



Témata:

1. tělní voda
2. osmolarita, kovové ionty a membránový potenciál
3. složení tělních tekutin člověka
4. pH a acidobázická rovnováha
5. biologické membrány
6. transportní systémy

části uvedené v šedivém poli
jsou doplňkové informace ...

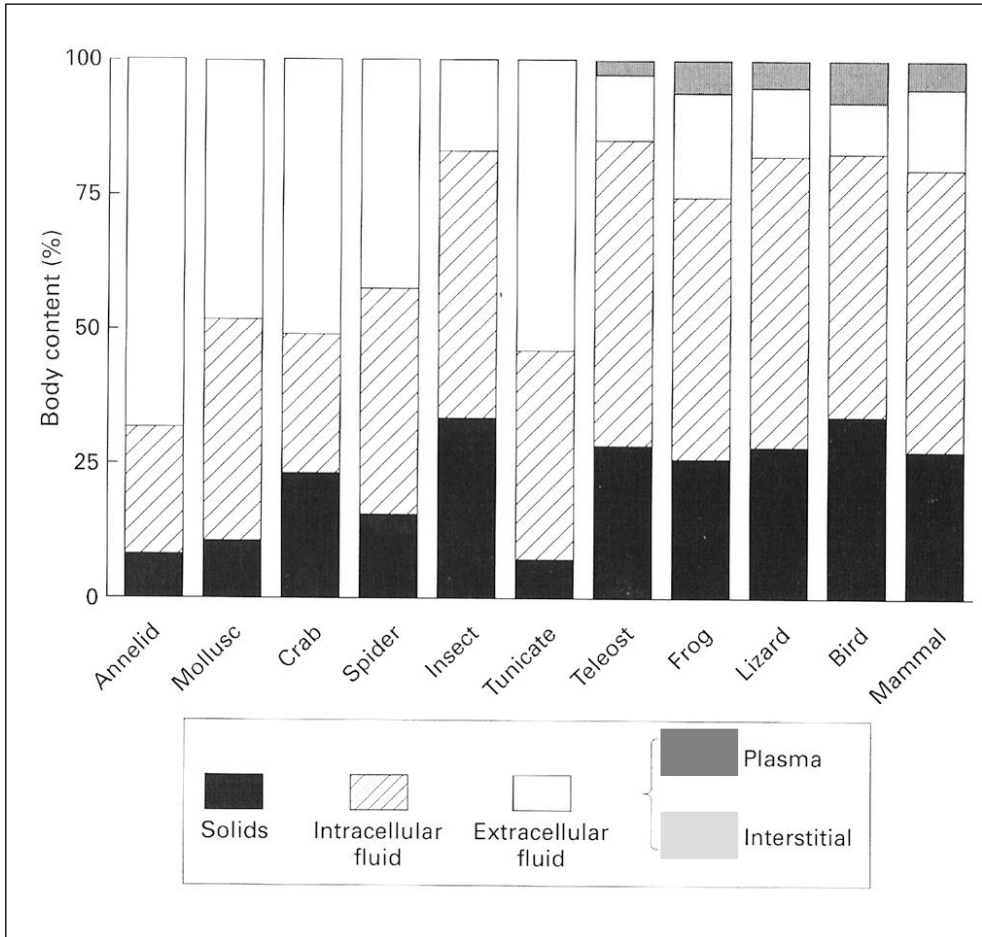
Tělní voda

- voda je základní složkou všech živých organismů
- voda je univerzálním rozpouštědlem všech látek
- voda je prostředím, ve kterém probíhají chemické reakce, látková přeměna (metabolismus)
- **kapalná voda je primární podmínkou pro aktivní život (metabolismus)**

- ALE, organismus nemusí nutně zemřít, jestliže dojde ke ztrátě kapalné vody
- může přetrvávat v neaktivním (kryptobiotickém, a-metabolickém) stavu i po ztrátě většiny kapalné vody
 - - odpařením (→ anhydrobióza)
 - - zmrznutím (→ kryobióza)
- schopnost přetrvávat v kryptobióze je vlastní spíše malým a jednoduchým organismům a je často omezena pouze na jejich určitá vývojová stádia jako jsou spory bakterií, řas, hub, semena rostlin, vajíčka nebo časná embrya některých bezobratlých živočichů ...
- u živočichů je kryptobióza v jiných než embryonálních stádiích spíše výjimečná (vířníci, půdní hlístice, několik málo druhů hmyzu ...)
- u vyšších živočichů (obratlovců) se kryptobióza nevyskytuje vůbec

- **voda obvykle tvoří (objemově a váhově) většinu živočišného těla**
- **většina živočichů je velmi citlivá ke ztrátám tělní vody**

- podíl vody je u různých živočichů různý
- voda se vyskytuje v několika kompartmentech



- relativní podíl sušiny a vody v tělech různých živočichů
- voda je přítomna v několika základních „kompartimentech“
 - buňky (intracelulární roztoky)
 - intersticiium (tkáňový mok, lymfa)
 - krev (krevní plazma)
- podíl vody v jednotlivých kompartmentech je u různých živočichů různý

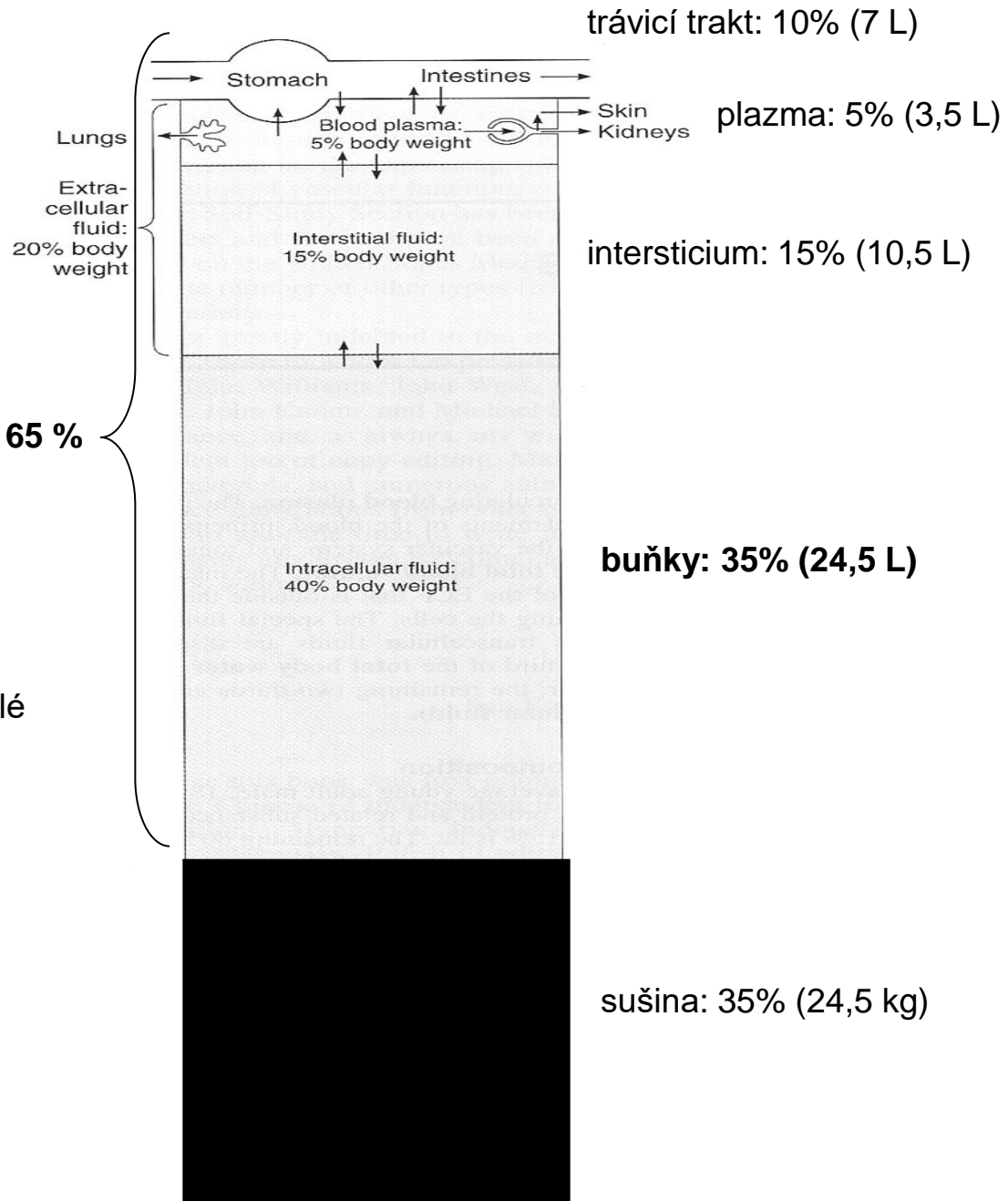
Voda v lidském těle

- **typický člověk: hmotnost 70 kg**

- relativní obsah vody se uvádí v rozmezí 60% - 70% hmotnostních
- obsah závisí na mnoha faktorech
 - pohlaví
 - stáří
 - obsah tuku
 - zdravotní stav
 - momentální stav
- **nejvíce vody se nachází uvnitř buněk (intracelulární roztoky)**
- obsah vody uvnitř buněk je přísně a přesně kontrolován a udržován na stále optimální hladině

voda 65 %

- člověk, jako většina jiných savců, je velmi citlivý ke ztrátám vody
- průměrné denní ztráty ~ 2.5 L musí být průběžně nahrazovány příjmem vody
- ztráta > 4 L → poruchy vědomí, halucinace
- ztráta > 8 L → smrt



- cílem homeostázy vnitřního prostředí je: *optimalizace a vzájemná integrace funkcí buněk*

- vnitřním prostředím se myslí to prostředí, ve kterém se nacházejí buňky
- = intersticiium, potažmo krev (krevní plazma)

- **homeostáza = udržování stálého vnitřního prostředí**

počínaje obsahem vody, přes osmolaritu (salinitu), iontové složení, pH, metabolomické složení až po teplotu

- homeostáza vody je udržována regulacemi:

- příjmu a výdeje
- výměn mezi kompartmenty

- příjem: s potravou, trávicím traktem
metabolická produkce vody
- výdej: močí, exkrementy, dechem, potem, ...
- výměny: podstatné je udržet hydrataci buněk
i za cenu dílčích ztrát vody z krve a intersticia ...

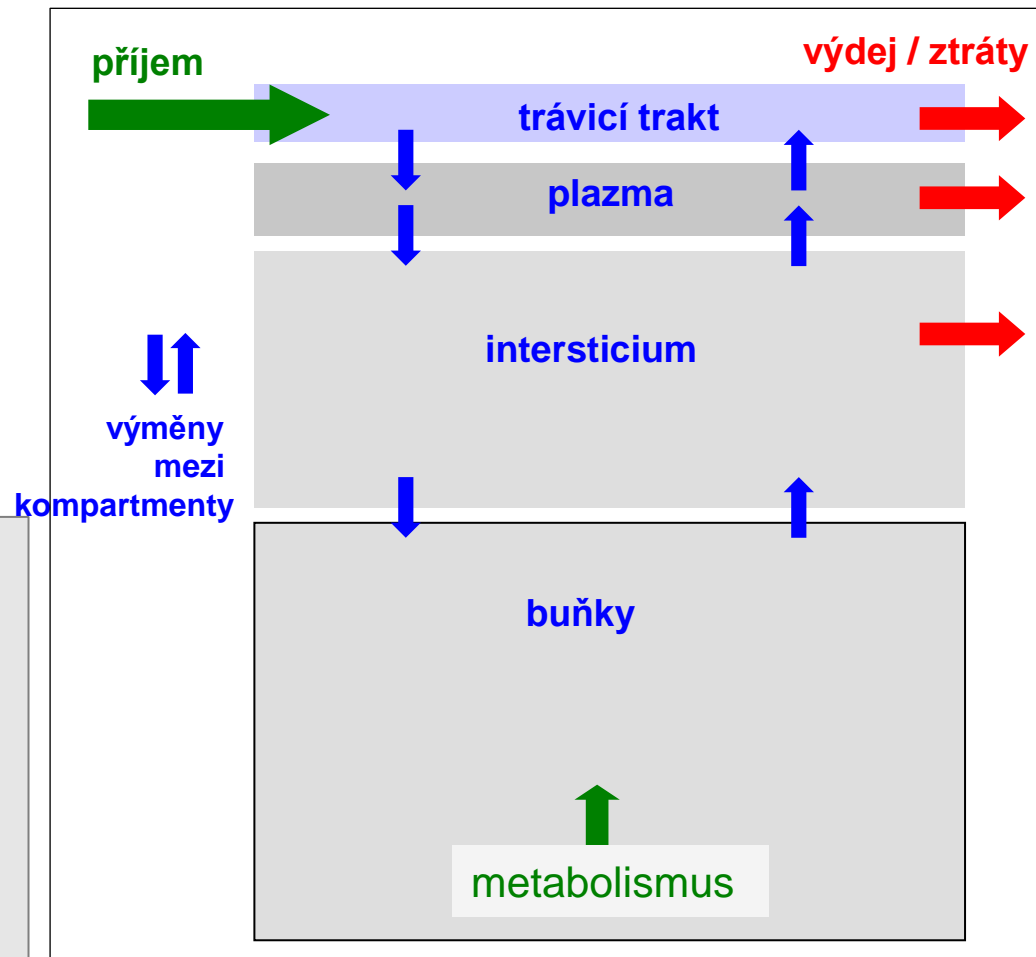
- lidské tělo je odhadem tvořeno 10 biliony buněk (10^{13})

- uvádí se celkem ca. 230 různých buněčných druhů, které navzájem těsně kooperují

- funkce buněk musí být navzájem perfektně sladěny

→ **buňky vyžadují stálé, optimální prostředí**

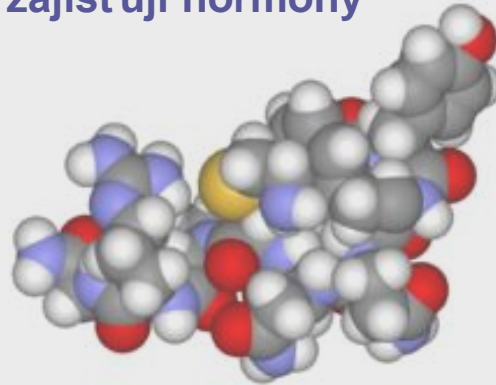
- čím složitější organismus, tím vyšší požadavky jsou kladeny na stálost vnitřního prostředí ...



- homeostázu vody (a osmolarity) zajišťují hormony

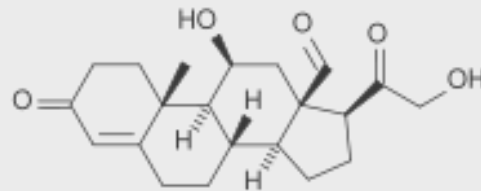
Vazopresin

(antidiuretický hormon, ADH)



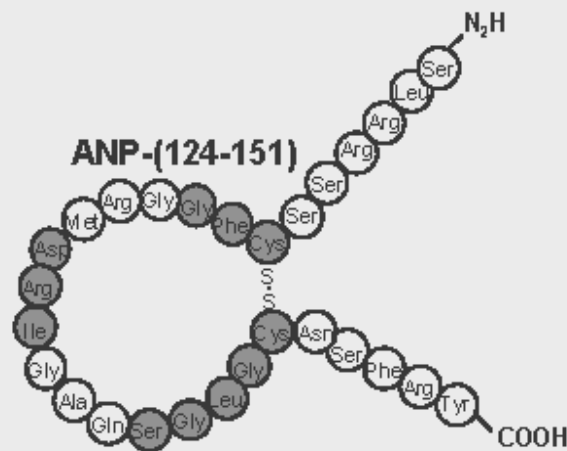
Aldosteron

(mineralokortikoid)



Atriální natriuretický peptid

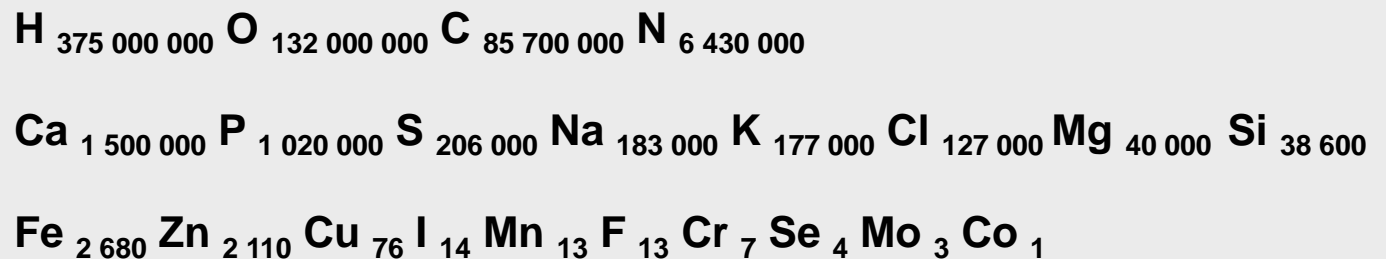
(atriopeptin, ANP)



- **přibližné složení bakteriální buňky: (konzervativní odhad) ... a srovnání s člověkem**

	váhové procento	počet různých druhů	
voda	70	1	
anorganické ionty	1	20	podíly vody a iontů jsou velmi podobné
metabolity:			
cukry	3	250	lidské tělo obsahuje ca. 15% tuků (lipidů) především v tukové tkáni u člověka známe asi 2 500 metabolitů
lipidy	2	200	
aminokyseliny	0,4	150	
nukleotidy	0,4	100	
jiné metabolity	0,2	100	
	6	méně než 1000 druhů	
makromolekuly	23	5 000	u člověka je diverzita makromolekul mnohem vyšší, jenom genů (= základní počet proteinů) má člověk minimálně 25 000 ...
proteiny			
nukleové kyseliny			
polysacharidy			

- principiálně jsou si složení všech prokaryotických a eukaryotických buněk, a celých eukaryotických těl včetně člověka, **navzájem velmi podobná ...**
- lze zapsat i stechiometrický "vzorec lidského těla"



**Osmolarita,
kovové ionty
a
membránový
potenciál**

- **osmolarita = koncentrace všech solutů**

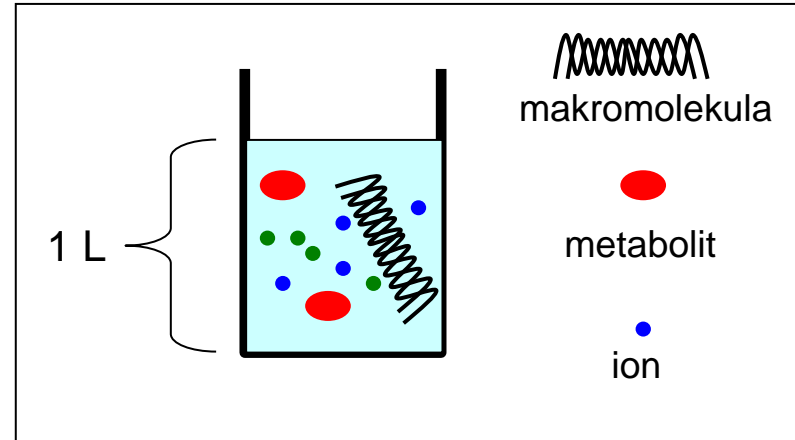
nezávisle na jejich druhu, náboji, či velikosti

- **neboli:**

všechny částice shodně přispívají k celkové osmolaritě roztoku pouze na základě jejich **počtu**

- **neboli:**

- jedna makromolekula má stejný osmotický příspěvek jako jedna molekula metabolitu nebo jako jeden jediný ion ...



1 mol = $6,022 \cdot 10^{23}$ částic (Avogadrova konstanta)

1 Osmol = 1 mol jakýchkoli částic rozpuštěný v 1 L vody

- **neboli:**

- mořská voda o typické osmolaritě 1,15 Osmolu obsahuje v jednom litru

700 000 000 000 000 000 000 000 000 rozpuštěných částic

700 **triliard** částic (převážně iontů Na⁺ a Cl⁻)

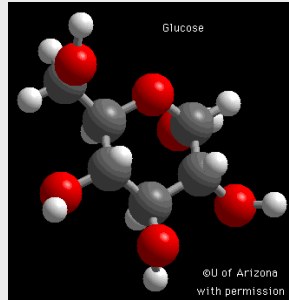
700 miliard částic v 1 pikoL mořské vody (krychle o hraně 10um)

- **čistá voda má "koncentraci" $55,5 \text{ mol.l}^{-1}$** (ovšem termín koncentrace vody se nepoužívá, naopak se uvažuje koncentrace látek ve vodě rozpuštěných = osmolarita)

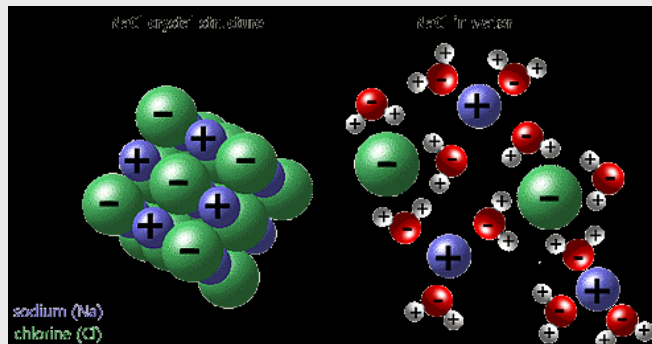
- **osmolaRita:** celkové množství *částic* rozpuštěných v **1 L roztoku** (navážit a doplnit na 1L vody)
- **osmolaLita:** celkové množství *částic* rozpuštěných v **1 kg rozpouštědla** (navážit a přidat 1kg vody)

jednotky: **osmol . L⁻¹** nebo **osmol . kg⁻¹** zkráceně: **Osm**

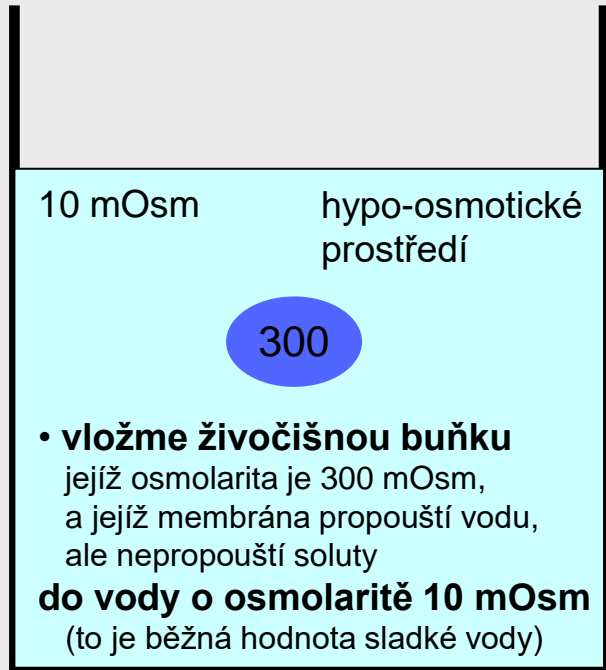
- látky bez disociace, jako **glukóza**: 1 molekula = 1 částice (1 mol = 1 osmol)



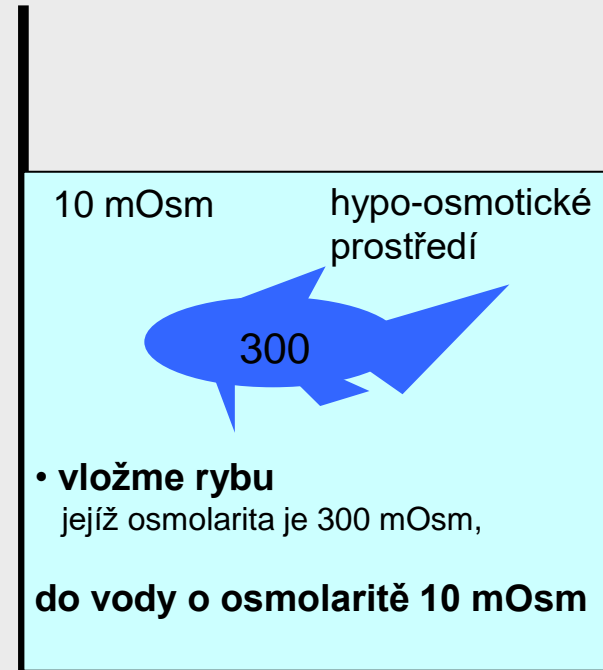
- látky, jež disociují, jako **NaCl → Na⁺ + Cl⁻**: 1 molekula = 2 částice po disociaci (1 mol = 2 osmoly)



- **tlak, který odpovídá síle,** jíž je potřeba vyvinout, abychom zabránili pohybu vody po jejím „*koncentračním gradientu*“ (neboli pohybu z místa o nižší osmolaritě do místa o vyšší osmolaritě)



- existuje strmý gradient mezi koncentracemi solutů uvnitř a vně buňky
- soluty nemohou ven z buňky
- voda tedy vniká dovnitř buňky, aby se koncentrace vyrovnaly
- objem buňky se tudíž zvětšuje,
- po překonání meze elasticity membrány **buňka praská ...**



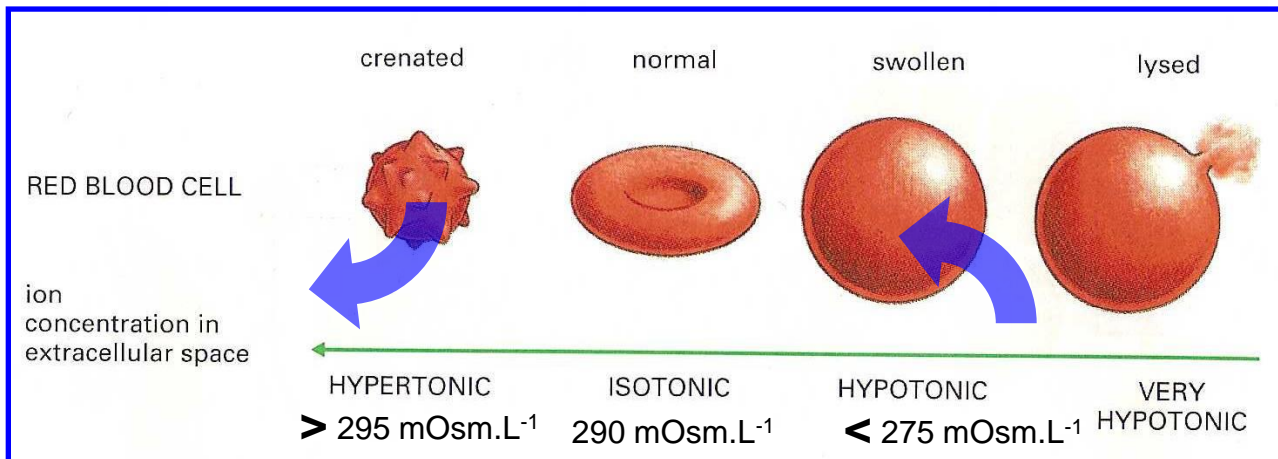
- existuje strmý gradient mezi koncentracemi solutů uvnitř a vně těla ryby
- ALE, tělní slupka je relativně nepropustná pro vodu
- vnitřní prostředí buněk je tvořeno krví, jež má osmolaritu stejnou jako buňky (300 mOsm)
- → na buňky ryby žádný osmotický tlak nepůsobí
- **ryba ve vodě nepraská ...**

- **živočišné buňky musí být iso-osmotické se svým prostředím** anebo nepropustné pro vodu(třeba jako buňky tvořící vnější epitelu - kůži)
- **ale**, protože živočišné buňky jsou vesměs **silně propustné** pro vodu a protože nemají dostatečně rigidní konstrukci,
→ nejsou schopné odolávat rozdílům osmolarity (= osmotickému tlaku)
- proto musí být osmolarita krve, tkáňového moku, lymfy a cytosolu buněk navzájem shodné
- například u člověka je tato hodnota homeostaticky udržována na stálé hodnotě:

290 mOsmol . L⁻¹

meze referenční
hodnoty: 275 – 295 mOsm.L⁻¹

- problém se dá snadno demonstrovat na chování červených krvinek po jejich umístění do roztoků o různé osmolaritě:

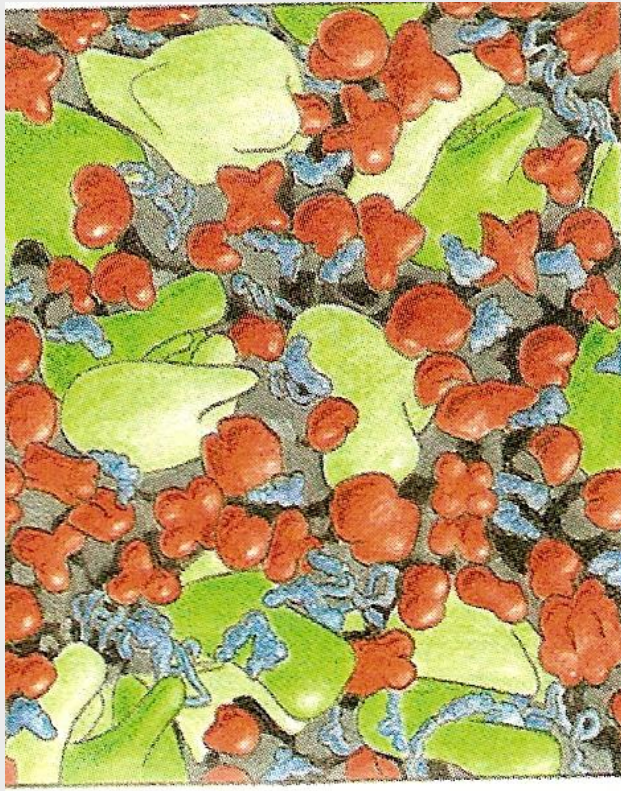


- **v hyper-osmotickém prostředí (vlevo)** voda putuje směrem z buněk ven, což vede k zahuštění cytosolu (vytvoření špičatých buněk) až k denaturaci proteinů = **ke smrti buňky**
- **v hypo-osmotickém prostředí (vpravo)** voda putuje směrem do buněk, což vede ke zředění cytosolu až k prasknutí buňky = **ke smrti buňky**

- **neboli:**
- tělní tekutiny o typické osmolaritě 290 mOsmol obsahují v jednom litru

180 000 000 000 000 000 000 000 částic

180 ***triliard*** částic (velmi různých)
180 miliard částic v 1 pikoL (ca. v jediné buňce)



- cytoplasma živočišné buňky je ve skutečnosti velmi hustým a silně organizovaným, strukturovaným roztokem, je velkou „tlačenicí“ makromolekulárních komplexů:
- **ribozómy (zeleně)**
proteiny (červeně)
tRNA a mRNA (modře)
- mezi nimi se nachází stovky druhů různých metabolitů,
tisíce až miliardy kusů od každého druhu ... (nezobrazeno)
- molekuly vody spolu se všemi ionty a metabolity mají k dispozici pouze malý (šedý) zbývající prostor ...

• Živočišné buňky tedy obsahují velké množství proteinů a metabolitů ...

- proteiny i metabolity nesou četné elektrické náboje (sumárně nesou záporný náboj) a jsou velké
- proto neprocházejí volně (difúzí) přes membránu
- navíc, proteiny a metabolity zadržují v buňce ionty, které kompenzují jejich náboj (žlutě vyznačené ionty)
- sumární osmotický příspěvek všech těchto částic je značný (zabírají značný "osmotický prostor")
- předpokládejme, že ostatní ionty mohou procházet volně přes membránu ...

v čem by byl problém ?

volně průchozí ionty:



se budou pohybovat po gradientech, až dosáhnou vlastní elektrochemické rovnováhy ... (zelených iontů uvnitř je stejně jako modrých vně)

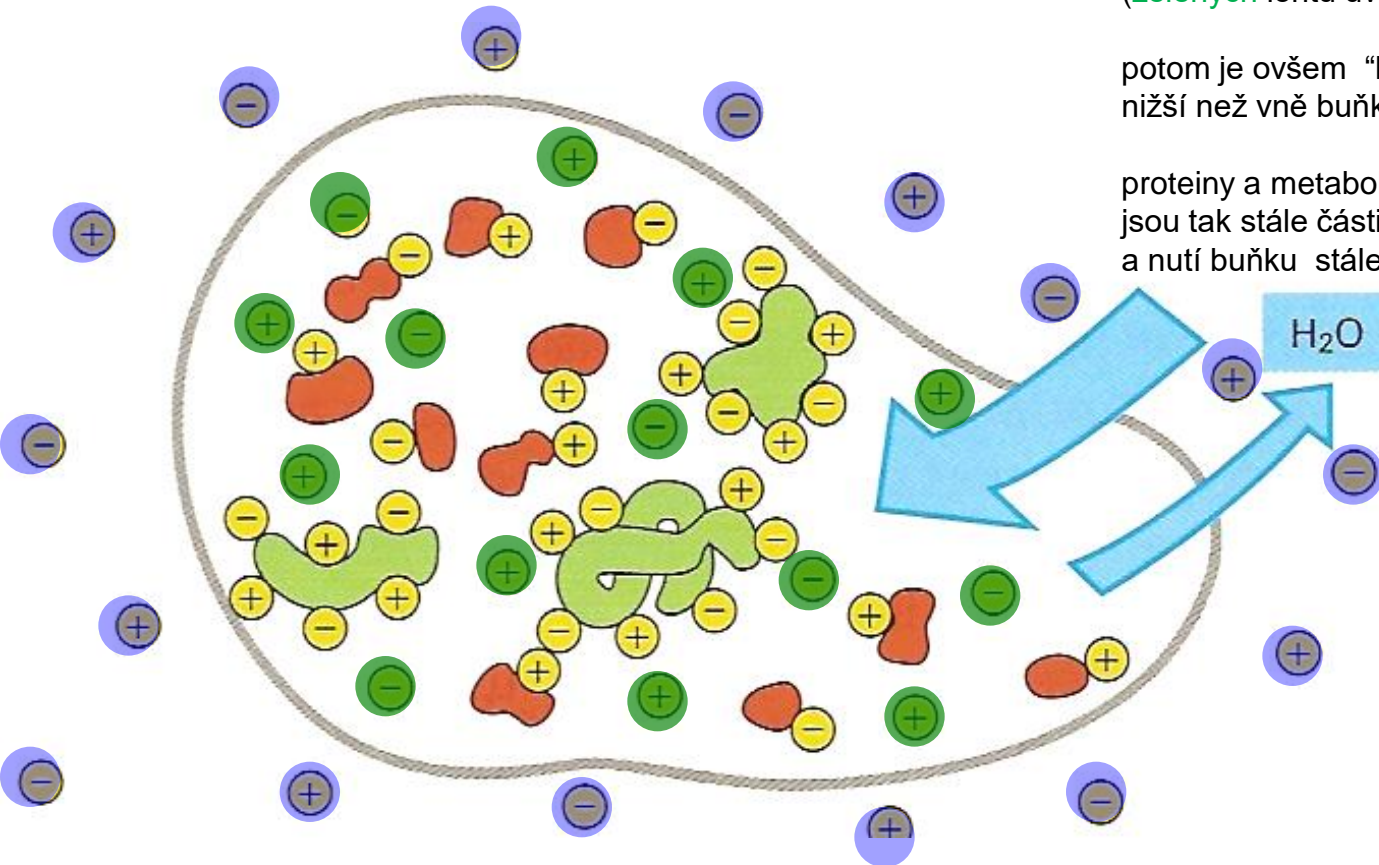
potom je ovšem "koncentrace" vody uvnitř buňky nižší než vně buňky a voda tedy teče dovnitř ...

proteiny a metabolity uvnitř buňky jsou tak stále částicemi „**NAVÍC**“ a nutí buňku stále osmoticky přisávat vodu ...

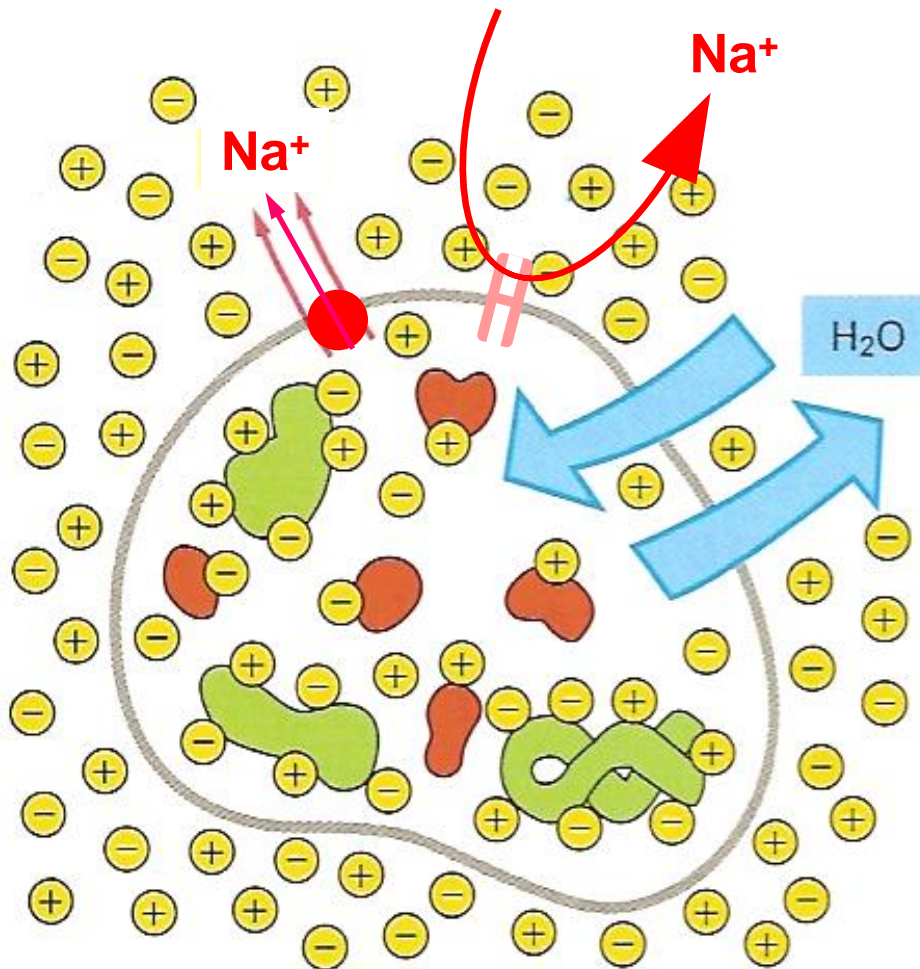
... posléze další volné ionty vstoupí do buňky a situace se opakuje ...

... až k prasknutí ...

... a smrti buňky



• evoluční řešení živočišných buněk

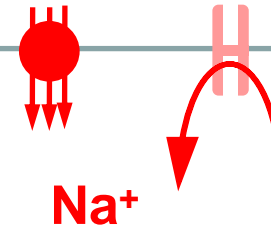


- buňky ošetřené ouabainem (specifickým inhibitorem Na^+K^+ -ATPázy) praskají i ve slabě hypotonickém prostředí ...

- řešením je učinit membránu relativně nepropustnou pro hojný extracelulární solut a zároveň neustále pumpovat tento solut ven

- v moři jsou v zásadě k dispozici Na^+ a Cl^-
- Cl^- je odpuzován zápornými náboji uvnitř buňky
→ evoluční volba padla logicky na Na^+

- sodíková pumpa - neustále pracuje
- sodíkové kanály – jsou většinou zavřené



- společnou činností vytvářejí Na-pumpa a kanály „osmotický prostor“ pro proteiny a metabolity
- primárně tedy regulují objem buňky

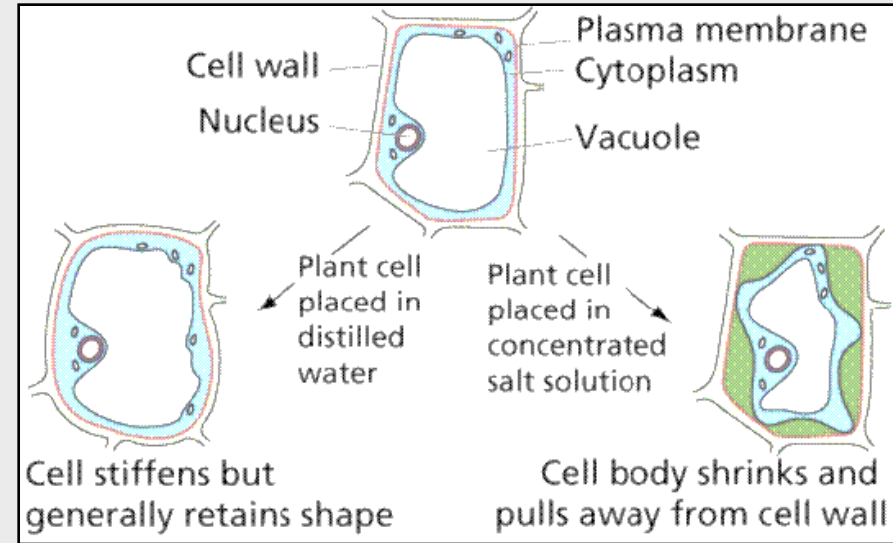
další bonusy evolučního řešení osmotického problému živ. buňky:

- generuje se membránový potenciál
- snižuje se koncentrace kovových iontů

Řešení rostlinných buněk:

(také většiny bakterií, řas, hub ...)

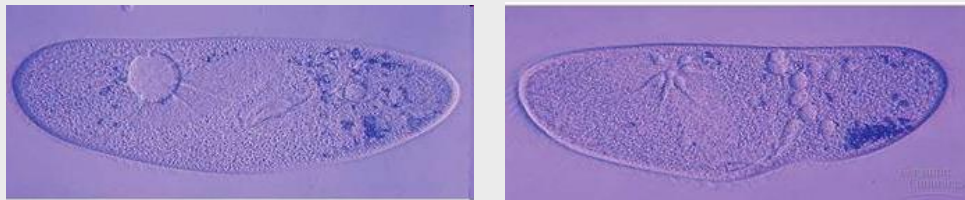
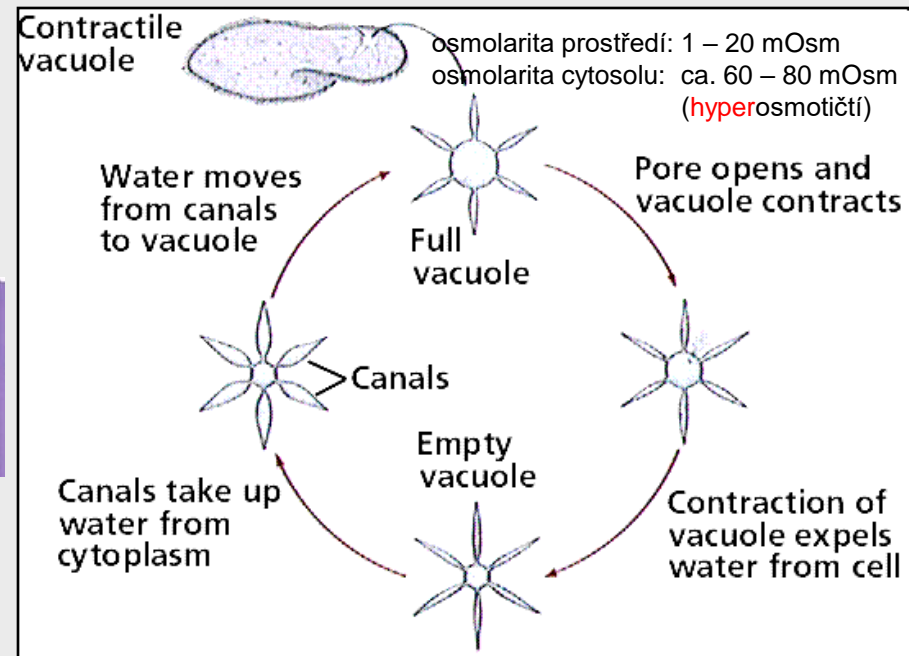
- buněčná stěna = relativně pevná schránka, která brání roztrhání buňky v hypoosmotickém prostředí
- v hyperosmotickém prostředí se buňka smršťuje



Řešení sladkovodních protozoí:

postup:

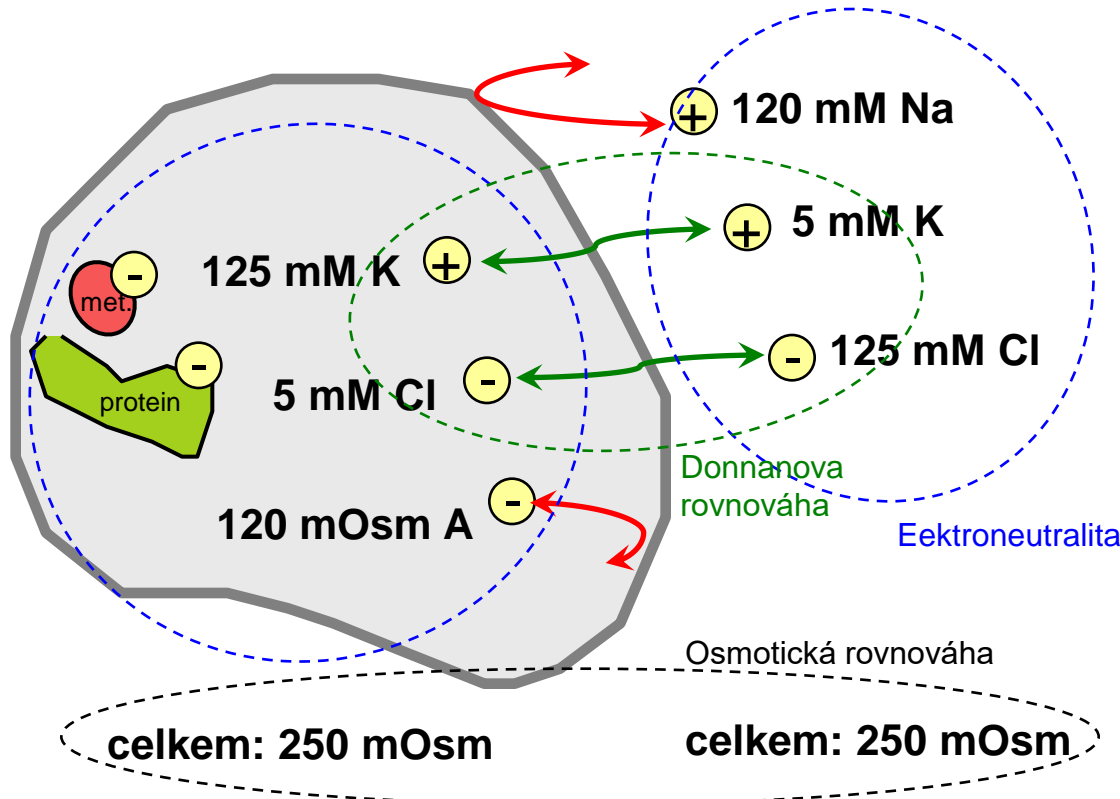
- 1) aktivní přesun iontů do kontraktilní vakuoly: energizace V-ATPázou, výměna H^+ za K^+ , pasivní přesun Cl^- pomocí ramének (kanálek)
- 2) osmotický pohyb vody do centrální části vakuoly
- 3) odpojení ramének
- 4) reabsorbce osmolytů z centrální části velká neznámá celého procesu (JAK ?)
- 5) exocytóza (otevření) centrální části vakuoly a vylití vody do prostředí



- treпка (*Paramecium*) s plnou (vlevo) a kontrahovanou (vpravo) kontraktilní vakuolou
- **mořští protozoa** jsou izo-osmotičtí s mořem, ale rovněž aktivně eliminují Na^+ a naopak akumulují K^+

- je důsledkem evolučního řešení osmotického problému
- je vlastní každé živočišné buňce

- uvažujme modelový příklad velmi zjednodušené buňky:



- uvnitř je 120 mOsm proteinů a metabolitů (neboli organických aniontů, A⁻) každý s průměrným záporným nábojem: -1
- vně je „slaná voda“ (krev, tkáňový mok) s vysokým obsahem Na⁺ a Cl⁻ a s nízkým obsahem K⁺
- **proteiny, metabolity a sodík absolutně vůbec** neprochází přes membránu

- draslík a chlór mohou volně procházet
- draslík bude zadržován v buňce pro kompenzaci záporných nábojů proteinů a metabolitů chlór bude vypuzován vně buňky

- koncentrace draslíku a chlóru se ustaví na **Donnanově rovnováze**:

$$[K^+]_o [Cl^-]_o = [K^+]_i [Cl^-]_i$$

- zároveň je ustavena **elektroneutralita** intra- a také extra-celulárních prostředí
- zároveň je splněna podmínka osmotické rovnováhy

- za těchto podmínek (dle Nernstovy rovnice) jsou
- **rovnovážné membránové potenciály** draslíku (nebo chlóru), jež mohou volně putovat přes membránu:

$$\Delta E_K = 58mV \cdot \log (C_o/C_i)$$

$$\Delta E_{Cl} = -58mV \cdot \log (C_o/C_i)$$

$$\Delta E_K = \Delta E_{Cl} = Em = -81 mV$$

- tato jednoduchá hypotetická buňka je tedy v rovnovážném stavu **nemusí vydávat žádnou energii** a její membránový potenciál je **přesto = -81 mV**

• Nernstova rovnice

umožňuje **vypočítat** rovnovážný potenciál každého iontu zvlášť, známe-li jeho koncentrace vně (o) a uvnitř (i) buňky

$$\Delta E = (RT/zF) \cdot \ln (C_o/C_i) \quad \Delta E = 58 \cdot \log (C_o/C_i)$$

$$\begin{aligned} [K^+]_o &= 3 \text{ mM} \\ [K^+]_i &= 140 \text{ mM} \end{aligned} \rightarrow \Delta E_K = 58 \cdot \log (3/140) = \mathbf{-96,8 \text{ mV}}$$

R univerzální plynová konstanta
8314,47 J mol⁻¹ K⁻¹

T absolutní teplota
0°C = 273,15°K

z náboj (+1, +2, -1)

F Faradayova konstanta
96485,3415 C mol⁻¹

• Goldman – Hodgkin – Katzova rovnice

umožňuje **vypočítat** celkový membránový potenciál známe-li koncentrace iontů vně (o) a uvnitř (i) a známe-li propustnost membrány pro jednotlivé ionty

$$\Delta E = (RT/F) \cdot \ln \frac{[K]_o \cdot P_K + [Na]_o \cdot P_{Na} + [Cl]_i \cdot P_{Cl} + [Ca]_o^{1/2} \cdot P_{Ca}}{[K]_i \cdot P_K + [Na]_i \cdot P_{Na} + [Cl]_o \cdot P_{Cl} + [Ca]_i^{1/2} \cdot P_{Ca}}$$

P_x propustnost membrány pro ion X
m s⁻¹

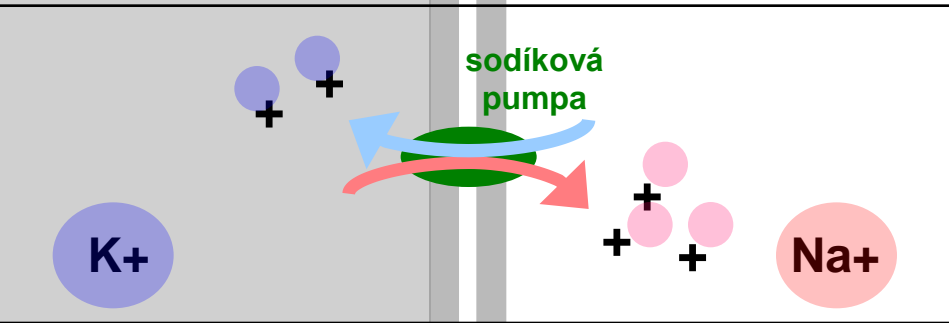
- konvenčně vyjadřujeme potenciál uvnitř relativně k vnějšku (vnější koncentrace jsou tedy v čitateli)
- náboj je převeden do prvního zlomku a je konstatně uvažován jako +1
 - divalentní kationty (Ca) umocňujeme na 1/2
 - anionty uvádíme opačně (vnitřní konc. v čitateli)

Hodnota membránového potenciálu prakticky **naměřená** elektrodami

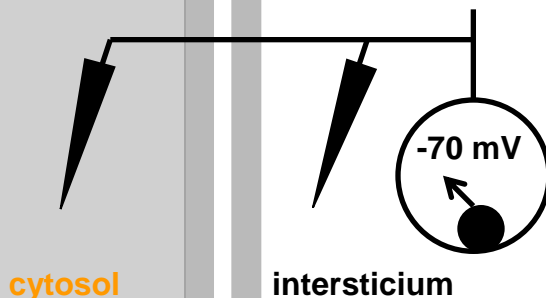
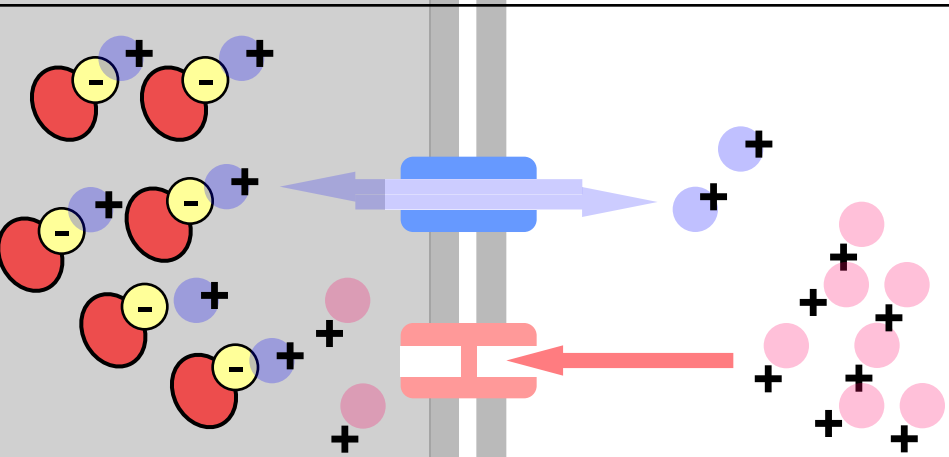
se často blíží hodnotám **vypočítaným** pomocí jednoduché Nernstovy rovnice pro draslík, protože:

- vápenatých iontů je relativně málo a membrány jsou pro ně relativně nepropustné
 - chloridové anionty se rozmísťují více-méně pasivně (membrána je pro ně relativně propustná)
 - propustnost membrány pro sodné ionty je mnohem nižší než propustnost pro draselné ionty
- celkový potenciál membrány **můžeme často (ne vždy) odhadnout** pouze na základě koncentrací K⁺

• **přímý vliv:**



• **nepřímý vliv:**



1) pumpa má jistý **přímý vliv**
= tzv. elektrogenní příspěvek **(ca. 10 %)**
(jelikož pumpuje více kationtů ven než dovnitř)

2) hlavní je však její **nepřímý vliv**
danný regulovanou propustností iontových kanálů
(ca. 90 %)

• díky stálému pumpování **sodíku** ven a zároveň nízké propustnosti membrány pro sodík se membrána chová tak, ***jako by byla*** pro sodík zcela nepropustná

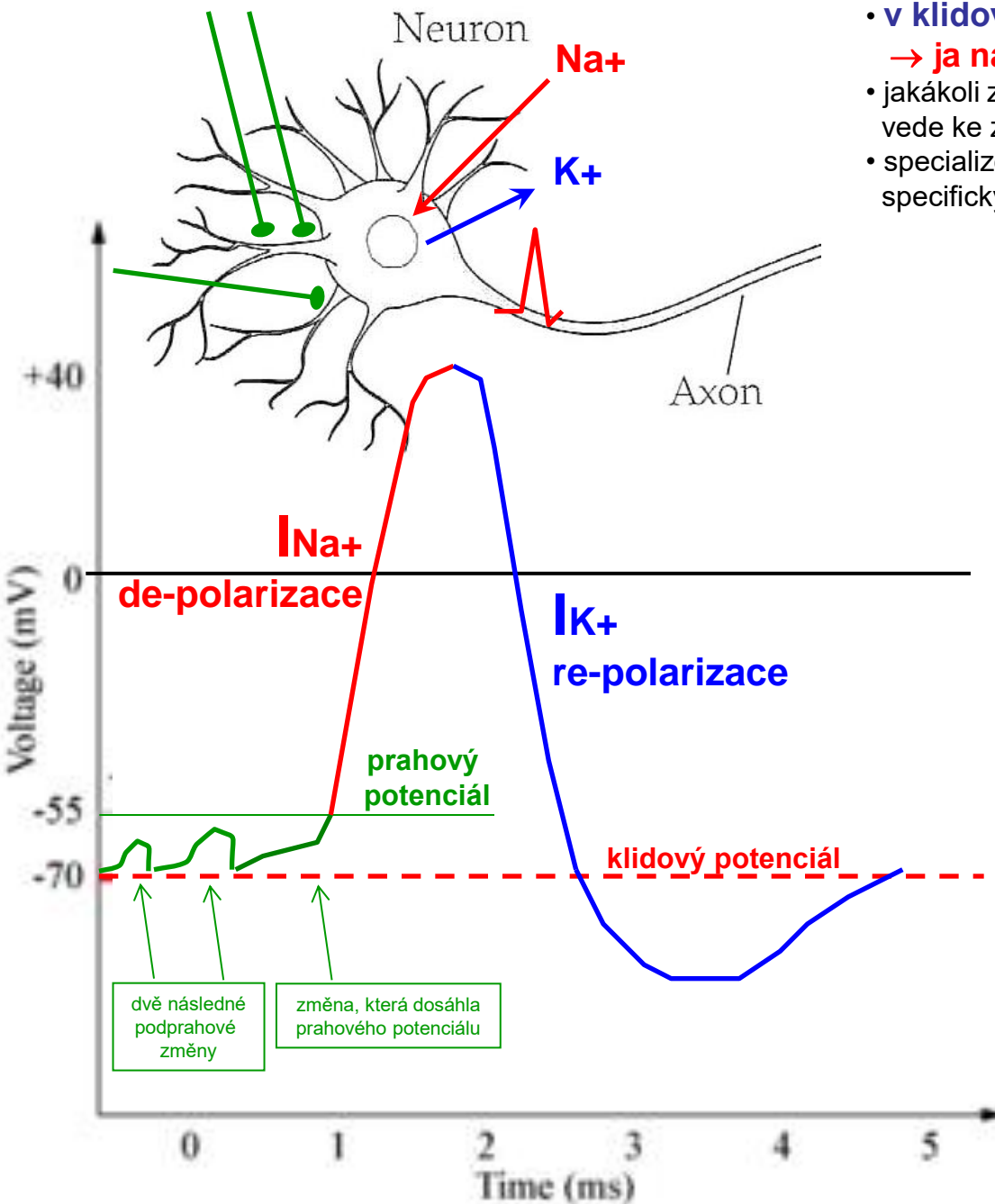
• **draslík** se naopak pohybuje relativně volně:

- **dovnitř je vtahován** ke kompenzaci náboje proteinů a metabolitů (záporný elektrický potenciál)

- **ven je tlačěn** po svém koncentračním spádu (kladný koncentrační potenciál)

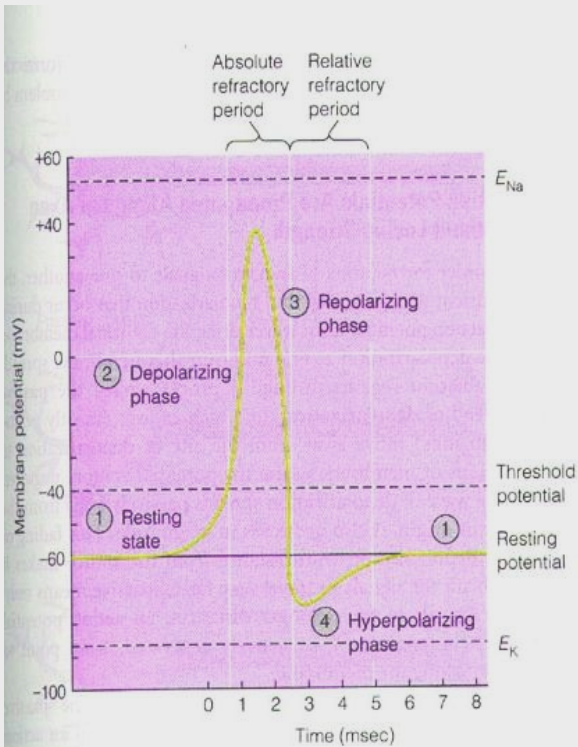
• když se síly působící na draslík vyrovnají, je dosaženo dynamicky rovnovážného stavu, kdy můžeme naměřit klidový

• **transmembránový potenciál ca. - 70 mV**

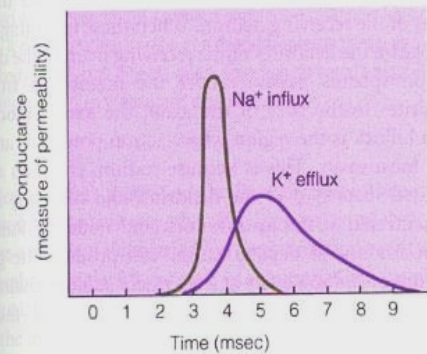


- v klidovém stavu je membrána všech buněk polarizovaná → ja na ní klidový potenciál ca. -70 mV
- jakákoli změna iontového složení, vně či uvnitř, vede ke změně velikosti tohoto potenciálu
- specializované buňky (nervové, svalové, žláznaté, ...) specificky reagují na změnu potenciálu

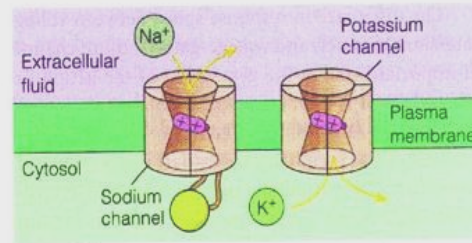
- příklad: vznik akčního potenciálu na membráně nervové buňky:
- po axonech přicházejí na synapse nervové signály od jiných neuronů (zeleně)
- po přenosu přes synapse vyvolávají tzv. post-synaptické změny potenciálu
- tyto se integrují a jejich součet vyvolá změnu potenciálu na axonálním hrbolku
- změna je buď podprahová, a pak se nic neděje
- a nebo dosáhne prahové hodnoty (zde -55 mV) a pak spouští akční potenciál
- po dosažení prahového potenciálu se otevřou napěťově ovládané Na⁺ kanály a sodík rychle proudí dovnitř buňky (dochází až k přepolarizování membrány do kladných hodnot)
- kladné hodnoty potenciálu jednak inaktivují Na⁺ kanál a jednak otevírají K⁺ kanál, draslík poté rychle proudí ven z buňky
- protože K⁺ kanál zůstává otevřený ještě chvíli po dosažení klidového potenciálu, dochází až k repolarizaci pod normální hodnoty
- teprve po uzavření K⁺ kanálu se opět ustaví klidový potenciál
- a akční potenciál (vzruch) putuje po axonu ...



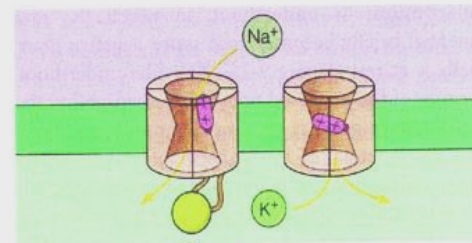
(a) Changes in ion channels and membrane potential



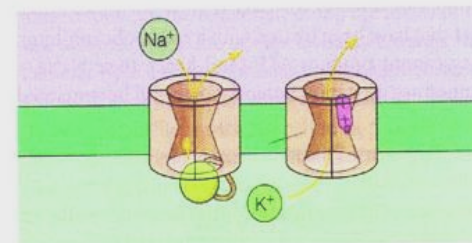
(b) Change in membrane conductance



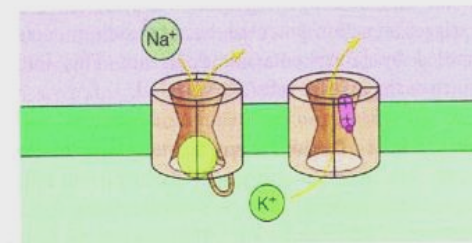
① Resting state: All gated Na^+ and K^+ channels closed



② Depolarizing phase: Na^+ channels open



③ Repolarizing phase: Na^+ channels inactivated and K^+ channels open



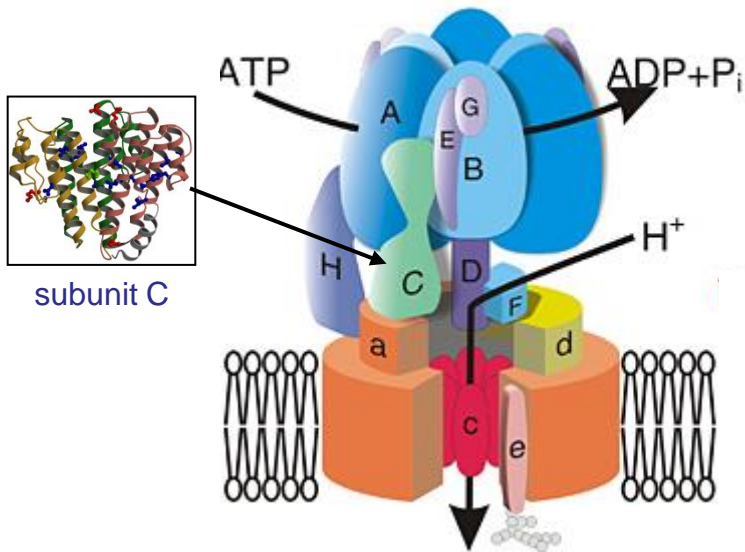
④ Hyperpolarizing phase (undershoot): K^+ channels remain open and Na^+ channels inactivated

Changes in Ion Channels and Currents in the Membrane of a Squid Axon During an Action Potential.

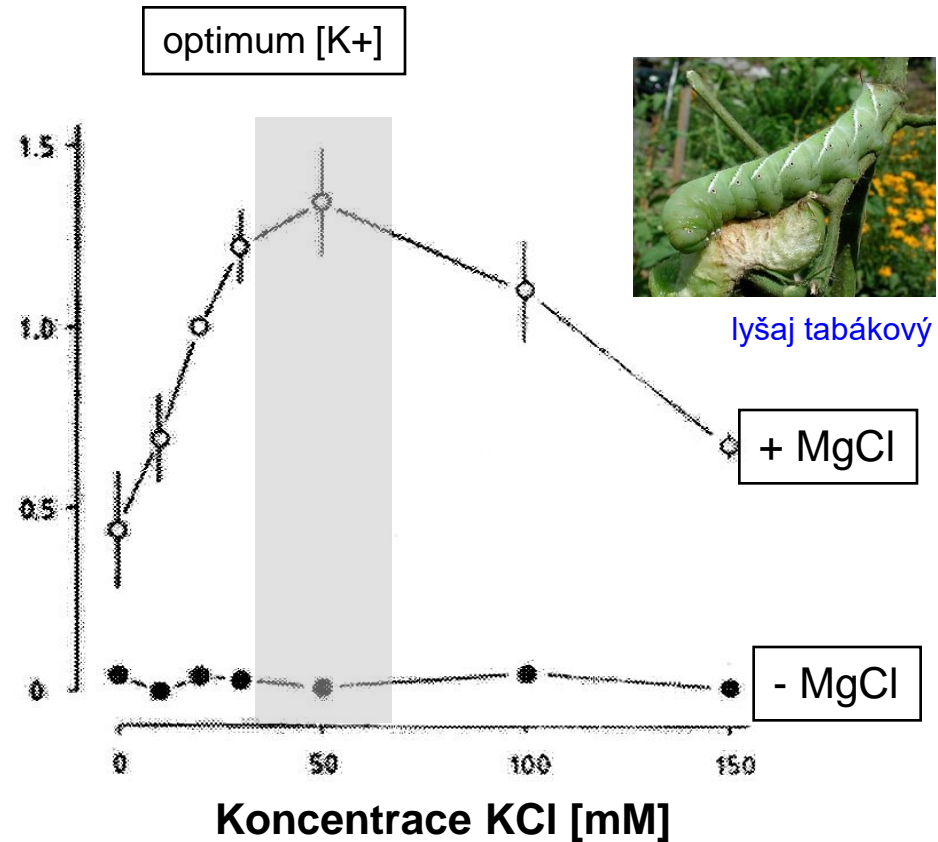
(a) The change in membrane potential caused by movement of Na^+ and K^+ through their voltage-gated channels, which are shown at each step of the fraction potential at right. The absolute refractory period is caused by sodium channel inactivation. Notice that, at the peak of the action potential, the membrane potential approaches the E_{Na} (sodium equilibrium potential) value of about +55 mV: similarly, the potential undershoots nearly to the E_K (potassium equilibrium potential) value of about -75 mV.

(b) The change in membrane conductance (permeability of the membrane to specific ions). The depolarized membrane initially becomes very permeable to sodium ions, facilitating a large inward rush of sodium. Thereafter, as permeability to sodium declines, the permeability of the membrane to potassium increases transiently, causing the membrane potential to hyperpolarize.

- konformace proteinů → funkce proteinů (např. **aktivita** enzymů)

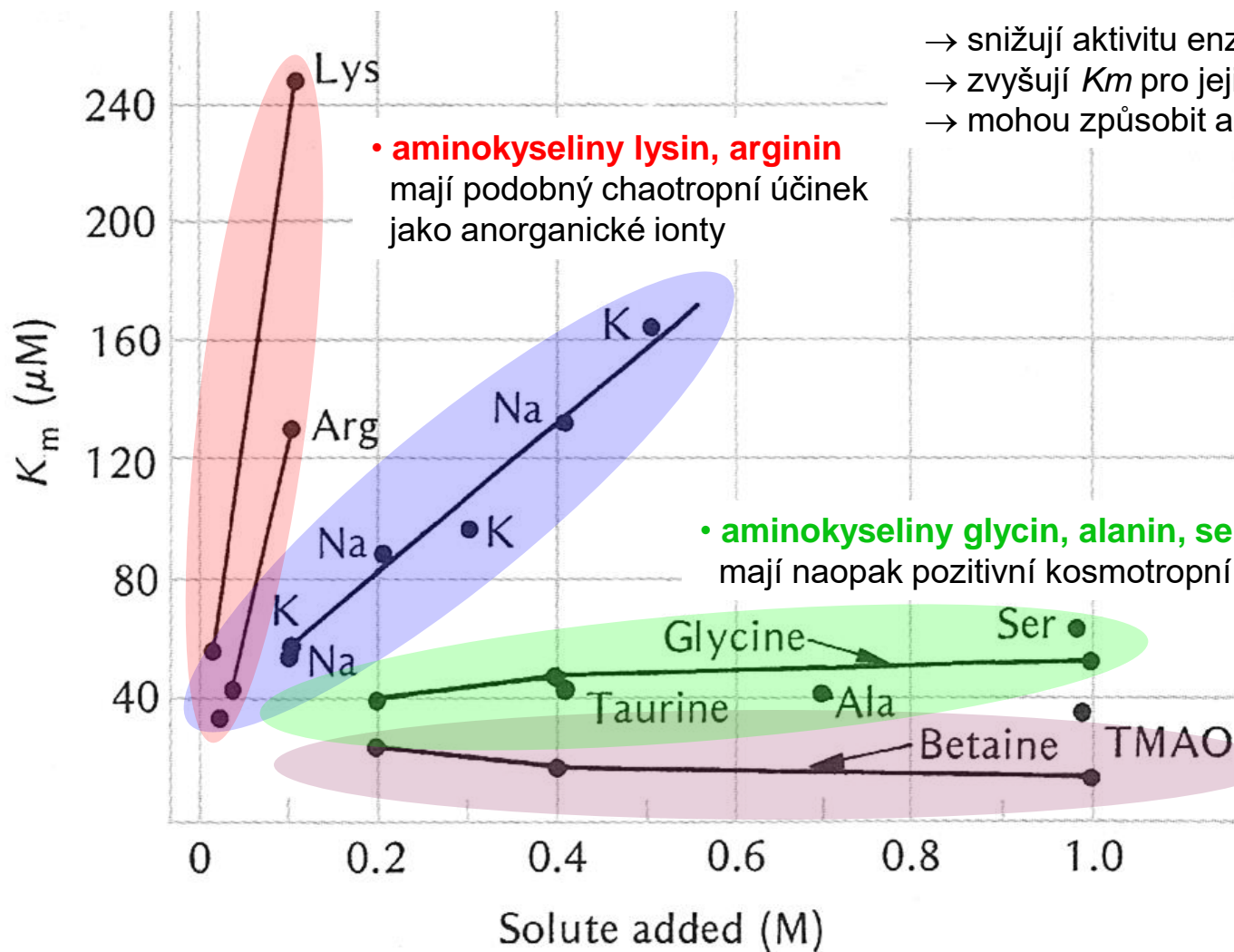


- příklad prostorové struktury V-ATPázy
- prostorová struktura proteinů je do značné míry určována vzájemnými ne vazebnými interakcemi jejich hydrofóbních domén a také hydrofilních skupin s vodou a ionty
- struktura závisí na koncentracích iontů (a pH)



- příklad aktivity V-ATPázy ve střevě lišaje tabákového *Manduca sexta* pod vlivem různých koncentrací iontů K⁺ a Mg⁺⁺
- aktivita enzymů je většinou silně závislá
 - na koncentraci iontů
 - na přítomnosti specifických iontů - kofaktorů

- kovové ionty mají ve vyšších koncentracích nepříznivý vliv na strukturu proteinů



- snižují aktivitu enzymů
- zvyšují K_m pro jejich substráty
- mohou způsobit až denaturaci

- proto **nemohou** být využity pro osmoregulaci

- podobně jako **dusíkaté látky** typu TMAO a betainů

- proto **jsou** často využívány pro osmoregulaci (někdy v kombinaci s močovinou ...)

- vliv koncentrací různých iontů a aminokyselin na $K_{m_{PEP}}$ pyruvát kinázy
- zvýšení K_m znamená nižší afinitu enzymu k substrátu a tedy nižší aktivitu za jeho dané koncentrace

- vyjděme ze základních evolučních podmínek prvních mořských živočichů ...
- moře je slaná voda s osmolaritou kolem 1.15 Osm

moře: 1 150 mosmol. L⁻¹

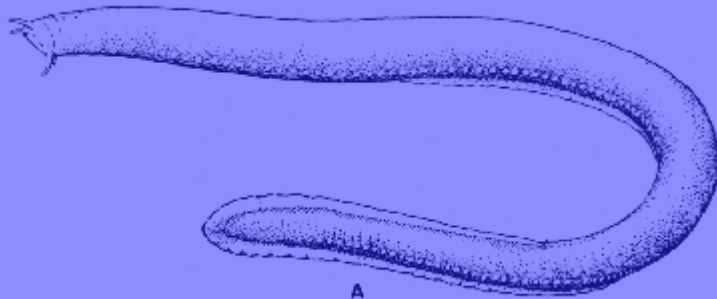
Na+	470
Cl-	570
K+	10
Ca++	10

iso-ioniční živočichové:

bezobratlí	Cnidaria Annelida Crustacea Chelicerata Echinodermata Mollusca
obratlovci	Myxini (sliznatky)

tato označení se vztahují k poměru mezi vnějším a vnitřním prostředím (zde např. mezi mořem a célověmem, hemolymfou, či krví)

extra-celulární:



1 150 mOsm. L ⁻¹	{	Na+	470
		Cl-	570
		K+	10
		Ca++	10

intra-celulární:

Na+	80	}	380	}	1 150 mOsm. L ⁻¹
Cl-	60				
K+	120				
Ca++	t				
proteiny - metabolity -	120				
aminokyseliny dusíkaté látky					

- izo-osmotičtí živočichové nemají osmotický problém a proto mohou šetřit energií, která by jinak byla potřebná pro pohon speciálních transportních systémů

moře: 1 150 mosmol. L⁻¹

Na⁺ 470

Cl⁻ 570

K⁺ 10

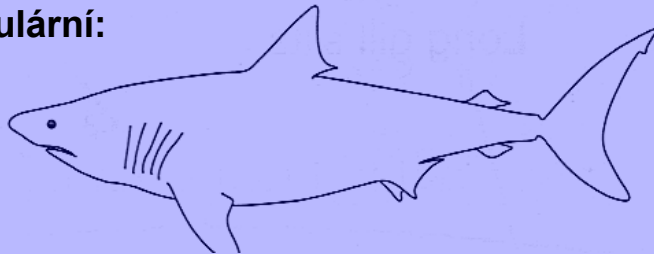
Ca⁺⁺ 10

iso-osmotičtí živočichové:

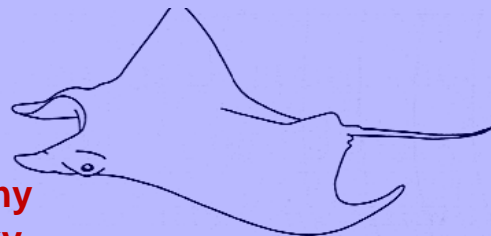
obratlovci Chondrichthyes
 žraloci, rejnoci, chiméry
 Crossopterygii
 latimérie

Rana cancrivora
 skokan krabožravý)

extra-celulární:



600 {
 Na⁺ 300
 Cl⁻ 280
 K⁺ 7
 Ca⁺⁺ 3



**močovina
 aminokyseliny
 dusíkaté látky**

1 150
 mOsm. L⁻¹

intra-celulární:

Na⁺ 20
 Cl⁻ 15
 K⁺ 130
 Ca⁺⁺ t
 proteiny -
 metabolity - 120

340

**1 150
 mOsm. L⁻¹**

**aminokyseliny
 dusíkaté látky**

- hypo-osmotičtí živočichové mají neustálý osmotický problém a proto musí vynakládat energii pro pohon speciálních transportních systémů

moře: 1 150 mosmol. L⁻¹

Na ⁺	470
Cl ⁻	570
K ⁺	10
Ca ⁺⁺	10

hypo-osmotičtí živočichové:

obratlovci	Cyclostomata kruhoústí
	Teleostei kostnaté ryby
	Tetrapoda plazi, ptáci, savci

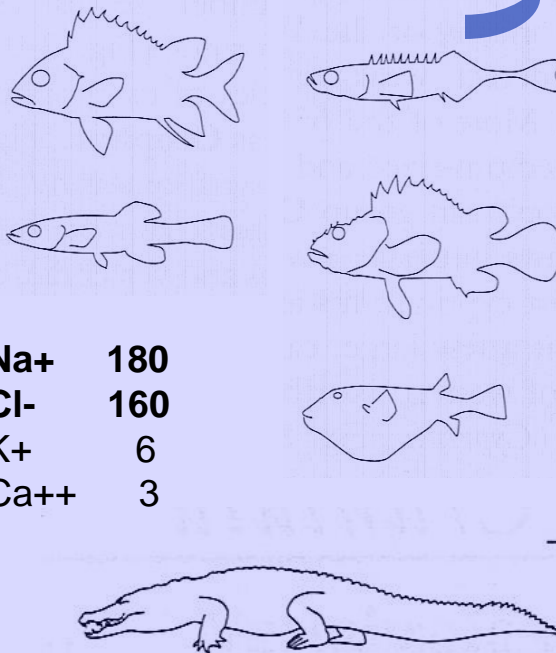
musí se neustále zbavovat přebytečných Na⁺ a Cl⁻ iontů
musí neustále bránit úniku vody z těla

ionty

extra-celulární:

340	}	Na ⁺	180
		Cl ⁻	160
		K ⁺	6
		Ca ⁺⁺	3
		mOsm. L ⁻¹	

voda



intra-celulární:

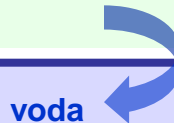
Na ⁺	20	}	340
Cl ⁻	10		
K ⁺	130		
Ca ⁺⁺	t		
proteiny -			
metaboly -	120		
		mOsm. L ⁻¹	

- sladká voda má velmi nízkou osmolaritu (nízký obsah rozpuštěných látek)
- hyper-osmotičtí živočichové mají neustálý osmotický problém a proto musí vynakládat energii pro pohon speciálních transportních systémů

sladká voda: 10 – 30 mosmol. L⁻¹

Na ⁺	0,2 - 6
Cl ⁻	0 - 10
Ca ⁺⁺	0,2 - 5

plus nutrienty (nitráty, fosfáty) ve znečištěné vodě



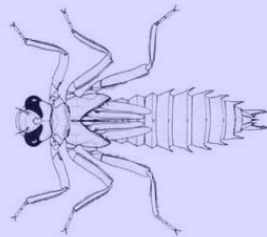
hyper-osmotičtí živočichové:

všichni :

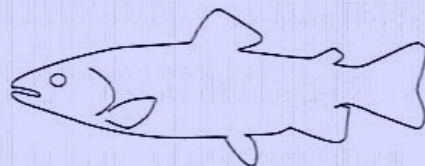
bezobratlí
obratlovci

musí neustále doplňovat unikající Na⁺ a Cl⁻ ionty
musí se neustále zbavovat přebytečné vody

extra-celulární:



300 mOsm. L ⁻¹	{	Na ⁺	140
		Cl ⁻	110
		K ⁺	3
		Ca ⁺⁺	2



intra-celulární:

Na ⁺	10	}	300 mOsm. L ⁻¹
Cl ⁻	5		
K ⁺	140		
Ca ⁺⁺	t		
proteiny - metabolity -	120		

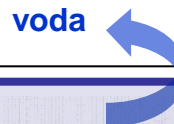
- vzduch je zcela prost osmolarity
- na vzduchu neexistuje osmotický problém, ale hrozí ztráty vody evaporací ...

vzduch: bez osmolarity

všichni živočichové:

**bezobratlí
obratlovci**

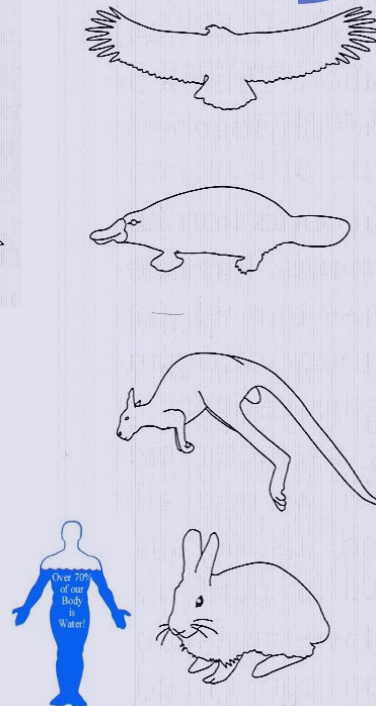
musí neustále doplňovat evaporující vodu
musí neustále přísně regulovat iontové složení



extra-celulární:

300
mOsm. L⁻¹

Na+	140
Cl-	110
K+	3
Ca++	2



intra-celulární:

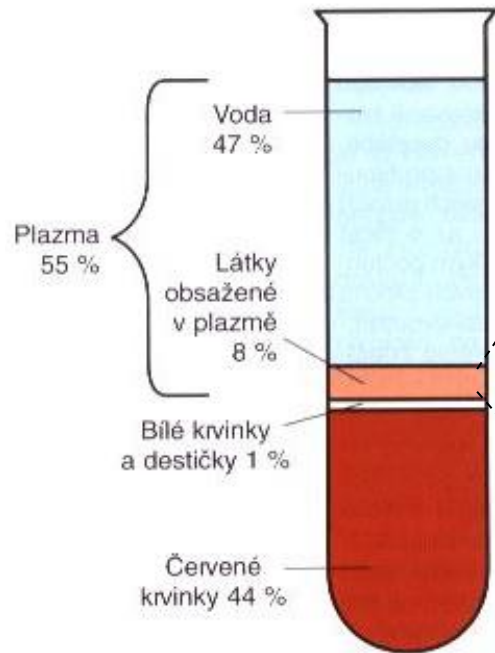
Na+	10	} 300 mOsm. L ⁻¹
Cl-	5	
K+	140	
Ca++	t	
proteiny - metabolity -	120	

Složení tělních tekutin člověka

- v lidském těle je ca 5,5 L krve

- v objemovém (váhovém) poměru tvoří ca. 45% krve buňky a ca. 55% je plazma

- krevní plazmy je tedy ca. 3.5 L
- v plazmě je ca. 8% pevných látek ...

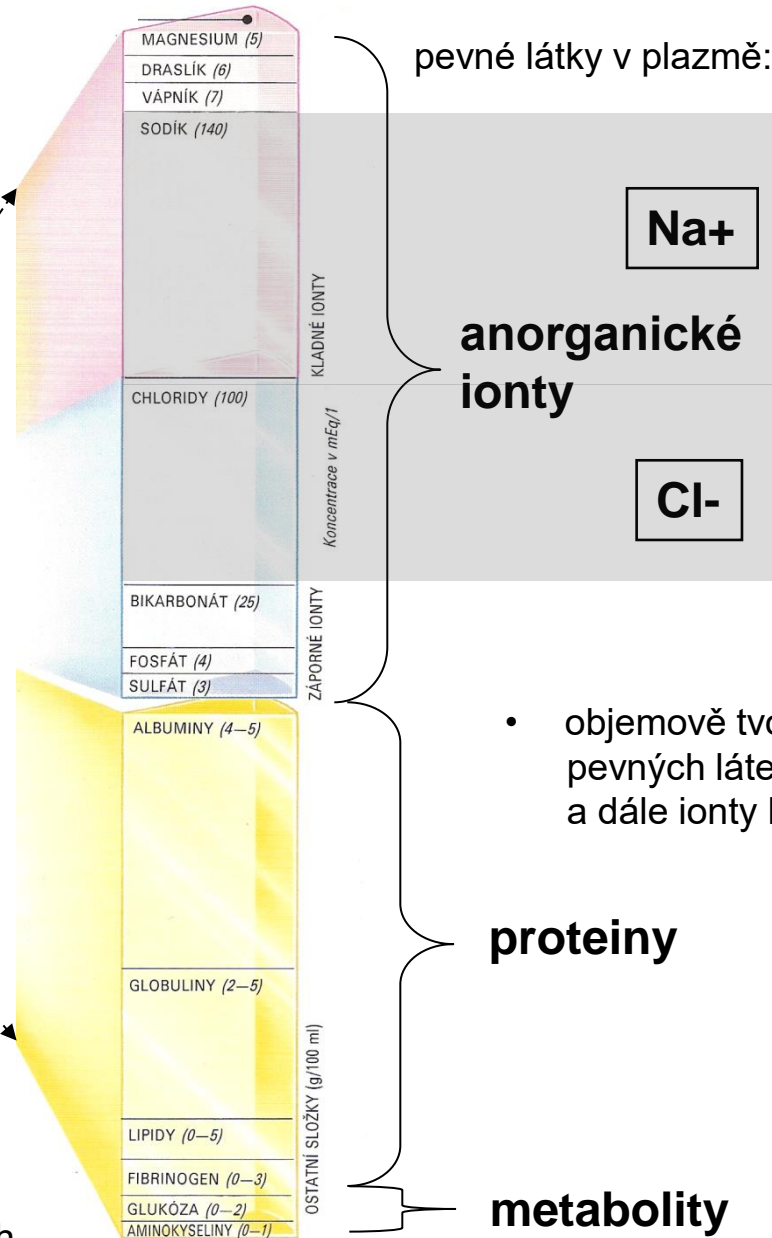


- **hematokrit:**
(objem červených krvinek)

muži ~ 46%

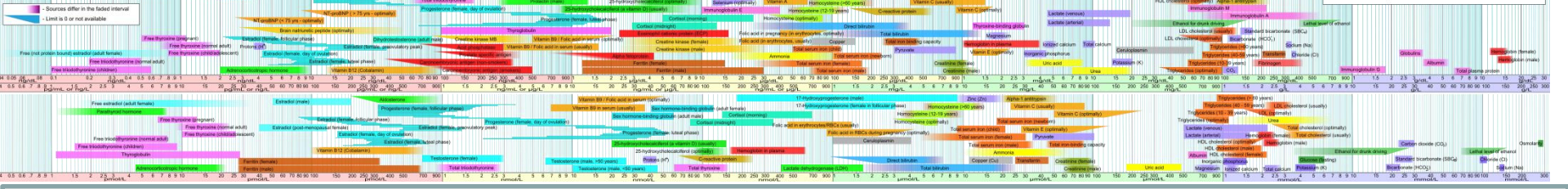
ženy ~ 42%

závisí na věku, kondici, nadmořské výšce, lécích ...



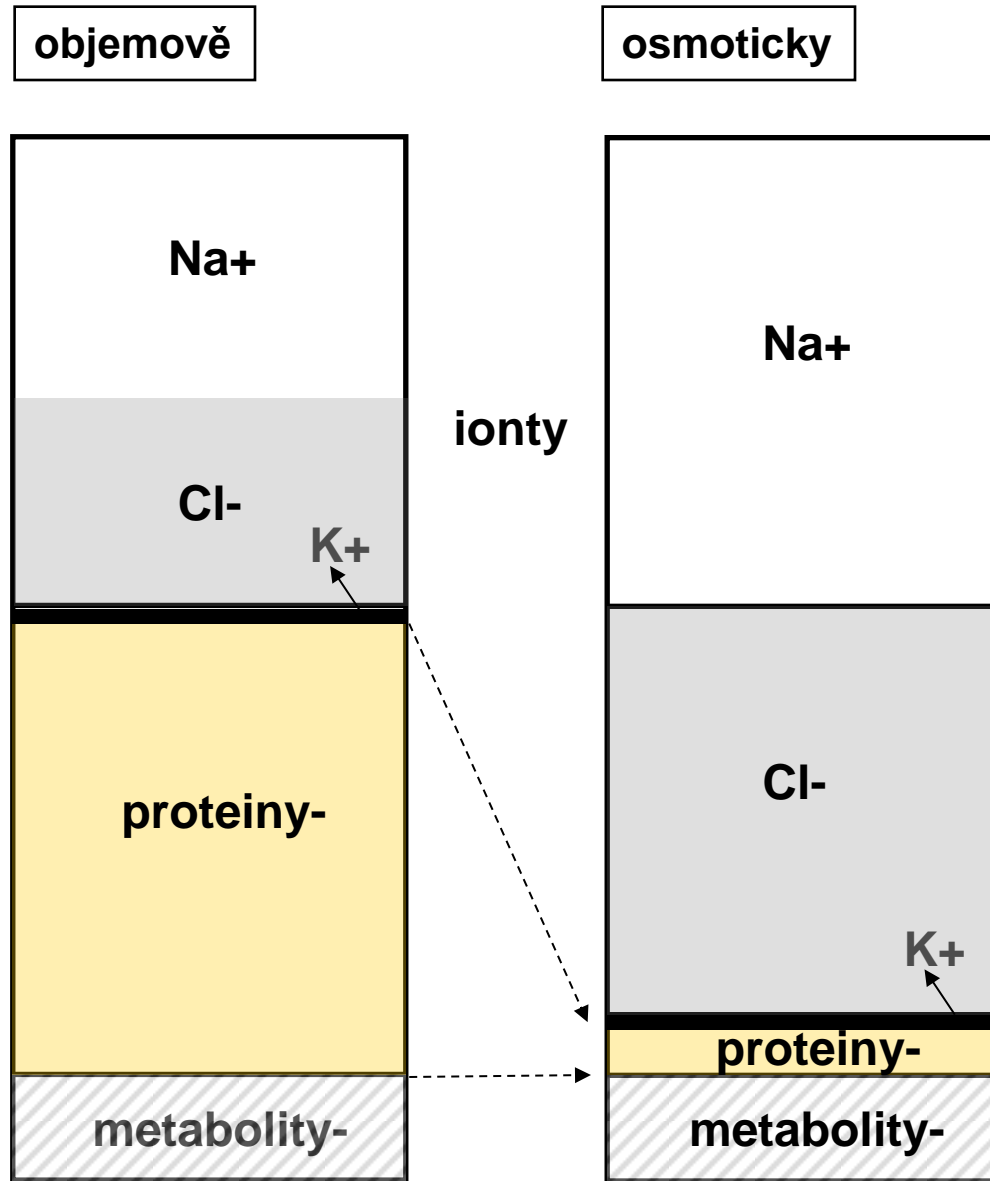
- objemově tvoří většinu pevných látek proteiny a dále ionty Na⁺ a Cl⁻

Reference ranges for blood tests sorted by mass (upper) and molarity (lower diagram)



silně zvětšit pro rozlišení detailů

- porovnání objemových a osmotických poměrů



- osmolarita lidské krve (krevní plazmy) je 290 mOsm.L⁻¹

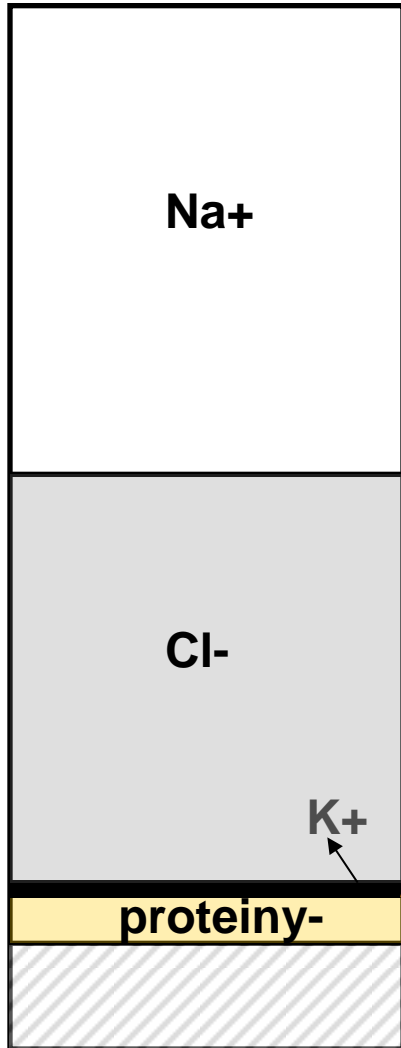
• **95 % osmolarity krve tvoří:**

Na+	140 mmol . L ⁻¹
Cl-	110
HCO ₃ ⁻	25

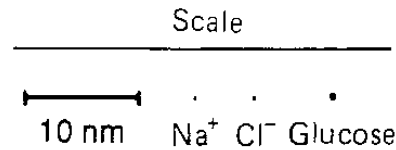
- proteiny jsou sice objemově velké, ale počet jejich částic je malý
- osmotický příspěvek proteinů je proto relativně malý

- krev a tkáňový mok jsou si podobné ... až na proteiny ...

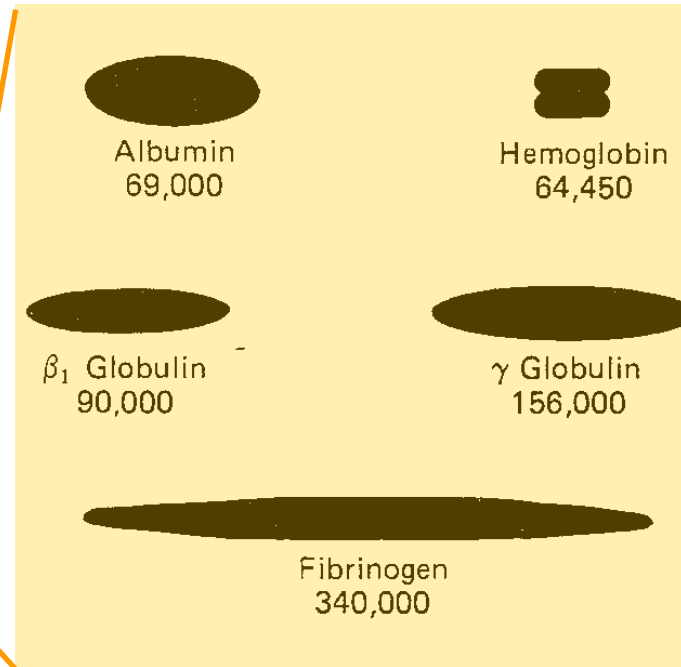
krevní plazma



- poměrná velikost různých částic krevní plazmy ($1\text{\AA} = 0.1\text{ nm}$)



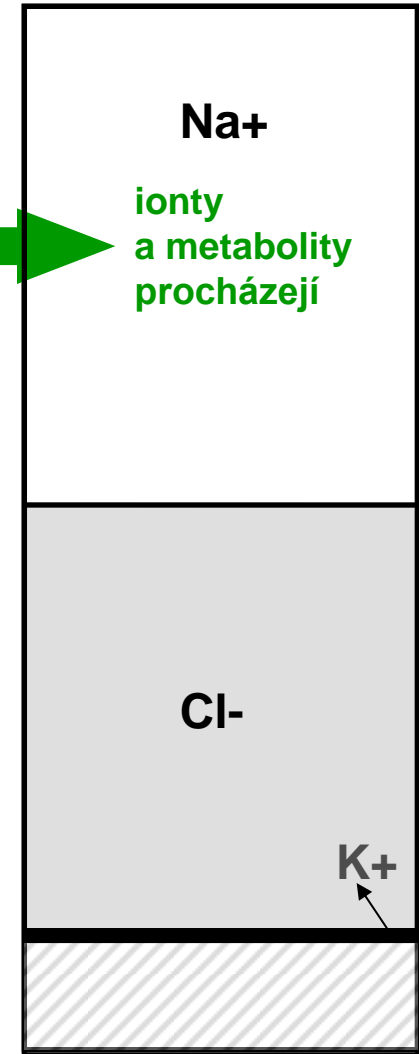
- ionty a metabolity jsou relativně malé a proto stěnou krevní kapiláry procházejí



- hojné krevní proteiny jsou většinou velké a proto stěnou krevní kapiláry neprocházejí

- molekulová hmotnost je uvedena v Daltonech
- = 1/12 hmoty ^{12}C atomu

tkáňový mok



stěna krevní kapiláry je propustná, "děravá"

Fibrinogen

is a soluble, 340 kDa plasma glycoprotein, that is converted by thrombin into fibrin during blood clot formation. Fibrinogen is synthesized in the liver by the hepatocytes. The concentration of fibrinogen in the blood plasma is 200–400 mg/dL.

Globulins

Globulins can be divided into three fractions based on their electrophoretic mobility.

Most of the α and β globulins are synthesized by the liver, whereas γ globulins are produced by lymphocytes and plasma cells in lymphoid tissue.

- α globulins: consist of α -1 and α -2 globulins.

α -1 globulins include α -1 antitrypsin, α -1 antichymotrypsin, orosomucoid (acid glycoprotein), serum amyloid A, and α -1 lipoprotein (HDL).

α -2 globulins include α -2 macroglobulin (protease inhibitor), haptoglobin (binds free hemoglobin), protein C (inhibitor of activated coagulation factors FVIII and FV), ceruloplasmin (carrier of copper) and α -2 lipoprotein (VLDL).

- β globulins: consist of β -1 and β -2 globulins.

β -1 globulins include transferrin (binds iron) and hemopexin.

β -2 globulins include complement factors 3 and 4, C-reactive protein, plasminogen, β -2 lipoprotein (LDL), hemopexin, β -2 microglobulin and some proportion of IgA (especially) and IgM. Fibrinogen also migrates in this region.

- γ globulins: consists of the immunoglobulins: IgM, IgA, IgG, although IgA and IgM also migrate in the late β region.

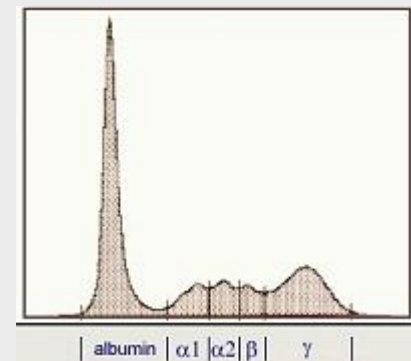
Albumin

Albumin is a globular protein with a MW of 69,000 daltons.

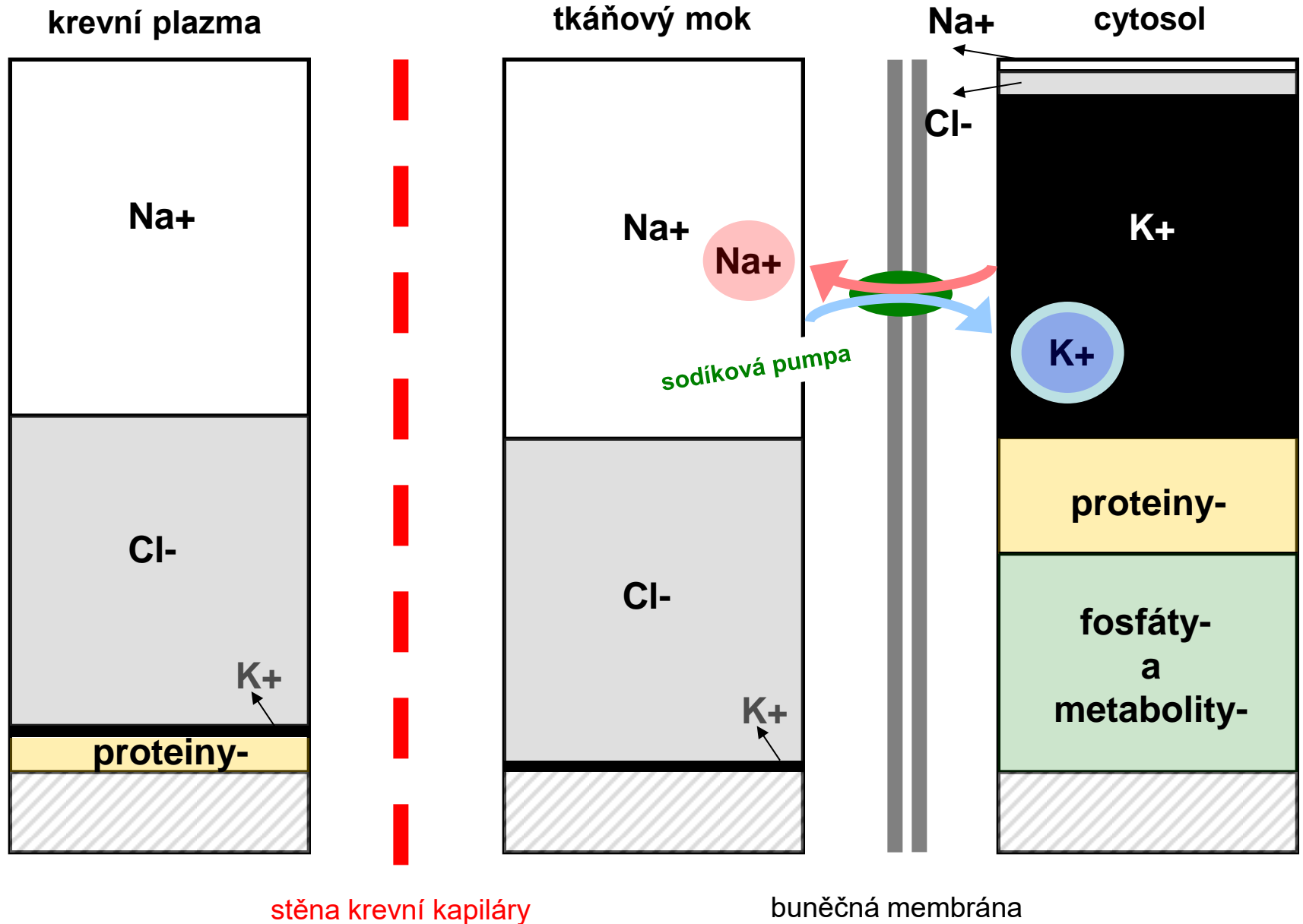
It is synthesized in the liver and catabolized by all metabolically active tissues.

Albumin makes a large contribution to plasma colloid osmotic pressure due to its small size and abundance (35-50% of total plasma proteins by weight).

It also serves as a carrier protein for many insoluble organic substances (e.g., unconjugated bilirubin).



- krev a tkáňový mok jsou diametrálně odlišné od cytosolu buněk



- situace typické savčí buňky:

Koncentrace volných iontů v mmol . L ⁻¹ (mM) (mili-molární)		extra-celulární tekutiny (krev, lymfa)	(intersticiium)	intra-celulární (cytosol)		
Kationty	Na+	140		5 – 15	Celkové intracelulární koncentrace Mg a Ca jsou vyšší:	
	K+	5		140		
	Mg ⁺⁺	1 – 2		0.5		20
	Ca ⁺⁺	1 – 2		0.0004		1 – 2
Anionty	Cl-	110		5 – 15	Většina Mg ⁺⁺ je vázána na proteiny Ca ⁺⁺ je uvnitř endoplasm. ret.	

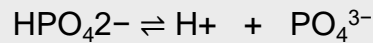
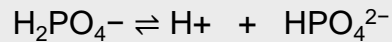
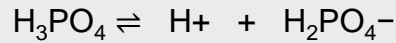
V tabulce nejsou uvedeny všechny osmoticky aktivní částice.

Především **buňky (intracelulární tekutiny) obsahují mnoho dalších, převážně záporně nabitých částic:**

anorganický fosfor (HPO_4^{2-} ; H_2PO_4^-) (ca. 90 mM); bikarbonát (HCO_3^-) (8 mM); sírany (SO_4^{2-}) (15 mM); proteiny (55 mM); nukleové kyseliny; metabolity s fosfátovou nebo karboxylovou skupinou ...

In dilute aqueous solution, phosphate exists in four forms. In strongly-basic conditions, the phosphate ion (PO_4^{3-}) predominates, whereas in weakly-basic conditions, the hydrogen phosphate ion (HPO_4^{2-}) is prevalent. In weakly-acid conditions, the dihydrogen phosphate ion (H_2PO_4^-) is most common. In strongly-acid conditions, aqueous phosphoric acid (H_3PO_4) is the main form.

Considering the three equilibrium reactions:

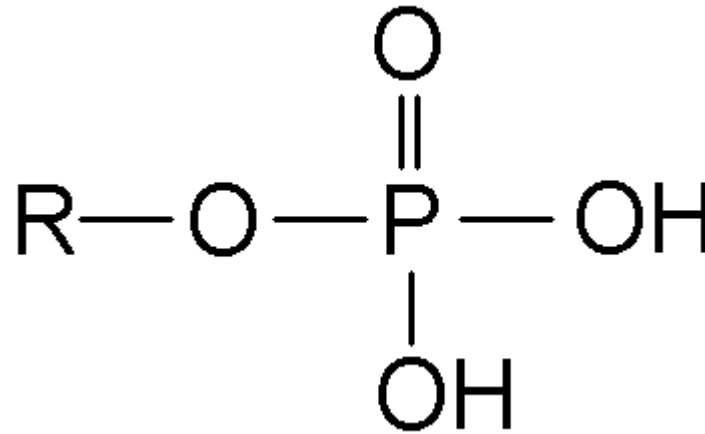


the corresponding constants at 25°C (in mol/L) are:

pKa1 2.12

pKa2 7.21

pKa3 12.67



This is the [structural formula](#) of the phosphoric acid [functional group](#) as found in a weakly [acidic aqueous solution](#). In more [basic](#) aqueous solutions, the group donates the two [hydrogen atoms](#) and [ionizes](#) as a phosphate group with a negative charge of 2.

For a neutral pH (for example, if the **cytosol** pH = 7.0) only H_2PO_4^- and HPO_4^{2-} ions are in significant amounts (62% H_2PO_4^- , 38% HPO_4^{2-}).

Note that in the **extracellular fluid** (pH=7.4), this proportion is inverted (39% : 61%).

pH

**acidobázická
rovnováha**

[H⁺]

• situace typické savčí buňky:

Koncentrace protonů [H ⁺]	extra-celulární tekutiny	(intersticiium)	intra-celulární tekutiny
pH	7.4		7.2
nmol . L ⁻¹ (nM)	40		70
mol . L ⁻¹ (M)	$4 \cdot 10^{-5}$		$7 \cdot 10^{-5}$
logaritmus	$10^{-7.4}$		$10^{-7.2}$

Fyziologicky relevantní hodnoty pH a [H⁺]

pH	nmol . L ⁻¹
6.0	1 000
6.8	160
7.0	100
7.2	70
7.4	40
7.7	20
8.0	10

neutrální pH = 7.0 (při 25°C) znamená že:

$$[H^+] = [OH^-] = 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

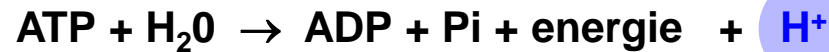
pokles pH o 1 stupeň znamená 10 x vyšší [H⁺]

• **metabolismus:**

- celá řada oxidoredukčních reakcí intermediárního metabolismu produkuje protony



- rozklad ATP za vzniku energie produkuje protony



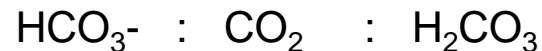
- aktivní metabolismus je VŽDY spojen s nadprodukcí protonů

• **rozpuštění CO₂:**

reakce katalyzovaná
karbonát dehydratázou

hydrogenuhličitan (HCO₃⁻) (bikarbonát)

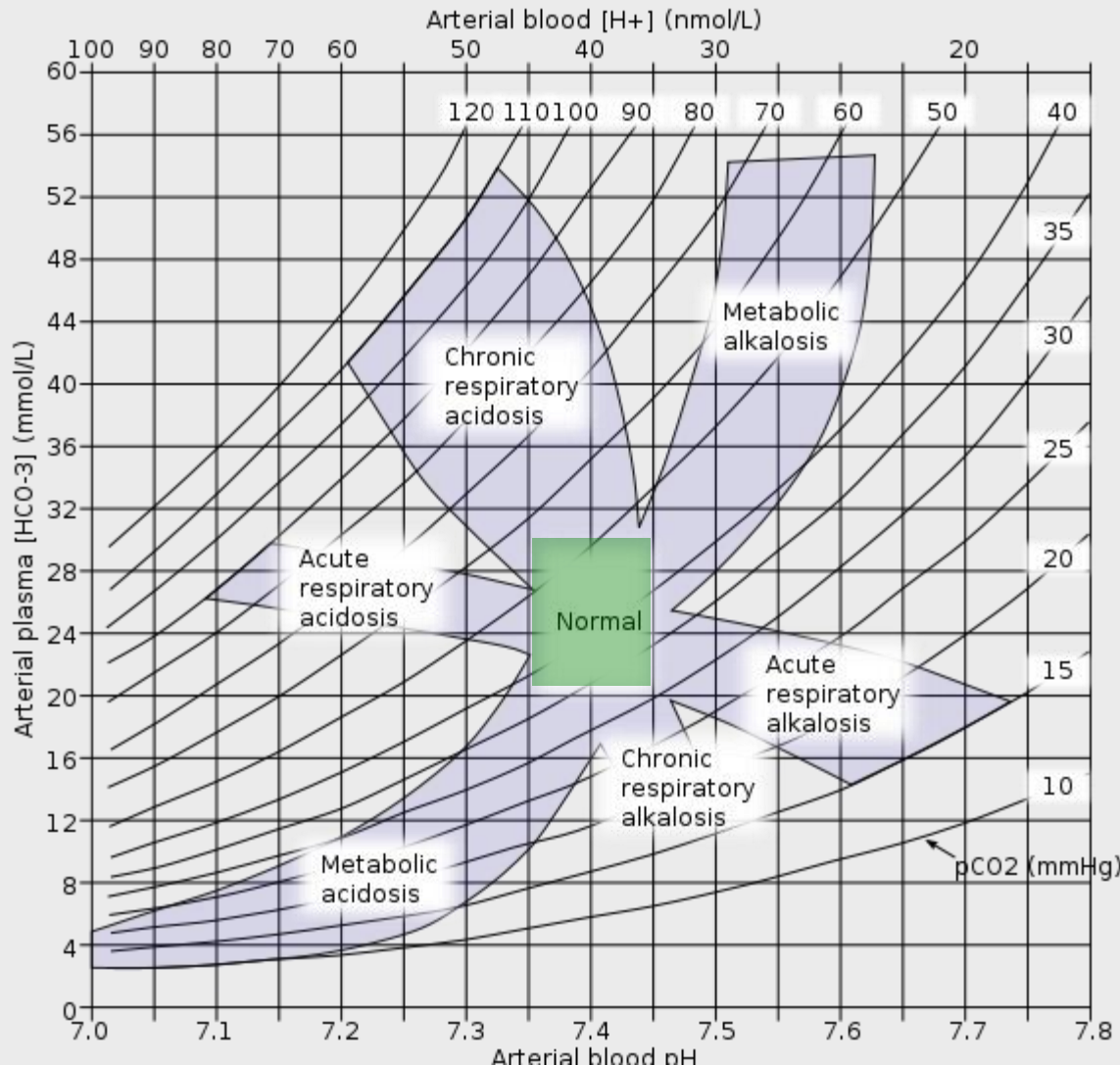
je dominantní formou (95%) výskytu CO₂
v tělních tekutinách:



- lidská plazma: $\text{pH} < 7.35 = \text{acidóza}$
 $\text{pH} > 7.45 = \text{alkalóza}$

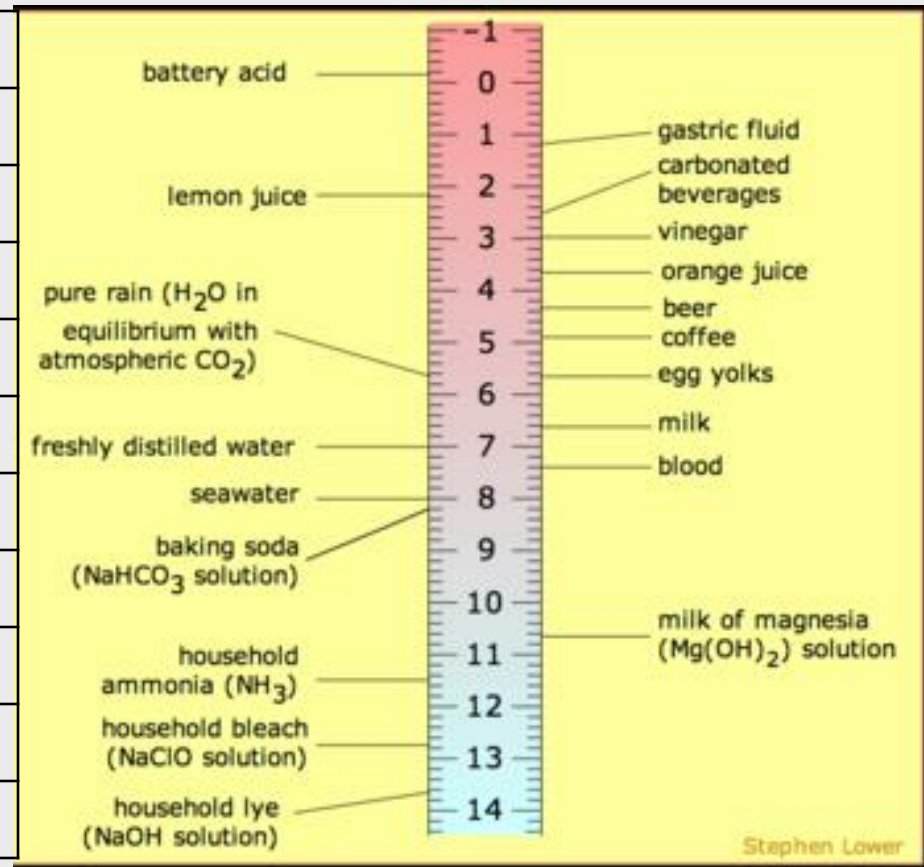
limity u savců: **6.8 – 7.8**

- **příčiny acidóz nebo alkalóz** jsou v zásadě trojího druhu:

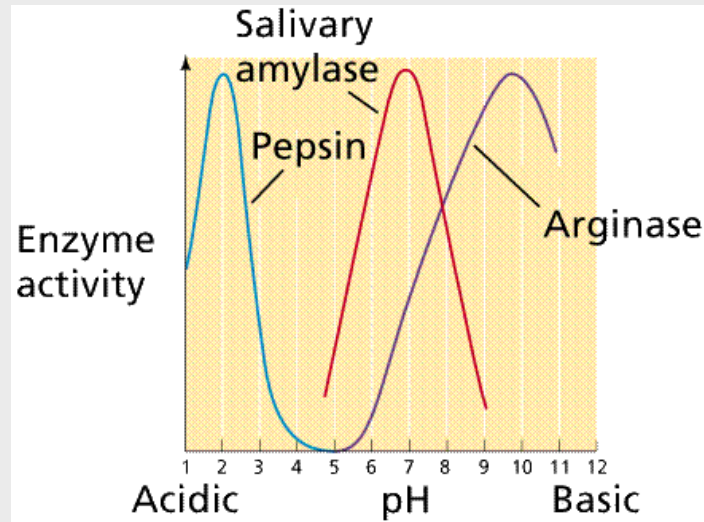


- 1) **metabolické**
laktátová acidóza při anaerobii
ketoacidóza při hladovění
- 2) **respiratorní**
pomalý odvod CO₂
blokace dodávky O₂
- 3) **poruchy, selhání, nemoci, léky**
selhání ledvin, jater,
diabetes
mutace genů

Compartment	pH
Gastric acid	0.7
Lysosomes	4.5
Granules of chromaffin cells	5.5
Urine	6.0
Neutral H ₂ O at 37 °C	6.81
Cytosol	7.2
Cerebrospinal fluid (CSF)	7.3
Blood	7.34 – 7.45
Mitochondrial matrix	7.5
Pancreas secretions	8.1

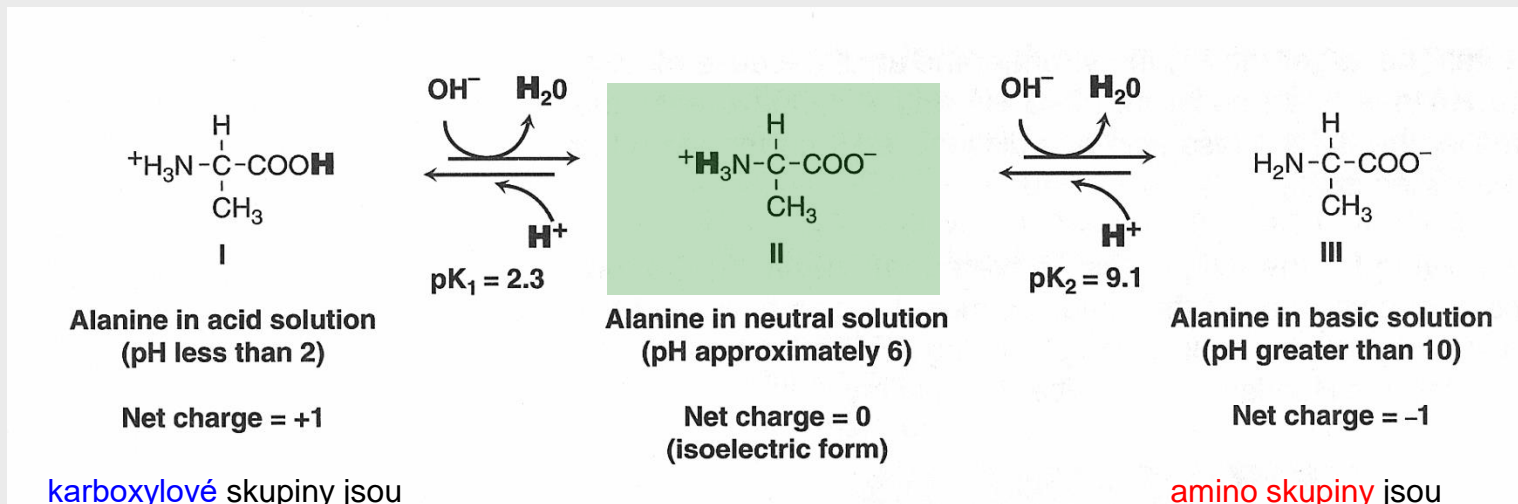


- **prostorová konformace** a tedy aktivita proteinů je přísně závislá na pH:



- **disociace metabolitů**

- za fyziologických hodnot pH je mnoho metabolitů udržovaných v disociované a tedy nabitě formě, tím pádem jsou zadržovány v buňce (nabitě látky neprocházejí membránou):

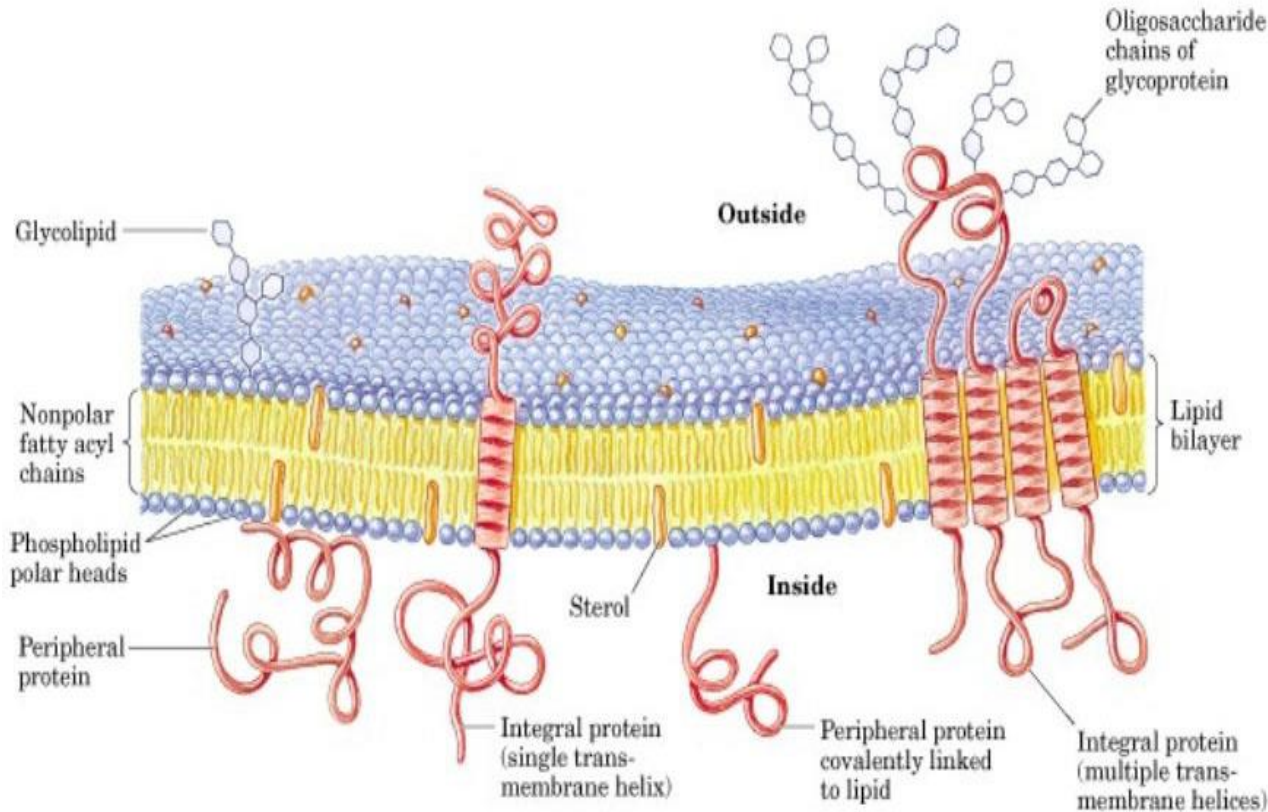


karboxylové skupiny jsou protonovány (a tedy bez náboje) pouze za relativně nízkých pH

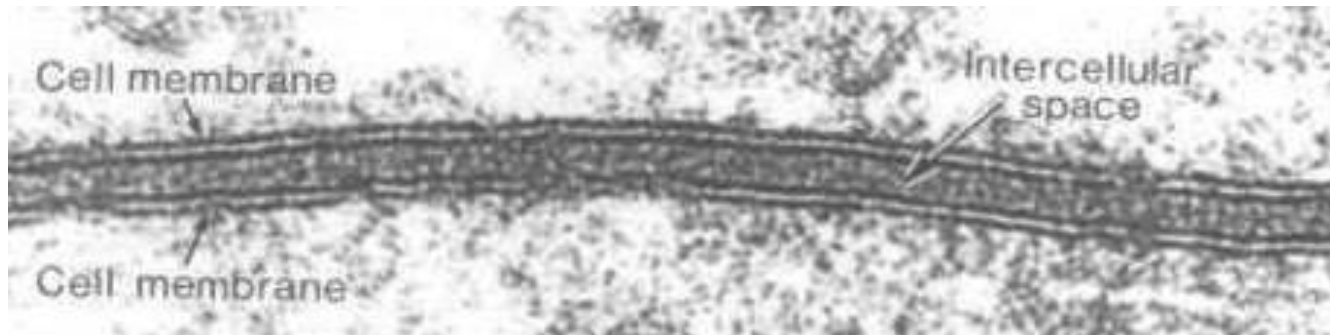
amino skupiny jsou de-protonovány (a tedy bez náboje) pouze za relativně vysokých pH

Biologické membrány

- biologické membrány jsou jak bariérou tak i místem regulovaného transportu

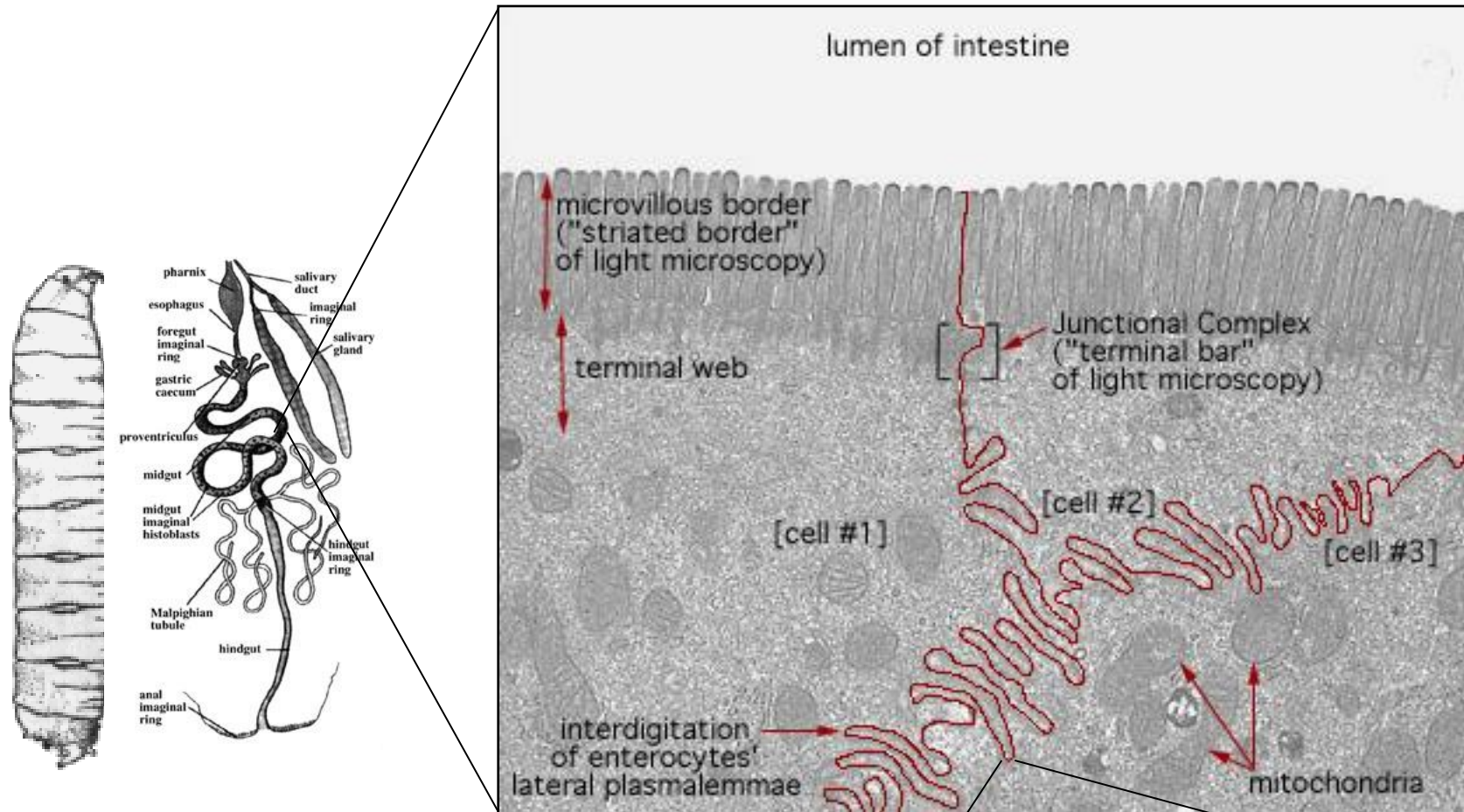


- lipidická dvojvrstva
- integrované proteiny
- hydrofobní střed membrány tvořený acylovými řetězci mastných kyselin
- hydrofilní vnější vrstvy tvořené převážně hlavovými částmi fosfolipidů
- dvě základní funkce:
 - 1) bariéra
 - 2) regulovaný transport

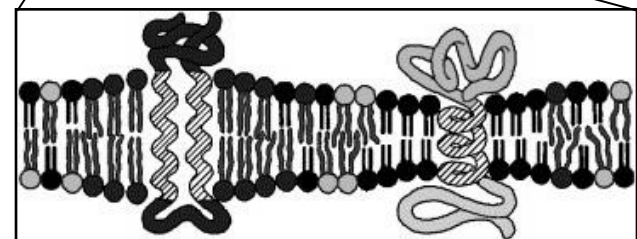


síla: 5 – 10 nm

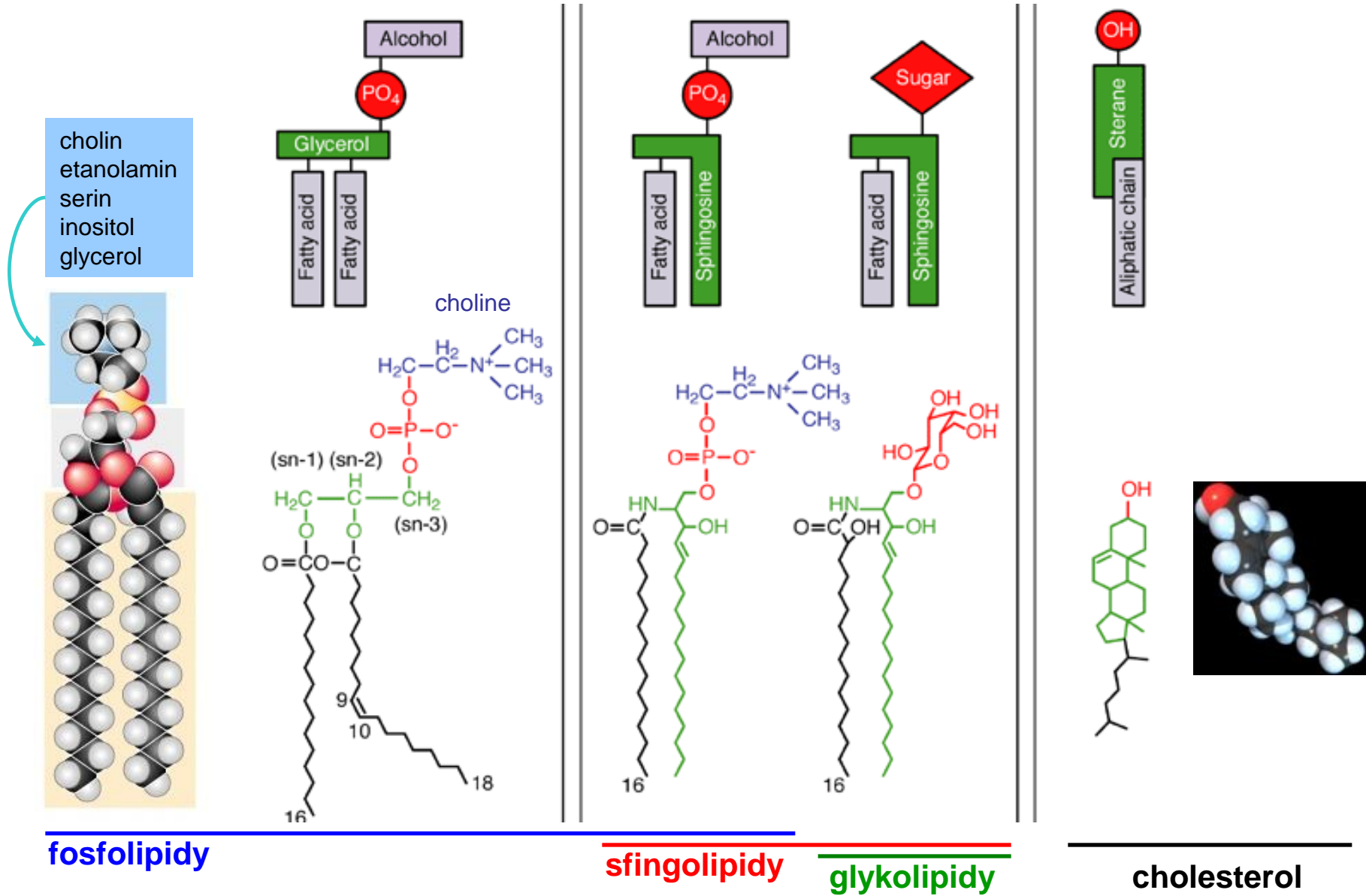
- složení biologických membrán je silně lokálně-specifické

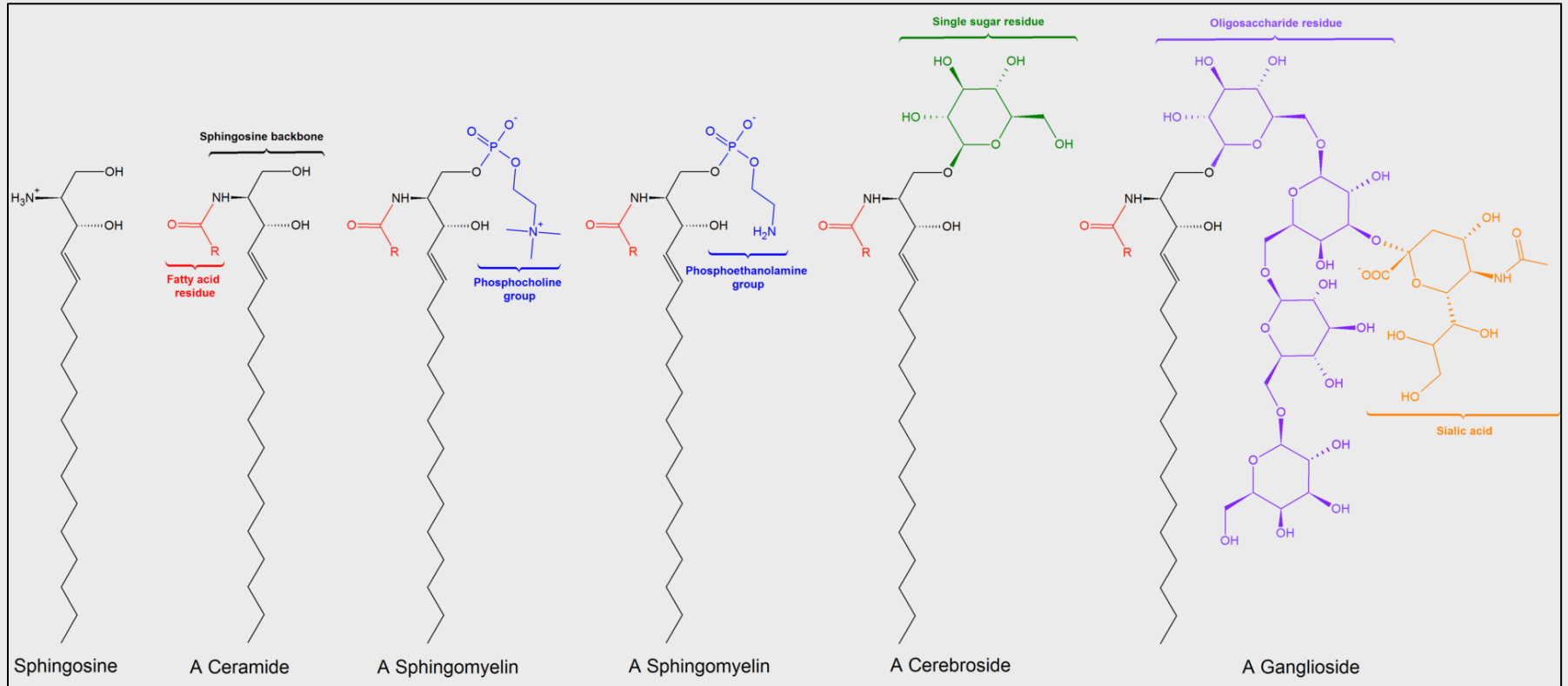


- různé složení membrán můžeme očekávat v různých: tkáních, orgánech, typech buněk
subbuněčných organelách
regionech (ostrovech, vorech) membrány

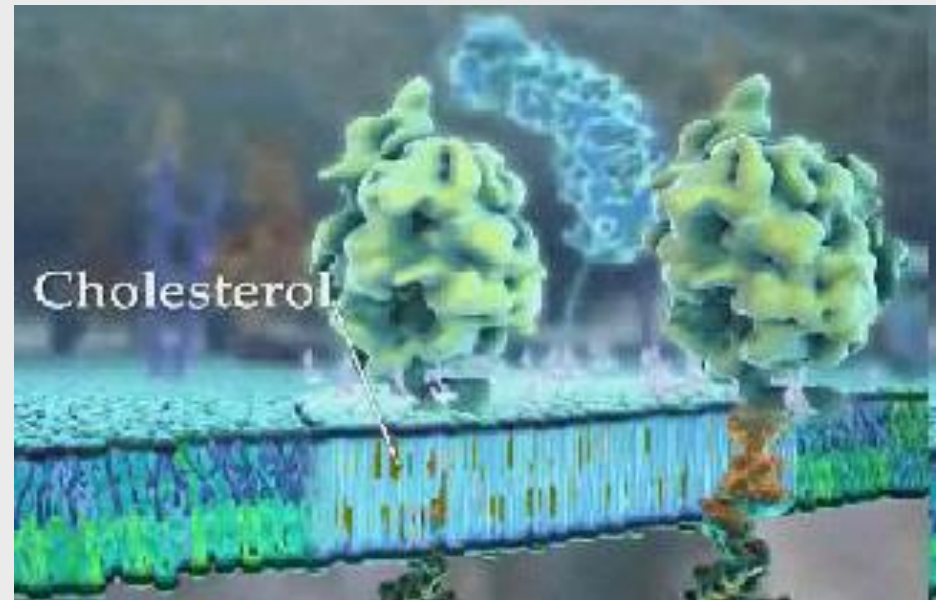
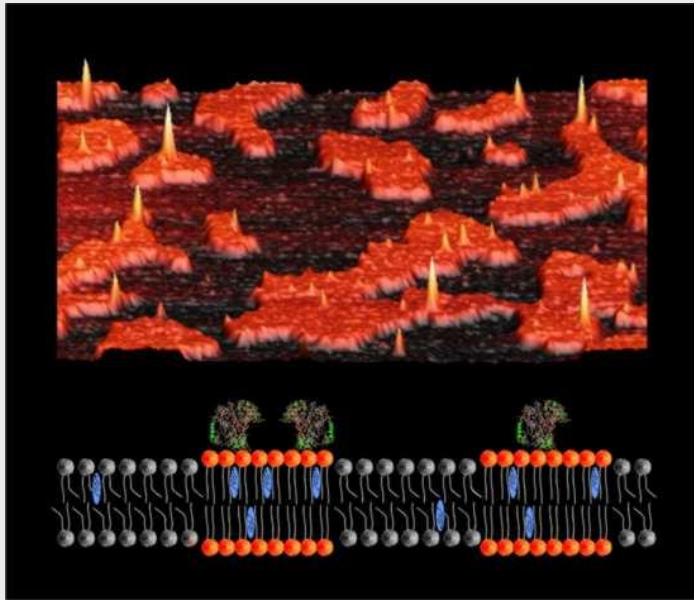


- buněčné membrány jsou tvořeny několika sty až 1 tisícem různých molekulárních druhů lipidů



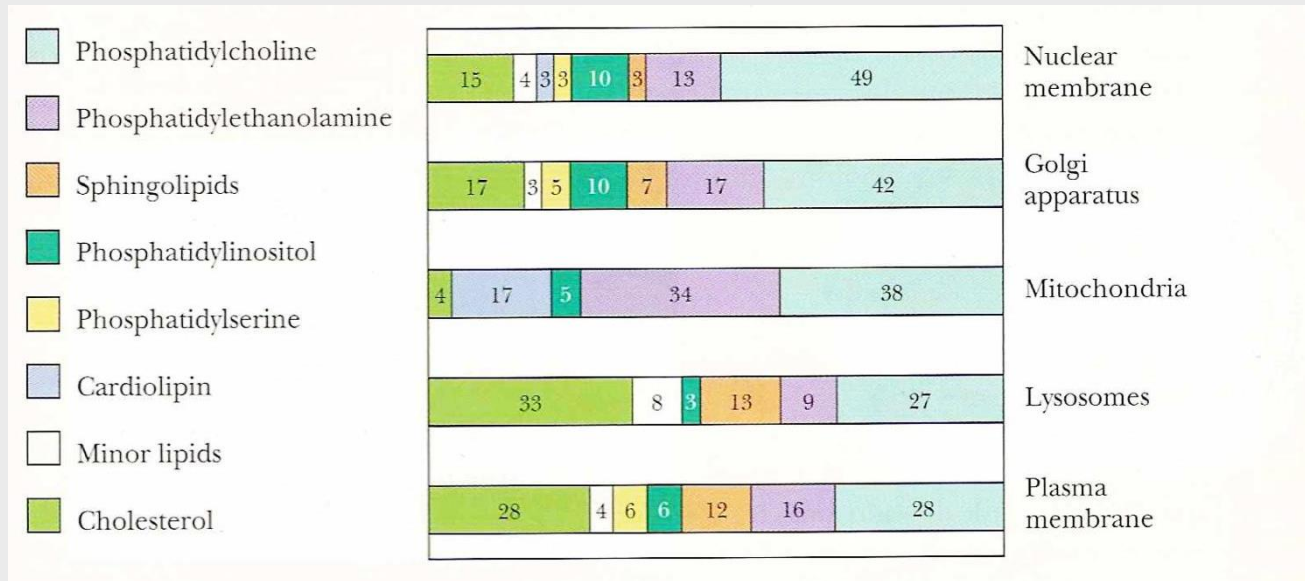


- struktura membrány je plošně heterogenní

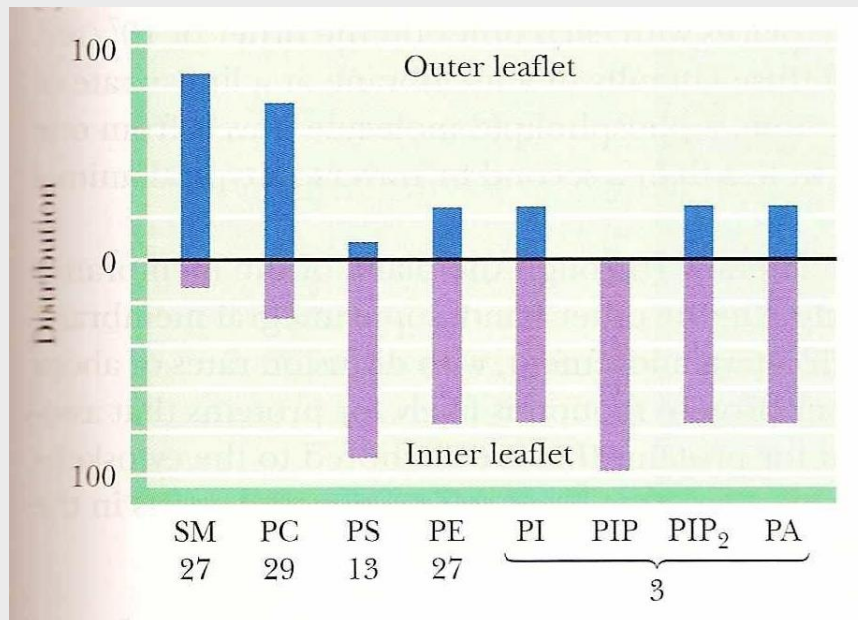


- vytváří se mozaika mikrodomén:
- **rafty** (vory) jsou bohaté na sphingomyeliny a také na cholesterol
- mají relativně rigidní strukturu (nízkou fluiditu)
- raftové mikrodomény se formují v Golgiho komplexu
- v nativním stavu jsou rafty poměrně malé (15 – 50 nm), izolované a nestálé
- mohou se spojovat a stabilizovat do větších celků – což je základem jejich funkčnosti, spojením dojde k přiblížení a vzájemné interakci funkčních domén integrovaných proteinů
- rafty mají specifické úlohy (transport, signalizace, endo a exocytóza, imunitní reakce)
- **jamky** (pits, caveoles) jsou další specifickou doménou, obvykle obsahují funkčně spřažené proteiny (transportní systémy, signalizační kaskády, ...)

- struktura membrány je silně heterogenní na sub-buněčné úrovni

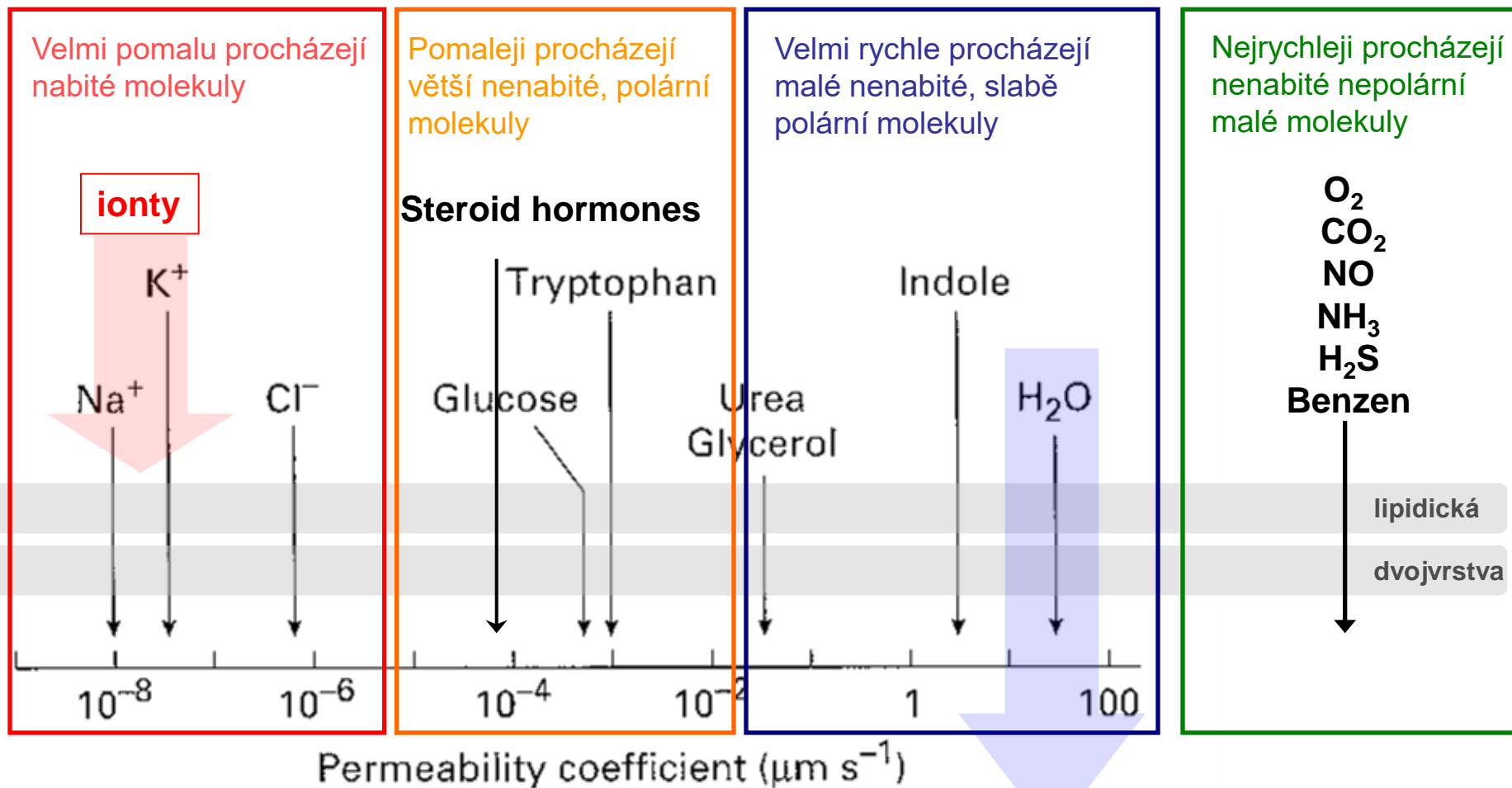


- váhové podíly jednotlivých lipidických tříd v různých organelách krysích hepatocytů



- zastoupení různých lipidických tříd bývá nestejně rozloženo ve vnější a vnitřní vrstvě membrány
- příklad: lidské erythrocyty

- hydrofobní střed lipidické dvojvrstvy je difúzně volně průchodný pouze pro látky rozpustné v tucích



Permeability coefficient (μm s⁻¹)

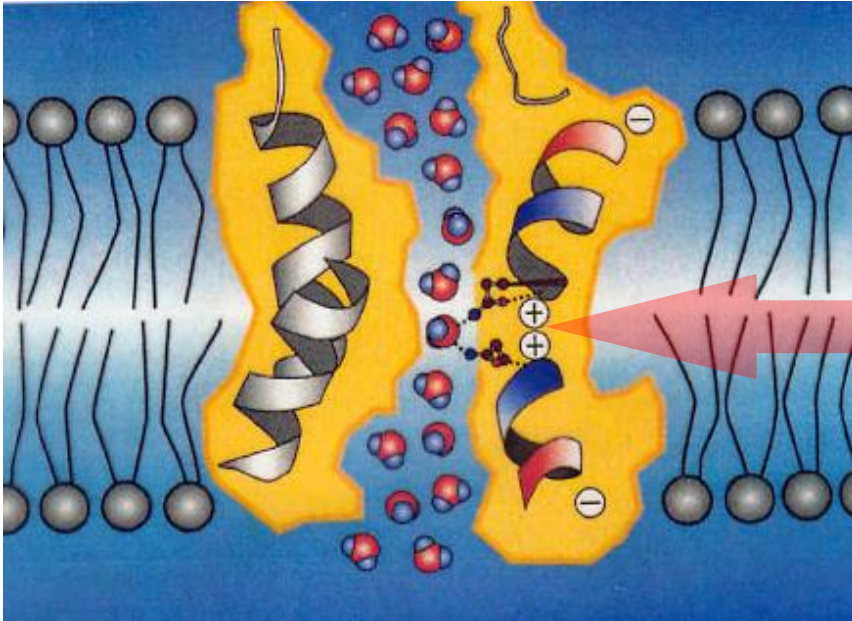
Increasing permeability →

voda

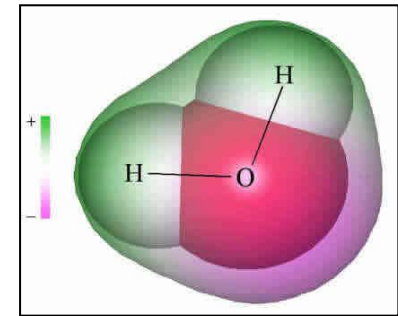
Koeficient propustnosti (um/sec):
 násobením koncentračního rozdílu látky
 (v mol/um³) na obou stranách membrány
 tímto koeficientem získáme rychlost průchodu látky v molech za sec na um² membrány.

- difúzní propustnost membrány pro vodu je zhruba o 10 řádů vyšší než propustnost pro ionty ...

• akvaporin – vodní kanál



- molekula vody je slabým elektrickým dipólem s převahou záporného náboje na kyslíku a převahou kladného náboje u obou vodíků



- konstriční místo se specifickou sekvencí ... NPA ... (asparagin, prolin, alanin)

- asparaginy 76 a 192 orientují molekuly vody, takže právě jen tyto se mohou „prosmyknout“ kanálem

- homo-tetramer proteinu AQP (akvaporinu) tvoří selektivní kanál pro vodu
- je nepropustný pro ionty a pro protony

protony se nevyskytují v roztoku ve formě H^+ nýbrž ve formě hydroniových kationtů

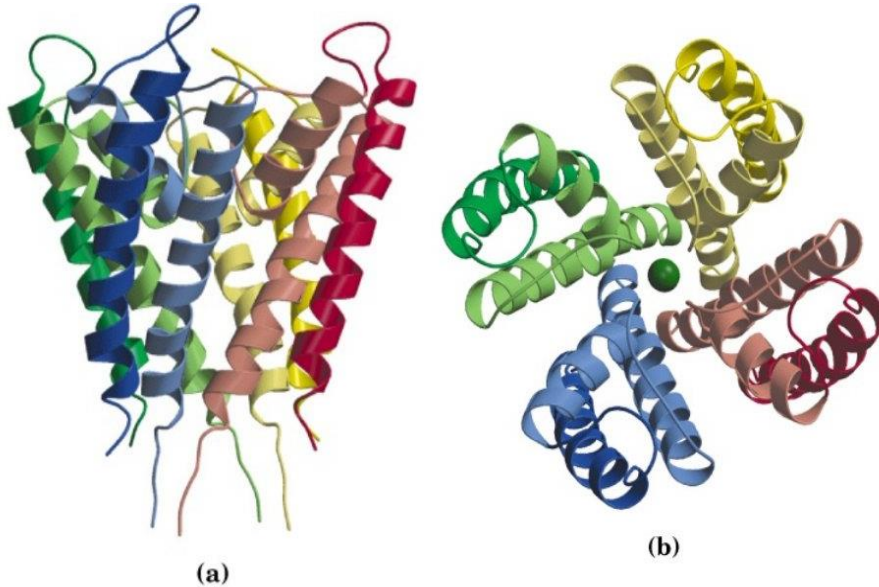
hydronium : H_3O^+ , ve skutečnosti bývá jeden proton "rozpuštěn" několika, v průměru 6-ti molekulami vody

- přesto, že je difúzní propustnost membrány pro vodu relativně vysoká, je ve specifických membránách (buňkách) propustnost pro vodu ještě zesilována pomocí akvaporinů

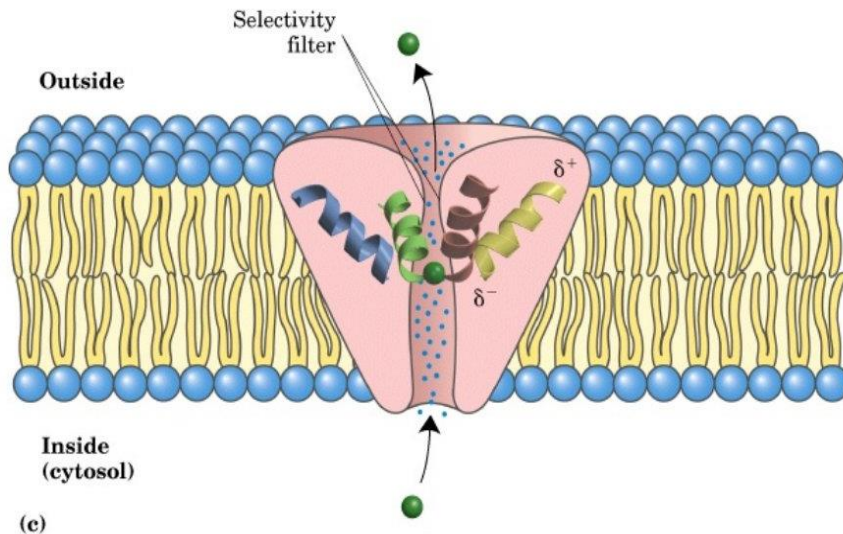
• voda tedy prochází více způsoby:

prostou difúzí
akvaporinovými kanály
děrovými spoji
spolu s vesikulárním transportem
jako součást fagocytózy

• iontové kanály



- iontové kanály jsou většinou iontově selektivní
(specifita je zajištěna jednak velikostí iontu a jeho hydratačního obalu a také elektrostatickými silami)
- umožňují průchod až 1 000 000 částic za sec.
- průchod je **pasivní** (po gradientu)
- bylo popsáno již několik set typů kanálů
- každá buňka typicky nese několik (desítek) typů iontových kanálů, jejichž činnost je přísně a přesně regulována



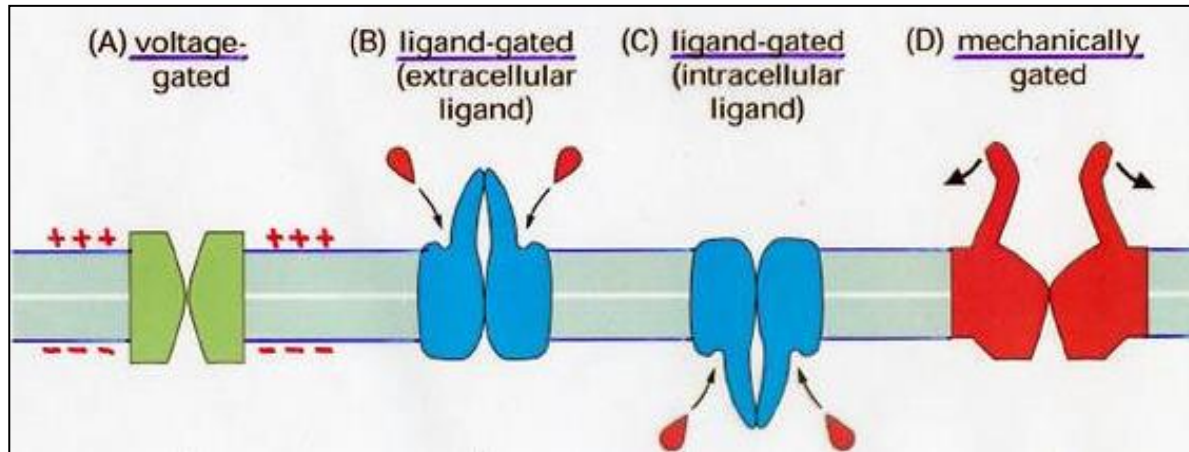
- bakteriální draslíkový kanál

• reálná propustnost membrány pro ionty je stále o 5 – 8 řádů nižší nežli je reálná propustnost membrány pro vodu

→ vždy platí, že voda se pohybuje směrem do místa s vyšší koncentrací iontů (obecně do místa o vyšší osmolaritě)

→ pravidlo: voda jde vždy za ionty ...

- základní typy regulace otevření "vrátkovaného" kanálu (permeability membrány):



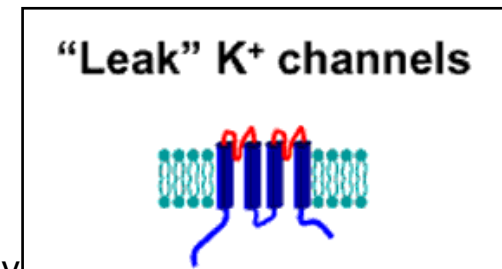
- většina iontových kanálů osciluje mezi dvěma konformačními stavy: *otevřeno* / *zavřeno*
- většina iontových kanálů je regulována: většinou je doba stavu *otevřeno* prodlužována po přijetí specifického signálu:

nadprahového napětí
chemického ligandu
mechanické síly

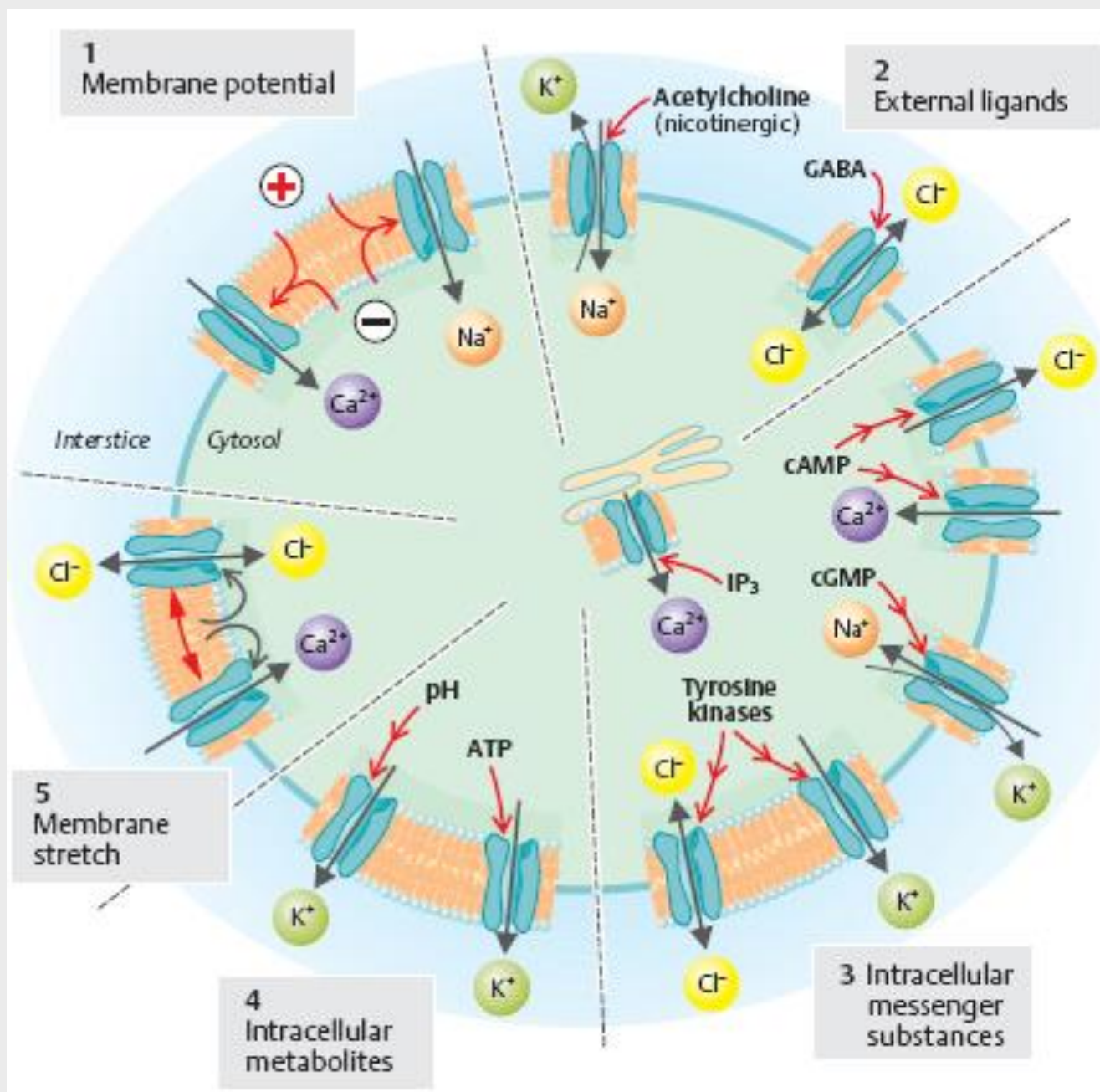
- některé typy kanálů jsou ovšem "stále otevřené"

- otevřené draslíkové kanály** (leak channels)

- Two-Pore-Domain Potassium Channels (*KCNK1 – 18*) je rodina 15 druhů kanálů, které jsou *většinou* otevřené a propouští draslík oběma směry
- mohou být regulovány tenzí kyslíku, pH, mechanicky a G-Proteiny
- strukturně odpovídají dimeru *KIR* kanálu
- KIR* = Potassium Inward Rectifier je draslíkový kanál, který ochotněji propouští K⁺ dovnitř než ven



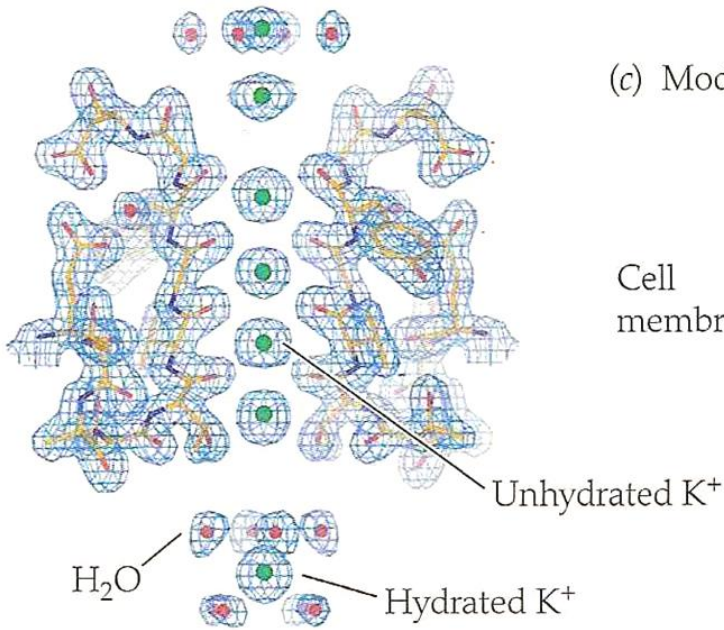
- právě tyto kanály způsobují, že:**
 - membrána je relativně propustná pro K⁺
 - membrána je relativně **ne**propustná pro Na⁺ (ca. 30 x propustnější pro K⁺ než pro Na⁺)



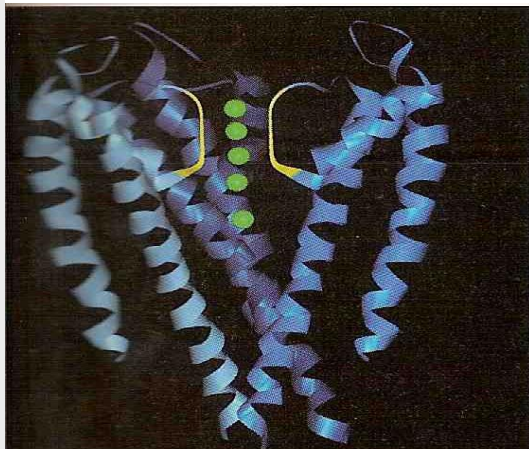
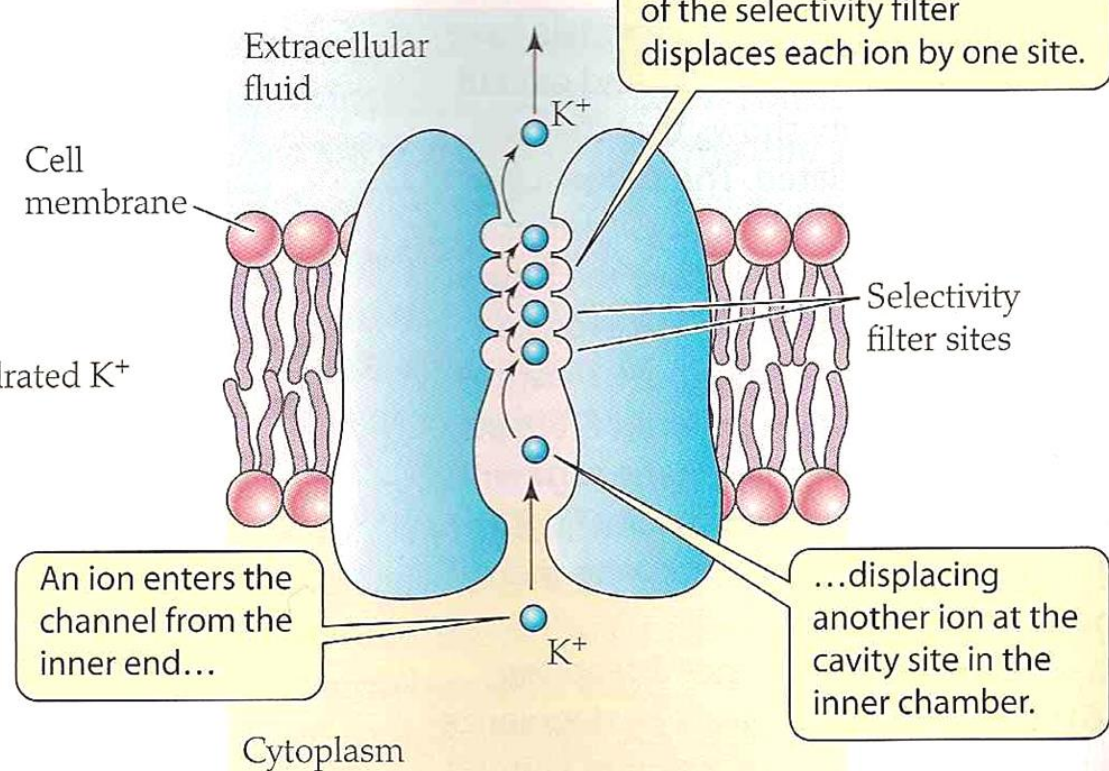
• bakteriální draslíkový kanál

je patrně původním typem iontového kanálu, od jehož struktury byla postupně v evoluci odvozena většina dalších kanálů ...

(b) Ion selectivity filter



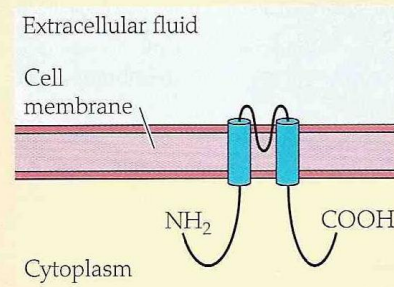
(c) Model of ion permeation



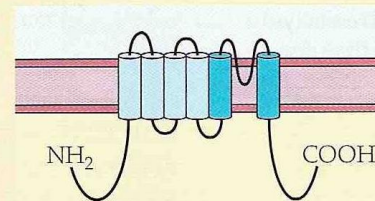
- před vstupem do kanálu je draslíkový ion zbaven svého hydratačního obalu

Evolve napětově řízených kanálů

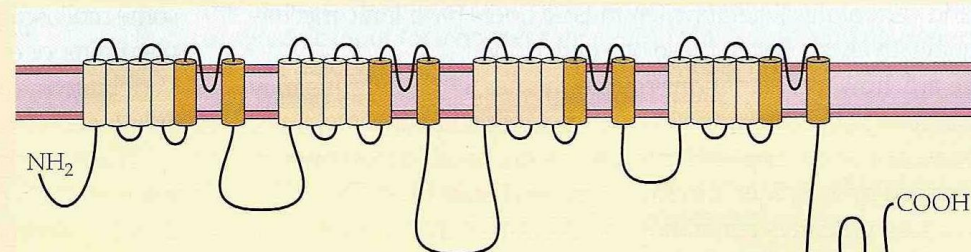
(1) Bacterial K⁺ channel (2TM)



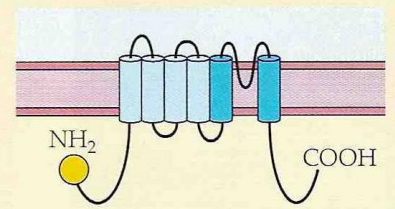
(2) Depolarization-activated, noninactivating K⁺ channel (6TM)



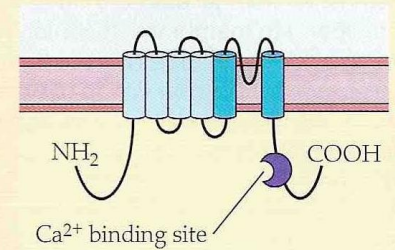
(3) Ca²⁺ or Na⁺ channels (4 × 6TM)



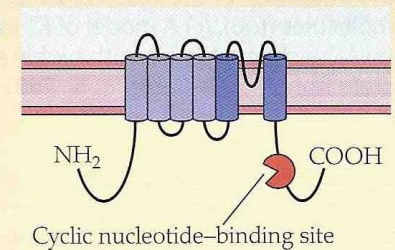
(4) Depolarization-activated, inactivating K⁺ channel



(5) Depolarization- and Ca²⁺-activated K⁺ channel



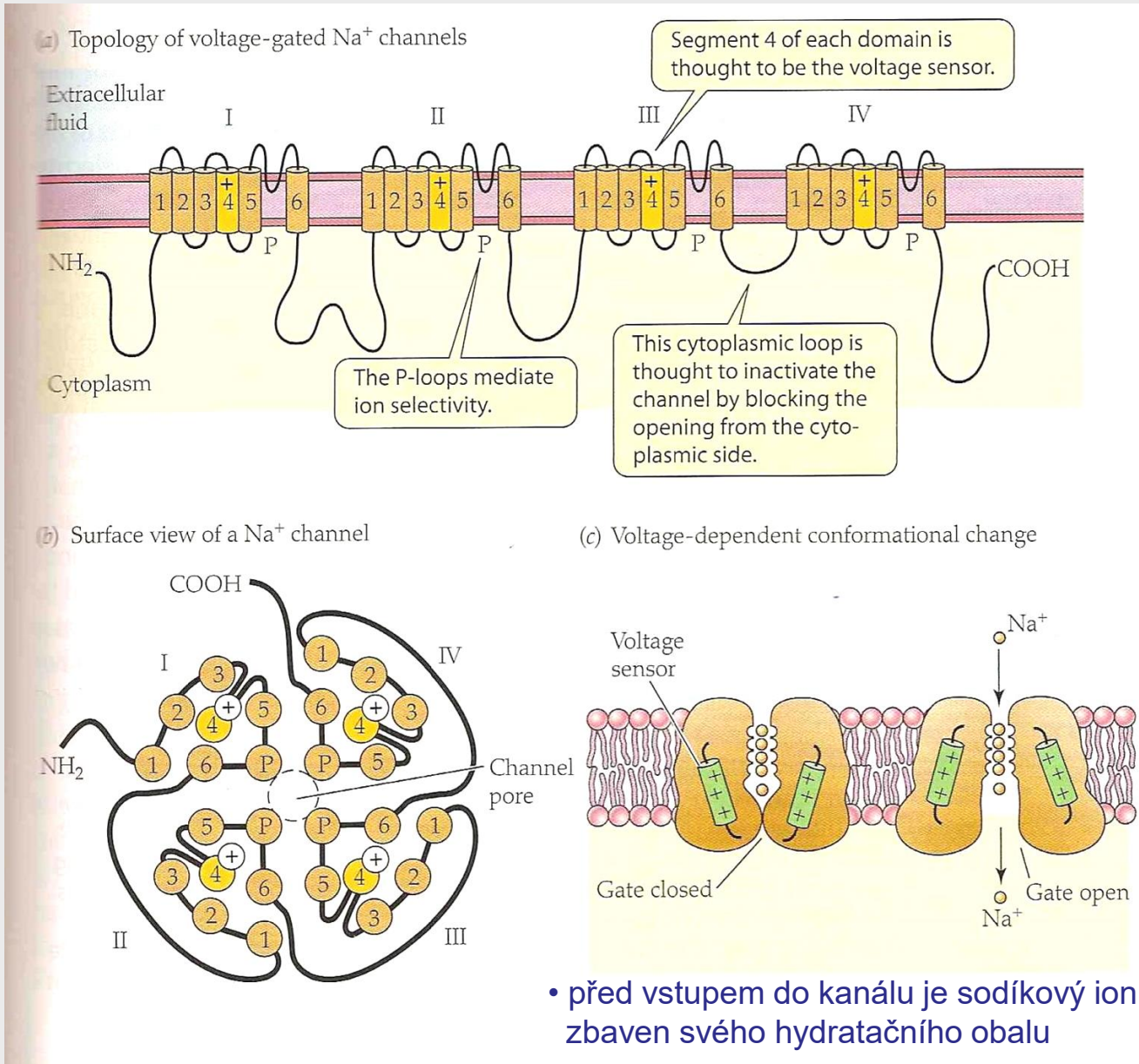
(6) Cyclic nucleotide-activated cation channel



Hypothetical sequence in the evolution of voltage-gated channels (After Kandel et al. 2000.)

• sodíkové kanály

jsou patrně složeny ze čtyř původních draslíkových kanálů ...



Transportní systémy

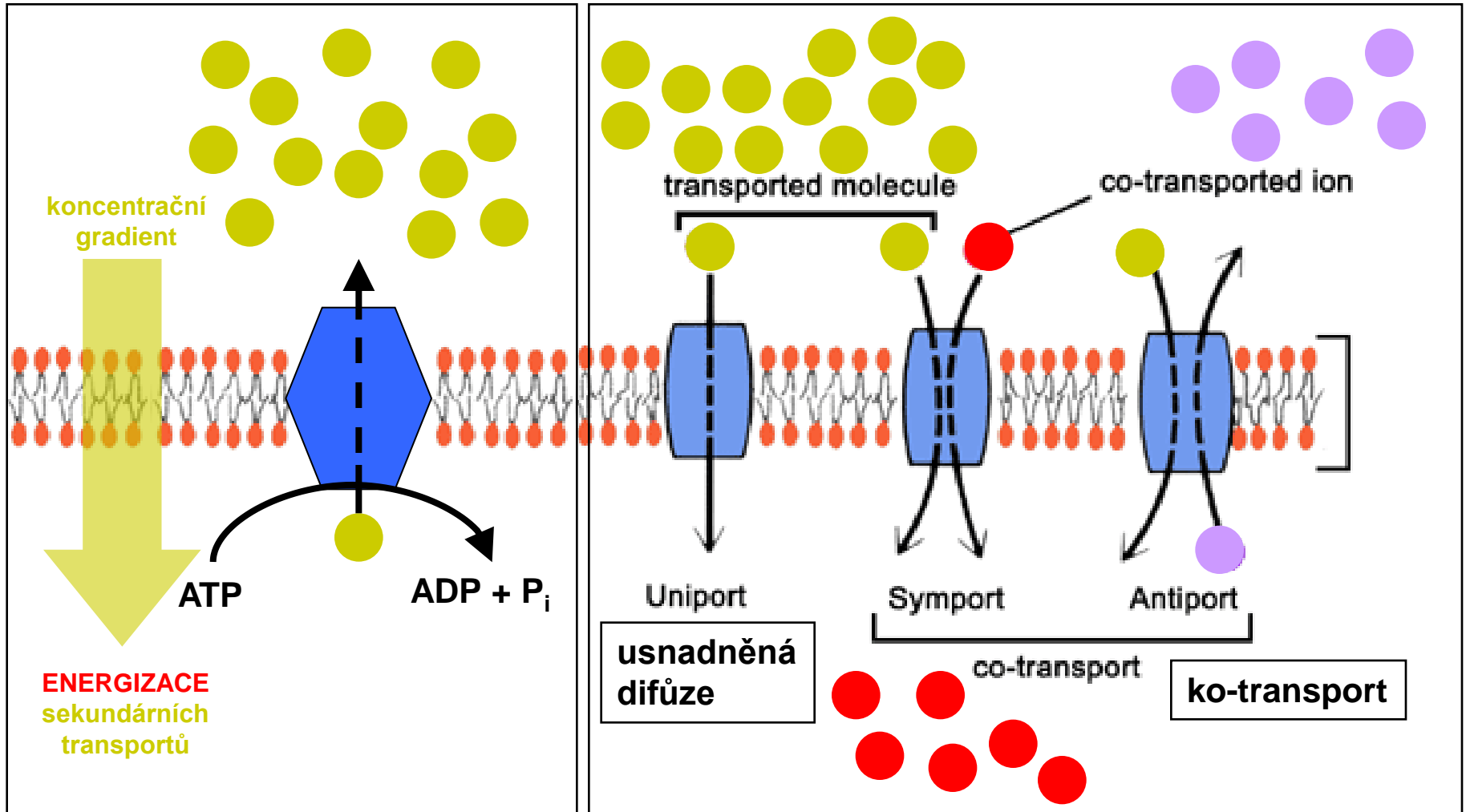
- rozdělení podle potřeby a typu energie nutné pro provoz (aktivitu)

primární

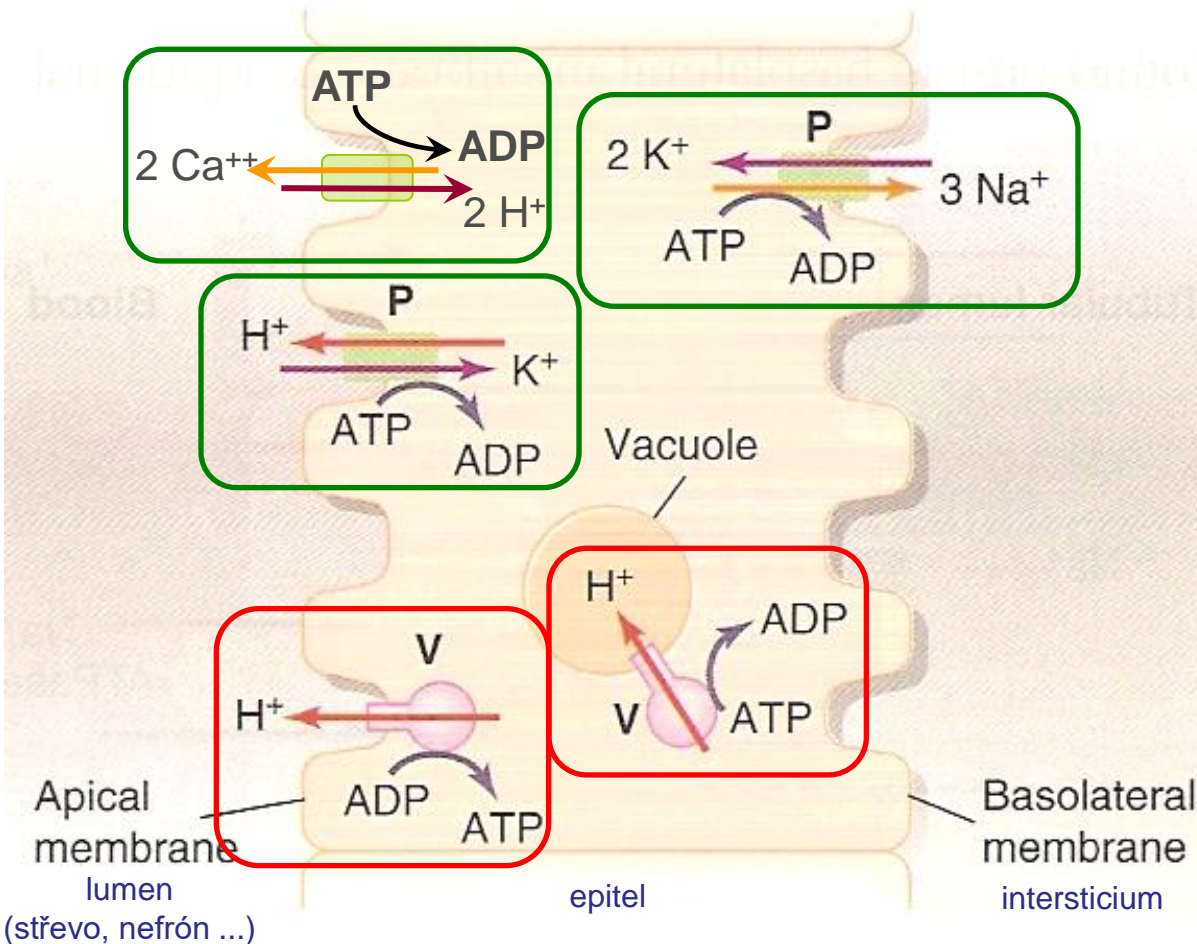
- proti koncentračnímu spádu
- vyžaduje vazebnou energii (ATP)
- **vytváří gradient**

sekundární

- po koncentračním gradientu
- využívá energie gradientu
- **spřažení** s kontransportem jiné látky proti gradientu



- spotřebovávají chemickou energii ve formě ATP a namísto toho vytvářejí jinou formu energie, a to:
- strmý koncentrační gradient iontů přes membrány



Tři základní třídy (rodiny):

ATPázy typu P

Na⁺/K⁺ -ATPáza (sodíková pumpa)

Ca²⁺ -ATPáza (vápníková pumpa)

H⁺/K⁺ -ATPáza (gastrická pumpa)

ATPáza typu V

H⁺ -ATPáza (protonová pumpa)

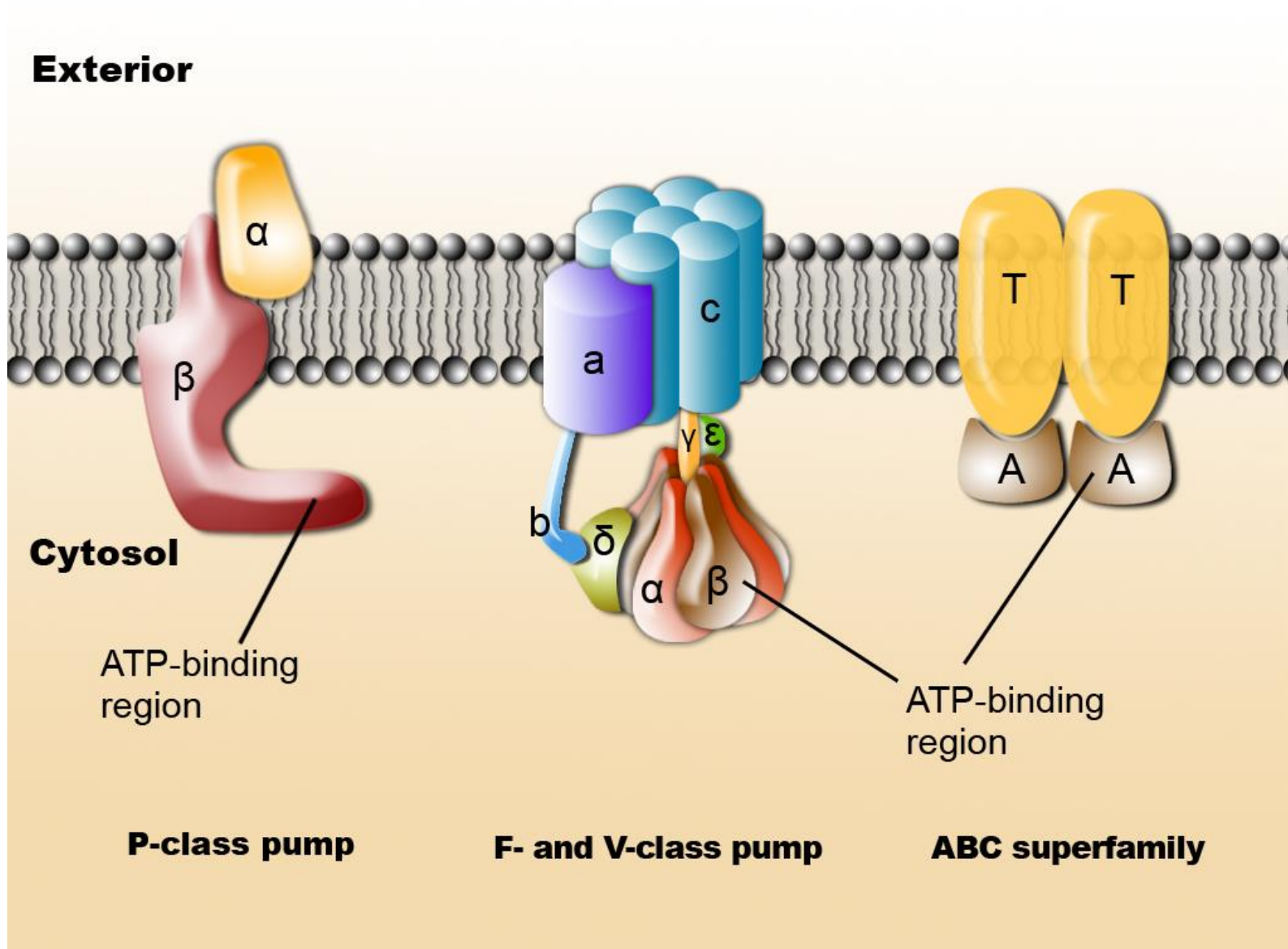
nadrodina ABC transportérů

ATPázy, mnoho různých sub-typů

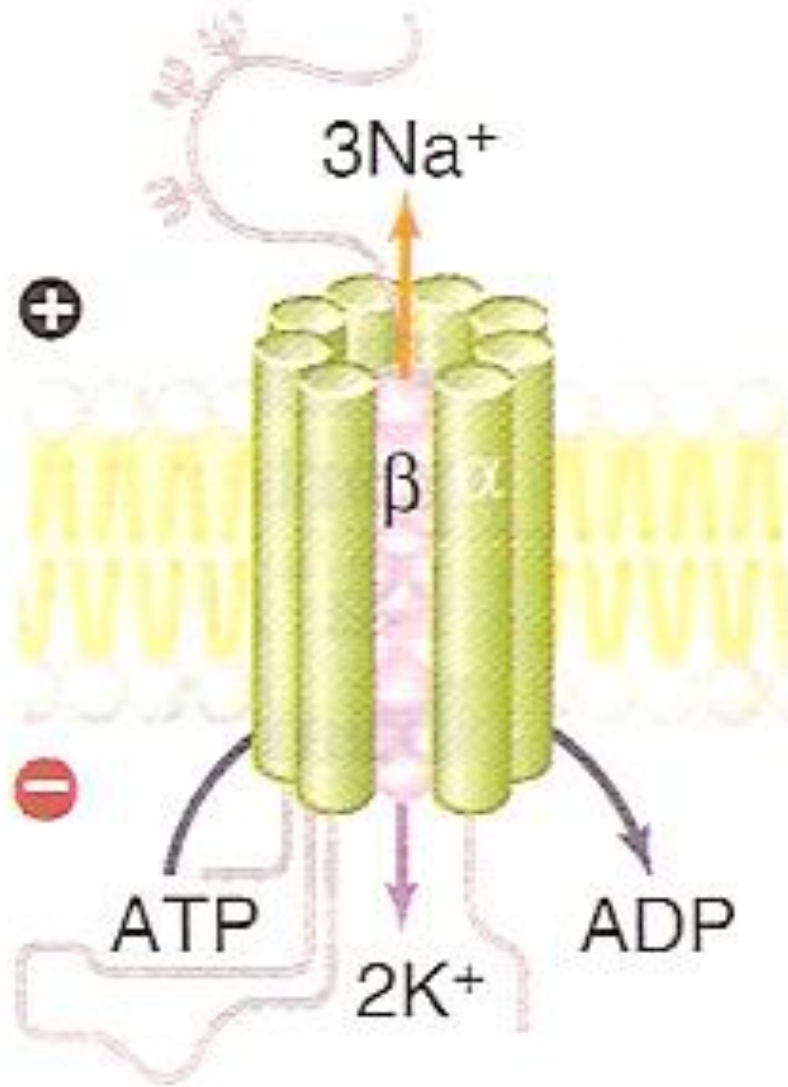
transportují různé látky, nejen ionty

- typické umístění primárních transportních systémů

- porovnání struktury tří rodin

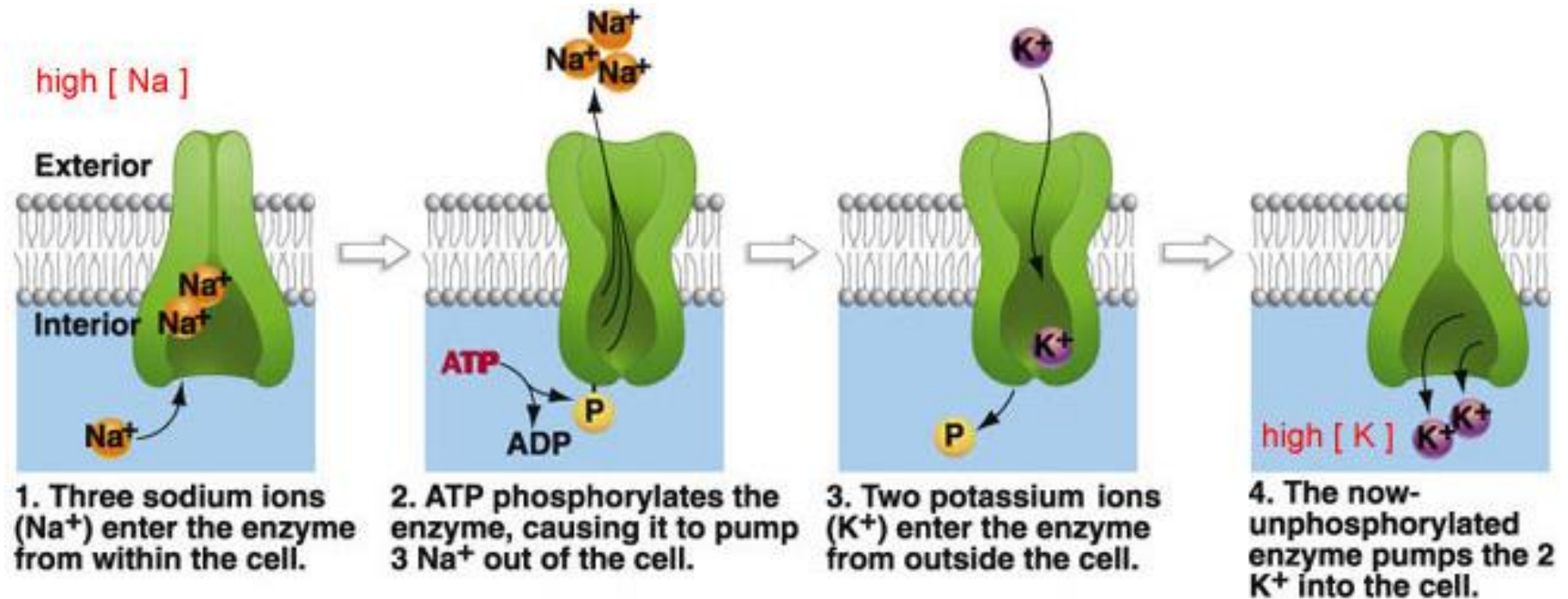


- vyskytuje se téměř ve všech živočišných buňkách



- primárně **reguluje osmolaritu** (objem buňky)
- sekundárně se podílí se na generování membránového potenciálu
- spotřebovává ca. **20 – 30 %** veškeré dostupné chemické energie (ATP)
- v nervových buňkách jsou to až **2/3** energie (!!!)
- **katalytická podjednotka α** (ca. 1000 aminokyselin)
 - vícenásobný průchod membránou
 - vazebná místa pro Na⁺ a ATP na cytosolické straně
 - vazebná místa pro K⁺ přístupné z vnější strany
 - inhibitor oubain kompetuje o K⁺ vazebné místo
- **pomocný glykoprotein β**
 - jedenkrát prochází membránou
 - je nutný pro transport katalytické podjednotky do membrány
- **malá hydrofobní podjednotka γ**

- jeden enzymatický cyklus sodíkové pumpy:

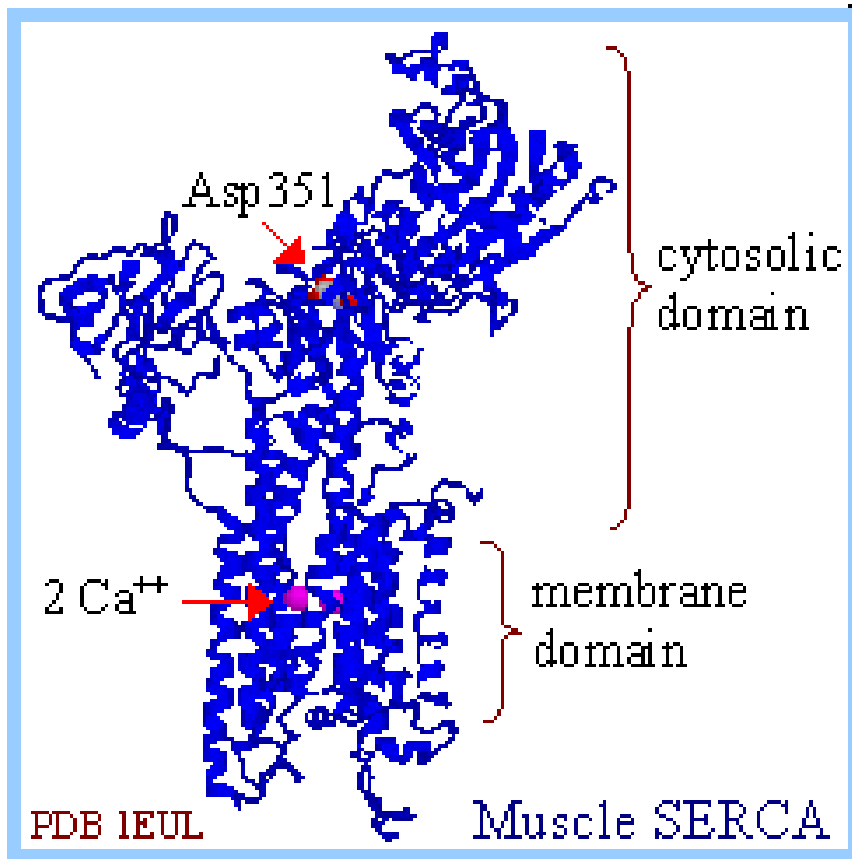


- **při každém enzymatickém cyklu přečerpá:**

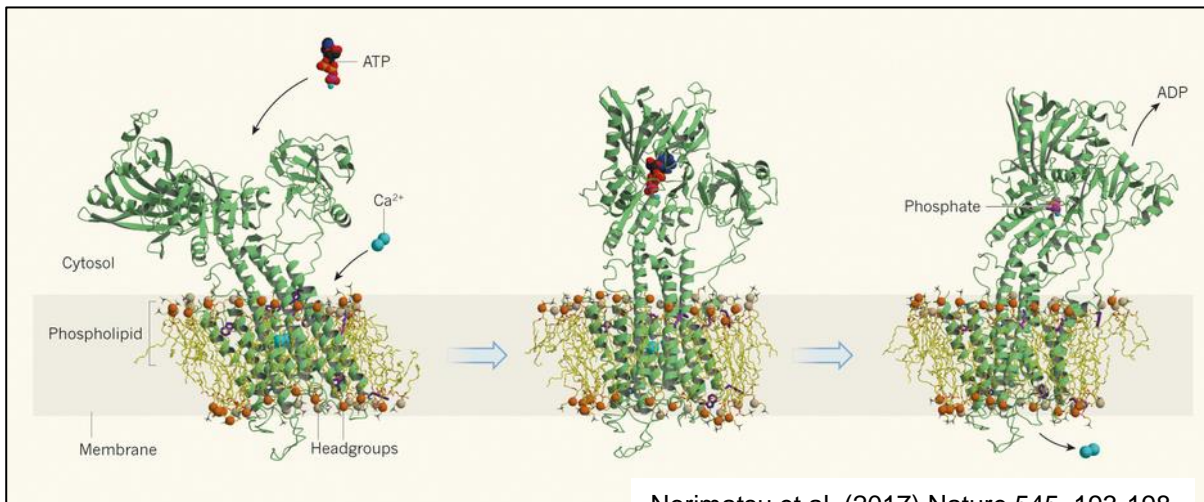
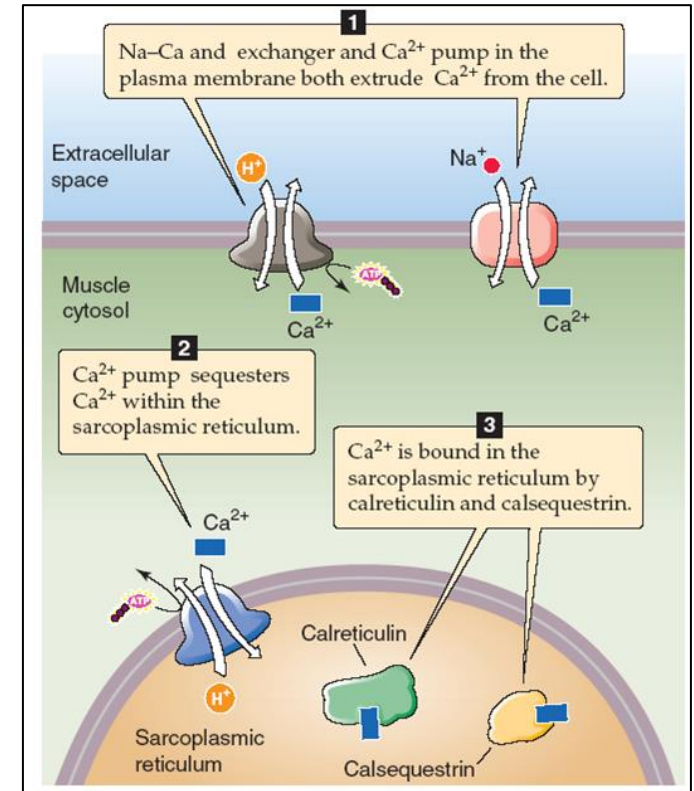
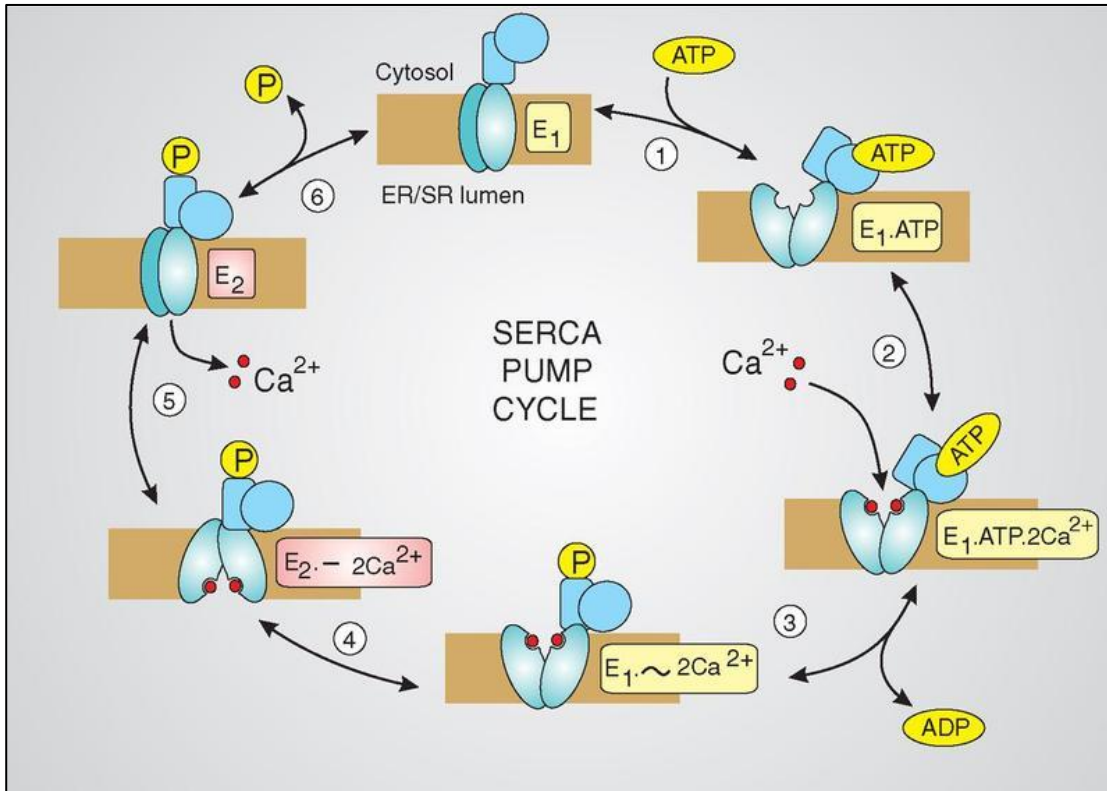
3 Na⁺ ven z buňky
2 K⁺ dovnitř buňky

při současné spotřebě (hydrolyze)
jedné molekuly ATP

- běžná koncentrace iontů Ca^{++} v cytosolu je velmi nízká
- $< 1 \mu\text{M}$



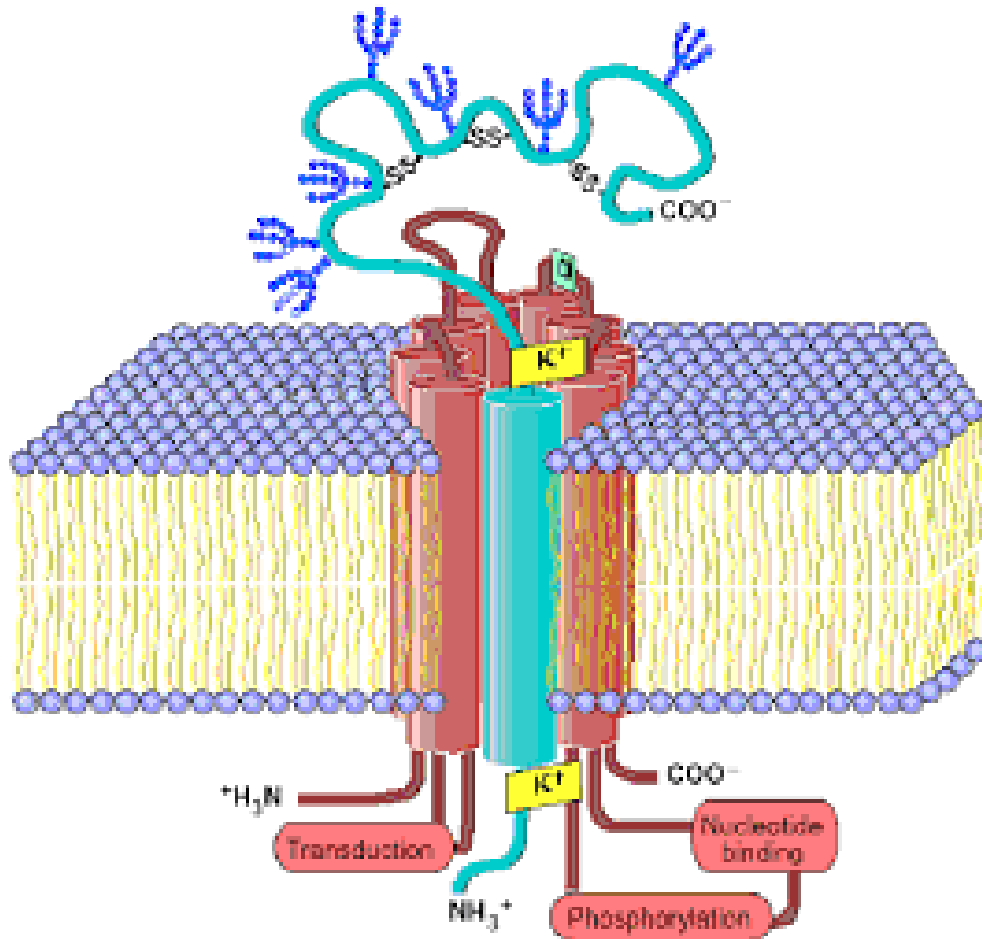
- vyskytuje se v retikulu svalových buněk
- **SERCA** (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{++} ATPase)
- zajišťuje rychlý **re-uptake Ca^{++} zpět do retikula** po iniciaci svalového stahu
- jiný typ se vyskytuje v plazmatické membráně téměř všech živočišných buněk
- **PMCA** (plasmatic membrane Ca^{++} ATPase)
- **reguluje nízkou cytosolickou $[\text{Ca}^{++}]$** tím, že neustále transportuje Ca^{++} ven z buňky
- nízká cytosolická $[\text{Ca}^{++}]$ je dále udržována **antiportem Ca^{++} proti Na^{+}**



Norimatsu et al. (2017) Nature 545, 193-198

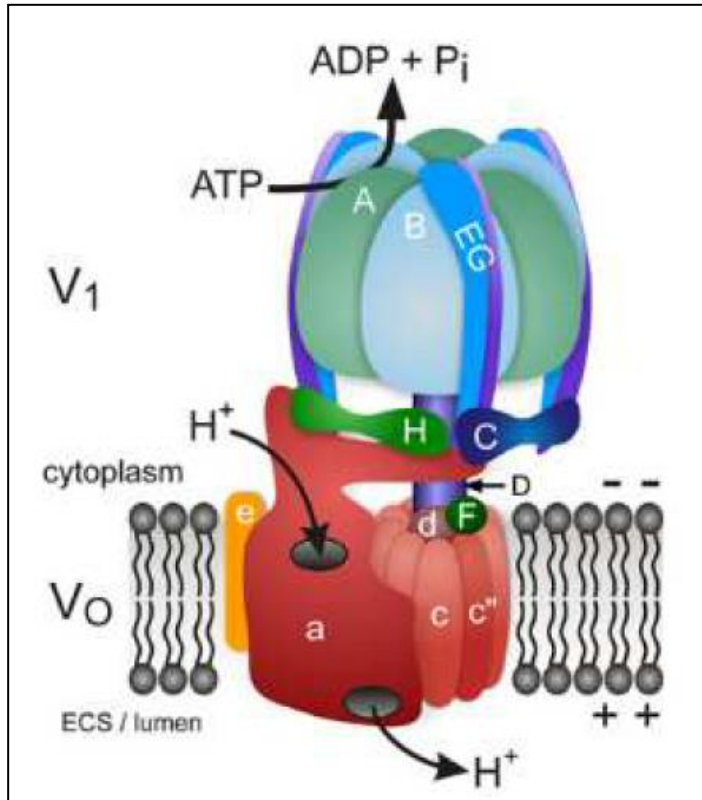
- transmembránové domény vápníkových pump interagují s fosfolipidy a tato interakce se během enzymatického cyklu mění, takže celý komplex se jakoby "houpe" v membráně, mění konformaci ... a přitom transportuje 2 ionty vápníku ...

- kyselost žaludeční šťávy dosahuje až hodnot pH ~ 1.0

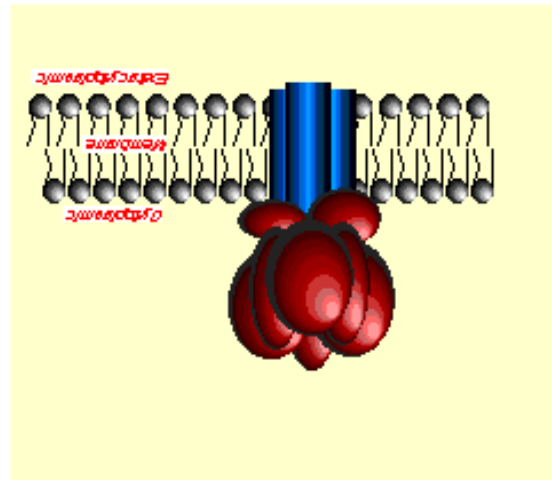


- vyskytuje se v parietálních buňkách stěny žaludku obratlovců
- aktivní antiport H^+ do žaludku proti K^+ ze žaludku
- energizuje další transporty
- především Cl^- do žaludku
- **okyseluje žaludeční šťávy**

- má celou řadu specifických úkolů v organismu



- vyskytuje se organelách (lysozomy, endosomy)
- **acidifikuje obsah organel**
- vyskytuje se také ve specializovaných epitelech
- **reguluje pH** (v ledvinách)
- **energizuje transporty jiných iontů**

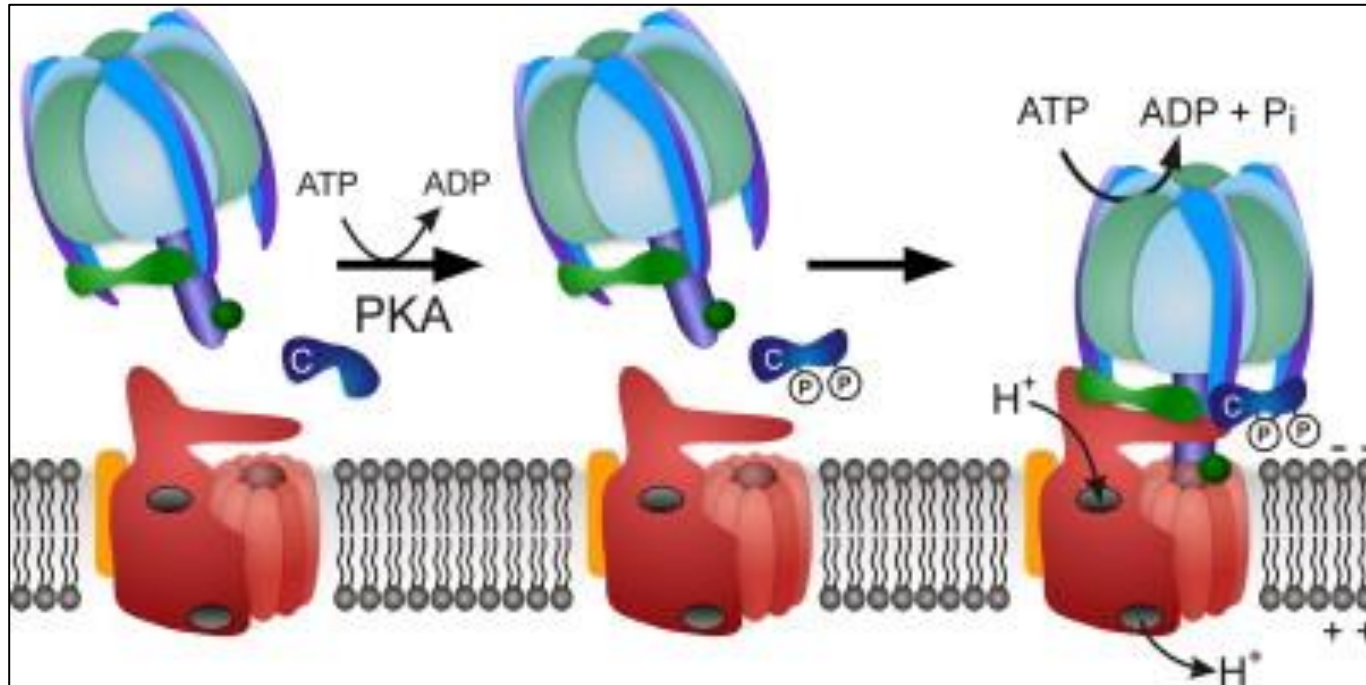


rotace části domény V1
při každém enzymatickém cyklu

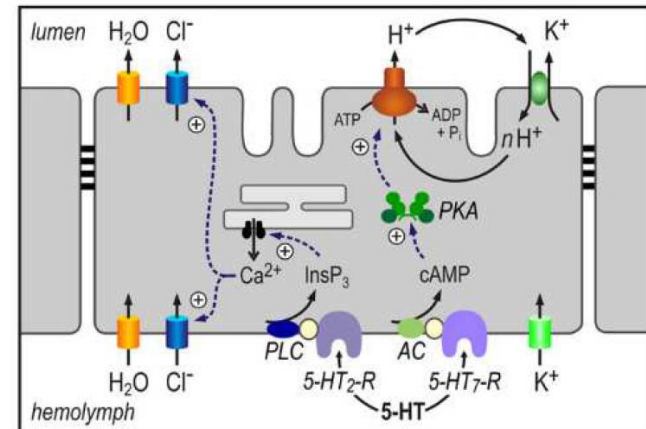
- **3D-model** struktury V-ATPázy
- **doména V₁**
- zodpovědná za hydrolýzu ATP
- **doména V₀**
- zodpovědná za transport protonů

• regulace aktivity

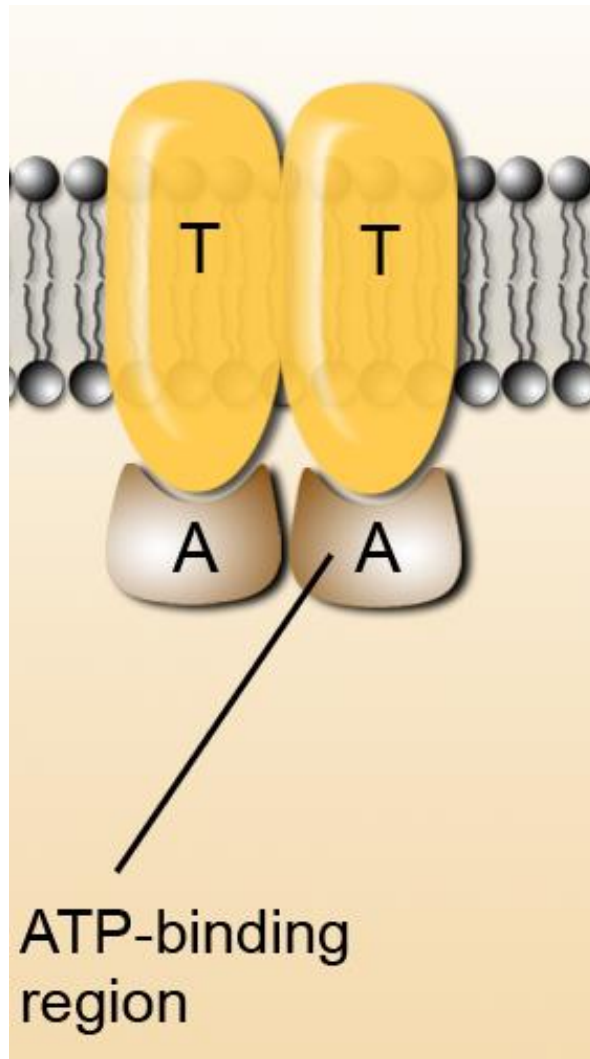
Baumann, Walz (2012): J. Insect Physiol. 58, 450-458



- aktivita V-ATPázy je regulována několika mechanismy, z nichž nejvýznamnější je rozpad částí V₀ a V₁ a de-lokalizace části V₁ do cytosolu (což vede ke ztrátě aktivity)
- rozpad je iniciován fosforylací podjednotky C pomocí PKA, jež je stimulována serotoninem (situace ve slinných žlázách masařky – obr. vpravo)
- u obratlovců je také možno:
 - fosforylovat podjednotku A a tak zvýšit aktivitu,
 - stáhnout celý komplex do intracelulárního vesiklu endocytózou,
 - vytvářet disulfidický můstek uvnitř podj. A,



- velká a funkčně rozmanitá nad-rodina (více než 50 typů)



- **ATP Binding Casette proteins**

- T – dvě transmembránové domény s menší či větší specificitou pro substrát
- A – dvě ATP-vázající domény
- evolučně velmi stará (silně rozvinutá již u archaeí a bakterií)
- **hlavní funkce:**
 - import živin do buňky**
 - export toxických látek z buňky**
 - imunita**
- spektrum transportovaných látek je velmi široké
 - ionty (Fe^{++} , další kovy)
 - cukry, aminokyseliny
 - lipidy, cholesterol, žlučové kyseliny, vitamíny, hem
 - hydrofóbní cizí molekuly (léčiva)
 - (MRP = Multidrug Resistance Proteins)
 - nukleotidy a nukleosidy
 - glukuronované látky, organické anionty
 - peptidy
 - proteiny

- v zásadě neexistuje žádná čistě chloridová pumpa ... i když je někdy uváděna ve výčtu primárních systémů

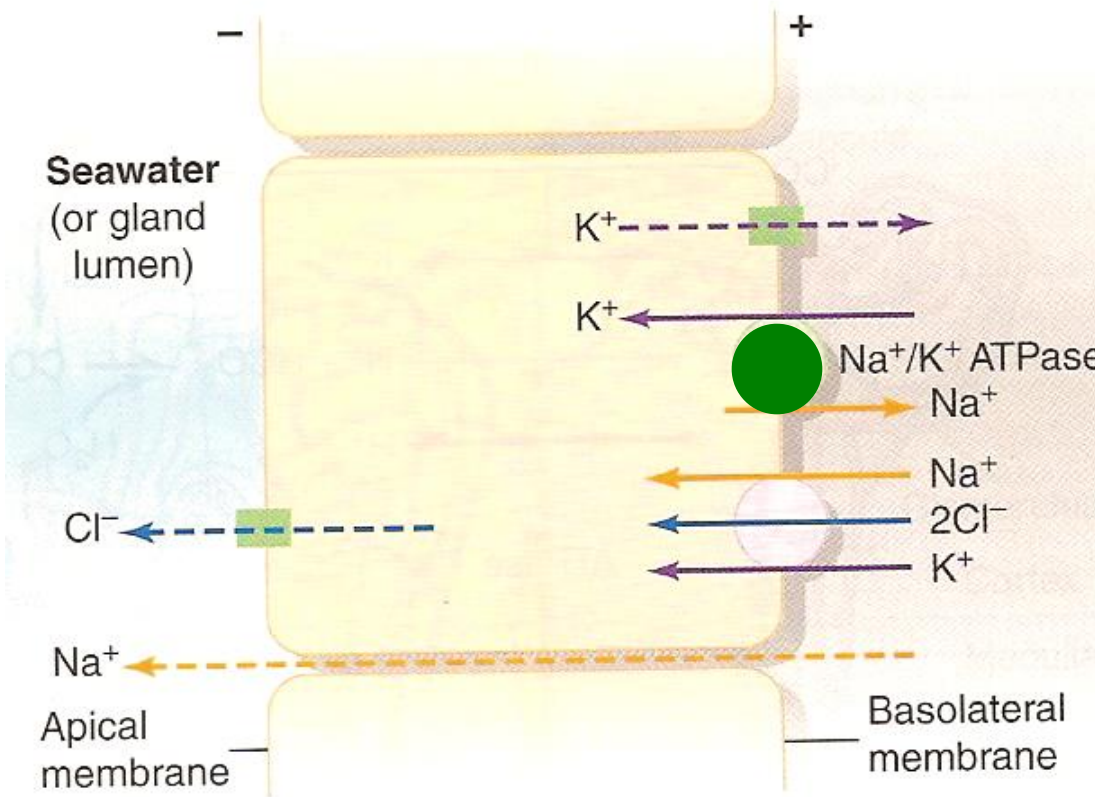


schéma mechanismu odstraňování přebytku soli u různých mořských hypo-osmotických organismů (tento systém se někdy označuje jako „chloridová pumpa“)

- jde o označení, používané v literatuře pro různé **sekundární transportní systémy**, jejichž čistým produktem může být transport chloridových iontů PROTI jejich koncentračnímu gradientu

- **žádný primární systém ale nebyl dosud popsán**

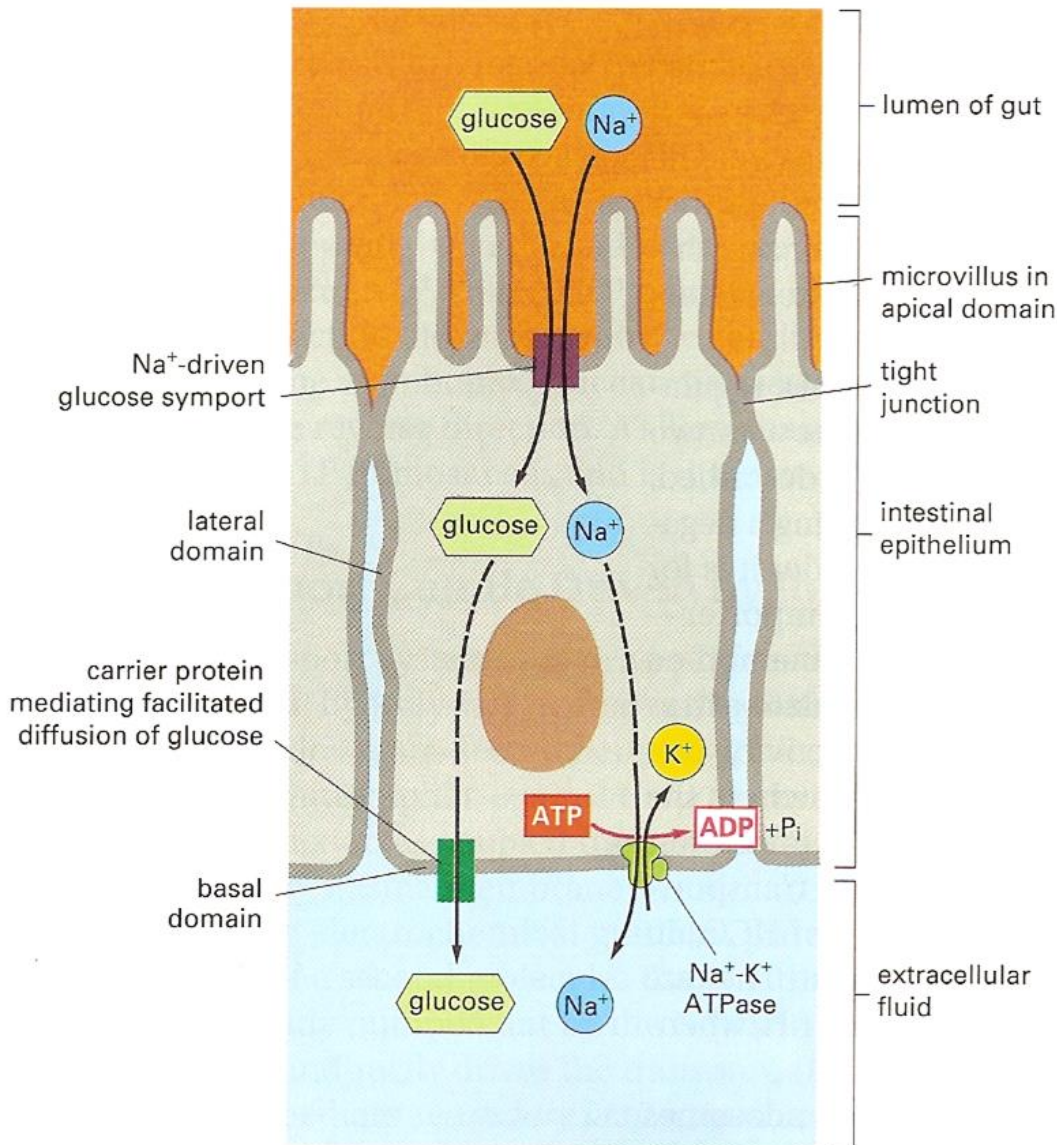
- ABC-C7 (CFTR) transportní protein velmi *pravděpodobně* funguje jako ATP-senzitivní chloridový kanál v plazmatické membráně epitelů. ATP hydrolyza je nutná k jeho otevření. (Jeho mutace způsobuje cystickou fibrózu)

- **ko-transportní sekundární systémy:** (aktivní transport chlóru)

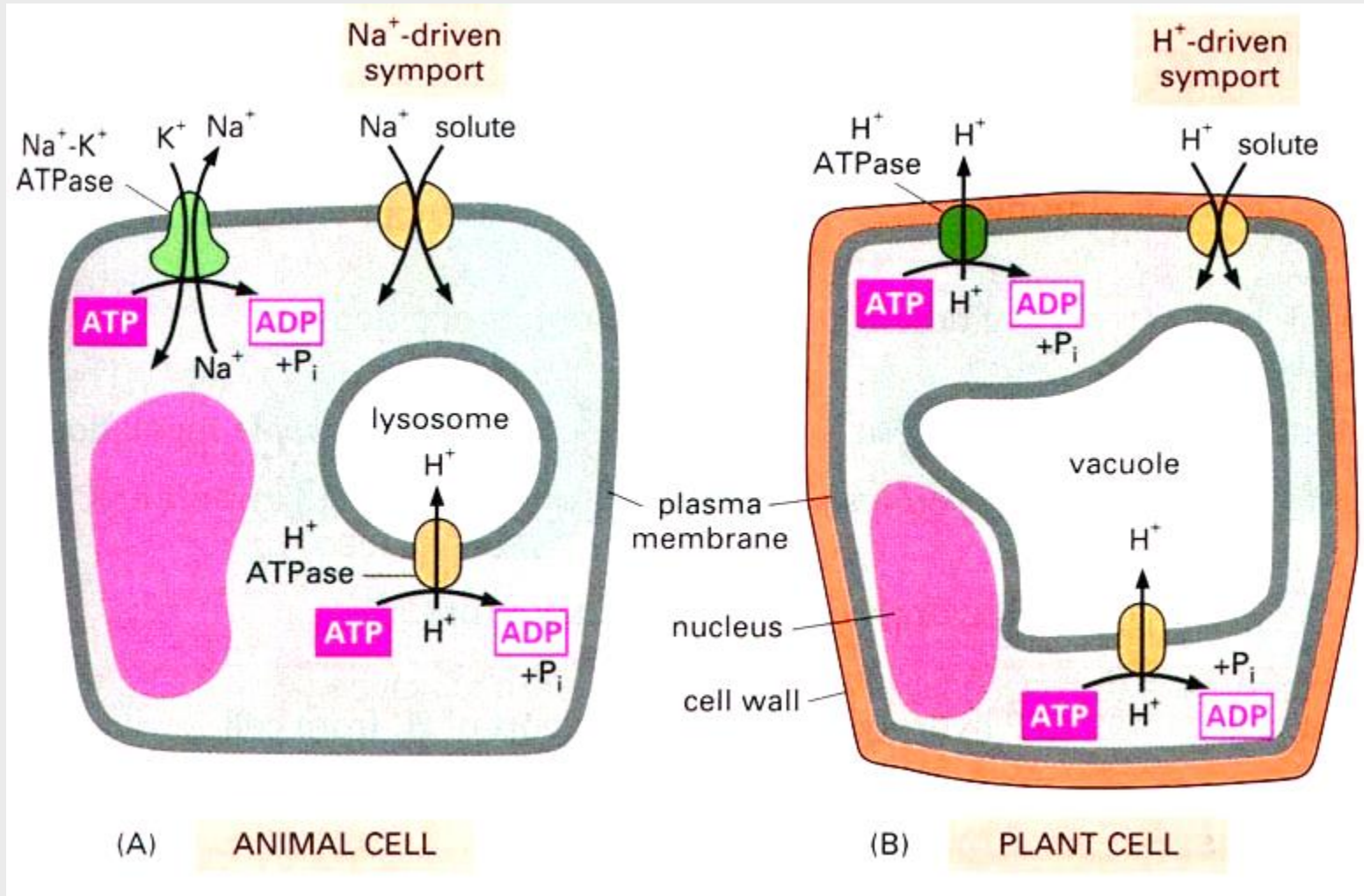
antiport s aniontem (HCO_3^-)
 symport se sodíkem
 symport s draslíkem
 symport se sodíkem a draslíkem
 symport s protonem

- **chloridové kanály** (pasivní transport chlóru)

- princip spřažení primárních a sekundárních transportů:

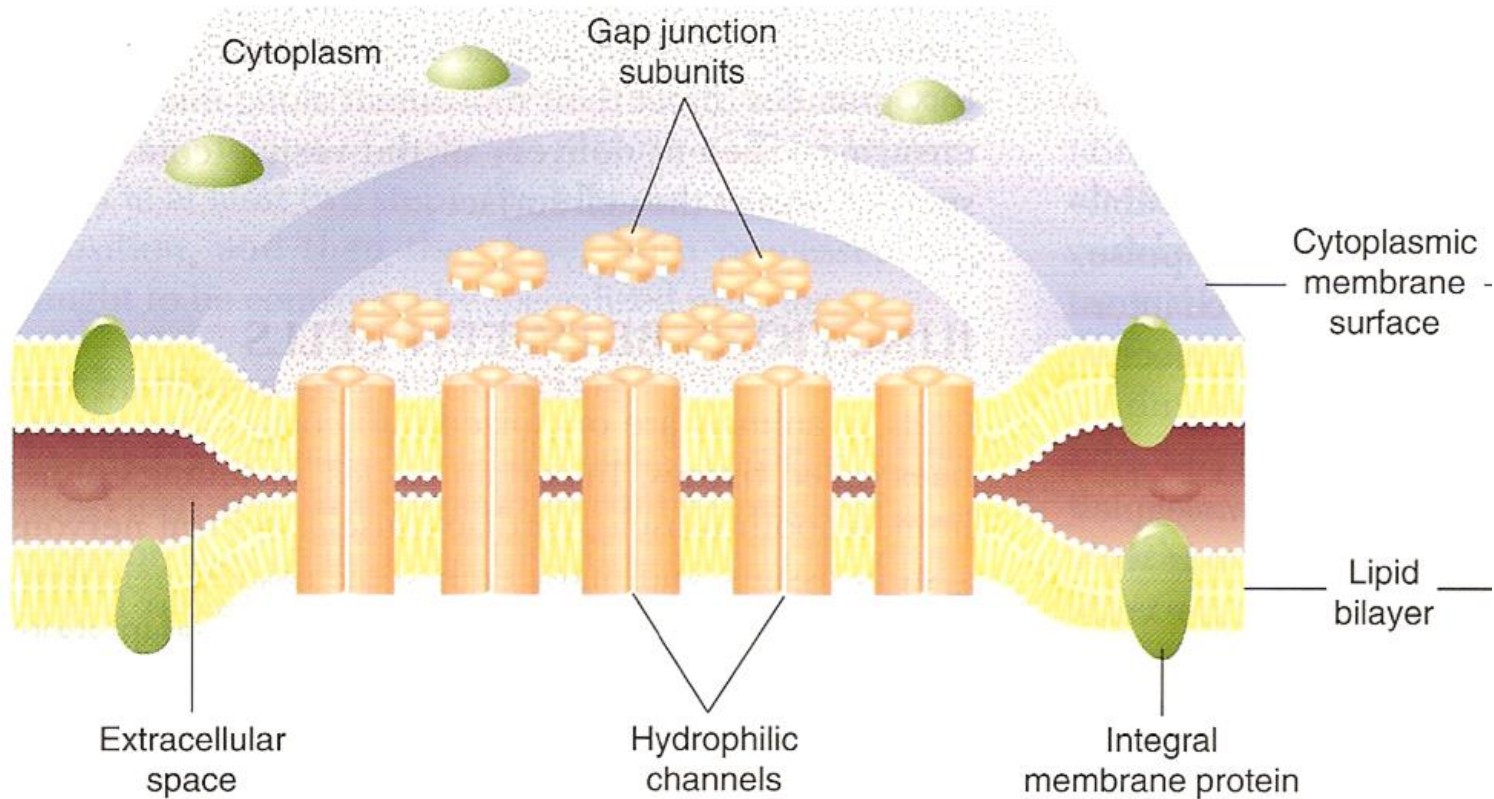


- **příklad:**
transport glukózy z lumenu střeva do intersticia (a dále do krevní kapiláry)
- celý proces je energizován Na/K-ATPázami na bazálních a laterálních membránách (**primární aktivní transport**)
- ty vytváří nízkou [Na⁺] uvnitř epitelálních buněk
- sodné ionty vstupují do buněk na apikální membráně (opatřené mikrovlásky) po svém koncentračním spádu a zároveň je symportována glukóza (**sekundární symport**)
- vysoká koncentrace glukózy uvnitř buněk umožňuje transport jejích molekul do intersticia pomocí přenašečového proteinu (permeázy) (**usnadněná difúze**)
- na podobném principu "spřažení" několika různých systémů funguje řada transportů



- rostliny nemají NaK-ATPázu
- energizujícím transportérem je H^+ -ATPáza

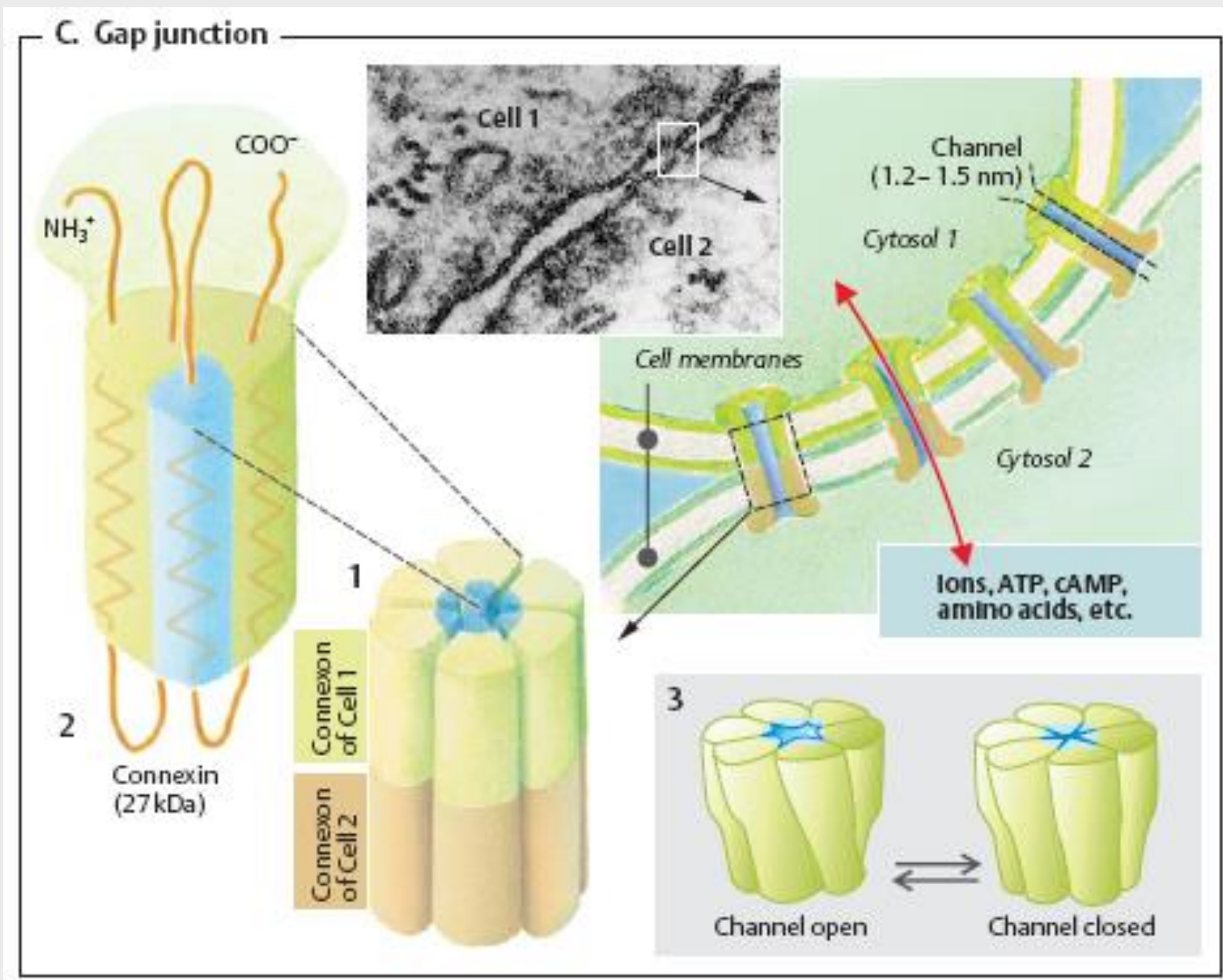
- gap junctions



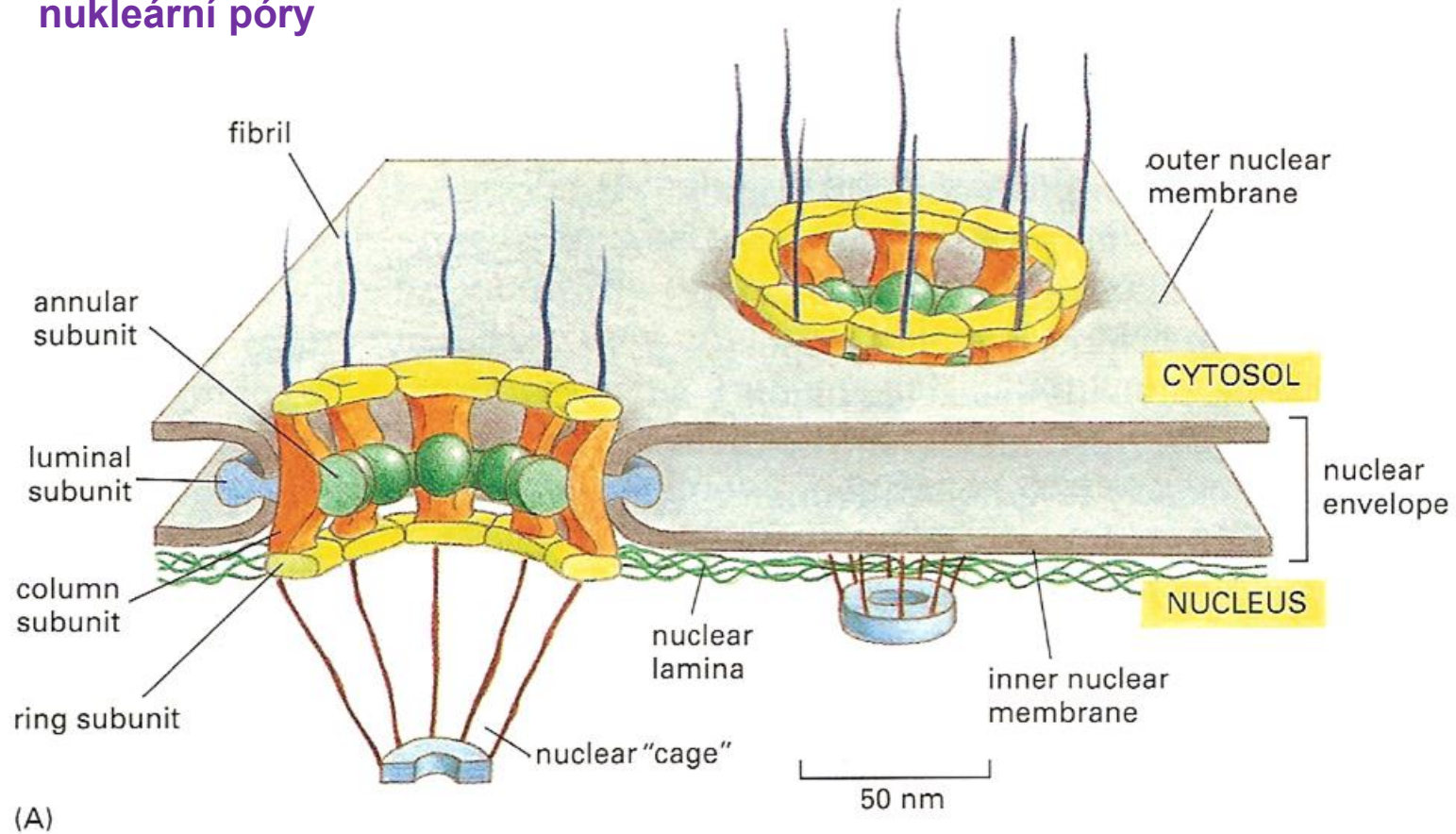
- hexamerní transmembránový protein tvoří vodný kanál ca. 5 nm široký
- uzavírají se po zvýšení koncentrace vápenatých iontů nebo protonů

- **volně prochází:** ionty (tedy náboj !)
cukry
aminokyseliny
nukleotidy

- **neprocháží:** proteiny
RNA



- nukleární póry



- tvoří kanál široký ca. 50 nm

- volně prochází:** RNA i menší proteiny

- asistovaný průchod:** větší proteiny

pomocí šaperonů
(hsp70, hsp90)
za spotřeby ATP