



Львівський національний університет імені Івана
Франка

Кафедра біофізики та біоінформатики

Будова клітинної мембрани. Хімічний склад. Транспортні властивості

*Лектор:
доц. ,к.б.н. Отчич Віра Петрівна*

План

1. Історичний огляд становлення мембранології
2. Будова мембран
3. Функції мембран
4. Хімія мембран
5. Транспорт через мембрану

- 40-і рр. XIX ст. – **Дюбуа-Реймон** повідомив, що між внутрішньою та зовнішньою поверхнями шкіри жаби існує різниця електричних потенціалів.
- 1851 р. – **фон Моль** описав плазмоліз клітин рослин.
- 1855 р. – **фон Негелі** пояснив осмотичні властивості клітин наявністю у них напівпроникних клітинних мембран. *Фік* встановив закон дифузії.
- 1877 р. – **Пфеффер** опублікував свою працю «Дослідження осмосу», де постулював існування клітинних мембран, порівнював клітини з осмометрами, які мають штучні напівпроникні мембрани.
- 80-і рр. XIX ст. – **де Фріз** продовжив осмометричні дослідження рослинних клітин. Його дослідження слугували фундаментом при створенні фізико-хімічної теорії осмотичного тиску та електролітичної дисоціації *Вант Гоффом* та *Арреніусом*.
- 1888 р. – **Нернст** отримав рівняння для рівноважного потенціалу мембрани.
- 1890 р. – **Оствальд** висловив припущення про можливу роль мембран у біоелектричних процесах.

1935 р. – **Даніелі та Давсон** сформулювали гіпотезу про подвійність ліпідного шару, який визначає будову плазматичної мембрани.

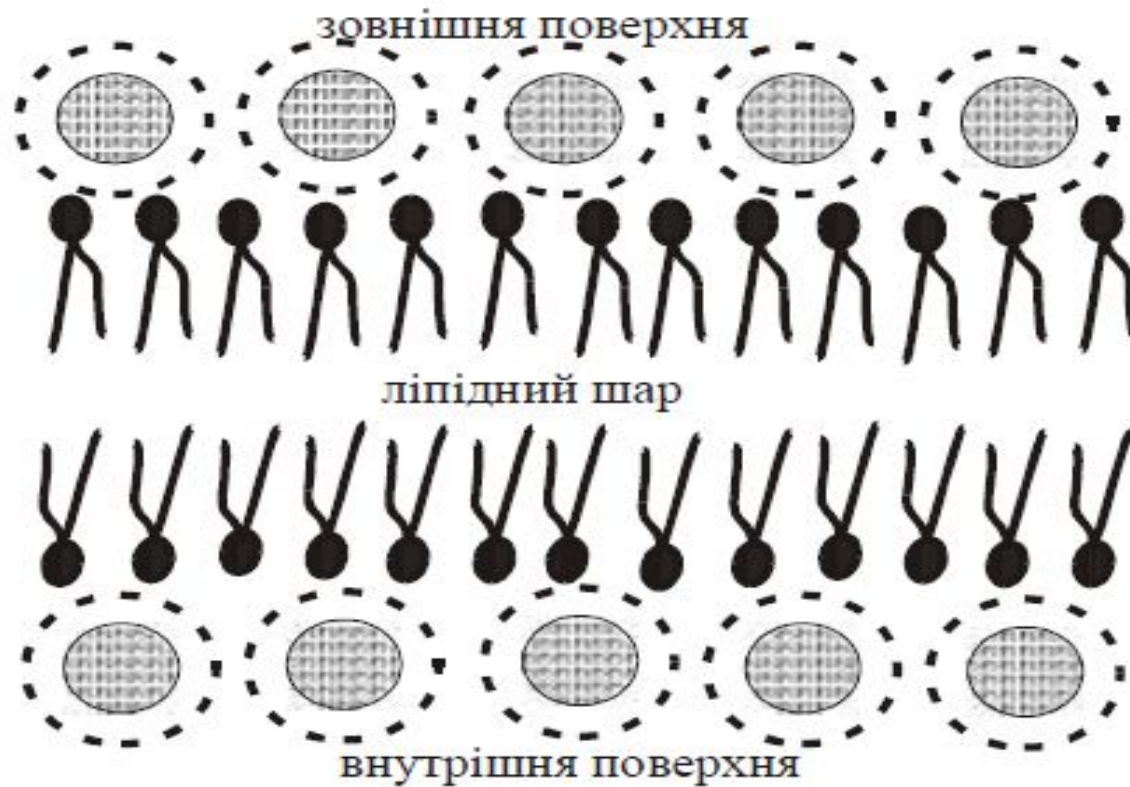
1964 р. – **Робертсон** ввів положення про асиметричність в будові біомембрани.

1966 р. – **Ленард та Сингер** запропонували рідинно-мозаїчну модель структури біомембрани.

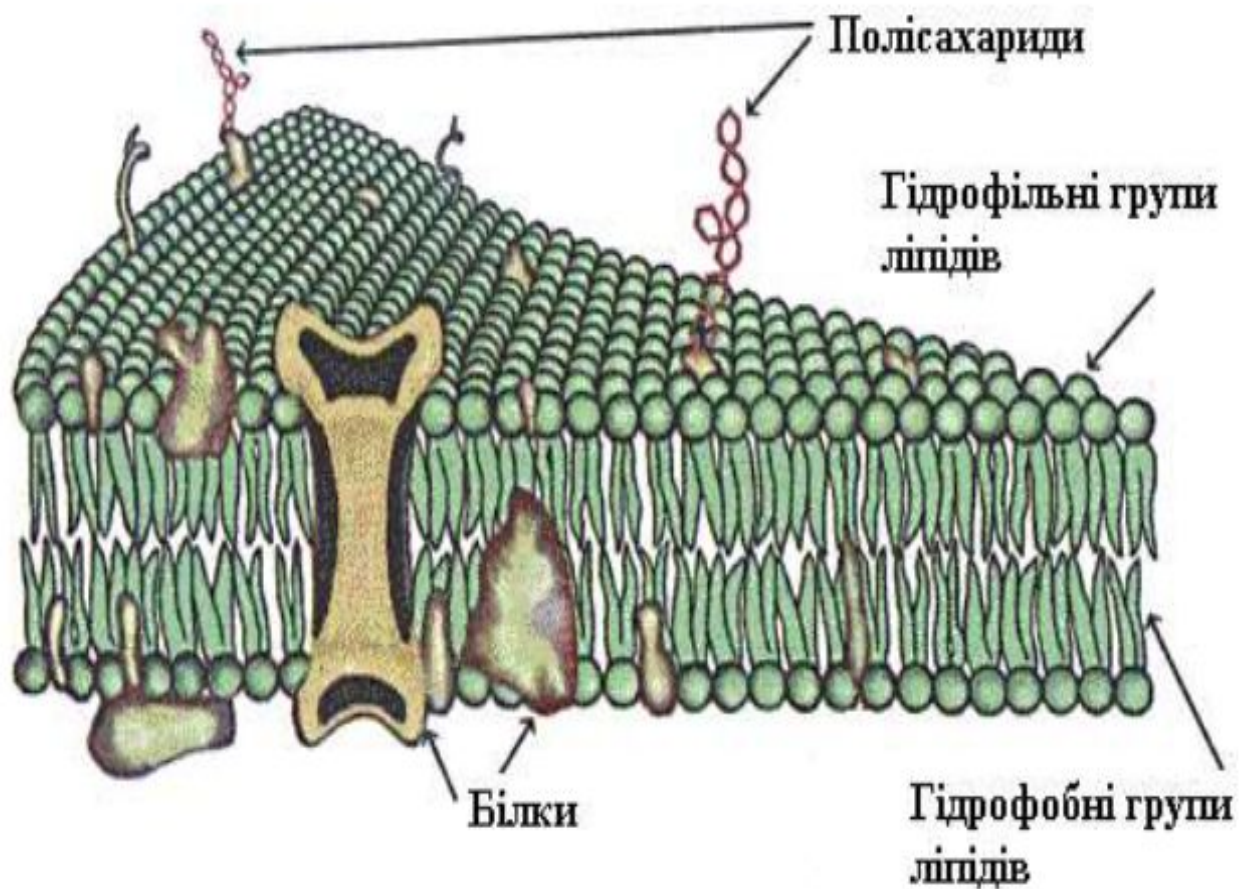
1970 р. – **Вандеркой та Грін** запропонували білково-кристалічну модель структури бішарової мембрани.

Наявність у мембрані жорстокої білкової структури обумовлена дальнодіючими білок-білковими взаємодіями.

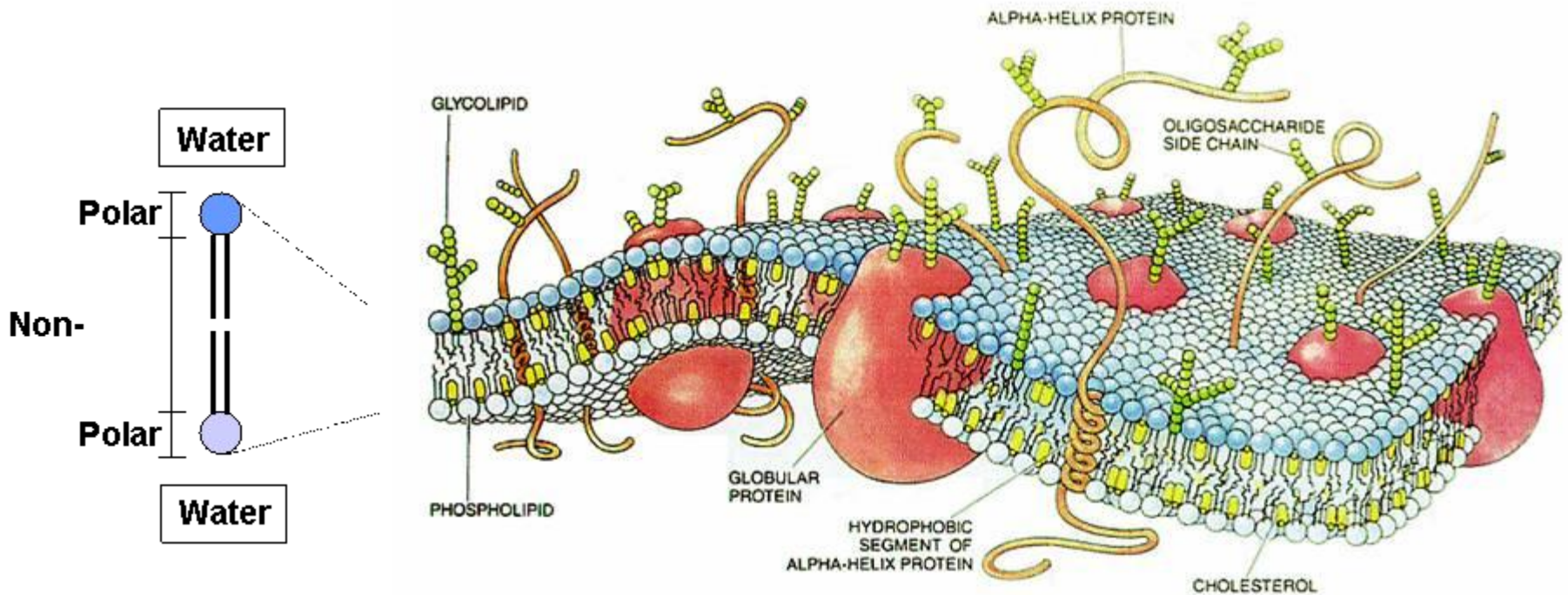
Модель структурної організації біомембрани за Даніелі-Давсоном



**Модель біомембрани
за Сингером –Нікольсоном.**



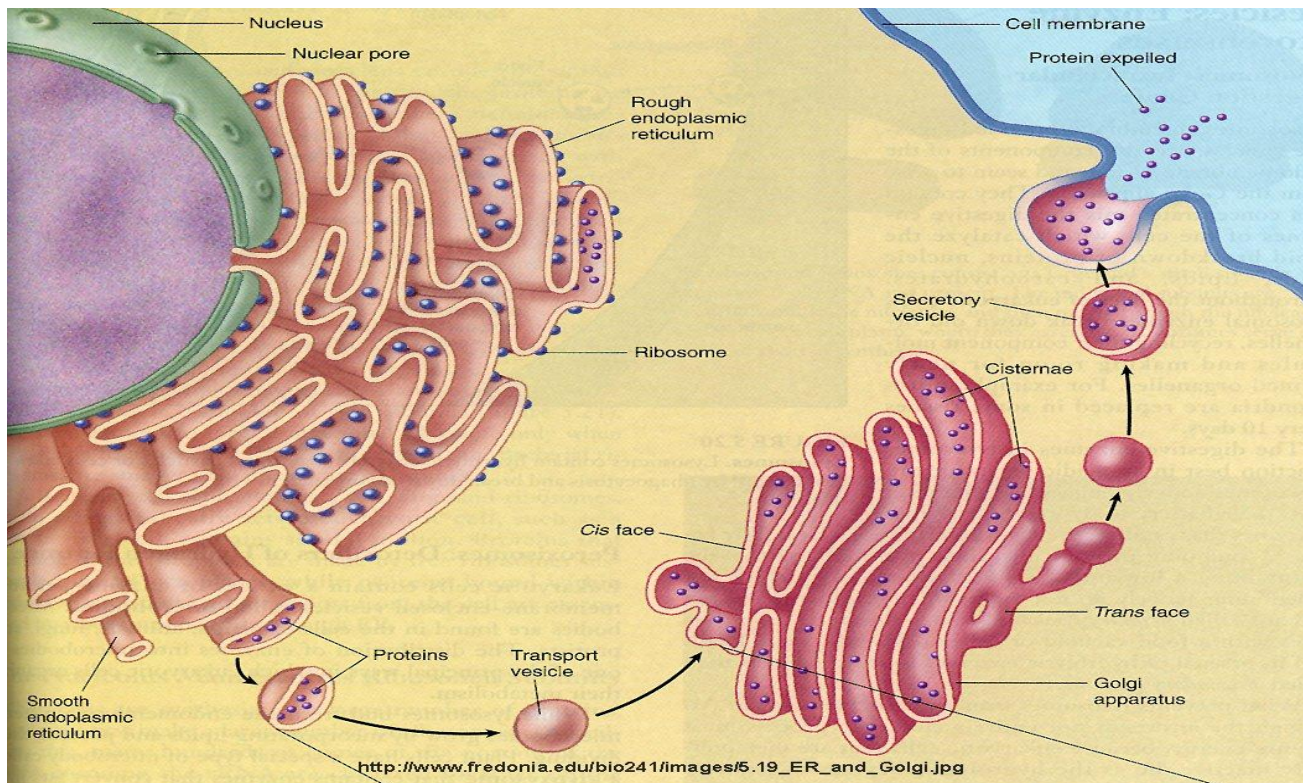
Загальний план будови біологічної клітинної мембрани



Функції біомембран

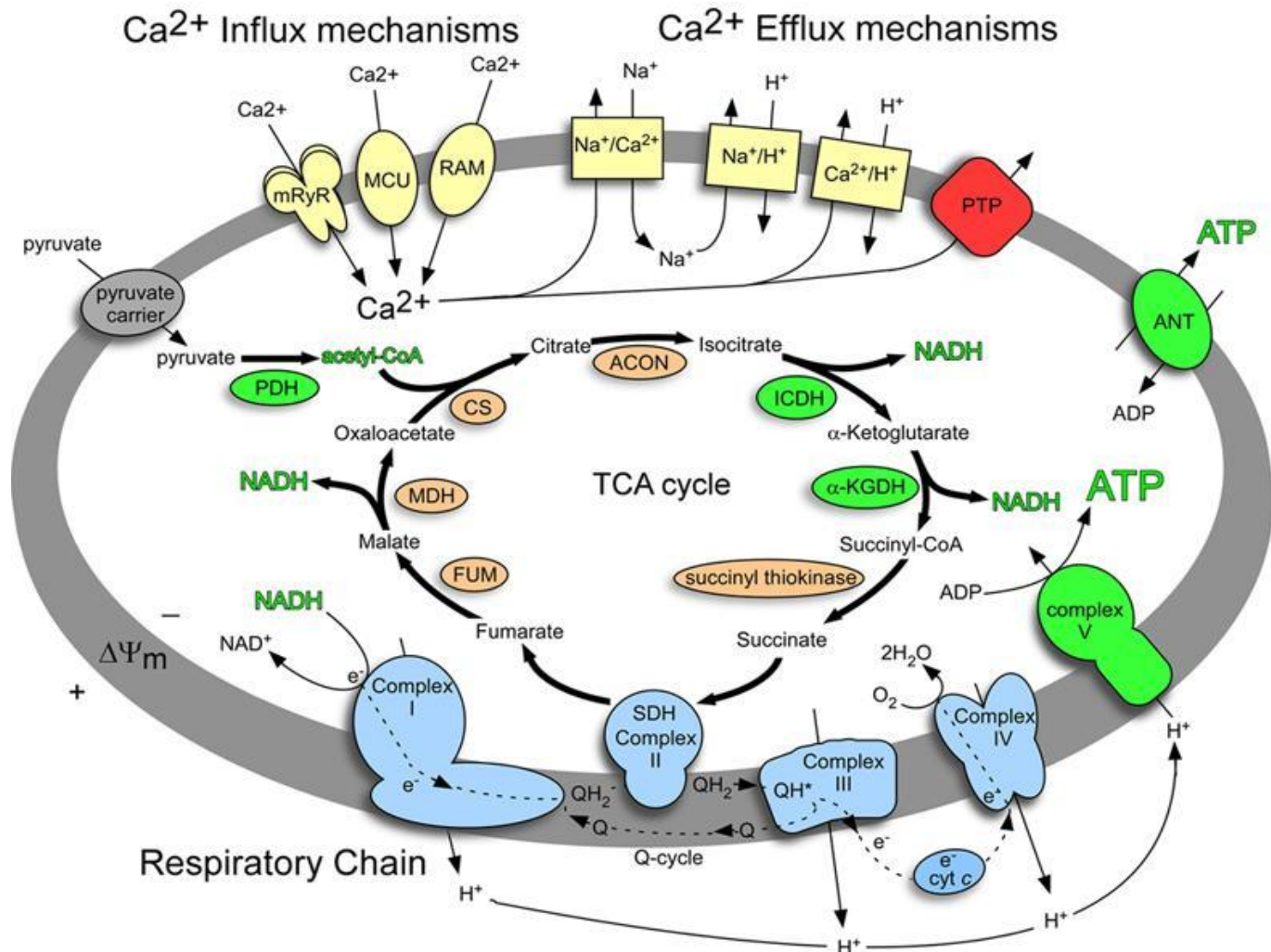
1. Обмеження та відокремлення клітин та органел.

Відокремлення клітин від міжклітинного середовища забезпечується плазматичною мембраною, яка захищає клітини від механічної та хімічної дії. Плазматична мембрана забезпечує також збереження різниці концентрацій метаболітів та неорганічних іонів між внутрішньоклітинним та зовнішнім середовищем.



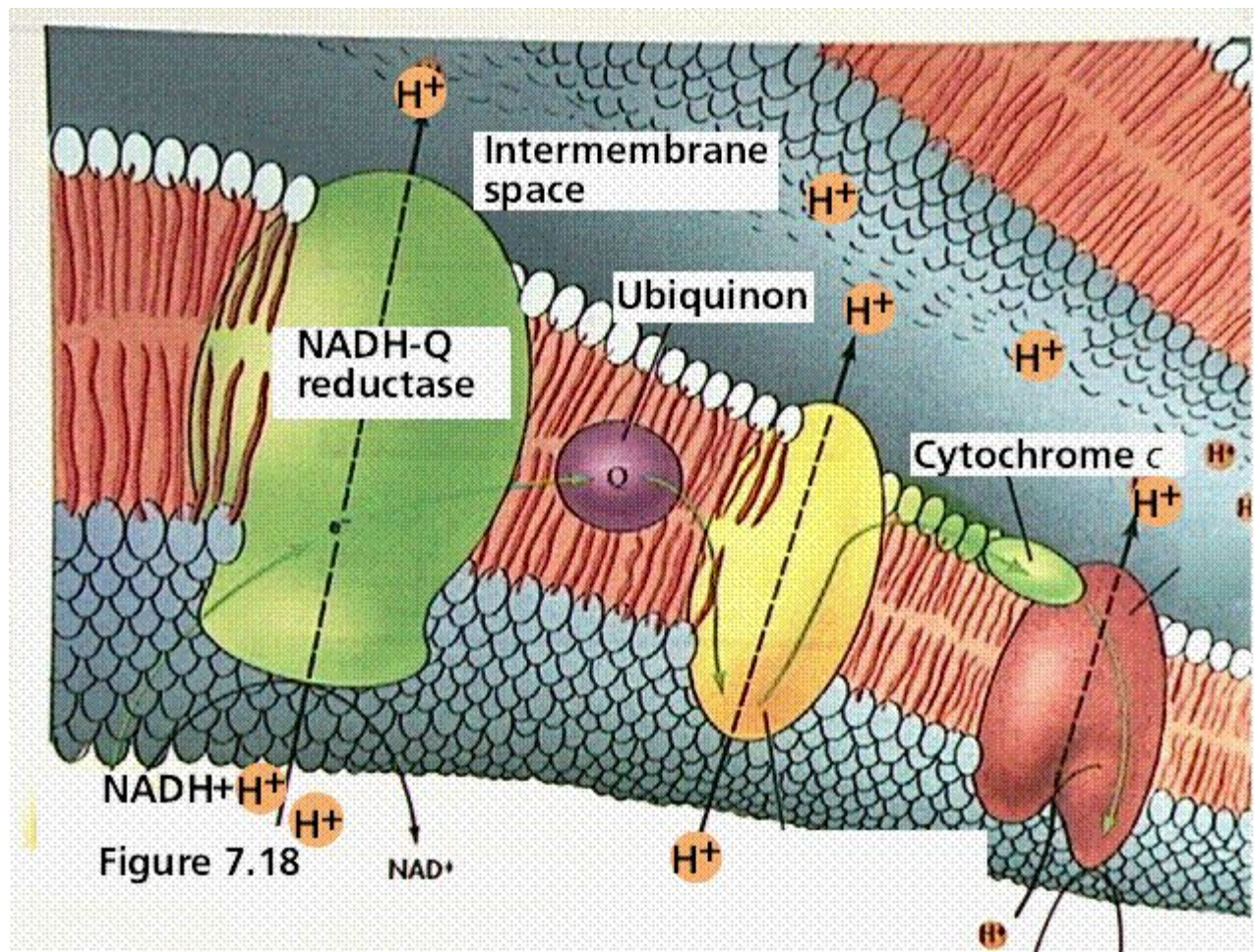
Функції біомембран

2. **Контрольований транспорт** метаболітів та іонів визначає внутрішнє середовище, що суттєво для гомеостазу, тобто підтримання постійної концентрації метаболітів та неорганічних іонів, а також інших фізіологічних параметрів.



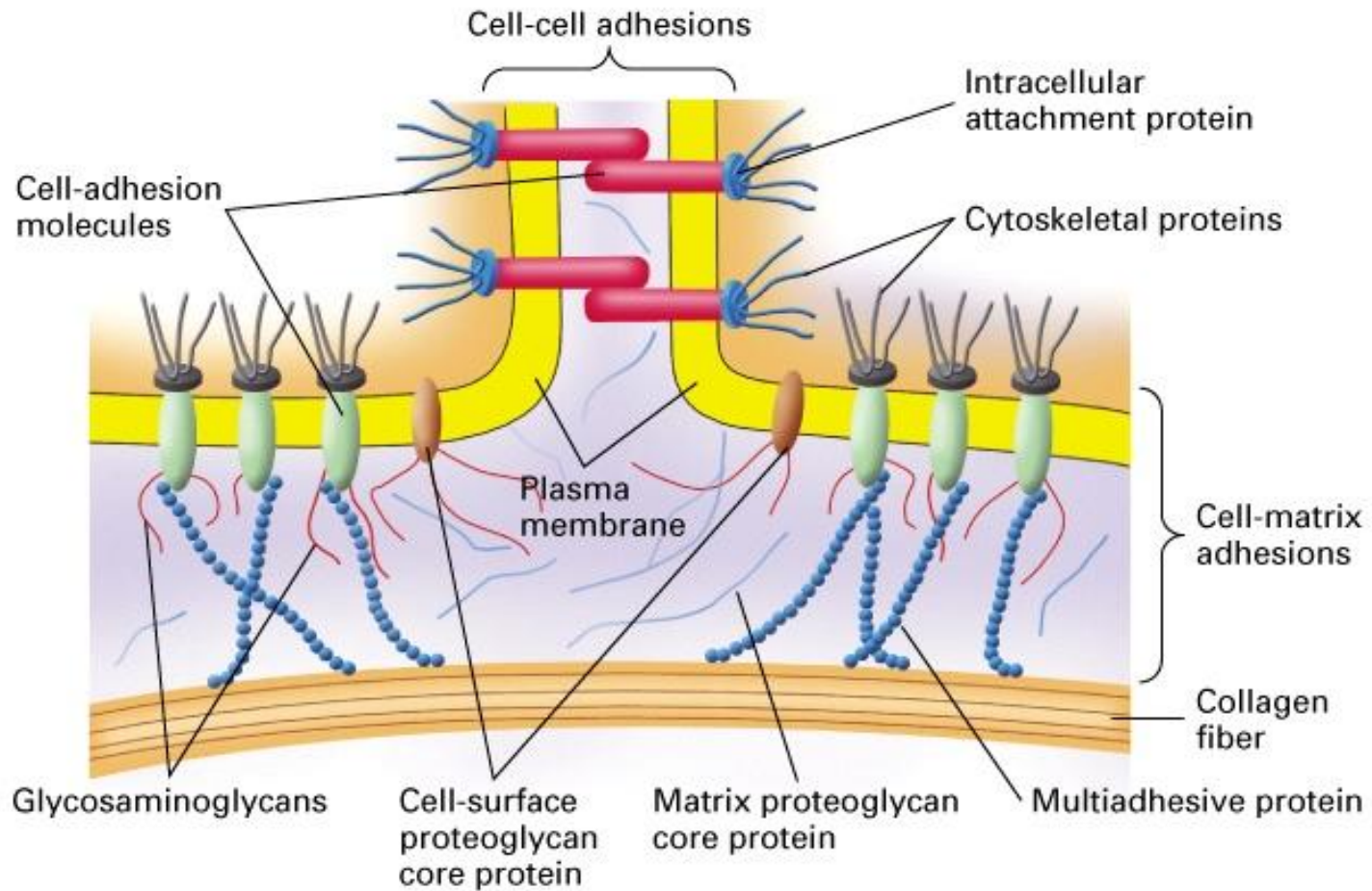
Функції біомембран

- 4. **Ферментативний каталіз.** У мембранах на межі між ліпідною та водною фазами локалізовані ферменти. Саме тут відбуваються реакції з неполярними сполуками (біосинтез ліпідів або метаболізм неполярних речовин). У мембранах локалізовані найважливіші реакції енергетичного обміну – окиснювальне фосфорилювання та фотосинтез.



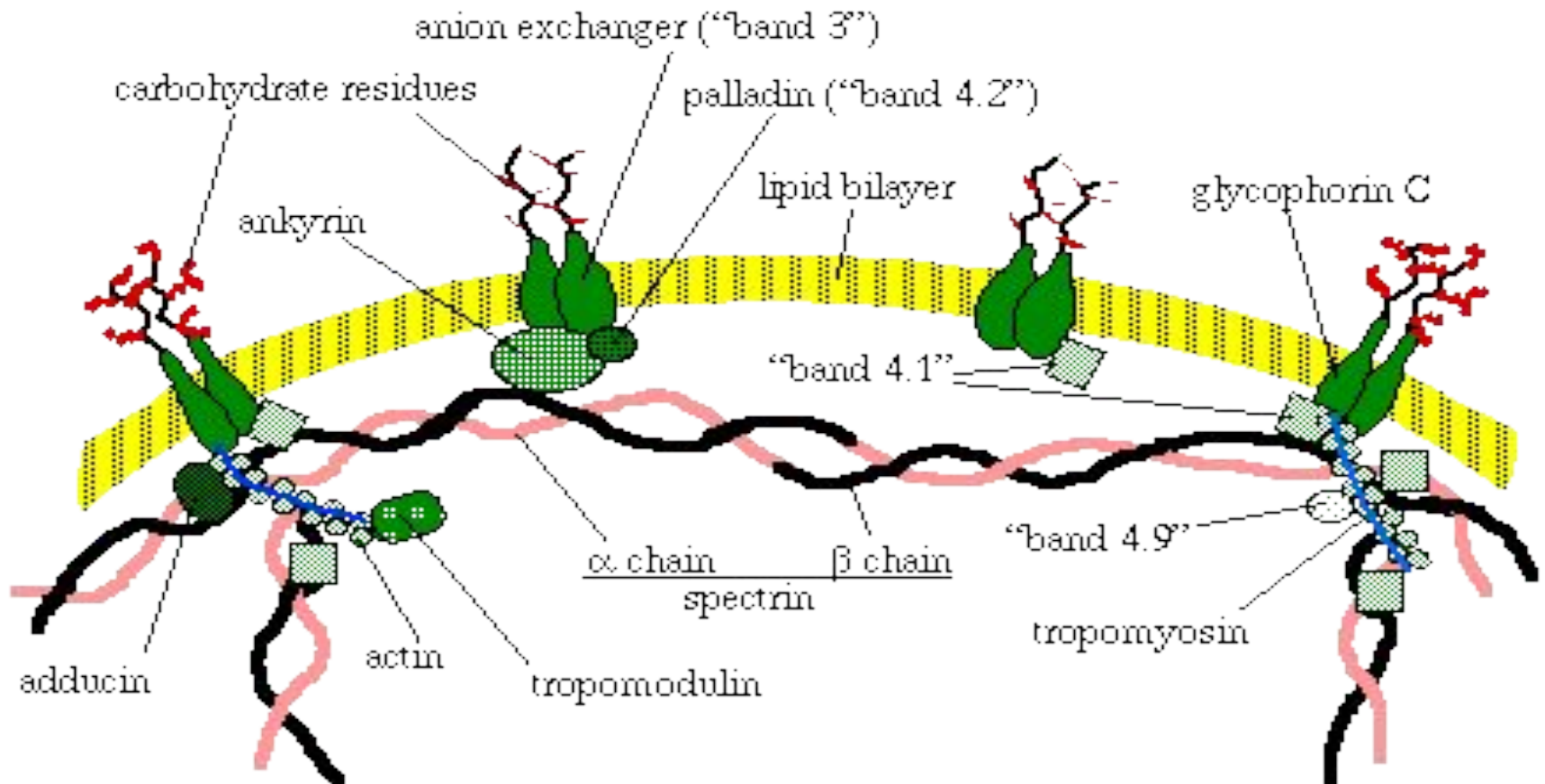
Функції біомембран

- 5. **Контактна взаємодія** з міжклітинним матриксом і взаємодія з іншими клітинами при утворенні тканин.



Функції біомембран

6. **Заякорювання цитоскелету**, яке забезпечує підтримку форми клітин та органел, а також клітинну рухливість.



Основні властивості мембрани

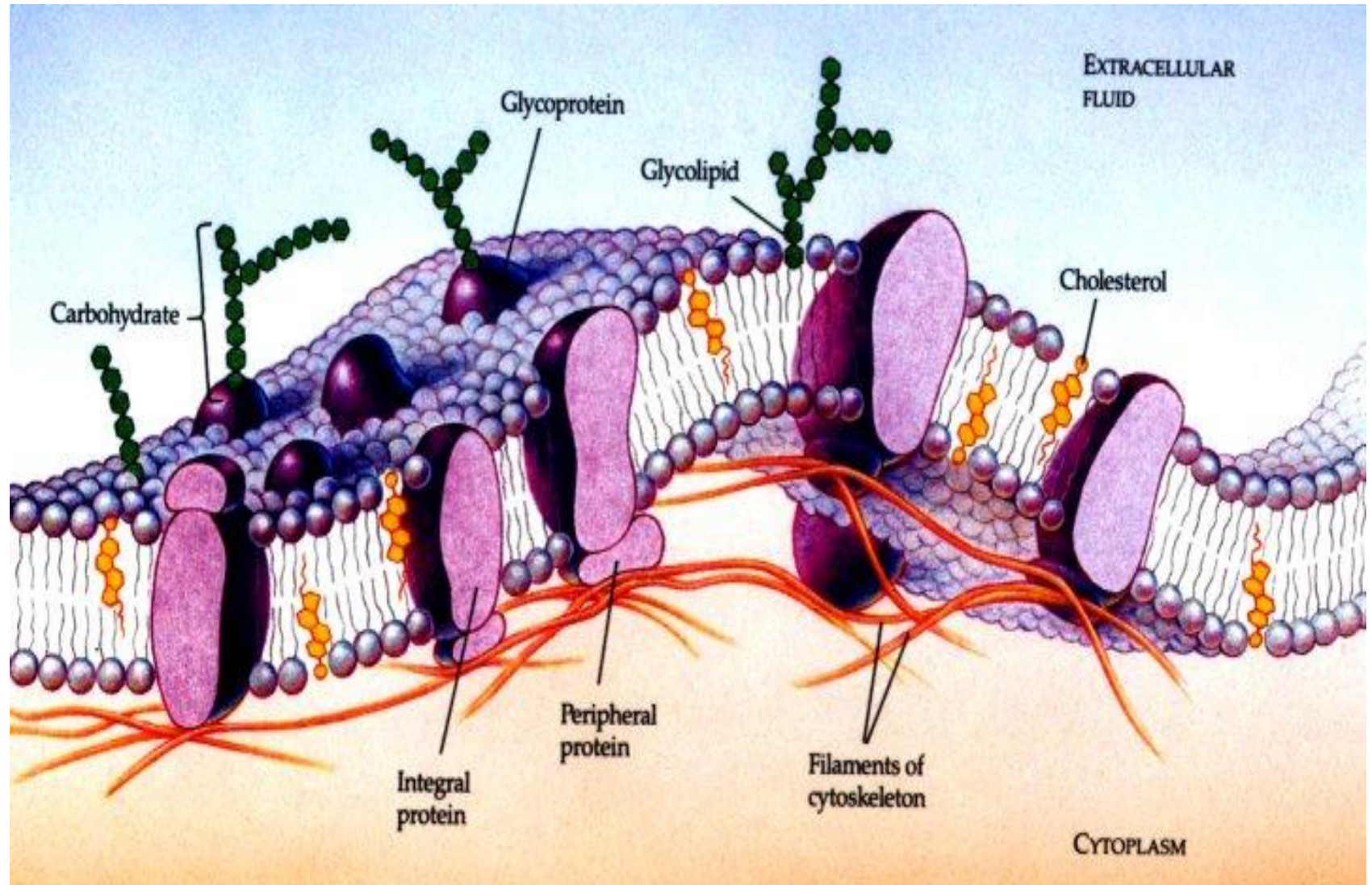
- 1) **Замкненість.** Ліпідні бішари (і мембрани) завжди самотійно замикаються на себе з утворенням повністю обмежених просторів. Усі гідрофобні частини ліпідів стають ізольованими від водної фази. З цієї ж причини при порушенні цілісності мембрани відбувається її «самозшивання».
- 2) **Латеральна рухливість.** Структура при температурі тіла не є жорсткою. Компоненти мембрани можуть рухатися у межах свого шару. У більшій мірі це стосується ліпідів, у меншій - білків. Так у результаті випадкової дифузії молекула білка масою 100 000 Да за 10 с переміщається у мембрані в середньому на 2,5 мкм, а молекула ліпиду за той же час — у середньому на 5,5 мкм. У порівнянні з розмірами самих молекул це досить велика відстань. Мембрани мають властивості двомірних рідин. Модель будови біомембран називається **рідинно-мозаїчною** (мозаїчною — оскільки білки знаходяться у мембрані не суцільним шаром, а у вигляді окремих острівців).
 - Крім латеральної рухливості, деякі мембранні білки здатні здійснювати обертові рухи, змінюючи свою орієнтацію відносно поверхні мембрани. Так функціонують деякі мембранні переносники: зв'язавши речовину з одного боку, вони повертаються у мембрані на 180° і вивільняють речовину з іншого боку мембрани. Білки з вуглеводними компонентами не здатні до такого обертання через високу гідрофільність олігоцукрів.

Основні властивості мембрани

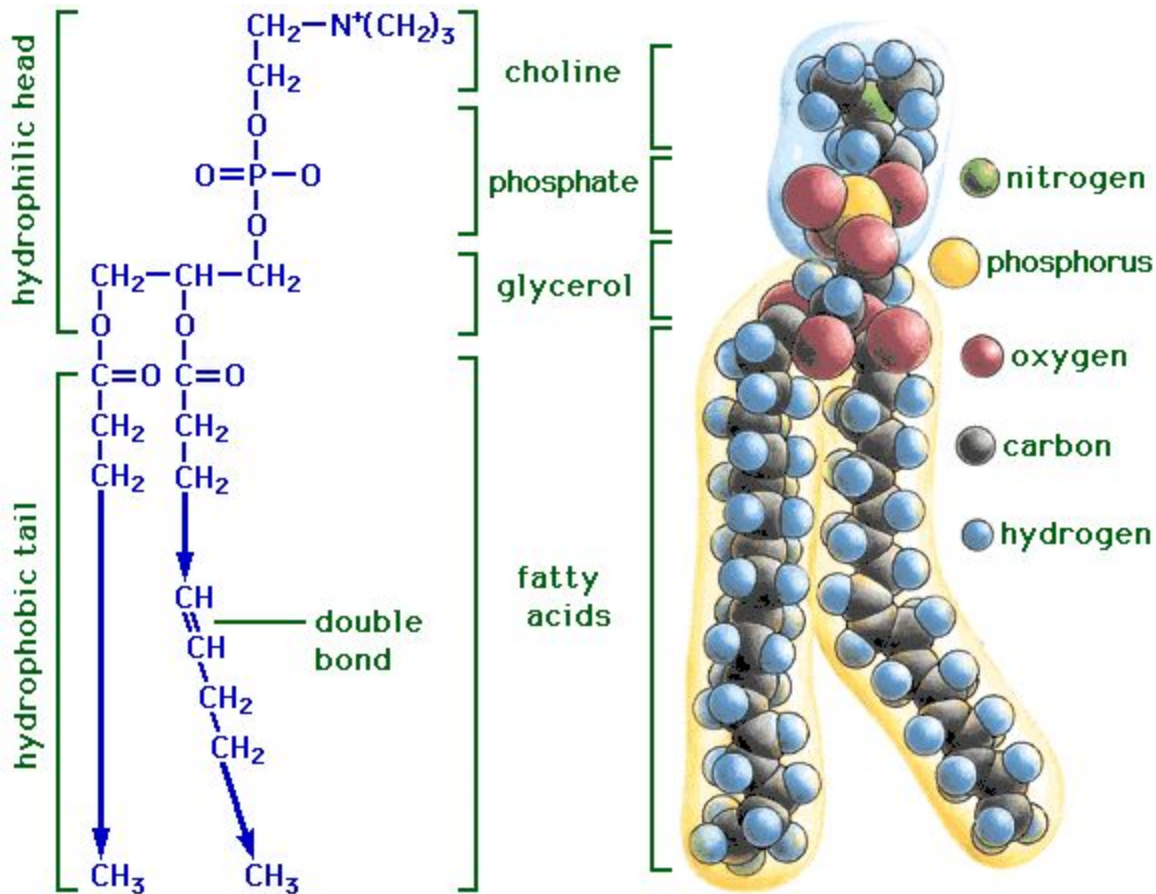
- 3) **Асиметрія.** Поверхнева і внутрішня поверхні мембрани переважно різняться за своїм складом:
 - а) вуглеводневі компоненти, як уже відзначалося, знаходяться на зовнішній поверхні плазмолемми;
 - б) багато білків є характерними компонентами лише зовнішньої, а інші – лише внутрішньої сторони мембрани;
 - в) нерідко відрізняється і ліпідний склад шарів бішару.

Полярність (асиметрія) мембрани виникає на ранніх стадіях її формування, а потім увесь час зберігається.

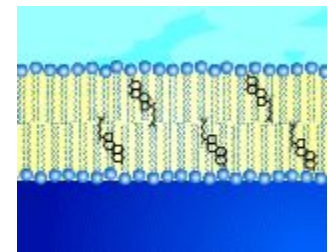
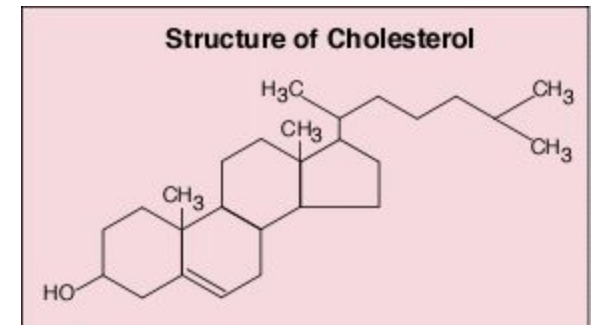
Ліпіди мембран



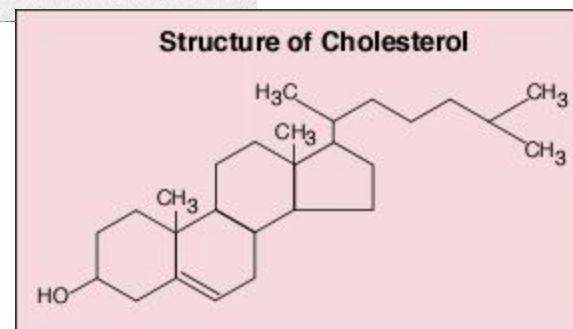
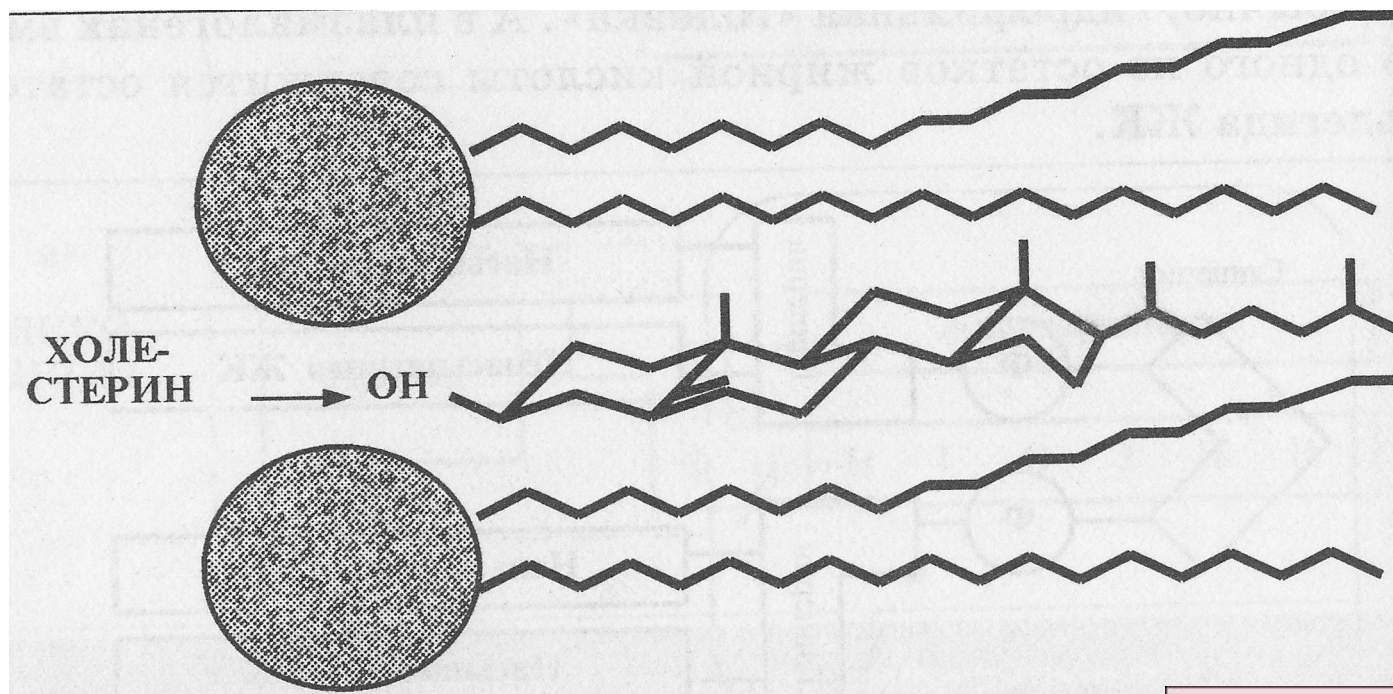
Класи мембранних ліпідів



- 1. Фосфоліпіди
- 2. Сфінголіпіди
- 3. Гліколіпіди
- 4. Стероїди, а саме холестерин

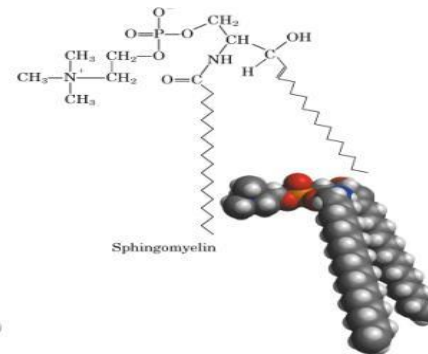
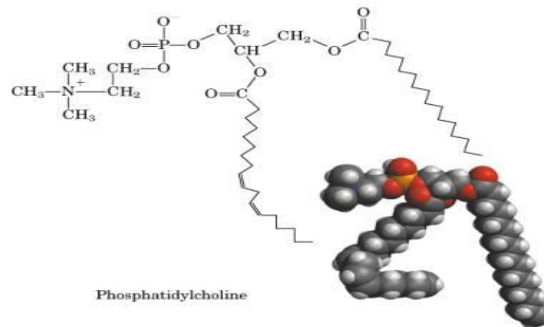


Холестерин



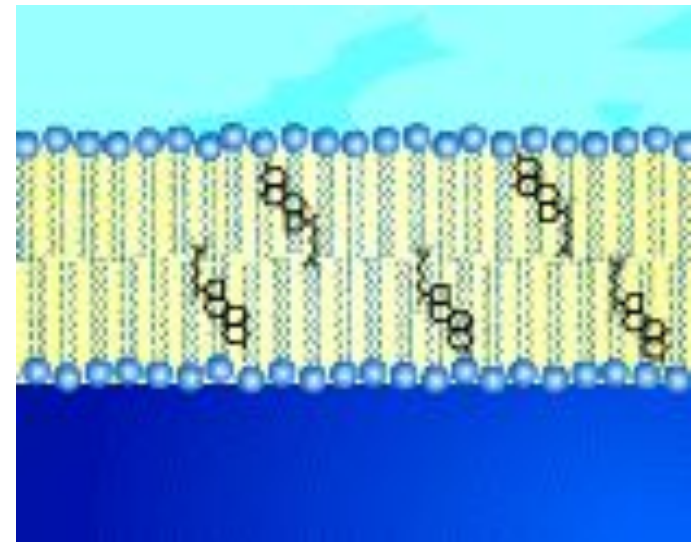
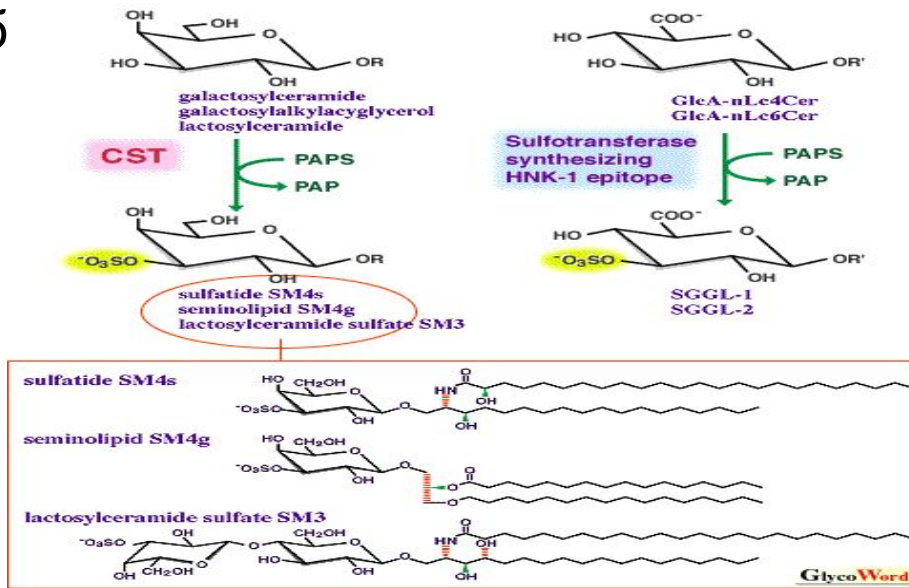
Вплив фосфоліпідів і сфінголіпідів

- По мірі збільшення вмісту у мембрані ФЛ та СЛ зростають усі показники її лабільності:
 - 1) Підвищується латеральна дифузія компонентів мембрани (через зменшення взаємодії між молекулами);
 - 2) Збільшується дифузія відповідних речовин (неполярних сполук) через мембрану (так як зростають проміжки між «хвостами» ліпідів);
 - 3) Підвищується здатність мембран до розриву.
- Все це пояснює, чому ФЛ та СЛ називають **«дестабілізуюч»**

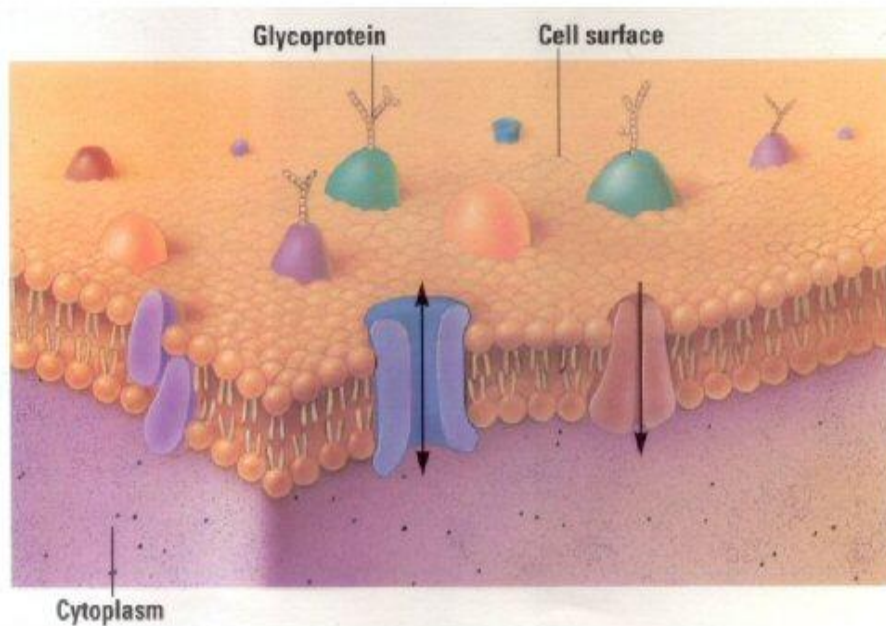
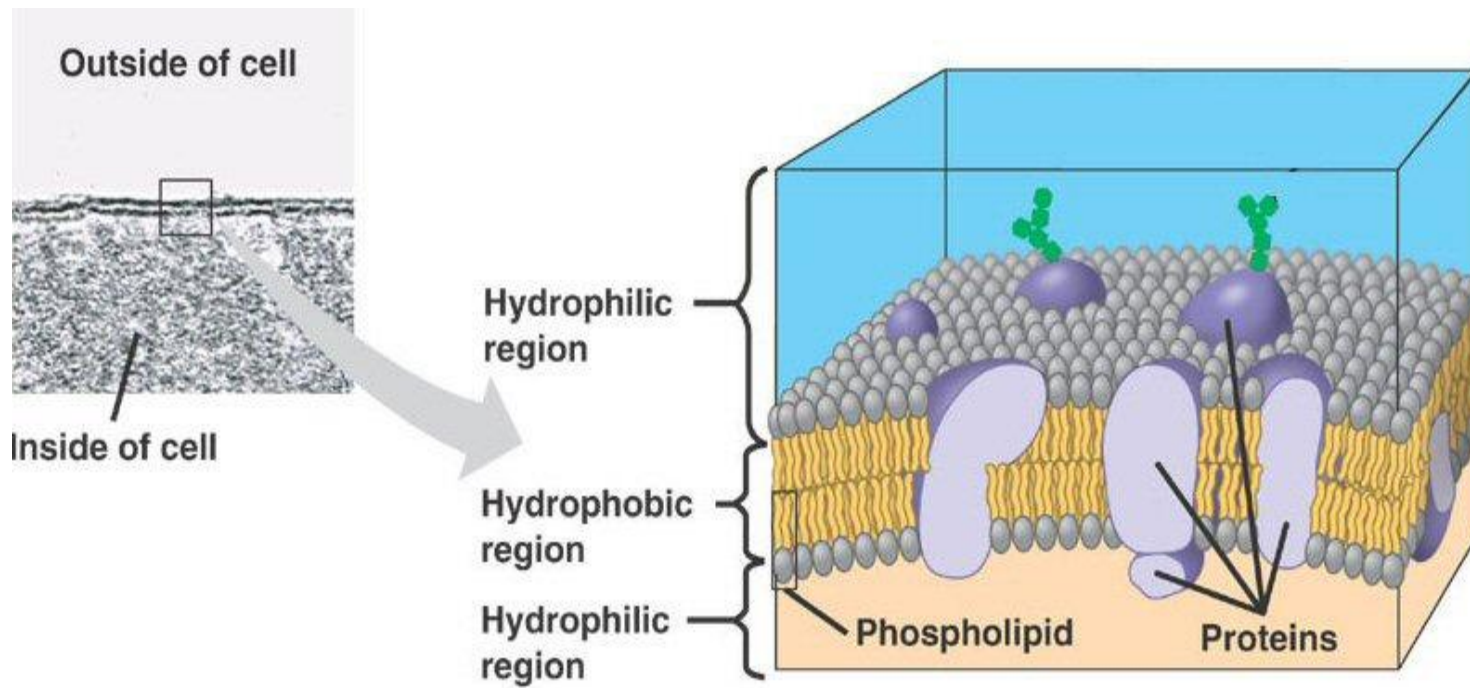


Вплив гліколіпідів і холестерину

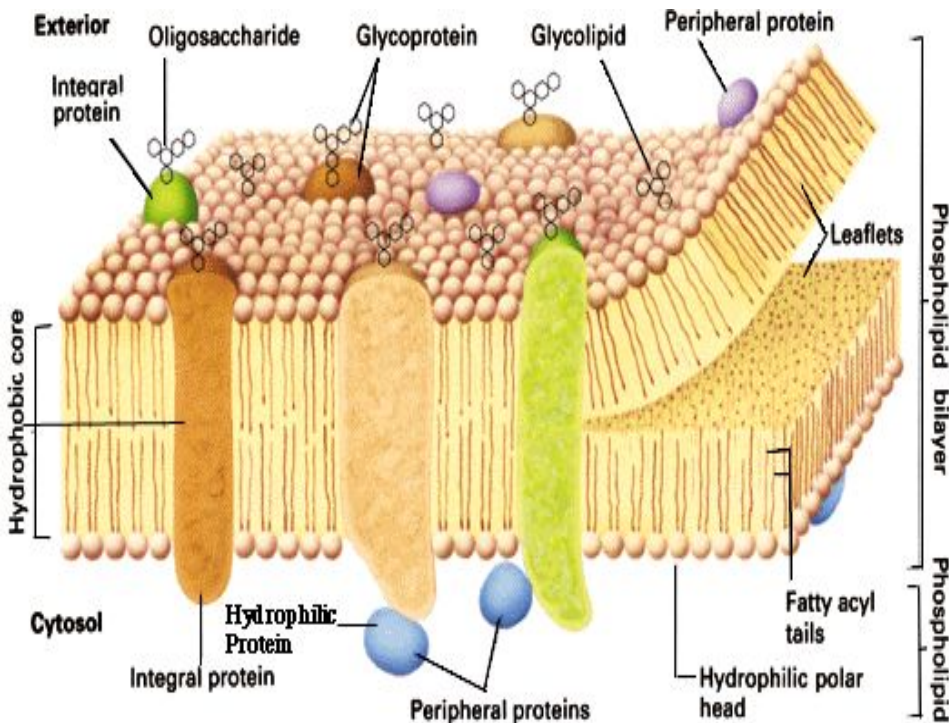
- Ці два види ліпідів здійснюють на лабільність мембрани два протилежні впливи.
- З одного боку вони вносять дезорганізацію у розміщення вуглеводневих «хвостів»: ХС — за рахунок вбудови між цими хвостами, а ГЛ — через наявність довгих вуглеводневих хвостів нервонової та церебронової кислот. Це у деякій мірі дестабілізує мембрану.
- Але, з іншого боку, ці ж фактори запобігають активному переміщенню ліпідів. А це сприяє стабілізації мембран, і цей вплив є сильнішим за дестабілізуючий. Тому ХС та ГЛ відносять до розряду **«стабілізуючих»** мембранних ліпідів.
- Цікаво, що ці ліпіди переважають у зовнішніх мембранах, а внутрішні зб



Білки мембрана



Функції мембранних білків



- 1. **Структурні білки.**
 - а) надають клітині і органелам певної форми;
 - б) надають мембрані (наприклад плазмолемі) ті або інші механічні властивості (еластичність);
 - в) забезпечують зв'язок мембрани із цитоскелетом або (у випадку ядерної мембрани) з хромосомами.
- 2. **Транспортні білки.**

Проникність мембран визначається їхнім ліпідним бішаром. Останній же є проникним лише для обмеженого кола речовин — не дуже великих гідрофобних молекул (наприклад, жирних кислот) і зовсім дрібних молекул (газів, води).

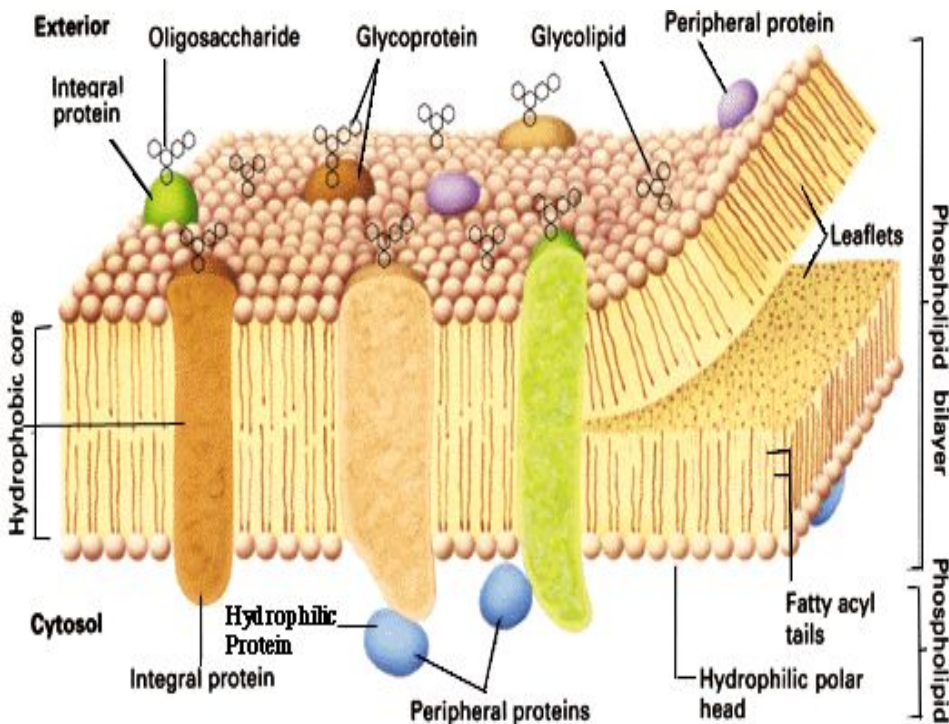
Всі інші речовини можуть переміщатися через мембрану за умови наявності відповідних білкових транспортних систем.

Функції мембранних білків

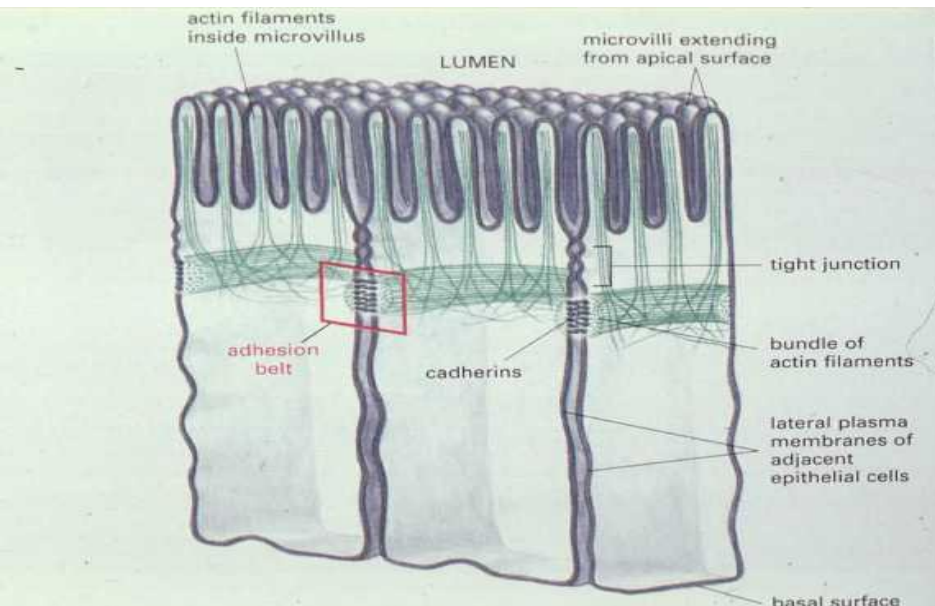
Унаслідок діяльності цих двох систем досягаються такі результати:

а) створюються стійкі транспортні потоки певних речовин через мембрани (наприклад, у проксимальних канальцях нирок — потік глюкози з первинної сечі у кров через послідовно розміщену серію мембран);

б) крім того, транспорт іонів призводить до виникнення трансмембранного потенціалу у всіх клітинах, а також до його зміни у нервових і м'язових клітинах і волокнах. Останнє ж лежить у основі таких важливих явищ, як збудливість і



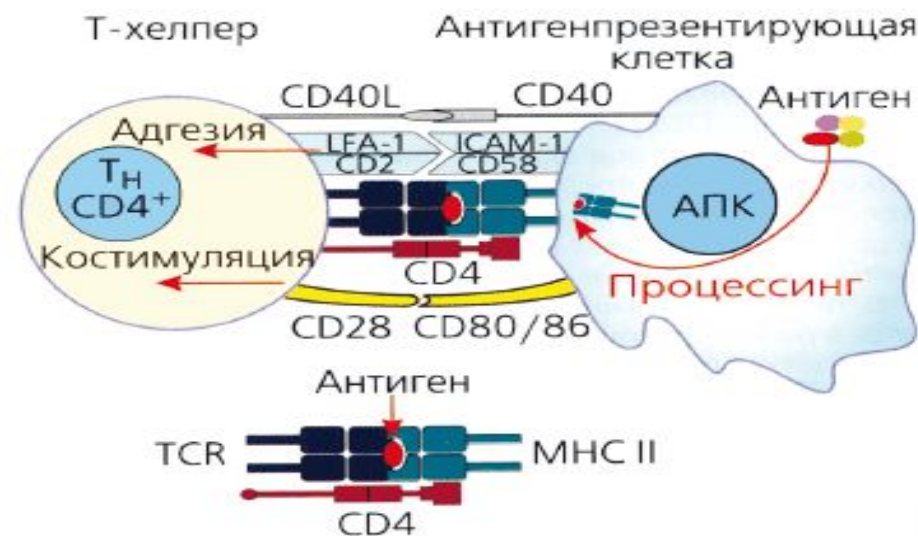
Функції мембранних білків



- 3. Білки, що забезпечують безпосередню клітинно-клітинну взаємодію.

Багаточисленні білки цієї групи можна поділити на дві групи:

- Одні білки беруть участь в утворенні спеціалізованих міжклітинних контактах (десмосоми).
- Так звані **адгезивні білки** необхідні для зв'язування клітин одна з одною або позаклітинними структурами (базальною мембраною, волокнами);



Мембранні білки поділяють на **периферичні** та **інтегральні**.

Інтегральні зв'язані з мембраною за рахунок міцних гідрофобних взаємодій. Їх можна вилучити руйнуванням ліпідного бішару **детергентами** або **органічними розчинниками**

Triton X-100: $(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-(\text{C}_6\text{H}_6)-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{10}-\text{OH}$

SDS: $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}-\text{OSO}_3^-\text{Na}^+$

Периферичні
відрізняються від
інтегральних
меншою
глибиною
занурення у
бішар, легко
вимиваються
розчинами солей
або
дистильованою
водою

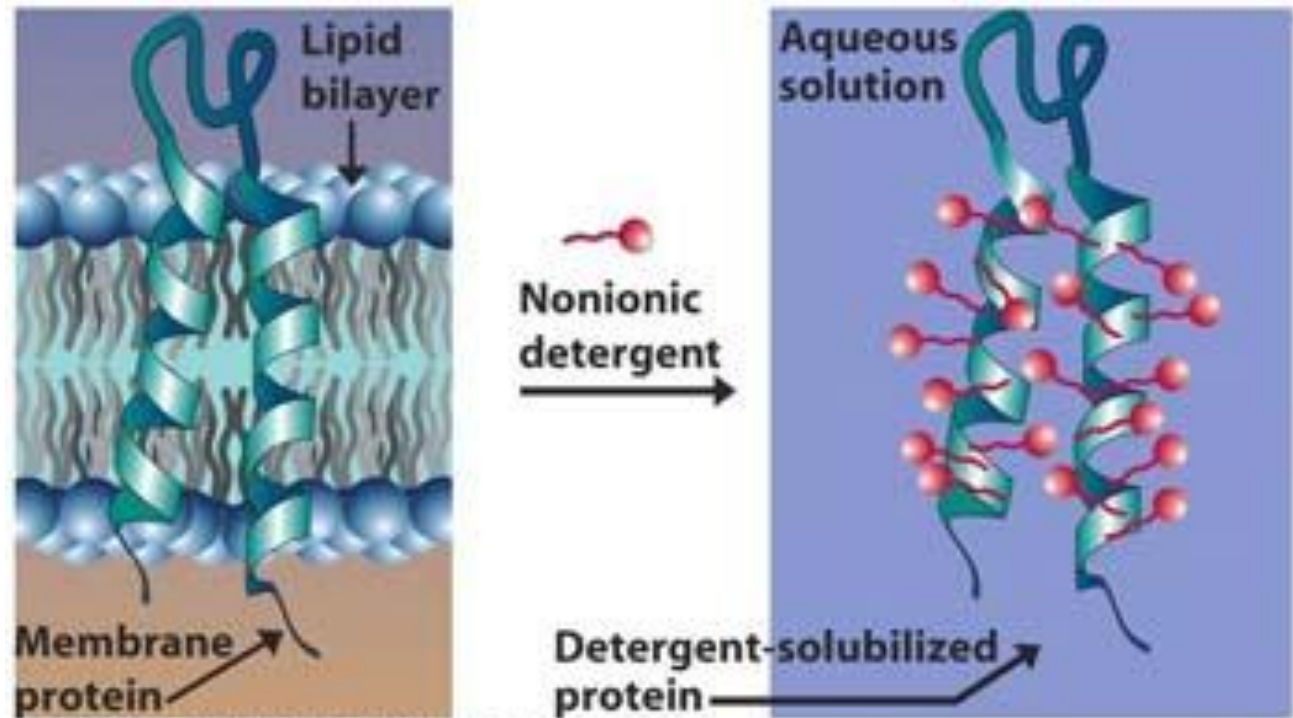
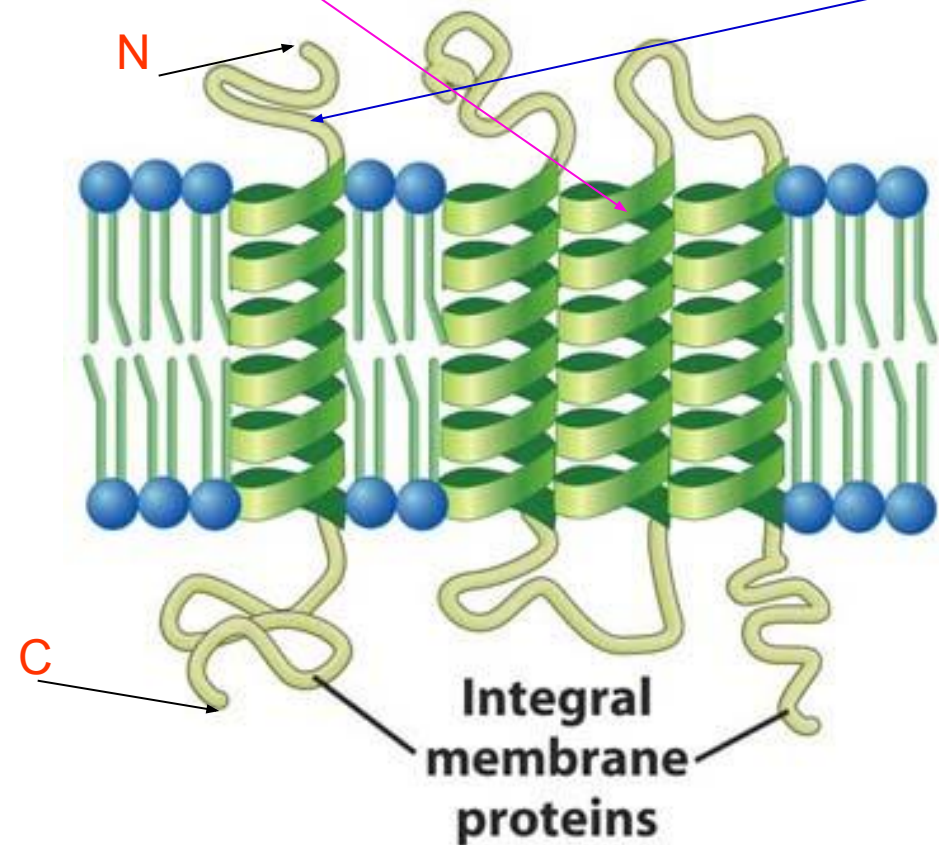


Figure 4-14 Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

Інтегральні білки поділяють на **внутрішні** трансмембранні і **зовнішні**, які мають **гідрофобний якір**. Поліпептидний ланцюг більшості трансмембранних білків пронизує бішар у конформації **α -спіралі**. Трансмембранні білки можуть бути **однопрохідними** (глікофорин), або **багатопохідними** (бактеріородопсин)



Інтегральні білки, які мають гідрофобний якір:
I тип – білок володіє С-кінцевим пептидним якорем

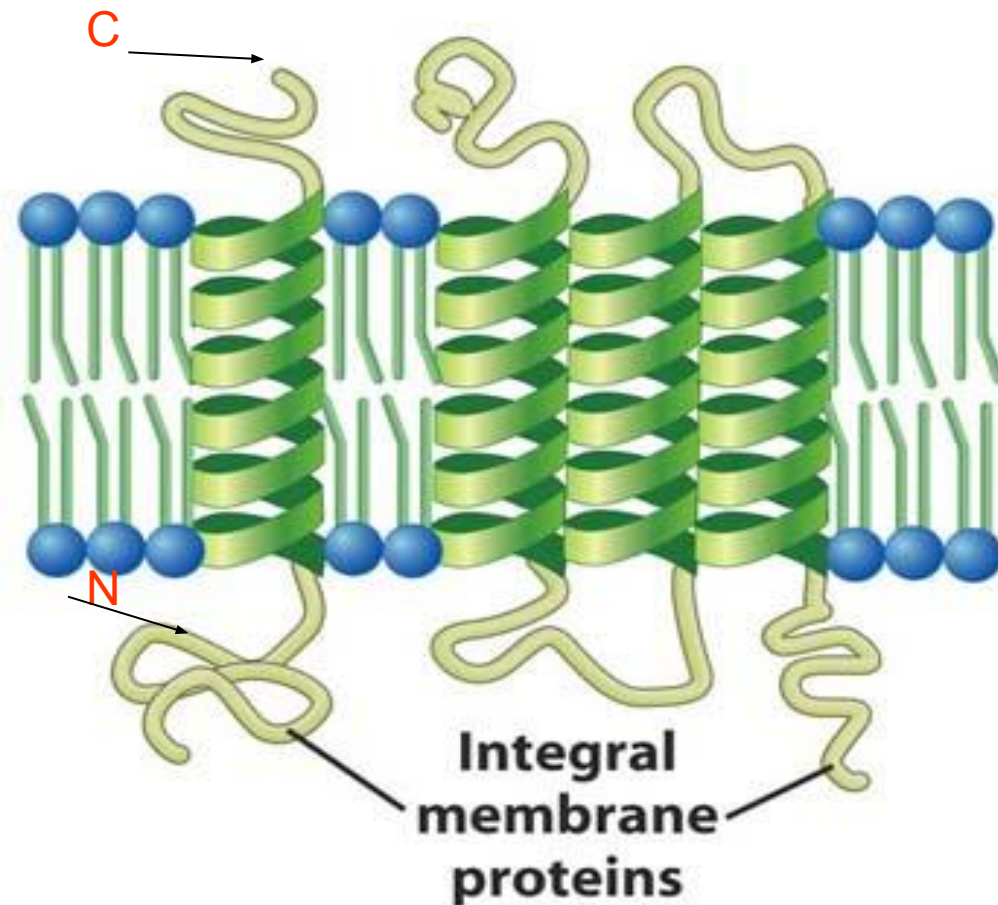


Figure 4-12a Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

II тип – білок містить N-кінцевий якір

У якості якоря може бути **фосфатиділінозитольний гліколіпід**

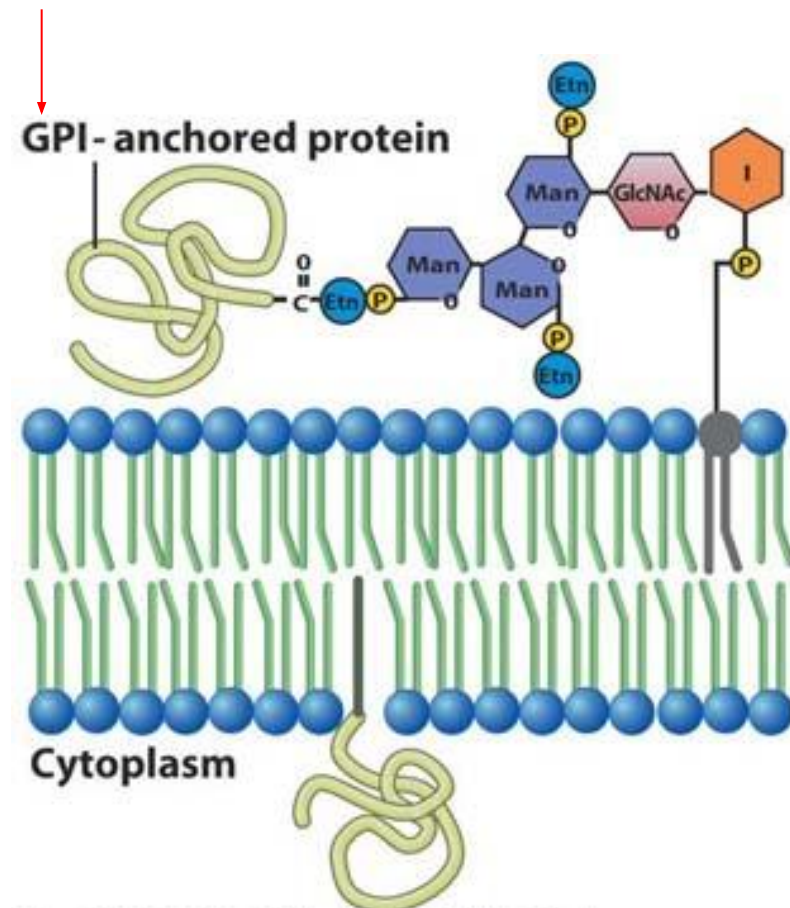


Figure 4-12c Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

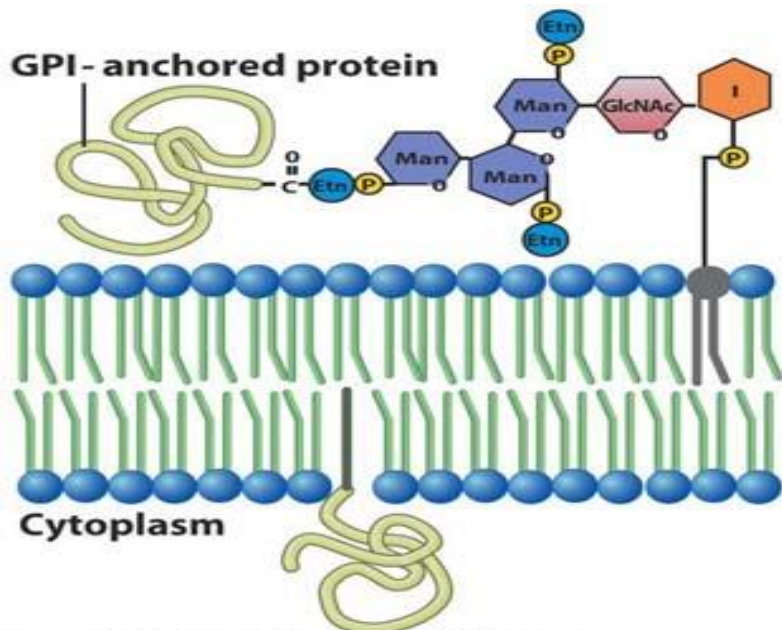


Figure 4-12c Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

Деякі периферичні білки зв'язуються з зарядженими групами ліпідів безпосередньо за рахунок **електростатичних взаємодій** (спектрин)

Периферичні білки здатні **зворотньо** зв'язуватися з мембраною і здійснювати човникові переміщення

Білки можуть також **адсорбуватися** на мембранних гліколіпідах і глікопротеїнах шляхом **вуглевод-білкової** або **білок-білкової** взаємодії (АТФ-синтаза)

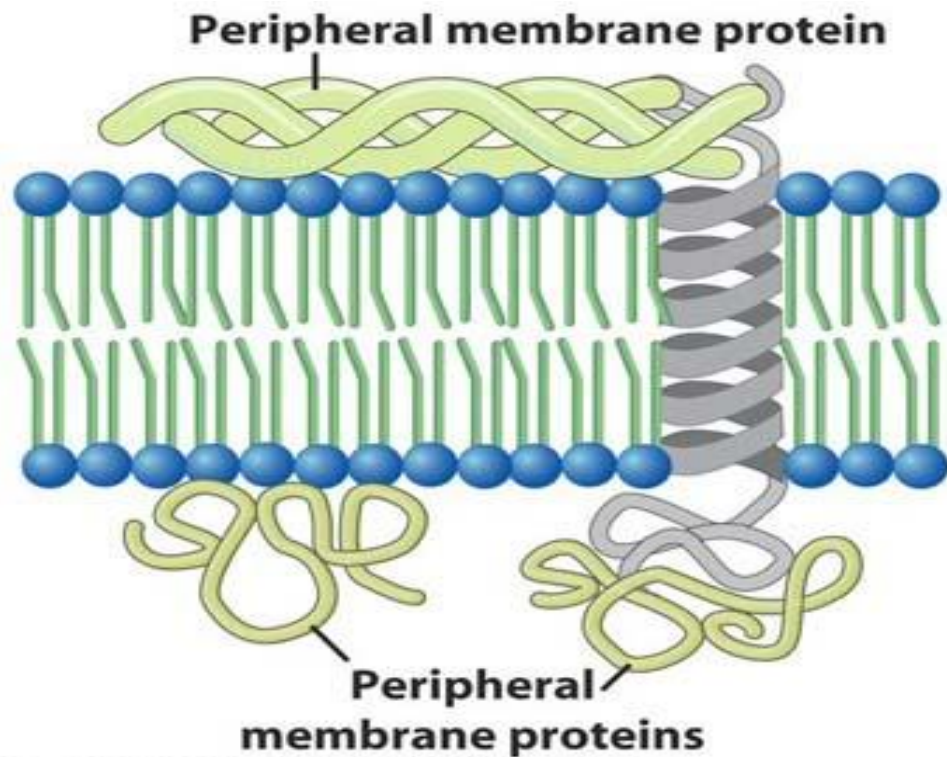


Figure 4-12b Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

Ділянки, що перетинають
бішар цілком побудовані
з **гідрофобних**
амінокислот і часто
мають **α -спіральну**
конфігурацію

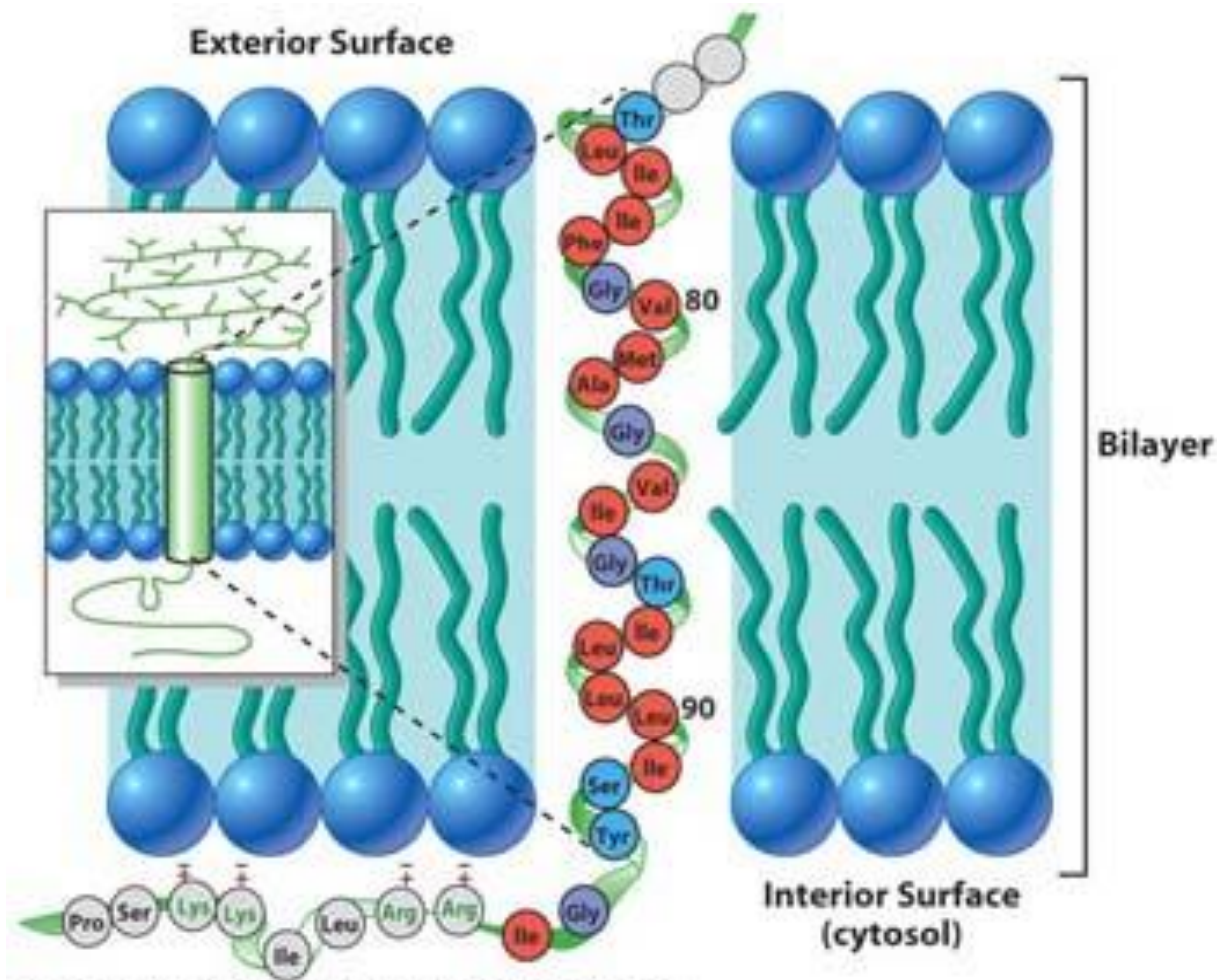


Figure 4-17 Cell and Molecular Biology, 4/e (© 2005 John Wiley & Sons)

4. Транспорт речовин через мембрани.
Проникність біологічних мембран: пори,
канали, помпи.

5 різновидів мембранного транспорту:

А - Пасивний транспорт

- 1. Пасивна дифузія**
- 2. Полегшена дифузія**

В - Активний транспорт

- 3. Первинно - активний транспорт**
- 4. Вторинно-активний транспорт**
- 5. Механізм, спряжений із зміною структурної цілісності мембран**

Транспорт речовин через мембрану

а - види переносу;

б - пасивний і активний

транспорт:

1 - пасивна дифузія;

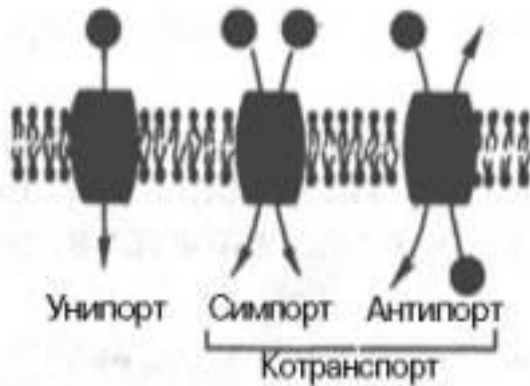
2 - дифузія за допомогою каналу;

3 - дифузія за допомогою переносника;

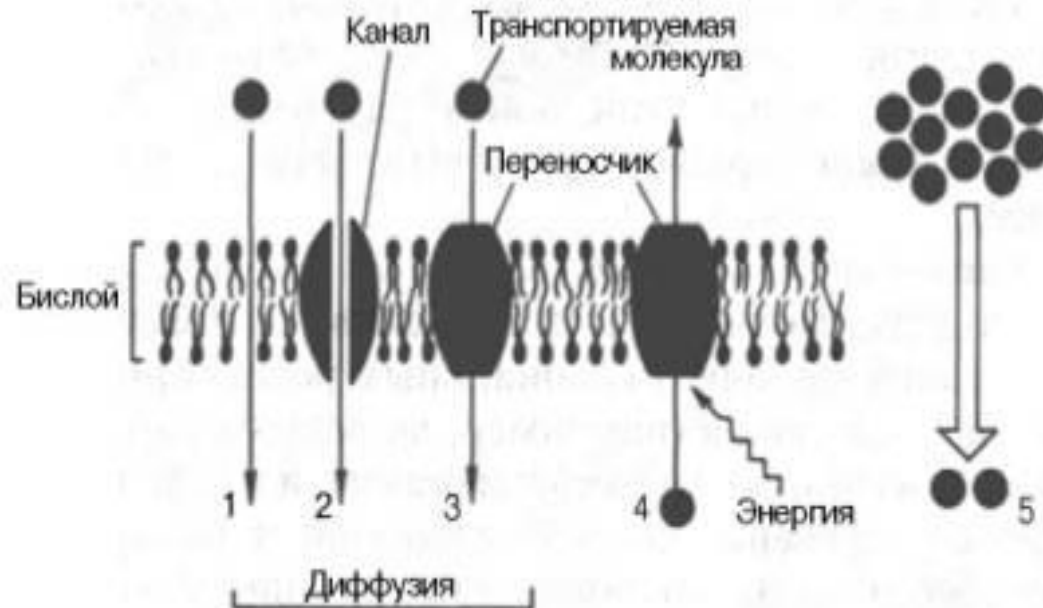
4 - активний транспорт;

5 - вторинно-активний

транспорт (Активний перенос може поєднуватися з іншим транспортним процесом, який відбувається спонтанно (так званий *вторинний активний транспорт*). Так, до прикладу, відбувається у епітеліальних клітинах кишечника і нирок, де глюкоза переноситься проти концентраційного градієнту за рахунок того, що одночасно з глюкозою з просвіту кишечника й первинної сечі переносяться іони Na^+ . Тут рушійною силою для транспорту глюкози є градієнт концентрації іонів Na^+



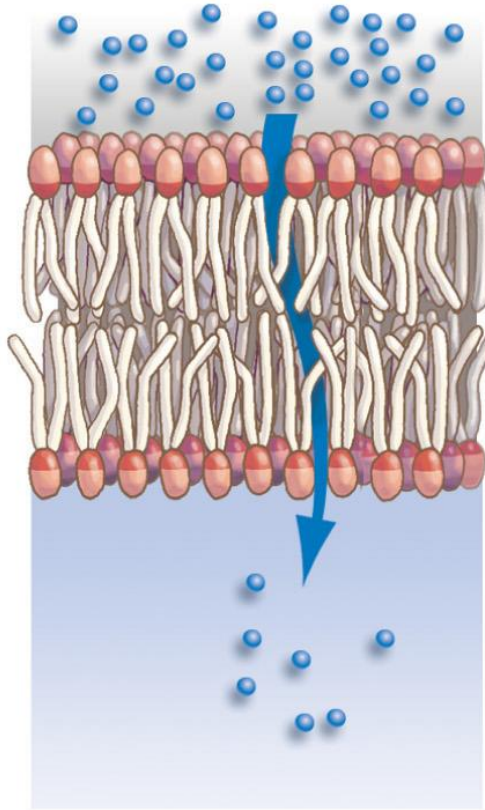
а



б

Пасивний транспорт

simple diffusion



Materials move down their concentration gradient through the phospholipid bilayer.

Проста дифузія: Речовина безпосередньо дифундує за градієнтом концентрації
Низькомолекулярні гідрофобні органічні сполуки (жирні кислоти, сечовина), а також невеликі **нейтральні молекули** (H_2O , CO_2 , O_2)

Густина потоку $j = P \times (C_1 - C_2)$
 C_1 , C_2 – концентрація речовини у мембрані біля однієї і другої її поверхні,

P - коефіцієнт проникності

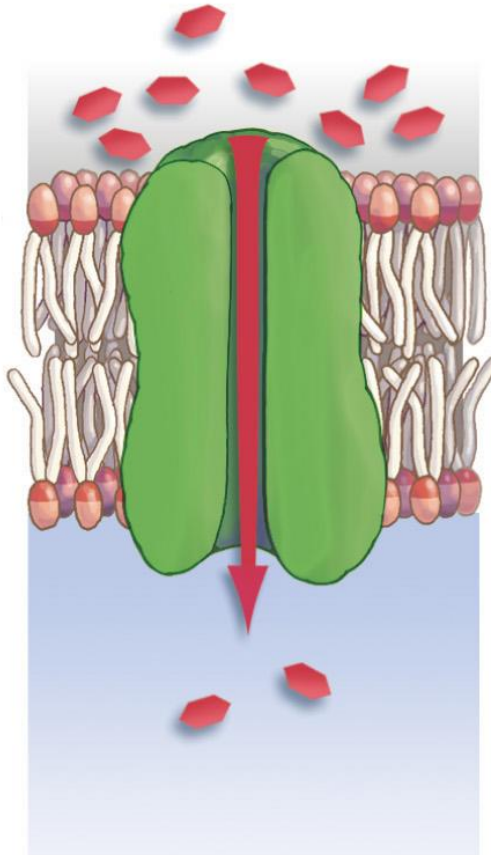
$P = D/I$, де

D – коефіцієнт дифузії

I – товщина мембрани

Полегшена дифузія-один із видів пасивного транспорту

facilitated diffusion



The passage of materials is aided both by a concentration gradient and by a transport protein.

Характерний для усіх **канальних білків**. Відбувається за градієнтом концентрації за допомогою транспортного білка – **транслокази**.

Транслокази – інтегральні білки, володіють специфічністю до речовин, які переносять **Гідрофільні** сполуки проходять без контакту з гідрофобною середньою частиною бішару

Приклади: K^+ -канали у плазмолемі збуджених клітин

Ca^{2+} -канали в мембранах саркоплазматичного ретикулу

Полегшена дифузія.

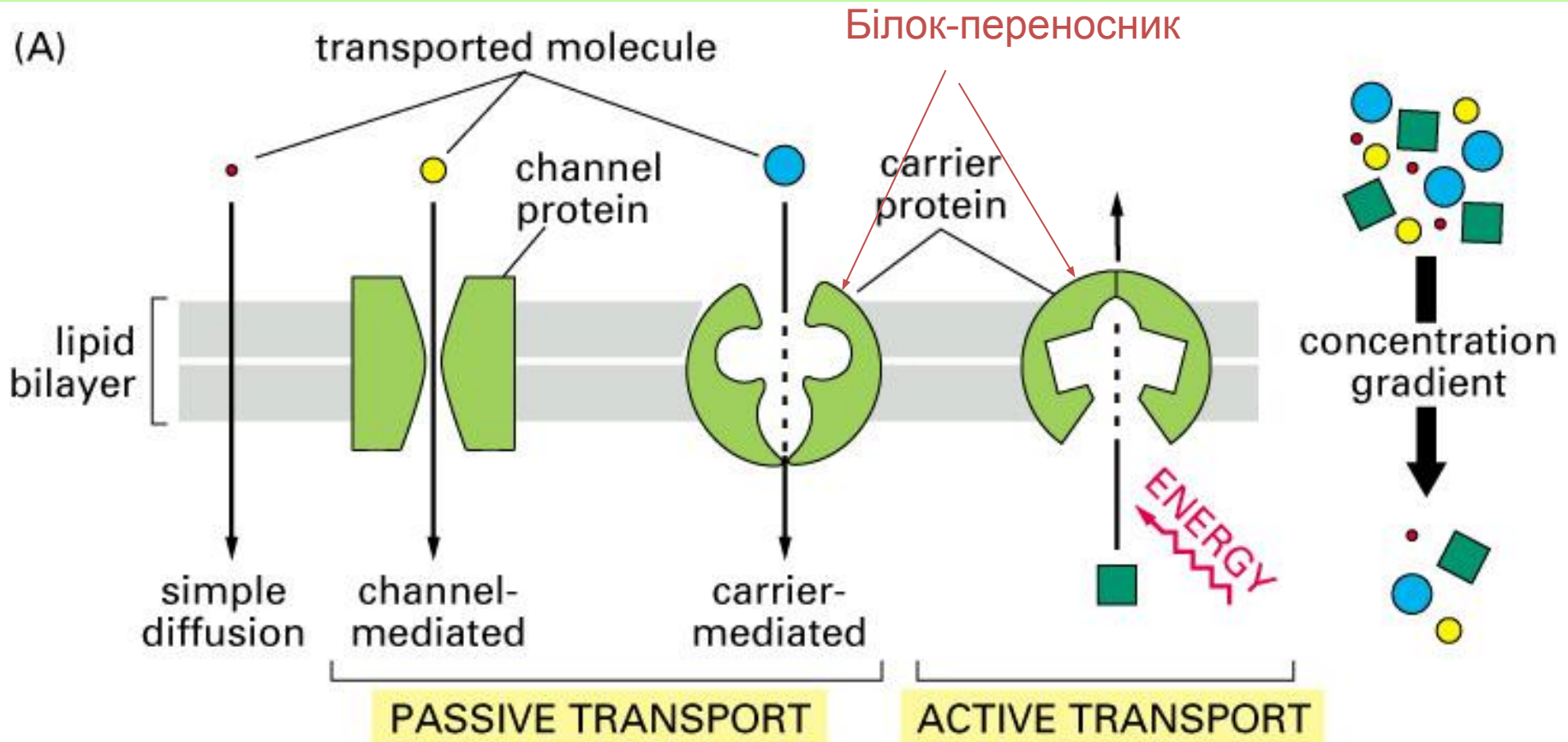
Транслокази

- Транслокази складаються з кількох субодиниць. З урахуванням цього можливі кілька варіантів:
 - Між субодиницями є завжди відкритий *гідрофільний* канал, доступний лише для речовин певного розміру і заряду.
 - Канал відкривається лише при зв'язуванні з однією з його сторін специфічного ліганду.
 - Каналу як такого не утворюється зовсім, а перенос здійснюється шляхом повороту транслоказі (разом із зв'язаним лігандом) в площині мембрани на 180° . У результаті ліганд, що зв'язався на одному боці мембрани, вивільняється з іншого боку.

Порівняння пасивного й активного транспорту

Пасивний - за електрохімічним градієнтом, відбувається спонтанно або шляхом звичайної дифузії, або шляхом полегшеної дифузії через канали за участю пасивних переносників.

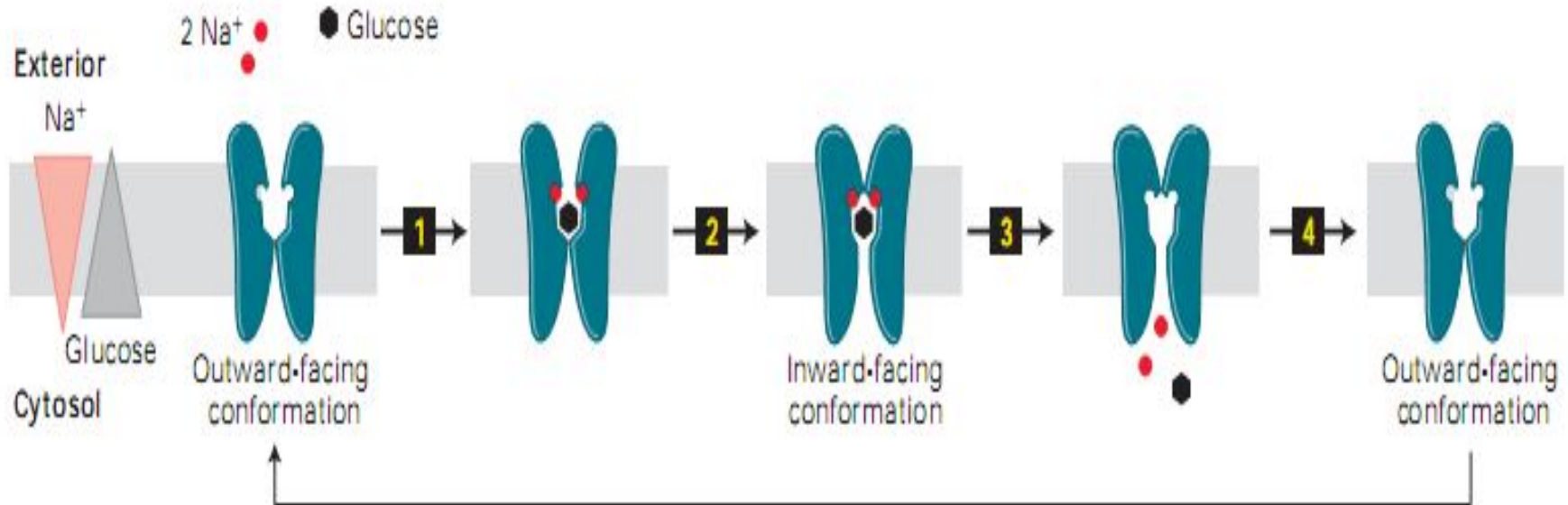
Активний - вимагає метаболічної енергії, опосередковується переносником, який цю енергію використовує, переміщуючи речовину проти її електрохімічного градієнту



Активний транспорт

- При активному транспорті речовина проходить через мембрану за допомогою спеціального транспортного білка (транслокази), але *проти градієнта* своєї концентрації, тобто з компартмента з меншою концентрацією в компартмент з більшою концентрацією.
- Таке переміщення потребує *затрат енергії*. Транспортна система повинна здійснювати і енергетичне забезпечення переносу. Дана проблема вирішується різними способами.

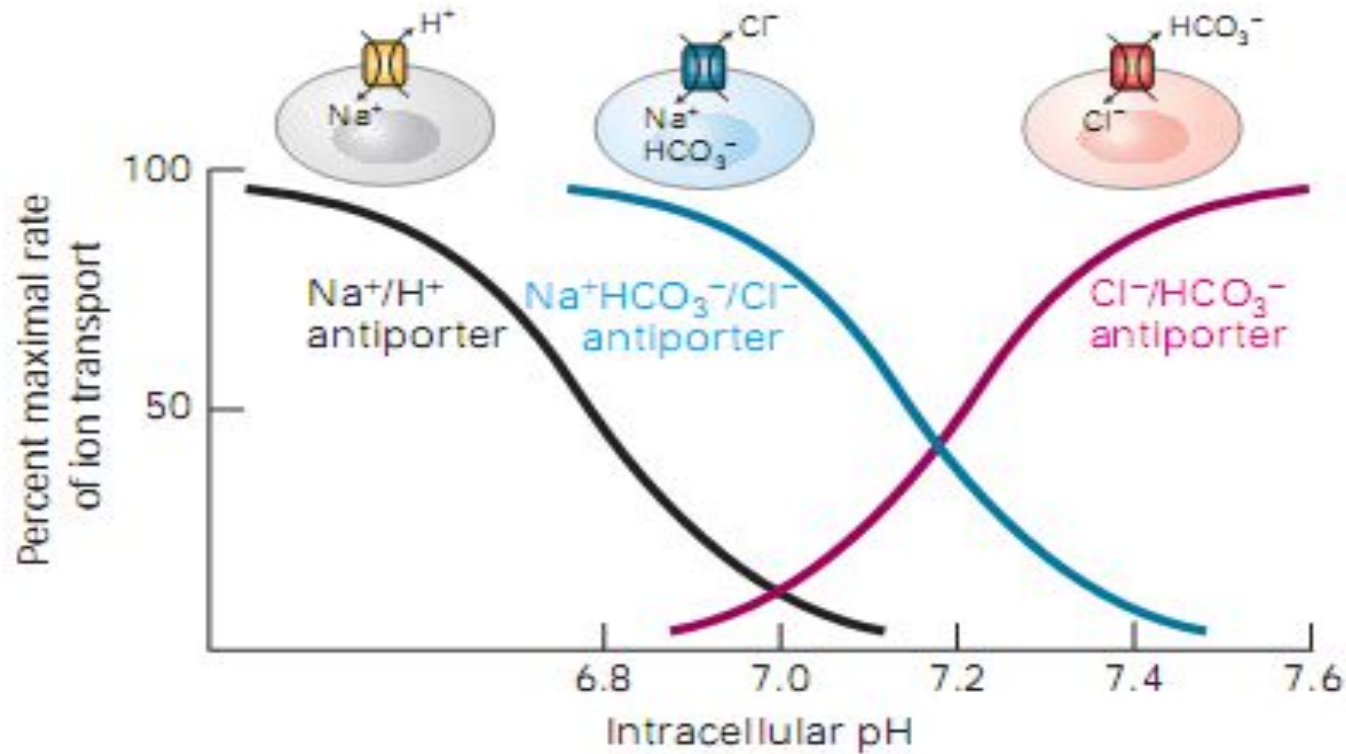
Симпорт



- У випадку симпорту обидві речовини переносяться транслоказою в *одну сторону*. Тобто молекули Y, дифундуючи за градієнтом своєї концентрації, ніби тягнуть разом із собою сполуку X.
- Таким, зокрема, є механізм реабсорбції *глюкози* в канальцях нирок: вона проникає в епітеліальну клітину шляхом *симпорту* з іонами *Na⁺*.
- Якщо обидві речовини, що беруть участь у симпорті, є іонами,

Антипорт

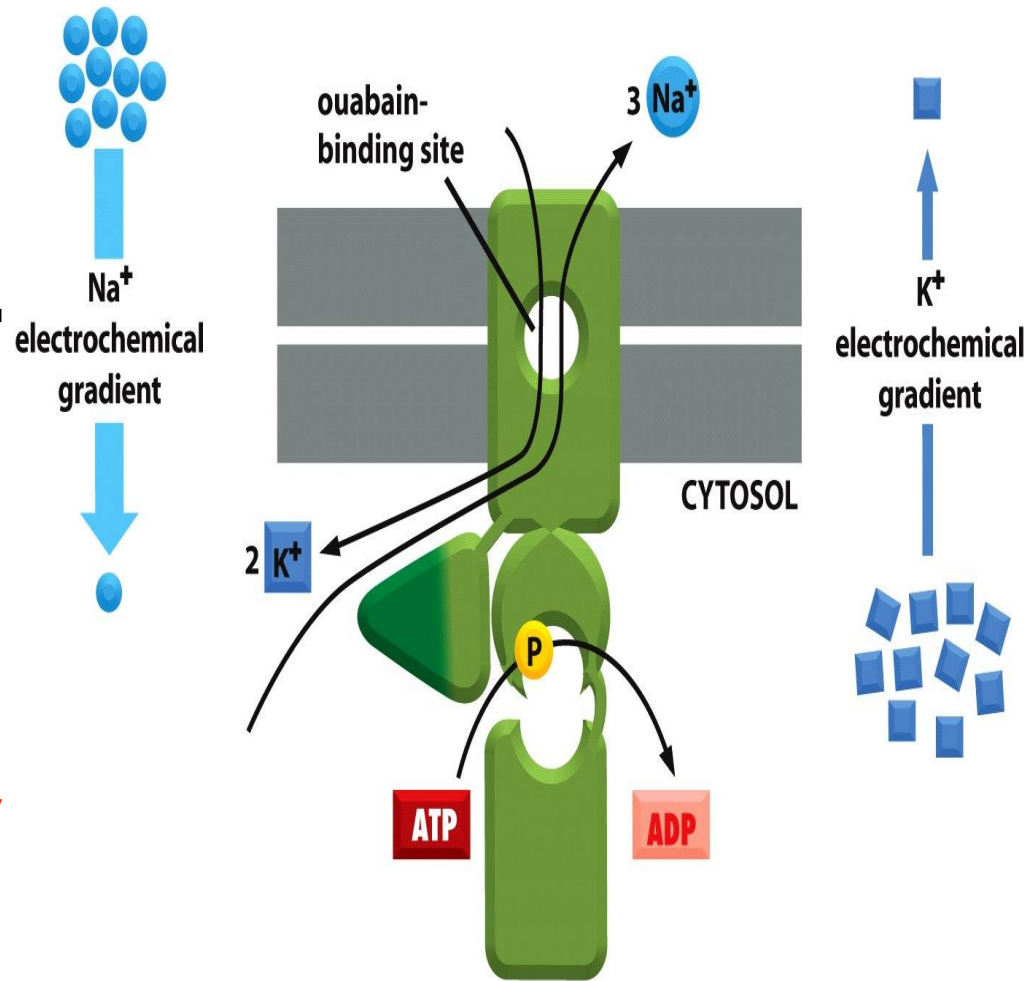
- Речовини переносяться транслоказою у взаємно протилежних напрямках. Тобто молекули Y ніби обмінюються на молекули X.
- Але у еукаріотів антипорт дуже рідко використовується як засіб енергозабезпечення трансмембранного переносу.
- Більш поширена система, де шляхом антипорту відразу *обидві речовини* переміщуються *проти* градієнту своєї концентрації. Джерелом енергії служить АТФ (Na^+, K^+ -насос, або Na^+, K^+ -залежна АТФаза, яка є в плазмолемі майже усіх клітин).
- При антипорті іонів останні мають одноіменні заряди.



The activity of membrane transport proteins that regulate the cytosolic pH of mammalian cells changes with pH. Direction of ion transport is indicated above the curve for each protein.

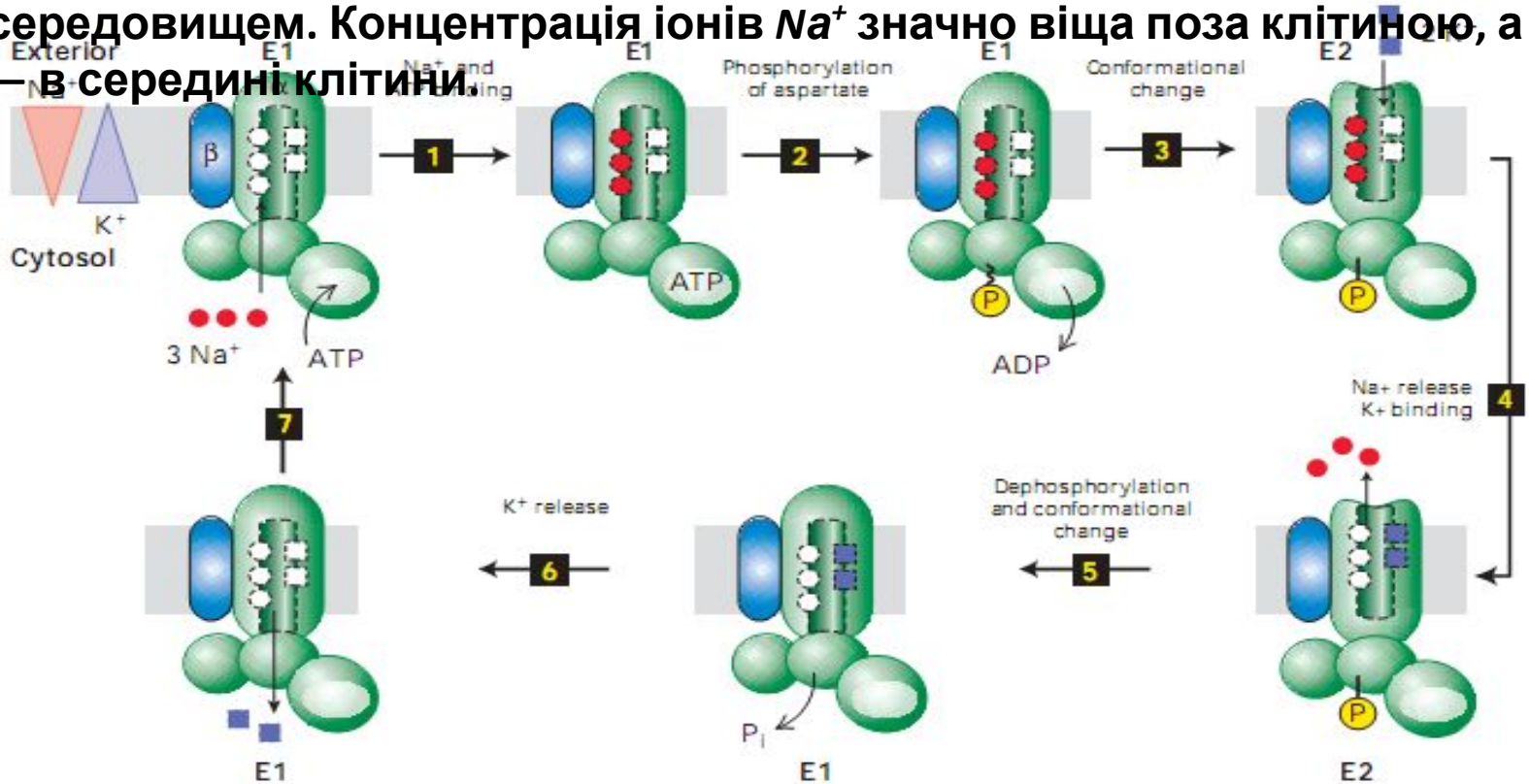
Na⁺-K⁺-насос

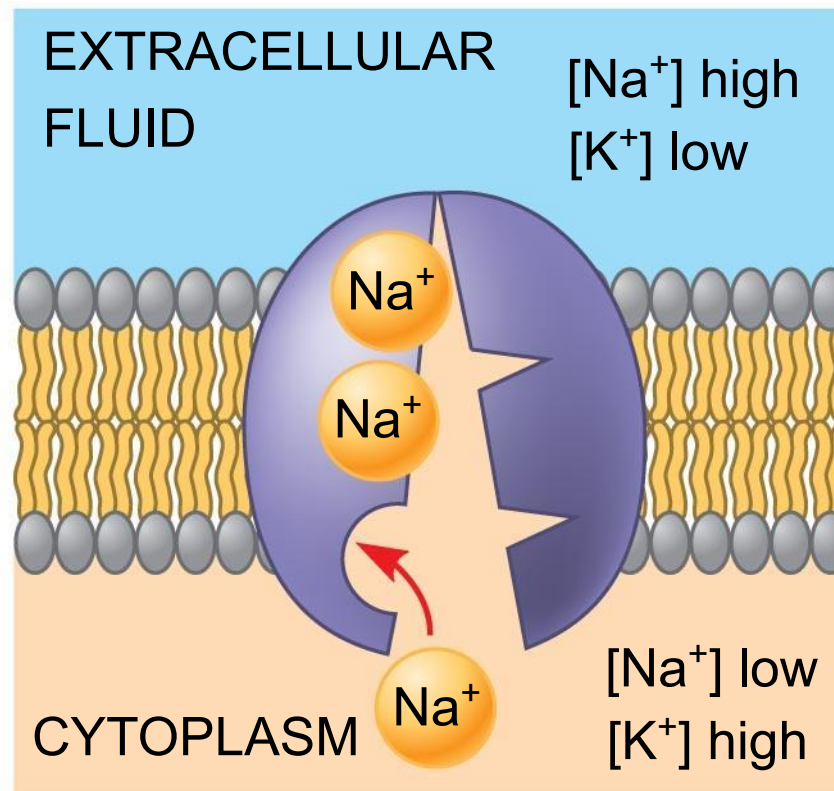
Переносник на кожну молекулу **АТФ**, що зазнає гідролізу всередині клітини, активно перекачує **3 іони Na⁺** і **2 іони K⁺**. Транспортний цикл залежить від **автофосфорилювання** білка. Різні стани насоса відрізняються наявністю або відсутністю фосфатної групи. Іонні насоси, які фосфорилюються у такий спосіб, називають транспортними **АТРазами Р-типу**.



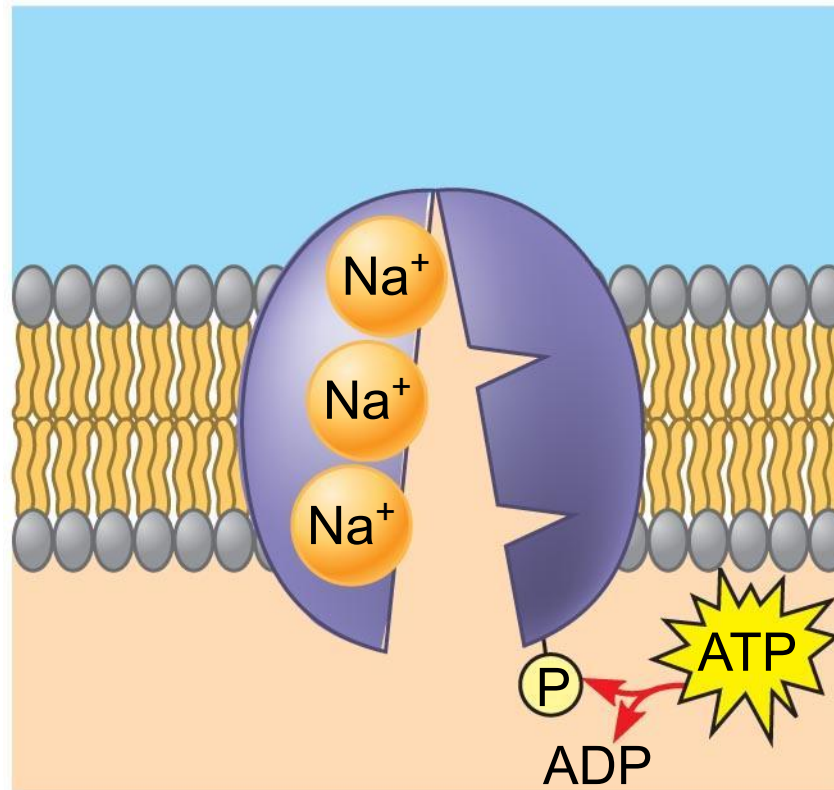
Na^+, K^+ -залежна АТФаза

- Цей білок має дві α - і дві β -субодиниці. Маленький глікозильований β -поліпептид допомагає новосинтезованій α -субодиниці прийняти правильну конформацію в ендоплазматичному ретикулумі, але вірогідно, що ця субодиниця не задіяна у іонному транспорті.
- Використовуючи енергію АТФ, помпа переносить іони Na^+ і K^+ проти градієнту їхньої концентрації: іони Na^+ — з клітини, а іони K^+ — в клітну. Саме завдяки діяльності цього насосу створюється різко асиметричний розподіл даних іонів між позаклітинним та внутрішньоклітинним середовищем. Концентрація іонів Na^+ значно вища поза клітиною, а іонів K^+ — в середині клітини.



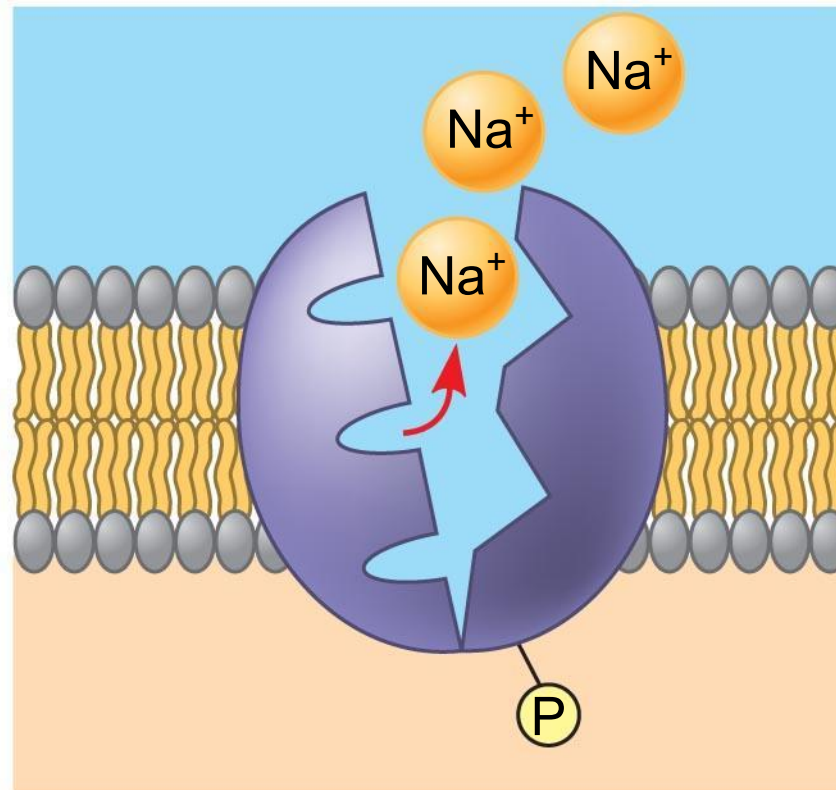


- 1 Цитоплазматичний Na⁺ зв'язується з насосом

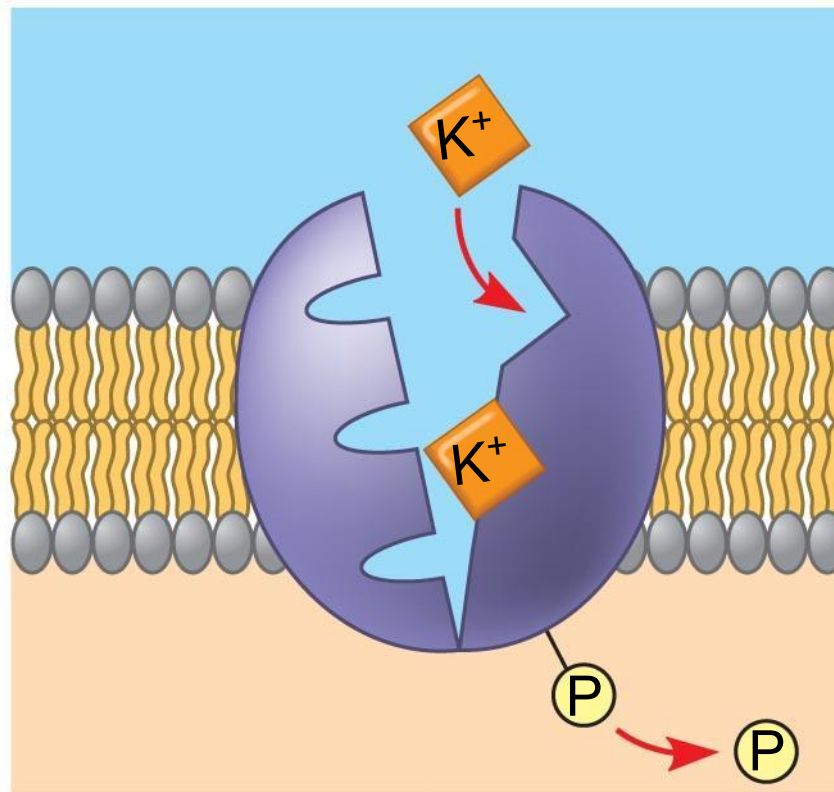


2

Зв'язування Na^+ стимулює
фосфорилування за допомогою АТФ
з цитоплазматичного боку насосу

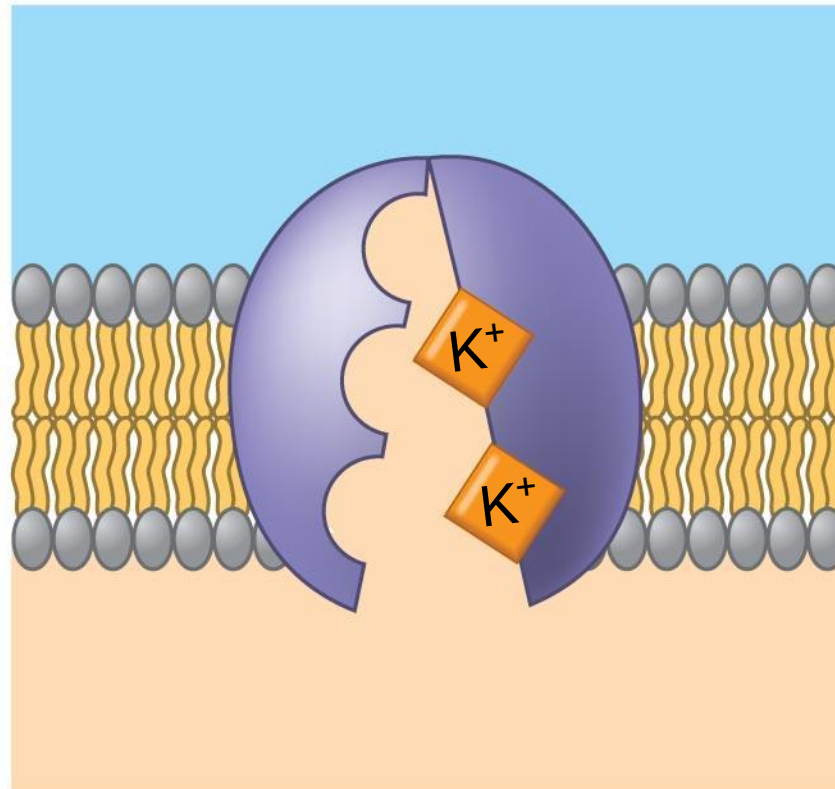


- 3 Конформаційні зміни білка, що забезпечує переміщення Na^+ крізь мембрану і вивільнення назовні



4

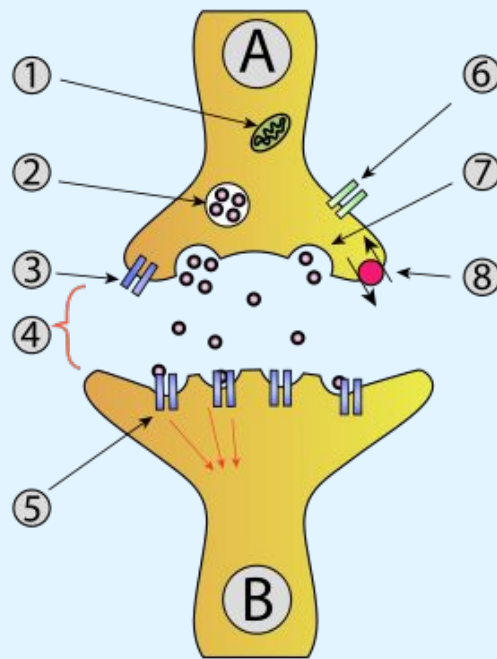
Зв'язування K^+ на зовнішній поверхні



- 5 Дефосфорилювання білка і його повернення до початкової конформації

Екзоцитоз

- у **еукаріот** клітинний процес, при якому внутрішньоклітинні везикули (мембранні пухирці) зливаються з зовнішньої клітинної мембраною. При екзоцитозі вміст секреторних везикул (екзоцитозних бульбашок) виділяється назовні, а їх мембрана зливається з клітинною мембраною. Практично всі макромолекулярні з'єднання (білки, пептидні гормони) виділяються з клітини цим способом.
- У **прокаріотів** везикулярний механізм екзоцитозу не зустрічається, у них екзоцитоз називають вбудовування білків у клітинну мембрану (або в зовнішню мембрану у грамнегативних бактерій), виділення білків з клітини в зовнішнє середовище або в периплазму .



Екзоцитоз в синапсі: передача сигналу від нейрона А до нейрона В.

1. Мітохондрія
2. Синаптична везикула з нейромедіатором
3. Ауторецептор
4. Синапс з виділеним нейромедіатором.
5. Постсинаптичний рецептор, що активується нейромедіатором
6. Кальцієвий канал
7. Екзоцитоз везикули
8. Рециркуляція нейромедіатора.

Екзоцитоз може виконувати три основні завдання:

- доставка на клітинну мембрану ліпідів, необхідного для росту клітини;
- вивільнення різних сполук з клітини, наприклад, токсичних продуктів метаболізму або сигнальних молекул (гормонів або нейромедіаторів);
- доставка на клітинну мембрану функціональних мембранних білків, таких як рецептори або білки-транспортери. При цьому частина білка, яка була спрямована всередину секреторною везикулою, виявляється виступаючою на зовнішній поверхні клітини.

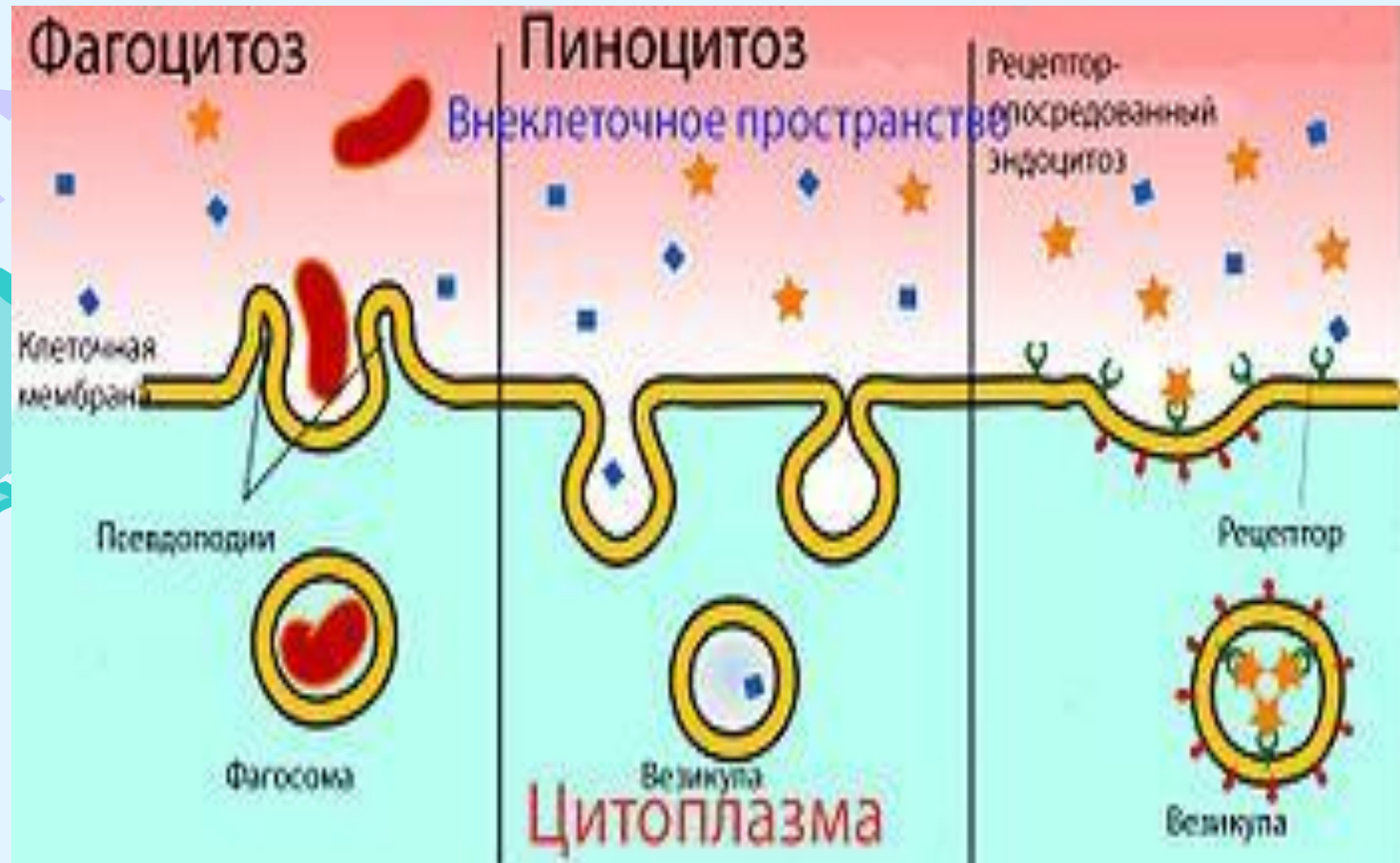
Розрізняють наступні етапи екзоцитозу:

- **Транспортування** везикули від місця синтезу і формування (апарат Гольджі) до місця доставки здійснюється моторними білками уздовж актинових філаментів або мікротрубочок цитоскелету.
- **Утримання** доставленої везикули забезпечується відносно слабкими зв'язками на відстані більше 25 нм і може служити, наприклад, для концентрування синаптичних везикул близько пресинаптичної мембрани.
- **Стиковка** везикули з мембраною є безпосереднім продовженням першої фази доставки, коли мембрана везикули входить в близький контакт з мембраною клітини (5-10 нм).
- **Стимуляція** (праймінг) везикули фактично відповідає освіті особливого SNARE комплексу між двома мембранами і здійснюється тільки у випадку нейронального екзоцитозу.
- **Злиття** мембрани везикули з мембраною клітини призводить до вивільнення, або викиду, змісту секретуючої везикули в позаклітинний простір і об'єднанню ліпідного бішару везикули з зовнішньої мембраною.

ЕНДОЦИТОЗ

- **Ендоцитоз** (англ. *endocytosis*) - процес захоплення (інтерналізації) зовнішнього матеріалу клітиною, здійснюваний шляхом утворення мембранних везикул. В результаті ендоцитозу клітина отримує для своєї життєдіяльності гідрофільний матеріал, який інакше не проникає через ліпідний бішар клітинної мембрани. Розрізняють фагоцитоз, піноцитоз і рецептор-опосередований ендоцитоз. Термін був запропонований в 1963 бельгійським цитологом Крістіаном де Дювом для опису безліч процесів інтерналізації, що розвинулися в клітині ссавців

Типы



Різні типи ендоцитоза: фагоцитоз , піноцитоз і рецепто р-опосередкований ендоцитоз

- **Фагоцитоз (поїдання клітиною)** - процес поглинання клітиною твердих об'єктів, таких як клітини еукаріот, бактерії, віруси, залишки мертвих клітин. Навколо поглинуваного об'єкта утворюється велика внутрішньоклітинна вакуоль (фагосома). Розмір фагосом - від 250 нм і більше.
- **Піноцитоз (пиття клітиною)** - процес поглинання клітиною рідкої фази з навколишнього середовища, що містить розчинні речовини, включаючи великі молекули (білки, полісахариди та ін.) При піноцитозі від мембрани відшноровуються всередину клітини невеликі пухирці - ендосоми. Вони менше фагосом (їх розмір до 150 нм) і зазвичай не містять великих часток.
- **Рецептор-опосередкований ендоцитоз** - активний специфічний процес, при якому клітинна мембрана потрапляє всередину клітини, формуючи облямовані ямки. Внутрішньоклітинна сторона облямованої ямки містить набір адаптивних білків (адаптин, клатрина, який зумовлює необхідну кривизну витріщення, та ін білки).

Дякую за увагу!