

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТКИ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ

Клеточные мембраны

Строение биологических мембран

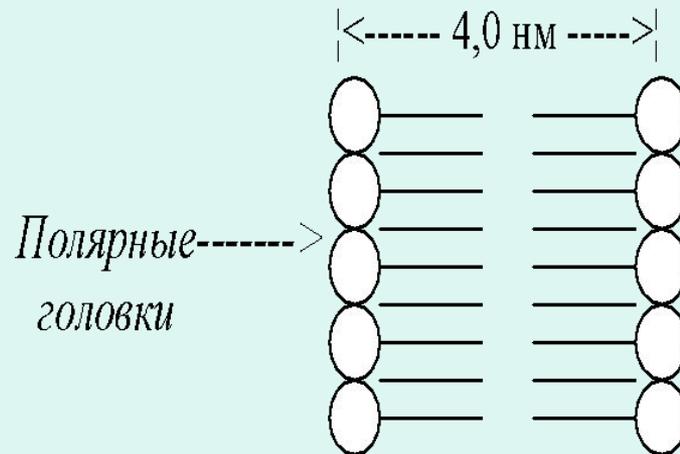
- Биологические мембраны есть наиболее распространенная, выгодная форма упаковки белков и липидов, обеспечивающее существование клетки.
- Клетка является следствием структурного и функционального кооперирования различных мембранных образований, к которым **относятся ядро, цитозоль, митохондрии, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, пероксисомы и лизосомы-микротельца разного типа.**
- Каждое из этих мембранных образований имеет существенные структурные особенности и выполняет специфические функции в клетке, но все они построены по единому типу.

Состав мембран

- Мембраны состоят в основном из белков и липидов в наиболее распространенном соотношении этих компонентов 1:1. Однако миелиновые мембраны имеют соотношение белки-липиды равное 3:1.
- В мембранах присутствуют углеводы (до 5%), составляющие углеводную часть гликолипидов и гликопротеинов, и иногда РНК (до 0,1%).
- Наличие липидов обуславливает такие свойства мембран, как высокое электрическое сопротивление, большая электрическая емкость, не проницаемость для ионов, проницаемость для неполярных веществ, в том числе для воды. Они эластичны и способны к самовосстановлению.
- Толщина большинства мембран составляет от 7 до 11 нм, т.е. это очень тонкие образования и их толщина соизмерима с размерами крупных молекул.

Билипидный слой мембран

В 1930 году Дж. Даниелли предложил модель строения мембран в виде билипидного слоя, который формируется за счет двух цепочек фосфолипидных молекул, обращенных гидрофобными радикалами жирных кислот внутрь друг к другу и гидрофильными фосфолипидными полярными "головками" к наружи:



Свойства мембран

- Билипидный слой - это двумерная жидкость, в которой растворены молекулы белков и других липидов.
- При повышении температуры структура бислоя сохраняется, однако жирные кислоты "плавятся", в результате чего возможно вращение и скручивание молекул.
- Температура "плавления", липидного бислоя зависит от состава жирных кислот. Для насыщенных жирных кислот с длинной углеводородной цепью характерны высокие температуры плавления.
- Преобладание в липидах мембран цис-изомеров ненасыщенных жирных кислот способствует образованию складок и уменьшает температуру плавления
- Высокое содержание сфинголипидов и холестерина повышает стабильность мембран, снижает подвижность (текучесть) и их состояние приближается к твердому состоянию.
- .

ПОПЕРЕЧНЫЙ РАЗРЕЗ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ



Липиды мембран

- Во всех мембранах независимо от их происхождения имеются фосфолипиды (глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды), содержание которых составляет от 40 до 90% общего количества липидов в мембране.
- **Из всех липидов в мембранах любого типа доминируют следующие липиды:**
 - - фосфолипиды глицериды
 - - сфингофосфолипиды
 - - гликолипиды
 - - холестерин
- В мембранах **отсутствуют триацилглицериды и эфиры холестерина.**

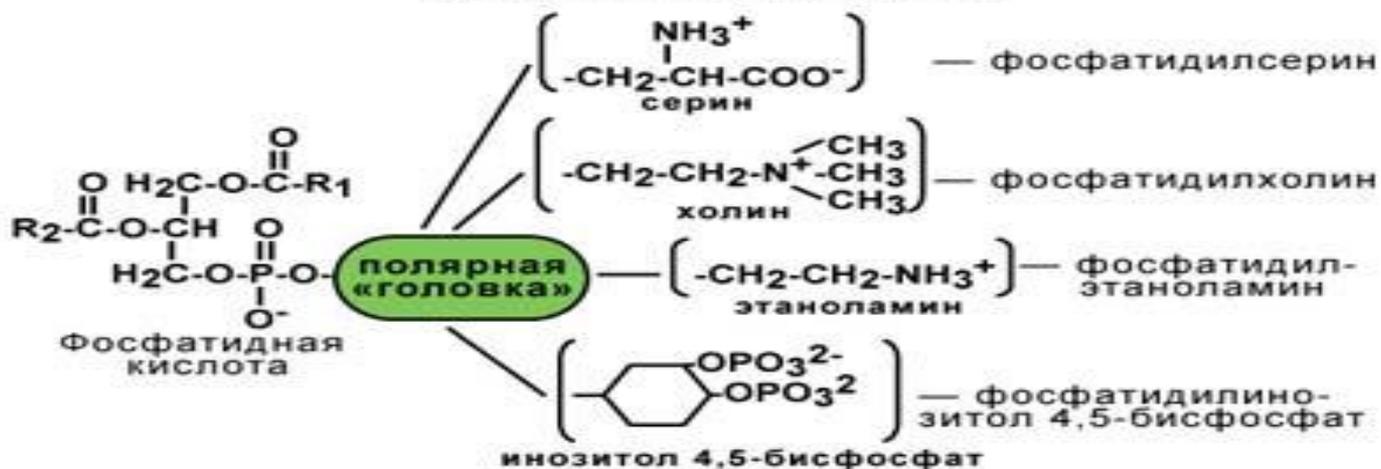
Липиды мембран амфифильны

- В молекулах фосфолипидов радикалы жирных кислот гидрофобны, а остальная полярная часть молекулы гидрофильна, т.е. молекулы фосфолипидов амфифильны (дифильны).
- В водной среде амфипатичные молекулы агрегируют. При этом гидрофобные "хвосты" оказываются спрятанными, а гидрофильные "головки" остаются в контакте с молекулами воды. В результате этого формируется билипидный слой- основа структуры биологических мембран

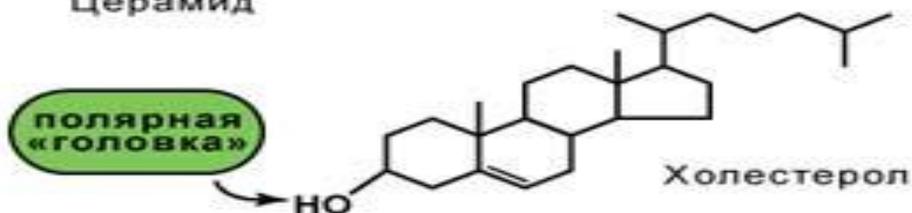
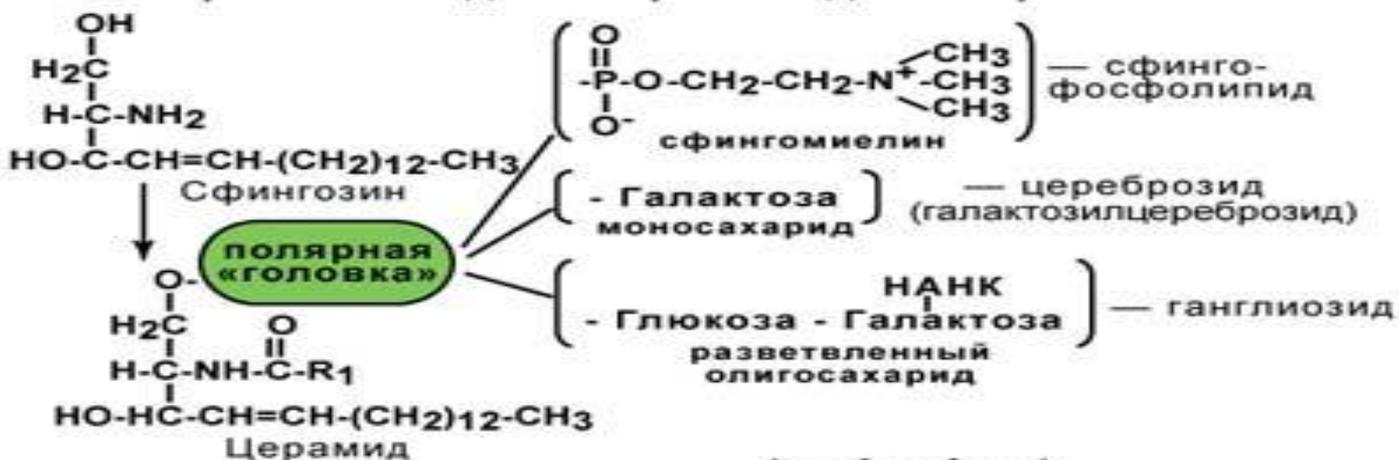


ЛИПИДЫ МЕМБРАН

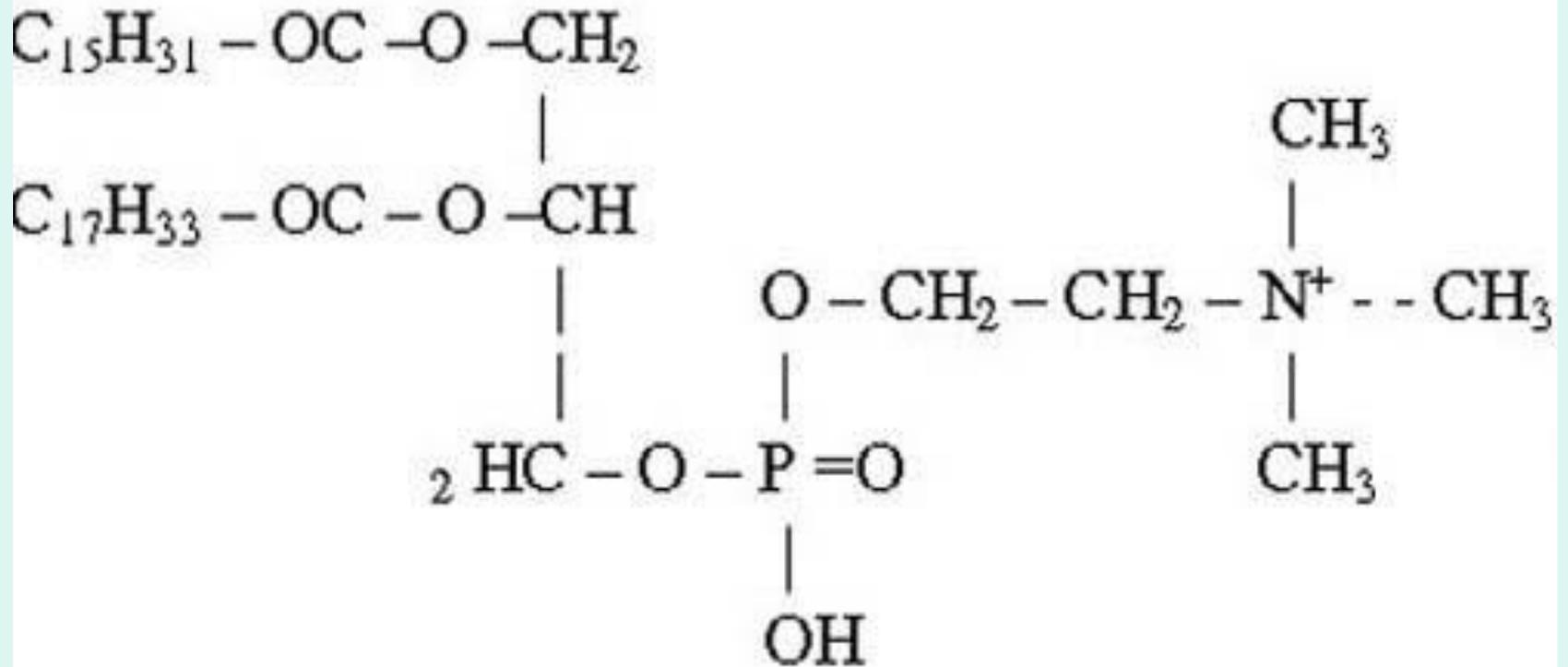
Глицерофосфолипиды — производные фосфатидной кислоты



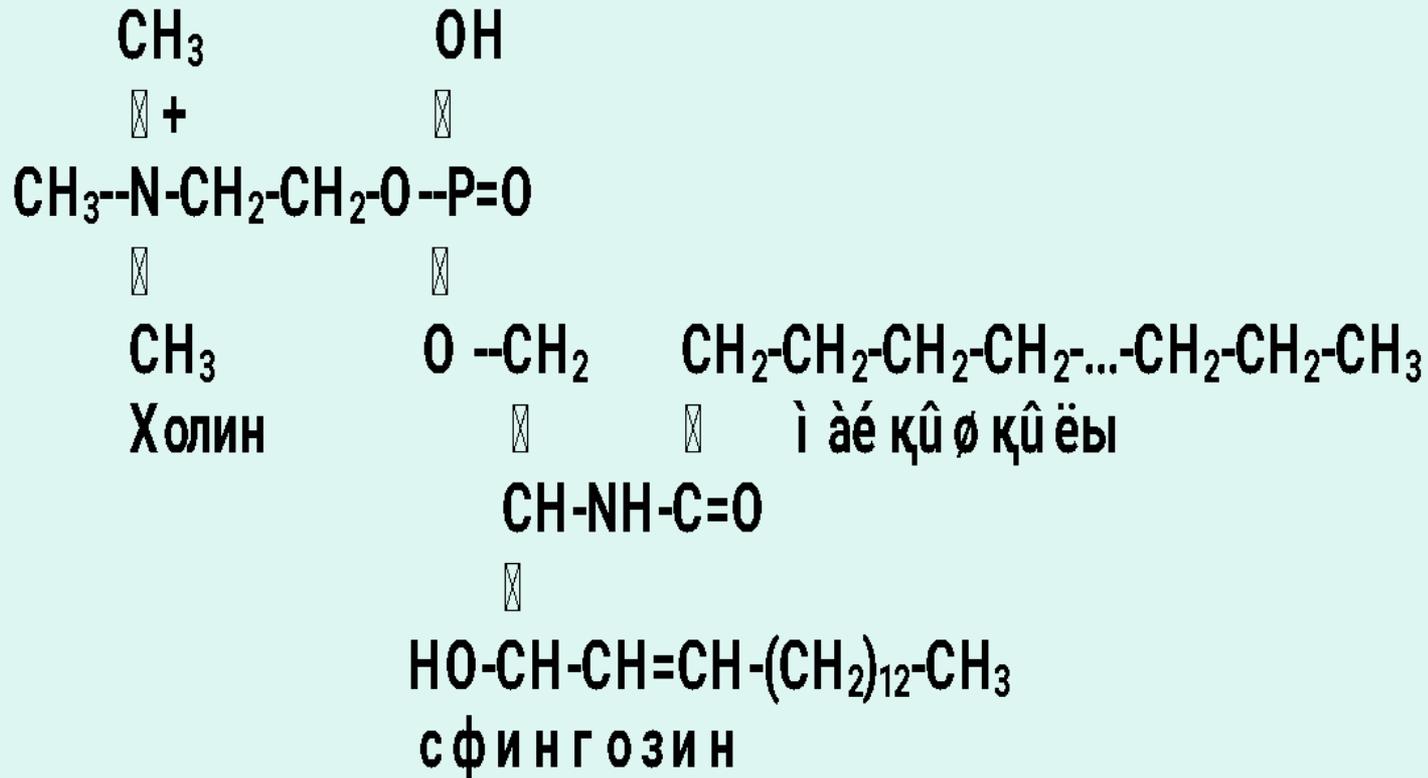
Сфинголипиды — производные сфингозина



Фосфоглицеролипиды: Холинфосфатиды (лецитины)



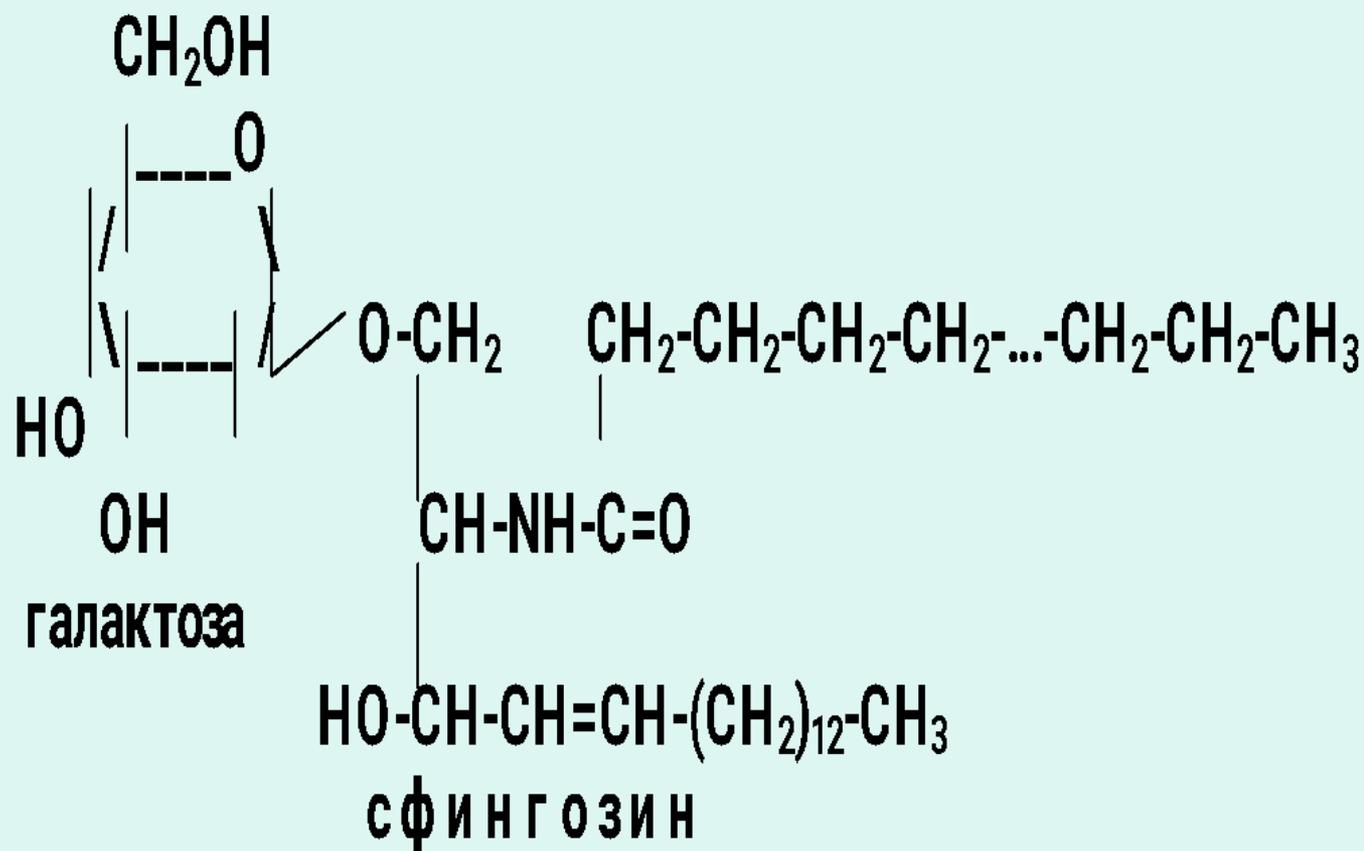
Сфингофосфолипиды: сфингомиелины



Гликолипиды мембран

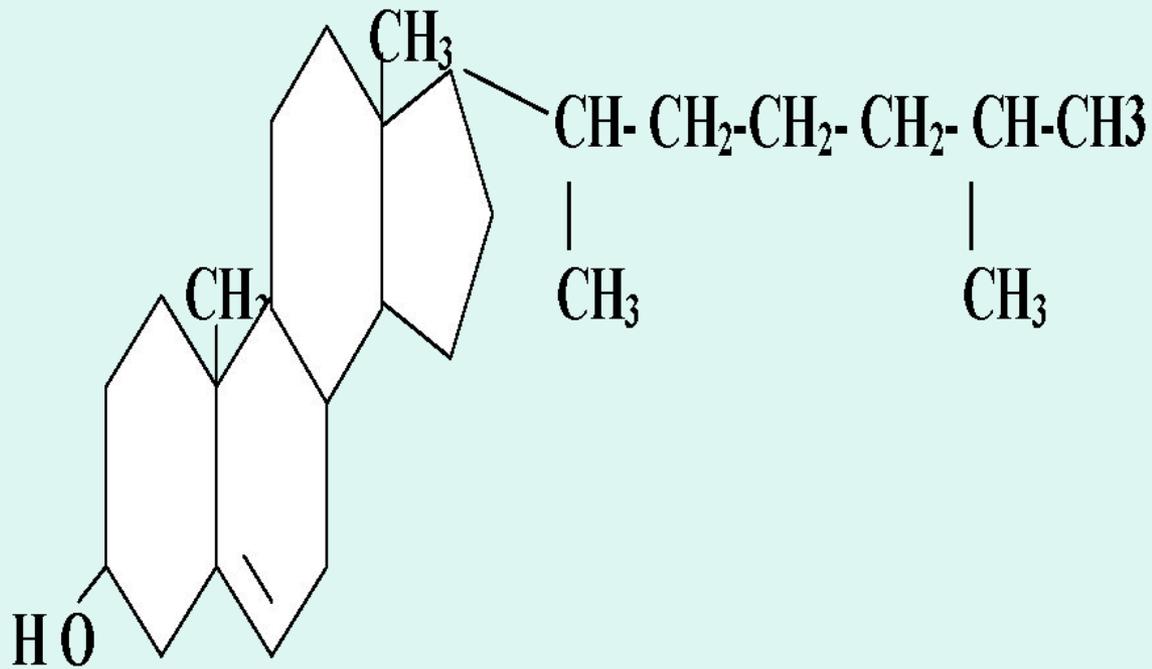
- Гликолипиды это сложные эфиры сфингозина и высших жирных кислот, в которых углеводная часть ковалентно связана со сфингозином.
- Молекулы гликолипидов, как и молекулы фосфолипидов амфипатичны, т.е. дифильны.
- Различают два основных типа гликолипидов: цереброзиды и ганглиозиды.
- В **цереброзидах (гликозилцерамиды)** углеводная часть может быть представлена моносахаридами или олигосахаридами.
- В мембране эритроцитов могут содержаться следующие виды *гликозилцерамидов*, которые обеспечивают их антигенные свойства:
 - - **глюкоз**-церамид
 - - галактоз-**глюкоз**-церамид
 - - галактоз-галактоз-**глюкоз**-церамид
 - - N-ацетилгалакто-галактоз-галактоз-**глюкоз**-церамид

Гликолипиды -сфинголипиды мембран (цереброзиды)

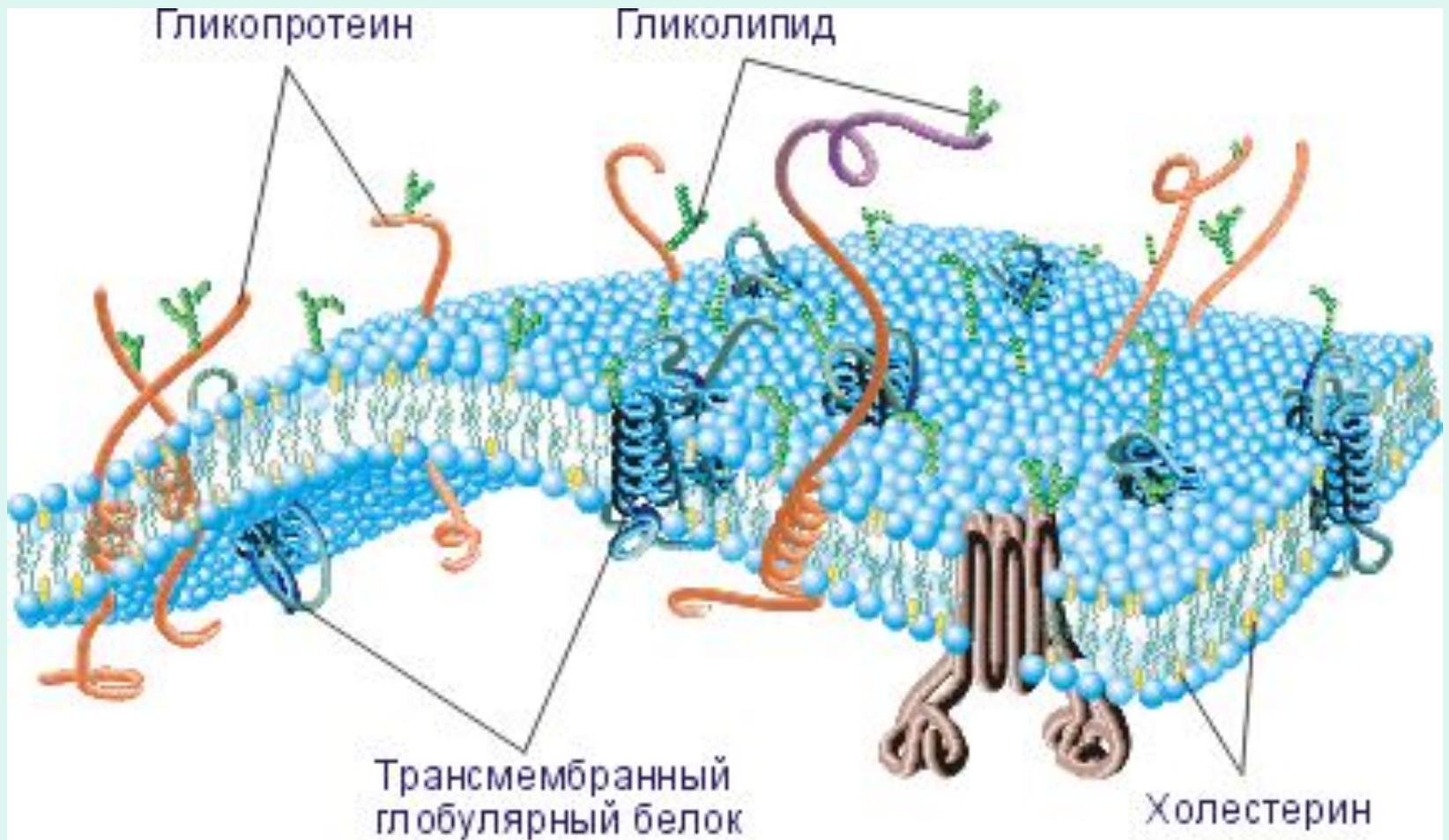


Холестерин

холестерин



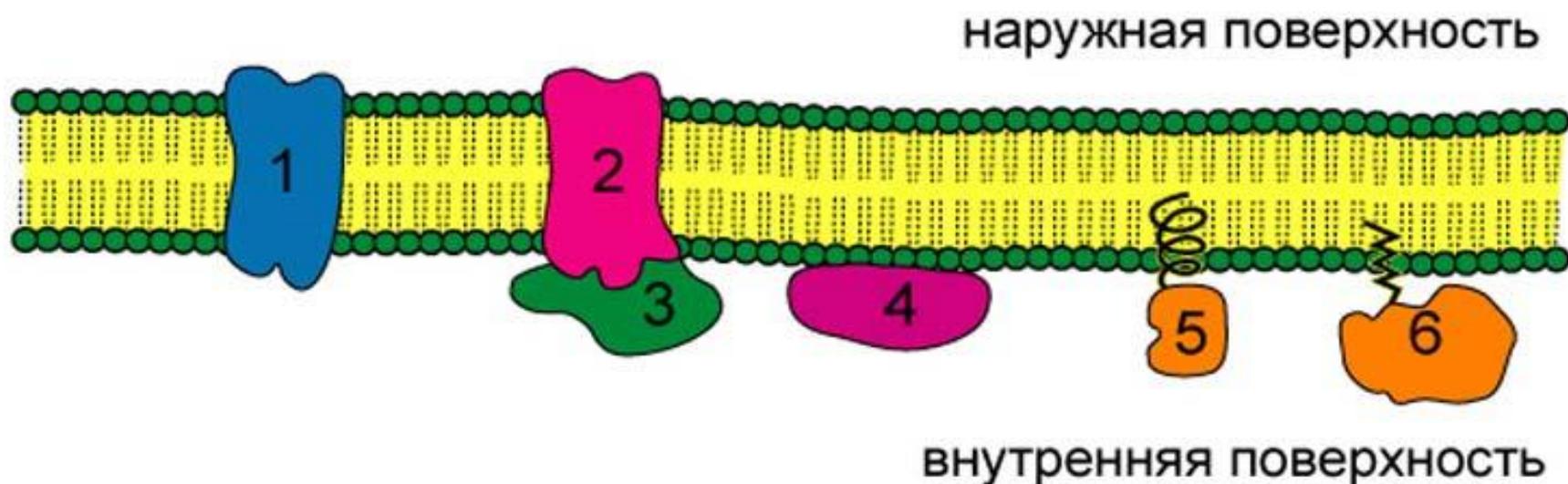
Структура мембраны



Белки мембран

- Основные структурные особенности биологических мембран определяются свойствами липидного бислоя,
- **Однако, специфические функции мембран осуществляются главным образом белками.**
- **По химической природе** белки мембран могут быть простые и сложные (хромопротеиды, гликопротеины и др.).
- **По локализации** в мембранах различают следующие белки:
 - - периферические и интегральные белки
 - - трансмембранные белки
 - - транспортные белки
- **Периферические белки частично, а интегральные белки полностью погружены в мембрану.**
- Погруженная часть интегральных белков гидрофобна и обеспечивает определенную ориентацию белковой молекулы в мембране.
- **Примером периферических белков** является сиалогликопротеид мембран эритроцитов спектрин, ацетилхолинэстераза, глицеральдегид-3-дегидрогеназа.
- **К периферическим белкам** относятся мембранные ферменты цитохром С и цитохром b5.

БЕЛКИ МЕМБРАН



1-, 2- интегральные (трансмембранные) белки;
3-, 4-, 5-, 6- поверхностные белки.
Поверхностные белки разными способами
прикрепляются к мембране.

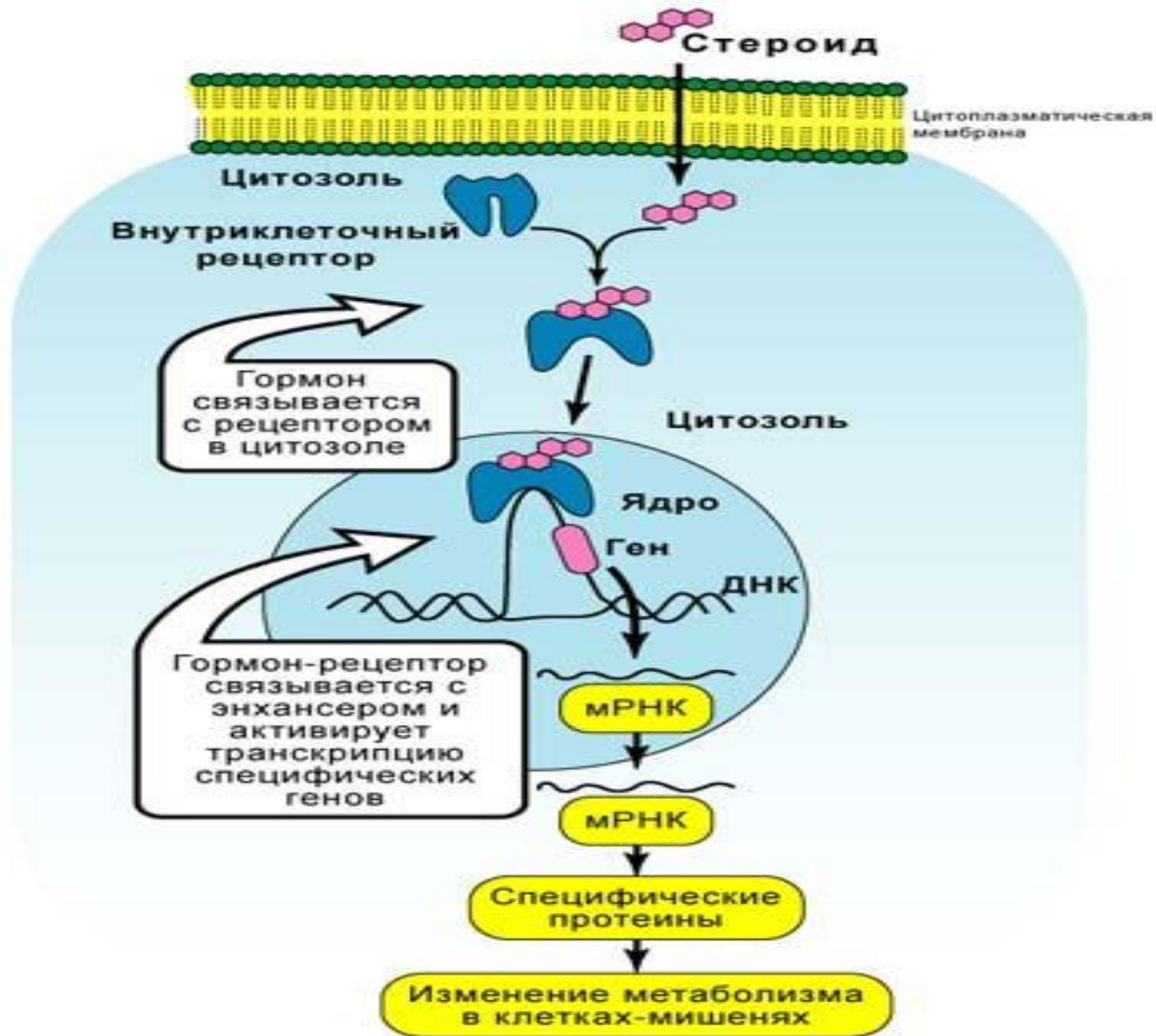
Интегральные белки

- Интегральные белки имеют гликопротеиновую природу.
- Выступающие к поверхности клетки **олигосахаридные** радикалы гликопротеинов придают поверхности клетки особые свойства:
- **1. Олигосахариды** выполняют роль антигенов, которые вызывают образование антител, способных специфически связываться с ними. Например, на поверхности эритроцитов обнаружено около 250 различных **антигенных** группировок (**детерминант**). Одни из них определяют группу крови.
- Аналогичные детерминанты, содержатся на поверхности всех других клеток организма и формируют «портрет» клетки.
- Так свои или чужие клетки узнаются по наличию на поверхности мембран клеток **главного комплекса гистосовместимости - МНС-антигена (major histocompatibility complex)**, по химической природе являющегося гликопротеином.
- Впервые МНС-антигены были обнаружены у мышей и названы антигенами H-2 (histocompatibility -2).
- У человека МНС-антигены называются HLA - антигены (human-leucocyte -associated).
- **2. Олигосахариды** на поверхности клетки образуют слой, называемый гликокаликсом, который препятствует тесному контакту между клетками. Это приводит к тому, что между клетками появляется хорошо гидратированное межклеточное пространство.

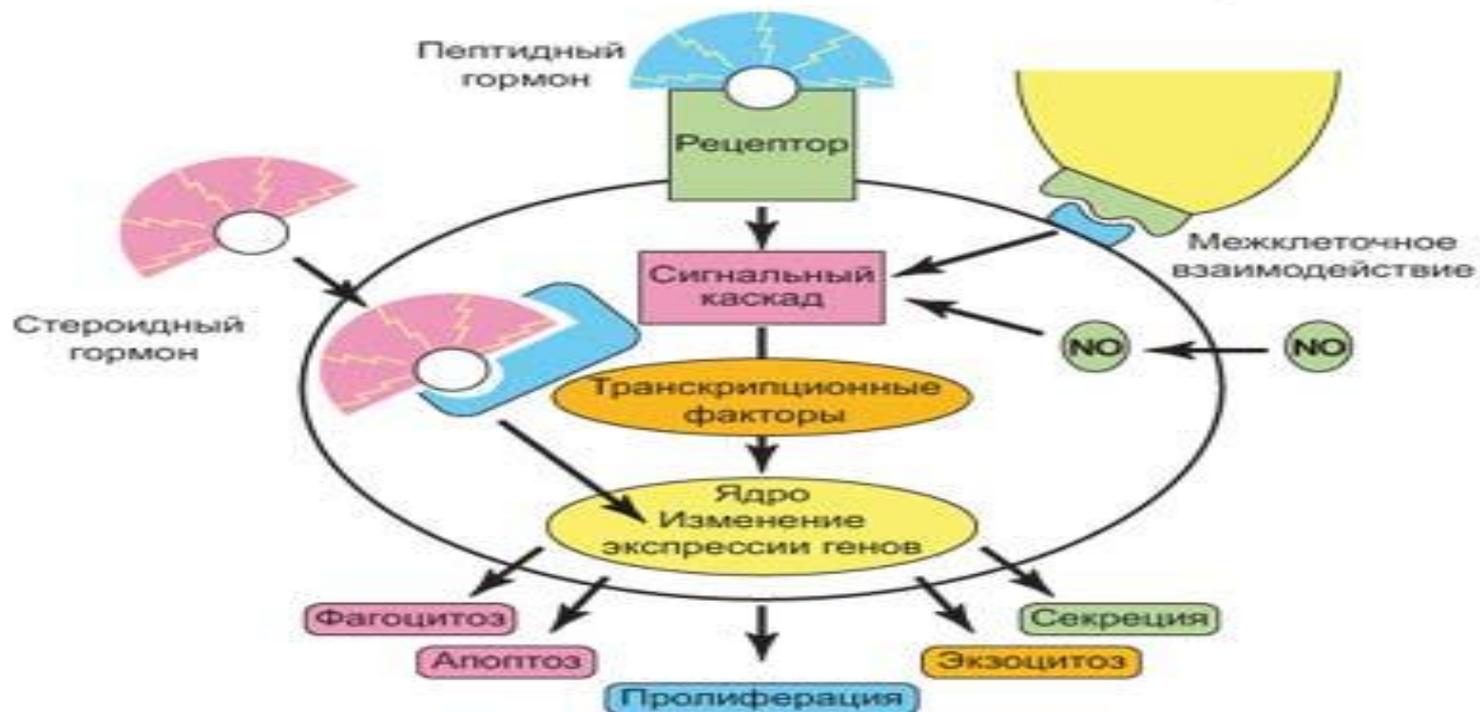
Клеточные рецепторы

- Гликопротеины плазматических мембран выполняют роль специфических поверхностных рецепторов, связывающие соответствующие иммуноглобулины, гормоны и другие биомолекулы.
- Известно, что иммуноглобулины способны не только к агглютинации чужеродных клеток и фиксации комплемента, но участвуют, как и гормоны, в запуске функций специализированных клеток.
- Так на поверхности многих клеток имеются Fc-рецепторы, связывающие C-концевые фрагменты иммуноглобулинов.
- Появление антигена (аллергена) и связывание его с молекулами IgE, находящимися на базофилах и тучных клетках стимулирует выброс гистамина и серотонина и служит причиной аллергической реакции.
- Связывание специфических антигенов с иммуноглобулинами находящимися в соединении с рецепторами В-лимфоцитов приводит к их размножению и продукции антител.

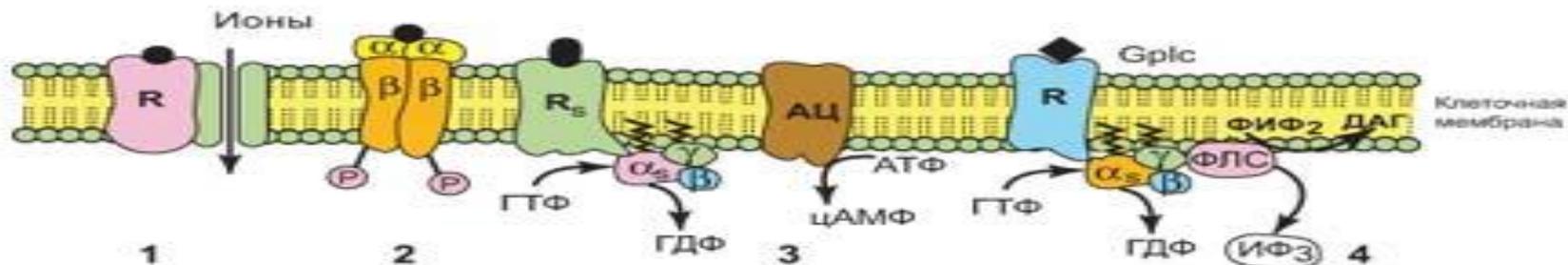
ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ



МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

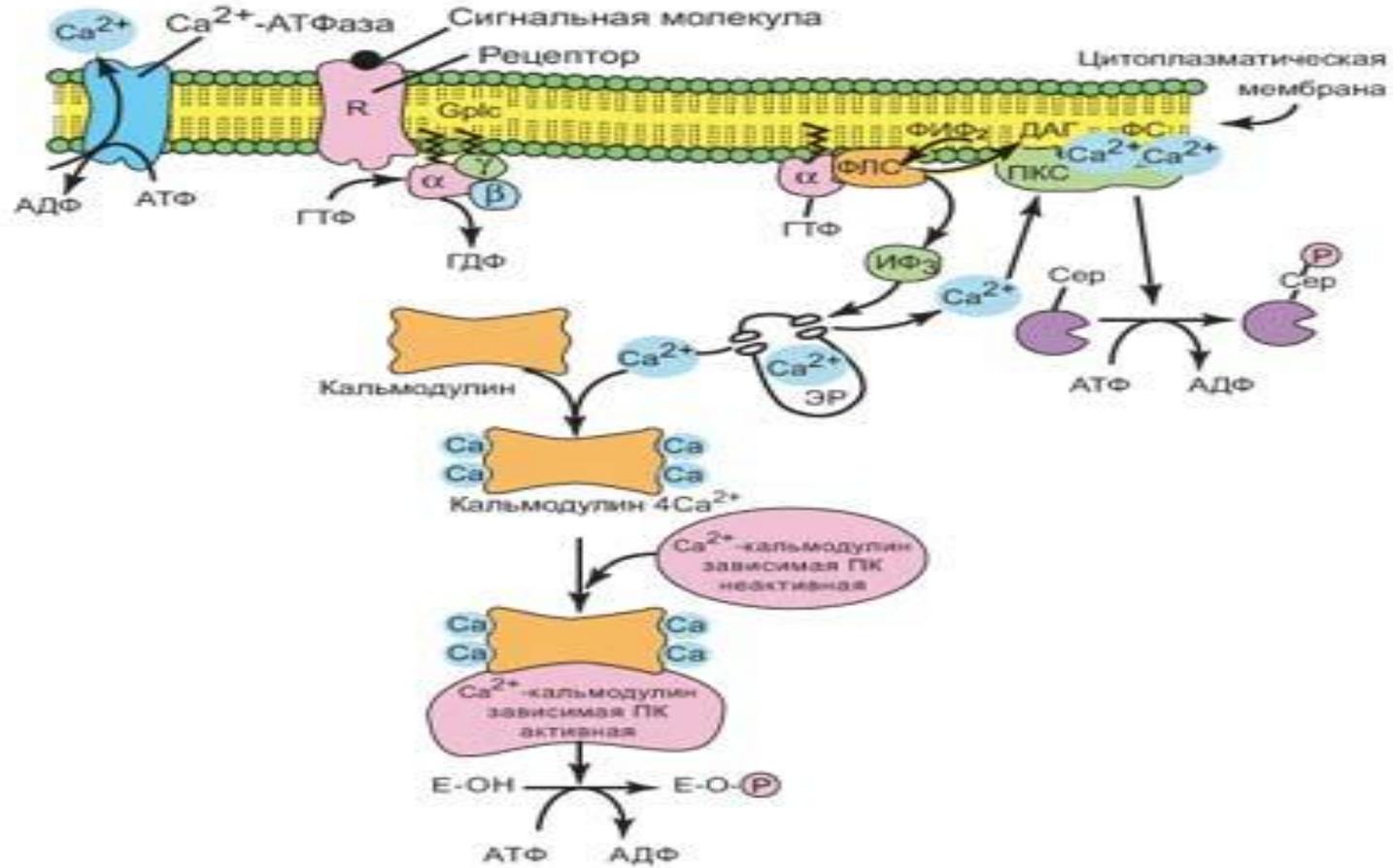


РЕЦЕПТОРЫ, ЛОКАЛИЗОВАННЫЕ В МЕМБРАНЕ

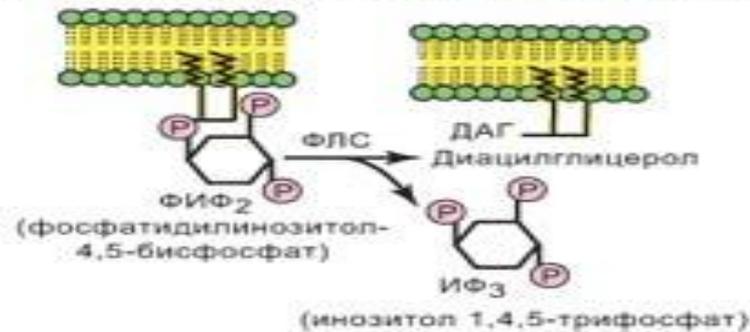


Рецепторы: 1 — содержащие субъединицу связывающую сигнальную молекулу и ионный канал; 2 — проявляющие каталитическую активность после связывание сигнальной молекулы; 3,4 — передающие сигнал на фермент аденилатциклазу (3) или фосфолипазу C (4) при участии мембранных G-белков.

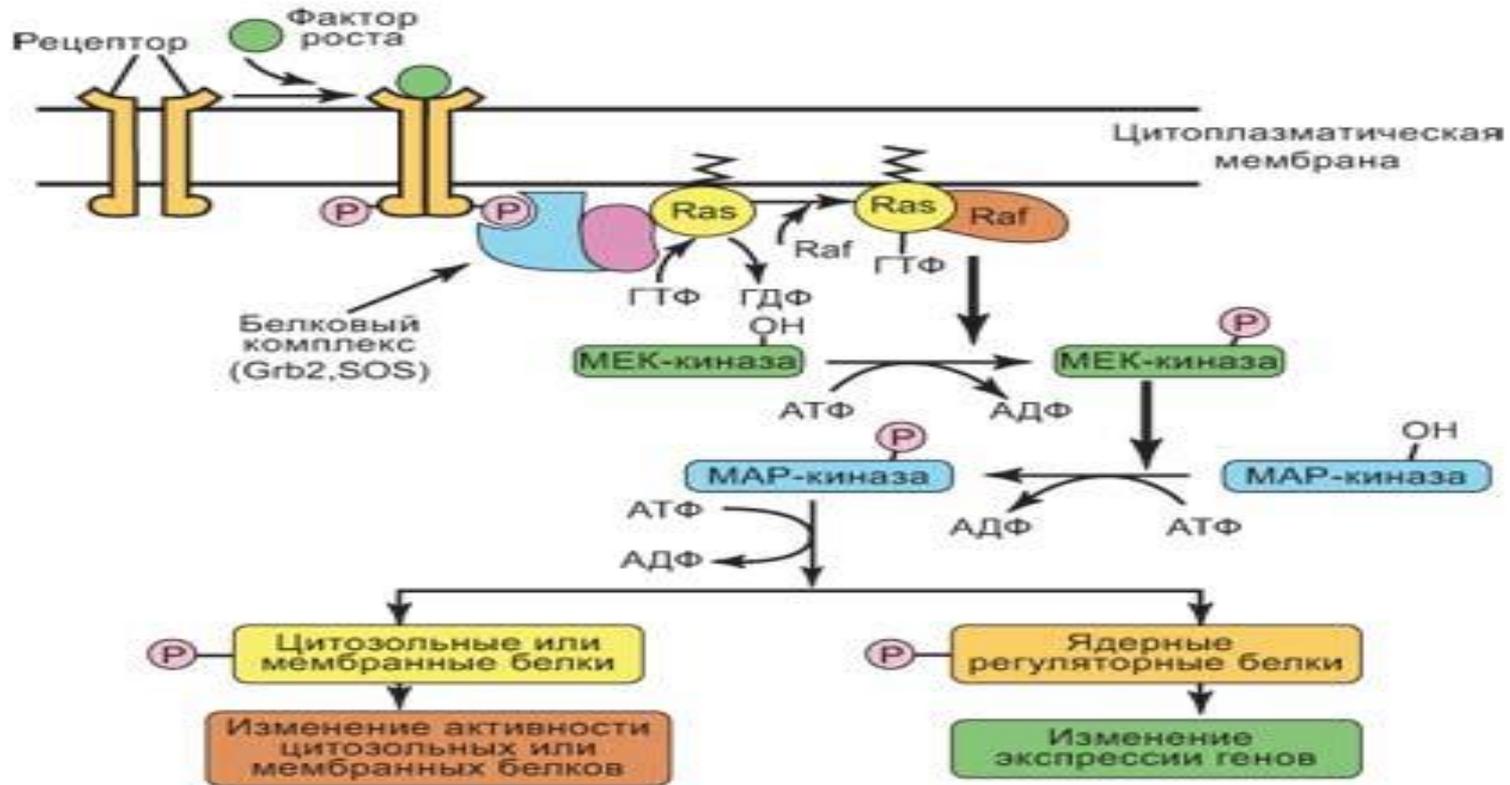
ИНОЗИТОЛФОСФАТНАЯ СИСТЕМА



ГИДРОЛИЗ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛБИСФОФАТА (ФИФ₂)

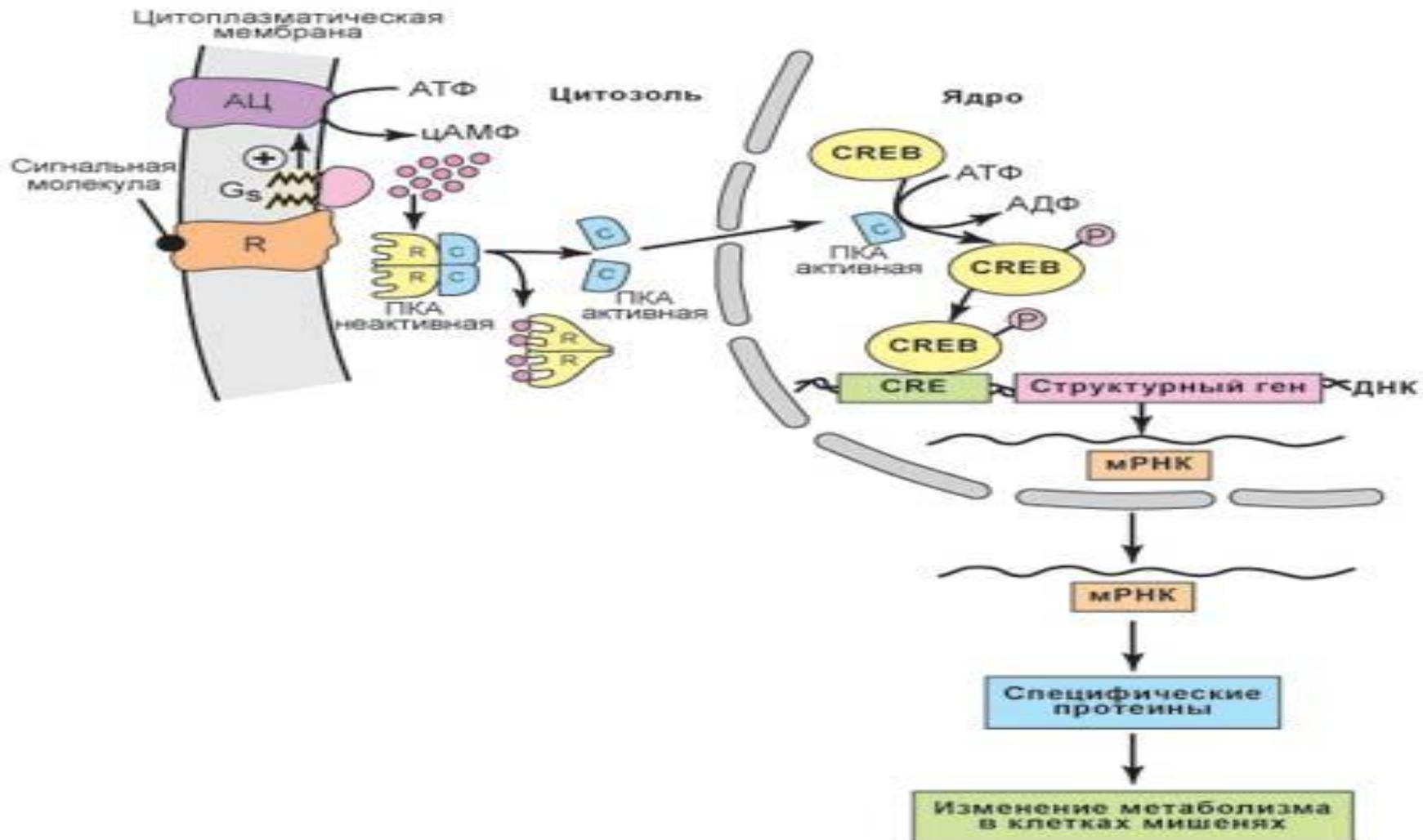


МАР-киназный каскад



- Связывание с фактором роста (ФР) приводит к димеризации рецептора и его трансавтофосфорилированию по остаткам тирозина.
- Фосфорилированный рецептор приобретает сродство к Grb2-белку.
- Комплекс ФР-рецептор-Grb2 взаимодействует с цитозольным белком SOS.
- SOS связывается с заякоренным белком мембраны Ras-ГДФ. Образование этого комплекса снижает родство Ras-белка к ГДФ и увеличивает к ГТФ.
- Замена ГДФ на ГТФ изменяет конформацию Ras-белка, который диссоциирует от комплекса Ras-ГТФ*Grb2 и взаимодействует с Raf-белком в примембранной области.
- Комплекс Ras-ГТФ*Raf является протеинкиназой, которая фосфорилирует киназу MEK по остаткам Сер и Тре.
- Активированная киназа MEK фосфорилирует MAP-киназу по Сер и Тре.
- Изменяется заряд, конформация и активность MAP-киназы, которая фосфорилирует белки мембран, цитозоля и ядра по Сер и Тре.
- Изменение активности этих белков оказывает влияние на: скорость метаболических процессов в клетке, работу мембранных транслоказ, митотическую активность клетки.

Аденилатциклазный путь, приводящий к экспрессии специфических генов



Рецепторы гормонов

- Многие гормоны, например инсулин, глюкагон, адреналин, АКТГ и другие не проникают внутрь клетки, а узнаются эффекторной клеткой посредством специфических белковых рецепторов на поверхности мембран.
- Например, на поверхности жировой клетки содержится около 160 тысяч рецепторных участков для инсулина.
- Клетки печени, мышц, сосудов имеют рецепторы к адреналину и норадреналину, называемые адренорецепторами.
- Различают два основных типа адренорецепторов - альфа- и бета-адренорецепторы.
- Через рецепторы гормоны запускают специфические метаболические процессы в эффекторной клетке, направленно изменяют функцию клетки

Транспорт веществ через биомембраны

- Одна из главных функций мембран клеток - обеспечение механизма избирательного транспорта веществ. Одним из таких механизмов является *эндоцитоз и экзоцитоз, сопровождаемые* структурной перестройкой мембран и образованием мембранных пузырьков.
- Путем эндоцитоза в клетку попадают капельки растворенных веществ (пиноцитоз), нерастворенные вещества, крупные частицы, обрывки клеток, микро организмы заключенные в мембранные пузырьки (фагоцитоз).
- Образующиеся эндоцитозные мембранные пузырьки с заключенным в них содержимым затем сливаются с лизосомами и здесь разрушаются.

- **Лизосомы** - это клеточные органеллы, имеющие вид мембранных мешочков сферической формы, диаметром около 0,25 микрона.
- В этих мембранных пузырьках находится полный набор гидролитических ферментов, способных разрушать все основные компоненты клетки: белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты.
- Эти ферменты проявляют оптимум активности в слабокислой среде и потому известны под общим названием кислых гидролаз.
- Они способны переваривать вещества, поступающие в клетку в процессе фагоцитоза (**явление гетерофагии**), могут разрушать отдельные части клетки, ее органеллы или даже всю ее целиком (**явление аутофагии**).
- Кислая реакция среды в лизосомах создается H^+ -АТФ-азой, перекачивающей протоны из цитозоля внутрь лизосом.

- Одновременно, в клетке без видимых структурных перестроек мембраны, без образования пузырьков, через клеточную мембрану в обоих направлениях проходят сотни различных молекул.
- Транспорт молекул разных веществ через мембрану может идти в одном направлении (унипорт).
- Может сопровождаться транспортом другого (котранспорт).
- Транспорт молекулы может быть сочетан с переносом молекулы другого вещества либо в том же направлении (симпорт), либо со встречным транспортом (антипорт).

Типы мембранного транспорта

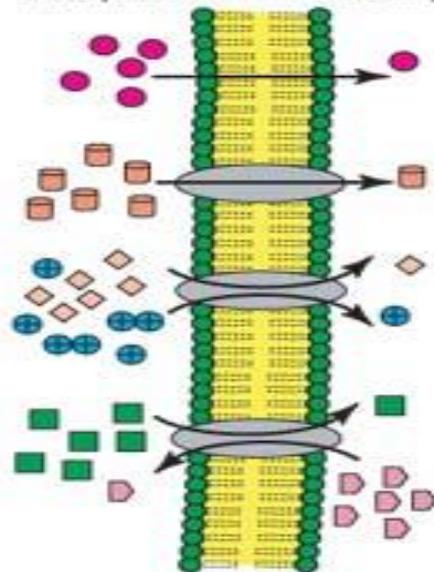
- В отличие от макромолекул, непроницаемых для мембран, перенос малых молекул через мембрану может осуществляться тремя способами:
- 1.простой диффузией, по градиенту концентрации веществ по обе стороны мембраны (пассивный транспорт),
- 2.облегченной диффузией, также по градиенту концентрации, но с помощью белков переносчиков (канальный и переносчиковый тип транспорта),
- 3.активный транспорт веществ против градиента концентрации с использованием энергии.

МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕНОСА ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ ПО ГРАДИЕНТУ КОНЦЕНТРАЦИИ

Пассивный транспорт

Наружная поверхность мембраны

Внутренняя поверхность мембраны



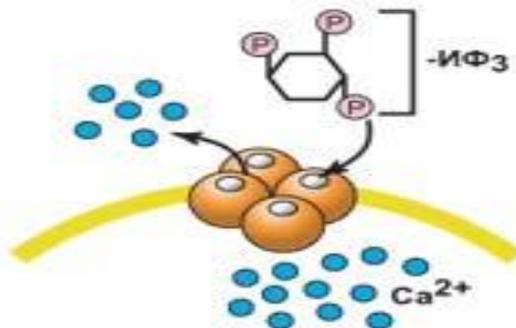
Простая диффузия без участия белков-переносчиков, например O_2 , NH_3 , H_2O , CO_2 , мочевины, спирт, гидрофобные низкомолекулярные вещества (●);

Облегченная диффузия при участии белков-переносчиков, например глюкозы(■) в клетки тканей с помощью переносчиков ГЛЮТ⁺ов;

Пассивный симпорт, перенос двух ионов по градиенту концентрации в одном направлении, например: HPO_4^{2-} (⊕) и H^+ (◇);

Пассивный антипорт, перенос ионов по градиенту концентрации в противоположных направлениях, например: HCO_3^- и Cl^- .

Простая диффузия ионов по белковым каналам



ИФ3 связывается специфическими центрами Ca^{2+} - канала мембраны эндоплазматического ретикулума. Изменяется конформация белка и канал открывается - Ca^{2+} поступает в цитозоль клетки по градиенту концентрации.

Регулируемый инозитол - 1,4,5-трифосфатом (ИФ3) Ca^{2+} - канал мембраны эндоплазматического ретикулума.

Облегченная диффузия

- При облегченной диффузии молекулы вещества транспортируются через мембрану по градиенту концентрации с помощью специальных белков - переносчиков (транслоказы), функционирующих
- по "челночному типу"
- или по принципу "понг-пинга",
- либо по каналам, сформированным мембранными интегральными белками (пермеазы).

- Облегченная диффузия или транспорт веществ с участием переносчиков имеет три характерные черты:

- 1. - зависит от концентрации

транспортируемого соединения, т. е. скорость транспорта возрастает с увеличением концентрации и при достижении насыщающей концентрации не меняется.

- 2. - характеризуется субстратной специфичностью, т.е. белок-переносчик транспортирует одно вещество или группу сходных соединений.

- 3. - возможно конкурентное и неконкурентное ингибирование переносчикового или канального типов транспорта.

- **Направленный избирательный транспорт веществ через мембрану путем простой или облегченной диффузии в живой клетке никогда не прекращается, поскольку выравнивание концентрации переносимых веществ в клетке и во внеклеточном пространстве не достигается, вследствие постоянных обменных процессов происходящих в клетке**

Активный транспорт

- Активный транспорт веществ через биологические мембраны, в отличие от простой и облегченной диффузии, **совершается против градиента концентрации**, т.е. из области с более низкой концентрацией в область с более высокой концентрацией и, следовательно, связан с расходом энергии.
- Этот процесс всегда **сопровождается увеличением свободной энергии** и сопряжен с какой-либо самопроизвольно протекающей экзергонической реакцией.
- В зависимости от источника энергии различают **первичный и вторичный** тип активного транспорта.

ПЕРВИЧНЫЙ И ВТОРИЧНЫЙ АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

- При первичном активном транспорте источником энергии служит АТФ.
- При вторичном активном транспорте для переноса одного вещества используется энергия электрохимического градиента, возникающего для другого вещества транспортируемого по градиенту своей концентрации. Этот тип активного транспорта иногда обозначают как обменная диффузия.
- Различают еще одну разновидность активного транспорта - групповая транслокация, когда транспортируемое вещество сначала подвергается ковалентной модификации, и образующийся при этом продукт проникает в клетку.
- Процесс активного транспорта осуществляется с участием нескольких мембранных белков, составляющие транспортные системы мембран, обозначаемых как пермеазы.

Первичный активный транспорт

- Примером первичного активного транспорта является транспорт ионов K^+ , Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , H^+ при участии транспортных АТФ-аз, или ионных насосов, способных избирательно присоединять ион и транспортировать его за счет энергии гидролиза АТФ:
- 1. H^+ - АТФ-аза сопрягающих мембран (АТФ-синтетаза),
- 2. катион-транспортирующие АТФ-азы:
 - Na^+, K^+ -АТФ-аза,
 - Ca^{++} -АТФ-аза,
 - Mg^{++} -АТФ-аза.

- Перекачивание ионов натрия и калия является одним из тех клеточных процессов, которые требуют большого количества энергии.
- Градиенты концентраций ионов натрия и калия регулируют объем и ионный состав клетки, обеспечивают возбудимость нервных и мышечных клеток и служат движущей силой для транспорта аминокислот и моносахаридов.
- Различают два механизма обеспечивающих транслокацию одновалентных ионов:
- 1) транспорт Na^+ , K^+ (сопряженный нейтральный насос или Na^+ , K^+ -АТФ-аза)
- 2) перенос только ионов Na^+ (электрогенный насос).

- Na^+ , K^+ -АТФ-аза за счет энергии гидролиза одной молекулы АТФ обеспечивает перенос двух ионов калия внутрь клетки и трех ионов натрия в противоположном направлении.
- За счет этого формируется трансмембранный Na^+ , K^+ -электрохимический потенциал ($\Delta\mu$).
- Этот потенциал используется для передачи нервного импульса или для активного транспорта через мембрану других веществ.
- Одна из важных функций сопряженного натрий - калиевого насоса заключается в создании препятствия для набухания клетки и как следствие, разрыв мембраны (осмотический шок).

Na⁺, K⁺- АТФ-аза и ионные каналы нервных клеток

- Основным инструментами мембраны аксонов нервных клеток, создающими нервный импульс, являются
- **Na⁺, K⁺- АТФ-аза и**
- **два типа ион проводящих каналов –**
- **натриевый канал**
- **калиевый каналы\.**
- Na⁺, K⁺- АТФ-азы за счет энергии АТФ создают трансмембранный электрохимический потенциал ($\Delta\mu$). т.е. возникает электрический **потенциал покоя** равный 60-70 мВ.

- **Потенциал покоя** одинаков на всем протяжении нервного волокна и в состоянии покоя изменяется лишь в небольших пределах.
- **При прохождении нервного импульса** происходит некоторое снижение мембранного потенциала покоя нервной клетки.
- **Это приводит к включению ион проводящих натриевых и калиевых каналов.**

- **Функция натриевых и калиевых каналов**
мембран нервных клеток состоит в деполяризации мембраны, инверсии полярности, т.е. в создании потенциала действия и, затем, в восстановлении потенциала покоя совместно с "насосной" **Na⁺, K⁺-АТФ-азой**.
- **Натриевые и калиевые каналы** представляют собой интегральные белки гликопротеины, состоящие из трех субъединиц разной молекулярной массой с высокой степенью гликолизирования и наличием большого числа остатков дикарбоновых аминокислот.

Натриевый каналы

- В составе натриевого канала существуют два основных функциональных участка - один ион-проводящий фрагмент с селективным фильтром и второй - потенциал-чувствительный воротный механизм.
- Число натриевых каналов в 10 раз меньше, чем число молекул "насосной" Na^+, K^+ -АТФ-азы. Максимальная концентрация ионных каналов обнаружена в области перехватов Ранвье нервных волокон.
- Если на каком-нибудь участке мембраны проницаемость ионов натрия увеличивается, то это приводит к снижению потенциала покоя (исходный уровень которого равен - 70мВ) и изменению конформации субъединиц натриевого канала.

Включение натриевого канала

- Пороговой величиной включения натриевого канала является уменьшение потенциала покоя до -50 мВ.
- При этом селективно повышается прохождение в клетку ионов натрия, что приводит к снижению трансмембранного потенциала до нуля и к полной деполяризации мембраны.
- Продолжающийся селективный поток ионов натрия в клетку приводит к реполяризации мембраны - внутри клетки становится больше положительных ионов, чем снаружи.
- Происходит инверсия полярности и мембранный потенциал при этом может достигнуть до $+40$ мВ, с положительным зарядом внутри клетки (аксона).
- Затем натриевые каналы закрываются и открываются калиевые каналы.

Калиевые каналы

- С открытием калиевых каналов начинается выход ионов K^+ из клетки. Число положительных ионов в клетке уменьшается, а снаружи увеличивается.
- За счет этого потенциал на мембране изменяется от +40 мВ до -70 мВ, и достигает уровня потенциала покоя.
- **Всю эту последовательность событий функции натриевых и калиевых каналов, продолжающиеся в течение менее 1 мс и возникающий при этом потенциал, называют потенциалом действия.**
- Ионные каналы остаются открытыми непродолжительное время и закрываются.
- Восстановление исходного перераспределения ионов натрия и калия относительно клеточной мембраны и потенциала покоя осуществляется Na^+ , K^+ -АТФ-азой и длится он примерно 0,5 мс.
- **В это время проведение нервного импульса невозможно и называется периодом абсолютной рефрактерности.**

Челночные механизмы транспорта

- Своеобразным вариантом групповой транслокации является механизм переноса протонов (H^+) через митохондриальные мембраны.
- Мембраны митохондрий не проницаемы для образующихся в цитозоле при окислении различных субстратов молекул НАД H^+ .
- Оказалось, что перенос восстанавливающих эквивалентов НАД H^+ осуществляется косвенным путем - *глицерофосфатным и малатным челночными механизмами транспорта*

Глицерофосфатный челнок



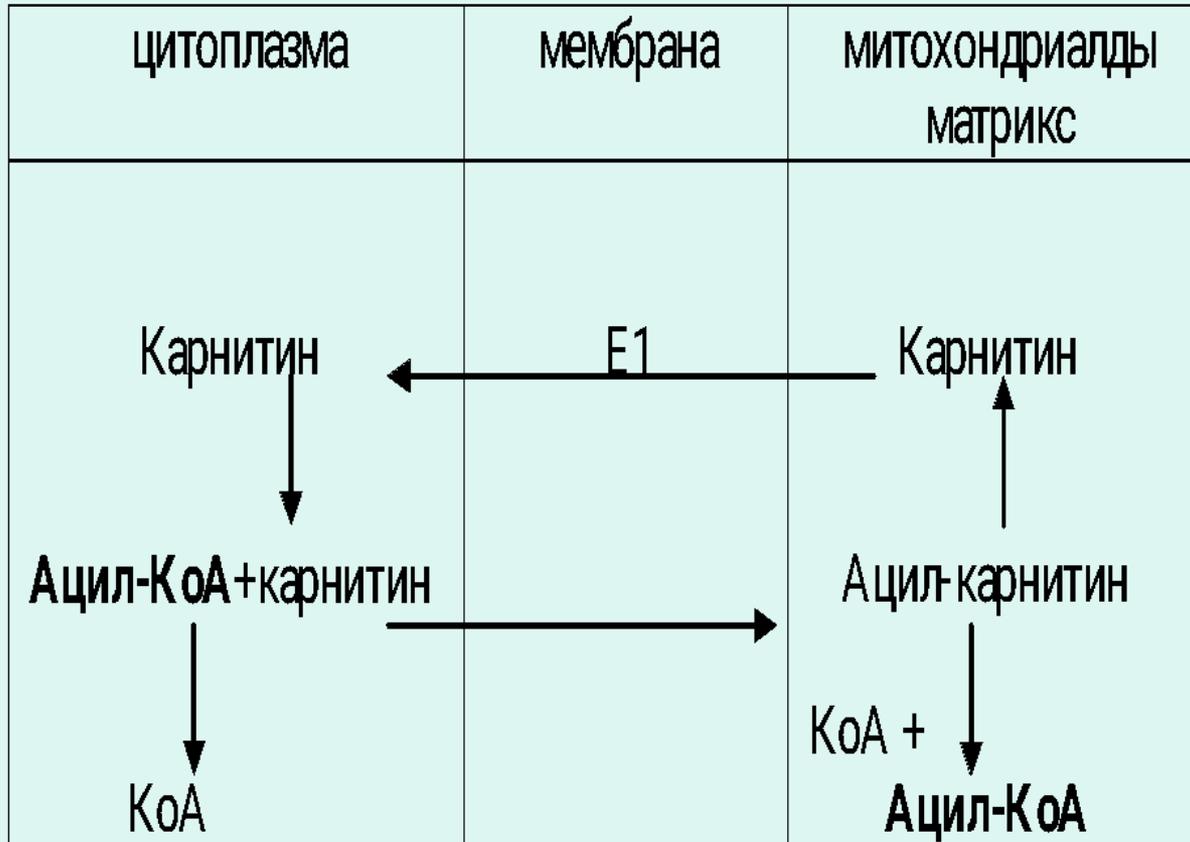
Малатный челнок



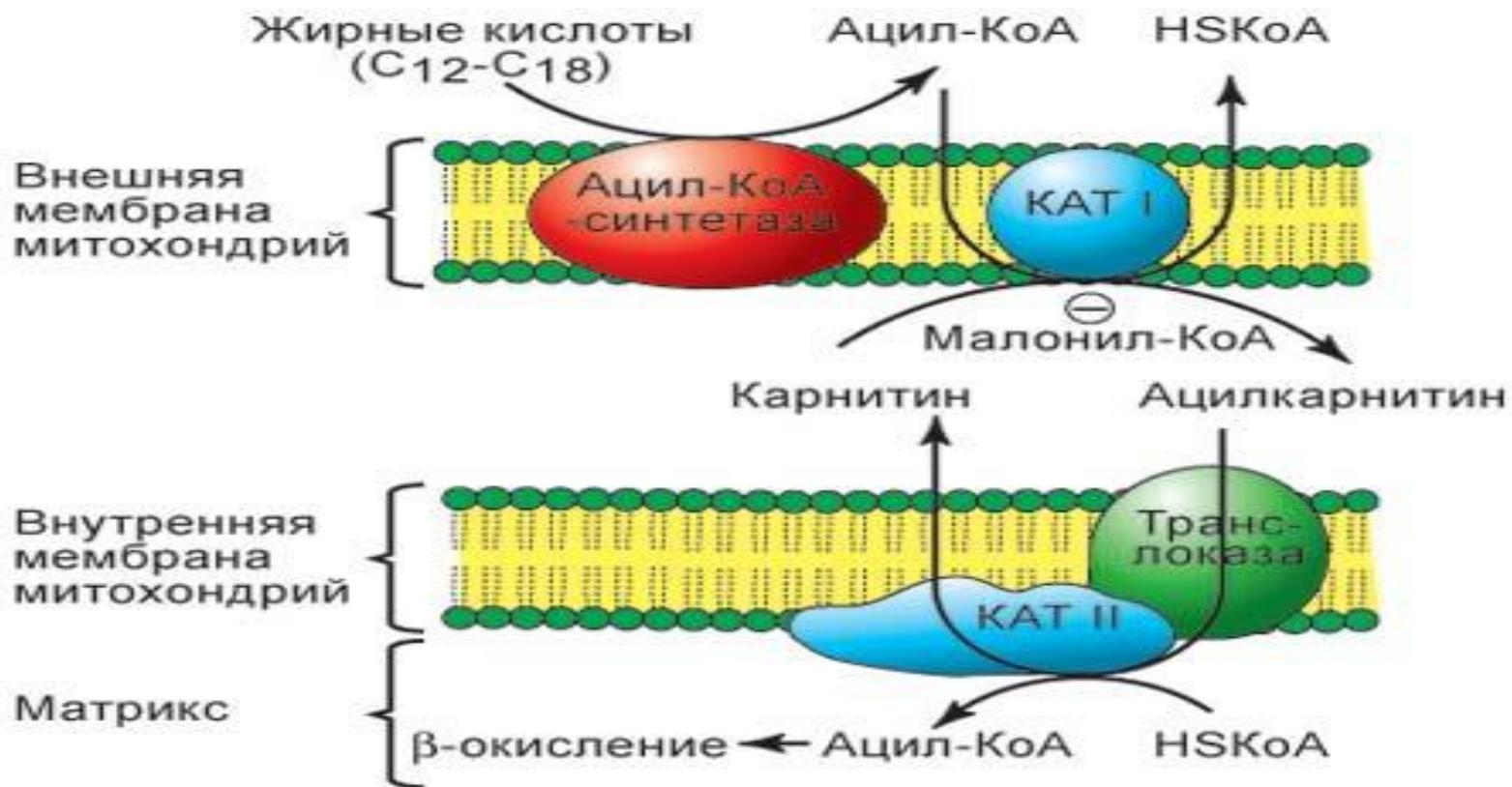
Транслокация жирных кислот

- Транслокация жирных кислот в форме их ацил-КоА производных через мембраны митохондрий обеспечивается *карнитиновым челночным механизмом*.
- Во внутренней мембране митохондрий имеется фермент ацилтрансфераза, специфичный к жирным кислотам, который катализирует перенос ацильного радикала с ацил-КоА на гидроксильную группу карнитина.
- Ацилкарнитиновые производные легко проникают через мембрану.
- Внутри митохондрий ацильная группа переносится с ацил-карнитина обратно на КоА.
- Вновь образующийся ацил-КоА, используется образования ацилкарнитина. Цикл транспорта повторяется

Карнитиновый челночный механизм



ПЕРЕНОС ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ МИТОХОНДРИЙ



КАТ I - карнитинацилтрансфераза I

КАТ II - карнитинацилтрансфераза II