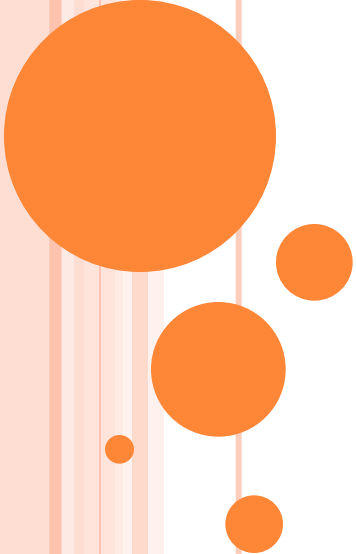
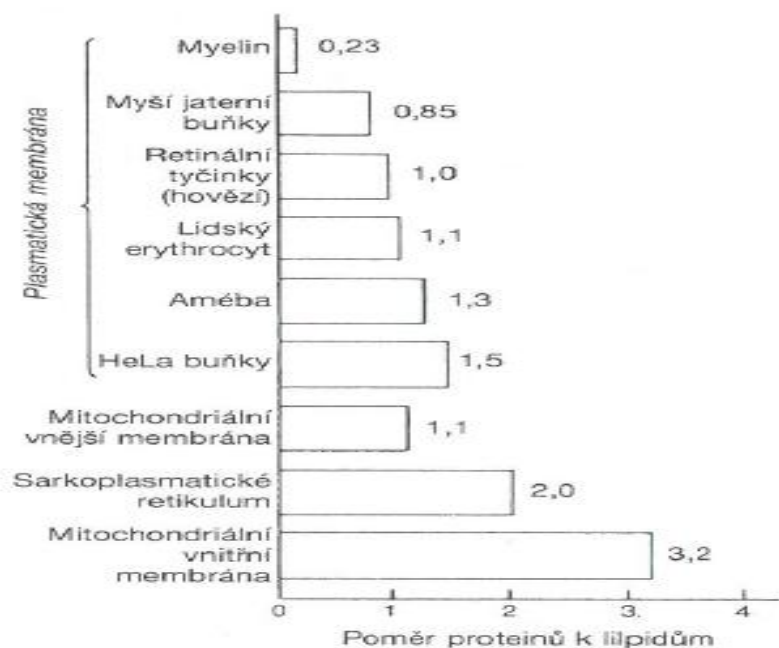




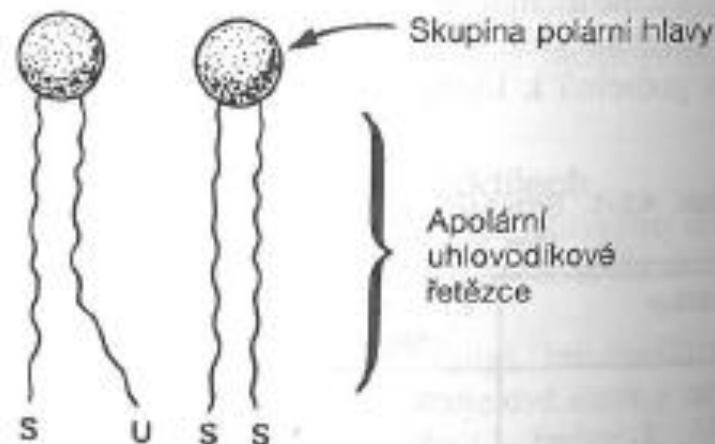
BIOMEMBRÁNY

Sára Jechová, leden 2014

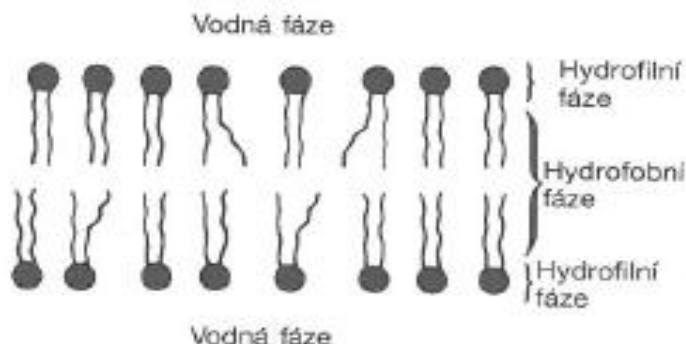
- zajišťují **ohraničení buněk- plasmatické membrány**- okolo buněčné protoplazmy, bariéra v udržování rozdílů mezi prostředím uvnitř buňky a okolím a **organel= intercelulární membrány**- lokalizace enzymů, integrální články spojení signál- odpověď, přeměna energie při fotosyntéze, oxidativní fosforylaci
- oddělují **dvě polární vodná prostředí**- vnější a vnitřní - enzymové reakce, buněčné, subcelulární procesy přizpůsobeny vodnému prostředí
- jejich základem je **lipidová dvojná vrstva- amfifilní= amfipatické molekuly lipidů- hydrofobní= nesmáčivá, vodopudivá část - dlouhý nepolární řetězec a hydrofilní= smáčivá, rozpustná polární hlava**
- **vnitřní část dvojné vrstvy je mimořádně nepropustná pro iontové a polární látky**- musí se zbavit hydratačního obalu, aby prošly- energeticky málo výhodné, **malé, ač polární molekuly vody biomembránami** v určité míře **pronikají**, snadno přes ni difundují O_2 , CO_2 a dusík, **ochotně prostupují membránami lipidní molekuly** např. steroidní hormony,
- biomembrány se chovají jako **dvojměrné povrchové tekutiny**, v nichž si molekuly vzájemně vyměňují polohu
- obsahují- li **nasycené mastné kyseliny=>rovný řetězec**, **nenasycené mastné kyseliny** obecně v membránách v **cis formě=> zalomené řetězce**- čím více zalomené řetězce- tím volněji uspořádaná membrána- tudíž více tekutá= fluidní
- => **fluidita biomembrán klesá s rostoucím podílem nasycených mastných kyselin a s rostoucím obsahem cholesterolu**
- mají **asymetrickou strukturu**- způsobuje jí:
 - 1) **nepravidelné zastoupením proteinů** v membráně
 - 2) rozdíl mezi vnitřním a vnějším povrchem- **připojení sacharidů k lipidům, či proteinům na vnějším povrchu= příčná asymetrie**
 - 3) **příčná asymetrie fosfolipidů**
 - 4) **lokalizace specifických enzymů** výlučně na vnější nebo na vnitřní části membrány- mitochondriální, plasmatická membrána
 - 5) **asymetrie mezi oblastmi membrány**



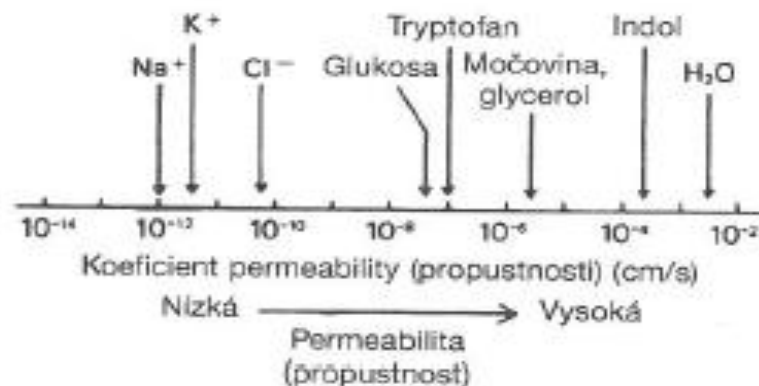
Obr. 43-1. Poměr proteinů k lipidům v různých membránách. Množství proteinů se rovná nebo přesahuje množství lipidů téměř ve všech membránách. Významnou výjimkou je myelin, elektrický izolátor, vyskytující se na mnoha nervových vláknech.



Obr. 43-3. Schematické znázornění fosfolipidu nebo jiného membránového lipidu. Skupina polární hlavy je hydrofilní a uhlovodíkové řetězce jsou hydrofobní nebo lipofilní. Řetězce mastných kyselin jsou buď nasycené (angl. saturated, S) nebo nenasycené (angl. unsaturated, U). První jsou obvykle připojeny na C-1 glycerolu a druhé na C-2.

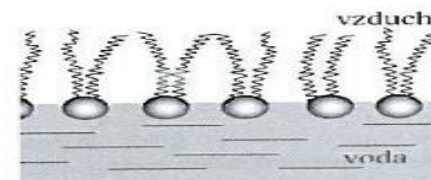


Obr. 43-5. Schema řezu dvouvrstevnou membránou, tvořenou molekulami fosfolipidů. Řetězce nenasycených mastných kyselin jsou pokroucené a to vede k zvětšení prostoru mezi polárními skupinami, což způsobuje zvýšenou pohyblivost. (Mírně upraveno a reprodukováno, se souhlasem, podle Stryer L.: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman, 1981.)



Obr. 43-6. Koeficienty permeability vody, některých iontů a malých molekul v lipidní dvouvrstevné membráně. Molekuly, které se pohybují v dané membráně rychleji, mají větší koeficient permeability. (Mírně upraveno a reprodukováno, se souhlasem, podle Stryer L.: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman 1981.)

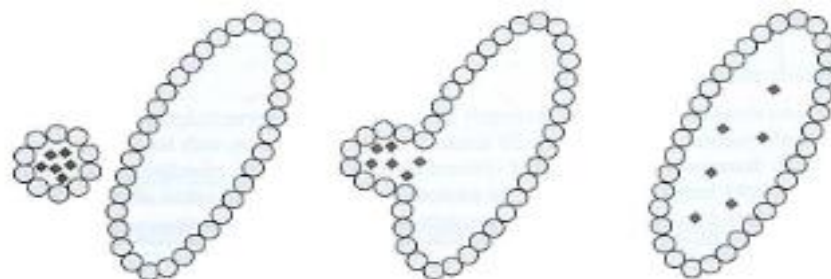
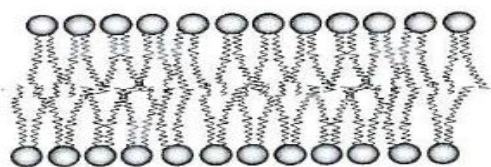
- ve **vodném prostředí** mají amfifilní molekuly tendenci umístit své hydrofobní konce mimo vodné prostředí= **thermodynamicky výhodná struktura** pro obě oblasti
- na **vodní hladině**= fázové rozhraní voda- vzduch- vzniká **molekulární vrstvička**- hydrofilní konce ponořeny ve vodě, hydrofobní ční do vzduchu



- uvnitř roztoku**- molekuly se shlukují do kulovitých útvarů= **micely**- hydrofilní části molekul na povrchu, hydrofobní řetězce míří dovnitř shluku



- lipidy se dvěma uhlíkovými řetězci- fosfoacylglyceroly a sfingolipidy** se formují do **dvojné vrstvy**- hydrofobní řetězce namířeny proti sobě, vrstev může být na sobě umístěno opakovaně více, ale vždy u sebe dvě polární a nepochybně i nepolární strany
- suspenze těchto lipidů vytváří **lipozomy**- váčky naplněné tekutinou a obalené dvojnou vrstvou, stěna podobná biomembráně, se kterou může splynout=> perspektiva podávání léků uzavřených ve vnitřním prostoru přímo do tkání



Obrázek 41: Splnutí lipozomu s buňkou (pro jednoduchost je dvojvrstva znázorněna kuličkami).

LIPIDY V LIDSKÉM TĚLE

Hlavními lipidy v lidském těle jsou fosfolipidy, glykosfingolipidy, steroly- cholesterol

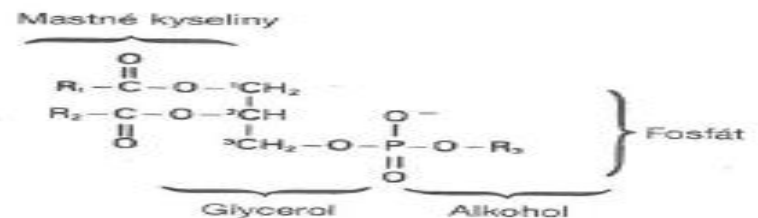
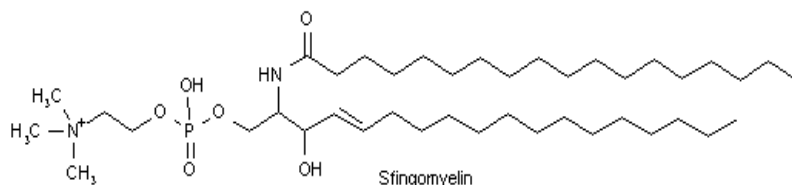
Fosfolipidy

1. fosfoacylglyceroly

- nejrozšířenější ze dvou hlavních tříd fosfolipidů
- glycerolová kostra** na ní **esterovou vazbou** připojeny **dvě mastné kyseliny**- většinou sudý počet uhlíkových atomů- nejčastěji 16 nebo 18, nerozvětvené, nasycené, či nenasycené **a fosforylovaný alkohol**
- nejjednodušší **fosfatidová kyselina- 1,2- diacylglycerol-3-fosfát**- klíčový intermediát při tvorbě ostatních fosfolipidů
- u ostatních fosfolipidů je 3- fosfát esterifikován alkoholem jako ethanolamin, cholin, serin, glycerol, inositol

2. sfingomyeliny

- namísto glycerolu **sfingeninová kostra**
- mastná kyselina** připojena **amidovou vazbou** na aminoskupinu sfingeninu
- primární hydroxylová skupina sfingeninu je esterifikována **fosforylcholinem**
- převažující složkou **myelinových pochev**



Obr. 43-2. Fosfoacylglycerol s mastnými kyselinami (R₁ a R₂), glycerolem a fosforylovaným alkoholem. U kyseliny fosfatidové je R₃ vodík.

- **glykosfingolipidy**
 - lipidy **obsahující cukr**
 - liší se od sfingomyelinů charakterem molekuly navázané na primární hydroxylovou skupinu sfingeninu
- 1. **cerebrosidy**- obsahují na tomto místě **hexosu** – glukosu nebo galaktosu
- 2. **gangliosidy**- obsahují na tomto místě- **řetězec tří nebo více cukrů**- alespoň jedna kyselina sialová
- **steroly**
 - nejrozšířenější v membránách **cholesterol**- téměř výlučně **v plasmatických membránách buněk savců**, v menší míře v mitochondriích, Golgiho aparátu, jaderné membráně
 - hojnější na **vnější straně membrán** vsunut **mezi molekuly fosfolipidů**, orientován hydroxylovou skupinou k vodnému rozhraní a zbytkem molekuly do membrány



PROTEINY V BIOMEMBRÁNÁCH

- o dvojná vrstva lipidů biolmembrán je protkána membránovými proteiny
- o rozdělují se podle umístění na membráně

1. Integrální proteiny

většina membránových proteinů

mají **globulární tvar, amfipatický charakter**- dva hydrofilní konce a vložená hydrofobní oblast v lipofilním jádře dvojvrstvy

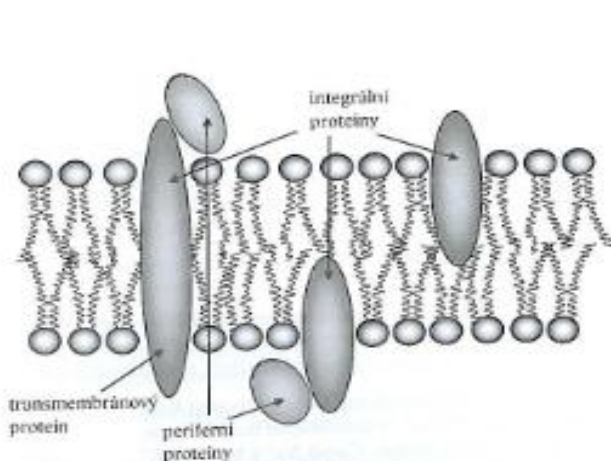
jsou **vázány k membráně pevně hydrofobními interakcemi**- interakce s fosfolipidy, k uvolnění potřeba tensinů

mohou být **transmembránové**= procházejí membránou z jedné strany na druhou

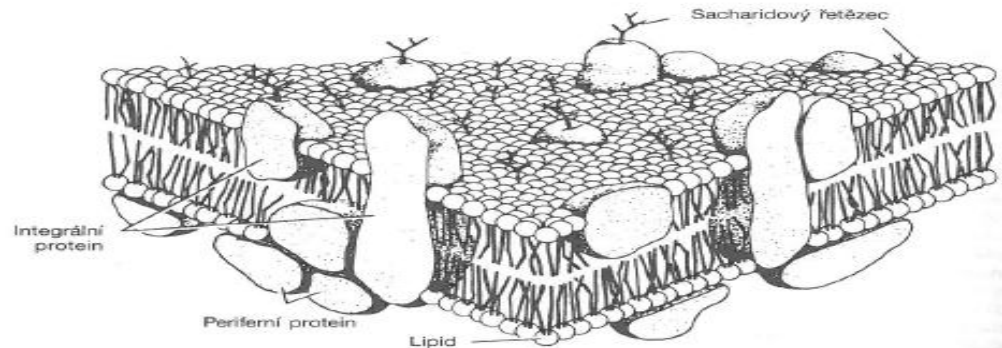
2. Periferní proteiny

k membráně jsou vázány slabě, většinou poutány **elektrostatickými silami na integrální proteiny**, z vazby jsou uvolnitelné solnými roztoky o velké iontové síle

jedná se např. o imunoglobuliny na plasmatické membráně lymfocytů, hormonové receptory, specifické polypeptidové hormony, které se na ně vážou



Obrázek 42: Membránové proteiny



Obr. 43-7. Model tekuté mosazky pro membránovou strukturu. Membrána je tvořena bimolekulární lipidovou vrstvou a proteiny, ponořenými do ní nebo vázanými na cytoplasmatický povrch. Integrální membránové proteiny jsou pevně zapuštěny v lipidových vrstvách. Některé z nich procházejí celou dvouvrstvou, tzv. transmembránové proteiny. Jiné jsou uloženy buď ve vnější nebo ve vnitřní polovině lipidové dvouvrstvy. Periferní proteiny jsou slabě vázány k vnějšímu nebo vnitřnímu povrchu membrány. Mnoho proteinů a lipidů má oligosacharidový řetězec exponovaný na povrchu. (Reprodukováno, se svolením, z Jungueira L. C., Caneiro J., Kelly R. O.: *Basic Histology*, 7th ed. Appleton & Lange, 1992.)

FUNKCE MEMBRÁNOVÝCH PROTEINŮ

1. **strukturní**- udržování struktury biomembrán napojením na cytoskelet
2. **enzymová**- katalýza reakcí- redoxní enzymové komplexy elektronového transportního řetězce, **ATP- synthasa**- vnitřní membrána mitochondrie
3. **funkce enzymů**- u bakterií- některé membránové proteiny na místě syntetizují membránové lipidy (u eukaryotních organismů dochází k syntéze lipidů na cytosolové straně biomembrány endoplazmatického retikula- doprava na místo určení membránovými váčky nebo tzv. výměnnými proteiny)
4. **transportní**- přenašeče k přenosu látek přes membránu
5. **receptorová**- příjem chemických signálů- např. insulinový receptor reaguje na insulin=>je otevřen přednašeč glukosy a glukosa putuje do buňky

Tab. 43–2. Enzymové markery různých membrán.¹

Membrána	Enzym
Plasmatická	5'-Nukleotidasa Adenylátcyklasa Na ⁺ /K ⁺ -ATPasa
Endoplasmatické retikulum	Glukosa-6-fosfatasa
Golgiho komplex	Galaktosyltransferasa
Vnitřní mitochondriální membrána	ATP-synthasa

¹Membrány obsahují mnoho proteinů, některé z nich mají enzymovou aktivitu. Některé z těchto enzymů jsou lokalizovány pouze v určitých membránách a mohou být tudíž využity jako markery ke sledování purifikace membrán.



SACHARIDY V BIOMEMBRÁNÁCH

- na **vnější straně buněčných membrán**
- vázány na:
 1. lipidy- ve formě **glykolipidů**
 2. proteiny- ve formě **glykoproteinů**- obsahují oligosacharidy nebo **proteoglykanů**- obsahují dlouhé polysacharidové řetězce
- jako celek vytváří všechny sacharidy kolem vnější strany buňky plášť zvaný **glykokalyx**
- **funkce glykokalyxu:**
 1. **ochrana mechanická, chemická**
 2. **absorpce vody**=> slizký povrch buněk- pohyb buněk- bílé krvinky, uchycování bakterií na různém povrchu
 3. **specifické sacharidové složení míst na povrchu buňky-**
 - **vyhledávání specifických míst některými proteiny= lektiny**- bílkovinné albuminy, specificky se vážou s určitými glykosidickými zbytky např. konkanavadin A
 - **vzájemné rozeznávání buněk** (v mnohobuněčném organismu)
 - u červených krvinek **zařazení krve do krevní skupiny**- systém AB0



TRANSPORT PŘES BIOMEMBRÁNY

A. pasivní přenos

- o **nevyžaduje energii**= spontánní pohyb směřující k rovnováze
- o jeho **hnací silou** je:
 1. **koncentrační elektrochemický spád**
 - **chemický spád**- pohyb z místa o vysoké do místa o nízké koncentraci
 - **elektrický spád**- pohyb směrem k roztoku s opačným nábojem (vnitřek buňky má obvykle negativní náboj)
 2. **tepelný pohyb molekul**- **vzrůst teploty, zvýšení hydrostatického tlaku**=> zvýšení ohybu částic=> zvýšení četnosti srážek mezi vnější částicí a membránou
 3. **rozpuštěnost molekul v hydrofobním jádře** membránové dvojvrstvy- viz koeficient permeability obr. 43-6
 - **rozpuštěnost je nepřímo úměrná počtu vodíkových vazeb**, které musí být přerušeny, aby byla látka z vnější vodné vrstvy přemístěna do hydrofobní vrstvy
 - **elektrolyty**- špatně rozpustné v lipidech, **netvoří s vodou vodíkové vazby**, ale jsou **obklopeny vrstvou molekul vody následkem hydratace elektrostatickými interakcemi**- velikost přímo úměrná nábojové hustotě elektrolytu- **elektrolyty s velkou nábojovou hustotou mají větší hydratační obal=> pomalejší rychlost difuze**- Na^+ má větší nábojovou hustotu než K^+ => hydratovaný je větší a obtížněji proniká membránou
- o přímo přes lipidovou dvojvrstvu pronikají některé molekuly **difusí**
 - a) **prostá difuze**- velmi malé i polární molekuly- O_2 , H_2O , CO_2 , **močovina**
 - b) **difuze nepolárních molekul**- i větší molekuly- **steroidní hormony**



přenos zprostředkovaný proteiny

- a) **transport přenašečem**- transmembránový protein ve funkci přenašeče zachytí molekulu a přenesení ji přes membránu- transport glukosy do buňky
- **ionofory**
- malé organické molekuly syntetizované některými mikroorganismy
- fungují jako přenašeče iontu pro pohyb přes membránu
- obsahují **hydrofilní centra**, která vážou specifické ionty a jsou obklopená **periferními hydrofobními oblastmi**
- a) **selektivní difuze kanálovými proteiny= transmembránovými kanály**
 - nachází se **pouze v přírodních membránách** (ne v syntetických dvojstvách)
 - jsou to **struktury podobné pórům, tvořené proteiny**
 - tvoří **selektivní dráhy pro průchod iontů**- prostupnost závisí na rozměrech, velikosti nábojové hustoty, stupni hydratace iontů- **specifické kanály pro Na^+ , K^+ , Ca^{2+}** - vodivé dráhy pro kationty jsou celé negativně nabitě
 - membrány **nervových buněk** obsahují **iontové kanály**, které se podílejí na **tvorbě akčního potenciálu napříč membránou**
 - kanály jsou **uzavíratelné**- otevřené jen přechodně- **uzávěry ovládané, regulovány** při otevírání, či zavírání
- 1. **kanály ovládané ligandy**- specifická molekula se váže na receptor a tak otevírá kanál-
 - aktivita některých z kanálů **nervových buněk** řízena **neurotransmitery**- jeden **ion** může regulovat aktivitu kanálu pro ion jiný- Ca^{2+} a Na^+
 - příliv vápenatých iontů do buňky => zvýšení membránové permeability a difuze Na^+ => depolarizace membrány= signál pro přenos nervového impulsu mezi buňkami=>otevírání dalších Na^+ kanálů => axonem se šíří nervový signál podél nervového vlákna => otevírání K^+ kanálů=>výtok K^+ iontů =>obnovení potenciálu membrány
- 2. **kanály ovládané napětím**- ovládané v závislosti na změně membránového potenciálu
 - **(mikrobiální toxiny** mohou vytvářet v buněčných membránách **velké póry**=> přímý vstup do nitry buňky pro **makromolekuly**)
- c) **mezerové spoje** mezi sousedními buňkami- výměna obsahu cytosolu

aktivní přenos

vyžaduje energii- přenos molekul směrem od thermodynamické rovnováhy

vždy zprostředkován transmembránovými proteiny- schopné vázat a přenášet větší polární molekuly

hnací silou jsou:

spřažené přenašeče - využití přenosu určité látky na základě jejího koncentračního gradientu k aktivnímu přenosu jiné látky- **symport**- přenos obou látek (hnací i poháněné) stejným směrem a **antiport** – přenos obou látek opačným směrem

sodno- draselná pumpa

nachází se **v živočišných buňkách**

je to **transportní protein - Na^+/K^+ -ATPasa**

využívá téměř všeho 1/3 ATP v buňce- energie získávána **spřaženou přeměnou jedné molekuly ATP na ADP a P_i**

vytváří zmíněné koncentrační gradienty látek- čerpá Na^+ z buňky a K^+ do buňky

v jednom cyklu- **3 Na^+ zachytí v cytosolu a uvolní mimo buňku, 2 K^+ poutá mimo buňku a uvolňuje do cytosolu**=>

udržování nižší koncentrace Na^+ a vyšší koncentrace K^+ v cytosolu oproti buněčnému prostoru

kladný náboj vnější strany membrány a záporný náboj cytosolové strany membrány-poměr transportu ionů 3:2

=> vytvoření hnací síly pro kladně nabitě molekuly v okolí buňky=> snaží se proniknout do buňky spolu s Na^+

=>elektrická síla brání pronikat K^+ kladnou stranou membrány po koncentračním gradientu, který je vypuzuje ven- tyto dvě protichůdné síly jsou vyrovnány

ve výsledku sodno- draselná pumpa zajišťuje:

snížení celkové koncentrace iontů v cytosolu

=> udržení vyrovnaného osmotického tlaku v živočišné buňce- v cytosolu totiž vysoké koncentrace organických látek a jejím okolím- odpovídající koncentrace Na^+ a Cl^-

záporný náboj vnitřní membrány

= > zabránění vstupu hojných ionů do cytosolu



- **symport s Na^+** = například **aktivní přenos glukosy**- při trávení potravy buňkami ve střevech, dalším tkáním předávána pasivním uniportem
- **antiport s Na^+** = například **přenos H^+ iontu**= regulace pH cytosolu

- 3. **Ca^{2+} pumpa**
 - udržuje nízkou koncentraci **Ca^{2+} v cytosolu**
- 4. **H^+ pumpa**
 - u prokaryot, rostlin
 - využívány symporty a antiporty H^+

- D. **přenos endocytózou, exocytózou**
 - transport **makromolekul nebo větších celků**
 - **obklopení membránou** na jedné straně a následné **otevření membrány** na straně druhé
 - 1. **endocytóza**= transport do buňky
 - 2. **exocytóza**= transport z buňky
 - **fagocytóza**
 - **zvláštním případem** tohoto přenosu
 - jsou jí schopné **bílé krvinky= leukocyty**- obklopí svou membránou například invazivní bakterii a uvězní ji ve **vakule**, kterou pak spojí s **lysozymem**, jehož **hydrolytické enzymy** ji zlikvidují



Tab. 43-6. Přenos látek a informací přes membránu.

Pohyb malých molekul přes membránu

Difuze (pasivní a usnadněná)

Aktivní transport

Pohyb velkých molekul přes membránu

Endocytosa

Exocytosa

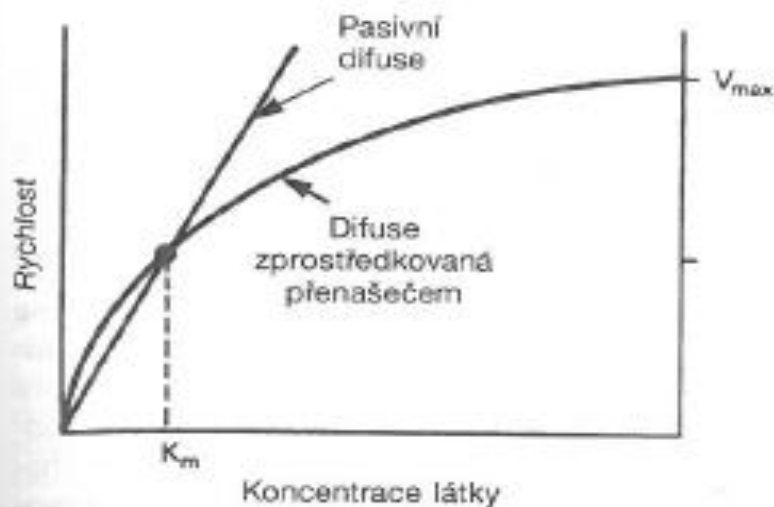
Přenos signálu napříč membránou

Receptory na povrchu buněk

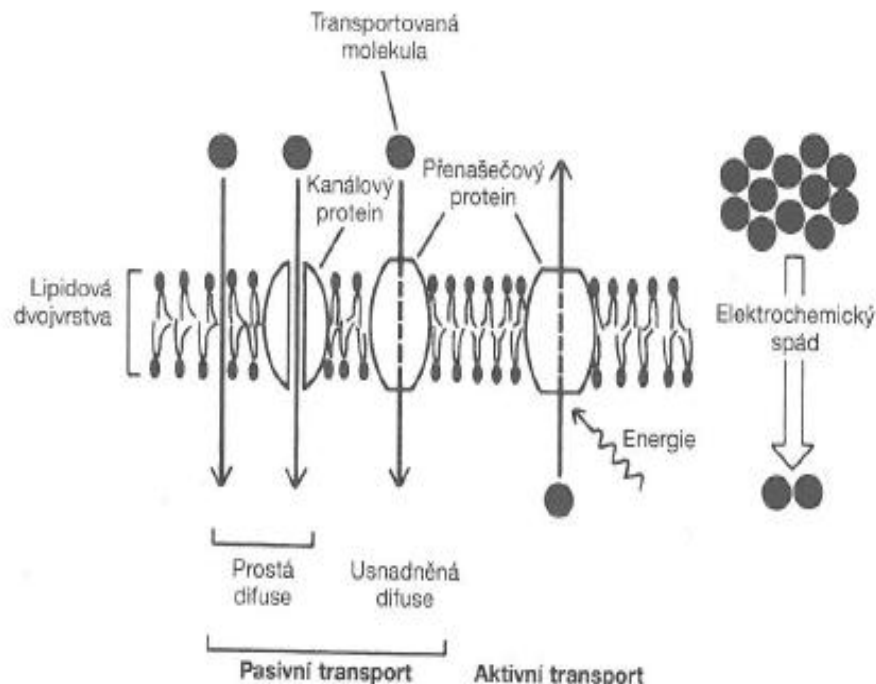
1. Převodění signálu (např. glukagon $\rightarrow$ cAMP)
2. Internalisace signálu (spojená s endocytosou, např. receptor LDL)

Pohyb k intracelulárním receptorům (steroidní hormony, forma difuze)

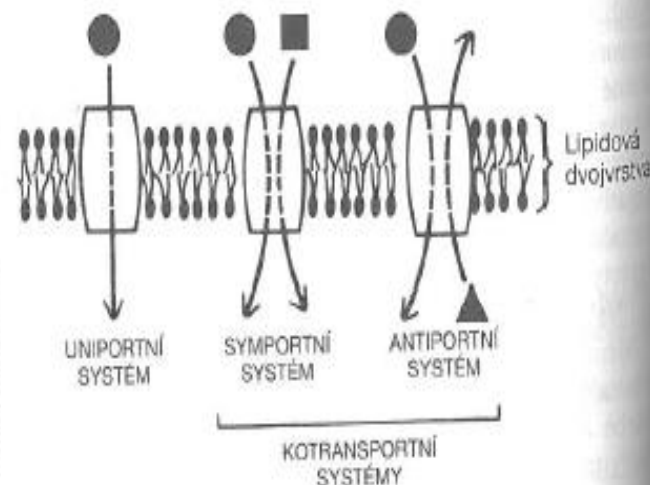
Mezibuněčný kontakt a komunikace



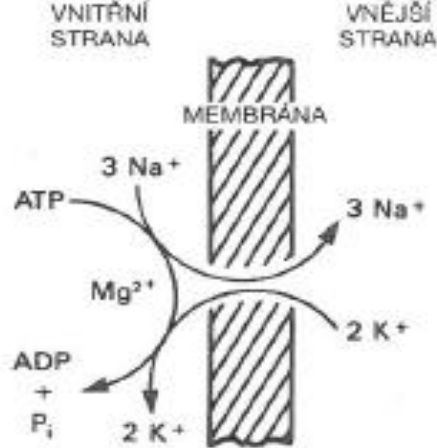
Obr. 43-14. Srovnání kinetiky přenašečem zprostředkované (usnadněné) difuze s pasivní. Rychlost pasivní difuze je přímo úměrná koncentraci látky, zatímco v přítomnosti přenašeče je proces satureovatelný. V_{max} je maximální rychlost. Koncentrace, při níž rychlost dosahuje polovinu maximální rychlosti je rovna vazebné konstantě (K_m) přenašeče pro danou látku.



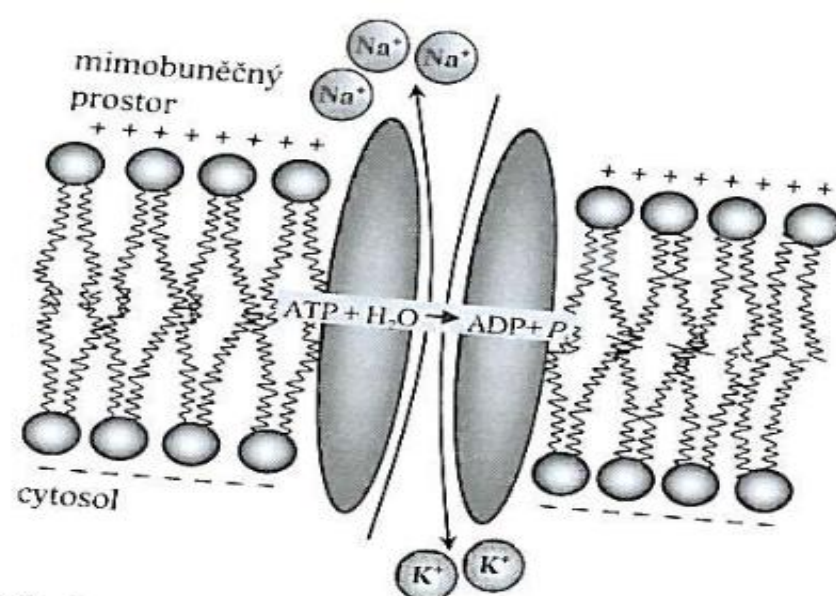
Obr. 43-12. Mnoho malých molekul bez náboje volně prochází lipidovou dvojvrstvou. Molekuly s nábojem, větší molekuly bez náboje i některé malé molekuly bez náboje jsou přenášeny skrz kanály, póry nebo specifickými proteinovými přenašeči. Pasivní transport je uskutečňován vždy po elektrochemickém spádu, směrem k rovnováze. Aktivní transport se děje proti elektrochemickému spádu a vyžaduje přísun energie, zatímco pasivní nikoliv. (Přetištěno a reprodukováno, se svolením, z: Alberts B. et al.: *Molecular Biology of the Cell*, Garland, 1983.)



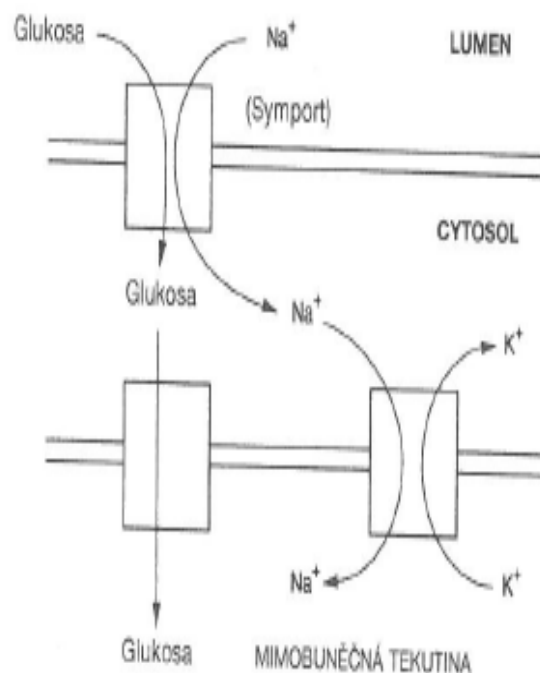
Obr. 43-13. Schématické znázornění jednotlivých typů transportních systémů. Přenašeče mohou být rozděleny podle směru přenosu, nebo zda je přenášena jedna nebo více různých molekul. (Překresleno a reprodukováno, s povolením, z: Alberts B. et al.: *Molecular Biology of the Cell*, Garland, 1983.)



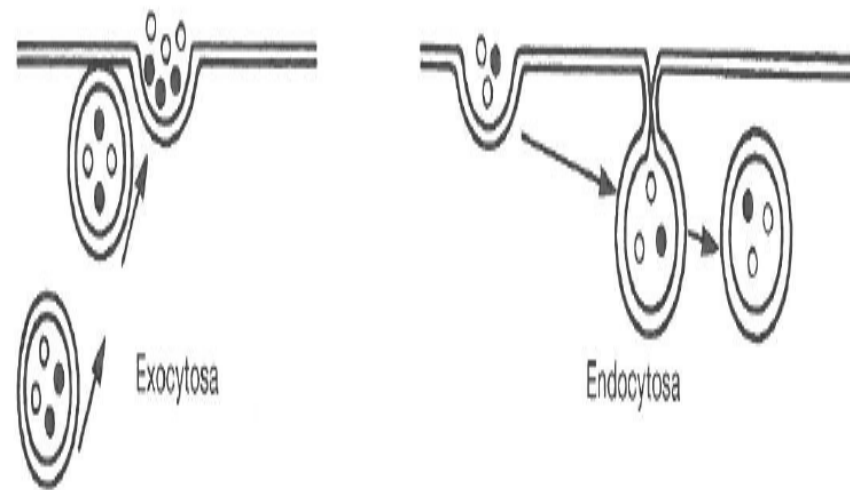
Obr. 43-16. Stechiometrie Na^+/K^+ -ATPasové pumpy. Tato pumpa přemísťuje 3 ionty Na^+ z vnitřku buňky ven a zároveň přemísťuje 2 K^+ ionty zvenku dovnitř na každou molekulu ATP, která je hydrolysována na ADP membránovou ATPasou. Ouabain a jiné srdeční glykosidy inhibují tuto pumpu tak, že působí na vnějším povrchu buněčné membrány. (Laskavosti R. Posta.)



Obrázek 43: Sodno-draselná pumpa



Obr. 43-17. Transcelulární přenos glukosy v buňce tenkého střeva. Glukosa doprovází Na^+ přes lumenální epitheliální membránu. Gradient Na^+ , který pohání tento symport, je založen na výměně Na^+/K^+ . K té dochází na basální membráně, která se stýká s prostředím mimobuněčné tekutiny. Glukosa se pohybuje z buňky, kde dosahuje velké koncentrace, po spádu do mimobuněčné tekutiny usnadněnou difúzí (uniportní mechanismus).



Obr. 43-19. Srovnání mechanismů endocytosy a exocytosy. Exocytosa zahrnuje kontakt 2 vnitřních povrchových (cytoplasmatických) vrstev, zatímco endocytosa vzniká kontaktem 2 vnějších povrchových vrstev.

- zdroje:
- Biochemie zblízka- Pavel Klouda, nakladatelství Pavko, 2012
- Harperova Biochemie- Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Peter A. Mayes, Victor W. Rodwell, nakladatelství a vydavatelství H & H, 1998
- http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0334.htm

