

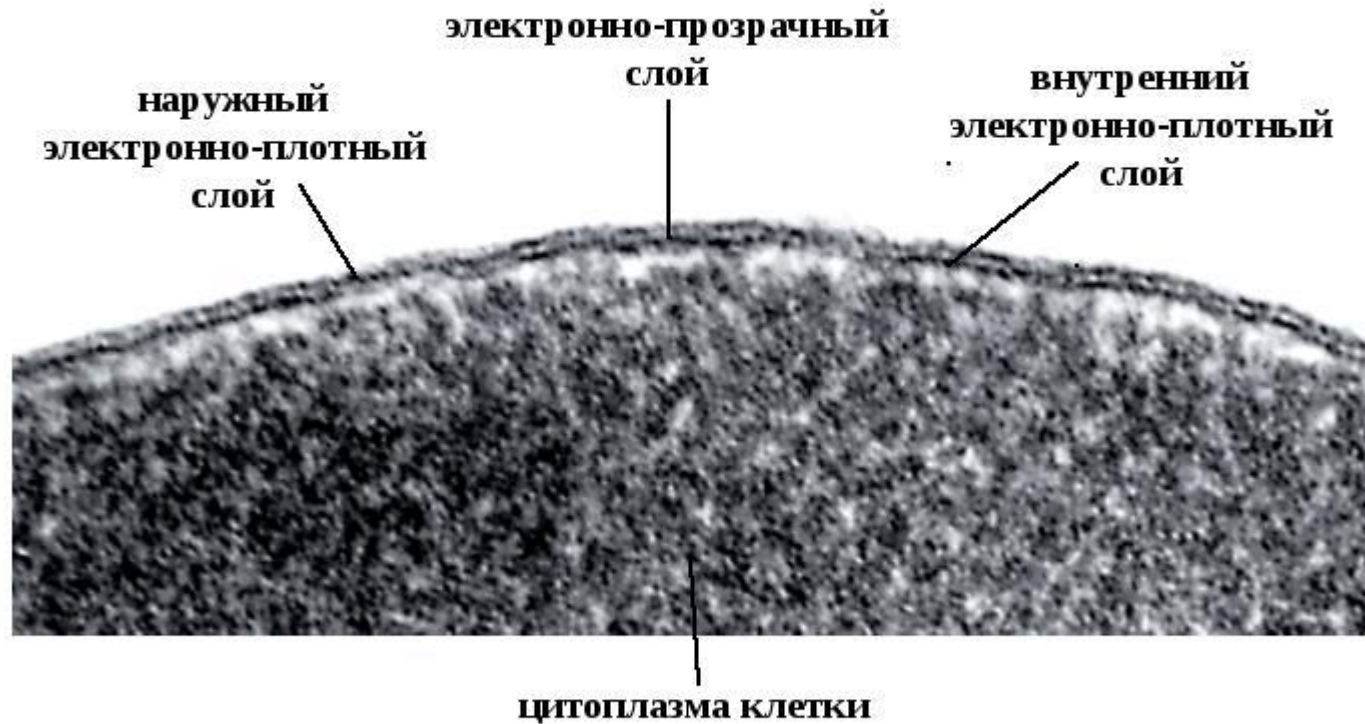
Биофизика мембран

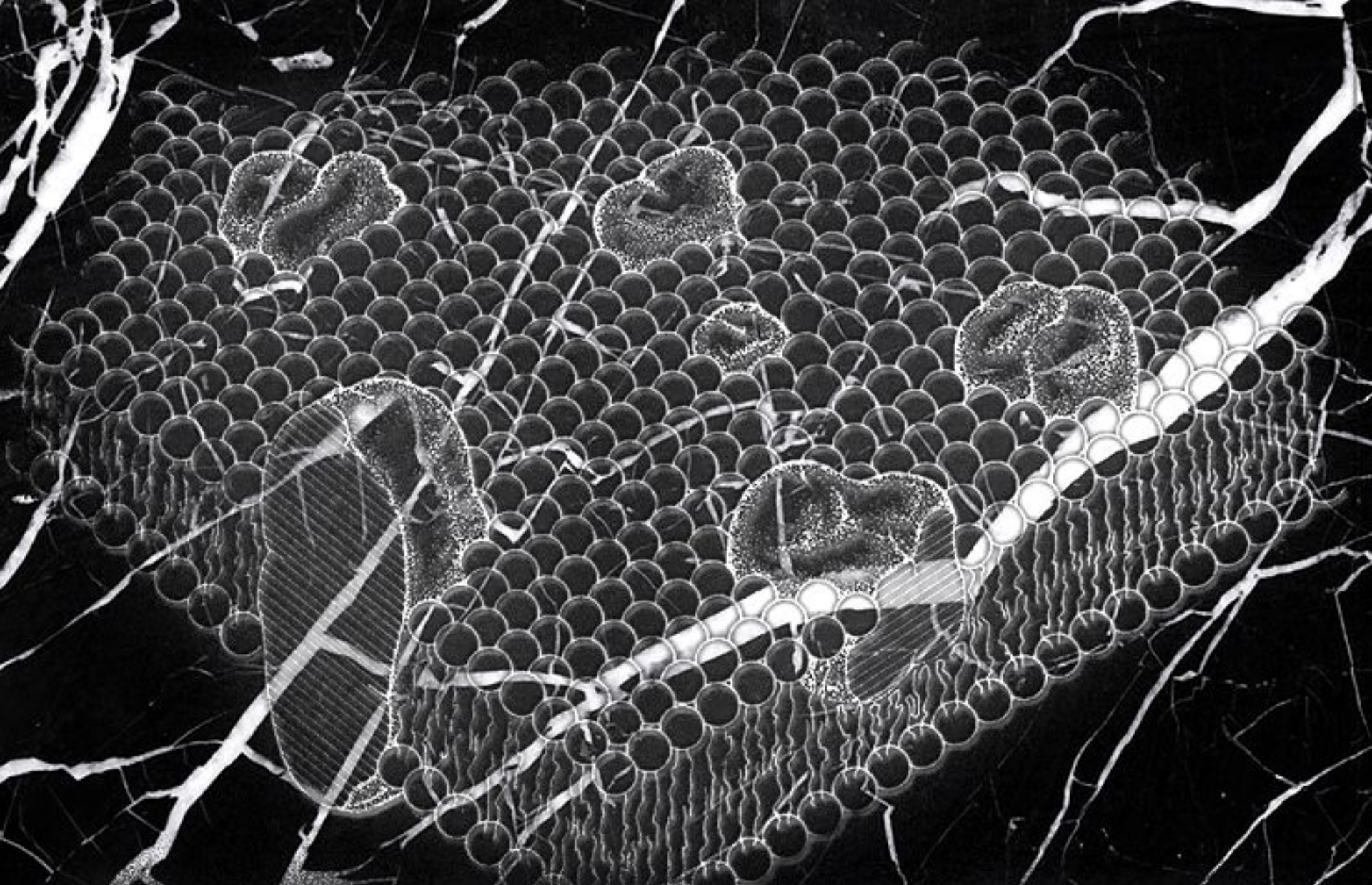
Когда Эрла Сазерлэнда, первого Нобелевского лауреата в области механизмов клеточной сигнализации, спросили, что больше всего помешало его открытию механизмов передачи сигнала через клеточную мембрану, он ответил:
– Незнание того, как она устроена.

Эволюция представлений о биологических мембранах

- К. Негели 1855
- Гorter, Грендел 1925
- Даниелли-Дэвсон 1935 – модель «сэндвича»
- Сингер-Никольсон – жидкостно-мозаичная модель

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОФОТОГРАФИЯ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ.





The Fluid Mosaic Model

Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны

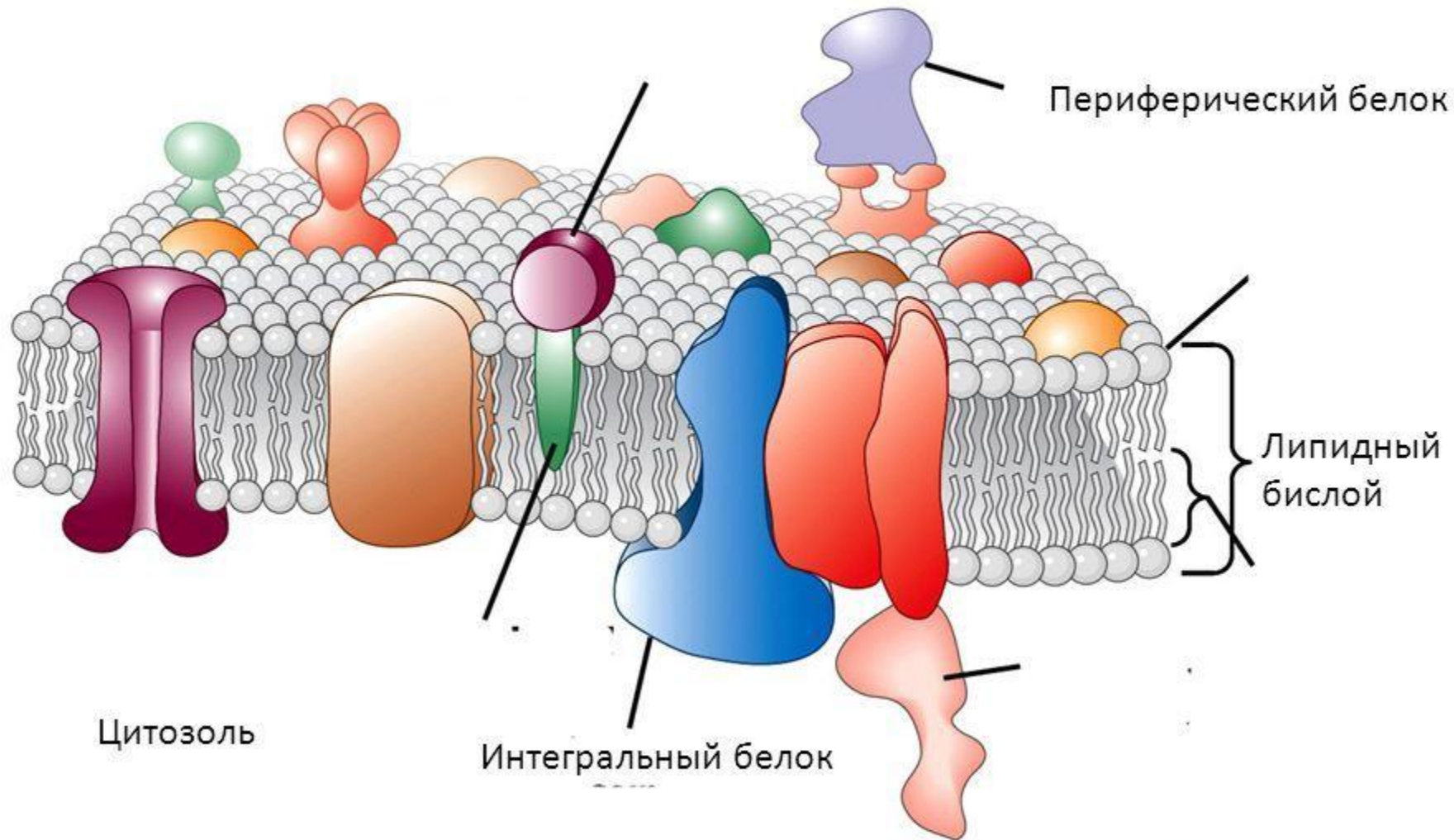
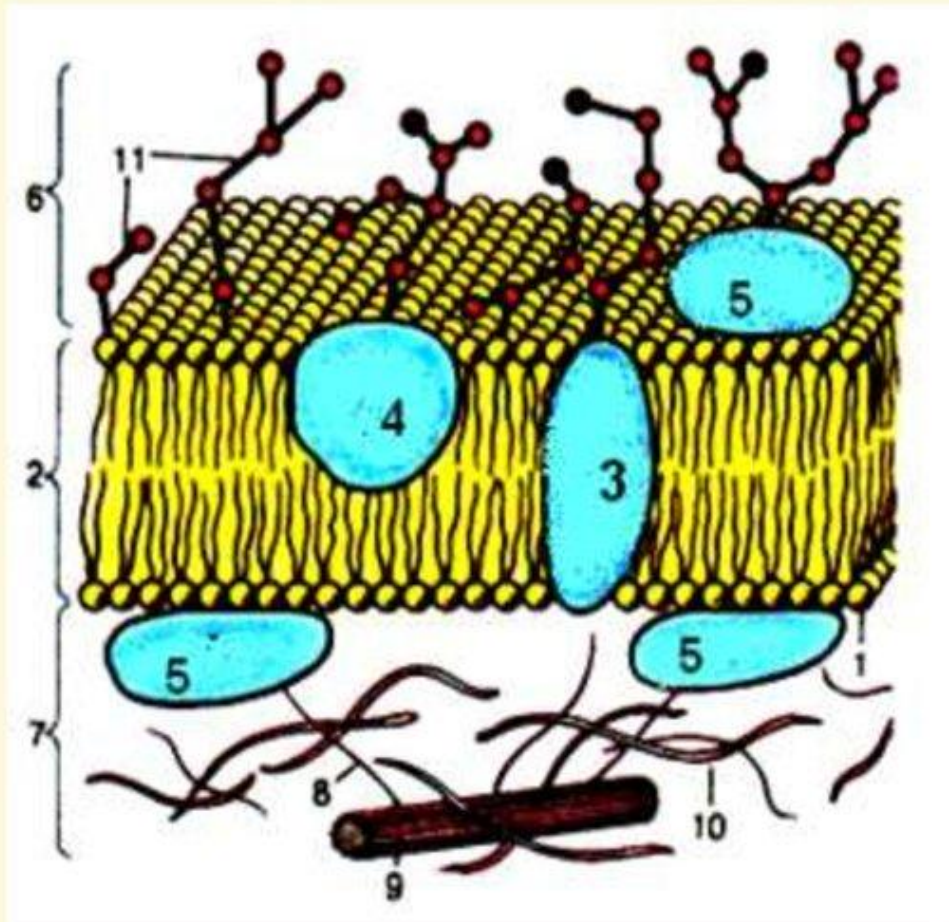


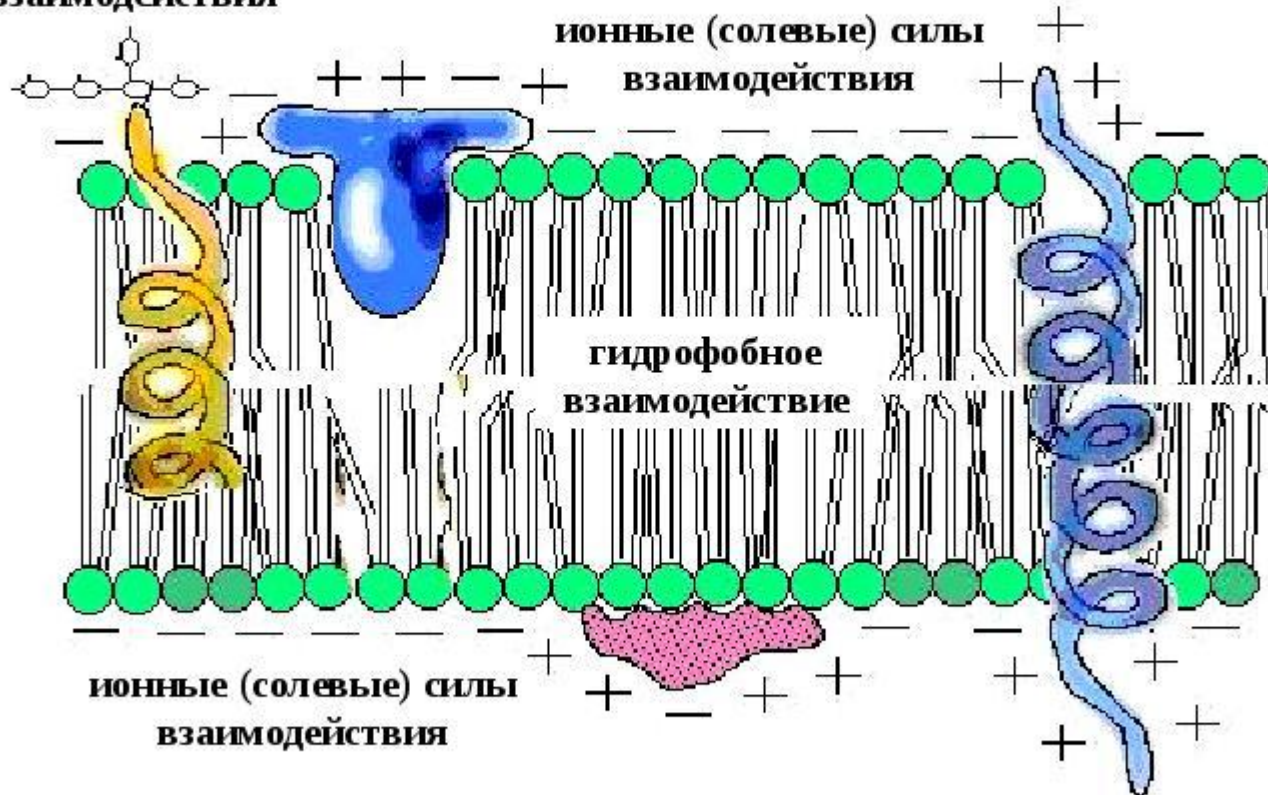
Схема строения клеточной мембраны:



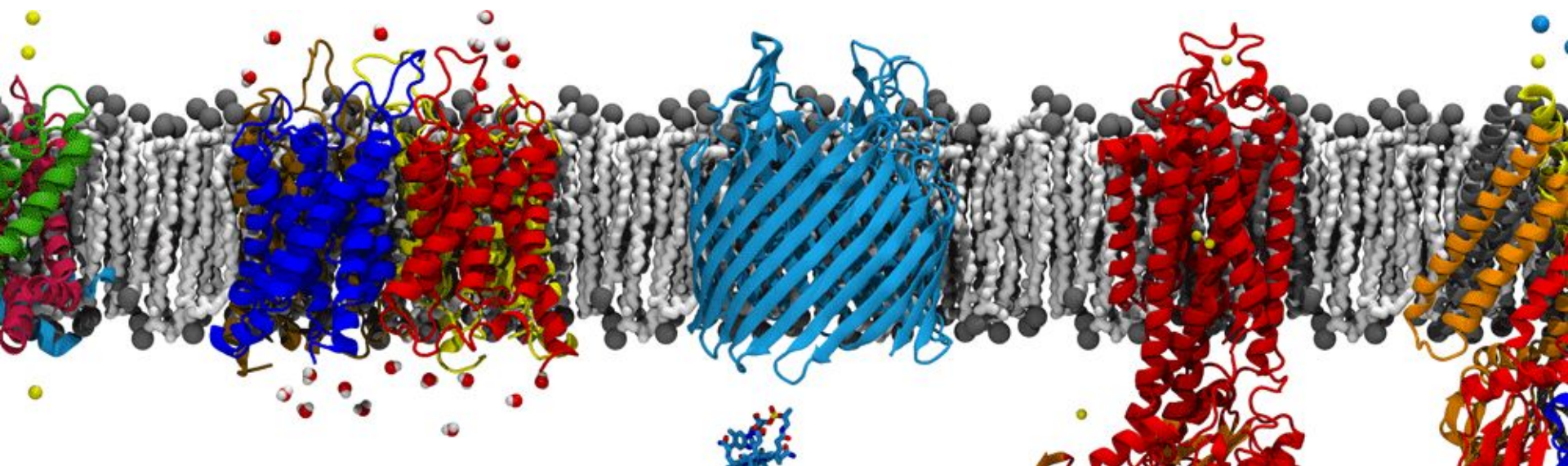
1. молекула липида;
2. липидный бислой;
3. интегральные белки;
4. полуинтегральные белки;
5. периферические белки;
6. гликокаликс;
7. субмембранный слой;
8. актиновые микрофиламенты;
9. микротрубочки;
10. промежуточные филаменты;
11. углеводные части молекул гликопротеинов и гликолипидов

ХАРАКТЕР СВЯЗЕЙ МЕЖДУ КОМПОНЕНТАМИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

**ковалентные силы
взаимодействия**



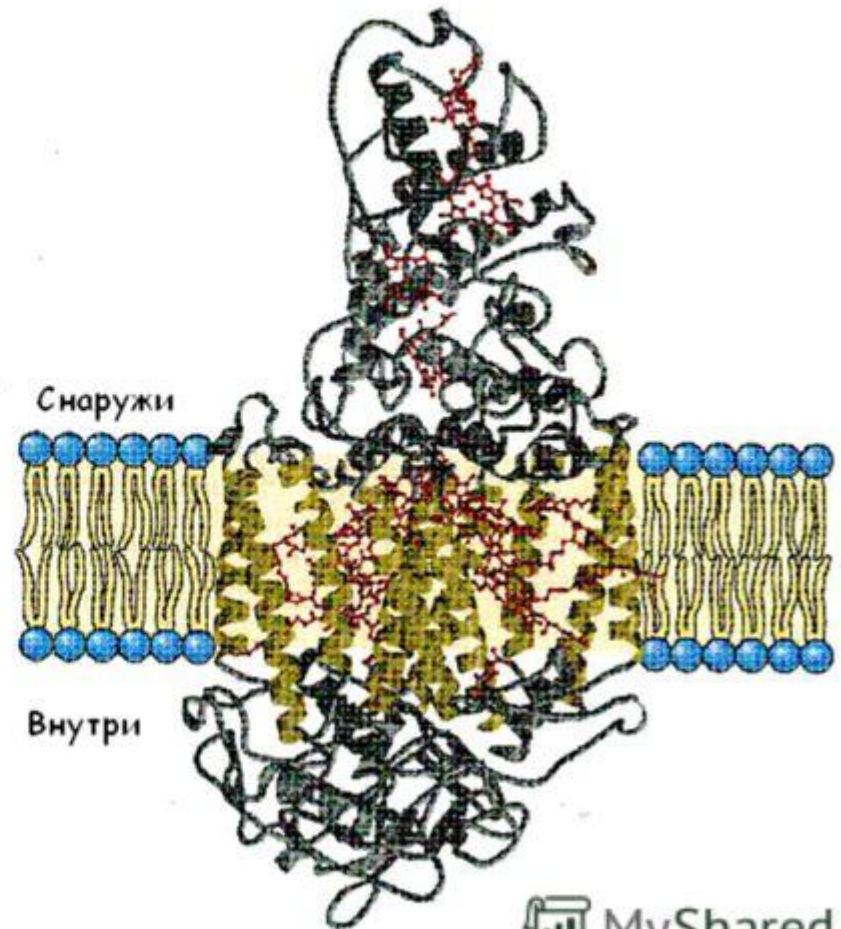
**ионные (солевые) силы
взаимодействия**



Типичные мембранные белки в своей родной среде обитания — липидном бислое, за пределами которого они теряют свою конформацию.

Трансмембранные белки

Трансмембранный домен альфа-спирали упаковка бок-о-бок



Типы мембранных белков

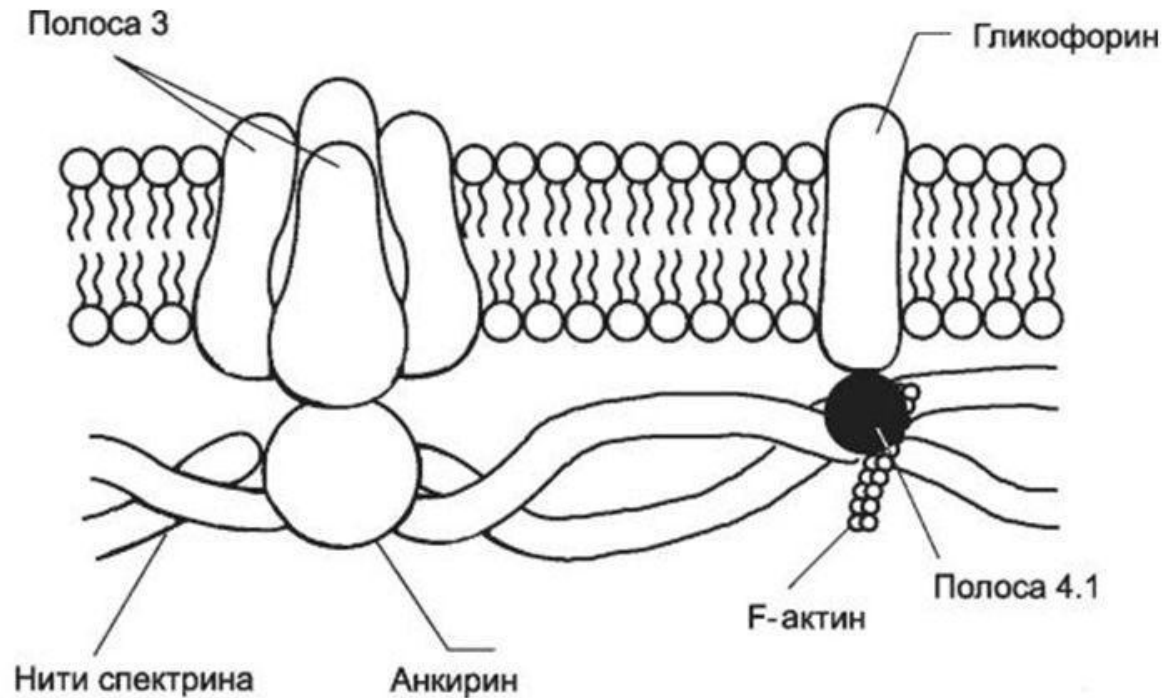
По структуре

- Интегральные – трансмембранные и мембрано-связанные
- Периферические - прикрепленные к другим интегральным белкам или связанные с заряженными районами мембраны

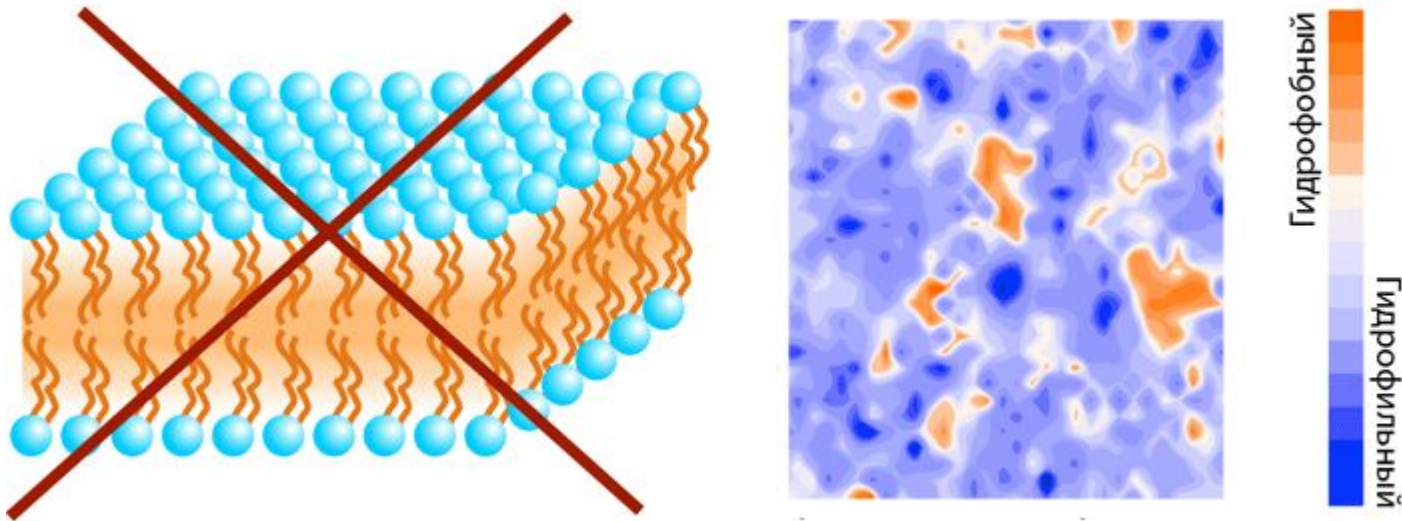
По функции

- Транспортёры (переносчики и каналы)
- Структурные белки (клеточные контакты и цитоскелет)
- Ферменты (метаболизм и передача сигнала)
- Рецепторы

Цитоскелет под плазмалеммой эритроцита

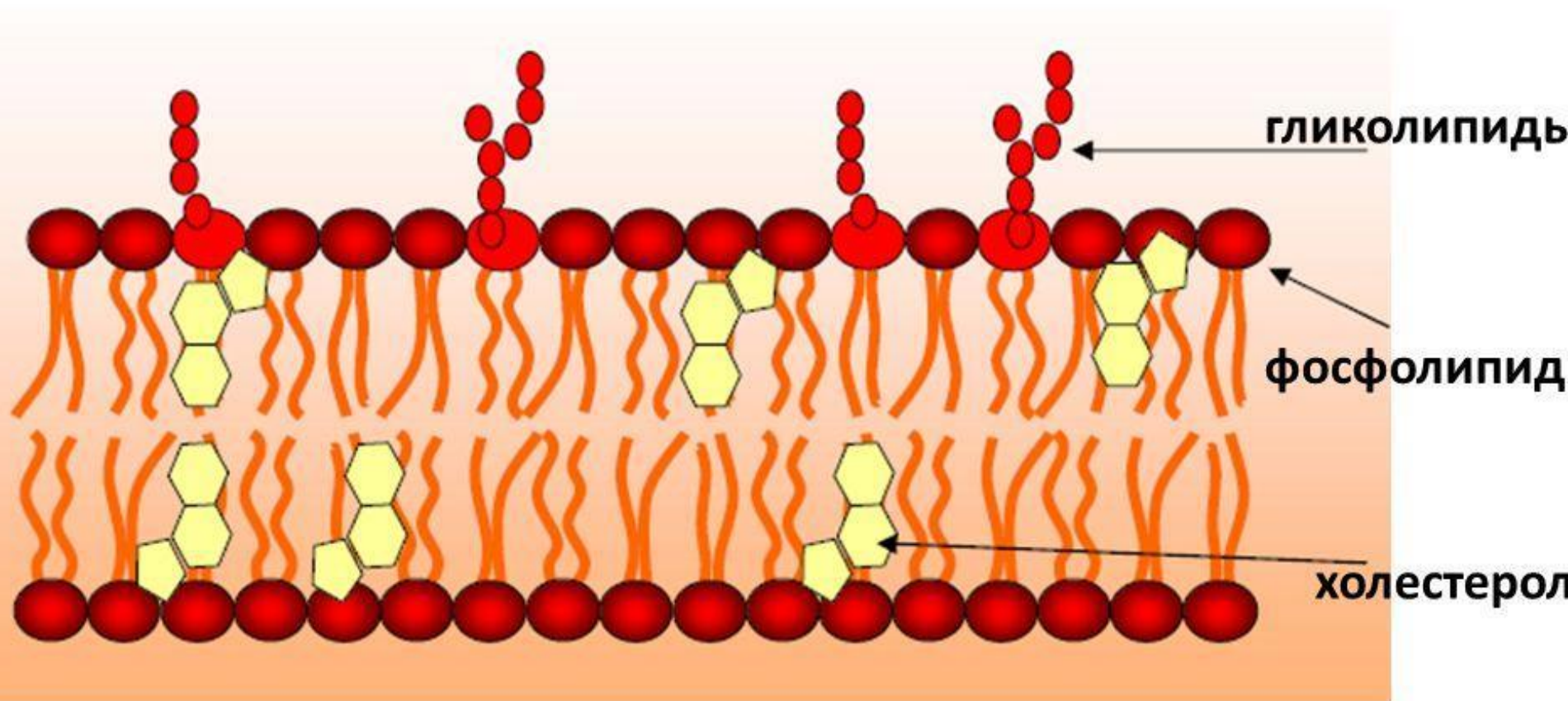


Даже в случае однокомпонентной липидной мембраны ее поверхность не является однородно полярной, как это можно предположить из схематического представления липидов в виде «шариков с хвостиками» — часть этих «хвостиков» всплывает на границу вода—мембрана и формирует гидрофобные участки (рис. 6). В итоге мы имеем мозаично организованную поверхность, на которой в полярном «море» рассредоточены гидрофобные «островки» размером до нескольких нм².



Мозаичная организация поверхности простейшей однокомпонентной мембраны. Слева представлена идеальная модель мембраны, справа — поверхность полноатомной мембраны (ДОФС), раскрашенной по гидрофобности.

Основные группы мембранных липидов

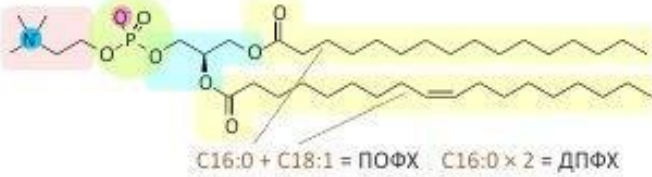


Фосфолипиды

Глицерофосфолипиды

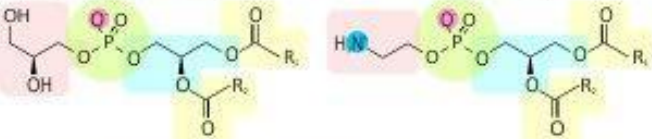
Фосфатидилхолин

Холин Фосфат Глицерол Жирные кислоты



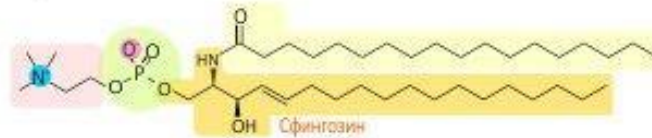
Фосфатидилглицерол Фосфатидилэтаноламин

Глицерол Фосфат Глицерол Этаноламин Фосфат Глицерол



Сфингофосфолипиды

Сфингомиелин



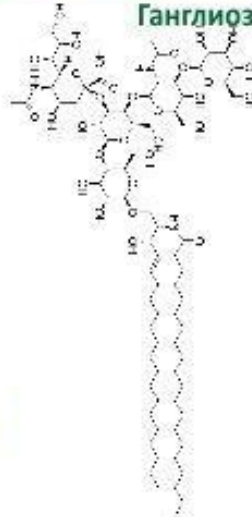
Стероиды

Холестерол

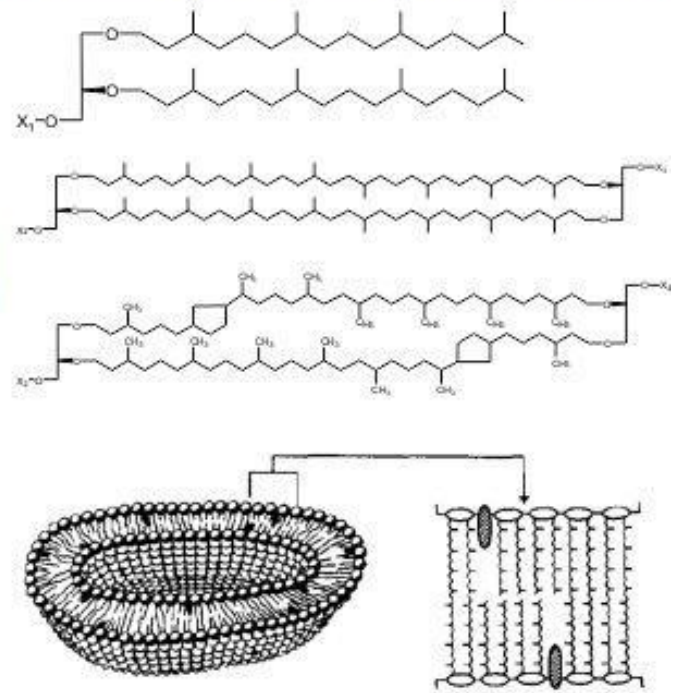


Гликолипиды

Ганглиозид GM1

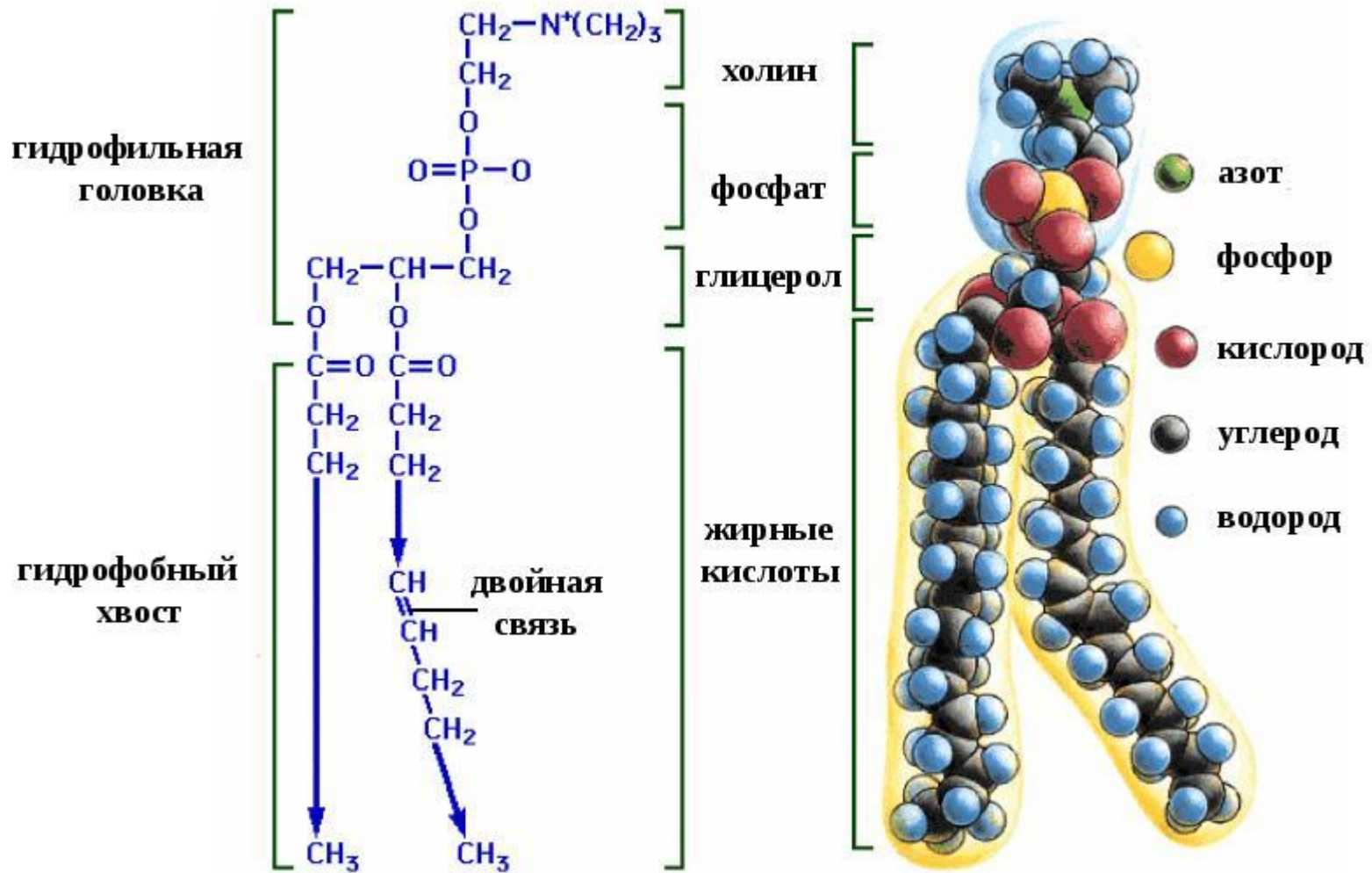


Липиды мембран архей

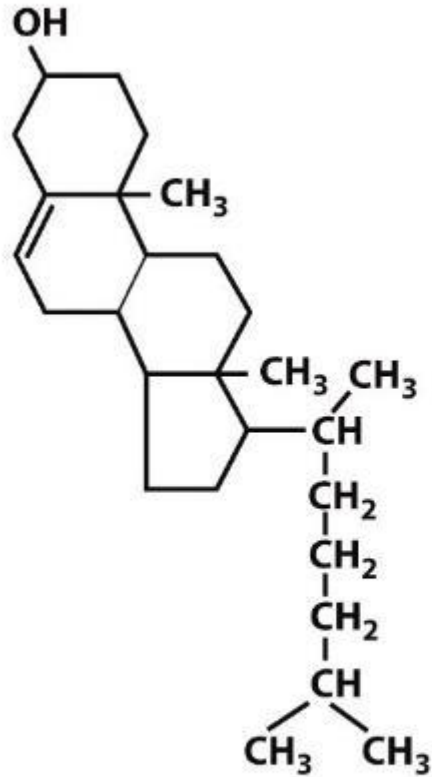


Разнообразие липидов — компонентов клеточных мембран. «Комбинаторное» построение большинства липидов (то есть, сочетание разных гидрофобных, гидрофильных и «адаптерных» фрагментов) приводит к тому, что в клетке обнаруживается до 1000 разновидностей липидных молекул. На рисунке показаны только некоторые основные типы липидов, встречающихся в биологических мембранах. Три наиболее распространенных фосфолипида, имеющих в основе своей структуры фосфатидную кислоту — это фосфатидил-этаноламин, фосфатидилхолин и фосфатидилсерин. Сфингомиелины характерны для животных клеток — в мембранах бактерий и растений они отсутствуют.

ЛИПИДЫ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН



ЛИПИДЫ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН



структурная формула
холестерина

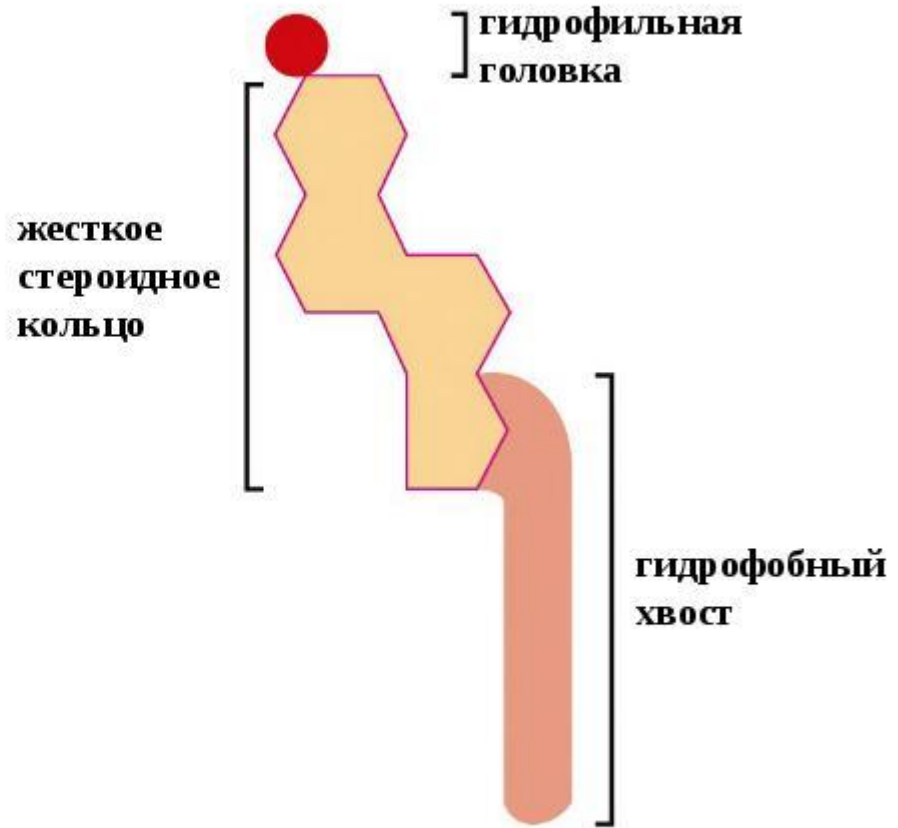


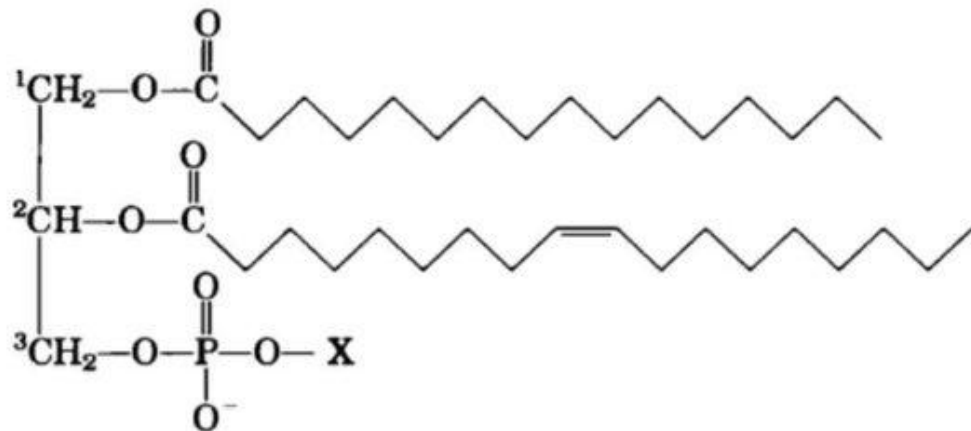
схема строения
холестерина

Мембраны архей



- Простые эфирные связи вместо сложноэфирных (всегда)
- Монослой вместо бислоя (приспособление к термофилии; не всегда)

Типичный липид бактерий и эукариот для сравнения →



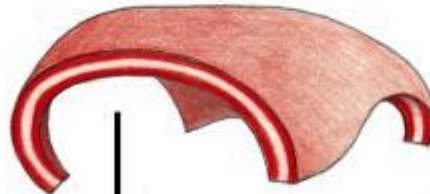
КЛЮЧЕВЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Замкнутость мембран

энергетически невыгодно



↓
плоская мембрана с открытыми для воды краями



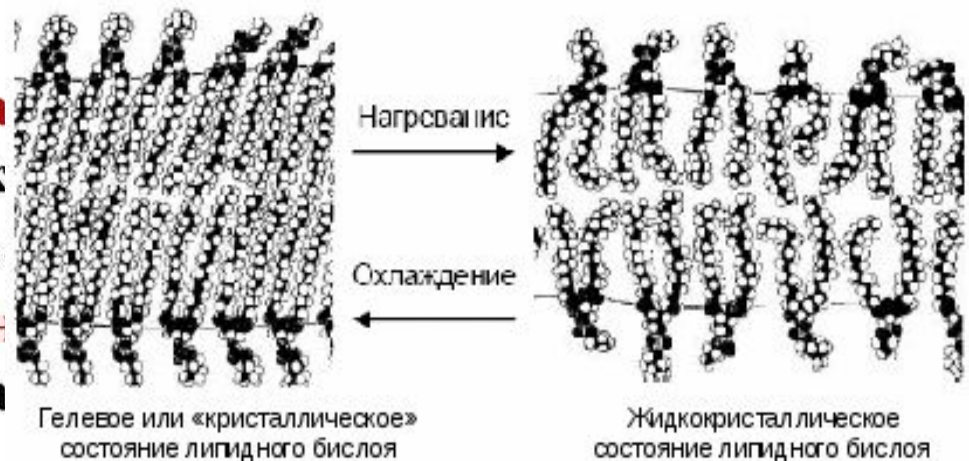
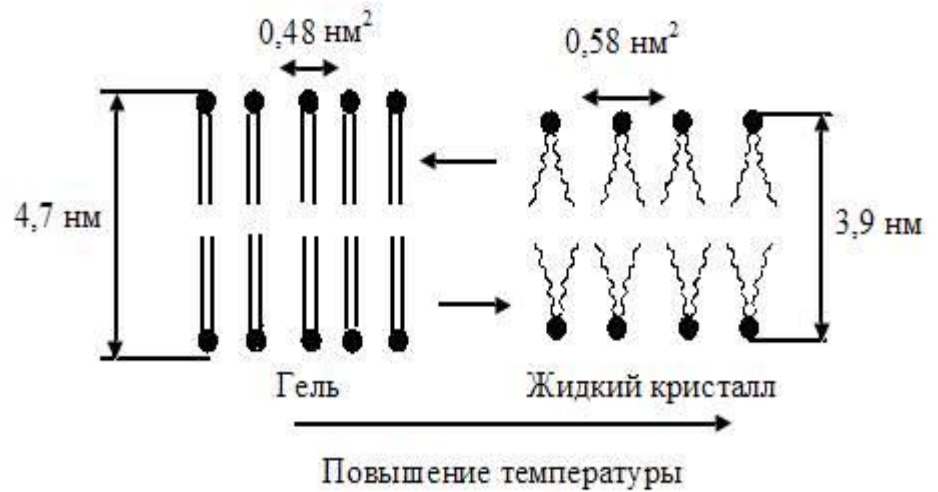
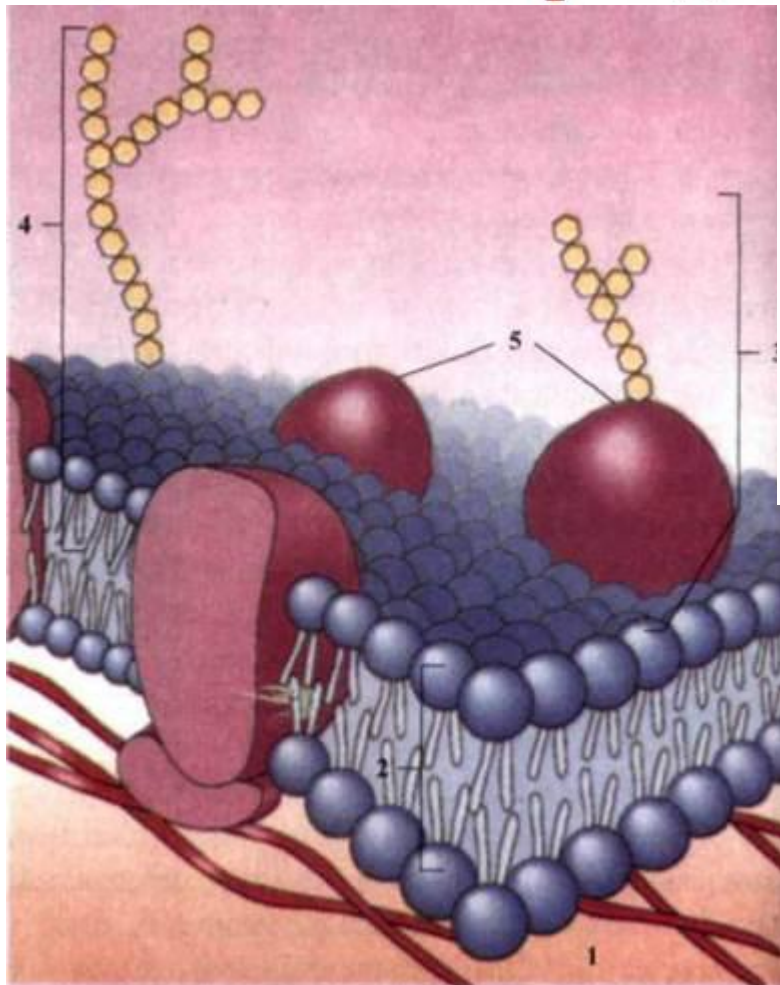
замкнутая мембрана

энергетически выгодно

Принципы организации липидного бислоя

- 1. Амфифильность** фосфолипидов.
- 2. Полиморфизм** липидов – способность образовывать агрегаты различных типов, которые могут переходить друг в друга.
- 3. Фазовые переходы** мембранных липидов.
- 4. Текучесть** (микровязкость) биомембран.
- 5. Латеральная гетерогенность** мембранных липидов.
- 6. Подвижность** мембранных липидов.
- 7. Трансбислойная асимметрия** липидов.

3. Фазовые переходы мембранных липидов



Точка фазового перехода или температура
плавления

Это такая температура, при которой 50%
липидов находятся в жидко-
кристаллическом состоянии, а 50%
липидов – в твердо-кристаллическом
состоянии

У теплокровных животных и человека точка
фазового перехода лежит в области
отрицательных температур

Мембранные липиды – мишень адаптации – **повышение ненасыщенности** жирнокислотных цепей мембранных липидов по мере продвижения к дистальному отделу конечности полярных животных и птиц

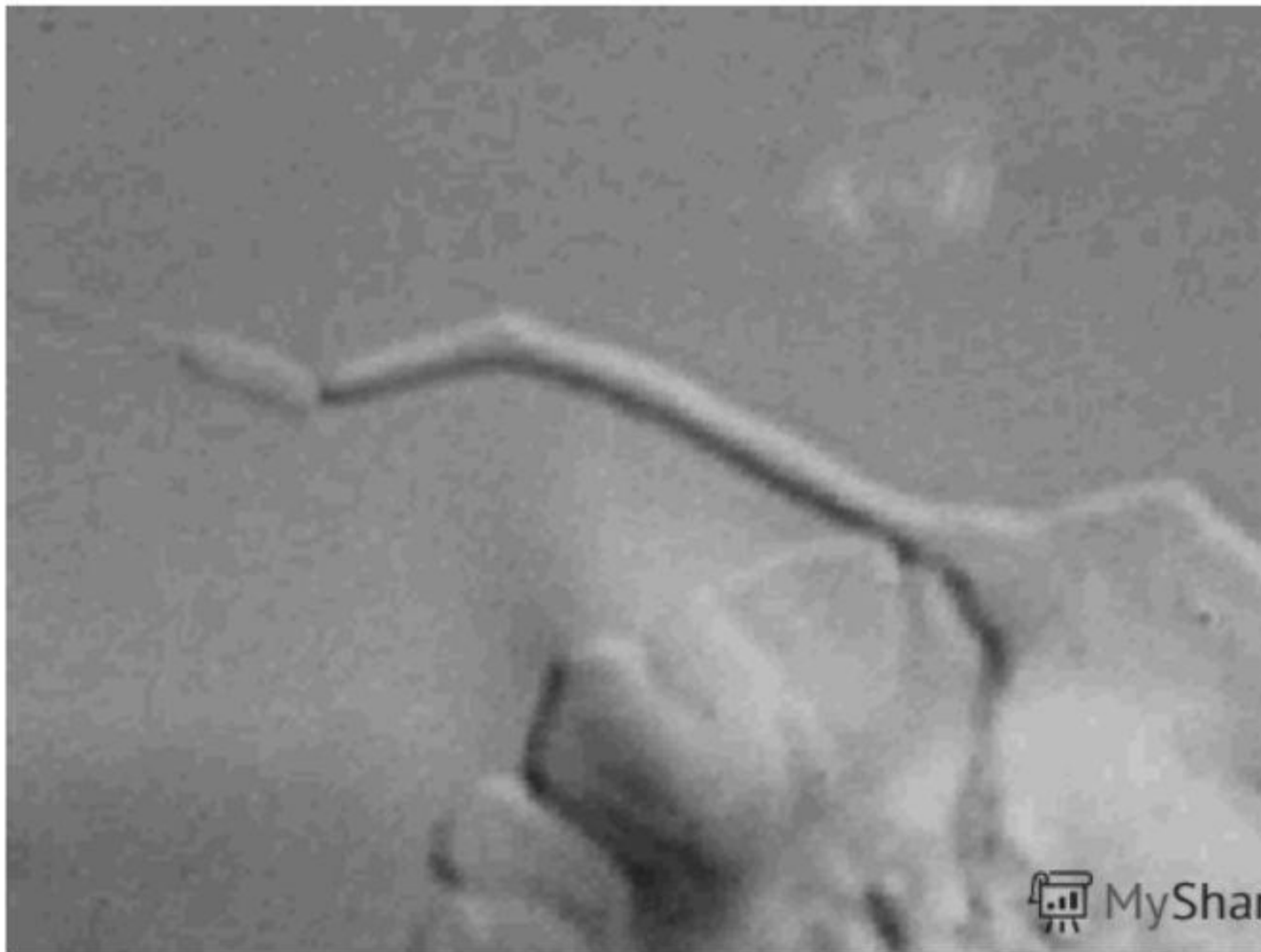


4. Текучесть (микровязкость) липидной фазы биомембран регулирует мембранные процессы.

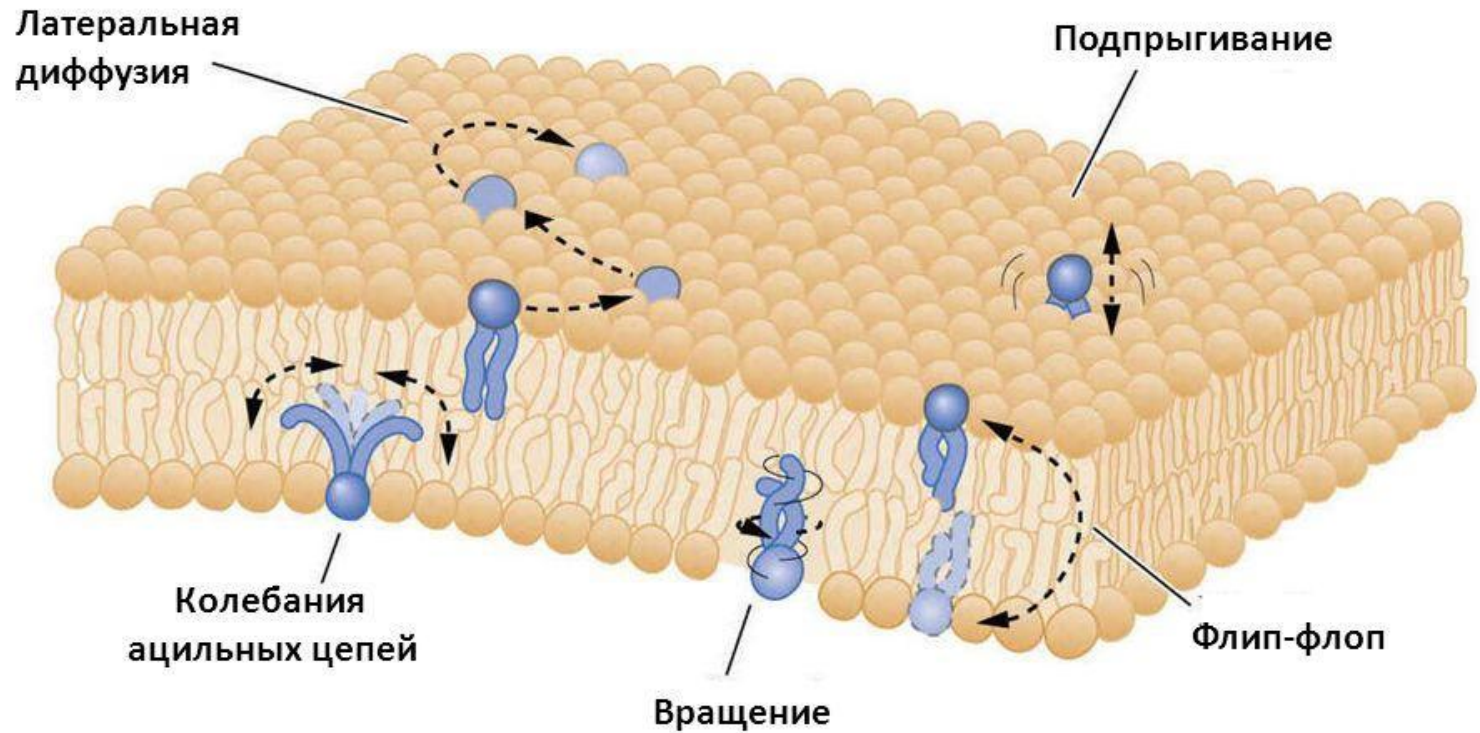
- 1. В физиологических условиях липиды мембран имеют жидко-кристаллическую структуру, что необходимо для нормального функционирования.**
- 2. Степень текучести мембран зависит от:**
 - длины жирнокислотных цепей и степени их ненасыщенности;**
 - соотношения фосфолипиды/стерины;**
 - взаимодействия между ФЛ и белками;**
 - физических факторов (t° , p , pH , потенциала)**

Текучесть липидной фазы мембраны обусловлена присутствием в углеводородных цепях большинства структурных фосфолипидов минимум одной ненасыщенной связи, понижающей температуру плавления липида. Проследить такое фазовое поведение достаточно просто на примере растительного масла и маргарина: первое при комнатной температуре жидкое (содержит жиры, включающие ненасыщенные жирные кислоты, — например, триолеин [$T_{\text{плавления}} = 5^{\circ}\text{C}$]), второй же, получаемый из растительного масла гидрированием, твердый (двойные связи ацильных цепей насыщены; для соответствующего насыщенного жира — стеарина — $T_{\text{плавления}} = 55^{\circ}\text{C}$ (!)). Полиненасыщенные жирные кислоты (в избытке присутствующие в рыбьем жире) обладают еще более уникальными свойствами: они поддерживают липидный матрикс мембран в «рабочем» состоянии в широком диапазоне температур, что позволяет рыбам быстро погружаться в холодные слои и всплывать обратно. Кстати, эти уникальные качества полиненасыщенных жирных кислот полезны и для человека.

Текучность клеточной мембраны

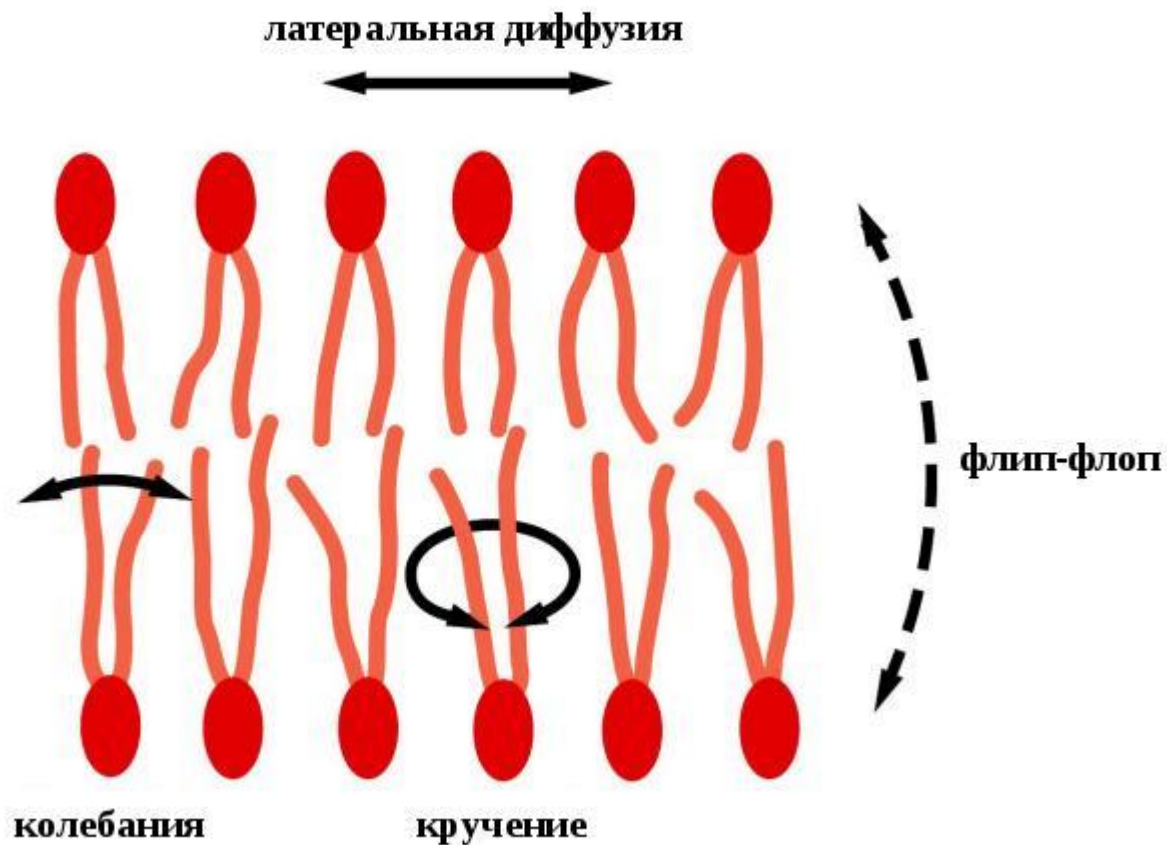


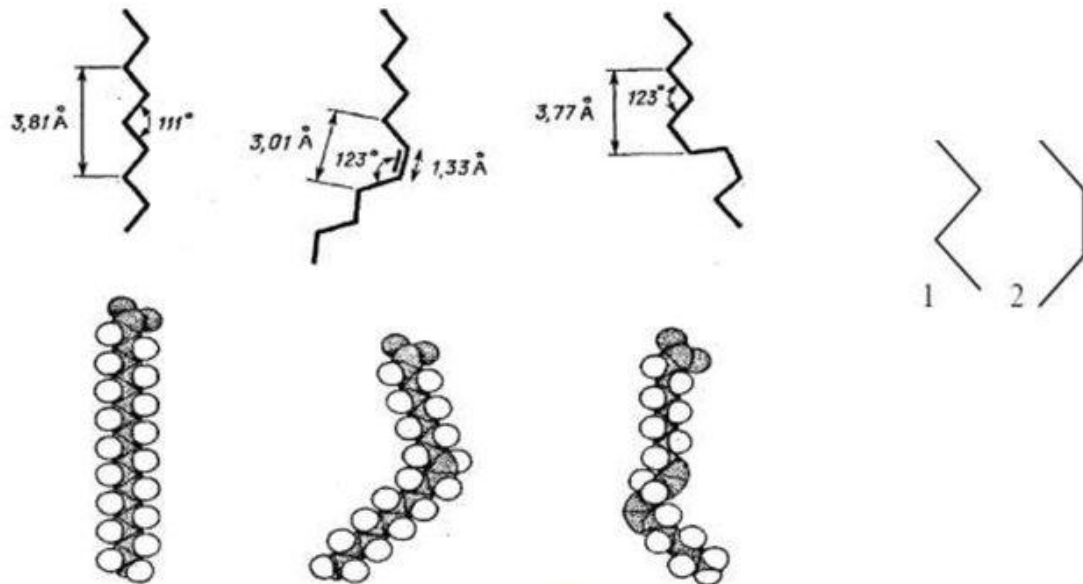
Подвижность фосфолипидов в бислое



КЛЮЧЕВЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

Формы подвижности липидов в мембране

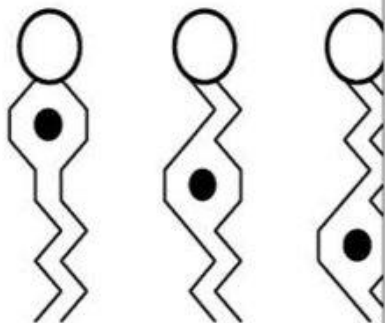




- 1- транс-конфигурация;
- 2- гош-конфигурация;
- 3- двойная гош-конфигурация.

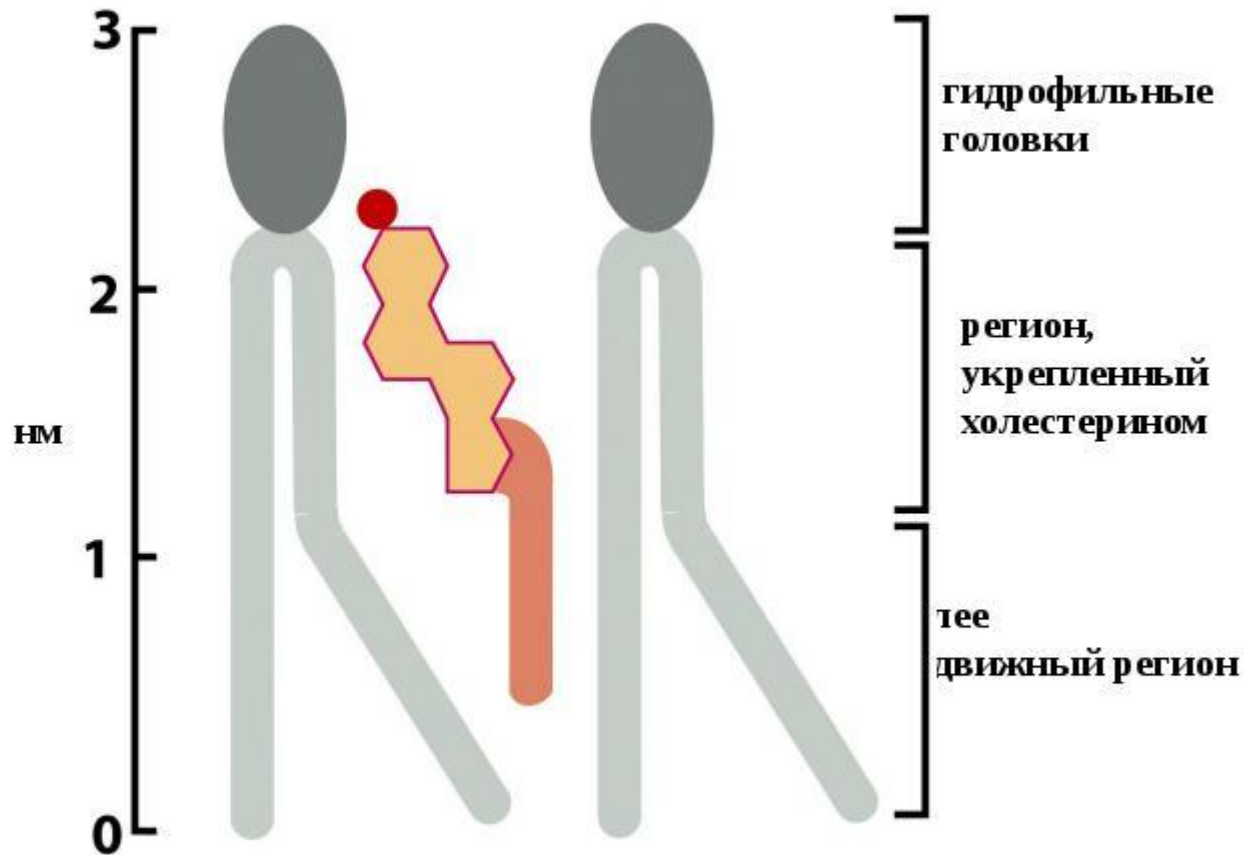
Рис. 13. Пространственная конфигурация жирных кислот

1 – насыщенная углеводородная цепь, 2 – ненасыщенная цепь в *цис*-конформации, 3 – насыщенная цепь в *гош*-конформации.



Ион перемещается, совершая скачки между петлями (кинками) жирнокислотных цепей

ЛИПИДЫ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН



5. Латеральная гетерогенность мембранных липидов.

Латеральная гетерогенность мембраны – это свойство бислойной мембраны образовывать неоднородные несмешиваемые микрофазы (рафты).

Распределение липидов и белков в плоскости мембраны не однородно, а, напротив, обладает характерной структурой, — это принято называть латеральной гетерогенностью. В мембранах клеток подобная самоорганизация обеспечивает сортировку мембранных белков в различные компартменты в пределах одной и той же поверхности, повышая эффективность взаимодействия белков между собой.

липидная компонента, будучи жидкой, тем не менее, способна образовывать частично изолированные области бислоя, обладающие особыми структурными свойствами. Эти участки представляют собой кластеры («островки») молекул липидов, сравнительно более упорядоченные и «твердые», чем окружающая их более «жидкая» фаза. В конце 1990-х такие кластеры получили название **рафтов**, и то же самое название было дано новой теории организации биологических мембран.

Сосуществование двух жидких липидных фаз — относительно более и менее упорядоченной — оказывается возможным, если липидная смесь содержит как минимум три компонента:

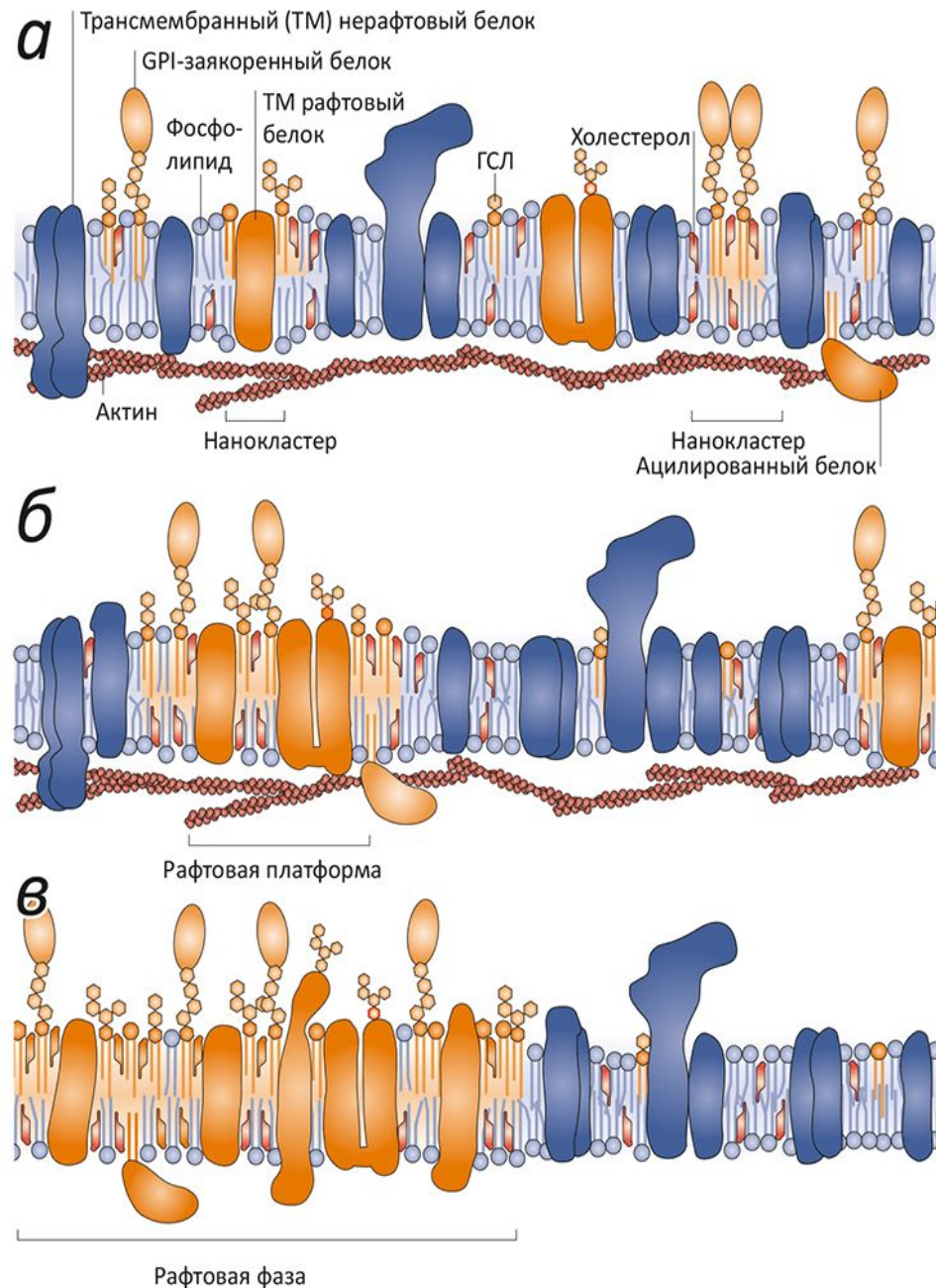
- «легкоплавкий» липид (низкая температура плавления, ненасыщенные хвосты),
- «тугоплавкий» липид (температура плавления выше физиологической, насыщенные хвосты и/или высокая склонность образовывать водородные связи с соседями),
- холестерол.

«Тугоплавких» липидов в эукариотической мембране немного, потому что иначе она была бы гелеобразной массой вроде маргарина: основным является сфингомиелин

Мембранные рафты – это маленькие (10-200 нм), гетерогенные липидные домены, обогащенные холестеролом, сфинголипидами, специфическими белками, более структурированные и упорядоченные, чем окружающая «жидкая» фаза, могут свободно перемещаться и образовывать «платформы»

Биологическая роль рафтов

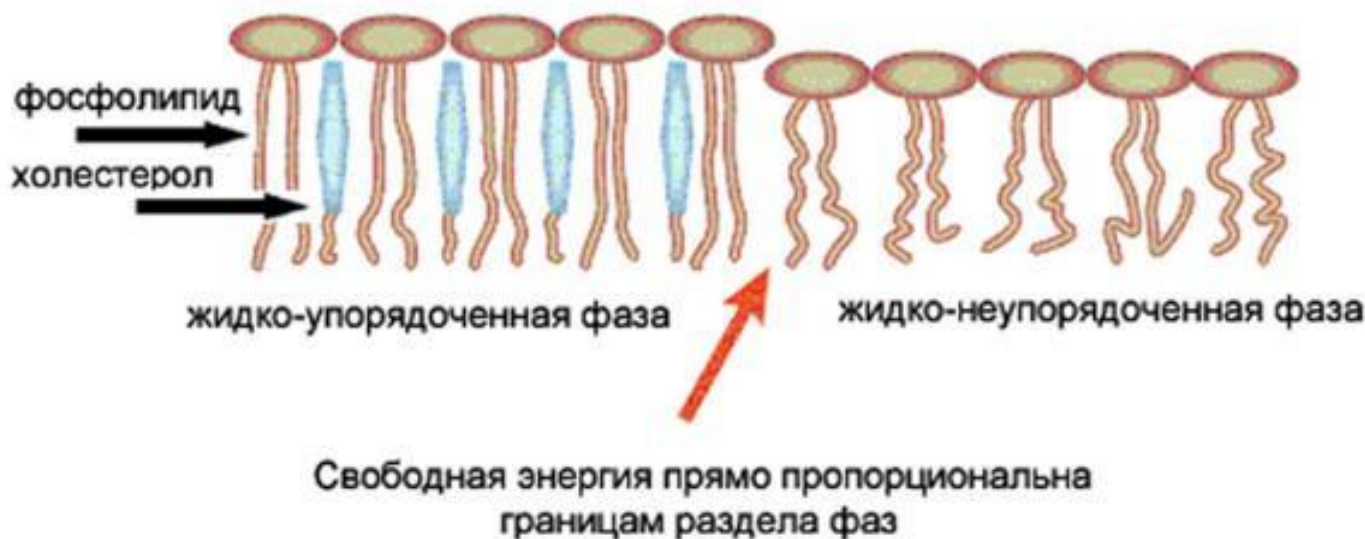
1. Группировка и сортировка белков для выполнения функций.
2. Деление клеток.
3. Везикулярный транспорт.
4. Способствуют проникновению вирусов в клетку и выходу из клетки.
5. Способствуют проникновению токсинов в клетку.



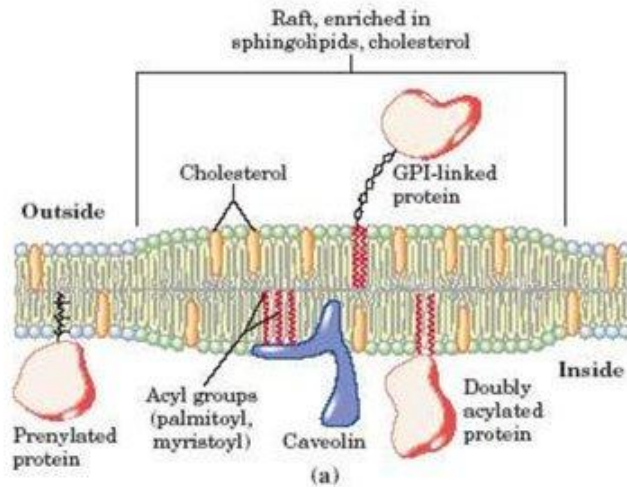
Рафтовые неоднородности в мембране различного масштаба. а

— Нанокластеры холестерина, сфингомиелина, гликосфинголипидов и белков плазматической мембраны различаются по составу. Считается, что в эти кластеры входят ГФИ-заякоренные белки, трансмембранные (ТМ) белки, специфичные для рафтов, и цитоплазматические белки, связанные с актиновыми филаментами. «Обычные» ТМ-белки *не* входят в состав рафтов. **б** — В ответ на внешние сигналы нанокластеры могут сливаться с образованием *рафтовой платформы*, важной для ТМ передачи сигналов и мембранного транспорта. **в** — Рафтовая фаза, видимая в микроскоп ($\varnothing \approx 1$ мкм), наблюдается исключительно в равновесных мембранных системах, таких как гигантские синтетические или мембранные везикулы. В «нативных» мембранах постоянный обмен веществом и энергией «дробит» рафтовую фазу до субдифракционных

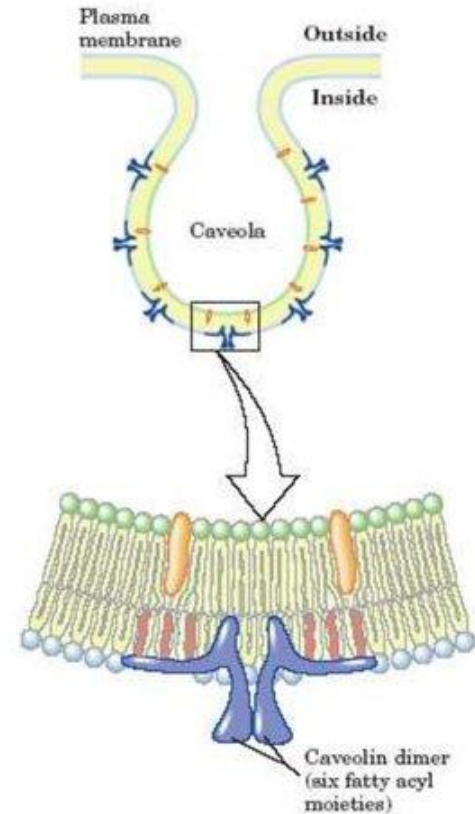
Структура рафтов в мембранах животных. Рафты - главным образом, липидные структуры - отвечают за биохимическую и структурную поляризацию клеток. Их количество в мембранах клеток эволюционно возрастает. У нематоды рафты найдены только в ограниченном числе типов клеток (Zurzolo et al., 2003).



Выделяют 2 типа липидных рафтов: планарные и кавеолы



Планарные рафты



Кавеолы

Недостатки жидкостно-мозаичной модели

- 1. Не все белки свободно диффундируют в жидком липидном бислое.**
- 2. Имеются отличия от классического липидного бислоя за счет **липидного полиморфизма**. Наблюдаются вариации толщины и образование небислойных структур.**
- 3. Наблюдается неоднородность мембраны за счет явления **латеральной гетерогенности** бислоя (рафты).**
- 4. Мембранные липиды имеют не меньшее значение, чем мембранные белки.**

Разрабатывается **метаморфно-мозаичная и **рафтовая** модели БМ**

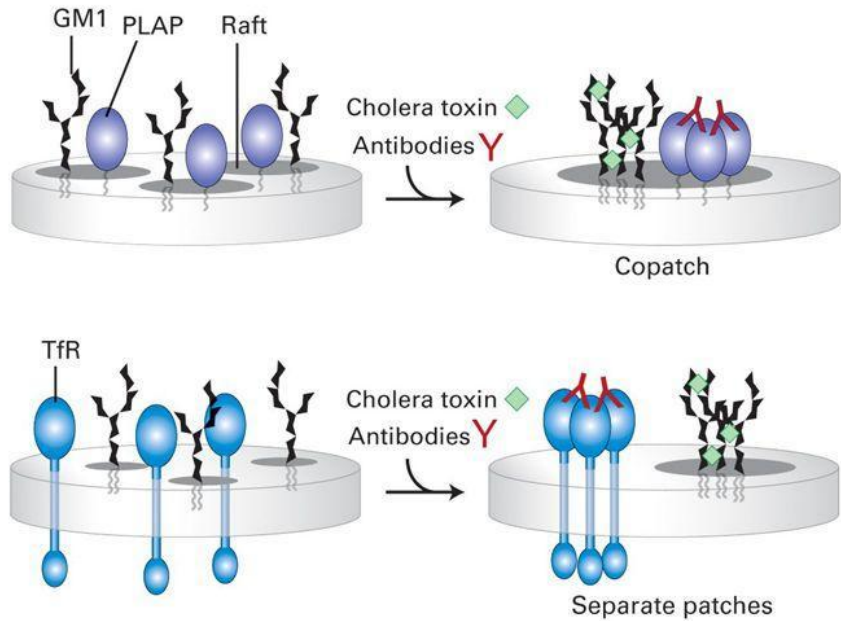
Состояние мембраны неравновесно. Оно может быть стационарным (когда концентрации разных липидов сохраняются примерно на том же уровне), но обязательно включает непрерывный обмен веществом (регенерация и «отпочковывание» участков мембраны). Таким образом, неравновесные диссипативные процессы играют важную роль не только в биохимии, но и в биофизике мембраны.

Рафты наряду с важной биологической ролью в определенных условиях становятся «тройским конем» для клетки

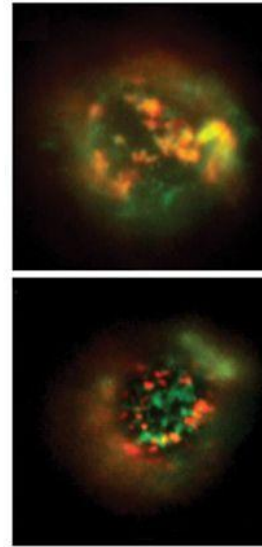


Перед тем, как снять осаду, нападающие сообщили троянцам, что построенный ими деревянный «конь» - это символ мира и приношение Афине в знак искупление грехов. И пока он будет стоять, они не нападут. Поздно ночью тридцать бойцов во главе с Одиссеем выбрались из «подарка» и открыли ворота города. В эту ночь Троя пала.

Холестерол и сфинголипиды вместе со специфическими белками образуют мембранные микродомены – рафты



GM1 – гликофинголипид
PLAP – placental alkaline phosphatase



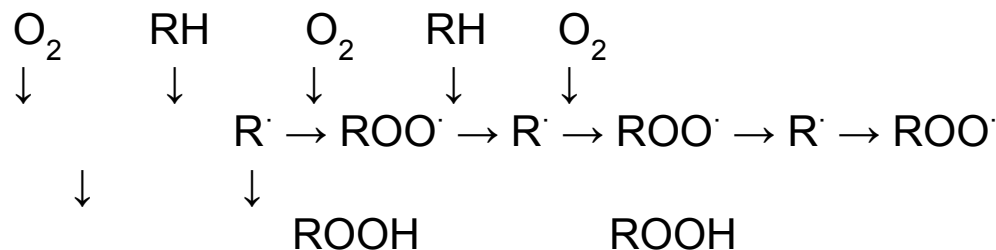
MyShared

Некоторые рафтовые липиды — «тройные кони» для бактериальных токсинов и вирусов. В частности, шигатоксин (токсин бактерий, вызывающих дизентерию) и холерный токсин, формируя пентамерный «бублик», захватывают рафтовые гликофинголипиды что провоцирует образование «впячиваний» мембраны в виде трубочек, что лежит в основе токсического действия этих микроорганизмов.

«Троянская» роль ганглиозидов подтверждается отсутствием токсичности и способности вируса проникать внутрь клетки при действии на синтетические аналоги этих ганглиозидов, имеющие более короткий жирный «хвост» и сортирующиеся не в рафтовую, а в жидкую неупорядоченную фазу (Ld, или, проще говоря, «обычную» мембрану).

Многие вирусы, покидая зараженную ранее клетку, облачаются в липидную оболочку — часть мембраны клетки-хозяина. Некоторые из них, в частности ВИЧ и вирус гриппа, «отпочковываются» от рафтовых участков мембраны, что приводит к тому, что вокруг их собственного нуклеокапсида образуется липидная «скорлупа», состоящая целиком из рафтовых липидов. Делается это, видимо, затем, чтобы в оболочку попали вирусные гликопротеины и не попадали ненужные вирусу мембранные белки клетки-хозяина. Опять же, эксперименты показывают, что «почкование» — процесс, зависящий от наличия холестерина и сфинголипидов, что подтверждает участие рафтовой фазы.

Ведущую роль в развитии многих патологий играет свободно-радикальное пероксидное окисление липидов (ПОЛ) мембран. Наиболее вероятным субстратом ПОЛ в организме являются ненасыщенные липиды. Процесс ПОЛ протекает по свободнорадикальному цепному механизму. Первичные свободные радикалы появляются в ходе реакции инициирования цепи - начального этапа ПОЛ. Иницирующими факторами ПОЛ в мембранах выступают ионизирующее и УФ-излучение, различные активные формы кислорода (АФК) и др. Сущность цепного процесса окисления состоит в чередовании двух реакций — образования пероксидного радикала липида $ROO\cdot$, а также гидропероксида $ROOH$ и нового радикала липида $R\cdot$:



Таким образом, в процесс вовлекаются все новые молекулы липида (RH) и кислорода, при этом накапливаются гидропероксиды, а число радикалов $R\cdot$ и $ROO\cdot$ не изменяется в соответствии с принципом неумножимости свободной валентности.