

16.

Lipidek transzportja

Membránok és lipidek

1

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Visszatekintés: Lipidek

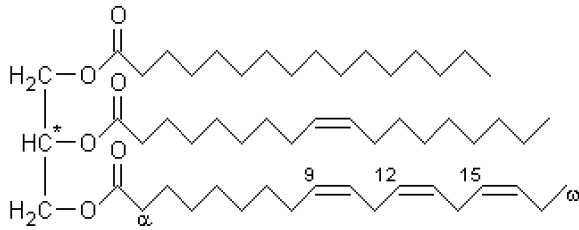
Zsíroldékony (hidrofób, vagy amfoter)
természetes vegyületek

- zsírok, olajok
- foszfolipidek (általában foszfogliceridek, de lehetnek szfingozin alapúak is)
- glikolipidek (állatokban szfingolipidek)
- szteroidok

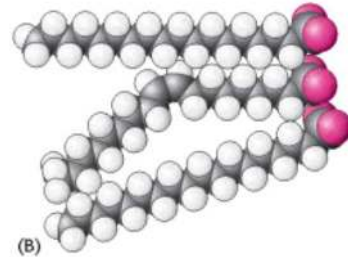
2

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Visszatekintés: Zsírok, olajok: trigliceridek



(A)

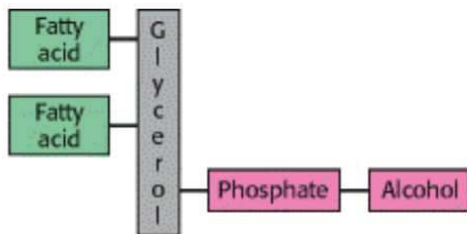


(B)

3

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Foszfolipidek



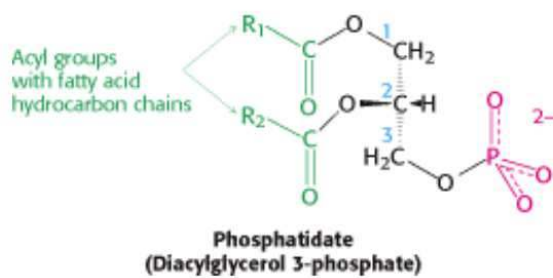
A foszfolipidek **többsége foszfoglicerid**

← általános felépítés

← alapvegyület: foszfatidsav

sói: foszfatidát-ok

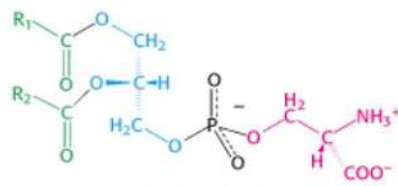
csoport: foszfatidil-



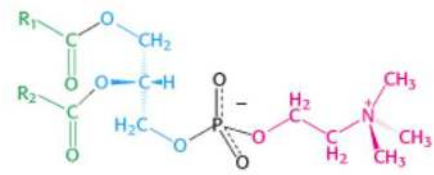
4

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

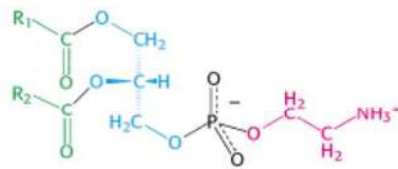
Foszfogliceridek



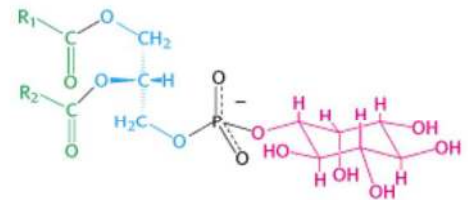
Phosphatidyl serine



Phosphatidyl choline

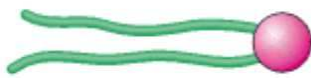


Phosphatidyl ethanolamine

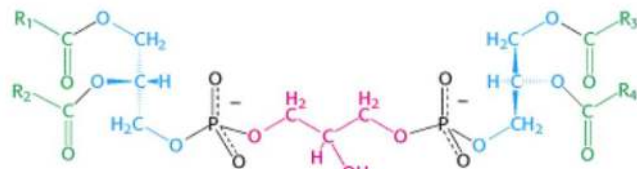


Phosphatidyl inositol

Amfoter karakter:



Shorthand depiction



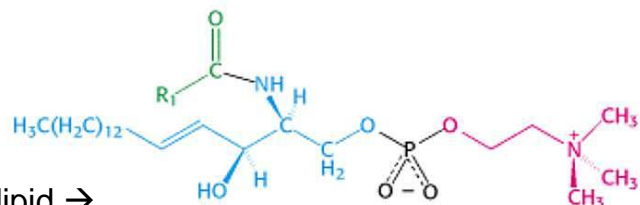
Diposphatidyl glycerol (cardiolipin)

5

Szfincholipidek

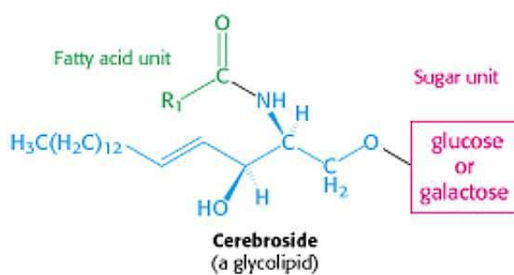


Szfincholipin



Szfincholipin

Ez is foszfolipid →



Cerebroside
(a glycolipid)

← Állatokban a **glikolipidek** szfincholipin alapúak

6

Foszfogliceridek és szfingolipidek



Phosphoglyceride



Sphingomyelin

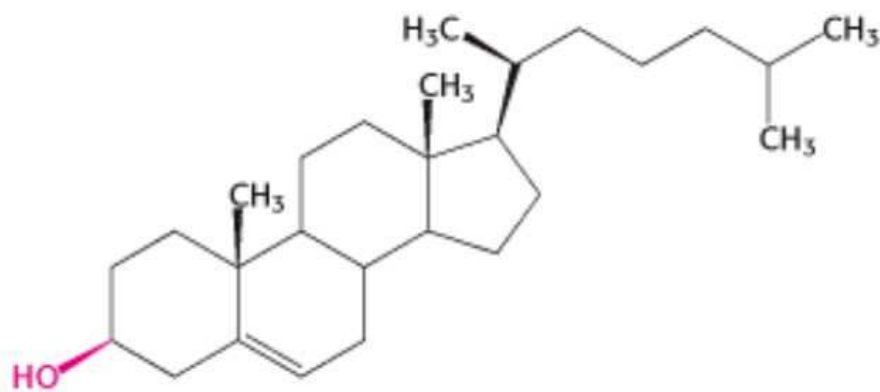


Shorthand depiction

Hasonló felépítés !

7

Koleszterin



Cholesterol

A táplálkozás mellett a szervezet is képes előállítani !
De novo szintézis – főleg a májban.
Fontos membránkomponens.

8

Az ateroszklerózis az lipidek transzportjával kapcsolatos betegség

Mi az atherosclerosis?

Atherosclerosis más néven érlemeszesedés akkor alakul ki, amikor az artériák fala megkeményedik. Születéskor az erek fala rugalmas és hajlékony, a vér akadálytalanul halad keresztül rajtuk. Az életkor előrehaladtával az erek falában zsíros lerakódások keletkeznek, melyek fokozatosan növekedve egyre nagyobb mértékben gátolják a véráramlást. Ez a folyamat három lépcsőre osztható fel:



ateroszklerózis = „érlemeszesedés” , érszűkület

9

Az ateroszklerózis a vezető halálok a fejlett országokban



Atheroma a jobb a. coronaria-ban

10

Az ateroszklerózis fázisai

Zsírlerakódás

Az artéria belső falának károsodása miatt lipoprotein molekulák halmozódnak fel az érfa felső rétege alatt. Az artéria károsodása csekély mértékű, ami a véráramlást gyakorlatilag nem befolyásolja.

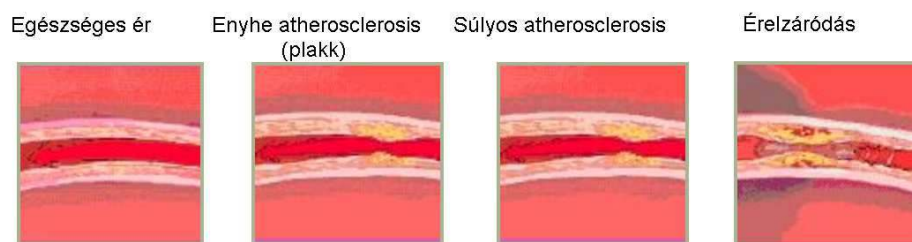
Lágy plakk

A plakk helyén bekövetkező ismételt sérülések hatására az artériafal középső rétege megvastagszik. Koleszterin, zsírok, kötőszövet és vérből származó anyagok lerakódása leszűkíti az ércsatornát, gátolva ezzel a vér áramlását.

Kemény plakk

Az érfa mindhárom rétege érintett, az ér csaknem teljesen elzáródik. Az agyi artériákban keletkező plakk agylágyulást okozhat, a lábakban lévő gangrénát, szívkoszorúér szűkületére esetén pedig angina vagy szívinfarktus a következmény.

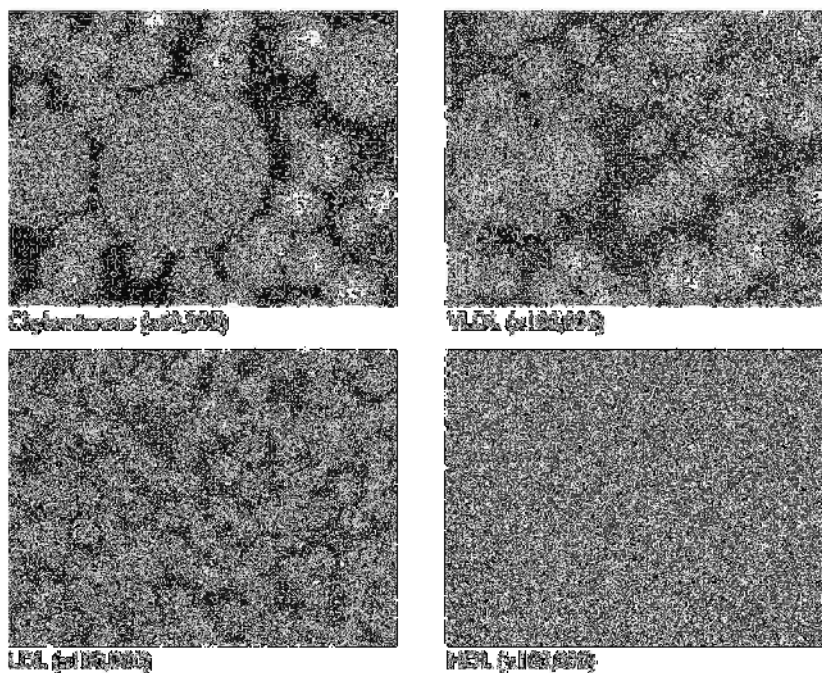
Az érszűkület érinthet egy vagy több területet az érben, vagy az ér teljes hosszára kiterjedhet. A károsodott koszorúerek számának megfelelően beszélhetünk egy, kettő vagy három éret érintő atherosclerosisról, aminek a kezelés szempontjából van jelentősége. Az egy és kettő éret érintő betegség kezelhető gyógyszeresen vagy angioplasztikával, három vagy több ér szűkületére esetén bypass műtetre van szükség.



11

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

Lipoprotein részecskék



Már volt: Mi a kilomikronok szerepe?

12

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

Lipidek transzportja

Lipoproteinek: koleszterint és triglicerideket szállítanak

Lipoproteins	Major core lipids	Apoproteins	Mechanism of lipid delivery
Chylomicron ↓	Dietary triacylglycerols	B-48, C, E	Hydrolysis by lipoprotein lipase
Chylomicron remnant	Dietary cholesterol esters	B-48, E	Receptor-mediated endocytosis by liver
Very low density lipoprotein (VLDL) ↓	Endogenous triacylglycerols	B-100, C, E	Hydrolysis by lipoprotein lipase
Intermediate-density lipoprotein (IDL)	Endogenous cholesterol esters	B-100, E	Receptor-mediated endocytosis by liver and conversion into LDL
Low-density lipoprotein (LDL)	Endogenous cholesterol esters	B-100	Receptor-mediated endocytosis by liver and other tissues
High-density lipoprotein (HDL)	Endogenous cholesterol esters	A	Transfer of cholesterol esters to IDL and LDL

A triglicerideket egy enzim, a **lipoprotein lipáz** távolítja el a részecskékből.

13

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

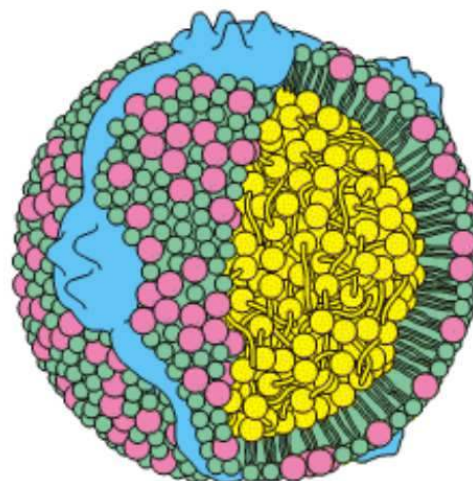
Hogy néz ki egy lipoprotein részecske?

Az LDL (low density lipoprotein) – „rossz koleszterin”.

Az LDL koleszterint és főleg koleszterin észtereket szállít.

Kb. 22 nm átmérőjű.

Az LDL felvétele a sejteken az LDL receptoron keresztül történik.

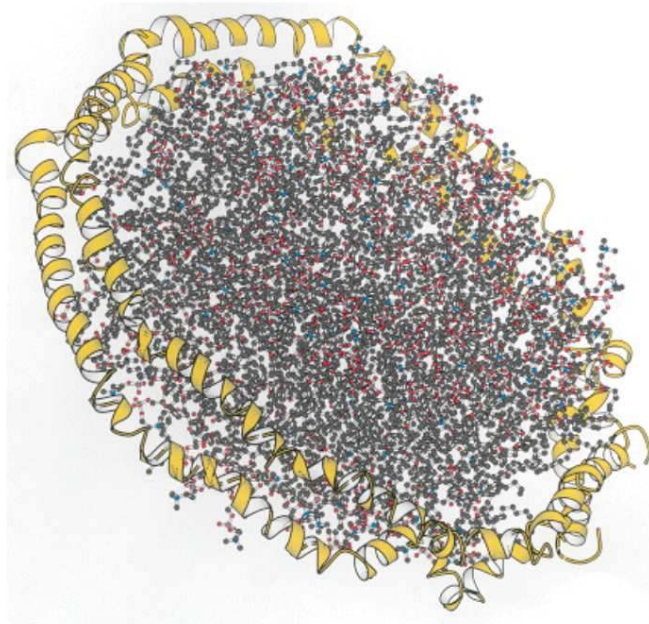


- Unesterified cholesterol
- Phospholipid
- Cholesteryl ester
- Apoprotein B-100

14

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

HDL (high density lipoprotein) – „jó koleszterin”

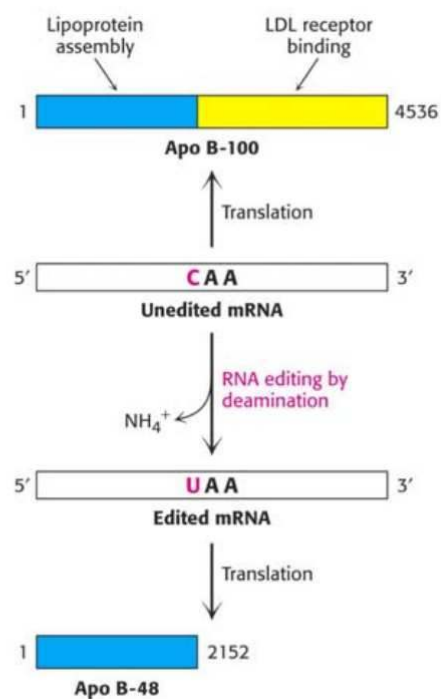


Part of a lipoprotein particle. A model of the structure of apolipoprotein A-I (yellow), shown surrounding sheets of lipids. The apolipoprotein is the major protein component of high-density lipoprotein particles in the blood. These particles are effective lipid transporters because the protein component provides an interface between the hydrophobic lipid chains and the aqueous environment of the bloodstream. [Based on coordinates provided by Stephen Harvey.]

15

Visszatekintés: RNS „szerkesztés” (RNA editing)

RNS „szerkesztés”

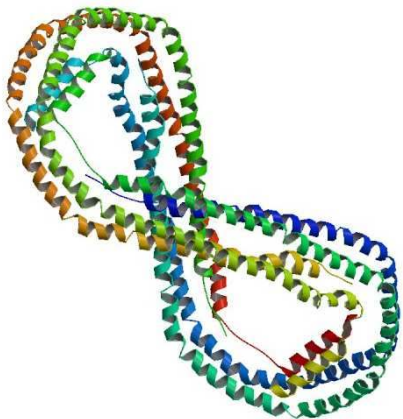


100%

~48%

16

Apo-lipoproteinek



Apo-A1

(az egyik legkisebb lipoprotein)

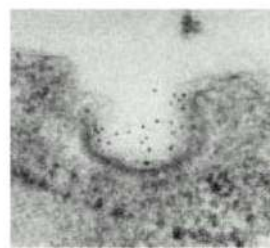
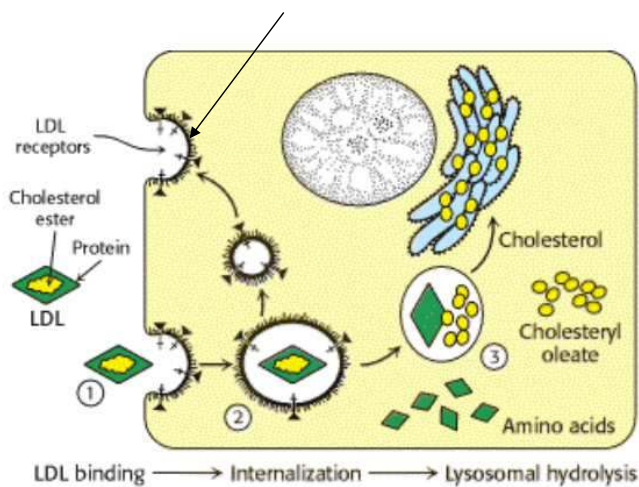
Nagy méretű egyláncú fehérjék. Pl. **Apo-B100: kb. 4500 aminosavból áll !**

17

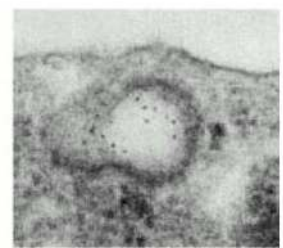
2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Receptor-mediált endocitózis: az LDL felvétele az LDL receptor segítségével

klatrinnal borított befűződés



(A)



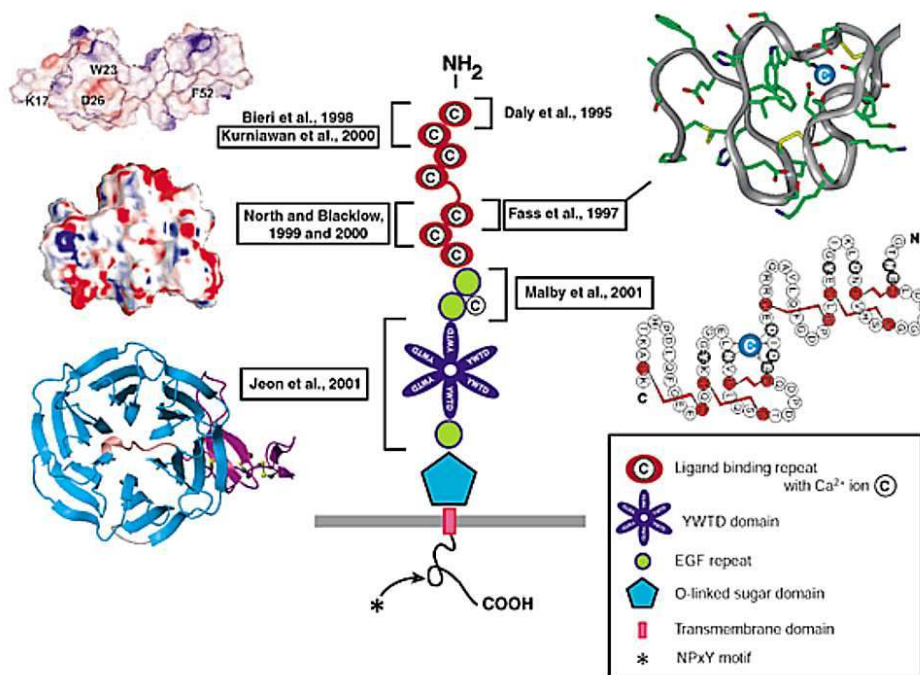
(B)

Figure 12.40. Receptor-Mediated Endocytosis. The process of receptor-mediated endocytosis is illustrated for the cholesterol-carrying complex, low-density lipoprotein (LDL): (1) LDL binds to a specific receptor, the LDL receptor; (2) this complex invaginates to form an internal vesicle; (3) after separation from its receptor, the LDL-containing vesicle fuses with a lysosome, leading to degradation of the LDL and release of the cholesterol.

18

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Az LDL receptor doménszerkezete: mozaikfehérje



A hasonló fehérjék génduplikációval és **exon keveréssel (exon shuffling)** jönnek létre.

19

Az ateroszklerózisra való hajlam.

LDL:

A magas LDL szint jelzi az arterioszklerózisra való hajlamot. Az LDL oxidációja annak lerakódását eredményezi és gyulladásozó folyamatokat is indukál.

LDL receptor:

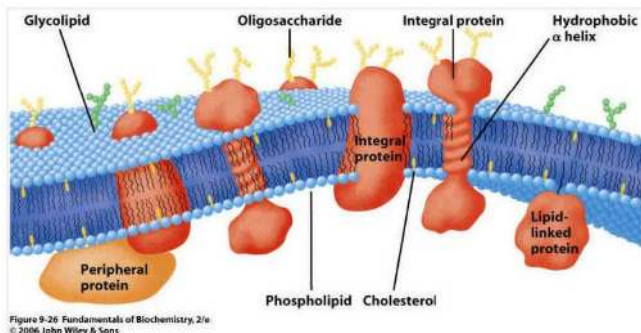
Homozigóta deficiencia esetén: örökletes hiperkoleszterémia (ritka). Heterozigóta: a **csökkent LDL-receptor szint magas LDL szintet okoz** (gyakori).

HDL:

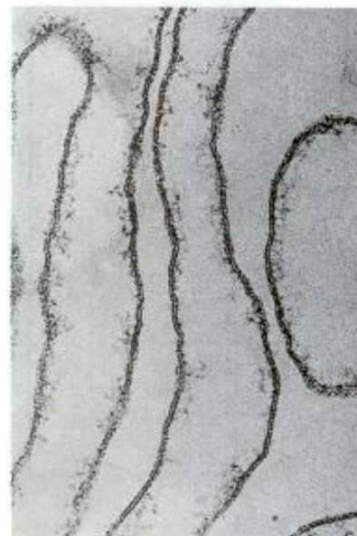
Véd az ateroszklerózistól. Felveszi a szabad / lerakódott koleszterint és a májba szállítja újrahasznosításra. A HDL-hez egy észteráz is kapcsolódhat, ami lebontja az oxidálódott lipideket.

20

A biológiai membránok



Vörösvértestek plazmamembránja:



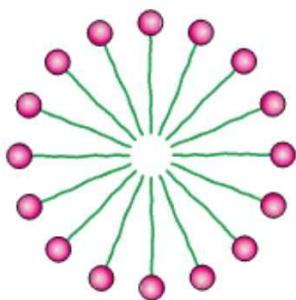
- elválasztás a környezettől
- sejtalkotók határa
- 60-100 Å vastag
- szelektív áteresztőképesség
- transzportfolyamatok
- ~ 50% fehérjetartalom
- aszimmetria
- polarizáció (membránpotenciál)
- „2D folyadék”

21

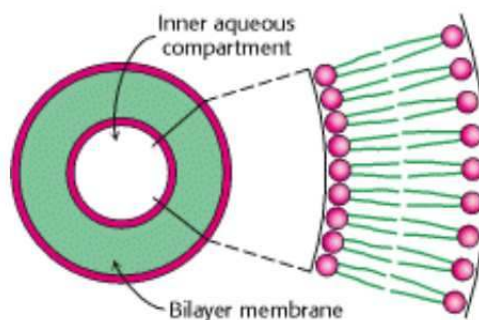
2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Foszfolipidekből és glikolipidekből könnyen a membránokat imitáló liposzómák készíthetők

Zsírsavak sóiból:
micella



Foszfolipidekből:
liposzóma



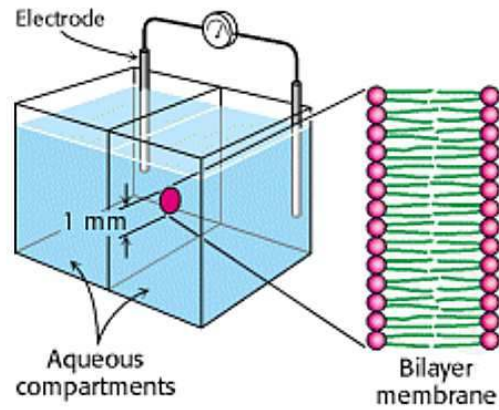
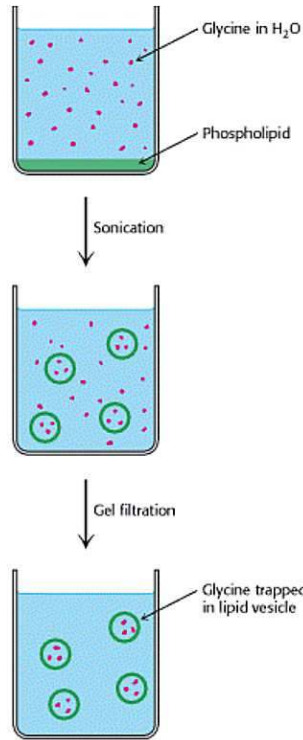
Ez a preferált !

Hidrofób kölcsönhatások tartják össze

22

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Membránok vizsgálata



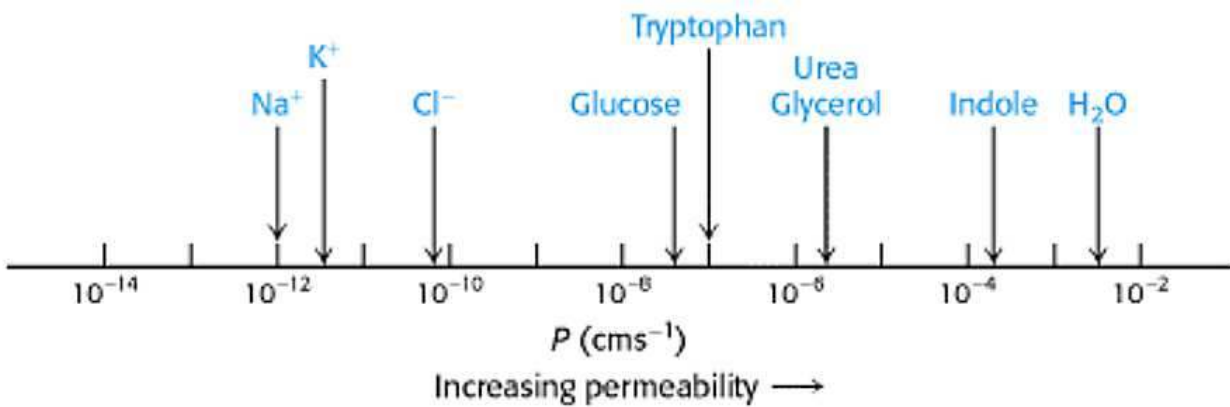
Membránok vezetőképességének ,
vagy átjárhatóságának vizsgálata

Liposzómák: célzott bejuttatás sejtekbe

23

Membránok átjárhatósága

(logaritmikus skála!)

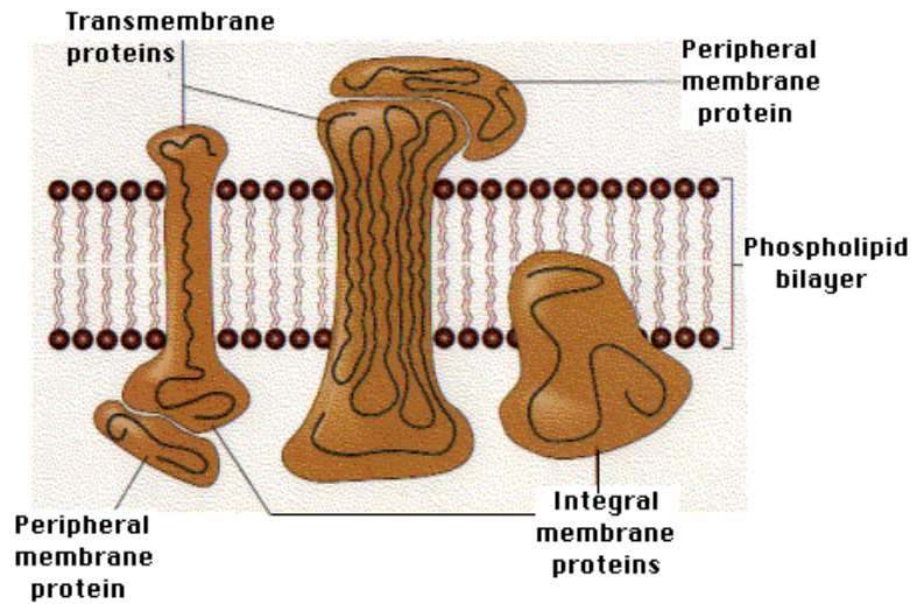


Ionok és nagyobb hidofil molekulák számára gyakorlatilag átjárhatatlan !

Megoldás: csatornák, pumpák, transzporterek

24

Integrális (beékelődő) és perifériális (lazán kapcsolódó) membránfehérjék

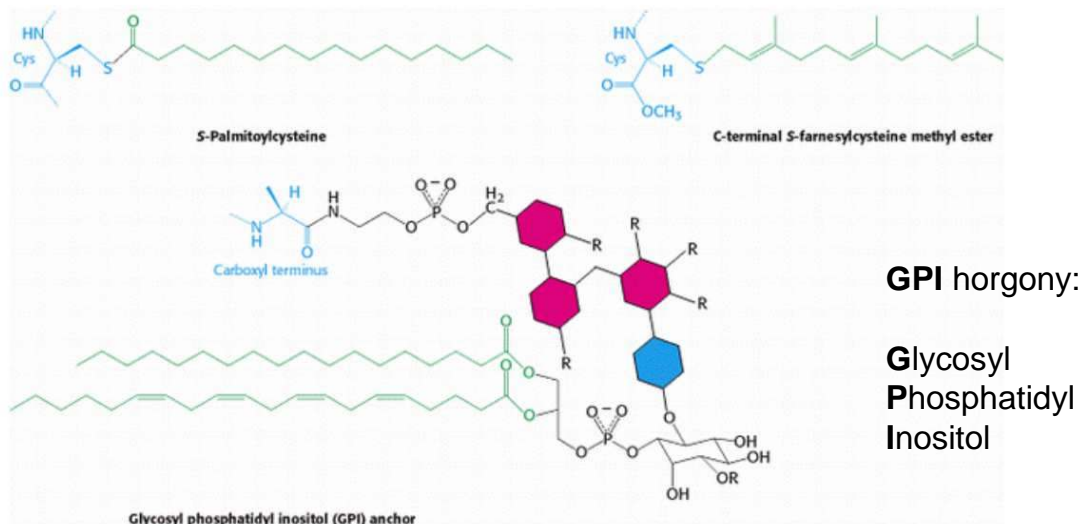


Fehérjeteralom: ~18% (mielin) ... ~75-80 % (mitokondrium belső membrán).

25

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Membrán horgonyok



GPI horgony:

Glycosyl
Phosphatidyl
Inositol

Figure 12.26. Membrane Anchors. Membrane anchors are hydrophobic groups that are covalently attached to proteins (in blue) and tether the proteins to the membrane. The red and blue hexagons correspond to mannose and GlcNAc, respectively. R groups represent points of additional modification.

Bizonyos membránfehérjékhez **kovalensen** hosszú hidrofób molekula köt hozzá, és a fehérje ezzel a **horgonnyal** kapcsolódik a membránhoz. (Ezek is **integrális** membránfehérjéknek tekinthetők.)

26

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Az első membránfehérje szerkezet: bakteriorodopszin

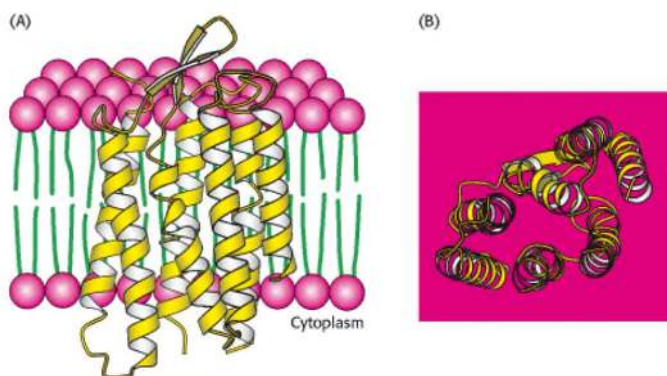


Figure 12.18. Structure of Bacteriorhodopsin. Bacteriorhodopsin consists largely of membrane-spanning α helices. (A) View through the membrane bilayer. The interior of the membrane is green and the head groups are red. (B) A view from the cytoplasmic side of the membrane.

Csupa alfa-hélix !

A transzmembrán fehérjék többsége alfa-helikális!

27

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

A helikális transzmembrán szegmensek a szekvenciából megjósolhatók

```
AQITGRPEWIWLAALGTALMGLGTLYFLVKGMGVSDPDAKKFYAITTLVPA
IAFTMYLSMLLGYGLTMVPPGGELQNPIYWARAYADWLFTTPLLILLALLLV
VADQGTILALVGAAGIMIGTGLVGALTGVYSYRFVWWAISTAAMLYILYV
LFFGFTSKAEISMKPEVASTFKVLRNVTVVLSAYVVVWLI GSEGAGIVPL
NIE TLLFMVLDVSAKVGFGILLR SRAIFGALAEPEPSADGAAATS
```

Figure 12.19. Amino Acid Sequence of Bacteriorhodopsin. The seven helical regions are highlighted in yellow and the charged residues in red.

Hogyan ?

28

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

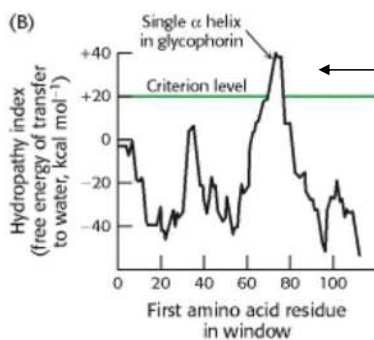
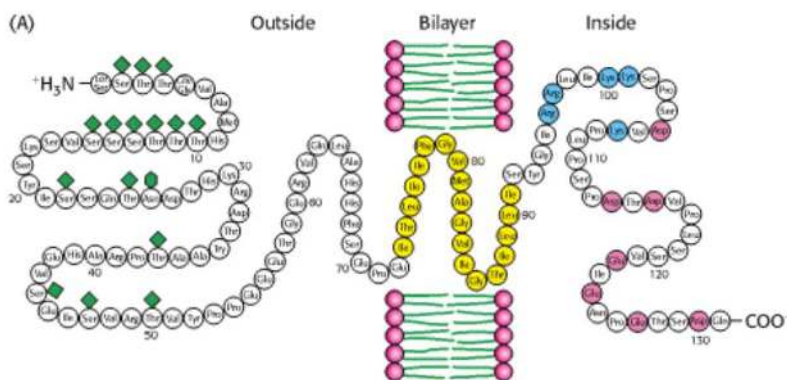
Mennyi energia kell ahhoz hogy egy aminosav-maradékot a membránból vizes közegbe vigyük át?

Table 12.2. Polarity scale for identifying transmembrane helices

Amino acid residue	Transfer free energy kcal mol ⁻¹ (kJ mol ⁻¹)	
Phe	3.7	(15.5)
Met	3.4	(14.3)
Ile	3.1	(13.0)
Leu	2.8	(11.8)
Val	2.6	(10.9)
Cys	2.0	(8.4)
Trp	1.9	(8.0)
Ala	1.6	(6.7)
Thr	1.2	(5.0)
Gly	1.0	(4.2)
Ser	0.6	(2.5)
Pro	-0.2	(-0.8)
Tyr	-0.7	(-2.9)
His	-3.0	(-12.6)
Gln	-4.1	(-17.2)
Asn	-4.8	(-20.2)
Glu	-8.2	(-34.4)
Lys	-8.8	(-37.0)
Asp	-9.2	(-38.6)
Arg	-12.3	(-51.7)

29

Hidrofobicitási index: példa - glikoforin



A predikció pontos !

Hidropátias index:
20 aminosavas ablakra számolva

30

Porin: egy csatorna fehérje

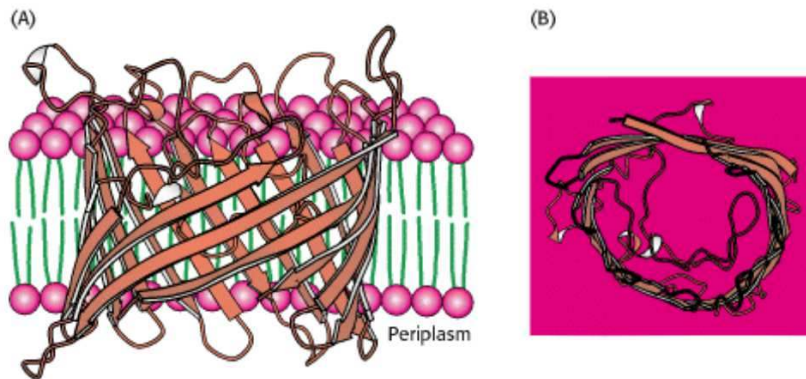


Figure 12.20. Structure of Bacterial Porin (from *Rhodospseudomonas blastica*). Porin is a membrane protein built entirely of beta strands. (A) Side view. (B) View from the periplasmic space. Only one monomer of the trimeric protein is shown.

Béta lemezes szerkezet !

31

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Porin esetén nem működik ez az egyszerű predikciós módszer

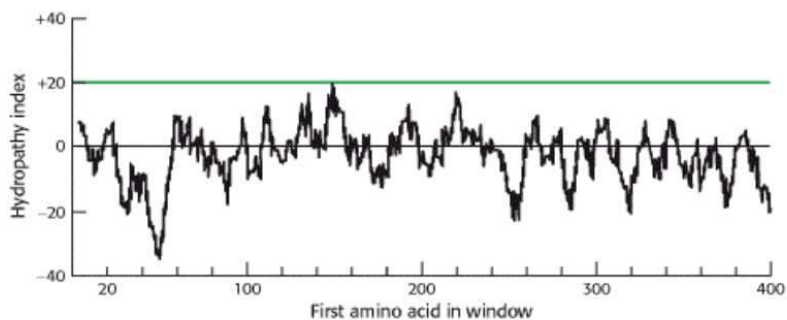


Figure 12.28. Hydropathy Plot for Porin. No strong peaks are observed for this intrinsic membrane protein because it is constructed from membrane-spanning β strands rather than α helices.

Béta lemezeknél nem működik a hidropátiás index.

32

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

A porin szekvenciája

A hidrofób oldalláncok jellemzően kifelé, a hidrofil oldalláncok befelé mutatnak

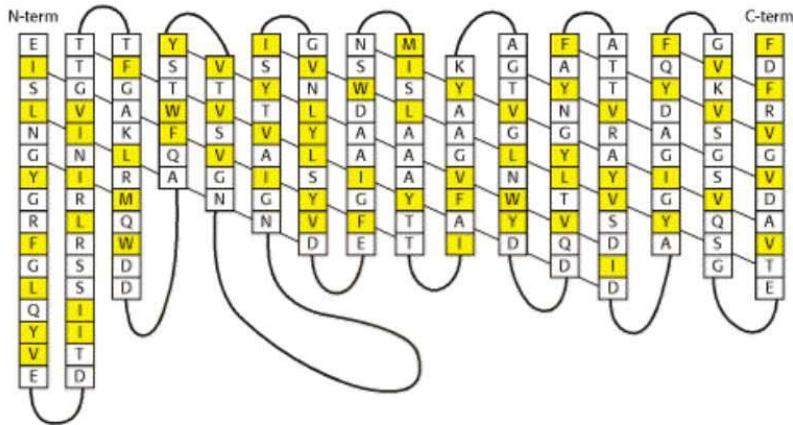


Figure 12.21. Amino Acid Sequence of a Porin. Some membrane proteins such as porins are built from β strands that tend to have hydrophobic and hydrophilic amino acids in adjacent positions. The secondary structure of *Rhodospseudomonas blastica* is shown, with the diagonal lines indicating the direction of hydrogen bonding along the β sheet. Hydrophobic residues (F, I, L, M, V, W, and Y) are shown in yellow. These residues tend to lie on the outside of the structure, in contact with the hydrophobic core of the membrane.

33

A prosztaglandin H₂ szintáz: egy membránba ágyazott enzim

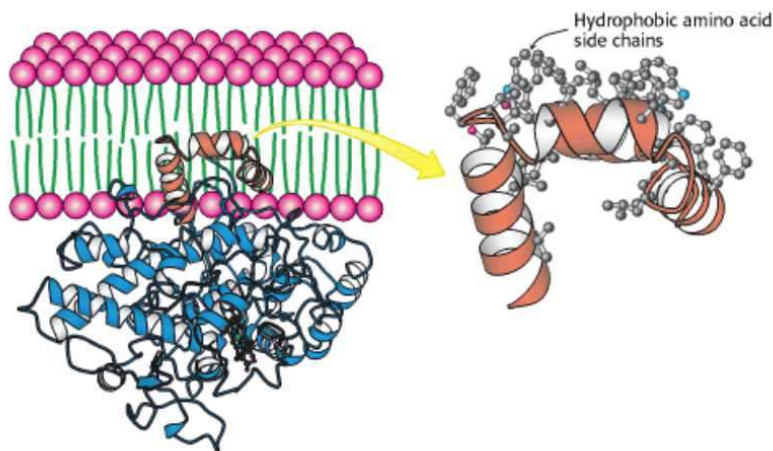


Figure 12.23. Attachment of Prostaglandin H₂ Synthase-1 to the Membrane. Prostaglandin H₂ synthase-1 is held in the membrane by a set of α helices coated with hydrophobic side chains. One monomer of the dimeric enzyme is shown.

34

A prosztaglandin H₂ szintáz (alias **COX-1** = ciklo-oxigenáz)

Az **aszpirin** gátolja ezt az enzimet

A prosztaglandinok többek között a gyulladáskeltésben vesznek részt

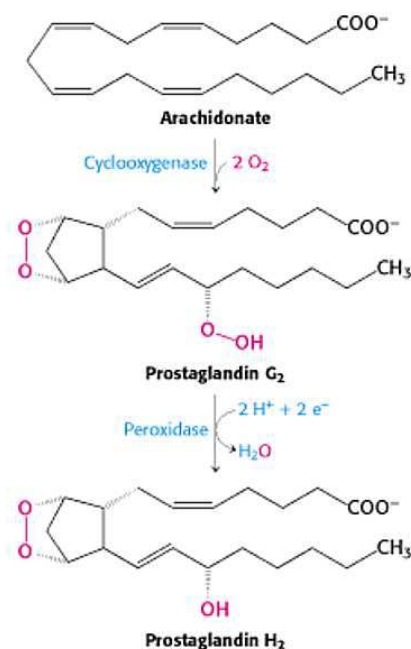


Figure 12.25. Aspirin's Effects On Prostaglandin H₂ Synthase-1. Aspirin acts by transferring an acetyl group to a serine residue in prostaglandin H₂ synthase-1.

35

Kitekintés: a prosztaglandinok hatásai

There are currently ten known prostaglandin receptors on various cell types. Prostaglandins ligate a sub-family of cell surface seven-transmembrane receptors, G-protein-coupled receptors.

The diversity of receptors means that prostaglandins act on an array of cells and have a wide variety of effects such as:

cause constriction or dilation in vascular smooth muscle cells

cause aggregation or disaggregation of platelets

sensitize spinal neurons to pain

induce labor

decrease intraocular pressure

regulate inflammatory mediation

regulate calcium movement

control hormone regulation

control cell growth

acts on thermoregulatory center of hypothalamus to produce fever

acts on mesangial cells in the glomerulus of the kidney to increase glomerular filtration rate

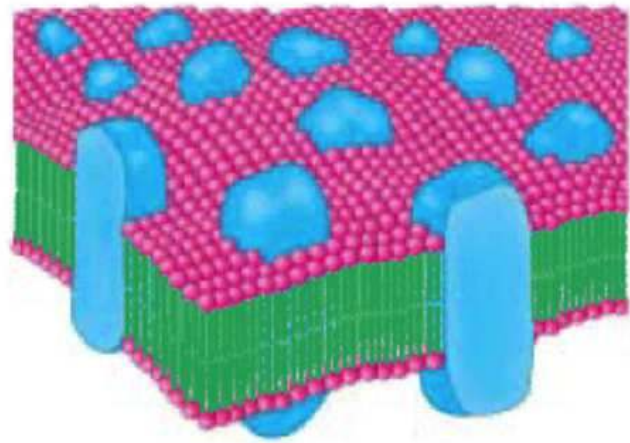
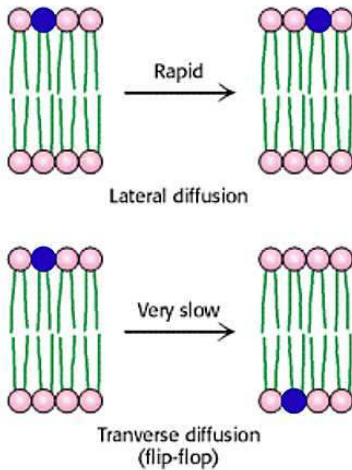
acts on parietal cells in the stomach wall to inhibit acid secretion

Prostaglandins are potent but have a short half-life before being inactivated and excreted. Therefore, they send only paracrine (locally active) or autocrine (acting on the same cell from which it is synthesized) signals.

36

Membrándiffúzió

A membránok
2D folyadékok ! →



Oldalirányú mozgás: gyors

Átugrás a másik oldalra (flip-flop): lassú

37

Membrándiffúzió

A membrándiffúziót leíró egyenlet: $s = (4 \times D \times t)^{1/2}$

s: az átlagosan megtett távolság,
D: laterális diffúziós állandó, lipidekre $\sim 1 \mu\text{m}^2/\text{s}$
t: idő

Egy lipid molekula másodpercenként kb. $2 \mu\text{m}$ -t tesz meg.

Ez egy átlagos méretű baktérium mérete egyik végétől a másikig

Némely fehérje is gyorsan mozog (pl. rodopszin $D \sim 0.4 \mu\text{m}^2/\text{s}$),
mások gyakorlatilag le vannak horgonyozva.

38

A membrándiffúzió mérése

Fluoreszcensen jelölt lipid, vagy fehérje kell hozzá

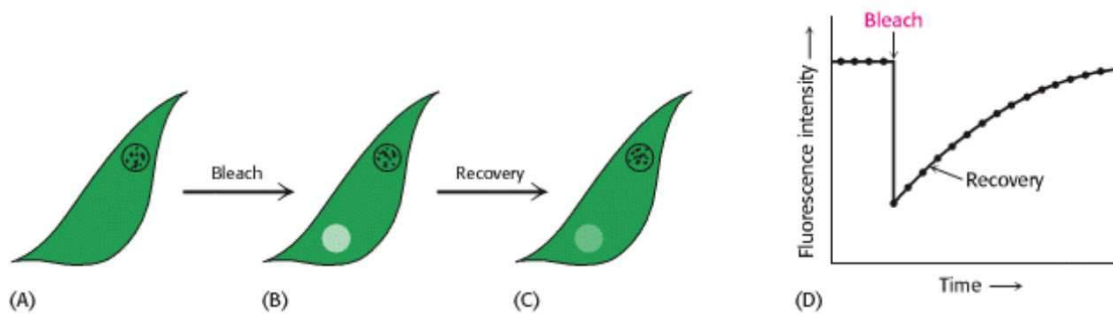
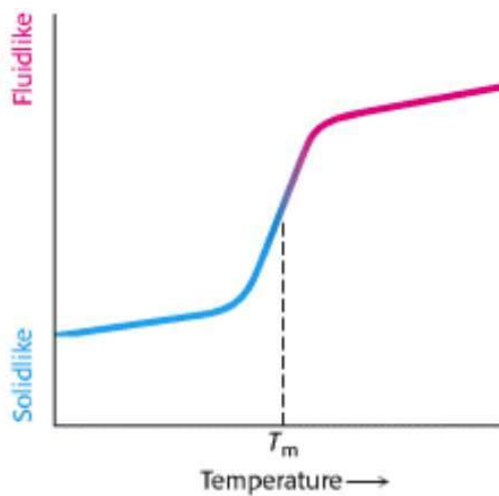


Figure 12.29. Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) Technique. (A) The cell-surface fluoresces because of a labeled surface component. (B) The fluorescent molecules of a small part of the surface are bleached by an intense light pulse. (C) The fluorescence intensity recovers as bleached molecules diffuse out of the region and unbleached molecules diffuse into it. (D) The rate of recovery depends on the diffusion coefficient.

Photobleaching – Lézerimpulzussal gerjesztés nagy energiájú állapotba

39

Membránfluiditás

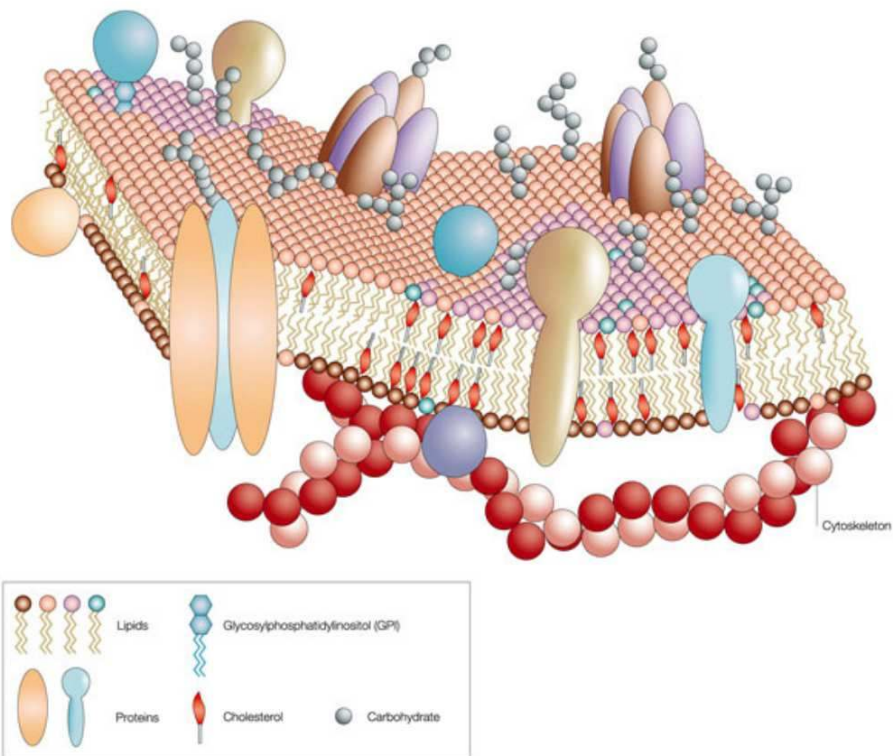


← „olvadáspont”

Állatokban a koleszterin a membránfluiditás fő regulátora.

40

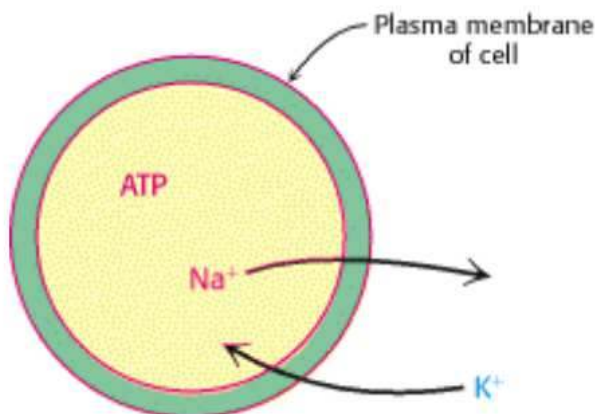
Membránok aszimmetriája – van kívül és belül



41

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Membránok aszimmetriája – van kívül és belül



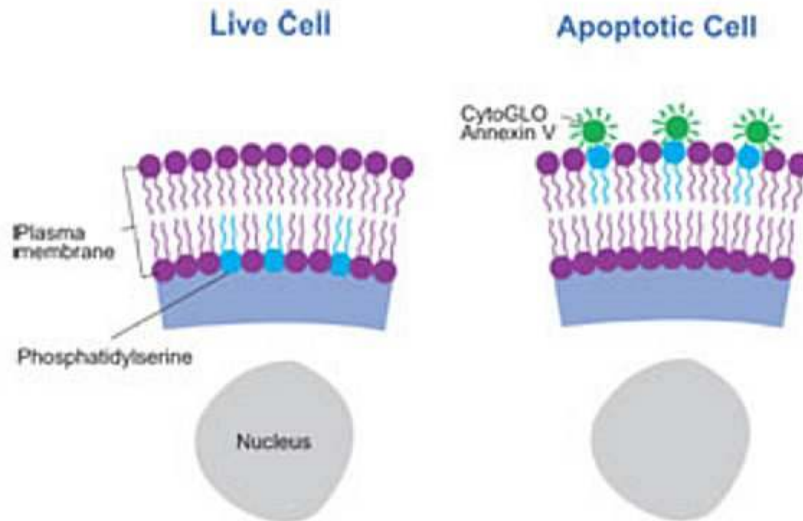
Példa:

A Na⁺/K⁺ ATPáz kifelé pumpálja a Na⁺ ionokat és befelé a K⁺ ionokat.

42

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Membránok aszimmetriája – van kívül és belül



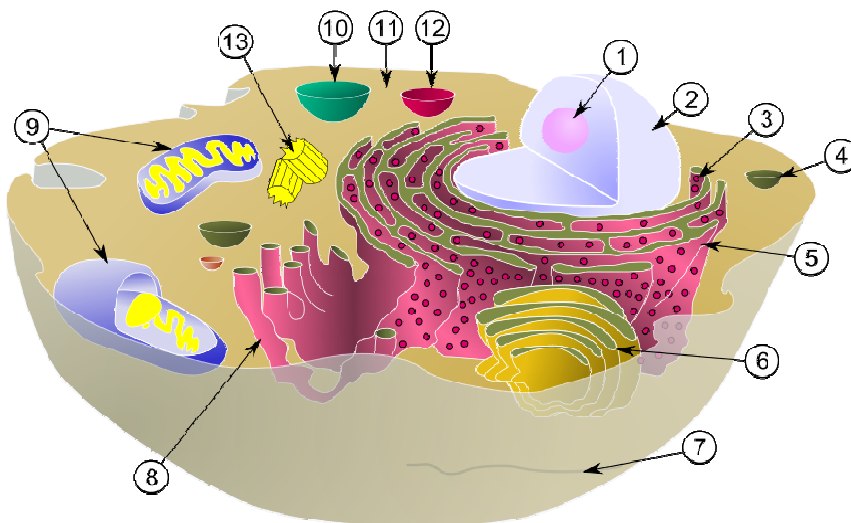
Normál sejtekben a PS (foszfatidil-szerin) a sejtmembrán belső oldalán helyezkedik el.

Apoptotikus sejtekben kifordul. Ez a folyamat az annexin V fehérje segítségével detektálható.

43

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

A sejtekben számos szervecske található, ezeket membránok határolják



Egy állati sejt főbb részei:

- (1) nucleolus (magvacska)
- (2) nucleus (sejtmag)
- (3) ribosome (riboszóma)
- (4) vesicle (vezikula)
- (5) rough endoplasmic reticulum (durva ER)
- (6) Golgi apparatus (Golgi)
- (7) Cytoskeleton (sejtváz)
- (8) smooth endoplasmic reticulum (sima ER)
- (9) mitochondria (mitochondriumok)
- (10) vacuole (hólyagocska)
- (11) cytoplasm (citoplazma)
- (12) lysosome (lizoszóma)
- (13) centrioles within centrosome (centriólum és sejtközpont)

Hol van kettős membrán?

44

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Receptor-mediált endocitózis: az LDL felvétele az LDL receptor segítségével (lásd korábban)

klatrinnal borított befűződés

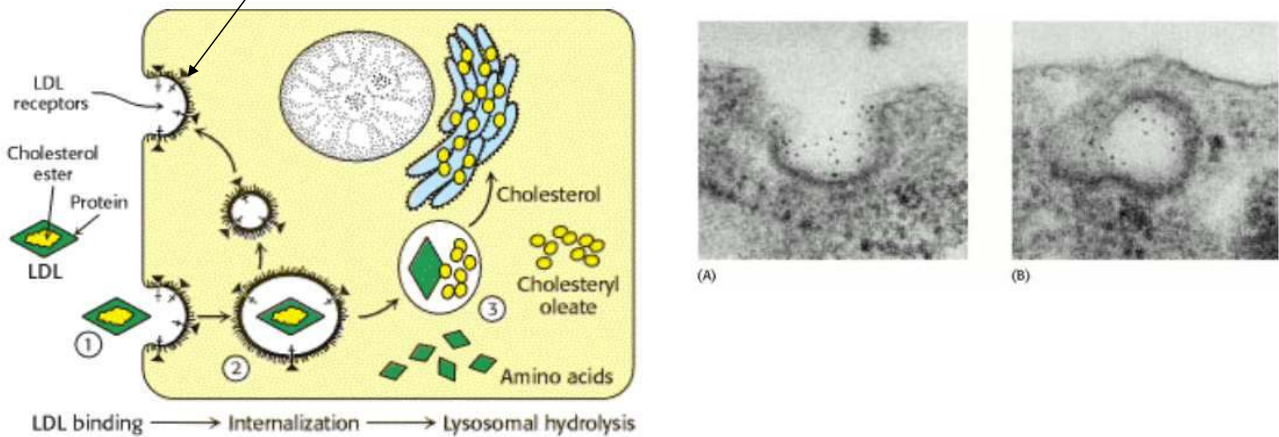
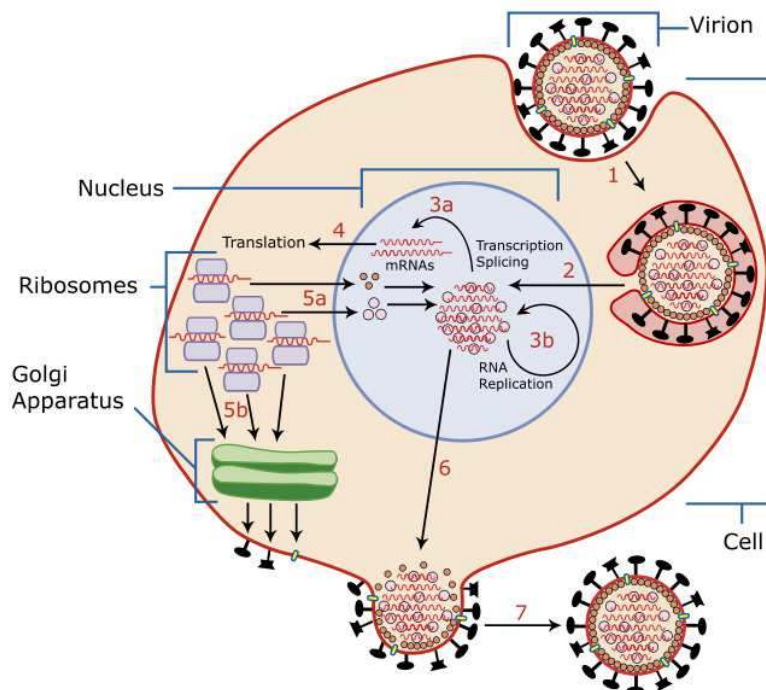


Figure 12.40. Receptor-Mediated Endocytosis. The process of receptor-mediated endocytosis is illustrated for the cholesterol-carrying complex, low-density lipoprotein (LDL): (1) LDL binds to a specific receptor, the LDL receptor; (2) this complex invaginates to form an internal vesicle; (3) after separation from its receptor, the LDL-containing vesicle fuses with a lysosome, leading to degradation of the LDL and release of the cholesterol.

45

Vírusok felvétele endocitózissal



Az influenzavírus hemagglutininja a sejteken található szíalsavhoz kötődik.

46

A fordított folyamat: bimbózás (budding)

Példa: a szinapszis

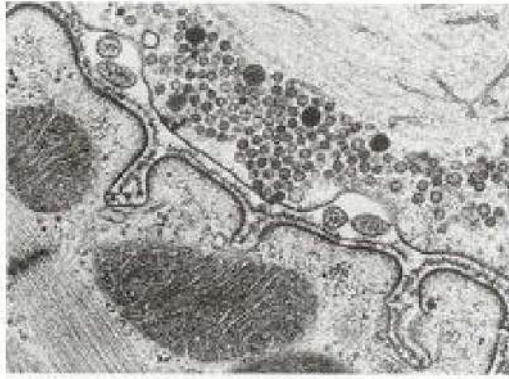
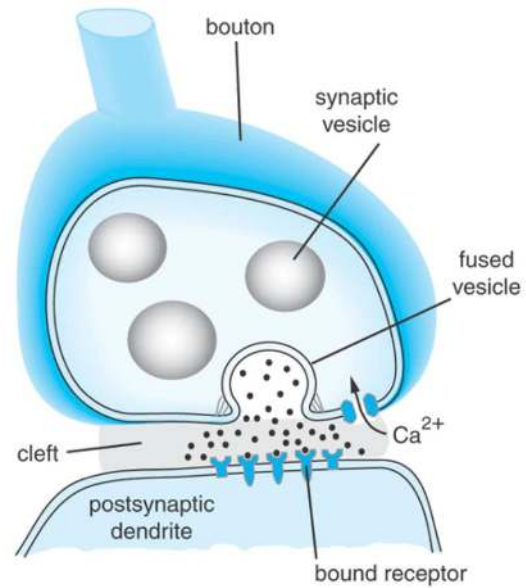


Figure 12.41. Neurotransmitter Release.



47

Amit tudni illik

A Lipidek transzportja, Membránok és lipidek témakörökből

Kémiai képletek:

trigliceridek általános képlete foszfolipidek általános képlete

Fogalmak:

LDL, HDL, lipoprotein, apo-lipoprotein, „jó és rossz koleszterin”, LDL-receptor

membrán, laterális diffúzió, permeabilitás, membránok aszimmetriája, integrális és perifériális membránfehérjék, membrán horgony, endocitózis, szinapszis

Módszerek:

transzmembrán hélixek predikciója
membrántranszport mérése lipid kettősréteggel elválasztott cellákban
liposzómák készítése

Egyenletek:

membrándiffúziót leíró egyenlet: $s=(4 \times D \times t)^{1/2}$

48

Kapcsolódó könyvfejezetek:

J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer: **Biochemistry 5th edition**
W.H. Freeman and Co.

12. Lipids and Cell Membranes

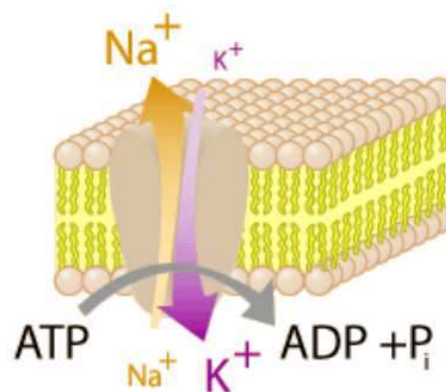
26. The Biosynthesis of Membrane Lipids and Steroids
(csak a lipoproteinek rész)

49

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Folyt. köv. ...

Receptorok, ioncsatornák, pumpák



50

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József