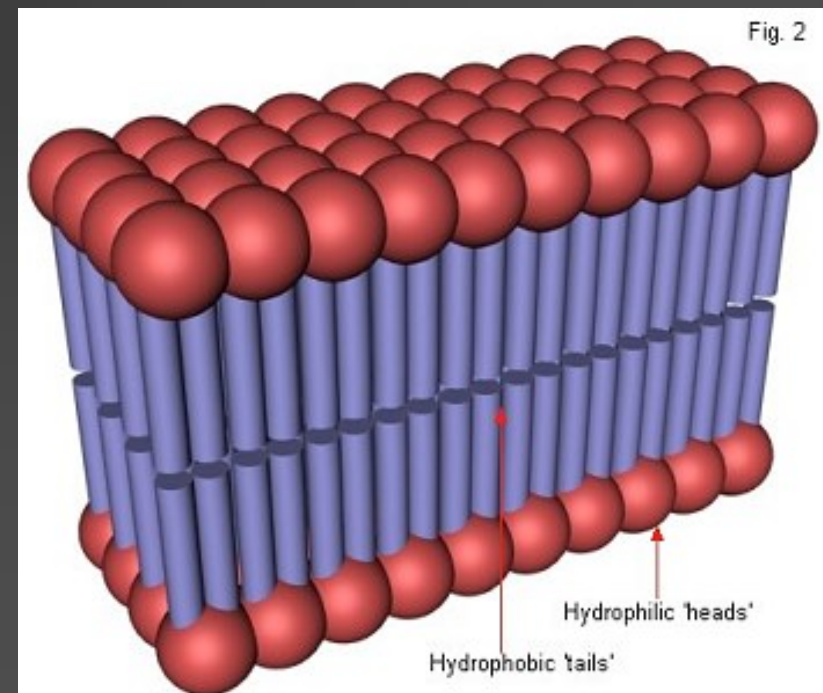


Struktura in dinamika bioloških membran



Stryer, 12. poglavje
Voet, 12. poglavje

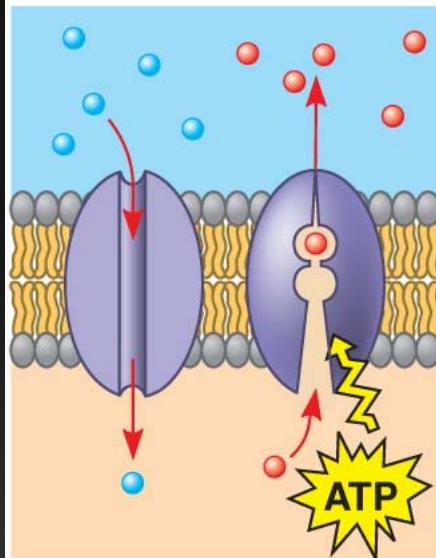


Pregled

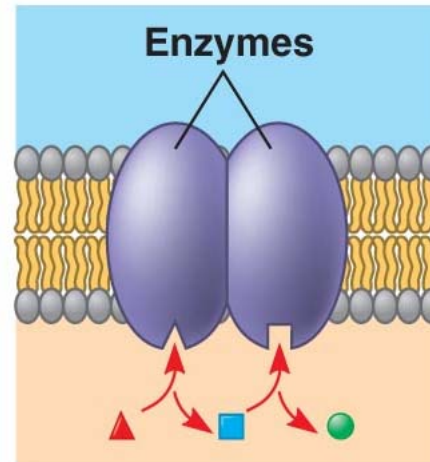
- Funkcije bioloških membran
- Lastnosti lipidnih membran
- Sestava membran
- Membranski lipidi
- Membranski proteini

Funkcije bioloških membran

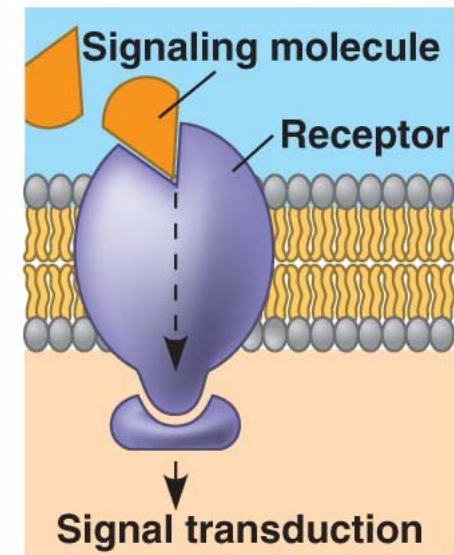
- (Selektivna) bariera za molekule
- Energijska zaloga in pretvorbe
- Prenos in modulacija signalov
- Celični transport
- Kompartimentizacija in akumulacija metabolitov
- Posredovanje pri medceličnih interakcijah
- Pomoč pri pomnoževanju celic (delitev)



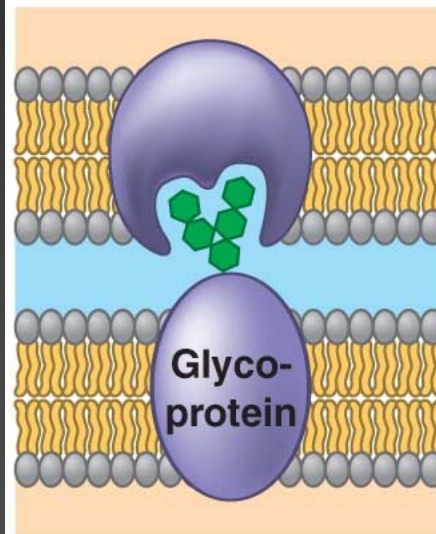
(a) Transport



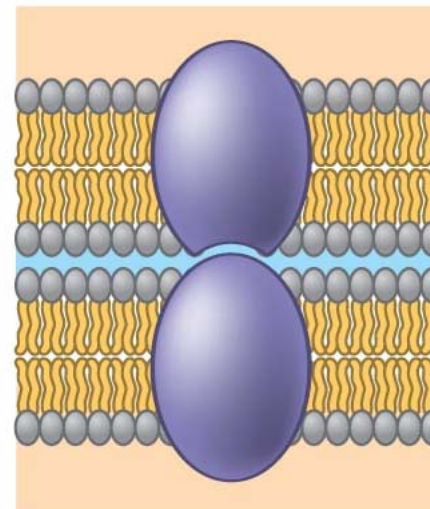
(b) Enzymatic activity



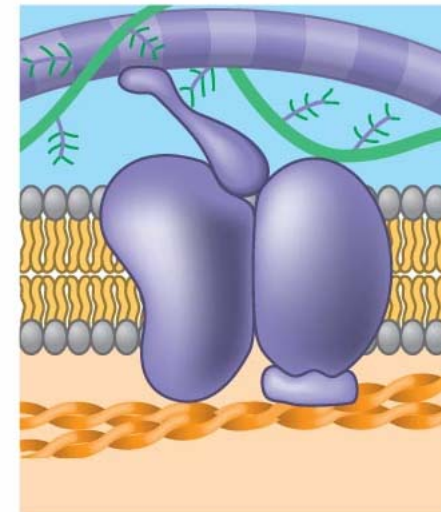
(c) Signal transduction



(d) Cell-cell recognition



(e) Intercellular joining



(f) Attachment to the cytoskeleton and extracellular matrix (ECM)

Lastnosti membran

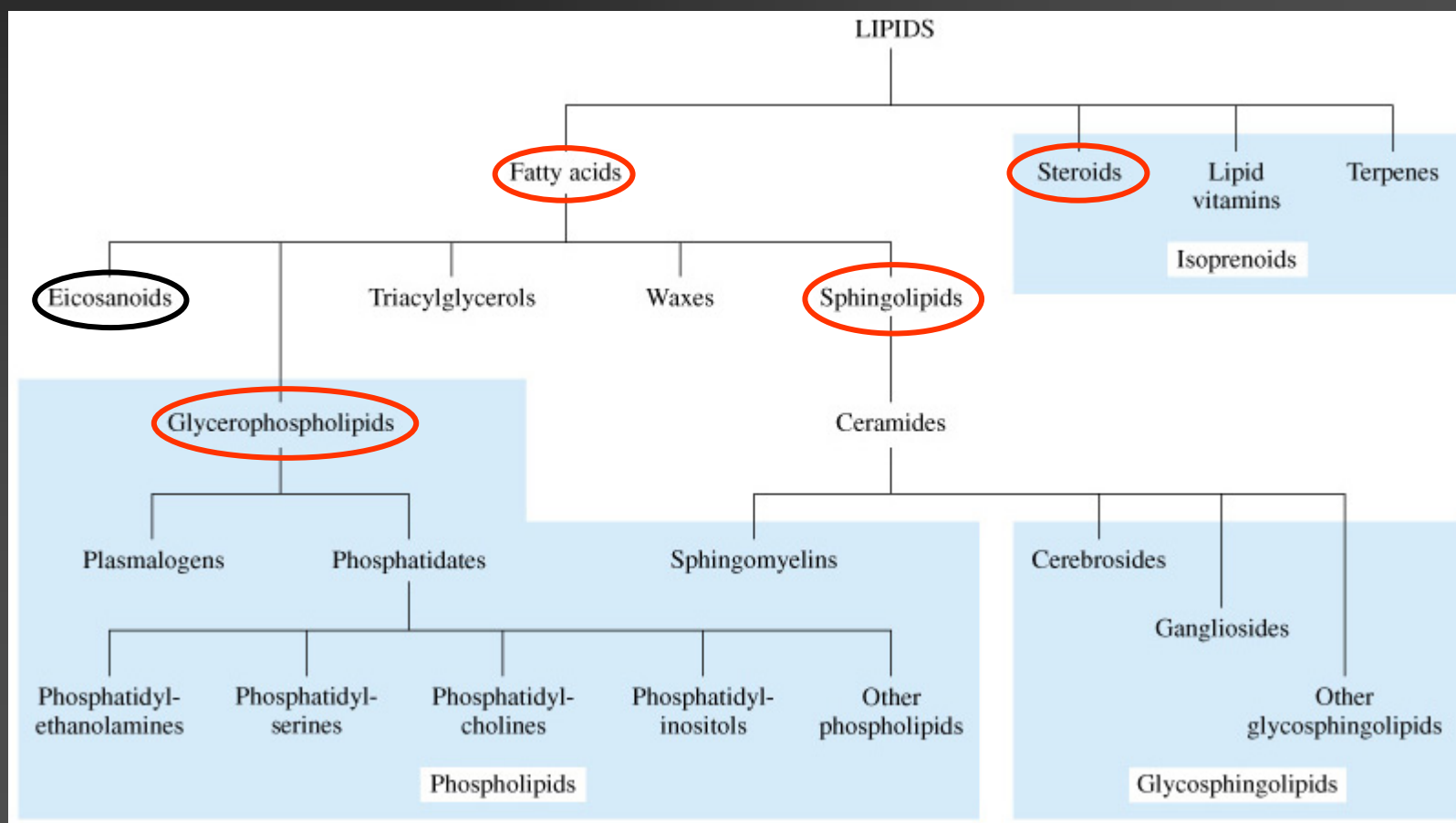
- debelina 6-10 nm (2 molekuli)
- sestavljene predvsem iz lipidov in proteinov
- lipidi predstavljajo hidrofobno bariero
- različnost funkcij predvsem zaradi proteinov
- asimetričnost
- tekoča (fluidna) struktura
- večina električno polarizirana

Sestava bioloških membran (utež.%)

MEMBRANA	PROT	LIP	O.H.	P/L
Mielin	18	79	3.0	0.23
Trombocit (p.m.)	33-42	51-58	7.5	0.70
Miš. jetra (p.m.)	46	54	2-4	0.85
Člov. eritrocit	49	43	8	1.10
Ameba	54	42	4	1.30
Podg.jetra (p.m.)	58	42	5-10	1.40
Podg.jetra (j.m.)	59	35	2.9	1.60
Gov.retina (palč.)	51	49	4	1.00
Mitohondrij (z.m.)	52	48	2-4	1.10
SER	67	33	-	2.00
Kloroplast (lam.)	70	30	6	2.30
Mitohondrij (n.m.)	76	24	1-2	3.20
Bakt. (Gram+)	75	25	10	3.00
<i>Halobacterium</i> sp.	75	25	-	3.00
<i>Mycoplasma</i> sp.	58	37	1.6	1.60

LIPIDI

- gradniki bioloških membran
- signalne molekule
- visoko-koncentrirana zaloga energije



Membranski lipidi

(Vsi so amfipatični!)

- 1 Maščobne kisline
- 2 Sestavljeni lipidi (mašč. kisline + alkohol)
 - 1 Glicerofosfatidi
 - 2 Sfingolipidi
- 3 Enostavni lipidi (izoprenski derivati)
 - Steroidi (holesterol)

Maščobne kisline

*Maščobne kisline v bioloških membranah
14 – 24 C; najpogosteje 16 in 18 C atomov.*

■ Nasičene

R-COOH

- | | |
|---------------------|--|
| ■ Laurinska kisl. | C _{12:0} – dodekanojska k. |
| ■ Miristinska kisl. | C _{14:0} – tetradekanojska k. |
| ■ Palmitinska kisl. | C _{16:0} – heksadekanojska k. |
| ■ Stearinska kisl. | C _{18:0} – oktadekanojska k. |
| ■ Arahidinska kisl. | C _{20:0} – eikozanojska k. |

Maščobne kisline

■ Nenasičene



■ Palmitoleinska kisl.

cis- Δ^9 -C_{16:1} (heksadekenjska k.)

■ Oleinska kisl.

cis- Δ^9 -C_{18:1} (oktadekenojka k.)

■ Linolna kisl.

cis- $\Delta^{9,12}$ -C_{18:2} (oktadekadienojska k.)

■ α -Linolenska kisl.

cis- $\Delta^{9,12,15}$ -C_{18:3} (oktadekatrienojska k.)

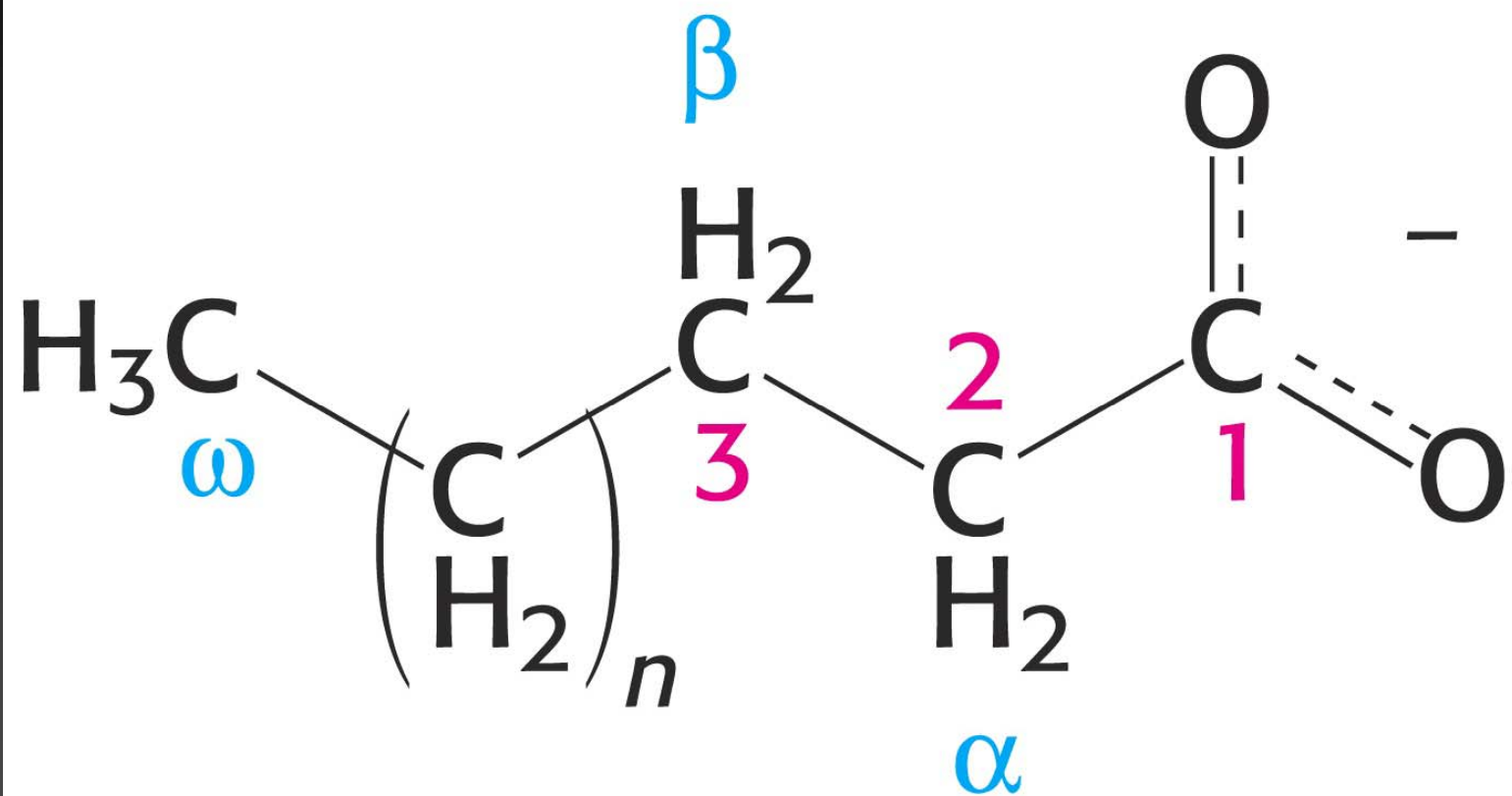
■ γ -Linolenska kisl.

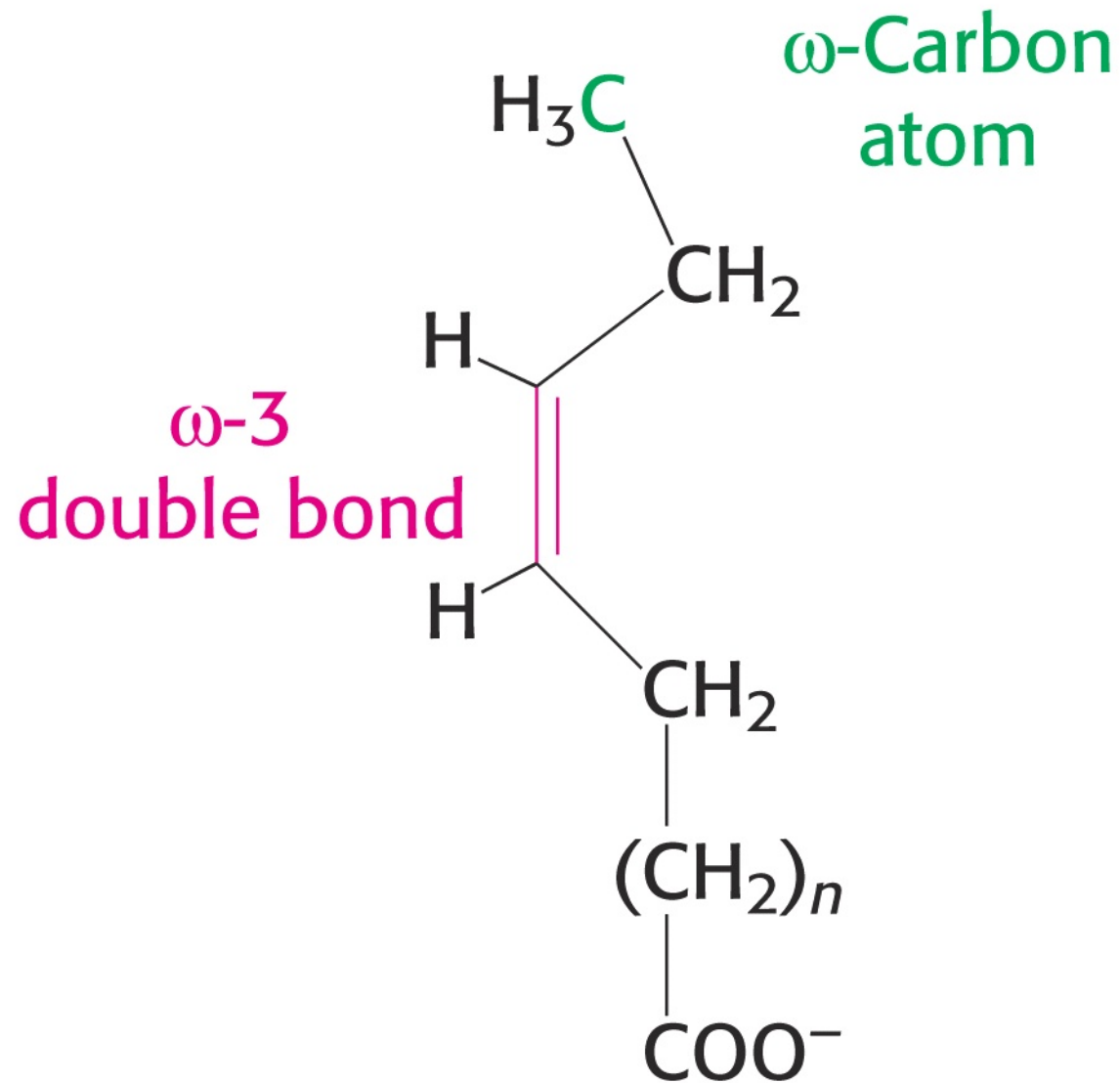
cis- $\Delta^{6,9,12}$ -C_{18:3} (oktadekatrienojska k.)

■ Arahidonska kisl.

cis- $\Delta^{5,8,11,14}$ -C_{20:4} (eikozatetraenojska k.)

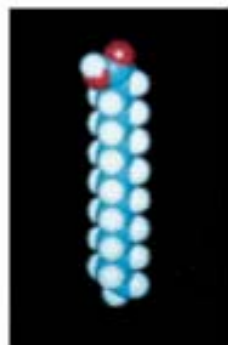
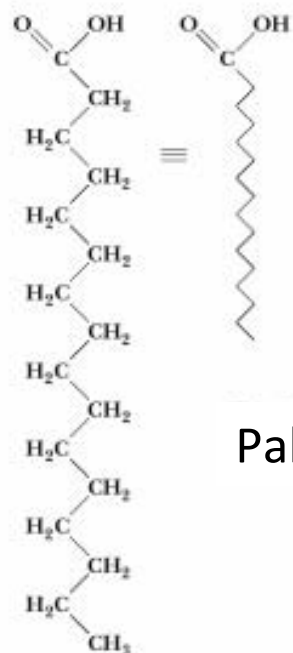
■ Vse dvojne vezi: ***cis*-konfiguracija** !



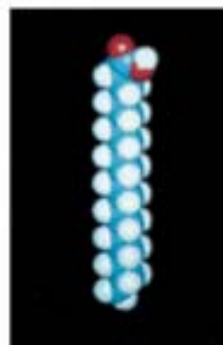


An ω -3 fatty acid

Zgradba maščobnih kislin



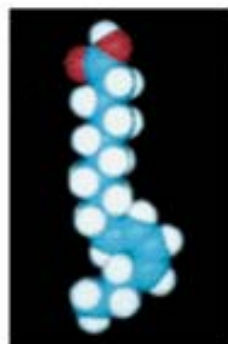
Palmitinska k.



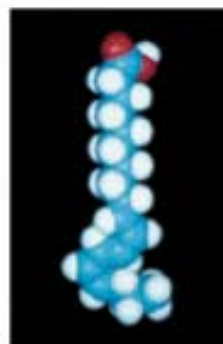
Stearinska k.



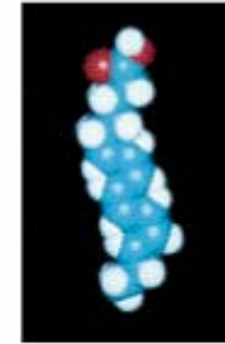
Oleinska k.



Linolna k.



α -linolenska k.



γ -linolenska k.

Lastnosti maščobnih kislin

Funkcija velikosti, stopnje nasičenosti in naboja!

- Nasičene verige: tesno zlaganje, višje tališče, urejene in rigidne v membranah
- Nenasičene verige (*cis*): ukrivljene, manj tesno zlaganje, nižje tališče, bolj gibljive v membranah
- Pri fiziološkem pH vse v obliki $R-COO^-$
- Lastnosti detergentov (tvorijo kroglaste micele)

Maščobne kisline

Oznaka	Ime	Sistematsko ime	Tališče (°C)
--------	-----	-----------------	--------------

1.nasičene:

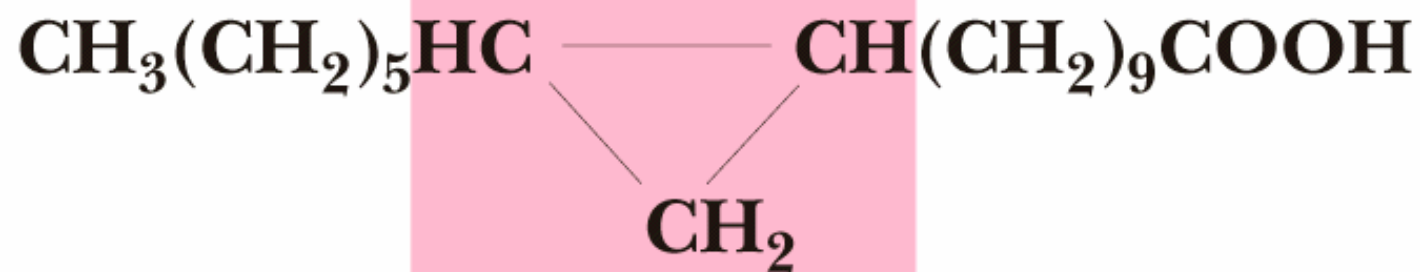
12:0	Lavrova	Dodekanojska	44.2
14:0	Miristinska	Tetradekanojska	52
16:0	Palmitinska	Heksadekanojska	63.1
18:0	Stearinska	Oktadekanojska	69.6
20:0	Arahidinska	Eikozanojska	75.4
22:0	Behenska	Dokozanojska	81
24:0	Lignocerinska	Tetrakozanojska	84.2

Maščobne kisline

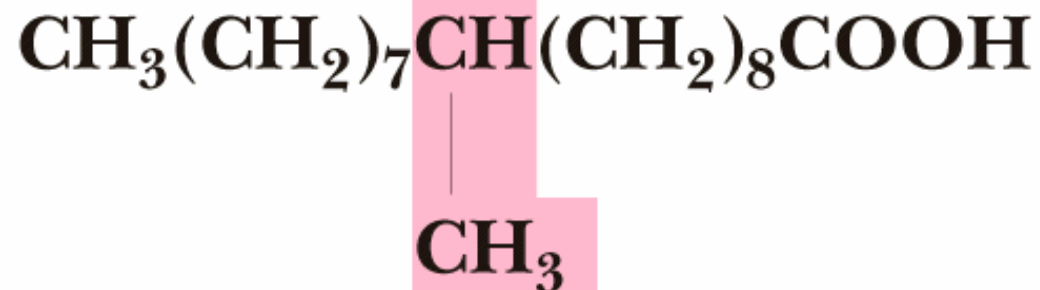
Oznaka	Ime	Sistematsko ime	Tališče (°C)
<i>2. nenasičene:</i>			
16:1	Palmitoleinska	9-heksadekenojska	-0.5
18:1	Oleinska	9-oktadekenojska	13.4
18:2	Linolna	9,12-oktadekendienojska	-9
18:3	α -Linolenska	9,12,15-oktadekentrienojska	-17
18:3	γ -Linolenska	6,9,12-oktadekentrienojska	-11
20:4	Arahidonska	5,8,11,14-eikozatetraenojska	-49.5
20:5	EPA	5,8,11,14,17-eikozapentaenojska	-54
24:1	Nervonska	15-tetrakozaenojska	39

Neobičajne maščobne kisline

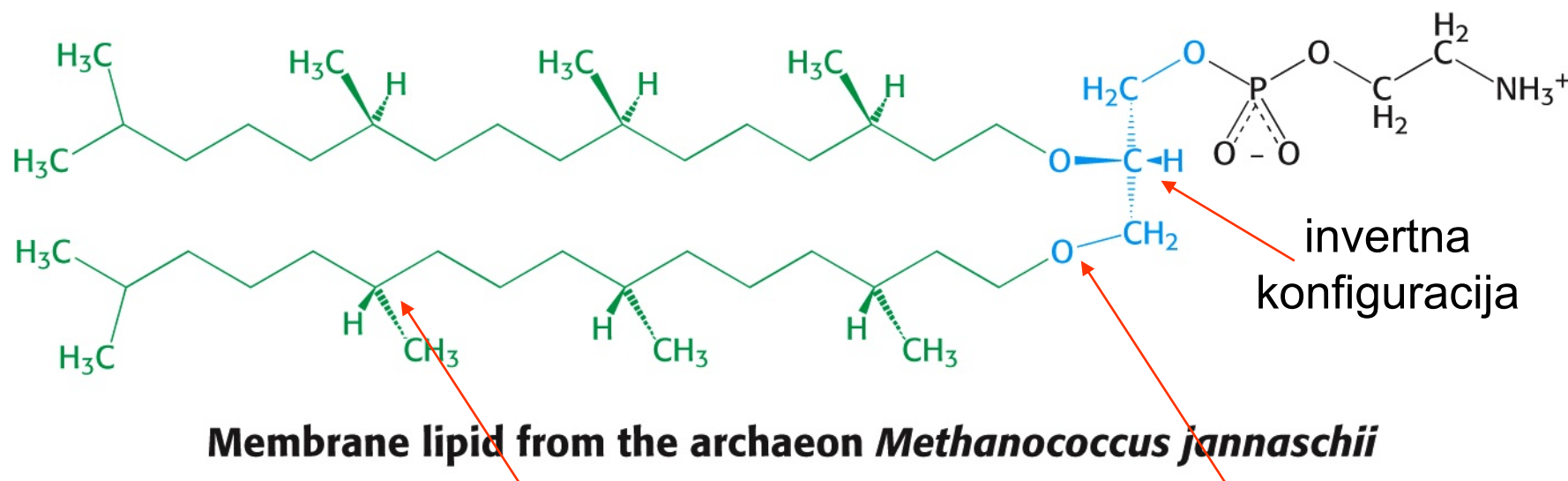
Laktobacilna kislina (aliciklična k.)



Tuberkulostearinska kislina



Fosfolipidi pri arheah so drugačni kot tisti pri evkariontih in bakterijah



razvejane, nasičene verige
rezistentne na oksidacijo

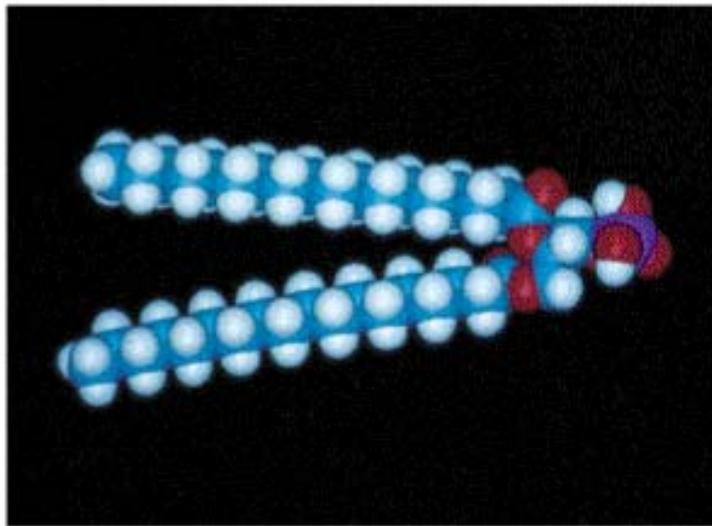
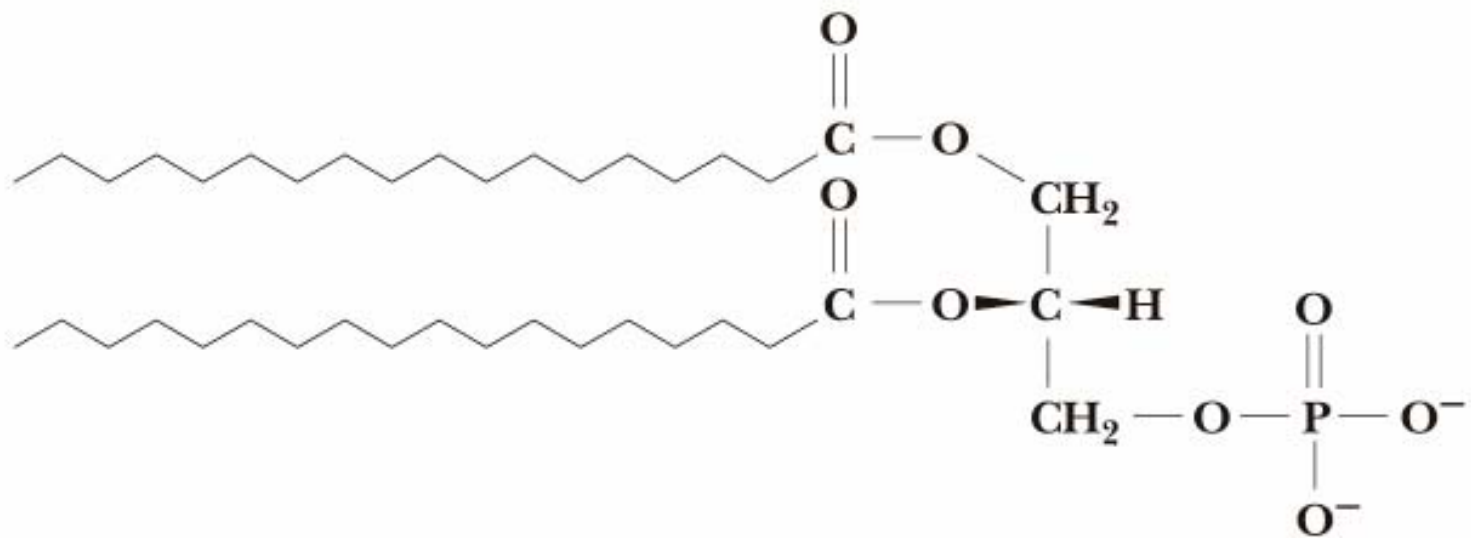
eterske vezi
rezistentne na
hidrolizo

Glicerofosfatidi

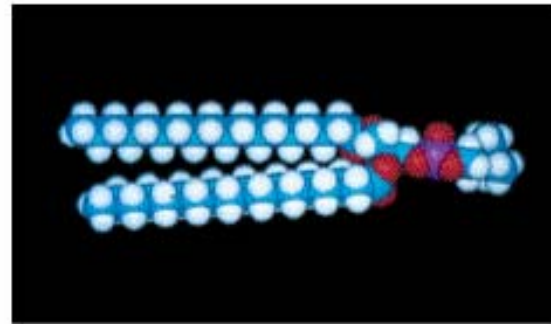
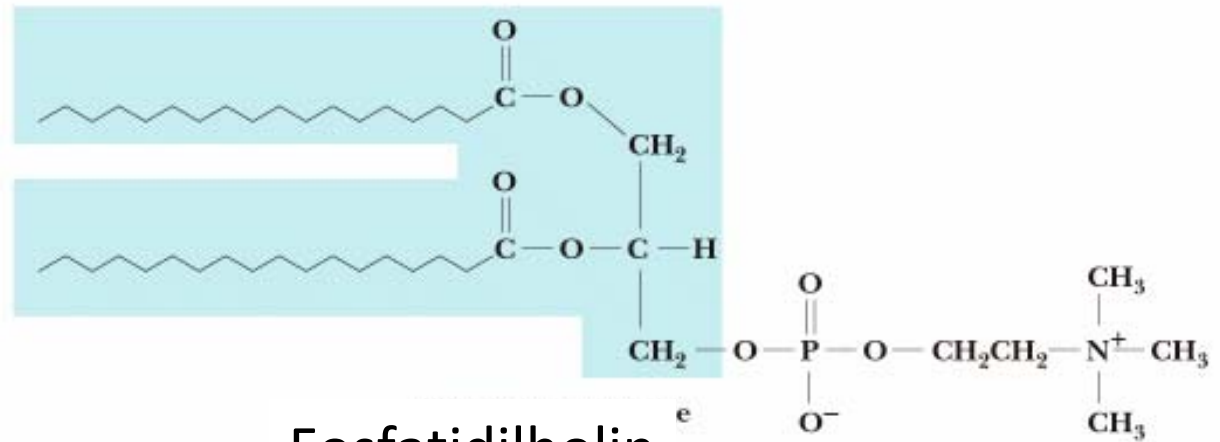
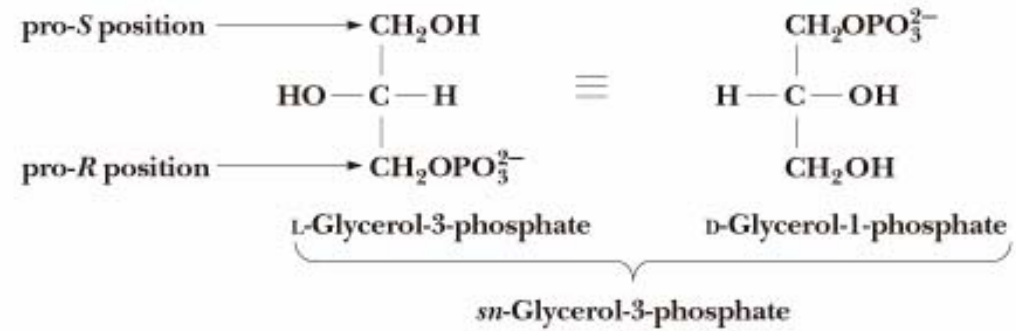
Glicerofosfatidi so fosfolipidi

- Osnova glicerol (alkohol)
- Glicerol zaestren na mestih 1, 2 z maščobno kislino (če nenasičena, je običajno na mestu 2)
- Mesto 3 zaestreno s fosforno kislino
- Fosfatidna kisl. + alkoholna komponenta = fosfatid:
 - Fosfatidilholin
 - Fosfatidiletanolamin
 - Fosfatidilserin
 - Fosfatidilinozitol
 - Fosfatidilglicerol in kardiolipin itd.

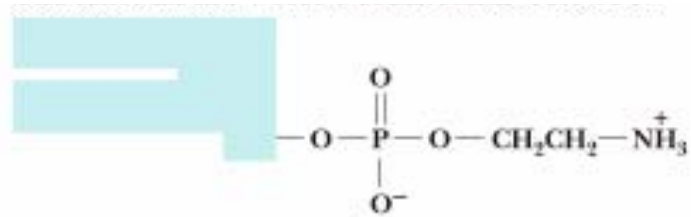
Fosfatidna kislina



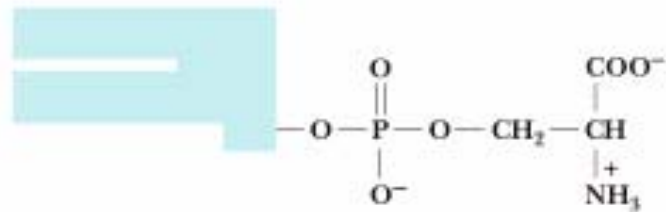
Fosfatidilholin



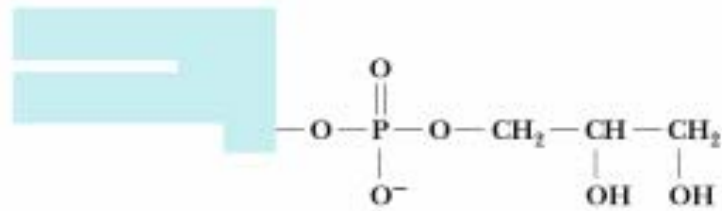
Fosfatidi



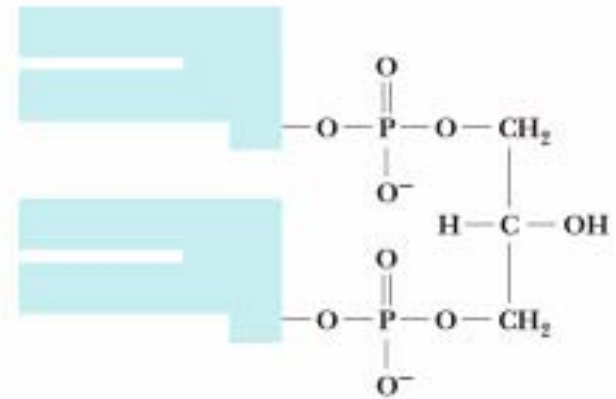
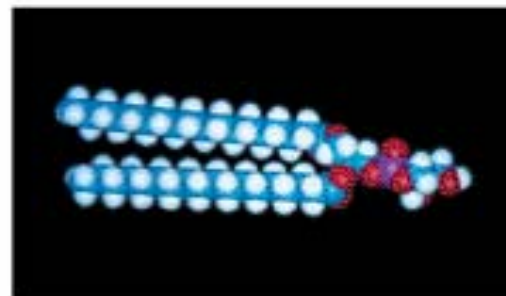
Fosfatidiletanolamin



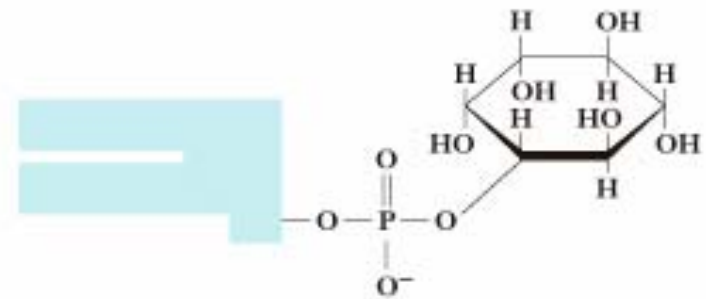
Fosfatidilserin



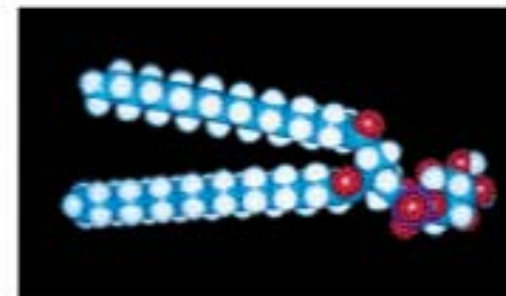
Fosfatidilglicerol

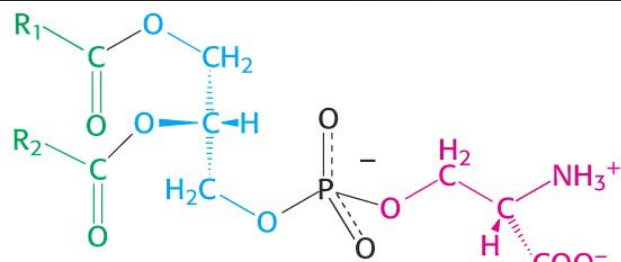
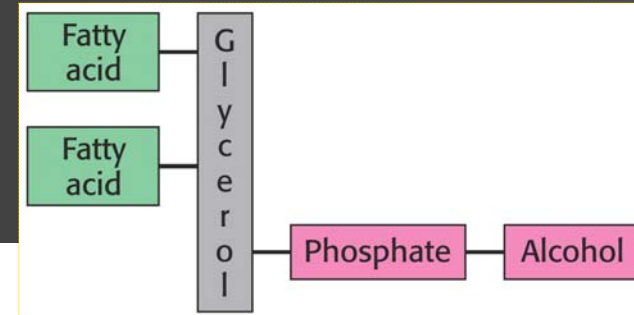


Kardiolipin

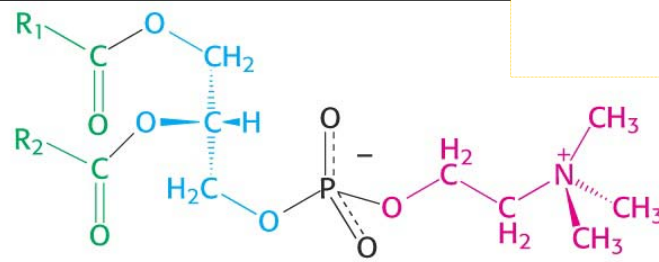


Fosfatidilinozitol

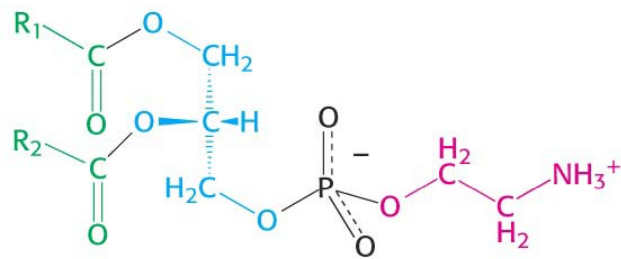




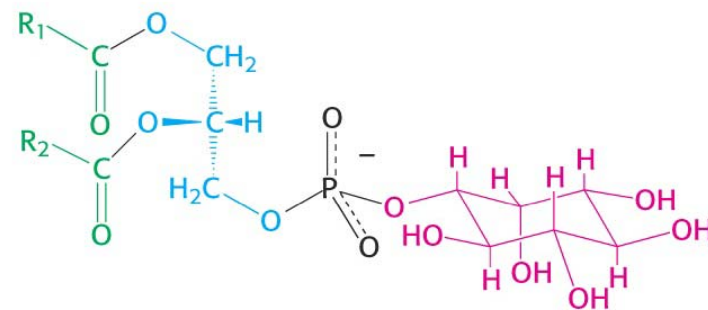
Phosphatidyl serine



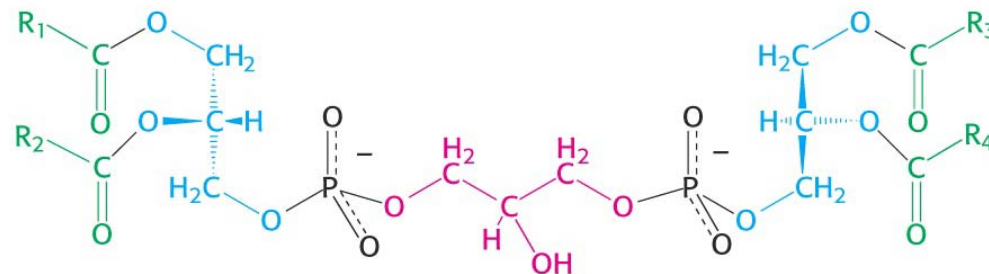
Phosphatidyl choline



Phosphatidyl ethanolamine

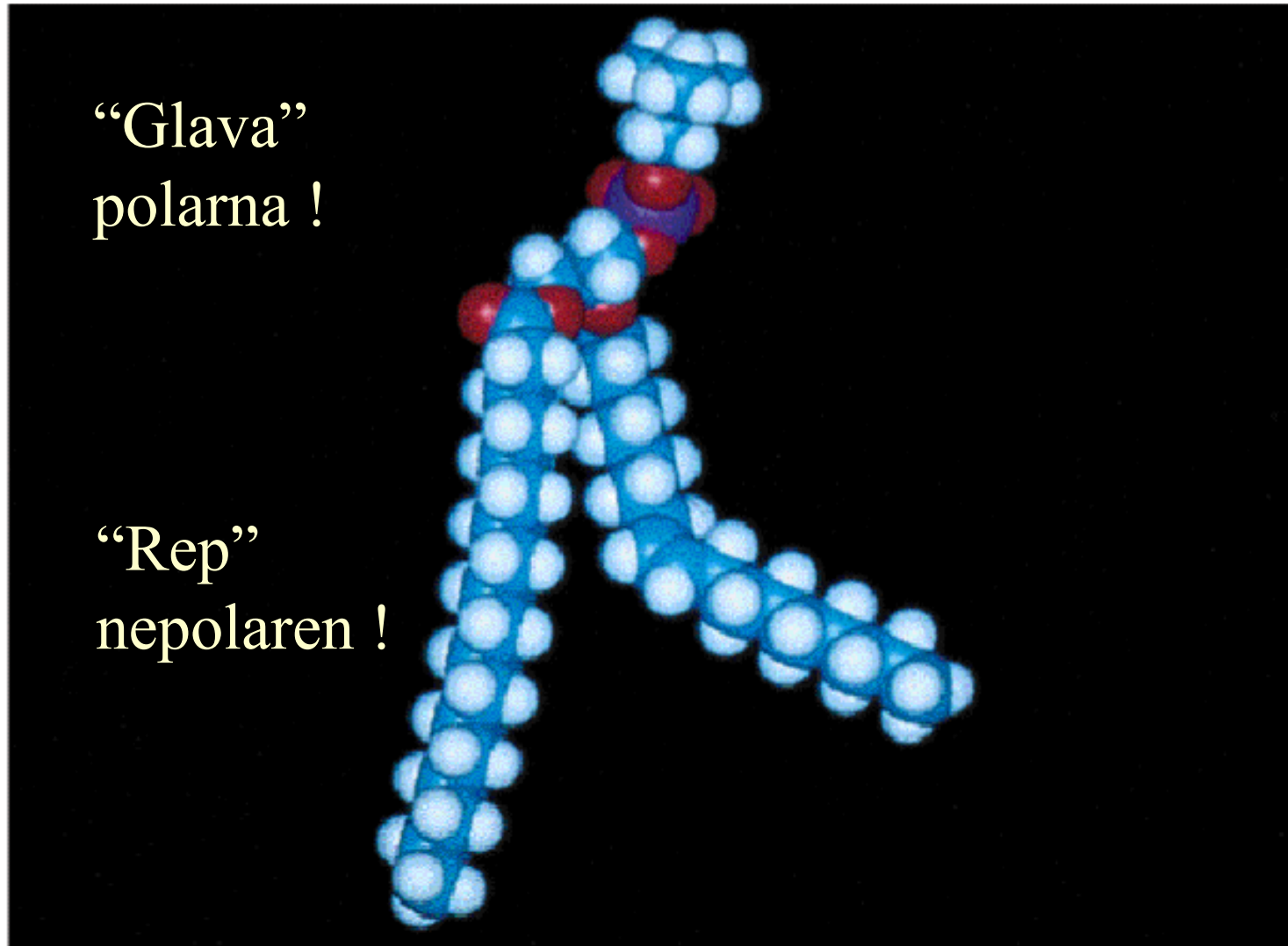


Phosphatidyl inositol



Diphosphatidyl glycerol (cardiolipin)

Glicerofosfatid – model

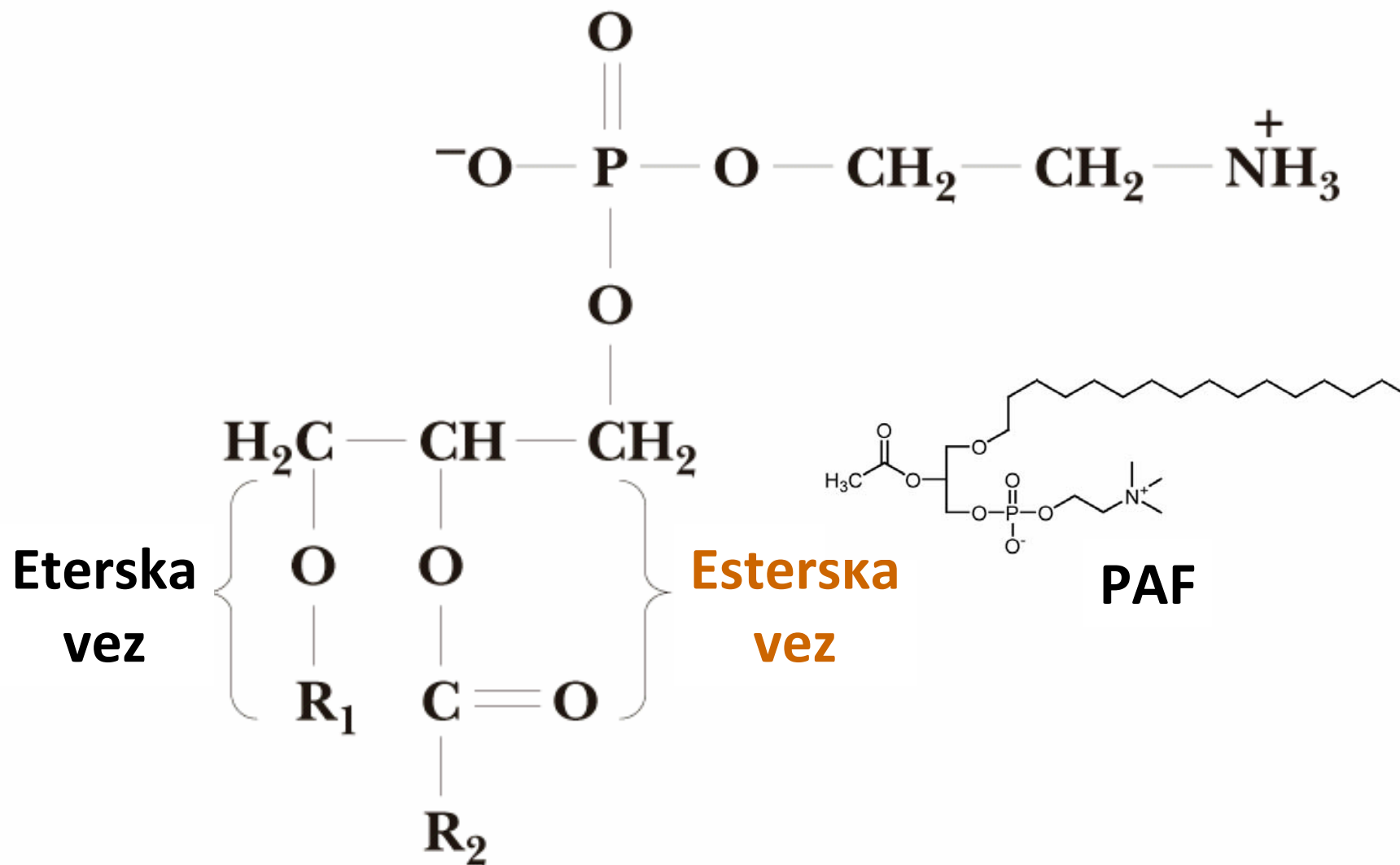


Eterski glicerofosfatidi

Na C-1 eterska vez namesto esterske !

- Plasmalogeni:
eterski glicerofosfolipidi z nenasičeno alkilno verigo (vinilni ostanek na *sn*-1 = dvojna vez takoj ob eterski vezi)
- Zalsti v membr. srca, živcev, ledvic in testisov
- PAF (platelet activating factor) – signalna molekula

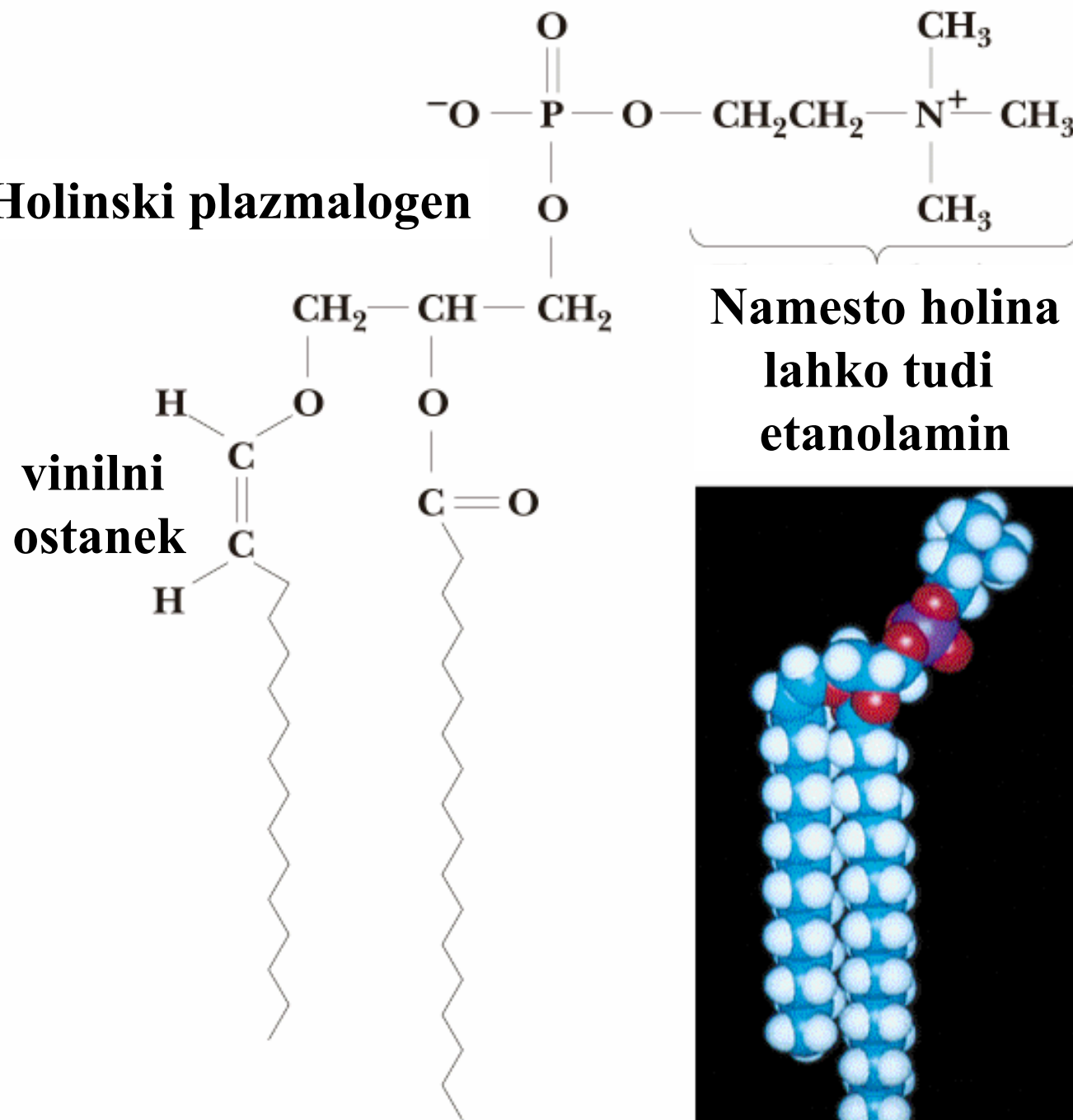
Eterska vez na C-1 glicerola



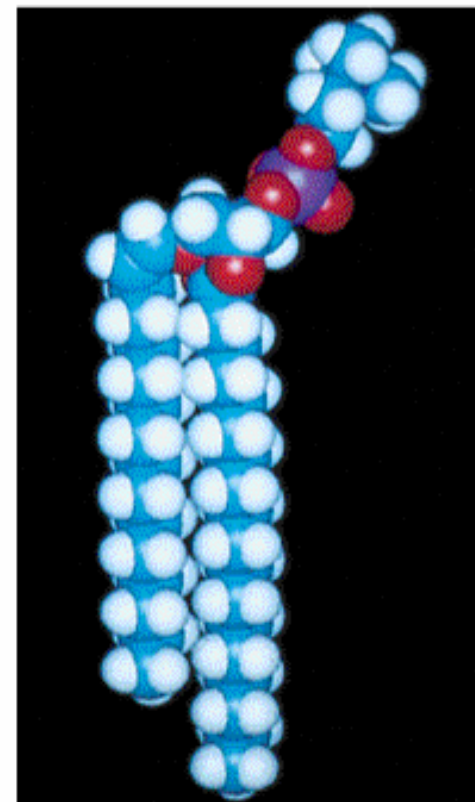
Membranski plazmalogen

1-alkil-2-acil-glicerofosfolin

Holinski plazmalogen



Namesto holina
lahko tudi
etanolamin

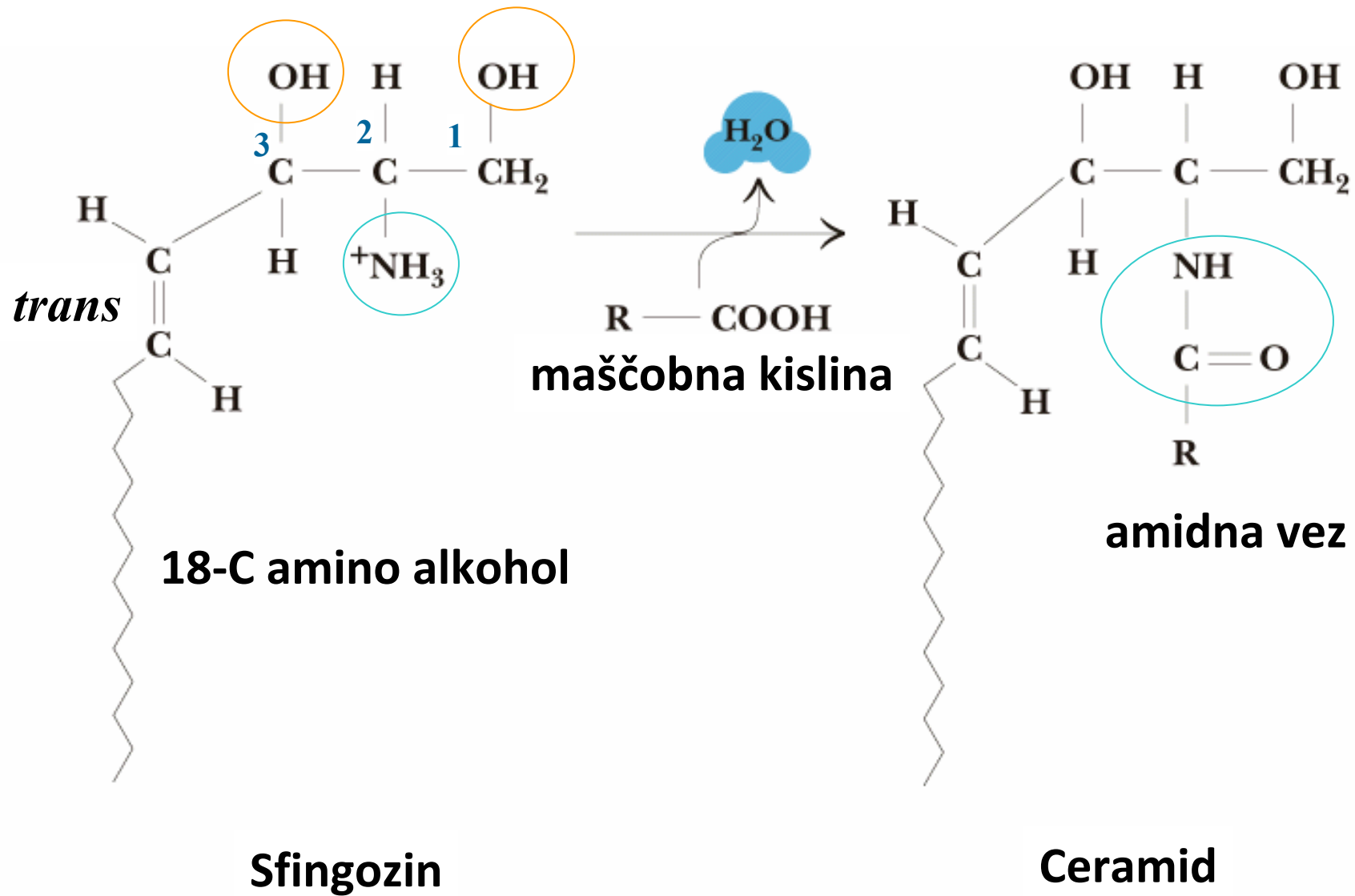


Sfingolipidi

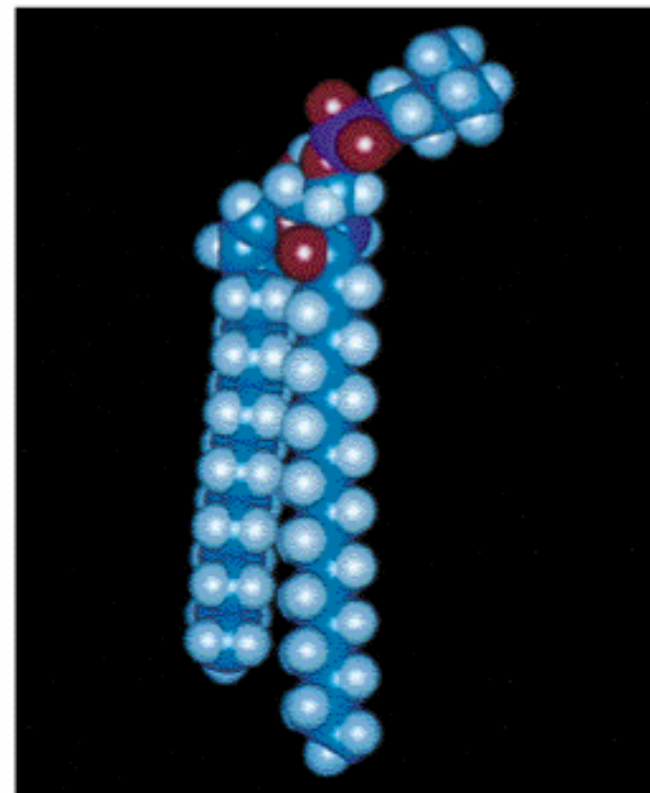
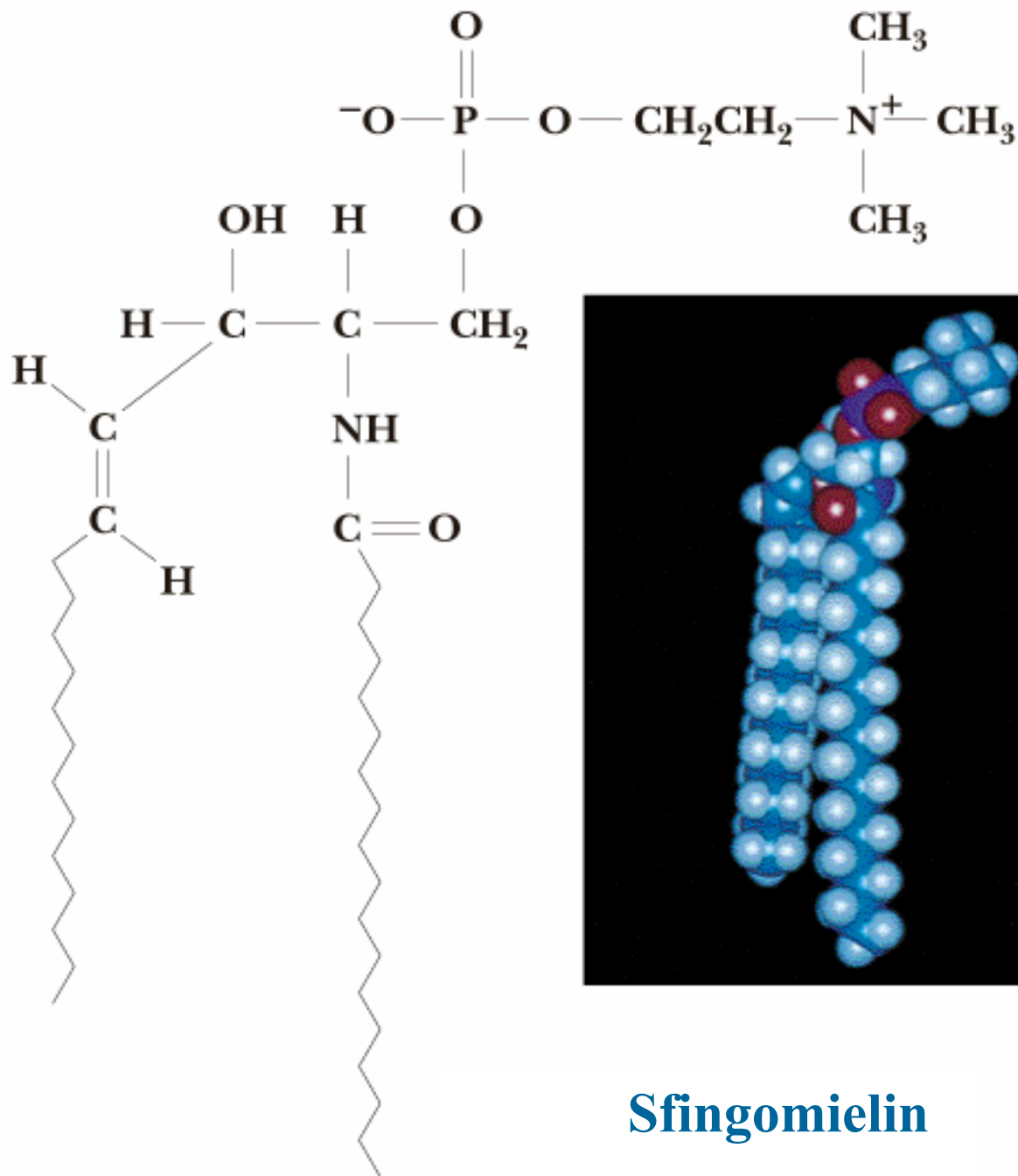
Osnova je sfingozin. So fosfolipidi.

- **Sfingozin** je 18-C amino alkohol (2-OH)
 - **Ceramidi**: sfingozin + amidno vezana maščobna kislina
 - **Fosfosfingolipid** : Cer + fosfoholin = SM
 - **Glikosfingolipidi**: ceramidi + β -glikozidno vezan en monosaharid (**cerebrozidi**) ali več monosaharidov (**gangliozi**) na 1-OH skupino sfingozina.
Vedno na ekstracelularni strani b.m.
- Gangliozi**: glikosfingolipidi vsebujejo vsaj en ostanek sialične kisline (npr. NANA).

Zgradbi sfingozina in ceramida



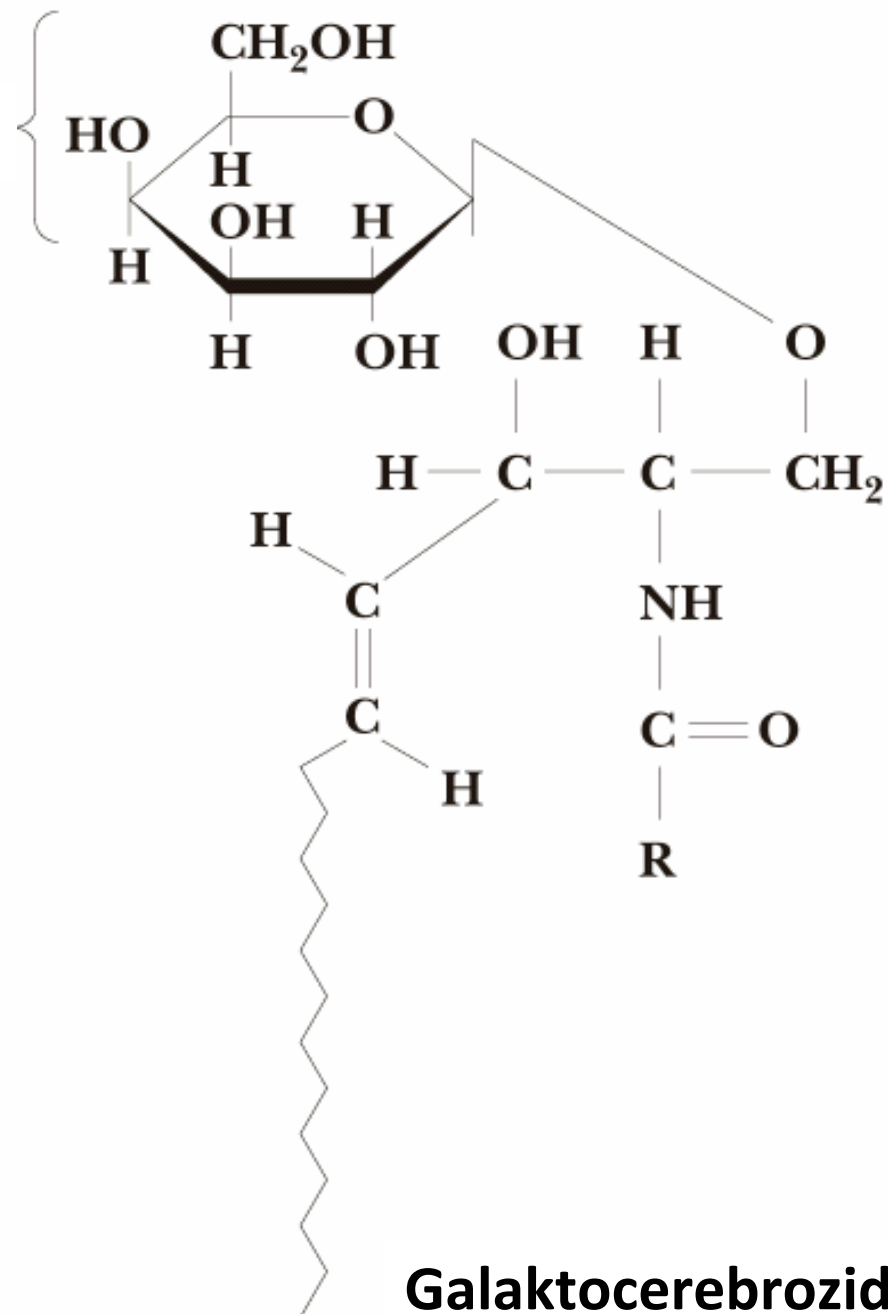
Zgradba sfingomielina (SM)



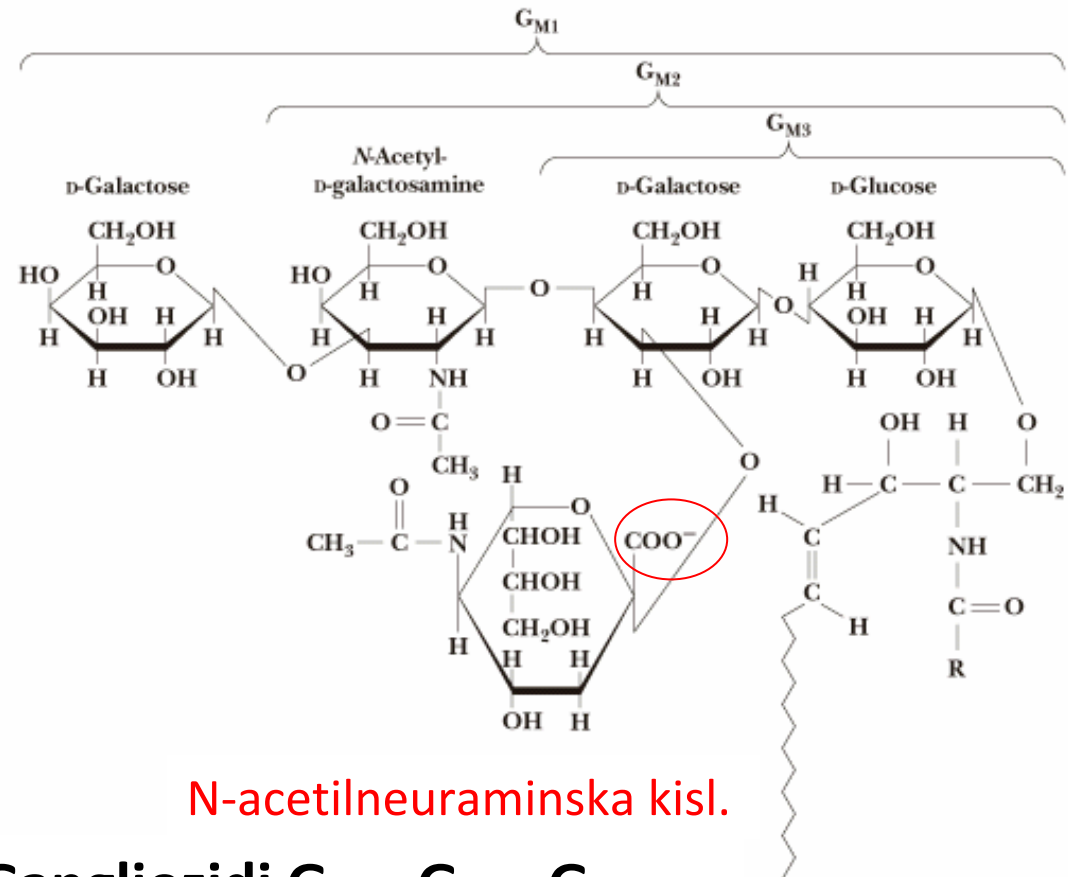
Sfingomielin

Zgradba cerebrozida

β -D-galaktoza

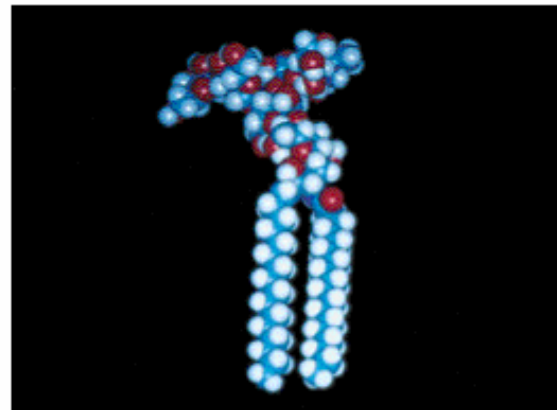


Ganglioziidi

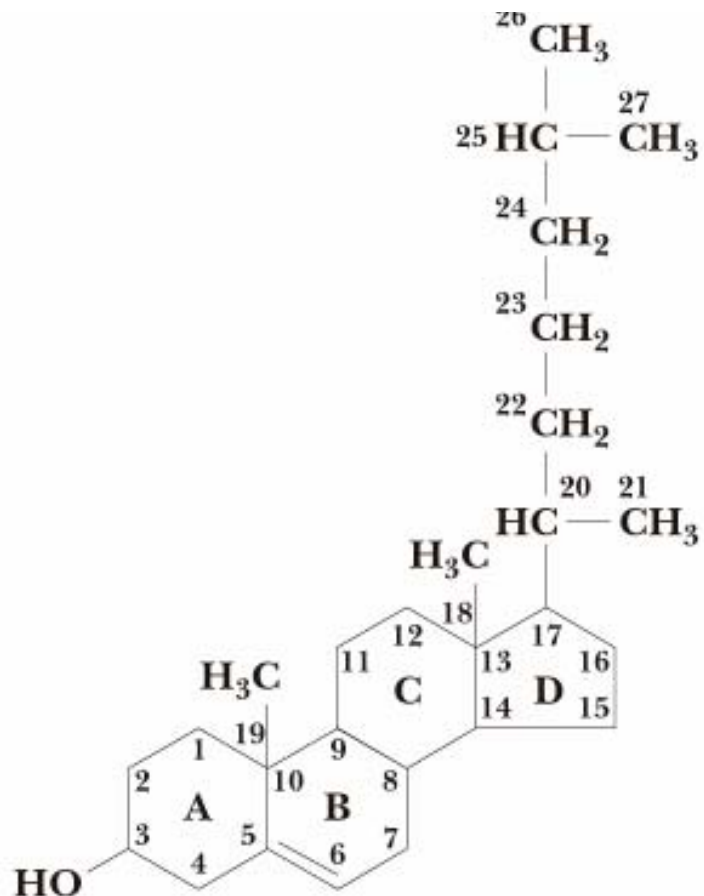


N-acetilneuraminska kisl.

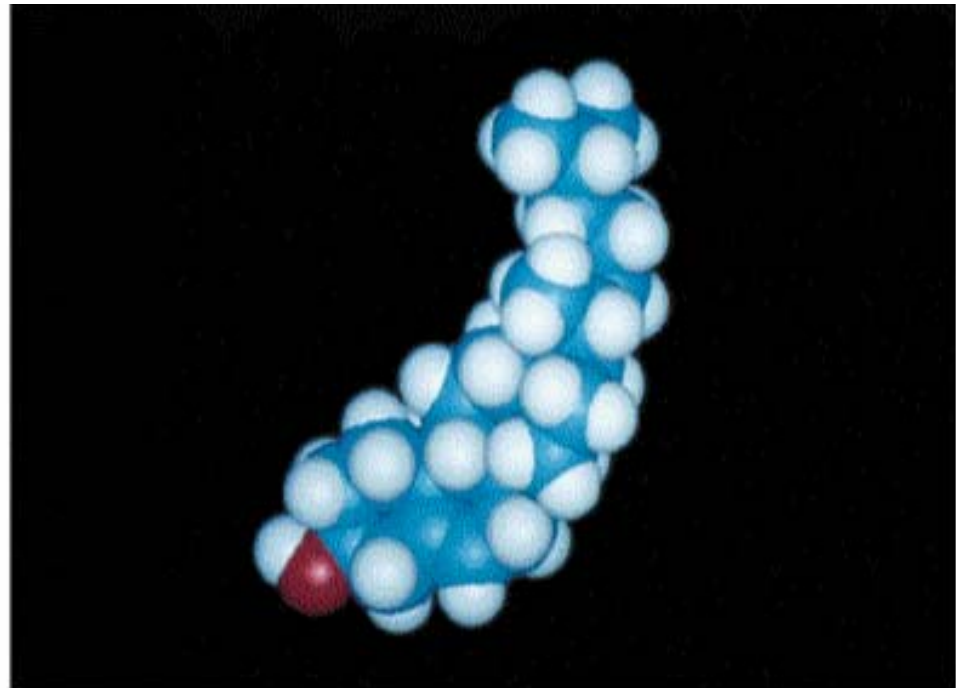
Ganglioziidi G_{M1} , G_{M2} , G_{M3} ...



Enostavni membranski lipid : holesterol



Holesterol (27-C)
(steroid, triterpensi derivat)



Holesterola ni v prokariontskih m.!

Lipidna sestava b.m. (utež.%)

LIPID	ERITROCIT (Človek)	MIELIN (Človek)	MITOH. (Gov. srce)	<i>E. coli</i>
Fosfatidna k.	1.5	0.5	0	0
Fosfatidilholin	19	10	39	0
Fosfatidiletanolamin	18	20	27	65
Fosfatidilglicerol	0	0	0	18
Fosfatidilinozitol	1	1	7	0
Fosfatidilserin	8.5	8.5	0.5	0
Kardiolipin	0	0	22.5	12
Sfingomielin	17.5	8.5	0	0
Glikolipidi	10	26	0	0
Holesterol	25	26	3	0

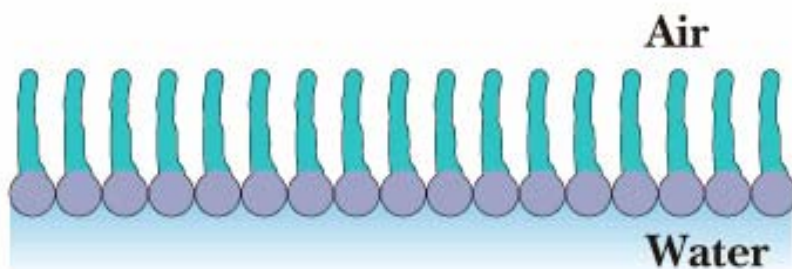
Lipidne strukture se spontano tvorijo

Hidrofobne interakcije, van der Waalsove sile!

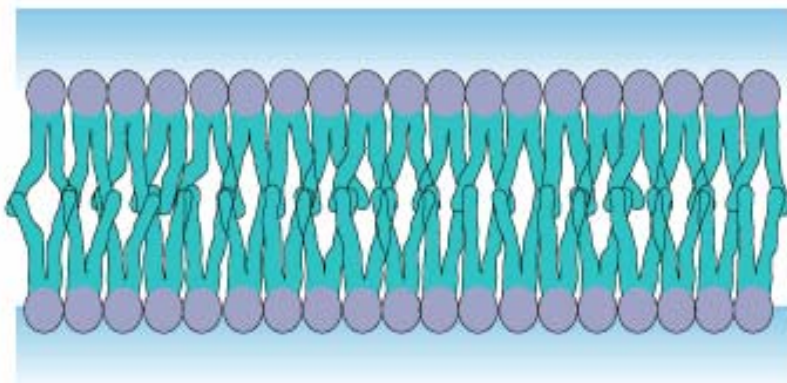
- Malo lipidov monomernih v vodi
- Lipidni monosloji - nepolarni lipidni repi v zraku!
- Lipidni dvosloji:
 - unilamelarni vezikli (liposomi)
 - multilamelarni vezikli
- Miceli - lipidni repki zaprti v kroglaste ali cilindrične strukture v polarnih topilih
- Obrnjeni (reverzni) miceli v nepolarnih topilih

Lipidne tvorbe v vodi

Sloji

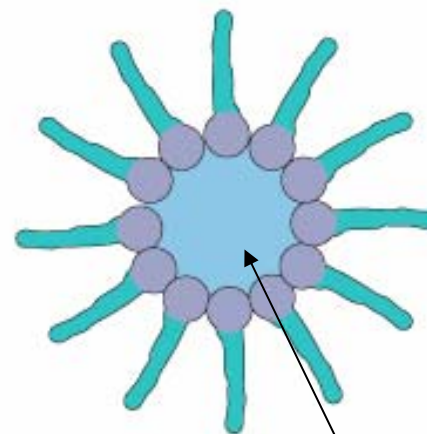


Monomolekulski sloj

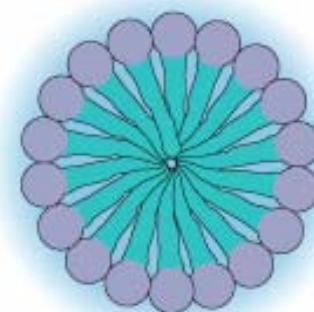


Bimolekulski sloj
= lipidni dvosloj

Miceli



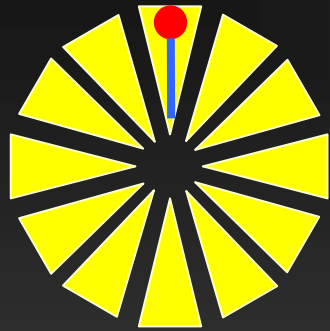
Obrnjen



Običajen

Voda

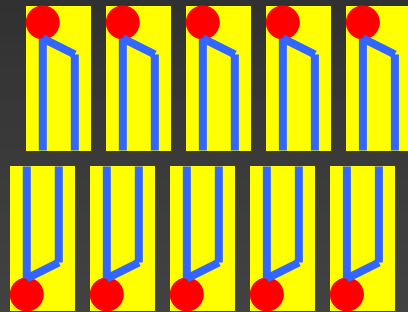
Kritični Parameter Pakiranja - KPP



Lizofosfatidi,
detergenti



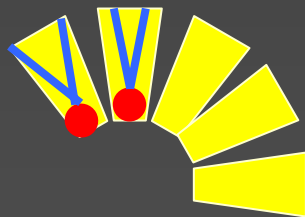
$$\frac{1}{3} - \frac{1}{2}$$



PC, SM, PS, PI, itd.



$$\frac{1}{2} - 1$$



Heksagonalna
faza (H_{II})



$$> 1$$

PE, kardiolipin- Ca^{2+} , PA- Ca^{2+}

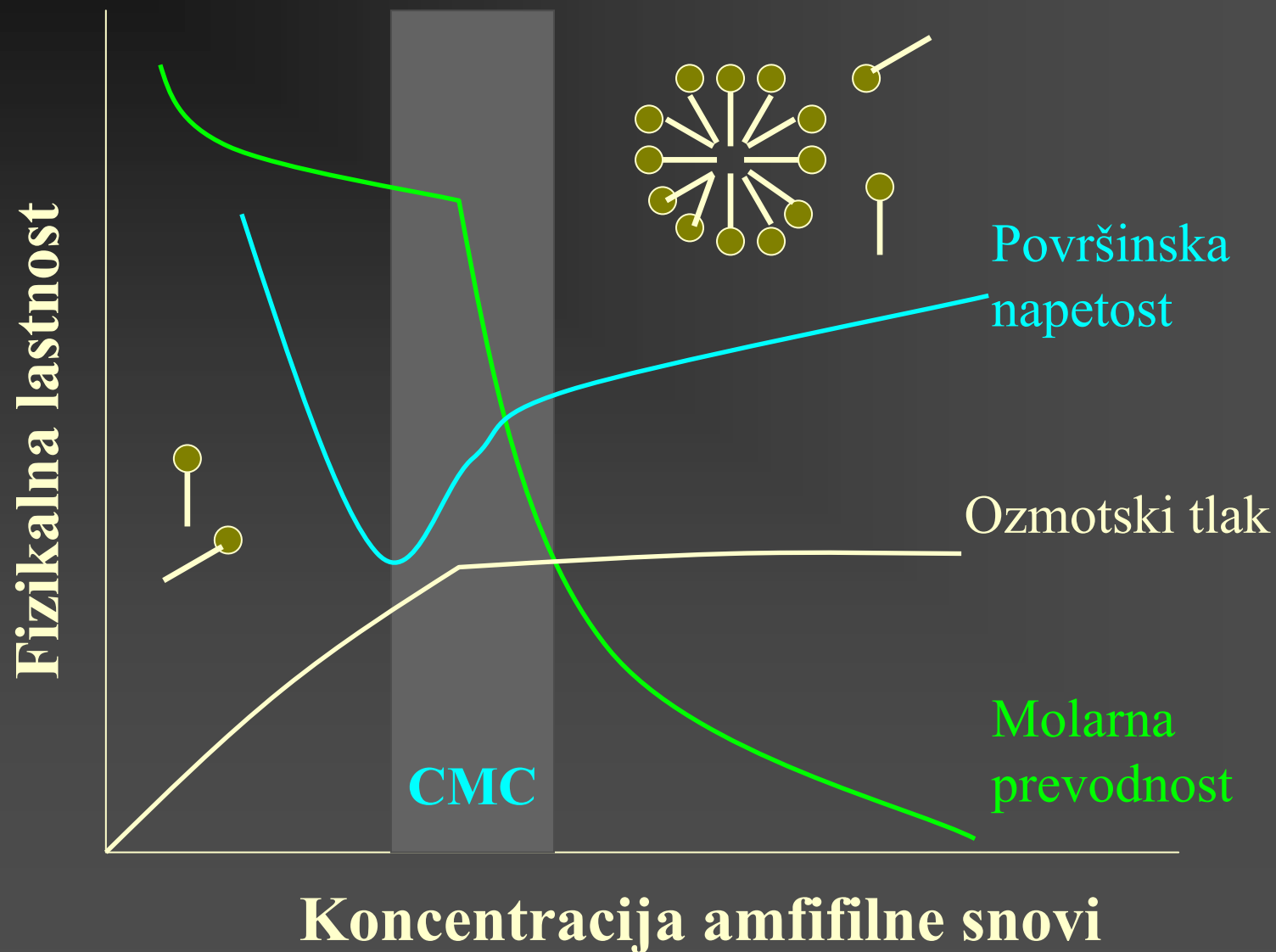
$$\text{KPP} = V / l \times S$$

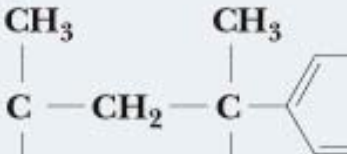
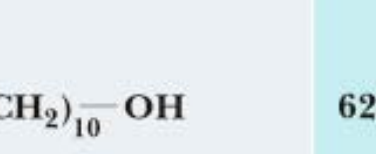
l = dolžina verige

V = volumen monomera

S = površina polarne glave
monomera

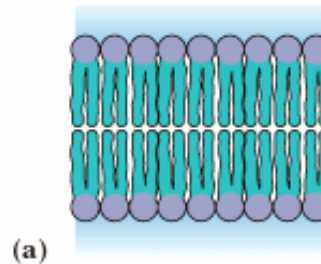
Kritična micelna koncentracija (CMC)



Structure	M_r	CMC	Micelle M_r
Triton X-100 	625	0.24 mM	90–95,000
Octyl glucoside 	292	25 mM	
$C_{12}E_8$ (Dodecyl octaoxyethylene ether) $C_{12}H_{25}-(OCH_2CH_2)_8-OH$	538	0.071 mM	

Dvosloji

Planarni dvosloj



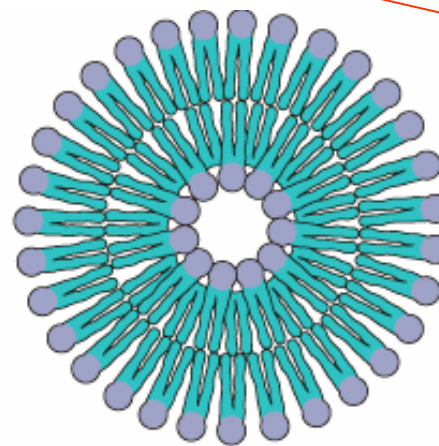
Unilamelarni vezikli

SUV

LUV

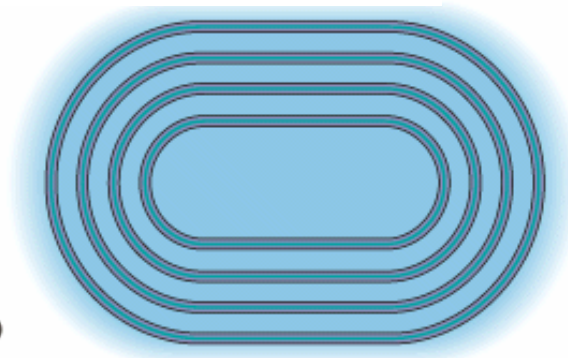
SUV

(b)

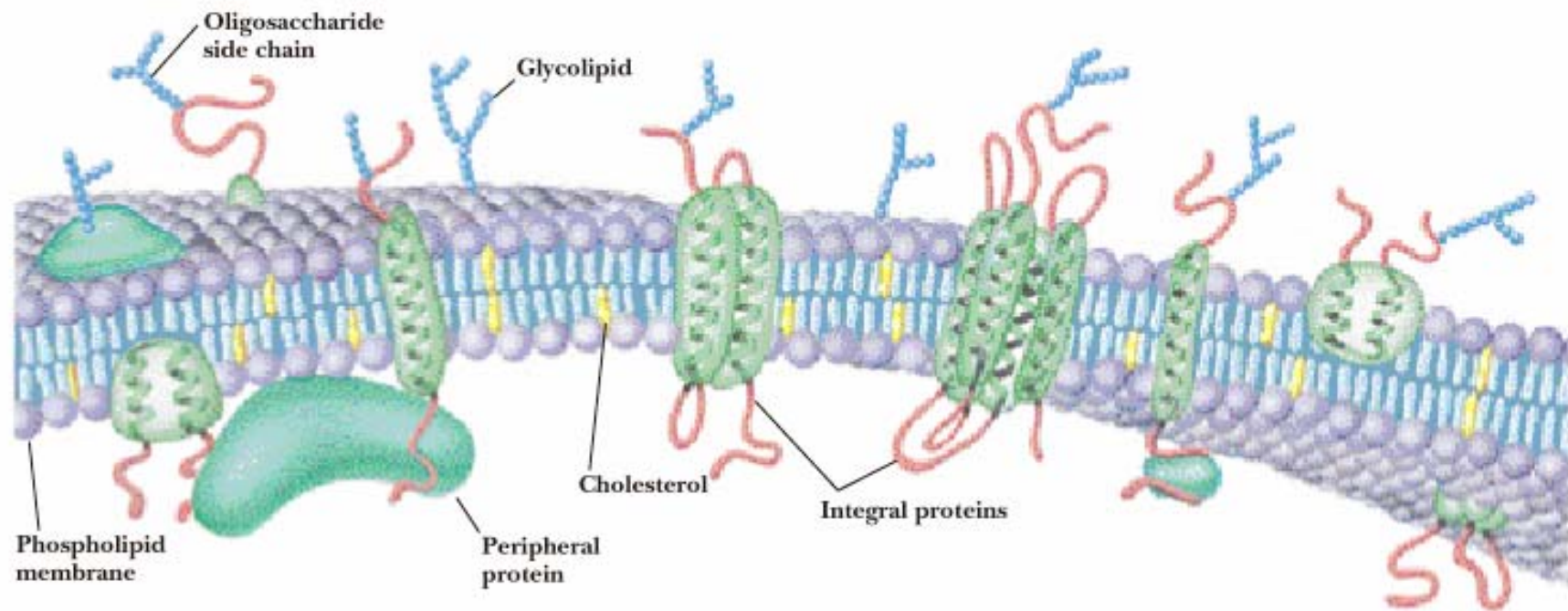


Multilamelarni vezikel

(c)



Modela biološke membrane



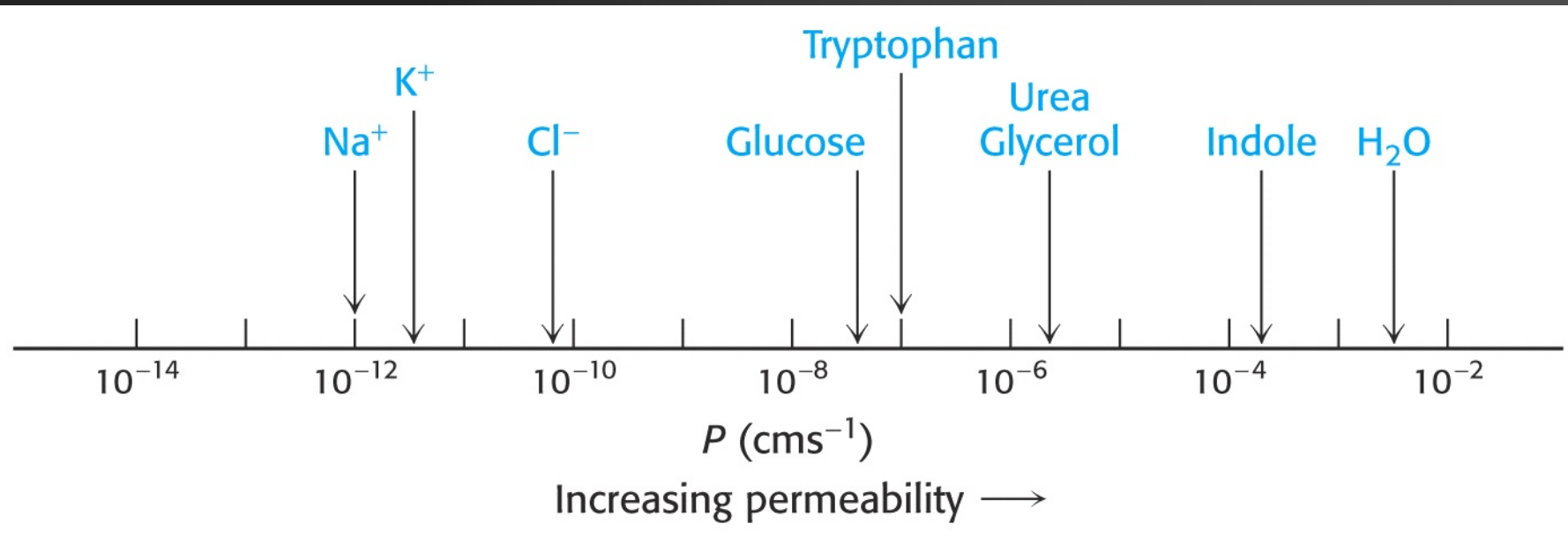
Fluidni mozaični model b.m.

Singer in Nicolson, 1972

- Fosfolipidni dvosloj - *fluidni matriks*
- Lipidni dvosloj je dvo-dimenzionalno topilo
- Lipidi in proteini - gibljivost
 - lateralna difuzija
 - rotacijska difuzija
 - difuzija "flip-flop"
- Dva razreda proteinov:
 - periferni (zunANJI) membranski proteini
 - integralni (notranji) membranski proteini

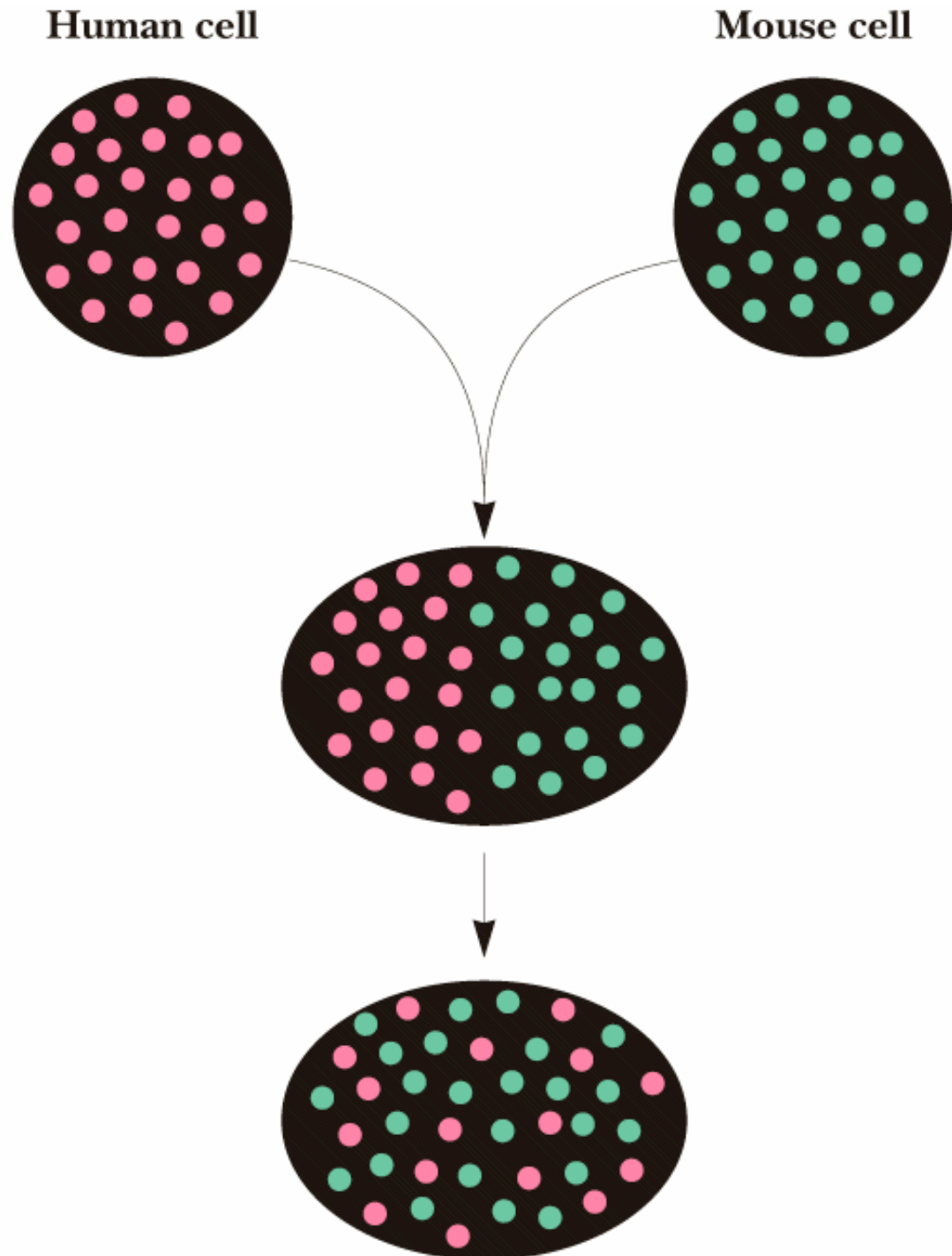
Gibanja v lipidnem dvosloju

- Lipidne verige: upogibanje, nagib glede na normalo in rotacija
- Lipidi in proteini - lateralna difuzija v dvosloju
- Metode za meritve lipidne difuzije:
 - NMR,
 - EPR,
 - FRET, FRAP



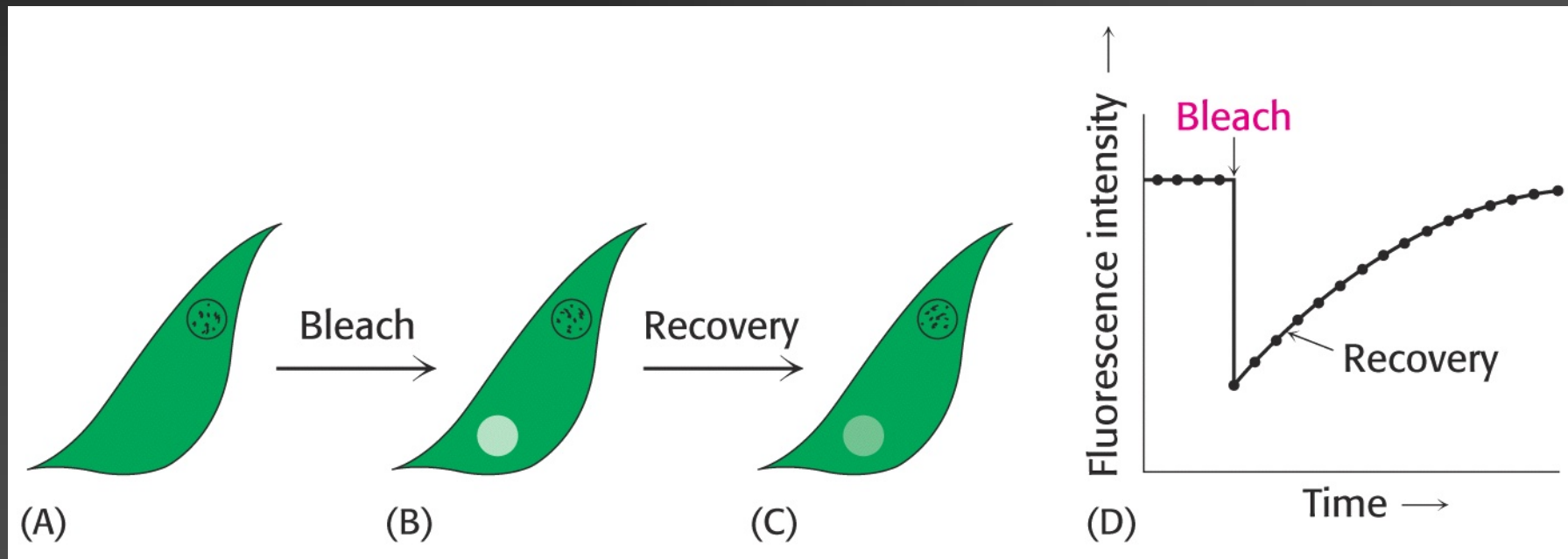
Difuzija lipidov

FRET:
Fluorescence
Resonance
Energy
Transfer

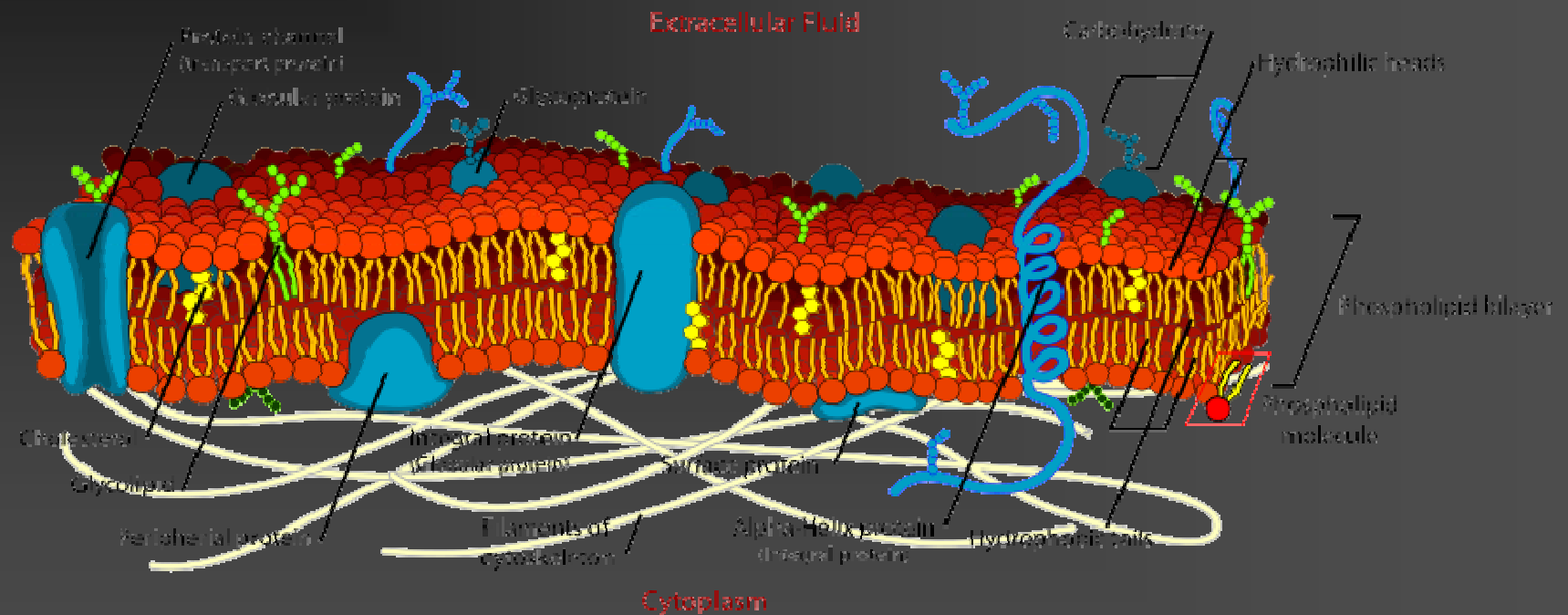


Difuzija lipidov

FRAP: Fluorescence Recovery After Photobleaching



Biološke membrane so asimetrične

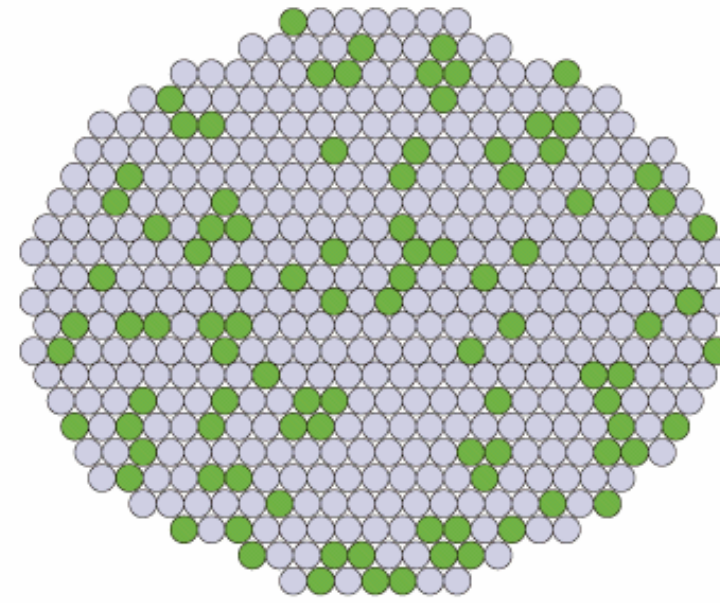


Lateralna asimetričnost membran

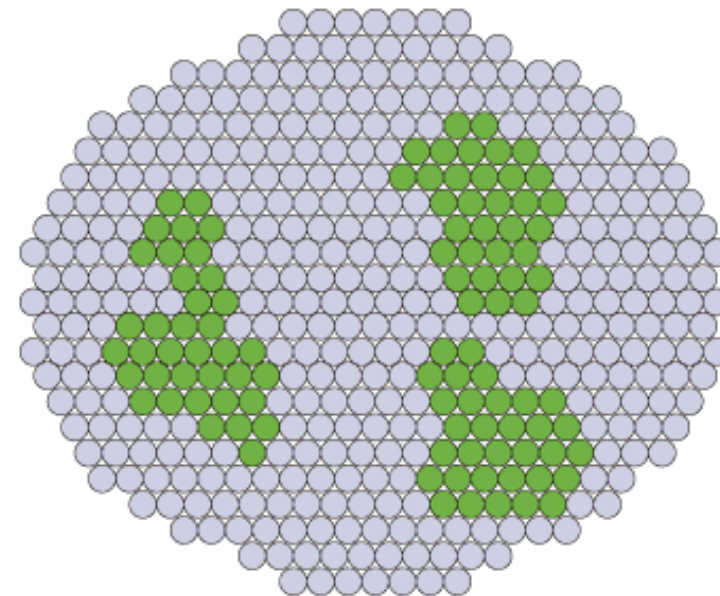
- Lateralna asimetrija proteinov:
 - Proteini se lahko oligomerizirajo v ravnini membrane - večinoma ni enakomerne porazdelitve!
- Lateralna asimetrija lipidov:
 - Lipidi se grupirajo v ravnini membrane - fazna separacija - “**lipidni rafti**”

Fazna separacija lipidov

Raftni
model b.m.



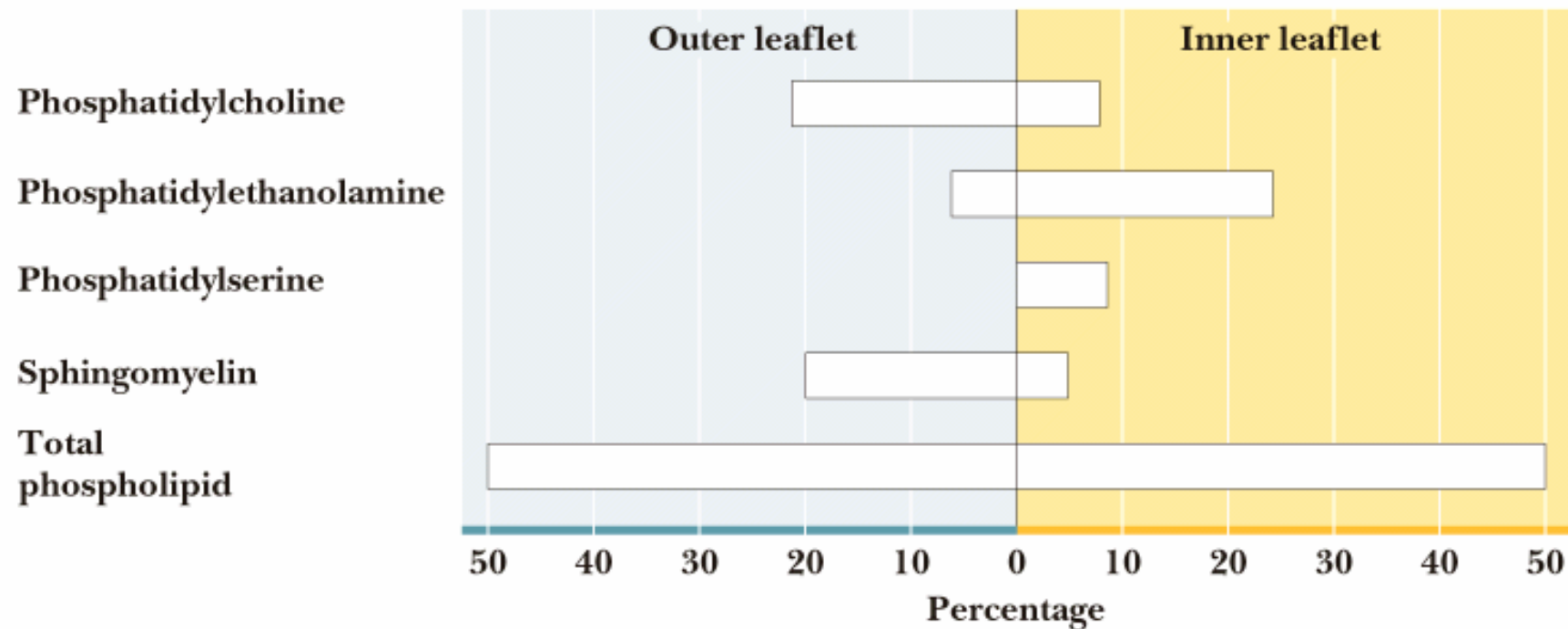
+ Ca^{2+}



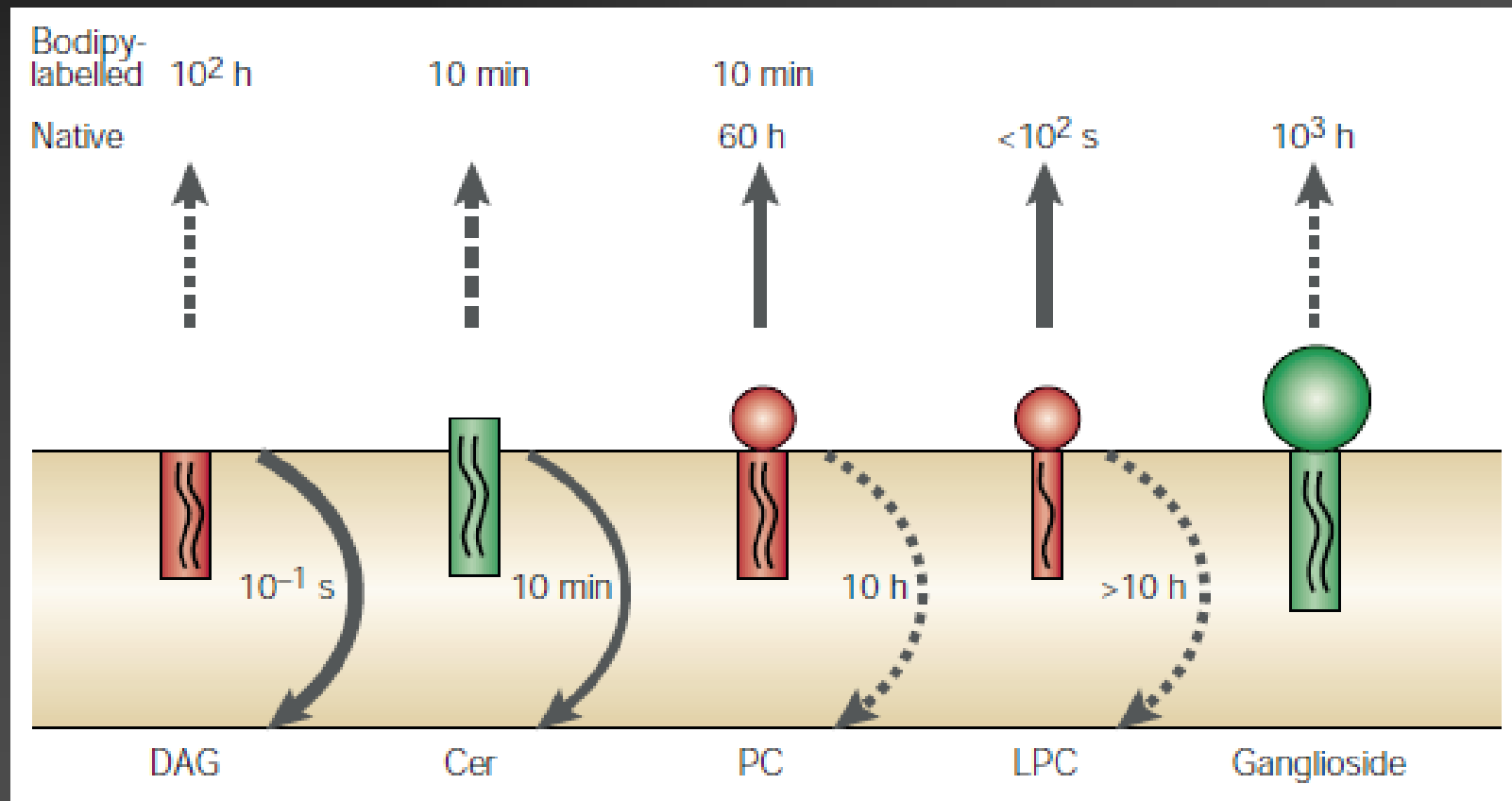
Transverzalna asimetričnost membran

- Transverzalna asimetrija proteinov
 - Primer: N-terminus **glikoforina** je ekstracelularen, C-terminus intracelularen
- Transverzalna asimetrija lipidov
 - Sestava zunanjega monosloja je drugačna od notranjega

Eritrocitna membrana: razlike v lipidni sestavi obeh slojev



Časa potrebna za spontan prehod lipida čez membranski dvosloj in za difuzijo v vodno fazo

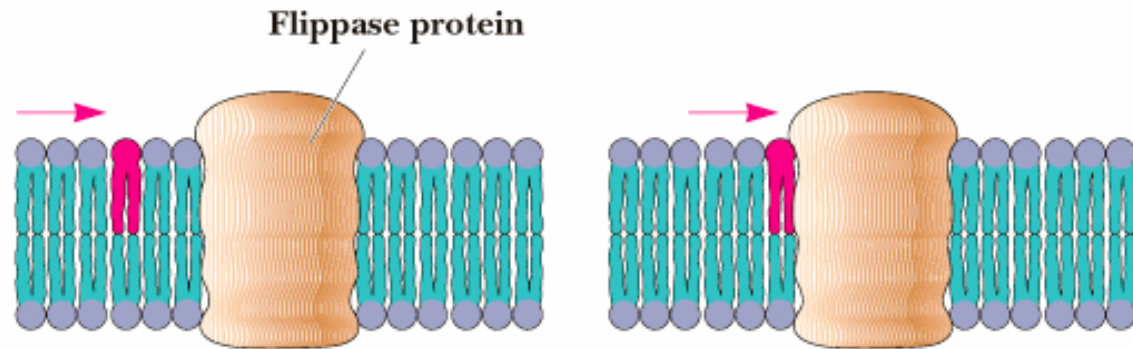


Flipaze

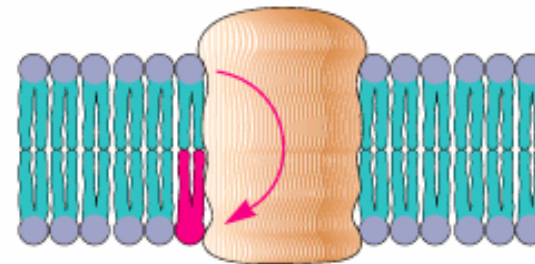
Kataliza difuzije “flip-flop” !

- Flipaze, proteini, katalizirajo “flip-flop” gibanje lipidov
- Flipaze
 - pasivni transport
 - aktivni transport (poraba energije, hidroliza ATP)
- Aktivne flipaze generirajo asimetrijo lipidov v membranah

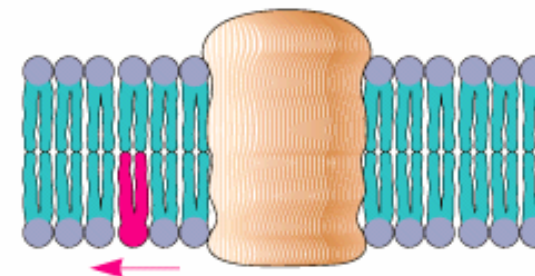
Flipaze



- 1 Lipid molecule diffuses to flippase protein



- 2 Flippase flips lipid to opposite side of bilayer



- 3 Lipid diffuses away from flippase

Fazni prehodi v membranah

*"Taljenje" membranskih lipidov -
temperatura prehoda oz. "melting T" (T_m)*

- Pod T_m - membranski lipidi togi, tesno zloženi
- Nad T_m - lipidi bolj fleksibilni, lateralna difuzija
- T_m - je posledica lastnosti lipidov v membrani
- Samo čisti lipidni sistemi - ostri, določeni fazni prehodi v ozkem temperaturnem intervalu

Fazni prehod

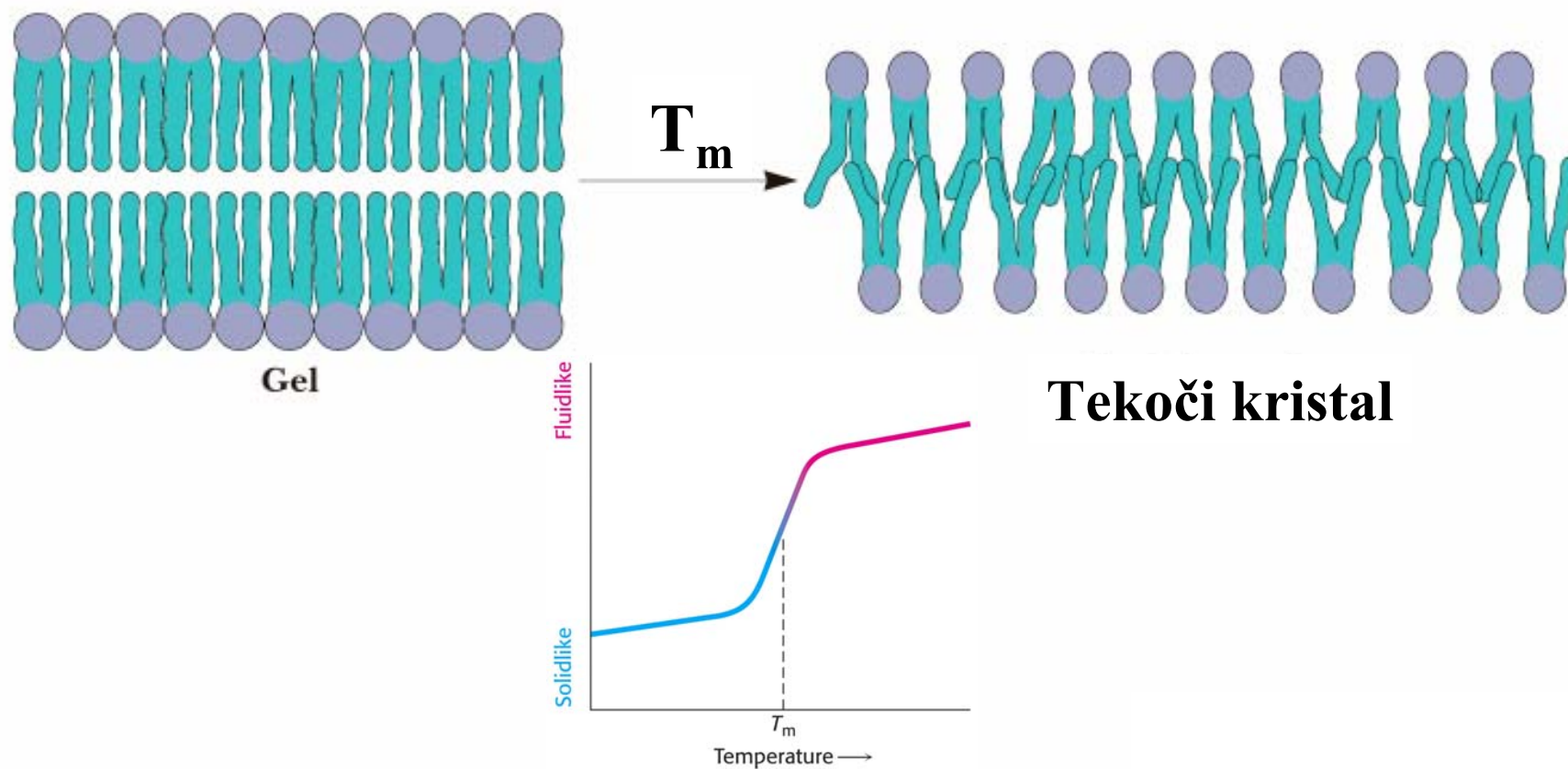
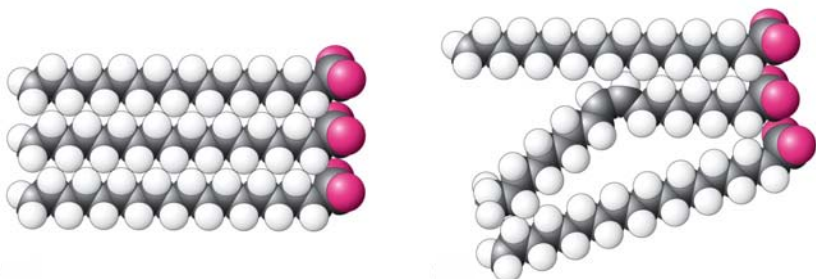


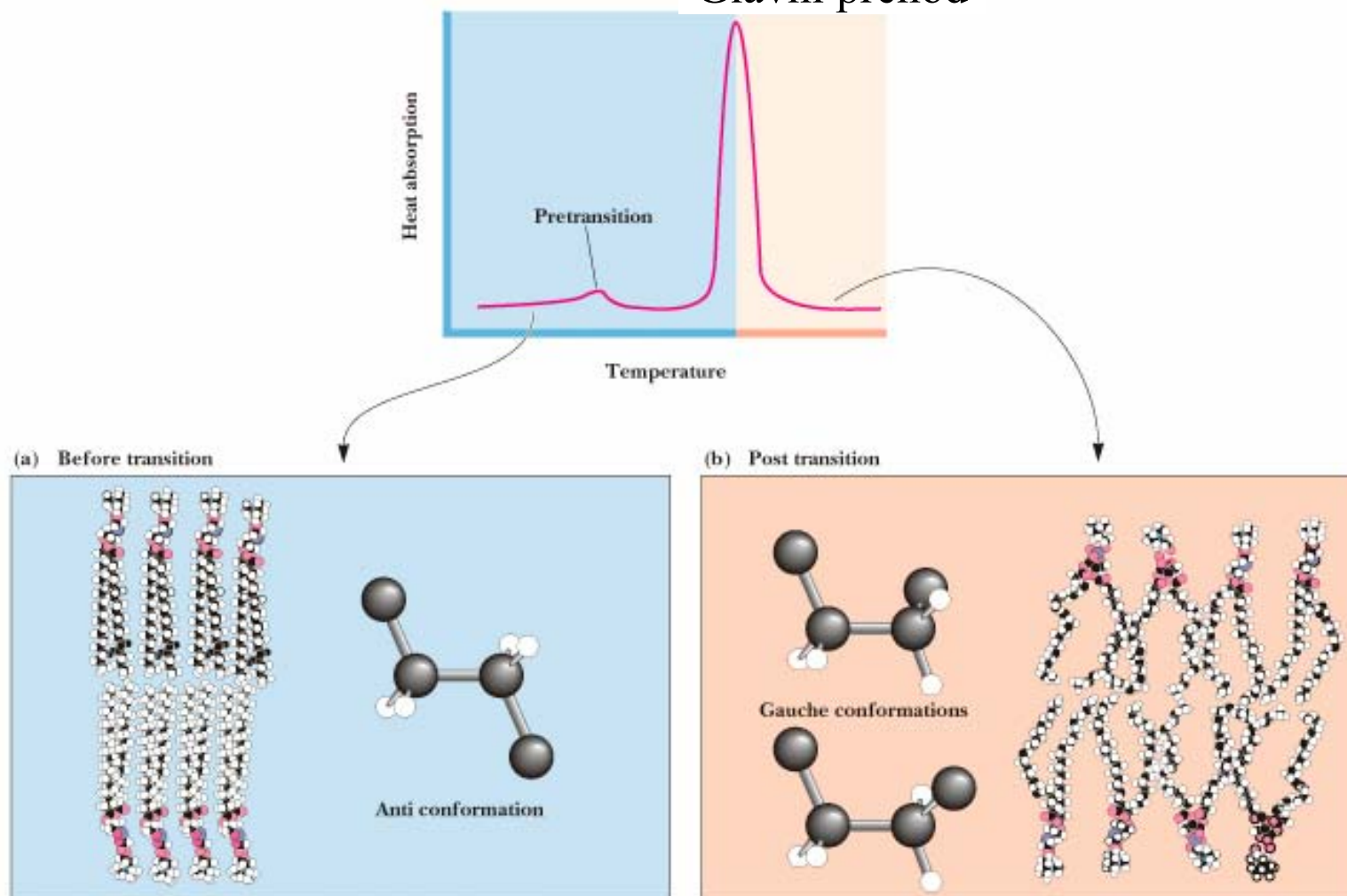
TABLE 12.3 The melting temperature of phosphatidyl choline containing different pairs of identical fatty acid chains

Number of carbons	Number of double bonds	Fatty acid		T_m (°C)
		Common name	Systematic name	
22	0	Behenate	<i>n</i> -Docosanoate	75
18	0	Stearate	<i>n</i> -Octadecanoate	58
16	0	Palmitate	<i>n</i> -Hexadecanoate	41
14	0	Myristate	<i>n</i> -Tetradecanoate	24
18	1	Oleate	<i>cis</i> - Δ^9 -Octadecenoate	− 22



Fazni prehod (kalorimetrija)

Glavni prehod



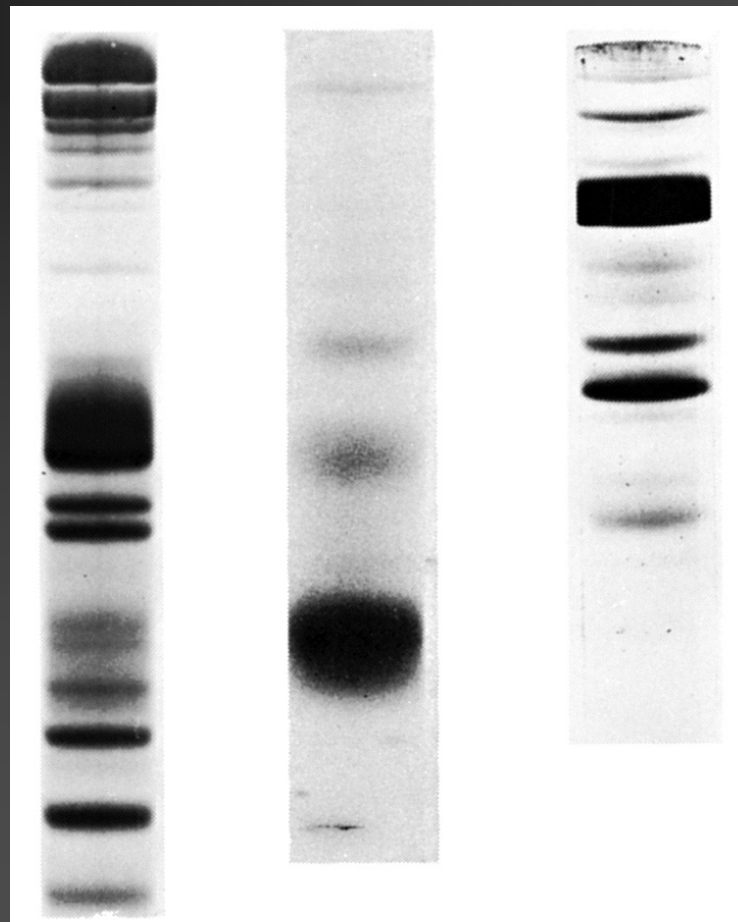
Membranski proteini

3 razredi membranskih proteinov

- 1. periferni membranski proteini
- 2. integralni membranski proteini
- 3. proteini, zasidrani v membrani z lipidnimi “repki”

Vsebnost proteina v b.m. je lahko zelo različna

- mielin (oligodendrociti) 18%
 - notranja m. MT 75%
- povprečno v PM 50%



eritrocit

fotoreceptor

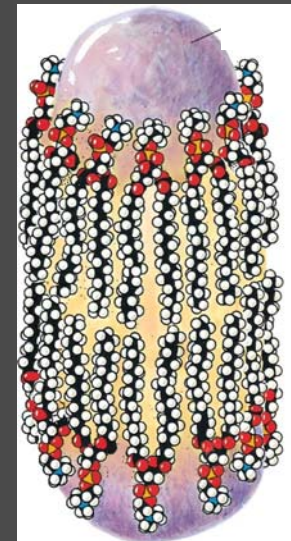
sarkopl. ret.

Periferni proteini

- Periferni proteini šibko vezani na površino membran
- Se odtopijo (oddisociirajo od membrane) z detergenti ali povečano ionsko jakostjo (npr. 1M KCl, 1M NaCl)

Integralni membranski proteini

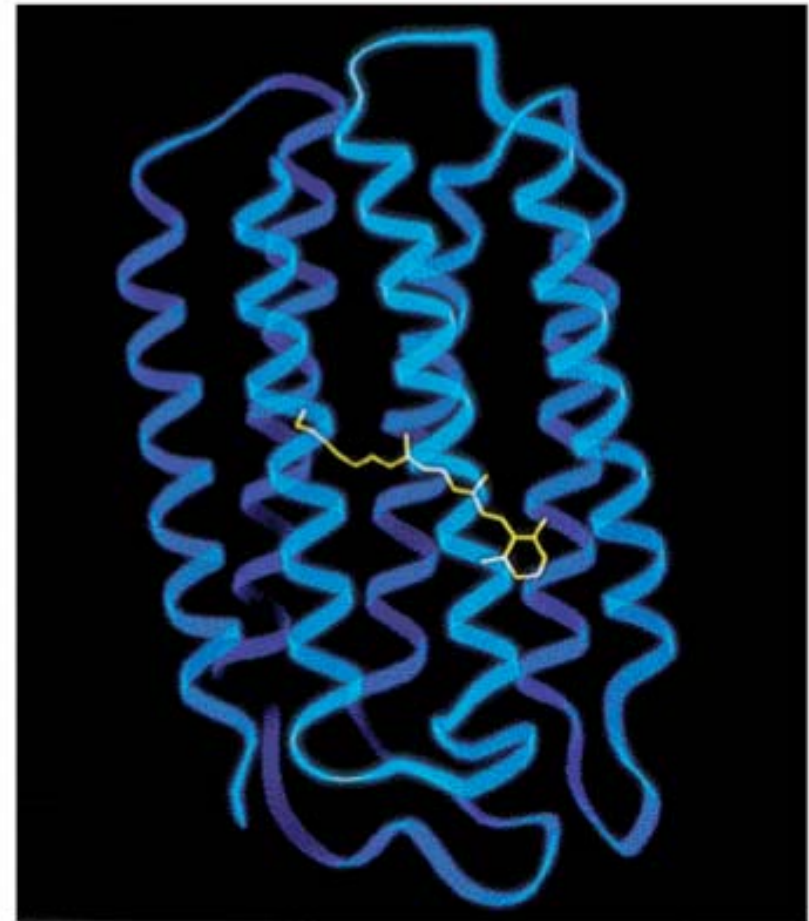
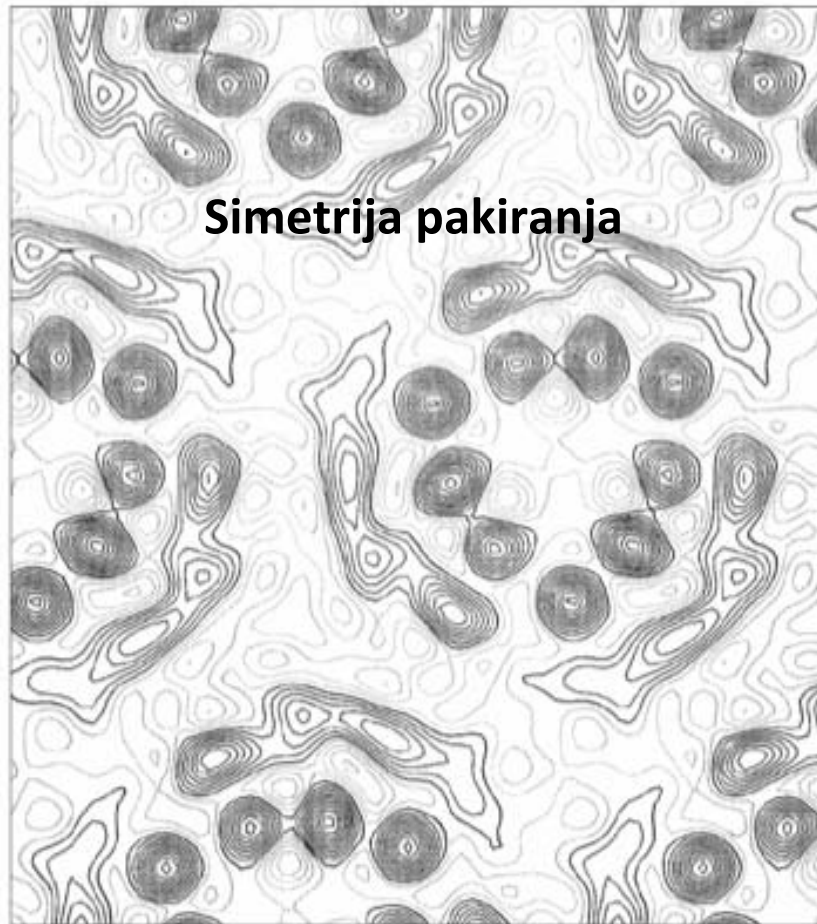
- Močno zasidrani v lipidni dvosloj
- Ekstrakcija le z “raztapljanjem” lipidnega dvosloja:
 - organska topila,
 - detergenti
- Pogosto transmembranski, ni pa nujno
- Primeri: bakteriorodopsin, glikoforin, porini



Bakteriorodopsin

- Ima 7 transmembranskih α -helikalnih segmentov s kratkimi vmesnimi zankami
- Vir: *Halobacterium halobium* (škrlatna bakterija - arhea)
- Funkcija: sodeluje pri pretvorbi svetlobne v kemijsko energijo (ATP) - je svetlobno-gnana protonska črpalka! Nastali pH gradient poganja sintezo ATP.

Bakteriorodopsin



α -vijačnica (α -helix) iz pretežno nepolarnih ak ostankov.
Je najbolj pogost strukturni element za prehajanje membrane pri m. proteinih.

Glikoforin

- Transmembranski protein v PM eritrocitov.
- En transmembranski segment + globularni domeni na N- in C-koncu
- Transmembranski segment je α -helikalen - 19 hidrofbnih aminokislin
- Ekstracelularni del: močno glikoziliran (60%): sladkorji tvorijo hidrofilen plašč eritrocitov in določajo krvno skupino

Glikoforin (eritrocit)

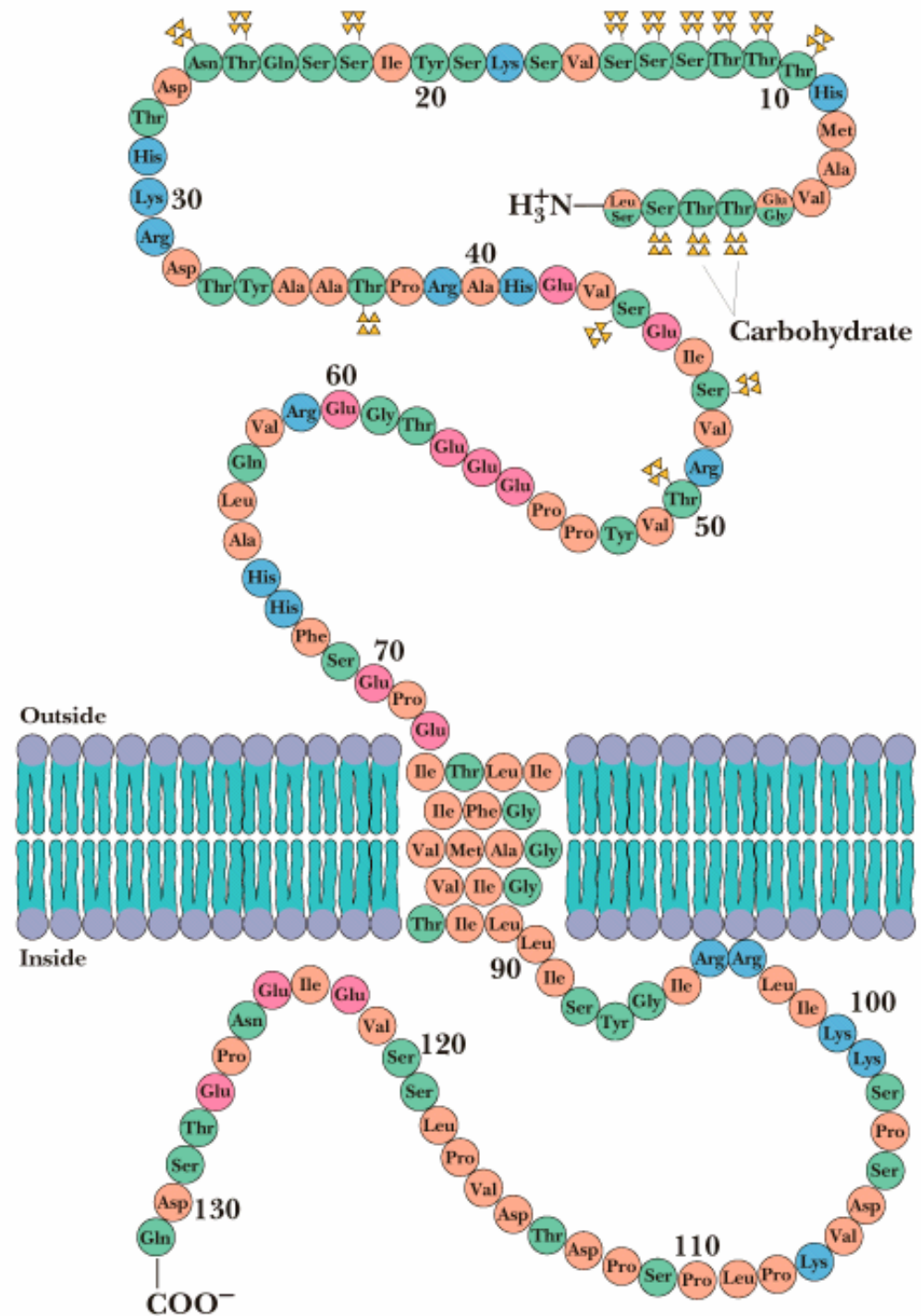


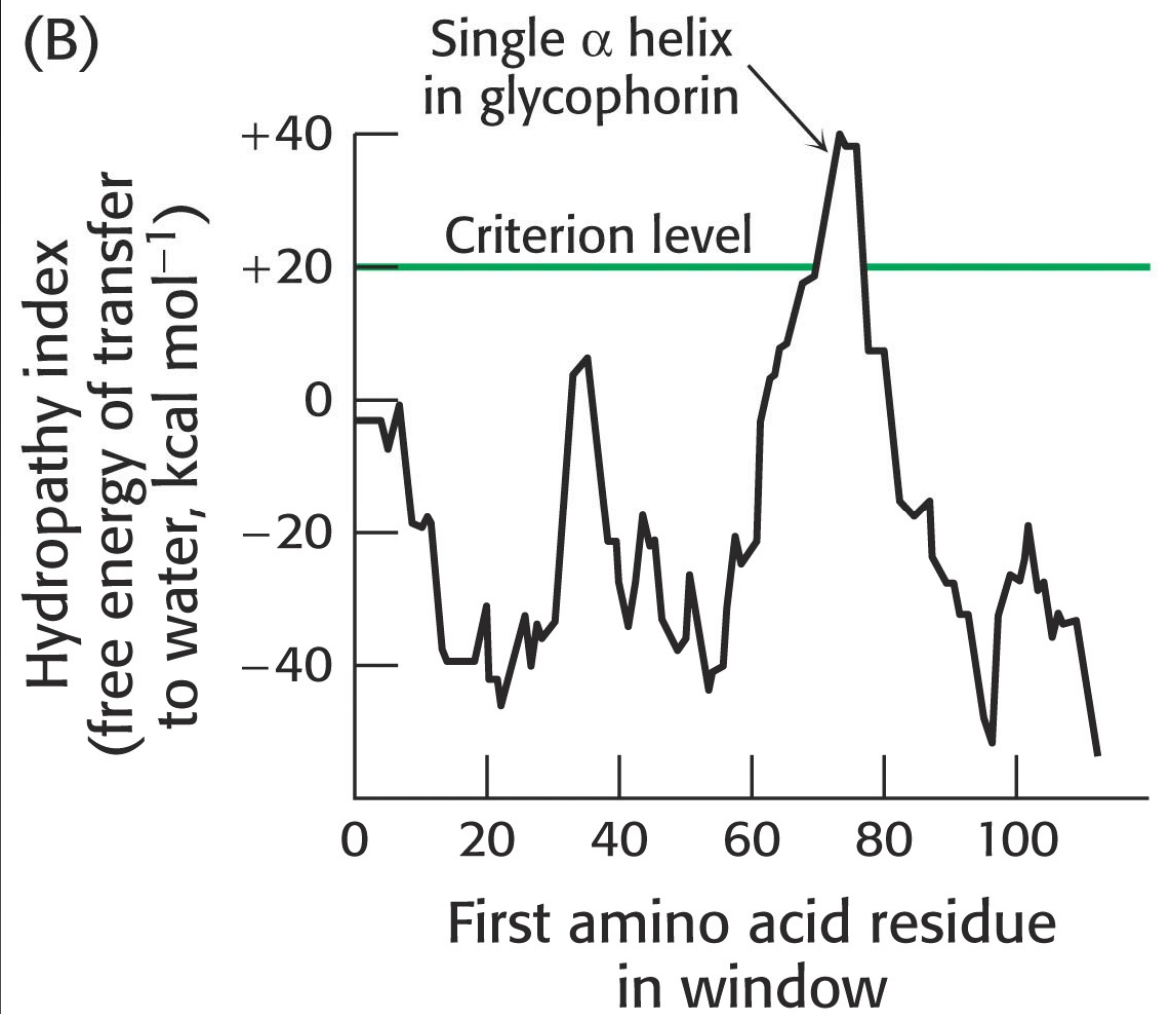
TABLE 12.2 Polarity scale for identifying transmembrane helices

Amino acid residue	Transfer free energy kcal mol ⁻¹ (kJ mol ⁻¹)
Phe	3.7 (15.5)
Met	3.4 (14.3)
Ile	3.1 (13.0)
Leu	2.8 (11.8)
Val	2.6 (10.9)
Cys	2.0 (8.4)
Trp	1.9 (8.0)
Ala	1.6 (6.7)
Thr	1.2 (5.0)
Gly	1.0 (4.2)
Ser	0.6 (2.5)
Pro	-0.2 (-0.8)
Tyr	-0.7 (-2.9)
His	-3.0 (-12.6)
Gln	-4.1 (-17.2)
Asn	-4.8 (-20.2)
Glu	-8.2 (-34.4)
Lys	-8.8 (-37.0)
Asp	-9.2 (-38.6)
Arg	-12.3 (-51.7)

Source: After D. M. Engelman, T. A. Steitz, and A. Goldman. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* 15(1986):330.

Note: The free energies are for the transfer of an amino acid residue in an α helix from the membrane interior (assumed to have a dielectric constant of 2) to water.

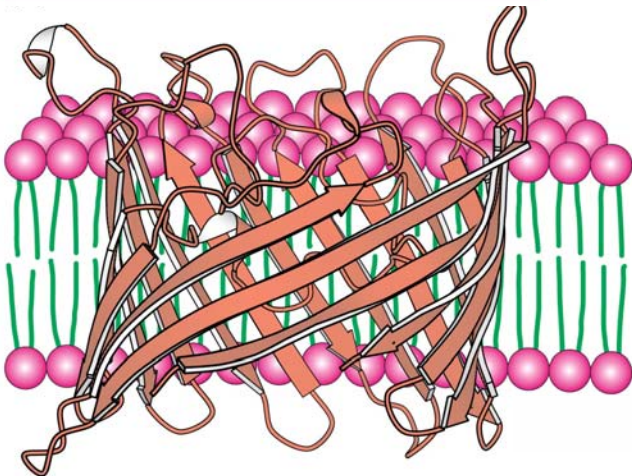
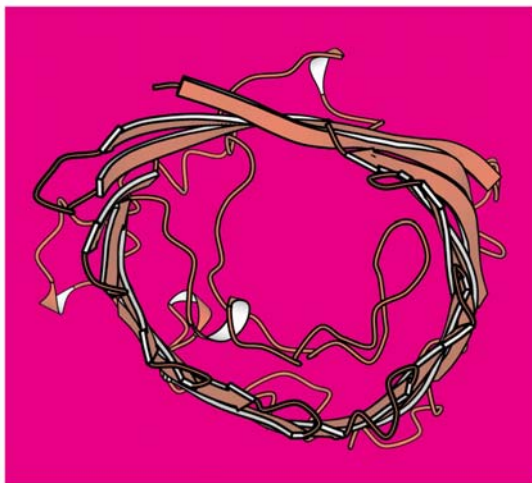
(B)



Porini

- Transmembranski protein v zunanji m. Gram-negativnih in nekaterih Gram-poz. bakterij, MT in kloroplastih.
- Transmembranski proteini s strukturo β -sodčka.
- Tvorijo kanalčke, ki omogočajo pasivno difuzijo različnih vrst molekul.

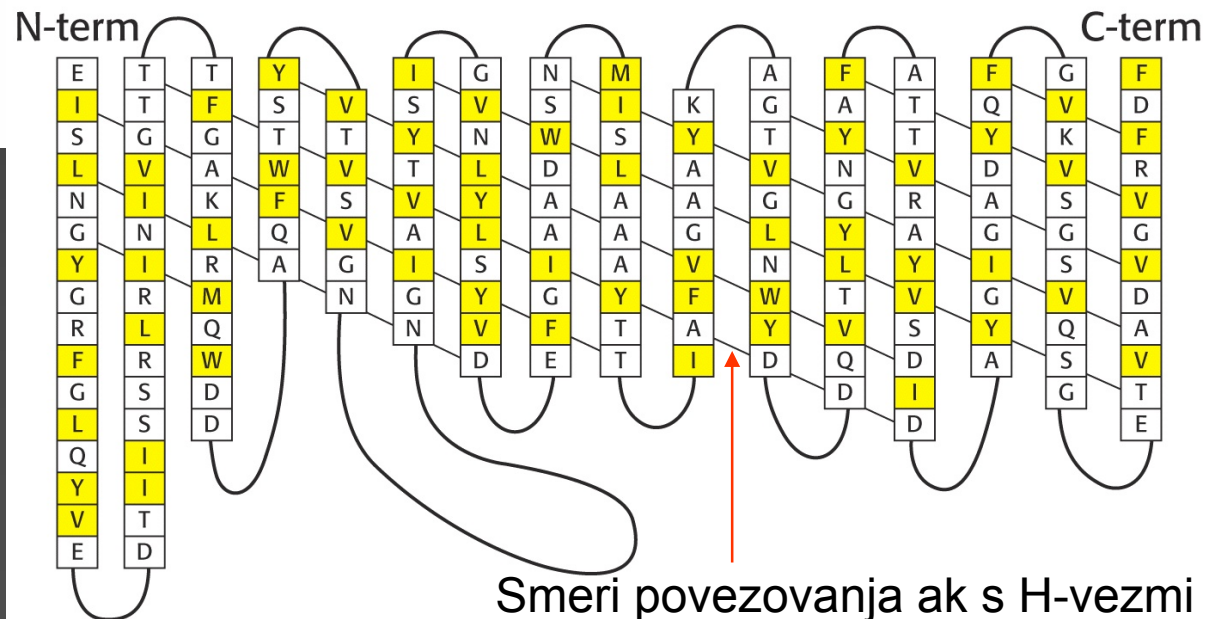
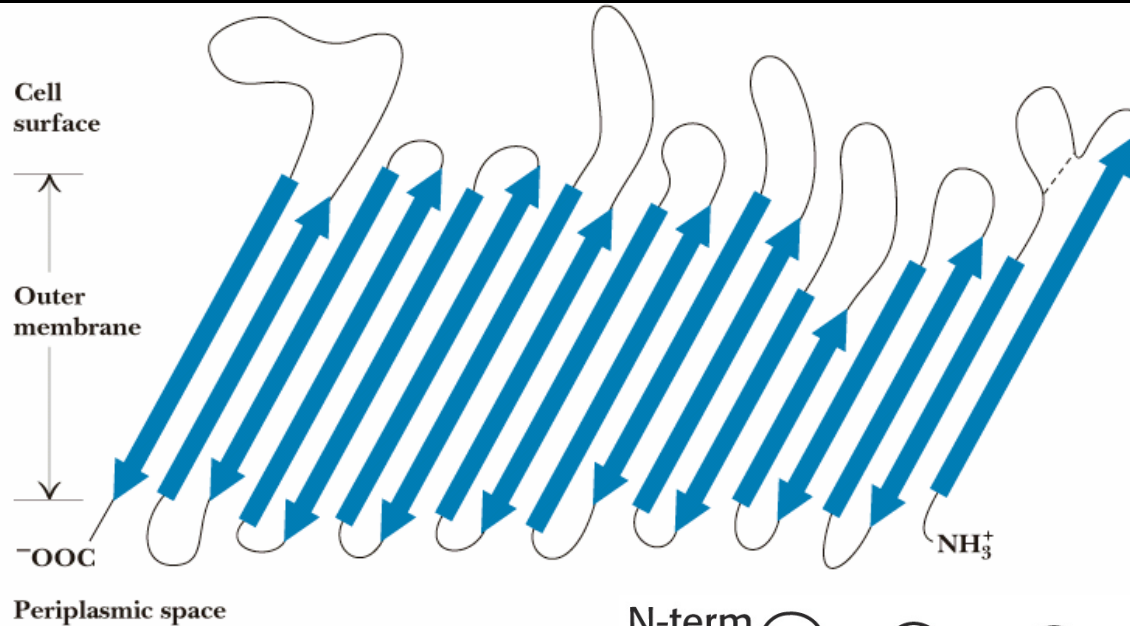
Bakterijski porin



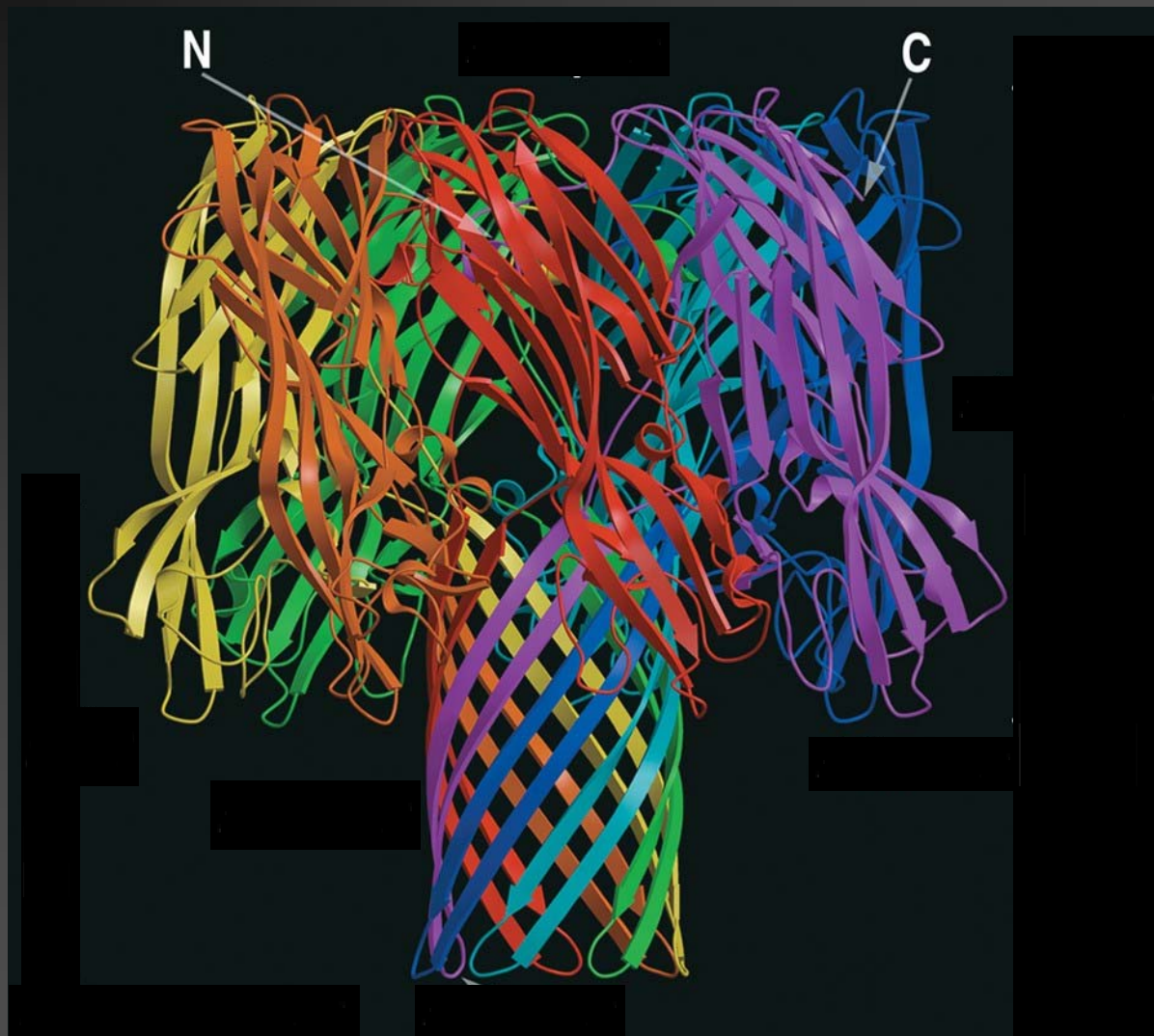
β -sodček (β -barrel)



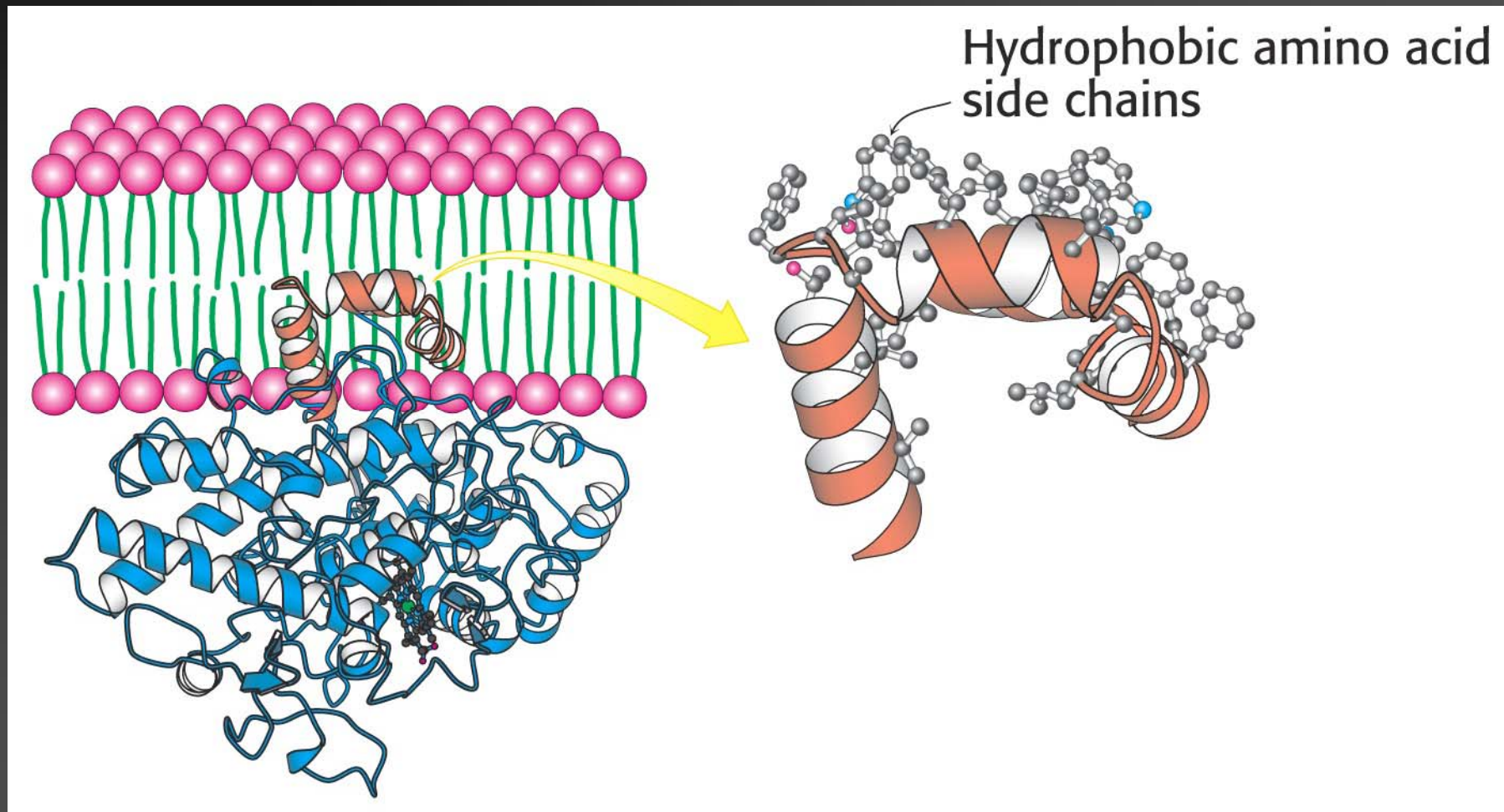
Bakterijski porin



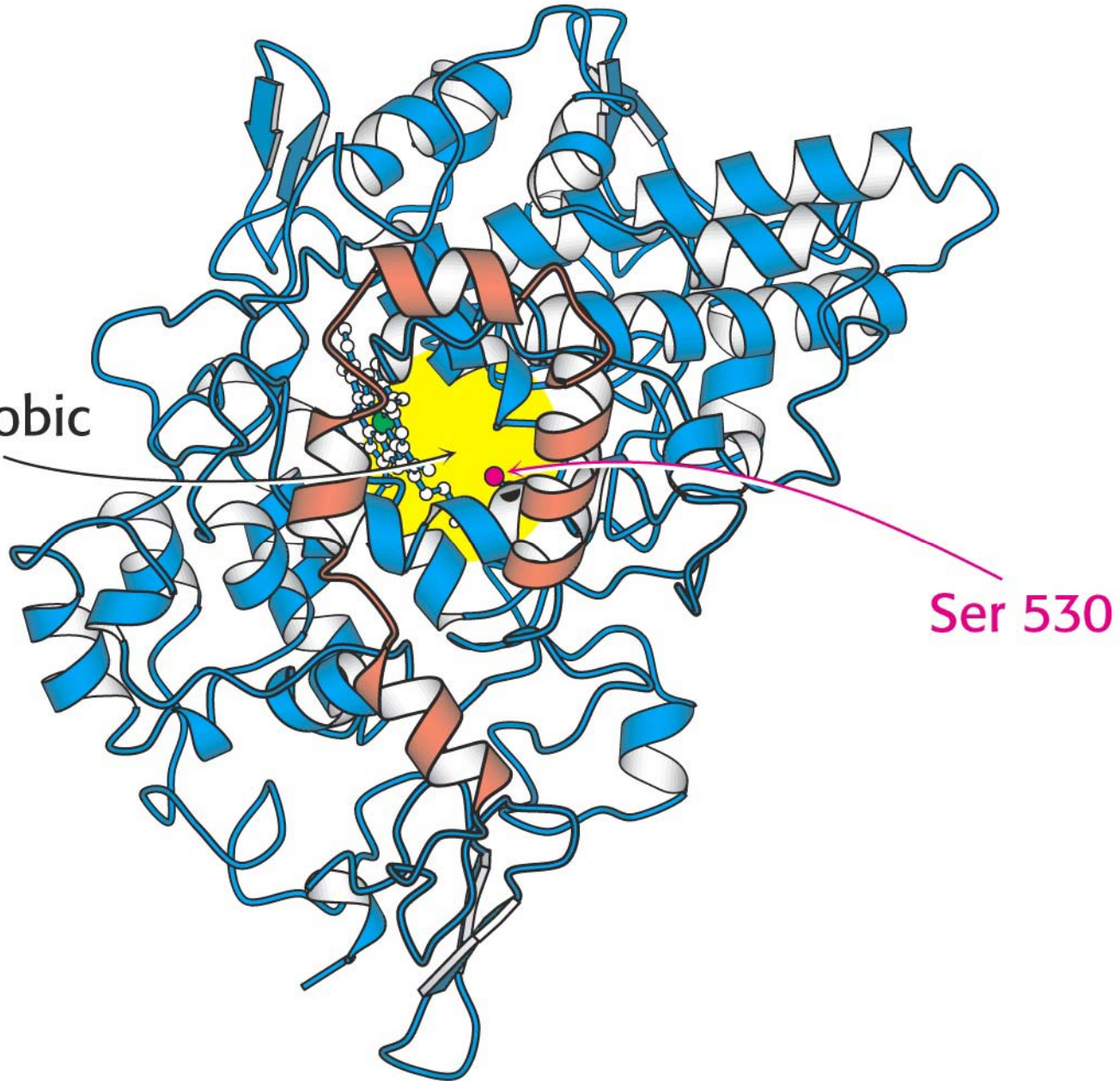
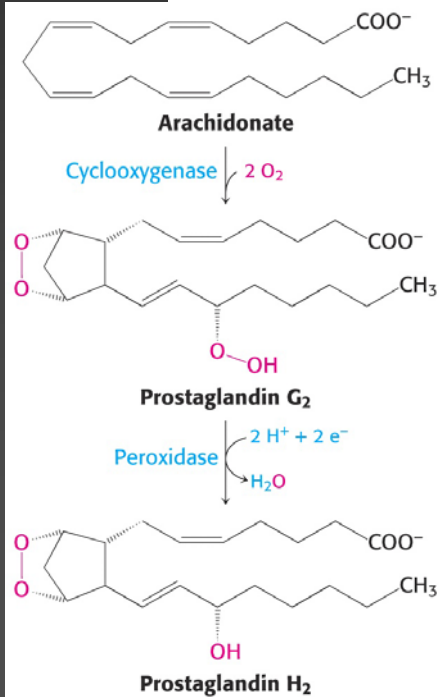
Kristalna struktura α -hemolizina (*Staphylococcus aureus*)



Prostaglandin-sintaza: ne-transmembranski integralni m.p.



Hydrophobic
channel



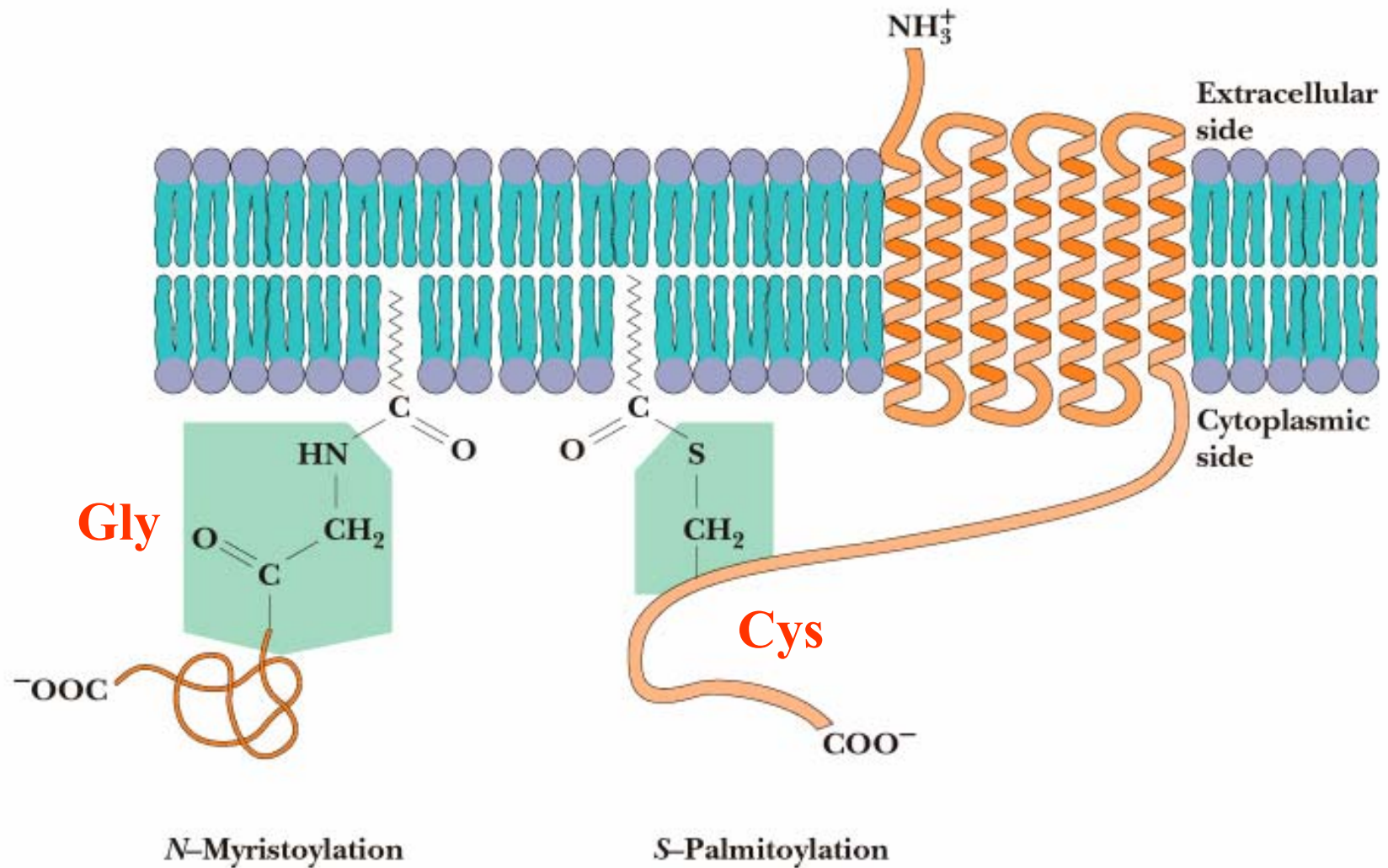
Membranski proteini, sidrani v p.m. s kovalentno vezanimi lipidi

- 4 tipi vezav v lipidno plast:
 - Miristoilno sidro - amidna vezava na protein
 - Acilno sidro - tioesterska vez na Cys
 - Prenilno sidro - tioeterska vez
 - Glikozil-fosfatidilinozitolno sidro

Miristoilno sidro - amidna vez

- Vedno **miristinska** kislina ($C_{14:0}$)
- Vedno vezana na **N-terminus**
- Vedno povezava na **Gly** ostanek
- Primeri: cAMP-odvisna proteinska kinaza, pp60^{src} tirozinska kinaza, kalcineurin B, α -podenota G-proteina, gag-protein HIV-1

Miristoilno in acilno sidro



Acilno sidro – (tio)esterska vez

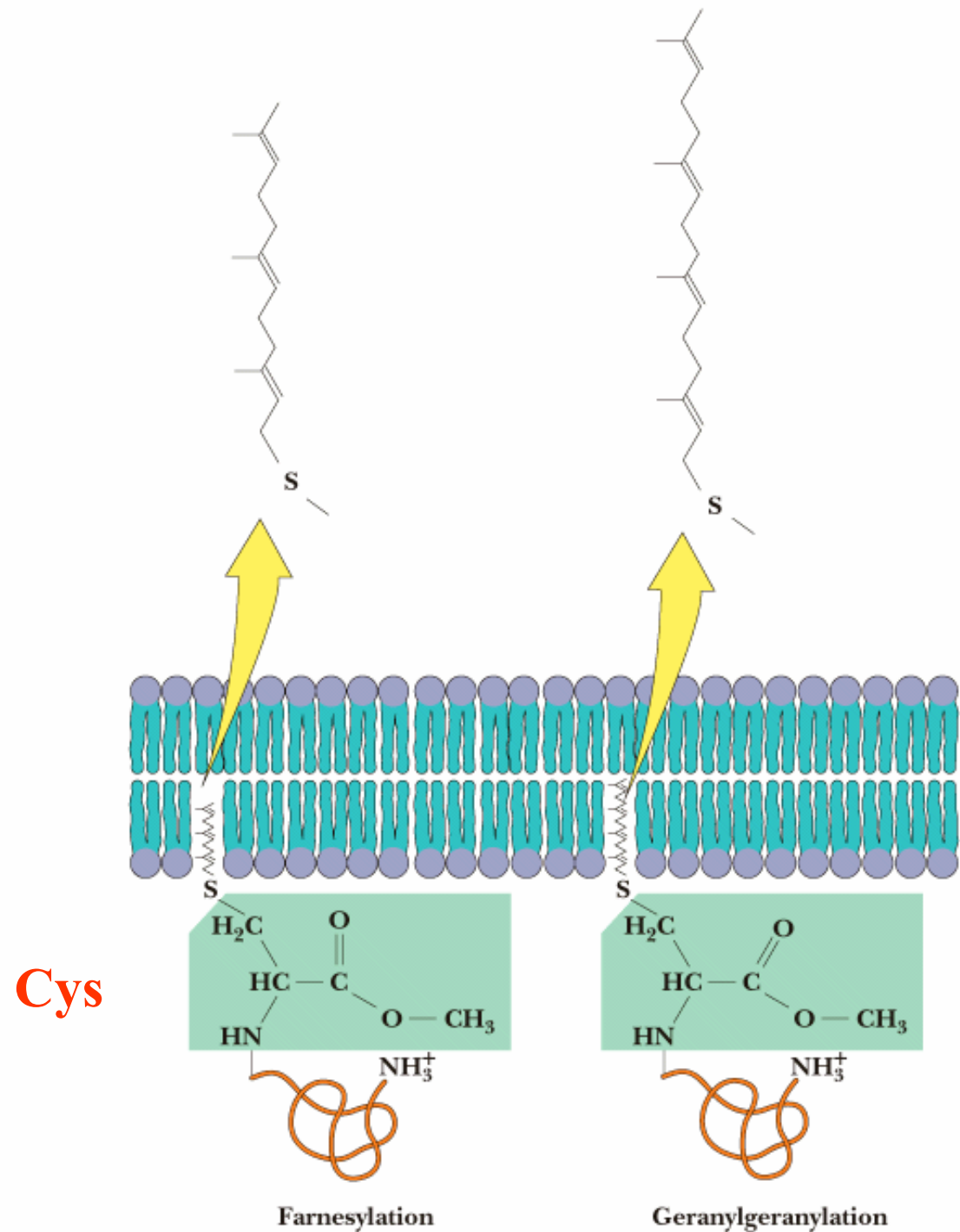
- Širša specifičnost za mašč.kisline: miristat, palmitat, stearat, oleat
- Širša specifičnost za aminokisline:
Cys, Ser, Thr
- Primeri: receptorji odvisni od G-proteina, površinski glikoproteini nekaterih virusov, transferinski receptor, SNAP-25, kaveolini

Prenilno sidro - tioeterska vez

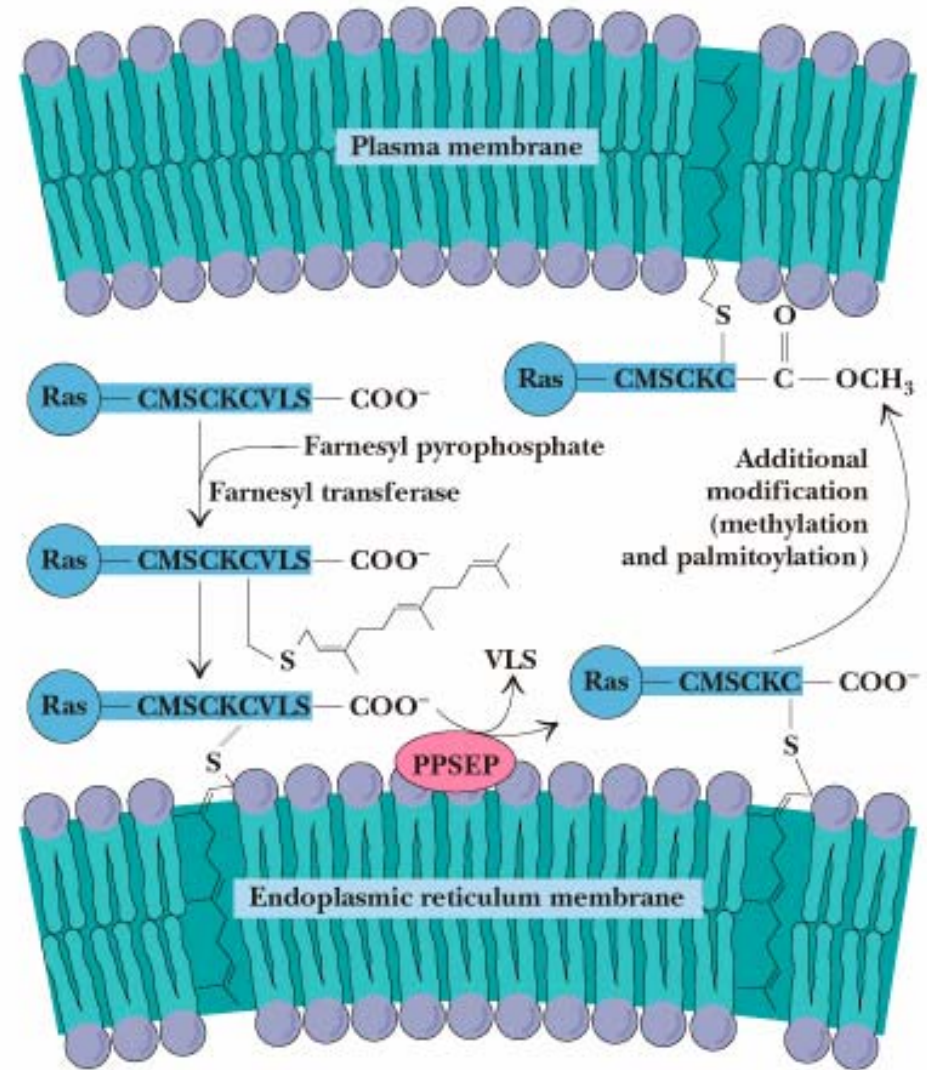
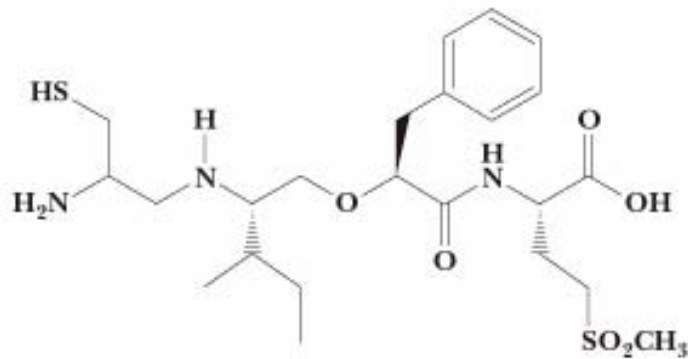
- Prenilacija: vezava “izoprenskih derivatov”
- Vedno **Cys** iz **CAAX** zaporedja na **C-koncu** proteina (C=Cys, A=alifatski, X=poljubni ostanek)
- Izoprenske skupine :
 - farnezilni ostanek (15-C, 3 dvojne vezi)
 - geranilgeranilni ostanek (20-C, 4 dvojne vezi)
- Primeri: Ras in Rab proteini, jedrni lamini

Prenilni sidri:

- farnezilno
- geranil-geranilno



Farnezilacija Ras-proteina

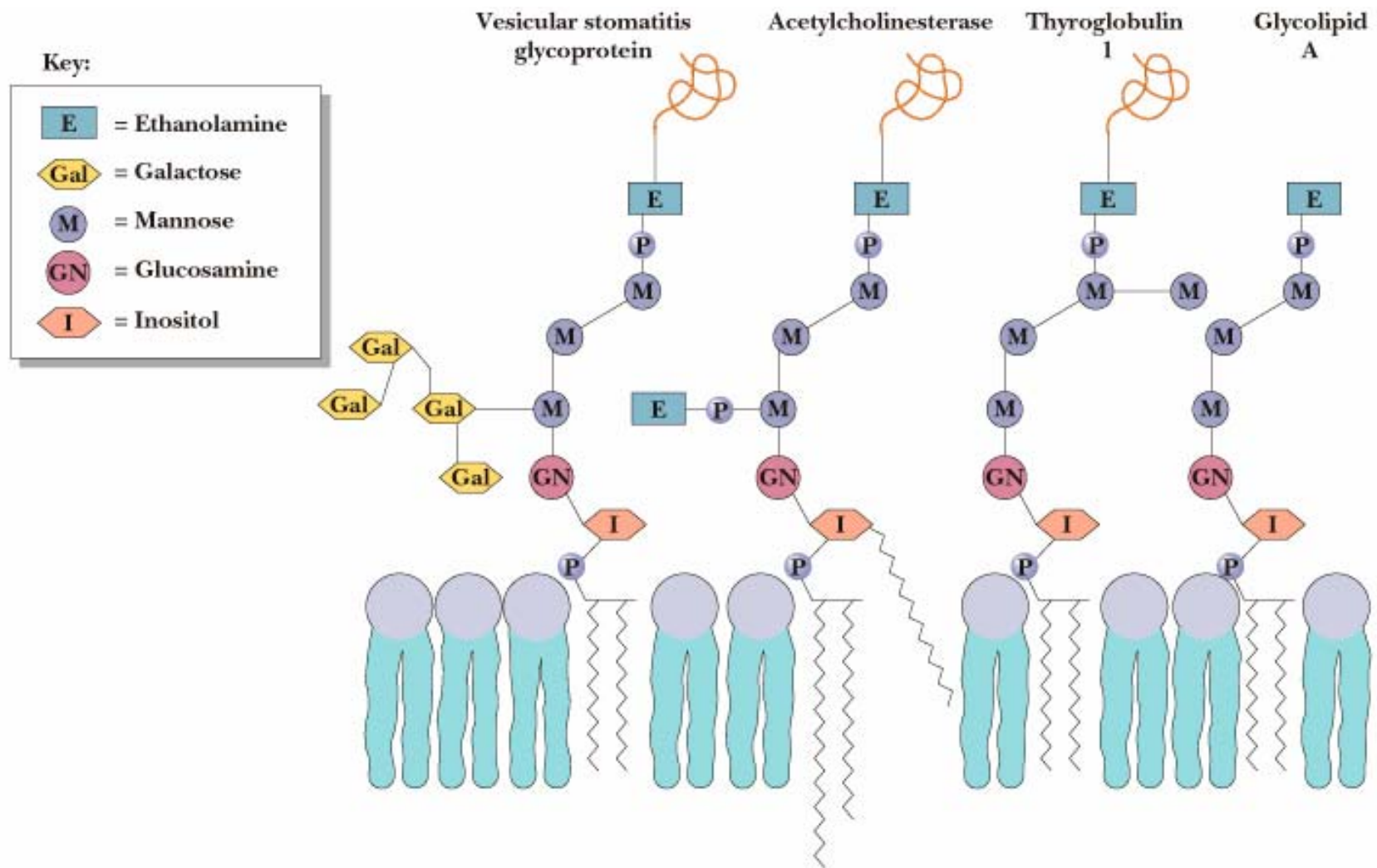


Glikozil-fosfatidilinozitolno sidro

GPI sidro

- Vedno vezava na **C-terminalni** ostanek.
- Fosfoetanolamin povezuje **C-terminal proteina** preko oligosaharidne enote na fosfatidilinozitol (PI).
- Primeri: adhezijske molekule, hidrolaze celične površine, PrPC, PLAP, Thy-1
- Pogosto v lipidnih “raftih”.

Različna GPI-sidra



Lipidna sidra - pomoč pri signaliziranju

- Lipidna sidra niso stalna - vezava je prehodna
- Reverzibilna vezava sidra - kontrolna funkcija - modulacija v signalnih poteh
- Podobnost s fosforilacijo/defosforilacijo, vezavo/disociacijo substrata, proženjem s proteolitičnim razcepom, itd.

