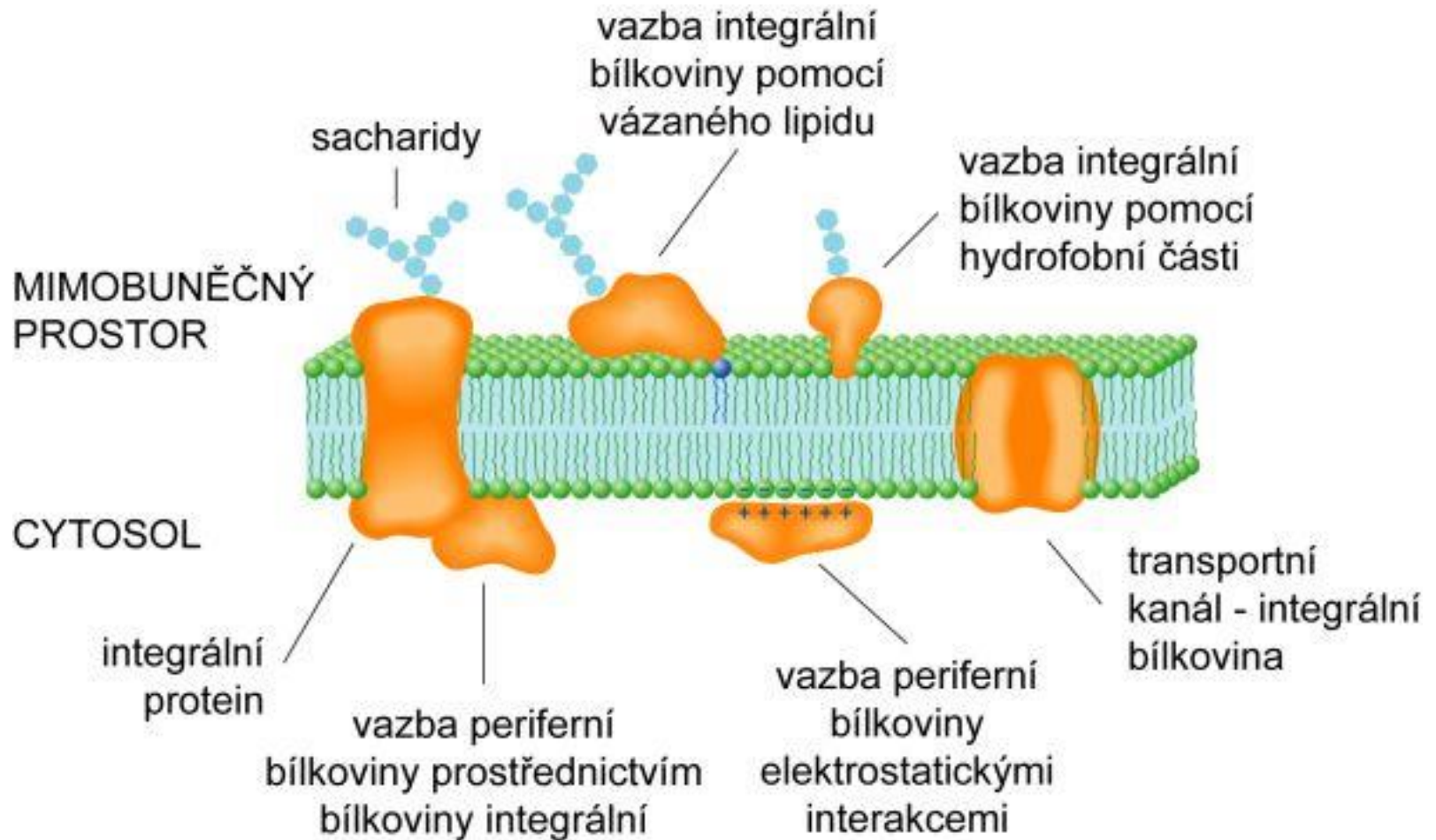

Membrány a membránový transport

Membrány

- Membrány hrají v buňce velmi důležitou roli. Na povrchu buňky najdeme **cytoplazmatickou membránu**, která **odděluje buňku od vnějšího prostředí, a zároveň umožňuje komunikaci a výměnu látek s tímto prostředím**. Membrány, podobné té na povrchu buňky, se nacházejí i na povrchu většiny organel a oddělují tak jejich obsah od cytoplazmy (hovoříme o tzv. **kompartmentaci**).
- Obecně se membrány skládají z:
 - a) **proteinů** (mohou se nacházet na povrchu lipidové dvojvrstvy nebo jí prostupovat)
 - b) **fosfolipidů** (tvoří lipidovou dvojvrstvu)
 - c) **cholesterolu**
 - d) **sacharidová složka**



Membrána biologická. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z:
http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/membrana_biologicka.html

Proteiny mají roli:

- receptorů
- enzymů
- transportérů
- iontových kanálů

Z **fosfolipidů** jsou nejčastěji zastoupeny:

- **fosfatidylcholin** (PC)
- **fosfatidylserin** (PS)
- **fosfatidylethanolamin** (PE)

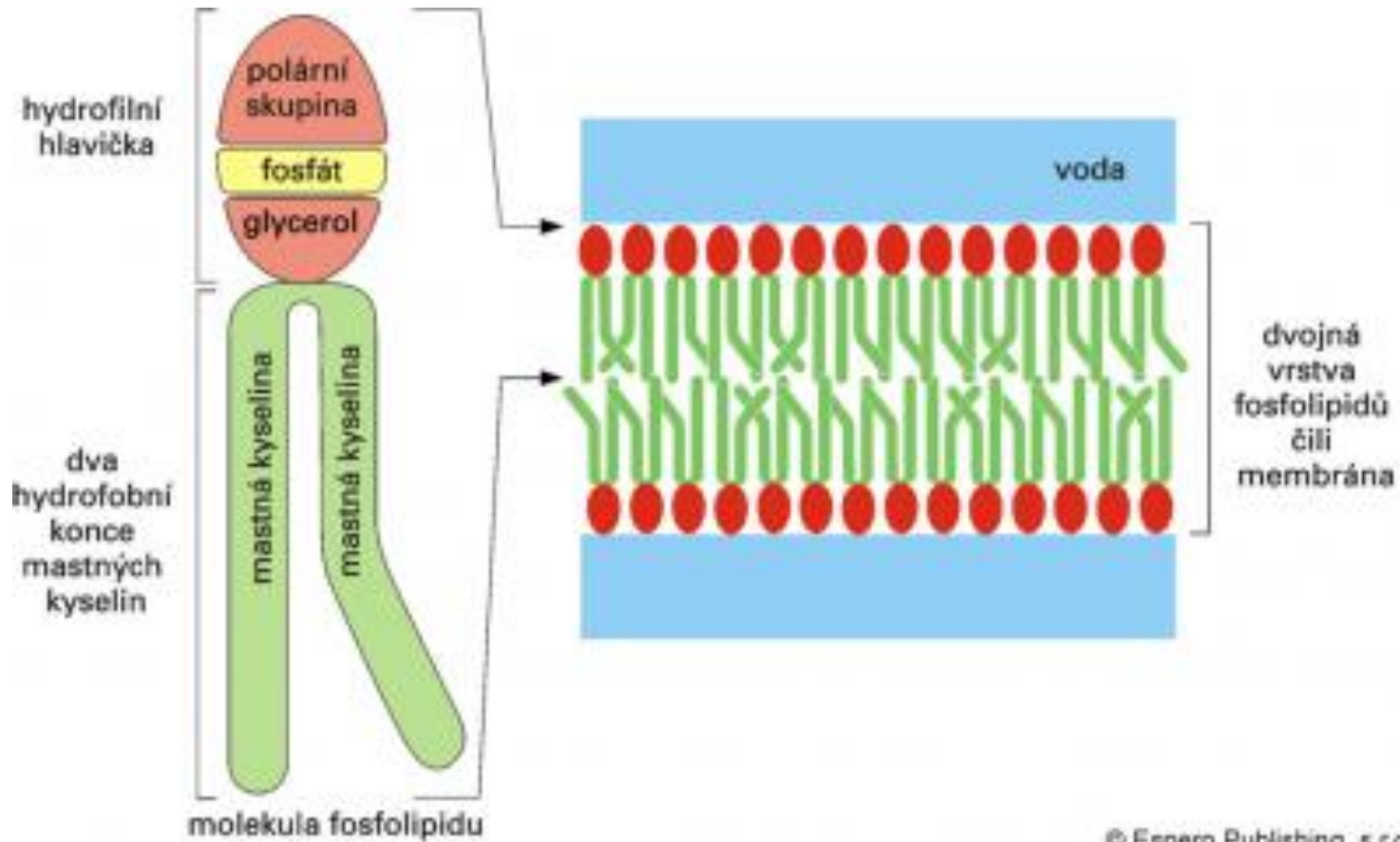
V menším množství mohou být v membráně zastoupeny další fosfolipidy, např. **fosfatidylinositol** (PI), **kardiolipin** (CL), **sfingolipidy** (sfingomyelin a glykolipidy) a další.

Další důležitou složkou membrán je **cholesterol**.

Vzájemný poměr zastoupení **lipidů** a proteinů je různý v různých typech membrán, např:

- v **myelinové** membráně je obsaženo 80 % lipidů
- ve **vnitřní mitochondriální** membráně jen kolem 25 %

Membrána	Obsah % (w/w)		
	proteiny	lipidy	sacharidy
myelinová vrstva	18	79	3
jaterní buňka	46	54	3
červené krvinky	49	43	8
mitochondrie (vnější)	52	48	2.4
mitochondrie (vnitřní)	76	24	1.2



Biochemie:Lipidy-Moje chemie. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z:
<http://www.mojechemie.cz/Biochemie:Lipidy>

MEMBRÁNOVÉ BÍLKOVINY

periferní a integrální, lipoproteiny (hydrofobní zbytky na povrchu)
nesymetrické uložení: vnější část glykosylována

funkce: transportní systémy (specifický)

membránové enzymy:

- specifické funkce
- nespecifické (slabá interakce mnoha enzymů s membránou)

mechanické funkce:

- zachování tvaru (membránový skelet)
- pohyb (bičičky)
- klathrin (zajištění endocytosy)

receptory (membránové bílk. schopné specificky vázat
informační látky a v důsledku toho změnit konformaci a
funkci)

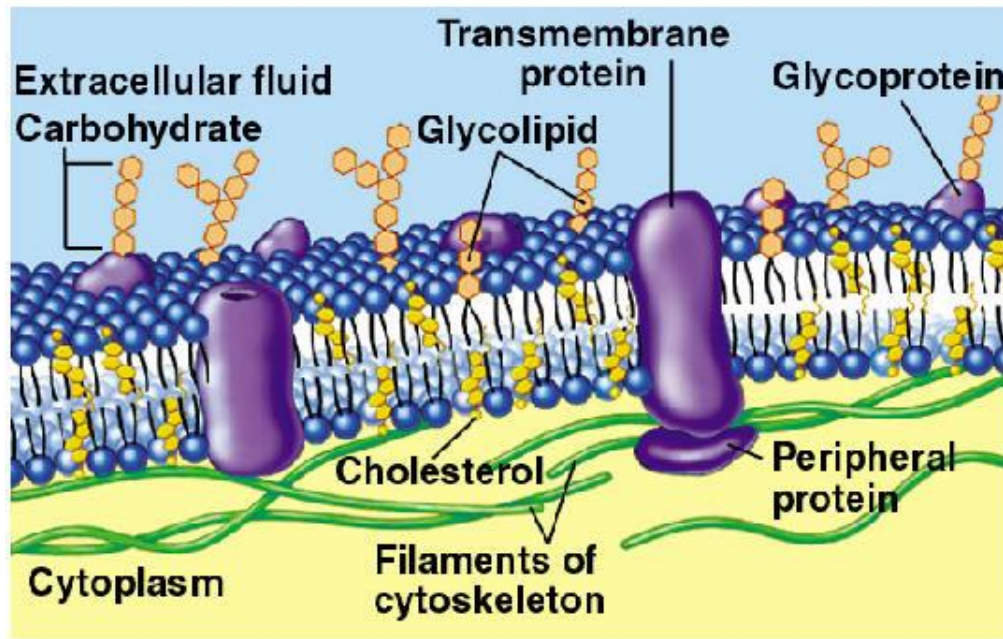
Fluidně-mozaikovým modelem

Struktura biomembrán je popisována **fluidně-mozaikovým modelem**. Tento model představuje membránu jako **dvojvrstvu fosfolipidů**, v níž jsou **zabudovány membránové proteiny**, přičemž:

- **polární „hlavy“** fosfolipidů jsou vystaveny na **obou površích membrány**
- **nepolární zbytky** mastných kyselin jsou orientovány do **vnitřní části membrány**

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Fluid Mosaic Model



Human Biology Revision: The fluid-mosaic model of membrane structure. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: <http://humanbiorevision.tumblr.com/post/1673269855/the-fluid-mosaic-model-of-membrane-structure>

Fluidita membrány

Fluidita membrány závisí na **složení membrány** a **teplotě**. Rigidní struktura lipidové dvojvrstvy je udržována především **interakcemi mezi hydrofobními řetězci** mastných kyselin. Při nízké teplotě jsou lipidy v membráně ve struktuře podobné **gelu**, jejich mobilita je omezena. Při zvýšení teploty dochází k přechodu řetězců z uspořádaného stavu, ve kterém k sobě těsně přiléhají, do neuspořádaného, fluidního, stavu. Teplota, při které k této změně dochází, se nazývá **přechodová teplota T_m** .

Síla interakce závisí na délce řetězce mastné kyseliny. Nenasycené mastné kyseliny s *cis*-konfigurací **zvyšují** fluiditu membrány tím, že snižují kompaktnost interakcí.

Fluidita membrány je též **modifikována cholesterolem**:

- při teplotách nižších než T_m , cholesterol interferuje s interakcemi hydrofobních řetězců a zvyšuje tak fluiditu membrány
- při teplotách vyšších než T_m je fluidita membrány cholesterolem snižována, protože cholesterol je rigidnější strukturou

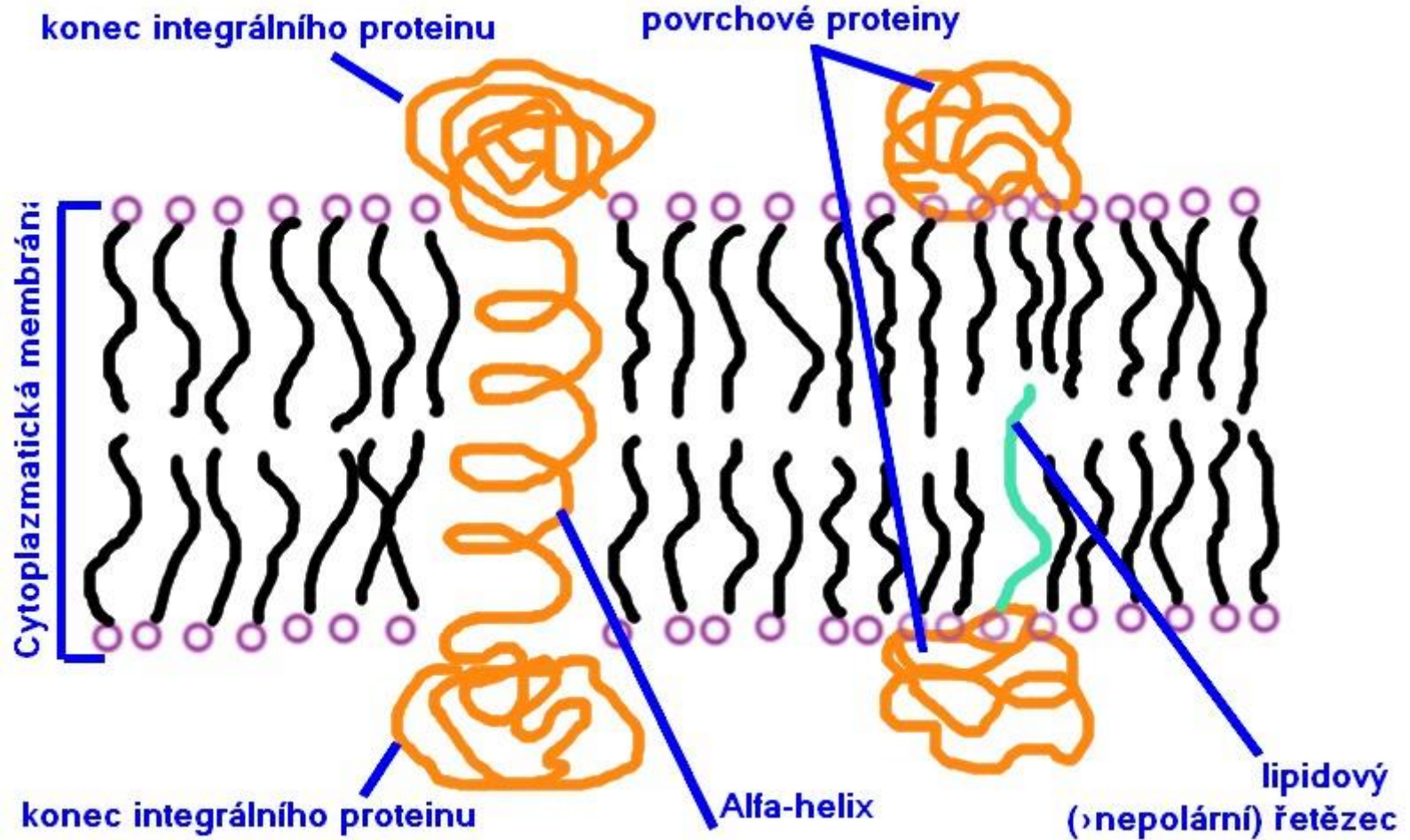
Fluidita membrány je pro buňku důležitá z mnoha důvodů, např. umožňuje membránovým proteinům rychle difundovat v rovině membrány a navzájem interagovat (například při buněčné signalizaci).

Pohyby fosfolipidů

- Fosfolipidy se v membráně **bez omezení pohybují laterálně a otáčejí se kolem své osy.**
- Každá z vrstev má jiné lipidové složení.
- Plazmatické membrány vykazují větší asymetrii ve fosfolipidovém složení než membrány ER. Ve **vnější** membránové vrstvě převažuje **PC** a **sfingomyelin**, zatímco ve **vnitřní vrstvě** se nachází hlavně **PS** a **PE**.
- Fosfolipidy mají tendenci **vyrovnávat asymetrickou distribuci** mezi vrstvami (angl. **scrambling**). Obecně je tento proces velmi pomalý a záleží na typu lipidů, na struktuře a polaritě hlaviček, hydrofobicitě acylových řetězců a seskládání lipidů ve dvojvrstvě. V živých buňkách je však „scrambling“ akcelerován fúzí a odštěpováním vesikul. Proto musí být asymetrická distribuce aktivně **udržována pomocí proteinů, které lipidy translokují.**
- Dosud byly identifikovány tři systémy kontrolující distribuci lipidů obou vrstvách,
 - jedná se o:
 - **flipasy** (též nazývané aminofosfolipidtranslokasy) specifické pro translokaci PS a PE z vnější do vnitřní vrstvy
 - **flopasy** zodpovědné za translokaci lipidů z vnitřní vrstvy a
 - **skramblasy** translokující fosfolipidy **nespecificky v obou směrech**

- **Flipasy a flopasy** jsou **ATP závislé**, zatímco **skramblasy** jsou na **ATP nezávislé**, avšak vyžadují přítomnost **Ca²⁺**. V apoptických buňkách je skramblasa aktivována jinou dráhou.
- **Flopasy** patří do rodiny proteinů označovaných jako **ABC transportéry** (*ATP-binding cassette transporters*). Původně byly charakterizovány jako látky zodpovědné za mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR, multidrug resistance) v nádorových buňkách, posléze byla popsána řada fyziologicky významných funkcí těchto proteinů (*viz kapitola membránový transport*).
- **Flipasy** patří do rodiny tzv. **ATPáz P-typu** a řadí se do podrodiny 4 (*viz kapitola membránový transport*). Od klasických ATPáz (které jsou pumpami pro ionty) se liší tím, že **translokují lipidy**.
- **Skramblasy** jsou nespecifické vůči druhu lipidu a transportují lipidy v obou směrech. Jsou stimulovány intracelulární hladinou vápníku.

Membránové proteiny



Membránové proteiny. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: <http://pravou-predni.blog.cz/1403/membranove-proteiny>

Membránové proteiny

- Membránové proteiny mohou být v membráně umístěny různým způsobem.
- **Integrální membránové** proteiny jsou **zabudovány do membrány**, nemohou podléhat flip-flop přeskupení. Některé mají karboxylový i amino-konec na jedné straně membrány, jiné mají každý konec molekuly na jiné straně membrány, **častěji karboxylový konec na cytoplazmatické straně**. Některé membránové proteiny obsahují jediný transmembránový úsek, tvořený alfa-helixem s hydrofobními aminokyselinami, jiné membránové proteiny mají více transmembránových úseků, které několikrát prostoupí membránou.
- **Periferní membránové** proteiny jsou vázány pouze na povrchu membrány a mohou být snadno odstraněny bez porušení lipidové dvojvrstvy. Mnoho periferních proteinů je k membráně vázáno **lipidovými kotvami**.
- V souvislosti s níže zmíněnými rafty lze proteiny rozlišit na ty, které **jsou součástí raftů**, a ty, které **leží mimo ně** a dále proteiny, které se **pohybují vně i uvnitř raftů**.
- **Mikrodomény**
- V lipidových membránách se nachází specializované struktury obecně označované jako **mikrodomény**, které mají různé fyziologické funkce.
- Mikrodomény jsou dvojího typu: rafty, kaveoly

Lipidové rafty se nachází v cytoplazmatické membráně. Jsou to **dynamická uskupení cholesterolu a sfingolipidů** chovají se jako „**plovoucí plošiny**“ v membráně.

Lipidová dvojvrstva raftů je asymetrická:

- vnější vrstva membrány je bohatá na sfingolipidy a glykosfingolipidy
- vrstva přivrácená do cytoplazmy obsahuje převahu glycerofosfolipidů

Mezi lipidy je interkalován **cholesterol**, u které se předpokládá, že udržuje komponenty raftů pohromadě. Součástí raftů jsou i proteiny, často **glykosylované**, **acylované** nebo **prenylované**. Rafty mají průměr kolem **50 nm**, což odpovídá počtu přibližně 3500 molekul sfingolipidů. Po specifických fyziologických stimulech mohou rafty asociovat do větší celků. Distribuce raftů v membráně závisí na typu buňky. Předpokládá se, že rafty pokrývají více než polovinu membrán.

Lipidové rafty hrají centrální roli v mnoha buněčných procesech:

- třídění a směrování proteinů
- polarizace buněk
- procesů signální transdukce ad.

Některé **viry využívají rafty** ke vstupu do hostitelských buněk (ebola virus, HIV, Marburg virus). Rafty hrají rovněž roli v tzv. **příonových onemocněních** a vzniku Alzheimerovy choroby.

Kaveoly jsou malé invaginace na povrchu cytoplazmatických membrán pozorovatelné elektronovým mikroskopem. Některé buňky, např. **adipocyty**, **endotelové buňky** a **buňky hladkého svalu** jich mají značný počet.

Většina z nich obsahuje protein **kaveolin**, který se pravděpodobně účastní jejich **přeměny z raftů**. Podobně jako rafty, jsou i kaveoly **dynamické struktury**. Proteiny obsažené v kaveolech jsou často **složky signálních buněčných drah** (např. inzulinový receptor a některé G-proteiny ad.)

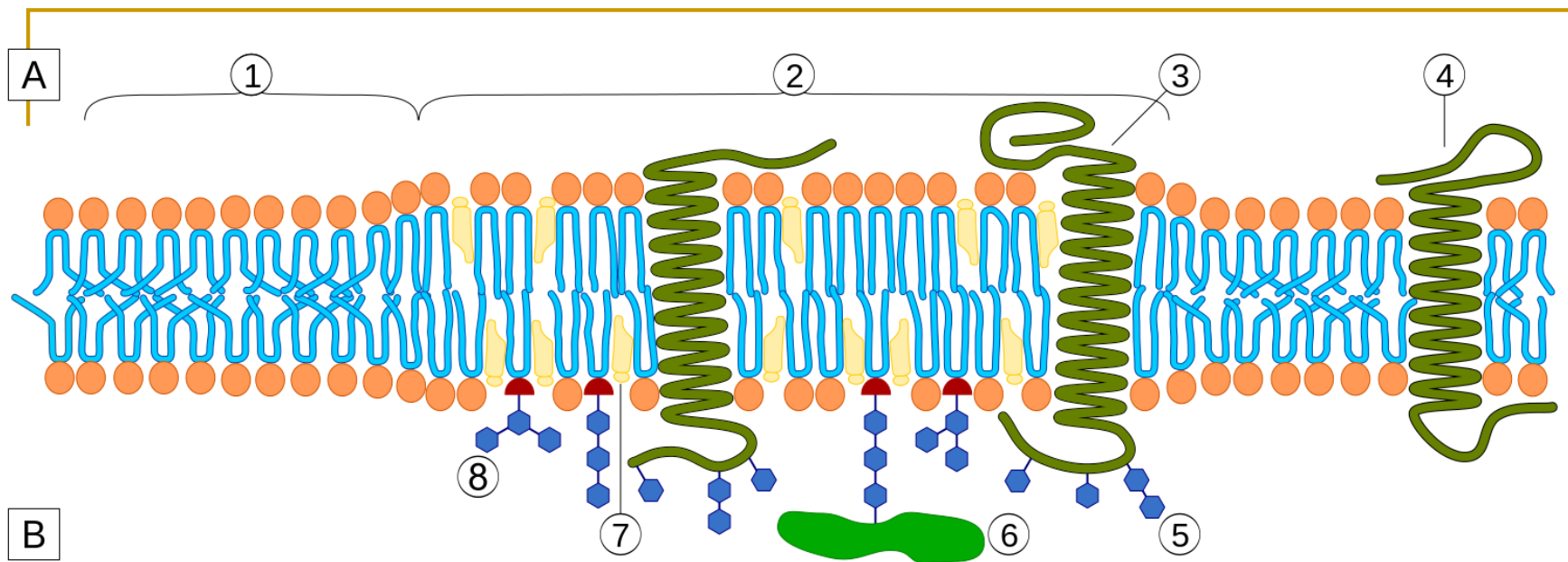
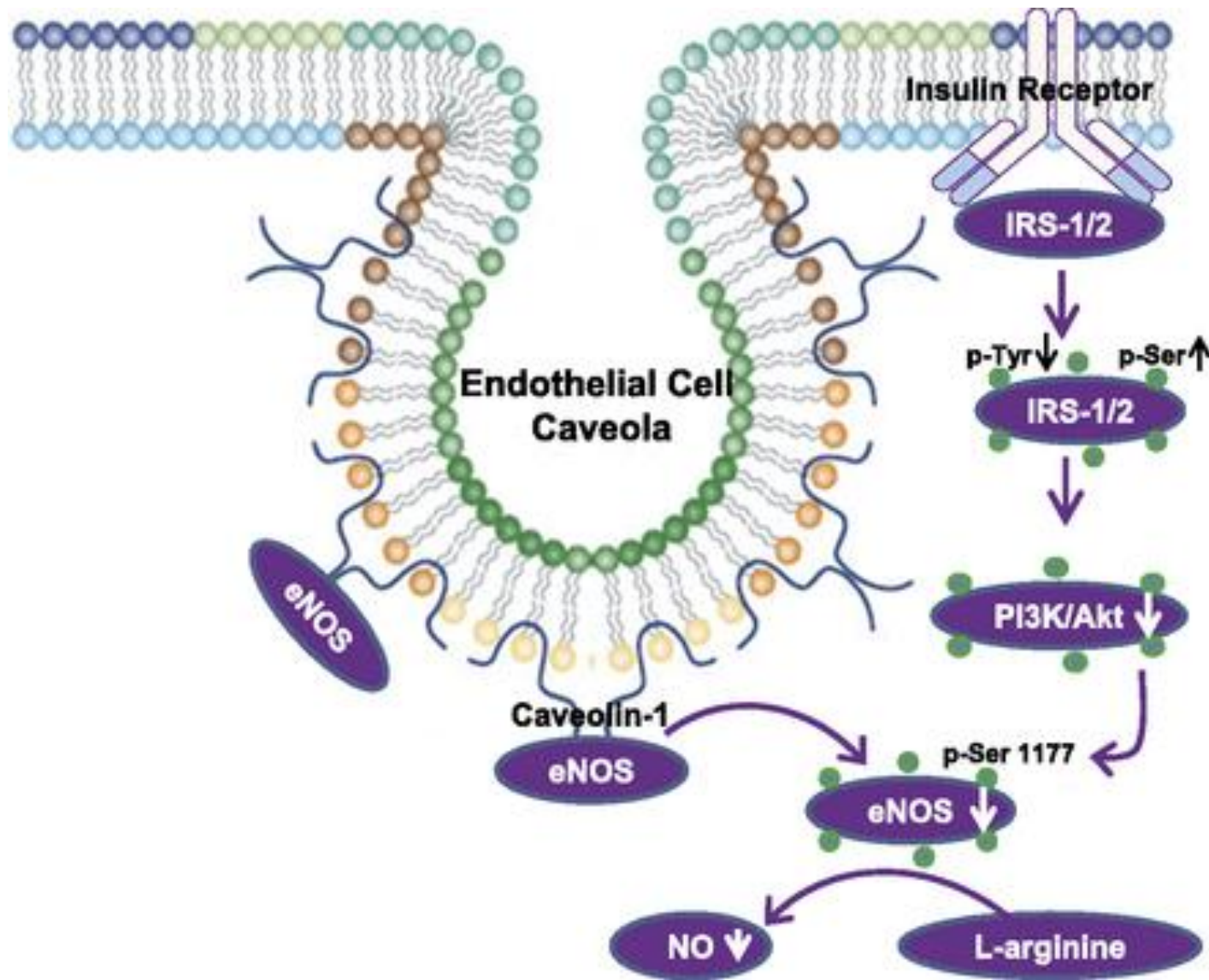


Schéma lipidového raftu A Intracelulární prostor (cytosol) B Extracelulární prostor nebo lumen vesiklů/Golgi aparátu 1. Běžná lipidová dvojvrstva (neraftová membrána) 2. Lipidový membránový raft 3. Transmembránový protein asociovaný s lipidovým raftem 4. Neraftový membránový protein 5. Glykosylační modifikace (na glykoproteinech a glykolipidech) 6. GPI-zakotvený protein 7. Cholesterol 8. Glykolipid



Struktura myelinu

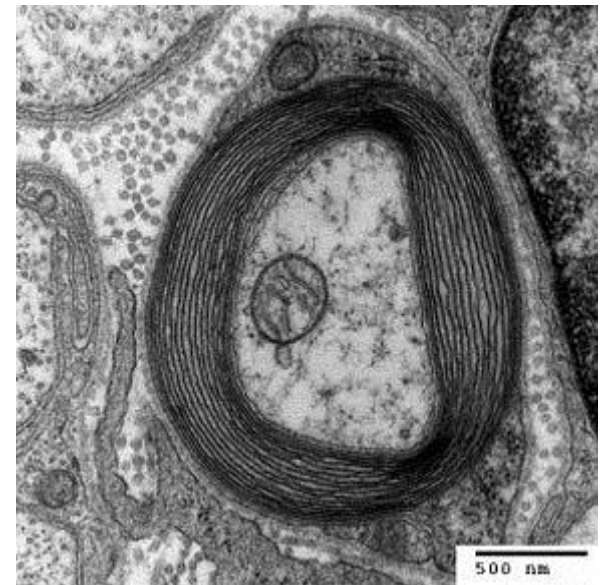
Myelin je zvláštní vícevrstvá membránová struktura tvořená **lipidy** a **proteiny**.

Myelinové pochvy

vznikají z výchlípek:

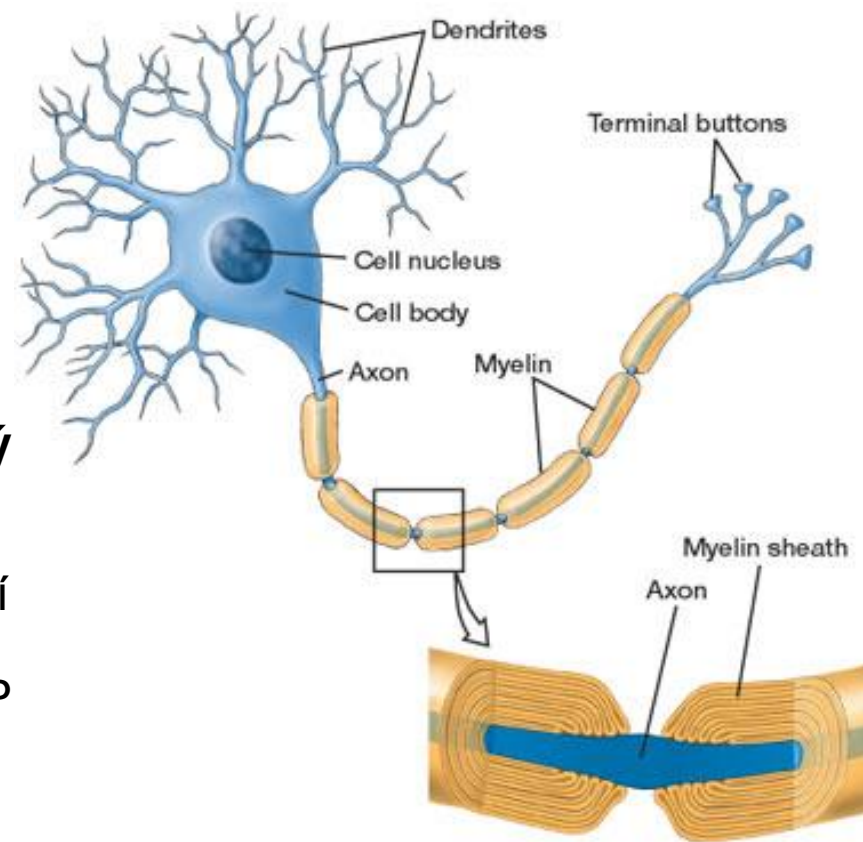
- oligodendroglie (v CNS)
- Schwannových buněk (v periférii)

Tyto výchlípky v mnoha vrstvách obtáčejí úsek axonu. Sbalení vrstev je tak těsné, že původní extra- a intracelulární prostory jsou stěží rozeznatelné. Myelinové membrány obsahují cca **80% lipidů**, kolem **16%** z nich tvoří **cerebrosidy**, z nichž hlavní je **galaktosylcerebrosid**. Naopak sfingomyelin je zde obsažen přibližně ve stejné koncentraci jako v jiných membránách (7%). Cholesterolu je kolem 30 %.



Wikipedie: Myelin. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Myelin>

- Mozek syntetizuje **velmi dlouhé mastné kyseliny** (více než 20 uhlíků), mezi jejichž řetězci vznikají velmi těsné hydrofobní vazby, které **udržují těsné sbalení myelinové vrstvy**. Vrstvy myelinu jsou poutány interakcemi **lipid-protein** a **protein-protein**. Jejich přerušení vede k poruše myelinové vrstvy.
- Hlavními **proteiny** v CNS jsou **proteolipidový protein (PLP)** a **bazický protein myelinu (MBP encefalitogen)**.
- **PLP** je velmi hydrofobní protein, který tvoří velké agregáty a je velmi resistantní vůči proteolýze.
- **MBP** je rodina proteinů, na rozdíl od PLP jsou dobře rozpustné ve vodě a snadno extrahovatelné z membrány. MBP se nachází na cytoplazmatické straně myelinové membrány.
- Nejznámější choroba spojená s demyelinizací nervových vláken je **sklerosa multiplex**.



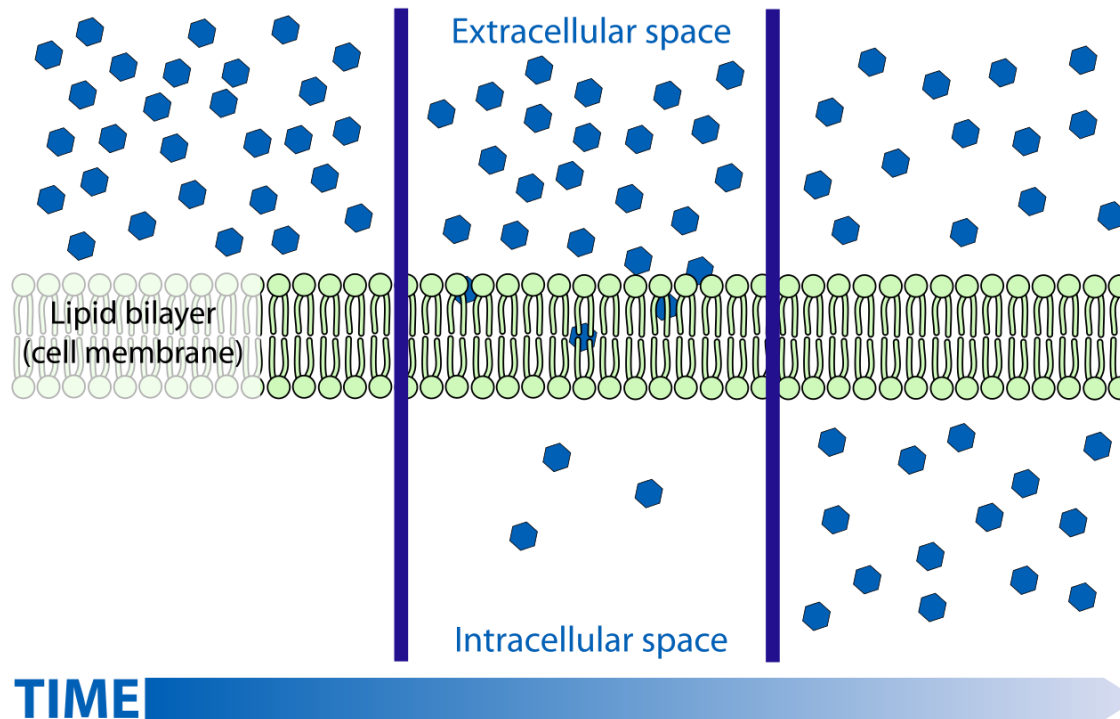
What is myelin?: Sumit Punnakari. [online]. [cit. 2014-08-16].
Dostupné z: <http://spunnakari.wordpress.com/2013/02/14/what-is-myelin/>

Membránový transport

- Povaha lipidové dvojvrstvy významně omezuje transport molekul přes membrány.
- **Anorganické ionty** nebo **polární organické molekuly nemohou membránou procházet**, protože jsou **obklopeny hydratačním obalem** a **jsou odpuzovány hydrofobním charakterem vnitřní části membrány**.
- **Makromolekuly** jako např. bílkoviny nebo nukleové kyseliny nemohou membránami procházet vzhledem ke **své velikosti a náboji**. Pro většinu látek proto **existují speciální transportní systémy**, které umožní jejich transport přes membránu.
- **Molekuly a ionty** se mohou spontánně membránou pohybovat **ve směru koncentračního spádu** procesem **difuze** nebo **usnadněné difuze**. Pro transport v opačném směru je třeba dodat energii a proces se pak označuje jako **aktivní transport**.

Nespecifická permeace (prostá difuze)

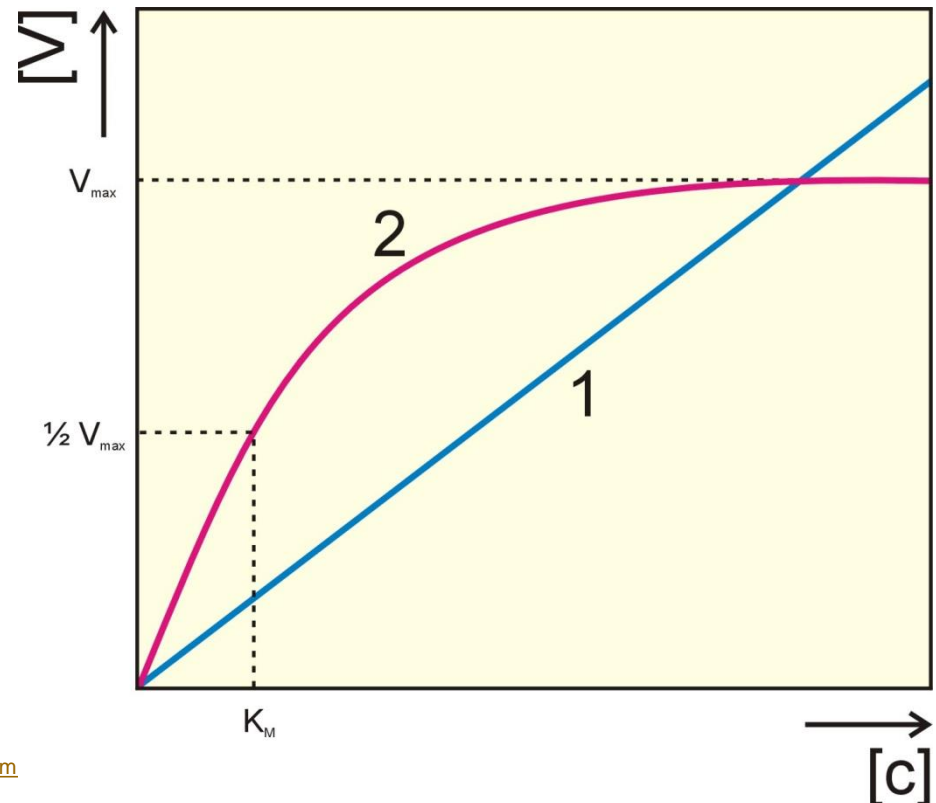
- Lipidová dvojvrstva je volně dostupná pouze **pro vodu** a **malé nenabitě molekuly jako O₂, CO₂, NO, CO, N₂**. Přes membránu snadno prochází také **menší hydrofobní molekuly, které nereagují s vodou, např. steroidní hormony**.
- V některých membránách, například ve vnější mitochondriální membráně, jsou obsaženy **póry tvořené bílkoviny** a těmi mohou procházet **malé polární molekuly**. **Pro většinu membrán je však pasivní difuze limitována jen na malé hydrofobní molekuly.**



Usnadněná difuze

- **Přenašečový transport**
- po koncentračním spádu, energie z gradientu,
- rychlejší než prostá difuze, specifická pro přenášenou molekulu
- K_m , T_m , saturační kinetika
- **3 typy: iontové kanály, uniportový systém, kotransportery**

1 – prostá difuze
2 – usnadněná difuze



UVOD: PASSIVE TRANSPORT. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z:
http://xarquon.jcu.cz/edu/uvod/06transport/062passive/transport_passive_rate.htm

Přenašečový transport

Pro usnadnění transportu **hydrofilních látek** přes membránu jsou využívány **dva typy** proteinových systémů:

- a) **kanály**
- b) **transportní molekuly**

Tabulka 1 - Klasifikace kanálů

Třída	Příklad
Kanály regulované napětím	Na ⁺ kanál
Kanály regulované ligandy	acetylcholinový receptor
Kanály regulované cAMP	Cl ⁻ kanál
Další kanály	kanály regulované zvukem, teplem, tlakem...

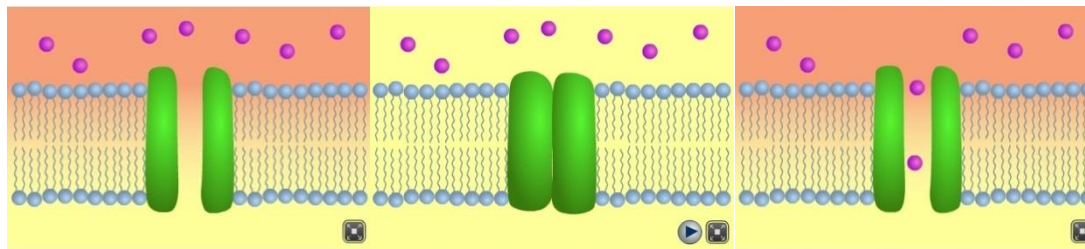
NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 62.

Transportéry by bylo možné rozdělit:

- a) transportéry pro pasivní transport (**usnadněnou difuzi**)
- b) transportéry pro aktivní transport
 - a. transportéry pro primární aktivní transport (přenos spřažen s redoxní reakcí)
 - b. primární ATP-asy
 - c. ABC transportéry (rovněž jedna ze skupin primárního aktivního transportu)
 - d. transportéry pro sekundární aktivní transport

Iontové kanály

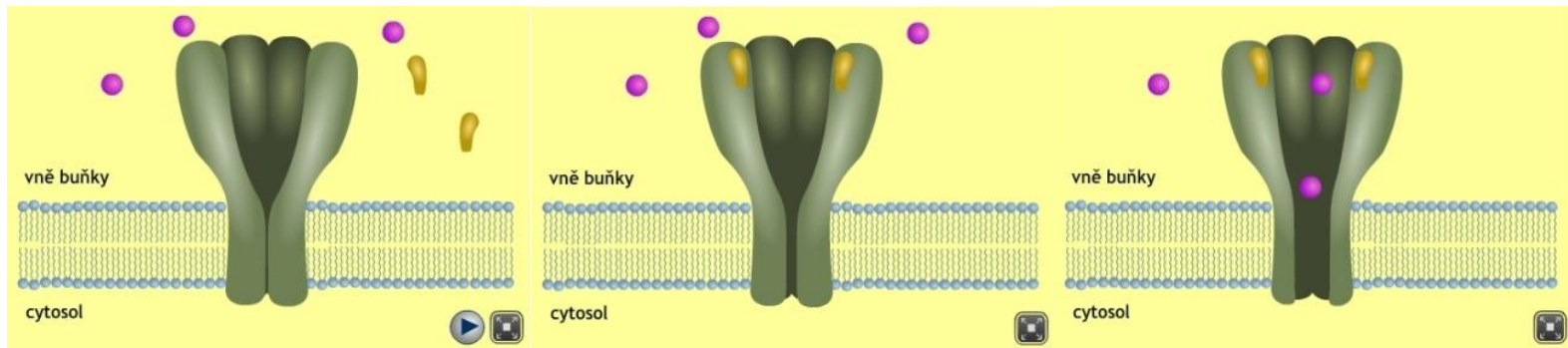
- **Integrální proteiny v membránách** mohou vytvářet **kanály a póry** usnadňují translokaci molekul nebo iontů přes membránu. **Látky se pohybují kanálkem ve směru koncentračního spádu**. Kanálové proteiny na sebe **nevážou** ani **nevyčleňují** molekuly nebo ionty, které přenáší. Jejich specifita je omezena na **velikost a náboj látek**.
- Průtok kanálem může být inhibován a může být regulován řadou mechanismů.
- **Kanály otvírané změnou napětí**
- V **excitabilních buňkách**, jako jsou nervové a svalové buňky, jsou kanály, které se otvírají na základě **změny membránového potenciálu**.



Obrázek (kanál otvíraný změnou napětí): Po té, co nastane změna akčního potenciálu, dojde k otevření kanálu a k průchodu např. iontů do nebo z buňky.

Ligandem otvírané kanály

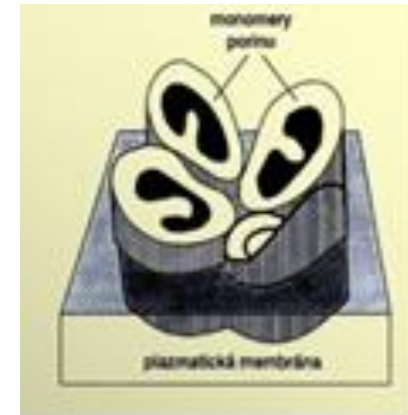
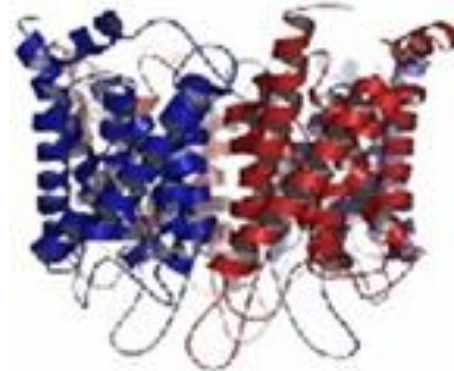
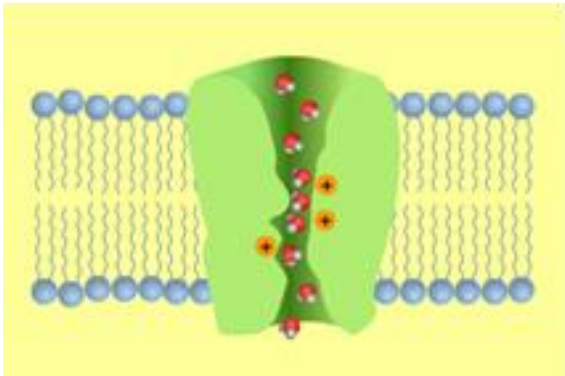
- Kanál se otevírá **po navázání malé signální molekuly (ligandu)**. Některé kanály jsou otevírány **extracelulárními ligandy**, jiné **intracelulárními ligandy**.
- **Ligand není kanálem transportován**. Příkladem je acetylcholinový receptor nikotinového typu. Po navázání acetylcholinu se otevírá kanál pro sodné ionty.



Obrázek (acetylcholinový receptor nikotinového typu): Po navázání ligandu, dojde k otevření kanálu.

Akvaporiny

- Akvaporiny jsou **membránové kanály pro vodu**, které jsou **rozhodující pro obsah vody v buňkách**. Jsou to **malé hydrofobní integrální membránové proteiny**. Jsou nepropustné pro nabitě molekuly, včetně protonů. Nepropouští tedy ani ionty H_3O^+ . V membránách jsou uspořádány **do tetrametrů**, každý z monomerů je kanálem pro molekuly vody. **Každý monomer se skládá ze šesti membránových α -helikálních domén**, obsahujících pór pro vodu.



Obrázek (průřez akvaporinového kanálu)

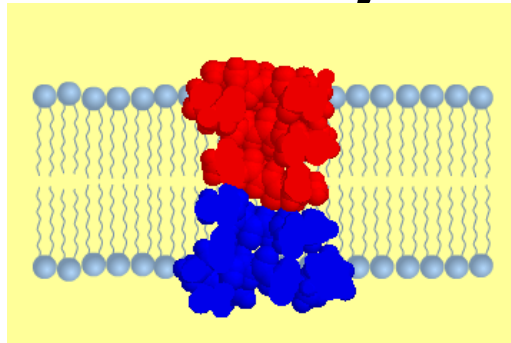
- Kanál má **tvár přesýpacích hodin**, v místě zúžení má **průměr kolem 2,8 Å**, což limituje velikost molekul, které mohou procházet. Molekuly vody prochází kanálem jednotlivě.
- Specifičnost kanálů k vodě je dále ovlivněna **kladně nabitými zbytky argininových molekul v místě zúžení**, které vytváří **bariéru pro průchod kationtů**.

a) Ionofory (transportní antibiotika)

- Ionofory jsou látky, které **usnadňují transport anorganických iontů** přes membrány. Jsou **produkty bakterií** a jsou to látky s **relativně nízkou molekulovou hmotností**.
- Dělí se do dvou základních typů:

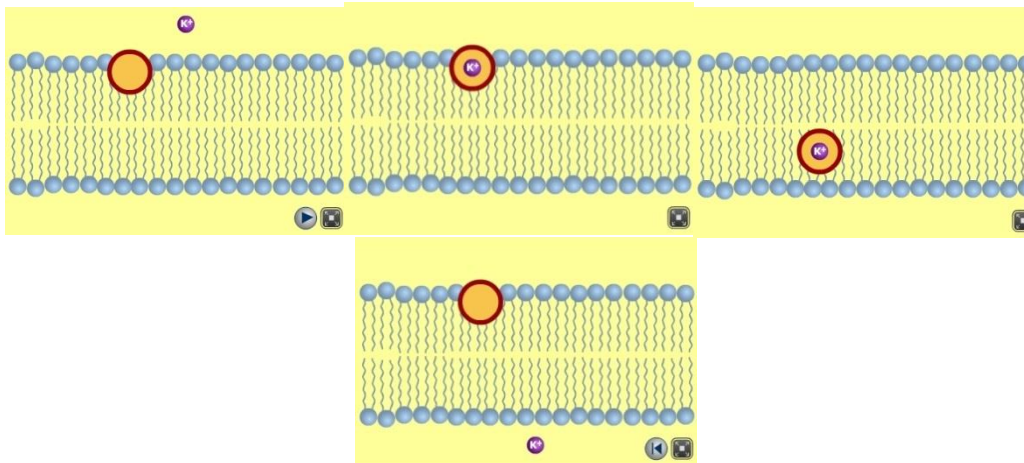
a) Ionofory typu gramicidinu

- Gramicidin je peptid tvořený 15 aminokyselinovými zbytky. V membránách tvoří **β -helix**, který může **dimerizovat** a vytvořit kanál s **průměrem kolem 5Å**. Polární zbytky směřují do nitra kanálu, nepolární zbytky jsou v kontaktu s membránou. **Kanálem může procházet voda a jednomocné kationty**, avšak **ne anionty**.



b) Ionofory typu valinomycinu

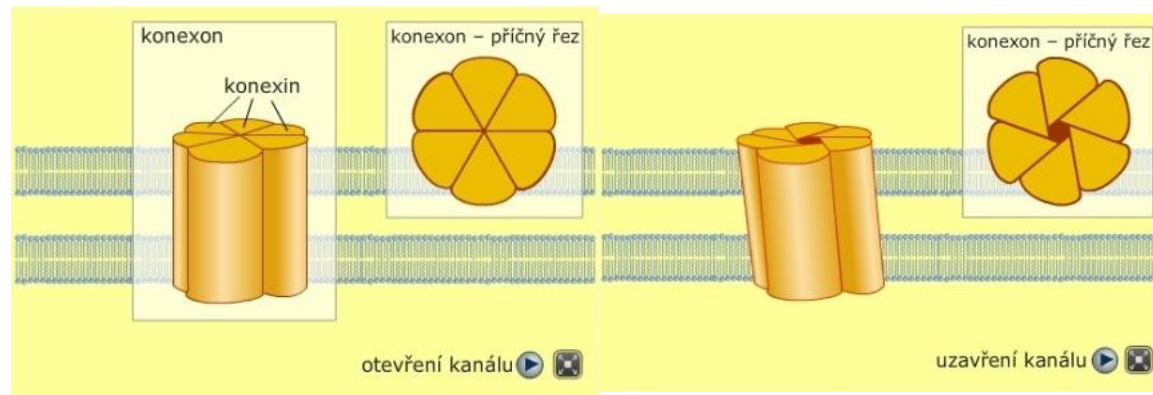
- Valinomycin je cyklický peptid, který **ve svém středu váže K^+** . Po navázání ion kovu ztrácí molekuly vody, které jej hydratovaly, a snadno prostupuje membránou.



Obrázek (Valinomycinový ionofor): K^+ se naváže na valinomycin, ztratí molekulu vody a je přenesen na druhou stranu membrány. Po té se valinomycin vrací zpět.

Mezerové spoje (gap junctions)

- Gap junctions (**nexusy**) se nachází v cytoplazmatických membránách **živočišných buněk**. Jsou tvořeny **transmembránovými kanály – konexony**, které vytváří **kanál mezi dvěma buňkami**. Konexon v plazmatické membráně jedné buňky navazuje na konexon v membráně sousedící buňky.
- Konexon je tvořen je tvořen **hexamerním proteinem konexinem**. **Průměr otevřeného póru je kolem 1,2–2 nm**. Kanály prochází **voda** spolu s dalšími látkami, jako jsou **ionty** nebo **malé molekuly**, ne však makromolekuly. Gap junctions tvořené různými konexiny mohou vykazovat různou specifitu pro roztoky.
- Kanály jsou **normálně otevřené**. **Uzavírají se při zvýšení hladiny Ca^{2+} v cytoplasmě, změně metabolismu, změně membránového potenciálu nebo změně pH**.
- Některé gap junctions mohou být kontrolovány **fosforylací konexinu**.



Membránové transportní proteiny

- **Transportní proteiny** katalyzují **přenos molekul nebo iontů přes membránu navázáním a fyzikálním transportem přes membránu**. Rychlost transportu je vyšší než při prosté difuzi. Na rozdíl od prosté difuze, **transport vykazuje saturační kinetiku**. Pro transportér může být stanovena **V_{max} i K_m** . Většina transportérů má **vysoký stupeň strukturní specifity k substrátu**.

Proces transportu je charakterizován čtyřmi fázemi:

- a. **rozpoznání solutu** transportérem
- b. **translokace solutu** přes membránu
- c. **uvolnění solutu** transportérem
- d. **návrat transportéru** do původního stavu

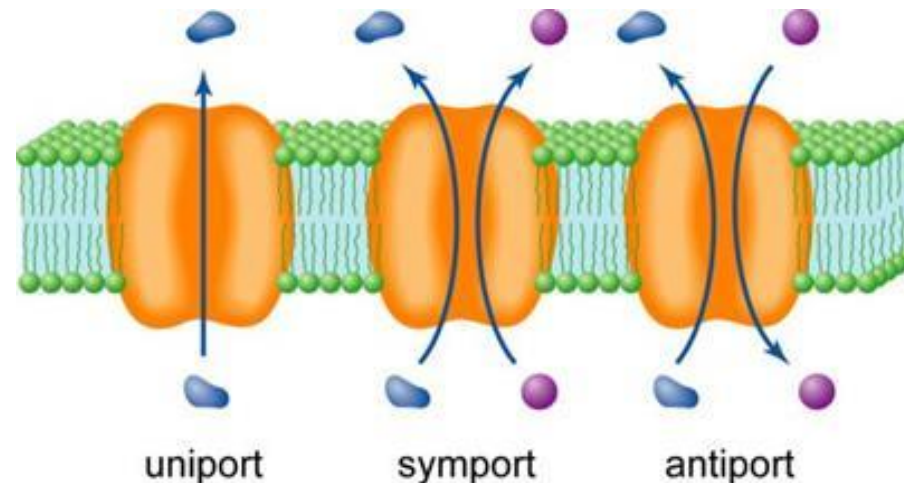
- Při rozpoznání solutu transportérem se uplatňují obdobné interakce jako při rozpoznání substrátu enzymem. **Na transportéru je specifické vazebné místo pro solut. Translokace vyžaduje konformační změnu transportéru** po navázání solutu. Změnou konformace transportéru je transportovaná molekula posouvána přes membránu.

Při transportu je přenášena:

- a) jedna látka v daném směru (**uniport**) b) dvě látky ve stejném směru (**symport**)
- c) dvě látky v opačném směru (**antiport**)
- V některých případech probíhá transport i proti koncentračnímu spádu, v takovém případě vyžaduje energii.

Energetika transportu

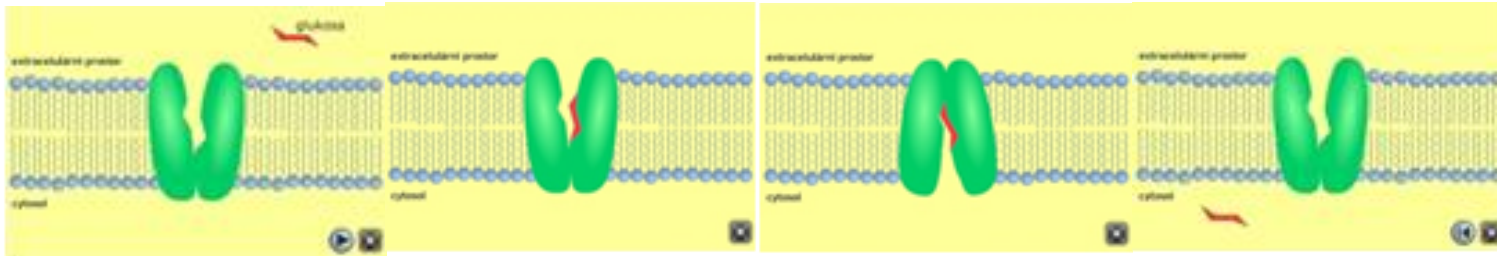
- Směr membránového transportu z „vně (o) dovnitř (i)“: $\Delta G = G_i - G_o$
- Pro elektroneutrální molekuly: $\Delta G = RT \ln c_i/c_o$
- Pro ionty: $\Delta G = RT \ln c_i/c_o + zF\Delta\psi$, kde $\Delta\psi = \psi_i - \psi_o$
- **Pasivní transport** probíhá, pokud ΔG má zápornou hodnotu, transportovaná látka se přenáší bez dodání energie.
- Je-li ΔG **pozitivní**, průběh transportu **vyžaduje dodání energie** a proces se označuje **aktivní transport (pumpa)**. energii pro aktivní transport mohou poskytnout různé reakce. U živočichů se nejčastěji jedná o štěpení ATP nebo využití elektrochemického gradientu.



Regulace činnosti enzymu. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/29-Regulace%20metabolismu/29-Regul-MembrTransport.htm

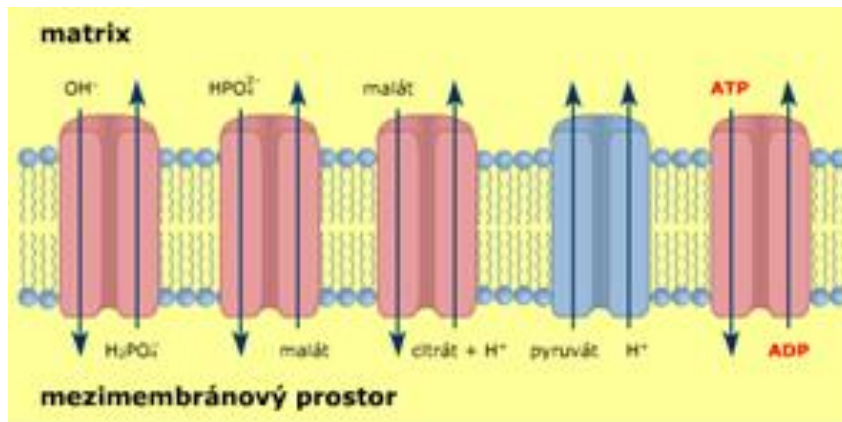
Pasivní transport (usnadněná difuze)

- Příkladem **jednosměrného pasivního transportu** je translokace glukosy pomocí glukosových transportérů typu GLUT.



Obrázek (Transportér typu GLUT)

- Příkladem **pasivního antiportu** je transportér pro výměnu Cl^- a HCO_3^- v membráně **erytrocytů**. Značný počet transportérů, které přenášejí látky symportem nebo antiportem ve směru koncentračního spádu se nachází v mitochondriální membráně.



Aktivní transport

- Při aktivním transportu je transportovaná látka **přenášena proti koncentračnímu gradientu**, přičemž **vzniká její chemický nebo elektrochemický gradient**. Obdobně jako pasivní transportéry, jsou i aktivní transportéry **charakterizované saturační kinetikou, specifitou vůči přenášené látce a možností inhibice**.
- Při **primárním aktivním transportu** je **potřebný zdroj energie**. U živočišných buněk je to **nejčastěji ATP**. Transportéry jsou pak také nazývány **ATPasy**, vzhledem k tomu, že ATP je během translokace hydrolyzováno. **Transportní protein je dočasně fosforylován**, čímž dochází ke změně jeho **konformace**, která umožní translokaci látek.
- Při **nepřímém aktivním transportu** je vytvořen **koncentrační gradient iontu aktivním transportem** a jiný transportér využívá energii tohoto gradientu k přenosu další látky.

Primární aktivní transport

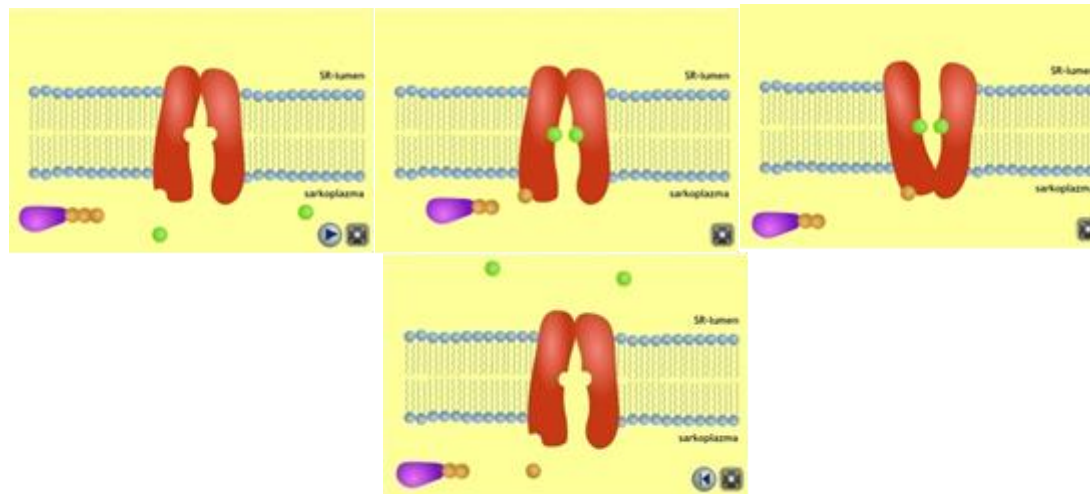
- Jsou známy **tři rodiny primárních aktivních ATPas**, které jsou klasifikovány jako **P-, V- a F-** typ.
- Transportéry **P-typu** jsou **fosforylovány a defosforylovány** během transportu Na^+ , K^+ , Ca^{2+} apod. Je známo kolem 300 členů této rodiny.
- Transportéry **V-typu** (v-vakuolární) jsou **protonové pumpy**, zodpovědné za **acidifikaci vnitřního prostředí lysosomů, endosomů, Golgiho a sekretorních vesikulů**.
- **F-typy** transportérů jsou přítomny v mitochondriích, chloroplastech a bakteriích. Translokují **protony na úkor hydrolýzy ATP**, avšak **syntetizují ATP při fungování v opačném směru**, tj. při transportu protonů po koncentračním gradientu.
- **ABC transportéry** jsou zvláštní **superrodina ATP-závislých transportérů**.

Tabulka 2 - Přehled typů ATPas

Typ ATPasy	Příklad	Lokalizace	Funkce
F (faktor spřažení)	H ⁺ -ATPasa	mitochondriální membrána	syntéza ATP
V (vakulorání)	H ⁺ -ATPasa	lyzozomální membrána	transport H ⁺ , acidifikace prostředí
P (aktivované fosforylací)	Ca ²⁺ -ATPasa	plazmatická membrána	transport Ca ²⁺
	Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa	plazmatická membrána	tvorba elektrochemického gradientu Na ⁺ a K ⁺
	H ⁺ /K ⁺ -ATPasa	plazmatická membrána	acidifikace lumen žaludku
ABC (ATP-binding cassette)	P-glykoprotein	plazmatická membrána	export hydrofóbních xenobiotik/léků ven z buňky
	ABCA1	plazmatická membrána	transport cholesterolu z buněk do HDL
	CFTR	plazmatická membrána	transport Cl ⁻
	TAP	endoplazmatické retikulum	transport antigenu z cytoplazmy do ER

Ca²⁺ ATPasy.

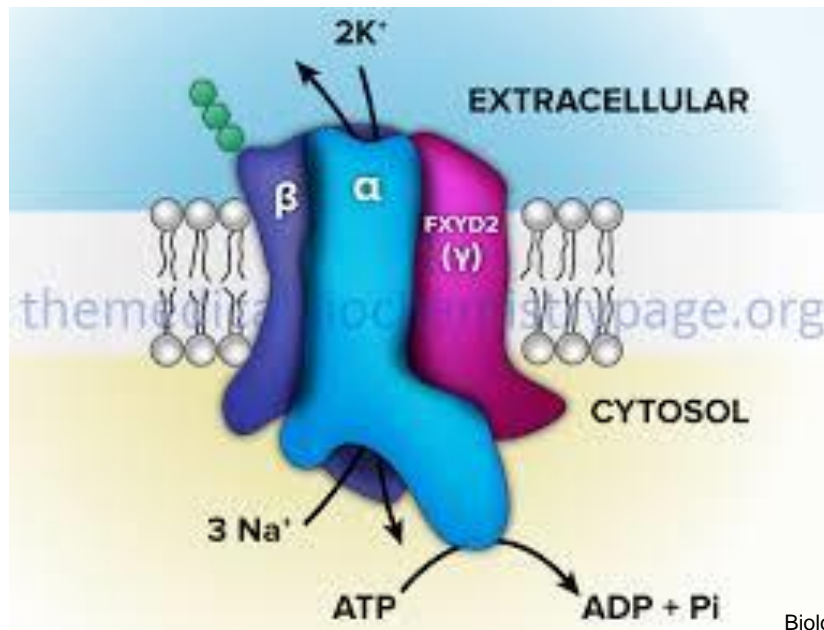
- Ca²⁺ je významným druhým poslem v buňkách. Změny jeho koncentrace regulují řadu významných intracelulárních dějů.
- Klidová koncentrace Ca²⁺ v buňce je kolem **0,1 μmol/l**, zatímco koncentrace extracelulárního Ca²⁺ je **104-krát větší**. Koncentrace Ca²⁺ v cytoplasmě se zvyšuje uvolňováním Ca²⁺ z endoplazmatického (**sarkoplazmatického**) **retikula** nebo dočasným otevřením Ca²⁺ kanálů v plazmatické membráně, kterými do buňky proudí vápenaté ionty. Aby byla znovu ustavena nízká koncentrace vápenatých iontů v cytoplasmě, je vápník aktivně transportován dvěma různými ATPasami:
 - jedna přenáší Ca²⁺ zpět do lumen endoplazmatického retikula
 - druhá přenáší Ca²⁺ ven z cytoplazmy přes plazmatickou membránu.



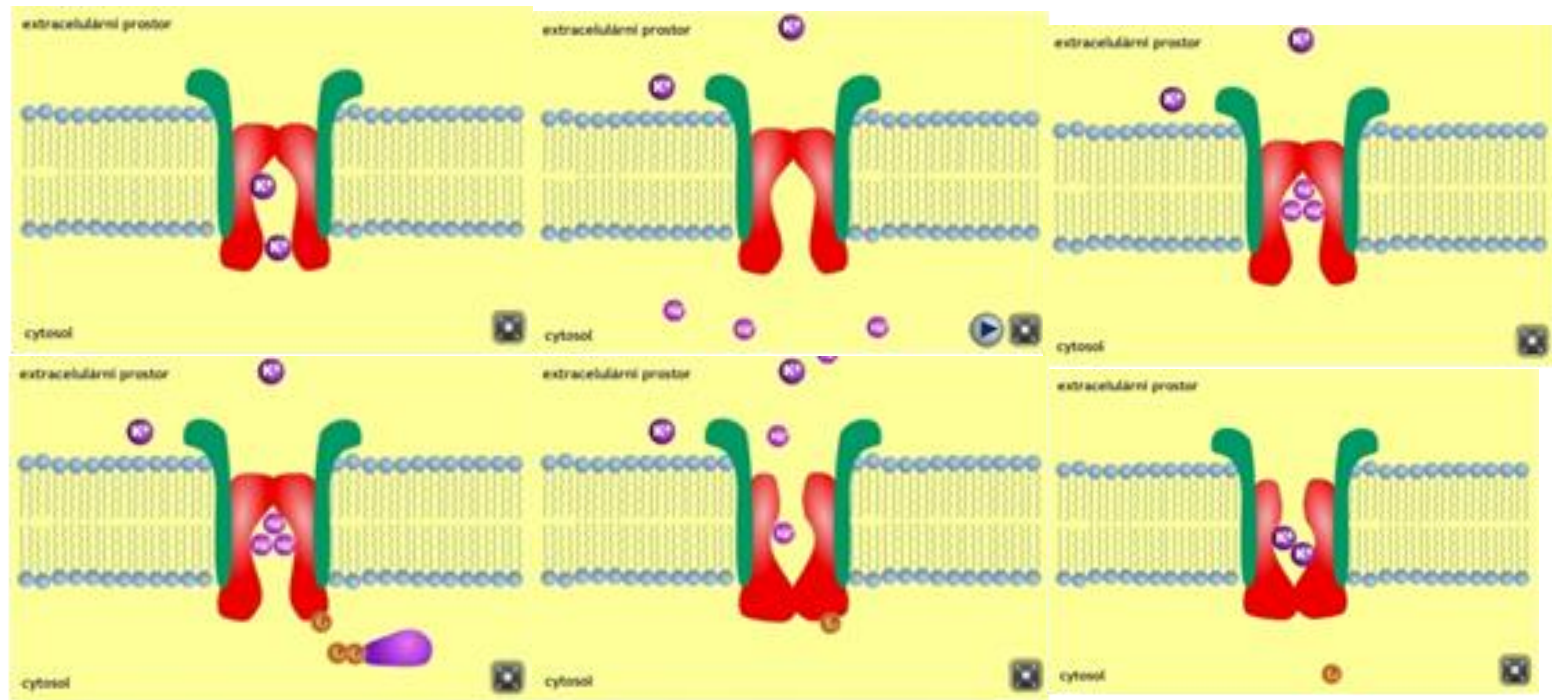
- Obě Ca^{2+} -ATPasy jsou transportéry **P-typu** – jsou fosforylovány ATP na aspartátovém zbytku.
- V kosterním svalu je Ca^{2+} -ATPasa sarkoplazmatického retikula (SERCA) zapojena do **cyklu kontrakce a relaxace** a tvoří 1/3 povrchu membrány. Je tvořena jediným proteinem, který obsahuje 10 transmembránových helixů. Po navázání vápníku se na transportér váže ATP,
- Svalová Ca^{2+} -ATPasa hraje též roli při produkci tepla. Ca^{2+} se váže na ATPasu, následuje hydrolýza ATP, avšak tím, že nedojde k translokaci kationtu, se energie hydrolýzy ATP **uvolní formou tepla**. Produkci tepla zvyšuje malý peptid **sarcoplipin**

Na⁺/K⁺-ATPasa.

- **Cytosol** živočišných buněk obsahuje **K⁺ ionty** v koncentracích asi **20-krát vyšších než extracelulární tekutina**. Naproti tomu **extracelulární tekutina obsahuje Na⁺ ionty** v koncentracích asi **10-krát vyšších než uvnitř buňky**.
- Tento koncentrační gradient je udržován účinkem **Na⁺/K⁺-ATPasy**. Transportér využívá energii štěpení ATP a transportuje **3 Na⁺ ionty ven z buňky a 2 K⁺ ionty do buňky**.



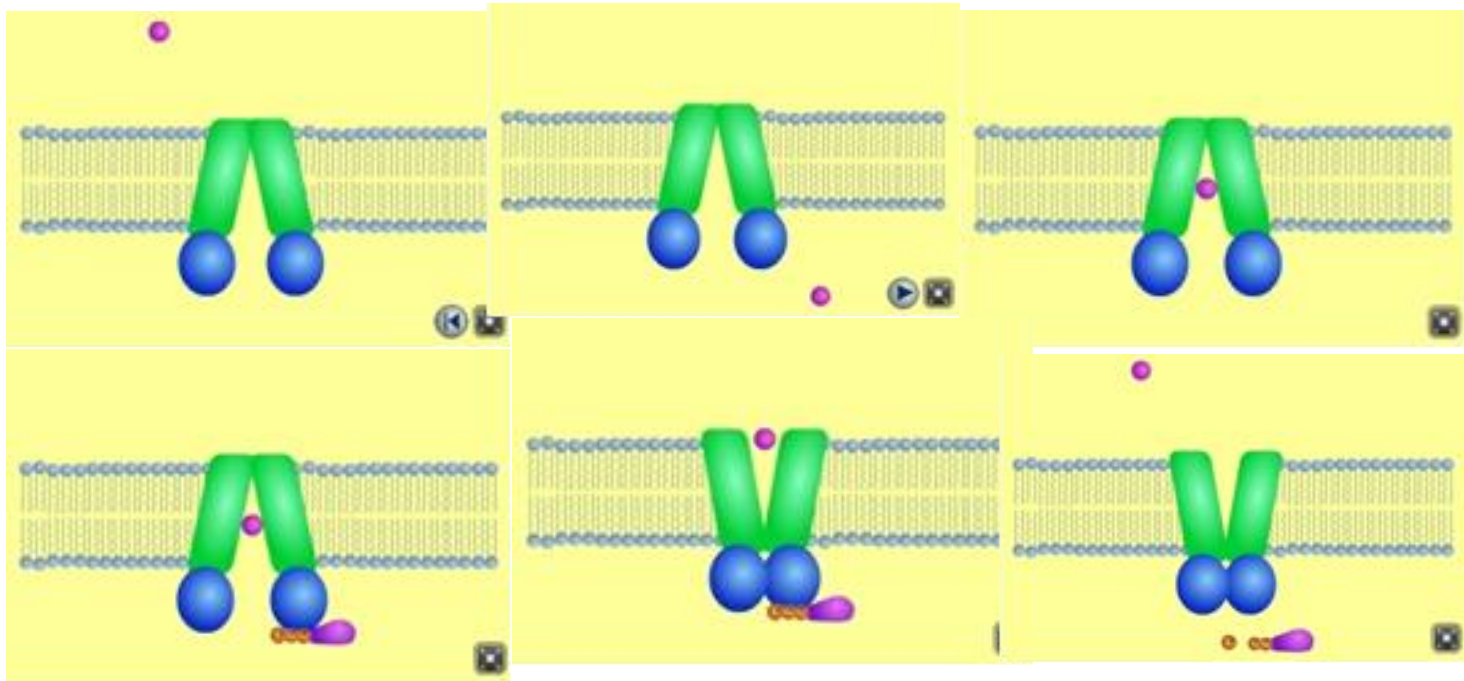
Biological Membranes and Membrane Transport Mechanisms. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: <http://themedicalbiochemistrypage.org/membranes.php>



- V parietálních buňkách žaludku se nachází **H⁺/K⁺-ATPasa**.
- Tento transportér přenáší H⁺ ionty z cytoplasmy parietálních buněk, kde je jejich koncentrace kolem $4 \cdot 10^{-8}$ mol/l do lumen žaludku, kde je koncentrace H⁺ kolem 0,15 mol/l.

ABC-transportéry (ATP binding cassettes)

- Jedná se o nadrodinu transmembránových proteinů, které **mají doménu pro vazbu určitého substrátu a doménu vážící ATP**. Vazebné místo pro ligand je obvykle limitováno pro jednotlivé typy molekul.
- Látky mohou do kanálu vstupovat z nitra buňky a také z membrán.



- Je známo obrovské množství ABC transportérů. Lidský genom obsahuje nejméně **49 genů** pro ABC transportéry.
- ABC kasety u savců mohou být jak v plazmatických, tak v intracelulárních membránách a umožňují přenos různých typů **lipidů** (fosfolipidů, dlouhých mastných kyselin, žlučových kyselin, cholesterolu), **peptidů**, různých **toxických organických molekul** a **chemoterapeutik**. U bakterií jsou ABC kasety všestrannější, přenáší i **ionty, těžké kovy, sacharidy, aminokyseliny, peptidy, proteiny, vitaminy** a další. ABC pumpy jsou **většinou jednosměrné**.
- Všechny ABC transportéry obsahují **nejméně čtyři charakteristické strukturní domény**:
 - dvě domény vážící ATP, která se také označuje jako NBD (nucleotide binding domains)
 - dvě transmembránové domény TMD (transmembrane domains)

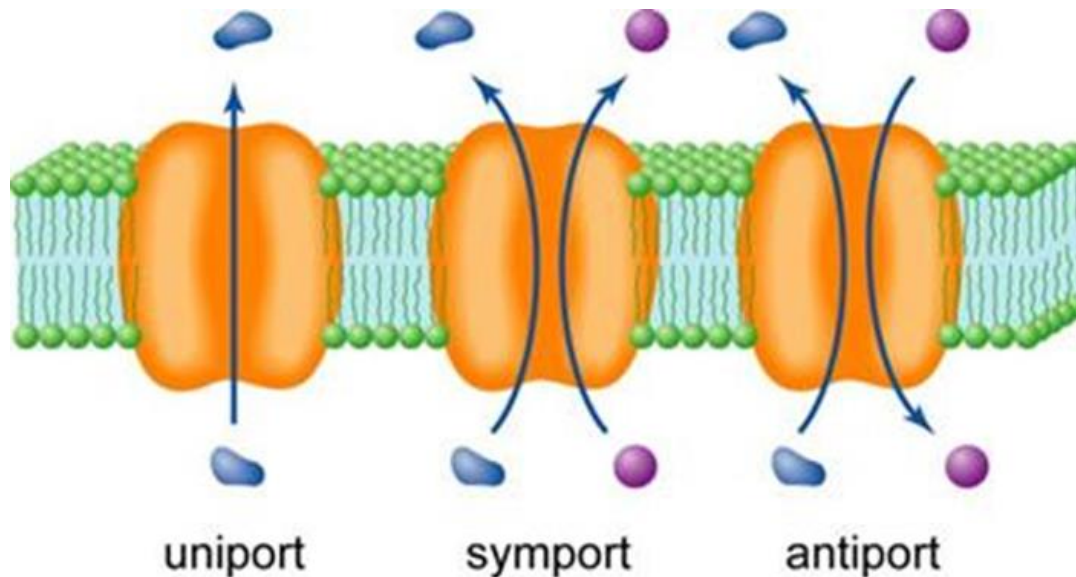
- **Eukaryontní ABC transportéry jsou exprimovány buď jako dimery nebo jako jednotlivé polypeptidy obsahující všechny čtyři domény.** Strukturní rozdíly mezi jednotlivými podskupinami ABC transportérů jsou dány především **v oblasti TMD** a pravděpodobně reflektují **velkou diverzitu v substrátové specifitě.**
- Geny pro ABC transportéry jsou v genomu velmi rozšířeny a jsou mezidruhově vysoce konzervovány, což indikuje, že existovaly již na počátku evoluce eukaryontů. Geny jsou děleny do **podrodin** na základě **podobnosti ve struktuře genu a homologie v NBD a TMD.** U savců je rozlišováno **sedm genových podrodin** (ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG), z nichž pět bylo nalezeno i u *Sacharomyces cerevisiae*.
- Jednou skupinou proteinů podrodiny ABC transportérů u člověka jsou **P-glykoproteiny.** Jsou známy tím, že **odstraňují z buněk celou řadu xenobiotik.** Při jejich zvýšené expresi u nádorových buněk, dochází ke zvýšené rezistenci na léčbu chemoterapeutiky. Jsou kódovány skupinou genů, které se označují jako **MDR geny (multidrug resistance genes).** Glykoproteiny, které jsou produktem těchto genů, jsou také označovány jako **MRP proteiny (multidrug resistance proteins).**

- Jako první P-glykoprotein zodpovědný za mnohočetnou resistenci vůči lékům (multidrug resistance) byl popsán **ABCB1 transportér (MRP1)**, postupně však bylo zjištěno, že za resistenci vůči lékům odpovídají i další ABC transportéry (MRP3,MRP4 ad.).
- Jiné P-glykoproteiny zodpovídají za **transport fosfolipidů, cholesterolu a žlučových kyselin** přes kanalikulární plasmatickou membránu hepatocytů. Další MRP proteiny zajišťují **eflux látek konjugovaných s glutathionem, sírovou kyselinou a glukuronáty**. Jiný z P-glykoproteinů odpovídá za transport **glukuronidů bilirubinu** z jaterní buňky do žluče.

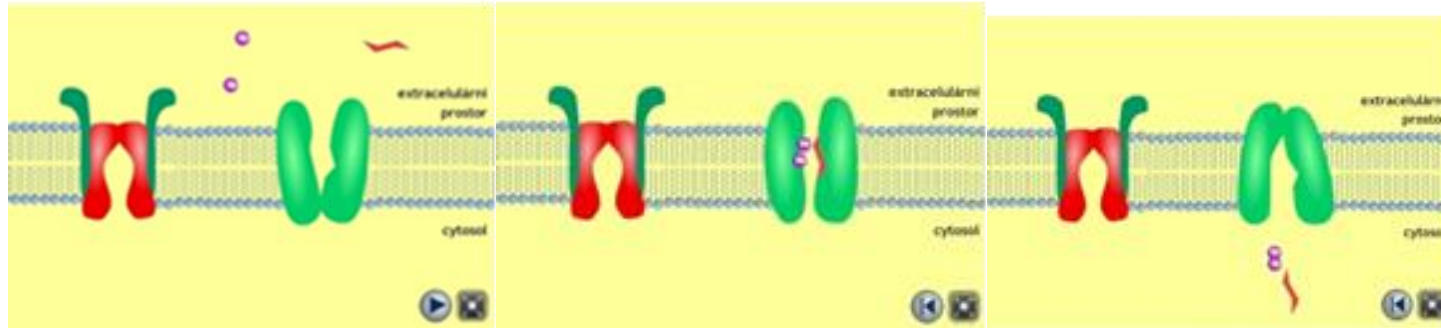
Sekundární aktivní transport

Kotransport

- Velmi rozšířený je **kotransport látek se sodnými ionty**. Elektrochemický gradient Na^+ iontů je zde zdrojem energie pro transport **aminokyselin, cukrů, iontů** a dalších malých molekul.
- Příkladem je transportér Na^+ /glukosa (SGLT).



Regulace činnosti enzymu. [online]. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/29-Regulace%20metabolismu/29-Regul-MembrTransport.htm

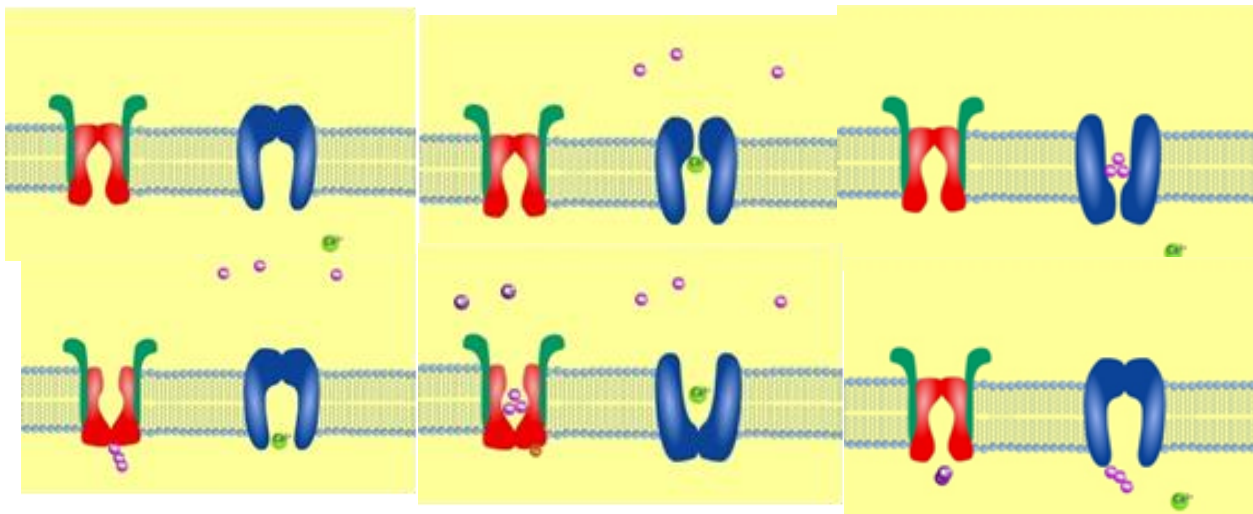


Obrázek (*Transportér Na⁺/glukosa*)

- Ionty Na⁺ se váží na transportní bílkovinu současně s glukosou. Po změně konformace bílkoviny jsou glukosa i sodné ionty přenášeny přes membránu. Na⁺ ionty se pohybují po koncentračním spádu, glukosa je přenášena proti koncentračnímu spádu.
- Gradient iontů Na⁺ se obnovuje účinkem Na⁺/K⁺-ATPasy, která sodné ionty transportuje ven z buňky výměnou za K⁺. Tento typ transportéru se nachází např. v membráně buněk střevního endotelu nebo v ledvinných tubulech. Obdobným způsobem jsou transportovány také aminokyseliny z lumen tenkého střeva nebo ledvinných tubulů nebo jodidové ionty do buněk štítné žlázy.

Antiport

- U pump spojených s antiportem difunduje řídicí ion do buňky v jednom směru a poskytuje energii pro transport molekul nebo iontů v opačném směru. Příkladem je antiport $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ spřažený s $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPasou v membráně **myocyty**.



Obrázek (Antiport $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ spřažený s $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPasou)

■ Chlorido-bikarbonátový transportér

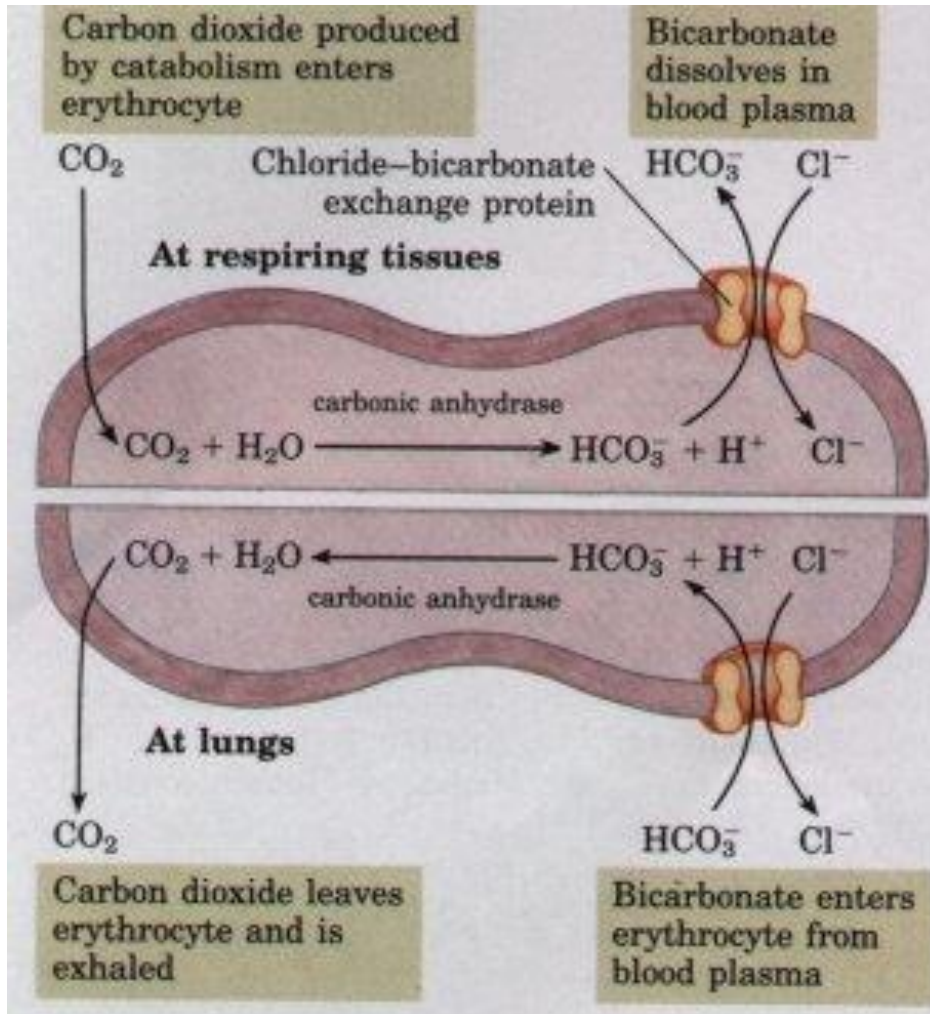


Figure 10-20 Chlorido-bikarbonátový transportér erythrocytární membrány dovoluje vstoupit a vystoupit HCO_3^- beze změny transmembránového elektrického potenciálu. Rolí tohoto člunkového systému je zvýšení kapacity přenosu CO_2 v krvi.