Plazmatická membrána a transporty

Membránové potenciály

Rozloženie iónov na membráne

B. Typical "effective" concentrations and equilibrium potentials of important ions in skeletal muscle (at 37°C)

	"Effective" concentration (mmol/kg H_2O)		Equilibrium potential
	Interstice (ECF)	Cell (ICF)	
K^+	4.5	160	– 95 mV
Na^+	144	7	+ 80 mV
Ca^{2+}	1.3	0.0001 – 0.00001	+125 to +310 mV
H^+	$4 \cdot 10^{-5}$ (pH 7.4)	10^{-4} (pH 7.0)	– 24 mV
Cl^-	114	7	– 80 mV
HCO_3^-	28	10	– 27 mV

nedifuzibilné anióny – bielkoviny a nukleové kyseliny: -155mM v bunke, zanedbateľná koncentrácia mimo bunky

Gibbs-Donnanová rovnováha

link Gibbs-Donnanová rovnováha

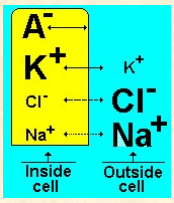
Kľudový membránový potenciál od –70 do –90 mV

- prítomnosť nedifuzibilnych častíc v jednom kompartmente predelenom semipermeabilnou membránou spôsobí, že po dosiahnutí rovnováhy budú difúzibilné ióny na oboch stranách rozložené nerovnomerne
- dôsledkom je vznik kľudového membránového potenciálu

Membránový potenciál

K^+ - difundujú von podľa koncentračného gradientu, ale bráni mu v tom kladný náboj v extracelulárnom priestore

Na^+ - nemôže prejsť cez membránu



⇒ malý nadbytok katiónov mimo bunky a aniónov v bunke

- hodnota potenciálu – 70 mV

TRANSPORTNÉ MECHANIZMY

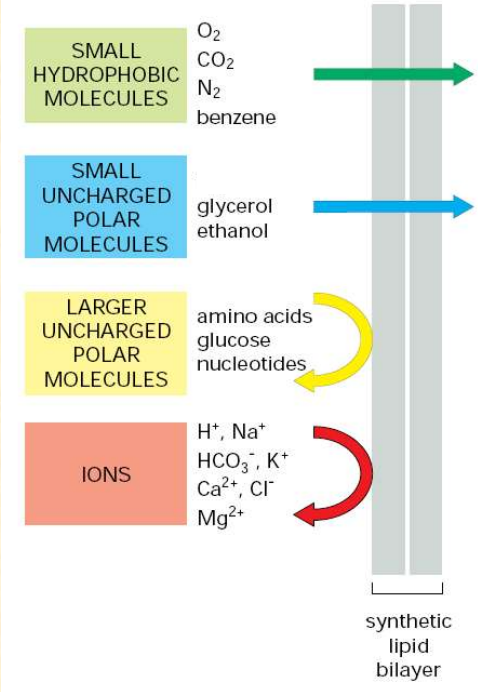
link 1

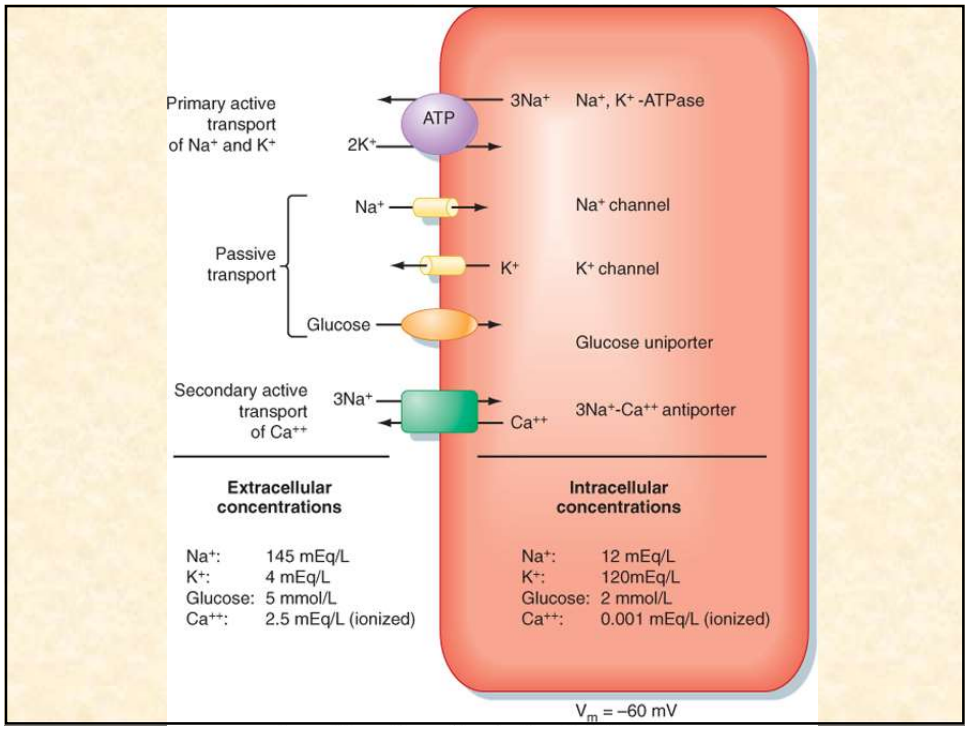
- lipidové dvojvrstvy sú pre väčšinu látok nepriepustné

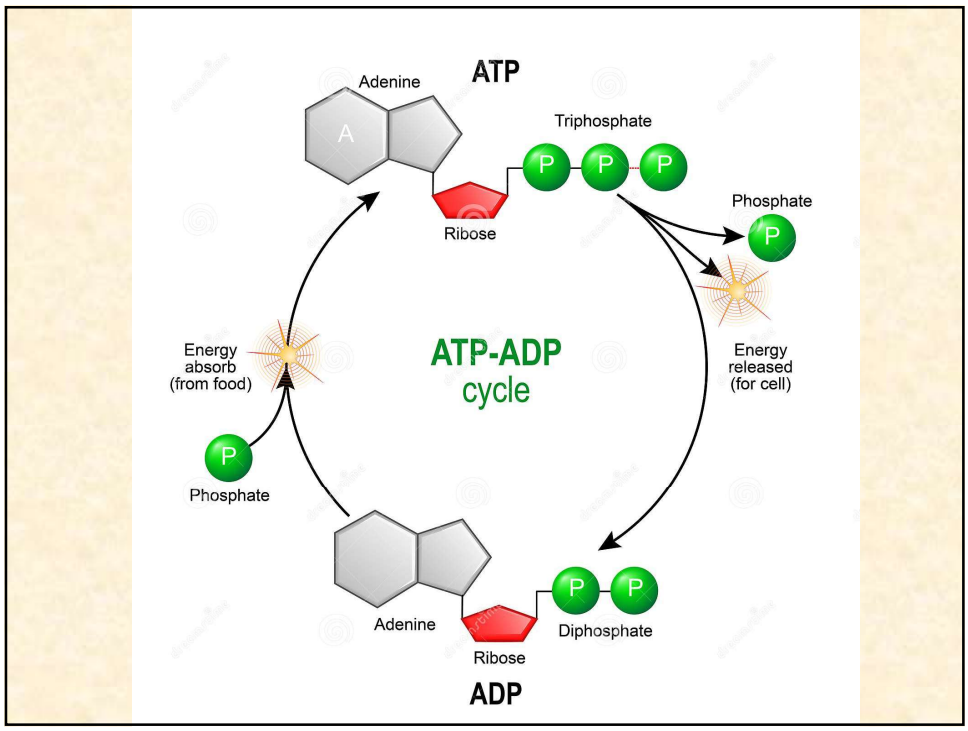
- jednoduchou difúziou prechádzajú malé nepolárne molekuly ako O_2 a CO_2

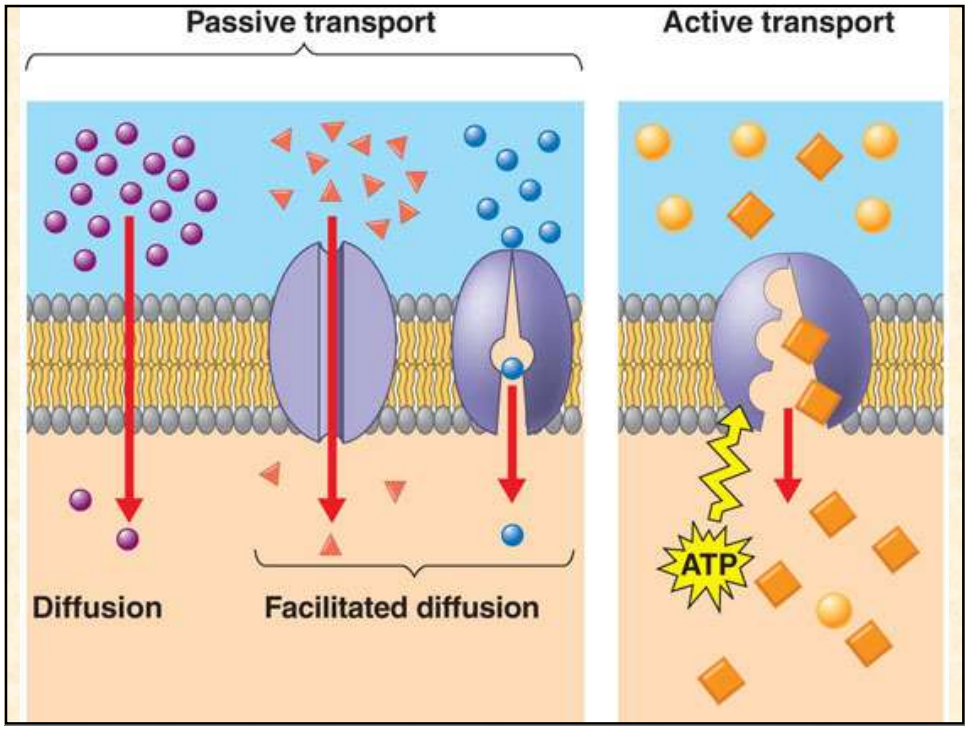
- testovanie na umelých systémoch *in vitro*

link 2




Primary active transport of Na+ and K+
ATP
3Na+
2K+
Na+, K+ -ATPase
Passive transport
Na+
Na+ channel
K+
K+ channel
Glucose
Glucose uniporter
Secondary active transport of Ca++
3Na+
Ca++
3Na+-Ca++ antiporter
Extracellular concentrations
Na+: 145 mEq/L
K+: 4 mEq/L
Glucose: 5 mmol/L
Ca++: 2.5 mEq/L (ionized)
Intracellular concentrations
Na+: 12 mEq/L
K+: 120mEq/L
Glucose: 2 mmol/L
Ca++: 0.001 mEq/L (ionized)
Vm = –60 mV


ATP
Adenine
A
Triphosphate
P
P
P
Ribose
Phosphate
P
Energy released (for cell)
ATP-ADP cycle
Energy absorb (from food)
P
Phosphate
Adenine
Ribose
P
P
Diphosphate
ADP



Jednoduchá difúzia

v smere elektro-chemického potenciálu

- malé hydrofóbne molekuly
- liečivá

Lipofilné látky – prenikajú ľahko
glycerol, jeho deriváty, organické kyseliny, etény

Hydrofilné látky – v miestach, kde je membrána premostená bielkovinovými molekulami

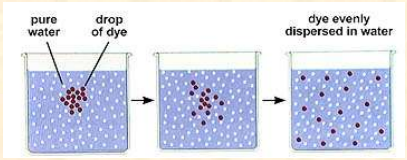
Pasívny transport

- Nie je potrebné ATP

link 3

Difúzia v homogénnom prostredí

- Látka sa bude pohybovať do oblasti z nižšou koncentráciou



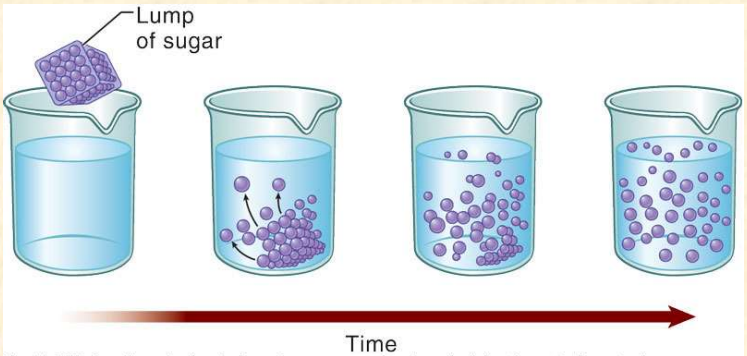
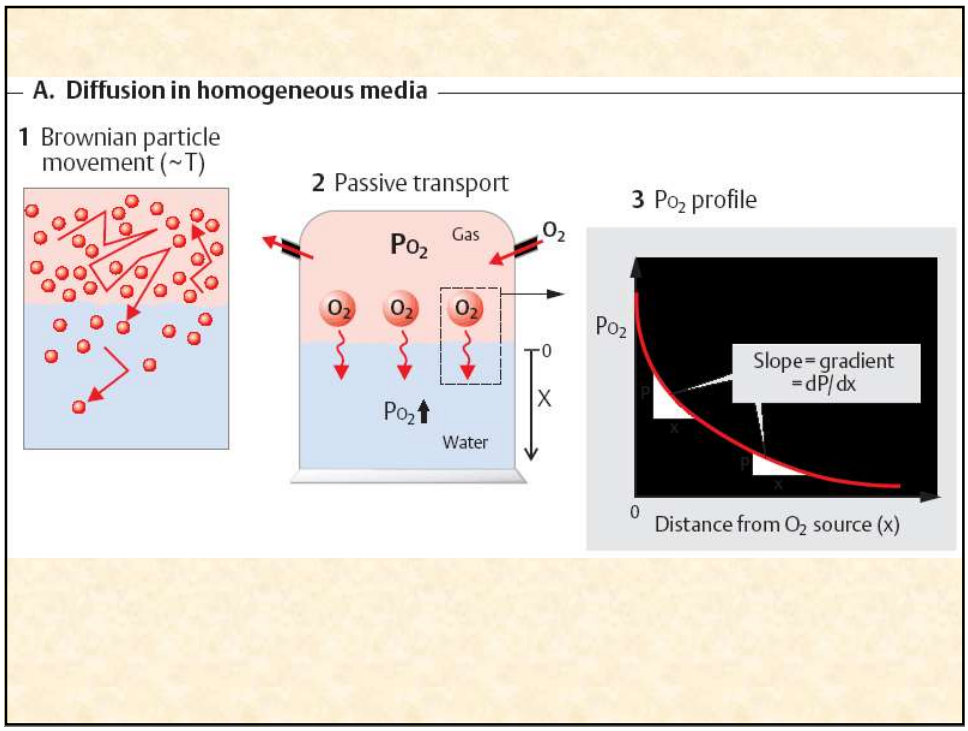
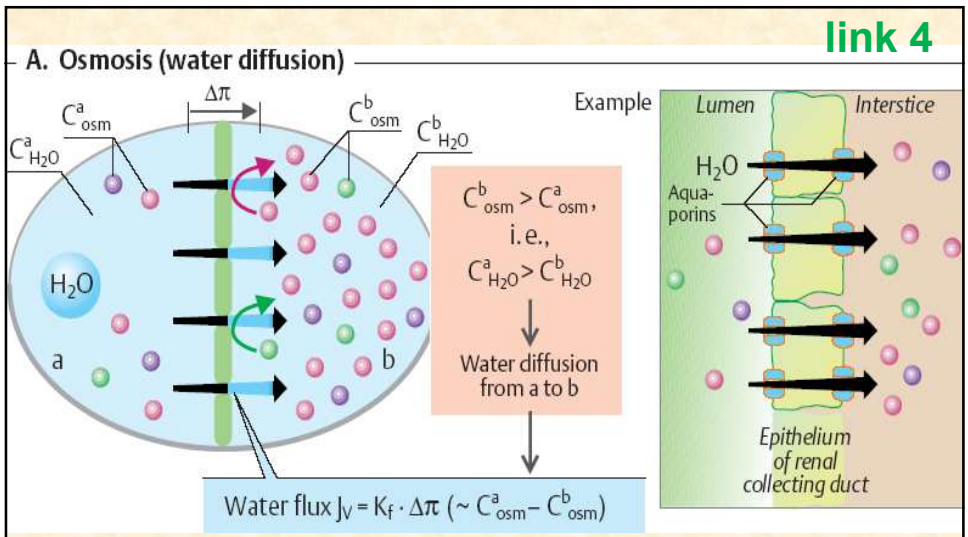


Fig. 4-1. **Diffusion.** The molecules of a lump of sugar are very densely packed when they enter the water. As sugar molecules collide frequently in the area of high concentration, they gradually spread away from each other—toward the area of lower concentration. Eventually, the sugar molecules become evenly distributed.

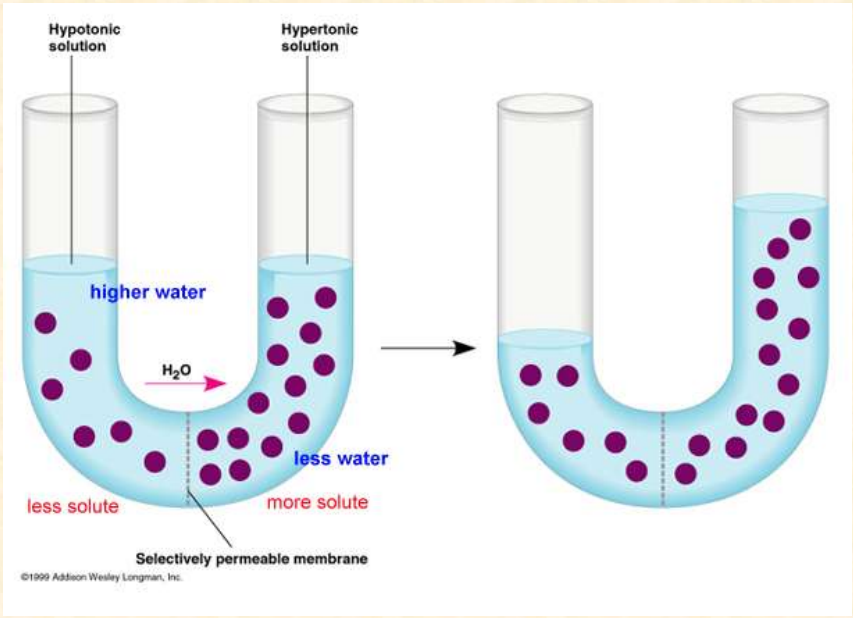
Mosby items and derived items © 2010, 2007, 2003 by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.

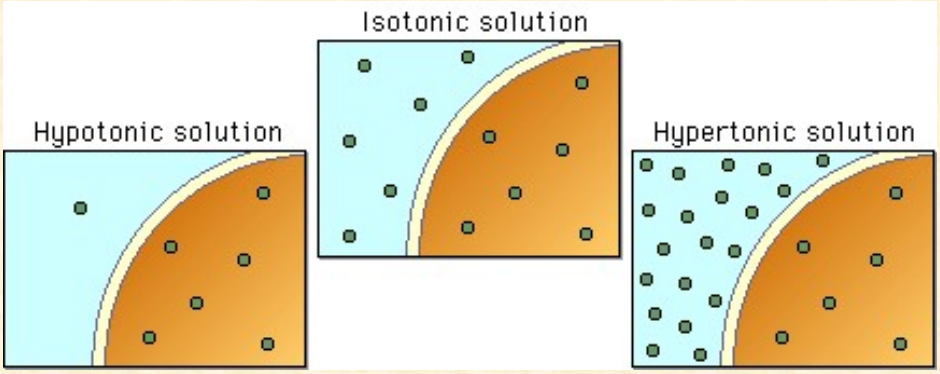


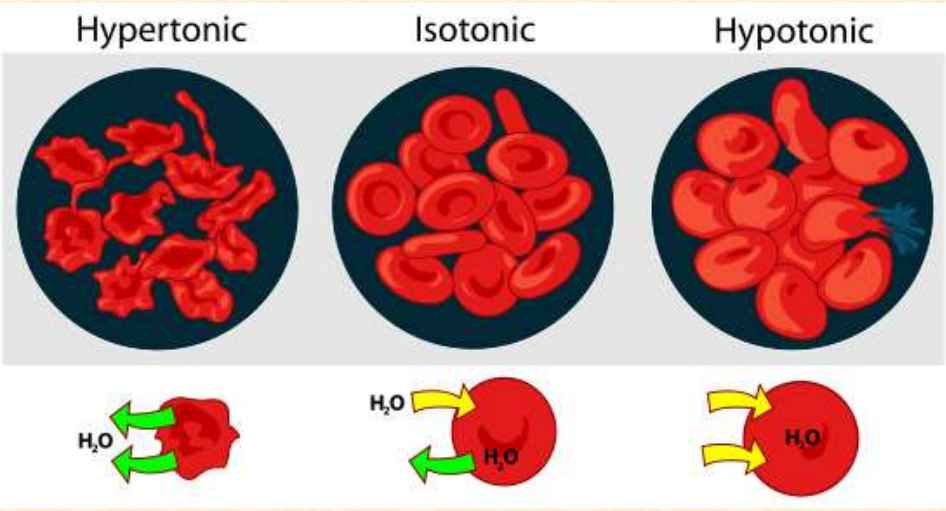
link 4



osmóza – voda prechádza miesta z vyššej koncentrácie osmolytov
osmolyt – osmoticky aktívna látka, ktorá neprechádza cez membránu, ale spôsobí pohyb vody


Hypotonic solution
Hypertonic solution
higher water
H_2O
less water
less solute
more solute
Selectively permeable membrane
©1999 Addison Wesley Longman, Inc.


Isotonic solution
Hypotonic solution
Hypertonic solution



https://www.youtube.com/watch?v=A8cI6FkcG4c

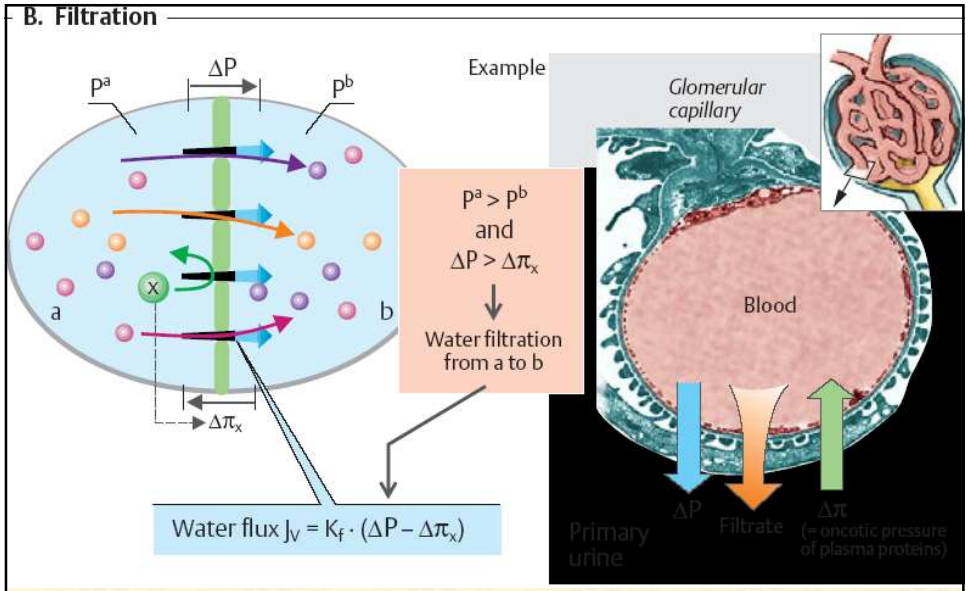
Ako môže bunka kompenzovať nepriaznivé hyposmotické prostredie?

- transport osmoticky aktívnych iónov a organických osmolytov (taurín, inozitol, betaín) von z bunky
- zníženie počtu osmoticky aktívnych molekúl syntézou makromolekúl
- inhibícia proteolýzy
- exocytozóza

Ako môže bunka kompenzovať nepriaznivé hypersmotické prostredie?

- transport iónov a organických osmolytov (taurín, inozitol, betaín a i.) do bunky
- zvyšuje sa metabolizmus vedúci k produckii osmolytov
- inhibícia proteosyntézy a lipogenézy

osmolarita v sére 280-295 mOsm/kg



obličky:
fenestrované kapiláry (70-100nm), bazálna membrána (7-10nm), podocyty (4-14nm)

látka	molekulová hmotnosť	polomer nm	filtrovateľnosť %
voda	18	0.1	100
močovina	60	0.16	100
glukóza	180	0.36	100
sacharóza	342	0.44	100
inulín	5500	1.48	98
myoglobín	16000	1.95	75
hemoglobín	64000	3.25	3
plazmatický albumín	69000	3.55	1

link 5

Iónové kanály

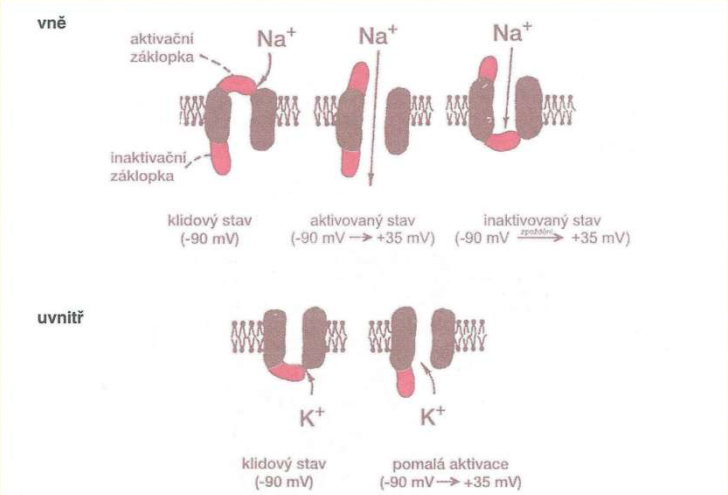
1. stále otvorené
2. riadené napätím (napr. akčný potenciál)
3. riadené chemicky (napr. postsynaptická membrána)
4. riadené napätím aj chemicky
5. riadené mechanicky

Iónové kanály regulované napätím (elektricky)
VOLTAGE DEPENDENT
zmena permealibity → dôsledok konformačných zmien
- Na^+ - negatívny náboj vo vnútri bunky ⇒ Na kanál uzavretý
- K^+ - pomalší

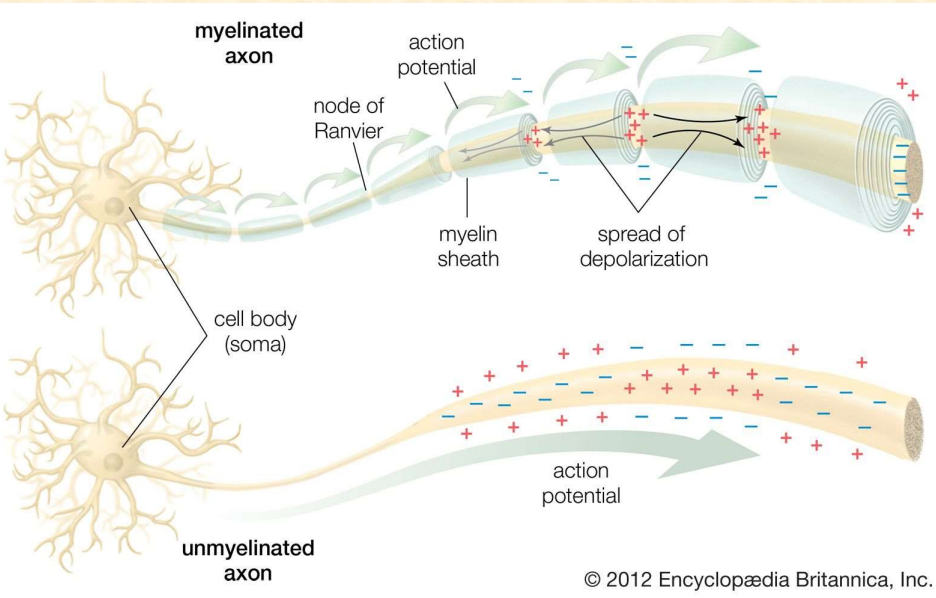
- 500 – 5000x PERMEABILITA
AKTIVAČNÁ ZÁKLOPKA - vonkajšie
INAKTIVAČNÁ ZÁKLOPKA – vnútorné

a. AKTIVOVANÝ STAV
b. INAKTIVOVANÝ STAV
c. KĽUDOVÝ STAV

2. Regulované napätím - akčný potenciál



Obr. 1.11 *Schéma napěťového řízeného sodíkového (nahoře) a draslíkového (dole) kanálu (upraveno podle Guytona, 1991)*
Změna membránového potenciálu z negativní hodnoty (klidový membránový potenciál) na hodnotu kladnou (depolarizace) vede postupně k přechodu Na^+ kanálu z klidového stavu do aktivovaného a posléze do inaktivovaného stavu. Stejná změna membránového potenciálu vede u K^+ kanálu pouze k přechodu z klidového do aktivovaného stavu.



link 6

Iónové kanály regulované napätím (elektricky)
VOLTAGE DEPENDENT

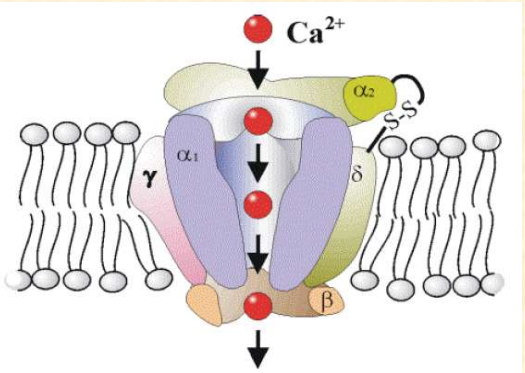
Ca^{2+} kanály

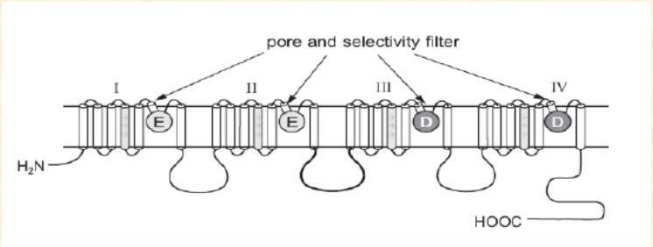
- L - kanály — vysokoprahové (napäťové) (na tele a začiatku výbežku neurónu)
- N - kanály — vysokoprahové (depolarizácia) (nervové zakončenia, výdaj neuromediátora)
- T – kanály — nízkoprahové (srdce, mozog)

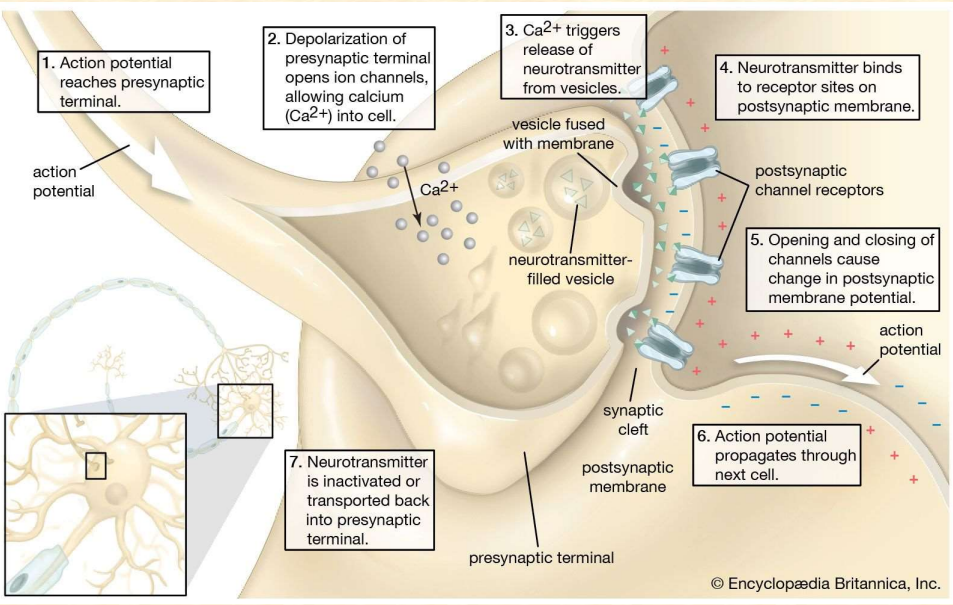
Cl^- - kanály

Vápnikový kanál

link 7







N – kanály
- vysokonapäťové (depolarizácia) (nervové zakončenia, výdaj neuromediátora)

Nízkonapäťové vápnikové kanály

•Vápnikové kanály T-typu

•Aktivácia: -70 až -60 mV

•Tvorba akčného potenciálu v sínusovom uzle srdca

•Napomáhajú k šíreniu atrioventrikulárneho akčného potenciálu

•Tvorba bunkovej depolarizácie

Vysokonapäťové vápnikové kanály

- Aktivácia: okolo -40 mV (vyžaduje silnú depolarizáciu)
- Hlavný iniciátor svalovej kontrakcie a neurosekrécie

link 8

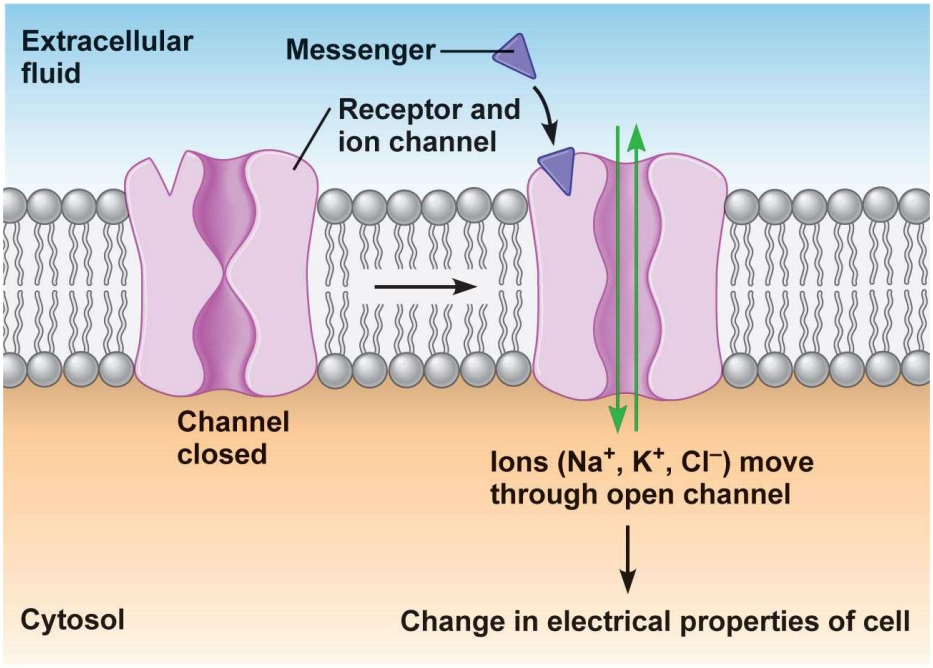
3. Regulované chemicky – musí sa na ne naviazať ligand

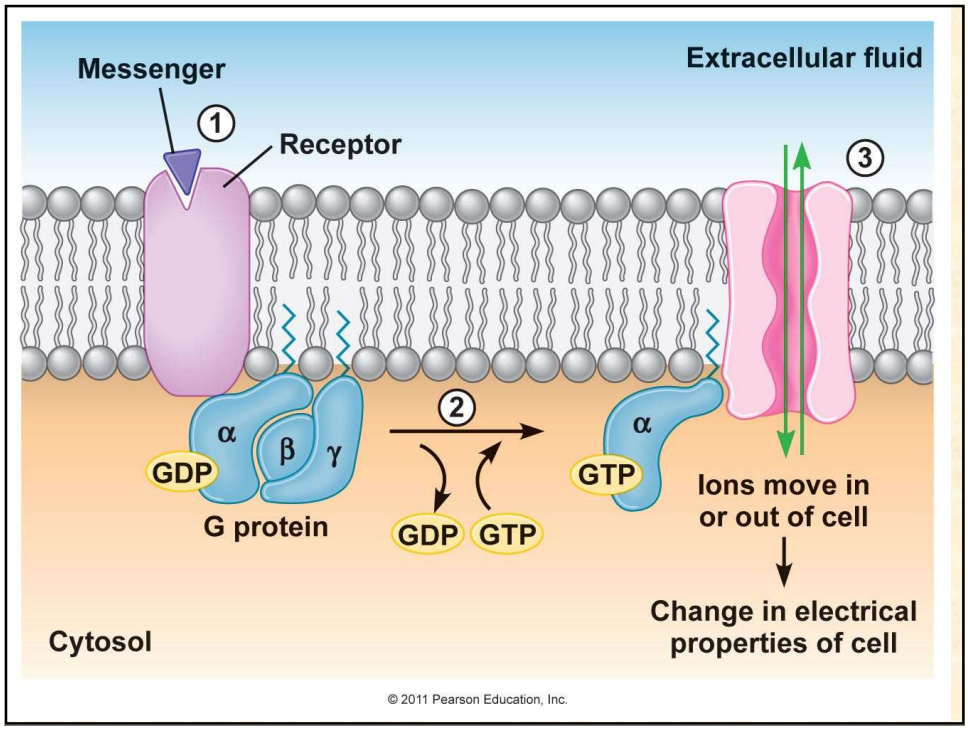
- konformačná zmena receptoru

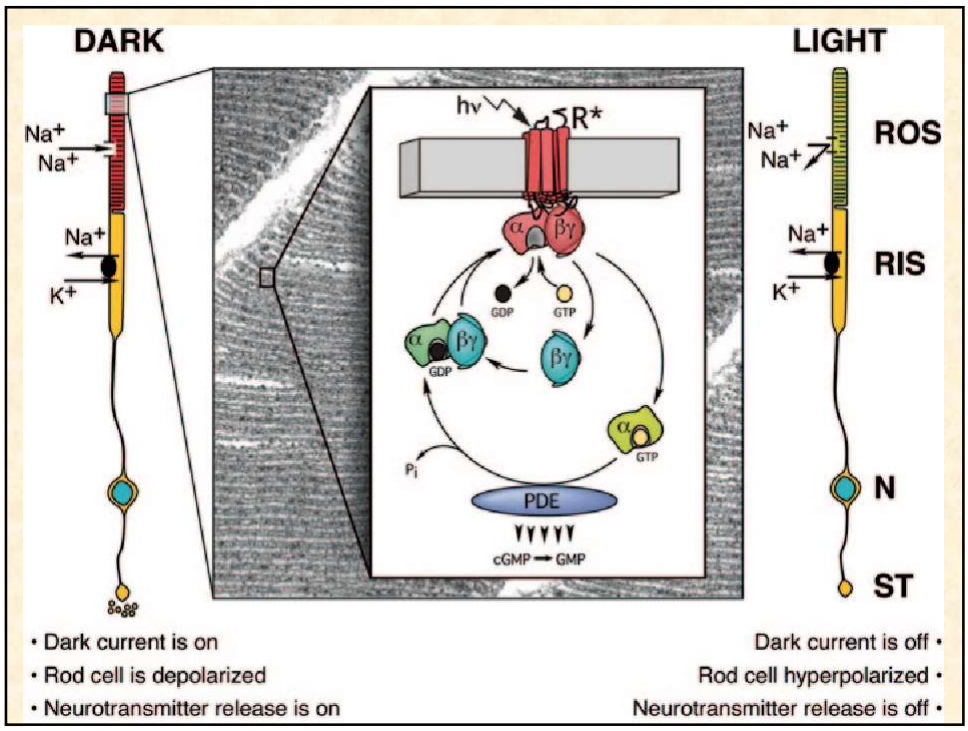
a) RECEPTOR je súčasťou kanála – veľmi rýchle postsynaptické receptory – Na^+, K^+, GABA – Cl^-

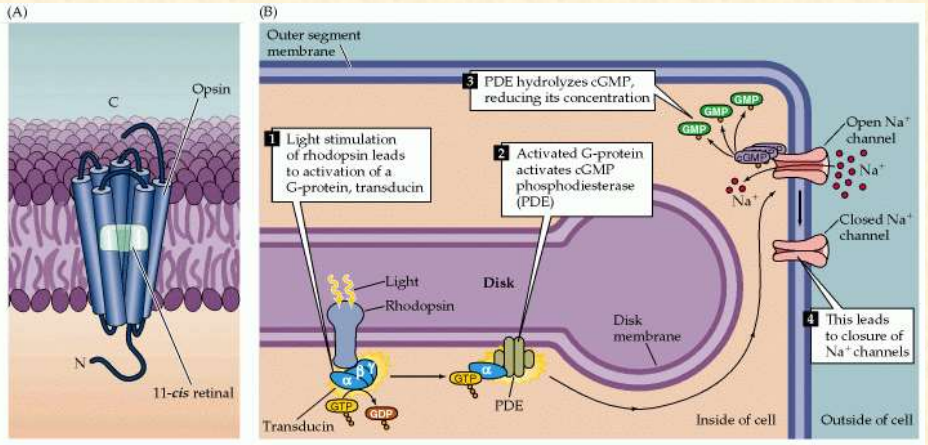
b) G – proteín ⇒ FOSFORYLÁCIA kanálu
- Proteínkináza A
- Proteínkináza C

c) G – proteín – bez FOSFORYLÁCIE – v sietnici Na^+ kanály sa uzavrú vplyvom cGMP, zvýši sa membránový potenciál




Messenger
Extracellular fluid
1
Receptor
3
α
β
γ
GDP
G protein
2
GDP
GTP
α
GTP
Ions move in or out of cell
Change in electrical properties of cell
Cytosol
© 2011 Pearson Education, Inc.


DARK
LIGHT
Na+
Na+
Na+
K+
hν
R*
GDP
GTP
Pi
PDE
cGMP → GMP
ROS
RIS
N
ST
• Dark current is on
• Rod cell is depolarized
• Neurotransmitter release is on
Dark current is off •
Rod cell hyperpolarized •
Neurotransmitter release is off •



link 8.5

4. Regulované napätím i chemicky

- pomalé Na^+ K^+ kanály v myokarde

5. Regulované mechanicky

- v mechanoreceptoroch → natiahnutie membrán otvára kanál - cez mikrofilament

4. Pasívny prenášačový transport
- zapojenie molekuly prenášačov
- vždy v smere chemického potenciálu
- nasýtenie transportu –
  - AK
  - mono a di-sacharidy
  - PO_4^-

5. Aktívny transport

oproti elektrochemickému grandientu
→ vyžaduje energiu
inak podobný pasívnemu

A) primárny aktívny transport =*uniport*

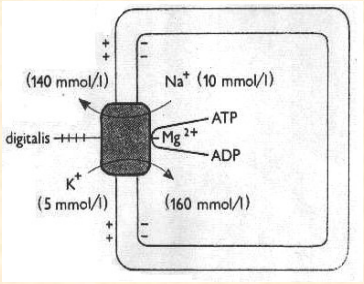
Na^+/K^+ ATP-áza = Na^+ - K^+ - stimulovaná ATP – fosfohydroláza

Na^+a Mg^{2+} - vo vnútri – potrebné pre fosforyláciu

K^+ - defosforylácia ⇒ konformácia ⇒ uvolnené Na^+

Translokácia Na^+a K^+ v pomere 3 : 2 ⇒ membránový potenciál
- Mg^{2+} - ATP-áza – v mitochondriách
- Ca^{2+} - ATP-áza – vo svale a v črevách
- H^+ - ATP-áza – v sliznici čreva

Model sodíkovo-draslíkovej pumpy v povrchovej membráne



- Na^+-K^+- pumpa závislá od ATP

je lokalizovaná v povrchovej bunkovej membráne

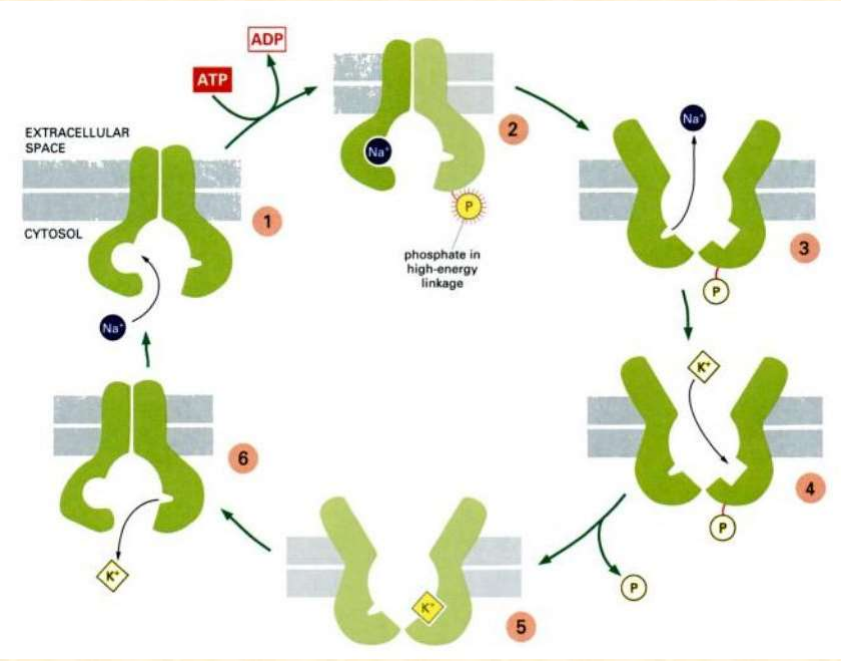
V prítomnosti Na^+ a Mg^{2+} na vnútornej strane membrány sa prenáša terminálny fosfát z komplexu ATP-enzým na enzýmovú molekulu.

Nasleduje konformačná zmena molekuly spojená s prenosom **3 molekúl Na^+** na vonkajšiu stranu membrány, kde sa tento ión vymieňa za **2 molekuly K^+**.

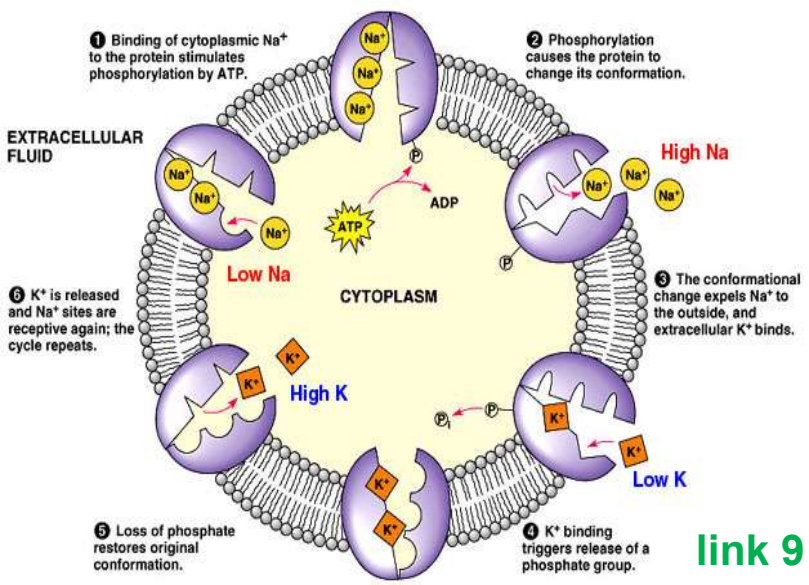
Väzba K^+ do molekuly fosfoenzýmu vyvoláva novú konformačnú zmenu, pri ktorej sa K^+ dostáva do vnútra bunky a zároveň nasleduje hydrolýza fosfátovej väzby a návrat do pôvodného stavu.

Digitalis sa viaže na vonkajšiu stranu membrány do molekuly enzýmu vo fáze Na^+-dependentnej fosforylácie jeho molekuly, a tým blokuje sodíkovo-draslíkovú pumpu.

link



Model sodíkovo-draslíkovej pumpy v povrchovej membráne



link 9

5. Aktívny transport

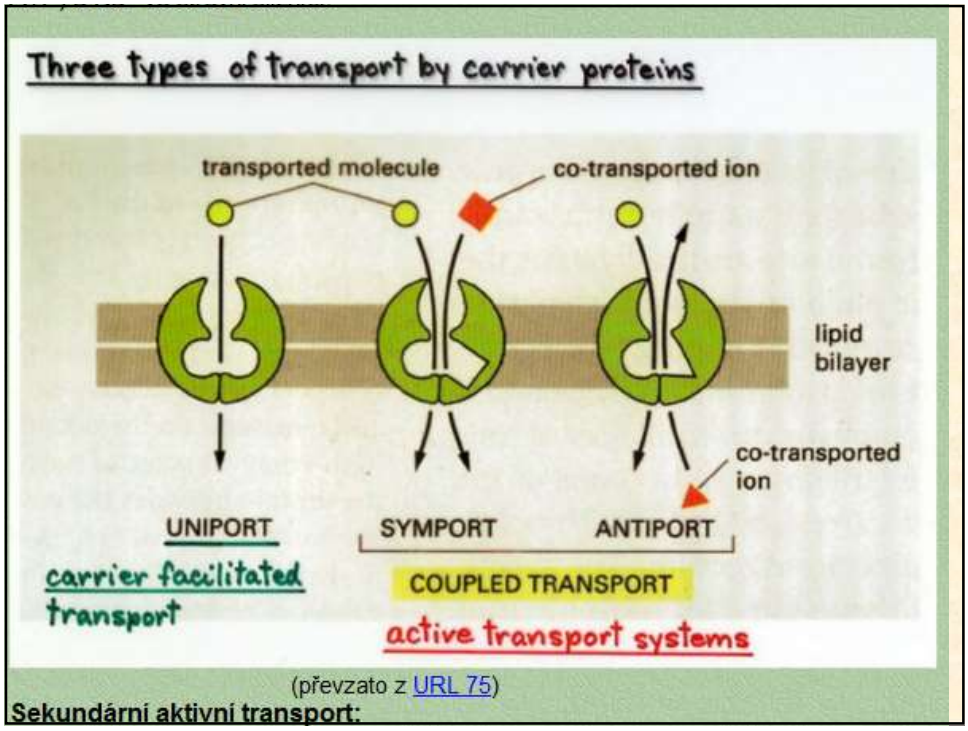
B) sekundárny aktívny transport

samotný je pasívny, ale je spojený s iným energiu potrebujúcim systémom

- **symport** – transport rovnakým smerom
  napr. transport glukózy alebo minokyselín spolu s Na^+, následne Na^+ primárnym aktívnym transportom putuje von z bunky

- **antiport** – oproti Na^+/Ca^{2+} výmenník, Na^+/H^+ antiport

link 10



(převzato z URL 75)

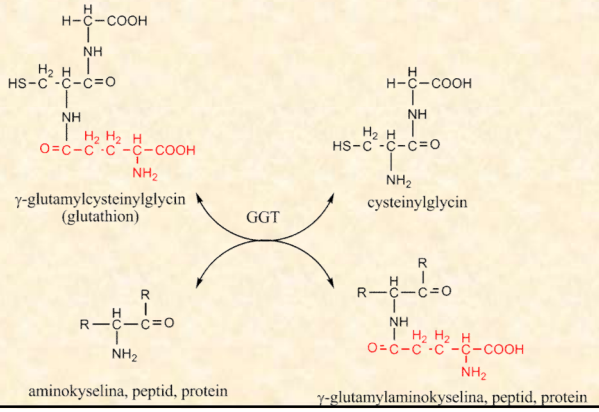
Sekundární aktivní transport:

Skupinová translokácia

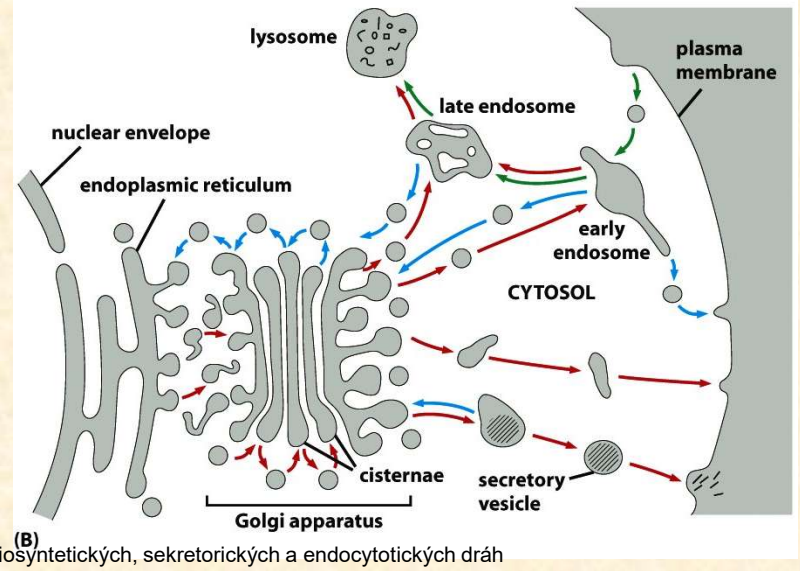
Transport spojený s premenou – chemickou modifikáciou – transportovanej zlúčeniny

γ - glutamyltransferáza –

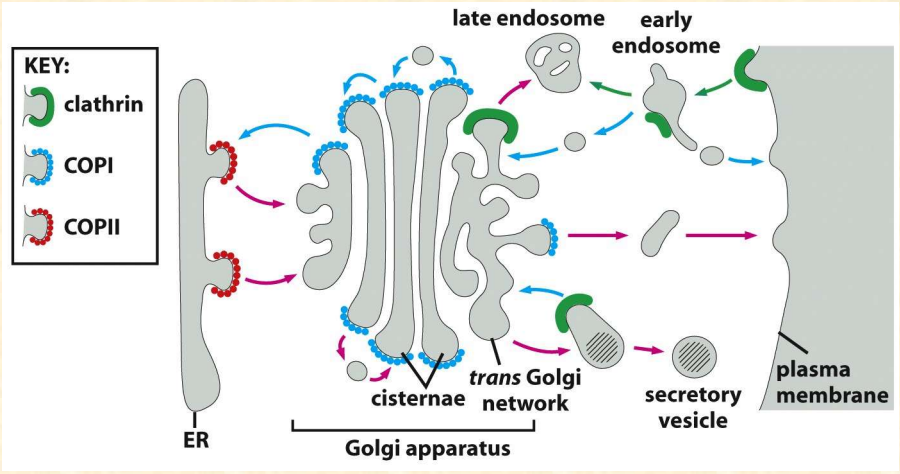
prenáša zvyšok kyseliny glutámovej z glutathionu na aminokyseliny či peptidy. Vyskytuje sa napr. v pečeni a žlčových cestách.



FAGOCYTÓZA – príjem celých častíc
PINOCYTÓZA – príjem tekutých častíc
ENDOCYTÓZA – endozóm
EXOCYTÓZA

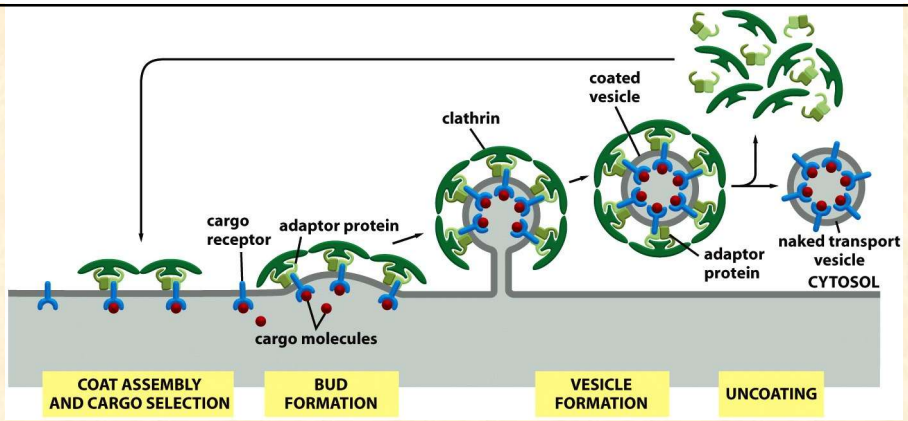


mapa biosyntetických, sekretorických a endocytotických dráh
červené dráhy – molekuly sú transportované z ER k plazmatickej membráne alebo do lyzozómov
zelené dráhy – molekuly sú resorbované z cytoplazmatickej membrány a dopravené do endozómov a následne do lyzozómov
modré dráhy – spätné dráhy, ktoré časť transportovaného materiálu vracajú na opätovné spracovanie



Ako prvá molekula, ktorá vytvára plášť vezikúl bol popísaný klatrín, ale známe sú viaceré, ktoré mediujú prenos vezikúl v bunkových kompartmentoch. Retrográdny transport COP I

Figure 13-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

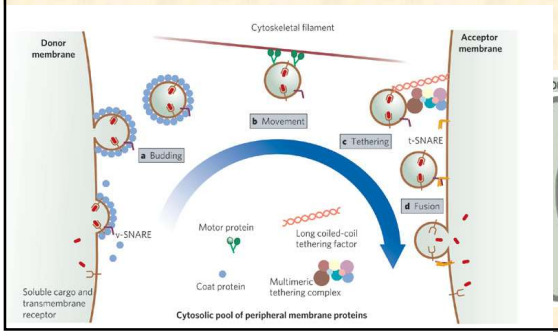


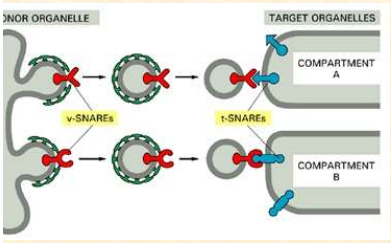
Adaptorové proteíny tvoria druhú vrstvu klatrínovej vezikuly.
Sú umiestnené medzi klatrínom a menbránou.
Držia klatrín pri membráne a viažu sa na rôzne transmembránové proteíny vrátane transmembránových receptorov, ktoré viažu molekuly, čo sa majú transportovať.

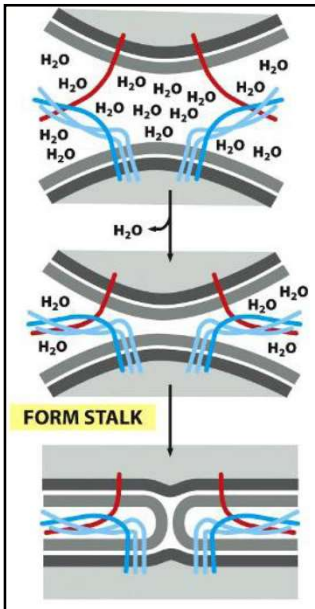
Existuje viacero adaptorových proteínov, ktoré sú špecifické pre náklad.

link 11

- krátke vzdialenosti - difúzia
- ak je vzdialenosť väčšia, je vezikula prenášaná motorovými proteínmi po cytoskeletových vláknach. Keď vezikula dorazí k cieľovej organele, musí ju rozpoznať. Dôležitú úlohu v tom zohrávajú SNARE proteíny na povrchu vezikúl, ktoré sú špecificky rozpoznávané komplementárnymi SNARE proteínmi na povrchu cieľových membrán t-SNARE. Každá organela a každý typ transportných vačkov pravdepodobne nesie unikátne SNARE-proteíny.





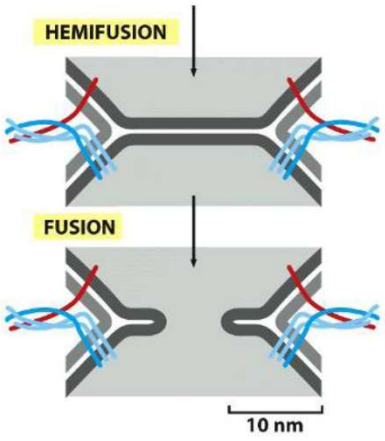


Pevná väzba pomocou SNARE proteínov

Figure 13-17 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Väzbou sa vytlačí voda

Medzistupeň - hemifúzia



Signalizácia na membráne

Hormóny sa dostávajú ako humorálne signály resp. ako prvé posly extracelulárne k cieľovej bunke.
- viažu sa na membránové receptory alebo
- na jadrové receptory (lipofilné hormóny: steroidné hormóny, hormóny štítnej žľazy a kalcitriol)
  – jadrové receptory budeme preberať pri endokrinnej sústave

link 12

Väzbou hormónu na membránový receptor sa po kaskáde krokov uvoľnia druhé posly.
- cAMP
- cGMP
- inozitol-1,4,5-trifosfát (IP_3)
- 1,2 diacylglycerol (DAG)

Špecifickosť účinku je zabezpečená receptorovou výbavou bunky.

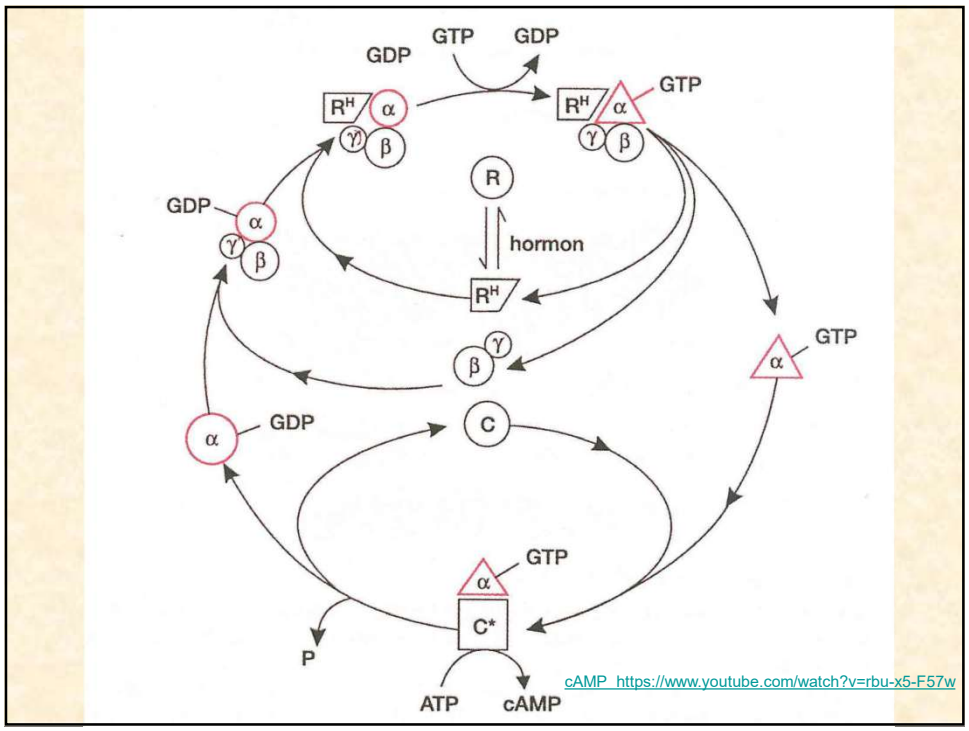
cAMP
je druhý posol, ktorý býva spojený so stimulačnými alebo inhibičnými G_s a G_i regulačnými proteínmi.
G proteín je zložený z α, β a γ podjednotky.
V pokojovom stave sa na α viaže GDP.

G_s - keď sa na receptor naviaže hormón, tento komplex sa naviaže na G proteín. GDP je nahradený GTP a odštiepujú sa β a γ podjednotky za prítomnosti Mg^{2+}.
Komplex α-GTP aktivuje enzým adenylát cykláza na vnútornej strane membrány a stúpa cAMP (alebo klesá podľa typu G proteínu).

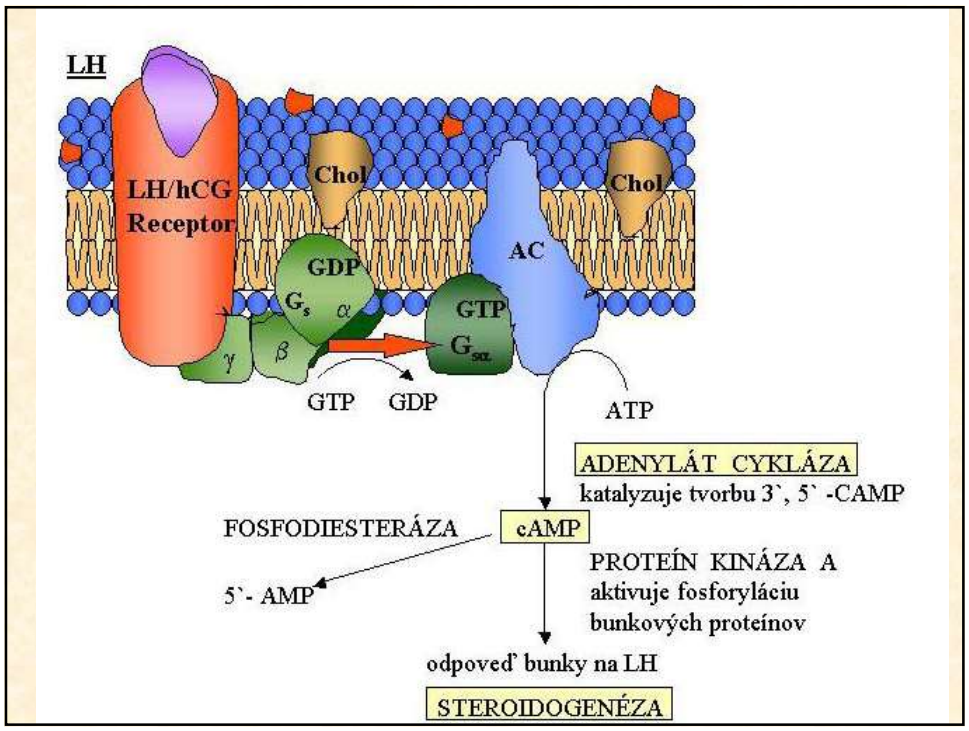
Aktivácia adenylátcyklázy trvá, pokiaľ je na $alfa_s$ podjednotku naviazané GTP.

Neskôr sa vlastnou GTPázovou aktivitou podjednotky alfaGTP premení na alfa a GDP.

Obnoví sa pôvodný komplex podjednotiek G proteínu.



cAMP https://www.youtube.com/watch?v=rbu-x5-F57w

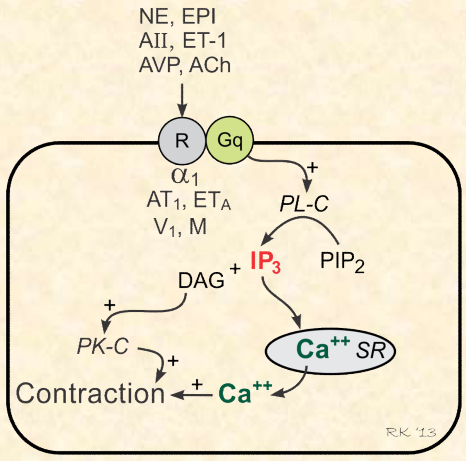


Interakcia medzi G proteínom a fosfolipázou C – **Gq** proteín

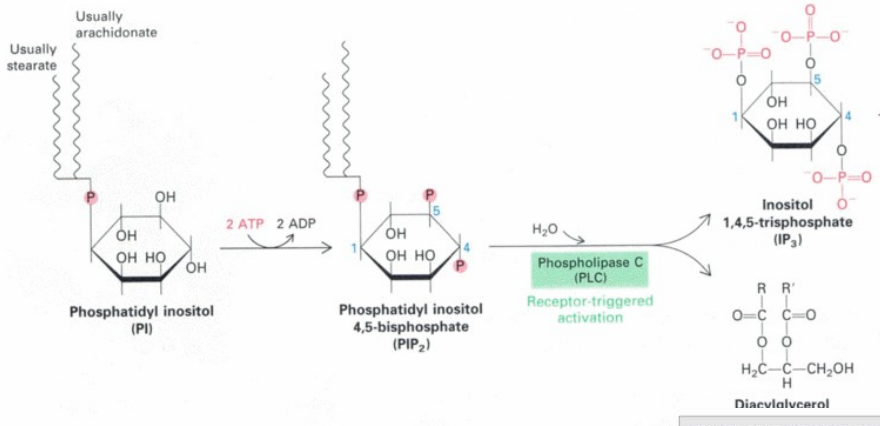
- Vonkajší signál aktivuje receptor, G proteín po naviazaní GTP aktivuje fosfolipázu C
- Fosfolipáza C štiepi membránový fosfatidylinositol,-4,5-bisfosfát (PIP2) za vzniku inositol-1,3,5-trifosfátu (IP3) a diacylglycerolu (DG)

link 13

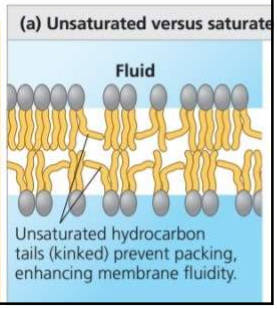
- IP3 difunduje do cytoplazmy a cez receptory endoplazmatického retikula uvoľňuje Ca^{2+} do cytoplazmy
- vzostup Ca^{2+} stimuluje kalmodulínom aktivované proteínkinázy a otvára niektoré iónové kanáliky
- DG vo vnútri membrány aktivuje proteínkinázu C, ktorá aktivuje ďalšie proteíny



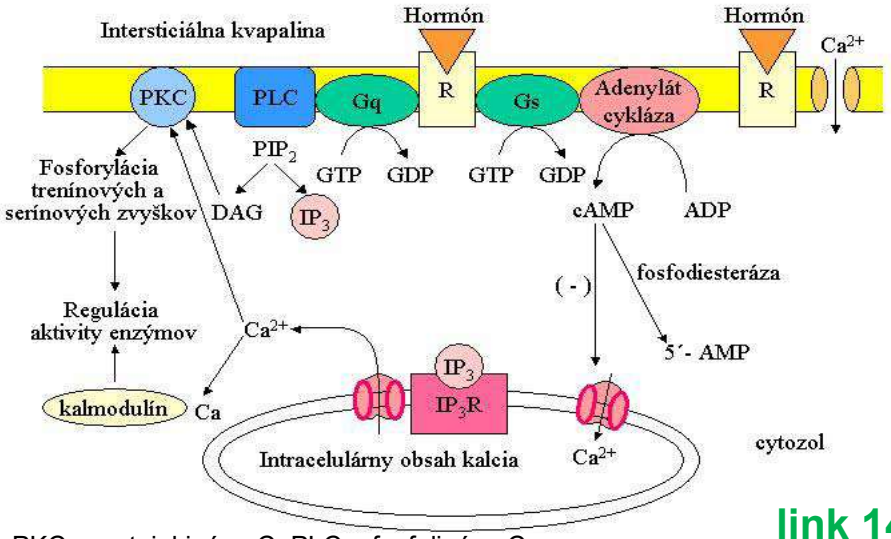
R, receptor; Gq, phospholipase C-coupled Gq-protein; PL-C, phopholipase C; PIP_2, phosphatidylinositol biphosphate; IP_3, inositol triphosphate; DAG, diacylglycerol; PK-C, protein kinase C; SR, sarcoplasmic reticulum; NE, norepinephrine; AII, angiotensin II; ET-1, endothelin-1; AVP, arginine vasopressin; ACh, acetylcholine; α_1, alpha1-adrenoceptor; AT_1, type 1 angiotensin receptor; ET_A, type A endothelin receptor; V_1, vasopressin type 1 receptor; M, muscarinic receptor.



IP3 https://www.youtube.com/watch?v=jUwgET9ue2w



Mechanizmus prenosu signálu prostredníctvom diacylglycerolu a inozitol trifosfátu



link 14

PKC - proteinkináza C; PLC – fosfolipáza C