

ÚLOHA BUNĚČNÝCH MEMBRÁN A LIPIDOVÝCH SLOŽEK ŽIVOČIŠNÝCH BUNĚK

Karel Souček

ksoucek@ibp.cz

Membrány zajišťují základní buněčné funkce

- Separace
 - Semipermeabilní bariéra, izolace
- Výměna
 - Transport a translokace metabolitů a makromolekul dovnitř a ven, zajištění distribuce uvnitř buňky
- Integrace
 - Zajištění mezibuněčné komunikace, adheze, signalizace prostřednictvím receptorů, regulace funkční a prostorové integrity
- Metabolismus
 - Součást metabolických drah, obsahují enzymy pro syntézu, přestavbu a degradaci

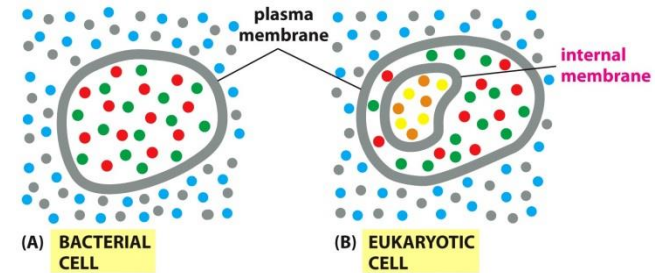


Figure 11-1 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

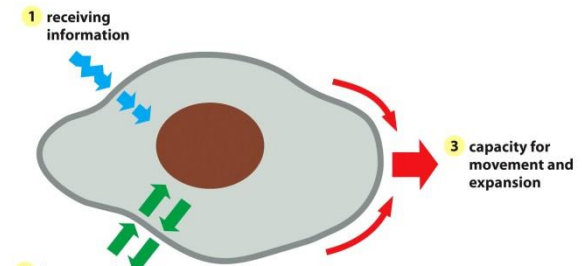


Figure 11-2 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

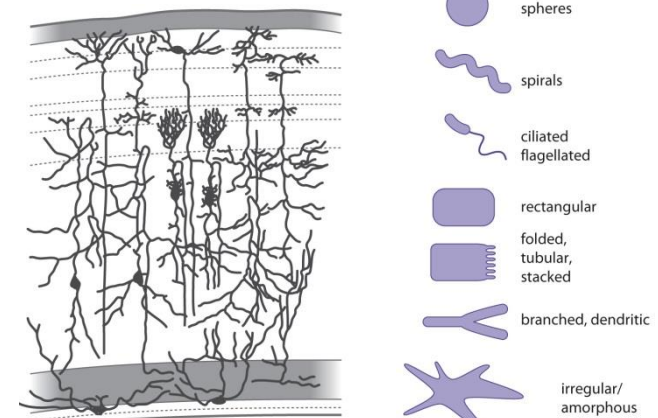
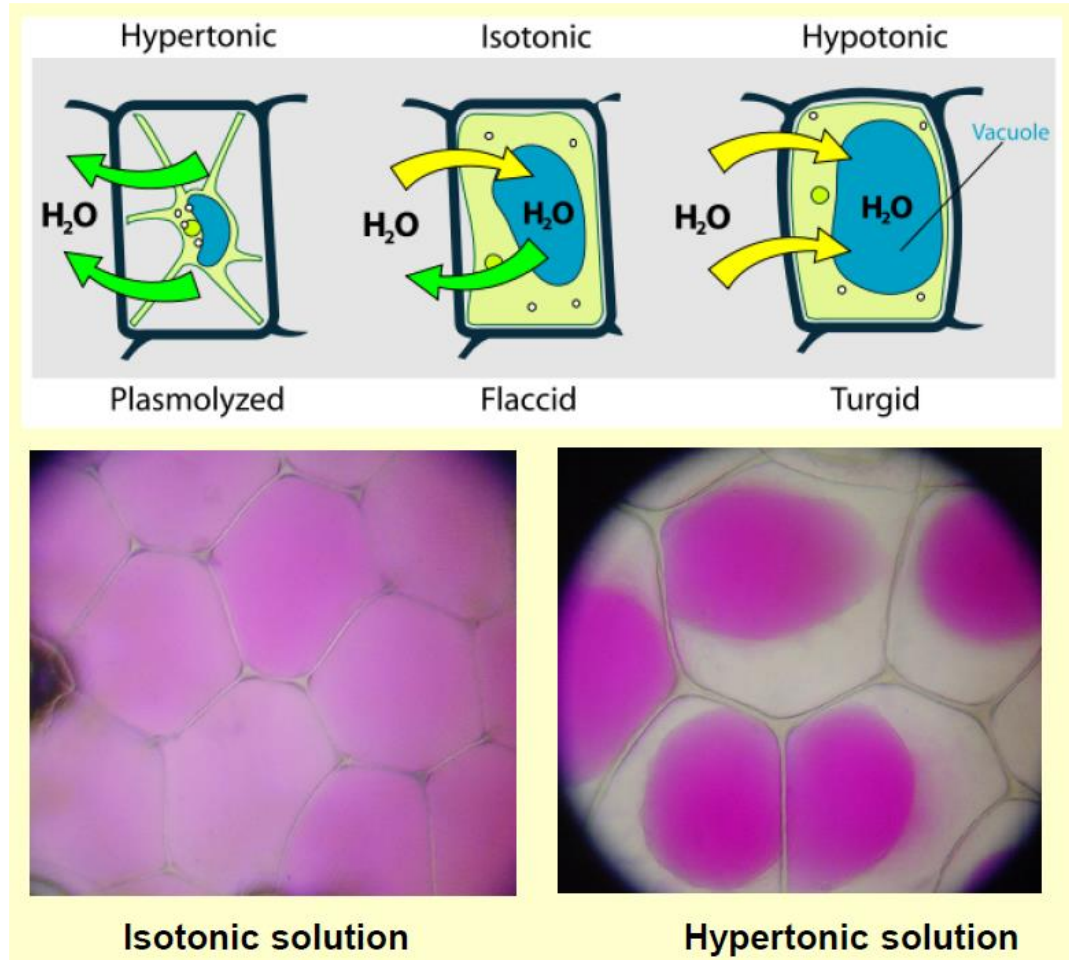


Figure 1.4c Cell Membranes (© Garland Science 2016)

Figure 1.4a Cell Membranes (© Garland Science 2016)

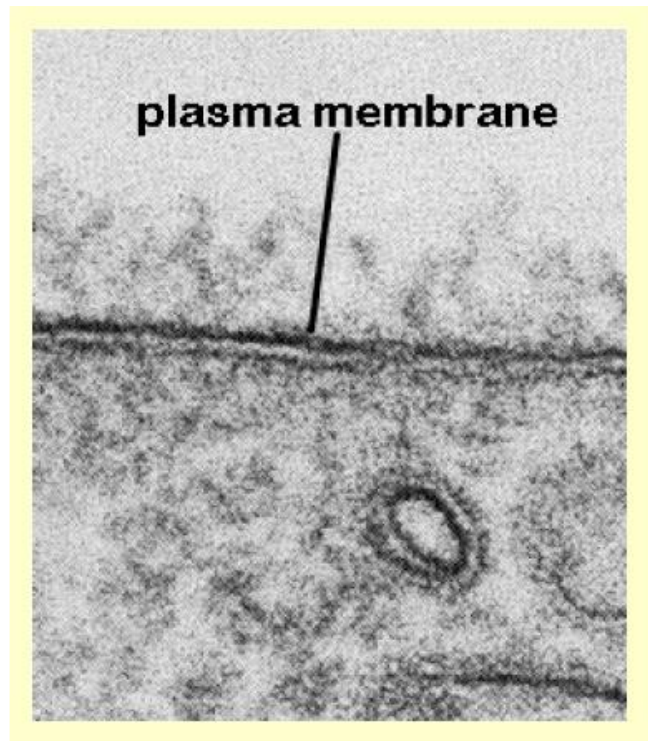
První nepřímá pozorování

➤ Nägeli (1855)



První vizualizace pomocí el. mikroskopie

- ▶ **J.D. Robertson (1950s)**
 - ▶ Membrány bakterií, rostlin i živočichů mají podobnou strukturu



Membrány

- Všechny biologické membrány mají shodnou obecnou strukturu
- Tenká vrstva tvořena molekulami lipidů (lipidová dvouvrstva, 5nm, 50 atomů) a proteinů spojených nekovalentními vazbami (model fluidní mozaiky)

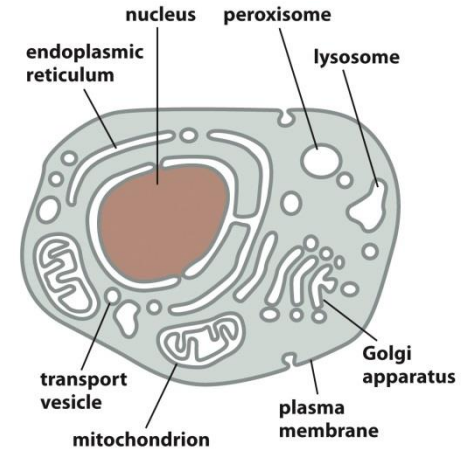
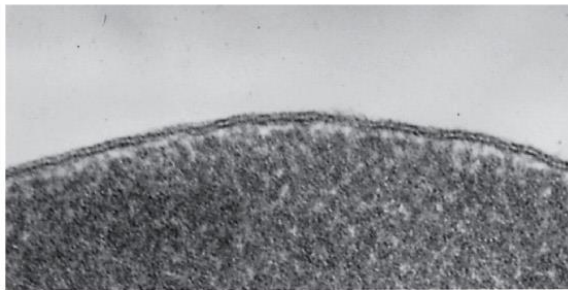
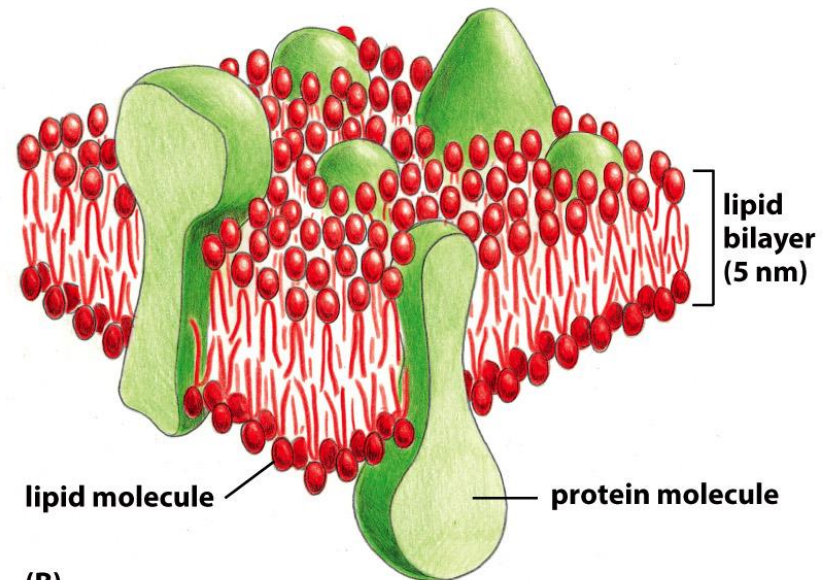


Figure 11-3 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)



(A)

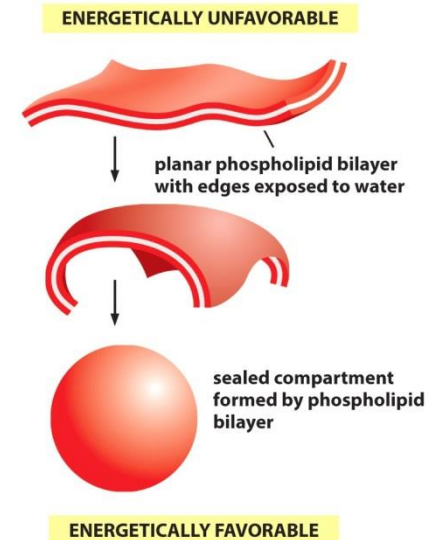
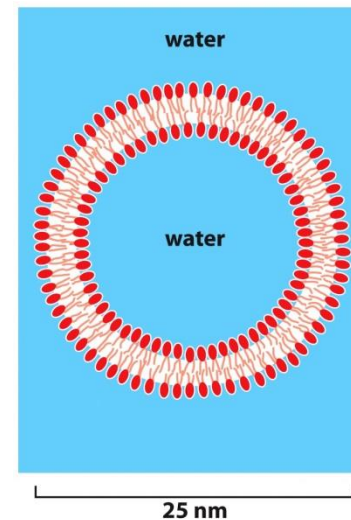
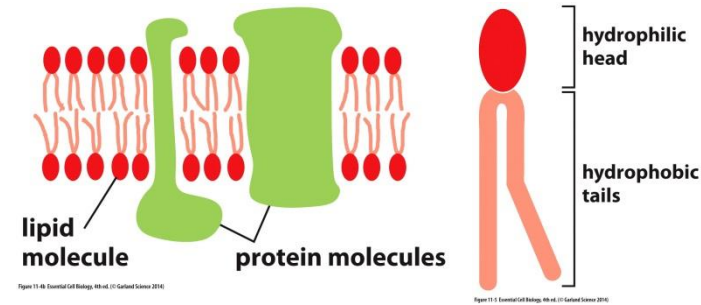


(B)

Figure 10-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Lipidová dvouvrstva

- Základní složka všech buněčných membrán
- Všechny typy membránových lipidů obsahují polární a nepolární část
- hydrofilní (polární) + hydrofóbní (nepolární) = amfifilní
- zformování lipidové dvouvrstvy je energeticky příznivé



Fosfolipidy – nejčastější membránové lipidy

- Polární fosfátová skupina
- dva hydrofobní konce - mastné kyseliny
- Fosfatidylcholin – typický fosfolipid

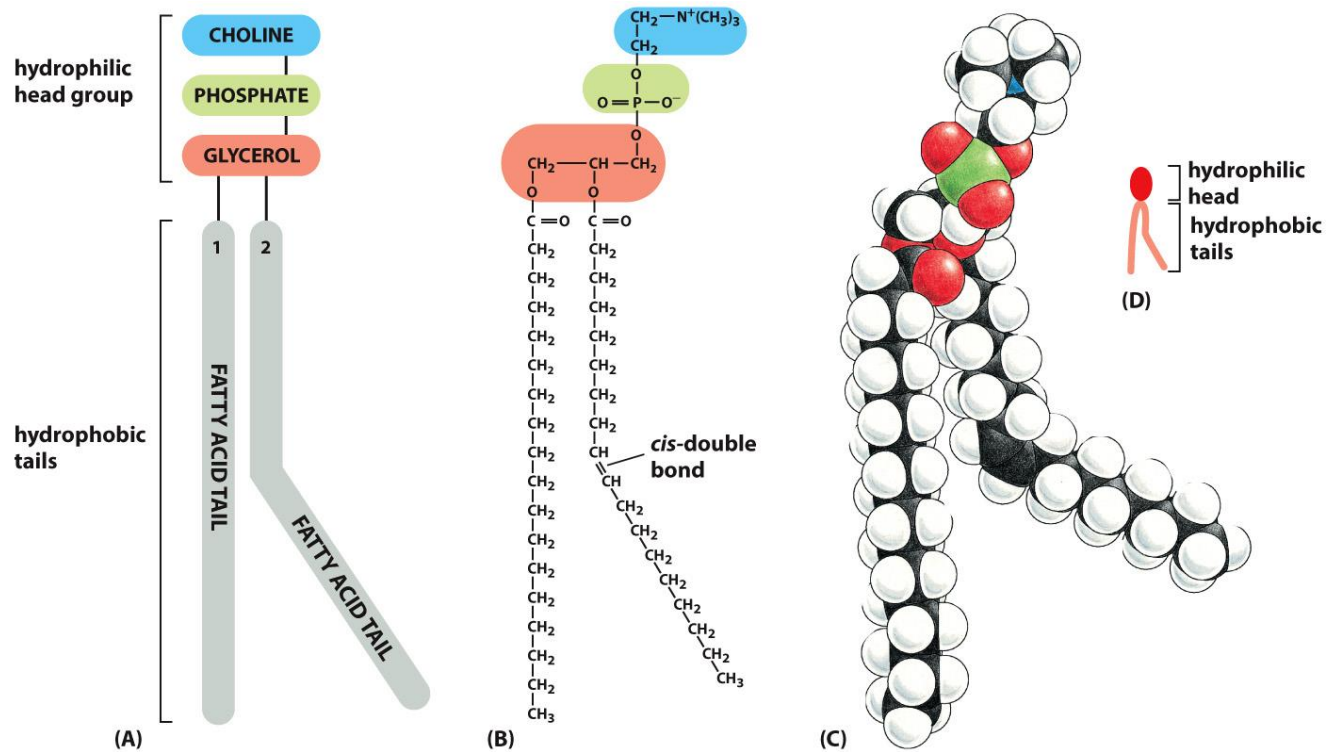


Figure 10-2. Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Fosfoglyceridy a sfingolipidy

- Glycerol nebo sfingozin
- dva řetězce mastných kyselin
- fosfátová skupina spojena s různými molekulami
- různé kombinace = mnoho rozdílných fosfoglyceridů

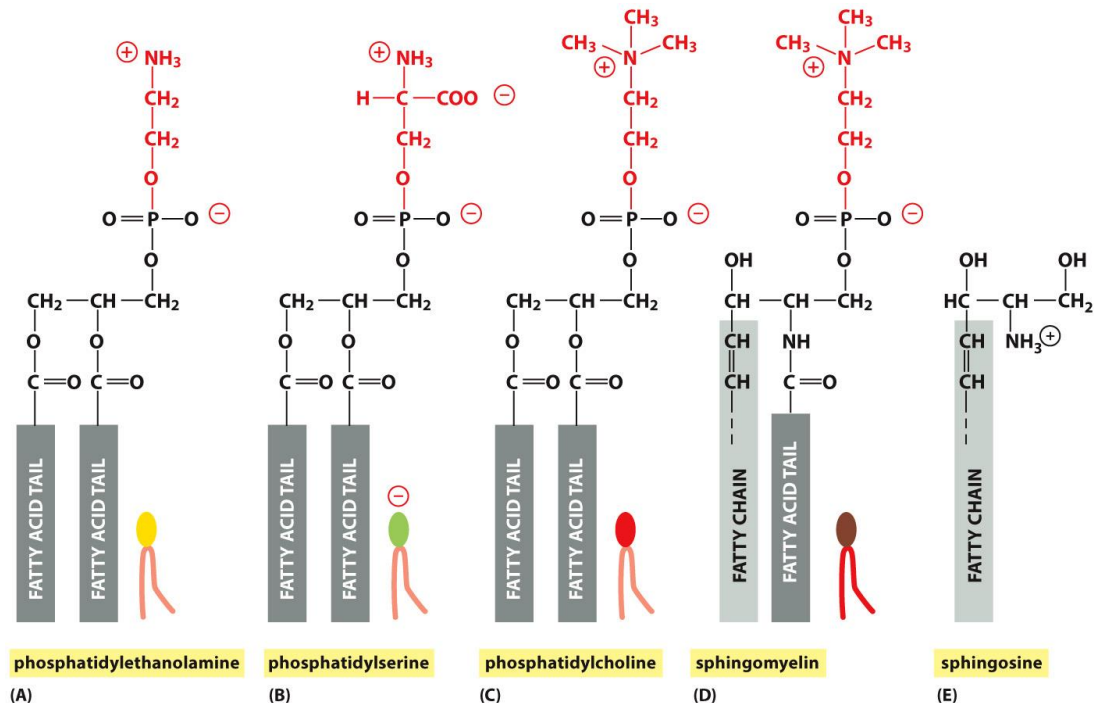
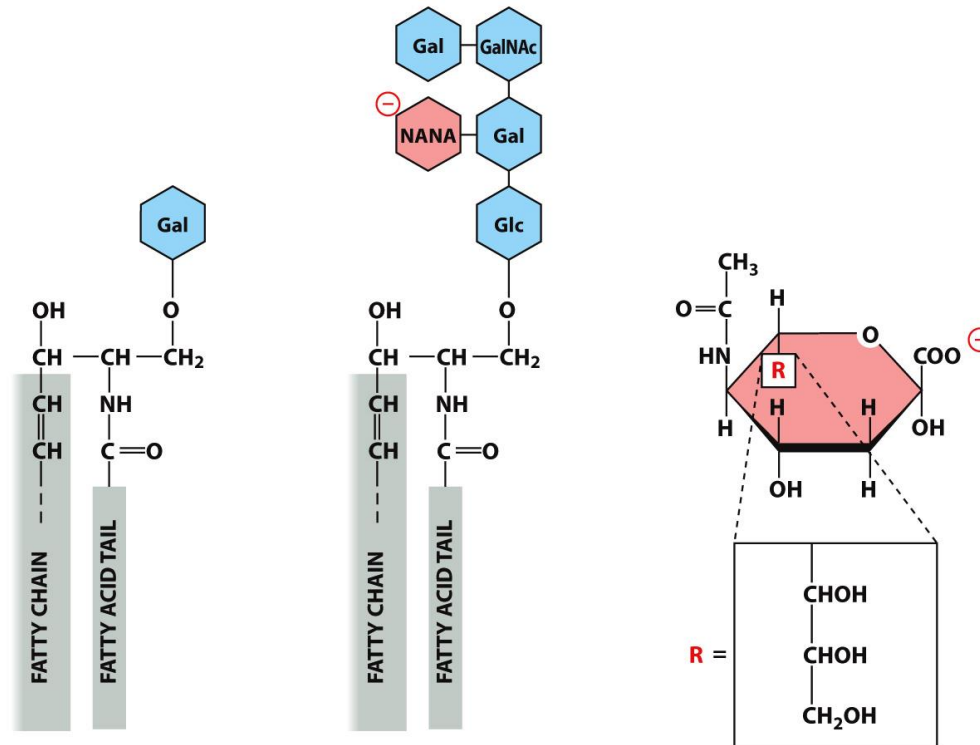


Figure 10-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Glykolipidy

- obsahují sacharidy vázané na glycerol nebo sfingozin
- hrají roli jako receptory na povrchu membrán (vždy ve vnější vrstvě membrány)
- Lipidové molekuly s největší asymetrií



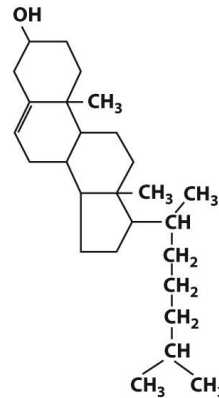
(A) galactocerebroside

(B) G_{M1} ganglioside

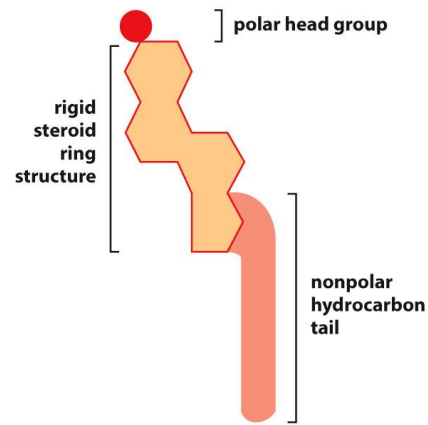
(C) a sialic acid (NANA)

Cholesterol

- steroid, ovlivňuje fluiditu membrán
- abundantní složka membrán
- Orientuje se svojí polární skupinou k polární části fosfolipidů



(A)



(B)



(C)

Figure 10-4 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

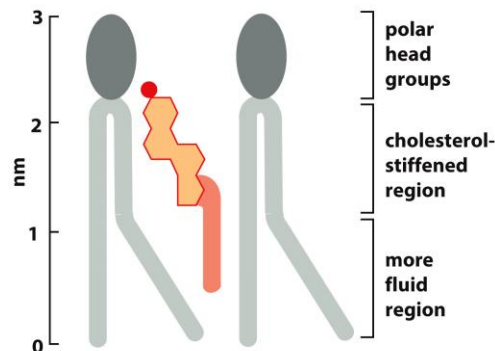


Figure 10-5 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Fluidita membrán je podmíněna jejich složením

- dvojitá lipidová membrána je flexibilní a fluidní - vlastnosti dvoudimenzionální tekutiny
- Fluidita je důležitá vlastnost membrán závislá na jejich složení
 - Cholesterol
 - délka uhlovodíkových řetězců mastných kyselin
 - počet dvojných vazeb
- Těsné a pravidelné uspořádání dvouvrstvy ~ < fluidita
 - kratší řetězce > fluidita
 - vyšší počet dvojných vazeb > fluidita
 - cholesterol „ztužuje“ membránu ~ < flexibilita a permeabilita

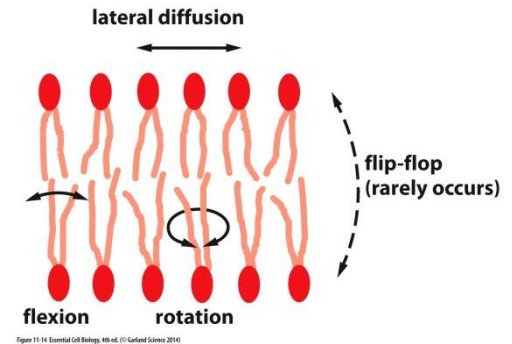


Figure 11-14 Essential Cell Biology, 4th ed. © Garland Science 2014

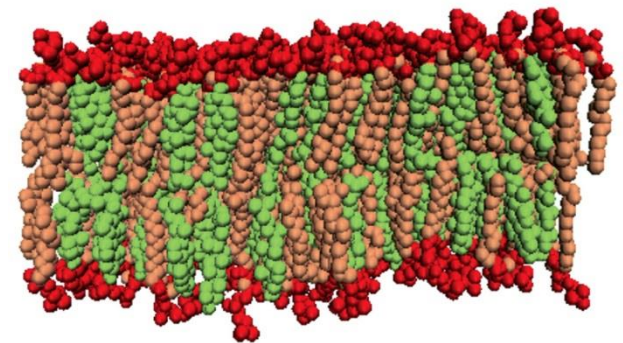


Figure 11-15c Essential Cell Biology, 4th ed. © Garland Science 2014

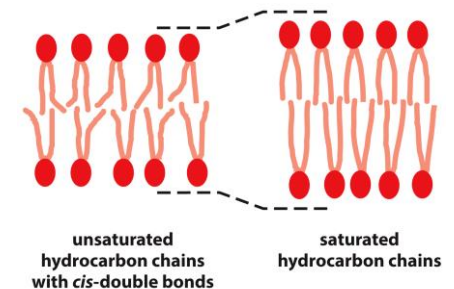
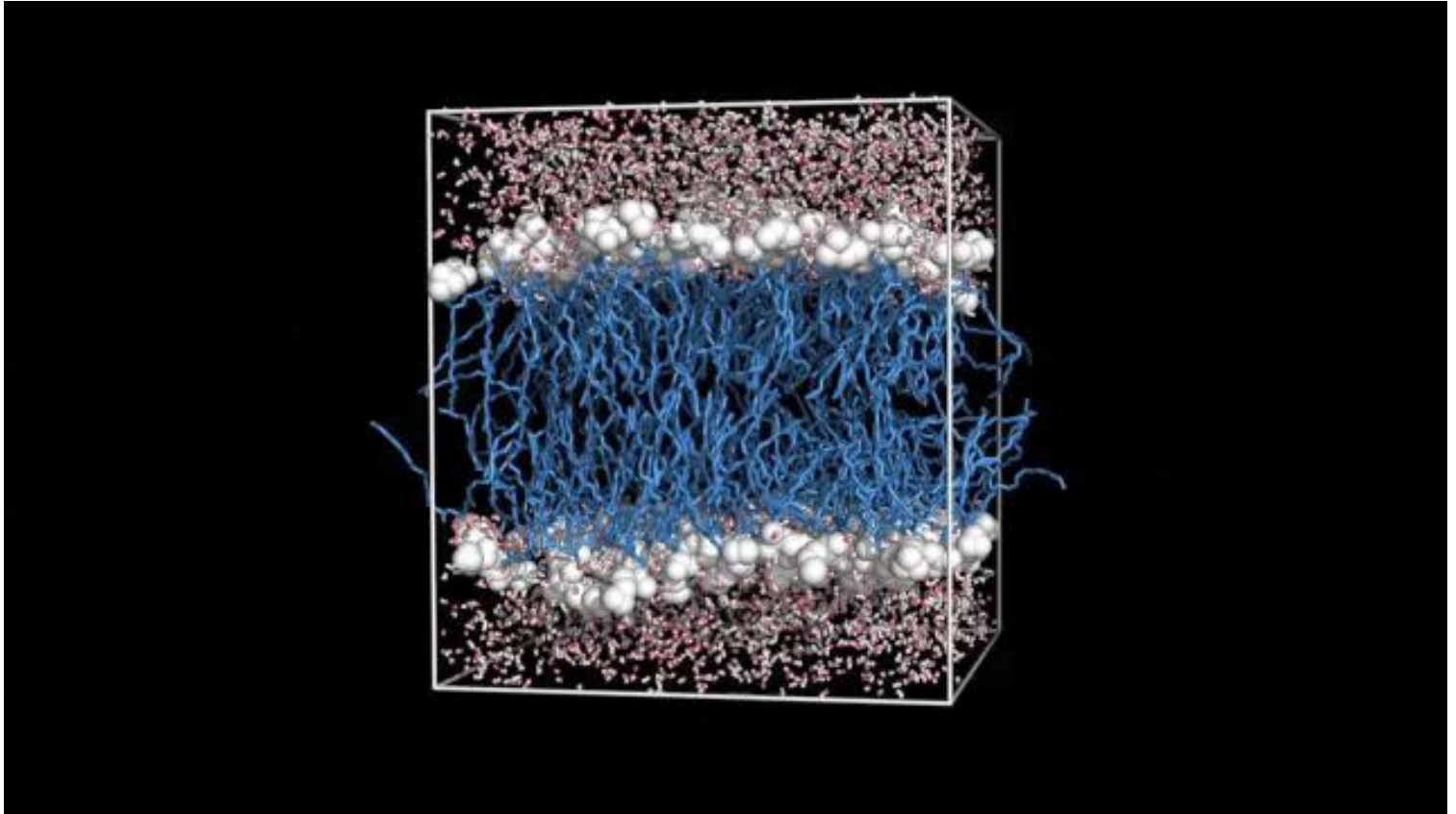


Figure 10-11 Molecular Biology of the Cell 6e © Garland Science 2015

Fluidita membrán je podmíněna jejich složením



Rozdílné složení lipidových membrán

TABLE 10-1 Approximate Lipid Compositions of Different Cell Membranes

Lipid	Percentage of total lipid by weight					
	Liver cell plasma membrane	Red blood cell plasma membrane	Myelin	Mitochondrion (inner and outer membranes)	Endoplasmic reticulum	<i>E. coli</i> bacterium
Cholesterol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidylethanolamine	7	18	15	28	17	70
Phosphatidylserine	4	7	9	2	5	trace
Phosphatidylcholine	24	17	10	44	40	0
Sphingomyelin	19	18	8	0	5	0
Glycolipids	7	3	28	trace	trace	0
Others	22	14	8	23	27	30

Table 10-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Membránové nanodomény

- Lipidové nanodomény, 10-200 nm, dynamické struktury
- Obohacené cholesterolem a sfingolipidy
- Role v řadě buněčných funkcí
 - signálová transdukce
 - virová infekce
 - ER-to-Golgi transport
 - post Golgi transport
 - endocytóza

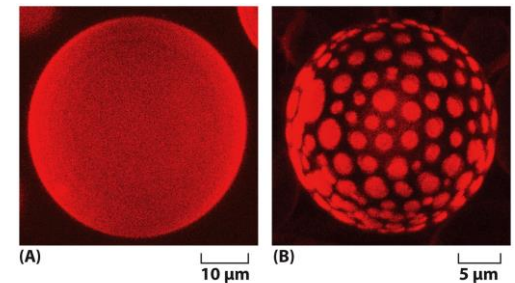


Figure 10-12 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

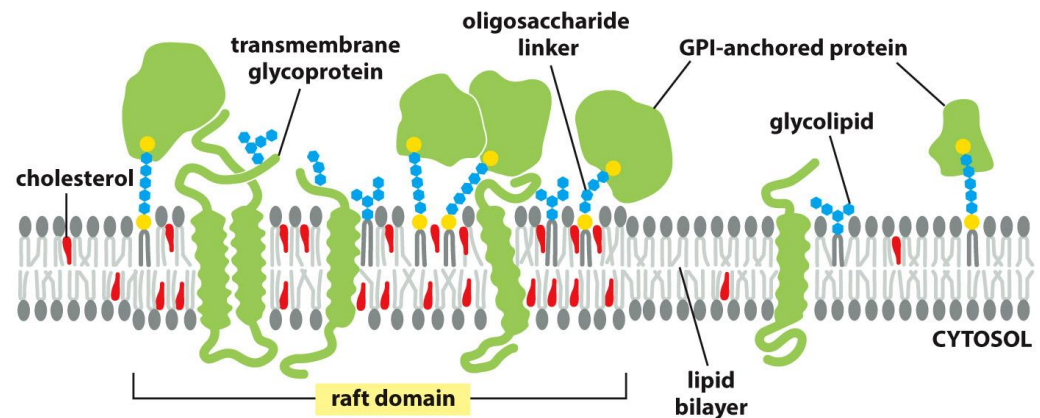
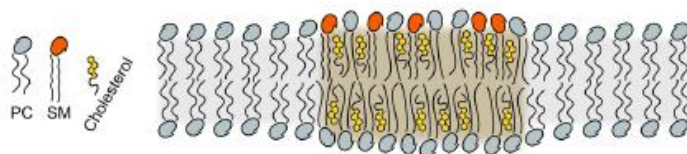


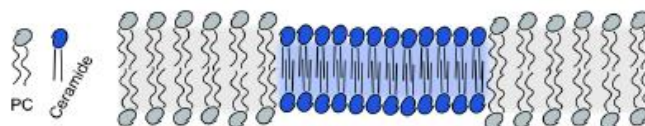
Figure 10-13 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Membránové nanodomény

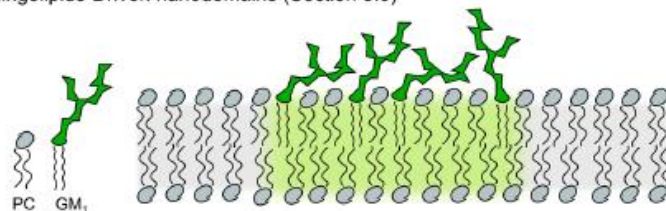
A Glycerophospholipids, Sphingomyelins, and Cholesterol-Driven Nanodomains (Section 3.1)



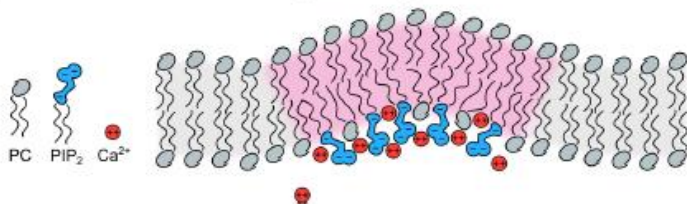
B Ceramides-Driven Nanodomains (Section 3.2)



C Glycosphingolipids-Driven nanodomains (Section 3.3)



D Phosphoinositides-Driven nanodomains (Section 3.4)



E



F



G

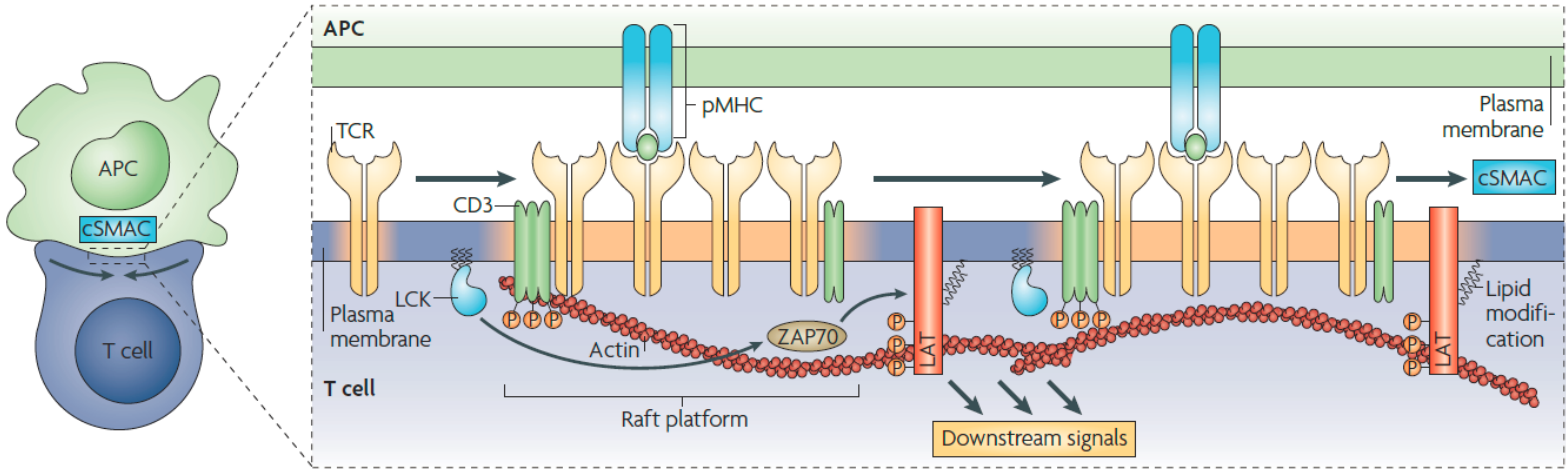


H

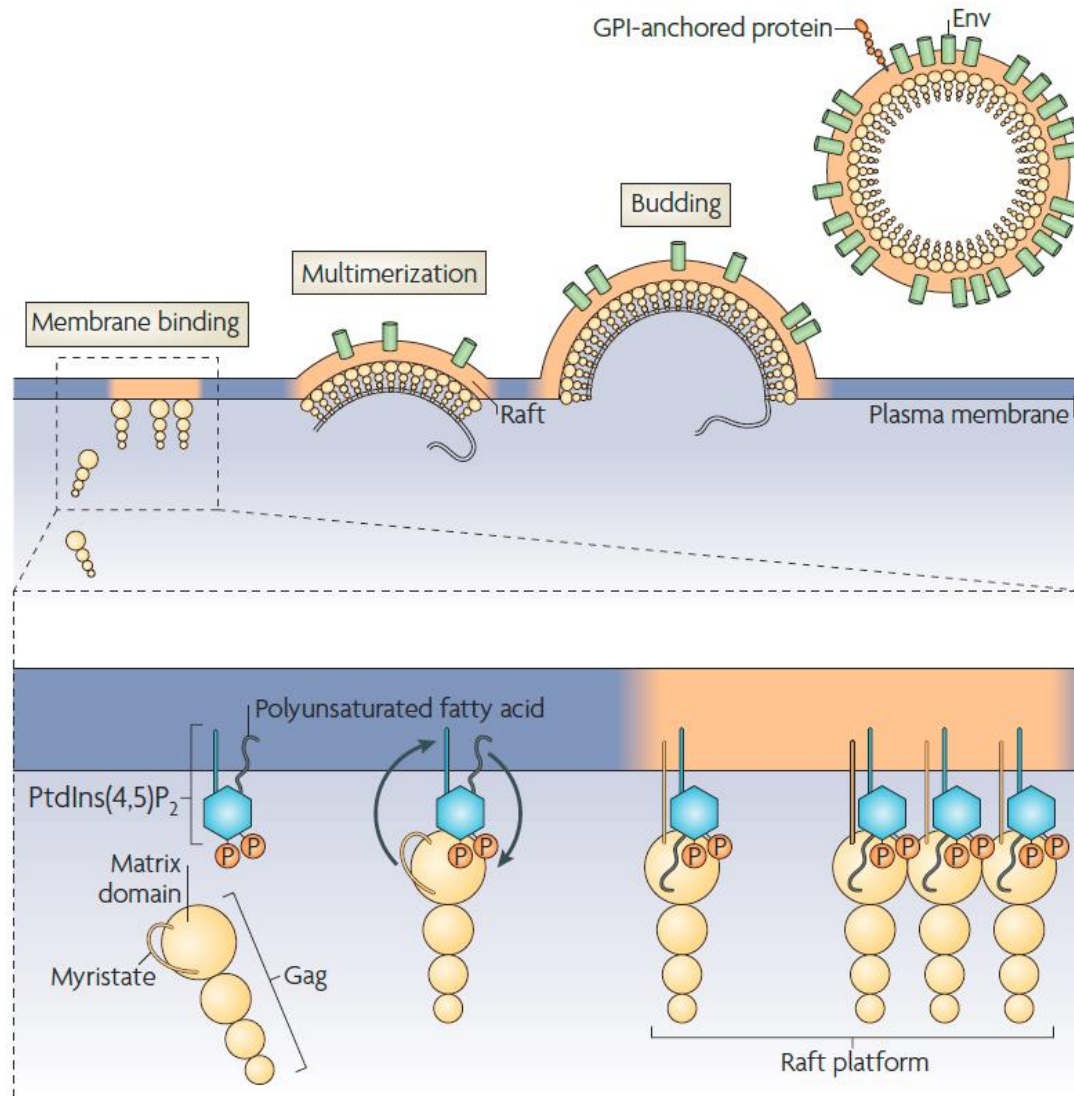


Figure 2. Four types of lipid nanodomains described in section 3. Schematic drawings of the structure of lipid nanodomains formed by (A) glycerophospholipids, sphingomyelins, and cholesterol, (B) ceramides, (C) glycosphingolipids, and (D) phosphoinositides. See also Tables 1 and 2 for general and lipid-specific properties contributing to the formation of lipid nanodomains. Nanodomain character is symbolized by corresponding photographs of (E) oil droplets, (F) ice cubes, (G) branchlet-rafts, and (H) charged oil droplets in a bowl of water.

Aktivace TCR (T cell receptor)

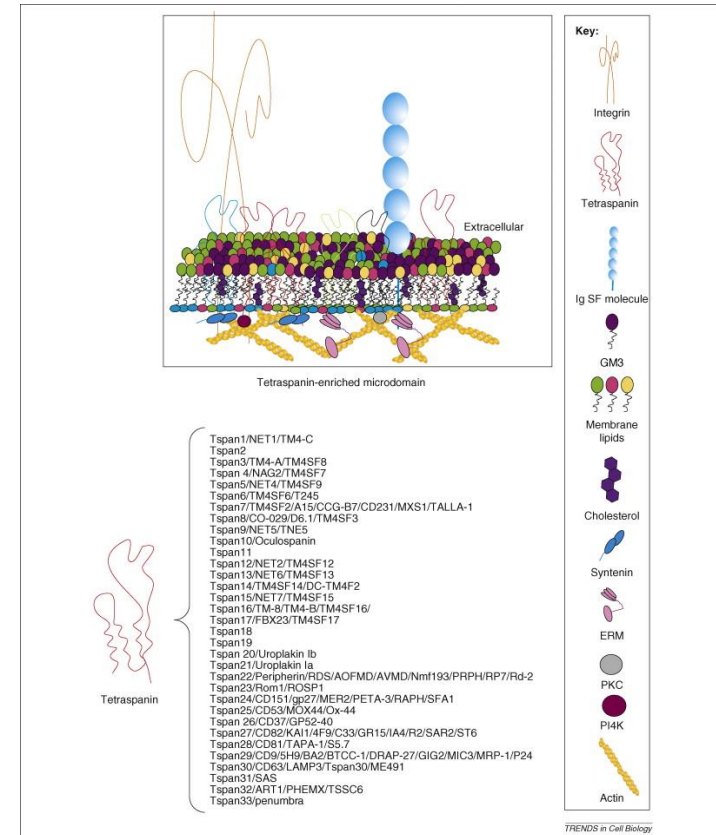
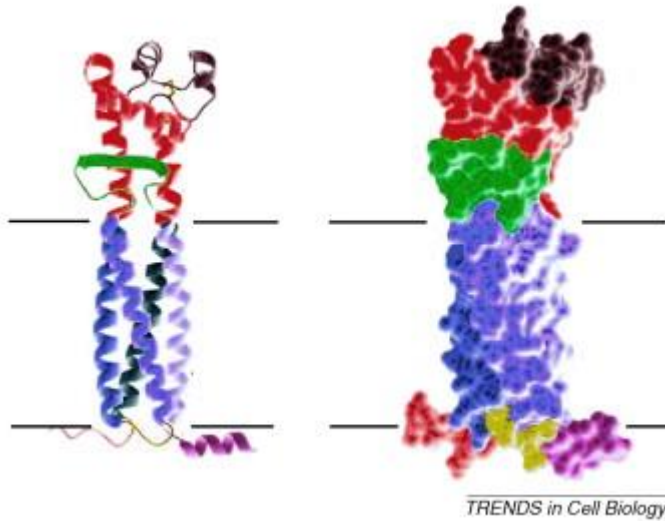


Sestavení a uvolnění viru HIV

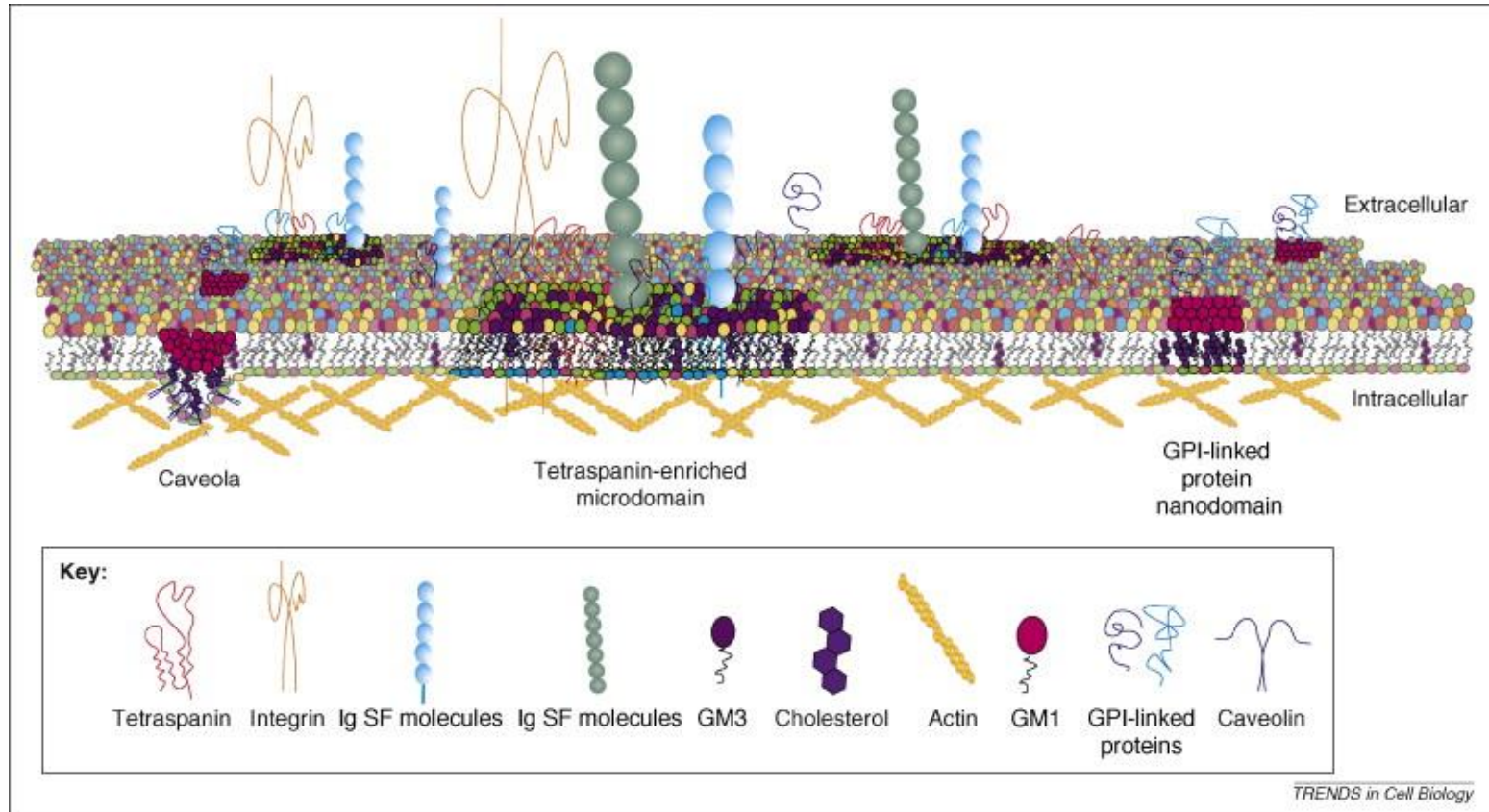


Tetraspaniny

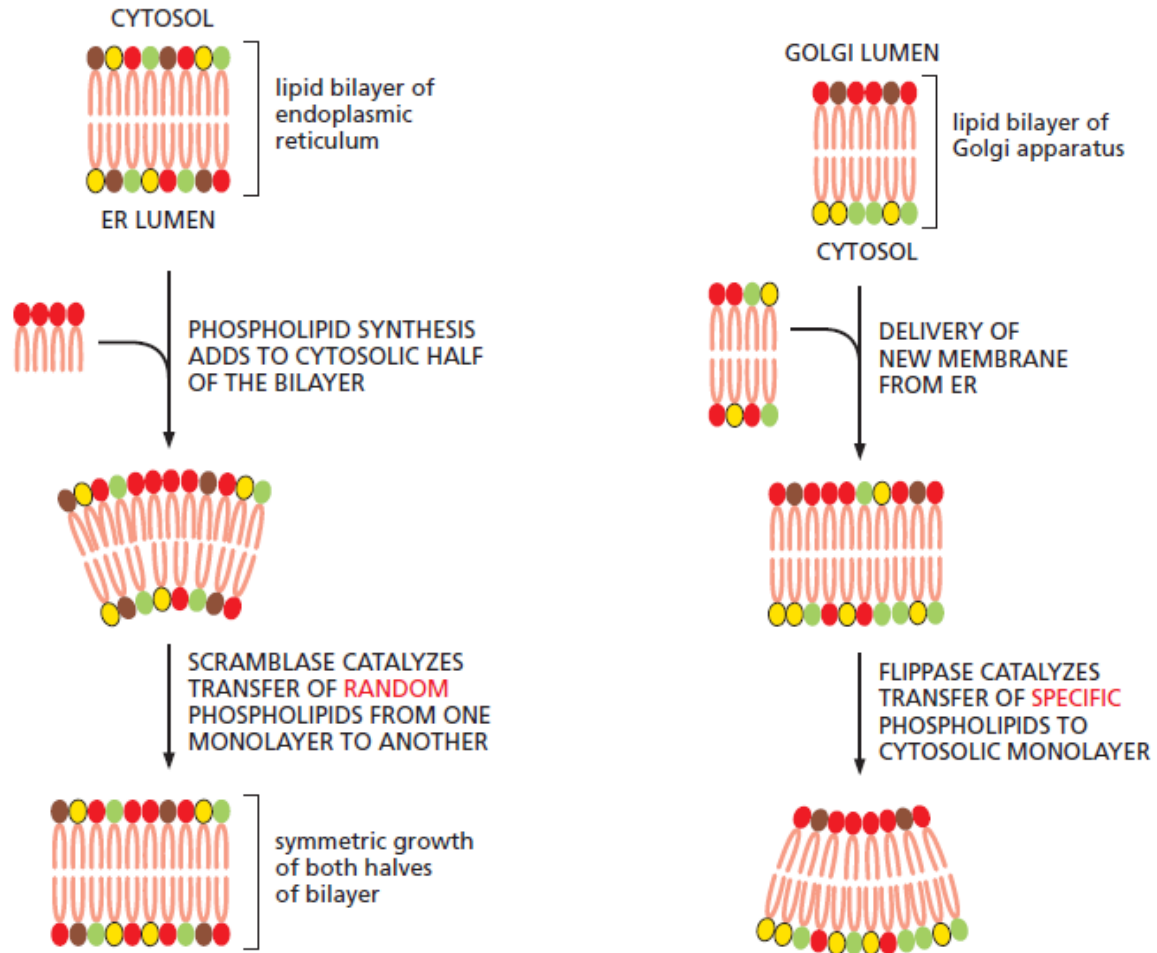
- ▶ membránové proteiny, u všech mnohobuněčných eukaryot
- ▶ 4 transmembránové alfa helixy a 2 extracelulární domény, jednu krátkou a jednu delší, typicky 100 aminokyselinových zbytků
- ▶ Vytvářejí mikrodomény ve kterých interagují s řadou signálních molekul
- ▶ Ovlivňují mezibuněčné interakce, adhezi, motilitu, komunikaci



Tetraspanin-enriched microdomains



Syntéza a sestavení lipidové membrány na ER



IN THE ER MEMBRANE, PHOSPHOLIPIDS ARE RANDOMLY DISTRIBUTED

IN THE GOLGI AND OTHER CELL MEMBRANES, PHOSPHOLIPID DISTRIBUTION IS ASYMMETRIC

Asymetrie lipidové membrány

- Funkčně důležitá v přenosu signálu
- řada cytosolických proteinů specificky rozpoznává určité struktury v lipidové membráně
- Glykolipidy na vnější straně membrány
- Orientace zůstává zachována během transferu mezi buněčnými kompartmentami

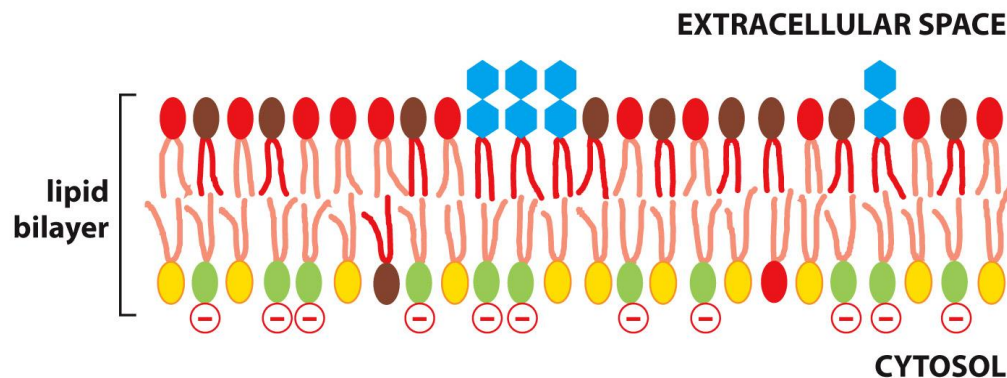


Figure 10-15 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

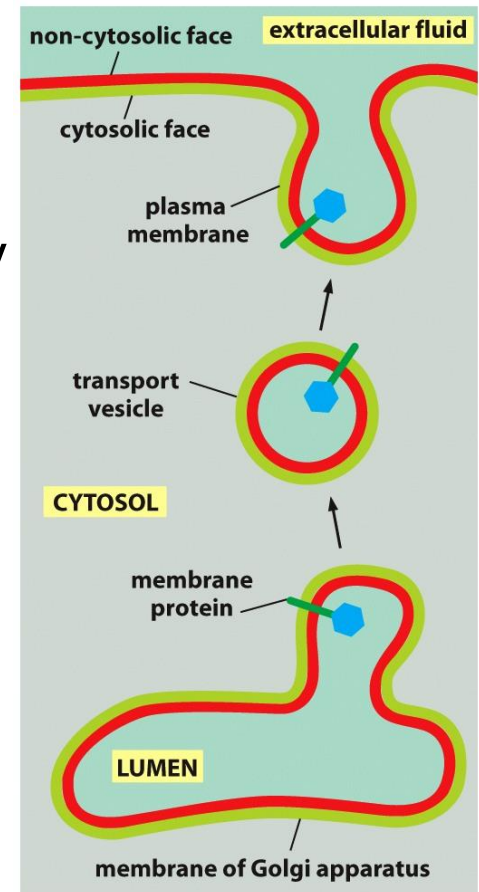


Figure 11-17 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Membránové proteiny – různé funkce

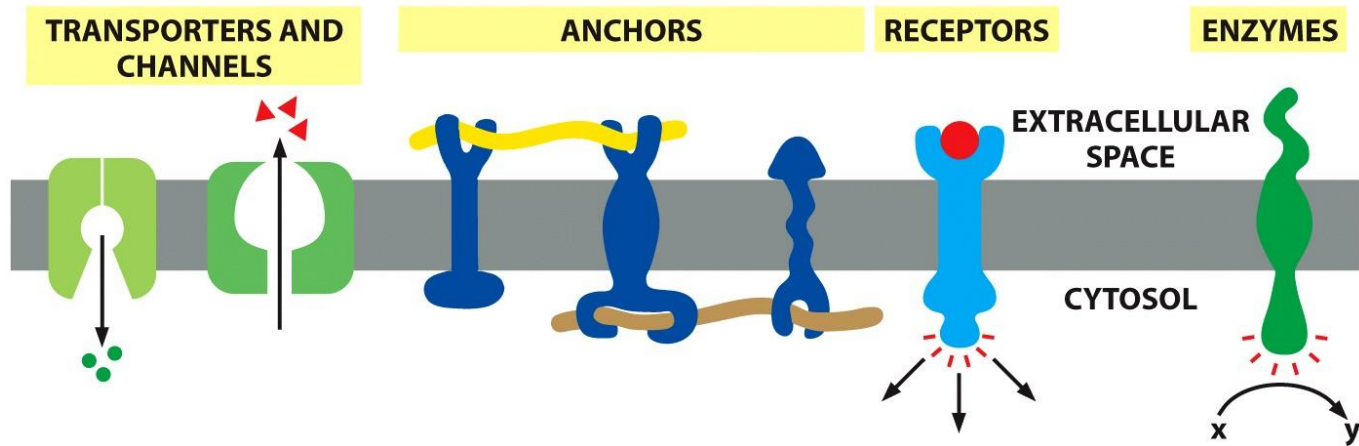


Figure 11-19 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Membránové proteiny – různé způsoby asociace s lipidovou dvouvrstvou

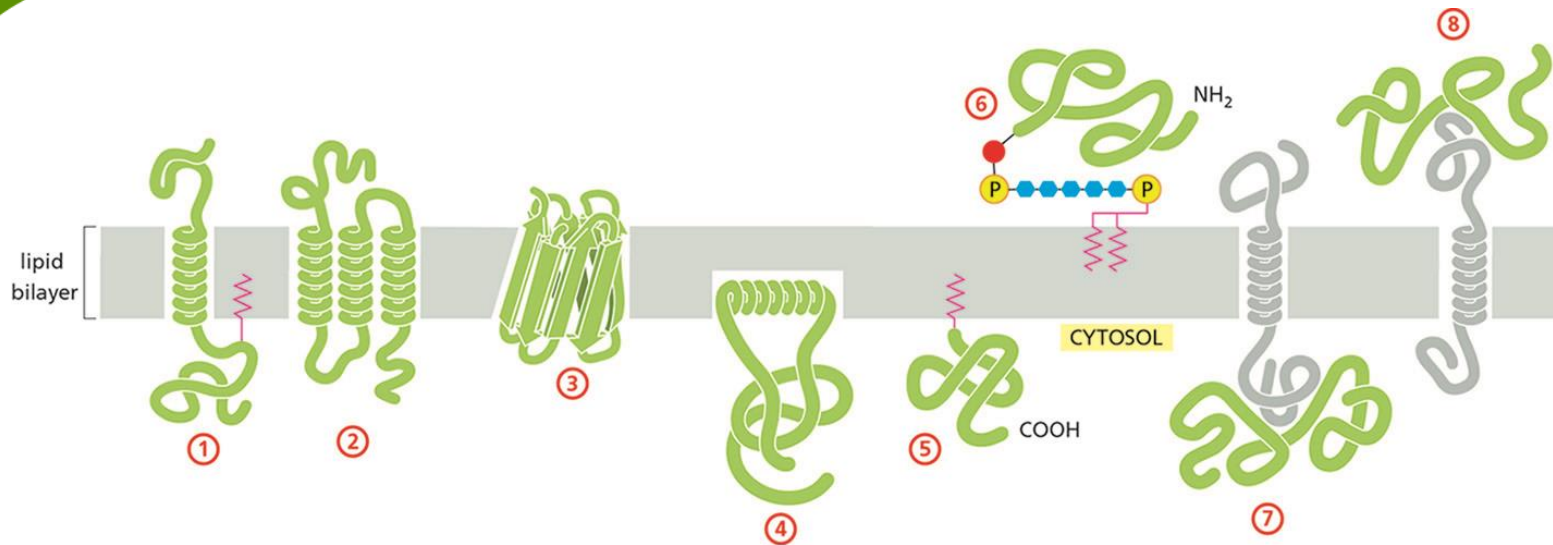


Figure 10-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- jeden nebo více α -helixů
- β struktura (skládáný list)
- amfifilní α -helix
- kovalentně vázaný lipidový zbytek
- oligosacharidový linker
- nekovalentní interakce s dalšími membránovými proteiny

Membránové proteiny s lipidovou kotvou

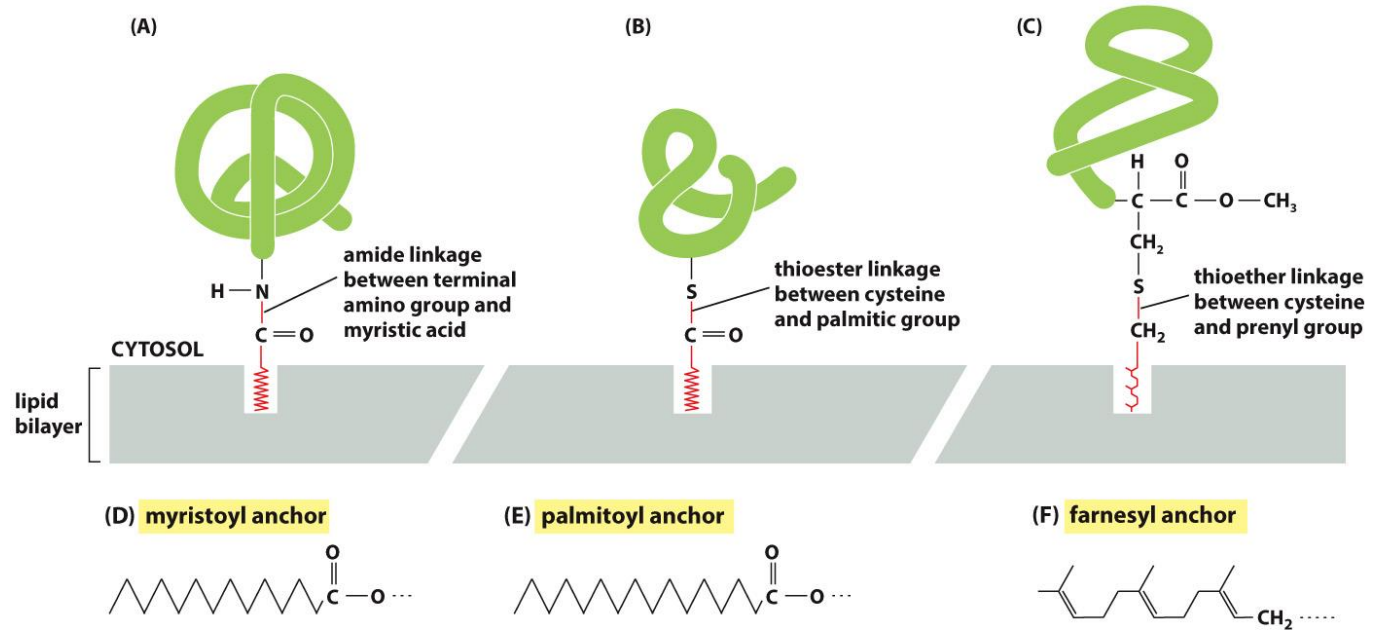


Figure 10-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- ➔ Kovalentně navázaná lipidová složka umožňuje lokalizaci hydrofilního proteinu do membrány

Glykosylace membránových proteinů

- většina transmembránových proteinů je glykosylovaná
- cukerný zbytek je přidáván v lumenu ER a Golgiho aparátu, oligosacharidový zbytek je vždy na ne-cytosolové straně membrány
- glykosylace vnější strany membrány vede k intenzivnímu potažení povrchu buněk sacharidy
- Glykokalix – glykolipidy, glykoproteiny, proteoglykany

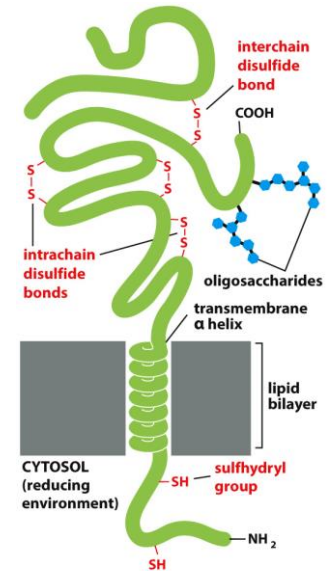


Figure 10-24 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

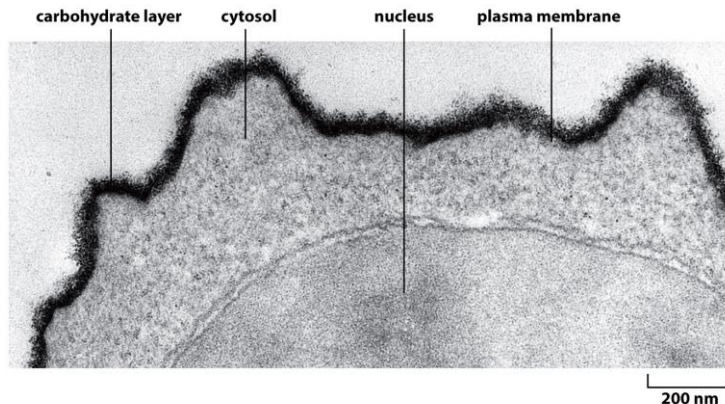


Figure 10-25a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

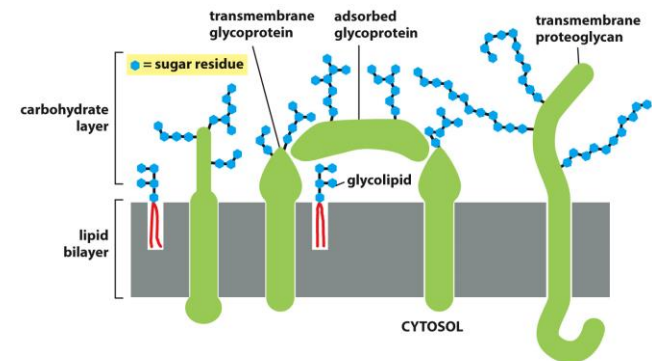


Figure 10-25b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Laterální pohyb membránových proteinů

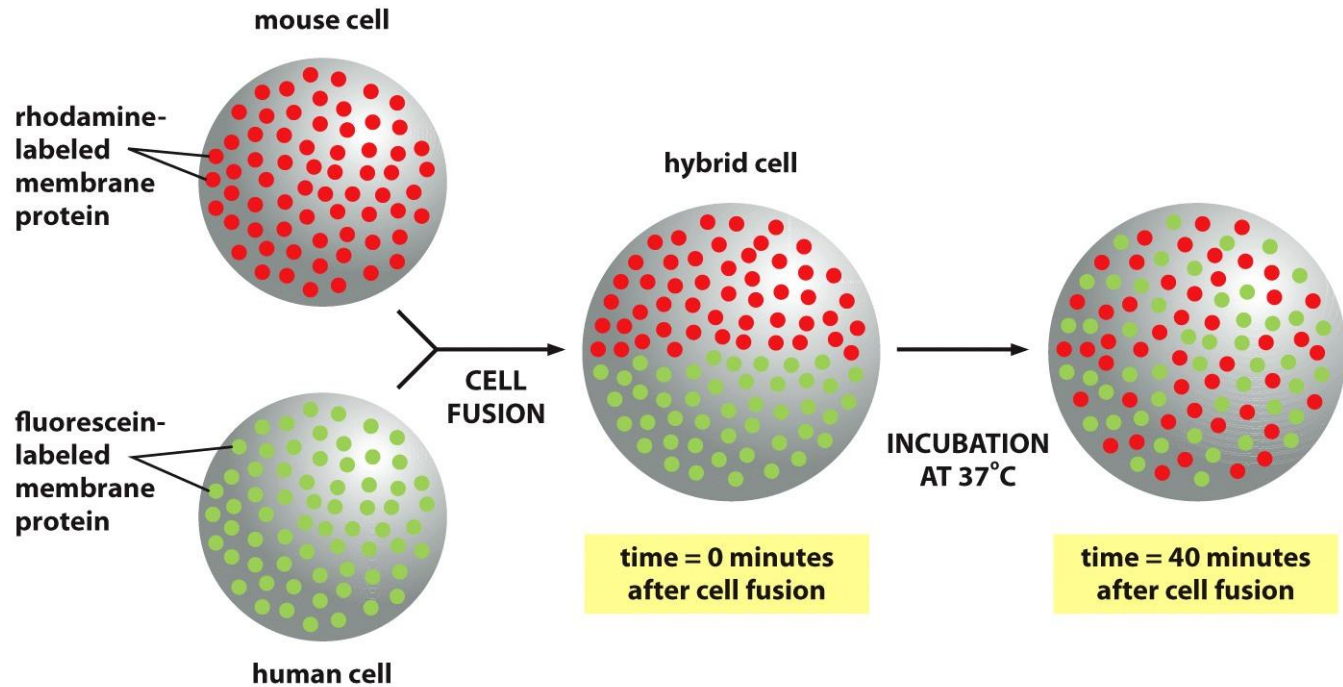


Figure 11-30 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Omezení laterální mobility membránových proteinů

- ▶ samosestavení do větších agregátů, domén
- ▶ Interakce s dalšími strukturami uvnitř či vně buňky
- ▶ Interakce s dalšími proteiny na povrchu jiné buňky

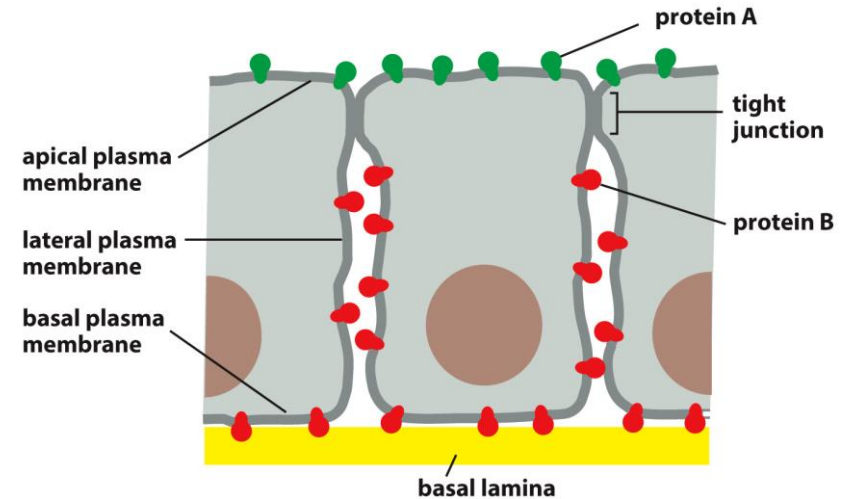


Figure 10-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

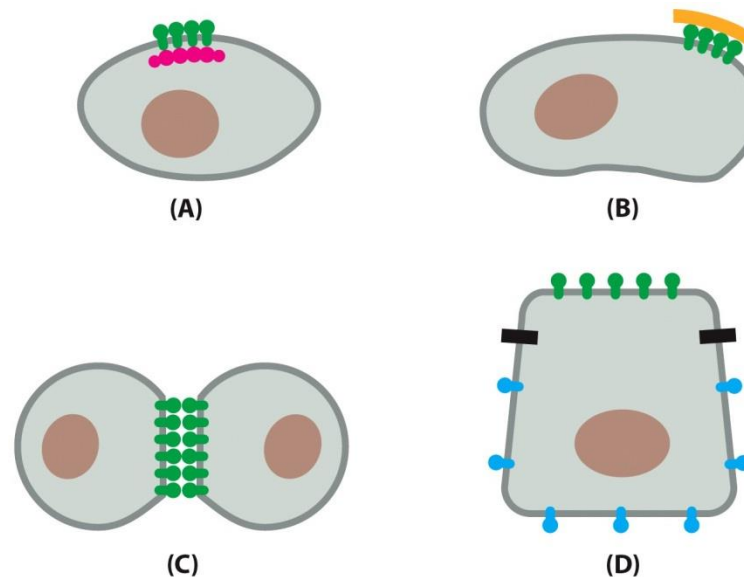


Figure 11-31 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Buněčný kortex – mechanická podpora plazmatické membrány

- Buněčná membrána je extrémně tenká, 5nm
- ~ 10 000x = 1 list papíru
- membrána živočišné buňky je stabilizována sítí vláknitých proteinů - buněčný kortex
- Hlavní složky
 - tetramery spektrinu
 - aktin
 - akrynin

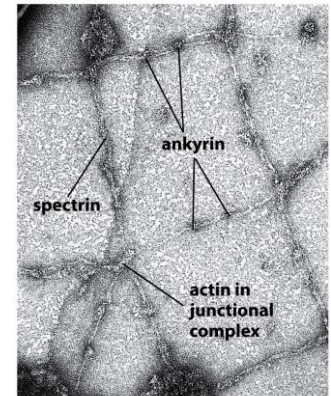


Figure 10-38b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

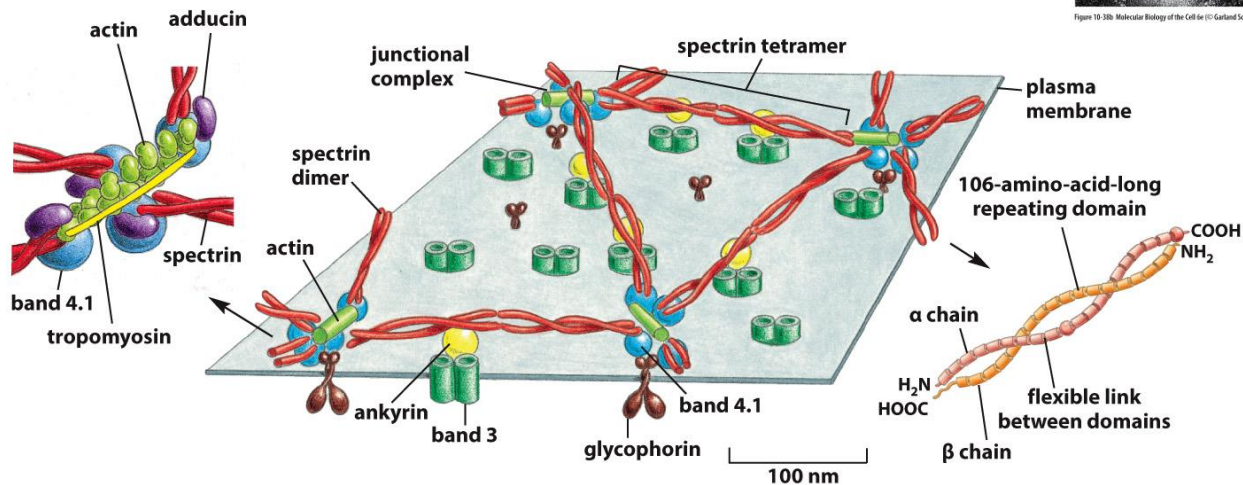


Figure 10-38a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Principy transportu přes buněčné membrány

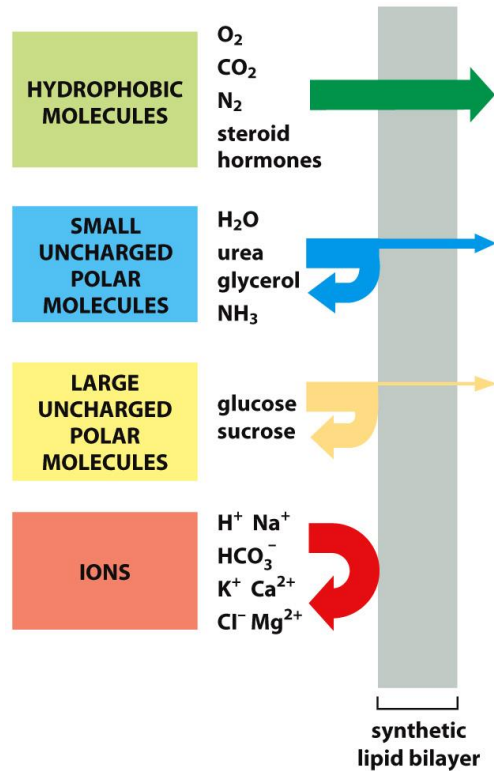


Figure 11-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

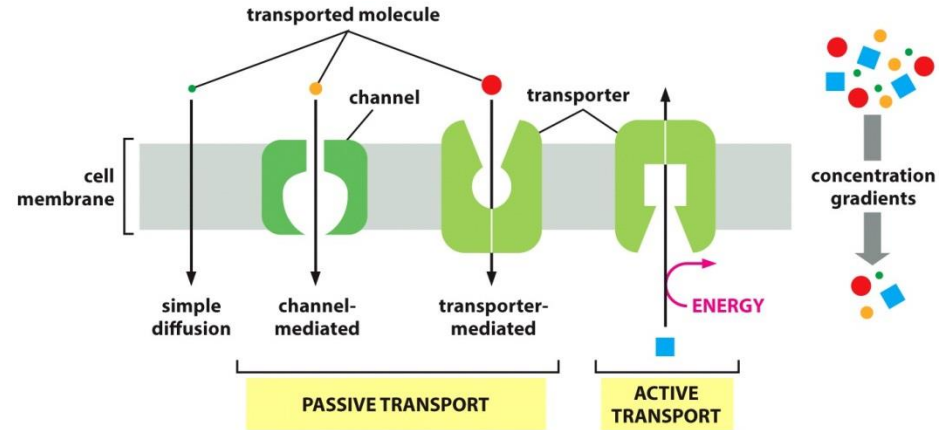


Figure 12-4 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

TABLE 12-1 A COMPARISON OF ION CONCENTRATIONS INSIDE AND OUTSIDE A TYPICAL MAMMALIAN CELL

Ion	Intracellular Concentration (mM)	Extracellular Concentration (mM)
Cations		
Na ⁺	5–15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0.5*	1–2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴ *	1–2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7.2} M or pH 7.2)	4 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7.4} M or pH 7.4)
Anions**		
Cl ⁻	5–15	110

*The concentrations of Mg²⁺ and Ca²⁺ given are for the free ions. There is a total of about 20 mM Mg²⁺ and 1–2 mM Ca²⁺ in cells, but most of these ions are bound to proteins and other organic molecules and, for Ca²⁺, stored within various organelles.

**In addition to Cl⁻, a cell contains many other anions not listed in this table. In fact, most cell constituents are negatively charged (HCO₃⁻, PO₄³⁻, proteins, nucleic acids, metabolites carrying phosphate and carboxyl groups, and so on).

Transport vody

- voda 70% hmotnosti buňky
- rychlá difúze
- Specializované kanály – akvaporiny
 - Nefrony ledvin
 - Sekreční žlázy
- osmóza

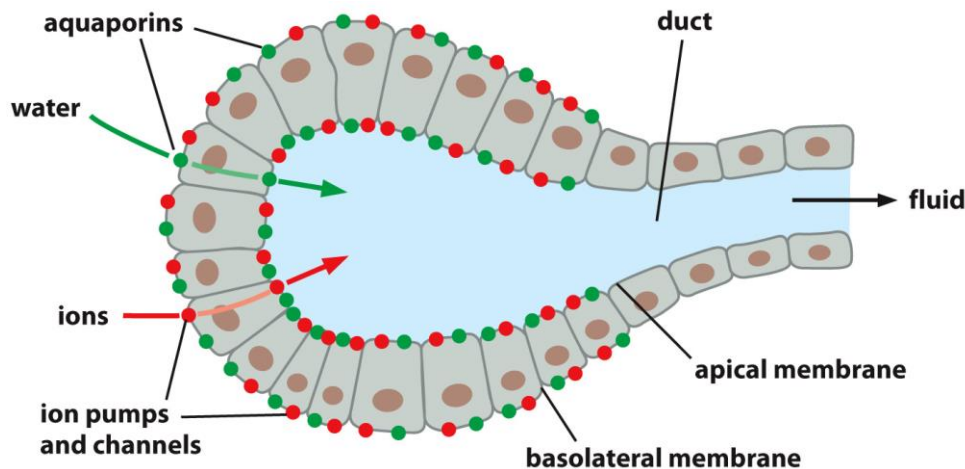


Figure 11-19 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

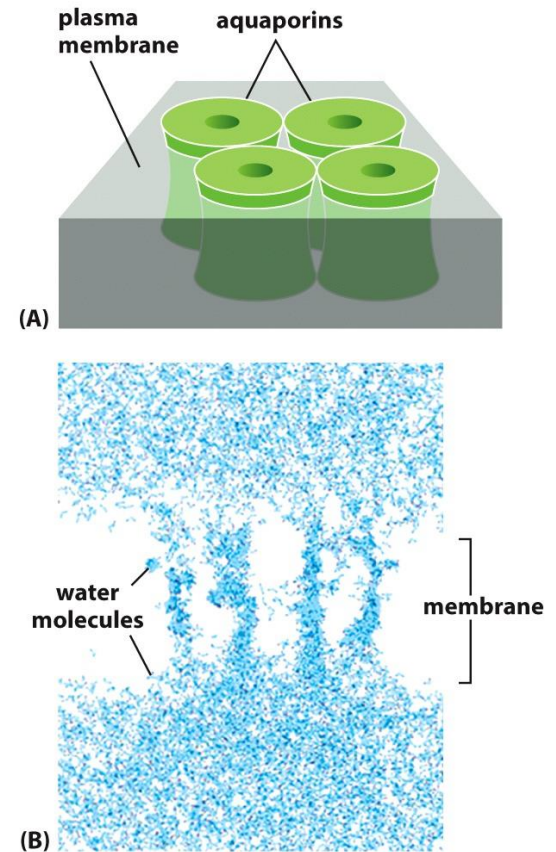


Figure 12-6 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Každá buněčná membrána má charakteristický set membránových transportérů

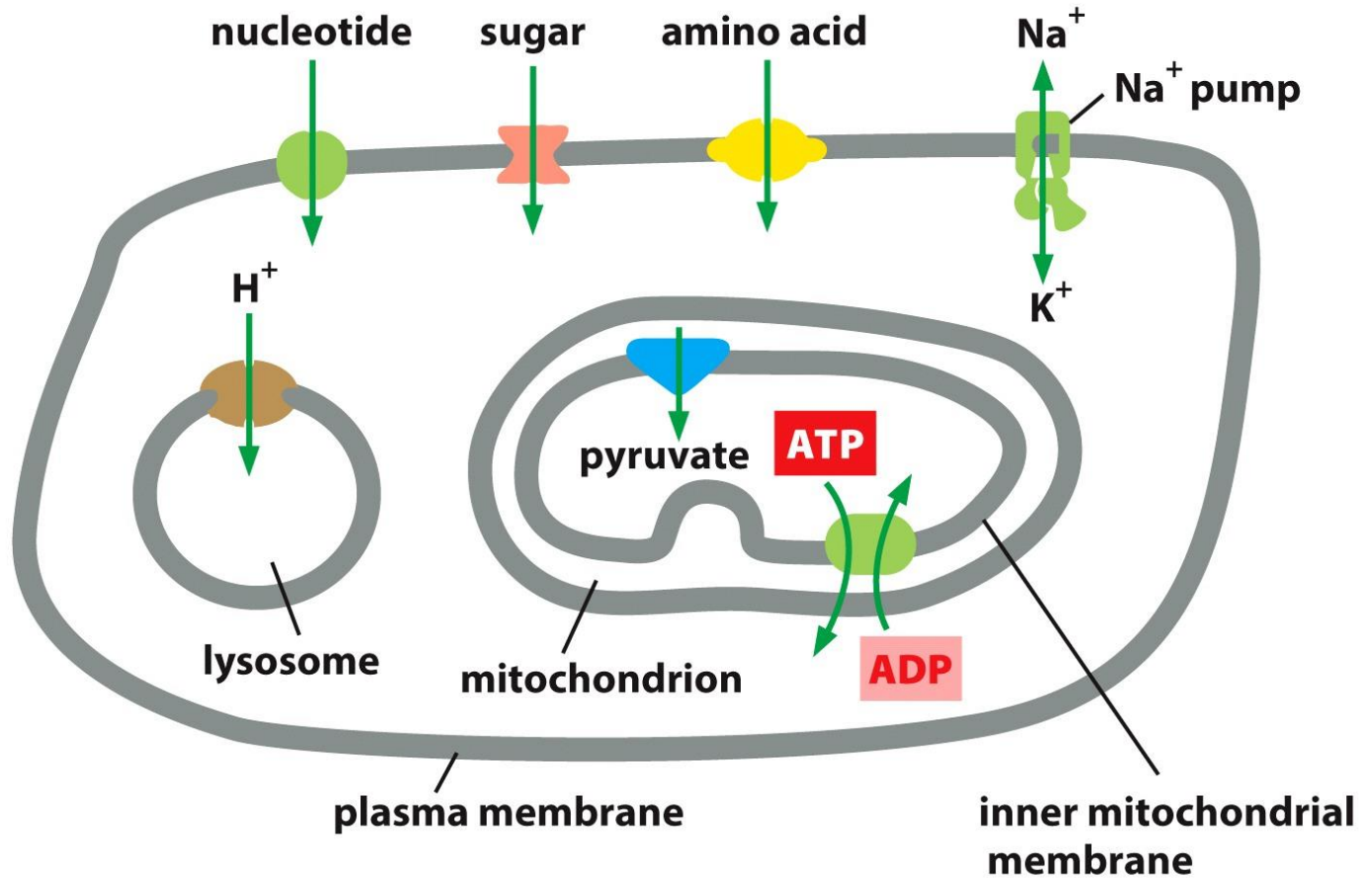


Figure 12-8 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Aktivní transport

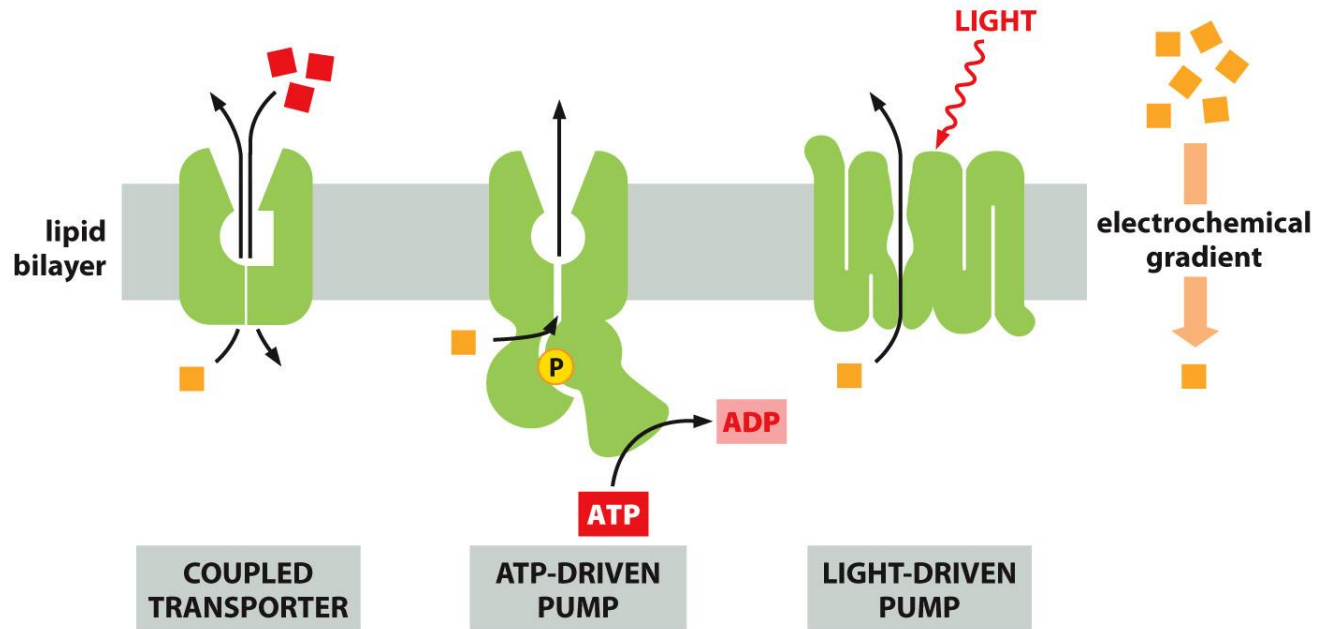


Figure 11-7 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

- Energie uložena v koncentračním gradientu
- Hydrolýza ATP

Transport glukózy

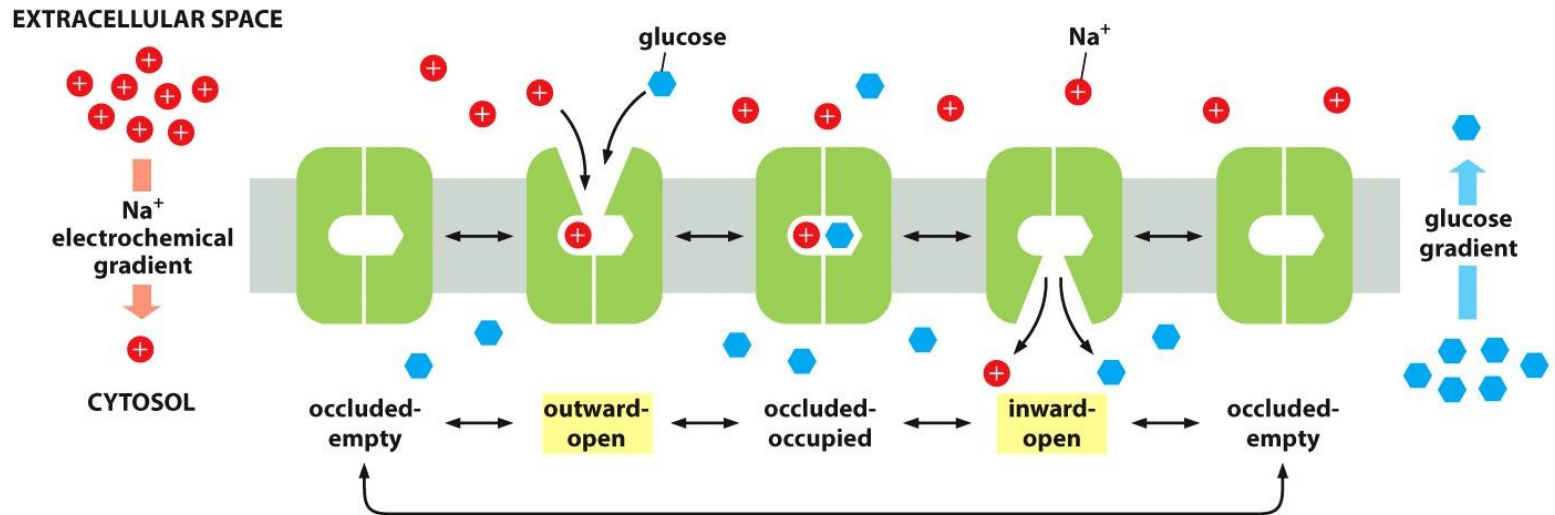


Figure 12-15 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Trans buněčný transport

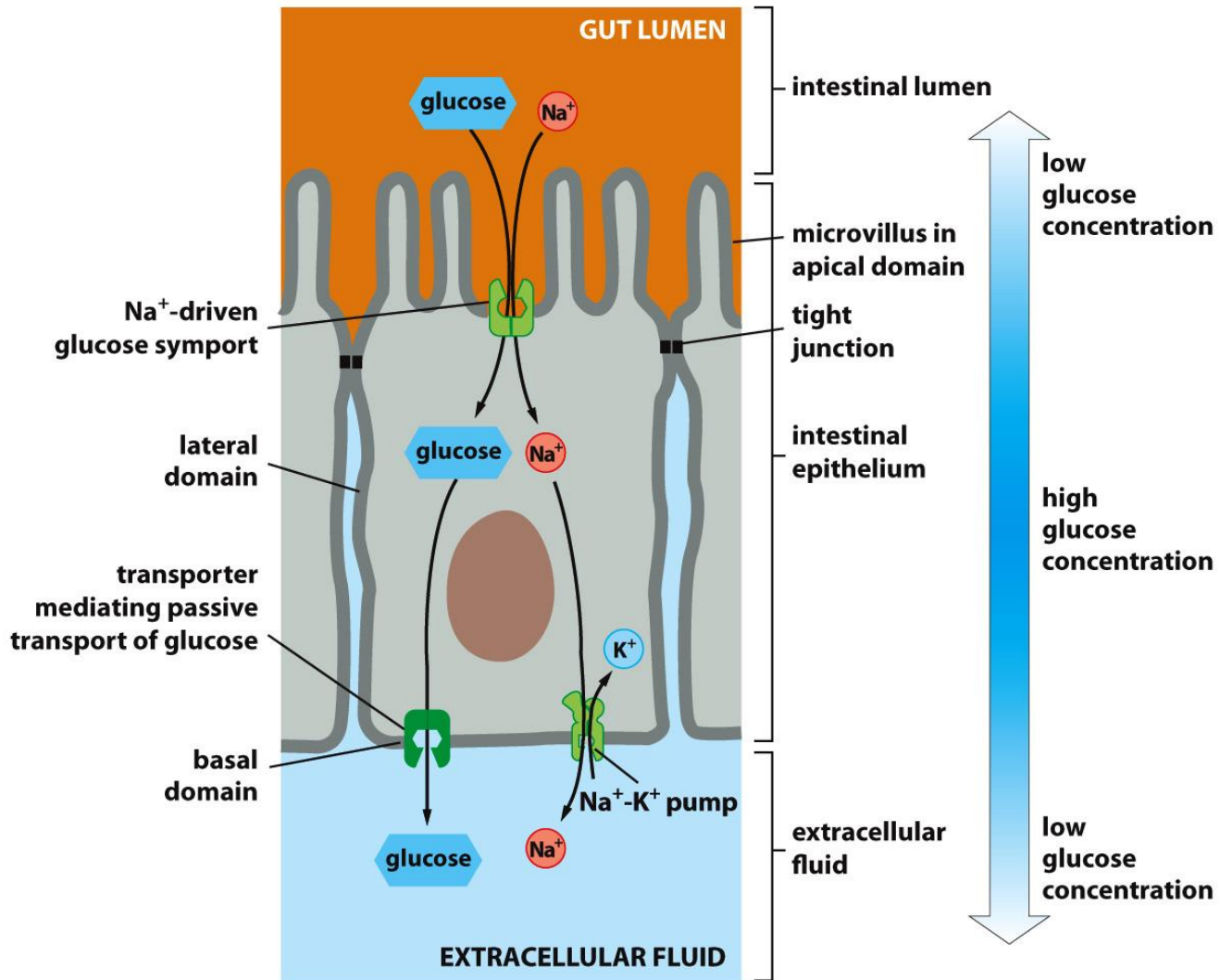


Figure 11-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Transport řízený ATP

- P-typ
 - autofosforylace, řada iontových kanálů zodpovědných za udržování gradientu mezi buněčnými membránami (Na^+ , K^+ , H^+ , Ca^{2+})
- ABC transportéry (**A**T**P**-**B**inding **C**ass**e**t**e**)
 - transport malých molekul
- F-, V-typ
 - tvořeny z více podjednotek, přenášení H^+ do organel jako jsou lysozomy, synaptické vezikuly

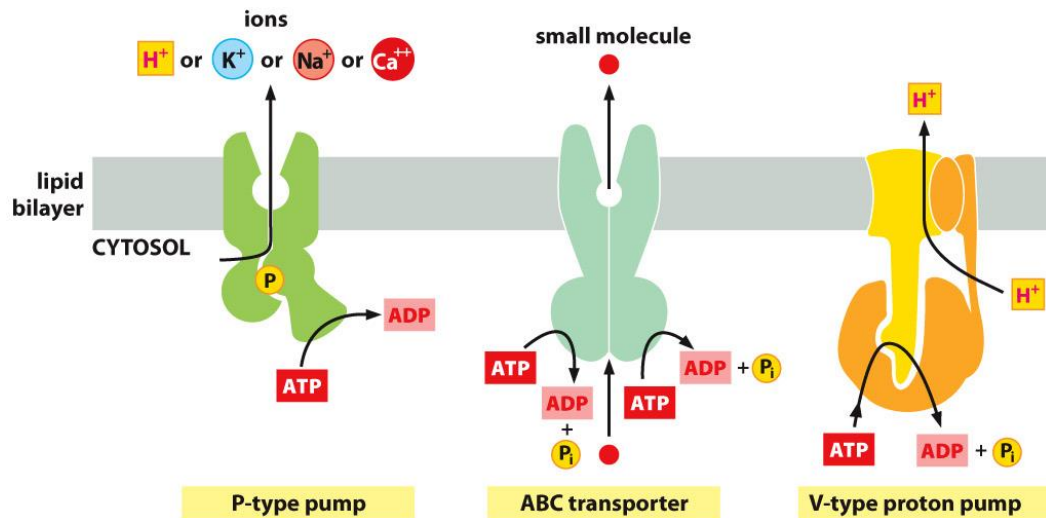


Figure 11-12 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Ca²⁺ pumpy

- cytosol buněk obsahuje velice nízké koncentrace Ca²⁺ (~10⁻⁷ M), zatímco v extracelulárním prostoru je koncentrace ~ 10⁻³ M
- malý influx Ca²⁺ významně zvyšuje koncentraci cCa²⁺ a ovlivňuje buněčnou odpověď
- aktivní pumpování Ca²⁺ ven z buňky
- aktivní pumpování Ca²⁺ do sarkoplasmatického retikula

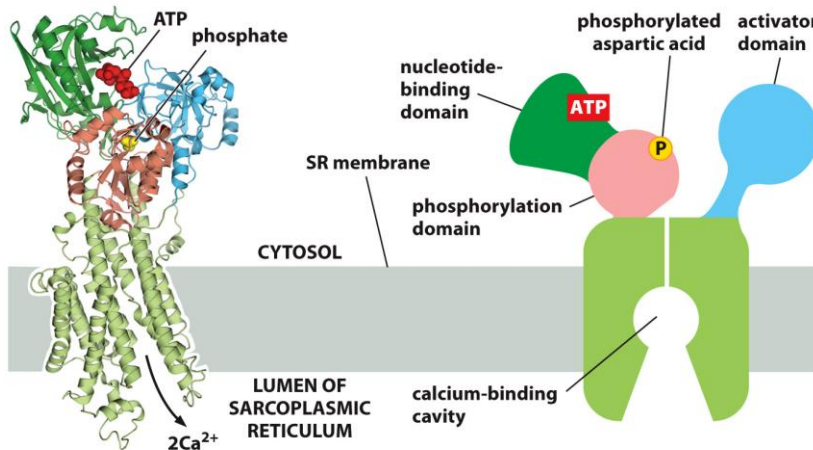


Figure 11-13 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

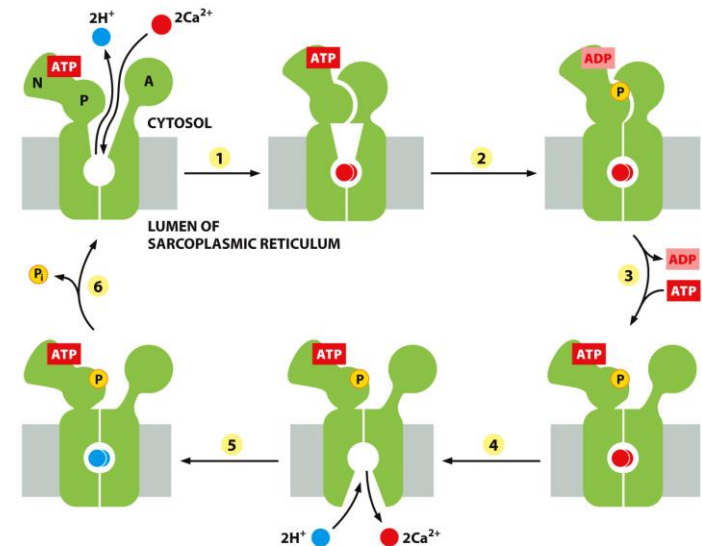


Figure 11-14 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Na⁺-K⁺ pumpy plazmatické membrány

- Koncentrace K⁺ je 10-30x vyšší uvnitř buňky, koncentrace Na⁺ naopak nižší
- Tento stav udržován pomocí Na⁺-K⁺ pump
- Hydrolýza 1 molekuly ATP vede k transportu 3 molekul Na⁺ ven a 2 molekul K⁺ dovnitř

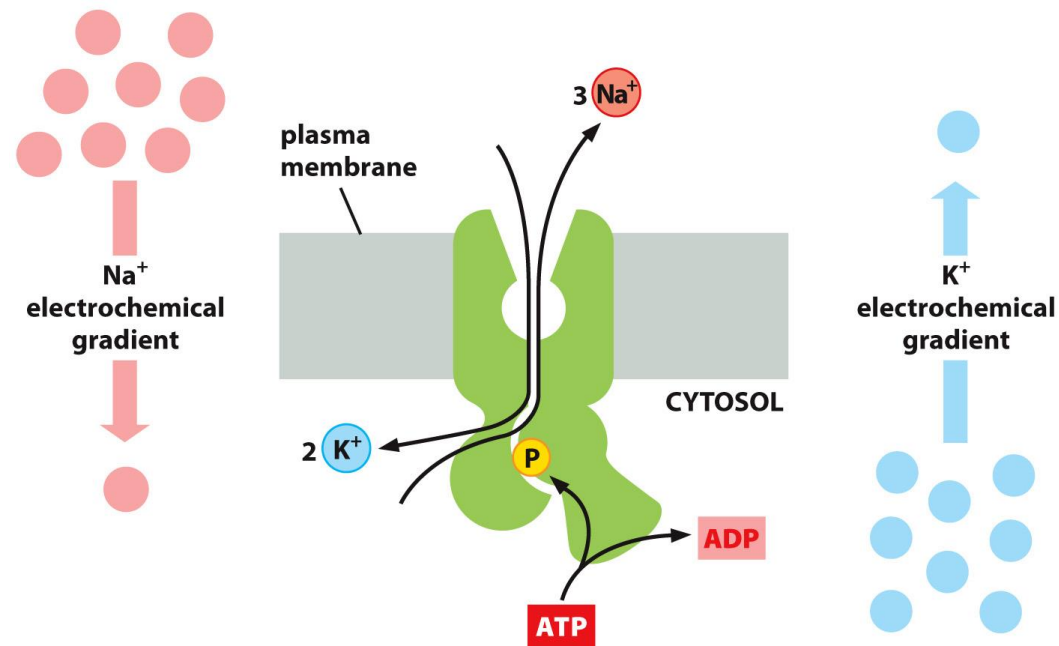


Figure 11-15 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

ABC transportéry

- ▶ největší rodina transportních proteinů (člověk 48 genů, 7 rodin)
- ▶ každý transportér je transportuje specifické substráty
 - ▶ Ionty, sacharidy, lipidy, aminokyseliny, toxiny, antibiotika
- ▶ klinický význam
 - ▶ transport léčiv (multidrug resistance (MDR) protein ~ P-glykoprotein)
 - ▶ *Plasmodium falciparum*, zimnička tropická – vnitrobuněčný prvok – původce malárie
 - ▶ Amplifikace ABC → rezistence vůči antimalariku chloroquinonu
 - ▶ TAP, transporter associated with antigen processing je přítomen v membráně ER
 - ▶ aktivně transportuje proteasomem produkované peptidy z cytosolu do lumenu ER
 - ▶ Peptidy jsou z ER jsou transportovány na membrány a vystaveny T-lymfocytům
 - ▶ Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein (CFRT), není transportér, ale kanál, mutace způsobuje cystickou fibrózu (1/2900), defekt v Cl⁻ gradientu

ABC transportéry

- ▶ bez ATP je odkryta doména pro substrát na jedné straně membrány
- ▶ vazba ATP způsobí konformační změnu a exponuje substrátovou doménu na opačnou stranu membrány
- ▶ hydrolýza ATP vede k původní konformaci
- ▶ většina ABC transportérů je jednosměrná
- ▶ u eukaryot většina exportuje substráty z cytosolu ven, z cytosolu do ER nebo z mitochondriální matrix do cytosolu (u bakterií export i import)

A EUKARYOTIC ABC TRANSPORTER

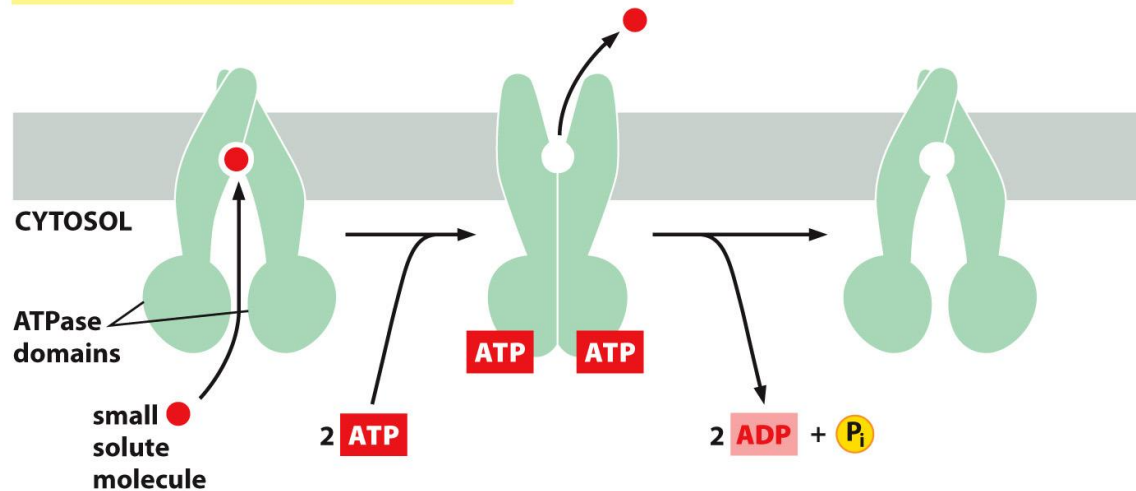


Figure 11-16b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Lipidové membrány – předpoklad pro vnitrobuněčnou kompartmentaci

- ▶ selektivní permeabilita membrán umožňuje řízený transport molekul
- ▶ oddělení různých metabolických procesů

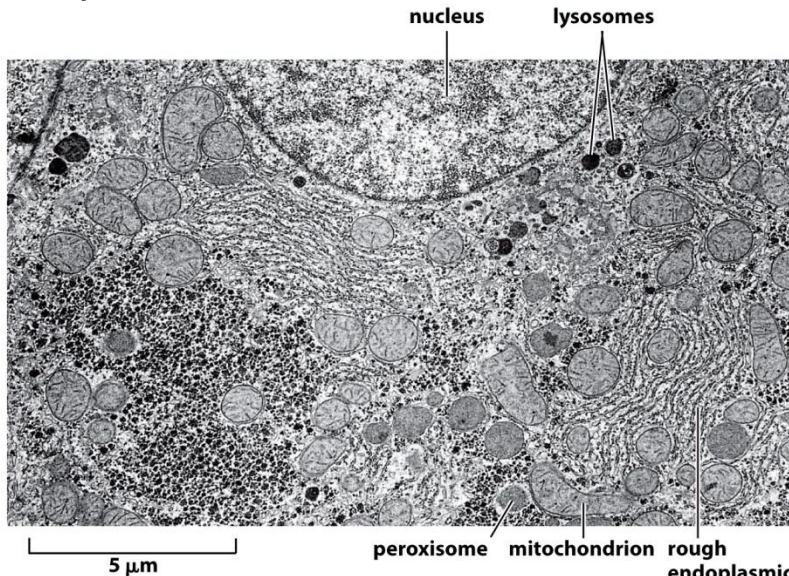


TABLE 15-2 THE RELATIVE VOLUMES AND NUMBERS OF THE MAJOR MEMBRANE-ENCLOSED ORGANELLES IN A LIVER CELL (HEPATOCYTE)

Intracellular Compartment	Percentage of Total Cell Volume	Approximate Number per Cell
Cytosol	54	1
Mitochondria	22	1700
Endoplasmic reticulum	12	1
Nucleus	6	1
Golgi apparatus	3	1
Peroxisomes	1	400
Lysosomes	1	300
Endosomes	1	200

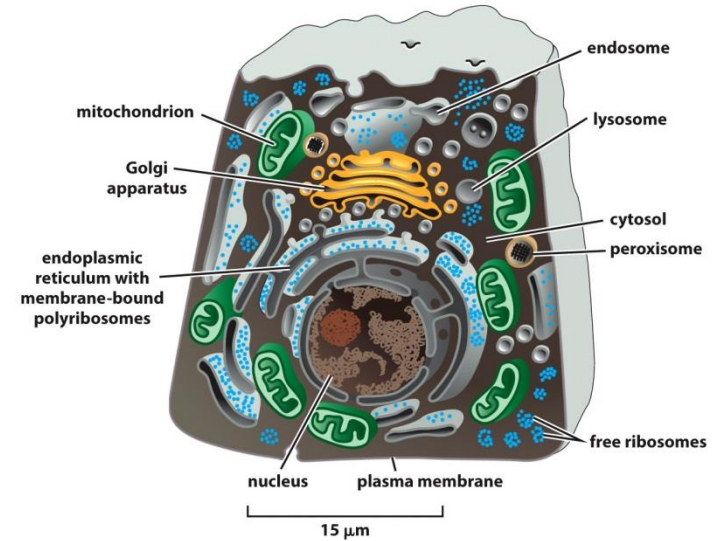
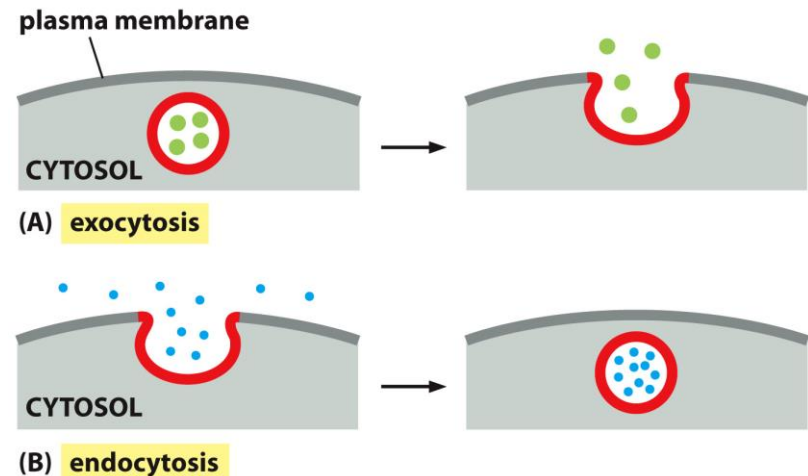


TABLE 15-1 THE MAIN FUNCTIONS OF MEMBRANE-ENCLOSED COMPARTMENTS OF A EUKARYOTIC CELL

Compartment	Main Function
Cytosol	contains many metabolic pathways (Chapters 3 and 13); protein synthesis (Chapter 7); the cytoskeleton (Chapter 17)
Nucleus	contains main genome (Chapter 5); DNA and RNA synthesis (Chapters 6 and 7)
Endoplasmic reticulum (ER)	synthesis of most lipids (Chapter 11); synthesis of proteins for distribution to many organelles and to the plasma membrane (this chapter)
Golgi apparatus	modification, sorting, and packaging of proteins and lipids for either secretion or delivery to another organelle (this chapter)
Lysosomes	intracellular degradation (this chapter)
Endosomes	sorting of endocytosed material (this chapter)
Mitochondria	ATP synthesis by oxidative phosphorylation (Chapter 14)
Chloroplasts (in plant cells)	ATP synthesis and carbon fixation by photosynthesis (Chapter 14)
Peroxisomes	oxidation of toxic molecules

Vnitrobuněčný membránový transport

- ▶ plazmatická i vnitřní buněčné membrány jsou v procesu neustálé změny kompozice v souvislosti s nutností buňky komunikovat s vnějším prostředím a dostatečně rychle reagovat na různé podněty
- ▶ komplexní systém membrán slouží přidávání a odebrání membránových proteinů (receptorů, iontových kanálů, transportérů)
- ▶ exocytóza zajišťuje transport nově syntetizovaných látek ven z buňky nebo na plazmatickou membránu
- ▶ endocytóza umožňuje odejmutí membránových komponent a jejich internalizaci do endosomu
 - ▶ recyklace nebo degradace v lysozomu



Vnitrobuněčný membránový transport

- ▶ Transportní vezikuly
 - ▶ malé, sférické
 - ▶ větší, nepravidelné
 - ▶ tubulární
- ▶ kargo přechází mezi buněčnými kompartmenty prostřednictvím vezikulů
 - ▶ přenos z membrány a lumenu donora do membrány a lumenu cílové kompartmenty

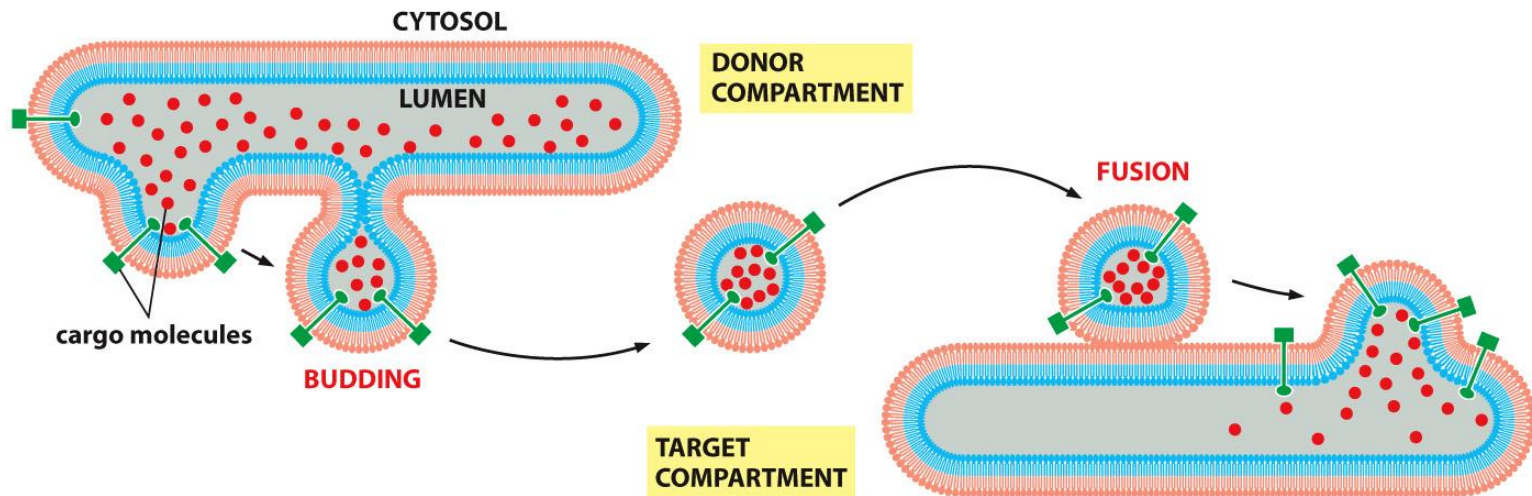


Figure 13-2 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Sekrece a endocytóza

- Sekrece: ER → GA → plasmatická membrána
- Endocytóza: plasmatická membrána → ...

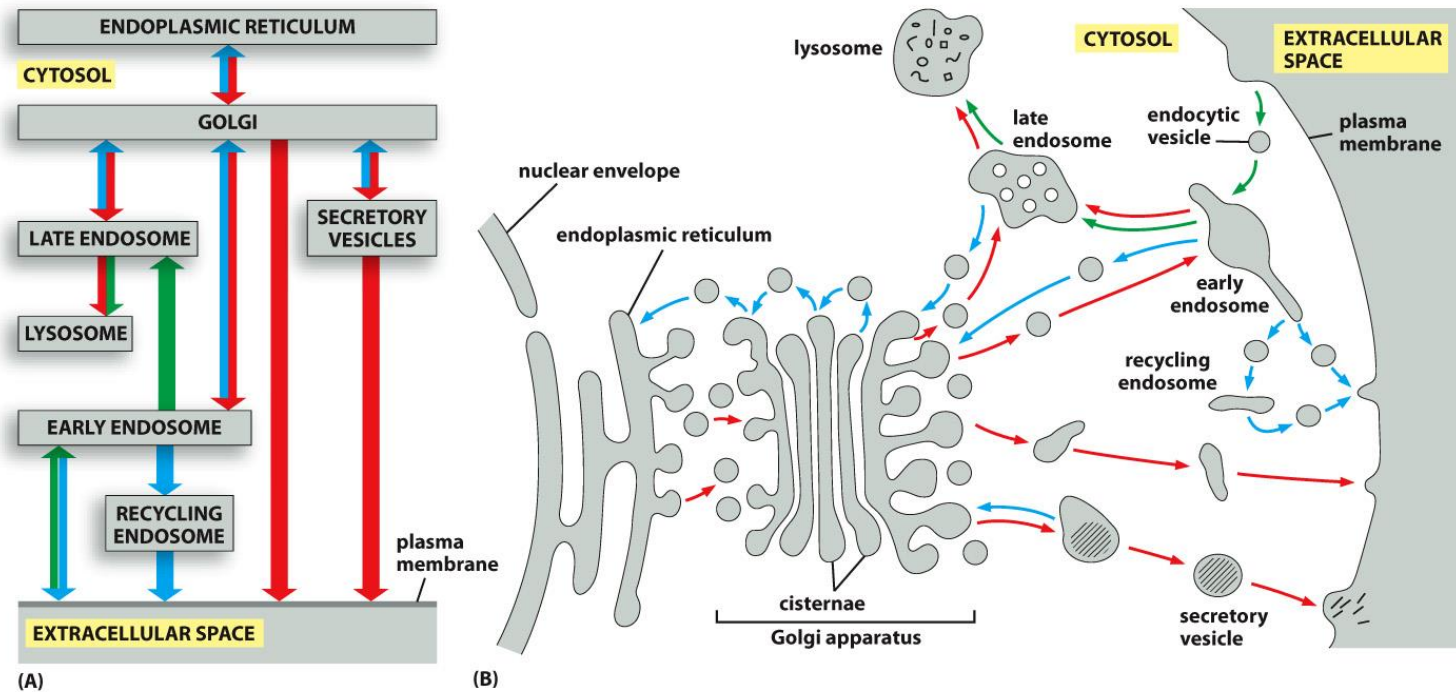


Figure 13-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Specializace transportních vezikulů

- Transportní vezikuly jsou vytvářeny ze zvláštních ‚coated‘ částí buněčných membrán → ‚coated vesicles‘
 - Clathrin-coated: z GA a plazmatické membrány
 - Coat proteins, COPI & COPII-coated: z ER a z cisteren GA

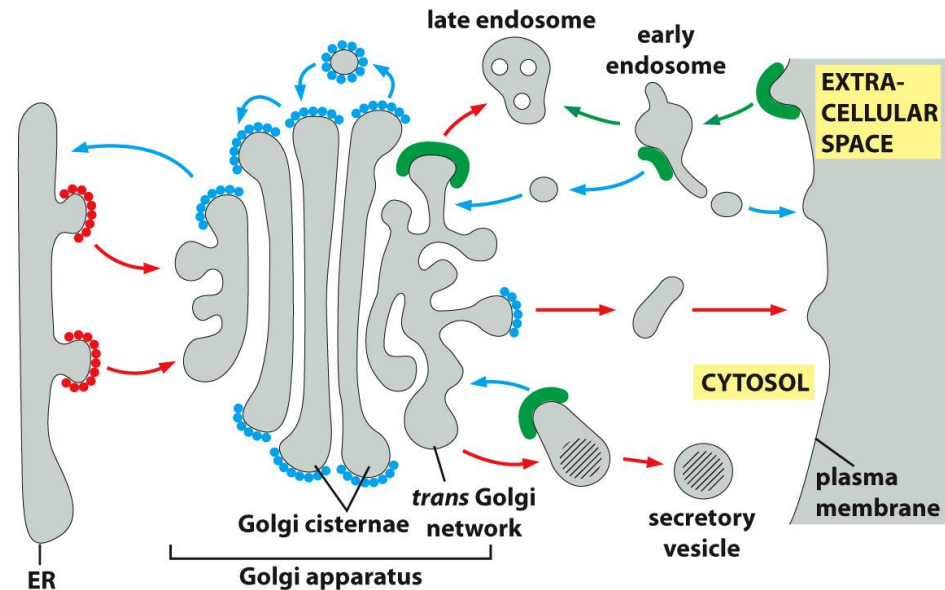
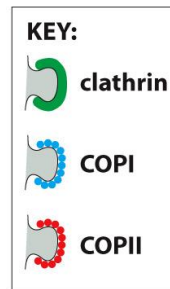
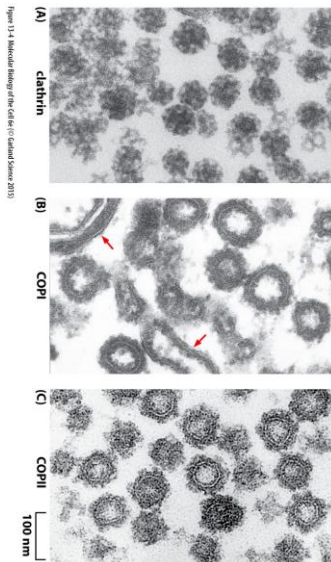
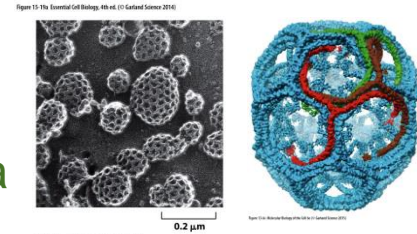
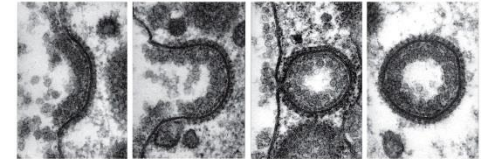


Figure 13-5 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Adaptorové proteiny v „clathrin-coated“ vezikulech

- ◆ zachycují různé transmembránové proteiny (receptory) rozpoznávající solubilní molekuly karga uvnitř vezikulu ~ kargo receptory
- ◆ různé typy adaptorových proteinů (AP) pro různé kargo receptory
 - ◆ 4 různé podjednotky
 - ◆ jednořetězcové proteiny
- ◆ sestavení adaptorových proteinů (např. AP2) je přesně řízeno

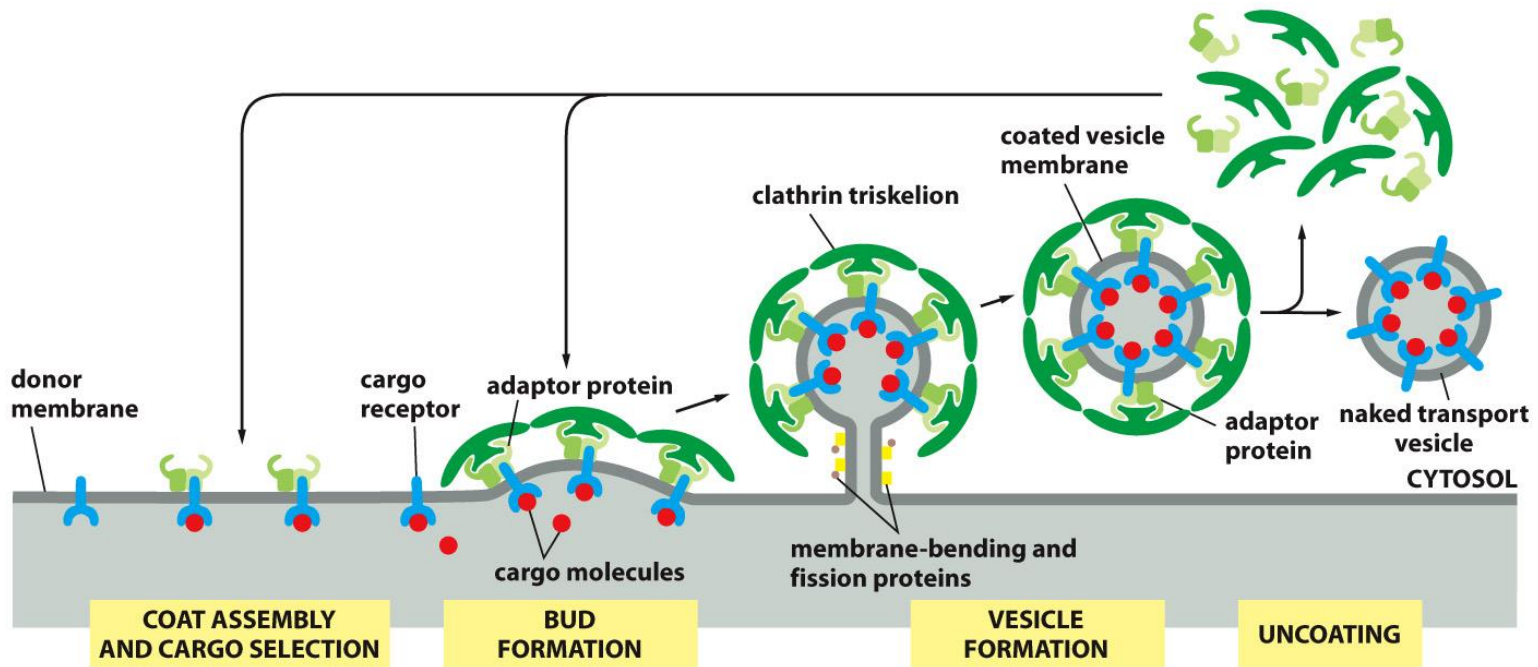


Figure 13-8 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Lipidy indukují konformační změnu AP

- AP2 mění konformaci po vazbě na fosforylovaný fosfatidylinositol – PI(4,5)P₂ - **fosfoinositid**
- Vazba s kargo receptory
- Indukce zakřivení membrány a posílení vazby dalších AP2

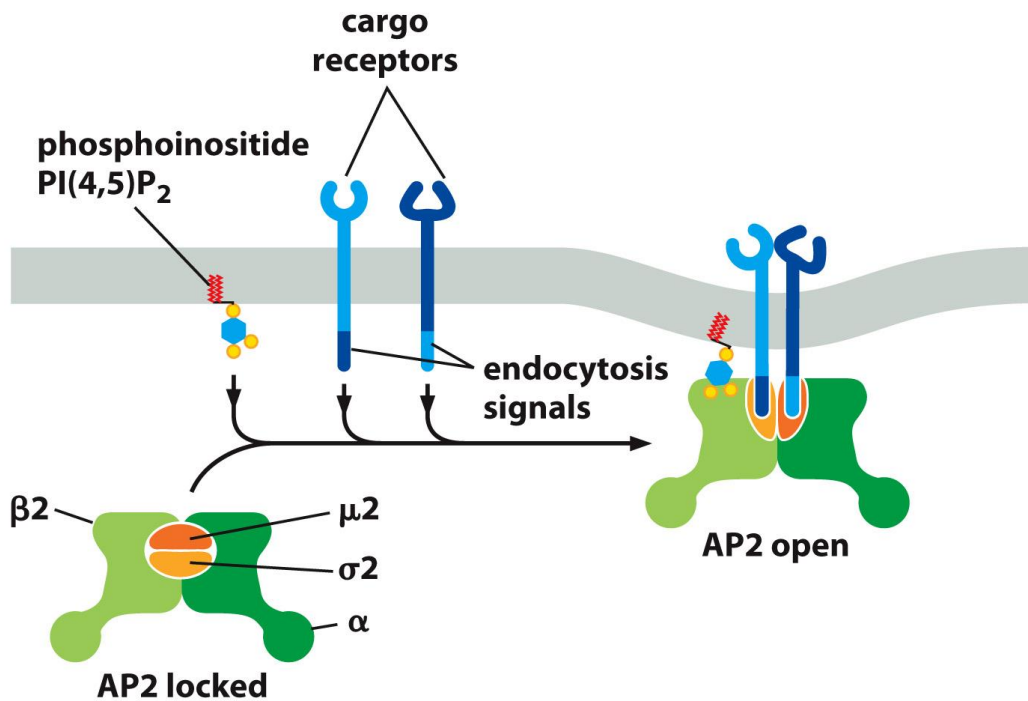


Figure 13-9 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

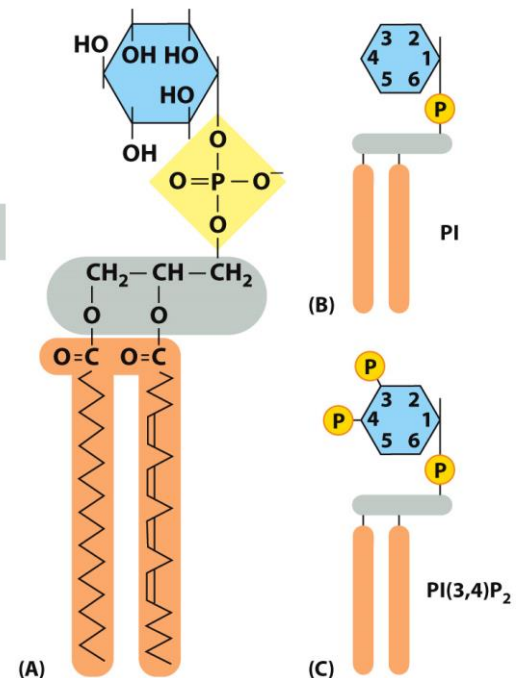


Figure 13-10 (part 1 of 3) Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Fosfoinositidy označují organely a membránové domény

- ▶ inositolové fosfolipidy (10% všech fosfolipidů) mají důležité regulační funkce
- ▶ rychlá fosforylace/defosforylace na pozicích 3', 4', 5' inositolové skupiny → vznik různých fosfoinositidů
- ▶ Rozpoznání různými proteinovými doménami v závislosti na formě PIP
- ▶ konverze PI a PIP je kompartmentovaná ~ různé organely v dráze endocytózy a sekrece mají různé sady PI a PIP kináz a fosfatáz
- ▶ různá distribuce a variabilita PIP v organelách a membránových doménách

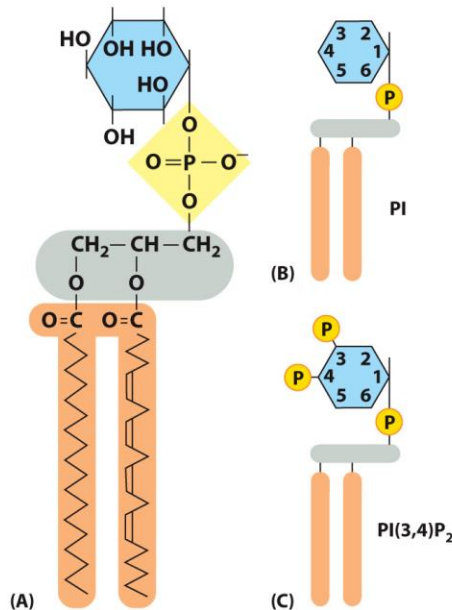
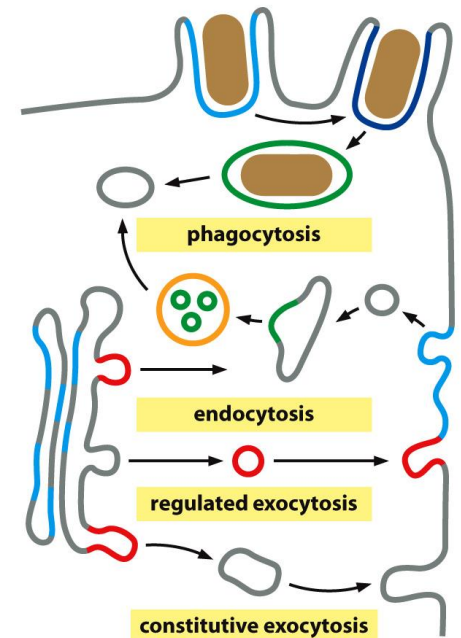
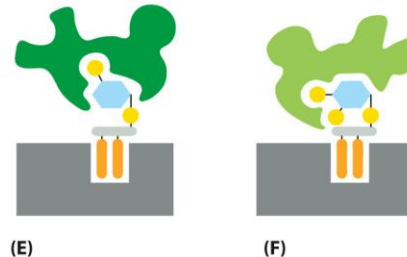
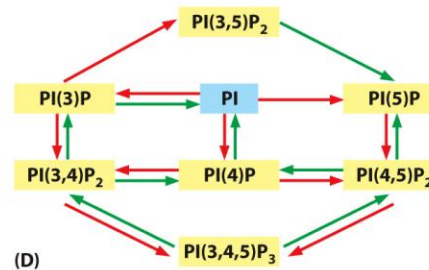


Figure 13-10 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)



KEY: PI(3)P PI(4)P PI(4,5)P₂ PI(3,5)P₂ PI(3,4,5)P₃

Figure 13-11 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Tvarování membrány a odštěpení vezikulu

- Sestavení „clathrin-coat“ komplexu není dostačené k ohnutí membrány a odštěpení vezikulu
- Nutná účast proteinů s tzv. BAR doménou
 - určují tvar membrány a její zakřivení
 - napomáhají vzniku výběžků a tvarují krček pučícího vezikulu
 - interagují s lipidovou membránou pomocí elektrostatické vazby
- lokální uspořádání aktinových filament a účast cytosolových proteinů (dynamin) je zodpovědné za konečné odštěpení vezikulu
 - dynamin obsahuje PI(4,5)P2 vazebnou doménu, která ho váže k membráně a GTPásové doméně – určení stupně oddělování vezikulů
- ztráta „clathrin-coatu“ po oddělení vezikulu

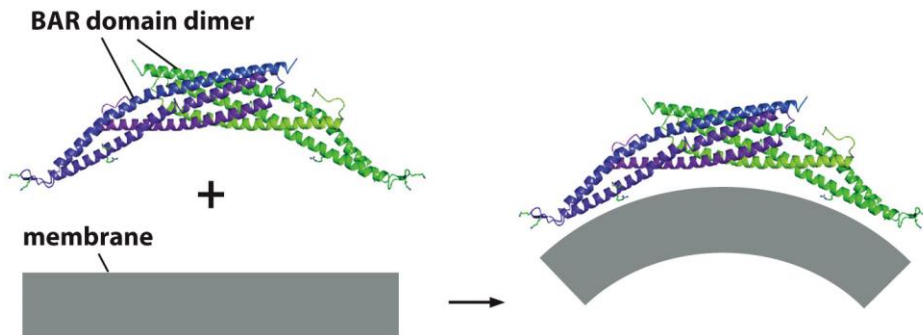


Figure 13-12 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

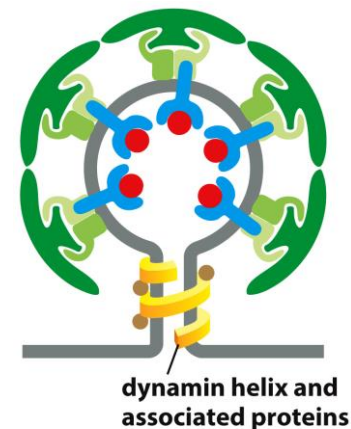


Figure 13-13a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Navedení transportních vezikulů k cílovým membránám

- Jak najít cílovou membránu?
- 1) Rab proteiny a Rab efektory navedou vezikul na specifické místo cílové membrány
 - 60 proteinů, monomeric GTPases
 - Každý asociuje s jednou či více organelami, selektivní distribuce
- 2) SNARE proteiny a SNARE regulátory zprostředkují fúzi s cílovou lipidovou dvouvrstvou

TABLE 13-1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins

Protein	Organelle
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	<i>cis</i> Golgi network
Rab3A	Synaptic vesicles, secretory vesicles
Rab4/Rab11	Recycling endosomes
Rab5	Early endosomes, plasma membrane, clathrin-coated vesicles
Rab6	Medial and <i>trans</i> Golgi
Rab7	Late endosomes
Rab8	Cília
Rab9	Late endosomes, <i>trans</i> Golgi

Table 13-1 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

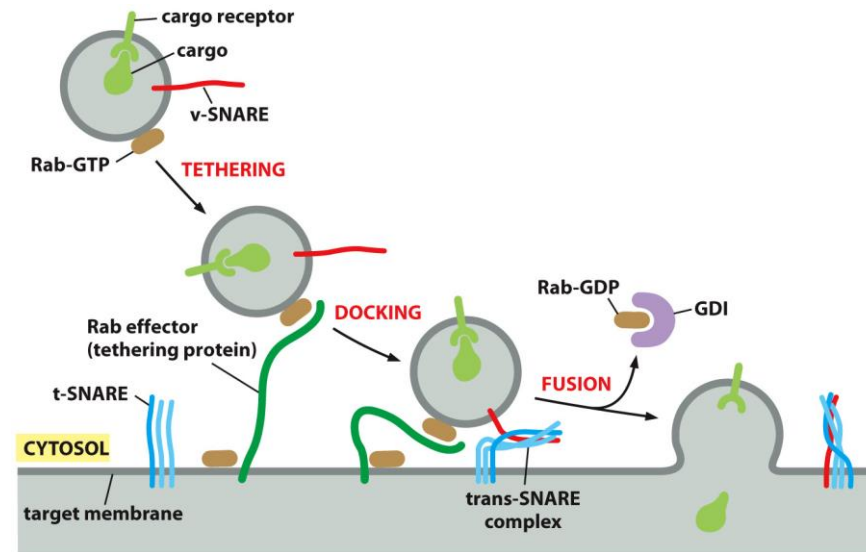


Figure 13-16 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Fúzní proteiny SNARE ("SNAP" (Soluble NSF Attachment Protein) REceptor,,)

- Katalyzují fúzi membrán
- vSNAREs – na membráně vezikulu
 - jednořetězcový peptid
- tSNAREs – na cílové membráně
 - komplex tří proteinů
- *trans-SNARE komplex*
 - zamkne obě membrány k sobě
 - párování v- a t-SNARE proteinů je vysoce specifické
 - katalyzuje membránovou fúzi
- NSF protein indukuje disociaci SNARE párů po fúzi membrán

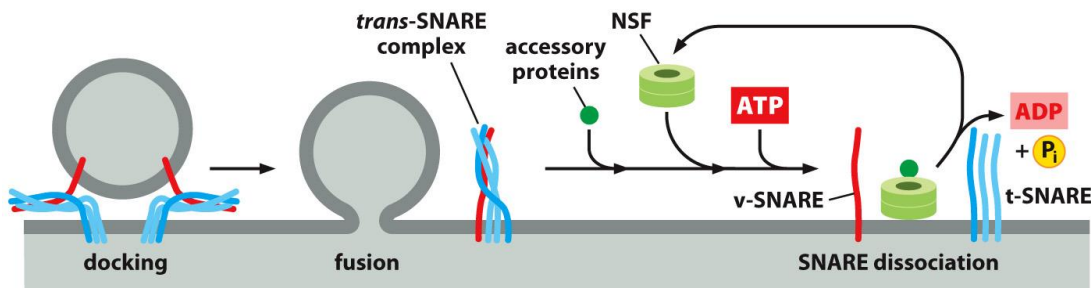


Figure 13-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

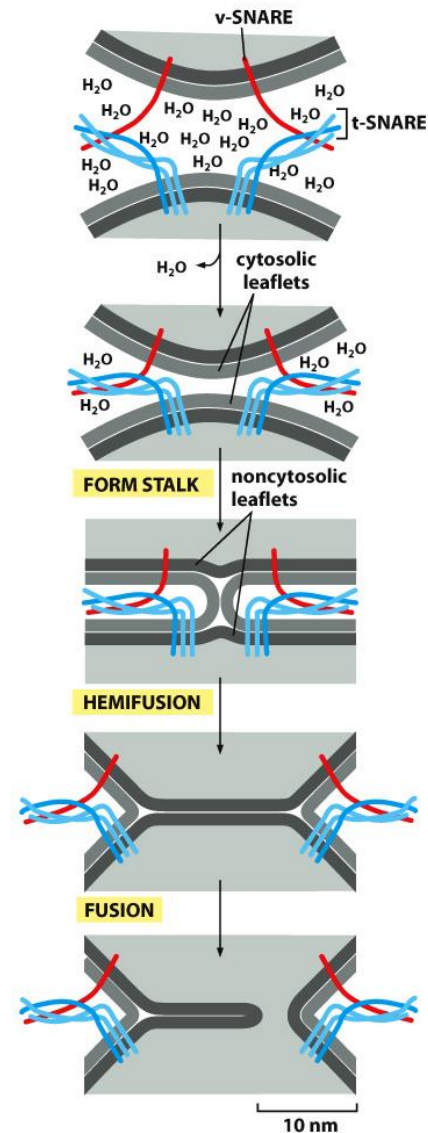


Figure 13-19 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Transport z plasmatické membrány - endocytóza

- vstřebávané složky/kargo jsou obklopena malou částí plasmatické membrány a invadovány za vzniku endocytického vezikulu
 - kargo zahrnuje receptor-ligand komplexy, nutriční látky, bakterie, složky ECM, rozpadlé buňky
 - většina buněk formuje trvale tyto vesikuly – pinocytóza
 - specializované buňky pohlcují větší částice - fagocytóza
- většina endocytických vezikulů fúzuje s časnými endozómy
- návrat na membránu přes recyklující endozóm nebo degradace prostřednictvím pozdního endozómu,

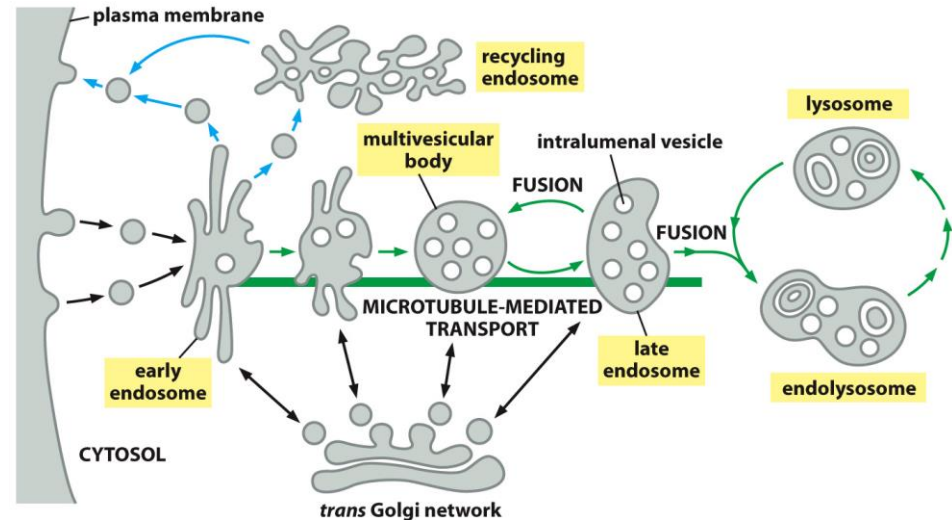
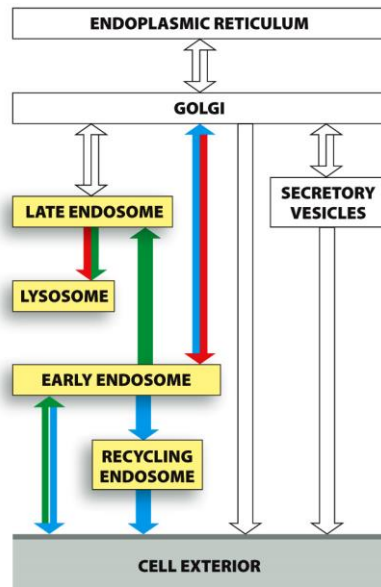


Figure 13-47 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Endocytóza zprostředkovaná receptory

- vazba ligandu/makromolekuly na specifický membránový receptor
- akumulace v clathrin-coated prohlubni a internalizace ve vzniklém vezikulu
- Import cholesterolu

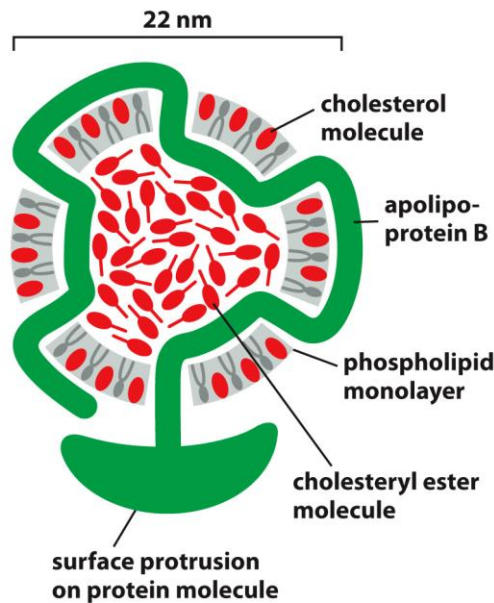


Figure 13-51 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

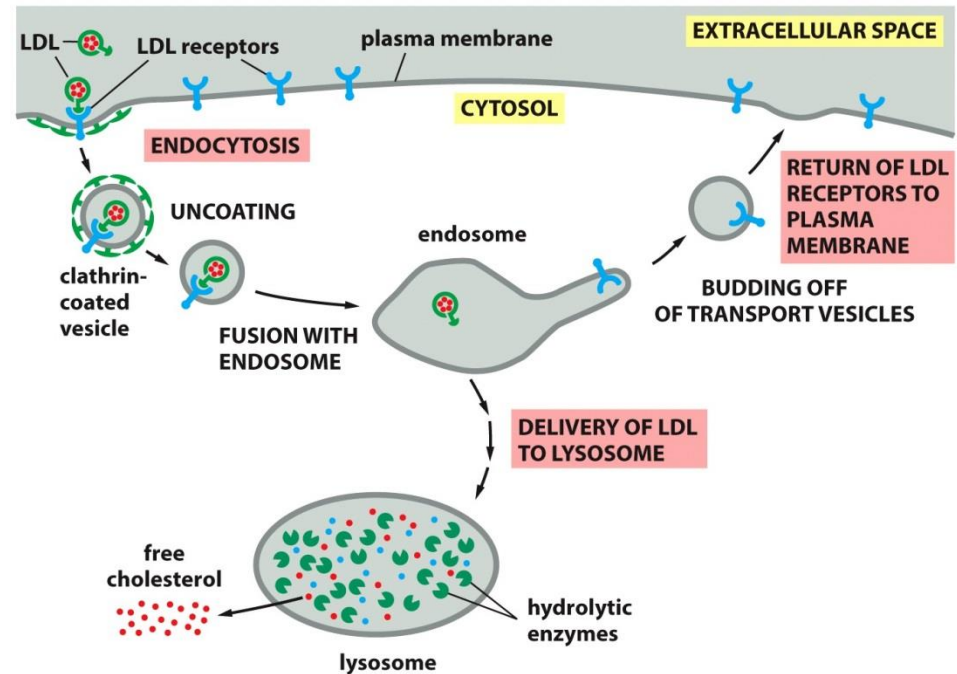


Figure 15-33 Essential Cell Biology, 4th ed. (© Garland Science 2014)

Recyklace/transcytóza/degradace

- Endocytované receptory a jejich komplexy s ligandy mohou mít různý osud – v závislosti na typu receptoru
 - recyklace do stejné oblasti membrány
 - recyklace do jiného místa membrány - transcytóza
 - degradace

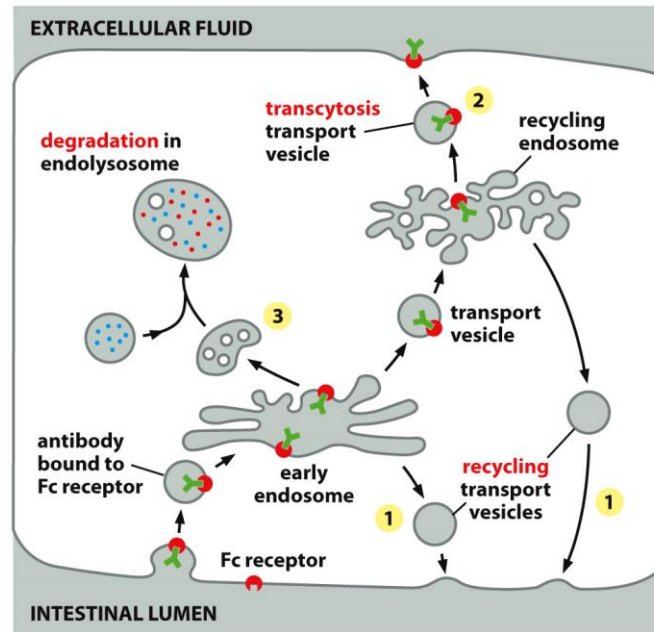


Figure 13-58 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Souhrn

- ♦ buněčné membrány vytvářejí bariéry umožňující lokalizaci určitých molekul do konkrétních kompartment, skládají se z lipidové dvouvrstvy a vnořených proteinů
- ♦ membránové lipidy jsou amfipatické, mají hydrofóbní a hydrofilní oblast, tato vlastnost ve vodném prostředí způsobuje spontánní uspořádání do dvouvrstvy
- ♦ hlavní třídy membránových lipidů: fosfolipidy, steroly, glykolipidy
- ♦ lipidová dvouvrstva se chová jako tekutina, jednotlivé lipidové molekuly jsou schopny difundovat v rámci jedné dvouvrstvy, ale ne se spontánně přetáčet mezi vrstvami
- ♦ jednotlivé monovrstvy lipidů v buněčné membráně mají různé složení a různé funkce
- ♦ Lipidové nanodomény a proteinové mikrodomény – důležité pro regulace buněčné signalizace
- ♦ membránové proteiny jsou zodpovědné za většinu funkcí buněčných membrán – transport
- ♦ transportéry, které fungují jako pumpy využívají koncentrační gradient a hydrolýzu ATP
- ♦ membránové proteiny prochází membránou a nebo jsou s ní asociovány (kovalentně i nekovalentně) z jedné nebo druhé strany
- ♦ většina buněčných membrán je podepřena sítí tvořenou komplexem vláknitých proteinů
- ♦ řada proteinů a lipidů vystavena na vnější straně membrány je modifikována připojením polysacharidového řetězce – ochrana, mezibuněčné interakce
- ♦ eukaryotická buňka obsahuje organely uzavřené membránami
- ♦ transport mezi jednotlivými kompartmenty vyžaduje precizně řízenou tvorbu membránových vezikulů – coat proteiny, kargo receptory
- ♦ navedení vezikulů a jejich fúze s cílovou membránou je řízena proteiny Rab a SNARE
- ♦ endocytóza je důležitý mechanismus pro recyklaci a degradaci látek z buněčných membrán a vnějšího prostředí