

Membrántranszport folyamatok

A lipid kettős réteg gátat jelent a poláros molekulák számára. Ez a gát alapvető fontosságú a citoszól és az extracelluláris "milieu" közti koncentrációkülönbségek biztosításában. Ugyanígy az egyes organelleknek gyakran más a belső környezetük mint a sejt citoplazmájé, és ezt is a membránok biztosítják. Azért, hogy ezt a gátat a sejt használni is tudja, vizoldható molekulák átvitelére alkalmas transzmembrán fehérjéket alkalmaz, melyekspecifikus molekulákra vagy azok egy csoportjára.

Meg kell jegyezni, hogy az eukarióta sejtek makromolekulákat és részecskéket is át tudnak vinni a sejmembránjukon, de ez más mechanizmussal történik (ld. 12 és 13. fejezet). A membrán transzport annyira fontos a sejtek számára, hogy például az *E.coli* génjeinek 20%-a ezt a célt szolgálja.

A membrán transzport törvényszerűségei

A proteinmentes lipid kettős rétegek permeabilitási tulajdonságaival kezdjük a tárgyalást.

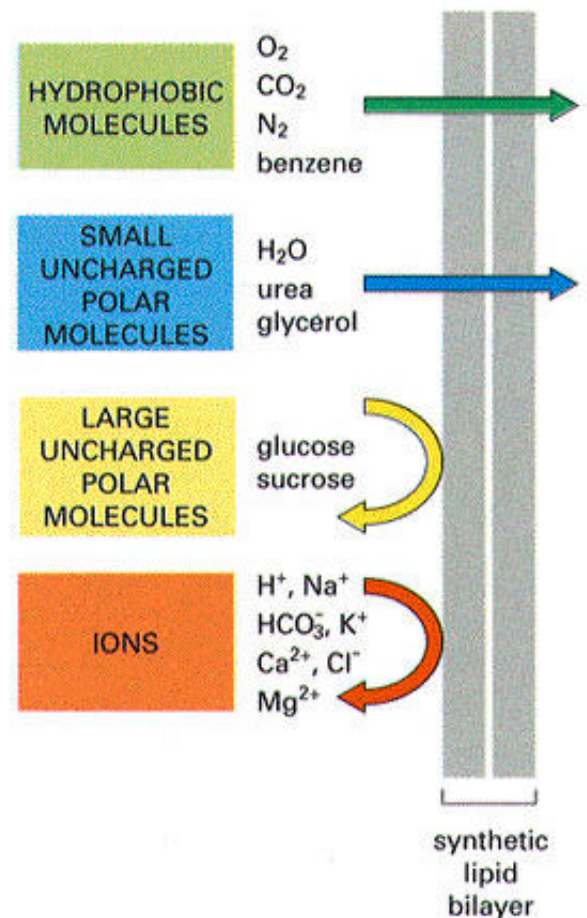
A protein mentes lipid kettős rétegek impermeábilisak az ionokra

Minden molekula átdiffundál egy lipid kettős rétegen a koncentráció csökkenés irányába, csak kérdés, mennyi idő alatt:
 $v = f$ (méret, lipid oldékonyság). Minél kisebb és minél apolárosabb, annál gyorsabban.

Képzeld el, hogy egy molekula diffundál egy lipid kettős rétegen keresztül egy vizes oldatból egy másikba. Ezen folyamat főbb lépései a következők:

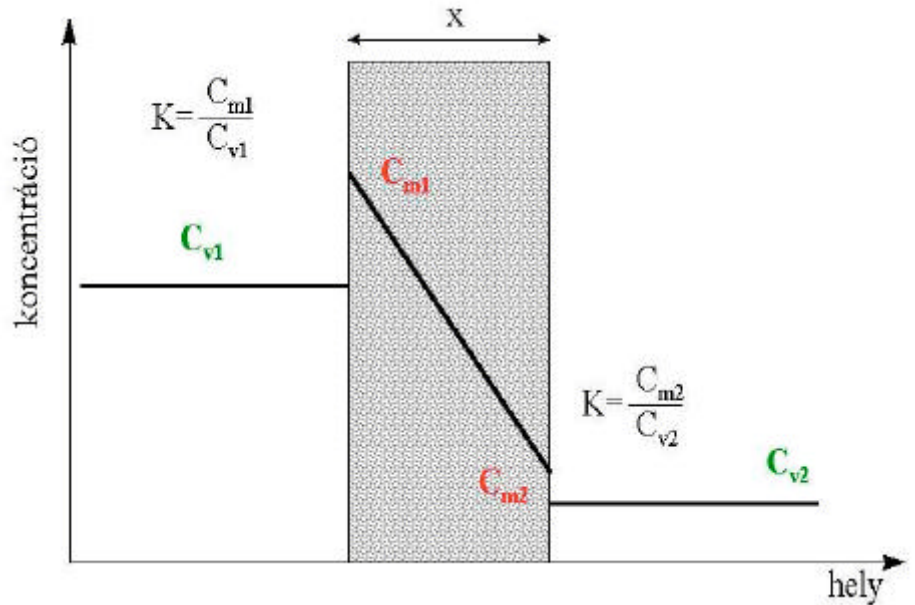
1. a vizes közegben a membránhoz diffundál és ott beoldódik a membránba,
2. átdiffundál a membránon, majd
3. kioldódik a másik oldalon a vizes közegbe.

Ezen lépések közül a bruttó folyamat szempontjából a leglassabb (sebességmeghatározó) lépés ("bottleneck") a membránon keresztüli diffúzió.



Ennek az a magyarázata, hogy a lipid kettős rétegben 100-1000-szer lassabb a diffúzió, mint vízben, mert nagy a viszkozitás.

Ennek megfelelően egy "A" felületű és "x" vastagságú membránon az időegység alatt átmenő molekulák száma Fick első törvényével írható le:



$$\frac{dn}{dt} = \frac{D}{x} A (C_{m1} - C_{m2})$$

Mivel a membránon keresztüli diffúzió a sebességmeghatározó, ezért a membrán két oldalán kvázi-egyensúly van. Ennek értelmében a membránban lévő koncentrációk kifejezhetők a vizes közegben mérhető koncentrációkkal, ha ismerjük a molekula ún. **partíciós koefficiensét**, ami lipidben (C_m) és vízben (C_v) való oldódásának hányadosa:

$$K = \frac{C_m}{C_{aq}}$$

Ha felhasználjuk a

$$C_{m1} = K * C_{v1} \text{ és } C_{m2} = K * C_{v2}$$

egyenlőségeket, akkor az alábbi kifejezést kapjuk:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{K D}{x} A (C_{aq1} - C_{aq2}) = P A (C_{aq1} - C_{aq2})$$

ahol "P" a molekula **permeációs koefficiense**, ami arányos a **partíciós koefficienssel** (K) és a **diffúziós koefficienssel** (D).

Mivel a permeációs koefficiens arányos a partíciós koefficienssel, ezért a hidrofób molekulák sokkal gyorsabban jutnak át a membránon. A sejtmembrán **töltött** molekulákra pedig abszolút **impermeabilis**, teljesen mindegy milyen kicsi az a molekula. A szintetikus lipid kettős réteg például 10^9 -szer permeabilisabb vízre, mint olyan kis ionokra, mint Na^+ vagy K^+ .

Mielőtt a transzport fehérjék tárgyalására térnénk, eloször ejtsünk szót olyan molekulákról, amik a membrán permeabilitását növelik.

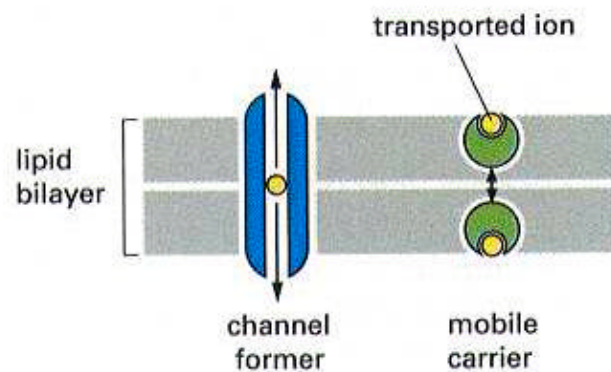
Az ionofórok növelik a membrán permeabilitását specifikus ionokra

Az **ionofórok** olyan kis hidrofób molekulák, amik jól oldódnak a lipid kettos rétegben és specifikusan növelik a membrán permeabilitását bizonyos szerves ionokra. Általában mikrobák szintetizálják őket, és valószínűleg mint “biológiai fegyvereket” használják ezeket. Az ionofórok leányékolják az ion töltését és ezáltal teszik lehetővé a hidrofób rétegben való keresztülhatolását, de mindig csak csökkeno elektrokémiai gradiens irányába (“downhill” transzport).

Az ionofóroknak két nagy csoportjuk van:

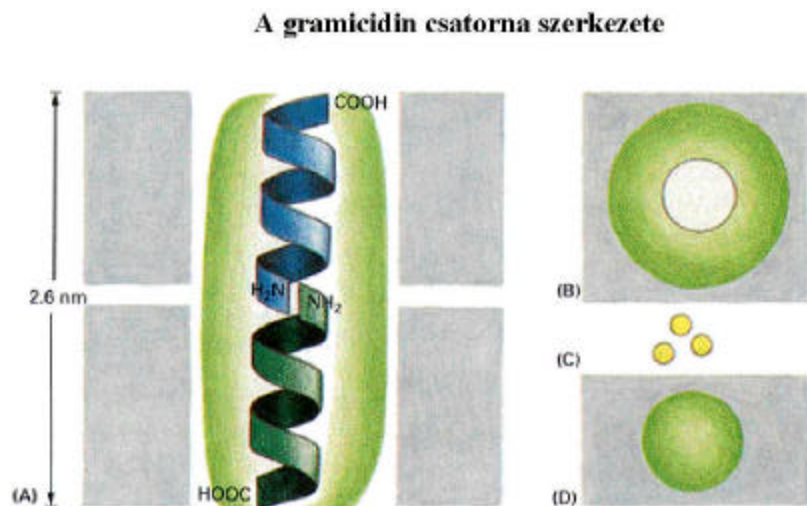
1. **mobilis ion karrierek,**
2. **csatorna képzó ionofórok.**

A valinomycin a mobilis ion karrierek klasszikus képviselője. Ez egy köralakú polipeptid, ami K^+ -t szállít. Egy másik mobilis ion karrier az A23187 nevű molekula, ami kétértékű kationokat, pl. Ca^{2+} és Mg^{2+} szállít. Általában két protont visz ki, miközben egy kétértékű kationt beszállít. Hatására megnövekszik a sejten belül a Ca^{2+} koncentráció, ami normálisan a sejten kívül sokkal nagyobb mint a citoplazmában.



A 2,4-dinitrofenol egy H^+ (proton) szállító ionofór, ami megszünteti a membrán két oldalán a proton koncentráció-különbséget. Mivel az aerob élőlényekben az energia-felszabadító és ATP termelő folyamatok a proton koncentráció révén kapcsolatosak, ezért a 2,4DNP felfüggeszti ezt a kapcsolatot és ezért **szétkapcsolószerek** is nevezzük.

A **gramicidin A** egy 15 hidrofób aminosavból álló csatorna-képzó ionofór. A 15 aminosav



?-hélix-et alkotva épül a sejtmembránba. Két molekulának kell összekapcsolódnia a membránban, hogy létrejöjjön egy transzmembrán csatorna, amelyen egyértéku kationok mehetnek át. Ez a dimer azonban instabil és kb. 1 sec a felezési ideje. A dimer azonban mindig újraképződik és csatornát alkot. Ha nagy a koncentráció gradiens a membránon keresztül, akkor kb. 20000 kation mehet át msec-ként minden nyitott csatornán keresztül.

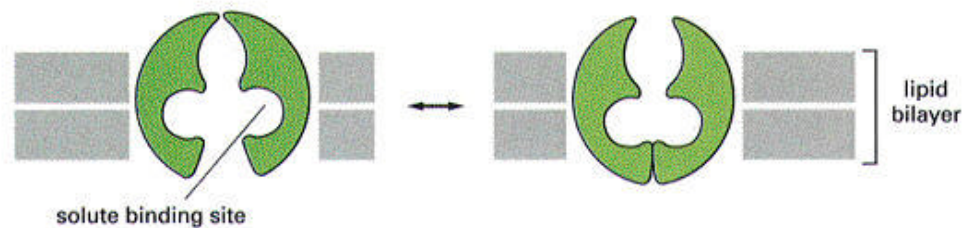
Kétféle membrántranszport protein van: karrierek és csatornák

A szintetikus lipid kettos réteggel ellentétben, a sejtmembránon a poláros molekulák is átjutnak. Speciális membrán proteinek felelősek ezen molekulák transzportjáért (**membrán transzport fehérjék**). Minden protein egy bizonyos molekulafajtát transzportál: ionokat, cukrokat, aminosavakat stb. és ezekből is csak bizonyosakat (**specifikusság**).

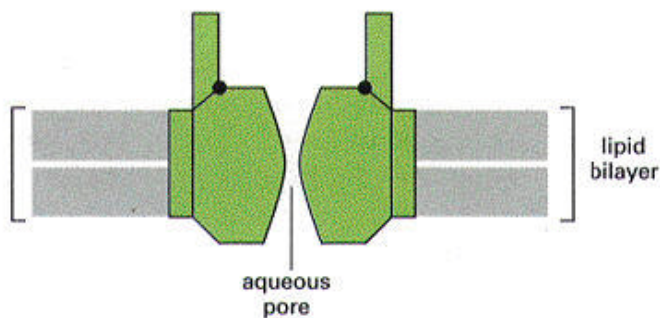
Minden eddig vizsgált membrántranszport protein egy **transzmembrán fehérje**, ami **többször** szeli át a membránt. Ezért folytonos útvonalat biztosítanak a hidrofil molekula számára a membránon keresztül, anélkül, hogy annak a lipid kettosréteg hidrofób részével kapcsolatba kellene lépnie.

Két nagy csoportjuk van:

- 1. Karrier fehérjék** vagy más néven permeázok vagy transzporterek. Ezek megkötik a transzportálandó molekulát, és konformáció változás révén átviszik a membránon.
- 2. Csatorna fehérjék** esetében a transzportálandó molekula nem kötődik a membránfehérjéhez. Ugyanis hidrofil pórusuk van, ami átér a membránon. A



(A) CARRIER PROTEIN

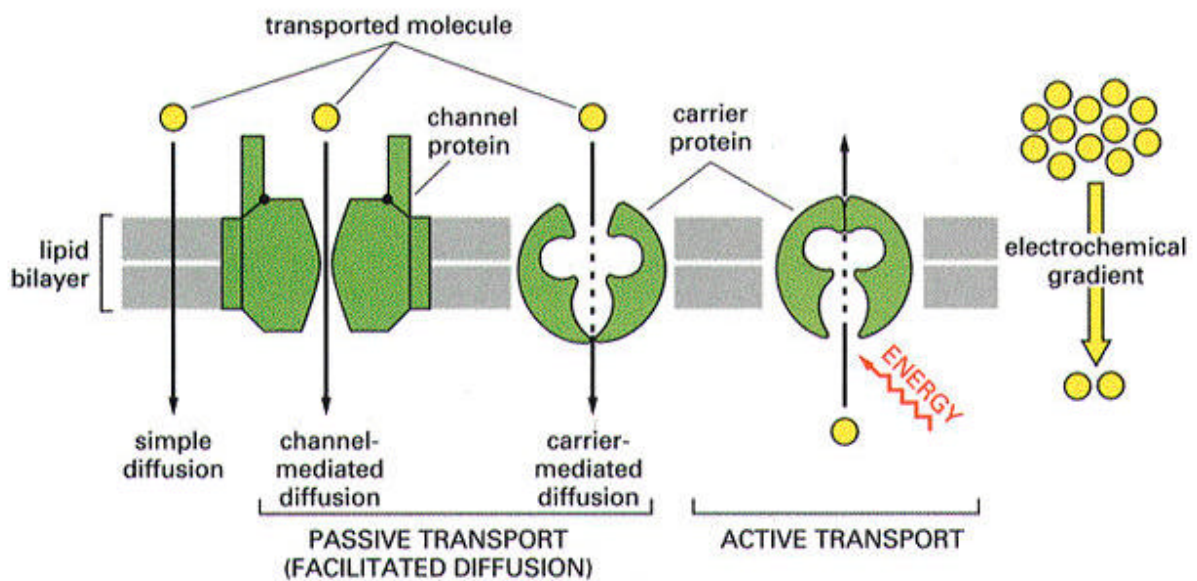


(B) CHANNEL PROTEIN

csatorna fehérjéken keresztül a transzport természetesen sokkal gyorsabb (kb. 1000-szer) mint karrier fehérjékkel.

A membrántranszportnak két fontos típusát ismerjük

A **passzív transzport** vagy más néven **könnyített (facilitált) diffúzió** vagy **“downhill” transzport** során a transzport fehérje külső energiát nem használ, ezért nettó anyagtranszport csak addig történik, amíg a transzport hajtóereje (koncentráció különbség¹) meg nem szunik.



Minden csatorna-fehérje és sok karrier-fehérje passzív transzportot végez.

A sejteknek szükségük van olyan transzportfehérjékre is, amik molekulákat pumpálnak a membránon át koncentráció (illetve elektrokémiai) gradienssel szemben (**“uphill” transzport**). Ez a folyamat az **aktív transzport** és mindig **karrier fehérjék** katalizálják. Az aktív transzportban a transzportfehérje meghatározott irányba pumpálja a molekulákat, mert szigorúan kapcsolt valamilyen energia forrással (ATP hidrolízis, fény vagy ion gradiens).

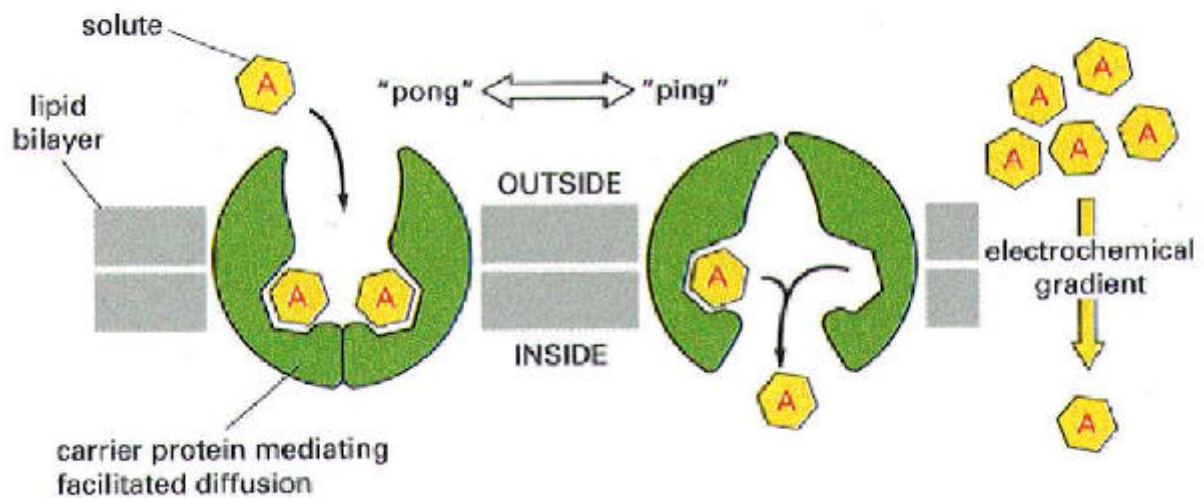
Összefoglalva: a karrier proteinek végezhetnek passzív vagy aktív transzportot, míg a csatorna fehérjék mindig passzív transzportban vesznek részt.

A karrier fehérjék működése és a passzív transzport

¹ Mivel a membrántranszport során gyakran töltött molekula transzportálódik, ezért a transzport hajtóereje nem egyszerűen a koncentráció különbség, hanem az elektromos potenciál különbség is szerepet játszik. A membránon keresztül koncentráció- és elektromospotenciál gradiens az **elektrokémiai gradiens** fogalmában foglalható össze.

A karrier fehérjék működése pontosan nem ismert, de feltételezik, hogy reverzibilis konformáció változás a működésük alapja, melynek következtében a kötohelyek felváltva jelennek meg a membrán két oldalán (**ping-pong mechanizmus**). Mivel transzmembrán fehérjék ezért valószínűtlen, hogy oda-vissza komponálnak a membránban, mint azt a mobilis ionofórok teszik, és ahogy azt korábban képzeltek. Nagy fehérje molekulák “shuttle” mozgása a membránon keresztül energetikailag ugyanis nem kedvező.

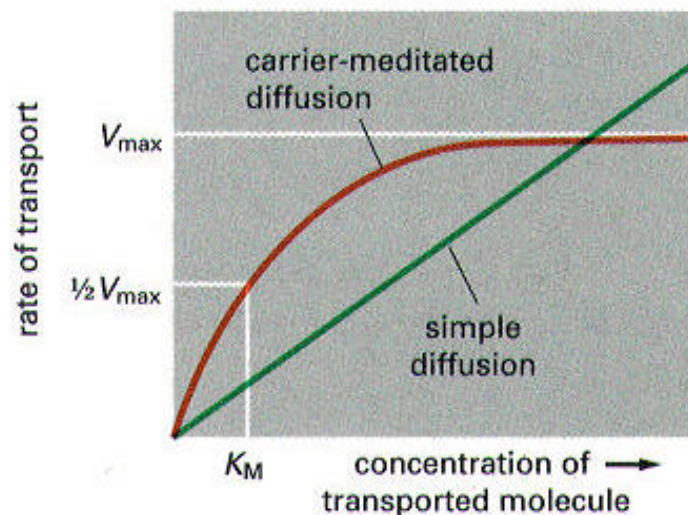
A karrier fehérje konformáció változásai



Amint azt látni fogjuk, a ping-pong mechanizmus egyszerű módosítással energiaforrással is kapcsolható, és akkor az aktív transzport magyarázatául is szolgálhat.

A karrier mediált transzport az enzim reakciókra hasonlít, mivel a karrier mint egy membránhoz kötött enzim viselkedik. A karriernek egy vagy több kötohelyük van a transzportálandó anyagra. Ha minden kötohely telített a transzport sebessége **maximális** (V_{max}). K_M az a koncentráció, ahol a sebesség a maximális fele. Az enzim

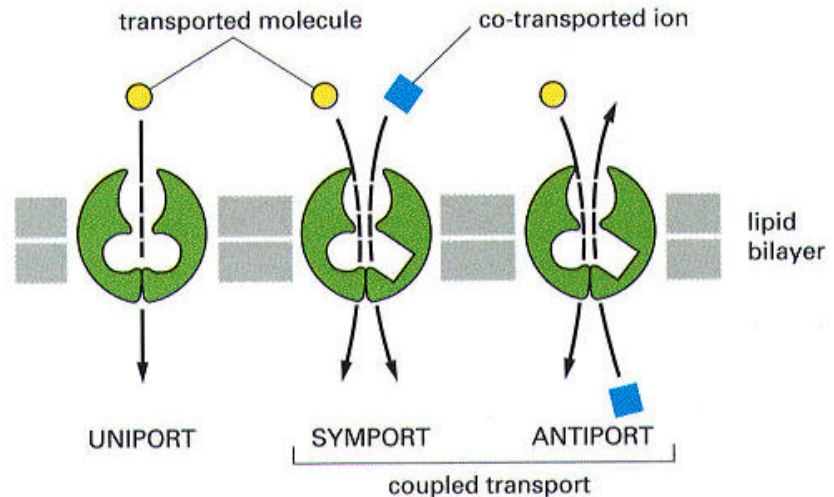
A karrier mediált transzport kinetikája



reakcióval szemben a transzport során az anyag nem szenved kémiai átalakulást.

Néhány karrier csak **egy** molekulát visz egy adott irányba a membránon keresztül (**uniporter**). Más karrierek viszont szimultán egy másik anyagot is szállítanak (**kapcsolt transzporterek**). Ez lehet:

1. **szimport**, ha a transzportált és kotranszportált molekula egy irányba mennek, vagy
2. **antiport**, ha a transzportált és kotranszportált molekula ellentétes irányba mennek.



Egy példa a facilitált diffúzióra

A legtöbb állati sejt extracelluláris környezetében, ahonnan felveszi a glükózt, nagy annak a koncentrációja. A vörösvértest (eritrocita) membránja glükóz transzportert vagy más néven glükóz permeázt tartalmaz, ami a glükóz egy irányú transzportjára képes (uniporter). K_M értéke 1.5 mM és mivel a vércukor szint 5 mM (0.9 g/l), tehát a maximális sebesség 77%-ával működik. Specifikus a D-glükózra, mivel L-glükózra K_M nagyobb mint 3000 mM (mannózt és galaktózt is szállít, de a K_M azokra is jóval nagyobb). A sejtbe belépett glükóz azonnal foszforilezodik a hexokináz által, ezért a glükóz koncentráció gradiens a membránon keresztül mindig nagy. A foszforilezett glükóz pedig már nem tudja elhagyni a sejtet. A fehérje molekulatömege 45,000 és a membránfehérjék 2%-át alkotja eritrocitákban. A transzporter 12 α -hélix-el szeli át a membránt. A legtöbb aminosav a hélixben hidrofób, de van szerin, treonin, aszparagin és glutaminsav is, amelyek a glükóz OH-jával H-kötést alkotnak a csatornában.

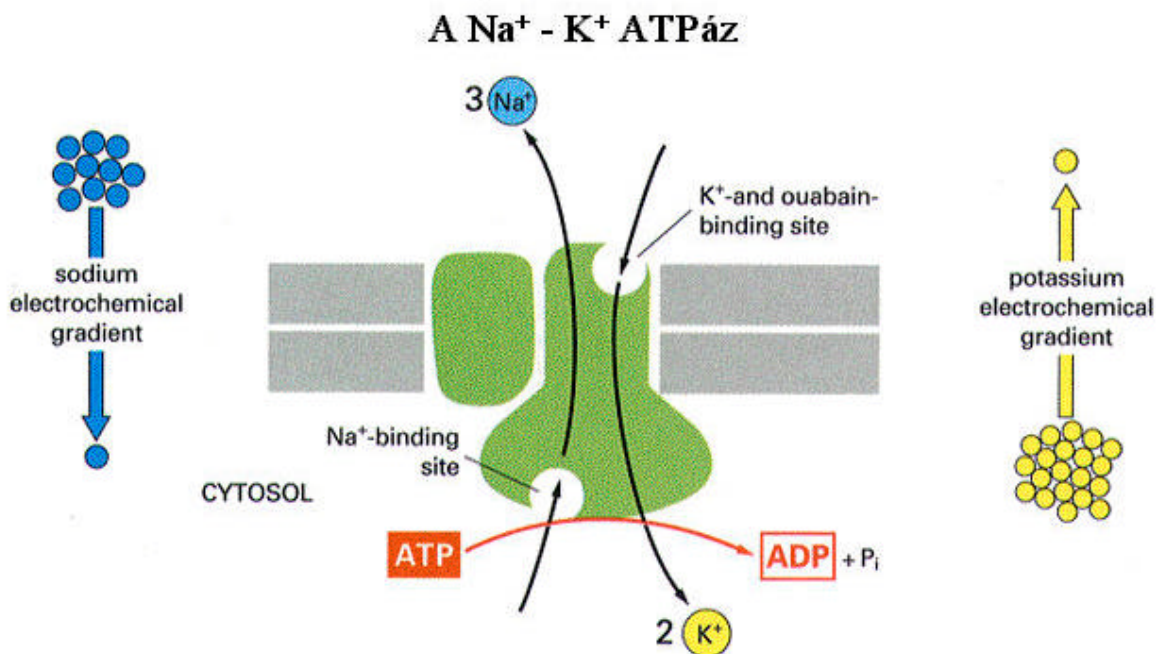
Aktív transzport

Az aktív transzport segítségével a sejtek koncentráció (illetve pontosabban elektrokémiai gradiens) ellenében is képesek molekulákat mozgatni a membránjukon keresztül. Természetesen ez egy energiaigényes folyamat és ezért egy energia felszabadító folyamattal kell kapcsolt legyen. Az aktív transzport energiaigénye alapvetően három különböző forrásból fedezhető:

1. ATP hidrolízis
2. fényenergia
3. koncentráció különbség.

Az első két esetben **elsődleges aktív transzportról**, míg a harmadik esetben **másodlagos aktív transzportról** beszélünk.

A plazmamembrán Na^+ - K^+ pumpája ATP hidrolízissel működik

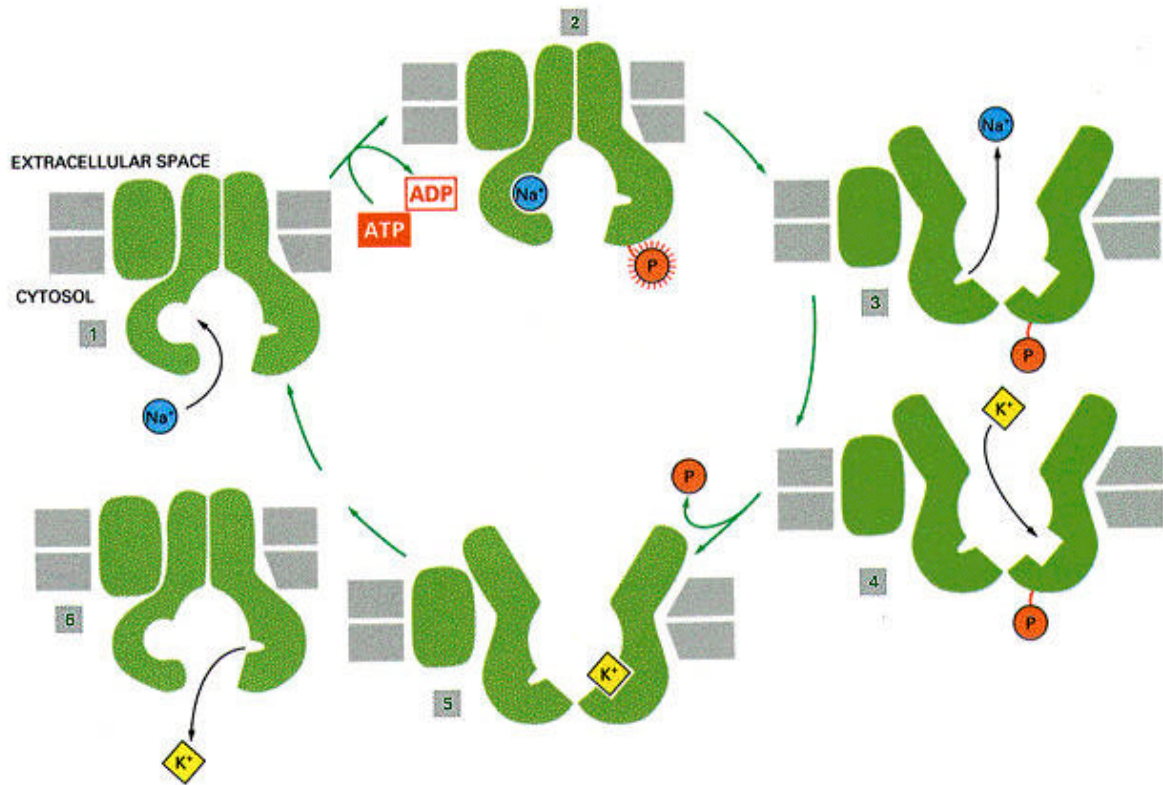


Az intracelluláris K^+ koncentráció 10-20-szorosa az extracellulárisnak. A Na^+ -ra pedig a fordított igaz. Ezeket a koncentráció különbségeket a Na^+ - K^+ pumpa tartja fent az állati sejtek membránjában. Ez egy **antiporter**: Na^+ -ot kifelé, a K^+ -ot pedig befelé pumpálja. A képződött Na^+ gradiensnek a térfogat szabályozásban és cukrok, aminosavak aktív transzportjában (ld. később) van szerepe. Egy állati sejt energiájának 1/3-t részét ennek a pumpának a hajtására fordítja.

Az enzimet 1957-ben fedezték fel. A Na^+ és K^+ szállítása közben ATP-t hidrolizál. Oubain gátolja az aktivitását, mert köt a K^+ kötohelyeihez. A transzport és az ATP hidrolízis **szigorúan kapcsolatosak**. Egy ATP hidrolízise 3 Na^+ -t visz ki a sejtől és 2 K^+ -t hoz be az alábbi mechanizmussal:

1. A fehérje a sejtben megköti a Na^+ -t, terminális aszparaginsavja az ATP terminális foszfátjával foszforilezodik és ettől a fehérje konformációja megváltozik.

2. A kötohelyei az extracelluláris tér felé fordulnak, elengedi a Na^+ -t és K^+ -t köt meg.
3. Ezt követően a foszfát lehidrolizál a fehérjéről, amitől konformáció ismét megváltozik és megint a citoplazma felé fordul, ahol a K^+ -t leadja.



A Na^+/K^+ -pumpa **fordított** irányban is működhet. Ha a külső Na^+ koncentráció sokkal nagyobb a belsőnél és a K^+ -ra a fordítottja igaz, valamint kevés ATP áll rendelkezésre, de van ADP és foszforsav, akkor a pumpa ATP-t szintetizál miközben a Na^+ és a K^+ csökkenő elektrokémiai gradiens irányába mennek. A reverzibilis működés magyarázata, hogy a pumpa két folyamatot (transzport és ATP hidrolízis) kapcsol össze. Hogy éppen melyik irányban működik, azt pedig a két folyamat koncentráció viszonyok befolyásolta szabad-entalpia változása dönti el. Az ionpumpák reverzibilis működése nagyon fontos annak megértéséhez, hogy miként folyik az ATP szintézis az aerob baktériumokban, a mitokondriumban és a kloroplasztiszokban. Ezekben ugyanis a nagy proton koncentráció szolgáltatja az energiát az ATP szintézishez.

A Na^+/K^+ -pumpát tisztították és kiderült, hogy két alegységet tartalmaz:

1. Az α -alegység 120,000 molekulatömegű transzmembrán-fehérje, ami ATPáz aktivitású. Citoplazmás oldala 3 Na^+ kötohelyet és 1 ATP kötohelyet, külső felszíne pedig 2 K^+ kötohelyet tartalmaz.

A ?-alegység 50000 molekulatömegű glikoprotein, aminek funkciója ma még nem ismert.

Néhány Ca^{2+} pumpa szintén membrán kötött ATPáz

A citoszól Ca^{2+} koncentrációja alacsony (kb. 10^{-7} M), az extracelluláris tér pedig nagy (10^{-3} M). Ez óriási koncentráció gradiens és a Ca^{2+} beáramlása szignált jelent a sejt számára. Minden sejt plazmamembránjában van egy Ca^{2+} pumpa, de a legjobban az izomsejtek endoplazmás retikulumának (amit **szarkoplazmás retikulumnak** hívunk) membránjában elhelyezkedő Ca^{2+} pumpát ismerjük. Ez az organelum egy Ca^{2+} raktár az izomsejtben, és amikor ebből a Ca^{2+} kiürül, az akciós potenciál hatására izomkontrakciót vált ki. Szarkoplazmás retikulum membránjából könnyen tisztítható a fehérje, mert 80%-át reprezentálja a membrán proteineknek.

Molekulárisan nagyon hasonlít a $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpára:

1. 10 transzmembrán hélice van,
2. ugyancsak egy aszparaginsav foszforilezódik a transzport során.
3. Ezen kívül a foszforileződő aszparaginsavat egy nagyon hasonló szekvencia veszi körül, mint a Na-K pumpában.

Közös oszlop lehet tehát a két pumpának, jóllehet különböző ionokat transzportálnak ma már. Éppen ezért mindkét pumpát a transzport fehérjék egy családjába soroljuk, amit P-típusú ATPázoknak nevezünk, jelezvén, hogy foszforileződnek a transzport során.

A Ca-pumpa ugyancsak reverzibilisen működik, mint a $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pumpa. Ha a koncentráció arányokat mesterségesen eltoljuk, akkor ATP-t szintetizál, miközben a Ca^{2+} csökkenő koncentráció irányába vándorol.

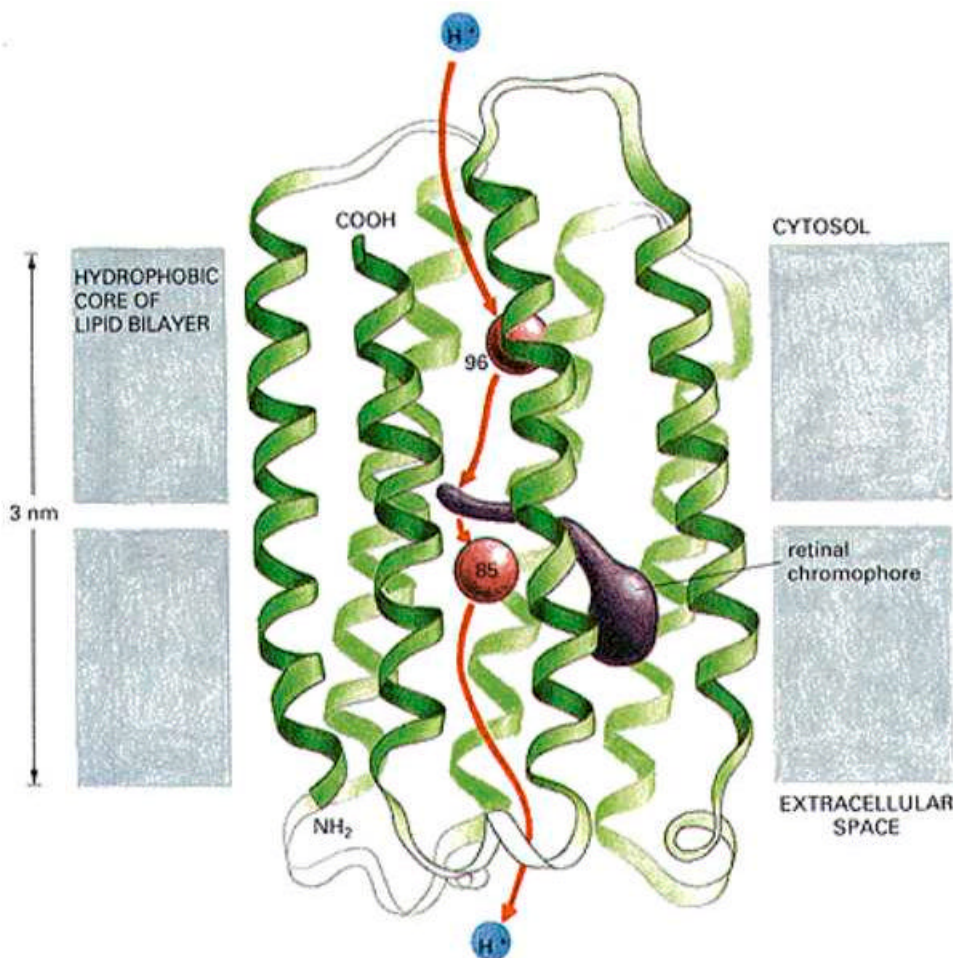
A bakteriorodopszin egy fény hajtotta protonpumpa

A *Halobacterium halobium* bimbómembránja **bakteriorodopszint** tartalmaz. A bakteriorodopszinban van egy fényabszorpciós csoport (**kromofór**), a **retinál** (az A-vitamin aldehidje), ami a protein egy lizinjéhez van kötve (Schiff bázis). A bakteriorodopszin a **rodopszin** nevű fehérjecsalád egy tagja. A család névadója a rodopszin, vagy látási pigment, ami a retinában található és ugyanúgy retinált köt, mint a bakteriorodopszin. A rodopszin azonban egy szignál átvivő fehérje, a bakteriorodopszin pedig egy protonpumpa.

Fény hatására a bakteriorodopszin bíbor színe elhalványodik és konformációs változások eredményeként protonot pumpál ki a sejtől.

Hét α -hélix-el szeli át a membránt és mindegyik hélix 25 aminosavat tartalmaz. A hélixek merőlegesek a membrán síkjára és körülölelik egy hidrofób csatornát. Amikor a kromofórt egy foton aktiválja, akkor az egy protonot szállít a fehérje 96. aminosavától (aszparaginsav) a 85. aminosavra (szintén aszparaginsav). A proton erről az aszparaginsavról az extracelluláris térbe kerül, a másik pedig a citoszólból pótolja proton hiányát.

Miért pumpál a *Halobacterium* a környezetébe protonokat? A bakteriorodopszin által kipumpált protonokat ATP képződése mellett visszaszállítja a sejtbe egy protonpumpa. Mivel ilyen protonpumpa nemcsak a *Halobacterium*-ban működik, hanem minden aerob baktériumban és eukaróta sejtekben is, ezért alábbiakban ezzel foglalkozunk részletesen.



Az ATP-t szintetizáló membránköti enzimek fordított irányban működő transzport ATPázok

A baktériumok plazmamembránja, a mitokondrium belső membránja és a kloroplaszt tilakoid membránja olyan proton pumpát tartalmaz, amely proton gradiens terhére ATP szintézisre képes (**ATP szintáz**). Ezek az ATP szintázok azonban normálisan fordított irányban működnek: nem az ATP hidrolízis hajtja az iontranszportot, hanem fordítva. A H^+ gradiens a membránon keresztül ATP szintézisre vezet.

A H^+ forrásai:

1. baktériumokban és mitokondriumokban a terminális elektrontranszport lánc
2. kloroplasztokban a fotoszintézis
3. a *Halobacterium*-ban a fény-aktivált proton-pumpa (bakteriorodopszin).

Az aktív transzportot iongradiensek is hajthatják (másodlagos aktív transzport)

Sok aktív transzportot az iongradiensekben és nem az ATP hidrolízisében tárolt energia hajt. Az egyik ion elektrokémiai gradiens irányában való transzportja hajtja a másik iont a gradienssel szemben (**uphill**). Ezek tehát **kapcsolt transzporterek**, amik lehetnek szimporterek és antiporterek.

Állati sejtek plazmamembránjában általában a Na^+ a kotranszportált ion. Az o elektrokémiai gradiense hajtja be a másik molekulát (a Na^+ -t pedig a Na^+-K^+ pumpa kiviszi).

Az ion-hajtott karrierek ún. **másodlagos aktív transzportot** hajtanak végre, szemben a transzport ATPázokkal, amik **elsodleges aktív transzportot** végeznek.

A bél- és vese-hámsejtek számos olyan cukor és aminosav transzport fehérjét tartalmaznak, amik Na^+ -al hozzák ezeket a molekulákat a sejtbe.

Baktériumokban, élesztőkben és állati sejtek organellumaiban viszont az iongradienssel hajtott transzportok H^+ -t használnak inkább, mint Na^+ -t, mert nincs ezekben a membránokban Na^+-K^+ pumpa.

A karrier fehérjék aszimmetrikus eloszlása transzcelluláris transzportot eredményez

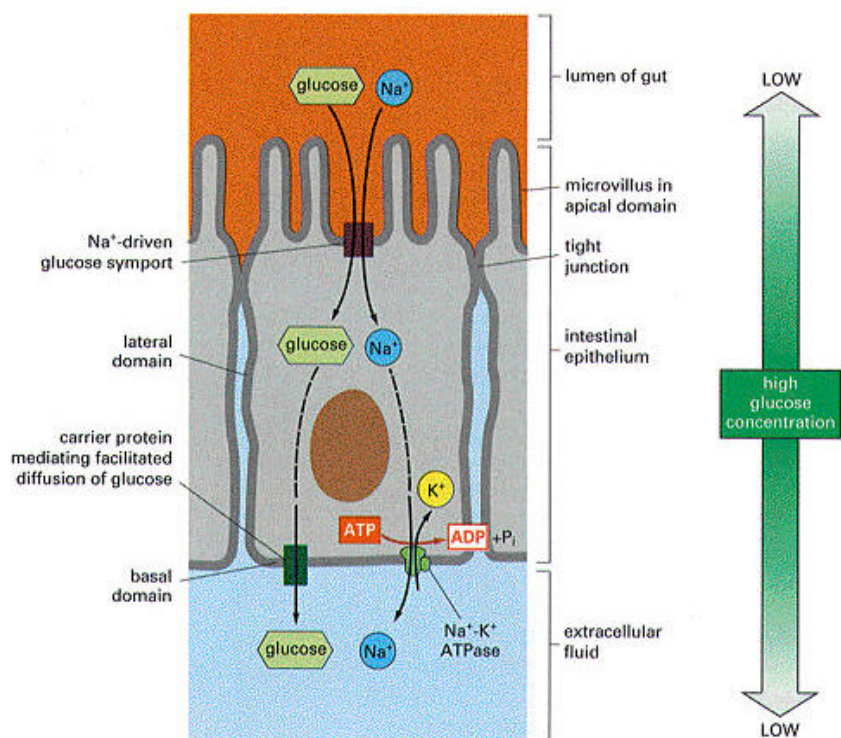
A vékonybél üregét bélelo hámsejtek fontos szerepet játszanak abban, hogy az általuk felvett tápanyagokat veszteség nélkül a véráramba juttassák. Mivel kis koncentrációból is képesek kell legyenek felvenni tápanyagokat, ezért energia befektetéses aktív transzportot használnak. Azonban az egész rendszer nagyon

veszteséges lenne, ha a “drágán” felvett tápanyag molekulák a sejtek közti üregeken keresztül visszaszivárognának a bél üregébe. Ezt akadályozza meg a **tight junction**, ami a fehérjék aszimmetrikus eloszlását is eredményezi.

Az epiteliális sejtek polarizáltak kell lenniük. Más transzport fehérje kell a microvillinek mint a bazolaterális felületnek.

A bélhámsejtek apikális felszínén a mikrobolyhok (**microvilli**) növelik a felületet, hogy a transzport gyorsabb legyen. A mikrobolyhok membránja egy Na^+ -glükóz szimport proteint tartalmaz. Mivel a Na befelé csökkenő koncentráció irányába jön, ezért a glükóz 176-szorosra koncentrálódhat a bélhámsejtben.

A bazális (alapi) és laterális (oldalsó), azaz bazolaterális felszínén pedig Na^+ -független transzport rendszerek vannak, melyek tápanyagokat (pl. glükóz) facilitált diffúzióval távolítják el a sejtől. Ugyancsak a bazolaterális felszínén van csak Na-K ATPáz . Ez kipumpálja a fent bejött Na -t. A



tight junction-ok funkciója, hogy

1. megakadályozzák, hogy a molekulák a hámsejtek között visszamenjenek a lumenbe.
2. meggátolják az egyes felszínek transzport fehérjeinek keveredését.

Mindezek eredményeként egy **transzcelluláris transzport** jön létre.

Csatorna fehérjék

Ilyenek pl. a porinok (ld. Mikrobiális fiziológia), de a legfontosabbak az állati sejtek membránjának ún. **ioncsatornáí**, amik szelektív pórusok szervesen ionokra. Ezek nem tekinthetők egyszerűen vízes pórusoknak, mert bizonyos ionokra szelektívek és nincsenek mindig nyitva sem (szabályozhatók).

Alapvetően 2 típust különböztethetünk meg:

1. ligand (pl.

neurotranszmitter)

függő csatornák: az

idegsejt membrán kezdeti depolarizációjában játszanak szerepet.

2. feszültség függő csatornák: az idegingerület terjedésében játszanak szerepet.

