

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

KLASIFIKACE TRANSPORTNÍCH PROTEINŮ

ARNOŠT KOTYK

*Fyziologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4
e-mail: kotyk@biomed.cas.cz*

Došlo dne 19.IX.2002

Klíčová slova: membránový transport, přenašeče/transportéry, kanály, póry

Po několikaletém úsilí se v názvoslovné komisi Mezinárodní unie pro biochemii a molekulární biologii (IUBMB) podařilo sestavit konzistentní přehled transportních systémů obsažených v buněčných membránách. Tomuto snažení předcházela mnohaletá práce Dr. Miliona Saiera a jeho spolupracovníků v San Diegu v Kalifornii, kteří shromáždili údaje o struktuře (a do značné míry funkci) 2600 transportních proteinů a vložili je na internetové stránky – bohužel ve velmi nesourodé formě, takže na 400 stranách bylo na 10 000 chyb, nejednotností v popisech, rozmanitostí v označení téhož typu proteinu (bylo jich tam až dvanáct pro přenašeč). Abych dosáhl schválení takového dokumentu příslušnou názvoslovnou komisí, rozhodl jsem se pořídit soustavnou klasifikaci rodin, popřípadě podrodin tohoto systému – i tak jich je hodně přes 400 – a tento systém je nyní vkládán na webové stránky <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/mtp>.

Protože české názvosloví a klasifikace transportních proteinů nebyly dosud kodifikovány – poslední přehled transportních mechanismů byl podán v knize Horáka, Kotyka a Siglera *Biochemie transportních pochodů*, která vyšla v nakladatelství Academia v roce 1984, předkládám zde velmi zkrácenou verzi dokumentu IUBMB v češtině.

Teprve v 50. letech minulého století se začaly objevovat v odborné literatuře práce, které naznačovaly, že pohyb různých neutrálních i iontových látek přes buněčné membrány je katalyzován specifickými proteiny. Kinetika (a selektivita) některých z těchto proteinů byla vypracována do velkých detailů; zejména se to týkalo přenosu monosacharidů v lidských erythrocytech a aminokyselin v buňkách Ehrlichova ascitu. Brzy nato se ukázalo, že některých transportů se zúčastňují i kationty (a jejich elektrochemický potenciál), především ve střední kartáčové membráně, kde tak mohl probíhat transport proti koncentračnímu spádu. Vedle toho pokračoval výzkum proteinů, kterým se začalo říkat iontové pumpy a které byly poháněny energií hydrolýzy ATP, katalyzované specifickými adenosintrifosfátasami, zejména pro Na^+ a K^+ , pro H^+ a K^+ , a pro Ca^{2+} .

Během dalších desetiletí byly objeveny další zdroje energie kromě štěpení ATP, tak jak jsou uvedeny v následujícím přehledu. Paralelně s výzkumem těchto transportů probíhaly i objevy a studium řady selektivních kanálů, které umožňova-

ly transport zejména kationtů (například přes membránu nervových vláken) bez spřažení s nějakým zdrojem energie. Vedle toho byly v posledních 10–15 letech objeveny i transportní mechanismy, které nejenže nevyžadovaly přísun energie, ale které byly méně selektivní, některé z nich dokonce i bez přítomnosti proteinů. A tak v polovině 90. let bylo možno navrhnout klasifikační systém, který vypadal takto:

1. Nespecifická permeace („prostá difuze“)
 - 1.1. hydrofobními oblastmi membrány (různé malé, středně velké a velké lipofilní molekuly)
 - 1.2. vodou naplněnými kanály, z nichž některé zůstávají permanentně otevřené, jako například komplementový komplex, bakteriociny, defensiny, polyenová antibiotika; jiné se otevírají pouze po stimulaci, jako konexony mezi sousedními buňkami (prakticky všechny soluty do určité velikosti)
 - 1.3. pravými póry v lipidové dvojvrstvě, tak jak se tvoří při vyšší teplotě a při aplikaci elektrického napětí na membránu (všechny soluty, včetně makromolekul při tzv. elektroporaci)
2. Specifický transport
 - 2.1. selektivními kanály
 - 2.1.1. neregulovanými, například poriny ve vnější membráně bakterií, mitochondrií a chloroplastů, akvaporiny ve většině buněk (kationty, anionty, voda; některé neelektrolyty)
 - 2.1.2. s elektrickým či potenciálovým hradlem, jako v nervových a svalových buňkách při šíření akčního potenciálu (Na^+ , K^+ , Ca^{2+})
 - 2.1.3. s chemickým či ligandovým hradlem, jako různé kanály spojené s receptory pro hormony (kationty)
 - 2.1.4. s mechanickým hradlem, jako kanály v membránách krevních kapilár a vláskových buněk vnitřního ucha (kationty, zejména K^+)
 - 2.2. specifickými přenašeči
 - 2.2.1. zprostředkovanou (usnadněnou) difuzí (monosacharidy v živočišných buňkách necitlivých k inzulinu, v kvasinkách)
 - 2.2.2. primárním aktivním transportem
 - 2.2.2.1. poháněným hydrolýzou ATP nebo difosfátu v ATPasách P-typu, F-typu a ABC-typu ve všech druzích buněk (kationty, anionty, aminokyseliny, cukry, xenobiotika)
 - 2.2.2.2. poháněným oxidačními reakcemi, v bakteriálních, mitochondriálních a chloroplastových membránách (H^+ , Na^+)
 - 2.2.2.3. poháněným absorpcí světla, v halobakteriích (H^+ , Cl^-)

- 2.2.2.4. poháněným dekarboxylací, v bakteriích (Na^+)
- 2.2.2.5. poháněným přenosem methylové skupiny, v některých methanobakteriích (Na^+)
- 2.2.3. sekundárním aktivním transportem
 - 2.2.3.1. symportního typu, s využitím gradientu H^+ , Na^+ a výjimečně K^+ , v bakteriálních, fungálních, rostlinných i živočišných buňkách, s čistým přenosem náboje (různé neelektrolyty, hlavně živiny)
 - 2.2.3.2. antiportního typu, elektricky tichý, v různých buňkách (anionty, kationty, často v kombinaci)
 - 2.2.3.3. antiportního typu, s čistým přenosem náboje, ve vnější mitochondriální membráně (ADP/ATP)
- 2.3. skupinovou translokací, hlavně v gram-pozitivních i gram-negativních bakteriích, v mozkové tkáni (mono- a disacharidy, aminokyseliny)
- 2.4. receptorovou pinocytózou
 - 2.4.1. endocytózou, hlavně v živočišných buňkách (ferritransferin)
 - 2.4.2. exocytózou, zejména ve fungálních a živočišných buňkách (hormony)

Na rozdíl od transportních proteinů byly enzymy klasifikovány v soulase s Enzymovou komisí při Mezinárodní biochemické unii už v roce 1961. To bylo ovšem dávno před dobou, kdy začaly být známy peptidové sekvence enzymů, a tak byla klasifikace enzymů založena výlučně na typu katalyzované reakce. Tak se stalo – a děje se tak dosud, že enzymy s podobnou katalytickou funkcí byly řazeny do určité skupiny (např. hydrolasy, oxidoreduktasy atp.).

Při přípravě klasifikace transportních proteinů by bylo pošetilé vybudovat systém, založený výlučně na specifitě transportní reakce. Protože je nyní k dispozici primární struktura několika tisíců transportních proteinů, ukázalo se vhodnějším pořídit jejich klasifikaci založenou v hlavních rysech na typu transportního pochodu a jeho spřažení se zdrojem energie, ale dále v hierarchii už na strukturální příbuznosti, spíše než na substrátové specifitě. Tento přístup má i tu výhodu, že umožňuje odhalit i fylogenetické vztahy mezi jednotlivými proteiny. Protože však na druhé straně má tento systém určitý nedostatek v tom, jak v něm zjistit totožnost proteinu podle jeho substrátové specifity, obsahuje dokument IUBMB obsáhlé tabulky založené právě na typu přenášené látky, a to do velkých detailů.

V současné klasifikaci se používá pěticiferného systému, kde první cifra (číslice) označuje třídu transportních proteinů, druhá cifra (písmeno) pak podtřídu, kde obě cifry se vztahují k mechanismu translokace přes membránu nebo zdroji energie pro tento pochod, třetí cifra (číslice) označuje rodinu, čtvrtá cifra pak podrodinu. Tyto dvě hierarchické úrovně lze rozlišit na základě jejich primární struktury. Pátá cifra pak označuje určitý transportní protein. Pěticifernému kódu předcházejí písmena TC, která mají být analogií k EC používaným pro klasifikaci enzymů (podle *Enzyme Commission*), ale lze je spíše chápat jako zkratku *Transport Classification*.

Navrhovaná klasifikace pak obsahuje tyto třídy a podtřídy:

1. Póry a kanály

1.A α -Helikální kanály – 36 rodin

Transmembránové kanálové proteiny přítomné ve všech typech buněk od bakterií až po vyšší Eukaryota. Tyto systémy katalyzují pohyb solutů ve směru jejich koncentračního nebo potenciálového spádu. Jsou obvykle složeny z α -šroubovicových transmembránových segmentů.

Například

TC 1.A.4.3.1 čichový, mechanicky regulovaný kanál pro Ca^{2+} z *Caenorhabditis elegans* (937 aminokyselinových zbytků, dále jen ak-zbytků)

TC 1.A.13.1.2 chloridový kanál aktivovaný Ca^{2+} ze savčích buněk (917 ak-zbytků)

1.B β -Hřebenové poriny – 34 rodin

Tyto proteiny umožňují na energii nezávislý průchod solutů přes membránu. Transmembránové části proteinů obsahují výlučně strukturu skládaného listu, která vytváří β -soudky. Poriny se vyskytují ve vnějších membránách gram-negativních bakterií, mitochondrií, chloroplastů a snad i gram-pozitivních bakterií rezistentních k nízkému pH.

Například

TC 1.B.2.1.1 porin Omp1 z *Chlamydia psittaci*, propouští různé malé molekuly (402 ak-zbytků)

TC 1.B.9.1.1 porin FadL 2 z *Escherichia coli*, propouští mastné kyseliny (450 ak-zbytků)

1.C Toxiny tvořící póry – 58 rodin

Jde tu o peptidy či proteiny tvořené v určité buňce a secernované do membrány jiné buňky, v níž způsobují perforaci. To vede k zániku cílové buňky způsobenému výtokem elektrolytů a malých molekul, nebo naopak vstupem toxické látky do cytoplasmy.

Například

TC 1.C.3.2.1 hemolysin II z gram-pozitivních bakterií, propouští malé molekuly (412 ak-zbytků)

TC 1.C.7.1.1 záškrťový toxin z *Corynebacterium diphtheriae*, propouští A-řetězec toxinu B-řetězčovým kanálem (celkem 535 ak-zbytků)

1.D Kanály syntetizované mimo ribosomy – 12 rodin

Tyto molekuly, často složené z řetězce L- a D-aminokyselin a z laktátu a β -hydroxybutyrátu, tvoří oligomerní transmembránové kanály. Membránový potenciál může napomáhat tvorbě kanálů podporou výstavby jeho oligomerní struktury. Tyto „depsiptydy“ jsou většinou syntetizovány bakteriemi. Patří sem i látky neobsahující aminokyseliny.

Například

TC 1.D.1.1.1 gramicidin A z *Bacillus brevis*, propouští jednovalné kationty (8 L-aminokyseliny, 5 D-aminokyseliny)

TC 1.D.4.1.1 tolaasin z *Pseudomonas tolaasii*, propouští kationty (D-aminokyseliny, hydroxykyseliny, mastné kyseliny)

1.E Holiny – 19 rodin

Tato podtřída zahrnuje integrační membránové proteiny, které regulují vstup fágových enzymů rozkládajících buněčnou stěnu, tzv. endolysinů, do buněk. Přítomnost holinu a endolysinu je nutná pro usmrcení bakterie způsobené bakteriofágem. Jde o výrazně různorodou skupinu.

Například

TC 1.E.12.1.1 holin ϕ Adh z laktobacilového fága (114 ak-zbytků)

TC 1.E.16.1.1 holin Cph1 ze streptokokového fága (135 ak-zbytků)

2. Transportéry poháněné elektrochemickým potenciálem**2.A Přenašeče čili transportéry (uniportéry, symportéry, antiportéry) – 80 rodin**

V této podtřídě jsou zahrnuty systémy využívající přenašečového pochodu zvaného uniport, symport a antiport (viz poslední část publikace) bez využití energie chemické vazby.

Například

TC 2.A.1.1.12 glukosový uniportér ze savčích tkání (\approx 500 ak-zbytků)

TC 2.A.5.2.1 přenašeč Mn^{2+} ze *Saccharomyces cerevisiae* (313 ak-zbytků)

TC 2.A.12.1.1 antiportér ATP:ADP z *Rickettsia prowazekii* (498 ak-zbytků)

2.B Přenašeče syntetizované mimo ribosomy – 6 rodin

Podobně jako u mimoribosomálních kanálů může jít o depsipeptidy nebo sloučeniny neobsahující aminokyseliny. V komplexu se solutem (obvykle kationtem) se pohybují z jedné strany membrány na druhou, popřípadě exponují vazebné místo střídavě na jednu a na druhou stranu membrány.

Například

TC 2.B.1.1.1 valinomycin ze *Streptomyces fulvissimus*, přenáší především K^+ (6 ak, 6 organických kyselin)

3. Primární aktivní transportéry**3.A Přenašeče poháněné hydrolyzou vazeb P–P – 14 rodin**

Tady jde o transportní systémy využívající volnou energii difosfátové vazby k pohonu transportu látek proti jejich koncentračnímu nebo elektrochemickému spádu. Některé proteiny jsou během transportního cyklu přechodně fosforylovány (rodiny 3.A.3 a 3.A.4). Tyto přenašeče se vyskytují ve všech doménách organismů.

Například

TC 3.A.1.203.2 peroxisomální importér mastných kyselin s dlouhým řetězcem ze *Saccharomyces cerevisiae* Pat1 (758 ak-zbytků)

TC 3.A.2.2.3 vakuolární H^+ -ATPasa ze *Saccharomyces cerevisiae* (17 podjednotek, celkem \approx 5200 ak-zbytků)

TC 3.A.3.5.4 Ag^+ -transportující ATPasa ze *Salmonella typhimurium* (\approx 1500 ak-zbytků)

TC 3.A.10.2.1 bakteriální H^+ -přenašeč difosfatasa z *Rhodospirillum rubrum* (660 ak-zbytků)

3.B Transportéry poháněné dekarboxylací – 1 rodina

Nehojné prokaryontní systémy využívající volnou energii dekarboxylace oxokyseliny k transportu Na^+ .

Například

TC 3.B.1.1.3 oxalacetátdekarboxylasa ze *Salmonella typhimurium* (podjednotky α , β , γ , δ ; \approx 1000 ak-zbytků)

3.C Transportéry poháněné přenosem methylové skupiny – 1 rodina
Je známa jediná rodina takových přenašečů, a to z archebakterií.

Například

TC 3.C.1.1.1 Na^+ -přenašeč methyltransferasa z *Methanobacterium thermoautotrophicum* (pravděpodobně 8 podjednotek, 1597 ak-zbytků)

3.D Transportéry poháněné oxidoredukci – 9 rodin

Tady jde o systémy, kde zdrojem energie pro transport je oxidace redukováného substrátu zprostředkovaná tokem elektronů. Vyskytují se ve všech doménách organismů.

Například

TC 3.D.2.3.1 H^+ -transportující transhydrogenasa 3 z hovězích mitochondrií (\approx 2000 ak-zbytků)

TC 3.D.7.1.1 H_2 -heterodisulfidoxidoreduktasa z *Methanosarcina mazei* (5 podjednotek, celkem 1919 ak-zbytků)

3.E Světlem poháněné transportéry – 1 rodina

Tato podtřída zahrnuje jedinou rodinu archebakteriálních proteinů. Homologní proteiny obsahující retinal se však vyskytují u plísní, kde mohou fungovat jako proteiny teplotního šoku, popřípadě jako molekulové chaperony.

Například

TC 3.E.1.2.1 halorhodopsin přenašeč Cl^- do buněk halobakterií (262 ak-zbytků)

4. Skupinové translokátory**4.A Fosfotransferasové systémy – 6 rodin**

V této podtřídě jsou zahrnuty systémy, které katalyzují vektorialní enzymové reakce, kdy substrát je na startovní straně membrány a produkt, odlišný od substrátu, na cílové straně membrány.

Například

TC 4.A.3.1.1 laktosový PTS-transportér ze *Staphylococcus aureus* (komplex IICB-IIA, \approx 2000 ak-zbytků)

5. Transmembránové přenašeče elektronů

Tady jde o nově objevenou skupinu několika proteinů, které přenašejí elektrony pro udržení cysteinových zbytků v redukované formě, popřípadě fungují v součinnosti s oxidasami tvořícími superoxydy.

5.A Dvouelektronové transportéry – 2 rodiny

Například

TC 5.A.1.1.1 protein DsbD z *Escherichia coli* (150 ak-zbytků)

5.B Jednoelektronové transportéry

Například

TC 5.B.1.1.1 lidský protein Gp91^{phox} (450 ak-zbytků)

Skupiny 6 a 7 zůstávají prozatím nepoužité pro případ, že se v budoucnu podaří objevit další, zásadně odlišné systémy.

8. Přídavné faktory v transportních pochodech

8.A Pomocné transportní proteiny – 13 rodin

Tato podtřída zahrnuje proteiny, které tak či onak usnadňují transport přes biomembrány, ačkoliv se samy transportního pochodu neúčastní. Může tu jít o asistenci při využití energie, nebo při tvorbě membránového komplexu, nebo při regulaci transportu.

Například

TC 8.A.1.4.1 mesentericinový přídavný protein MesE z *Leuconostoc mesenteroides* (400 ak-zbytků)TC 8.A.11.1.1 fosfolamban PLB z lidské tkáně, reguluje aktivitu Ca²⁺-ATPasy ze sarkoplazmatického retikula (52 ak-zbytků)

9. Neúplně charakterizované transportní systémy

9.A Transportéry s nejistou klasifikací

Tady jde o systémy, jejichž specifita je známa, ale jejichž zařazení podle mechanismu transportu, popřípadě správnosti zdroje energie, známo není. Dá se očekávat, že dříve nebo později budou zařazeny do jedné ze tříd 1–3.

Například

TC 9.A.1.1.1 exportér lipopolysacharidů z *Escherichia coli* (400–500 ak-zbytků)

TC 9.A.6.1.1 intracelulární transportér nukleosidů MTP z myší tkáně (233 ak-zbytků)

Ze srovnání tohoto stručného přehledu a tabulky v úvodu publikace vyplývá, že skupiny 1.2 a 2.1 jsou zahrnuty ve třídě TC 1, skupiny 2.2.1 a 2.2.3 v podtřídě TC 2.A, skupina 2.2.2 v třídě TC 3, a skupina 2.3 v třídě TC 4. Skupiny 1.1, 1.3 a 1.4 v TC-systému zahrnuty nejsou, poněvadž v nich nejde o konkrétní proteiny; skupina 2.4 je v TC-systému poněkud rozptýlena nebo se o ní vůbec nejedná.

Nakonec několik poznámek k terminologii transportních systémů.

Antiportér je přenašeč, transportující dva (výjimečně tři) ionty v opačném směru přes membránu.

Elektrochemický potenciál je definován jako

$$\tilde{\mu} = -\Delta\phi + (2,3 RT/F) \log (c_{\text{kation,ex}} / c_{\text{kation,in}})$$

kde $\Delta\phi$ je elektrický potenciál přes membránu (ve V), R je plynová konstanta (8,314 J.K⁻¹.mol⁻¹), T je absolutní teplota v K a F je Faradayova konstanta (96,49 kC.mol⁻¹).

Exportér je přenašeč, který funguje ve směru z buňky do vnějšího prostředí.

Importér je přenašeč, který funguje ve směru z vnějšího prostředí do buňky.

Kanál je membránový protein (často oligomerní útvar), který umožňuje specifický transport iontů nebo nenabitých molekul po spádu koncentrace nebo elektrochemického potenciálu. Kanál může být buď zavřený nebo otevřený – v tomto případě pak jeho vazebné místo může přijímat ligandy z obou stran membrány.

Membránový potenciál $\Delta\phi$ je rozdíl elektrického potenciálu, skládající se ze statické a dynamické složky, přičemž je vnitrobuněčná strana téměř vždy negativní; vyjadřuje se v mV, a to v záporných hodnotách.

Permeáza či **permeasa** je nevhodný zastaralý výraz pro některé systémy podtříd TC 2.A.

Pór je membránový protein, často oligomerní struktury, který umožňuje nespecifický transport různě velkých solutů.

Protonmotivní (protonmotorická) síla vyjadřuje závislost sekundárního aktivního transportu na membránovém potenciálu a poměru koncentrací H⁺ vně a uvnitř buňky; je to ne zcela správné označení (nejde tu o sílu) pro elektrochemický potenciál vydělený Faradayovou konstantou. Analogicky můžeme hovořit obecně o ionmotivní síle.

Symportér je přenašeč transportující dva soluty tímž směrem, přičemž alespoň jeden z nich je elektricky nabitý.

Translokáza či **translokasa** je nevhodný výraz pro přenašeč.

Transportér čili **přenašeč** je běžný výraz pro membránový protein, umožňující specifický transport solutu iontového i neiontového charakteru, kdy se buď neuplatňuje zdroj energie (zprostředkovaná difuze), nebo je zdrojem elektrochemický potenciál nějakého kationtu (sekundární aktivní transport), nebo nějaká exergonická chemická nebo fotochemická reakce (primární aktivní transport). Na rozdíl od kanálů je přenašeč orientován svým vazebným místem střídavě na jednu a na druhou stranu membrány.

Uniportér je přenašeč transportující jedinou molekulu nebo ion.