

Kompartimentace metabolických drah (FBLT)

Náplň podkapitoly

1. Význam kompartimentace pro buňku
2. Biologické membrány
3. Selektivní transport
4. Intracelulární transport
5. Kompartimentace drah

Význam kompartimentace pro buňku

Všechny reakce probíhající v buňkách se odehrávají v určitém prostoru – **kompartimentu**, který je oddělen od ostatních kompartimentů semipermeabilními membránami. Takto jsou oddělena i chemicky různorodá prostředí, což v nich napomáhá optimalizovat průběh chemických reakcí.

Enzymy katalyzující jednotlivé reakce mají totiž často různá **teplotní a pH optima** a při existenci jen jednoho prostoru v buňce by část enzymů pravděpodobně nebyla funkční nebo by jimi zprostředkovaná katalýza nebyla dostatečně efektivní. Rozdělením prostoru se mohou vytvořit **optimální podmínky** pro průběh jednotlivých enzymaticky katalyzovaných reakcí.

Zároveň je před činností lytických enzymů chráněna i samotná buňka. Například uzavřením buněčného trávení do lyzozomů se znemožní nechtěné samonatravení buněčných struktur. Častým jevem souvisejícím s narušením kompartimentace buňky (např. vylití obsahu lyzozomů nebo mitochondrií) je nekróza nebo aktivace apoptózy – programované buněčné smrti.

Oddělením prostředí je ovlivněna i **regulace metabolických drah**. Ta může být přesnější a cílenější a nezasahuje do chodu drah probíhajících v jiných kompartimentech. Někdy lze regulovat průběh reakcí už na místě vstupu jednotlivých substrátů do kompartimentu (přestup přes membránu, často zprostředkovaný transportními mechanismy).

Kompartimentace však zároveň klade zvýšené nároky na energetickou spotřebu buňky. Je nutné využít ATP-dependentních přenašečů **transportujících látky přes membrány proti koncentračnímu gradientu a vytvářejících tak v oddělených prostorech různá prostředí**.

Biologické membrány

Architektura

Základní architekturu cytoplazmatické membrány tlusté přibližně 6–10 nm tvoří **fosfolipidová dvojvrstva** prostoupená proteiny a cholesterolem. Na bílkoviny i fosfolipidy mohou být navázány sacharidy, které tak tvoří **glykolipidy a glykoproteiny**. Tato základní stavba, u membrán jednotlivých organel v různé míře pozměněná, ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti membrán (zejména jejich propustnost) úzce související s funkcí a průběhem biochemických procesů v příslušné organelle.

Příkladem může být myelinová pochva neuronů, v níž činí poměr proteinů k lipidům 19 % : 81 % (což zapříčiňuje jejich vynikající izolační vlastnosti) nebo vnitřní membrána mitochondrií, ve které se poměr obrací ve prospěch proteinů 76 % : 24 % (a souvisí s její značnou nepropustností i pro látky, jež membránami běžně procházejí).

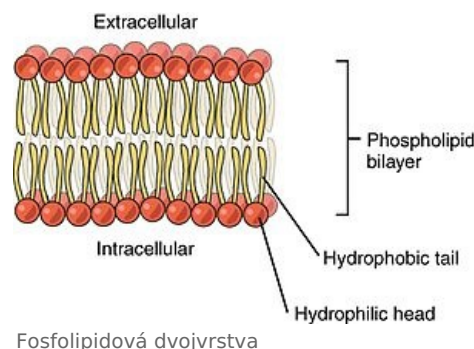
Molekuly fosfolipidů tvoří dvě fyzikálně odlišné části:

1. Polární (hydrofilní) část

Polární část je tvořena **fosfátovou skupinou**, případně na ni navázanými skupinami – tato část je obrácena směrem **do vodného prostředí** (nebo k jinému polárnímu rozpouštědлу).

2. Nepolární (hydrofobní) část

Nepolární část vytvářejí **řetězce MK** obrácené proti sobě a tvořící tak **hydrofobní jádro membrány**. Právě na základě hydrofobních interakcí mají fosfolipidy tendenci shlukovat se a tvořit membrány.



Molekula fosfolipidu tedy obsahuje jak polární, tak nepolární části, jedná se o tzv. **amfipatickou molekulu**.

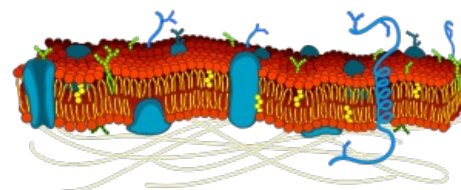
Historická korelace

Současně používaný model popisující strukturu biologických membrán vytvořili v roce **1972 S. J. Singer a G. L. Nicolson**. Podle tohoto **fluidně mozaikového modelu** můžeme membrány považovat za formu 2-dimensionální kapaliny, ve které molekuly fosfolipidů a proteinů v různé míře difundují.

Pohyblivost fosfolipidů je mnohem vyšší než mobilita ostatních komponent membrán. Proto místa, ve kterých jsou **proteiny či cholesterol v membráně** zabudovány, vykazují nižší laterální pohyblivost a membránu tak stabilizují (týká se to zejména cholesterolu). Části membrány tvořené převážně lipidy se někdy mohou překloupat na opačnou stranu tzv. *flip-flop mechanismem*.

Fluidita membrány závisí především na:

1. **Teplotě** – při vyšší teplotě je membrána pohyblivější, tzv. *fáze gel*, při teplotách nižších je tužší, tzv. *fáze sol*
2. **Podílu nenasycených MK** – čím je jejich obsah vyšší, tím je membrána pohyblivější (fáze gel)



Detailní struktura buněčné membrány

Proteiny tvoří základní složku buněčných membrán. Podle jejich uložení v membráně je rozdělujeme na periferní a integrální proteiny.

- **Periferní proteiny** neprostupují do hydrofobního jádra membrány, vážou se jen na její **povrch** (z extra- nebo intracelulární strany), a proto se dají od membrány **oddělit bez jejího poškození**. Interakce, které se vazeb účastní jsou především elektrostatické síly a vodíkové můstky.
- **Integrované proteiny** membránou prostupují, a to buď v celé její tloušťce – tzv. **transmembránové** proteiny – nebo do různé hloubky. Oddělení těchto proteinů od membrány je spojeno s narušením její integrity.

Proteiny plní v biologických membránách funkci:

- receptorovou,
- transportní,
- enzymatickou.

Cholesterol tvoří asi jednu čtvrtinu všech lipidů v membráně. Molekula cholesterolu, podobně jako molekula fosfolipidů, má díky OH- skupině navázané na třetí uhlík amfipatický charakter. Základní funkcí cholesterolu v membránách živočišných buněk je jejich **stabilizace a snižování fluidity**.

Vlastnosti biologických membrán

Permeabilita, čili propustnost membrány (vyjadřuje míru pasivní difuze částic skrze membránu), se řídí Fickovým zákonem difuze a závisí na více faktorech:

1. **Velikost a polarita prostupujících molekul** – malé a nepolární molekuly procházejí membránou snadno, zatímco větší a polární molekuly obvykle potřebují přenašeče nebo kanály.
2. **Koncentrační gradient** – čím vyšší je koncentrace látky na jedné straně membrány, tím větší bude mít **tendenci pronikat** na stranu opačnou. Tohle pravidlo platí i pro ostatní gradienty – jako elektrochemický (daný rozdílem nábojů na obou stranách membrány) nebo osmotický (daný rozdílem osmoticky aktivních částic na obou stranách membrány).
3. **Tloušťka membrány** – čím tlustší membrána, tím pomaleji přes ni látky procházejí.
4. **Plocha membrány** – větší plochou membrány může za jednotku času projít větší množství látky.

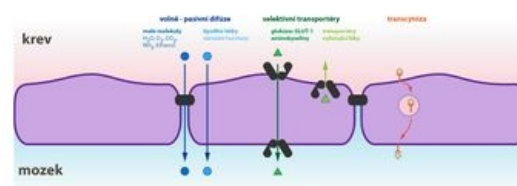
Mezi další vlastnosti membrán patří míra tepelné a elektrické izolace, elektrického náboje. Celkový náboj cytoplazmatické membrány je **negativní** – je dán především negativními zbytky sialové kyseliny v glykolipidech a glykoproteinech. Membrány mají schopnost **selektivního transportu**.

Selektivní transport

Selektivní transport můžeme rozdělit na:

1. Pasivní transport
2. Aktivní transport
3. Prostup makromolekul

Na tomto schématu je jako příklad uveden transport látek přes hematoencefalickou bariéru (bariéra mezi krví a nervovou tkání):



Pasivní transport

Probíhá **bez spotřeby energie**, na základě fyzikálního principu difuze, jen s využitím koncentračního gradientu látky mezi oběma stranami membrány. Bez existence gradientu se pasivní transport zastaví. Rozlišujeme dva základní typy pasivního transportu – prostá a facilitovaná difuze.

Prostá difuze

Jde o přestup látek přes membránu bez pomoci transportních proteinů. Látky musejí projít hydrofobním centrem membrány, a proto je tento typ transportu typický zejména pro:

- malé nepolární molekuly – plyny (CO_2 , O_2 , ...);
- malé polární molekuly – voda, močovina;
- větší nepolární molekuly – MK, cholesterol, vitaminy rozpustné v tucích.

Hydrofilní a větší molekuly (zejména s $M_r > 200$) procházejí prostou difuzí jen velice pomalu, případně téměř vůbec. Transportu iontů, jejichž molekuly jsou relativně malé, brání především objemný **hydratační obal** vytvořený molekulami vody.

Facilitovaná (usnadněná) difuze

Jedná se o pasivní transport za pomoci **transportních proteinů**, na které se přenášená molekula nekovalentně naváže a jejichž prostřednictvím je přenesena na druhou stranu membrány. Facilitovaná difuze probíhá rychleji než prostá a může být spojena s transportem jiné látky v protisměru – tzv. **antiport**, např. ATP za ADP, Cl^- za HCO_3^-). Nabízí se i možnost transportu přes **tunelovou bílkovinu** procházející skrz celou tloušťku membrány. Při přenosu dochází ke změně její konformace. Některé kanály mohou být ovládány na základě změn membránového potenciálu (napětově-ovládané kanály).

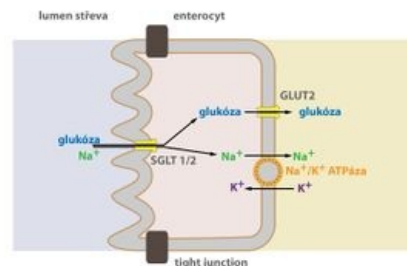
Kinetika difuze

Kinetika prosté a facilitované difuze se liší. U difuze prosté dochází k lineárnímu nárůstu rychlosti difuze při zvyšování koncentrace přenášené látky. Přenašečové proteiny facilitované difuze mají ale kapacitu omezenou (je dána jejich celkovým počtem v membráně) a při vysokých koncentracích látky se rychlost difuze zpomaluje, až se ustálí na maximální rychlosti, při níž jsou přenašečové proteiny plně saturovány.

GLUT přenašeče

K nejvýznamnějším příkladům facilitované difuze patří transport glukózy prostřednictvím **GLUT** přenašečů (Glucose transporters). Kontinuální existenci koncentračního gradientu pro glukózu zabezpečuje její intracelulární přeměna na **glukóza-6-fosfát** a její následné využití v metabolických drahách. Celkově existuje až sedm typů GLUT přenašečů. Blíže se zmíníme jen o některých z nich:

1. **GLUT 1 a 3** slouží k udržení bazálního vychytávání glukózy tkáněmi, jejichž metabolismus je na **glukóze závislý**, např. mozek, erytrocyty, ale také ledviny a placenta.
2. **GLUT 2** lokalizovaný na membráně **β -buněk pankreatu a hepatocytů** umožňuje také přestup glukózy z resorpčních epitelů (proximální tubulus ledvin, enterocyty střeva) do krve.
3. **GLUT 4** je transportérem glukózy v tzv. **inzulin-dependentních tkáních** (kosterní sval, myokard a tuková tkáň). Jeho vystavení na membráně je totiž podmíněno přítomností vyšších hladin inzulínu v krvi. K tomu dochází zejména po jídle, kdy jsou zmíněné tkáně zodpovědné za metabolismus až 80 % glukózy z krve. V období mezi jídly ji naopak neresorbují a šetří ji pro tkáň na ní závislé.



GLUT 2

Aktivní transport

Může probíhat i **proti koncentračnímu a elektrochemickému gradientu**. Transport je v tomto případě spážen s **hydrolyzou ATP** → ADP a P_i a uvolněná energie se **využije na přenos**. Rozlišujeme dva základní druhy aktivního transportu:

1. Primární aktivní transport
2. Sekundární aktivní transport

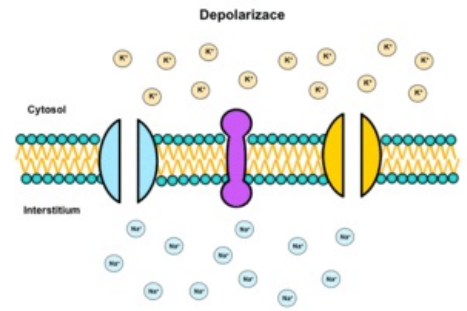
Primární aktivní transport

Energie **ATP** je využita **přímo na přenos příslušné látky** přes membránu. Jako příklady nám poslouží **Na⁺/K⁺-ATPáza**, **H⁺/K⁺-ATPáza** a **Ca²⁺-ATPáza**.

Na⁺/K⁺-ATPáza

Sodno-draselná pumpa je tetramer složený ze **dvou alfa** a **dvou beta podjednotek**. Alfa podjednotky prostupují celou šíří membrány, intracelulárně mají **vazebné místo pro Na⁺** a extracelulárně pro **K⁺**. Beta podjednotky jsou na rozdíl od nich glykosylované a nejsou transmembránové (jsou otočeny svými oligosacharidovými řetězci směrem do extracelulárního prostoru).

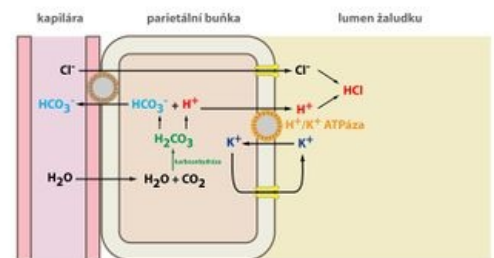
Enzym může být přítomný ve dvou odlišných konformacích podle toho, zda je fosforylován anebo ne. Na⁺/K⁺-ATPáza funguje jako **antiport** a **za spotřeby ATP přenáší 3 kationty Na⁺ směrem ven z buňky výměnou za 2 kationty K⁺ směřující dovnitř buňky**. Tímto způsobem vytváří nerovnoměrné rozložení iontů na membráně, které je podkladem **klidového membránového potenciálu**. Na⁺/K⁺-ATPáza je **ubikvitární** – nachází se nejspíše na všech buňkách lidského těla.



Na⁺/K⁺-ATPáza – animace

H⁺/K⁺-ATPáza

Je antiport fungující podobně jako Na⁺/K⁺-ATPáza, je lokalizován v **parietálních buňkách žaludku**, kde se podílí na tvorbě žaludeční šťávy, a v **proximálních tubulech ledvin**. **Přenáší jeden iont H⁺ směrem ven z cytoplazmy výměnou za jeden iont K⁺**.



Ca²⁺-ATPáza

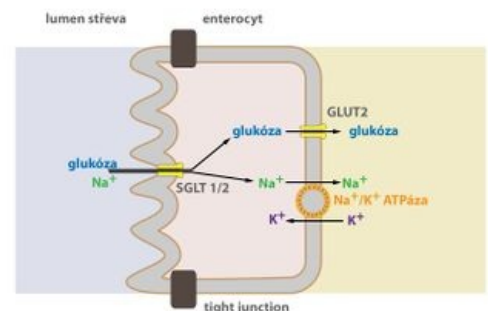
Je vápníková pumpa, která se nejvíce objevuje ve svalových a nervových buňkách. Aktivně přečerpává vápenaté ionty směrem ven z cytoplazmy, a to buď do **sarkoplasmatického retikula** či **extracelulárně**. Ve svalecth tím umožňuje snížit koncentraci Ca²⁺ na úroveň před kontrakcí.

Sekundární aktivní transport (sekundárně aktivní transport či kotransport)

V tomto případě je energie ATP využita nikoli přímo během přenosu příslušné látky (např. glukózy), ale k přenosu látky jiné (např. sodný kationt), pro kterou tím v buňce vzniká koncentrační nebo elektrochemický **gradient**. Ten je motorem pro přenos příslušné látky (glukózy) pomocí jejích přenašečů (Sodium Glucose Transporter – SGLT). Přenašeč provádějící sekundární aktivní transport (SGLT) tedy přemísťuje minimálně **dvě částice** – jednak tu, jež má být přenesena (glukóza), a jednak tu, která tento přenos pohání (Na⁺) – neboli pro kterou je v buňce gradient.

K tomu, aby byl tento gradient zachován, se vyžaduje **druhý transportér** (např. Na⁺/K⁺-ATPáza), který může být lokalizován i na jiném úseku membrány. Tento druhý transportér je místem, kde se **spotřebovává energie** (ATP) – proto aktivní transport. V závorkách se uvádí příklad sekundárně aktivního přenosu glukózy poháněného gradientem sodného kationtu skrze **Sodium Glucose Transporter**, gradient pro Na⁺ vytváří Na⁺/K⁺-ATPáza. Podle směru transportu rozlišujeme **symport** (obě částice jsou přenášeny stejným směrem – např. do buňky) a **antiport** (částice jsou přenášeny opačným směrem – jedna do buňky a jedna z buňky). **SGLT provádí symport glukózy a Na⁺**.

Na obdobném principu funguje i existence **terciárního aktivního transportu**.



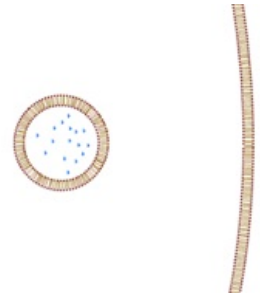
Prostup makromolekul přes membránu

Může být podle směru:

1. **Exocytóza**: proces, při kterém makromolekuly buňku opouštějí. Během exocytózy dochází k spojení membrány transportní vesikuly a cytoplasmatické membrány a makromolekuly mohou buď být uvolněny do mezibuněčného prostoru, nebo zůstat součástí povrchu buňky.
2. **Endocytóza**: proces, při němž jsou makromolekuly buňkou přijímány. Cytoplasmatická membrána invaginuje dovnitř buňky, až se vytvoří transportní vesikula. Podle chemické povahy přenášených molekul se

jedná o:

- **Pinocytózu:** přenos makromolekul ve formě roztoku. Proces může být neselektivní (místo invaginace na povrchu buňky je nahodilé) anebo selektivní (v místě specifických povrchových receptorů).
- **Fagocytózu:** ingesce velkých částic, které buňka nejprve obalí výběžky cytoplazmatické membrány (pseudopodie) a posléze kolem nich vytvoří vakuolu.



Exocytóza – animace

Intracelulární transport

Transport uvnitř buňky se může uskutečnit prostřednictvím:

1. **Difuze** – látky rozpuštěné ve vodném prostředí cytosolu.
2. **Transportu sekrečními vezikuly** – typicky se proteiny tvořené drsným ER nejdříve přesunou do GA a z něj se pak oddělují sekreční vezikuly nebo lyzosomy. Na transportu sekrečních vezikul se podílejí transportní motorové proteiny (dynein a kinesin), které se pohybují za spotřeby ATP po povrchu mikrotubulů (dynein směrem k – a kinesin k + koncům).

Kompartimentace drah

Cytosol

Jedná se o cytoplasmu samotnou, tzn. tekutá část bez organel. Odehrává se zde metabolismus:

- **sacharidů:** glykolýza, část glukoneogeneze, glykogenolýza a syntéza glykogenu a pentózový cyklus
- **mastných kyselin:** syntéza MK
- **aminokyselin:** syntéza neesenciálních AMK, některé transaminace

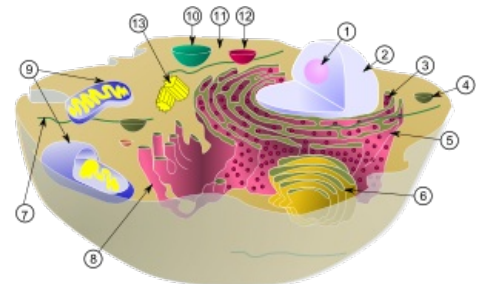
Mimo jiné zde probíhá i část drah syntézy hemu a močoviny, metabolismu purinů a pyrimidinů.

Mitochondrie

Patří k důležitým organelám buněčného metabolismu. Probíhá tady metabolismus:

- **sacharidů:** PDH, začátek glukoneogeneze (přeměna pyruvátu na oxalacetát)
- **mastných kyselin:** β -oxidace MK (Lynenova spirála), syntéza ketolátů (jen jaterní buňky), degradace ketolátů (jen extrahepatální tkáně)
- **aminokyselin:** oxidativní deaminace glutamátu a některé transaminace

Je zde lokalizována spojnice všech katabolických reakcí – Krebsův cyklus. Na vnitřní mitochondriální membráně probíhá dýchací řetězec a oxidativní fosforylace. Mitochondrie jsou také důležité pro syntézu hemu a močoviny.



Buněčné organely – 1. jádérko, 2. jádro, 3. ribozom, 4. váček, 5. hrubé endoplazmatické retikulum, 6. golgiho aparát, 7. cytoskelet, 8. hladké endoplazmatické retikulum, 9. mitochondrie, 10. vacuola, 11. cytozol, 12. lyzozom, 13. centriol

Drsné endoplazmatické retikulum

Má důležitou roli v **proteosyntéze** (probíhá zde translace mRNA). Nasyntetizované proteiny se zde následně **posttranslačně modifikují** (oxidace, štěpení, metylace, fosforylace, glykosylace).

Hladké endoplazmatické retikulum

Má významnou roli v **syntéze TAG a fosfolipidů**. Jsou zde lokalizovány enzymy pro **elongaci** (do max. délky 24 uhlíků v nervové tkáni) a **desaturaci** (do max. vzdálenosti 9 uhlíků od karboxylové skupiny) mastných kyselin. Probíhá tady část syntézy steroidů a biotransformace xenobiotik. V některých tkáních je zde lokalizovaná **glukóza-6-fosfatáza**, která proměňuje glukóza-6-fosfát na glukózu.

Golgiho aparát

Také zde probíhá posttranslační modifikace proteinů (např. glykosylace), dále třídění proteinů a tvorba **sekrečních vezikul**.

Lyzosomy

Slouží k **hydrolytickému štěpení** proteinů, sacharidů, lipidů a nukleových kyselin.

Peroxisomy

Slouží na degradaci MK s dlouhým řetězcem (od 20 uhlíků).