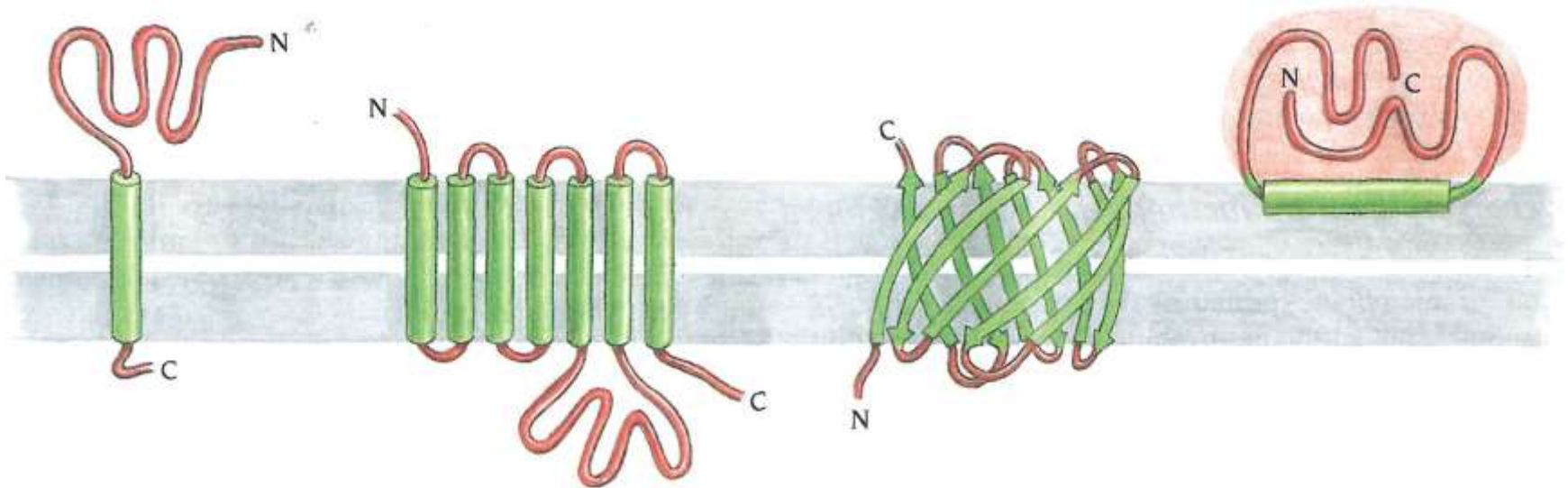


Membranski proteini

Integralni membranski proteini

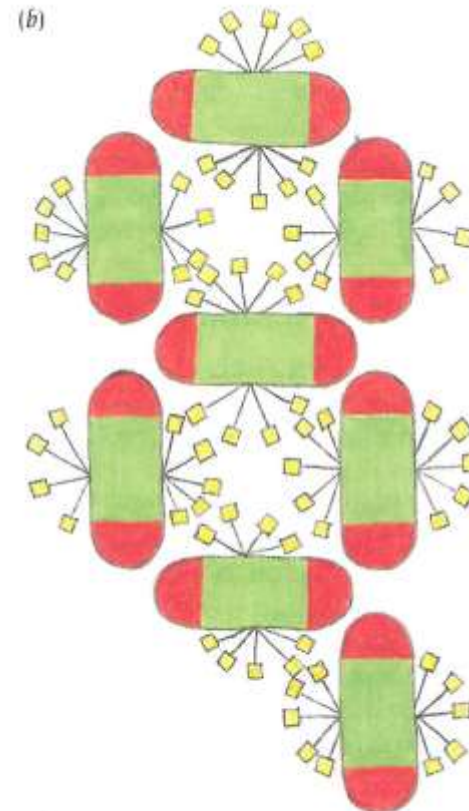
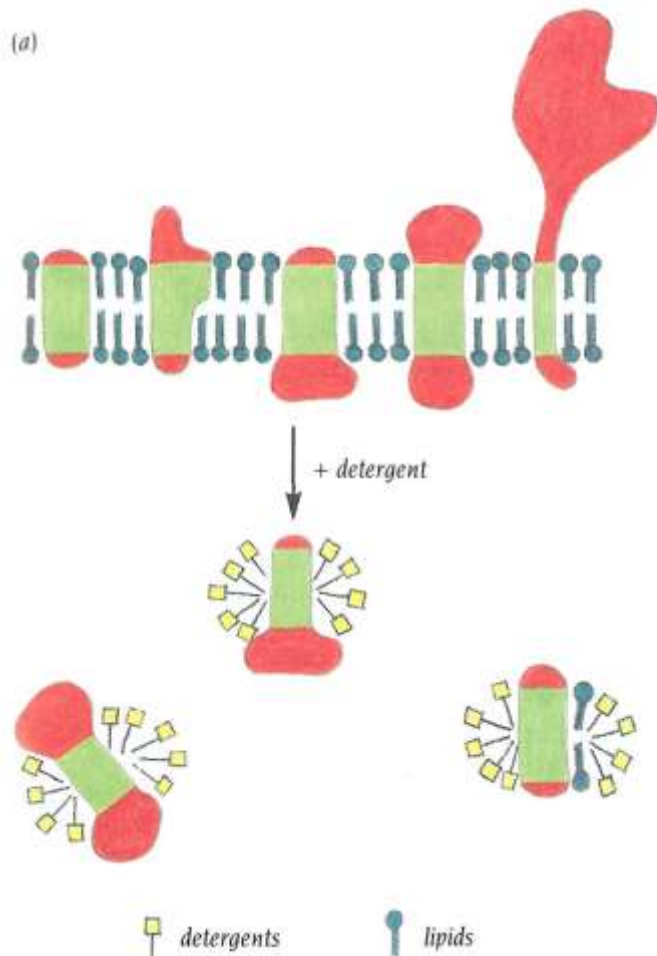
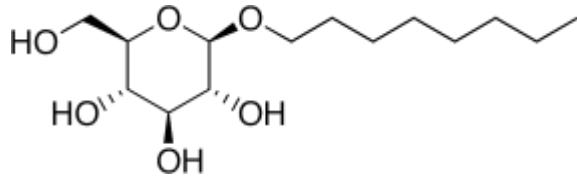


Težave s stabilizacijo v vodnih raztopinah.

Transmembranski deli so hidrofobni – netopni v vodi, v organskih topilih proteini denaturirajo.

Membranski proteini

V vodnih raztopinah jih lahko solubiliziramo z detergenti (oktilglukozid).

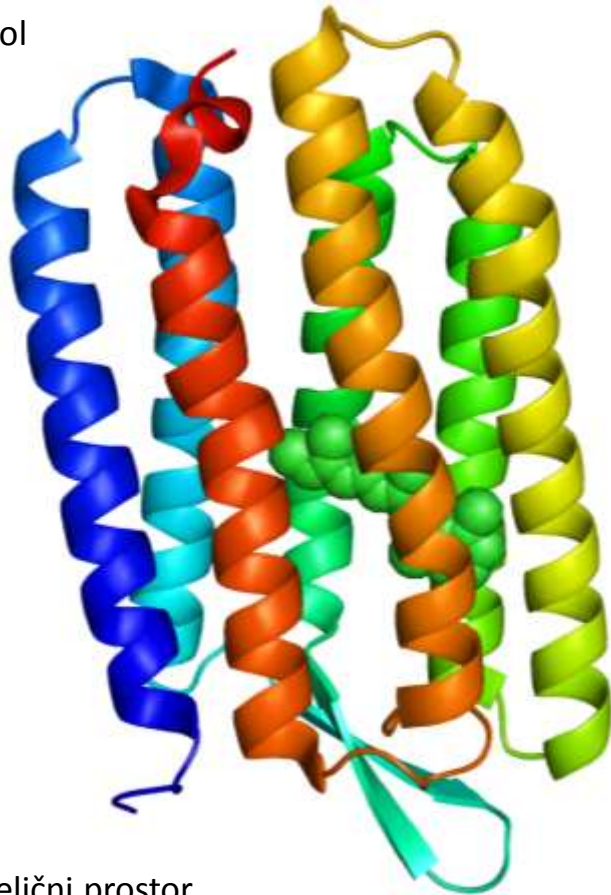


Kristal
solubiliranega
membranskega
proteina.

Bakteriorodopsin

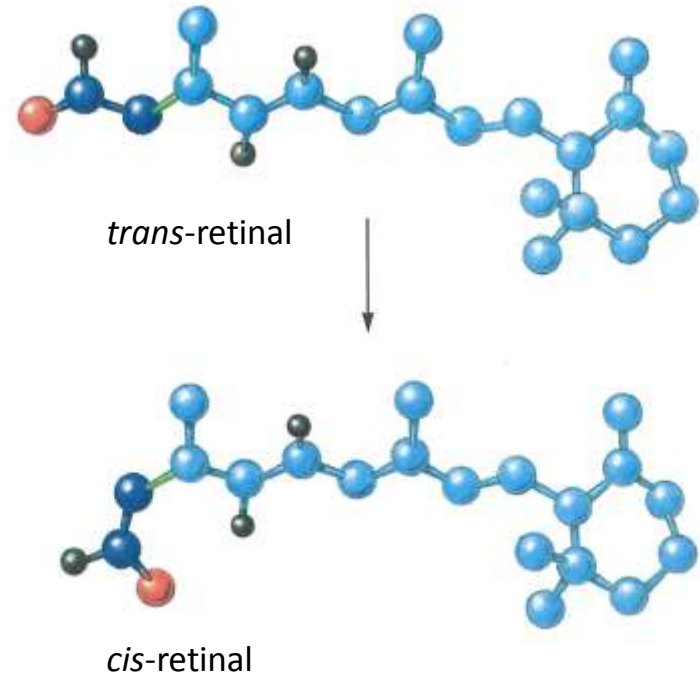
Bakteriorodopsin je s svetlobo gnana protonska črpalka iz arhej rodu *Halobacterium*. Ustvarja gradient protonov, s pomočjo katerega se sintetizira ATP. Delovanje bakteriorodopsina temelji na fotoizomerizaciji prostetične skupine *trans*-retinala v *cis*-retinal. Je najenostavnejši biološki sistem za pretvorbo svetlobne v kemično energijo. Gre za anoksigeno fotosintezo, vir ogljika je organski.

citokol



zunajcelični prostor

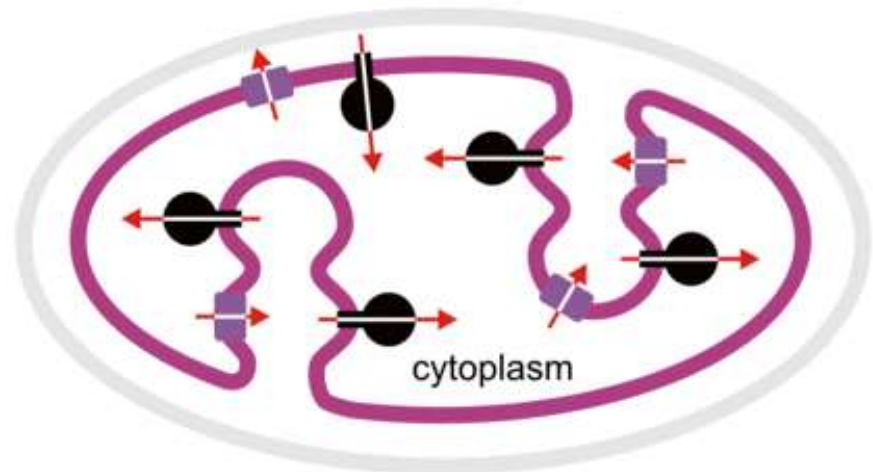
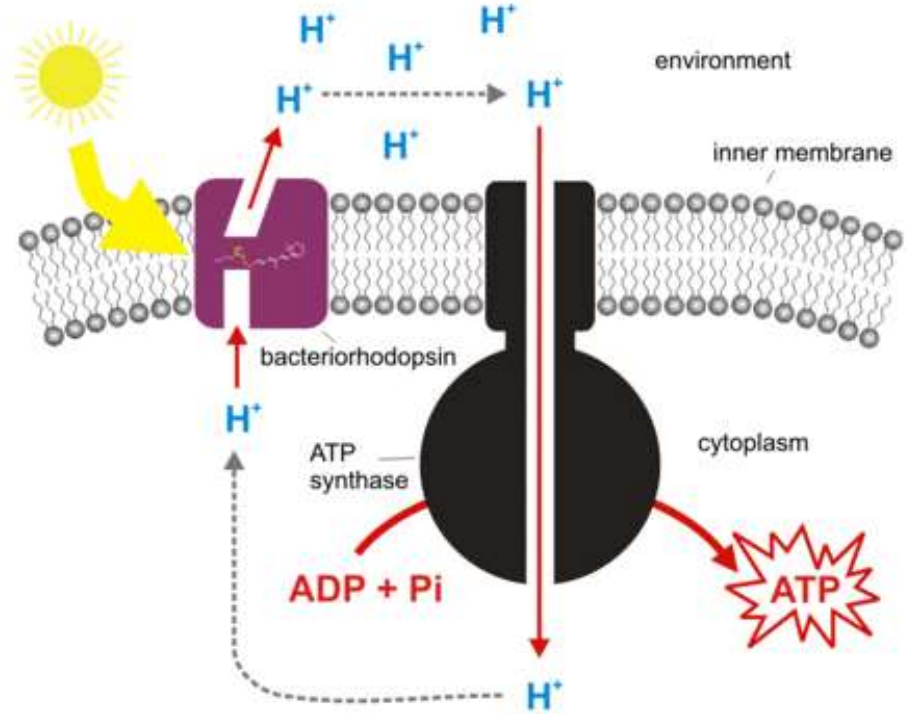
PDB 4HWL (2 Å)



absorbira svetlobo med 500 in 650 nm
(absorpcijski vrh je 568 nm)

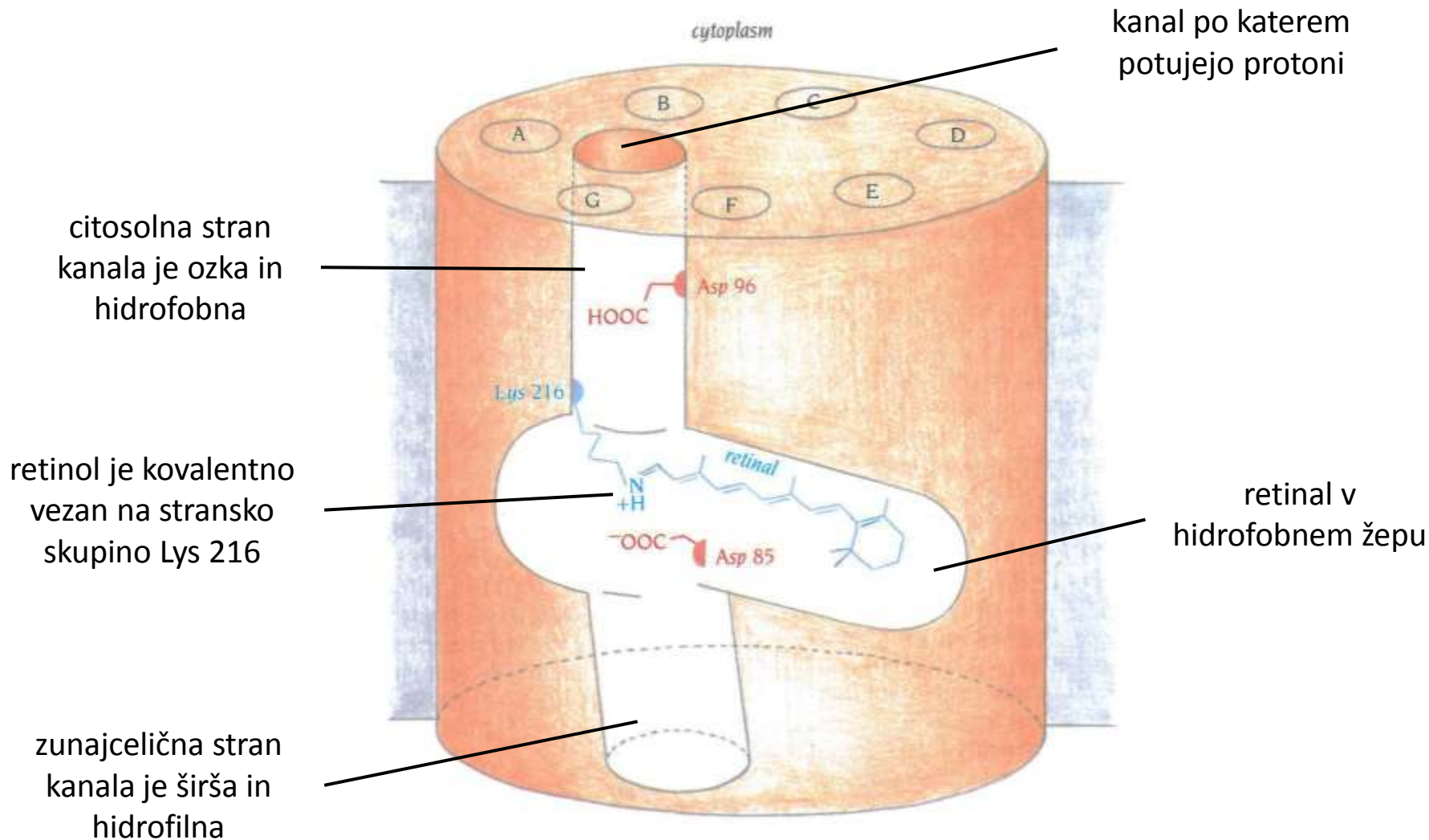
Bakteriorodopsin

Pri fotosintezi v halobakterijah gre za najenostavnejšo obliko tega procesa in edino, ki ne vključuje transporta elektronov.



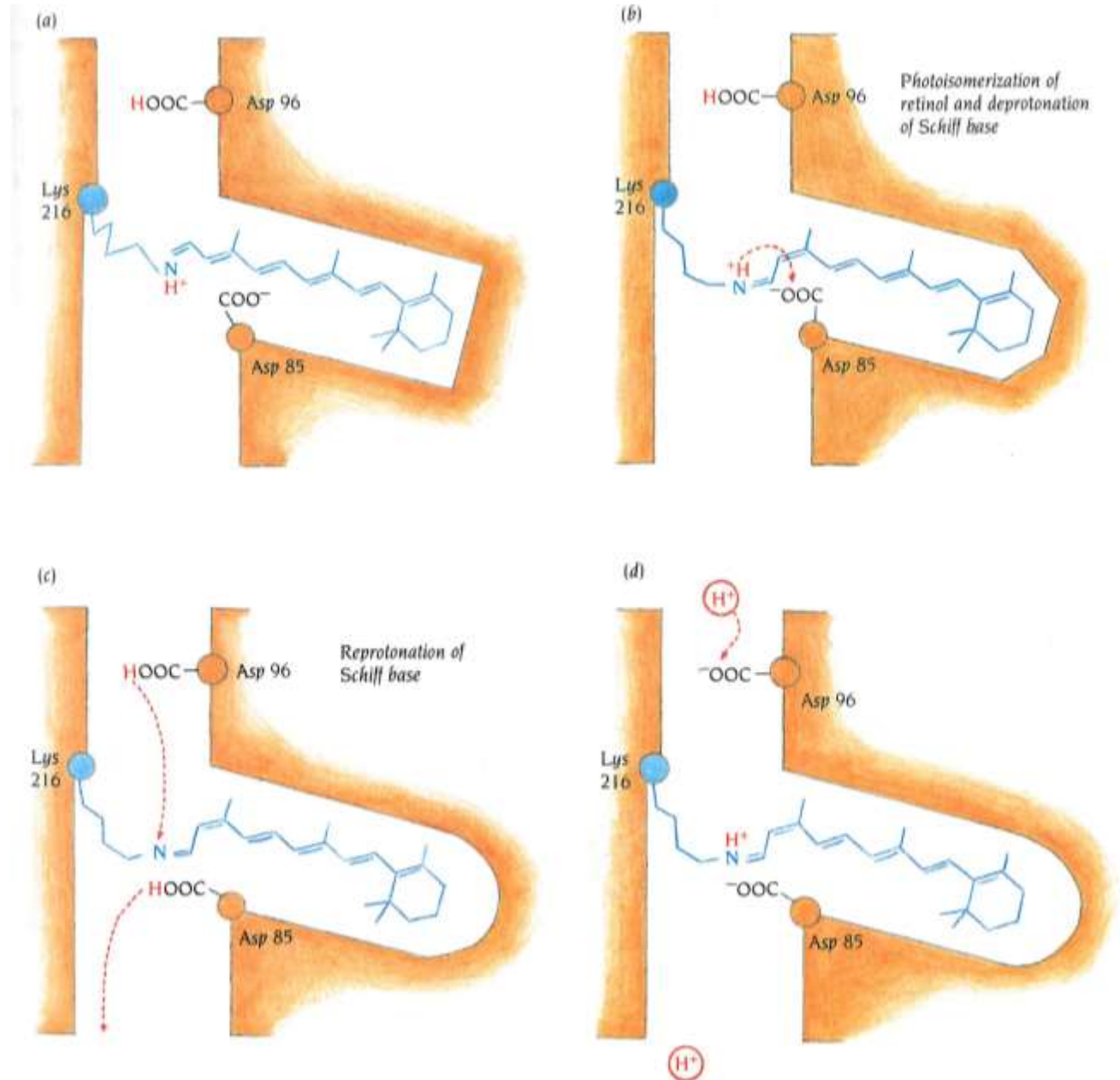
Bakteriorodopsin

Shematska zgradba molekule bakteriorodopsina:



Bakteriorodopsin

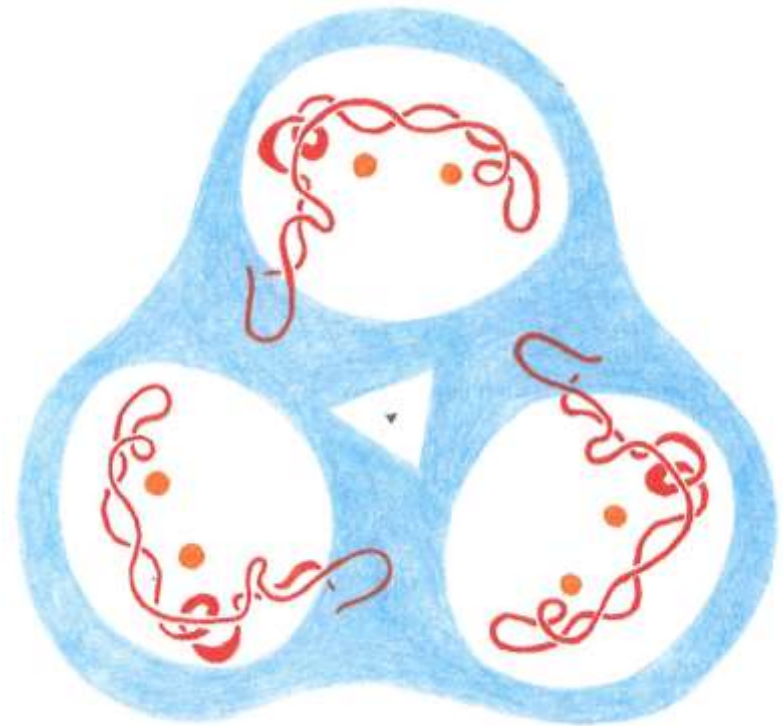
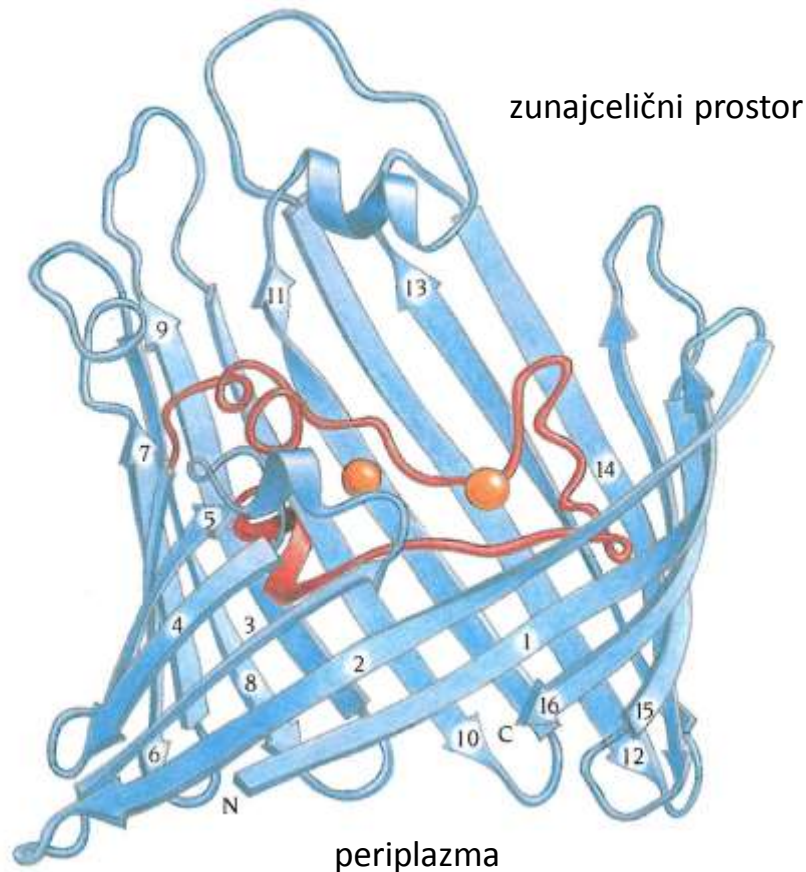
Mehanizem delovanja bakteriorodopsina:



Porini

Proteini v zunanji membrani gramnegativnih bakterij. Okoli 100.000 kopij na celico. So kanali, ki omogočajo pasivno difuzijo molekul.

Primer: porin iz *Rhodobacter capsulatus*. Je homotrimer.



β -sodček s 16 trakovi. Zanka med trakovoma 5 in 6 zapira dostop do pore z zunajcelične strani. Stabilizirana je z 2 Ca^{2+} ionoma. Premer pore na najožjem delu je cca. 8 Å.

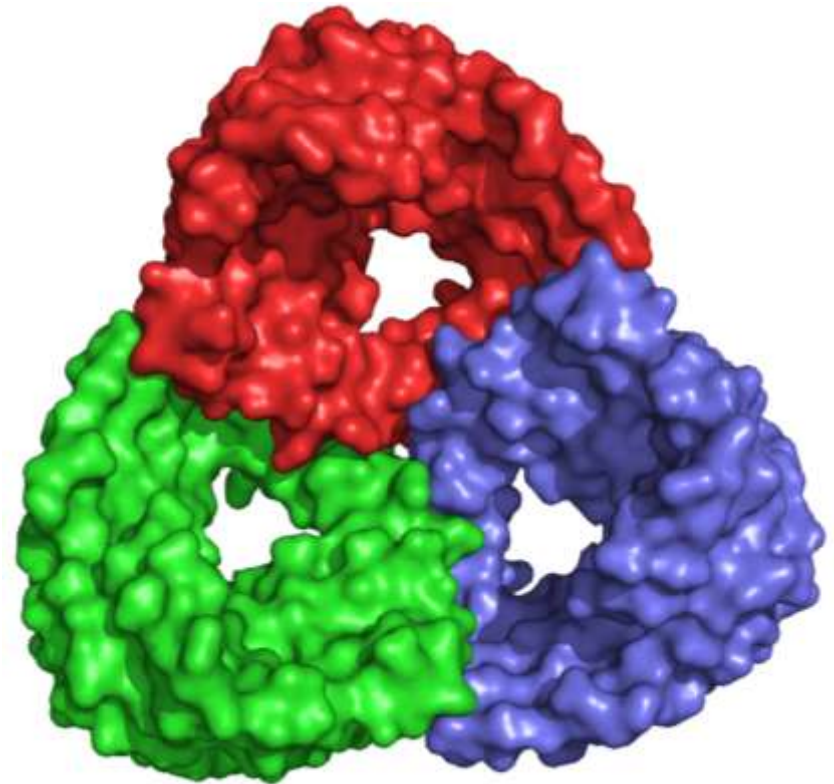
Porini

Proteini v zunanji membrani gramnegativnih bakterij. Okoli 100.000 kopij na celico. So kanali, ki omogočajo pasivno difuzijo molekul.

Primer: porin iz *Rhodobacter capsulatus*. Je homotrimer.



PDB 2POR

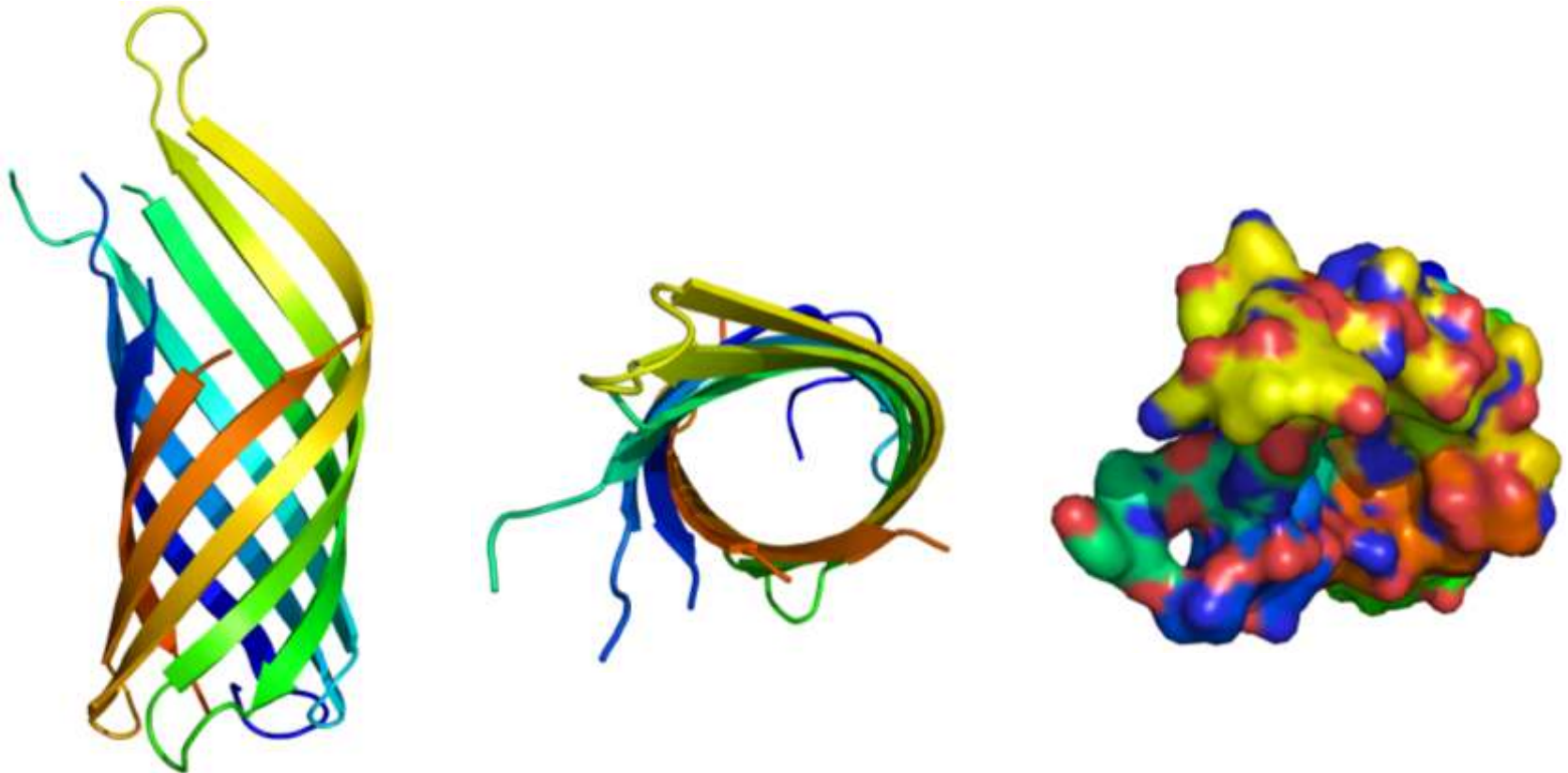


β -sodček s 16 trakovi. Zanka med trakovoma 5 in 6 zapira dostop do pore z zunajcelične strani. Stabilizirana je z 2 Ca^{2+} ionoma. Premer pore na najožjem delu je cca. 8 Å.

OmpA

Strukturo transmembranskega β -sodčka imajo tudi drugi proteini v zunanji membrani gramnegativnih bakterij.

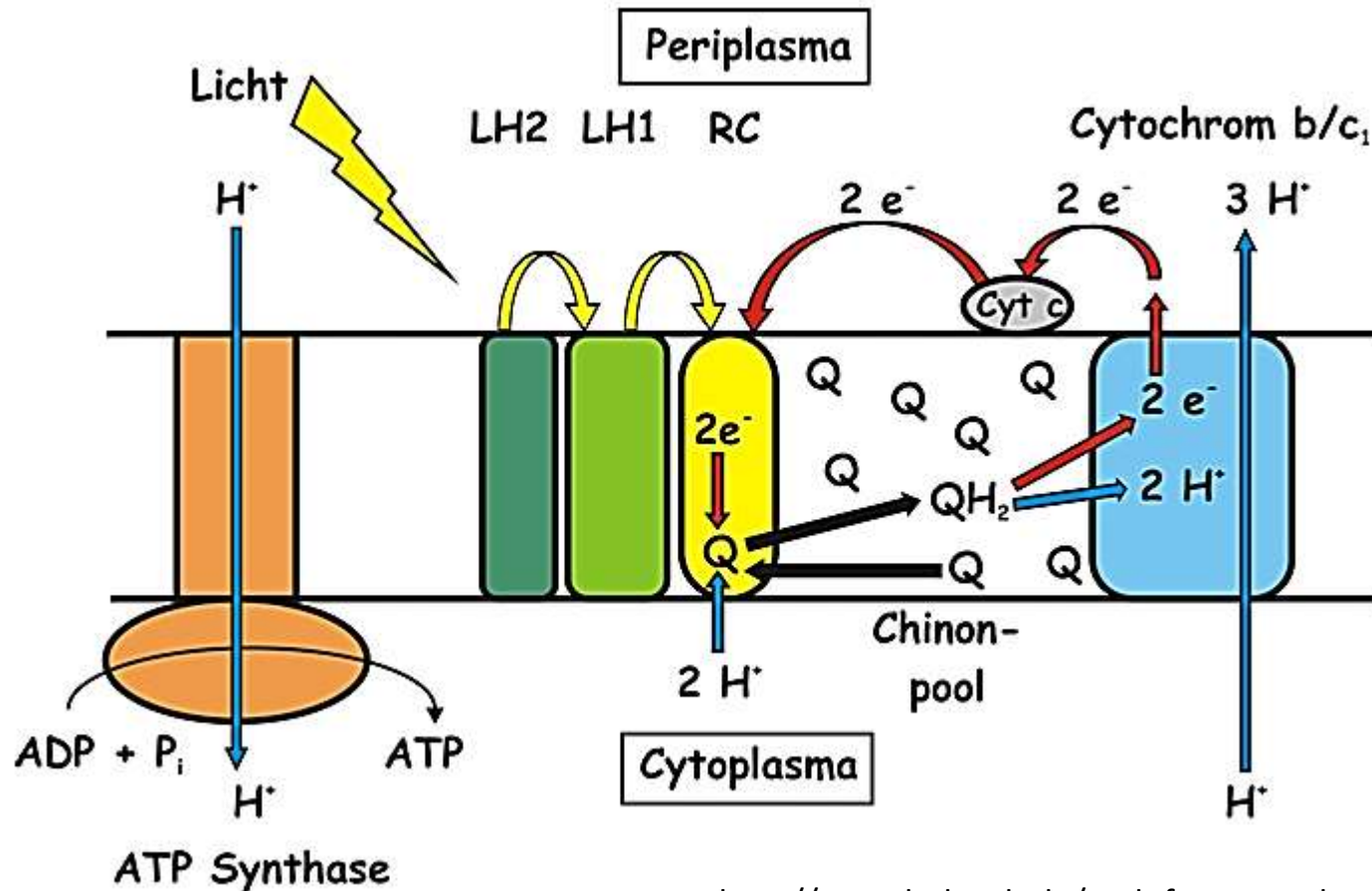
Primer: protein ompA iz *Escherichie coli*. Je strukturni protein, sodeluje tudi pri konjugaciji.



β -sodček z 8 trakovi. Je monomer.

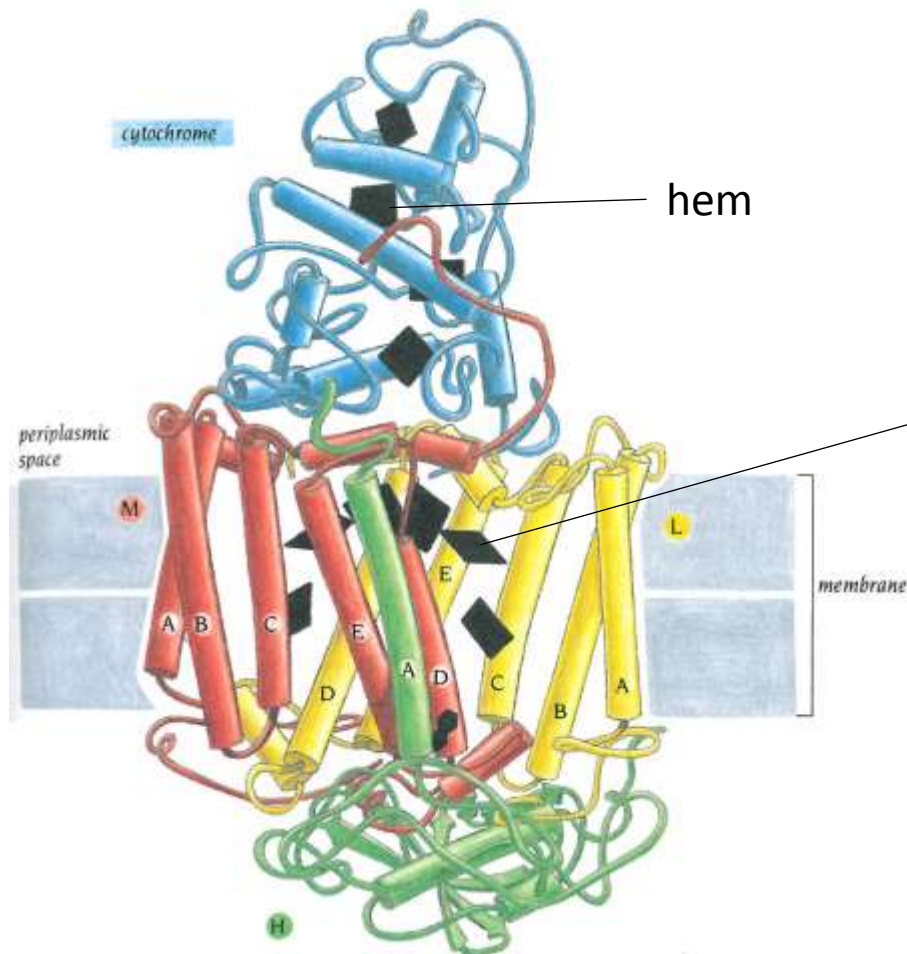
Bakterijski fotosintetski reakcijski center

Fotosintetski reakcijski center proteobakterije *Rhodospseudomonas viridis* je bil prvi membranski protein, katerega kristali so sipali rentgenske žarke do visoke resolucije (Nature, 1985; Nobelova nagrada za kemijo 1988). Nahaja se v membranah fotosintetskih veziklov in ob uporabi sončne energije generira razliko v naboju med periplazmo in citoplazmo, ki poganja sintezo ATP. Gre za anoksično fotosintezo, vir ogljika je organski ali CO_2 .



Bakterijski fotosintetski reakcijski center

Fotosintetski reakcijski center proteobakterije *Rhodospseudomonas viridis* je bil prvi membranski protein, katerega kristali so sipali rentgenske žarke do visoke resolucije (Nature, 1985; Nobelova nagrada za kemijo 1988). Nahaja se v membranah fotosintetskih veziklov in ob uporabi sončne energije generira razliko v naboju med periplazmo in citoplazmo, ki poganja sintezo ATP. Gre za anoksično fotosintezo, vir ogljika je organski ali CO_2 .



4 podenote:

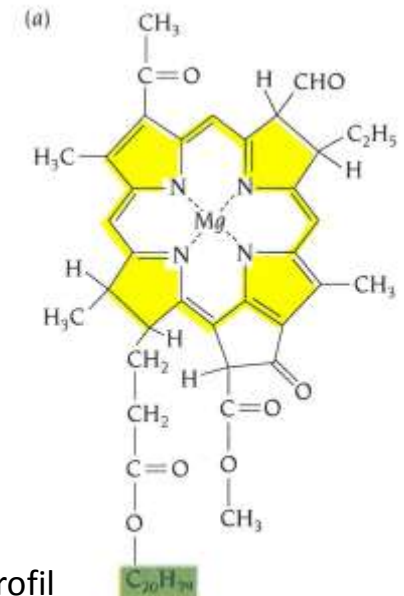
L (5 transmembranskih vijačnic)

M (5 transmembranskih vijačnic)

H (1 transmembranska vijačnica)

citokrom

fotosintetski pigmenti

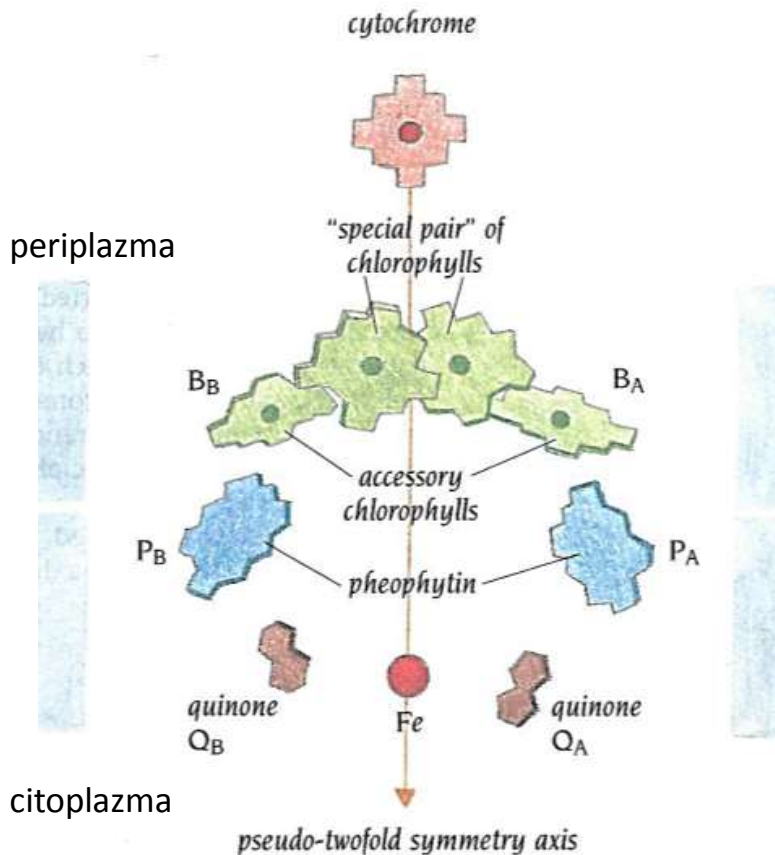


bakterioklorofil

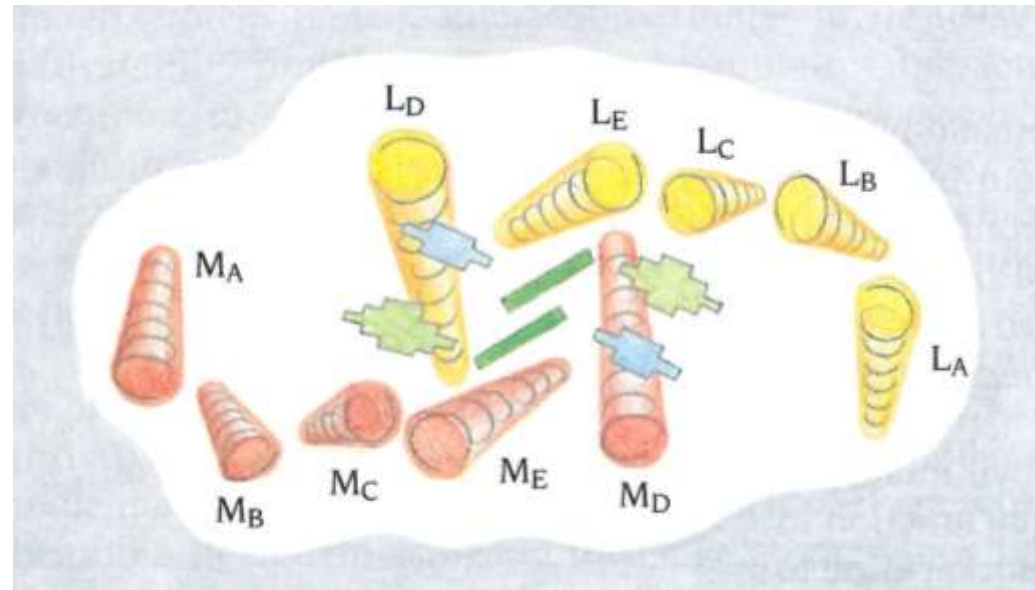
Bakterijski fotosintetski reakcijski center

Fotosintetski reakcijski center proteobakterije *Rhodospseudomonas viridis* je bil prvi membranski protein, katerega kristali so sipali rentgenske žarke do visoke resolucije (Nature, 1985; Nobelova nagrada za kemijo 1988). Nahaja se v membranah fotosintetskih veziklov in ob uporabi sončne energije generira razliko v naboju med periplazmo in citoplazmo, ki poganja sintezo ATP. Gre za anoksično fotosintezo, vir ogljika je organski ali CO_2 .

pogled s strani



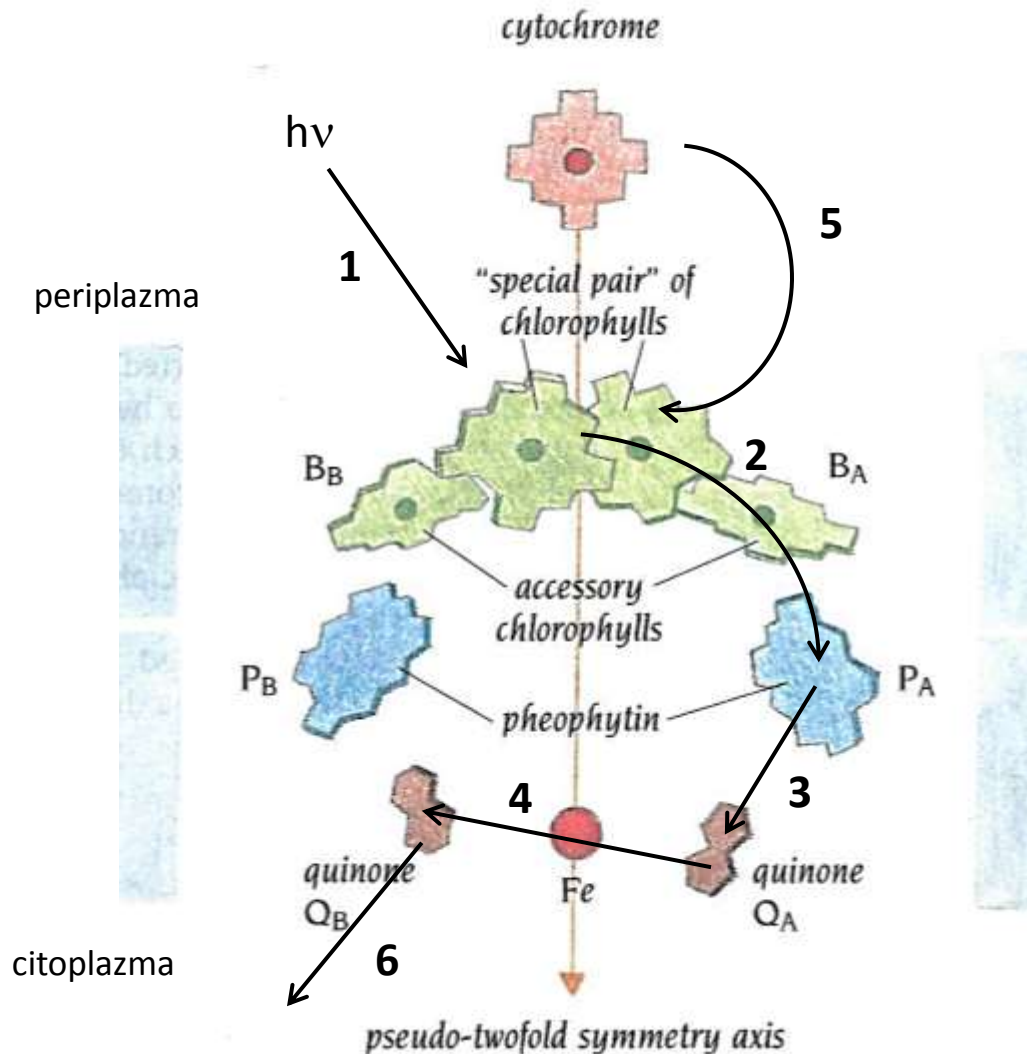
pogled od zgoraj



Podenoti L in M sta razporejeni simetrično, zato so simetrično razporejeni tudi pigmenti.

Bakterijski fotosintetski reakcijski center

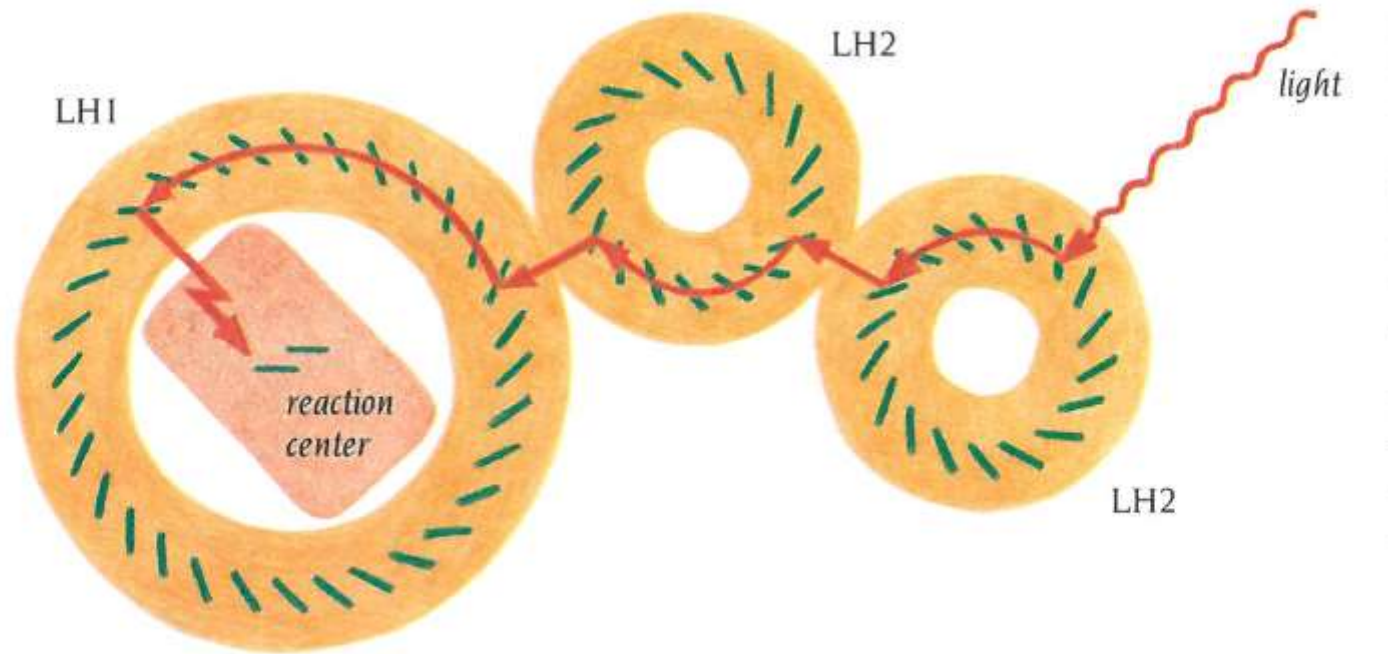
Mehanizem delovanja reakcijskega centra je zasnovan tako, da omogoča enosmerni transport elektronov.



1. Posebni par klorofilov absorbira foton
2. Z vzbujenega posebnega para se prenese elektron na feofitin P_A (trajanje 2 ps)
3. S P_A se elektron prenese na kinon Q_A (200 ps)
4. S kinona Q_A se elektron prenese na kinon Q_B (100 μ s)
5. Citokrom donira elektron posebnemu paru klorofila
6. Ko kinon Q_B sprejme dva elektrona, oddisociira in sodeluje v naslednjih stopnjah fotosinteze

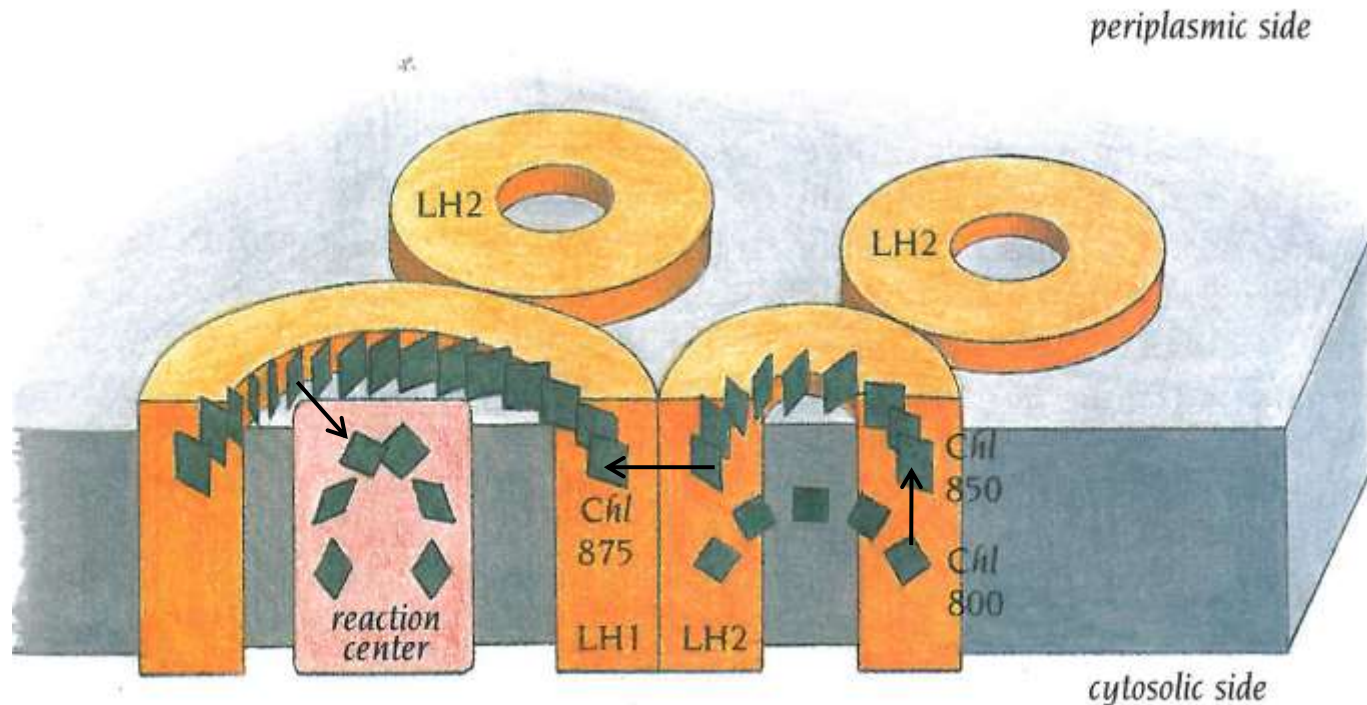
Antenski kompleks reakcijskega centra

Kljub visokemu izkoristku reakcijskega centra (>98%) le majhen delež vpadne svetlobe dejansko zadene le-tega. Zato se je pri teh organizmih razvil poseben antenski kompleks, ki zajema svetlobo in jo kanalizira reakcijskem centru. Okoli vsakega reakcijskega centra je en kompleks LH1 in 8 do 10 kompleksov LH2.



Antenski kompleks reakcijskega centra

Kljub visokemu izkoristku reakcijskega centra (>98%) le majhen delež vpadne svetlobe dejansko zadene le-tega. Zato se je pri teh organizmih razvil poseben antenski kompleks, ki zajema svetlobo in jo kanalizira reakcijskem centru. Okoli vsakega reakcijskega centra je en kompleks LH1 in 8 do 10 kompleksov LH2.

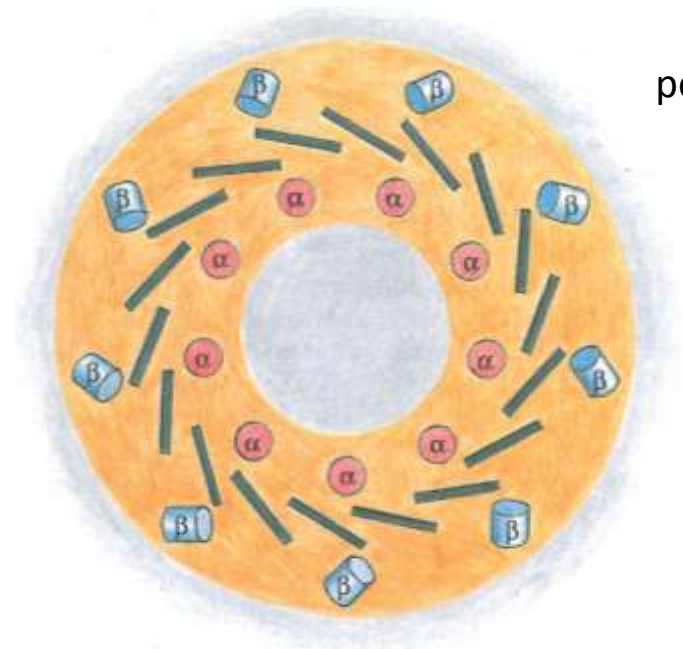
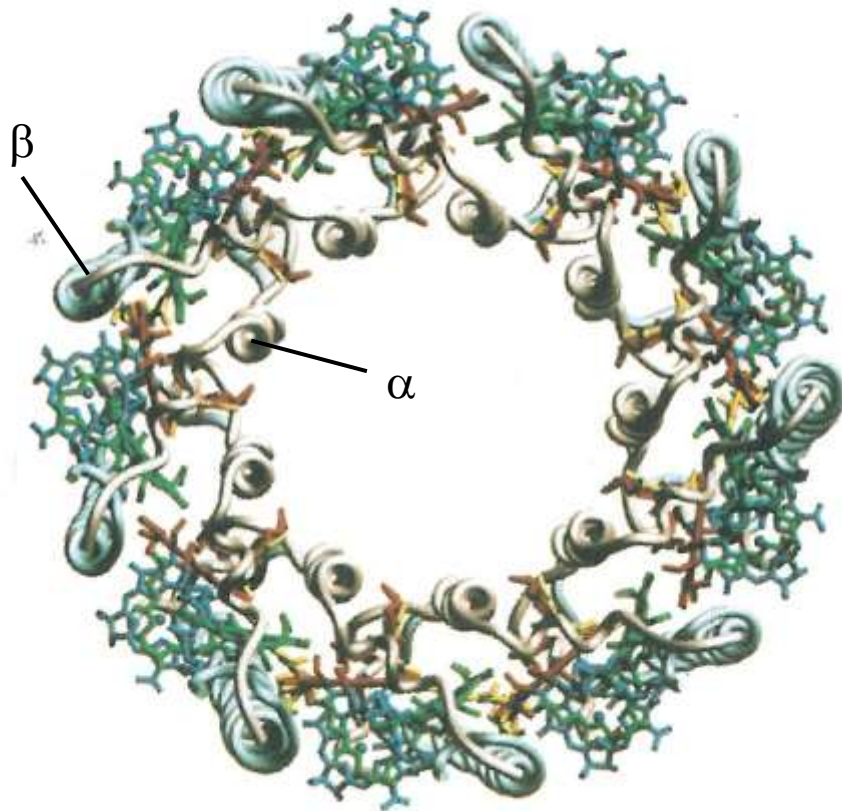


LH1 ima en sistem klorofilov (absorbira svetlobo z $\lambda = 875$ nm), LH2 pa dva (800 in 850 nm). Ujeta svetloba se med sistemi prenaša v smeri padajoče energije (v smeri puščic).

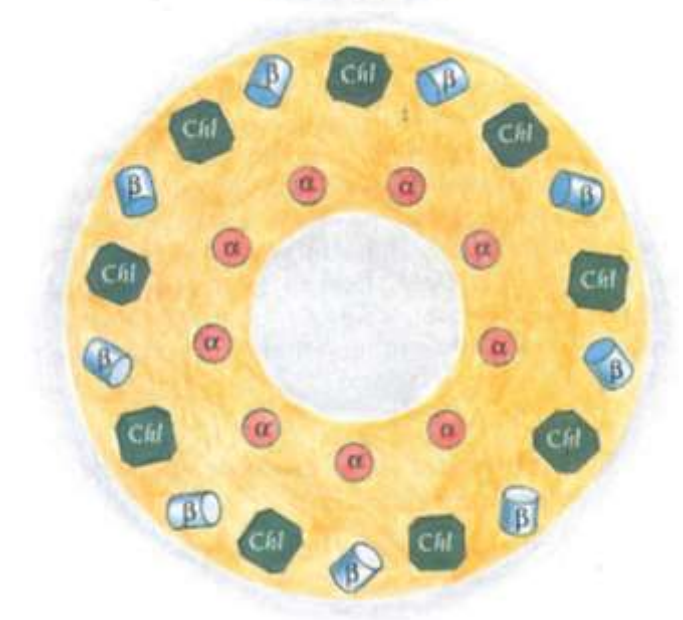
Antenski kompleks reakcijskega centra

Zgradba LH2:

9 parov verig α in β
+ 27 klorofilov
+ 9 karotenoidov



periplazemski
sistem
klorofilov
(18 molekul)



notranji
sistem
klorofilov
(9 molekul)

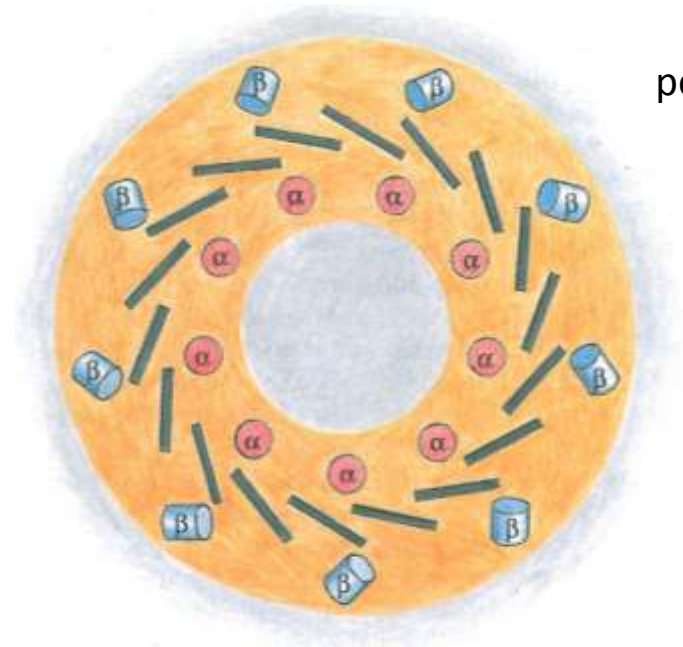
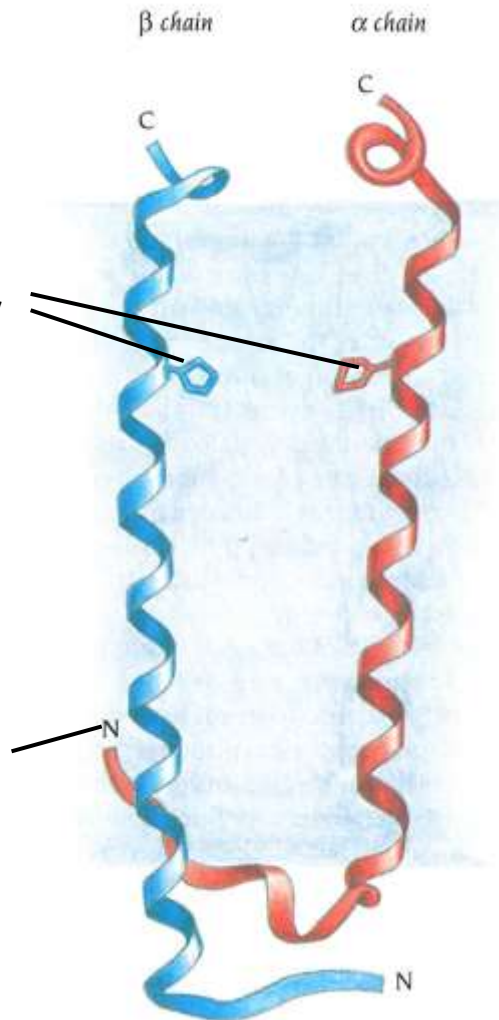
Antenski kompleks reakcijskega centra

Zgradba LH2:

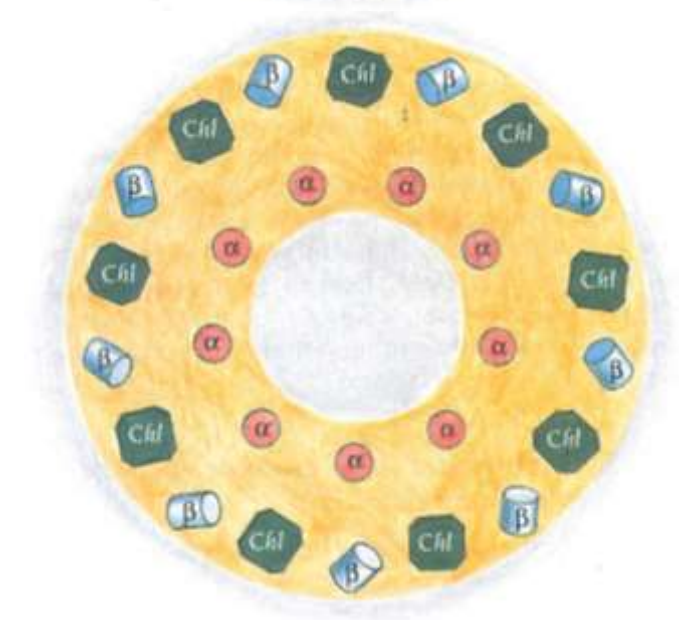
9 parov verig α in β
+ 27 klorofilov
+ 9 karotenoidov

vežeta po enega izmed
periplazemskih klorofilov
(preko Mg iona)

fMet veže klorofil
notranjega sistema
(preko Mg iona)



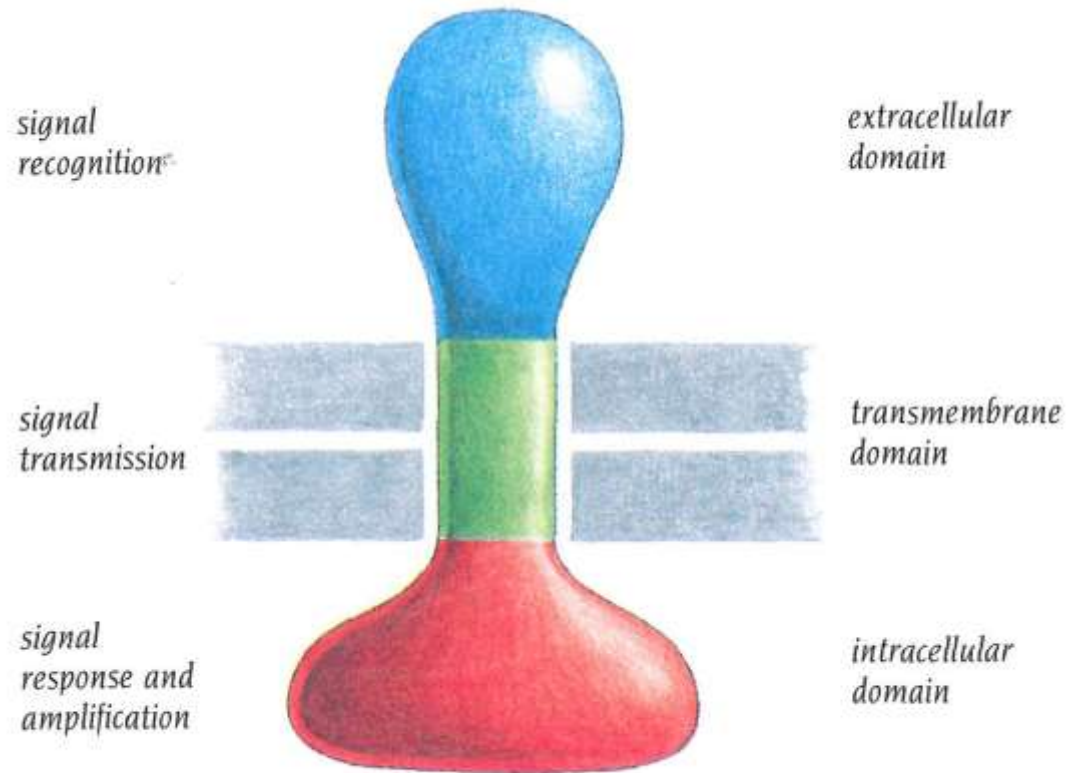
periplazemski
sistem
klorofilov
(18 molekul)



notranji
sistem
klorofilov
(9 molekul)

Prenos signalov

Splošna shema zgradbe receptorja:



Prenos signalov – G proteini

G proteini prenašajo signale iz zunajceličnega prostora v celico. Povezani so z receptorji iz družine s receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami. V genomu je okoli 800 genov za receptorje sklopljene z G proteini.

Table 13.1 Examples of physiological processes mediated by G proteins

| <i>Stimulus</i> | <i>Receptor</i> | <i>Effector</i> | <i>Physiological response</i> |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------|--|
| Epinephrine | β -adrenergic receptor | adenylate cyclase | glycogen breakdown |
| Light | rhodopsin | c-GMP phosphodiesterase | visual excitation |
| IgE–antigen complexes | mast cell IgE receptor | phospholipase C | histamine secretion in all allergic reactions |
| Acetylcholine | muscarinic receptor | potassium channel | slowing of pacemaker activity that controls the rate of the heartbeat |

Prenos signalov – G proteini

G proteini prenašajo signale iz zunajceličnega prostora v celico. Povezani so z receptorji iz družine s receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami. V genomu je okoli 800 genov za receptorje sklopljene z G proteini.

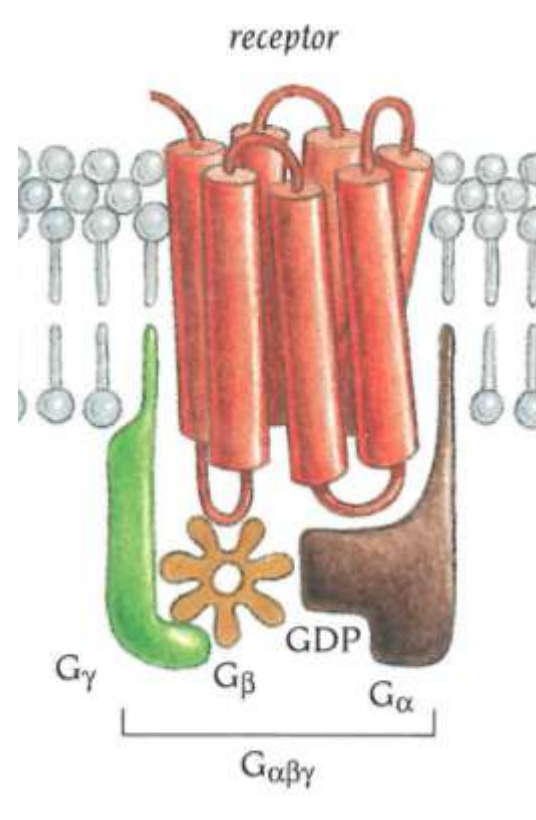
G proteini so večinoma heterotrimeri

G_{α} – 45 kDa, GTPazna aktivnost

G_{β} – 35 kDa

G_{γ} – 8 kDa

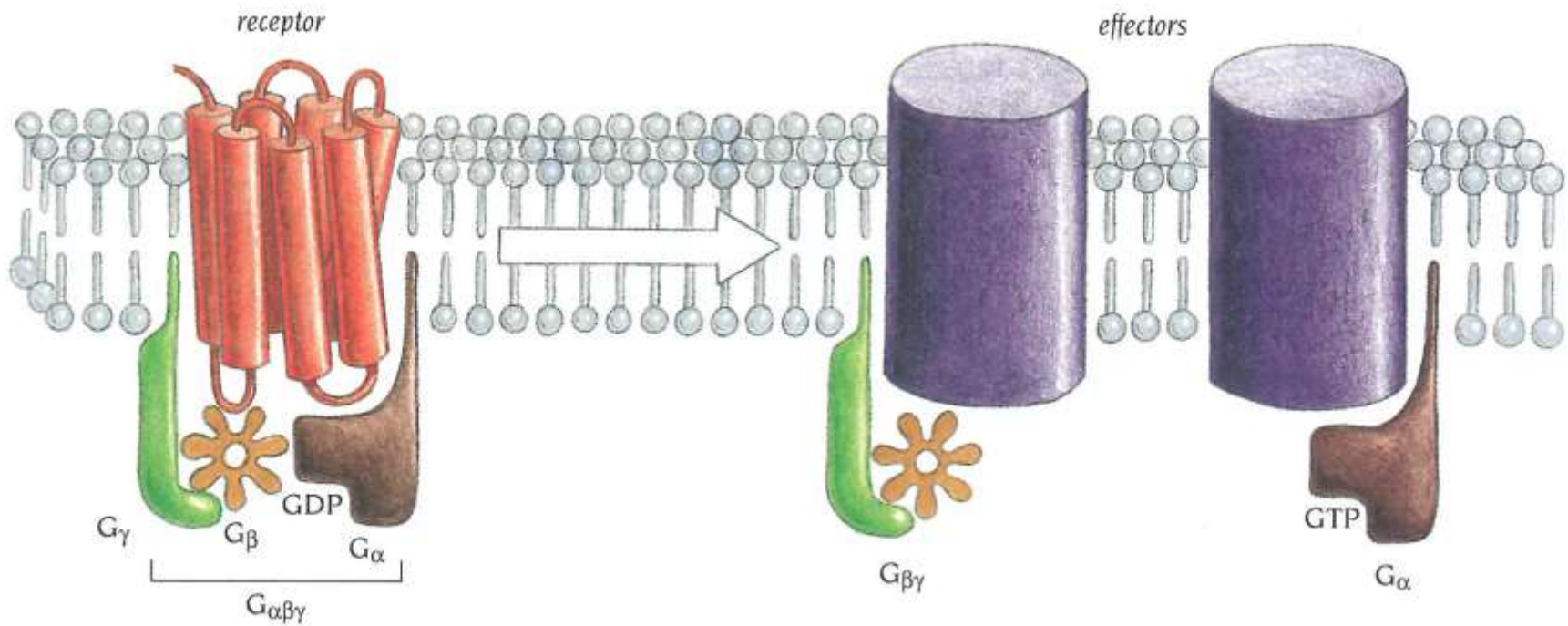
G_{α} in G_{γ} sta zasidrana v membrano preko kovalentno vezane lipidne molekule



Prenos signalov – G proteini

G proteini prenašajo signale iz zunajceličnega prostora v celico. Povezani so z receptorji iz družine s receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami. V genomu je okoli 800 genov za receptorje sklopljene z G proteini.

Aktivacija receptorja povzroči zamenjavo GDP za GTP in disociacijo trimera.

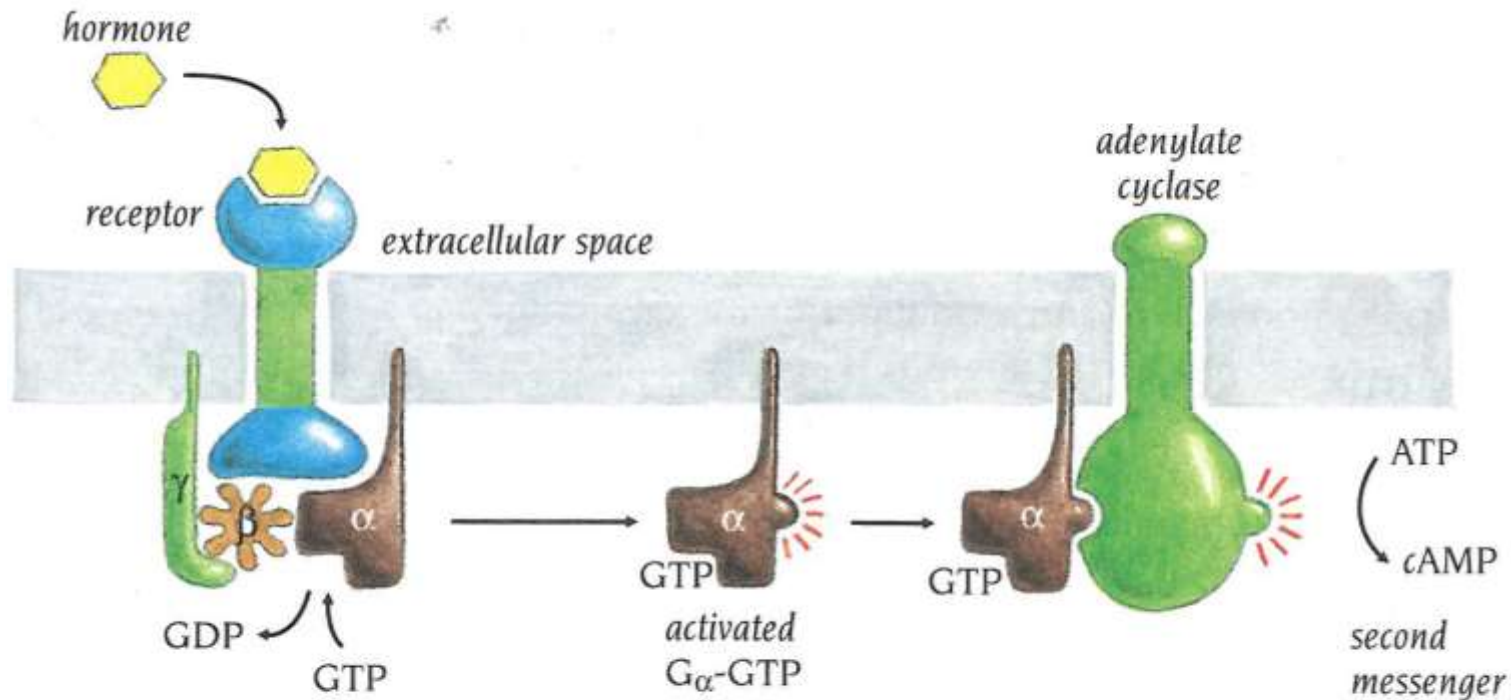


Po hidrolizi GTP (regulirajo jo RGS proteini), se G_{α} -GDP ponovno asociira z $G_{\beta\gamma}$.

Prenos signalov – G proteini

G proteini prenašajo signale iz zunajceličnega prostora v celico. Povezani so z receptorji iz družine s receptorjev s sedmimi transmembranskimi vijačnicami. V genomu je okoli 800 genov za receptorje sklopljene z G proteini.

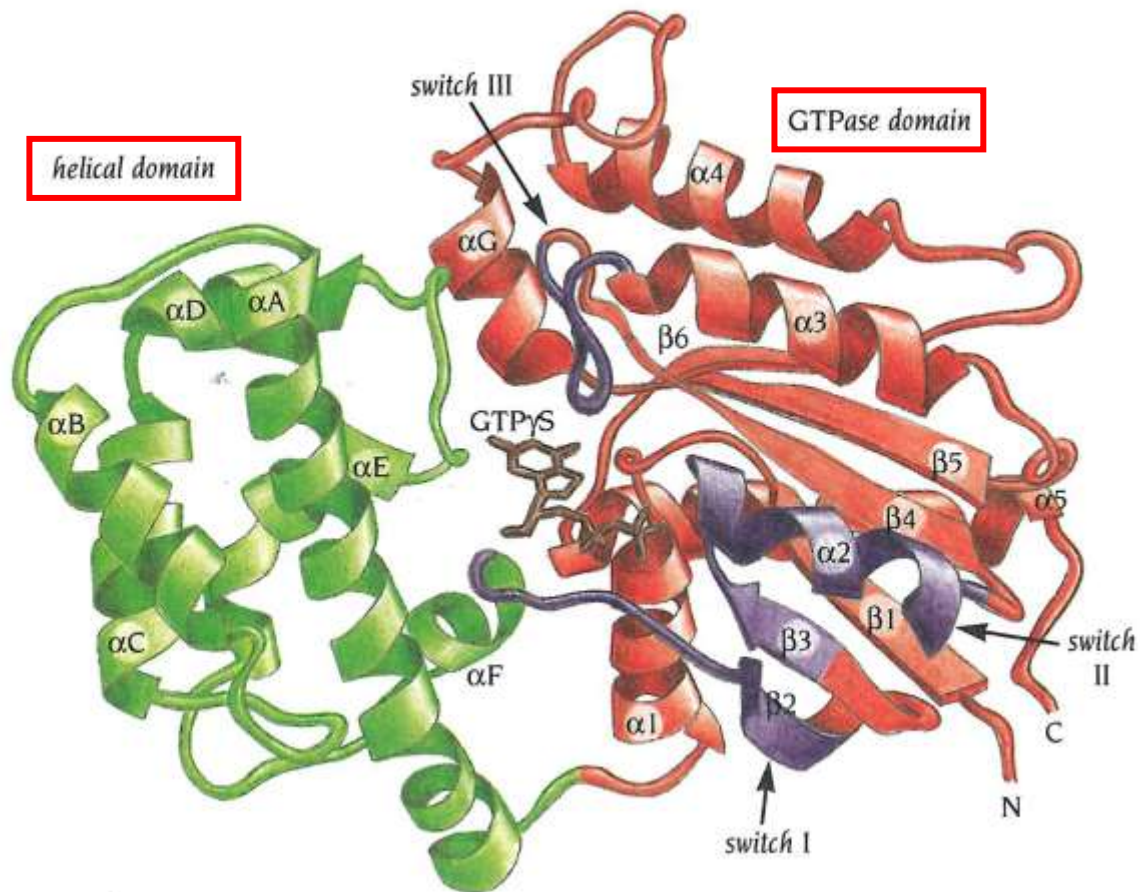
Aktivacija receptorja povzroči zamenjavo GDP za GTP in disociacijo trimera.



Prenos signalov – G proteini

Transducin je G protein v mrežnici, sklopljen z rodopsinom. Ob ekscitaciji rodopsina G_{α} podenota transducina prenese signal, tako da aktivira ciklično GMP fosfodiesterazo.

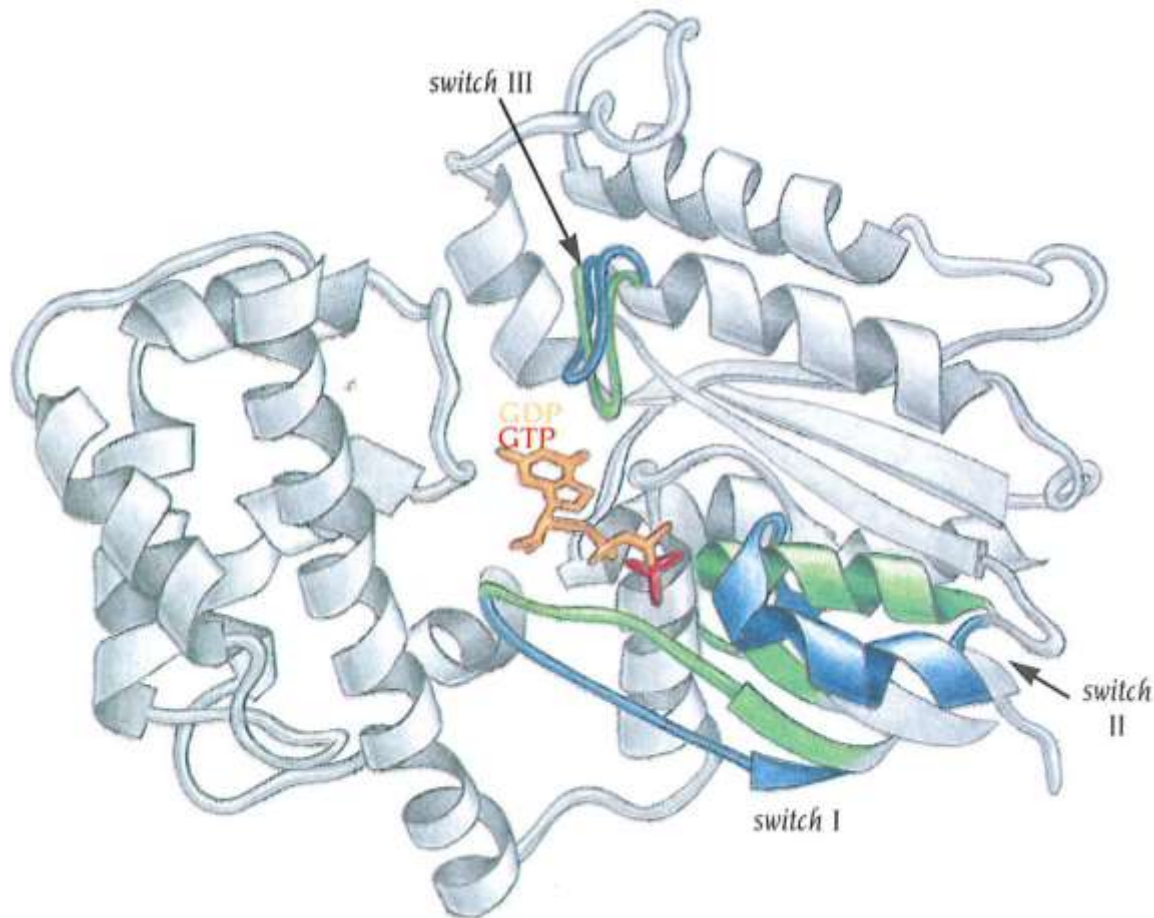
Struktura G_{α} podenote transducina:



Prenos signalov – G proteini

Transducin je G protein v mrežnici, sklopljen z rodopsinom. Ob ekscitaciji rodopsina G_{α} podenota transducina prenese signal, tako da aktivira ciklično GMP fosfodiesterazo.

Struktura G_{α} podenote transducina:

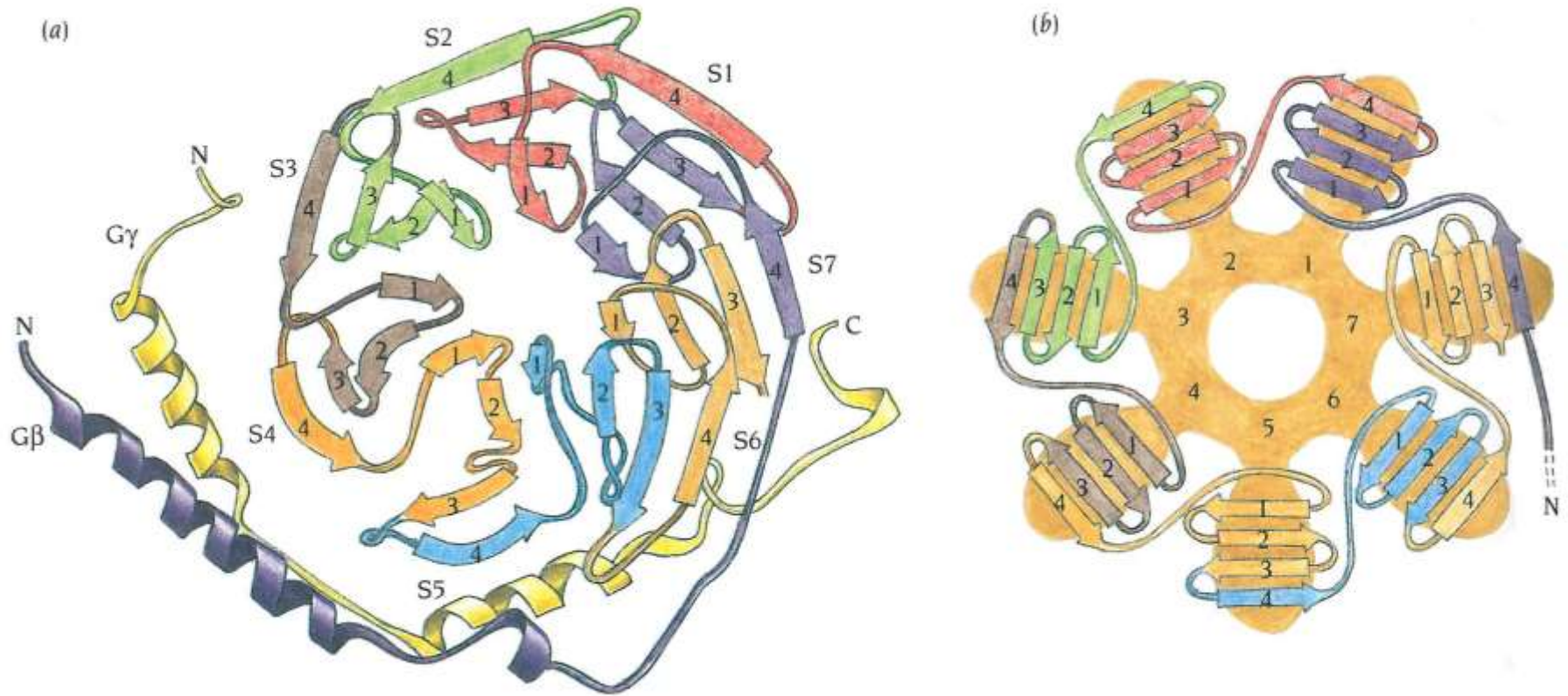


Konformacijske spremembe, ki regulirajo razlikovanje med GDP in GTP so omejene na tri regije.

Konformacijsko spremembo sproži aktivacija receptorja. Ob hidrolizi GTP se molekula povrne v GDP-vezano konformacijo.

Prenos signalov – G proteini

Struktura $G_{\beta\gamma}$ heterodimera transducina:



G_{β} podenota tvori 7-krilni β propeler.

G_{γ} podenota tvori dve vijačnici, ki interagirata z G_{β} podenoto pretežno preko hidrofobnih interakcij. N-končna vijačnica tvori ovito vijačnico z vijačnico G_{β} podenoto.

Prenos signalov – G proteini

Struktura G_{β} podenote transducina:

Na nivoju aminokislinskega zaporedja je G_{β} podenote sestavljena iz sedmih WD ponovitev.

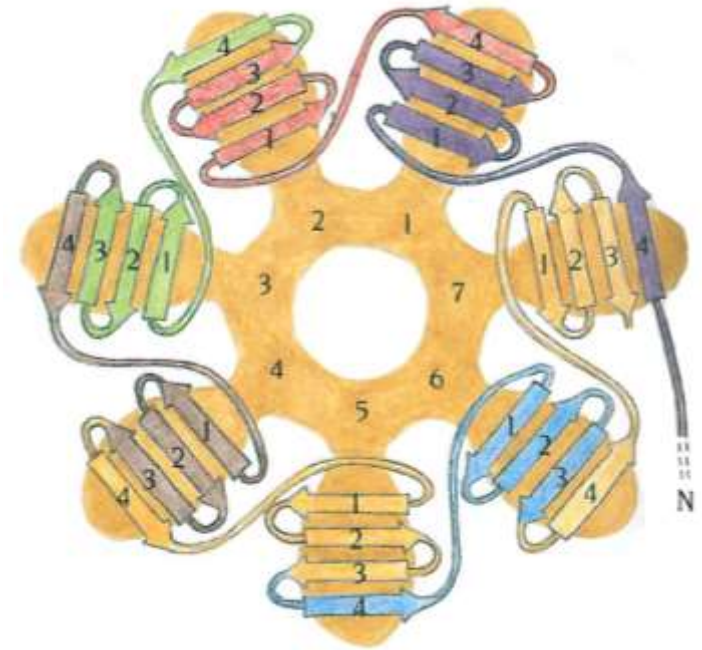


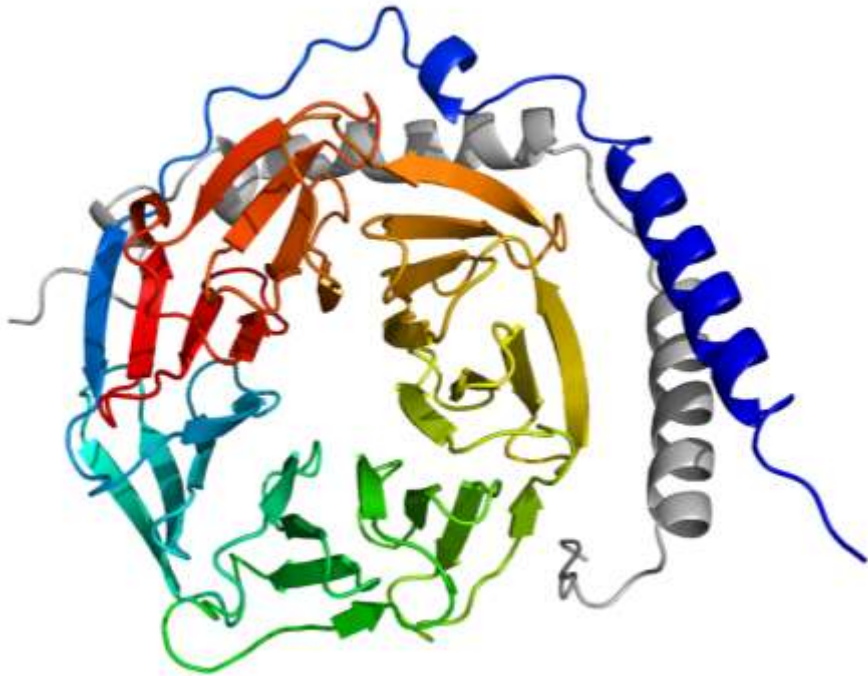
Table 13.2 Sequence alignments of the seven WD repeats in the G_{β} subunit of transducin

| | 1 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 42 |
|------|-----------------------------------|-------------------|---|-----------------------------------|-------------|-------------|-----|
| | | → 4 | | | → 2 | | → 3 |
| WD-1 | - - - - - | R T R R T L R G | H L A K | - - T Y A M H W G T D S R L L L | S A S Q | D G K L I I | W D |
| WD-2 | S Y T - - - - | T N K V H A I P L | R S S W | - - V M T C A Y A P S G N Y V A | C G G L | D N I C S I | Y N |
| WD-3 | L K T R E G N V R V S R E L A G H | T G Y | - - L S C C R F L D D - N Q I V T S S G | D T T C A L | W D | | |
| WD-4 | I E T - - - - | G Q Q T T T F T G | H T G D | - - V M S L S L A P D T R L F V | S G A C | D A S A K L | W D |
| WD-5 | V R E - - - - | G M C R Q T F T G | H E S D | - - I N A I C F F P N G N A F A T | G S D | D A T C R L | F D |
| WD-6 | L R A - - - - | D Q E L M T Y S H | D N I I C G I T S V S F S K S G R L L L | A G Y D | D F N C N V | W D | |
| WD-7 | A L K - - - - | A D R A G V L A G | H D N R | - - V S C L G V T D D G M A V A | T G S W | D S F L K T | W N |

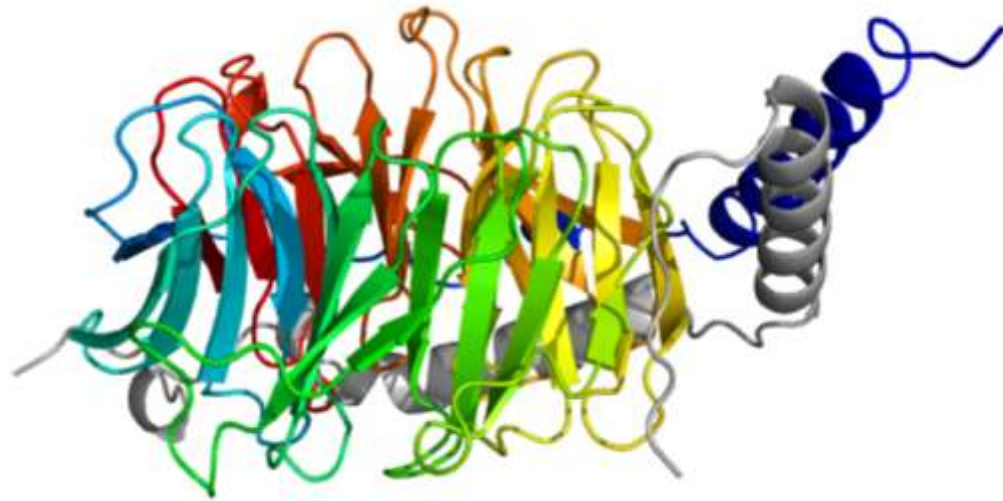
Arrows denote β strands. Colored columns correspond to the five almost invariant residues described in the text and shown in Figure 13.14.

Prenos signalov – G proteini

Struktura G_{β} podenote transducina:



pogled od zgoraj



pogled s strani

Prenos signalov – G proteini

Struktura G_{β} podenote transducina:

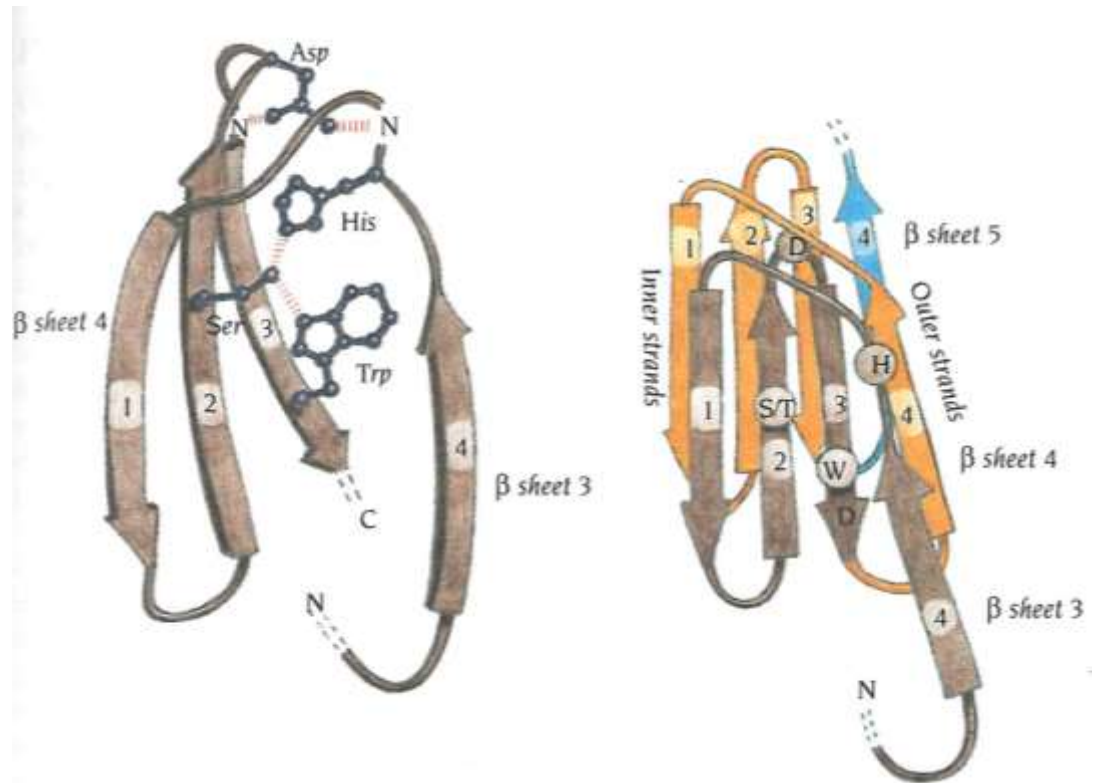


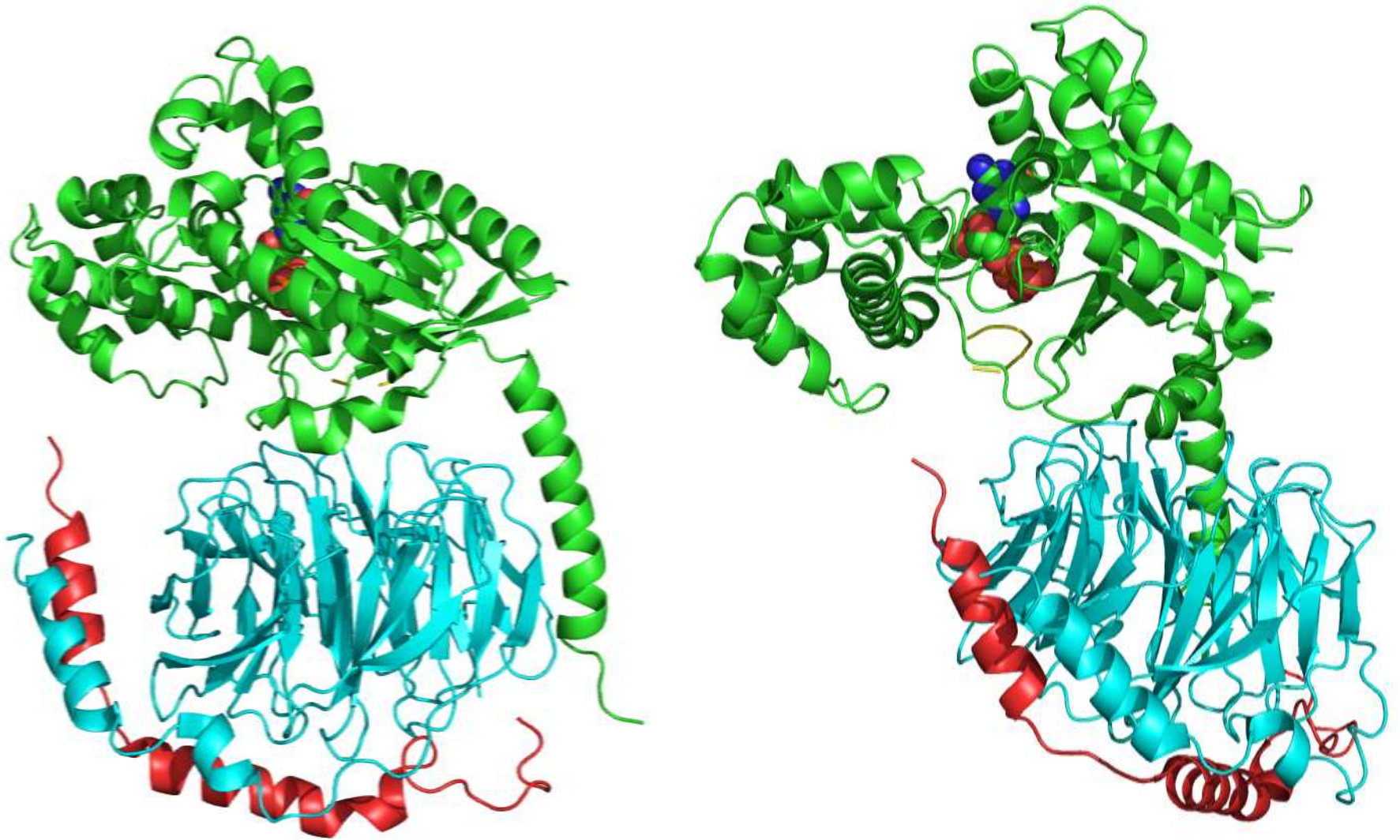
Table 13.2 Sequence alignments of the seven WD repeats in the G_{β} subunit of transducin

| | 1 | 5 | 10 | 20 | 30 | 40 | 42 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|---|---|----|--------|----|----|-----|---|---|---------|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| WD-1 | - | - | - | RTRRTL | RG | H | LAK | - | - | TYAMHWG | TSRLL | L | S | A | S | O | D | G | K | L | I | I | W | D | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| WD-2 | S | Y | T | - | - | - | TN | K | V | H | A | I | P | L | R | S | S | W | - | - | V | M | T | C | A | Y | A | P | S | G | N | Y | V | A | C | G | G | L | D | N | I | C | S | I | Y | N | | |
| WD-3 | L | K | T | R | E | G | N | V | R | V | S | R | E | L | A | G | H | T | G | Y | - | - | L | S | C | C | R | F | L | D | D | - | N | Q | I | V | T | S | S | G | D | T | T | C | A | L | W | D |
| WD-4 | I | E | T | - | - | - | G | Q | T | T | T | F | T | G | H | T | G | D | - | - | V | M | S | L | S | L | A | P | D | T | R | L | F | V | S | G | A | C | D | A | S | A | K | L | W | D | | |
| WD-5 | V | R | E | - | - | - | G | M | C | R | Q | T | F | T | G | H | E | S | D | - | - | I | N | A | I | C | F | F | P | N | G | N | A | F | A | T | G | S | D | D | A | T | C | R | L | F | D | |
| WD-6 | L | R | A | - | - | - | D | O | E | L | M | T | Y | S | H | D | N | I | I | C | G | I | T | S | V | S | F | S | K | S | G | R | L | L | L | A | G | Y | D | D | F | N | C | N | V | W | D | |
| WD-7 | A | L | K | - | - | - | A | D | R | A | G | V | L | A | G | H | D | N | R | - | - | V | S | C | L | G | V | T | D | D | G | M | A | V | A | T | G | S | W | D | S | F | L | K | T | W | N | |

Arrows denote β strands. Colored columns correspond to the five almost invariant residues described in the text and shown in Figure 13.14.

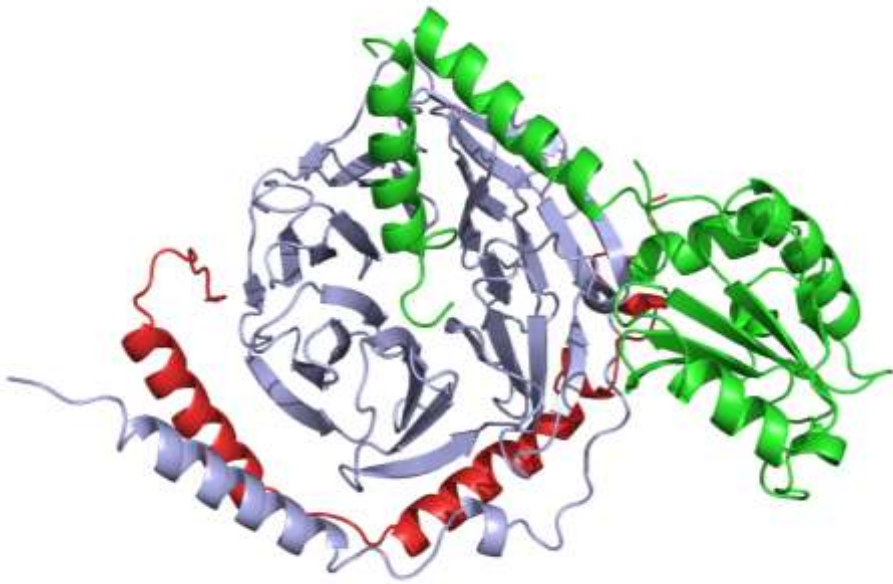
Prenos signalov – G proteini

Struktura $G_{\alpha\beta\gamma}$ heterotrimera:

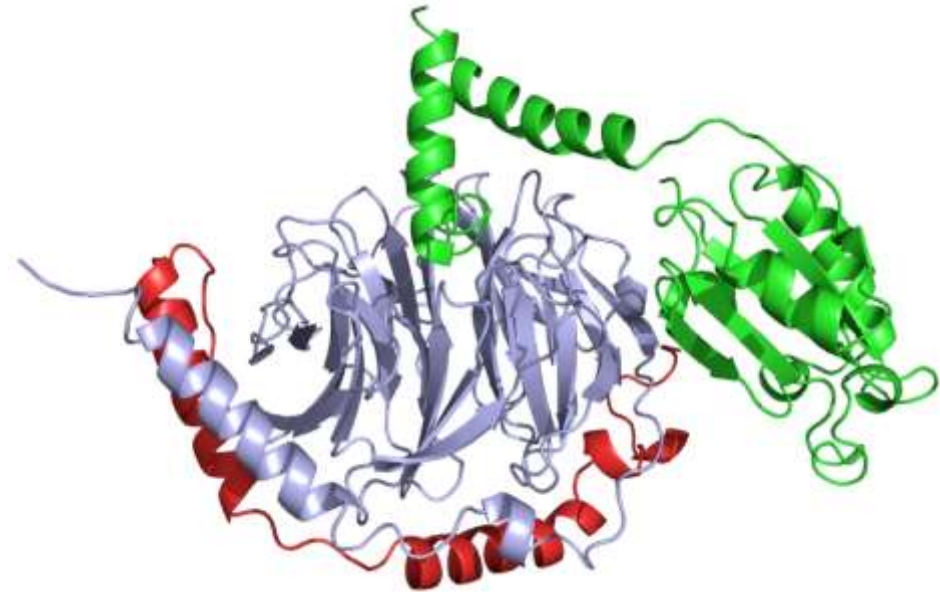


Prenos signalov – G proteini

Fosducin je regulator prilagajanja vida na intenziteto svetlobe. Ko je svetlobe malo (ponoči), je neaktiven (fosforiliran), absorpcija vsakega fotona pa sproži razgradnjo več kot 100.000 cGMP, kar je dovolj za sprožitev živčnega impulza. Ko je svetlobe veliko (podnevi), se fosducin aktivira (defosforilira) in prepreči čezmerno stimulacijo, tako da veže $G_{\beta\gamma}$ podenoto transducina in jo translocira v citosol.



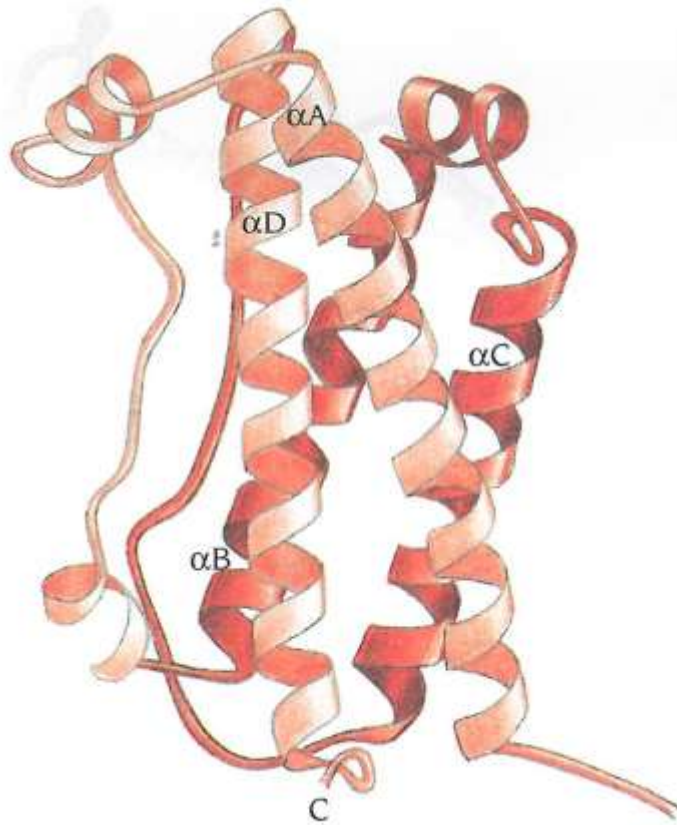
pogled od zgoraj



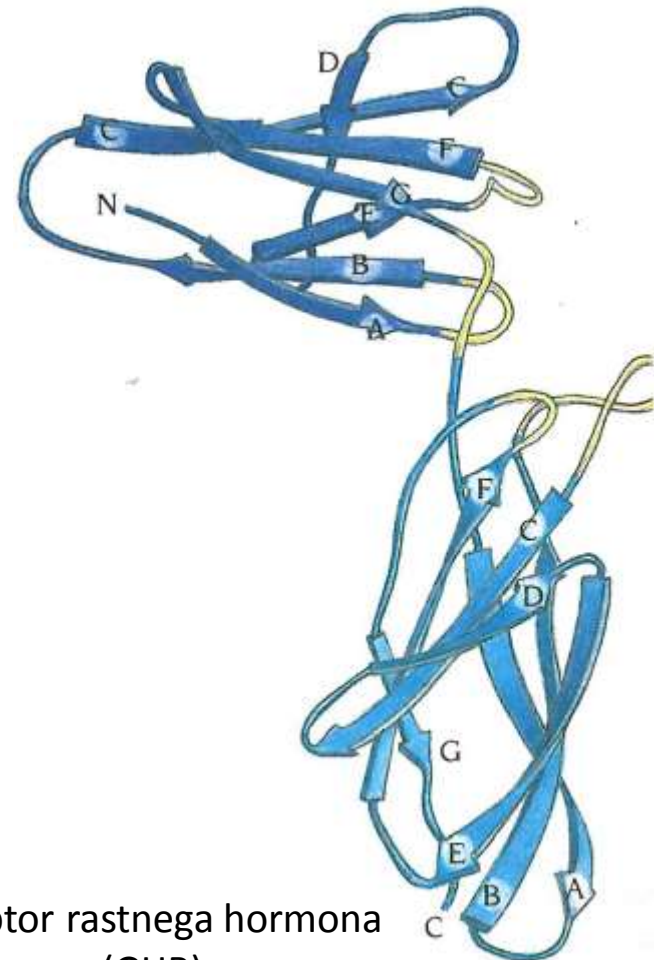
pogled s strani

Prenos signalov – Receptor rastnega hormona

Rastni hormon je peptidni hormon (hematopoetska družina citokinov), ki aktivira specifične transkripcijske faktorje v tarčni celici. Receptor rastnega hormona je sestavljen iz dveh zunajceličnih domen z imunoglobulinom podobnim zvitjem, transmembranske regije in znotrajceličnega dela, ki sproži signaliziranje preko aktivacije tirozinskih kinaz.



človeški rastni hormon (GH)

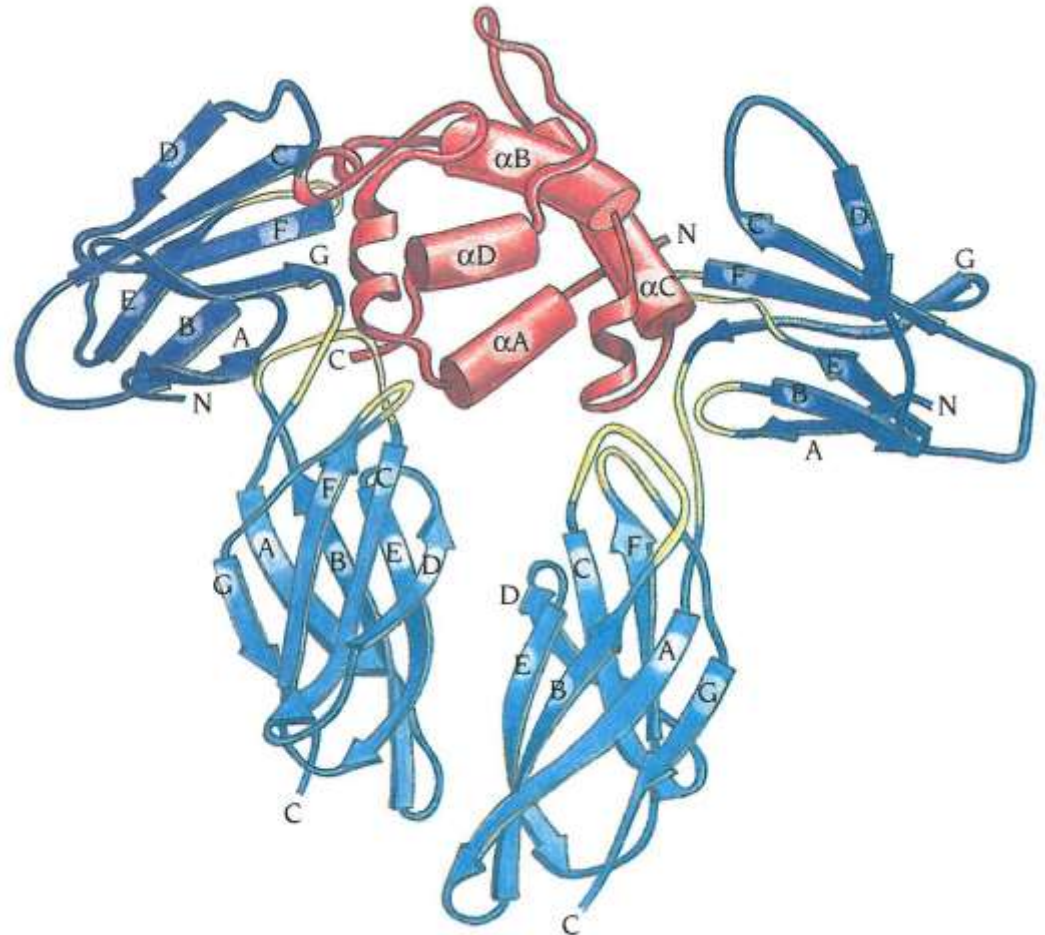


receptor rastnega hormona
(GHR)

Prenos signalov – Receptor rastnega hormona

Rastni hormon je peptidni hormon (hematopoetska družina citokinov), ki aktivira specifične transkripcijske faktorje v tarčni celici. Receptor rastnega hormona je sestavljen iz dveh zunajceličnih domen z imunoglobulinom podobnim zvitjem, transmembranske regije in znotrajceličnega dela, ki sproži signaliziranje preko aktivacije tirozinskih kinaz.

Vezava liganda inducira dimerizacijo receptorja. Obe molekuli receptorja za vezavo liganda uporabljata enake zanke, kljub temu da molekula liganda ni simetrična.

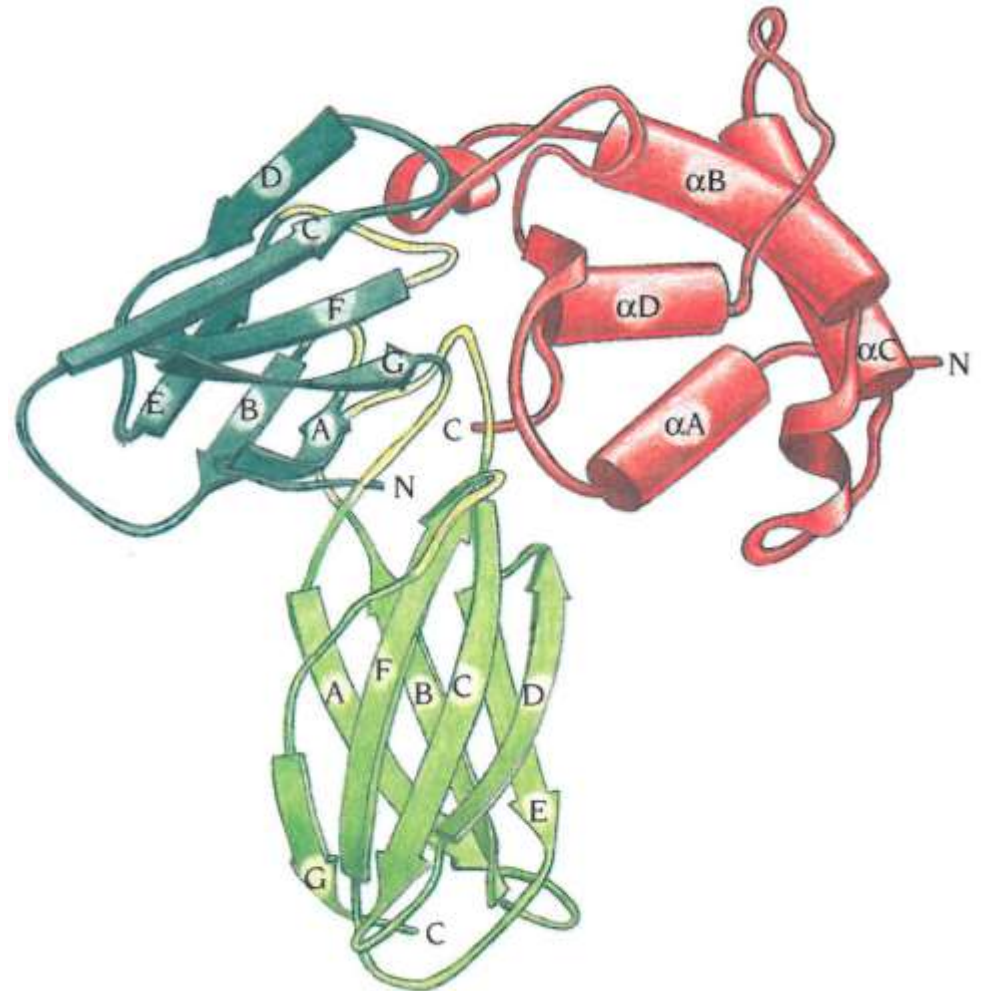


Prenos signalov – Receptor rastnega hormona

Rastni hormon je peptidni hormon (hematopoetska družina citokinov), ki aktivira specifične transkripcijske faktorje v tarčni celici. Receptor rastnega hormona je sestavljen iz dveh zunajceličnih domen z imunoglobulinom podobnim zvitjem, transmembranske regije in znotrajceličnega dela, ki sproži signaliziranje preko aktivacije tirozinskih kinaz.

GH lahko tvori 1:1 kompleks z zunajcelično domeno prolaktinskega receptorja (homolog GHR).

Podoben kompleks lahko nastane tudi z GHR *in vitro*.



Prenos signalov – Receptor rastnega hormona

Rastni hormon je peptidni hormon (hematopoetska družina citokinov), ki aktivira specifične transkripcijske faktorje v tarčni celici. Receptor rastnega hormona je sestavljen iz dveh zunajceličnih domen z imunoglobulinom podobnim zvitjem, transmembranske regije in znotrajceličnega dela, ki sproži signaliziranje preko aktivacije tirozinskih kinaz.

Vezava liganda inducira dimerizacijo receptorja. Obe molekuli receptorja za vezavo liganda uporabljata enake zanke, kljub temu da molekula liganda ni simetrična.

