

C4182

Biochemie II

09-Biomembrány

FRVŠ 1647/2012

Obsah

- Biomembrány, struktura, vlastnosti, funkce. „Polární lipidy“, glycerofosfolipidy, sfingolipidy, plasmalogeny.
- Membránový transport, usnadněná difuze, aktivní transport, permeasy a iontové kanály.
- Transport aminokyselin, cukrů a iontů. Symport, antiport.
- Fúze membrán.
- Významné transportní systémy.
- Struktura a funkce K-Na-ATPasy, glukosový přenašeč, mitochondriální transport.

Membránový transport

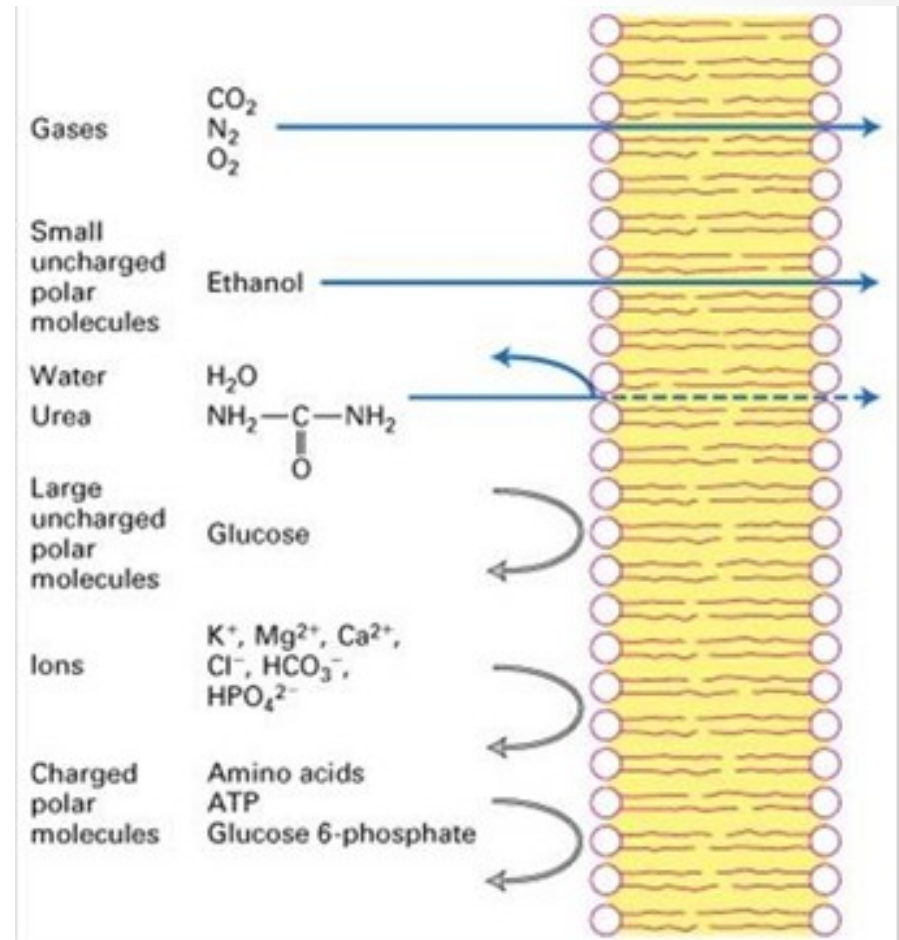
- Membrána jako přepážka
 - Kompartimentace
 - Struktura buněk – organely
 - Významný regulační princip – oddělení procesů
- Komunikace
 - Přenos materiálu
 - Přenos informace a signálů – regulace
 - Receptory
- Enzymové systémy v membráně
 - Organizované
 - Vektoriální procesy

Klasifikace

- Stránka materiálová
 - Otázka prostupnosti – polarita a velikost
- Stránka energetická
 - Otázka gradientů koncentrací a náboje
- Speciální hlediska

Typy transportů

- Volně
 - Plyny
 - Malé nenabité molekuly
- Zprostředkovaně
 - Velké nenabité polární molekuly
 - Ionty – H^+
 - Nabité polární molekuly
 - NADH

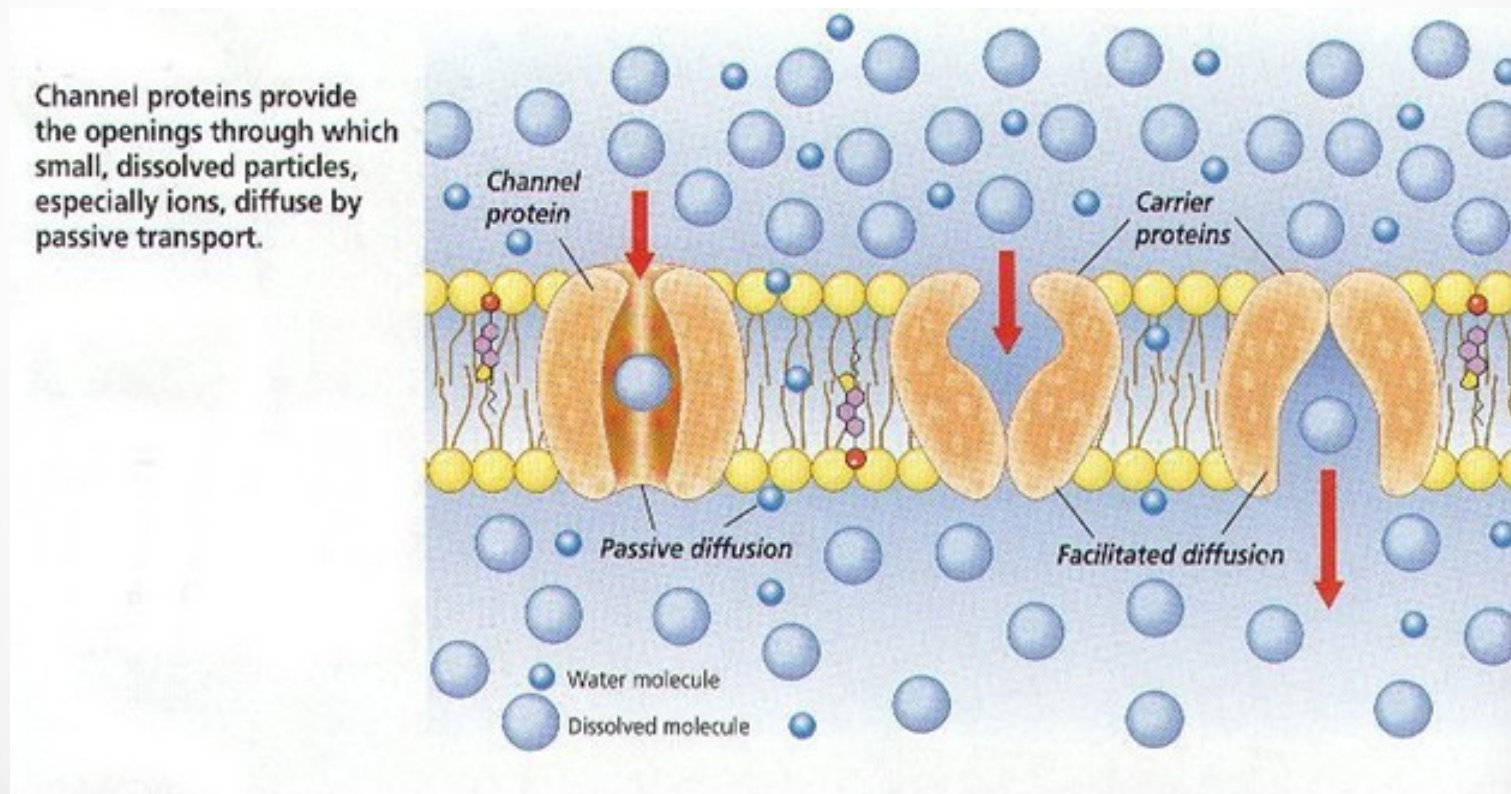


Materiální hlediska

- Volný transport
 - difuze přes membránovou strukturu – Fick
 - malé nepolární molekuly (plyny)
- Zprostředkovaný
 - usnadněná difuze
 - aktivní transport
 - speciální transportní systém
 - membránová bílkovina (komplex)
- Typy zprostředkovaného transportu
 - mobilní přenašeč - změna konformace otevírá vazná místa střídavě na jednu a druhou stranu
 - kanál (iontový) – oboustranně buď uzavřen nebo otevřen – řízeno chemicky (vazba ligandů) nebo potenciálově, mechanicky i kombinovaně
-

Typy transportu

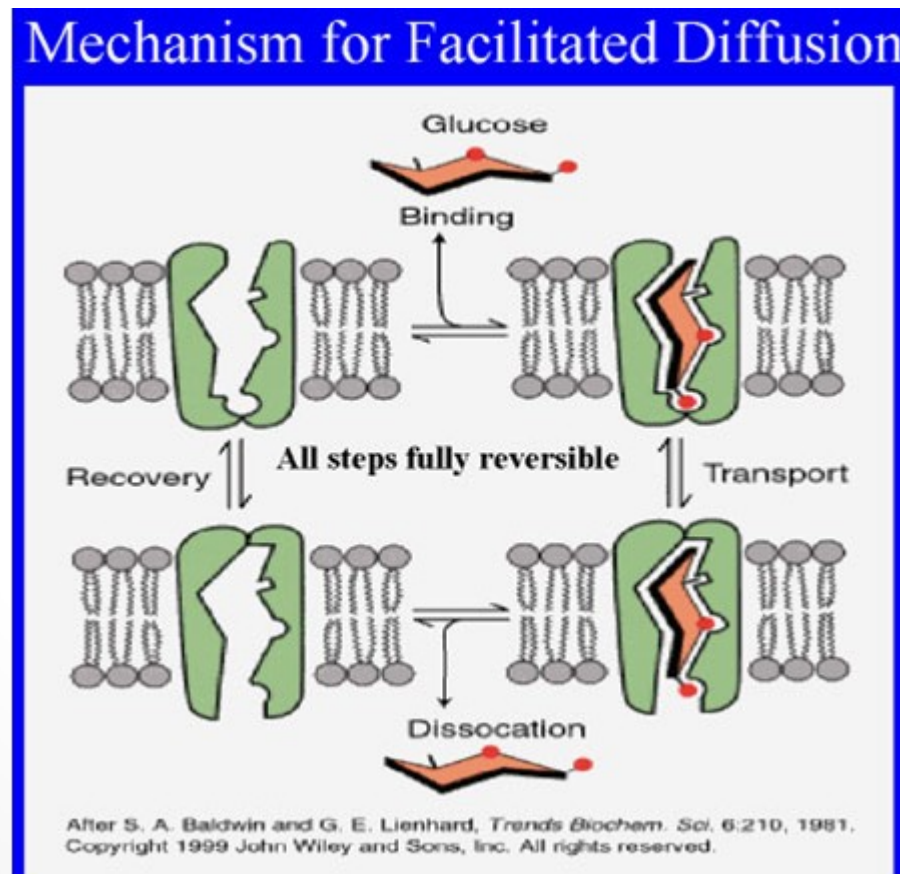
- **SCHEMA PROSTÉ A USNADNĚNÉ DIFUZE – kanálek a mobilní přenašeč**



Typy transportu

- **USNADNĚNÁ DIFUSE GLUKOSY**

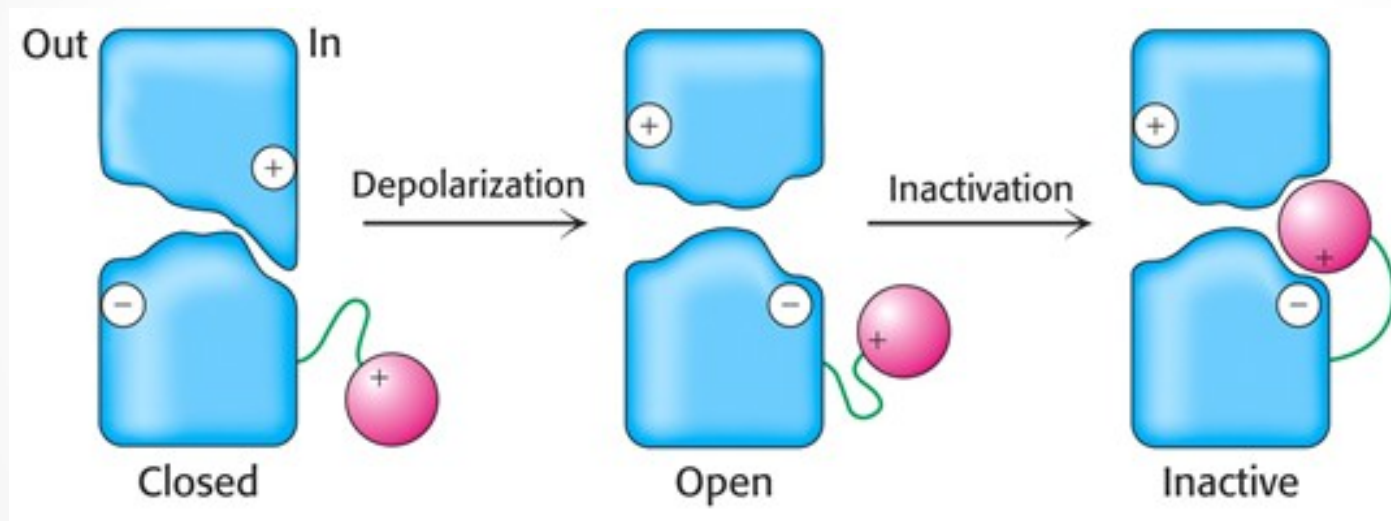
- zprostředkovaná mobilním přenašečem – specificita



Typy transportu

- **Iontové kanálky**

- Řízené chemicky, potenciálově, tlakem, kombinací

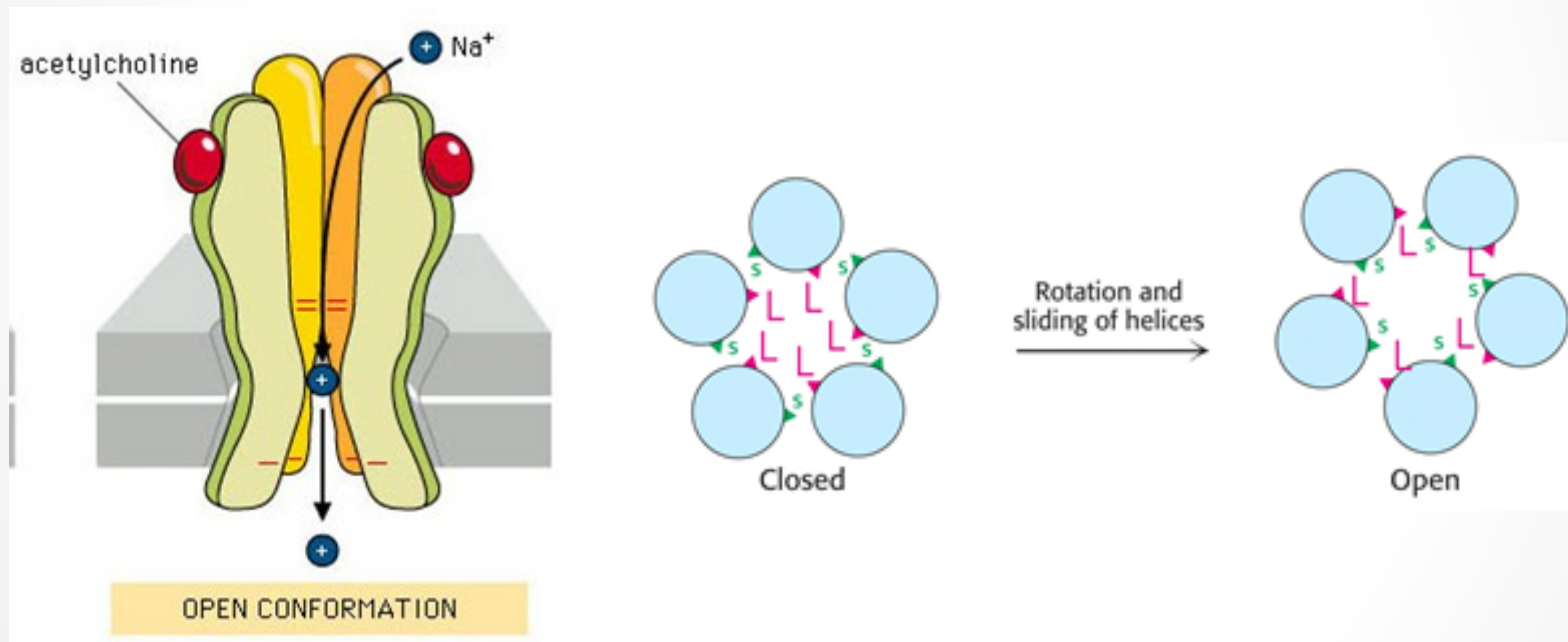


Potenciálem řízené iontové kanálky - otevírání a uzavírání

Typy transportu

- **Iontové kanálky**

- Řízené chemicky, potenciálově, tlakem, kombinací



- **Chemicky řízené iontové kanálky**

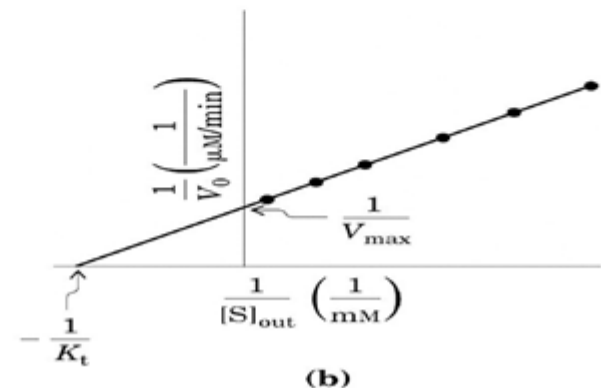
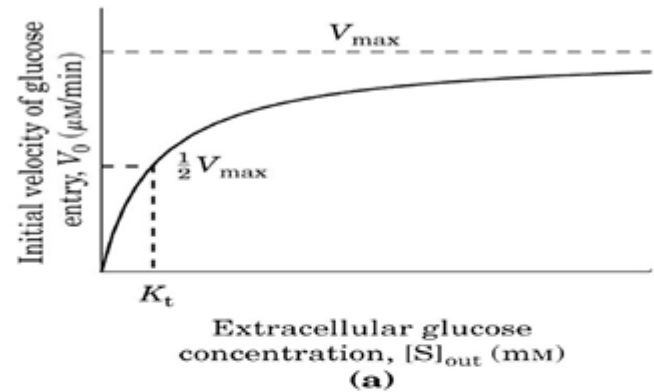
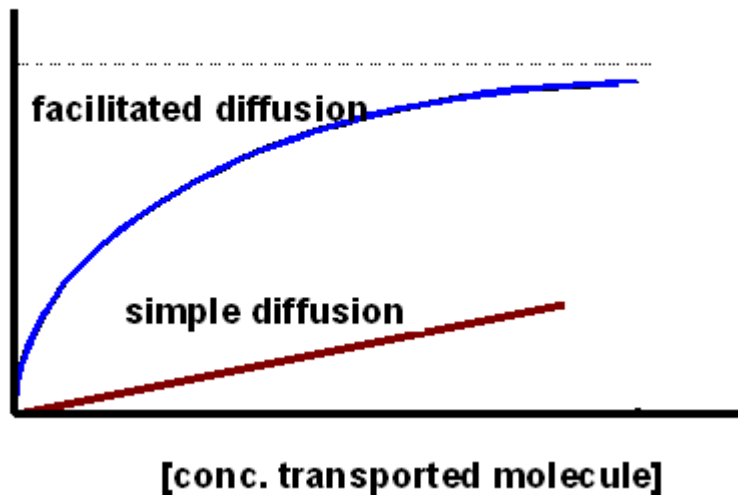
- otevírání a uzavírání je dáno vazbou ligandu, zde acetylcholinem

Kinetika transportu

- Obdoba kinetiky enzymů u zprostředkovaného transportu

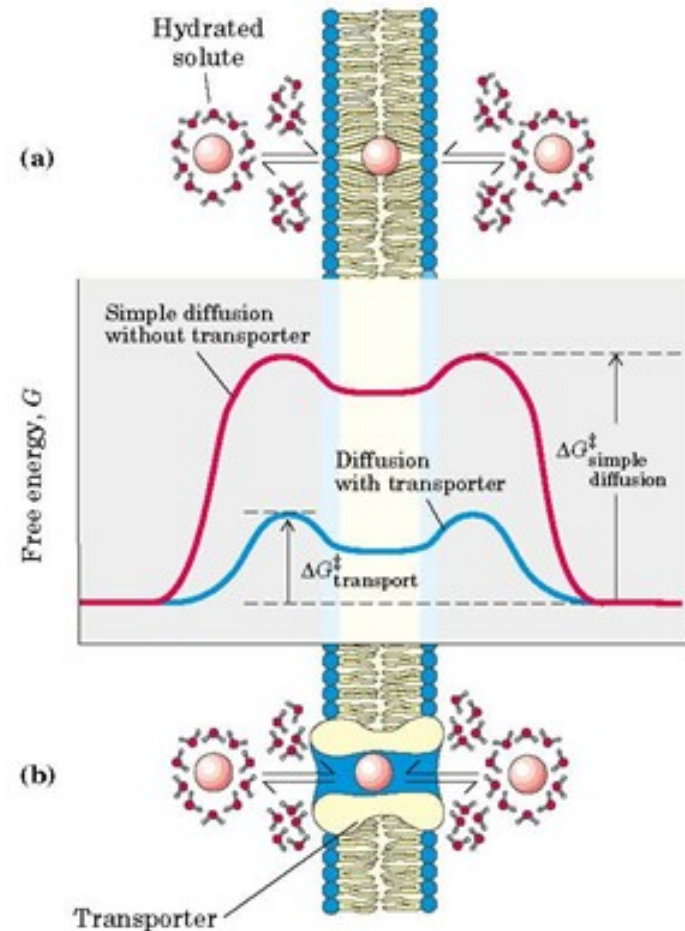
Kinetics of facilitated diffusion

rate of transport



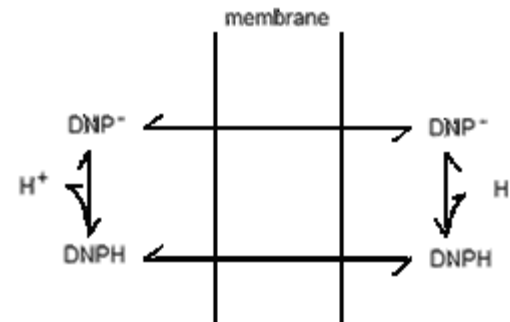
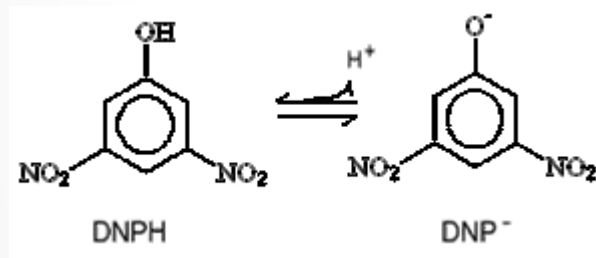
Podstata usnadnění difuze

- Analogie s aktivační energií u chemických reakcí a jejím snížením působením enzymů



Modely transportních systémů

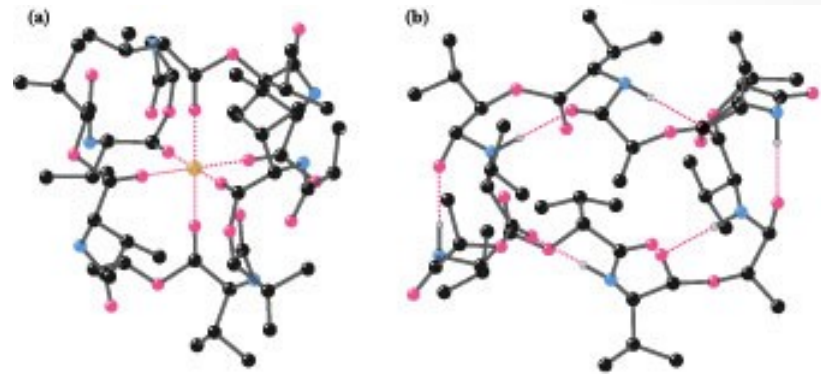
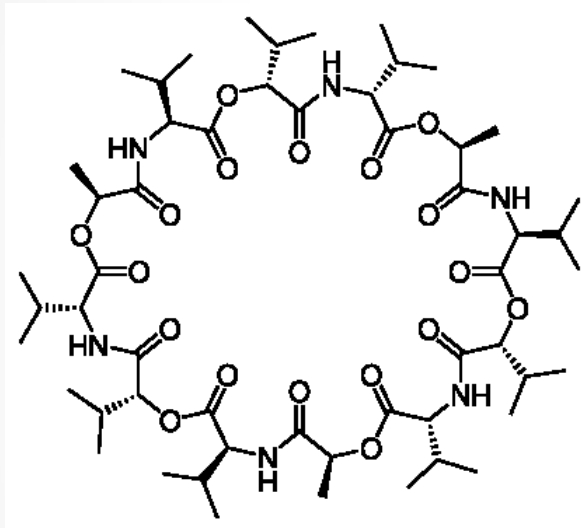
- Umělé kanálky a mobilní přenašeče (ionofory),
 - Přenos iontů je zprostředkován sloučeninami schopnými jejich vazby a transportu v membráně – typ mobilního přenašeče



- 2,4-dinitrofenol – přenos H⁺, působí jako rozpojovač (viz oxidační fosforylace)

Modely transportních systémů

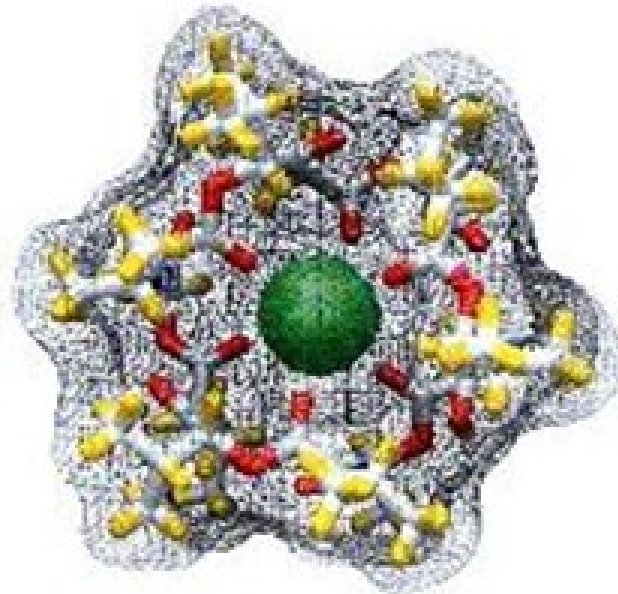
- Valinomycin



Komplex s K⁺ a volný

- Depsipeptid (smíšený ester-amid) valinomycin – přenos K⁺
- D- a L-valin, D-hydroxyvalerát a L-laktát

Modely transportních systémů



- VALINOMYCIN – K^+
 - vnitřní kavita molekuly valinomycinu odpovídá iontovému poloměru K^+
 - Podobnými vlastnostmi se vyznačují i tzv. „crown-etry“, kde velikost dutiny lze měnit počtem stavebních jednotek, cyklodextriny aj.

Modely transportních systémů

Gramicidin – peptid – kanál přes membránu

Struktura gramicidinu

Netvoří α -helix (obsahuje D- i L-aminokyseliny)

Helix o 6,3 AK zbytcích

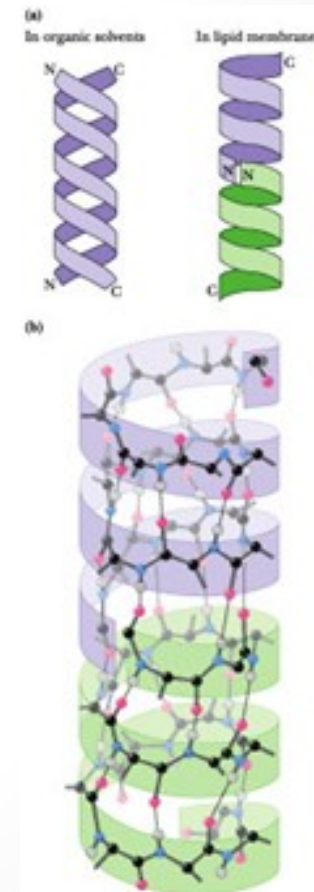
připomíná β -skládaný list

označovaný jako β -helix

2 řetězce pro překlenutí membrány

uvedená spirála není helix

- Podobné kanálky v membráně tvoří bílkovina mellitin obsažená ve včelím jedu.



Energetika transportu

Pasivní transport - proti gradientu - energie vlastního potenciálu látky – difuze (Fick)

Aktivní transport - po gradientu - energie dodávána zvenčí

- **primární** - spřaženou chemickou reakcí (ATPasa, oxidoredukce)
- **sekundární** - spřaženým exergonickým transportem jiné látky

Chemický potenciál

$$\mu = RT \cdot \ln c + \mu_0 \quad \Delta\mu = RT \cdot \ln (c_2/c_1) \quad \text{pro přenos 1 molu}$$

Elektrický potenciál – ionty

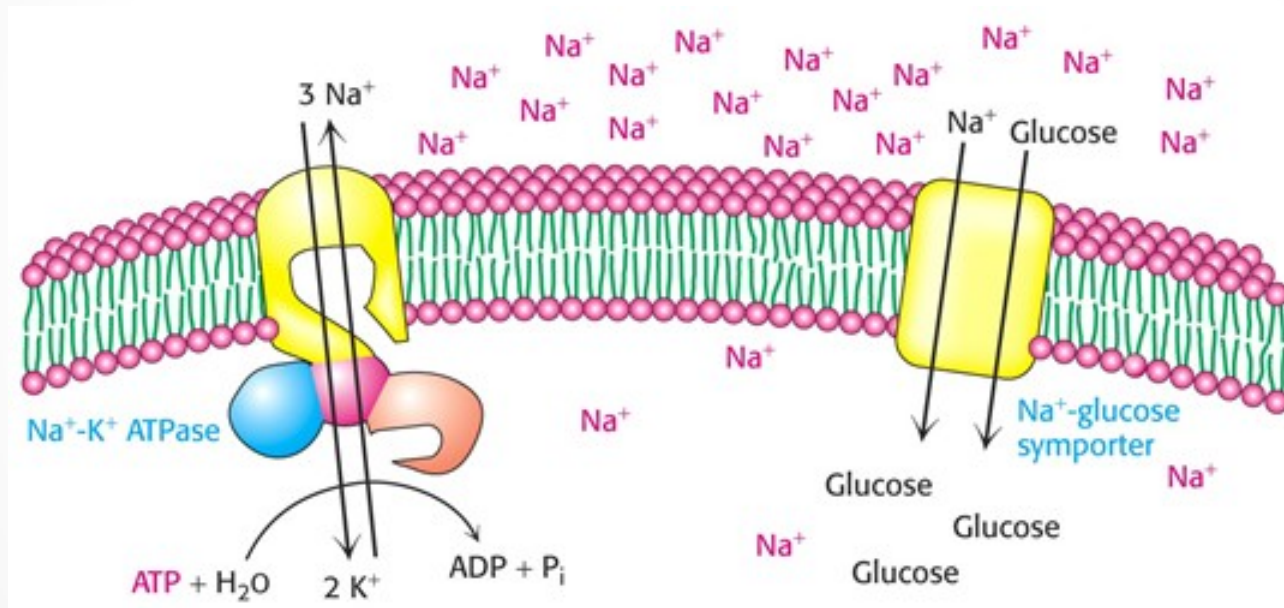
$$\Delta\Psi = (RT/nF) \cdot \ln (c_2/c_1) - \text{pro daný ion}$$

Elektrochemický potenciál – srov. *pms*

$$\Delta G = RT \cdot \ln (c_2/c_1) + nF \cdot \Delta\Psi - \text{pro všechny ionty}$$

Energetika transportu

- AKTIVNÍ TRANSPORT - PRIMÁRNÍ A SEKUNDÁRNÍ



- Na⁺,K⁺-ATPáza a přenašeč glukózy symportem s Na⁺

Energetika transportu

Membrane Energetics

$$\Delta G = RT2.303 \log (C_2/C_1) + nF\psi$$

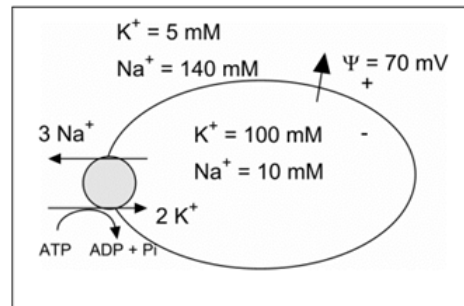
$$= 5.7(\text{KJ/mol}) \log (C_2/C_1) + n96.5(\text{KJ/mol})\psi$$

$$= 1.36(\text{Kcal/mol}) \log (C_2/C_1) + n23.1(\text{Kcal/mol})\psi$$

1. To pump Na⁺ out, both forces work against.

$$\Delta G = 5.7 \log(140/10) + 1 \times 96.5 \times (0.07 \text{ V}) = 6.5 + 6.8 = 13.3 \text{ KJ/mol}$$

2. To pump K⁺ in, concentration gradient opposes, but electrostatic field favors import



$$\Delta G = 5.7 \log(100/5) + 1 \times 96.5 \times (-0.07 \text{ V}) = 7.4 - 6.8 = 0.6 \text{ KJ/mol}$$

3. To pump 3 Na⁺ out and 2 K⁺ in:

$$3 \times 13.3 \text{ KJ/mol} + 2 \times 0.6 \text{ KJ/mol} = 42 \text{ KJ/mol} = 10 \text{ Kcal/mol}$$

4. ATP hydrolysis: standard state give -31 KJ/mol = -7.5 Kcal/mol

However, steady state conditions (ie ATP ≈ 8 mM, ADP ≈ 1 mM, and Pi ≈ 8 mM) gives

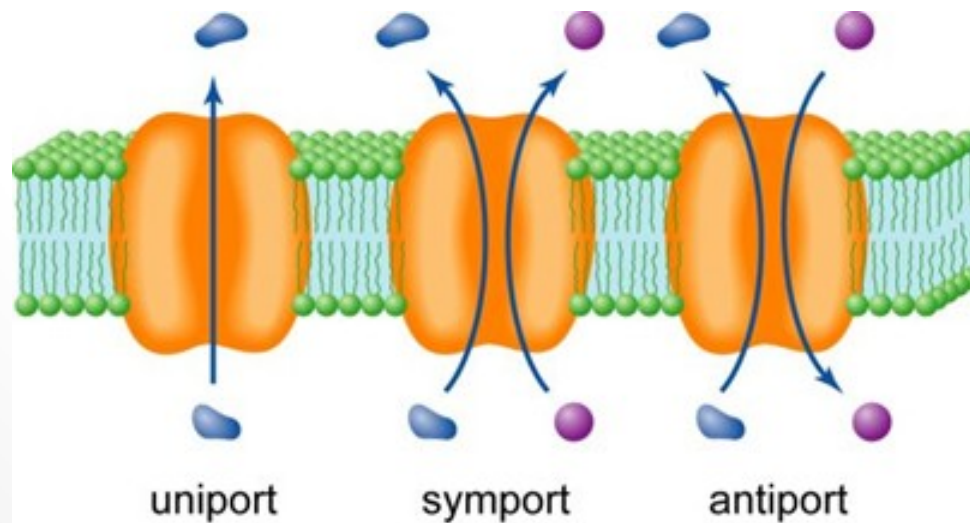
$$-49 \text{ KJ/mol} = -11.7 \text{ Kcal/mol}$$

more than enough to carry out the pumping.

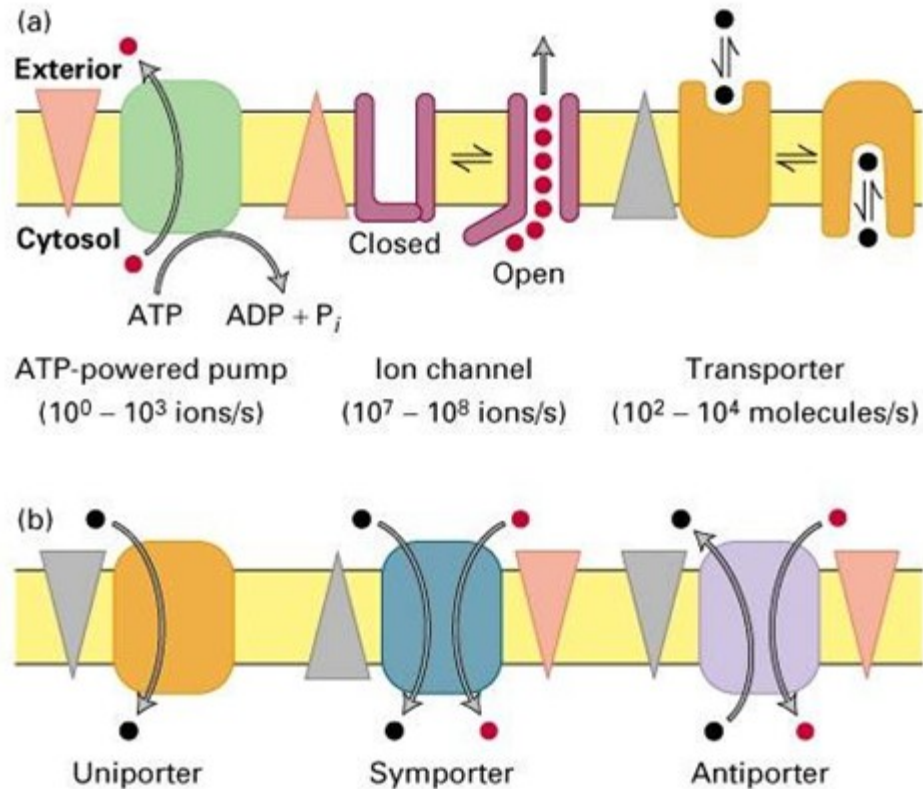
Příklad energetických poměrů na membráně při transportu Na⁺ a K⁺ poháněného ATP. Výpočte lze zjistit vztah mezi velikostí membránového potenciálu a potřebnou energií pro transport.

Způsoby transportu

- Uniport
 - jen u pasivního nebo primárního
- Kotransport
 - současný transport - vždy u sekundárního, může být i u primárního
 - symport a antiport
- Neelektrogenní a elektrogenní transport



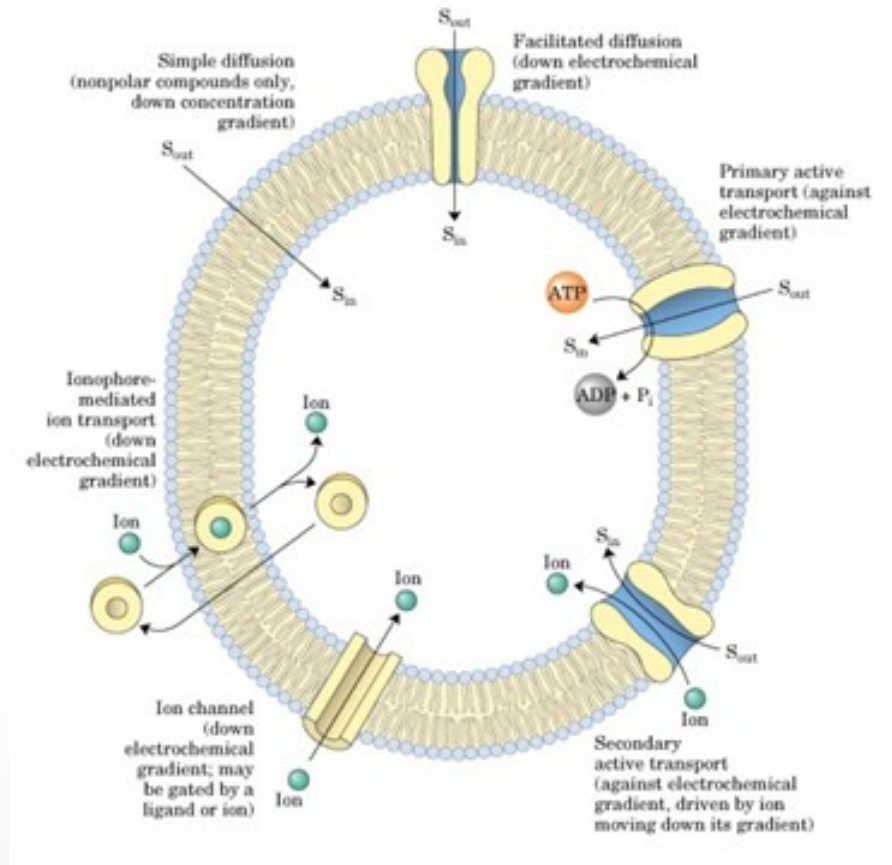
Typy přenosu



Přehled a srovnání různých typů a způsobů

Souhrnný přehled

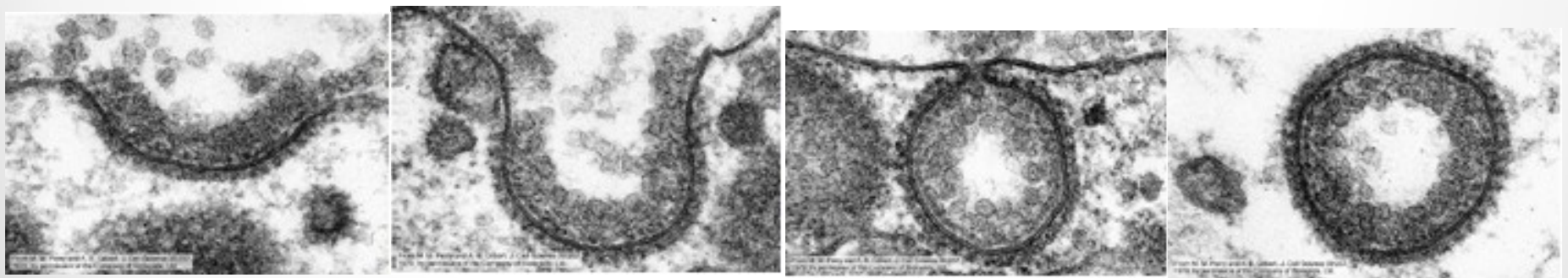
Summary of Transporters



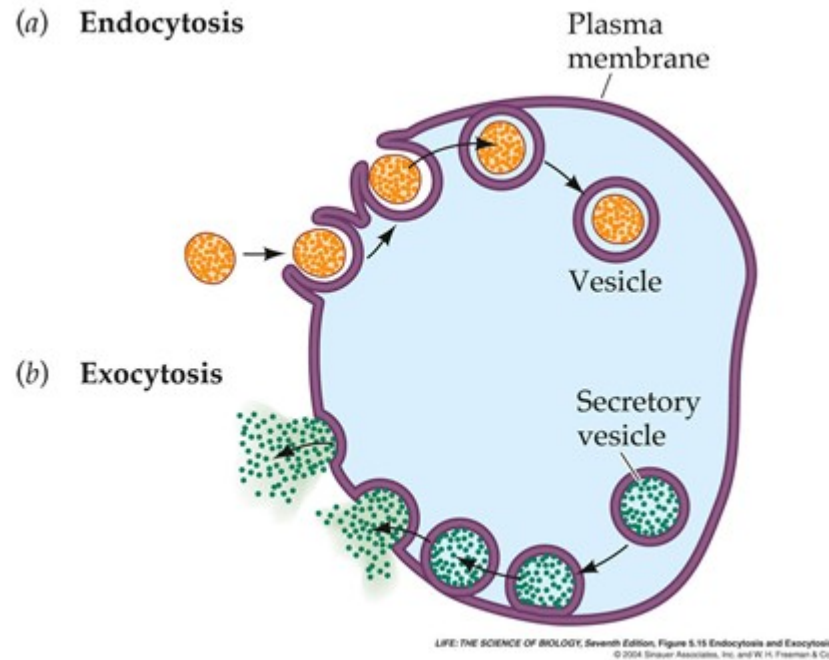
Fúze membrán

- FÚZE MEMBRÁN

- Splynutí bimolekulárních fosfolipidových vrstev – překážka – odpor hydratace, náboje apod.
- Fúzogenní faktory – Ca^{2+} , bílkoviny (klatrin) – kaskády reakcí – nakonec fúze – viz synapse
- umělé – polyetylenglykol (odnímání vody)
- model – fúze ok tuku na hladině



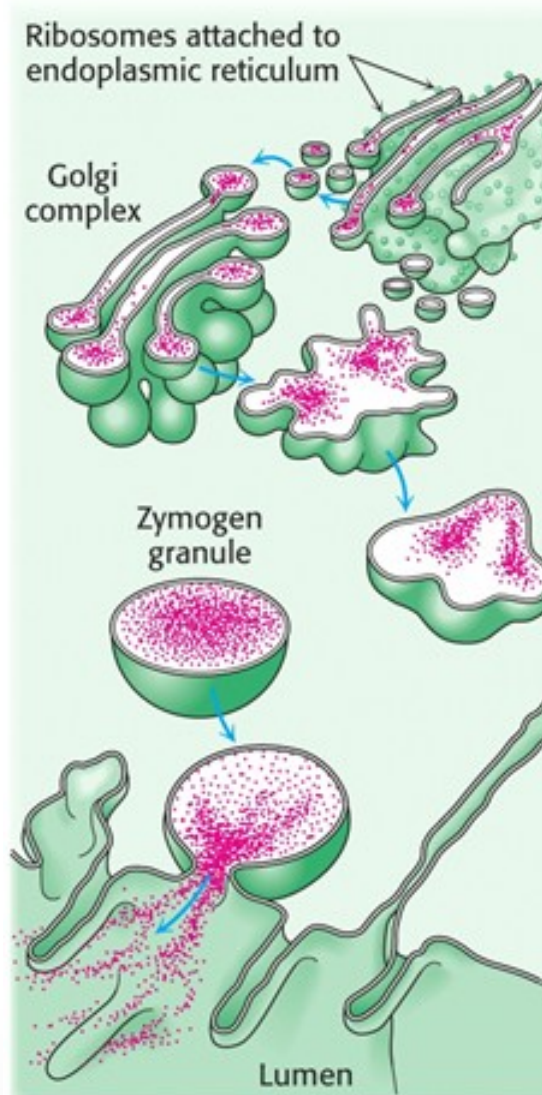
Fúze membrán



- Schema exo- a endocytozy

Fúze membrán

Transport
membránových
veziklů



Významné transportní systémy

Na-K ATPasa

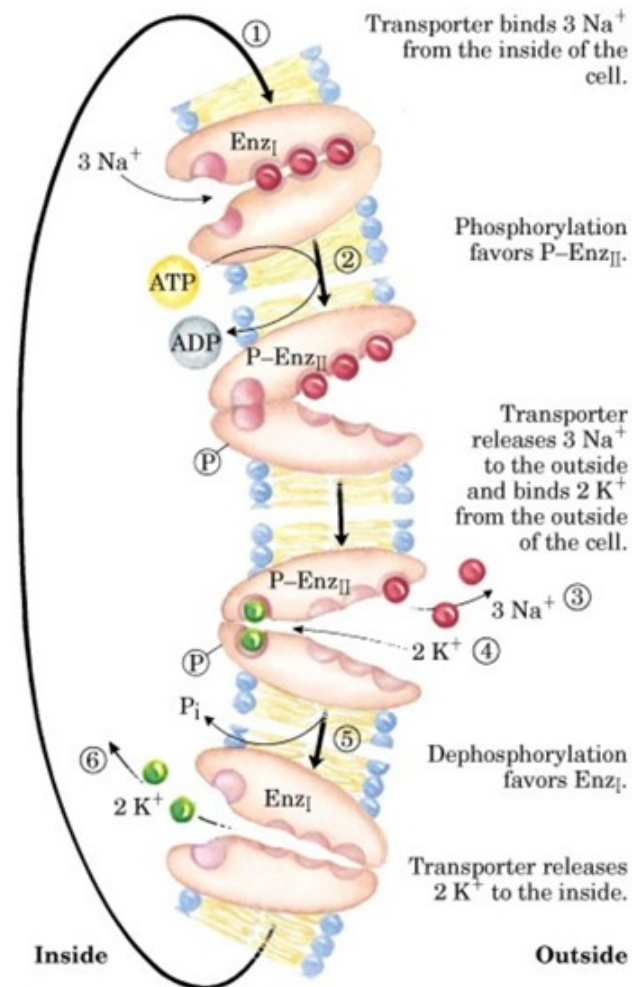
NaK pumpa

Generuje membránový potenciál

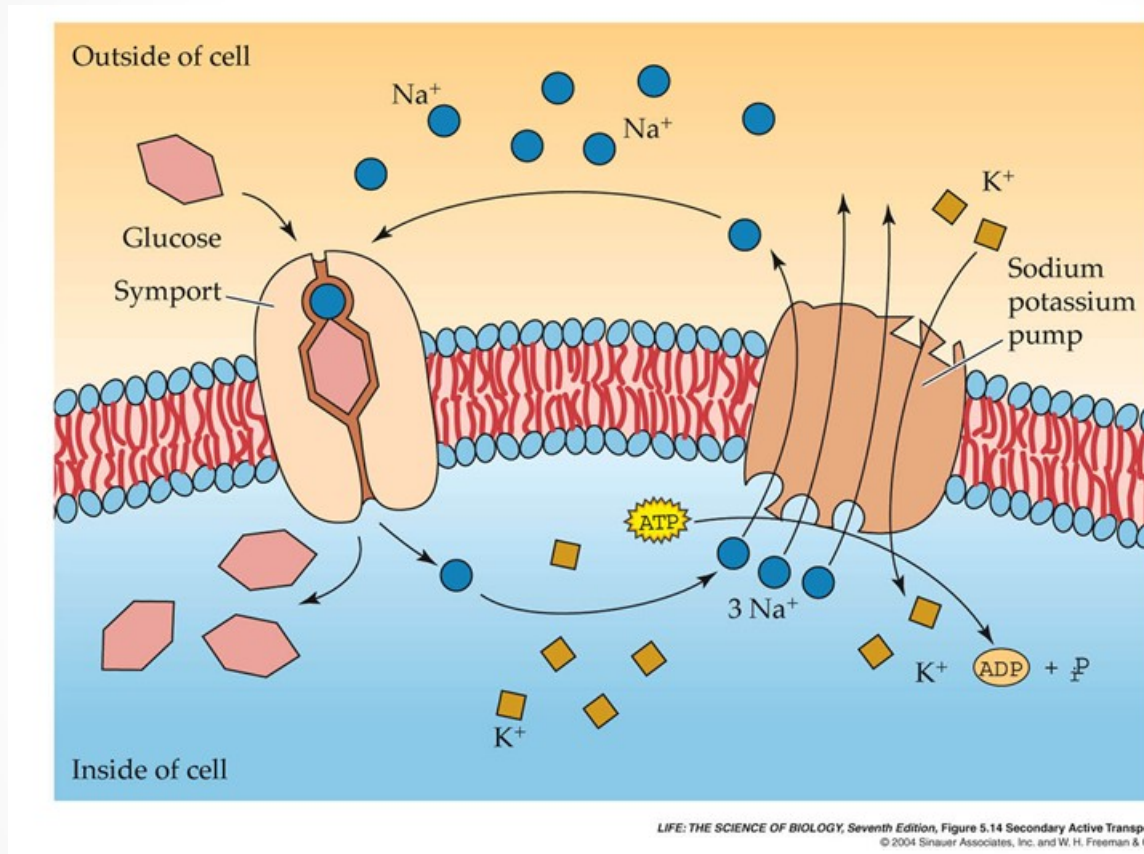
Postupné kroky

Konformační změny

Mechanism of the Na-K transporter



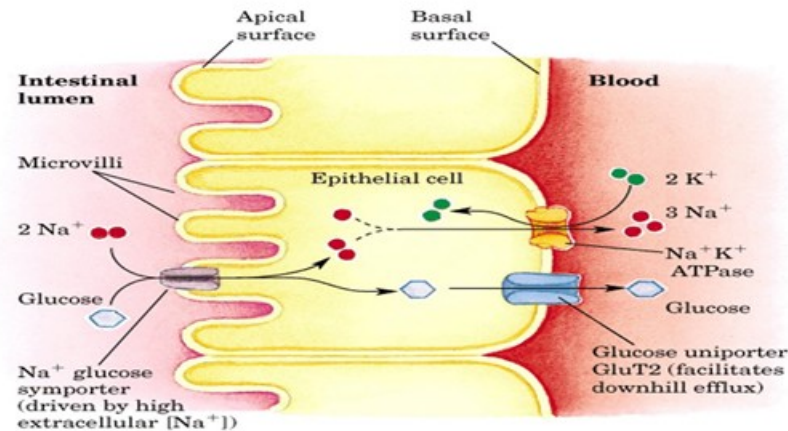
Významné transportní systémy



- Využití gradientu iontů pro sekundární transport
 - NaK pumpa a symport Na-Glc

Významné transportní systémy

Na⁺/glucose symporter



For charged ion transport: $\Delta G = RT \ln \frac{[Na^+]_{in}}{[Na^+]_{out}} + n F \Delta E$

$$= 5.7 \text{ KJ} \log \frac{[Na^+]_{in}}{[Na^+]_{out}} + n \times 96.5 \Delta E$$

$$\text{Moving a } Na^+ \text{ ion into the cell releases } = 5.7 \log(12/145) + 1 \times 96.5 \times (-0.05) \\ = -6.2 \text{ KJ/mol} - 4.8 \text{ KJ/mol} = -11 \text{ KJ/mol}$$

If two Na⁺ ions move, energy available to pump glucose is -22 KJ/mol.

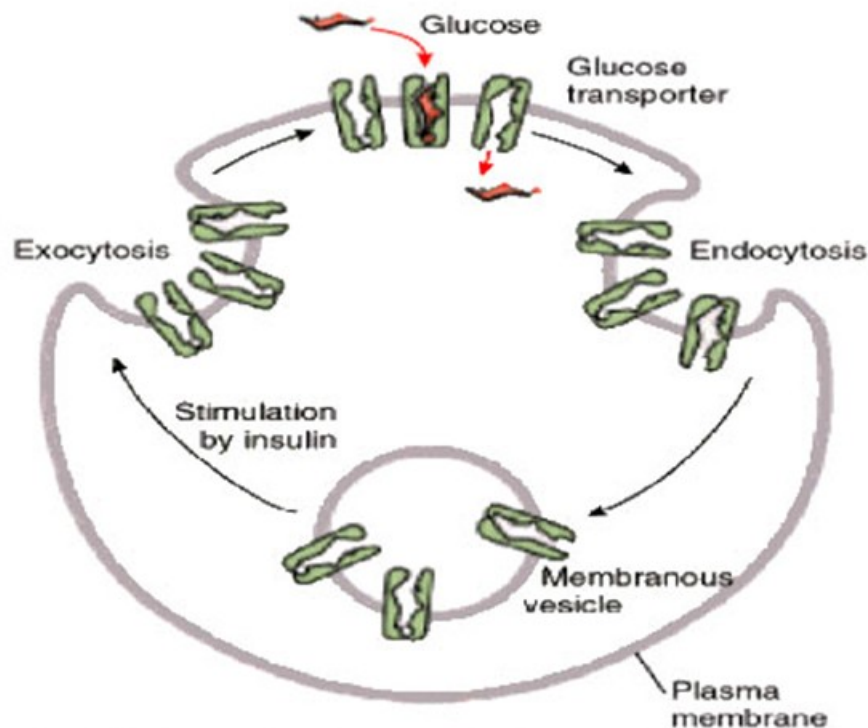
This energy could transport glucose against a concentration gradient; it's magnitude would be governed by the available energy:

$$\Delta G = 22 \text{ KJ/mol} = 5.7 \text{ kJ/mol} \times \log \frac{[glucose]_{in}}{[glucose]_{out}}$$

$$3.86 = \log \frac{[glucose]_{in}}{[glucose]_{out}} \text{ therefore } \frac{[glucose]_{in}}{[glucose]_{out}} = 7000.$$

- Energetika symportu Na-Glc

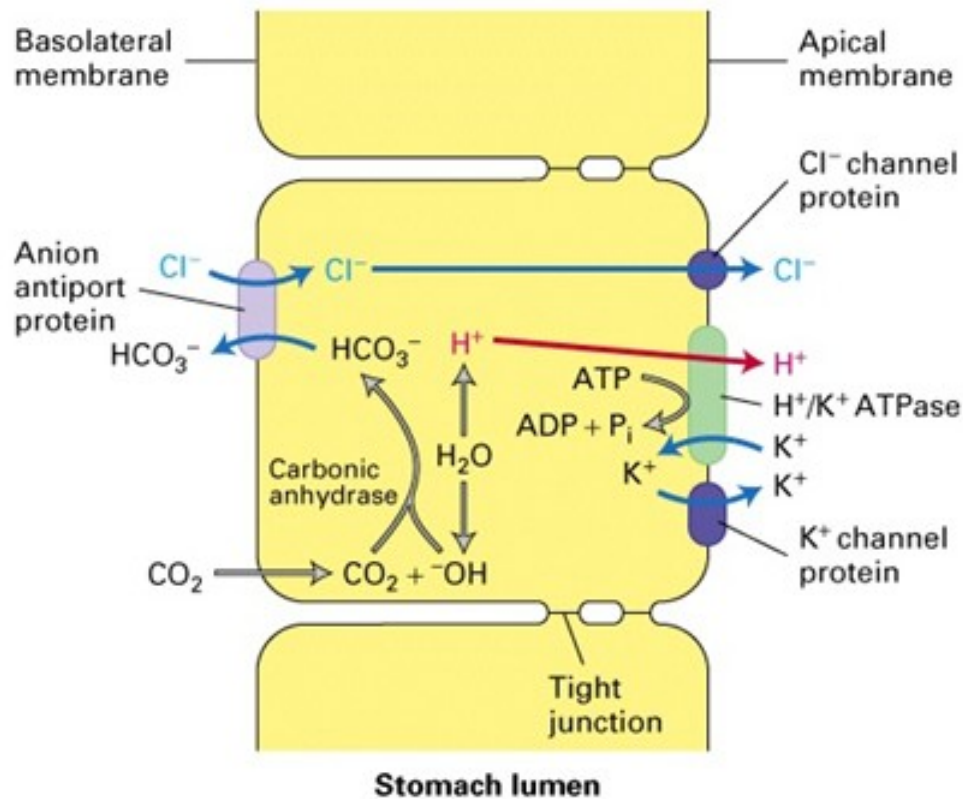
Významné transportní systémy



From D. Voet and J. G. Voet, *Biochemistry*, 2d ed., copyright © 1995, John Wiley & Sons, Inc. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc. Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

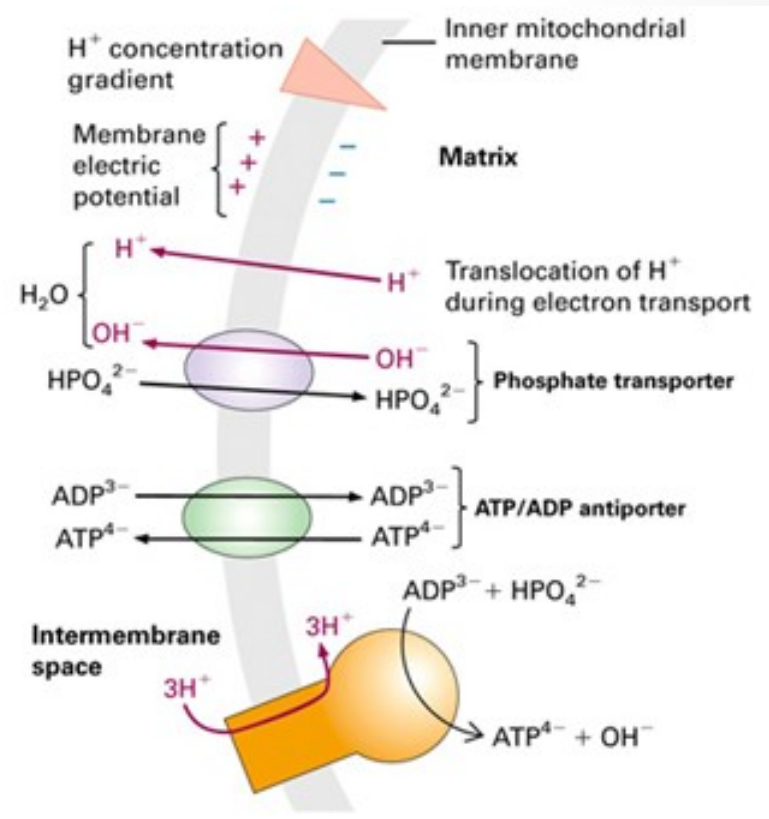
- Usnadněná difuze Glc, vliv insulinu

Významné transportní systémy



- Transport HCl do žaludku

Mitochondriální transport

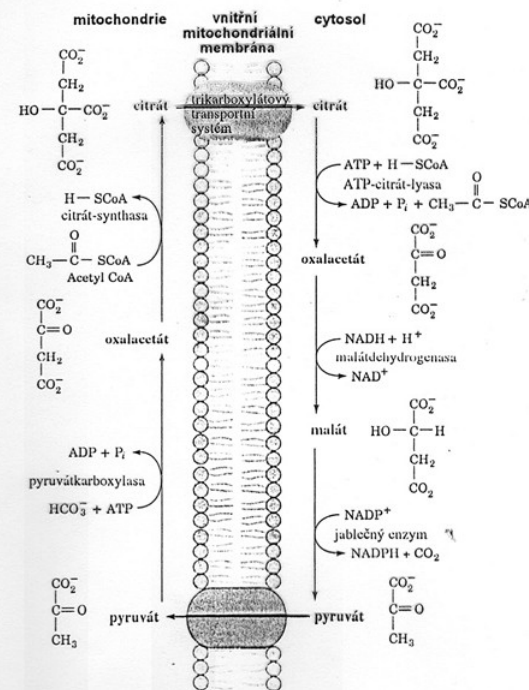


- Výměna ATP-ADP
 - Velké množství dalších – di- a trikarboxyláty, AK, citrát – jinde

Mitochondriální transport

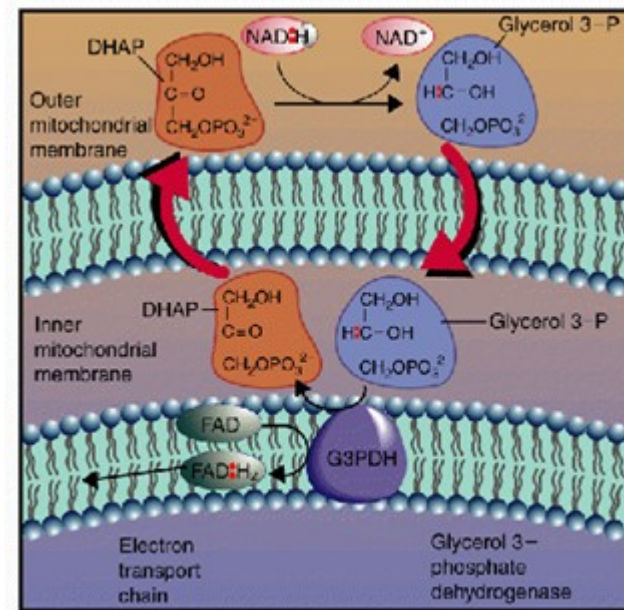
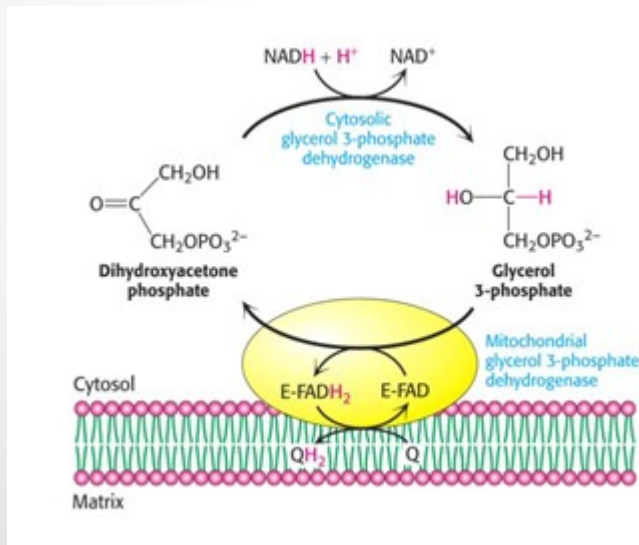
- Přenos citrátu
 - Zdroj AcCoA

Přenos AcetCoA vně mitochondrie



Oxidoredukční člunky

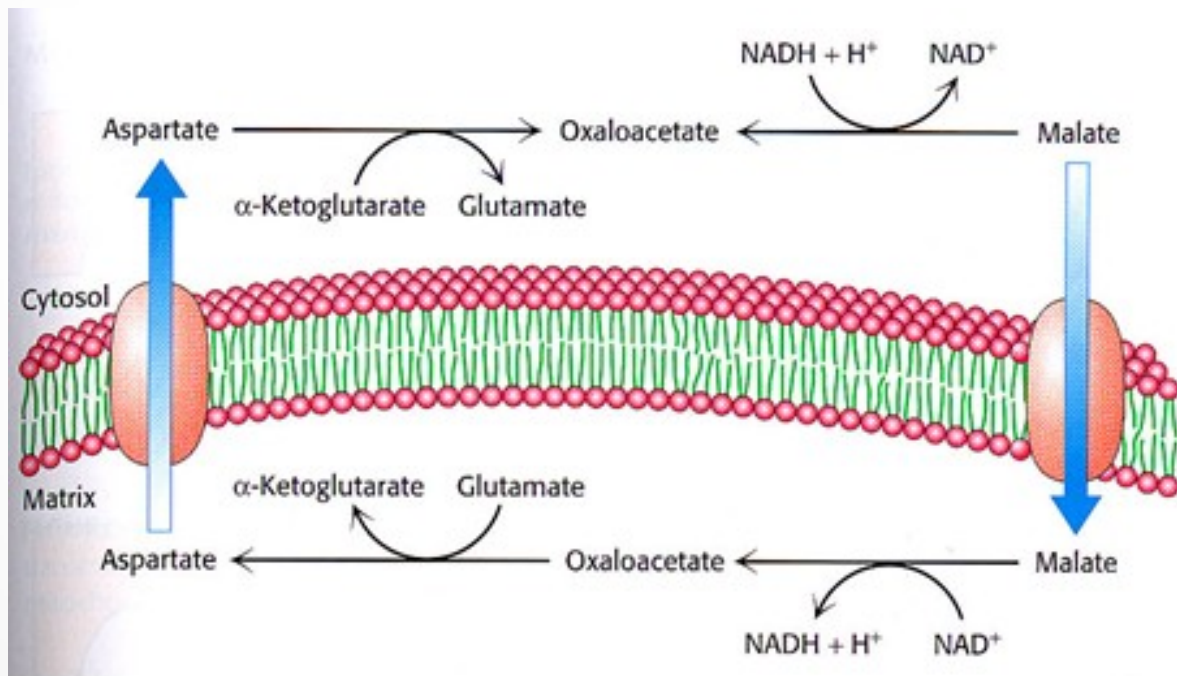
- Problém oxidace cytosolického NADH
 - Glycerolfosfátový člunek
 - Ztráta (FADH₂ místo NADH) – rychlost
 - Létací svaly hmyzu



Copyright © 2004 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Oxidoredukční člunky

- Malát-Aspartátový člunek



Malate-aspartate shuttle

