

TRANSPORTE IÓNICO EN LA CÉLULA: ASPECTOS MOLECULARES Y METODOLÓGICOS

Profesorado

Francisco Fernández Belda (fbelda@um.es; 968-364763)

José A. Teruel Puche (teruel@um.es; 968-364772)

Fernando Soler Pardo (fsoler@um.es; 968-364771)

Créditos y distribución: 6 créditos ECTS (150 horas)

33 horas teóricas 12 horas prácticas 105 horas de trabajo personal

Objetivos pedagógicos

Proporcionar una visión estructural y funcional del transporte iónico celular. Conocer los principios básicos del transporte. Analizar estrategias para aislar y caracterizar transportadores de membrana. Estudiar técnicas experimentales para medir el transporte iónico. Conocer la estructura y función de algunos transportadores y su relación con procesos patológicos.

Programa Teórico

1. *Transporte iónico a través de membranas*

Membranas y transportadores. Ionóforos como modelo de transporte. Transportador de glucosa: características, mecanismo, isoformas. Mecanismos de transporte. Energética del transporte. Proteínas adaptadoras. Regulación de transportadores. Estrategias para identificar y caracterizar un transportador de membrana. Criterios cinéticos. Criterios de inhibición. Aislamiento de proteínas transportadoras. Normas sobre el uso de detergentes.

2. *Cinética del transporte en biomembranas*

Procedimientos experimentales. Intercambio en equilibrio. Procedimiento trans-cero. Procedimiento trans-infinito. Procedimiento cis-infinito. Flujo en dirección contraria. Modelos de transporte. Utilización de vesículas de membrana para estudios de cinética del transporte.

3. *Técnicas para el estudio de canales iónicos*

Utilización de radioisótopos. Uso de electrodos de iones. Determinación del potencial de membrana con sondas espectroscópicas. Medidas de diferencia de potencial: pinzamiento de voltaje. Técnicas de cinética rápida. Flow-quench. Stopped-flow. Filtración rápida.

4. *La bomba de sodio y potasio*

Introducción. Familia de ATPasas tipo P. Estructura general: la subunidad α y la subunidad β . Transporte activo e hidrólisis de ATP. Transducción de energía y mecanismo del transporte activo. Acción de digitalis y su centro de unión. Estructura de alta resolución. Síntesis de la Bomba: ensamblaje y translocación. Regulación: exógena y endógena. Función: mantenimiento de la osmolaridad y del volumen celular; transporte de nutrientes; potencial eléctrico de membrana; transducción de señales. Oligomerización.

5. *Canales de potasio*

Introducción. Clasificación: canales 2TM/1P; canales 6TM/1P; canales 7TM/1P; canales 4TM/2P; canales 8TM/2P. Relación estructura función: estructura general; especificidad iónica; velocidad de transporte; apertura del canal; inactivación. Bloqueadores.

6. *Acuaporinas*

Introducción. Función. Distribución. Estructura: la secuencia NPA; el filtro de selectividad. Acuaporinas en mamíferos. Acuaporinas en plantas. Regulación. Patologías relacionadas. Evolución por duplicación génica.

7. *Ca²⁺-ATPasa de retículo sarcoplásmico*

SERCA y regulación intracelular de Ca²⁺. Descubrimiento. Características funcionales. Ciclo de reacción y transporte. Intermedio fosforilado. Transporte de Ca²⁺. Hidrólisis de ATP. Estructura secundaria. Estructuras 3D.

8. Familia de transportadores ABC

Introducción. Clasificación. Estructura: estructura general; dominio de unión de nucleótidos; dominio transmembrana; transmisión de cambios conformacionales entre dominios. Ciclo de transporte: modelo de acceso alternativo; mecanismo de hidrólisis de ATP.

9. Canal Stim/Orai

Ruta del IP_3 y entrada capacitativa de Ca^{2+} . Descubrimiento. Hipótesis del mecanismo. Características del canal de Ca^{2+} que depende del almacenamiento. Proteína Stim. Proteína Orai. Funcionamiento del canal Stim/Orai.

10. Propiedades eléctricas de una célula excitable modelo (FSP)

Estudio del potencial de acción cardíaco: simulaciones en un cardiomiocito de ventrículo de rata. Efecto de distintos transportadores sobre el potencial de acción. Efecto de concentraciones intra y extracelulares de Na^+ , K^+ , Cl^- y Ca^{2+} sobre corrientes iónicas. Efecto de bloqueadores de canales sobre el potencial de acción. Acoplamiento excitación-contracción: papel de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, canal intracelular de Ca^{2+} y Ca^{2+} -ATPasa.

Programa Práctico

11. Propiedades eléctricas de una célula excitable modelo (FSP)

Estudio del potencial de acción cardíaco: simulaciones en un cardiomiocito de ventrículo de rata. Efecto de distintos transportadores sobre el potencial de acción. Efecto de concentraciones intra y extracelulares de Na^+ , K^+ , Cl^- y Ca^{2+} sobre corrientes iónicas. Efecto de bloqueadores de canales sobre el potencial de acción. Acoplamiento excitación-contracción: papel de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, canal intracelular de Ca^{2+} y Ca^{2+} -ATPasa.

12. Actividad de la bomba de Ca^{2+} de retículo sarcoplásmico

Efecto activador de Ca^{2+} sobre la velocidad de hidrólisis de ATP. Activación por ATP: cinética. Inhibición por concentraciones elevadas de Ca^{2+} .

Trabajo Personal del Alumno

Preparación de seminarios a impartir en clase, elaboración de resúmenes, y preparación y estudio del programa para la evaluación global.

Bibliografía

- Biomembranes Transport. Lon J. Van Winkle (1995). Academic Press.
- Ionic Channels of Excitable Membranes 2a ed. B. Hille (1992), Sinauer.
- Electrogenic Ion Pumps. P. Läuger (1991). Sinauer.
- Channels, Carriers and Pumps: An Introduction to Membrane Transport. W.D. Stein (1990). Academic Press.
- Ion Channels and Disease. F.M. Ashcroft (2000). Academic Press.
- Potassium channel structure: Domain by domain. (2000) Biggin, P.C., Roosild, T. y Choe, S. Curr. Opin. Struct. Biol. 10, 456-461.
- Principles of Selective Ion Transport in Channels and Pumps (2005) Gouaux, E. y McKinnon, R. Science 310, 1461-1465.
- Structural changes in the calcium pump accompanying the dissociation of calcium (2002) Toyoshima, C. y Nomura, H. Nature 418, 605-611.
- Crystal structure of the calcium pump with a bound ATP analogue. (2004) Toyoshima, C. y Mizutani, T. Nature 430, 529-535.

Metodología

El curso combina de forma equilibrada la exposición de la materia en forma de lección magistral por parte del profesor, discusiones de los temas tratados, seminarios impartidos por los alumnos, sesiones experimentales de laboratorio y simulación de transporte iónico en un modelo de ordenador.

Criterios de evaluación

Redacción en el aula de "título y resumen" de trabajos de investigación seleccionados de la bibliografía (65%-70%).

Preparación y exposición de un seminario de investigación relacionado con la materia (20%-25%).

Aprovechamiento de las sesiones de prácticas (10%-15%).

Nota: Examen escrito de la materia caso de que las faltas de asistencia superen el 20%.