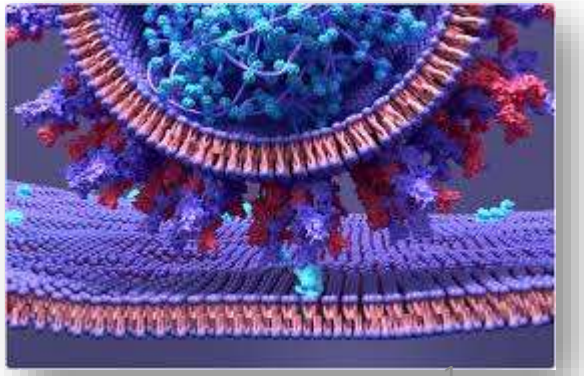
Тема. Динаміка біологічних мембран

План

1. Впорядкування ацильних групи всередині подвійного шару
2. Переміщення ліпідів у подвійному шарі
3. Зв’язок сфінґоліпідів і холестеролу у мембрані
4. Кавеоліни і мембранні плоти
5. Роль інтеґральних протеїнів у міжклітинній взаємодії та адгезії
6. Процеси злиття мембран

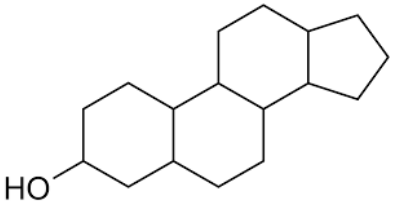


Роль ацильних групи всередині подвійного шару

- Структура і гнучкість мембрани визначається її температурою і ліпідним складом. При відносно **низьких температурах** ліпіди в подвійному шарі утворюють напівтверду **ґелеподібну** (псевдокристалічну) фазу.
- При **високих температурах** окремі вуглеводневі ланцюги перебувають в постійному русі завдяки можливості вільного обертання навколо зв'язків між атомами вуглецю в довгих ацильних ланцюгах. В цьому **рідинно-невпорядкованому стані** внутрішня частина подвійного шару перебуває в постійному русі.
- За **проміжних температур** ліпіди перебувають в **рідинно-впорядкованому стані**: тепловий рух ацильних груп в подвійному шарі досить обмежений, проте горизонтальне переміщення молекул в площині подвійного шару все ще здатне відбуватися.
- У фізіологічному інтервалі температур (від 20 до 40°C) **довгі насичені жирні кислоти** (пальмітинова і стеаринова) схильні до утворення рідинно-впорядкованої структури, проте зігнуті (в *цис*-конфіґурації) ненасичені жирні кислоти порушують це впорядкування і сприяють утворенню рідинно-невпорядкованого стану. Порушення впорядковування структури мембрани спричиняють і жирні кислоти з коротшими ланцюгами. **Стероли** обмежують в свободу руху жирних кислот навколо міжвуглецевих зв'язків, зменшуючи рухливість всередині подвійного шару і потовщення ліпідного шару.
- Клітини реґулюють вміст ліпідів з метою постійного підтримання рідинного стану мембрани на всіх етапах свого існування. Наприклад, при зниженні зовнішньої температури бактерії синтезують більше ненасичених жирних кислот і менше насичених.

Стеаринова (насичена) кислота

Олеїнова (ненасичена) кислота

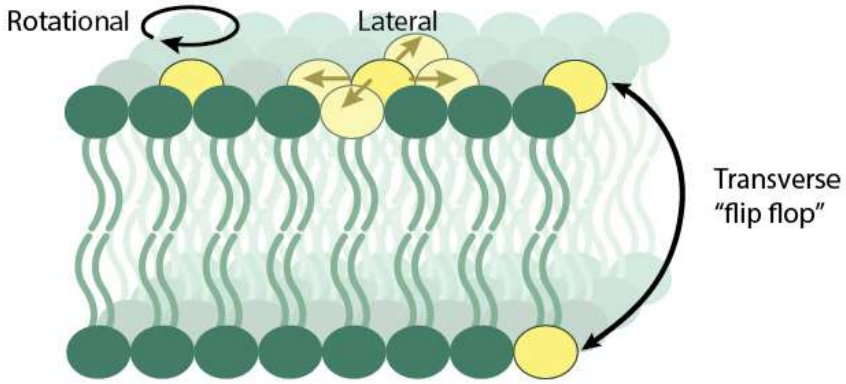


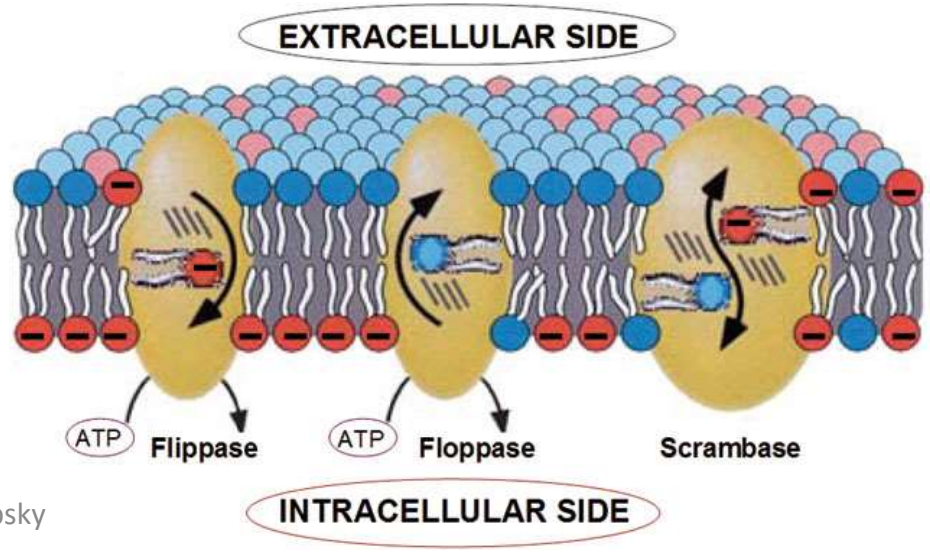
Стерол

(c) Babsky

Переміщення ліпідів крізь подвійних шар може відбуватися лише за участі каталізатора

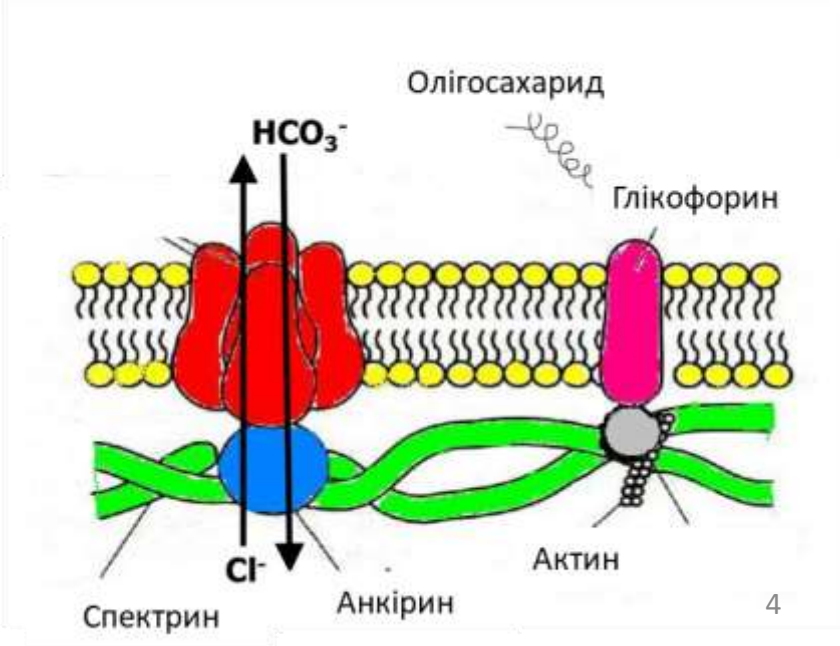
- При фізіологічних температурах трансмембранна дифузія ліпідів з одного листка на інший в більшості мембран відбувається дуже повільно.
- Це процес з великим **позитивним значенням вільної енерґії**, який вимагає, щоб полярна або заряджена група покинула своє водне оточення і перейшла в гідрофобне середовище середини подвійного шару.
- Такий рух ліпідів необхідний в процесі створення плазматичної мембрани ***бактерій***, коли їхні фосфоліпіди виробляються всередині клітини та повинні переміститися на її зовнішній листок. Або в ***еукаріот*** за переміщення ліпідів, синтезованих в одній орґанелі, до зовнішнього листка мембрани клітини та инших орґанел.
- **Фліпази** підтримують цю дифузію, забезпечуючи більш енерґетично вигідний і швидкий метод трансмембранного переміщення ліпідів.





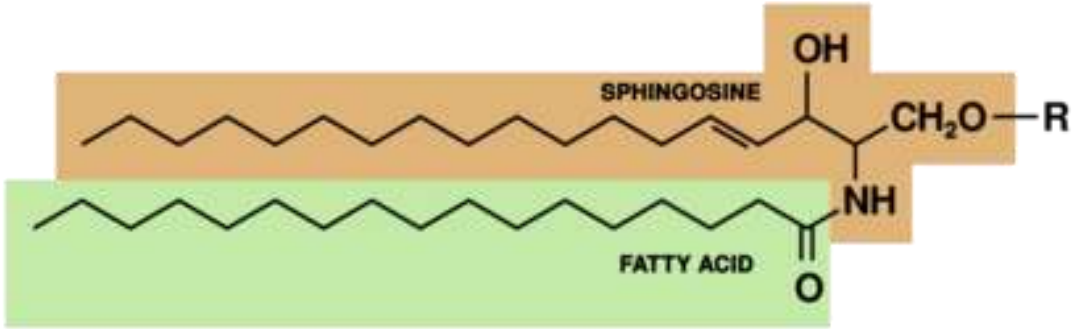
Латеральний рух ліпідів і протеїнів у мембрані

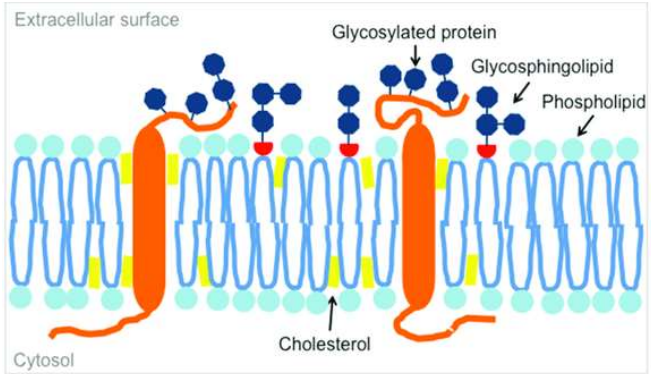
- Окремі ліпідні молекули можуть рухатися горизонтально в площині мембрани внаслідок обміну місцями зі своїми сусідами. Молекула в одному шарі (листку) подвійного шару може рухатися дуже швидко (1 мкм/с).
- Горизонтальну дифузію ліпідів можна вивчати експериментально, зв'язавши ліпідні молекули з флуоресцентними мітками і спостерігаючи за поверхнею клітини в флуоресцентному мікроскопі.
- Численні мембранні протеїни, як і ліпіди, здатні до вільної дифузії в площині подвійного шару. Деякі мембранні протеїни здатні об'єднуватися в аґреґати ("латки") на поверхні клітини (ацетилхолінові рецептори) чи її орґанели.
- Інші мембранні протеїни зв'язані зі внутрішніми структурами, котрі обмежують їх дифузію. В мембрані еритроцитів **ґлікофорин і хлоридно-бікарбонатний обмінник** прив'язані до **спектрину**, волокнистого цитоскелетного протеїну



Взаємодія сфінґоліпідів і холестеролу в мембрані

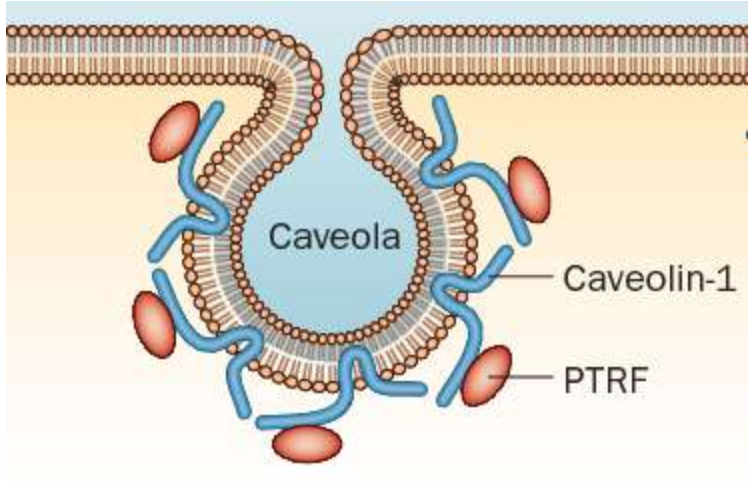
- Ґлікосфінґоліпіди (цереброзиди і ґанґліозиди) з довгими ланцюгами насичених жирних кислот утворюють кластери на зовнішньому листку шару. Довгі насичені ацильні групи сфінґоліпідів здатні до утворення з циклічною системою холестеролу більш компактні і стабільні структури. Холестерольно-сфінґоліпідні **мікродомени** (плоти) в зовнішньому шарі мембрани плазми дещо товщі і впорядкованіші в порівнянні з навколишніми фосфоліпідними мікродоменами і важче розчиняюься під дією детерґентів.
- Такі ліпідні плоти збагачені двома класами інтеґральних мембранних протеїнів. Домени "плотів" не мають чітких меж поділу.
- Частка мембрани, зайнята плотами, може становити до 50%. Середній діаметр плоту близько 50 нм, що відповідає кільком тисячам сфінґоліпідів і 10 - 50 мембранним протеїнам.
- Деякі мембранні рецептори і сиґнальні протеїни знаходяться разом в мембранних плотах. Зменшення вмісту холестеролу і руйнування ліпідних плотів може призвести до припинення передачі сиґналів цими протеїнами.

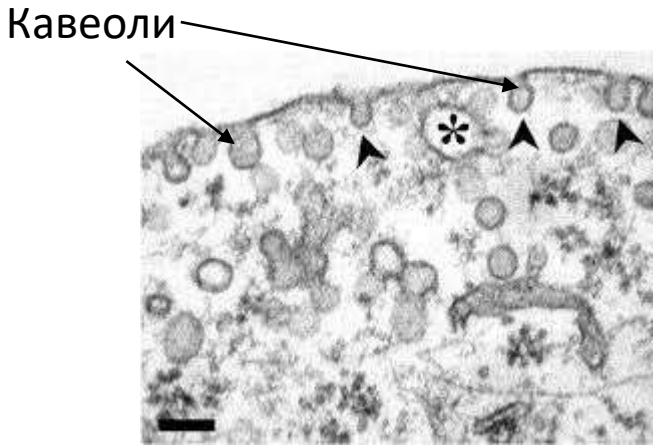




Кавеоліни

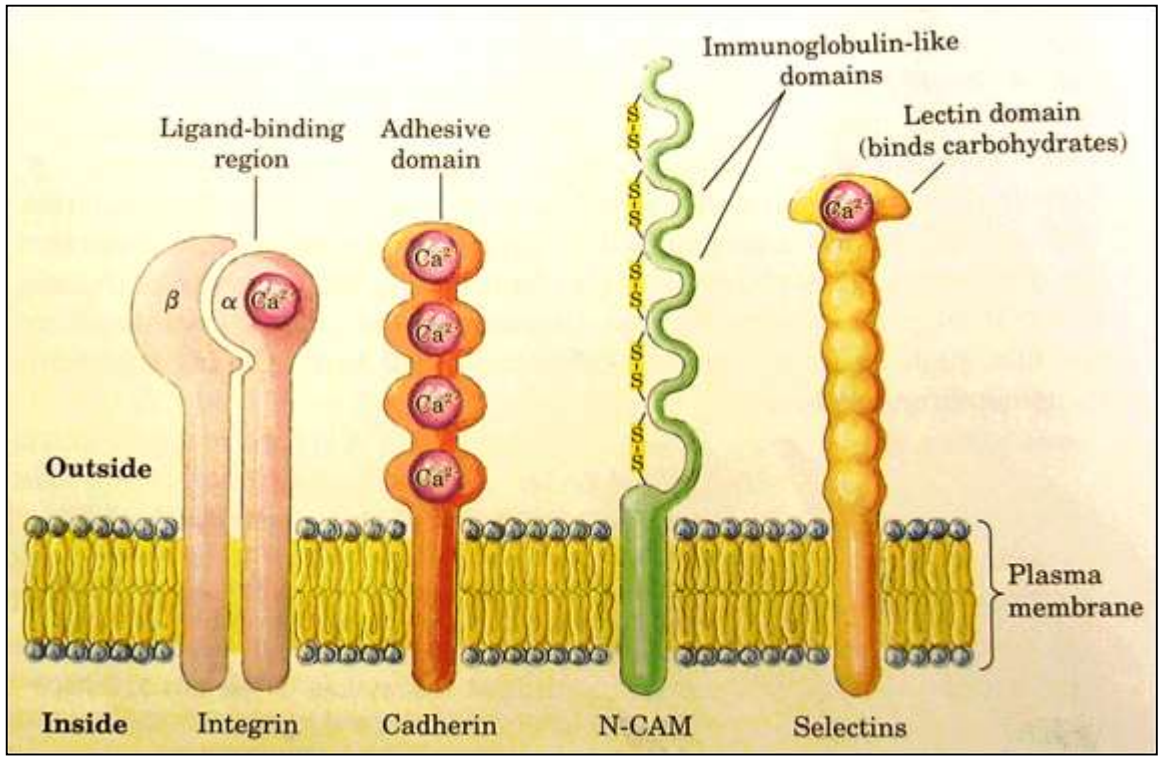
- Мембранні протеїни з двома глобулярними доменами, з'єднаними петлеподібним гідрофобним доменом, котрий зв'язує протеїн з цитоплазматичним листком плазматичної мембрани.
- Три залишки пальмітинової кислоти на карбоксильному терміналі ґлобулярного домену підсилюють його зв'язування з мембраною.
- Кавеоліни зв'язують холестерол в мембрані, примушуючи оточуючі ліпіди прогинатися всередину клітини, утворюючи **кавеоли.** Вони охоплюють *обидва* листки подвійного шару, цитоплазматичний з ґлобулярними доменами кальвеоліну і екзоплазматичний.
- Кавеоли задіяні в багатьох клітинних процесах, включаючи переміщення мембран всередині клітини і перетворення зовнішніх сигналів у клітині. Рецептори інсуліну та інших факторів росту, а також деякі ҐТФ-зв'язуючі протеїни і протеїнові кінази, пов'язані з трансмембранними сиґналами, швидше за все розміщені в плотах і, можливо, в кавеолах.





Інтеґральні протеїни як посередники міжклітинної взаємодії і адгезії

- Інтеґральні протеїни плазматичної мембрани зв'язують клітини між собою або з позаклітинними матричними протеїнами.
- Гетеродимерні протеїни **інтеґрини** зв'язані з мембраною однією трансмембранною спіраллю в кожній субодиниці. Великі позаклітинні домени α і β субодиниць зв'язують такі позаклітинні протеїни як колаґен і фібронектин. Існує 18 різних α-субодиниць і принаймі 8 β-субодиниць. Поширена комбінація для зв'язування інеґрину з міжклітинними протеїнами - послідовність Arg-Gly-Asp.
- Інтеґрини виступають також як рецептори і передавачі сиґналів в обох напрямках крізь мембрану. Вони реґулюють згортання крові, відновлення тканин, імунну відповідь і проникнення ракових пухлин в тканини. Мутація кодуючого β-субодиницю ґену зумовлює недостатність лейкоцитної адгезії, при якій лейкоцити нездатні проникнути крізь стінки судин і досягти місць зараження. Діти з CD18 зазвичай помирають від інфекційних хвороб у віці до двох років.



- **Кадгерини** забезпечують гомофільну ("з однаковим типом") взаємодію з такими ж кадгеринами оточуючих клітин.
- **Протеїни імуноґлобулінового типу** можуть взаємодіяти гомофільно з такими ж протеїнами або гетерофільно з інтеґринами інших клітин.
- **Селектини** мають позаклітинний домен, котрий за наявності Ca^{2+} зв'язується з певними полісахаридами на поверхні сусідніх клітин. Селектини переважно знаходяться в різних типах клітин крові і ендотеліальних клітинах на поверхні кровоносних судин. Вони відіграють важливу роль в згортанні крові.
- Інтеґральні протеїни задіяні в якості транспортерів і йонних каналів, рецепторів для гормонів, нейротрансмітерів і факторів росту. Вони відіграють важливу роль в окисному фосрорилюванні, фотосинтезі, розпізнаванні клітин між собою і антиґенів імунною системою, у злитті мембран при екзоцитозі, ендоцитозі і проникненні вірусів до клітини-хазяїна.

Злиття мембран

- У мембранній системі евкаріотів (котра включає плазматичну і ядерну мембрану, ендоплазматичний ретикулум, комплекс Ґольджі і різні малі кульки) відбувається постійна реорґанізація її частин.
- Від ендоплазматичного ретилулуму постійно відділяються кульки, що переносять щойно синтезовані ліпіди і протеїни до інших орґанел і плазматичної мембрани.
- Екзоцитоз, ендоцитоз, поділ клітин, злиття яйцеклітини і сперматозоїду і входження вірусу до клітини-хазяїна супроводжуються реорґанізацією мембрани, головну роль в якій відіграє злиття двох сеґментів мембрани без втрати їх цілісности.
- Злиття двох мембран вимагає, щоб:

1) вони розпізнали одна одну,

2) їх поверхні наблизилися між собою, що можливо при витісненні молекул води зв'язаних з полярними ділянками ліпідних молекул,

3) структура їх подвійних шарів локально порушилася, призводячи до злиття зовнішніх листків мембран (напівзлиття) і

4) їх подвійні шари злилися з утворенням одного подвійного шару.

5) рецепторно-опосередкований ендоцитоз, або реґульована секреція, започатковувався в певний час або як відповідь на певний сиґнал.

- Ці процеси проходять за участю **протеїнів злиття**, котрі забезпечують специфічне розпізнавання і часткове локальне порушення структури подвійного шару, необхідне для злиття мембран.

Злиття мембран за участю протеїну гемаглютиніну (НА) в разі вірусної інфекції

- Вірус (наприклад, грипу) входить у клітину-хазяїна за рахунок **ендоцитозу**, під час якого вірус перетворюється в ендосому, малу мембранну кульку з pH близько 5.
- При такому pH відбувається конформаційна зміна **протеїну НА** з переміщенням з його середини на поверхню відрізку, названого **пептидом злиття**, котрий забезпечує проникнення протеїну крізь мембрану ендосоми. Мембрана **ендосоми** і вірусу з'єднуються протеїном НА.
- Молекула НА згинається посередині, з'єднуючи між собою його кінці. Мембрани наближаються одна до одної і зливаються.
- При низькому pH домени НА скручуються між собою. Процес злиття включає проміжний стан (**напівзлиття**), коли зовнішній листок вірусної мембрани зливається з внутрішнім листком ендосомної мембрани.
- **Повне злиття** мембран призводить до переходу вмісту вірусу до клітини-хазяїна.

Злиття мембран у разі виділення нейротрансмітера із синапсу

- Мембрана секреторної везикули містить **v-SNARE** протеїн синаптобревін, а плазматична мембрана – **t-SNARE** (синтаксин) і **SNAP25**.
- Коли локальне зростання **[Ca^{2+}]** сигналізує про потребу вивільнення трансміттера усі білки взаємодіють, утворюючи спіралізований пучок, що складається із чотирьох α-спіралей.
- Мембрани зближаються, подвійний шар локально руйнується, мембрани зливаються і трансміттер вивільняється.

Потужний токсин ***Clostridium botulinum*** атакує комплекс SNARE і SNAP25, розриваючи специфічні зв'язки в цих протеїнах, припиняючи передавання сиґналів нейронами і првокуючи смерть всього орґанізму. Оскільки він має дуже високу специфічність саме до цих протеїнів, очищений бутуліновий токсин виявився дуже важливим інструментом для вивчення механізму виділення нейротрансмітерів *in vivo* та *in vitro.*

Нобелівська премія з фізіології або медицини за 2013 рік

Шекман Р. 1948 р.н.

Зюдгоф Т. 1955 р.н.

Ротман Д. 1947 р.н.

- *For their discoveries of machinery regulating vesicle traffic, a major transport system in our cells*

Підсумки

- Ліпіди в біологічних мембранах можуть перебувати в рідинно-впорядкованому чи рідинно-невпорядкованому стані; завдяки тепловому руху ацильних залишків в останньому перебуває внутрішня частина подвійного шару. Рівень впорядкованості залежить від температури, вмісту жирних кислот і стеролів.
- Перехід ліпідів з внутрішнього на зовнішній листок мембрани відбувається дуже повільно, за виключенням випадків специфічного каталізу фліпазами.
- Ліпіди і протеїни здатні до дифузії в площині мембрани, але їх рухливість обмежена взаємодією мембранних протеїнів і ліпідів із внутрішніми цитоскелетом з ліпідними плотами. Один з типів ліпідних плотів складається зі сфінґоліпідів і холестеролу з набором GPI-зв'язаних або з'єднаних з кількома залишками жирних кислот мембранних протеїнів.
- Інтеґральний мембранний протеїн кавеолін з'єднується із внутрішнім листком плазматичної мембрани, примушуючи її прогинатися всередину з утворенням кавеол, котрі очевидно беруть участь в мембранному транспорті і передачі сиґналів.
- Трансмембранні протеїни інтеґрини виконують дві функції в мембрані плазми: зв'язування клітин між собою і передавання сиґналів між позаклітинною матрицею і цитоплазмою.
- Злиття двох мембран при вірусній інфекції, ендоцитозі і екзоцитозі відбувається за участю специфічних протеїнів.

Додаткова література

1. Зима В.Л. Біофізика: Збірник задач. – Київ: Вища школа, 2001. — 124 с.
2. Ємчик Л.Ф., Кміт Я.М. Медична та біологічна фізика. – Львів: Світ, 2003. – 450с.
3. Костюк П.Г., Зима В.Л., Магура І.С. та ін.. Біофізика. – Київ: вид-во «Київський університет», 2008. – 567 с.
4. Літнарович Р.М. Біофізика. Медична фізика, теоретична і прикладна фізика. – Рівне: вид-во МЕГУ, 2011. – 205 с.
5. Нільсон Д., Кокс М. Основи біохімії за Ленінджером. Львів: БаК, 2015. - 1256 с.
6. Посудін Ю.І. Біофізика: Підручник.– Київ: вид-во НАУ, 2016. – 451 с.
7. Санагурський Д.І. Об’єкти біофізики. – Львів: вид-во ЛНУ імені Івана Франка, 2008. – 522 с.
8. Таланов С.О., Федоренко О.А., Плиска О.І., Лазоришинець В.В. Біофізика: Курс лекцій. - Київ: вид-во НПУ імені М.П.Драгоманова, 2014. – 209 с.
9. Тіманюк В.О., Животова О.М. Біофізика: Навч. посібн. для студ. фармац. вищ. навч. закладів. - Харків: вид-во НФАУ: Золоті сторінки, 2001. – 204 с.
10. Mayer A. (2002) Membrane fusion in eycariotac cells. *Annu. Rev. Cel. Dev.* 18, 289-314.
11. Vereb G. et al. (2003) Dynamic yet structured: the cell membrane three decades after the Singer-Nicolson model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 8053-8058.