

LIPIDNE MEMBRANE

SESTAVA LIPIDNIH MEMBRAN

maščobne kisline, voski, trigliceridi, glicerolipidi, sfingolipidi, holesterol

ORGANIZIRANOST

monosloji, dvosloji, vezikli, miceli, fluidnost membran, MODEL
TEKOČEGA MOZAIKA, domenska organiziranost membran, LIPIDNI
RAFTI, vloga raftov v celični biologiji

MEMBRANSKI PROTEINI

PERIFERNI PROTEINI, proteini, ki prepoznavajo določene lipide, acilirani
proteini, MONOTOPIČNI PROTEINI, INTEGRALNI MEMBRANSKI
PROTEINI, struktura, distribucija aminokislin

ERITROCITNA MEMBRANA

LIPOPROTEINI

zgradba, funkcija, metabolizem lipoproteinov, ateroskleroza

MEMBRANSKI TRANSPORT

pasivna difuzija, pospešena difuzija, specializirane membranske pore,
aktivni transport, translokacija skupin, ionoforni antibiotiki, naravni toksini

VLOGA MEMBRAN V CELICI

- Neprehodna bariera
- Omogočajo kopičenje nutrientov
- Izvajajo pretvorbo energije
- Olajšujejo gibanje celic
- Prenašajo signale iz okolja
- Omogočajo interakcije med celicami

SESTAVA NEKATERIH BIOLOŠKIH MEMBRAN

Membrane	Protein (%)	Lipid (%)	Carbohydrate (%)	Protein to Lipid Ratio
Plasma membranes:				
Mouse liver cells	46	54	2-4	0.85
Human erythrocyte	49	43	8	1.1
Amoeba	52	42	4	1.3
Rat liver nuclear membrane	59	35	2.0	1.6
Mitochondrial outer membrane	52	48	(2-4) ^a	1.1
Mitochondrial inner membrane	76	24	(1-2) ^a	3.2
Myelin	18	79	3	0.23
Gram-positive bacteria	75	25	(10) ^a	3.0
<i>Halobacterium</i> purple membrane	75	25		3.0

^aDeduced from the analyses.

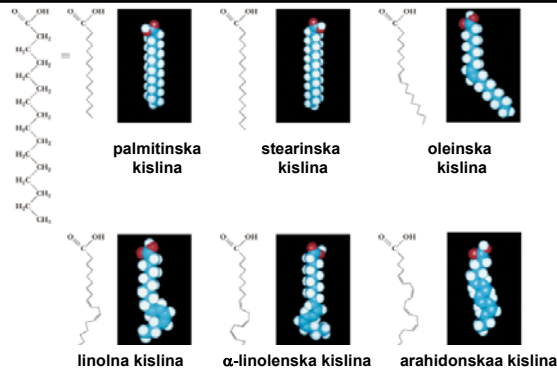
Source: Guidotti, G., *Annu. Rev. Biochem.* **41**, 732 (1972).

MAŠČOBNE KISLINE

nasičene, nenasičene

strukturne posledice:

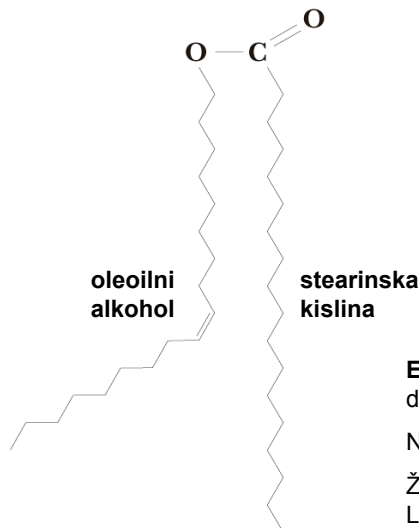
Nasičene so spakirane bolj tesno in tvorijo rigidne agregate. Nenasičene so zvite in spakirane manj urejeno, so bolj gibljive.



Common Biological Fatty Acids

Number of Carbons	Common Name	Systematic Name	Symbol	Structure
Saturated fatty acids				
12	Lauric acid	Dodecanoic acid	12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
14	Myristic acid	Tetradecanoic acid	14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
16	Palmitic acid	Hexadecanoic acid	16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
18	Stearic acid	Octadecanoic acid	18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
20	Arachidic acid	Eicosanoic acid	20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
22	Behenic acid	Docosanoic acid	22:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
24	Lignoceric acid	Tetracosanoic acid	24:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$
Unsaturated fatty acids (all double bonds are <i>cis</i>)				
16	Palmitoleic acid	9-Hexadecenoic acid	16:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18	Oleic acid	9-Octadecenoic acid	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
18	Linoleic acid	9,12-Octadecadienoic acid	18:2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
18	α-Linolenic acid	9,12,15-Octadecatrienoic acid	18:3	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
18	γ-Linolenic acid	6,9,12-Octadecatrienoic acid	18:3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)\text{COOH}$
20	Arachidonic acid	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	20:4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)\text{COOH}$
24	Nervonic acid	15-Tetracosenoic acid	24:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$

VOSKI



ESTRI dolgoverižnih alkoholov z dolgoverižnimi maščobnimi kislinami


Netopni

Živalska koža in krzno prekrita z voski.
Listi rastlin. Perje ptic.


ENOSTAVNI TRIGLICERIDI

$$\begin{array}{c}
 \text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{HO} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \\
 \text{glicerol}
 \end{array}$$

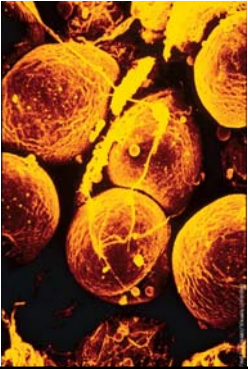
enostaven triglicerid

$$\begin{array}{c}
 \text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\
 \text{O}=\text{C} \quad \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \\
 \text{tristearin}
 \end{array}$$


enostaven triglicerid

$$\begin{array}{c}
 \text{H}_2\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2 \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\
 \text{O}=\text{C} \quad \text{C}=\text{O} \quad \text{C}=\text{O} \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{---} \quad \text{---} \quad \text{---} \\
 \text{miristinska} \quad \text{palmitoleinska} \\
 \text{stearinska} \\
 \text{A mixed triacylglycerol}
 \end{array}$$


mešan triglicerid



Triacilgliceroli (trigliceridi, nevtralne maščobe)

- energetske zaloge pri živalih
- shranjeni v adipocitah (levo) v maščobnih globularnih telescih

GLICEROFOSFOLIPIDI

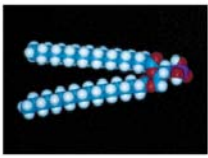
acilni verigi

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 || \\
 \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{---} \\
 \text{O} \\
 || \\
 \text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{H} \\
 | \\
 \text{---}
 \end{array}$$

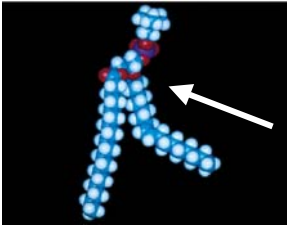
fosfatidna kislina (kislina)

KISEL

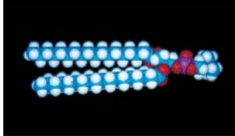
$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 || \\
 \text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-\text{O}^- \\
 | \\
 \text{O}^-
 \end{array}$$



fosfatidilholin (lecitin)



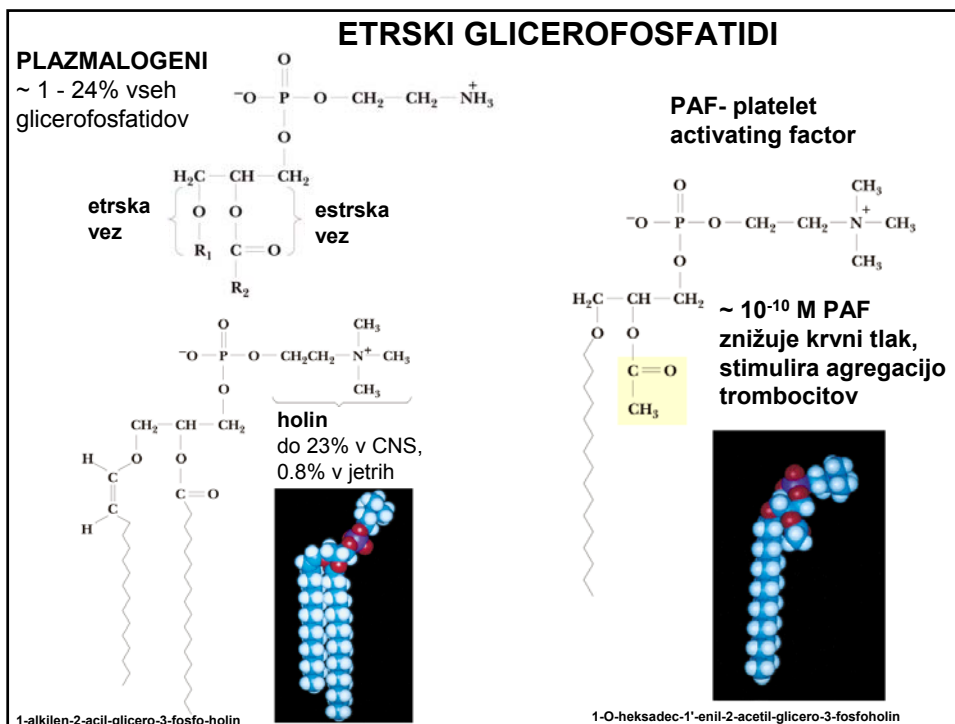
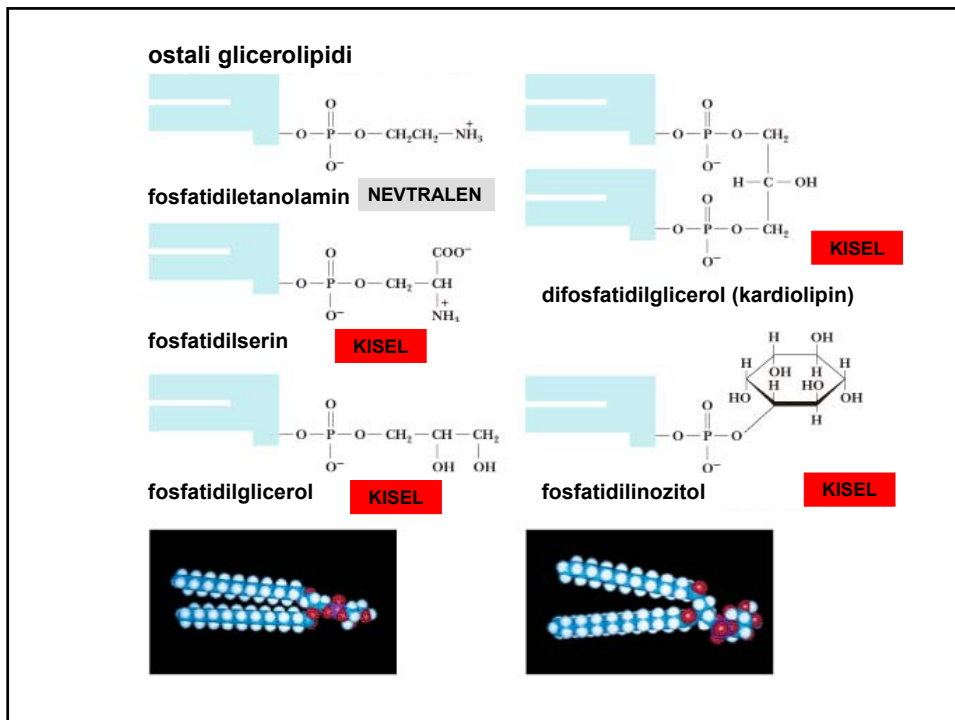
nenasičena maščobna kislina



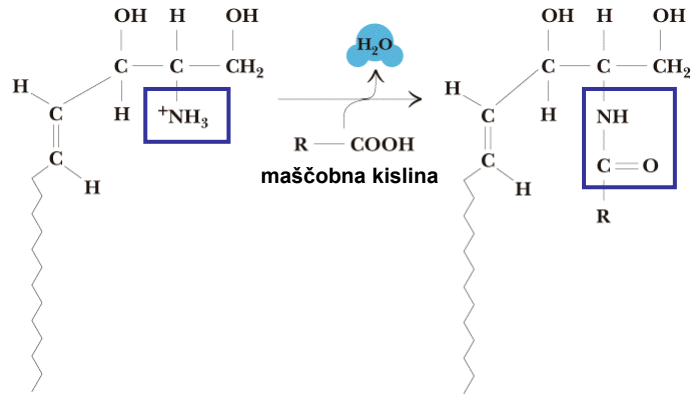
nasičene maščobne kisline

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 || \\
 \text{C}-\text{O}-\text{CH}_2 \\
 | \\
 \text{---} \\
 \text{O} \\
 || \\
 \text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{H} \\
 | \\
 \text{---} \\
 \text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \\
 | \\
 \text{O}^-
 \end{array}$$

NEVTRALEN



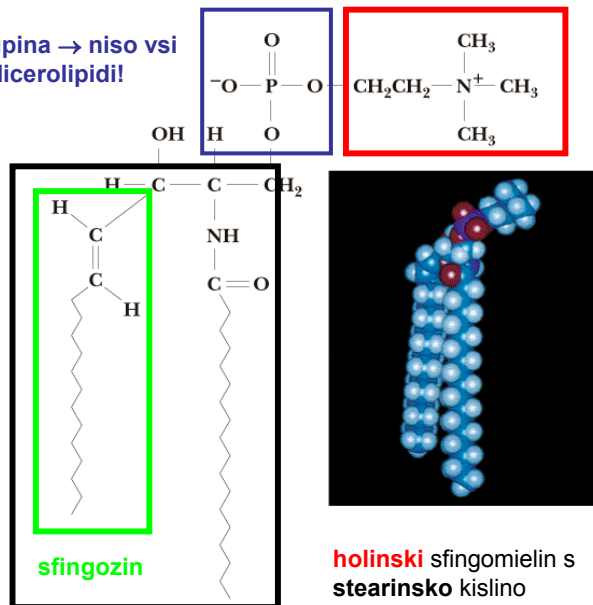
SFINGOLIPIDI



s핑ozin- 18C alkohol, malo prostega v membrani

ceramid- amidno povezana maščobna kislina na dušik s핑ozina, malo prostega v membrani

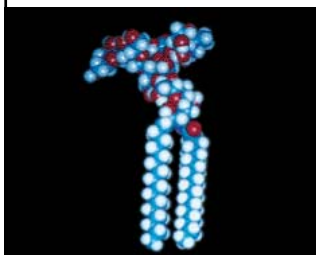
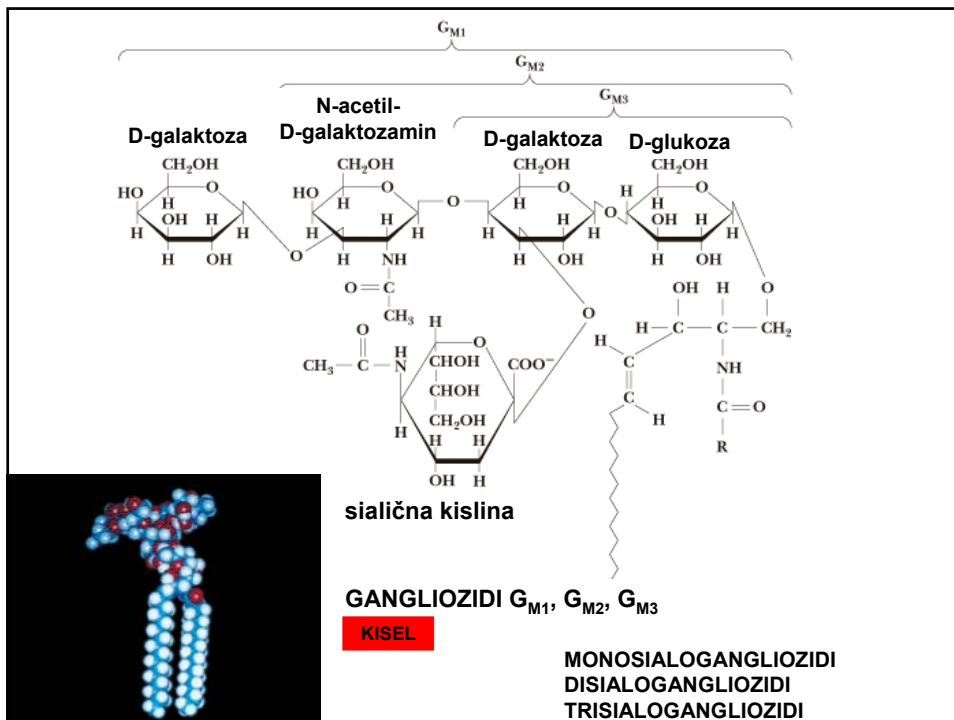
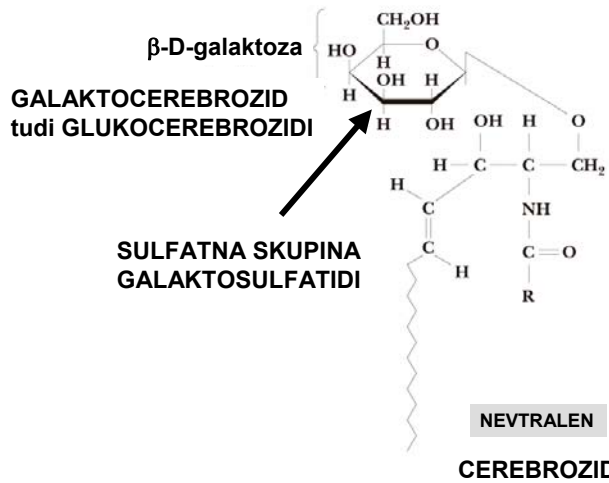
fosfatna skupina → niso vsi fosfolipidi glicerolipidi!



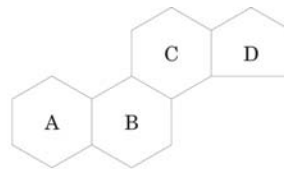
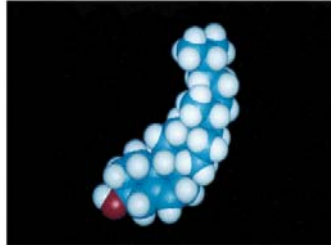
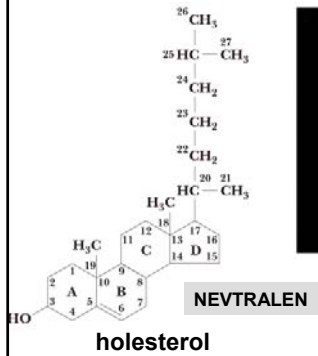
holinski s핑omielin s stearinsko kislino

NEVTRALEN

GLIKOSFINGOLIPIDI so ceramidi z enim ali več sladkorji vezanimi v β anomerni obliki na 1-hidroksilno skupino
 Glikosfingolipidi z enim sladkorjem so **CEREBROZIDI**
GANGLIOSIDI so ceramidi s tremi ali več sladkorji, en od teh je sialična kislina

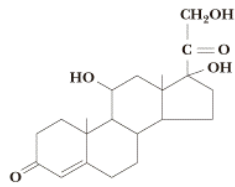


STEROLI

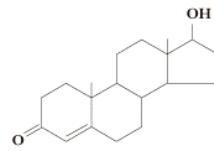


**ciklopentano perhidro
fenantren- izhodna spojina**

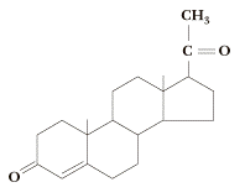
- Osnova so trije šestčlenski in en petčlenski obroč, med seboj združeni
- Holesterol je najbolj pogost steroid pri živalih in prekurzor za ostale steroide
- Steroidni hormoni- pomembna skupina hormonov pri živalih z veliko funkcijami: uravnavanje ravnotežja soli, metabolizma, spolnih funkcij



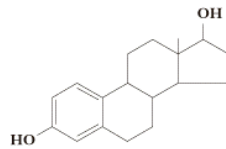
kortizol



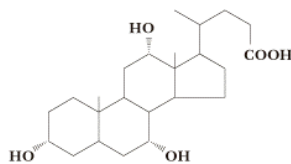
testosteron



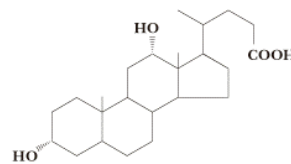
progesteron



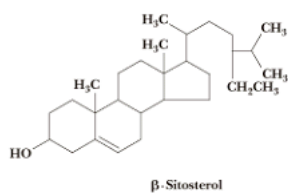
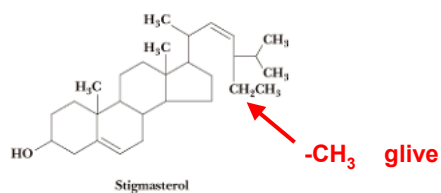
estradiol



holinska kislina



deoksi-holinska kislina



rastlinski

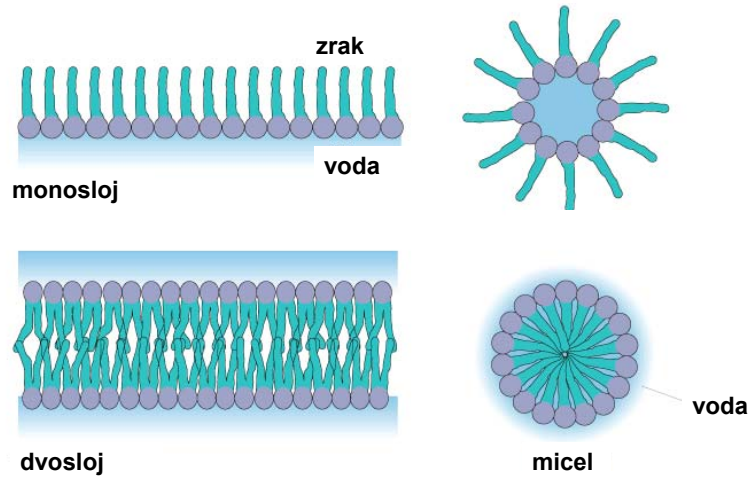
Lipidna sestava nekaterih bioloških membran

Lipid	Human Erythrocyte	Human Myelin	Beef Heart Mitochondria	<i>E. coli</i>
Phosphatidic acid	1.5	0.5	0	0
Phosphatidylcholine	19	10	39	0
Phosphatidylethanolamine	18	20	27	65
Phosphatidylglycerol	0	0	0	18
Phosphatidylinositol	1	1	7	0
Phosphatidylserine	8.5	8.5	0.5	0
Cardiolipin	0	0	22.5	12
Sphingomyelin	17.5	8.5	0	0
Glycolipids	10	26	0	0
Cholesterol	25	26	3	0

^aThe values given are weight percent of total lipid.

Source: Tanford, C., *The Hydrophobic Effect*, p. 109, Wiley (1980).

STRUKTURNA ORGANIZACIJA LIPIDNIH MOLEKUL

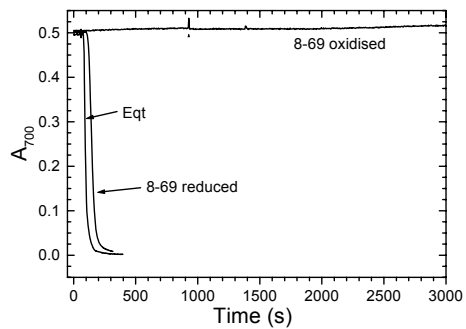
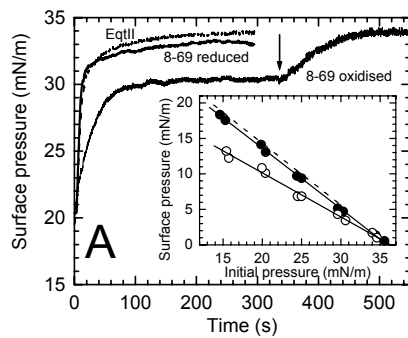
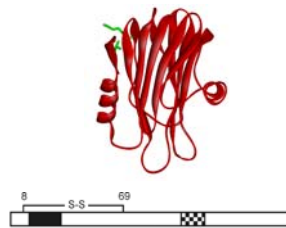
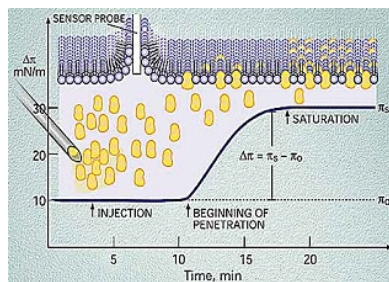


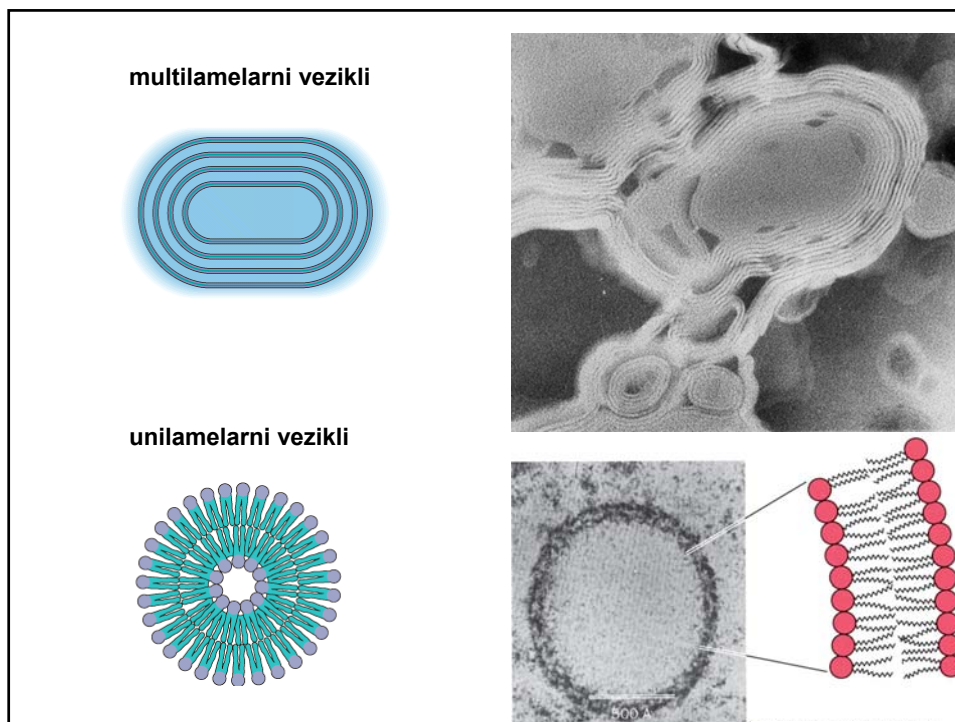
Zelo malo lipidov je monomernih v vodnih raztopinah

V monoslojih so repki usmerjeni v zrak

V micelih so repki usmerjeni v notranjost vezikla, v nepolarnih topilih je ravno obratno

LIPIDNI MONOSLOJI





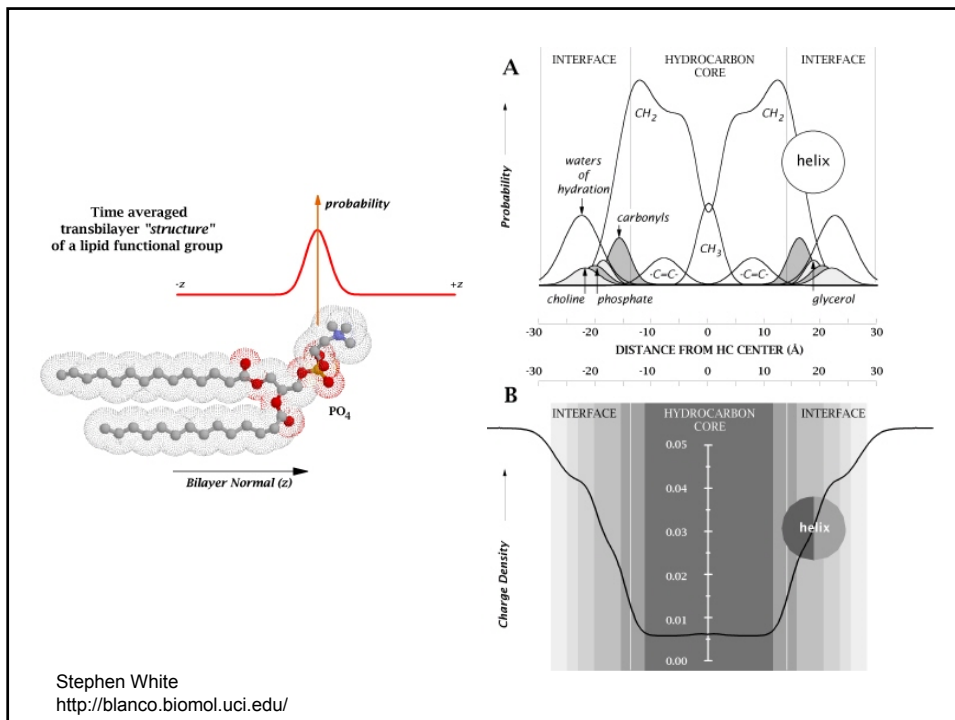
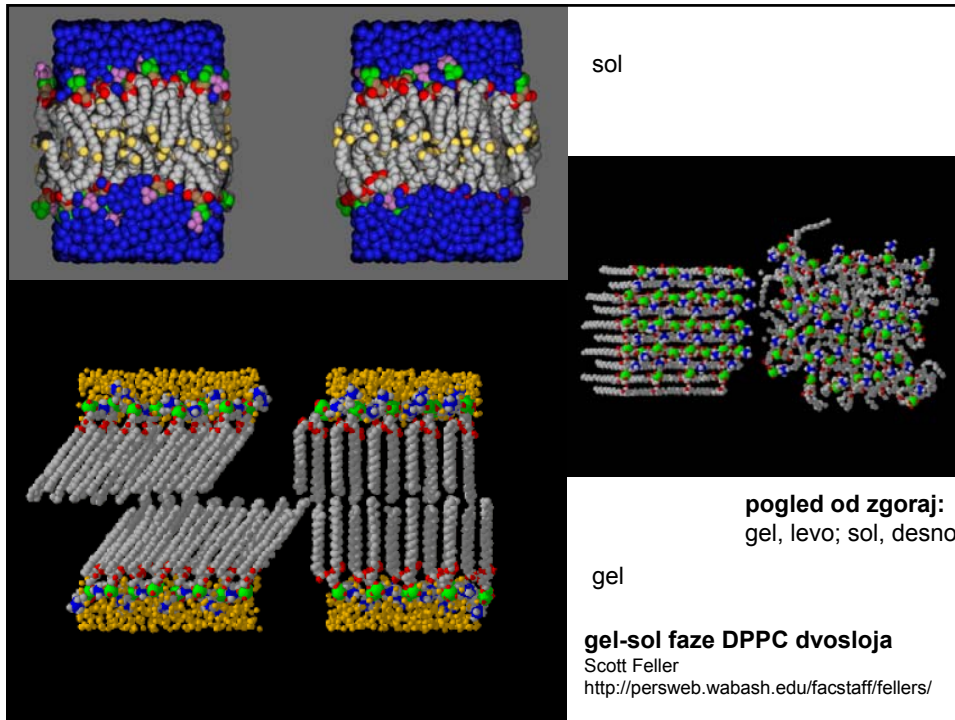
nad temperaturo prehoda → **pod temperaturo prehoda**

Pod temperaturo prehoda so membranski lipidi rigidni in tesno spakirani.
 Nad temperaturo prehoda so fleksibilni in zelo mobilni.
 Temperatura prehoda je karakteristična za lipide, ki sestavljajo membrano.
 Samo čisti lipidni sistemi imajo ostre, dobro definirane prehode.

V resnici lipidne molekule zelo mobilne:

rotacija vzdolž osi	τ_c okoli 10^{-8} - 10^{-9} s	
vrtlina gibanja	τ_c okoli 10^{-6} - 10^{-8} s	
translacijska gibanja	$t_{1/2}$ okoli 1-60 min	flip-flop
lateralna difuzija	D okoli 10^{-8} cm ² /s	

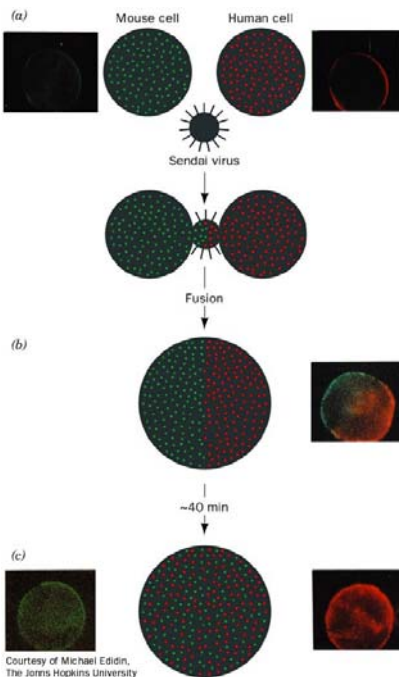
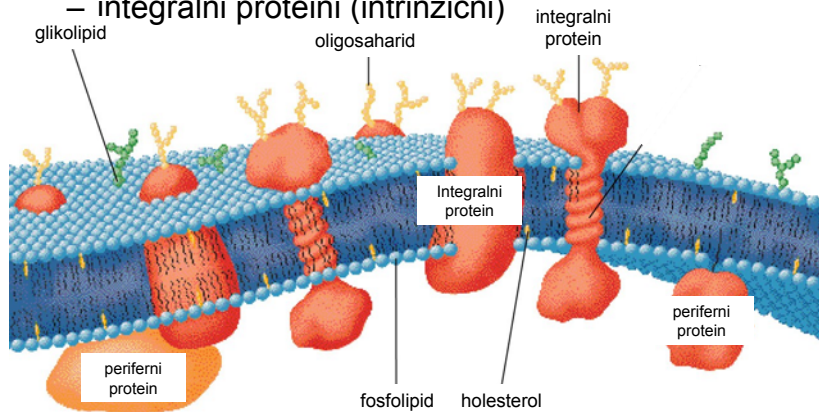
Podobno s proteini



Model fluidnega mozaika

Singer, S. J. & Nicolson, G. L. *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes*. *Science* 175, 720–731 (1972).

- Fosfolipidni dvosloj je fluidni matriks
- Dvosloj je dvodimenzionalno topilo
- Lipidi in proteini lahko rotirajo in se premikajo lateralno
- Obstajata dva razreda membranskih proteinov
 - periferni proteini (ekstrinzični)
 - integralni proteini (intrinzični)



Ekperimentalna potrditev fluidnega mozaika

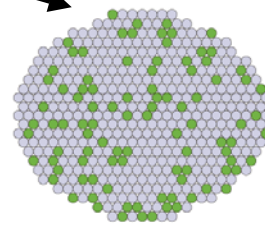
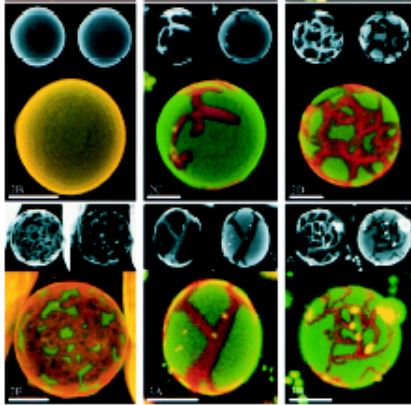
Fuzija miške in človeške celice s pomočjo Sendai virusa in naknadnim mešanjem površinskih komponent.

Courtesy of Michael Edidin,
The Johns Hopkins University

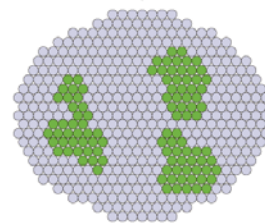
MEMBRANE SO ASIMETRIČNE

Lateralna asimetrija

Lipidi in proteini se lahko združujejo, niso uniformno razporejeni



dodatek kalcija



Lipidi se združujejo po lastnostih v **lipidne domene**

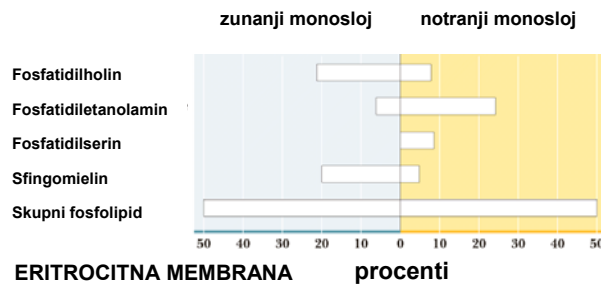
GUV- "giant unilamellar vesicles"

Korlach J. *et al.* (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 96, pp. 8461–8466.

Transverzalna asimetrija

Različna lipidna sestava zunanega in notranjega monosloja lipidnega dvosloja.

Proteini so zasidrani v točno določeni topologiji, deli izpostavljeni zunanosti in deli izpostavljeni notranosti.



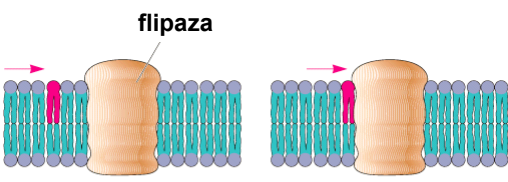
Epitelne celice

Plazmalema ima dve domeni, ki se ne mešata in imata specifično sestavo lipidov in proteinov.

APIKALNA- usmerjena v lumen s specializiranimi funkcijami (npr. privzem hranil).

BAZOLATERALNA- preostala celica.

flipaza

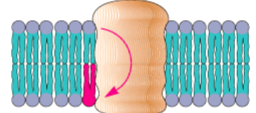
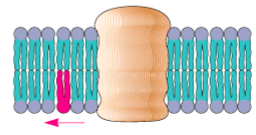


Spontan prehod lipida iz enega monosloja membrane na drugega je redek.

Lipide lahko prenese v drug monosloj **flipaza**

Nekatere flipaze delujejo pasivno, brez vira energije, druge potrebujejo vir energije (ATP).

Lahko povzročijo asimetrijo membran.

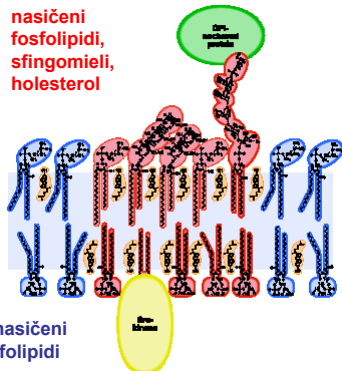



Lipidni rafti

Lateralne domene z določeno sestavo: vsebujejo **sfolipide in holesterol**. Tvorijo tekočo urejeno fazo (liquid-ordered domains).

Vloga pri

- signaliziranju
- vstopna točka za virusne patogene
- vstopna točka za toksine
- mesta nastanka patoloških oblik prionskega proteina in β -amiloidnega peptida



Simons K and Ikonen E (2000) Science. Vol. 290, pp. 1721-1726.

Simons, K. & Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. Nature 387, 569-572 (1997).

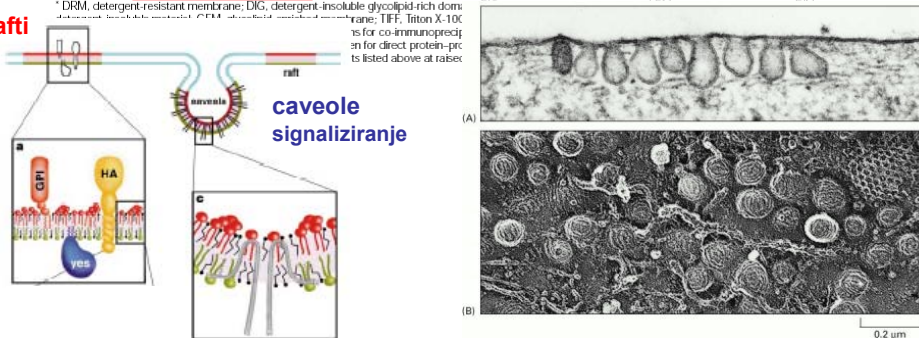
več različnih oblik v celici

Simons K and Toomre D (2002) Nat Rev Mol Cell Biol. Vol. 1, pp. 31-41.

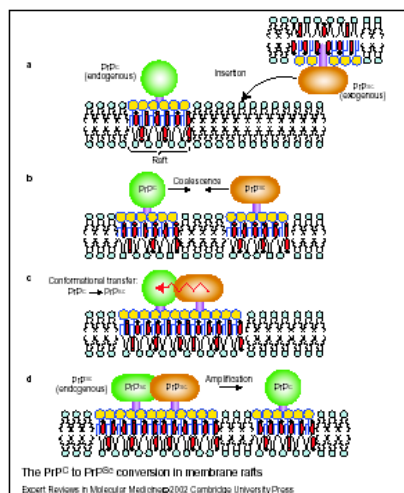
Suggested raft nomenclature

	I. Rafts	II. Clustered rafts	III. DRMs	IV. Caveolae
Components	<ul style="list-style-type: none"> Glycosphingolipids Cholesterol Lipid-modified proteins containing saturated acyl chains: <ul style="list-style-type: none"> GPI-anchored proteins Doubly acylated Src-type kinases Transmembrane proteins 	<ul style="list-style-type: none"> Rafts clustered by: <ul style="list-style-type: none"> Antibody Lectin Adjacent cell proteins Physiological crosslinking proteins 	<ul style="list-style-type: none"> Rafts remaining insoluble after treatment on ice with detergent(s): Triton X-100 (most popular), Brij-58, CHAPS, NP-40 	<ul style="list-style-type: none"> Raft proteins and lipids Caveolins
Properties	<ul style="list-style-type: none"> 50 nanometres in diameter Mobile ($\sim 10^{-8}$ cm² sec⁻¹) Liquid-ordered phase 	<ul style="list-style-type: none"> Large, often hundreds of nanometres to micrometres in size Often bound to cytoskeleton 	<ul style="list-style-type: none"> Float to low density in sucrose or Optiprep™ density gradients 	<ul style="list-style-type: none"> Morphological 'cave-like' invaginations on the cell surface
Comments	<ul style="list-style-type: none"> Native rafts are only detected in living cells 	<ul style="list-style-type: none"> Clustering is used both artificially and physiologically to trigger signalling cascades 	<ul style="list-style-type: none"> Non-native (aggregated) raft Variable effects depending on: <ul style="list-style-type: none"> Detergent type Detergent:lipid ratio Cell type 	<ul style="list-style-type: none"> Raft subcategory Highly specialized

rafti



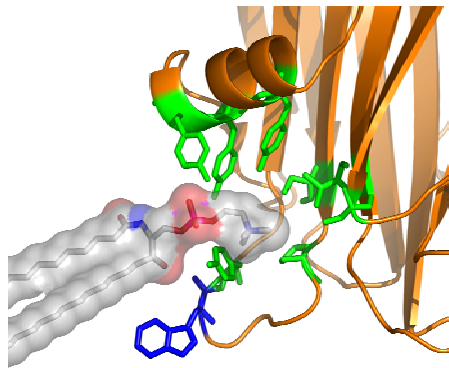
PRETVORBA NORMALNEGA Prp^c V PATOLOŠKO OBLIKO



Fantini J et al. (2002) Lipid rafts: structure, function and role in HIV, Alzheimer's and prion diseases. Expert Reviews in Molecular Medicine. DOI: 10.1017/S1462399402005392.

PERIFERNI PROTEINI

PREPOZNAVANJE LIPIDOV S SPECIFIČNIMI MESTI NA POVRŠINI LIPIDOV



Pogosto naravni toksini, ki prepoznajo točno določen membranski lipid

SFINGOMIELIN aktinoporini, toksini morskih vetrnic
HOLESTEROL od holesterola odvisni citolizini Gram pozitivnih bakterij

PERIFERNI PROTEINI

PROTEINI ZASIDRANI Z LIPIDNIMI REPKI

Štirje tipi:

1. Amidno (1a) ali tioestrsko (1b) povezana maščobne kisline kot sidra
2. Tioestrsko povezana prenilna sidra
3. Glikozil fosfatidilinozitolna sidra

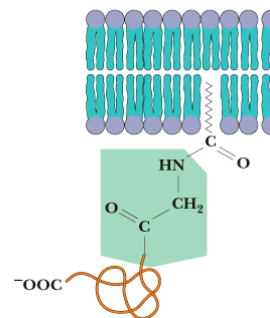
1a. Amidno povezana miristoilna sidra

Vedno miristinska kislina

Vedno na N-terminalnem delu

Vedno povezana na Gly

Primeri: od cAMP odvisna proteinska kinaza, pp60src tirozinska kinaza, calcineurin B, alfa podenote G proteinov, gag protein HIV-1



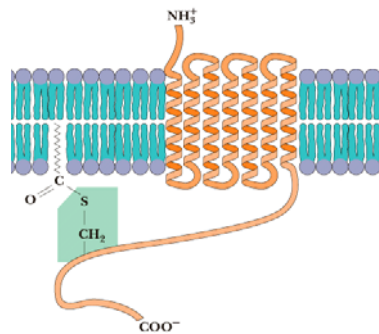
1b. Tioestrsko povezane maščobne kisline kot sidra

Širša lipidna specifičnost- miristat, palmitat, stearat, oleat

Lahko pripeta na Cys, Ser, Thr

Primeri: površinski glikoproteini nekaterih virusov, transferinski receptor; tisti s palmitatom skoraj izključno na citoplazemski strani plazmaleme, miristoilirani v različnih membranah (ER, GA, jedrne membrane, plazmalema)

Mnogi proteini z acilnimi verigami imajo vlogo pri signaliziranju.



2. Tioestrsko povezana prenilna sidra

Prenileacija- vezava na izoprenske skupine

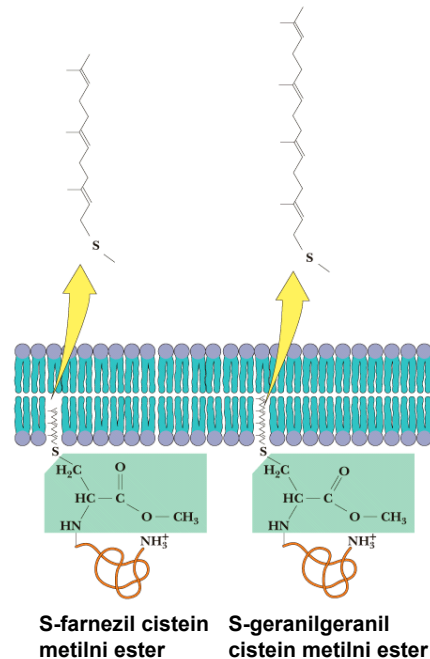
Vedno na Cys v CAAX motivu (C=Cys, A=alifatska aminokislina, X=katerakoli aminokislina). Po vezavi se AAX tripeptid proteolitsko odcepi in na karboksilno skupino se doda metilna skupin.

Izoprenske skupine:

Farnezil (15 C atomov, 3 dvojne vezi)

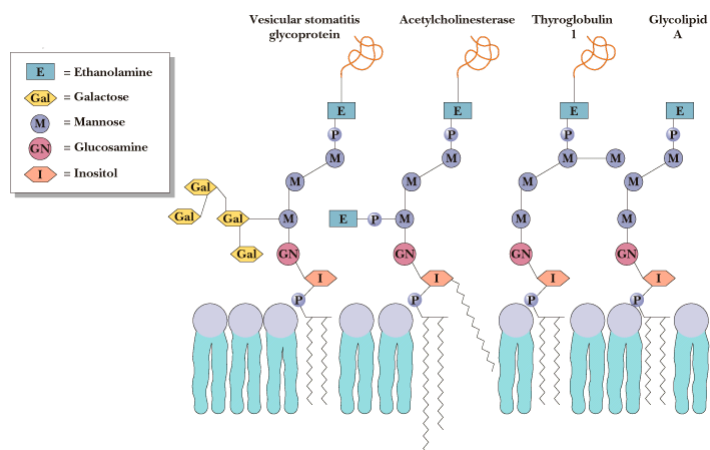
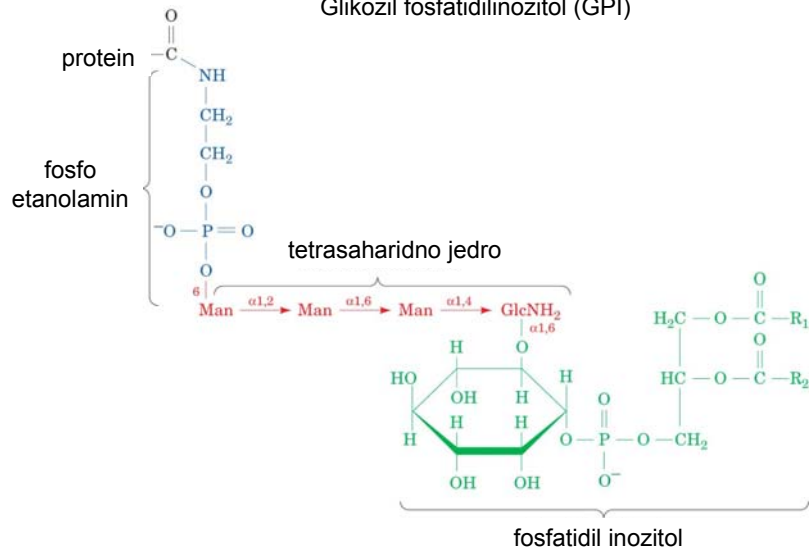
Geranilgeranil (20 C atomov, 4 dvojne vezi)

Primeri: proteini v intracelularnih membranah; p21ras, jedrni lamini, kvasni mating factors



3. GPI zasidrani proteini

Glikozil fosfatidilinozitol (GPI)



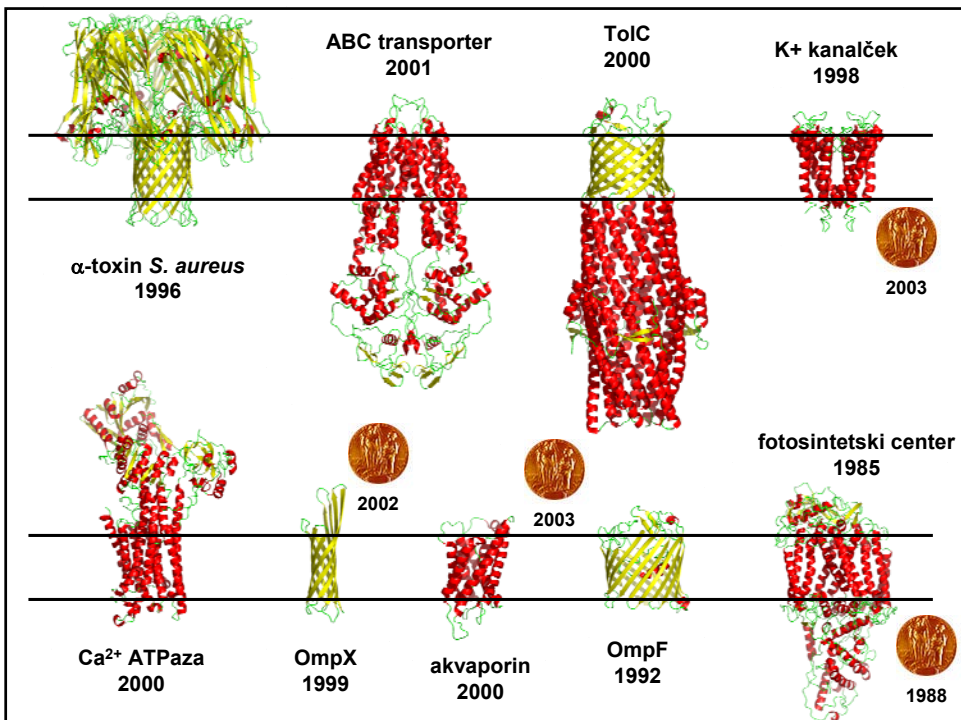
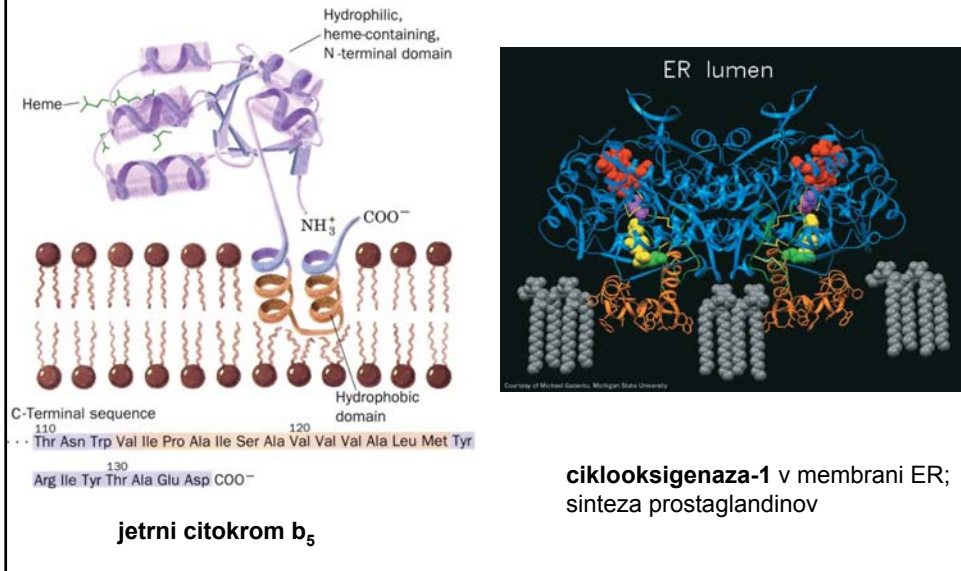
GPI sidra so najbolj zapletena struktura

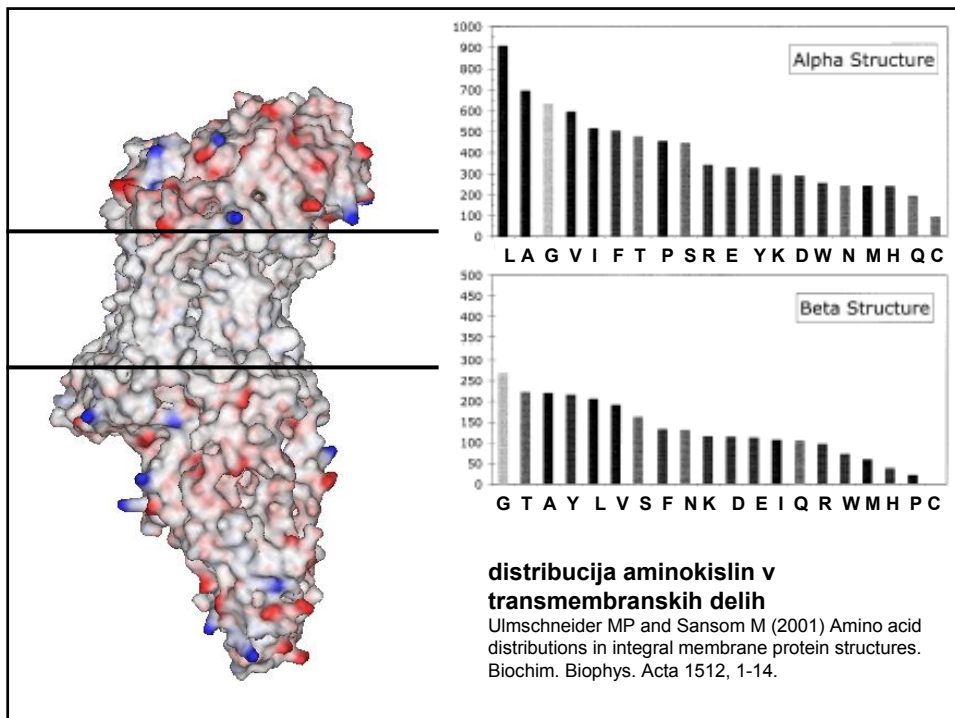
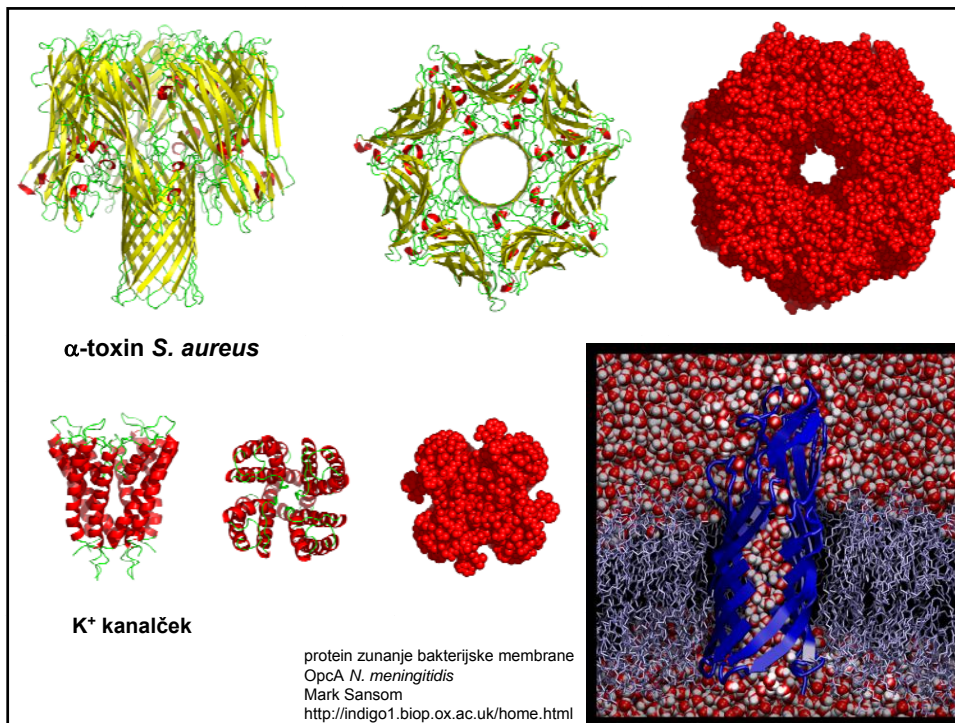
Vedno so pripeti na C-terminus proteina

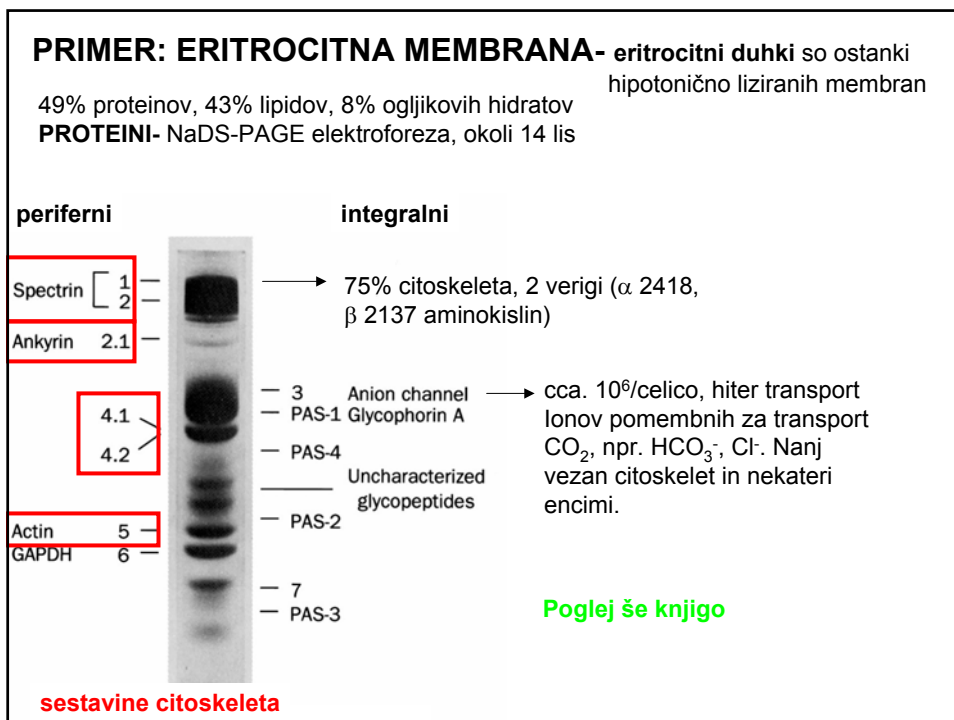
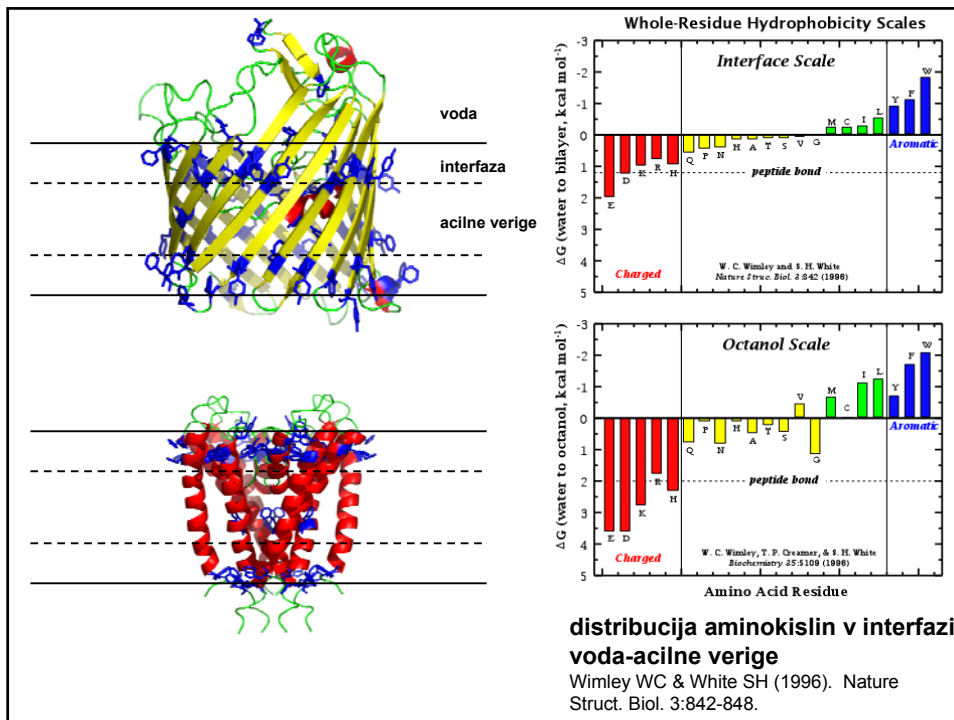
Primeri: površinski antigeni, adhezijske molekule, hidrolaze na površini celic, receptorji

MONOTOPIČNI PROTEINI

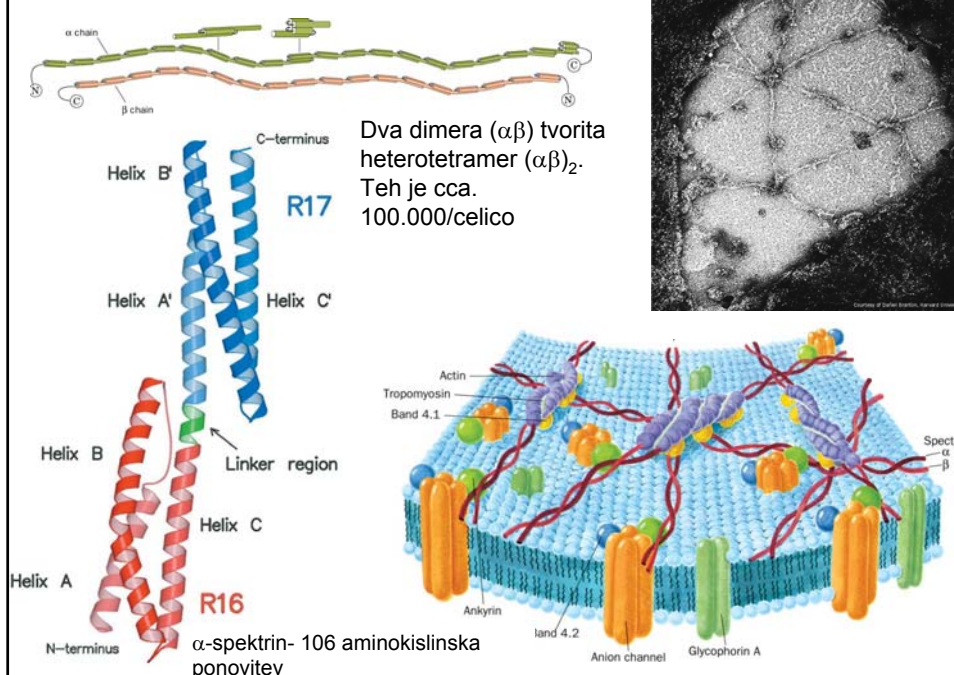
vezani samo v en monosloj membrane







ERITROCITNI CITOSKELET

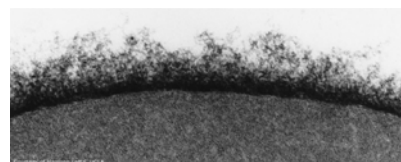


GLIKOKALIKS NA POVRŠINI ERITROCITNE MEMBRANE krvne skupine

Človeški eritrocit ima okoli 100 znanih determinant krvnih skupin.
Najbolj znane ABO in Rh sistem

ABO sistem

- Trije antigeni A, B, H
- Sladkorji na sfingolipidih (glej tabelo)
- Tudi v drugih membranah
- H antigen- prekursor A in B antigena, pri O krvni skupini
- Tip A**- specifična glikoziltransferaza doda N-acetilgalaktozamin na terminalno pozicijo H antigena.
- Tip B**- glikoziltransferaza se razlikuje v štirih aminokislinah → doda galaktozo.
- Tip O**- glikoziltransferaza se konča na 115. mestu- ne doda sladkorjev.



Type	Antigen
H	Gal β (1→4)GlcNAc ... ↑ _{1,2} L-Fucose
A	GalNAc α (1→3)Gal β (1→4)GlcNAc ... ↑ _{1,2} L-Fucose
B	Gal α (1→3)Gal β (1→4)GlcNAc ... ↑ _{1,2} L-Fucose

Abbreviations: Gal = galactose, GalNAc = N-acetylgalactosamine, GlcNAc = N-acetylglucosamine, L-Fuc = L-fucose.

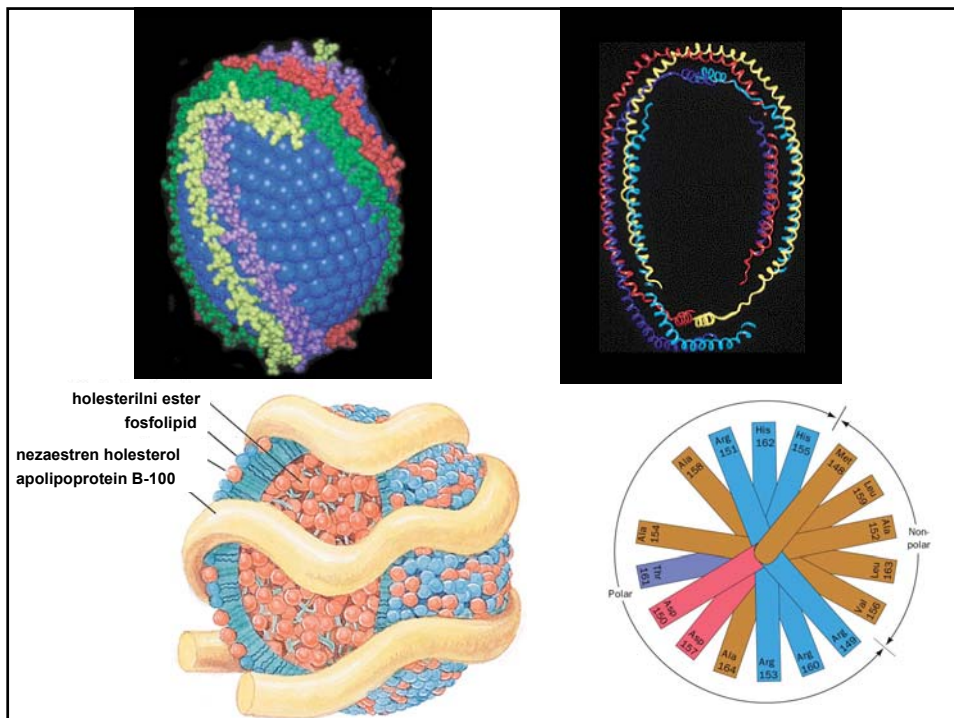
LIPOPROTEINI

Nekovalentne povezave med proteini in lipidi, ki služijo kot prenašalci trigliceridov in holesterola v plazmi.

Globularni delci podobni micelom: v notranjosti nepolarno jedro triacilgliceridov in holesterilnih estrov obdano z amfipatičnimi proteini, holesterolom in fosfolipidi.

Proteini so **APOLIPOPROTEINI (APOPROTEINI)**. Devet različnih. Visok delež α -heliksa. Na lipoproteine so vezani šibko, so dobro topni v vodi. Ob vezavi se jim poveča delež α -heliksa. Heliksi so amfipatični- imajo hidrofobno in hidrofilno površino na nasprotnih straneh. "Plavajo" na hidrofobni površini lipidov.

ApoB-100 edini izjema. Glikoprotein, zelo hidrofoben. Ne prehaja med partikli. En LDL ima vezan 1 protein, ki prekriva skoraj polovico LDL partikla.



	Chylomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL
Density ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	<0.95	<1.006	1.006–1.019	1.019–1.063	1.063–1.210
Particle diameter (Å)	750–12,000	300–800	250–350	180–250	50–120
Particle mass (kD)	400,000	10,000–80,000	5000–10,000	2300	175–360
% Protein ^a	1.5–2.5	5–10	15–20	20–25	40–55
% Phospholipids ^a	7–9	15–20	22	15–20	20–35
% Free cholesterol ^a	1–3	5–10	8	7–10	3–4
% Triacylglycerols ^a	84–89	50–65	22	7–10	3–5
% Cholesteryl esters ^b	3–5	10–15	30	35–40	12
Major apolipoproteins	A-I, A-II, B-48, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D, E

^aSurface components.
^bCore lipids.

karakteristike glavnih razredov lipoproteinov v človeški plazmi

•**HILOMIKRONI**

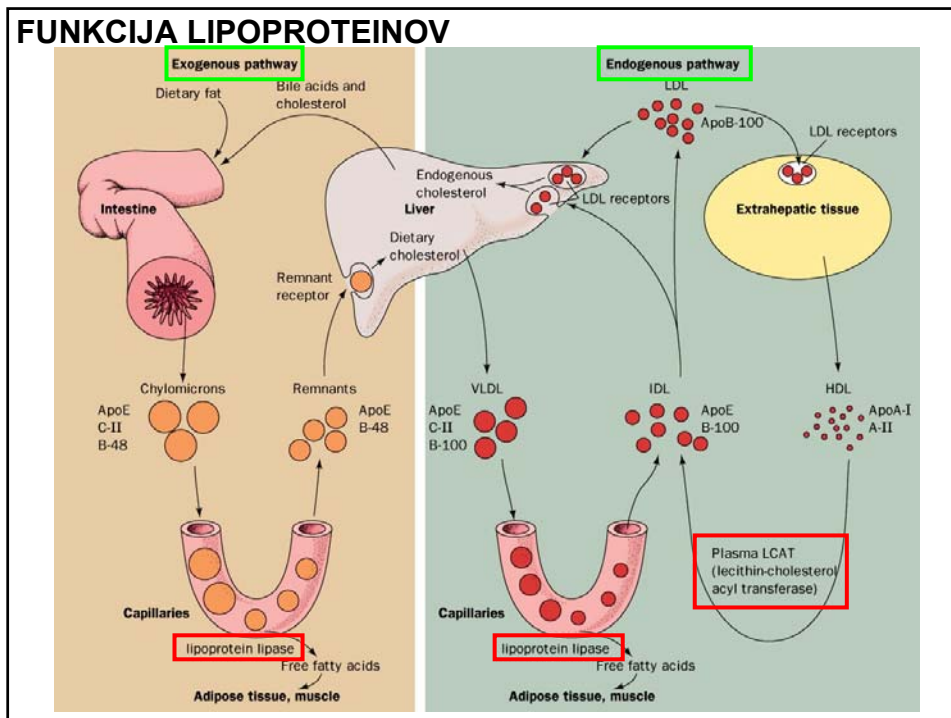
transport eksogenih (vnešenih s hrano) trigliceridov in holesterola iz črevesja do tkiv.

•**VLDL** "very low density lipoproteins", **IDL** "intermediate density lipoproteins", **LDL** "low density lipoproteins"

transport endogenih trigliceridov in holesterola iz jeter do tkiv.

•**HDL** "high density lipoproteins"

transport endogenega holesterola iz tkiv do jeter.

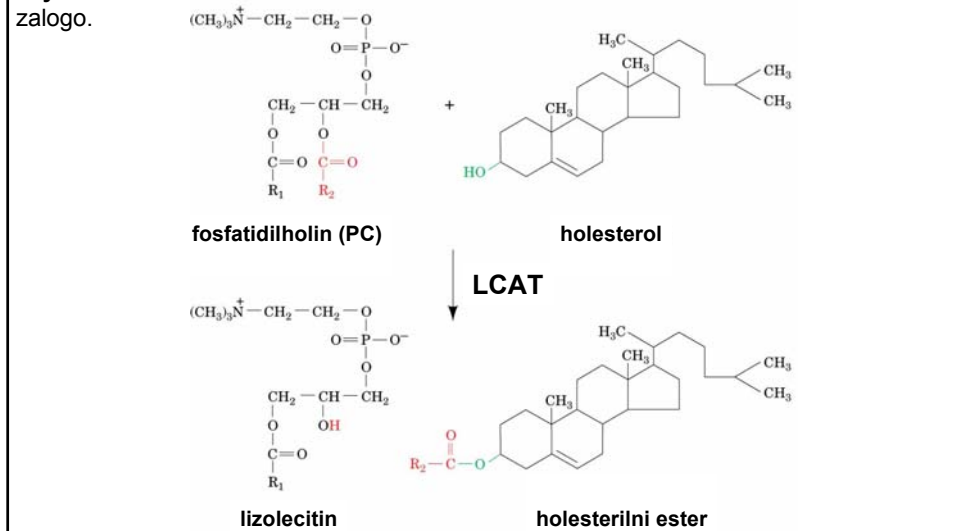


ENCIMI

lipoprotein lipasa (LL)- ekstracelularni encim, ki ga aktivira apoC-II. Razgrajuje triacilgliceride hilomikronov.

lecitin-holesterol aciltransferaza (LCAT)- prenese maščobno kislino z mesta 2 na lecitinu na holesterolu.

acyl-CoA:holesterol aciltransferaza (ACAT)- višek celičnega holesterola zaestri za zalogo.



HILOMIKRONI

triacilgliceridi in holesterol v topni obliki. Se prilepijo na stene kapilar, kjer jih LL razgradi. Hilomikronski ostanki se sprostijo s kapilar in znova vstopijo v obtok, kjer jih privzamejo jetra. Jetrni receptorji prepoznajo apoE. Samo vektor za prenos trigliceridov do mišic in adipoznih tkiv in holesterola do jeter.

VLDL

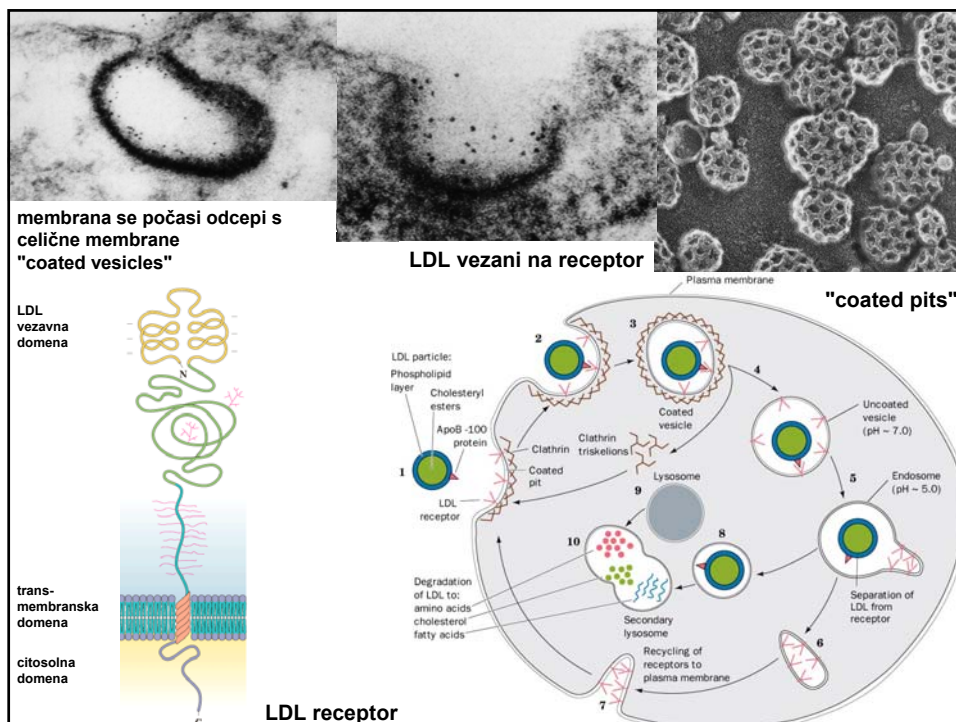
Sinteza v jetrih. Razgradnja z LL do IDL in na koncu do LDL. Ob transformaciji iz VLDL do LDL se odstranijo vsi proteini, razen apoB-100. Holesterol je zaestren z LCAT.

LDL

Privzem v celice preko posebnih receptorjev- LDL receptor (LDLR), ki prepozna apoB-100 in apoE. LDLR so predvsem v "coated pits". Z receptorji posredovana endocitoza. V lizosomih hitra razgradnja apoB-100. Holesterilni estri razgradijo lizosomalne lipaze v holesterol, ki se vgradi v membrane.

HDL

Sestavljanje v plazmi iz komponent iz razgradnje ostalih lipoproteinov. HDL v obtoku dobi holesterol z ekstrakcijo iz membran in s pomočjo LCAT spremeni v holesterilne estre. Jetra lahko shranijo večje količine holesterola preko LDLR in specifičnega receptorja za HDL. Približno 50% VLDL vstopi v jetra preko LDLR. HDL prenese svoj holesterilni ester celici in se sprostí nazaj v obtok.



ATEROSKLEROZA

najbolj pogosta oblika arterioskleroze

ateromi- zoženje arterij, kopičenje holesterilnih estrov
 progresivna bolezen, ki se začne s kopičenjem lipidnih depozitov v gladkih mišičnih celicah arterijske stene. Sčasoma nastanejo fibrozni kalcificirani plaki, ki lahko blokirajo pretok v arteriji in vodijo do **INFARKTA**- prekinitve krvnega obtoka. Najbolj pogosti ateromi v koronarnih arterijah (**MIOKARDNI INFARKTI**).

Razvoj ateroskleroze je odvisen od količine holesterola v plazmi.

Družinska hiperholesterolemija- homozigoti imajo zelo visoke količine LDL- količina holesterola v njihovi plazmi je 3-5x večja kot pri normalnih (175 mg/100 ml).
 Celice so brez LDLR. Visoke količine so zaradi nižje razgradnje (ker so brez LDLR) in višje ravni sinteze LDL iz IDL (ker LDLR ne more vezati IDL).

Visoke vrednosti HDL so povezane z nižjo pojavnostjo kardiovaskularnih bolezni. Ženske imajo HDL vrednosti višje kot moški in tudi manj srčnih bolezni. Razmerje holesterol/HDL mora biti manj kot 4.5.

Vrednosti (mg/100ml)

Holesterol: ženske- 157-167, moški- 150-174

HDL: ženske- 52-55, moški- 45

LDL: ženske- 100-106, moški- 97-116

Z leti skupen holesterol narašča in količina HDL pada. Aktivnost in dieta pomagajo vzdrževati ugodno razmerje.

MEMBRANSKI TRANSPORT

Pasivna difuzija

Pospešena difuzija

Specializirane membranske pore

pasivni glukozni transport, K⁺ kanalček, porini bakterijskih zunanjih membran

Aktivni transport (transport, ki ga poganja svetloba, ATP, koncentracijski gradienti...)

Na⁺,K⁺-ATPaza, Želodčna H⁺,K⁺-ATPaza, osteoklastna protonska črpalka, Ca črpalka v mišicah, MDR ATPaze, bakteriorodopsin

Translokacija skupin

prenos sladkorjev

Ionoforni antibiotiki

valinomycin, gramicidin

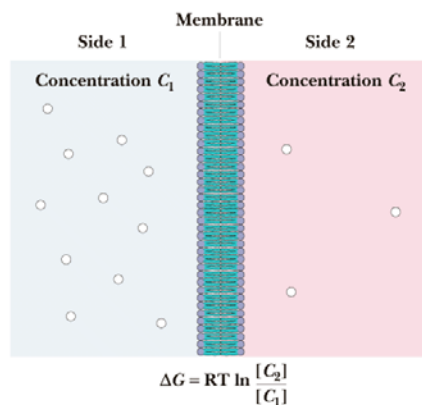
Toksini

S.aureus α toxin, od holesterola odvisni citolizini Gram pozitivnih bakterij

Pasivna difuzija Pospešena difuzija

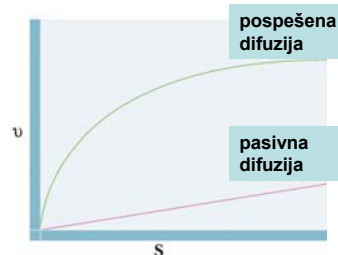
Transport vzdolž koncentracijskega gradienta od visoke [c] k nizki [c].

Višana permeabilnost pomeni, da so vključeni lahko tudi drugi mehanizmi.



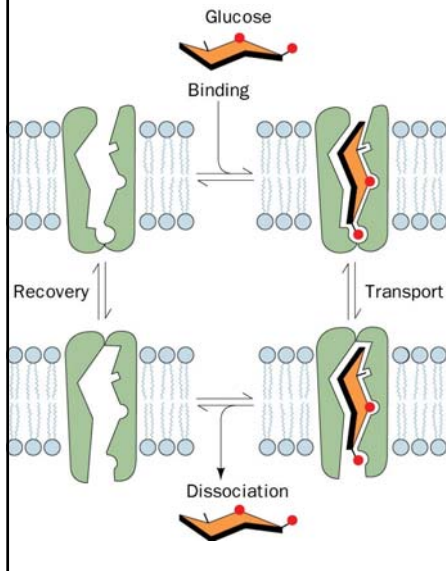
Pri pospešeni difuziji sodelujejo proteini. Še vedno v smeri koncentracijskega gradienta. Samo povečajo hitrost transporta.

Pomembno še vedno, da se snovi transportirajo v smeri koncentracijskega gradienta in da lahko pride do nasičenja.

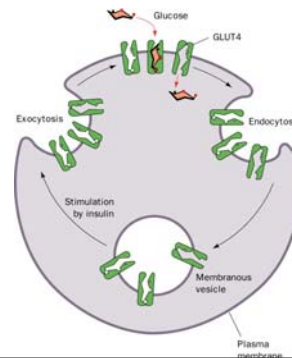


Specializirane membranske pore

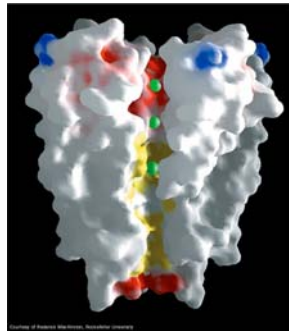
1. Transport glukoze v eritrocit



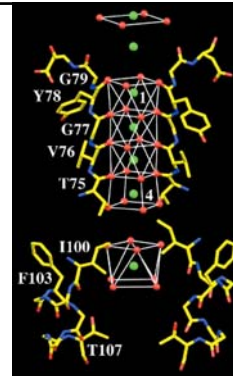
- 492 ostankov velik protein, 12 transmembranskih heliksov.
- Transport glukoze poteče glede na koncentracijski gradient, glukoza se lahko veže v transporter z obeh strani membrane.
- V mišičnih in maščobnih celicah je transport stimuliran z insulinom. Poveča se hitrost prenosa glukoze v celico, na račun zlitja intracelularnih veziklov, ki vsebujejo transporter, z lipidno membrano.



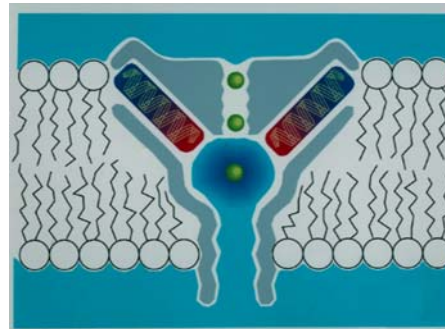
2. KcsA K⁺ kanalček



- negativno nabite aminokislilin**
- pozitivno nabite aminokislilin**
- hidrofobne aminokisliline**



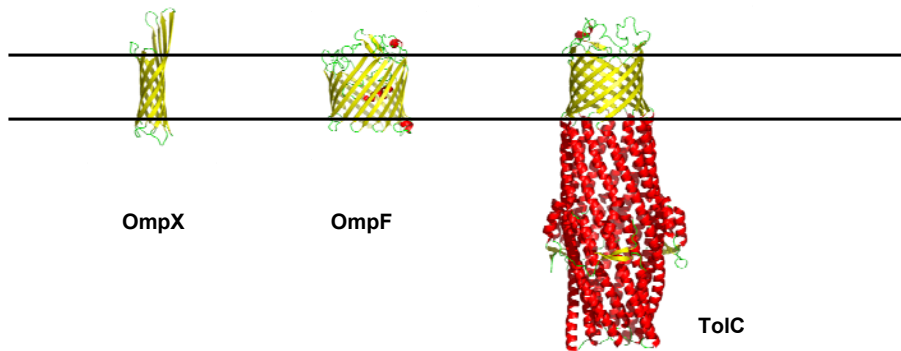
- KcsA iz *Streptomyces lividans*
- tetramer podoben 158 aminokislilin
- centralna pora variabilne širine. Dolžina 45 Å, interni tunel 18 Å, širina 6 Å. Votlinica 10 Å v premeru. **Selektivnostni filter** 3 Å v premeru.
- Izredna specifičnost 10.000x bolj specifičen za K⁺ kot za Na⁺. Izredno hiter pretok ionov 10⁸/s. To omogoča geometrija pore.
- Hidriran K⁺ v votlinici je geometrijsko dobro umeščen. Visoka K⁺ koncentracija (2M).
- Poleg tega karbonylni kisiki koordinirajo dehidriran K⁺, ne pa Na⁺.



3. Porini zunanje bakterijske membrane

β sodčki

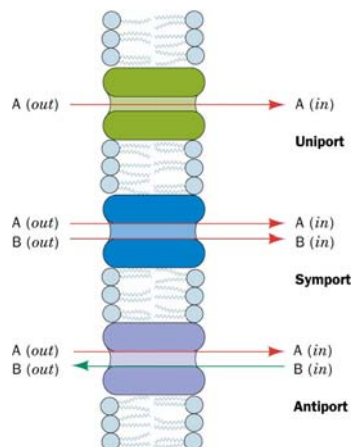
navadno trimeri identičnih podenot. 30-50 kDa. Omogočajo prenos snovi velikosti do 600 Da.



Aktivni transport

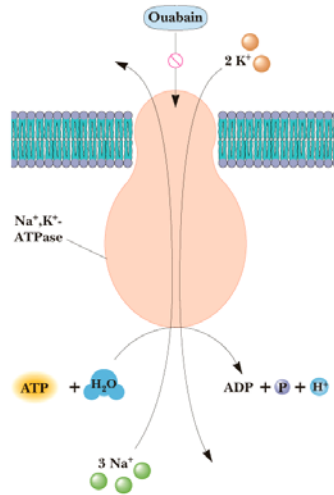
Snovi so transportirane proti koncentracijskemu gradientu.

Potrebna energija, ki je lahko ATP, svetloba ali koncentracijski gradient. Vir energije in transportni sistem sta povezana "coupled".



Različni translokacijski sistemi
UNIPOINT
SIMPORT
ANTIPOINT

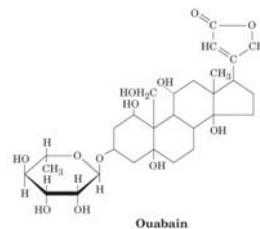
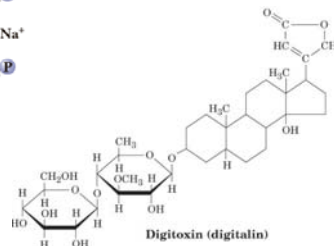
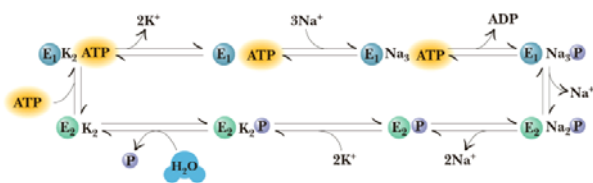
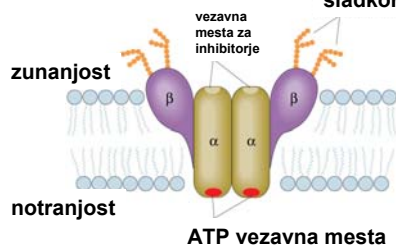
Aktivni transport



Primeri aktivni transport

1. Na⁺,K⁺-ATPaza

ATP vir energije. Velik protein (120 kDa in 35 kDa podenote). Ohranja nizko znotrajcelično koncentracijo Na in visoko K. Pomemben protein za vse organe, posebej za živčna tkiva in možgane. Hidroliza ATP transportira 3 atome Na ven in 2 K noter.



Hidroliza ATP poteče preko fosforiliranega intermedija.

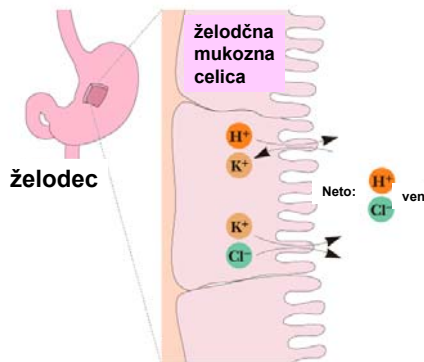
Mehanizem vključuje dve encimski konformaciji E1 in E2.

Srčni glikozidi inhibirajo encim z vezavo na zunanji strani.

Primeri aktivni transport

2. Želodčna H⁺,K⁺-ATPaza

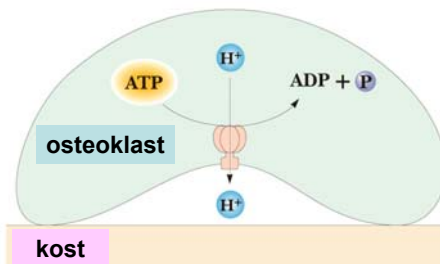
ATP vir energije. Celice gastrične mukoze imajo znotrajcelični pH 7.4. H⁺,K⁺-ATPaza črpa protone iz teh celic v želodec in vzdržuje razliko v pH 6.6 preko plazemske membrane (največji znan koncentracijski gradient preko membrane)!



Primeri aktivni transport

3. Osteoklastna protonska črpalka

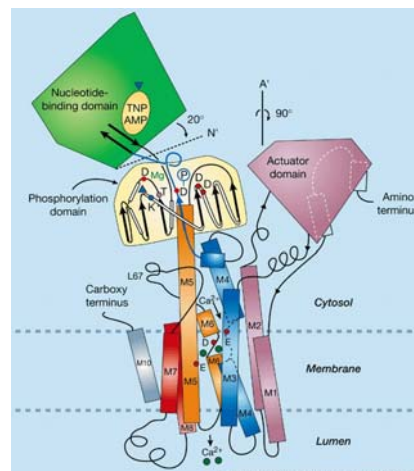
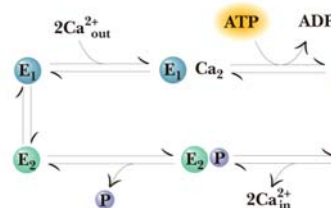
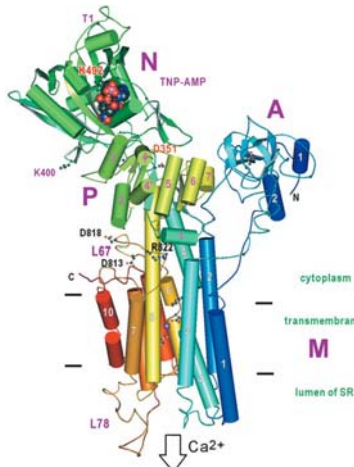
ATP vir energije. Kosti se stalno remodelirajo. Osteoklasti razgrajujejo kostnino, osteoblasti jo izgrajujejo. Osteoklasti znižujejo pH v okolici s protonsko črpalko v membrani.



Primeri aktivni transport

4. Ca²⁺ črpalka v mišicah

ATP vir energije. Nivo kalcija v citoplazmi nedelujoče mišice vzdržuje Ca²⁺-ATPaza. Ca²⁺-ATPaza je 110 kDa protein, ki črpa kalcij v sarkoplazemski retikulum. Podoben α podenoti Na⁺,K⁺-ATPaze.



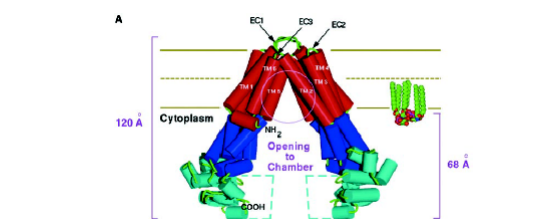
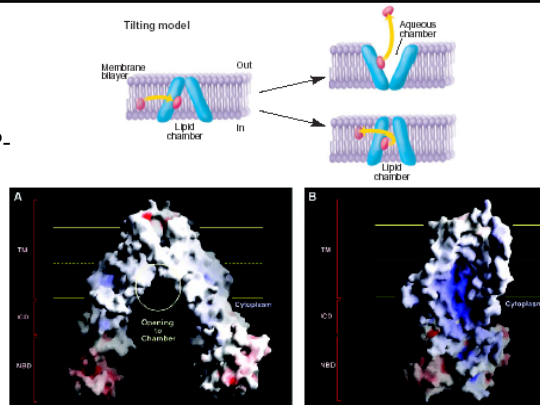
Primeri aktivni transport

5. MDR ATPaze (“multidrug resistant”)

ATP vir energije. Iz celic prenašajo različne organske snovi. Znan P-glikoprotein, ki je odgovoren za rezistenco tumorskih celic proti nekaterim zdravilom.



MDR ABC transporter MsbA iz *Escherichia coli*

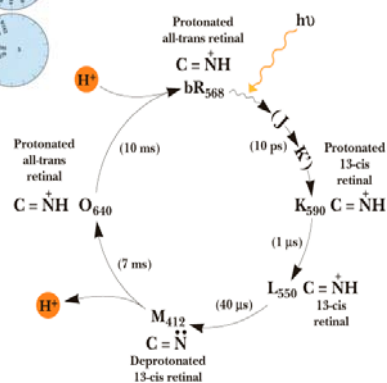
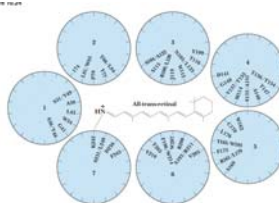
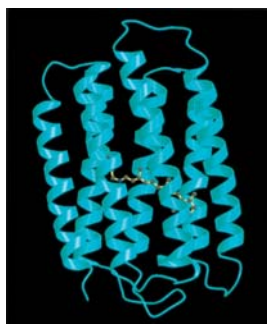
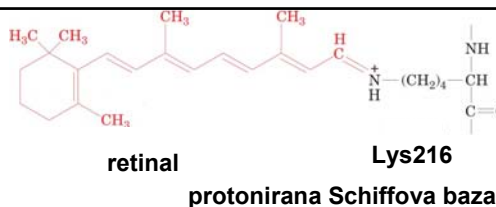


G Chang and CB Roth Science (2001): 1793-1800. Structure of MsbA from *E. coli*: A Homolog of the Multidrug Resistance ATP Binding Cassette (ABC) Transporters

Primeri aktivni transport

6. Bakteriorodopsin

Svetloba vir energije. *Halobacterium halobium*, Pri nizkih koncentracijah O₂ uporablja bakteriorodopsin. V membranah 75% bakteriorodopsina in 25% lipidov- 2D kristali, idealno za strukturne študije.

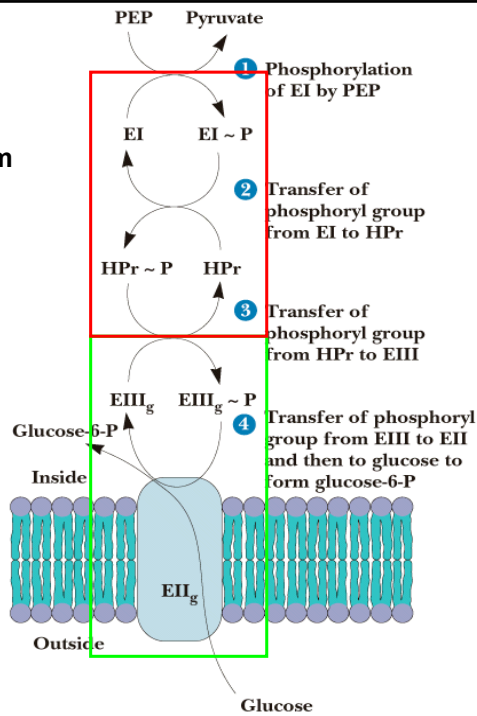


Lys216 v sredi bakteriorodopsina, nanj vezan retinal, ki leži vzporedno z membrano. Absorpcija svetlobe spremeni konfiguracijo retinala iz *all-trans* v *13-cis*. Protoni potujejo od Asp96 preko retinala do Asp85 in ven iz celice. Oba Asp ležita na istem transmembranskem heliksu in imata izredno visoko pKa (11).

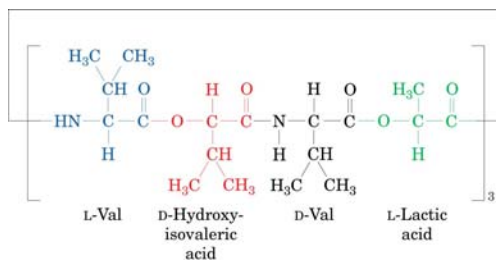
Translokacija skupin

Prenos glukoze v *E.coli* PEP fosfotransferazni sistem

specifična za različne sladkorje
univerzalni, za vse sladkorje



Ionoformni antibiotiki

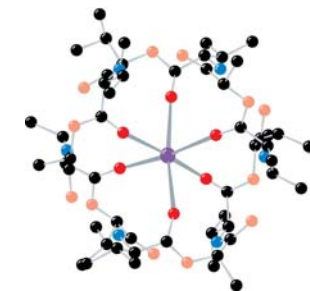


valinomicin

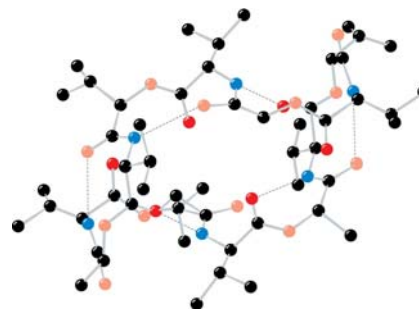
depsipeptid – molekula s peptidnimi in estrskimi vezmi. **Dodecdepsipeptide**

Nekaj karbonilnih atomov je na sredi obroča. Kalij in nekateri ostali ioni se koordinativno vežejo v center obroča.

Valinomicin-kation kompleks prosto in hitro difundira preko membrane.

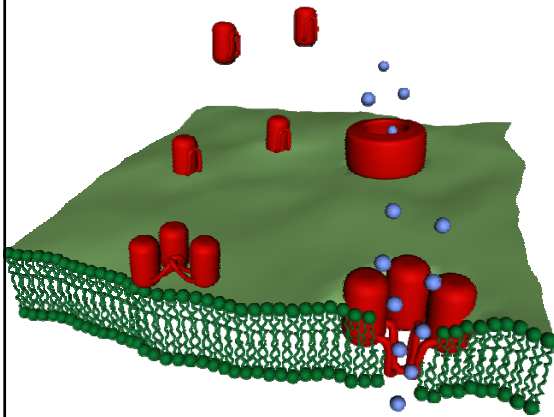


valinomicin v kompleksu s K^+



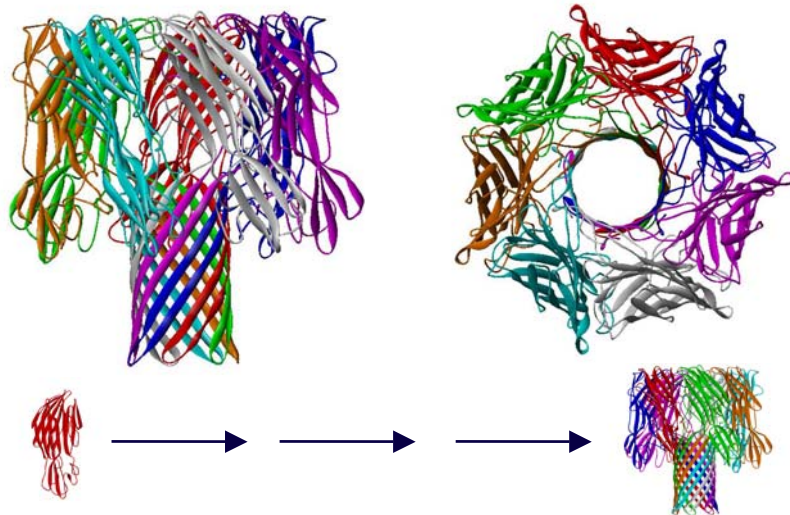
prost valinomicin

Naravni toksini



Dobro topni v vodi
Vezava na membrano
Oligomerizacija
Insercija v membrano
Tvorba pore

α toksin iz *Staphylococcus aureus*



Leukocidini iz *S. aureus*
(HlgB, LukF-PV)

α -toxin iz *S. aureus*

Song L, *et al.* (1996) Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science*. 274(5294):pp. 1859-66.

nature biotechnology
Protein sensor on a tether
Hybrid Bt rice
Killer also can communicate
The FACS about enzyme evolution

SCIENTIFIC AMERICAN
THE HEALTH ANXIETY
FALLS MEASURES
WHAT WE CAN
REMEMBER FROM
THAT NEVER HAPPENED

Chemistry & Biology
Editors: Stuart L. Schreiber and Eric Nicolaou
Prepore trapped by Zn²⁺ switch

Chemistry & Biology
Editor: Stuart L. Schreiber and Eric Nicolaou
Protein pore with a designed analyte binding site

B C D

Ion current

RESEARCH ARTICLE

© 2001 Nature Publishing Group <http://biotech.nature.com>

Sequence-specific detection of individual DNA strands using engineered nanopores

Stefan Howorka¹, Stephen Cheley¹, and Hagan Bayley^{1,2}

We describe biosensor elements that are capable of identifying individual DNA strands with single-base resolution. Each biosensor element consists of an individual DNA oligonucleotide covalently attached within the lumen of the α -hemolysin (α HL) pore to form a "DNA-nanopore". The binding of single-stranded DNA (ssDNA) molecules to the tethered DNA strand causes changes in the ionic current flowing through a nanopore. On the basis of DNA duplex formation, the DNA-nanopores are able to discriminate between individual DNA strands up to 30 nucleotides in length differing by a single base substitution. This was exemplified by the detection of a drug resistance-conferring mutation in the reverse transcriptase gene of HIV. In addition, the approach was used to sequence a complete codon in an individual DNA strand tethered to a nanopore.

Od holesterola odvisni citolizini

Gram+ bakterije
Močni citolizini za različne tipe celic
471-571 amino kislin,
40-70% identičnost
Ohranjen motiv:
ECTGLAWEWWR

D1
D2
D3
D4
TMH1
TMH2

Hotze EM *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276, pp. 8261