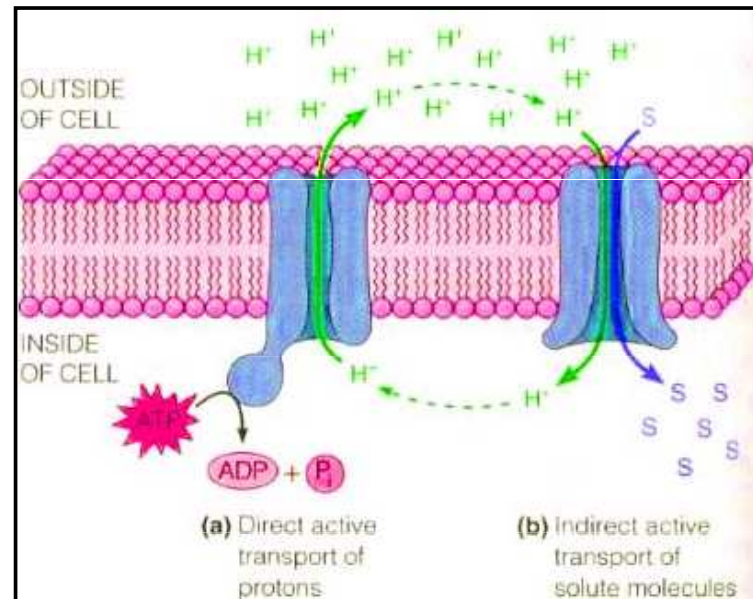


Biologické membrány

- strukturní závislosti podle fce

membránově vázané enzymy

transport látek



receptory

antigeny

Přeměny energie a struktur

Chemické složení:

- Provázané komplexy mezi **lipidy a proteiny**
 - !!!! poměr (př: myelinová pochva neuronů 4:1; membrána bakterií 1:3)
 - !!! funkce proteinů v membráně (srov. s euk.)
- **Sacharidy** – kovalentně vázané (současným sdílením elektronů dvěma atomy) na proteiny nebo lipidy; asymetricky především z vnější strany membrány
- **Lipidy** - amfifilní charakter

Monomer v roztoku může existovat jen do jeho určité koncentrace „kritické micelární koncentrace“ (u fosfolipidů je extrémně nízká) a nad ní se již tvoří agregáty (interakcemi nepolárních částí)
- **Proteiny** - vázány elektrostatickými silami, pohyb laterální difúzí a flip-flopy
 - 1) na povrchu membrány = periferní proteiny
 - 2) částečně uvnitř mebrány = zanořené proteiny
 - 3) uvnitř vázané = integrální proteiny
- **Ionty** – celkový povrchový náboj je negativní --- tedy váže jaké ionty???
- **Voda**

Mechanismy membránového transportu:

1) rozdíl chemického potenciálu

- spontánní přenos kdy?

- spotřeba ATP kdy?

2) změny náboje na obou stranách membrány

- jak vzniká membránový potenciál ΔY ?

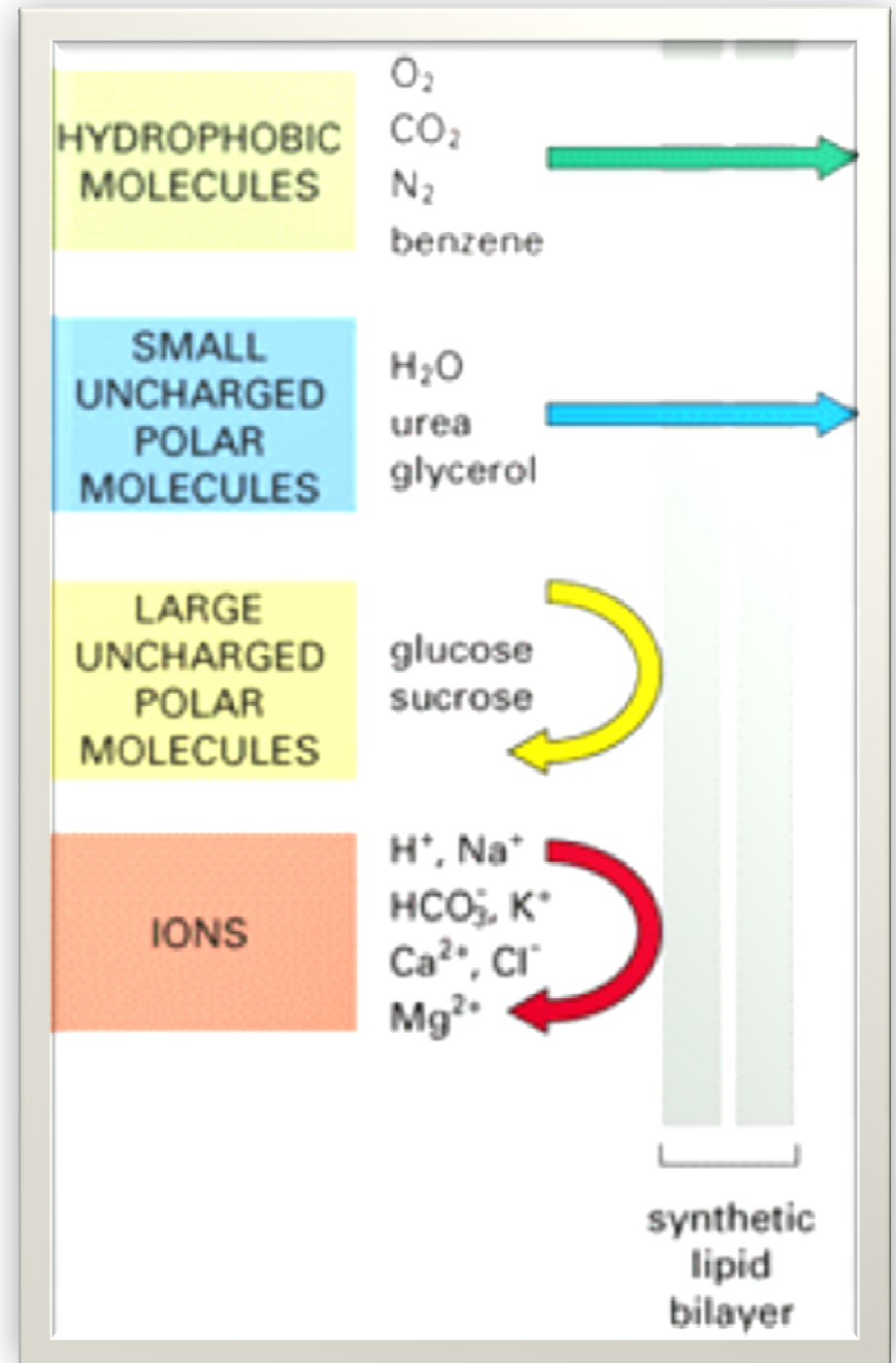
Dění na membránách

Prostá difúze

Malé nenabité ionty se pohybují **po spádu koncentračního gradientu** usnadněnou difúzí

Většina roztoků může procházet membránou pouze membránovým transportem zprostředkovaným proteiny. Pasivní transport **po směru koncentračního gradientu**.

Aktivní transport je umožněn přenašeči a to **proti koncentračnímu gradientu**, je vyžadována energie



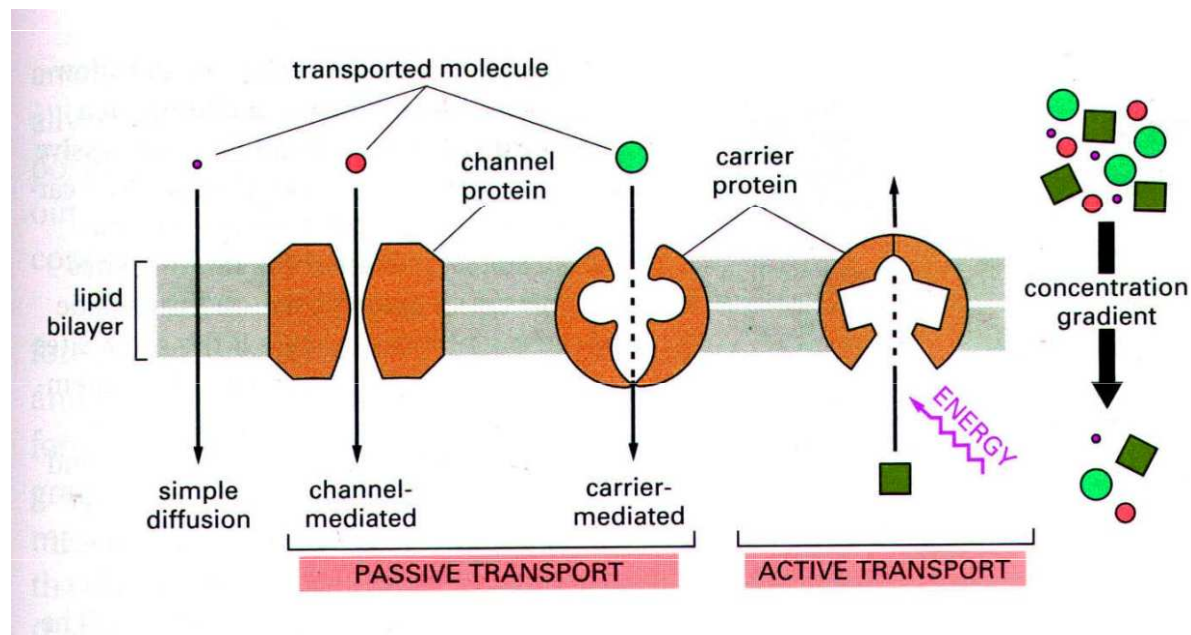
1) Nespecifická permeace

- není potřeba proteinových nosičů
- závisí přímoúměrně na koncentračním spádu

- průnik lipidickou částí
- prochází tak LIPOFILNÍ látky, které se v membráně rozpustí
- malinko a s malou rychlostí propustná i pro nabitě látky (nepravidelnosti ve struktuře otevírají kanálky)

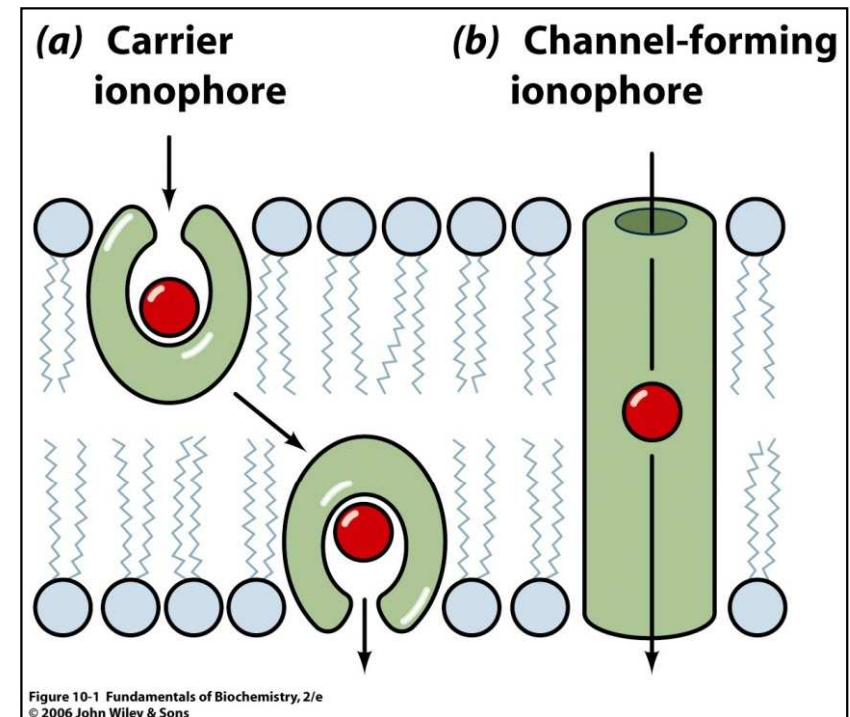
2) Průchod IONOFORY

- nezávisí nebo závisí na koncentraci
- I. Kanály
- II. Proteinové nosiče



Kanály

- váží na sebe iont a transportují jej přes membránu
- nezávisí na koncentraci
- společnou vlastností je rozpustnost iontových komplexů v nepolárních rozpouštědlech
- A) prosté
- B) hradlové



A) KANÁLY prosté

- stále otevřené válcové struktury s centrálním vodním kanálem
- neregulovány, selektivita až na CM
- př: poriny β vnější membrány
 - maltoporin umožňující difúzi maltodextrinů

Maltoporin
v komplexu
s maltodextrinem
(6 Glu jednotek).

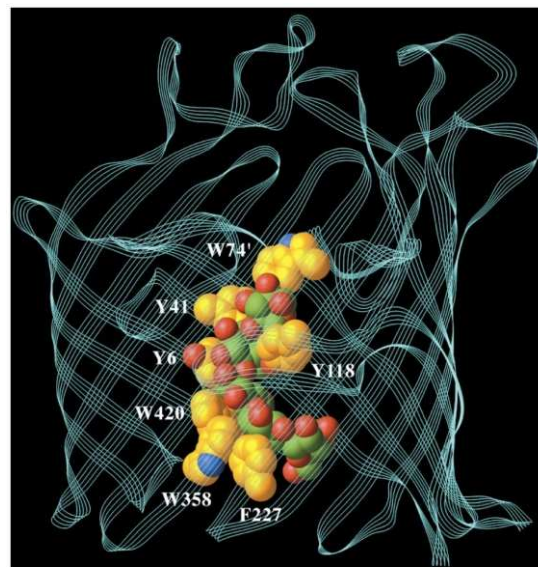


Figure 10-6 Fundamentals of Biochemistry, 2/e

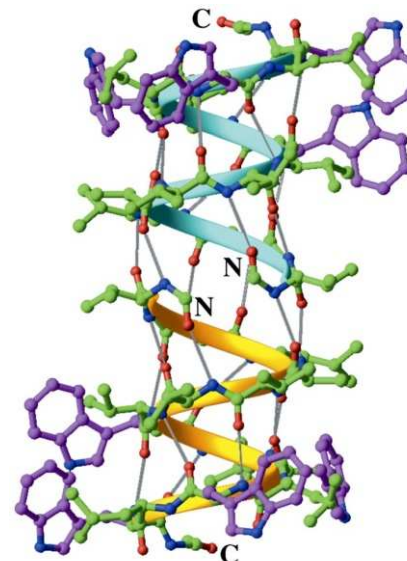
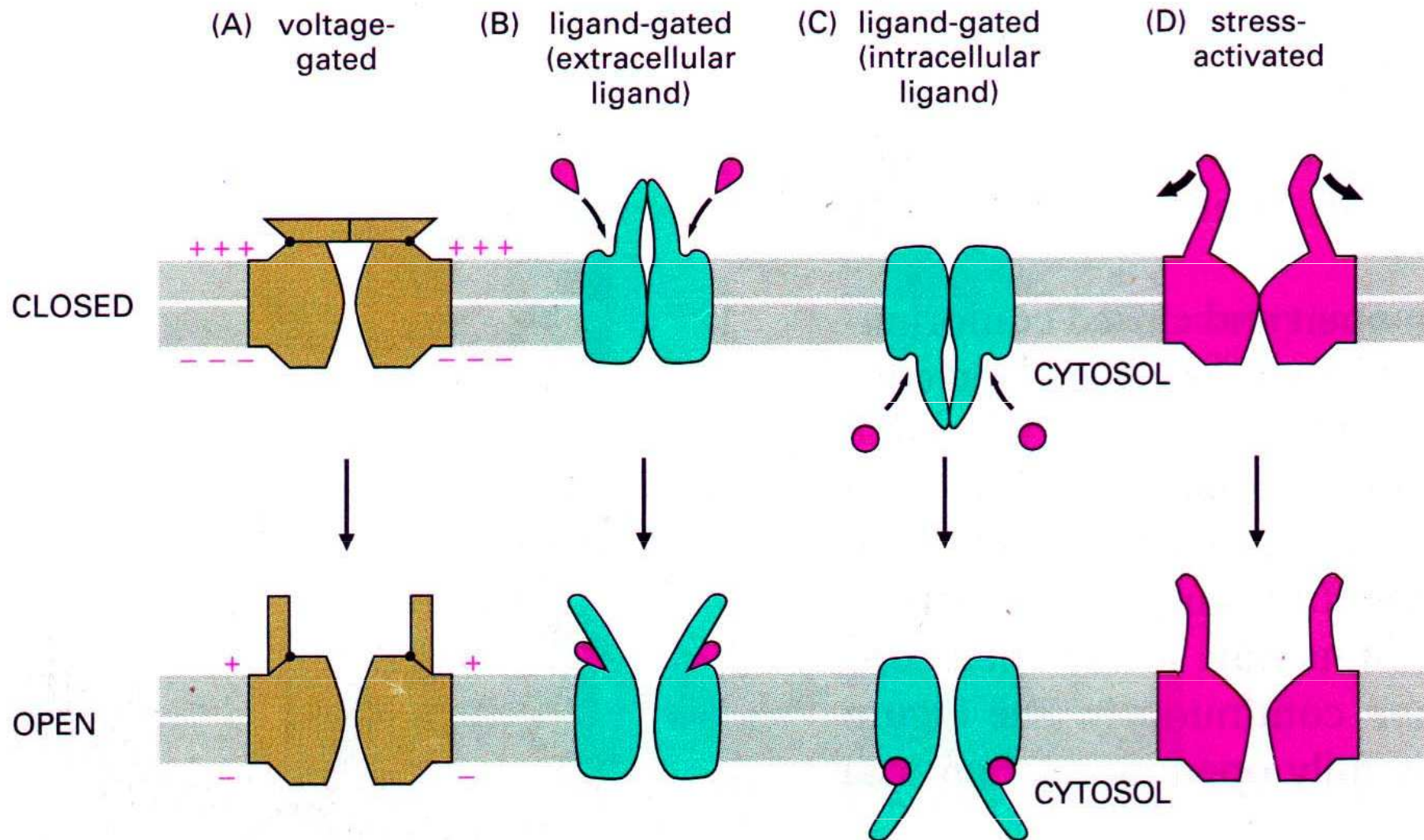


Figure 10-5a Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

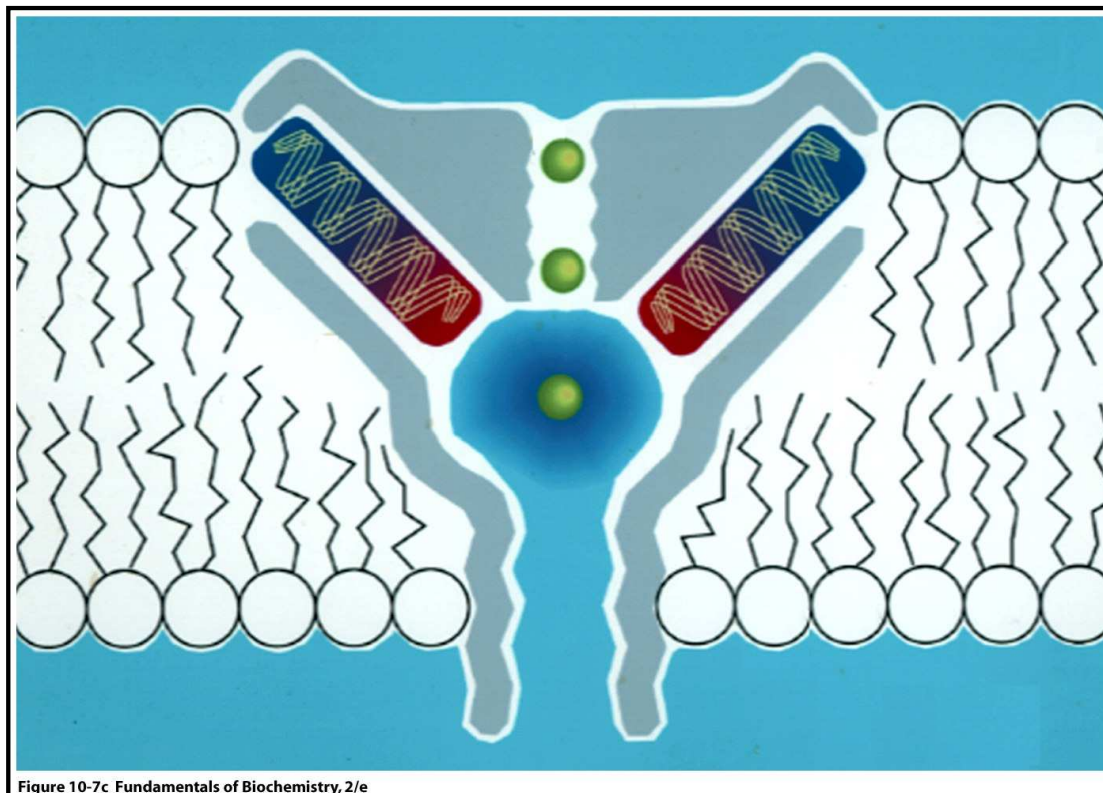
Dimer
Gramicidinu A
tvoří kanálek
pro
transport
iontu K^+

B) KANÁLY hradlové



B) KANÁLY hradlové

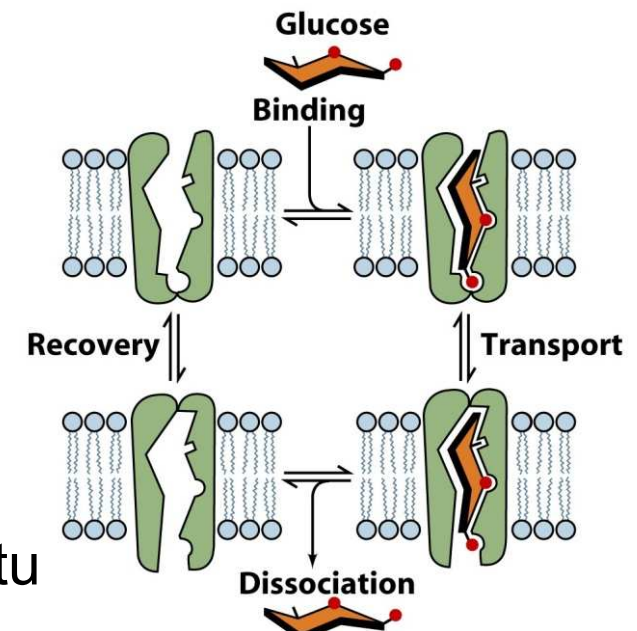
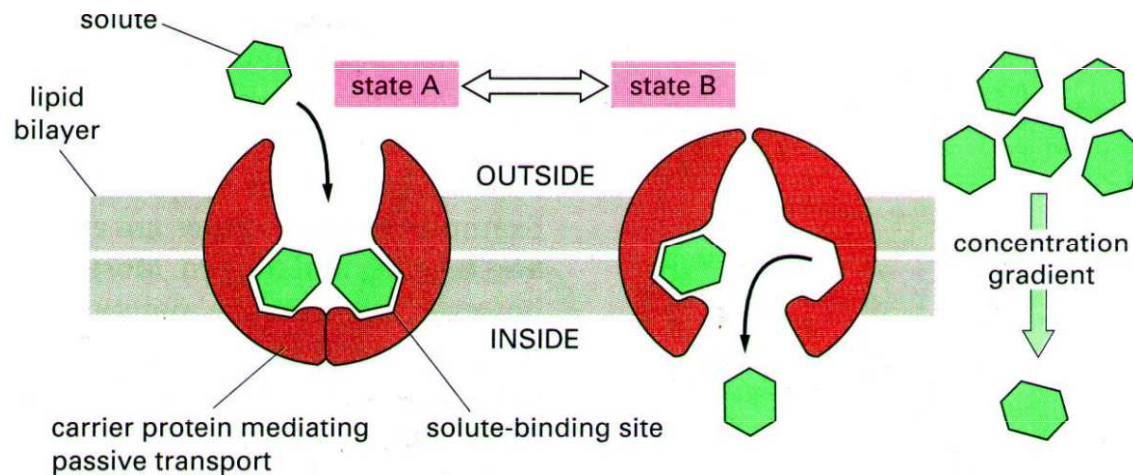
- otevřenost je regulována
- část polypeptidického řetězce = uzavíratelé hradlo
- mají specifitu – pomocí vazebných míst rozpoznávají ionty
- hradlo regulováno:
 - napětím = změnou membránového potenciálu
 - chemicky reakcí na extracelulární chemické stimuly
 - mechanicky místní deformací lipidové vrstvy
- specifické iontové kanály slouží pro rychlý průchod iontů jako Na⁺, K⁺ a Cl⁻ důležitý pro osmotickou rovnováhu a přenos signálů
- Příklad: K⁺ pasivně difundují z cytoplasmy do extracelulárního prostoru přes transmembránové proteiny
 - tetramery řízené el. polem (Difúze K⁺ 10 000x rychlejší než Na⁺)



- ve spodní části K^+ obklopen molekulami vody
- terminální konce helixů stabilizují K^+ iont elektrostaticky jako dipól
- systém póru: váže jen DEHYDRATOVANÉ ionty K^+
(vyžaduje < energie než vazba malých Na^+)
- Struktura proteinů: rigidní rozměr póru
- Př. Kanál *Streptomyces lividans* - KcsA.Turret – otočná věžička

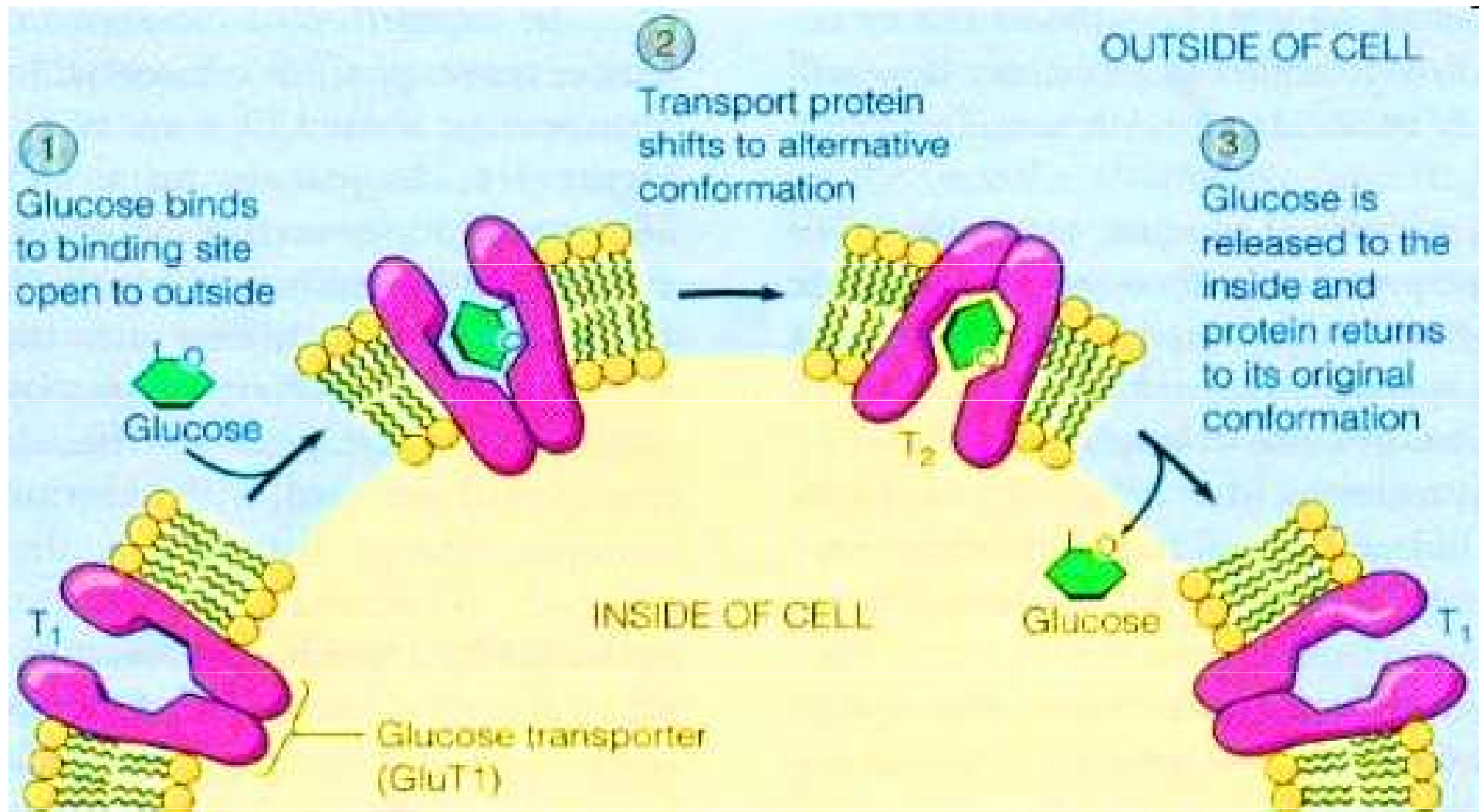
Proteinové nosiče, přenašeče

- průchod závisí na koncentraci
- konformační změna přenašeče malá
 - zavírá jednu stranu přenašečového kanálku a druhá se otevírá
 - následuje návrat do původní konformace



Model
transportu
glukosy

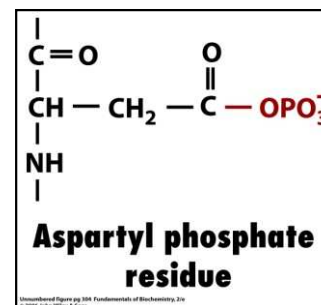
Usnadněná difúze přenašeči, po gradientu



Proteinové nosiče, přenašeče

- **a) pasivní** = zprostředkovaná difúze – netřeba energie, nevede k zakoncentrování přenášené látky maximálně se může koncentrace vyrovnat
- **b) aktivní** – vede ke kumulaci látky, transport proti koncentračnímu spádu za spotřeby ATP
 - **I) primární** – zdroj energie nesouvisí s dalším průběhem přenosu (fotony, redoxní reakce, hydrolýza ATP, dekarboxylace)

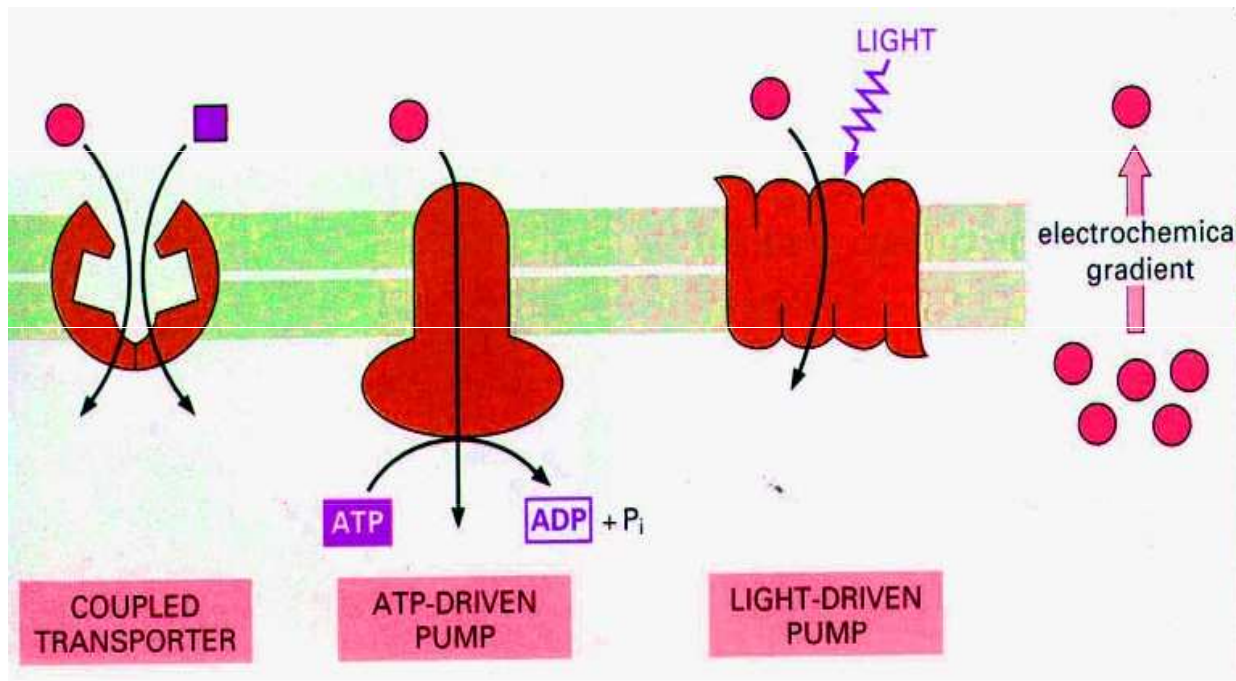
ATPázy – přenáší ionty; fosforylovaný enzym = meziprodukt při hydrolýze



☺ **Fosforylace probíhá na zbytku kys. asparagové**

☹ **Inhibováno vanadičitanem – zapojuje se namísto P**

Aktivní transport tři cesty



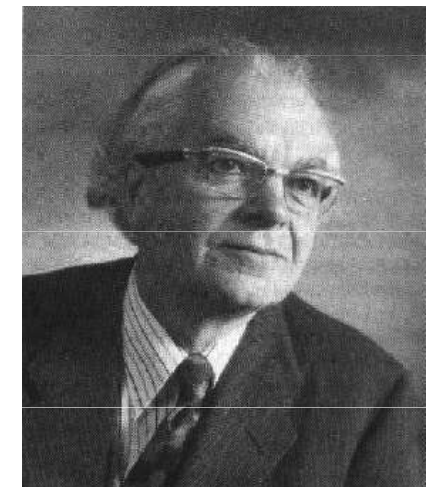
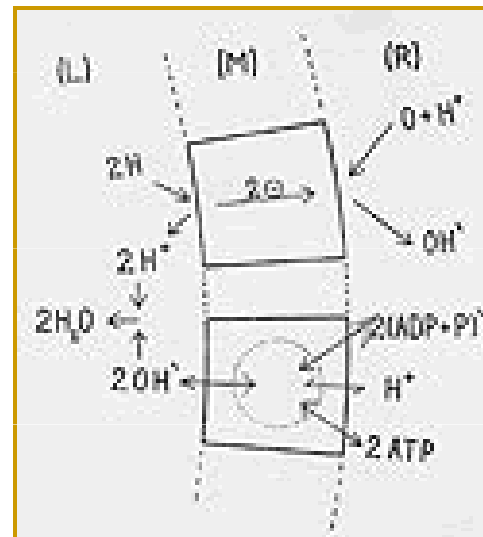
kotransport s jinou
molekulou

hydrolýza ATP

hlavně u bakterií –
využití E světla

Příklady primárních aktivních nosičů

- ABC transportéry – motivy vážící ATP a štěpící jej při příjmu látky; u bakterií stovky typů pro transport živin, vitamínů (*E. coli* tak přijímá vit. B₁₂ z prostředí), export toxinů
- F₀F₁ ATPáza – podjednotka F₀ dává enzymu citlivost, kruh z 12ti C kanálem pro H⁺, F₁ katalytická fce střídajících se podjednotek α a β; syntéza nebo hydrolýza ATP
 - hydrolyzuje ATP i po izolaci z membrány
 - u *E. coli* je z osmi podjednotek (3x α, 3x β, γ, δ), kódováno operonem *unc*
 - Mitchellova chemiosmotická teorie



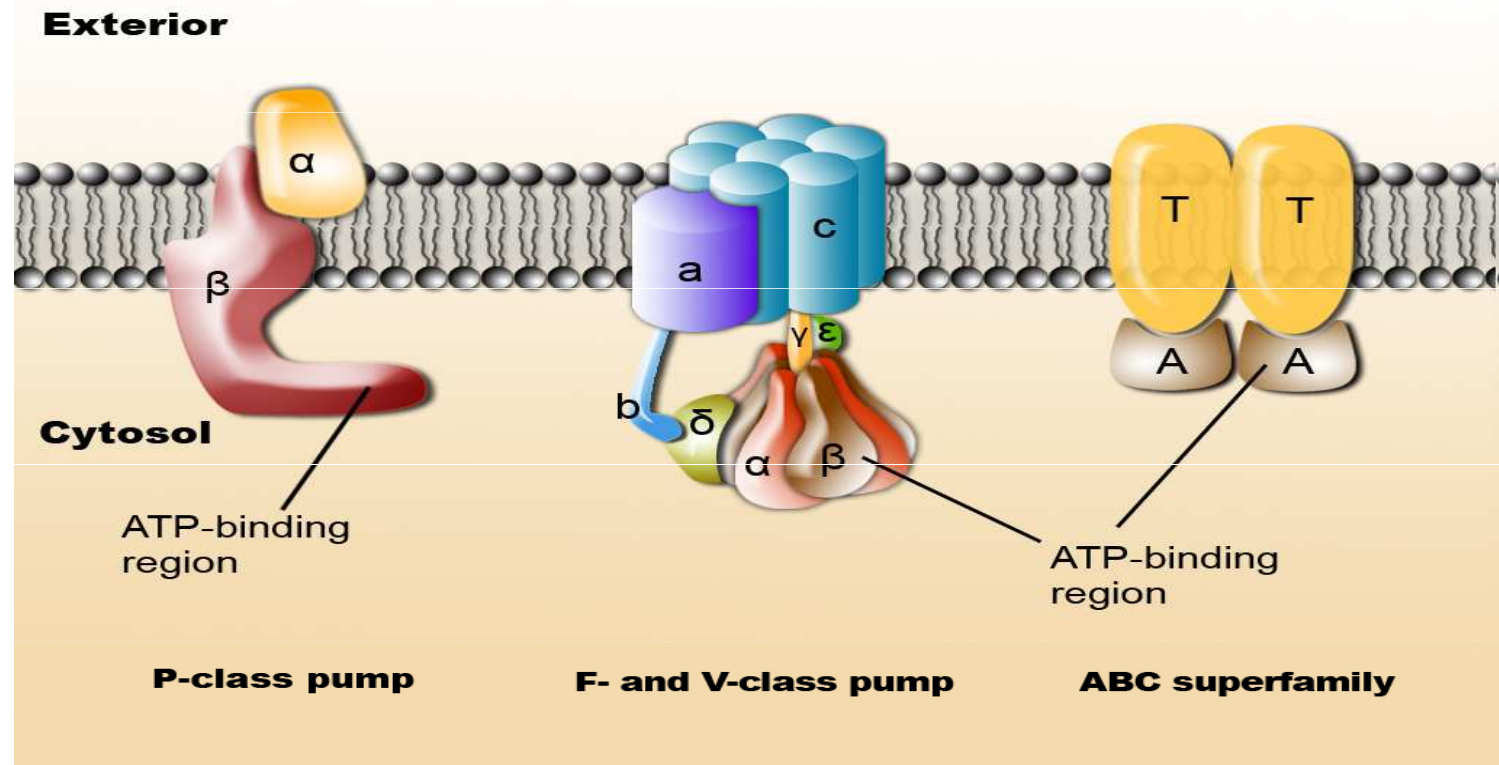
4 typy ATPáz

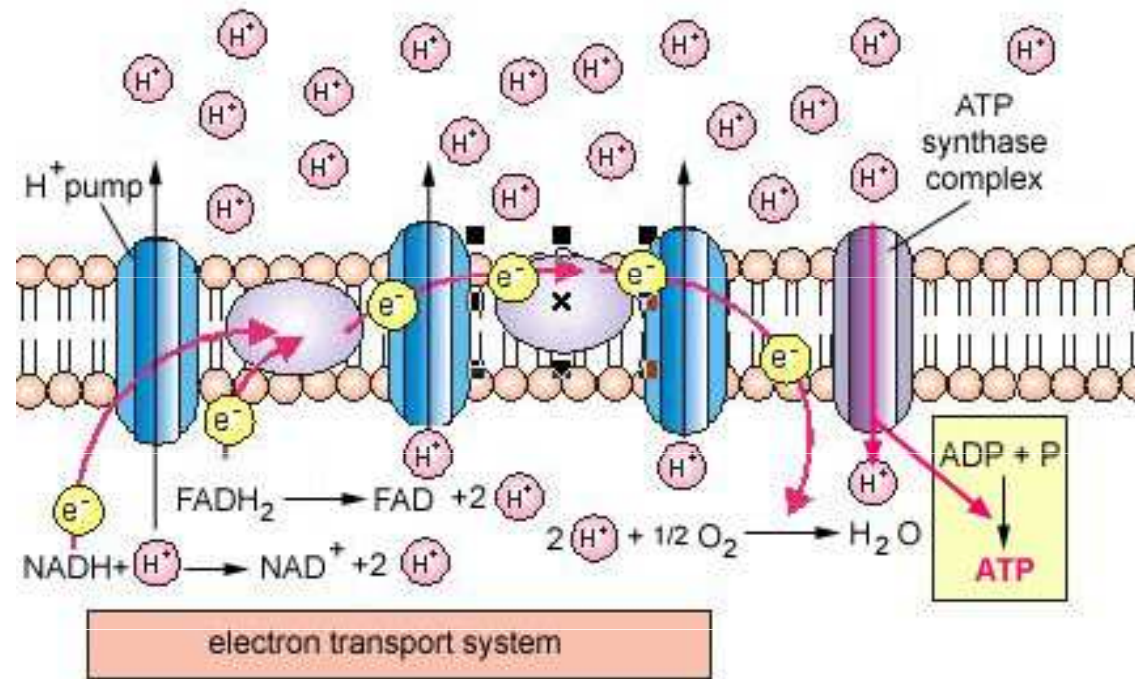
ABC

Bakterie

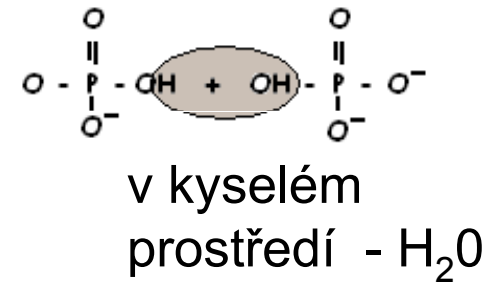
Člověk

Dvě
transmembránové
Domény (T)
Dvě domény v
cytosolu
Vázající ATP





- elektrony prochází řetězcem
- protony jsou pumpovány membránou
- výsledkem je pH a elektrický gradient
- protony se navrací dovnitř F_0 póry ATP syntetázy syntetizující ATP díky gradientu protonů a změně konformace enzymu
- odpuzování nábojů, pootočení, elektrostatický pohon



Proteinové nosiče, přenašeče

- b) aktivní

- II) sekundární

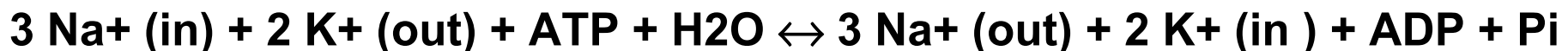
- proces spojen se změnou koncentrace na membráně
 - volná energie generovaná jiným procesem
 - ATPáza pumpující protony
 - využita pro transport neutrálních molekul proti koncentračnímu spádu

uniport – jednosměrný pohyb poháněný elektrickou složkou gradientu

symport – energii dodá současně přenášená látka

antiport

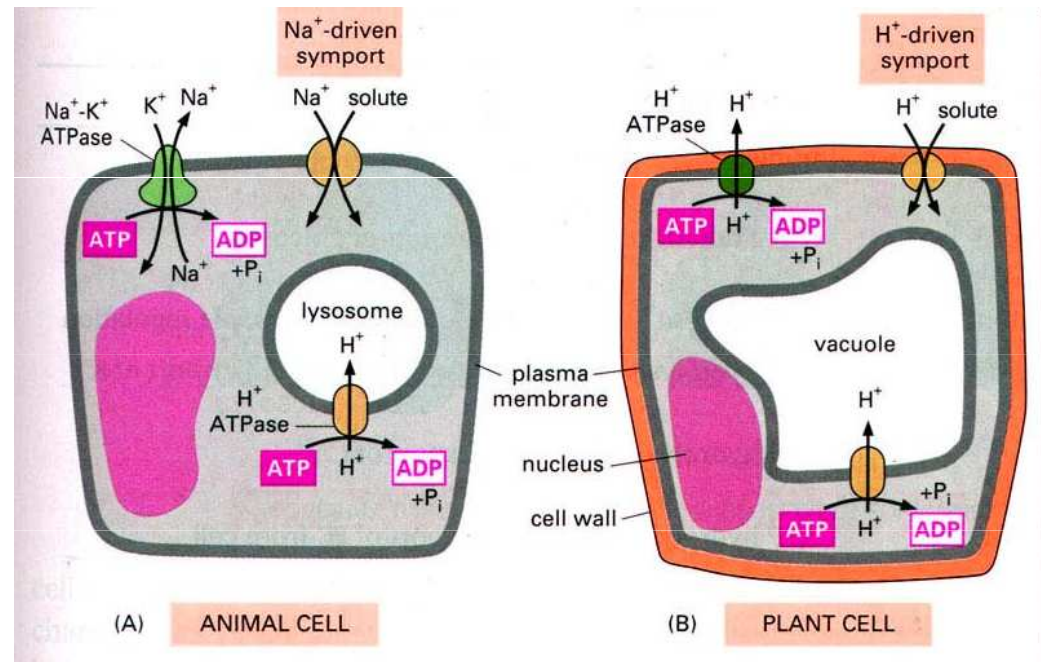
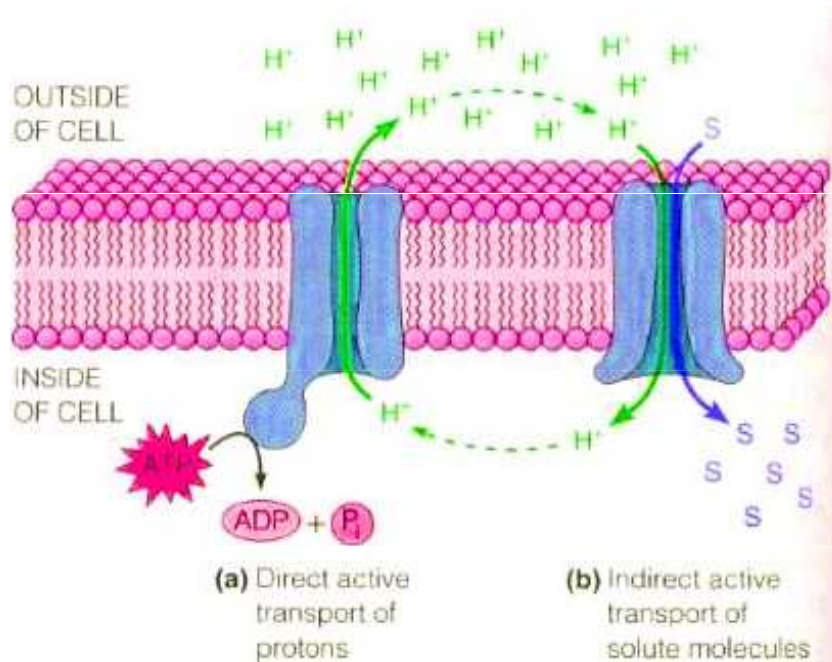
Na⁺K ATPáza – symport Na⁺ a Glu, zároveň antiport Na⁺ a K⁺



Cukry, AMK, organické molekuly

- Transport proti koncentračnímu gradientu řízen elektrochemickým gradientem:

živočišné buňky ----sodné ionty (Na^+/K^+ ATPáza)
rostliny, houby, **bakterie** ----Protony(H^+ ATPáza)



Příklad: laktosa permeasa

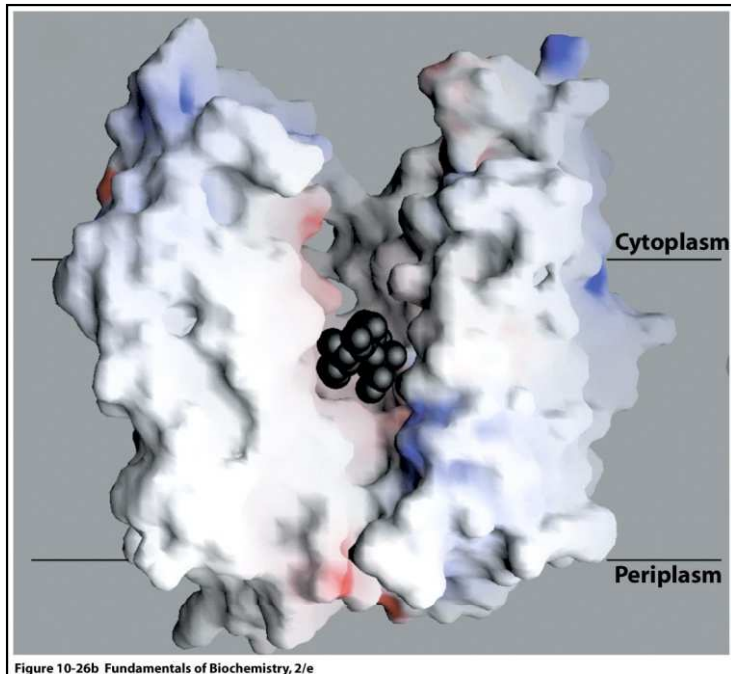


Figure 10-26b Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Model povrchu laktosa permeasy – modrá barva pozitivní náboj, červená barva negativní, bílá neutrální. Uprostřed laktosový analog.

Schéma kotransportu H^+ galaktosy laktosovou permeasou *E. coli*.

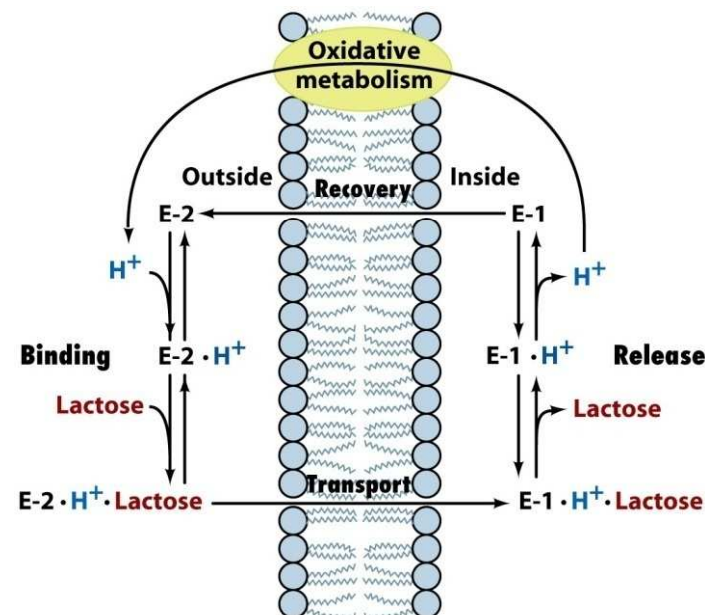


Figure 10-25 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Laktosa permeasa

- Gram negativní bakterie
 - několik systémů aktivního transportu cukrů
 - Systém laktosa permeasy = galaktosid permeasa
 - využívá protonový gradient přes bakteriální buněčnou membránu ke kotransportu H^+ a laktosy (tvořen oxidativním metabolismem (jako v mitochondriích))
 - monomer - 417 aminokyselin, 12 transmembránových helixů
 - stejně jako Na/K ATPasa má dva konformační stavy.
 - stavy E-1 a E-2 se vzájemně převádí jen pokud vazebná místa obsazena H^+ a laktosou.
- To brání průchodu H^+ a ztrátě gradientu bez vstupu laktózy

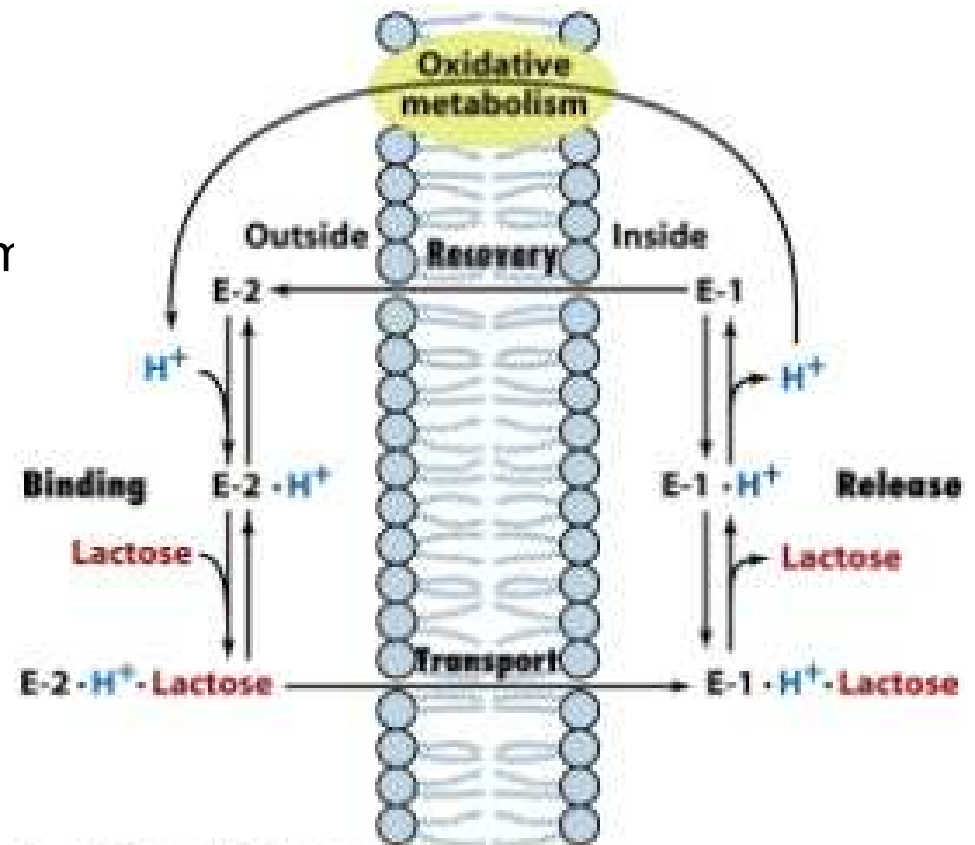


Figure 18-25 Fundamentals of Biochemistry, 3/e
© 2004 John Wiley & Sons

3) skupinová translokace

- méně častá
- při transportu substrát chemicky modifikován
- př: fosfotransferázový systém u bakterií – fosforylace substrátu; akumulace PEP

4) transport s lokální přestavbou membrány

- přes membránu transportovány i velké molekuly
- přestavbou membrány vzniká váček
- málo časté, neprostudované
- př: transport NK

Děnění na membránách

Table 8-2 Properties of Passive and Active Transport

<i>Properties</i>		Diffusion (Passive Transport)		
		<i>Simple Diffusion</i>	<i>Facilitated Diffusion</i>	<i>Active Transport</i>
Solute transported	Examples			
Small nonpolar	Oxygen	Yes	No	No
Large nonpolar	Fatty acids	Yes	No	No
Small polar	Water	Yes	No	No
Large polar	Glucose	No	Yes	Yes
Ions	Na^+ , K^+ , Ca^{2+}	No	Yes	Yes
Thermodynamic properties				
Direction relative to electrochemical gradient		Down	Down	Up
Effect on entropy		Increased	Increased	Decreased
Metabolic energy required		No	No	Yes
Intrinsic directionality		No	No	Yes
Kinetic properties				
Carrier-mediated		No	Yes	Yes (pump)
Michaelis-Menten kinetics		No	Yes	Yes
Competitive inhibition		No	Yes	Yes

Two classes of membrane transport proteins

- (1) Carrier proteins are responsible for both the passive and the active transport.
(2) Channel proteins are only responsible for passive transport.
- Carrier proteins bind one or more solute molecules on one side of the membrane and then undergo a conformational change that transfer the solute to the other side of the membrane.

Most of the channel proteins are ion channels, including three types, with ion channels that they can be opened and closed

- The channel proteins, in contrast, interact with the solute to be transported much more weakly.

The channel proteins facilitate diffusion by forming hydrophilic transmembrane channels

(7) Transport through channel proteins occurs at a much faster rate than transport mediated by carrier proteins.

- This process differs from facilitated diffusion in two crucial aspects
 - (1)Active transport maintains the gradients for potassium, sodium, calcium, and other ions across the cell membrane. Always moves solutes up a concentration or electrochemical gradient;
 - (2)Active transport couples the movement of substances against gradients to ATP hydrolysis. i.e Always requires the input of energy.

zdroje

- Zdroje: Wiley J. and Sons (2006):
Fundamentals of Biochemistry
- <http://www.geocities.com/bioelectrochemistry/mitchell.htm>