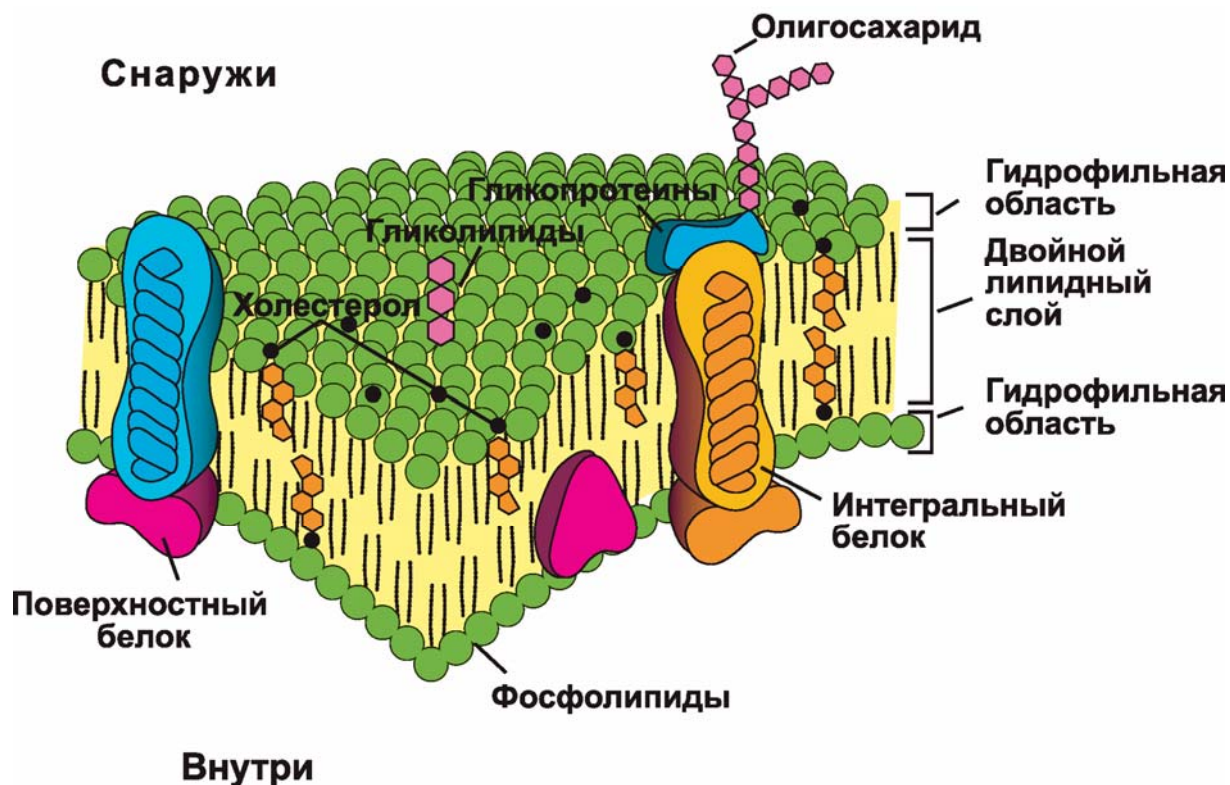


БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Авторы – доцент В.А.Голенченко, доцент Д.В.Астахов

Все клетки, а также их органеллы окружены мембранами, которые играют важную роль как в структурной организации, так и в функционировании клеток и клеточных органелл.



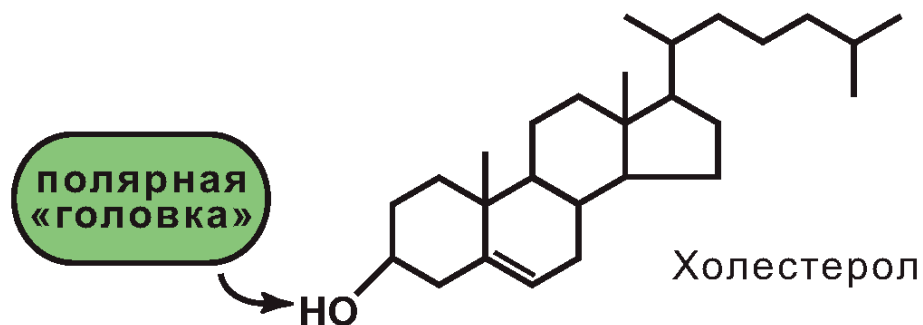
МЕМБРАНЫ:

- отделяют клетку от окружающей среды и делят ее на отсеки;
- участвуют в переносе веществ в клетку, органеллы и в обратном направлении;
- обеспечивают специфику межклеточных контактов;
- воспринимают сигналы из внешней среды.

В ФОРМИРОВАНИИ биологических мембран принимают участие липиды и белки:

ЛИПИДЫ МЕМБРАН являются амфифильными соединениями, т.е. в молекуле есть как гидрофильные группы – полярные «головки», так и алифатические радикалы – гидрофобные «хвосты», самопроизвольно формирующие бислой. В мембранах присутствуют, в основном, липиды трех главных типов:

- производные фосфатидной кислоты;
- производные сфингозина;
- холестерол.



Холестерол придает мембранам жесткость.

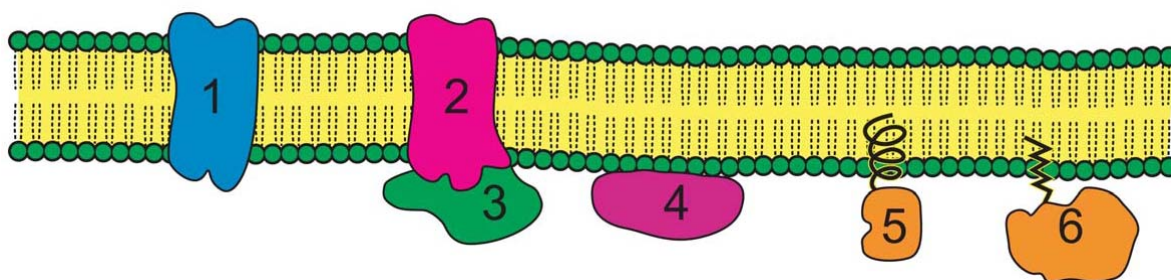
Молярное соотношение холестерол/другие липиды равно 0,3 – 0,9.

В цитоплазматической мембране 0,8 – 0,9

ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ МЕМБРАН

- Формируют липидный бислой.
- Обеспечивают необходимую для функционирования мембранных белков «среду».
- Служат «якорем» для поверхностных белков (например, инозитолфосфаты).
- Участвуют в регуляции активности ферментов, например протеинкиназы С и др.

БЕЛКИ МЕМБРАН различаются по строению, локализации и функциям:



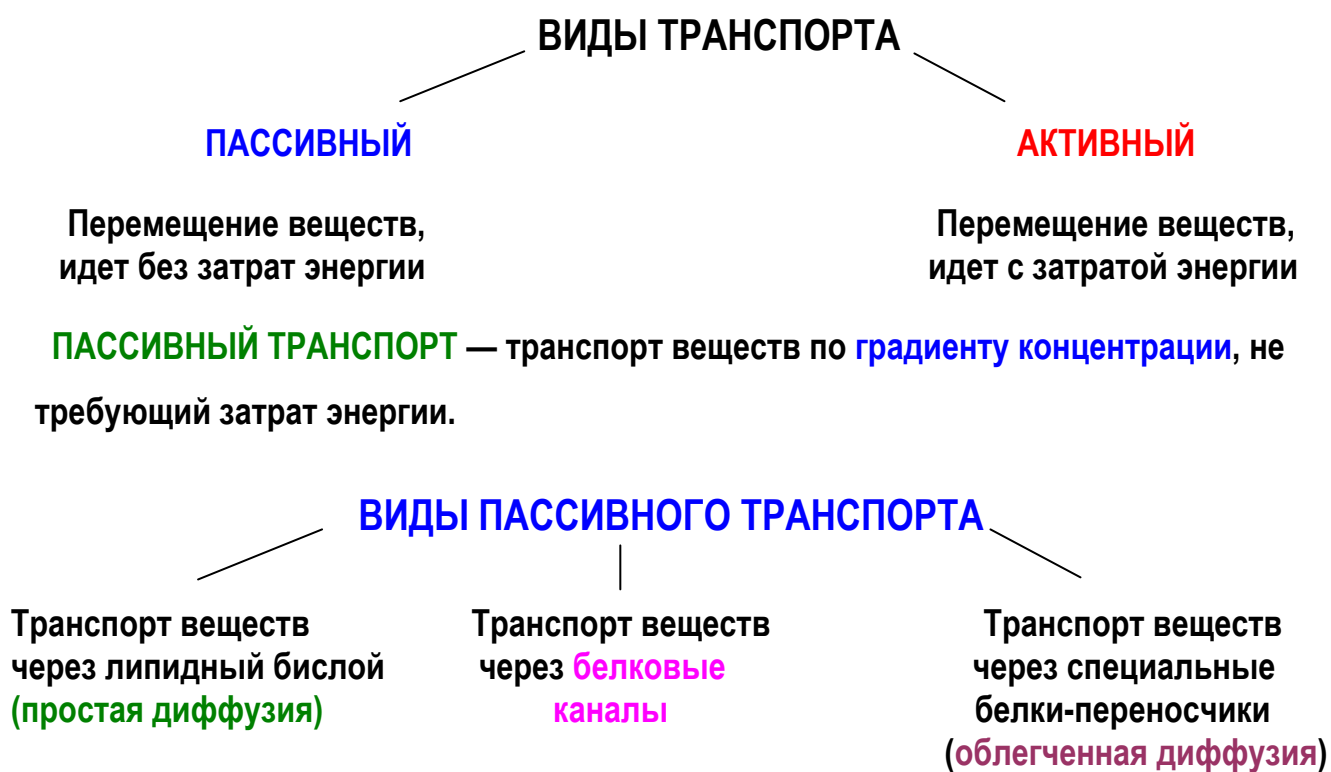
1, 2 - интегральные (трансмембранные) белки; 3, 4, 5, 6 - поверхностные белки. В интегральных белках часть полипептидной цепи погружена в липидный слой. Те участки белка, которые взаимодействуют с углеводородными цепями жирных кислот, содержат преимущественно неполярные аминокислоты. Участки белка, находящиеся в области полярных «головок», обогащены гидрофильными аминокислотными остатками. Поверхностные белки разными способами прикрепляются к мембране: 3 - связанные с интегральными белками; 4 - присоединенные к полярным «головкам» липидного слоя; 5 - «заякоренные» в мембране с помощью короткого гидрофобного концевой домена; 6 - «заякоренные» в мембране с помощью ковалентно связанного ацильного остатка.

БЕЛКИ МЕМБРАН МОГУТ УЧАСТВОВАТЬ В:

- иммунологических реакциях;
- передаче гормональных сигналов;
- избирательном транспорте веществ;
- качестве ферментов в превращениях веществ;
- образовании «окаймленных ямок», обеспечивающих эндоцитоз;

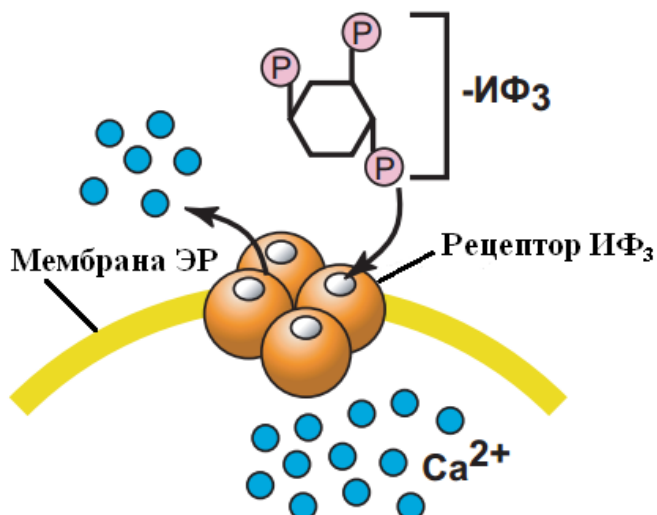
ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ

Важнейшее свойство биологической мембраны состоит в её способности пропускать в клетку и из неё различные вещества. Такая функция клеточной мембраны выполняется благодаря избирательной проницаемости, то есть способности пропускать одни вещества и не пропускать другие.



ПРОСТАЯ ДИФфуЗИЯ – CO_2 , NH_3 , O_2 , H_2O , мочевина, спирт, гидрофобные низкомолекулярные вещества

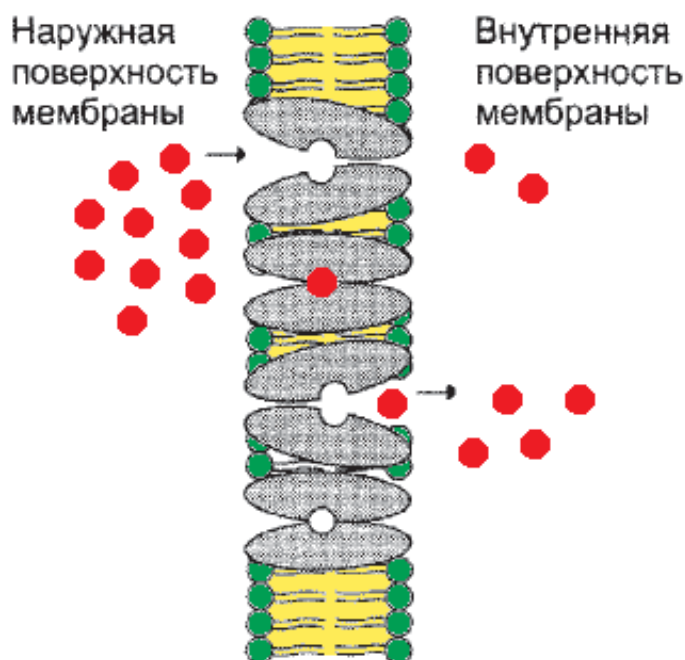
БЕЛКОВЫЕ КАНАЛЫ. К пассивному транспорту относится диффузия ионов по **белковым каналам**, например диффузия H^+ , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ . Функционирование большинства каналов регулируется специфическими лигандами или изменением трансмембранного потенциала.



Ca^{2+} -канал мембраны эндоплазматического ретикулума, регулируемый инозитол-1,4,5-трифосфатом (ИФ_3).

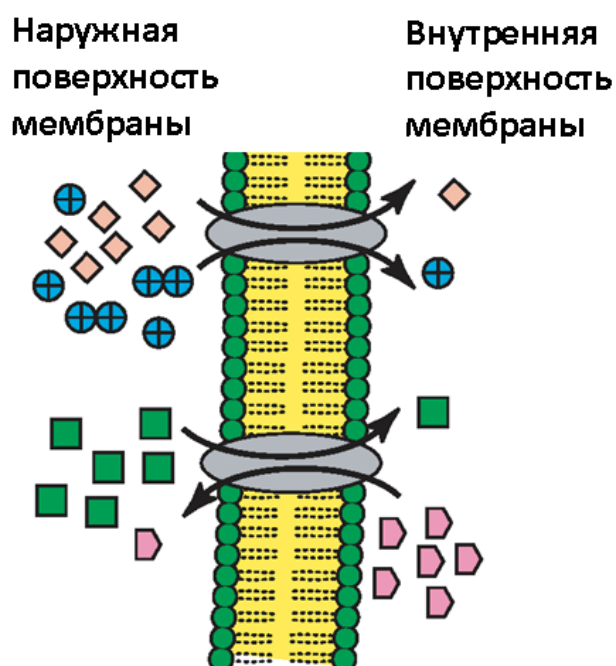
ИФ_3 связывается специфическими центрами протомеров Ca^{2+} - канала мембраны эндоплазматического ретикулума. Изменяется конформация белка и канал открывается - Ca^{2+} поступает в цитозоль клетки по градиенту концентрации.

ОБЛЕГЧЕННАЯ ДИФфуЗИЯ – **Унипорт**, например, транспорт глюкозы в клетки тканей с помощью белков-переносчиков ГЛЮТов.



Облегчённая диффузия (унипорт) глюкозы в эритроциты с помощью ГЛЮТ-1 (● – молекула глюкозы). Молекула глюкозы связывается переносчиком на наружной поверхности плазматической мембраны. Вследствие конформационных изменений переносчик оказывается открытым внутрь клетки, теряет сродство к глюкозе, и молекула высвобождается в цитозоль клетки. Отделение глюкозы от переносчика вызывает конформационные изменения белка, и он возвращается в исходное состояние.

ПАССИВНЫЙ СИМПОРТ И АНТИПОРТ



Пассивный симпорт: перенос 2-х ионов по градиенту концентрации в одном направлении.

Например, HPO_4^{2-} (⊕) и H^+ (◇).

Пассивный антипорт: перенос 2-х ионов по градиенту концентрации в противоположных направлениях.

Например, HCO_3^- (■) и Cl^- (◡).

АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ требует значительного количества энергии на перенос веществ через мембрану. Транспорт идет против градиента концентрации переносимого иона или вещества.

ВИДЫ АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА

Первично-активный

- ионные насосы

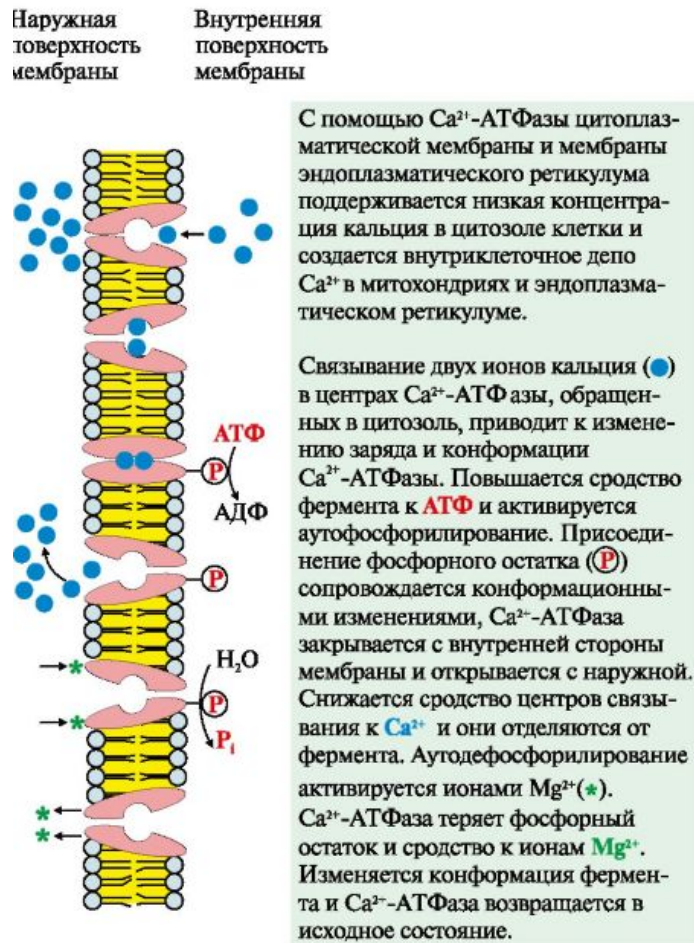
Вторично-активный

- активный симпорт
- активный антипорт

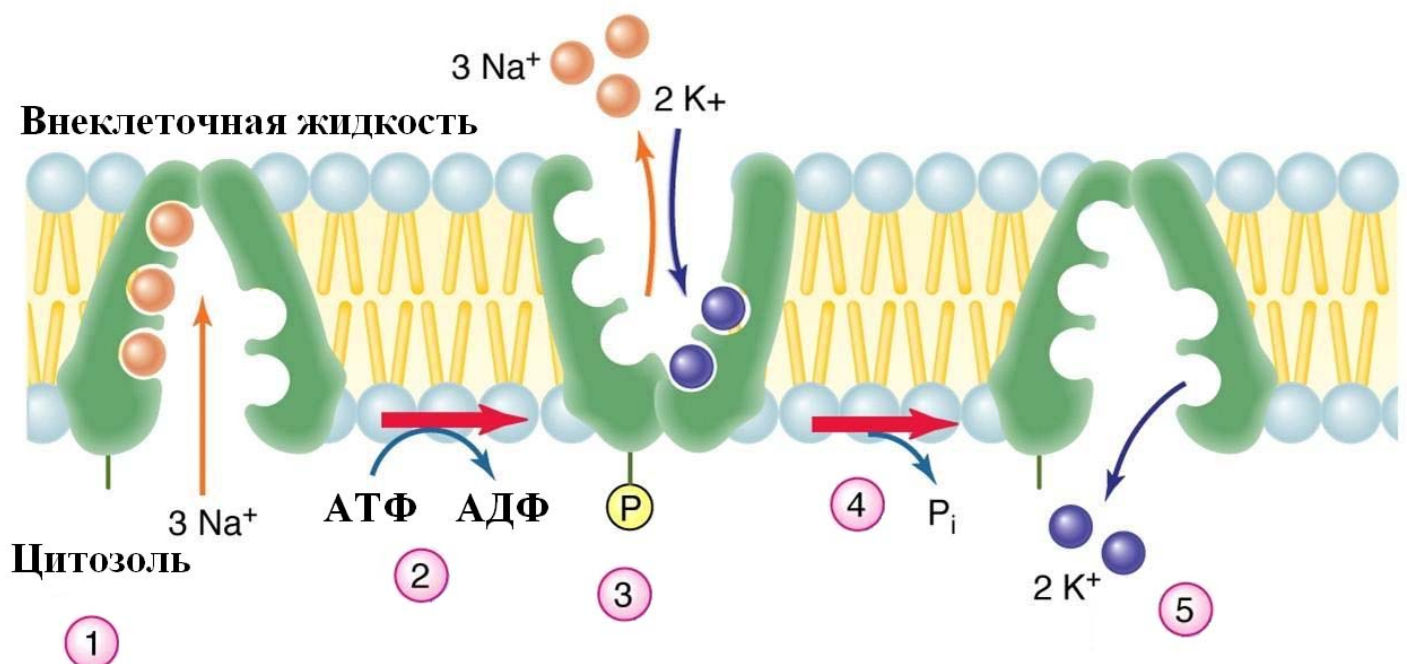
Экзоцитоз

Эндоцитоз

Ca^{2+} -АТФаза

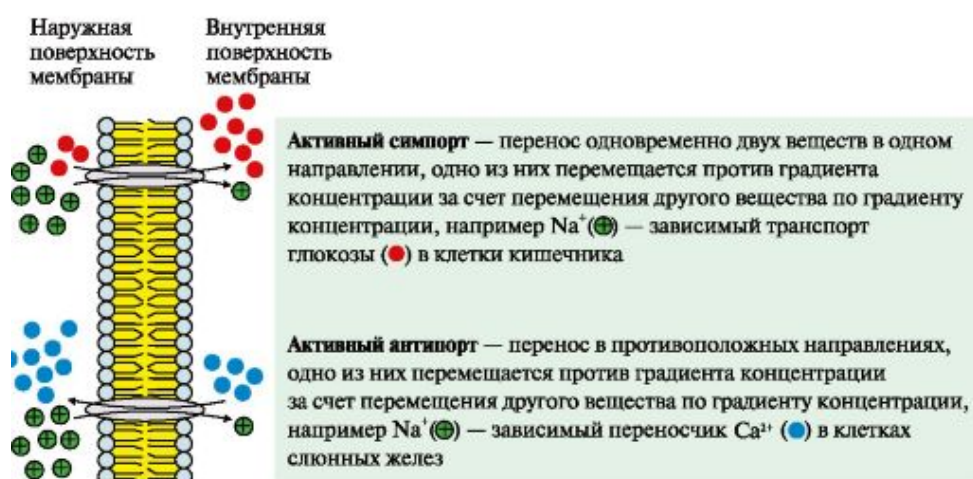


Na^+ , K^+ -АТФаза – одна из самых распространенных АТФаз в организме человека.



1. Переносчик связывает 3 Na^+ .
2. Изменяется заряд, конформация Na^+ , K^+ -АТФазы и происходит аутофосфорилирование (фосфорилирует сама себя).
3. Фосфорилирование изменяет заряд, конформацию Na^+ , K^+ -АТФазы и транслоказа закрывается с внутренней стороны и открывается с наружной. 3 Na^+ диссоциируют от переносчика.
4. Присоединение двух ионов K^+ активирует проявление аутофосфатазной активности (дефосфорилирует сама себя).
5. Дефосфорилирование изменяет заряд, конформацию транслоказы, она закрывается с наружной стороны мембраны и открывается с внутренней. Уменьшается сродство Na^+ , K^+ -АТФазы к ионам калия и они выходят в цитозоль. АТФ-аза возвращается к первоначальной конформации.

ВТОРИЧНО-АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ идет за счет градиента концентрации одного из переносимых веществ.

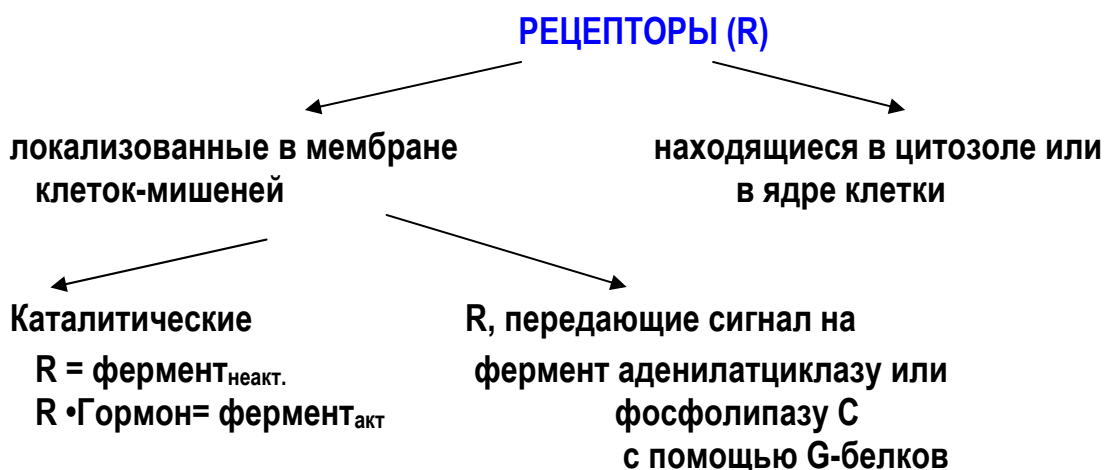


ТРАНСМЕМБРАННАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА

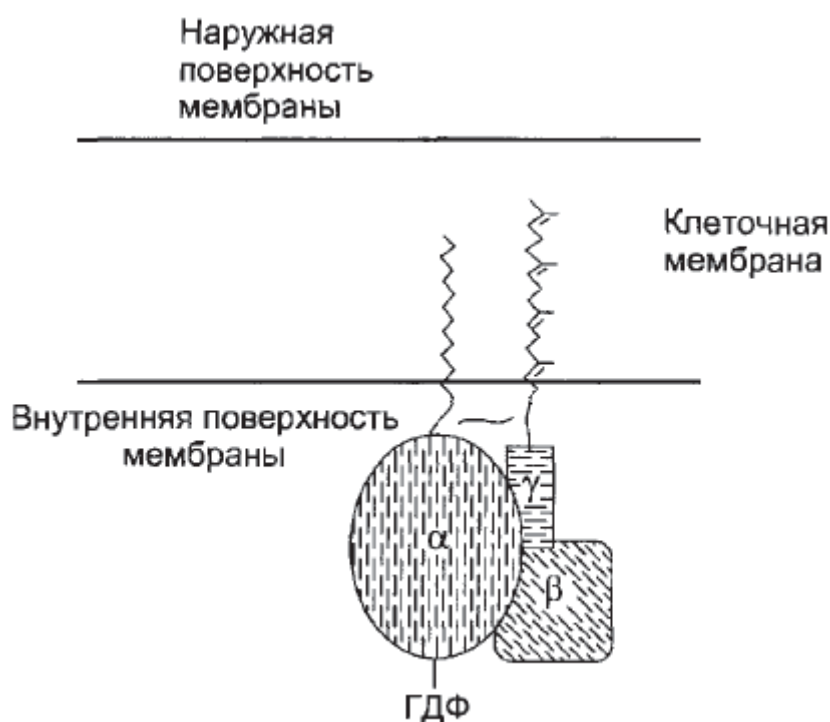
Узнавание клетками-мишенями сигнальных молекул (первичный мессенджеров):

- гормонов;
- медиаторов;
- эйкозаноидов;
- регуляторных факторов.

происходит с помощью белков-рецепторов (R), которые имеют разное строение и локализацию.



СТРОЕНИЕ G-белков



Положение G-белков в мембране.

G-белки (ГТФ-связывающие белки) – универсальные посредники при передаче сигналов от рецепторов к ферментам клеточной мембраны, катализирующим образование вторичных мессенджеров гормонального сигнала. G-белки - олигомеры, состоящие из α , β и γ -субъединиц. Состав димеров $\beta\gamma$ незначительно различаются в разных тканях, но в пределах одной клетки все G-белки, как правило, имеют одинаковый комплект $\beta\gamma$ -субъединиц. Поэтому G-белки принято различать по их α -субъединицам.

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИСТЕМА

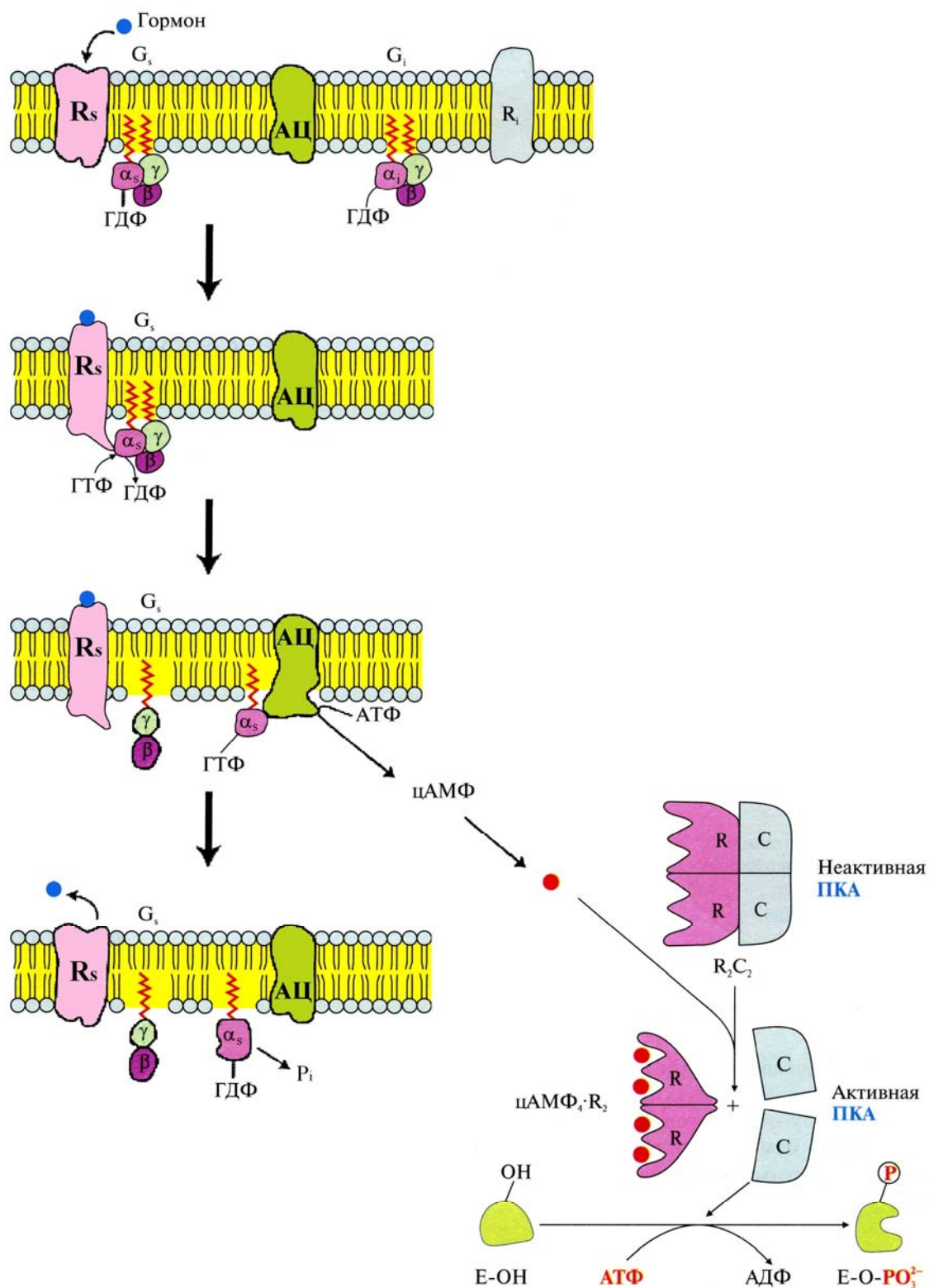
В состав аденилатциклазной системы трансдукции сигнала входят 5 мембранных белков.

Интегральные белки: Рецептор активатора (R_s)

Рецептор ингибитора (R_i)

Фермент аденилатциклаза (АЦ)

Заякоренные белки: G-белки – G_s и G_i



АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ

- Гормон – первичный мессенджер взаимодействует с рецептором (R_s), изменяется конформация R_s .
- Комплекс гормон • R_s взаимодействует с G_s -белком.
- Изменяется конформация α_s - субъединицы и снижается ее сродство к молекуле ГДФ и повышается к ГТФ.
- Замена ГДФ на ГТФ в активном центре α_s изменяет конформацию субъединицы и вызывает диссоциацию G_s -белка на субъединицы $\beta\gamma$ и α_s -ГТФ.
- α_s -ГТФ латерально перемещается по мембране, взаимодействует с аденилатциклазой (АЦ) и активирует фермент.
- Аденилатциклаза катализирует образование вторичного мессенджера аденилатциклазной системы – циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) из АТФ.
- В клетке повышается концентрация цАМФ.
- цАМФ активирует протеинкиназу А (ПКА), которая фосфорилирует ферменты по серину и треонину.
- Фосфорилирование может повышать или понижать активность ферментов (Е), поэтому в клетке возрастает или снижается скорость метаболических процессов, в которых участвуют эти ферменты.

ИНАКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ

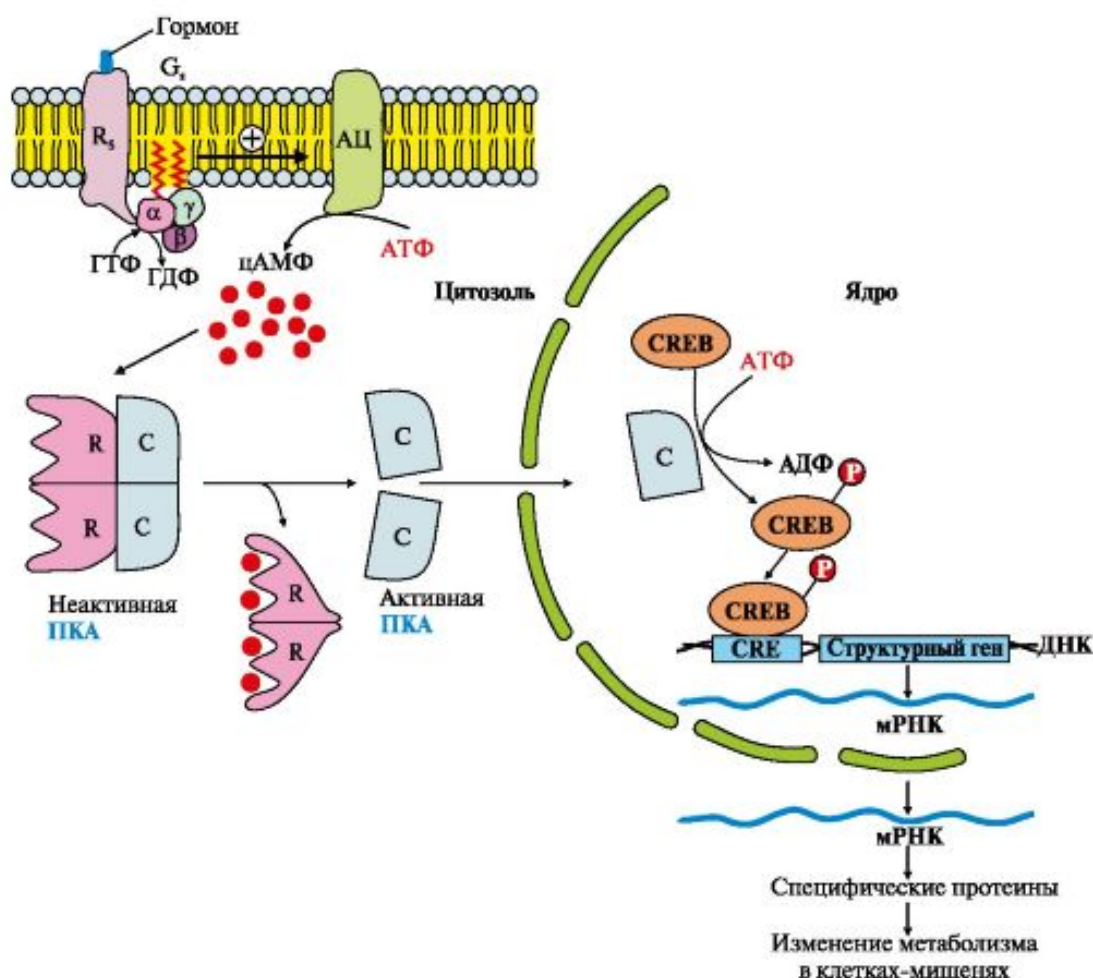
- Присоединение α_s -ГТФ к аденилатциклазе (АЦ) вызывает активацию α_s -субъединицы и она дефосфорилирует ГТФ, то есть проявляет ГТФ-фосфатазную активность. В активном центре α_s остается молекула ГДФ (α_s -ГДФ).
- Изменяется конформация α_s -субъединицы, она теряет сродство к аденилатциклазе (АЦ) и диссоциирует от нее.
- α_s -ГДФ взаимодействует с субъединицами $\beta\gamma$ и G_s -белок возвращается к неактивной форме $\alpha_s\beta\gamma$ -ГДФ.
- ФДЭ – фосфодиэстераза превращает цАМФ в АМФ, снижается концентрация цАМФ в клетке и активность протеинкиназы А (ПКА)
- Замедляется скорость фосфорилирования ферментов, изменяется их активность и скорость метаболических процессов в которых они участвуют.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПЕРВИЧНОГО МЕССЕНДЖЕРА С R_i

- При активации G_i -белка происходит та же последовательности событий, что и G_s -белка, но α_i -ГТФ при взаимодействии с аденилатциклазой подавляет ее активность.
- Снижается образование цАМФ и активность протеинкиназы А.

УЧАСТИЕ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ.

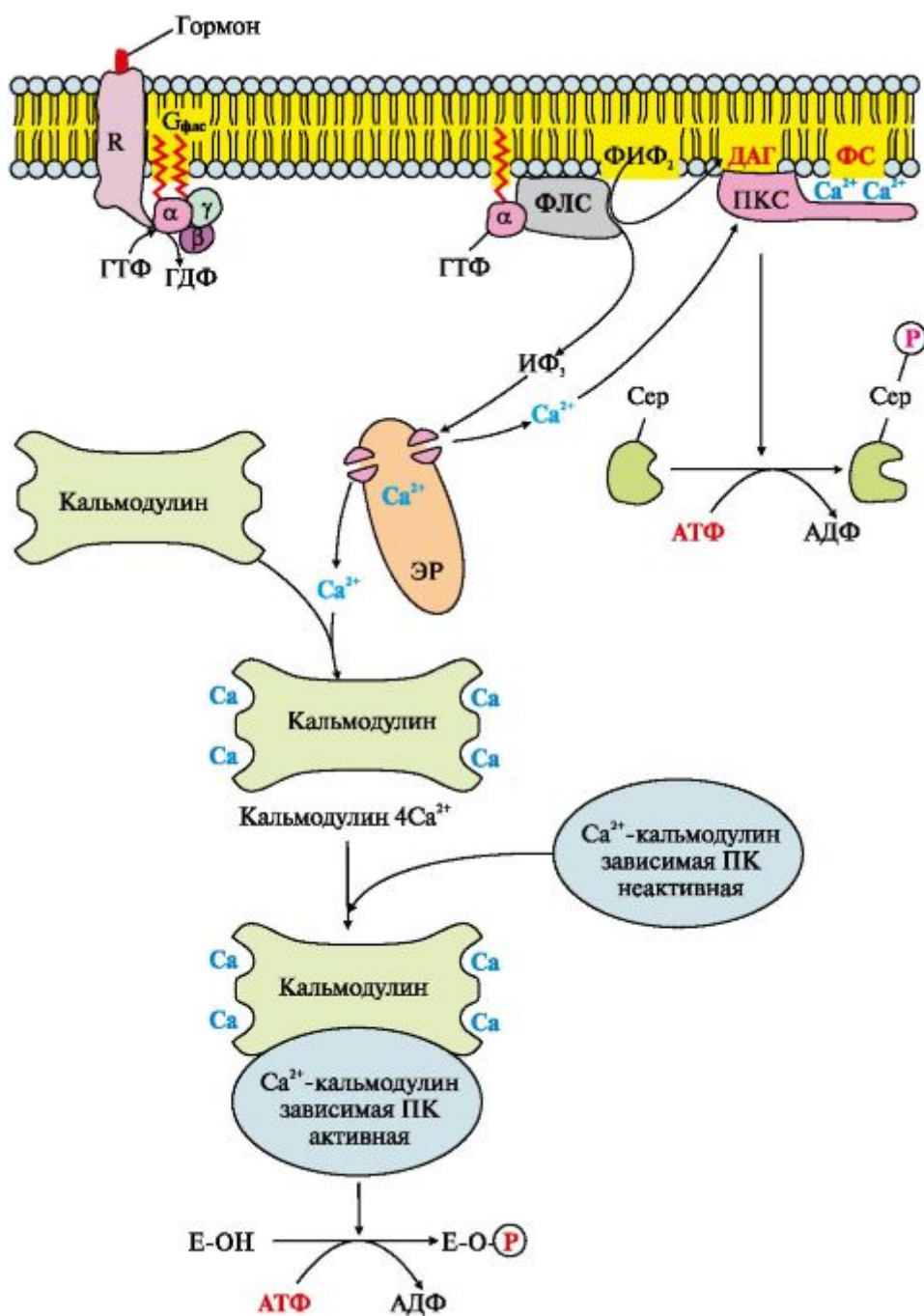
Многие белковые гормоны: глюкагон, вазопрессин, паратгормон и др., передающие свой сигнал посредством аденилатциклизной системы, могут не только вызвать изменение скорости реакций путем фосфорилирования уже имеющихся в клетке ферментов, но и увеличивать или уменьшать их количество, регулируя экспрессию генов. Активная протеинкиназа А может проходить в ядро и фосфорилировать фактор транскрипции (CREB), стимулировать экспрессию генов определенных белков. Синтезированные белки могут быть ферментами, увеличение количества которых повышает скорость реакций метаболических процессов, или мембранными переносчиками, обеспечивающими поступление или выход из клетки определенных ионов, воды или других веществ.



Аденилатциклизный путь, приводящий к экспрессии специфических генов

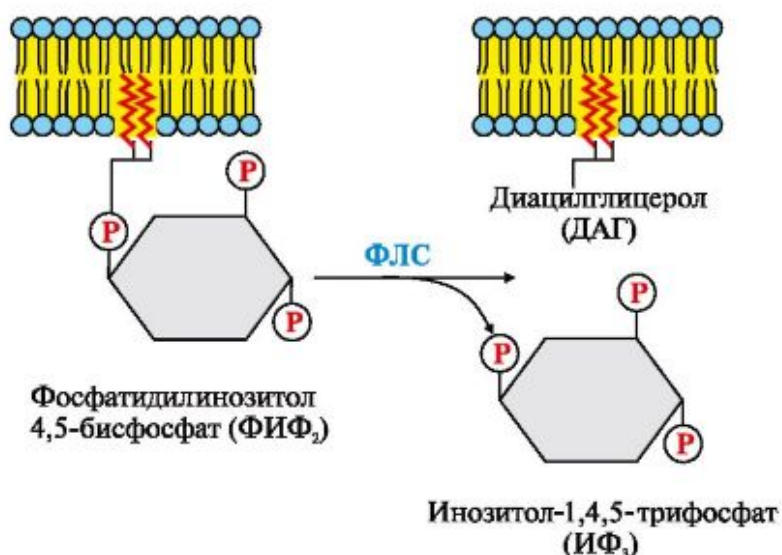
ИНОЗИТОЛФОСФАТНАЯ СИСТЕМА

Функционирование инозитолфосфатной системы трансмембранной передачи сигнала обеспечивают: рецептор (R), фосфолипаза C, $G_{\text{флс}}$ - белок, протеинкиназа C, белок кальмодулин и вторичные мессенджеры этой системы – ионы Ca^{2+} , инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ₃), диацилглицерол (ДАГ).



АКТИВАЦИЯ СИСТЕМЫ

- Гормон - первичный мессенджер взаимодействует с рецептором (R), изменяется конформация рецептора.
- Комплекс гормон • R взаимодействует с Gфлс-белком.
- Снижается сродство α - субъединицы к молекуле ГДФ и повышается к ГТФ.
- Замена ГДФ на ГТФ в активном центре α -субъединицы изменяет ее конформацию и вызывает диссоциацию G-белка на субъединицы $\beta\gamma$ и α -ГТФ.
- α -ГТФ взаимодействует с фосфолипазой C (ФЛС) и активирует фермент.
- Фосфолипаза C катализирует гидролиз фосфолипида мембраны фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфата (ФИФ₂) до диацилглицерола (ДАГ), который остается в мембране и инозитол-1,4,5-трифосфата (ИФ₃), который выходит в цитозоль.



- ИФ₃ открывает каналы кальция в мембране эндоплазматического ретикула (ЭР).
- Ионы Ca^{2+} выходят из ЭР в цитозоль клетки.
- В цитозоле 4Ca^{2+} присоединяются к белку кальмодулину.
- Изменяется конформация кальмодулина и повышается его сродство к кальций-кальмодулин-зависимой протенкиназе (ПК).
- Активируется протеинкиназа, которая фосфорилирует ферменты по радикалам серина и треонина.
- Фосфорилирование может повышать или понижать активность ферментов (E), поэтому в клетке возрастает или снижается скорость метаболических процессов, в которых участвуют эти ферменты.

- Ca^{2+} взаимодействует с протеинкиназой С (ПКС) и повышает ее сродство к липидам мембраны – диацилглицеролу (ДАГ) и фосфатидилсерину (ФС).
- На мембране формируется комплекс – ПКС- Ca^{2+} - ДАГ-ФС, который фосфорилирует специфические ферменты по серину и треонину.
- Повышается или снижается активность ферментов, поэтому изменяется скорость метаболических процессов, в которых они участвуют.

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ

Каталитические рецепторы – мембранные белки, являются ферментами $R = E_{\text{неакт}}$.

Активаторами R (E) могут быть гормоны, факторы роста, цитокины.

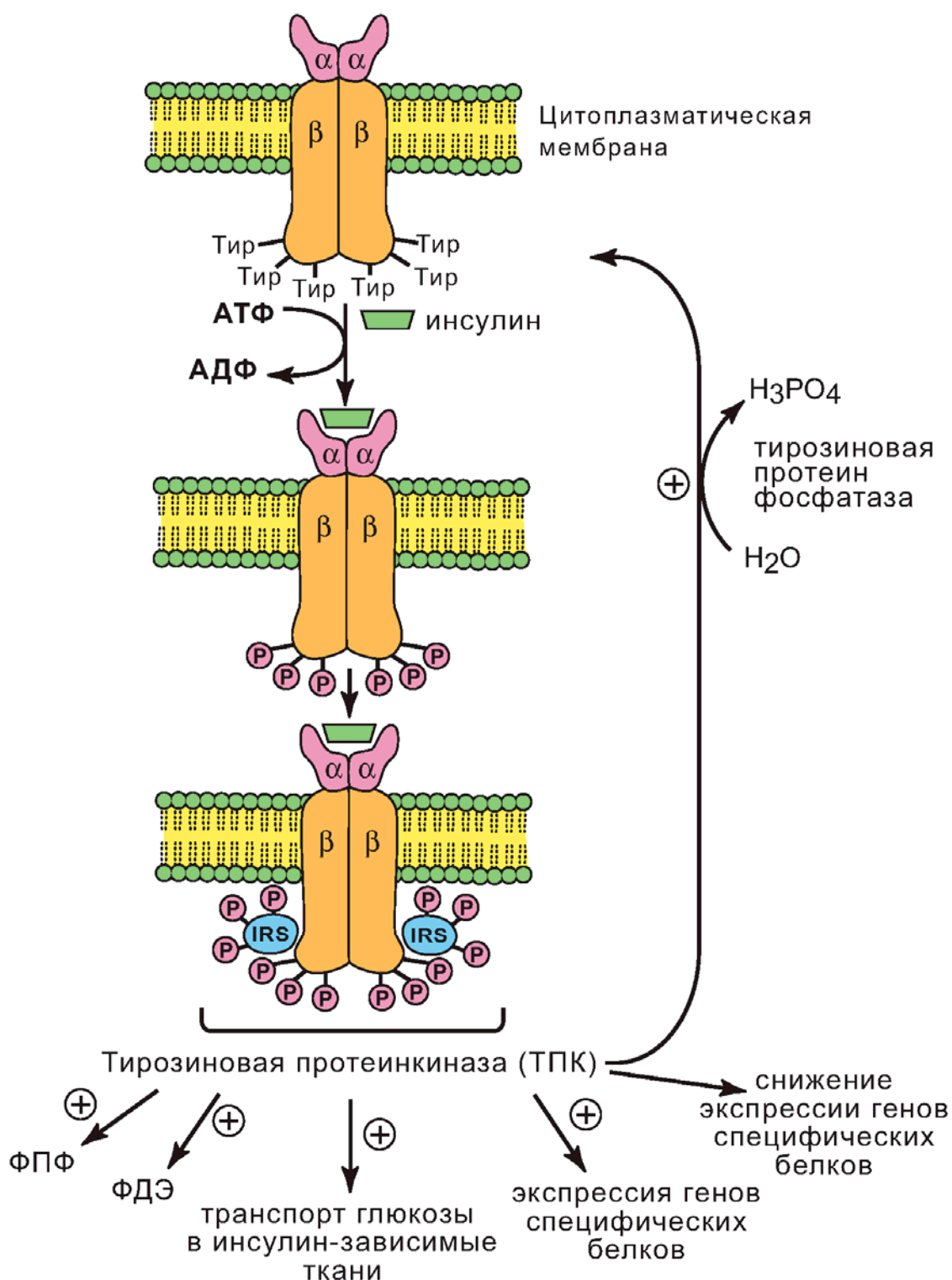
$$R \cdot \text{Гормон} = E_{\text{акт}}.$$

Рецептор инсулина построен из 2α и 2β субъединиц. 2α – расположены на наружной поверхности клеточной мембраны. 2β – пронизывают мембранный бислой. Цитозольная часть рецептора имеет несколько остатков тирозина.

- Присоединение инсулина (первичного мессенджера) вызывает кооперативные конформационные изменения всех 4-х субъединиц.
- β -субъединицы проявляют тирозинкиназную активность (ТПК) и фосфорилируют друг друга (аутофосфорилирование) по нескольким остаткам тирозина.
- Изменяется заряд, конформация и субстратной специфичности фермента (ТПК).
- Тирозиновая протеинкиназа фосфорилирует по тирозину белки – субстраты инсулинового рецептора (IRS).

КАТАЛИТИЧЕСКИЙ РЕЦЕПТОР

Активация рецептора инсулина



● Фосфорилированные IRS активируют в клетках-мишенях:

- ФПФ – фосфопротеинфосфатазу, которая дефосфорилирует белки;
- ФДЭ – фосфодиэстеразу, которая превращает цАМФ в АМФ;
- переносчики глюкозы ГЛЮТ-4 в инсулинзависимых тканях – мышцах и жировой ткани;

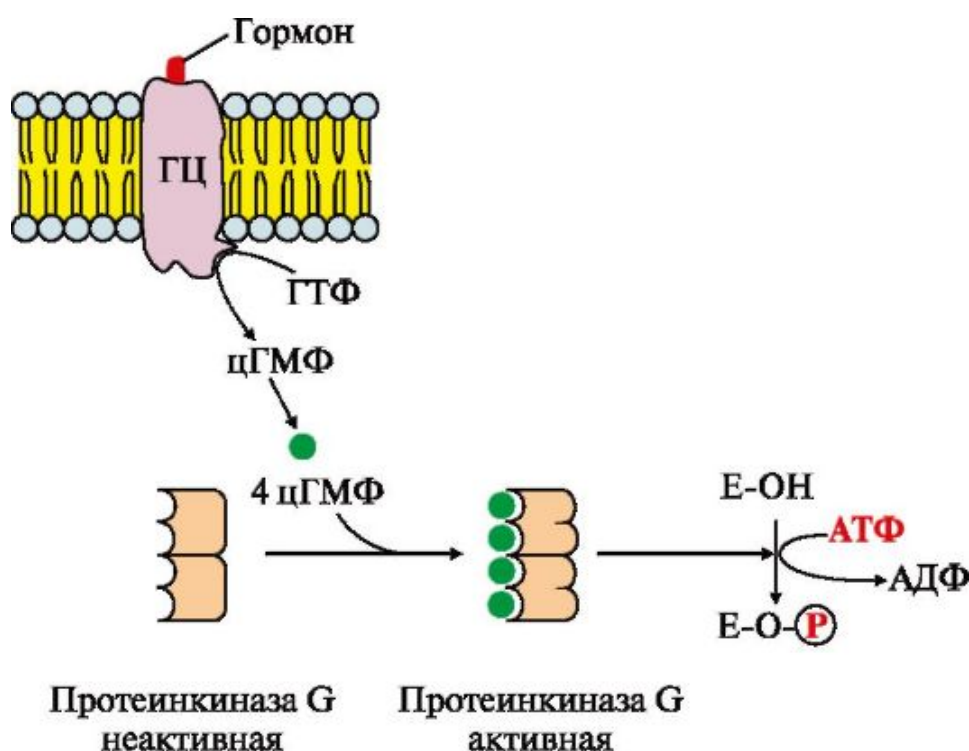
- ТПФ- тирозиновую протеинфосфатазу, которая дефосфорилирует рецептор и снижает его сродство к инсулину;
- регуляторные белки ядра, поэтому может повышаться или понижаться экспрессия генов специфических ферментов и белков;

Вследствие этого:

- возрастает или уменьшается количество этих ферментов в клетке;
- изменяется скорость метаболических процессов с участием этих ферментов.

ГУАНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИСТЕМА ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА

Рецепторы с гуанилатциклазной активностью также относятся к каталитическим рецепторам. Гуанилатциклаза катализирует образование из ГТФ цГМФ, который является одним из важных вторичных мессенджеров внутриклеточной передачи сигнала.



Регуляция активности мембранной гуанилатциклазы.

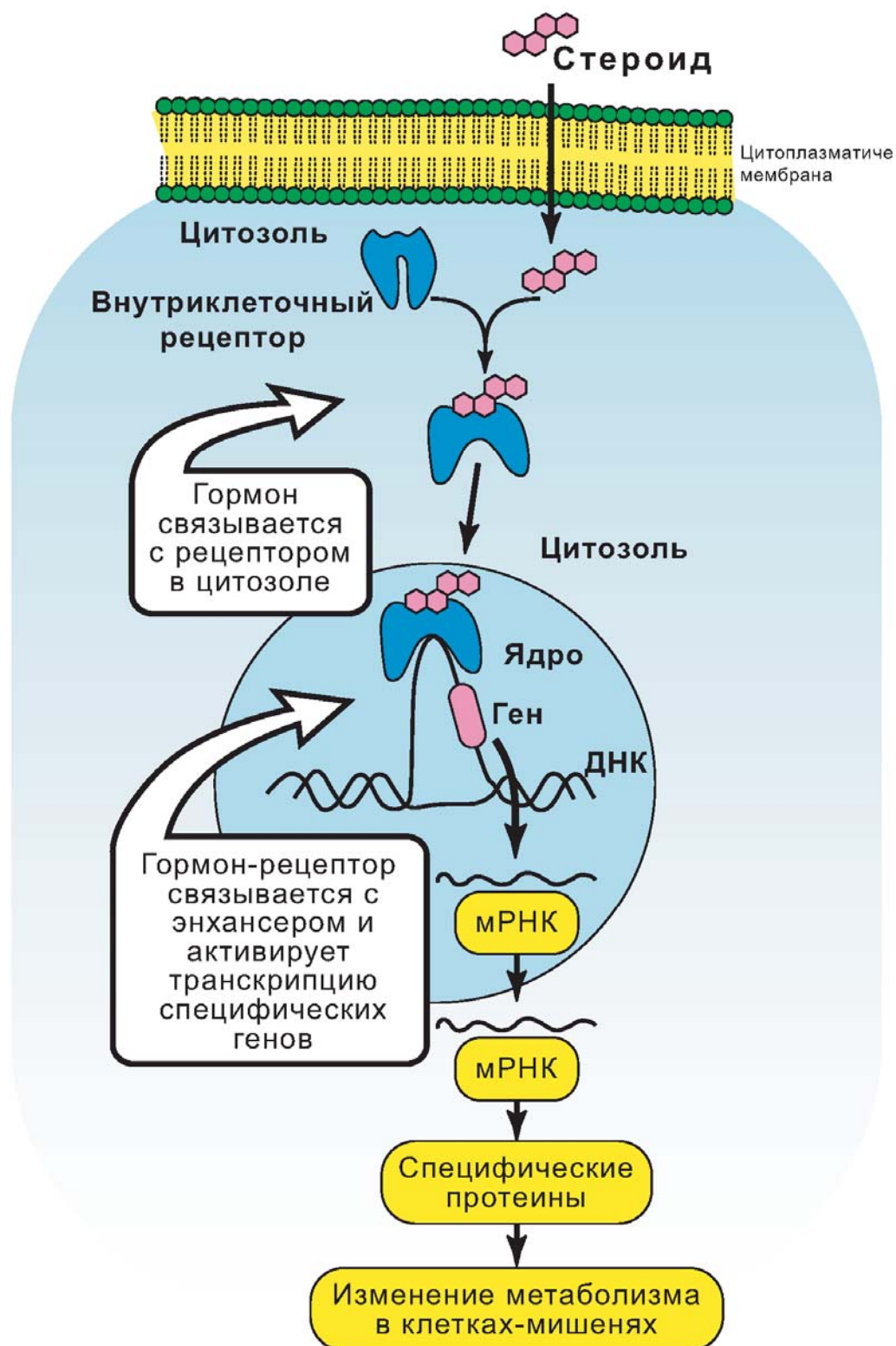
Мембраносвязанная гуанилатциклаза (ГЦ) - трансмембранный гликопротеин. Центр связывания первичного мессенджера находится на внеклеточном домене.

- Присоединение к рецептору гормона – первичного мессенджера активирует гуанилатциклазу, которая превращает ГТФ в циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ) - вторичный мессенджер;
- В клетке повышается концентрация цГМФ;
- Молекулы цГМФ могут обратимо присоединяться к регуляторным центрам протеинкиназы G (PKG), которая состоит из двух субъединиц;
- Четыре молекулы цГМФ изменяют конформацию и активность фермента;
- Активная протеинкиназа G катализирует фосфорилирование определенных белков и ферментов цитозоля клетки.

Одним из первичных мессенджеров протеинкиназы G является предсердный натриуретический фактор (ПНФ), регулирующий гомеостаз жидкости в организме.

ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА С ПОМОЩЬЮ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ.

Гидрофобные по химической природе гормоны (стероидные гормоны и тироксин) могут диффундировать через мембраны, поэтому их рецепторы находятся в цитозоле или ядре клетки. Цитозольные рецепторы связаны с белком-шапероном, который предотвращает преждевременную активацию рецептора. Ядерные и цитозольные рецепторы стероидных и тиреоидных гормонов содержат ДНК-связывающий домен, обеспечивающий в ядре взаимодействие комплекса гормон-рецептор с регуляторными сайтами (участками) ДНК, энхансерами или сайленсерами.



Передача сигнала на внутриклеточные рецепторы

АКТИВАЦИЯ ЦИТОЗОЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

- Гормон проходит через 2-ой липидный слой клеточной мембраны.
- В цитозоле образуется комплекс гормон-рецептор
- Образованный комплекс проходит в ядро и присоединяется к сайту ДНК – **энхансеру** или **сайленсеру**.
- Доступность промотора для РНК-полимеразы увеличивается при взаимодействии комплекса гормон-рецептор с энхансером или уменьшается при взаимодействии с сайленсером.
- **Повышается** или **уменьшается** в ядре экспрессия генов определенных белков.
- Изменяется количество белков, которые могут влиять на метаболизм и функциональное состояние клетки-мишени.

Эффекты гормонов, которые взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами, нельзя наблюдать быстро, так как на реализацию матричных процессов транскрипции и трансляции, которые они стимулируют требуются часы.