

Membrány

Robert Vácha

Kampus A4 2.13

CEITEC & Biofyzika & NCBR

Masarykova univerzita

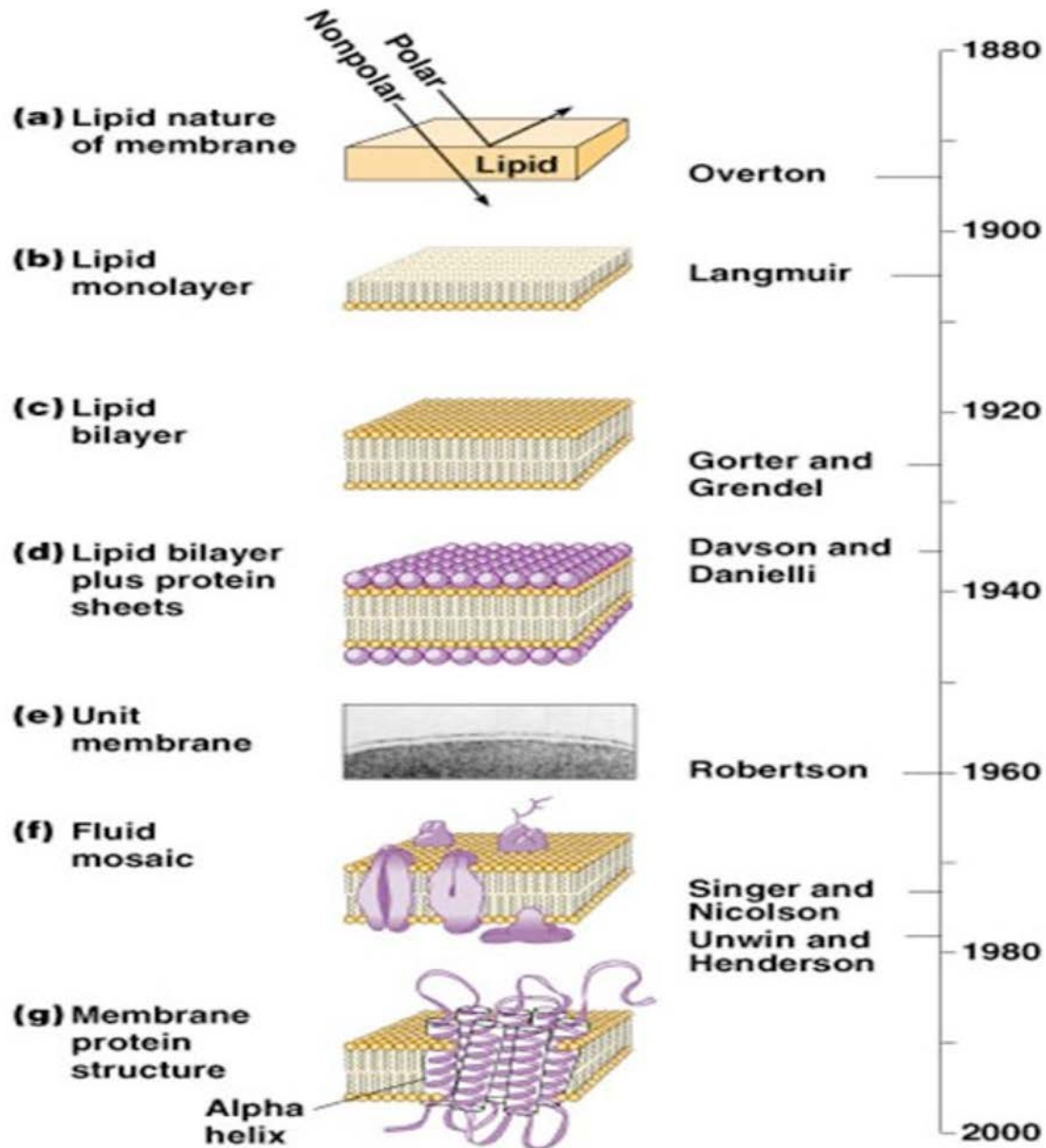
Literatura

- 1) Cotterill, R.: *Biophysics: An Introduction*, John Wiley & Sons, Ltd. **2002**
- 2) Murray, R.K., Granner, D. K., Mayes, P., A., Rodwell, V., W.: *Harper's Illustrated Biochemistry*, Lange Medical Books, **2003**
- 3) Schuenemann, V.: *Biophysik: Eine Einfuehrung*, Springer, **2005**
- 4) Garrett, R.H., Grisham, C.M.: *Biochemistry*, 2nd ed., **1999**
- 5) Jackson, M.B.: *Molecular and Cellular Biophysics*, Cambridge University Press, **2006**
- 6) Kodíček, M. & Karpenko, V.: *Biofyzikální chemie*, Academia
- 7) Cooper, G.M.: *Cell – A molecular approach*, ASM Press
- 8) Ti Tien, H. & Ottova-Leitmannova, A.: *Membrane biophysics (As viewed from experimenta bilayer lipid membranes; Planar Lipid Bilayers and Spherical Liposomes)*, Elsevier, **2000**
- 9) Templer, R.H. & Leatherbarrow, R.: *Biophysical Chemistry – Membranes and Proteins*, Royal Society of Chemistry, **2002**
- 10) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P.: *Molecular Biology of The Cell*, 5th ed., Garland Science, **2008**
- 11) Bergethon, P.R.: *The Physical Basis of Biochemistry – The Foundations of Molecular Biophysics*, 2nd ed. Springer, **2010**

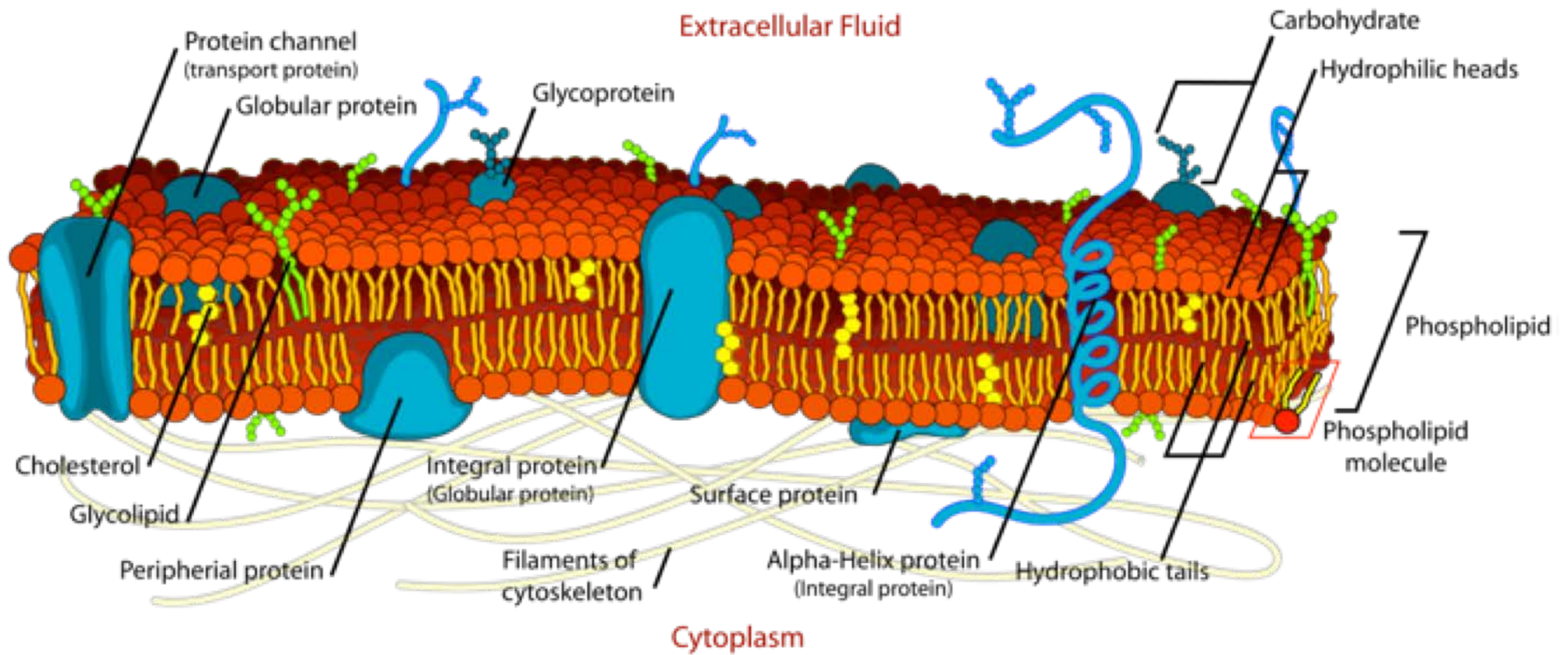
Membrány:

- struktura a historie
- složení a stavy
- vlastnosti a funkce

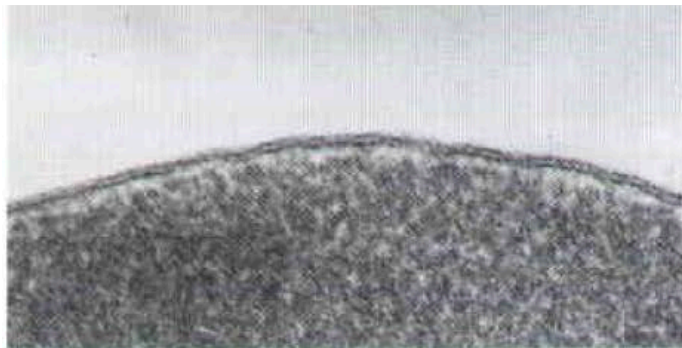
Historie membránové struktury



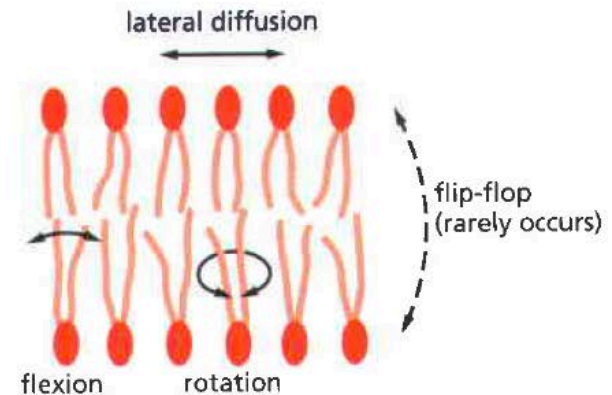
Současný model membrány



fluid mosaic model – 2d tekutá vrstva

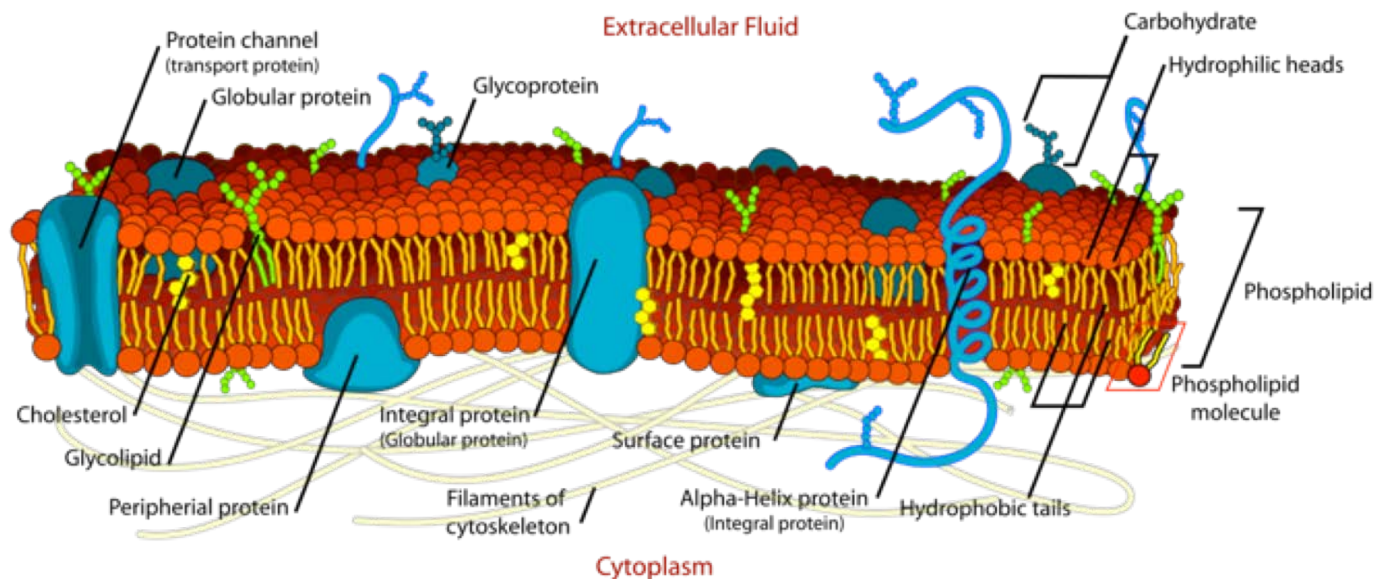


3-5 nm



Složení

- lipidy
- cukry
- proteiny



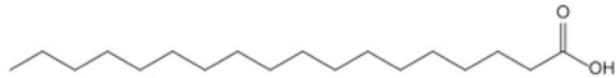
- 1) Lipoprotein: lipid + protein, který je většinou rozpustný v H_2O
- 2) Proteolipid: protein + lipid, -----"----- v organice (e.g. 2:1 = $CHCl_3$: CH_3OH)
- 3) Glycolipid: lipid + carbohydrate. Cukry glycolipidů jsou na vnějším povrchu a velmi pravděpodobně se účastní mezibuněčných komunikací
- 4) Glycoprotein: carbohydrate + protein. Podobně jako glycolipidy, cukerné zbytky glycoproteinů jsou připojeny na ne-cytoplasmické straně membrány.

Membrány:

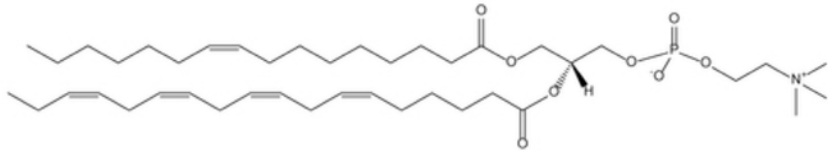
- struktura a historie
- **složení**
- stavy
- vlastnosti a funkce

Lipidy

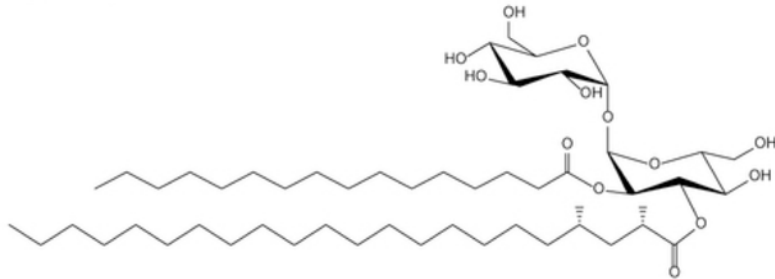
A



(a) Fatty acids: octadecanoic acid

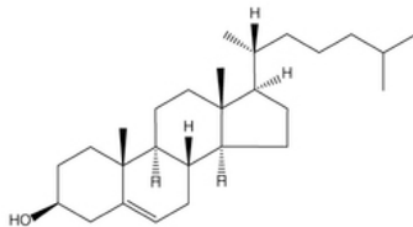


(c) Glycerophospholipids: 1-(9Z-hexadecenoyl)-2-(6Z,9Z,12Z,15Z-octadecatetraenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine

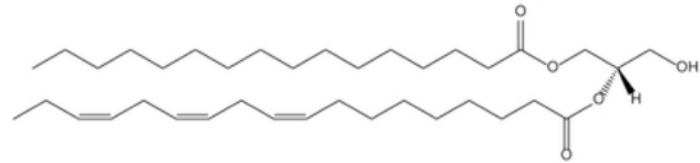


(e) Saccharolipids: 2-O-hexadecanoyl-3-O-(2S,4S-dimethyl-docosanoyl)- α,α -trehalose

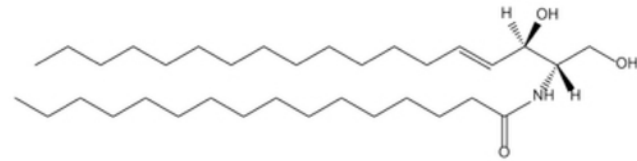
B



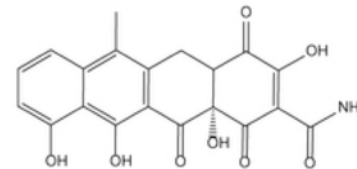
(g) Sterol lipids: cholest-5-en-3 β -ol



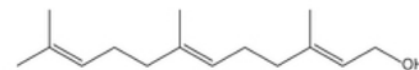
(b) Glycerolipids: 1-hexadecanoyl-2-(9Z,12Z,15Z-octadecatrienoyl)-sn-glycerol



(d) Sphingolipids: N-(hexadecanoyl)-sphing-4-enine

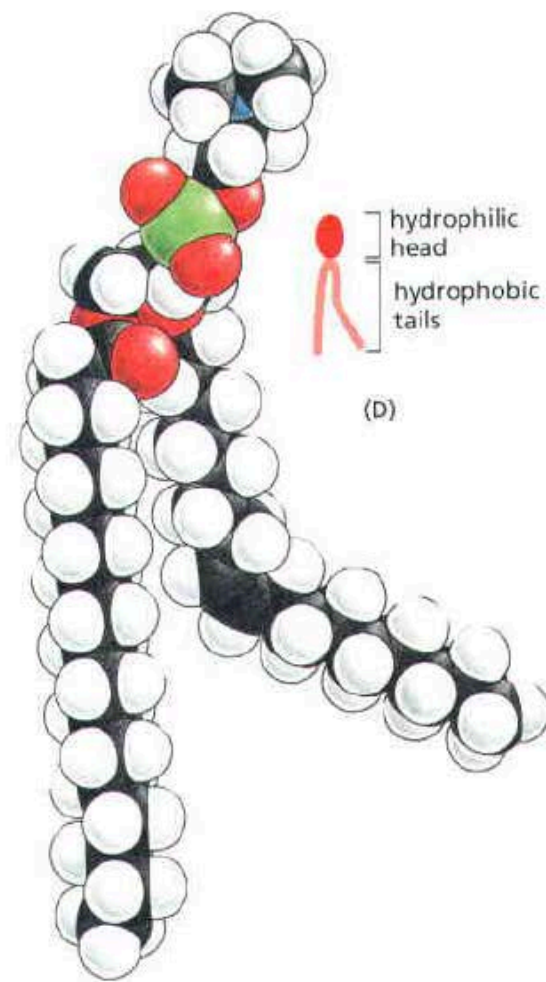
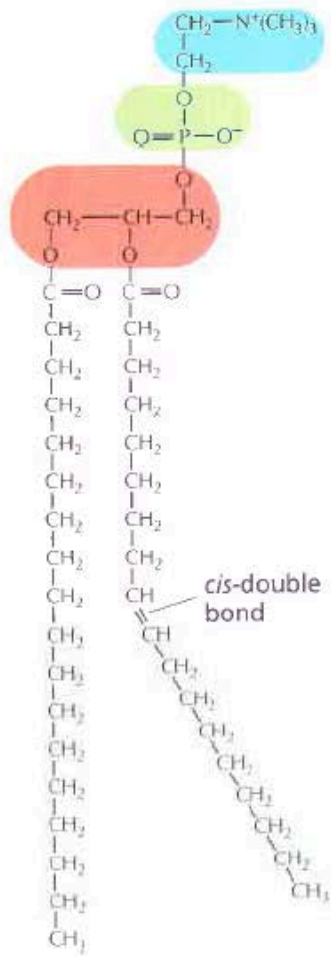
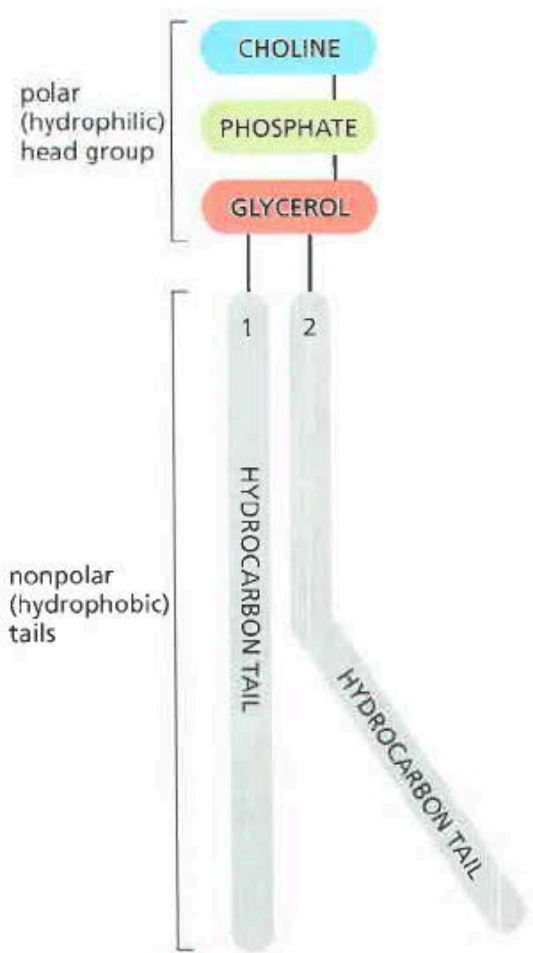


(f) Polyketides: 4-Dedimethylamino-4-oxo-anhydrotetracycline



(h) Prenol lipids: 2E,6E-farnesol

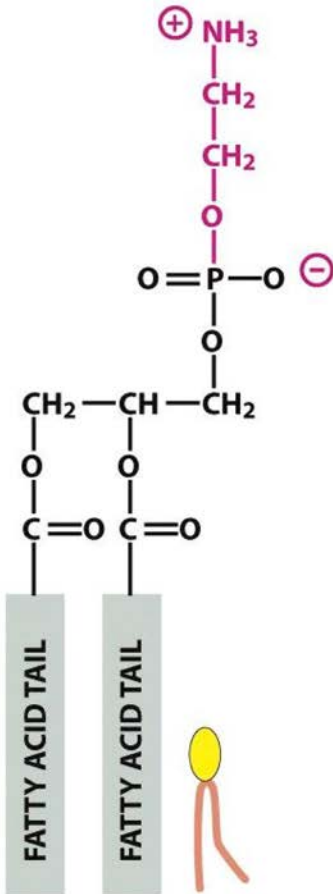
Fosfolipidy



Hlavičky

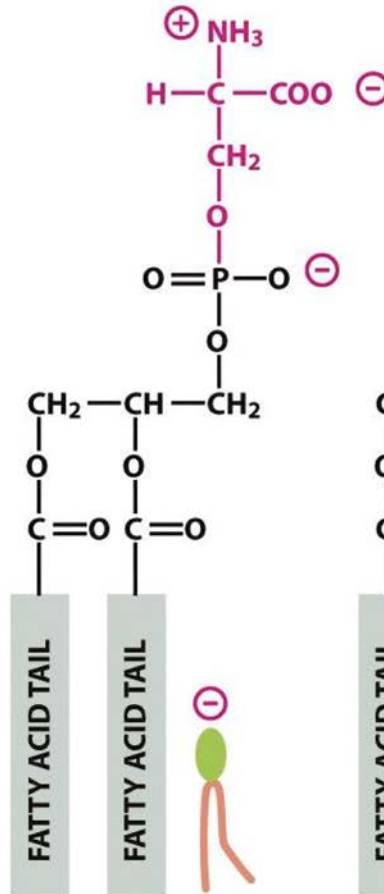
PE

phosphatidylethanolamine



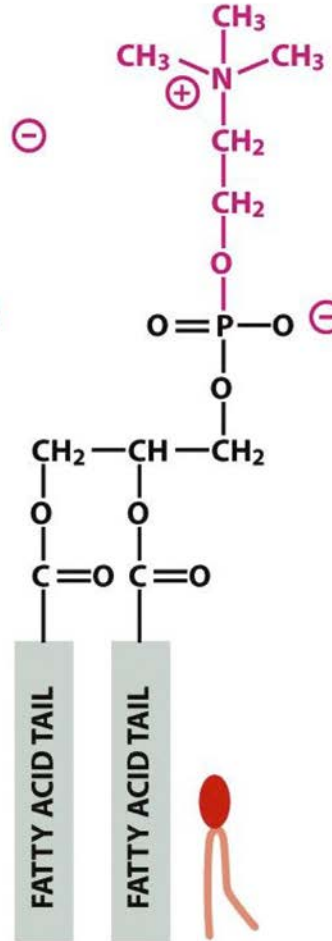
PS

phosphatidylserine



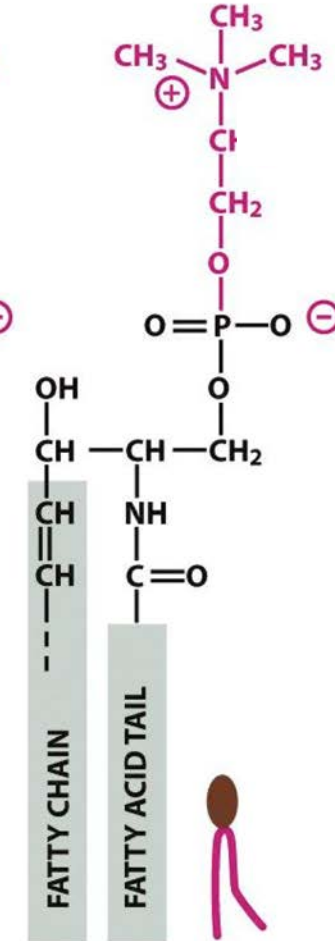
PC

phosphatidylcholine

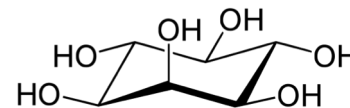


SM

sphingomyelin



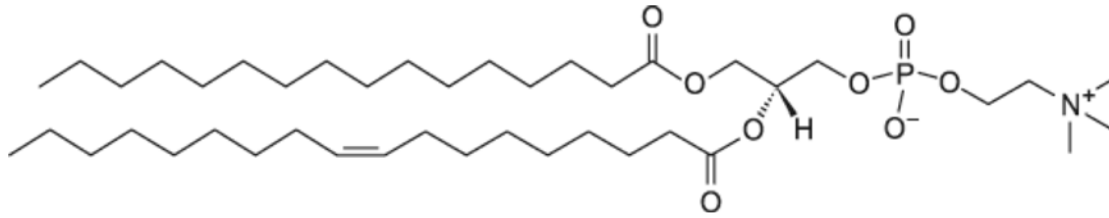
Inositol (PI – fosfatidylinositol, IP_3 – inositol trifosfát, PIP_2 – fosfatidylinositol-4,5-bifosfát)



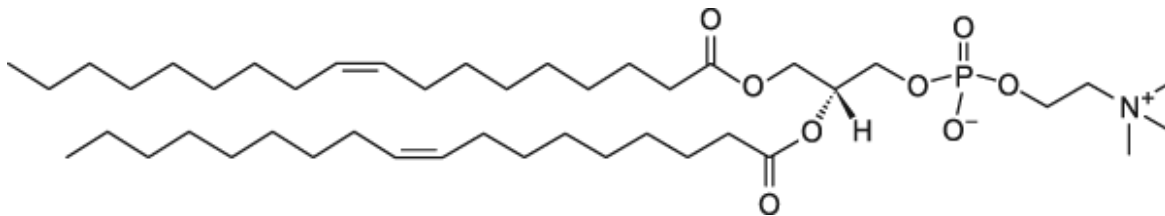
Ocásky

Carbon atoms	Chemical formula	Systematic name	Common name
Saturated fatty acids			
12 12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	<i>n</i> -dodecanoic	Lauric
14 14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	<i>n</i> -tetradecanoic	Myristic
16 16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	<i>n</i> -hexadecanoic	Palmitic
18 18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	<i>n</i> -octadecanoic	Stearic
20 20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	<i>n</i> -eicosanoic	Arachidic
Unsaturated fatty acids			
16 16:1; ω -7, Δ^9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Palmitoleic
18 18:1; ω -9, Δ^9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Oleic
18 18:2; ω -6, $\Delta^{9,12}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Linoleic
18 18:3; ω -3, $\Delta^{9,12,15}$	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$		Linolenic
20 20:4; ω -6, $\Delta^{5,8,11,14}$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$		Arachidonic

Zkratky

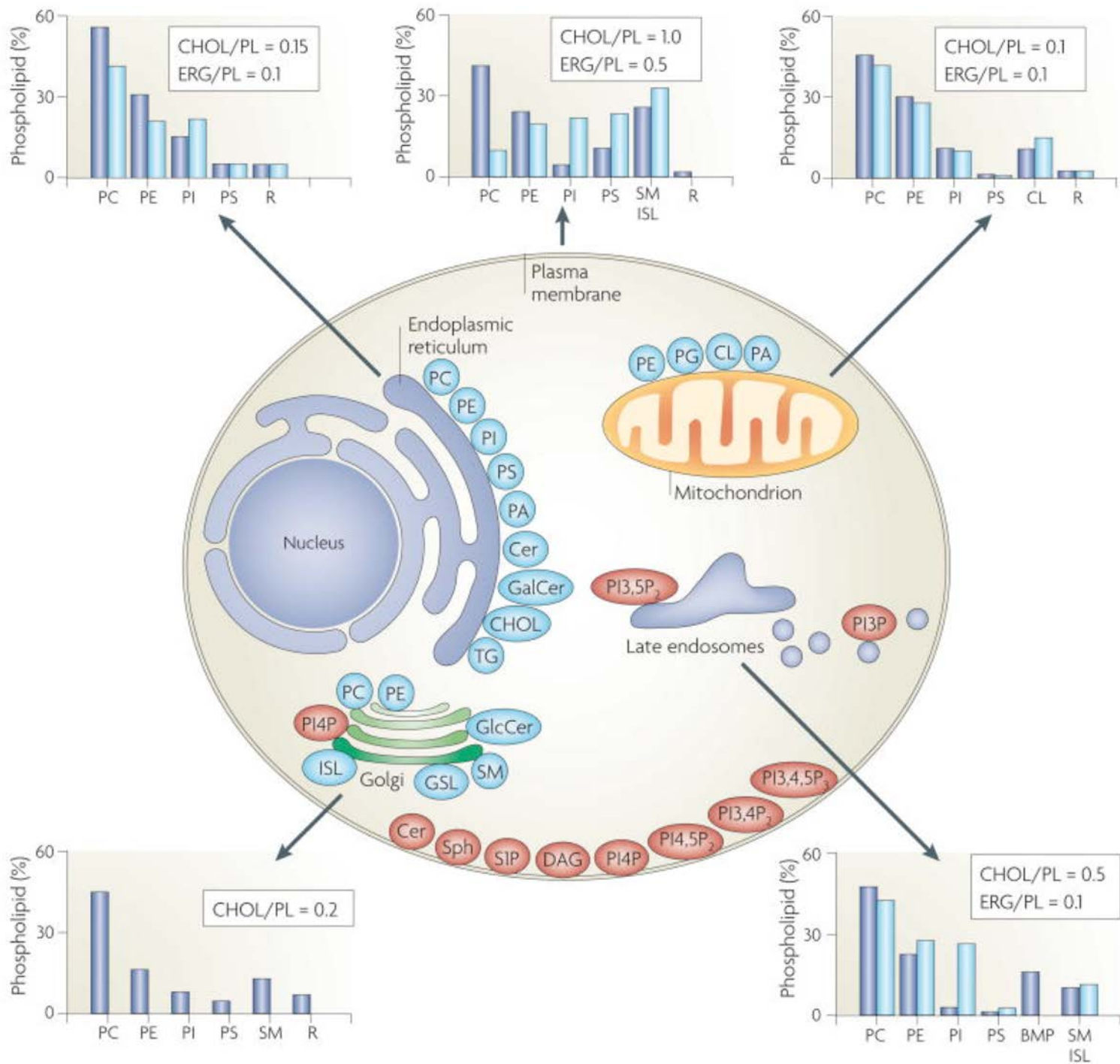


POPC 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

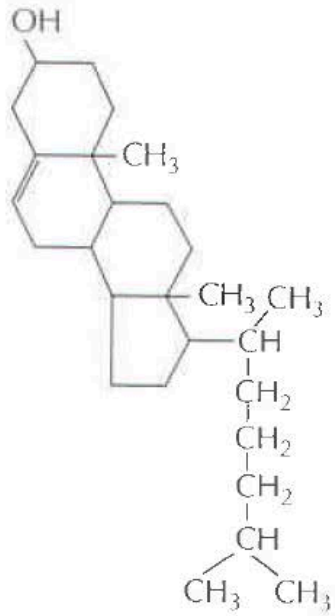


DOPC 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

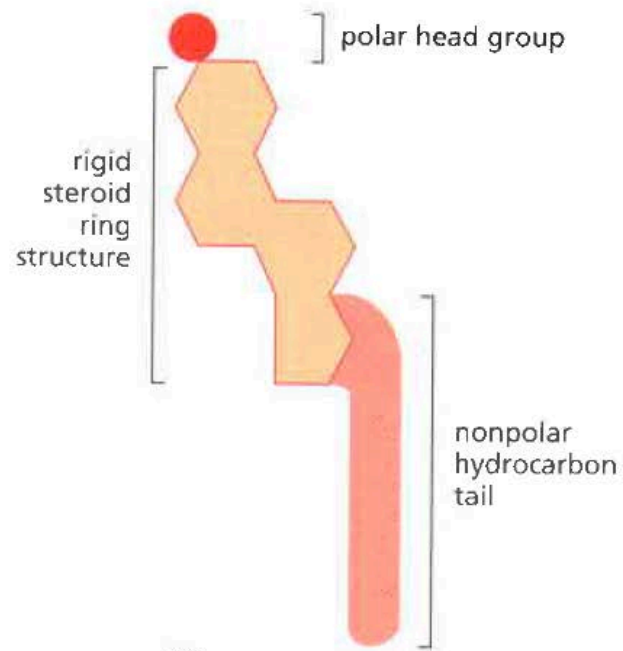
Buňka



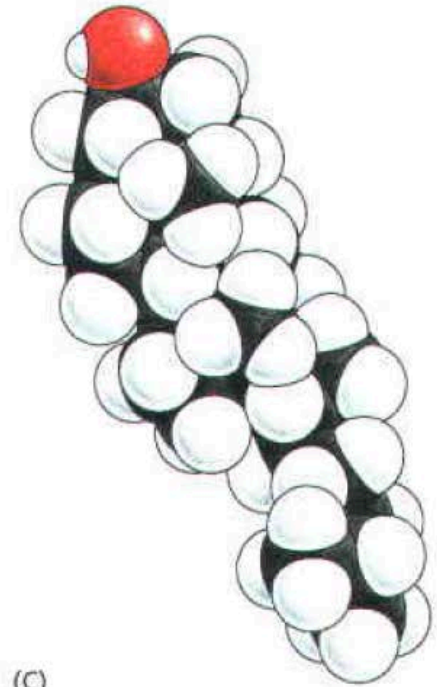
Cholesterol



(A)

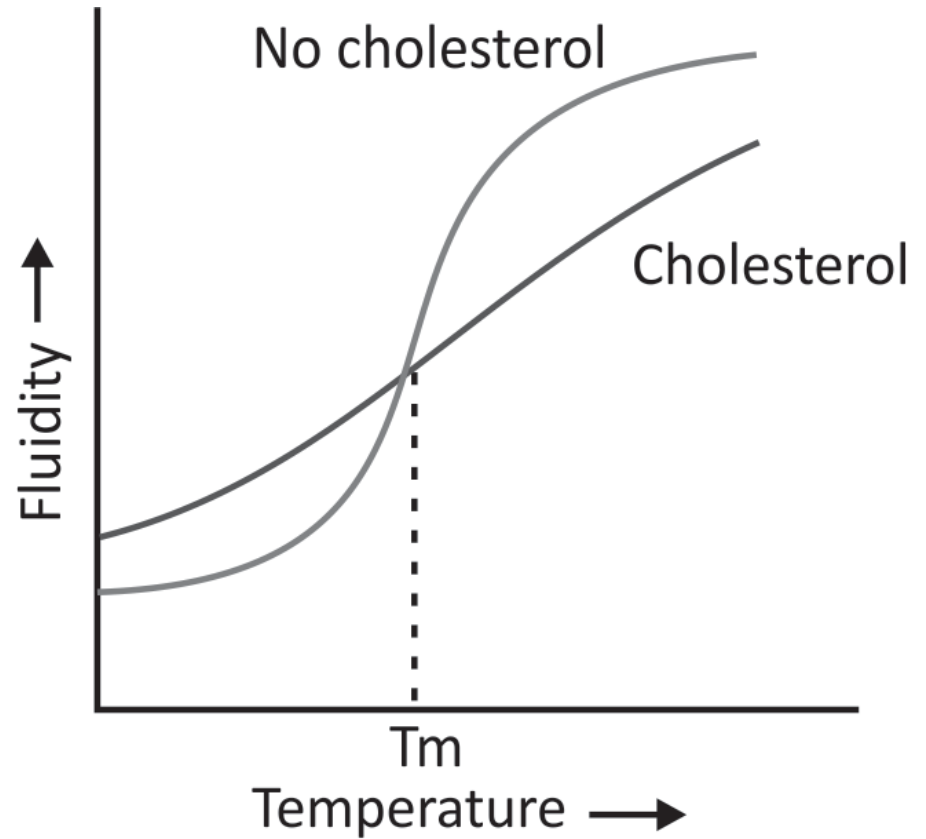
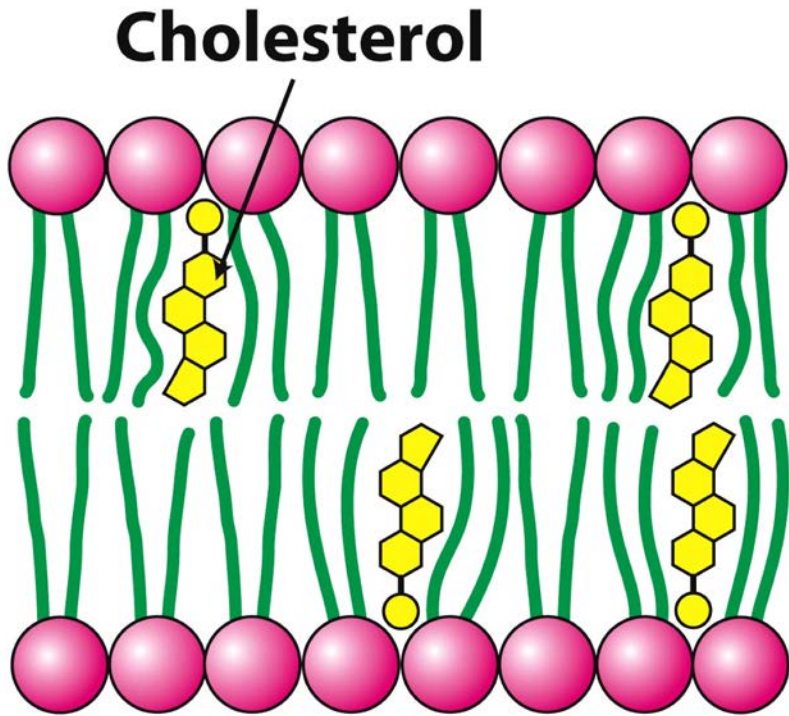


(B)



(C)

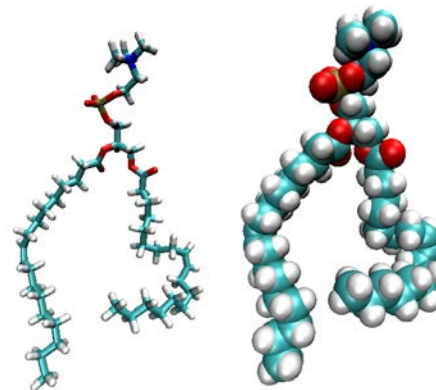
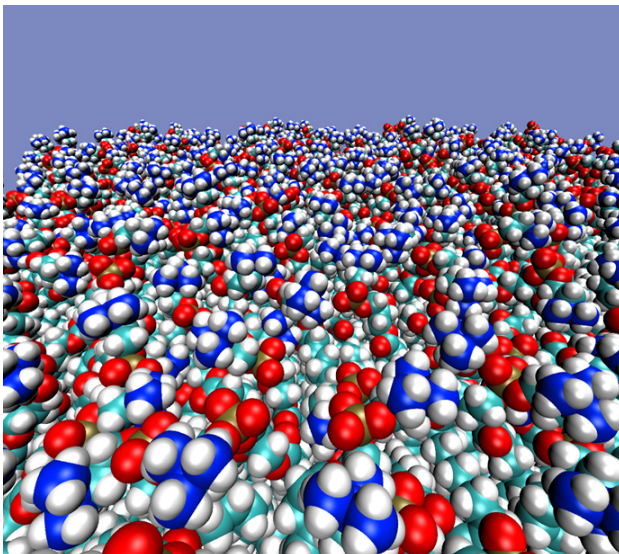
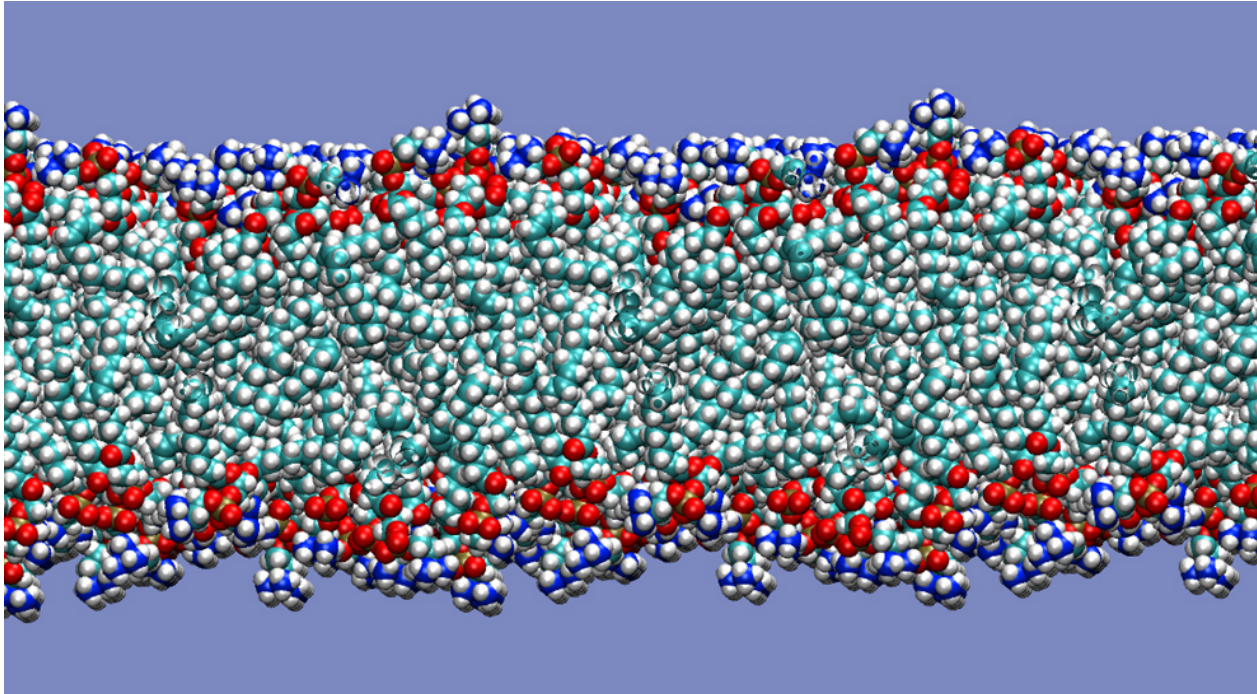
Cholesterol effect on membrane



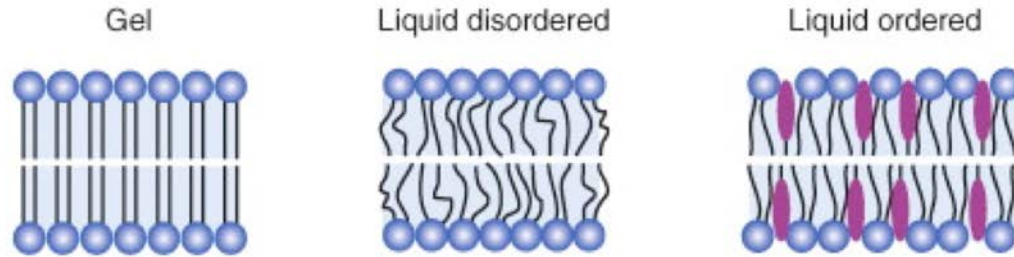
Membrány:


- struktura a historie
- složení
- **stavy**
- vlastnosti a funkce


Molekulární pohled



Stavy lipidové dvouvrstvy

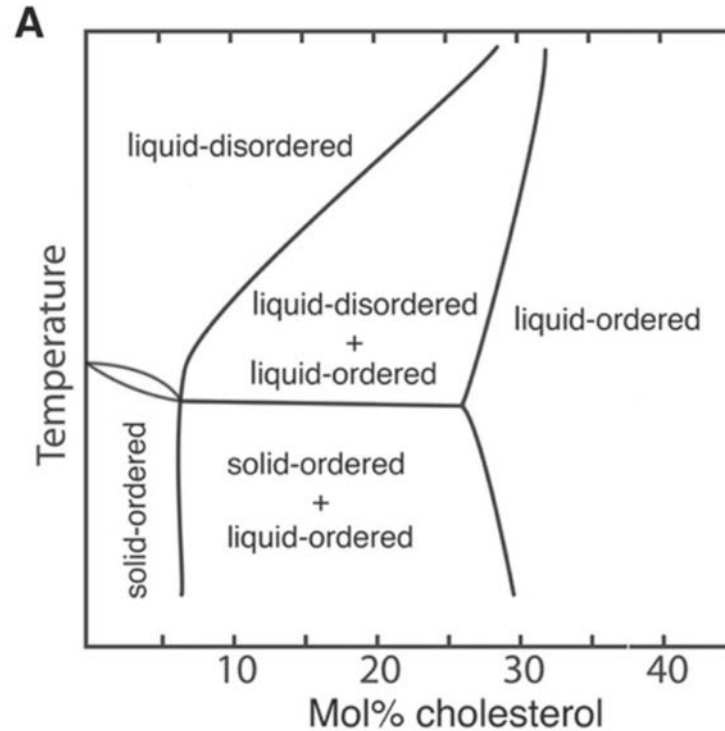
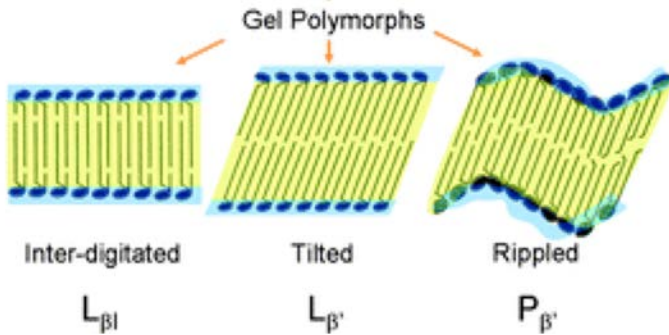


 Sphingolipids or glycerophospholipids below their melting temperature

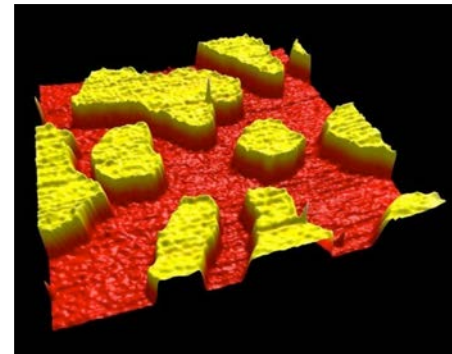
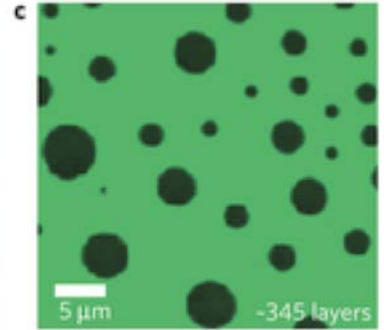
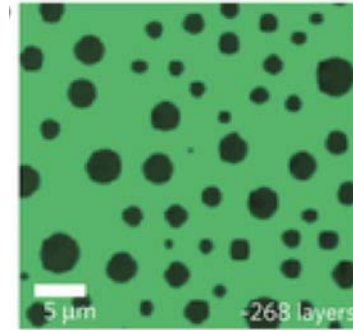
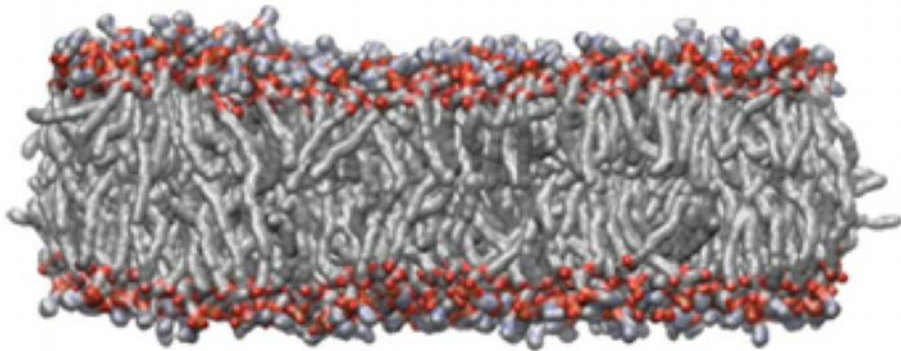
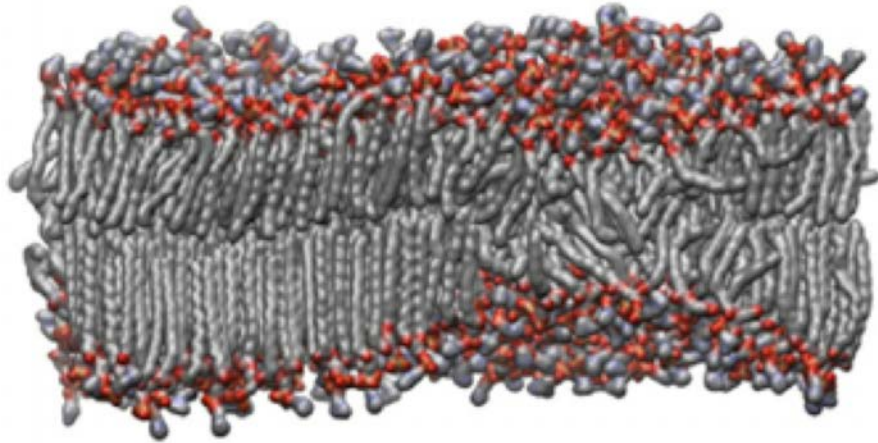
 Glycerophospholipids above their melting temperature

 Cholesterol

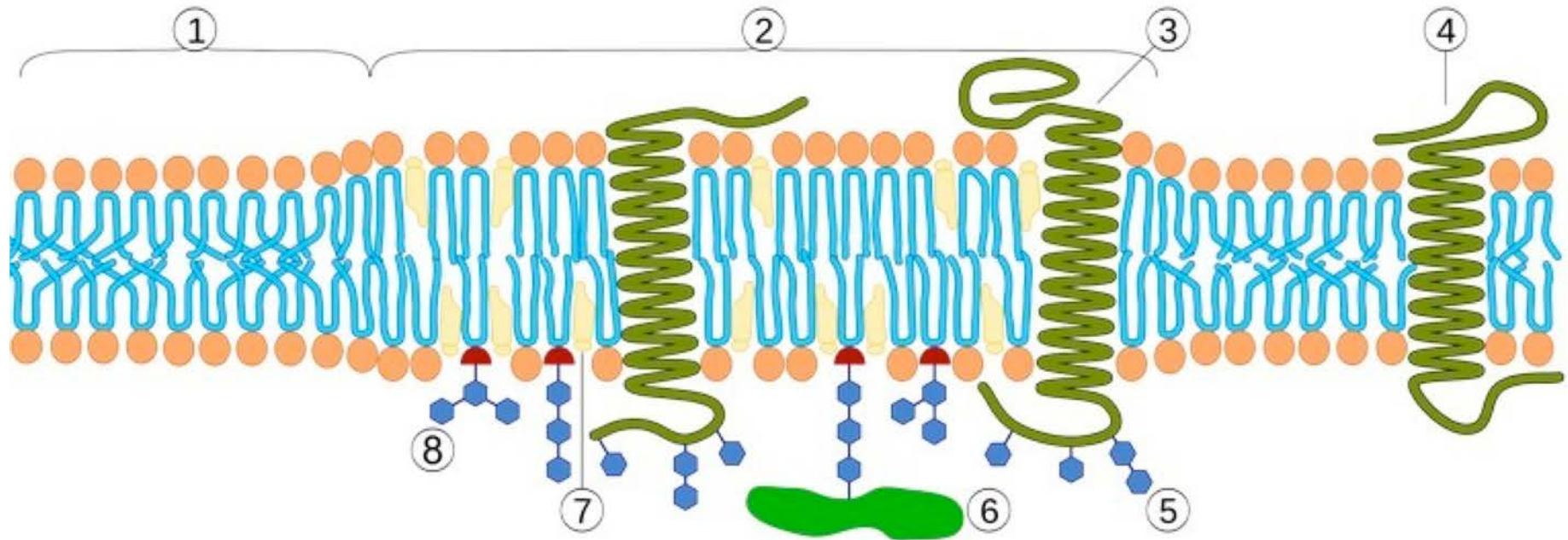
TRENDS in Cell Biology



Stavy membrány



Rafty



1970s – postulovány membránové mikrodomény např cholesterolu a sphingolipidů

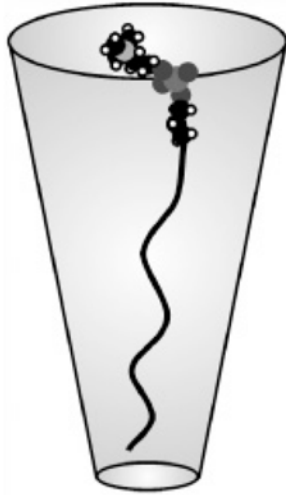
Stier & Sackmann a Klausner & Karnovsky

1980 and 1990s – termín raft = pro uspořádané mikrodomény cholesterolu, glycolipidů, sphingolipidů a proteinů - Kai Simons a Gerrit van Meer

2006 – rafts = 10-200 nm heterogenity, vysoce dynamické domény bohaté na, steroly a sphingolipidy

2016 – heterogení fluidní domény < 50 nm (spektroskopie superrozlišení)

Tvar lipidů



LysoPC

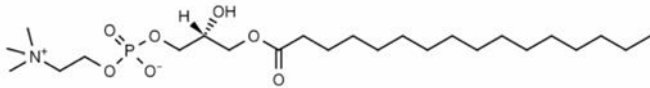


POPC

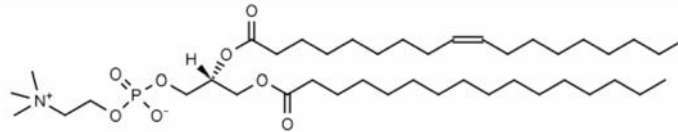


cardiolipin

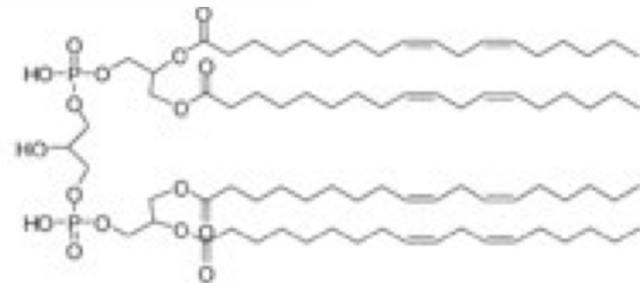
LysoPC



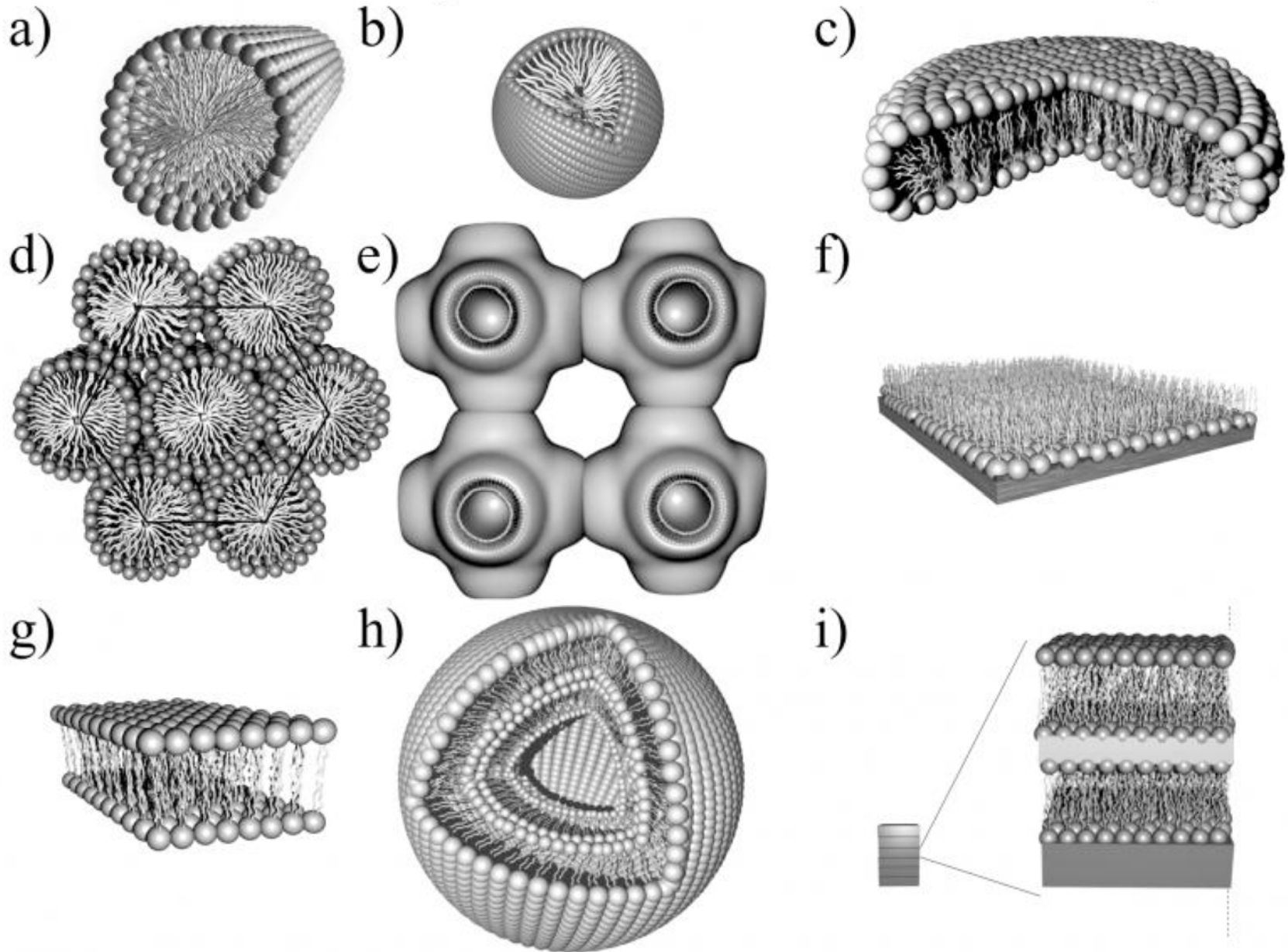
POPC



cardiolipin

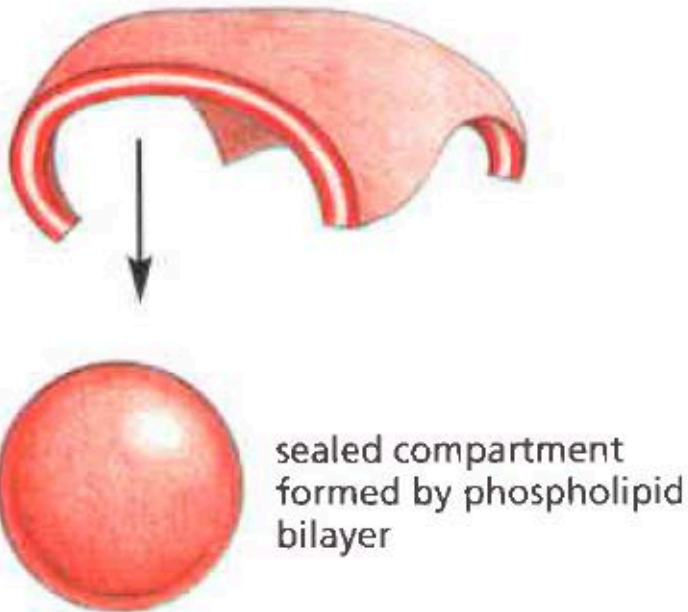
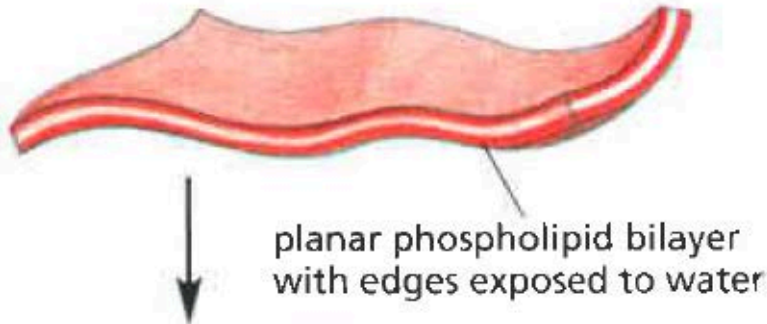


Tvary lipidových agregátů



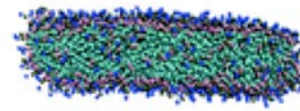
Váčky jsou výhodné

ENERGETICALLY UNFAVORABLE

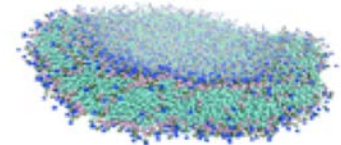


ENERGETICALLY FAVORABLE

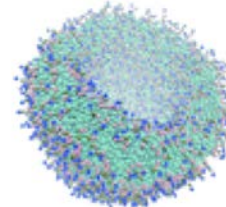
Bicelle at 800 ns



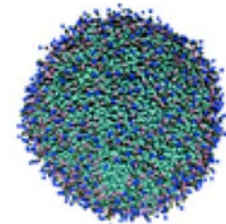
Distorted bicelle at 1000 ns



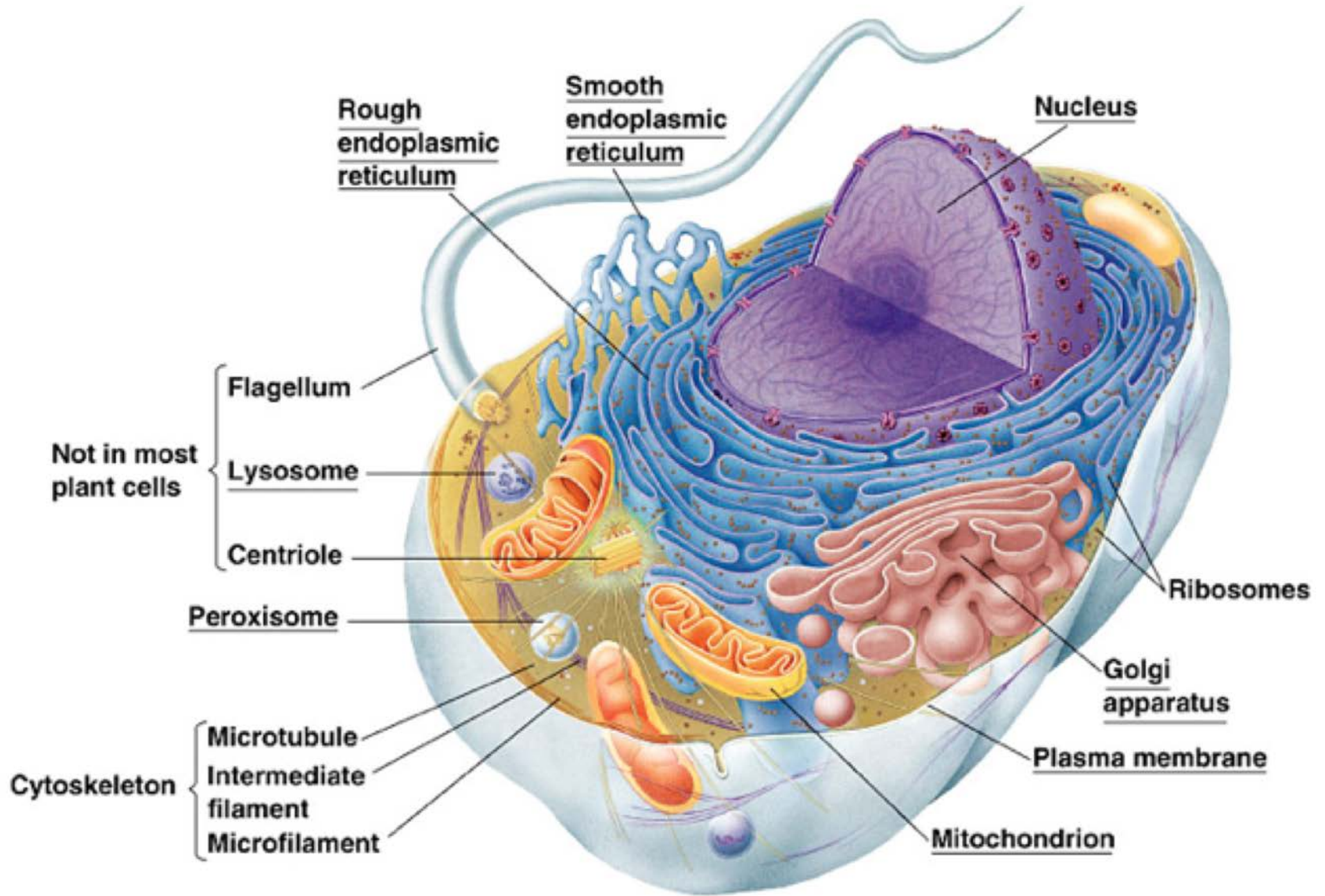
Bowl-shaped bicelle at 1090 ns



Closed vesicle at 1110 ns



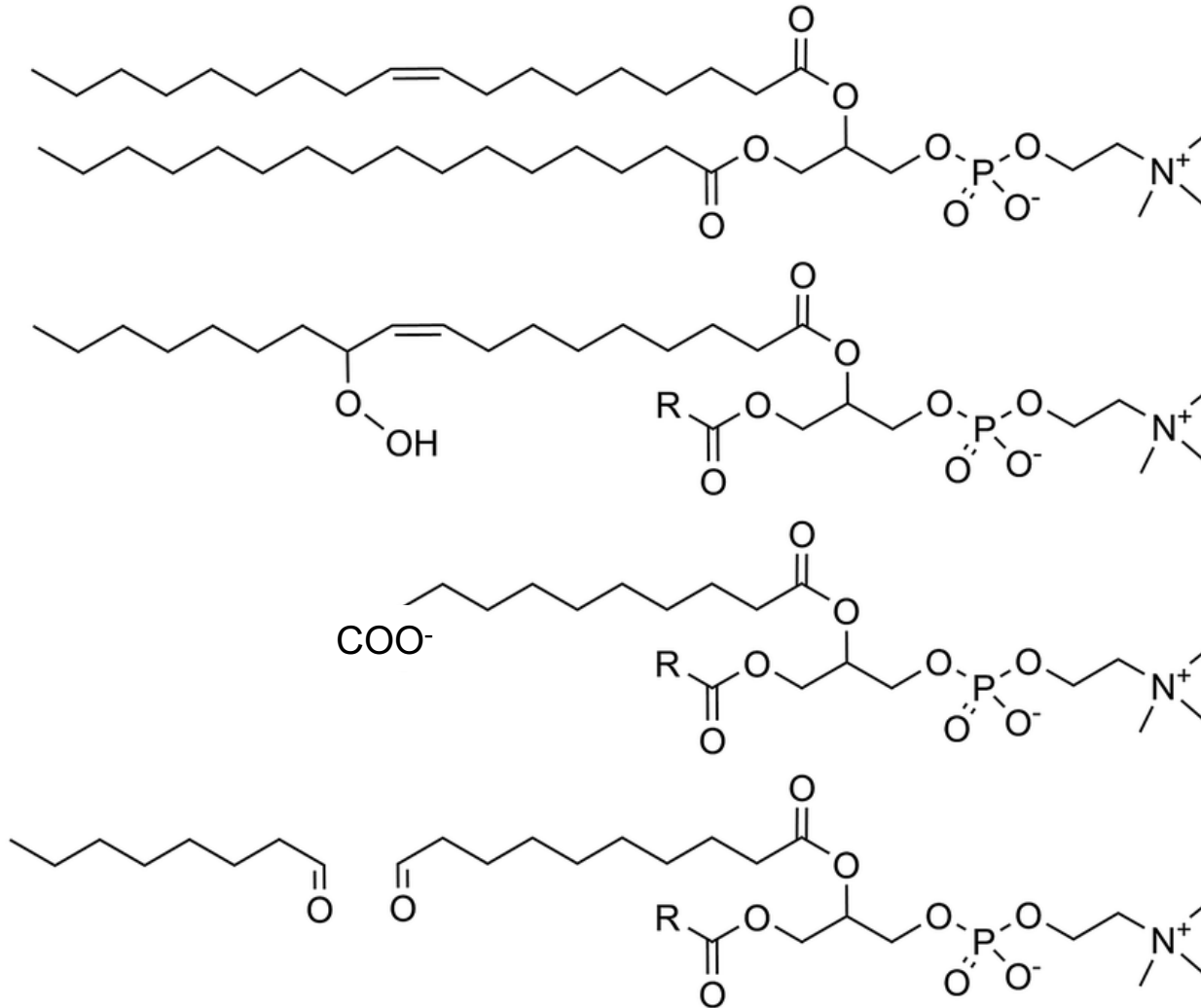
Buňka



Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

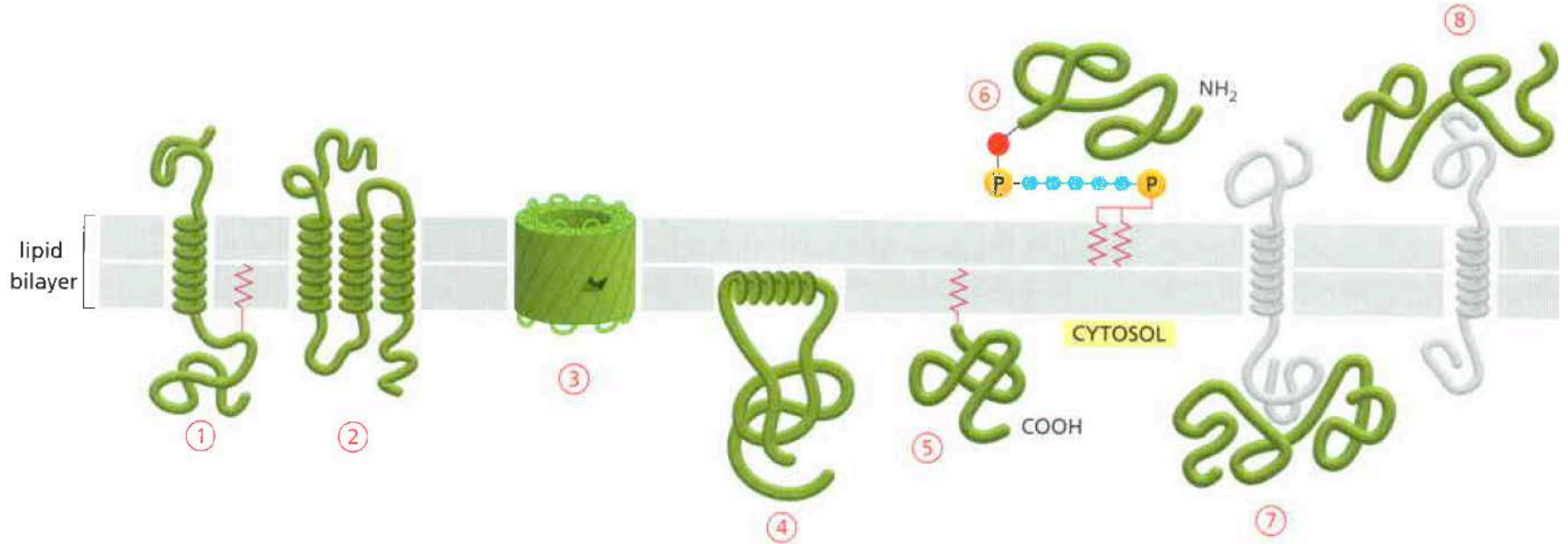
Oxidace lipidů

POPC



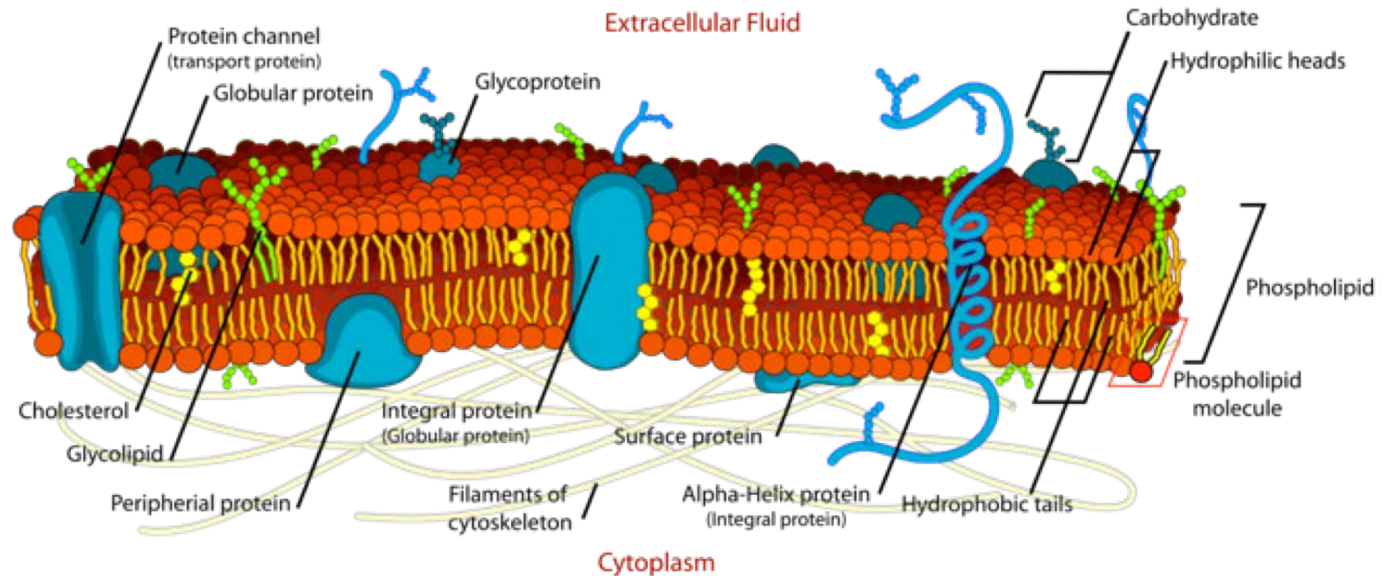
Mění vlastnosti membrány – menší stabilita, větší permeabilita a fluidita

Proteiny



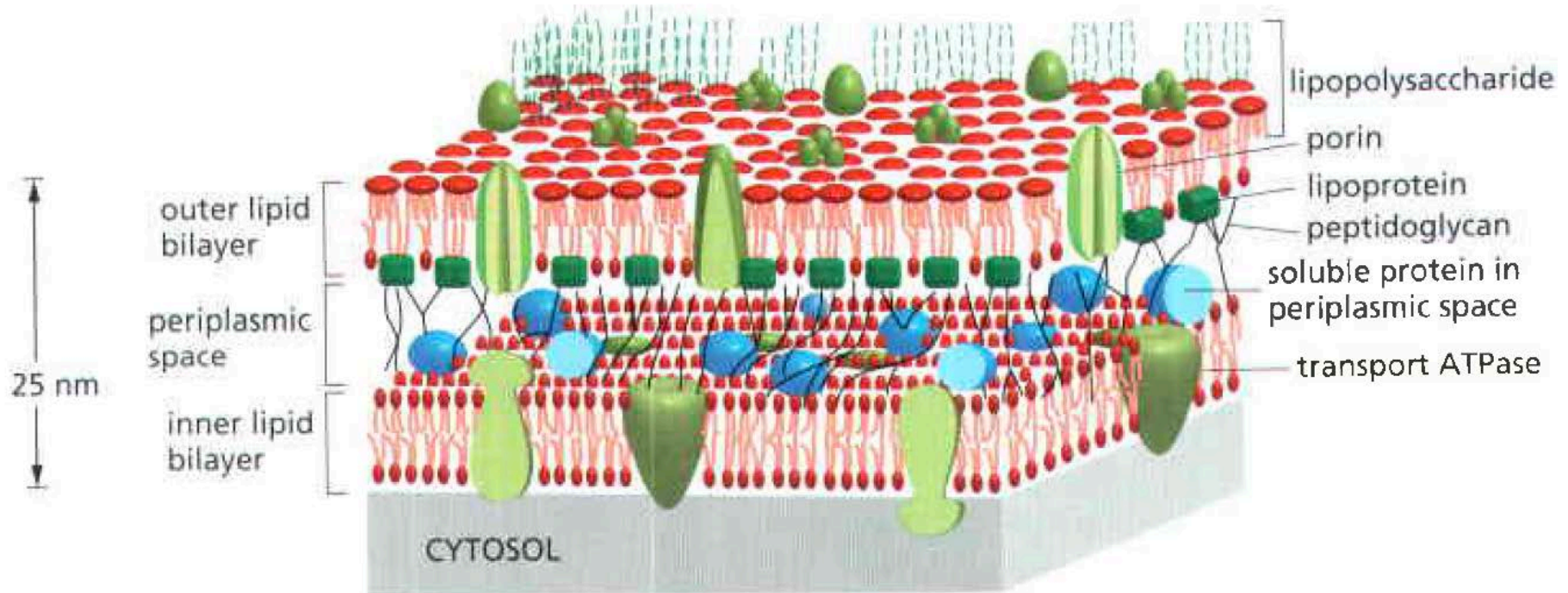
Složení

- lipidy
- cukry
- proteiny



- 1) Lipoprotein: lipid + protein, který je většinou rozpustný v H_2O
- 2) Proteolipid: protein + lipid, -----"----- v organice (e.g. 2:1 = $CHCl_3$: CH_3OH)
- 3) Glycolipid: lipid + carbohydrate. Cukry glycolipidů jsou na vnějším povrchu a velmi pravděpodobně se účastní mezibuněčných komunikací
- 4) Glycoprotein: carbohydrate + protein. Podobně jako glycolipidy, cukerné zbytky glycoproteinů jsou připojeny na ne-cytoplasmické straně membrány.

Struktura membrán



Další materiál - videa

<http://www.youtube.com/watch?v=moPJkCbKjBs&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=LKN5sq5dtW4&feature=related>

Khan academy

<https://www.khanacademy.org/test-prep/mcat/cells/cell-membrane-overview/v/cell-membrane-introduction>

<https://www.khanacademy.org/test-prep/mcat/cells/transport-across-a-cell-membrane/v/how-do-things-move-across-a-cell-membrane>

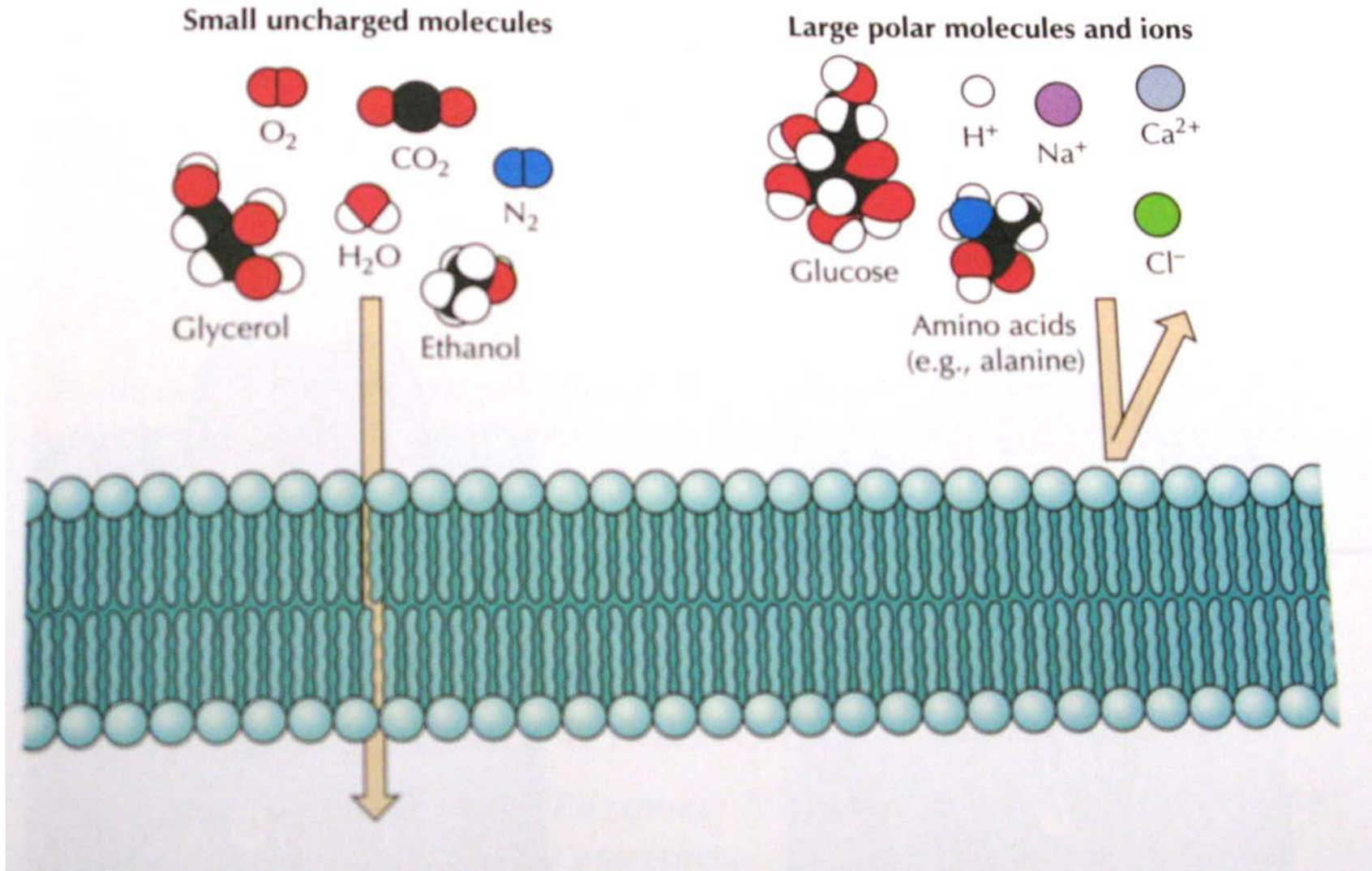
Funkce membrány

- životně důležité rozhraní - chrání/odděluje
- reguluje transport a udržuje sálé chemické složení uvnitř buněk a organel
- zajišťuje komunikaci
- prostředí pro reakce

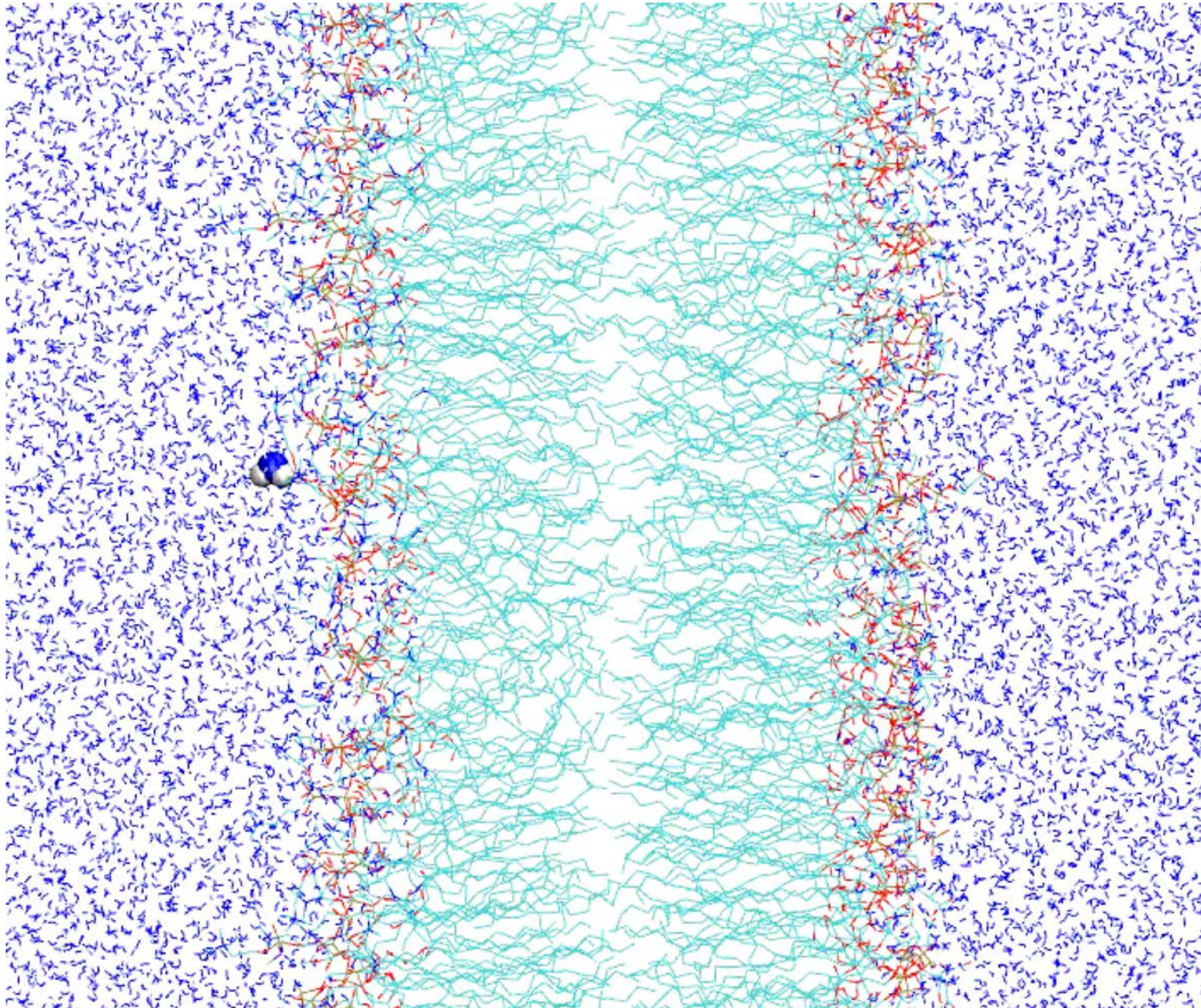
Transport

- Pasivní transport (difuze, osmóza, kanály, přenašeče)
- Aktivní transport (pumpy)
- Endocytóza

Pasivní difuze



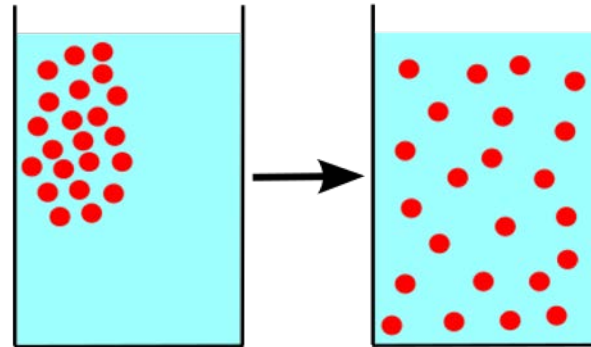
Simulace



Difuze

volné proudění látek podle koncentračního spádu.

**Na základě neuspořádaného
tepelného pohybu částic**



První Fickův zákon: rychlost difuze (difuzní tok) je dána látkovým množstvím látky, která projde za časovou jednotku určitou plochou.

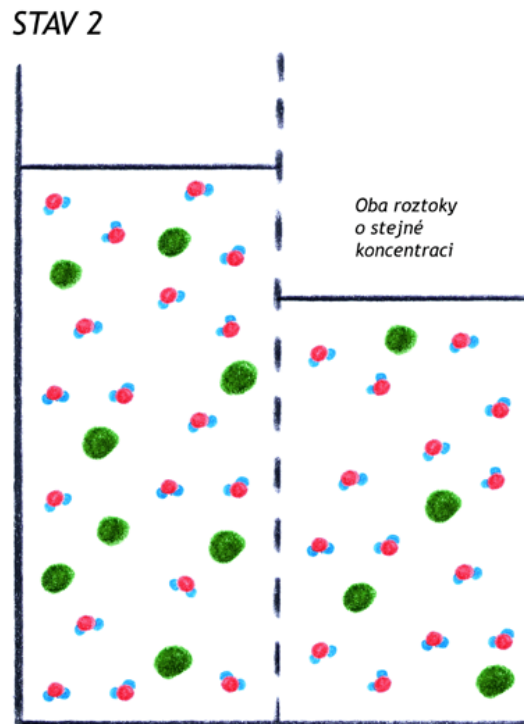
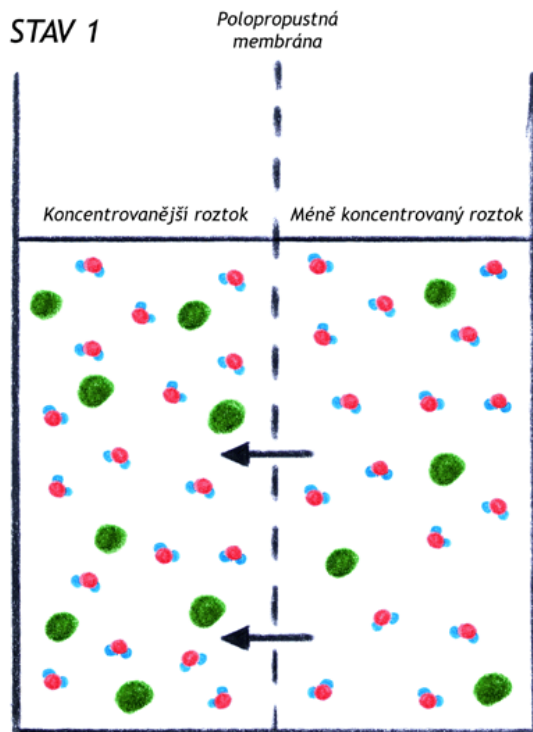
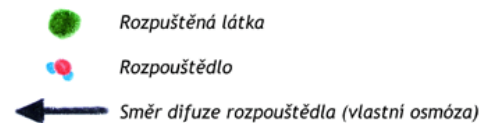
$$j = \frac{n}{S \cdot t}$$

velikost difuzního toku j je úměrná záporně vzatému gradientu koncentrace:

$$j = -D \cdot \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

Difuzní koeficient D je konstantou charakterizující, jak snadno daná látka difunduje daným prostředím.

Osmóza

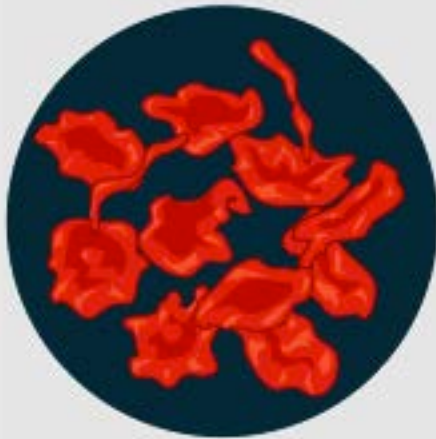


Osmotický tlak: Síla, kterou je třeba aplikovat na roztok k zastavení přítoku rozpouštědla
Osmotický tlak roztoku je úměrný koncentraci rozpuštěné látky

Tlak ideálního plynu: $pV = nRT$

$p = i cRT$

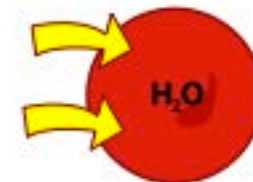
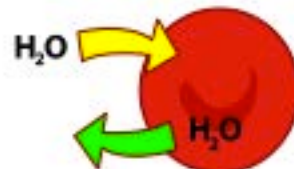
Hypertonic



Isotonic



Hypotonic



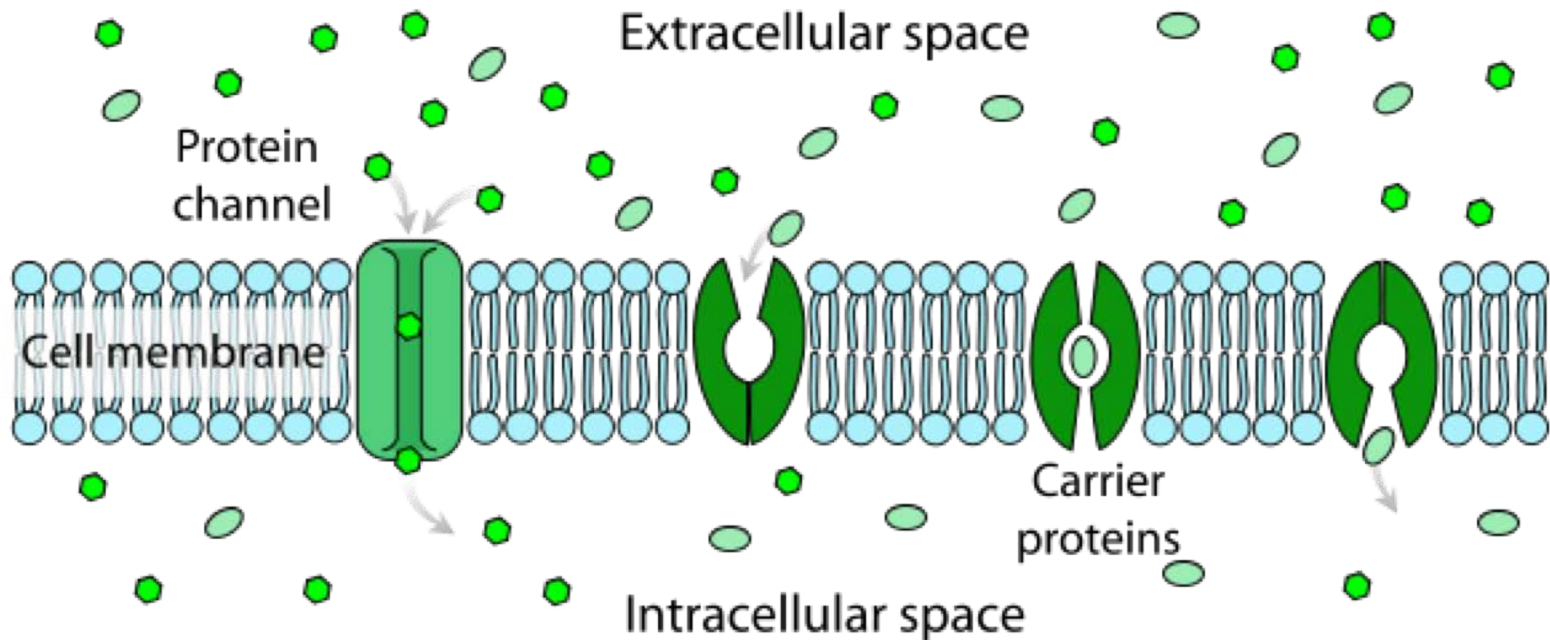
hemolýza

Přenašečové proteiny

2 mechanismy prostupu přes proteiny

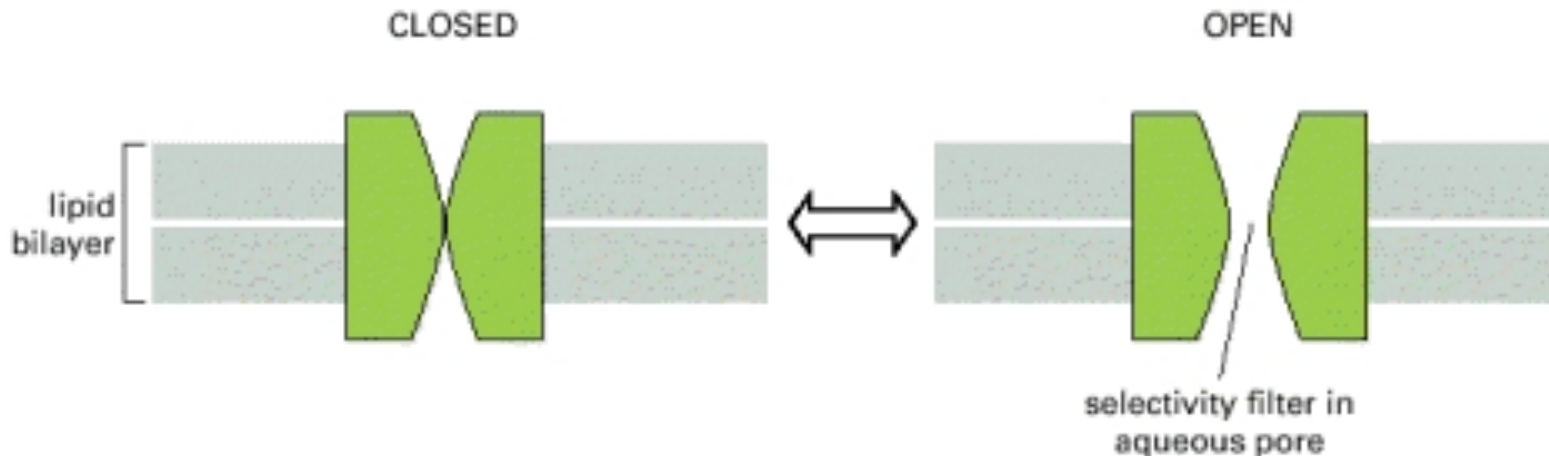
1. pomocí konformačních změn proteinu – pro malé rozpustné molekuly
2. kanálové proteiny s pórem, přenos bez změny konformace - pro specifické anorganické ionty

rychlejší, ale může nabývat uzavřených nebo otevřených konformací

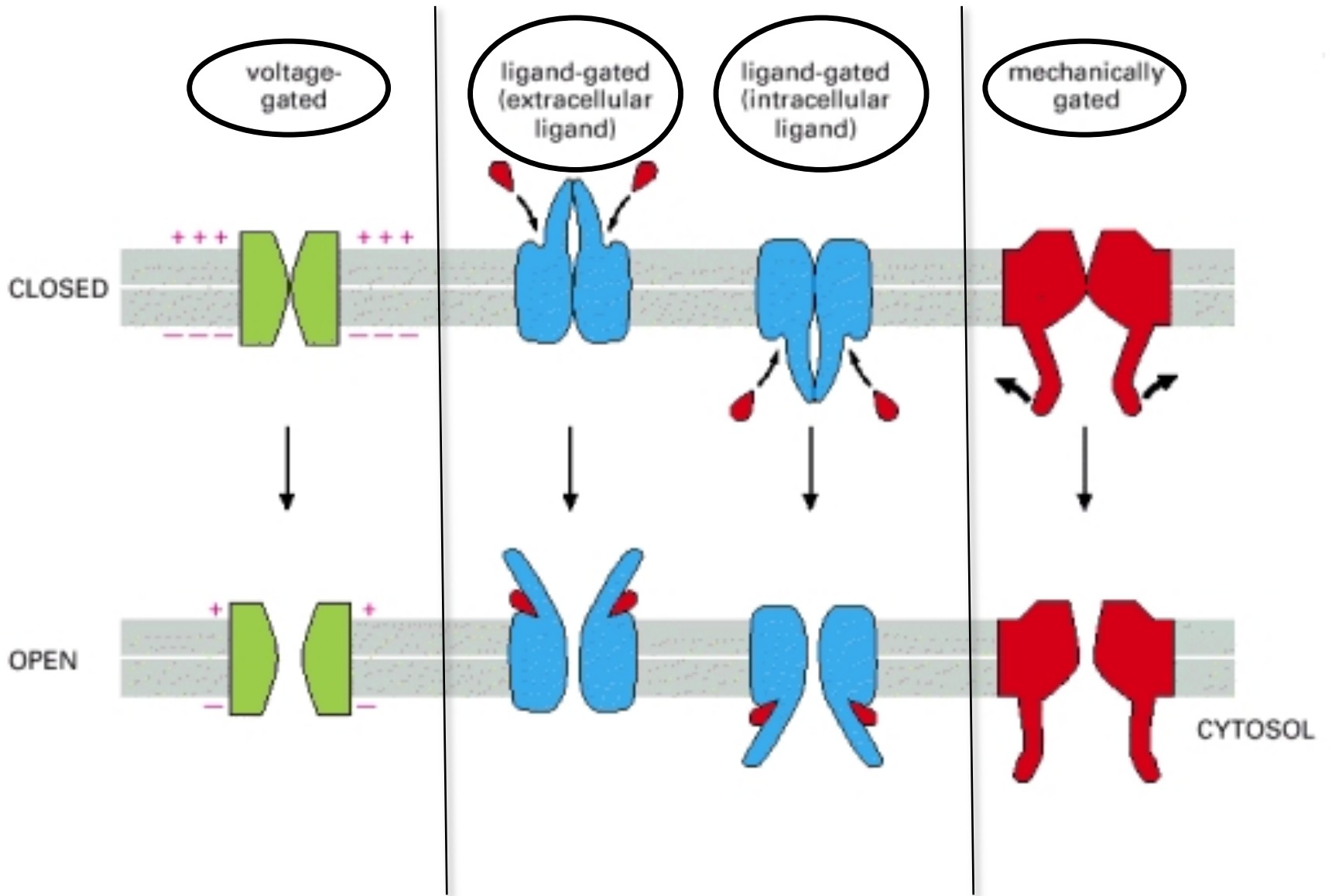


Iontové kanály

- výměna iontů mezi vnitřním a vnějším prostředím buňky
- nepotřebují dodání energie (ATP)
- vysoce selektivní = nelze považovat za volnou difuzi
- otevírání/uzavírání kanálů (vrátkování/gating) několika mechanism (napětím, mechanicky či chemicky)
- kanály se liší od přenašečů mají pevná vazebná místa pro ionty a v membráně vytvářejí póry propustné pro vodu.



Gating



Aktivní transport

- membránové proteiny přenášející pomocí dodané energie
- díky energii lze transportovat proti směru koncentračního gradientu
- iontové kanály a přenašečové proteiny

Primární aktivní transport

- přenáší se pouze jedna částice
- zdroj energie je ATP, dekarboxylace, přenos metylu, světlo, atd.

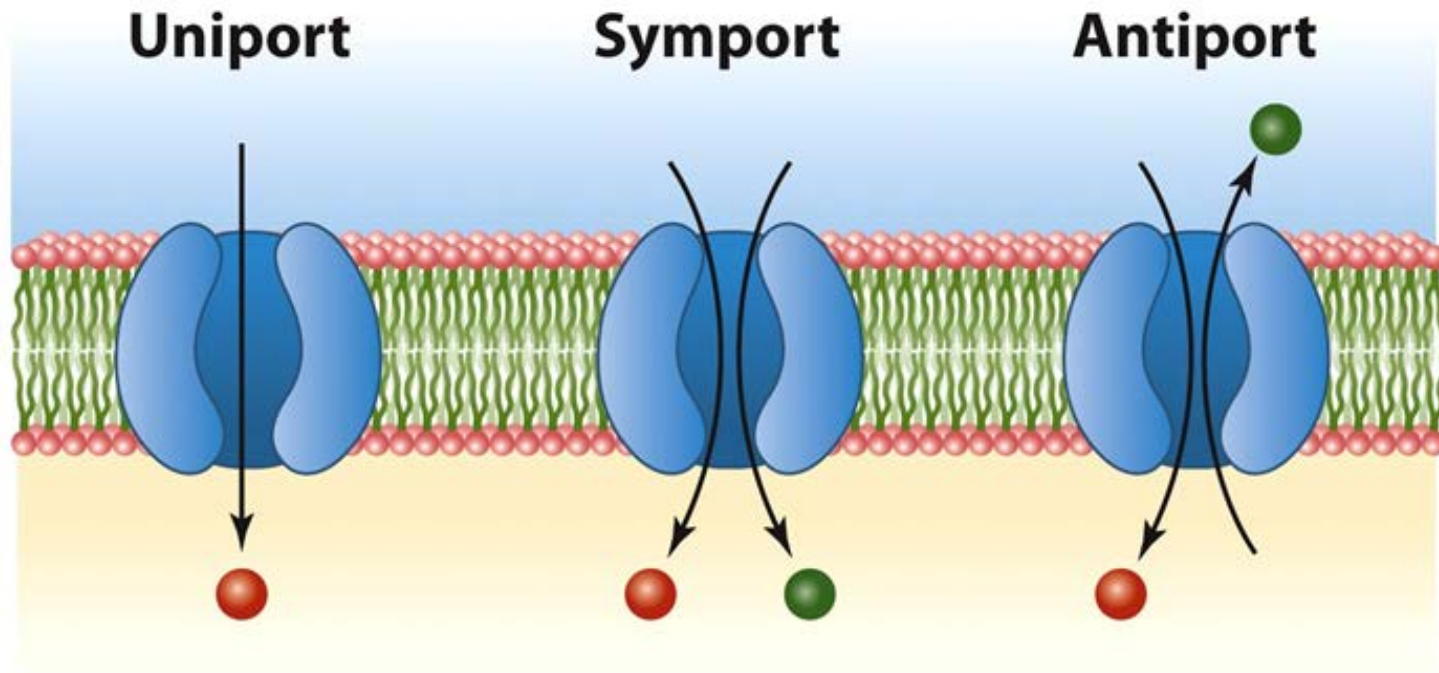
Sekundární aktivní transport (kotransport)

- s přenášenou látkou se přenáší ještě jiná látka ve směru koncentračního gradientu tento současný transport dodává energii

podle vzájemného směru přenášených částic:

symport – částice jsou přenášeny stejným směrem,

antiport – částice jsou přenášeny opačným směrem.



© John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

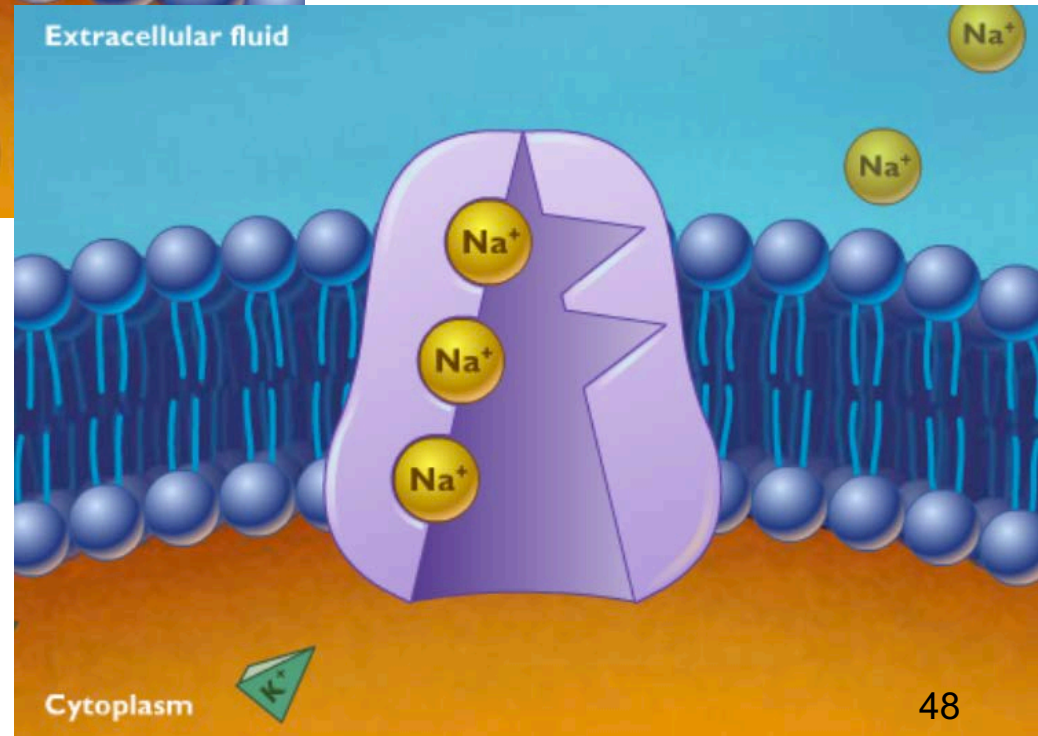
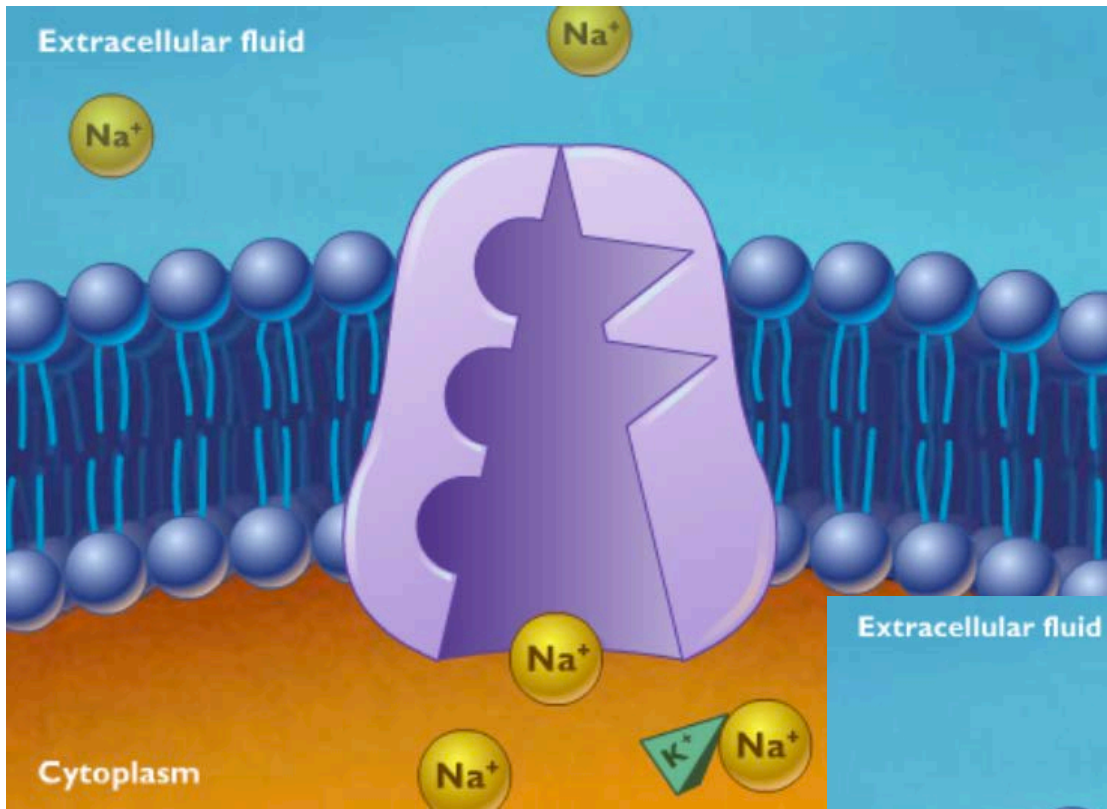
Sodno-draselná pumpa

- Objevena cca v 1957 **Jensem Christianem Skou**, který za ni v r. 1997 dostal $\frac{1}{2}$ **NC za chemii** za “objev iontového přenašeče Na^+/K^+ ATPázy”
- Poskytuje 1/3 energetického výdaje (některých) buněk a až 2/3 energetického výdaje neuronů
- Kontroluje mj. objem buňky (zabraňuje prasknutí buňky vlivem osmózy)
- Udržuje klidový (resting) potenciál buňky

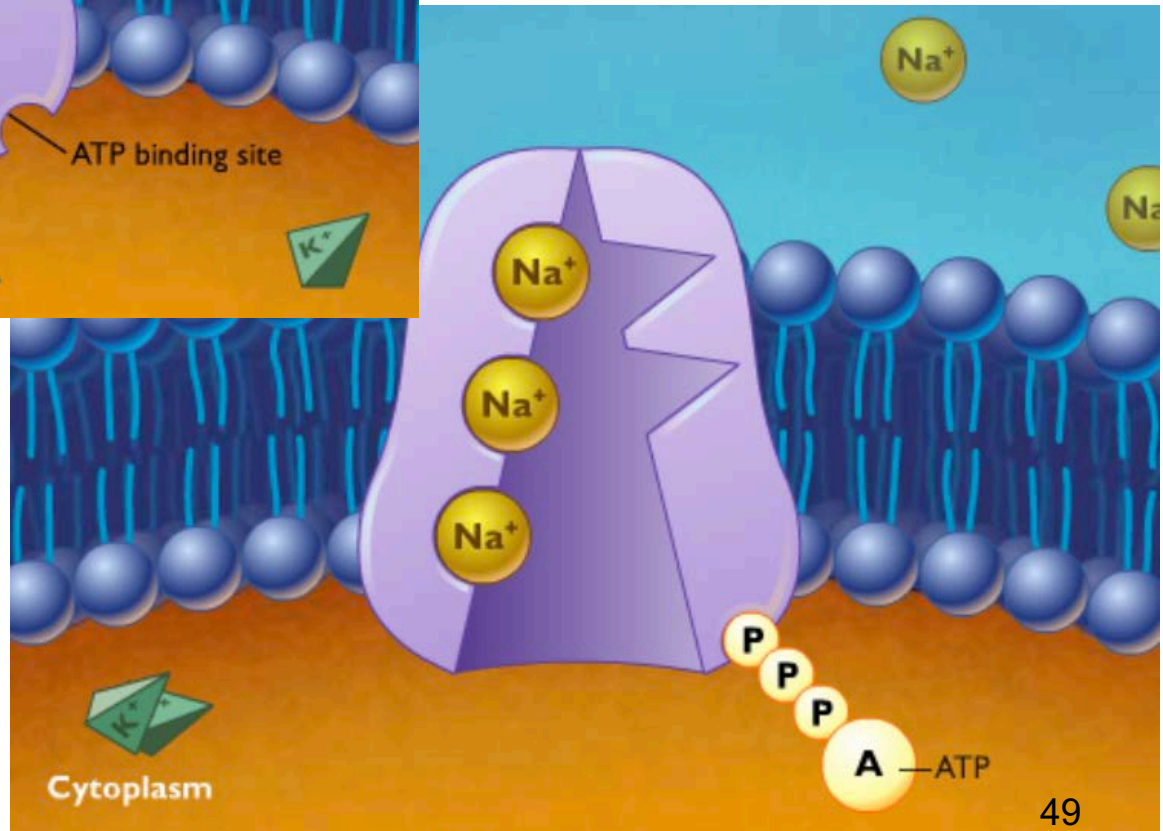
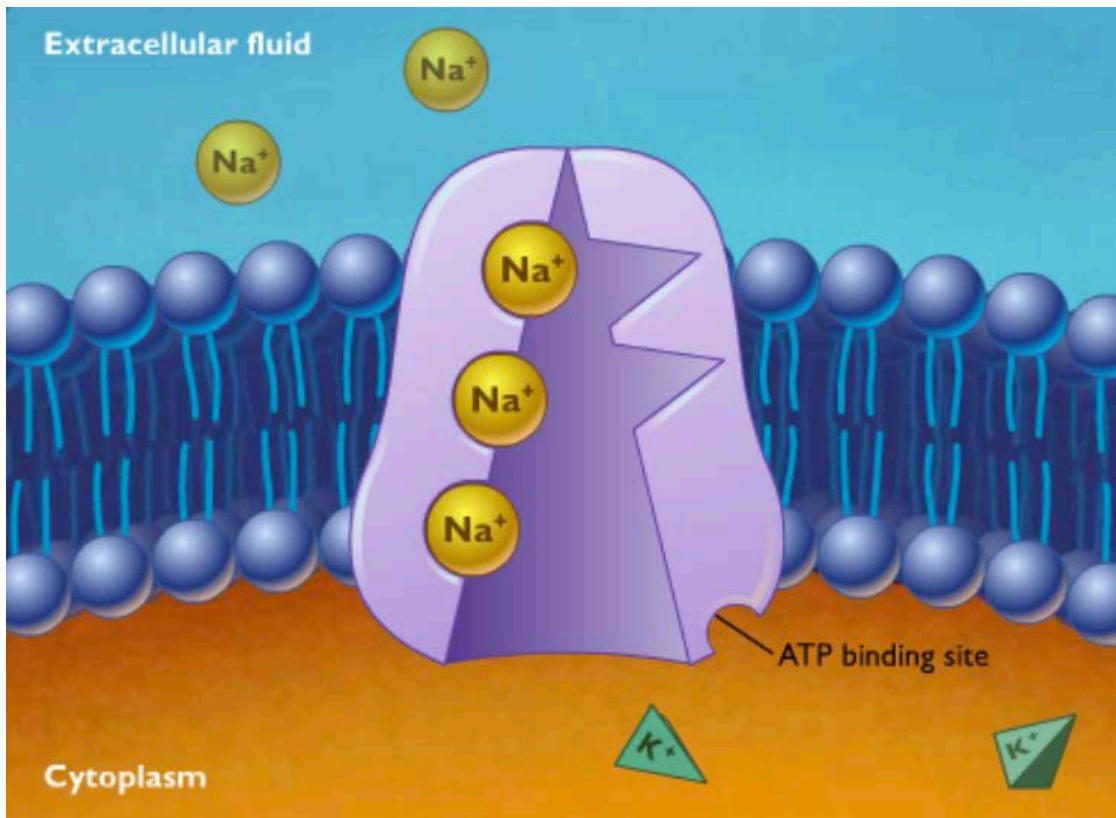
$3\text{Na}^+ \rightarrow$ (out); $2\text{K}^+ \leftarrow$ (in); z toho tedy $\Rightarrow 1^+ \rightarrow$

- Export Na^+ poskytuje hnací sílu pro další sekundární aktivní membránové přenašeče (např. import glukózy, amino kys. a dalších živin)

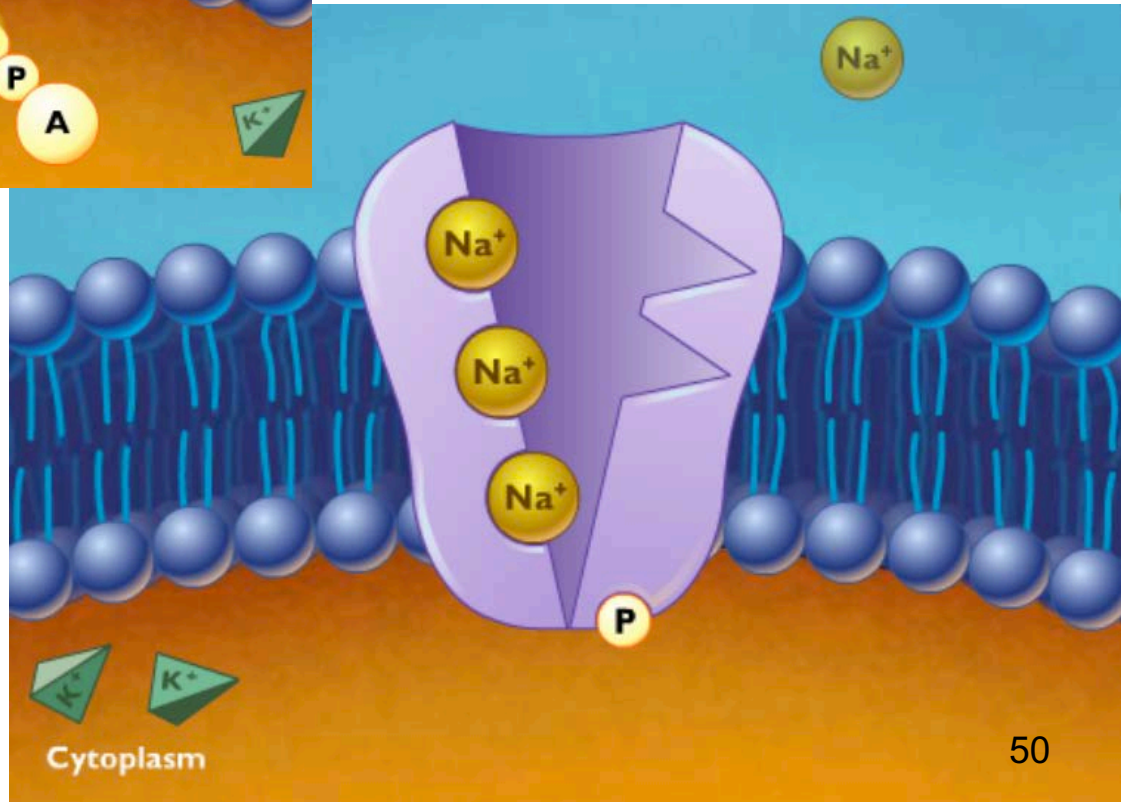
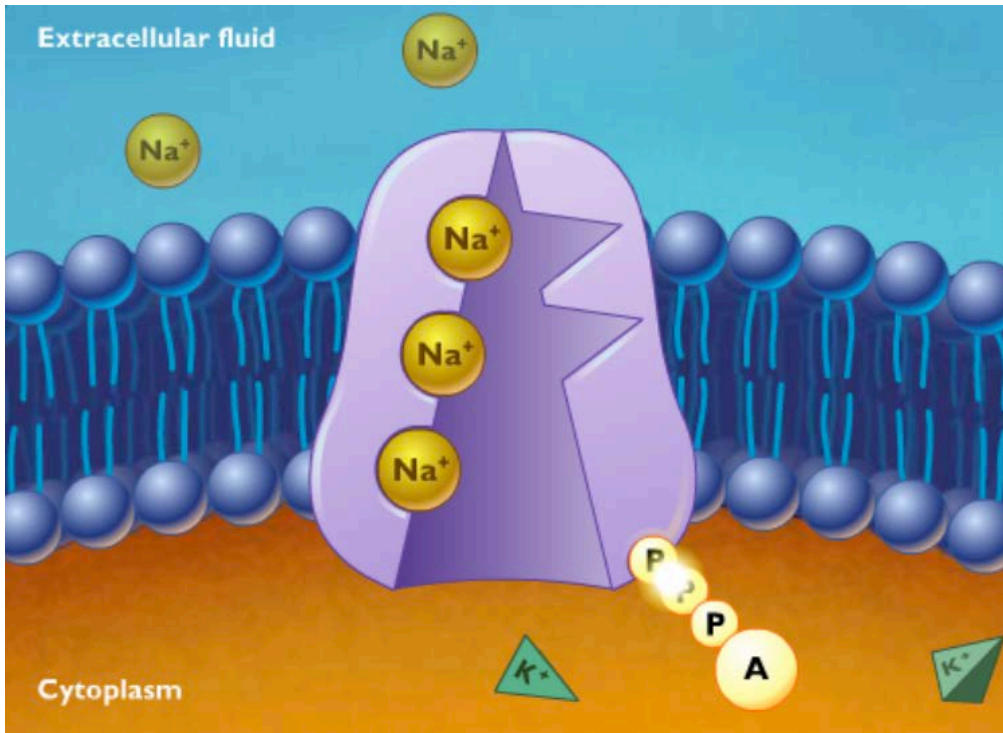
Na⁺/K⁺ pumpa



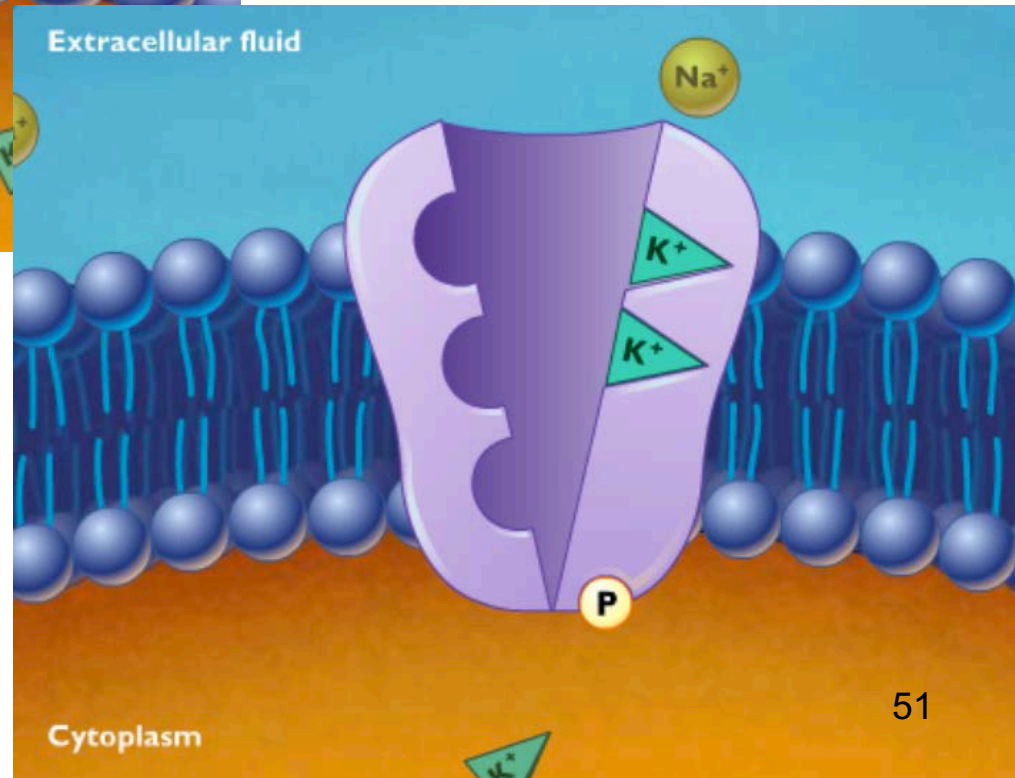
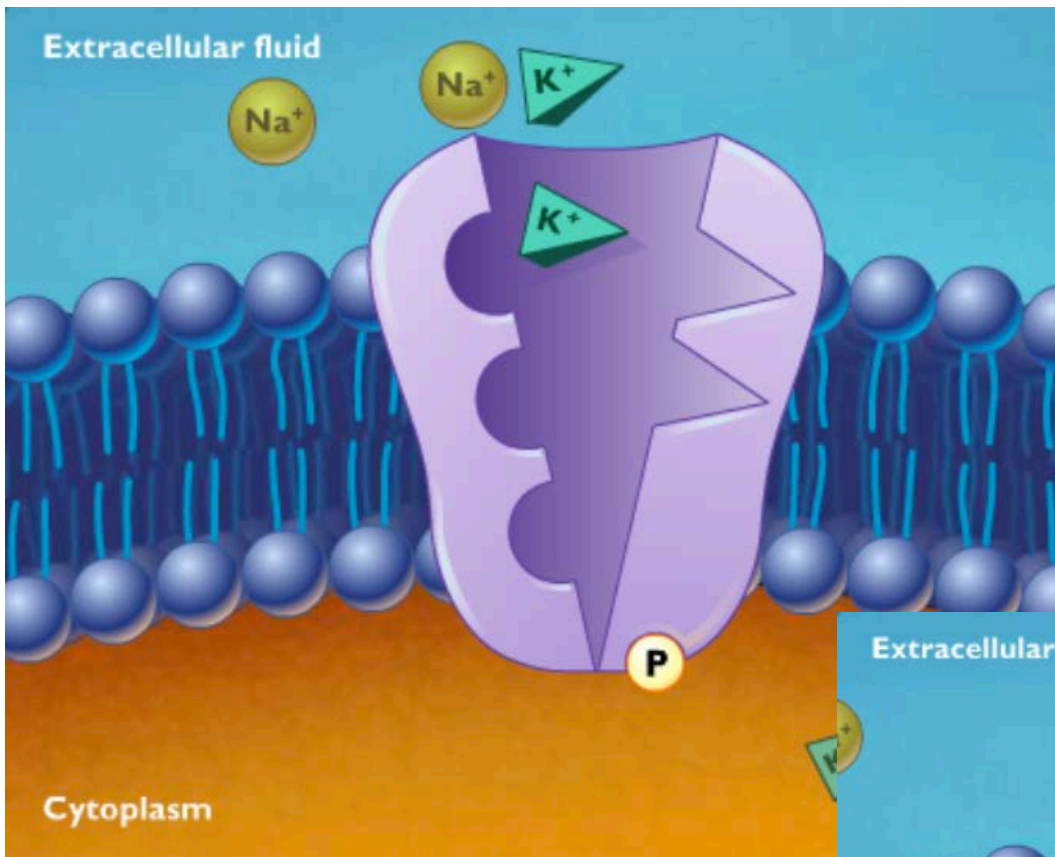
Na⁺/K⁺ pumpa



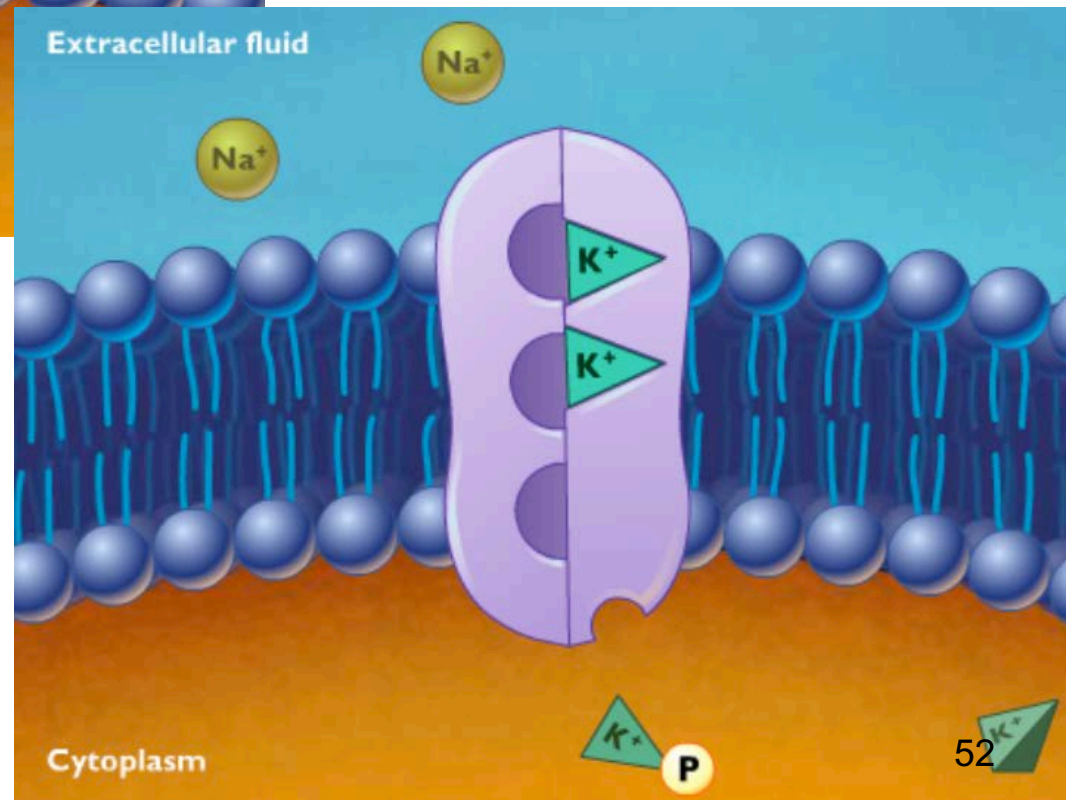
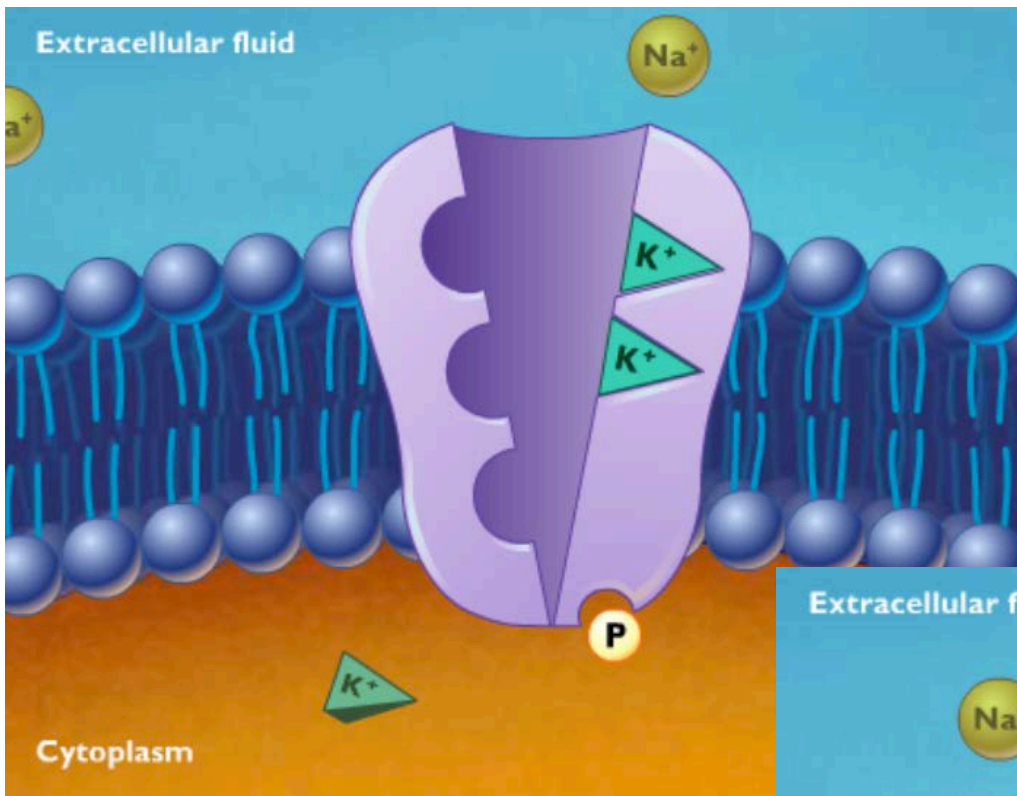
Na⁺/K⁺ pumpa



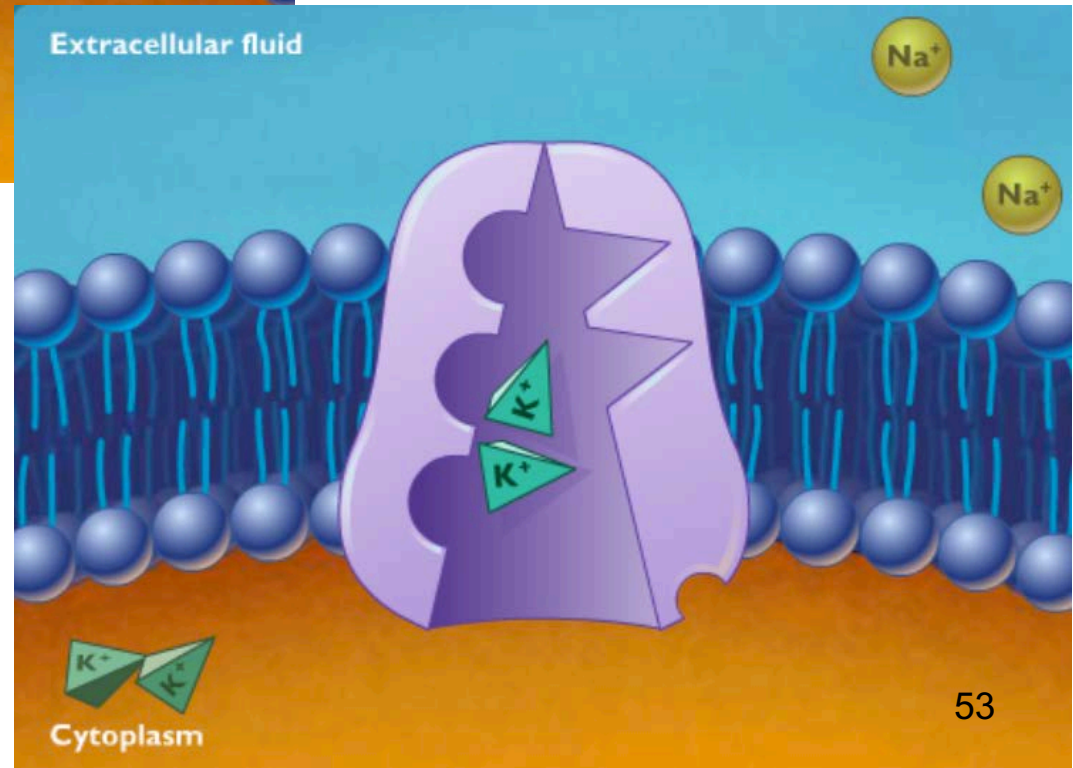
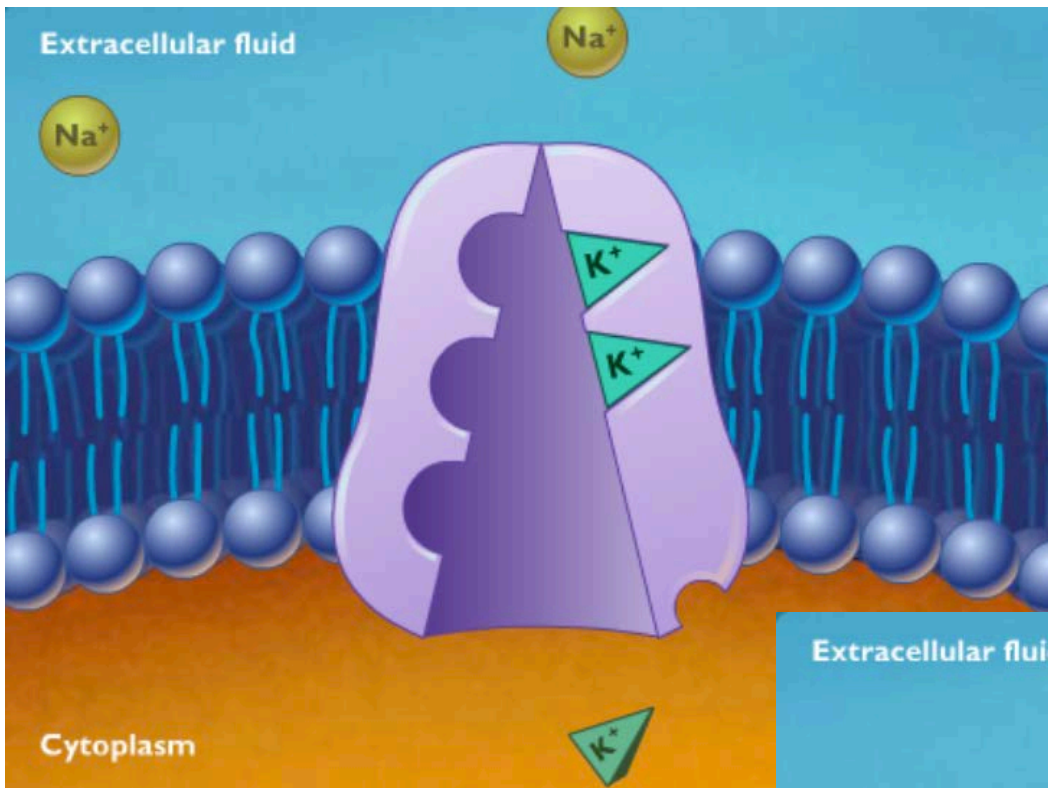
Na⁺/K⁺ pumpa

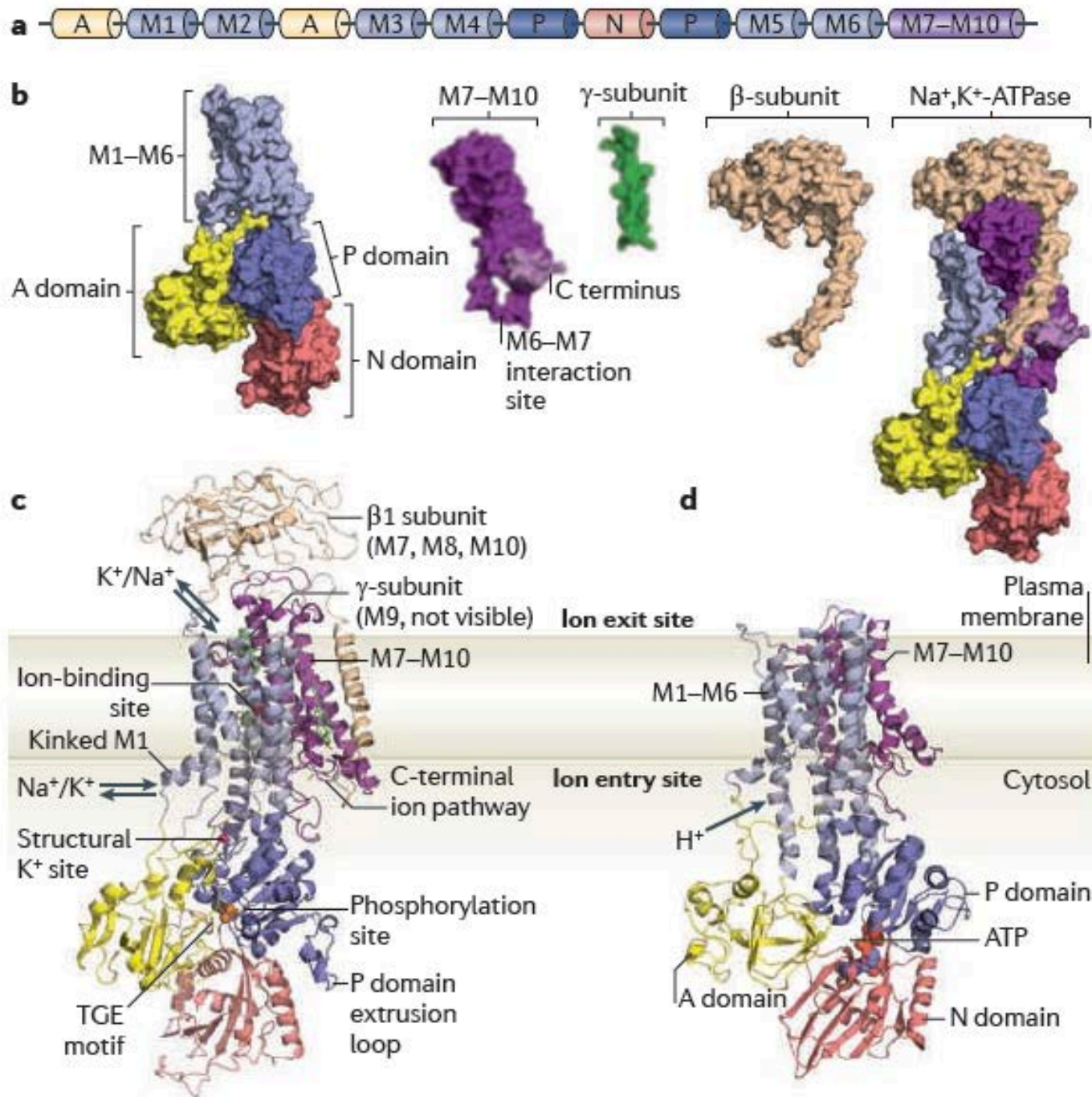


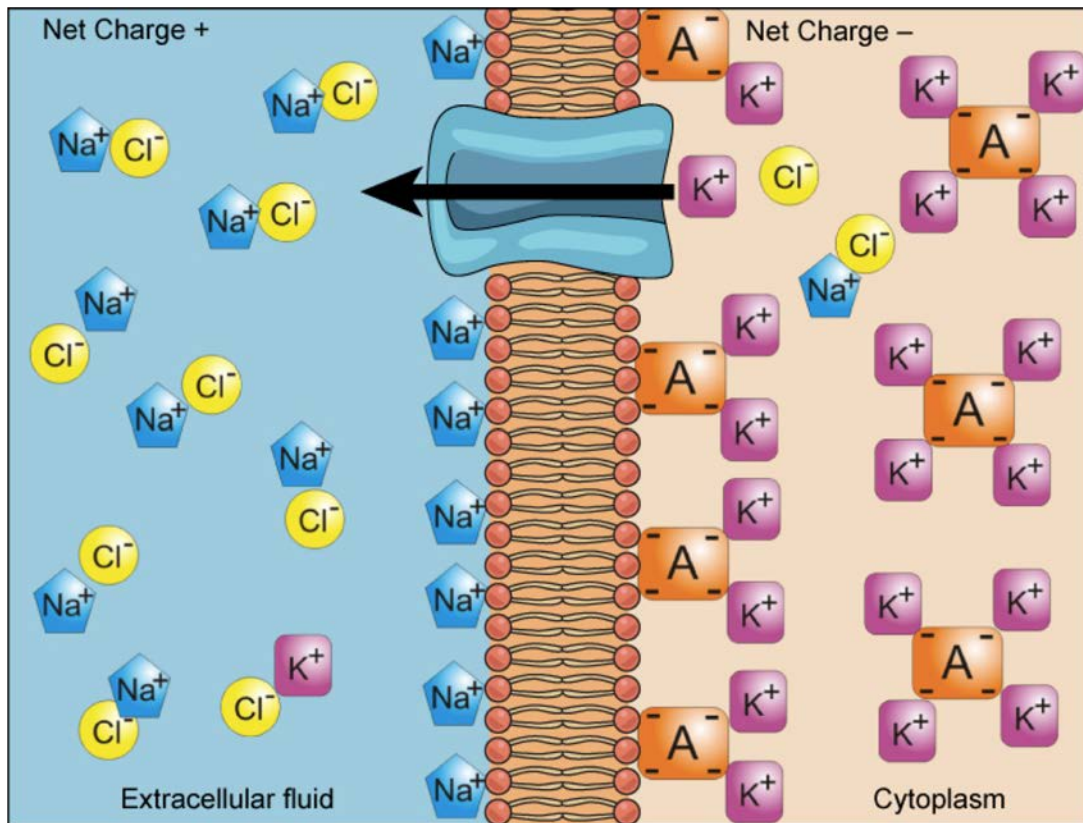
Na⁺/K⁺ pumpa



Na⁺/K⁺ pumpa



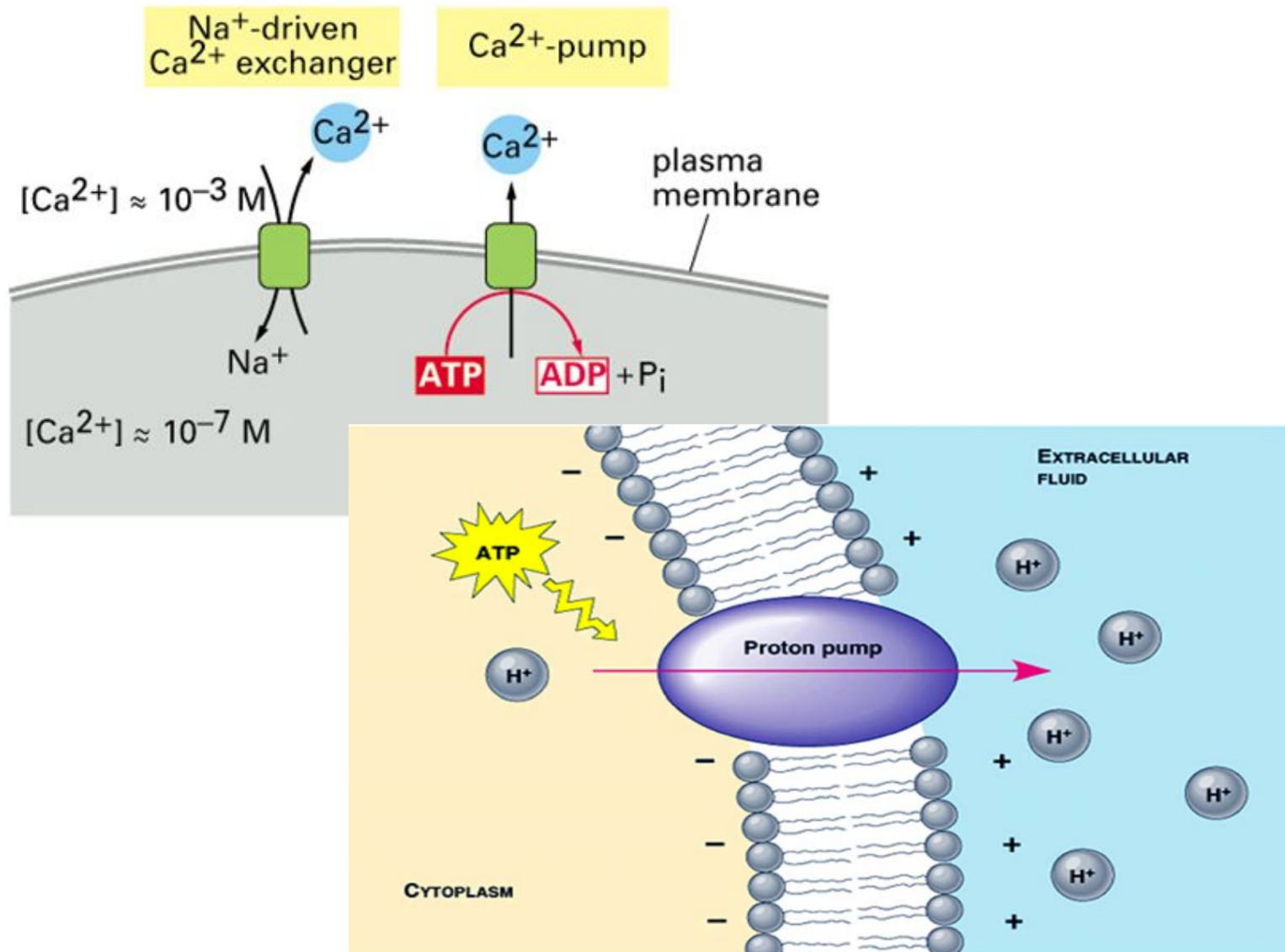




iontů v organismu [2]

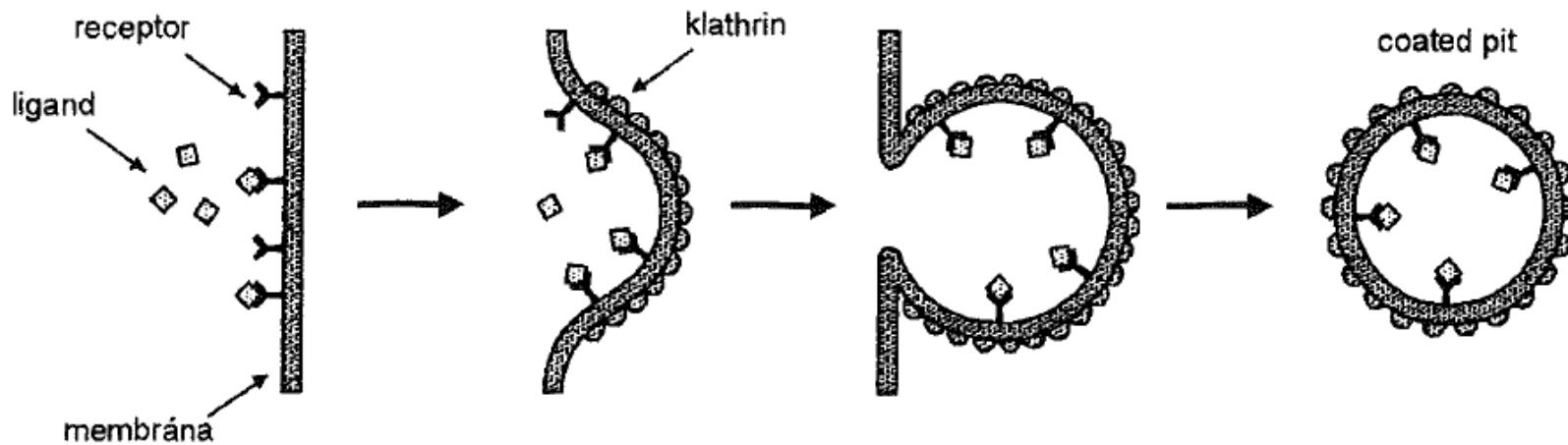
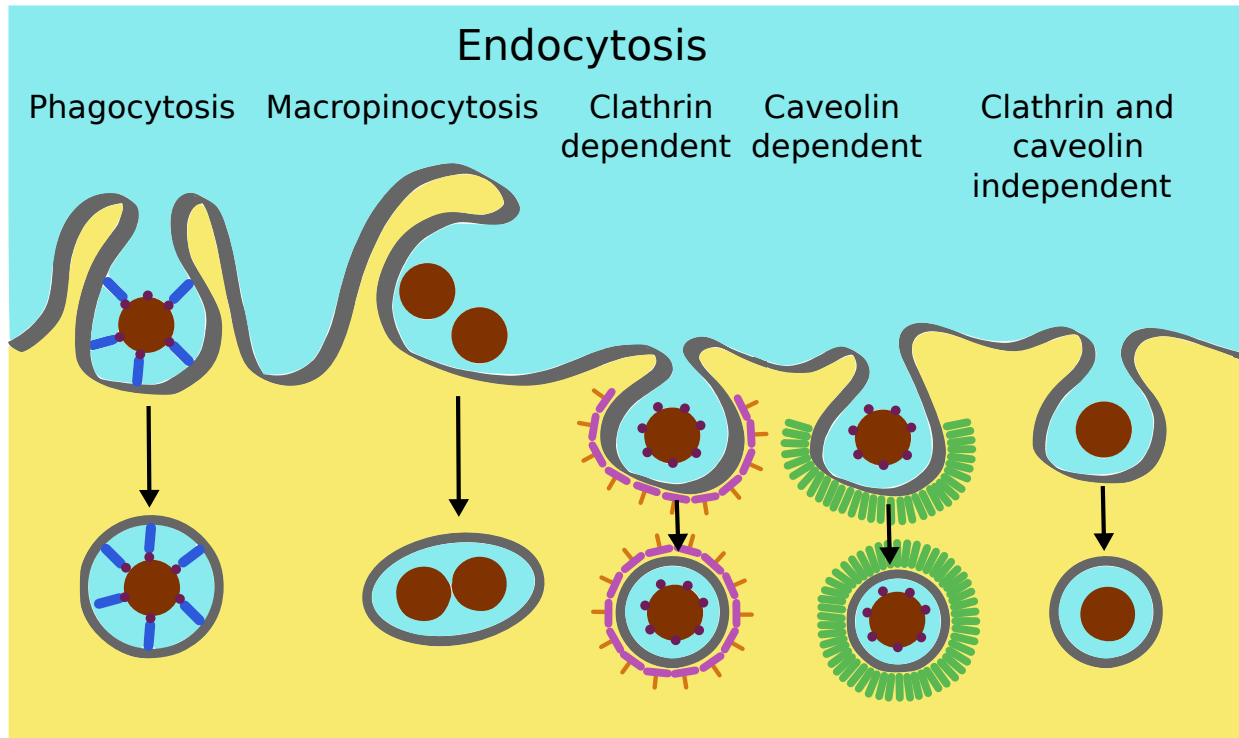
	intracelulárně (mmol/l)	extracelulárně (mmol/l)
Na^+	10–14	140
K^+	140–160	4,4
Cl^-	3,4	108
Anionty proteinů A^-	155	7
Ca^{2+}	0	2,4
HCO_3^-	7–10	24

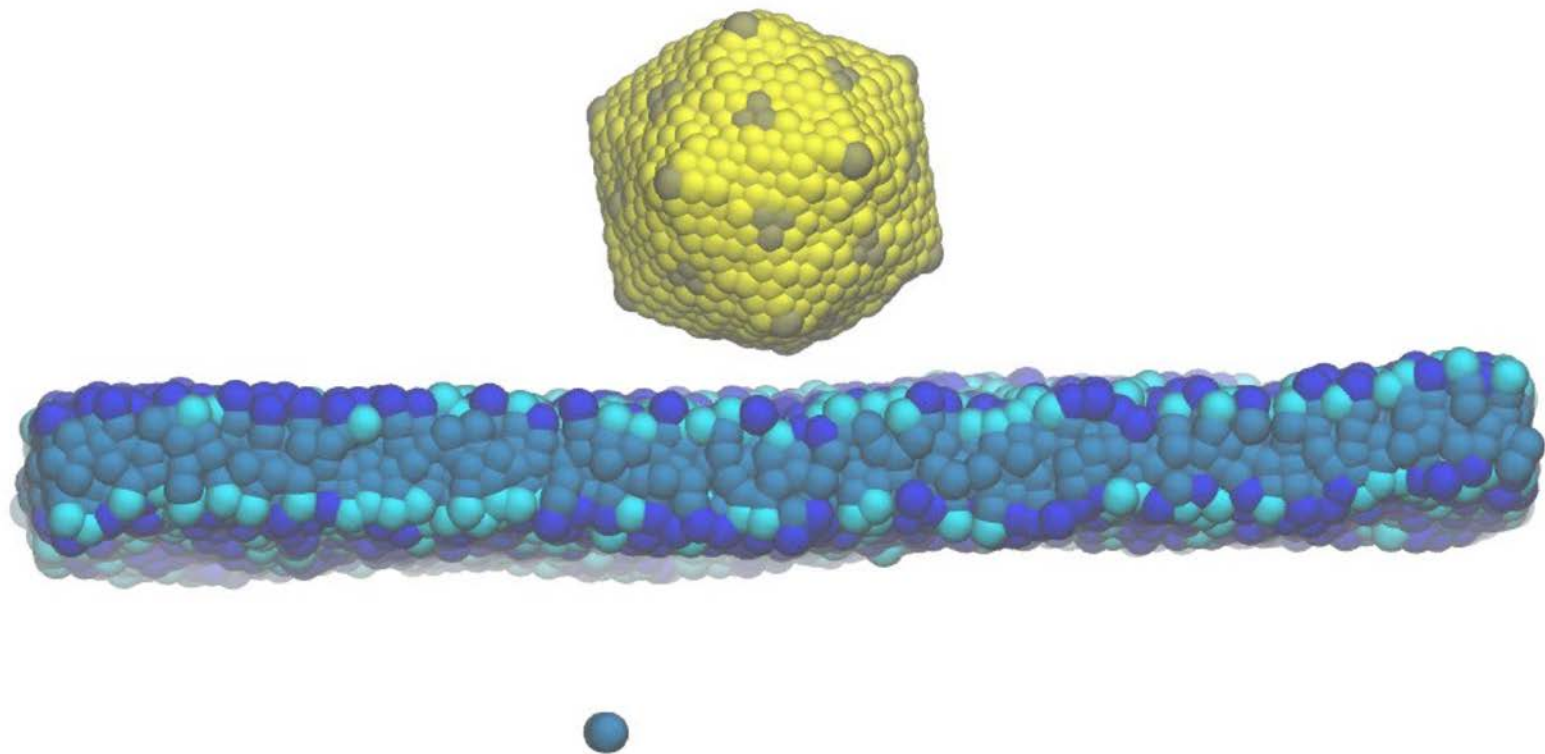
H⁺; Ca²⁺ - pumpy



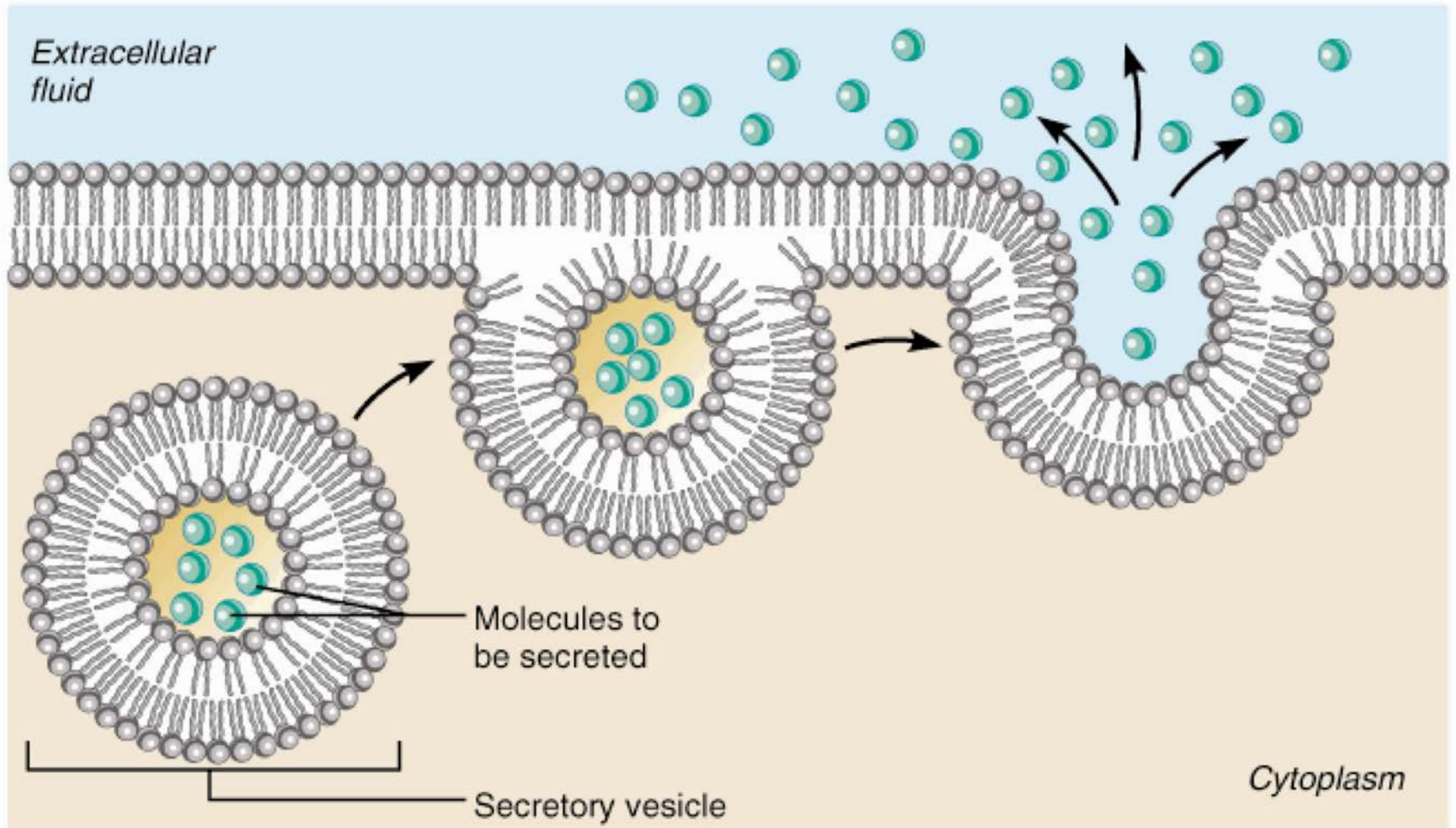
Transportovaná částice	Mechanismus transportu	Lokalisace v savčím organismu
Glukosa	pasivní	většina tkání
	aktivní symport s Na^+	tenké střevo, ledvinové tubuly
Fruktosa	pasivní	střevo, játra
Aminokyseliny	aktivní symport s Na^+ (specificky pro skupiny AK)	střevo, ledviny, játra
	aktivní skupinová transpolace	játra
	pasivní (některé AK)	tenké střevo
Malát, glutamát, aspartát, 2-oxoglutarát, citrát, pyruvát...	pasivní antiport	vnitřní membrána mitochondrie
ATP-ADP	antiport (aktivní nebo pasivní)	vnitřní membrána mitochondrie
H^+	aktivní (respirační řetězec)	vnitřní membrána mitochondrie
Na^+	pasivní	distální tubuly, neuron
$\text{Na}^+ - \text{H}^+$	aktivní antiport	proximální tubuly ledvin, tenké střevo
$\text{Na}^+ - \text{K}^+$	primární aktivní antiport	plasmová membrána všech buněk
Ca^{2+}	primární aktivní	plasmová membrána, endoplasmatická a sarko- plasmatická membrána
$\text{Ca}^{2+} - \text{Na}^+$	aktivní antiport	většina tkání
$\text{H}^+ - \text{K}^+$	aktivní antiport	buňky žaludečního epithelu
Cl^- , HCO_3^-	pasivní antiport	většina buněk, zejména erythrocyty

Endocytóza





Exocytóza



(a)

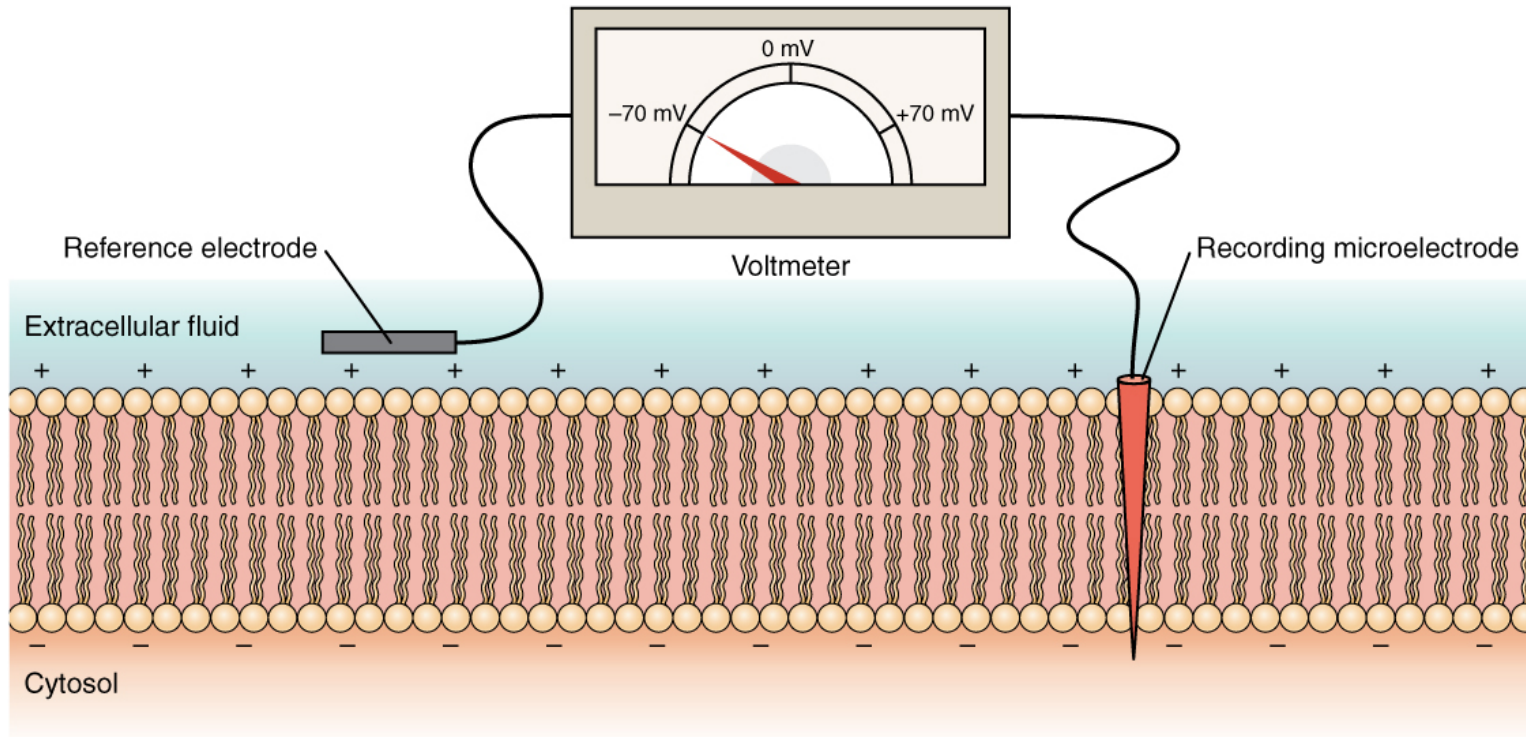
Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Efektivita transportu ovlivněna:

- a) Koncentračním spádem/gradientem
- b) Elektrostatickým potenciálem
- c) Chemicky – ATP, kotransport, ligandy,...
- d) Mechanickými podněty

Membránový potenciál

je elektrický potenciál (rozdíl) vnitřní strany buněčné membrány vztažený k vnějšímu povrchu buňky



je výsledkem **rovnováhy** ustavené na základě působení **koncentračního a elektrického gradientu** iontů. Hodnoty klidového napětí se pohybují v rozmezí **-50 až -90 mV** (v závislosti na tkáni) průměr cca **-70 mV**.

Membránový potenciál

Aktuální hodnota závisí na:

- aktuální selektivní propustnosti membrány pro různé ionty
- intra- a extracelulární koncentraci iontů, pro které je membrána propustná (tzn. *transmembránovém koncentračním gradientu*)
- nedifuzibilních aniontech uvnitř buňky (proteiny)
- efektu iontových pump

Nernstova rovnice

$$E = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X_o]}{[X_i]}$$

E – membránový potenciál,

R – molární plynová konstanta (8,314 J · K⁻¹ · mol⁻¹),

T – teplota v kelvinech (teplota ve ° C +273,15),

z – náboj jednoho iontu,

F – Faradayova konstanta (9,6485 C · mol⁻¹),

[X_o], **[X_i]** – koncentrace daného iontu extracelulárně a intracelulárně.

V prvním přiblížení se počítají jen draselné ionty

$$E = 61 \ln \left(\frac{[4]}{[150]} \right)$$

Membránový potenciál

	X_e (mmol/l)	X_i (mmol/l)	E_x (mV)
Na^+	145	15	+60
K^+	4	150	-96
Ca^{2+}	2,5	10^{-4}	+134
Cl^-	100	5	-79

Walther Hermann Nernst v roce 1920 obdržel NC za objevy v oblasti fyzikální chemie.

Goldmannova rovnice

Goldmanova-Hodgkinova-Katzova rovnice

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{\text{Na}^+} [\text{Na}_o^+] + P_{\text{K}^+} [\text{K}_o^+] + P_{\text{Cl}^-} [\text{Cl}_i^-]}{P_{\text{Na}^+} [\text{Na}_i^+] + P_{\text{K}^+} [\text{K}_i^+] + P_{\text{Cl}^-} [\text{Cl}_o^-]}$$

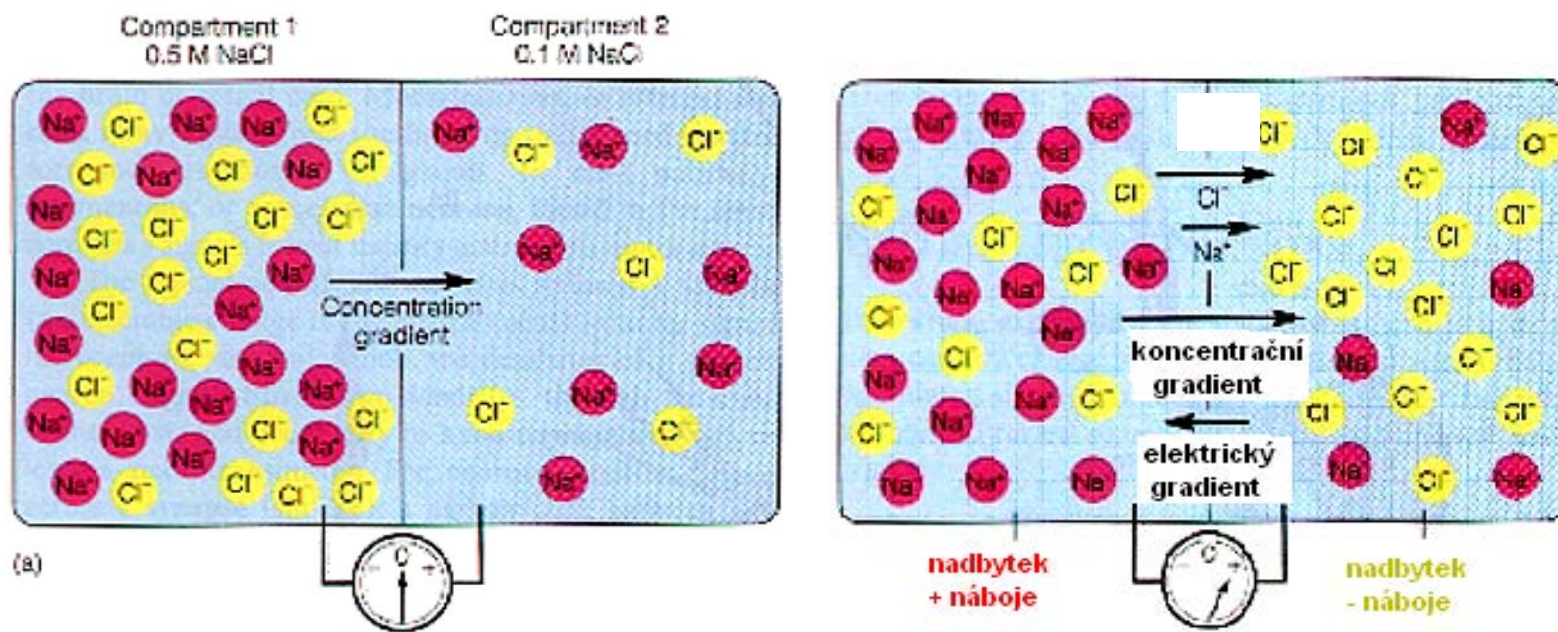
P_x – relativní propustnost pro daný iont.

Elektrostatický potenciál $E = U = \phi_1 - \phi_2$

Membránový potenciál

Potenciál vzniklý difuzí na polopropustné membráně

Gibbs–Donnan effect = Donnan's effect, Donnan law = Donnan equilibrium = Gibbs–Donnan equilibrium



elektricky neutrální, ale je přítomen koncentrační gradient

⇒ vznikne napětí

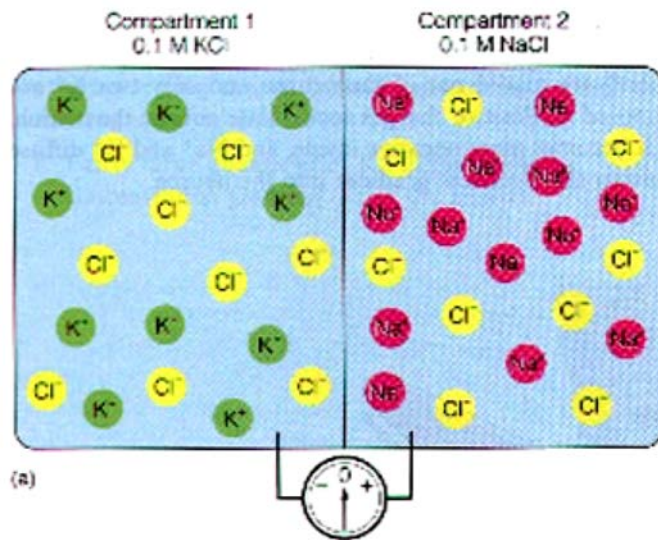
Donnanovo napětí

Gibbs-Donnanova rovnováha

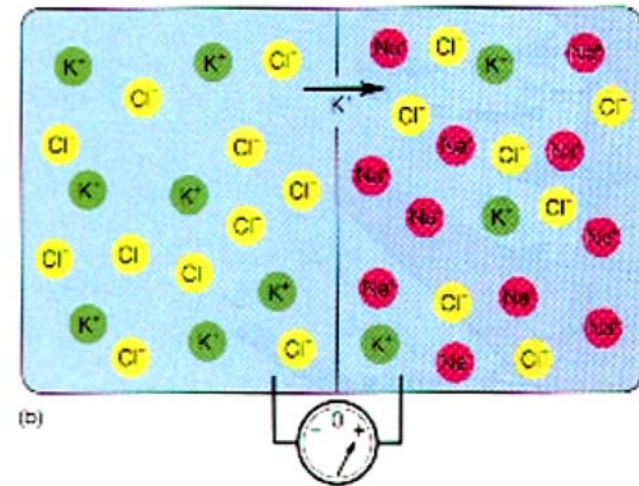
Je rovnováha vzniklá vyrovnáním elektrostatických a osmotických sil

$$C_K^I \times C_A^I = C_K^{II} \times C_A^{II}$$

Donnanův poměr: $r = \sqrt[|z_i|]{\frac{C_i^I}{C_i^{II}}}$ $E = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{C_K^i}{C_K^o} = -\frac{RT}{F} \ln r$



elektricky neutrální, ale je přítomen koncentrační gradient
 ⇒ difuze iontů z [1] do [2]



⇒ vznikne Donnanovo napětí
 není osmotická rovnováha,
 osmotický tlak je vyvážen elstat. 66

Volná energie transportu

Termodynamika

$$\Delta G_{o \rightarrow i} = RT \ln \frac{c_i}{c_o} + zFE$$

v rovnováze je $dG = 0$

Nernst

THE MEMBRANE POTENTIAL AT WHICH THE
MOVEMENT INTO THE CELL EQUALS THE
MOVEMENT OUT OF THE CELL

Akční potenciál

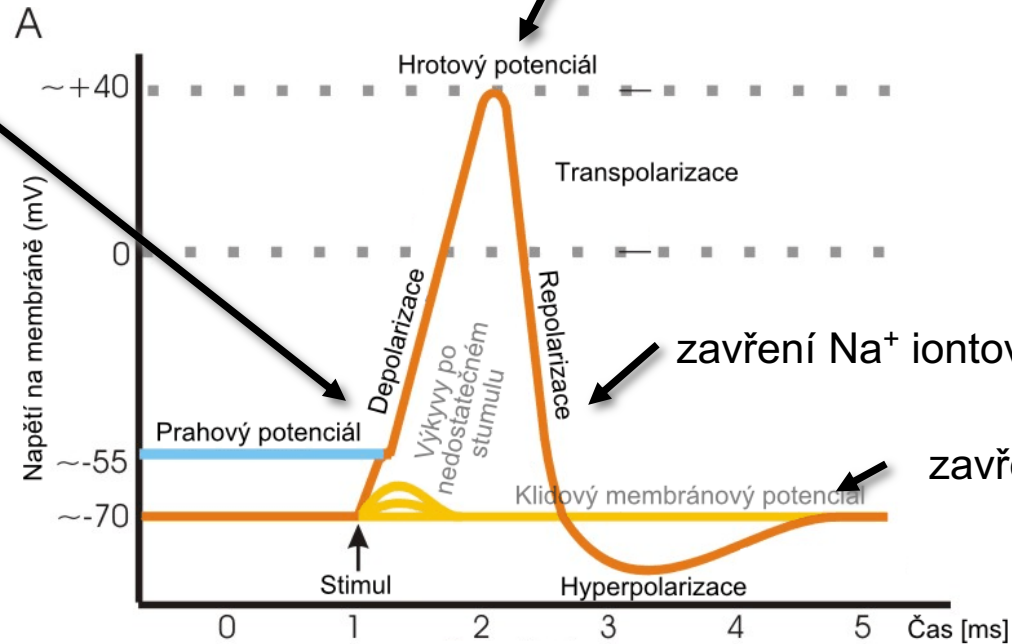
Akční potenciál (vzruch) vzniká změnou klidové rovnováhy (polarizace) na membráně, změnu způsobuje šířící se napětí, které mění aktivitu napěťově řízených iontových kanálů.

otevření Na^+ napěťově řízených iontových kanálů.

Na^+ dle koncentračního i elektrického gradientu

opožděné otevření K^+ kanálů
(K^+ po směru koncentračního gradientu)

+ Na^+/K^+ ATP pumpy

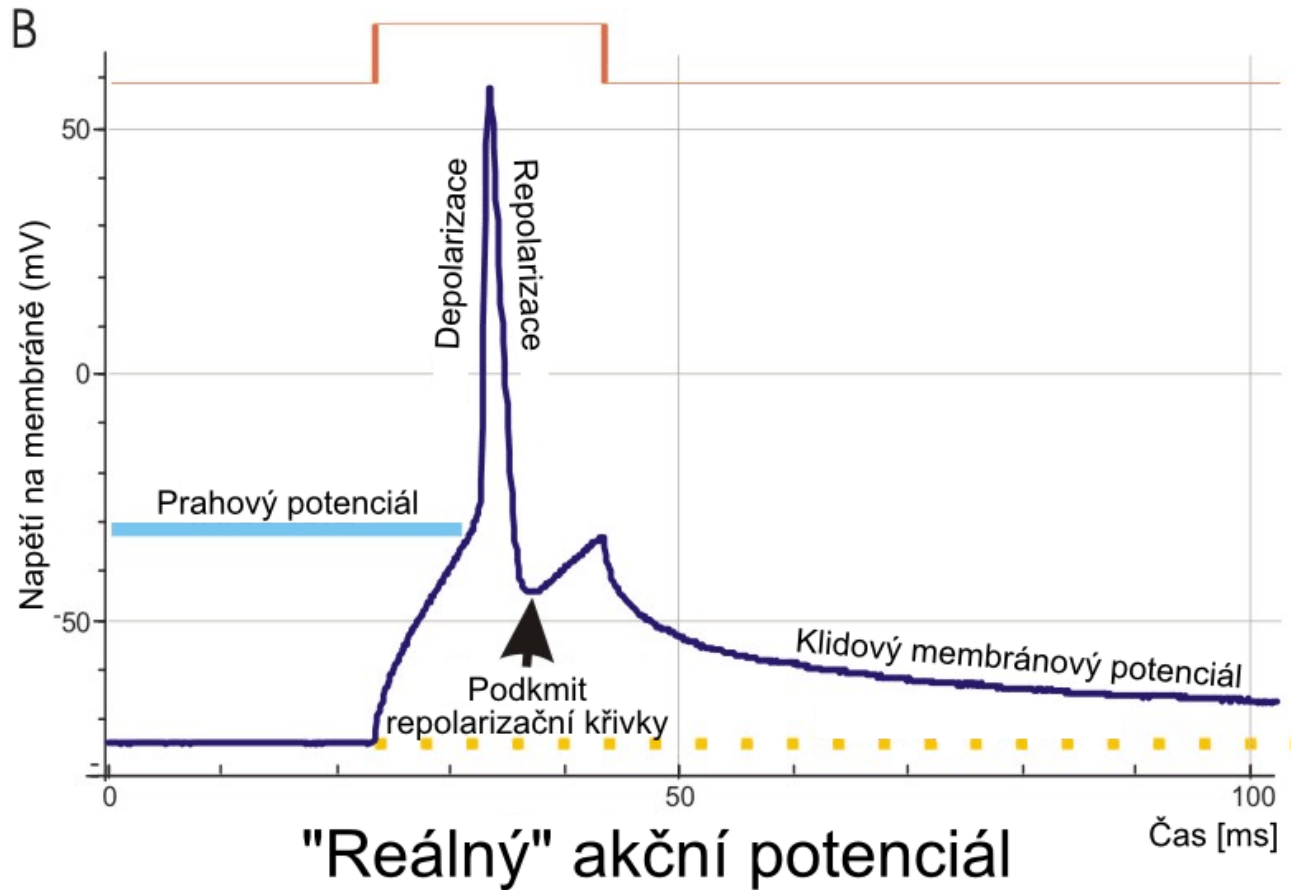


zavření Na^+ iontových kanálů.

zavření K^+ kanálů

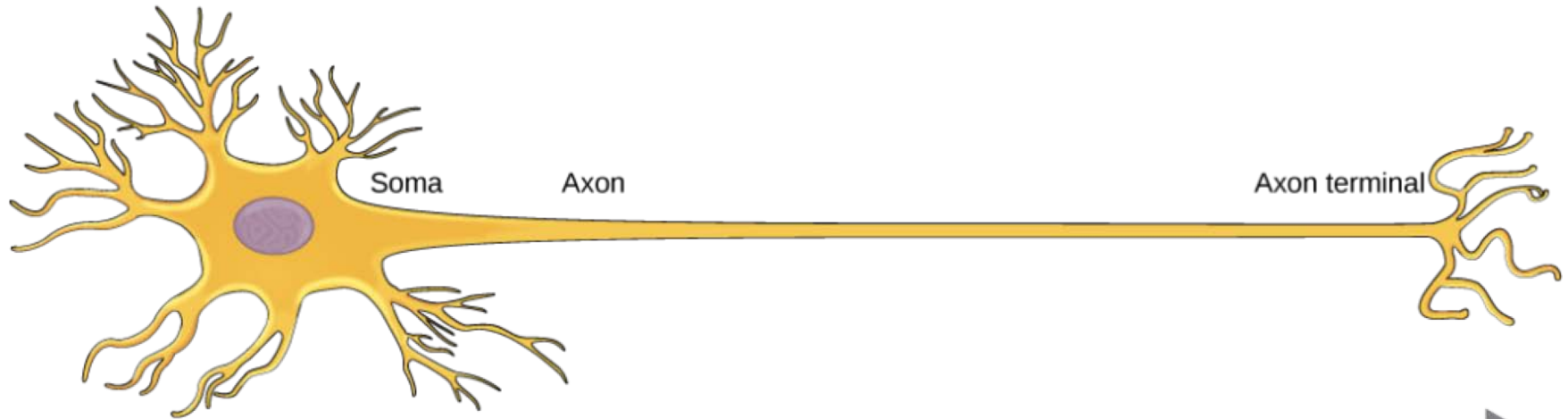
"Učebnicový" akční potenciál

Realný průběh potenciálu



- Elektrické signály zprostředkovávají rychlý přenos informací v organismu.
- Šíří se buňkami nervového systému i svalovými buňkami

Nervový signál

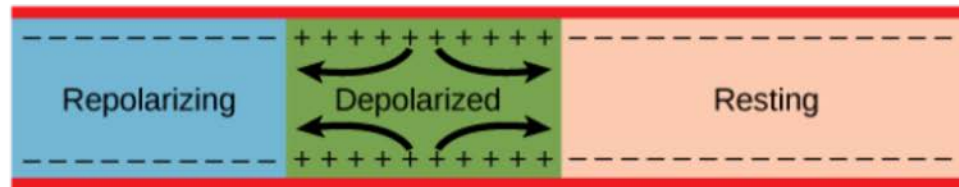


Direction of travel of action potential

a. In response to a signal, the soma end of the axon becomes depolarized.



b. The depolarization spreads down the axon. Meanwhile, the first part of the membrane repolarizes. Because Na^+ channels are inactivated and additional K^+ channels have opened, the membrane cannot depolarize again.



c. The action potential continues to travel down the axon.

