TRANSPORTE ACTIVO SENSIBLE A CHOQUE OSMOTICO FRIO

1.- Este sistema de transporte ocurre en bacterias gramnegativas, se denomina así porque la toma de solutos se abate si las células se someten al choque osmótico frío de acuerdo a la técnica de Neu y Heppel. La pérdida de la actividad de toma se debe a la pérdida de **proteínas de unión del sustrato** que normalmente se encuentran retenidas dentro del espacio periplásmico.

2.-Este sistema depende de aporte energético, utiliza la energía liberada por la hidrólisis de un compuesto rico en energía como el **ACETIL-FOSFATO.**

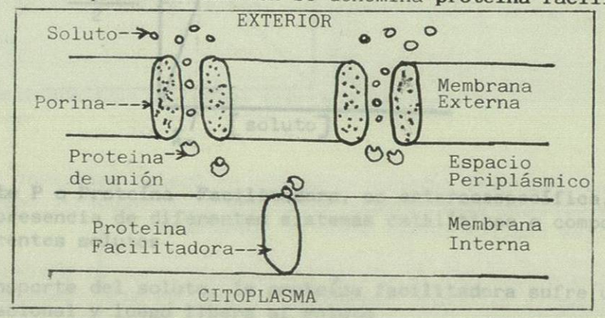
3.- Es un sistema de transporte capaz de acumular solutos intracelularmente.

4.- Este tipo de proceso de transporte ha sido descrito en E. coli y Salmonella typhimurium, para la toma de **carbohidrtos y aminoácidos.**

5.- En E. coli la **proteína de union de maltosa** es una cadena polipeptídica con un Peso molecular de 37,000 daltones, y comprende el 0.3% de la proteína total en células inducidas. Es codificada por el gene **mal E.**

6.- Otro componente del sistema de toma para maltosa es una **PORINA** específica para maltosa, localizada en la membrana externa, esta porina es codificada por el **gene lamB.**

7.- La membrana citoplásmica posee otro de los componentes de este sistema de transporte que es la **proteína con actividad de transporte de maltosa**, cuyo peso molecular es de 50,000 daltones y es codificada por el **gene mal F.** Esta proteína también se denomina **proteína facilitadora.**



Esquema que representa el funcionamiento del transporte activo sensible al choque osmótico frio

8.-Todos los genes que intervienen en el sistema de transporte de maltosa y maltodextrinas más largas, se localizan en el minuto 90 del genóforo de E. coli organizados en un operon llamado **malB.**

9.- En este sistema de transporte, el soluto penetra a través de canales específicos formados por proteínas de la membrana externa llamadas porinas, cuando el soluto alcanza el espacio periplásmico interactua con proteínas de unión específicas presentes en ese sitio. El complejo Proteína de Union-Ligando interactua con **Proteínas de Transporte** o Proteínas facilitadoras de la membrana plasmática, y esta interacción conduce a la translocación del sustrato hacia el citosol.

10.- En Pseudomonas aeruginosa la proteína de unión para aminoácidos ramificados como leucina, isoleucina y valina, se ha purificado a partir de un fluído de choque osmótico frío; es una proteína monomérica con un peso molecular de 43,000 daltones, su punto isoelectríco es 4.1, contiene principalmente aspártico, glutámico, glicina y alanina 1 molecula de triptofano y 1 cisteína por cada proteína, pero no contiene residuos de azucares.

TABLA 1. Sistema de transporte activo de carbohidratos sensibles a choque osmotico frío en E. coli

SISTEMA	SUSTRATO(S)	Locus Genético	Posición en el mama (min)	PM de la proteina de unión
ARABINOSA	L-arabinosa , D-Fucosa, D-Galactosa, B-metil-L-arabinosido, D-Xilosa, B-metil-D-galactosido Lactosa	**araE**	61	38,000
MALTOSA	Maltosa, maltotriosa, Maltodextrinas superiores	**mal B**	90	37,000
METIL-GALACTOSA	D-Glucosa,D-galactosa, -Glicerol-galactósido, L-Arabinosa, 6-desoxi-D-Glucosa, D-Fucosa, -metil-galactosido, Xilosa	**mlg A** **mlg B** **mlg C**	45	35,000
RIBOSA	Ribosa, Ribulosa	**rbsP**	83	30,000
XILOSA	Xilosa	**xylT**	78	No Determinado

SISTEMA DE LA FOSFOTRANSFERASA (PTS)
TRANSLOCACION DE GRUPOS

1.- Fue descubierto por Saul Roseman

2.- Este sistema de transporte bacteriano cataliza la transferencia del grupo fosforil del **fosfoenolpiruvato** hasta una variedad de **azúcares, purinas, pirimidinas o ácidos grasos**, concomitantemente con la translocación de estos sustratos a través de la membrana.

3.- Es un proceso estereoespecífico

4.- Requiere de energía, la cual proviene de la hidrólisis del **fosfoenolpiruvato.**

5.- El sustrato es fosforilado durante el proceso de transporte. La mayor parte de los azúcares se transportan al interior como esteres-6-fosfato, la unica excepción es la fructosa que se transporta en forma de fructosa-1-fosfato.

6.- La fosforilación y translocación del sustrato requiere de la participación de cuatro proteínas componentes de este sistema de transporte usadas indistintamente para todos los azúcares:

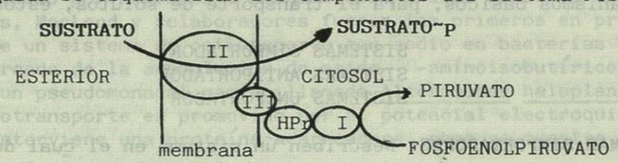
a)**PROTEINA HPr**: Es una proteína termoestable, resiste los 100°C, su peso molecular es bajo, en E. coli es de 9,000 y en Salmonella es de 9,500 daltones.
Es una proteína citosólica, constitutiva.
Posee un residuo de histidina en su sitio activo
Es codificada por el gene **ptsH**
Es u-na proteína fosfoacarreadora.

b)**ENZIMA I** : Es una proteína citosólica
Esta enzima cataliza la transferencia del fosfato del Fosfoenopiruvato hasta el N-1 o N-3 del residuos de histidina en la Proteína HPR.
En E. coli y S. typhimurium esta proteína tiene un peso molecular de 70,000, y en Staphylococcus aureus de 80,000 daltones.
Su pH optimo es 7.5, y es activada por Mg^{2+}, Mn^{2+} o Co^{2+}
Es codificada por el gene **ptsI**
Es una proteína constitutiva

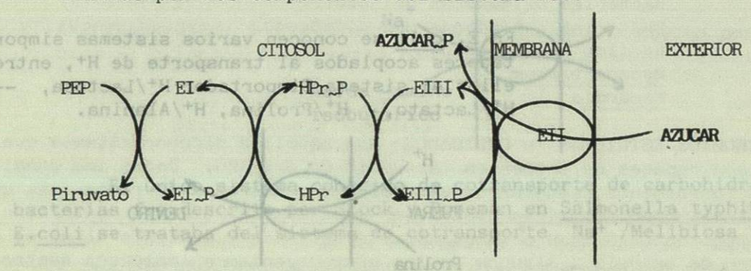
c)**ENZIMA II** : Esta proteína cataliza la transferencias del fosfato desde la proteína HPr hasta el AZUCAR que está siendo transportado, resultando en la formación del AZUCAR-6-FOSFATO.
Es una proteína integral de la membrana citoplásmica
Es **específica del sustrato transportado**
Es **inducible**
En E. coli esta proteína consiste de 2 subunidades por lo menos, una denominada EII-A específica para el azúcar, y que requiere de fosfatidil-glicerol, y la EII-B, con un peso molecular de 36,000 daltones que es un componente general para el transporte de glu, fru y man.

d)**ENZIMA III** : Esta es una proteína periférica de la membrana citoplásmica
Tiene un peso molecular de 20,000 daltones
Es **específica del azucar**
Es codificada por el gene **crr A**

7.- **Enseguida** se esquematizan los componentes del sistema PTS



8.-En la siguiente figura mostramos las reacciones interdependientes catalizadas por los componentes del sistema PTS:



9.- Las reacciones parciales catalizadas por cada uno de los componentes del sistema aparecen a continuación:

Fosfoenolpiruvato + Enzima I ----------> Fosfo-I + Piruvato

Fosfo-I + HPr ----------> Enzima I + Fosfo-HPr

Fosfo-HPr + Enzima III ó II-A ----------> Fosfo III + HPr
(Fosfo II-A)

Fosfo-III o + AZUCAR ----------> AZUCAR-P + Enzima III o
Fosfo-II-A Enzima II-A

FOSFOENOLPIRUVATO + AZUCAR ---PTS---> AZUCAR-FOSFATO + PIRUVATO

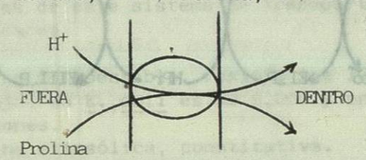
TRANSPORTE ACTIVO ENLAZADO AL TRANSPORTE DE PROTONES

Los sistemas de transporte que están acoplados a la energía proporcionada por el gradiente electroquímico membranal, pueden utilizar uno de tres mecanismos básicos, para el transporte de solutos, estos son:

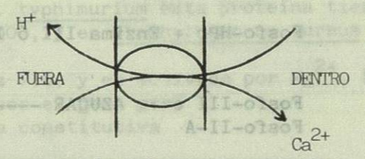
SISTEMAS SIMPORTADOR
SISTEMAS ANTIPORTADOR
SISTEMAS UNIPORTADOR

a) **SISTEMAS SIMPORTADORES:** Describen un sistema en el cual dos sustratos son transportados en la misma dirección por un acarreador presente en la membrana plasmática, pero uno de los solutos es el H^+.

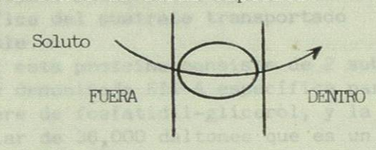
En E. coli se conocen varios sistemas simportadores acoplados al transporte de H^+, entre ellos el sistema Simportador H^+/Lactosa, H^+/Lactato, H^+/Prolina, H^+/Alanina.



b) **SISTEMAS ANTIPORTADORES:** Son aquellos sistemas en los cuales dos sustratos son translocados por un componente membranal en direcciones opuestas. En E. coli, Halobacterium halobium y S. typhimurium se han descrito sistemas antiportadores Na^+/H^+. En E. coli y Azotobacter vinelandii se ha descrito un sistema antiportador Ca^{2+}/H^+

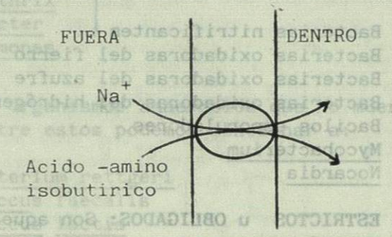


c) **SISTEMAS UNIPORTADORES:** Un proceso en el cual un soluto se mueve a través de la membrana energizada, pero su transporte no está acoplado fuertemente al movimiento de otras especies.



COTRANSPORTE CON SODIO

En las células eucarióticas, la existencia de sistemas de cotransporte de sodio por azúcares o aminoacidos ha sido conocida desde hace muchos años, MacLeod y colaboradores fueron los primeros en proporcionar evidencias de un sistema de cotransporte con sodio en bacterias que era la dependencia marcada de la acumulación de ácido-aminoisobutírico por iones sodio en un pseudomonadal marino llamado Alteromonas haloplanktis. Este sistema de cotransporte es promovido por el potencial electroquimico de la membrana e interviene una proteína acarreadora, como se muestra en la figura:



El único sistema conocido de cotransporte de carbohidratos/sodio en bacterias fue descrito por Stock y Roseman en Salmonella typhimurium y E.coli se trataba del sistema de cotransporte Na^+ /Melibiosa .

El sodio maneja el transporte de aminoácidos en vesículas les de Halobacterium halobium, y tambien se ha descubierto el transporte manejado por sodio en vesiculas de E. coli, S. typhimurium, Pseudomonas aeruginosa y Bacillus subtilis.

Stock y Roseman en 1971 encontraron que al incrementar la concentración de sodio, se estimulaba la toma de tio-metil-beta-D-galactosido (TMG)-radioactivo por mas de 100 veces en S. typhimurium