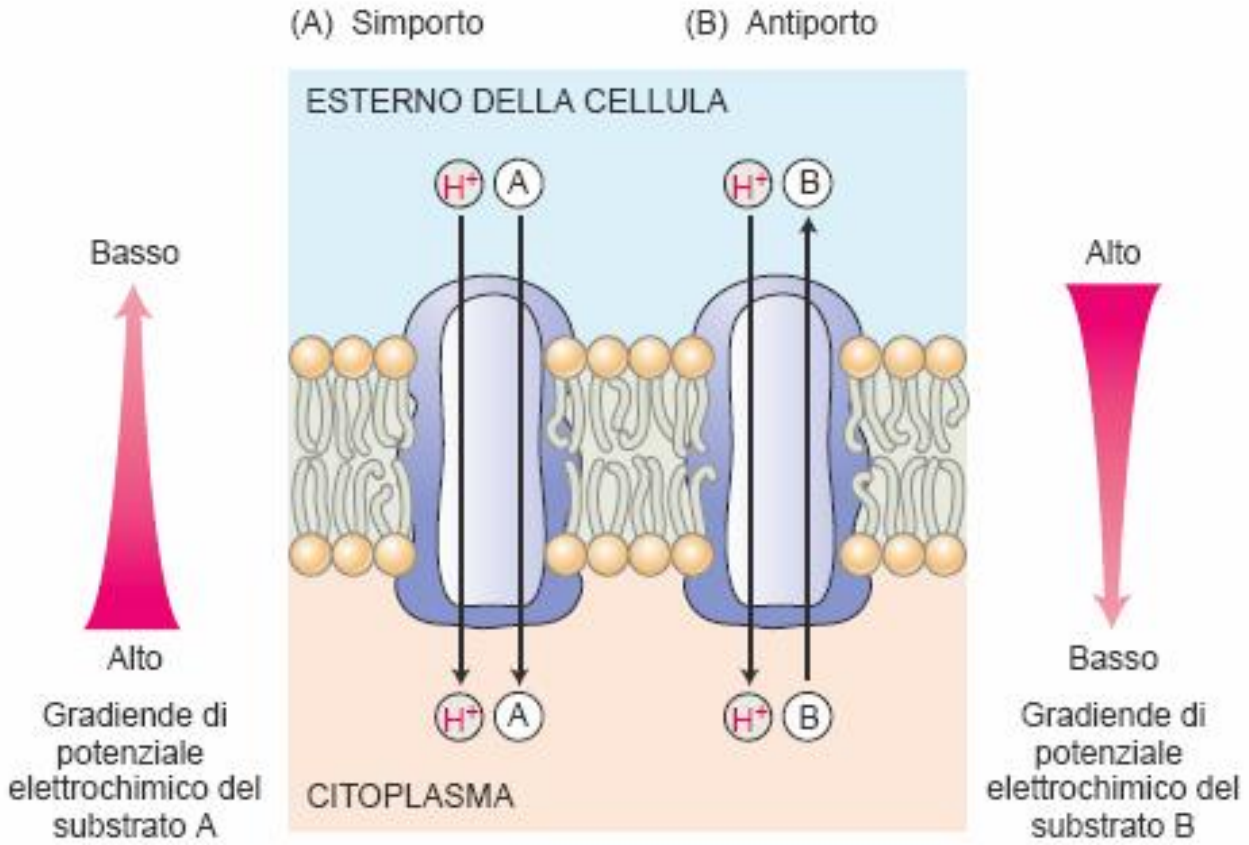
TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO

La forza motrice protonica (generata dalle pompe protoniche) può energizzare il trasporto di altre sostanze contro il gradiente elettrochimico: co-trasporto (accoppiamento del trasporto di 1 protone e di un'altra specie chimica)

SIMPORTO
protone e molecola X si muovono nello stesso verso

ANTIPORTO
protone e molecola X si muovono in versi opposti

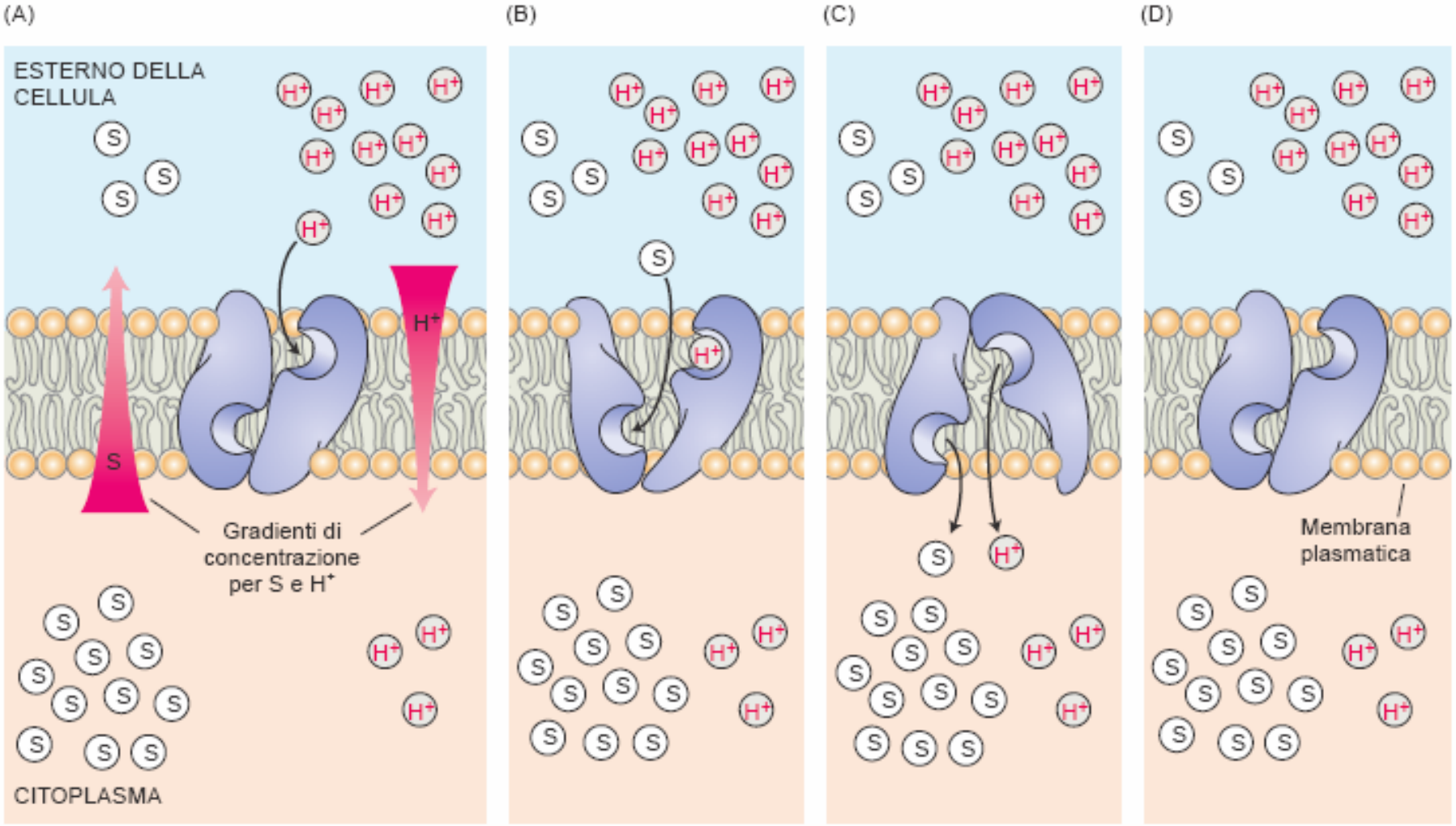
TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO



Anche <u>soluti privi di carica</u> possono essere trasportati (sarà quindi un trasporto <u>contro gradiente di concentrazione</u>)

Trasporto di tipo <u>elettrogenico</u> (variazione del gradiente elettrochimico di protoni, e.g. simporto H+/saccarosio) o <u>elettroneutro</u> (a seconda della carica del soluto e stechiometria soluto:protoni)

TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO



L'energia immagazzinata come forza motrice protonica viene utilizzata per trasportare S contro il suo gradiente di concentrazione

PRINCIPALI IONI E SOLUTI TRASPORTATI DA CARRIER

NO_3^-, PO_4^{3-} , SO_4^{2-}, zuccheri, amminoacidi, basi azotate

Nella membrana plasmatica: assorbimento di nutrienti minerali (anioni nitrato, fosfato, solfato), amminoacidi, peptidi, saccarosio;

Elevata selettività per il soluto

Antiportatori **Na^+/H^+** sia nel tonoplasto che nella membrana plasmatica:

- Estrusione di Na^+ attraverso la membrana plasmatica: SOS1 (Salt Overly Sensitive 1)
- Confinamento Na^+ nel vacuolo: antiportatore NHX1 (Na^+/H^+ exchanger 1)
  Sovraespressione del gene *AtNHX1* in *Arabidopsis,* ma anc*he* in pomodoro, mais, grano: maggiore tolleranza alla salinità

Canali ionici

CANALI IONICI

- Trasportano ioni secondo graiente elettrochimico
- Costituiti da proteine tetrameriche porose
- **Selettività ionica** dipendente dall'ampiezza del poro e da cariche di superficie all'interno del poro

Classificazione:

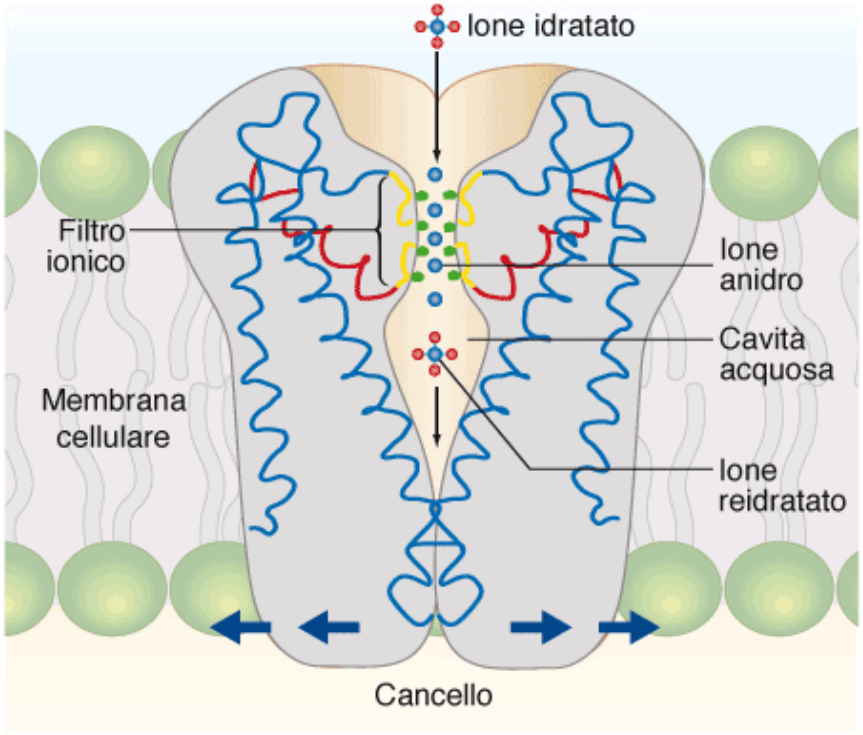
Canali selettivi cationici: selettivi per K^+, selettivi per Ca^{2+}, poco selettivi per altri cationi monovalenti o divalenti.

Canali selettivi anionici: selettivi per Cl^- o malato^{2-}, poco selettivi per altri anioni

Canali ionici non selettivi

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 carbonilico 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.

Canali per K^+: inward (IR) o outward (OR) rectifying →

Canali per Ca^{2+}: <u>solo</u> trasporto verso il citosol. →

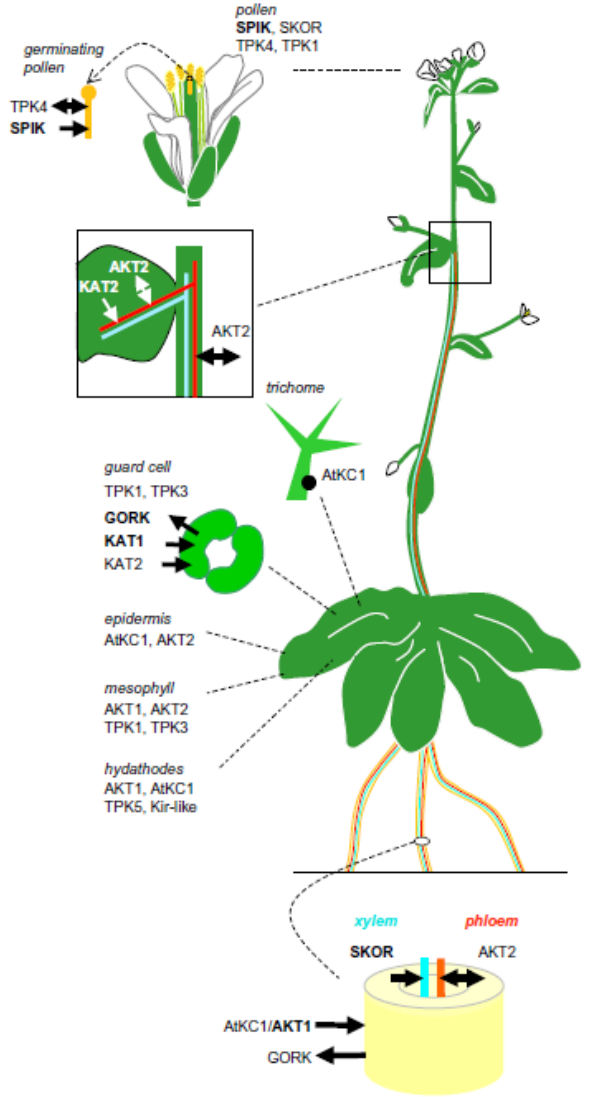
Verso l'apoplasto o verso altri compartimenti (es. ER) vi è solo trasporto attivo (pompe)

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

Type[a]	Activation	Permeability	Inhibitors[b]	Conductance[c]	Localization	Refs	Putative genes[d,e]
K^+	IR, K-indep	K^+	Cs^+, TEA	9 pS (150 K^+_o)	Guard cell	[60,61]	*KAT1*, *KAT2* (*AKT1*?)
	IR, K-indep	K^+	Ba^{2+}, TEA	NK	Pollen	[62]	*SPIK*
	IR	K^+	NK	NK	Root hair	[38]	*AKT1*
	IR	K^+	NK	16 pS (30 K^+_o)	Root cortex	[37]	*AKT1*
	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]	*GORK*
	OR	K^+	NK	20 pS (30/150 K^+)	Guard cell	[64]	*GORK*
	OR	K^+ (Ca^{2+}, not Cs^+)	Ca^{2+}, Ca^{2+}_{cyt}, alkaline pH_{cyt}	NK	Guard cell	[4]	*GORK*?
	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]	*GORK*
	Weakly IR	K^+ (not Na^+)	NK	44 pS (50/220 K^+)	Mesophyll	[7]	*AKT2*?
Cation	Depol-act	K^+, Na^+	NK	109 pS (50/250 K^+)	Mesophyll	[7]	*CNGC*? GLR?
Ca^{2+}	Depol-act	Ca^{2+}	NK	NK	Root	[15]	*CNGC*? *GLR*? *TPC1*?
	Hyp-act	Ca^{2+}, Ba^{2+} (not K^+)	NK	23 pS (50/50 Ba^{2+})	Mesophyll	[65]	*CNGC*? *GLR*? *TPC1*?
	Hyp-act	Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}	La^{3+}, verapamil	NK	Guard cell	[21]	*CNGC*? *GLR*? *TPC1*?
	Hyp-act	Ca^{2+}	La^{3+}, Al^{3+}	NK	Root apex	[19]	*CNGC*? *GLR*? *TPC1*?
	Hyp-act	Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+} (Mn^{2+}, not K^+)	La^{3+}, Al^{3+}, Gd^{3+} (not Cs^+)	22 pS (10 Ca^{2+}_o)	Root hair	[18]	*CNGC*? *GLR*? *TPC1*?

[a] Channels are sorted according to their ionic permeability: K^+ (K^+ channels), Cation (poorly selective cation channels) and Ca^{2+} (Ca^{2+} channels).
[b] Except where otherwise mentioned, inhibitors were added externally.
[c] Concentrations (external/internal) used for conductance determination are given in $mmol.l^{-1}$.
[d] For references concerning the putative genes encoding the cation channels identified *in vivo*, see Table 2 and Fig. 2.
[e] A 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 mediata 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 (tipo OR)

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

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

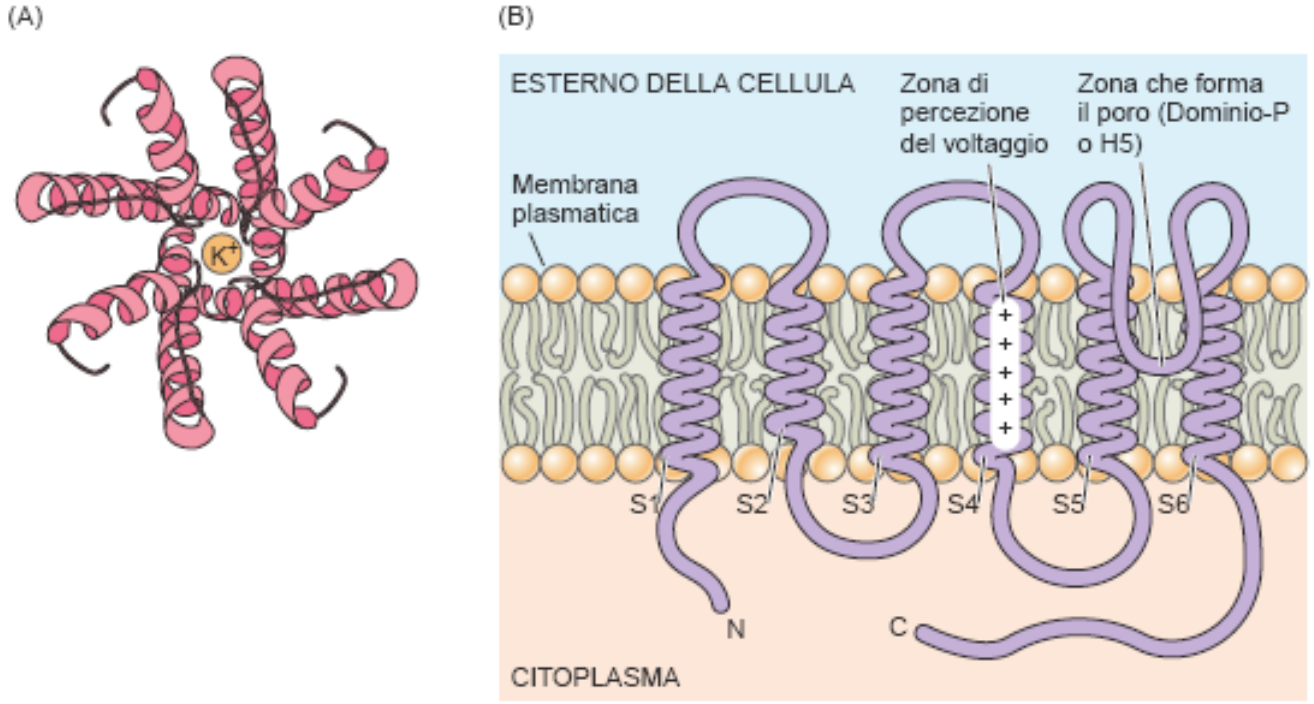
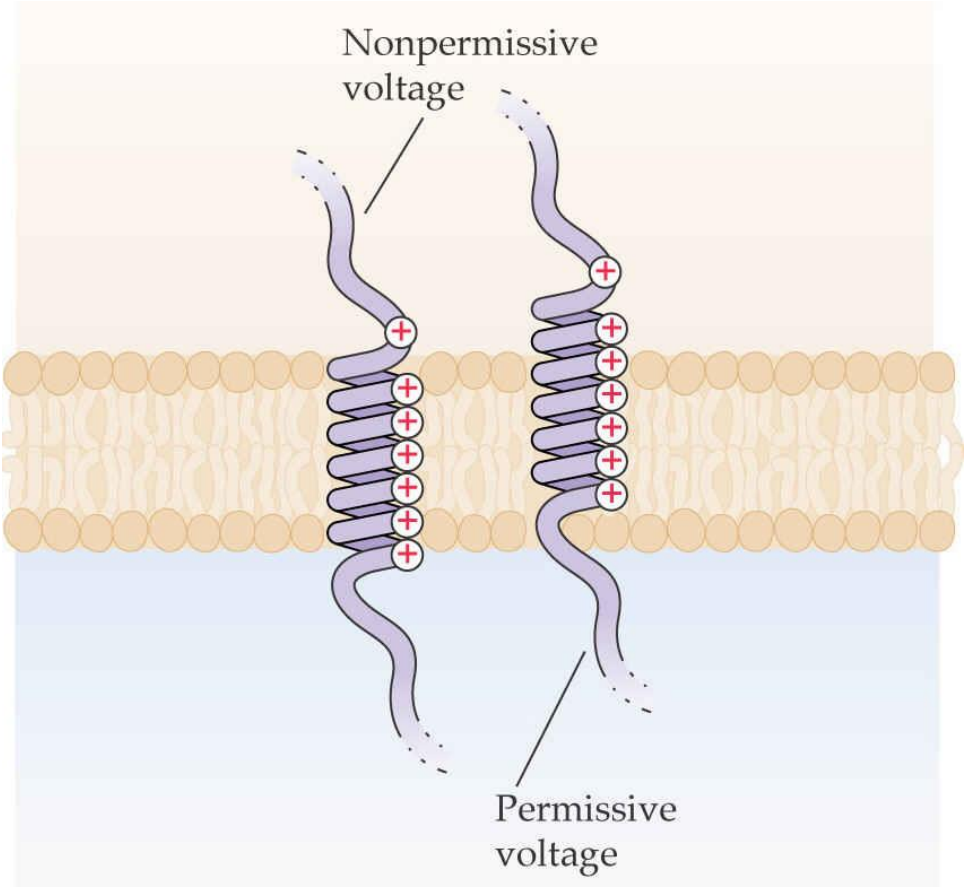


Figura 6.8 Modelli di canali del K^+ nelle piante. (A) Visione dall'alto di un canale, guardando attraverso il poro della proteina. Eliche che si espandono nella membrana di quattro subunità si uniscono come una tenda indiana capovolta con il poro al centro. Le regioni che formano il poro delle quattro 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 anionici

Ubiquitari su plasmalemma e tonoplasto

Nella membrane plasmatica di cellule radicali di *Arabidopsis*:
efflusso (passivo) -> canali selettivi per Cl^- + 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, citrato) nella rizosfera:

  - chelano ioni metallici tossici (Al^{3+}, Cd^{2+} ..) riducendone la biodisponibilità
  - acidificano la sz. del suolo

Canali anionici

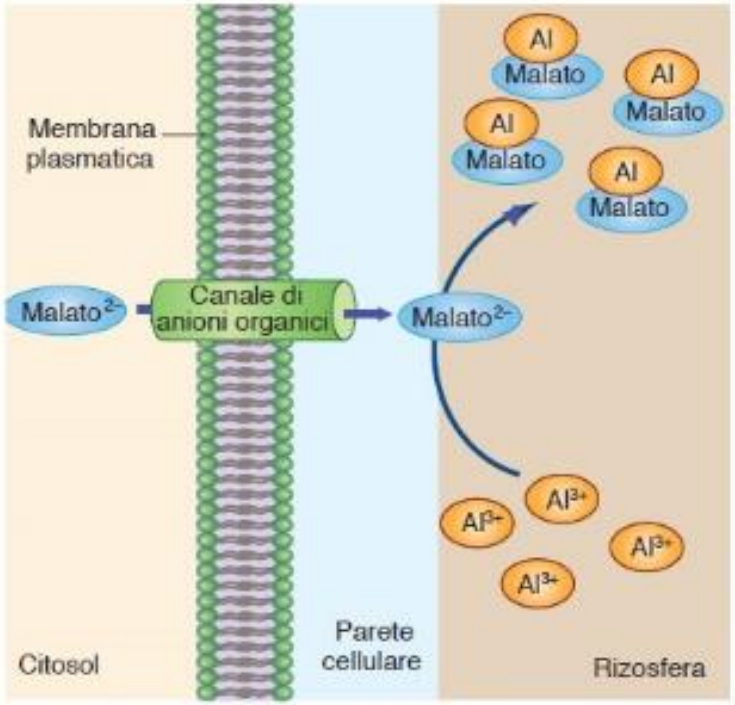
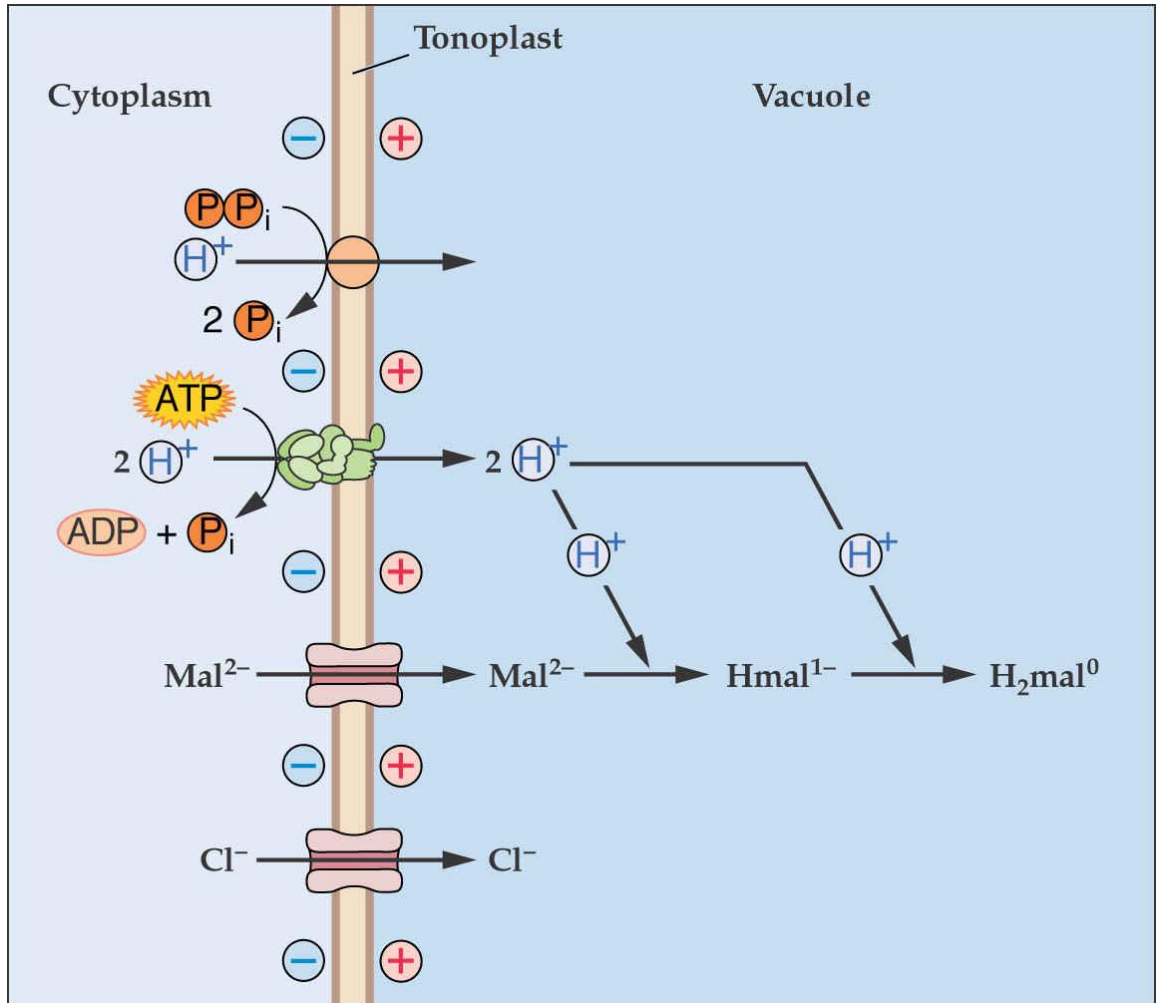


FIGURA 3.10 Modello schematico che mostra l'estrusione da una cellula radicale del malato (Mal^{2-}) come chelante per ridurre la biodisponibilità dello ione tossico alluminio (Al^{3+}) nella rizosfera.

N. Rascio
Elementi di Fisiologia Vegetale, III ed.
EdiSES Edizioni



Canali anionici VMAL (nel tonoplasto), specifici per malato^{2-}