

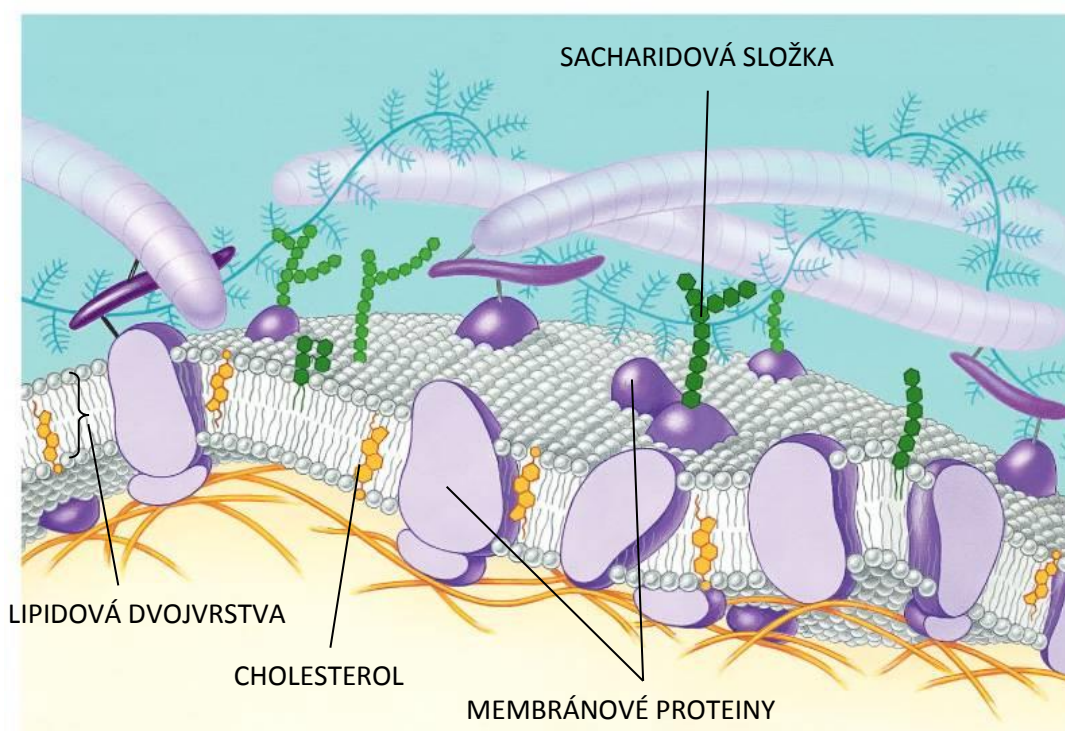
4 Membrány a membránový transport

4.1 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. **kompartimentaci**).

Obecně se membrány skládají z:

- proteinů** (mohou se nacházet na povrchu lipidové dvojvrstvy nebo jí prostupovat)
- fosfolipidů** (tvoří lipidovou dvojvrstvu)



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

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 %

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**

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 **zvýšují** 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 **sfigomyelin**, 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 vesikulů. 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 Ca^{2+} . 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 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. **priónových 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 svalstva** 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.)

Struktura myelinu

Myelin je zvláštní vícevrstvá membránová struktura tvořená **lipidy** a **proteiny**. Myelinové pochvy vznikají z výchlipek:

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

Tyto výchličky v mnoha vrstvách obtáčí 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 %.

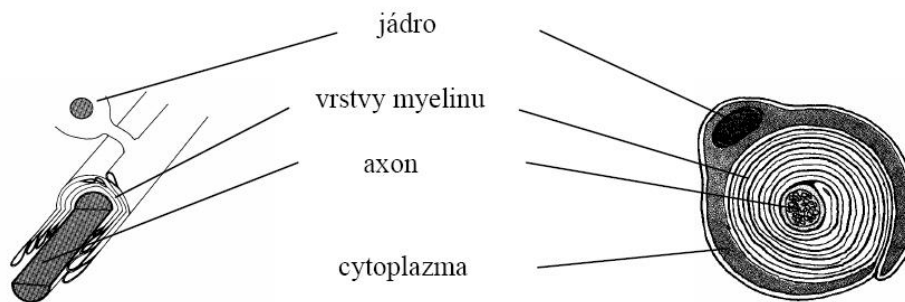
Mozek syntetizuje **velmi dlouhé mastné kyseliny** (více než 20 uhlíků), mezi jejichž řetězci vznikají velmi těsné hydrofobní vazby, které **udržují těsné sbalení myelinové vrstvy**. Vrstvy myelinu jsou poutány interakcemi **lipid-protein** a **protein-protein**. Jejich přerušení vede k poruše myelinové 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 resistentní 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.

Nejnámější choroba spojená s demyelinizací nervových vláken je **sklerosa multiplex**.



4.2 Membránový transport

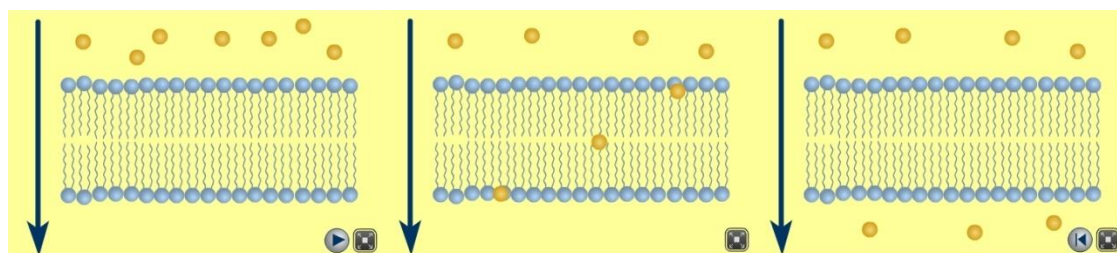
Povaha lipidové dvojvrstvy významně omezuje transport molekul přes membrány. **Anorganické ionty** nebo **polární organické molekuly** nemohou membránou procházet, protože jsou **obklopeny hydratačním obalem** a **jsou odpuzovány hydrofobním charakterem vnitřní části membrány**. **Makromolekuly** jako 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**.

4.2.1 Nescifická 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 bílkovinami** a těmi mohou procházet **malé polární molekuly**. Pro většinu membrán je však pasivní difuze limitována jen na malé hydrofobní molekuly.



Obrázek (pasivní difuze): Malé molekuly přes membránu procházejí ve směru koncentračního gradientu (tedy z místa, kde je jich více na místo, kde je jich méně).

4.2.2 Přenašečový transport

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

- kanály**
- 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...

Transportéry by bylo možné rozdělit:

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

d. transportéry pro sekundární aktivní transport

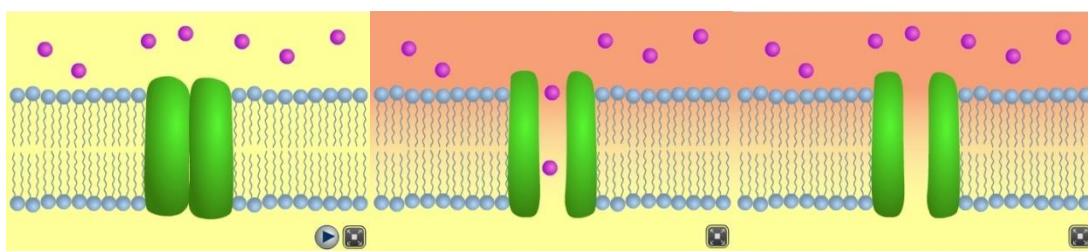
4.2.2.1 Iontové kanály

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.

4.2.2.1.1 Kanály otvírané změnou napětí

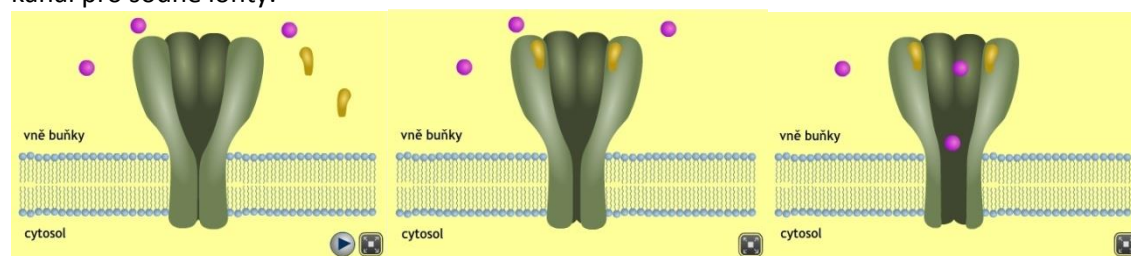
V **excitabilních buňkách**, jako jsou nervové a svalové buňky, jsou kanály, které se otvírají na základě **změny membránového potenciálu.**



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.

4.2.2.1.2 Ligandem otvírané kanály

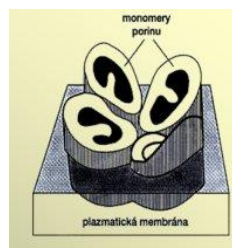
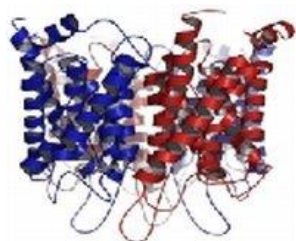
Kanál se otevírá **po navázání malé signální molekuly (ligandu).** Některé kanály jsou otvírány **extracelulárními ligandy**, jiné **intracelulárními ligandy.** **Ligand není kanálem transportován.** Příkladem je acetylcholinový receptor nikotinového typu. Po navázání acetylcholinu se otevírá kanál pro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



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

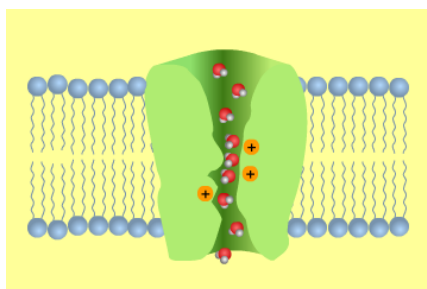
4.2.2.1.3 Akvaporiny

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 (akvaporinové kanály)

Kanál má **tvar přesýpacích hodin**, v místě zúžení má **průměr kolem 2,8 Å**, což limituje velikost molekul, které mohou procházet. Molekuly vody prochází kanálem jednotlivě.



Obrázek (průřez akvaporinového kanálu)

Specifičnost kanálů k vodě je dále ovlivněna **kladně nabitými zbytky argininových molekul v místě zúžení**, které vytváří **bariéru pro průchod kationtů**.

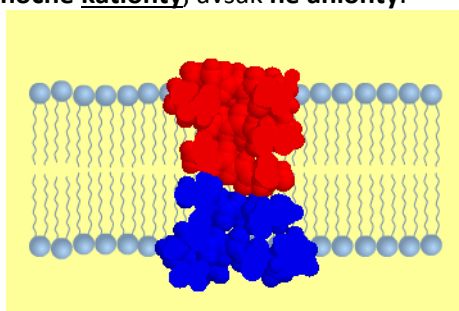
4.2.2.1.4 Ionofory (transportní antibiotika)

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

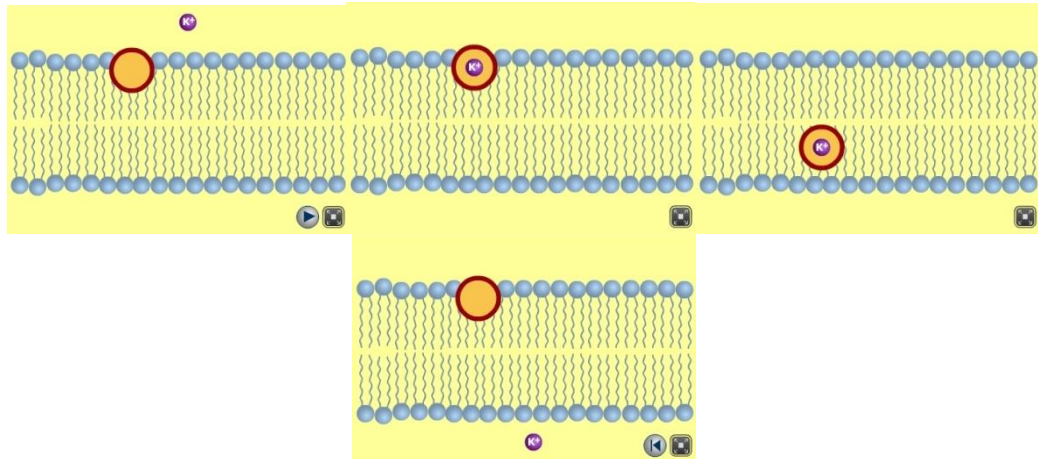
Gramicidin je peptid tvořený 15 aminokyselinovými zbytky. V membránách tvoří **β -helix**, který může **dimerizovat** a vytvořit kanál s **průměrem kolem 5 Å**. Polární zbytky směřují do nitra kanálu, nepolární zbytky jsou v kontaktu s membránou. **Kanálem může procházet voda a jednomocné kationty**,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



Obrázek (Gramicidinový kanál)

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.

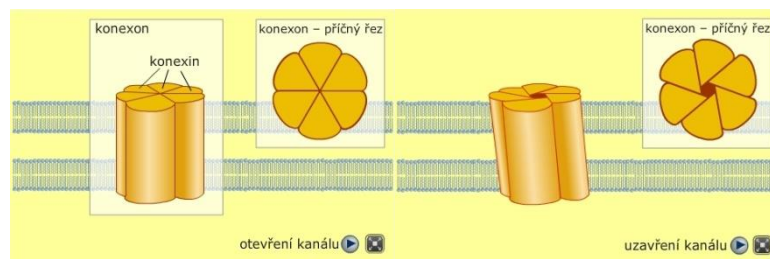
4.2.2.1.5 Mezerové spoje (gap junctions)

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**.



Obrázek (Fungování kanálu v gap junction); levá část: uzavřený kanál; pravá část: otevřený kanál

4.2.2.1.6 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:

- rozpoznání solutu** transportérem
- translokace solutu** přes membránu
- uvolnění solutu** transportérem
- 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:

- 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.

4.2.2.2 Energetika transportu

Směr membránového transportu z „vně (o) dovnitř (i)“: $\Delta G = G_i - G_o$

Pro elektroneutrální molekuly: $\Delta G = RT \ln c_i/c_o$

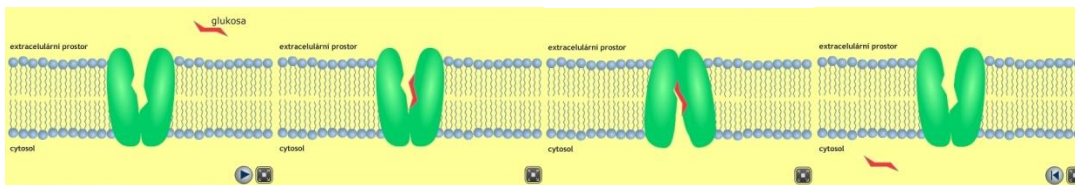
Pro ionty: $\Delta G = RT \ln c_i/c_o + zF\Delta\psi$, kde $\Delta\psi = \psi_i - \psi_o$

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.

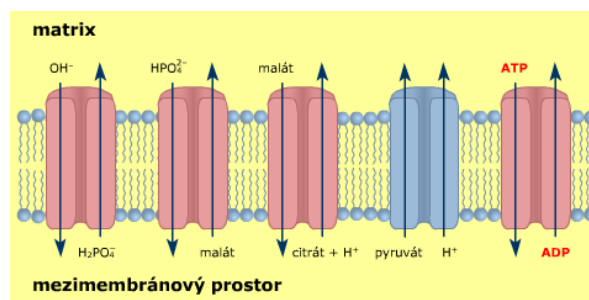
4.2.2.3 Pasivní transport (usnadněná difuze)

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.



Obrázek (Ukázky symportu a antiportu na vnitřní mitochondriální membráně)

4.2.2.4 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.

4.2.2.4.1 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 (vakulární)	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 (<u>ATP-binding cassette</u>)	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

Příkladem **primárního aktivního transportu** jsou **Ca^{2+} ATPasy**.

Ca^{2+} je významným druhým poslem v buňkách. Změny jeho koncentrace regulují řadu významných intracelulárních dějů.

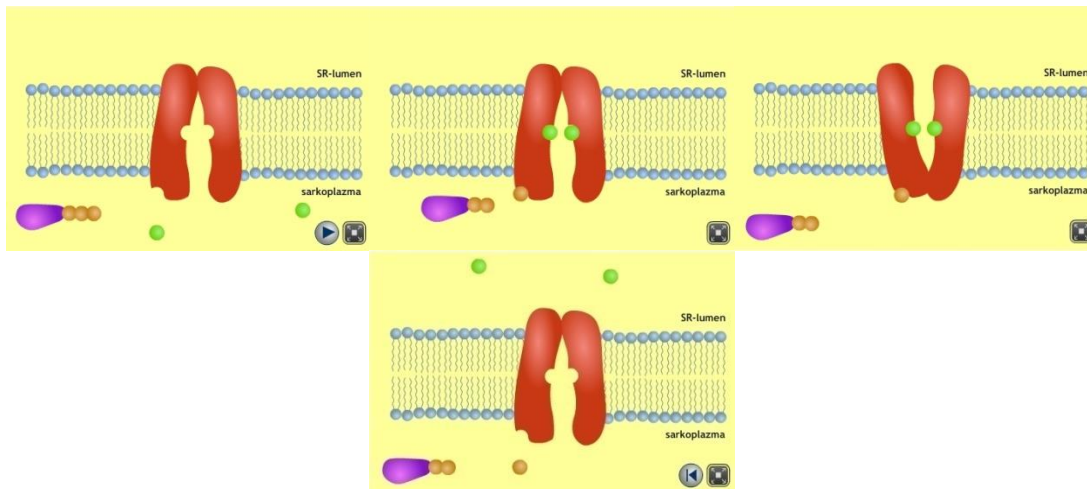
Klidová koncentrace Ca^{2+} v buňce je kolem **0,1 $\mu\text{mol/l}$** , zatímco koncentrace extracelulárního Ca^{2+} je **10⁴-krát větší**. Koncentrace Ca^{2+} v cytoplasmě se zvyšuje uvolňováním Ca^{2+} z endoplazmatického (**sarkoplazmatického**) **retikula** nebo dočasným otevřením Ca^{2+} kanálů 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 Ca^{2+} zpět do lumen endoplazmatického retikula
- druhá přenáší Ca^{2+} 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 $\frac{1}{3}$ povrchu membrány. Je tvořena jediným proteinem, který obsahuje 10 transmembránových helixů. Po navázání vápníku se na transportér váže ATP,

bílkovina je fosforylována a mění konformaci. Vazebné místo má malou afinitu k Ca^{2+} a je otevřeno opačným směrem (do lumen ER nebo extracelulárně).



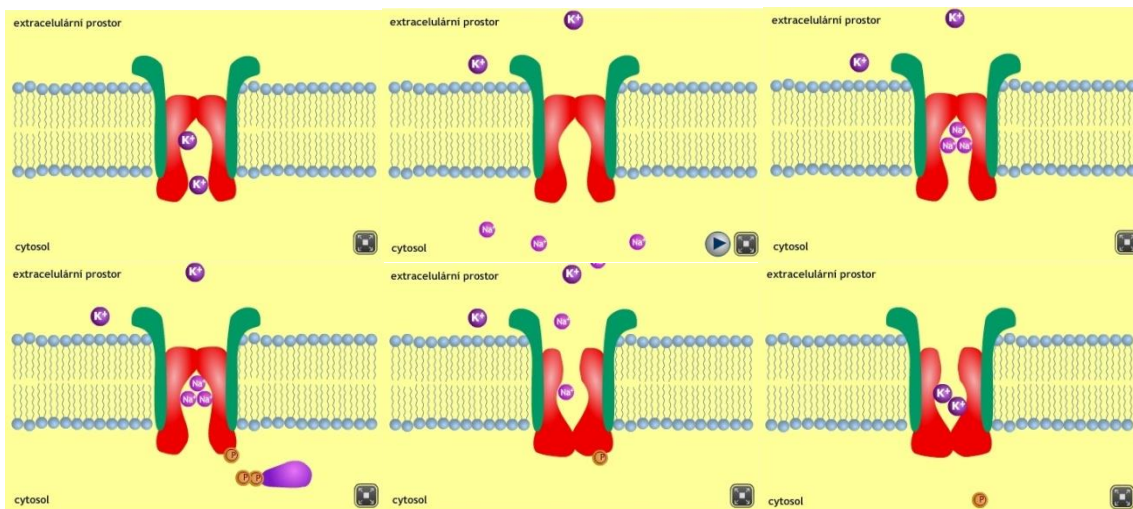
Obrázek (Ca^{2+} -ATPasa sarkoplazmatického retikula)

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**.

Jiným příkladem je 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**.



Obrázek (Na^+/K^+ -ATPasa)

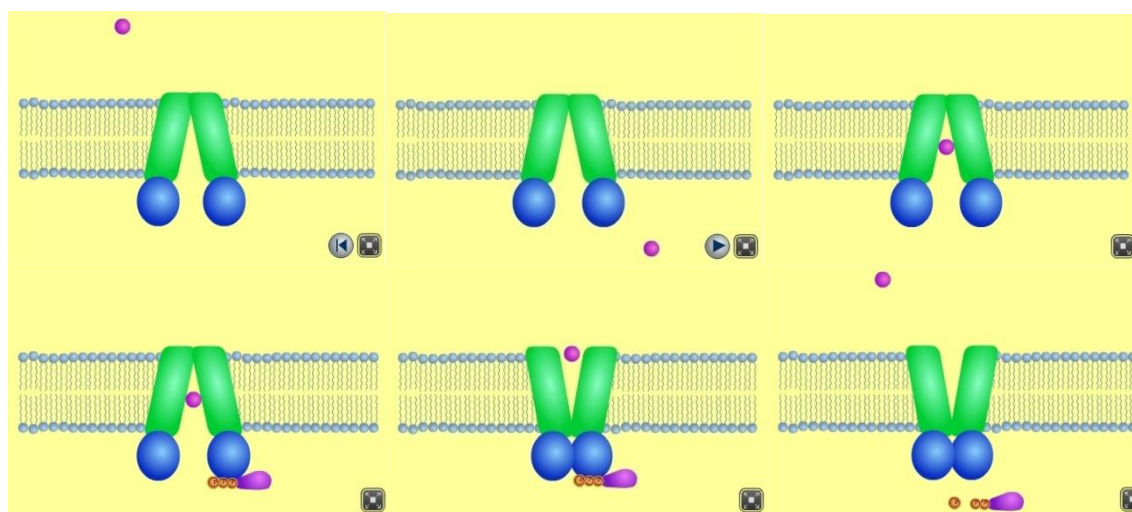
V parietálních buňkách žaludku se nachází **H^+/K^+ -ATPasa**.

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 vázící ATP**. Vazebné místo pro ligand je obvykle limitováno pro jednotlivé typy molekul.

Po vazbě ATP a jeho hydrolýze, získá fosforylovaný protein schopnost pumpovat ligand přes membránu. Látky mohou do kanálu vstupovat z nitra buňky a také z membrán.



Obrázek (Funkce ABC-transportéru)

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*.

Tabulka 3 - Příklady ABC transportérů

Symbol	Jiná zkratka	Funkce
ABCA1	ABC1	transport cholesterolu do HDL
ABCA2	ABC2	transport lipidů
ABCB1	MDR	multidrug resistance
ABCB4	PGY3	flopasa pro fosfatidylcholin
ABCB6	MTABC3	transport Fe
ABCB11	SPGP	transport žlučových kyselin
ABCC1	MRP1	multidrug resistance
ABCC2	MRP2	eflux organických iontů
ABCC3	MRP3	multidrug resistance
ABCC4	MRP4	transport nukleosidů
ABCC5	MRP5	transport nukleosidů
ABCC7	CFTR	transport chloridů

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 rezistenci vůči lékům (multidrug resistance) byl popsán **ABCB1 transportér (MRP1)**, postupně však bylo zjištěno, že za rezistenci vůči lékům odpovídají i další ABC transportéry (MRP3,MRP4 ad.).

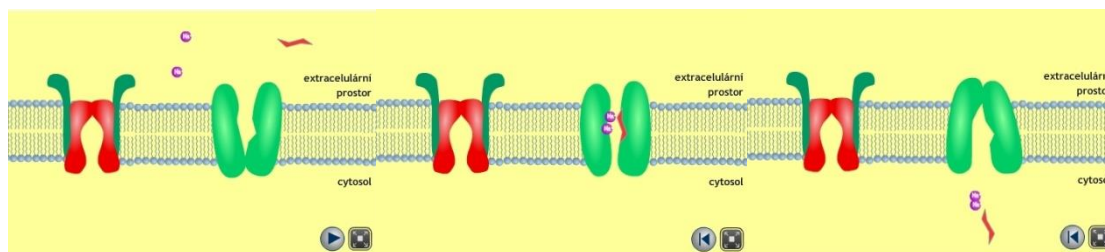
Jiné P-glykoproteiny zodpovídají za **transport fosfolipidů, cholesterolu a žlučových kyselin** přes kanalikulární plasmatickou membránu hepatocytů. Další MRP proteiny zajišťují **eflux látek konjugovaných s glutathionem, sírovou kyselinou a glukuronáty**. Jiný z P-glykoproteinů odpovídá za transport **glukuronidů bilirubinu** z jaterní buňky do žluče.

4.2.2.4.2 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).



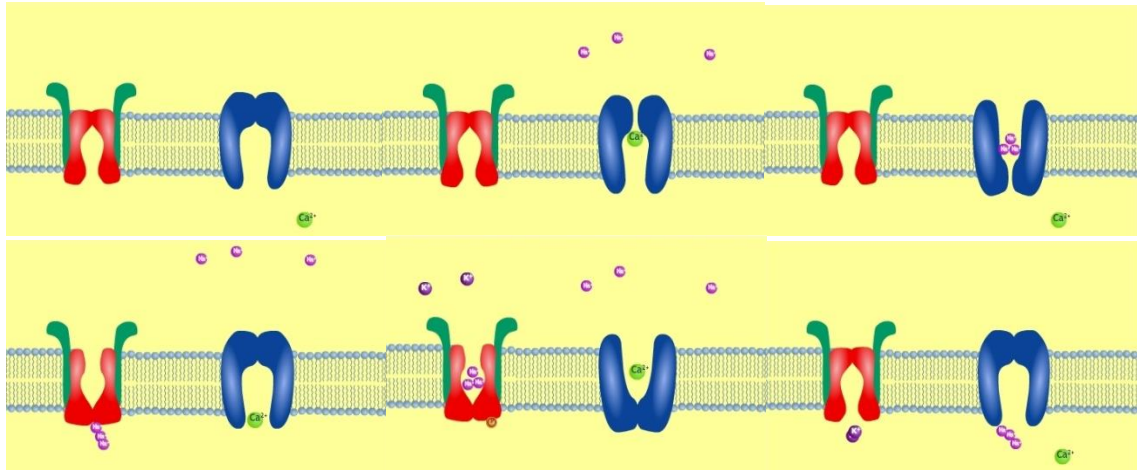
Obrázek (Transportér Na^+ /glukosa)

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 a 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 Na^+/K^+ -ATPasou v membráně **myocyty**.



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