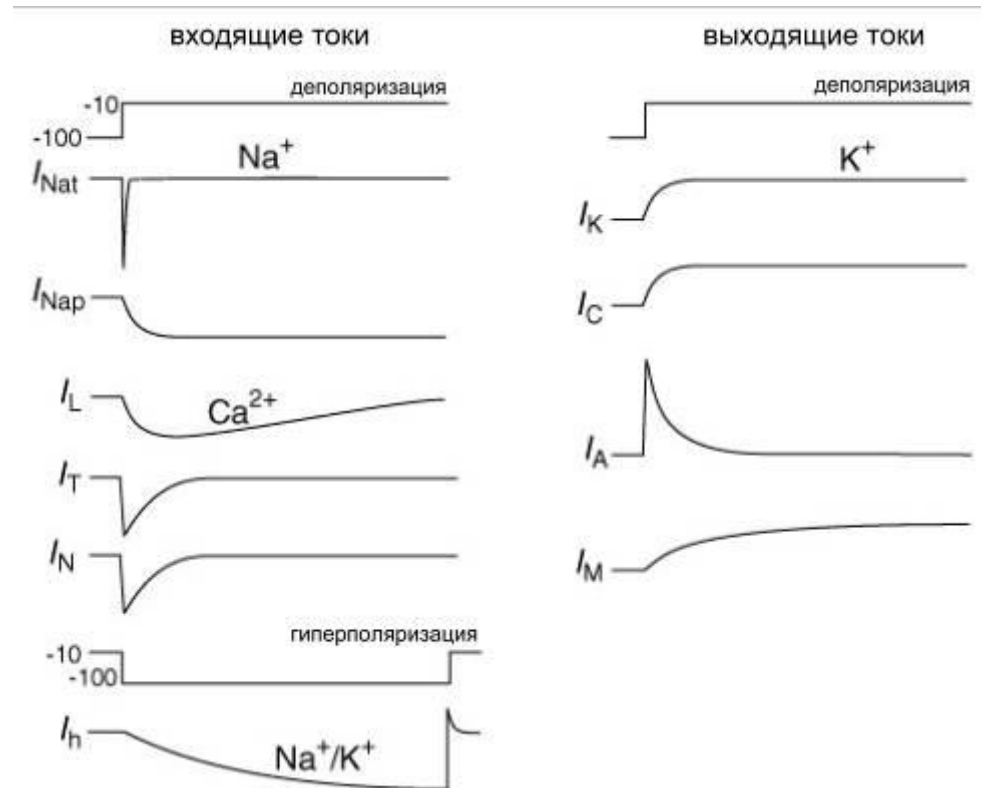
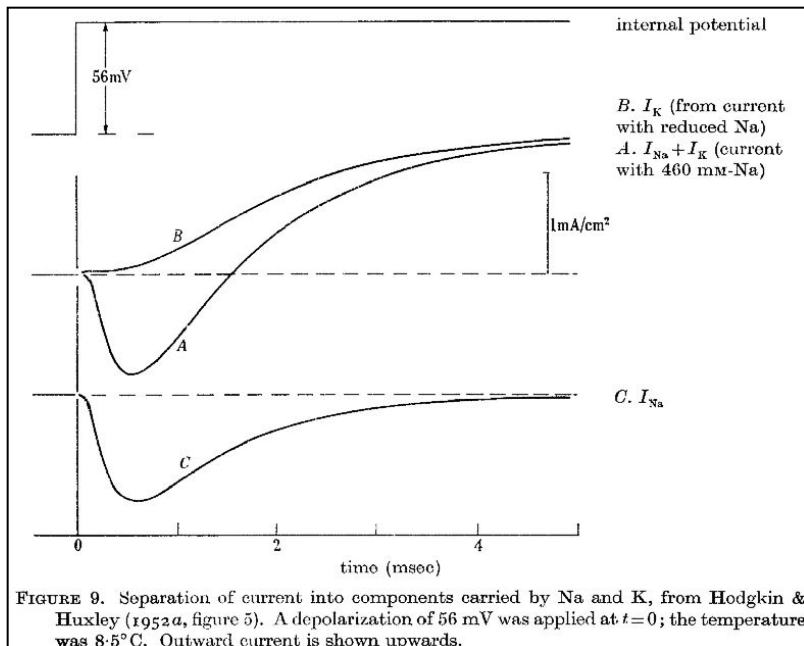


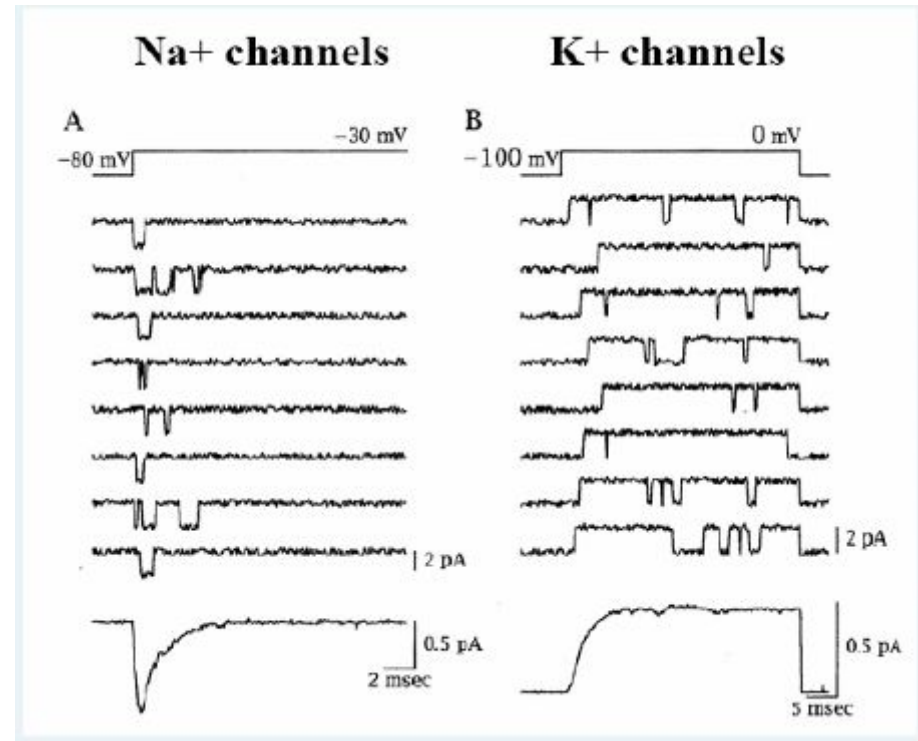
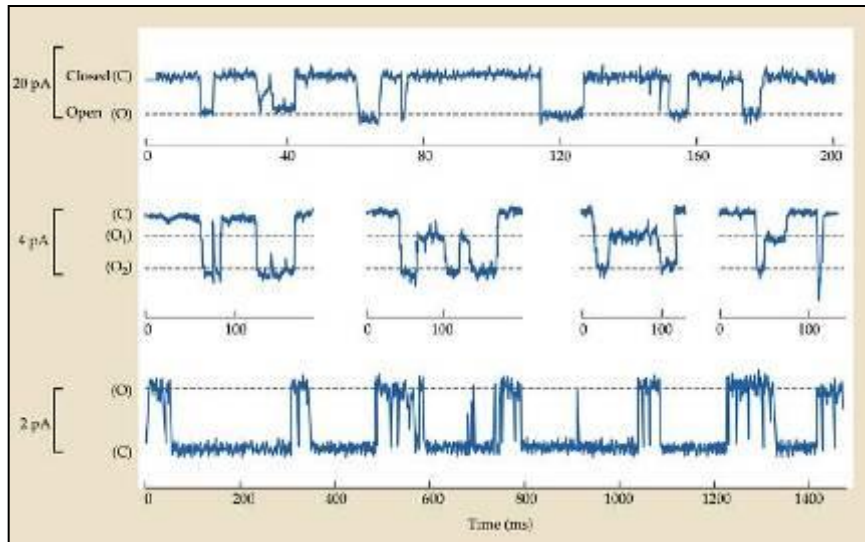
Активный транспорт ионов

- 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 Na^+ изменится примерно на 6 мкМ (т.е. от 15 мМ до 15,006 мМ).

Однако, даже такие малые изменения концентрации ионов Na^+ , сопровождающиеся также постоянной «утечкой» ионов 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, Na^+ и 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 ATP-binding cassette–типа),
выполняющих разнообразные функции в клетках организмов.

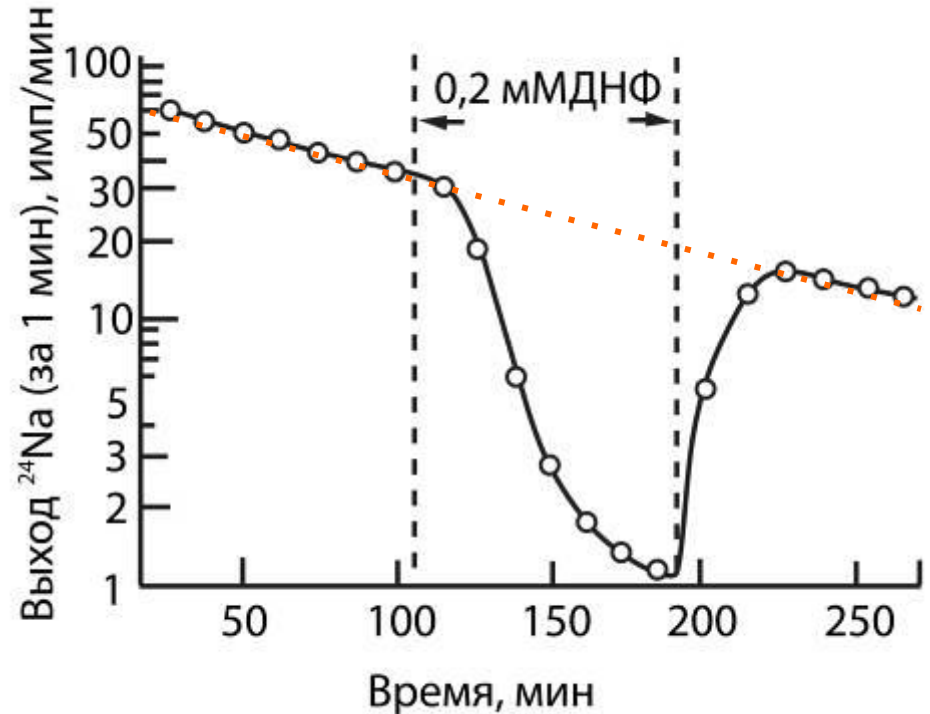
- В нервных клетках механизм первичного активного транспорта обеспечивает транспорт ионов через мембрану против их пассивного потока по электрохимическому градиенту, поддерживая тем самым трансмембранную разность потенциалов, определяющую ПП.

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 Na^+ , K^+ и 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.

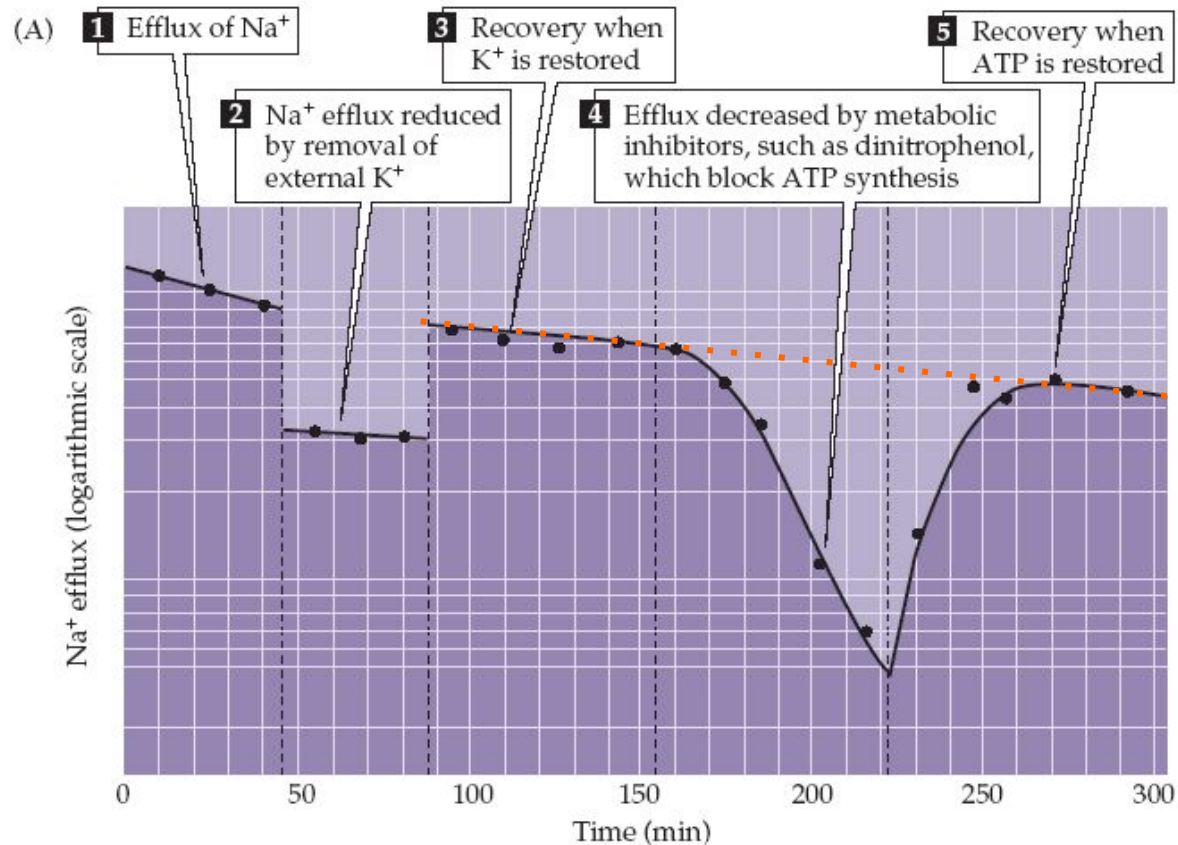
Натрий-калиевый насос

- 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 K^+

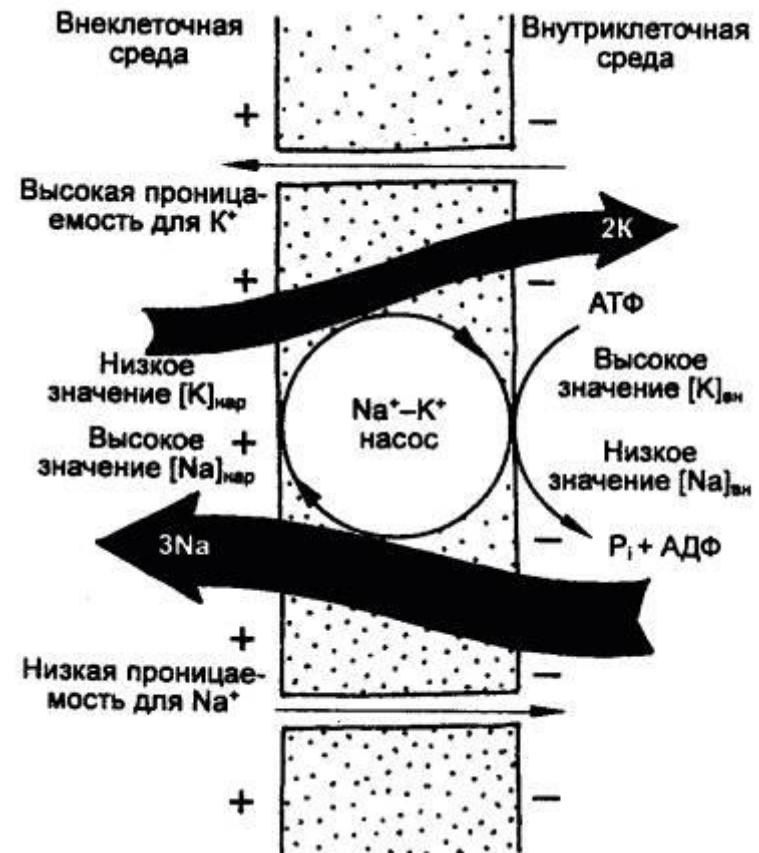


Натрий-калиевый насос

- 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**.

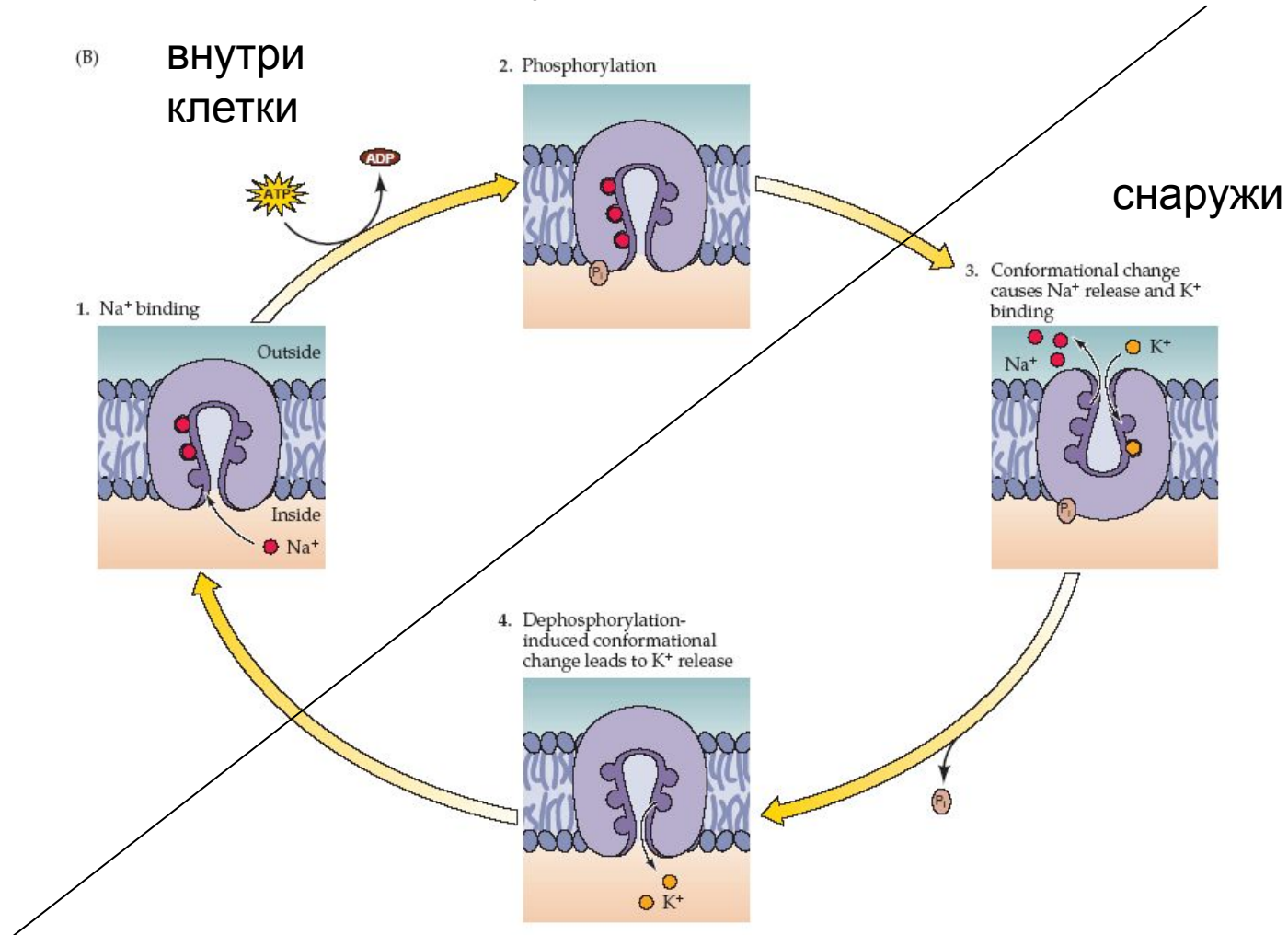
Принцип работы Na^+/K^+ -насоса (Na^+/K^+ -АТФазы)

- Переносчик (Na^+/K^+ -насос) выводит из клетки три иона Na^+ и вводит в нее два иона 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 Na^+ и переносит их наружу.
- На **внешней** стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами K^+ и переносит их внутрь клетки.



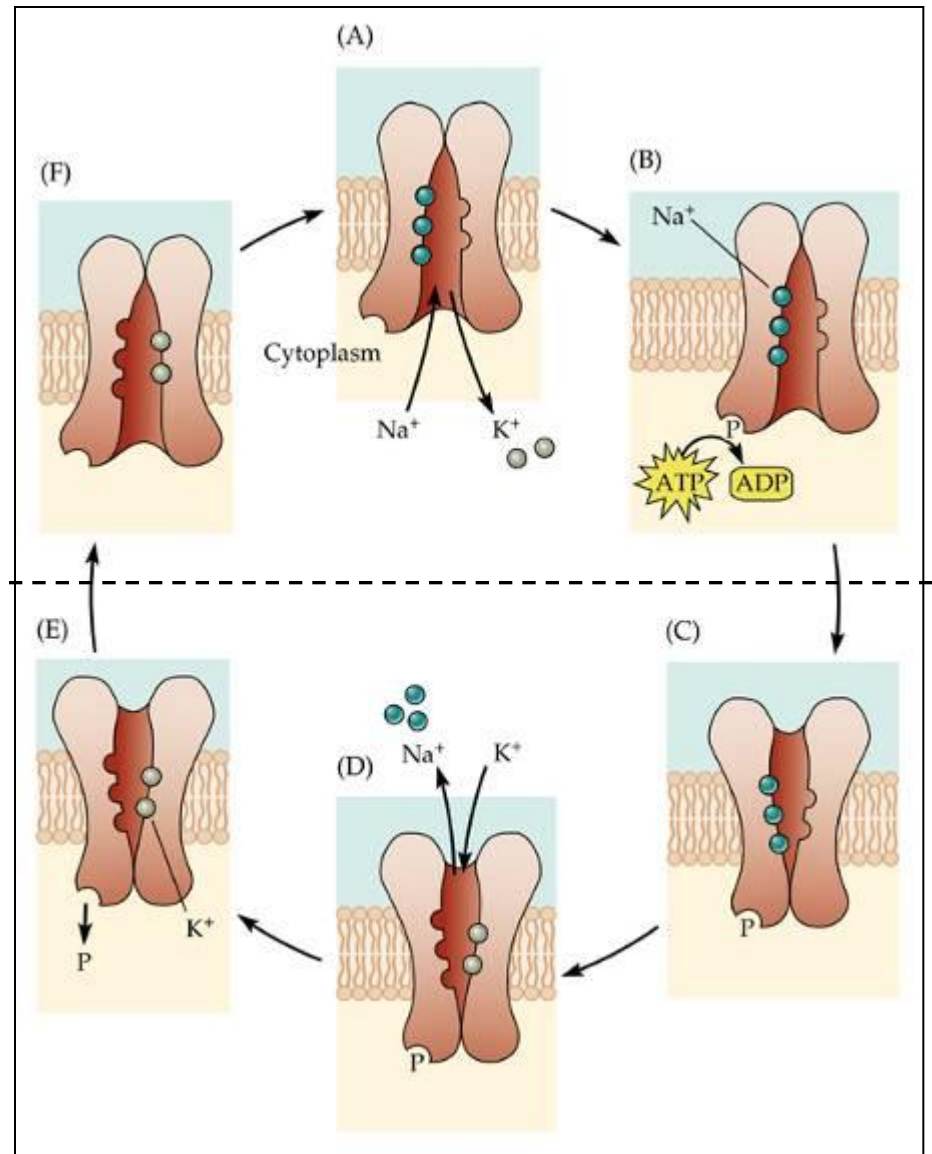
Принцип работы Na^+/K^+ -насоса (Na^+/K^+ -АТФазы)

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

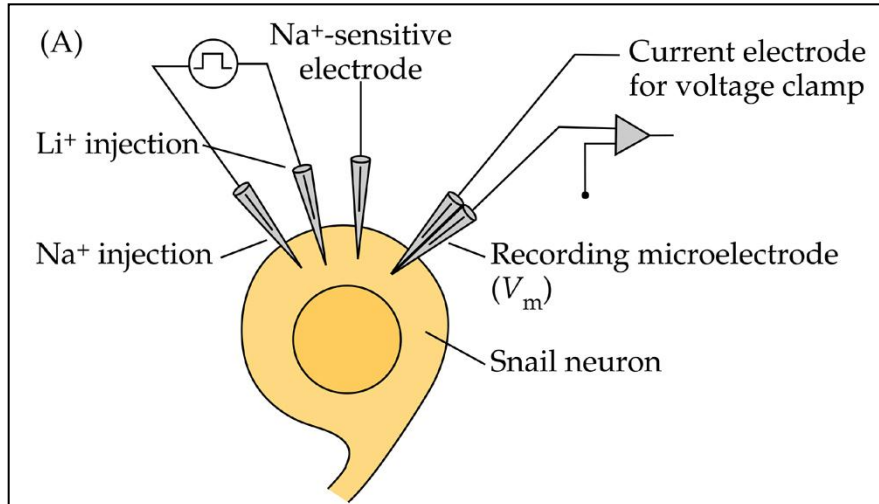


Принцип работы Na^+/K^+ -насоса (Na^+/K^+ -АТФазы)

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

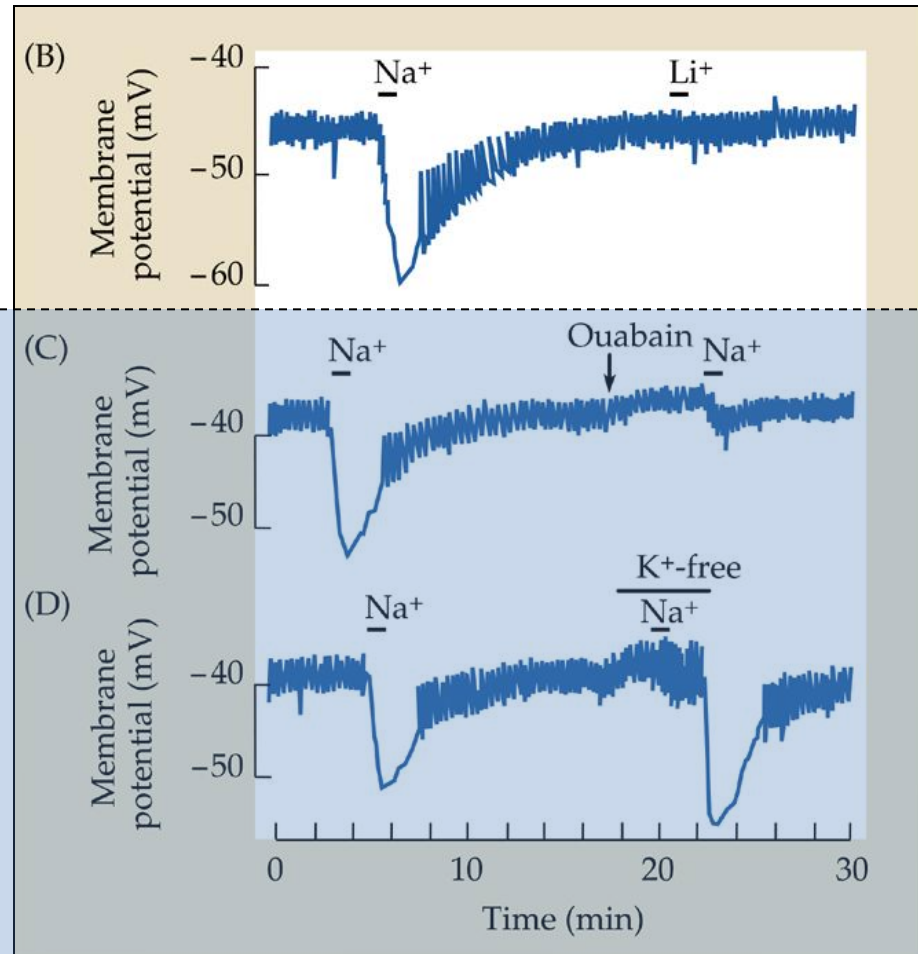


Электрогенность Na^+/K^+ -насоса

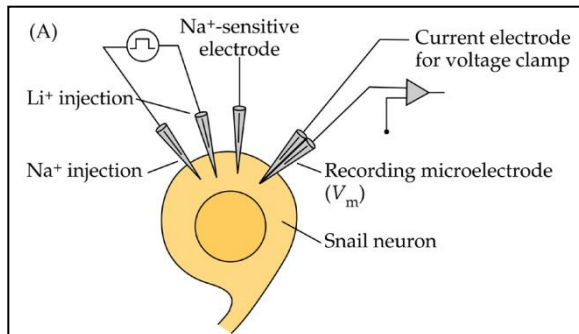


(A) Схема эксперимента

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

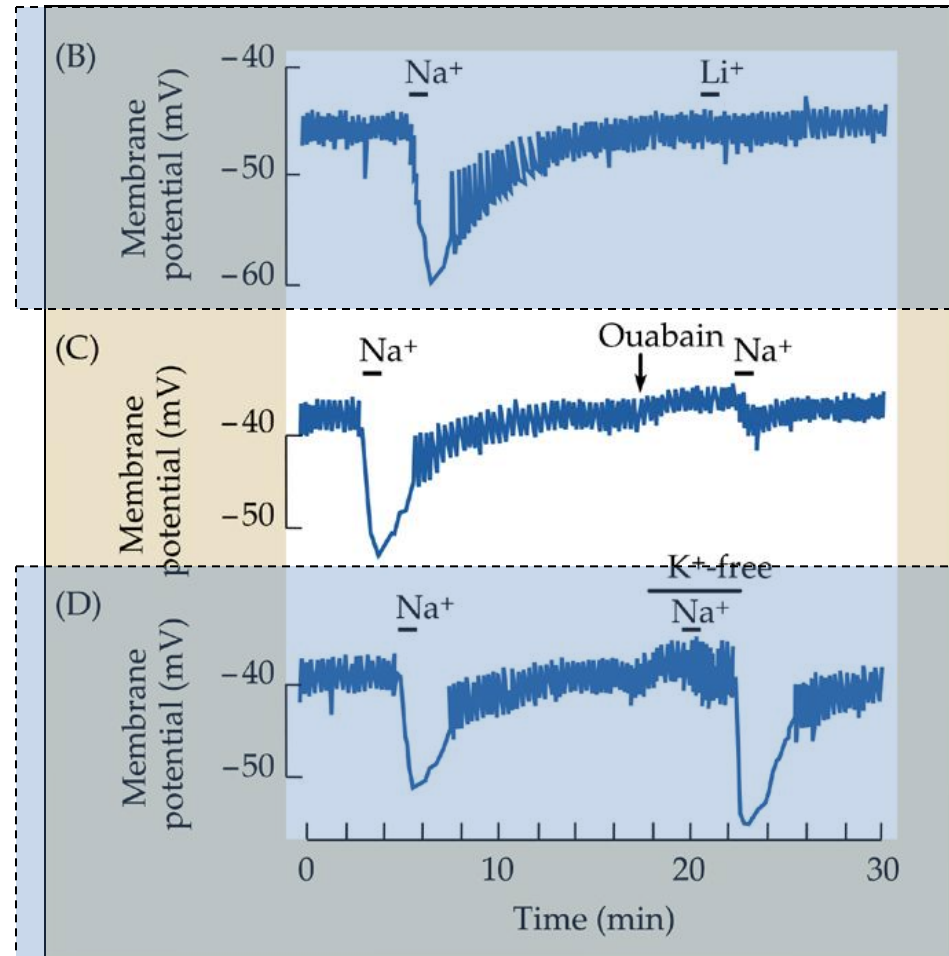


Электрогенность Na^+/K^+ -насоса

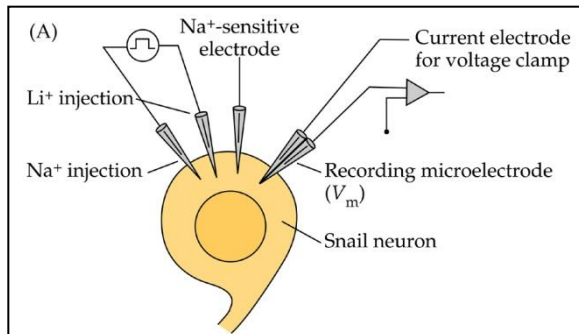


(A) Схема эксперимента

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

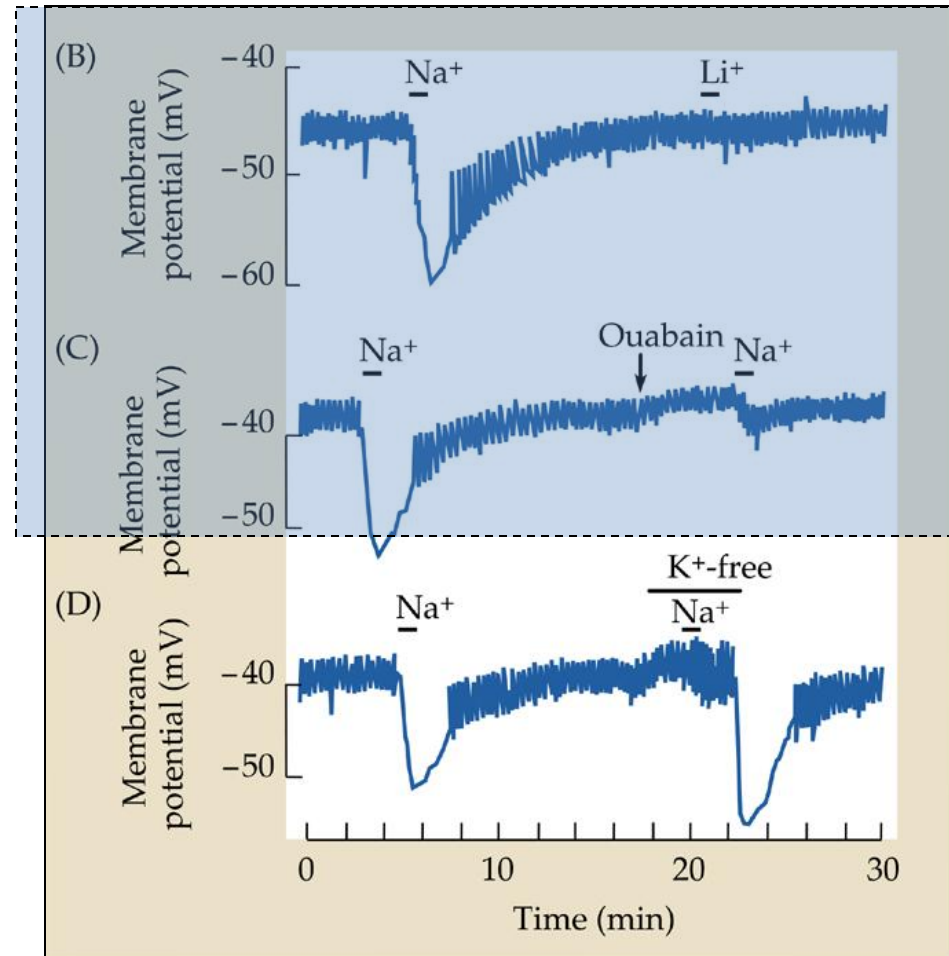


Электрогенность Na^+/K^+ -насоса



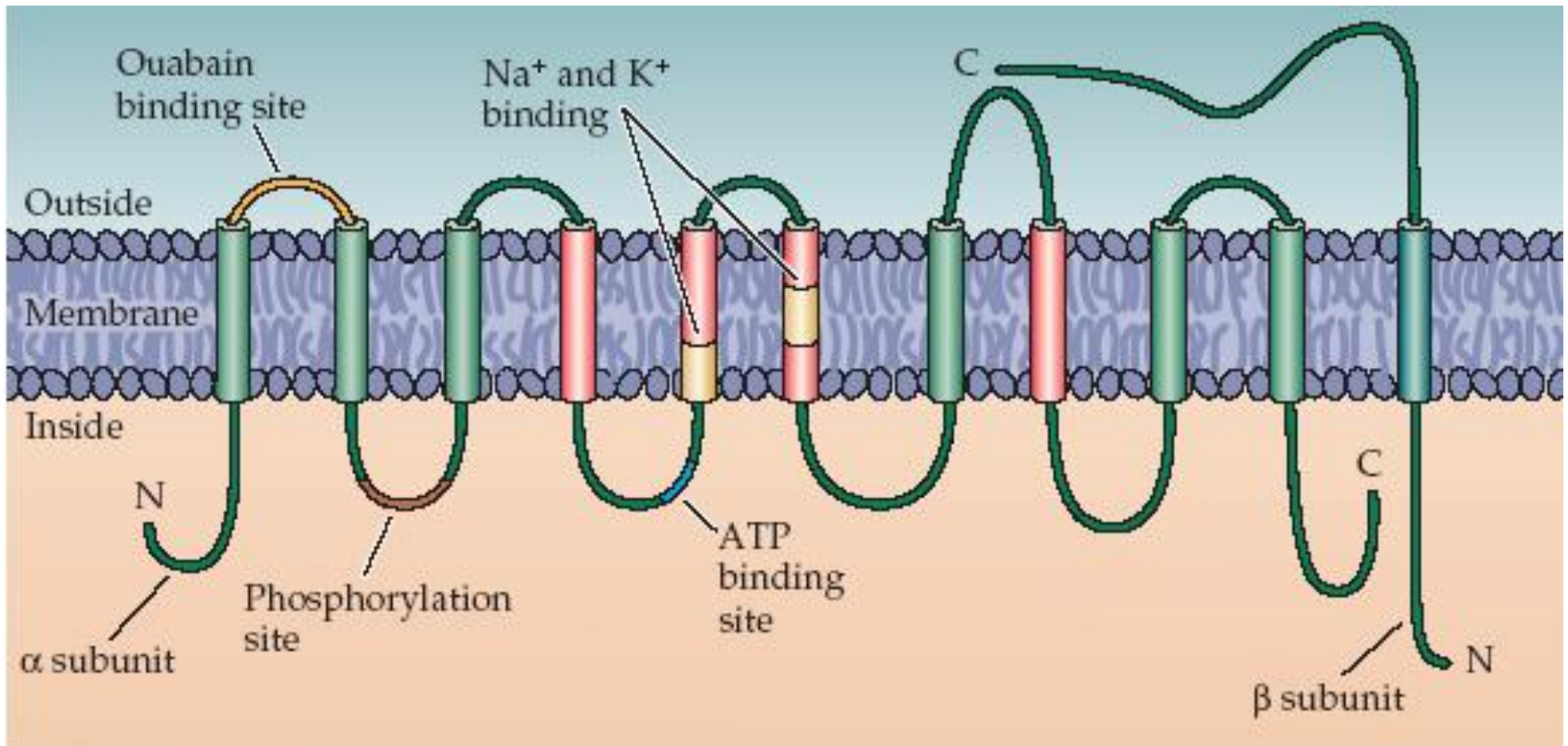
(A) Схема эксперимента

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

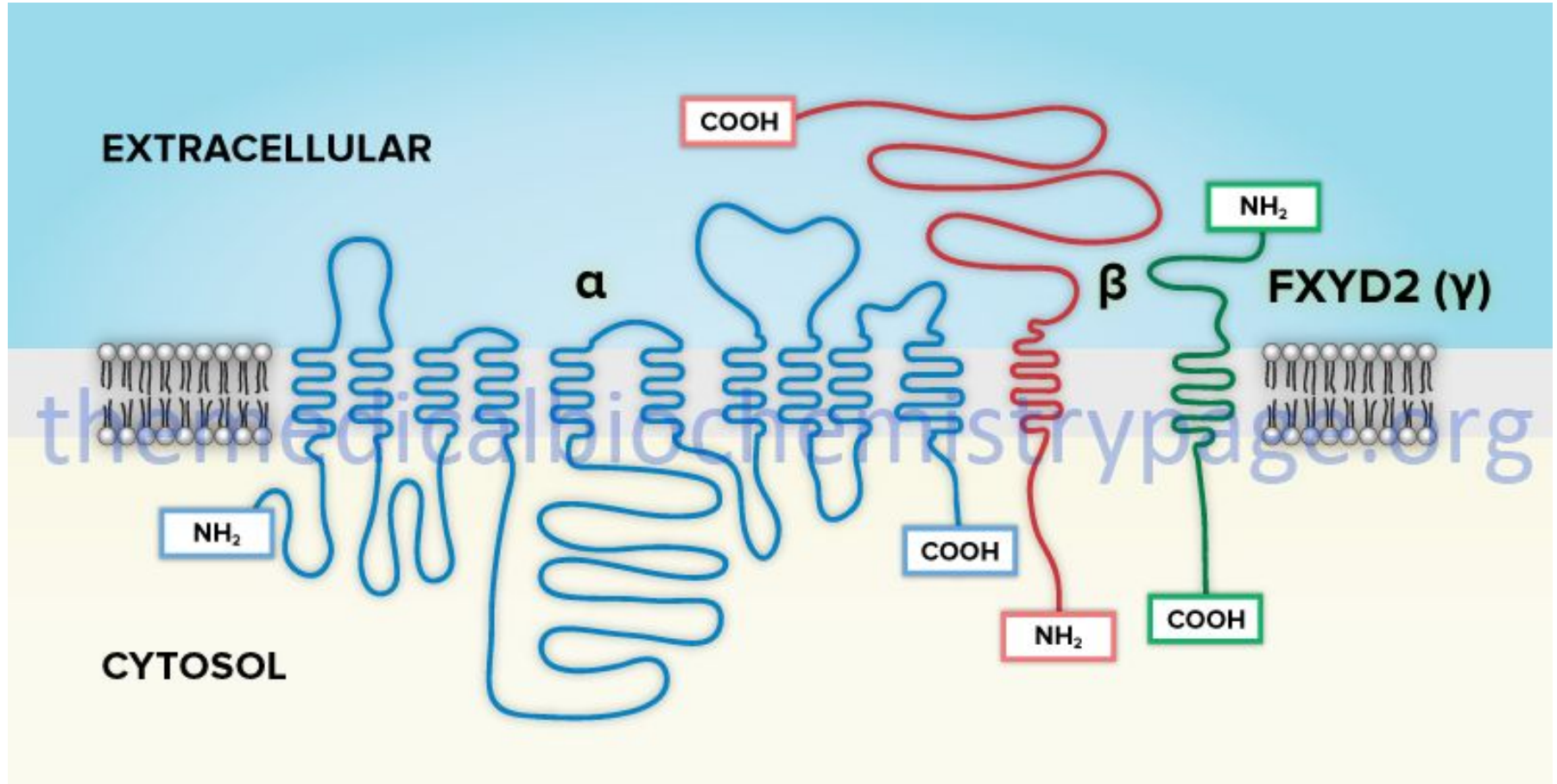


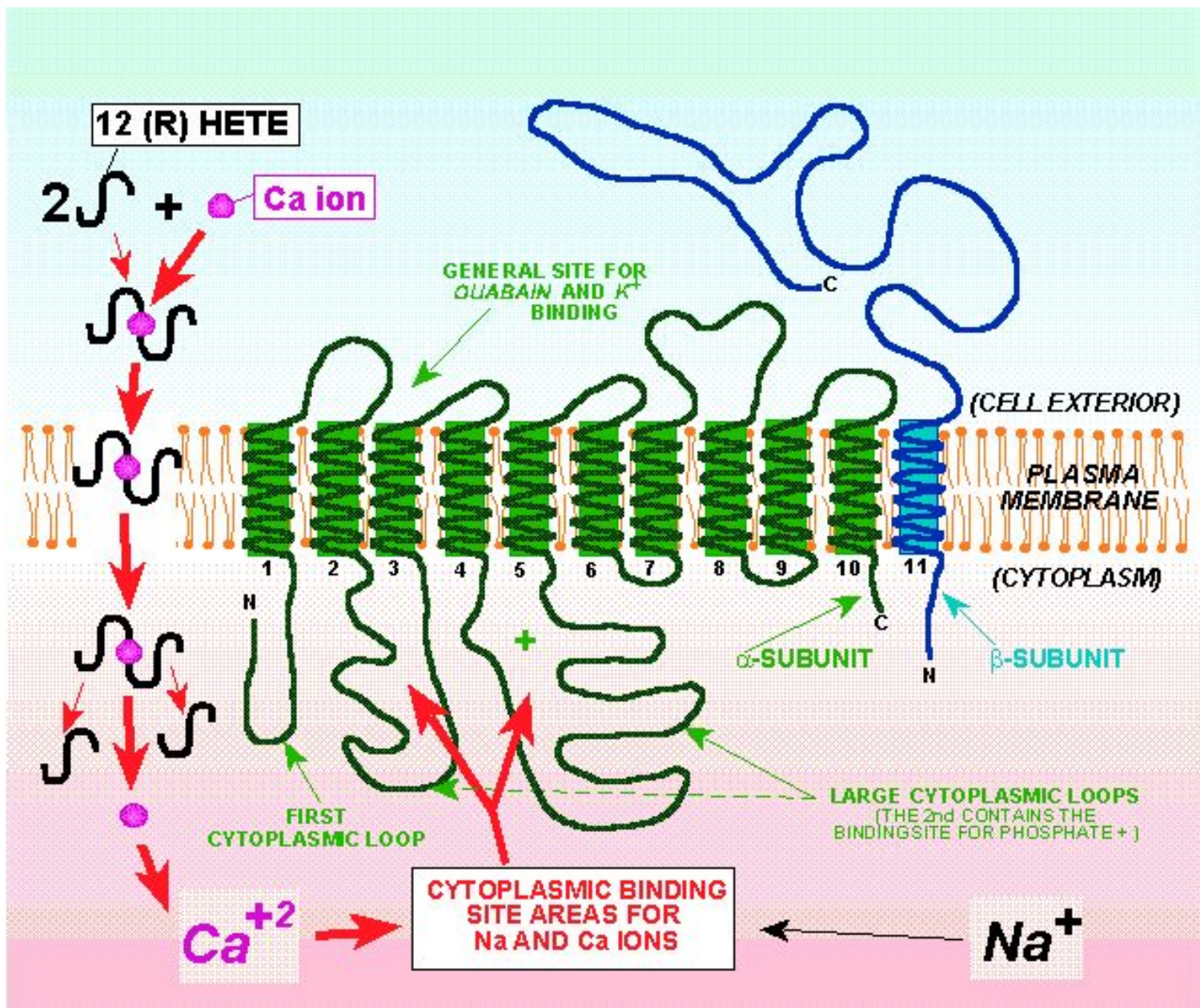
Молекулярная структура Na⁺/K⁺-АТФазы

- Na⁺/K⁺-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.



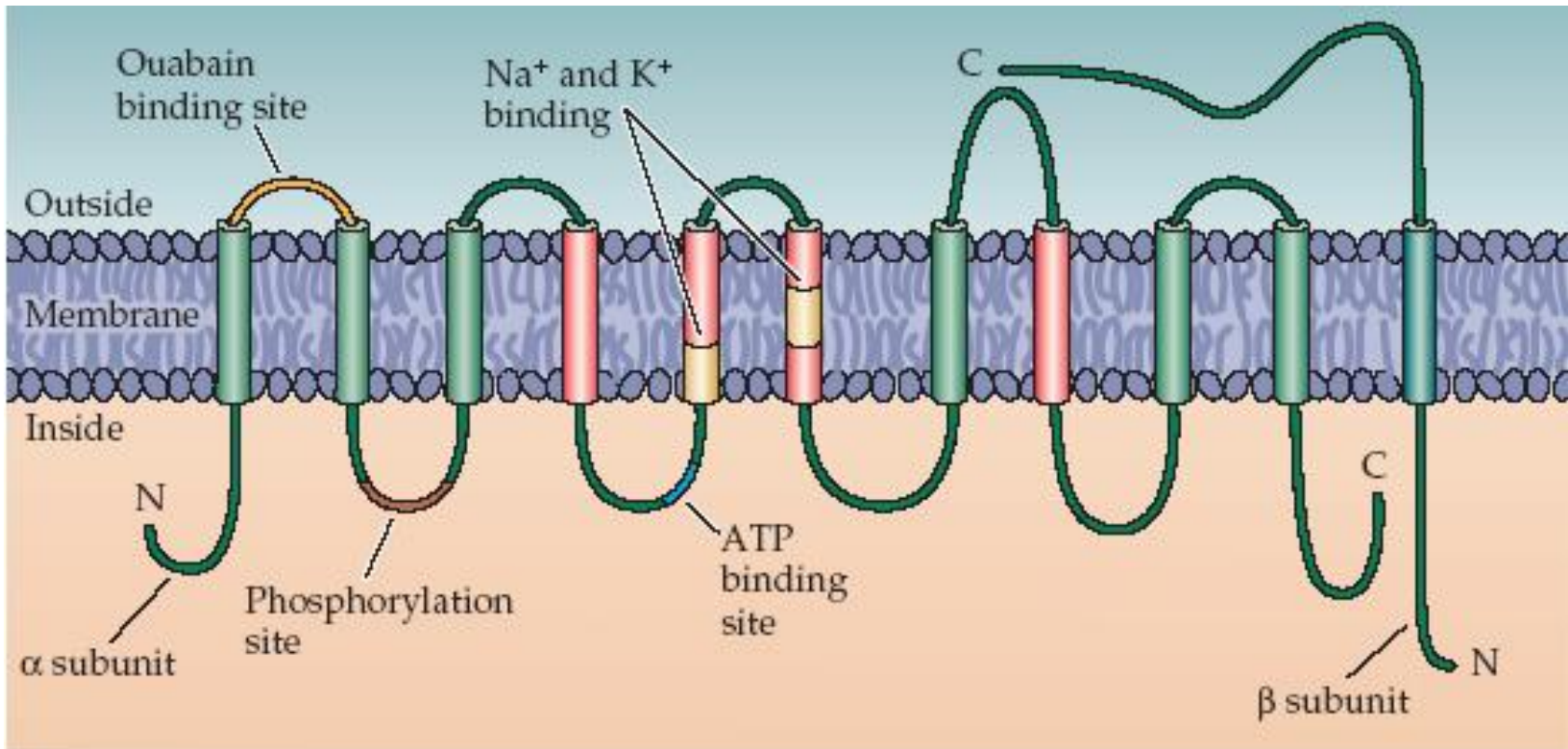
Молекулярная структура Na⁺/K⁺-АТФазы





Молекулярная структура Na⁺/K⁺-АТФазы

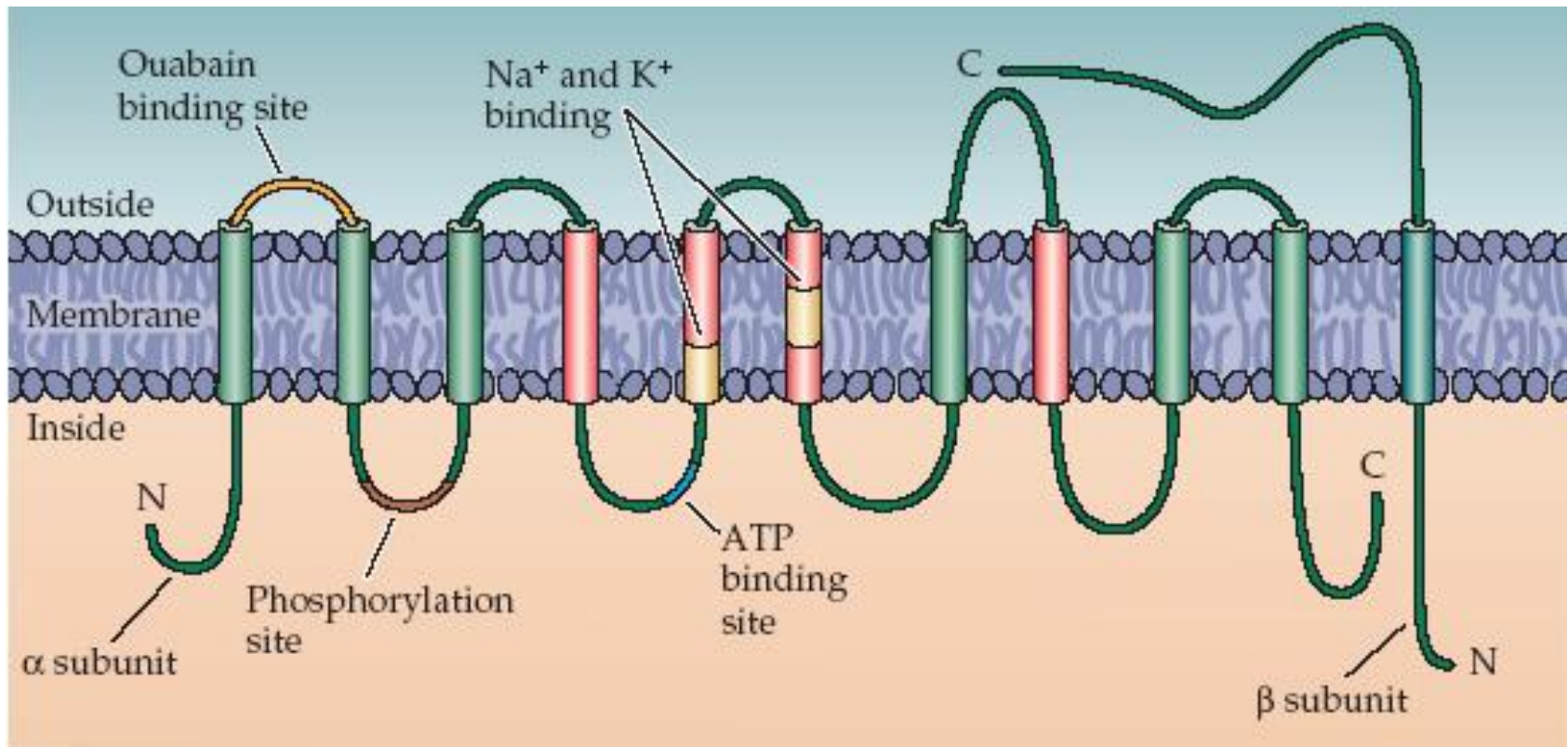
- Na⁺/K⁺-АТФаза состоит из двух субъединиц - α- (с молекулярной массой около 100 кД) и β- (с массой около 35 кД), образующих тетрамер (αβ)₂.
- Идентифицировано 3 изоформы α- и 2 изоформы β- субъединицы



Молекулярная структура Na⁺/K⁺-АТФазы

включает несколько мест связывания с субстратом:

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



Ca²⁺-насос (Ca²⁺-АТФаза)

является АТФазой **P-типа**, выводящей Ca²⁺ из цитоплазмы. Эта АТФаза (наряду с Na⁺/Ca²⁺-обменником) выполняют главную функцию по поддержанию низкого уровня внутриклеточного Ca²⁺, необходимого для обеспечения внутриклеточных путей сигнализации.

Существуют **две** разновидности Ca²⁺-АТФаз

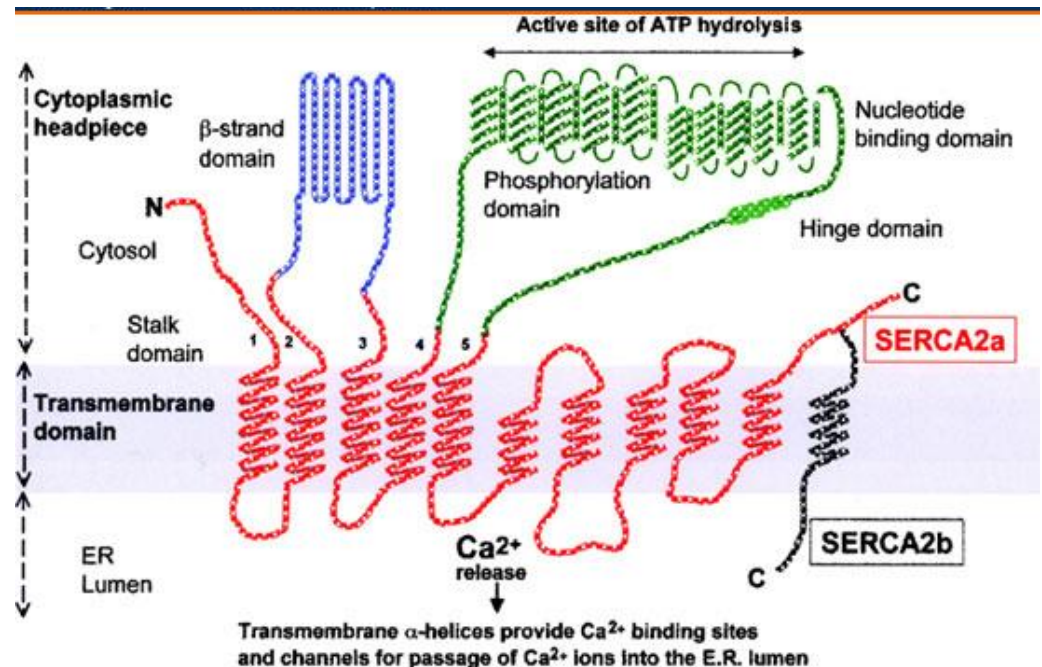
Ca²⁺-АТФазы плазматической мембраны при фосфорилировании переносят **один ион Ca²⁺** во внеклеточное пространство.

Ca²⁺-насос (Ca²⁺-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca²⁺-АТФаз

Ca²⁺-АТФазы эндоплазматического (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca²⁺** из цитоплазмы (саркоплазмы) в перечисленные внутриклеточные мембранные структуры.

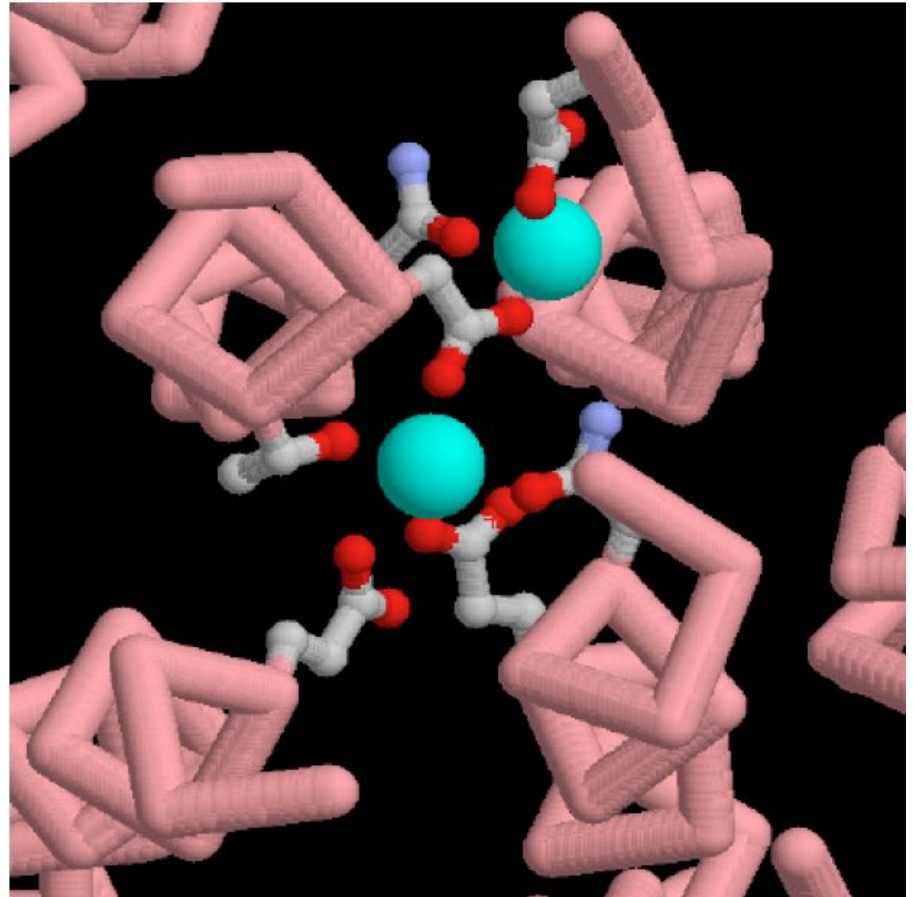
SERCA - Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase



Ca²⁺-насос (Ca²⁺-АТФаза)

Ca²⁺-АТФазы эндоплазматического (в нейронах) и **саркоплазматического** (в мышечных клетках) ретикулумов, а также митохондрий при фосфорилировании переносят **два иона Ca²⁺** 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.



Ca²⁺-насос (Ca²⁺-АТФаза)

Существуют **две** разновидности Ca²⁺-АТФаз

! Еще одно отличие.

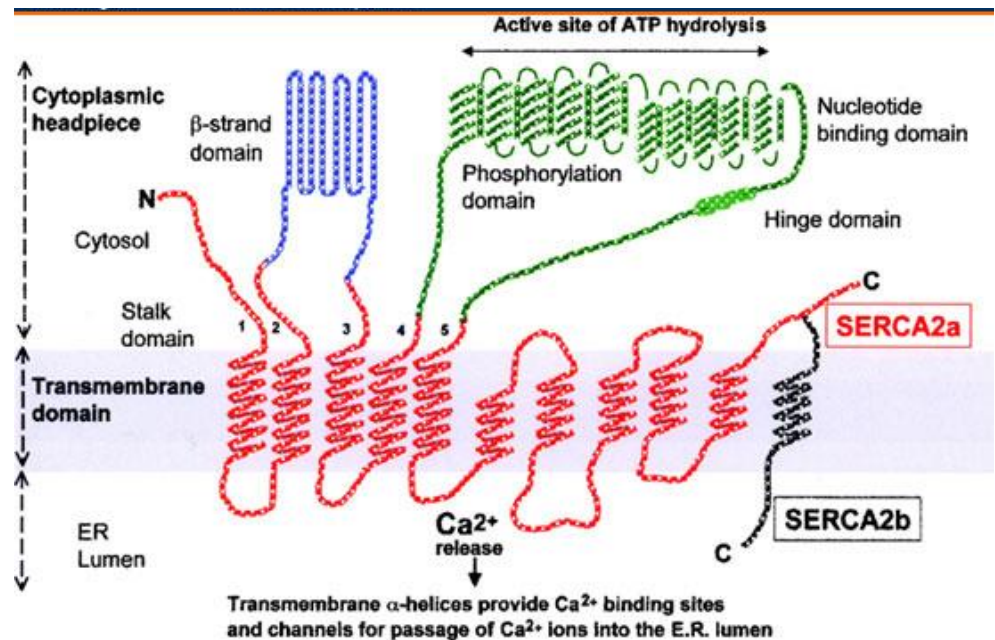
Ca²⁺-АТФаза плазматической мембраны регулируется внутриклеточным комплексом Ca²⁺/калмодулин (Ca²⁺-активируемый белок), который связывается со специальным участком на внутриклеточной петле насоса.

Такая регуляция обеспечивает быструю активацию Ca²⁺-АТФазы плазмалеммы при увеличении внутриклеточной концентрации Ca²⁺.

Ca²⁺-насос (Ca²⁺-АТФаза)

Обе формы Ca²⁺-АТФазы (плазматическая и «органельная») представлены одиночной полипептидной цепочкой с молекулярной массой около 100 кД, которая сходна по своей структуре с α -субъединицей Na⁺/K⁺-АТФазы.

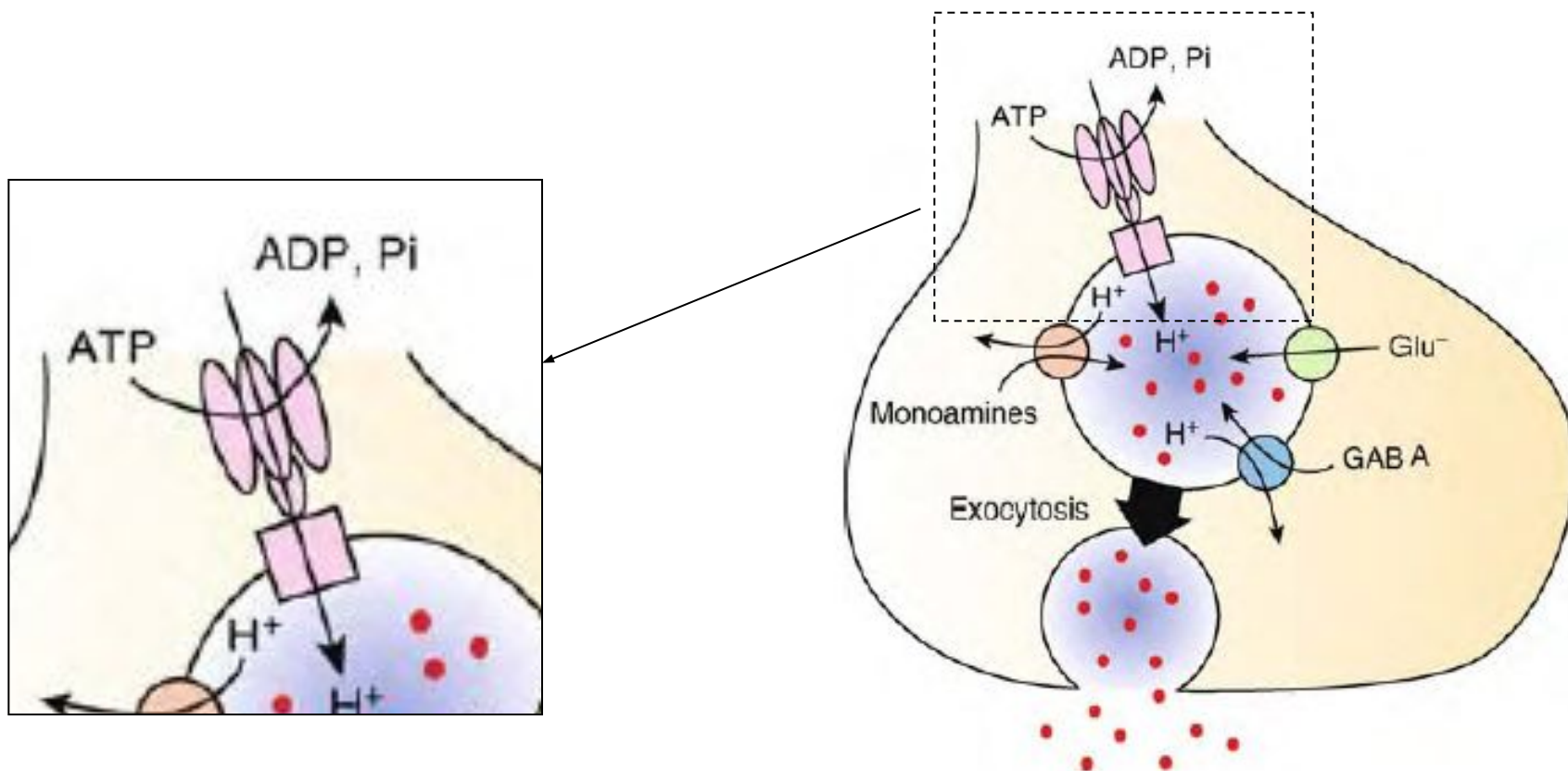
Системы первичного активного транспорта Ca²⁺ являются **высокоаффинными** (высокая степень связывания катиона), но относительно **медленными** по сравнению с системой вторичного активного транспорта этого катиона.



Протонный насос

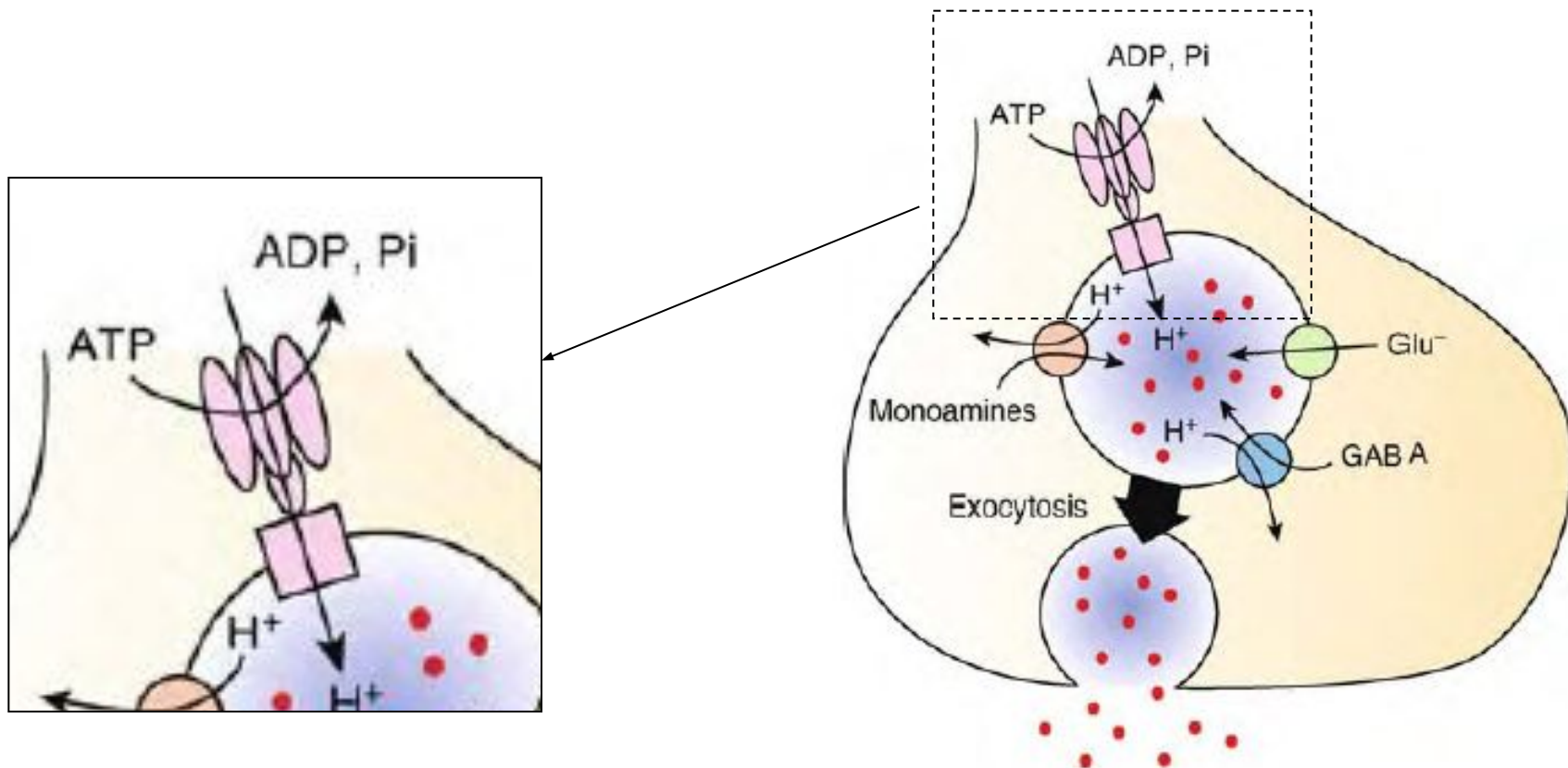
В мембранах клеточных органелл (лизосом, эндосом, а также синаптических везикул) протонный насос **H⁺-АТФаза V-типа** (от англ., *Vacuolar*) с использованием энергии гидролиза АТФ переносит внутрь органелл H⁺, поддерживая в них низкий уровень рН.

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



Протонный насос

Кроме того в мембранах митохондрий содержится **H⁺-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 **Mg²⁺-АТФаза Р-типа**, которая с использованием энергии АТФ выводит наружу ионы Mg²⁺.

Протон-калиевый насос

- В мембранах эпителиальных клеток желудка выделена **H⁺/K⁺-АТФаза Р-типа**. По своей структуре она сходна с Na⁺/K⁺-АТФазой.
- В отличие от последней эта АТФаза не является электрогенной, поскольку выводит один ион H⁺ наружу и один ион K⁺ - 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⁺-АТФазы F-типа**, которая в мембранах митохондрий синтезирует АТФ из АДФ и остатка фосфата с использованием энергии протонного градиента.

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

АТФазы в других клетках

Хлорный насос

Хлорная АТФаза, переносящая ионы Cl⁻ 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⁻ 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:

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

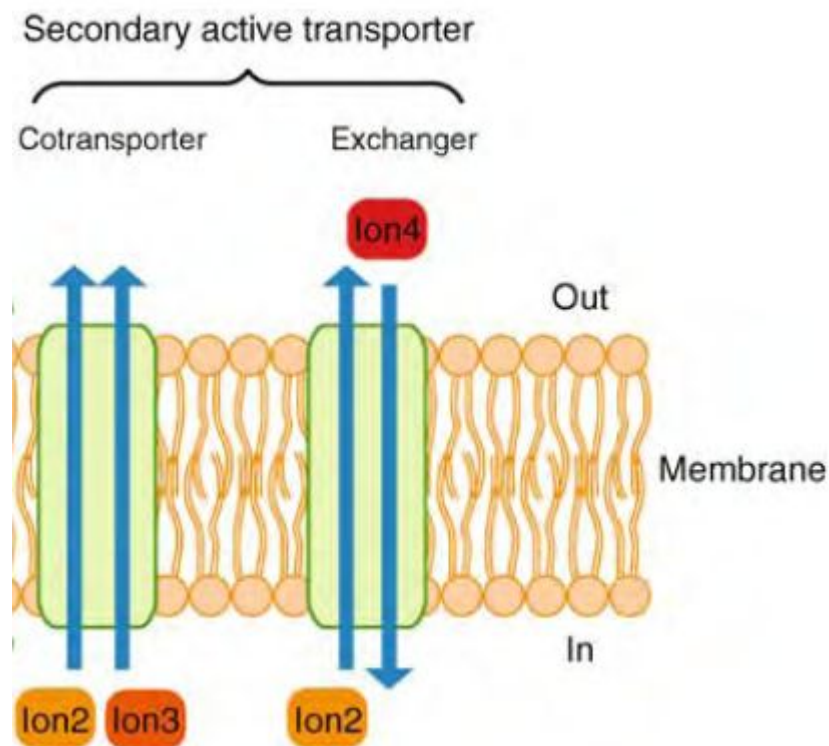
Механизмы вторичного активного транспорта

- 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

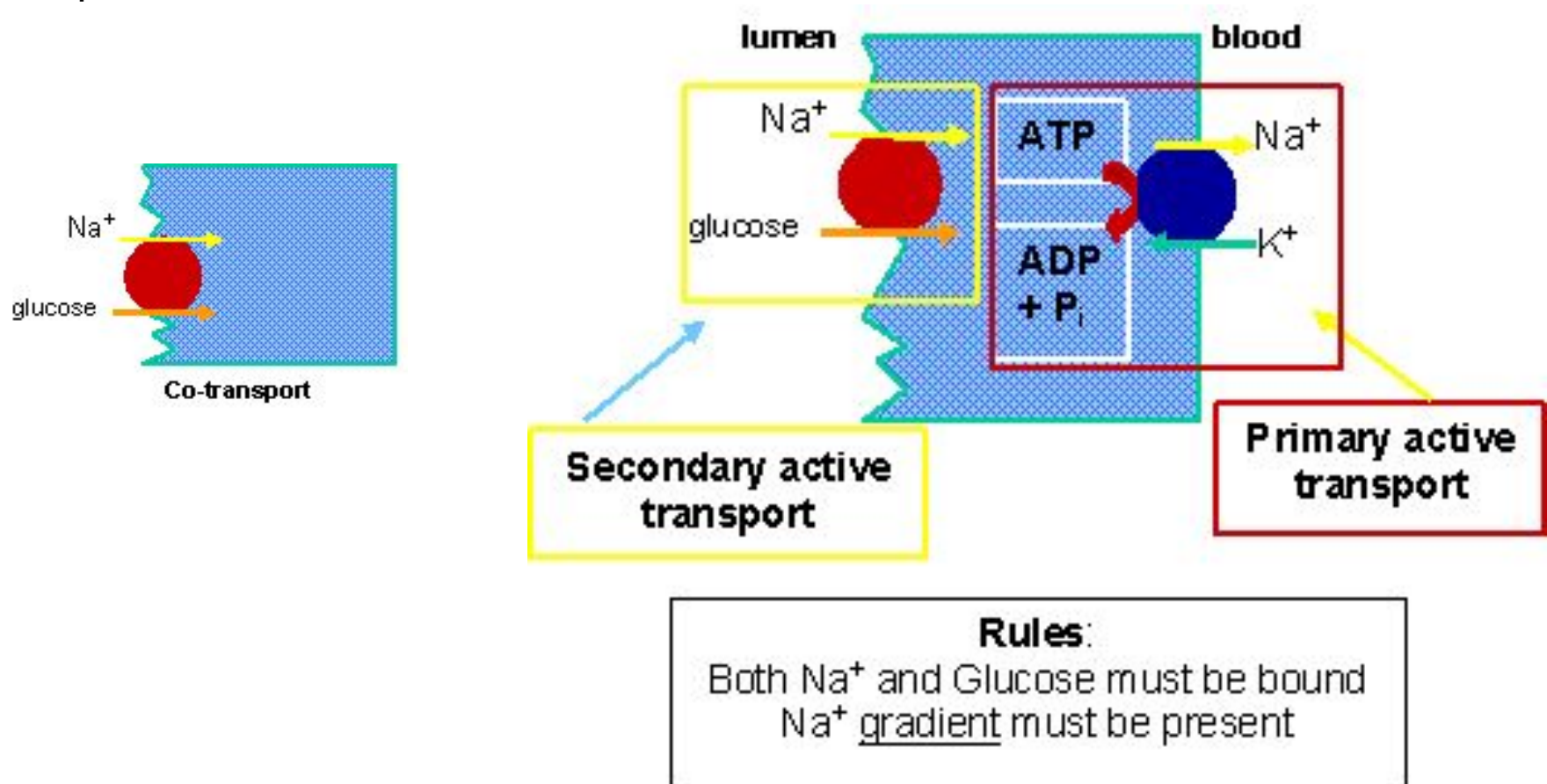
- **Ко-транспортеры** (*cotransporter*) обеспечивают перенос одних ионов против их концентрационного градиента в том же направлении, в котором движутся другие ионы по своим концентрационным градиентам.

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



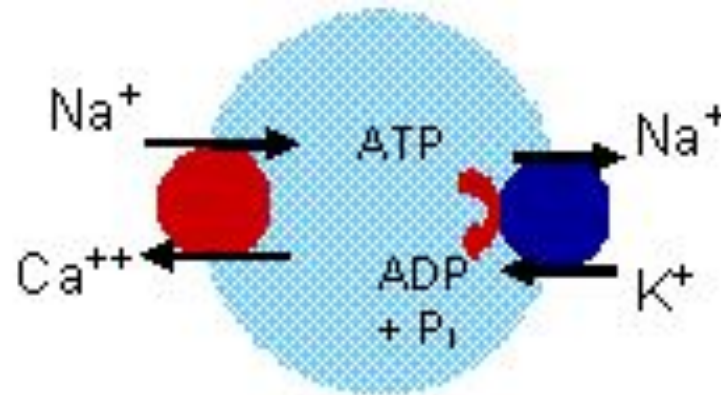
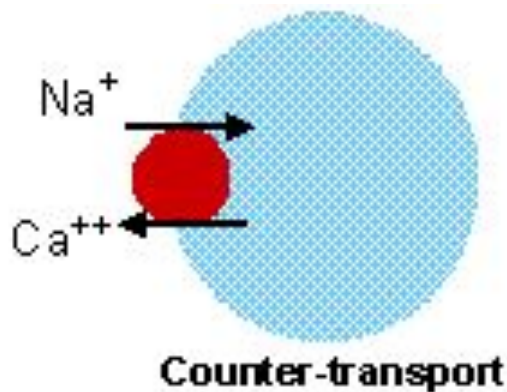
Ко-транспортеры и ионные обменники

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



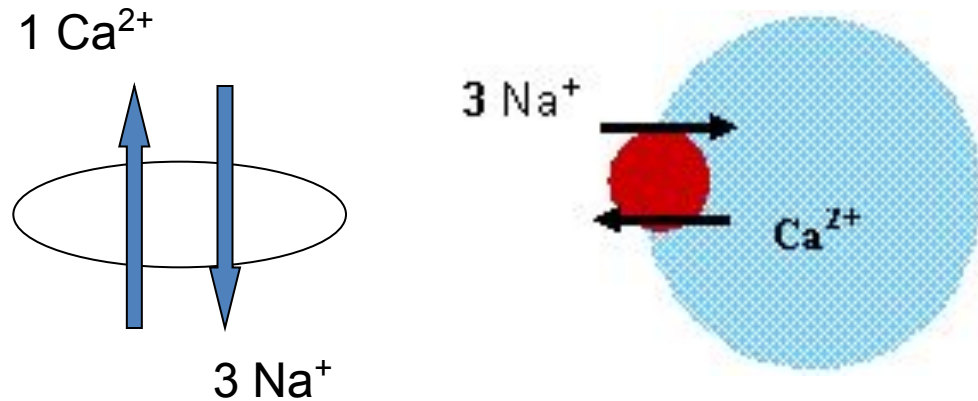
Ко-транспортеры и ионные обменники

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

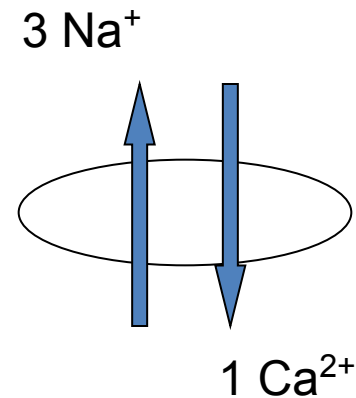


Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

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

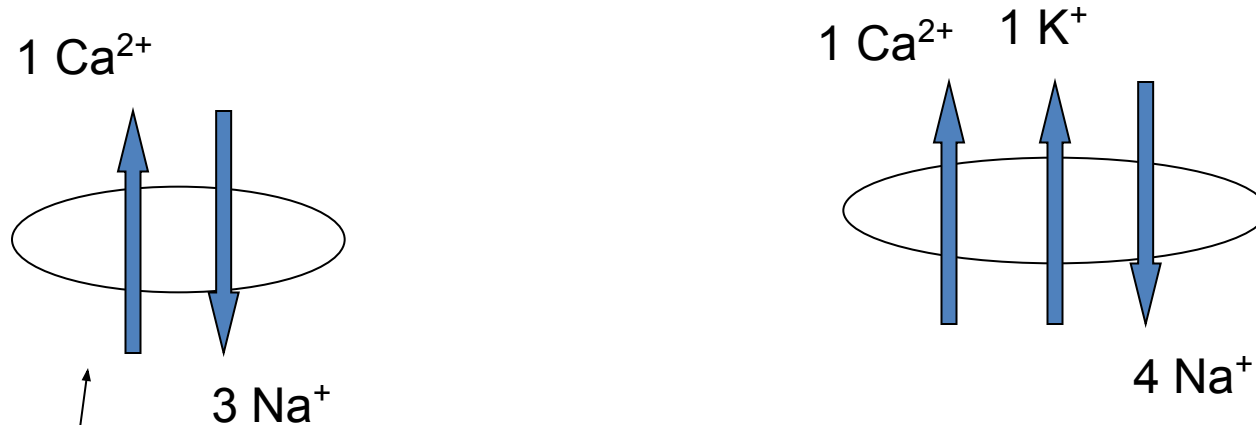


- при значительной деполяризации может работать в противоположном направлении



Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

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



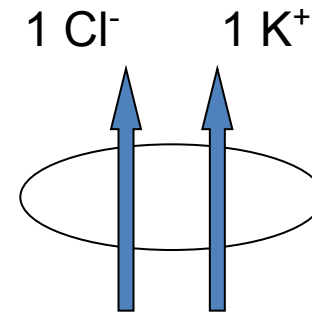
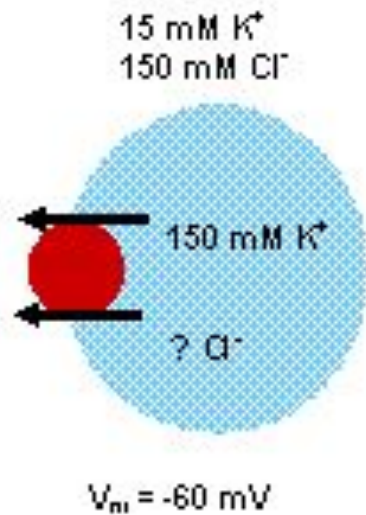
- Благодаря дополнительной энергии градиента для K^+ **$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ - K^+ -обменник** может поддерживать в фоторецепторах очень низкий уровень концентрации внутриклеточного Ca^{2+} (около **1 нМ**) в условиях низкого уровня ПП (-40 мВ).
- Обычный $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник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

Регуляция внутриклеточной концентрации Ca^{2+}

- Система вторичного активного транспорта 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 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 Ca^{2+} -АТФазы недостаточно для регуляции концентрации внутриклеточного Ca^{2+} .
- С другой стороны Ca^{2+} -АТФазы активны в условиях низких (меньше 1 мкМ) концентраций внутриклеточного Ca^{2+} , что обеспечивает тонкую регуляцию концентрации Ca^{2+} .

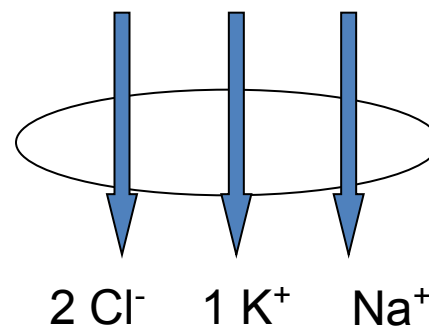
Регуляция внутриклеточной концентрации Cl^-

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



Регуляция внутриклеточной концентрации Cl^-

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



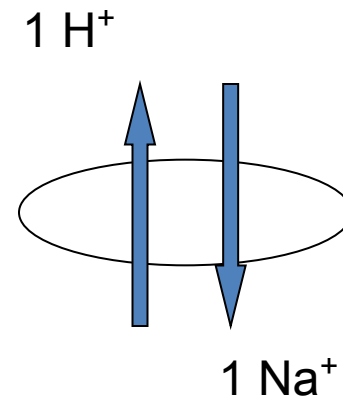
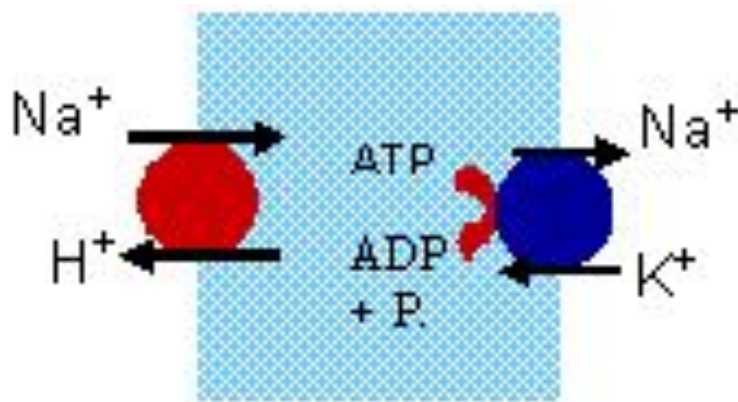
Регуляция внутриклеточного уровня рН

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

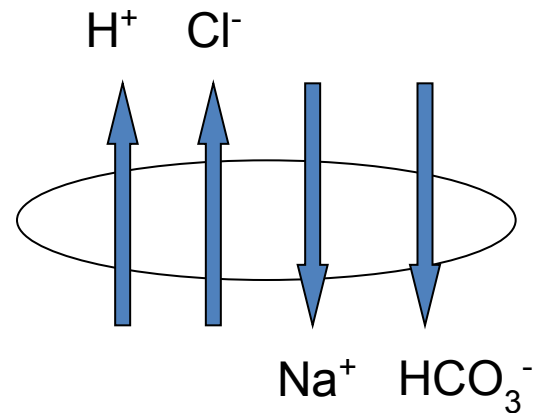
- 1) Внутриклеточный уровень рН поддерживается благодаря **Na⁺/H⁺-обменнику**, транспортирующего через мембрану один ион Na⁺ в цитоплазму (по концентрационному градиенту) один ион H⁺ из цитоплазмы.



Регуляция внутриклеточного уровня рН

2) Внутриклеточный уровень рН поддерживается **Na⁺-зависимым Cl⁻/HCO₃⁻-обменником**, который выводит ионы Cl⁻ и H⁺ наружу, а ионы Na⁺ и HCO₃⁻ - внутрь клетки.

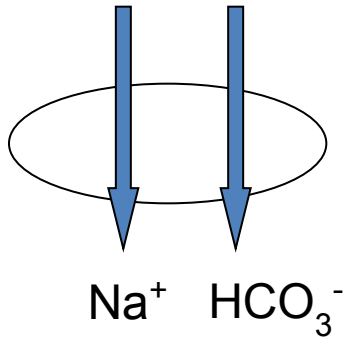
Таким образом, кроме вклада в регуляцию рН этот обменник также поддерживает низкую концентрацию Cl⁻ в цитоплазме.



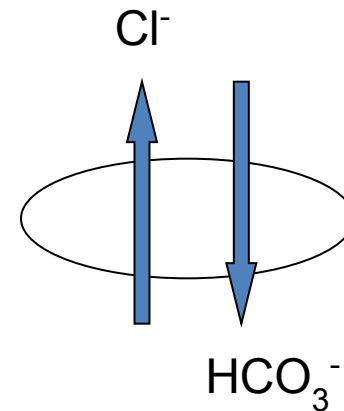
Регуляция внутриклеточного уровня pH

Ион HCO_3^- выполняет в клетке роль буфера протонов.

3) HCO_3^- транспортируется посредством **$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -ко-транспорта** за счет градиента Na^+

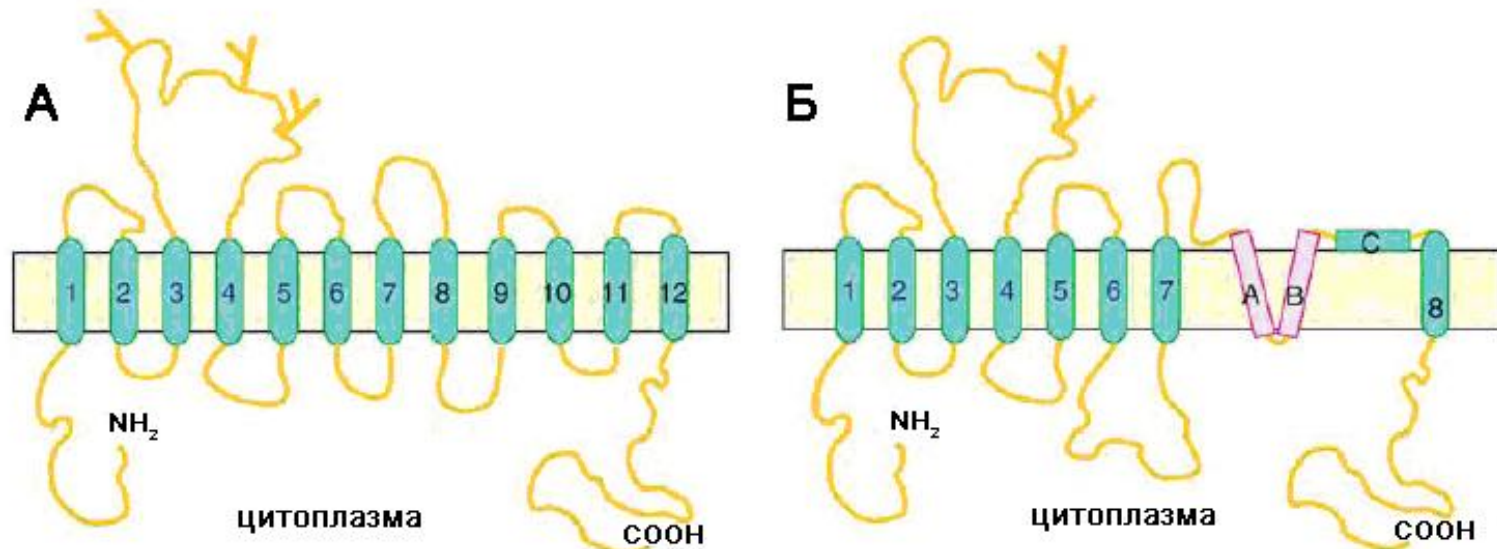


4) и **Na^+ -независимым $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменником** за счет градиента Cl^-



Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

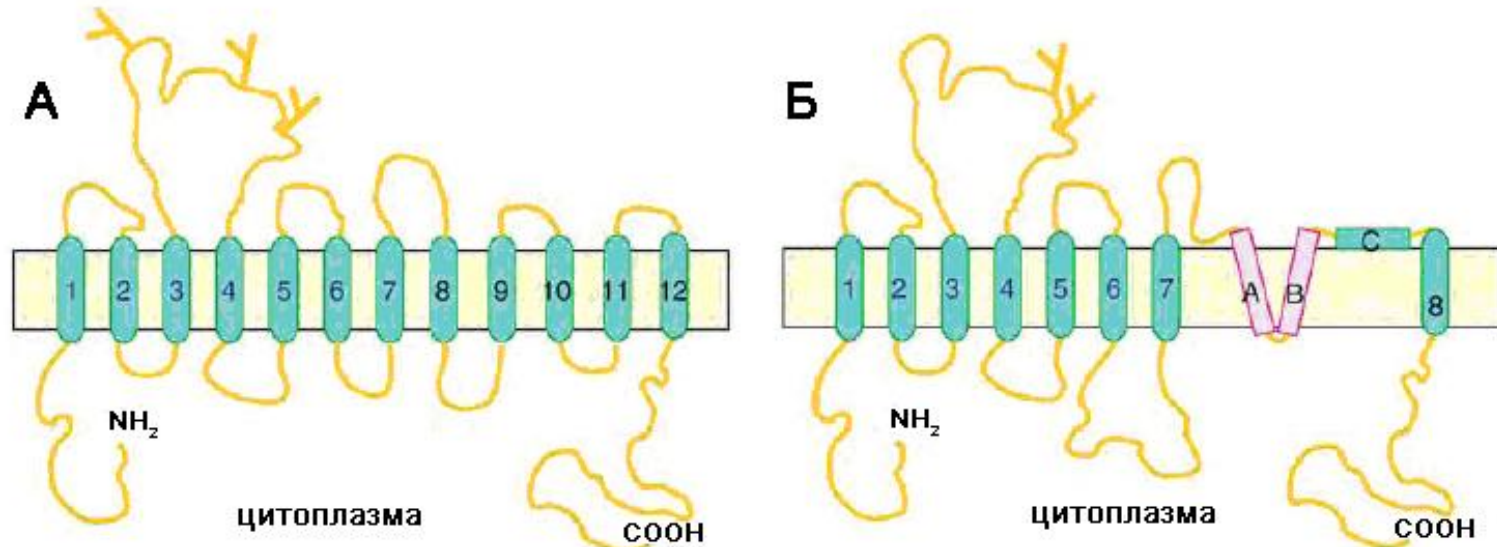
- Транспорт медиаторов через мембраны нейронов и глиальных клеток, а также через мембраны клеточных органелл обеспечивается специальными системами вторичного активного транспорта.
- Транспортёры медиаторов характеризуются высокой аффинностью и способностью быстро переносить молекулы медиаторов.
- Они 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⁺/Cl⁻-зависимые (А)**
- 2) и **Na⁺/K⁺-зависимые (Б)**



Транспортеры медиаторов плазматических мембран

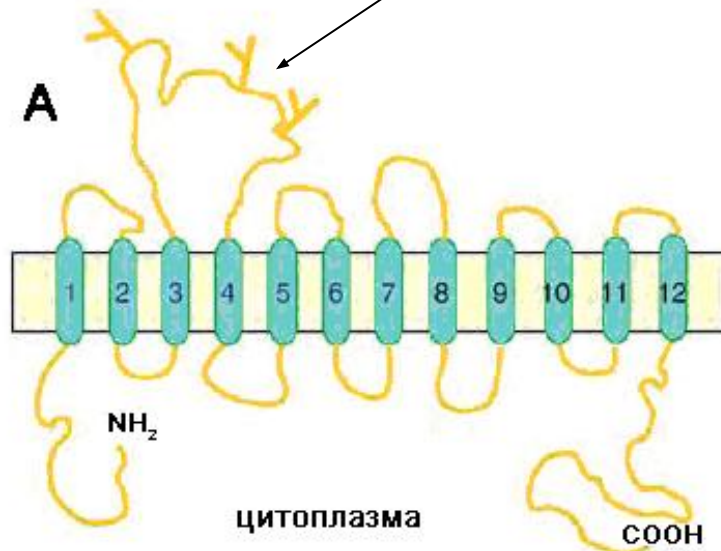
Международная номенклатура транспортера	Субстрат (медиатор)	Сопряженный механизм (ионный градиент)	Размер (число аминокислот)
GLAST	L-Glutamate	Na ⁺ , H ⁺ and K ⁺	543
GLT1	L-Glutamate	Na ⁺ , H ⁺ and K ⁺	572
EAAC1	L-Glutamate	Na ⁺ , H ⁺ and K ⁺	523
EAAT4	L-Glutamate	Na ⁺ , H ⁺ and K ⁺	561
EAAT5	L-Glutamate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

Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

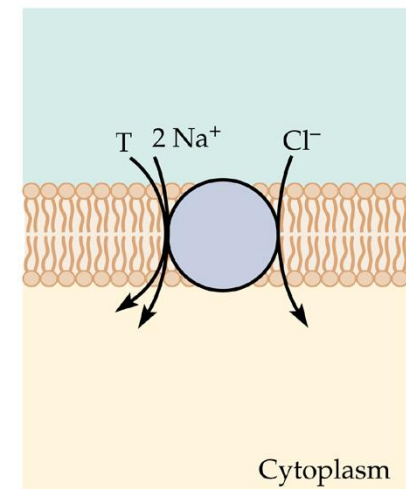
Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

А - схематичная топология **Na⁺/Cl⁻-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

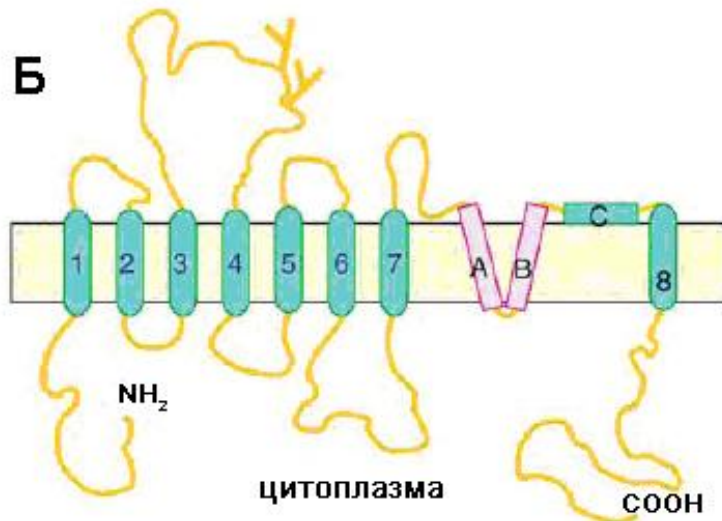


Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в цитоплазму

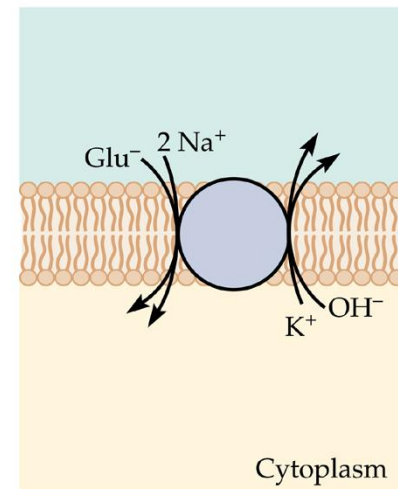
Схематичная структурная организация медиаторных транспортеров

Б - схематичная топология **Na⁺/K⁺-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⁺-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 ⁺ antiport	Central nervous system, pituitary, pineal gland, testis	525
SLC18	VMAT1	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H ⁺ antiport	Adrenal gland, sympathetic ganglia, skin, carotid body	525
	VMAT2	Serotonin, dopamine, adrenaline, noradrenaline, histamine	H ⁺ antiport	Brain, adrenal gland, sympathetic ganglia, carotid body, intestine, stomach, endocrine pancreas, basophils, mast cells, platelets	514
	VACht	Acetylcholine	H ⁺ antiport	Brain, intestine, peripheral nervous system	532

Везикулярные транспортеры медиаторов

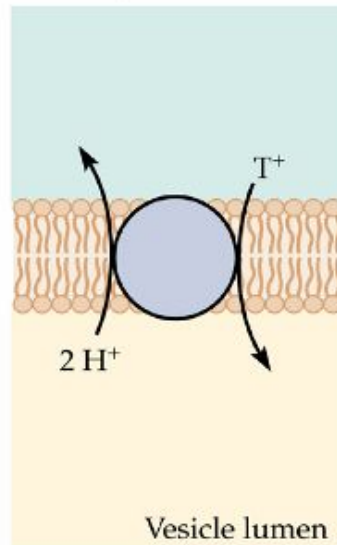
Номенклатура семейства	Номенклатура транспортера	Субстрат	Сопряженный механизм	Распределение в тканях	Размер (число аминокислот)
SLC17	VGLUT1	L-Glutamate	$\Delta\psi$ driven uniport	Brain, pineal gland, islets of Langerhans, bone	582
	VGLUT2	L-Glutamate	$\Delta\psi$ driven uniport	Brain, pineal gland,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

Везикулярные транспортеры медиаторов

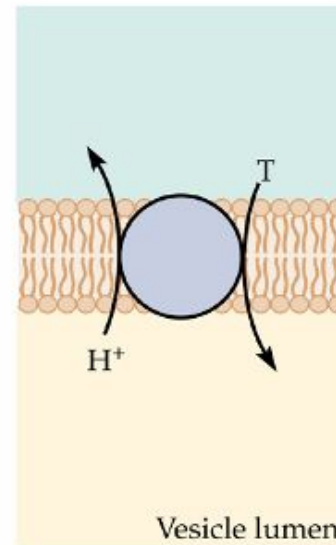
Транспортеры (В) **ГАМК** и **глицина** и (А) **аминов** (включая **ацетилхолин**) являются обменниками и переносят медиаторы внутрь везикул за счет энергии электрохимического градиента протонов, выходящих в цитоплазму, включающей

- 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

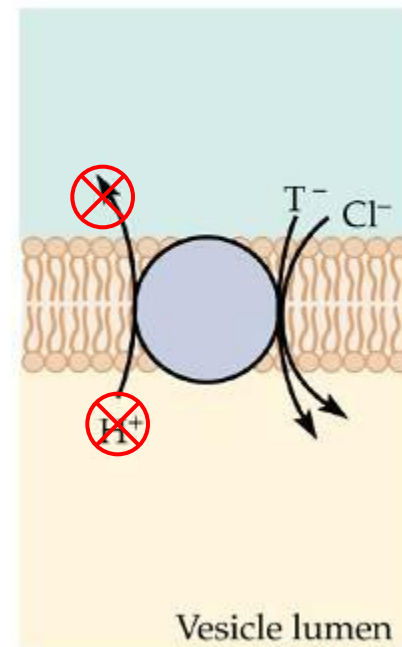


Везикулярные транспортеры медиаторов

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 Na^+/K^+ -АТФазу, превращая ее в ионный канал, проводящий ионы Na^+ и 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 Cl^- ,

а дофаминовый транспортер демонстрирует ионные токи, также специфичные для 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 Cl^- -каналов может выполнять функцию Cl^-/H^+ -обменника.