

Membrány

21.10.2015

Biologické membrány

Funkcie

- Ohraničujú bunky a zároveň sprostredkujú ich styk s okolím (tok živín, iónov, odpadných produktov)
- Rozdeľujú vnútrobunkový priestor na kompartmenty (organely)
- Organizácia zložitých metabolických dejov (premeny energie)
- Medzibunková komunikácia (úloha receptorov)

**Membrane
bilayer**

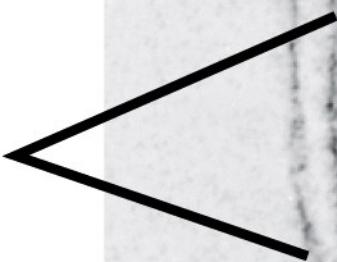


Figure 11-1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

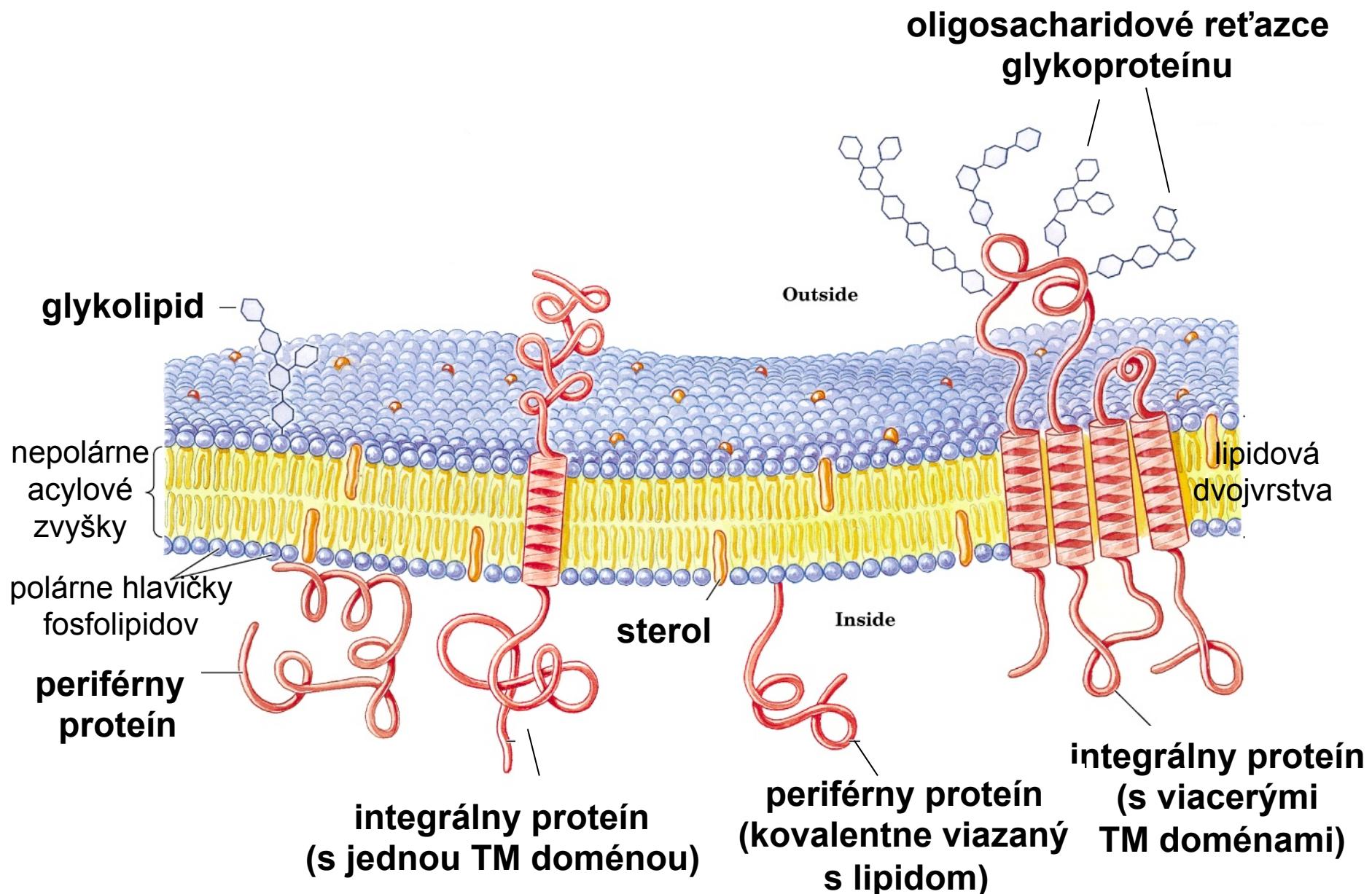
© 2008 W.H. Freeman and Company

Biologické membrány

Zloženie –

- Lipidová dvojvrstva (hlavne fosfolipidy)
- Proteíny
 - Integrálne
 - Periférne

MODEL FLUIDNEJ MOZAIKY



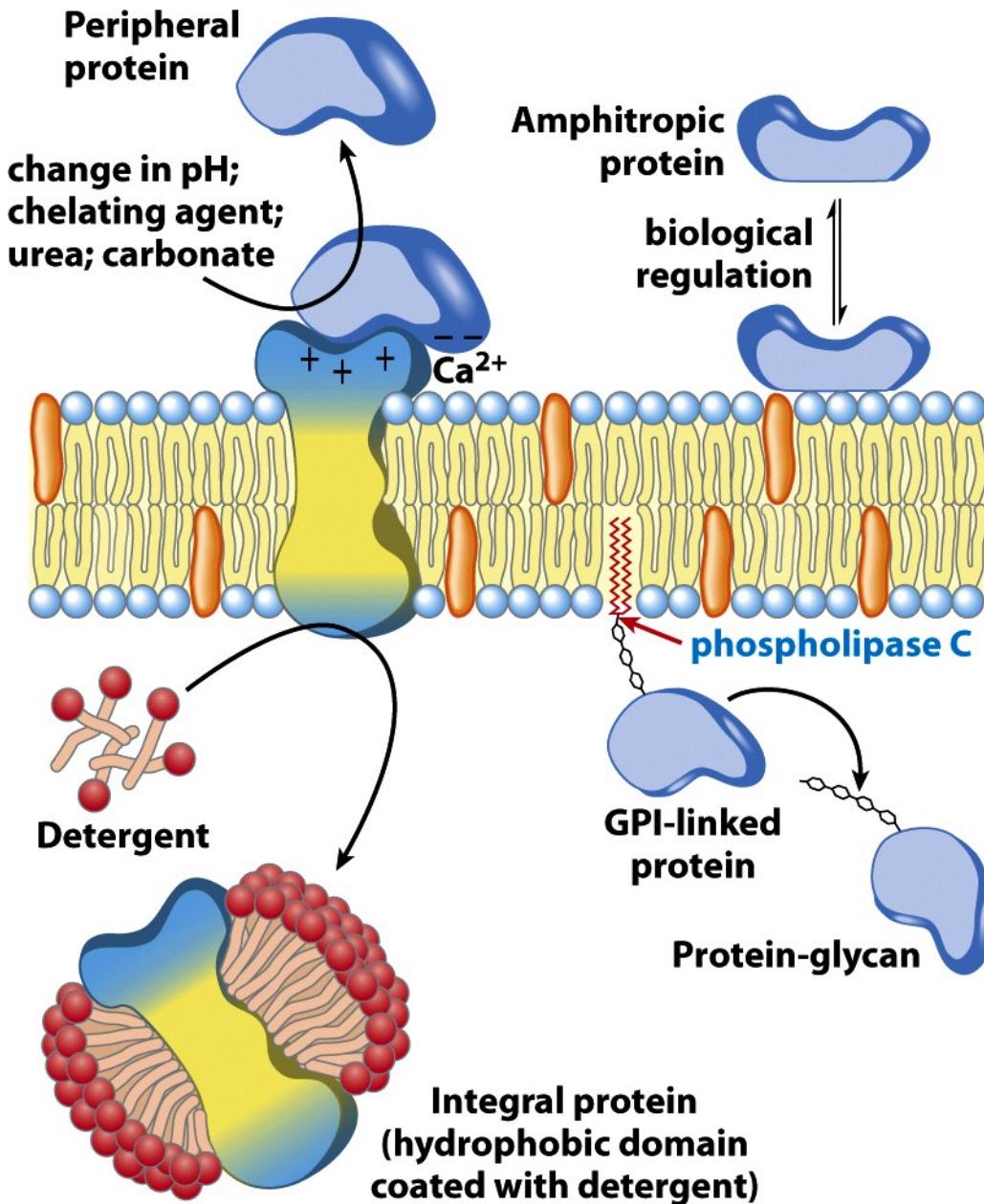


Figure 11-6

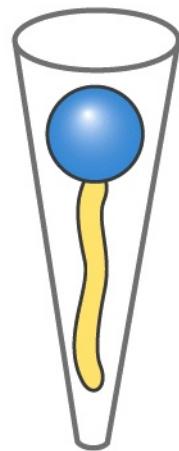
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

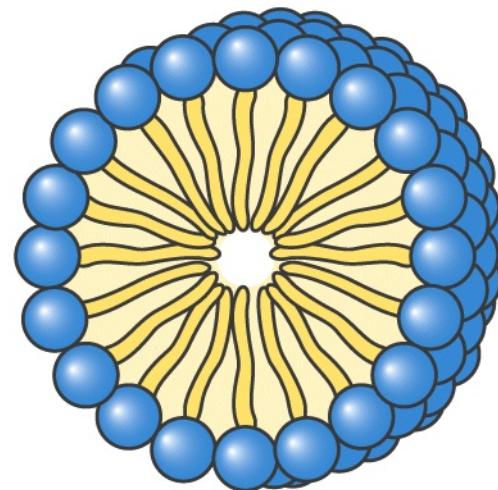
Amfipatické lipidy vytvárajú vo vode agregáty

- Micely
- Dvojvrstvy
- Lipozómy

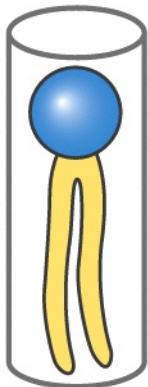
Ich tvorba závisí od podmienok a typu lipidov



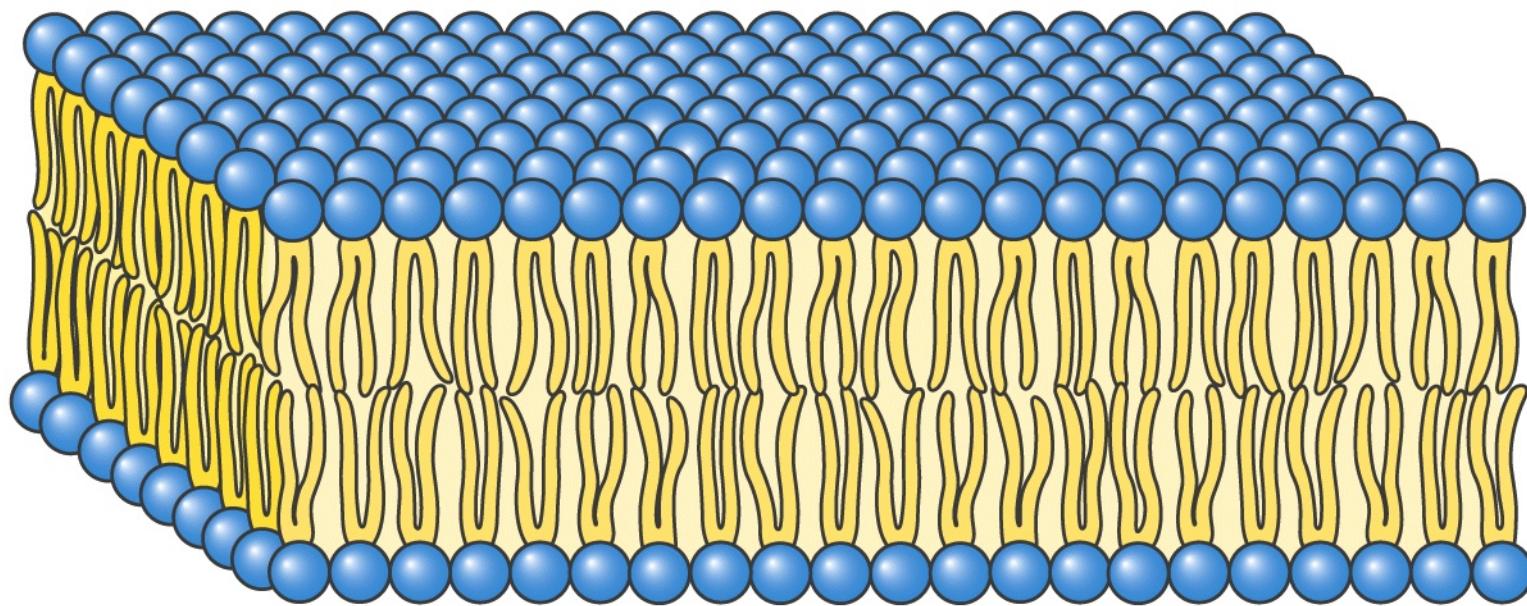
**Jednotlivé lipidy majú
tvar „klinu“
(prierez „hlavičky“ väčší
ako prierez acylového
„chvostíka“)**



micela

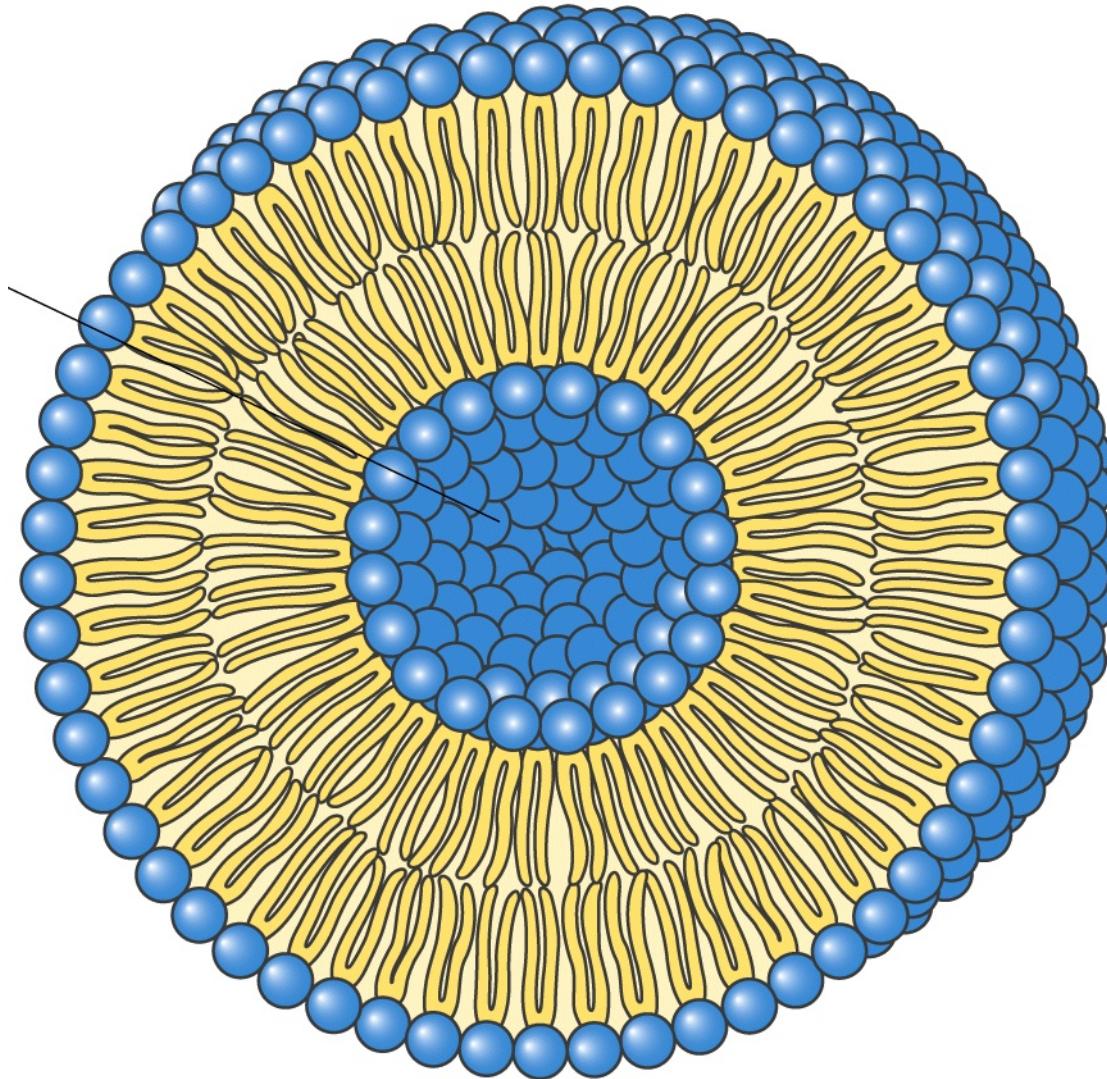


**Jednotlivé lipidy majú
valcovitý tvar
(prierez „hlavičky“ rovnaký ako
prierez acylovej časti)**



dvojvrstva

**vodná
dutina**



lipozóm

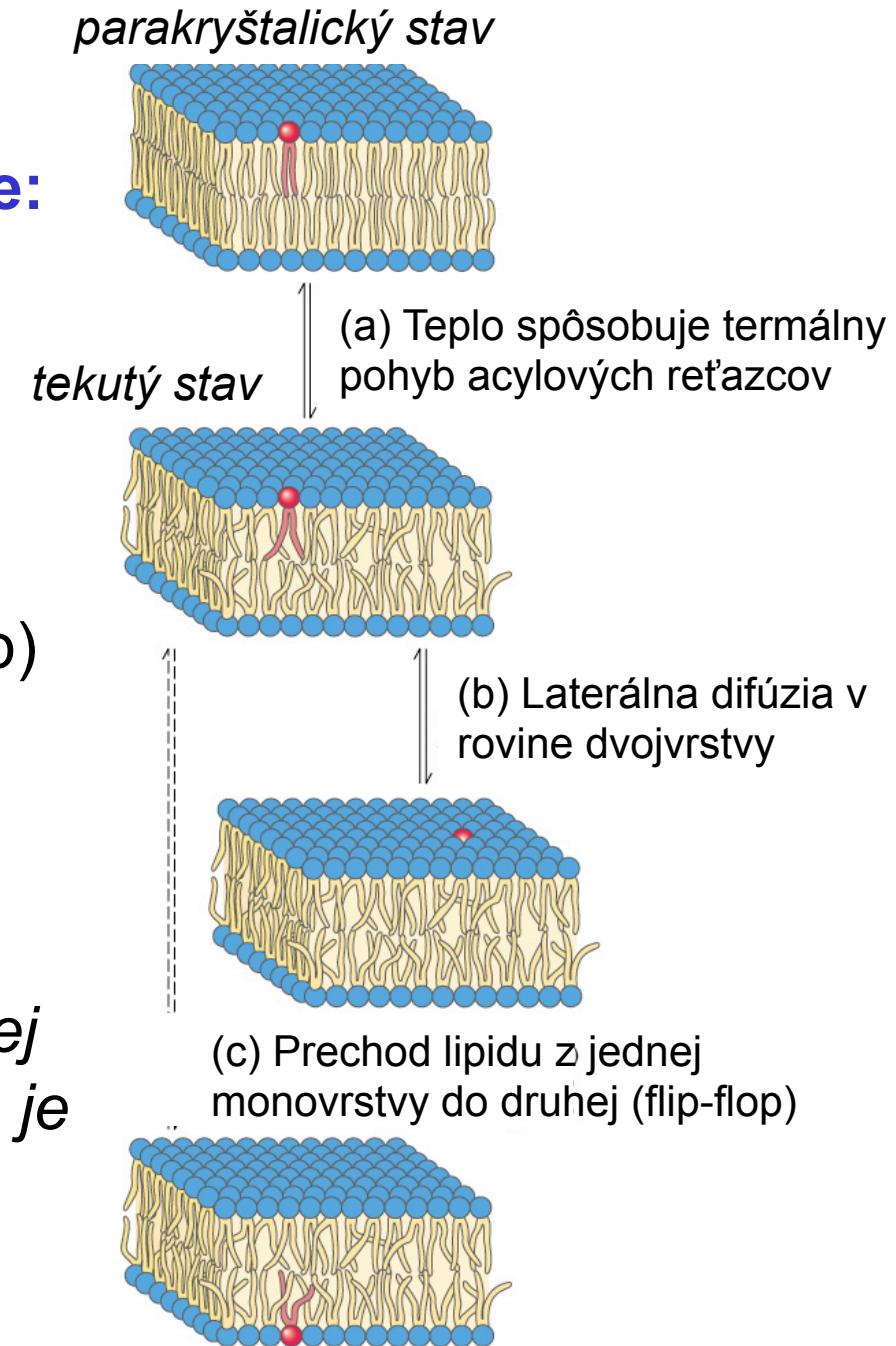
Pohyby v lipidovej dvojvrstve:

-termálny pohyb reťazcov mastných kyselín (a)

-laterálna difúzia jednotlivých molekúl lipidov v monovrstve (b)

-laterálna difúzia proteínov

Prechod molekúl lipidov z jednej monovrstvy do druhej (flip-flop) je veľmi málo pravdepodobný! (c)



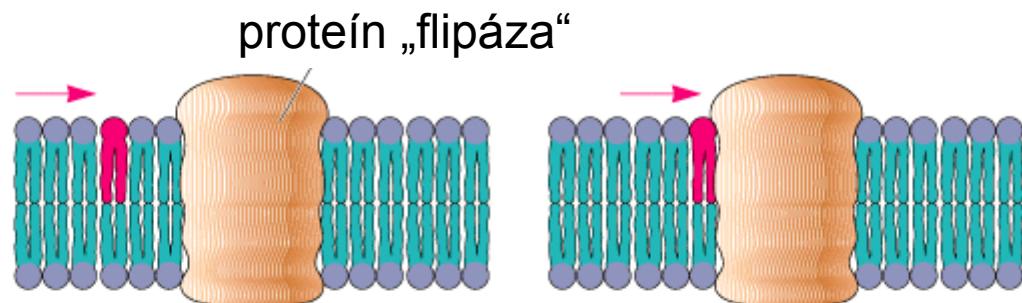
Flipázy

-Proteíny umožňujúce flip-flop pohyb lipidov v membráne

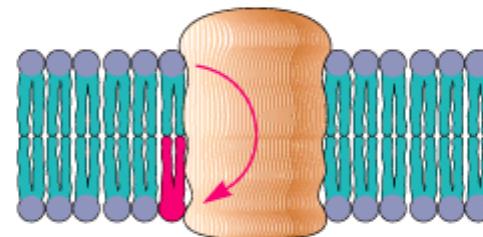
-Niektoré fungujú pasívne (bez dodania energie)

-Iné fungujú aktívne (za spotreby ATP)

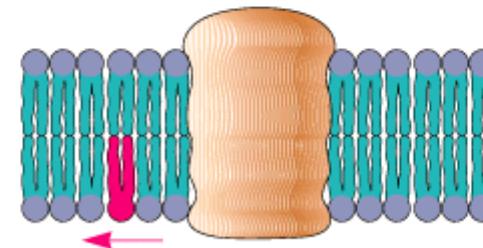
-Aktívne flipázy môžu vytvárať **asymetriu membrán**



1. Molekula lipidu difunduje k flipáze



2. Flipáza prenesie lipid na opačnú stranu dvojvrstvy



3. Lipid sa prenáša v rovine monovrstvy

Asymetrická distribúcia fosfolipidov v membráne erytrocytu

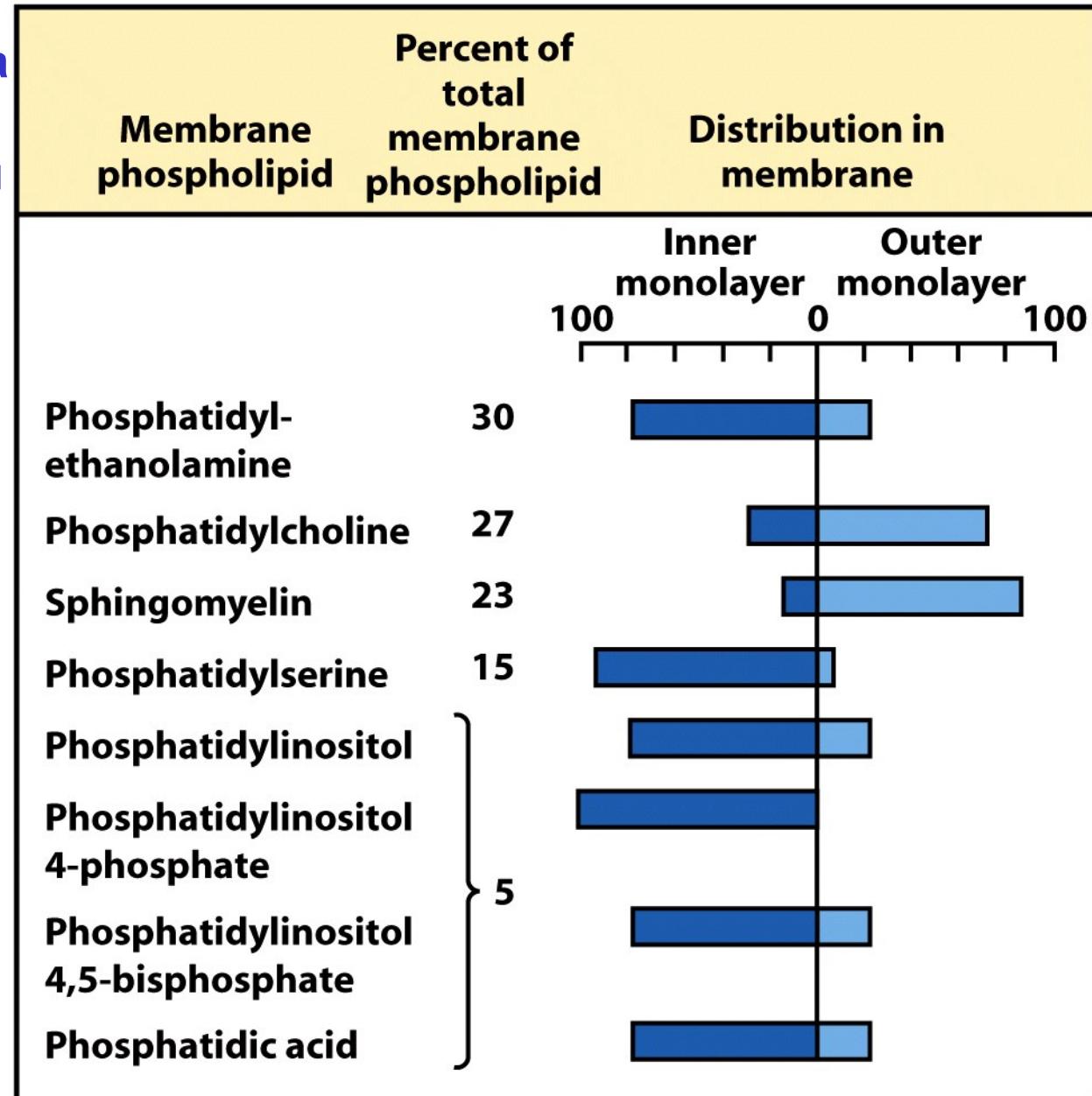


Figure 11-5
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

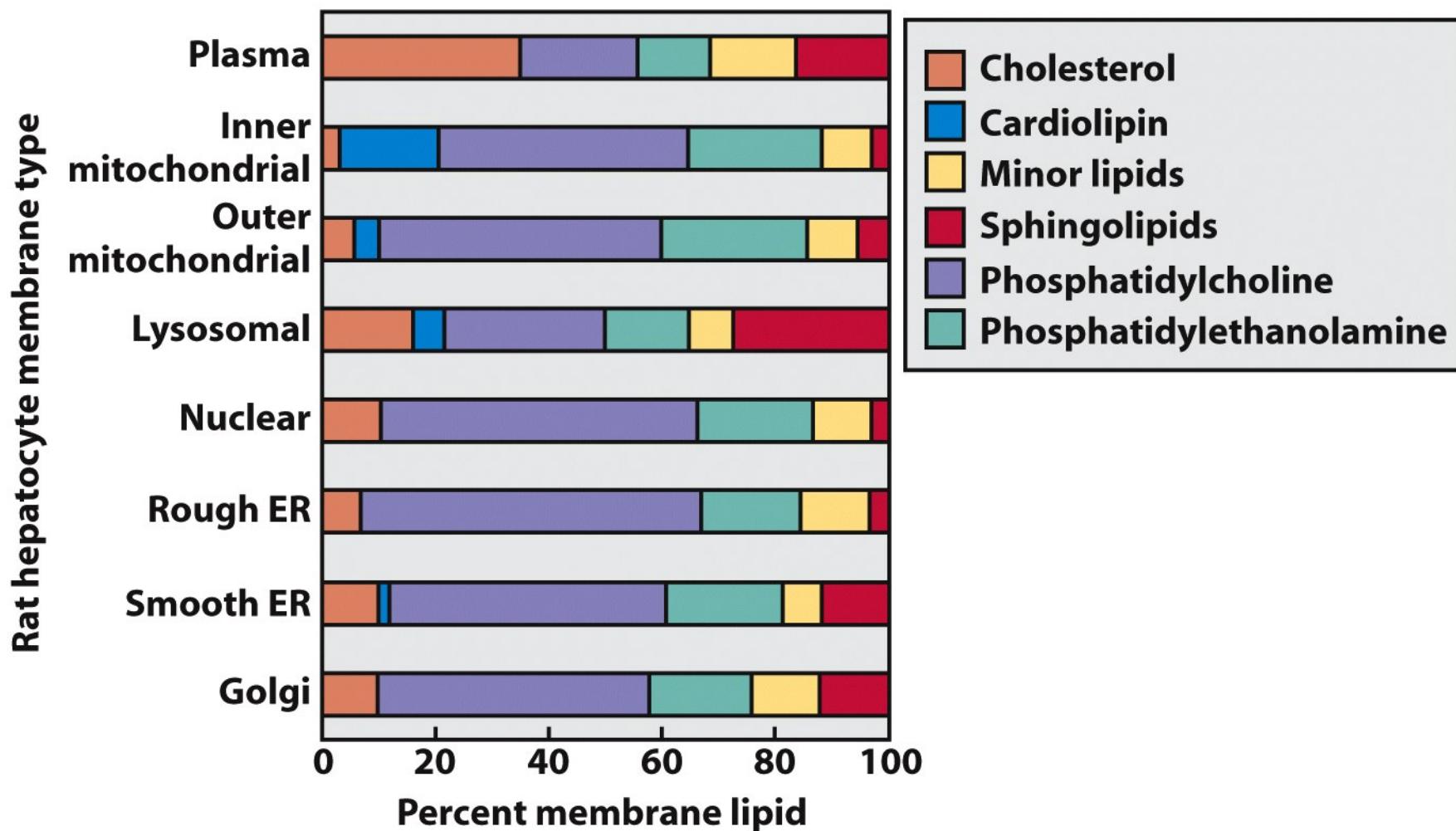


Figure 11-2

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Hlavné zložky plazmatickej membrány u rôznych organizmov

	zložky v hmot. %			Typ sterolu	Iné lipidy
	proteíny	fosfo-lipidy	steroly		
myelínové púzdro (človek)	30	30	19	cholesterol	galaktolipidy, plasmalogény
pečeň (myš)	45	27	25	cholesterol	
list (kukurica)	47	26	7	sitosterol	galaktolipidy
kvasinka	52	7	4	ergosterol	triacylglyceroly, steryl estery
<i>E. coli</i>	75	25	0		

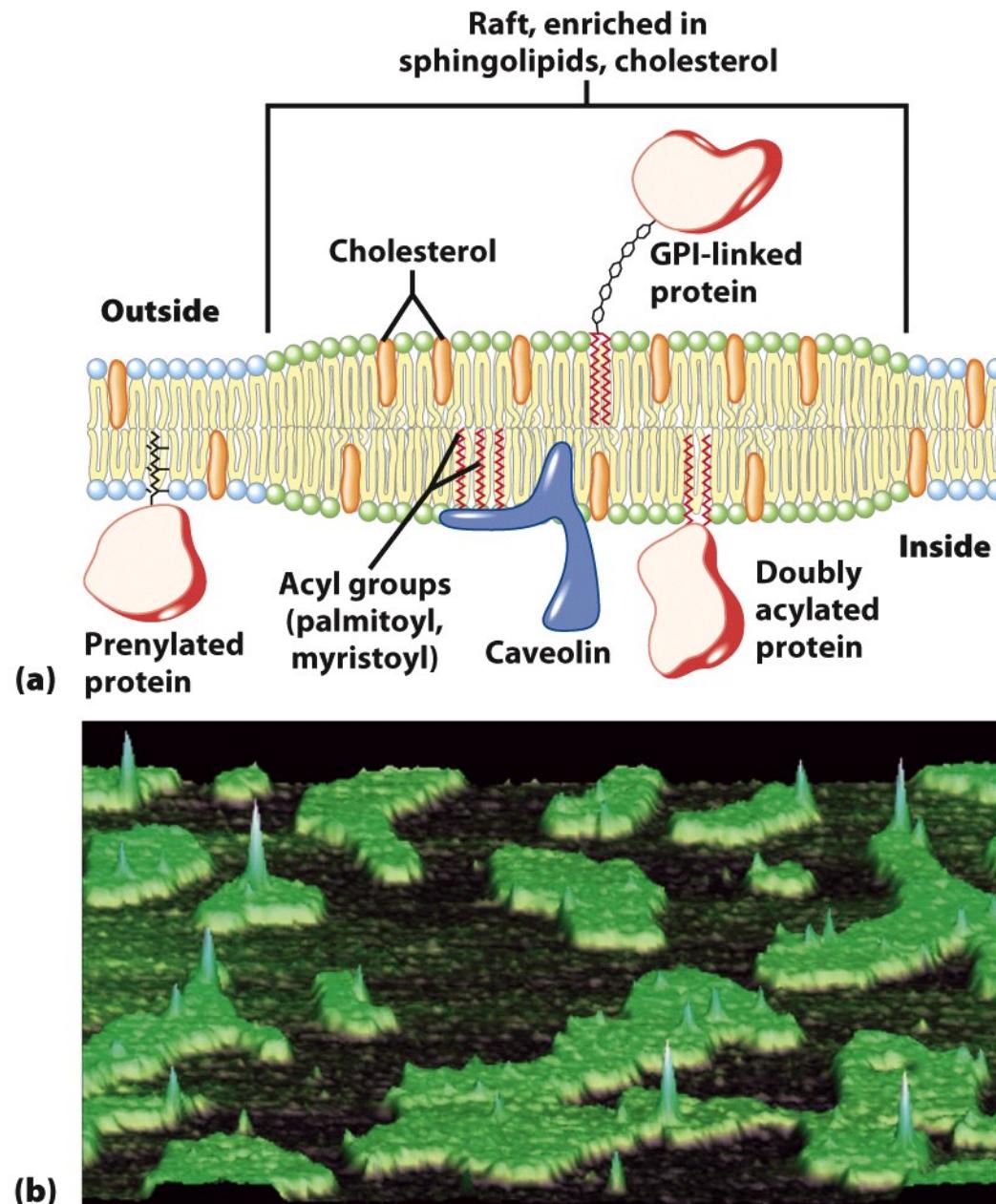


Figure 11-20

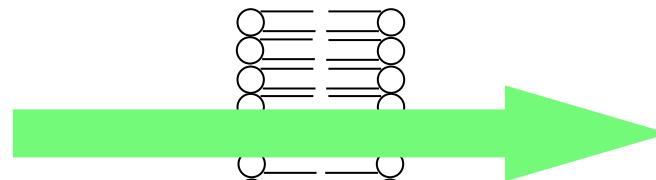
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Transport cez membránu

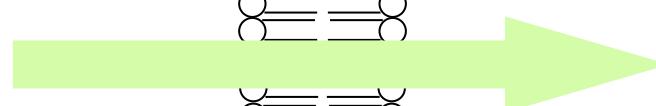
Malé hydrofóbne molekuly

O_2
 CO_2
 N_2
benzén



Malé nenabité polárne molekuly

H_2O
glycerol
etanol



Väčšie nenabité polárne molekuly

aminokyseliny
glukóza
nukleotidy



Ióny

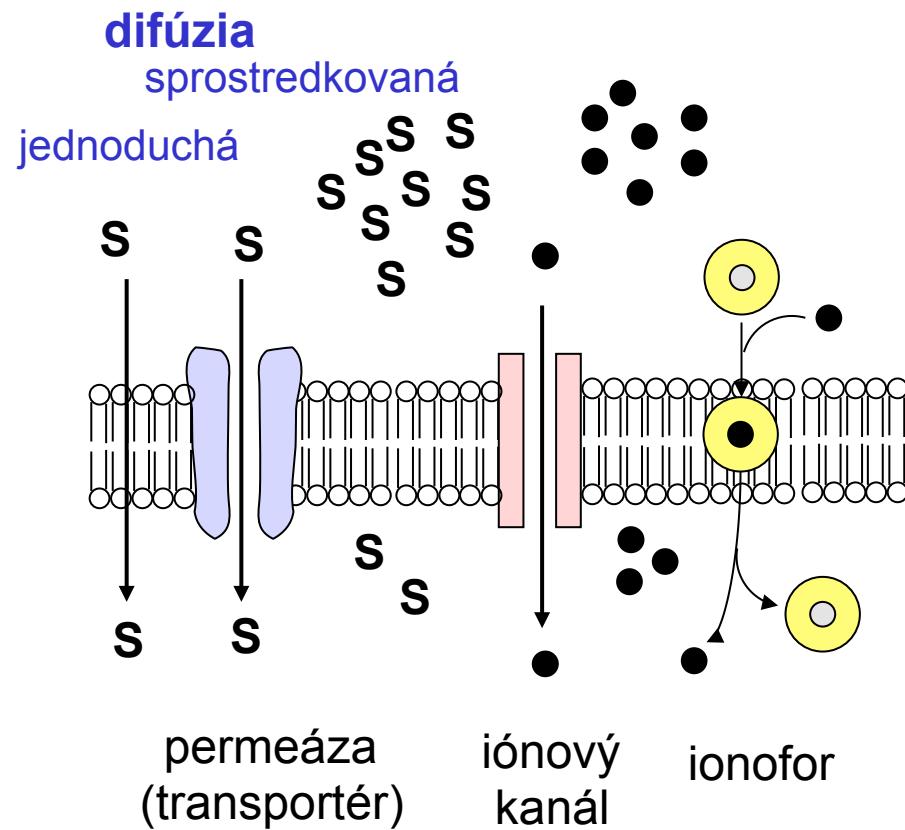
!
 H^+ , Na^+ , HCO_3^-
 K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Mg^{2+}



Transport cez membránu

Pasívny -

v smere koncentračného spádu
(energeticky výhodný)



Aktívny -

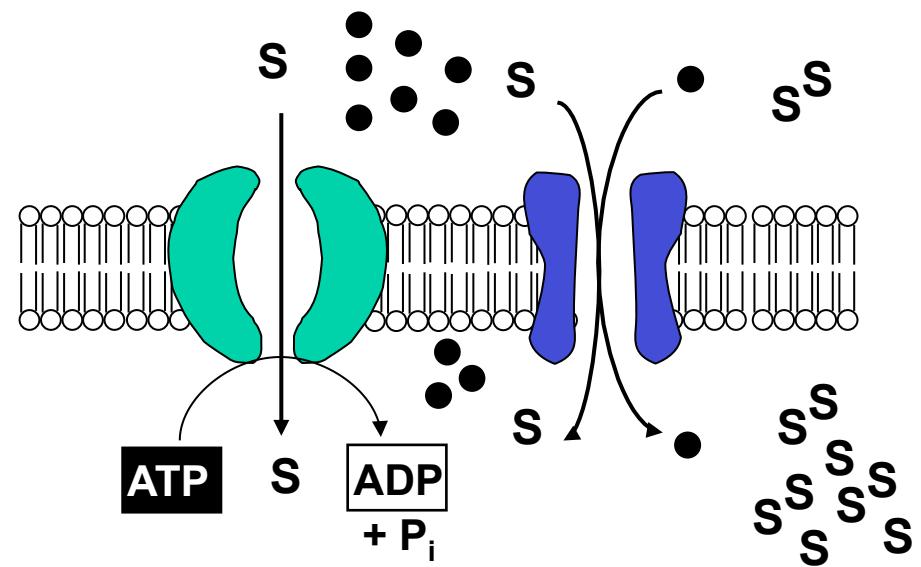
proti koncentračnému spádu
(nutné dodanie energie)

Primárny-

poháňaný
hydrolýzou ATP

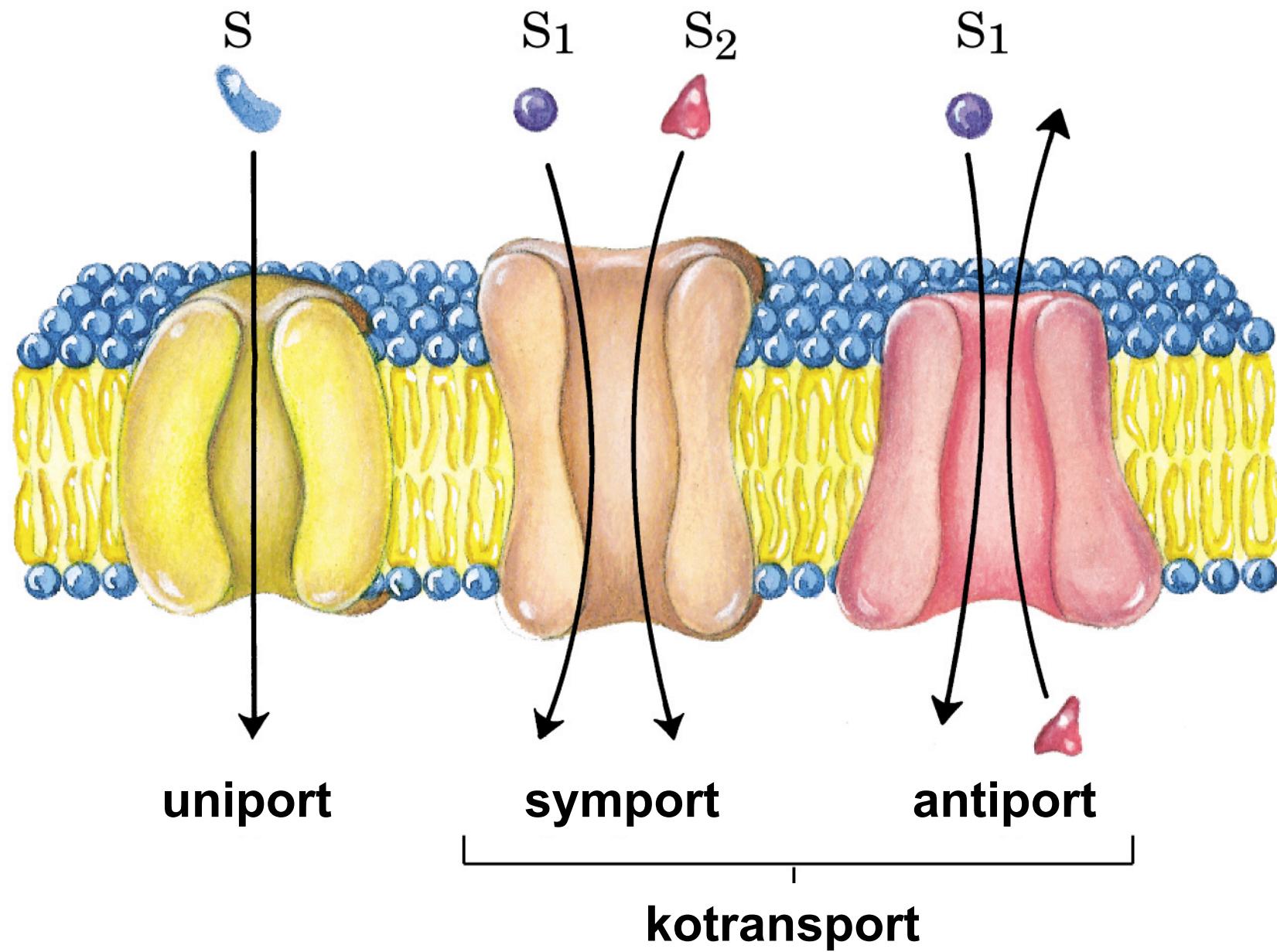
Sekundárny-

poháňaný koncen-
tračným spádom



S prenášaný substrát

● ión



Membránový potenciál =
-50 až -70 mV

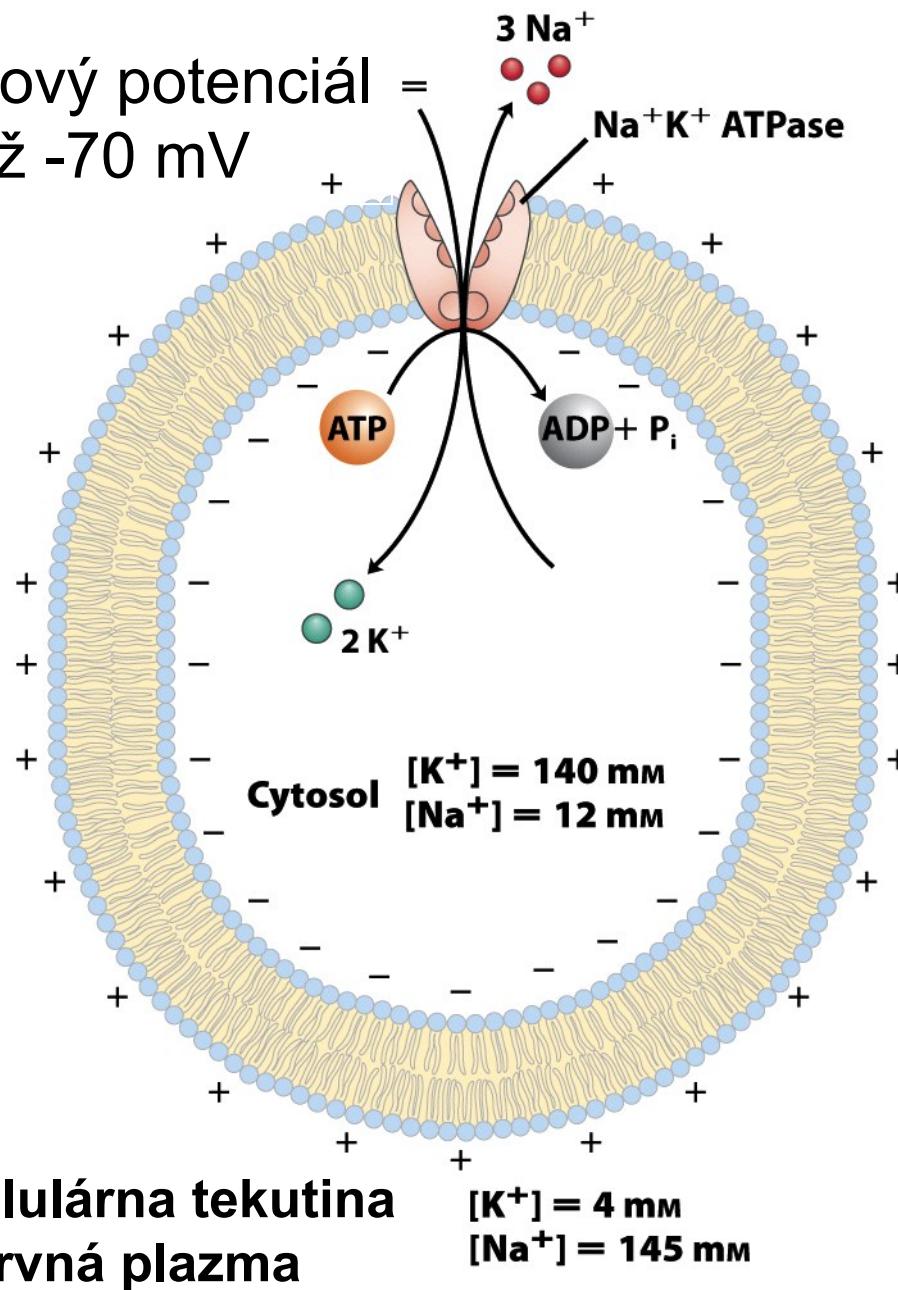
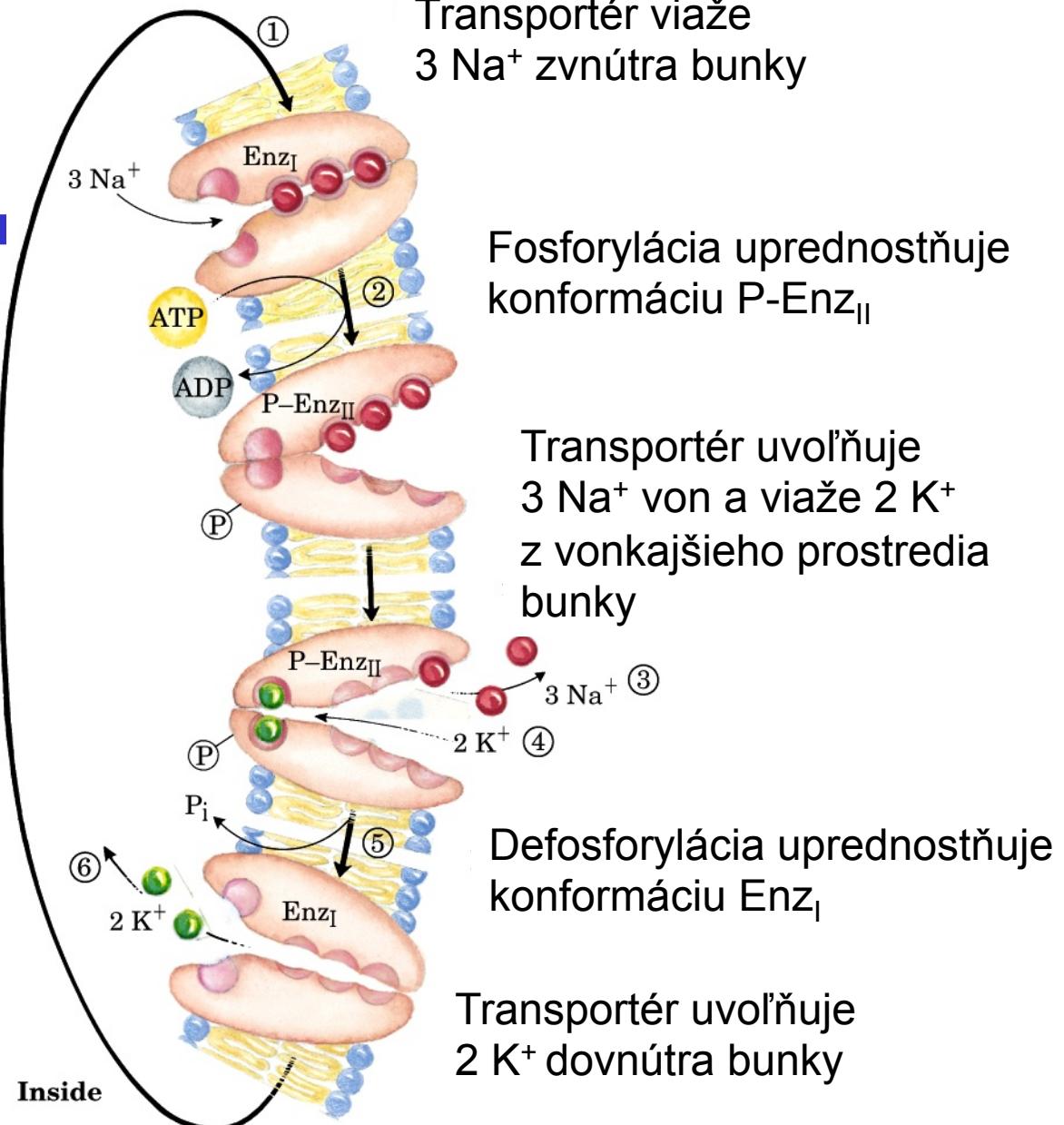


Figure 11-30
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Predpokladaný mechanizmus transportu Na^+ a K^+ sodíkovo-draslíkovou ATPázou



Crystal structure of a Na⁺-bound Na⁺,K⁺-ATPase preced... [Nature. 2013] – PubMed – NCBI

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24089211

FNS SquirrelMail – Login KBI Apple Hotmail Yahoo! Situazione neve Google Maps YouTube Wikipedia News x ▾ Apple APVV CMR CVITSR JULS KEGG Kimball's Biology Page

NCBI Resources ▾ How To ▾ Sign in to NCBI

PubMed Advanced Search Help

Display Settings: Abstract

Send to:

nature

Nature. 2013 Oct 10;502(7470):201-6. doi: 10.1038/nature12578. Epub 2013 Oct 2.

Crystal structure of a Na⁺-bound Na⁺,K⁺-ATPase preceding the E1P state.

Kanai R, Ogawa H, Vilisen B, Cornelius F, Toyoshima C.

Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan.

Abstract

Na⁽⁺⁾,K⁽⁺⁾-ATPase pumps three Na⁽⁺⁾ ions out of cells in exchange for two K⁽⁺⁾ taken up from the extracellular medium per ATP molecule hydrolysed, thereby establishing Na⁽⁺⁾ and K⁽⁺⁾ gradients across the membrane in all animal cells. These ion gradients are used in many fundamental processes, notably excitation of nerve cells. Here we describe 2.8 Å-resolution crystal structures of this ATPase from pig kidney with bound Na⁽⁺⁾, ADP and aluminium fluoride, a stable phosphate analogue, with and without oligomycin that promotes Na⁽⁺⁾ occlusion. These crystal structures represent a transition state preceding the phosphorylated intermediate (E1P) in which three Na⁽⁺⁾ ions are occluded. Details of the Na⁽⁺⁾-binding sites show how this ATPase functions as a Na⁽⁺⁾-specific pump, rejecting K⁽⁺⁾ and Ca⁽²⁺⁾, even though its affinity for Na⁽⁺⁾ is low (millimolar dissociation constant). A mechanism for sequential, cooperative Na⁽⁺⁾ binding can now be formulated in atomic detail.

PMID: 24089211 [PubMed - in process]

Publication Types, Secondary Source ID

LinkOut - more resources

Save items

Add to Favorites

Related citations in PubMed

- 7th International Symposium on Enabling [Rapid Commun Mass Spectrom. 2013]
- The two C-terminal tyrosines stabilize occluded Na/K pump conformations [J Gen Physiol. 2010]
- Occlusion of cobalt ions within the phosphorylated forms of the Na⁺ [J Physiol. 1988]
- Review Functional domains of Na,K-ATPase; conformational [Acta Physiol Scand Suppl. 1992]
- Review Visualizing the mapped ion pathway through the Na,K-ATPase [Channels (Austin). 2009]

See reviews...

See all...

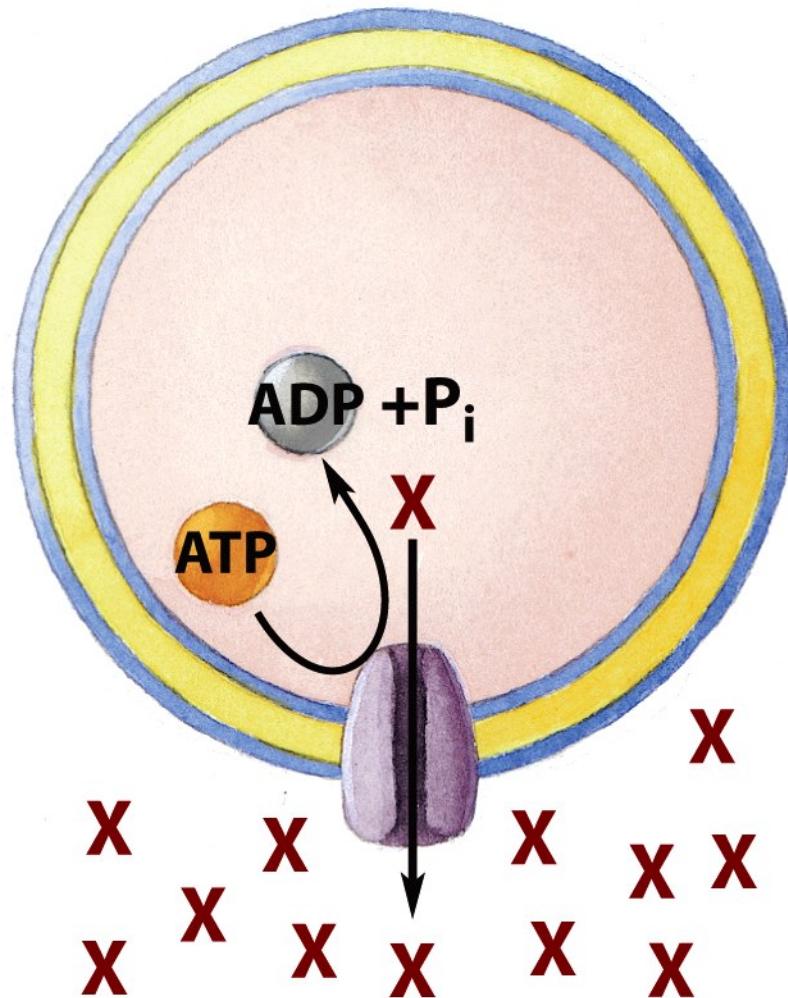
Related information

Related Citations

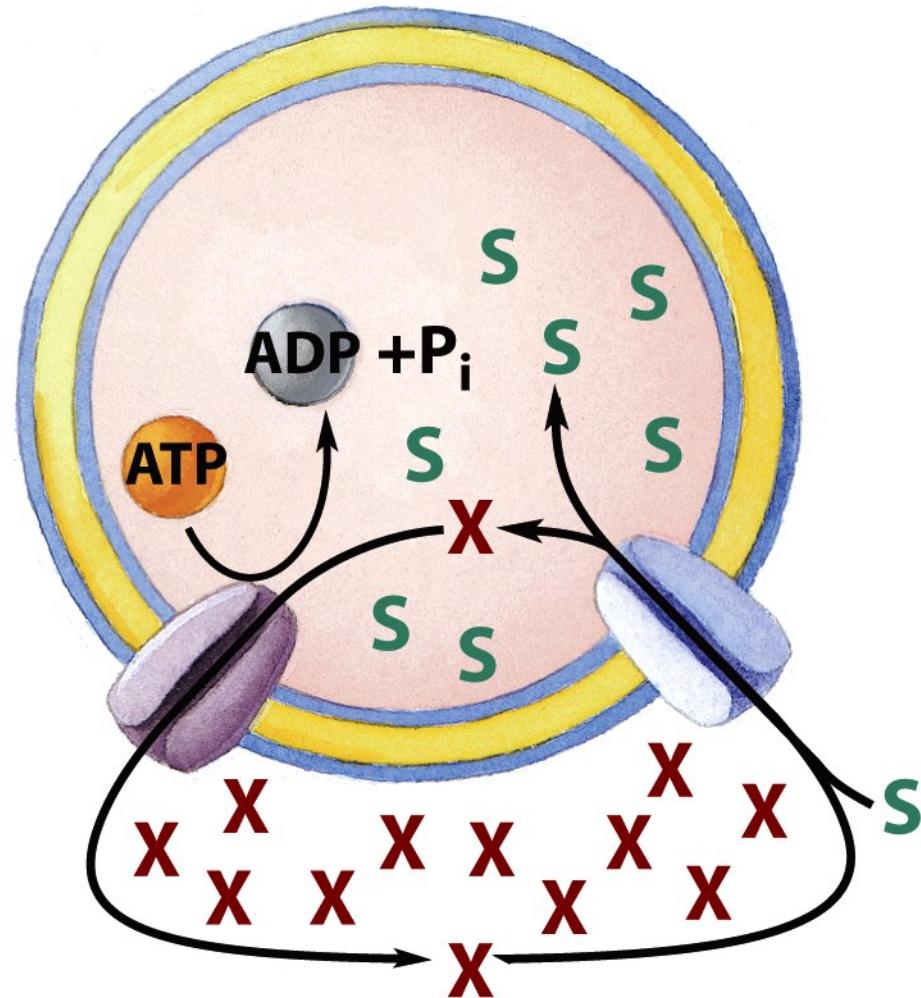
Taxonomy via GenBank

Protein

Recent Activity



**Primárny
aktívny transport**

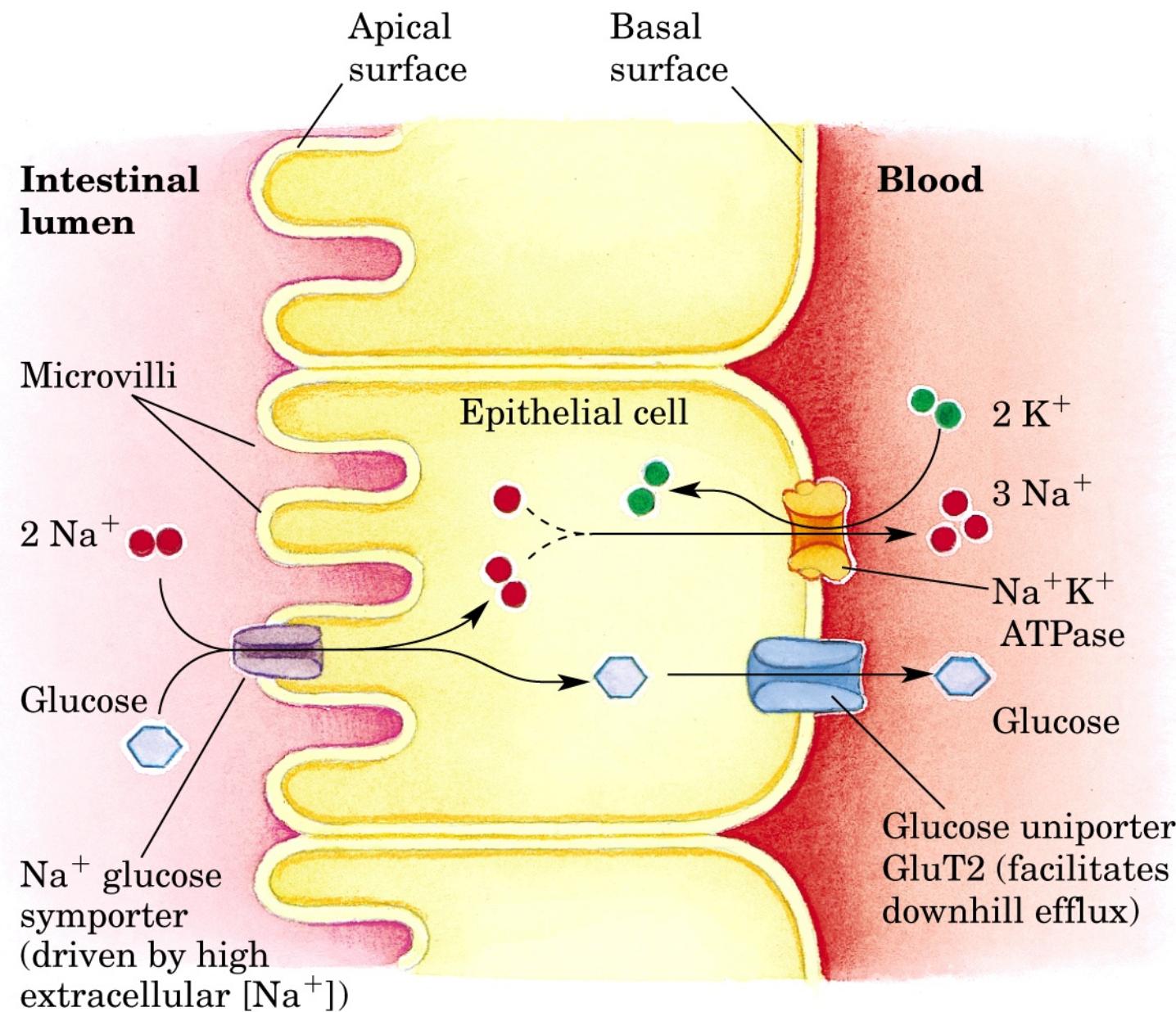


**Sekundárny
aktívny transport**

Figure 11-34

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

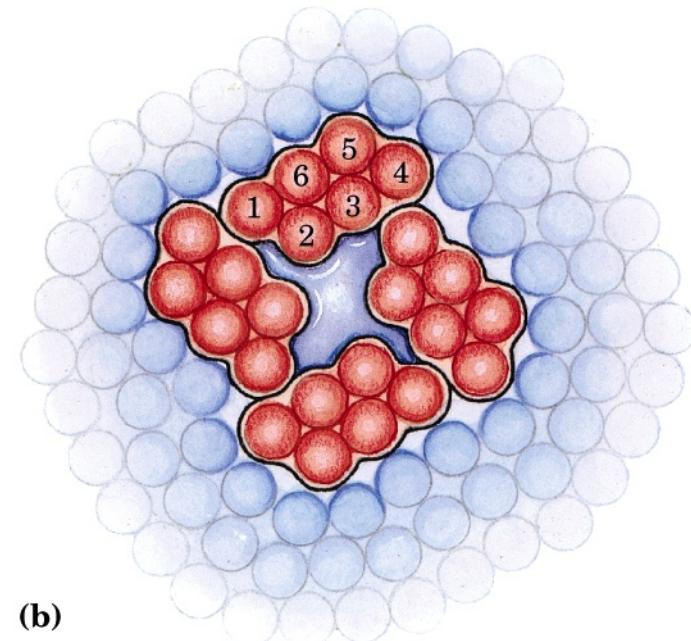
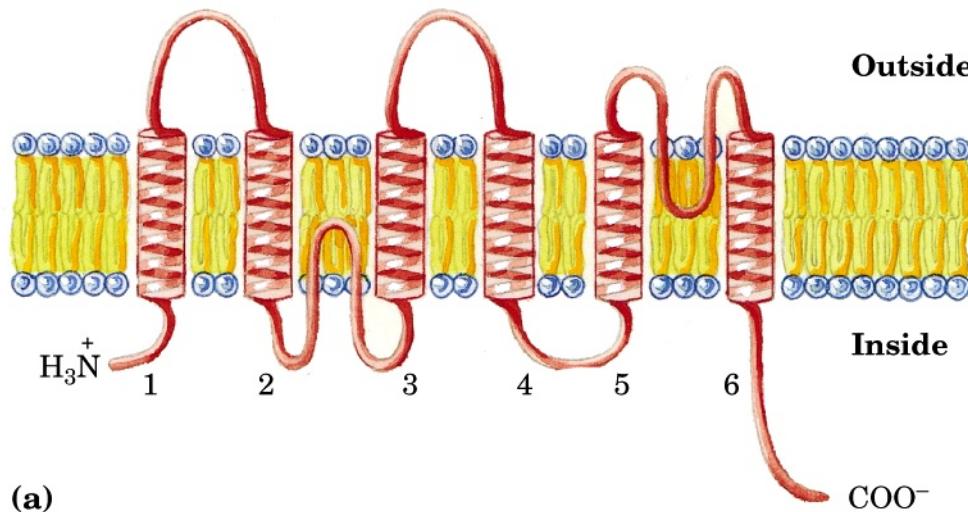


Nobelova cena za chémiu 2003

-za objavy týkajúce sa kanálov v bunkových membránach

Peter Agre – objav vodných kanálov (aquaporínov)

Roderick MacKinnon – štruktúrne a mechanistické štúdie iónových kanálov



Pravdepodobná topológia aquaporínu AQP1

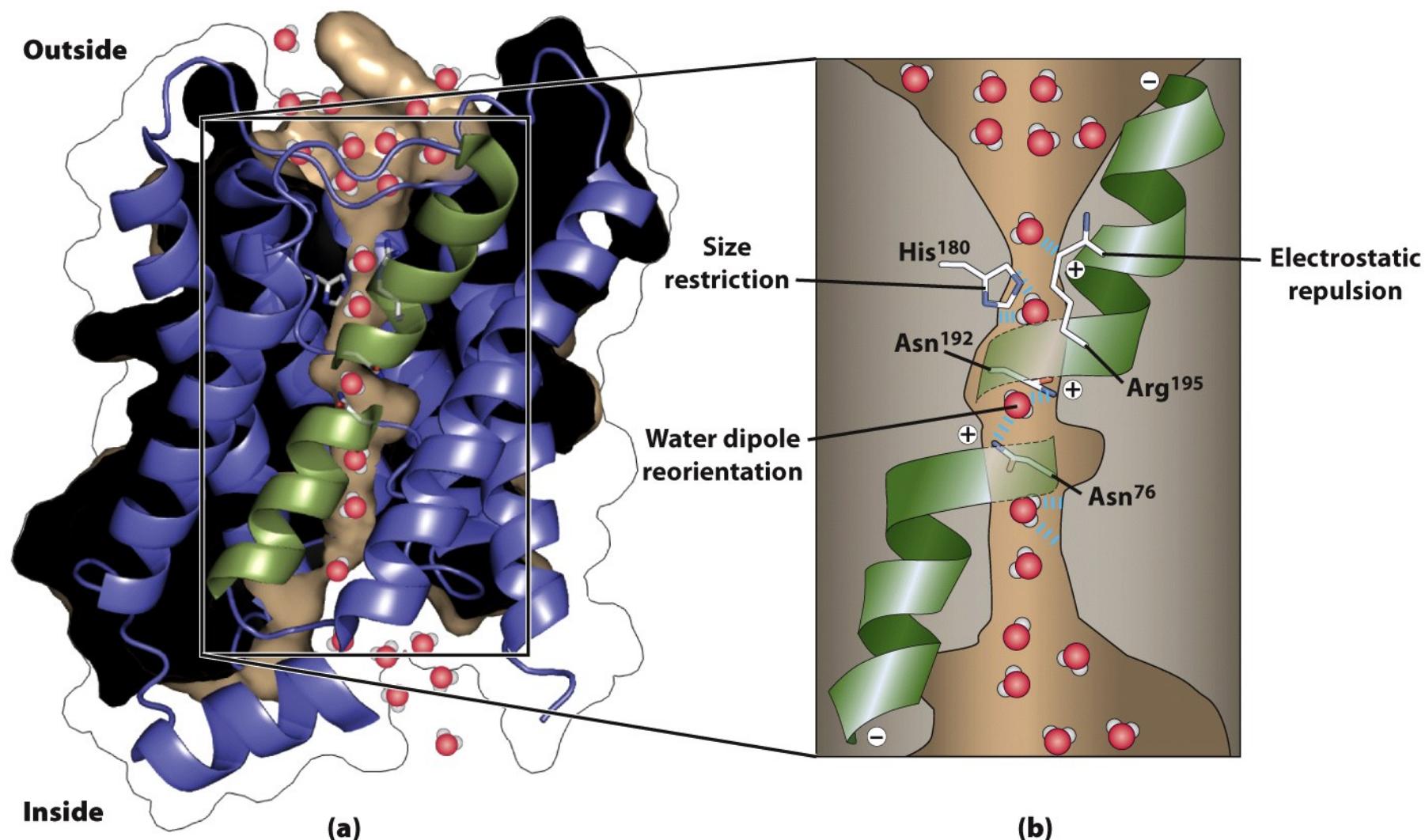


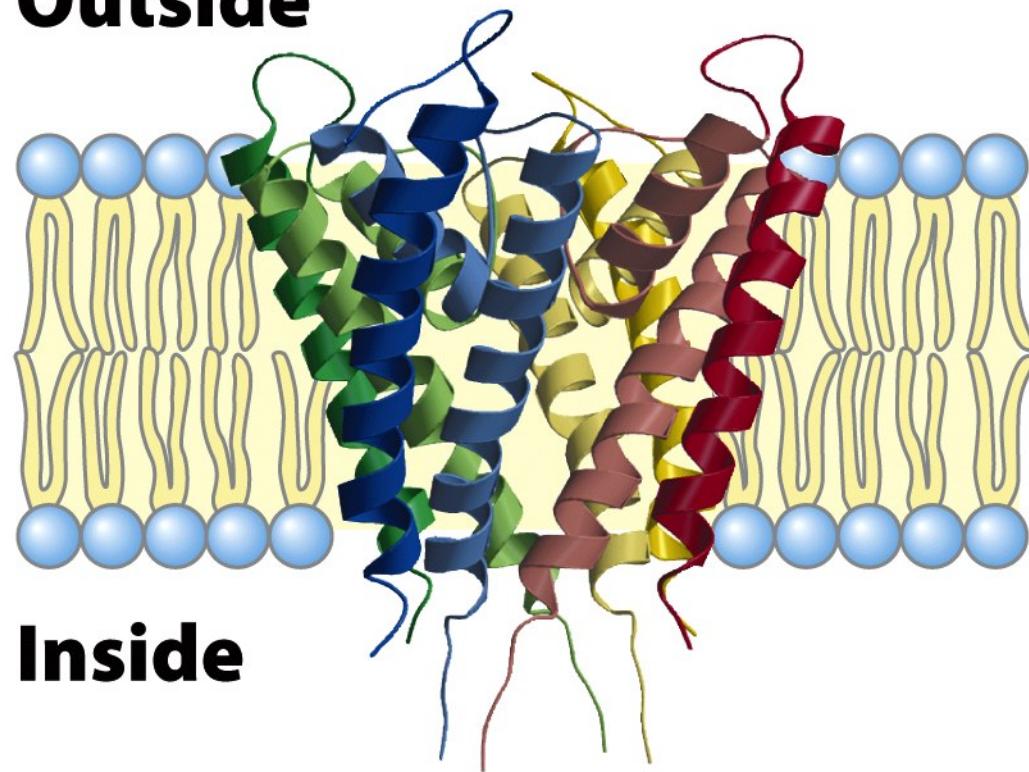
Figure 11-46

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

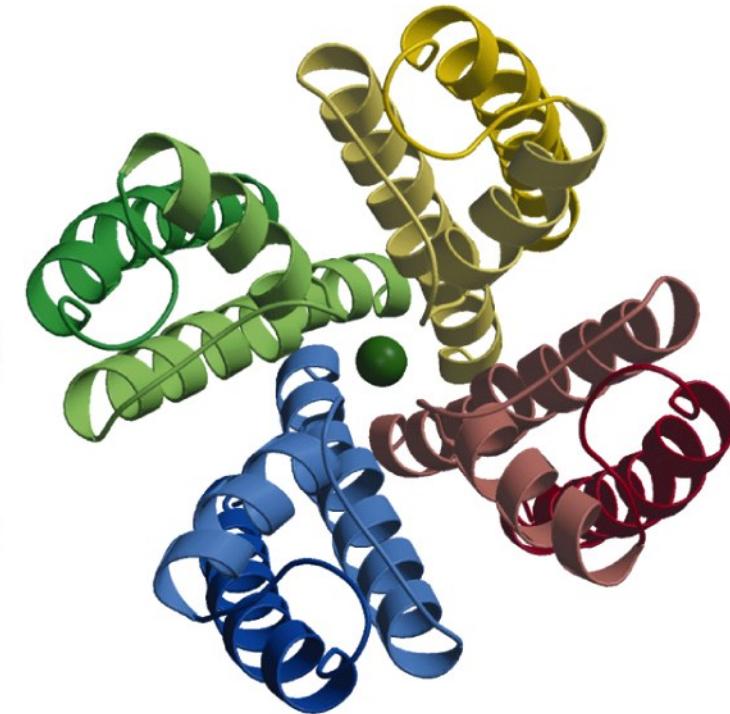
© 2008 W.H. Freeman and Company

10^9 molekúl vody za sekundu

Outside



(a)



(b)

Figure 11-48ab

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Štruktúra K^+ kanála *Streptomyces lividans*

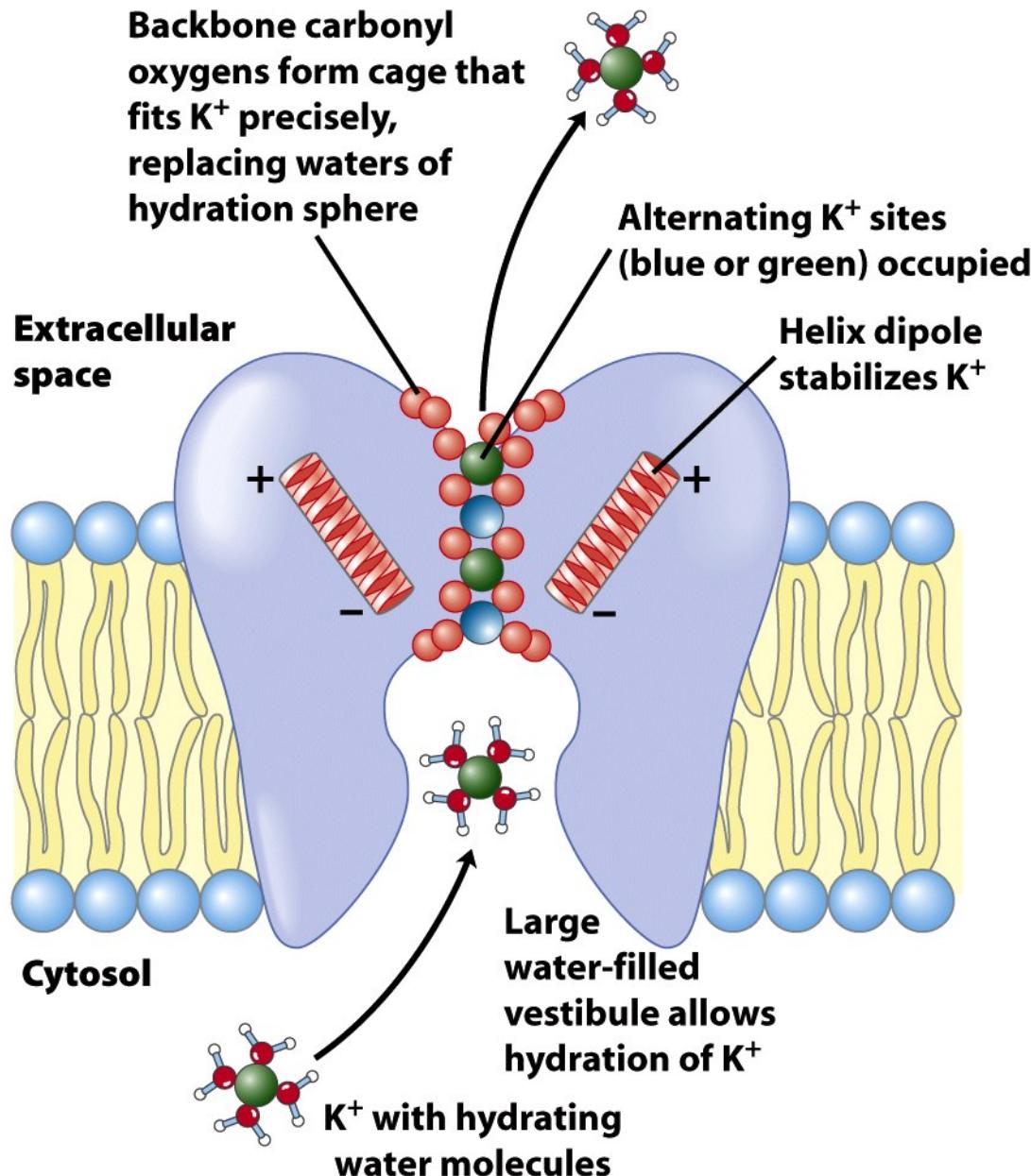


Figure 11-48c

Lehninger Principles of Bio
© 2008 W.H. Freeman and C

Štruktúra K^+ kanála *Streptomyces lividans*

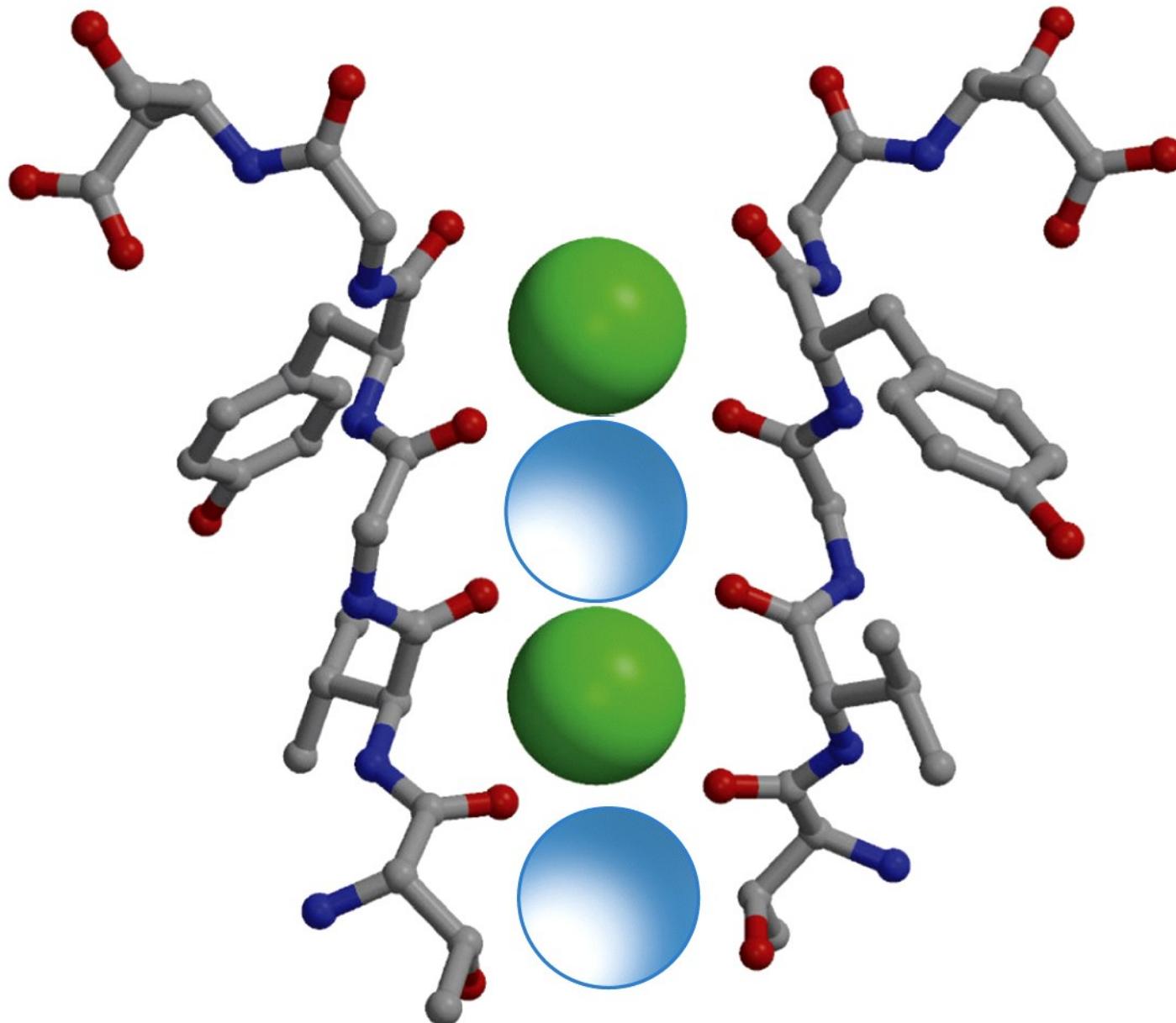


Figure 11-49

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Enzýmy

Enzýmy – katalyzátory reakcií v živých systémoch

- Enzýmy sú proteíny (s výnimkou malej skupiny katalyticky aktívnych RNA molekúl – *Nobelova cena za chémiu, r. 1989, Thomas Cech*)
- Vyznačujú sa:
 - Vysokou špecifitou
 - Vysokou účinnosťou
 - Schopnosťou podliehať regulácii

Proteín (enzým) musí byť v natívnej konformácii!

Enzýmy –

katalyzátory reakcií v živých systémoch

- **Kofaktor**
 - Ión kovu (napr. Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+})
 - Koenzým (zložitejšia organická molekula)
- **Prostetická skupina** – kofaktor viazaný v enzýme pevne, až kovalentne
- **Holoenzým** – kompletný, katalyticky aktívny enzým s naviazaným kofaktorom
- **Apoenzým** – proteínová zložka holoenzýmu

Apoenzým (neaktívny)+ kofaktor = holoenzým (aktívny)

Bežné koenzýmy, ktoré slúžia ako prenášače špecifických atómov alebo funkčných skupín

koenzým	sprostredkovaná reakcia	vitamín
Biotín	Karboxylácia	Biotín
Kobalamín	Alkylácia	B ₁₂
Koenzým A	Prenos acylových skupín	Pantotenát
Flavínové koenzýmy	Oxidačno-redukčné reakcie	Riboflavín (B ₂)
Kyselina lipoová	Prenos acylových skupín	-
Nikotínamidové koenz.	Oxidačno-redukčné reakcie	Niacín
Pyridoxalfosfát	Prenos aminoskupiny	Pyridoxín (B ₆)
Tetrahydrofolát	Prenos 1C zvyškov	Kyselina listová
Tiamínpyrofosfát	Prenos aldehydu	Tiamín (B ₁)

Klasifikácia enzýmov

No.	Trieda	Typ katalyzovanej reakcie
1	Oxidoreduktázy	Prenos elektrónov (hydridových iónov alebo H atómov)
2	Transferázy	Prenos skupín
3	Hydrolázy	Hydrolytické reakcie
4	Lyázy	Odštiepenie skupín zo substrátu sprevádzané vytvorením dvojitych väzieb, alebo naviazanie skupín na dvojité väzby
5	Izomerázy	Prenos skupín v rámci molekúl tak, aby vznikli izomérne formy
6	Ligázy	Tvorba C-C, C-S, C-O, C-N a fosfoesterových väzieb kondenzačnými reakciami spojenými so štiepením ATP

Nomenklatúra enzýmov

- **Triviálny názov:** prípona –áza
napr. hexokináza
 $\text{ATP} + \text{glukóza} \rightarrow \text{ADP} + \text{D-glukóza-6-fosfát}$
 - **Systémový názov:** presne popisuje substráty a typ reakcie
ATP:glukóza fosfotransferáza
- E.C.2.7.1.1 (Enzyme Commission)**
2. trieda (transferáza)
 7. podtrieda (fosfotransferáza)
 1. akceptor hydroxylová skupina
 1. akceptor glukóza

Úplný zoznam a popis známych enzýmov udržiava:

**Nomenclature Committee of the International Union
of Biochemistry and Molecular Biology**

www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme

IUBMB Enzyme Nomenclature

EC 1.1.98.3

Accepted name: decaprenylphospho- β -D-ribofuranose 2-oxidase

Reaction: *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-ribofuranose + FAD = *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-*erythro*-pentofuranosid-2-ulose + FADH₂

For diagram of reaction [click here](#).

Other name(s): decaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-epimerase; Rv3790; DprE1

Systematic name: *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-ribofuranose:FAD 2-oxidoreductase

Comments: The enzyme, isolated from the bacterium *Mycobacterium smegmatis*, is involved, along with EC 1.1.1.333, decaprenylphospho-D-*erythro*-pentofuranosid-2-ulose 2-reductase, in the epimerization of *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-ribofuranose to *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-arabinofuranose, the arabinosyl donor for the biosynthesis of mycobacterial cell wall arabinan polymers.

Links to other databases: [BRENDA](#), [EXPASY](#), [KEGG](#), [Metacyc](#), CAS registry number:

References:

1. Ribeiro, A.L., Degiacomi, G., Ewann, F., Buroni, S., Incandela, M.L., Chiarelli, L.R., Mori, G., Kim, J., Contreras-Dominguez, M., Park, Y.S., Han, S.J., Brodin, P., Valentini, G., Rizzi, M., Riccardi, G. and Pasca, M.R. Analogous mechanisms of resistance to benzothiazinones and dinitrobenzamides in *Mycobacterium smegmatis*. *PLoS One* 6 (2011) e26675. [PMID: [22069462](#)]
2. Trefzer, C., Škovierová, H., Buroni, S., Bobovská, A., Nenci, S., Molteni, E., Pojer, F., Pasca, M.R., Makarov, V., Cole, S.T., Riccardi, G., Mikúšová, K. and Johnsson, K. Benzothiazinones are suicide inhibitors of mycobacterial decaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-oxidase DprE1. *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 912-915. [PMID: [22188377](#)]

[EC 1.1.98.3 created 2012]

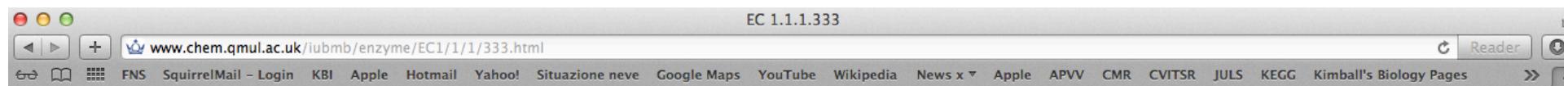
Return to [EC 1.1.98 home page](#)

Return to [EC 1.1 home page](#)

Return to [EC 1 home page](#)

Return to [Enzymes home page](#)

Return to [IUBMB Biochemical Nomenclature home page](#)



IUBMB Enzyme Nomenclature

EC 1.1.1.333

Accepted name: decaprenylphospho- β -D-*erythro*-pentofuranosid-2-ulose 2-reductase

Reaction: *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-arabinofuranose + NAD⁺ = *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-*erythro*-pentofuranosid-2-ulose + NADH + H⁺

For diagram of reaction [click here](#).

Other name(s): decaprenylphospho- β -D-ribofuranose 2'-epimerase; Rv3791; DprE2

Systematic name: *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-arabinofuranose:NAD⁺ 2-oxidoreductase

Comments: The reaction is catalysed in the reverse direction. The enzyme, isolated from the bacterium *Mycobacterium smegmatis*, is involved, along with [EC 1.1.98.3](#), decaprenylphospho- β -D-ribofuranose 2-oxidase, in the epimerization of *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-ribofuranose to *trans,octacis*-decaprenylphospho- β -D-arabinofuranose, the arabinosyl donor for the biosynthesis of mycobacterial cell wall arabinan polymers.

Links to other databases: [BRENDA](#), [EXPASY](#), [KEGG](#), [Metacyc](#), CAS registry number:

References:

1. Trefzer, C., Škovierová, H., Buroni, S., Bobovská, A., Nenci, S., Molteni, E., Pojer, F., Pasca, M.R., Makarov, V., Cole, S.T., Riccardi, G., Mikušová, K. and Johnsson, K. Benzothiazinones are suicide inhibitor of mycobacterial decaprenylphosphoryl- β -D-ribofuranose 2'-oxidase DprE1. *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 912-915. [PMID: [22188377](#)]

[EC 1.1.1.333 created 2012]

Return to [EC 1.1.1 home page](#)

Return to [EC 1.1 home page](#)

Return to [EC 1 home page](#)

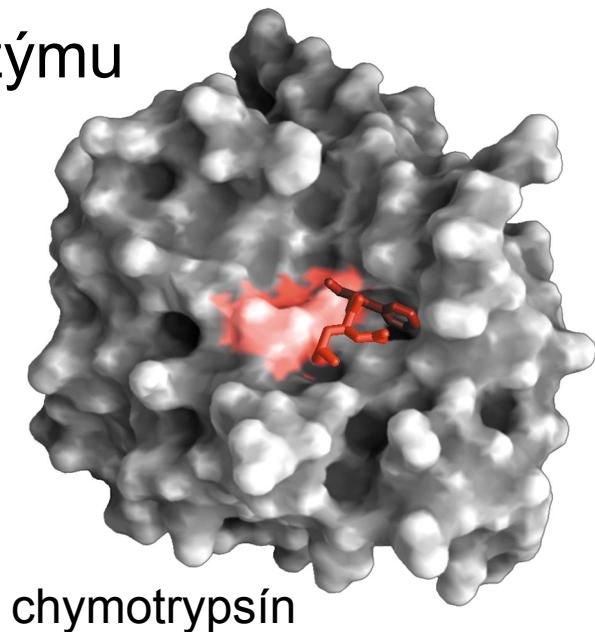
Return to [Enzymes home page](#)

Return to [IUBMB Biochemical Nomenclature home page](#)

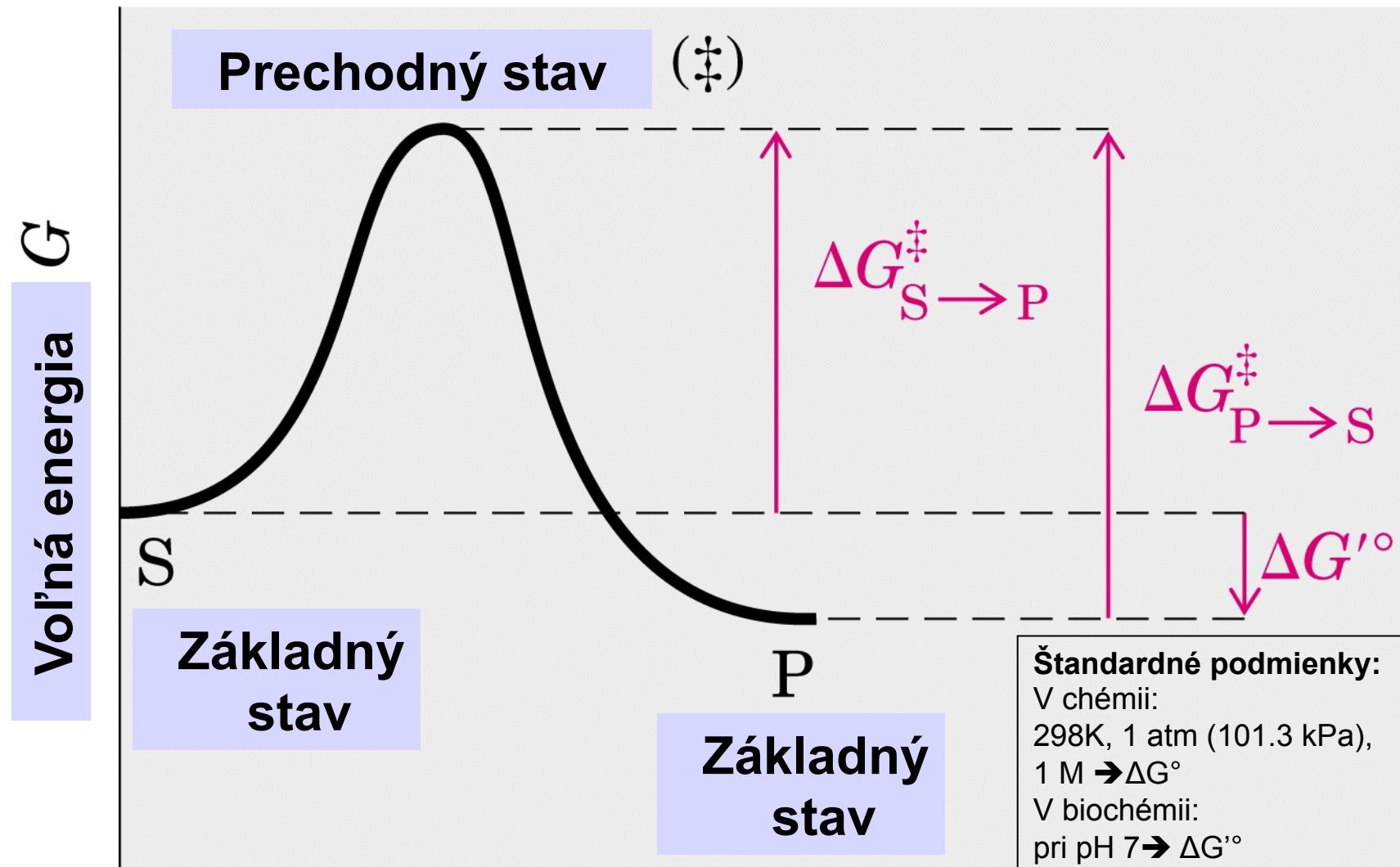
Ako enzymy fungujú

?

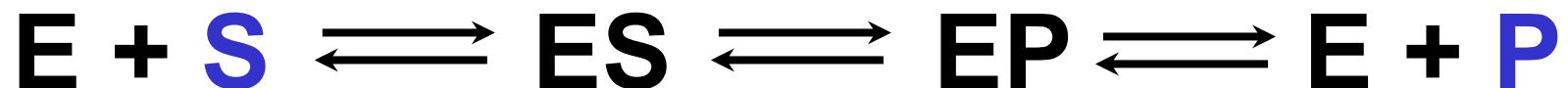
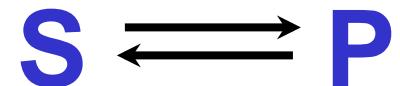
- Enzým – poskytuje reagujúcim molekulám mikro prostredie
- Substrát- viaže sa do aktívneho miesta enzýmu, vytvorí sa komplex enzým-substrát (ES)
- Aktívne miesto
 - priestorovo vymedzená časť enzýmu
 - Obsahuje:
 - Katalyticke centrum
 - Väzobné centrum:
 - Pre substrát
 - Pre kofaktor



S ⇌ P



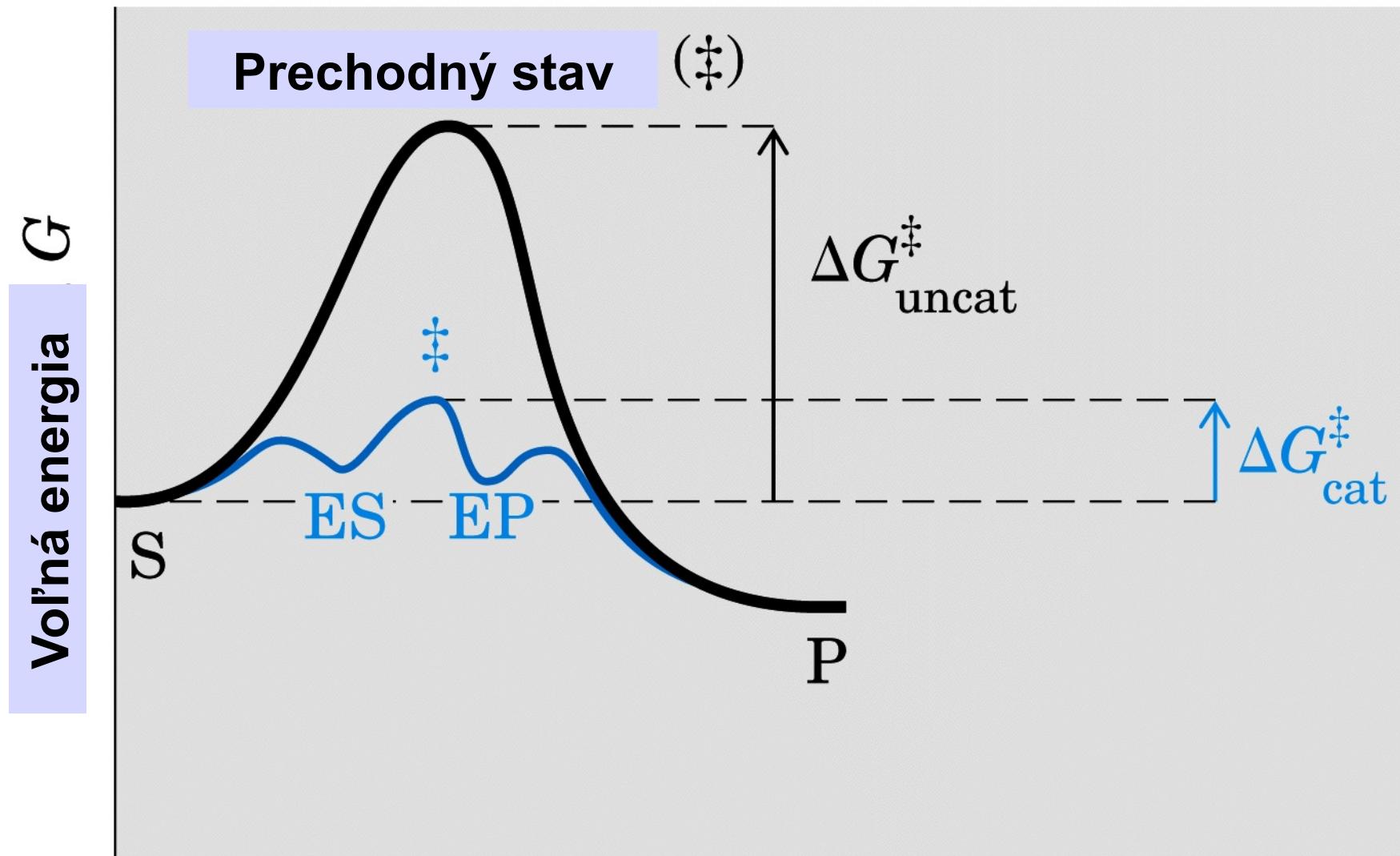
Reakčná koordináta



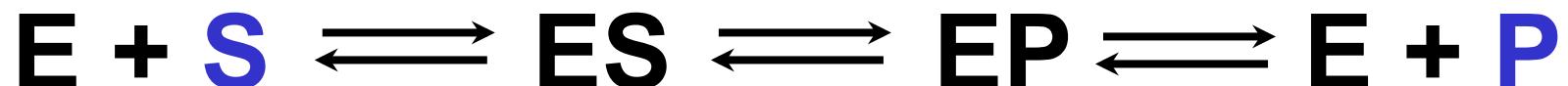
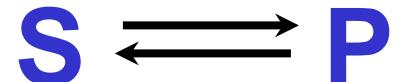
E – enzym S – substrát

ES – komplex enzym-substrát

EP – komplex enzym - produkt



Reakčná koordináta



E – enzym S – substrát
ES – komplex enzym-substrát
EP – komplex enzym - produkt

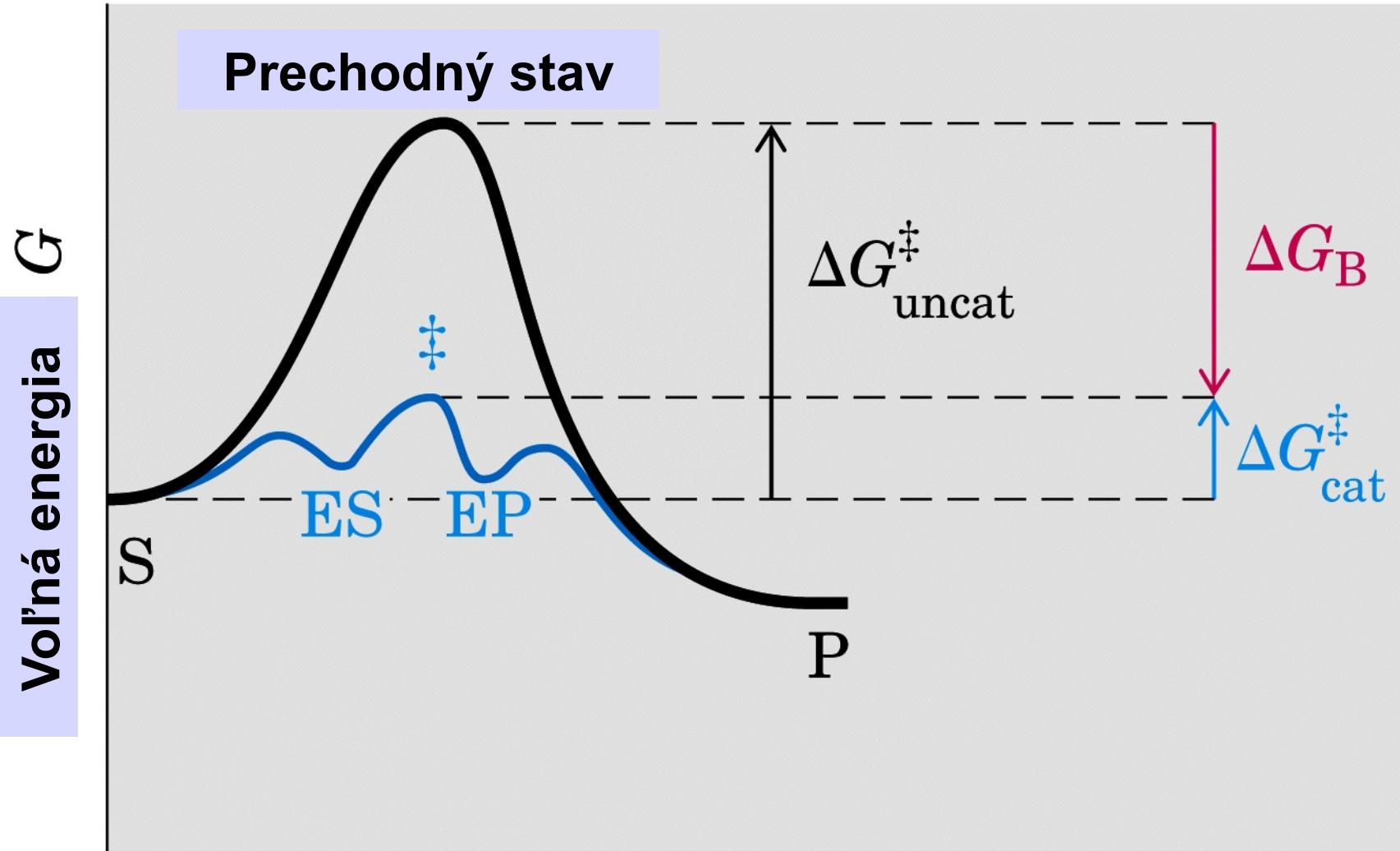
**Enzýmy ovplyvňujú rýchlosť reakcie,
nie rovnovážny stav!**

Katalyzátory (vrátane enzýmov) urýchľujú priebeh reakcie znížením aktivačnej energie.

- Katalytická schopnosť enzýmov je daná uvoľnením G (väzobná energia) pri vytváraní mnohopočetných slabých interakcií medzi enzýmom a substrátom
- Slabé interakcie sú optimálne v prechodnom stave; aktívne miesta enzýmov nie sú komplementárne k samotným substrátom, ale k prechodným stavom, ktorým sa substráty premieňajú na produkty počas enzýmovej reakcie

Vol'ná energia G

Prechodný stav

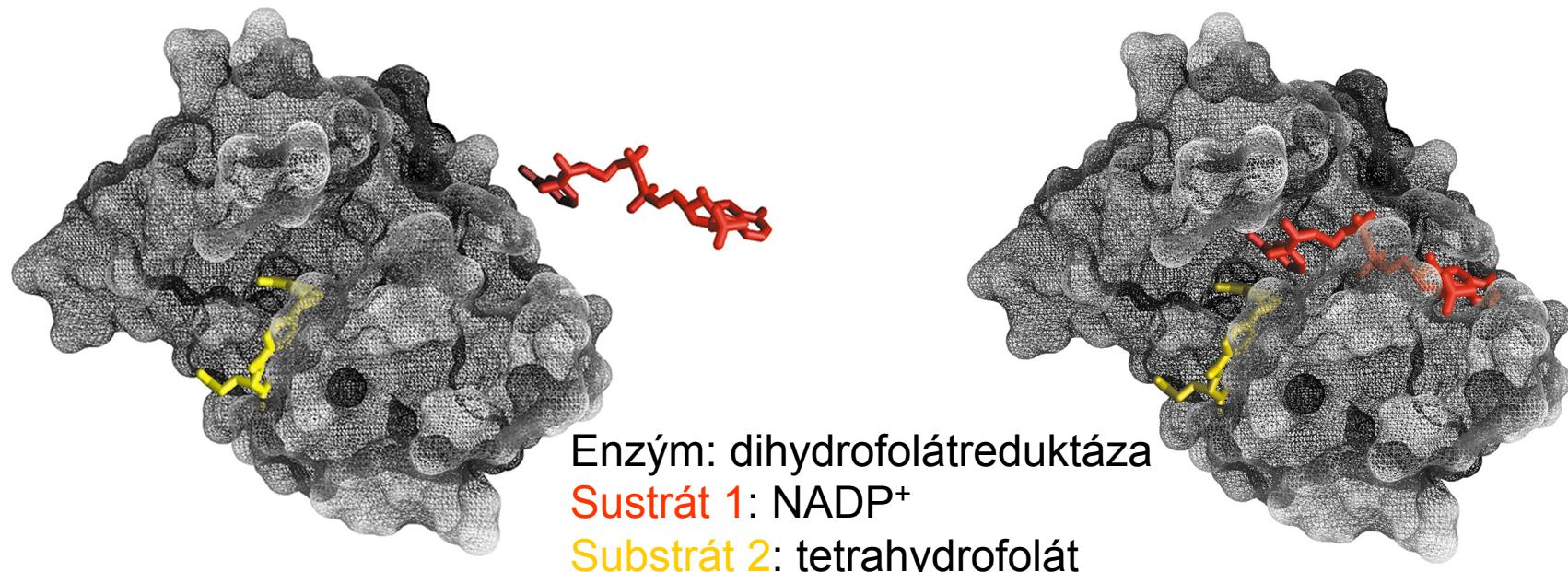


Reakčná koordináta

Väzba substrátu do aktívneho miesta prostredníctvom slabých interakcií.

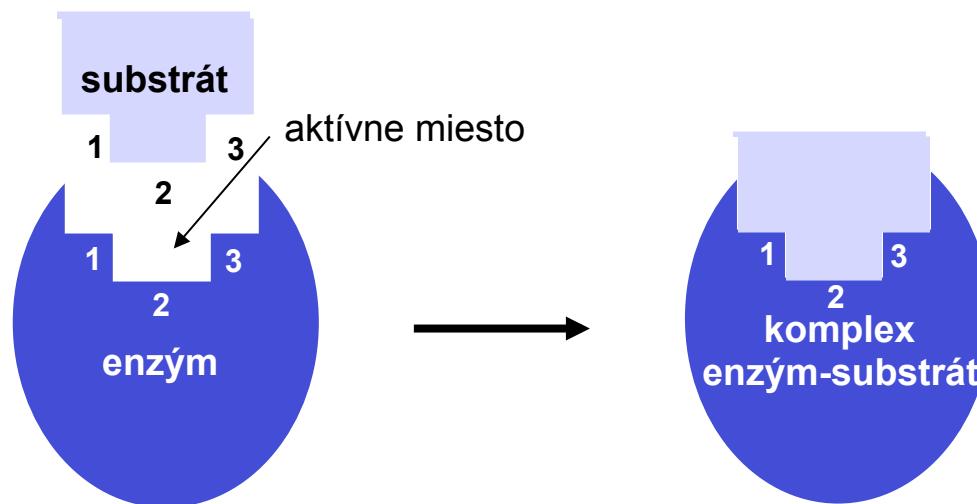
Molekulárne rozpoznávanie prebieha na základe štruktúrnej komplementarity.

Špecificita – schopnosť enzymu odlišiť substrát od inej, aj keď veľmi podobnej molekuly



Mechanizmus účinku enzymov

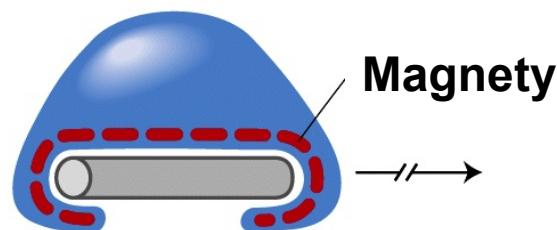
- 1. Teória komplementarity („zámky a kľúča“), E. Fischer, 1894



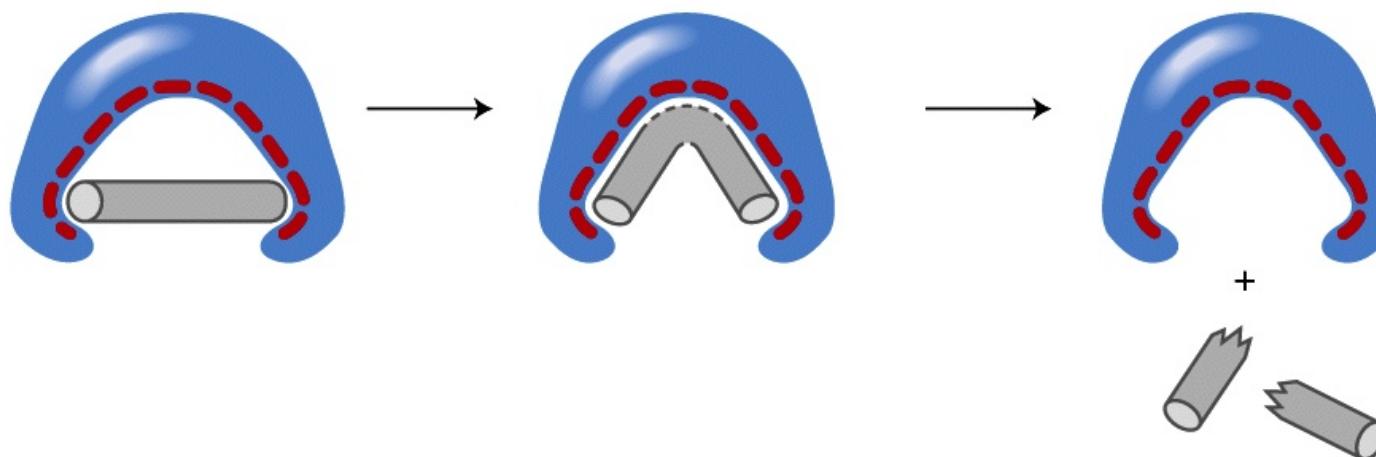
a) Bez enzymu



b) Enzym komplementárny k substrátu

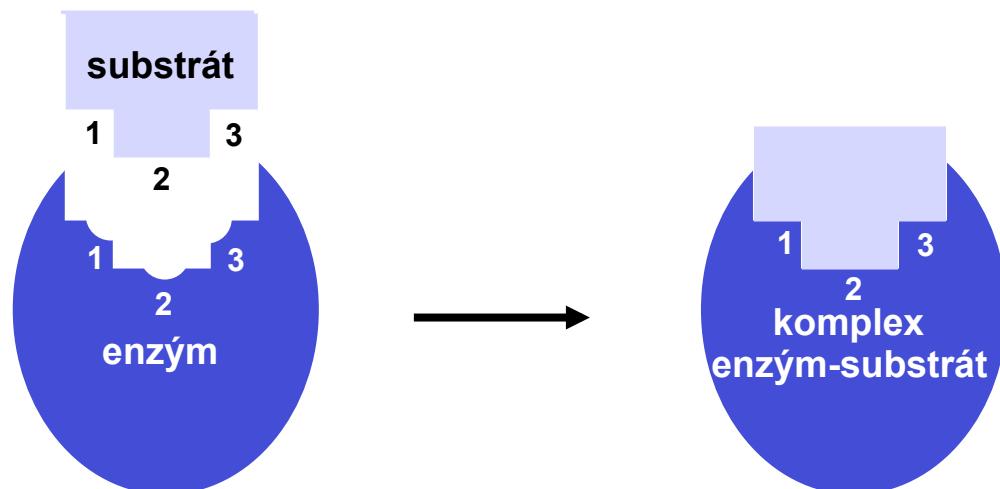


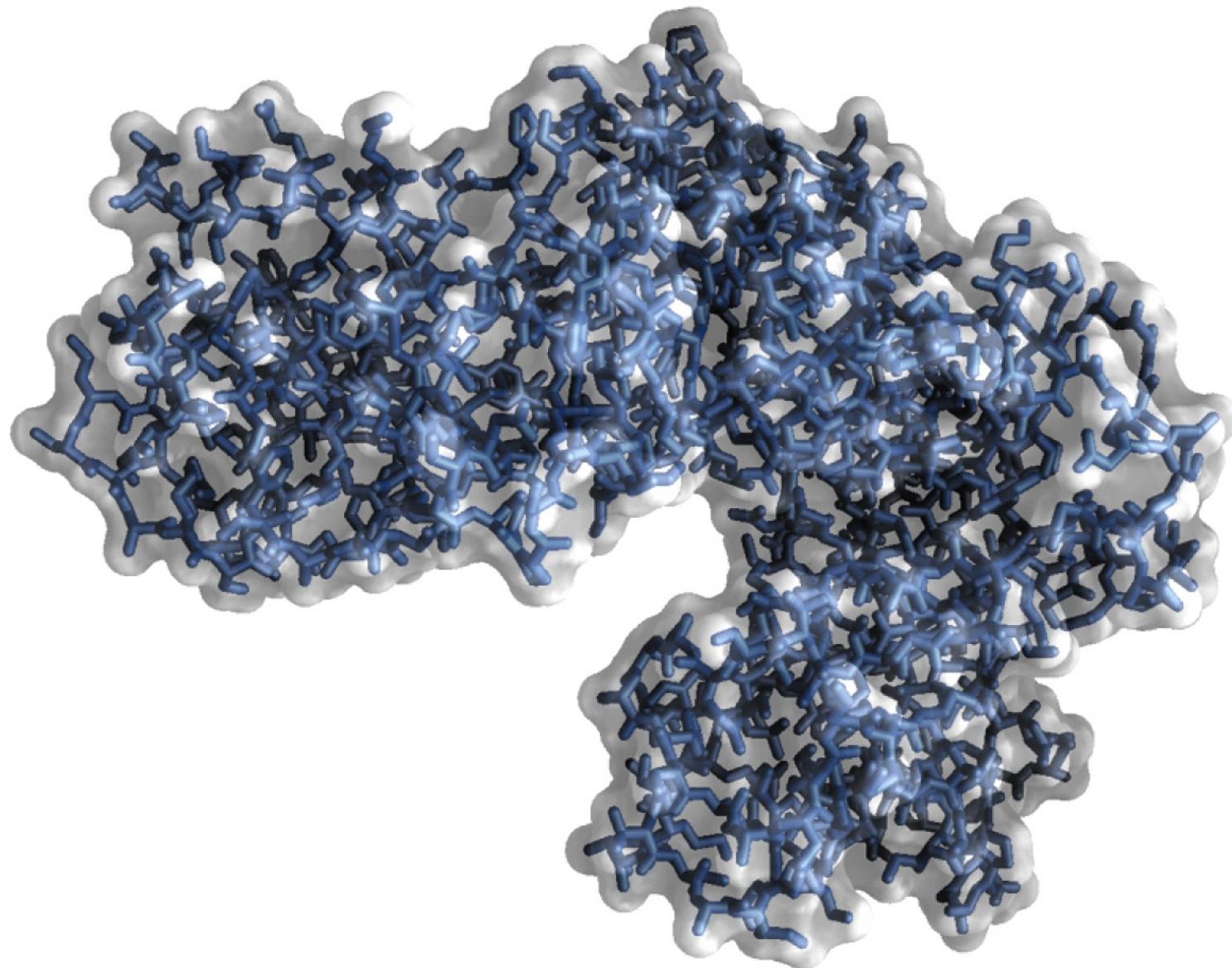
c) Enzym komplementárny k prechodnému stavu



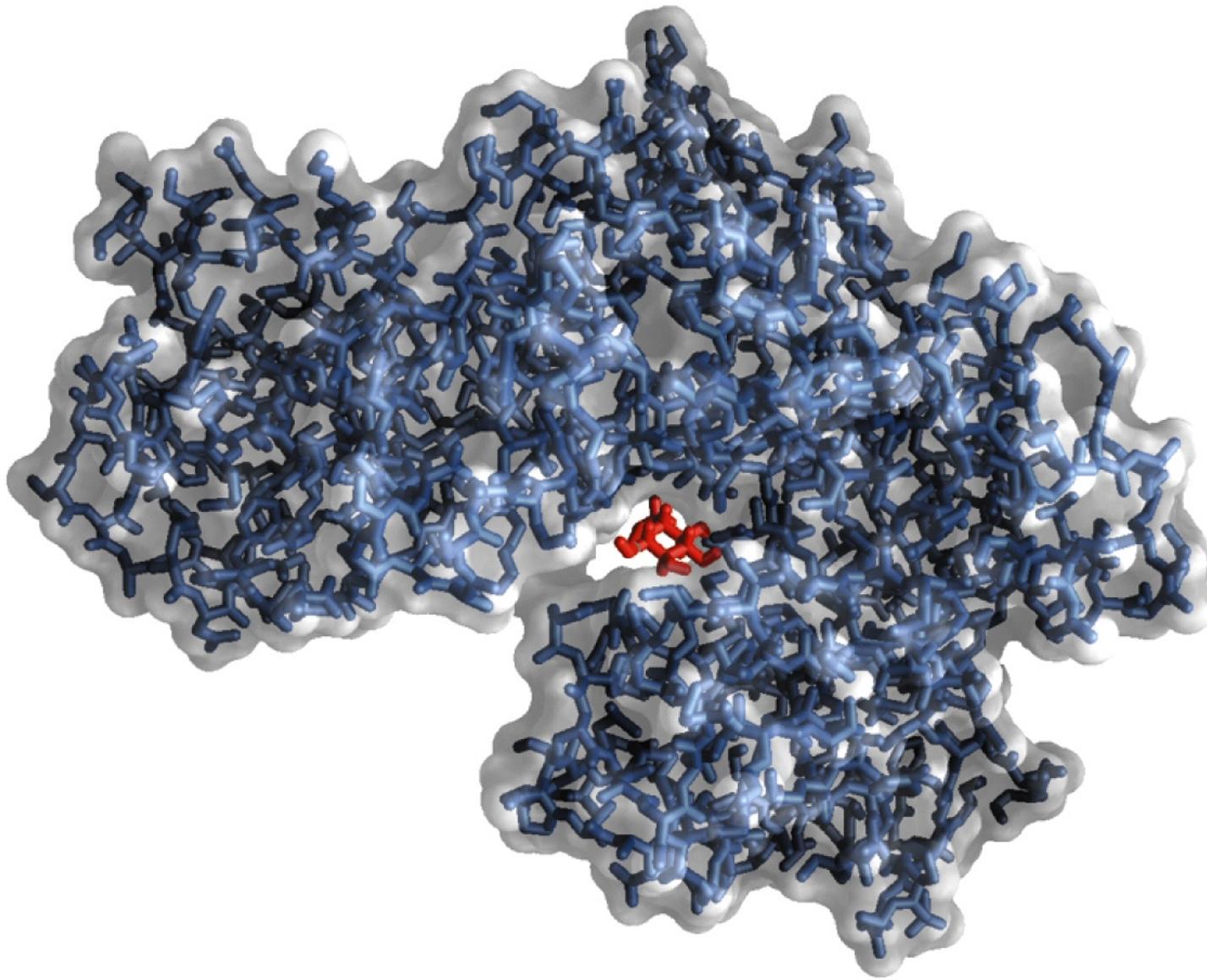
Mechanizmus účinku enzymov

- 2. Teória indukovaného prispôsobenia („ruka v rukavici“), D. Koshland, 1958





Hexokináza



Hexokináza - Glc