Краткое резюме лекции «*Вездесущая и незаменимая… мембрана*».

(Лекция-призер конкурса Фонда В. Потанина, 2005 г.)

Целью курса «Биохимия мембран» является расширение и углубление знаний слушателей о ключевой и универсальной структуре живой клетки – биологической мембране. Лекция «Вездесущая и незаменимая… мембрана» – первая, вводная лекция курса ставит перед собой задачу достаточно популярно, концептуально и необычно подвести студентов к центральному предмету обсуждения и наметить основные направления развития мысли в рамках читаемого курса. Можно сказать, что данная лекция носит характер аннотации материала всего курса «Биохимия мембран». Одним из принципов построения лекций по данному курсу был принцип движения от частного к общему, попытка рассмотреть мембраны не только как элементы клеток, но и как участников более масштабных метаболических явлений: фотосинтеза, дыхания и т.д. Такой подход помогает формированию целостной естественнонаучной картины мира у студентов. В этой связи неоднократное сравнение в начале лекции клеточной мембраны с водой на Земле не случайно.

В ходе лекции представляется иллюстрированный (в виде раздаточного материала и цветных графических фрагментов на прозрачных пленках) систематизированный материал, собранный из самых различных источников, включая internet. Для актуализации кинестетического канала восприятия информации используется также эмоционально-насыщенный стихотворный фрагмент. В качестве визуального ряда использованы иллюстрации новой мультимедийной программы (Темников Д.А., Мезина З.Р. «Наглядная биоэнергетика». Казань, Казанский университет, 2007), готовящейся к выпуску в середине 2007 года.

<u>Материал на лекции излагается по следующему плану</u>

(Знак "NB" в тексте лекции означает, что на этот момент студентам рекомендуют обратить особое внимание)*:*

Преамбула. Общность явлений «Вода для Земли» и «Мембрана для Клетки»

1. Биологические мембраны – общий обзор.
2. Разнообразие мембран.
3. Исторический очерк.
4. Структура мембранных белков и способы прикрепления их к мембране.
5. Виды мембранного транспорта:
   - активный транспорт
   - пассивный транспорт
   - везикулярный транспорт.

Список основной литературы, использованной для подготовки занятия по данной теме:

1. Билич Г.Л. Биология. Полный курс. В 3-х томах. Изд-во: Оникс 21век, 2002.
2. Биология в таблицах и схемах. Изд-во: Виктория-плюс, 2003.
3. Каменский А. Биология. Изд-во: Высшее образование, 2003.
4. Ленинджер А. Основы биохимии. В 3 томах. М.: Мир, 1985.
5. Рейвн П., Эверт Р., Айкухорн С. Современная ботаника, в 2-х томах, М.: Мир, 1990.
6. Alberts B., Bray D., Lewis J. et al. Molecular biology of cell: third edition / Garland Publ. Inc., N.Y. & London. – 1994.
7. Материалы интернет-сайтов:
    - www.ksma.kubannet.ru/L_Biology.htm
    - www.cellsalive.com
    - www.ibiblio.org/virtualcell/textbook
    - webembryo.narod.ru/cel_biol.htm
    - ben.irex.ru
    - library.thinkquest.org
    - www.ido.tsu.ru
    - www.cultinfo.ru
    - www.mednote.co.kr
    - www.udel.edu
    - www.humpath.com
    - www.jdaross.mcmail.com
    - faculty.une.edu
    - www.cropsci.uiuc.edu
    - www.drmed.ru
    - www.medlinks.ru
    - www.medolina.ru
    - www.nww.usace.army.mil
    - www.sp.uconn.edu
    - www.coloradocollege.edu
    - users.rcn.com
    - www.med.wayne.edu

***Список литературы, рекомендуемый студентам по теме занятия*:**

1. Билич Г.Л. Биология. Полный курс. В 3-х томах. Изд-во: Оникс 21век, 2002.
2. Рейвн П., Эверт Р., Айкухорн С. Современная ботаника, в 2-х томах, М.: Мир, 1990.
3. Юсуфов А.Г., Магомедова М.А. История и методология биологии. Изд-во: Высшая школа, 2003.
4. Ярыгин В.Н. и др. Биология. В 2 томах. Изд-во: Высшая школа, 2000.
5. Сайт лекций по биохимии мембран проф. А.А.Болдырева (МГУ) www.bio.msu.ru/kafedry/biochem/Educat/membr.htm
6. Введение в биомембранологию / Под ред. Болдырева А.А., М. – 1990.

Текст лекции

Вездесущая и незаменимая… мембрана

Согласно одной из современных гипотез, вся существующая на планете вода представляет собой очень сложную, но единую молекулу, которая (за счет своих уникальных свойств сохранения и передачи информации) обеспечивает возможность существования Жизни на Земле. Действительно, вода на Земле – это ее неотъемлемый атрибут и важнейшая часть всего живого – и возможно даже, согласно убеждениям древних, информационная и защитная оболочка нашей планеты, позволяющая всему живому существовать в гармонии и непрерывном регулируемом взаимодействии. Если принять такую точку зрения, можно сказать, что роль воды для Земли поистине уникальна и колоссальна.

Клетку с той или иной степенью приближения можно рассматривать как отдельную планету, которая также находится в своем микрокосмическом окружении, но в то же время в значительной степени обособлена. Данное сравнение не так уж далеко от реальности, поскольку мы действительно считаем клетку элементом микромира и микрокосмом в себе (элементарной основой жизни). Подавляющее большинство функций этот микрокосм реализует благодаря своей внешней оболочке и внутренним образованьям – мембранам. Продолжая наши аналогии, можно сказать, что Мембрана также важна для Клетки, как Вода важна для Земли.

Интересно заметить также, что мембрана связана с водой «филогенетически» – она буквально вышла из воды, когда (согласно принятым концепциям) на заре эволюции «липидные капли» замкнули в себе самореплицирующуюся смесь РНК и белка. И на сегодняшнем этапе эволюции вода окружает и обеспечивает функционирование самой мембраны.

Насколько разнообразны формы и функции воды. Об этом в поэтическом произведении сказал И. Грудев:

В саду цветы слепила изо льда,
Перелила их в музыку капели.
Потом на светлом зеркале пруда
Рисует их мазками акварели:
Добьется же предельной простоты,
Когда живые напоит цветы.

Функции и типы мембран не менее разнообразны. Структурно мембраны (за редким исключением) универсальны. Мембрана отделяет клетку от внешнего мира. Она проницаема лишь избирательно - вход в клетку и выход из нее различных метаболитов и ионов находится под постоянным контролем мембранных систем. Все это обеспечивает создание в клетке своего, особого «**микромира**», который сохраняется почти неизменным при любых изменениях окружающей среды. Мембрана - совершенная **биоэнергетическая** система –

«шлюз» клетки. За счет создания разности потенциалов на мембране, превращений энергоемких соединений (АТФ) клетка вырабатывает энергию, необходимую для функционирования. Мембрана - **информационная** система, с которой вряд ли могут состязаться самые современные ЭВМ. Она работает по единой, согласованной программе, где все процессы взаимосвязаны, взаимозависимы, строго фиксированы в пространстве и времени. На мембране ежесекундно осуществляются тысячи превращений, и есть все основания сравнивать ее с миниатюрным **химическим** заводом. И, наконец, мембрана - это разветвленная система структур, связанных сетью переходов, каналов, по которым непрерывно движутся продукты разнообразных превращений и синтезов; мембрана – «**мегаполис**». Интересно, что приблизительно то же самое можно сказать и о функциях клетки, как целого. Таким образом, мембрана является для живой клетки ключевым компонентом, обеспечивающим все ее основные потребности и отражает все функции клетки. Все эти перечисленные функции мембраны станут объектом нашего рассмотрения в рамках курса «Биохимия мембран».

Итак, мембраны играют ключевую роль, как в структурной организации, так и в функционировании всех клеток – прокариотических и эукариотических, растительных и животных. Мембраны формируют внутриклеточные компартменты (отсеки), с их помощью происходит разделение содержимого компартментов и окружающей их среды. Но мембраны не только разделяют клетку на отдельные компартменты, но и участвуют в регуляции всех связей и взаимодействий, осуществляющихся между наружной и внутренней сторонами этих компартментов. Это может проявляться в виде физического переноса ионов или молекул через мембрану (внутрь компартмента или из него) или в форме передачи информации при помощи конформационных изменений, индуцируемых в мембранных компонентах. Кроме того, с мембранами связаны многие клеточные ферменты. Некоторые из них катализируют трансмембранные реакции, когда реагенты находятся по разные стороны мембраны или когда каталитический акт сопровождается транспортом молекул. Другие ферменты образуют своеобразные комплексы, которые осуществляют цепь последовательных превращений, причем благодаря тому, что эти ферменты располагаются в плоскости мембраны, повышается эффективность всего процесса. Имеются ферменты, которые, действуя на мембраносвязанные субстраты, участвуют тем самым в биосинтезе мембран. С участием мембран в той или иной степени осуществляется большинство жизненно важных клеточных функций, например, протекают такие процессы, как репликация прокариотической ДНК, биосинтез белков и их секреция, биоэнергетические процессы и функционирование систем гормонального ответа.

Данные, полученные при изучении клеток млекопитающих методом электронной микроскопии, свидетельствуют о наличии широко развитой сети внутриклеточных мембранных образований, которая занимает значительную часть внутреннего объема клетки. Сейчас уже не вызывает сомнений, что основные принципы структурной организации всех этих мембран по сути одинаковы. Более того, эти принципы соблюдаются также и в случае мембран растительных и бактериальных клеток. Основные закономерности, установленные Робертсоном в конце 1950-х гг. XX века, позволяют нам переносить результаты, полученные при исследовании одной мембранной системы (например, мембраны эритроцитов), на другие системы (конечно, со всеми необходимыми предосторожностями). Естественно, учет специфики здесь необходим, поскольку, как это ни парадоксально звучит, одной из самых характерных особенностей мембран является их чрезвычайное разнообразие. Такое разнообразие обусловлено, прежде всего, разнообразием белков, присутствующих в каждой мембране, и способов их взаимодействия друг с другом и с компонентами цитоплазмы. Эти взаимодействия проявляются в специфической морфологии мембранных образований (микроворсинки кишечного эпителия или тубулярный эндоплазматический ретикулум) и могут быть связаны с латеральной гетерогенностью той или иной мембраны. Таким образом, основная задача исследователей заключается в том, чтобы, опираясь на общие представления о структуре и функциях мембран, выявить молекулярно-биологические основы их структурного и функционального разнообразия.

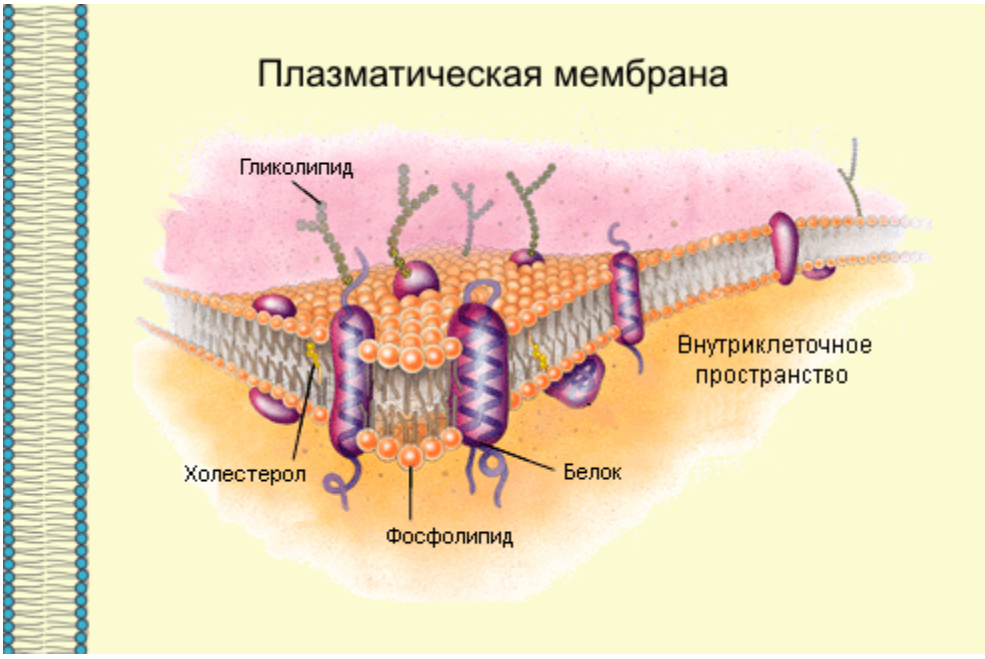
Успехов в исследовании мембран удалось достичь благодаря сравнительному изучению мембран из множества разнообразных организмов. Бактериальные клетки имеют довольно простую наружную оболочку, содержащую одну или две мембраны, которые можно модифицировать генетически или путем изменения условий роста клеток. Вирусы с оболочкой внедряются в клетки животных благодаря слиянию с плазматической мембраной последних и высвобождаются из клетки-хозяина, отпочковываясь от нее. Изучение созревания вирусных белков позволяет узнать много нового о процессах биосинтеза мембранных белков.

Основными компонентами мембран являются белки и липиды. На долю углеводов может приходиться около 10% массы мембран, при этом они всегда входят в состав гликолипидов или гликопротеинов. Соотношение между белками и липидами в мембранах значительно варьирует - от 20% (по массе сухого вещества) белка в миелине до 80% в митохондриях. Плотность мембран прямо пропорциональна содержанию в них белка; чем выше содержание белка в мембране, тем больше ее плотность. Наше представление о белковом составе мембраны зависит от метода ее выделения. Некоторые белки непрочно связаны с мембраной и легко удаляются при промывании ее растворами с высокой или, напротив, с низкой ионной

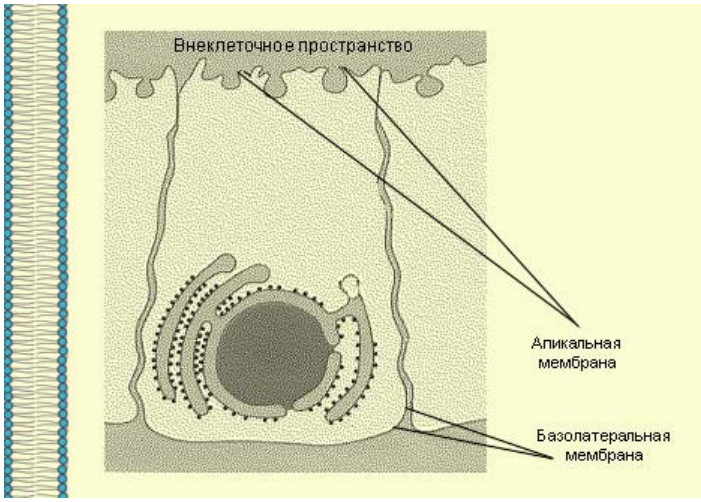
силой, щелочными растворами или растворами, содержащими хелатирующие агенты типа ЭДТА. Бывают и случаи, когда трудно сказать, является ли белок мембранным или цитоплазматическим, случайно связавшимся с мембраной в ходе ее выделения.

Эукариотические клетки содержат различные мембранные органеллы, причем каждая мембрана уникальна по своему составу, особенностям структурной организации и по характеру выполняемых функций. Внешний вид органелл неодинаков в клетках разного типа. Кроме того, некоторые клетки, например палочки сетчатки, а также клетки скелетных мышц, имеют высокоспециализированные мембраны, выполняющие уникальные функции.

1. Плазматическая мембрана (плазмалемма).



Плазматическая мембрана образует границу, на которой осуществляется контакт клетки с ее окружением. Она содержит специализированные компоненты, участвующие в межклеточных контактах и взаимодействиях, в системах гормонального ответа и транспорта как малых, так и больших молекул из клетки и внутрь ее. Однако и сама плазматическая мембрана состоит из специализированных участков, которые имеют различное окружение. Апикальная мембрана контактирует с какой-либо внутриклеточной средой. Так, у гепатоцитов она обращена в просвет желчных канальцев, а у эпителиальных клеток кишечника - в просвет желудочно-кишечного тракта. Она может иметь специализированные структуры, например, микроворсинки; последние в некоторых всасывающих клетках образуют щеточную каемку. Микроворсинки значительно увеличивают площадь поверхности мембраны, в результате чего повышается эффективность мембранного транспорта.



Базолатеральная мембрана находится в контакте с другими клетками (в этом случае она называется латеральной или контактной) или обращена в просвет кровеносных сосудов (и называется синусоидной мембраной). Латеральная и синусоидная мембраны гепатоцитов различаются как по своей морфологии, так и биохимически. Базолатеральная мембрана гепатоцитов имеет также специализированные структуры, ответственные за межклеточную адгезию и транспорт.

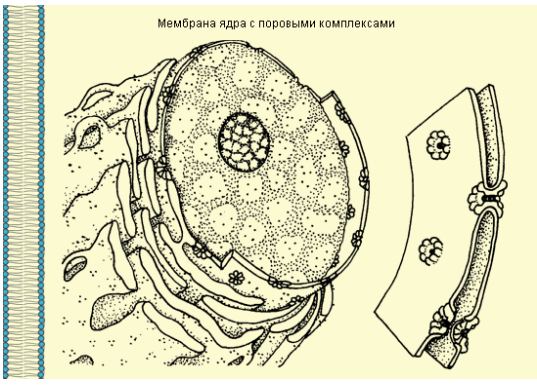
Плотные контакты (tight junction) герметизируют область соприкосновения клеток и предотвращают перемешивание содержимого желчных канальцев и кровеносных сосудов.

Щелевые контакты (gap junction) содержат множество регулярно расположенных пор, которые позволяют небольшим молекулам проходить через плазматические мембраны двух соприкасающихся клеток. Электронно-микроскопические и биохимические исследования выявили характерные детали молекулярной организации этих пор, показав, что каждая из них содержит гексагонально упакованные белковые субъединицы.

картинка

Десмосомы также обеспечивают клеточную адгезию и участвуют во взаимодействии плазматической мембраны с элементами цитоскелета. Апикальный, латеральный и синусоидный участки плазматической мембраны различаются морфологически и имеют уникальный состав и функции. Если клетки разрушить в мягких условиях, то можно выделить и очистить фракции, отвечающие этим участкам плазматической мембраны. Как на молекулярном уровне обеспечивается в клетке существование таких специализированных доменов, пока неясно, хотя известно, что не все их компоненты способны свободно диффундировать между доменами.

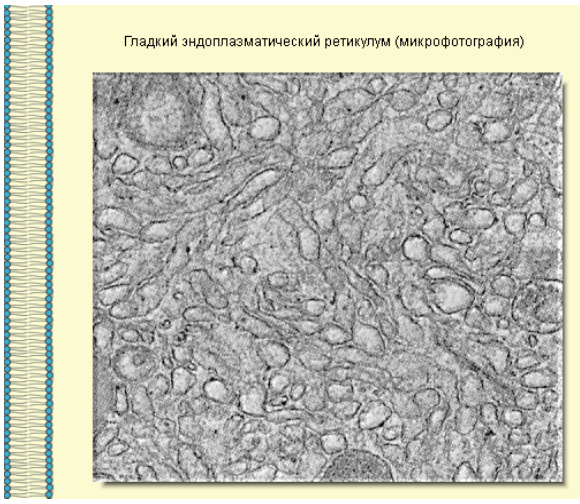
2. <u>Ядерная мембрана.</u>



Ядерная оболочка клетки, находящейся в интерфазе, на электронных микрофотографиях имеет вид двух элементарных мембран с узким просветом между ними, называемым перинуклеарным пространством. Эта мембрана происходит из эндоплазматического ретикулума и, по-видимому, неразрывно связана с ним. Наиболее характерными морфологическими признаками являются порообразные структуры. Они имеют диаметр около 600А и состоят из морфологически четко выявляемых компонентов, образующих октагональную решетку. В том месте, где расположены эти структуры, внутренняя и наружная ядерные мембраны выглядят слившимися. Полагают, что поры позволяют комплексам мРНК-белок переходить из ядра в цитоплазму, а регуляторным белкам перемещаться в обратном направлении, из цитоплазмы в ядро. Биохимические данные по ядерной оболочке весьма немногочисленны.

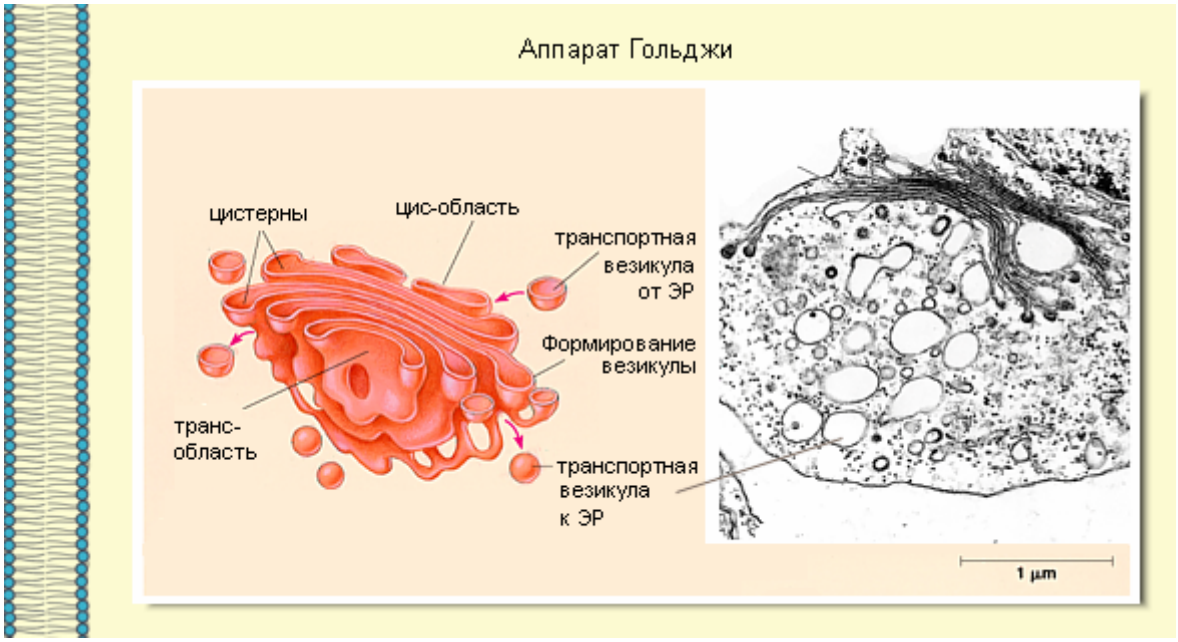
3. Эндоплазматический ретикулум (ЭР).

Это сложная сеть цистернообразных или трубчатых структур, которая занимает значительную часть внутреннего объема обычной животной клетки. Основная роль ЭР состоит в том, что он служит местом биосинтеза белков, которые затем секретируются, включаются в лизосомы или в плазматическую мембрану. Потенциально опасные для клетки гидролитические ферменты, которые должны секретироваться или накапливаться в лизосомах, подвергаются здесь процессингу до зрелой формы. С ЭР часто бывают связаны рибосомы, в результате чего на электронных микрофотографиях он выглядит шероховатым.



Области ЭР, не содержащие рибосом, называются гладким ЭР. Здесь осуществляется биосинтез стеролов, протекают реакции детоксикации и происходит десатурация жирных кислот. Все эти процессы входят в сложную, согласованную систему транспорта электронов, осуществляемого при участии цитохромов b5 и P450.

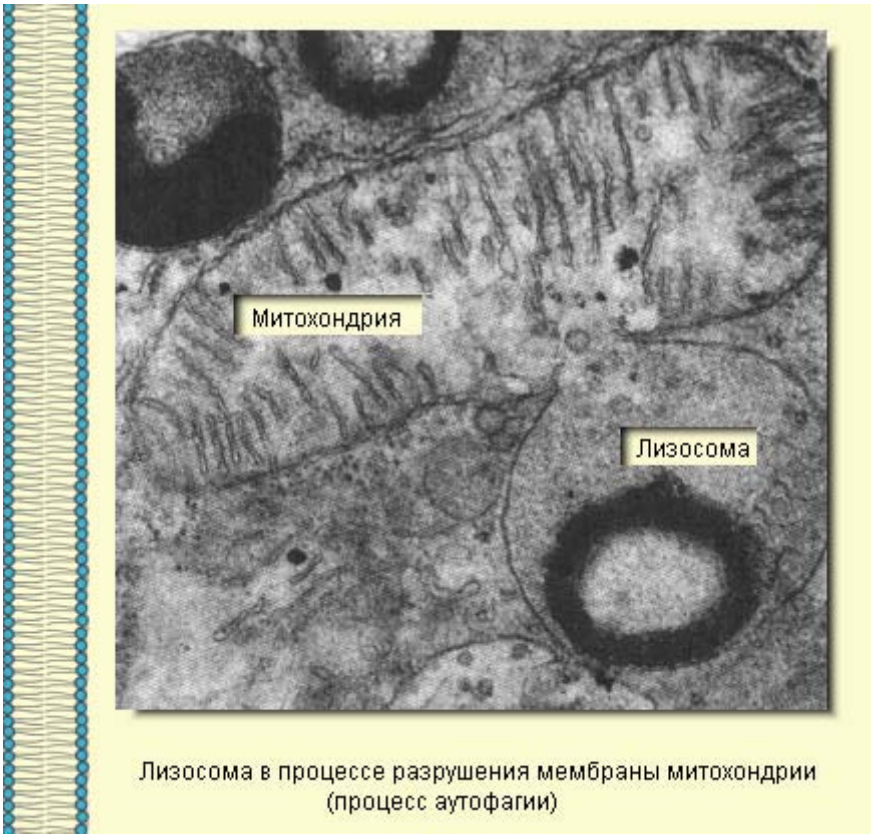
4. Аппарат Гольджи.



Эта органелла состоит из сети уплощенных мешков (цистерн), собранных в стопки. Основная его функция заключается в посттрансляционной модификации гликопротеинов, синтезированных в эндоплазматическом ретикулуме и предназначенных для секреции, включения в плазматическую мембрану или доставки в лизосомы. Эти органеллы содержат гликозидазы и гликозилтрансферазы, которые вступают в действие последовательно, по мере того как белок, подвергаемый процессингу, перемещается (вероятно, с помощью мембранных везикул) от начала аппарата Гольджи (цис-область) до его конца (транс-область). Фактически аппарат Гольджи состоит из совокупности отдельных мембран, образующих цистерны. Эти мембраны, которые можно выделить, характеризуются определенным набором ферментов.

5. Лизосомы.

Эти органеллы ответственны за деградацию макромолекул и содержат ряд гидролитических ферментов, таких, как протеазы и липазы. Вещества, захваченные клеткой путем эндо- или фагоцитоза, которые необходимо расщепить, доставляются в лизосомы с помощью везикул. Лизосомы играют ключевую роль в разрушении старых органелл внутри клетки. Этот процесс называется аутофагией.



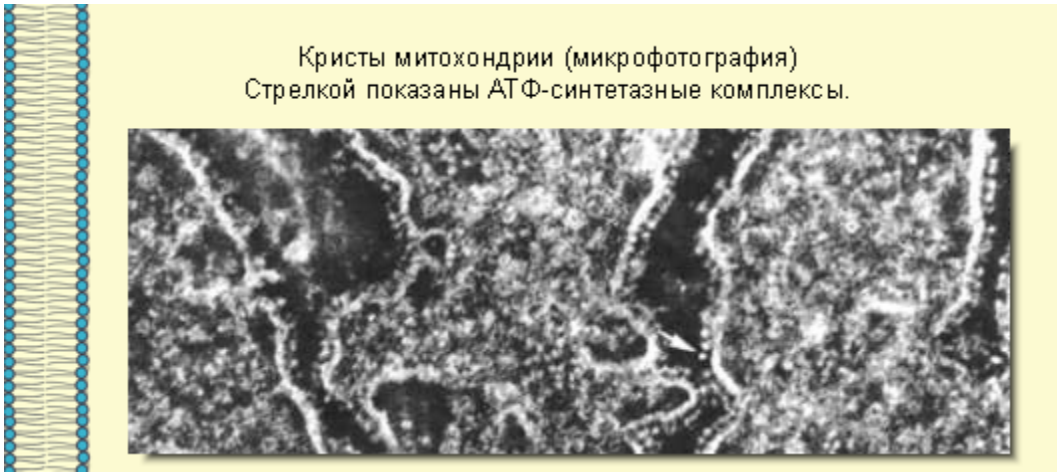
Лизосома в процессе разрушения мембраны митохондрии (процесс аутофагии)

6. Пероксисомы.

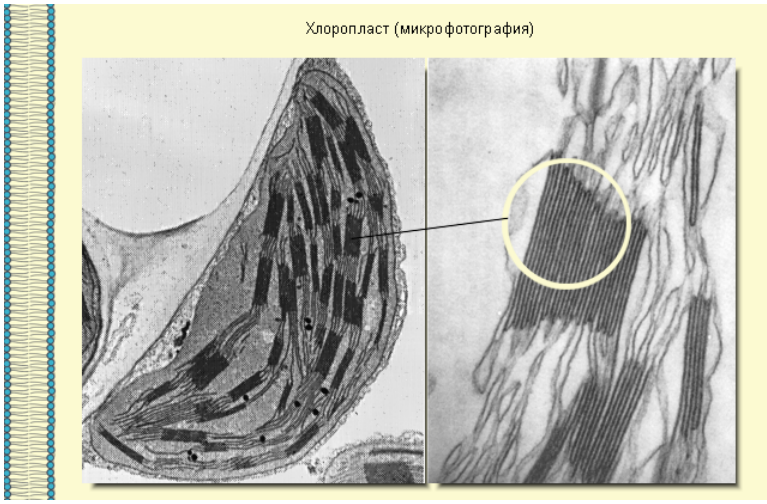
Эти органеллы содержат окислительные ферменты, участвующие в деградации малых молекул, таких, как аминокислоты, ксантин и, в особенности, жирные кислоты. Их название связано с присутствием в них каталазы, которая разлагает перекиси, образующиеся как побочные продукты при реакциях окисления.

7. Митохондрии.

В этих органеллах осуществляется окислительное фосфорилирование (см. далее), в результате чего в ходе окисления субстратов, таких, как НАДН или сукцинат, образуется АТФ. Митохондрии образованы двумя мембранами, разделенными некоторым промежутком. Внутренняя область митохондрий называется матриксом. Внутренняя мембрана образует складки в виде перегородок, называемых кристами, и содержит ферменты, участвующие в транспорте электронов и синтезе АТФ.

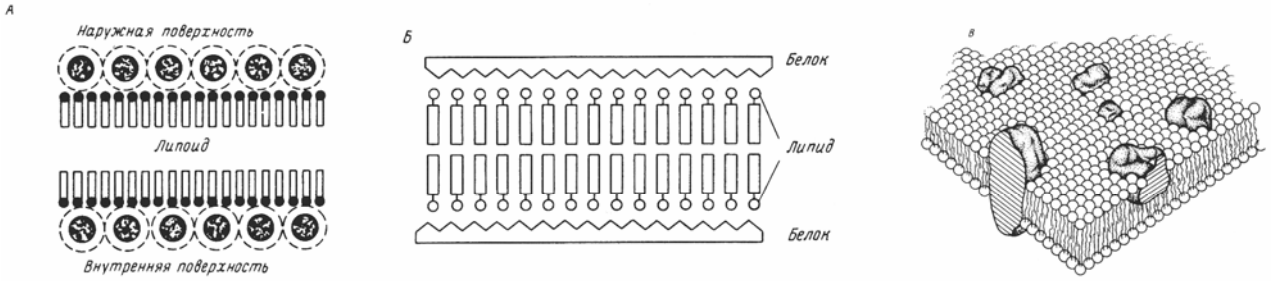


8. Хлоропласты.



Это органеллы, содержащие фотосинтетический аппарат. Они имеют наружную оболочку, образуемую двумя мембранами, и внутреннюю область – строму. В строме находятся тилакоидные мембраны, где локализованы компоненты системы фотосинтеза. На отдельных участках тилакоидные мембраны плотно упакованы в стопки, а на других обращены непосредственно к строме. Состав плотноупакованных и обращенных в строму доменов тилакоидной мембраны различен, что указывает на латеральную гетерогенность этой мембраны.

Тот факт, что плазматическая мембрана, окружающая клетки, представляет собой вполне определенную структуру, был осознан в середине XIX столетия. На исходе этого столетия Овертон обратил внимание на корреляцию между скоростью, с которой небольшие молекулы проникают в растительные клетки, и их коэффициентом распределения между маслом и водой; это привело его к мысли о липидной природе мембран. В 1925 г. Гортер и Грендел предположили, что липиды в мембране эритроцитов образуют биомолекулярный слой (липидный бислой). Эта идея возникла на основе результатов элегантного и простого эксперимента. Липиды эритроцитов экстрагировали ацетоном и затем в кювете Лэнгмюра получали из них тонкую пленку на поверхности воды. С помощью поплавка сжимали слой липидных молекул на границе раздела вода-воздух до тех пор, пока этот слой не начинал оказывать сопротивление дальнейшему сжатию; это явление было объяснено образованием плотноупакованной мономолекулярной липидной пленки. Измерение площади, занимаемой липидами, и сравнение ее с площадью поверхности эритроцитов, из которых эти липиды были экстрагированы, дали соотношение 2:1. Отсюда был сделан вывод о том, что мембрана эритроцитов состоит из липидных молекул, Расположенных в два слоя. По-видимому, этот вывод Гортера и Грендела оказался правильным только благодаря взаимной компенсации ошибок, однако в историческом плане эта работа имела большое значение, поскольку с тех пор концепция липидного бислоя как структурной основы биологических мембран стала доминирующей и на самом деле оказалась верной.



Три модели структурной организации биологических мембран, оказавшие влияние на развитие всей науки о мембранах . *А*. Модель Дэвсона—Даниелли. *Б*. Модель унитарной мембраны Робертсона. *В*. Модель жидкостно-мозаичной мембраны Сингера и Николсона.

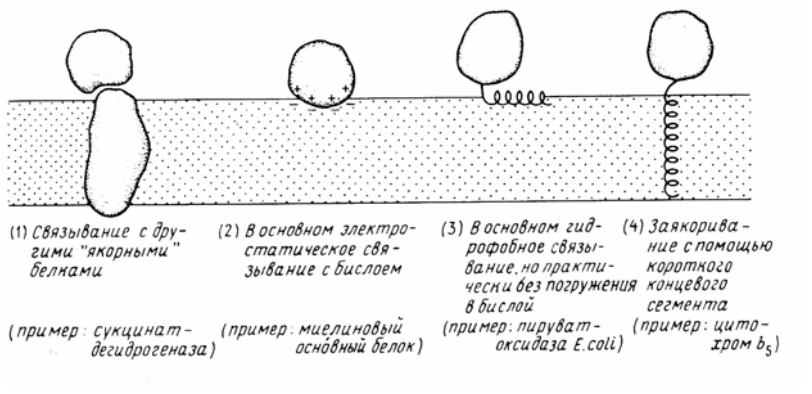
Концепция бимолекулярной липидной мембраны получила дальнейшее развитие в предложенной в 1935 г. **модели Дэвсона-Даниелли**, или модели «сэндвича», в которой предполагалось, что белки покрывают поверхность липидного бислоя. Это была необыкновенно удачная модель, и в течение последующих 30-ти лет многочисленные экспериментальные данные, особенно полученные с помощью дифракции рентгеновских лучей и электронной микроскопии, полностью подтвердили ее адекватность. Однако тогда же обнаружилось, что мембраны выполняют огромное множество функций, и чтобы объяснить этот феномен, исходная модель Дэвсона-Даниелли неоднократно подвергалась модификациям.

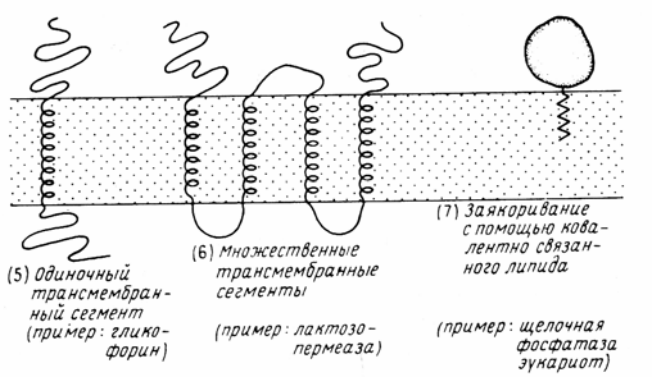
Быстрый прогресс в мембранологии, в результате которого сформировались современные представления, достигнут, в значительной мере, благодаря успехам в изучении свойств мембранных белков. Электронно-микроскопические исследования с применением метода замораживания-скалывания показали, что в мембраны встроены глобулярные частицы. Тем временем биохимикам с помощью детергентов удалось диссоциировать мембраны до состояния функционально активных «частиц». Данные спектральных исследований указывали, что для мембранных белков характерно высокое содержание α-спиралей и что они, вероятно, образуют глобулы, а ***не распределены в виде монослоя на поверхности липидного бислоя***. Неполярные свойства мембранных белков наводили на мысль о наличии гидрофобных контактов между белками и внутренней неполярной областью липидного бислоя. Тогда же были разработаны методы, позволившие выявить текучесть липидного бислоя. Сингер и Николсон свели воедино все эти идеи, создав ***жидкостно-мозаичную модель***. В рамках этой модели мембрана представляется как текучий фосфолипидный бислой, в который погружены свободно диффундирующие белки. Прежняя модель Дэвсона-Даниелли была статичной и успешно объясняла имевшиеся в то время структурные данные, полученные с довольно низким разрешением. В то же время, начиная с 1970 г. большое внимание стало уделяться изучению динамических свойств и их взаимосвязи с мембранными функциями. В последние годы жидкостно-мозаичная модель тоже подвергается модификации, и этот процесс будет продолжаться. В частности, теперь стало ясно, что не все мембранные белки свободно диффундируют в жидком липидном бислое. Имеются данные о существовании латеральных доменов в самой мембране. Тщательно изучается также роль цитоскелета. Становится все очевиднее, что некоторые участки мембран отличаются по своей структуре от классического липидного бислоя. Тем не менее, в обозримом будущем жидкостно-мозаичная модель в ее разных модификациях будет служить в качестве концептуальной основы для многих мембранных исследований.

Основным функциональным компонентом мембраны являются, по-видимому, белки, тогда как роль липидов в составе мембран заключается в стабилизации бислойной

структуры. На заре развития мембранологии полагали, что мембранные белки по своей структуре довольно гомогенны и уложены (как мы уже говорили) по поверхности бислоя в виде β-слоев. Сейчас скорее склонны считать, что, по крайней мере у трансмембранных белков те их участки, которые погружены в мембрану, содержат α-спирали. Конечно, очень хотелось бы сделать какие-то однозначные выводы по этому поводу, но они должны основываться на фактических данных. Перед лицом огромного структурного разнообразия растворимых белков ученые приходят к заключению, что интегральные мембранные белки могут оказаться гораздо сложнее, чем сейчас представляется. Классификация растворимых белков по типам структур была проведена только после того, как установили с высоким разрешением структуру более 100 различных белков. Что касается трансмембранных белков, то это удалось сделать только в одном случае - для белка фотосинтетического реакционного центра бактерий. Вместе с электронно-микроскопическими данными низкого разрешения о структуре бактериородопсина это единственный источник, на котором может основываться построение моделей для большинства других трансмембранных белков.

Еще одним важным моментом является вопрос способов прикрепления белков к мембране. Они схематически представлены на рисунках.





1. Связывание с белками, погруженными в бислой. В качестве примеров можно привести F_1-часть H^+-АТФазы, которая связывается с Fo-частью, погруженной в мембрану; можно упомянуть также некоторые белки цитоскелета.

2. Связывание с поверхностью бислоя. Это взаимодействие имеет в первую очередь электростатическую природу (например, основный белок миелина) или гидрофобную (например, поверхностно-активные пептиды и, возможно, фосфолипазы). На поверхности некоторых мембранных белков имеются гидрофобные домены, образующиеся благодаря особеностям вторичной или третичной структуры. Указанные поверхностные взаимодействия могут использоваться как дополнение к другим взаимодействиям, например к трансмембранному заякориванию.

3. Связывание с помощью гидрофобного "якоря"; эта структура обычно выявляется как последовательность неполярных аминокислотных остатков (например, у цитохрома b5). Некоторые мембранные белки используют в качестве якоря ковалентно связанные с ними жирные кислоты или фосфолипиды.

4. Трансмембранные белки. Одни из них пересекают мембрану только один раз (например, гликофорин), другие - несколько раз (например, лактозопермеаза, бактериородопсин).

Различиями между наружными (или периферическими) и внутренними (или интегральными) мембранными белками не задается способ их прикрепления к бислою; эти различия определяют лишь относительную силу связывания белков.

Мембранные белки – основные участники ключевых процессов по переносу веществ с одной стороны мембраны на другую, созданию трансмембранных градиентов.

Выделяют несколько видов мембранного транспорта: активный, пассивный и везикулярный (цитоз).

1. Активный: когда вещества переносятся через мембрану против концентрационного, электрического и других видов градиентов, на это тратится энергия клеточного метаболизма. Различают первичный активный транспорт и вторичный активный транспорт.

2. Пассивный: вещество без затрат энергии клеточного метаболизма переносится через мембрану в направлении градиента. В его основе диффузия и осмос. Диффузия определяется движением молекулярных частиц по направлению концентрационного градиента. Для скорости диффузии важной величиной является концентрационный градиент. Под действием антидиуретического гормона проницаемость мембраны может возрастать в 10 раз. Осмос был открыт в 1748 г. Офицально считается, что открыл его Жан-Антуан Молле. Изучив особые свойства мочевого пузыря лягушки, он установил, что эта мембрана обладает особым свойством: если по одну сторону чистая вода, по другую растворенные вещества (растворы сахаров). В этих условиях вода начинает активно проникать через мембрану мочевого пузыря в раствор. Осмос заключается в переходе молекул воды через мембрану по направлениям ее концентрационных градиентов до наступления динамического равновесия. Существуют понятия осмотичности и тоничности. Два раствора, в которых создается

одинаковое осмотическое давление по обе стороны мембраны проницаемой только для воды называются изоосмотическими, растворы содержат в единице объема одинаковое число растворенных молекул. Если один из растворов имеет осмотическое давление по отношению к другому, то первый раствор называется гиперосмотически, второй - гипоосмотическим. Тоничность определяется по реакции клеток и тканей на их погружение в раствор; если при погружении в раствор ткань не набухает, не сморщивается, такой раствор называют изотоническим по отношению к ткани. Если при погружении ткань набухает - раствор гипотонический, если ткань сморщивается - раствор гипертонический.

3. Цитоз (везикулярный транспорт) – транспорт с помощью везикул.

Механизм первичного активного транспорта

Энергия в данном случае концентрируется в виде АТФ. Существуют специальные мембранные насосы, их совокупность и определяет интенсивность первичного активного транспорта. Источник энергии - клеточный метаболизм, если отключить источник энергии, то ионы расположатся равномерно, относительно мембраны. Концентрационный градиент направлен внутрь клетки, ионы Na^+ пассивно поступают внутрь клетки. Но концентрационный градиент постоянен, так как ему противостоят Na-насосы, механизм работы которых мы рассмотрим в рамках курса позднее.

Основные особенности первичного активного транспорта:

1. Осуществляется против концентрационного градиента.
2. Система первичного транспорта в высшей степени специфична (Na-система не перекачивает другие ионы).
3. Для его обеспечения необходима молекула АТФ или другие источники энергии (метаболические яды блокируют насос).
4. Обменивает один вид ионов на другой (K-Na насос).
5. Многие виды ионных насосов выполняют электрическую работу, перенося заряды через мембрану (реогенный насос - это насос, при работе которого создается электрический ток).
6. Активный транспорт с помощью ионных насосов избирательно подавляется блокирующими агентами. (Существуют специфические вещества, которые блокируют данный насос, например, уабаин – сердечный гликозид. Это вещество конкурентно блокирует участки, связывающие ионы K^+.)
7. Энергия, необходимая для первично активного транспорта, высвобождается при гидролизе АТФ ферментами, расположенными в мембране. Активность ферментов зависит от концентрации ионов.

Механизм вторичного активного транспорта заключается в переносе веществ через мембрану против концентрационного градиента, обеспечиваемом энергией, которая

высвобождается при переносе другого вещества по градиенту. То, что транспортируется по градиенту, называется симпортом, или ко-транспортом. Пример, транспорт аминокислот или сахаров через биомембраны. Например, в присутствии внеклеточных ионов Na^+ транспорт аланина в клетки осуществляется до тех пор, пока внутриклеточная концентрация Na^+ будет в 7-10 раз больше внеклеточной. Если во внеклеточной среде Na^+ отсутствует, то концентрация аланина внутри клетки не отличается от внеклеточной. Системы антипорта, или контр-транспорта – это система вторично активного транспорта, функционирующая на основе переносчика – обменника, обеспечивающего выведение из клетки транспортирующего вещества против его концентрационного градиента в обмен на сопряженный, пассивно поступающий в клетки поток ионов (Na^+; движущей силой является потенциальная энергия концентрационного градиента ионов Na^+).

Симпорт и антипорт могут, например, осуществляться при всасывании аминокислот из кишечника и реабсорбции глюкозы из первичной мочи. При этом используется энергия градиента концентрации ионов Na^+, создаваемого Na^+, K^+-АТФ-азой.

<u>Механизмы пассивного транспорта через мембраны</u>.

Пассивный транспорт осуществляется главным образом тремя способами:

1. Вещества, находящиеся в водной фазе по одну сторону мембраны, растворяются в липидно-белковом слое мембраны, пересекают его и вновь переходят в водную фазу с противоположной стороны мембраны. Этот механизм осуществляется под влиянием *теплового движения частиц*. Для того чтобы попасть из водной фазы в липидную, молекула должна разорвать все свои водородные связи с водой, на это затрачивается энергия 5 ккал/моль водородных связей. Чем меньше молекула образует водородных связей, тем больше ее шансы проникнуть через мембрану. Этот вид транспорта (*диффузия*) только для незаряженных молекул (H_2O, CO_2, O_2). На подвижность молекулы внутри мембраны будет влиять молекулярная масса и форма молекулы. Но самый главный фактор - это коэффициент распределения. Он определяется экспериментально: берется пробирка, содержащая равные объемы (количества) воды и оливкового масла, затем в нее добавляется исследуемое вещество. Пробирку хорошенько встряхивают, чтобы смесь распределилась по всему объему. Затем определяют концентрацию этого вещества в воде и в масле.

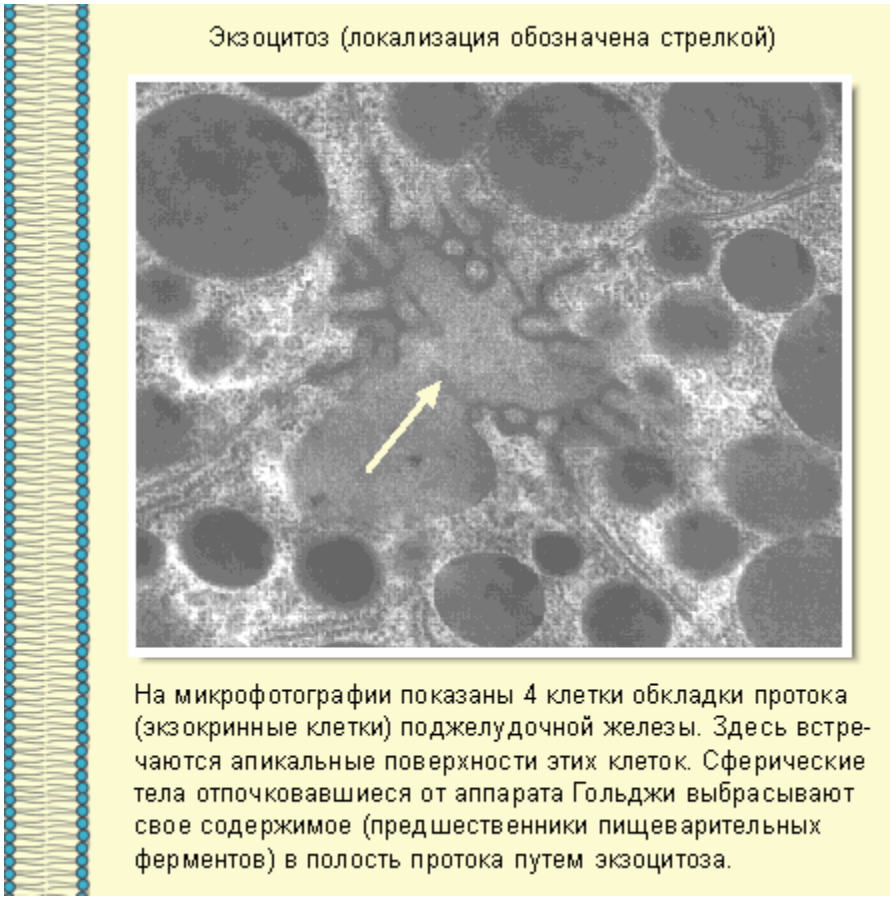
2. Вещества, которые перемещаются *через поры или каналы* мембраны, заполненные водой. Основная масса каналов специфична (пропускает только один вид ионов), другие или не- или частично специфичны, причем каналы заполнены водой. Это доказано экспериментально в наблюдениях на искусственном липидном бислое. Если на его поверхность поместить электролит, то прохождения ионов не наблюдается, если добавить каналообразующие белки, то возникает электрический ток. Каналообразующие белки выделяют из природного сырья, причем они самостоятельно встраиваются в мембрану. В

настоящее время разработаны методы выделения каналообразующих белков. Нистатин - противогрибковый антибиотик, его молекулы представляют собой стержневидные образования, которые могут встраиваться, как в естественные, так и в искусственные мембраны

3. Молекулы транспортируемого вещества соединяются с молекулой переносчиком (транслоказа), встроенным в мембрану и переносчик этот облегчает транспорт (*облегченная или опосредованная диффузия*). Молекулы переносчика всегда жирорастворимы, они ускоряют транспорт веществ по их концентрационному или электрохимическому градиенту. Скорость облегченной диффузии достигает максимума, когда все молекулы переносчика будут заняты транспортируемым веществом. Данный вид транспорта можно ингибировать с помощью химических аналогов транспортируемого вещества.

Подробно механизмы активного и пассивного транспорта мы рассмотрим на следующих лекциях с использованием схем и рисунков.

Везикулярный транспорт происходит путем эндоцитоза и экзоцитоза.



Это вид транспорта, при котором вещества перекачиваются внутрь клетки или из нее внутри маленьких пузырьков или везикул. Жидкие вещества - пиноцитоз, твердые вещества - фагоцитоз. Когда переносятся гормоны или медиаторы, то вначале они взаимодействуют с мембранными рецепторами. Рецепторы обладают способностью к латеральной диффузии, при этом образование комплекса рецептора с лигандом вызывает перемещение этого комплекса в углубление мембраны. Образуется окаймленная ямка. Внутренняя поверхность покрыта особым белком - клатрином, он связывает занятую лигандом молекулу рецептора, затем этот белок участвует в отшнуровывании везикулы от поверхности мембраны. Везикулы разрушаются, но некоторые проходят насквозь, и тогда вещества высвобождаются с другой стороны. Когда везикула разрушается внутри клетки – это эндоцитоз, вне клетки – экзоцитоз. Мембранный материал затем вновь включается в клетку.

Подведем итоги. Все рассмотренные клеточные мембраны отвечают единой структурной модели, но в то же время чрезвычайно разнообразны по строению и функциональным проявлениям. Отражением функциональных характеристик мембран являются их формообразующие, энергетические, информационные и транспортные свойства, которые делают мембрану незаменимым и вездесущим клеточным компонентом. Вероятно, что принятая жидкостно-мозаичная модель будет в ближайшем будущем корректироваться. Эта корректировка затронет прежде всего отдельные структурные кластеры в мембранах, связанные с выполнением определенной функции. Более подробное рассмотрение структуры

таких кластеров (или участков) мембран через призму выполняемой ими функции и будет основной темой наших лекций в рамках курса «Биохимия мембран».

Благодарю за внимание. Пожалуйста, Ваши вопросы.