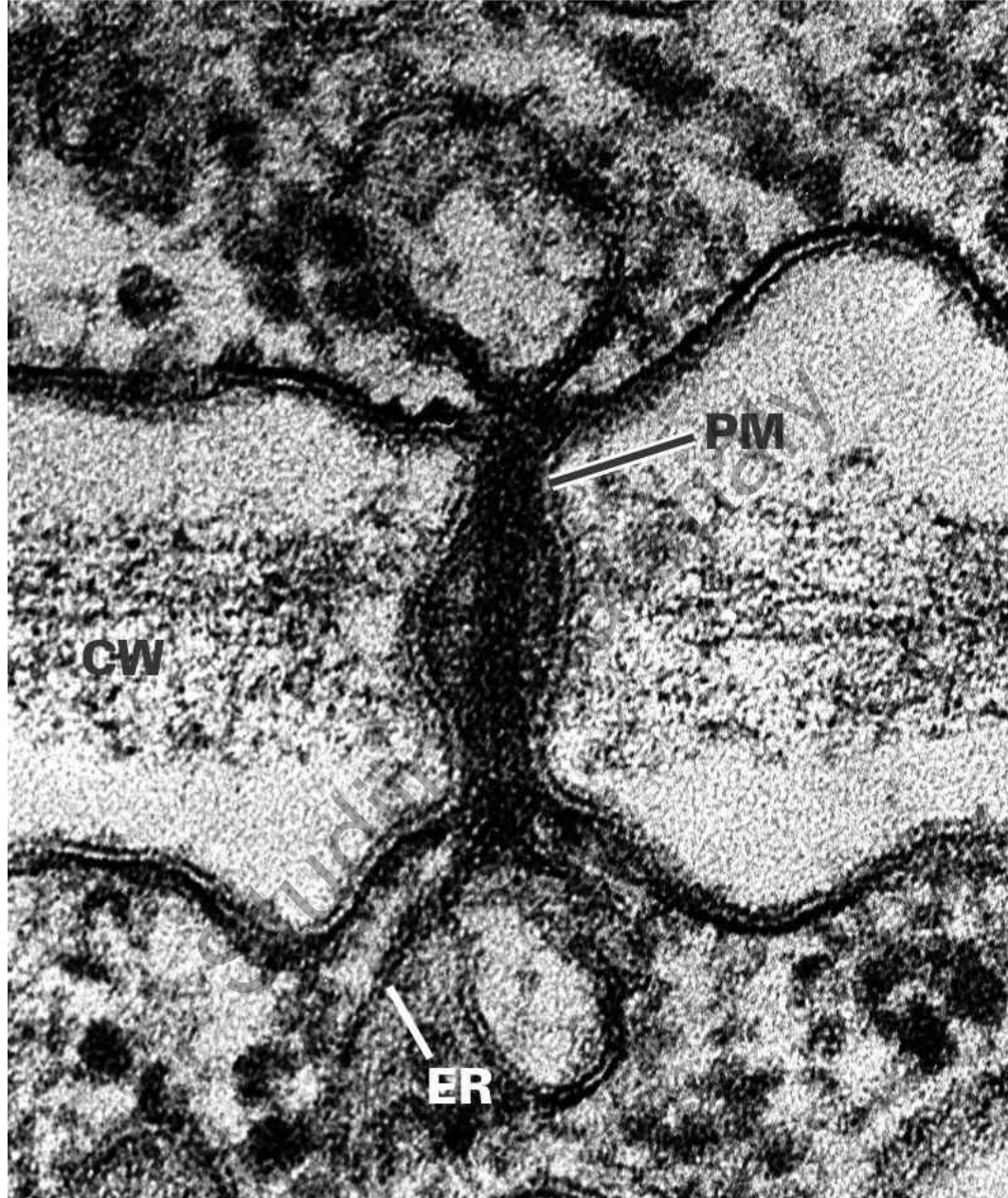


Cytoplasmatická membrána a membránový transport

Studijní materiály



Plasmodesmata. PM- plasmatická membrána, ER endopl. retikulum

Složení cytoplazmatické membrány

- rostlinné buňky

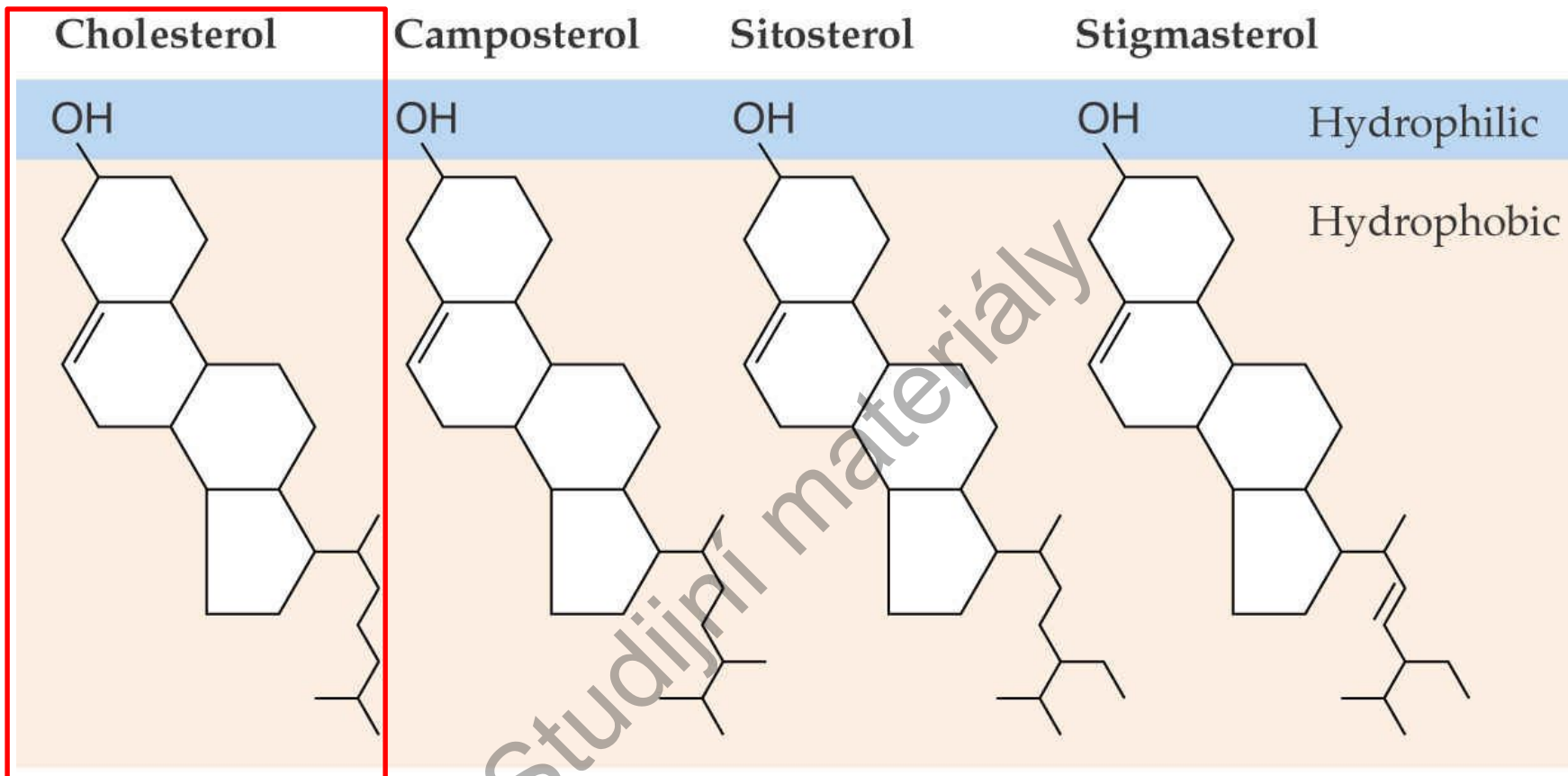
vyšší procento glykosylovaných a esterifikovaných sterolů

chybí sfingomyeliny

kys. palmitovou, linolovou a linolenovou

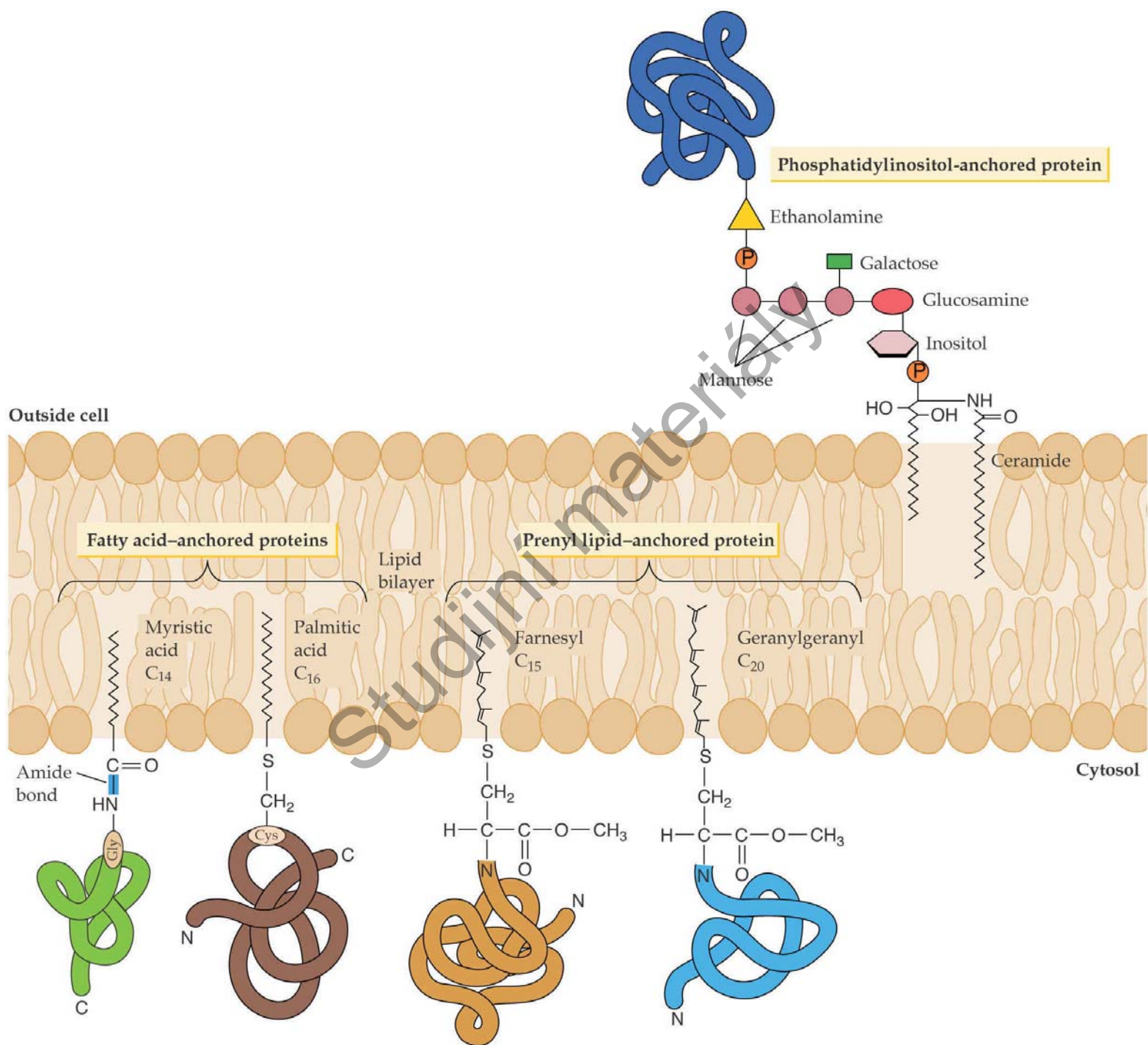
- živočišné buňky

kys. palmitovou, olejovou, stearovou a arachidonovou



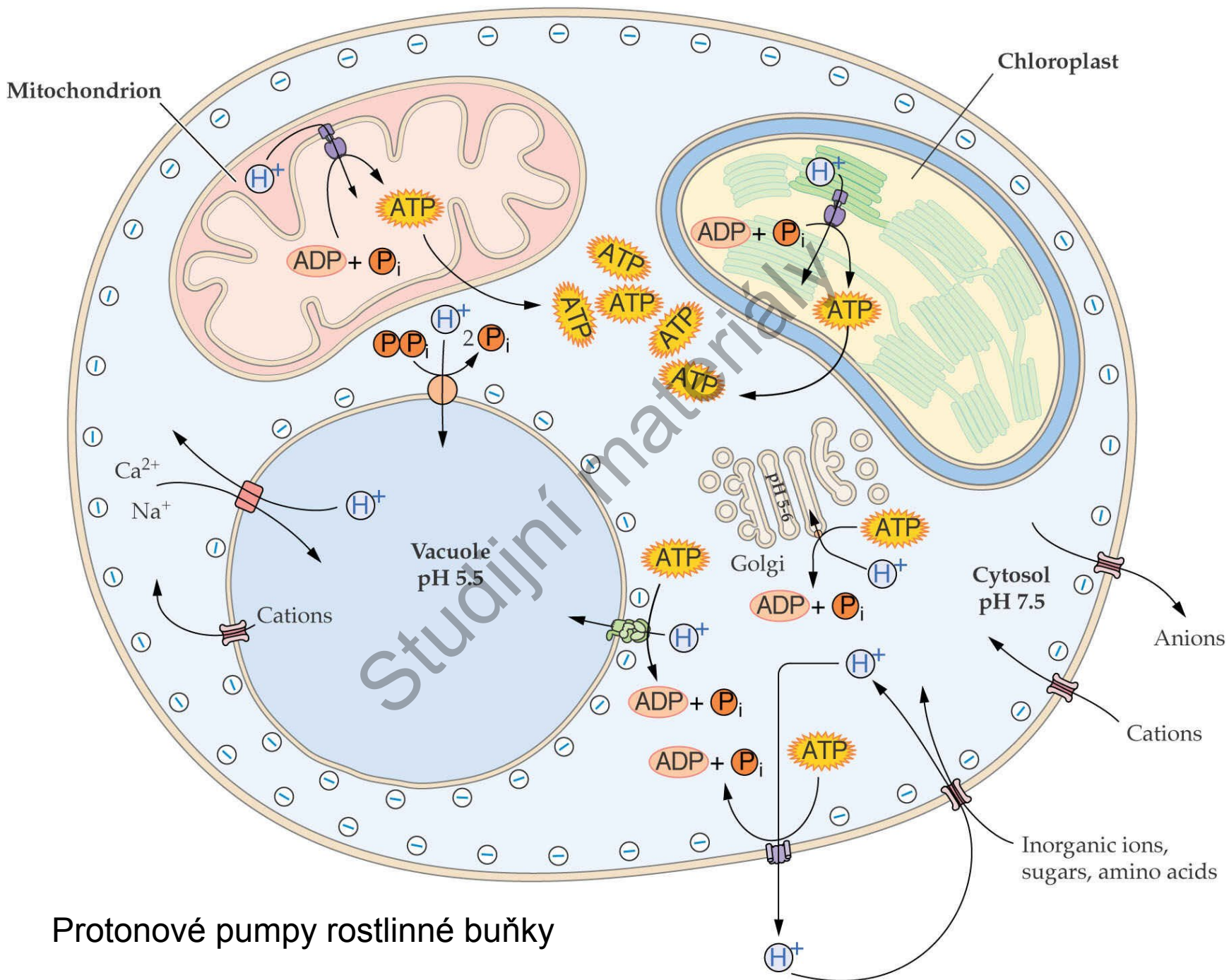
živočišný

Rostlinné steroly



Membránový transport

- generování turgoru
zajišťovaný vysokým osmotickým potenciál akumulací solí, zejména KCl
- čerpání živin, jako je amoniak, nitráty, fosfáty a sírany, včetně stopových prvků
- distribuce metabolitů: sacharosa a aminokyseliny vytvářené v autotrofních částech rostliny jsou distribuovány floémem
- kompartmentizace metabolitů
v mitochondriích na rozdíl od cytosolu je vysoká hladina ADP/ATP a NADH/NAD⁺ – specifický transportní systém provádějící export ATP a NAD⁺ z mitochondrií
- přeměny energie probíhají v membráně mitochondrií a chloroplastů
- přenos signálu: od membrány do cytosolu a jádra buňky zprostředkovaný látkami typu druhého posla

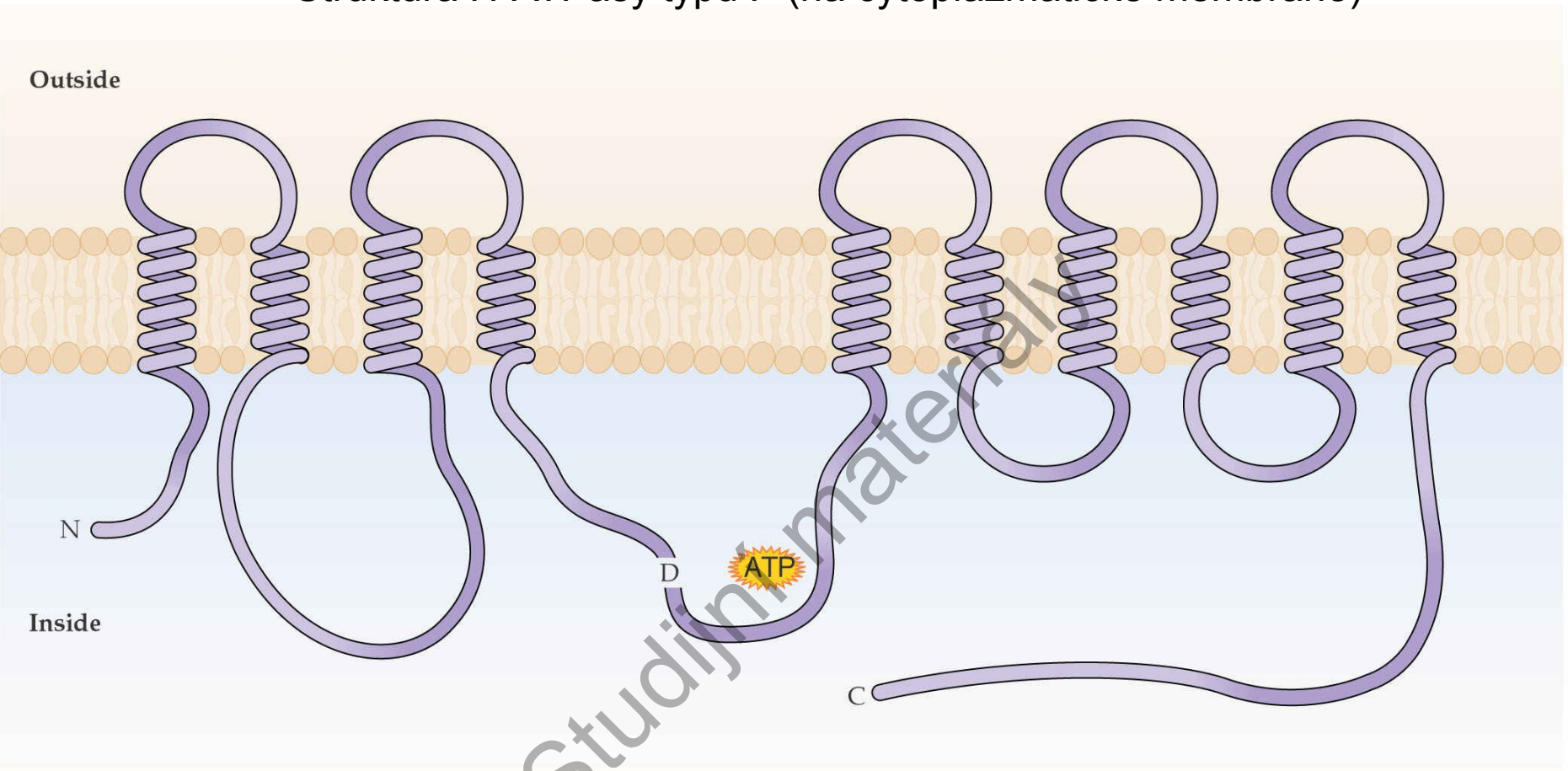


Protonové pumpy rostlinné buňky

Role H⁺ATPas

- generuje protonmotivní sílu využívanou dalšími mechanismy sekundárního transportu
- reguluje acidobazickou rovnováhu cytosolu, která se pohybuje v oblasti pH 7.3 - 7.5
- pH optimum ATPasy = 6.6 – pokud pH v cytosolu poklesne k 6.6 zvýšená aktivita enzymu = intenzivnější alkalizace cytosolu
- Aktivita H⁺-ATPasy je regulována auxinem a elicitory vyvolávajícími obrannou reakci rostlin
- *Arabidopsis* - multigenní rodina (AHA1 – 10) = 10 isoenzym ATPasy exprese jednotlivých isoform je pletivově specifická
ATPasy se liší velikostí, K_m, rozdílnou citlivostí k vanadátu, apod.

Struktura H-ATPasy typu P (na cytoplazmatické membráně)

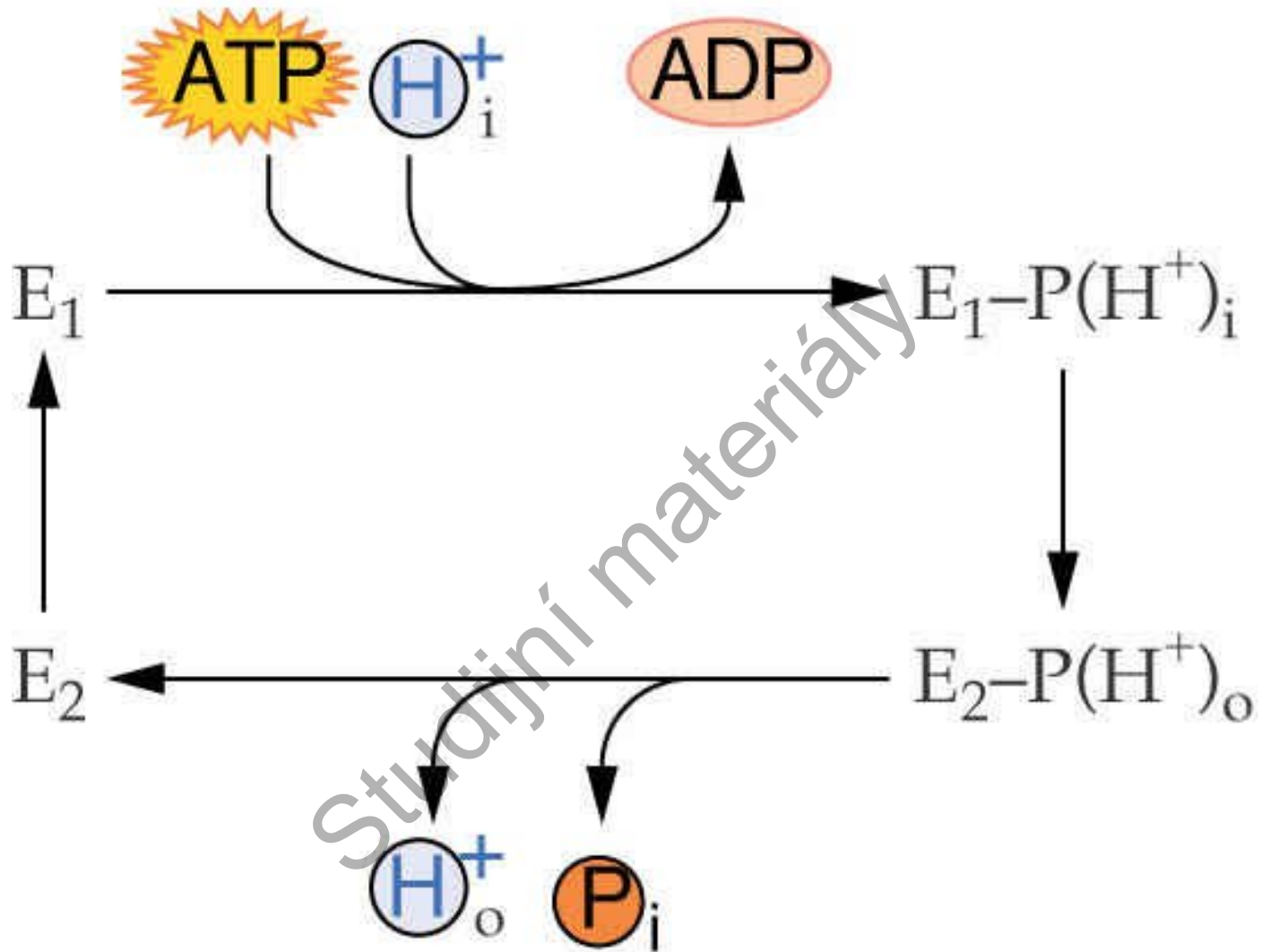


ATPasy typu P - Na⁺/K⁺ ATPasa, Ca²⁺-ATPasa, H⁺/K⁺ ATPasa

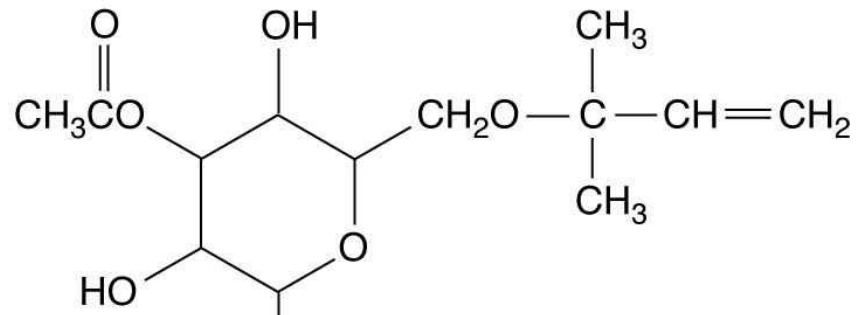
H⁺-ATPasy monomer cca. 100 kDa.

Energie hydrolýzy ATP je využívána k transportu H⁺ z jedné strany membrány na druhou.

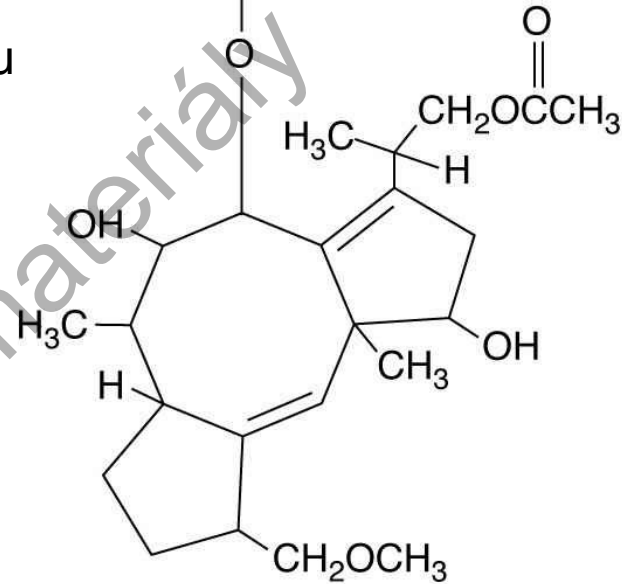
Mechanismus funkce H⁺-ATPasy



H⁺ATPasa typu P vytváří na rozdíl od typu F makroergický intermediát (acyl-fosfát)



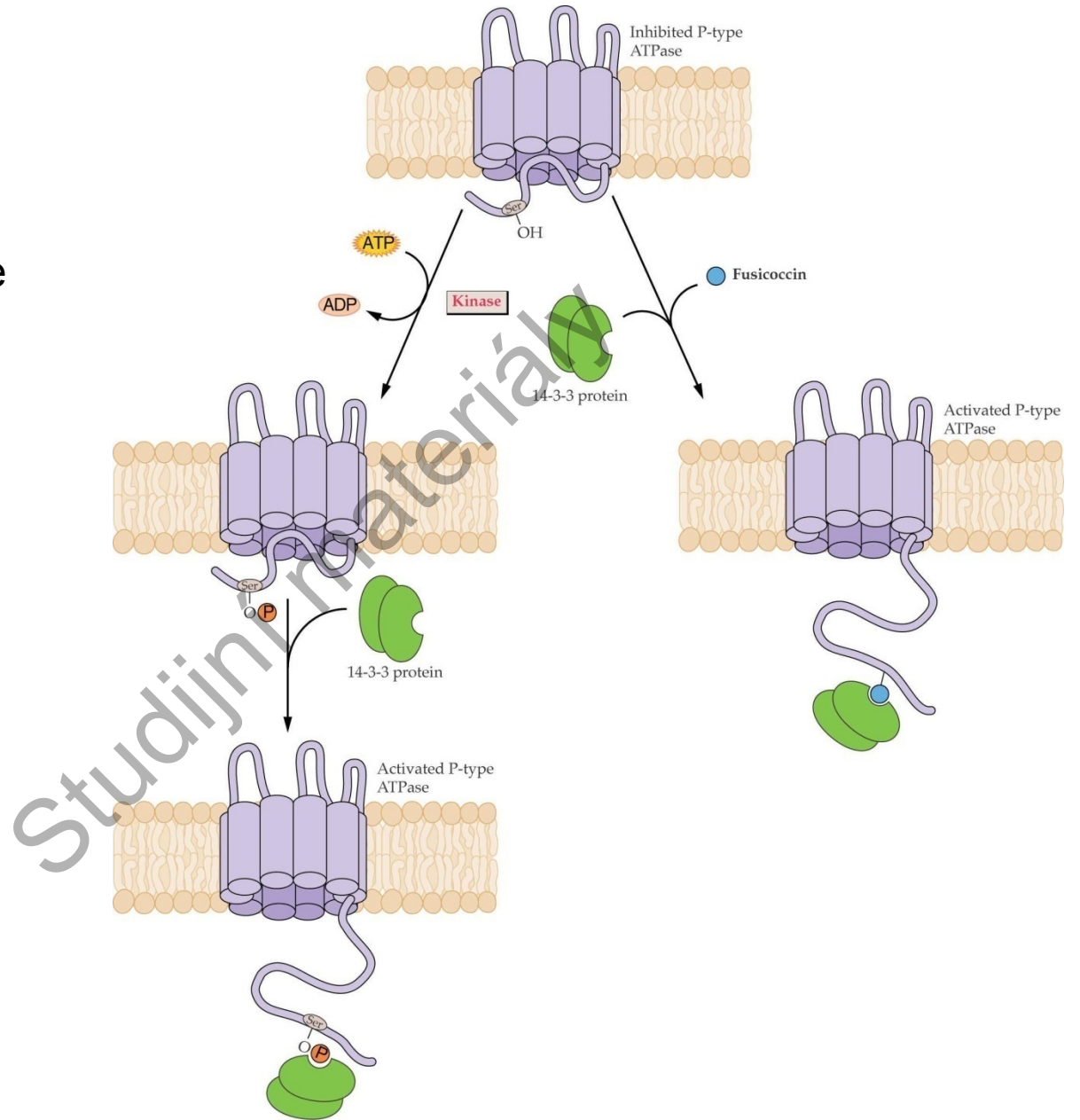
Fusicoccin- houbový toxin aktivující H-ATPasu



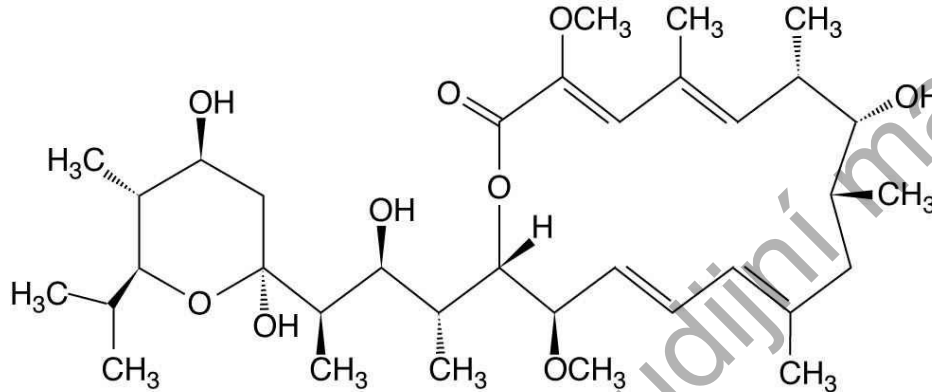
Fusicoccin

ATPasy typu P jsou inhibovány vanadátem, který blokuje vazbu fosfátu na enzym. Karboxylový konec proteinu obsahuje autoinhibiční doménu po jejím odstranění se značně zvyšuje aktivitu enzymu. aktivita enzymu se dále zvyšuje přidávkem fusicoccinu (*Fusicoccum amygdali*).

Mechanismus aktivace H-ATPasy

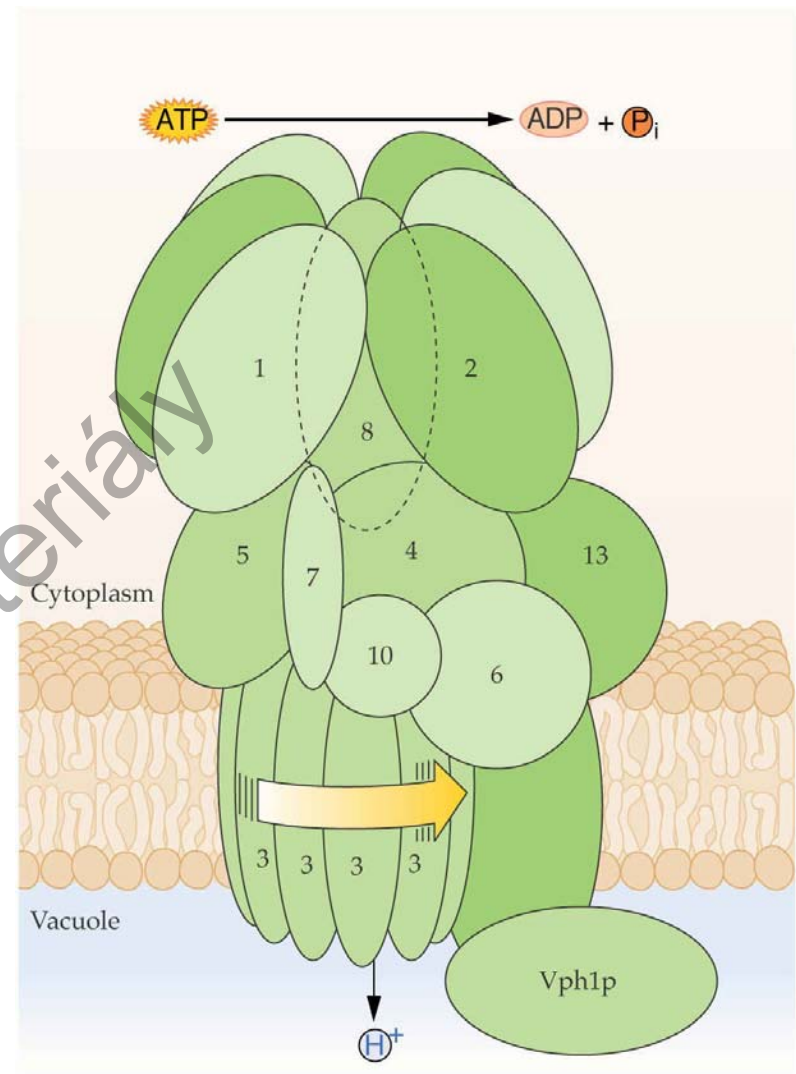


- udržuje velmi nízké pH vakuoly = 5.5
- H^+ ATPasa V-typu, je podobnější typu F (mitochondriální) pouze směr hydrolyzy ATP
- Stechiometrie přenosu je $2 H^+ / ATP$
- V1 jednotku - vazebné místo pro ATP
- V_o zajišťující transport H^+ přes membránu
- homologie mezi F1 a V1 případně V_o a F_o



Bafilomycin A_1

produkován *Streptomyces*
interaguje se doménou V_o .



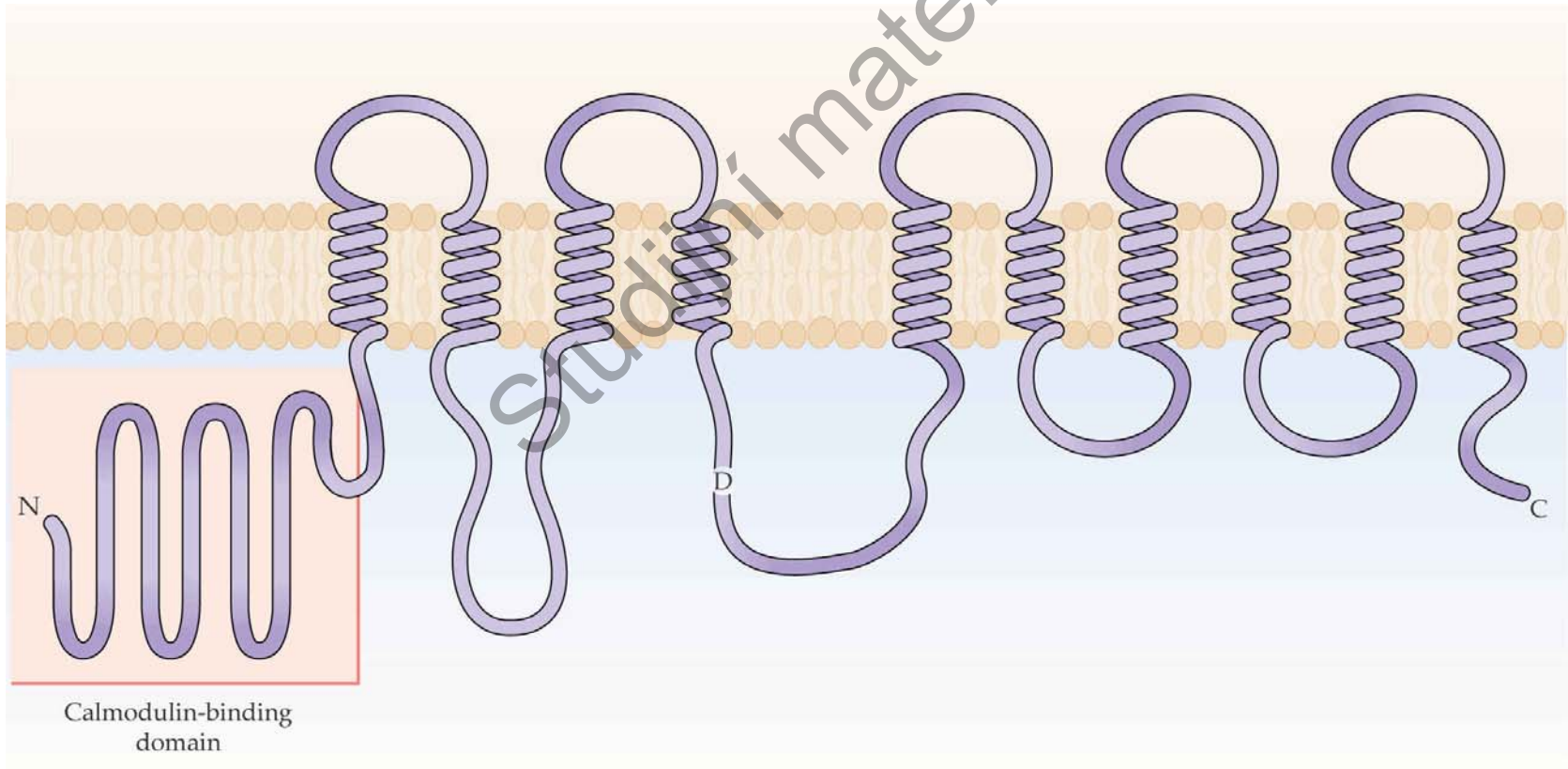
H^+ ATPasa vakuoly (V-typ)

H⁺-difosfatasa

- (H⁺-PPasa) hydrolýzy difosfátu,
- c (PP) v cytosolu je cca. mikromolární
- homodimer (2x80 kDa)
- 16 transmembránových domén
- silně inhibován Ca²⁺
- neznámá funkce
- H⁺-PPasa se uplatňuje zejména v nezralých pletivech zatímco H⁺-ATPasa ve zralých částech rostliny

Ca²⁺-ATPasa

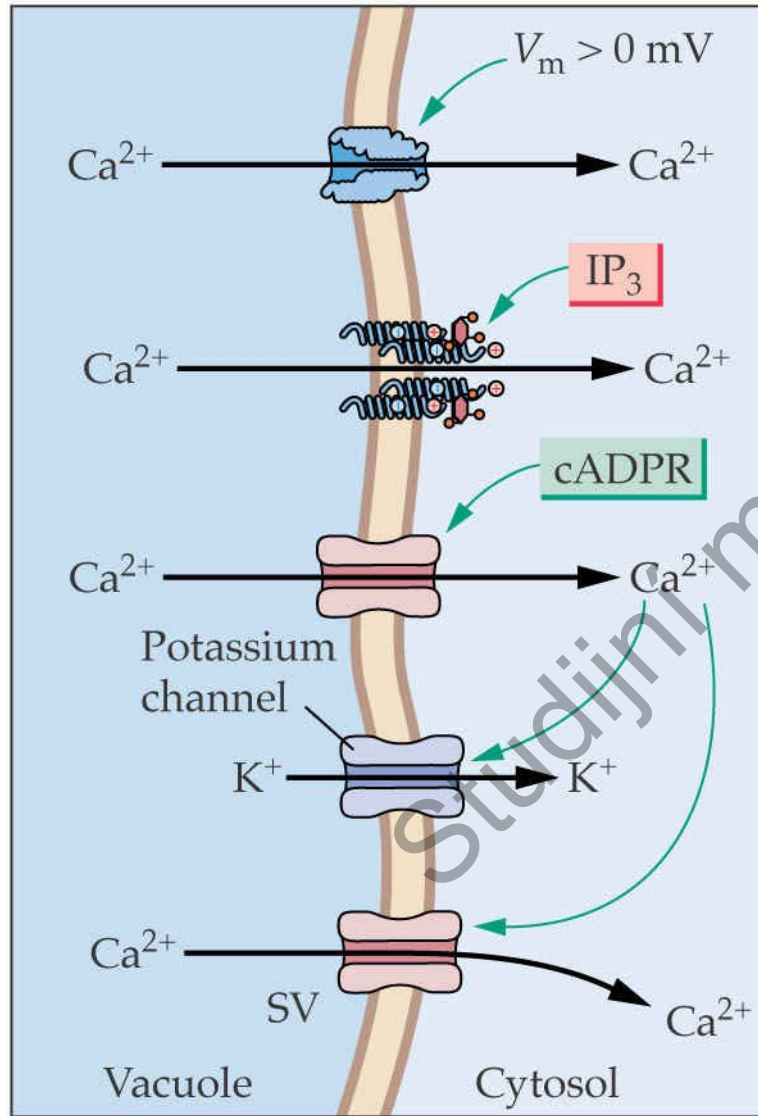
- hladina Ca²⁺ cca. 0.1 μM
- PM živočichů - 130 kDa (calm. doména na C konci)
- ER -110 kDa (nemá calm. doménu)
- Vakuolární podobný PM typu (calm. doména na N konci)



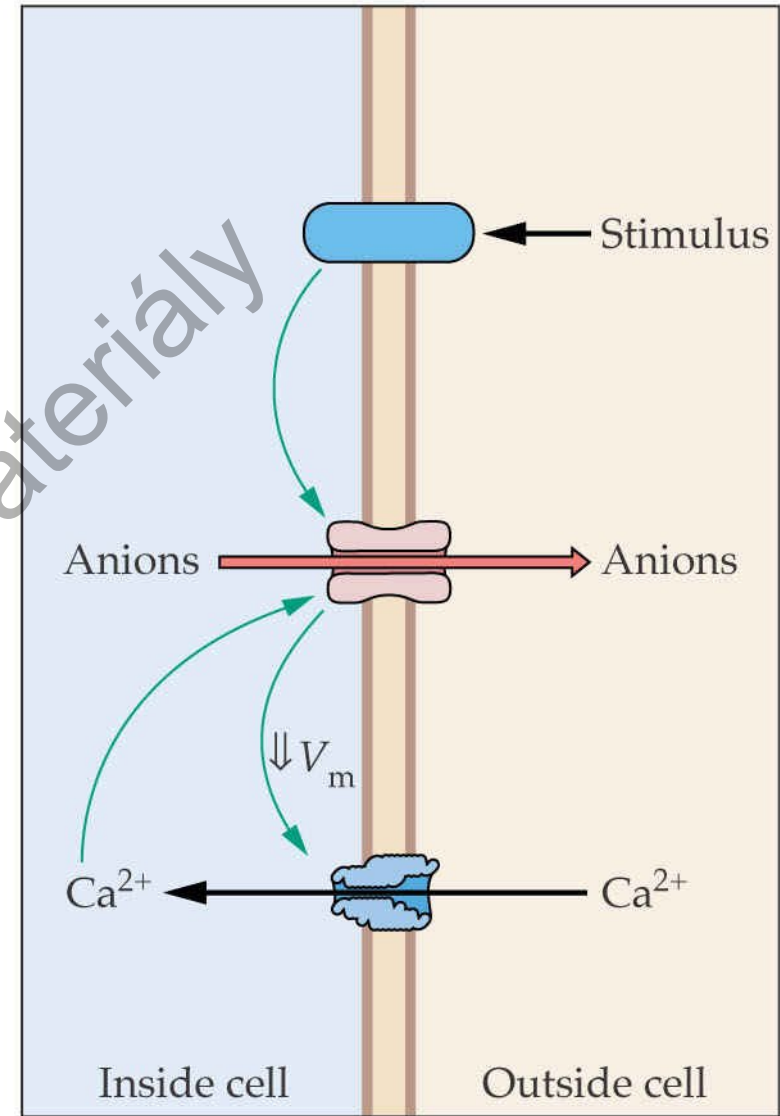
Ca²⁺ kanály

- plasmatická membrána, vakuola, endoplasmatické retikulum, jádro, chloroplasty
- selektivita je většinou dosti široká, propouštějí další ionty, jako je draslík, sodík, H⁺ např. selektivita K⁺ se pohybuje v rozsahu 2:1 až 20:1.

(A) The guard cell vacuolar membrane during ABA-induced stomatal closure



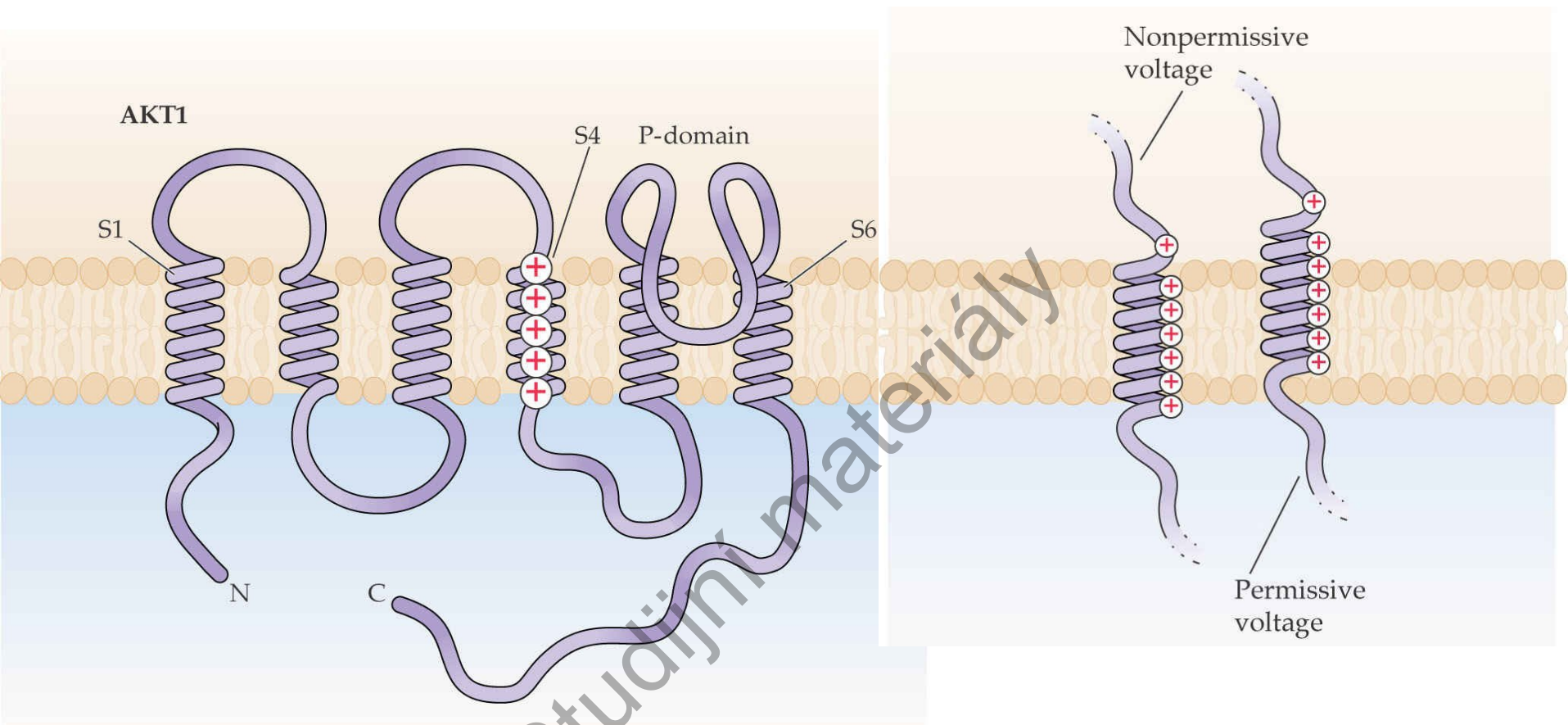
(B) During plasma membrane-based signal transduction



Vápenaté kanály rostlin

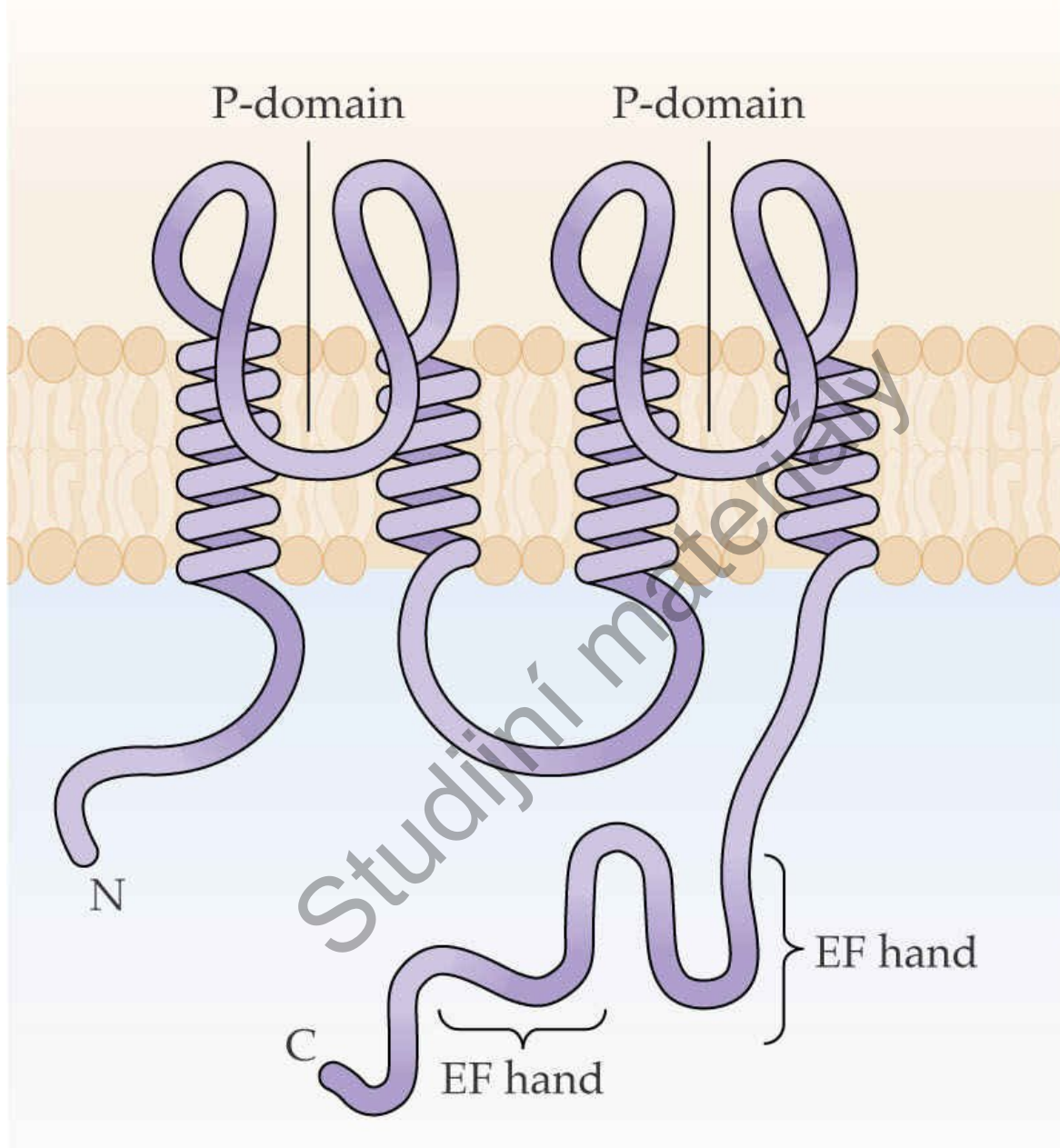
K⁺ kanály

- c draslíku v cytosolu 80 až 200 mM
- symport H⁺-K⁺ stechiometrie 1:1
- "inward-rectifying" - hyperpolarizace membrány – průnik K⁺ dovnitř
- "outward-rectifying" - depolarizace membrány – transport K⁺ z buňky ven
- zvýšení (obnovení) membránového potenciálu
- snižování osmotického potenciálu buňky
- inhibovány tetraethylamoniem



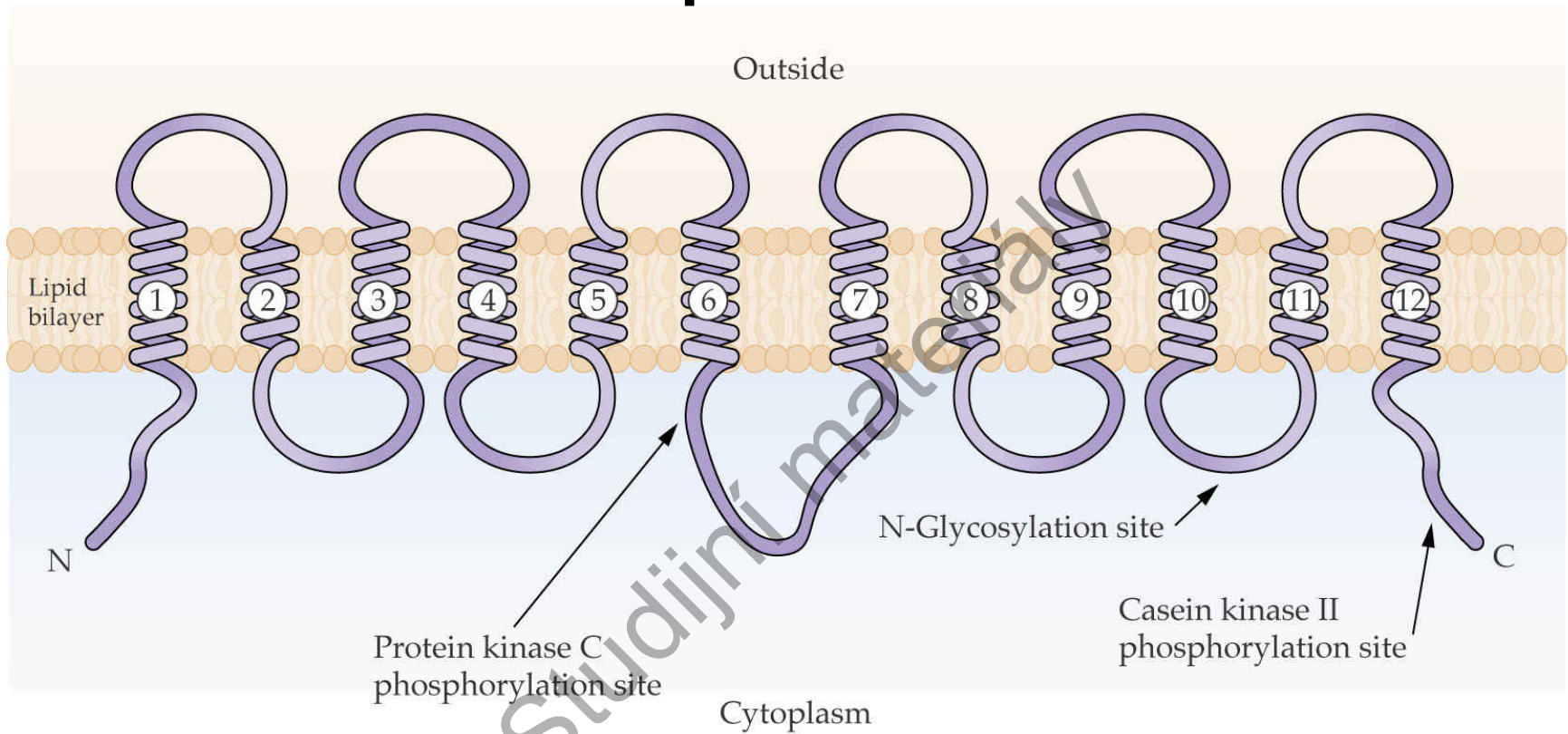
Struktura inward rectifying K⁺-kanálu a jeho regulace potenciálem

tetramer, oblasť póru je lokalizovaná medzi pátý a šestý helix každej z podjednotiek S4, obsahuje veľké množstvo kladných nábojů (Lys , Arg).



Struktura outward rectifying K⁺-kanálu a jeho regulace, EF – domény vázající vápník
dvoupórový kanál - každá jednotka obsahuje dvě P-oblasti

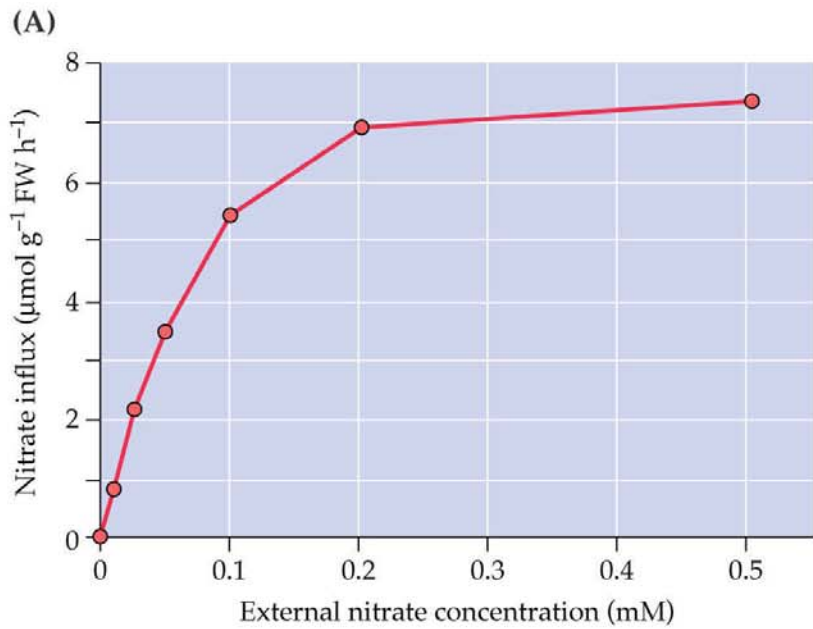
Transport fosfátu



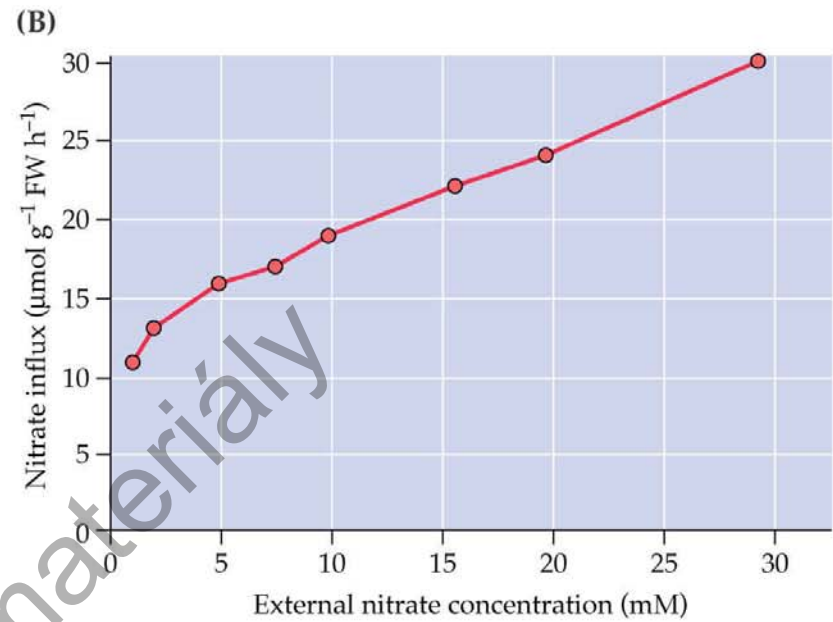
- c v půdě je $< 1 \mu\text{M}$ x cytosolu cca. 1 mM
- transportuje ve formě H_2PO_4^- a to proti směru elektrického potenciálu, který je negativní oproti extracelulárnímu prostoru.
- kotransportem s protony H^+ - H_2PO_4^-

Transport amoniaku a nitrátu

- K_m pro NH_4^+ v rozsahu 10 až 70 μM
- Nitrát – nízkoafinitní ($K_m > 0.5 \text{ mM}$) a vysokoafinitní ($K_m 10 - 100 \mu\text{M}$)
- skladovacími organelami jsou vakuoly
- protonovým gradientem přes PM $2\text{H}^+ / \text{NO}_3^-$
- dvě komponenty: konstitutivní existuje v buňce i za nepřítomnosti nitrátu v půdě a inducibilní komponenta se exprimuje po přidání nitrátu



Vysokoafinitní

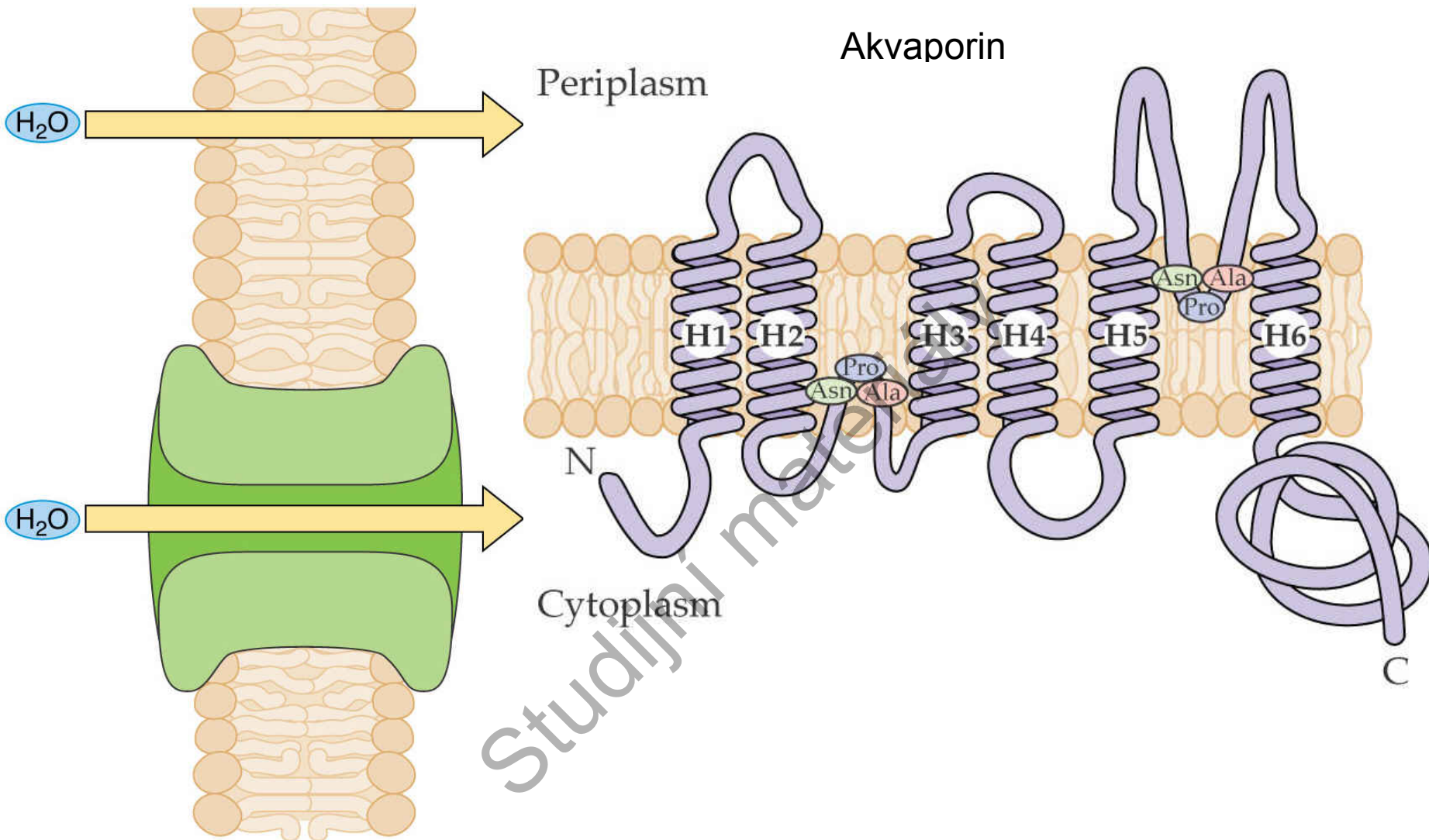


Nízkoafinitní

Studijní materiály

Cl⁻ kanály.

- regulace turgoru.
- 2 druhy těchto - rychlé a pomalé (R-typ a S-typ)
- regulovány membránovým potenciálem a koncentrací vápenatých iontů.
- depolarizaci membránového potenciálu - aktivaci "outward rectifying" draselných kanálů = ztráta KCl = pokles osmotického potenciálu buňky.
- depolarizace membrány = aktivaci dalších komponent signalizační kaskády.



6 helixů , konzervovaná Asn-Pro-Ala doména
 PM a vakuola
 regulovány fosforylací a Ca^{2+} .