Na/K АТФаза

Высокое соотношение концентрации калия во вне- и внутриклеточной жидкости (38:1) поддерживается благодаря действию Na+,K+-АТФазы, активно переносящей ионы калия в клетку, а ионы натрия - из нее (в соотношении 2:3) (вследствие активного выведения натрия из клеток Na+,K+-АТФазой 85-90% всего натрия, содержащегося в организме, находится во внеклеточной жидкости и по этой причине определяет ее объем).

Na+,K+-АТФаза - a / b -гетеродимерный интегральный белок плазматических мембран, осуществляющий АТФ-зависимый трансмембранный перенос Na+ и K+ в клетках эукариот, что обеспечивает поддержание электрохимического и осмотического градиентов одновалентных ионов, необходимых для нормального функционирования клеток. Фермент играет ключевую роль в реализации многочисленных клеточных функций и процессов, сопряженных с ионными градиентами [Болдырев 1985 , Кравцов 1990].

Активность Na+,K+-АТФазы возрастает при повышении внутриклеточной концентрации ионов натрия. Подавление же ее активности наблюдается при передозировке дигоксина , а также при сердечной недостаточности и почечной недостаточности .

Опосредованно повышает активность Na+,K+-АТФазы инсулин. Он способствует входу калия в мышечные клетки и клетки печени, причем этот эффект не связан с влиянием инсулина на транспорт глюкозы. При недостаточности инсулина, напротив, калий выходит из клеток.

Катехоламины влияют на распределение калия по-разному. Бета2-адреностимуляторы повышают активность Na+,K+-АТФазы, стимулируют секрецию инсулина и усиливают поступление калия в клетки, а альфа-адреностимуляторы оказывают противоположное действие.

Na,K-АТРаза, H,K-АТРаза - интегральные мембранные белки слизистой оболочки желудка.

Для оптимальной активности фермента, гидролизующего ATP до ADP и фосфата, требуются ионы натрия и калия. Ингибитор натрий-калиевого насоса уабаин ингибирует и ATP-азу. Установлена связь между натрий-калиевым насосом и натрий-калиевой-ATP-азой.

Уабаин ингибирует ATP-азу, только находясь с внешней стороны теней эритроцитов, где он конкурирует за калий-связывающий участок.

При гидролизе молекулы ATP одна молекула ATP-азы может гидролизовать 1ОО молекул ATP в 1 с.

Натрий-зависимое фосфорилирование, вероятно, изменяет конформацию ATP-азы, что каким-то образом приводит к выведению ионов натрия из клетки. Наоборот, калий-зависимое дефосфорилирование обусловливает транспорт ионов калия внутрь клетки и возвращение ATP-азы в первоначальное состояние.

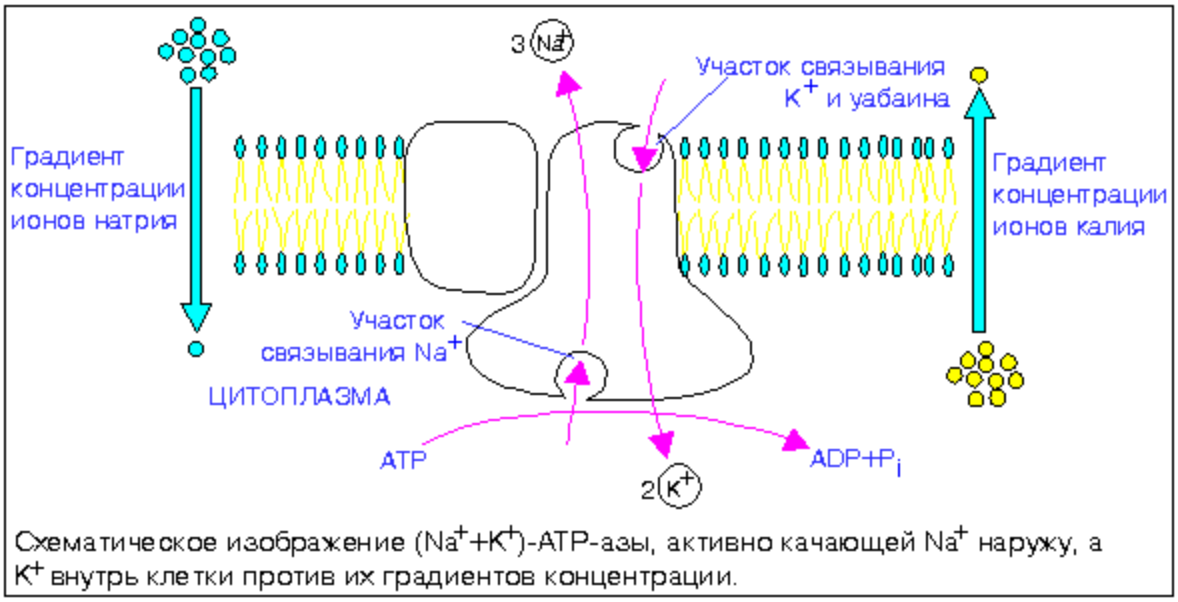
Фосфорилированная форма ATP-азы имеет сильно напряженную конформацию и может релаксироваться, отдавая необходимую энергию и фосфат либо для накачивания ионов калия внутрь теней, либо для синтеза ATP.

Натрий-калиевая-АТР-аза состоит из 2 субъединиц - трансмембранной субъединицы, обладающей каталической активностью (~1ОО ООО дальтон), и ассоциированного с ней гликопротеина (~45 ООО дальтон). Первая субъединица имеет участки связывания для ионов натрия и АТР на цитоплазматической поверхности, а для ионов калия и уабаина на наружной. Кроме того, она обратимо фосфорилируется и дефосфорилируется. Функция гликопротеина неизвестна.

Таким образом, транспортные АТР-азы осуществляют гидролиз АТР, обеспечивающий транспорт ионов.

Na/K-АТФаза может являтьяс мишенью АФК (Boldyrev and Kurella, 1996 ; Petrushanko et al., 2003 ; Huang et al., 1992). В нормальных условиях нейрональная Na/K-АТФаза потребляет от 15% до 40% энергии клетки, направляя ее на поддержание ионных градиентов. Избыточная активация глутаматных рецепторов и повышение уровня АФК приводит к обратимому ингибированию фермента (Булыгина и соавт., 2002). Известно разнонаправленное влияние глутаматных рецепторов первой и третьей групп на активность Na/K-АТФазы. Так, mGluIII усиливают ингибирующее влияние NMDA-рецепторов на активность Na/K-АТФазы, а mGluI предотвращают ингибирование ее NMDA- рецепторами.

Схема работы:



Схематическое изображение (Na^++K^+)-АТР-азы, активно качающей Na^+ наружу, а K^+ внутрь клетки против их градиентов концентрации.

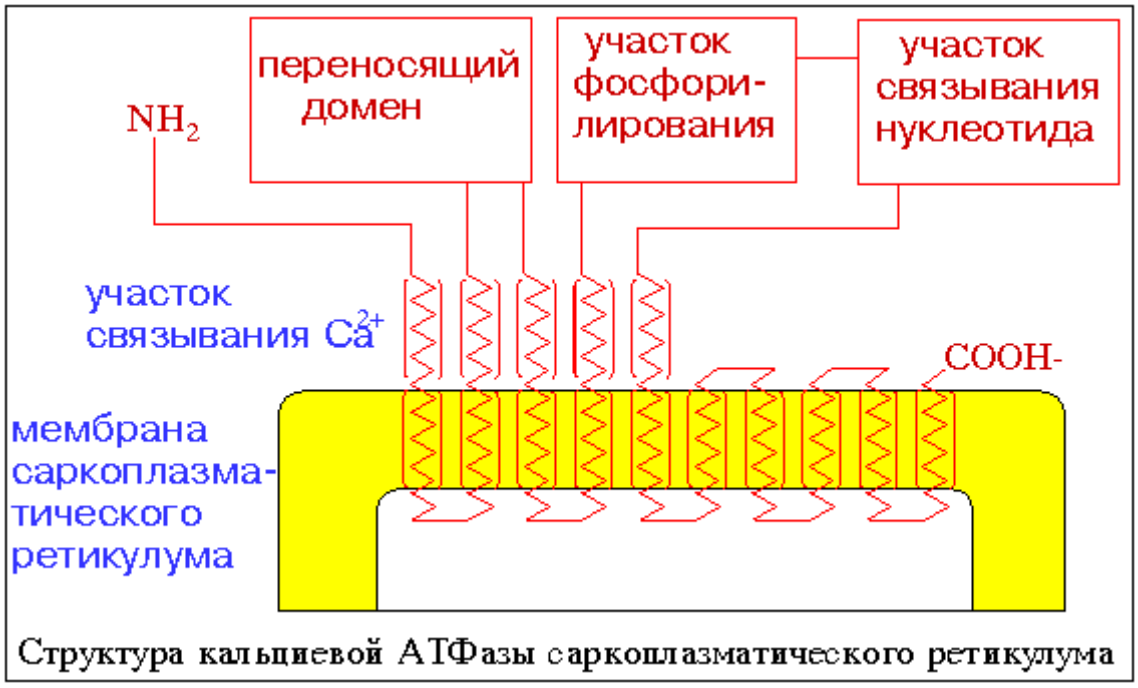
См. также папку иллюстрации: Болдырев.pdf

Са-АТФаза

Са2+,Mg2+-АТРаза (АТФаза) быстрых скелетных мышц

Молекулярная масса кальциевых АТРаз быстрых скелетных мышц и сердца составляет 110 кД. Анализ структуры кальциевых АТРаз обоих типов показывает, что в составе их молекул имеется 10 трансмембранных цепей, а их активный центр расположен с цитоплазматической стороны мембраны саркоплазматического ретикулума. В цитоплазматических фрагментах находится АТР-связывающий центр, остаток аспартата, по которому происходит фосфорилирование, и лежащий в непосредственной близости к

первому трансмембранному сегменту Ca2+- связывающий участок молекулы, в составе которого очень высоко содержание остатков глютаминовой кислоты. Сродство этого участка к Ca2+ составляет 10^{-7}-10^{-6} М. Кальциевые АТРазы сердца и быстрых скелетных мышц имеют более, чем на 80% идентичный состав полипептидных цепей.



Структура кальциевой АТФазы саркоплазматического ретикулума

Клонированы гены двух АТФаз [Machennan ea,1985 ; Brandl ea,1986]. В составе кальций-магниевой АТФ-азы быстрых скелетных мышц имеется 10 трансмембранных участков, активный центр расположен с цитоплазматической стороны саркоплазматического ретикулума. В цитоплазматических фрагментах находится АТФ-связывающий центр кальциевых АТФаз , остаток аспартата по которому происходит фосфорилирование и, лежащий в непосредственной близости к первому трансмембранному сегменту кальций связывающий участок кальциевых АТФаз с очень высоким содержанием глютаминовой кислоты. Сродство этого участка к кальцию 0,1-1,0мкМ. При таких концентрациях реализуется полумаксимальная скорость аккумуляции кальция саркоплазматическим ретикулумом Carafoli,1987].

Ca2+,Mg2+-АТРаза (АТФаза) миокардиального типа

Молекулярная масса кальциевых АТРаз быстрых скелетных мышц и сердца составляет 110 кД. Анализ структуры кальциевых АТРаз обоих типов показывает, что в составе их молекул имеется 10 трансмембранных цепей, а их активный центр расположен с цитоплазматической стороны мембраны саркоплазматического ретикулума. В цитоплазматических фрагментах находится АТР-связывающий центр, остаток аспартата, по которому происходит фосфорилирование, и лежащий в непосредственной близости к первому трансмембранному сегменту Ca2+- связывающий участок молекулы, в составе которого очень высоко содержание остатков глютаминовой кислоты. Сродство этого участка к Ca2+ составляет 10^{-7}-10^{-6} М. Кальциевые АТРазы сердца и быстрых скелетных мышц имеют более, чем на 80% идентичный состав полипептидных цепей. Основное отличие Ca2+-АТРазы миокардиального типа от фермента быстрых скелетных мышц заключается в том, что в саркоплазматическом ретикулуме сердца АТРаза регулируется фосфоламбаном.

Молекула фосфоламбана (25кД) состоит из 5 идентичных протомеров с молекулярной массой около 5 кД, пронизывающих мембрану СР и входящих в тесный контакт друг с другом внутри мембраны. Фосфоламбан связывает АТР в стехиометрии 1:1 и может фосфорилироваться как cAMP-зависимой протеинкиназой, так и Ca2+-КМ-зависимой протеинкиназой . Полагают, что дефосфорилированный фосфоламбан связан с Ca2+-АТРазой и ингибирует ее активность. Фосфорилирование фосфоламбана приводит к его отделению и активации АТРазы. Показано, что фосфоламбан в условиях совместной экспрессии с другими АТРазами способен ингибировать SERCA 1 , но не SERCA 3, поскольку обе (SERCA 1 и SERCA 2) имеют участок связывания фосфоламбана, который следует за Asp-351. Фосфоламбан может фосфорилироваться протеинкиназами PKA , CaKMPK II (CaKM-зависимая протеинкиназа II), PKC и cGMP-зависимой протеинкиназой. Возможно PKC фосфорилирует не только фосфоломбан, но и саму Ca2+-АТРазу, активируя транспорт Ca2+. Фосфоламбан (6 kD) пентамерный белок, включающий субъединицы из 52 аминокислот, являющийся субстратом для АМФ-зависимой протеинкиназы в сердечных мышцах

Кальциевые АТФазы E1, E2 типа , Na+, K+-АТФаза и H+, K+ -АТФаза кишечника относятся к классу транспортных АТФаз . Для этих ферментов характерно образование в ходе реакции фосфорилированного интермедиата (по аспартатному остатку), что обуславливает чувствительность к ванадату.

Во внутриклеточных мембранах млекопитающих выявлено несколько изоформ кальциевой АТФазы из которых лучше всего изучена кальций-магниевая АТФ-аза быстрых скелетных мышц и кальциевая АТФаза миокардиального типа (кальциевая АТФаза сердца). Кроме сердца, последняя представлена также в медленных скелетных мышцах и в клетках гладкой мускулатуры.

Клонированы гены этих двух АТФаз [MacLennan ea,1985 ; Brandl ea,1986].

Кальциевая АТФаза сердца очень сходна с кальциевой АТФазой быстрых скелетных мышц. Они имеют 80% гомологичных аминокислот [MacLennon ea,1985].

См. также папку иллюстрации: Владимиров.pdf