

Волгоградский государственный медицинский университет  
*Кафедра теоретической биохимии с курсом клинической  
биохимии*

# Биомембраны

*Проф. О.В. Островский*  
*Материалы лекций по биохимии, 2008*

# ФУНКЦИИ МЕМБРАН

Важнейшее свойство биологической мембраны состоит в её способности пропускать в клетку и из неё различные вещества. Это имеет большое значение для саморегуляции и поддержания постоянного состава клетки. Такая функция клеточной мембраны выполняется благодаря избирательной проницаемости, то есть способности пропускать одни вещества и не пропускать другие

## ❖ Барьерная –

- Компартиментализация

## ❖ Коммуникативная

- транспорт веществ
- передача, преобразование и усиление сигналов
- межклеточные коммуникации

## ❖ Формообразующая

# Мембраны

– это структуры с высокой вязкостью и пластичностью.

- Плазматические мембраны образуют замкнутые компартменты, в которые заключено *содержимое* отдельной клетки. Они отделяют одну клетку от другой, что приводит к возможности проявления «индивидуальности» клетки.
- Плазматические мембраны действуют как барьеры и имеют селективную проницаемость. Это свойство позволяет поддерживать постоянные различия между условиями среды и композицией внутри и вне клетки.

# Мембраны

— в настоящее время принято представлять в виде жидкостно-кристаллической модели.

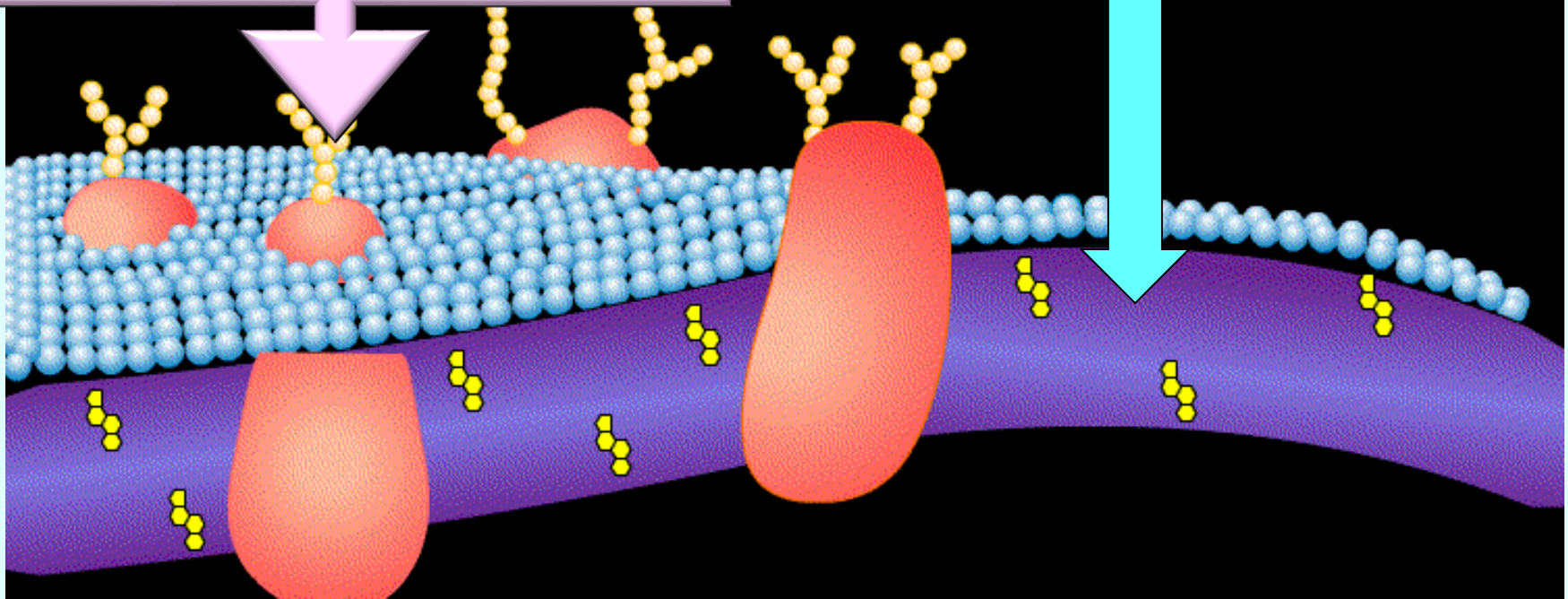
- Модель (fluid mosaic model) предложена в 1972 г. Сингером и Никольсоном.
- Мембрана представляется в виде океана молекул липидной природы (*преимущественно – фосфолипидов*), в котором плавают «айсберги» белков.
  - Proteins. Integral proteins are shown; peripheral proteins may be loosely attached to the surface

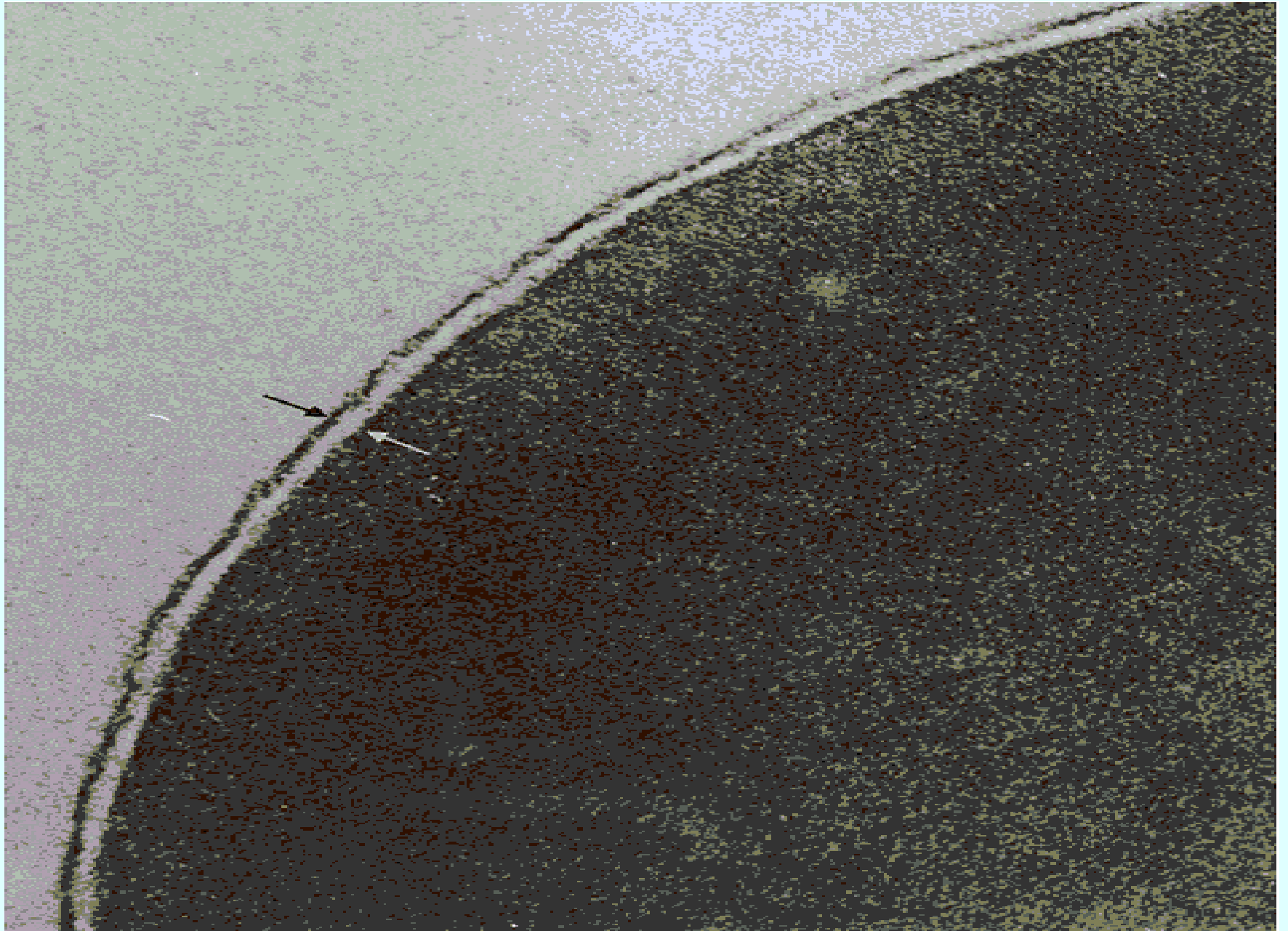
# Жидкостно-кристаллическая модель Сингера-Никольсона (1972)

Липидный бислой,  
состоящий из фосфолипидов,  
сфинголипидов и холестерина

Белки -

- Интегральные
- Периферические





# Компоненты мембраны различны по химической структуре и физико-химическим свойствам

## ■ Липиды –

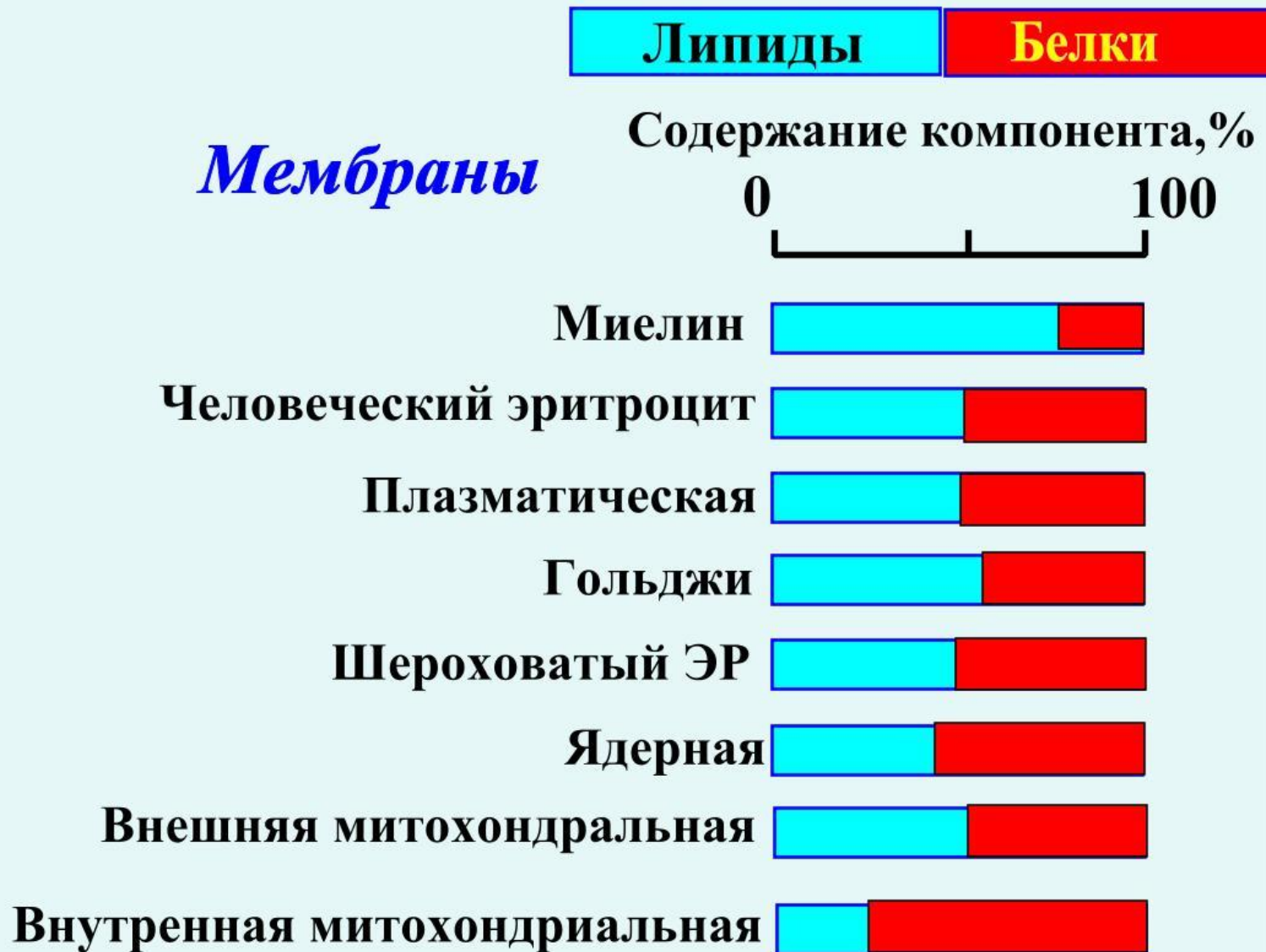
- фосфолипиды
- сфинголипиды
- стеролы

## ■ Белки

## ■ Углеводы

- гликопротеины
- гликолипиды

# Соотношение липидного и белкового компонентов в мембранах

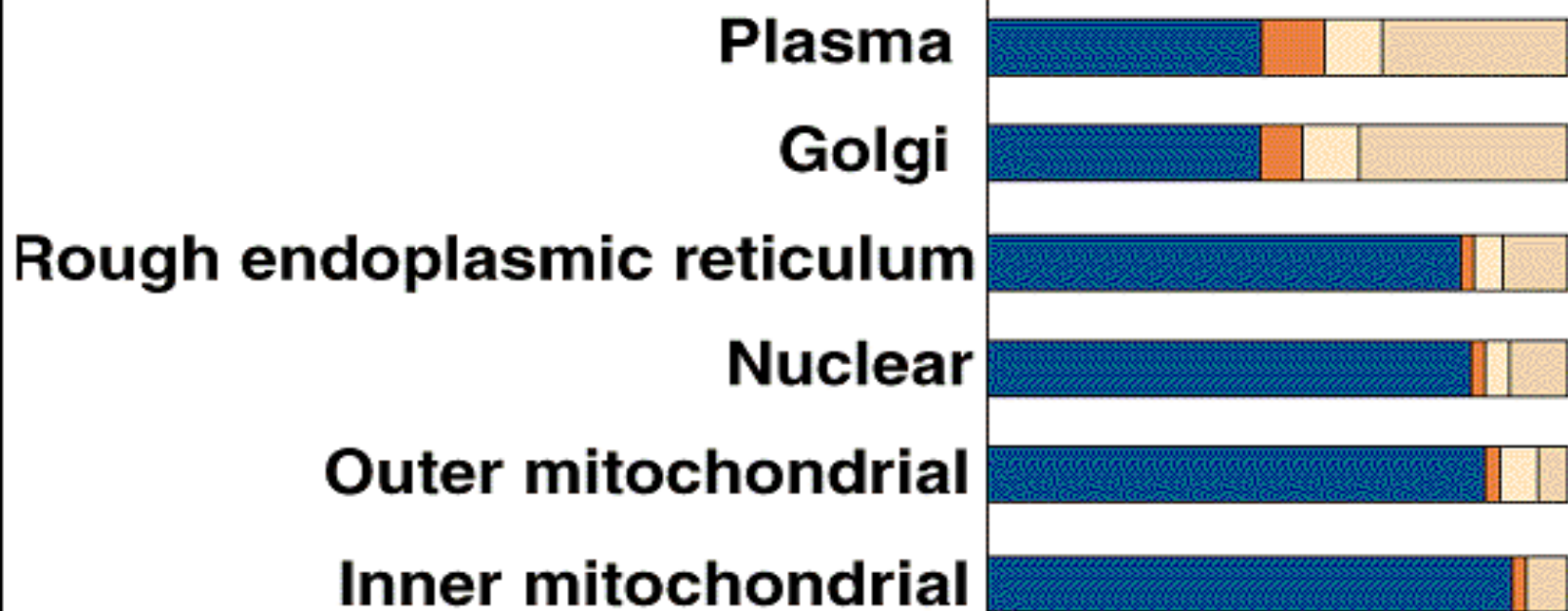




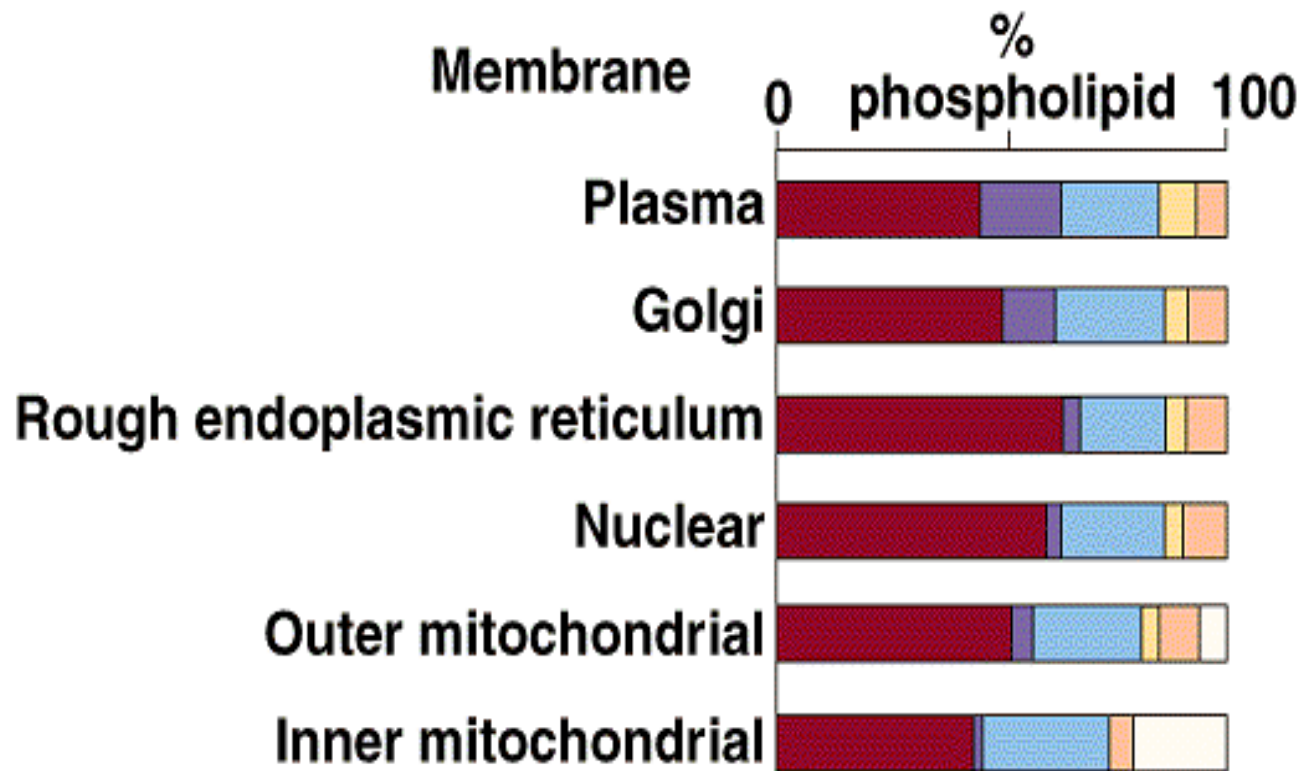


Membrane

0 % lipid component 100

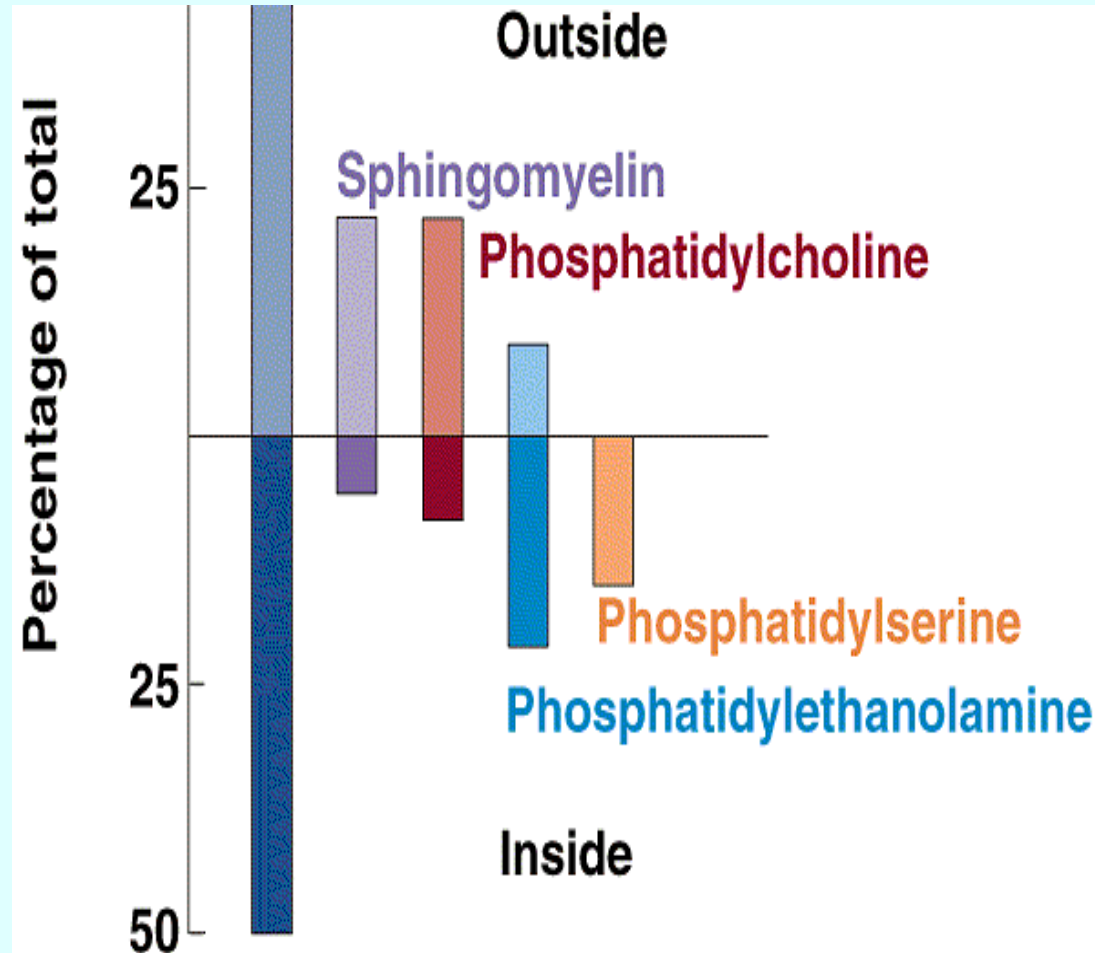


(a)

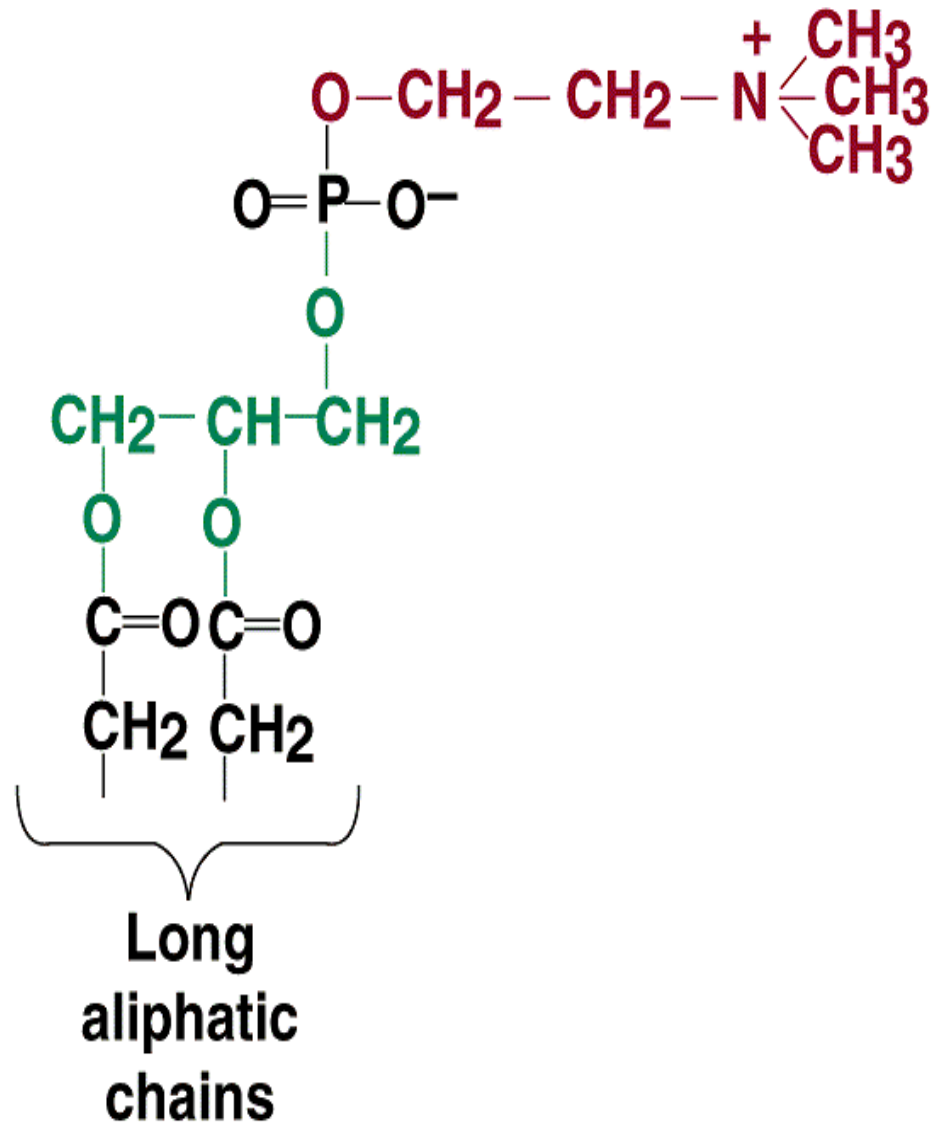


(b)

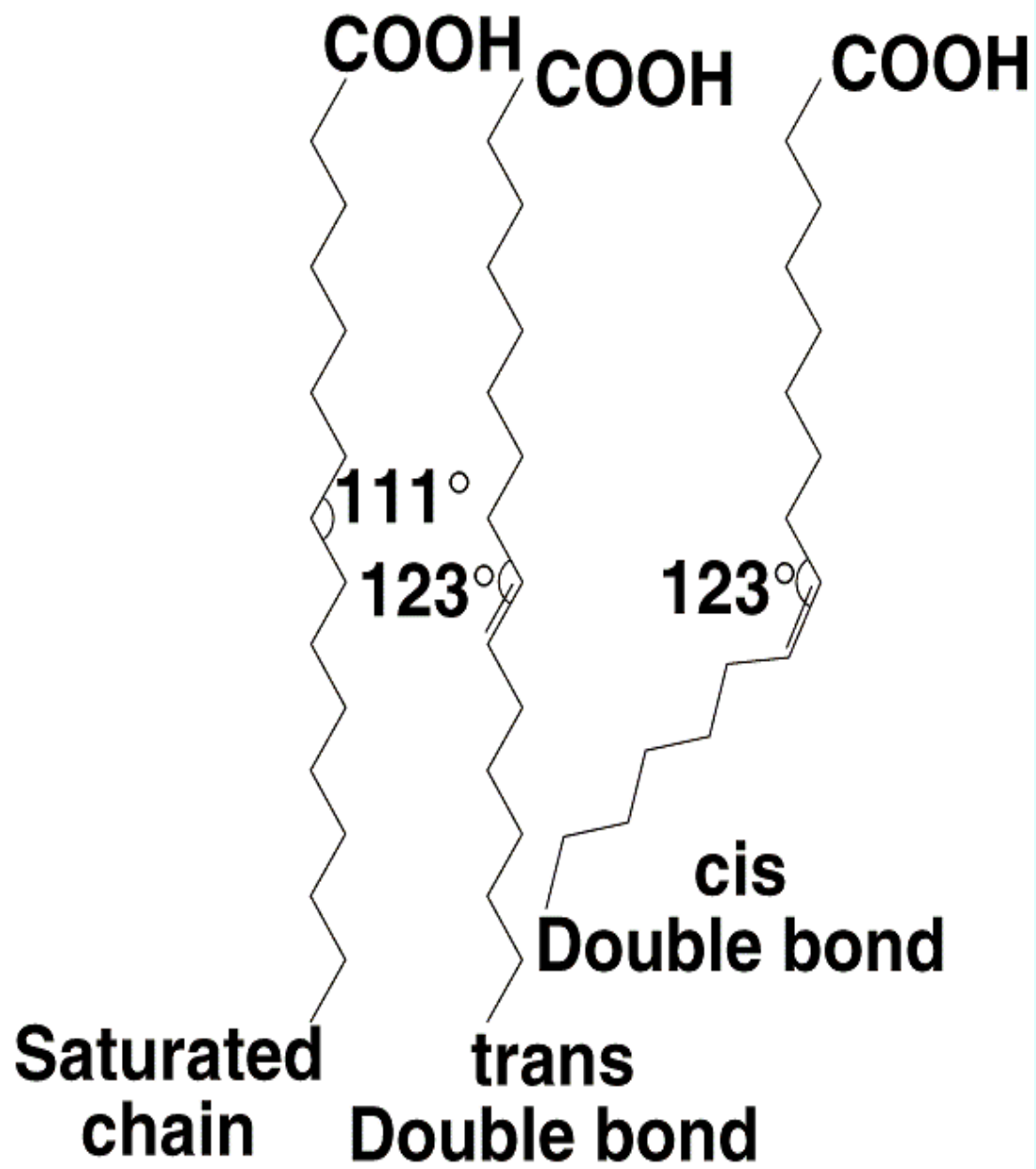
# Ассиметрия мембран





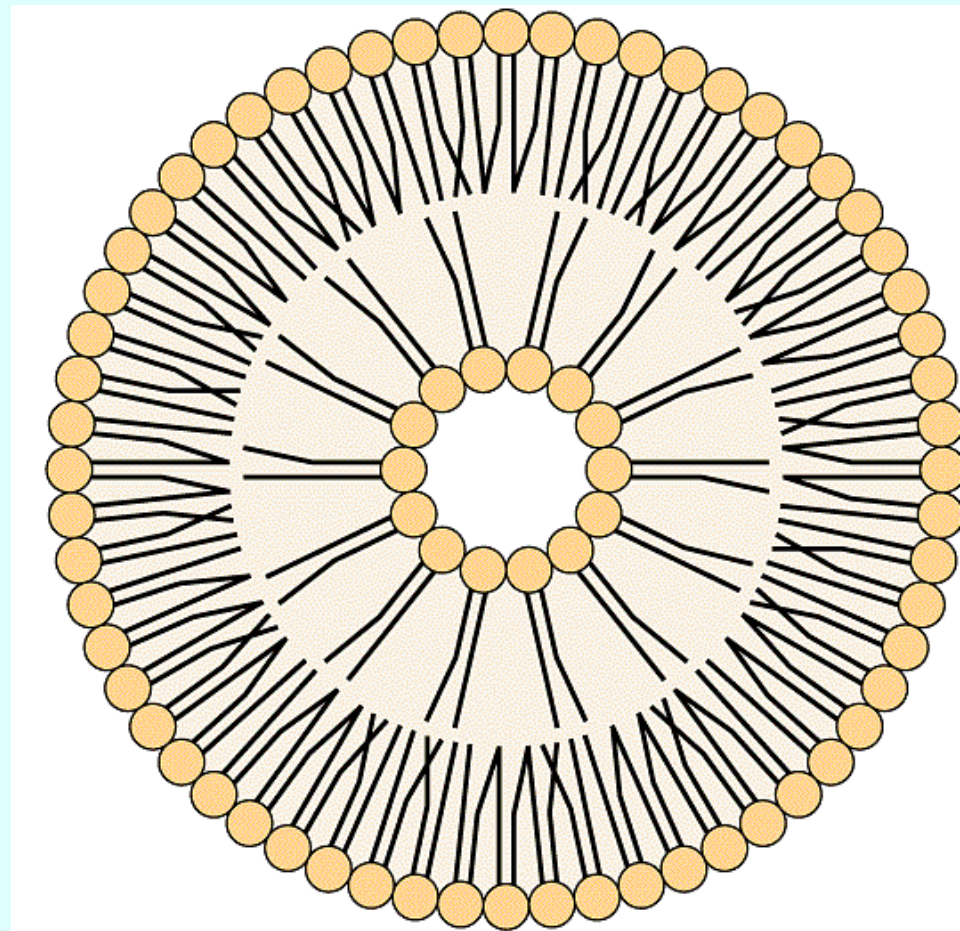
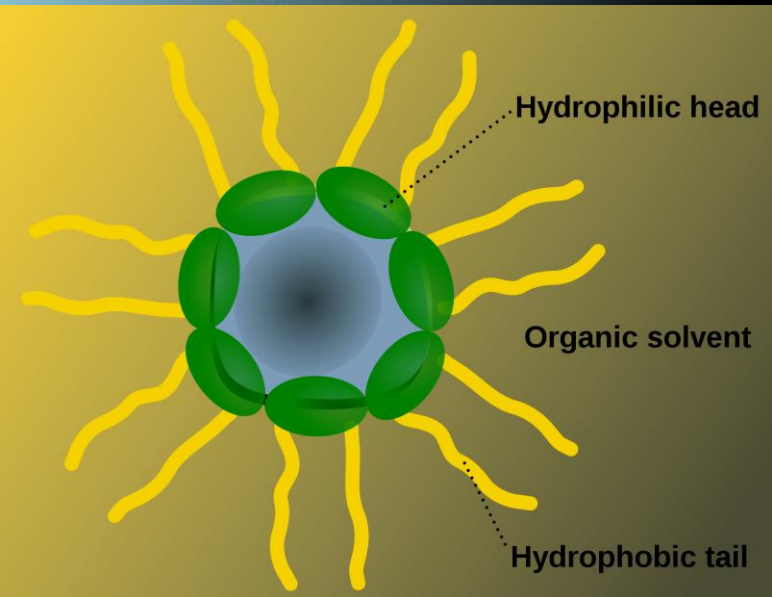
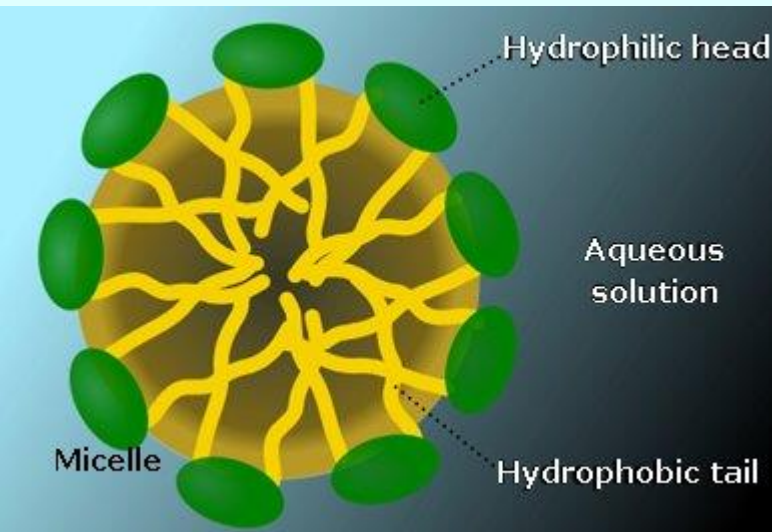


**Phosphatidylcholine**





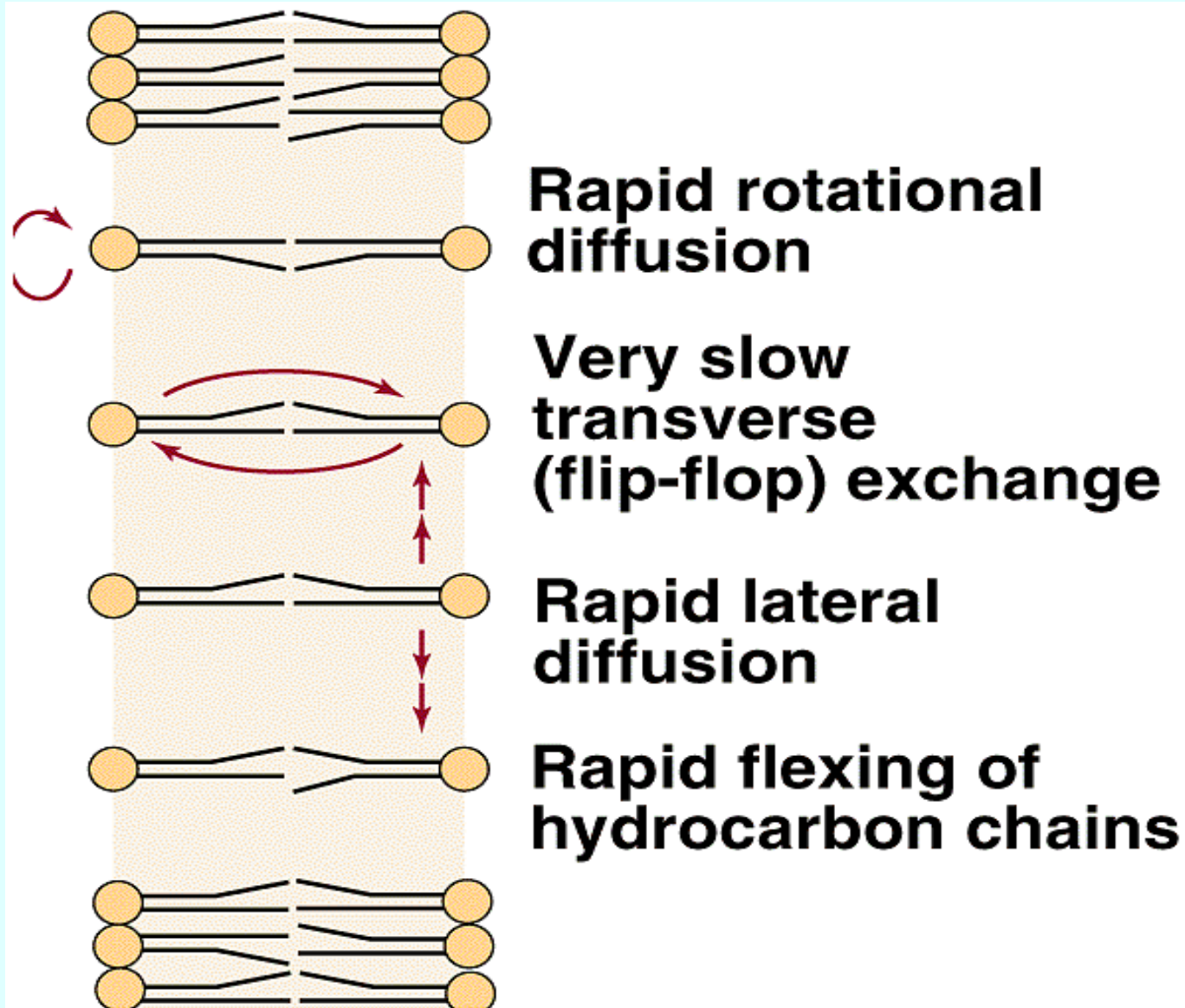
# Самосборка мембран



(d)

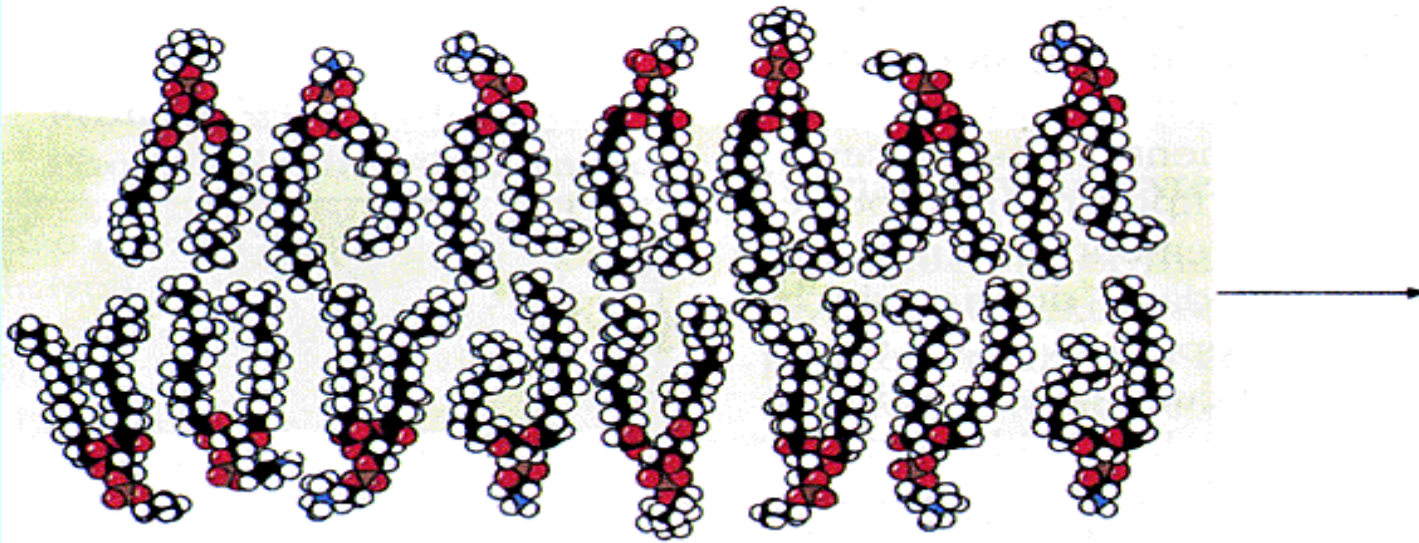
Липосома

# Основные типы молекулярного движения в мембранах

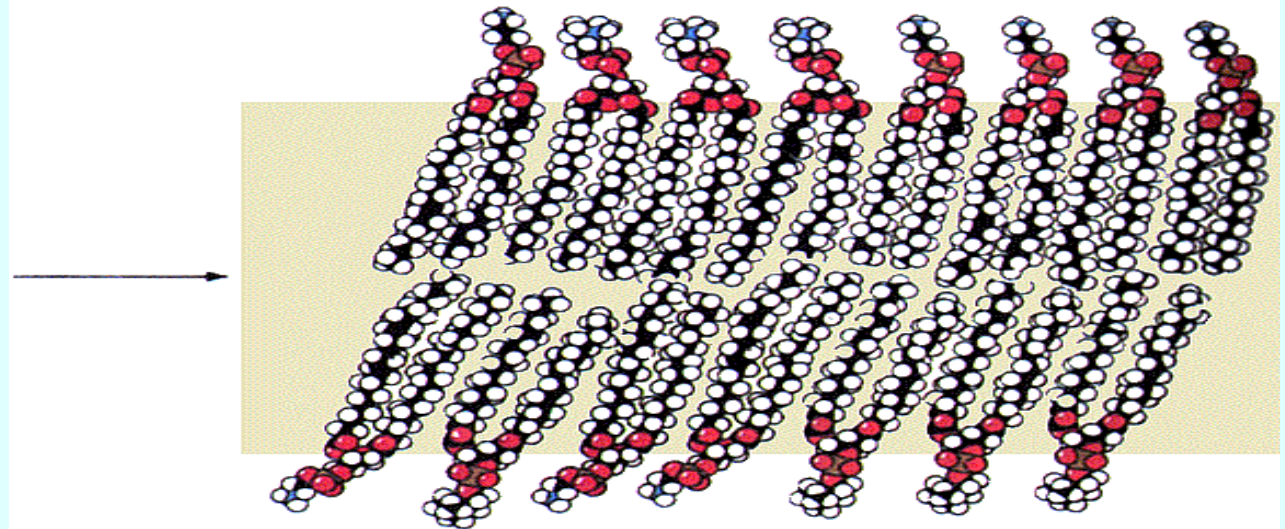


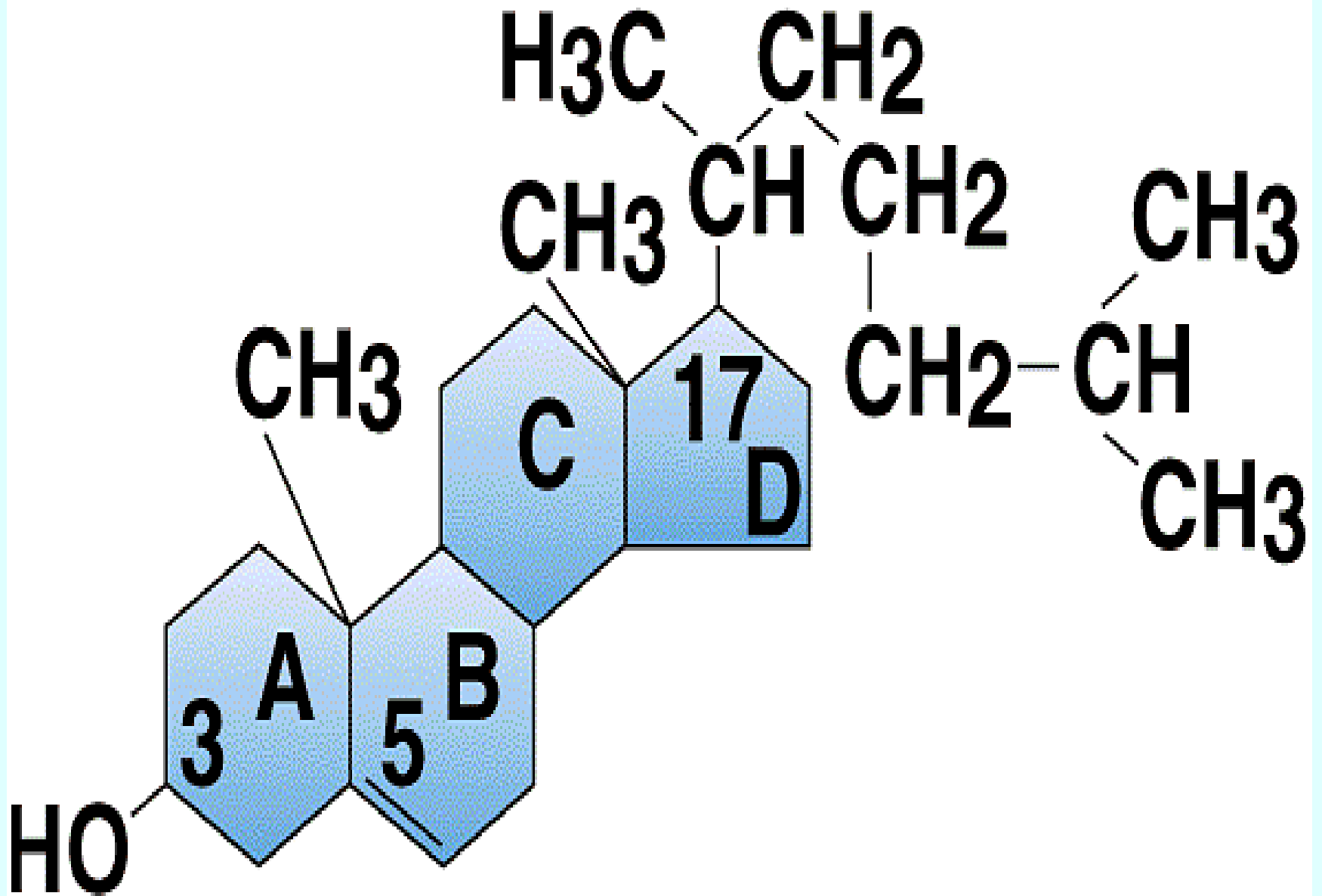


**a) Above transition temperature**



**b) Below transition temperature**





Холестерол – пластификатор мембран

# Белки мембран

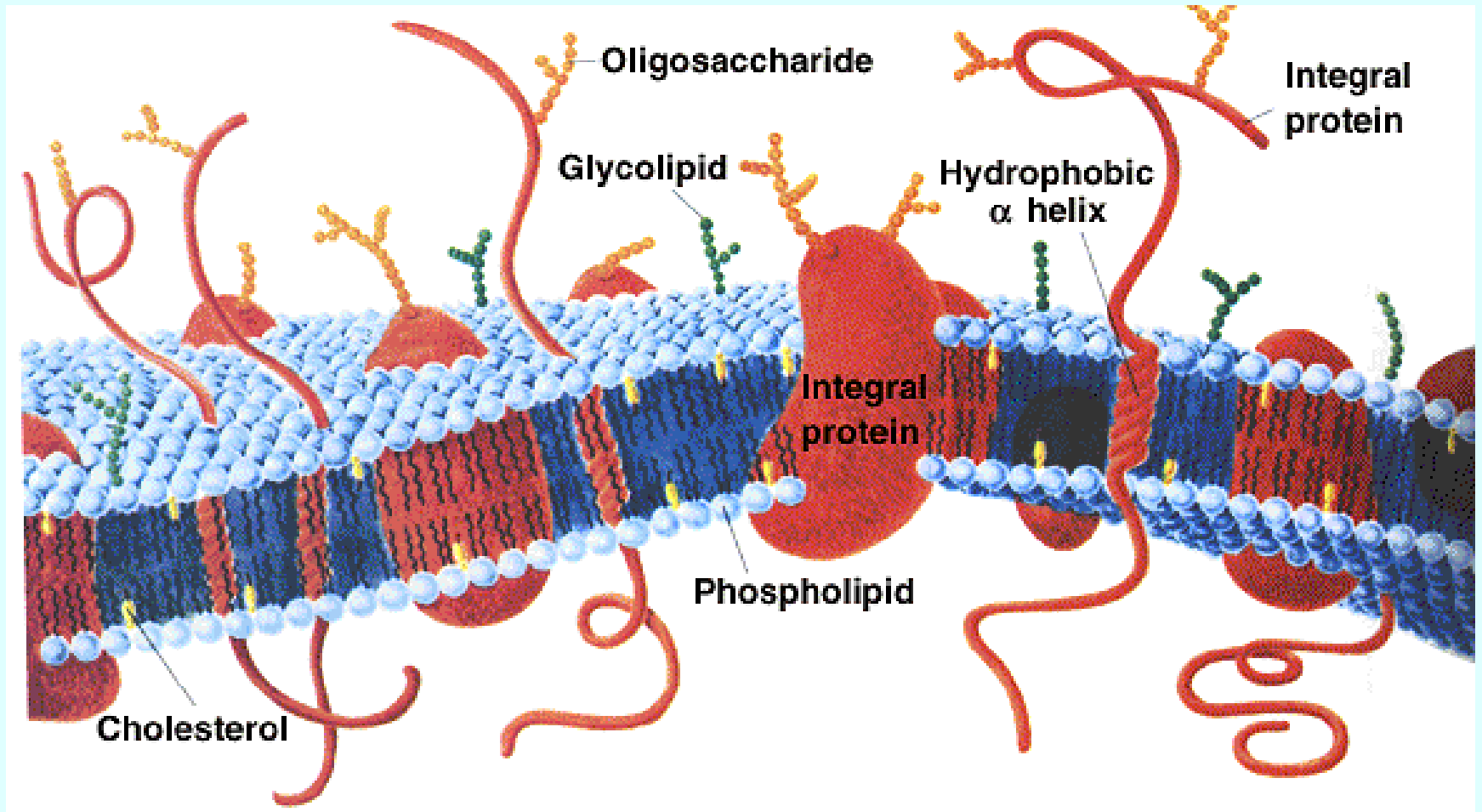
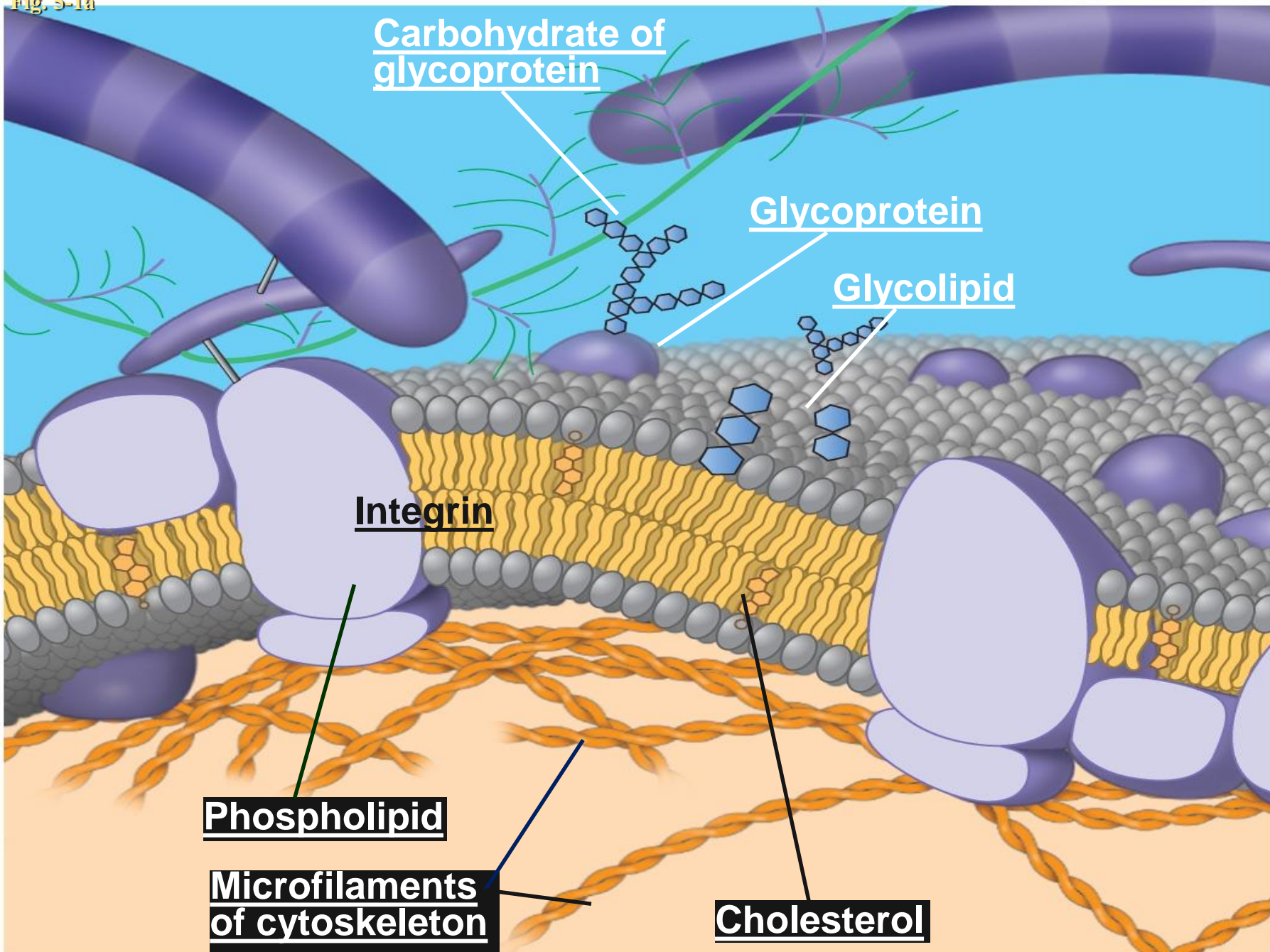
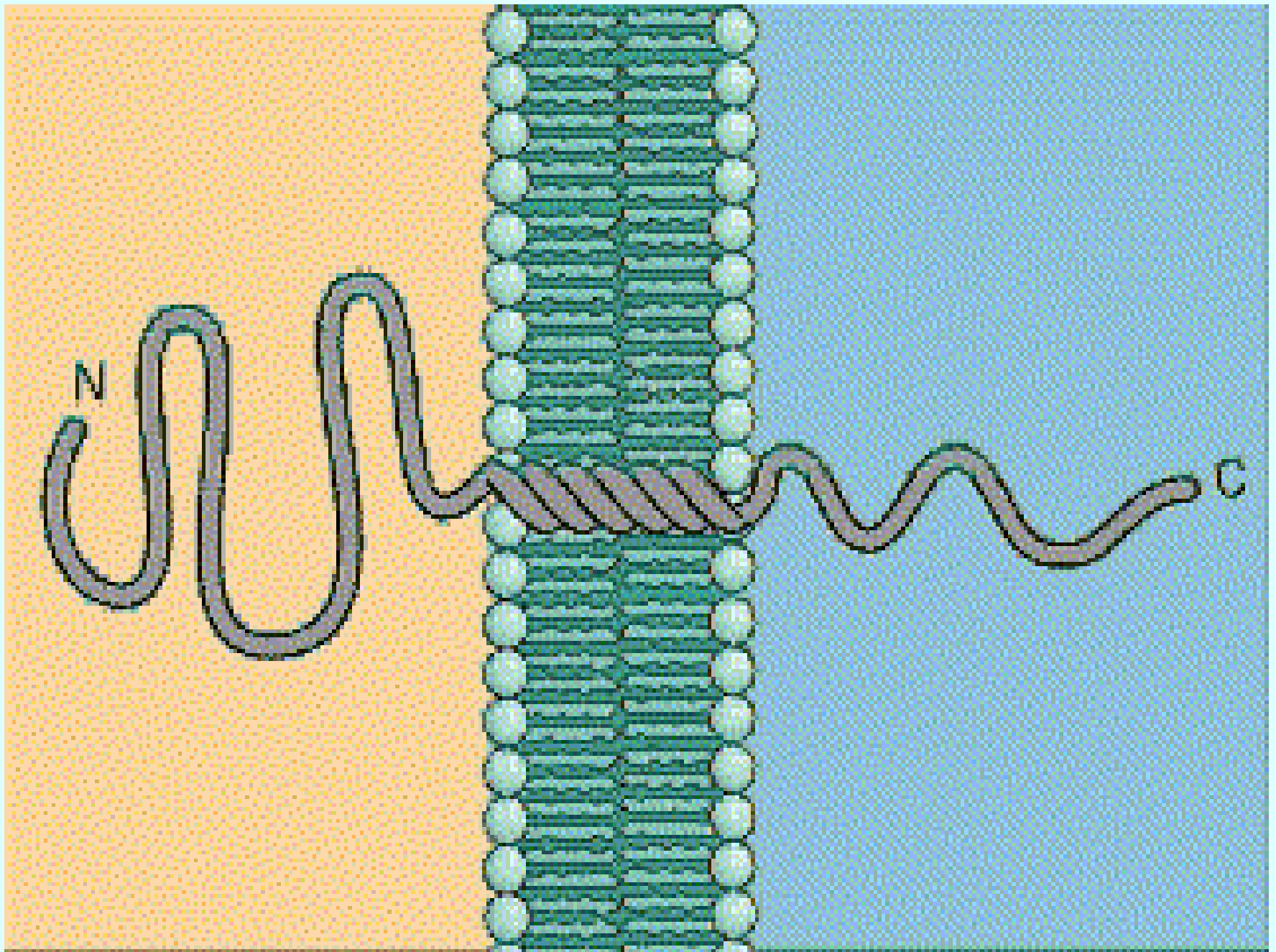
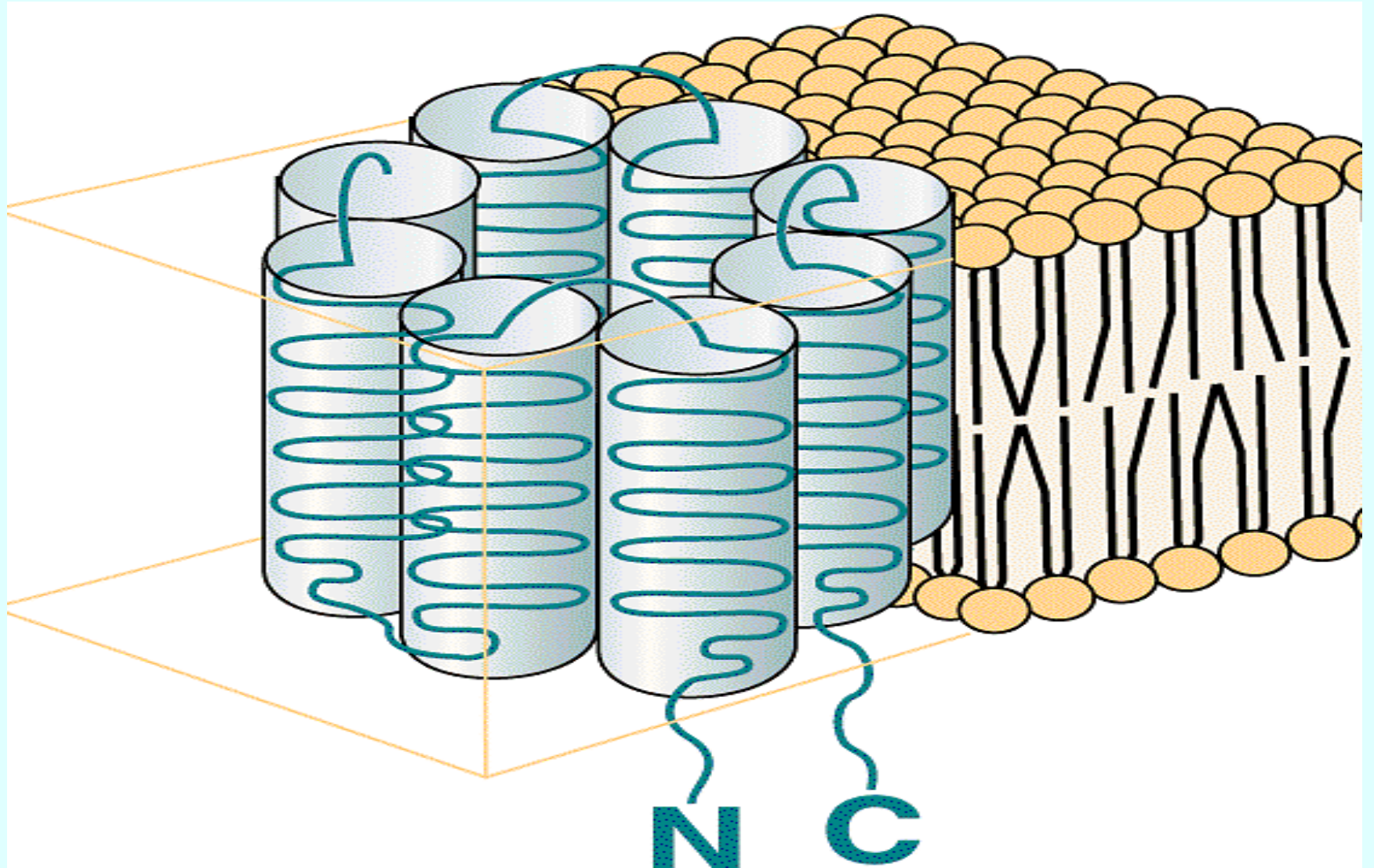


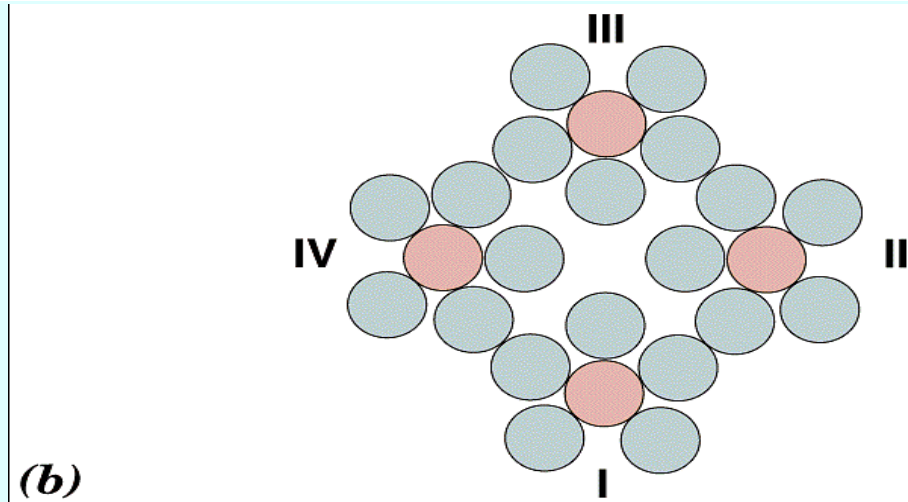
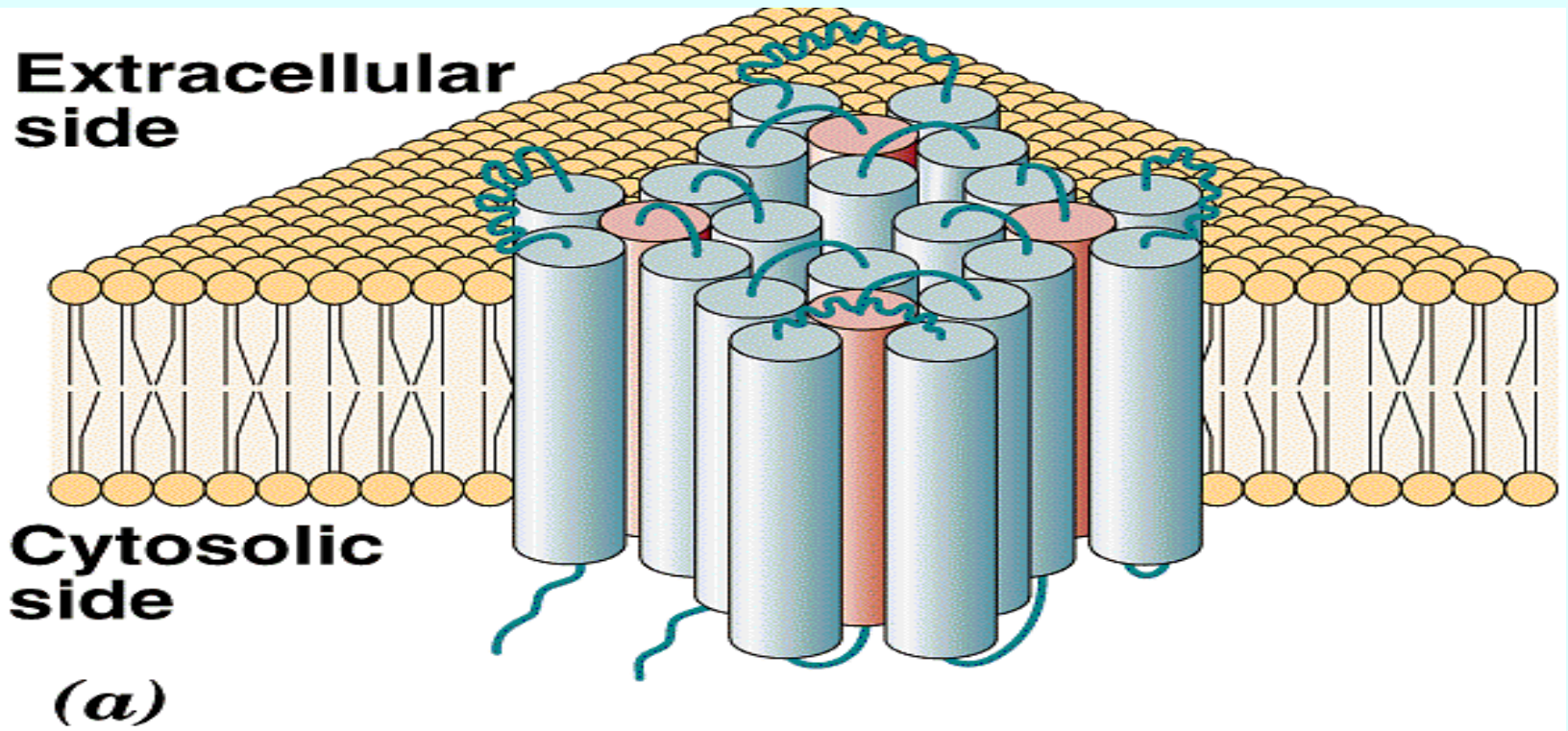
Fig. 5-1a











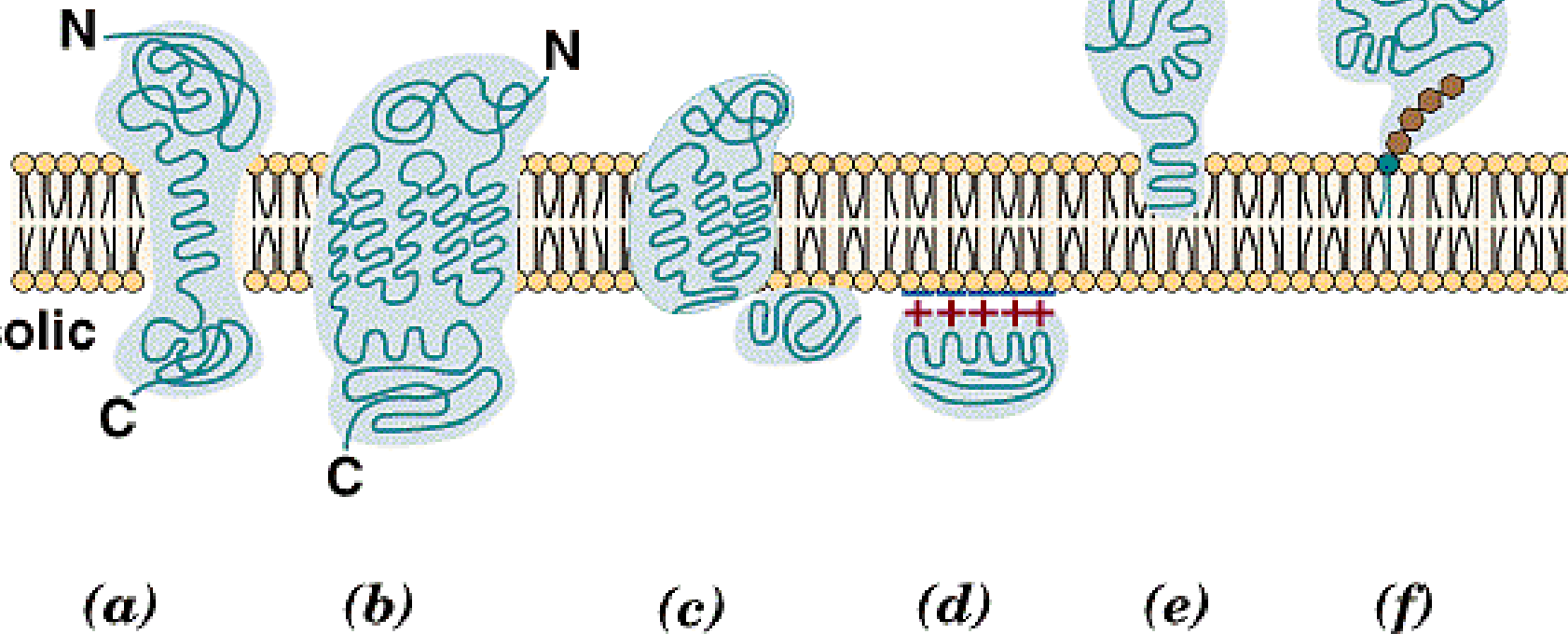
# Варианты взаимодействия белков с мембраной

Integral membrane proteins

Peripheral membrane proteins

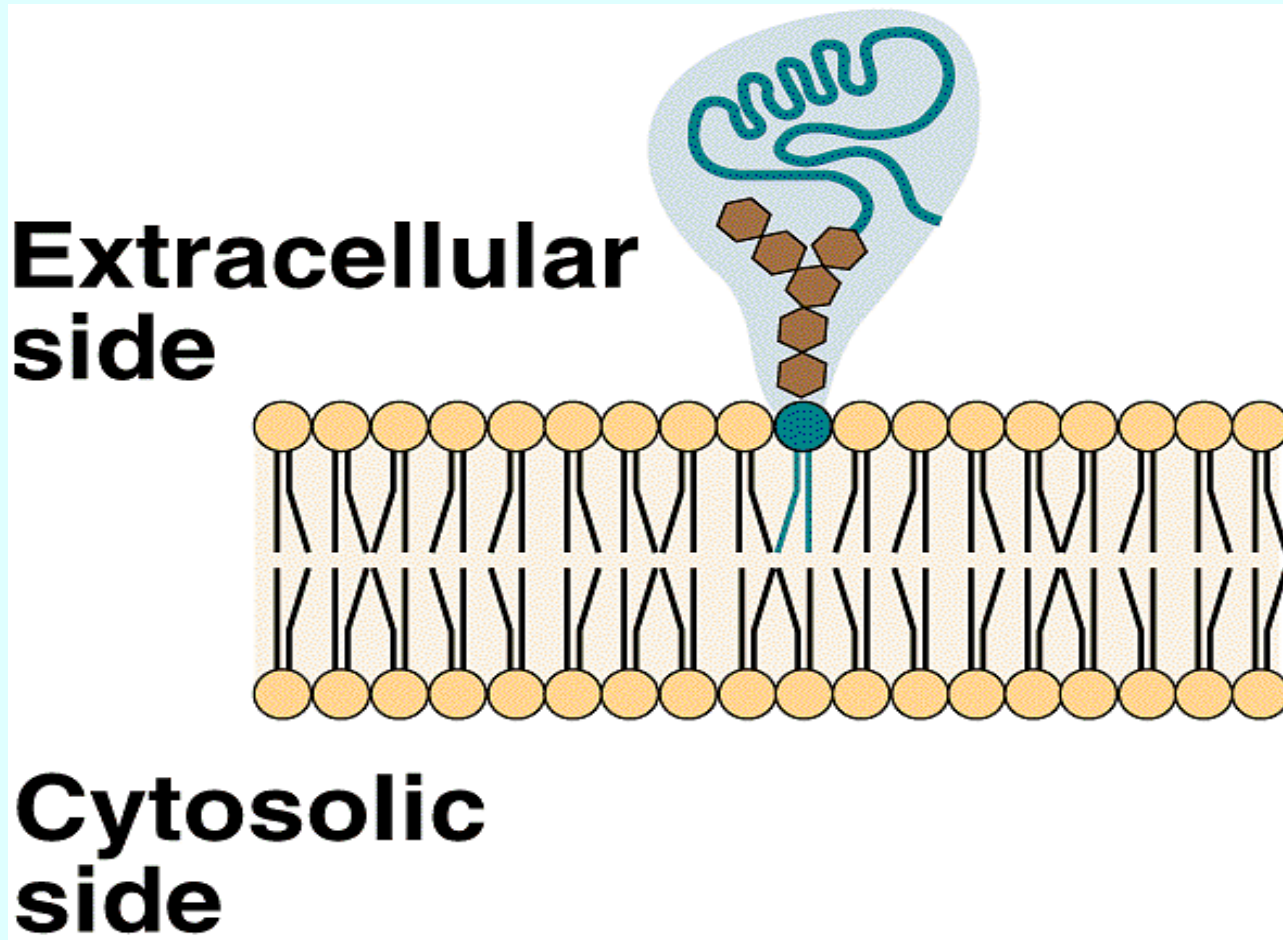
Extracellular side

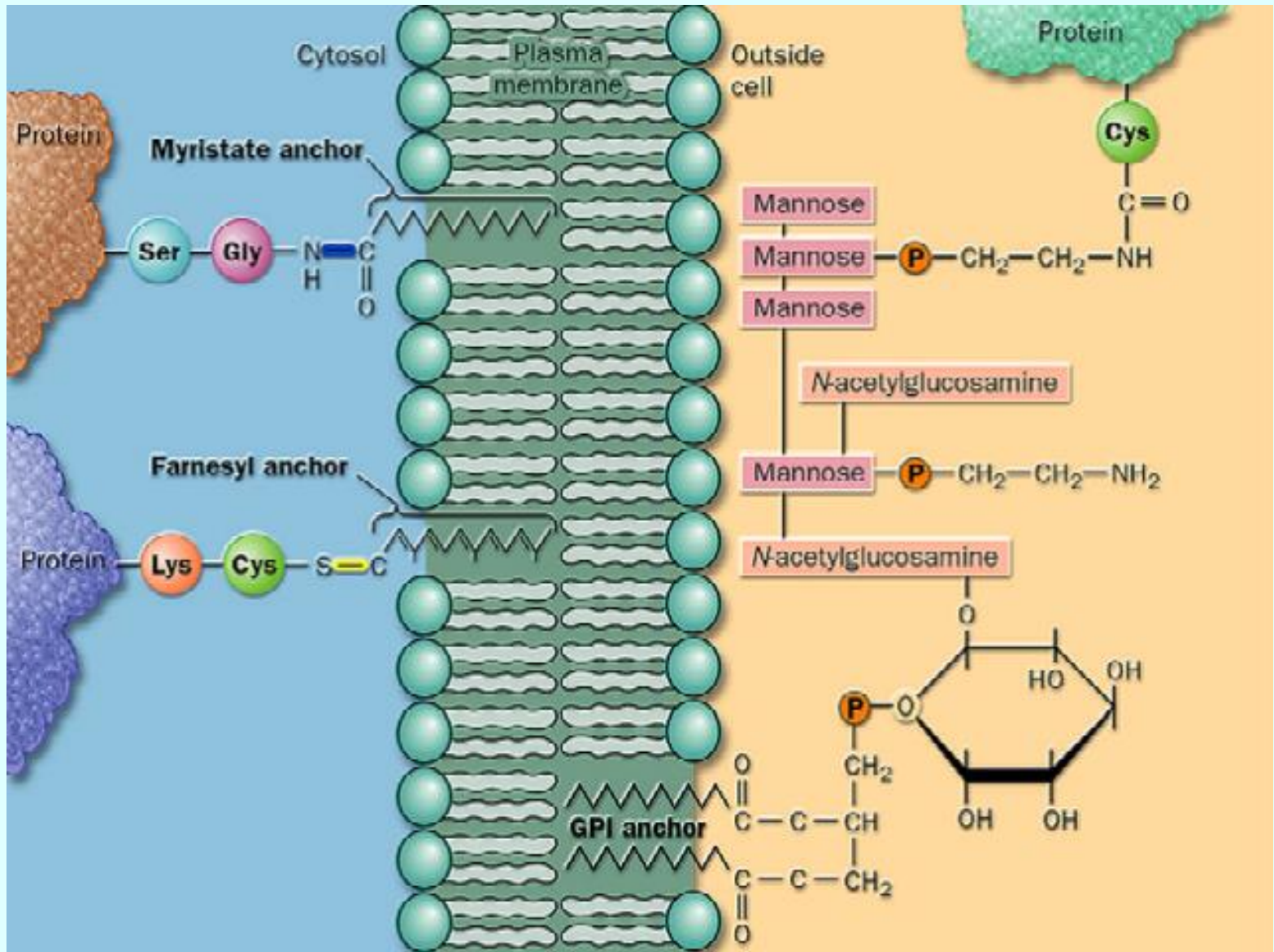
Cytosolic side



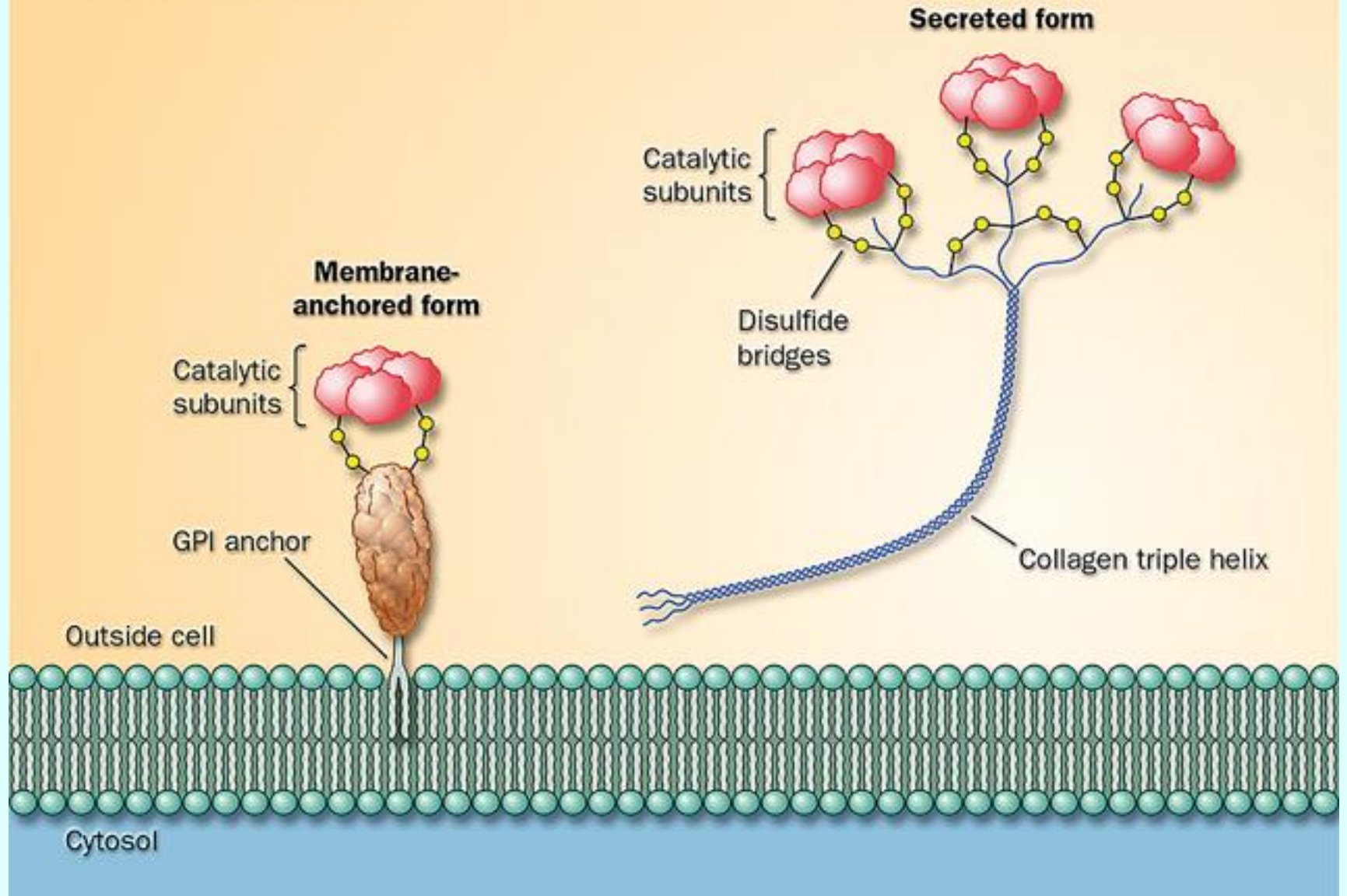


# Заякоривание белков в мембране



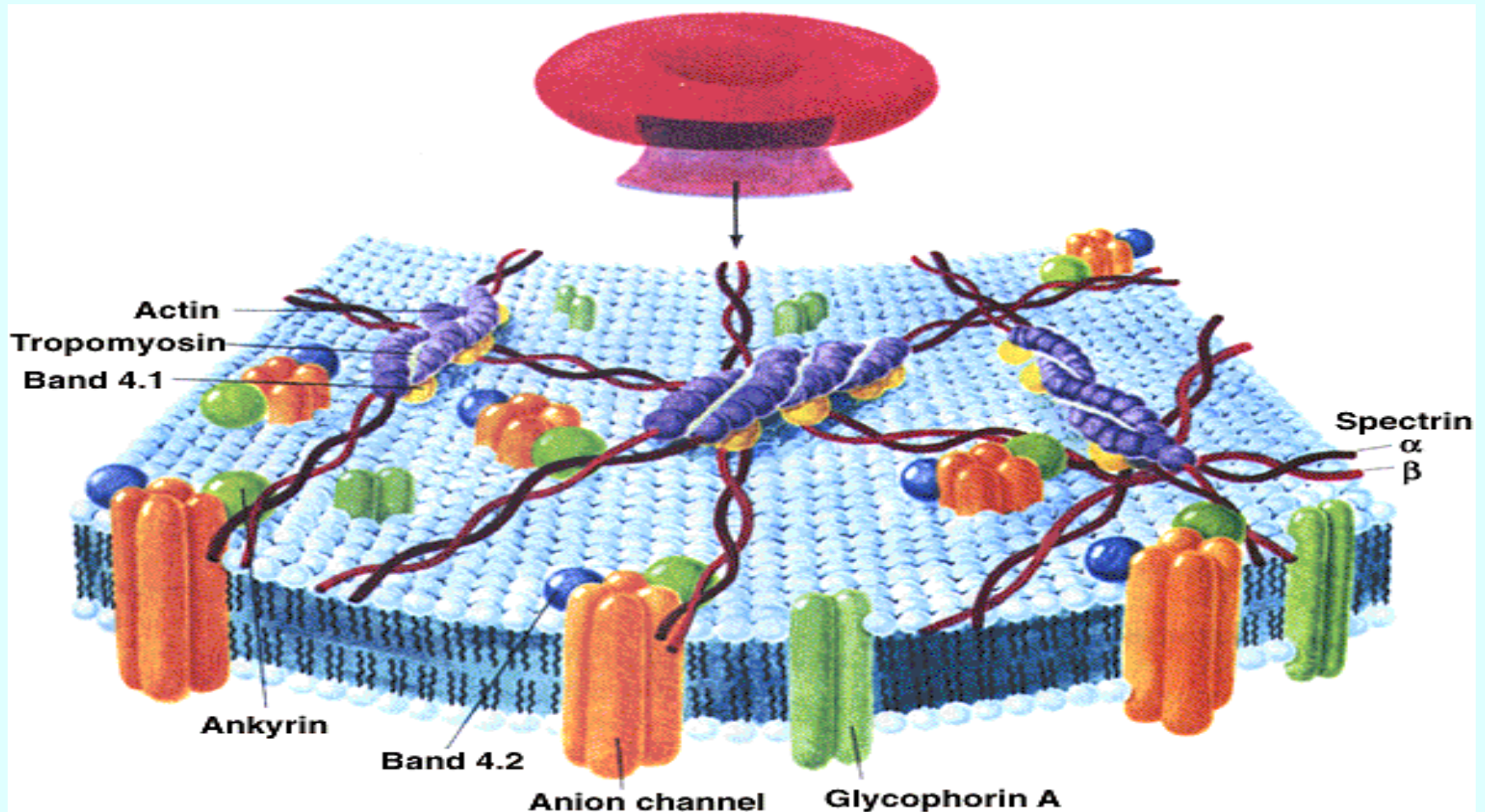


# Acetylcholinesterase



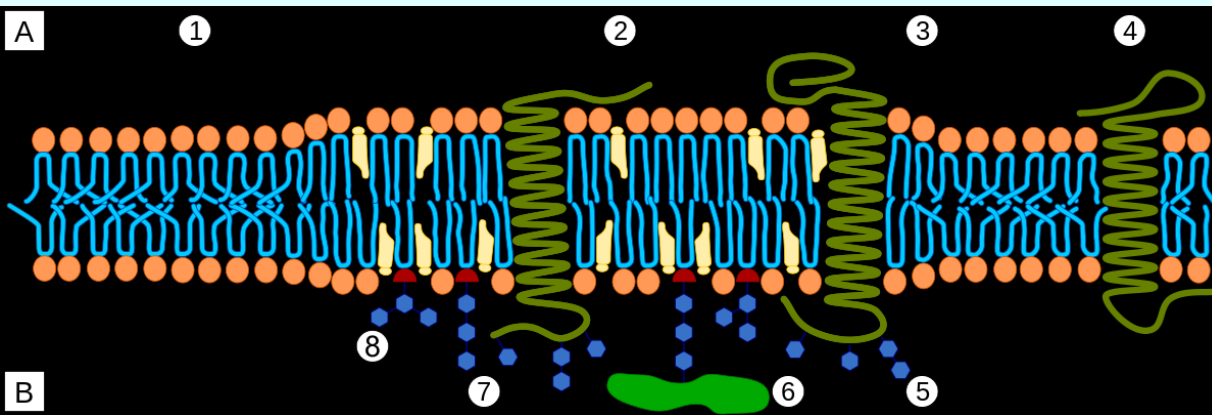


# Мембрана эритроцита

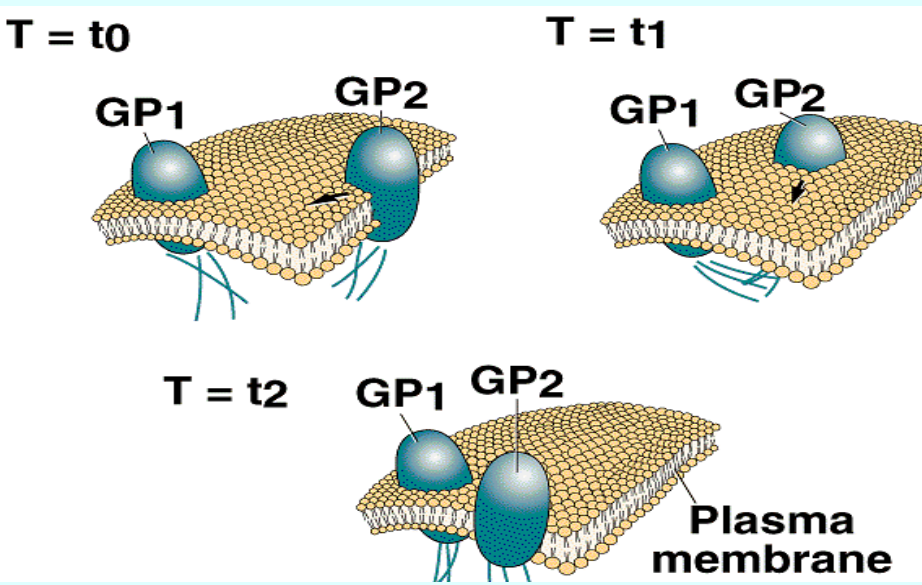


Взаимодействие интегральных белков и цитоскелета

# Схема строения липидного рафта



- 1 — мембрана вне рафта;
- 2 — липидный рафт;
- 3 — трансмембранный белок, ассоциированный с рафтом;
- 4 — не-рафтовый мембранный белок;
- 5 — модификации гликолипидов или гликопротеинов путём гликозилирования;
- 6 — GPI-заякоренный белок;
- 7 — холестерин;
- 8 — гликолипид



# Мембранный транспорт

— транспорт веществ сквозь клеточную мембрану в клетку или из клетки, осуществляемый с помощью различных механизмов:

- простая диффузия,
- облегченная диффузия
- активный транспорт

	ЦИТОЗОЛЬ	ВНЕ КЛЕТКИ	
Na <sup>+</sup>	140 mM	10 mM	14-fold
K <sup>+</sup>	4 mM	140 mM	35-fold
Ca <sup>++</sup>	2.5 mM	0.1 microM	25000-fold
Cl <sup>-</sup>	100 mM	4 mM	25-fold:

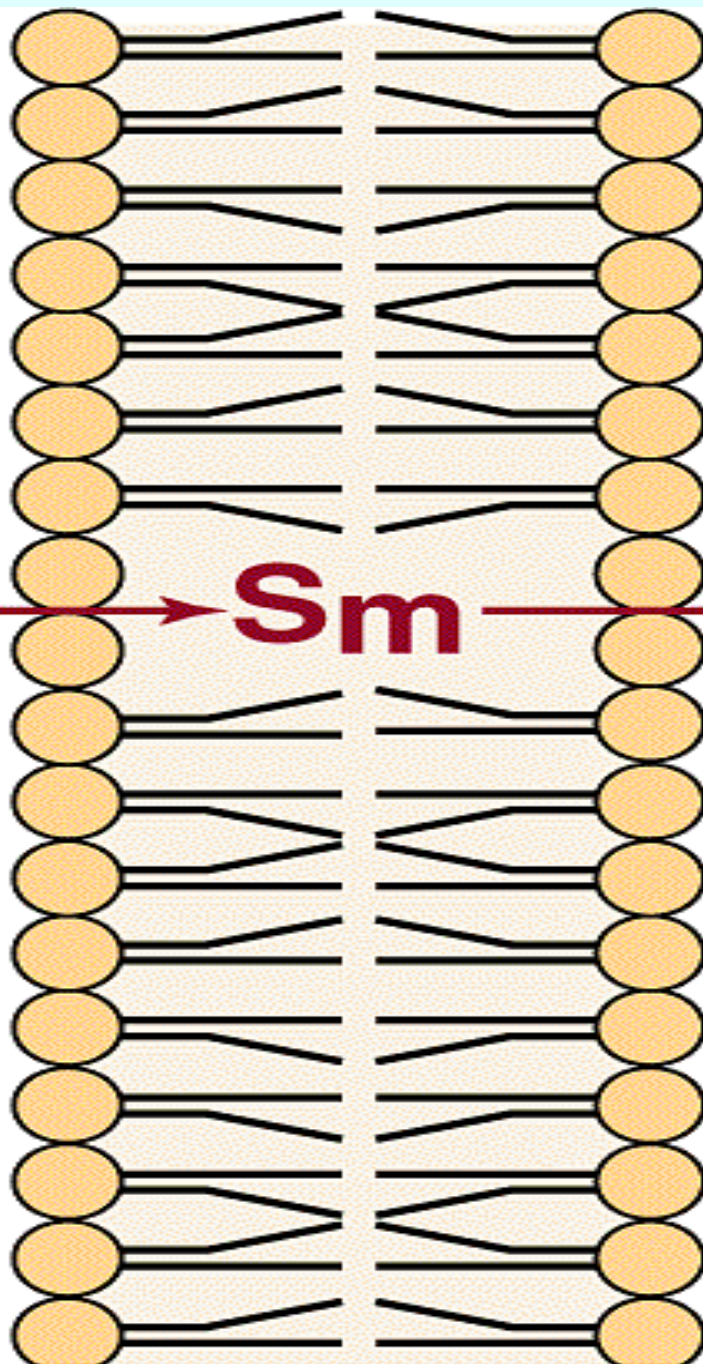
**Side 1**

**Side 2**

**S1**

**S<sub>m</sub>**

**S2**



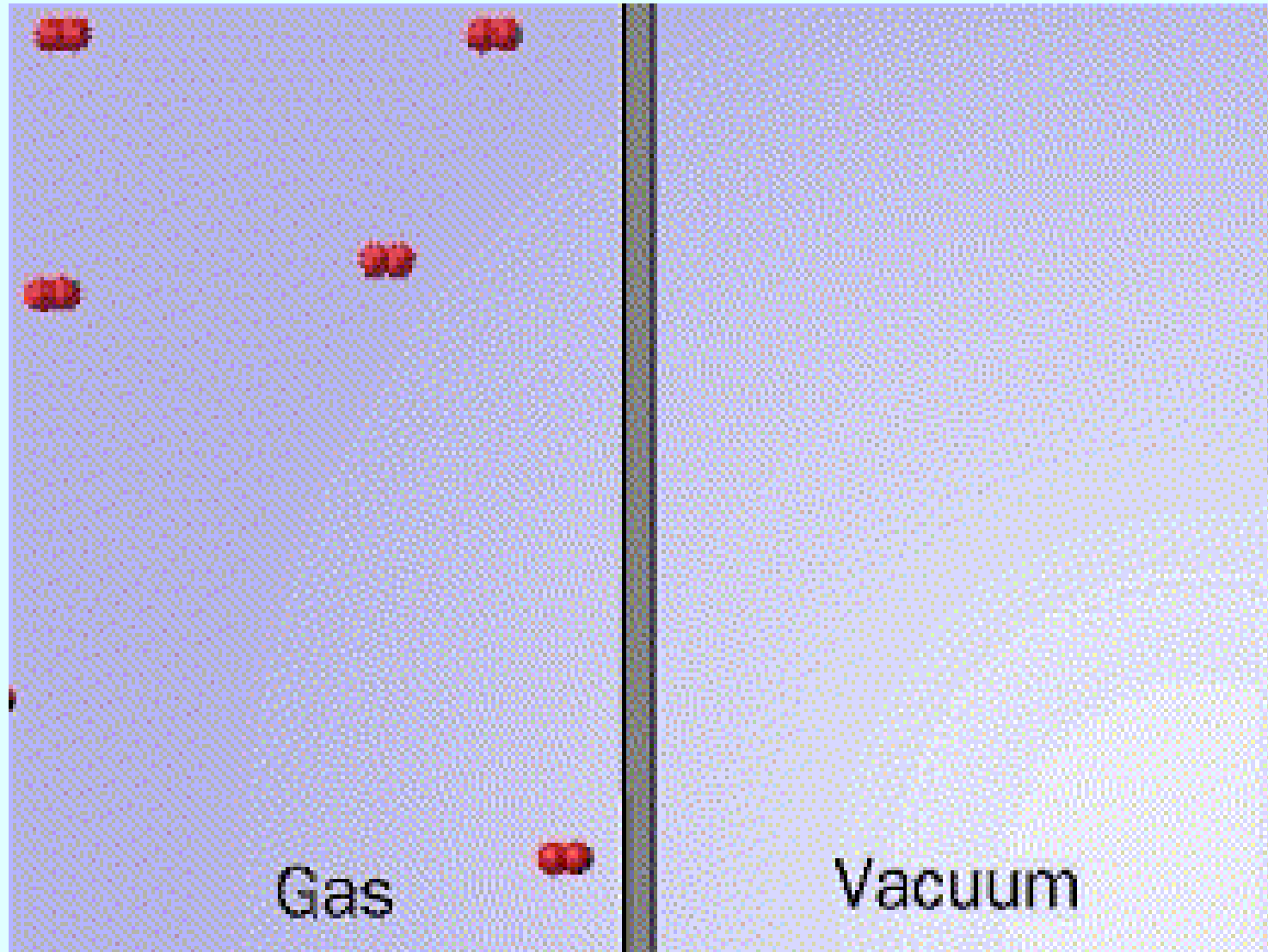


# **Энергия пассивного транспорта создается различными градиентами:**

- концентрационным**
- осмотическим**
- электрическим**
- градиентом гидростатического  
давления жидкости**
- электрохимическим (совокупность  
концентрационного и электрического)**



# Модель пассивной диффузии



**Диффузия** – это самопроизвольный процесс проникновения вещества из области большей в область меньшей его концентрации в результате теплового хаотического движения молекул.

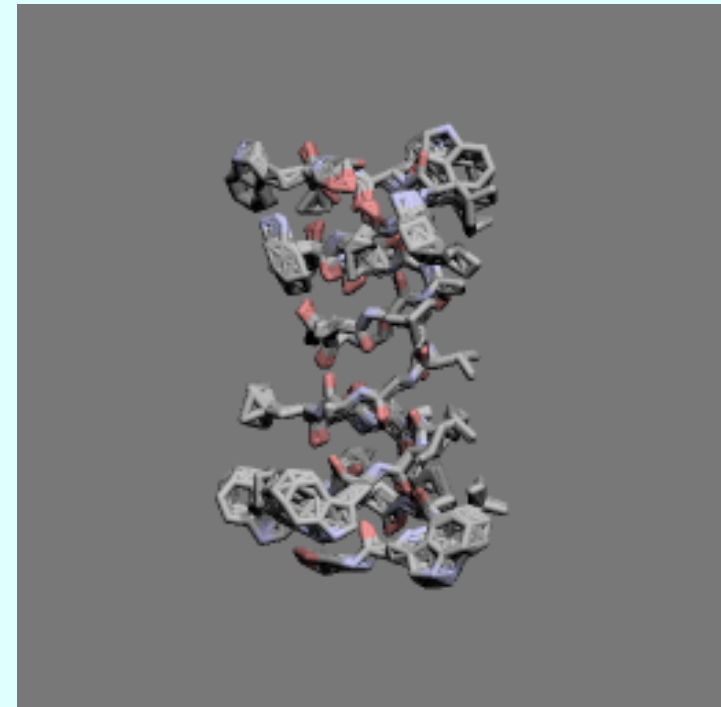
# Простая диффузия

- Легче всего проходят через липидный бислой неполярные молекулы с малой молекулярной массой (**кислород, азот, бензол**).
- Достаточно быстро проникают сквозь липидный бислой такие мелкие полярные молекулы, как **углекислый газ, оксид азота, вода, мочеви́на**.
- С заметной скоростью проходят через липидный бислой **этанол и глицерин**, а также **стероиды и тиреоидные гормоны**.
- Для более крупных полярных молекул (глюкоза, аминокислоты), а также для ионов липидный бислой практически непроницаем

Для воды коэффициент проницаемости (см/с) составляет около  $10^{-2}$ , для глицерина —  $10^{-5}$ , для глюкозы —  $10^{-7}$ , а для одновалентных ионов — меньше  $10^{-10}$ .

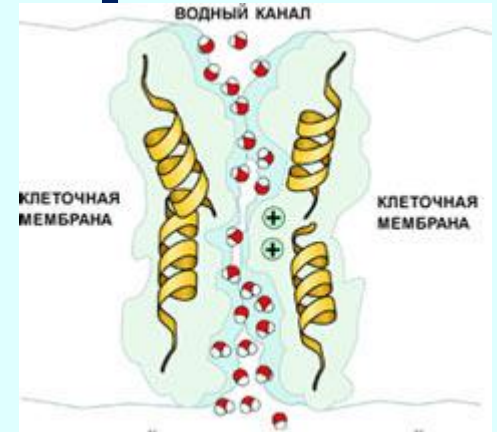
# Облегченная диффузия осуществляется при помощи белка-переносчика или каналообразующего белка.

1. Примером подвижного переносчика может служить **валиномицин**, транспортирующий  $K^+$ .
2. Примером каналообразующего белка может служить **грамицидин**, осуществляющий трансмембранный перенос  $Na^+$  по градиенту концентрации.



# Аквапорины - водные неионные каналы мембраны

- Пространственная структура канального белка-аквапорина представляет собой цилиндрический канал, по которому движутся молекулы воды.
- Через него проходит только вода, но не ионы.
- Аминокислоты в этом белке расположены так, что полярность создаваемого ими электростатического поля переключается в центре канала на обратную. Поэтому молекулы воды, дойдя до середины канала, переворачиваются так, что их дипольные моменты в верхней и нижней части канала оказываются направленными в противоположные стороны.
- Это переориентирование предотвращает просачивание через канал заряженных ионов. Аквапорин не пропускает даже ионы гидроксония  $\text{H}_3\text{O}^+$  (то есть гидратированные протоны, или ионы водорода), от концентрации которых зависит кислотность среды. При этом клеточный мембранный "водопровод" обладает потрясающей пропускной способностью: он пропускает до миллиарда молекул воды в секунду



Сейчас известно уже около 200 разновидностей белков водных каналов у растений и животных, в том числе 11 - у человека. Благодаря аквапоринам клетки не только регулируют свой объём и внутреннее давление, но и выполняют такие важные функции, как всасывание воды в почках животных и корешках растений.

# Виды ионных каналов:

- ❖ Неуправляемые (независимые).
- ❖ Потенциал-управляемые (потенциал-чувствительные, потенциал-зависимые, voltage-gated).
- ❖ Лиганд-управляемые (хемо-управляемые, хемочувствительные, хемозависимые, лиганд-зависимые, рецептор-активируемые).
- ❖ Опосредованно-управляемые (вторично-управляемые, ион-активируемые, ион-зависимые, мессенджер-управляемые, управляемые метаболитными рецепторами).
- ❖ Совместно-управляемые (NMDA-рецепторно-канальный комплекс). Они открываются одновременно как лигандами, так и определённым электрическим потенциалом мембраны. Можно сказать, что у них двойное управление. Пример: NMDA-рецепторно-канальный комплекс, имеющий сложную систему управления, включающую в себя 8 рецепторных участков-сайтов, с которыми могут связываться различные лиганды.
- ❖ Стимул-управляемые (механочувствительные, механосенситивные, активируемые растяжением (stretch) липидного бислоя, протон-активируемые, температурно-чувствительные).
- ❖ Актин-управляемые (актин-регулируемые, actin-regulated, actin-gated channels).
- ❖ Коннексоны (двойные поры).



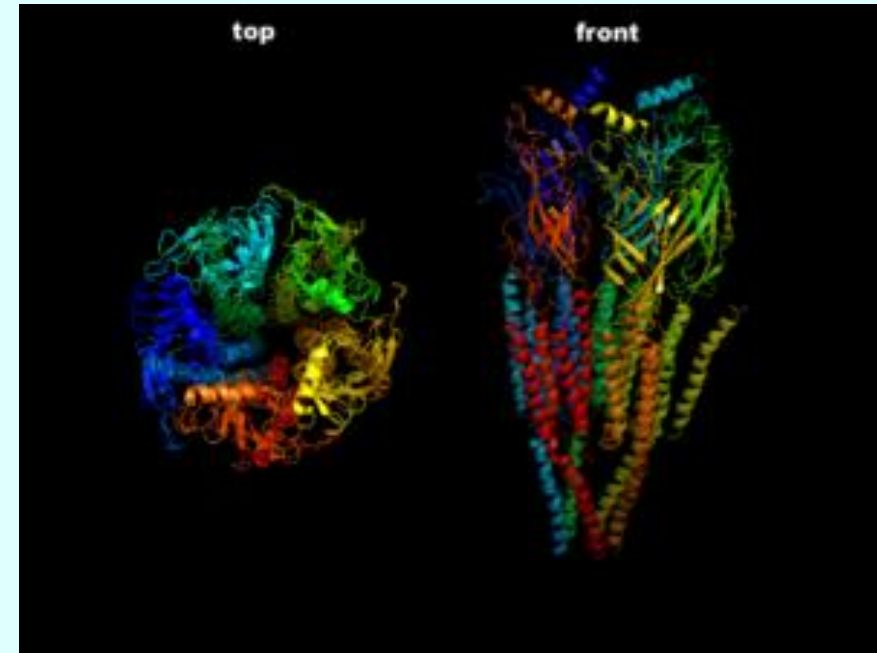
## По структуре выделяют три семейства лиганд-активируемых ионных каналов сходных:

- с пуриновыми рецепторами (АТФ-активируемые);
- с никотиновыми АХ-рецепторами, ГАМК-, глицин- и серотонин-рецепторами;
- с глутаматными рецепторами.

При этом в одно и то же семейство попадают ионные каналы с разной ионной селективностью, а также с рецепторами к разным лигандам. Но зато образующие эти каналы белки имеют большое сходство в строении и происхождении.

# По селективности в зависимости от проходящих через них ионов:

- натриевые,
- калиевые,
- кальциевые,
- хлорные,
- протонные (водородные)
- .

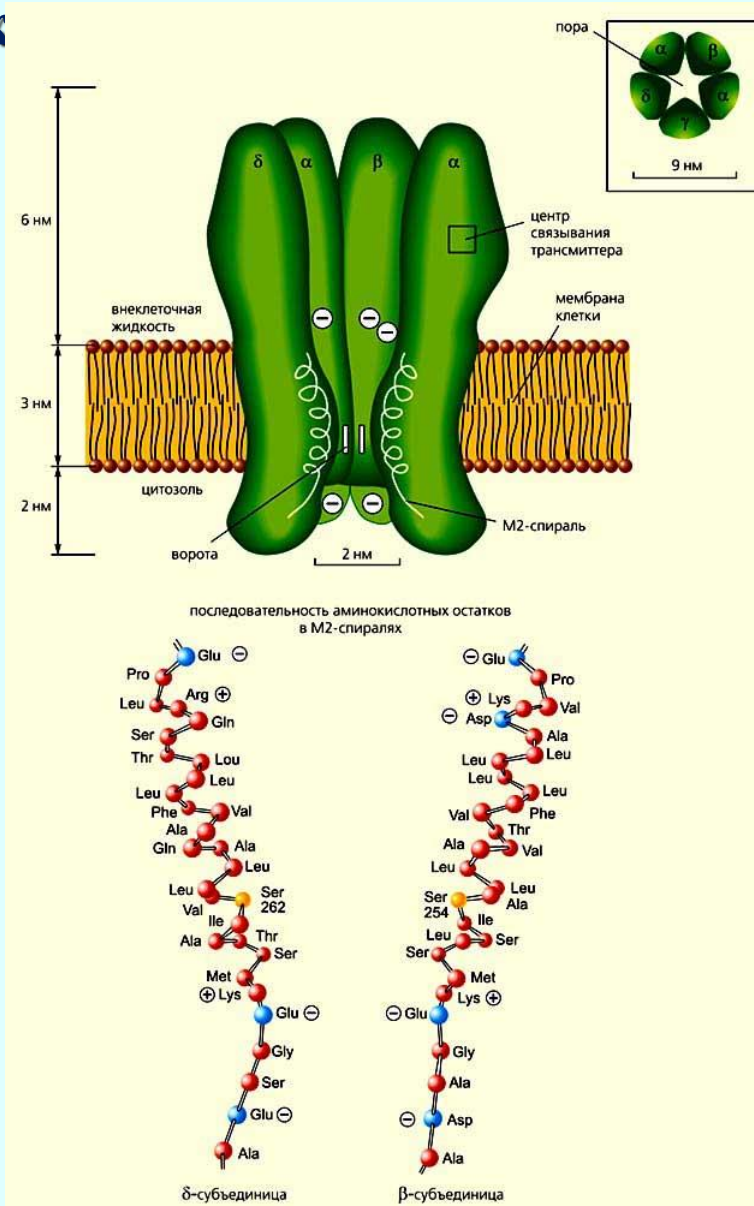


Канальные белки состоят из субъединиц, образующих структуру со сложной пространственной конфигурацией, в которой кроме поры обычно имеются молекулярные системы открытия, закрытия, избирательности, инактивации, рецепции и регуляции. Ионные каналы могут иметь несколько участков (сайтов) для связывания с управляющими веществами.

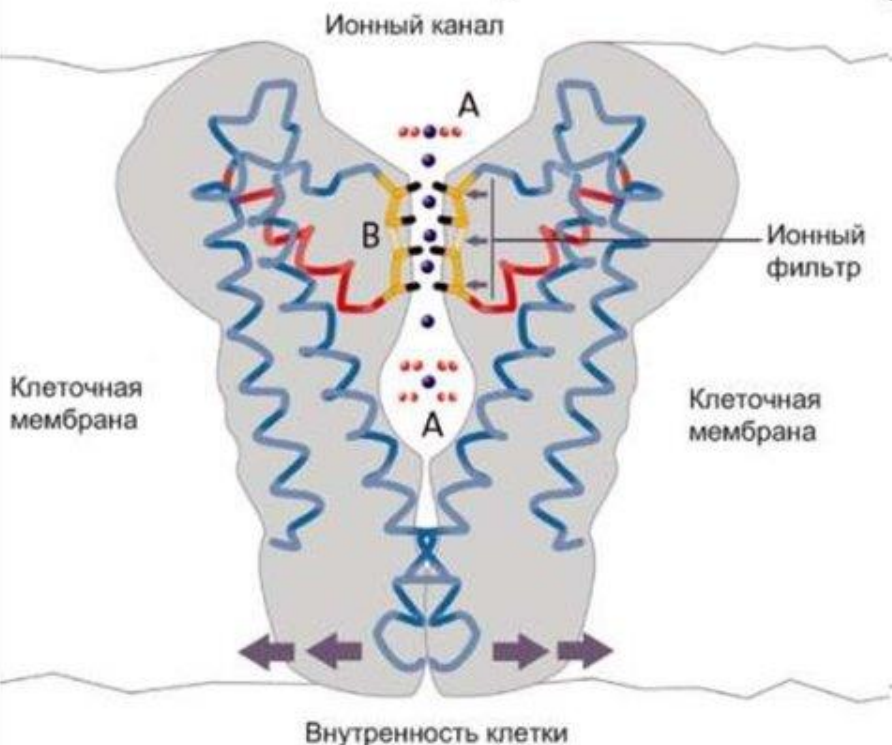
# Регулируемый перенос ионов через гидрофильные поры мембраны с помощью управляемых ИК является важнейшим свойством живых к

Никотиновый ацетилхолиновый рецептор (никотиночувствительный холинорецептор, н-холинорецептор, (англ. nACh-receptor)) — подвид ацетилхолиновых рецепторов, который обеспечивает передачу нервного импульса через синапсы и активируется ацетилхолином, а также никотином. Этот рецептор вместе с ГАМКА-, ГАМКС-глициновым и 5-НТЗ-рецепторами образует семейство лиганд-зависимых ионных каналов с цистеиновой петлёй

Трансмембранная часть рецептора образует ионный канал, стенки которого сформированы сегментами M2 всех пяти субъединиц. Было доказано, что относительно небольшие пертурбации, а именно поворот на  $4^\circ$  двух агонист-связывающих субъединиц, приводят к значительному смещению сегментов M2 и открытию поры ионного канала, что является условием возникновения катионного тока через рецептор.



# ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫЕ КАНАЛЫ



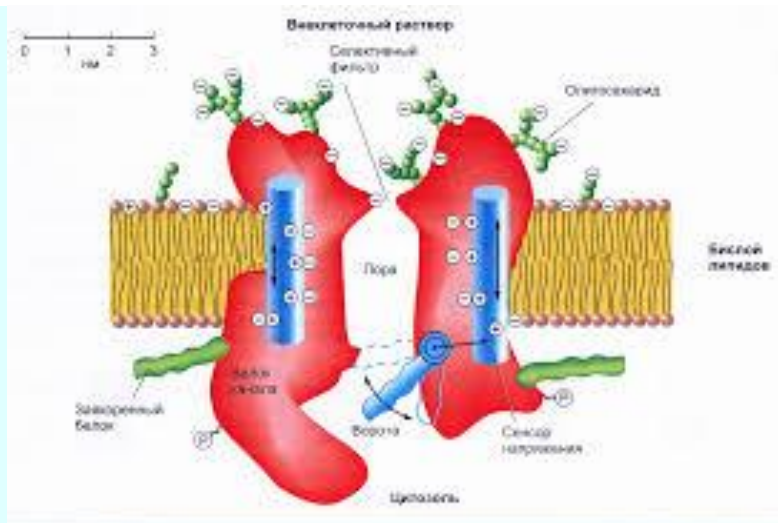
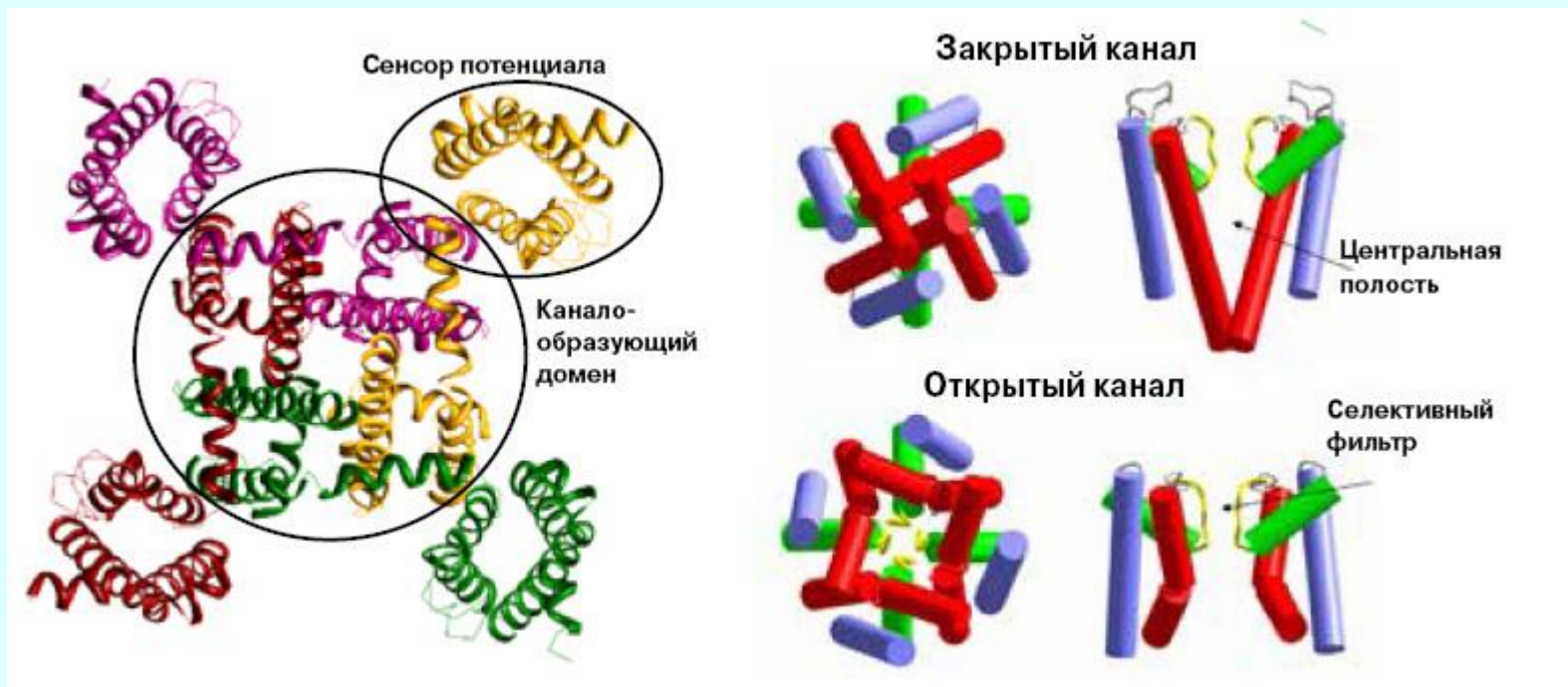
- Состояние потенциал-зависимых каналов зависит от мембранного потенциала. Большинство их активируется при деполяризации, однако некоторые активируются при гиперполяризации.
- Как правило, потенциал-зависимые каналы пропускают какой-либо один ион ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  или  $\text{Ca}^{2+}$ ). Редкое исключение представляют неселективные каналы из семейства цАМФ (цГМФ)-зависимых катионных каналов.

Состояние некоторых ионных каналов зависит (кроме потенциала) от связывания с различными внутриклеточными лигандами – АТФ,  $\text{Ca}^{2+}$ , комплексом  $\text{Ca}^{2+}$ /калмодулин, цАМФ (цГМФ) и G- белками.

Каналы, пропускающие ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь клетки по концентрационным градиентам, обеспечивают деполяризацию мембраны, приводящую к генерации потенциала действия. Каналы, пропускающие ионы  $\text{K}^+$  из клетки по концентрационному градиенту, обеспечивают реполяризацию мембраны и возвращение потенциала клетки к уровню потенциала покоя.



# Механизм функционирования потенциал-зависимого канала





# Белки переносчики

различаются по направлению перемещения и количеству переносимых данным переносчиком веществ:

- **Унипорт** — транспорт одного вещества в одном направлении в зависимости от градиента
- **Симпорт** — транспорт двух веществ в одном направлении через один переносчик.
- **Антипорт** — перемещение двух веществ в разных направлениях через один переносчик.

Completion and analysis of various genomes revealed that about 10% of **all** proteins function in **transport** (in E.coli –427 transporters)

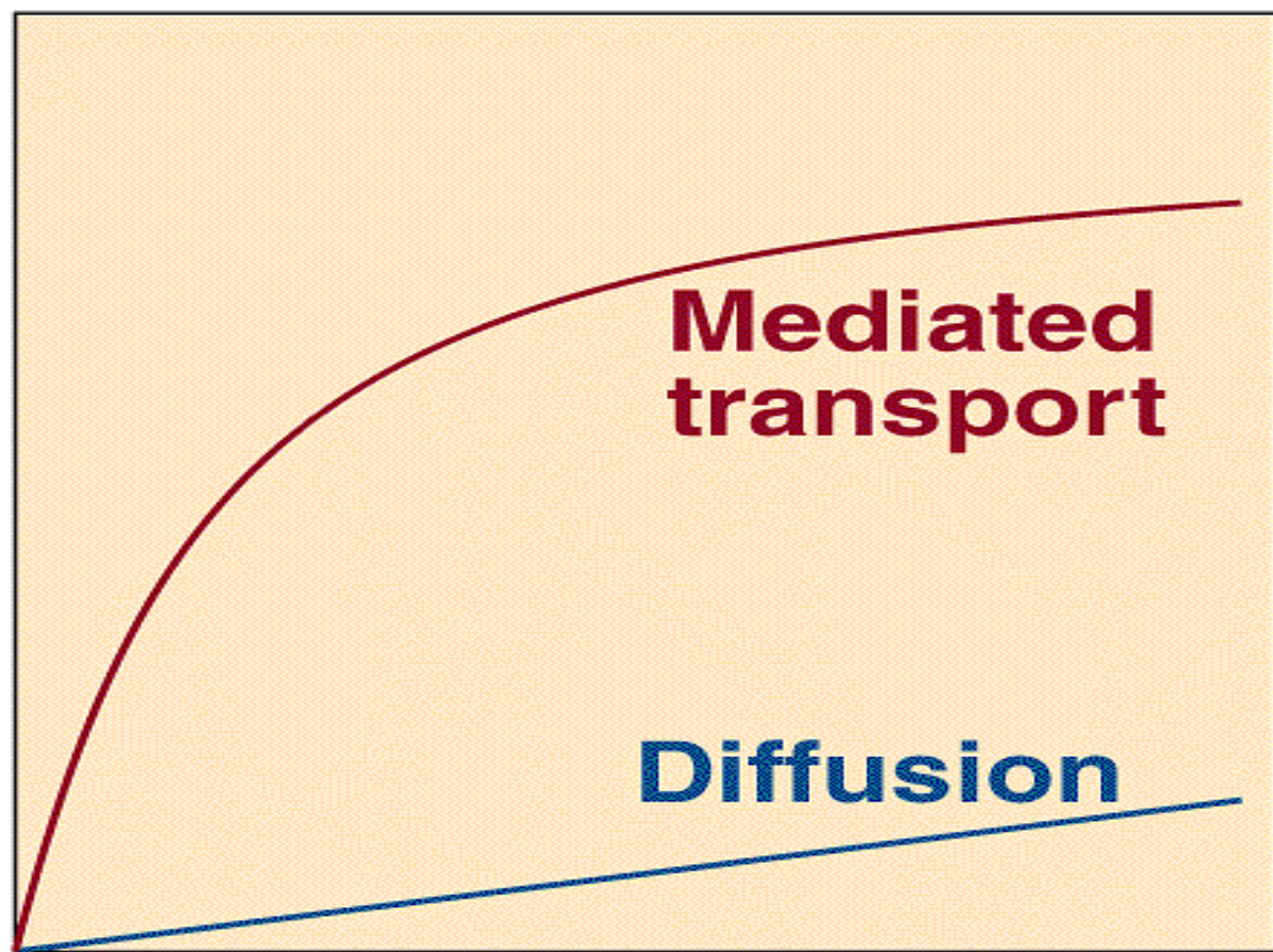
In eucaryotic cells, **2/3** of cellular energy at rest is used to transport ions ( $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$ )

About 200 families of transporters are recognized

The largest family: ABC-transporters

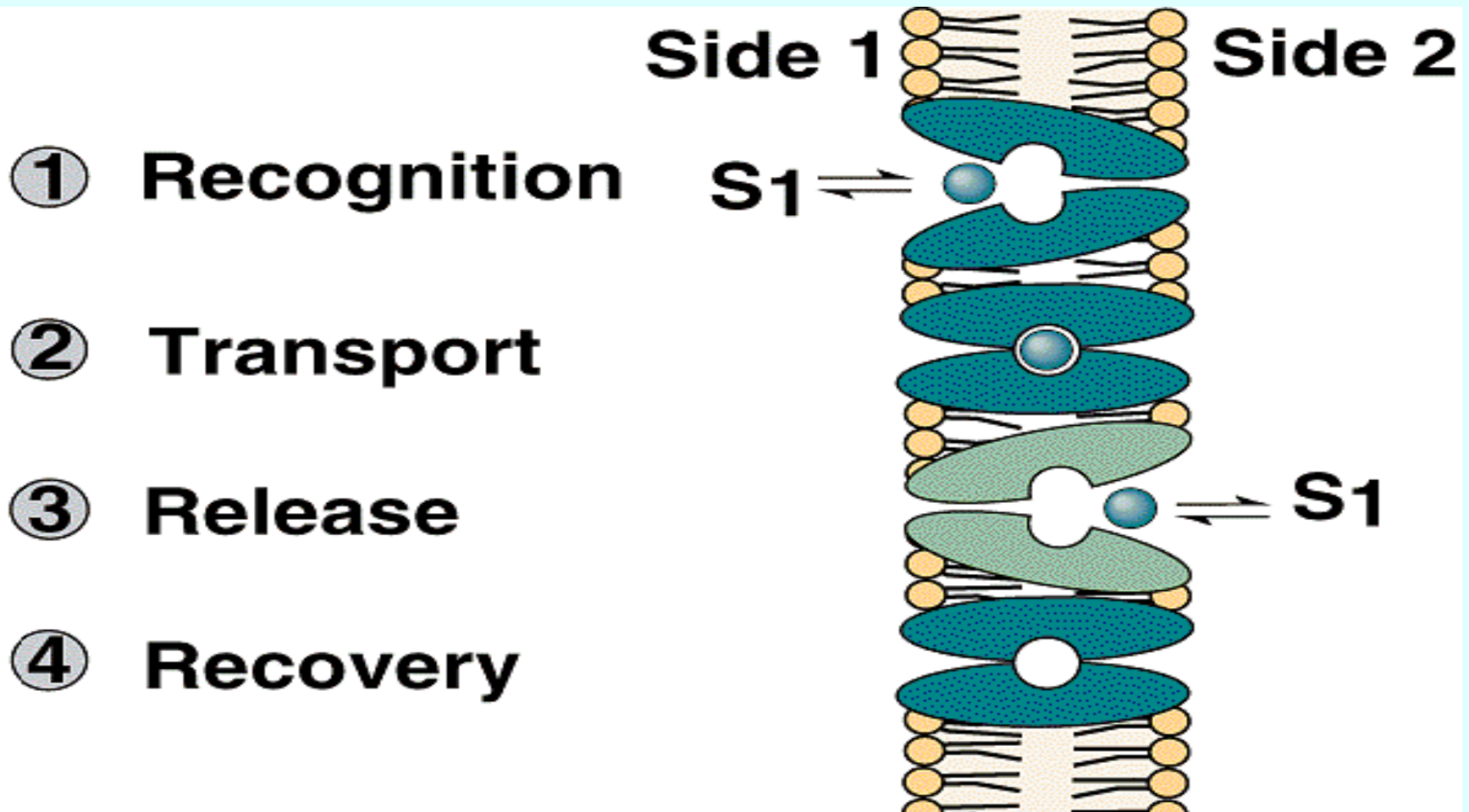


**Rate of movement through  
a membrane** ↑



**Concentration  
of solute** →

# Механизм переноса

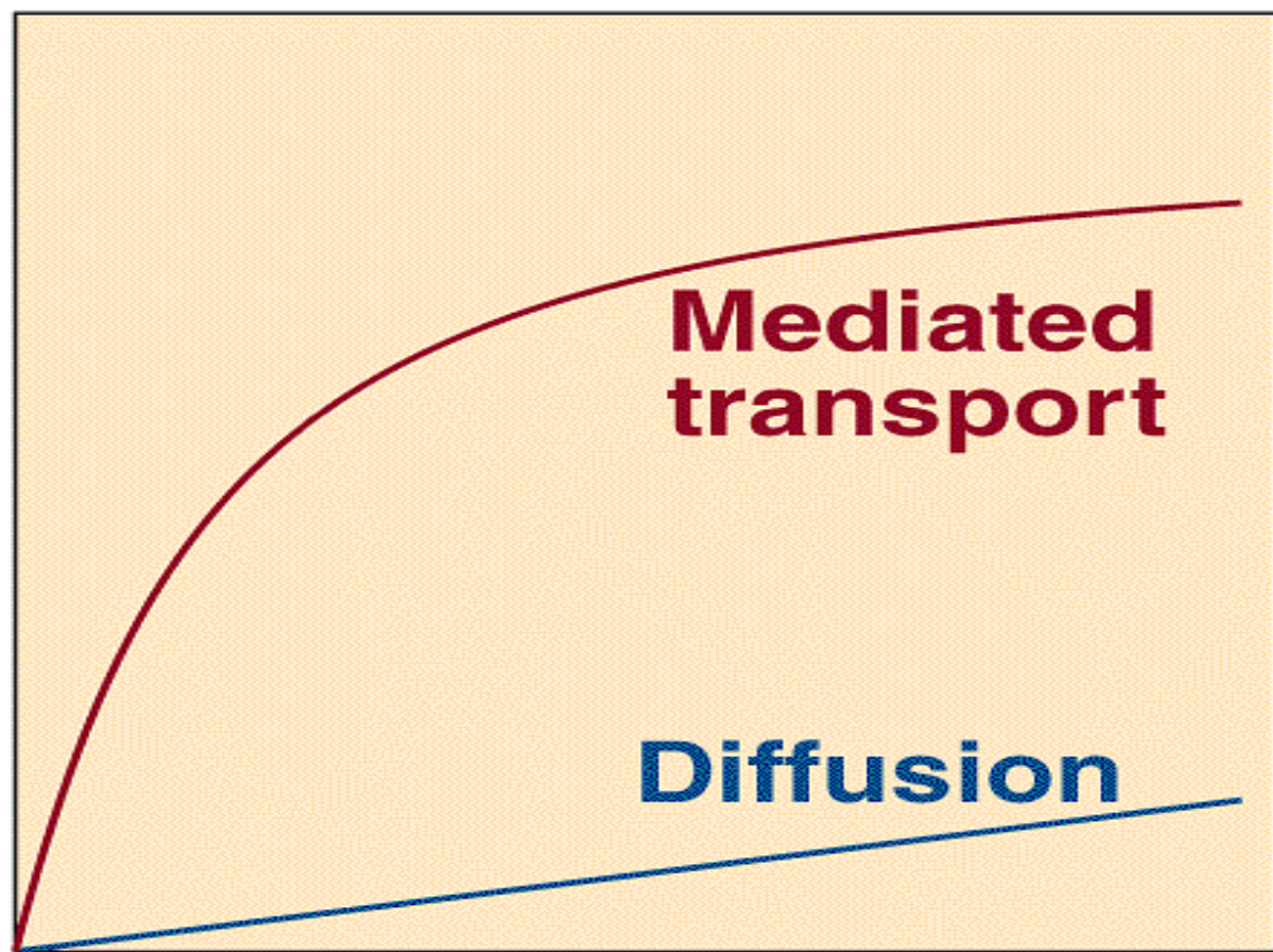


# Терминология:

- Carriers are also variously called «porters», «porting systems», «translocases», «transport systems» and «pumps»



**Rate of movement through  
a membrane** ↑



**Concentration  
of solute** →

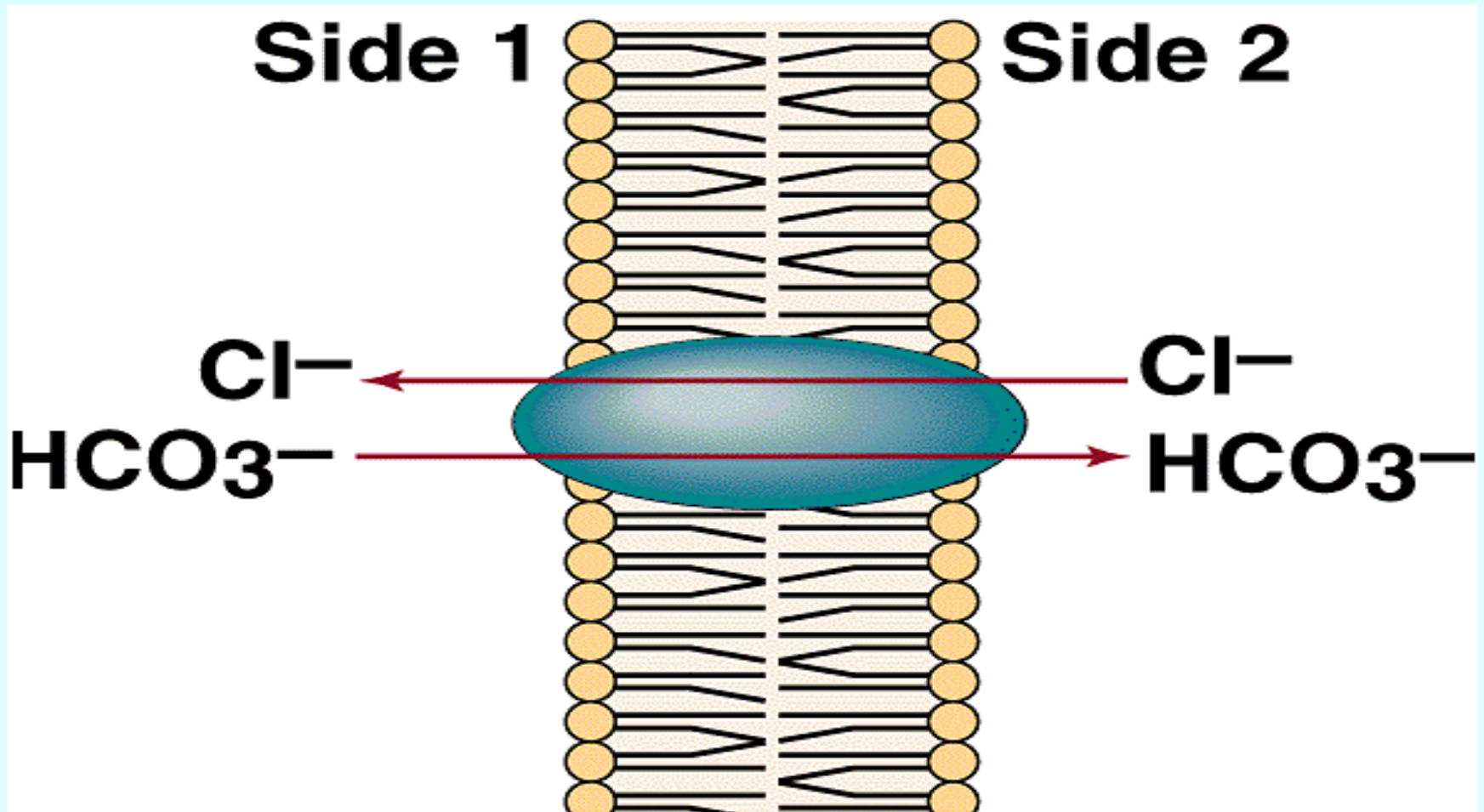
# Перенос описывается уравнением Михаэлиса-Ментена

Поток вещества  $M$  равен возможной максимальной скорости  $V_{\max}$  реакции в условиях насыщения фермента и концентрации субстрата  $C$ .

$$M = V_{\max} \frac{C}{k + C}, \text{ где } k \text{ - константа}$$

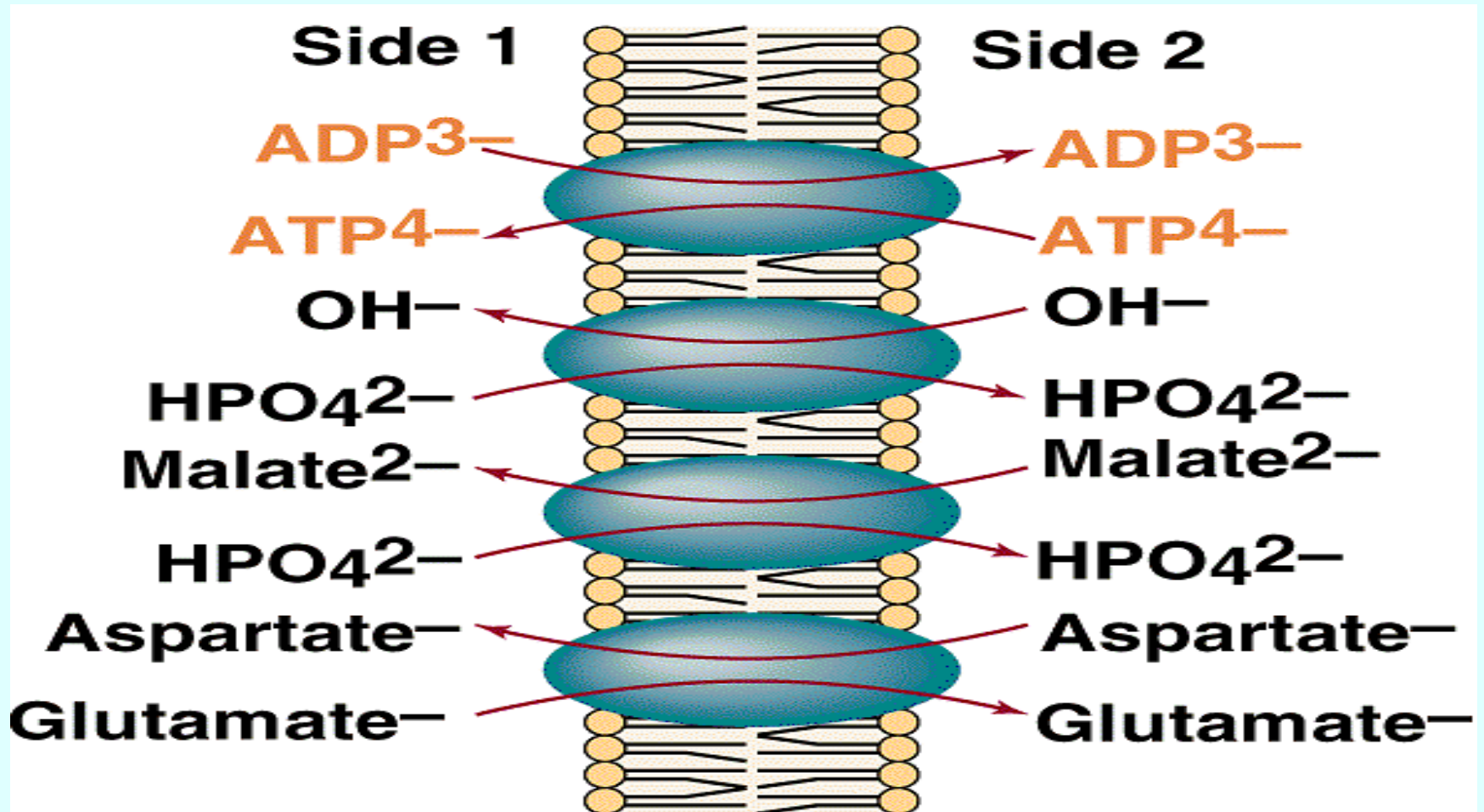
Из уравнения следует, что при повышении концентрации субстрата скорость потока веществ реакции возрастает и приближается к некоторому постоянному значению, характерному для полного связывания с субстратом.

# Анионный канал в мембране эритроцита





# Переносчики в внутренней мембране митохондрий



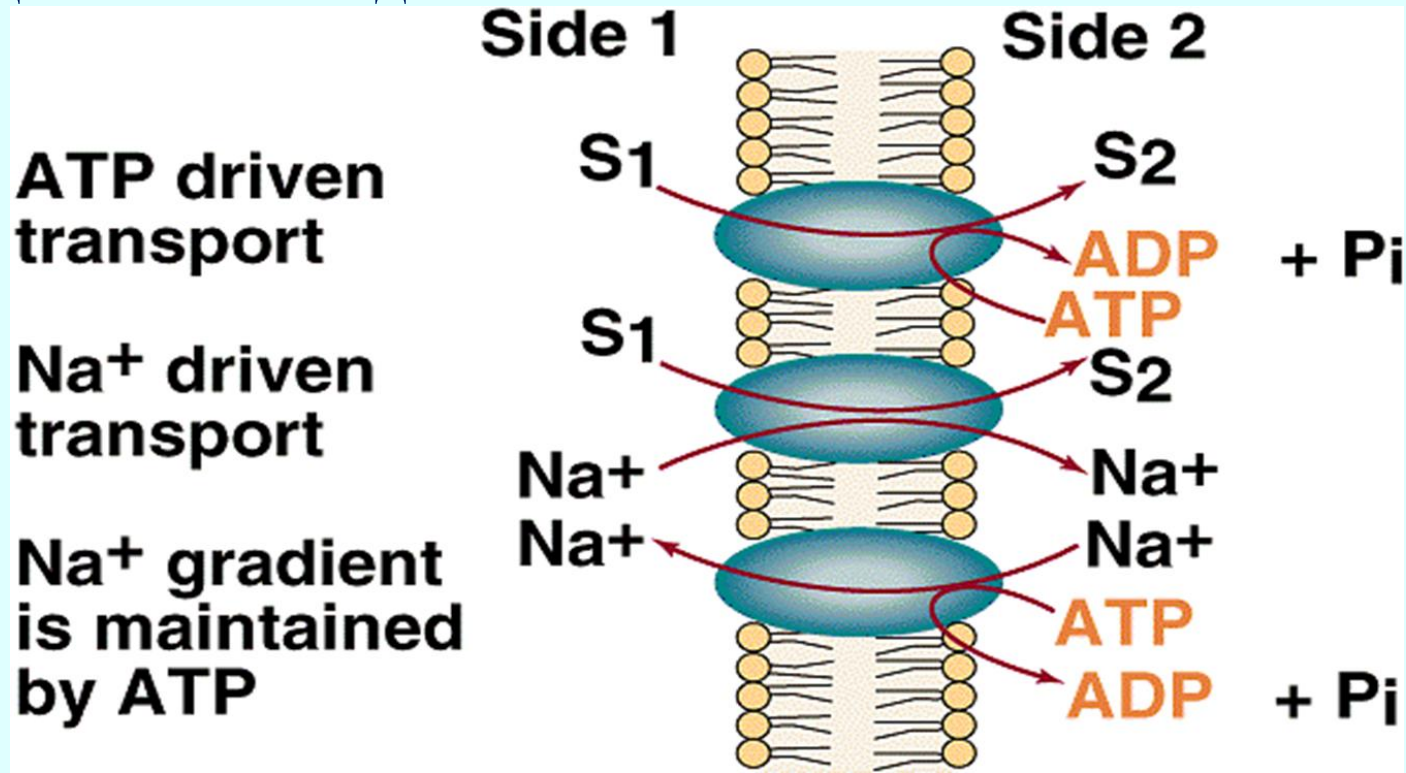
# GLUT

- Система унипортов может быть продемонстрирована тем фактом, что добавление веществ со структурами, которые напоминают структуру глюкозы, может препятствовать специфике транспорта глюкозы. Он специфичен для глюкозы.
- $K_m$  для глюкозы составляет 6,2 мМ (значение в окрестности концентрации глюкозы в крови, 5,5 мМ).
- $K_m$  для фруктозы составляет 2000 мМ.
- Процесс переноса включает присоединение глюкозы вне клетки. Конформационное изменение белка-носителя. Выделение глюкозы внутри клетки.

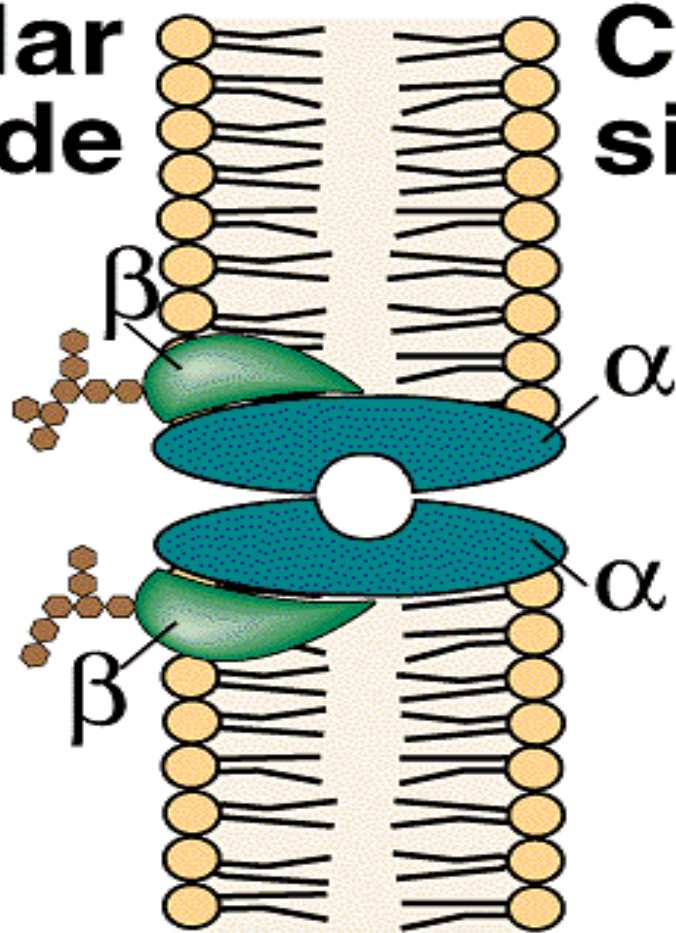


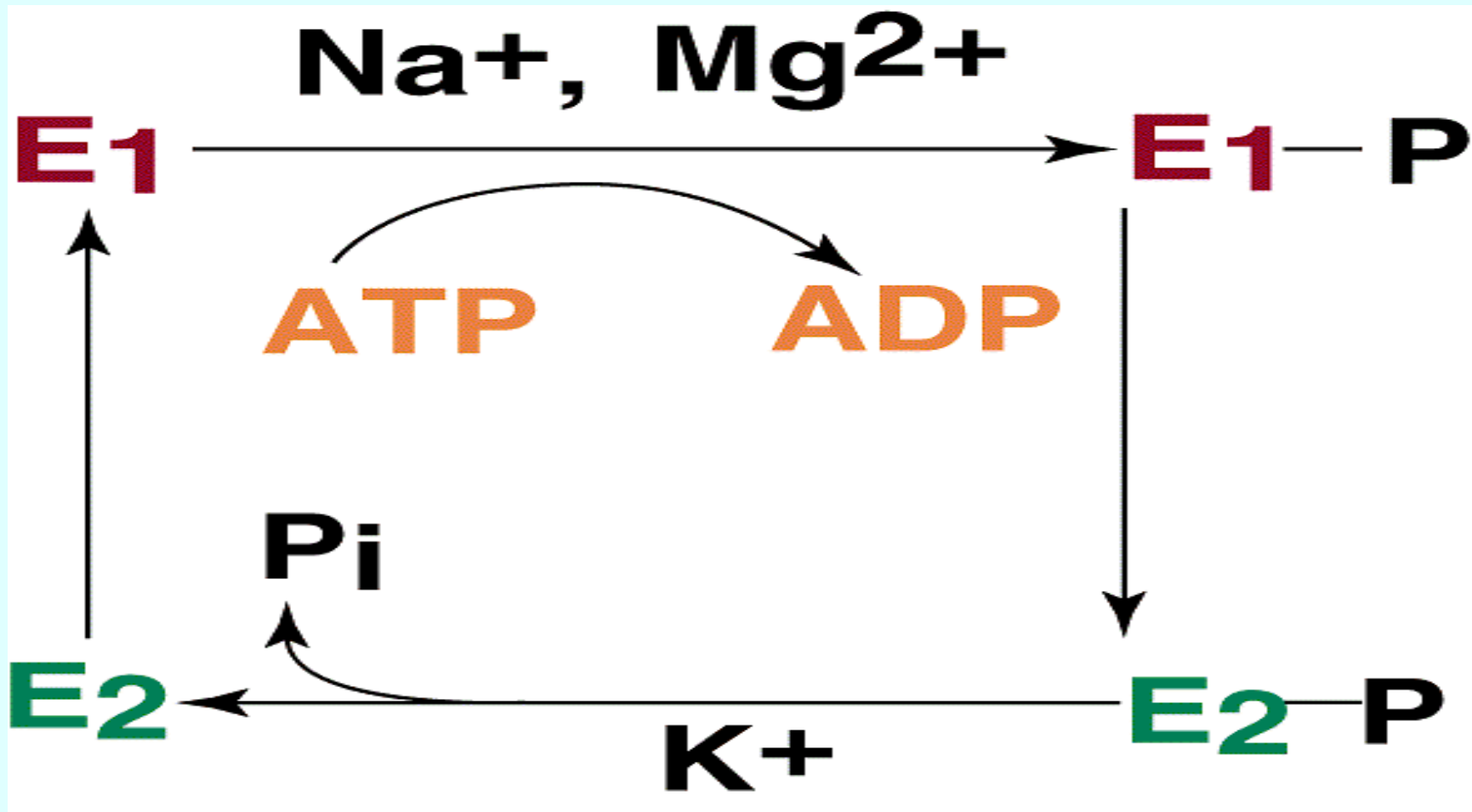
Активный транспорт — перенос вещества через клеточную мембрану (трансмембранный активный транспорт) или через слой клеток (трансцеллюлярный активный транспорт), протекающий из области низкой концентрации в область высокой, т. е. с затратой свободной энергии организма.

- Два источника энергии АТФ и градиент  $\text{Na}^+$ .
- Энергия  $\text{Na}^+$  градиента используется в симпорте
- Градиент  $\text{Na}^+$  создается  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазой

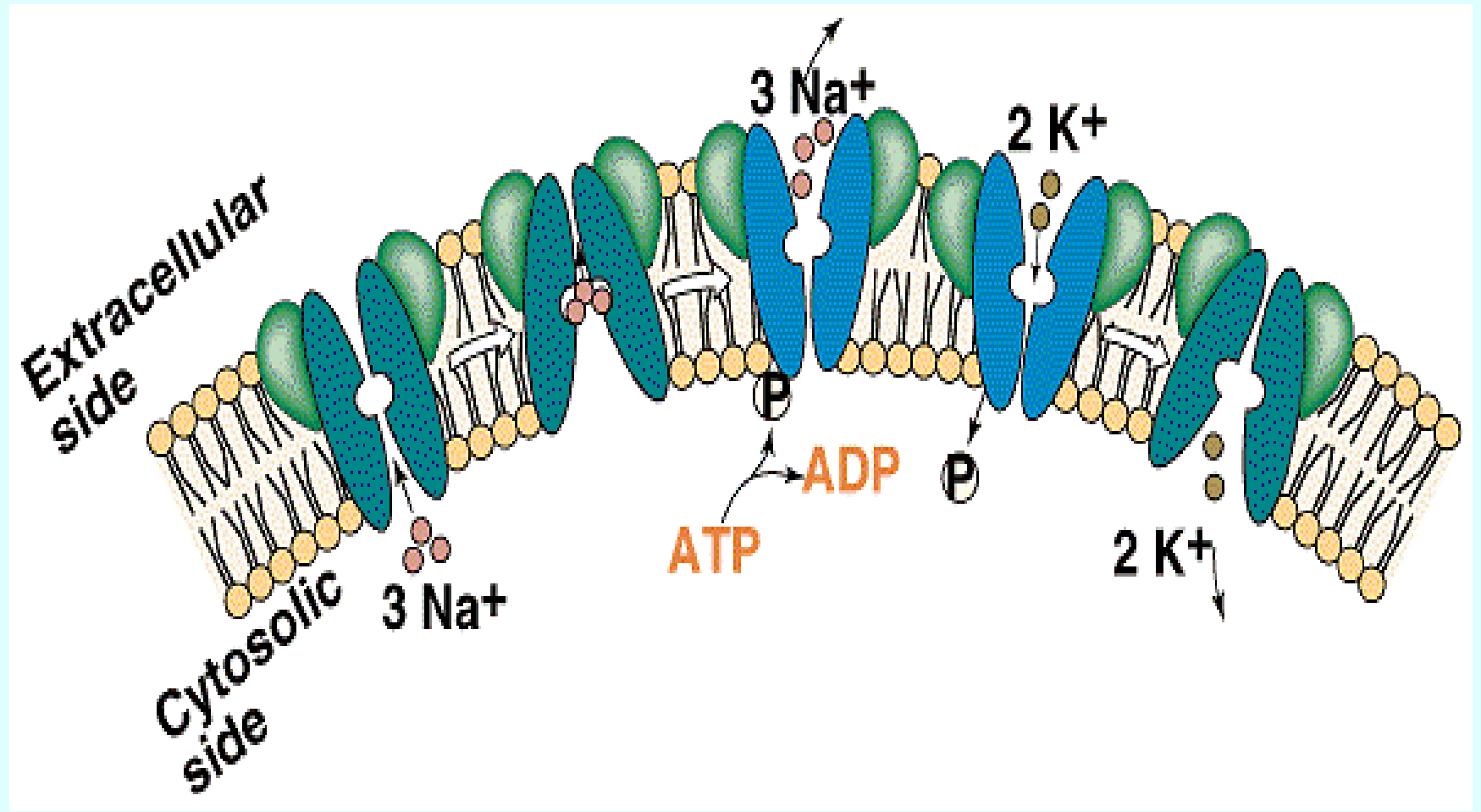


**Extracellular side** **Cytosolic side**

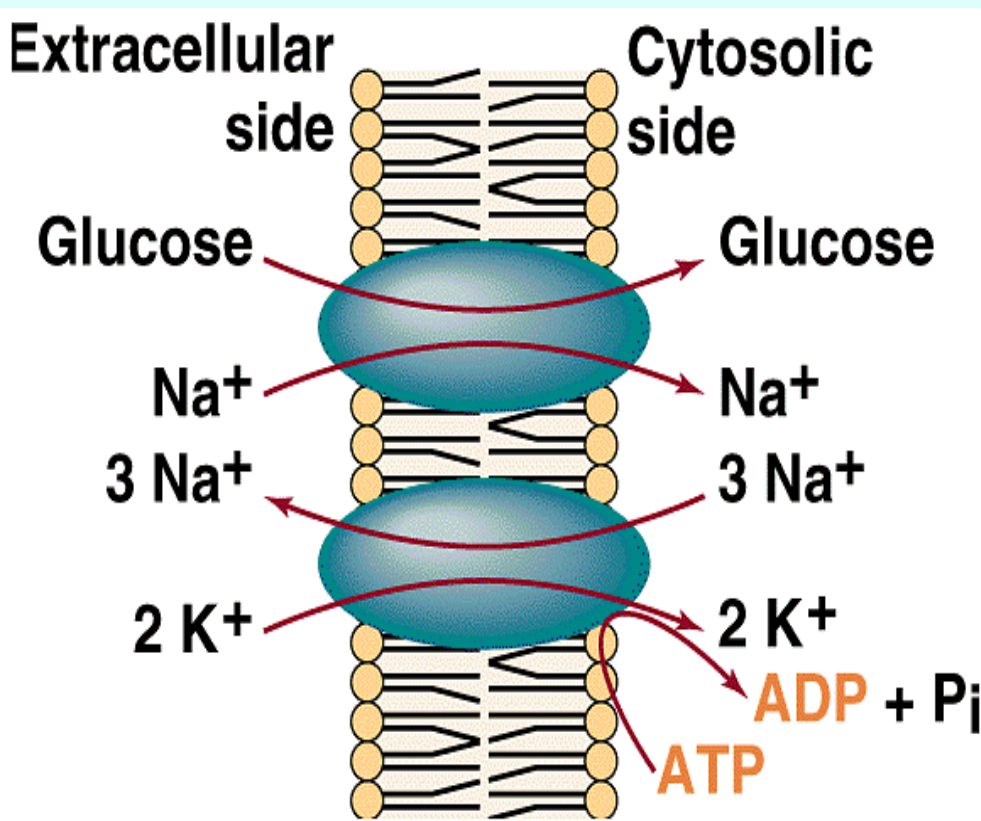




# Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>насос



## Na<sup>+</sup> зависимый транспорт глюкозы открыт в кишечнике

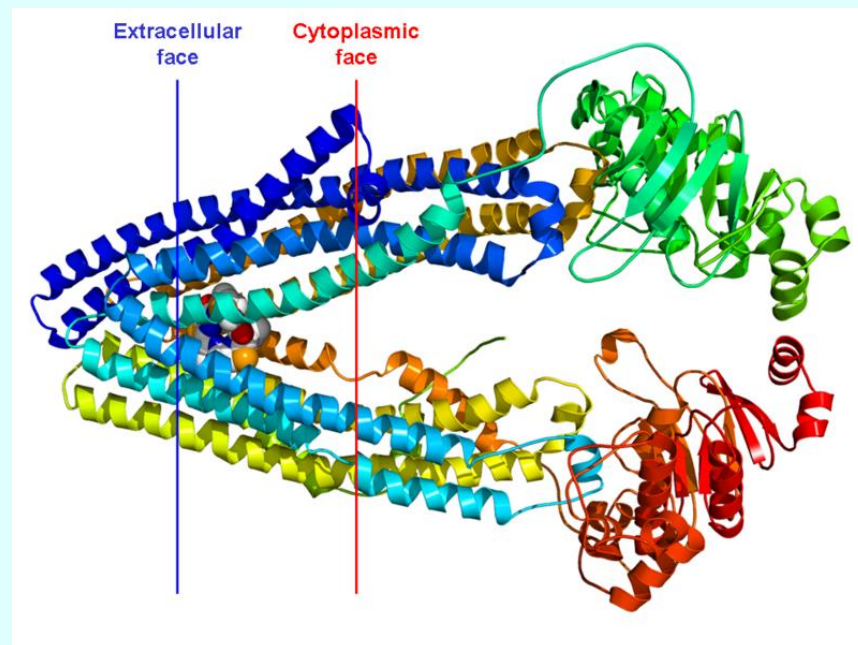


- глюкоза переносится против ее градиента Na<sup>+</sup>,двигающегося по его градиенту. Оба они переносятся в клетку из просвета кишечника. Один Na<sup>+</sup> переносится с каждой глюкозой. Градиент Na<sup>+</sup> необходим; он поддерживается Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> АТФазой.
- Аналогичный вид транспорта существует для аминокислот. Существует не менее шести транслоказ различной специфичности, которые используют этот механизм. Их специфика заключается в следующем.
  - Короткие нейтральные аминокислоты: ala, ser, thr.
  - Длинные или ароматические нейтральные аминокислоты: phe, tyr, met, val, leu, ile.
  - Основные аминокислоты и цистин: lys, arg, cys-cys.
  - Кислотные аминокислоты: glu, asp
  - Иминокислоты: про и hupro
  - Бета-аминокислоты: бета-аланин, таурин



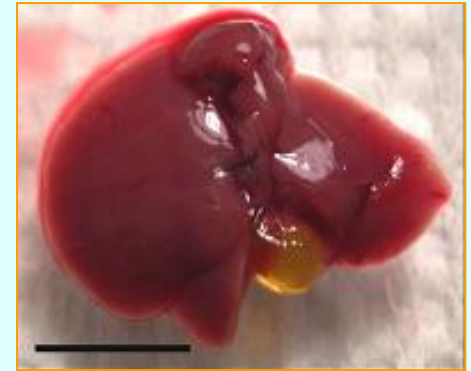
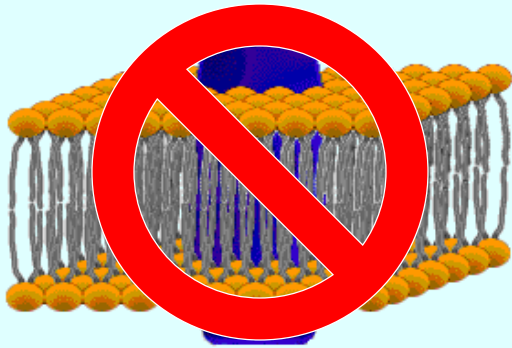
# P-гликопротеин, или белок множественной лекарственной устойчивости 1, (MDR1; CD243)

— мембранный белок, гликопротеин из семейства ABC-переносчиков. Обеспечивает перенос многих веществ, таких как липиды, стероиды, пептиды, билирубин и др., через мембрану клетки. Продукт гена ABCB1 (англ. ATP-binding cassette sub-family B member 1).

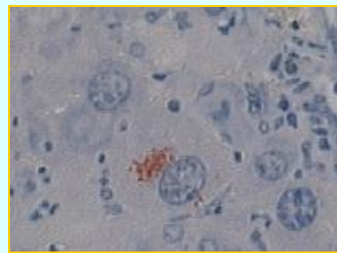
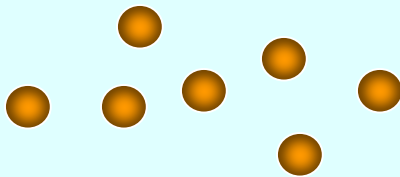


Структура белка множественной лекарственной устойчивости. Приблизительное положение белка в мембране клетки указано синим (снаружи) и красным (изнутри). На схеме также представлен QZ59, ингибитор белка, в виде пространственно-заполняющей модели

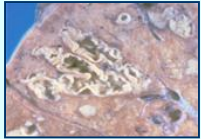
# Wilson's disease protein (ATP7B) is a key regulator of copper concentration in the liver



Normal liver



ATP7B -/- liver



## Врожденная патология мембранного транспорта

- **Cystic Fibrosis and CFTR** (the most common fatal childhood disease in Caucasian populations). Inadequate secretion of pancreatic enzymes leading to nutritional deficiencies, bacterial infections of the lung and respiratory failure, male infertility.
- **Bile Salt Transport Disorders** Several ABC transporters, specifically expressed in the liver, have a role in the secretion of components of the bile, and are responsible for several forms of progressive familial intrahepatic cholestasis, that leads to liver cirrhosis and failure.
- **Retinal Degeneration** The ABCA4 gene products transports retinol (vitamin A) derivatives from the photoreceptor outer segment disks into the cytoplasm. A loss of ABCA4 function leads to retinitis pigmentosa and to macular dystrophy with the loss of central vision.
- **Mitochondrial Iron Homeostasis** ABCB7 has been implicated in mitochondrial iron homeostasis. Two distinct missense mutations in ABCB7 are associated with the X-linked sideroblastic anemia and ataxia
- **Multidrug Resistance** ABC genes have an important role in MDR and at least six different ABC transporters are associated with drug transport