

BIOLOGICKÉ

MEMBRÁNY

V úvodních kapitolách bylo konstatováno, že živý organismus můžeme charakterizovat jako systém organizovaných roztoků různého složení oddělených tzv.

BIOLOGICKÝMI MEMBRÁNAMI (BIOMEMBRÁNAMI)

Základem biomembrány je tzv. membránová jednotka (jednotková membrána) tvořená **BIMOLEKULÁRNÍ VRSTVOU FOSFOLIPIDŮ**

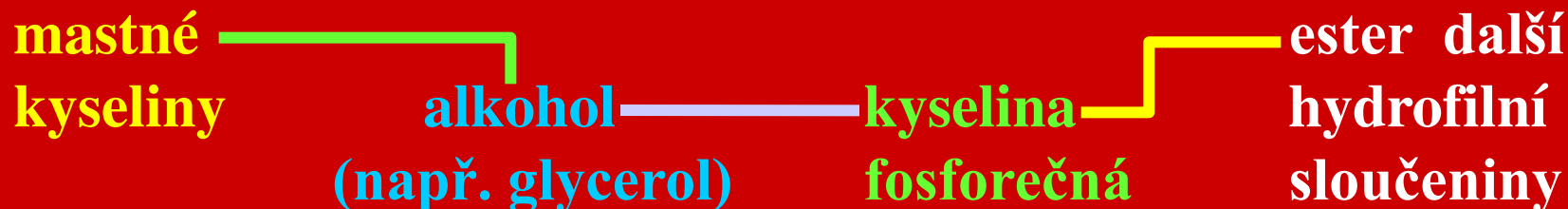
Do jednotkové membrány jsou instalovány zejména funkční **BÍLKOVINY** a další látky, které z membránové jednotky tvoří funkční biomembránu.

Konstrukčně jsou shodné biomembrány, které tvoří membránu cytoplasmatickou, membránu mitochondriální, membránu obklopující jádro atd.

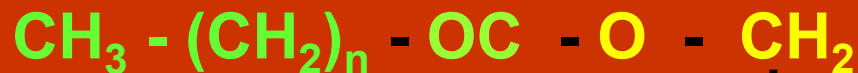
Základem membránové jednotky jsou fosfolipidy

Zjednodušeně jsou fosfolipidy estery vyšších mastných kyselin, kyseliny fosforečné a specifického alkoholu (například glycerolu).

Fosforečnanová skupina je obvykle rovněž další hydrofilní sloučeninou esterifikována



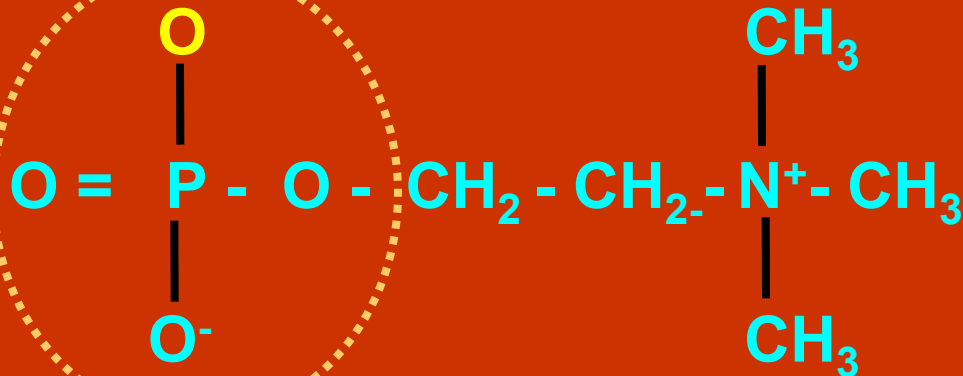
Nejjednodušší je struktura fosfoglyceridů



glycerol

hydrofobní (lipofilní)
část molekuly
mastné kyseliny (MK)
s dlouhým řetězcem

fosfát



FOSFATIDYLCHOLIN

hydrofilní (lipofobní)
část molekuly
(aminoalkohol)

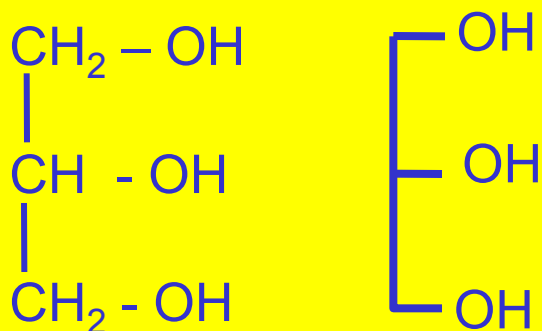
Z praktického hlediska se užívají k vyjádření struktury fosfolipidů zjednodušené vzorce:

KYSELINA PALMITOVÁ

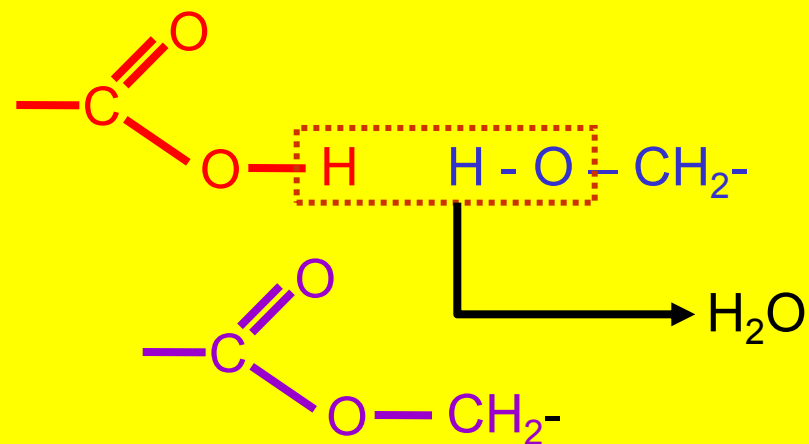


KYSELINA

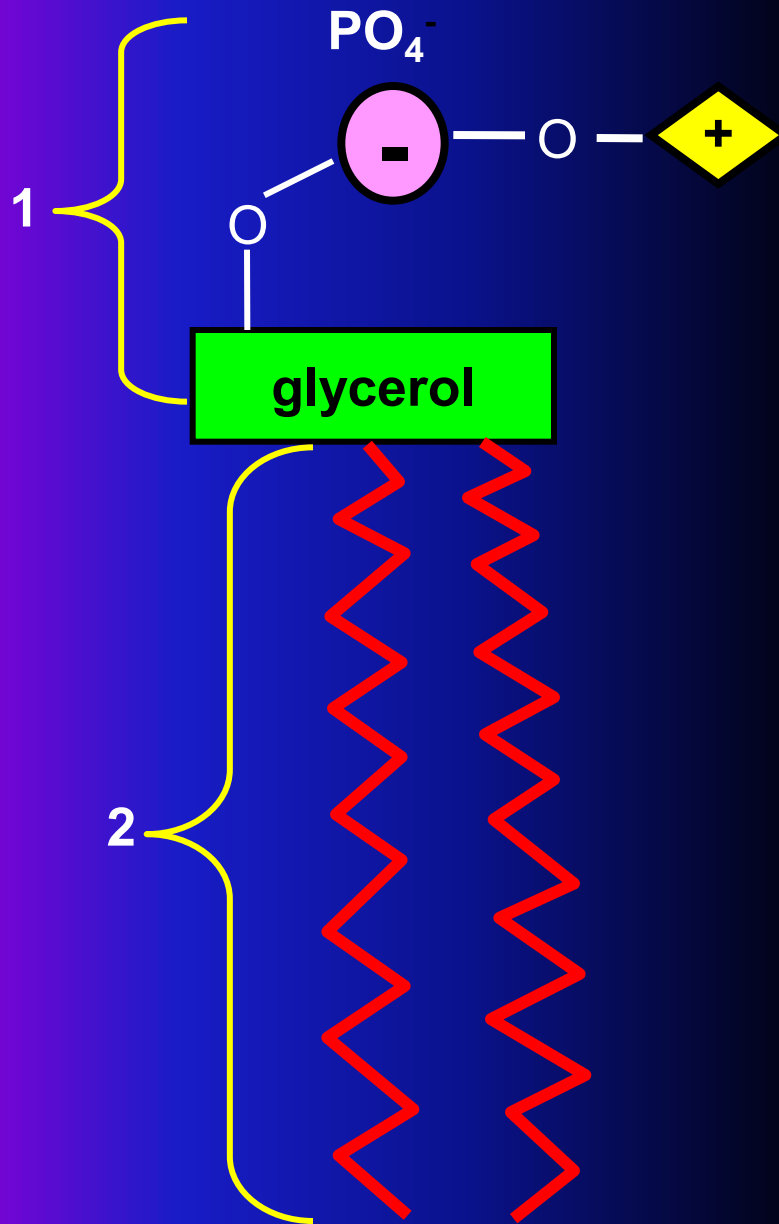
ALKOHOL



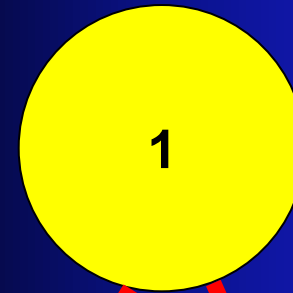
GLYCEROL



ESTER



Hydrofilní část



Hydrofobní část molekuly

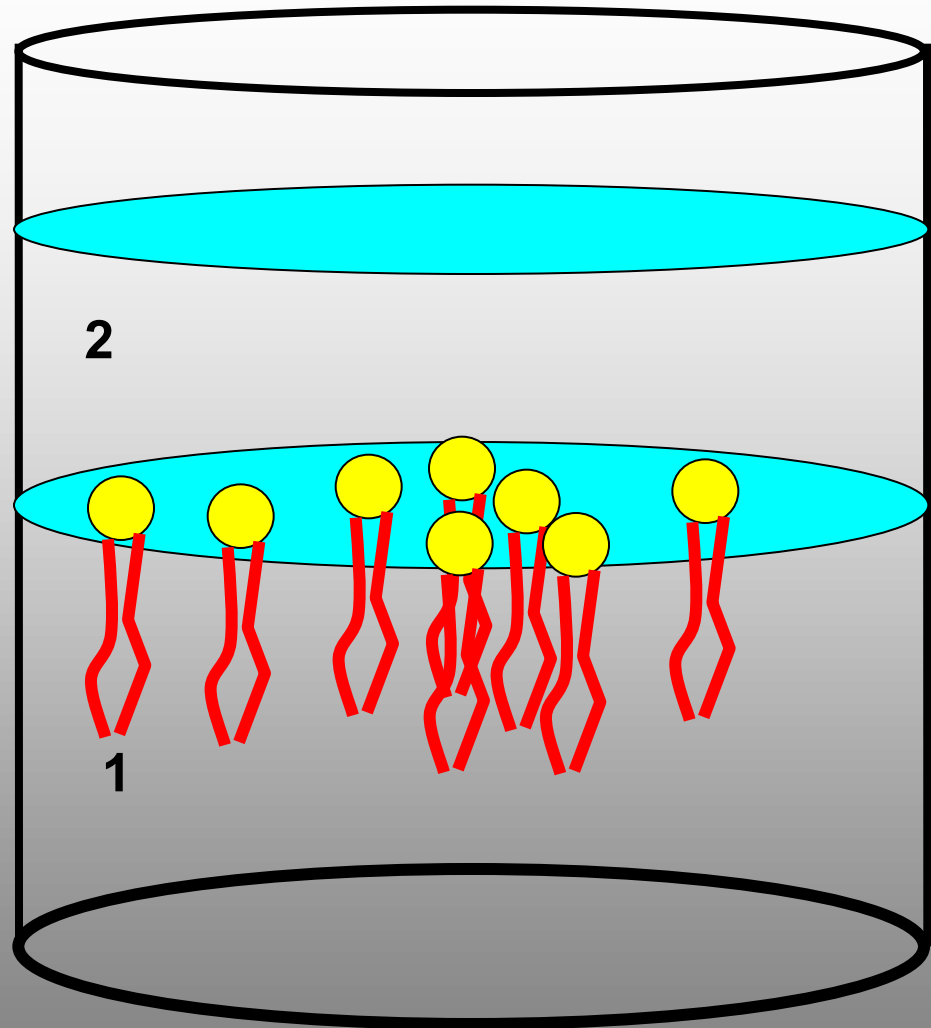


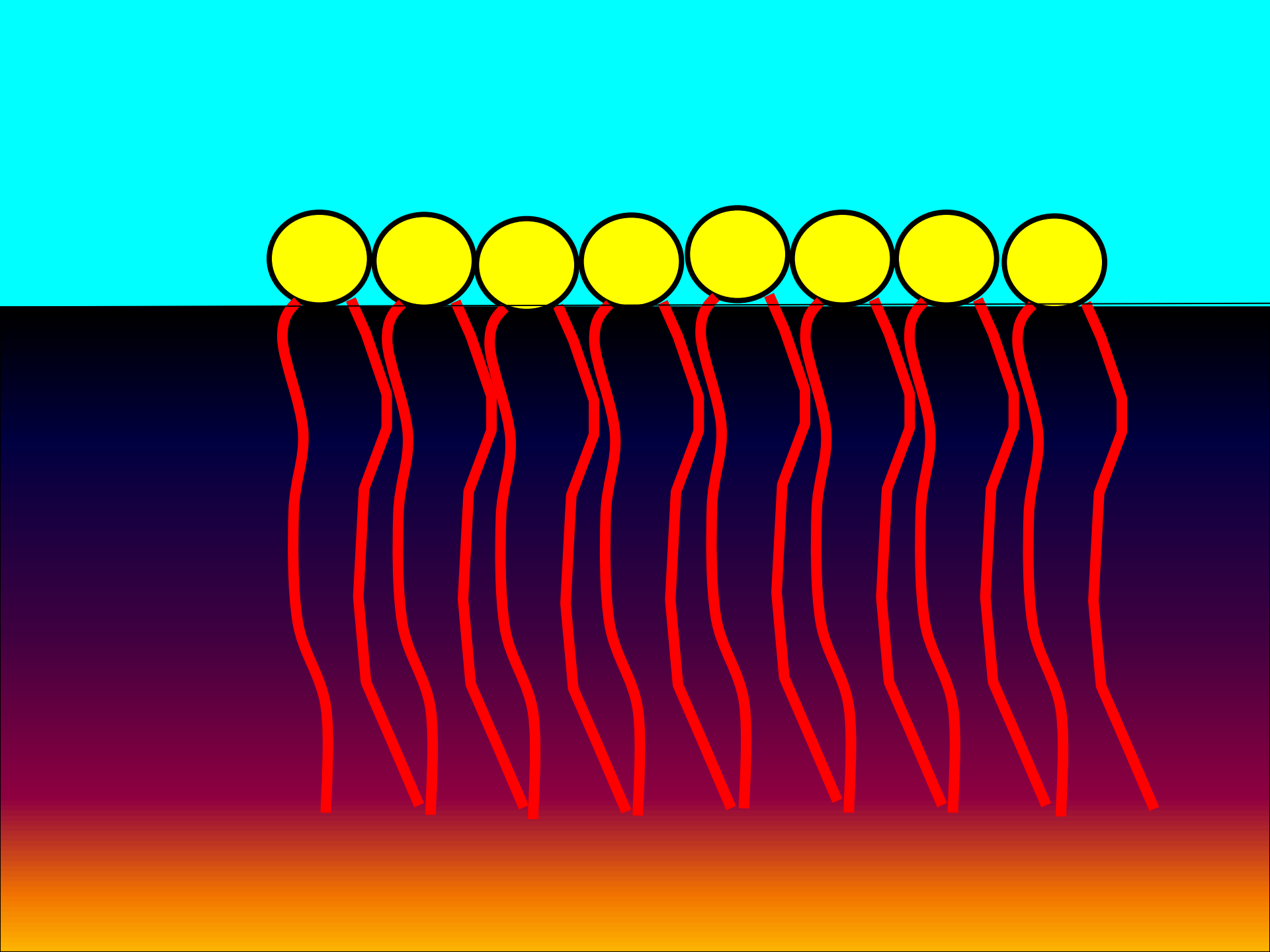
Nádoba obsahuje dvě
Navzájem se nemísící
Rozpouštědla:

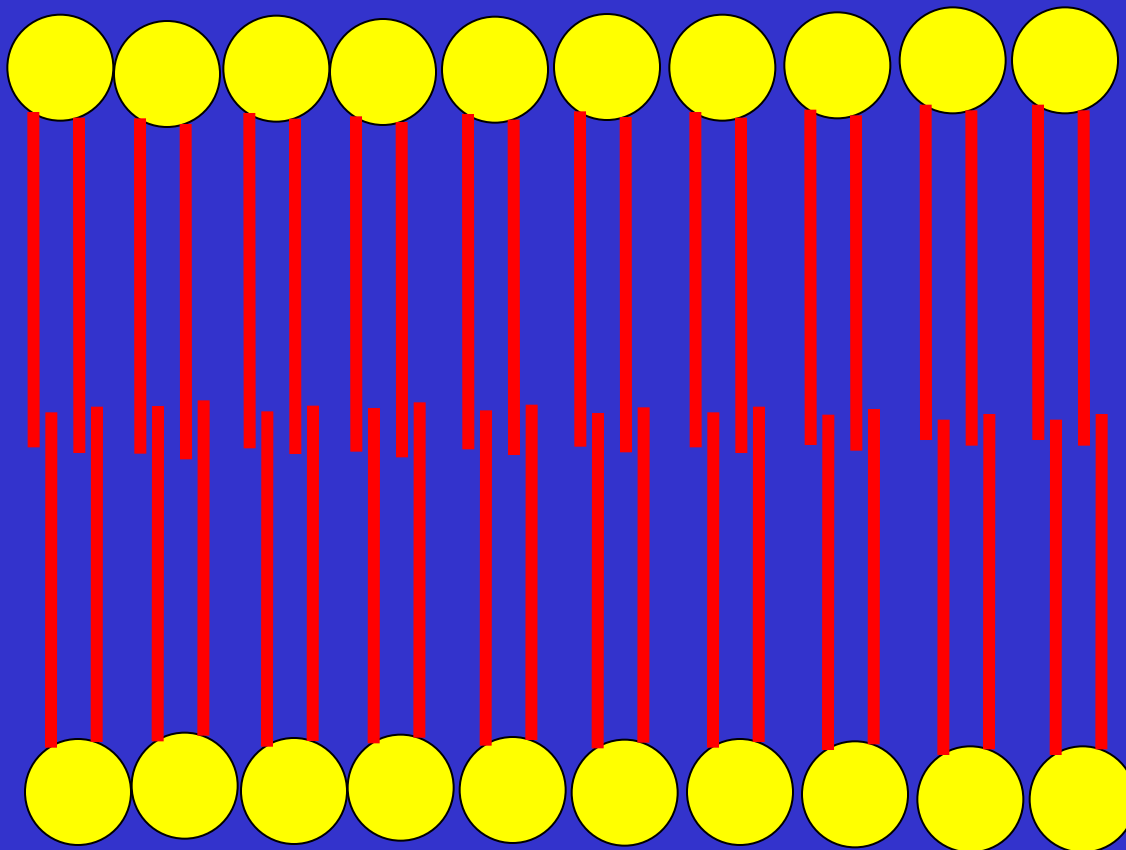
1) **Hydrofobní**

2) **Hydrofilní**

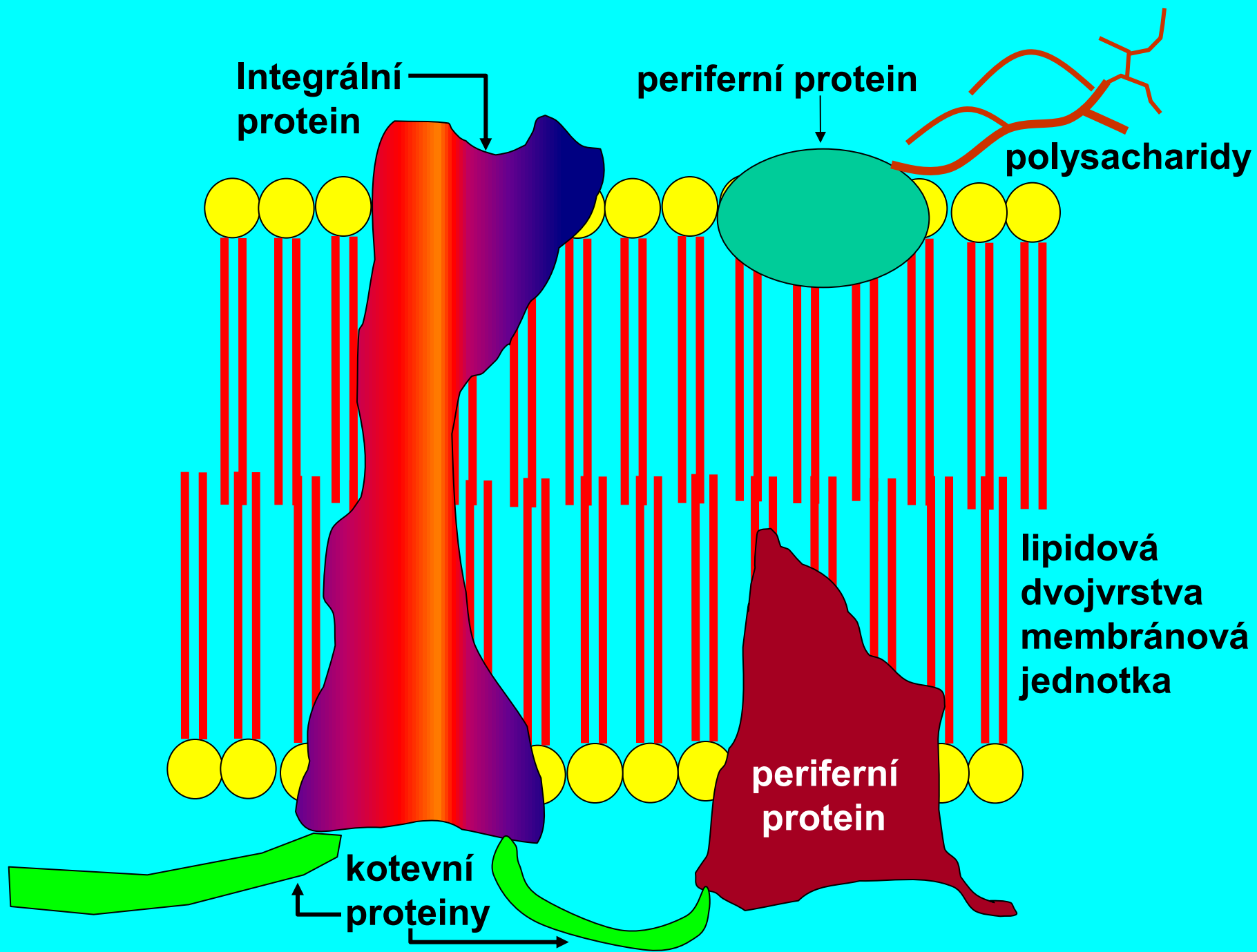
pokud přidáme fosfolipid
s dobře vyjádřenou hydro-
filní a hydrofobní částí
molekuly, dojde k tomu, že
se vytvoří tzv.
monomolekulární film
fosfolipidu.





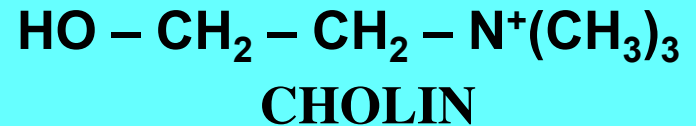
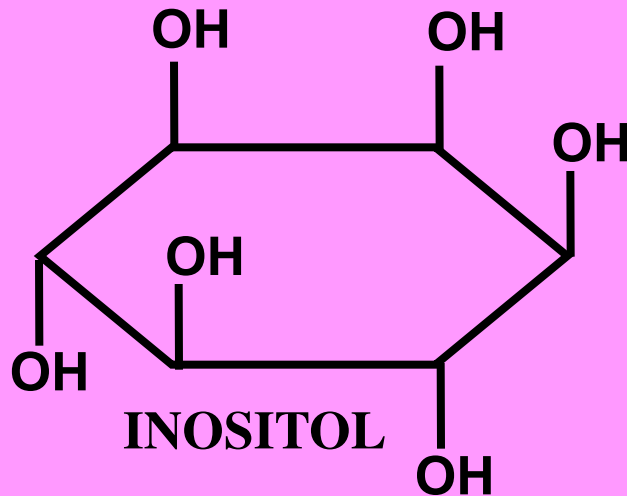
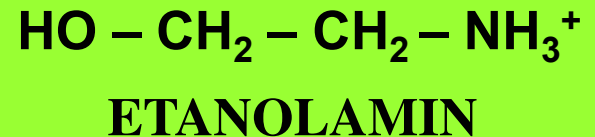


Bimolekulární film: membránová jednotka



ALKOHOLY

nejběžněji se vyskytující v membránových fosfolipidech



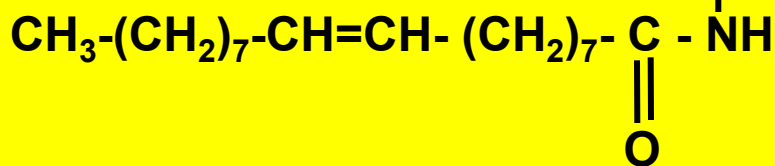
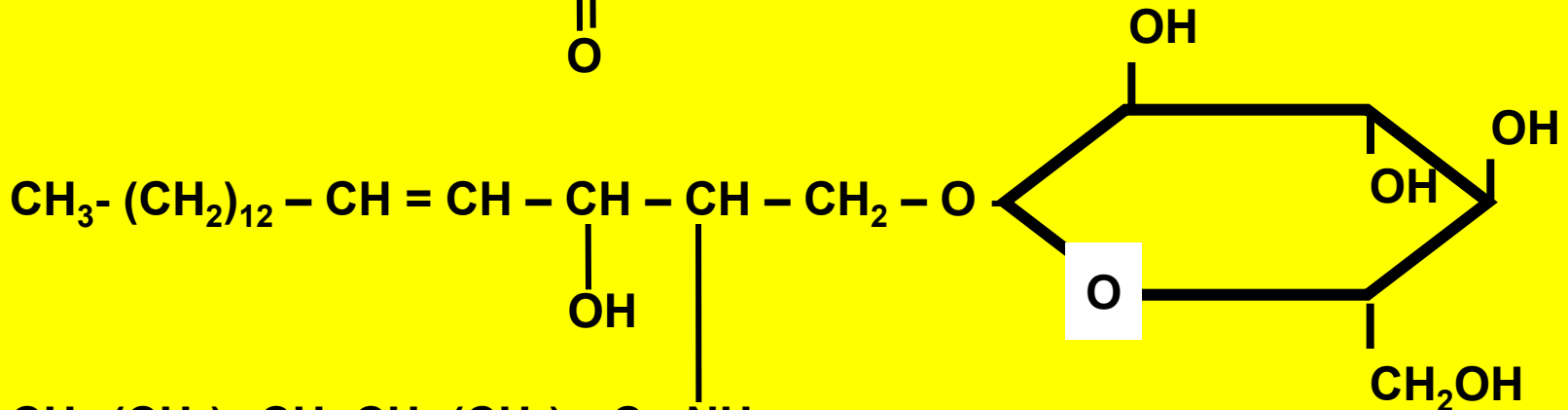
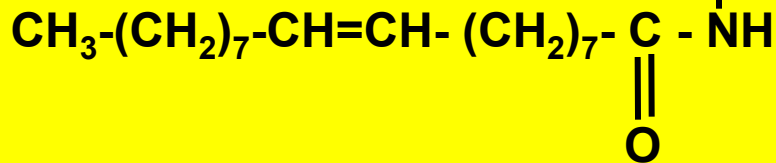
FOSFOLIPIDY

Odvozené od glycerolu, sfingozinu a cholesterolu

Glycerol = fosfatidylcholin

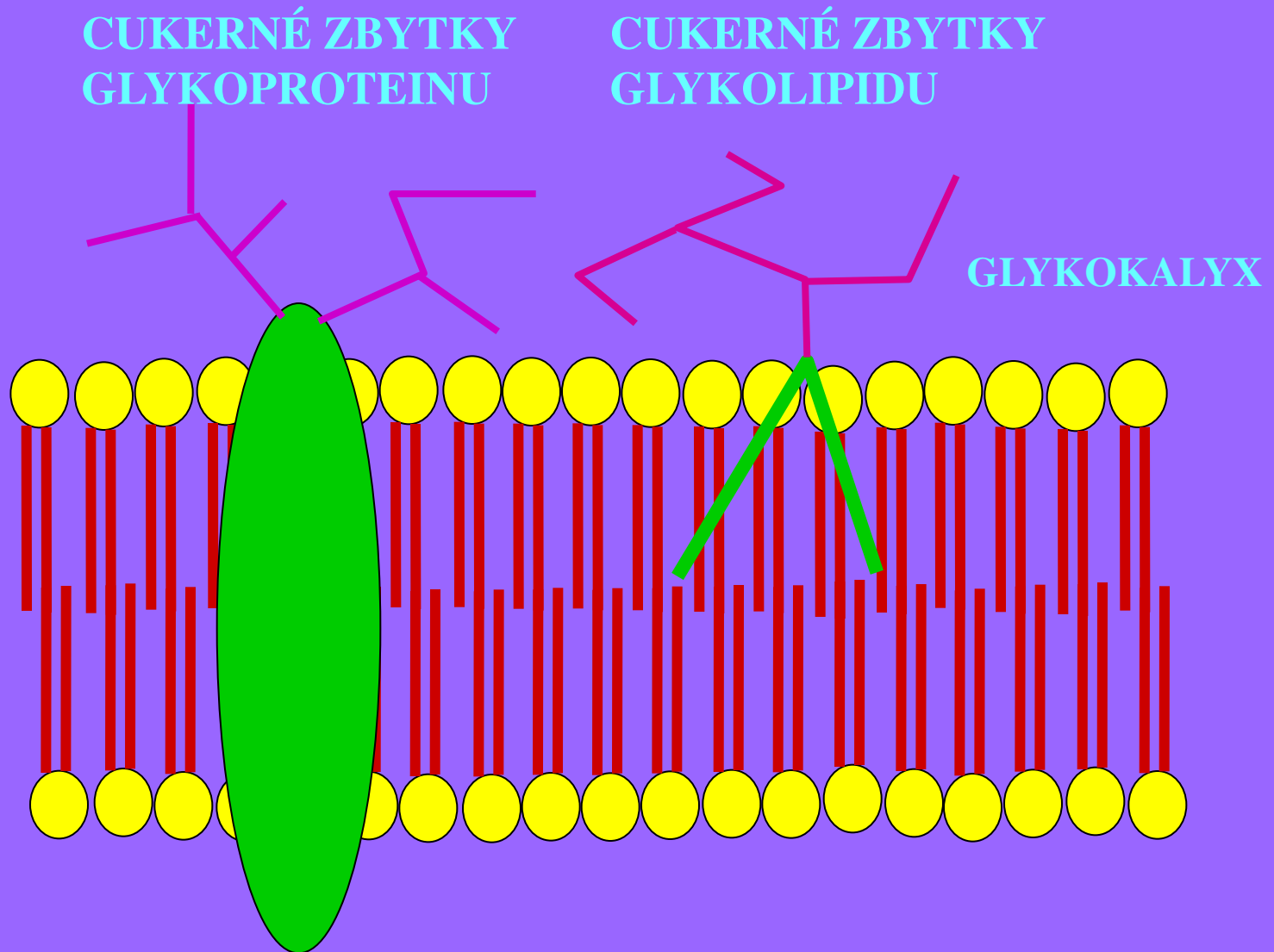
Sfingozin = sfingomyelin, cerebrosid

cholesterol

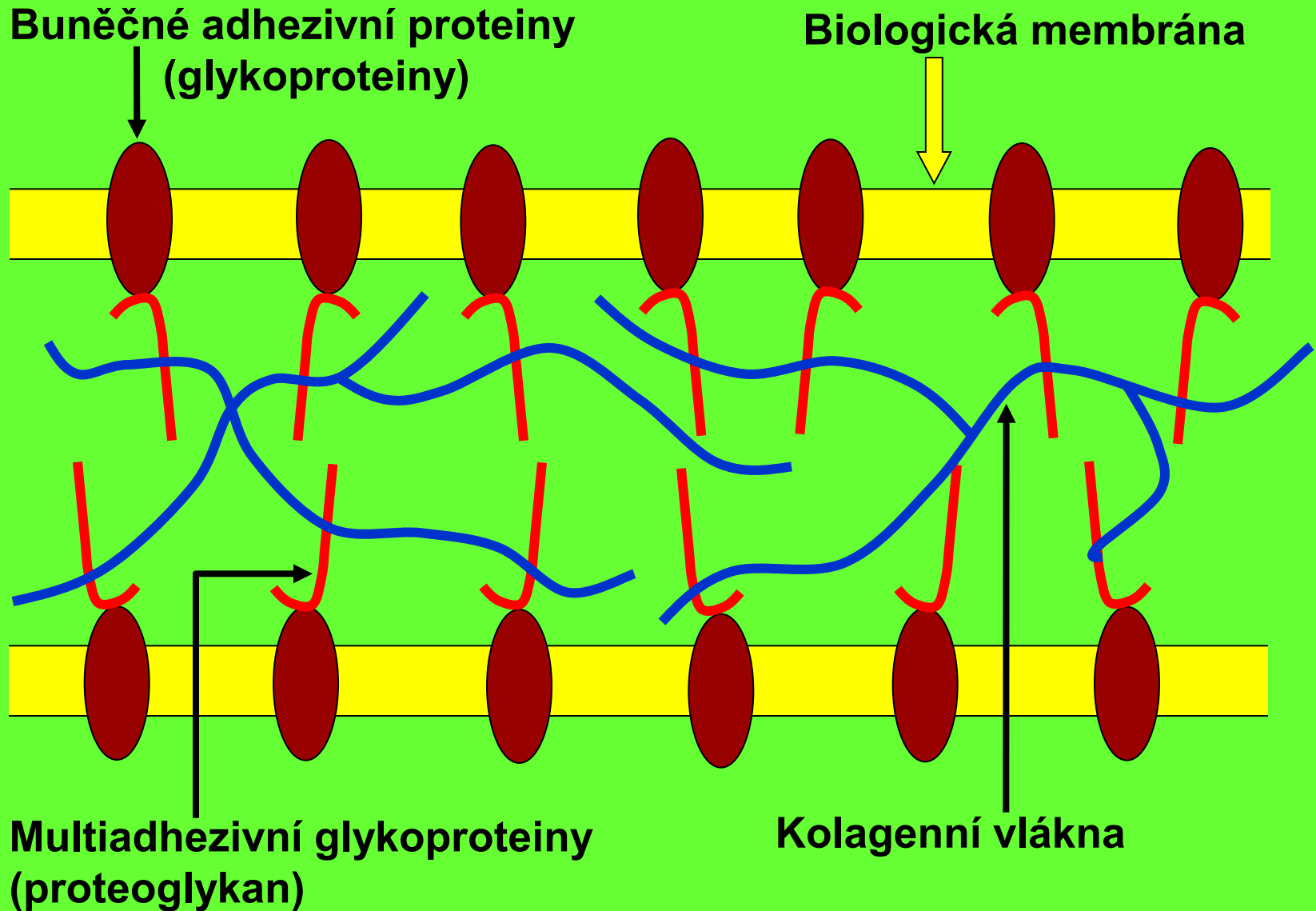


GLUKOSYLCEREBROSID

MEMBRÁNA A CUKERNÉ ZBYTKY



Dvě sousední buňky vykazují relativně široké mezibuněčné prostory a Buňky jsou navzájem spojeny glykoproteiny a kolagenem. Formují Pevnou mezibuněčnou matrix.



**TRANSMEMBRÁNOVÝ
PŘESTUP
METABOLICKY
VÝZNAMNÝCH
LÁTEK**

Protože biologická membrána je různě permeabilní pro různé látky vytvořily se různé mechanismy přestupu konkrétních sloučenin.

Tyto sloučeniny mohou pronikat do buňky, nebo naopak z buňky unikat. Příkladem je přesun iontů (homeostatické mechanismy), dýchacích plynů (zajištění metabolismu buňky), extruze katabolitů z buňky, produkce různých látek pro potřeby dalších buněk, nebo molekul zajišťujících regulace (informační molekuly, mediátory, hormony).

Existují tyto mechanismy umožňující přestup látek přes biomembrány:

Aktivní transport

Sekundární aktivní transport

Pasivní přestup

Přenos makromolekulárních látek

AKTIVNÍ TRANSPORT **(BĚŽNĚ „PUMPY“)**

Spotřebovává chemickou energii uloženou v makroergních fosforečnanových esterech (ATP, kreatin-fosfát)

Na-K-ATPasa (sodíko-draslíková pumpa)

Ca-ATPasa (vápníková pumpa)

Protonová pumpa

Transmembránový přesun látek

AKTIVNÍ (BĚŽNĚ „PUMPY“)

Spotřebovává chemickou energii uloženou v makroergních fosforečnanových esterech (ATP, kreatin-fosfát)

Na-K-ATPasa

Ca-ATPasa

Protonová pumpa

PASIVNÍ (nespotřebovávají chemickou energii)

1) DIFUSE

2) FACILITOVANÁ DIFUSE

3) SYMPORT

4) ANTIPORT

TRANSPORT

MAKROMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK

Nutná spolupráce cytoskeletonu,
Spotřeba energie

PINOCYTOSA

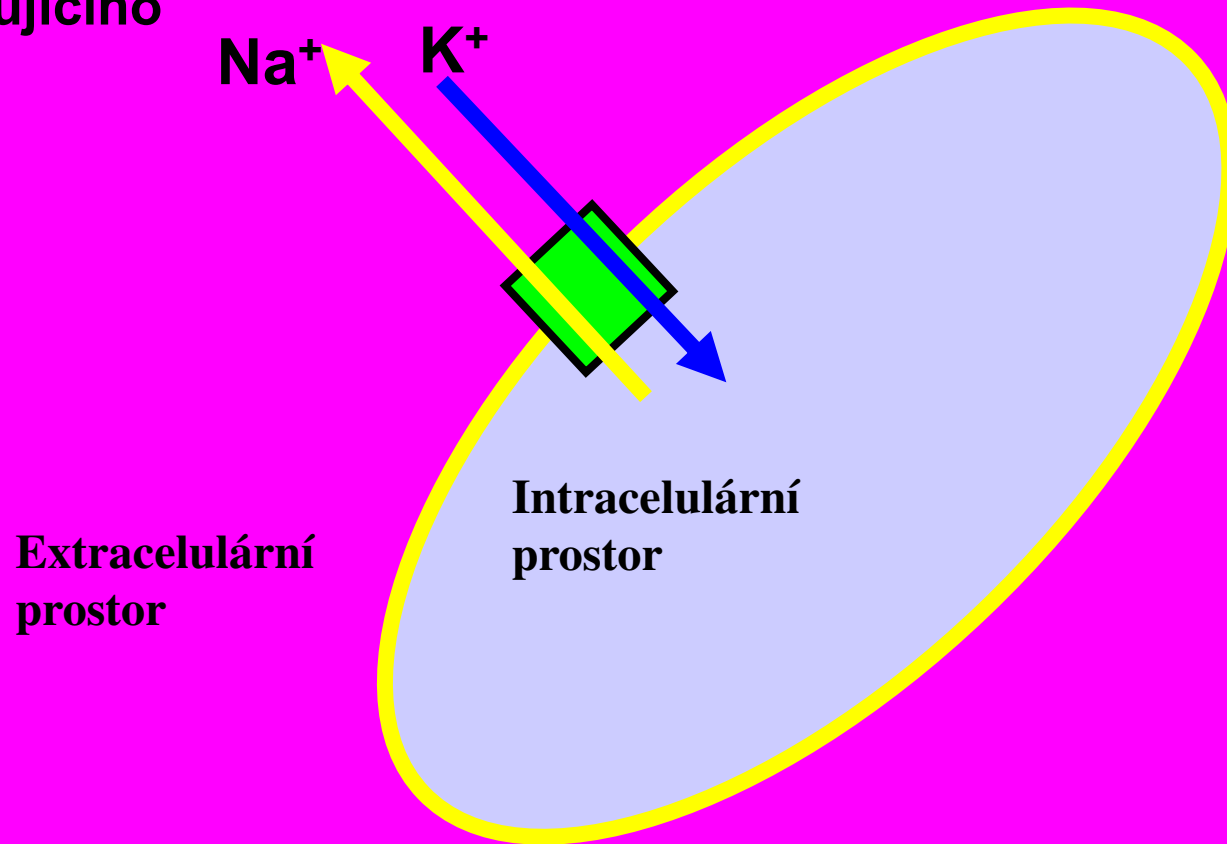
ENDOCYTOSA

EXOCYTOSA

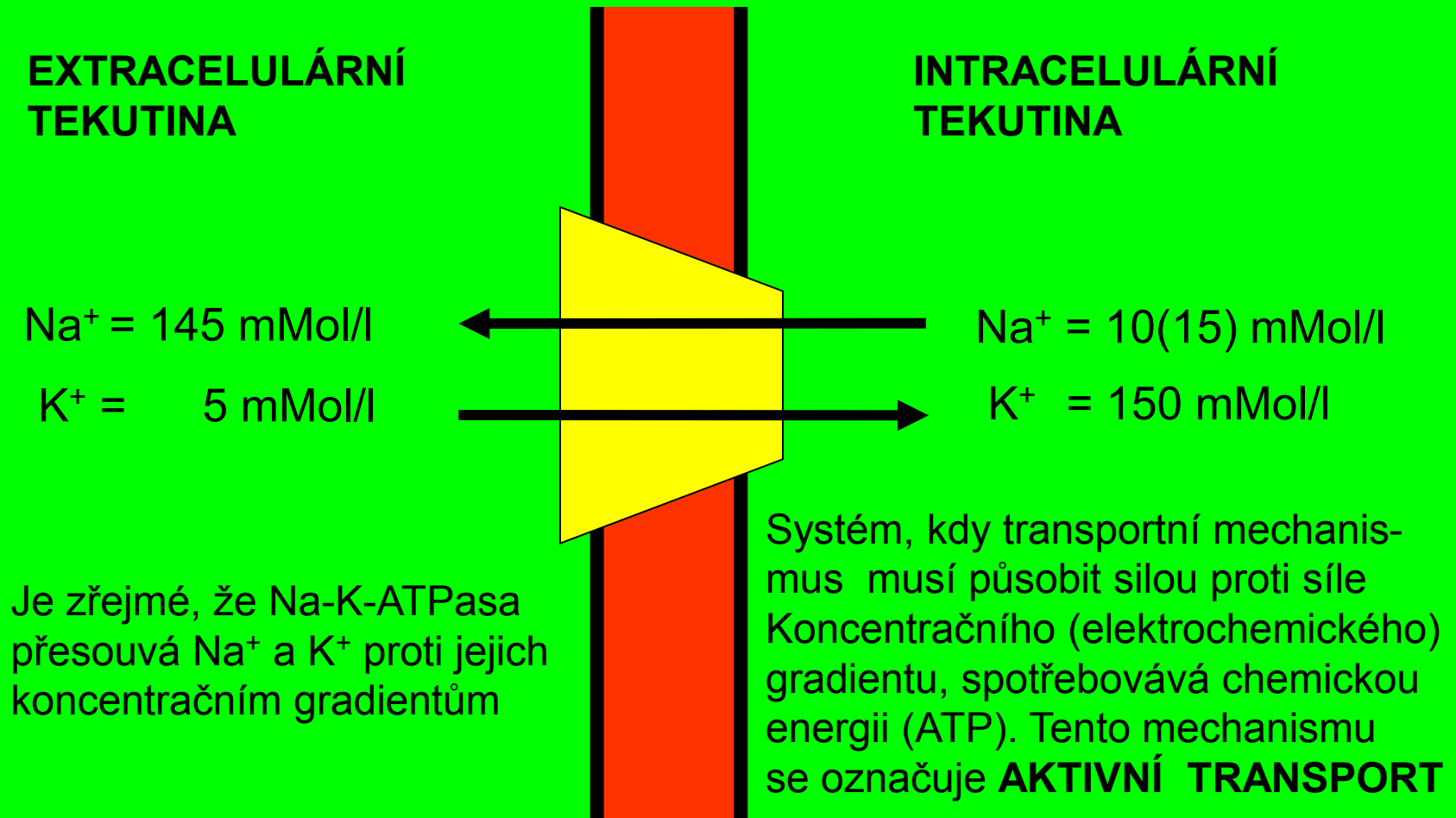
Aktivní transport

Příkladem je klasická sodíko-draslíková pumpa.

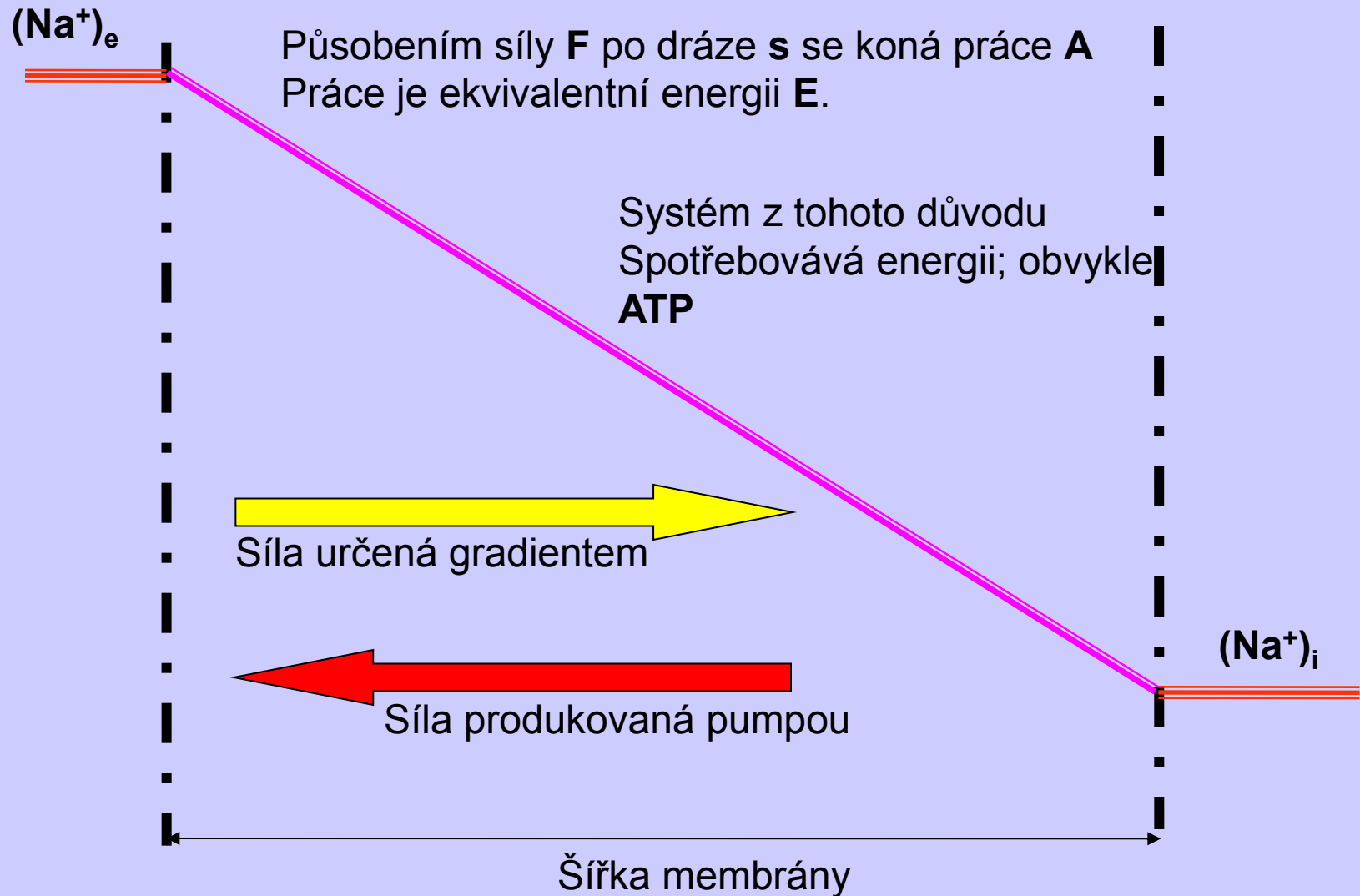
Na-K-ATPasa. Přípona –aza označuje, že transportní protein má vlastnosti enzymu hydrolyzujícího ATP.



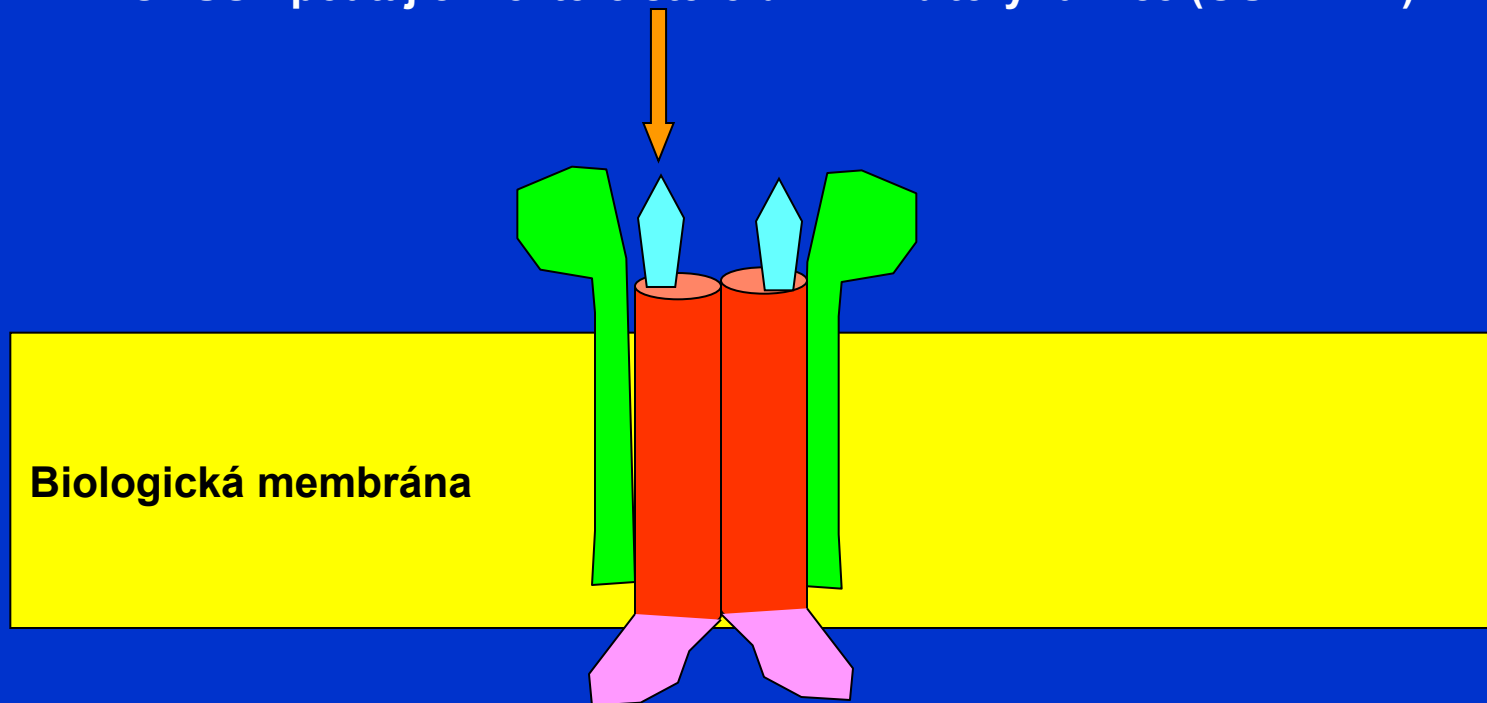
Iontové poměry Na-K-ATPasy



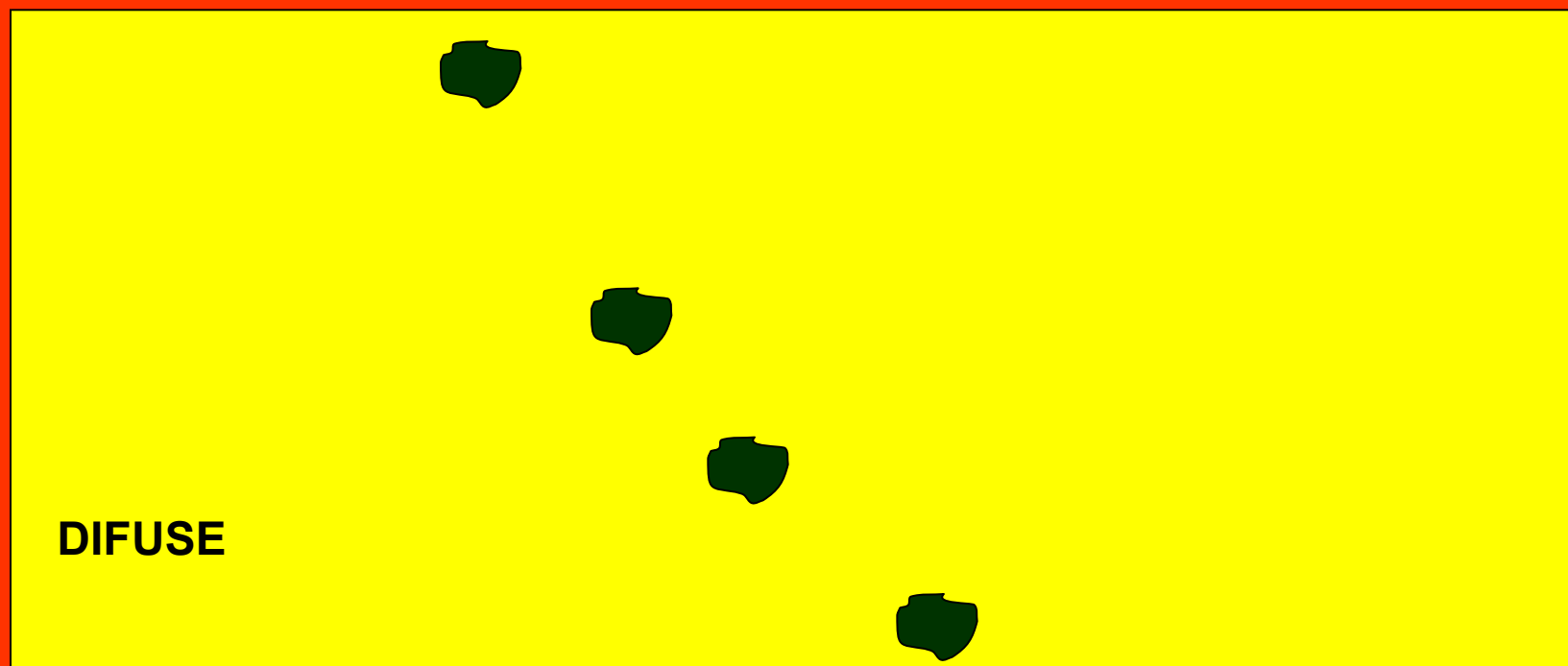
Proč aktivní transport spotřebovává energii



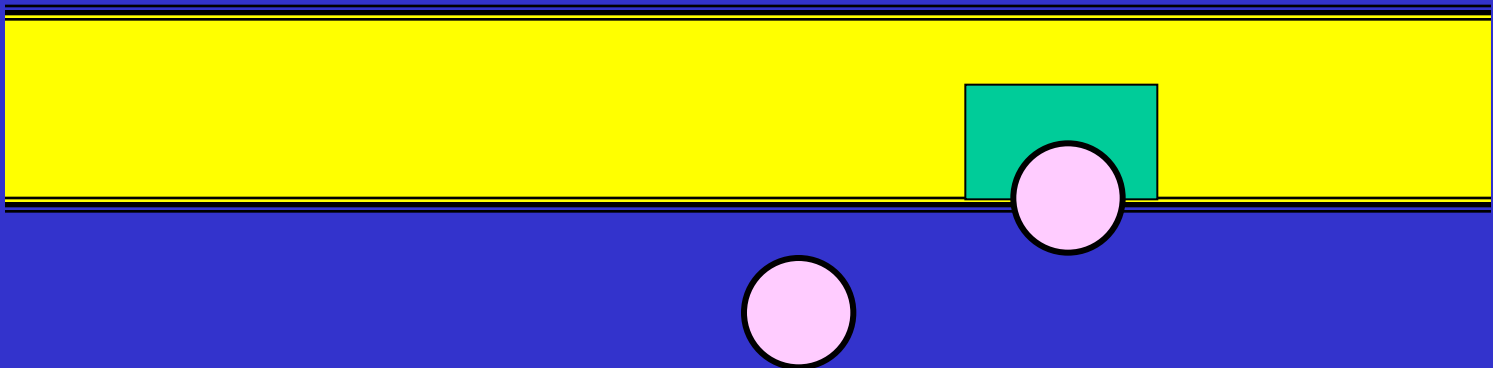
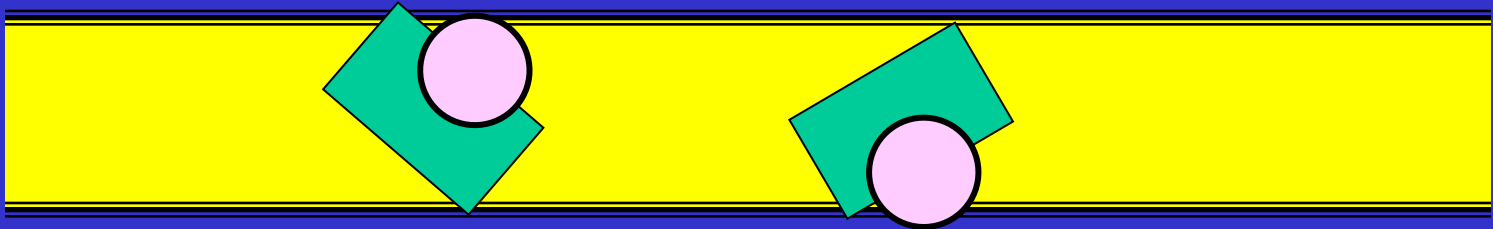
LOKUSY poutající některé steroidní inhibitory funkce (OUABAIN)



Místa hydrolyzující ATP



FACILITOVANÁ DIFUSE



Glukoza

Na⁺

symport

1

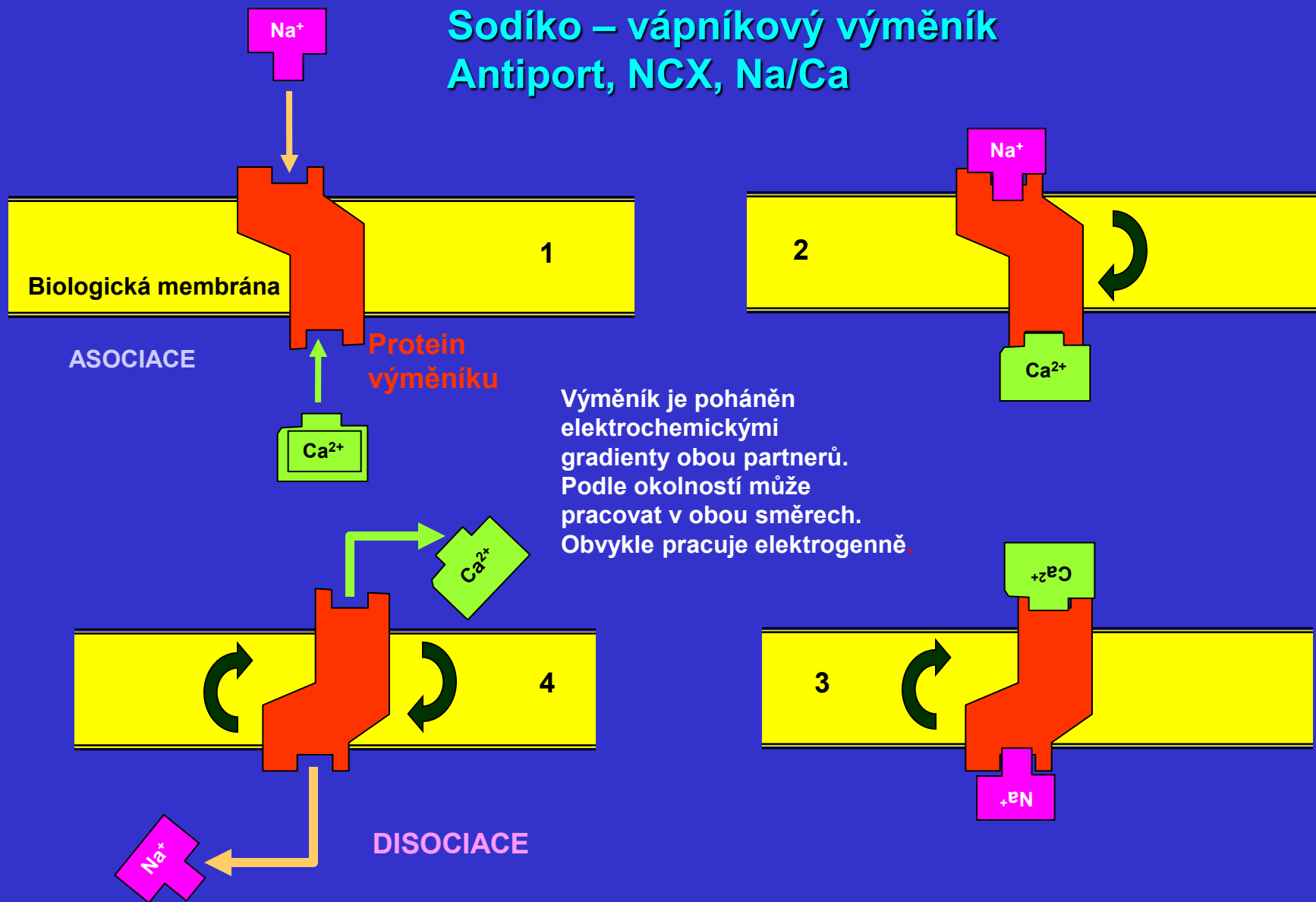
1

2

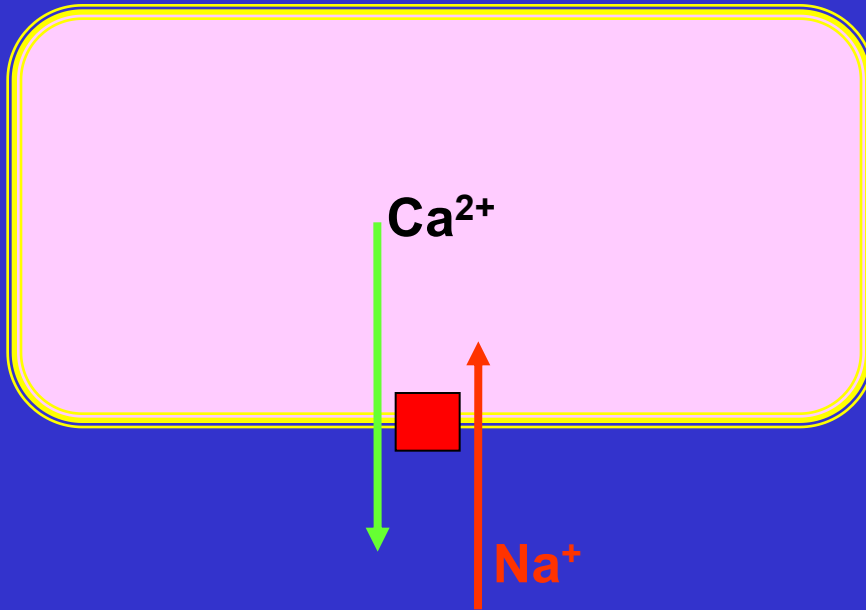
4

3

Sodíko – vápníkový výměník Antiport, NCX, Na/Ca

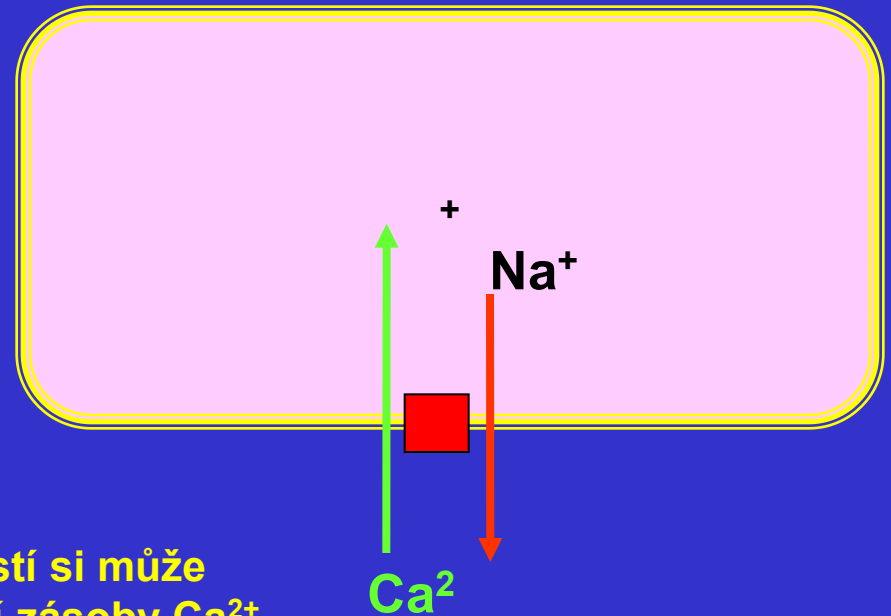


Úloha výměníku



NCX se stává významným nástrojem buněčné vápníkové homeostázy.

Každá buňka se brání tzv. vápníkovému přetížení. Normální intracelulární koncentrace Ca^{2+} je menší než $10^{-7} \text{mol.l}^{-1}$. K vápníkovému přetížení jsou mimořádně citlivé buňky myokardu a nervové buňky.



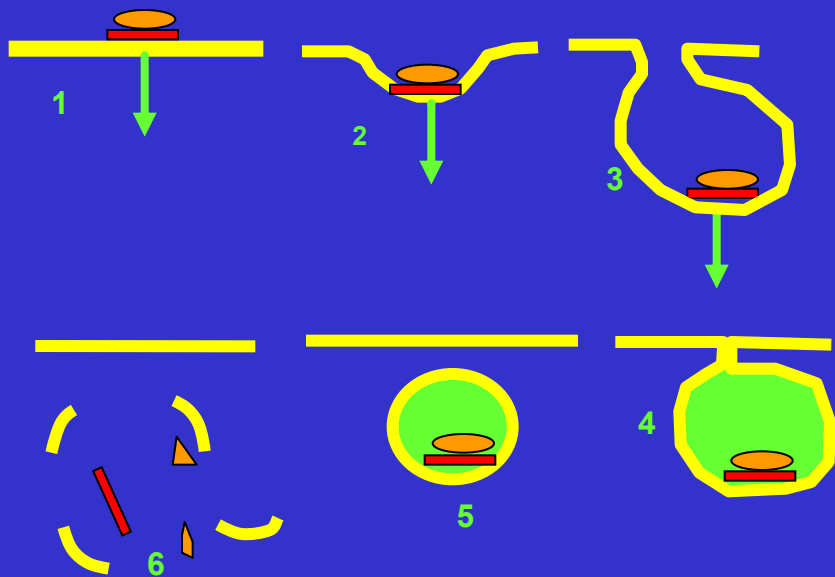
Za zcela mimořádných okolností si může Buňka doplňovat intracelulární zásoby Ca^{2+}

Biologická membrána

Receptory pro vazbu
určitých proteinů

Vlákná cytoskeletonu

Vstřebatelný protein



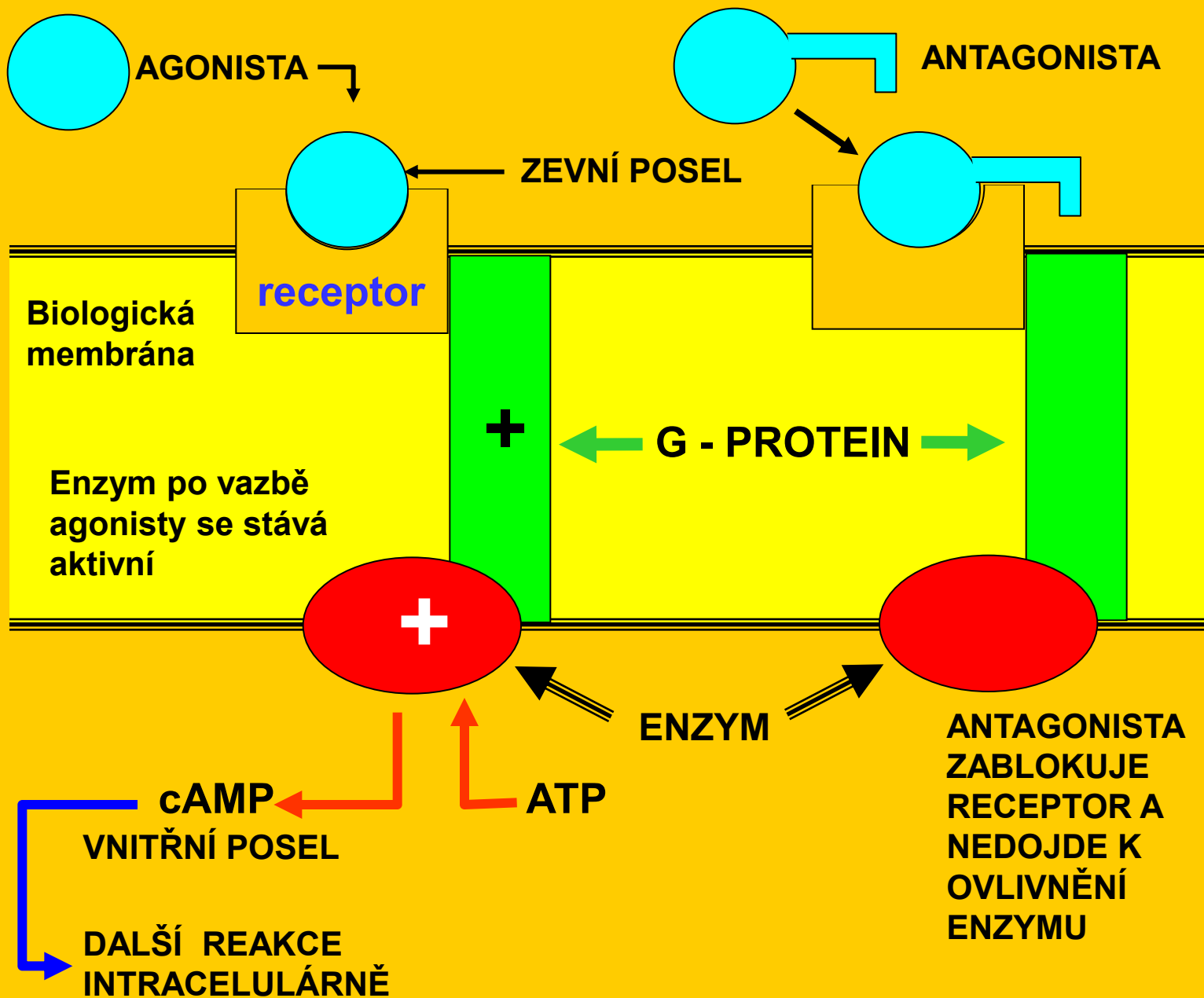
Vstřebatelný protein se navázal na receptory
povrchu biologické membrány

Vznikem komplexu protein
-receptory se aktivují některá
vlákna cytoskeletonu a zvýší výrazně
mechanický tah směrem do buňky. Vzniká
vakuola, která serozpadne a účinkem
proteolytických enzymů je bílkovina
hydrolyzována na jednotlivé AK.

**Přenos
informací
biologickými
membránami**

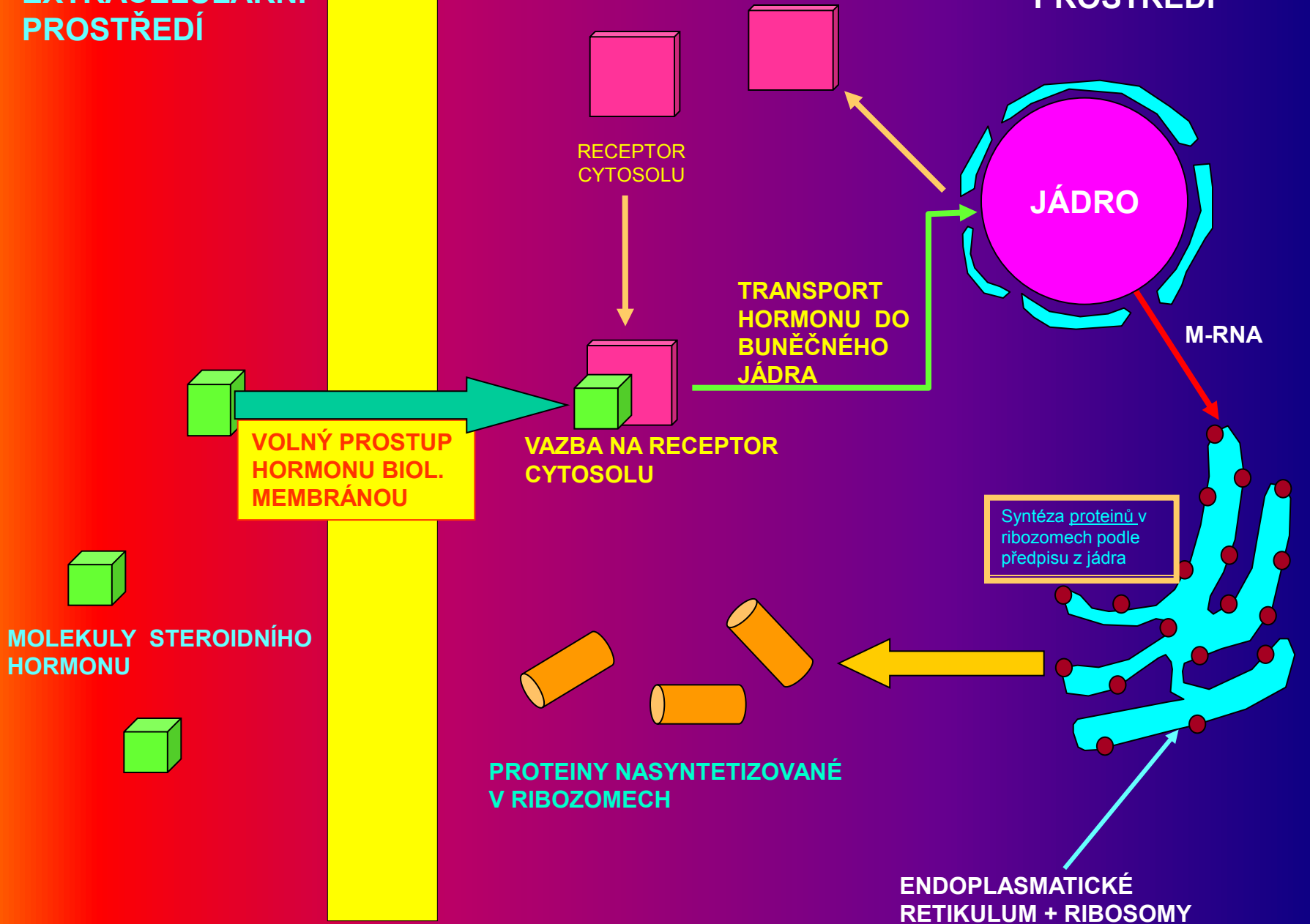
INFORMACE JSOU PŘENÁŠENY INTRACELULÁRNĚ (PŘES BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY) TĚMITO ZÁKLADNÍMI CESTAMI:

- 1) **PROSTŘEDNICTVÍM INFORMAČNÍCH MOLEKUL (HORMONY, MEDIÁTORY)**
a) informační (signální) extracelulární molekula se naváže na receptor membrány a přepíše se v systému membránových proteinů na intracelulární informační molekulu. Zevní posel se v membráně transformuje ve vnitřního posla.
- 2) **PROSTŘEDNICTVÍM ELEKTRICKÉHO STAVU BIOLOGICKÉ MEMBRÁNY.**
V případě tzv. vzrušivých tkání se biologická(buněčná) membrána může vyskytovat ve dvou elektricky odlišných stavech: KMN a AN. Vlastností AN je schopnost šířit se po membráně konečnou rychlostí a vyvolávat různé formy odpovědí.
- 3) **Mechanické podněty jsou nejčastější formou podnětů ovlivňujících buňky.**
Tahem ve směru membrány prostřednictvím vláken cytoskeletonu jsou aktivovány rozmanité iontové kanály, kterými protéká proud iontů a vyvolává rozmanité odpovědi.
- 4) **SVĚTLO, forma elektromagnetického vlnění. Foton viditelného světla je přijat fotoreceptory a přeměněn na elektrickou odpověď, která se přenáší jako nervové vzruchy.**

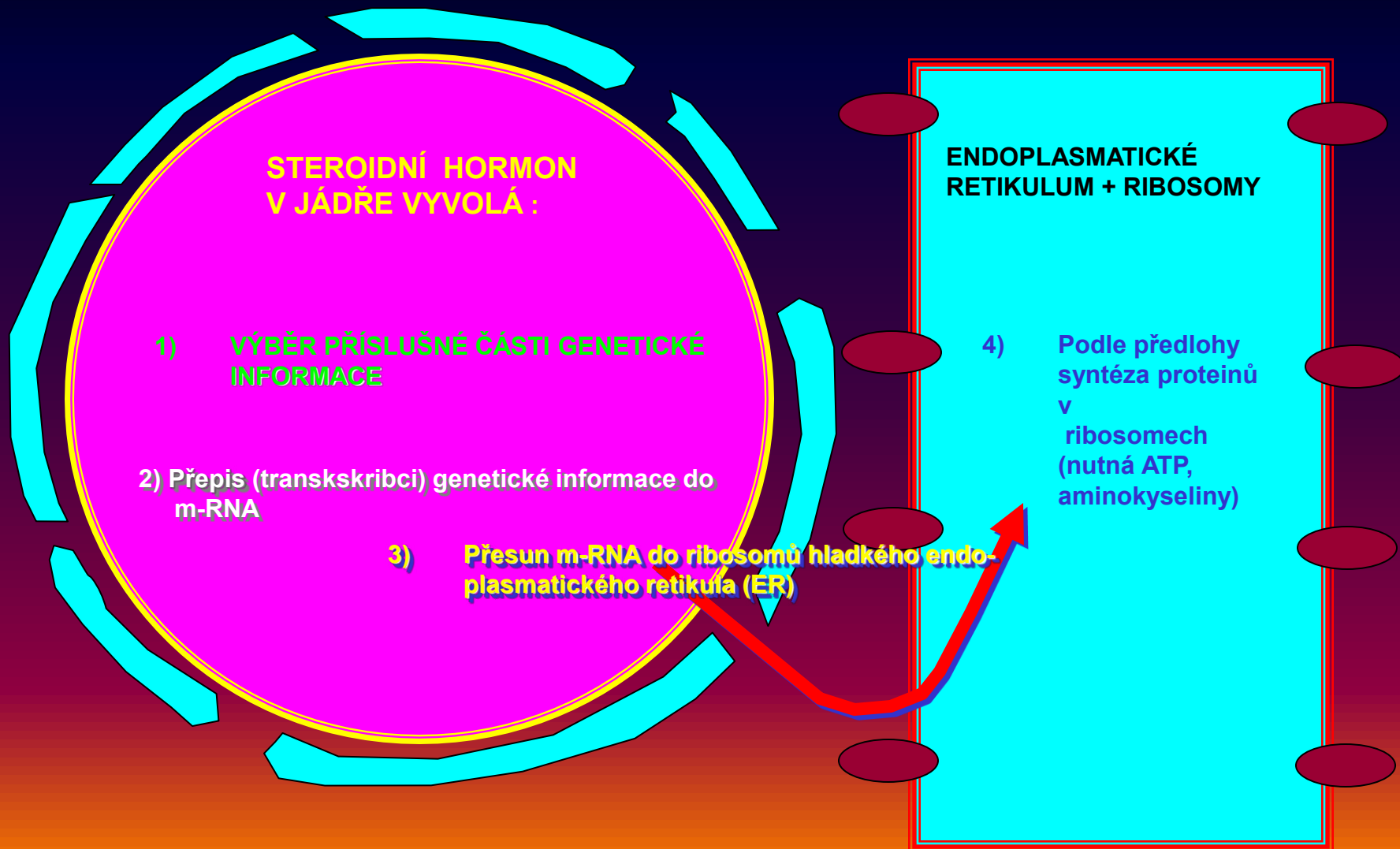


EXTRACELULÁRNÍ
PROSTŘEDÍ

INTRACELULÁRNÍ
PROSTŘEDÍ



DĚJE PROBÍHAJÍCÍ V JÁDŘE PŮSOBENÍM STEROIDNÍCH HORMONŮ



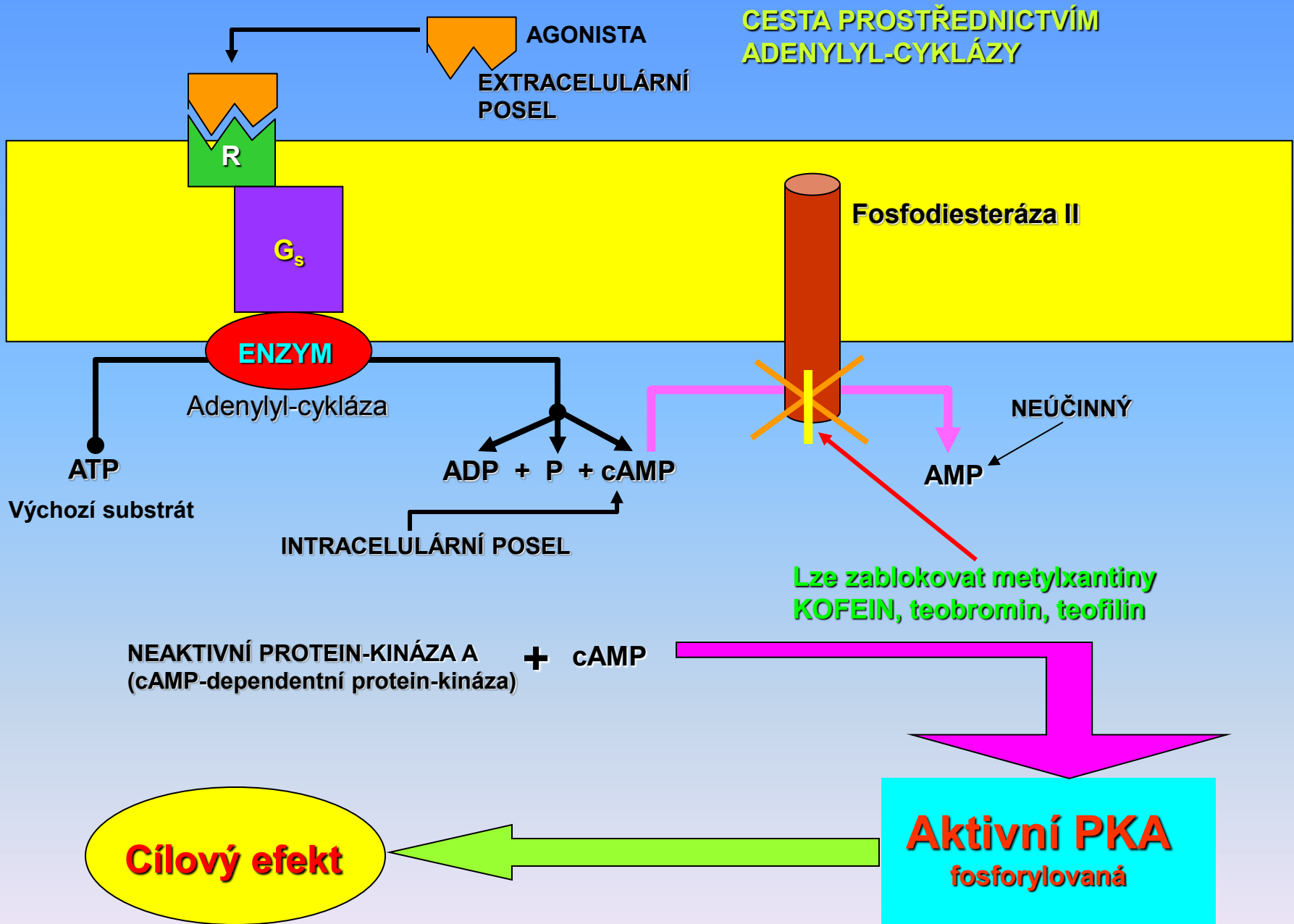
ÚLOHA PROTEINŮ NASYNTETIZOVANÝCH POD VLIVEM STEROIDNÍCH HORMONŮ V RIBOSOMECH CÍLOVÉ BUŇKY

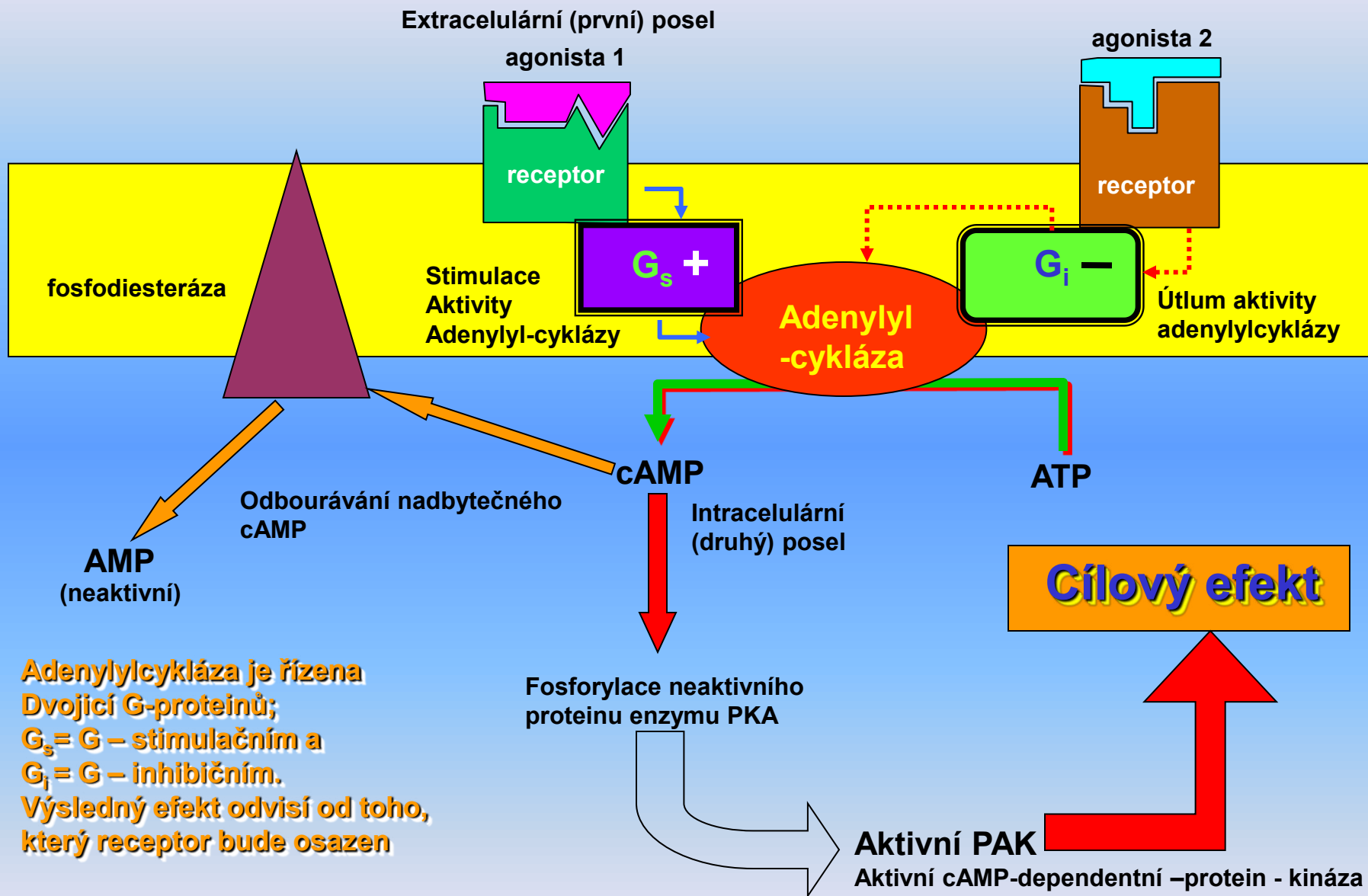
1) Proteiny enzymů, které ovlivní metabolismus cílové buňky

2) Proteiny secernované ovlivněnou buňkou

3) Proteiny membránových iontových kanálů a dalších transporterů.
Ty jsou instalovány do membrány a ovlivňují elektrické chování
cílové buňky

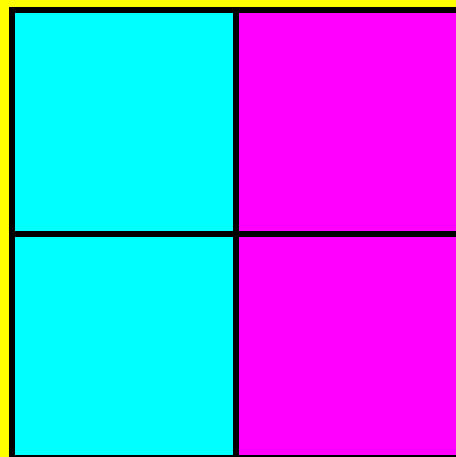
4) Strukturní proteiny (nutné k obnově proteinových struktur
buňky: cytoskeleton, organely, atd.)





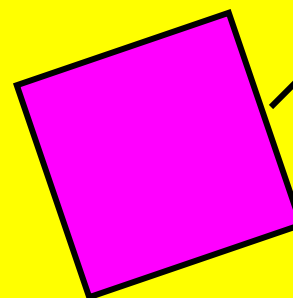
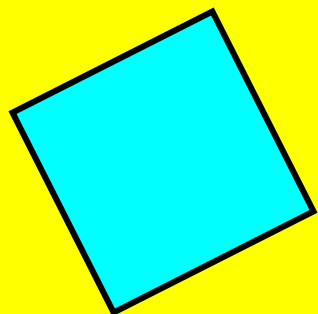
Katalytická podjednotka

Regulační (inhibiční) podjednotka

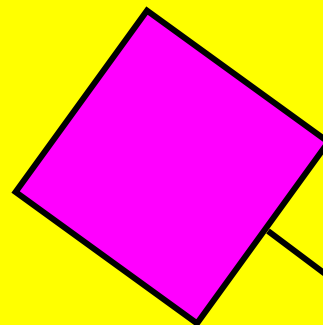


+ 2 cAMP

Neaktivní tetramer PKA



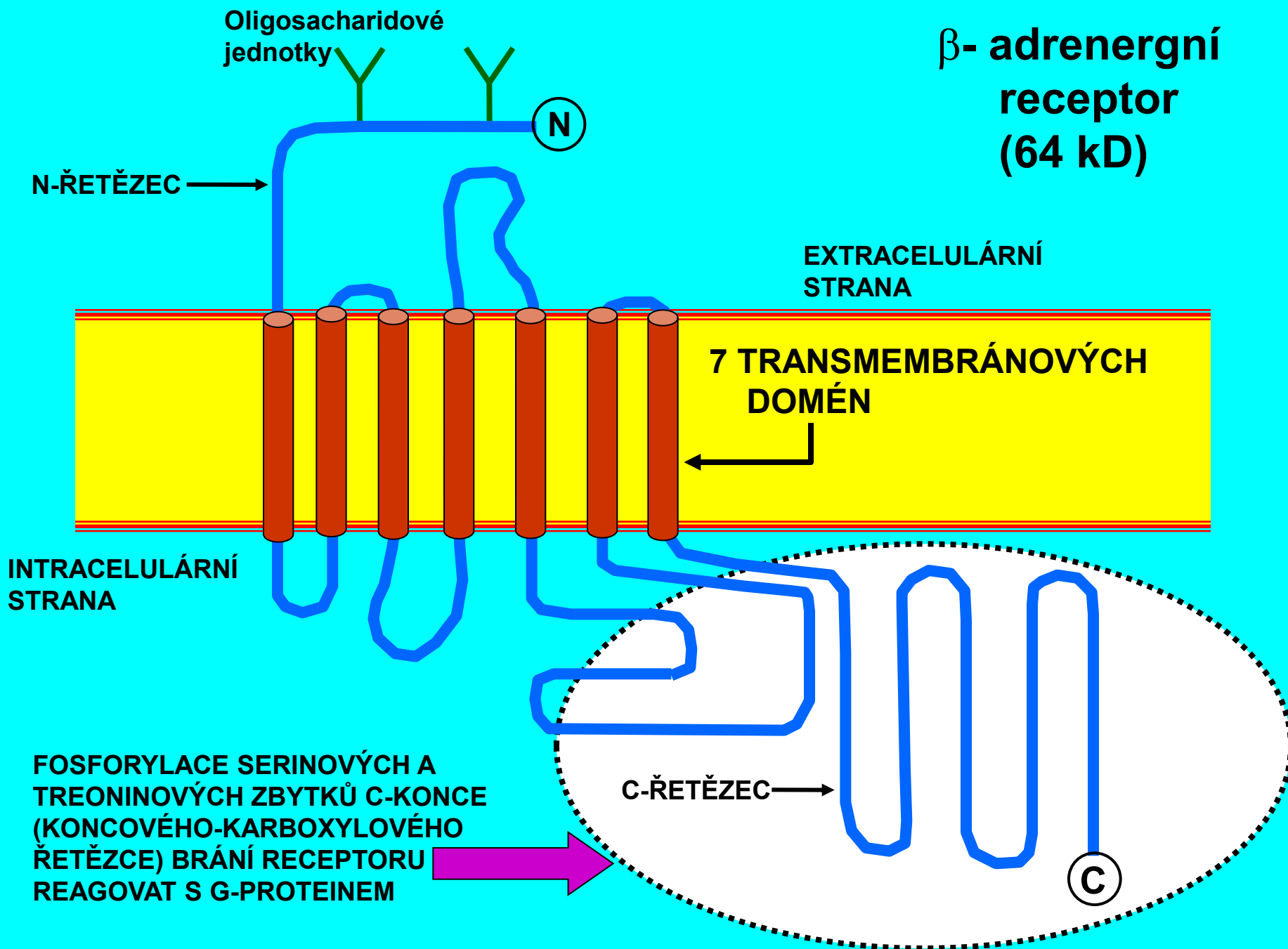
AMP



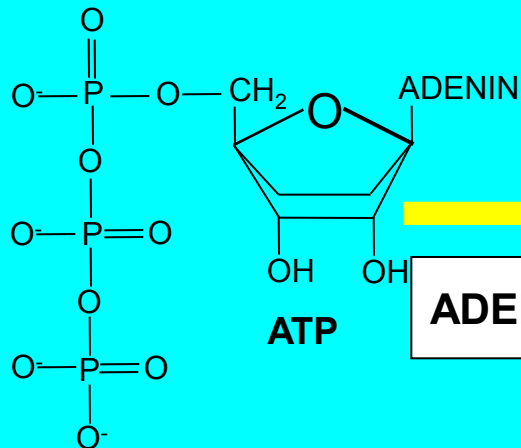
AMP

Katalytické podjednotky zajišťují v přítomnosti ATP fosforylaci dalších proteinů, které se tím stávají aktivní

β -adrenergní receptor (64 kD)

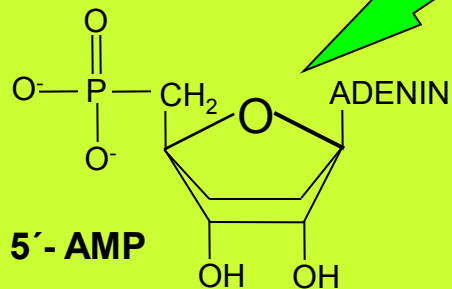
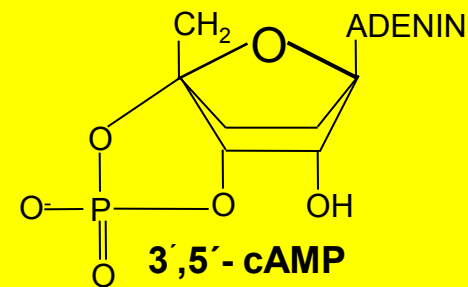


ZÁKLADNÍ MAKROERGNÍ SLOUČENINA



P P

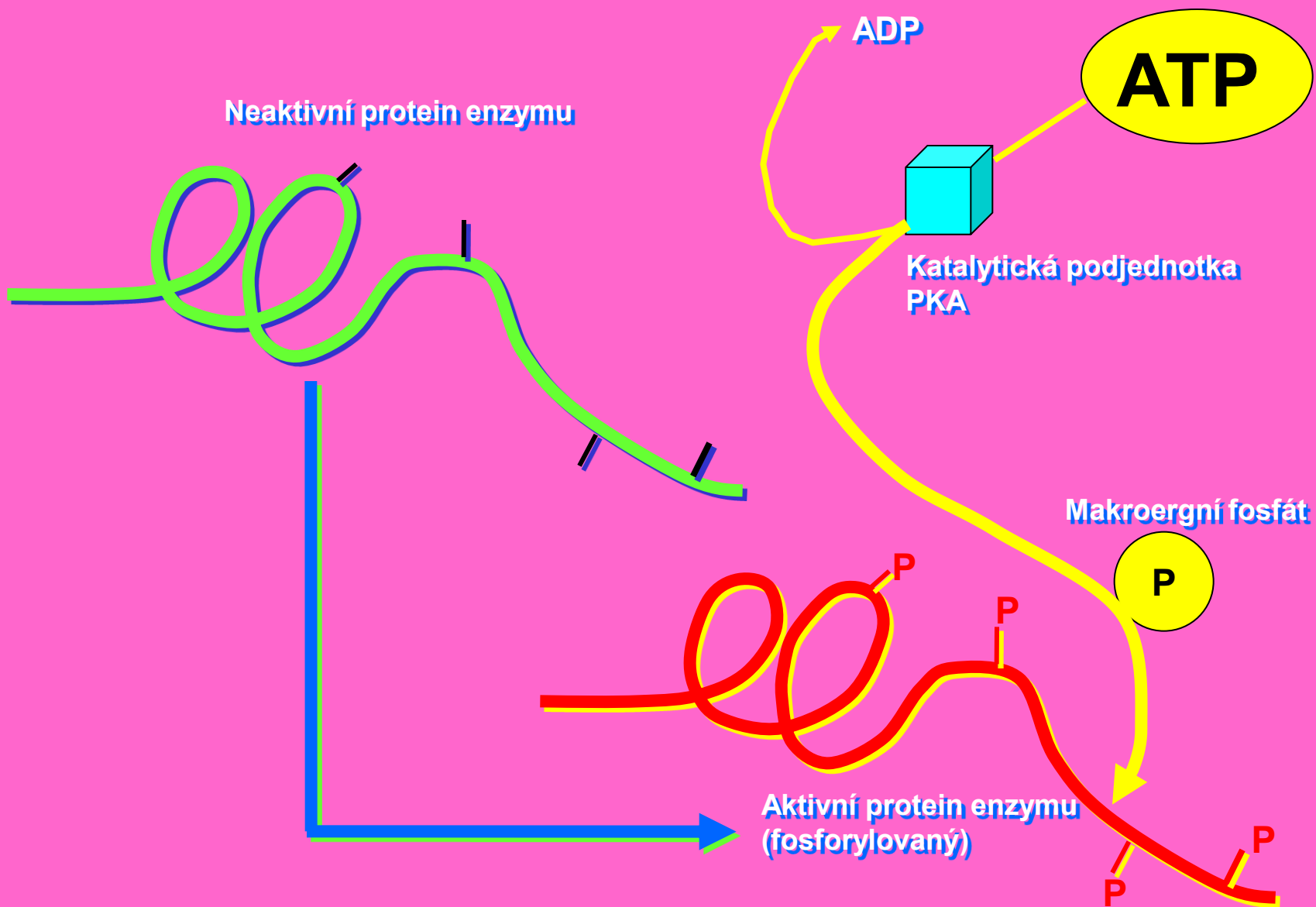
ADENYLYL-CYKLÁZA

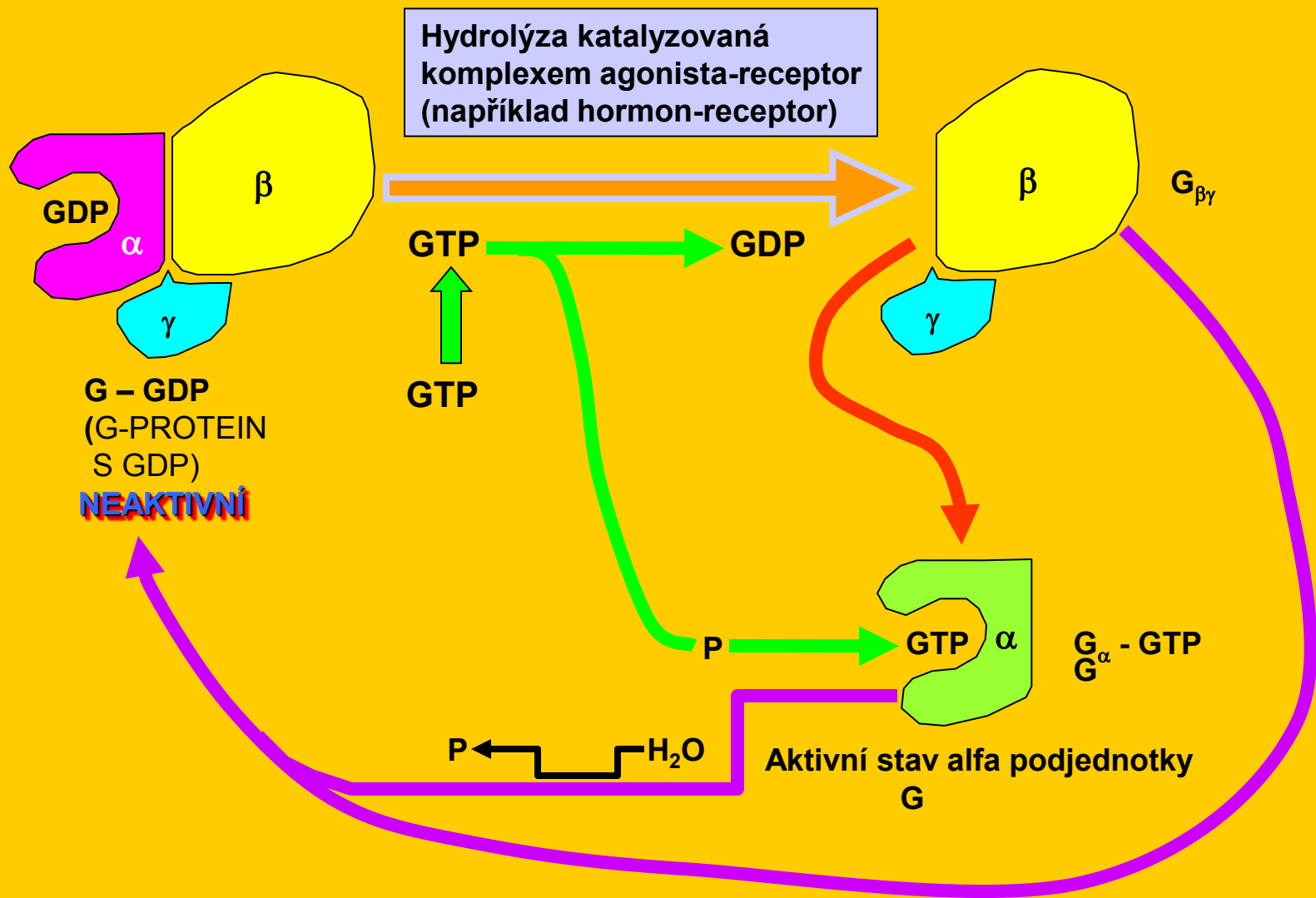


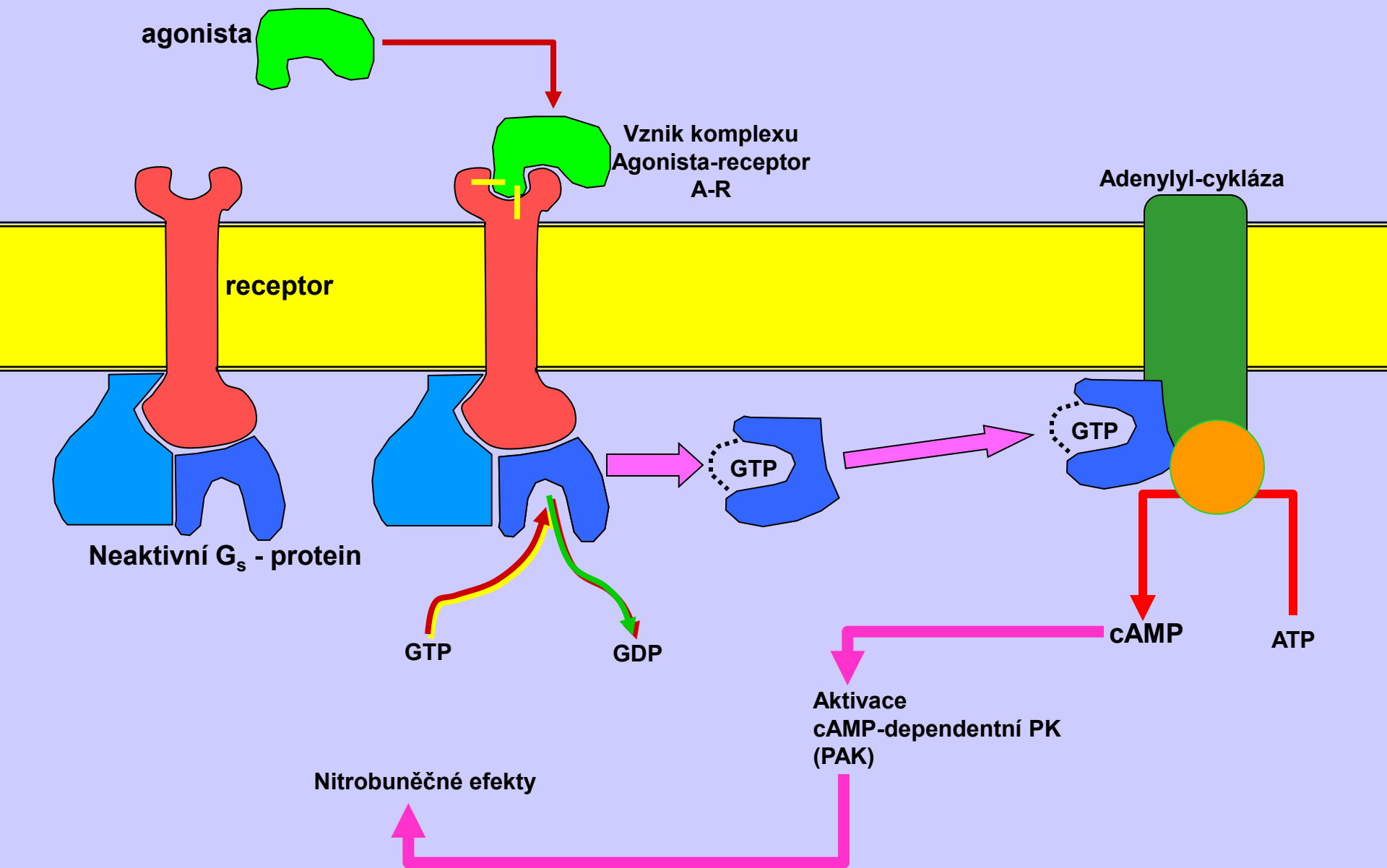
5

INTRACELULÁRNÍ (DRUHÝ)
POSEL (INTRACELULÁRNÍ
INFORMAČNÍ MOLEKULA

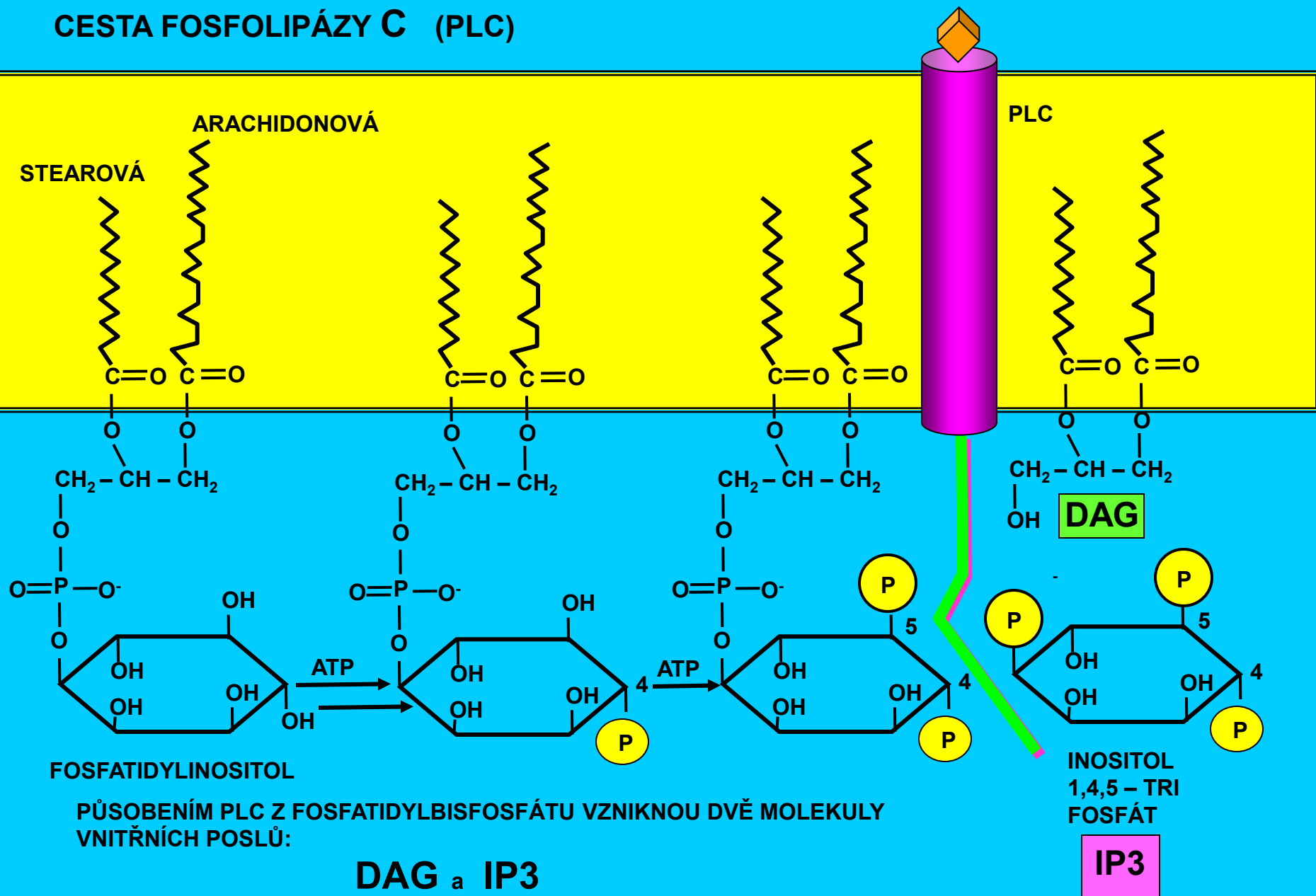
FOSFODIESTERÁZA







CESTA FOSFOLIPÁZY C (PLC)



CESTA FOSFOLIPÁZY C (PLC)

Fosfatidyl-inositol-polyfosfát
Membránový fosfolipid



Hydrolýzou prostřednictvím
PLC
Vnikají dvě odlišné informační molekuly

Diacyl-glycerol (nadále DAC)



Aktivuje protein-kinázu C (PKC)



PKC – je multifunkční kináza

PKC kontroluje buněčné dělení
PKC řídí buněčnou proliferaci

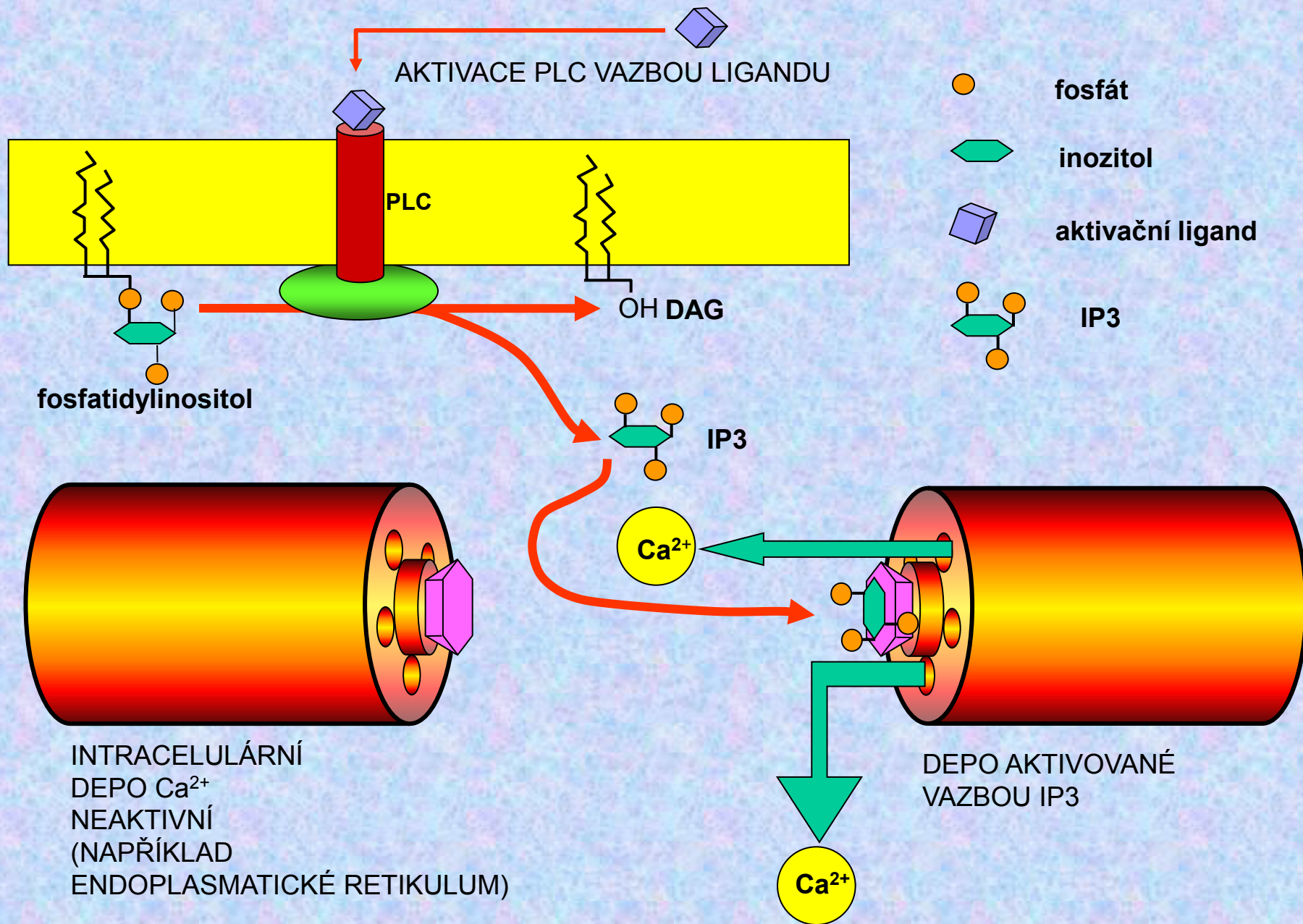
1, 4, 5 inositol - trisfosfát (nadále IP)

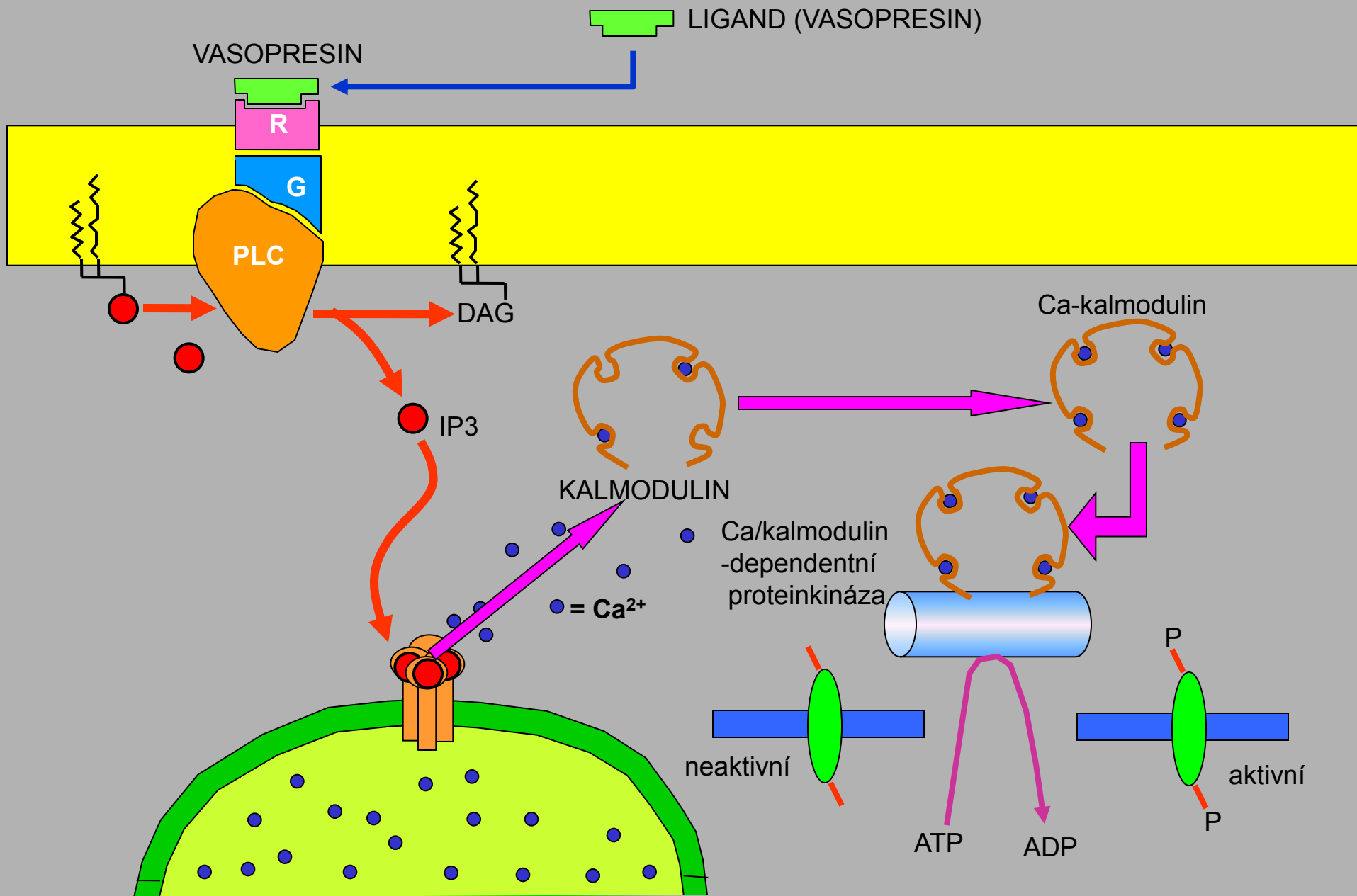


Uplatňuje se především jako „uvolňovač“
(mobilizér) z nitrobuněčných zásob Ca^{2+}



Zásoby jsou především v endoplasma-
tickém retikulu (ER); méně a méně fyziologicky
v mitochondriích.
Působením IP3 se Ca^{2+} uvolňují do cytoplasmy,
 Ca^{2+} aktivují další funkce. Ca^{2+} jsou další
intracelulární posel.





RAS

Ras a α -G podjednotka trimerického G – proteinu je aktivována GTP

Zatímco trimerický G-protein je přímo spojen s receptorem (GPCR) a přímo přenáší signál z receptoru na efektor (enzym); Ras není spojen s RTK

Aktivace obou G-proteinu i Ras je spíštěna vazbou ligandu (agonisty, hormonu) na příslušný receptor na buněčném povrchu. Aktivace G-proteinu a Ras je odlišná

Ras je malý protein, tvořený asi 170 AK, zatímco G_{α} - podjednotka je tvořena asi 300 AK.

Oba Ras a G_{α} jsou členy velké rodiny nitrobuněčných GTP-poutajících proteinů

EPIDEDRMÁLNÍ
RŮSTOVÝ FAKTOR

LIGAND

RECEPTOR-TYROSIN-KINASA (RTK)

EXTRACELULÁRNÍ
DOMÉNA

LIGANDEM
AKTIVOVANÁ
DIMERIZACE



TRANSMEMBRÁNOVÝ
ALFA-HELIX

INTRACELULÁRNÍ
DOMÉNA

KATALYTICKÉ
MÍSTO
KINÁZY

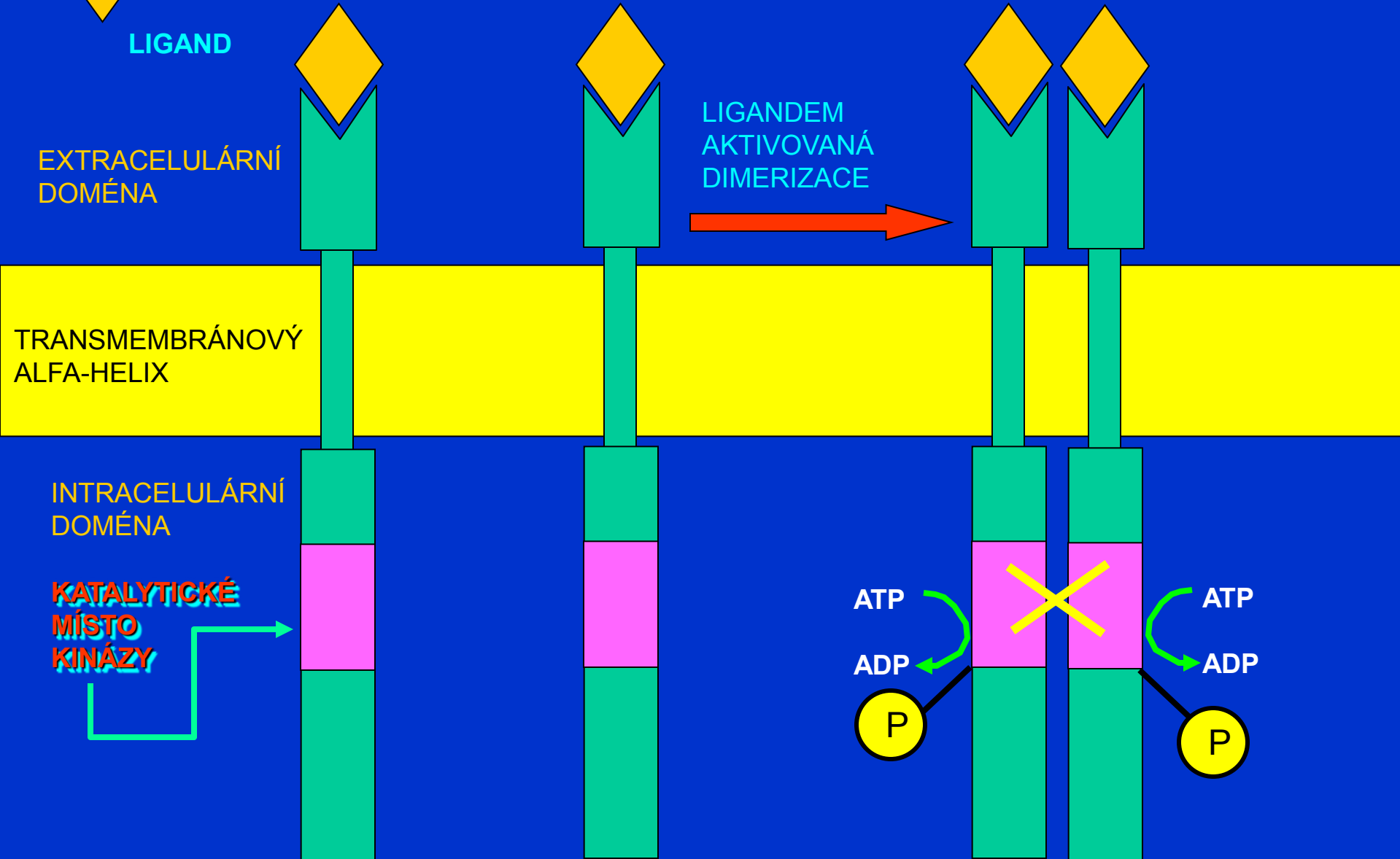
ATP

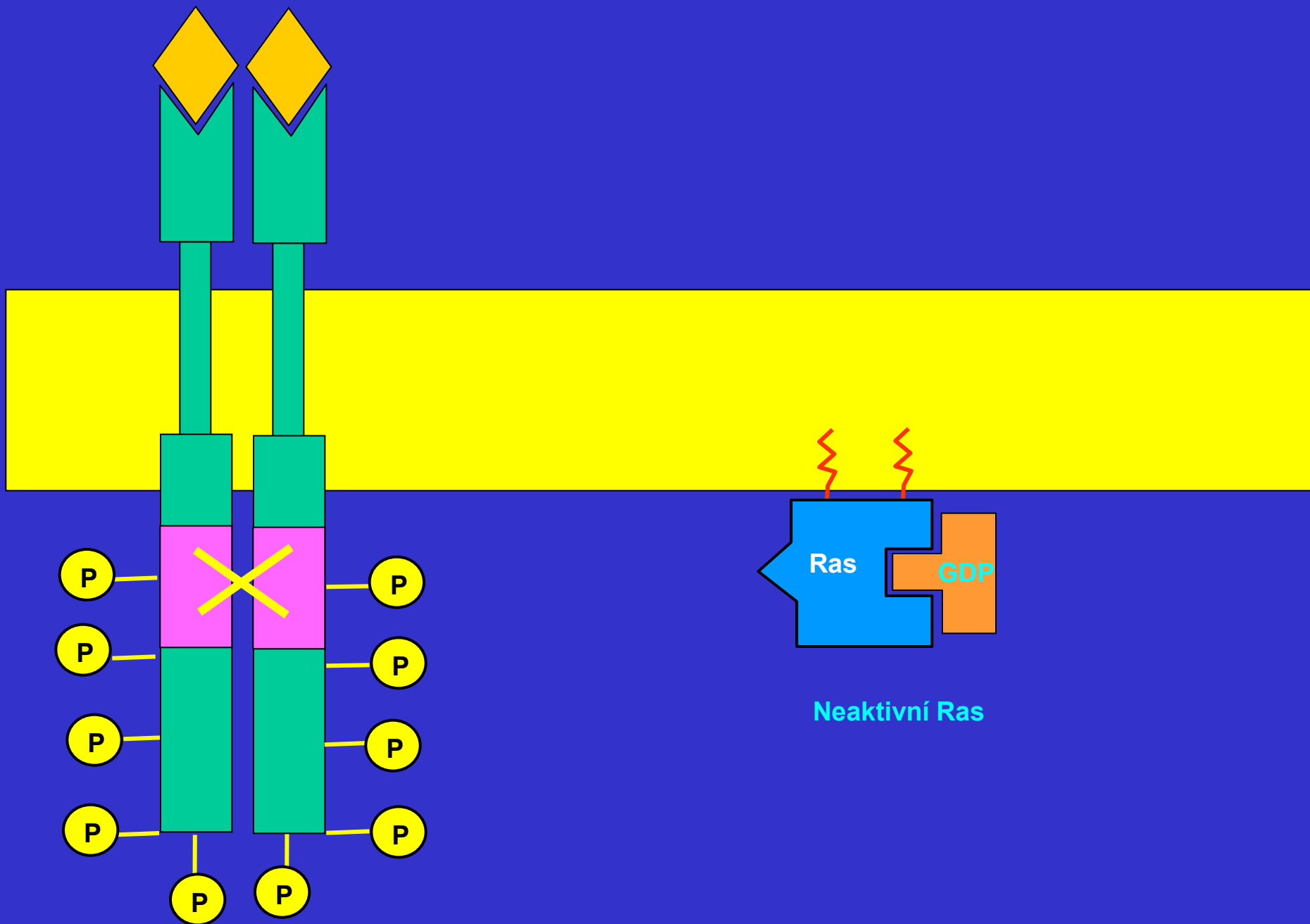
ADP



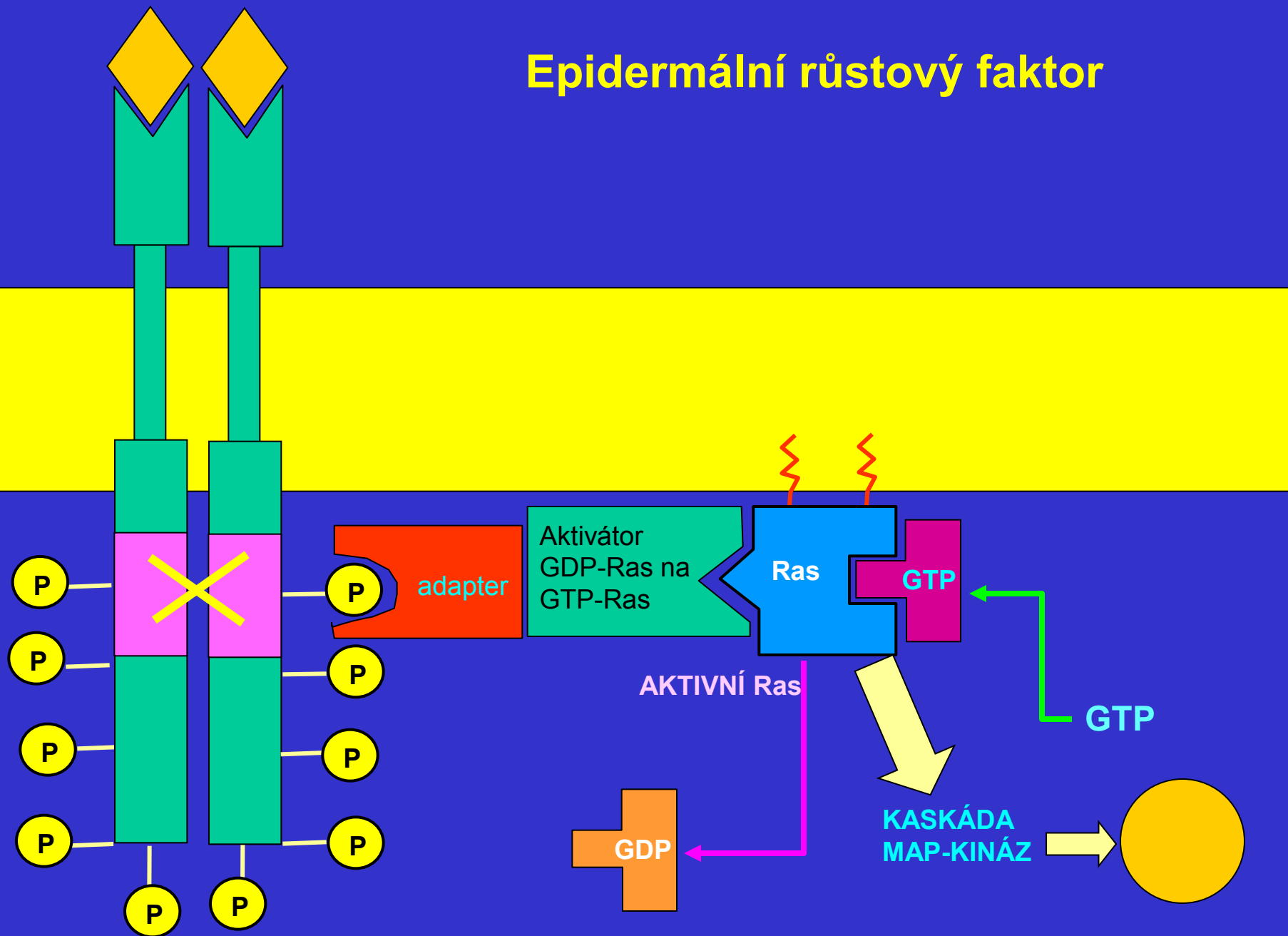
ATP

ADP

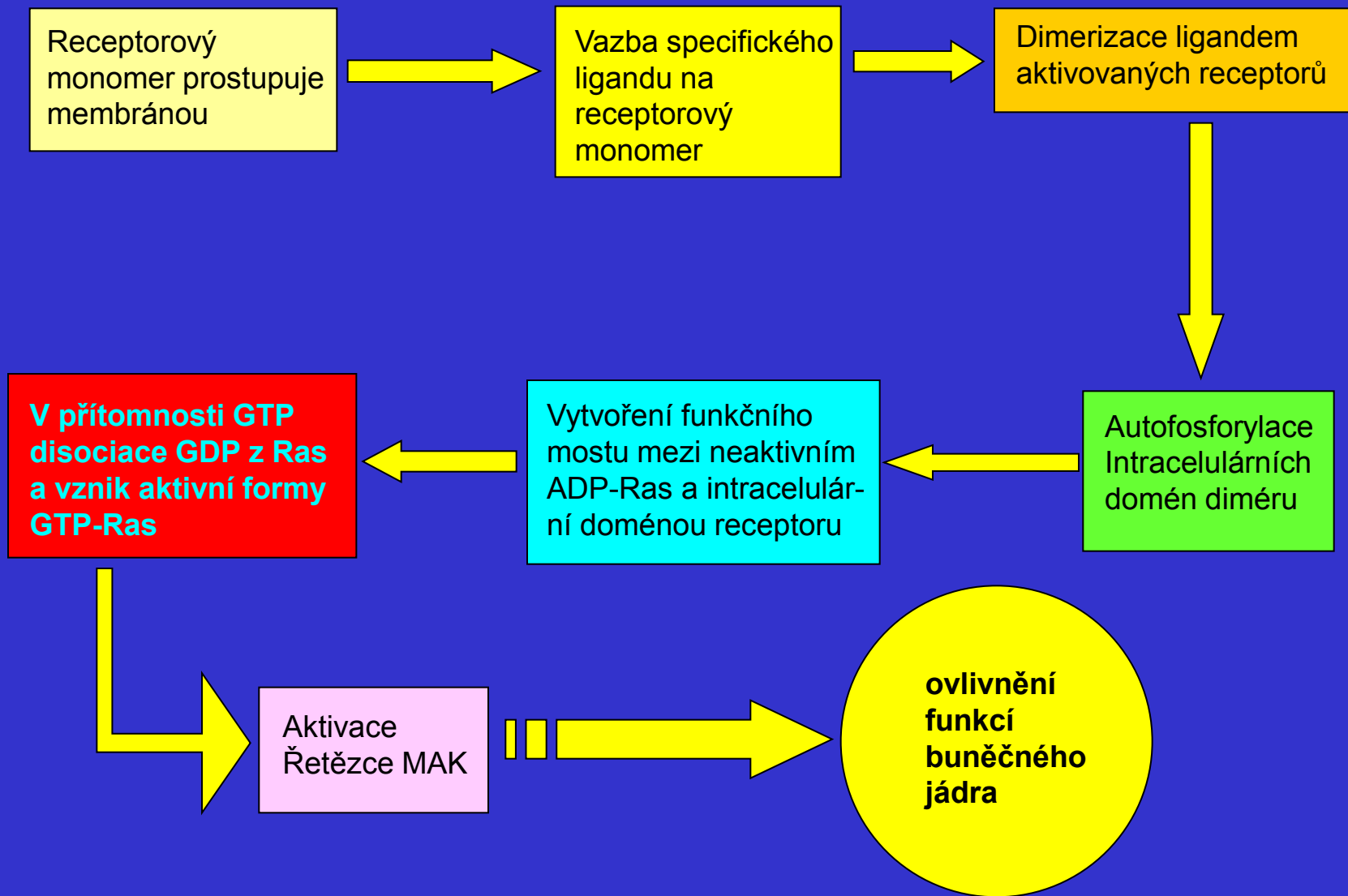




Epidermální růstový faktor



Signální cesta užívající RTK



Příklad informačních molekul, které využívají cesty **Receptor – tyrosin kináza**

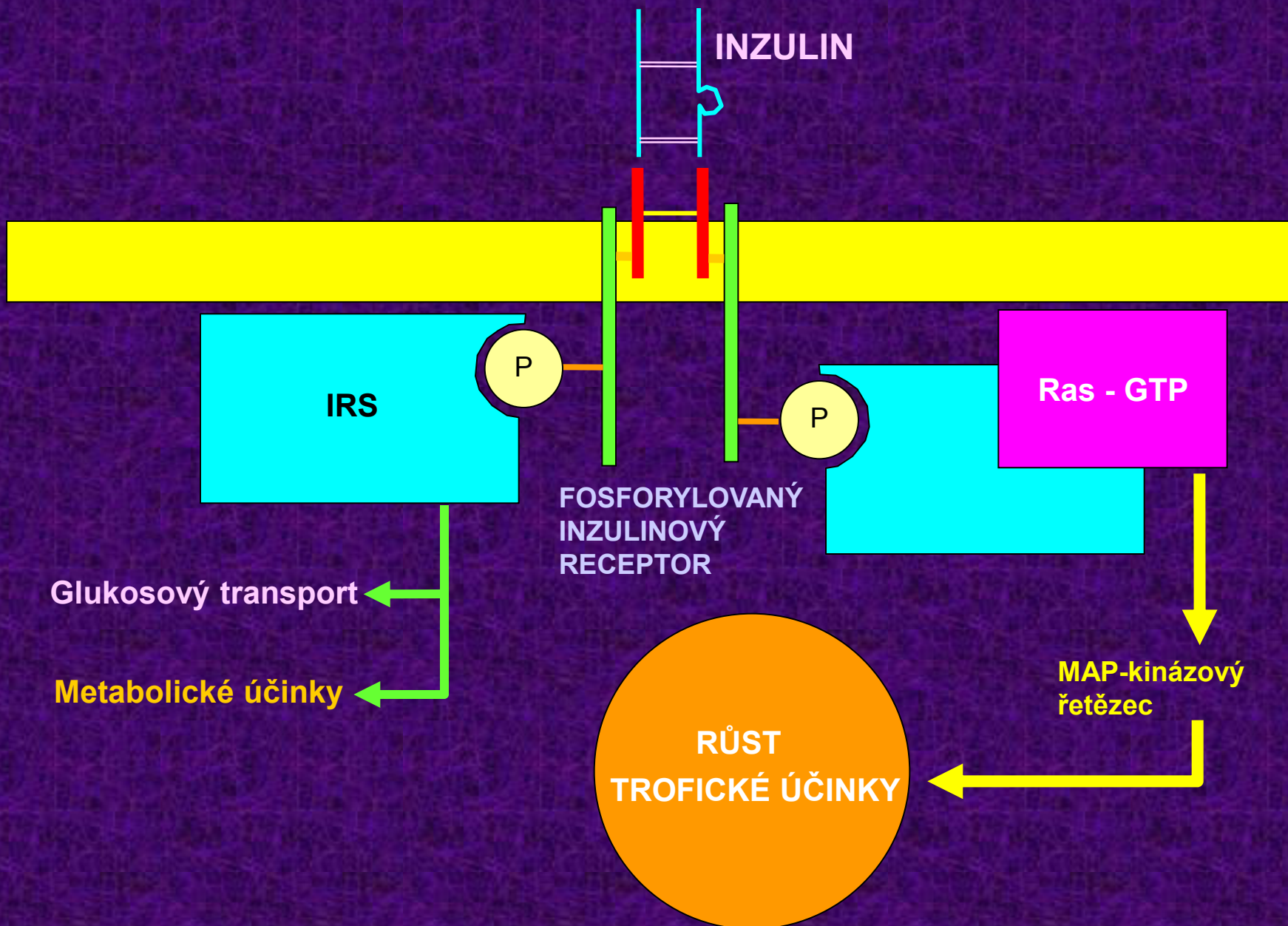
kolonie stimulující faktor (CSF I)

epidermální růstový faktor (EGF)

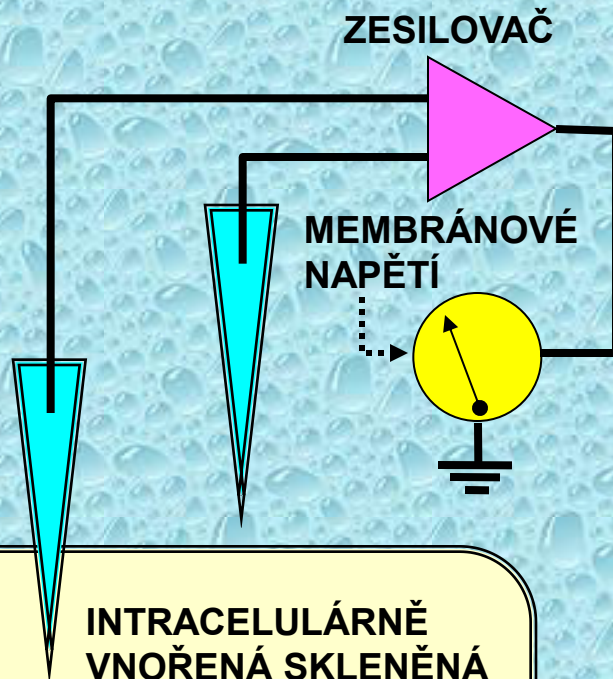
Insulinu podobný růstový faktor I (IGF I)

insulin

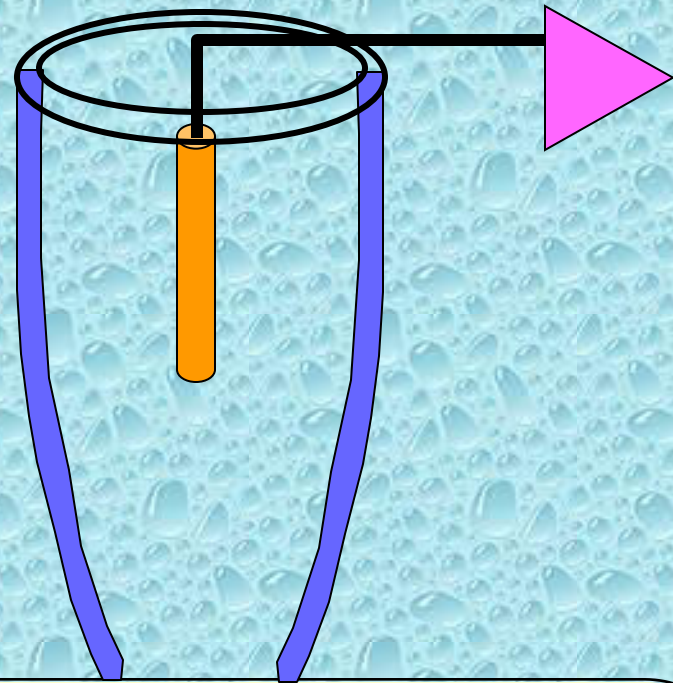
nervový růstový faktor (NGF)



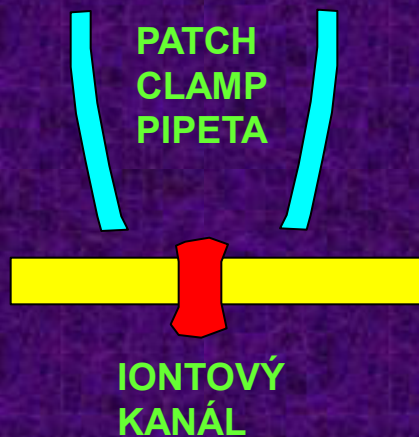
Membránové iontové kanály



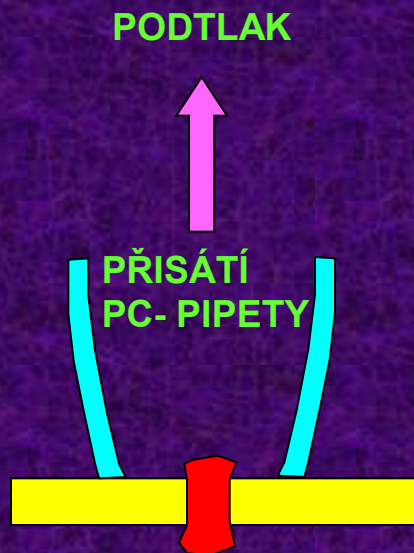
**INTRACELULÁRNĚ
VNOŘENÁ SKLENĚNÁ
MIKROELEKTRODA**



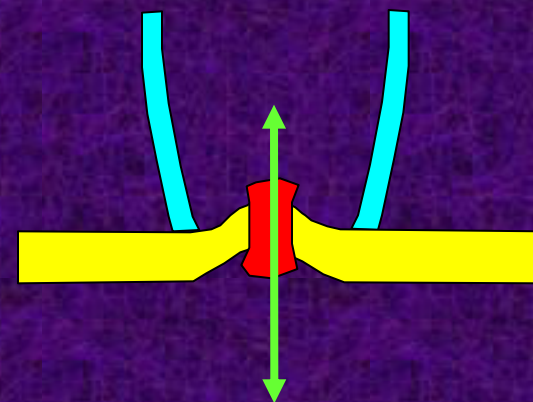
**TECHNIKA PŘISÁTÉ SKLENĚNÉ
MIKROKAPILÁRY K MEMBRÁNĚ.
JE PRAVDĚPODOBNÉ, ŽE POD ÚSTÍM
MIKROPIPETY BUDOU MEMBRÁNOVÉ
KANÁLY A TOUTO CESTOU JE LZE
CÍLENĚ STUDOVAT. TATO TECHNIKA
SE OZNAČUJE „TECHNIKA TERČÍKOVÉHO
ZÁMKU“.**



DOVOLUJE MĚŘIT VLASTNOSTI
JEDINÉHO MEMBRÁNOVÉHO
KANÁLU



CÍLENÉ STUDIUM
VLASTNOSTÍ IZOLOVANÉHO
KANÁLU TECHNIKOU
PATCH - CLAMP



TECHNIKA
TERČÍKOVÉHO
ZÁMKU

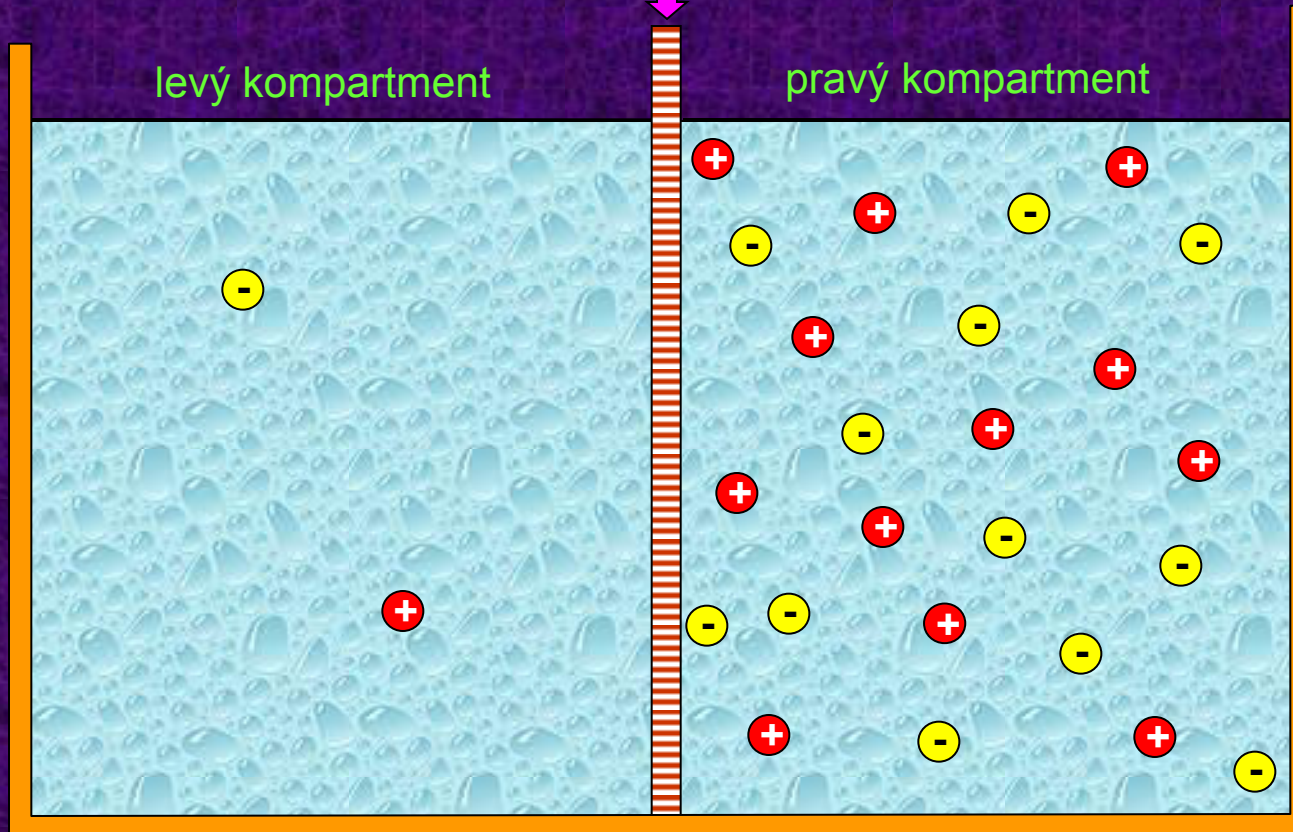
V PIPETĚ JE MOŽNÉ CÍLENĚ MĚNIT
SLOŽENÍ MĚŘÍCÍHO ROZTOKU A
PIPETOU LZE IZOLOVANÝ KANÁL
ELEKTRICKY OVLIVŇOVAT

Výklad elektrochemického rovnovážného napětí

Obecně platí, že soli jednomocných kationtů a jenomocných aniontů ve vodném roztoku Elektrolyticky disociují, neboli rozpadají se na kationty a anionty obklopené hydratačními obaly

Semipermeabilní
membrána způsobí
propouštět kationty, ale
bránit prostupu aniontů

V levém kompartmentu je
koncentrace disociované
soli mnohonásobně nižší
než v kompartmentu pravém.



1 K⁺ = 1 Cl⁻

12 K⁺ = 12 Cl⁻

Například dochází k
disociaci KCl:



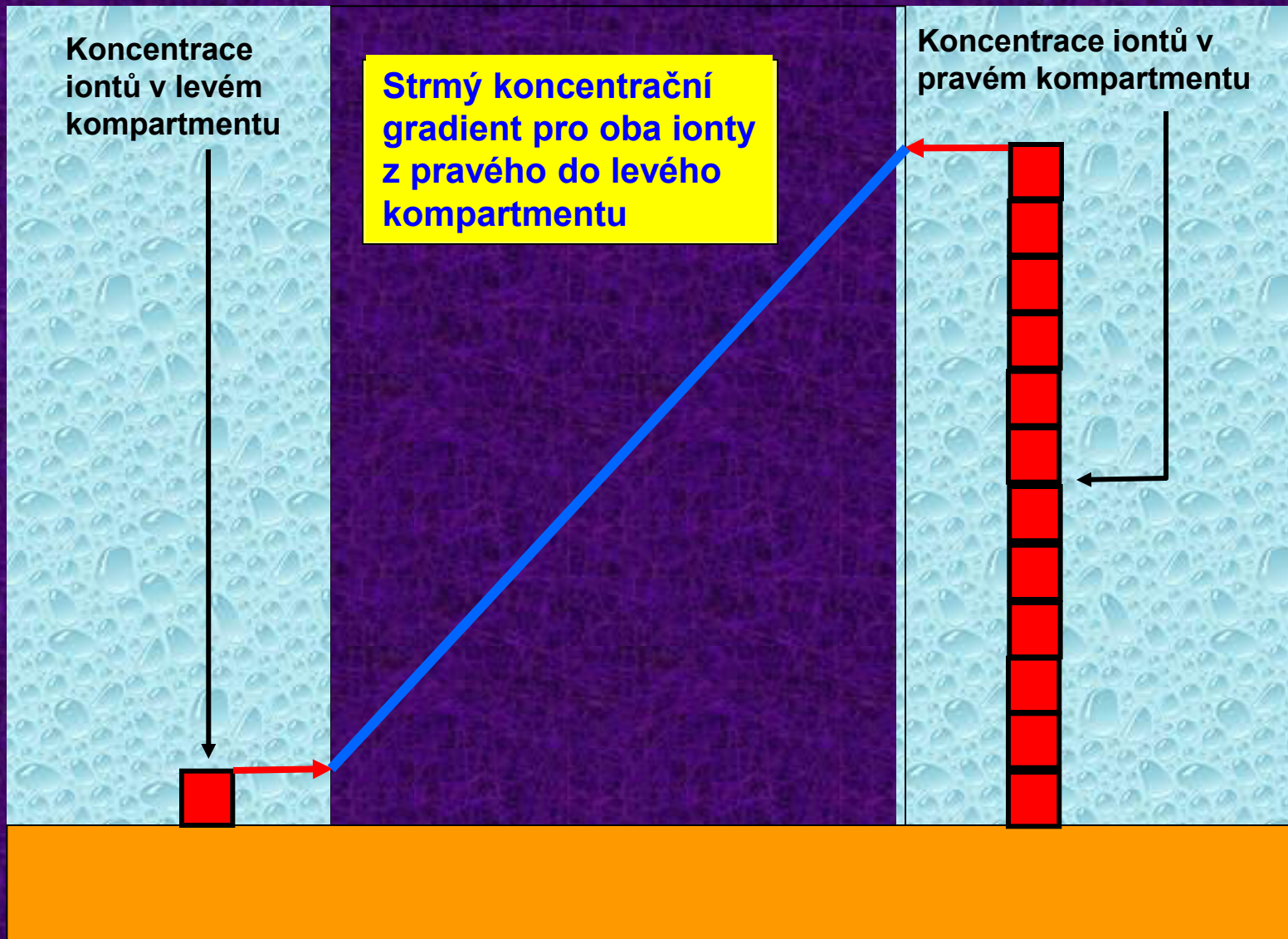
K⁺ =

Cl⁻ =

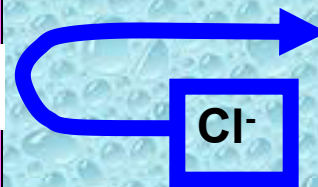
Pokud je membrána
impermeabilní, obsahuje
levý i pravý kompartment
stejný počet kladných a
záporných iontů (i když v
rozdílné koncentraci).

**Oba kompartmenty
Jsou elektroneutrální**

Zvětšená semipermeabilní membrána



Membrána je
obousměrně
permeabilní
(vodivá) pro K^+
a nevodivá pro
 Cl^-



Koncentrace kationtů a aniontů je v pravém kompartmentu stejná, stejná situace je v kompartmentu levém. Předpokládáme, že oddělující membrána je nevodivá. Z tohoto důvodu nese levý i pravý kompartment nulový elektrický náboj.

Koncentrace iontů je v pravém kompartmentu 12x větší než v kompartmentu levém. Rozdíly koncentrací vpravo a vlevo určují strmý koncentrační gradient zprava do leva.

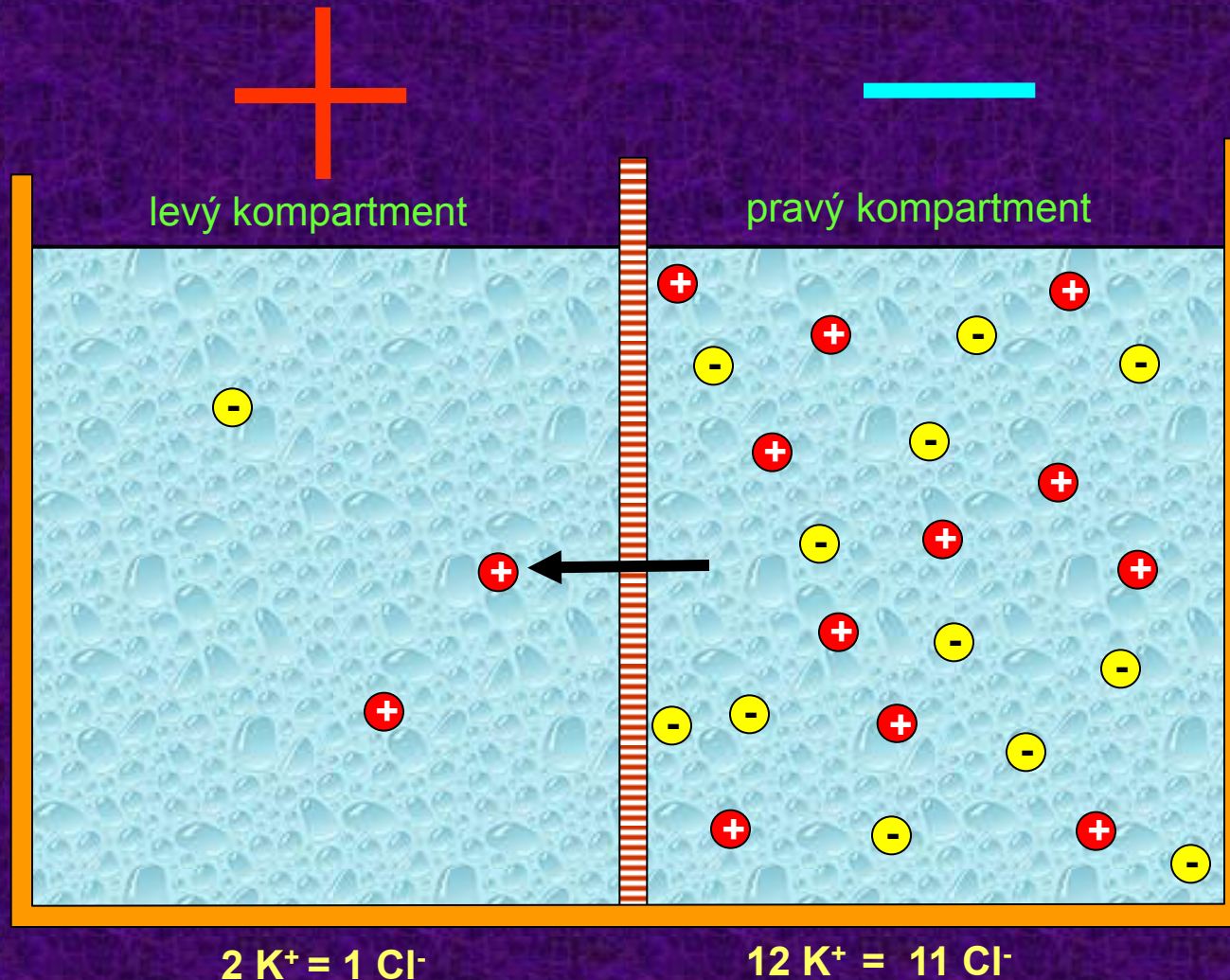
Membrána je v obou směrech volně vodivá pro K^+ a nevodivá pro Cl^-

Na ionty působí síla určená koncentračním gradientem (tedy zprava do leva)

K^+ se mohou pohybovat po koncentračním gradientu. Protože je membrána nevodivá pro Cl^- nejsou draselné kationty následovány chloridovými anionty

Koncentrační gradient způsobí přesun určitého množství K^+ do leva. K^+ nejsou sledovány anionty a vznikne situace, kdy je levý Kompartment polarizován kladně a pravý záporně

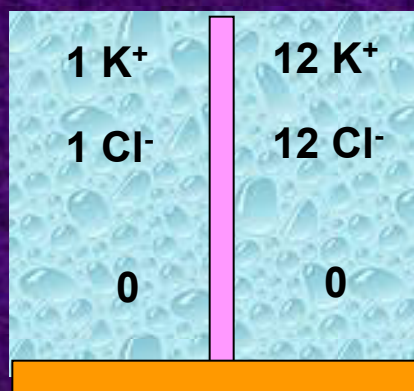
Přestupem prvního K^+ z pravého do levého kompartmentu nastane nerovnováha nábojů. Levý prostor se polarizuje kladně, pravý záporně. Únik kationtů není provázen přesunem aniontů a proto vzniká elektrická síla: záporně polarizovaný pravý kompartment přitahuje K^+ a současně kladně nabitý levý kompartment kladné ionty odpuzuje.



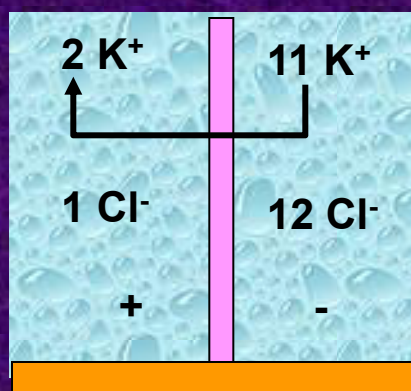
Dosud byly vlastnosti systému určovány jen gradientem koncentračním; přestupem prvního kationtu zprava do leva vede k nové situaci: levý kompartment je polarizován kladně a pravý záporně. Vzniká praktická otázka, kdy se přesun K^+ ustálí. Skutečnost, že byla porušena elektro-neutralita pravého a levého kompartmentu, levý nese kladný a pravý záporný náboj, odhaluje existenci nové síly, která působí na draselné kationty a snaží se je z levého prostoru vrátit do prostoru pravého. Jednoduše lze tuto sílu označit elektrickou. Zatímco koncentrační gradient působí silou zprava do leva, vznikající elektrický gradient působí v opačném směru.

V okamžiku, kdy síla působící na K^+ v důsledku koncentračního gradientu se bude rovnat síle gradientu elektrického, působí na K^+ v obou směrech stejné síly. Jestliže se síla definovaná koncentračním gradientem rovná síle určené gradientem elektrickým (ale opačného směru) bylo dosaženo elektrochemického rovnovážného napětí pro určitý iont.

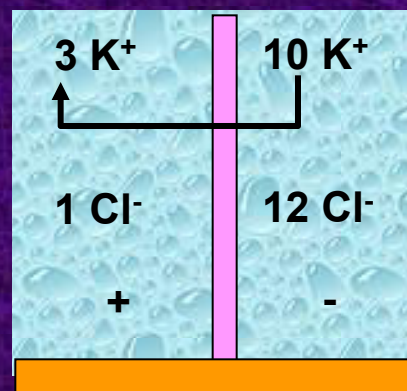
Elektrochemické rovnovážné napětí se označuje E_x , přičemž index X označuje iont jehož E je vyjadřováno. Jednotkou E je mV.



←
síla koncentračního
gradientu



←
síla elektrického
gradientu



← F_C
 F_e →
síly jsou v rovnováze

$E_K =$

elektrochemické
rovnovážné
napětí pro
draslík

Jestliže platí, že $F_C = F_e$, pak vzniklá rovnováha říká, že na K^+ působí stejné síly opačného směru. Byl dosažen E_K

NERNSTOVA ROVNICE

$$E_x = \frac{-R \cdot T}{n \cdot F} \times \ln \frac{[X]_i}{[X]_e}$$

R = UNIVERSÁLNÍ PLYNOVÁ KONSTANTA

(P.V = R.T), 8.3 J/ mol . K

T = ABSOLUTNÍ TEPLOTA V KELVINECH

n = MOCENSTVÍ

F = FARADAYOVA KONSTANTA

(96 500 C)

ln = PŘIROZENÝ LOGARITMUS

SLOŽENÍ EXTRACELULÁRNÍ A INTRACELULÁRNÍ TEKUTINY

Iont	[X]_e mmol.l⁻¹	[X]_i mmol . l⁻¹	E_x (mV)
Na⁺	145	15	+ 60
Cl⁻	100	5	- 80
K⁺	4	150	- 96
Ca²⁺	1.8	0.0001	+ 130
H⁺	0.0001	0.0002	- 18

VÝPOČET ELEKTROCHEMICKÉHO ROVNOVÁŽNÉHO NAPĚTÍ UMOŽŇUJE KLASICKÁ „NERNSTOVA ROVNICE“.

E_x = ELEKTROCHEMICKÉ ROVNOVÁŽNÉ NAPĚTÍ IONTU „X“

$$E_x = \frac{-R \cdot T}{n \cdot F} \times \ln \frac{[X]_i}{[X]_e}$$

$$E_x = \frac{-2.303 \cdot RT}{nF} \times \log \frac{[X]_i}{[X]_e}$$

R = UNIVERSÁLNÍ PLYNOVÁ KONSTANTA
($P \cdot V = R \cdot T$), 8.3 J/ mol . K

T = ABSOLUTNÍ TEPLOTA V KELVINECH

n = MOCENSTVÍ

F = FARADAYOVA KONSTANTA
(96 500 C)

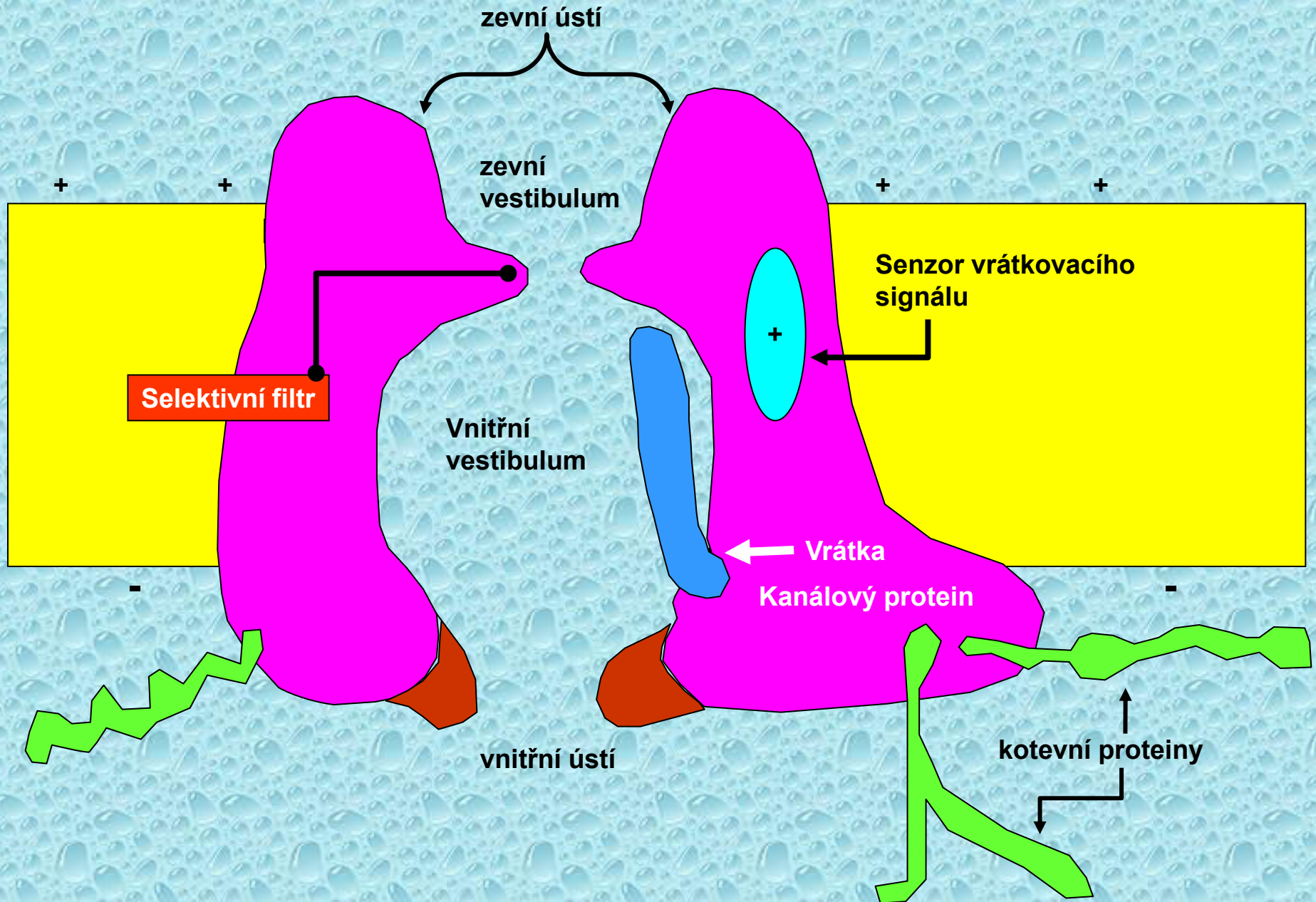
ln = PŘIROZENÝ LOGARITMUS

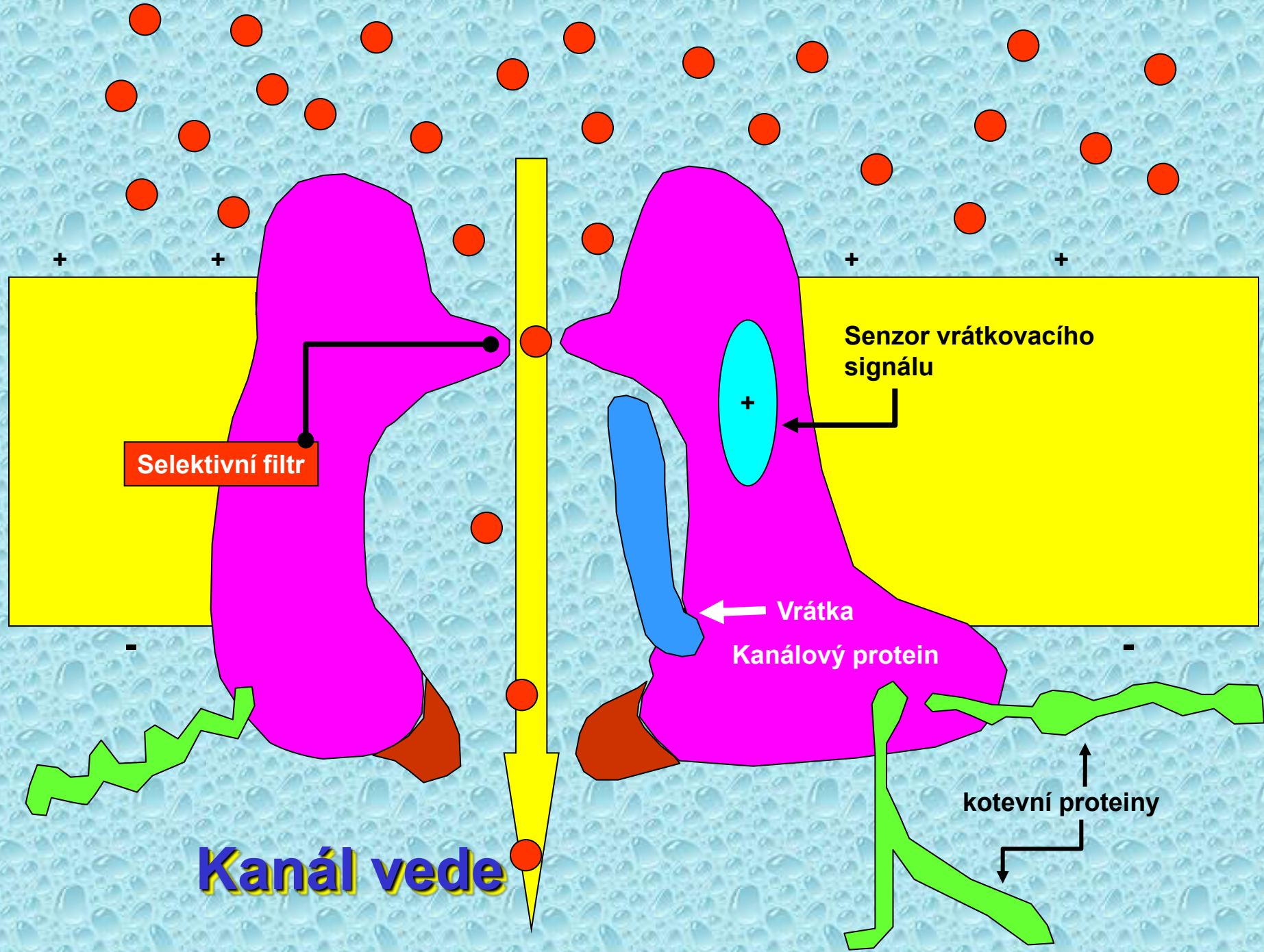
log = DEKADICKÝ LOGARITMUS

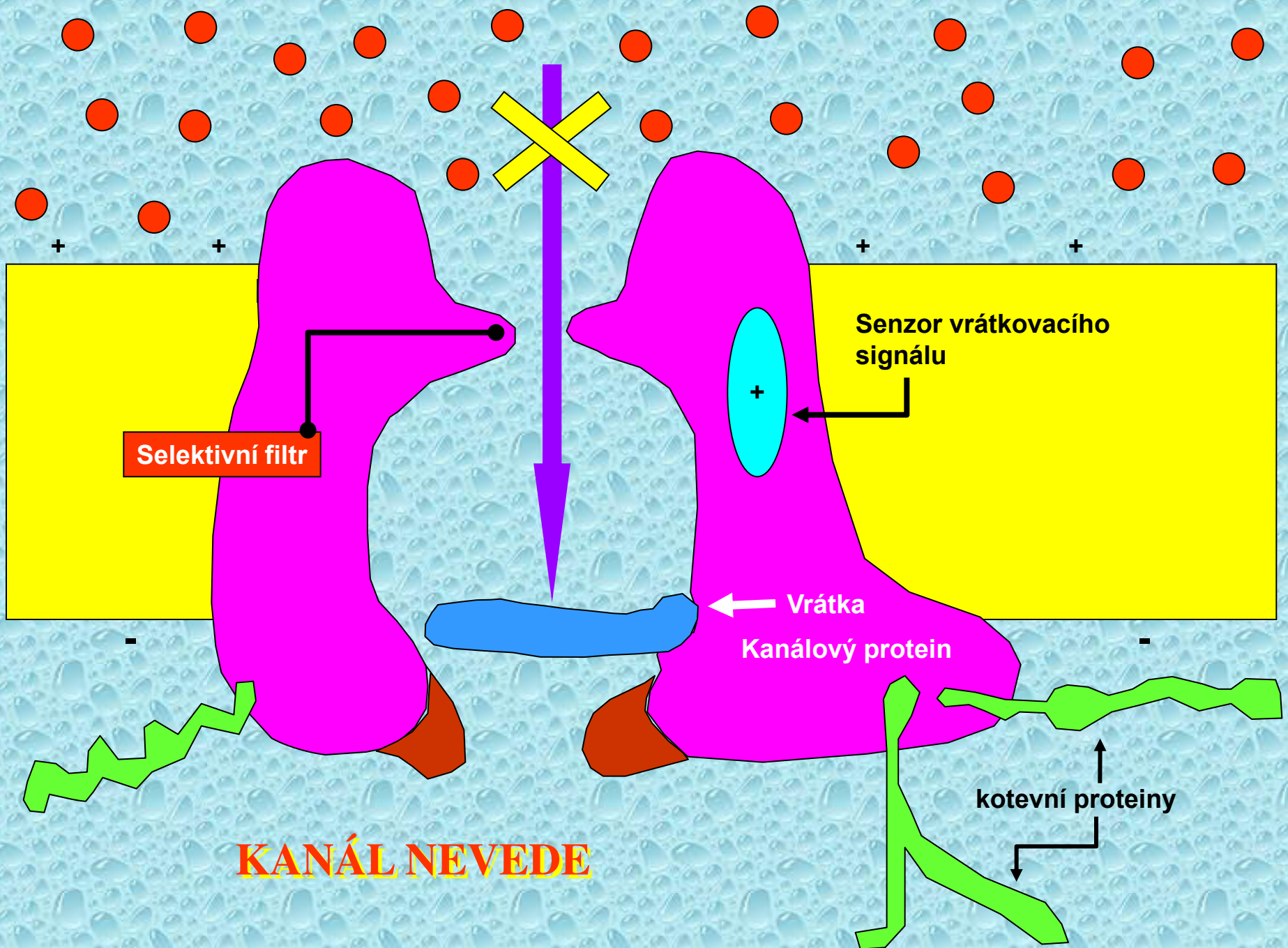
VÝPOČET PROVEDENÝ PRO 37°C ČINÍ:

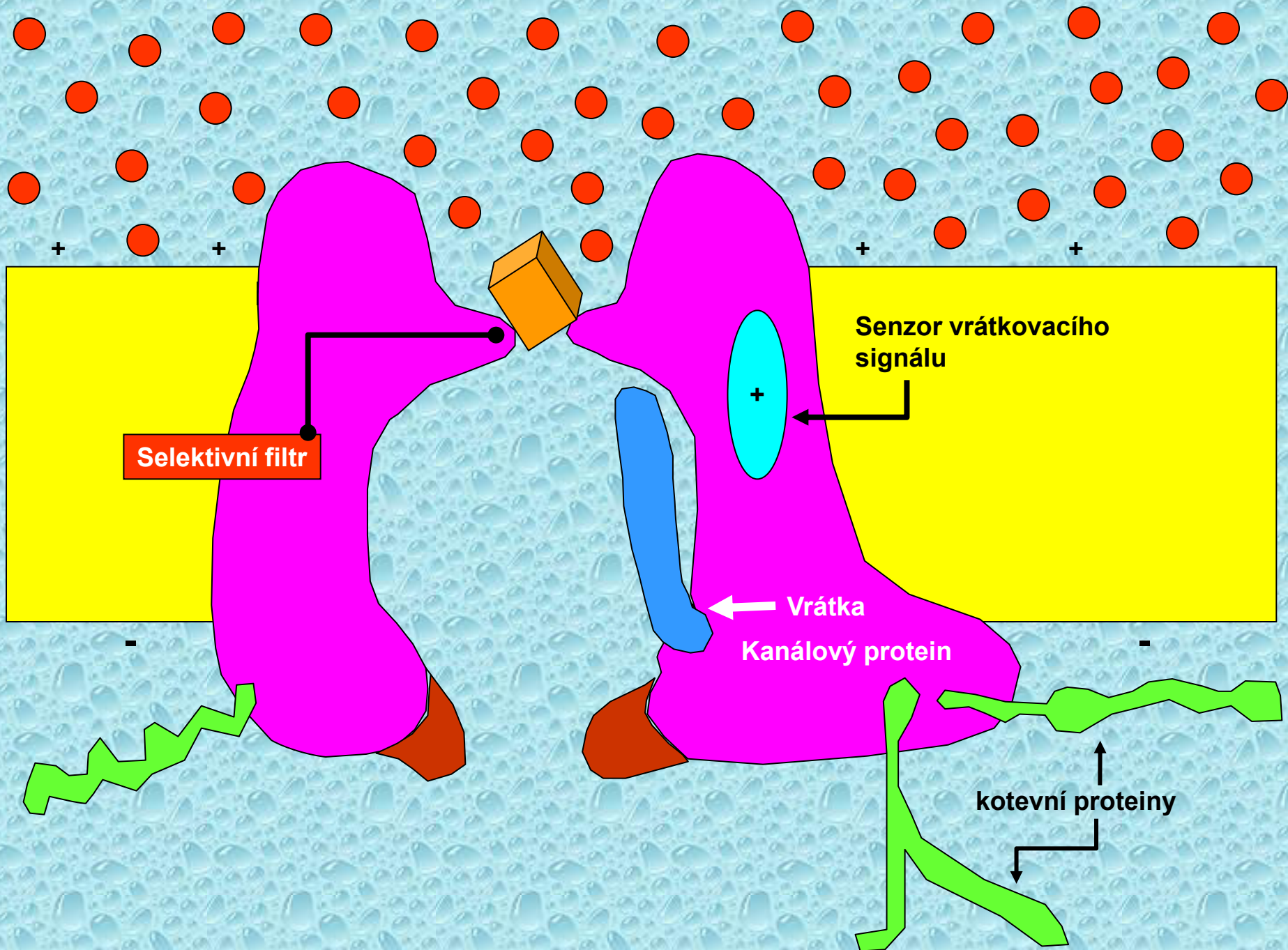
$$E_x = \frac{-61 \text{ mV}}{n} \times \frac{[X]_i}{[X]_e}$$

ZÁKLADNÍ SCHEMA MEMBRÁNOVÉHO IONTOVÉHO KANÁLU









ČÁSTI IONTOVÉHO KANÁLU

KANÁLOVÝ PROTEIN MÁ CHARAKTER MULTIMOLEKULÁRNÍHO POLYMERU, KTERÝ FORMUJE NĚKOLIK FUNKČNÍCH PODJEDNOTEK. KANÁLOVÝ PROTEIN MÁ CHARAKTER INTEGRÁLNÍHO PROTEINU.

ZEVNÍ ÚSTÍ SLOUŽÍ K VSTUPU IONTŮ Z PŘÍSLUŠNÉ STRANY. OBVYKLE OBSAHUJE ŘETĚZCE RŮZNÝCH POLYSACHARIDŮ A GLYKOPROTEINŮ

SELEKTIVNÍ FILTR ZAJIŠŤUJE, ŽE KANÁLEM MOHOU PROJÍT JEN URČITÉ IONTY. FILTR ZAJIŠŤUJE SELEKTIVITU KANÁLU.

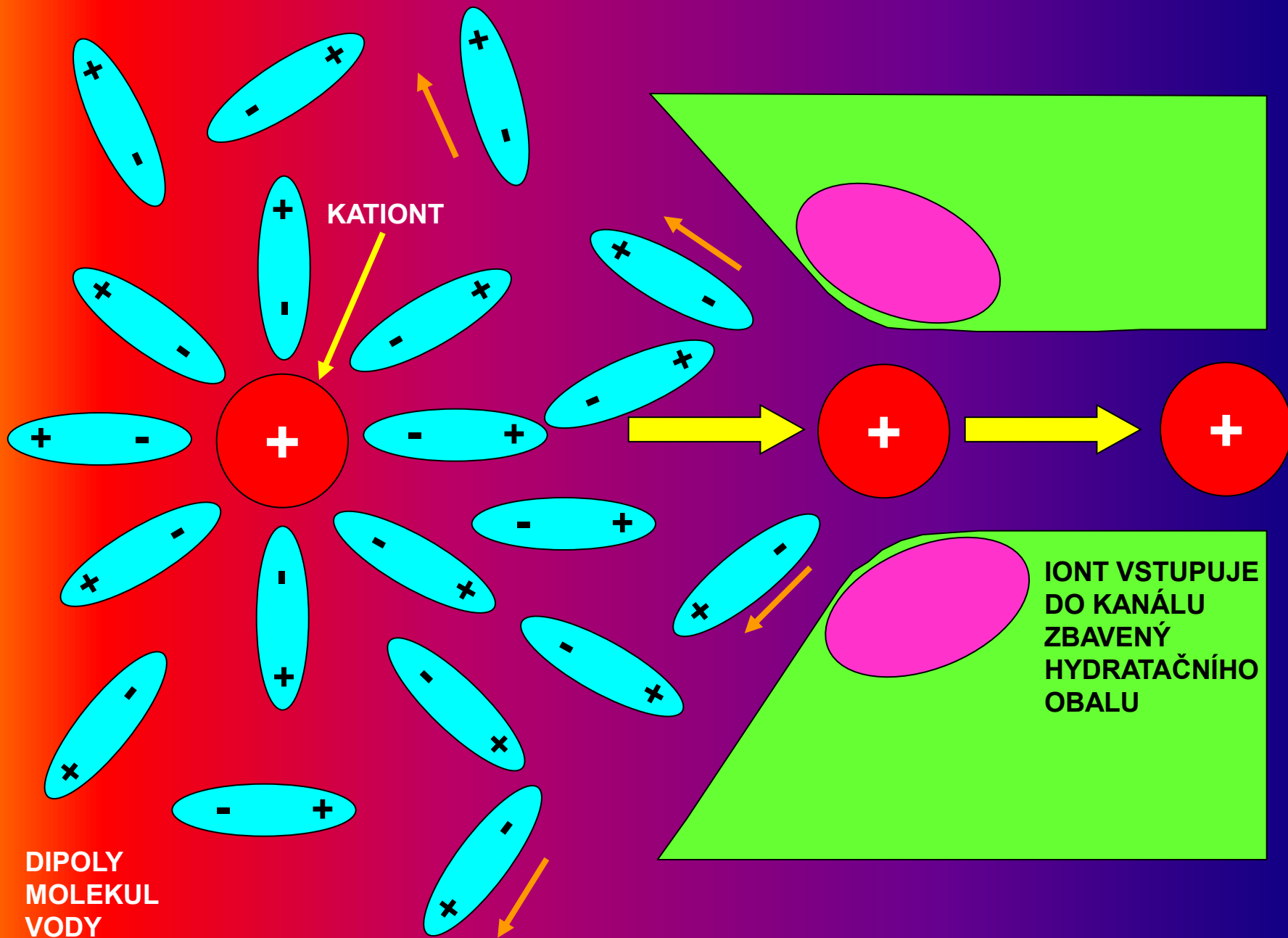
VRÁTKA (HRADLO) SE KONFORMUJÍ VE DVOU POLOHÁCH: VRÁTKA ZAVŘENÁ – KANÁL NEVEDE, VRÁTKA OTEVŘENÁ – KANÁL VEDE.

KONFORMACE KANÁLU URČUJE SENZOR VRÁTKOVACÍHO SIGNÁLU, COŽ JE ZAŘÍZENÍ, KTERÉ JE CITLIVÉ KE SPECIFICKÉMU PODNĚTU, KTERÝ ZPŮSOBÍ KONFORMACI KANÁLU DO OTEVŘENÉHO, NEBO ZAVŘENÉHO STAVU.

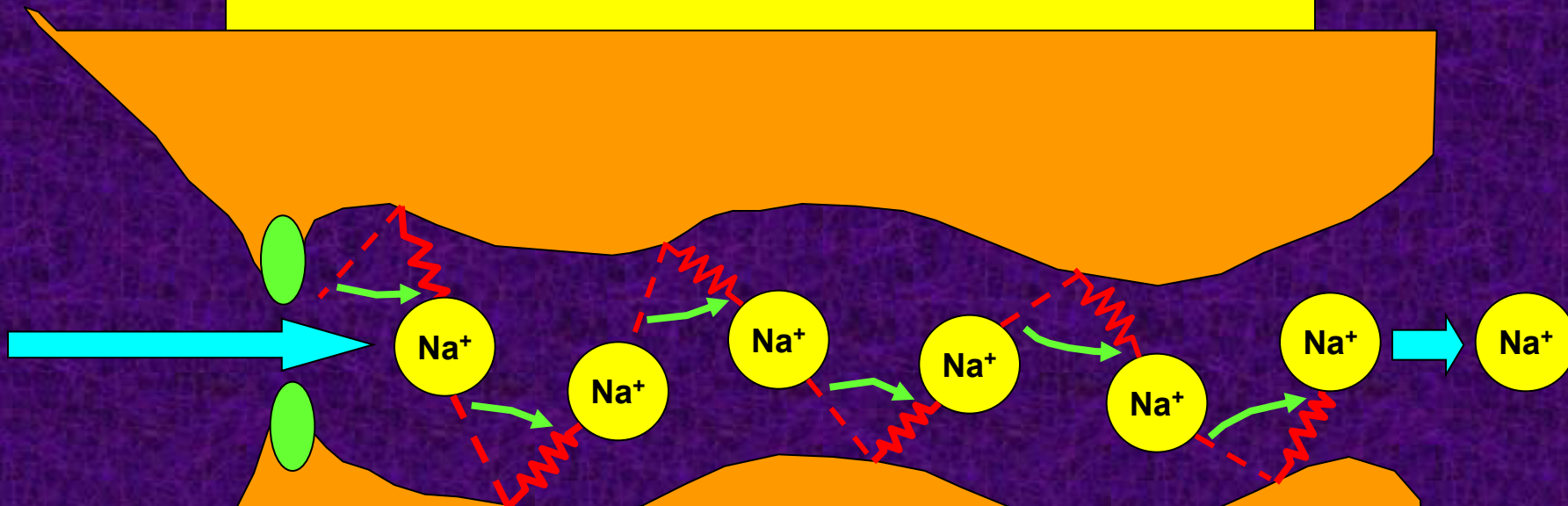
KONFORMAČNÍ ZMĚNY VRÁTEK KANÁLU SE OZNAČUJÍ VRÁTKOVÁNÍ. VRÁTKOVÁNÍ JE SPOJENO SE ZMĚNOU SPECIFICKÉ VODIVOSTI KANÁLU. KANÁL VRÁTKUJE DO OTEVŘENÉHO STAVU, NEBO DO ZAVŘENÉHO STAVU. V OTEVŘENÉM STAVU MÁ KANÁL VODIVOST „1“, V ZAVŘENÉM STAVU MÁ KANÁL VODIVOST „0“.

SLED UDÁLOSTÍ, KTERÉ VEDOU KE ZMĚNÁM VODIVOSTI KANÁLU





Prostup iontů membránovým kanálem.



IONT NEPROSTUPEJE KANÁLEM VOLNĚ, PROSTOU DIFUSÍ. SOUDÍ SE, ŽE URČITÝM KANÁLEM PRÁVĚ PROSTUPEJE JEDINÝ IONT, KTERÝ BYL DETERMINOVÁN SELEKTIVNÍM FILTREM. V PRŮBĚHU VLASTNÍHO KANÁLOVÉHO PÓRU JE IONT PŘEDÁVÁN OD ÚSTÍ SMĚREM K VYÚSTĚNÍ SERIÍ VZÁJEMNĚ NAVAZUJÍCÍCH VAZEB (JEDNA PODÁVÁ IONT DALŠÍ).

PŘEHLED ZÁKLADNÍCH MEMBRÁNOVÝCH IONTOVÝCH KANÁLŮ

- 1) NAPĚŤOVĚ VRÁTKOVANÉ KANÁLY
- 2) VAZBOU LIGANDU VRÁTKOVANÉ KANÁLY
- 3) G – PROTEINEM VRÁTKOVANÉ KANÁLY
- 4) CYKlickými NUKLEOTIDY VRÁTKOVANÉ KANÁLY
- 5) MECHANOSENSITIVNÍ KANÁLY
- 6) METABOTROPNÍ KANÁLY
- 7) KANÁLY NITROBUNĚČNÝCH ORGANEL
- 8) MEZIBUNĚČNÉ KANÁLY
- 9) AQUAPORINOVÉ KANÁLY

NAPĚŤOVÉ VRÁTKOVANÉ KANÁLY

MODEL NAPĚTOVĚ ŘÍZENÉHO KANÁLU

EXTRACELULÁRNĚ

Napěťový
sensor

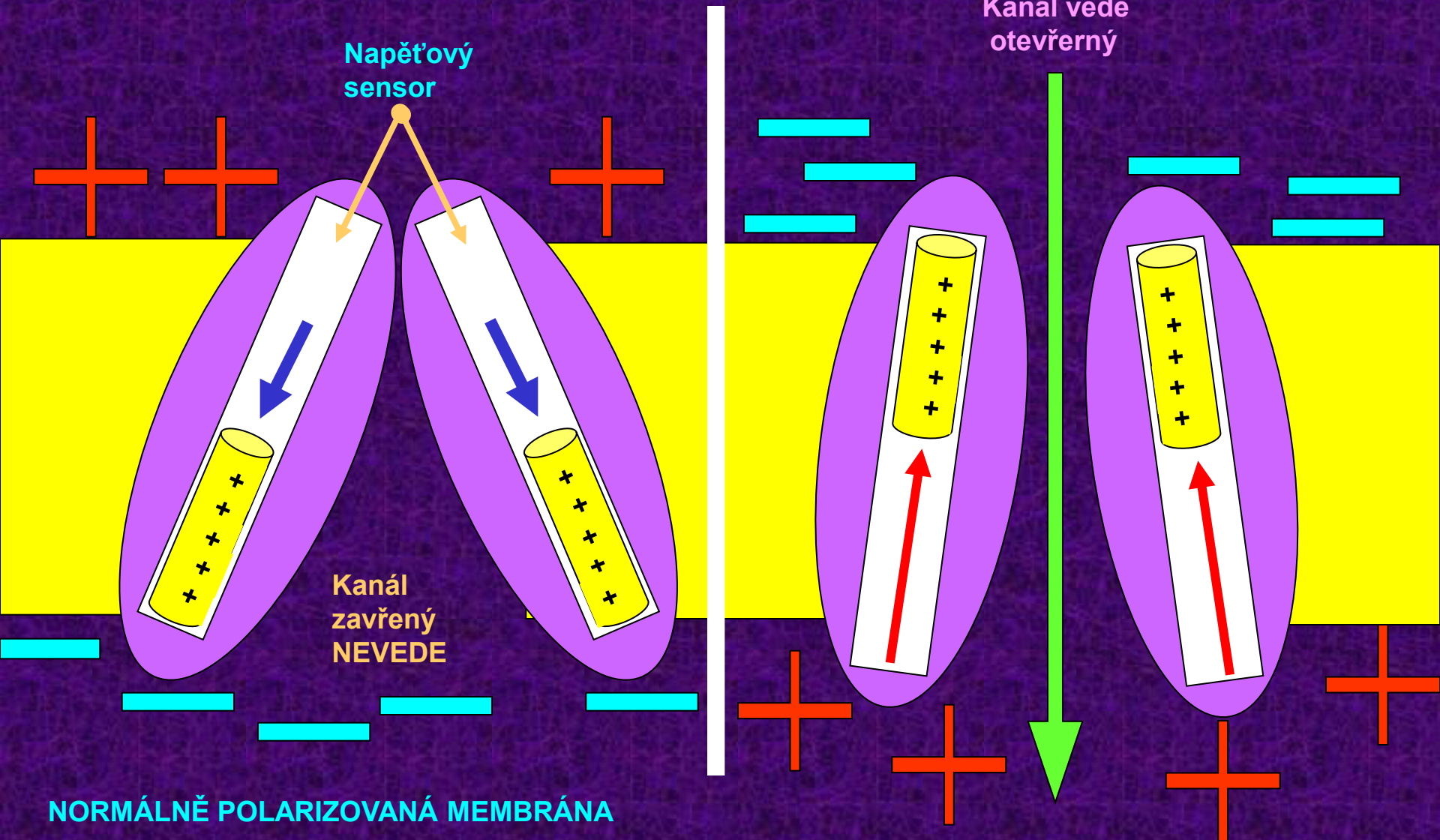
Kanál
zavřený
NEVEDE

NORMÁLNĚ POLARIZOVANÁ MEMBRÁNA

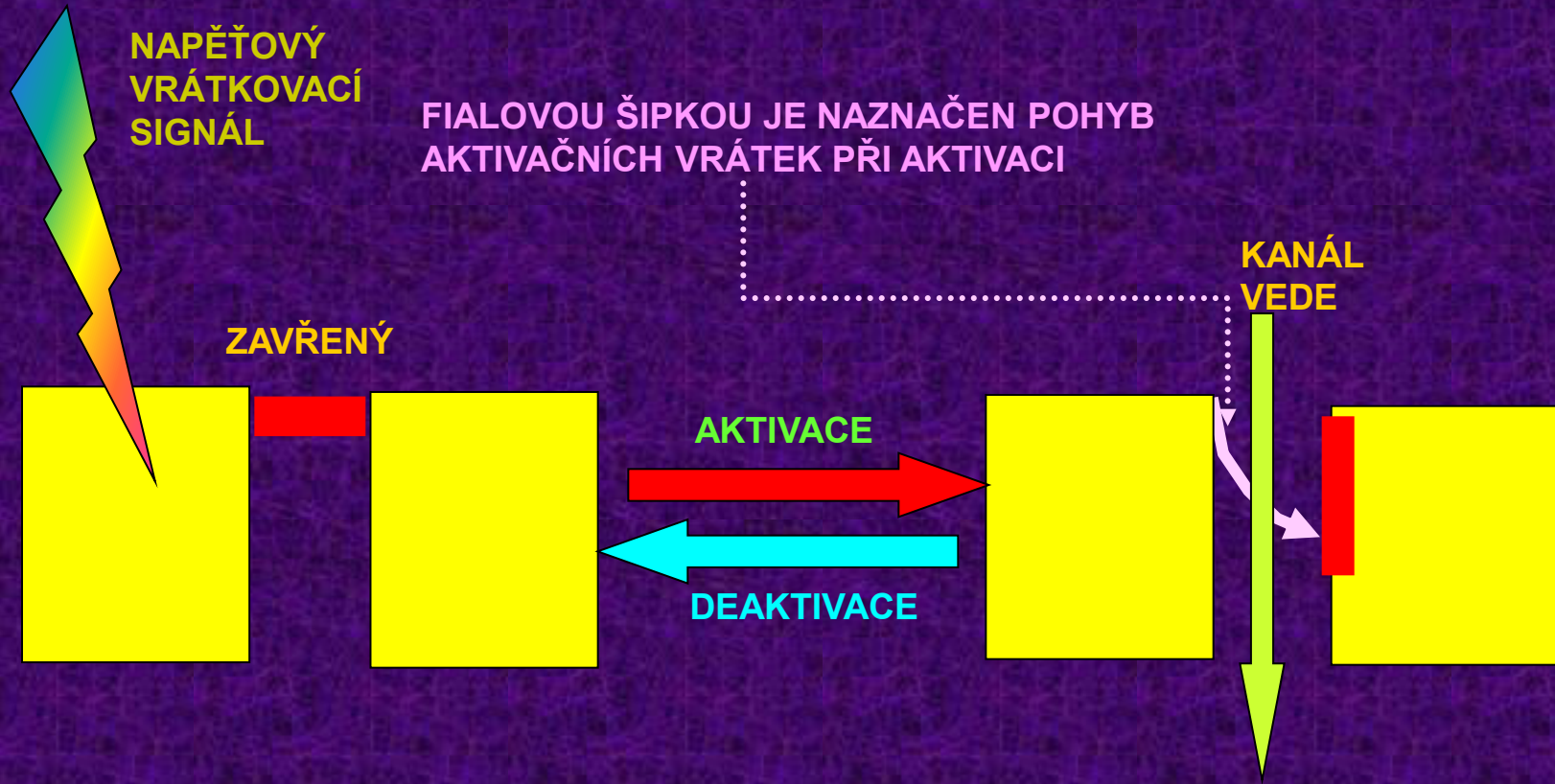
INTRACELULÁRNĚ

Kanál vede
otevřený

DEPOLARIZOVANÁ MEMBRÁNA

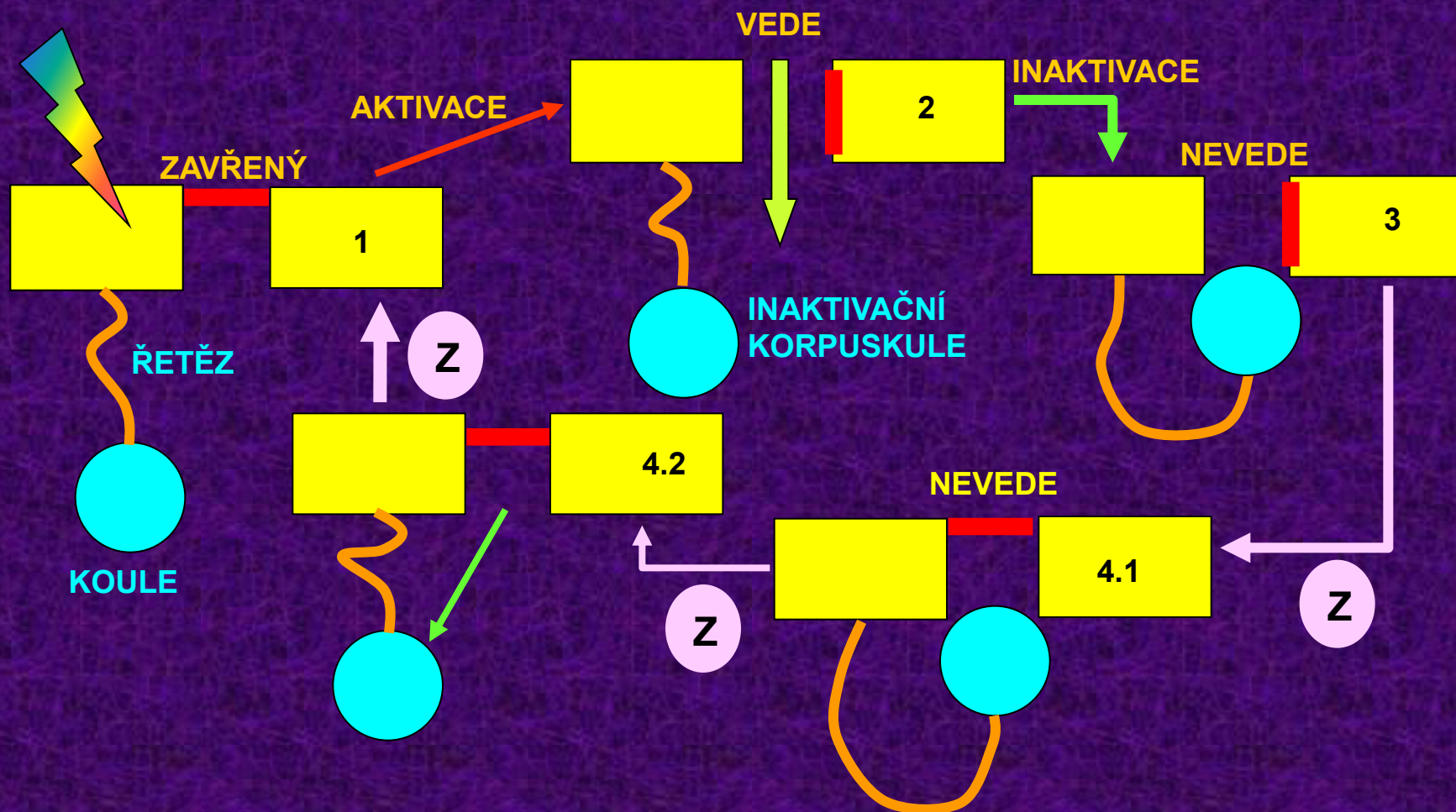


NEJJEDNODUŠŠÍ NAPĚŤOVĚ ŘÍZENÝ KANÁL. VYKAZUJE DVA ZÁKLADNÍ STAVY: „ZAVŘENÝ“ A „OTEVŘENÝ“. PŮSOBENÍM VRÁTKOVACÍHO SIGNÁLU (NAPĚŤOVÝ VRÁTKOVACÍ SIGNÁL) SE ZAVŘENÝ KANÁL AKTIVUJE DO STAVU OTEVŘENÉHO. OTEVŘENÝ KANÁL VYKAZUJE VODIVOST PRO PŘÍSLUŠNÉ IONTY. PO UKONČENÍ PŮSOBENÍ VRÁTKOVACÍHO NAPĚTÍ DEAKTIVUJE DO ZAVŘENÉHO STAVU. Podle klasické klasifikace se tento typ kanálu někdy označuje „kanál vykazující jen deaktivaci“.



MODEL NAPĚŤOVĚ VRÁTKOVANÉHO KANÁLU, KTERÝ VYKAZUJE INAKTIVACI. PO AKTIVACI NAPĚŤOVÝM VRÁTKOVACÍM SIGNÁLEM PŘECHÁZÍ ZE STAVU ZAVŘENÝ (1) PROCESEM AKTIVACE DO OTEVŘENÉHO STAVU (2), KTERÝ JE JEDINÝM VODIVÝM STAVEM. NÁSLEDUJE SPONTÁNNÍ INAKTIVACE, KTERÝM KANÁL PŘECHÁZÍ DO KONFORMACE „INAKTIVOVANÝ“ (3). Z INAKTIVOVANÉHO STAVU MUSÍ PODSTOUPIT PROCES ZOTAVENÍ (4.1, 4.2), KTERÝM SE VRÁTÍ DO STAVU 1.

VE SCHEMATU JE PREZENTOVÁN INAKTIVAČNÍ PROCES OZNAČOVANÝ JAKO „ŘETĚZ A KOULE“.



VRÁTKOVACÍ SIGNÁL: ZMĚNA
NAPĚTÍ NA MEMBRÁNĚ

ZAVŘENÝ
ZPŮSOBILÝ
K AKTIVACI
(K OTEVŘENÍ)

AKTIVACE
(OTEVŘENÍ)

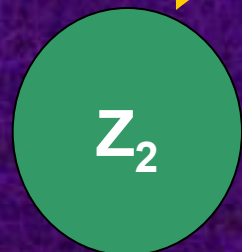
AKTIVOVANÝ KANÁL

INAKTIVOVANÝ KANÁL
PŘEDSTAVUJE ZVLÁŠTNÍ
KONFORMACI, Z NÍŽ
KANÁL NEMŮŽE BÝT PŘÍMO
OTEVŘEN, ALE NEJPRVE
MUSÍ PROJÍT PROCESEM
ZOTAVENÍ (RECOVERY)

OTEVŘENÝ KANÁL,
VEDE IONTY VE
SMĚRU ELEKTRO-
CHEMICKÉHO GRADIENTU

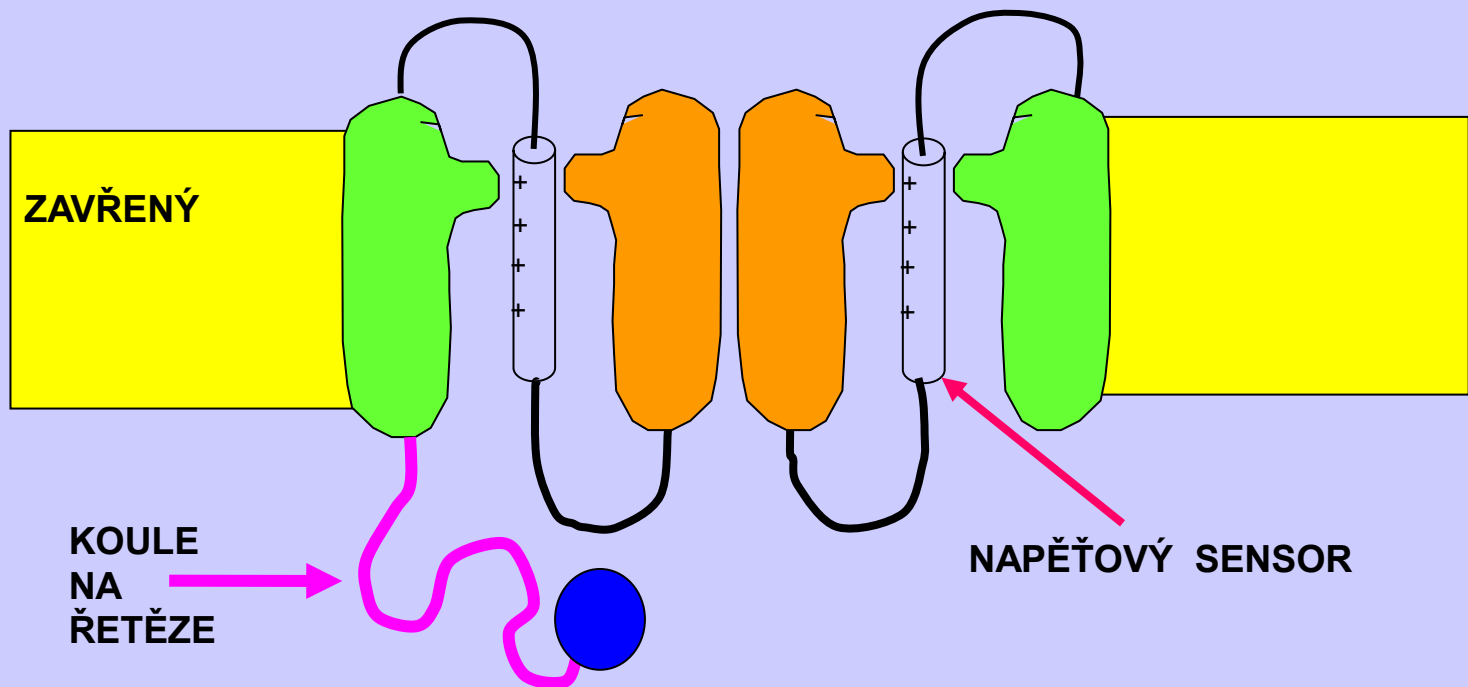
INAKTIVACE

INAKTIVOVANÝ KANÁL JE STAV, KDY KANÁL NEMŮŽE
BÝT OTEVŘEN FYZIOLOGICKÝM PODNĚTEM, ALE NEVEDE.
NEJSNÁZE SE INAKTIVACE VYSVĚTLUJE JAKO SPONTÁNNÍ
PROCES DO KTERÉHO KANÁL PŘECHÁZÍ PO PŘEDCHOZÍ
AKTIVACI. PODMÍNKOU JE, ŽE KANÁL MUSÍ VYKAZOVAT
STRUKTURY, KTERÉ JSOU SCHOPNÉ INAKTIVACI ZAJISTIT.
Z INAKTIVOVANÉHO STAVU KANÁL MUSÍ NEJPRVE PROJÍT
PROCESEM ZOTAVENÍ (*RECOVERY*), KTERÝM PŘEJDE
ZPĚT DO STAVU ZAVŘENÉHO KANÁLU („Z“). JEN Z TOHOTO
STAVU MŮŽE BÝT KANÁL FYZIOLOGICKY AKTIVOVÁN OTEVŘEN.
NĚKTERÉ KANÁLY VYKAZUJÍ VÍCE STAVŮ „ZAVŘENÝCH“ (Z_1 , Z_2),
NEBO DOKONCE I NĚKOLIK KONFORMACÍ INAKTIVOVANÝCH
VERZÍ (I , I_1).



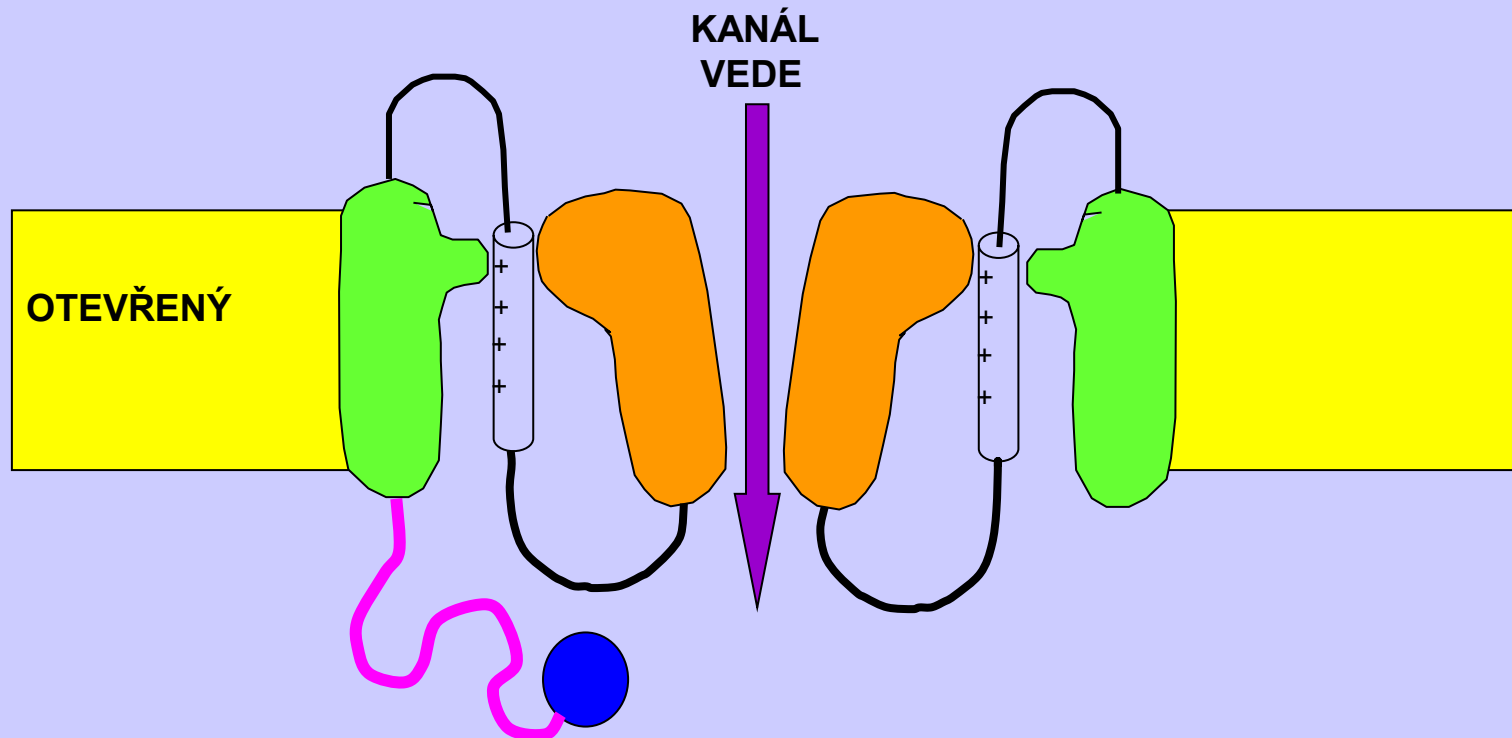
Model napěťově vrátkovaného kanálu. Výchozí stav.

ZAVŘENÝ KANÁL



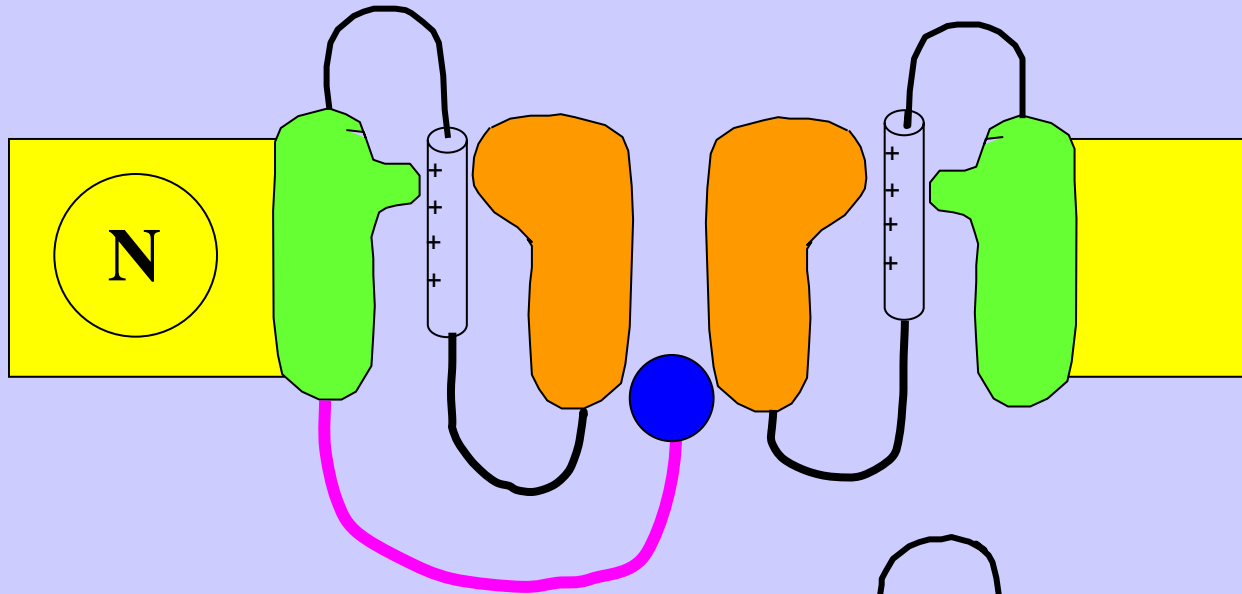
Model napětově vrátkovaného kanálu. Napětová aktivace.

OTEVŘENÝ



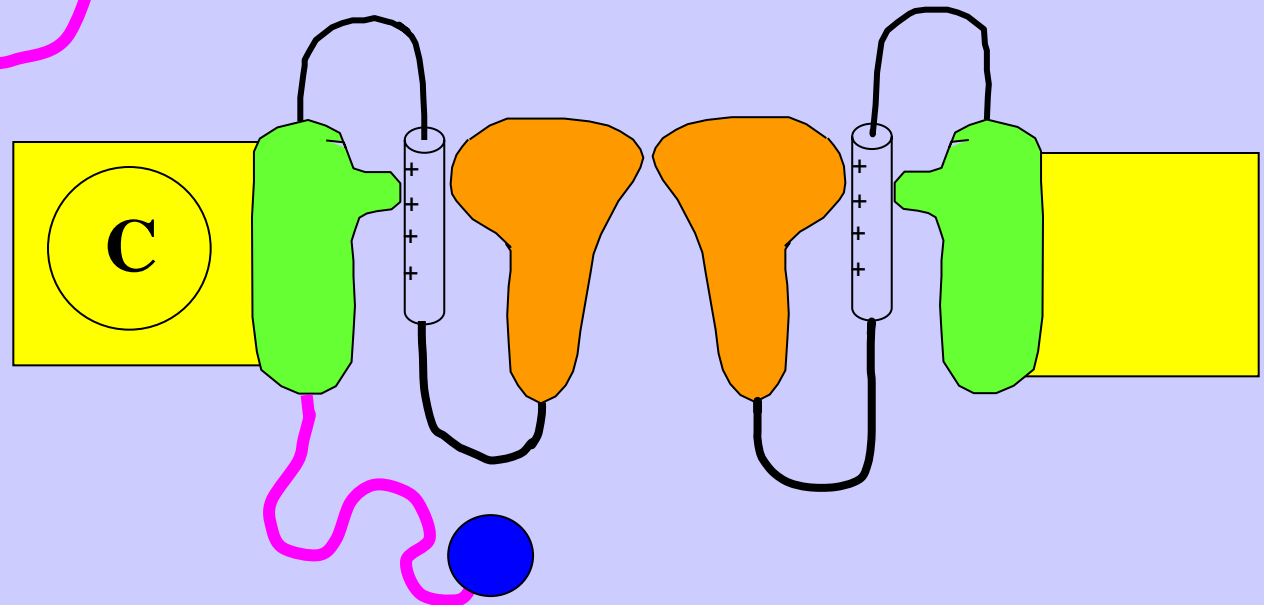
Model napětově vrátkovaného kanálu. Inaktivace.

N- a C-TYP INAKTIVACE



INAKTIVACE KONFORMACÍ
INAKTIVAČNÍ PARTIKULE
(„Koule na řetěze“)

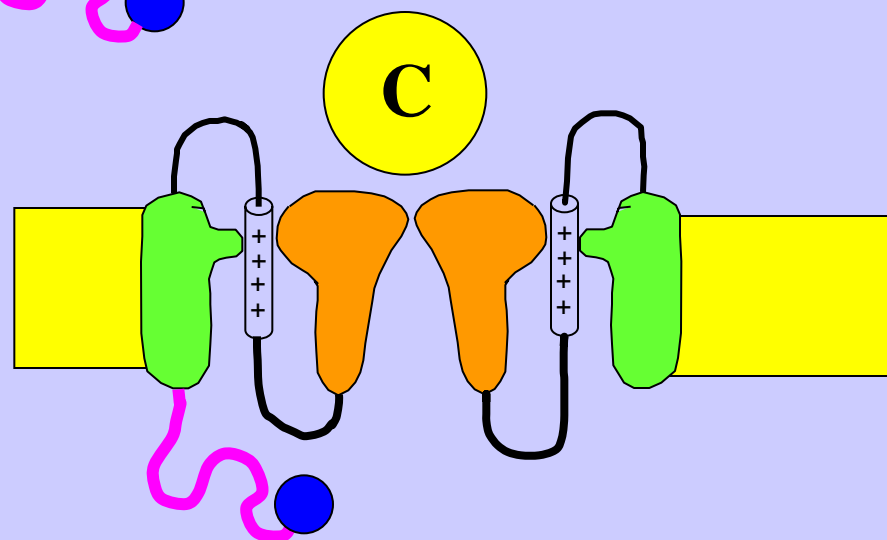
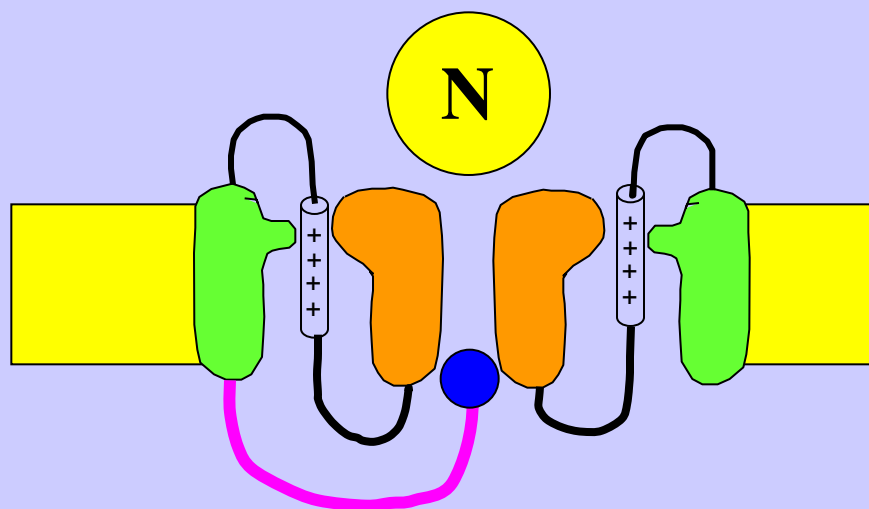
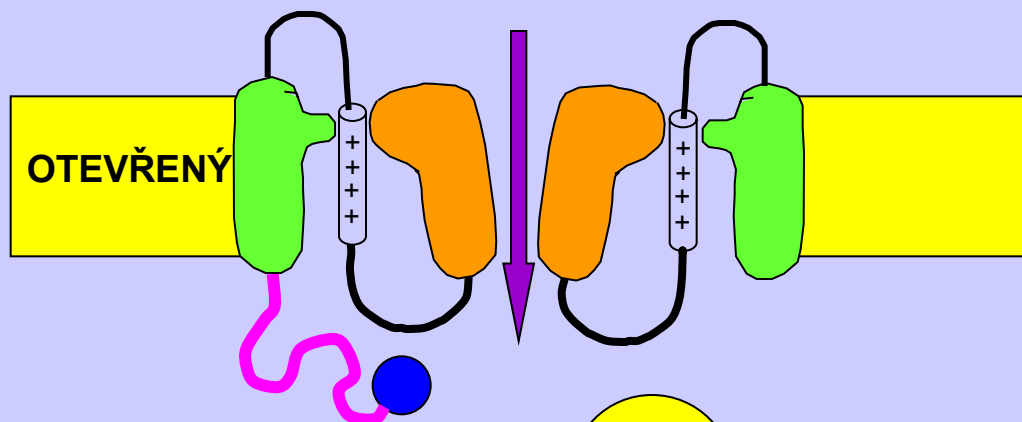
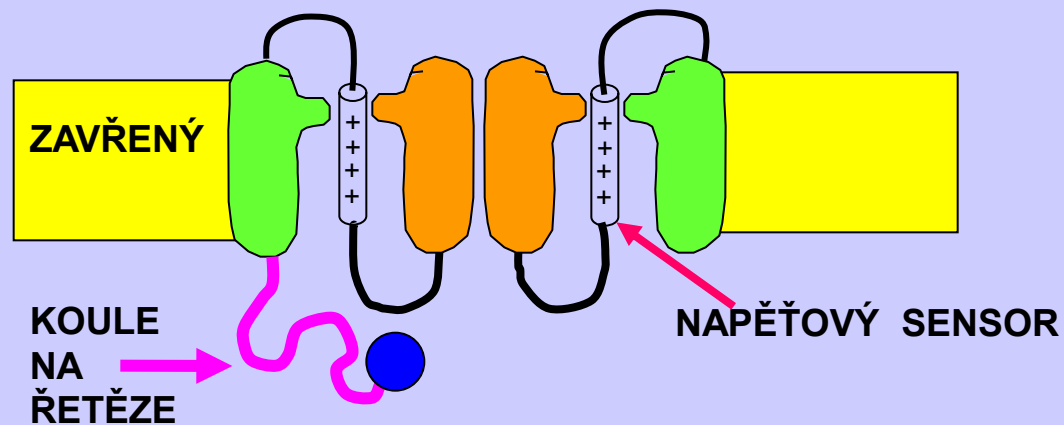
INAKTIVACE KONFORMACÍ
PROTEINU FORMUJÍCÍHO
VODIVÝ KANÁL

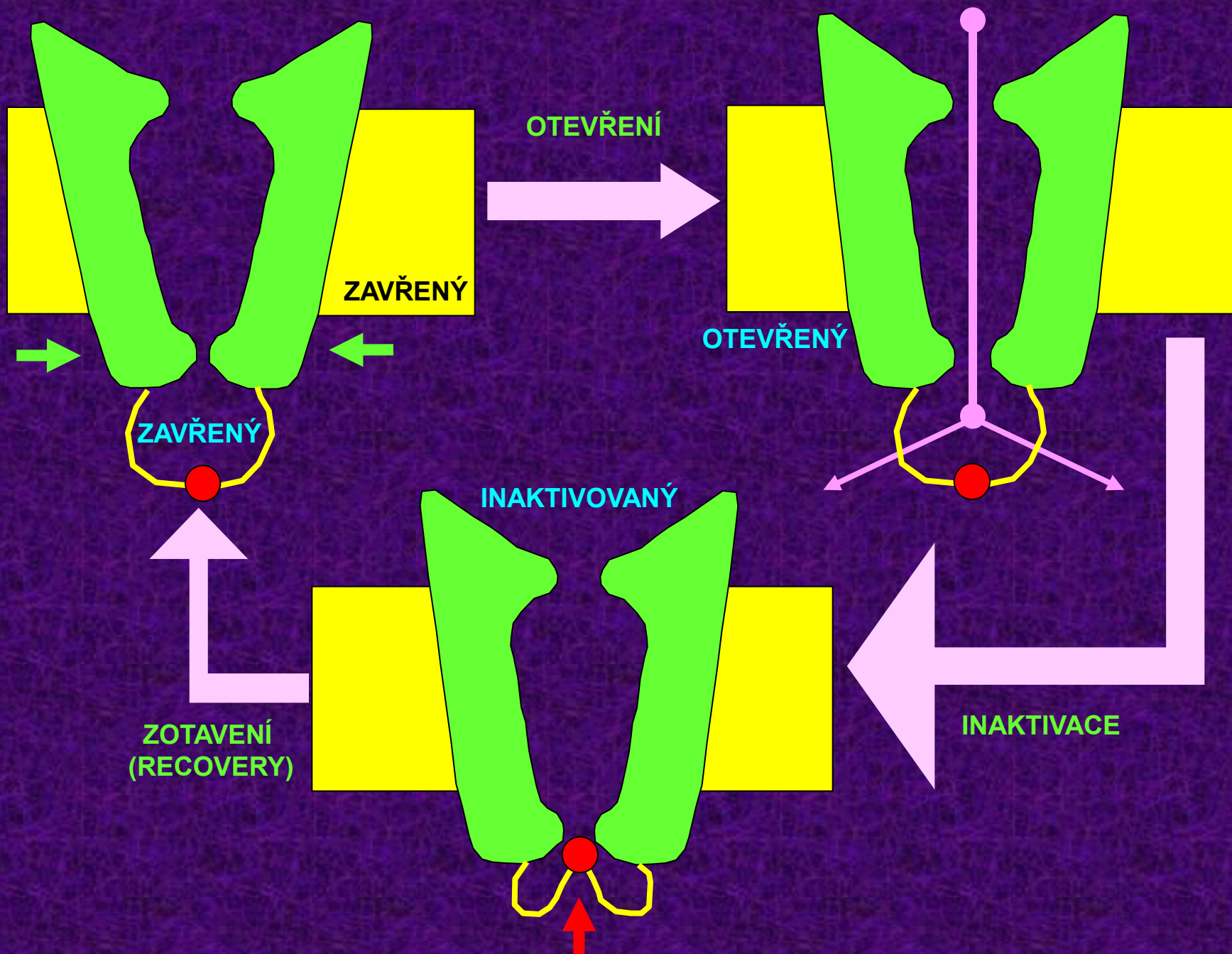


RŮZNÉ TYPY INAKTIVACE
NAPĚŤOVĚ VRÁTKOVANÝCH
KANÁLŮ

**N – typ
inaktivace**

**C – typ
inaktivace**





Kanály vykazující deaktivaci (disponují jen jedním typem vrátek, vrátky aktivačními)

Označení proudu	nositel náboje	směr toku proudu	poznámka
IK1	K ⁺	z buňky	proud pozadí, anomální rektifikace
IK	K ⁺	z buňky	opožděný draslíkový proud delayed rectifier
IKr	K ⁺	z buňky	jako IK, výrazně rychlá aktivace
IKs	K ⁺	z buňky	jako IK, výrazně pomalá aktivace
INa _{bg}	Na ⁺	do buňky	proud pozadí, chová se jako trvale otevřený

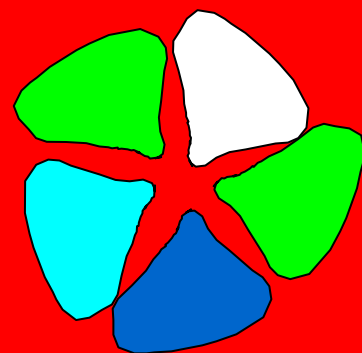
Napětově závislé kanály vykazující inaktivaci.
(formálně se chovají jako kanály vybavené dvojím typem vrátek: aktivačními a inaktivačními)

Označení proudu	nositel náboje	směr toku proudu	poznámka
INa	Na ⁺	do buňky	rychlý sodíkový proud depolarizace
ICaL	Ca ²⁺	do buňky	déle přetrvávající Ica
ICaT	Ca ²⁺	do buňky	oblasti SA uzlu, AV uzlu rychle aktivuje i inaktivuje
Ito	K ⁺	z buňky	přechodný proud K ⁺ z buňky

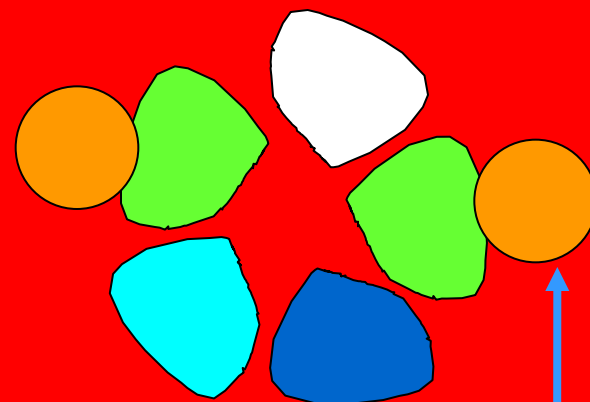
VAZBOU LIGANDU VRÁTKOVANÉ KANÁLY

TŘÍDA	RECEPTOR	VÝSKYT	SELEKTIVITA
Neurotransmitery			
ACETYLCHOLIN	nikotinový	motorická ploténka	ns, Na ⁺ , K ⁺
GABA, Glycin		CNS	Cl ⁻
Nitrobuněčné ligandy			
Ca ²⁺	kalcium-dependentní kanál	intacelulárně	K ⁺ , Cl ⁻ , NS
cAMP,cGMP	cAMP-, cGMP-receptory	CNS	NS
ATP	ATP-dependentní kanál metabotropní kanál	cytoplasmatická membrána	K ⁺
IP3	vápník uvolňující kanál	endoplasmatické retikulum	K ⁺

PENTAMER
ZE ČTYŘ
PODJEDNOTEK



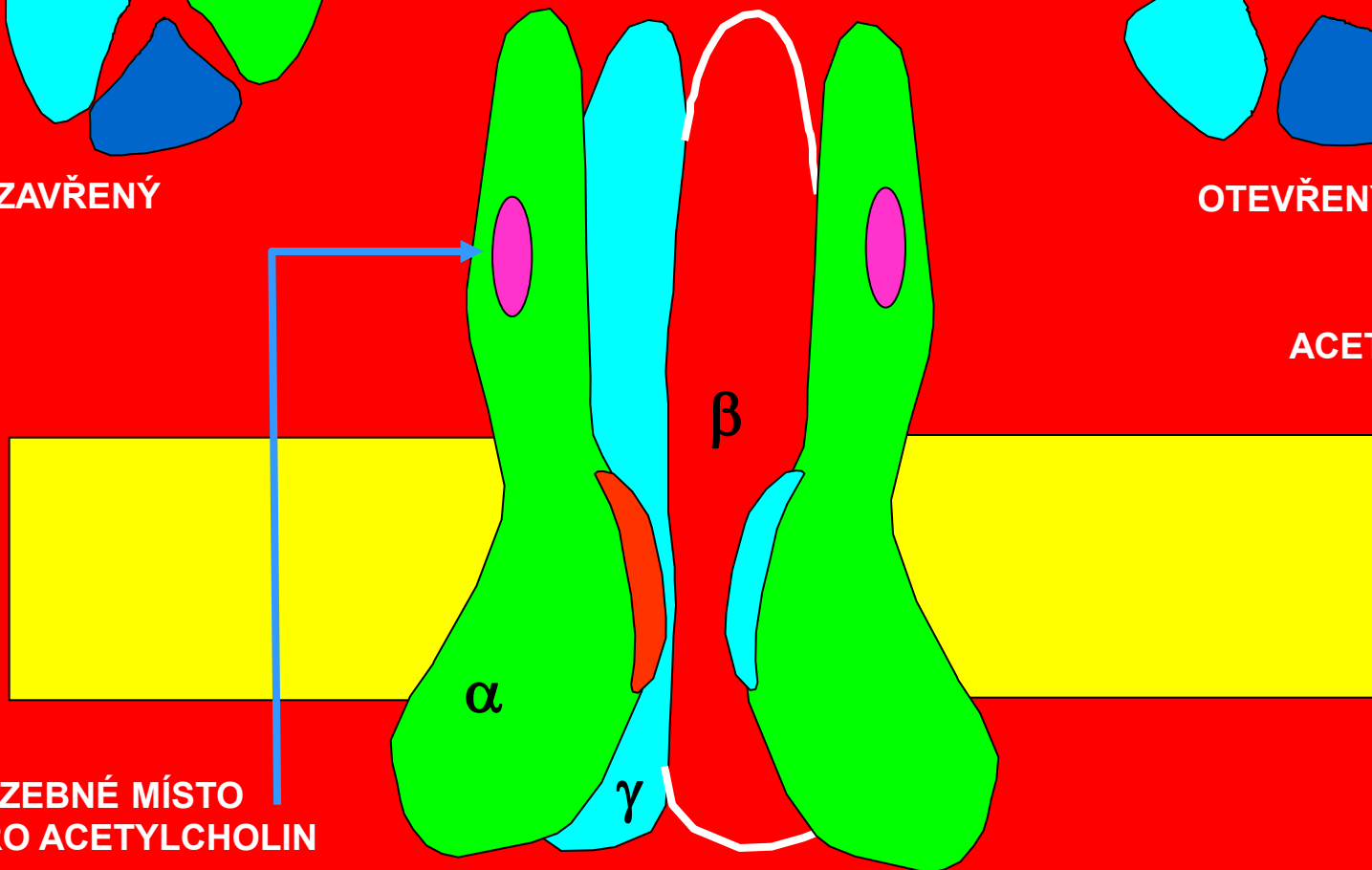
ZAVŘENÝ



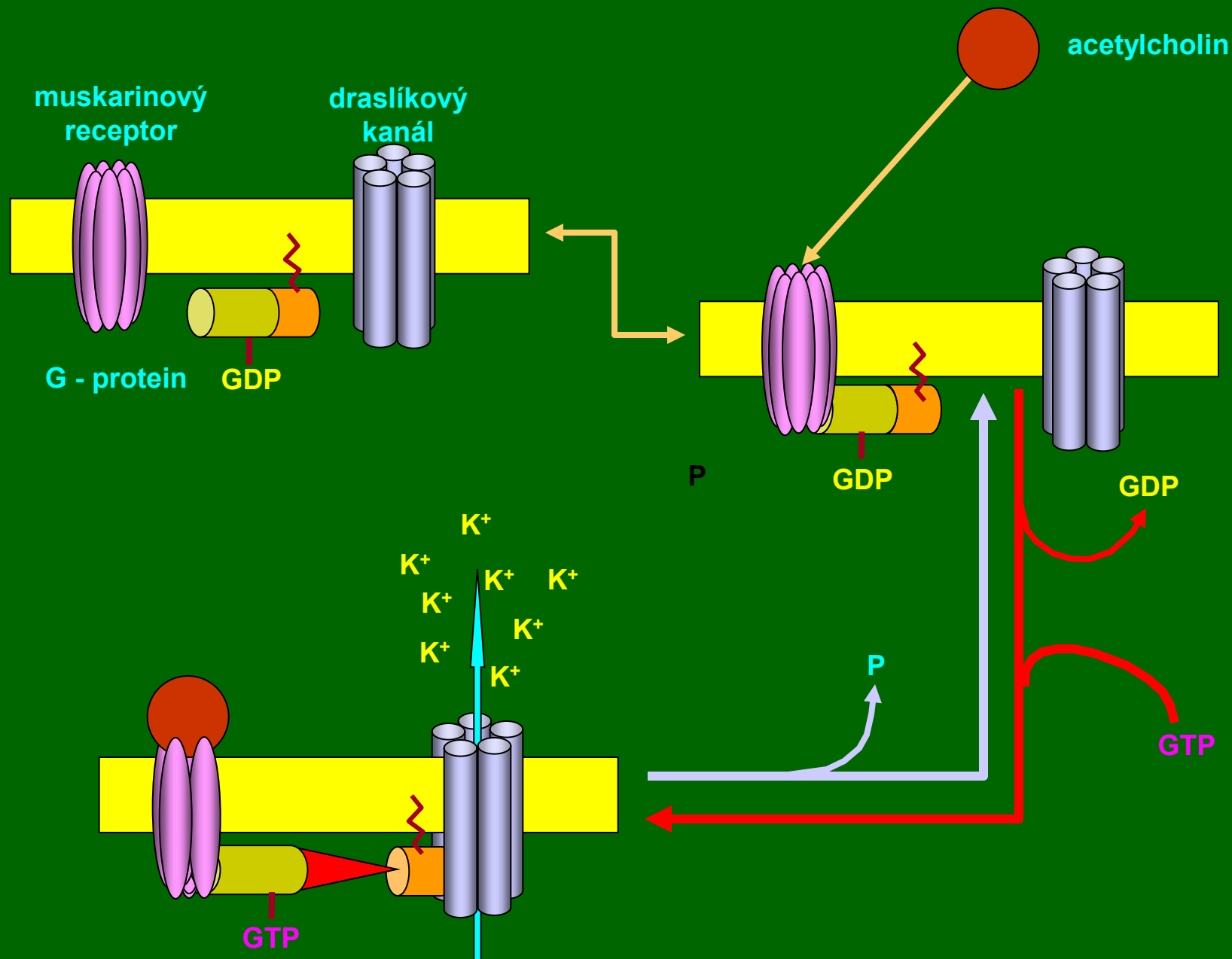
OTEVŘENÝ

ACETYLCHOLIN

VAZEBNÉ MÍSTO
PRO ACETYLCHOLIN



G – PROTEINEM PŘÍMO VRÁTKOVANÉ KANÁLY



CYKlickÝMI NUKLEOTIDY VRÁTKOVANÉ KANÁLY

CYKlickými NUKLEOTIDY VRÁTKOVANÉ KANÁLY

CNG - KANÁLY

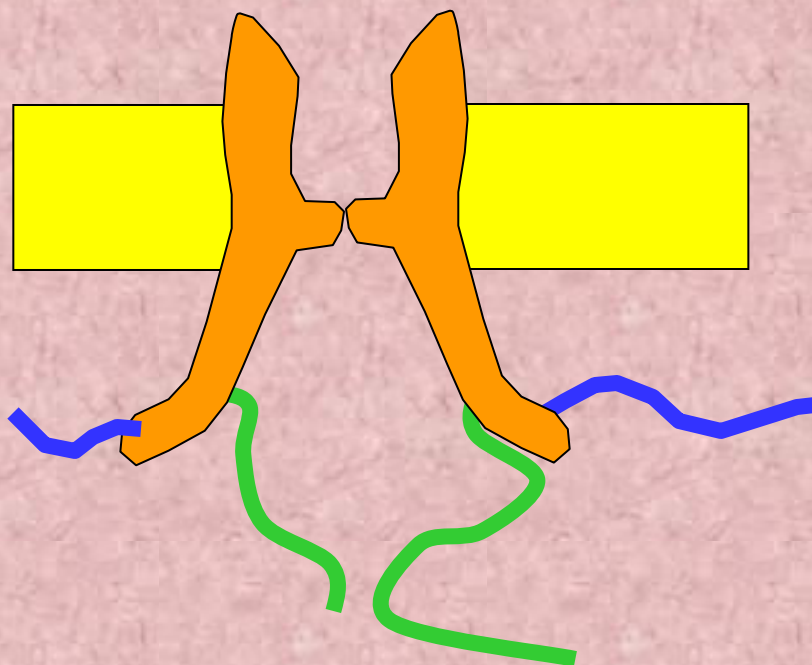
BYLY IDENTIFIKOVÁNY VE FOTORECEPTORECH, ČICHOVÝCH RECEPTORECH, A V DALŠÍCH ČÁSTECH CENTRÁLNÍ NERVOVÉ SOUSTAVY. AKTIVITA CNG-KANÁLŮ JE MODULOVÁNA JEDNAK KOMPLEXEM Ca^{2+} -KALMODULIN A JEDNAK FOSFORYLACÍ.

VRÁTKOVÁNÍ JE ZAJIŠTĚNO VAZBOU cAMP U JEDNÉ SKUPINY, U JINÉ KATEGORIE JE VRÁTKOVACÍM LIGANDEM cGMP.

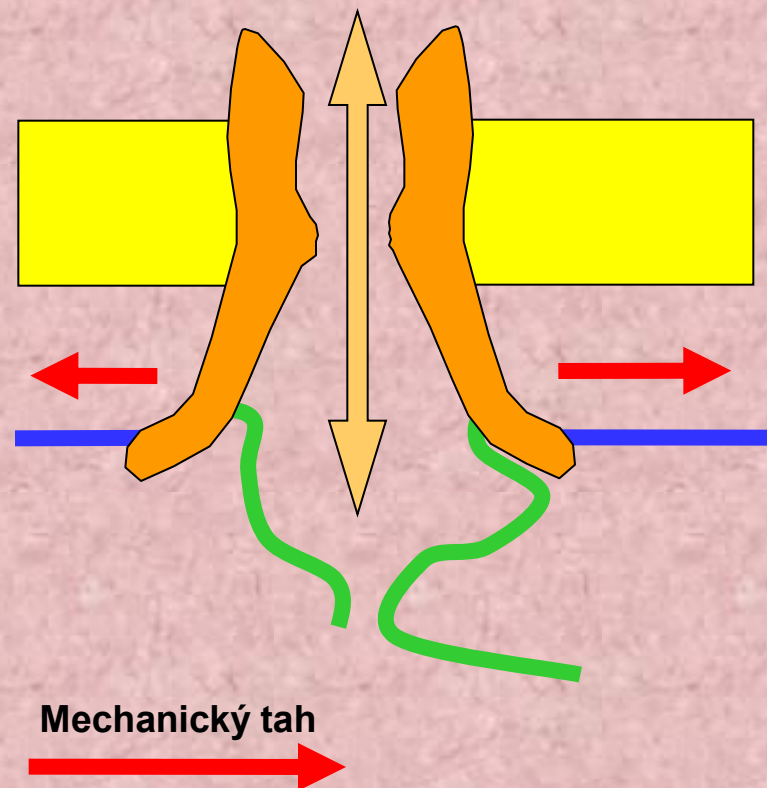
JEDNÁ SE O NESELEKTIVNÍ KATIONOIDNÍ KANÁLY. JEN V PŘÍPADĚ SENZORICKÝCH BUNĚK JSOU DŮLEŽITÉ PRO VSTUP Ca^{2+} , KTERÉ JSOU NEZBYTNÉ PRO EXCITABILITU A ADAPTACI SENZORICKÝCH NEURONŮ.

V POSLEDNÍ DOBĚ BYLY CNG-KANÁLY PROKÁZÁNY JEDNAK V HYPPOKAMPU, JEDNAK VE SPERMATOZOÍCH. Je známa celá řada channelopatií CNG-kanálů, které se projevují především poruchami sítnicových funkcí, zraku, čichových funkcí.

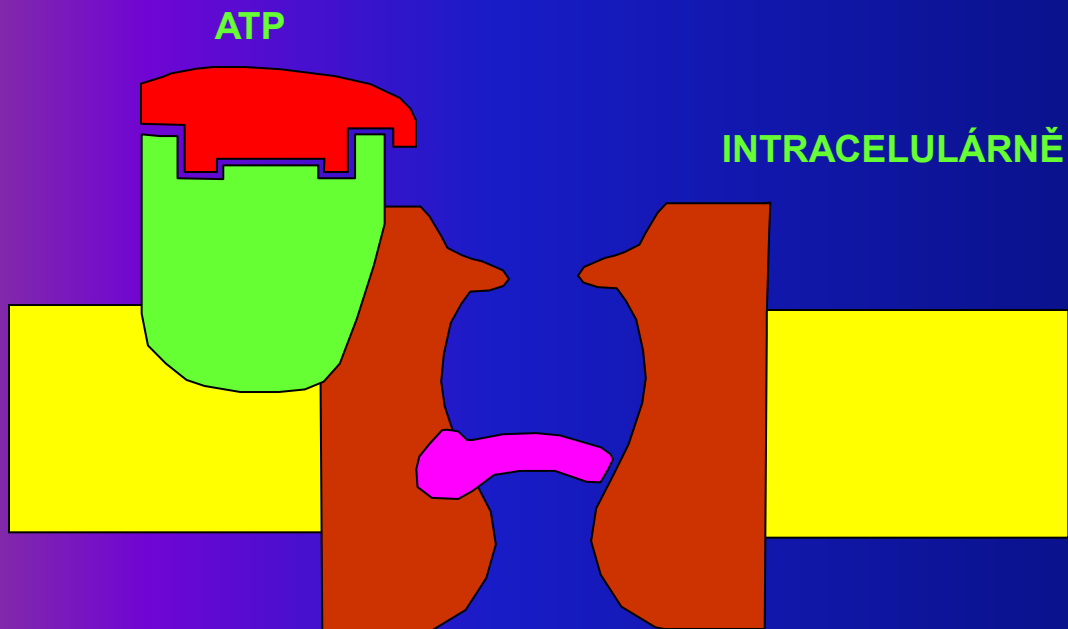
MECHANOSENSITIVNÍ KANÁLY



Tahem za vlákna cytoskeletonu (například ve směru plochy membrány) nastává mechanickou silou podmíněné vrátkování mechanosensitivních kanálů. Vrátkování může být jak otevření, tak uzavření kanálu. Smyslem je udržení například turgoru buňky při změně extracelulárních osmotických poměrů.

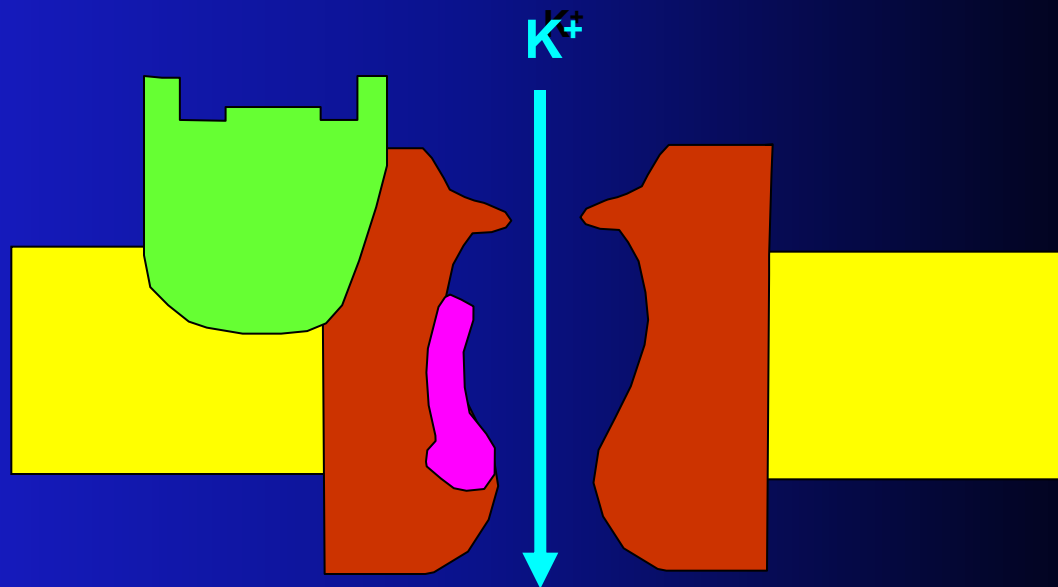


**METABOTROPNÍ
KANÁLY
(KANÁLY ŘÍZENÉ
INTRACELULÁRNÍ HLADINOU
ATP)**



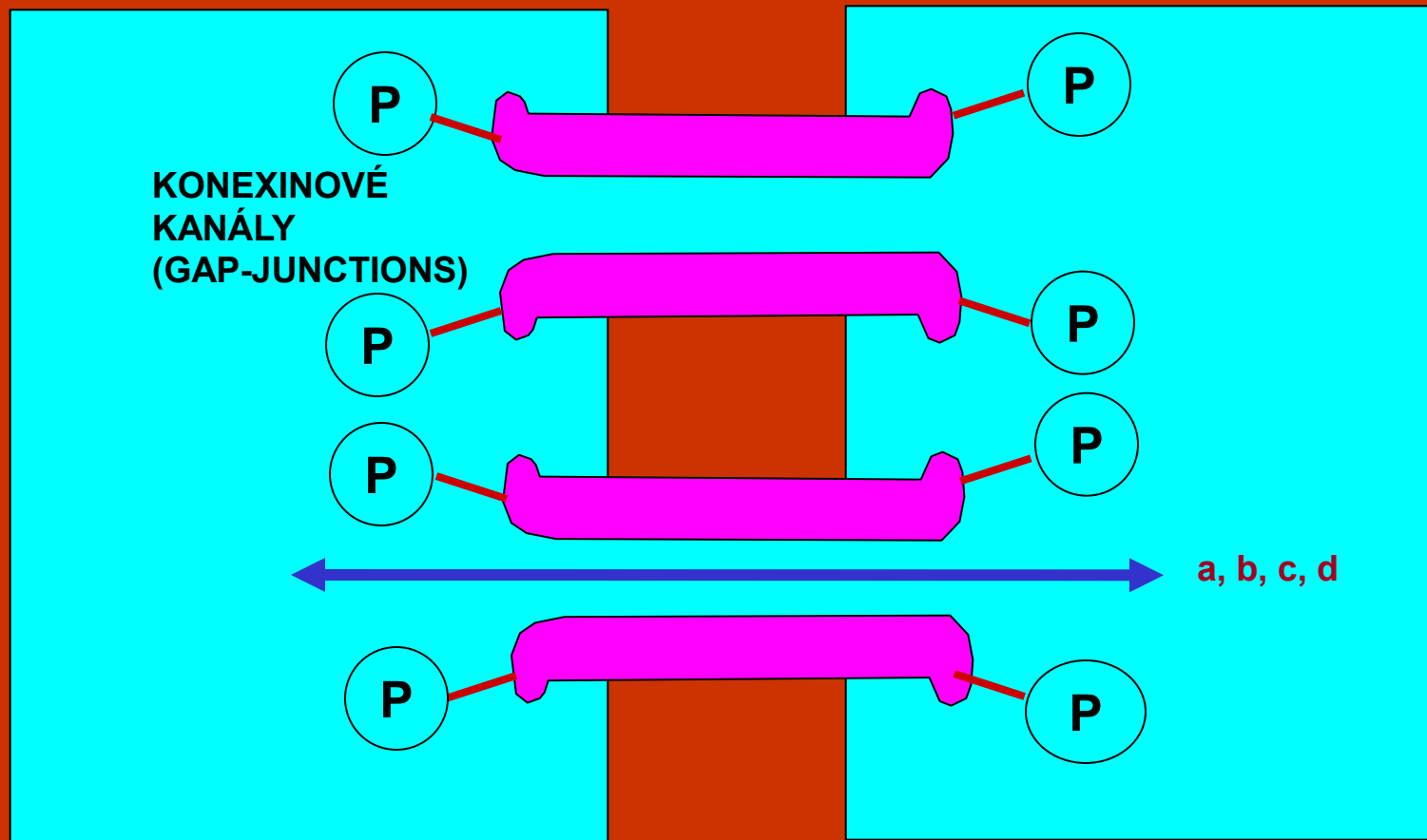
$IK(ATP)$

Pokles intracelulární hladiny ATP pod 1 mmol/litr vede k otevření draslíkového kanálu. Nastává hyperpolarizace a buňka se elektricky stabilisuje.



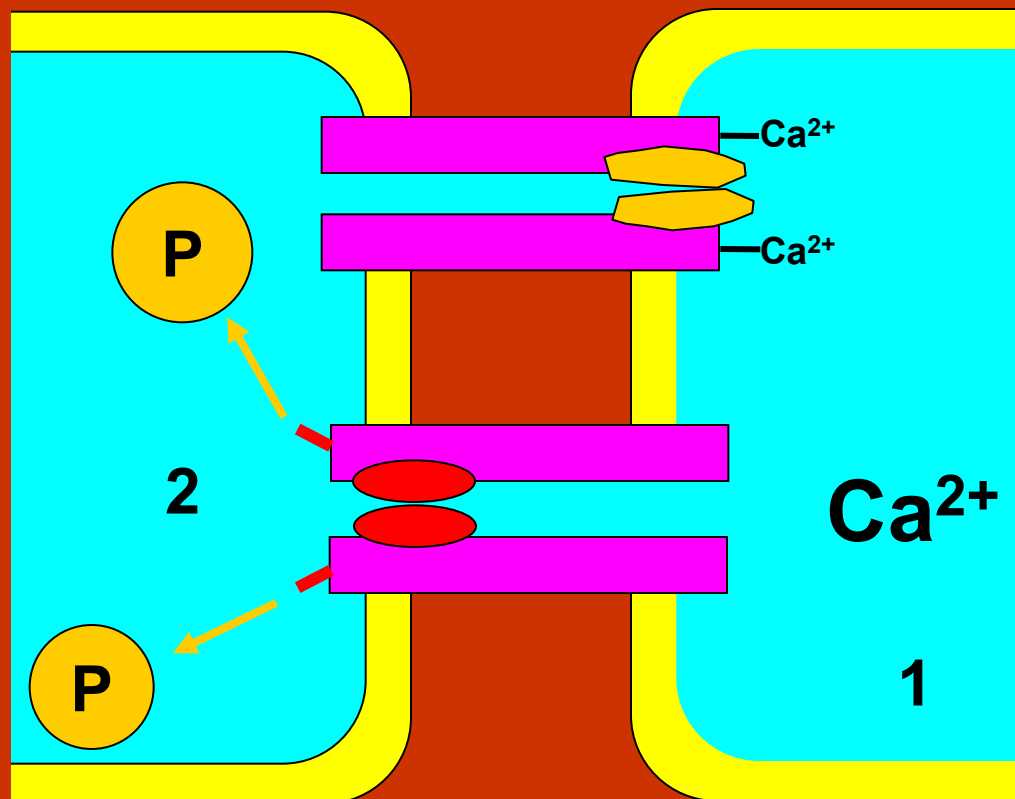
**MEZIBUNĚČNÉ
KANÁLY**

GAP - JUNCTIONS

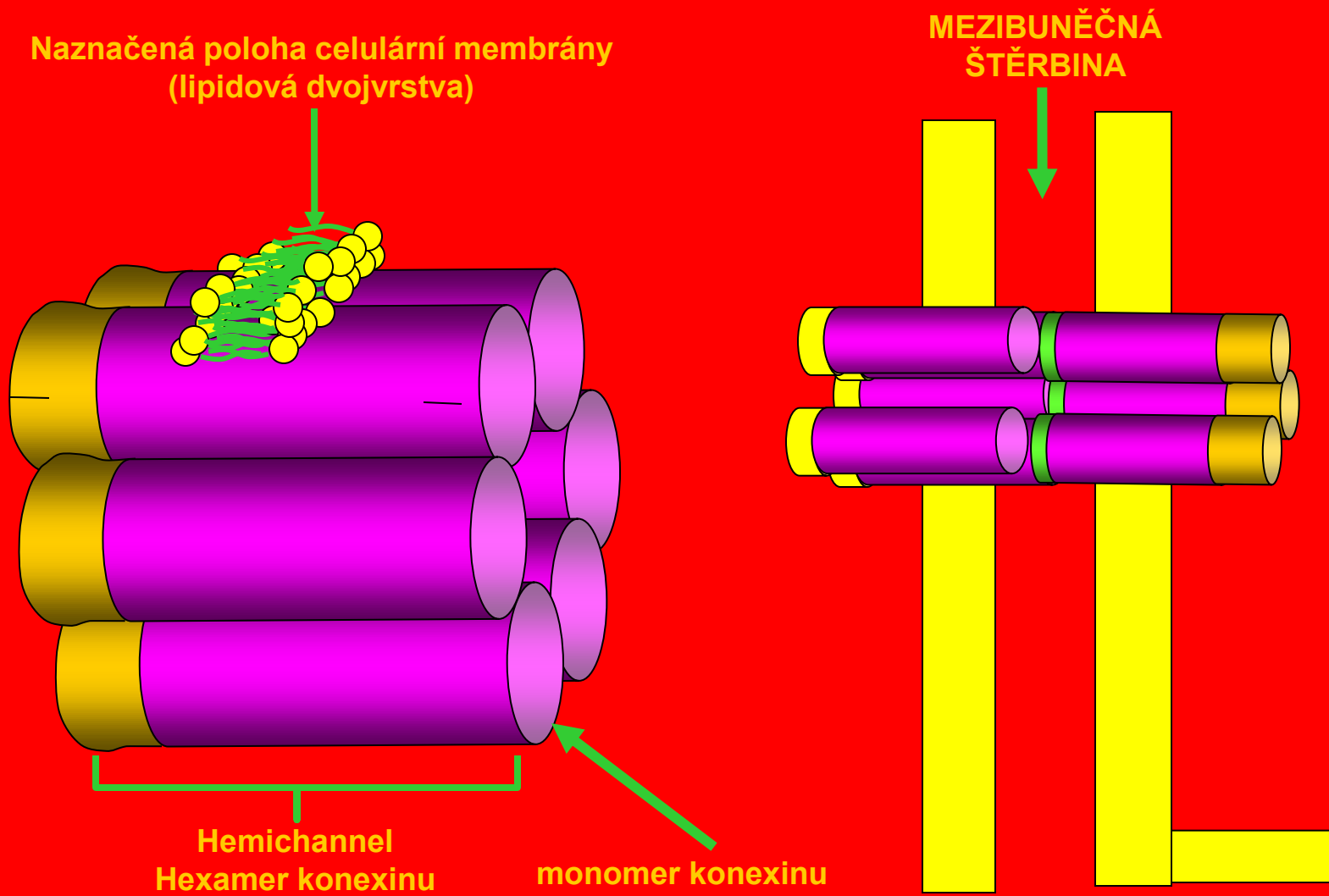


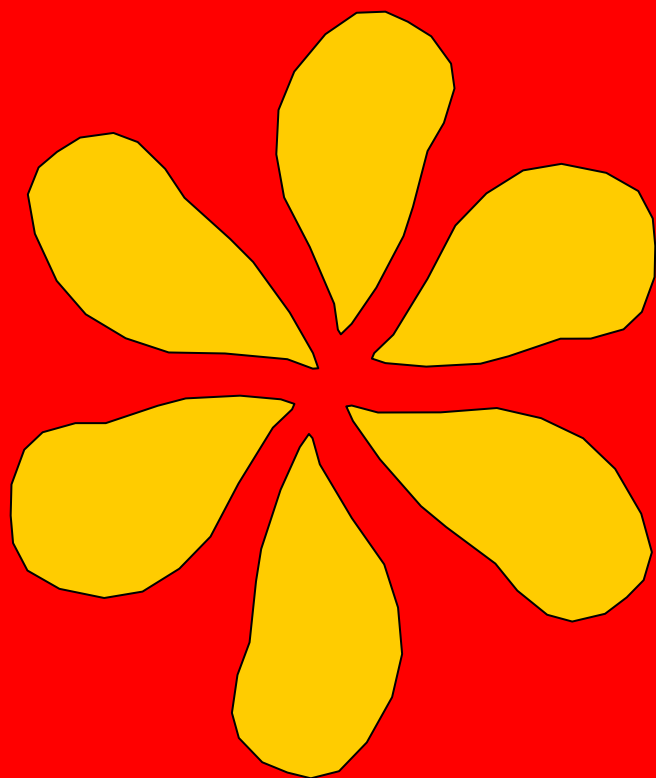
Konexinové kanály - gap junctions (GP) – mezibuněčné kanály, zajišťují: a) metabolickou kooperaci touto cestou komunikujících buněk; b) oddělení buněk při extrémním vzestupu intracelulární koncentrace Ca^{2+} ; c) oddělení metabolicky strádajících buněk od buněk zdravých; d) možnost prostupu pro-omkogenních faktorů z jedné do dalších buněk.

Vysoká koncentrace GJ je například v jaterní tkáni mezi hepatocyty a nebo v myokardu Mezi kardiomyocyty.



KANÁL VRÁTKUJE DO ZAVŘENÉHO STAVU: 1) PŘI ZVÝŠENÍ NITROBUNĚČNÉ KONCENTRACE VÁPŇÍKU, 2) PŘI POKLESU HLADINY MAKROERGNÍCH FOSFÁTŮ

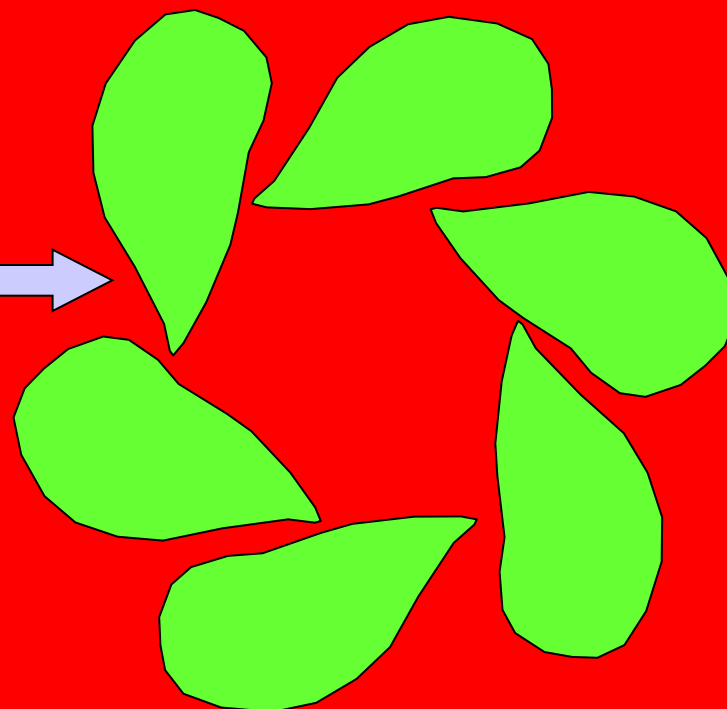




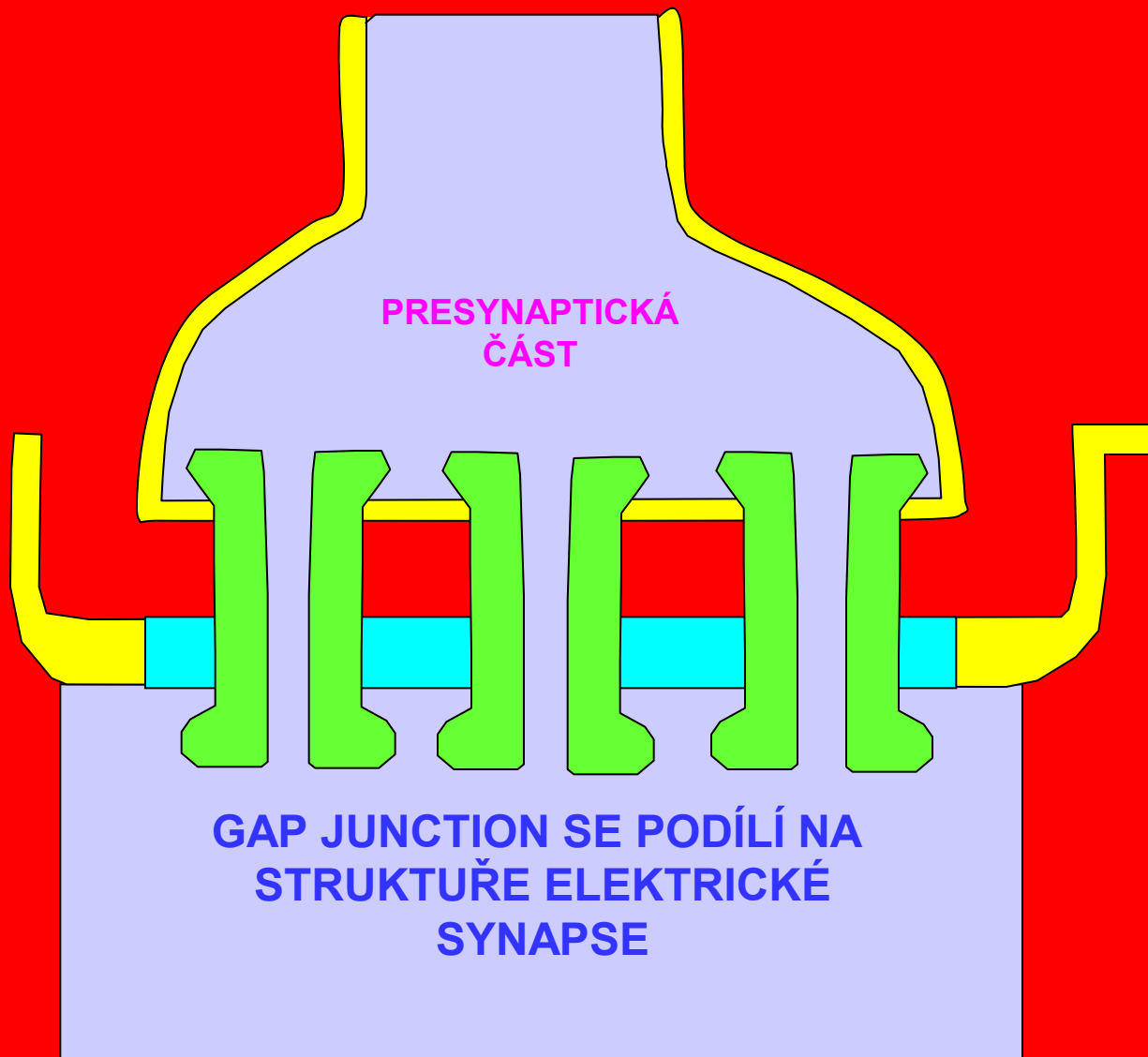
KONEXINOVÝ KANÁL
(GJ) ZAVŘENÝ



PŘI OTEVŘENÍ PODJEDNOTKY
HEXAMERU MÍRNĚ ROTUJÍ A
TÍM SE OTEVÍRÁ VODIVÝ PÓR



KONEXINOVÝ KANÁL
(GJ) OTEVŘENÝ (VEDE)



AQUAPORINOVÉ KANÁLY

AQUAPORINY JSOU INTEGRÁLNÍ PROTEINY. PRVNÍ KLONOVÁN Z KOSTNÍ DŘENĚ V ROCE 1991, BYL OZNAČEN CHIP28 (COŽ ZNAMENALO CHANNEL FORMING INTEGRAL PROTEIN, 28kD). POZDĚJI BYL OZNAČEN „AQUOPORIN 1“. Je tvořen 269 AK.

BYLO ZJIŠTĚNO, ŽE TOK VODY „VODOU“ (VODNÝM ROZTOKEM) JE ASI 66 000 X VĚTŠÍ NEŽ TOK VODY LIPIDOVOU DVOJVRSTVOU.

AQUAPORINOVÉ KANÁLY JSOU CITLIVÉ KE SLOUČENINÁM Hg. Přítomnost rtuti způsobí, že Veličina P_F poklesne desetkrát a veličina P_D asi dvakrát. Jestliže platilo, že P_F/P_D PŘED PŮSOBENÍM RTUTI ČINIL 5, PAK POD VLIVEM RTUTI KLESNE P_F NA 0.5, A ROVNĚŽ VELIČINA P_D KLESNE NA 0.5. POMĚR P_F/P_D MÁ PAK HODNOTU 1. AQUAPORINOVÝ KANÁL BYL Hg VYŘAZEN Z FUNKCE.

PROSTUP VODY SE DÁ CHARAKTERIZOVAT POMĚREM DVOU VELIČIN: P_F a P_D . Pokud lipidová membrána neobsahuje kanály pro vodu, jsou si obě veličiny rovny. Jejich poměr $P_F/P_D = 1$. Bylo změřeno, že uvedený poměr má v běžné membráně hodnotu 5.

**ZÁKLADNÍ
ELEKTROFYZIOLOGICKÉ
PROCESY
NA
BIOLOGICKÝCH
MEMBRÁNÁCH**

