

MEMBRANELE BIOLOGICE

lector dr. Simionică Eugen

Definiție

- MB sunt structuri supramoleculare alcătuite din lipide și proteine, care delimitează conținutul celular de mediul extern și pot îndeplini mai multe funcții.

Funcțiile

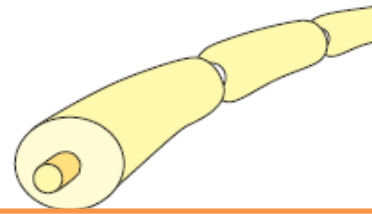
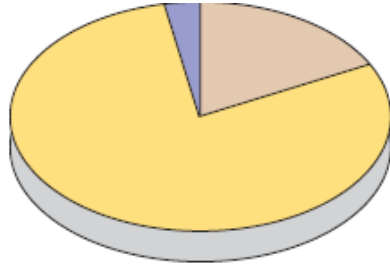
- Delimitarea conținutului unei celule de mediul extern
- Compartimentalizarea - Delimitarea conținutului organelor specializate ale celulei de citozol
- Permeabilitate selectivă a diferitor compuși
- Organizarea unor reacții biochimice
- Recepționarea semnalelor externe și transducția lor
- Transportul soluțiilor, ionilor
- Asigură interacțiunile intercelulare
- Transformările energiei

Compoziția chimică

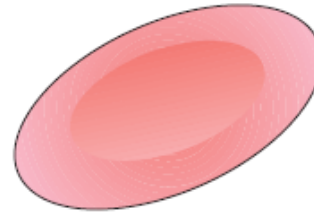
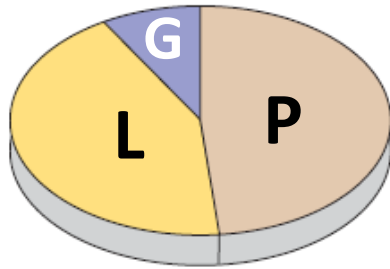
- Lipide 30-50%
- Colesterol 20% (e.g. eritrocite 25%)
- Proteine 30-50%
- Glucide 5-15%

Cantitatea lor variază în dependență de tipul membranei

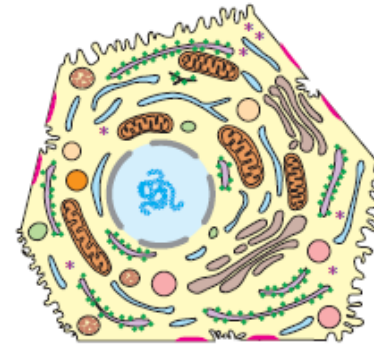
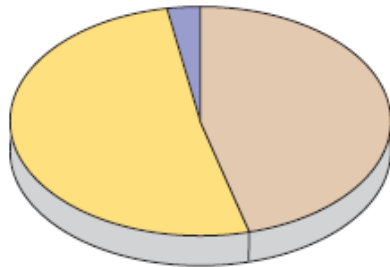
Exemple de compoziție a unor membrane în dependență de tipul celulei



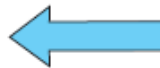
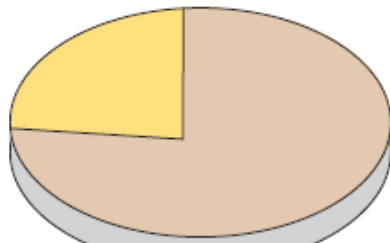
NEURON



ERITROCIT



HEPATOCIT



MITOCONDRIE
Membrana internă

Lipid	Erythrocyte ⁱ
Cholesterol	25
PE	18
PC	19
Sphingomyelin	18
PS	9
PG	0
CL	0
PI	1
Glycosphingolipid	10
PA	—

Lipidele

- Fosfolipide
- Glicolipide
- Colesterol

Fosfolipidele

- Glicerofosfolipide
- Sfingofosfolipide

Glicerofosfolipidele

- Fosfatidilcolina (lecitinele)
- Fosfatidiletanolamina (cefalinele)
- Fosfatidilserina
- Fosfatidiliozitolii
- Cardiolipinele

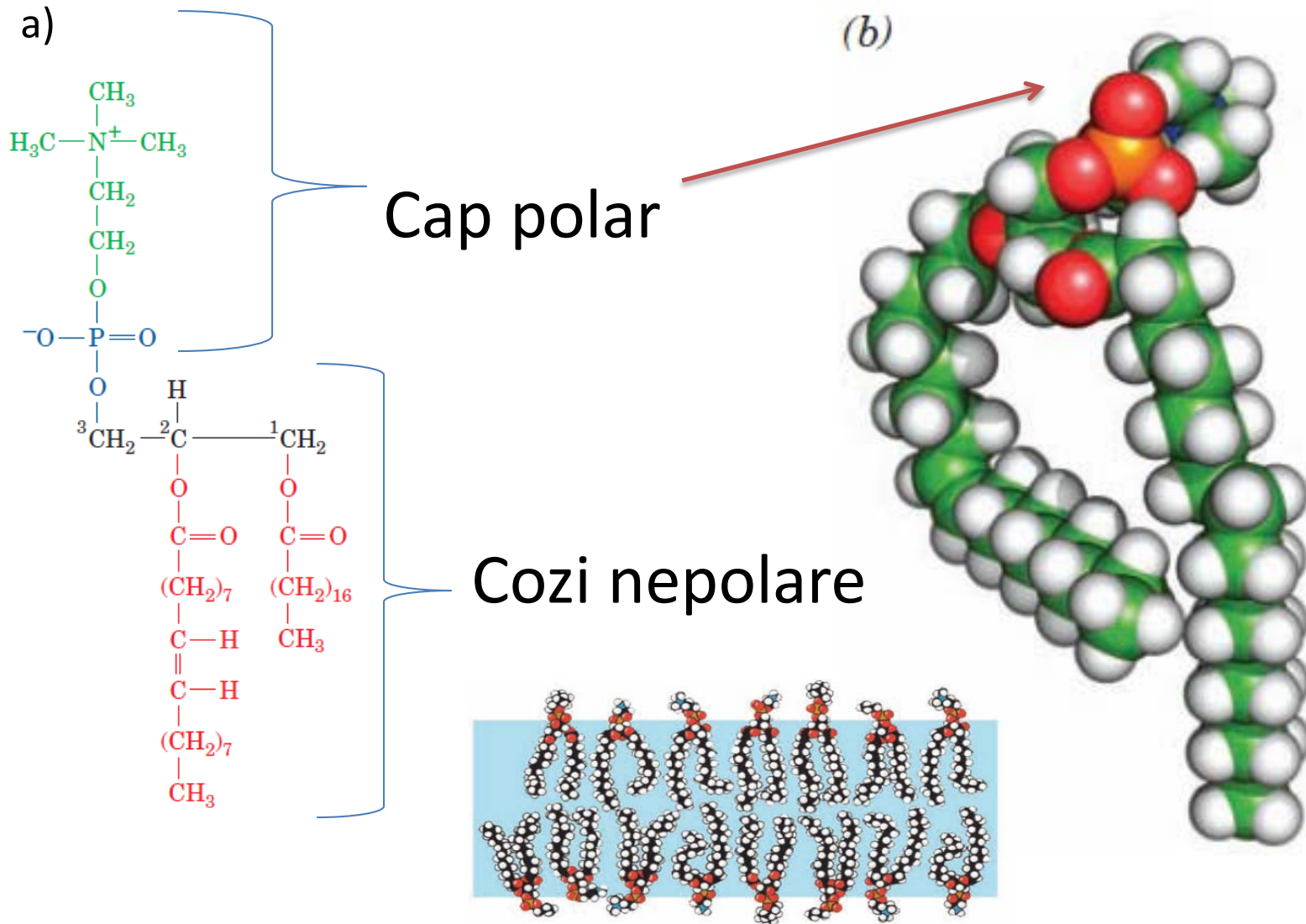
Rolul : formarea bistratului lipidic

leagă covalent unele proteine

pot servi ca sursă de mesageri secundari în
transmiterea semnalului unor hormoni

pot semnala declanșarea apoptozei

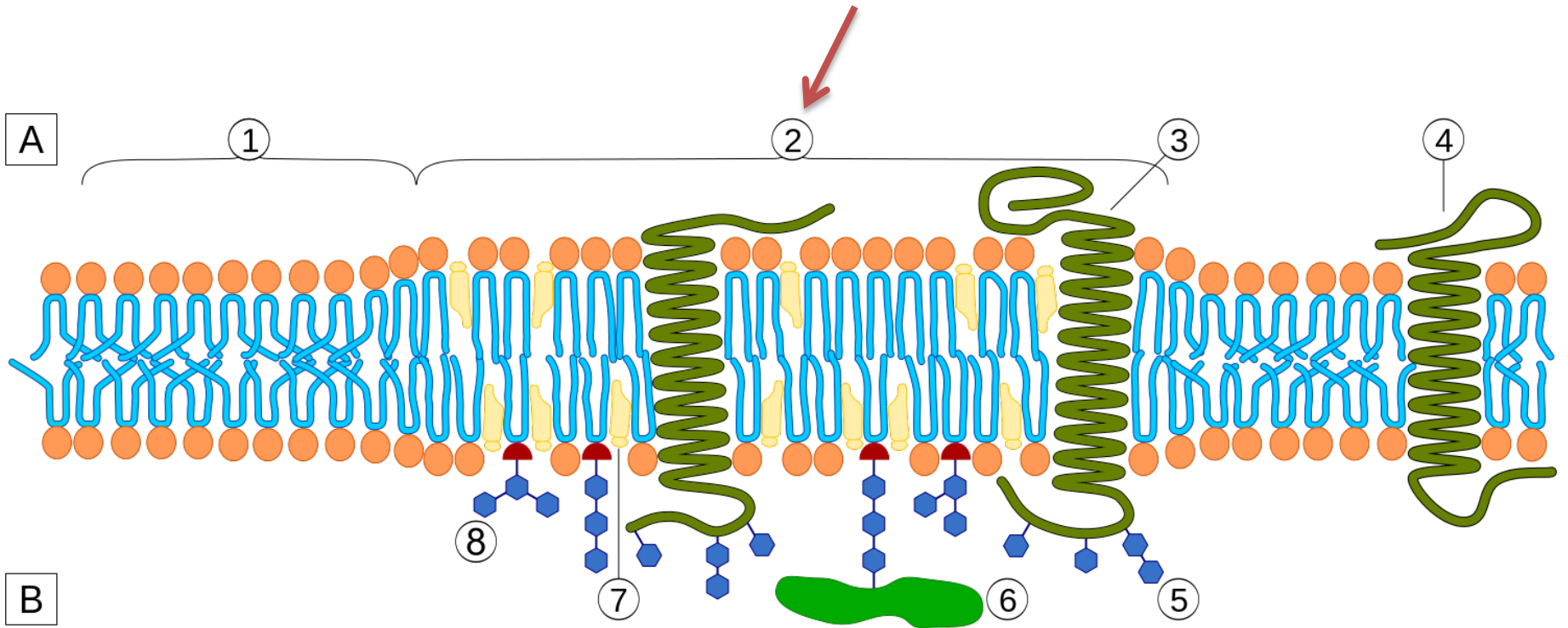
Proprietatea amfifilă a fosfolipidelor și formarea bistratului lipidic



Sfingofosfolipidele

- Sfingomielinele 10-20%
- Intră în componența tecii mielinice a axonilor cu rol de izolatori electrici
- Participă în numeroase căi de semnalare prin eliberare de DAG și ceramidă
- Implicate în apoptoză prin eliberare de ceramidă
- Alcătuiesc pontoanele lipidice – combinații lipidice rigide asociate cu proteine

Ponton lipidic



Glicolipide

- Cerebrozide
- Gangliozone

Cerebrozidele

- Galactocerebrozide
- Glucocerebrozide

Galactocerebrozide

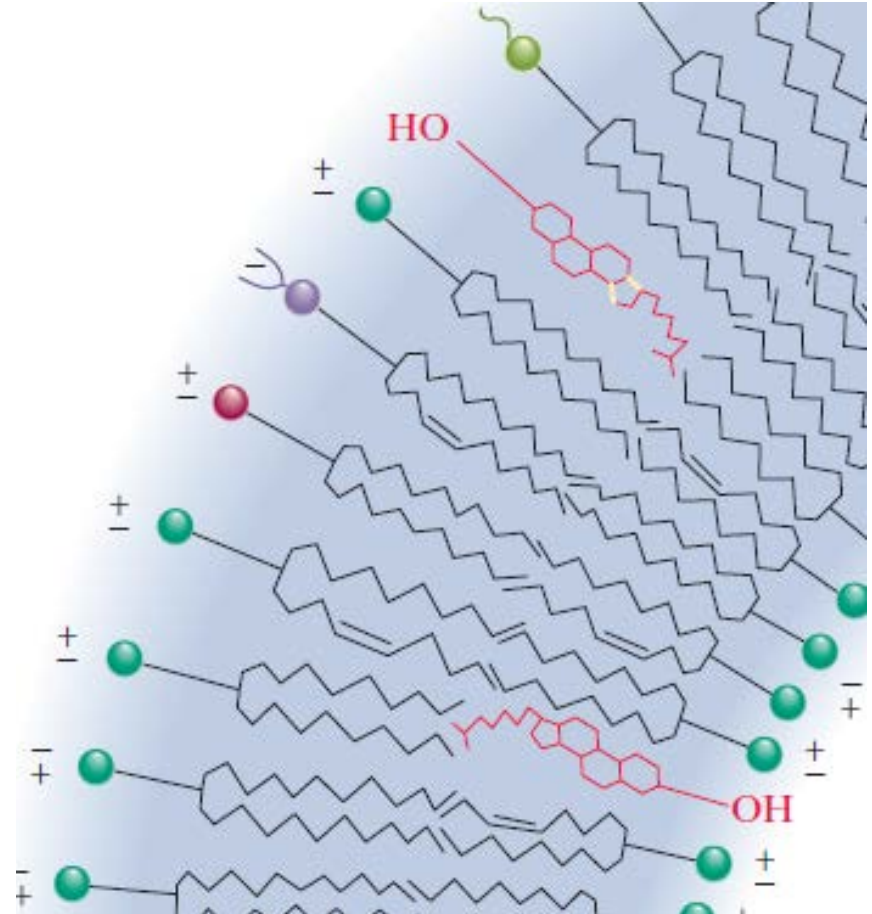
- Principale componente ale membranelor celulelor nervoase, în special creier
- 2% în substanța cenușie și 12 în cea albă
- În teaca mielinică, oligodendrocite
- Au rol în organizarea pontoanelor lipidice datorită gradului înalt de a forma legături de hidrogen intermoleculare
- În combinație cu colesterolul formează situsuri de legare a proteinelor, receptorilor

Glucocerebrozidele

- Predomină în membranele eritrocitelor, celulelor splinei, pielii, mai puțin în țesutul nervos
- Îndeplinesc funcții comune glicolipidelor

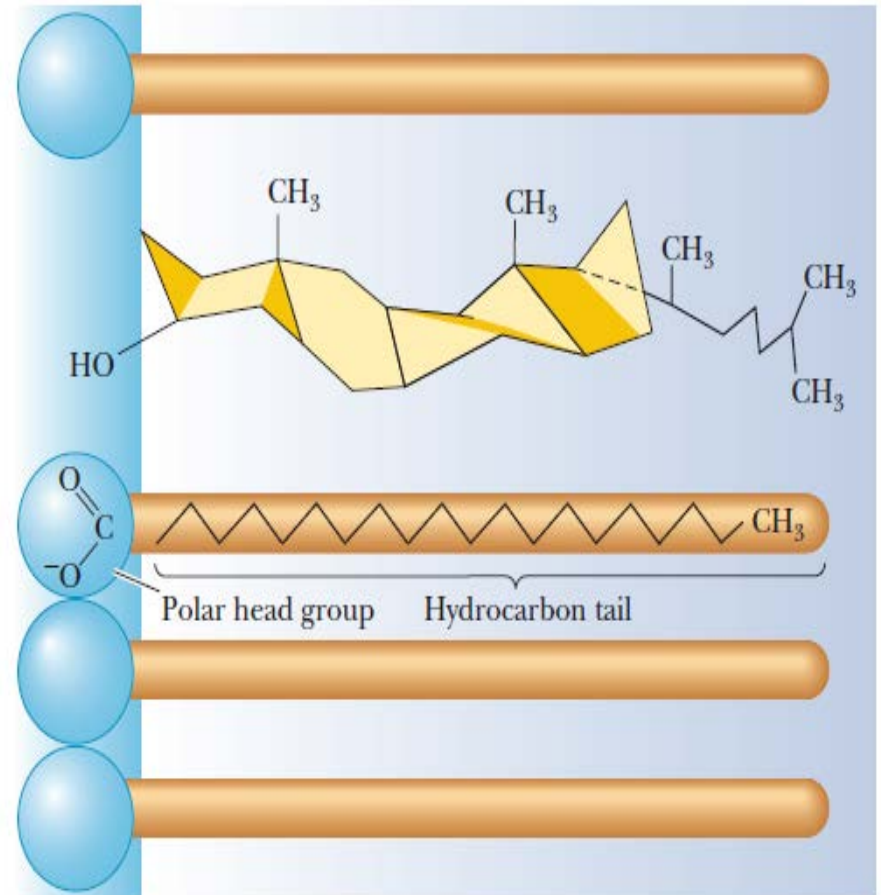
Localizarea colesterolului în membrane

- Datorită moleculei rigide se localizează printre cozile hidrocarburice nepolare ale acizilor grași, preponderent nesaturați

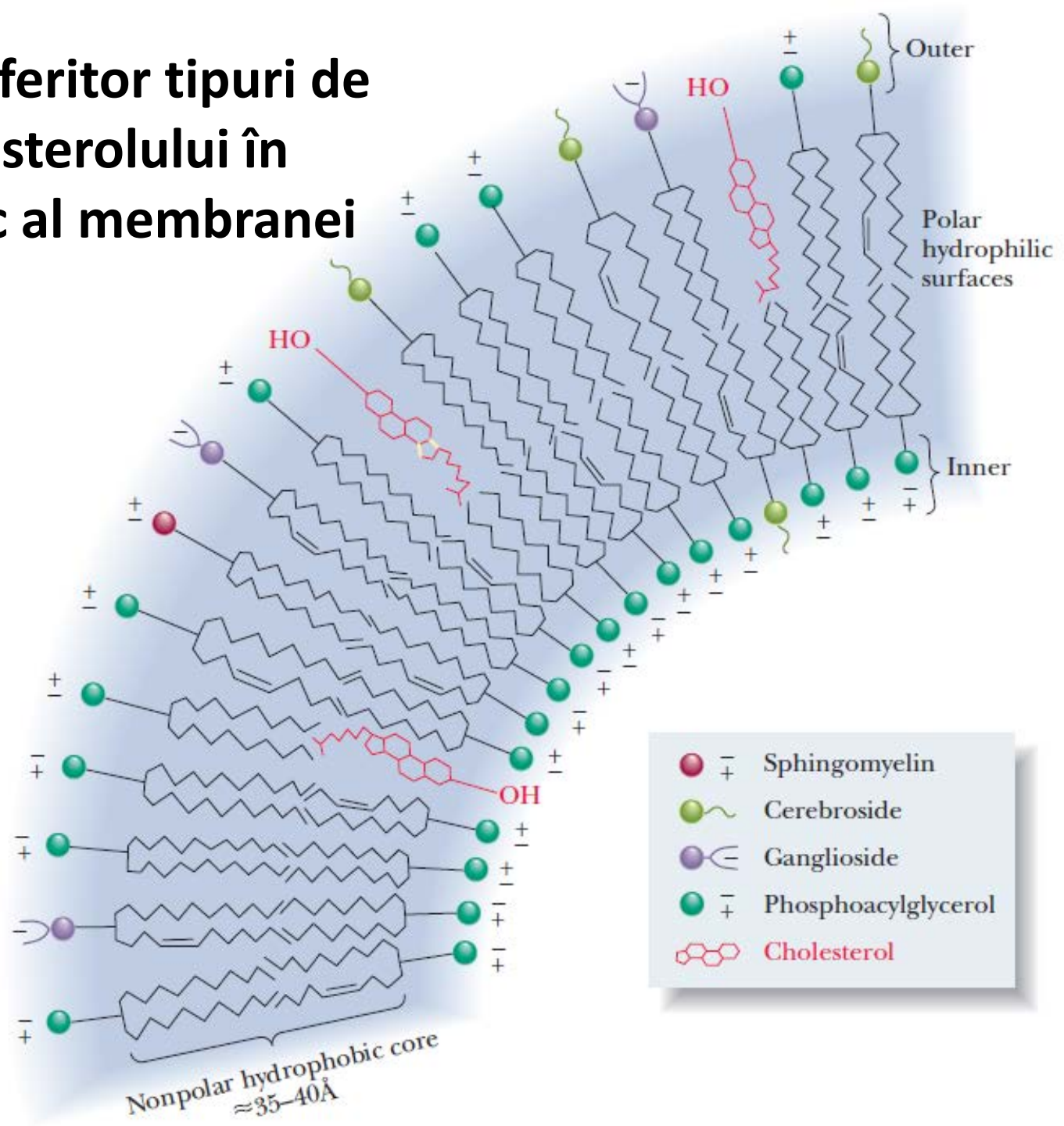


Rolul colesterolului în membrane

- Ridică gradul de ordine și rigiditate
- Stabilizează cozile acizilor grași saturați menținându-le într-o poziție dreaptă prin interacțiuni van der Waals
- Ca rezultat membranele devin mai rigide, rezistente la lovituri



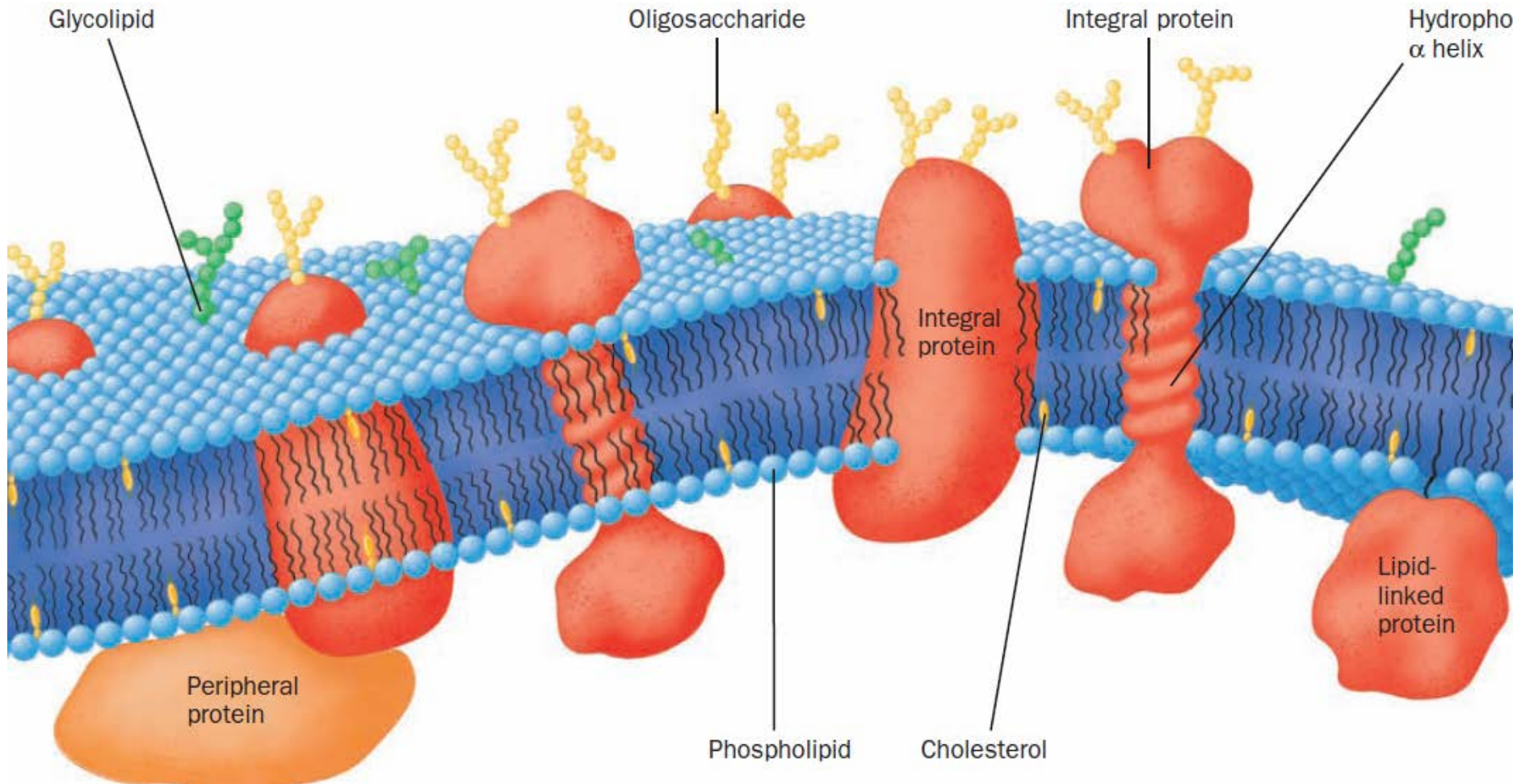
Organizarea diferitor tipuri de lipide și a colesterolului în bistratul lipidic al membranei



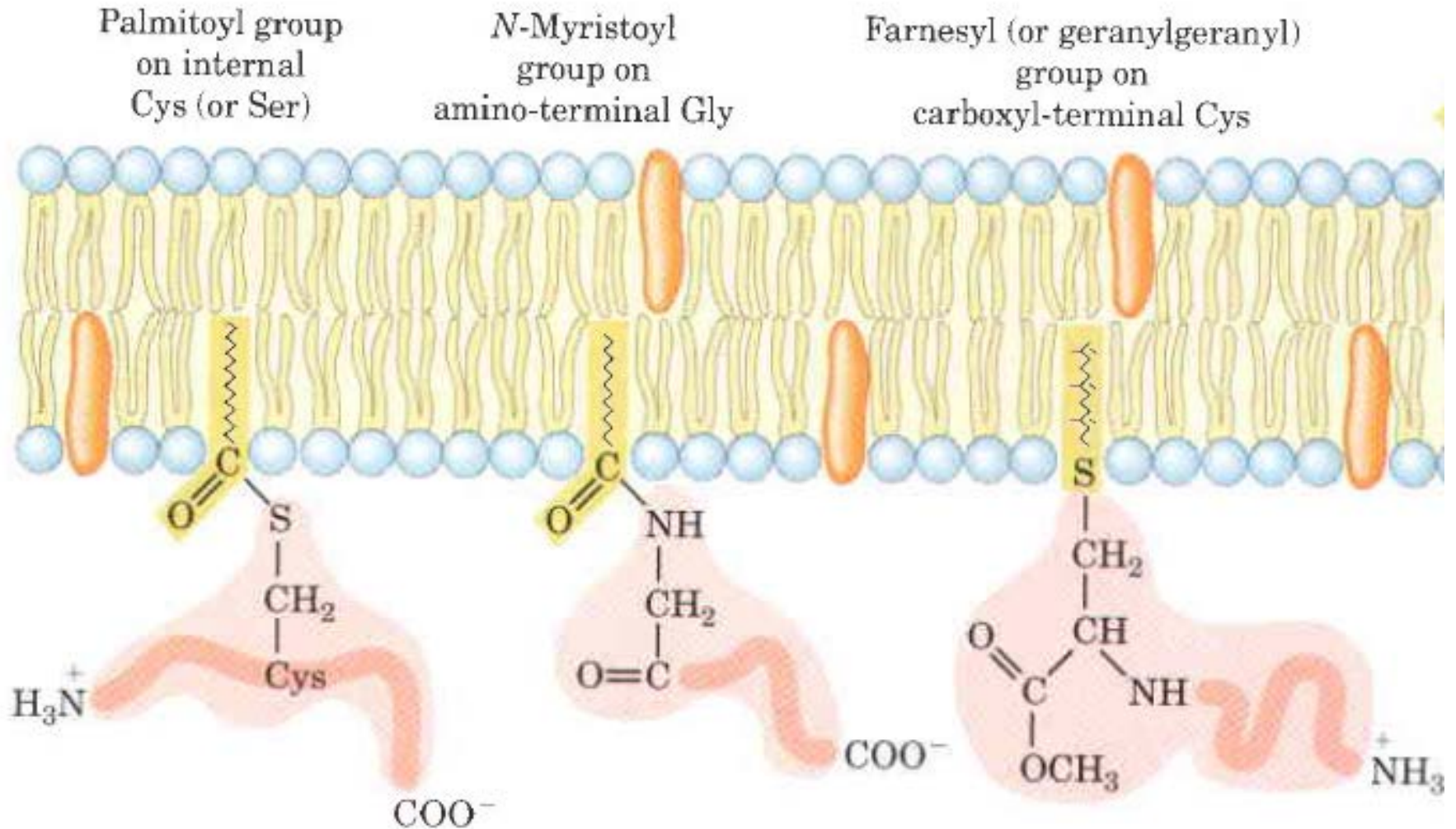
Proteinele

- Pot fi localizate în bistratul lipidic periferic sau integrate în el
- Proteinele periferice se leagă de lipidele polare prin legături ionice sau interacțiuni polare
- Pot fi ușor separate cu detergenți
- Proteinele integrale sunt mai puternic legate prin numeroase interacțiuni hidrofobe datorită structurii lor de α -helix sau β -structuri
- Unele proteine sunt legate covalent de lipidele bistratului

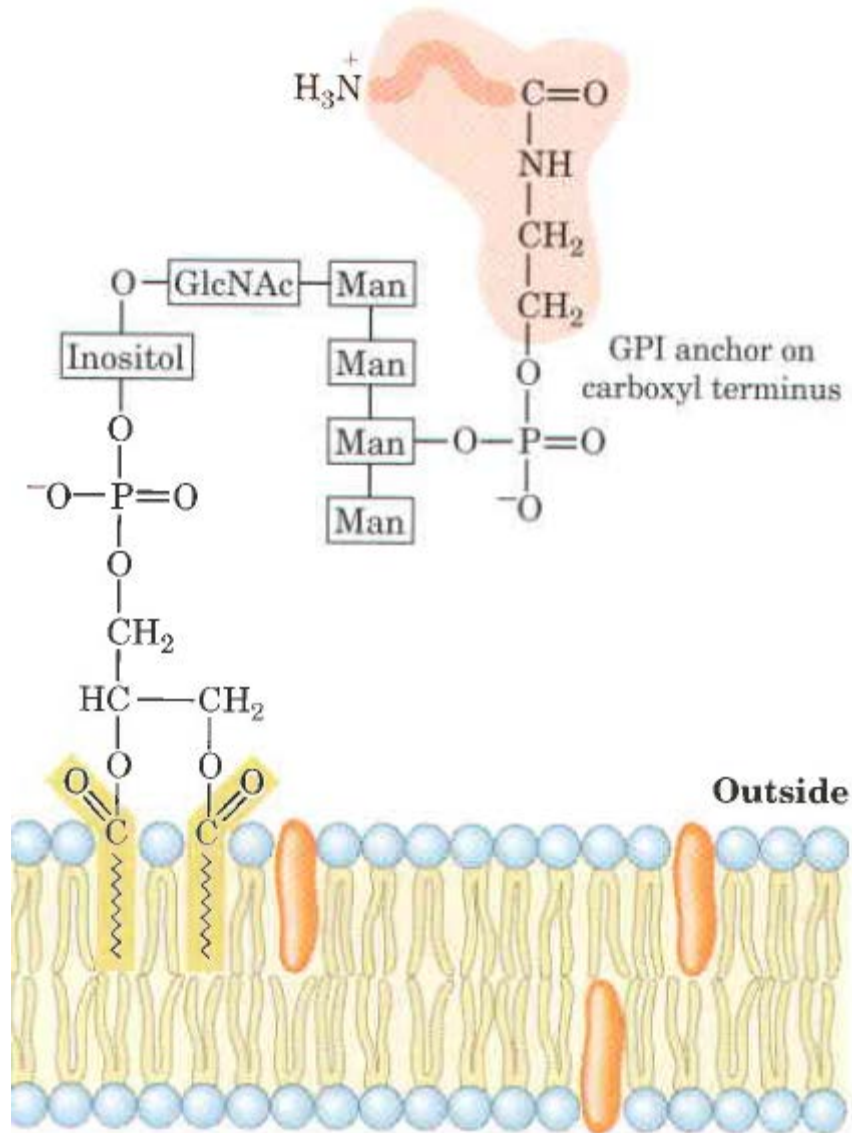
Organizarea proteinelor membranare



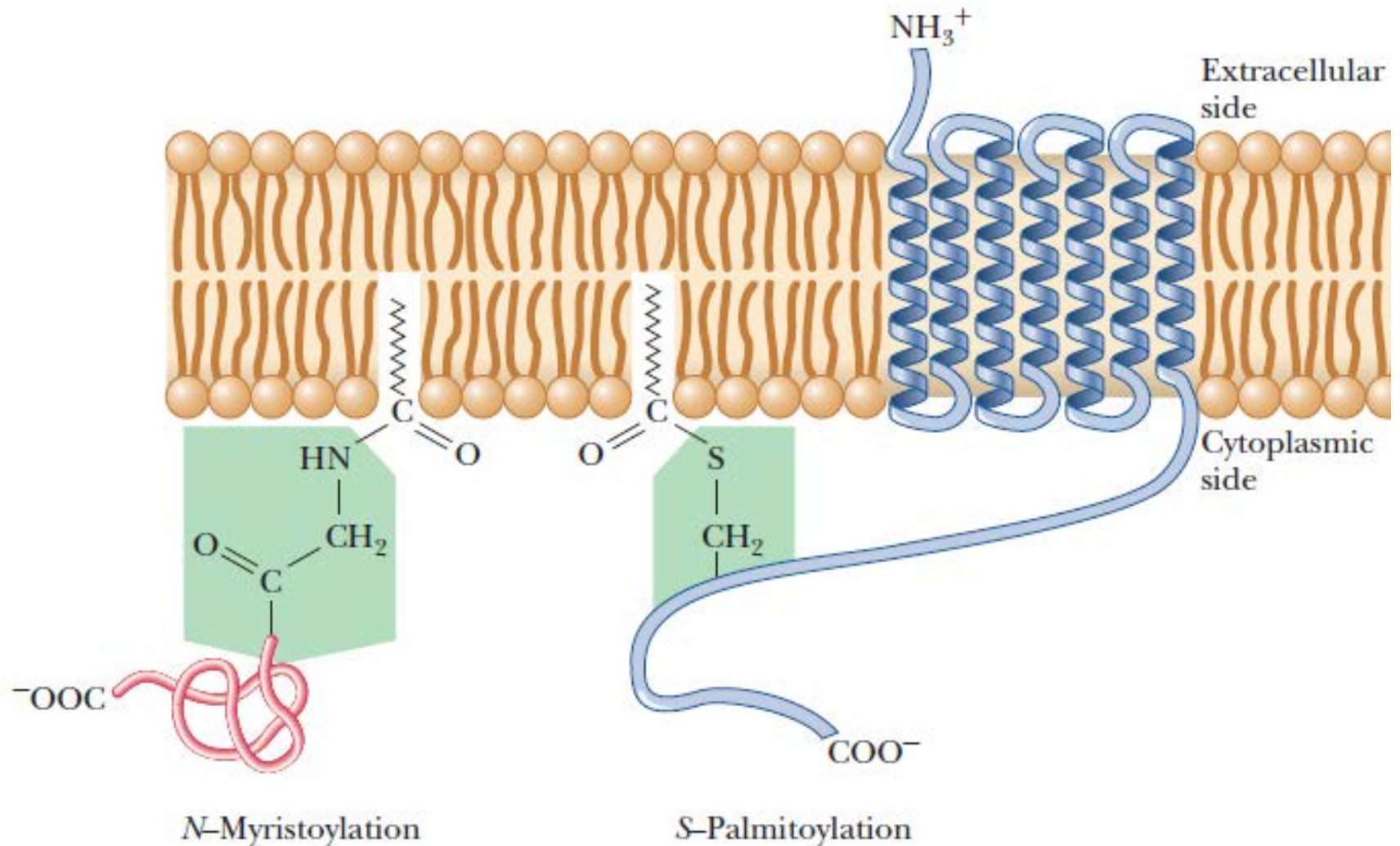
Proteine membranare legate covalent cu acizi grași



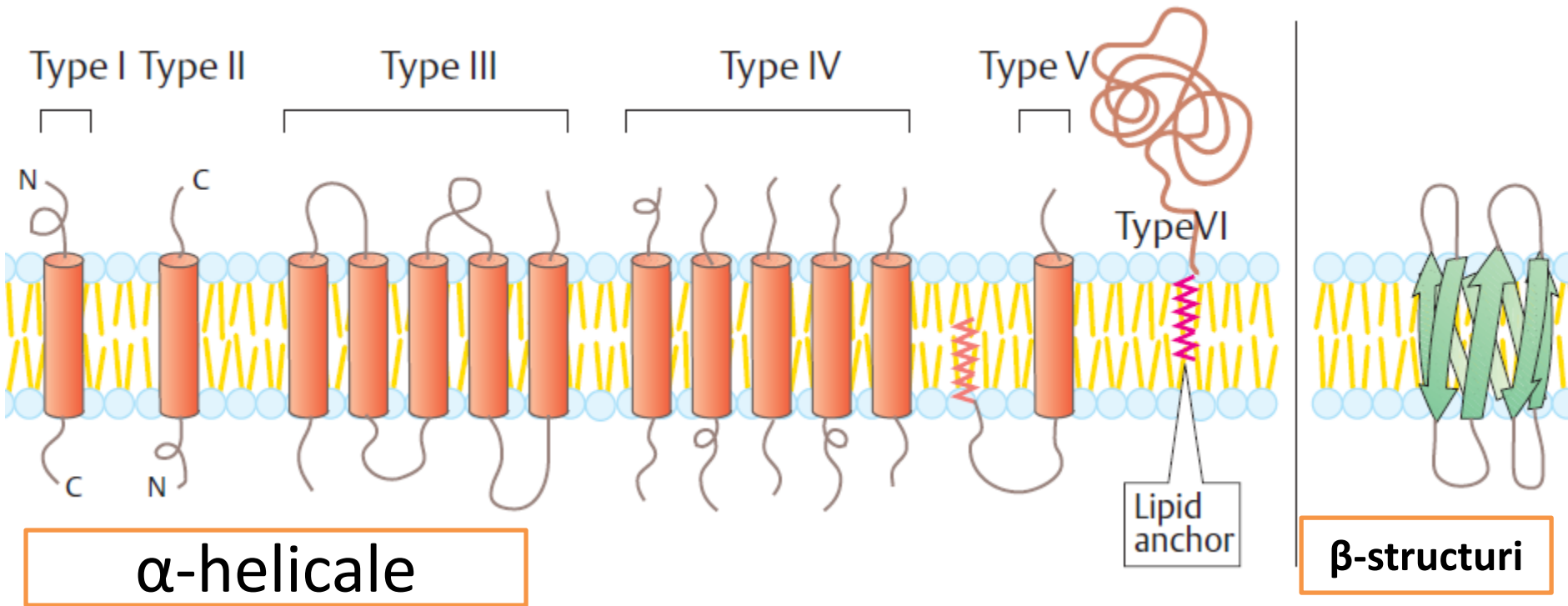
Proteine GPI-linkate



Proteine membranare legate covalent cu acizi grași



Clasificarea structurală a proteinelor membranare



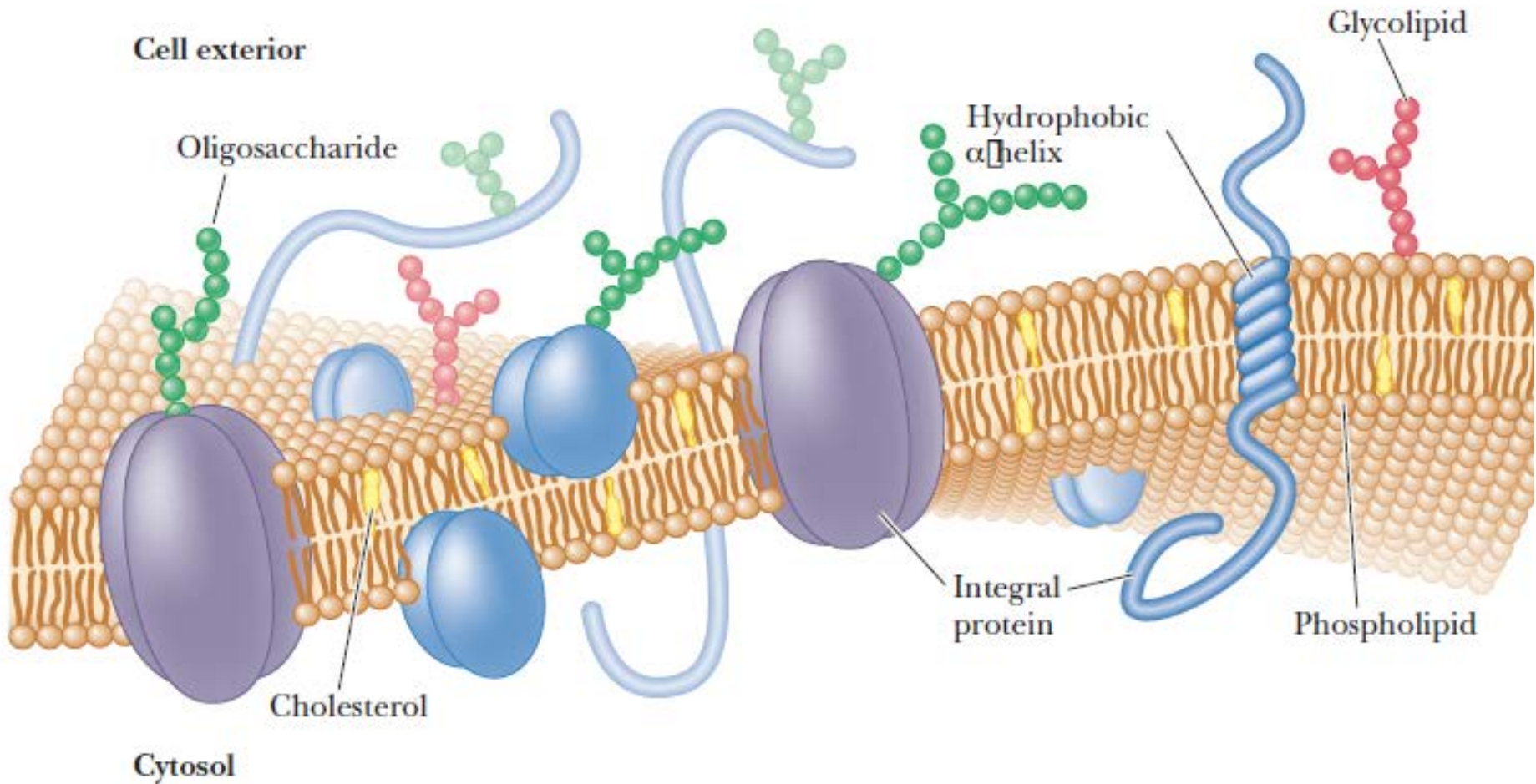
Rolul proteinelor membranare

- Proteine transportatori
- Proteine receptori

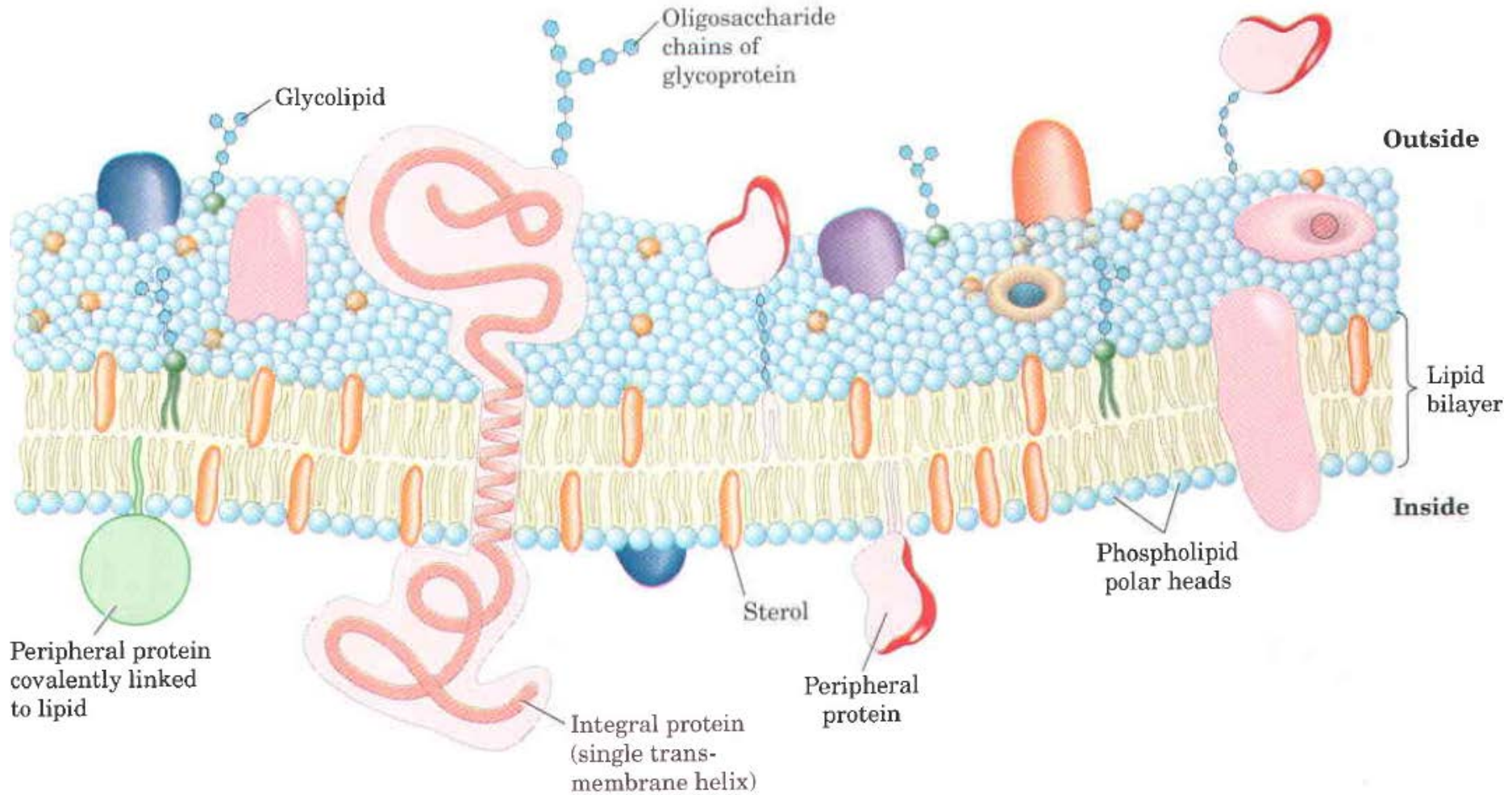
Organizarea structural-funcțională a membranelor

- Este descrisă de modelul fluid-mozaical
- Componentele membranei sunt strâns asociate între ele fără a interacționa chimic
- Modelul descrie membrana ca un bistrat lipidic în care sunt integrate proteinele care 'plutesc' prin el

Modelul fluid-mozaical



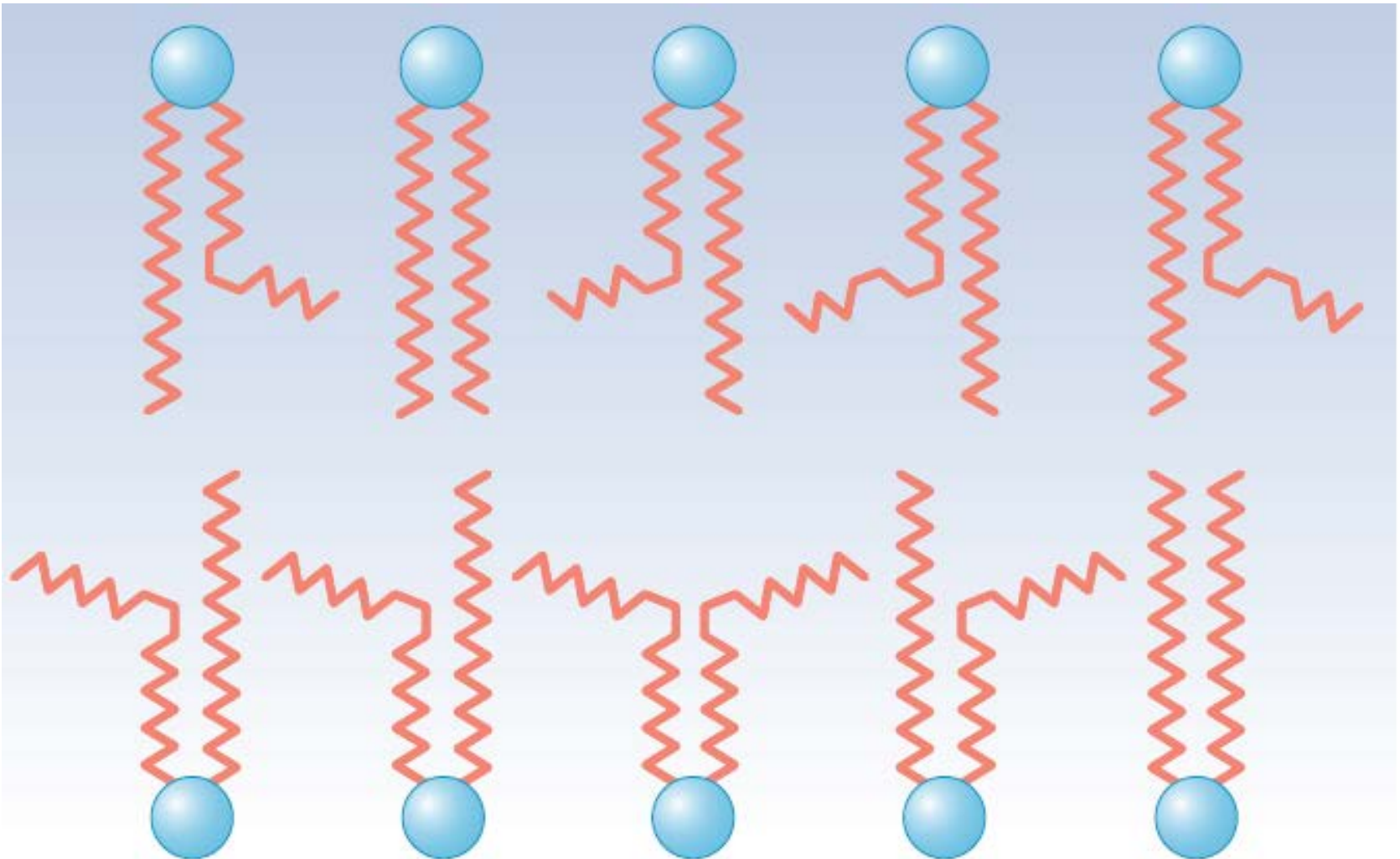
Modelul fluid-mozaical



Proprietățile membranelor biologice

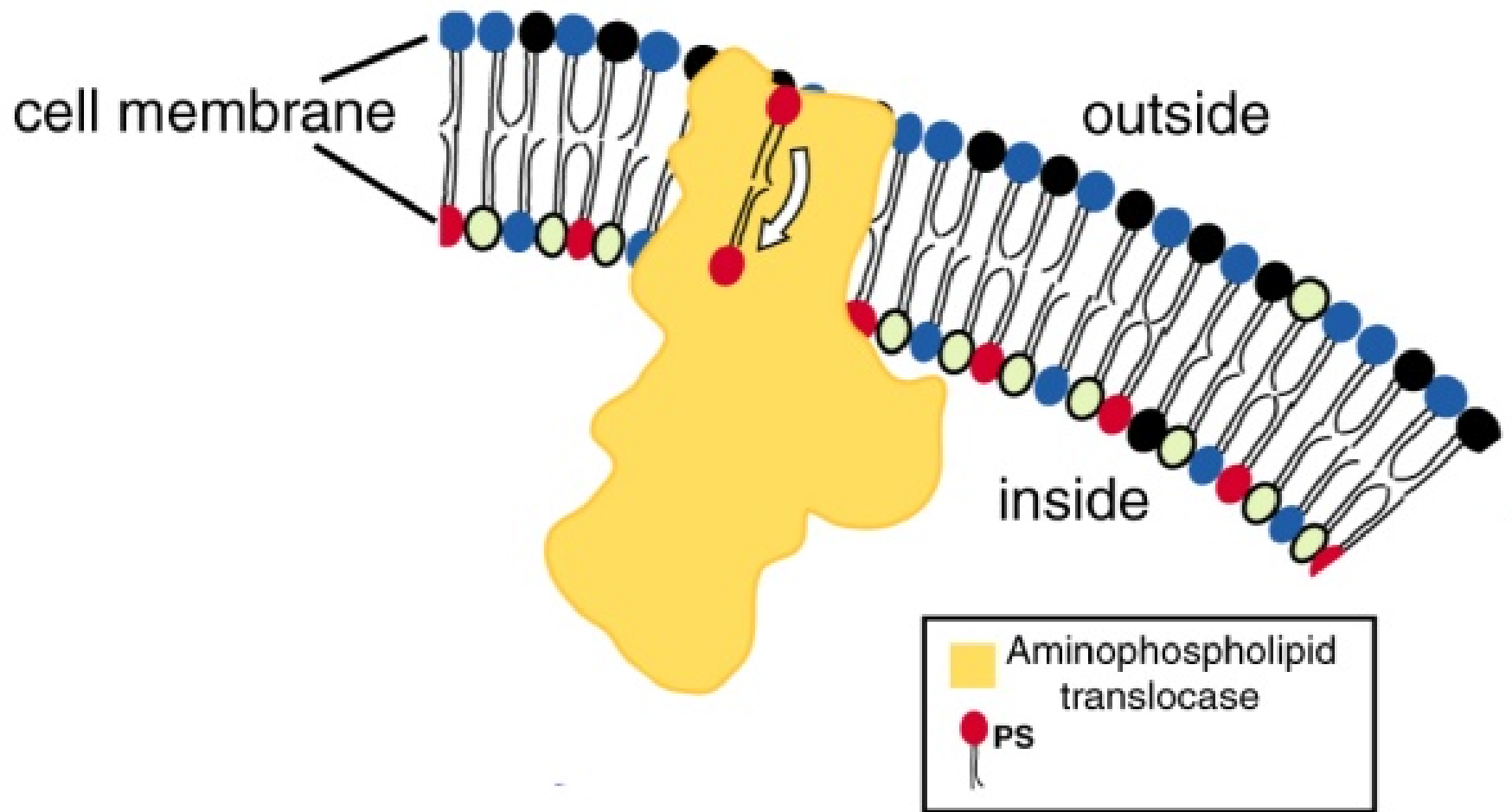
- Fluiditatea
- Motilitatea
- permeabilitatea selectivă
- Asimetria
- Autoasamblarea
- autorepararea

Importanța acizilor grași nesaturați în organizarea fluido-cristalină a membranei



Distribuirea asimetrică a fosfolipidelor în membrane

- Lipidele sunt distribuite asimetric pe ambele fețe ale bistratului
- asimetria, este un efect, un rezultat al perceperii sau răspunsului la diverși factori cu care contactează membrana
- Asimetria este asigurată de niște enzime – **transportori ai lipidelor membranare (LT)**
- Se disting cel puțin trei grupe de transportori LT: **aminofosfolipid translocazele (flipazele), flopazele și fosfolipid scramblazele**



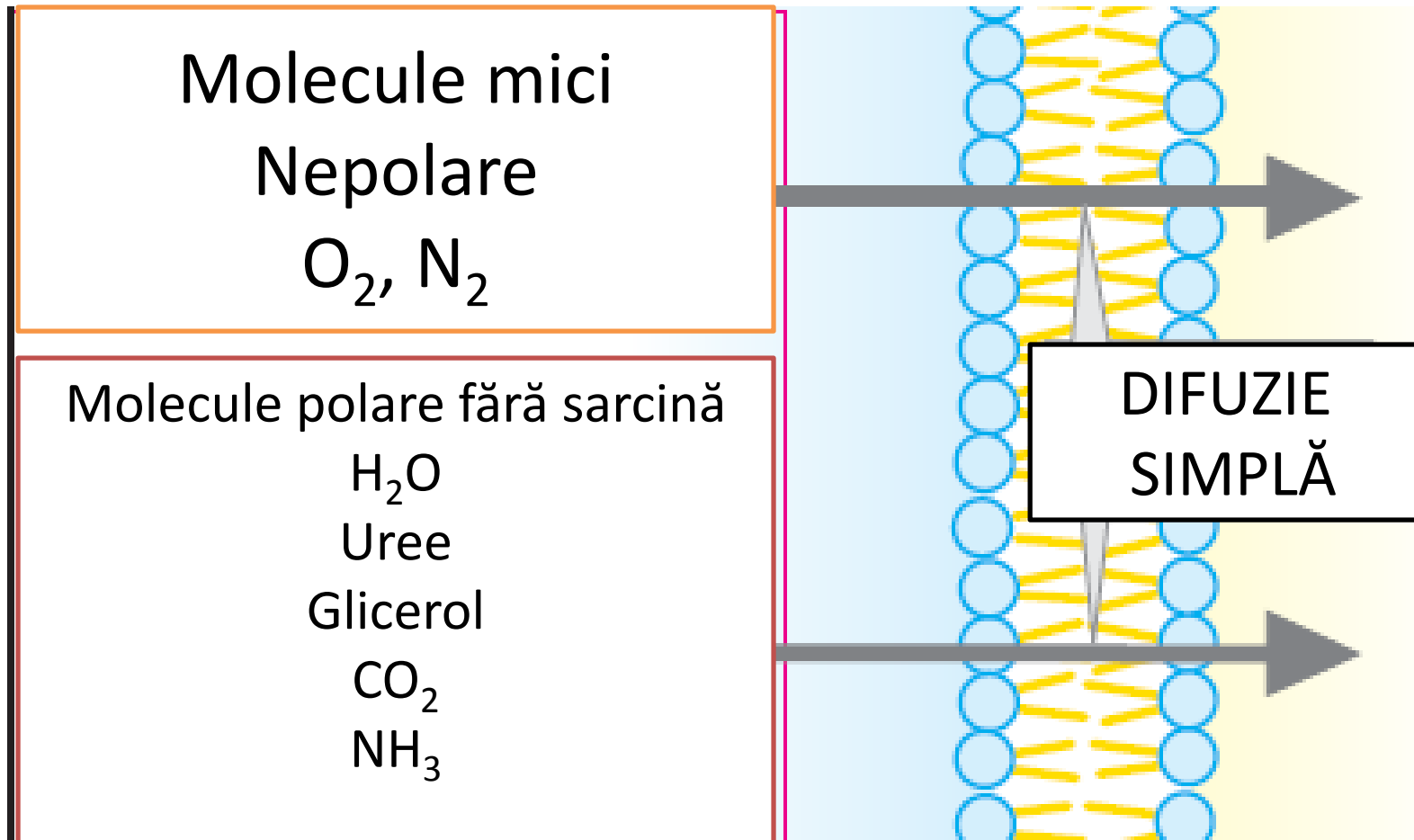
Diversitatea și specificitatea structurală și funcțională a membranelor

- Membrana citoplasmatică
- Membranele simple ale organitelor celulare
- Membranele duble ale organitelor celulare
- Membrane specializate pentru protecție, transport, generare de curent electric, transformare a diferitor tipuri de energie, membrane cu rol în respirație, oxidarea și sinteza diferitor compuși

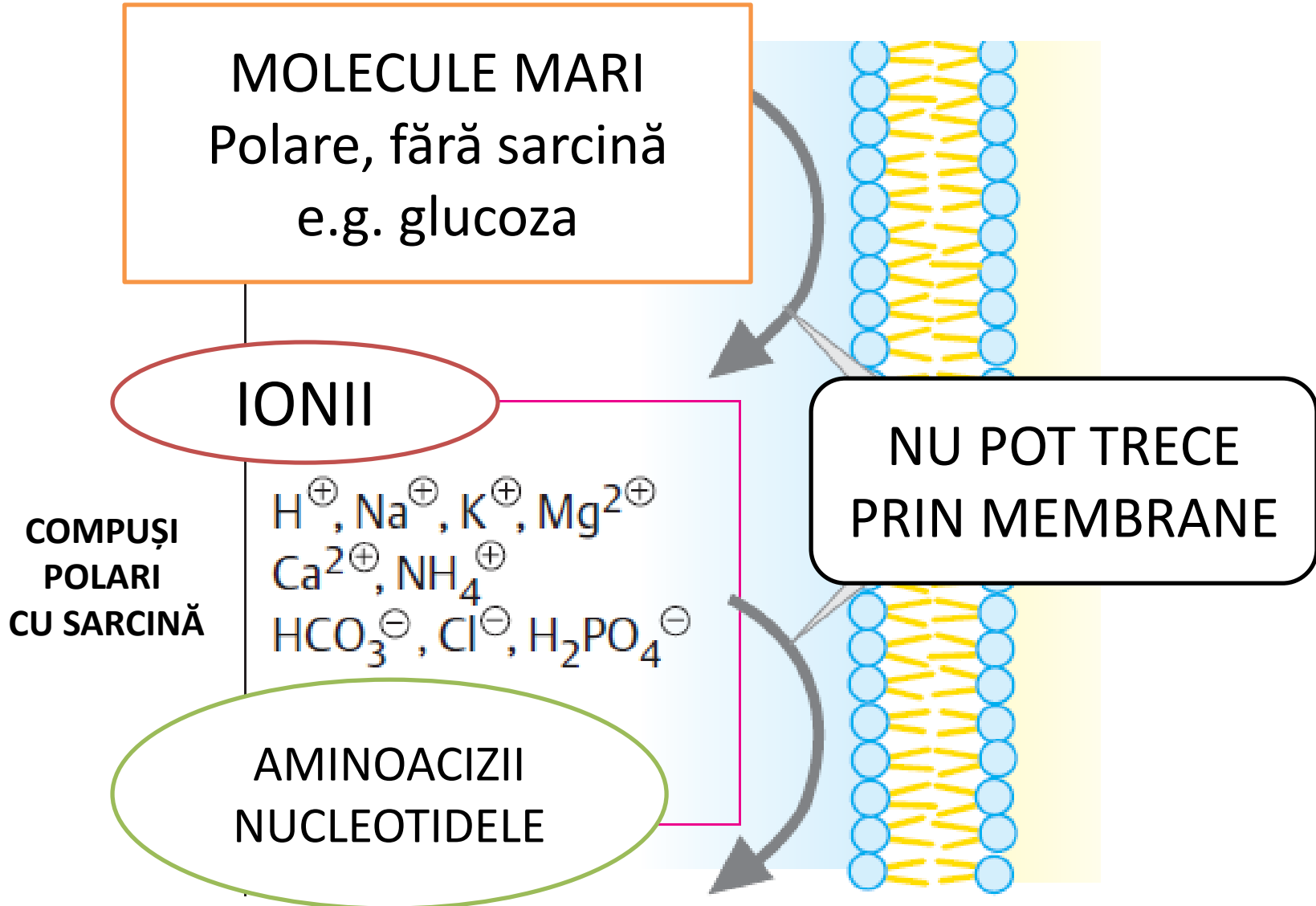
Transportul membranar

- transportul membranar asigură pătrunderea selectivă a diferitor compuși necesari celulei dar și a medicamentelor
- poate fi asigurat prin difuzie, canale sau transportatori.
- Defectele în transportul membranar este asociat cu unele patologii ca fibroza cistică, nefropatii, dereglări neurologice, rezistență la medicamente, senescență precoce

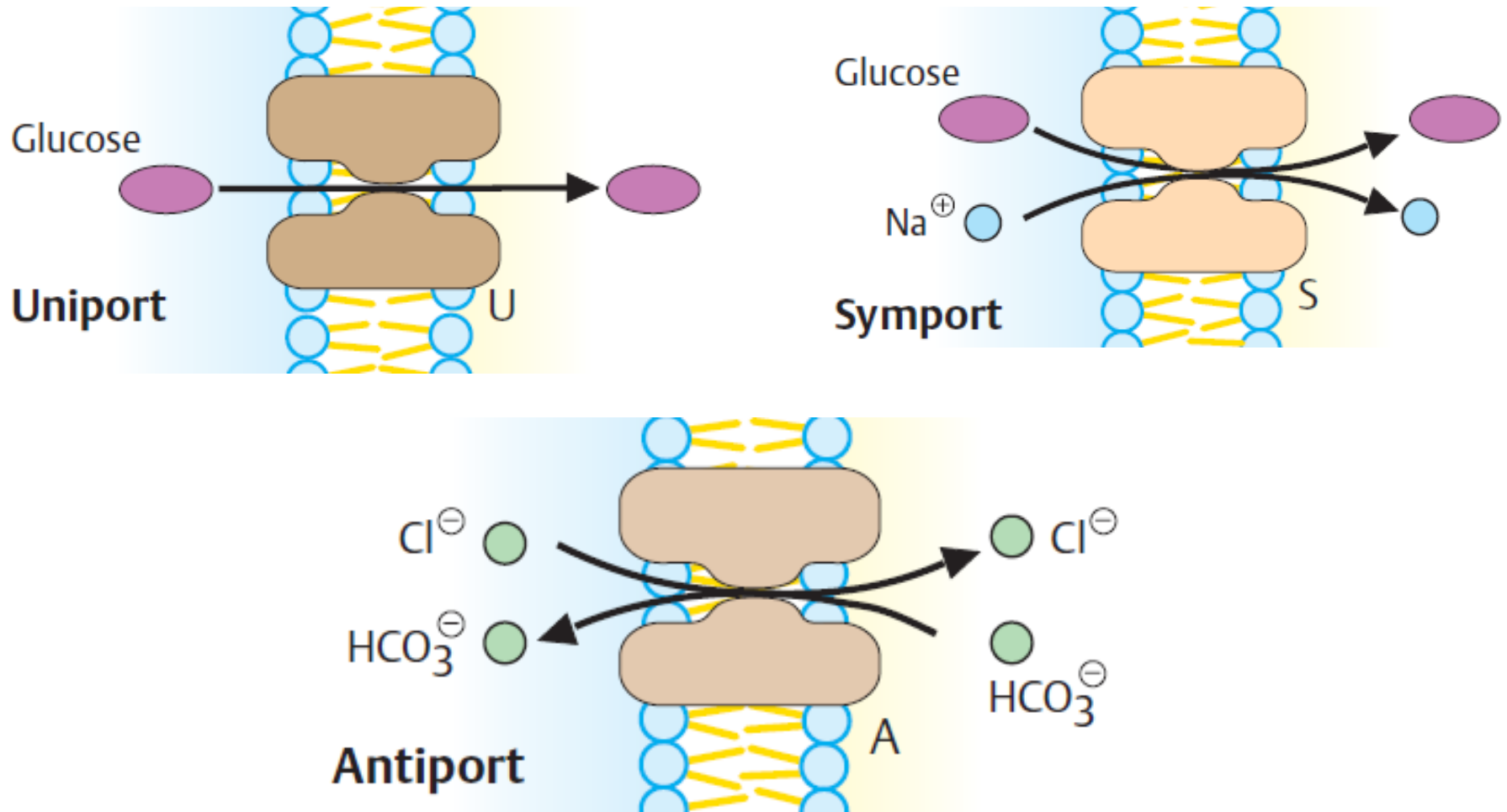
Molecule permeable



Molecule impermeabile



Tipuri de transport



Canalele membranare

Se disting două tipuri de canale:

- tip alfa și
- tip beta

Canale de tip alfa

- sunt proteine homo- sau hetero-oligomere care conțin segmente transmembranare alfa-helicale.
- La canalele membranare de tip alfa fac parte:
canalele voltaj-dependente specifice pentru
ionii Na, K, Ca, Cl;
aquaporinele
canalele agonist sau ligand-dependente
canalele cAMP-dependente

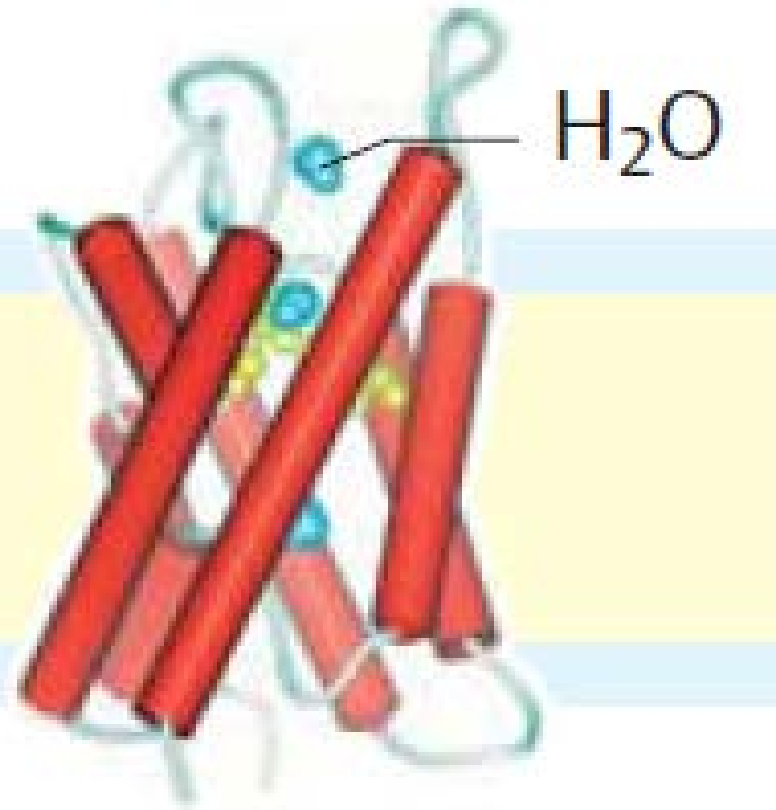
Aquaporinele de tip 1 din rinichi

Tubular
lumen

H₂O

Plasma
membrane

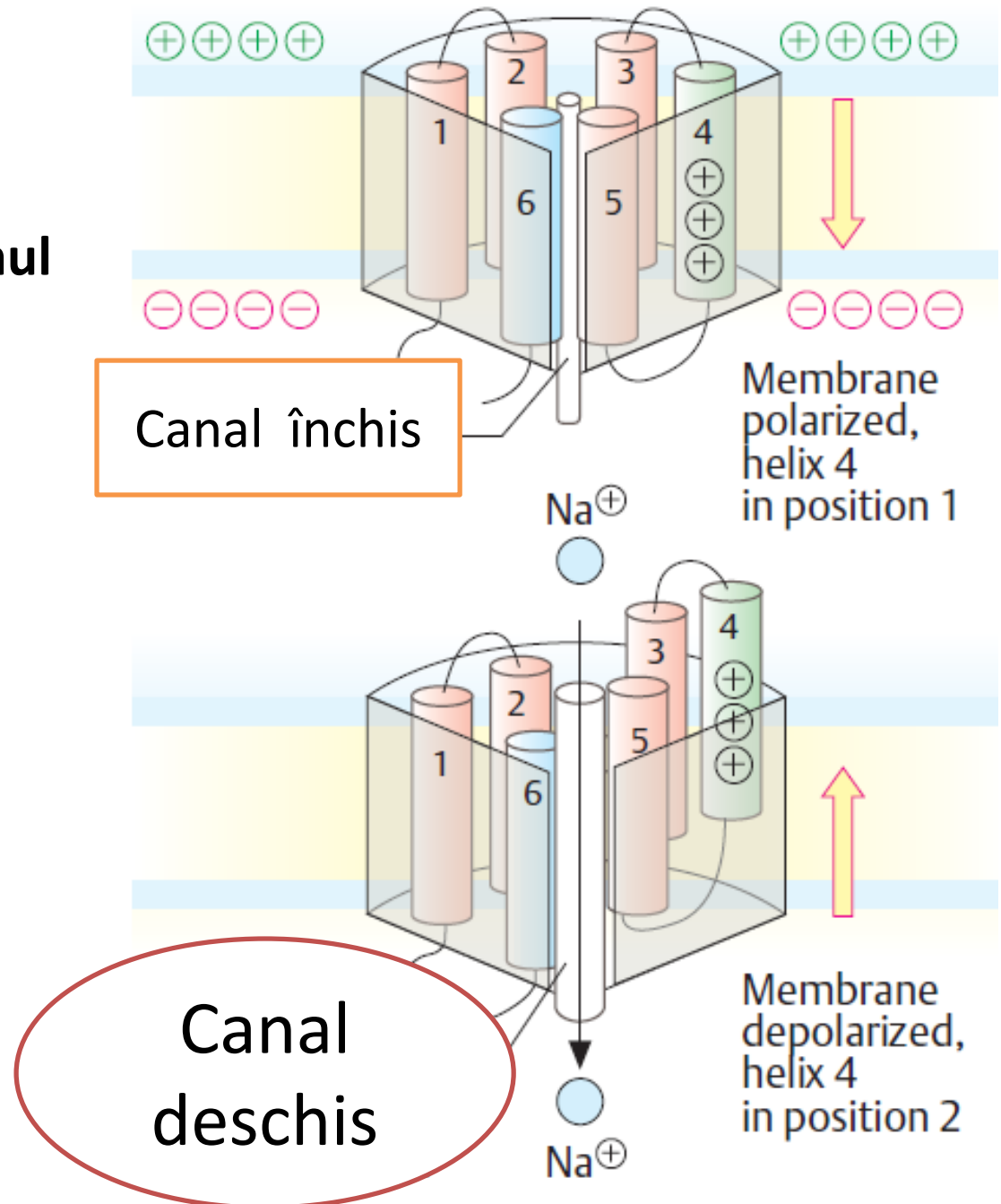
Tubule cell



Aquaporin-1

- Aquaporins help water to pass through biological membranes.
- They form hydrophilic pores that allow H₂O molecules, but not hydrated ions or larger molecules, to pass through.
- Aquaporins are particularly important in the kidney, where they promote the reuptake of water.
- Aquaporin-2 in the renal collecting ducts is regulated by **antidiuretic hormone (ADH, vasopressin)**, which via cAMP leads to shifting of the channels from the ER into the plasma membrane.
- Aquaporin-1, shown here, occurs in the proximal tubule and in Henle's loop. It contains eight transmembrane helices with different lengths and orientations.

**Structura și mecanismul
de funcționare
a unui canal
voltaj-dependent
pentru ionii de Na**



Voltage-gated Na⁺ channels

- play a decisive part in the conduction of electrical impulses in the nervous system
- These channels open when the membrane potential in their environment reverses.
- Due to the high equilibrium potential for Na⁺, an inflow of Na⁺ ions takes place, resulting in local **depolarization of the membrane, which** propagates by activation of neighboring voltage-dependent Na⁺ channels.
- A spreading depolarization wave of this type is known as an **action potential**.
- **Externally directed** K⁺ channels are involved in the repolarization of the membrane.

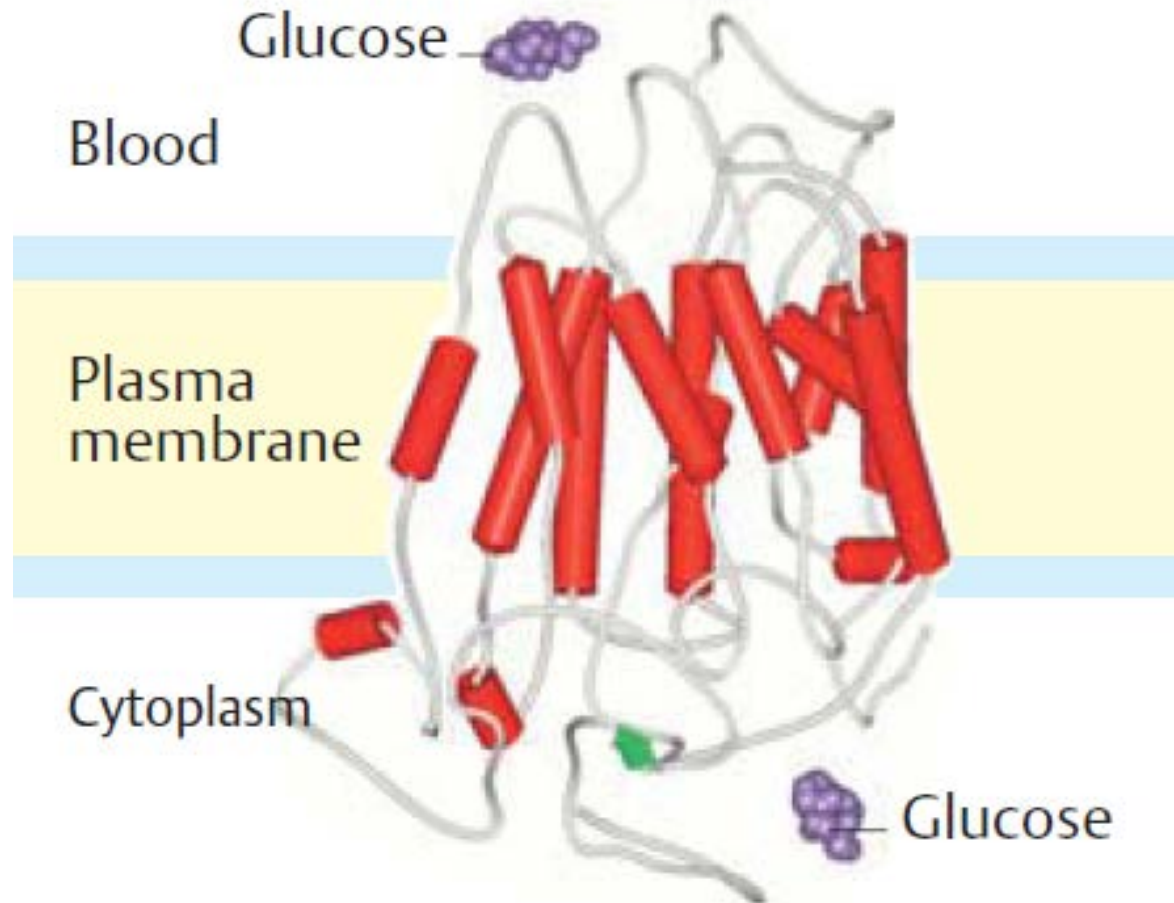
Canale de tip beta sau porinele

- sunt proteine ce conțin secvențe de beta-structuri transmembranare ce formează un cilindru cu diametrul de la 0.6 – 3 nm
- Acest tip de canale sunt mai mult prezente în membrana externă mitocondrială, în membranele unor bacterii
- Permit trecerea diferitor tipuri de molecule de la ioni anorganici până la proteine.

Transportorii membranari

- prezintă un grup de proteine transmembranare foarte divers după structură, specificitate și funcții
- au un grad foarte înalt de specificitate structurală și chiar stereospecificitate față de moleculele pe care le transportă
- De exemplu, transportorul pentru D-glucoza în eritrocite are o afinitate de 10 ori mai mică pentru D-galactoză și de 1000 ori mai mică pentru L-glucoză.

Transportorul pentru glucoză GLUT1



Se disting 4 etape în funcționarea transportorilor:

- Recunoașterea din mulțimea substanțelor dizolvate doar a moleculei specifice
- Legarea și Translocarea moleculei specifice prin membrană
- Eliberarea moleculei în citosol
- Regenerarea transportorului la starea inițială

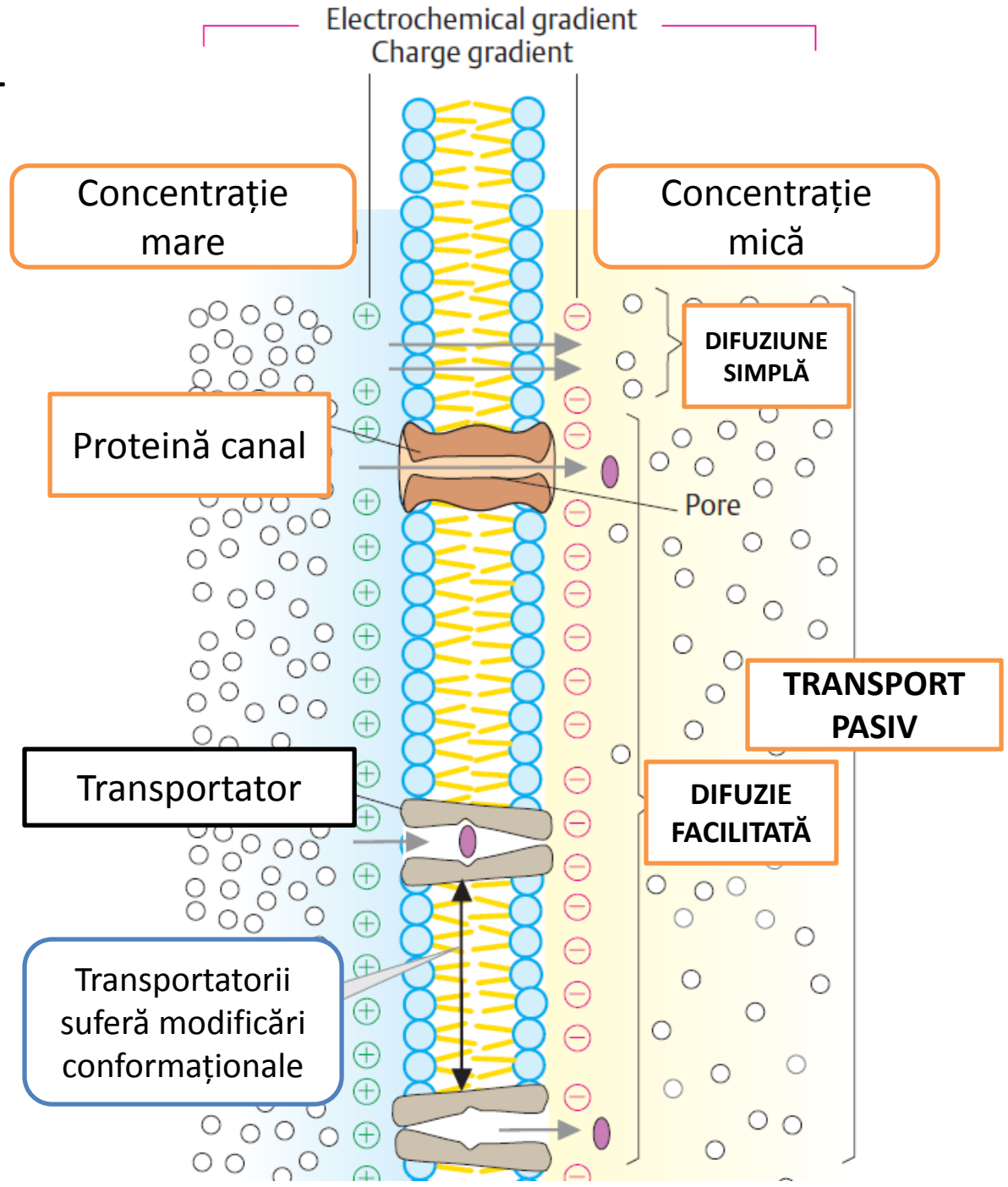
În dependență de necesitățile suplimentare pentru funcționarea transportorului, deosebim

- transportori ce funcționează pasiv, fără consum de energie
- și transportori care necesită energie pentru funcționare
- Respectiv deosebim **transport pasiv** și **transport activ**.
- Ultimul poate fi **primar** și **secundar**.

Transportul pasiv

- Transportorii ce asigură transportul pasiv prezintă molecule proteice ce conțin între 400-600 resturi de aminoacizi.
- Lanțurile lor polipeptidice formează de la 2 până la 24 secvențe transmembranare de tip alfa-helix.
- Transportorii pasivi transportă ioni anorganici, monozaharide, aminoacizi, diverși metaboliți

TRANSPORTUL PASIV



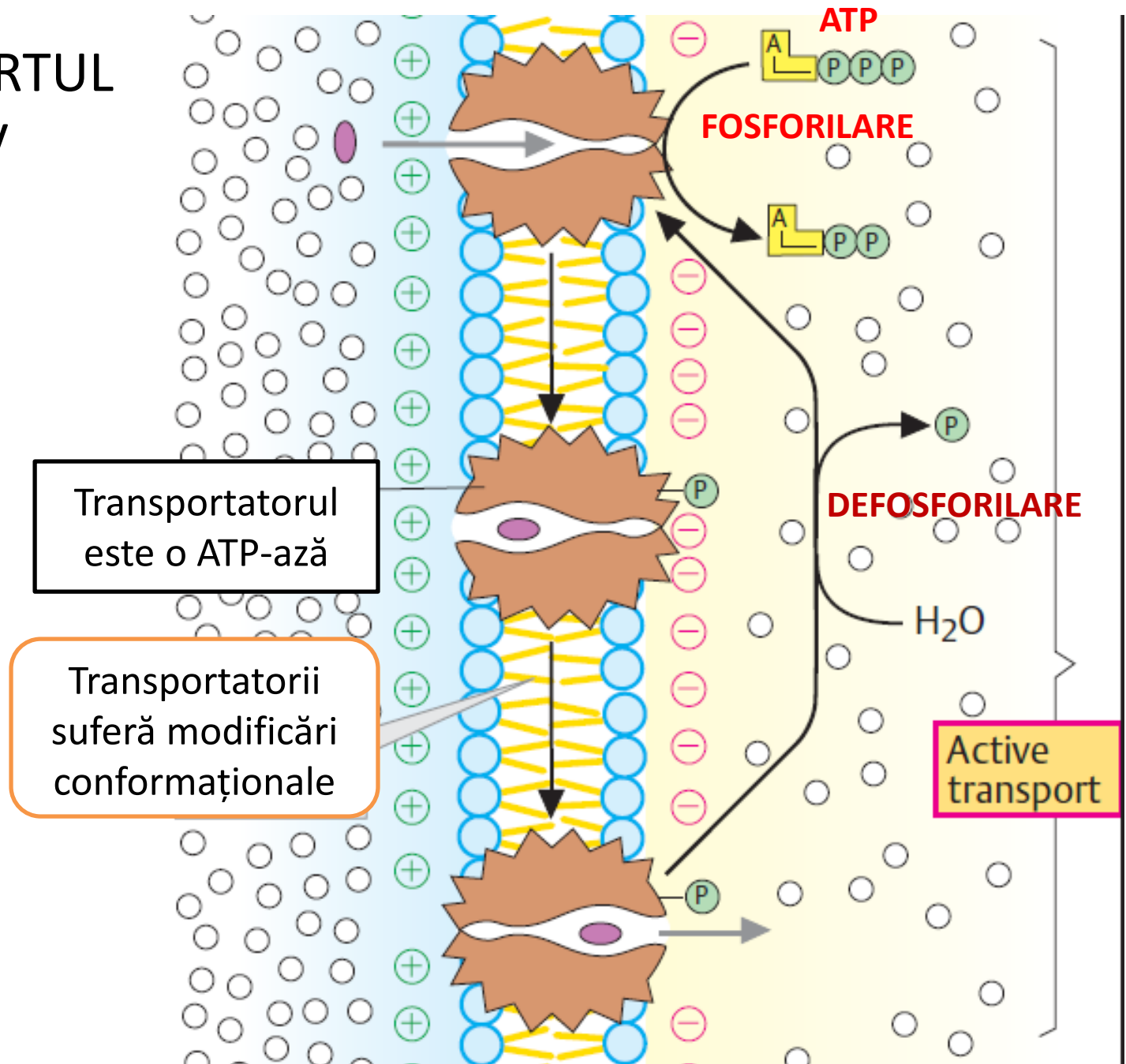
Exemple de transportori pasivi pot fi:

- transportorii pentru glucoză GLUT1-GLUT5
- Transportorii ce asigură antiportul pasiv al anionilor de Cl^- și HCO_3^- în eritrocite și rinichi (proteine schimbătoare de anioni).
- Transportorii membranei mitocondriale interne: antiporteri pentru ADP și ATP; simporteri pentru fosfat și H^+ ; antiporterii glutamat-aspartat.

Transportul activ

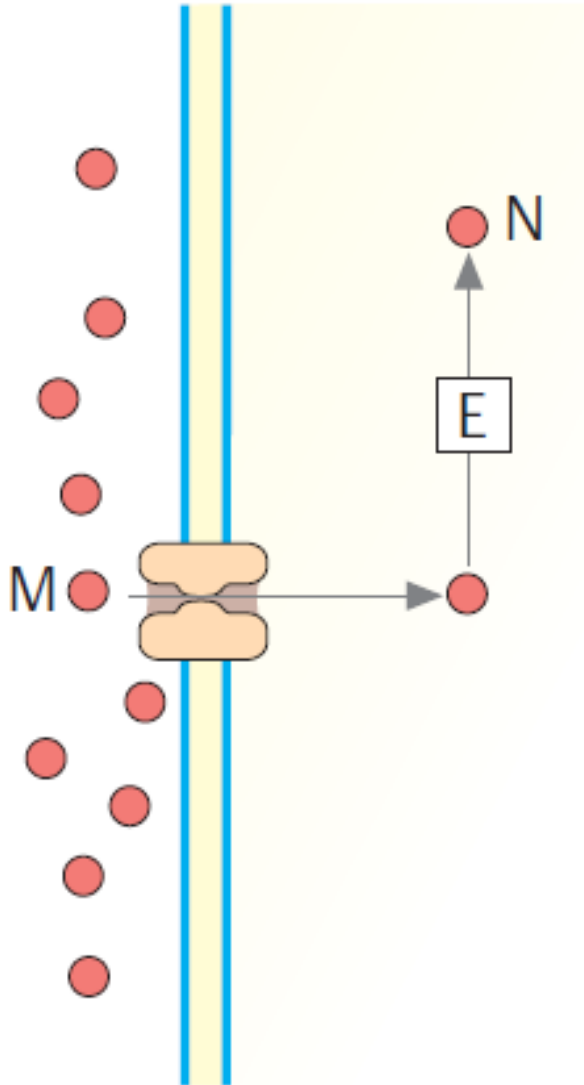
- Transportorii activi catalizează translocarea moleculelor contra gradientului de concentrație cu consum de energie
- Se deosebesc transportori activi primari și secundari, respectiv transport activ primar și secundar.

TRANSPORTUL ACTIV

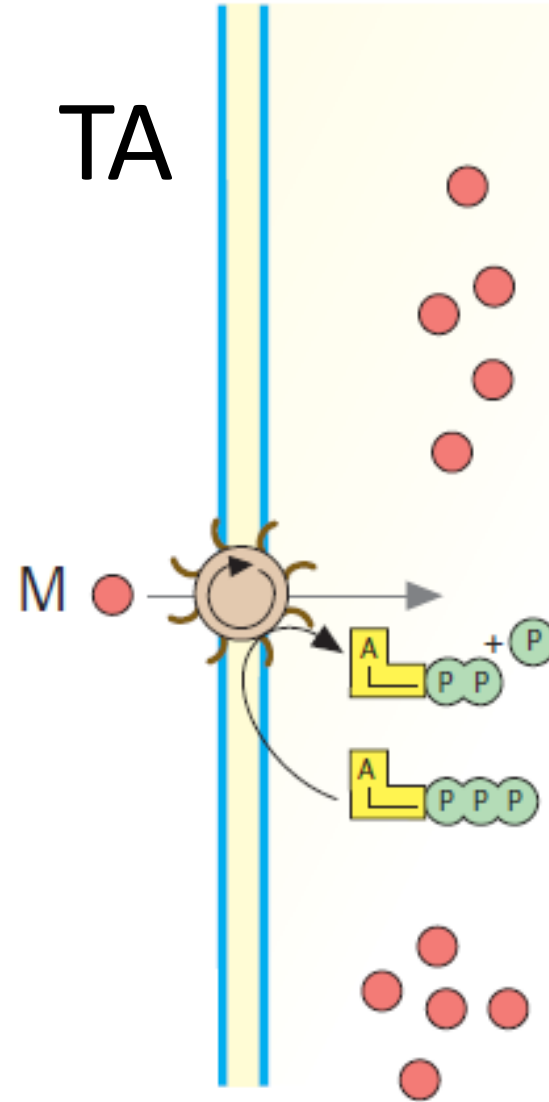


MECANISMUL DIFUZIEI FACILITATE (PASIV) ȘI A TRANSPORTULUI ACTIV

DF



TA



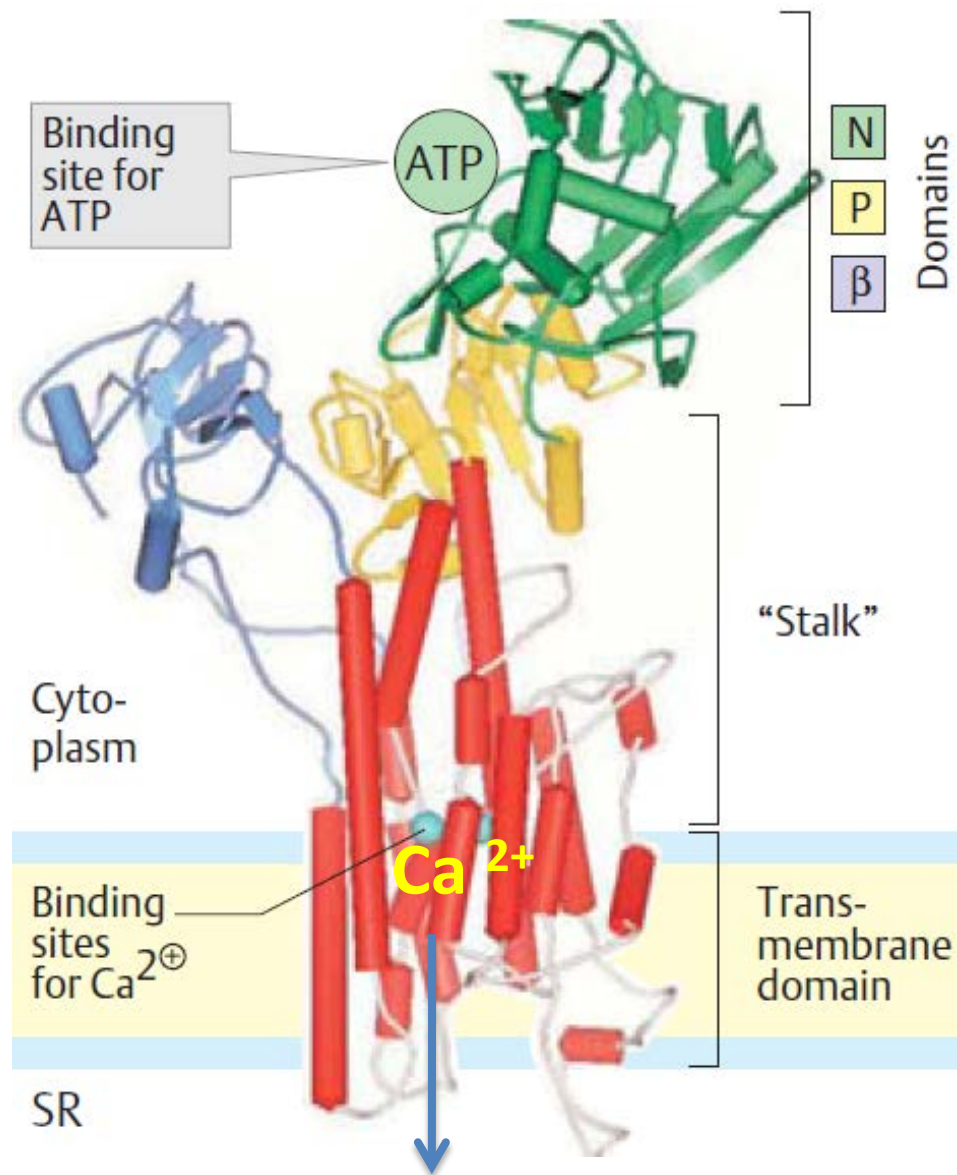
Transportori primar activi (PAT)

- necesită pentru funcționare ATP pe care îl scindează autofosforilându-se tranzitoriu, substratul transportat nu este fosforilat.
- Așa tip de transportori se referă la ATPaze.
- Se disting trei familii de PAT care catalizează translocarea cationilor anorganici: transportatori de tip P, V și F.

Tipuri de TPA

- **Tipul P** transportă ioni de Na, K, Ca. Se cunosc peste 300 de membri.
- **Tipul V** (V de la vacuolă) prezintă pompe de H⁺, responsabili pentru acidificarea conținutului lizozomal, endozomal, veziculelor Golgi și secretorii.
- **Tipul F** sunt prezenți în membranele mitocondriei, cloroplastelor și bacteriilor. Participă în translocarea H⁺ cu consum de ATP.
- La PAT face parte și o superfamilie de transportori numiți **ABCt (ATP-binding cassette)** care la fel scindează ATP pentru a transporta

Structura pompei Ca^{2+} -ATPaza sarcoplasmatică

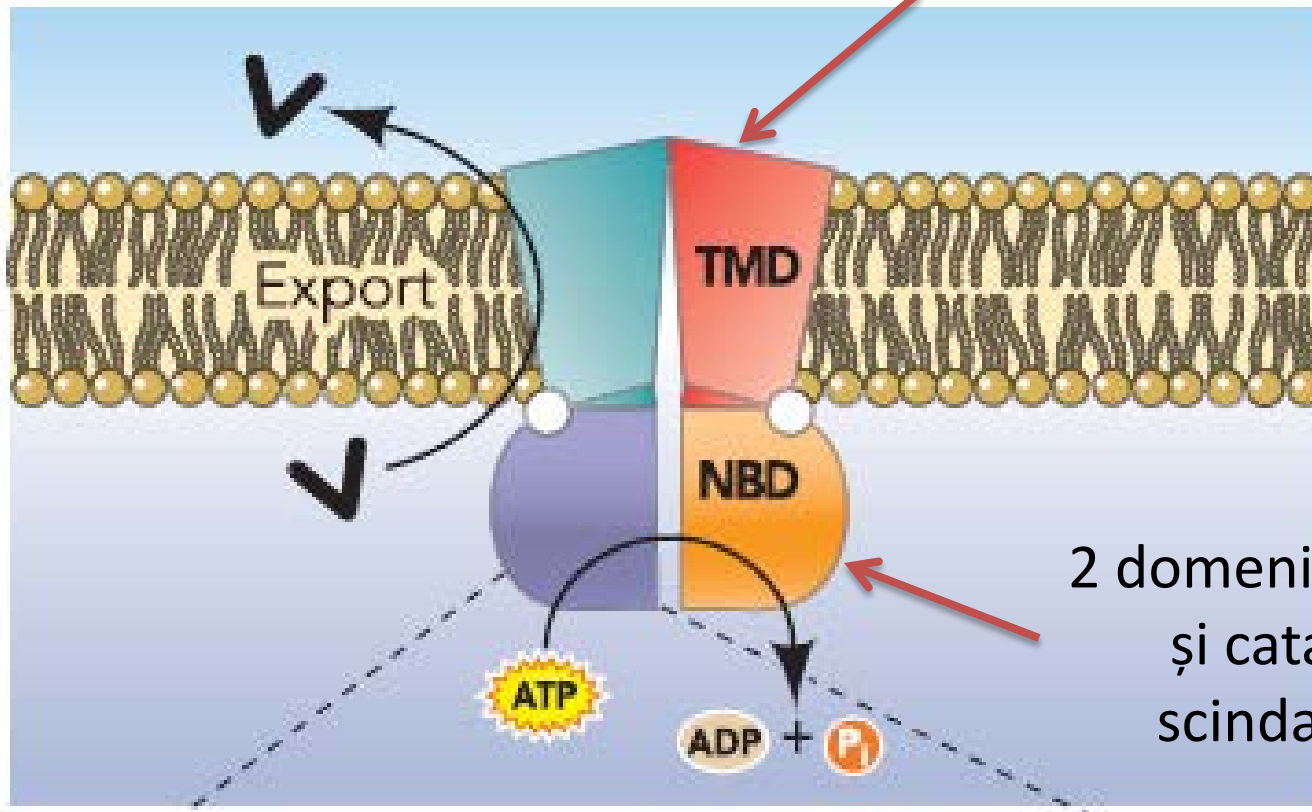


Transportorii ABC

- Transportorii ABC catalizează influxul sau efluxul diferitor fosfolipide, Acil-CoA cu catenă lungă, sărurile acizilor biliari, colesterolul, peptide.
- funcția normală a unor ABCt umani este de a elimina din celulă substanțele citotoxice și medicamentele
- Acești transportori au un rol medical foarte important.
- Mulți dintre ei sunt implicați în transportul selectiv a diferitor compuși exogeni, toxine și medicamente.
- Unii ABC transportori sunt responsabili de fenomenul rezistenței la medicamente, în special chimioterapice.

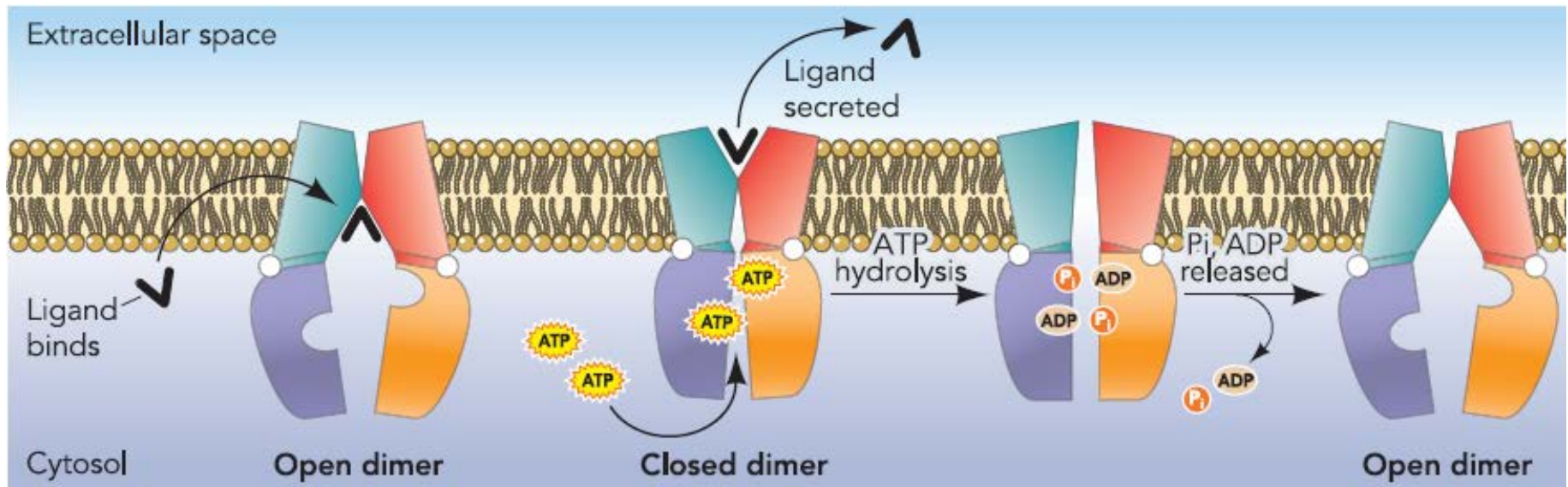
Structura unui ABCt tipic

2 domenii transmembranare
care leagă ligandul



2 domenii care leagă
și catalizează
scindarea ATP

Mecanismul de funcționare a ABCt



Structura ABCt

- Two transmembrane domains (TMDs) form the ligand binding sites and provide specificity, and two nucleotide binding domains NBDs bind and hydrolyze ATP to drive the translocation of the bound ligand.
- The NBDs, but not the TMDs, are homologous throughout the family and have several characteristic motifs including the Walker A and B motifs common to many nucleotide binding proteins and others like the ABC signature, stacking aromatic D, H, and Q loops, which are unique to the family.

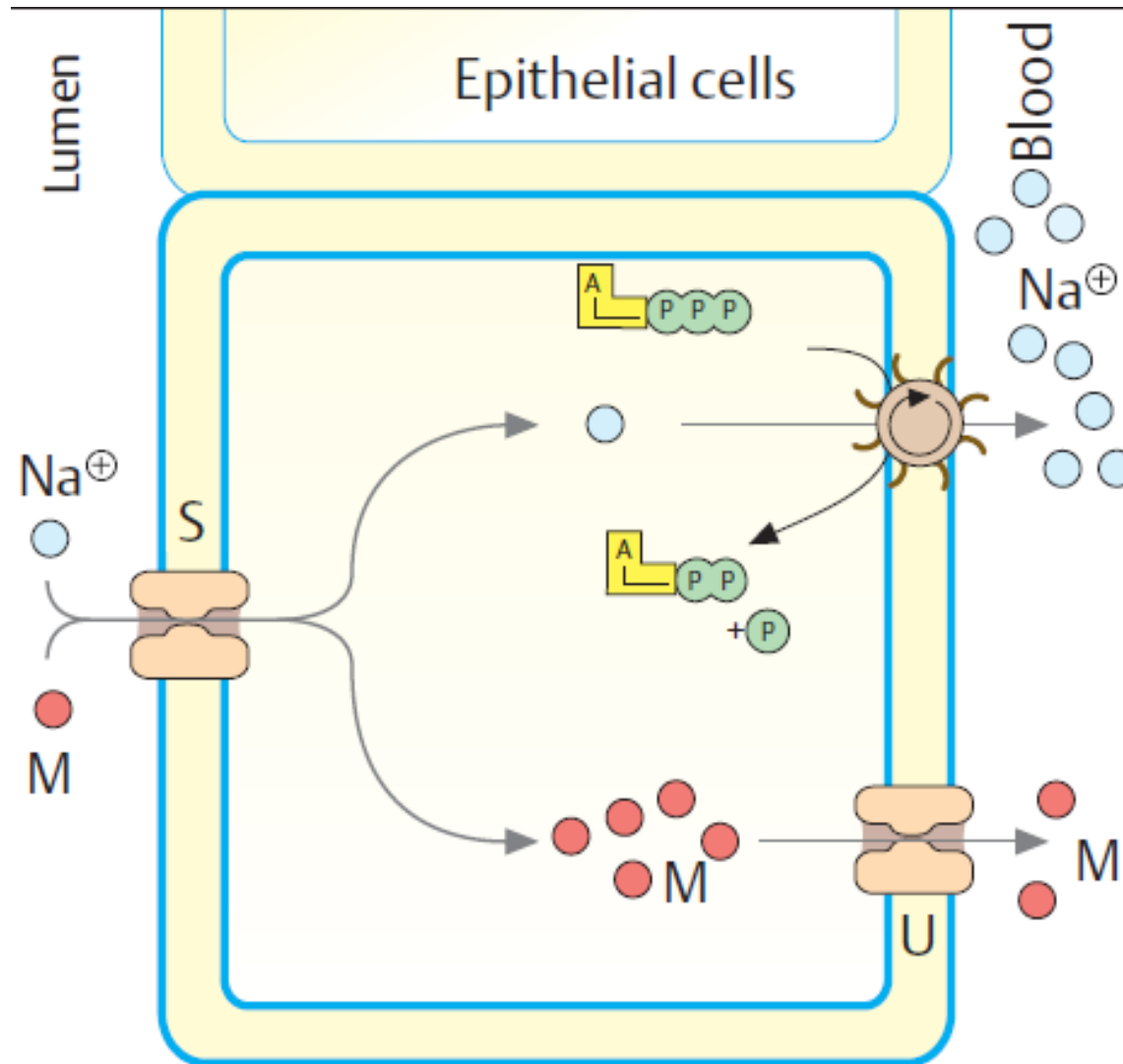
The normal function of some human ABC transporters

- is to secrete from cells cytotoxic compounds (dietary cytotoxics and therapeutic drugs).
- These transporters (P-glycoprotein, BCRP, and MRP1) are highly expressed in the gut, liver and kidneys where they restrict the bioavailability of administered drugs.

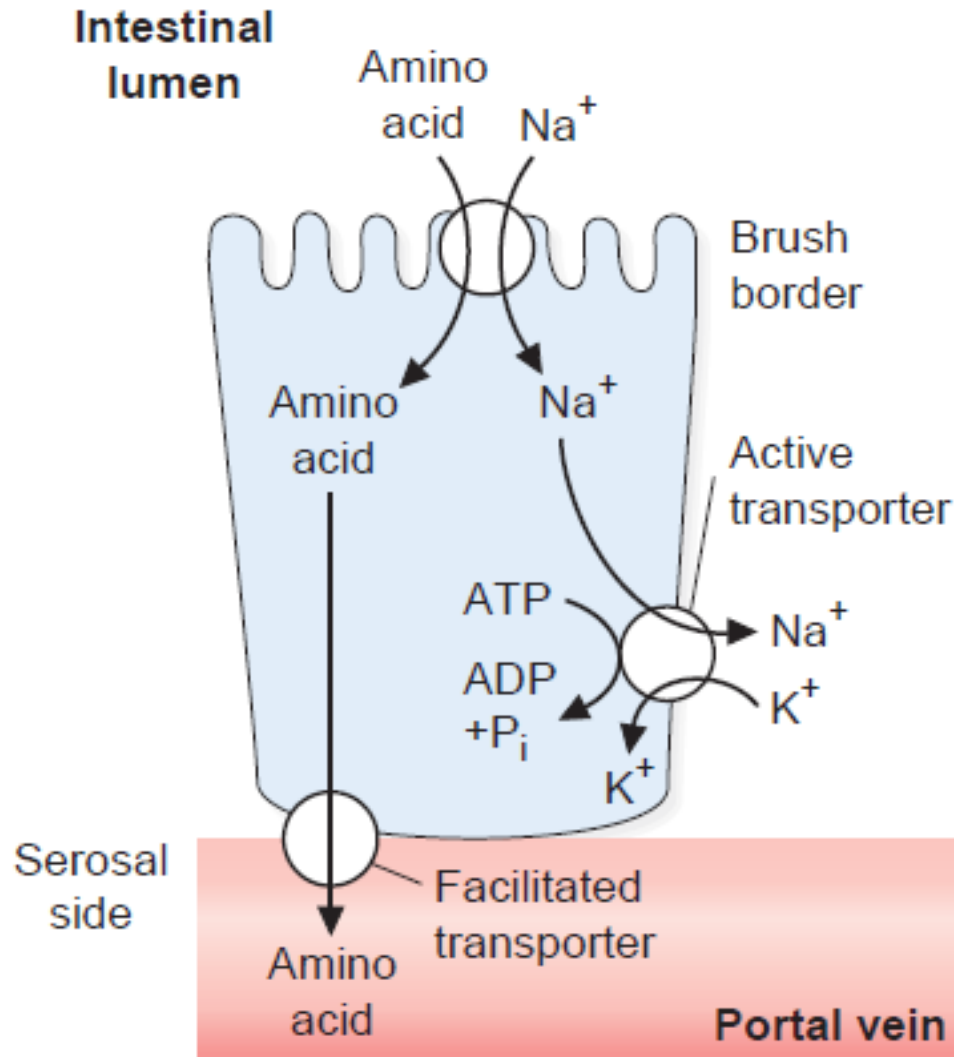
Transportori secundar activi (SAT)

- nu necesită direct ATP pentru funcționare
- fac parte **transportorii Na⁺ - dependenți (SSAT, sodium-dependent secondary active transporters)**. peste 400 de reprezentanți.
- SAT asigură transportul monozaharidelor, aminoacizilor, ionilor și altor micromolecule prin simport cu Na⁺.
- SAT folosesc ca sursă energetică gradientul electrochimic creat de Na⁺; ulterior excesul de Na⁺ acumulat intracelular este pompat de către Na⁺/K⁺-ATPază, de unde și denumirea de transportori secundar activi.
- SAT folosesc energia ATP indirect, deoarece ATP este folosit doar pentru menținerea gradientului Na⁺ și nu pentru fosforilarea sau activarea transportorului

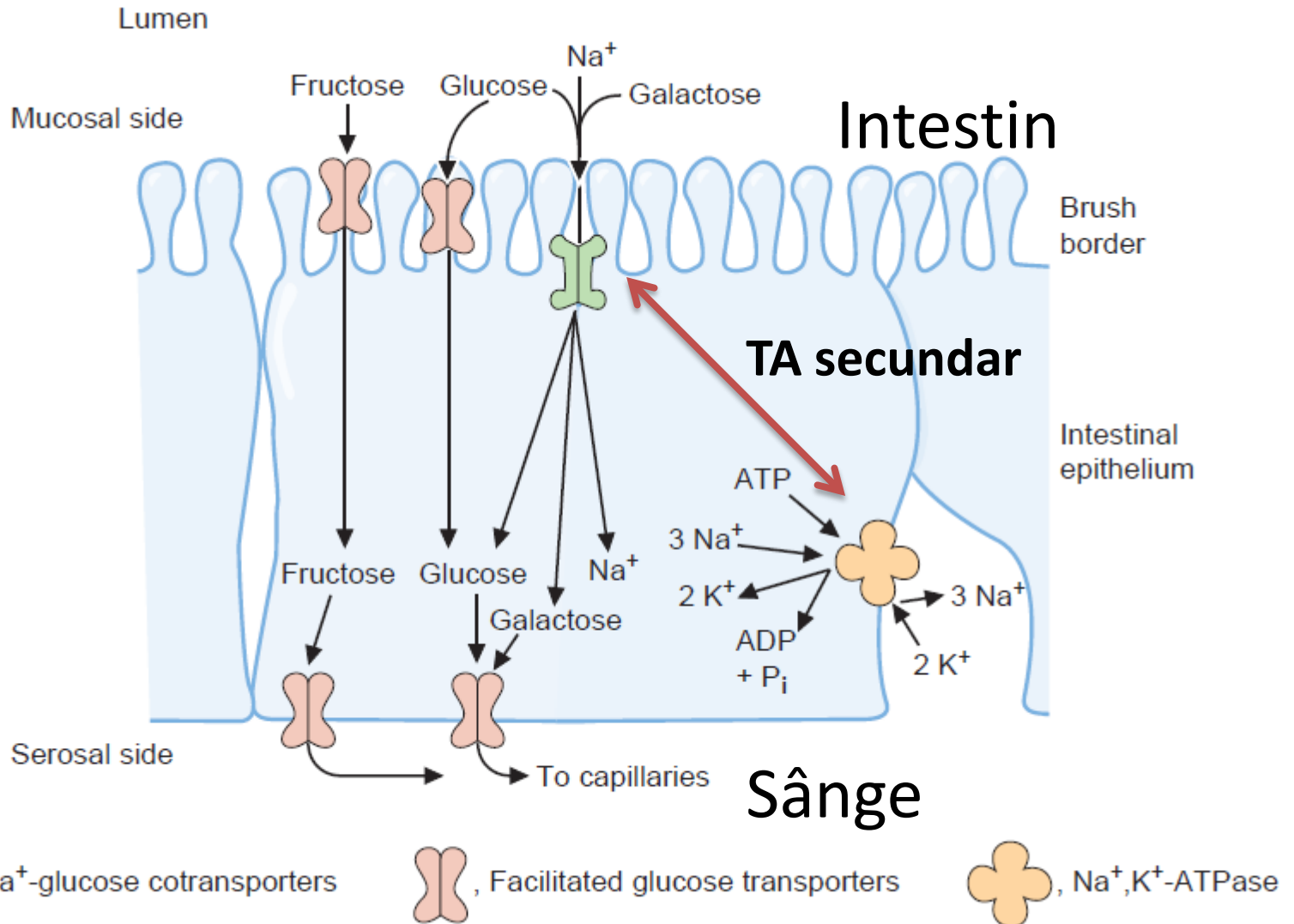
Mecanismul transportului activ secundar



Absorbția aminoacizilor în intestin prin transport activ secundar (simport cu ionii de Na)



Diferite tipuri de transport a monozaharidelor în procesul absorbției



Exemple de boli genetice produse prin mutatii ale unor proteine de transport

- **Diabetul insipid nefrogen** - mutatii ale unor proteine canal - Aquaporina 2 AQP2 *12q13*
- **Epilepsia generalizata cu crize comitiale febrile** - Subunitatea alfa a canalului de sodiu neuronal tip 1 SCN1A
- **Paralizia periodica hipokaliemica** - Canal de calciu voltaj-dependent tip L, subunitatea α -1S CACNA1S *1q32*
- **Osteopetroza** - Canalul de clor tip 7 CLCN7 *16p13*
- **Malabsorbția pentru glucoza/galactoza** -cotransportorul sodiu-glucoza SLC5A1 *22q13.1*
- **Hipotiroidia congenitala** - Cotransportor sodiu-iod SLC5A5
- **Fibroza chistica** - ABCt, subfamilia C, membrul7 ABCC7