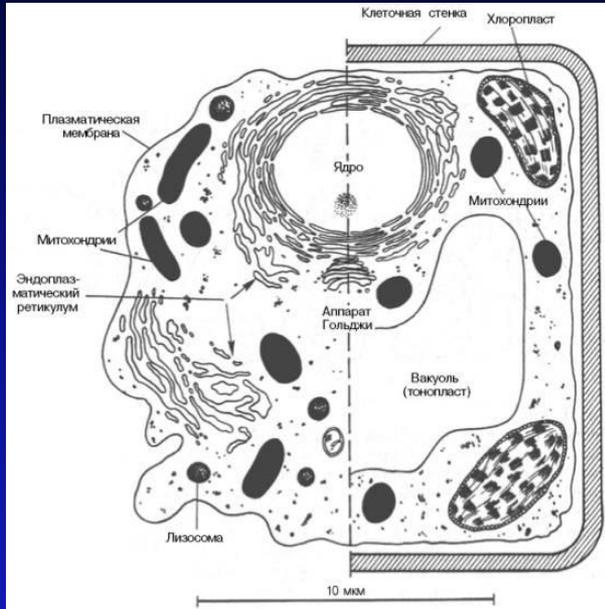


Биологические мембраны и перенос вещества

Лекция 3

1. Структура и физико-химические свойства биологических и искусственных мембран.
2. Ленгмюровские монослои..
3. Явления переноса, активный и пассивный транспорт ионов, сопряженный транспорт веществ
4. Простая диффузия неэлектролитов. Законы Фика. Проницаемость и коэффициент диффузии. Нестационарная диффузия. Диффузия через поры.
5. Насосы, каналы, переносчики. Участие АТФаз в активном транспорте ионов через биологические мембраны.

К клеточным мембранам относятся плазмолемма, кариолемма, мембраны митохондрий, ЭПС, аппарата Гольджи, лизосом, пероксисом.
<http://www.ximuk.ru/biologhim/136.html>

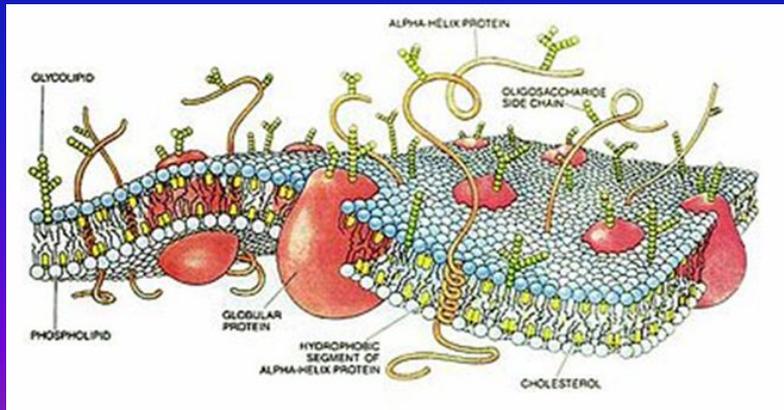


Биологическая мембрана состоит из бислоя липидов в комплексе с белками (гликопротеины: белки + углеводы, липопротеины: жиры + белки).

Среди липидов можно выделить глицерофосфолипиды, сфингофосфолипиды и стероиды (холестерол).

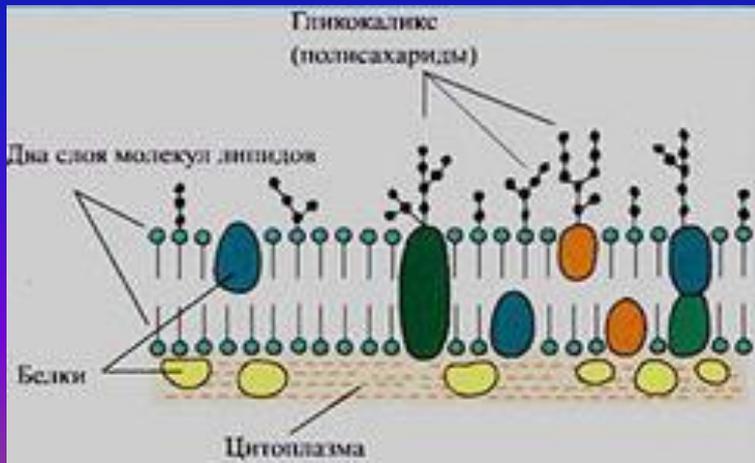
Периферические белки расположены только по внутренней или наружной поверхности мембраны, интегральные белки встроены в мембрану, погружены в нее, способны менять свое положение в зависимости от состояния клетки.

Схема строения элементарной мембраны жидкостно-мозаичная (модель Сингера и Николсона): жиры составляют жидкокристаллический каркас, а белки мозаично встроены в него и могут менять свое положение.



Плазматическая мембрана

осуществляет функции, связанные с регулируемым избирательным трансмембранным транспортом веществ, и исполняет роль первичного клеточного анализатора. В этом отношении плазмалемму можно считать клеточным органоидом, входящим в вакуолярную систему клетки. Как и другие мембраны этой системы (мембраны лизосом, эндосом, аппарата Гольджи и др.), она возникает и обновляется за счет синтетической активности эндоплазматического ретикулума и имеет сходную композицию.



Функции:

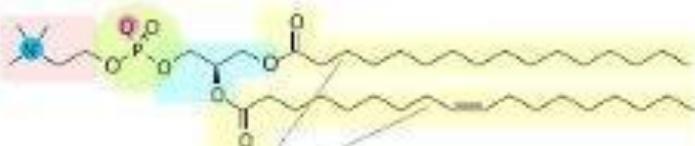
- 1) барьерная ;
- 2) структурная (придание определенной формы клеткам);
- 3) защитная (за счет избирательной проницаемости, рецепции и антигенности мембраны);
- 4) регуляторная (регуляция избирательной проницаемости для различных веществ);
- 5) адгезивная функция;
- 6) рецепторная (за счет работы периферических белков мембраны);
- 7) электрогенная (изменение электрического потенциала поверхности клетки за счет перераспределения ионов калия и натрия);
- 8) антигенная: связана с гликопротеинами и полисахаридами мембраны. На поверхности каждой клетки имеются белковые молекулы, которые специфичны только для данного вида клеток. С их помощью иммунная система способна различать свои и чужие клетки.

Фосфолипиды

Глицерофосфолипиды

Фосфатидилхолин

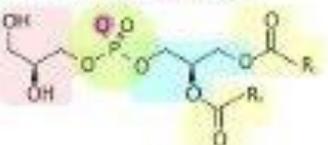
Холин Фосфат Глицерол Жирные кислоты



$C_{16:0} + C_{18:1} = \text{пФЖ}$ $C_{16:0} \times 2 = \text{дФЖ}$

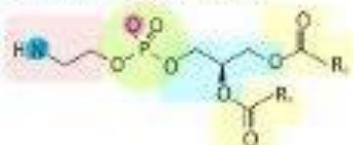
Фосфатидилглицерол

Глицерол Фосфат Глицерол



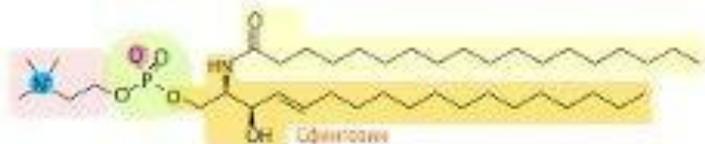
Фосфатидилэтаноламин

Этаноламин Фосфат Глицерол



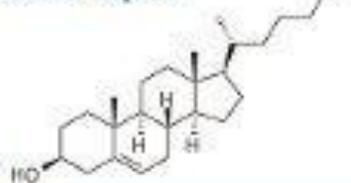
Сфингофосфолипиды

Сфингомиелин



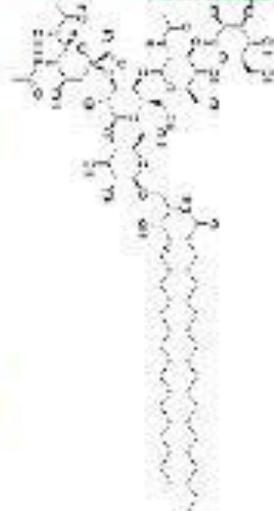
Стероиды

Холестерол

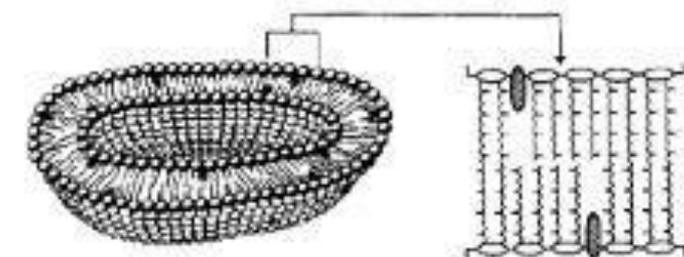
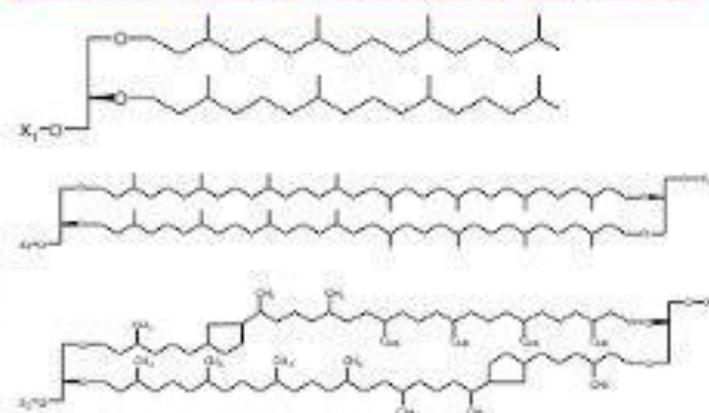


Гликолипиды

Ганглиозид GM1

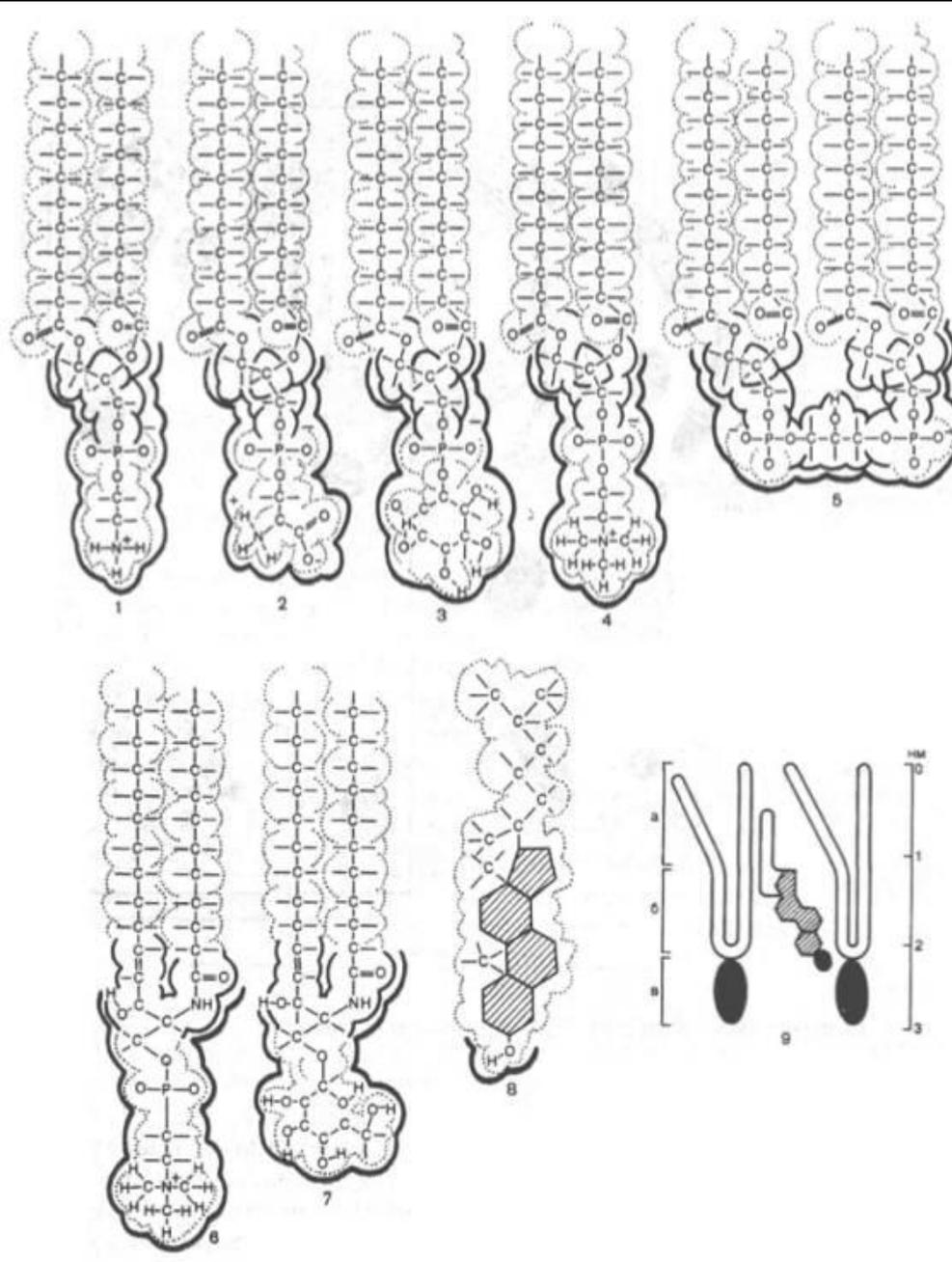


Липиды мембран архей



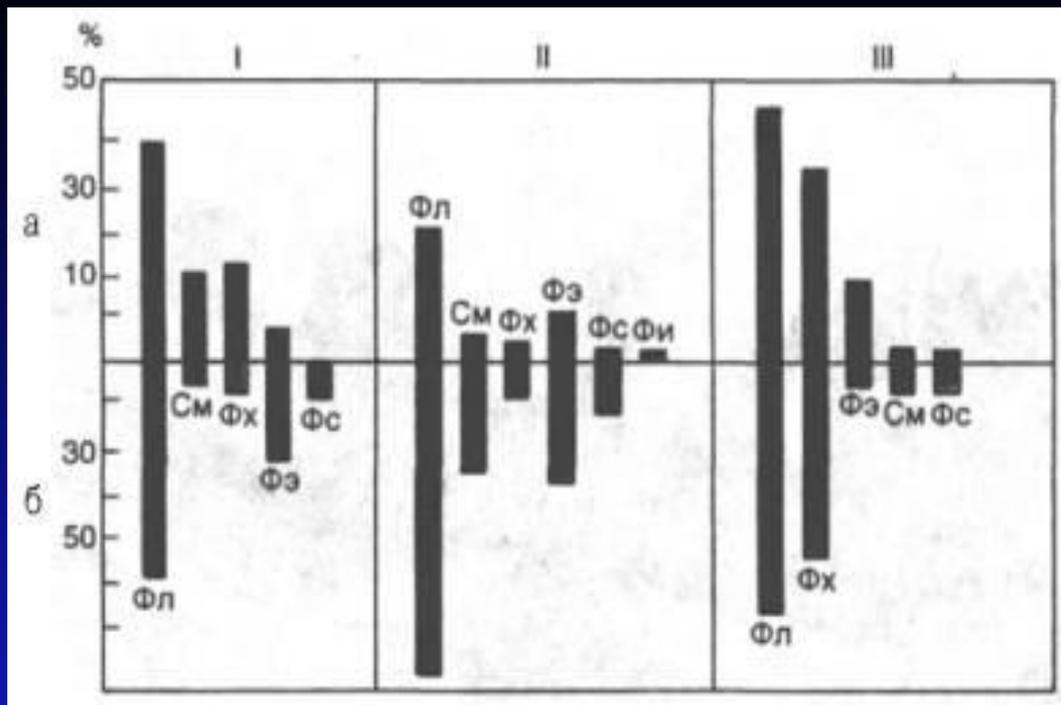
Структура липидов модульная — они состоят из головок, хвостов и промежуточных сегментов в разных сочетаниях, что обеспечивает их многообразие. Фосфолипиды, основные компоненты клеточных мембран, состоят из полярной головки (*розовая*), которая через остаток фосфорной кислоты (*зеленый*) соединена с многоатомным спиртом (*голубой*), к которому присоединены длинные остатки жирных кислот (*желто-оранжевые*). Хвосты неполярные и нерастворимы в воде, головки же — наоборот, полярные и в воде растворимые. Такая структура липидов обеспечивает слоистое строение мембраны.

Изображение из статьи А. Чугунова Липидный фундамент жизни на сайте biomolecula.ru



Химические формулы распространенных липидов биологических мембран:

- 1 -фосфатидилэтаноламин;
 - 2 - фосфатидилсерин;
 - 3 - фосфатидинозит;
 - 4 - фосфатидилхолин;
 - 5 - кардиолипин;
 - 6 -сфингомиелин;
 - 7 -цереброзил ;
 - 8 -холестерин;
 - 9 – расположение молекулы холестерина между двумя молекулами фосфолипидов:
- а - наименее упорядоченная область бислоя,
б - область, упорядочиваемая холестерином,
в - область полярных «голов».

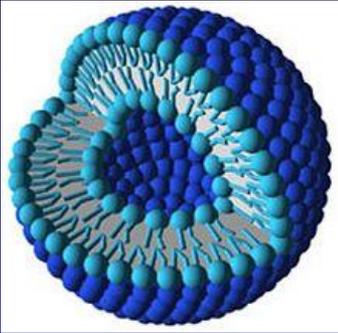


Распределение липидов между наружной (а) и внутренней (б) сторонами бислоя в мембранах эритроцитов (I), вируса гриппа (II) и саркоплазматического ретикулума кролика (III).

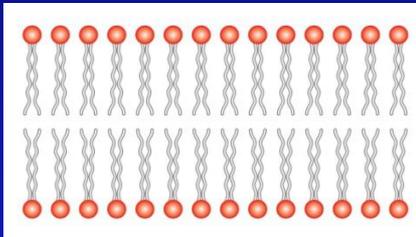
Фл - общие фосфолипиды;
 Фх - фосфатидилхолин;
 Фэ -фосфатидилэтаноламин;
 Фс - фосфатидилсерин;
 См - сфингомиелин;
 Фи -фосфтидилинозит.

Фазовое состояние мембранных липидов. Два основных ламеллярных состояния мембранных липидов в клетках: кристаллическое и жидкокристаллическое – различаются плотностью упаковки и подвижностью находящихся в бислое белковых молекул. При более плотной упаковке ацильные цепи липидов расположены под углом, близким к 90° , и все С—С-связи находятся в транс-конформации (максимально вытянуты). Фазовый переход приводит к увеличению подвижности ацильных цепей в бислое, увеличению угла их наклона и уменьшению плотности упаковки. Латеральная подвижность мембранных белков после фазового перехода возрастает, увеличивается вероятность образования их ассоциатов.

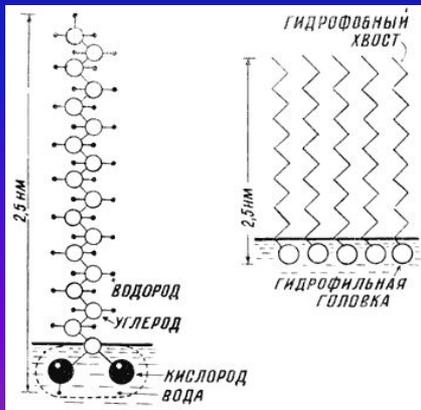
Структуры искусственных мембран



Липосомы — самопроизвольно образующиеся в смесях фосфолипида с водой замкнутые пузырьки. Диаметр липосом варьирует от 20 нм (моноламеллярные везикулы, стенка состоит из одного бислоя) до 10-50 мкм (мультиламеллярные везикулы, стенка состоит из десятков или сотен бислоев).

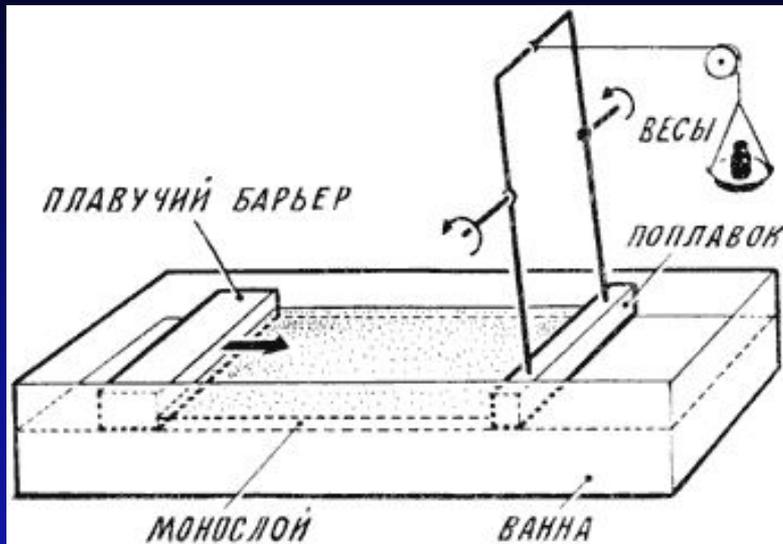


Бислой — термодинамически выгодная форма ассоциации полярных липидов в водной среде. Липидный бислой, состоящий из фосфолипидов, является основой биологических мембран. Его толщина составляет обычно 4-5 нм

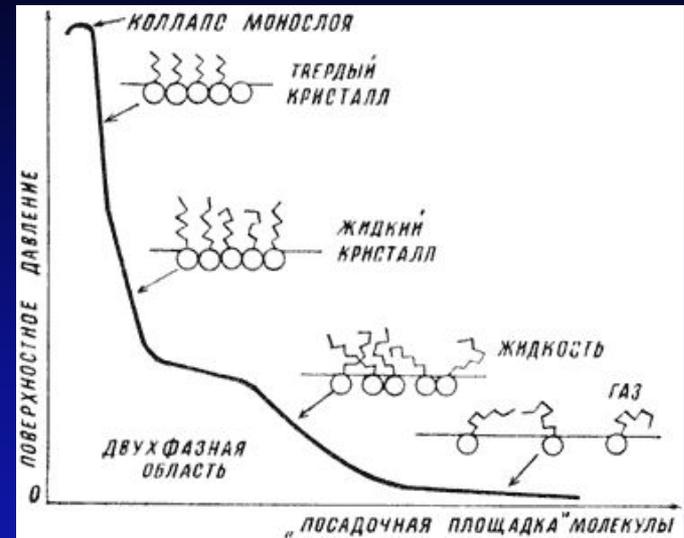


Молекулярные слои Ленгмюра-Блоджетт - это нерастворимые мономолекулярные слои амфифильных молекул на поверхности водной субфазы, а также одно- и многослойные пленки амфифильных молекул на твердой подложке. Эти пленки получают путем неоднократного переноса с поверхности воды на твердые подложки одного мономолекулярного слоя за другим посредством повторяющегося прохождения подложки сквозь покрытую монослоем поверхность жидкости.

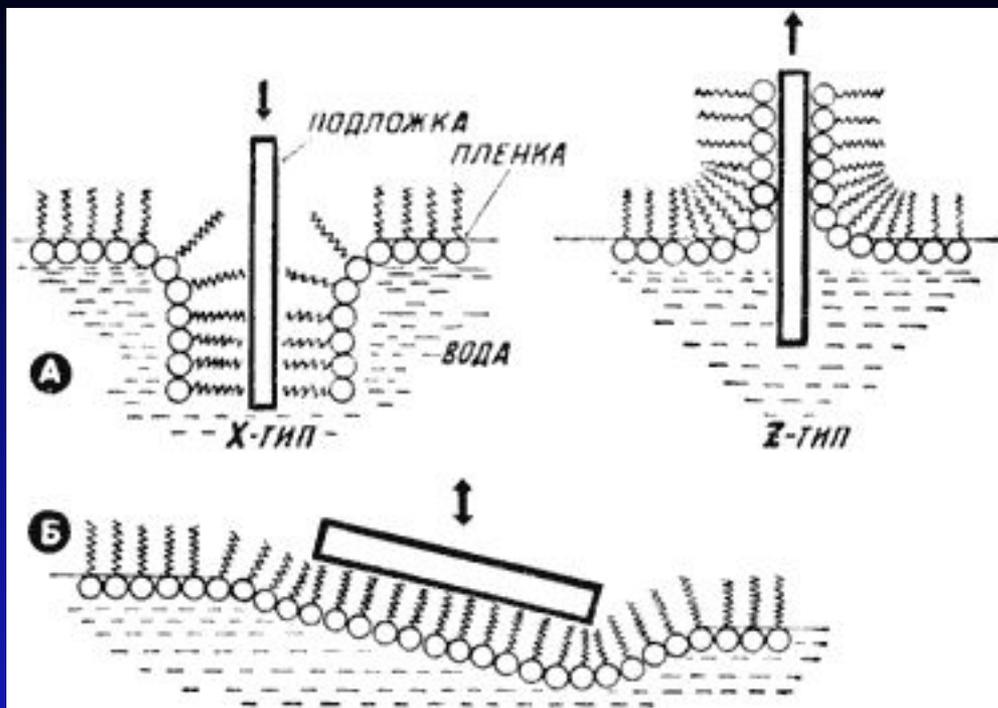
Ленгмюровские монослои



Ванна и весы Ленгмюра для измерения поверхностного давления монослоя. Под действием внешней силы плавучий барьер движется вправо и сжимает монослой. Давление на поплавок уравнивается грузом



При увеличении давления на монослой со стороны плавучего барьера можно наблюдать последовательность различных двумерных фаз. Площадь поверхности, приходящаяся на одну молекулу (посадочная площадка), зависит от того, в какой фазе находится монослой

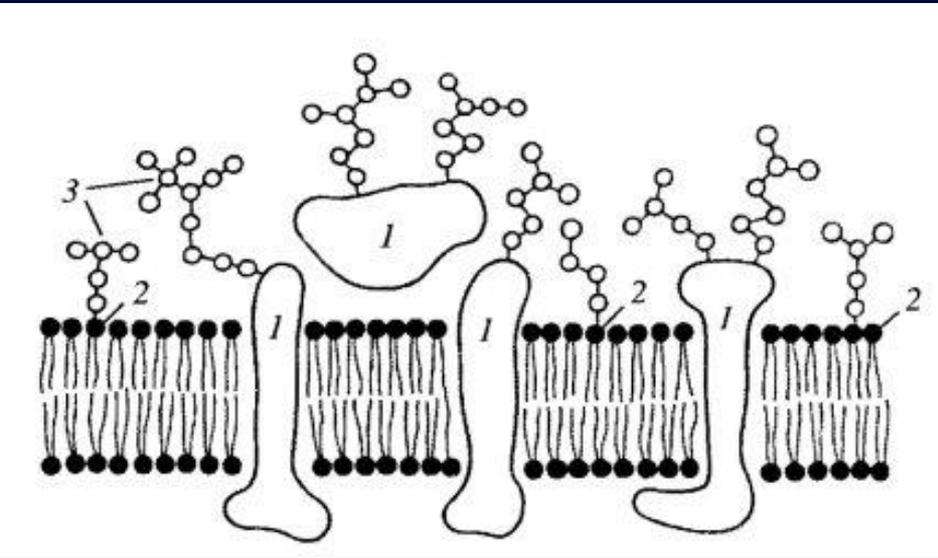


Мультислои Y-типа составлены из двойных слоев, или, как говорят, бислоев (кстати сказать, они построены аналогично биологическим мембранам), и оказываются центрально-симметричными. Этот метод позволяет изменять состав и структуру монослоя, в него могут быть встроены различные молекулы и молекулярные комплексы, в том числе и биологически активные.

Монослои амфифильных молекул можно перенести с поверхности воды на твердую подложку методом Ленгмюра – Блоджетт (вверху) или методом Шеффера (внизу).

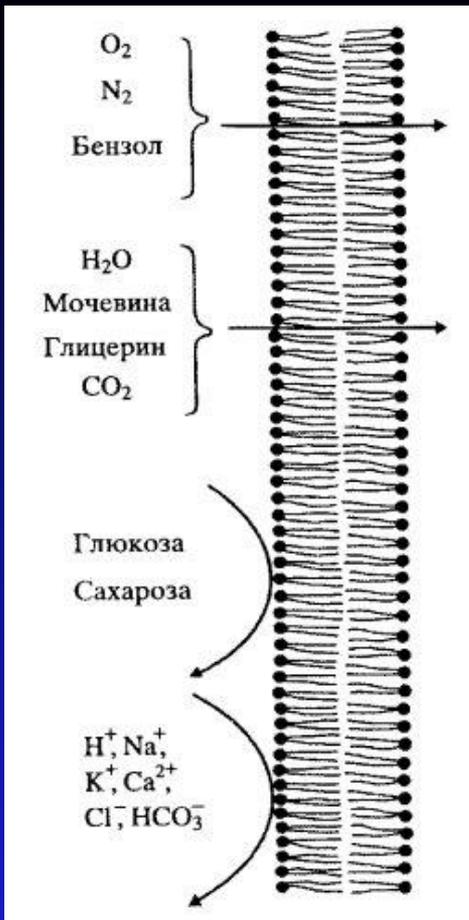
Первый способ (А): монослой с помощью плавучего барьера превращают в жидкий кристалл – приводят в двумерное жидкокристаллическое состояние, а затем буквально протыкают его подложкой. При этом поверхность, на которую нужно перенести пленку, ориентируют вертикально. Он позволяет получать слои как X- (молекулярные хвосты направлены к подложке), так и Z-типа (обратное направление). Второй способ (Б) – это просто касание монослоя горизонтально ориентированной подложкой. Он дает монослой X-типа.

Барьерная роль плазмалеммы



Гликокаликс представляет собой внешний по отношению к липопротеидной мембране слой, содержащий полисахаридные цепочки (3) мембранных интегральных белков (1) — гликопротеидов. Такие углеводные гетерополимеры образуют ветвящиеся цепочки, между которыми могут располагаться выделенные из клетки гликолипиды и протеогликаны (2). Слой гликокаликса сильно обводнен, имеет желеподобную консистенцию, что значительно снижает в этой зоне скорость диффузии различных веществ.

Механическая устойчивость плазматической мембраны, кроме того, обеспечивается структурой примыкающего к ней со стороны цитоплазмы кортикального слоя и внутриклеточных фибриллярных структур. Кортикальный слой цитоплазмы, тесно контактирующий с липопротеидной наружной мембраной имеет толщину 0,1-0,5 мкм, здесь отсутствуют рибосомы и мембранные пузырьки, но в большом количестве встречаются фибриллярные элементы цитоплазмы — микрофиламенты и часто микротрубочки. Основным фибриллярным компонентом кортикального слоя является сеть актиновых микрофибрилл.



Барьерная роль плазмалеммы заключается также в ограничении свободной диффузии веществ. Модельные опыты на искусственных липидных мембранах показали, что они проницаемы для воды, газов, малых молекул жирорастворимых веществ, но совершенно не проницаемы для заряженных молекул (ионы) и для крупных незаряженных (сахара)

В отличие от искусственных бислойных липидных мембран естественные мембраны, в первую очередь плазматическая мембрана, способны транспортировать ионы и многие мономеры, такие как сахара, аминокислоты и др.

Ион	Внутриклеточная концентрация, мМ	Внеклеточная концентрация, мМ	Ион	Внутриклеточная концентрация, мМ	Внеклеточная концентрация, мМ
Na ⁺	5–15	145	Ca ²⁺	1–2	2,5–5
K ⁺	140	5	Cl ⁻	4	110
Mg ²⁺	30	1–2			

Примечание. Концентрация Ca²⁺ в свободном состоянии в цитозоле эукариотических клеток составляет 10⁻⁷ М, а снаружи – 10⁻³ М.

Простая диффузия неэлектролитов. Законы Фика.

Вещества, перемещающиеся через мембрану путём свободной диффузии, не образуют каких-либо химических связей с другими веществами. Для количественной характеристики диффузии используют физическую величину - *поток вещества (J)* : $J = dn/dt \cdot 1/S$ (1), где n - количество вещества в молях, S - площадь поверхности, перпендикулярная потоку вещества.

Первый закон Фика . устанавливает для стационарной диффузии пропорциональность плотности потока j диффундирующих частиц градиенту их концентрации c :

$$J = -D \cdot dC/dx \quad (2).$$

D - коэффициент диффузии, который зависит от природы вещества и температуры:

$$D = U \cdot R \cdot T \quad (3),$$
 где U - подвижность частиц вещества, R - универсальная газовая постоянная, T - абсолютная температура.

Если диффузия осуществляется через мембрану, уравнение (2) может быть представлено как

$$J = -P \cdot (C_1 - C_2) \quad (4),$$

где C_1 и C_2 - концентрация раствора внутри и вне клетки,

P - коэффициент проницаемости мембраны для данного вещества.

Коэффициент проницаемости определяется коэффициентом диффузии D вещества, толщиной мембраны d и коэффициентом распределения вещества K .

$$P = Dk/d \quad (5)$$

Второй закон Фика описывает нестационарный случай, он следует из первого закона Фика при учёте изменения концентрации диффундирующих частиц со временем t :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c}{\partial x} \right).$$

При $D = \text{const}$ второй закон Фика представляет собой уравнение диффузии:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c.$$

Так как концентрационный градиент клеточной мембраны определить трудно, то для описания диффузии веществ через клеточные мембраны пользуются более простым уравнением, предложенным Коллендером и Берлундом:

$$\frac{dm}{dt} = -P \cdot S \cdot (C_1 - C_2),$$

где C_1 и C_2 – концентрации вещества по разные стороны мембраны, P – коэффициент проницаемости, аналогичный коэффициенту диффузии. В отличие от коэффициента диффузии, который зависит только от природы вещества и температуры, « P » зависит еще и от свойств мембраны и от ее функционального состояния.

Электродиффузия - диффузия электрически заряженных частиц (ионов) под влиянием концентрационных и электрических градиентов. Липидный бислой мембраны непроницаем для ионов, они могут проникнуть через нее только посредством специальных структур - ионных каналов, которые образованы интегральными белками

Движущей силой электродиффузии является не только разность концентрации ионов внутри и вне клетки, но также разность электрических потенциалов, создаваемых этими ионами по обе стороны мембраны. Следовательно, диффузионный поток ионов определяется градиентом электрохимического потенциала (электрохимический

$$\bar{\mu} = \mu_0 + R \cdot T \cdot \ln C + z \cdot F \cdot \varphi \quad (6)$$

μ_0 - стандартный химический потенциал, который зависит от химической природы вещества и температуры, R - универсальная газовая постоянная, T - температура, C - концентрация иона, z - электрический заряд, F - константа Фарадея, φ - электрический потенциал

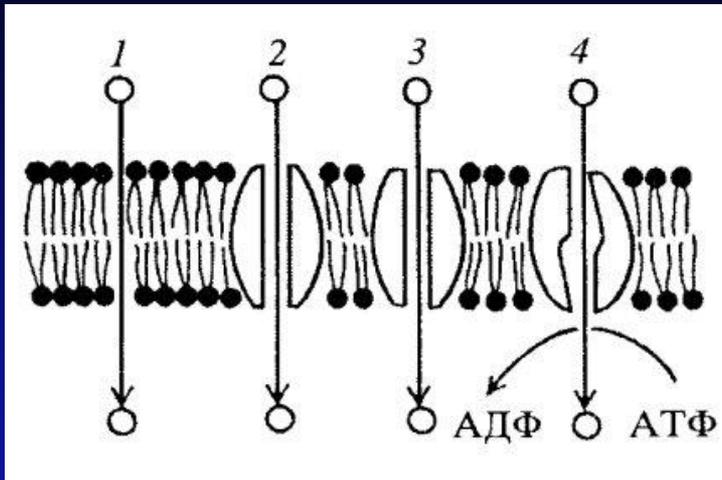
Зависимость потока ионов J от электрохимического градиента определяется уравнениями Теорелла (7) и Нернста-Планка (8)

$$J = -U \cdot C \cdot \frac{d\bar{\mu}}{dx} \quad (7)$$

$$J = -U \cdot R \cdot T \cdot \frac{dC}{dx} - U \cdot C \cdot F \cdot z \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad (8)$$

где U - подвижность ионов, C - концентрация ионов, $d\bar{\mu}/dx$ - электрохимический градиент

Явления переноса, активный и пассивный транспорт ионов



Типы пассивного переноса веществ :

1. Простая диффузия по градиенту концентрации;
2. Облегченная диффузия:
 - а) диффузия переносчика вместе с в-вом мембране (подвижный переносчик);
 - б) эстафетная передача вещества от одной молекулы переносчика к другой, молекулы переносчика образуют временную цепочку поперек мембраны.
3. Перенос через поры (каналы) за счет диффузии по градиенту концентрации

Пассивный транспорт осуществляется в результате диффузии веществ в сторону меньшего электрохимического потенциала. Наиболее известный пример пассивного транспорта - это движение ионов и калия через цитоплазматическую мембрану нервных волокон при распространении потенциала действия.

Активный транспорт - происходит при затрате энергии за счет гидролиза АТФ или переноса протона по дыхательной цепи митохондрий. Примером активного транспорта могут служить: перенос ионов водорода через мембраны митохондрий из матрикса – наружу, перенос ионов калия и натрия; перенос кальция через саркоплазматического ретикулума скелетных и сердечных мышц внутрь везикул ретикулума: все эти процессы происходят за счет энергии гидролиза АТФ и осуществляются транспортными АТФазами.

Диффузия через каналы (поры).

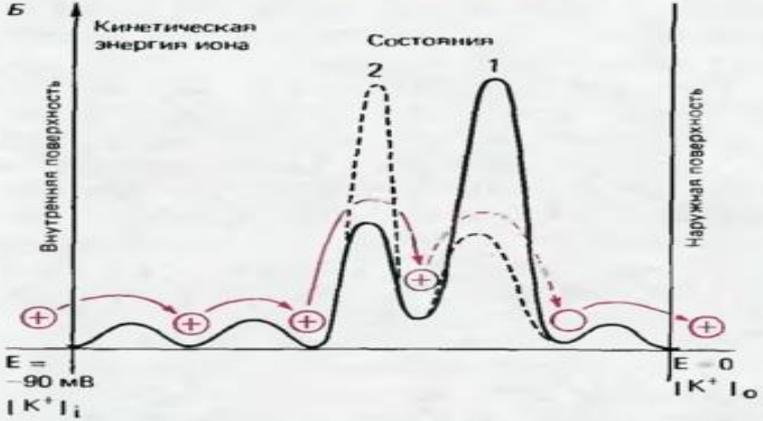
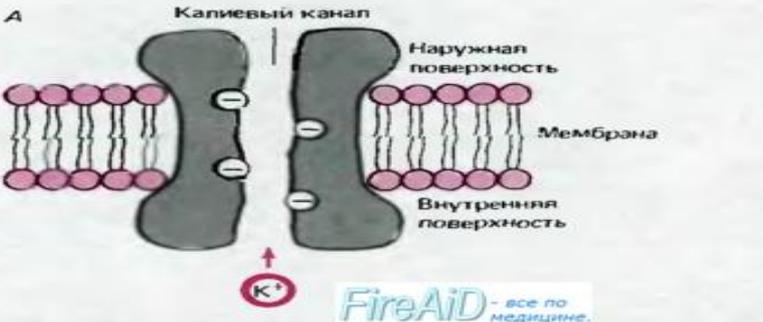
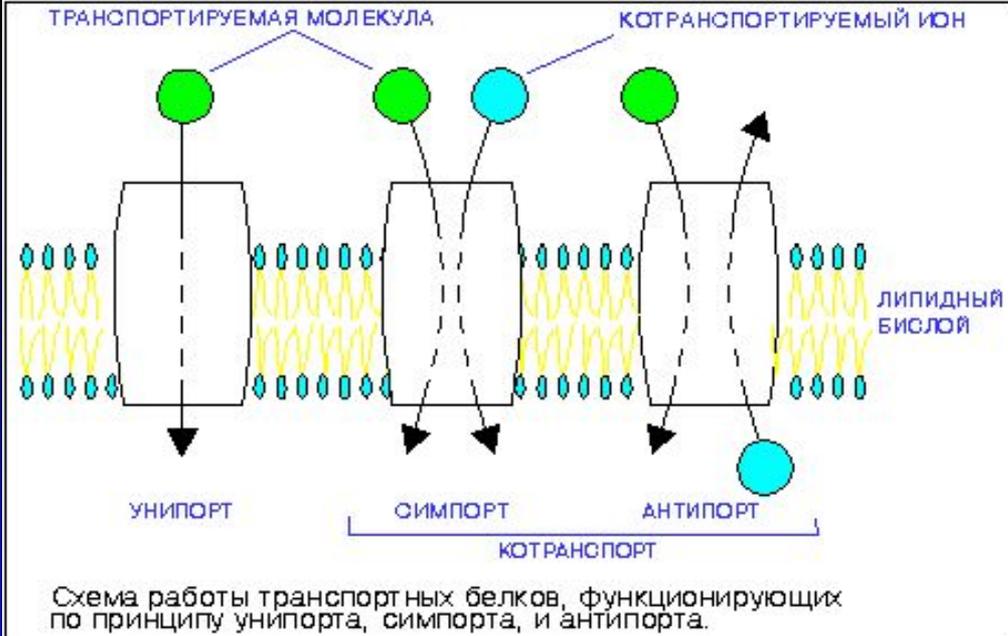


Рис. 1.5. А. Схема белка, образующего калиевый канал, погруженный в липидный бислой плазматической мембраны. Четыре отрицательных заряда зафиксированы на «стенке» канала. Б. Схематический энергетический профиль канала, показанного на рис. А. По оси ординат отложены величины кинетической энергии, необходимые для прохождения канала; по оси абсцисс – расстояния между внутренней и наружной поверхностями мембраны. Энергетические минимумы соответствуют местам связывания положительно заряженных ионов с фиксированными отрицательными зарядами в стенке канала. Энергетические максимумы соответствуют препятствиям диффузии в канале. Предполагается, что конформация канального белка спонтанно осциллирует; варианты энергетических профилей изображены сплошными и штриховыми линиями; эти осцилляции в значительной степени облегчают связывание ионов при преодолении энергетического барьера (по [14] с изменениями)

Клеточные мембраны проницаемы не только для веществ, диффундирующих через липидный слой, но и для многих ионов, сахаров, аминокислот и нуклеотидов. Эти вещества преодолевают мембрану через поры, образованные транспортными белками, погруженными в мембрану. Внутри таких белков имеется заполненный водой канал диаметром менее 1 нм, через который могут диффундировать малые молекулы. Они движутся по градиенту концентрации, и если они несут заряд, то их движение по каналам регулируется также мембранным потенциалом. Мембранные каналы обладают относительной избирательностью по отношению к типу молекул, которые могут через них проходить. Существуют, например, калиевые, натриевые и кальциевые каналы, каждый из которых непроницаем практически для любого иона, кроме специфического. Такая избирательность обусловлена зарядом или структурой мест связывания в стенках канала,

1. Селективностью называют способность ионных каналов избирательно пропускать ионы какого-либо одного типа. Способность ионного канала пропускать ионы разных типов называется относительной селективностью и характеризуется рядом селективности - соотношением проводимостей канала для разных ионов, взятых при одной концентрации.
2. Независимость работы отдельных каналов: прохождение тока через отдельный ионный канал не зависит от того, идет ли ток через другие каналы. Влияние каналов друг на друга происходит опосредованно: изменение проницаемостей каких-либо каналов (например натриевых) меняет мембранный потенциал, а уже он влияет на проводимости прочих ионных каналов.
3. Дискретный характер проводимости ионных каналов: проводимость ионного канала дискретна и он может находиться в двух состояниях: открытом или закрытом. Переходы между состояниями ионного канала происходят в случайные моменты времени и подчиняются статистическим закономерностям. Ионные каналы описываются характерными временами жизни открытого и закрытого состояний
4. Зависимость параметров канала от мембранного потенциала. При изменении мембранного потенциала меняется величина действующей на него силы, в результате эта часть ионного канала перемещается и меняет вероятность открывания или закрывания "ворот" - своеобразных заслонок, действующих по закону "все или ничего".



Мембранный транспорт веществ различается также по направлению их перемещения и количеству переносимых данным переносчиком веществ:

1. *унипорт*, когда переносится одно вещество в одном направлении (например, глюкоза в клетках печени или потенциал-зависимый натриевый канал, через который в клетку во время генерации потенциала действия перемещаются ионы натрия);
2. *симпорт*, когда два или более веществ переносятся в одном направлении (*Симпорт* осуществляет переносчик глюкозы, расположенный на внешней (обращенной в просвет кишечника) стороне клеток кишечного эпителия. Этот белок захватывает одновременно молекулу глюкозы и ион натрия и, меняя конформацию, переносит оба вещества внутрь клетки. При этом используется энергия электрохимического градиента, который, в свою очередь создается за счет гидролиза АТФ натрий-калиевой АТФ-азой);
3. *антипорт*, когда происходит обмен молекул в разных направлениях (например, HCO_3^- на Cl^- в мембране эритроцитов или АТФ на АДФ из матрикса митохондрий в межмембранное пространство, наиболее известна натрий-калиевая АТФаза).

Вторично- активным транспортом называют системы транспорта через мембраны, которые переносят вещества из области их низкой концентрации в область высокой концентрации без непосредственного расхода энергии метаболизма клетки.

Вторично-активный транспорт некоторого вещества возможен только тогда, когда он связан с транспортом другого вещества по его концентрационному или электрохимическому градиенту. Это симпортный или антипортный перенос веществ.

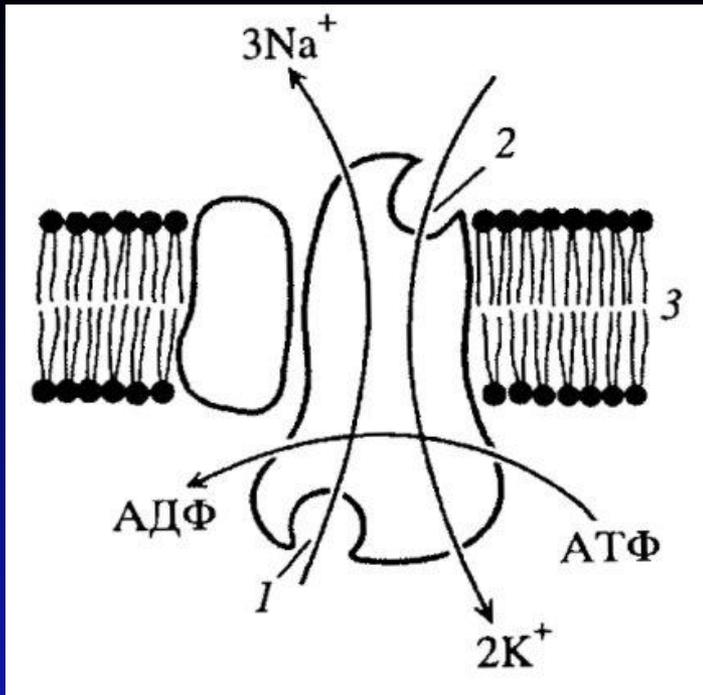
При симпорте двух веществ ион и другая молекула (или ион) связываются одновременно с одним переносчиком прежде, чем произойдёт конформационное изменение этого переносчика. Так как ведущее вещество перемещается по градиенту концентрации или электрохимическому градиенту, управляемое вещество вынуждено перемещаться против своего градиента.

Ионы натрия являются обычно ведущими веществами в системах симпорта клеток животного. Высокий электрохимический градиент этих ионов создаётся натрий-калиевым насосом. Управляемыми веществами являются сахара, аминокислоты и некоторые другие ионы. Например, при всасывании питательных веществ в желудочно-кишечном тракте глюкоза и аминокислоты поступают из клеток тонкой кишки в кровь путём симпорта с ионами натрия. После фильтрации первичной мочи в почечных гломерулах, эти вещества возвращаются в кровь той же системой вторично-активного транспорта.

Один из самых интересных способов активного транспорта состоит в том, чтобы каким-либо образом удержать внутри клетки молекулу, вошедшую туда в соответствии со своим электрохимическим потенциалом. Так, некоторые бактерии фосфорилируют молекулы отдельных сахаров, в результате чего они заряжаются и не могут выйти обратно. Такой вид транспорта называется векторным переносом групп.

Для сквозного транспорта веществ через клетку существуют особые механизмы. Например, в плазматической мембране клеток эпителия кишечника белки-переносчики распределены ассиметрично. Благодаря этому, обеспечивается транспорт глюкозы сквозь клетку во внеклеточную жидкость откуда она поступает в кровь. Глюкоза проникает в клетку с помощью симпорта, контранспортным ионом в котором является Na , и выходит из нее путем облегченной диффузии с помощью другого транспортного белка

В сочетании с активным транспортом ионов через плазматическую мембрану происходит транспорт различных сахаров, нуклеотидов и аминокислот. Так, активный транспорт глюкозы, которая симпортно (одновременно) проникает в клетку вместе с потоком пассивно транспортируемого иона Na^+ , будет зависеть от активности (K^+/Na^+) -насоса. . Строго говоря, необходимая энергия для работы этого механизма запасается в ходе работы $(\text{Na} + \text{K})$ -насоса в виде электрохимического потенциала ионов Na . Если этот насос заблокировать, то скоро разность концентрации Na^+ по обе стороны мембраны исчезнет, сократится при этом диффузия Na^+ внутрь клетки и одновременно прекратится поступление глюкозы в клетку.



Существует несколько систем активного транспорта ионов в плазматической мембране (ионные насосы):

- 1) Натрий-калиевый насос;
- 2) Кальциевый насос;
- 3) Водородный насос.

(K⁺/Na⁺)-насос:

- I* — участок связывания Na⁺;
- 2* — участок связывания K⁺;
- 3* — мембрана

Натрий-калиевый насос выполняет трансмембранный антипорт ионов натрия и калия. Молекула насоса существует в двух основных конформациях, взаимное преобразование которых стимулируется гидролизом АТФ. Эти конформации выполняют функции переносчиков натрия и калия. При расщеплении натрий-калиевой АТФазой молекулы АТФ, неорганический фосфат присоединяется к белку. В этом состоянии натрий-калиевая АТФаза связывает три иона натрия, которые выкачиваются из клетки. Затем молекула неорганического фосфата отсоединяется от насоса-белка, и насос превращается в переносчик калия. В результате два иона калия попадают в клетку. Таким образом, при расщеплении каждой молекулы АТФ, выкачиваются три иона натрия из клетки и два иона калия закачиваются в клетку. Один натрий-калиевый насос может перенести через мембрану 150- 600 ионов натрия в секунду.

Участие АТФаз в активном транспорте ионов через биологические мембраны.

Опытным путем было установлено, что:

а) Транспорт ионов Na и K тесно связан с гидролизом АТФ и не может осуществляться без него.

б) Na и АТФ должны находиться внутри клетки, а K снаружи.

в) Вещество убаин ингибирует АТФазу только находясь вне клетки, где он конкурирует за участок связывания с K. (Na + K)-АТФаза активно транспортирует Na наружу а K внутрь клетки.

г) При гидролизе одной молекулы АТФ три иона Na выкачиваются из клетки а два иона K попадают в нее.

1) Na связывается с белком.

2) Фосфорилирование АТФазы индуцирует конформационные изменения в белке, в результате чего:

3) Na переносится на внешнюю сторону мембраны и высвобождается.

4) Связывание K на внешней поверхности.

5) Дефосфорилирование.

6) Высвобождение K и возврат белка в первоначальное состояние.

По всей вероятности в (Na + K)-насосе есть три участка связывания Na и два участка связывания K. (Na + K)-насос можно заставить работать в противоположном направлении и синтезировать АТФ, если увеличить концентрации ионов с соответствующих сторон от мембраны.

Основные этапы работы $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATФаз}$ таковы:

1. Присоединение снаружи двух ионов K^+ и одной молекулы Mg^{2+} АТФ:



2. Гидролиз АТФ и образование энзим-фосфата:



3. Перенос центров связывания K^+ внутрь (транслокация 1):



4. Отсоединение обоих ионов калия и замена этих ионов тремя ионами Na , находящимися внутри клетки:



5. Гидролиз $\text{E} - \text{P}$:



6. Перенос центров связывания вместе с ионами Na^+ наружу (транслокация 2):



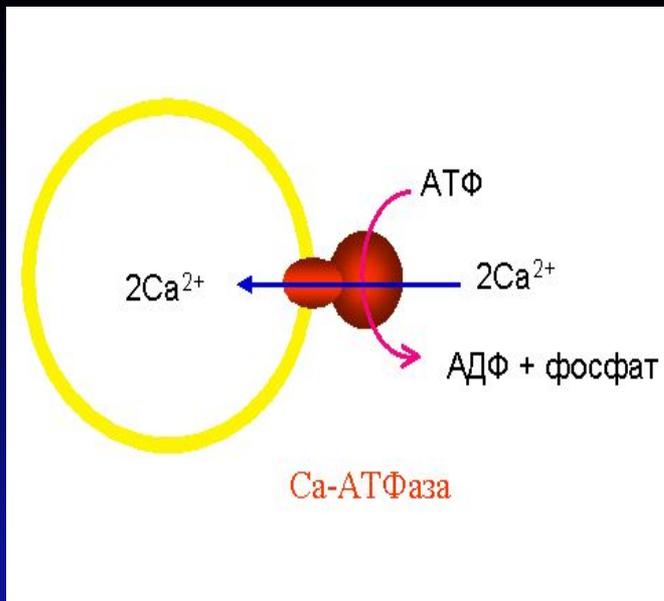
7. Отщепление 3 Na^+ и присоединение 2 K^+ снаружи:



Перенос 2 K^+ внутрь клетки и выброс 3 Na^+ наружу приводит в итоге к переносу одного положительного иона из цитоплазмы в окружающую среду, а это способствует появлению мембранного потенциала (со знаком "минус" внутри клетки).

Таким образом, $\text{Na}^+ \text{K}^+$ насос является электрогенным.

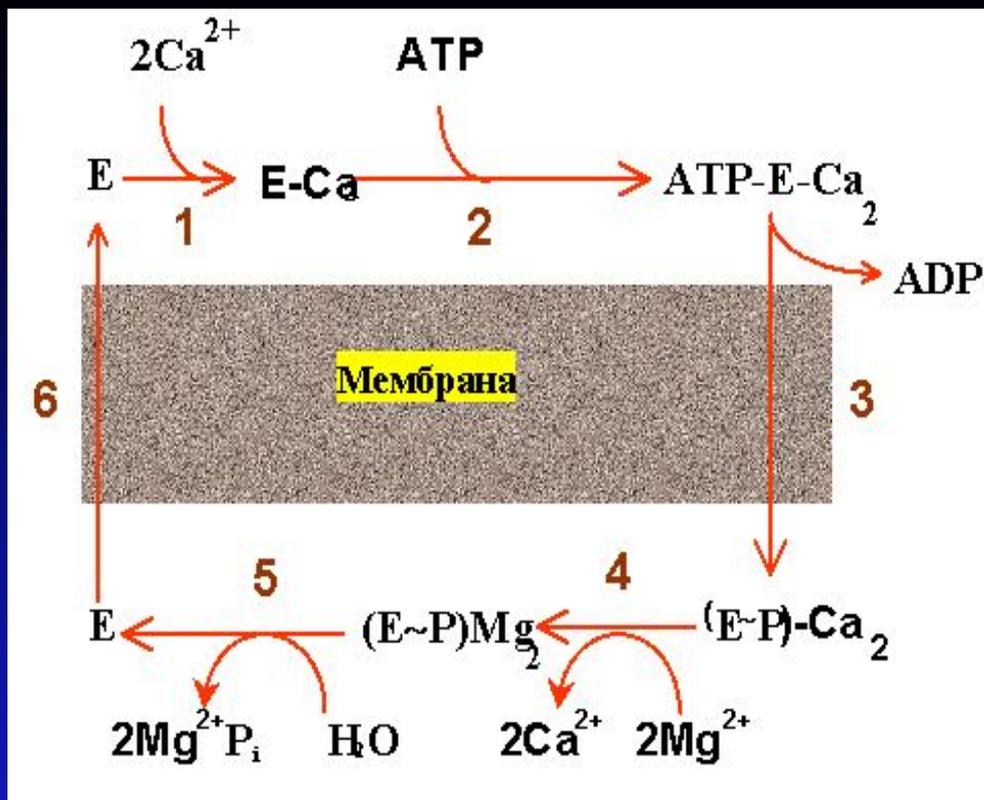
Кальциевый насос



Схематическое изображение везикулы саркоплазматического ретикулума со встроенной молекулой Ca-АТФазы. Во внешнюю среду (цитоплазму) обращена головка фермента, диаметром около 9 нм. С ней связываются АТФ и ионы кальция. Мембрану пронизывает канал, по которому, как полагают, кальций переносится при гидролизе АТФ.

Кальций-транспортная АТФаза - сравнительно небольшой белок, состоящий из одной полипептидной цепи. Он выполняет важнейшую функцию - активный перенос ионов кальция через мембраны клеток, поддерживая тем самым низкую концентрацию этих ионов в клетке (10^{-7} М) по сравнению с окружающей средой ($3 \cdot 10^{-3}$ М).

1. Связывание двух ионов кальция на поверхности АТФазы, обращенной в цитоплазму (или наружу в изолированных пузырьках СР).
2. Связывание на той же поверхности молекулы АТФ.
3. Фосфорилирование белка (образование фосфофермента) и высвобождение АДФ.
4. Высвобождение ионов кальция с поверхности АТФазы, обращенной внутрь пузырьков СР.
5. Гидролиз фосфатной связи и отщепление ионов магния.
6. Переход молекулы фермента в исходное состояние (центры связывания кальция оказываются опять на поверхности пузырьков СР).



Последовательность стадий работы Са-АТФазы :

- 1 - связывание ионов кальция,
- 2 - связывание АТФ,
- 3 - образование фермент-фосфата,
- 4 - отщепление ионов кальция,
- 5 - гидролиз фермент-фосфата,
- 6 - возвращение фермента в исходное состояние

Поддержание низкой концентрации ионов кальция в цитоплазме покоящихся клеток создает возможность регуляции клеточных функций путем увеличения проницаемости клеточных мембран для Ca^{2+} : входя в клетку, эти ионы активируют великое множество различных внутриклеточных процессов. Яркий пример - сокращение мышцы, которое начинается с выхода ионов кальция из саркоплазматического ретикулума и его взаимодействия с сократительными белками. В других клетках ионы кальция, входя пассивно через открывающиеся каналы, связанные с различными рецепторами, также играют роль посланников, дающих приказы включить ту или иную внутриклеточную систему. После исполнения приказа "посланников" надо выводить из цитоплазмы, что и делают Са-АТФазы, а также Na-Ca²⁺ обменники

Водородно-калиевая аденозинтрифосфатаза (H^+/K^+ -АТФаза)

В гастроэнтерологии и фармацевтике, ориентированной на органы пищеварения, вместо *водородно-калиевая аденозинтрифосфатаза* обычно используют синонимы: протонная помпа, протонный насос, протонный насос, или протонная помпа (особенно часто в словосочетаниях типа: «ингибитор протонного насоса», «ингибитор протонной помпы» и т. д.). H^+/K^+ -АТФаза составляет большинство из молекул белков апикальных (направленных в просвет желудка) мембран париетальных клеток, основная функция которых заключается в продуцировании соляной кислоты.

H^+/K^+ -АТФаза состоит из двух субъединиц, α (АТР4А) и β (АТР4В). Субъединица α представляет собой полипептидную цепь из 1033 аминокислотных остатков, десять раз пересекающую мембрану клетки, образующую, таким образом, пять петель, выходящих за пределы клетки. Оба конца α субъединицы, N и C, находятся внутри клетки. Большой участок полипептидной цепи (примерно 800 аминокислотных остатков), находящийся на цитоплазматической стороне от мембраны, образует домен, являющийся каталитическим центром гидролазы.

Субъединица β является гликопротеином, содержащим 291 аминокислотный остаток, а также углеводные цитоплазматические фрагменты (примерно треть массы β субъединицы) и не участвует непосредственно в процессе транспорта ионов.

Полипептидная цепь этой субъединицы пересекает мембрану только один раз. N конец этой субъединицы находится внутри париетальной клетки, в её цитоплазме, C конец и большая часть — с внешней стороны мембраны. Эта субъединица играет важную роль в доставке вновь синтезированной субъединицы к мембране.

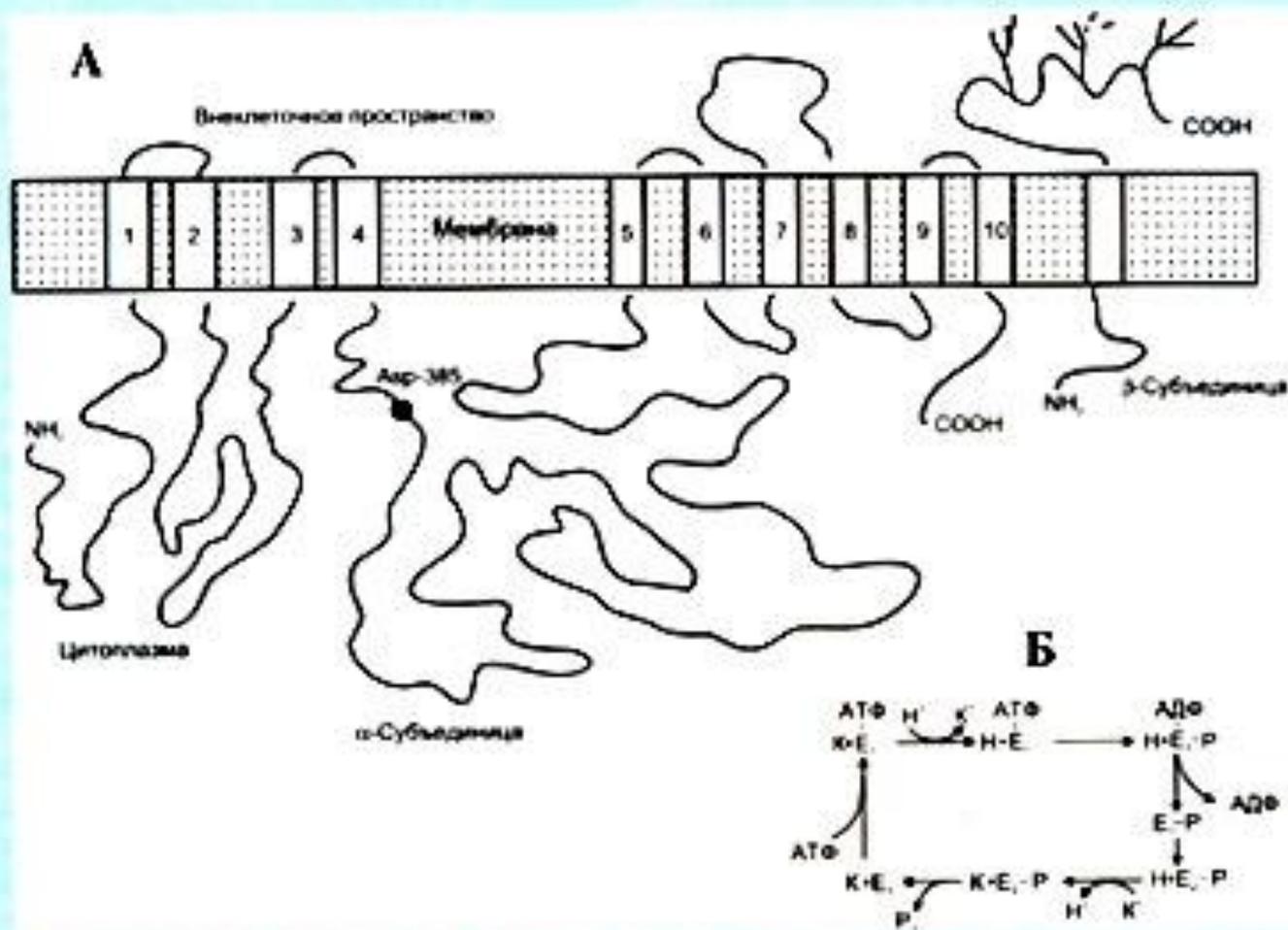
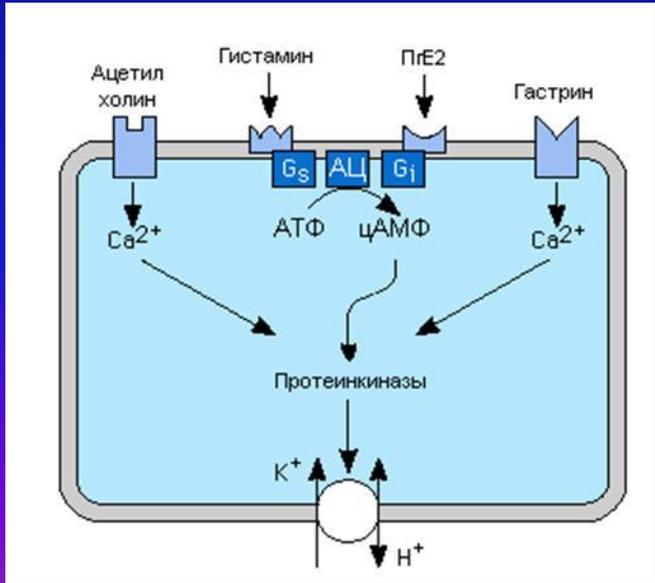
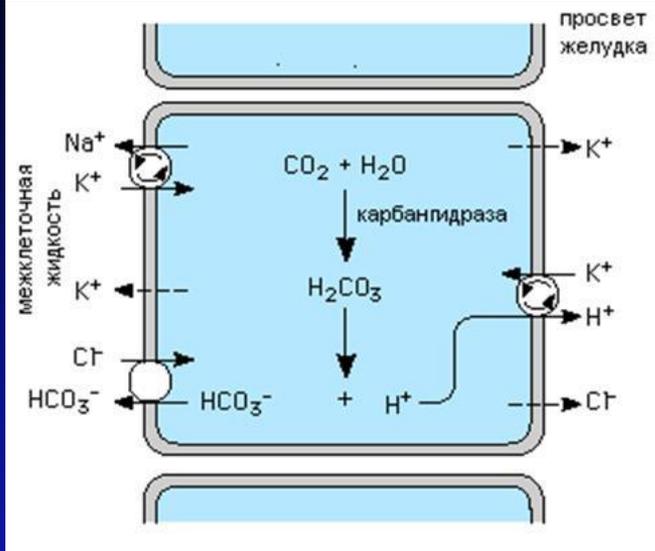


Схема укладки α - и β -субъединиц H^+ , K^+ -АТФазы в липидном бислое (А) и схема, иллюстрирующая каталитический цикл H^+ , K^+ -АТФазы (Б).

Механизм образования HCl.



Выход Cl^- из клеток обеспечивается градиентом электрохимического потенциала через каналы апикальной мембраны, которые активируются цАМФ; H^+ образуется путем диссоциации угольной кислоты, которая в свою очередь образуется в реакции гидратации CO_2 , катализируемой карбангидразой. Второй компонент реакции диссоциации угольной кислоты HCO_3^- вытесняется из клетки на базолатеральной мембране париетальных клеток взамен на другой анион, главным образом на ион Cl^- концентрация которого во внеклеточной жидкости самая высокая. Секреция соляной кислоты стимулируется гистамином через H_2 рецепторы, ацетилхолином через M_3 мускариновые рецепторы, и гастрином, вероятно частично через гастриновые рецепторы в мембранах париетальных клеток. H_2 рецепторы увеличивают внутриклеточный цАМФ при участии G_s белков, а мускариновые и гастриновые рецепторы проявляют свои эффекты, увеличивая концентрацию внутриклеточного свободного Ca^{2+} . Простагландины, особенно E ряда, ингибируют секрецию кислоты, активируя G_i белки. Ca^{2+} и цАМФ действуют через протеинкиназы, повышая транспорт H^+ в желудочный просвет $\text{H}^+ - \text{K}^+$ АТФазой.

Эндоцитоз и экзоцитоз

Макромолекулы - белки и нуклеиновые кислоты - не могут проникнуть через плазматическую мембрану с помощью механизмов транспорта, рассмотренных выше, из-за своих больших размеров. При трансмембранном транспорте больших молекул сама плазматическая мембрана подвергается согласованным перемещениям, вследствие которых часть жидкой внеклеточной поглощается (*эндоцитоз*) или часть внутренней среды клетки выделяется (*экзоцитоз*).

В процессе эндоцитоза плазматическая мембрана окружает часть внешней среды, формируя вокруг неё оболочку, в результате чего образуется везикула, которая поступает внутрь клетки. При *пиноцитозе* образуются небольшие, заполненные жидкостью везикулы. В процессе *фагоцитоза* формируются большие везикулы, которые содержат твердый материал, например, клетки бактерий.

При экзоцитозе транспортируемое вещество синтезируется в клетке, связывается мембраной в везикулы и экспортируется из клетки. Таким образом транспортируются из клетки специфические белки, нуклеиновые кислоты, нейромедиаторы и т.п.

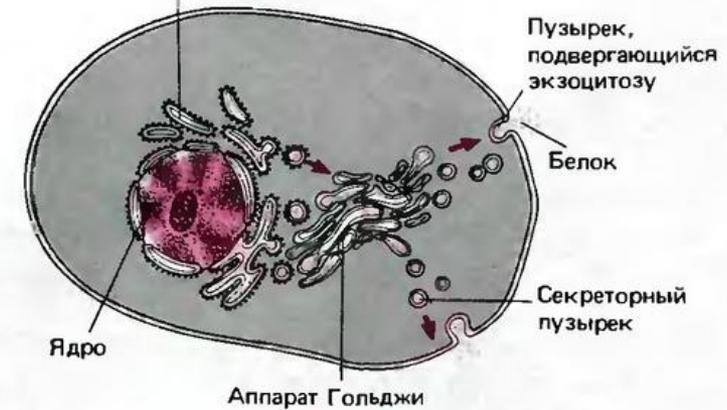
Схема процессов, включающих экзо- и эндоцитоз.

А. Белок, синтезированный в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме, транспортируется посредством аппарата Гольджи к плазматической мембране, где секретирется путем экзоцитоза.

Б. Холестерол, связанный с частицами ЛНП (липопротеина низкой плотности), присоединяется к плазматической мембране, индуцирует образование эндоцитозного пузырька в этом участке мембраны и транспортируется к лизосомам, где высвобождается.

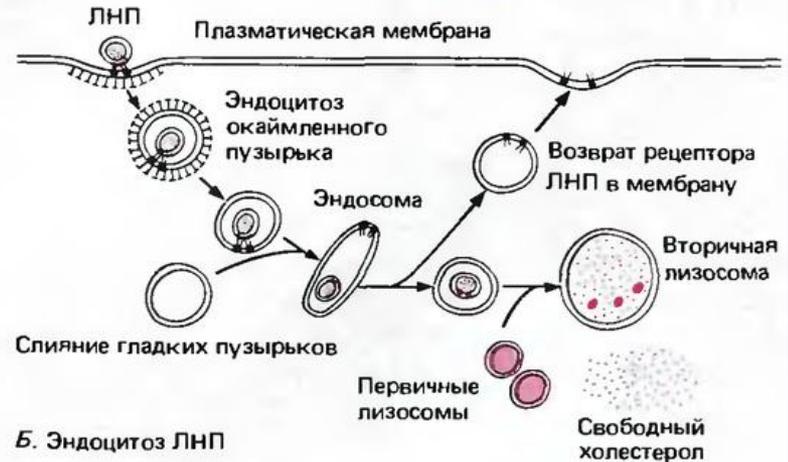
В. Внеклеточный материал, захваченный в процессе эндоцитоза (на рисунке справа), транспортируется через клетку в везикулах, или пузырьках, и выделяется посредством экзоцитоза (на рисунке слева)

Гранулярный эндоплазматический ретикулум

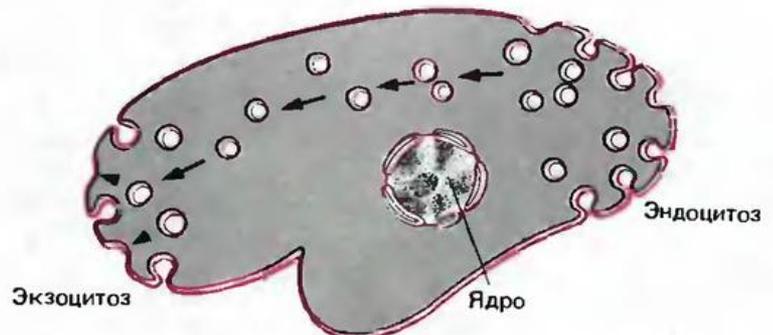


А. Экзоцитоз белка

FireAiD - все по медицине.



Б. Эндоцитоз ЛНП



В. Трансклеточный транспорт с помощью эндо- и экзоцитоза

Диффузия в переносе веществ внутри клетки.

Значение диффузии в эндоцитозе и экзоцитозе.

Естественно, что в цитозоле разность концентраций устраняется за счет диффузии; то же самое справедливо и для жидкостей, заключенных в органеллах. Из-за высокой концентрации растворенного белка диффузия здесь протекает намного медленнее, чем в воде.

Липидные мембраны - вокруг клетки и в составе органелл -это двумерные жидкости, в которых происходит диффузия. Липиды в мембранном бислое диффундируют в пределах собственного слоя, редко переходя из одного в другой. Погруженные в них белки также достаточно подвижны; они вращаются вокруг оси, перпендикулярной к мембране, или диффундируют латерально с весьма различными константами диффузии, в 2-10000 раз медленнее, чем фосфолипиды.

Если некоторые белки перемещаются в липидном слое свободно и с такой же скоростью, как сами липидные молекулы, то другие заякорены, т.е. довольно прочно связаны с цитоскелетом. Существуют «постоянные» агрегаты специфических белков в мембране, например пре- и постсинаптические структуры нервных клеток. Свободно перемещающиеся белки можно продемонстрировать путем связывания их с флуоресцентными красителями, свечение которых индуцируют, освещая кратковременными вспышками маленький участок мембраны. Такие эксперименты показывают, что менее чем за 1 мин связавшиеся с красителем белки равномерно распределяются по мембране на расстояния до 10 мкм.