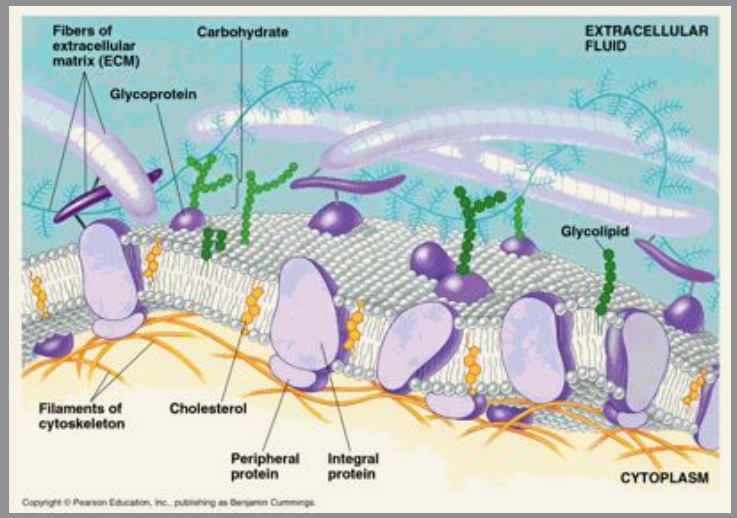
Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

BIOCHEMIA

Kierunek: Technologia Żywności
i Żywienie Człowieka

semestr III

Wykład 4
Błony komórkowe



WNoŻiR

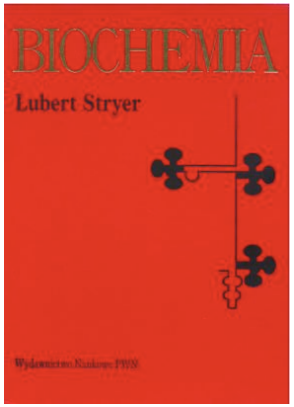
WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOŚCI I RYBACTWA
CENTRUM BIOIMMOBILIZACJI I INNOWACYJNYCH
MATERIAŁÓW OPAKOWANIOWYCH

CBIMO

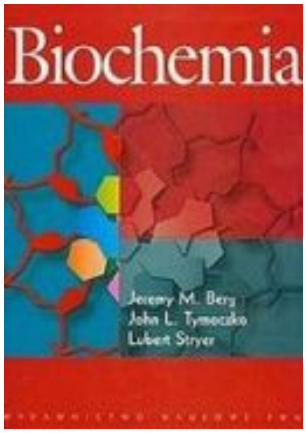
Zakres materiału BŁONY KOMÓRKOWE

Błony Komórkowe

11. Budowa i dynamika błony
12. Kanały i pompy błonowe
13. Kaskady przekazujące sygnał



Biochemia, Autor: Lubert Stryer, PWN Warszawa 1999



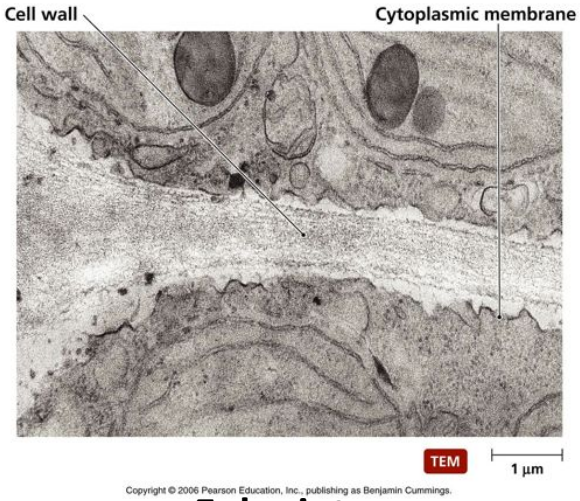
Biochemia, Autor: Jeremy Berg, Lubert Stryer, John L. Tymoczko, PWN Warszawa 2005

Błony Komórkowe

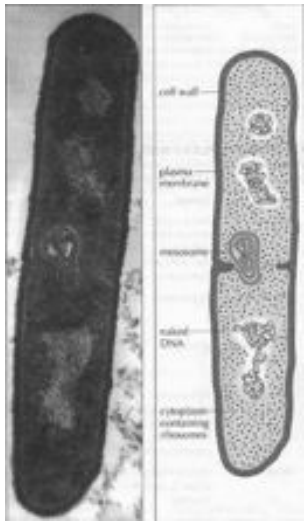
12. Lipidy i błony biologiczne
13. Kanały i pompy błonowe

Budowa i dynamika błony

1. **Błony biologiczne** są zorganizowanymi warstwowymi **układami makromolekularnymi**, złożonymi głównie z **białek** i **lipidów**. Pełnią one funkcje niezbędne do życia. Nadają komórkom indywidualność przez **oddzielenie ich od środowiska**.
2. Błony są **wysoce selektywnymi barierami przepuszczalności**, ale nie są całkowicie izolującymi ścianami, ponieważ zawierają specyficzne kanały, przenośniki i pompy. Te **systemy transportu regulują** molekularny i jonowy skład środowiska wewnatrzkomórkowego.
3. Tworzą **zamknięte przedziały**, którymi mogą byc **całe komórki lub organelle** w obrębie komórki. Komórki **eukariotyczne** zawierają również **błony wewnętrzne**, które wytyczają granice organelli, takich jak **mitochondria, chloroplasty i lizosomy**.



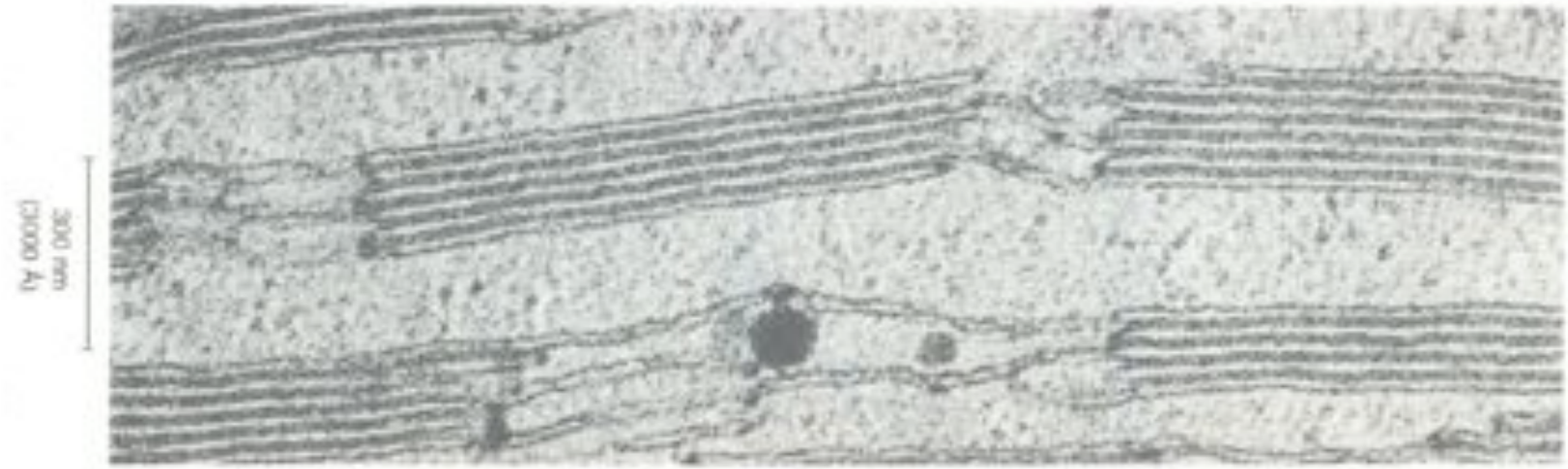
Eukariota



Prokariota

Funkcje błon

1. Charakterystyczne **funkcje błon**, takie jak:
   - transport,
   - przekazywanie informacji,
   - przekształcanie energii
2. Błony **kontrolują przepływ informacj**i miedzy komórkami, zawierają specyficzne **receptory bodźców zewnętrznych**, dzięki którym kontrolują również przepływ informacji miedzy komórka i jej środowiskiem (generują sygnały o charakterze **chemicznym** lub **elektrycznym**) - na przykład zawierają receptory hormonów, takich jak **insulina**.
3. Błony biorą bezpośredni udział w takich **procesach przekształcania energii**, jak fotosynteza i fosforylacja oksydacyjna.



Zdj. Energia światła zostaje przekształcona w energie wiązań chemicznych przez kompleksy fotosyntetyzujące, umieszczone w tylakoidowych błonach chloroplastu.

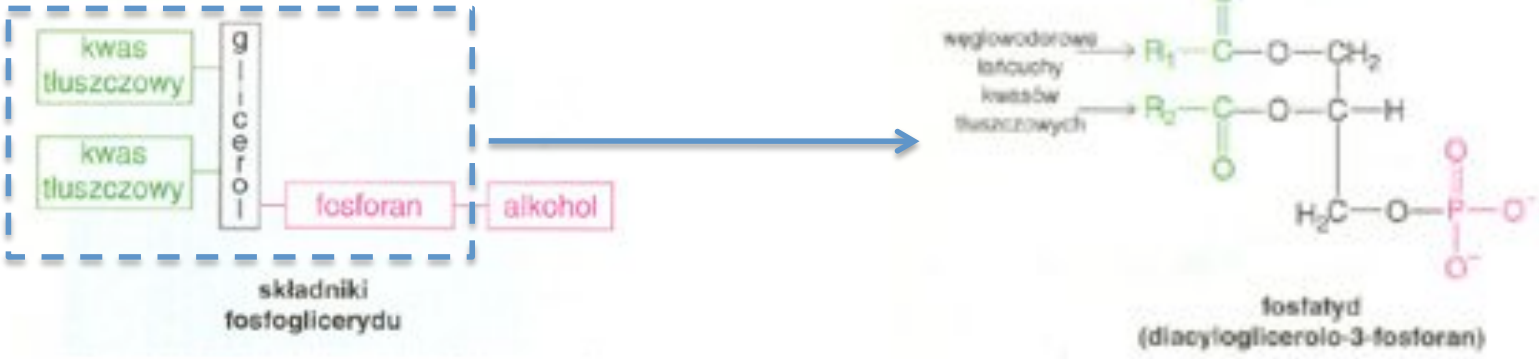
Cechy wspólne błon biologicznych

1. Błony są **strukturami warstwowymi** o grubości odpowiadającej zaledwie kilku cząsteczkom (6-10 nm).
2. Błony zbudowane są głównie z **lipidów i białek**, których stosunek wagowy sięga od l: 4 do 4: 1 (zawierają także **cukrowce związane z lipidami lub białkami**).
3. **Lipidy** wchodzące w skład błony są stosunkowo małymi cząsteczkami zawierającymi reszty hydrofobowe i hydrofilowe. W środowisku wodnym spontanicznie tworzą zasklepiające się w **pęcherzyki warstwy bimolekularne**.
4. W charakterystycznych funkcjach błon pośrednicza specyficzne białka, które działają jako **pompy, kanały, przenośniki, receptory, transformatory energii i enzymy**.
5. Błony są zespołami cząsteczek **nie związanych kowalentnie**. Tworzące błonę cząsteczki białek i lipidów są połączone ze sobą przez liczne **oddziaływania niekowalencyjne** o charakterze kooperatywnym.
6. Błony są **asymetryczne** i obie jej powierzchnie są zawsze od siebie różne.
7. Błony są strukturami **płynnymi**. Cząsteczki lipidów mogą szybko dyfundować wzdłuż błony, podobnie jak białka, jeśli nie są zakotwiczone specyficznymi oddziaływaniami.
8. Większość błon jest **spolaryzowana elektrycznie**, z **ładunkiem ujemnym** od strony wnętrza zamkniętego przedziału (zazwyczaj - 60 miliwoltów).

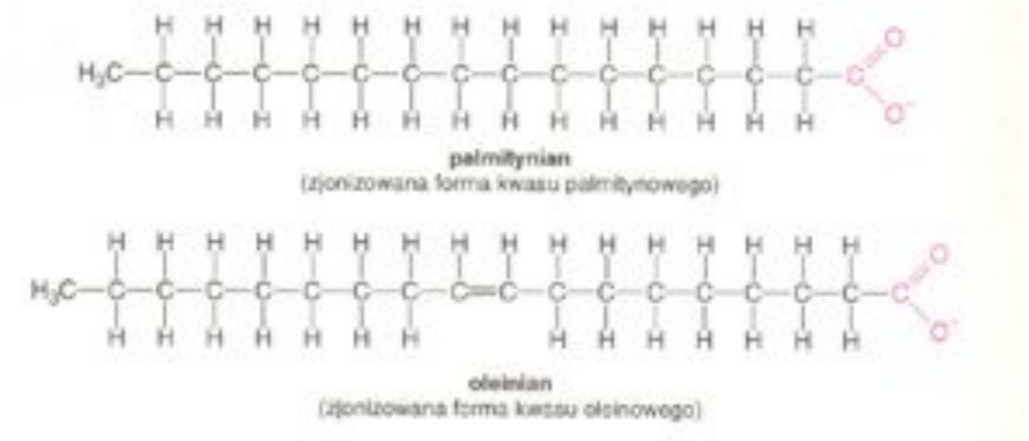
Składniki budulcowe błon komórkowych

1. Głównymi rodzajami **lipidów błonowych** są **fosfolipidy**, **glikolipidy** i **cholesterol**.

2. Szkielet **fosfoglicerydów**, należących do fosfolipidów stanowi **glicerol**, który łączy się z dwoma łańcuchami **kwasów tłuszczowych** i z **fosforylowanym alkoholem**.

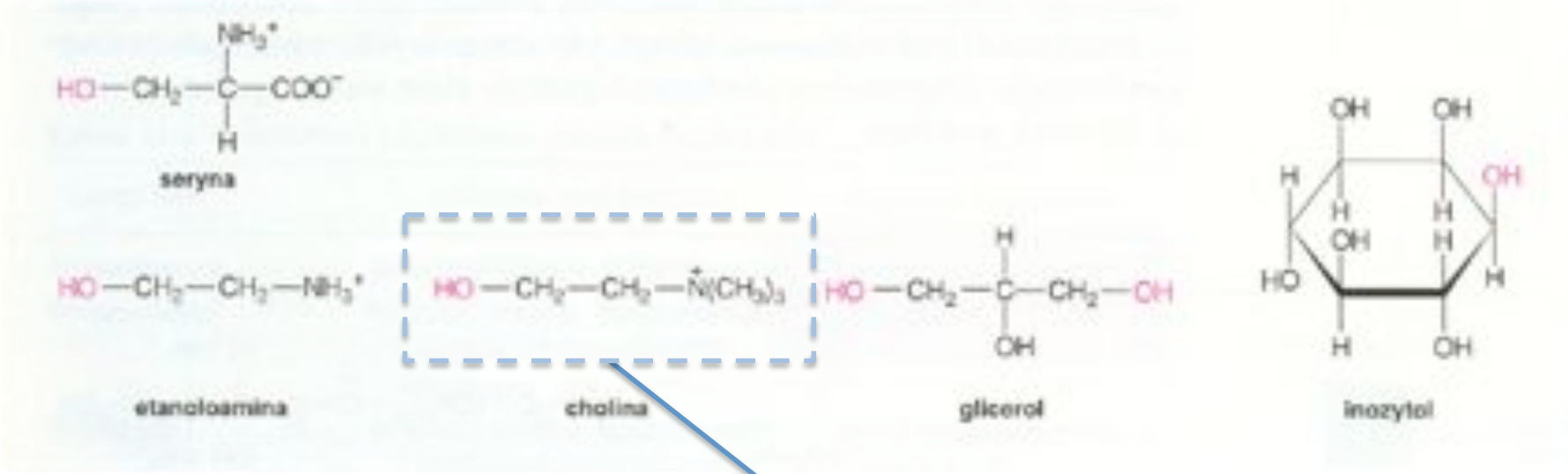


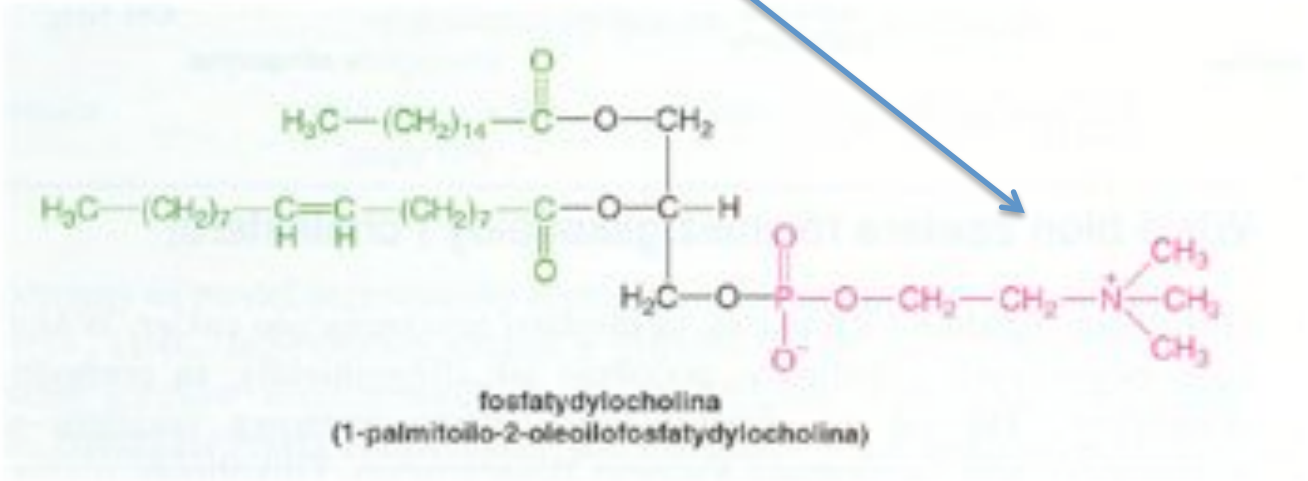
3. Łańcuchy **kwasów tłuszczowych R-** zawierają najczęściej od 14 do 24 atomów węgla i mogą być <u>nasycone lub nienasycone</u>.



Składniki budulcowe błon komórkowych cd.

1. Do powszechnie występujących w fosfoglicerydach **alkoholi** należą reszty **seryny**, **etanoloaminy , choliny, glicerolu i inozytolu**.

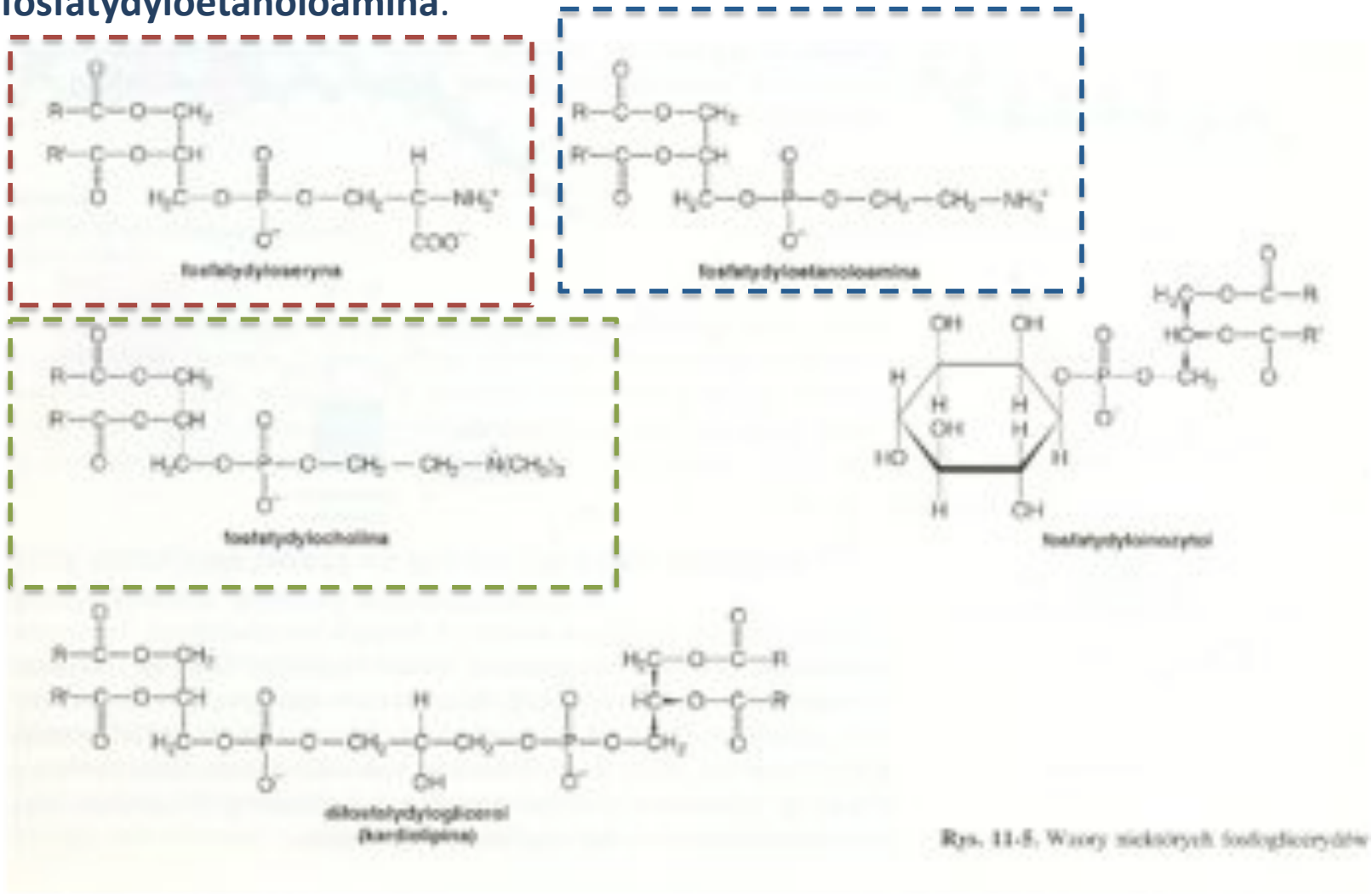




Fosfoglicerydy

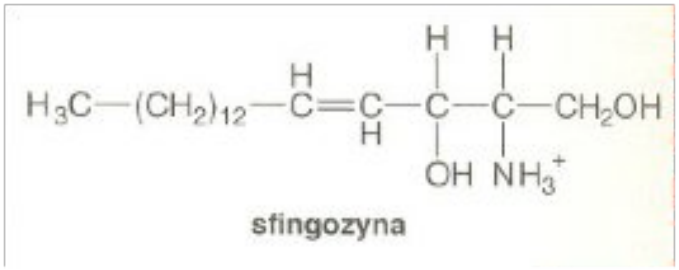
1. Głównymi **fosfoglicerydami** są:

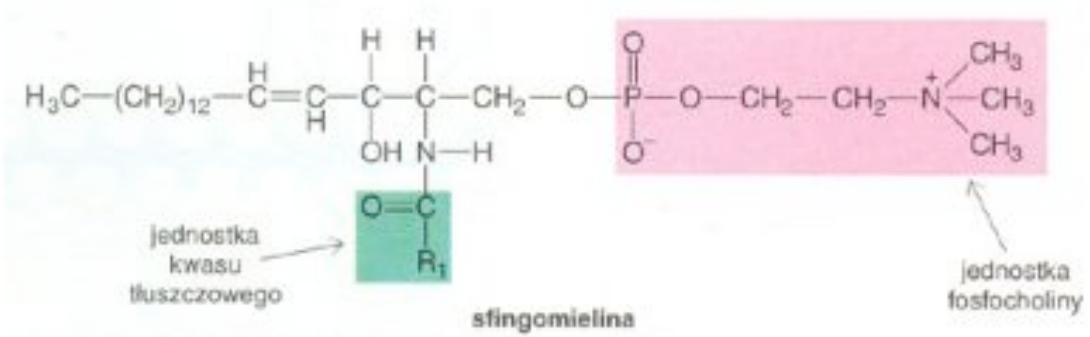
   - **fosfatydylocholina,**
   - **fosfatydyloseryna**
   - **fosfatydyloetanoloamina**.



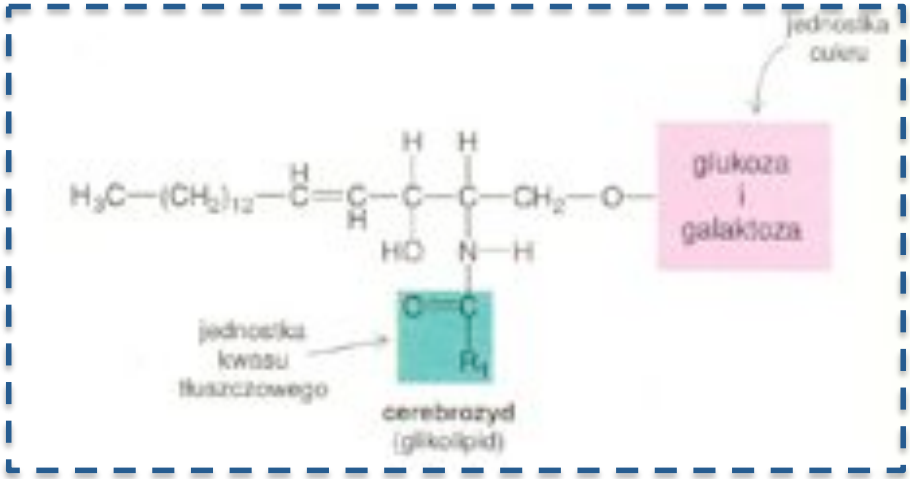
Sfingomielina i Glikolipidy

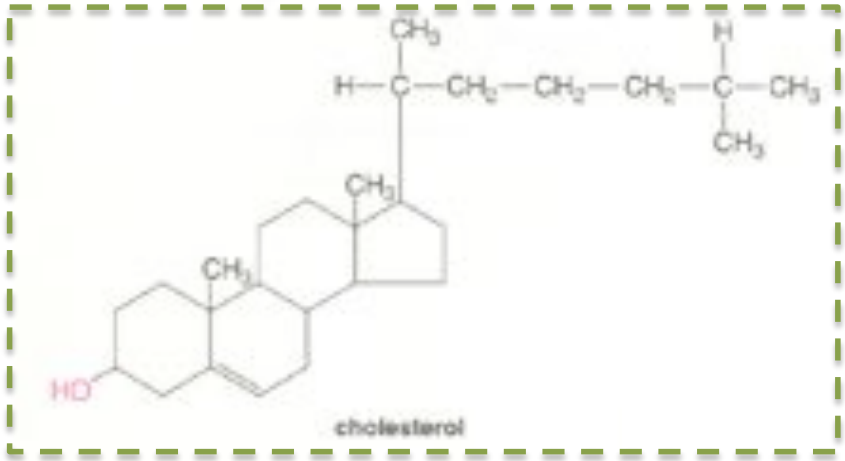
2. **Sfingomielina** należąca do innego rodzaju fosfolipidów zawiera zamiast glicerolu szkielet sfingozynowy.
   Szkielet sfingomieliny stanowi, w miejsce glicerolu, **sfingozyna**, amino alkohol zawierający długi, nienasycony łańcuch węglowodorowy.



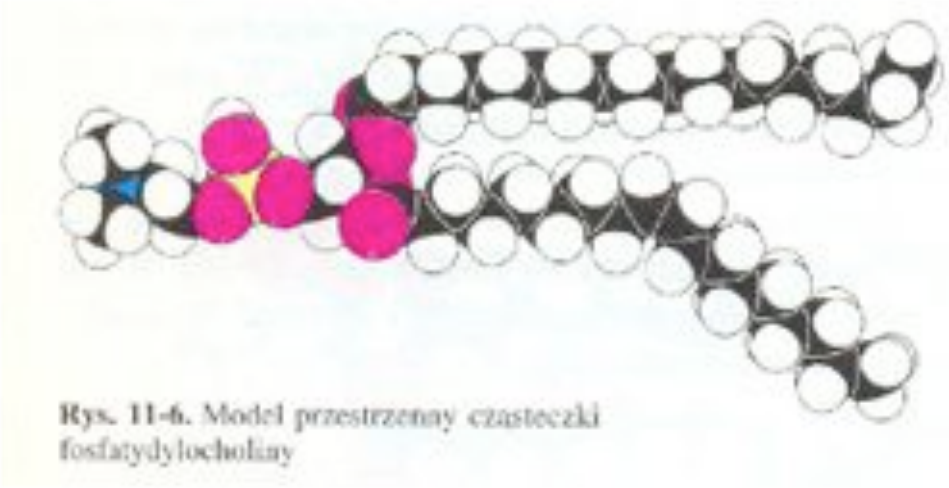


3. **Glikolipidy** są pochodnymi **sfingozyny**, zawierającymi **reszty cukrowe**.
4. **Cholesterol** to **steroid** występujący w **organizmach eukariotycznych**, brak go natomiast w organizmach prokariotycznych



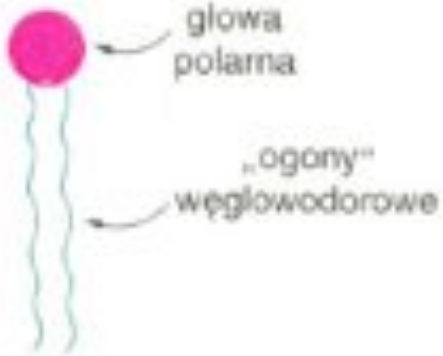


Budowa chemiczna vs. właściwości fosofolipidów



Rys. 11-6. Model przestrzenny cząsteczki fosfatydylocholiny

Rys. 11-7. Model przestrzenny cząsteczki sfingomieliny



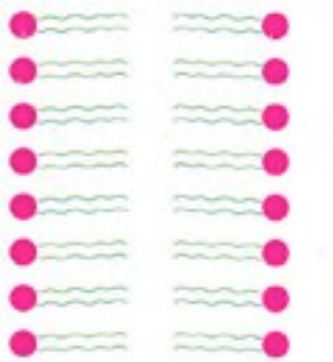
Rys. 11-8. Symbol przyjęty na oznaczenie cząsteczki fosfolipidu lub glikolipidu

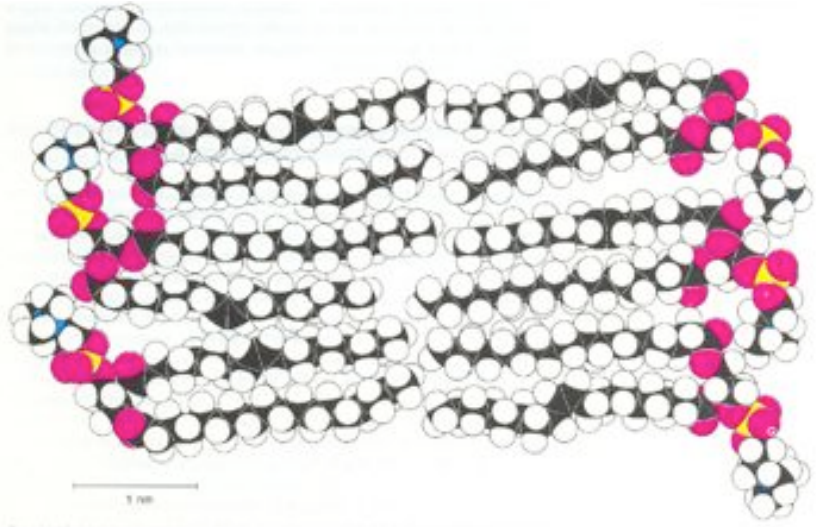
Tworzenie błon komórkowych

1. Wspólna cecha lipidów błonowych jest **amfofilowy charakter** ich cząsteczek.

Lipidy błon	Jednostki hydrofobowe	Jednostki hydrofilowe
Fosfoglicerydy	łańcuchy kwasów tłuszczowych	ufosforylowany alkohol
Sfingomieliny	łańcuch kwasu tłuszczowego i węglowodorowy łańcuch sfingozyny	fosfocholina
Glikolipidy	łańcuch kwasu tłuszczowego i węglowodorowy łańcuch sfingozyny	jedna lub więcej reszt cukrowych
Cholesterol	cała cząsteczka z wyjątkiem grupy OH	grupa OH przy C-3

2. W wodnych roztworach tworzą spontanicznie **bimolekularne warstwy lipidowe**, ponieważ ich cząsteczki zawierają zarówno **grupy hydrofilowe**, jak i **hydrofobowe**.





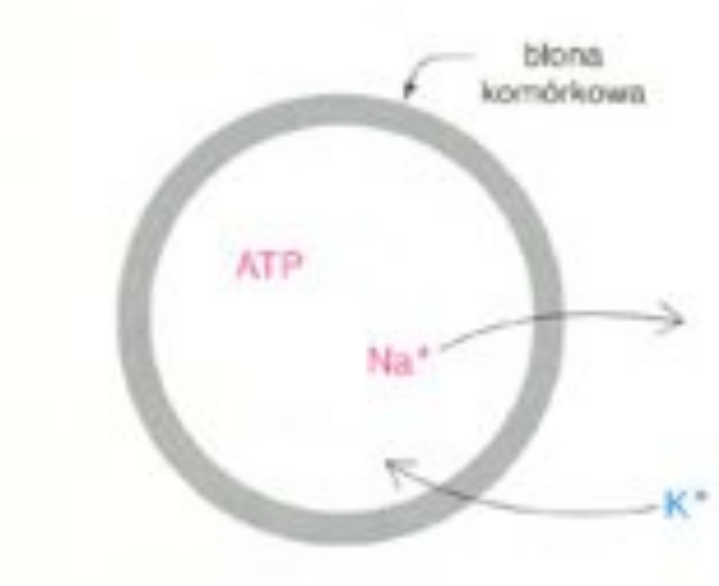
Tworzenie błon komórkowych

1. Dwuwarstwy lipidowe są **wysoce nieprzepuszczalne** dla **<u>jonów i większości cząsteczek polarnych</u>**, chociaż zachowują stan w znacznym stopniu płynny, przez co mogą pełnić role rozpuszczalnika dla białek błonowych.

Współczynniki przepuszczalności *małych cząsteczek wykazują korelacje z wartością stosunku rozpuszczalności tych cząsteczek w rozpuszczalnikach niepolarnych oraz w wodzie*.

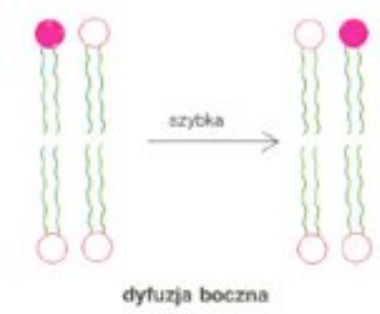
Cechy błon komórkowych

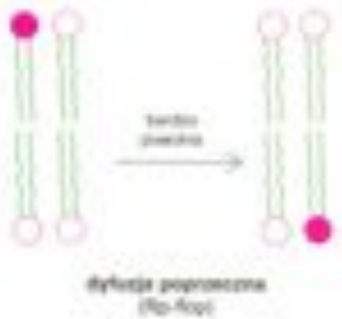
1. Charakterystyczne funkcje błon, takie jak **transport, przekazywanie informacji** i **przekształcanie energii** przebiegają z udziałem **specyficznych białek**.
2. **Integralne białka błonowe** rozciągają się przez **całą grubość dwuwarstwy**, natomiast **peryferyczne białka** błonowe związane są z **powierzchniami błony** przez oddziaływania elektrostatyczne i wiązania wodorowe.
3. Błony są strukturalnie i funkcjonalnie **asymetryczne**, czego przykładem jest kierunkowość działania systemów **transportu jonów** i ograniczenie występowania **reszt cukrowych** do zewnętrznej tylko powierzchni błony komórek ssaków.



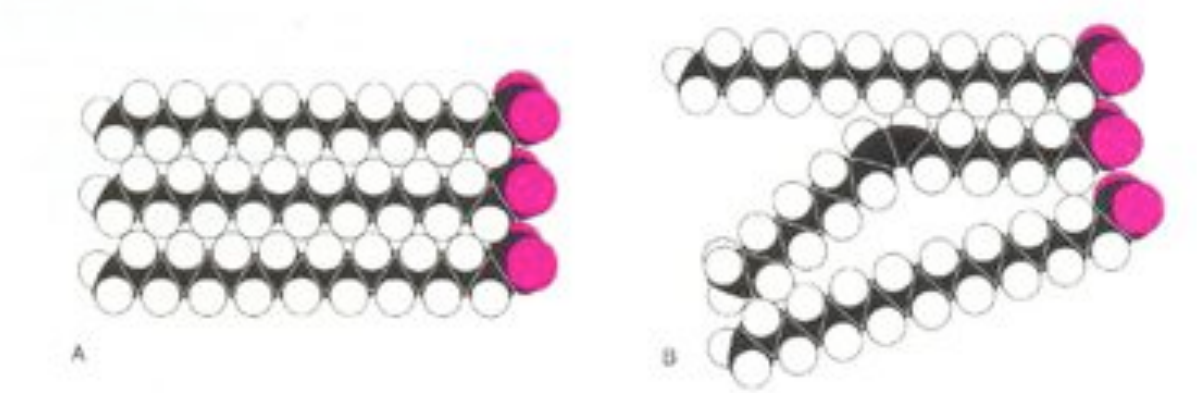
Cechy błon komórkowych

1. Błony są strukturami **dynamicznym**i, w których białka i lipidy przemieszczają się **szybko** wzdłuż płaszczyzny błony (**dyfuzja boczna**), jeśli nie są ograniczone specyficznymi interakcjami. Natomiast przemieszczanie lipidów z jednej strony błony na druga (**dyfuzja poprzeczna** lub ***flip-flop***) jest na ogól procesem bardzo **powolnym**.





2. Uformowane już **białka błonowe** nie przechodzą w ogóle z jednej strony dwuwarstwy na druga, przez co zachowana jest **asymetria błon**. **Stopień płynności** błon w dużej mierze zależy **od długości i stopnia nasycenia łańcuchów węglowodorowych**, wchodzących w skład lipidów błonowych.



$T_{m\,A} > T_{m\,B}$

ANTY-krystalizacja

Cholesterol łagodzi przejścia między różnymi stopniami plynności błony.

Cechy błon komórkowych

1. **Przepuszczalność dwuwarstwy lipidowej** mierzy się w dwóch systemach modelowych:

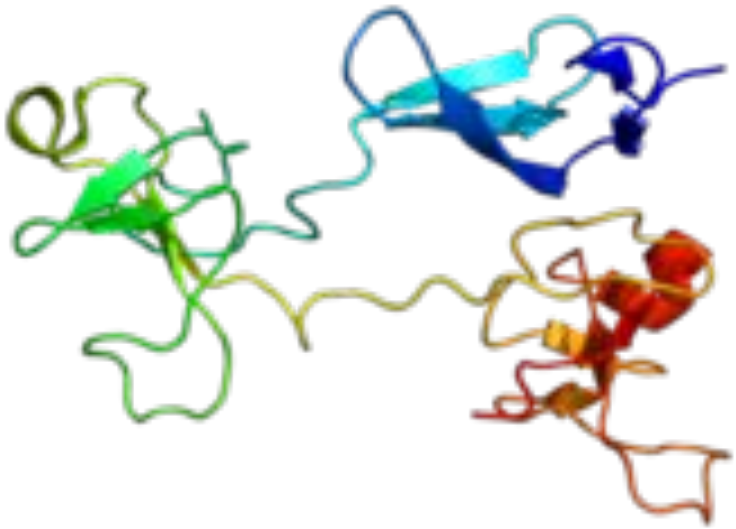
   a) pęcherzykach lipidowych (liposomach)

   b) płaskich błonkach dwuwarstwowych.

2. **BIAŁKA BŁONOWE – powierzchniowe**, integralne i szieletowe

2a. Powierzchniowe - cząsteczki hydrofilowe, wiążą się z błonaą (polarne fragmenty lipidów) i białkami integralnymi głównie przez oddziaływania jonowe

- fibronektyna - na zewnętrznej powierzchni błony



Fibronektyny regulują oddziaływania komórka-macierz przez interakcje z integrynami.

Oddziałując z **receptorem integrynowym**, rozpoczynają kaskadę zdarzeń, której wynikiem jest przekaz sygnałów ze środowiska zewnętrznego do wnętrza komórki.

Biorą udział w **adhezji, proliferacji, rozpłaszczaniu** i **migracji komórek**, **procesach embriogenezy** oraz w **tkankowych procesach naprawczych** po zranieniach

Cechy błon komórkowych

2. **BIAŁKA BŁONOWE** – powierzchniowe, **integralne i szieletowe**

2b) Integralne - hydrofobowo wiążą się z apolarnym fragmentem lipidowej błony komórkowej

glikoforyna A - jej reszty cukrowcowe, obok reszt cukrowcowych glikolipidów są receptorami dla wirusa grypy oraz lektyn - białek swoiście wiążących się z cukrowcami (w erytrocytach odpowiada za charkter anionowy błony komórkowej)

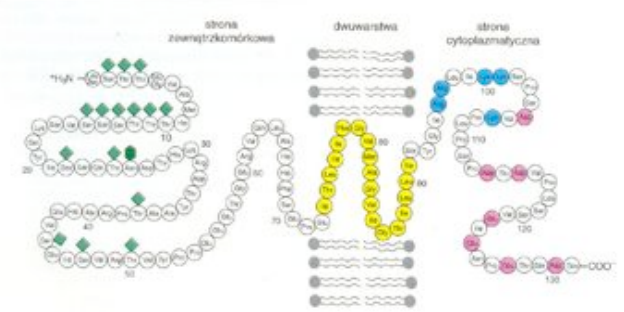
białko 3 szczytu elektroforetycznego (B3SE) - pełni funkcję kanału dla **transportu anionów** przez błonę erytrocytu

walinomycyna- będąca cząsteczką cykliczna, **przenosi K^+** poprzez błonę tworząc wokół związanego jonu osłonę hydrofobową.

gramicydyna A tworzy jako dimer por transbłonowy przepuszczalny dla **kationów jednowartościowych**.

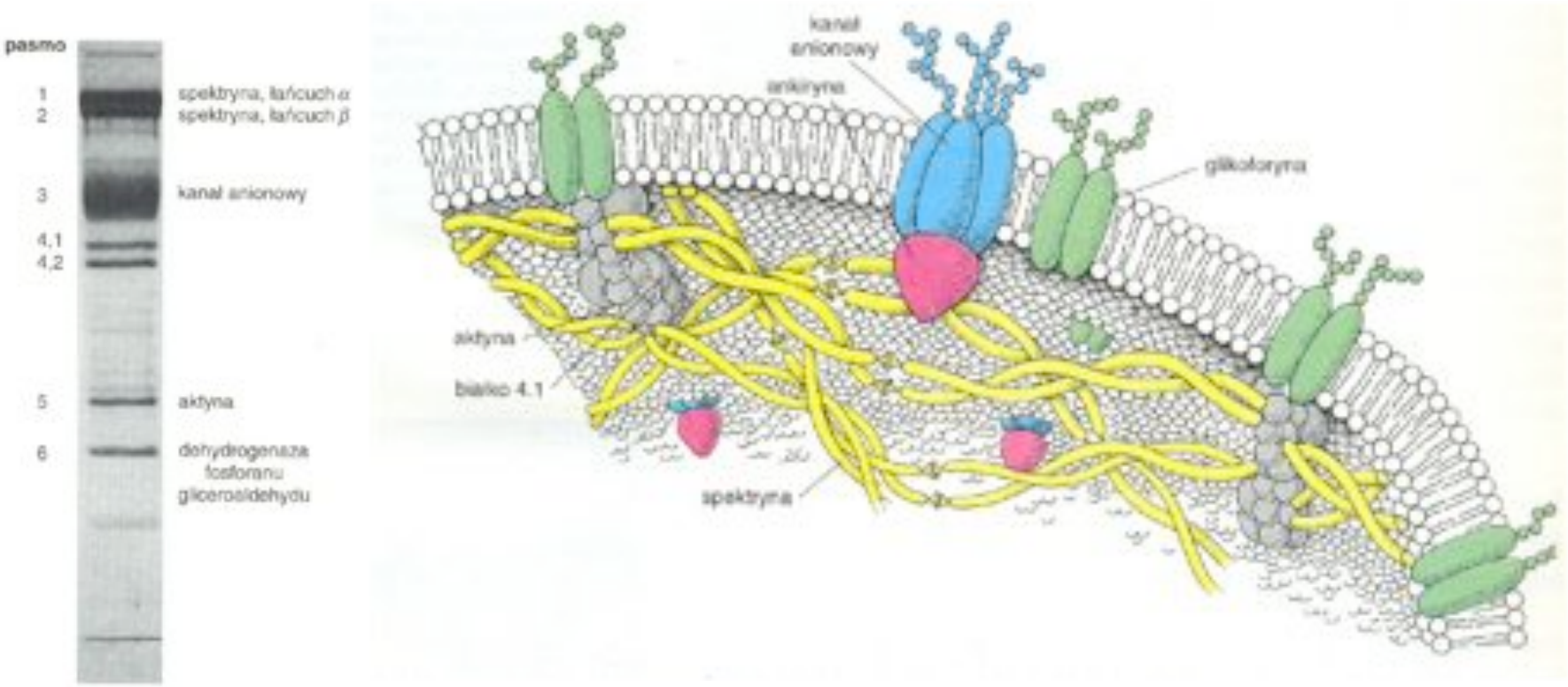
2c) Szkieletowe - tworzą pod błoną **komórkową wyściółkę**, kotwiczą się do niektórych **białek transbłonowych** oraz są powiązane wzajemnie utrzymując kształt komórki zapewniając błonie komórkowej elastyczność i wytrzymałość

spektryna - dimer, monomery α i β.



Błona komórkowa erytrocytu

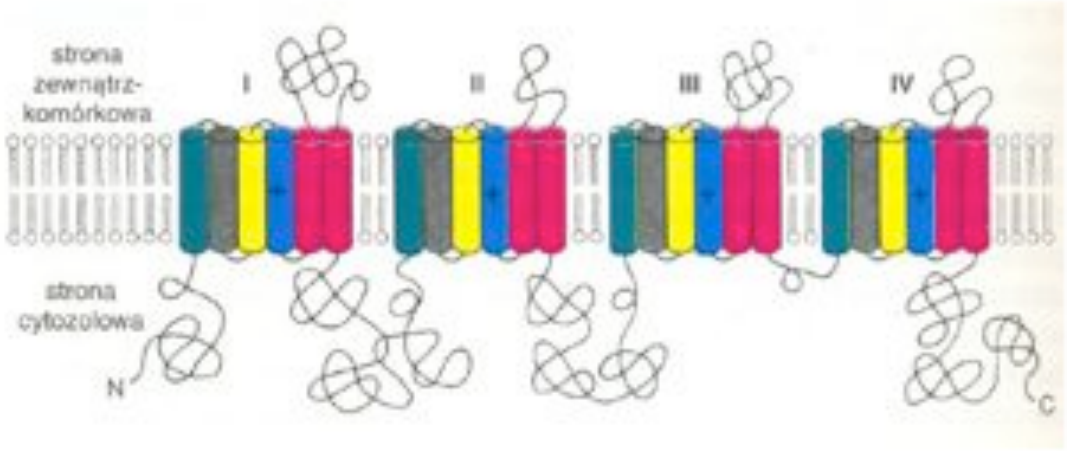
1. Błona komórkowa **erytrocytu**, jeden z najczęściej badanych i najlepiej poznanych typów błony, zawiera duże ilości **dwóch białek transbłonowych**.
2. **Kanał anionowy** pośredniczy w wymianie **wodorowęglanów i jonów chlorkowych**.
3. Te integralne białka błonowe wiążą się poprzez **białko 4.1 i ankirynę** z elastyczna siecią zbudowana głównie ze **spektryny**. Ten szkielet błonowy umożliwia odporność erytrocytu na mechaniczne siły odkształcające.



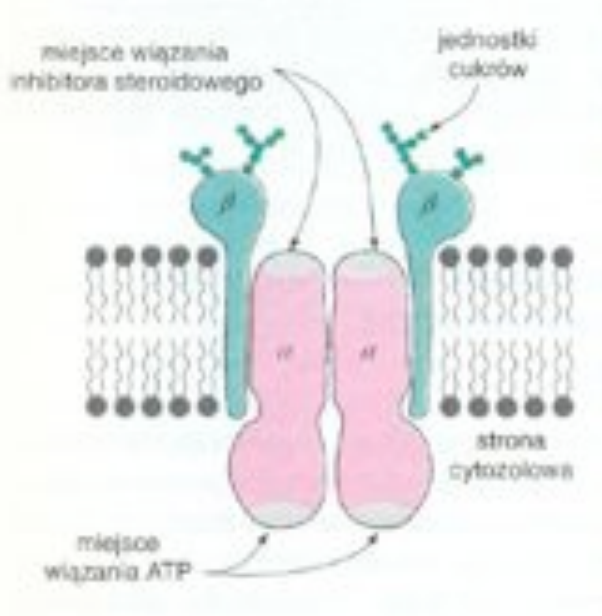
Rys. 11-47. Schemat proponowanego sposobu zwiazania szkieletu blony erytrocytu do blony komórkowej

Kanały i pompy jonowe

1. **Przepływ jonów i cząsteczek** przez błony biologiczne jest kontrolowany przez dwie klasy **białek transbłonowych**, **kanaly** i **pompy**.
2. Kanały tworzą **ciągle polarne drogi** w poprzek błony, które umożliwiają przemieszczanie jonów **zgodnie z ich gradientami elektrochemicznymi**. Kanaly umozliwiaja szybki przeplyw jonów przez blony w **kierunku termodynamicznie korzystnym** (ang. *downhill*).
3. **Pompy**, zużywając źródła swobodnej energii, np. ATP lub światło, prowadzą transport jonów lub cząsteczek w **kierunku wzrastającego stężenia**, a więc **termodynamicznie niekorzystnym**.



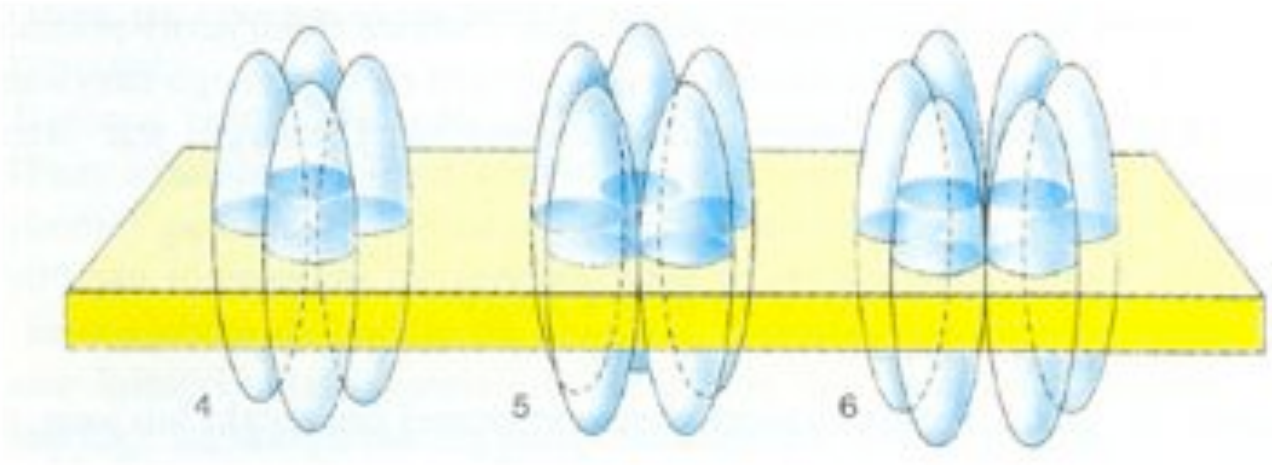
Kanały jonowe



Pompa Na^+/K^+

Kanały jonowe

1. Wydajność przepływu w kanałach może osiągnąć **10^7 jonów na sekundę**.
2. Kanały utworzone są z identycznych lub **homologicznych podjednostek** bądź z homologicznych domen pojedynczego łańcucha polipeptydowego. Typowa ilość podjednostek to **4, 5** lub **6**.

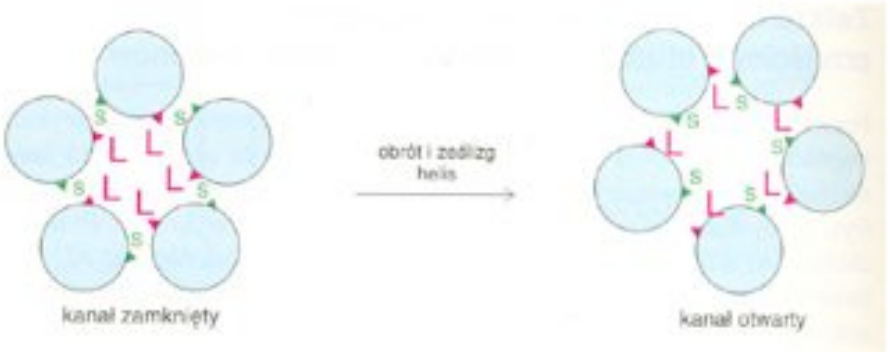


Kanały sodowe

3. Por kanału przebiega wzdłuż osi symetrii oligomeru. Wszystkie kanały maja stany **otwarte i zamknięte,** a pewne z nich również **stan nieaktywny**, który jest kontrolowany przez wbudowany w cząsteczke zegar. Przejscie miedzy forma zamknieta a otwarta jest **regulowane allosterycznie** przez potencjał, związanie innej cząsteczki lub modyfikacje kowalencyjne.
4. Wysoki stopie specyficzności wielu kanałów uwarunkowany jest **bliskimi interakcjami** miedzy **transportowanym jonem a resztami wyścielającymi por** w obszarze zwanym **filtrem selektywności**.

Kanały jonowe

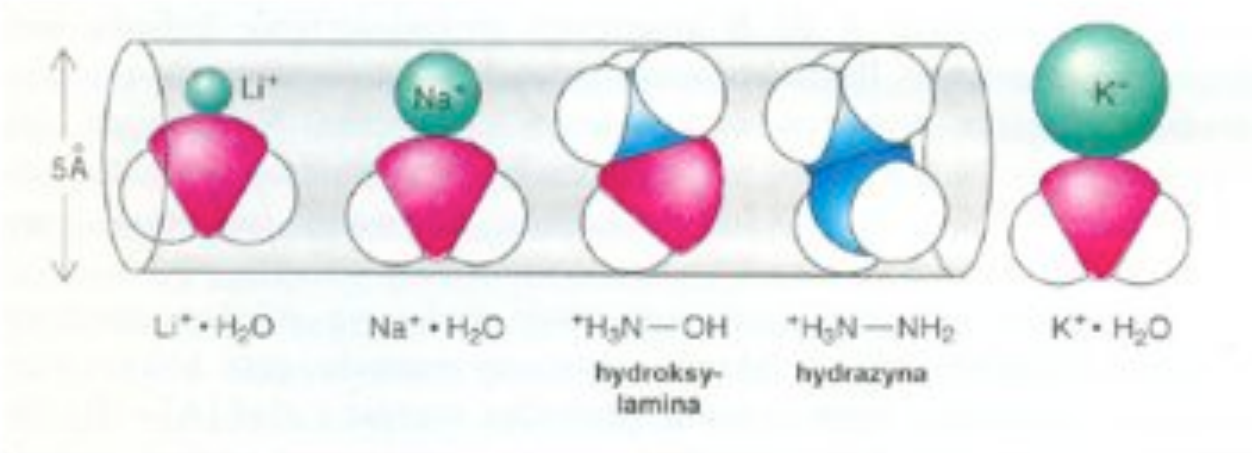
1. Kanał **receptora acetylocholinowego** pośredniczy w przekazywaniu **sygnałów nerwowych przez synapsy**.
2. Kanal **jonotropowego receptora acetylocholinowego** jest zaangażowany w przekaźnictwo synaptyczne (kanał bramkowany przez ligand).
3. Związanie **dwóch czasteczek acetylocholiny otwiera kanał**. Szybkie zmniejszenie stężenia acetylocholiny w szczelinie synaptycznej wywołane hydrolityczną aktywnością **esterazy acetylocholinowej**, prowadzi do zamknięcia kanału.
4. Gdy **duże stężenie acetylocholiny** utrzymuje się przez dłuższy czas, kanał zostaje **odczulony**.



5. **Selektywność kanału** receptora acetylocholinowego dla kationów jest narzucona przez trzy pierścienie w porze, utworzone z łańcuchów bocznych naładowanych ujemnie (kolor czerwony).

Kanał sodowy

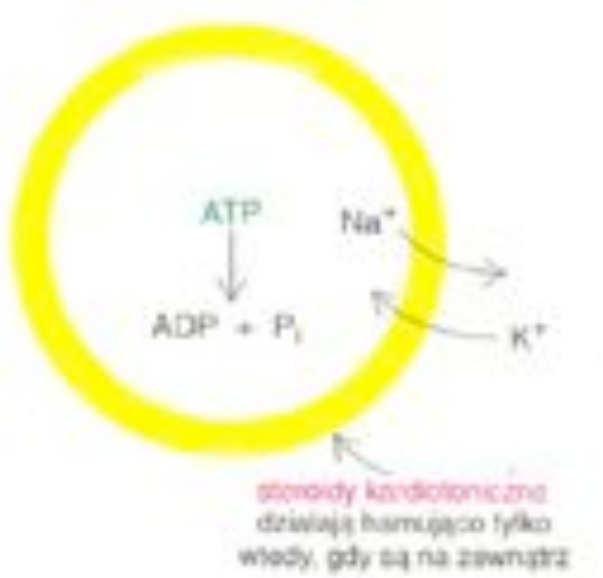
1. **Selektywność jonowa** kanału sodowego cześciowo zależy od **czynników sterycznych**. Jon Na^+ i Li^+ wraz z cząsteczką wody pasuja do kanału podobnie jak hydroksylamina i hydrazyna. Natomiast jon K^+ wzięty razem z cząsteczką wody jest za duży.

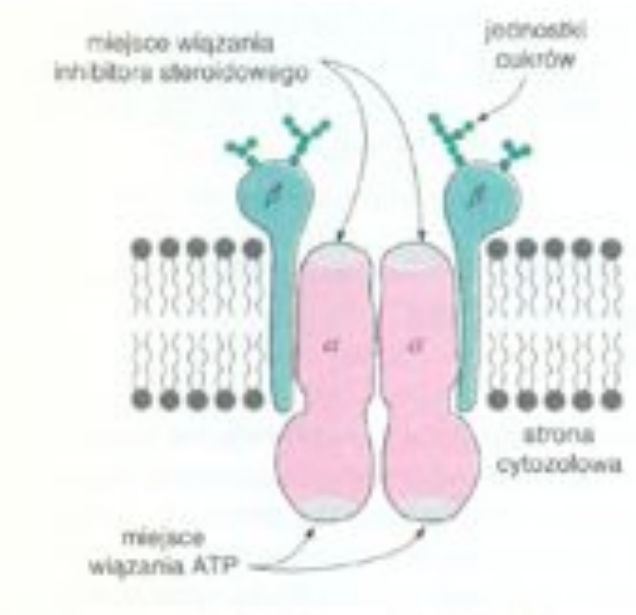


2. **Potencjały czynnościowe** są wynikiem **przejściowych wzrostów przepuszczalności** błony komórkowej dla **Na^+**, a następnie dla **K^+**.
3. **Kanał sodowy** odpowiedzialny za taką przepuszczalność zawiera **cztery wewnętrzne powtórzenia podobnej sekwencji**, które ustawiają się względem siebie symetrycznie tworząc por.
4. **Selektywność kanału wobec Na^+** polega na obecności w porze kanału **pierścienia o małym promieniu utworzonego** z reszt o ujemnym ładunku.

Pompy błonowe

1. Budowanie **gradientów jonowych** w poprzek błony komórkowej i akumulacja substratów energetycznych zachodzi dzięki działaniu **systemów aktywnego transportu**, czyli **pomp**, które różnia się w sposób zasadniczy od **kanałów**, stanowiących **ukadły transportu biernego**.
2. Proces transportu jest **bierny**, gdy **energia swobodna ΔG** dla transportowanej cząsteczki lub jonu ma wartość ujemna, natomiast jest **aktywny**, gdy **ΔG** ma wartość dodatnią.
3. **Transport aktywny** wymaga sprzężonego dopływu **swobodnej energii**, która może pochodzić z **ATP**, **elektrochemicznego gradientu Na^+ lub H^+** (siła sodowo- lub protonomotoryczna), a także ze **światła**.
4. **Pompy** różnią się od kanałów w istotny sposób, nigdy bowiem **nie występuje** w nich **por sięgający z jednej strony błony na drug**ą.





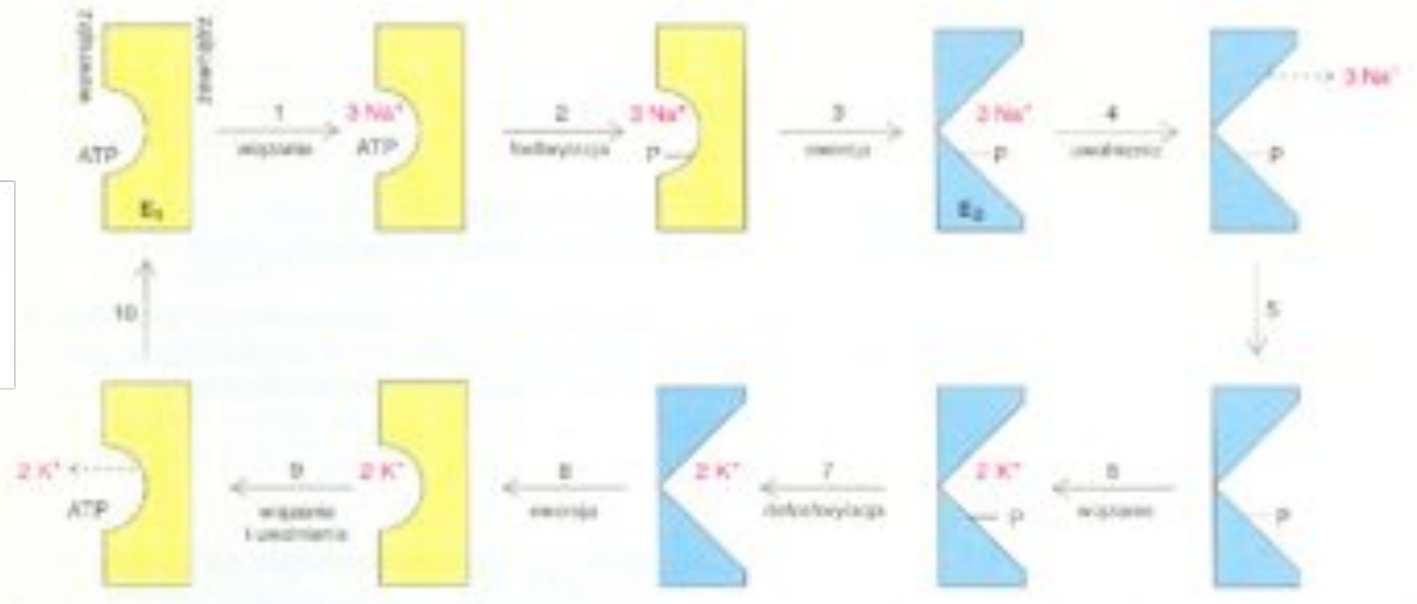
Pompy błonowe

1. W pompach zachodzi natomiast **cykl przejść konformacyjnych**, które równocześnie zmieniają orientacje miejsca wiążącego i jego powinowactwo do transportowanych cząsteczek lub jonów. Mały fragment **transportującego białka** ulega przejściowej **ewersji** w czasie każdego **cyklu transportu**, który przebiega jednokierunkowo dzięki **wydatkowaniu swobodnej energii**. Maksymalna szybkość transportu przez pompy jest rzędu **10^4 jonów na sekundę**, a wiec znacznie mniejsza niż przez kanały.

2. Najczęściej występującym **systemem transportu** w komórkach zwierzęcych jest **pompa Na^+, K^+** , która hydrolizuje cząsteczkę ATP i używa energie tego procesu do **wypompowania trzech jonów Na^+** oraz do **wprowadzenia dwóch jonów K^+.**

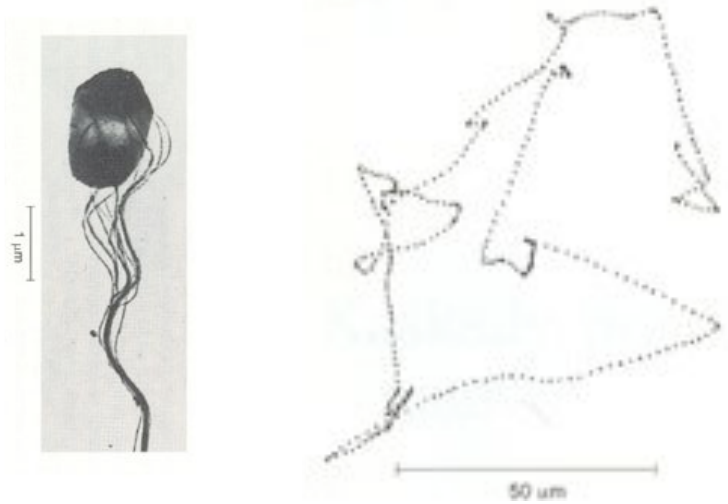
$$E + ATP \overset{Na^+, Mg^{2+}}{\rightleftharpoons} E\text{–}P + ADP$$

$$E\text{–}P + H_2O \xrightarrow{K^+} E + P_i$$



Kaskady przekazujące sygnał

1. Komórki posiadają duża **zdolność reagowania na sygnały** docierające do nich **z otoczenia** (**ruch bakterii** w kierunku substancji odżywczych, **wykrywanie światła** przez komórki siatkówki, **uwalnianie substratów energetycznych** przez **hormonalny sygnał głodu** i indukcja różnicowania przez czynniki wzrostu).
2. Molekularne obwody w komórkach złożone są z **receptorów**, **enzymów**, **kanałów** i **białek regulacyjnych**).
3. Odbiór i przetwarzanie bodźca zachodzi za pośrednictwem różnego rodzaju **kaskad przekazujących sygnał**. Dwoma najlepiej zrozumialymi **procesami transformacji sygnalu** sa: **chemotaksja u bakterii** i **proces widzenia u kregowców**.



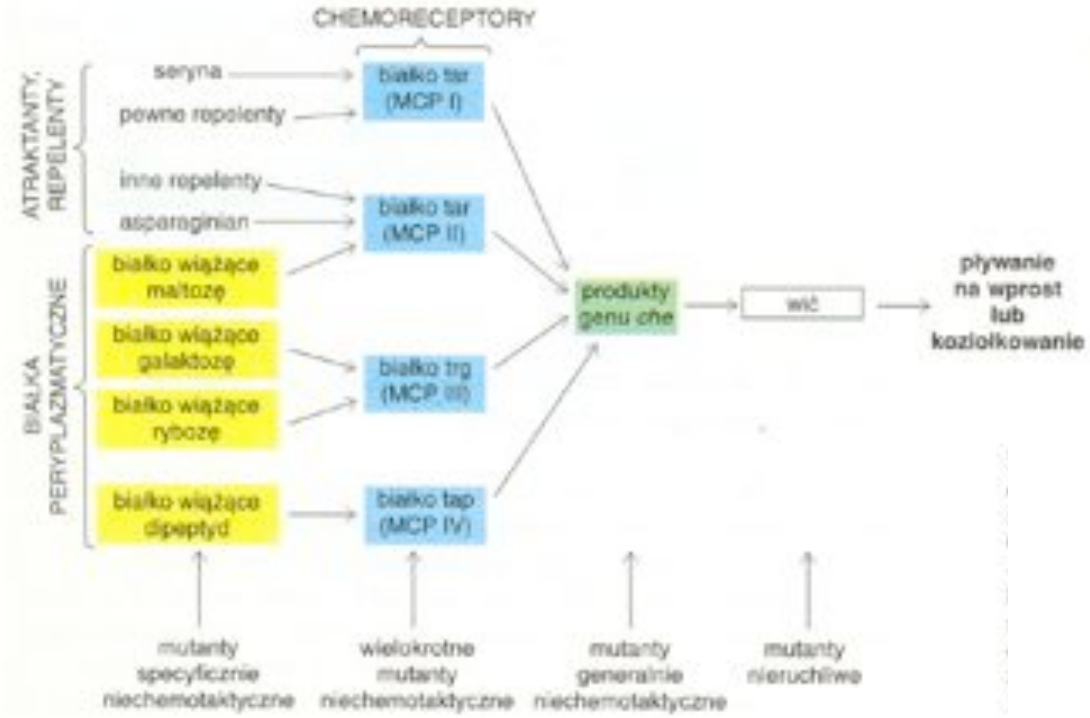
Projekcja drogi przebytej przez bakterie uzyskana za pomoca mikroskopu, który śledzi automatycznie ruch bakterii w trzech wymiarach.

Chemotaksja bakterii skupiajaca komórki przy kapilarze zawierajacej atraktant, np. glukoze

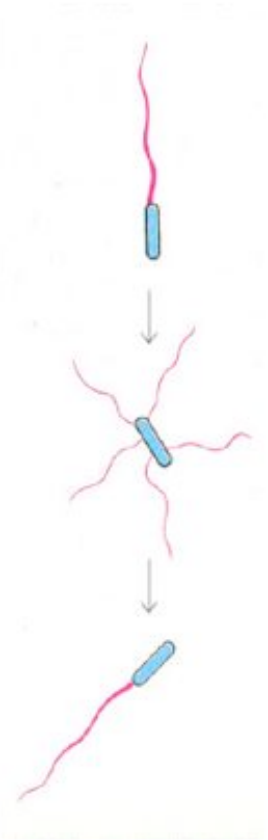
4. Chemotaksja u bakterii jest **ruchem komórek bakteryjnych ku atraktanto**m lub **od repelentów.**

Chemotaksja u bakterii

1. Informacja odebrana przez **chemoreceptory** w błonie komórkowej przekształcana jest w kaskadzie przekazującej i przenoszona do **molekularnych obrotowych motorów wici bakterii.** Kierunek obrotu wici wyznaczany jest okresowo przez **cztery rodzaje receptorów** aktywujących kaskadę fosforylacyjną**.**



Przeplyw informacji w przebiegu **chemotaksji bakterii.**

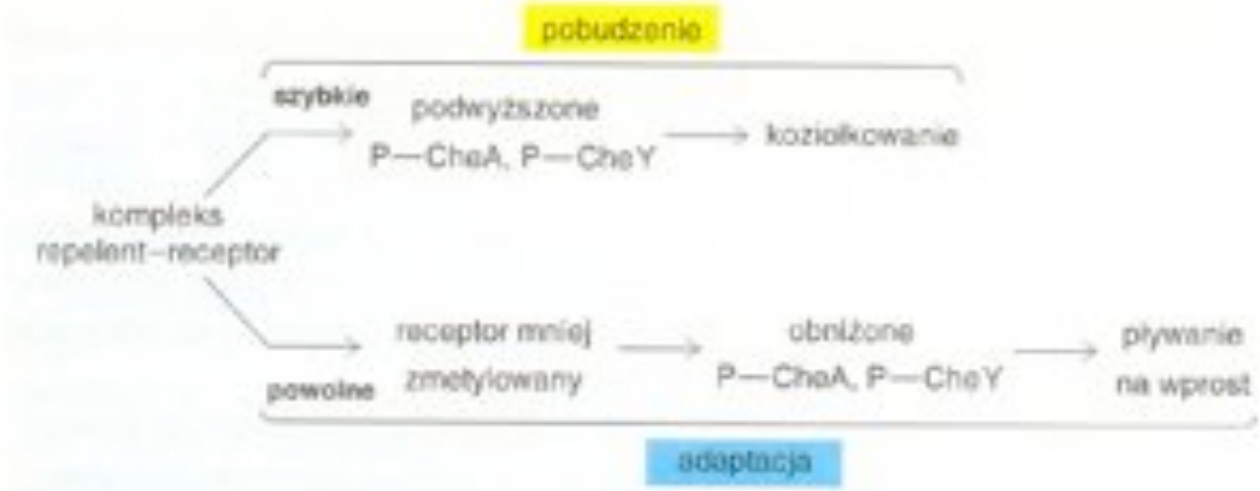


koziołkowanie

2. **Obroty w kierunku** przeciwnym do ruchu wskazówek zegara powodują równomierne **płynięcie bakterii w prawie prostej linii**, natomiast obroty w kierunku zgodnym z ruchem wskazówek zegara wywołują **koziołkowanie** (*ruch chaotyczny*), umożliwiające **zmiany kierunku ruchu**.

Chemotaksja u bakterii

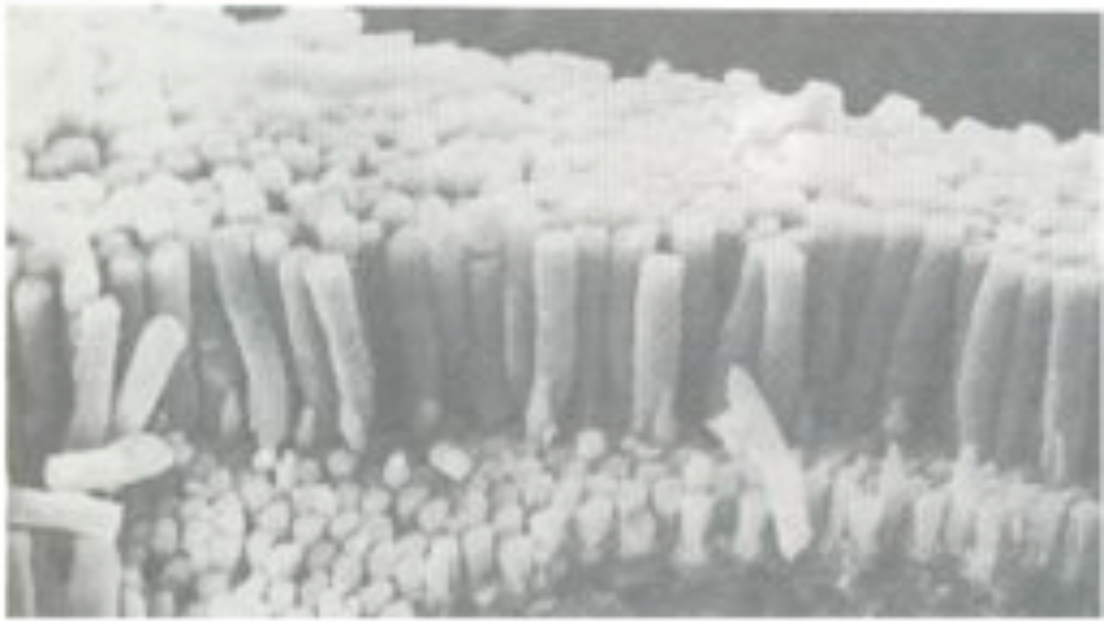
1. Gdy bakteria porusza się w kierunku **atraktantu** lub oddala się od **repelentu**, koziołkowanie jest stłumione. **Kompleksy receptor-repelent** stymulują **autofosforylację białka CheA**. Następnie **grupa fosforanowa** zostaje przeniesiona na **Che**Y, zamieniając ten ostatni w formę indukującą koziołkowanie. **Atraktanty** wywierają efekt przeciwny.
2. Odpowiedź komórki na **wzrost stężenia atraktantu lub repelentu** jest **krótkotrwał**a.



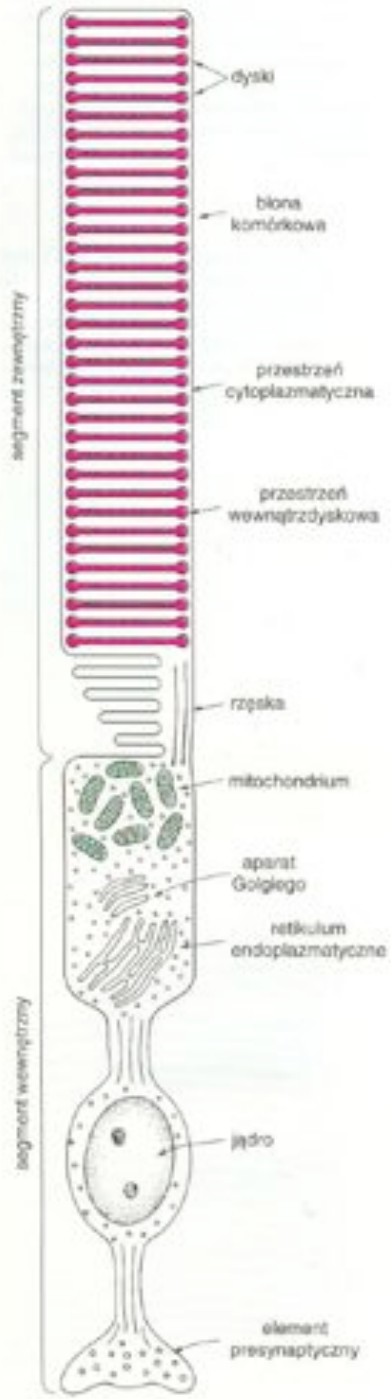
3. **Adaptacja** umożliwia bakterii **wyczuwanie gradientów**, a nie bezwzględnych stężeń atraktantów i repelentów. Krytyczna dla adaptacji jest odwracalna metylacja receptorów chemotaktycznych.
4. **Chemotaksja bakterii** uwidacznia, jak **preferowanie przebiegu** jednych zdarzeń przypadkowych w stosunku do innych może prowadzić do bardzo celowego zachowania się.

Proces widzenia u kręgowców

1. W **siatkówce oka kręgowców** występują dwa rodzaje **komórek fotoreceptorowych**, zwane **pręcikami i czopkami**.
2. **Czopki** odbierają bodźce **światła** o **silnym natężeniu i warunkują rozróżnianie barw**, natomiast widzenie **w przyciemnionym świetle** zależy od **pręcików**, które nie rozróżniają barw.
3. **Komórka pręcikowa** siatkówki może zostać pobudzona przez **pojedynczy foton**, który **zamyka setki kanałów** specyficznych wobec kationów i powoduje hiperpolaryzację o okolo l mV, co jest **wyczuwane przez synapsę** i przeniesione do innych neuronów siatkówki.

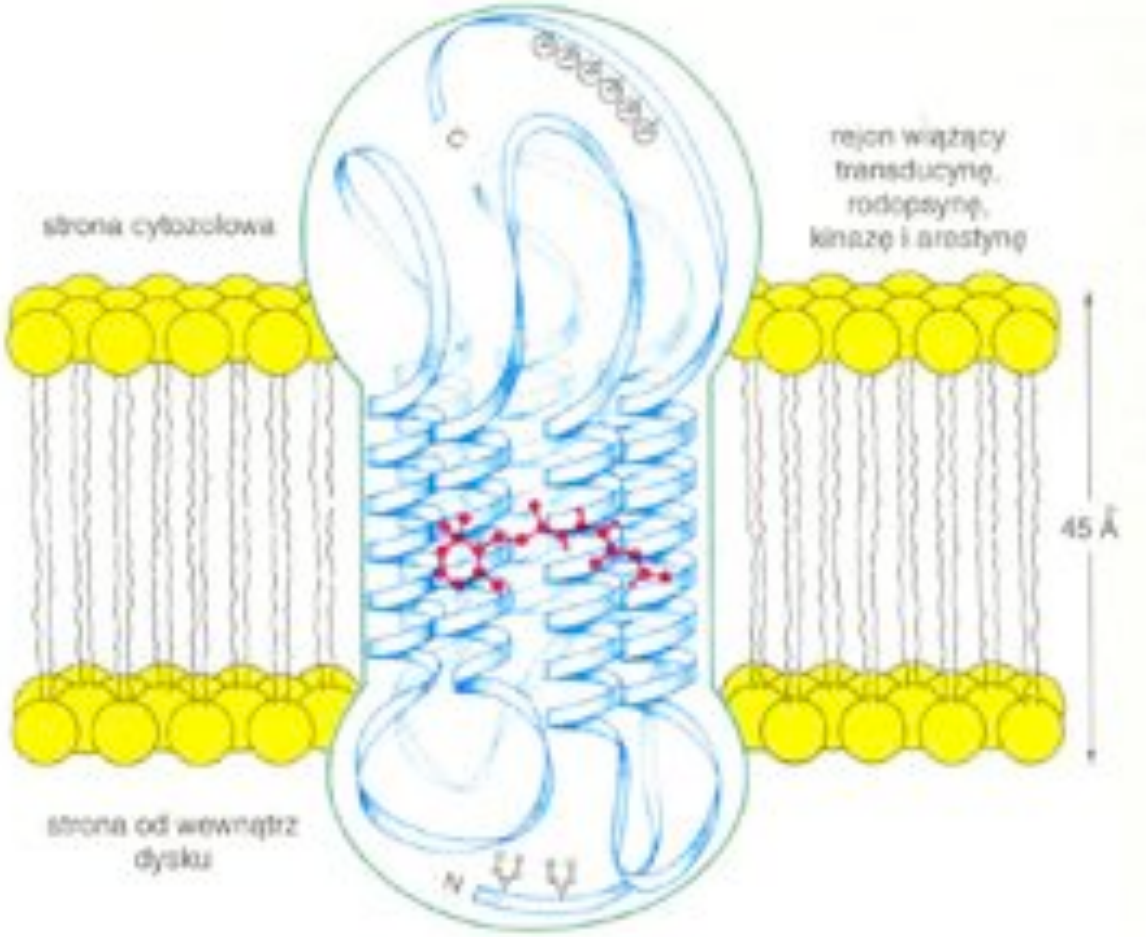


Mikrografia skaningowo-elektronowa komórek pręcikowych siatkówki.



Proces widzenia u kręgowców

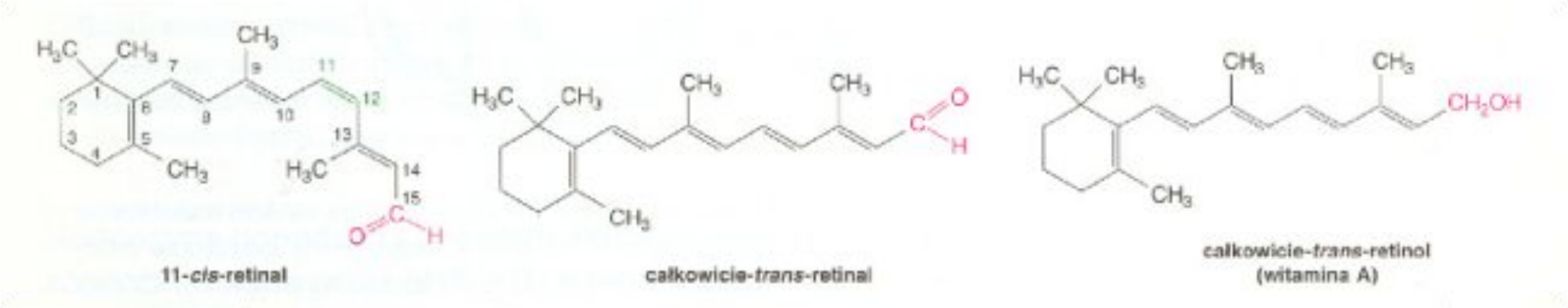
1. **Rodopsyna** jest członkiem rodziny **receptorów błonowych** o <u>siedmiu helisach</u>, obejmującej receptor **β-adrenergiczny**, **receptory węchowe** i **receptory czynnika koniugacji drożdży**.



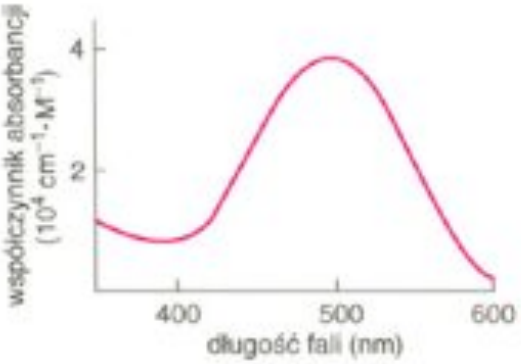
Model budowy rodopsyny - <u>siedmiohelisowy</u> motyw tego transbłonowego receptora występuje również w innych **receptorach hormonalnych** i **czuciowych (sensorycznych**).
Chromofor, ll-cis-retinal jest umieszczony w pobliżu **środka dwuwarstwy**.

Proces widzenia u kręgowców

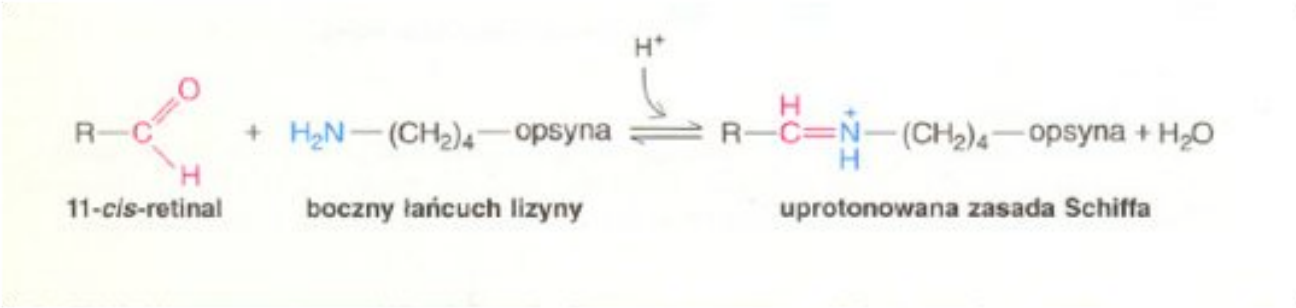
1. C**hromoforem** <u>**rodopsyny**</u>, białka **fotoreceptorowego** jest **11-cis-retinal**, pochodzący z **całkowicie-trans-retinolu** (witaminy A).



2. **Pobudzenie wzrokowe** wyzwalane jest przez **fotoizomeryzacje ll-cis-retinalu** w forme całkowicie trans.
3. **11-cis-Retinal** jest związany w **rodopsynie z białkiem (opsyna)** połączeniem typu zasady Schiffa. Grupa aldehydowa **11-cis-retinalu** wiąże się z aminową grupą specyficznej <u>reszty lizynowej</u>.

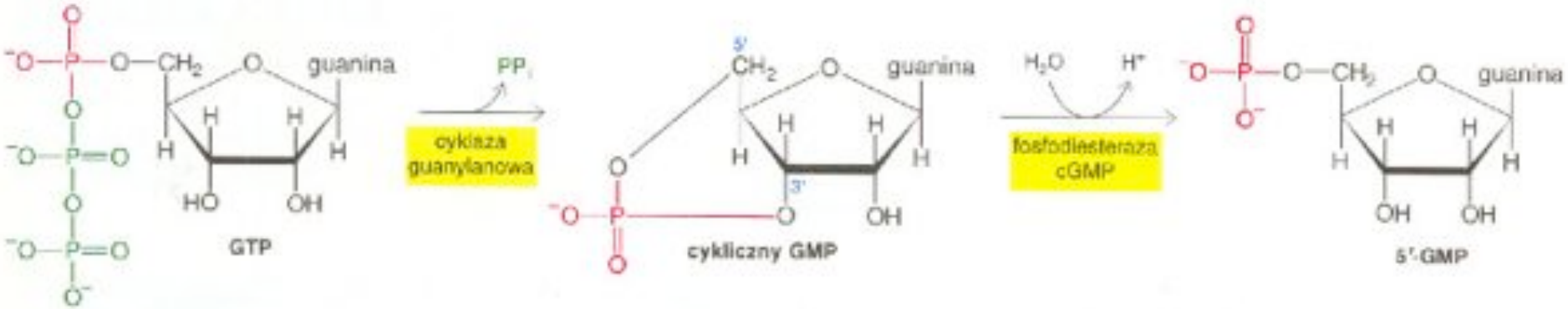


Spektrum absorpcyjne rodopsyny



Proces widzenia u kręgowców

1. Wielokrotnie wzmocniona **odpowiedzią zewnętrznego odcinka komórki pręcikowej** na bodziec świetlny jest **zamknięcie kanałów specyficznych wobec kationów**, powodujące hiperpolaryzację komórki.
2. Przepływ **ponad miliona jonów so**du zostaje zablokowany w efekcie absorpcji **pojedynczego fotonu** przez komórkę pręcikowa zaadaptowana do ciemności.
3. W ciemności kanały błony komórkowej specyficzne wobec kationów są **utrzymywane otwarte przez cykliczny GMP**, cykliczny nukleotyd powstający z GTP.



światło ciemność światło

Cykliczny GMP, pobudzajaca czasteczka w procesie widzenia tworzona jest przez cyklazę guanylanową, a rozkladana rzez specyficzną fosfodiestrazę.

Wykład 5

Białka: konformacja, dynamika i funkcja (cd.)

- Przeciwciała i receptory limfocytów
- Molekularne motory
- Fałdowanie się i projektowanie białek