

Membrantransport

1 Unterteilung in aktiven & passiven Transport

Permeabilitätskoeffizient [cm/s], je kleiner desto unpermeabler;

Konzentrationsunterschied - Permeabilitätskoeffizient = Transport

Arten des Transports:

1. Uniport (Transport eines Stoffes in eine Richtung)
2. Cotransport unterteilt in
 - a. Symport (2 Stoffe in die gleiche Richtung)
 - b. Antiport (in entgegengesetzte Richtung)

1.1 Passiver Transport:

Transport nur mit dem Konzentrationsgradienten möglich durch einfache Diffusion oder erleichterte Diffusion

1.1.1 Einfache Diffusion

Über *Gap-Junctions* oder *Membrankanäle*

1.1.1.1 Gap-Junctions

Keine Sättigung; Connexin ist Transportprotein

Sind normalerweise offen, Schließung wird durch Ca^{2+} reguliert.

1.1.1.2 Membrankanäle

Keine Sättigung; Transportprotein = Kanalprotein (z.B. Ionenkanäle oder Aquaporine; fast jede Membran hat spezifische Aquaporine)

1.1.2 Erleichterte Diffusion

Membranproteine setzen Aktivierungsenergie für Transport herab. Sättigung;

Transportprotein = Carrier, auch Permeasen; (z.B. Glucosetransport in Erythrocyten als Beispiel für einen Uniport; anderes Beispiel für Antiport: Chlorid-Hydrogencarbonat-Austauscher auch Anionen-Austauschprotein im Erythrocyt)

„Substrate“ werden chemisch nicht verändert! Wirken ähnlich wie Enzyme: binden mit stereochemische Spezifität über nicht-kovalente Wechselwirkungen

Geschwindigkeitsabhängigkeit von Substrat analog zu Michaelis-Menten-Kinetik

Immer reversibel!

→ hohe Diffusionsgeschwindigkeit entlang des Konzentrationsgradienten, hohes Sättigungsvermögen, hohe Spezifität

1.2 Aktiver Transport

Gelöste Stoffe werden gegen ihren Konzentrationsgradienten bewegt, energieverbrauchend → immer gekoppelt mit energiegewinnendem Prozess

Wenn Ionen bewegt werden → Potential wird aufgebaut → Transport ist *elektrogen* (= spannungserzeugend)

1.2.1 Primär aktiver Transport

Anhäufung von gelösten Stoffen direkt an exergonen Prozess gekoppelt

1.2.2 Sekundär aktiver Transport

Endergoner Prozess (Transport gegen Gradienten) an exergones (gradientenabwärtsgerichtetes) Fließen eines anderen gelösten Stoffes gekoppelt, der ursprünglich durch einen primären aktiven Transport gradientenaufwärts gepumpt wurde.
Beispiel: Glucose/Natrium-Symport im Darmlumen → Konzentrationsgradient von Na (im Lumen sehr hoch) wird genutzt, um Glucose mit in die Zelle zu schleusen → passiver Glucose-Carrier schleust Glucose weiter & Na wird durch Na/K-ATPase in extrazelluläre Matrix geschleust

1.2.3 Es gibt mindestens 4 verschiedene Typen von ATPasen

1.2.3.1 P-ATPasen

ATP-abhängige Kationentransporter, werden im Laufe des Transportzyklus reversibel von ATP phosphoryliert, haben alle ähnliche Aminosäuresequenzen (besonders in Umgebung des zu phosphorylierendem Asp), alle leicht durch Phosphat analogon *Vanadat* inhibierbar, mehrere Transmembranabschnitte

Beispiele:

1. Na^+/K^+ -Antiport: Na/K-ATPase → Erzeugung des Membranpotentials
2. Ca^{2+} -Uniport: Ca-ATPase → Erzeugung niedriger cytosolischer [Ca]
3. H^+/K^+ -Antiport: H/K-ATPase → säuert Mageninhalt an

1.2.3.2 V-ATPasen

V für Vakuolen (ähnliche Aufgaben wie Lysosomen nur bei Pflanzen)
Protonentransportierende ATPasen, aber auch für Ansäuerung von Lysosomen, Endosomen, Golgi sowie sekretorische Vesikel in Tierzellen zuständig
Keine zyklische Phosphorylierung & Dephosphorylierung, nicht durch Vanadat inhibierbar
Strukturell alle ähnlich: integrale V_0 - (= Protonenkanal) & periphere V_1 -Domäne (= ATP-Bindungsstelle & ATPase-Aktivität)
Von Struktur & Mechanismus her wahrscheinlich verwandt mit F-ATPasen
Beispiel: H^+ -Uniport = H^+ -ATPase → Ansäuerung des Inhalts von Endo- & Lysosomen

1.2.3.3 F-ATPasen

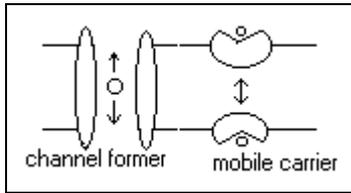
F für Faktoren, die an Energiekopplung beteiligt sind
Zentrale Rolle bei energieerhaltenden Reaktionen in Mitochondrien, Bakterien & Chloroplasten
Katalysieren Reaktion, bei der Protonen mithilfe von ATP-Hydrolyse gegen einen Gradienten durch die Membran transportiert werden & Gegenreaktion, bei der durch Protonenfluss entlang des Konzentrationsgradienten ATP synthetisiert wird → *ATP-Synthasen*
Bilden Poren, durch die Protonen Membran überqueren (integrales Protein F_0), sowie molekulare Maschine (peripheres Protein F_1), die die Phosphoanhydridbindungen des ATP herstellt. ATP-Synthase & ATPase-Aktivitäten in F_1 .
Beispiel: H^+ -Uniport: F_1/F_0 -ATPase → ATP-Erzeugung in innerer Mitochondrienmembran

1.2.3.4 ABC-Transporter bzw. MDR-Transporter

Früher MDR genannt für multi-drug resistance (können toxische Stoffe ausschleusen)
ABC für ATP-binding cassette
12 Transmembranabschnitte, 2 ATP-Bindungsstellen
Beispiele:

1. Lipid-/Fettsäure-Transport

2. Antigen-Präsentation durch MHC-Peptidrezeptoren: Transport der Peptidfragmente ins ER-Lumen

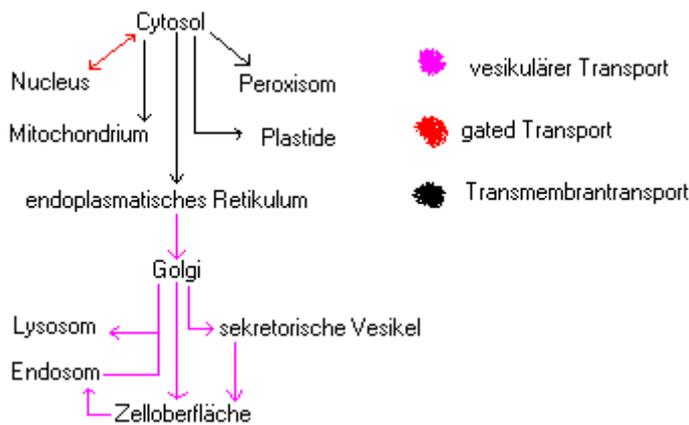


Peptid-Ionophore (= Ionenträger) sind Kanäle oder Carrier:
 Bsp. für channel former: Gramicidin A (Helix wird aus zwei Helices gebildet)
 Bsp. für mobile carrier: Valinomycin (bildet Hohlkörper)

Abbildung 1

2 Signalsequenzen & Proteintransport

Bei Proteinen, die für Mitochondrium, Chloroplasten oder ER gedacht sind → Sequenz an Aminoende



Plastid: Sich selbst replizierende Organellen von Pflanzen; können sich zu Chloroplasten differenzieren
Endosom: Vesikel
Peroxisom: Von Membran umgebene Organellen im Cytoplasma von Eukaryonten; enthalten Peroxid bildende & Peroxid zerstörende Enzyme

Abbildung 2: Proteintransportwege

2.1 Lokalisation der Signalsequenzen

- Nucleus: irgendwo, viele Lys-Reste hintereinander
- im ER bleiben: C-terminal
- Rest: N-terminal, z.B. Mitochondrium: positiv geladene AA

2.2 Transport in Nucleus

Kern besitzt Poren

Signalsequenz NLS (=nucleus localization sequence) wird nicht abgespalten (wegen Mitose...), kann überall im Protein liegen

Mechanismus:

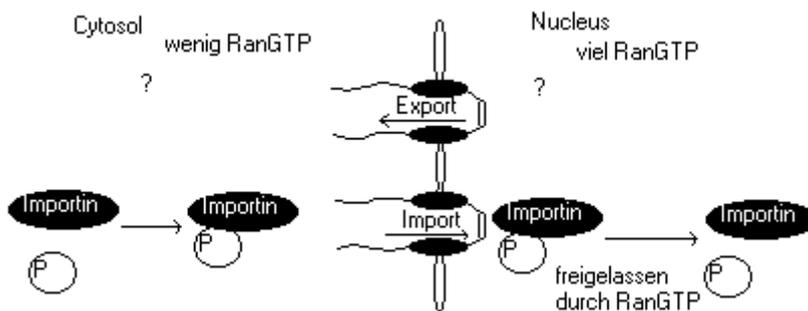


Abbildung 3: Kerntransport

2.3 Mitochondrialer Proteinimport (genauso in Chloroplasten)

Amino-terminale Signalsequenz wird im Cytosol von Chaperonen gebunden → Transport zu Rezeptoren auf Außenseite (Tom-Rezeptor-Komplex) des Mitochondriums → zu Proteinkanal (Tom, geht durch äußere & innere Membran) dirigiert
Verschiebung durch Kanal durch Hydrolyse von ATP/GTP und durch elektrochemisches Potential an Membranerleichtert. Innen wird Signalsequenz abgetrennt → Faltung
Zwei Hypothesen:

2.3.1 Acid-chain-Hypothese

Positiv geladene Signalsequenz bindet an Tom-Rezeptor und wird dann über negativ geladene Teile des Tom-Komplexes an den Kanal geführt, Protein "kriecht" sozusagen immer an negativ geladenen Teilen des Kanals entlang, wird dadurch auch zum zweiten Kanal (innere Membran) geführt. Wenn erster Schwanz des Proteins in Matrix reinguckt → Signalsequenz wird abgetrennt, an Tim bindet ein Protein mtHsp70, das sich den Schwanz packt und ihn mit einer Hydrolyse von ATP (im Zusammenspiel mit Mge1) in den Matrixraum hinein zieht. Danach kann sich das Protein falten

2.3.2 Hand-over-hand-Theorie

Das Protein mtHsp70 zieht das Protein nicht vollständig rein. Durch Brown'sche Molekularbewegungen wird es lediglich ein wenig reingezogen → nächstes mtHsp70-Protein schnappt sich den neu reingezogenen Teil des Proteins und zieht dieses auf die gleiche Weise weiter rein.
Diese Theorie wird bevorzugt.

2.4 Cotranslationaler Proteintransport ins ER

Die meisten für Lysosomen, Membranen oder Zellumgebung gedachten Proteine werden erst im ER modifiziert. Ihr Carboxylende durch Spaltstelle definiert → Signalsequenz wird von Protease abgespalten

Länge der Signalsequenzen zwischen 13 & 36 Aminosäuren:

- davon 10 bis 15 hydrophobe AA
- eine / mehrere AA in Nähe von Aminotermine & vor hydrophober Sequenz positiv geladen
- am Carboxylende (nahe der Spaltstelle) kurze, relativ polare Sequenz, ganz nah an Spaltstelle häufig AA mit kurzen Seitenketten (besonders Ala)

Signalsequenz dirigiert synthetisierendes Ribosom zum ER (heftet sich an SRP = *signal recognition particle*): Signalsequenz bindet zusammen mit Ribosom an SRP → SRP bindet GTP → Elongation wird gestoppt → GTP-gebundenes SRP dirigiert Ribosom mit mRNA und naszierendem Protein zu Rezeptor auf ER → SRP löst sich

Peptid wird an einem Peptidtranslokationskomplex in ER re synthetisiert: Signalsequenz bindet an das inaktive Translokations-Protein & bleibt vorerst gebunden → Protein wird re synthetisiert → Protein hängt dann an der Signalsequenz in Membran fest → Protease kommt und spaltet → Protein faltet sich

2.5 Glycosylierung im ER

Glycosylierung spielt im weiteren Targeting-Weg eine entscheidende Rolle.

Im ER werden nur N-gekoppelte Zucker an Asn-Reste gehängt:

Stufenweise wird ein Oligosaccharid aus 14 Zuckerresten auf einem Dolicholphosphat-Donator-Molekül (in Membran) aufgebaut. Die ersten Zuckerreste werden auf der cytosolischen Seite des ER angehängt. Dann wird durch eine Translokation das

unvollständige Oligosaccharid durch die Membran geschoben und im ER fertiggestellt und auf einen Asn-Rest des naszierenden Proteins übertragen und in ER und Golgi (O-glykosidische Bindungen) für jedes Protein spezifisch weiterverändert (beschnitten und erweitert). Das Glykoprotein gelangt über Vesikel-Transport in den Golgi-Apparat. Von dort aus erfolgt die Sortierung.

2.6 Vesikulärer Transport

Vom ER aus werden Proteine über Vesikeltransport ins ER gebracht, um von dort aus ebenfalls über Vesikeltransport in verschiedene Kompartimente (frühe & späte Endosomen, Lysosomen, Membran, über sekretorische Vesikel in den Extrazellulärraum).

Mannose-6-Phosphat ist z.B. Signal für den Transport neu synthetisierter Proteine ins Lysosom.

2.6.1 Vesikelbildung durch Clathrine

Clathrin ist ein Protein, das geschlossene Polyederstrukturen bildet. Clathrin bedeckt die Membran und bildet so Fußball und trennt sich dann von der Membran ab, der Vesikel wandert ins Cytoplasma, wo die Clathrine von Enzymen schnell entfernt werden. Aber nicht nur die Clathrine sind für die Krümmung verantwortlich, sondern die Membran selbst krümmt sich auch ein wenig.

2.6.2 Vesikelbildung auch mit anderen Coats (COP I & COP II)

????

2.6.3 Membranfusion & Targeting

1. Membranen müssen sich erkennen
2. Oberflächen müssen ganz nah aneinander sein
3. Doppelschichten müssen an einigen Stellen aufgebrochen werden
4. ... und verschmelzen und dabei eine zusammenhängende Doppelschicht bilden
5. (nur bei Rezeptor vermittelter Endocytose) Fusionsprozess zur richtigen Zeit oder auf spezifisches Signal hin ausgelöst werden

...ermöglicht durch *Fusionsproteine* → spezifische Erkennung, Aufriss der Doppelschicht an einer bestimmten Stelle

Bei Vesikeltransport von Golgi → SNAREs (Familie von Fusionsproteinen, *synaptosome-associated protein receptors*) bilden haarnadelförmige Stäbchen, die die Proteindomänen zusammenbringen, die an Plasma- & Vesikelmembran gebunden sind.

SNAREs auf cytosolischer Seite der intrazellulären Vesikel = v-SNAREs (vesicle)

SNAREs auf der Membran, mit der Vesikel fusionieren will = t-SNAREs (target)

Ausgestreckte Formen der SNAREs haben superspiralisierte Helices (*coiled coils*), lange Bereiche, wo mehrere α -Helices umeinander spiralisiert sind. Wenn v- & t-SNARE sich treffen spiralisieren sie sich ineinander und ziehen so die Doppelschicht auseinander.