

**Клеточная
мембрана –
ключевой элемент
интеграции
метаболизма**

Цитоплазматическая мембрана - физический полупроницаемый барьер, отграничивающий внутриклеточное пространство от внеклеточной среды. Мембрана обеспечивает сохранение различий между клеточным содержимым и окружающей средой, **поддерживает разницу концентраций ионов и молекул** по обе её стороны.

В 1950 году был сконструирован ультрамикротом, позволивший изучать ультраструктуру клеток с помощью электронного микроскопа и установить толщину мембраны клеток животных: **5 – 10 нм** (в среднем – **8 нм**).

Функции цитоплазматической мембраны

- 1. Барьерная функция;**
- 2. Структурная функция - придание определенной формы клеткам;**
- 3. Регуляторная: контроль обмена молекулами между внутри- и внеклеточным пространствами;**
- 4. Передача внеклеточных сигналов внутрь клетки посредством рецепторов и активная роль в межклеточной коммуникации;**
- 5. Участие в обмене за счет локализованных в мембране ферментов;**
- 6. Электрогенная – формирование электрического потенциала (перераспределение ионов K^+ и Na^+);**

7. Обозначение генетической идентичности данной клетки данному организму (поверхностные гликопротеины и полисахариды).

Согласованная работа всех систем мембраны (рецепторов, ферментов, молекул – переносчиков и др.) – активное участие в интеграции обмена и сохранении клеточного гомеостаза.

Биомембрана - фосфолипидный бислой.
Её основные составляющие: липиды и белки
(% соотношение липиды : белки плазматиче-
ской мембраны = 47 : 53).

Липиды и белки взаимно удерживаются за
счет нековалентных взаимодействий, коопе-
ративных по своему характеру. Благодаря
этому, липиды и белки мембраны **способны**
совершать движения в пределах бислоя. **Это**
позволяет биомембранам (в определенных
пределах) изменять свою форму, без потери
целостности – **быть пластичными.**

Липидный компонент плазматических мембран

Три главных типа липидов плазматических мембран

1. ФОСФОЛИПИДЫ

1.А. ГЛИЦЕРОФОСФОЛИПИДЫ:

Главные: **ФХ, ФС, ФЭА**

Минорный: **ФИ** (фосфатидинозитол). Расположен во внутреннем монослое плазматической мембраны.

Баланс между производными **ФИ**:

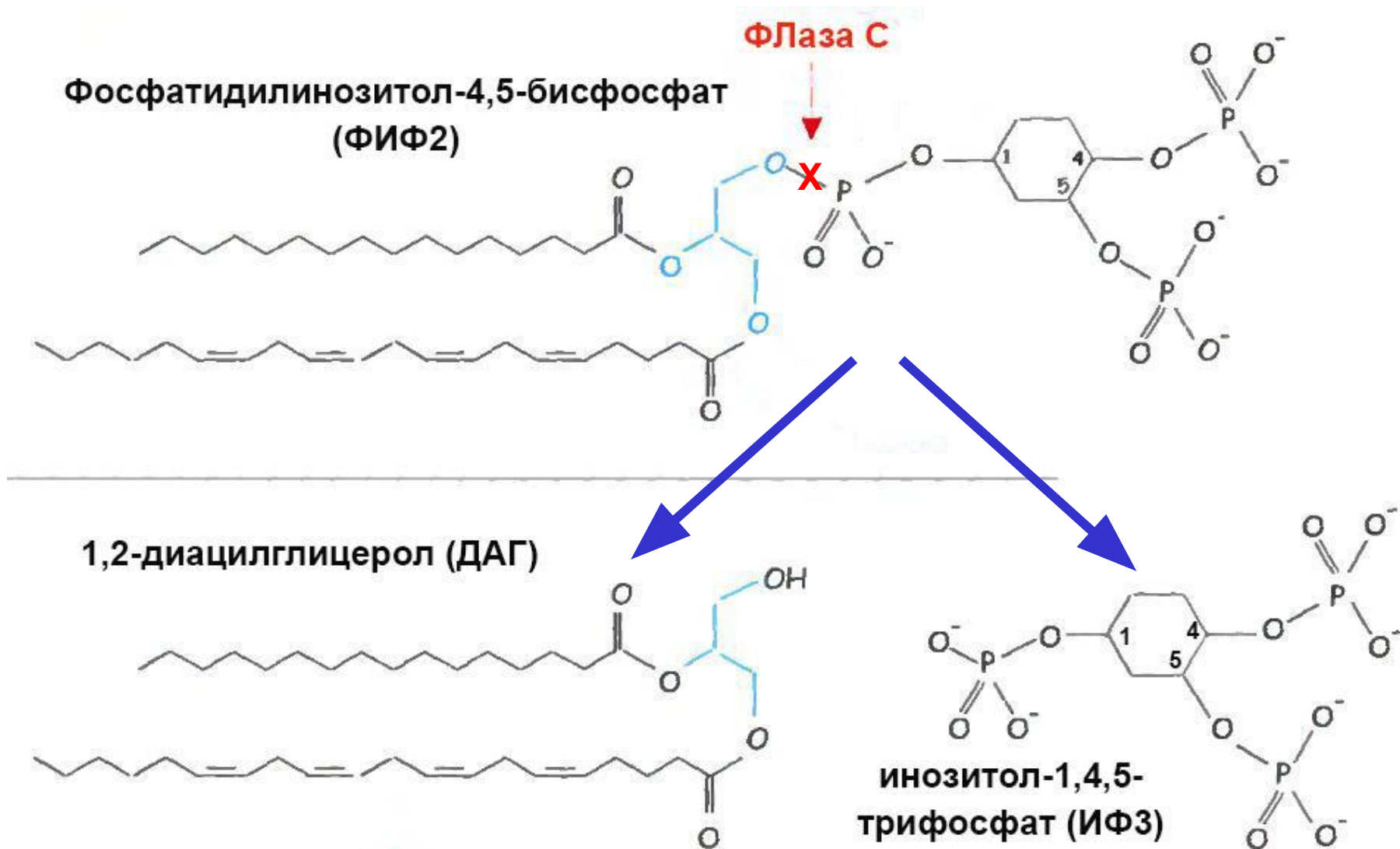
Фосфатидинозитол (ФИ) – 80%;

Фосфатидинозитол-4-фосфат (ФИФ) – 15%;

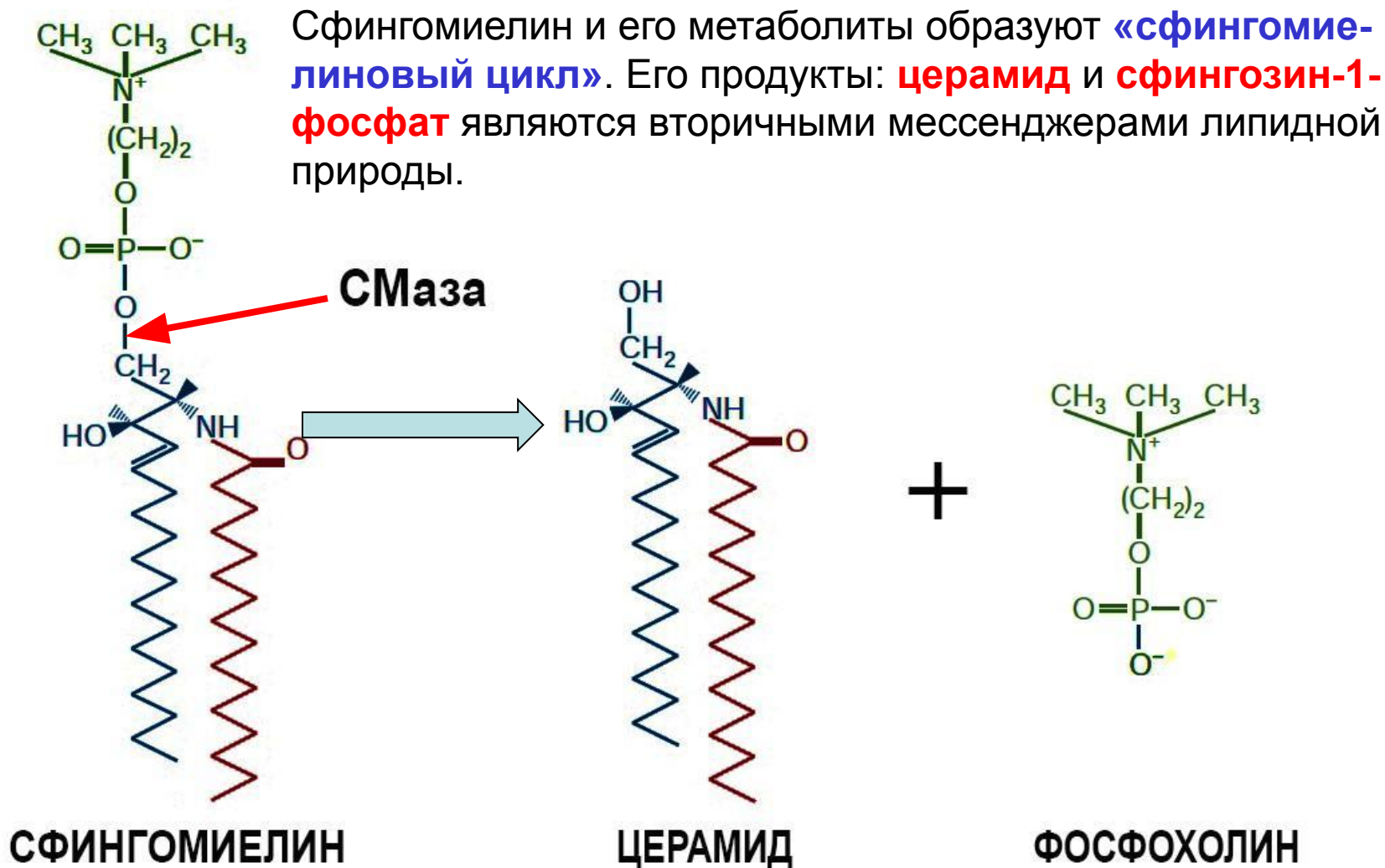
Фосфатидинозитол-4,5-бисфосфат (ФИФ2) – 5%.

Из **ФИФ2** под действием **фосфолипазы С** образуются два продукта – **вторичных мессенджера липидной природы: 1,2-диацилглицерол (ДАГ) и инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ3).**

Образование диацилглицерола и инозитолтрифосфата с участием фосфолипазы С



1.Б. СФИНГОФОСФОЛИПИДЫ: главный представитель **сфингомиелин**. Располагается во внешнем монослое плазматической мембраны.



2. ГЛИКОЛИПИДЫ

ЦЕРЕБРОЗИДЫ = гидрофобная часть молекулы: церамид + углеводная часть молекулы: моно- или олиго-сахаридный остаток.

ГАНГЛИОЗИДЫ = гидрофобная часть молекулы: церамид + углеводная часть молекулы: разветвленный олигосахарид, содержащий N-ацетилнейраминовую кислоту.

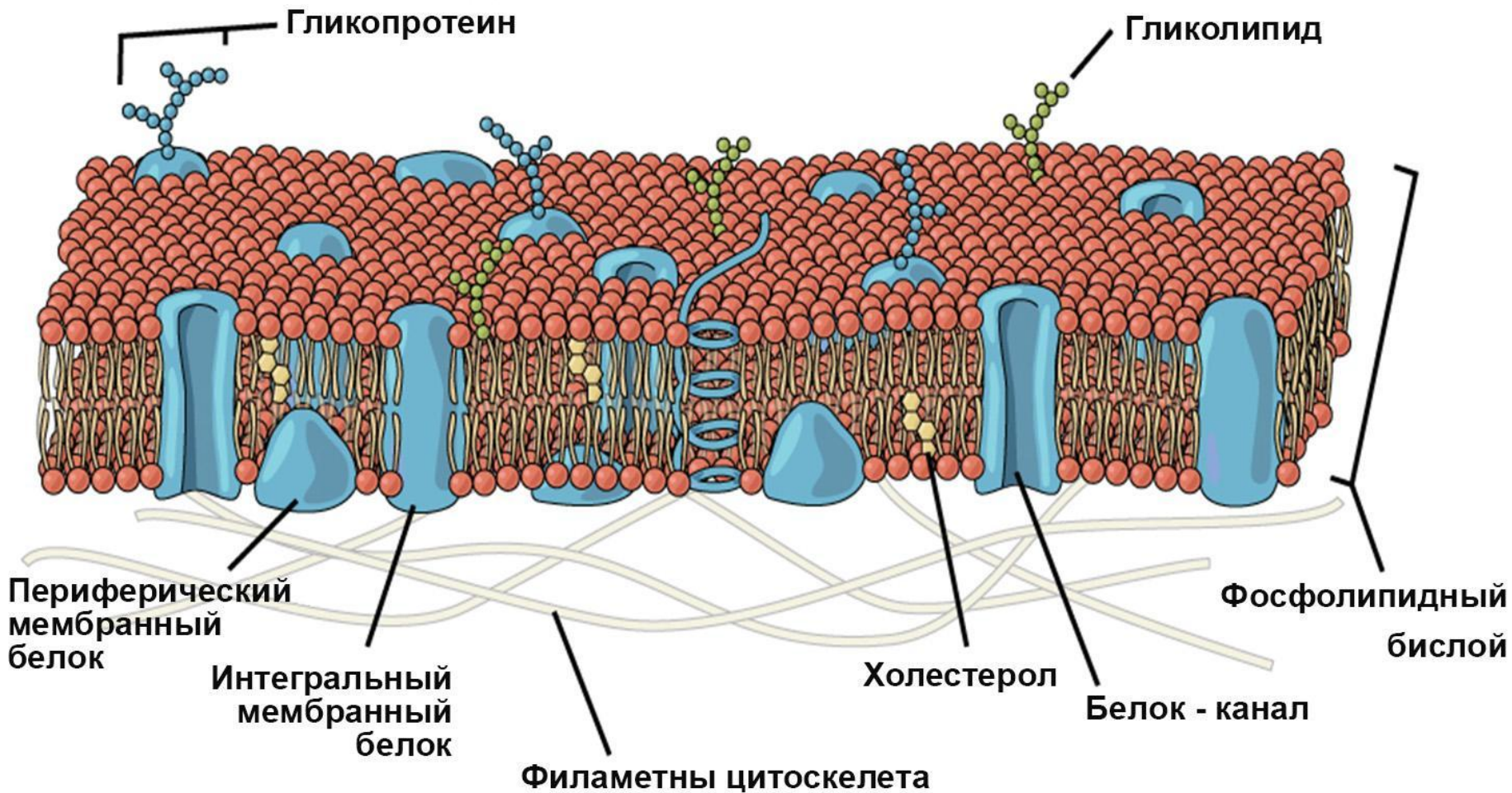
3. ХОЛЕСТЕРОЛ

Молекула имеет жесткое гидрофобное ядро и единственный гидроксил, который является его «полярной головкой». В цитоплазматической мембране соотношение ХС : ФЛ = 0,8-0,9.

Холестерол распределен между листками бислоя сравнительно равномерно. Его молекулы располагаются между остатками жирных кислот фосфолипидов.

Холестерол, сам по себе, не формирует структуру бислоя. Но, в зависимости от температуры, холестерол влияет на текучесть бислоя: при повышении температуры его текучесть снижается и проницаемость бислоя для малых молекул уменьшается. При снижении температуры – текучесть усиливается.

Жидкостно-мозаичная (fluid mosaic) модель плазматической мембраны Сингера и Николсона (1972):

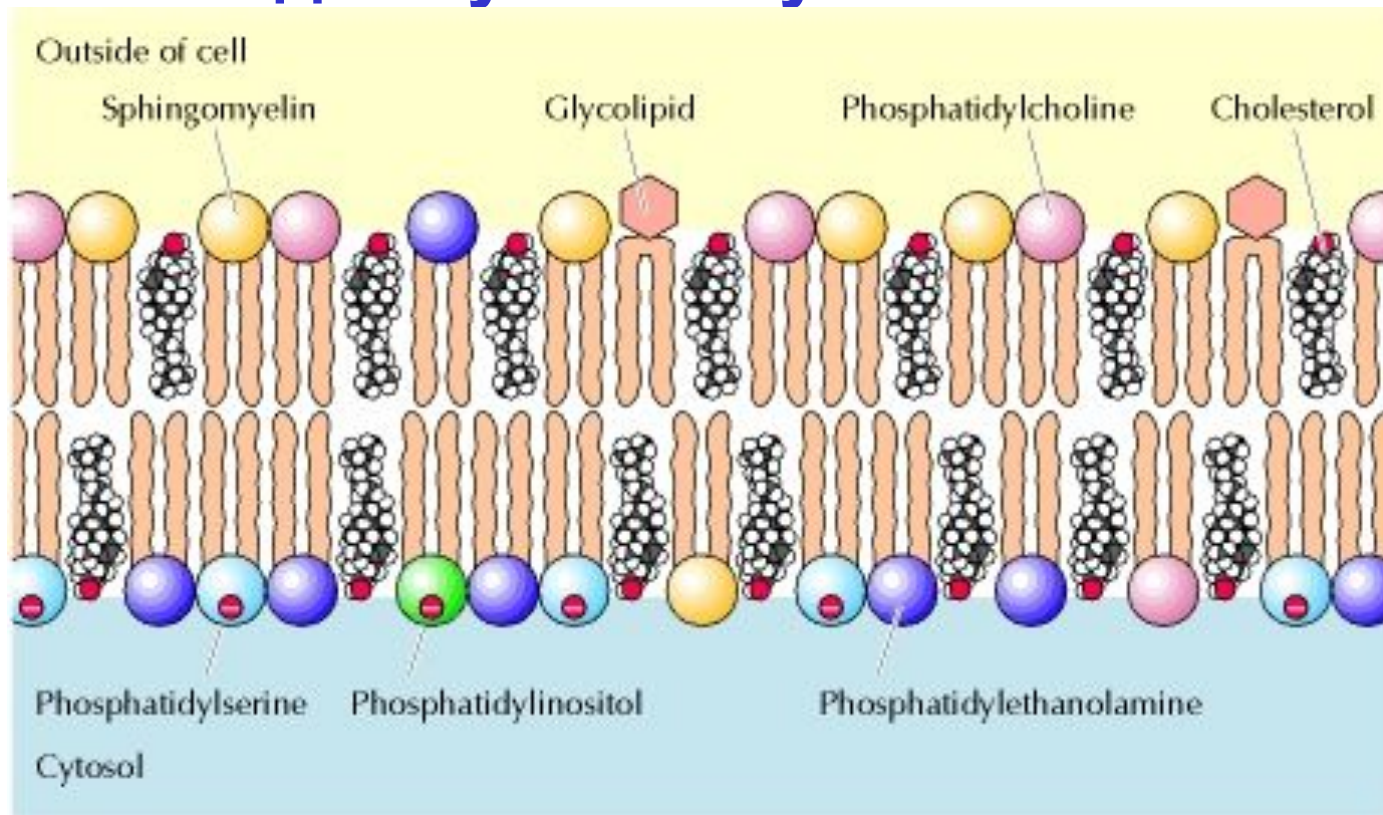


По Сингеру и Николсону, мембрана это:

- Фосфолипидный бислой, образующий замкнутую сферу. В бислое «плавают» или «растворены» белковые молекулы;
- Липиды составляют жидкокристаллический каркас, а белки мозаично встроены в него и могут менять свое положение;
- **Латеральная диффузия** (движение вдоль бислоя) белков и липидов происходит сравнительно свободно. Их перемещение между внешним и внутренним слоями (**вертикальная диффузия**) – ограничено, особенно для белков.

В настоящее время модель мембраны по Сингеру и Николсону существует с дополнениями Симонса и Ван Меера (рубеж 80 – 90-х годов):

1. Поперечная асимметрия липидного бислоя по липидному составу:



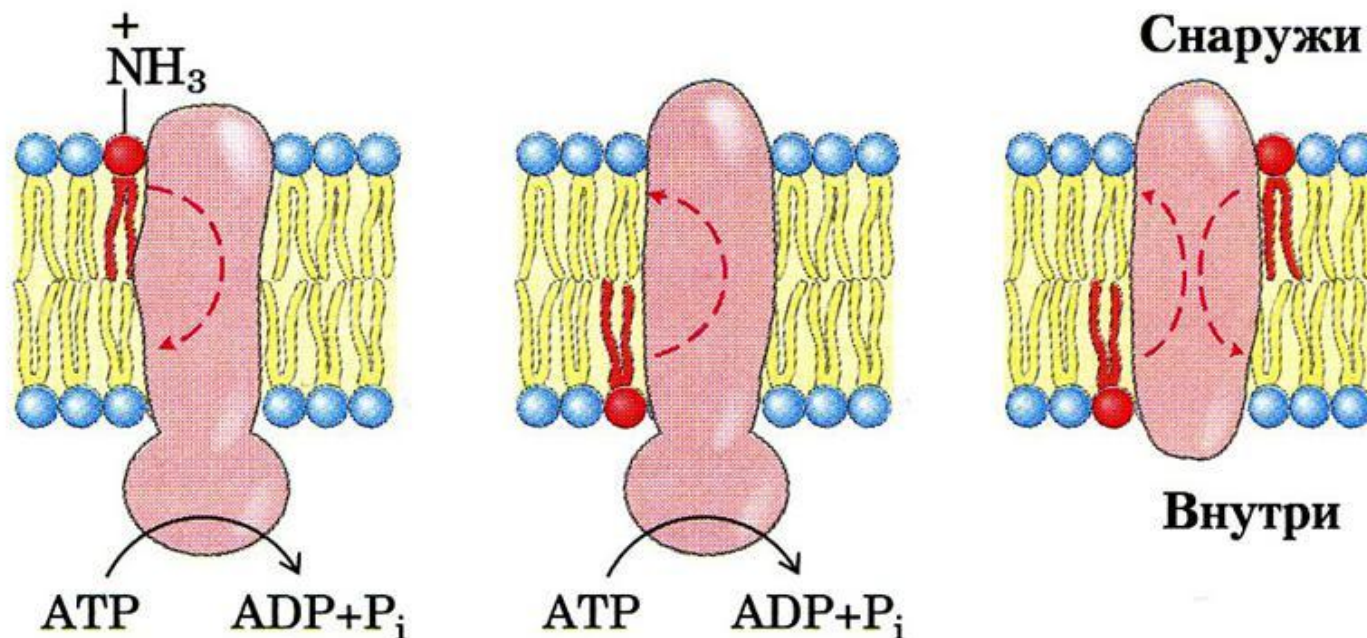
Поперечная асимметрия липидного бислоя возможна благодаря **селективным энергозависимым переносчикам липидов**. К их числу относится семейство белков (**флоппазы, флиппазы и скрэмблазы**), которые облегчают перемещение молекул липидов поперёк бислоя мембраны (**катализируемый трансмембранный перенос**):

А. Флиппазы. Катализируют перенос ФЭА и ФС из внешнего монослоя во внутренний. Перенос 1 молекулы ФЛ требует затраты 1 молекулы АТФ. По структуре флиппазы родственны транспорным АТФазам.

Б. Флоппазы. Перемещают ФЛ в обратном направлении – из внутреннего монослоя во внешний.

В. Скрэмблазы. Переносят через липидный бислой любые ФЛ вдоль градиента концентрации, не требуют АТФ, но активируются в присутствии ионов Ca^{2+} .

Катализируемый трансмембранный перенос



Флиппаза
(АТФ-аза Р-типа)
переносит ФЭ
и ФС от внеш-
него к цито-
плазматическо-
му монослою

Флоппаза
(АВС-транспортер)
переносит фосфо-
липиды от цито-
плазматического
к внешнему
монослою

Скрамблаза
переносят ли-
пиды в любом
направлении,
восстанавливая
равновесие

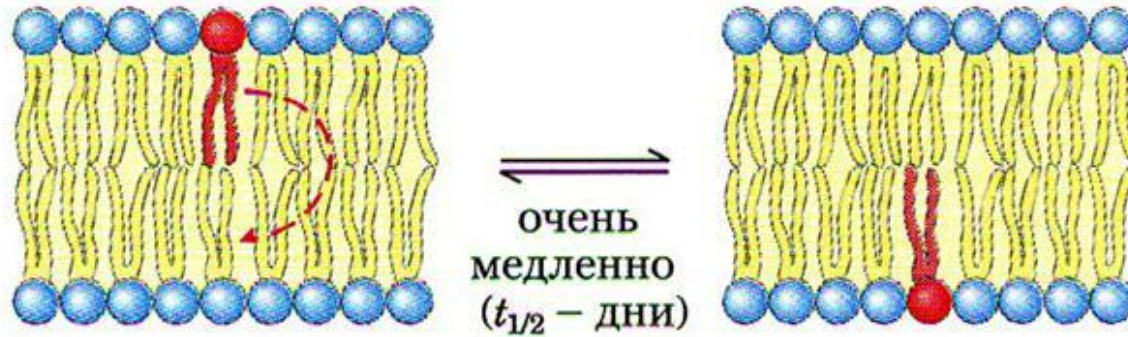
Некатализируемая трансмембранная диффузия

При физиологической T° диффузия молекул липидов из одного монослоя в другой («флип-флоп»), посредством некатализируемой диффузии – происходит крайне **редко и очень медленно (сутки)**.

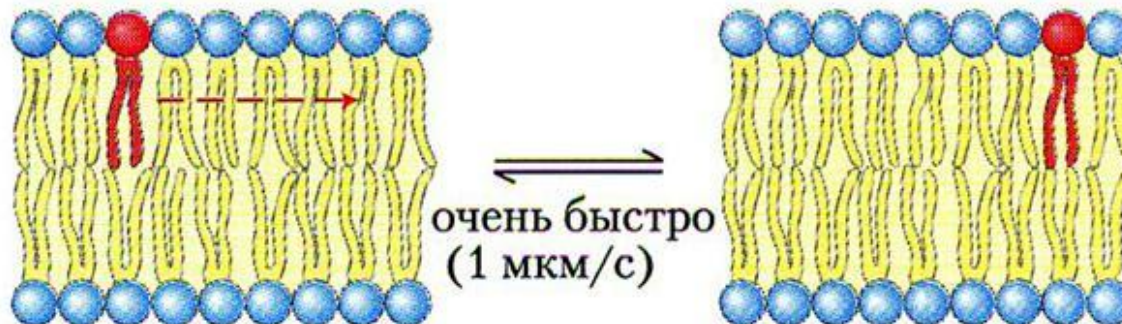
Латеральная некатализируемая диффузия происходит **постоянно и очень быстро (до 1 мкм/с)**.

Некатализируемая трансмембранная диффузия

Некатализируемая трансбислойная (флип-флоп) диффузия



Некатализируемая латеральная диффузия



2. Рафты и сигнальные платформы.

Представления о **рафтах** в липидной фазе цитоплазматических мембран были сформированы **Симонсом, Ван Меером** и **Айконеном** на рубеже 80-90-х годов прошлого столетия.

Рафты - (10 – 200 нм) небольшие микродомены цитоплазматической мембраны, содержащие холестерол, гликолипиды и сфингомиелин. Сохраняя свой липидный состав в течение определенного времени, рафты «плавают» в глицеро-фосфолипидном «озере» (латеральная диффузия), подобно плотам (от англ. **«raft»** - **плот**).

Рафты четко отграничены от их глицеро-фосфолипидного окружения в пределах мембранного бислоя и не смешиваются с ним, имеют большую степень упорядоченности.

В составе рафтов типично присутствие **рецепторов, обладающих собственной тирозин-киназной активностью и других белков, участвующих в передаче внешнего сигнала внутрь клетки (10 – 15 различных мембранных белков).**

В зависимости от типа клеток, рафты могут занимать **20% - 50%** поверхности плазматической мембраны.

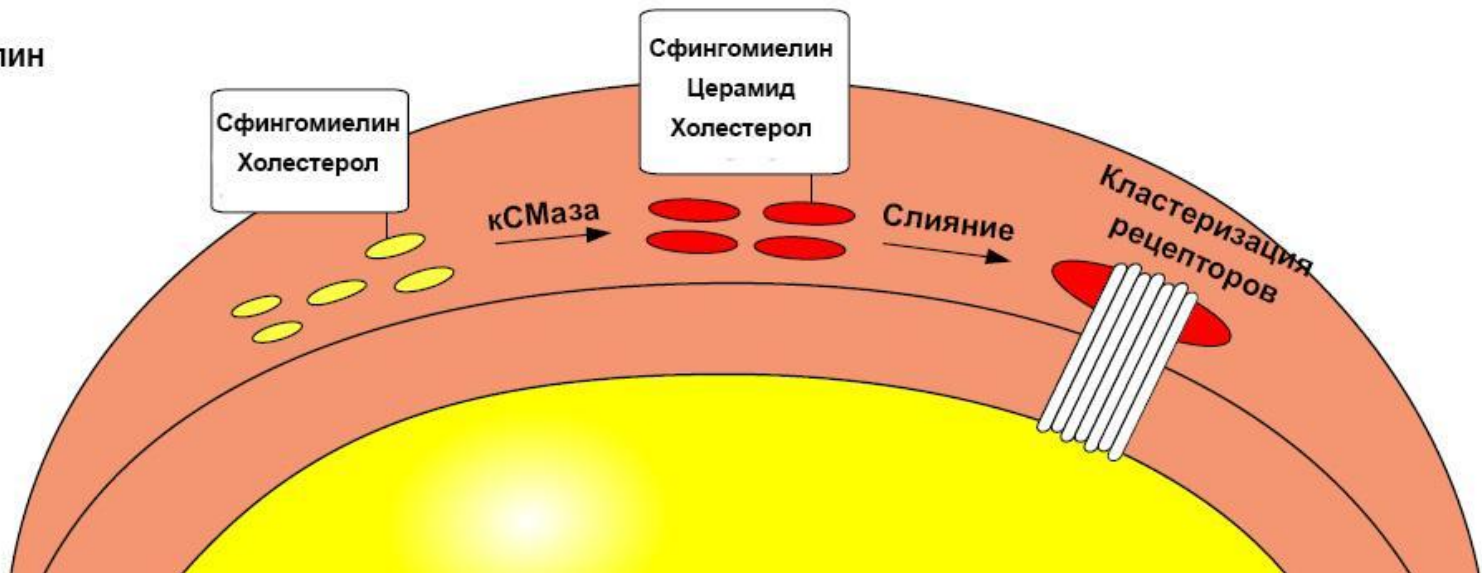
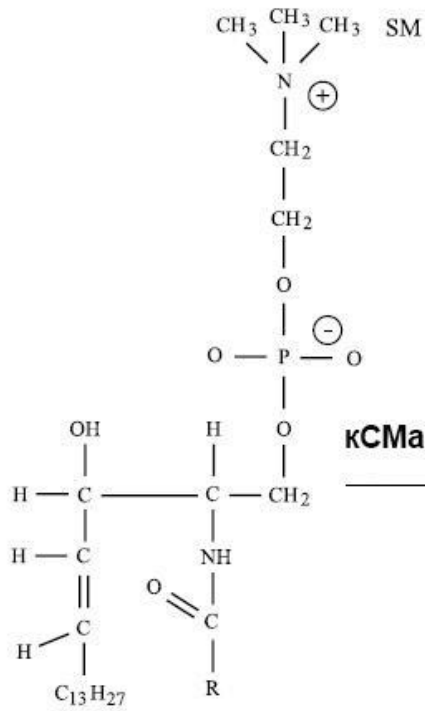
При воздействии на клетку биологических (гормон) и физических факторов происходит слияние рафтов в более крупные липидные макродомены – **сигнальные «платформы»**. Активация рецептора сопряжено с активацией кислой СМазы. Мембранный сфингомиелин превращается в церамид. **Резкое увеличение содержания церамида в составе рафта заставляет их сливаться, образуя платформу.**

В пределах образующейся сигнальной платформы **в течение нескольких секунд** происходит кластеризация рецепторов, что является эффективным способом усиления внешнего регуляторного сигнала и облегчения его проведения внутрь клетки.

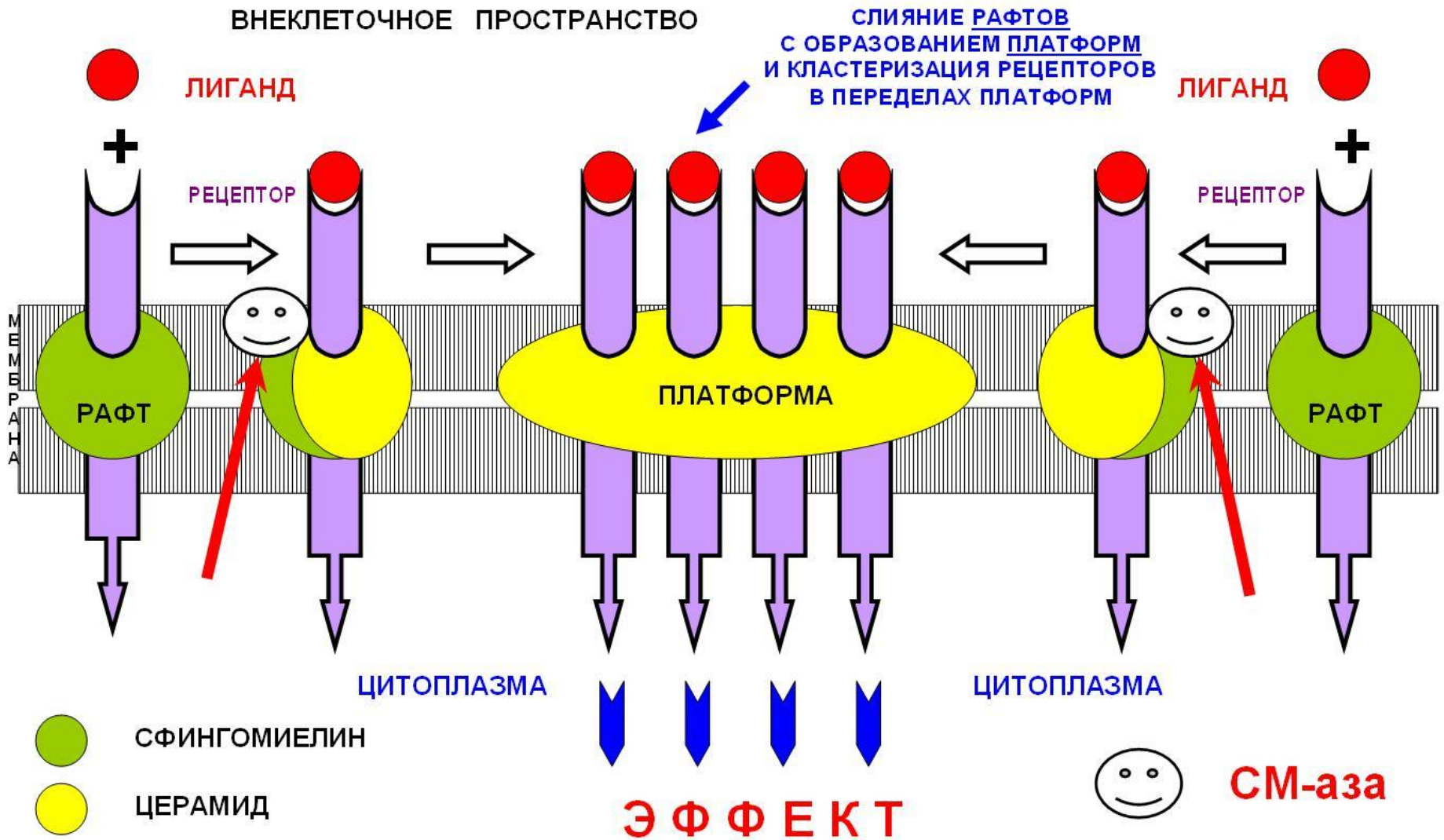
В состав платформы могут входить: адренорецептор, G-белок, аденилатциклаза, протеинкиназа A и протеинфосфатаза PP2 и др.

В составе платформы содержатся молекулы, образующие **высокоинтегрированную сигнальную единицу**. Платформа способна инициировать и завершить ответ клетки на внешний сигнал.

Образование сигнальных платформ из предсуществующих рафтов и кластеризация рецепторов



Слияние рафтов с образованием сигнальных платформ и кластеризация рецепторов



КАВЕОЛЫ – разновидность рафтов

Кавеола описана в 1955 г. - «*caveolae intracellulare*» или просто «*caveolae*». Это колбообразная инвагинация поверхности цитоплазматической мембраны, размером 50-100 нм.

Принципиальное отличие состава кавеол от рафтов: в кавеолах обязательно содержаться белки – **кавеолины** (**кавеолин-1 и -2**). Кавеолины играют важную роль, как в образовании, так и в функционировании кавеол.

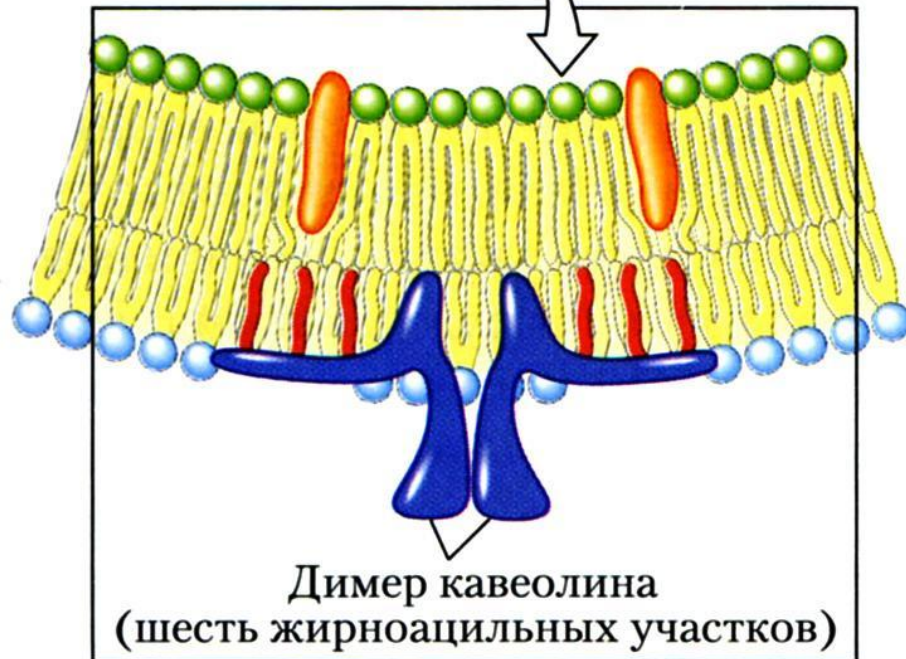
Кавеолами богата плазматическая мембрана адипоцитов (участие в регуляции потока жирных кислот через мембрану). Инсулин для адипоцитов - главный гормон, регулирующий метаболизм. Рецепторы к инсулину расположены в кавеолах мембран адипоцитов.

Плазматическая
мембрана

Снаружи

Внутри

Кавеола



Благодаря кавеолину (формирование димеров) участок мембраны изгибается – роль в образовании инвагинации мембраны.

ФУНКЦИИ КАВЕОЛ

1. Участие в метаболизме.
2. Участие в сигнализации.
3. Участие в эндоцитозе и в экзоцитозе.
4. Процесс слияния эндосом с лизосомами и формирование вторичных лизосом.
5. Проникновение вирусов и других инфекционных агентов в клетки.

Белковый компонент плазматических мембран

В большинстве цитоплазматических мембран на долю липидов и белков приходится около 50% по массе. На долю углеводных компонентов в составе гликолипидов и гликопротеинов мембраны - 5 – 10% массы.

Молекулярная масса белков больше, чем у липидов. Таким образом, в среднем, на 1 молекулу белка приходится 50 – 100 молекул липидов.

Липиды плазматической мембраны, в основном, выполняют роль структурного элемента.

Мембранные белки ответственны за выполнение самых разнообразных функций. Функции белков цитоплазматической мембраны:

1. Структурная: в составе цитоскелета участвуют в поддержании формы клетки;

2. Транспортная: формируют различные каналы (для диффузии молекул через мембрану), ионные насосы и специфические переносчики;

3. Рецепторная: образуют рецепторы для различных лигандов: гормонов, цитокинов, факторов роста и др. сигнальных молекул;

4. Ферментативная: связанные с мембраной ферменты;

5. Антигенная функция: гликопротеины клеточной поверхности;

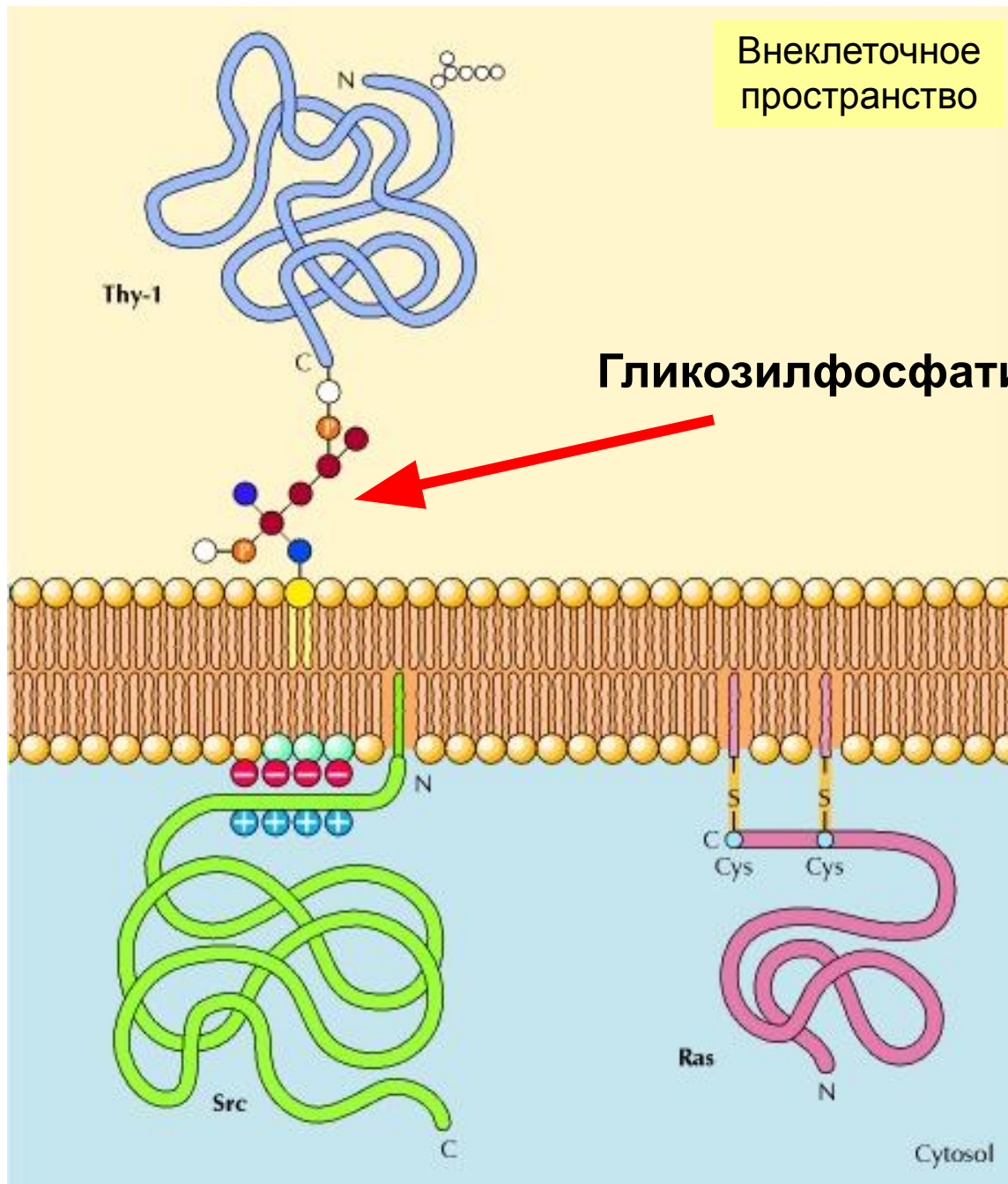
6. Адгезивная функция.

Согласно Сингеру и Николсону, белки цитоплазматической мембраны делят на **периферические, интегральные и амфитропные**.

1. Периферические (поверхностные) белки.

Расположены **на** внешнем или внутреннем листах ФЛ-бислоя, **внутри мембраны не проникают**. Связь с мембраной за счет электростатики или Н-связи между гидрофильными доменами белка и полярными головками ФЛ.

а). Белки внешней стороны мембраны – рецепторы. Есть белки, которые связаны с внешним монослоем мембраны с помощью гликозилфосфатидилинозитольного якоря (ГФИ-якоря). ГФИ-якорь связан с С-концевой частью белка – схема:



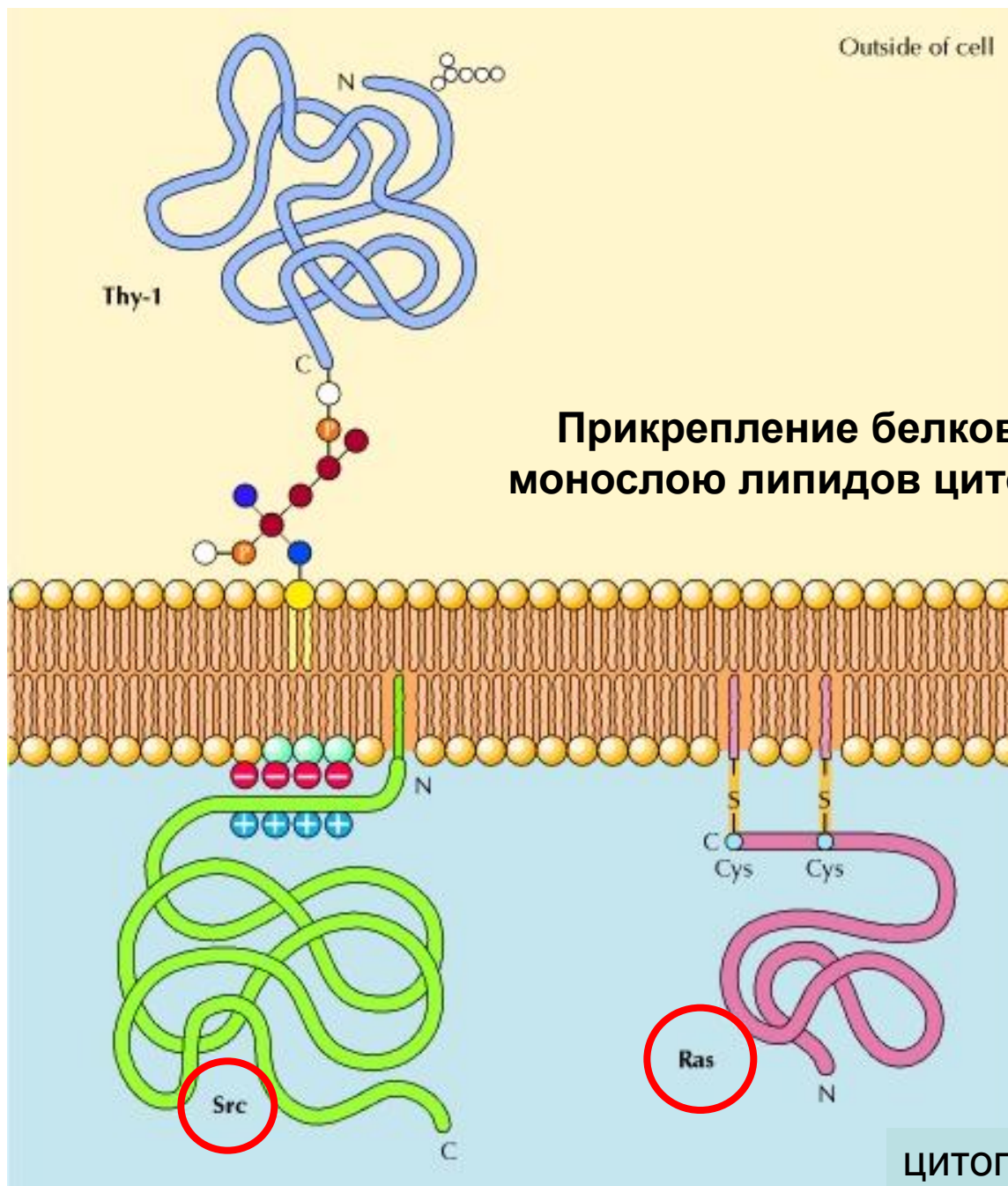
Внеклеточное пространство

С помощью такого якоря на поверхности лимфоцитов крепится белок Thy-1.

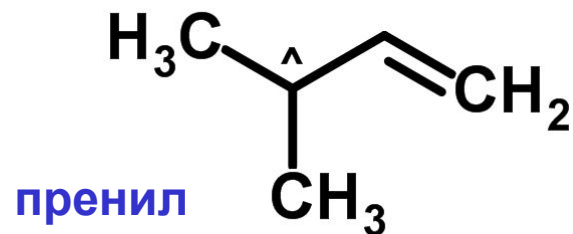
Гликозилфосфатидинозитольный якорь

б). Белки внутренней стороны мембраны:

- ассоциированы с цитоскелетом, участвуют в формировании силуэта клетки;
- **Белок Ras** (малый G-белок). В составе С-конца цепи, к остаткам цистеина присоединены **прениловые группы**. Эти группы «втискиваются» между остатками пальмитиновой кислоты в составе ФЛ. **Ras** активирует киназу **Raf** – первую киназу в **каскаде киназ сигнального пути MAPK**.
- **Белок Src** (не связанная с рецептором внутриклеточная ПК). В составе N-конца цепи содержатся **группы миристоила** (C_{14} - ЖК), имеют «+», который притягивается головками ФЛ, которые заряжены «-». Участвует в сигнализации через **рецепторные тирозиновые киназы** и через **рецепторы, сопряженные с G-белком**. Содержат **SH2-домены**. Сигнализация, обеспечивающая **рост, развитие и регенерацию клеток**.



Прикрепление белков **Ras** и **Src** к внутреннему монослою липидов цитоплазматической мембраны



Ras и **Src** участвуют в передаче сигнала от рецепторов цитокинов и факторов роста к различным внутриклеточным молекулам-мишеням.

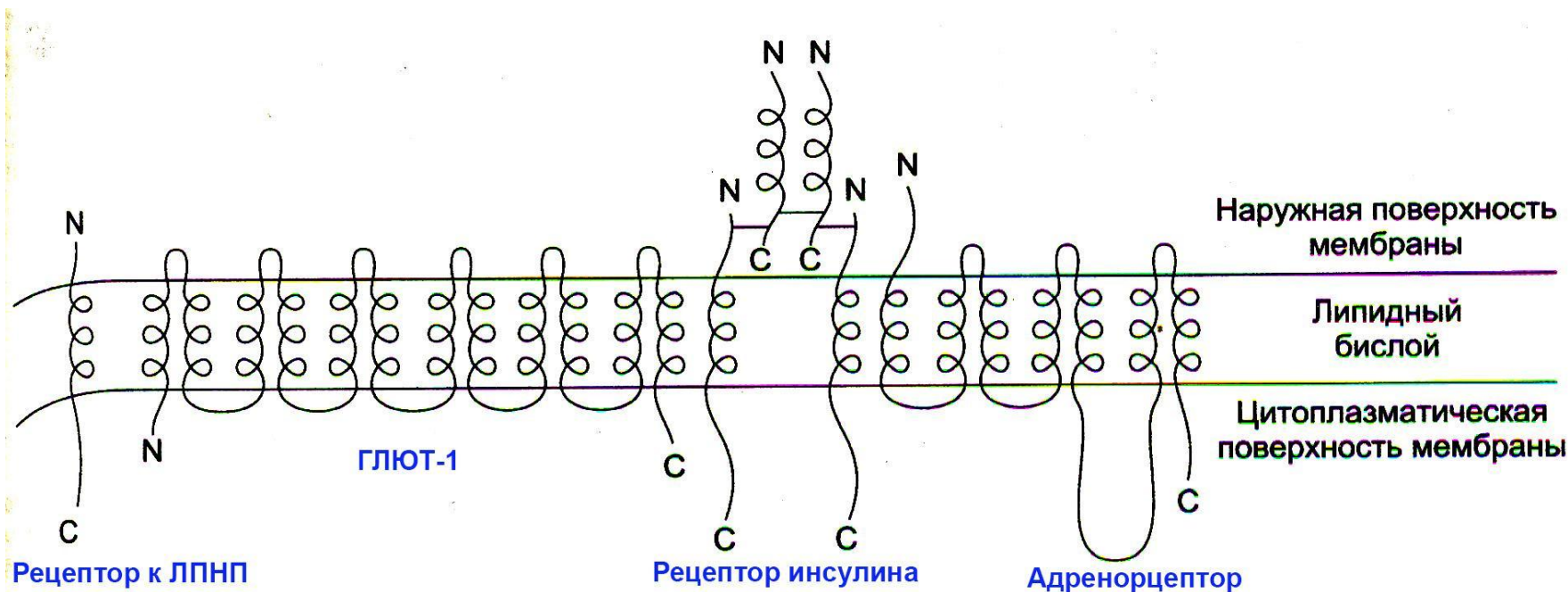
Это белки - вторичные посредники, но не вторичные мессенджеры.

цитоплазма

2. Интегральные (трансмембранные) белки.

Белки имеют **внеклеточный**, **внутриклеточный** и **трансмембранный** домены.

Трансмембранный домен гидрофобен и может представлять собой один, либо несколько фрагментов, последовательно пересекающих мембрану:



Трансмембранный гидрофобный домен интегрального белка часто является α -спиралью.

α -спиральные последовательности, каждая из которых образует трансмембранный сегмент, **связаны между собой неспиральными петлями** на внешней и внутренней сторонах мембраны.

Известно, что **цепочка гидрофобных/неполярных аминокислот из 20-25 остатков**, формирует α -спиральную структуру длиной, достаточной для пересечения цитоплазматической мембраны.

3. Амфитропные белки.

Могут находиться в цитоплазме и **обратимо** связываться с мембраной.

Способы связывания с мембраной:

- нековалентные взаимодействия с мембранными липидами или белками (ПКС);
- ковалентная связь между амфитропным белком и липидами мембраны.

Механизмы образования связи:

- фосфорилирование – дефосфорилирование;
- лиганд амфитропного белка (после образования комплекса лиганд-белок) изменяет конформацию белка, что «открывает» в нём участок связывания с мембраной.

О латеральной диффузии мембранных белков

Латеральная диффузия мембранных белков открыта **L. Frye** и **M. Edidin** в 1970 г и послужила одним из подтверждений жидкостно - мозаичной модели мембраны Сингера и Николсона.

Поперечная диффузия белков (аналогично «флип-флоп» для липидов) – науке не известна.

Белки **могут свободно диффундировать только вдоль плоскости мембраны** (**латеральная диффузия белков**). Исключение – белки, связанные с цитоскелетом.

Например: **фосфолипаза A2**, связавшись с цитоплазматической поверхностью мембраны и перемещаясь вдоль неё, способна гидролизовать неск. тыс. молекул фосфолипидов в минуту.

Трансмембранная передача сигналов

Основополагающее свойство клетки, обеспечивающее её полноценное функционирование – способность **получать сигналы** из окружающей её среды (за пределами плазматической мембраны), **распознавать** их и **преобразовывать в адекватный клеточный ответ**.

С помощью **рецепторов** клетка воспринимает **сигналы** из внешней среды, **носителями которых являются первичные мессенджеры**: гормоны, цитокины, нейромедиаторы, факторы роста.

Рецептор - посредник, который преобразует внеклеточный химический сигнал (полученный с первичным мессенджером), во внутриклеточный сигнал (передаваемый вторичным мессенджером). **Итог действия вторичного мессенджера - специфический клеточный ответ**.

Сигнальная молекула (лиганд любой природы), связывается с рецептором слабой нековалентной связью: водородные связи, гидрофобные и электростатические взаимодействия. [Аналогия со связыванием субстрата в активном центре фермента].

Позже комплекс лиганд-рецептор диссоциирует (обратимость связывания).

Биохимические процессы, которые инициирует образование комплекса гормон-рецептор, продолжаются в течение некоторого времени после диссоциации комплекса.

Молекулы первичных мессенджеров не метаболизируют, не дают биоактивных интермедиатов, не обладают каталитической активностью.

Основные свойства систем, передающих внешний сигнал

1. Специфичность передачи сигналов.

Обеспечивается молекулярной комплементарностью сигнальной молекулы (первичного мессенджера) и рецептора, принадлежащего клетке-мишени.

Большинство клеток функционально специализированы. Каждый тип клеток имеет определенный набор рецепторов, что и позволяет ей реагировать на предназначенный для неё сигнал и реализовать специфическую функцию.

2. Высокая чувствительность молекул-посредников в передаче (трансдукции) сигнала.

Она обеспечивается:

а). Высоким сродством рецепторов к сигнальным молекулам (лигандам). Сродство характеризуется K_d (константа диссоциации), величина которой говорит о том, что рецептор обнаруживает **пикомолярные концентрации лиганда (1×10^{-12} моль/л).**

б). Кооперативностью лиганд-рецепторных взаимодействий. Малые изменения концентрации лиганда приводят к значительной активации рецептора.

в). Усилением сигнала (с помощью различных каскадов). Каждый активированный лигандом рецептор активирует несколько ферментов «вниз по течению». Каскады реакций способны **в течение миллисекунд обеспечить усиление первичного сигнала на несколько порядков.**

Особо о десенситизации рецептора.

Это **снижение (потеря) чувствительности рецептора** к продолжительно действующей сигнальной молекуле. Чувствительность восстанавливается, когда стимул ослабевает ниже порогового значения.

3. Интеграция при передаче сигнала.

Живая система получает извне множество различных сигналов, но **даёт единый (интегрированный) ответ**, в четком соответствии с нуждами клетки, органа, организма.

Различные сигнальные пути «перекрещиваются» на разных уровнях, порождают множество взаимодействий, которые поддерживают гомеостаз в клетке и организме.

РЕЦЕПТОРЫ

```
graph TD; A[РЕЦЕПТОРЫ] --> B[МЕМБРАННЫЕ (ПОВЕРХНОСТНЫЕ) РЕЦЕПТОРЫ]; A --> C[ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ];
```

МЕМБРАННЫЕ (ПОВЕРХНОСТНЫЕ) РЕЦЕПТОРЫ

Встроены в цитоплазматическую мембрану клеток-мишеней (интегральные белки).

Лиганды - гидрофильные, несущие электрический заряд, полярные молекулы: **белково-пептидные гормоны, цитокины, факторы роста, нейромедиаторы.**

Через мембрану передаётся **информация**, а не эл. заряды или молекулы перв. мессенджеров.

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Растворены в цитоплазме или связаны с ядром клеток-мишеней.

Лиганды - небольшие **липофильные**, неполярные молекулы: **стероидные и тиреоидные гормоны.** Липофильность молекул позволяет им легко преодолеть барьер мембраны.

Простагландины – гормоноподобны и **липофильны**, но действуют через рецепторы клеточной поверхности.