

Seminar – 9a

Struktura i dinamika membrana

Boris Mildner

Rješenja zadatke 8.

1.	C	11.	C
2.	D	12.	A
3.	D	13.	B
4.	B	14.	A
5.	A	15.	B
6.	C	16.	B
7.	B	17.	B
8.	B	18.	D
9.	C	19.	A
10.	D	20.	A

1. Obzirom na gibanja malih molekula kroz lipidni dvosloj, koeficijent permeabilnosti može korelirati s:

- a) veličinom molekule;
- b) interakcijom molekule s polarnim čeonim skupinama;
- c) topljivosti molekule u nepolarnim otapalima.

2. Najčešći oblik kako se integralni membranski proteini protežu kroz membranu su:

- a) α -uzvojnice;
- b) strukture β -nabranih ploča;
- c) jednostruki lanci koji nemaju čvrstu sekundarnu strukturu.

3. Koji se sastojci membrane i na koji se način oni najbrže kreću u membranskim dvoslojevima?

- a) fosfolipidi, lateralnom difuzijom;
- b) flip-flop gibanje fosfolipida (rotacija lipida između dva membranska sloja);
- c) flip-flop proteina (rotacija proteina između dva sloja).

4. Koji od navedenih čimbenika čini membranu uređenijom i manje tekućom strukturom?

- a) prisustvo najmanje jedne cis dvostruke veze u ugljikovom lancu fosfolipida;
- b) povećanje temperature do ili preko točke taljenja;
- c) prisustvo kolesterola.

5. Debljina lipidnog membranskog dvosloja iznosi koliko molekula?

- a) jedna;
- b) dvije;
- c) beskonačno mnogo.

6. Ugljikohidrati koji su vezani za membrane:

- a) uvijek se nalaze na citoplazmatskoj strani membrane;
- b) uvijek se nalaze između dva lipidna sloja;
- c) uvijek se nalaze na egzoplazmatskoj (ekstracelularnoj) strani membrane.

7. Fluidnost membrane ovisi o:

- a) postotku lipida koji sadrže kolin;
- b) postotku glikolipida;
- c) postotku nezasićenih masnih kiselina.

8. Najčešća sekundarna struktura proteina koja prodire kroz membrane su:

- a) α -uzvojnice koje izgrađuju nepolarne aminokiseline;
- b) α -uzvojnice izgrađene od polarnih aminokiselina koje izgrađuju kanale zbog mnogobrojnih vodikovih veza između uzvojnica;
- c) α -uzvojnice koje se međusobno uvijaju te čine trostruke uzvojnice.

9. Rijetka rotacija proteina ili lipida između dva lipidna sloja (flip-flop) doprinosi da membrane sačuvaju:

- a) fluidnost;
- b) točku taljenja (mekšanja);
- c) asimetriju.

10. U polarne čeone skupine membranskih lipida spadaju:

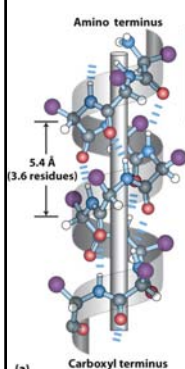
- a) Serin, inozitol, sorbitol, kolin.
- b) Serin, inozitol, kolin, etanolamin;
- c) Treonin, inozitol, kolin, sorbitol.

Zadatak 1.

Glikoforin A je glikoprotein koji se proteže kroz membranu eritrocita. Dio polipeptida koji prolazi kroz membranski dvosloj je α -uzojnica koju izgrađuje 19 aminokiselina. Koja je debljina dvosloja kroz koji se proteže ovaj dio proteina?

Unutrašnjost dvosloja izgrađju nepolarni acilni lanci. Koje od 20 aminokiselina očekujete da su dio α -uzvojnice koja se proteže kroz dvosloj?

Rješenje zadatka 1.



(a)
Figure 4-4
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

a)

U α -uzvojnici $5,4 \text{ \AA} = 3,6 \text{ aminokiselina} = 1,5 \text{ \AA/aminokiselini}$.

$19 \times 1,5 \text{ \AA} = 28,5 \text{ \AA} = 2,9 \text{ nm}$.

b)

Za očekivati su nepolarne aminokiseline: Phe, Ile, Leu, Val, Met, Ala.

Zadatak 2.

Poredajte dolje navedene supstancije prema lakoći difuzije kroz lipidni dvosloj. Poredajte ih od naj-permeabilnije prema naj-nepermeabilnijoj.

- a) urea;
- b) triptofan;
- c) H_2O ;
- d) Na^+ ;
- e) glukoza.

Rješenje zadatka 2.

c>a>b>e>d

H_2O > $(NH_2)_2CO$ >triptofan>glukoza> Na^+ .

Zadatak 3.

Zašto je α -uzvojnica preferirani segment transmembranskog proteina koji prolazi kroz lipidni dvosloj?

Rješenje zadatka 3.

Transmembranski segment najčešće izgrađuju nepolarne aminokiseline. Peptidni lanac ima CO i NH skupine koje su polarne i teže ka stvaranju vodikovih veza s vodom. U α -uzvojnici ove skupine stvaraju vodikove veze jedna s drugom, pa se polarnost smanjuje što omogućava segmentu proteina da se insertira (ugradi) u lipidni dvosloj.

Zadatak 4.

Poznato je da duljina lanca i broj nezasićenih veza u membranskom dvosloju utječe na temperaturu taljenja (mekšanja) T_m .

a) T_m za fosfatidilkolin koji ima dva acilna lanca od 12-C atoma iznosi $-1\text{ }^\circ\text{C}$. Vrijednosti T_m za fosfatidilkoline s duljim acilnim lancima povećava se za oko $20\text{ }^\circ\text{C}$ kada im se produljuje acilni lanac za 2-C atoma. Objasnite zašto je to tako.

b) pretpostavite da imate fosfatidilkolin koji ima palmitoilnu skupinu esterificiranu na C-1 glicerola, a oleilna skupina je esterificirana na C-2 glicerola. Kakva će biti T_m ovog fosfatidilkolina u odnosu na fosfatidilkolin esterificiran s dvije palmitinske kiseline?

c) Pretpostavite da imate sfingomijelin koji je amidiran s palmitatom. Usporedite T_m ovog fosfolipida s T_m dipalmitoilfosfatidil kolinom.

Rješenje zadatka 4.

- a) Što je dulja acilna skupina to je veći broj nekovalentnih interakcija između dva acilna lanca. Zbog toga je potrebna viša temperatura za prekidanje interakcija (veza) između duljih masnih kiselina fosfolipida.
- b) Palmitinska kiselina je 16-C, a oleinska, *cis* 18 :1 (Δ^9). *Cis*- dvostruka veza uzrokuje pregib (koljeno) u ugljikovodikovom lancu te dolazi do smanjenog broja hidrofobnih interakcija. Zbog toga je potrebno manje toplinske energije koja bi dovela do promjena faza. Eksperimentalno je nađeno da je T_m fosfatidilkolina esterificiranog s jednom palmitinskom i jednom oleinskom kiselinom $-5\text{ }^\circ\text{C}$, a za dipalmitoilfosfatidil kolin, $T_m = 41\text{ }^\circ\text{C}$.
- c) Strukture fosfatidilkolina i sfingomijelina su vrlo slične. Obje sadrže fosfatidilkolin i obje imaju dva ugljikovodična lanca. Kako su duljine lanaca u sfingomijelinu i dipalmitoilfosfatidil kolinu gotovo identične, za očekivati je da su im i T_m slične. Eksperimentalno je nađeno da su i jednom i drugom spoju $T_m = 43\text{ }^\circ\text{C}$.

Zadatak 5.

Kod sisavaca, lizofosfogliceridi (1-monoacilglicerol-3-fosfati) nastaju u malim količinama i to zato kako bi omogućili neki fiziološki odgovor. Hidrolizom acilne skupine masne kiseline s položaja C-2 glicerofosfolipida nastaje lizofosfoglicerid. Reakciju katalizira fosfolipaza A_2 i ta reakcija je pod strogom kontrolom. Velike količine fosfolipaze A_2 nađene su u zmijskim otrovima, te aktivni zmijski otrov može proizvesti velike količine lizofosfoglicerida u membranama jedinki koje je ugrizla zmija. Lizofosfogliceridi su nazvani po tome što njihova velika koncentracija dovodi do urušavanja membranske strukture. Objasnite zašto se to događa.

Rješenje zadatka 5.

Glicerofosfolipidi sadrže dvije esterificirane masne kiseline na glicerolu, a na treću hidroksilnu skupinu glicerola vezana je polarna čeona glava. Kada fosfolipaza A_2 ukloni jednu masnu kiselinu polarna skupina je prevelika u odnosu na jednu jedinu masnu kiselinu, te dolazi do poremećaja u strukturi lipidnog sloja. Pravilan raspored ugljikovodikovih "repova" je prekinut te dolazi do lize membrana.

Zadatak 6.

Helikalno kolo je dvo-dimenzionalni prikaz α uzvojnice, tj. pogled duž središnje osi uzvojnice. Koristite ovaj dvo-dimenzionalni prikaz kako bi odredili raspored aminokiselinskih ostataka u segmentu uzvojnice kojoj je primarna struktura:

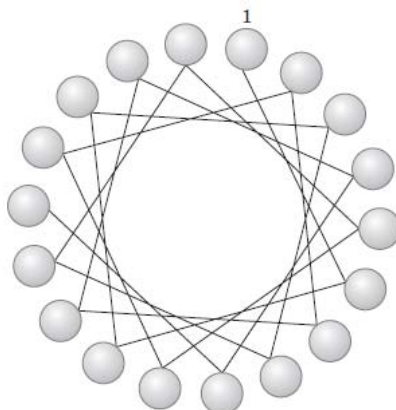
-Val-Asp-Arg-Val-Phe-Ser-Asn-Val-Cys-Thr-His-Leu-Lys-Thr-Leu-Gln-Asp-Lys-, odnosno:

-V-D-R-V-F-S-N-V-C-T-H-L-K-T-L-Q-D-K-

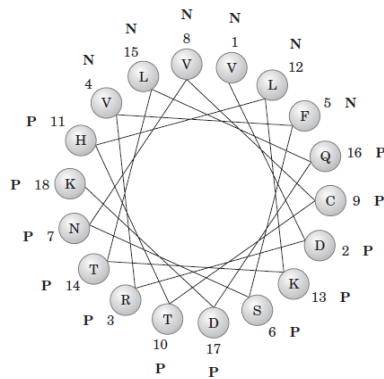
Koliko zavoja ima ova uzvojnica? Što možete reći o površini uzvojnice? Kako bi se uzvojnica mogla orijentirati u terciarnoj strukturi integralnog membranskog proteina?

Zadatak 6. (nastavak)

Prikaz helikalnog kola



Rješenje zadatka 6.



- a) 18 aminokiselinskih ostataka/3,6 aminokiselinska ostataka po zavoju = 5 zavoja.
- b) α -uzvojnica ima 3,6 a.k. ostataka po zavoju, tako da se svaki ostatak nalazi za 100° oko središnje osi od prethodnog ostatka ($360^\circ/\text{zavoju}$)/ ($3,6 \text{ a.k. ostataka/zavoju}$) = 100° . Da se dovrši dijagram slijedite ravne crte koje povezuju ostatak 1 s ostatkom 2 i td. Tada koristite danu sekvencu i obilježite s jednoslovčanim kraticama svaku aminokiselinu te označite karakteristike bočnih ostataka kao polarne (P) ili kao nepolarne (N).

Rješenje zataka 6. (nastavak)

Iz dijagrama je vidljivo da "gornji" dio uzvojnice tvore samo hidrofobni bočni ostaci, dok preostali dio površine uzvojnice grade polarni ili nabijeni bočni ostaci aminokiselina. Zbog toga je ova uzvojnica amfipatična.

Ako je to dio integralnog membranskog proteina za očekivati je da je hidrofobni dio uzvojnice "uronjen" u lipidni dvosloj, a da hidrofilni dio uzvojnice "strši" u vodeni dvosloj. Druga mogućnost za integralni membranski protein je da je to samo jedna od podjedinica koja čini nakupinu oko svojih hidrofilnih aminokiselinskih ostataka, tako da su u tom kompleksu hidrofobne aminokiseline okrenute prema lipidnom dvosloju, a hidrofilne podjedinice grade središnji dio kompleksa.

Zadatak 7.

Predvidite koji utjecaj će imati povišenje temperature na strukturu membrana bakterija ako se temperatura inkubacije poveća s 37 °C na 42 °C.

Rješenje zadatka 7.

Povećanje temperature povećati će fluidnost membrana. Kako bi spriječile da membrane ne postanu previše fluidne bakterije će početi ugrađivati u membrane duže zasićene masne kiseline.

Zadatak 8.

Male životinje koje hiberniraju mogu podnijeti da im temperatura tijela tijekom hibernacije bude između 0 – 5 °C. Masne kiseline većine životinja imaju temperaturu taljenja (mekšanja) oko 25 °C. Predvidite kako se sastav masti hibernirajućih životinja razlikuje od sastava masnih kiselina životinja koje ne hiberniraju.

Rješenje zadatka 8.

Hibernatori su biljojedi i zbog toga imaju veliki dio višestruko nezasićenih masnih kiselina koje imaju nisku temperaturu taljenja.

Zadatak 9.

Koja je razlika u načinima izolacije perifernih i integralnih membranskih proteina.

Rješenje zadatka 9.

- a) Periferne membranske proteine možemo ekstrahirati solima, kelirajućim reagensima ili promjenama pH a da pri tome ne razorimo strukturu membrane.
- b) Integralne membranske proteine možemo izolirati samo ako razorimo membranu a za potpuno izolaciju proteina (odvajanje proteina od lipida) moramo koristiti neionske detergente kako bi izolirali funkcionalni protein.

Zadatak 10.

Sve biološke membrane su asimetrične. Koja je energetska osnova ove asimetrije?

Rješenje zadatka 10.

Kako bi obje strane postale identične, hidrofilne skupine i lipida i proteina trebale bi proći kroz membranu. Prema tome energetska barijera je ona koja neomogućava prodiranje (prolaz) hidrofilnih skupina kroz membranski dvosloj.