

## **Biološke membrane, struktura i dinamika**

B. Mildner

- **Biološke membrane definiraju staničnu dimenziju, dijele stanice u zasebne odjeljke, omogućavaju provedbu kompleksnih reakcijskih putova, a sudjeluju u primanju signala i pretvorbi energije.**

## Biołške membrane

Membrane se sastoje od razliĉitih kombinacija lipida i proteina, ovisno o vrsti organizma, vrsti stanice ili vrsti organele.

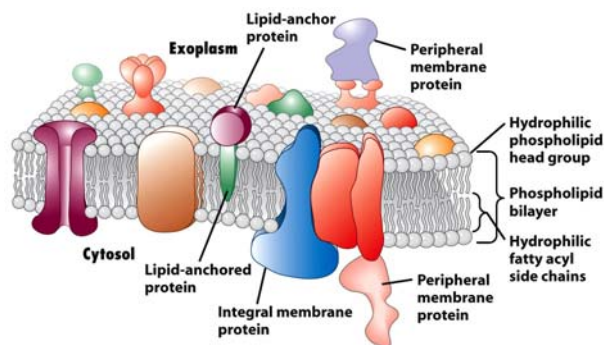


Figure 10-1  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Model tekućeg mozaika biołške membrane. Dvosloj lipida debljine od približno 3 nm (30Å) je osnovna građevna jedinica staniĉne membrane.

## Biołške membrane

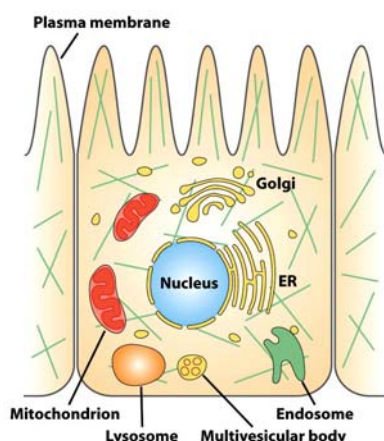


Figure 10-2  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

### Staniĉne membrane.

Plazmatska membrana definira volumen stanice i kontrolira kretanje molekula između citosola i van staniĉnog okruženja. Razliĉite vrste organela i malih vezikula okružene su vlastitim (specifiĉnim) membranama te provode specifiĉne funkcije kao što su ekspresija gena, proizvodnja energije, sinteza membrana i intracelularni transport.

## Biološke membrane

- Osnove vrste membranskih lipida su **fosfogliceridi**, **sfingolipidi**, **glikolipidi (glikosfingolipidi)** i **steroli (kolesterol kod kralježnjaka)**.
- **Membranski lipidi spontano stvaraju dvosloje u vodenim otopinama.**

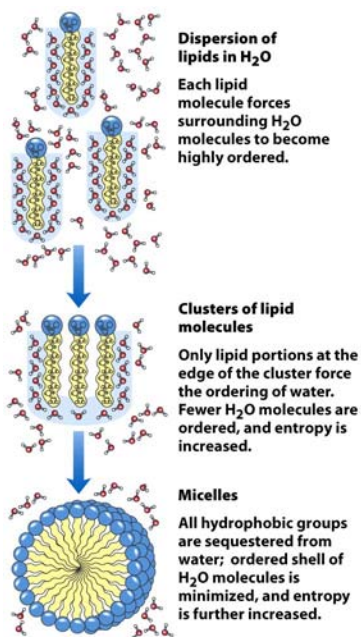


Figure 2-7b  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Biološke membrane

Lipidi spontano stvaraju micle ili vezikule.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Glavna sila koja pokreće stvaranje membrana je hidrofobni efekt. Lipidni slojevi su kooperativne strukture koje se međusobno drže zajedno mnogobrojnim slabim vezama.

## Biološke membrane

U vodi nastaju amfipatične strukture

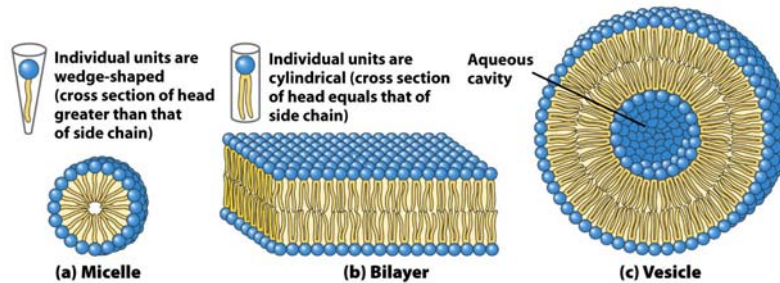
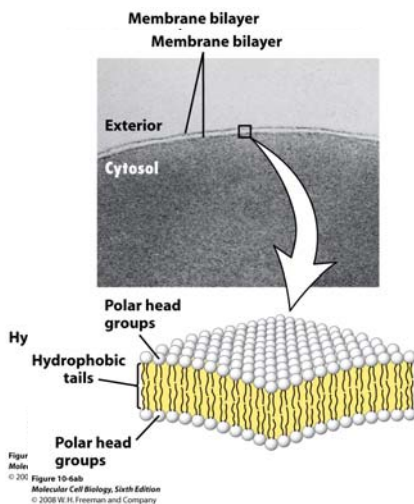


Figure 11-4  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Lipidni dvosloji su vrlo nepropusni za ione i većinu polarnih i nabijenih molekula, ali su fluidne strukture što im omogućava da budu otapala membranskim proteinima.

## Biološke membrane

Fosfolipidni dvosloj može biti u jednoj ravlini (nestabilan) ili može tvoriti micelle i liposome.

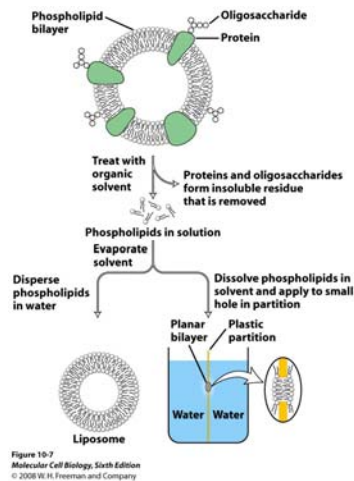


Elektronska mikrofografija prereza stanične membrane eritrocita koja je obojena osmijevim tetroksidom (specifično reagira s polarnom "glavom").

Shematski prikaz fosfolipidnog dvosloja. Hidrofobni efekti i van der Waalsove interakcije između lanaca masnih kiselina održavaju strukturu dvosloja.

## Bioške membrane

Fosfolipidi bioloških membrana mogu se eksperimentalno proučavati



- Ako se na stanične membrane djeluje organskim otapalom (npr. kloroform:metanol = 3:1) otapaju se lipidi, a proteini i ugljikohidrati se talože. Organsko otapalo se upari. Ako se lipidi mehanički dispergiraju u vodenom mediju (puferu) spontano nastaju liposomi. Dvosloj u jednoj ravnini ("ravni list") može nastati između male pukotine koja odvaja dvije vodene faze. Ovakvi dvosloji mogu se koristiti za proučavanje difuzije otopina kroz membranu.
- Eksp. dokazano:
- **membrane su slabo propusne za vodu**
- **stvaraju stabilne strukture**
- **strukture fosfolipida nastaju spontano**

## Bioške membrane

- Fosfolipidni dvosloj je osnovna struktura svih bioloških membrana. To je dvodimenzionalni lipidni dvosloj koji se sastoji od dvije vanjske hidrofilne strane i hidrofobne unutrašnjosti. "Čisti" lipidni dvosloj **slabo je propustan** za supstancije i ione topljive u vodi.

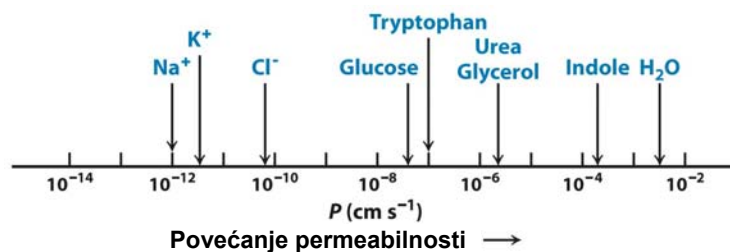
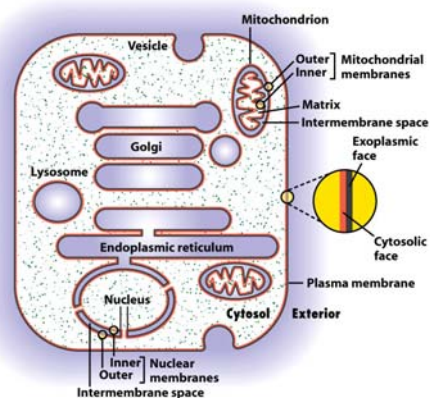


Figure 12-15  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

## Bioleške membrane

### Lipidni dvosloj membrana topološki je orijentiran



Plazmatska membrana odjeljuje stanicu od citoplazme (zelene točke) i van staničnog prostora (ekstracelularni ili egzoplazmatski prostor) koji je označen ljubičasto. Jedan sloj membrane orijentiran je prema citoplazmi (crveno), a drugi, vanjski, egzoplazmatski, označen je crnom crtom. Organele i vakuole koje su okružene jednom membranom uvijek imaju jedan lipidni sloj koji je okrenut citoplazmi (crveno) a drugi koji je okrenut u unutrašnjost organele i koji je topološki identičan vanjskom (egzoplazmatskom) sloju plazmatske membrane. Tri organele, jezgra, mitohondrij i kloroplasti (nije prikazano) okruženi su dvostrukim membranama između kojih je tanki međumembranski prostor. Egzoplazmatske strane unutarnjih i vanjskih membrana ovih organela orijentirane su u međumembranski prostor.

## Bioleške membrane

- Različite stanične membrane razlikuju se po sastavu lipida.
- Fosfolipidi i sfingolipidi asimetrično su raspoređeni u dva lipidna sloja, dok je kolesterol gotovo ravnomjerno raspoređen u oba.
- Sastav lipida utječe na fizikalna svojstva membrana. Prirodne membrane su viskozne i imaju svojstva slična tekućinama. Općenito, fluidnost membrana smanjuju sfingolipidi i kolesterol, a fosfogliceridi je povećavaju.
- Sastav lipida membrane određuje debljinu i zakrivljenost membrane.

## Biološke membrane

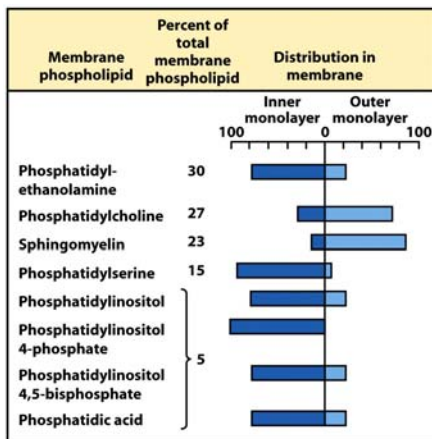


Figure 11-5  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Asimetrična distribucija fosfolipida u untrašnjem i vanjskom sloju plazmatske membrane eritrocita

## Biološke membrane

Sastav lipida utječe na debljinu i zakrivljenost membrane

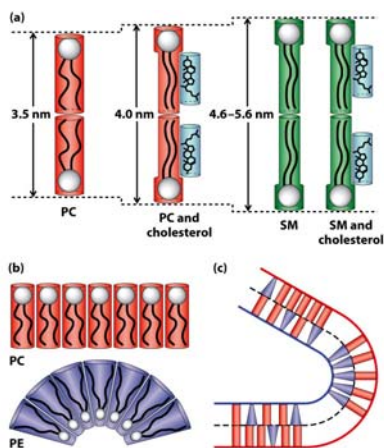


Figure 10-13  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

- a) Dvosloj sfingomijelina je deblji od dvosloja fosfoglicerida kao što je fosfatidilkolin (PC). Kolesterol utječe na uređenje dvosloja PC, ali ne utječe na uređenje i debljinu dvosloja SM (sfingomijelina).
- (b) Fosfolipidi kao što je PC tvore uglavnom ravne monoslojeve, dok fosfolipidi s manjim polarnim glavama kao što su to PE (fosfatidiletanolamini) tvore zavoje (c).
- Dvosloj obogaćen s PC u egzoplazmatskom sloju a obogaćen s PE u citoplazmatskom sloju, kao što je to slučaj kod mnogih prirodnih membrana, biti će spontano zakrivljen.

## **Biološke membrane**

- Asimetrija lipida u dvosloju nastaje zbog sinteze lipida u ER i Golgiju.
- Sfingomijelin se sintetizira na luminalnoj strani (egzoplazmatskoj) Golgijevog kompleksa koja postaje egzoplazmatska strana plazmatske membrane.
- Nasuprot tome, fosfogliceridi se sintetiziraju na citoplazmatskoj strani ER koja je topološki identična citoplazmatskoj strani plazmatske membrane.

## **Biološke membrane prijenos lipida između membrana**

- Eksperimentalni podaci upućuju da postoji vezikularni transport lipida između pojedinih membrana koji ne ovise o Golgijevom kompleksu.
- Transport kolesterola i fosfolipida omogućavaju direktni kontakti između dvije membrane a proces reguliraju proteini, topljivi proteinski nosači kao i procesiranje lipida u Golgijevom kompleksu.



## Biološke membrane

pretpostavljeni mehanizam prijenosa fosfolipida i kolesterola između membrana

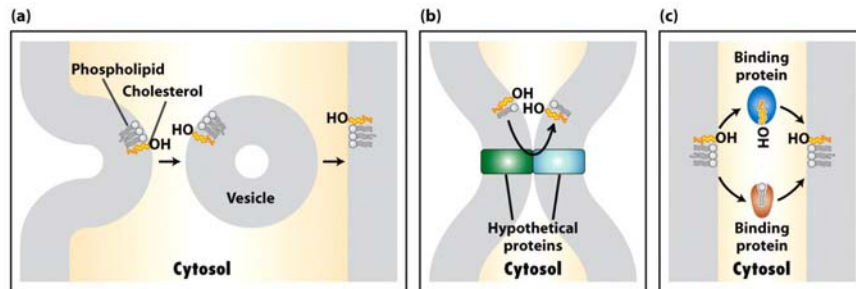


Figure 10-27  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

- a) Vezikule prenose lipide između membrana; b) prijenos lipida je posljedica direktnog kontakta između membrana; c) prijenos omogućavaju mali topljivi proteini koji prenose lipide.

## Biološke membrane

- Kako su lipidi nepropusni za većinu tvari, **proteini** vrše transport, signalizaciju, i ostale funkcije.

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

- Biološke membrane obično sadrže transmembranske proteine (integralne proteine), usidrene i periferne membranske proteine koji dolaze u kontakt sa središnjim hidrofobnim slojem membrane.

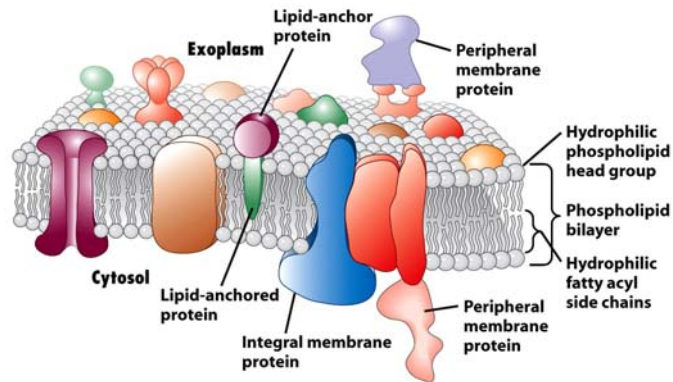


Figure 10-1  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

### Glavne komponente plazmatskih membrana nekih organizama

	komponente (težinski %)				
	protein	fosfolipid	sterol	vrsta sterola	drugi lipidi
humana mijelinska ovojnica	30	30	19	kolesterol	galaktolipidi, plazmalogeni
jetra miša	45	27	25	kolesterol	-
list kukuruza	47	26	7	sitosterol	galaktolipidi
kvasac	52	7	4	ergosterol	triacilgliceroli, esteri sterola
<i>E. coli</i>	75	25	0	-	-

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

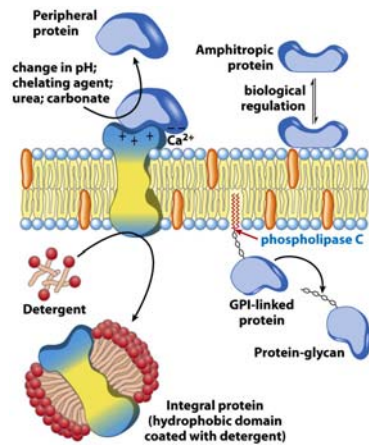


Figure 11-6  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

- Tri su osnovne vrste membranskih proteina (periferni, integralni i amfitropni)

**Periferni membranski proteini** labavo su povezani s membranom putem ionskih i vodikovih veza ili kovalentno, lipidnim sidrima. **Integralni proteini** čvrsto su povezani s membranama hidrofobnim vezama između lipidnog dvosloja i nepolarnih aminokiselinskih ostataka koji su orijentirani na vanjsku stranu proteinske molekule. **Amfitropni proteini** povratno (reverzibilno) se vežu na membrane.

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

- Većina **integralnih membranskih proteina** sadrže jednu ili više hidrofobnih  $\alpha$ -uzvojnica koje prodiru kroz membranu. Hidrofilni krajevi ovih proteina protežu se u citosolni i egzoplazmatski prostor.
- Neki integralni membranski proteini samo su djelomično uronjeni u membranu.

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

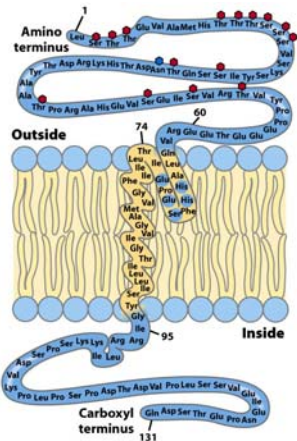


Figure 11-7  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

**Struktura glikoforina.** a) Shema dimera glikoforina. 23 ak ostatka čine  $\alpha$ -uzvojnica. Uzvojnica čine hidrofobni bočni ostaci aminokiselina. Pozitivno nabijeni bočni ostaci Lys i Arg vežu se za negativno nabijene fosfolipide i time sidre (vežu) glikoforin za membranu. Egzoplazmatska i citoplazmatska domena proteina bogate su nabijenim i polarnim, ali i ne nabijenim bočnim ak ostacima. Egzoplazmatska domena je glikozirana, a ugljikohidratni lanci (crveni rombi) vezani su za Ser, Thr, ili Asn ostatke.

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

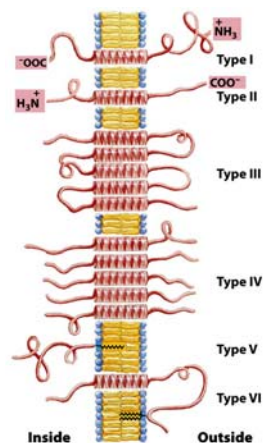


Figure 11-8  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

- Transmembranski proteini mogu se solubilizirati neionskim detergentima, a potom ih je moguće izolirati.

Postoji šest različitih integralnih membranskih proteina.

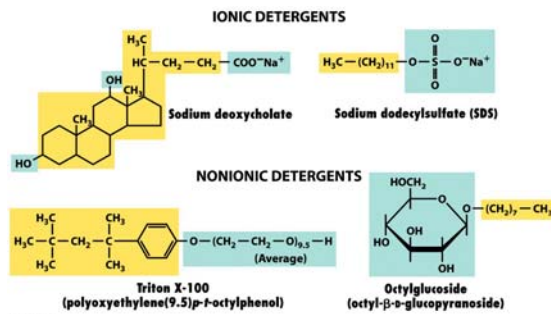
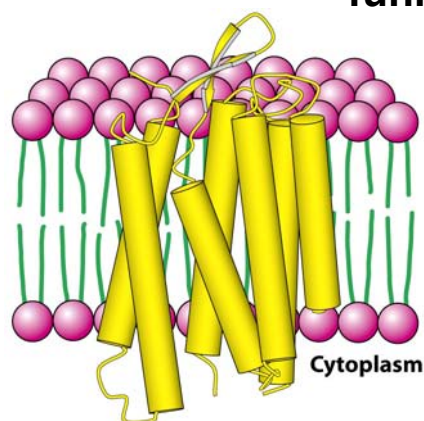


Figure 10-22  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

**Strukture četiri uobičajena detergenta.** Hidrofobni dijelovi svake molekule obojani su žuto. Ionski detergentsi uglavnom denaturiraju proteine, dok denaturaciju ne uzrokuju neionski detergentsi i oni se često koriste za solubilizaciju transmembranskih proteina.

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije



**Bakteriorodopsin,** fotoreceptor nekih bakterija, je integralni membranski protein. Sedam hidrofobnih  $\alpha$ -uzvojnica bakteriorodopsina prodiru kroz lipidni dvosloj gotovo okomito na ravninu membrane.

Primarna struktura rodopsina.

Fig. 12-19  
A Q I T G R P E W I W L A L G T A L M G L G T L Y F L V K G M G V S Q P A K K F Y A I T T L V P A  
I A F T M Y L S M L L G Y G L T M V P F G G Q N P I Y W A R Y A W L F T T P L L L L L L L L L L V  
A A Q G T I L A L V G A G I M I G T G L V G A L T V Y S Y F V W W A I S T A A M L Y I L Y V  
L F F G F T S A S M P V A S T F V L N V T V V L W S A Y V V V W L I G S E G A G I V P L  
N I E T L L F M V L V S A K V G F G L I L L S A I F G E A G A P E S A D G A A T S

Figure 12-19  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

- Acilni lanci masnih kiselina kao i polarne glave lipida nakupljaju se oko hidrofobnih dijelova transmembranskih proteina.

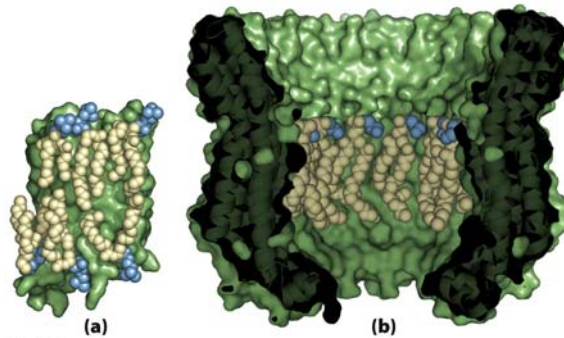


Figure 11-10  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

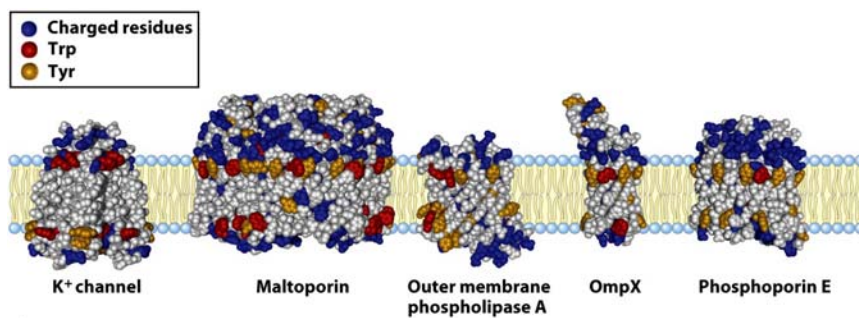


Figure 11-12  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Nakupljanje Tyr i Trp na granici vode i lipida

TABLE 12.2 Polarity scale for identifying transmembrane helices

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

Source: After D. M. Engelman, T. A. Steitz, and A. Goldman. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* 15(1986):321-353.

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

Table 12-2  
 Biochemistry, Sixth Edition  
 © 2007 W.H. Freeman and Company

## Polarnost aminokiselina

Iz polarnosti (hidropatije) aminokiselina moguće je predvidjeti sekvencu proteina koja prolazi kroz membranu.

## Primarna struktura glikoforina

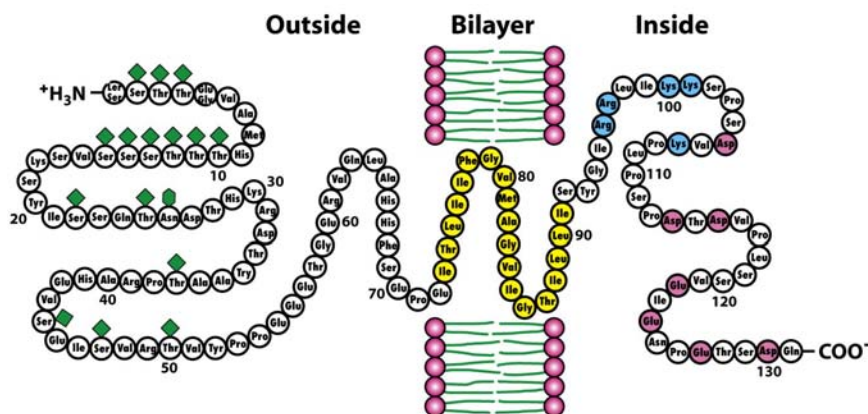
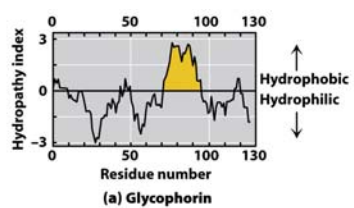
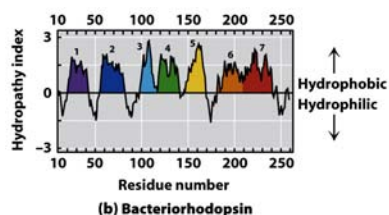


Figure 12-27a  
 Biochemistry, Sixth Edition  
 © 2007 W.H. Freeman and Company

## Predviđanje topologije integralnih membranskih proteina (hidropatski indeks)



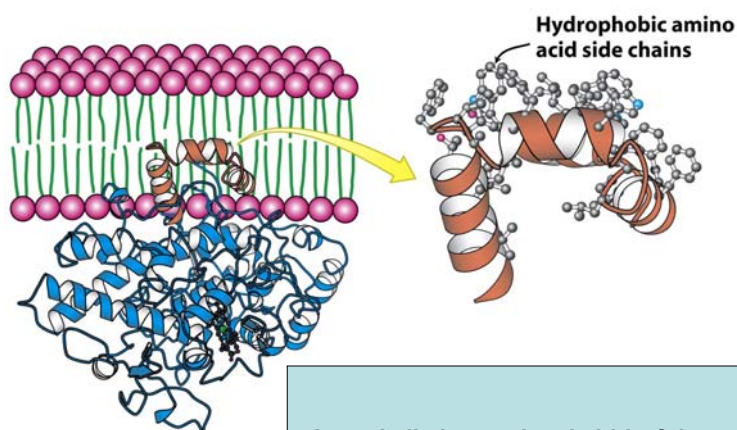
Glikoforin prolazi kroz membranu samo jedamput.



Bakteriorodopsin ima 7  $\alpha$ -uzvojnica koje prolaze kroz membranu.

Figure 11-11  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Primjer integralnog membranskog proteina koji je čvrsto usidren u membranu.



Interakcija i povezivanje hidrofobnog dijela proteina i membrane (prostaglandin H2-sintaza)

Figure 12-23  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company



## Porini

- Porini, za razliku od drugih transmembranskih proteina, sadrže  $\beta$ -nabrane ploče u obliku bačve.

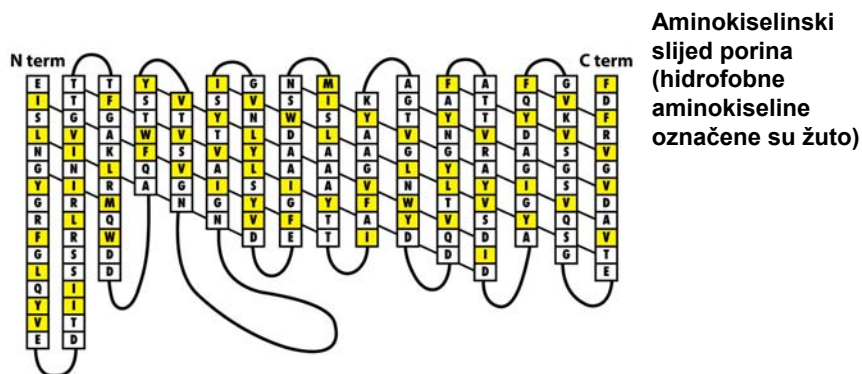


Figure 12-21  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Strukturni model jedne podjedinice OmpX, porina koji je nađen u vanjskoj membrani *E. coli*. Svi porini su trimerni transmembranski proteini. Svaka podjedinica ima oblik bačve, a  $\beta$ -nabrane ploče čine zid transmembranske pore koja je u središtu. Nakupine alifatskih (hidrofobnih, necikličkih) bočnih ostataka, žuto, kao i rubni sloj aromatskih bočnih ostataka aminokiselina, crveno, učvršćuju protein u membranu.

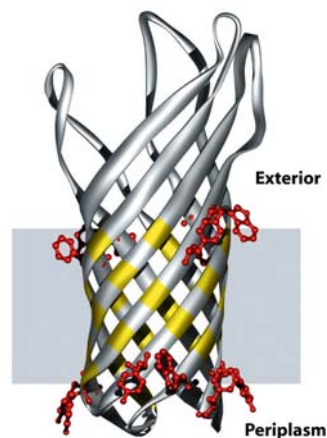


Figure 10-18  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Proteini biološke membrane i njihove funkcije

Pričvršćivanje, sidrenje, plazmatskih membranskih proteina koji su kovalentno povezani s lancima ugljikovodika.

**a)** Citosolni proteini, npr. v-Src, vezani su za membranu preko masne kiseline koja je vezana za Gly, N-kraj polipeptida. Miristat (C14) i palmitat (C16) su uobičajena sidra. **b)** drugi citosolni proteini, npr. Ras i Rab, sidre se na membrane tako da su ili na jedan ili na dva Cys ostatka, koji su na ili blizu C-kraja polipeptida, vezani prenilni ostaci. Sidra su obično farnezil (C15) ili dvije geranil (C10) skupine. **c)** Lipidno sidro na egzoplazmatskoj strani membrane je glikozilfosfatidilinozitol (GPI). Fosfatidilinozitolni dio (crveno) vezan je na dvije masne kiseline koje su u lipidnom sloju. Fosfoetanolaminska skupina (ljubičasto) povezuje se s proteinom. Dva zelena šesterokuta su šećeri, a mogu varirati u broju i vrsti šećera.

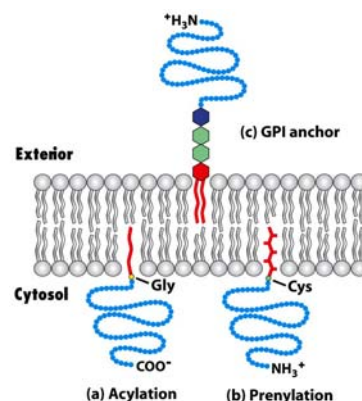


Figure 16-19  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Periferni membranski proteini

- Periferni membranski proteini vežu se za površine membrana elektrostatskim interakcijama i vodikovim vezama.
- Periferni membranski proteini vrše različite funkcije (npr. enzimi koji hidroliziraju mesne kiseline) ili mogu reagirati i modificirati funkcije integralnih proteina.

## Bioške membrane

Membrane su podložne promjeni stanja – od tekućeg do polukristaliničnog ovisno o temperaturi i sastavu lipida u membrani.

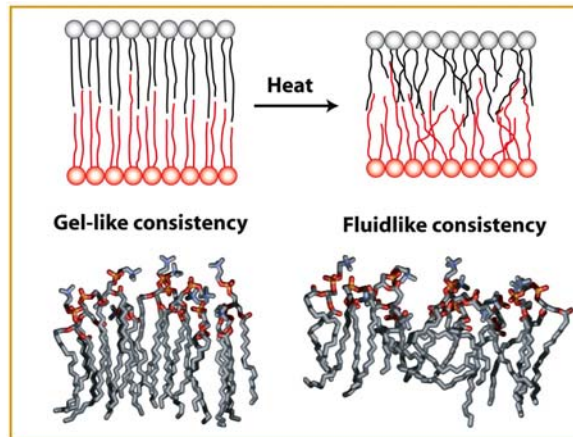


Figure 10-11  
Molecular Cell Biology, Sixth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Krivulja taljenja (mekšanja) membranskih lipida

•Lipidi u biološkoj membrani egzistiraju u uređenom (smrznutom) ili pobuđenom stanju. U pobuđenom stanju termičko gibanje acilnih lanaca omogućuje gibanje u dvosloju. Na fluidnost membrane djeluje temperatura, sastav masnih kiselina i količina sterola u eukariotskim stanicama.

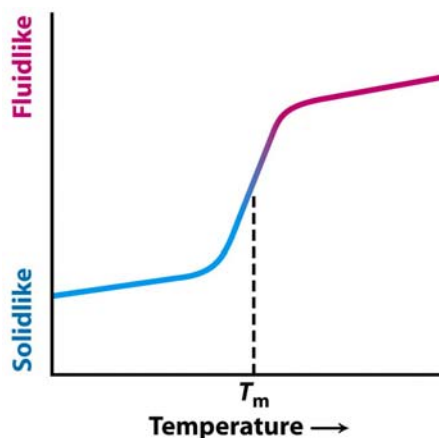


Figure 12-32  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

### Temperature taljenja fosfatidilkolina s različitim parovima identičnih masnih kiselina

Number of carbons	Number of double bonds	FATTY ACID		
		Common name	Systematic name	$T_m$ (°C)
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> - $\Delta^9$ -Octadecenoate	-22

Table 12-3  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
 © 2007 W.H. Freeman and Company

## Biolške membrane

- Većina lipida i mnogi proteini mogu se lateralno kretati u membrani

### Uncatalyzed lateral diffusion

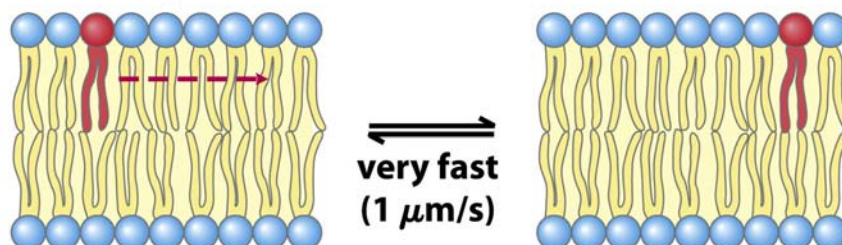


Figure 11-16b  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
 © 2008 W.H. Freeman and Company

Flip-flop difuzija lipida između vanjskog i unutrašnjeg sloja vrlo je spora osim ako te prelaze ne kataliziraju specifični enzimi (“flipaze”, “flopace” “skremblaze”).

**Catalyzed transbilayer translocations**

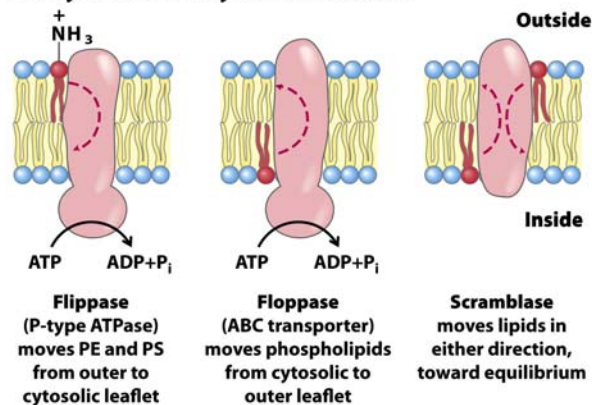


Figure 11-16c  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Lateralno kretanje lipida (i proteina) moguće je eksperimentalno pratiti (FRAP Fluorescence recovery after photobleaching)

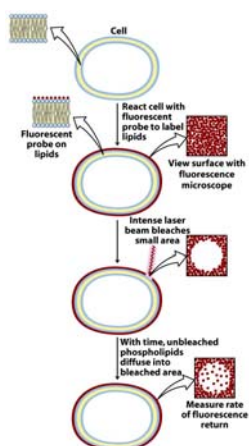


Figure 11-17  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

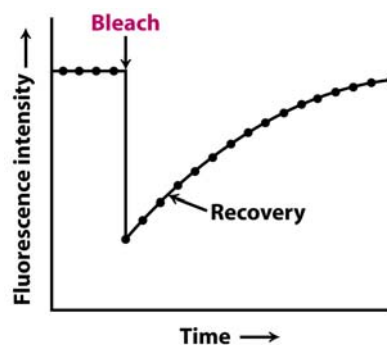


Figure 13-29d  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

Lipidi i proteini mogu se lateralnom difuzijom kretati u membrani, ali gibanje je ograničeno zbog interakcija membranskih proteina s citoskeletnim strukturama kao i zbog interakcija lipida s lipidnim splavima (lipid raft). Jedna vrsta lipidnih splavi sastoji se od sfingolipida, kolesterola i membranskih proteina koji su preko GPI-skupine vezani za acilne lance masnih kiselina.

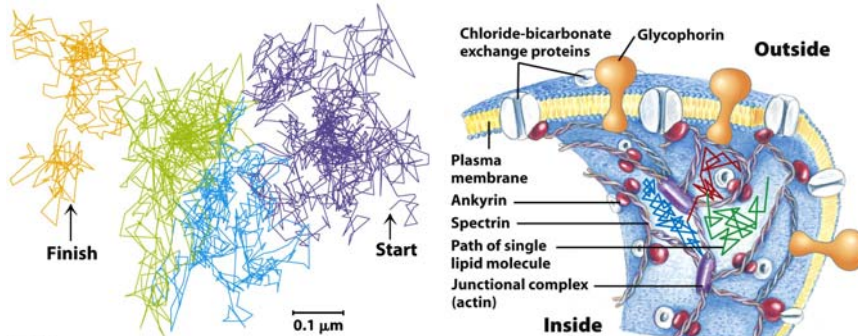


Figure 11-18  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Figure 11-19  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## Prikaz lipidnih splavi

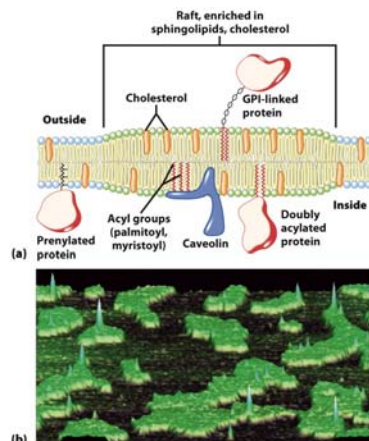


Figure 11-20  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

a) Lipidne splavi (rafts)

b) slika dobivena mikroskopijom atomskih sila

Membrane su dinamične strukture i mogu se raznoliko uvijati – primjeri nastajanja kalveola prilikom endocitoze.

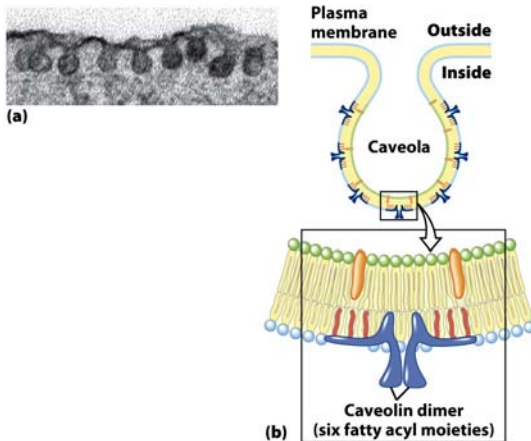


Figure 11-21  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Kaveolin je integralni membranski protein koji se povezuje s unutrašnjim slojem plazmatske membrane te je prisiljava da se uvija kako bi nastala kaveola, iz koje će nastati vezikula koja je potrebna za transport ili za prijenos signala.

U fuziji vezikula i plazmatske membrane sudjeluju tzv. SNARE proteini

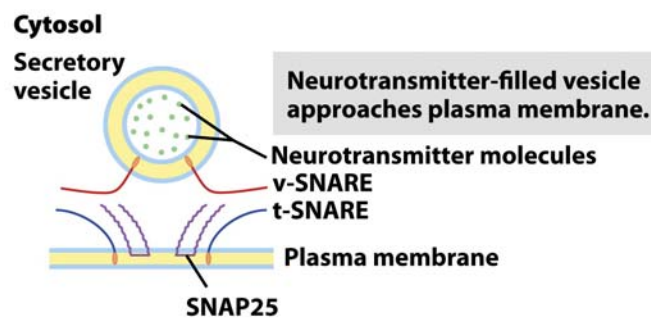


Figure 11-24 part 1  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

Specifični proteini uzrokuju da dođe do uvijanja membrane a sudjeluju i u procesu fuzije dvaju membrana. Ovi procesi se odvijaju tijekom endocitoze, egzocitoze kao i prilikom virusne infekcije.