

Transporte iónico en la célula: aspectos moleculares y metodológicos

Profesorado:

- **Responsable:** Francisco Fernández Belda
- **Profesor:** José A. Teruel Puche
- **Profesor:** Fernando Soler Pardo
- **Profesora:** M^a Senena Corbalán García

Programa:

Parte teórica

I. Transporte iónico a través de membranas.

Introducción. Transporte de tipo poro. Transporte de tipo portador. Características de algunos transportadores tipo. Estrategias para identificar, aislar y caracterizar un transportador de membrana. Criterios cinéticos. Uso de inhibidores. Aislamiento de proteínas transportadoras.

II. 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.

III. Métodos para medir transporte de iones.

Indicadores metalocrómicos. Consideraciones prácticas. Medidas de H⁺, Mg²⁺ y Ca²⁺. Indicadores fluorescentes: Quin-2, Fura-2, Indo-1.

IV. 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.

V. Ca²⁺ intracelular y sistemas de detección.

Introducción. Papel del Ca²⁺ en la señalización celular: Células no excitables. Células excitables. Tipos de oscilaciones de Ca²⁺ intracelular. Métodos de visualización del Ca²⁺ intracelular. (1) Fotoproteínas: Definición, estructura de acuorina, método para medir la concentración de proteína activa en la célula, localización de acuorina en distintos compartimentos intracelulares y modificación de su afinidad por el Ca²⁺ mediante el uso de técnicas de biología molecular. (2) Indicadores fluorescentes: detección intracelular. Ejemplo práctico: detección simultánea de concentración de Ca²⁺ intracelular y localización de proteína quinasa C. (3) Proteínas fluorescentes. Aplicación de la transferencia de energía de fluorescencia (FRET): FRET entre derivados de proteína verde fluorescente (GFP) fusionados a calmodulina (camaleones) y FRET entre derivados de acuorina y GFP.

VI. Estudio de transportadores modelo

Canales de K⁺ y arritmias cardíacas. Receptor de rianodina e hipertermia maligna. Canal de Cl⁻ y fibrosis quística. Glicoproteína-P (transportador ABC) y resistencia a drogas. Poro de transición de permeabilidad mitocondrial y apoptosis. Acuaporinas. Receptores ionotrópicos P2X. Bomba de Ca²⁺ de retículo sarcoplásmico y fallo cardíaco.

Parte práctica

Actividad de la bomba de Ca²⁺ de retículo sarcoplásmico

Efecto activador de Ca²⁺ sobre la velocidad de hidrólisis de ATP. Activación por ATP: cinética. Inhibición por concentraciones elevadas de Ca²⁺.

Estudio de las propiedades eléctricas de la célula: el cardiomiocito de ventrículo de rata como modelo. Efecto de las concentraciones intra y extracelulares de Na⁺, K⁺, Cl⁻ y Ca²⁺ sobre las distintas corrientes iónicas y participación de los distintos transportadores. Estudio de la contribución del retículo sarcoplásmico como almacén intracelular de Ca²⁺. El modelo describe con precisión el efecto de los distintos iones sobre el potencial de acción cardíaco.

Objetivos pedagógicos:

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

Bibliografía:

“Biomembrane Transport”, Lon J. Van Winkle, Academic Press (1999); “Cellular Calcium, A Practical Approach”, edit. J. G. McCormack y P.H. Cobbold, IRL Press (1991); Trabajos seleccionados de revisión.

Metodología:

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

Criterios de evaluación:

Aprovechamiento del curso teórico-práctico mediante prueba escrita y exposición de un seminario de investigación relacionado con la materia