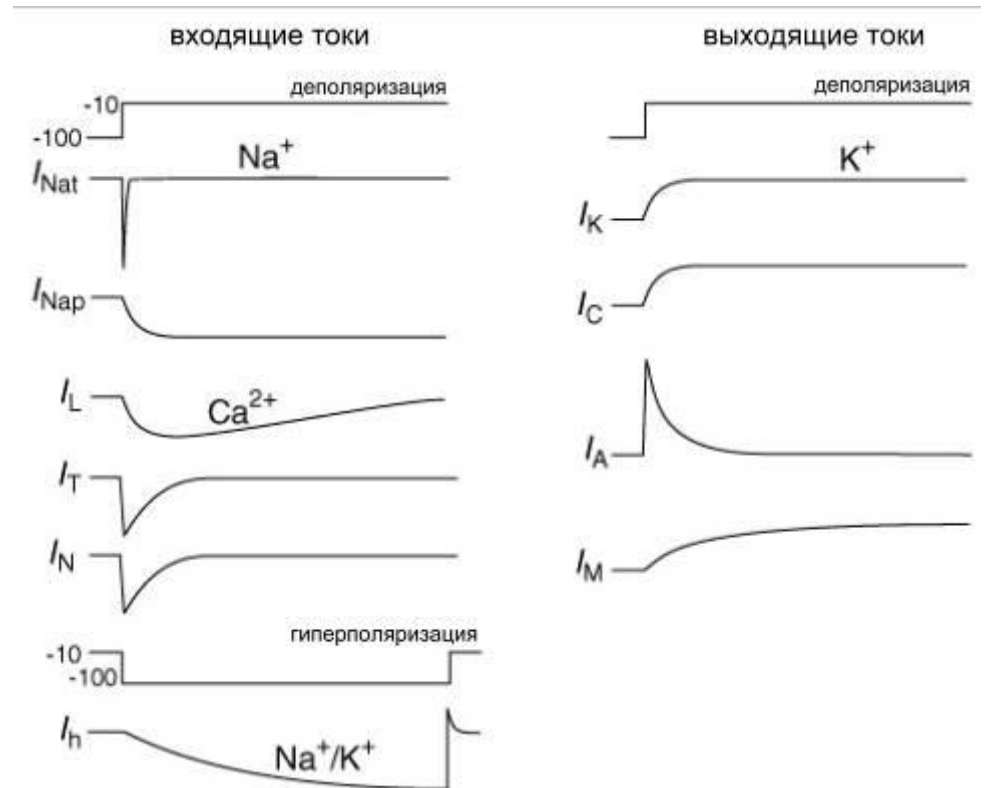
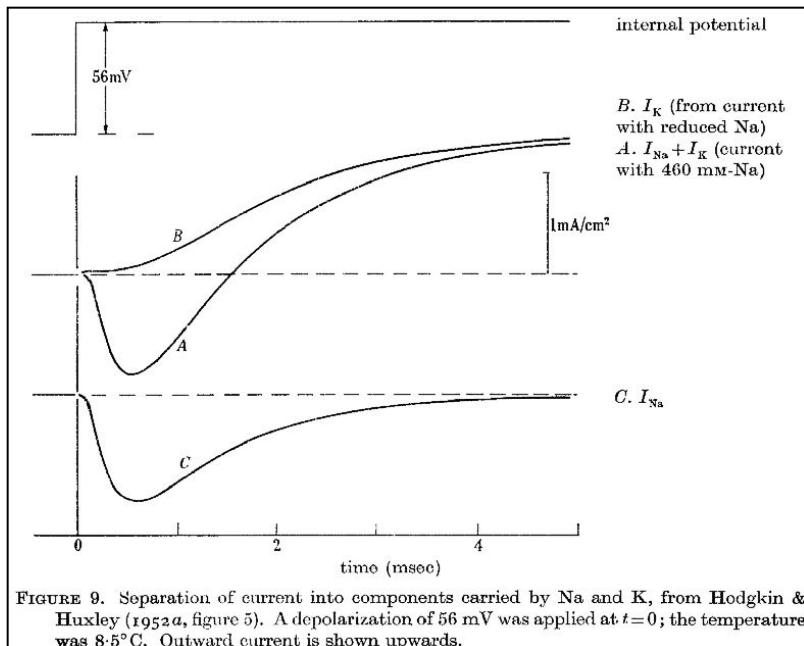


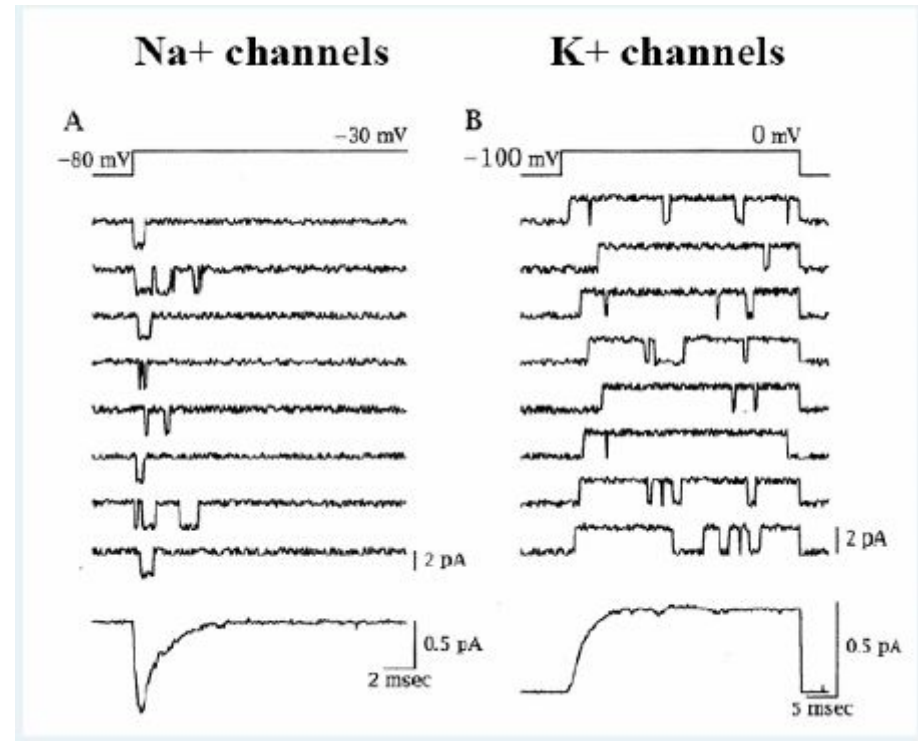
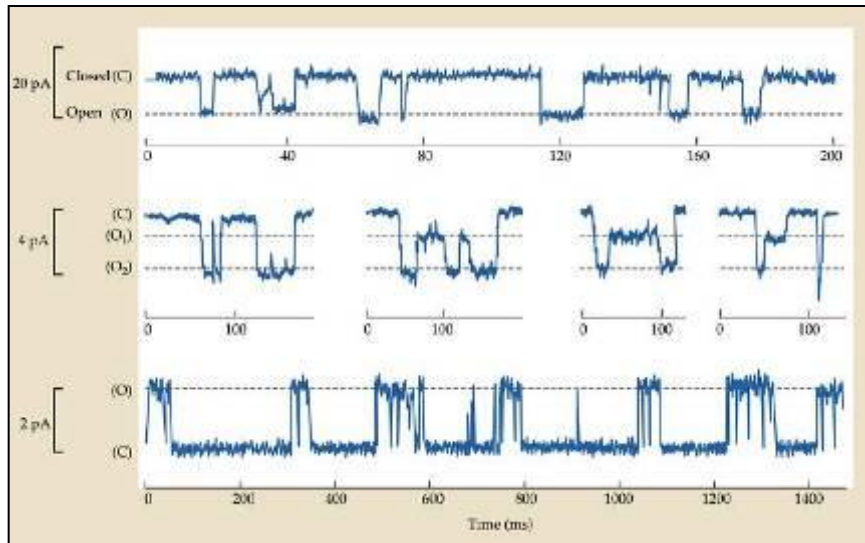
# Активный транспорт ионов

- Поскольку ПП мембраны нейронов не является равновесным потенциалом для каждого отдельного типа ионов, разные ионные токи постоянно текут через мембрану по своим концентрационным градиентам.
- Эти токи текут через потенциал-зависимые и другие ионные каналы и значительно увеличиваются во время генерации нервных импульсов и синаптических потенциалов.



# Ионные токи, протекающие через отдельные каналы

- Открытие и закрытие ионных каналов отражаются в виде прямоугольных токовых сигналов.



# Потенциал-зависимые и другие ионные каналы

Каналы, образующие водную пору, включают **потенциал-зависимые**:

- $K^+$ -,  $Ca^{2+}$ - и  $Na^+$ -селективные каналы
- $K^+$ -каналы внутреннего выпрямления

**потенциал-независимые**:

- $K^+$ -каналы с двумя водными порами

каналы, состояние которых зависит от связывания с различными **внутриклеточными лигандами**:

- АТФ-активируемые  $K^+$ -каналы,
- $Ca^{2+}$  или  $Na^+$  ( $Ca^{2+}(Na^+)$ -зависимые  $K_{Ca(Na)}$ -каналы)
- $Ca^{2+}$ -каналы, активируемые комплексом  $Ca^{2+}$ -калмодулин
- цАМФ (цГМФ)-зависимые неселективные катионные каналы
- $K^+$ -каналы, активируемые с участием G-белков

**внеклеточными лигандами**:

- ионотропные рецепторы

# Зачем нужны системы активного транспорта?

Количество ионов, которые входят в клетку и выходят из нее во время генерации ПД, в действительности очень мало по сравнению с числом ионов, имеющихся в клетке.

Например, во время генерации одного ПД гипотетическим сферическим нейроном диаметром 25 мкм концентрация внутриклеточного  $\text{Na}^+$  изменится примерно на 6 мкМ (т.е. от 15 мМ до 15,006 мМ).

Однако, даже такие малые изменения концентрации ионов  $\text{Na}^+$ , сопровождающиеся также постоянной «утечкой» ионов  $\text{K}^+$  в покое, нарушают соотношение концентраций ионов и таким образом приводят нейрон в нефункциональное состояние.

Чтобы компенсировать такие нарушения концентраций ионов нейронные мембраны обладают специализированными белковыми макромолекулами, известными как **системы активного транспорта**.

# Зачем нужны системы активного транспорта?

- Для поддержания нормального функционального состояния нейронов в их мембранах локализованы **транспортные системы**, восстанавливающие ионные градиенты по обе стороны мембраны путем переноса различных ионов **против их концентрационных градиентов**.
- Кроме транспорта ионов в нейронах, как и в других клетках организма, имеются транспортные системы, переносящие через мембраны (в т.ч. и через мембраны клеточных органелл) различные **метаболиты** – аминокислоты, сахара, нейромедиаторы и проч.

# Два механизма активного транспорта

Известны два механизма активного транспорта:

- системы **первичного активного транспорта** (**ионные насосы**) с использованием энергии гидролиза АТФ
- системы **вторичного активного транспорта** (**ионные обменники**), работающие за счет энергии электрохимических градиентов некоторых ионов (например,  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ ), накопленной в результате работы первичного активного транспорта.

# Механизмы первичного активного транспорта

- Системы первичного активного транспорта используют энергию гидролиза АТФ.

В настоящее время известно четыре типа **АТФаз**

- 1) P-,
- 2) V-,
- 3) F-
- 4) и АТР-binding cassette–типа),  
выполняющих разнообразные функции в клетках организмов.

- В нервных клетках механизм первичного активного транспорта обеспечивает транспорт ионов через мембрану против их пассивного потока по электрохимическому градиенту, поддерживая тем самым трансмембранную разность потенциалов, определяющую ПП.

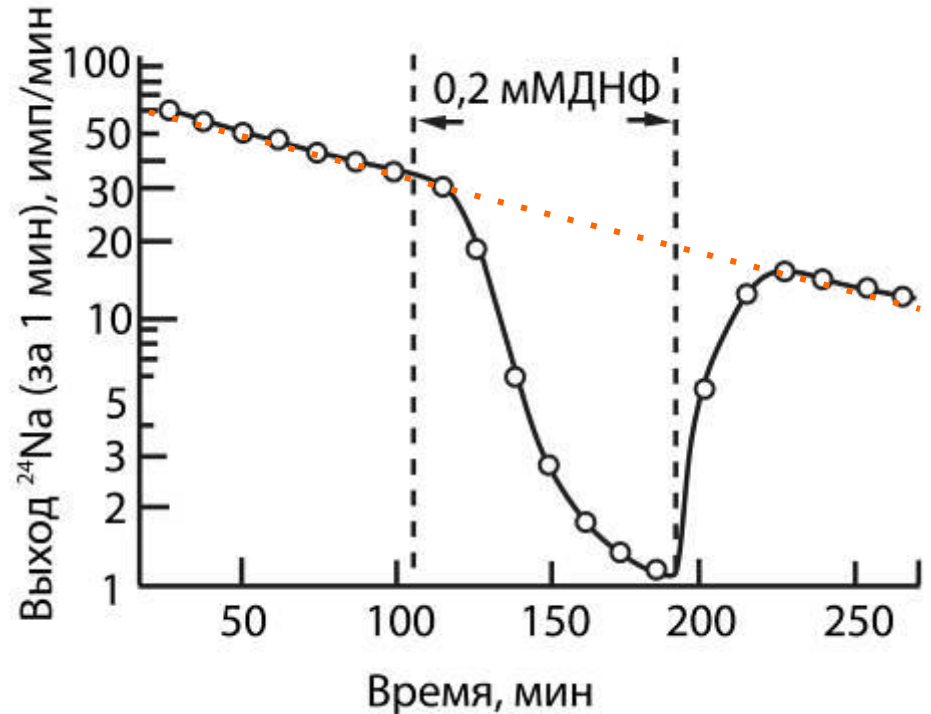
# Натрий-калиевый насос

- В начале 1950-х г.г., исследуя действие локальных анестетиков на ионную проводимость нерва краба, **Йенс Скоу (Jens Christian Skou)** установил, что **фермент АТФаза**, встроенный в клеточную мембрану, наиболее эффективно активируется при действии определенной комбинации концентраций ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Mg}^{2+}$ .
- Используя метод измерения теплопродукции, **Й. Скоу** также показал при, что нерв краба в состоянии покоя утилизирует энергию **АТФ**, что косвенно свидетельствовало о протекании реакции окислительного фосфорилирования с участием **АТФазы**.
- **?! Й. Скоу** лишь высказал неопределенное предположение, что этот фермент каким-то образом связан с транспортом ионов через мембрану и не выдвинул **АТФазу** на роль непосредственного переносчика ионов.



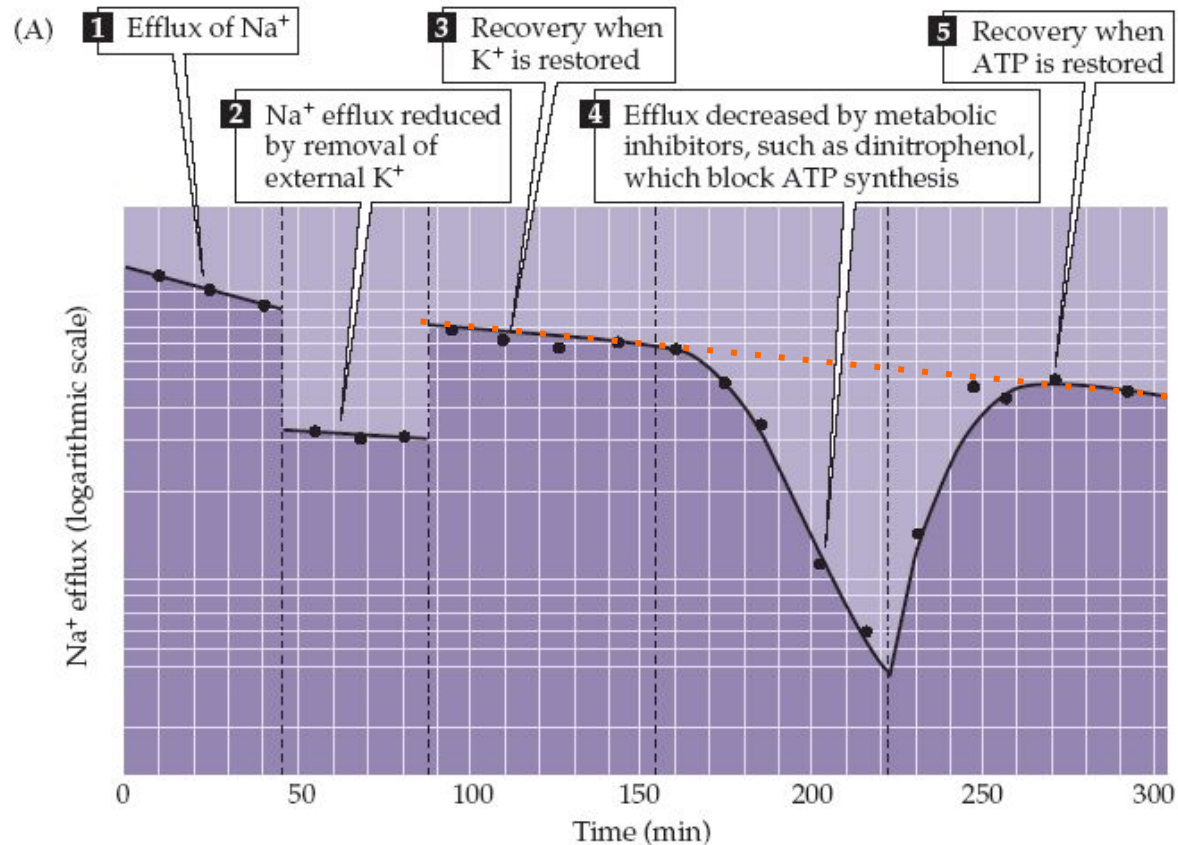
# Натрий-калиевый насос

- Позже **P. Кейнс (Richard Keynes)** с соавторами, используя радиоактивный  $^{24}\text{Na}^+$ , впервые непосредственно измерил энергозависимый выход этого иона из аксоплазмы толстого аксона каракатицы *Sepia*.
- После длительной стимуляции аксона, погруженного в раствор с радиоактивным  $^{24}\text{Na}^+$ , измеряли выход этого иона из аксона.
- При действии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента **АТФазы**) **динитрофенола (ДНФ)** выход  $^{24}\text{Na}^+$  резко снижался.
- После того, как препарат отмывали от блокатора, выход  $^{24}\text{Na}^+$  возобновлялся.



# Натрий-калиевый насос

- После длительной стимуляции аксона, погруженного в раствор с радиоактивным  $^{24}\text{Na}^+$ , измеряли выход этого иона из аксона.
- При действии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента **АТФазы**) **динитрофенола** выход  $^{24}\text{Na}^+$  резко снижался.
- После того, как препарат отмывали от блокатора, выход  $^{24}\text{Na}^+$  возобновлялся.
- Выход  $^{24}\text{Na}^+$  также снижался при удалении внешнего  $\text{K}^+$

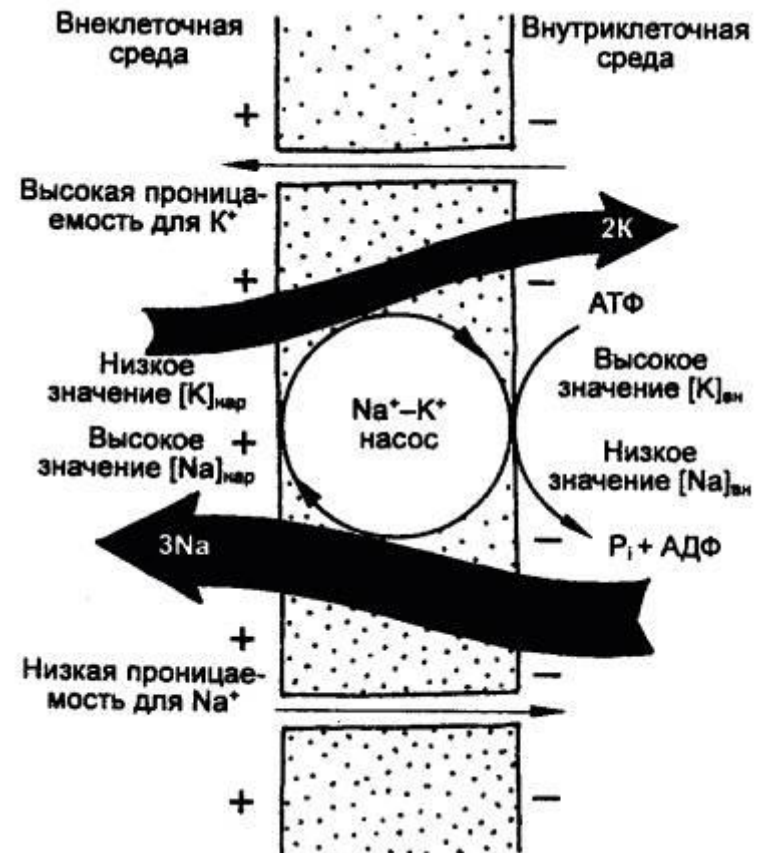


# Натрий-калиевый насос

- Затем в экспериментах с использованием радиоактивного  $K^+$ , было показано, что выходящий  $Na^+$ -поток ассоциирован с одновременным **АТФ-зависимым** входом  $K^+$  внутрь аксона.
- Все эти эксперименты окончательно доказали, что фермент **АТФаза** в мембране аксона выполняет роль энергозависимого  **$Na^+/K^+$ -насоса**.

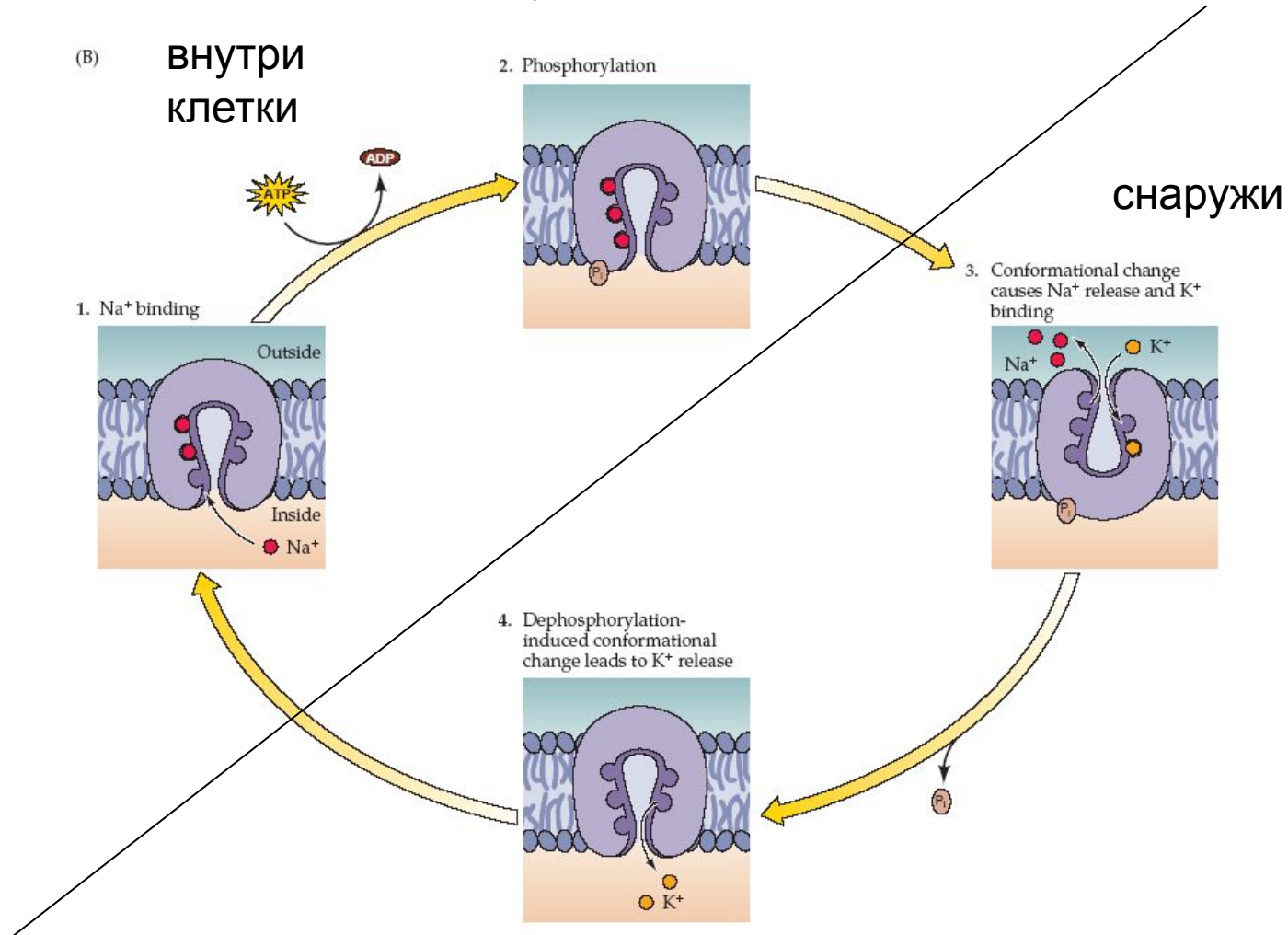
# Принцип работы $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы)

- Переносчик ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос) выводит из клетки три иона  $\text{Na}^+$  и вводит в нее два иона  $\text{K}^+$ , т.е. является электрогенным, удаляя из клетки суммарный положительный заряд и тем самым дополнительно (к механизму поддержания ПП) гиперполяризуя мембрану на несколько мВ.
- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами  $\text{Na}^+$  и переносит их наружу.
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами  $\text{K}^+$  и переносит их внутрь клетки.



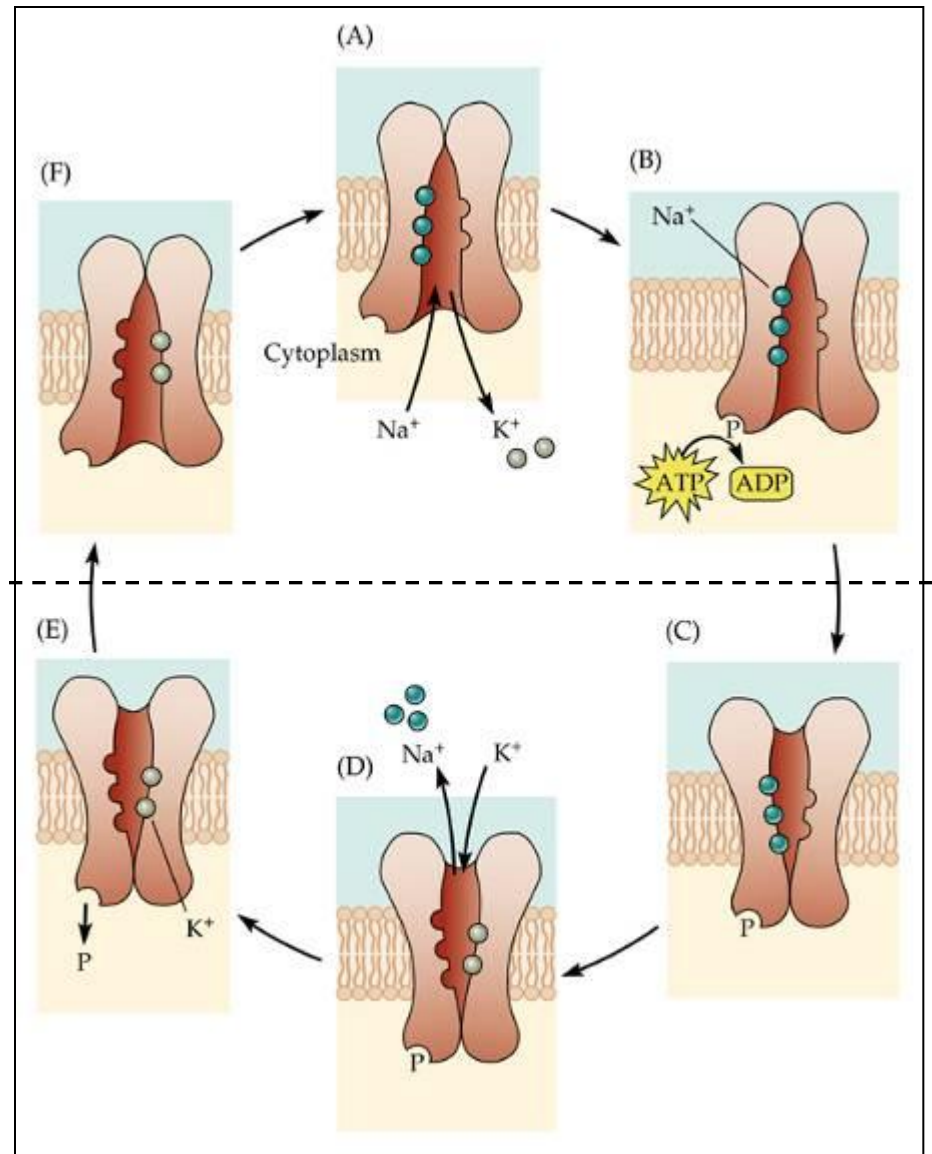
# Принцип работы $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы)

- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами  $\text{Na}^+$  и переносит их наружу.
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами  $\text{K}^+$  и переносит их внутрь клетки.

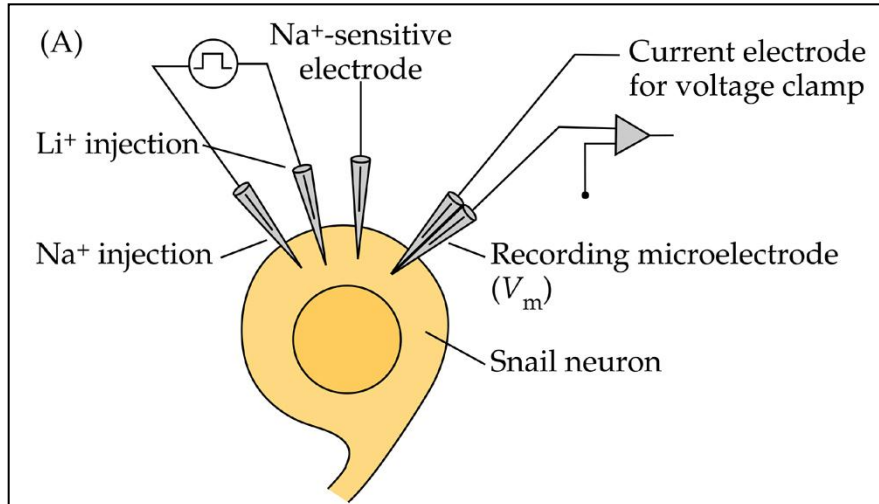


# Принцип работы $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы)

- На **внутренней** стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами  $\text{Na}^+$  и переносит их наружу.
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами  $\text{K}^+$  и переносит их внутрь клетки.

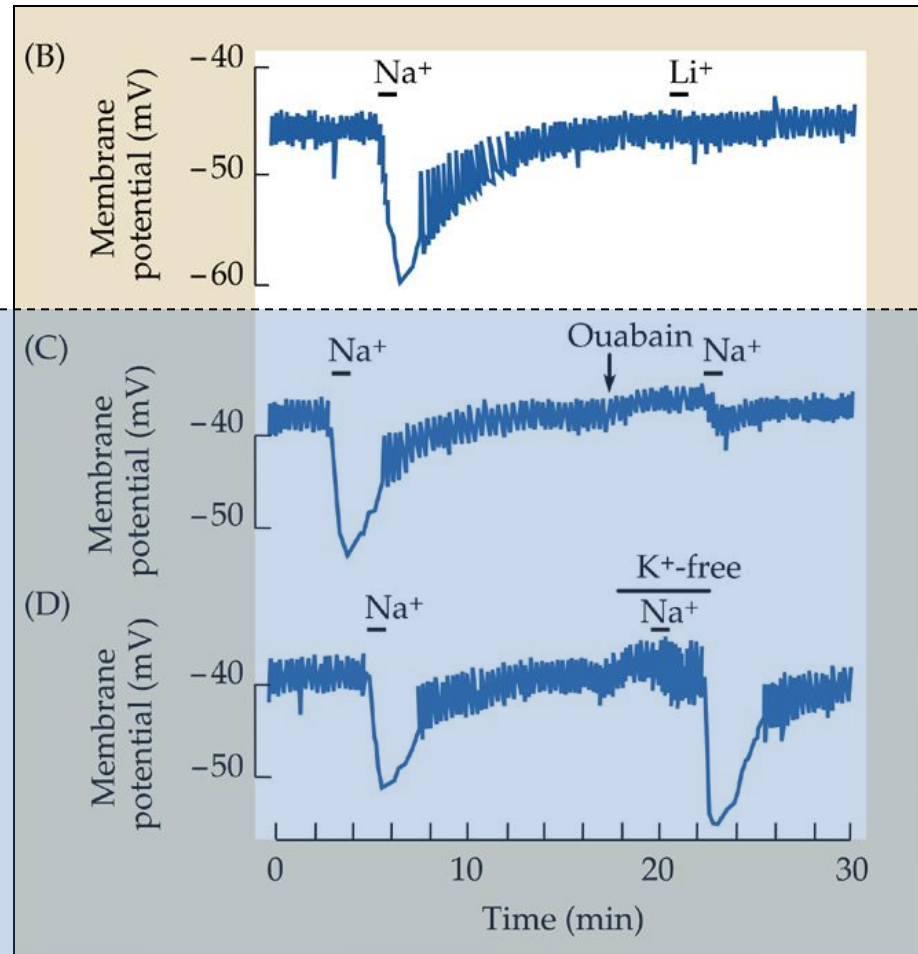


# Электрогенность $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса

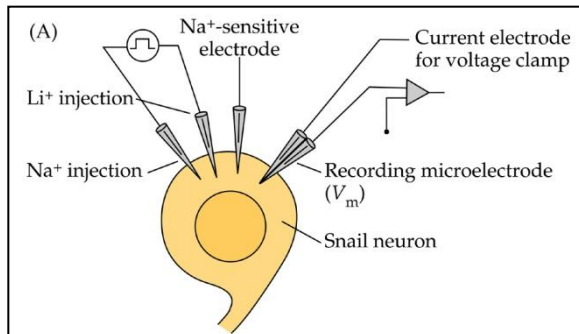


(A) Схема эксперимента

- (B) При инъекции  $\text{Na}^+$   **$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос** выводит из клетки три иона  $\text{Na}^+$  и вводит в нее два иона  $\text{K}^+$ , что приводит к гиперполяризации мембраны.
- Инъекция  $\text{Li}^+$  не сопровождается гиперполяризацией.

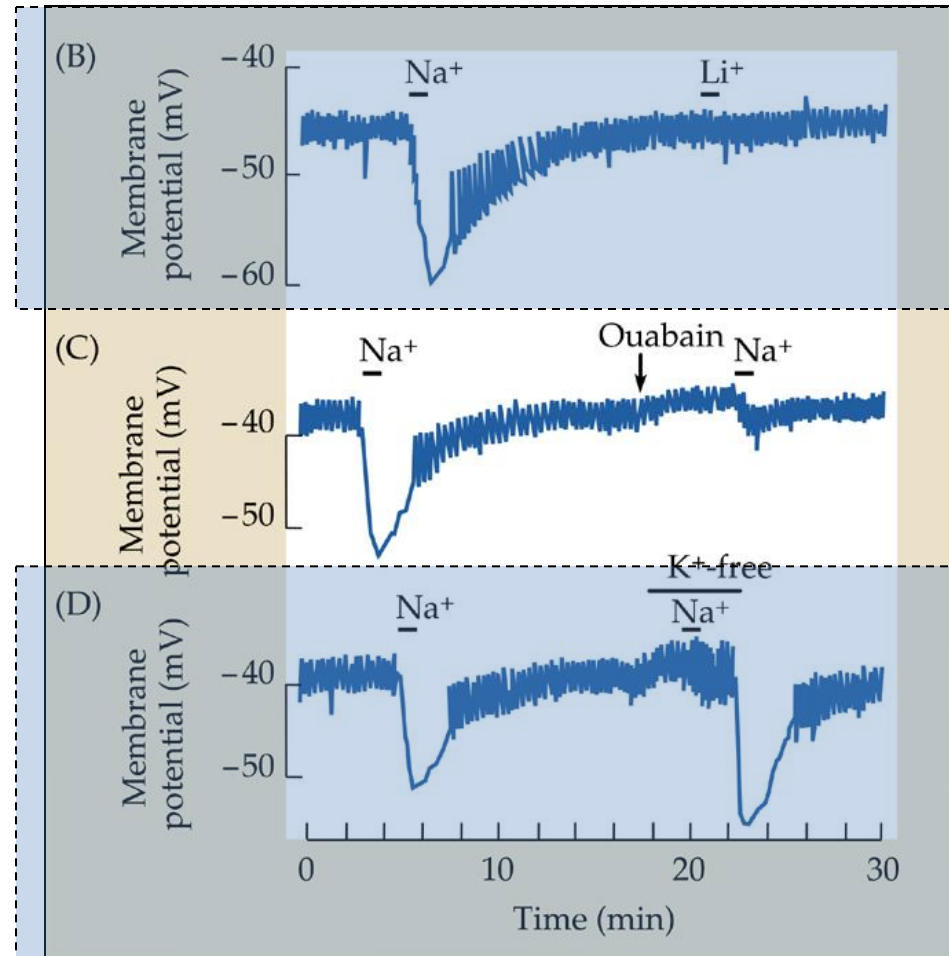


# Электрогенность $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса



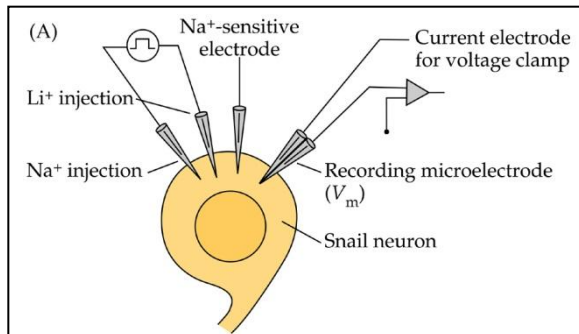
(A) Схема эксперимента

- (C) При действии **уабаина** (**ouabain**) гиперполяризация существенно ослабляется.



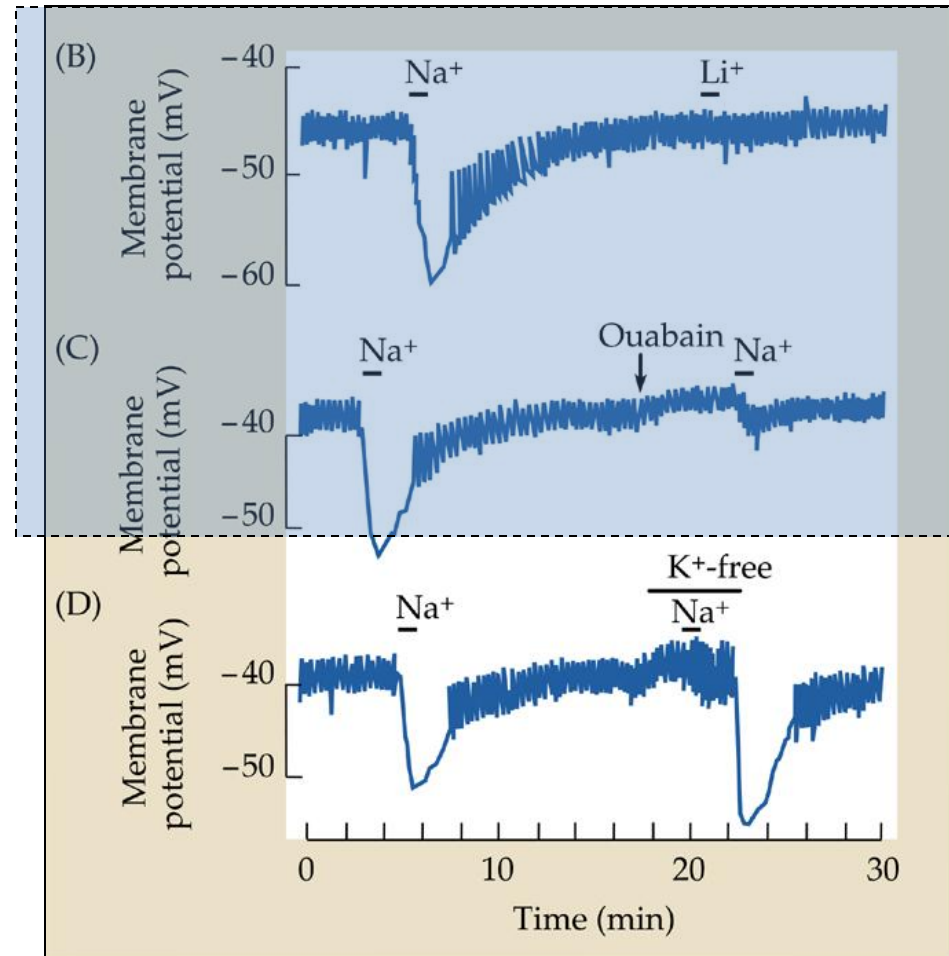


# Электрогенность $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса



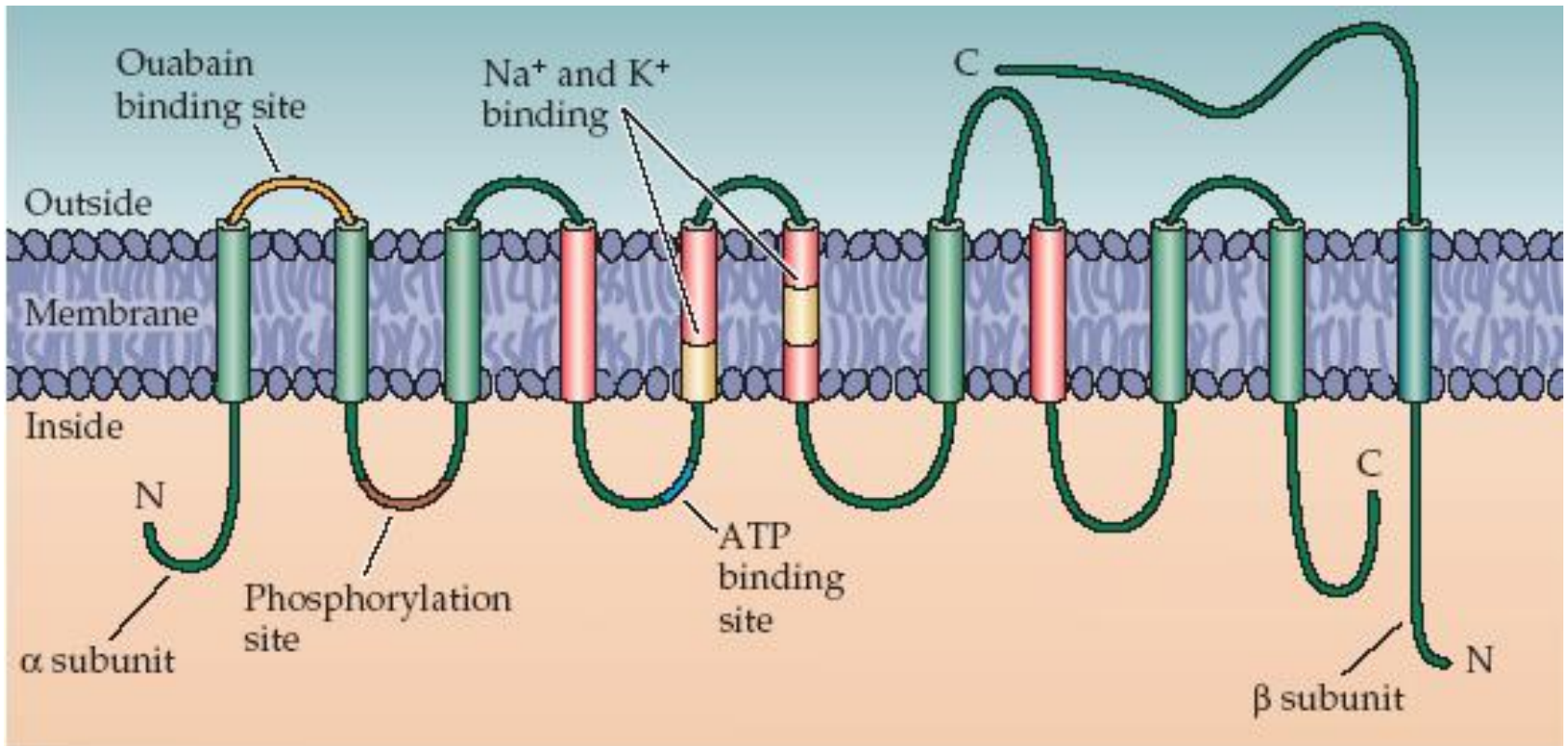
(A) Схема эксперимента

- (D) Удаление  $\text{K}^+$  блокирует насос, и гиперполяризации не наблюдается до тех пор, пока уровень  $\text{K}^+$  не восстанавливается.

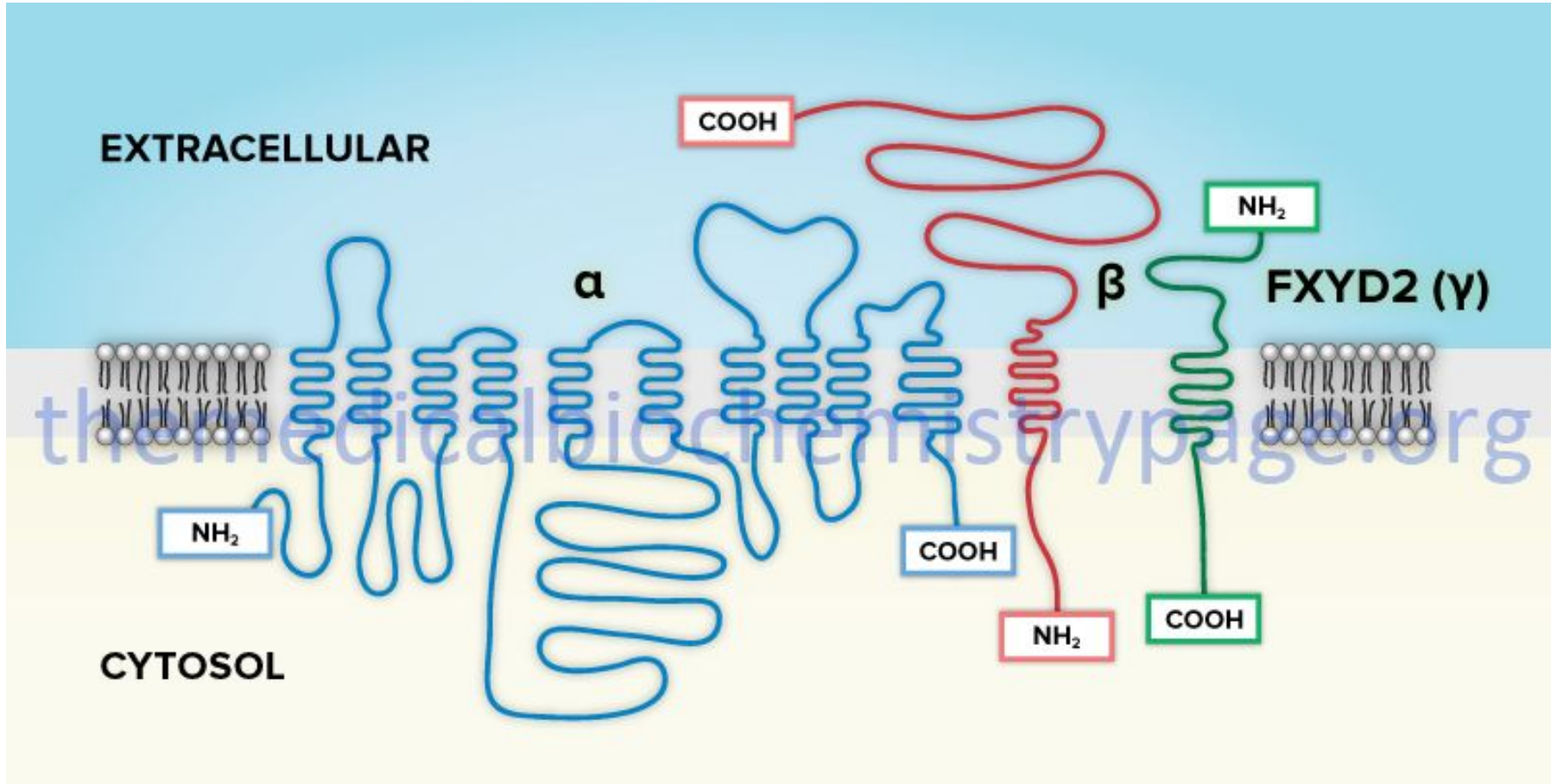


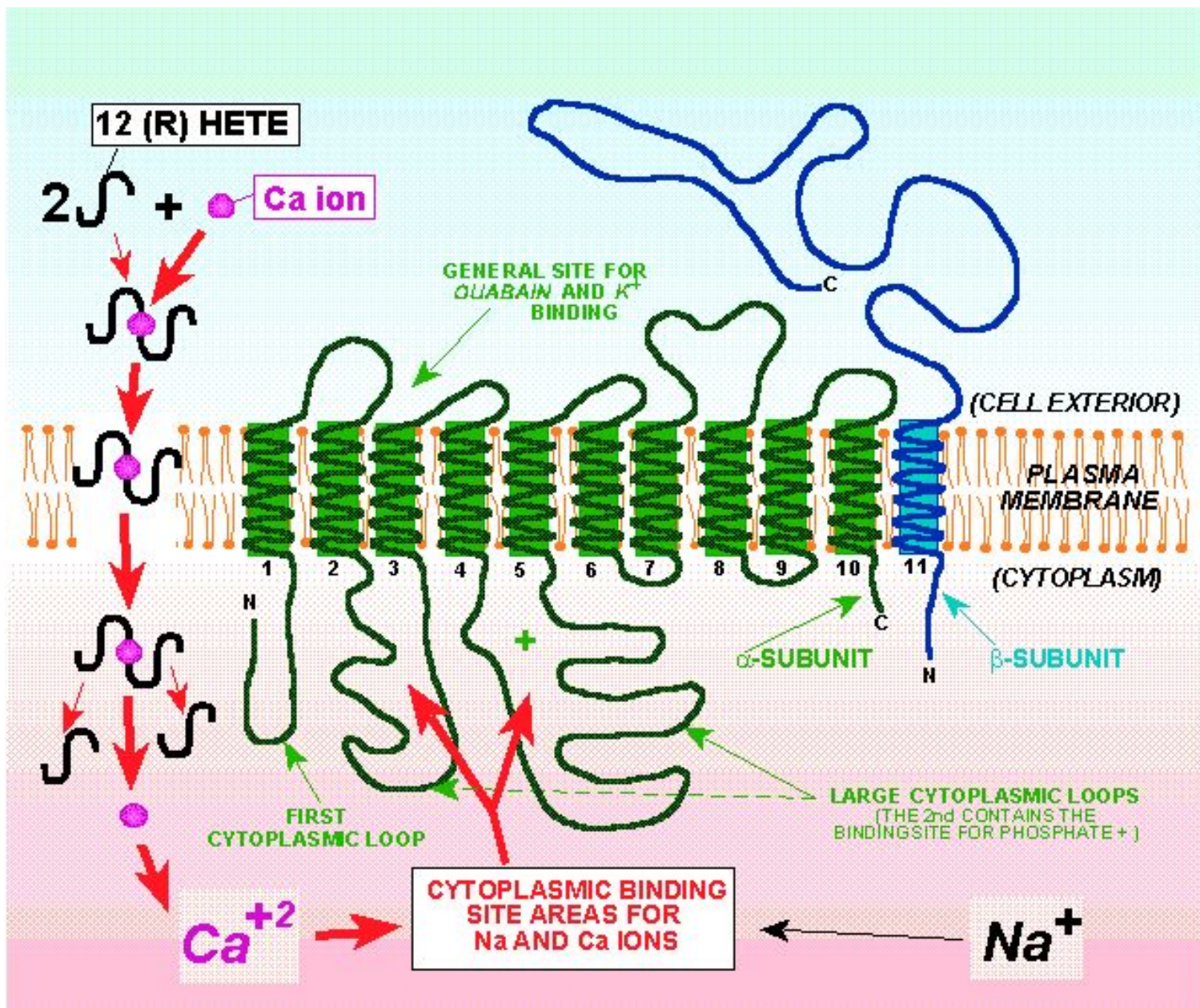
# Молекулярная структура Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы

- Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФаза относится к группе **P-АТФаз** (от *Phosphorylation*), у которых специальный регуляторный участок (остаток аспарагиновой кислоты) активируется в результате его обратимого фосфорилирования при отщеплении фосфата от АТФ.



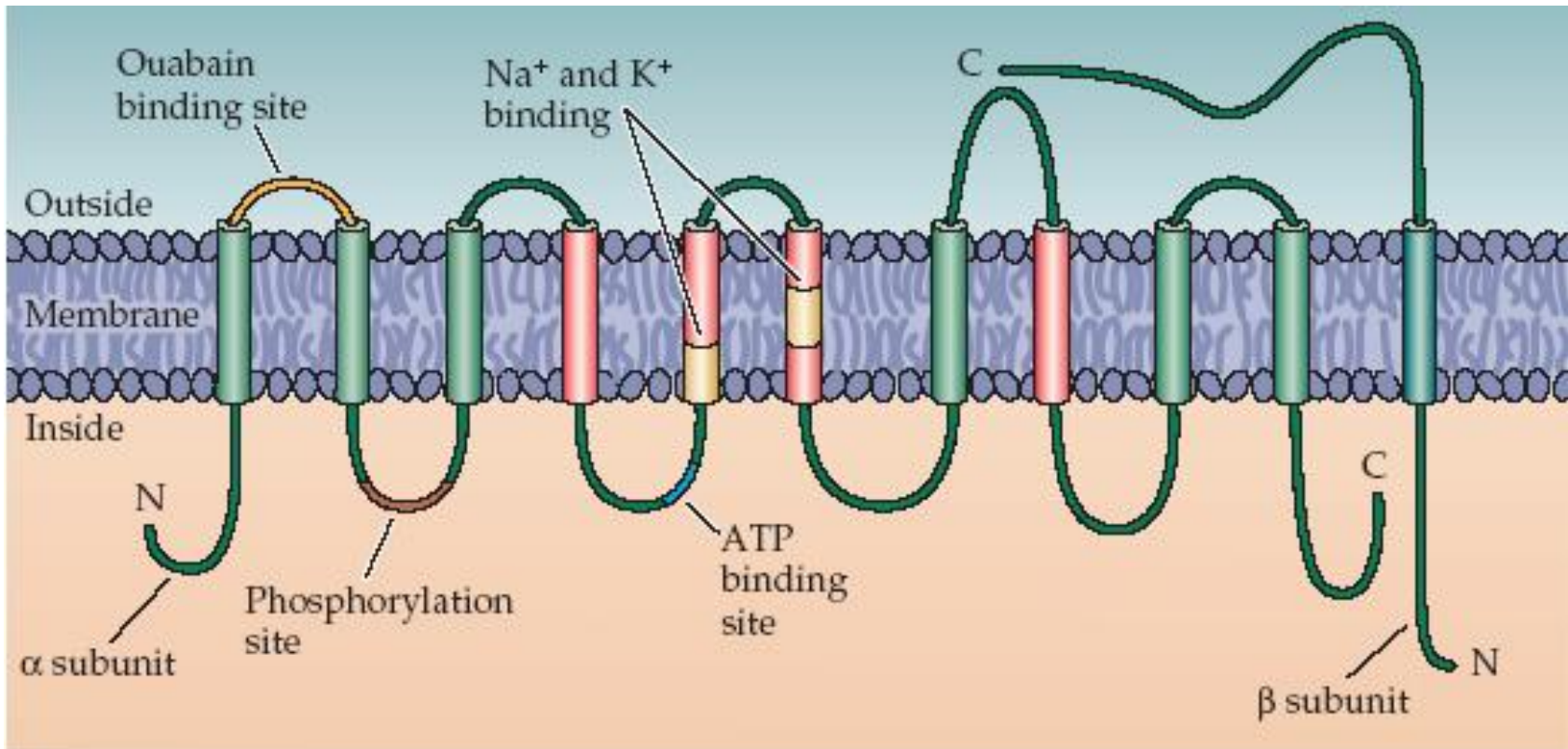
# Молекулярная структура Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы





# Молекулярная структура Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы

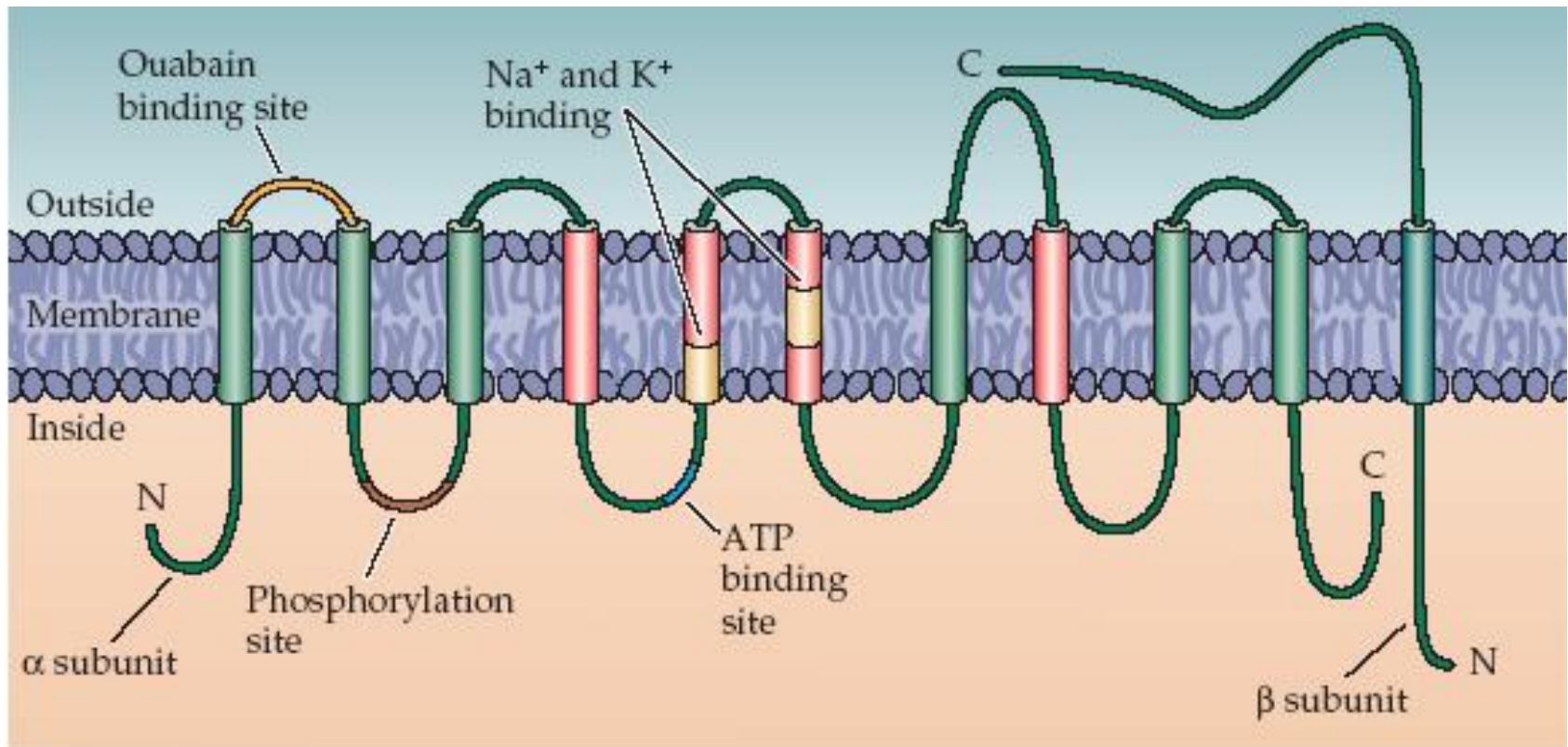
- Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФаза состоит из двух субъединиц - α- (с молекулярной массой около 100 кД) и β- (с массой около 35 кД), образующих тетрамер (αβ)<sub>2</sub>.
- Идентифицировано 3 изоформы α- и 2 изоформы β- субъединицы



# Молекулярная структура Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы

включает несколько мест связывания с субстратом:

- участок фосфорилирования,
- участок связывания АТФ,
- участок связывания одновалентных катионов,
- участок связывания убаина.



## Ca<sup>2+</sup>-насос (Ca<sup>2+</sup>-АТФаза)

является АТФазой **P-типа**, выводящей Ca<sup>2+</sup> из цитоплазмы. Эта АТФаза (наряду с Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-обменником) выполняют главную функцию по поддержанию низкого уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, необходимого для обеспечения внутриклеточных путей сигнализации.

Существуют **две** разновидности Ca<sup>2+</sup>-АТФаз

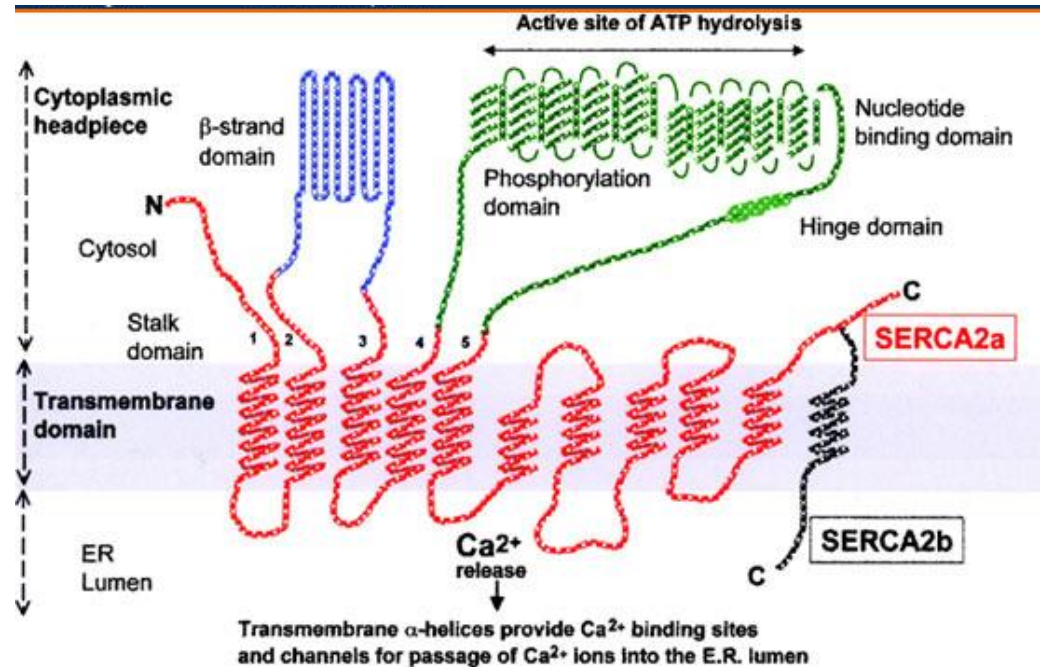
**Ca<sup>2+</sup>-АТФазы плазматической мембраны** при фосфорилировании переносят **один ион Ca<sup>2+</sup>** во внеклеточное пространство.

# Ca<sup>2+</sup>-насос (Ca<sup>2+</sup>-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca<sup>2+</sup>-АТФаз

**Ca<sup>2+</sup>-АТФазы эндоплазматического** (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca<sup>2+</sup>** из цитоплазмы (саркоплазмы) в перечисленные внутриклеточные мембранные структуры.

**SERCA - Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase**

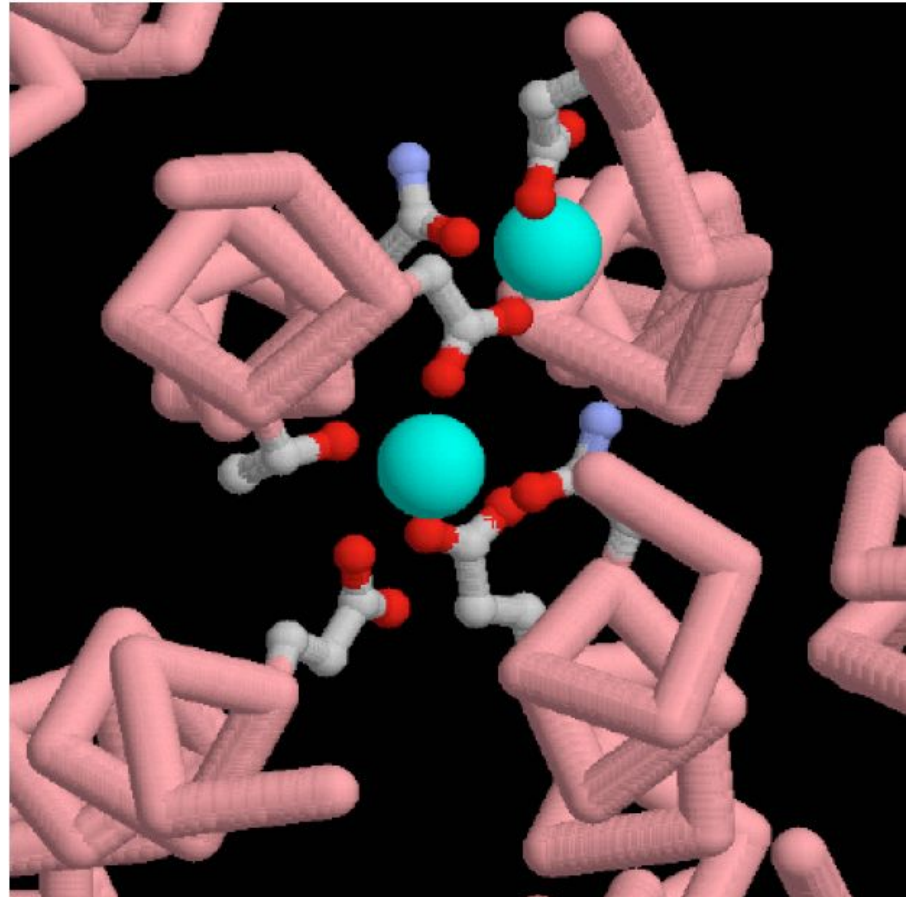




## Ca<sup>2+</sup>-насос (Ca<sup>2+</sup>-АТФаза)

**Ca<sup>2+</sup>-АТФазы эндоплазматического** (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca<sup>2+</sup>** из цитоплазмы (саркоплазмы) в перечисленные внутриклеточные мембранные структуры.

The calcium binding site is in a tunnel formed by **four alpha helices**, which cross straight through the membrane. This illustration, from PDB entry 1eul, shows a view down the helices. The two calcium ions, shown as blue-green spheres, are held by a collection of amino acids, shown in balls-and-sticks, that coordinate it from all sides. The protein is far less stable when these calcium ions are removed. It was solved by adding a drug molecule that binds near the calcium-binding site and freezes the protein into a stable, but non functioning, form.



## Ca<sup>2+</sup>-насос (Ca<sup>2+</sup>-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca<sup>2+</sup>-АТФаз

**! Еще одно отличие.**

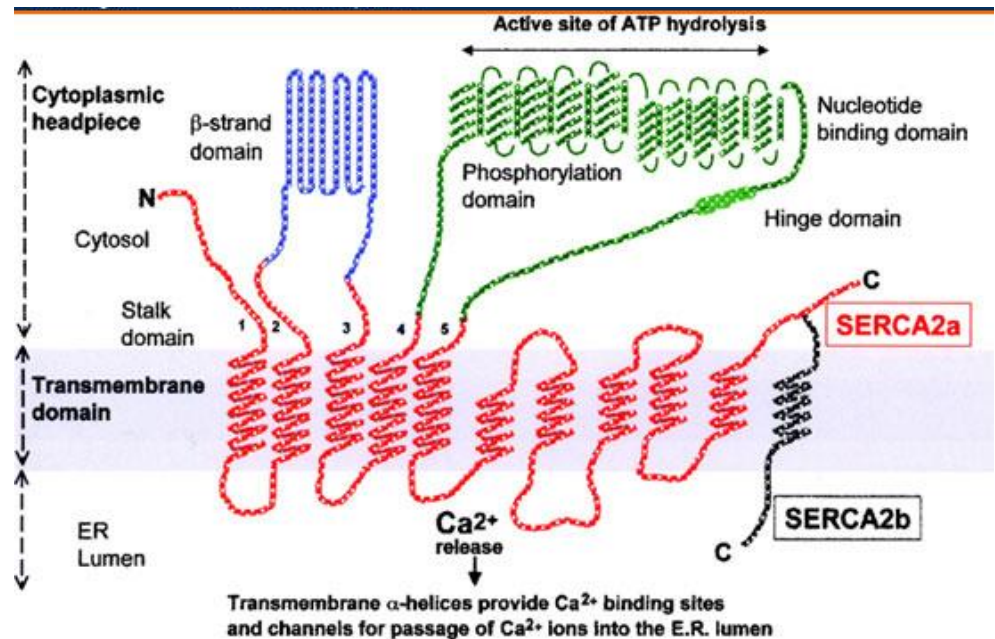
**Ca<sup>2+</sup>-АТФаза плазматической мембраны** регулируется внутриклеточным комплексом Ca<sup>2+</sup>/калмодулин (Ca<sup>2+</sup>-активируемый белок), который связывается со специальным участком на внутриклеточной петле насоса.

Такая регуляция обеспечивает быструю активацию Ca<sup>2+</sup>-АТФазы плазмалеммы при увеличении внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup>.

# Ca<sup>2+</sup>-насос (Ca<sup>2+</sup>-АТФаза)

Обе формы Ca<sup>2+</sup>-АТФазы (плазматическая и «органельная») представлены одиночной полипептидной цепочкой с молекулярной массой около 100 кД, которая сходна по своей структуре с  $\alpha$ -субъединицей Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазы.

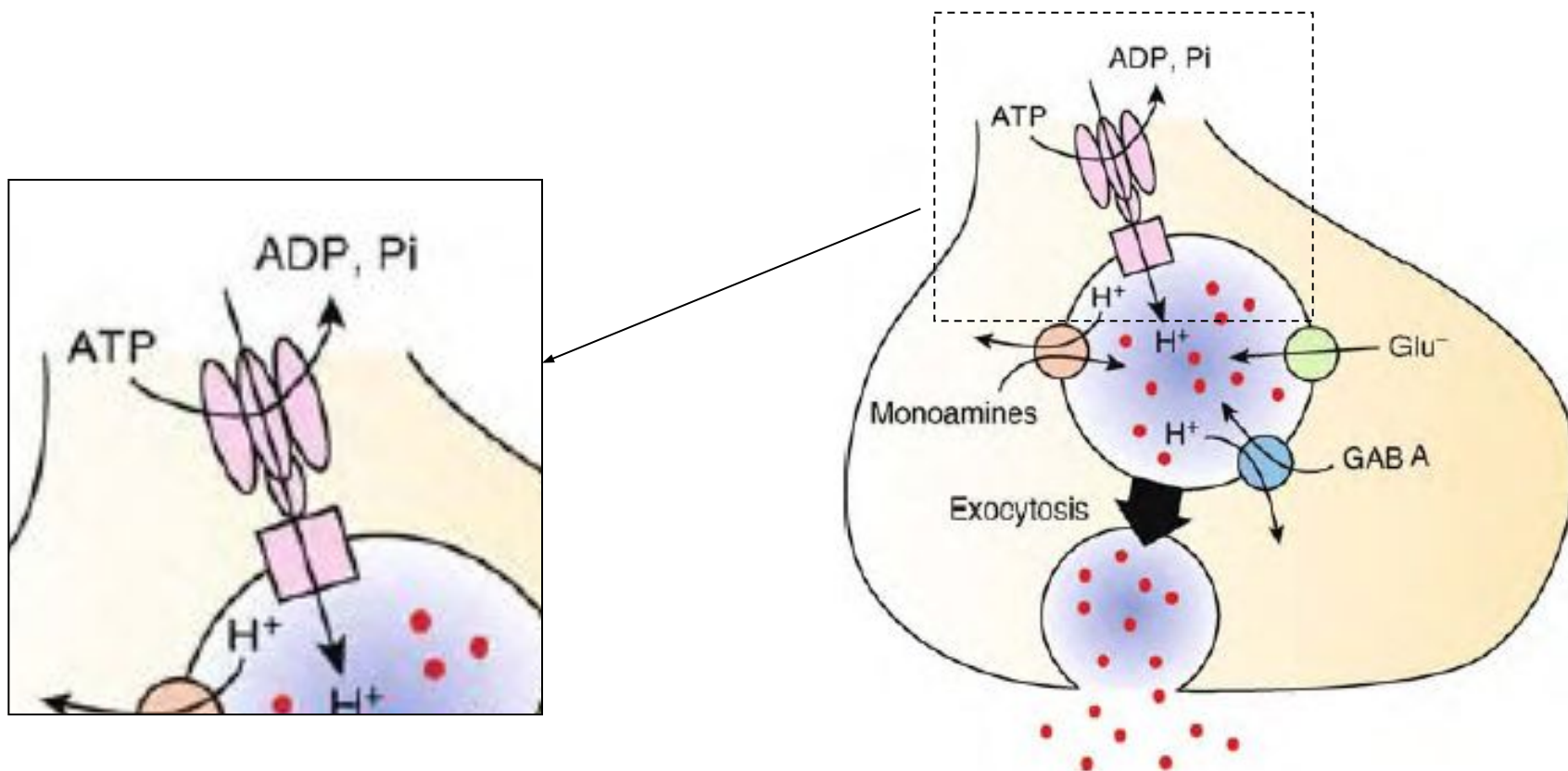
Системы первичного активного транспорта Ca<sup>2+</sup> являются **высокоаффинными** (высокая степень связывания катиона), но относительно **медленными** по сравнению с системой вторичного активного транспорта этого катиона.



# Протонный насос

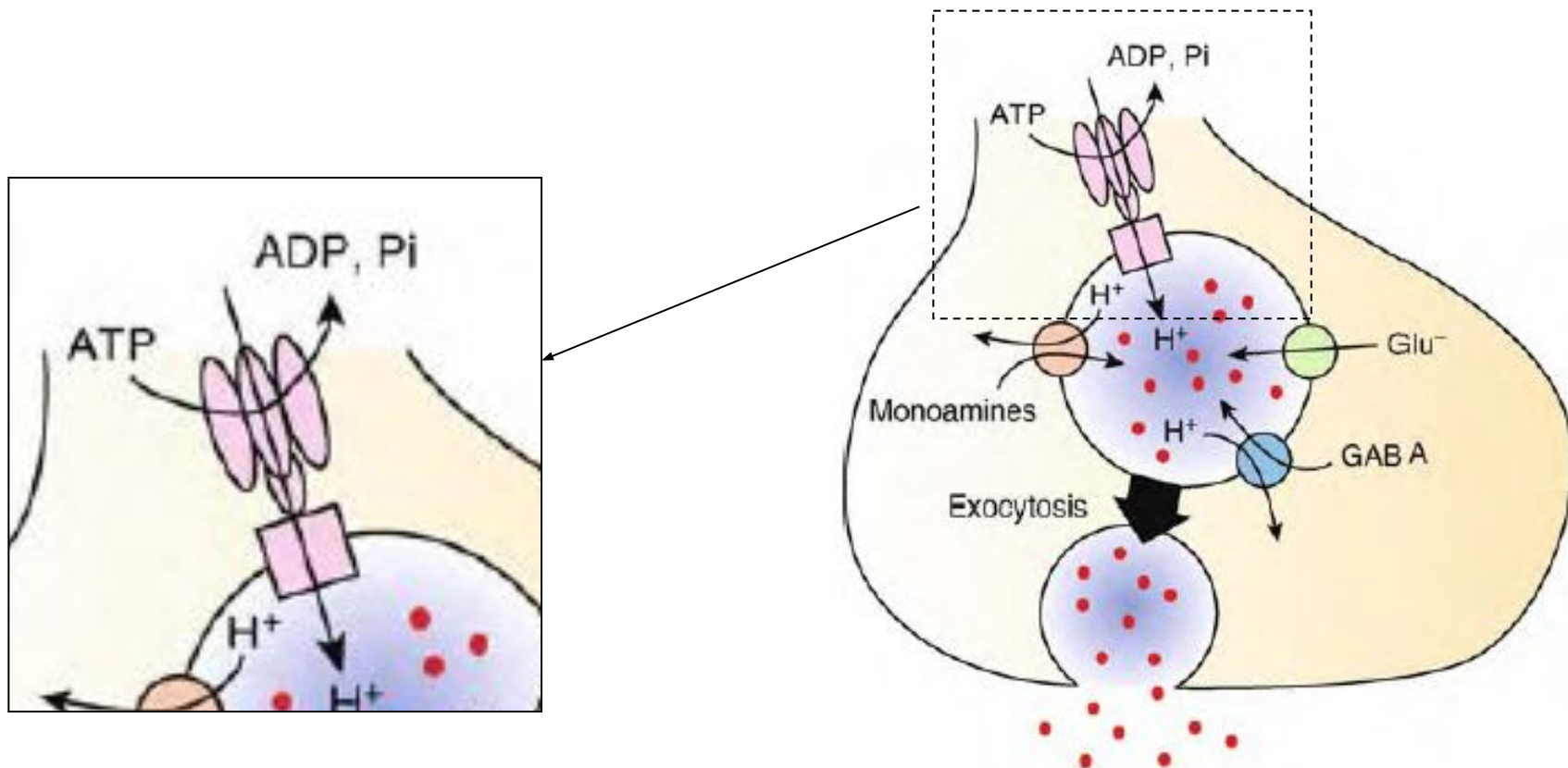
В мембранах клеточных органелл (лизосом, эндосом, а также синаптических везикул) протонный насос **H<sup>+</sup>-АТФаза V-типа** (от англ., *Vacuolar*) с использованием энергии гидролиза АТФ переносит внутрь органелл H<sup>+</sup>, поддерживая в них низкий уровень pH.

Протонный градиент, направленный из синаптических везикул в цитоплазму, используется для транспорта молекул медиаторов внутрь везикул.



## Протонный насос

Кроме того в мембранах митохондрий содержится **H<sup>+</sup>-АТФаза F-типа**, работающая в «обратном» направлении: этот фермент синтезирует АТФ из АДФ и остатка фосфата при движении протонов по концентрационному градиенту из матрикса митохондрий в цитоплазму.



## АТФазы в других клетках

### ***Магние́вый насос***

В мембранах эритроцитов выделена **Mg<sup>2+</sup>-АТФаза Р-типа**, которая с использованием энергии АТФ выводит наружу ионы Mg<sup>2+</sup>.

### ***Протон-калиевый насос***

- В мембранах эпителиальных клеток желудка выделена **H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФаза Р-типа**. По своей структуре она сходна с Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФазой.
- В отличие от последней эта АТФаза не является электрогенной, поскольку выводит один ион H<sup>+</sup> наружу и один ион K<sup>+</sup> - внутрь клетки, не нарушая при этом баланс зарядов по обе стороны мембраны.

## АТФазы в других клетках

### *АТФаза F-типа в плазматической мембране бактерий*

является аналогом **H<sup>+</sup>-АТФазы F-типа**, которая в мембранах митохондрий синтезирует АТФ из АДФ и остатка фосфата с использованием энергии протонного градиента.

В отличие от H<sup>+</sup>-АТФазы митохондрий АТФаза мембран бактерий использует энергию градиента **Na<sup>+</sup>**, направленного внутрь клетки и по сути является **Na<sup>+</sup>-АТФазой F-типа**.

# АТФазы в других клетках

## ***Хлорный насос***

Хлорная АТФаза, переносящая ионы Cl<sup>-</sup> из цитоплазмы во внеклеточное пространство, является представителем группы разнообразных АТФаз четвертого типа, называемых в англоязычной литературе **ATP-binding cassette transporters** (переносчики с АТФ-связывающей кассетой).

Кроме транспорта Cl<sup>-</sup> эти насосы выполняют разнообразные функции:

- 1) обеспечивают проницаемость гликопротеинов через мембраны;
- 2) выводят из клеток токсические метаболиты, обеспечивая тем самым, например, устойчивость раковых клеток при химиотерапии;
- 3) запускают иммунный ответ клеток против чужеродных белков, осуществляя антиген-пептидный транспорт из цитозоля в эндоплазматический ретикулум.

Хлорные АТФазы обнаружены в культуре клеток мозга, что указывает на возможность существования первичных механизмов транспорта хлора. Однако до настоящего времени такие транспортные системы пока еще не найдены в нервной ткани.



# Транспорт других катионов

Среди группы **P-АТФаз** также известны насосы, переносящие через мембраны клеток другие катионы:

- $\text{Ag}^+$  и  $\text{Ag}^{2+}$ ,
- $\text{Zn}^{2+}$ ,
- $\text{Co}^{2+}$ ,
- $\text{Pb}^{2+}$ ,
- $\text{Ni}^{2+}$ ,
- $\text{Cd}^{2+}$ ,
- $\text{Cu}^+$  и  $\text{Cu}^{2+}$ .

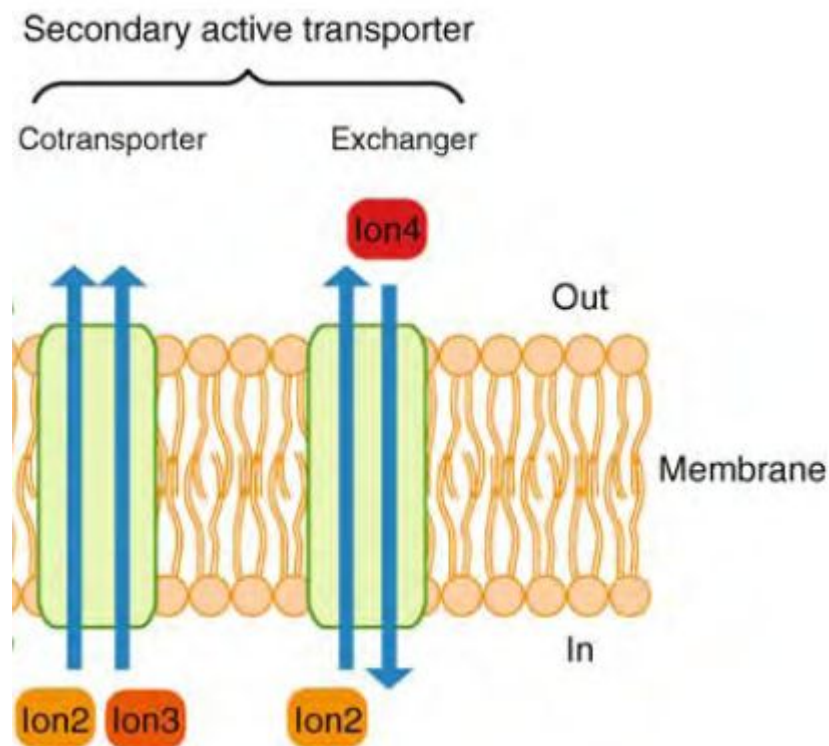
# Механизмы вторичного активного транспорта

- Переносят некоторые ионы и низкомолекулярные соединения (например, медиаторы) против их концентрационных градиентов, используют энергию электрохимических градиентов других ионов (например,  $K^+$  и  $Na^+$ ), аккумулированную в результате работы первичного активного транспорта.
- Подразделяют на **ко-транспортеры** и **ионные обменники**:
- **Ко-транспортеры** обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.
- **Обменники** обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении. Такой механизм вторичного активного транспорта называют также **антипортом** (*antiport*).

# Ко-транспортеры и ионные обменники

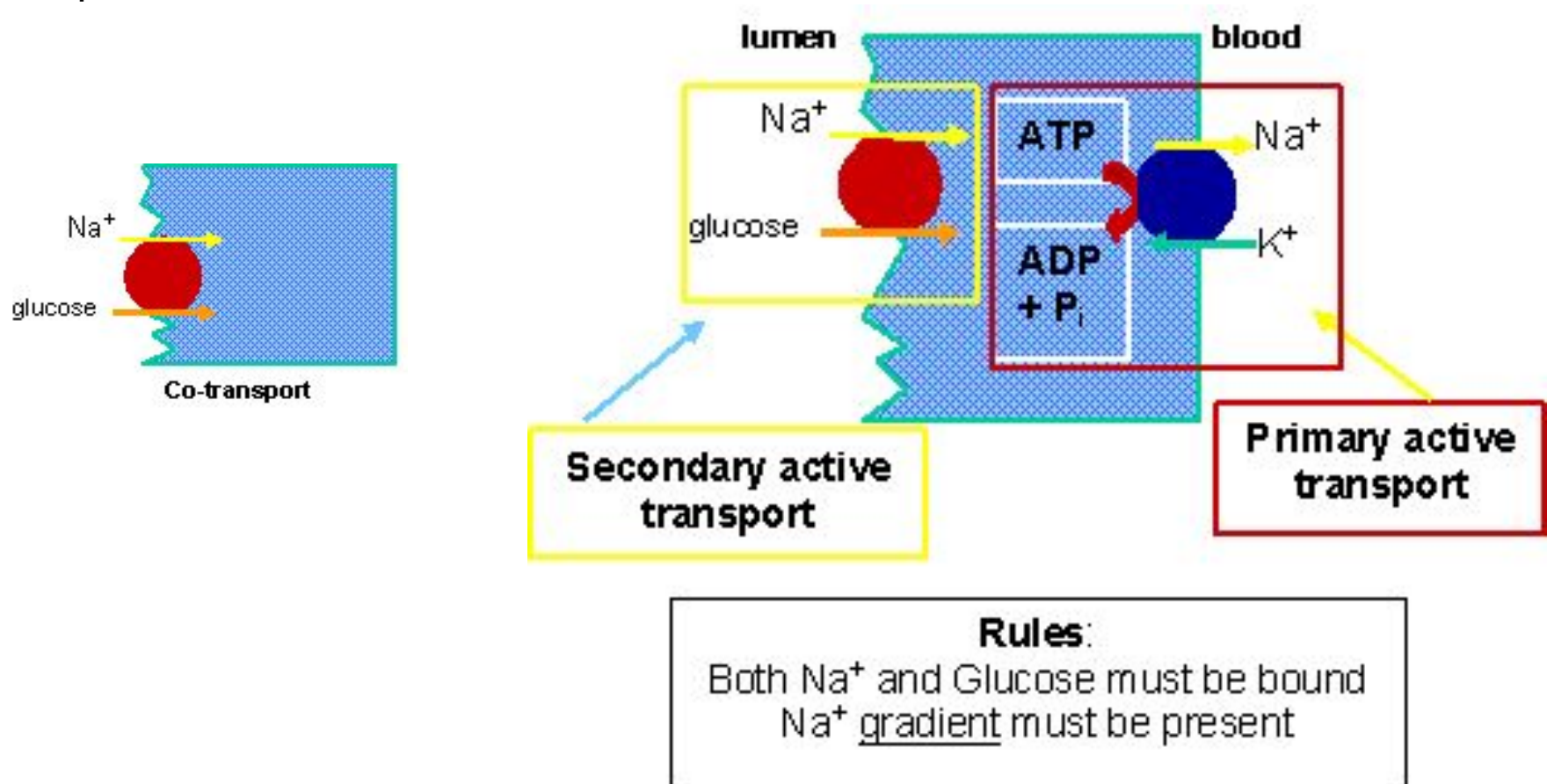
- **Ко-транспортеры** (*cotransporter*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.

- **Обменники** (*exchanger*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении.



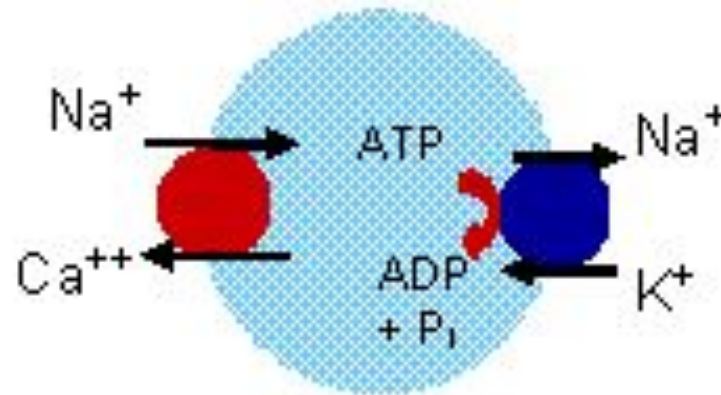
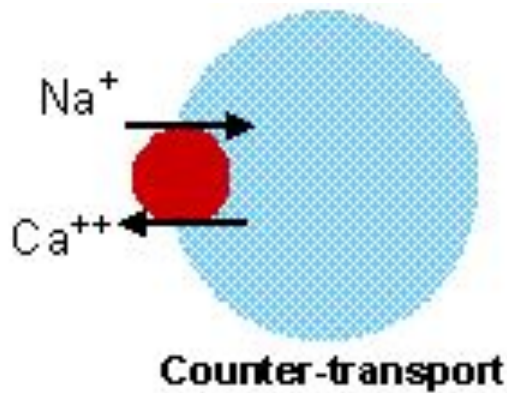
# Ко-транспортеры и ионные обменники

- **Ко-транспортеры** (*cotransporter*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.



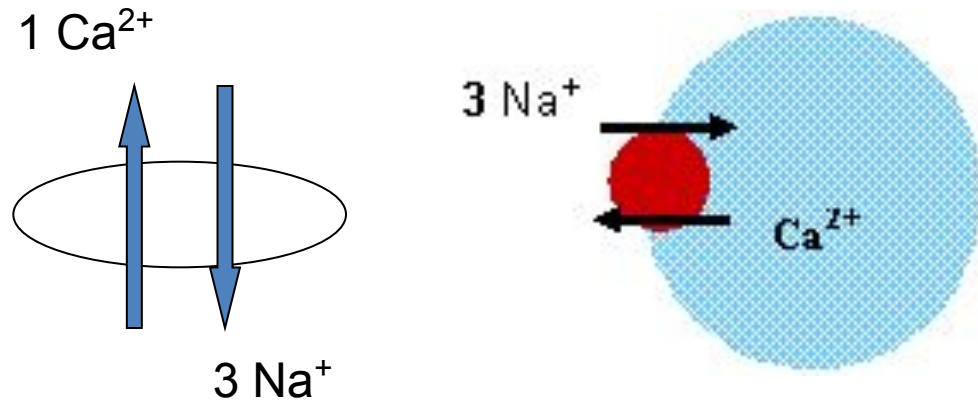
# Ко-транспортеры и ионные обменники

- **Обменники** (*exchanger*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента за счет движения других ионов (по их концентрационному градиенту) в противоположном направлении.

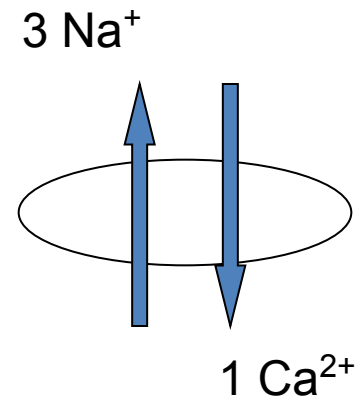


# Регуляция внутриклеточной концентрации $\text{Ca}^{2+}$

- $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник**

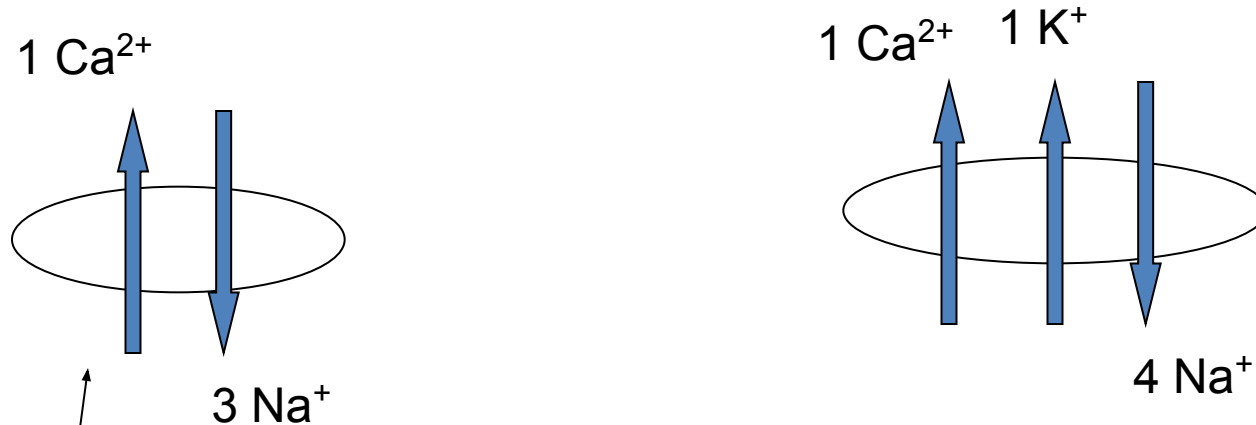


- при значительной деполяризации может работать в противоположном направлении



# Регуляция внутриклеточной концентрации $\text{Ca}^{2+}$

- $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ - $\text{K}^+$ -обменник** в мембранах фоторецепторов сетчатки



- Благодаря дополнительной энергии градиента для  $\text{K}^+$   **$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ - $\text{K}^+$ -обменник** может поддерживать в фоторецепторах очень низкий уровень концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  (около **1 нМ**) в условиях низкого уровня ПП (-40 мВ).
- Обычный  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник в условиях такого низкого уровня ПП способен снизить уровень  $\text{Ca}^{2+}$  только до уровня около **400 нМ**.

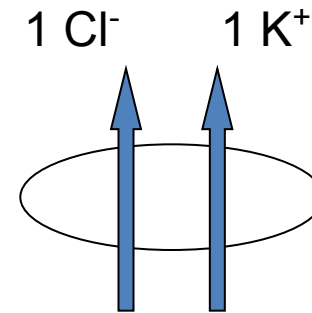
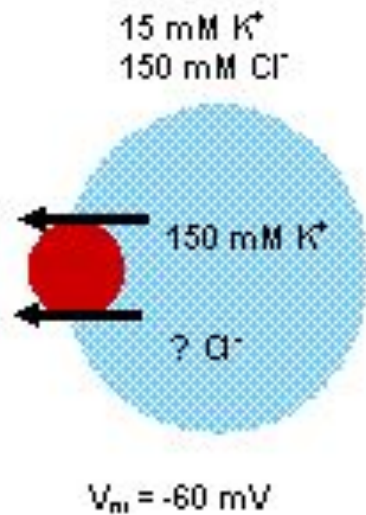
# Регуляция внутриклеточной концентрации $\text{Ca}^{2+}$

- Система вторичного активного транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  является **низкоаффинной** (низкая степень связывания катиона), но относительно **быстрой** по сравнению с системой первичного активного транспорта этого катиона.
- Эффективность этого обменника примерно в 50 раз выше, чем у  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы из-за более высокой плотности этих молекул в мембране.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник играет важную роль в условиях массивного входа в клетку, вызванного повышенной электрической активностью, когда активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы недостаточно для регуляции концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ .
- С другой стороны  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы активны в условиях низких (меньше 1 мкМ) концентраций внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ , что обеспечивает тонкую регуляцию концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ .



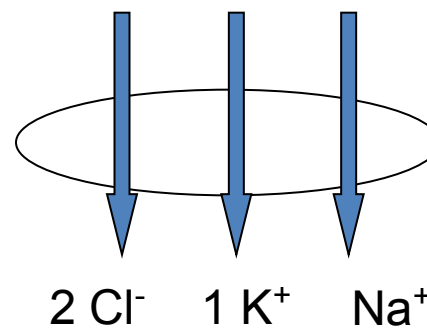
# Регуляция внутриклеточной концентрации $\text{Cl}^-$

- **$\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -ко-транспортная** система выводит  $\text{Cl}^-$  из клетки за счет градиента ионов  $\text{K}^+$  и не зависит от внеклеточной концентрации  $\text{Na}^+$ . Эта транспортная система необходима для восстановления нормальной внутриклеточной концентрации  $\text{Cl}^-$  в результате постсинаптической гиперполяризации.



# Регуляция внутриклеточной концентрации $\text{Cl}^-$

- Высокая концентрация внутриклеточного  $\text{Cl}^-$  при развитии нейронов поддерживается благодаря работе одной из двух изоформ  **$\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -ко-транспорта**, переносящего внутрь клетки два иона  $\text{Cl}^-$  и один ион  $\text{K}^+$  за счет градиента ионов  $\text{Na}^+$ , направленного внутрь.



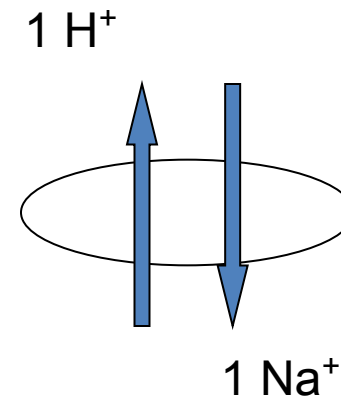
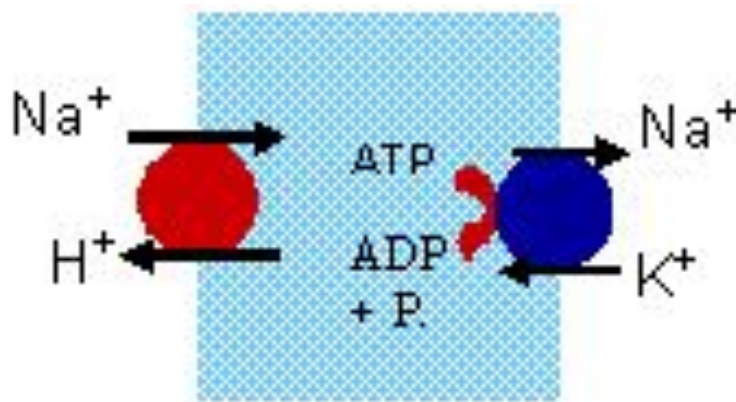
# Регуляция внутриклеточного уровня рН

Электрическая активность нейронов и внутриклеточный рН находятся в реципрокных отношениях:

- увеличение электрической активности вызывает быстрые изменения рН
- и, наоборот, флуктуации рН влияют на выделение медиаторов из нейронов и на частоту их импульсации.
- Механизмы регуляции внутриклеточного уровня рН в нейронах и глиальных клетках принципиально сходны с таковыми в других клетках и обеспечиваются главным образом **четырьмя** различными системами вторичного активного транспорта.

# Регуляция внутриклеточного уровня рН

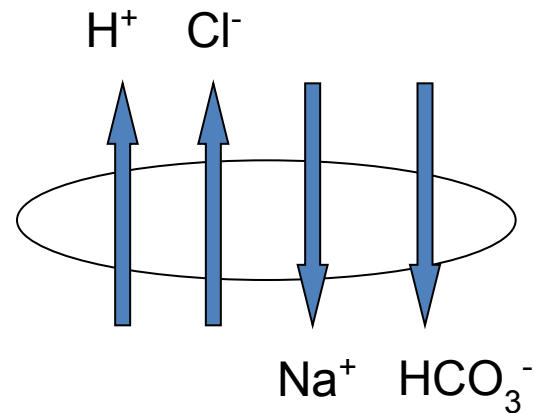
- 1) Внутриклеточный уровень рН поддерживается благодаря **Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменнику**, транспортирующего через мембрану один ион Na<sup>+</sup> в цитоплазму (по концентрационному градиенту) один ион H<sup>+</sup> из цитоплазмы.



# Регуляция внутриклеточного уровня рН

2) Внутриклеточный уровень рН поддерживается **Na<sup>+</sup>-зависимым Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменником**, который выводит ионы Cl<sup>-</sup> и H<sup>+</sup> наружу, а ионы Na<sup>+</sup> и HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> - внутрь клетки.

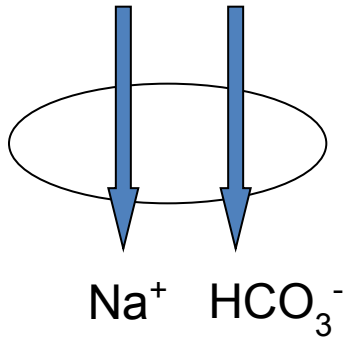
Таким образом, кроме вклада в регуляцию рН этот обменник также поддерживает низкую концентрацию Cl<sup>-</sup> в цитоплазме.



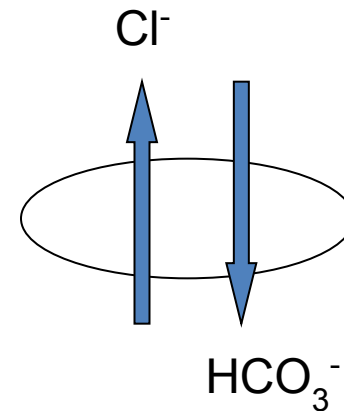
# Регуляция внутриклеточного уровня pH

Ион  $\text{HCO}_3^-$  выполняет в клетке роль буфера протонов.

3)  $\text{HCO}_3^-$  транспортируется посредством  **$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -ко-транспорта** за счет градиента  $\text{Na}^+$

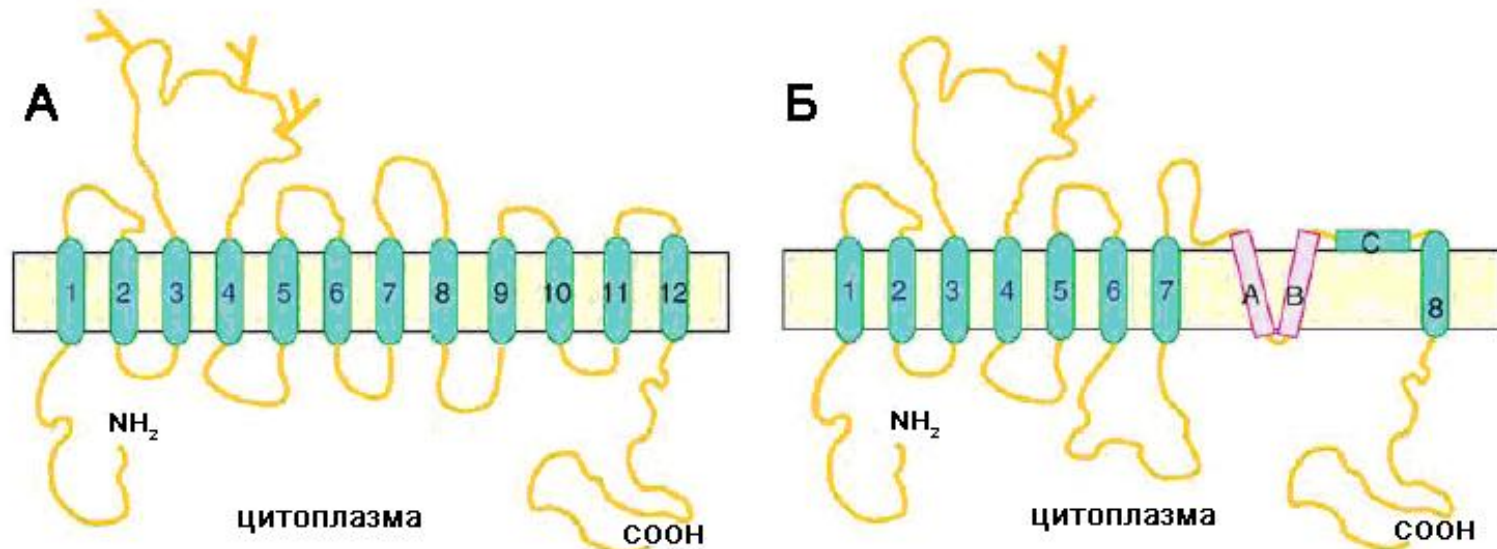


4) и  **$\text{Na}^+$ -независимым  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменником** за счет градиента  $\text{Cl}^-$



# Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

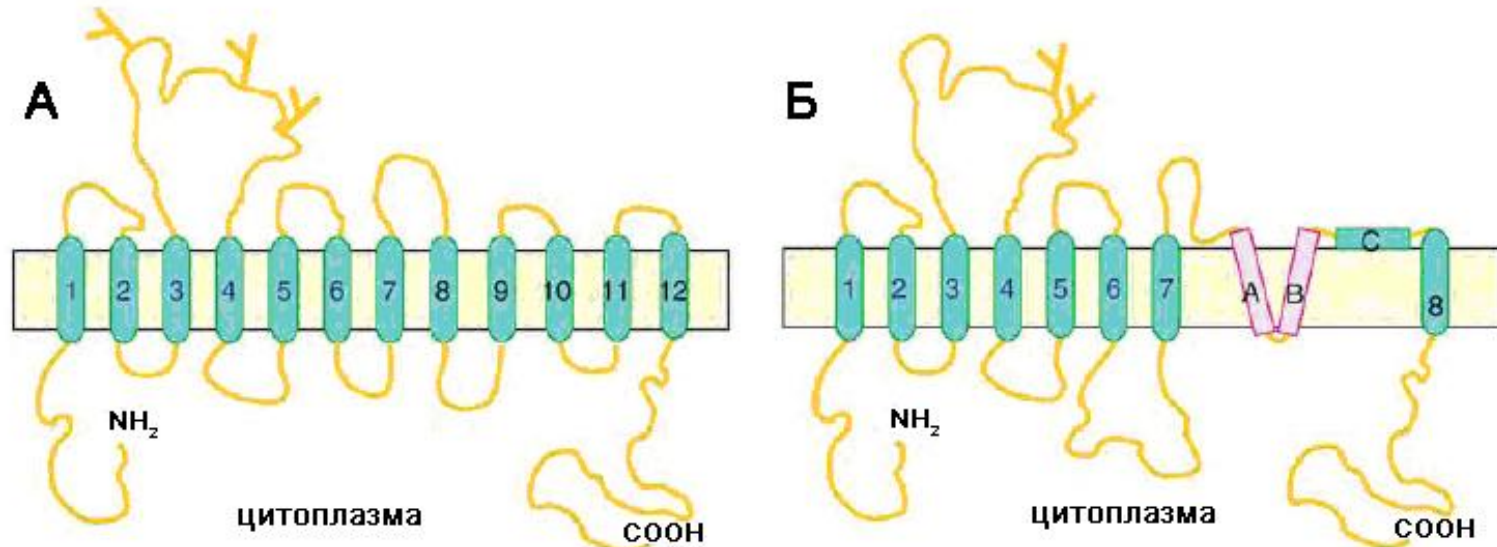
- Транспорт медиаторов через мембраны нейронов и глиальных клеток, а также через мембраны клеточных органелл обеспечивается специальными системами вторичного активного транспорта.
- Транспортёры медиаторов характеризуются высокой аффинностью и способностью быстро переносить молекулы медиаторов.
- Они представляют собой белки, состоящие из 500-800 аминокислот, и локализованы в пре- и постсинаптических мембранах нейронов, а также в мембранах глиальных клеток – астроцитов.



# Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

Транспортеры медиаторов подразделяются на два семейства (см. табл.):

- 1) **Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-зависимые (А)**
- 2) и **Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-зависимые (Б)**





# Транспортеры медиаторов плазматических мембран

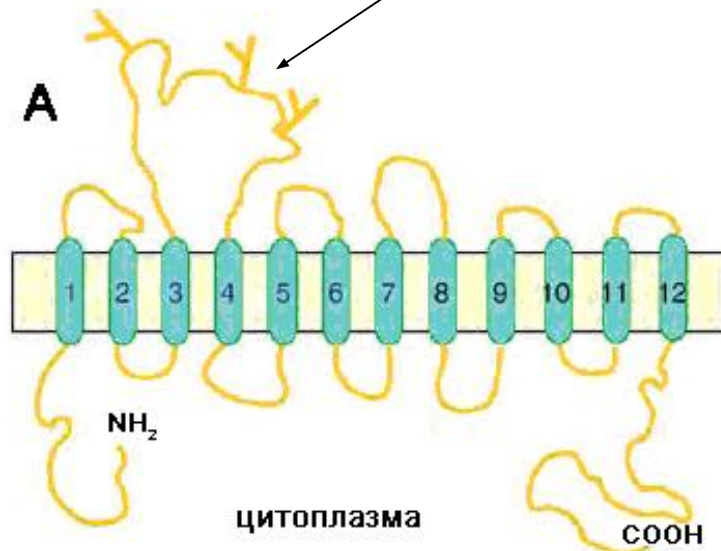
Международная номенклатура транспортера	Субстрат (медиатор)	Сопряженный механизм (ионный градиент)	Размер (число аминокислот)
GLAST	L-Glutamate	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> and K <sup>+</sup>	543
GLT1	L-Glutamate	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> and K <sup>+</sup>	572
EAAC1	L-Glutamate	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> and K <sup>+</sup>	523
EAAT4	L-Glutamate	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> and K <sup>+</sup>	561
EAAT5	L-Glutamate	Na <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> and K <sup>+</sup>	559
GAT1	GABA	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	598
GAT2	GABA	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	614
GAT3	GABA	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	602
GAT4	GABA	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	627
GLYT1a	Glycine	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	633
GLYT1b	Glycine	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	637
GLYT2	Glycine	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	798
DAT	Dopamine	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	619
SERT	Serotonin	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	630
NET	Norepinephrine	Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup>	617

# Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

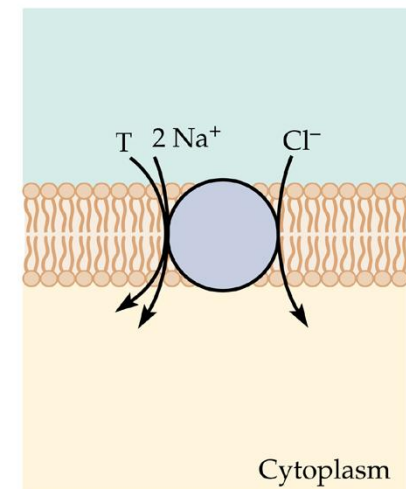
## Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

А - схематичная топология **Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-зависимых транспортеров**, отражающая 12 трансмембранных доменов, соединяющих внутри- и внеклеточные петли. У-образные фрагменты на большой внеклеточной петле между 3-м и 4-м доменами предположительно представляют собой N-гликозилированные остатки аспарагиновой кислоты.

(по Masson J, Sagne C, Hamon M, Mestikawy SEL (1999) Neurotransmitter transporters in the central nervous system. Pharmacol Rev 51:439–464).



(B) Monoamines, GABA, glycine

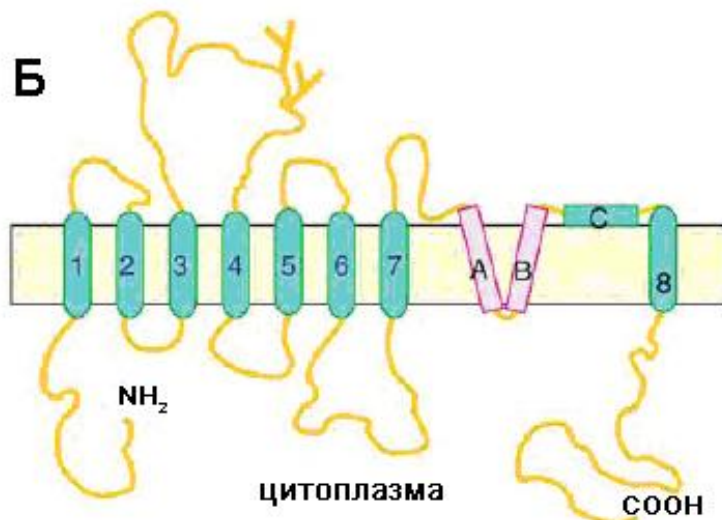


# Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

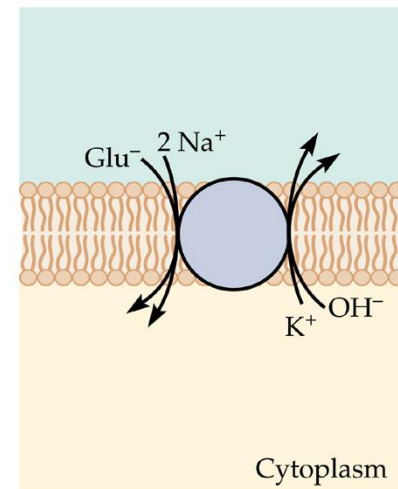
## Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

Б - схематичная топология **Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-зависимых глутаматных транспортеров**, отражающая 8 трансмембранных доменов, входящую извне шпилькообразную петлю (А и В), которая напоминает ионпроводящую пору ионного канала, фрагмент С соединяет домен 8 с остальной частью молекулы

(по Masson J, Sagne C, Hamon M, Mestikawy SEL (1999) Neurotransmitter transporters in the central nervous system. Pharmacol Rev 51:439–464).



(A) Glutamate



# Транспорт медиаторов из цитоплазмы в везикулы

- Транспорт медиаторов в секреторные везикулы обеспечивается специальными системами вторичного активного транспорта – везикулярными транспортерами медиаторов, которые представляют собой белки, состоящие из 500-600 аминокислот.
- Транспорт большинства медиаторов из цитоплазмы внутрь везикул осуществляется с использованием градиента протонов, направленного из везикулы в цитоплазму.
- В свою очередь электрохимический градиент протонов формируется в результате работы **H<sup>+</sup>-АТФазы V-типа**.
- Этот градиент включает **химический** (концентрационный градиент) и **электрический** (разность потенциалов) компоненты.
- В зависимости от транспортера **оба** или только **один** из этих компонентов могут использоваться в качестве источника энергии для транспорта медиатора.

# Везикулярные транспортеры медиаторов

Везикулярные транспортеры медиаторов включают три семейства (см. табл.), переносящие

- 1) ГАМК и глицин,
- 2) амины, включая ацетилхолин
- 3) и L-глутамат.

# Везикулярные транспортеры медиаторов

Номенклатура семейства	Номенклатура транспортера	Субстрат	Сопряженный механизм	Распределение в тканях	Размер (число аминокислот)
SLC32	VGAT	GABA, glycine	H <sup>+</sup> antiport	Central nervous system, pituitary, pineal gland, testis	525
SLC18	VMAT1	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H <sup>+</sup> antiport	Adrenal gland, sympathetic ganglia, skin, carotid body	525
	VMAT2	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H <sup>+</sup> antiport	Brain, adrenal gland, sympathetic ganglia, carotid body, intestine, stomach, endocrine pancreas, basophils, mast cells, platelets	514
	VACht	Acetylcholine	H <sup>+</sup> antiport	Brain, intestine, peripheral nervous system	532

# Везикулярные транспортеры медиаторов

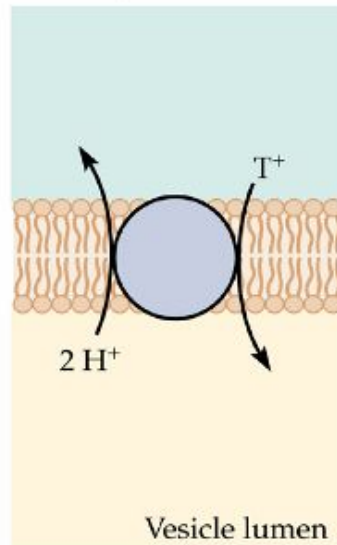
Номенклатура семейства	Номенклатура транспортера	Субстрат	Сопряженный механизм	Распределение в тканях	Размер (число аминокислот)
SLC17	VGLUT1	L-Glutamate	$\Delta\psi$ driven uniport	Brain, pineal gland, islets of Langerhans, bone	582
	VGLUT2	L-Glutamate	$\Delta\psi$ driven uniport	Brain, pineal gland, islets of Lagerhans, testis	560
	VGLUT3	L-Glutamate	$\Delta\psi$ driven uniport	Brain, liver, kidney	589

# Везикулярные транспортеры медиаторов

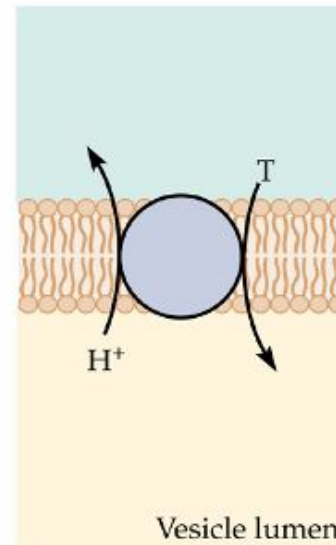
Транспортеры (В) **ГАМК** и **глицина** и (А) **аминов** (включая **ацетилхолин**) являются обменниками и переносят медиаторы внутрь везикул за счет энергии электрохимического градиента протонов, выходящих в цитоплазму, включающей

- 1) энергию концентрационного градиента протонов ( **$H^+$  antiport**), и
- 2) энергию мембранного потенциала (между содержимым везикулы и цитоплазмой) ( **$\Delta\psi$  driven uniport**).

(A) Monoamines and acetylcholine



(B) GABA and glycine



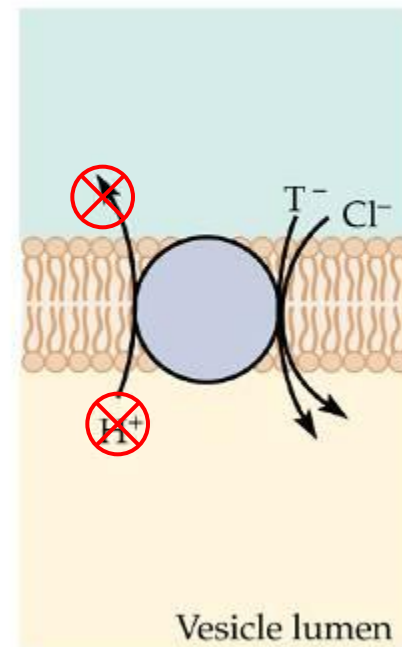


# Везикулярные транспортеры медиаторов

В отличие от транспортеров двух первых семейств переносчики третьего семейства используют только электрический компонент протонного градиента ( ***$\Delta\psi$  driven uniport***) - разность потенциалов между содержимым везикулы и цитоплазмой. При этом не отмечается сопряженный выход протонов из везикулы в цитоплазму.

!!! На рис. ошибочно указан выход протонов

(C) Glutamate



Транспортеры могут выступать в роли ионных каналов, а ионные каналы могут выступать в роли транспортеров

! ? Часть молекулы транспортера может функционировать как ионный канал и, наоборот, ионный канал может проявлять активность транспортера

*Transporters as Channels (2007) Louis J DeFelice and Tapasree Goswami. Annu Rev Physiol 69:87–112.*

## Транспортеры могут выступать в роли ионных каналов

Обнаружен токсин, который предположительно блокирует  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазу, превращая ее в ионный канал, проводящий ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .

Некоторые транспортеры демонстрируют канал-подобные свойства, обуславливающие короткие электрические события, сопоставимые с дискретными событиями в обычных ионных каналах.

Например, показано, что молекула глутаматных транспортеров группы EAAC включает ионный канал, проницаемый для  $\text{Cl}^-$ ,

а дофаминовый транспортер демонстрирует ионные токи, также специфичные для  $\text{Cl}^-$ .

а ионные каналы могут выступать в роли транспортеров

С другой стороны, известны примеры, когда белки, представляющие собой ионные каналы, демонстрируют свойства транспортеров.

Например, один из группы  $\text{Cl}^-$ -каналов может выполнять функцию  $\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -обменника.