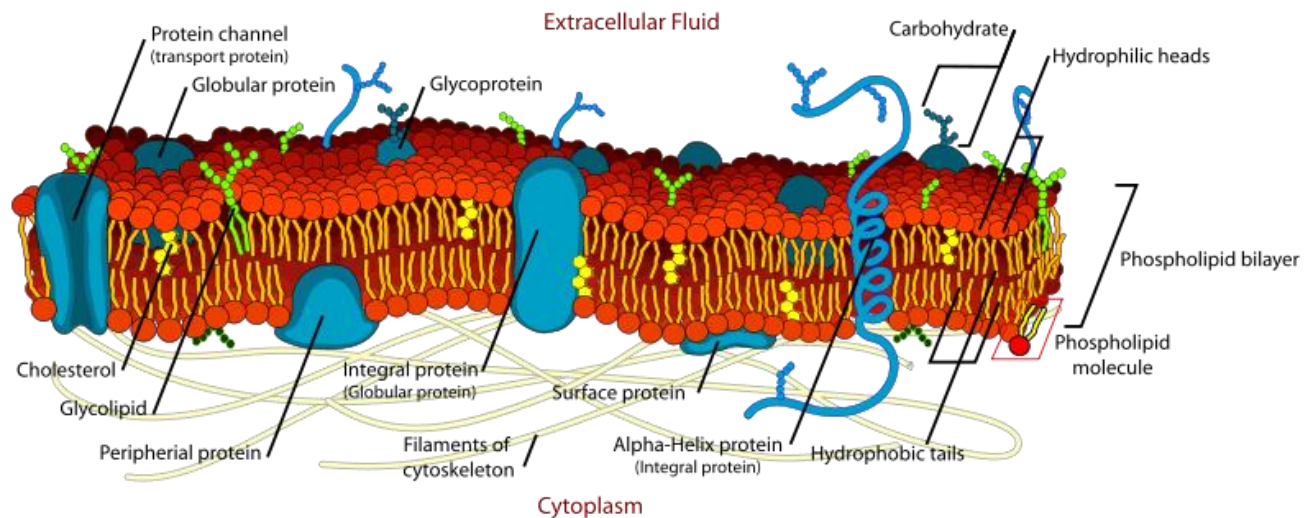
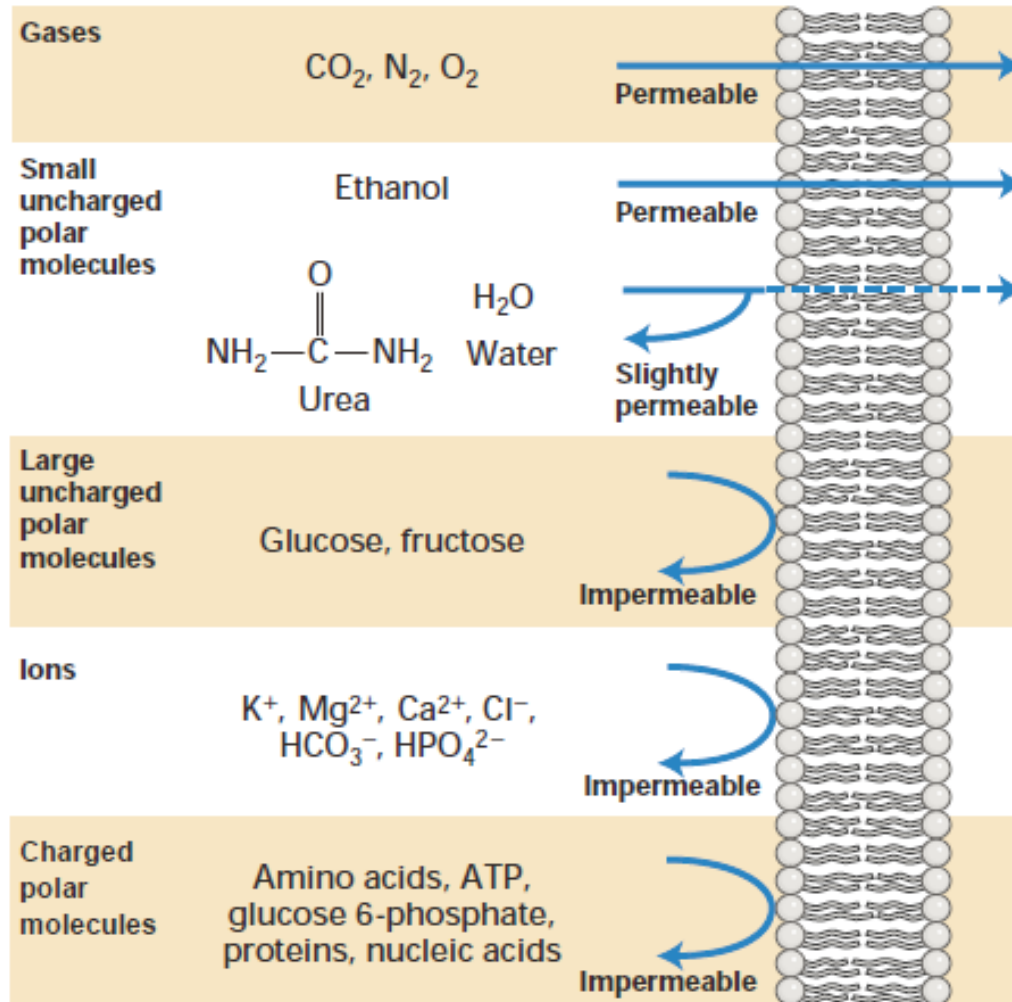


Transport ionov in malih molekul čez biološke membrane

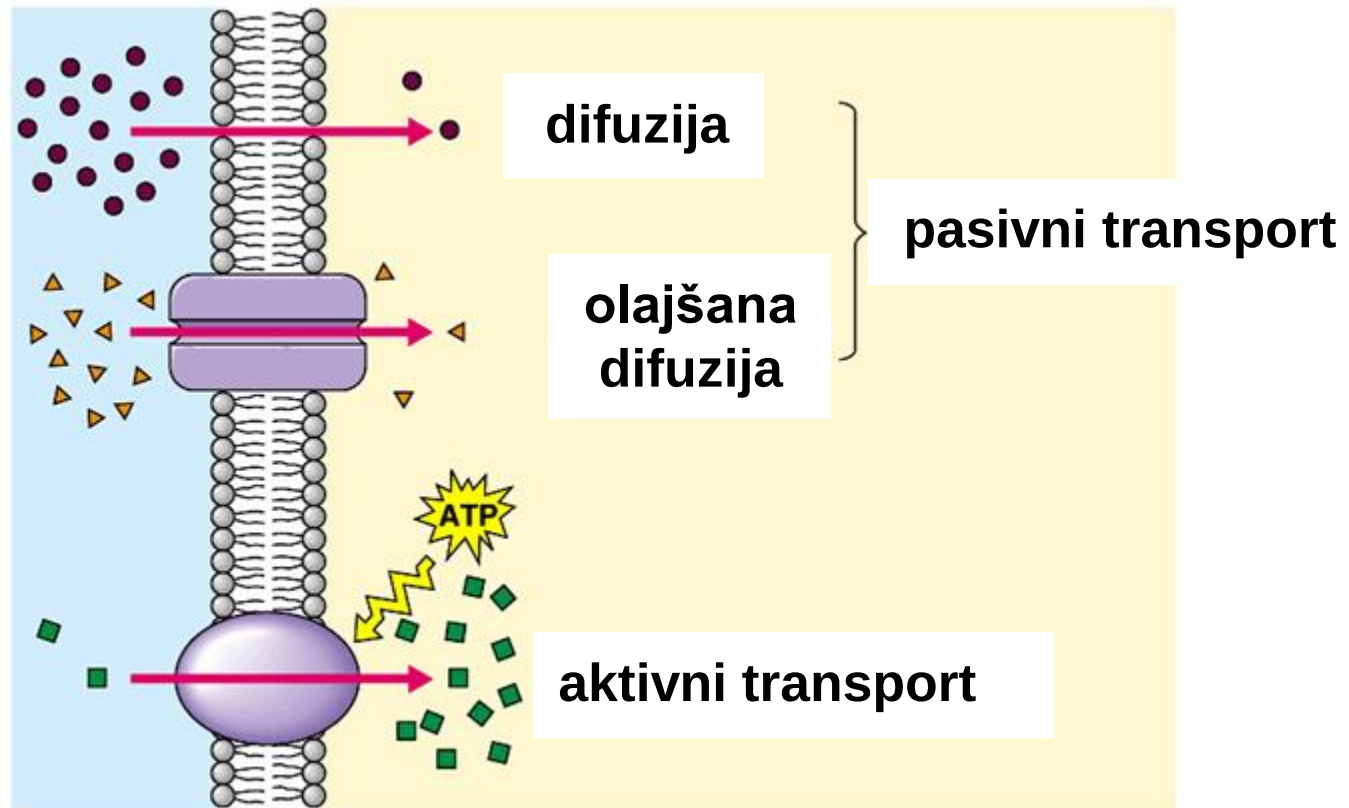


Lodish ...

Relativna propustnost fosfolipidnega dvosloja za različne molekule



Načini transporta snovi preko bioloških membran



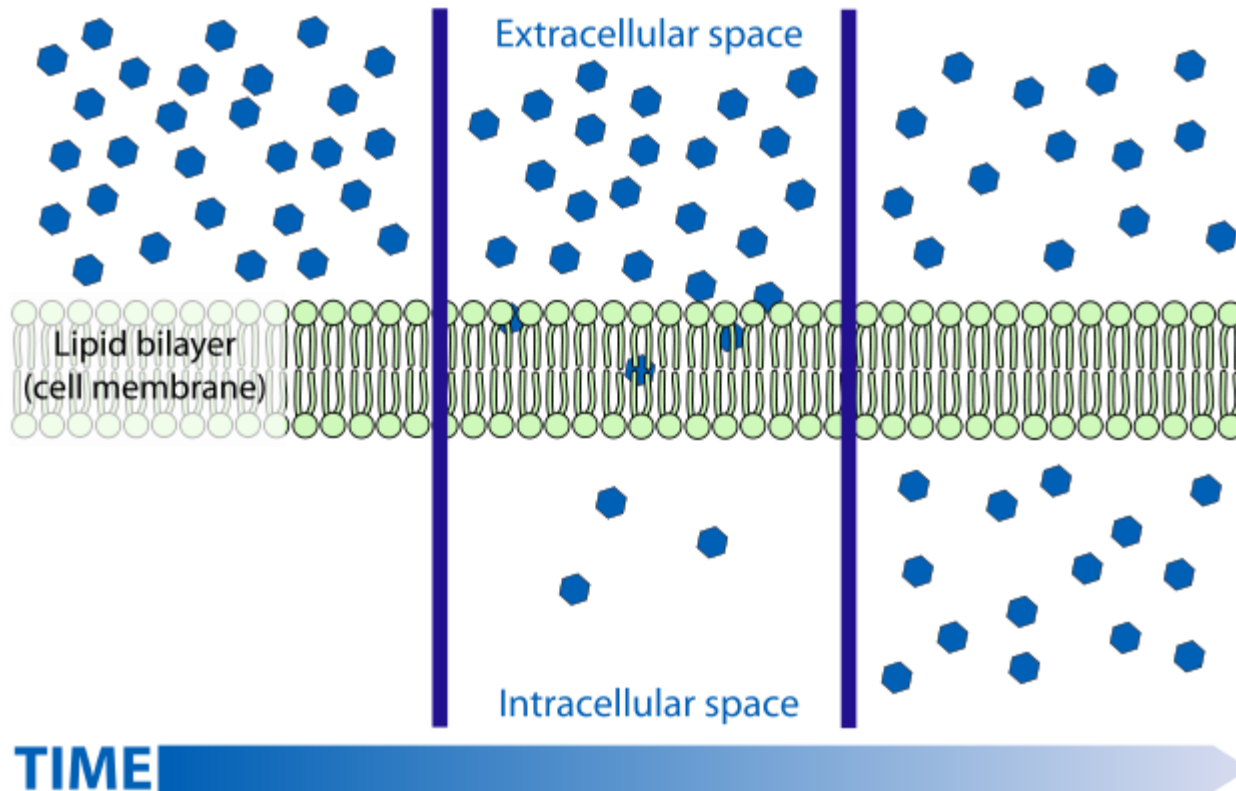
Mehanizmi prenosa snovi čez biološke membrane

mehanizem prenosa	prenašana snov	ključne lastnosti prenosa
gibanje molekul/ionov poteka v smeri od višje proti nižji koncentraciji (v smeri gradienta)		
pasivni transport z difuzijo	male hidrofozne in polarne molekule	smer toka snovi je določena s koncentracijo molekul na obeh straneh membrane
pasivni transport z olajšano difuzijo	ioni, voda	hiter prenos snovi čez membrano posredujejo proteinski kanali ; različni proteinski kanali prevajajo različne snovi v odvisnosti od njihove velikosti in naboja – selektivni kanali so lahko odprti ali zaprti – regulacija
pasivni transport z olajšano difuzijo	sladkorji, aminokisline, nukleozidi	čezmembranski prenos posredujejo prenašalni proteini , ki so selektivni za zvrsti, ki jih prenašajo; vezava specifične molekule na prenašalni protein izzove njegovo konformacijsko spremembo, kar odpre prehod molekuli čez lipidni dvosloj
gibanje molekul/ionov poteka v smeri od nižje proti višji koncentraciji (v obratni smeri gradienta)		
aktivni transport	različni ioni, glukoza, aminokisline, peptidi	transport molekule/iona čez lipidno membrano zahteva energijo – npr. proces je sklopljen s hidrolizo ATP

Pasivni transport

- **difuzija**
- **transporterji**
 - **kanali**

Difuzija

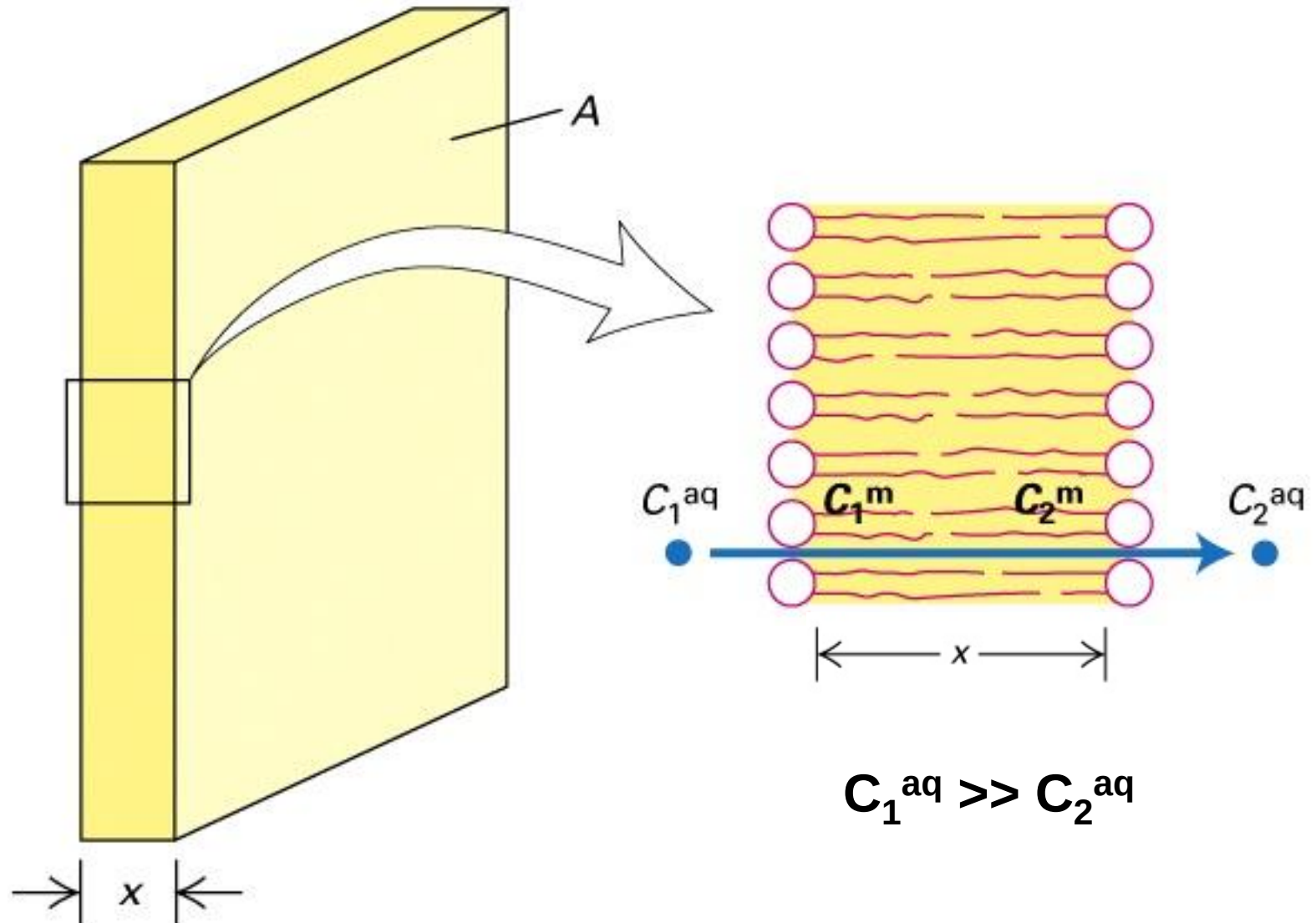


“Difuzija je delovanje snovi, toplote, gibalne količine ali svetlobe, usmerjeno k izničenju koncentracijskega gradienta.”

Pasivna difuzija skozi fosfolipidni dvosloj

1. prehod molekule iz vodnega okolja v hidrofolbno notranjost dvosloja
2. difuzija skozi hidrofolbno sredico
(počasna zaradi 100–1000 krat večje viskoznosti lipidov v primerjavi z vodo)
3. prehod v vodno fazo na drugi strani dvosloja

Difuzija malih molekul skozi lipidno membrano



Vpliv hidrofobnosti

- Merilo hidrofobnosti snovi je porazdelitveni koeficient snovi (K), ravnotežna konstanta porazdelitve snovi med oljno in vodno fazo ($K = C^o/C^{aq}$).
- Ker je notranjost fosfolipidnega dvosloja (membranska faza) po sestavi podobna olju, je porazdelitveni koeficient snovi (K) enak razmerju koncentracij snovi v membranski (C^m) in vodni fazi (C^{aq}).

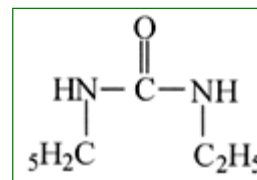
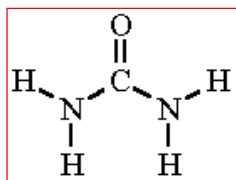
$$K = C^m/C^{aq} = C^o/C^{aq}$$

Porazdelitveni koeficient

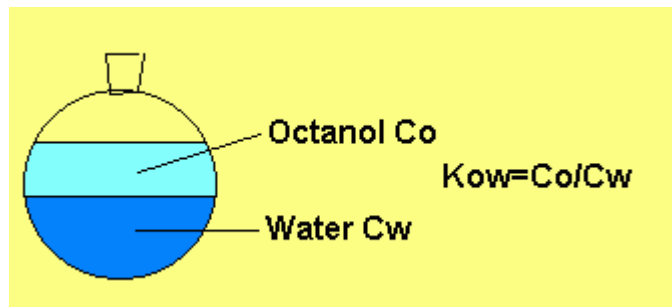
Porazdelitveni ali particijski koeficient je merilo relativne afinitete snovi za lipid v primerjavi z vodo:

visok $K \Rightarrow$ boljša topnost snovi v lipidu

$$K = C^m / C^{aq}$$



urea: $K=0,0002$; dietilurea: $K=0,01 \Rightarrow$
dietilurea je 50x bolj hidrofobna kot urea / v PL membrano bo
difundirala 50x hitreje kot urea





Adolf Eugen Fick
Kassel (DE)
03.09.1829*
Blankenberghe (BE)
21.08.1901[†]

Difuzijski ali 1. Fickov zakon (1855)

$$J = -D \frac{\partial \phi}{\partial x}$$

J – gostota masnega toka
D – difuzijska konstanta
 $\delta\phi/\delta x$ – gradient koncentracije

$$J = (dn/dt)/A \text{ [mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}\text{]}$$

Hitrost difuzije

$$J = (dn/dt)/A$$

$$dn/dt = J \times A$$

$$dn/dt = P \times A \times (C_1^{aq} - C_2^{aq})$$

J ... gostota masnega toka

P ... prepustnostni koeficient

A ... površina membrane

$$P = K \times D / d$$

K ... porazdelitveni koeficient $\leftarrow K = C^m / C^{aq}$

D ... difuzijska konstanta snovi v membrani

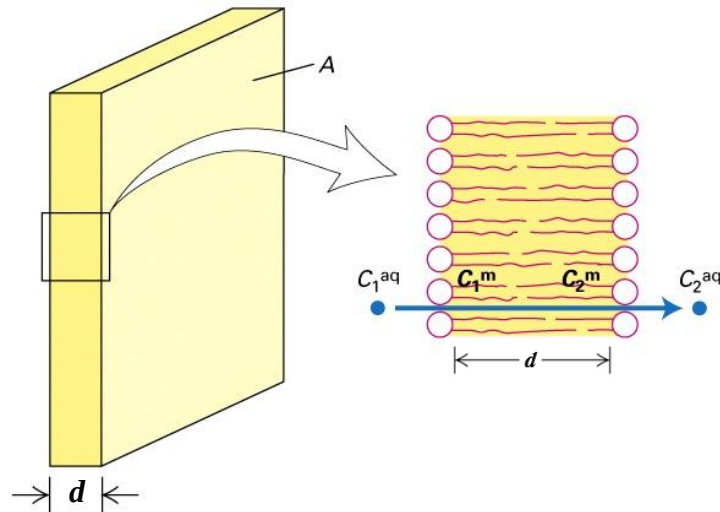
d ... debelina hidrofozne sredice membrane

$$dn/dt = K \times D \times A \times (C_1^{aq} - C_2^{aq}) / d$$

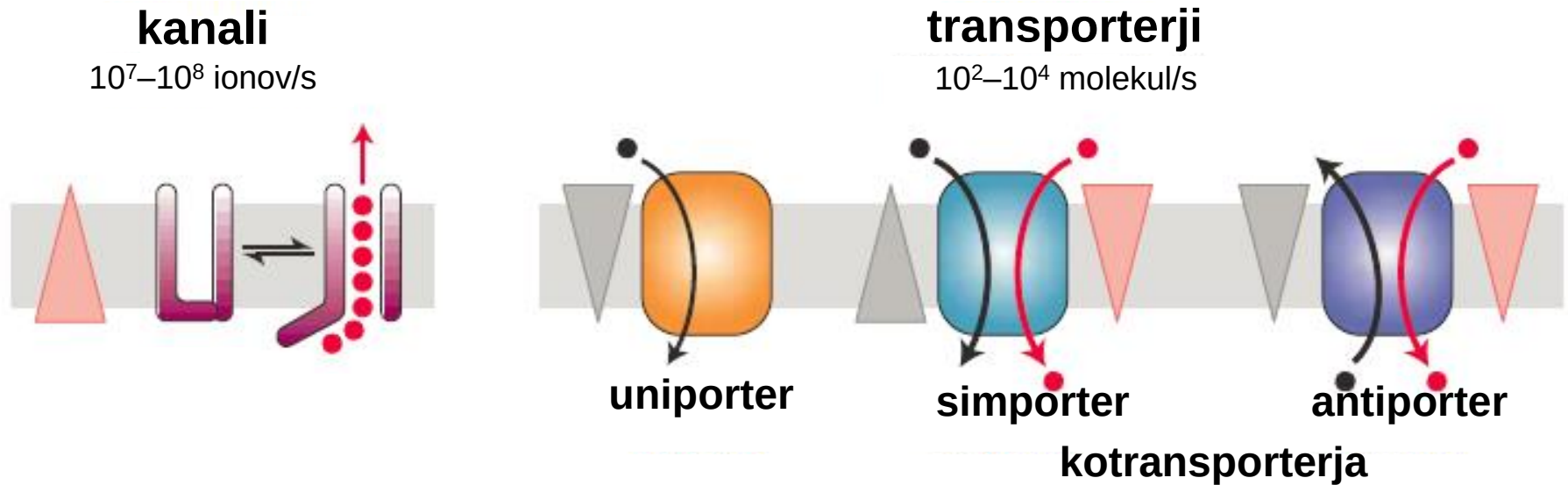
Hitrost difuzije je sorazmerna porazdelitvenemu koeficientu, difuzijski konstanti, prenašalni površini in razliki v koncentracijah snovi na obeh straneh membrane ter obratno sorazmerna z debelino hidrofozne sredice membrane.

Debelina hidrofozne sredice b.m.: $d \approx 3 \text{ nm}$ ($\approx \text{konst.}$); $D \approx \text{konst.}$, $A = \text{konst.} \Rightarrow$
 $dn/dt \propto K$; $K \propto \text{hidrofobnost snovi}$ $\rightarrow$ velja za pline in male nenabite molekule $\leftarrow$

Hitrost difuzije: dn/dt [mol/s]

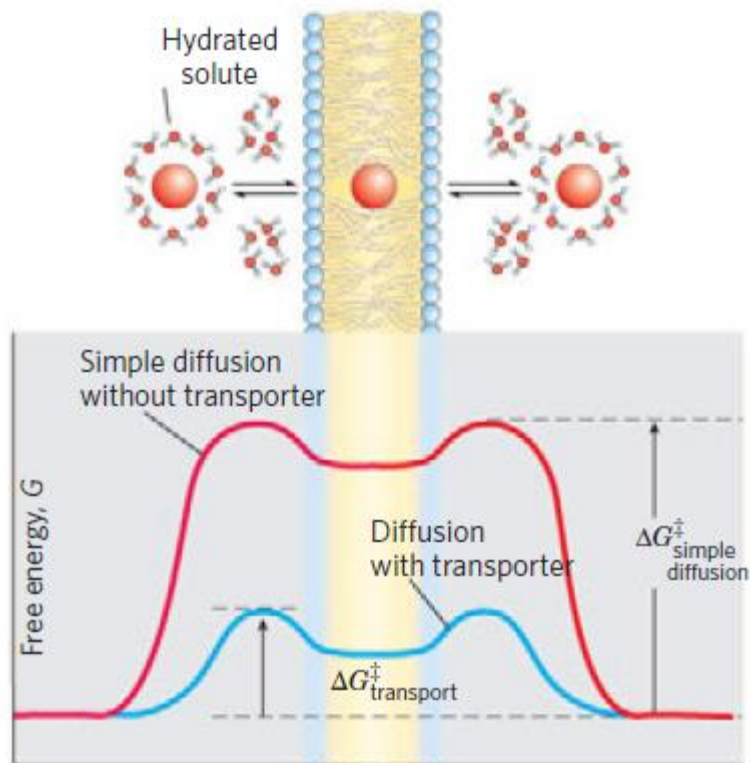


Olajšana difuzija

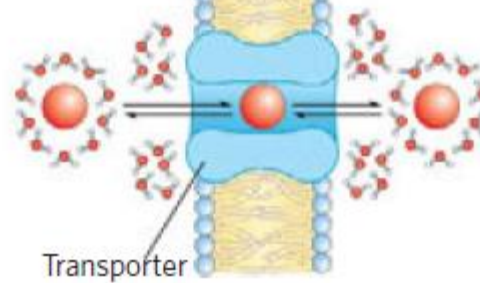


integralni transmembranski proteini /
/ omogočajo hitrejši prehod snovi čez membrano / so specifični

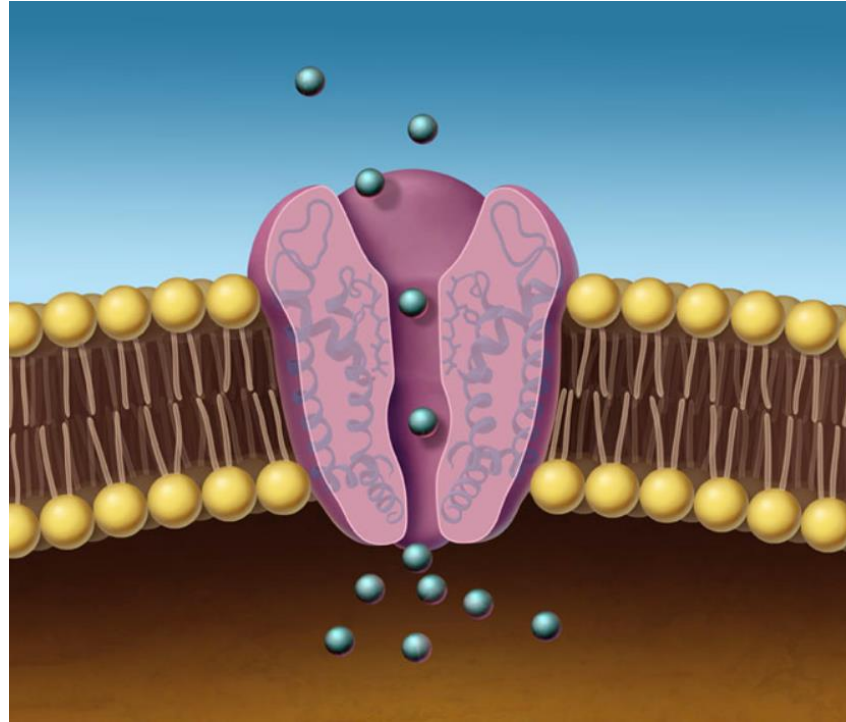
Navadna difuzija



Olajšana difuzija

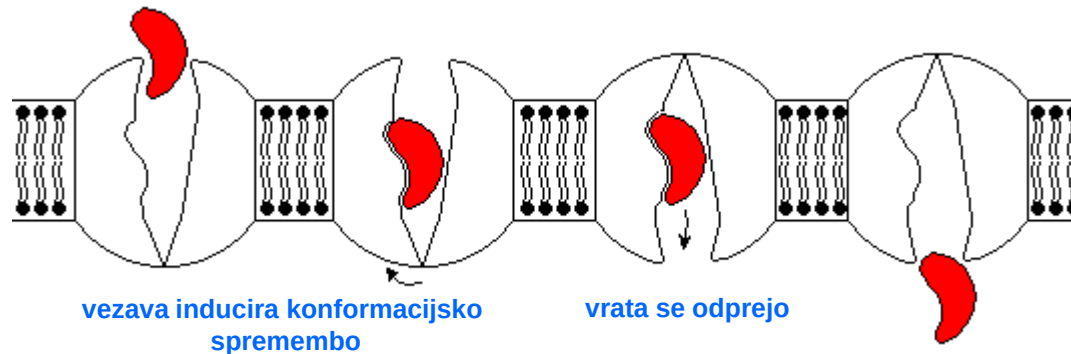


Kanali



Kanali z veliko hitrostjo prenašajo vodo ali specifične ione v smeri njihovega gradienta (koncentracijskega in/ali električnega). Eni so ves čas odprti, drugi pa se odprejo le kot odgovor na določen signal, sicer so zaprti. Prevajajo lahko v obe smeri.

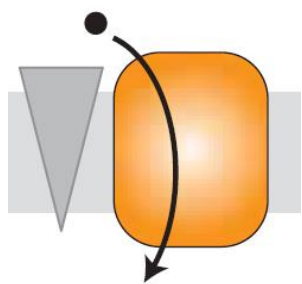
Transporterji



Transporterji običajno prenašajo po 1 molekulo ali ion naenkrat skozi membrano. Prenos je povezan s konformacijsko spremembo proteina. Obstajajo trije različni tipi transporterskih proteinov:
uniporterji, **simporterji** in **antiporterji**.

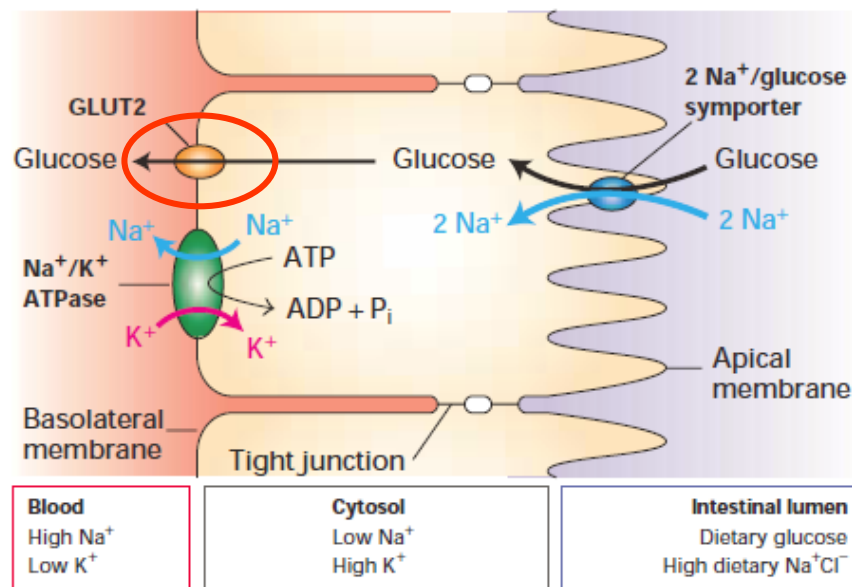
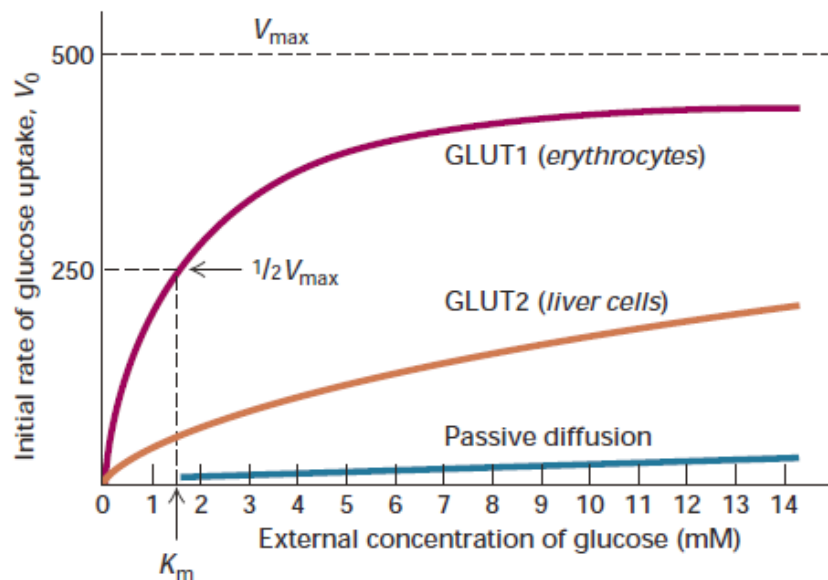
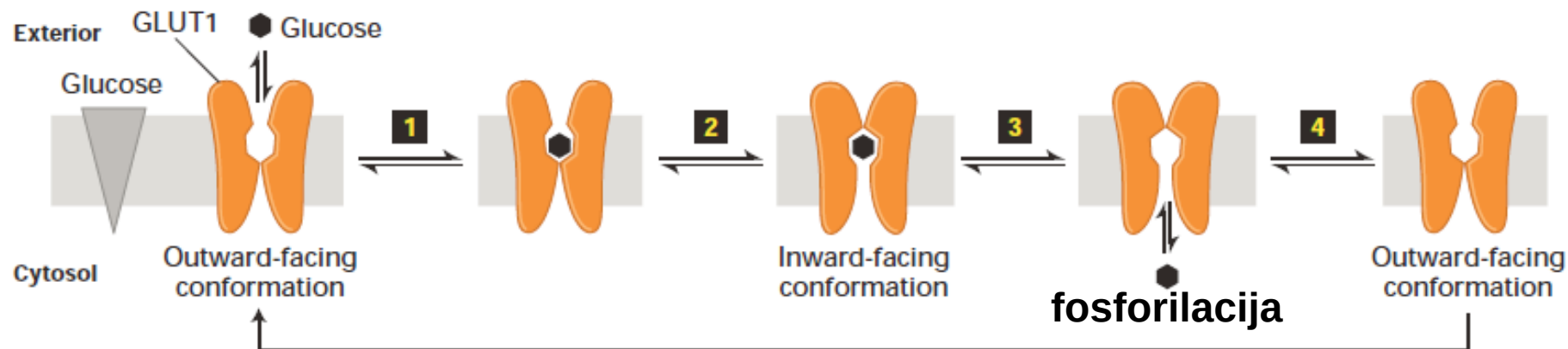
Lastnosti uniporta

- prenos je **reverzibilen** in poteka v smeri **od višje k nižji koncentraciji** snovi (v smeri gradienta)
- prenos snovi je **termodinamsko ugoden** ($\Delta S > 0$; $\Delta G < 0$)
- gre za **olajšano difuzijo** ('facilitated diffusion'), hitrost prenosa je precej višja kot v primeru navadne difuzije
 - proces je podoben encimski reakciji – je **specifičen**, (le substrat se kemijsko ne spremeni) in **saturabilen** (omejen s številom transporterjev v membrani)



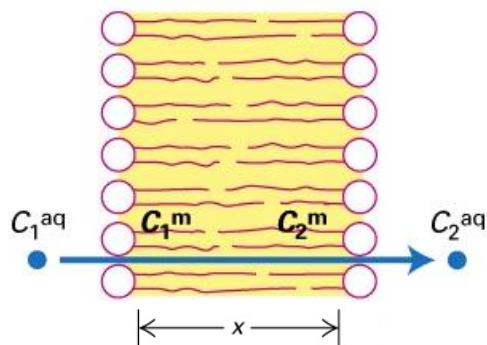
Uniporterji

primera: GLUT1 in GLUT2 (14 GLUT)



Primerjava uniporta in navadne difuzije

- hitrost prenosa snovi z uniportom je bistveno višja kot sledi iz Fickovega zakona (molekula ne vstopa v hidrofobni del lipidnega dvosloja, zato K ni potrebno upoštevati)



$$dn/dt = A K D (c_1^{aq} - c_2^{aq}) / x$$

K ... porazdelitveni koeficient

D ... difuzijska konstanta snovi v membrani

x ... debelina hidrofobne sredice membrane

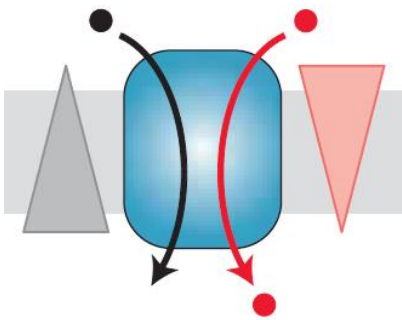
A ... površina membrane

(D in x sta $\approx$ konst.)

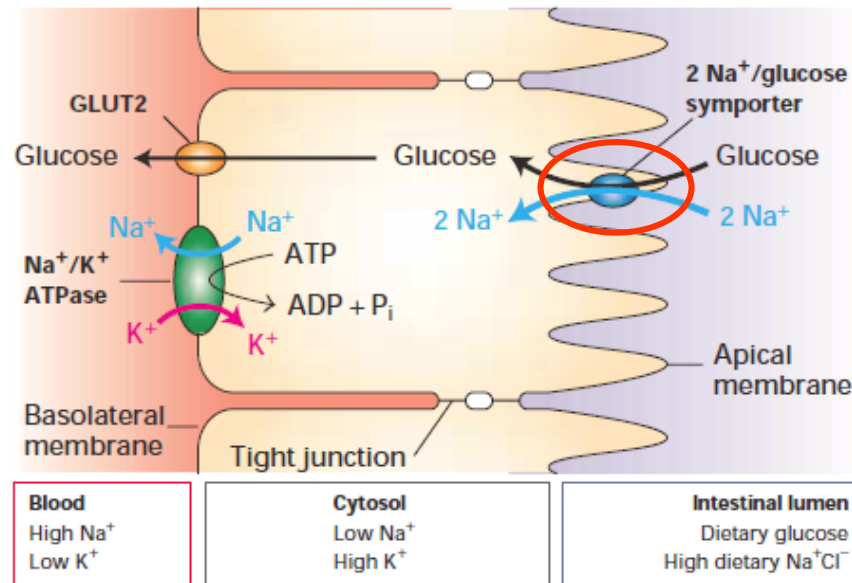
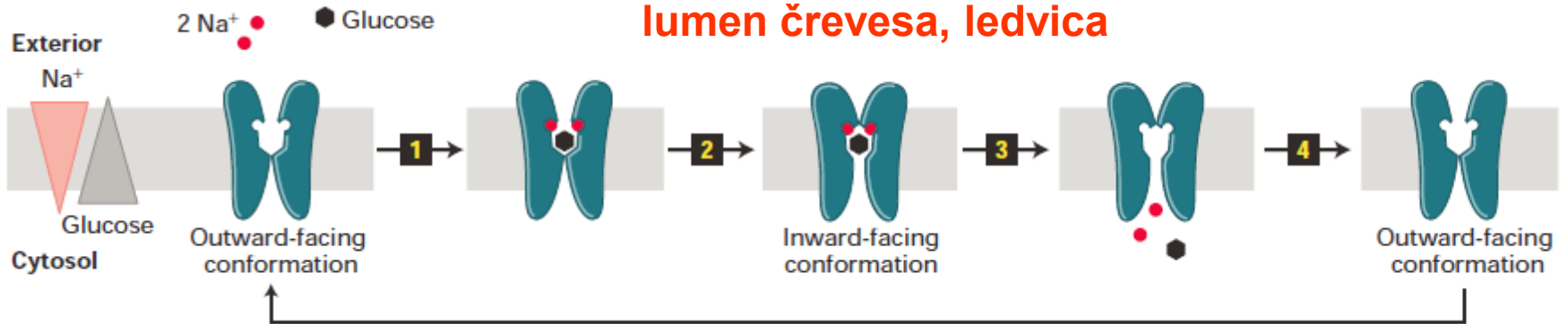
- prenos je specifičen (1 prenašalni protein za 1 vrsto molekule)
- prenos poteka samo na določenih mestih v membrani, ne pa po vsej površini membrane $\Rightarrow$ nasičenje (v_{max})

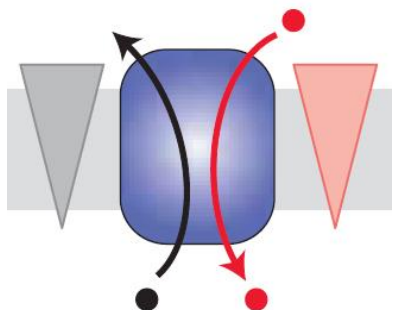
Simporterji

Na⁺-simporterji vnašajo Glc ali ak v celice – primer: 2Na⁺/Glc simporter



lumen črevesa, ledvica

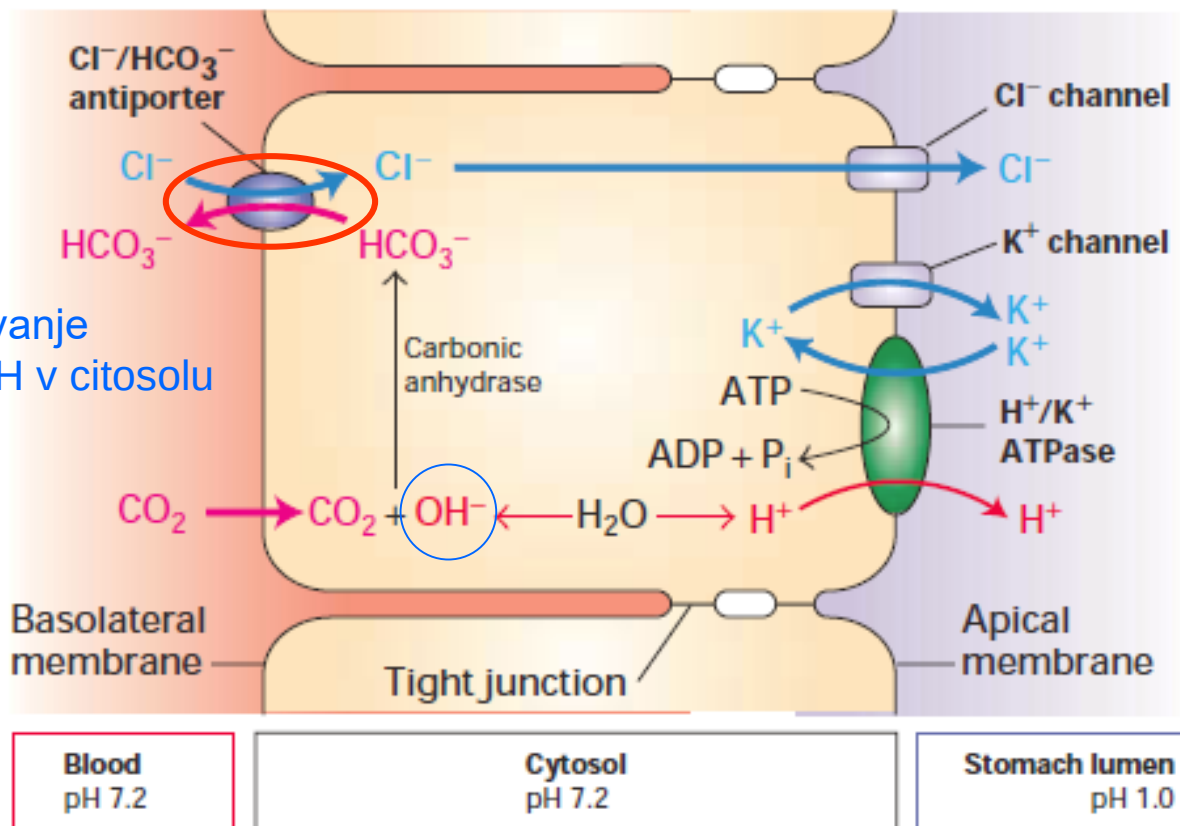




Antiporterji

Primer: $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ antiporter v procesu kisanja lumna želodca

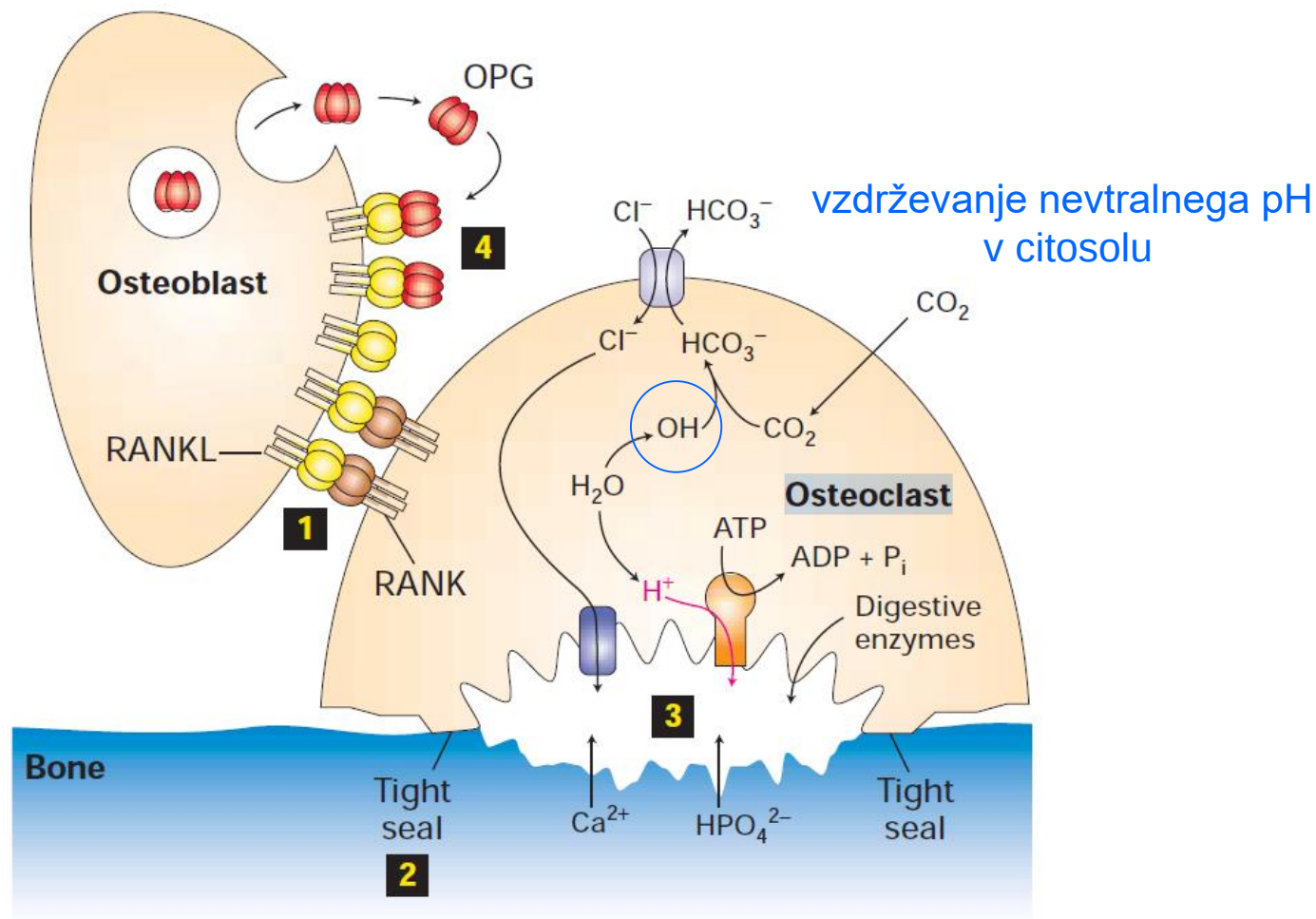
vzdrževanje
nevtralnega pH v citosolu



$[\text{Cl}^-] \approx 116 \text{ mM}$
 $[\text{HCO}_3^-] \approx 29 \text{ mM}$

$[\text{Cl}^-] \approx 4 \text{ mM}$
 $[\text{HCO}_3^-] \approx 12 \text{ mM}$

Vloga antiporterja $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ pri raztapljanju kosti



Kotransportni sistemi, ki jih poganja gradient Na^+ ali H^+

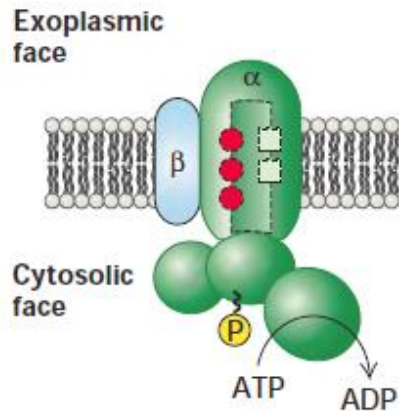
Organism/ tissue/cell type	Transported solute (moving against its gradient)	Cotransported solute (moving down its gradient)	Type of transport
<i>E. coli</i>	Lactose	H^+	Symport
	Proline	H^+	Symport
	Dicarboxylic acids	H^+	Symport
Intestine, kidney (vertebrates)	Glucose	Na^+	Symport
	Amino acids	Na^+	Symport
Vertebrate cells (many types)	Ca^{2+}	Na^+	Antiport
Higher plants	K^+	H^+	Antiport
Fungi (<i>Neurospora</i>)	K^+	H^+	Antiport

PAVZA – 10 MINUT

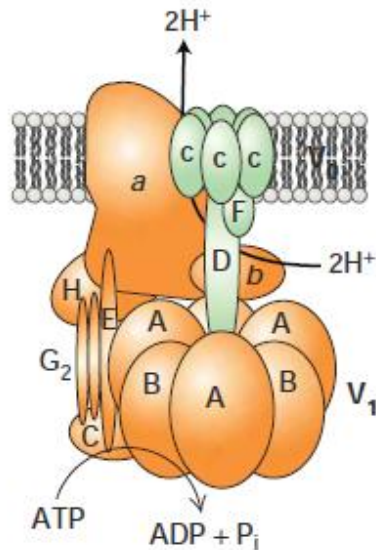
Aktivni transport

ATP-gnane črpalke

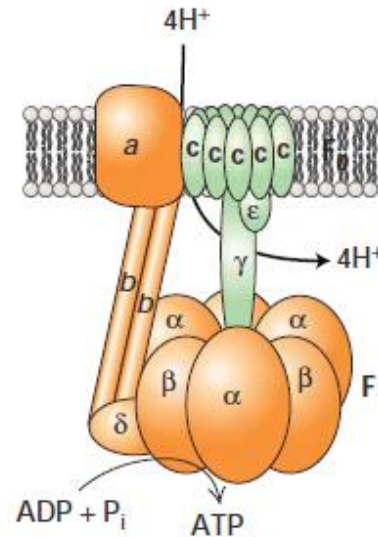
Štiri skupine ATP-gnanih črpalk



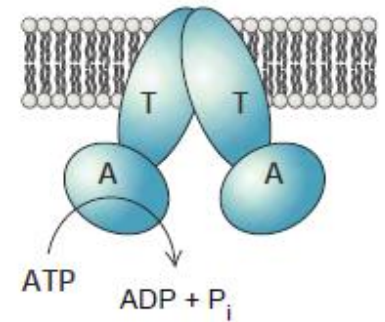
P-tip



V-tip

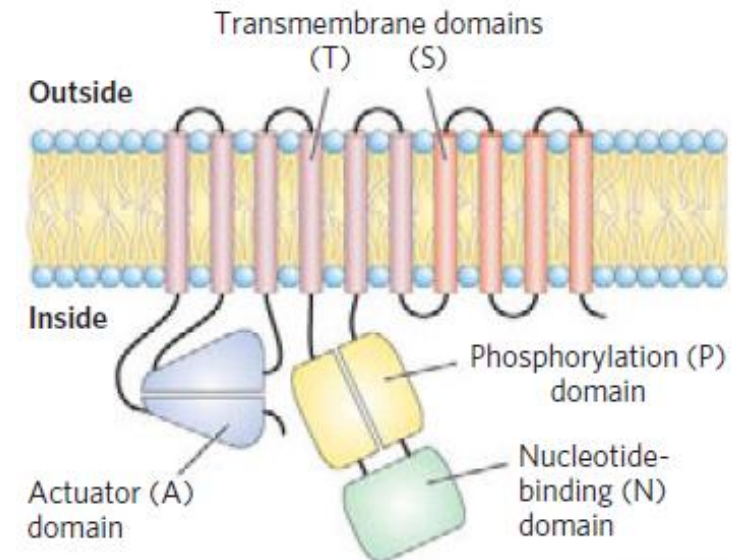
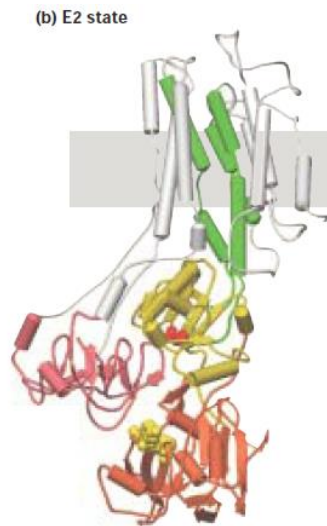
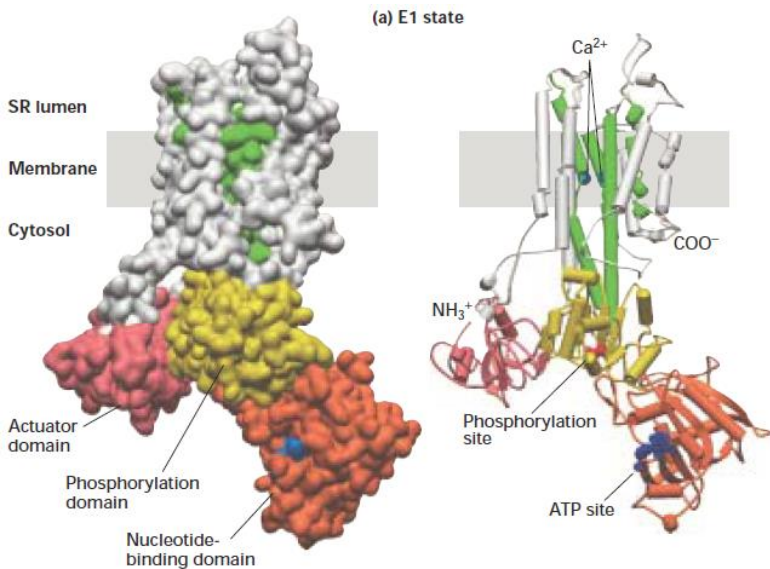
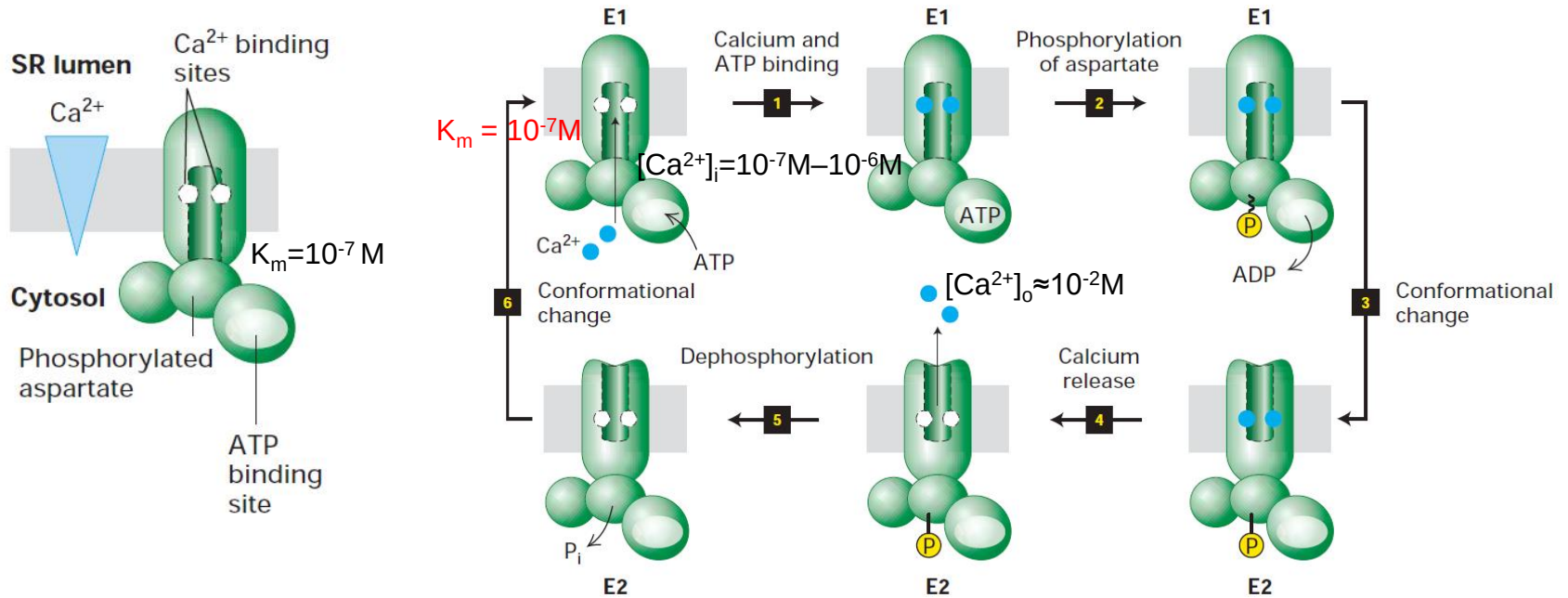


F-tip

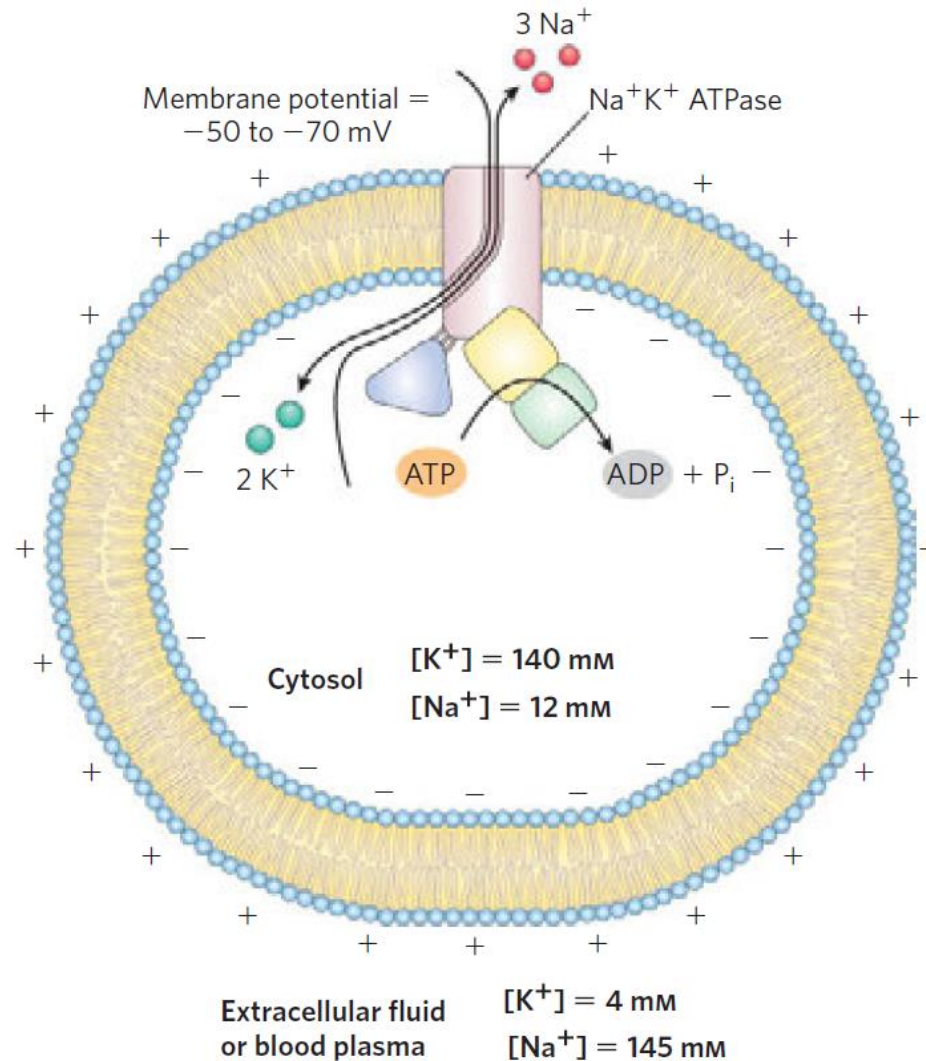


**ABC
transporterji**

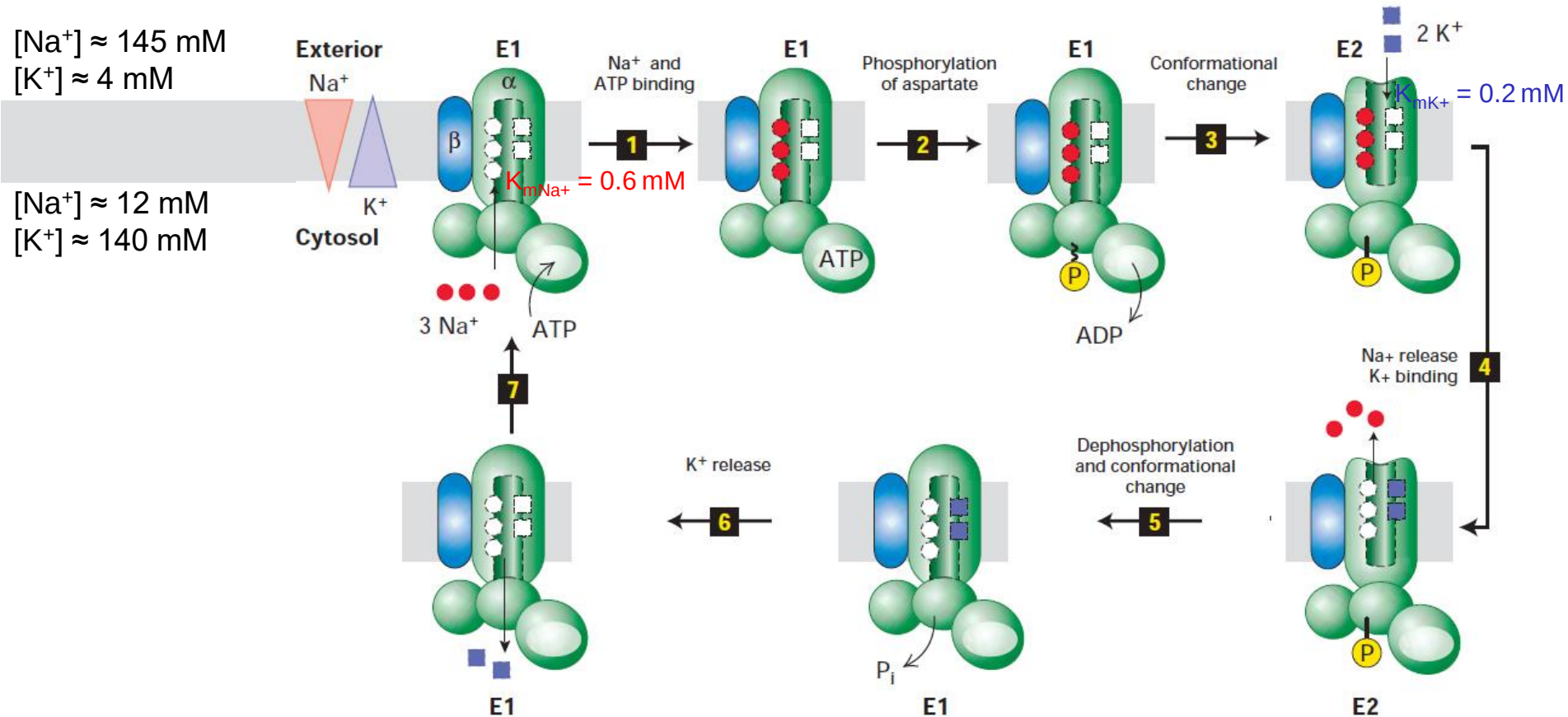
Mehanizem delovanja mišičnega tipa Ca^{2+} ATPaze (SERCA)



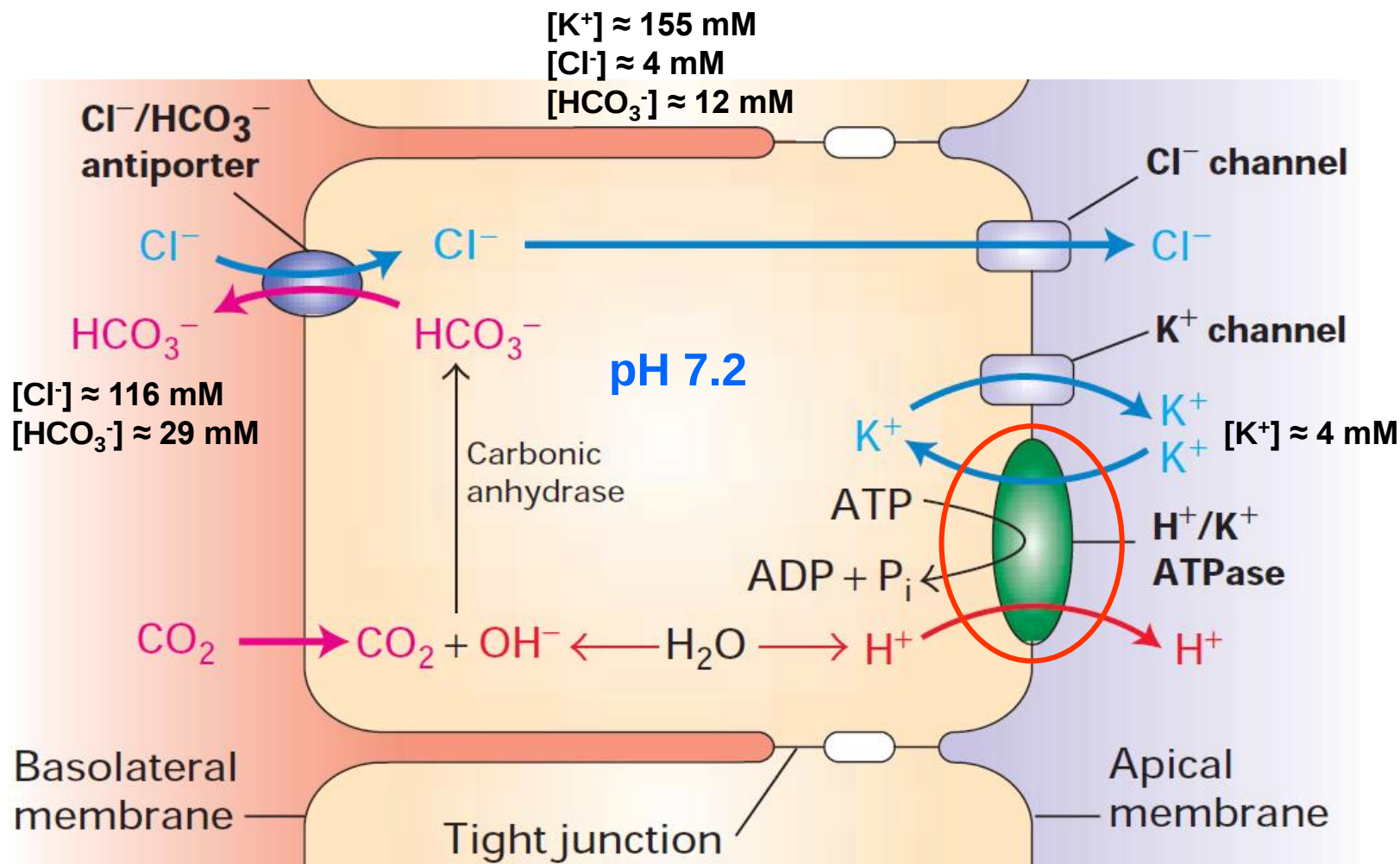
Na^+/K^+ ATPaza je najpomembnejša ionska črpalka za formiranje električnega potenciala na PM živalskih celic



Model mehanizma delovanja Na⁺/K⁺ ATPaze



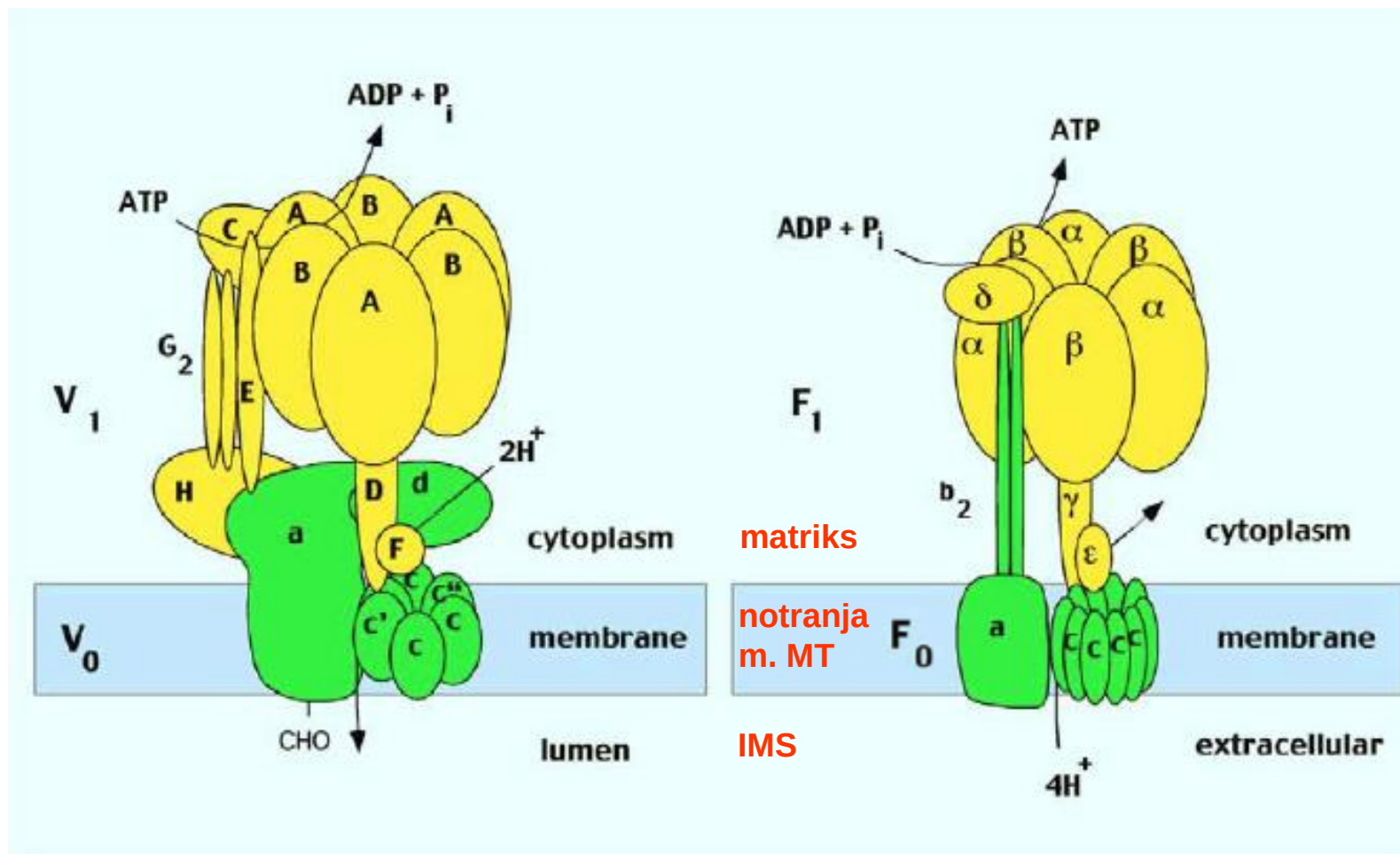
Kisanje lumna želodca z delovanjem P-tip H^+/K^+ ATPaze v apikalni membrani parietalnih celic



Kri
pH 7.2

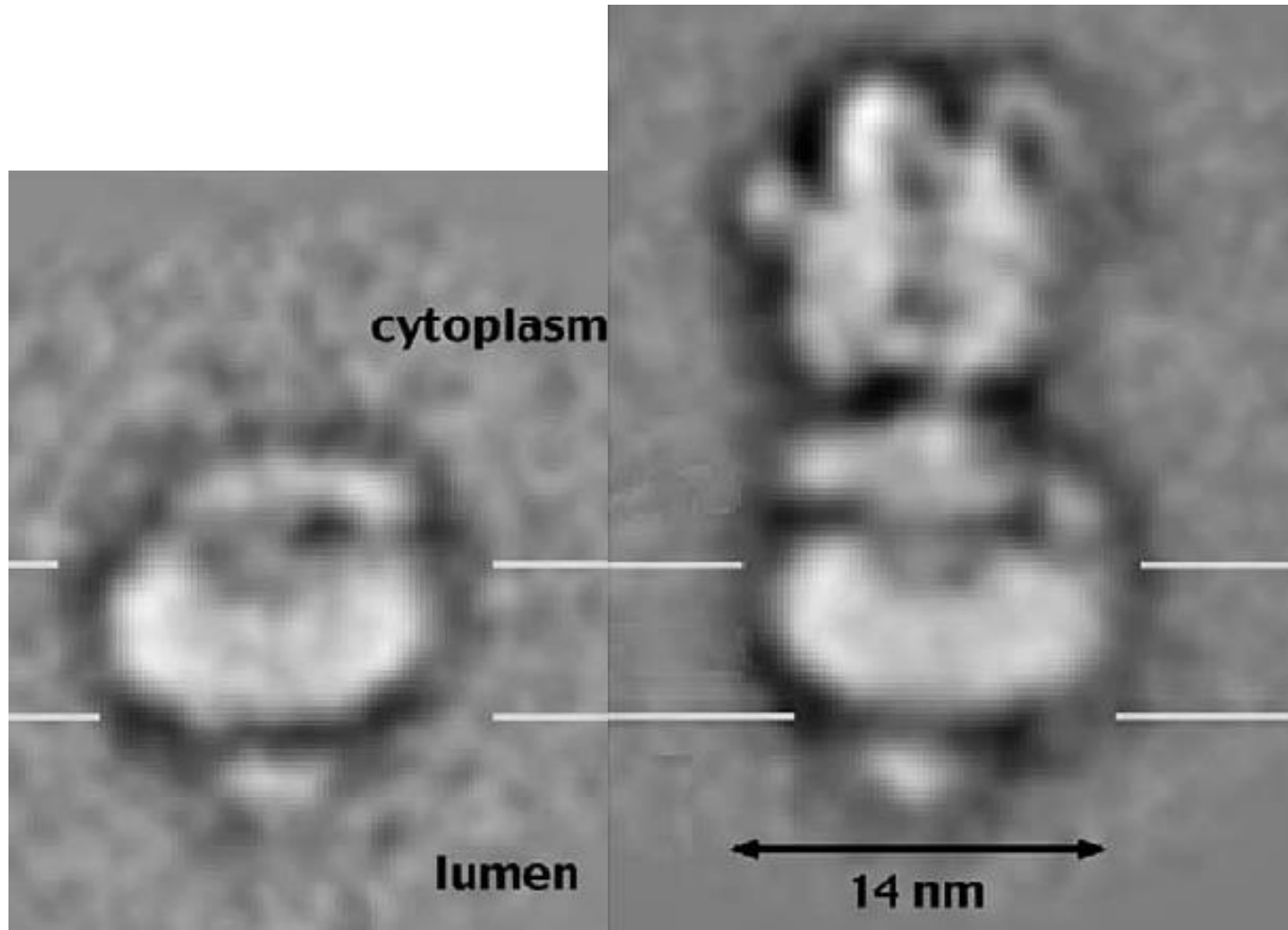
Lumen želodca
pH 1.0 (0.1 M HCl)

ATPazi tipa V in F sta si strukturno podobni



tudi ATP sintaza

V_o sektor in V_1V_o kompleks goveje možganske V-tip ATPaze pod elektronskim mikroskopom

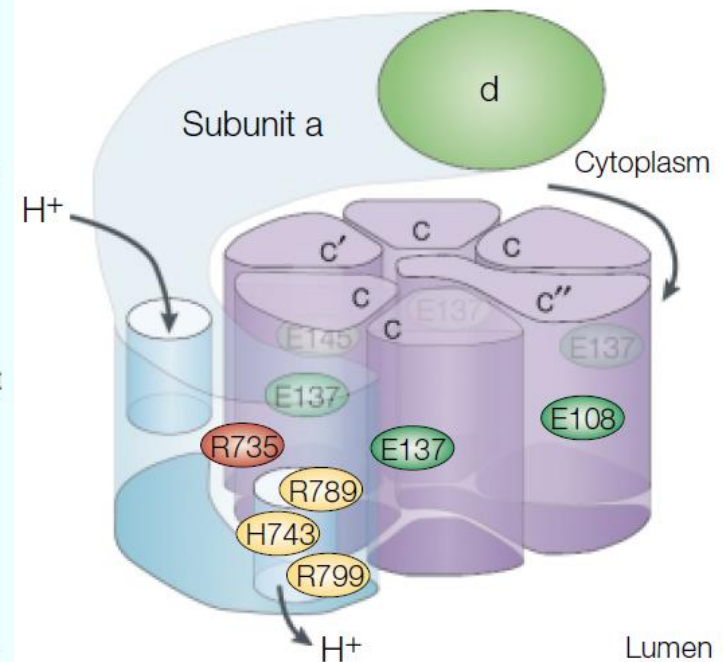
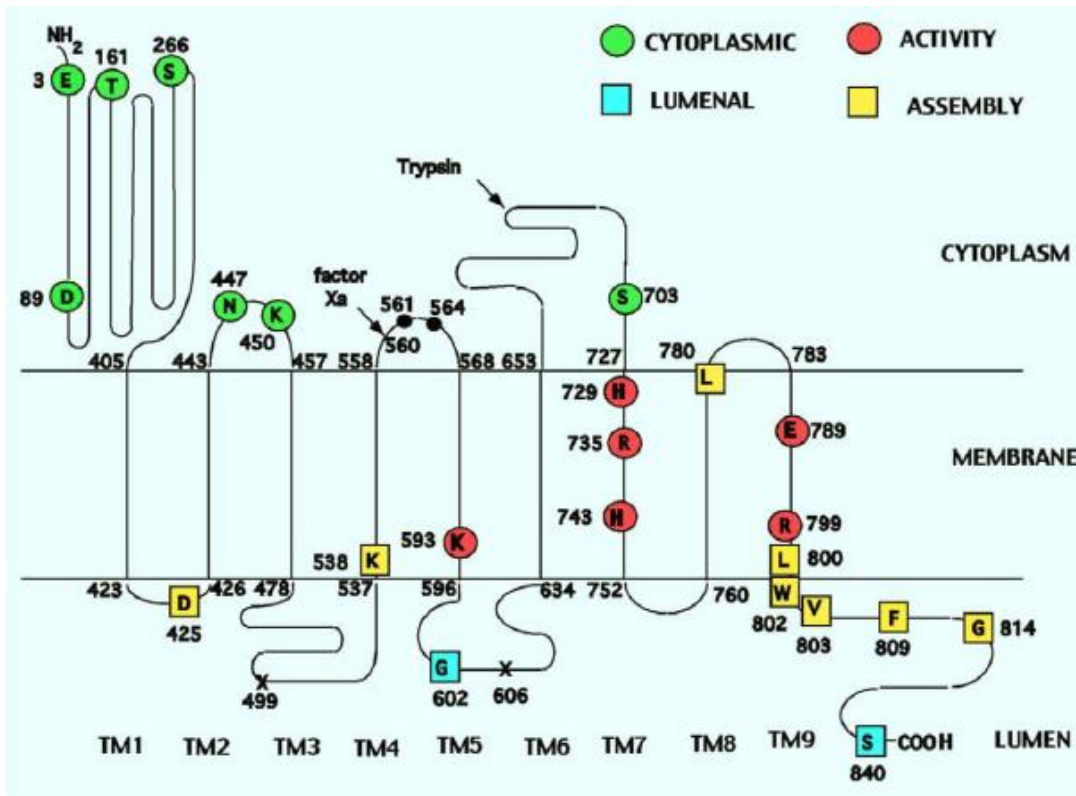


Funkcije podenot V-tip ATPaze

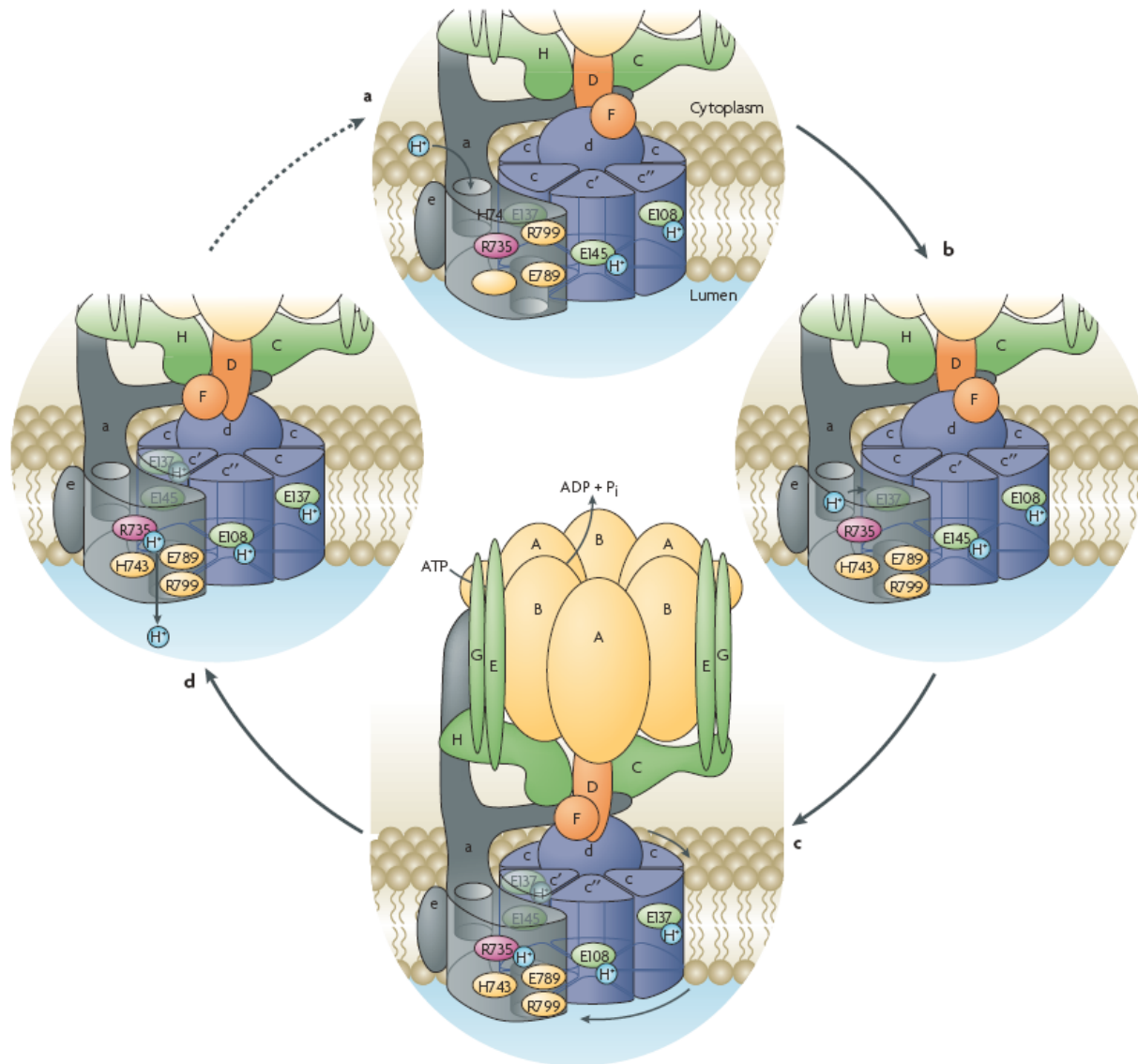
Subunit	Molecular mass (kDa)	Yeast gene	Mammalian isoforms* (tissue/cell)	Subunit function
<i>V₁ domain</i>				
A	70	VMA1		ATP hydrolytic site, regulation via non-homologous domain, stator subunit
B	60	VMA2	B1(renal, epididymis); B2 (ubiquitous)	Non-catalytic ATP site, binds actin and aldolase, stator subunit
C	40	VMA5	C1(ubiquitous); C2a,b (lung, renal, epididymis)	Regulatory, stator subunit, binds actin
D	34	VMA8		Rotary subunit
E	33	VMA4	E1(testis); E2 (ubiquitous)	Stator subunit, binds RAVE and aldolase
F	14	VMA7		Rotary subunit
G	13	VMA10	G1 (ubiquitous); G2 (neural); G3 (renal, epididymis)	Stator subunit, binds RAVE
H	50	VMA13	Two alternatively spliced variants	Regulatory, stator subunit, binds NEF
<i>V₀ domain</i>				
a	100	VPH1 (vacuole); STV1(Golgi)	a1 (neural); a2 (endothelial); a3 (osteoclasts); a4 (renal, epididymis)	H ⁺ transport, targeting, binds aldolase, stator subunit
d	38	VMA6	d1 (ubiquitous); d2 (renal, epididymis)	Coupling, rotary subunit
e	9	VMA9		Unknown
c	17	VMA3		H ⁺ transport, rotary subunit
c'	17	VMA11	No mammalian gene	H ⁺ transport, binds Vma21 assembly factor, rotary subunit
c''	21	VMA16		H ⁺ transport, rotary subunit
Ac45	45	No yeast gene		Unknown

Struktura in funkcija V_o sektorja V-ATPaze

Podenota a

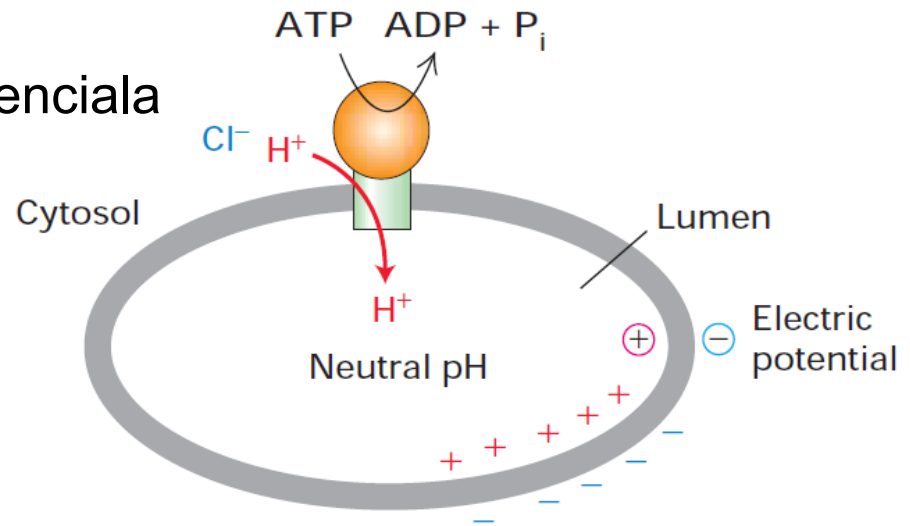


Mehanizem transporta protonov z V-ATPazo

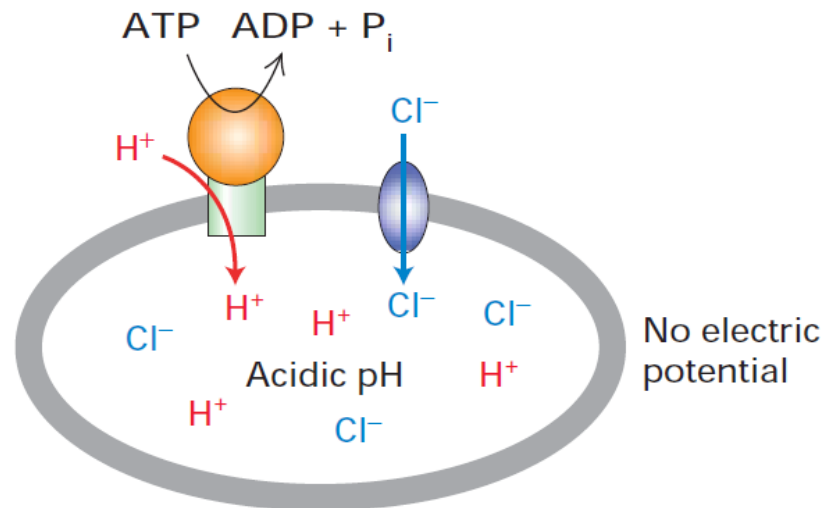


Temeljna učinka delovanja V-tip ATPaze

Vzpostavitev električnega potenciala

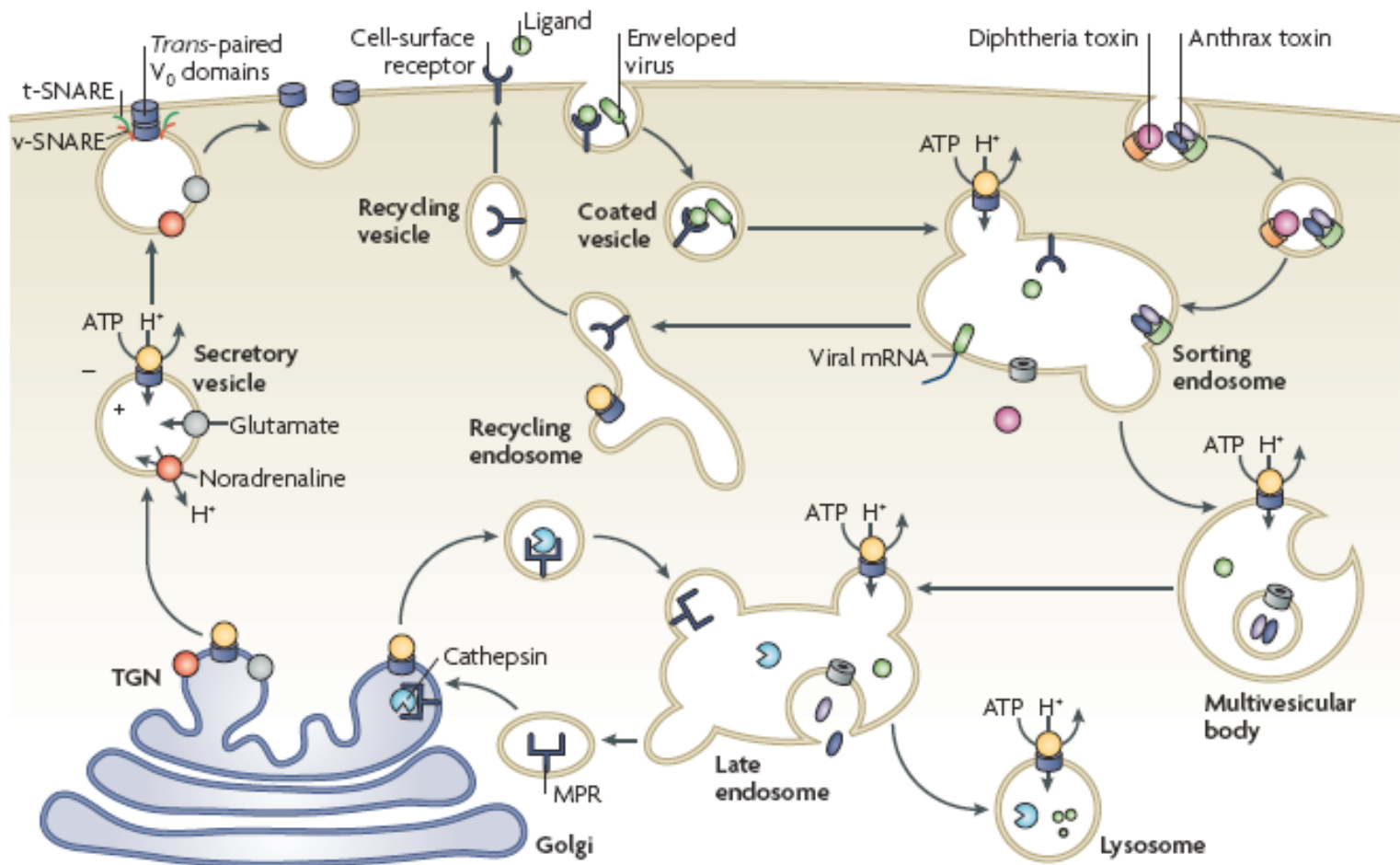


Nakisanje lumna organela/celice

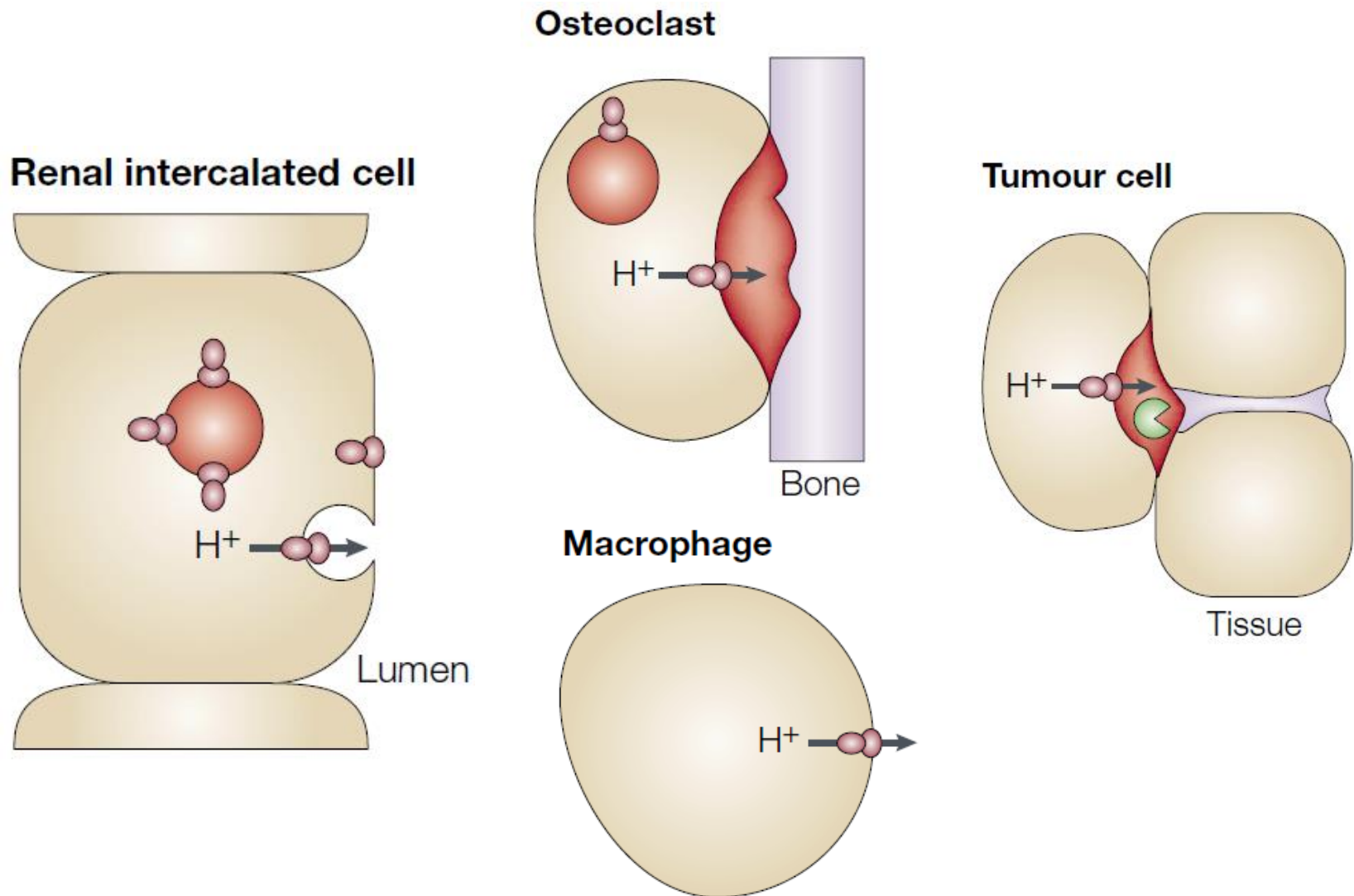


Pomembne znotrajcelične funkcije V-tip ATPaze

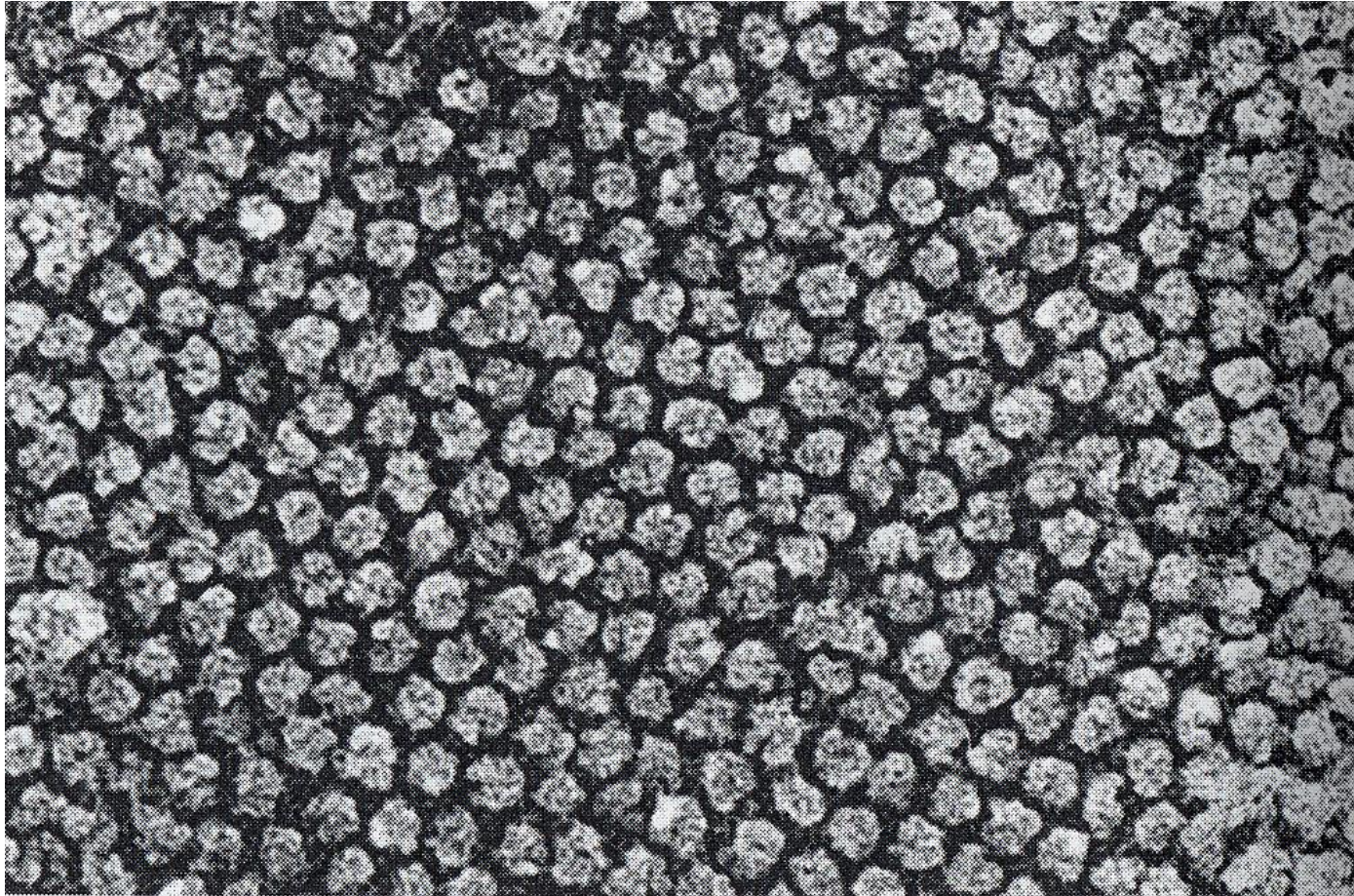
celični transport, procesiranje in razgradnja snovi,
zlivanje membran (eksocitoza), signalizacija ...



Nekatere funkcije V-ATPaze v plazemski membrani



V-ATPaza v PM epitelijske celice mehurja krastače

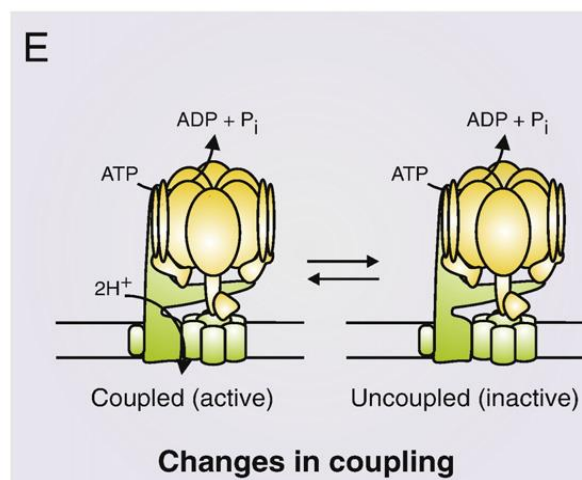
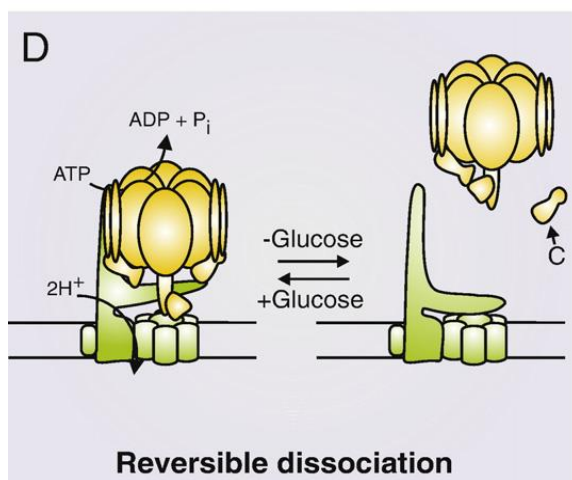
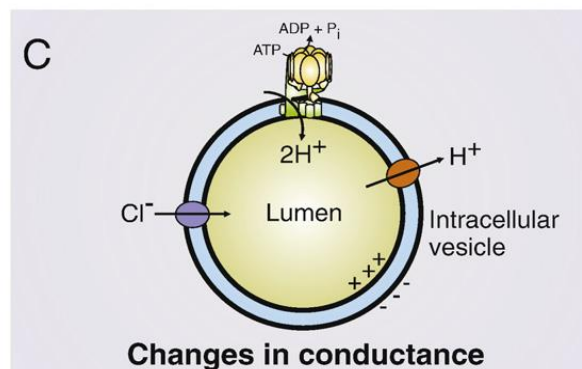
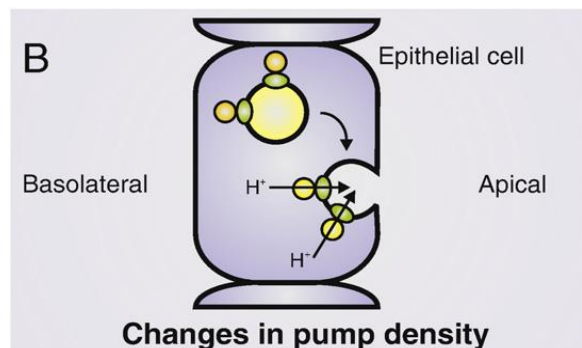
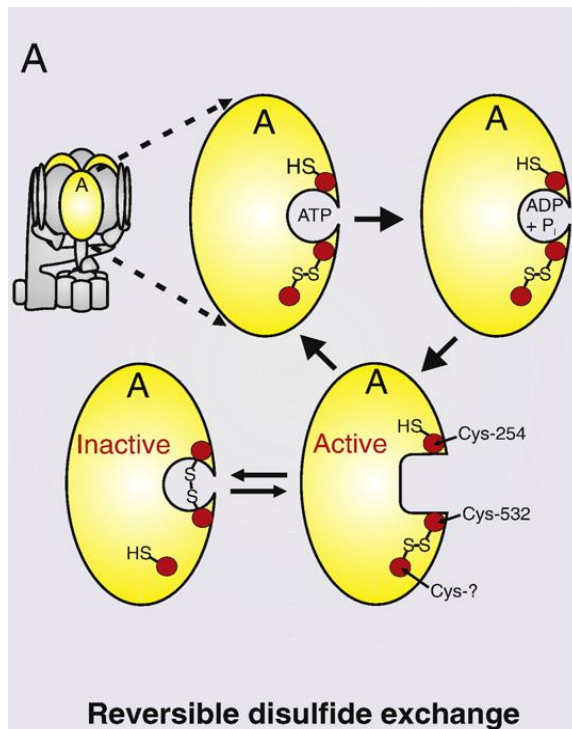


0.02 μm

Primeri kotransportnih sistemov

Organism/ tissue/cell type	Transported solute (moving against its gradient)	Cotransported solute (moving down its gradient)	Type of transport
<i>E. coli</i>	Lactose	H ⁺	Symport
	Proline	H ⁺	Symport
	Dicarboxylic acids	H ⁺	Symport
Higher plants	K ⁺	H ⁺	Antiport
Fungi (<i>Neurospora</i>)	K ⁺	H ⁺	Antiport

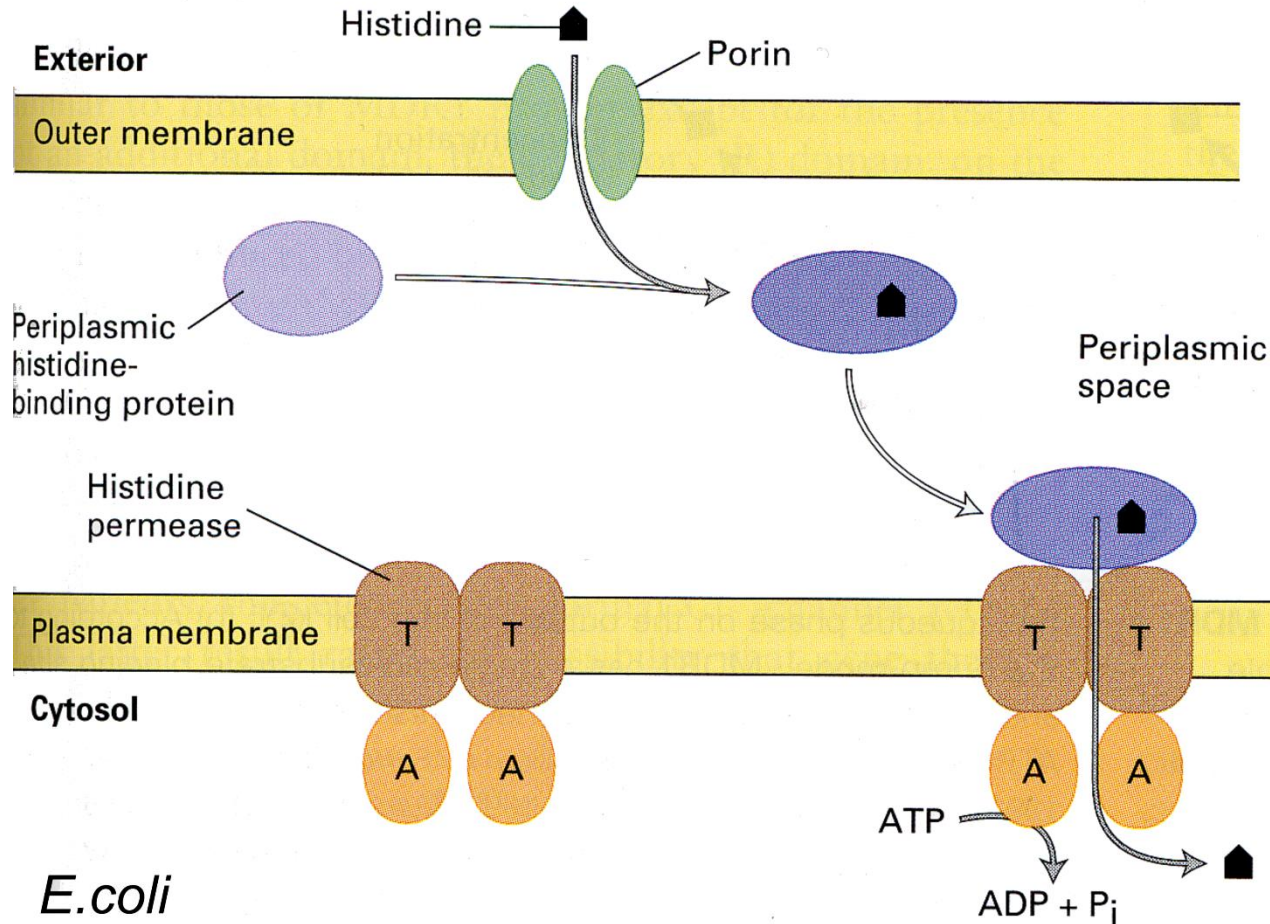
Regulacija aktivnosti V-tip ATPaze



ABC transporterji

- **Permeaze** v PM bakterij
- **MDR proteina 1 in 2** ('MultiDrug-Resistance')
- **CFTR protein** ('Cystic Fibrosis Transmembrane-conductance Regulator')
- **Flipaze**

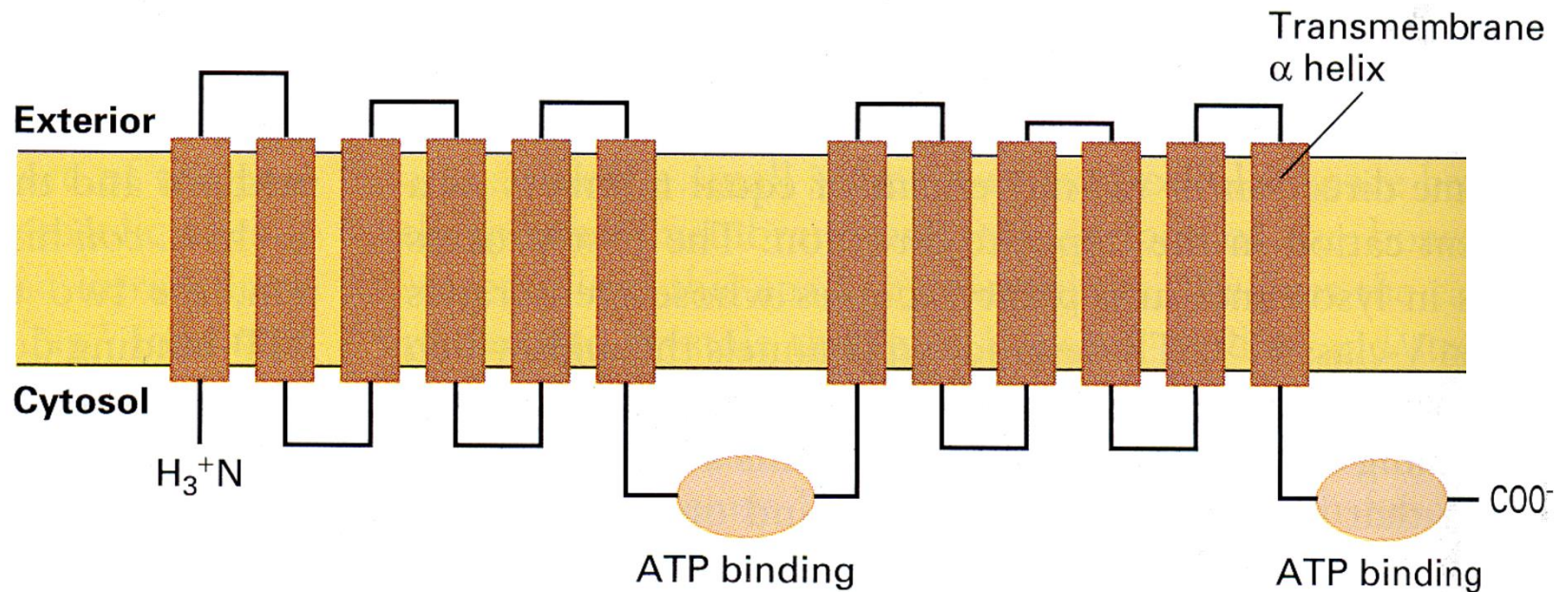
Permeaze – ABC transporterji v bakterijah



2 transmembranski (T) in 2 citosolni
ATP-vezavni (A) podenoti

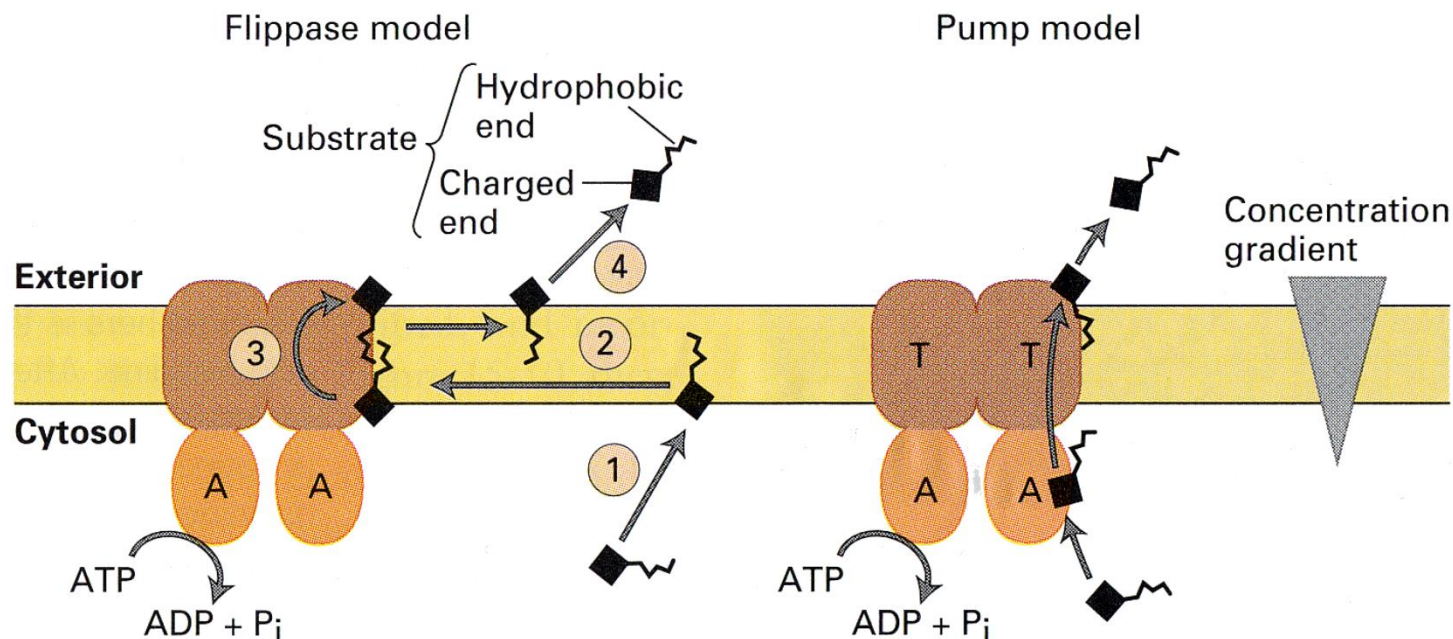
Struktura sesalskih ABC transporterjev

MDR transporterji



M ~ 170.000 kDa – ena veriga, štiri domene

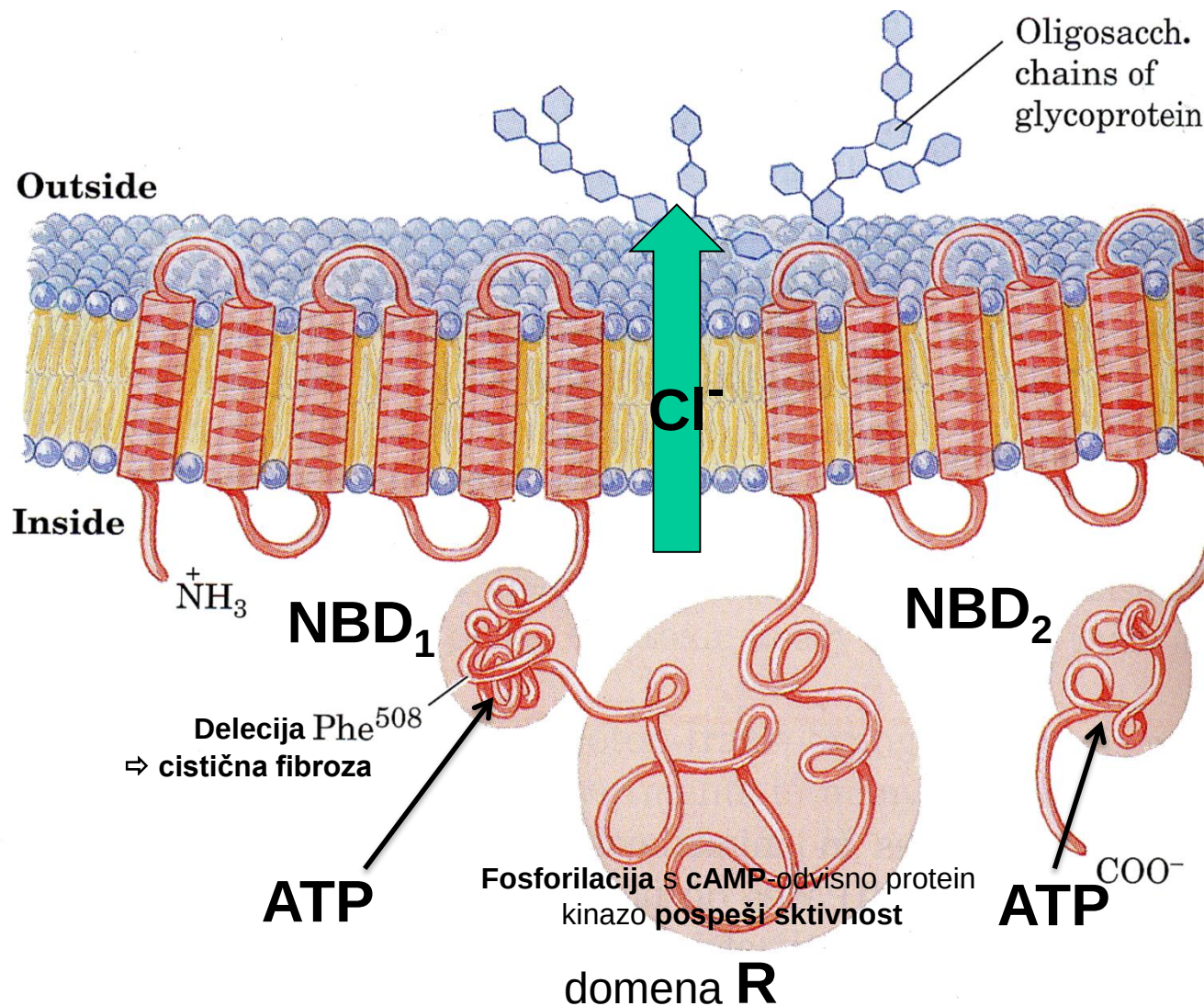
Načina delovanja ABC transporterjev



MDR2 (ABCB4) v PM jetrnih celic
(prenos PL za tvorbo žolča)

MDR1 (ABCB1) v PM jetrnih,
črevesnih in ledvičnih celic
(izločanje naravnih toksinov in
odpadnih produktov presnove);
Bakterijske **permeaze**

Ionski kanal CFTR je strukturno ABC transporter



Domenska struktura CFTR: T1-A1-R-T2-A2

Povzetek – aktivni transport

	Organizem / tkivo	Membrana	Fiziološka vloga
P-tip ATPaze			
Na ⁺ K ⁺	Živalska tkiva	Plazemska	Vzdržuje nizko [Na ⁺], visoko [K ⁺] znotraj c.; tvori transm. električni potencial
H ⁺ K ⁺	Parietalne celice sesalcev	Plazemska	Nakisa vsebino želodca
H ⁺	Glive (<i>Neurospora</i>)	Plazemska	Tvorita gradient H ⁺ , ki
H ⁺	Višje rastline	Plazemska	poganja sekundarni transport zunajceličnih snovi v celico
Ca ²⁺	Živalska tkiva	Plazemska	Vzdržuje nizko [Ca ²⁺] v citosolu
Ca ²⁺	Živalski miociti	SR (ER)	Sekvestrira znotrajcel. Ca ²⁺ , da vzdržuje nizko [Ca ²⁺] _i
Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Cu ²⁺	Bakterije	Plazemska	Črpajo ione težkih kovin iz celice
V-tip ATPaze			
H ⁺	Živalska tkiva	Lizosomalna, endosomalna, sekretorni vezikli	Tvorijo nizek pH znotraj organela, kar aktivira
H ⁺	Višje rastline		proteaze in druge hidrolizne
H ⁺	Glive		encime
F-tip ATPaze			
H ⁺	Evkarionti	Notranja mitohondrijska	Katalizirajo tvorbo ATP
H ⁺	Višje rastline	Tilakoidna	
H ⁺	Prokarionti	Plazemska	
Multidrug transporter			
	Živalske tumorske ce	Plazemska	Odstranjuje široko paleto hidrofobnih naravnih produktov in sintetičnih snovi (zdravil) iz citosola

Povzetek – transport snovi čez BM

Transportni mehanizem

Lastnost	Pasivna difuzija	Pospešena difuzija	Aktivni transport	Kotransport*
Zahteva specifičen protein	-	+	+	+
Snov potuje v nasprotni smeri gradienta	-	-	+	+
Zahteva hidrolizo ATP	-	-	+	-
Zahteva kotransport iona v smeri gradienta	-	-	-	+
Primeri transportiranih snovi	O ₂ , CO ₂ , steroidni hormoni, številna zdravila	Glc, aminokisline (uniporterji), ioni in voda (kanali)	Ioni, male hidrofilne molekule, lipidi (ATP-gnane črpalke)	Glc in aminokisline (simporterji), razl. ioni in saharoza (antiporter)

*Imenovan tudi sekundarni aktivni transport