Активный транспорт ионов

- Поскольку ПП мембраны нейронов не является равновесным потенциалом для каждого отдельного типа ионов, разные ионные токи постоянно текут через мембрану по своим концентрационным градиентам.

- Эти токи текут через потенциал-зависимые и другие ионные каналы и значительно увеличиваются во время генерации нервных импульсов и синаптических потенциалов.

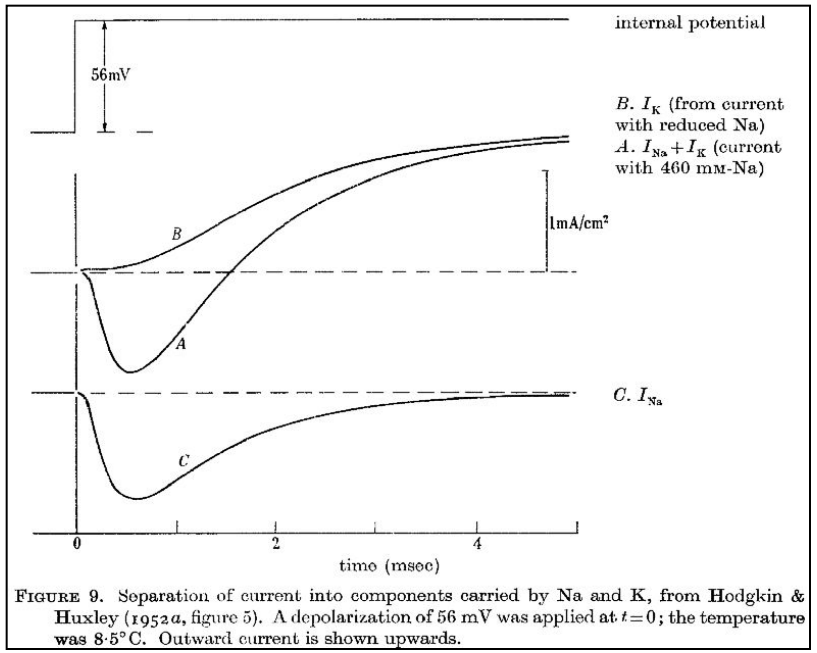
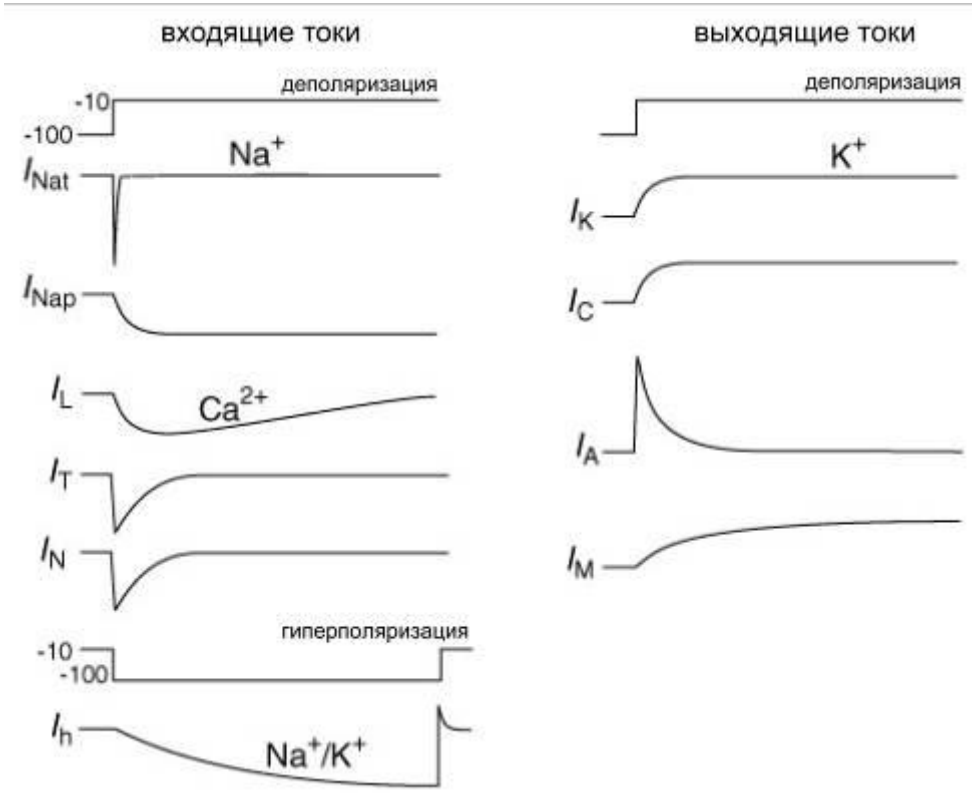
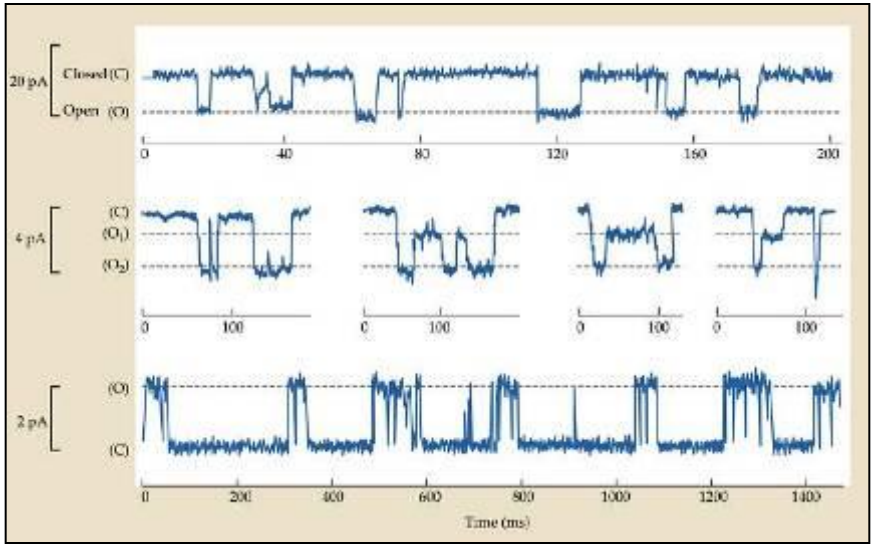


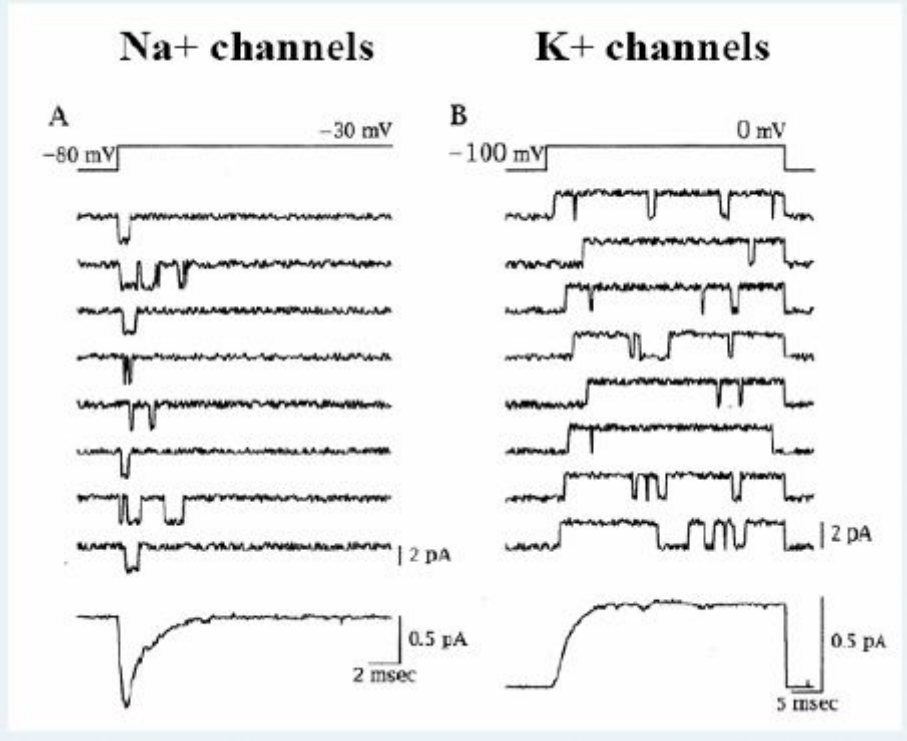
FIGURE 9. Separation of current into components carried by Na and K, from Hodgkin & Huxley (1952*a*, figure 5). A depolarization of 56 mV was applied at $t=0$; the temperature was 8·5°C. Outward current is shown upwards.



Ионные токи, протекающие через отдельные каналы

- Открытие и закрытие ионных каналов отражаются в виде прямоугольных токовых сигналов.





Потенциал-зависимые и другие ионные каналы

Каналы, образующие водную пору, включают **потенциал-зависимые**:

- K^+-, Ca^{2+}- и Na^+-селективные каналы
- K^+-каналы внутреннего выпрямления

потенциал-независимые:

- K^+-каналы с двумя водными порами

каналы, состояние которых зависит от связывания с различными **внутриклеточными лигандами**:

- АТФ-активируемые K^+-каналы,
- Ca^{2+} или Na^+ (Ca^{2+}(Na^+)-зависимые $K_{Ca(Na)}$-каналы)
- Ca^{2+}-каналы, активируемые комплексом Ca^{2+}-калмодулин
- цАМФ (цГМФ)-зависимые неселективные катионные каналы
- K^+-каналы, активируемые с участием G-белков

внеклеточными лигандами:

- ионотропные рецепторы

Зачем нужны системы активного транспорта?

Количество ионов, которые входят в клетку и выходят из нее во время генерации ПД, в действительности очень мало по сравнению с числом ионов, имеющихся в клетке.

Например, во время генерации одного ПД гипотетическим сферическим нейроном диаметром 25 мкм концентрация внутриклеточного Na^+ изменяется примерно на 6 мкМ (т.е. от 15 мМ до 15,006 мМ).

Однако, даже такие малые изменения концентрации ионов Na^+, сопровождающиеся также постоянной «утечкой» ионов K^+ в покое, нарушают соотношение концентраций ионов и таким образом приводят нейрон в нефункциональное состояние.

Чтобы компенсировать такие нарушения концентраций ионов нейронные мембраны обладают специализированными белковыми макромолекулами, известными как **системы активного транспорта**.

Зачем нужны системы активного транспорта?

- Для поддержания нормального функционального состояния нейронов в их мембранах локализованы **транспортные системы**, восстанавливающие ионные градиенты по обе стороны мембраны путем переноса различных ионов **против их концентрационных градиентов**.

- Кроме транспорта ионов в нейронах, как и в других клетках организма, имеются транспортные системы, переносящие через мембраны (в т.ч. и через мембраны клеточных органелл) различные **метаболиты** – аминокислоты, сахара, нейромедиаторы и проч.

Два механизма активного транспорта

Известны два механизма активного транспорта:

- системы **первичного активного транспорта** (**ионные насосы**) с использованием энергии гидролиза АТФ

- системы **вторичного активного транспорта** (**ионные обменники**), работающие за счет энергии электрохимических градиентов некоторых ионов (например, Na^+ и K^+), накопленной в результате работы первичного активного транспорта.

Механизмы первичного активного транспорта

- Системы первичного активного транспорта используют энергию гидролиза АТФ.

В настоящее время известно четыре типа **АТФаз**

1) P-,
2) V-,
3) F-
4) и ATP-binding cassette–типа),

выполняющих разнообразные функции в клетках организмов.

- В нервных клетках механизм первичного активного транспорта обеспечивает транспорт ионов через мембрану против их пассивного потока по электрохимическому градиенту, поддерживая тем самым трансмембранную разность потенциалов, определяющую ПП.

Натрий-калиевый насос

- В начале 1950-х г.г., исследуя действие локальных анестетиков на ионную проводимость нерва краба, ***Йенс Скоу*** (***Jens Christian Skou***) установил, что **фермент АТФаза**, встроенный в клеточную мембрану, наиболее эффективно активируется при действии определенной комбинации концентраций ионов Na^+, K^+ и Mg^{2+}.

- Используя метод измерения теплопродукции, ***Й. Скоу*** также показал при, что нерв краба в состоянии покоя утилизирует энергию **АТФ**, что косвенно свидетельствовало о протекании реакции окислительного фосфорилирования с участием **АТФазы**.

- ?! ***Й. Скоу*** лишь высказал неопределенное предположение, что этот фермент каким-то образом связан с транспортом ионов через мембрану и не выдвинул **АТФазу** на роль непосредственного переносчика ионов.

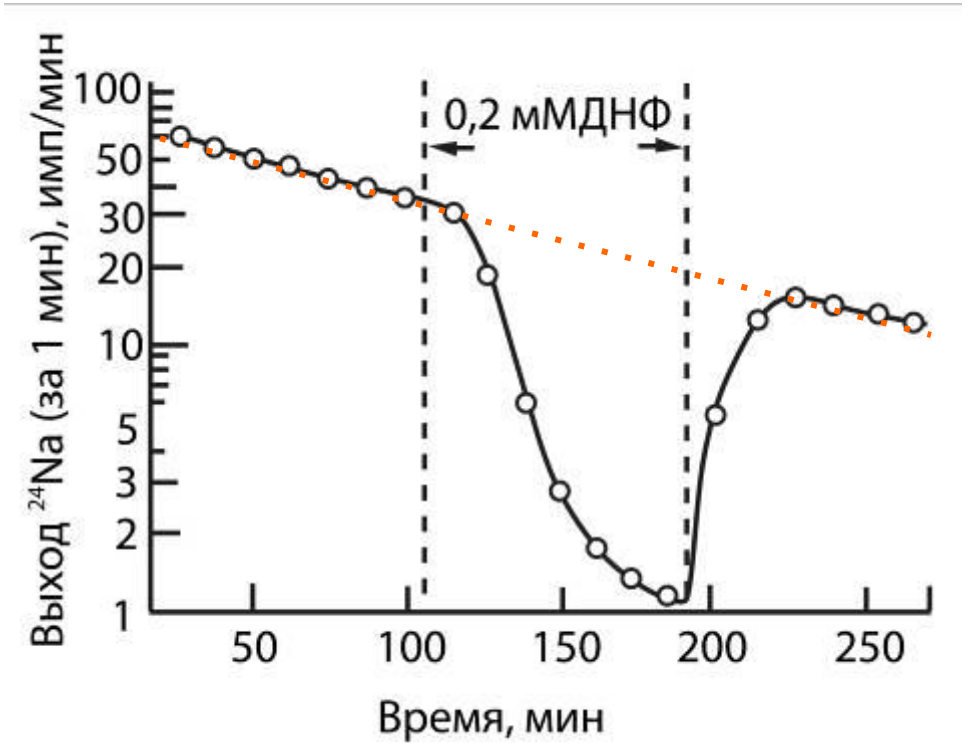
Натрий-калиевый насос

- Позже ***Р. Кейнс*** (***Richard Keynes***) с соавторами, используя радиоактивный $^{24}Na^{+}$, впервые непосредственно измерил энергозависимый выход этого иона из аксоплазмы толстого аксона каракатицы *Sepia*.

- После длительной стимуляции аксона, погруженного в раствор с радиоактивным $^{24}Na^{+}$, измеряли выход этого иона из аксона.

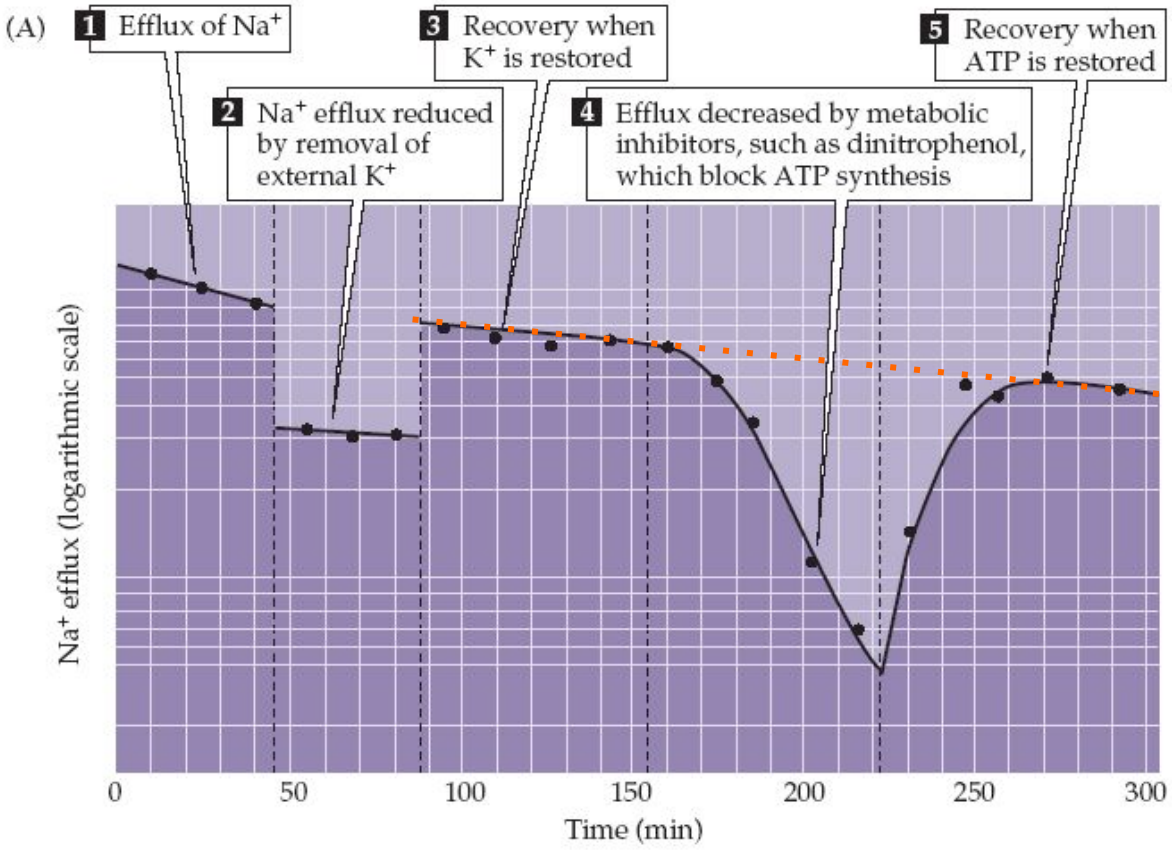
- При действии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента **АТФазы**) **динитрофенола** (**ДНФ**) выход $^{24}Na^{+}$ резко снижался.

- После того, как препарат отмывали от блокатора, выход $^{24}Na^{+}$ возобновлялся.



Натрий-калиевый насос

- После длительной стимуляции аксона, погруженного в раствор с радиоактивным **$^{24}Na^+$**, измеряли выход этого иона из аксона.
- При действии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента **АТФазы**) **динитрофенола** выход **$^{24}Na^+$** резко снижался.
- После того, как препарат отмывали от блокатора, выход **$^{24}Na^+$** возобновлялся.
- Выход **$^{24}Na^+$** также снижался при удалении внешнего **K^+**



Натрий-калиевый насос

- Затем в экспериментах с использованием радиоактивного **K^+**, было показано, что выходящий **Na^+**-поток ассоциирован с одновременным **АТФ-зависимым** входом **K^+** внутрь аксона.

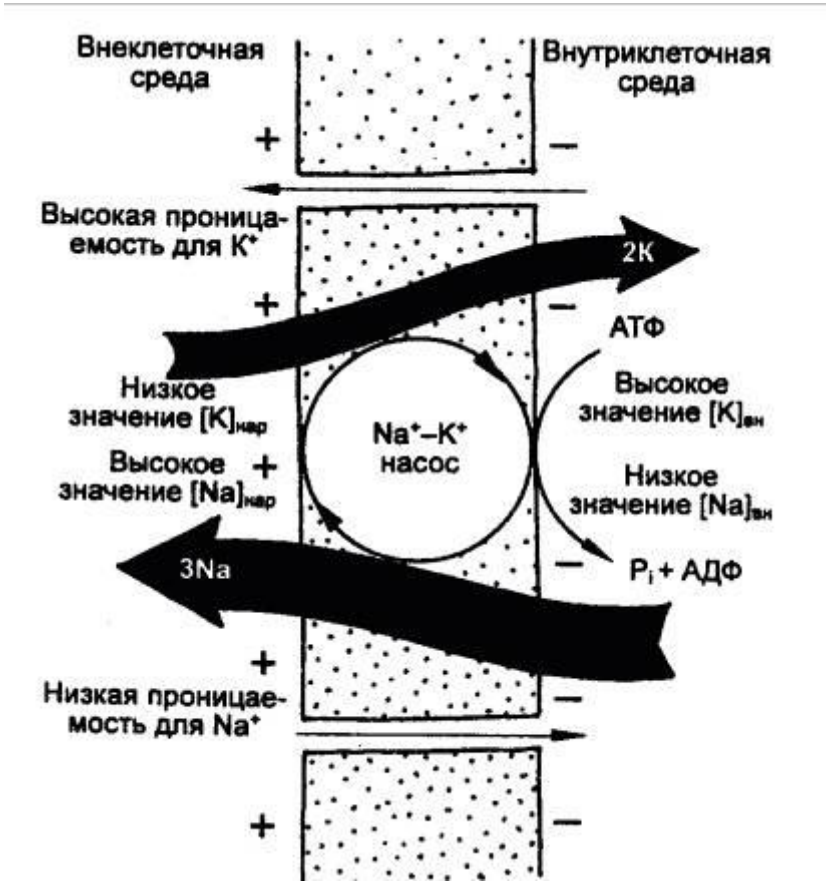
- Все эти эксперименты окончательно доказали, что фермент **АТФаза** в мембране аксона выполняет роль энергозависимого **Na^+/K^+-насоса**.

Принцип работы Na^+/K^+-насоса (Na^+/K^+-АТФазы)

- Переносчик (Na^+/K^+-насос) выводит из клетки три иона Na^+ и вводит в нее два иона K^+, т.е. является электрогенным, удаляя из клетки суммарный положительный заряд и тем самым дополнительно (к механизму поддержания ПП) гиперполяризуя мембрану на несколько мВ.

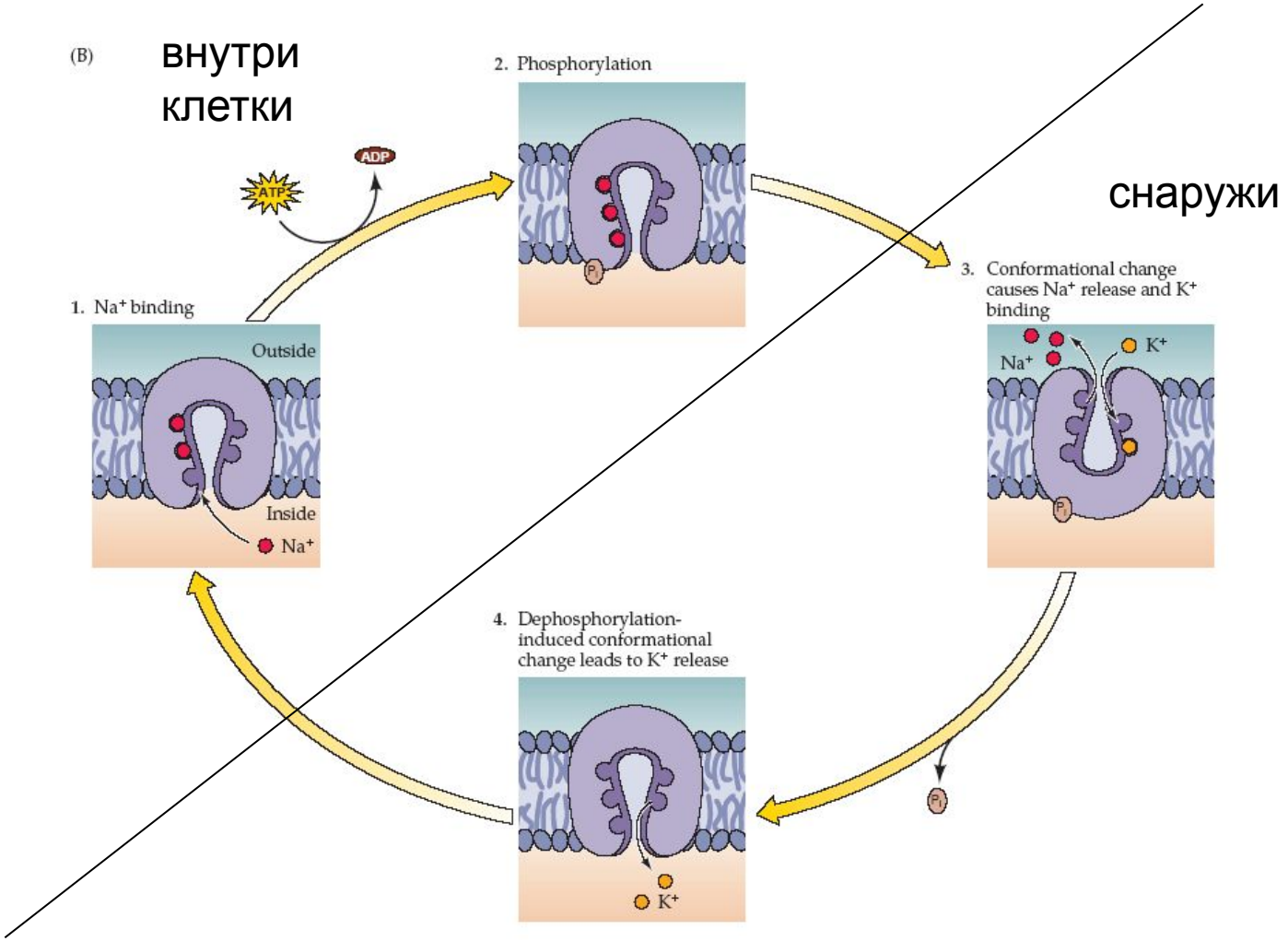
- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами Na^+ и переносит их наружу.

- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами K^+ и переносит их внутрь клетки.



Принцип работы Na^+/K^+-насоса (Na^+/K^+-АТФазы)

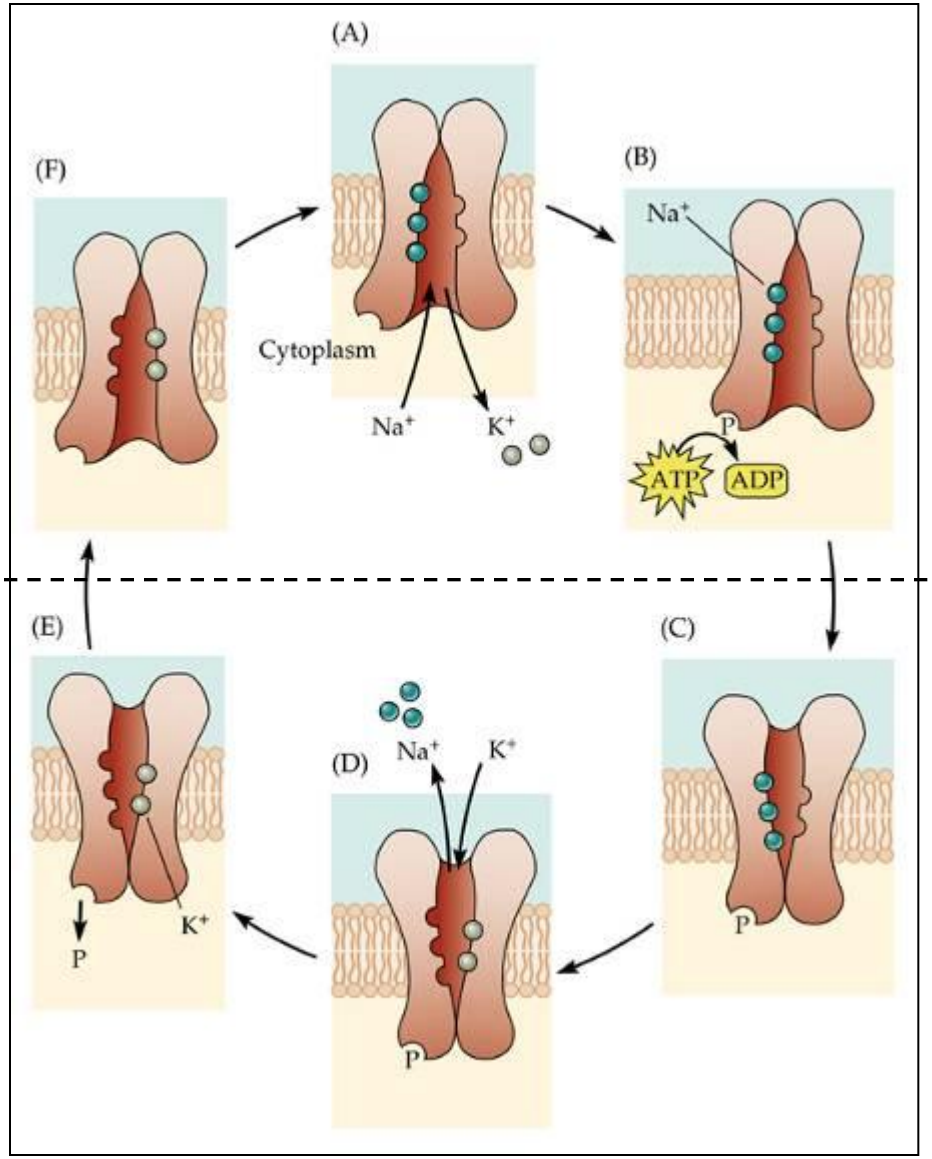
- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами Na^+ и переносит их наружу.
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами K^+ и переносит их внутрь клетки.



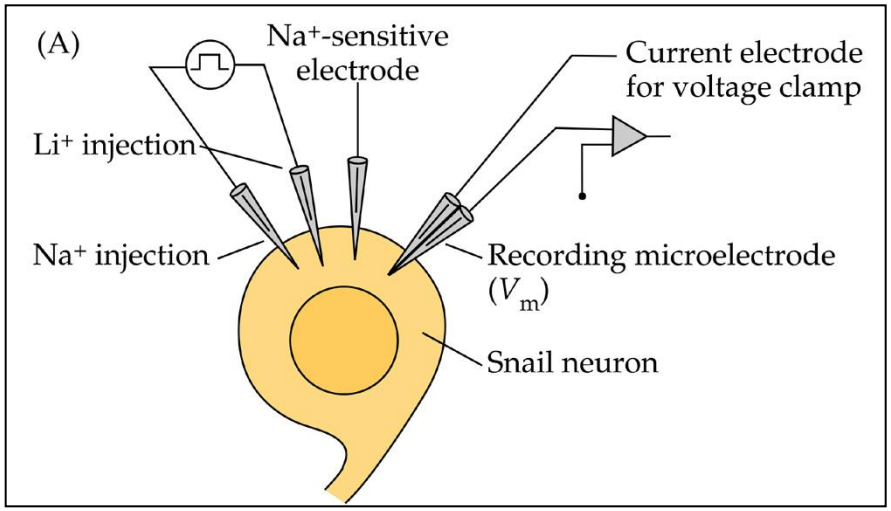
Принцип работы Na^+/K^+-насоса (Na^+/K^+-АТФазы)

- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами Na^+ и переносит их наружу.

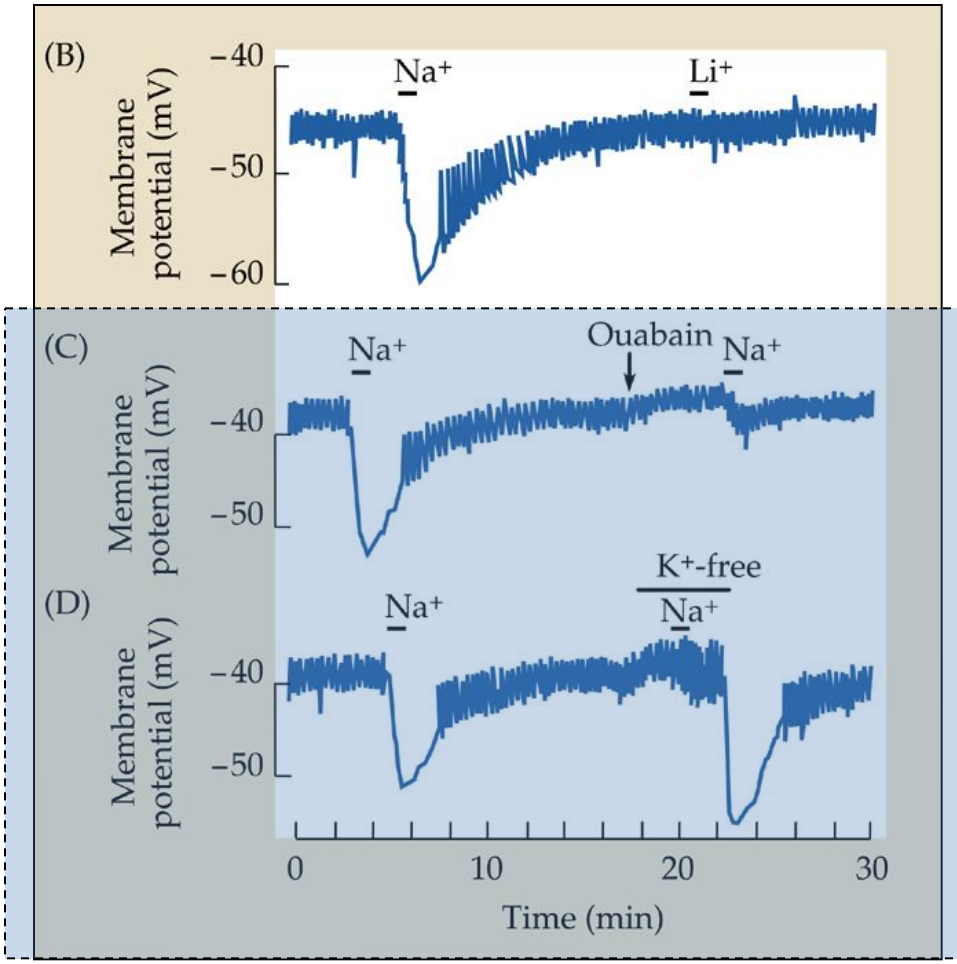
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами K^+ и переносит их внутрь клетки.



Электрогенность Na^+/K^+-насоса

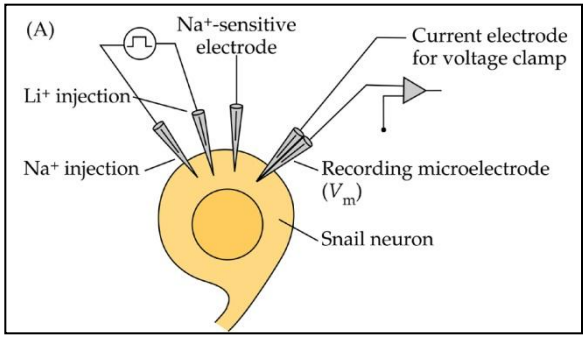


(A) Схема эксперимента



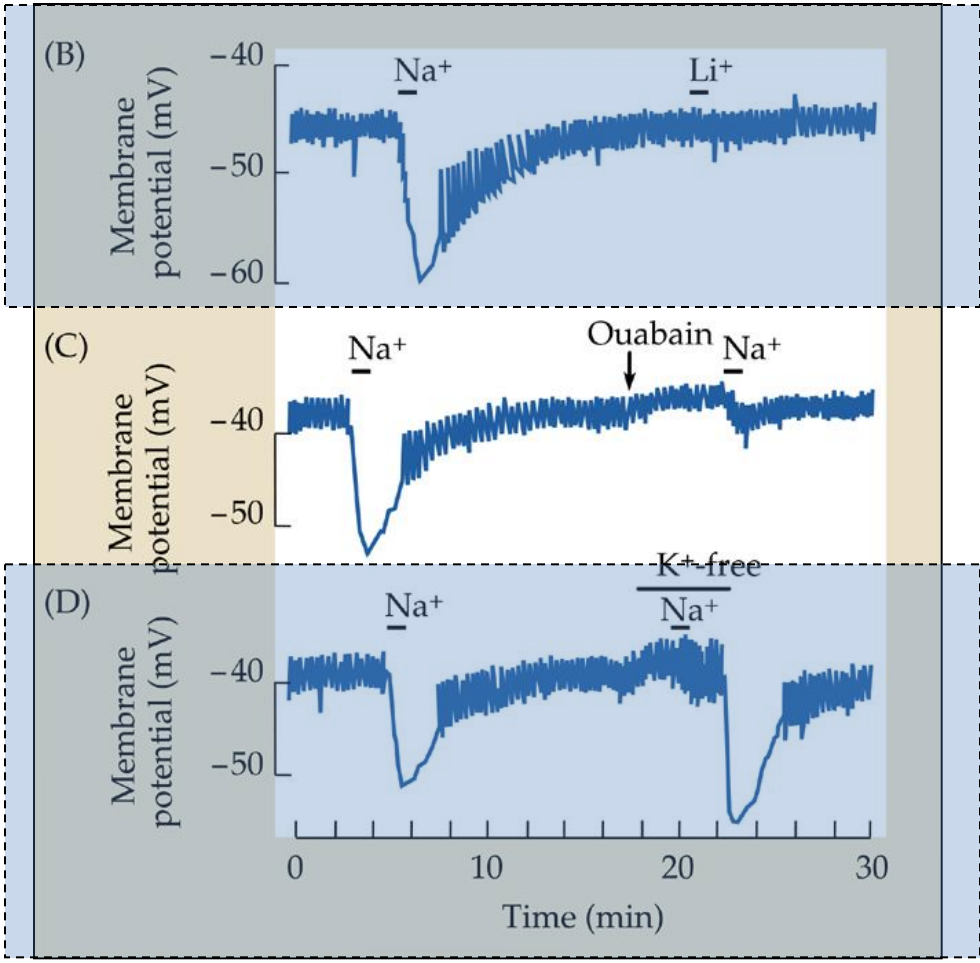
- (B) При инъекции Na^+ ***Na^+/K^+-насос*** выводит из клетки три иона Na^+ и вводит в нее два иона K^+, что приводит к гиперполяризации мембраны.
- Инъекция Li^+ не сопровождается гиперполяризацией.

Электрогенность Na^+/K^+-насоса

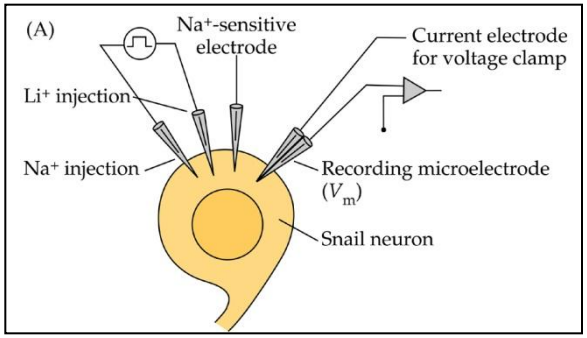


(A) Схема эксперимента

- (C) При действии ***уабаина*** (***ouabain***) гиперполяризация существенно ослабляется.

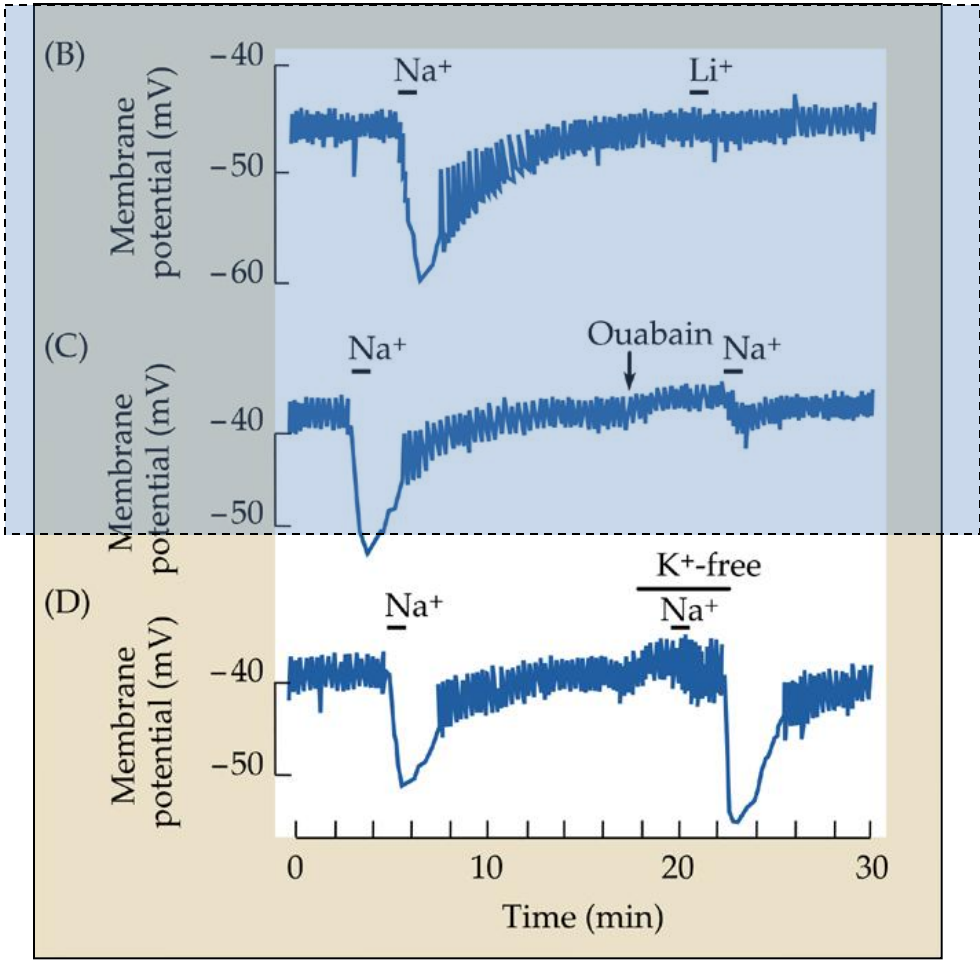


Электрогенность Na^+/K^+-насоса



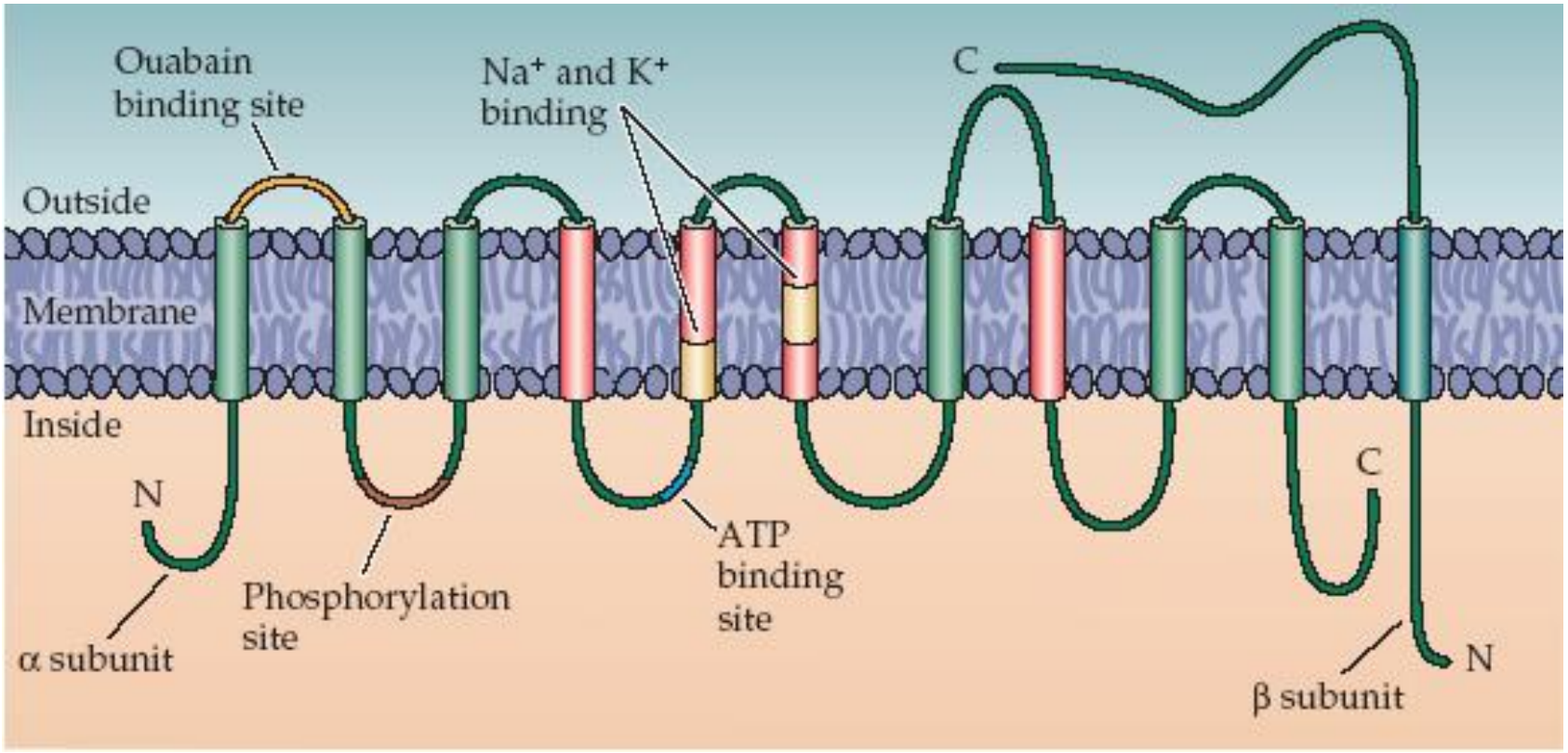
(A) Схема эксперимента

- (D) Удаление K^+ блокирует насос, и гиперполяризации не наблюдается до тех пор, пока уровень K^+ не восстанавливается.

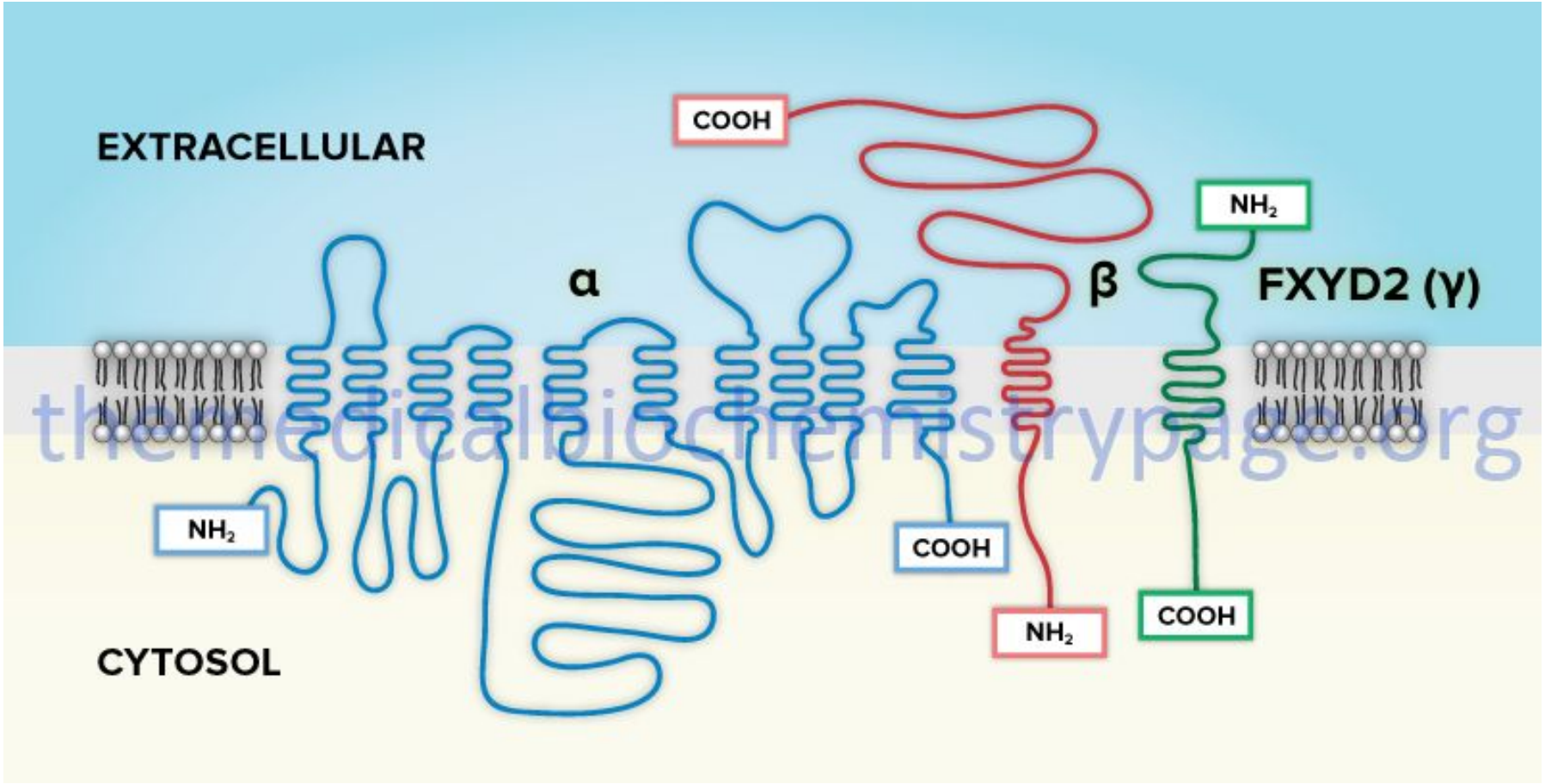


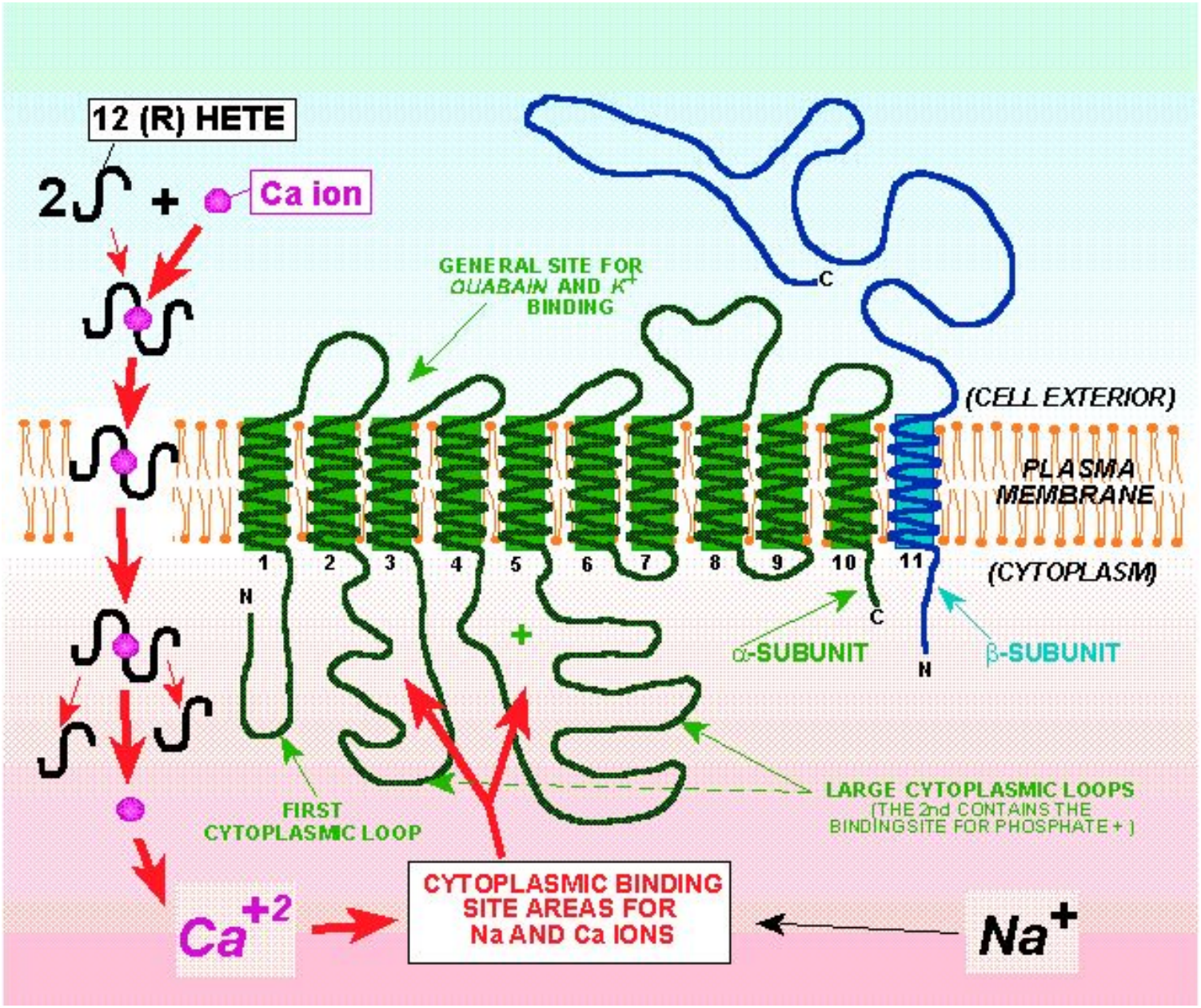
Молекулярная структура Na^+/K^+-АТФазы

- Na^+/K^+-АТФаза относится к группе **P-АТФаз** (от ***P****hosphorylation*), у которых специальный регуляторный участок (остаток аспарагиновой кислоты) активируется в результате его обратимого фосфорилирования при отщеплении фосфата от АТФ.



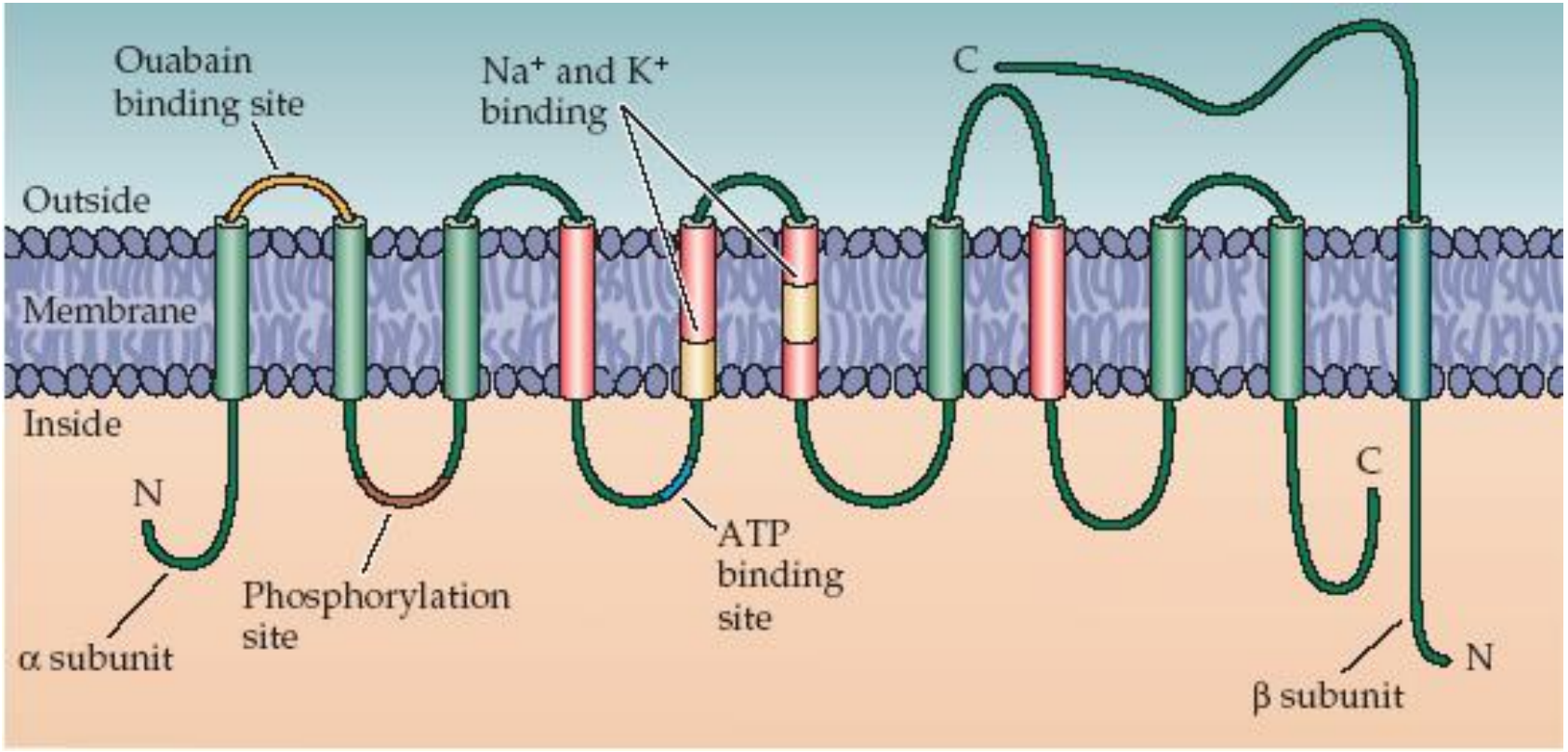
Молекулярная структура Na^+/K^+-АТФазы




12 (R) HETE
2
+
Ca ion
GENERAL SITE FOR
OUABAIN AND K+
BINDING
C
(CELL EXTERIOR)
PLASMA
MEMBRANE
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
(CYTOPLASM)
N
C
+
α-SUBUNIT
β-SUBUNIT
N
FIRST
CYTOPLASMIC LOOP
LARGE CYTOPLASMIC LOOPS
(THE 2nd CONTAINS THE
BINDINGSITE FOR PHOSPHATE +)
CYTOPLASMIC BINDING
SITE AREAS FOR
Na AND Ca IONS
Ca+2
Na+

Молекулярная структура Na^+/K^+-АТФазы

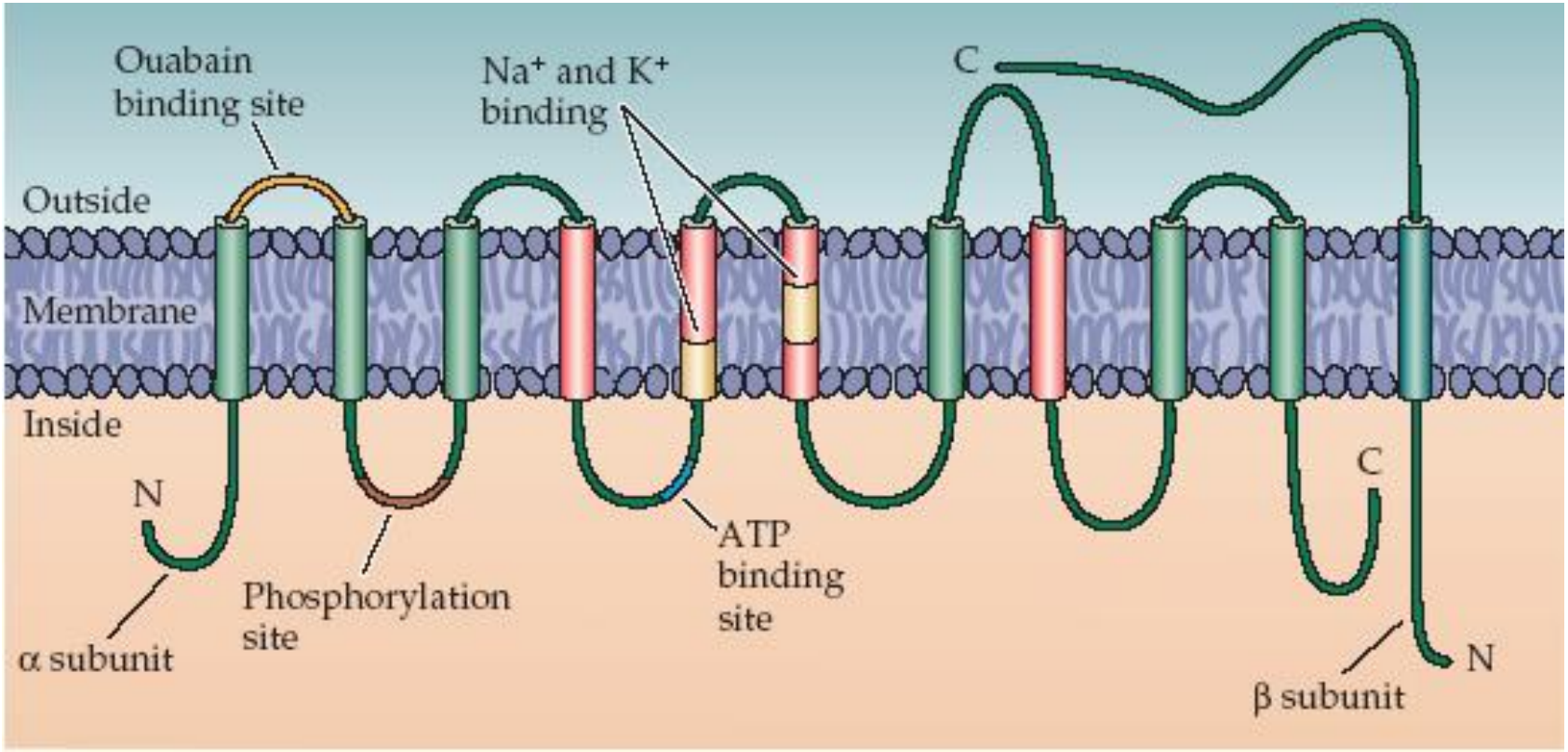
- Na^+/K^+-АТФаза состоит из двух субъединиц - α- (с молекулярной массой около 100 кД) и β- (с массой около 35 кД), образующих тетрамер $(\alpha\beta)_2$.
- Идентифицировано 3 изоформы α- и 2 изоформы β- субъединицы



Молекулярная структура Na^+/K^+-АТФазы

включает несколько мест связывания с субстратом:

- участок фосфорилирования,
- участок связывания АТФ,
- участок связывания одновалентных катионов,
- участок связывания уабаина.



Ca^{2+}-насос (Ca^{2+}-АТФаза)

является АТФазой **P-типа**, выводящей Ca^{2+} из цитоплазмы. Эта АТФаза (наряду с Na^{+}/Ca^{2+}-обменником) выполняют главную функцию по поддержанию низкого уровня внутриклеточного Ca^{2+}, необходимого для обеспечения внутриклеточных путей сигнализации.

Существуют **две** разновидности Ca^{2+}-АТФаз

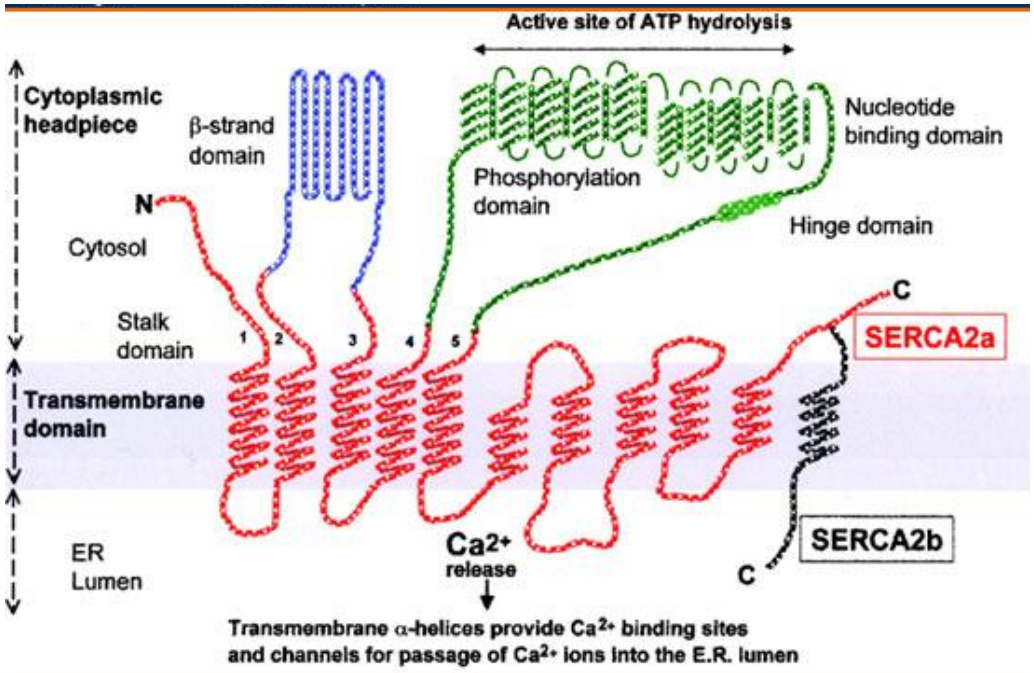
Ca^{2+}-АТФазы плазматической мембраны при фосфорилировании переносят **один ион Ca^{2+}** во внеклеточное пространство.

Ca^{2+}-насос (Ca^{2+}-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca^{2+}-АТФаз

Ca^{2+}-АТФазы эндоплазматического (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca^{2+}** из цитоплазмы (саркоплазмы) в перечисленные внутриклеточные мембранные структуры.

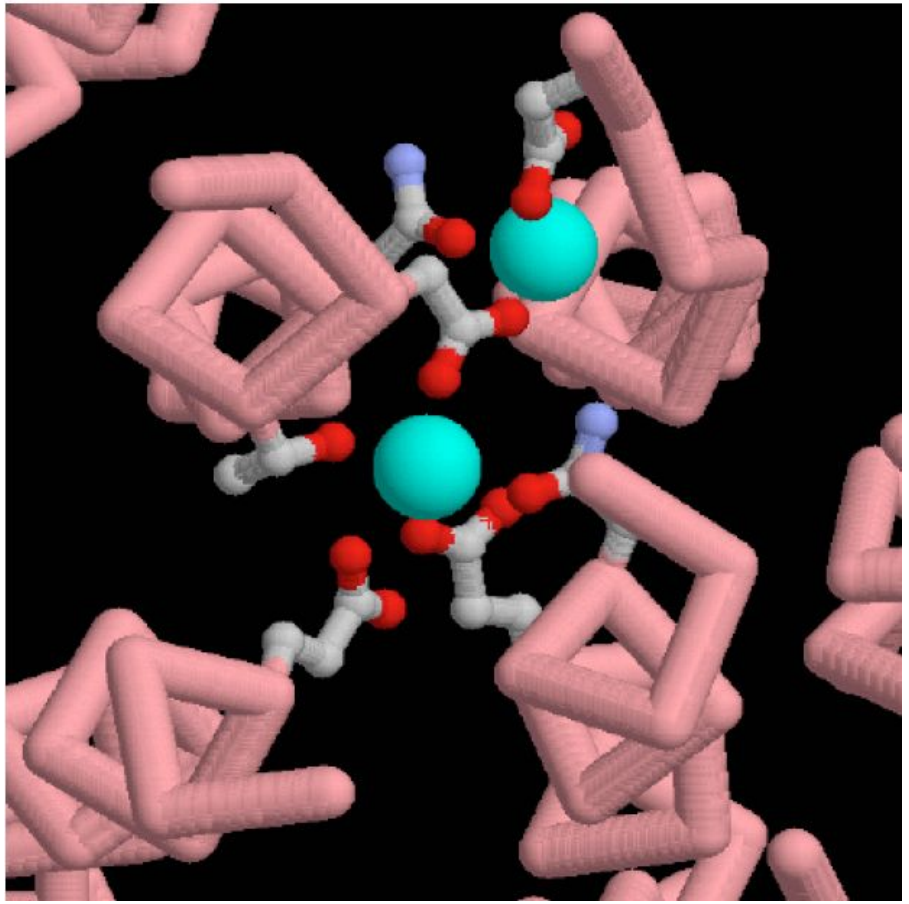
SERCA - **S**arco/**E**ndoplasmic **R**eticulum **Ca**$^{2+}$-**A**TPase



Ca^{2+}-насос (Ca^{2+}-АТФаза)

Ca^{2+}-АТФазы эндоплазматического (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca^{2+}** из цитоплазмы (саркоплазмы) в перечисленные внутриклеточные мембранные структуры.

The calcium binding site is in a tunnel formed by **four alpha helices**, which cross straight through the membrane. This illustration, from PDB entry 1eul, shows a view down the helices. The two calcium ions, shown as blue-green spheres, are held by a collection of amino acids, shown in balls-and-sticks, that coordinate it from all sides. The protein is far less stable when these calcium ions are removed. It was solved by adding a drug molecule that binds near the calcium-binding site and freezes the protein into a stable, but non functioning, form.



Ca^{2+}-насос (Ca^{2+}-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca^{2+}-АТФаз

! Еще одно отличие.

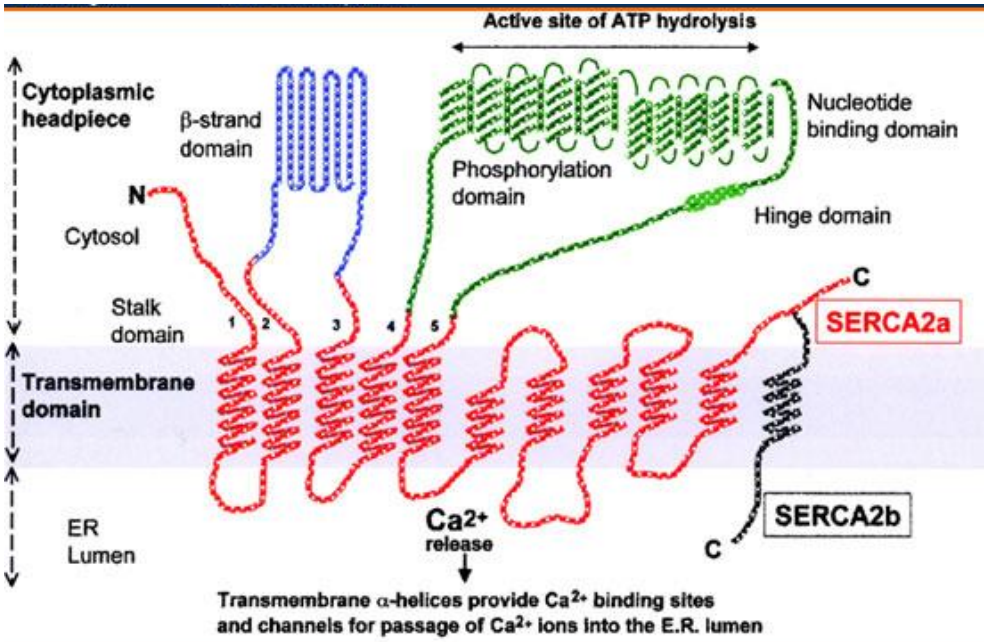
Ca^{2+}-АТФаза плазматической мембраны регулируется внутриклеточным комплексом Ca^{2+}/калмодулин (Ca^{2+}-активируемый белок), который связывается со специальным участком на внутриклеточной петле насоса.

Такая регуляция обеспечивает быструю активацию Ca^{2+}-АТФазы плазмалеммы при увеличении внутриклеточной концентрации Ca^{2+}.

Ca^{2+}-насос (Ca^{2+}-АТФаза)

Обе формы Ca^{2+}-АТФазы (плазматическая и «органельная») представлены одиночной полипептидной цепочкой с молекулярной массой около 100 кД, которая сходна по своей структуре с α-субъединицей Na^{+}/K^{+}-АТФазы.

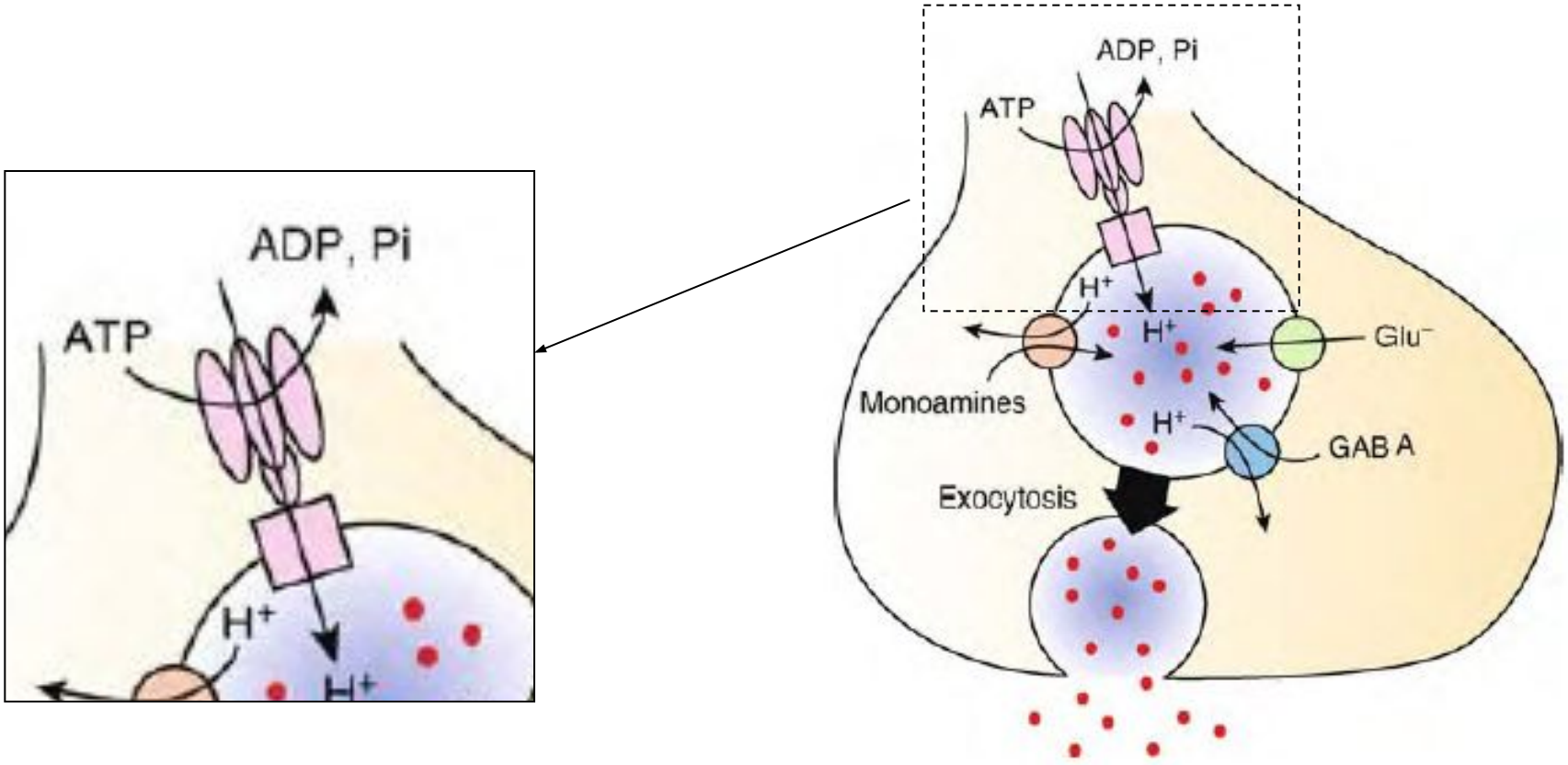
Системы первичного активного транспорта Ca^{2+} являются **высокоаффинными** (высокая степень связывания катиона), но относительно **медленными** по сравнению с системой вторичного активного транспорта этого катиона.



Протонный насос

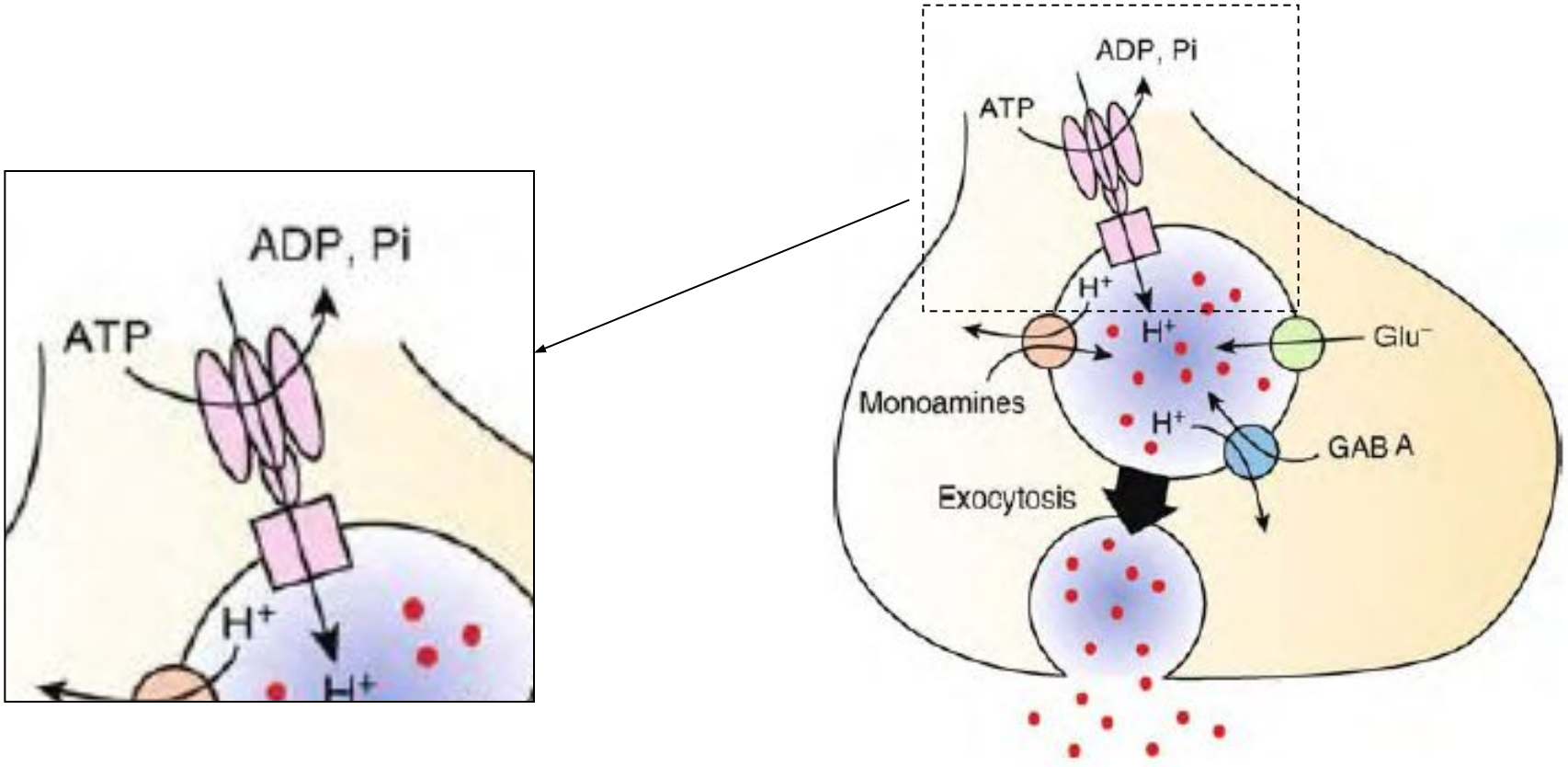
В мембранах клеточных органелл (лизосом, эндосом, а также синаптических везикул) протонный насос **H^+-АТФаза V-типа** (от англ., ***V****acuolar*) с использованием энергии гидролиза АТФ переносит внутрь органелл H^+, поддерживая в них низкий уровень РН.

Протонный градиент, направленный из синаптических везикул в цитоплазму, используется для транспорта молекул медиаторов внутрь везикул.



Протонный насос

Кроме того в мембранах митохондрий содержится **H^+-АТФаза F-типа**, работающая в «обратном» направлении: этот фермент синтезирует АТФ из АДФ и остатка фосфата при движении протонов по концентрационному градиенту из матрикса митохондрий в цитоплазму.



АТФазы в других клетках

Магниевый насос

В мембранах эритроцитов выделена **Mg^{2+}-АТФаза Р-типа**, которая с использованием энергии АТФ выводит наружу ионы Mg^{2+}.

Протон-калиевый насос

- В мембранах эпителиальных клеток желудка выделена **H^+/K^+-АТФаза Р-типа**. По своей структуре она сходна с Na^+/K^+-АТФазой.
- В отличие от последней эта АТФаза не является электрогенной, поскольку выводит один ион H^+ наружу и один ион K^+- внутрь клетки, не нарушая при этом баланс зарядов по обе стороны мембраны.

АТФазы в других клетках

АТФаза F-типа в плазматической мембране бактерий

является аналогом **H^+-АТФазы F-типа**, которая в мембранах митохондрий синтезирует АТФ из АДФ и остатка фосфата с использованием энергии протонного градиента.

В отличие от H^+-АТФазы митохондрий АТФаза мембран бактерий использует энергию градиента **Na^+**, направленного внутрь клетки и по сути является **Na^+-АТФазой F-типа**.

АТФазы в других клетках

Хлорный насос

Хлорная АТФаза, переносящая ионы Cl- из цитоплазмы во внеклеточное пространство, является представителем группы разнообразных АТФаз четвертого типа, называемых в англоязычной литературе **ATP-binding cassette transporters** (переносчики с АТФ-связывающей кассетой).

Кроме транспорта Cl- эти насосы выполняют разнообразные функции:

1) обеспечивают проницаемость гликопротеинов через мембраны;
2) выводят из клеток токсические метаболиты, обеспечивая тем самым, например, устойчивость раковых клеток при химиотерапии;
3) запускают иммунный ответ клеток против чужеродных белков, осуществляя антиген-пептидный транспорт из цитозоля в эндоплазматический ретикулум.

Хлорные АТФазы обнаружены в культуре клеток мозга, что указывает на возможность существования первичных механизмов транспорта хлора. Однако до настоящего времени такие транспортные системы пока еще не найдены в нервной ткани.

Транспорт других катионов

Среди группы **P-АТФаз** также известны насосы, переносящие через мембраны клеток другие катионы:

- Ag^{+} и Ag^{2+},
- Zn^{2+},
- Co^{2+},
- Pb^{2+},
- Ni^{2+},
- Cd^{2+},
- Cu^{+} и Cu^{2+}.

Механизмы вторичного активного транспорта

- Переносят некоторые ионы и низкомолекулярные соединения (например, медиаторы) против их концентрационных градиентов, используют энергию электрохимических градиентов других ионов (например, K^+ и Na^+), аккумулированную в результате работы первичного активного транспорта.

- Подразделяют на **ко-транспортеры** и **ионные обменники**:

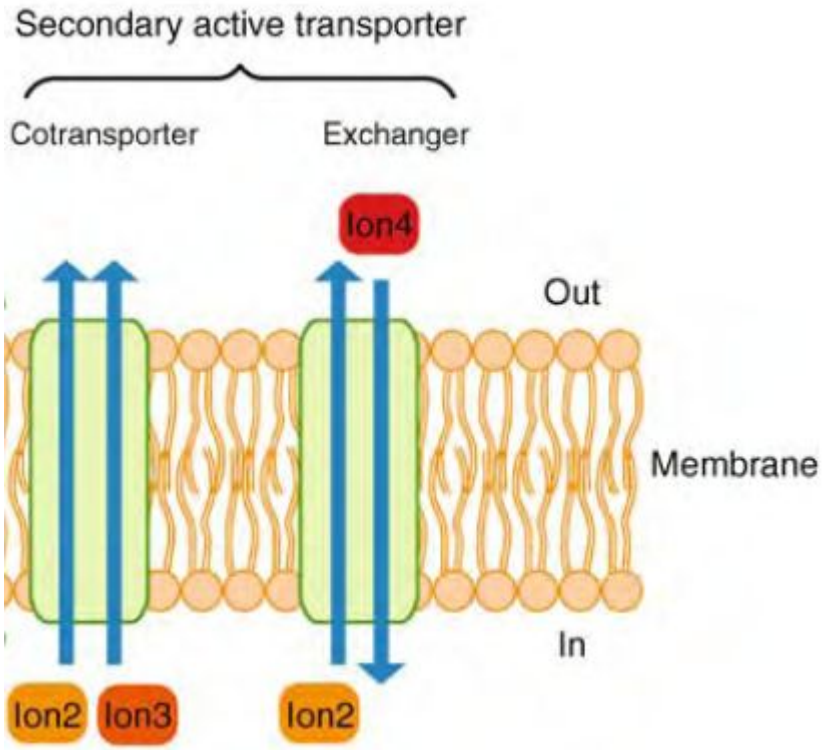
- **Ко-транспортеры** обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.

- **Обменники** обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении. Такой механизм вторичного активного транспорта называют также **антипортом** (*antiport*).

Ко-транспортеры и ионные обменники

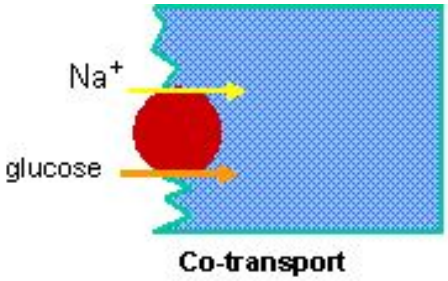
- **Ко-транспортеры** (*cotransporter*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.

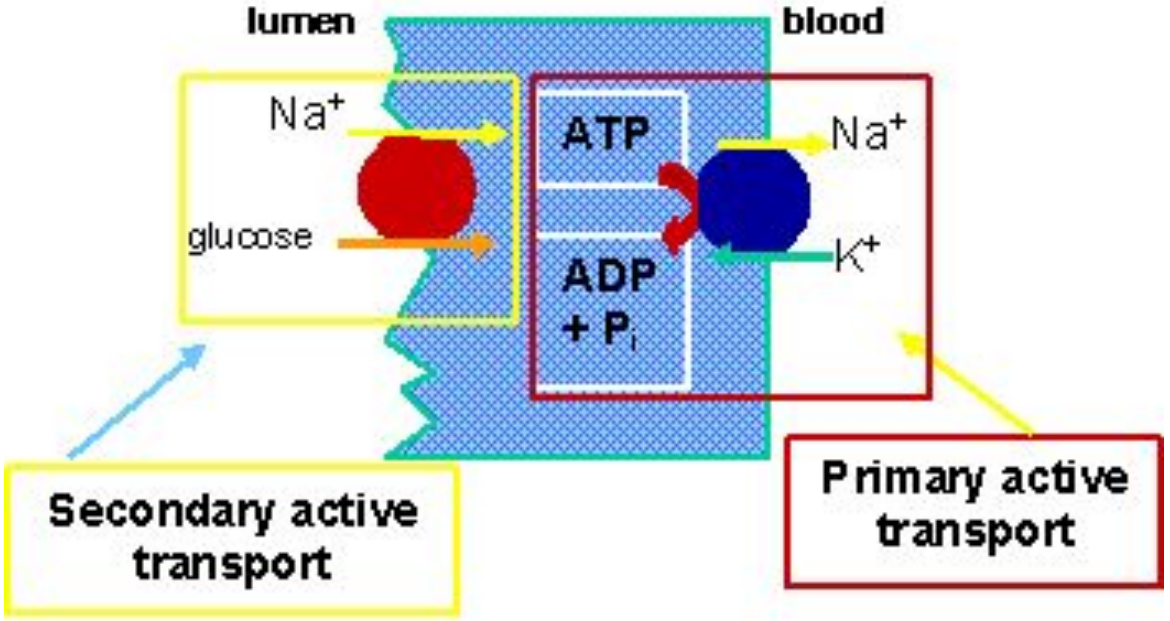
- **Обменники** (*exchanger*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении.



Ко-транспортеры и ионные обменники

- **Ко-транспортеры** (*cotransporter*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.

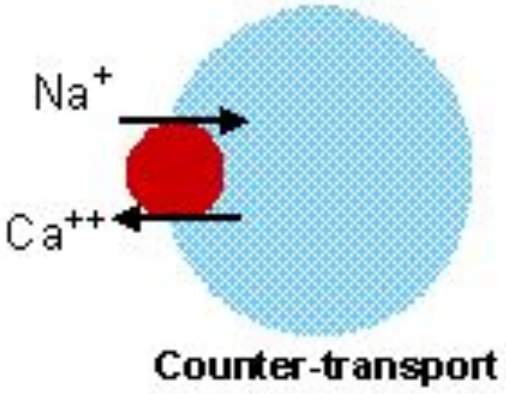


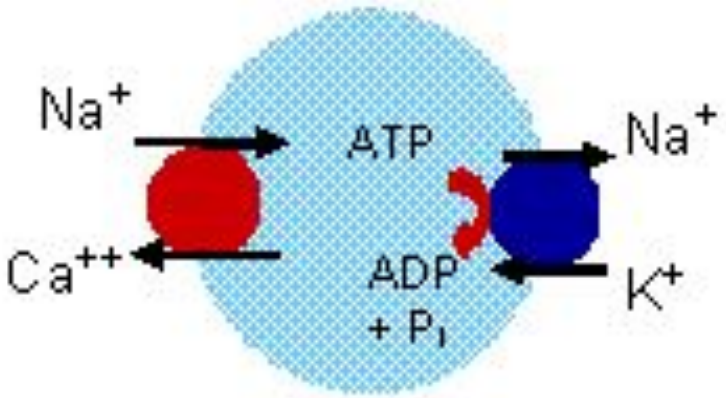


Rules:
Both Na^+ and Glucose must be bound
Na^+ gradient must be present

Ко-транспортеры и ионные обменники

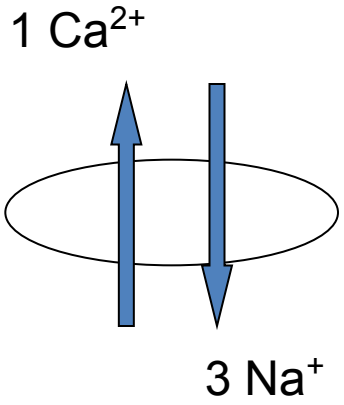
- **Обменники** (*exchanger*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении.

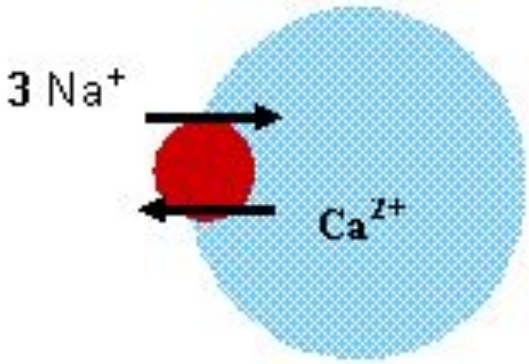




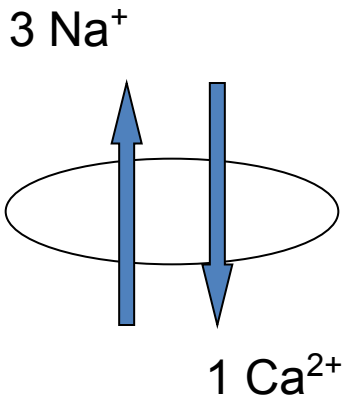
Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

- **Na^+/Ca^{2+}-обменник**



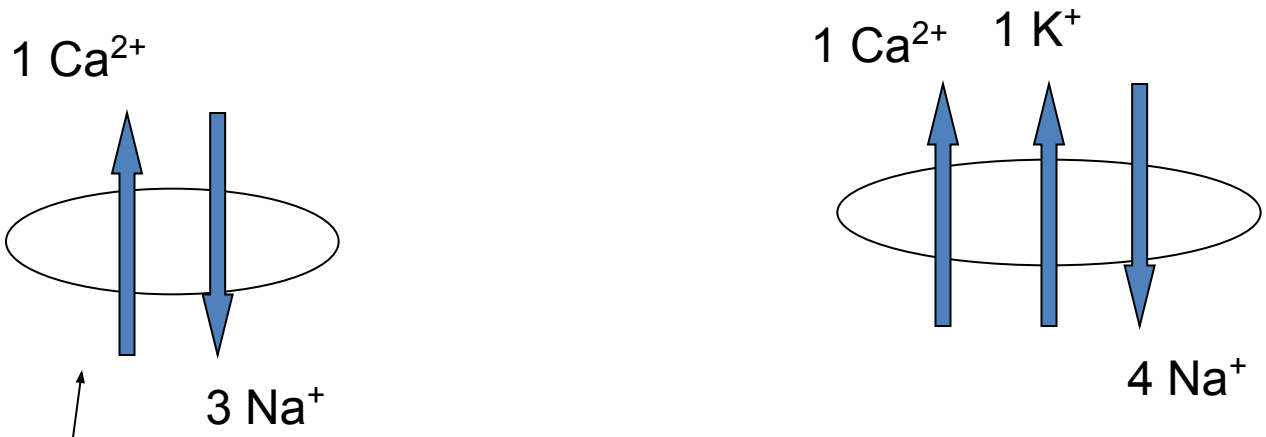


- при значительной деполяризации может работать в противоположном направлении



Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

- **Na^+/Ca^{2+}-K^+-обменник** в мембранах фоторецепторов сетчатки



- Благодаря дополнительной энергии градиента для K^+ **Na^+/Ca^{2+}-K^+-обменник** может поддерживать в фоторецепторах очень низкий уровень концентрации внутриклеточного Ca^{2+} (около **1 нМ**) в условиях низкого уровня ПП (-40 мВ).

- Обычный Na^+/Ca^{2+}-обменник в условиях такого низкого уровня ПП способен снизить уровень Ca^{2+} только до уровня около **400 нМ**.

Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

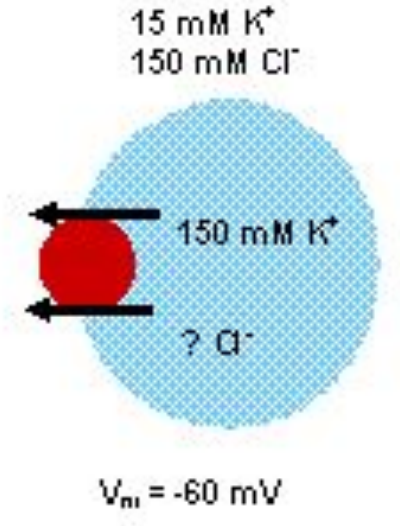
- Система вторичного активного транспорта Ca^{2+} является **низкоаффинной** (низкая степень связывания катиона), но относительно **быстрой** по сравнению с системой первичного активного транспорта этого катиона.

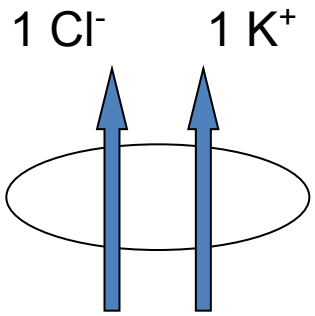
- Эффективность этого обменника примерно в 50 раз выше, чем у Ca^{2+}-АТФазы из-за более высокой плотности этих молекул в мембране. Na^{+}/Ca^{2+}-обменник играет важную роль в условиях массированного входа в клетку, вызванного повышенной электрической активностью, когда активности Ca^{2+}-АТФазы недостаточно для регуляции концентрации внутриклеточного Ca^{2+}.

- С другой стороны Ca^{2+}-АТФазы активны в условиях низких (меньше 1 мкМ) концентраций внутриклеточного Ca^{2+}, что обеспечивает тонкую регуляцию концентрации Ca^{2+}.

Регуляция внутриклеточной концентрации Cl^-

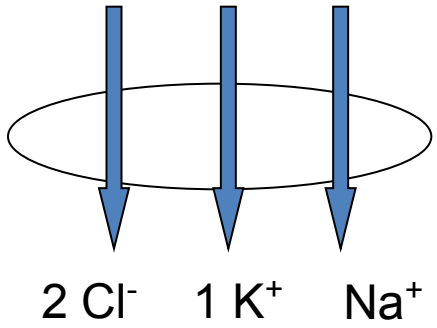
- **K^+/Cl^--ко-транспортная** система выводит Cl^- из клетки за счет градиента ионов K^+ и не зависит от внеклеточной концентрации Na^+. Эта транспортная система необходима для восстановления нормальной внутриклеточной концентрации Cl^- в результате постсинаптической гиперполяризации.





Регуляция внутриклеточной концентрации Cl^-

- Высокая концентрация внутриклеточного Cl^- при развитии нейронов поддерживается благодаря работе одной из двух изоформ **$Na^+/K^+/2Cl^-$-ко-транспорта**, переносящего внутрь клетки два иона Cl^- и один ион K^+ за счет градиента ионов Na^+, направленного внутрь.



Регуляция внутриклеточного уровня pH

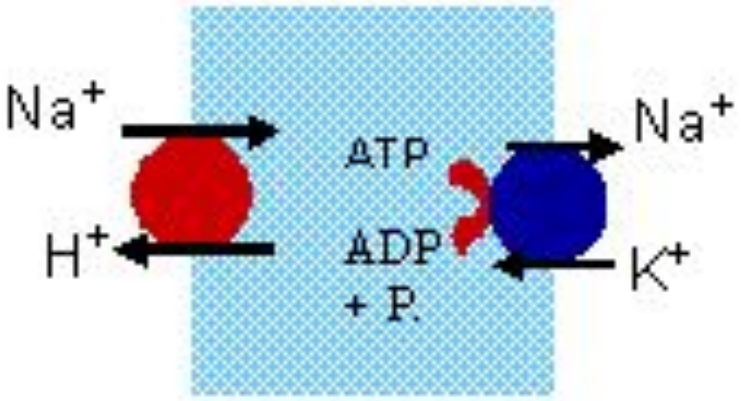
Электрическая активность нейронов и внутриклеточный pH находятся в реципрокных отношениях:

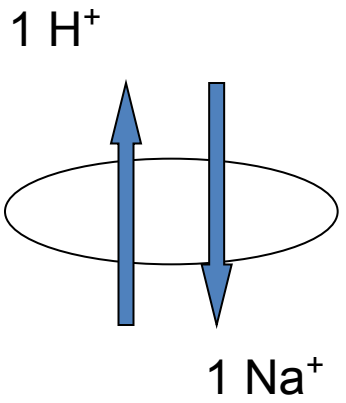
- увеличение электрической активности вызывает быстрые изменения pH
- и, наоборот, флуктуации pH влияют на выделение медиаторов из нейронов и на частоту их импульсации.

- Механизмы регуляции внутриклеточного уровня pH в нейронах и глиальных клетках принципиально сходны с таковыми в других клетках и обеспечиваются главным образом **четырьмя** различными системами вторичного активного транспорта.

Регуляция внутриклеточного уровня pH

1) Внутриклеточный уровень pH поддерживается благодаря **Na^+/H^+-обменнику**, транспортирующего через мембрану один ион Na^+ в цитоплазму (по концентрационному градиенту) один ион H^+ из цитоплазмы.



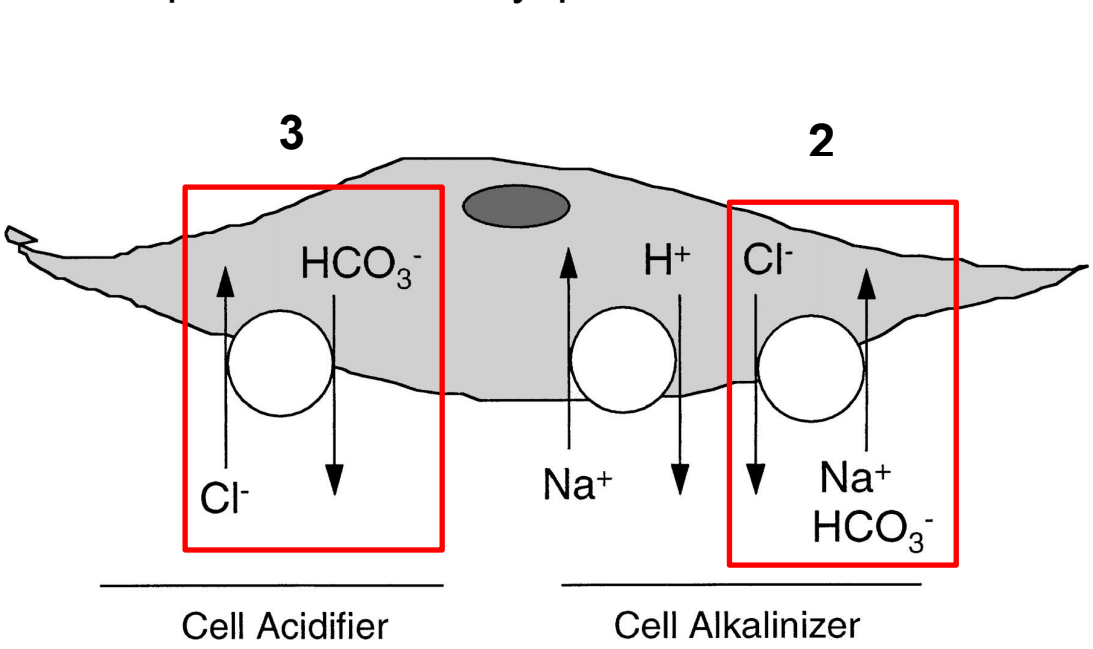


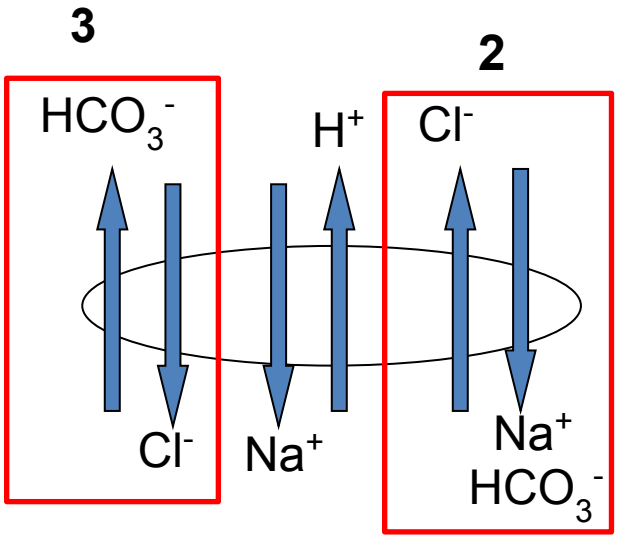
Регуляция внутриклеточного уровня pH

Внутриклеточный уровень pH поддерживается:

2) **Na^+-зависимым Cl^-/HCO_3^- -обменником**, который выводит ионы Cl^- наружу, а ионы Na^+ и HCO_3^- - внутрь клетки (кроме вклада в регуляцию pH этот обменник также поддерживает низкую концентрацию Cl^- в цитоплазме)

3) **Na^+-независимым Cl^-/HCO_3^- -обменником**, который выводит ионы HCO_3^- за счет градиента Cl^- внутрь клетки





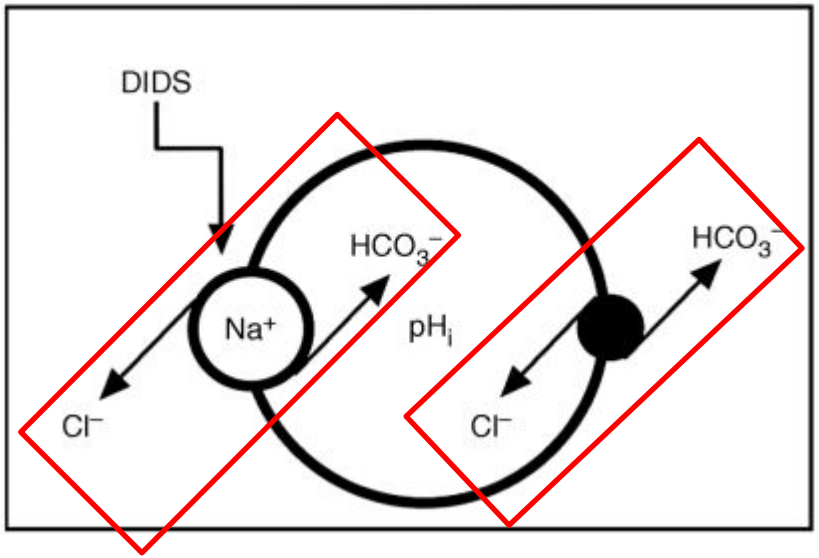
Major ion transport mechanisms that regulate smooth muscle cytoplasmic pH (pHc) by acidification (Na+-independent Cl−/HCO3 −exchange) or alkalinization (Na+/H+ and Na+-dependent Cl−/HCO3 −exchange)

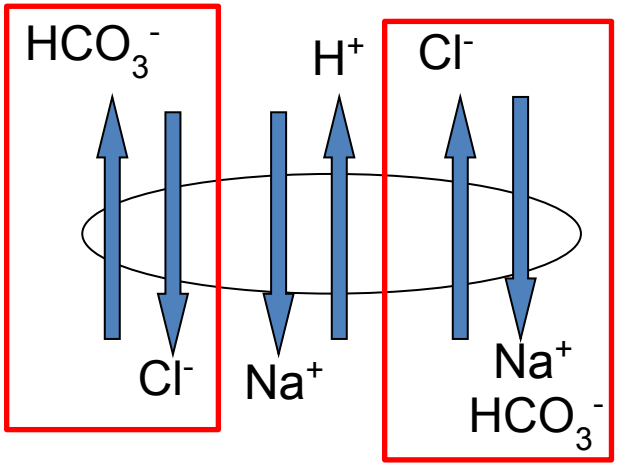
Регуляция внутриклеточного уровня pH

Внутриклеточный уровень pH поддерживается:

2) **Na^+-зависимым Cl^-/HCO_3^- -обменником**, который выводит ионы Cl^- наружу, а ионы Na^+ и HCO_3^- - внутрь клетки (кроме вклада в регуляцию pH этот обменник также поддерживает низкую концентрацию Cl^- в цитоплазме)

3) **Na^+-независимым Cl^-/HCO_3^- -обменником**, который выводит ионы HCO_3^- за счет градиента Cl^- внутрь клетки



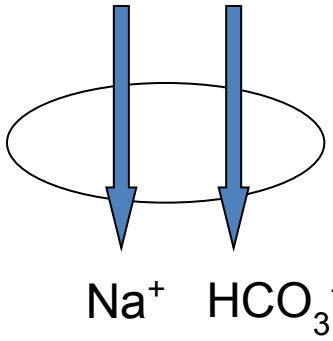


Schematic presentation of the sodium-dependent Cl^-/HCO_3^- exchanger and the sodium-independent Cl^-/HCO_3^-exchanger and their effects on cytosolic HCO_3^- and cytosolic chloride concentration.

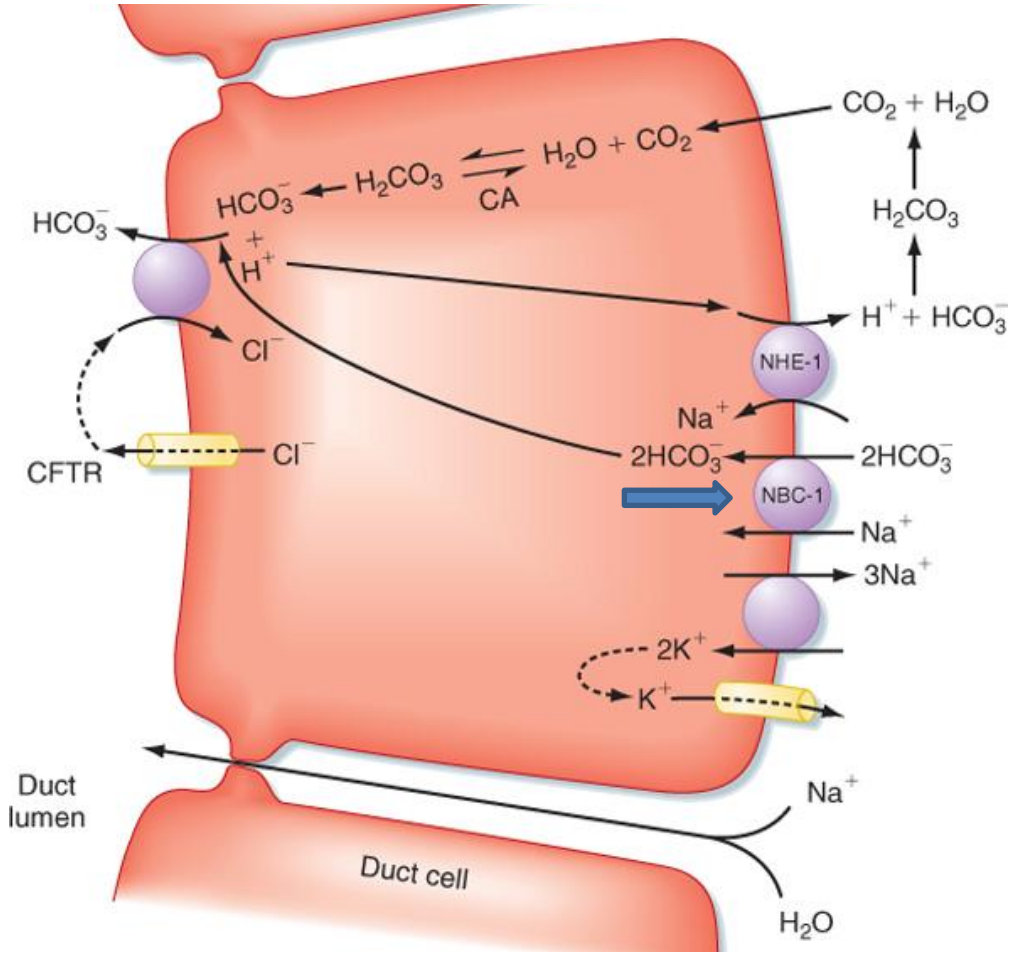
Регуляция внутриклеточного уровня pH

Ион HCO_3^- выполняет в клетке роль буфера протонов.

4) HCO_3^- транспортируется посредством **Na^+/HCO_3^--ко-транспорта** за счет градиента Na^+

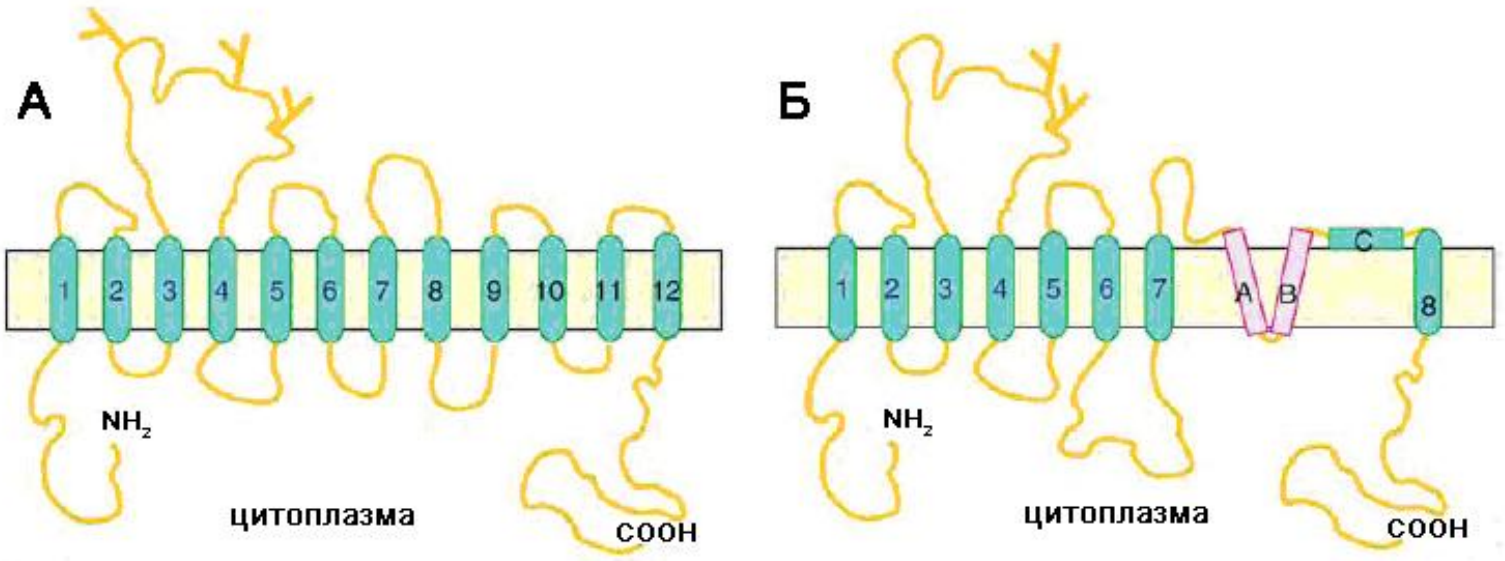


клетка протока поджелудочной железы



Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

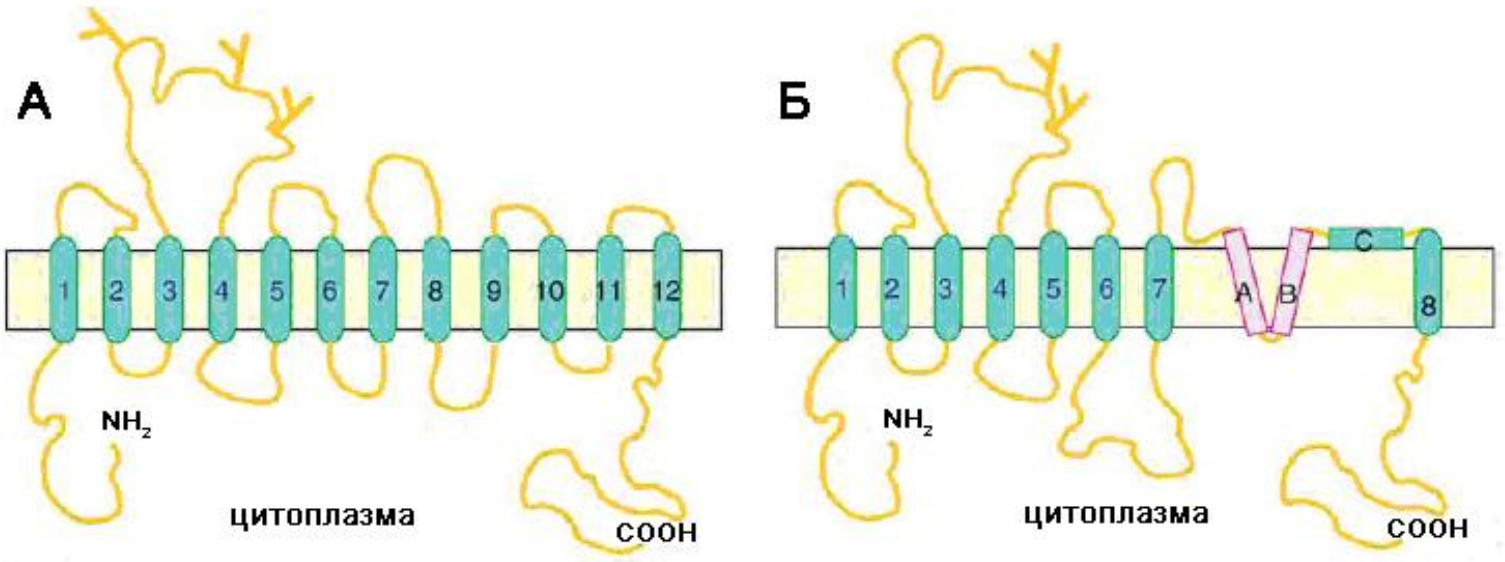
- Транспорт медиаторов через мембраны нейронов и глиальных клеток, а также через мембраны клеточных органелл обеспечивается специальными системами вторичного активного транспорта.
- Транспортеры медиаторов характеризуются высокой аффинностью и способностью быстро переносить молекулы медиаторов.
- Они представляют собой белки, состоящие из 500-800 аминокислот, и локализованы в пре- и постсинаптических мембранах нейронов, а также в мембранах глиальных клеток – астроцитов.



Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

Транспортеры медиаторов подразделяются на два семейства (см. табл.):

1) **Na^+/Cl^--зависимые** (А)
2) и **Na^+/K^+-зависимые** (Б)



Транспортеры медиаторов плазматических мембран

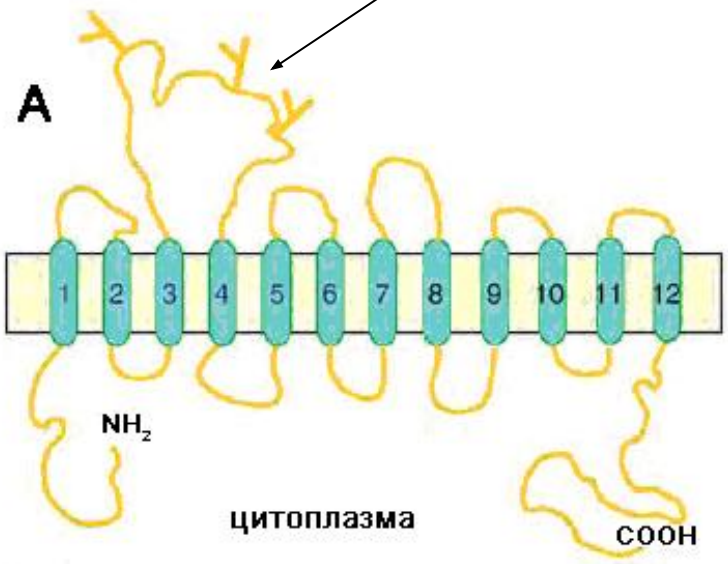
Международная номенклатура транспортера	Субстрат (медиатор)	Сопряженный механизм (ионный градиент)	Размер (число аминокислот)
GLAST	L-Glutamate	Na+, H+ and K+	543
GLT1	L-Glutamate	Na+, H+ and K+	572
EAAC1	L-Glutamate	Na+, H+ and K+	523
EAAT4	L-Glutamate	Na+, H+ and K+	561
EAAT5	L-Glutamate	Na+, H+ and K+	559
GAT1	GABA	Na+ and Cl−	598
GAT2	GABA	Na+ and Cl−	614
GAT3	GABA	Na+ and Cl−	602
GAT4	GABA	Na+ and Cl−	627
GLYT1a	Glycine	Na+ and Cl−	633
GLYT1b	Glycine	Na+ and Cl−	637
GLYT2	Glycine	Na+ and Cl−	798
DAT	Dopamine	Na+ and Cl−	619
SERT	Serotonin	Na+ and Cl−	630
NET	Norepinephrine	Na+ and Cl−	617

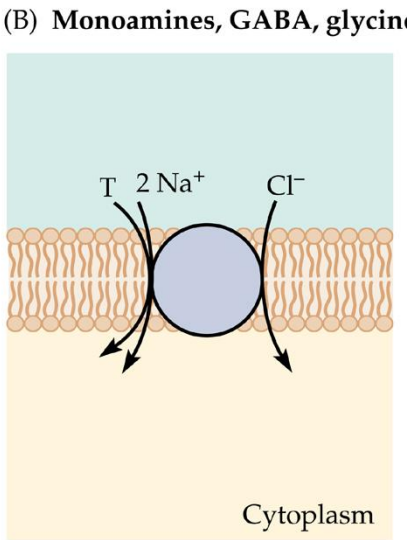
Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

A - схематичная топология **Na^+/Cl^--зависимых транспортеров**, отражающая 12 трансмембранных доменов, соединяющих внутри- и внеклеточные петли. У-образные фрагменты на большой внеклеточной петле между 3-м и 4-м доменами предположительно представляют собой N-гликозилированные остатки аспарагиновой кислоты.

(по Masson J, Sagne C, Hamon M, Mestikawy SEL (1999) Neurotransmitter transporters in the central nervous system. Pharmacol Rev 51:439–464).



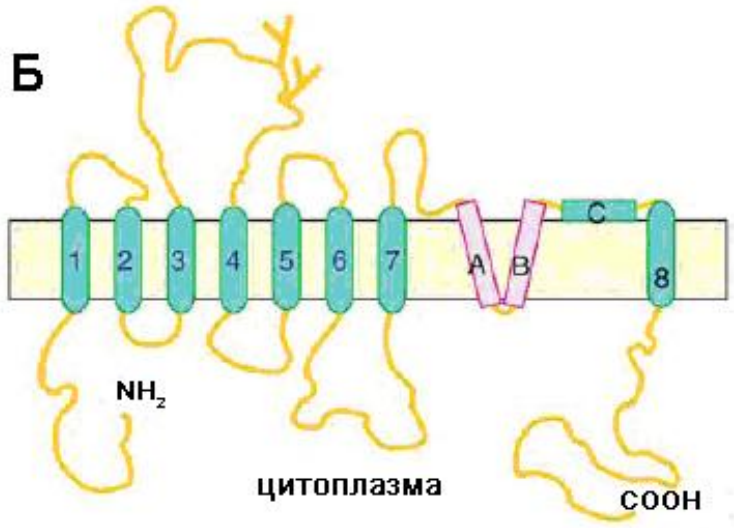


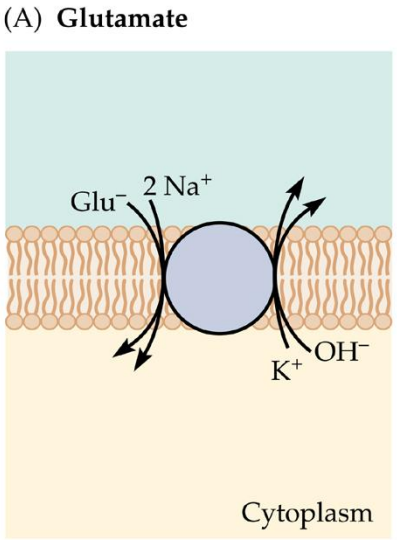
Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

Б - схематичная топология **Na^+/K^+-зависимых глутаматных транспортеров**, отражающая 8 трансмембранных доменов, входящую извне шпилькообразную петлю (A и B), которая напоминает ионпроводящую пору ионного канала, фрагмент C соединяет домен 8 с остальной частью молекулы

(по Masson J, Sagne C, Hamon M, Mestikawy SEL (1999) Neurotransmitter transporters in the central nervous system. Pharmacol Rev 51:439–464).





Транспорт медиаторов из цитоплазмы в везикулы

- Транспорт медиаторов в секреторные везикулы обеспечивается специальными системами вторичного активного транспорта – везикулярными транспортерами медиаторов, которые представляют собой белки, состоящие из 500-600 аминокислот.
- Транспорт большинства медиаторов из цитоплазмы внутрь везикул осуществляется с использованием градиента протонов, направленного из везикулы в цитоплазму.
- В свою очередь электрохимический градиент протонов формируется в результате работы **H^+-АТФазы V-типа**.
- Этот градиент включает **химический** (концентрационный градиент) и **электрический** (разность потенциалов) компоненты.
- В зависимости от транспортера **оба** или только **один** из этих компонентов могут использоваться в качестве источника энергии для транспорта медиатора.

Везикулярные транспортеры медиаторов

Везикулярные транспортеры медиаторов включают три семейства (см. табл.), переносящие

1) ГАМК и глицин,
2) амины, включая ацетилхолин
3) и L-глутамат.

Везикулярные транспортеры медиаторов

Номенклатура семейства	Номенклатура транспортера	Субстрат	Сопряженный механизм	Распределение в тканях	Размер (число аминокислот)
SLC32	VGAT	GABA, glycine	H+antiport	Central nervous system, pituitary, pineal gland, testis	525
SLC18	VMAT1	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H+antiport	Adrenal gland, sympathetic ganglia, skin, carotid body	525
	VMAT2	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H+antiport	Brain, adrenal gland, sympathetic ganglia, carotid body, intestine, stomach, endocrine pancreas, basophils, mast cells, platelets	514
	VAChT	Acetylcholine	H+antiport	Brain, intestine, peripheral nervous system	532

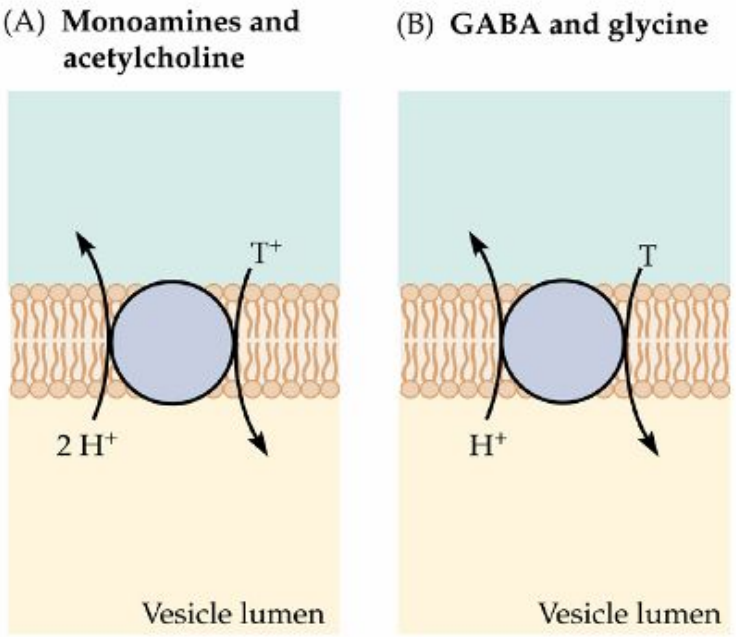
Везикулярные транспортеры медиаторов

Номенклатура семейства	Номенклатура транспортера	Субстрат	Сопряженный механизм	Распределение в тканях	Размер (число аминокислот)
SLC17	VGLUT1	L-Glutamate	Δψ driven uniport	Brain, pineal gland, islets of Langerhans, bone	582
	VGLUT2	L-Glutamate	Δψ driven uniport	Brain, pineal gland, islets of Lagerhans, testis	560
	VGLUT3	L-Glutamate	Δψ driven uniport	Brain, liver, kidney	589

Везикулярные транспортеры медиаторов

Транспортеры (B) **ГАМК** и **глицина** и (A) **аминов** (включая **ацетилхолин**) являются обменниками и переносят медиаторы внутрь везикул за счет энергии электрохимического градиента протонов, выходящих в цитоплазму, включающей

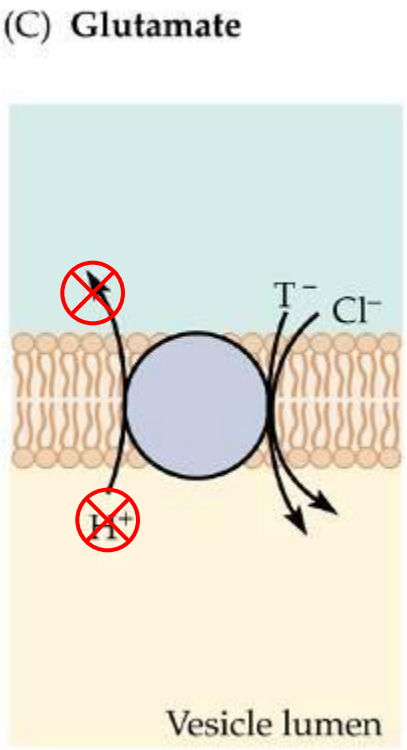
1) энергию концентрационного градиента протонов (***H⁺antiport***), и
2) энергию мембранного потенциала (между содержимым везикулы и цитоплазмой) (***Δψ driven uniport***).



Везикулярные транспортеры медиаторов

В отличие от транспортеров двух первых семейств переносчики третьего семейства используют только электрический компонент протонного градиента (***Δψ driven uniport***) - разность потенциалов между содержимым везикулы и цитоплазмой. При этом не отмечается сопряженный выход протонов из везикулы в цитоплазму.

!!! На рис. ошибочно указан выход протонов



Транспортеры могут выступать в роли ионных каналов, а ионные каналы могут выступать в роли транспортеров

!? Часть молекулы транспортера может функционировать как ионный канал и, наоборот, ионный канал может проявлять активность транспортера

Transporters as Channels (2007) Louis J DeFelice and Tapasree Goswami. Annu Rev Physiol 69:87–112.

Транспортеры могут выступать в роли ионных каналов

Обнаружен токсин, который предположительно блокирует Na^+/K^+-АТФазу, превращая ее в ионный канал, проводящий ионы Na^+ и K^+.

Некоторые транспортеры демонстрируют канал-подобные свойства, обуславливающие короткие электрические события, сопоставимые с дискретными событиями в обычных ионных каналах.

Например, показано, что молекула глутаматных транспортеров группы EAAC включает ионный канал, проницаемый для Cl^-,

а дофаминовый транспортер демонстрирует ионные токи, также специфичные для Cl^-.

а ионные каналы могут выступать в роли транспортеров

С другой стороны, известны примеры, когда белки, представляющие собой ионные каналы, демонстрируют свойства транспортеров.

Например, один из группы Cl^--каналов может выполнять функцию Cl^-/H^+-обменника.