

Ion transzport membránon keresztül

A nyugalmi membránpotenciál

gyógyszerészhallgatóknak

Dr. Bozó Tamás

egyetemi adjunktus

Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet

2023. április 27.

SEMMELWEIS

EGYETEM 1785

Tematika

Témák

- **Sejtmembrán** (felépítés, funkció, szemi-permeabilitás)
- **Membrántranszport**
 - Passzív diffúzió
 - permeabilitási együttható
 - töltött és semleges részecskék diffúziója
 - Facilitált diffúzió (csatornák, karniok, ionofórok)
 - Aktív transzport
- **Membránpotenciál**
 - Jellemzői
 - Létrejöttje
 - Nerst egyenlet
 - Donnan-egyensúly és potenciál
 - Goldman-Hodgkin-Katz egyenlet
- **Gyógyszerészeti jelentőség**

Kapcsolódó gyakorlatok

- Szenzor
- EKG
- Diffúzió

Tankönyvi részek

- III/4.1. Transzportjelenségek a sejt nyugalmi állapotában
- III/4.2. A nyugalmi membránpotenciál

Sejt és membrán

- Az élet alapvető strukturális és funkcionális egysége.
- „cellula” (lt.) = kamrácska
- Prokarióta és eukarióta egyaránt rendelkezik citoplazmával és sejtmembránnal.

Membrán szerepe:

- Elválasztó réteg (barrier).
- A részecskék mennyiségének precíz szabályozása a sejtben belül és kívül.

Animal cell

<https://www.genome.gov/genetics-glossary/Cell>

Membránszerkezet

Phospholipid

Hydrophilic head

Hydrophobic tail

Szemipermeabilitás

Membrane permeability

- Membrane mostly permeable – some pass by diffusion or osmosis
- Membrane mostly impermeable – requires transport proteins
- Membrane completely impermeable – requires transport proteins

Szerkezet és szemipermeabilitás

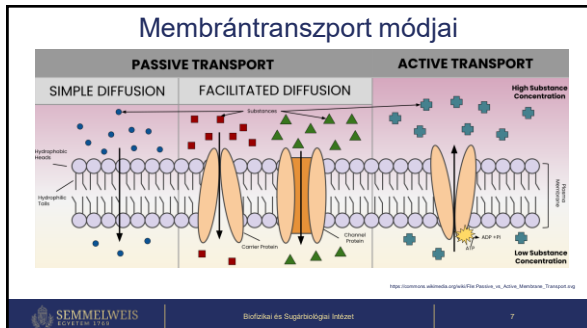
Molekuláris aspektusok

- Hidratált fejcsoportok
- ~40 Å vastag hidrofób belső (fark) rész
- A permeabilitás lipídösszetétel-függő
- Környezeti tényezők modulálják (pl. T)
- A zsírsavláncok szorosabb rendeződése kisebb permeabilitáshoz vezet
- Gél < folyadékkristályos < T_m közelében

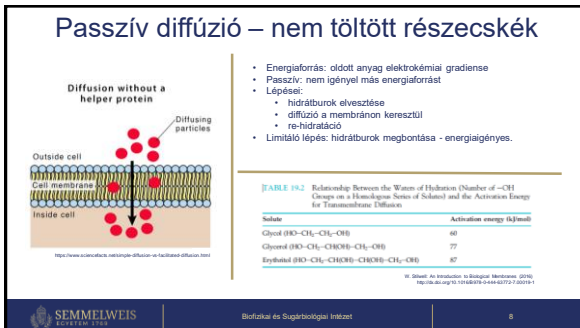
Semmelweis Egyetem | Szervezeti egység neve

1

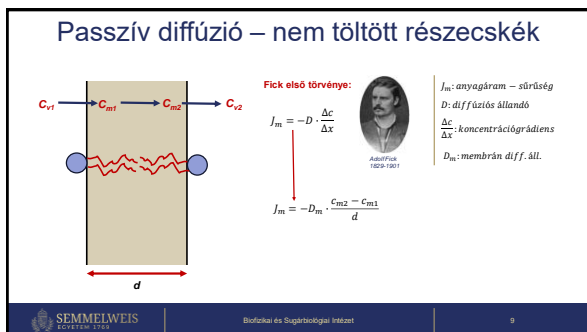
Membrántranszport módjai



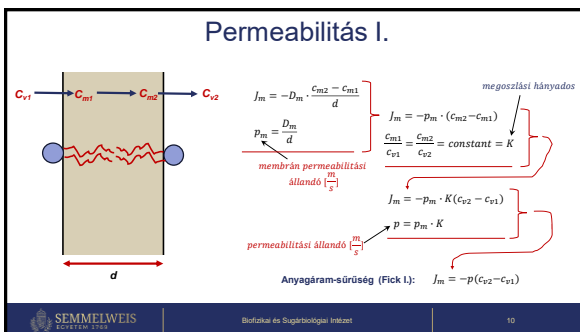
Passzív diffúzió – nem töltött részecskék



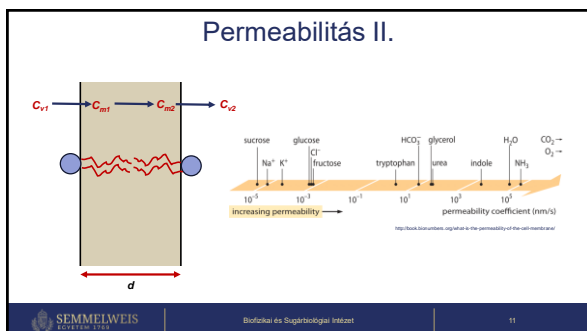
Passzív diffúzió – nem töltött részecskék



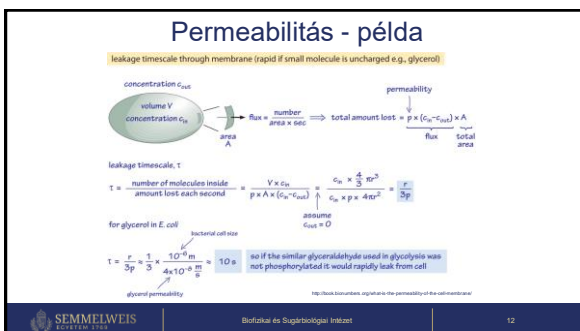
Permeabilitás I.



Permeabilitás II.



Permeabilitás - példa



Ionok passzív diffúziója

Onsager egyenlet:

$$J = L \cdot X$$
$$X = -\frac{\Delta\mu}{\Delta x}$$
$$\mu = \mu_0 + RT \cdot \ln c$$

Fick I. tv.

$$J = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

L : vezetési együttható.
 X : termodinamikai erő
 μ : kémiai potenciál
 μ_0 : moláris szabadentalpia
 R : egyetemes gázállandó
 F : Faraday állandó
 z : ion értékűség
 ϕ : elektromos potenciál

Töltött részecskére (k):

$$J_k = L_k \cdot X_k = -L_k \left(\frac{\Delta\mu_k}{\Delta x} \right) = -D_k \left(\frac{\Delta c_k}{\Delta x} \right) + c_k \frac{z_k F \Delta\phi}{RT \Delta x}$$

k -dik részecske fluxusa

elektrokémiai potenciál gradiens

koncentráció gradiens

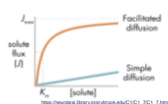
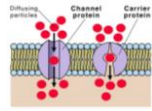
elektromos potenciál gradiens

SEMMELWEIS

Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

13

Facilitált diffúzió



- Membránba ágyazott mediator molekulák közvetítik
- Energiaforrása: részecske inherens elektrokémiai gradiense
- Nem igényel más energiat
- Elméletileg reverzibilis (irány: gradiens)
- Részecskeeloszlás egyensúlyhoz vezet
- Nagyságrendekkel gyorsabb a passzív diffúzióval
- Részecske-szelektív
- Michaelis-Menten kinetikát követ, telítethető
- Blokkolható inhibitorokkal
- Mediatorai: csatornák, karrierek, ionofórok

SEMMELWEIS

Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

14

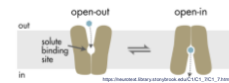
Facilitált diffúzió

I. Csatornafehérjék

- Főként ionokat szállít
- Számos alegységből álló integráns fehérjék
- Átérk a membránt
- Belsőjük hidrofili üregét tartalmaz
- Nincs konformációs változás a transzport során
- Kapuzás: stimulusresponzív konformációváltozás
- Stimulus: feszültség; ligand; másodlagos hirtívő; mechanika
- Transzport ráta: cca. 10^6 s^{-1}

II. Karrierfehérjék

- Integráns membránfehérjék
- Szelektív szubsztátrátoló hely
- Reverzibilis konformációváltozás szükséges a transzporthoz
- $E_{aktiválása}$: szubsztátrát bekötődése biztosítja
- Min. 100x kisebb transzportára



SEMMELWEIS

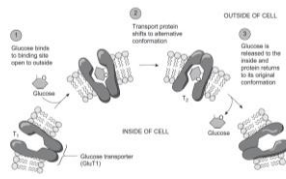
Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

15

Facilitált diffúzió - példák

Glükóz transzporterek (GLUT)

- Karrierfehérje szupercsalád
- Csaknem minden sejtben jelen
- Bőséges jelenlét pl. vékonybélben
- 12 alfa-hélixből álló transzmembrán régió.
- Glükóz aktivációs energiája (passzív diffúzió) 100 kJ/mol lenne
- Ehelyett mindössze 16 kJ/mol (GLUT-1al).



W. Stoldt: An Introduction to Biological Membranes (2014)
https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415951-2.00015-1

SEMMELWEIS

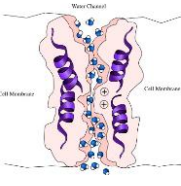
Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

16

Facilitált diffúzió - példák



K⁺ csatornák



Aquaporin csatornák

SEMMELWEIS

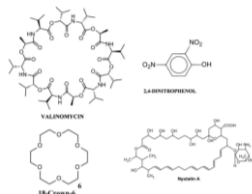
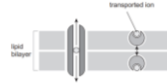
Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

17

Facilitált diffúzió

III. Ionofórok („ionhordozók”)

- Kicsin, NEM fehérje jellegű lipoldékonny molekulák
- **Csatornaképzők**: hosszan jelenlévő, stacionárius membránstruktúrát képez, számos iont enged át, gyors transzport
- **Mozgó karrierek**: membrán egyik oldalán felveszi az iont, átvándorol vele, másikon leadja. Egyszerre egy iont szállít. Lassabb transzport.

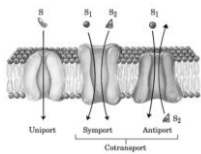


SEMMELWEIS

Biológiai és Sugárbiológiai Intézet

18

Aktív transzport



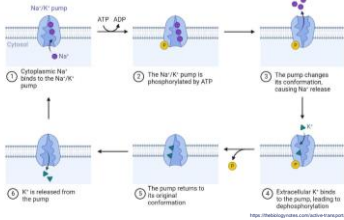
Jellemzői

- A részecskék transzportja gradiens ellenében → nemegyensúlyi részecskeeloszlás alakul ki a membrán két oldalán.
- Energiabefektetést igényel.
- Lehetséges energiaforrások:
 - ATP hidrolízis – **ATPázok**
 - Fény – **fototranszporterek**
 - Egy másik szubsztrát elektrokémiai gradiense – **csatolt (másodlagos) aktív transzporterek**
- Uniporterek / ko-transzporterek
- Szimporterek / antiporterek

W. Sliemers. An Introduction to Biological Membranes (2016). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63773-7.100019-1>

Aktív transzport - példák

Sodium-potassium pump / Na⁺-K⁺ pump

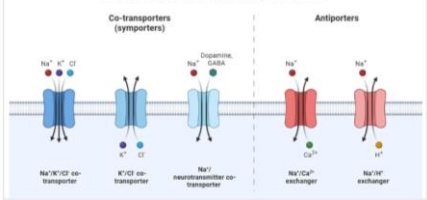


Na⁺/K⁺ pumpa

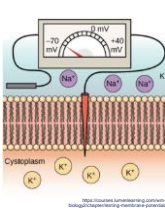
- ATPáz
- antiporter
- A teljes humán energifelhasználás 1/3-át teszi ki!
- 3 Na⁺ ki / 2 K⁺ be
- Elektrogén (növeli a citoszol negatívítását)
- Inhibitorai: ouabain, digoxin

Aktív transzport - példák

Examples of Secondary Active Transporters



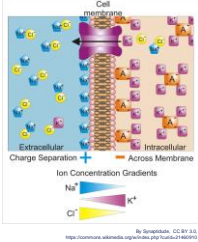
Membránpotenciál



Transzmembrán potenciál / Membránfeszültség / Nyugalmi membránpotenciál

- Elektromos potenciálkülönbség a sejtmembrán belső és külső felzszíne között
- Minden élő sejtben
- Sejtpotenciál (-30 mV – -90 mV)
- Negatív előjel: a citoszol negatív az extracelluláris állományhoz képest
- Szerepe:
 - Energiát biztosít számos membránba ágyazott molekuláris gépezet működéséhez („a sejt mint elem”)
 - Elektromosan ingerelhető sejtekben, illetve sejtek között (pl. neuronok, izomszövet) jelátvitelre használható

Membránpotenciál



- A membrán két oldalán élér az ionösszetétel

	Intracelluláris koncentráció [mM]			Extracelluláris koncentráció [mM]		
Sejt típus	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Órás tintahal axon	72	345	61	455	10	540
Béka izom	20	139	3,8	120	2,5	120
Patkány izom	12	180	3,8	150	4,5	110

- Belső nagy fehérje és foszfát anionok – p - 0
- Hidratált ionmért: K⁺ < Cl⁻ < Na⁺
- Ionok permeabilitása különböző
- Kémiai és elektromos potenciálkülönbség a két oldal között

By Semmelweis, CC BY 3.0. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cell_Membrane_Potential_Diagram.png

Membránpotenciál kialakulása I.

Korábbi modell – iononkénti egyensúlyok

- Feltételezések:
 - Zárt termodinamikai rendszer
 - Membrán permeabilis az ionokra
 - Belső és külső félrészt termodinamikai egyensúlyban van - IONONKÉNT
 - Nincs nettó iontranszport
 - Termodinamikai erő 0
 - Nincs elektrokémiai potenciálkülönbség

$$\mu_{Na}^{int} - \mu_{Na}^{ext} = 0$$
$$\mu_0 + RT \ln c_{Na}^{int} + zF\phi^{int} = \mu_0 + RT \ln c_{Na}^{ext} + zF\phi^{ext}$$

$$\phi^{int} - \phi^{ext} = U_0 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_{Na}^{int}}{c_{Na}^{ext}}$$

Nerst egyenlet

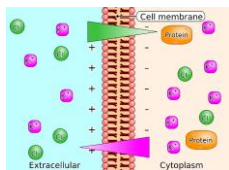
i-ik ion elektromos potenciálja egyensúlyban = egyensúlyi potenciál (= az i-ik ion koncentrációs elemének elektromotoros ereje)

Alkalmazás: Iononként figyelembe véve a membrán két oldalán különböző koncentrációkat:

	órás tintahal axon	béka izom
U _{Na+}	-62 mV	-92 mV
U _{K+}	47 mV	46 mV
U _{Cl-}	-91 mV	-103 mV
U _{Ca2+}	-56 mV	-88 mV

Eredmény: A modell nem pontos.

Membránpotenciál kialakulása II.



Donnan egyensúly (Gibbs-Donnan hatás)

- Zárt termodinamikai rendszer
- Nem permeabilis töltött részecskék (fehére és foszfát anionok) a feligáteresztő membrán egyik oldalán.
- A membrán csak a kisméretű ionokra (pl. K^+ és Cl^-) permeabilis.
- Egyensúlyi koncentrációkülönbség alakul ki a K^+ és Cl^- ionok között.
- Elektromegneutralitás az egyes térszekben.

Donnan potenciál:

- Ionkoncentrációk különbségéből kialakuló egyensúlyi potenciálkülönbség.
- $U_{Dornan} \sim -14 \text{ mV}$

Membránpotenciál kialakulása III.

Goldman-Hodgkin-Katz egyenlet

- Passzív iondiffúzió
- Különböző permeabilitások
- Egyedi ionfluxus $\neq 0$
- Nyugalmi membránpotenciál konstans
- Eredő elektromosáram-sűrűség $= 0$
- $Z=1 \rightarrow$ eredő anyagáram-sűrűség $= 0$
- Ionok fluxusa NEM független egymástól

$J_k = -u_k k T \left(\frac{\Delta c_k}{\Delta x} + c_k \frac{z_k F}{RT} \frac{\Delta \varphi}{\Delta x} \right)$

elektromos potenciálkülönbség

elektrokémiai potenciálgradiens

$\sum J_k = 0$

$$\Sigma J_k = 0$$

Steady state elektrodifúzió:

- Állandó elektrokémiai potenciálgrádiens \rightarrow konstans ionáramok \rightarrow kompenzálják egymást \rightarrow nincs eredő töltésváltozás
- Na^+/K^+ pumpa \rightarrow koncentrációgrádiens

$$U = \Delta\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{p_{K^+}[K^+]_{ext} + p_{Na^+}[Na^+]_{ext} + p_{Cl^-}[Cl^+]_{int}}{p_{K^+}[K^+]_{int} + p_{Na^+}[Na^+]_{int} + p_{Cl^-}[Cl^+]_{ext}}$$

	óriás tintahal axon	béka izom
$U_{\text{nyári}}$	-62 mV	-92 mV
$U_{\text{nyári}}$	-61.3 mV	-89.2 mV

Gyógyszerészeti jelentőség

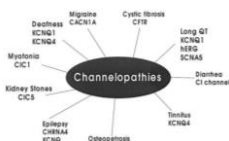


FIG. 2. Channelopathies. Examples of diseases associated with dysfunction of ion channels and the specific ion channel species involved.

Ion-channel modulator	Drug	Indication
Cl ⁻ channel activators	Benzocyclopentazepines: Nifedipine Lacosamide Chlorthalidone Diuretics	Anti-arrhythmia Ischemia Epilepsy Anti-spasms
K ⁺ channel blockers	Sulfonylureas Sulfonylurea Glibenclamide Gliclazide	Type II diabetes
K ⁺ channel blocker	Acetazolamide Indinavir Sorbitol	Cardiac arrhythmias
Ca ²⁺ channel blockers	Verapamil Nifedipine Diltiazem Amlodipine Felodipine Lacipidine	Cardiac arrhythmias Arterial hypertension
Na ⁺ channel blockers	Lidocaine Lofexidine Antitussive Antiemetic Phenylephrine Carbamazepine Doxycycline Meclofenoxate	Local anesthetic Epilepsy
	Chlorthalidone	Cardiac arrhythmias

Willmann, Niels & Rech, Morten & Olesen, Søren-Peter & Jensen, Bo & Kongsgaard, Mads & Christophersen, Palle. (2003). High-Throughput Electrophysiology: New Perspectives for Ion Channel Drug Discovery. *Receptors & channels*, 9, 3-12.

Köszönöm a figyelmet!

Dr. Bozó Tamás

bozo.tamas@med.semmelweis-univ.hu