

# Difuzija receptora na membrani

---

**Katava, Marina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2009**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:327577>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-24**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

DIFUZIJA RECEPTORA NA MEMBRANI  
RECEPTOR MEMBRANE DIFFUSION

Marina Katava  
Molekularna biologija  
Molecular biology

Mentor: izv. prof. Denis Karl Sunko

Zagreb, 2009.

## Sadržaj

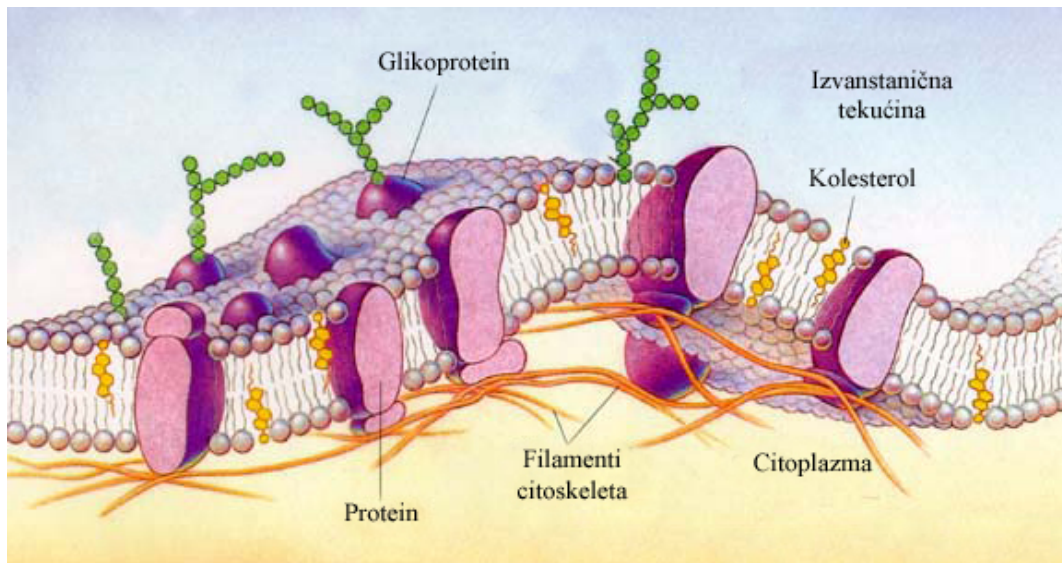
1	Uvod.....	1
2	Sastav membrana .....	2
2.1	Fosfolipidi i nastank fosfolipidnog dvosloja .....	2
2.2	Sfingolipidi .....	4
2.3	Membranski proteini.....	4
2.4	Ugljikohidrati.....	6
2.5	Kolesterol.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3	Značajke membrana .....	8
3.1	Potencijal na membrani .....	8
3.2	Lipidne splavi .....	8
4	Sinaptička plastičnost.....	10
5	Uloga difuzije u varijabilnom sastavu membrana.....	11
5.1	Postsinaptička membrana .....	11
6	Molekularna osnova sinaptičke plastičnosti hipokampusa .....	12
7	Difuzija na membrani .....	13
7.1	Model kolaca .....	13
7.2	Model ogradica membranske splavi .....	14
8	Zaključak.....	16
9	Dodatak A* – Neke uobičajene L-aminokiseline .....	17
10	Literatura .....	18
11	Sažetak .....	20
12	Summary .....	21

## 1 Uvod

Jedan od ključnih događaja u evoluciji zasigurno je kompartmentizacija čiji je nužan uvjet pojava membrana. (Hoekstra R.F., Stearns S.C., 2005.) Odvajanjem molekula membranama nastala je mikrookolina pogodna za nastanak biokemijskih ciklusa, odnosno staničnih procesa karakterističnih za živi organizam.

Zbog varijabilnog sastava, membrana je konstantno podložna difuziji na više razina. Ravnotežni potencijal i nejednake koncentracije iona u citoplazmi i okolini, te asimetrična sinteza lipida u stanici čine membranu i difuziju nerazdvojjivim parom, čiji će se odnos i utjecaj na sinaptičku plastičnost ispitati u ovom radu.

## 2 Sastav membrana



**Slika 1.** Shematski prikaz plazmatske membrane i njoj povezanih struktura (Preuzeto i prilagođeno s <http://www.colorado.edu/intphys/Class/IPHY3730/image/membrane.jpg>)

Biološke membrane su spontano formirane dvoslojne lipidne ovojnice prožete proteinima (Slika 1.). Istodobno su sredstvo odvajanja i komunikacije unutarmembranskog i izvanmembranskog prostora. (Voet D., Voet J., 2004.), te se na njima odvijaju životno važni procesi poput oksidativne fosforilacije, fotosinteze i prijenosa signala.

### 2.1 Fosfolipidi i nastank fosfolipidnog dvosloja

Glicerofosfolipidi ili fosfogliceridi (Slika 2.) čine velik udio u sastavu membrana. (Voet D., Voet J., 2004.) Karakteristika njihove strukture je alkohol glicerol čiji je C3 atom supstituiran fosfatom, a C1 i C2 atomi zasićenom i nezasićenom masnom kiselinom. Fosfatna skupina ima negativan naboj i hidrofilna je, a masne kiseline su dugi nepolarni hidrofobni ugljikovodični lanci s karboksilnom skupinom na jednom kraju. Zbog nezasićenih lanaca masnih kiselina u *cis* konformaciji, repovi lipida se izvijaju. Interakcije među nezasićenim lancima su slabije no među zasićenim, što povećava fluidnost fosfolipidnog dvosloja. Molekule koje imaju hidrofilni i hidrofobni dio zovu se amfipatske molekule. (Voet D., Voet J., 2004.)

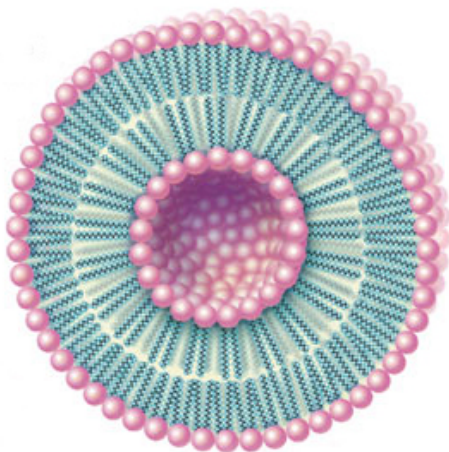
Nabijena fosfatna skupina, koja je često i sama supstituirana, u vodenom mediju citoplazme sudjeluje u stvaranju ion-dipol elektrostatskih veza s molekulama vode. Potencijalna energija među fosfatnom skupinom naboja  $q$  i dipolom molekule  $p$  obrnuto je

proporcionalna kvadratu udaljenosti između molekula u interakciji i iznosi  $E_p = -\frac{qp}{4\pi\epsilon r^2}$ .

(Weiss T.F., 1996.) Zbog visoke dielektrične konstante vode koja pri  $\theta = 25\text{ }^\circ\text{C}$  iznosi 78,54 (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.), ionske interakcije u vodenim otopinama značajne su tek na udaljenosti 10 – 40 nm. (Weiss T.F., 1996.)

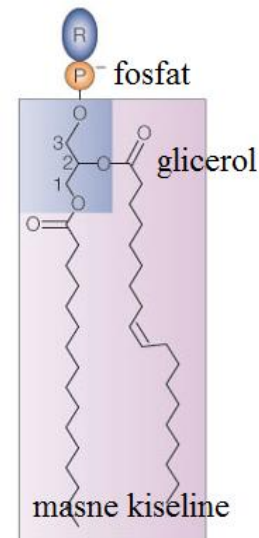
Drugi tip hidrofилnih interakcija je vodikova veza koja nastaje između hidron-donora (molekule koja ima vezan vodikov atom na elektronegativan atom) i hidron-akceptora (molekule koja ima elektronegativan atom). Pri sobnoj temperaturi od  $\approx 300\text{ K}$ , jakost vodikove veze, odnosno energija koju je potrebno uložiti da bi se vodikova veza raskinula, iznosi 10 – 40 kJ/mol. (Weiss T.F., 1996.) Energija vodikove veze ovisi o kutu pod kojim se veza ostvaruje zbog čega se za vodikovu vezu kaže da je usmjerena.

Molekule vode u citoplazmi stvaraju vodikove veze, pa stvaranje vodikovih veza s polarnim glavama fosfata i drugim polarnim strukturama membrane ne pridonosi spontanosti nastanka lipidnog dvosloja. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Nasuprot tome, stvaranje „hidrofobnih interakcija“ osnova je stabilnosti membrana.



**Slika 3.** Liposom bez vode u centralnoj regiji (Preuzeto i prilagođeno s [www.britannica.com](http://www.britannica.com))

otopini fosfolipida nakon nekog vremena stvaraju se liposomi (Slika 3.) – dvoslojne vezikule ispunjene vodom. (Voet D., Voet J., 2004.) Nastanak liposoma iz dvosloja također je povoljan



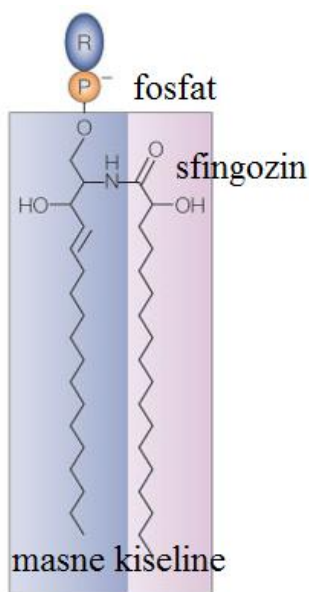
**Slika 2.** Fosfoglicerid (Preuzeto i prilagođeno s <http://www.nature.com/nrm/journal/v6/n3/images/nrm1591-i1.jpg>)

(Weiss T.F., 1996.) Nepolarne molekule ne mogu stvarati vodikove veze s okolnim molekulama vode zbog čega se oko nepolarnih molekula stvara uređena struktura molekula vode poput kaveza što nije entropijski, pa tako niti termodinamički povoljno. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Smanjenje dodirne površine vode i hidrofobnih molekula nastaje organizacijom lipidnih molekula u 30 Å debeo dvosloj pa je zato nastanak membrane entropijski povoljan i spontan proces u vodenoj otopini (citoplazmi). (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) U vodenoj

proces jer se repovi masnih kiselina na rubovima dvosloja miču iz vodene okoline. (Voet D., Voet J., 2004.)

Osim hidrofobnog efekta, lipidni dvosloj stabiliziraju i van der Waalsove interakcije koje nastaju među nenabijenim molekulama kao posljedica lokalne promjene gustoće elektronskog oblaka. Energija van der Waalsove veze iznosi 4 kJ/mol. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.)

## 2.2 Sfingolipidi



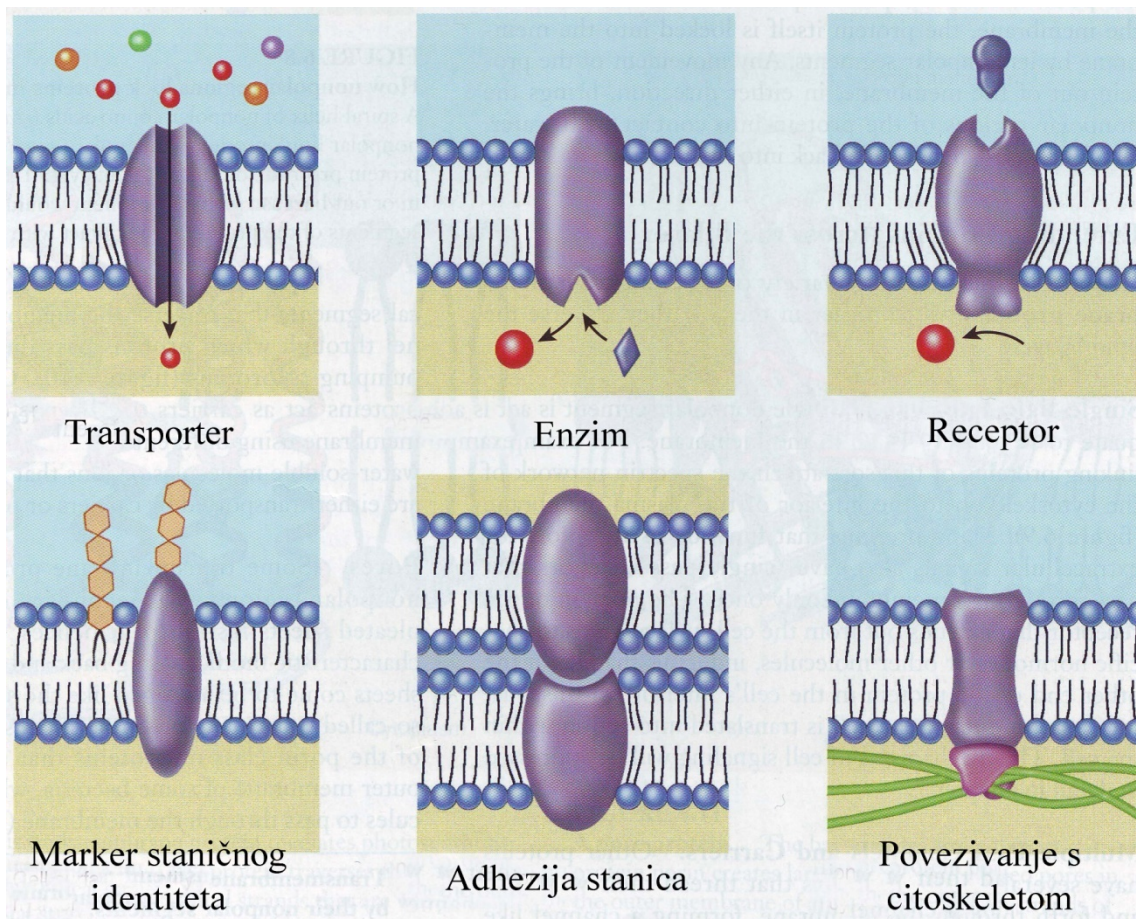
**Slika 4.** Sfingolipid  
(Preuzeto i prilagođeno s  
<http://www.nature.com/nrm/journal/v6/n3/images/nrm1591-i1.jpg>)

Sfingolipidi (Slika 4.) su lipidne molekule čija je osnova alkohol sfingozin na koji su kao i kod fosfoglicerolipida supstituirane fosfatna skupina i masne kiseline. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) U odnosu na fosfogliceride razlikuju se utoliko što su lanci masnih kiselina zasićeni, pa je pakiranje lipida gusto. Ugljikove atome povezuju jednostruke kovalentne veze zbog čega se lipidni repovi ne izvijaju, što smanjuje fluidnost. (Voet D., Voet J., 2004.)

Gusti sloj sfingolipida u membrani ne propušta različite tvari zbog čega sfingolipidi prvenstveno imaju zaštitnu ulogu. (Voet D., Voet J., 2004.) Osim toga, sudjeluju u staničnom prepoznavanju i signalizaciji, apoptozi, proliferaciji, te čine najveći udio lipida membranskih splavi. (Voet D., Voet J., 2004.)

## 2.3 Membranski proteini

Proteini membrane ugrubo se dijele na integralne proteine koji su čvrsto vezani uz membranu i na periferne proteine slabije vezane uz membranu. Integralni proteini iz membrane se mogu ukloniti samo detergentima, denurantima i drugim sredstvima koja narušavaju lipidni dvosloj. Periferni proteini s membranom su povezani hidrofilnim interakcijama preko polarnih domena integralnih proteina i polarnih glava lipida. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.)



**Slika 5.** Različite uloge membranskih proteina (Prilagođeno iz Johnson G.B., Raven P.H., 2005.)

Proteini su makromolekule molekularne težine  $\geq 20$  kDa. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Građeni su od uobičajenih L-aminokiselina (Dodatak A) povezanih amidnim peptidnim kovalentnim vezama. (Voet D., Voet J., 2004.)

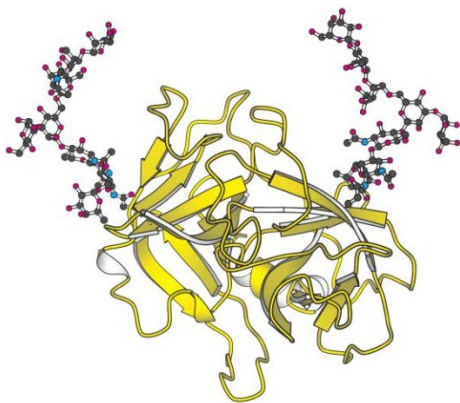
Protein je hijerarhijski uređen kroz primarnu, sekundarnu, tercijarnu i ponekada kvaternu strukturu. (Voet D., Voet J., 2004.) Primarna struktura nastaje povezivanjem aminokiselina kovalentnim vezama, dok je sekundarna struktura proteina konformacija koju primarna struktura zauzima ostvarivanjem maksimalnog broja vodikovih veza za dani primarni slijed aminokiselina. (Voet D., Voet J., 2004.) Najstabilnije sekundarne strukture su  $\alpha$  heliks i  $\beta$  ploča, a svaki protein može imati različit broj sekundarnih struktura ovisno o aminokiselinskom slijedu. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Tercijarna struktura proteina je sveukupna prostorna organizacija proteina. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Kvaternu strukturu imaju samo oni proteini koji se sastoje od više podjedinica ili peptidnih lanaca, a odnosi se na organizaciju podjedinica u prostoru. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.)



Na proteinima membrane događa se najveći broj procesa karakterističnih za membranu (Slika 5.): transport tvari, enzimske reakcije, komunikacija receptora i signalne molekule, prepoznavanje i adhezija stanica, te pričvršćivanje citoskeleta za membranu. (Johnson G.B., Raven P.H., 2005.)

## 2.4 Ugljikohidrati

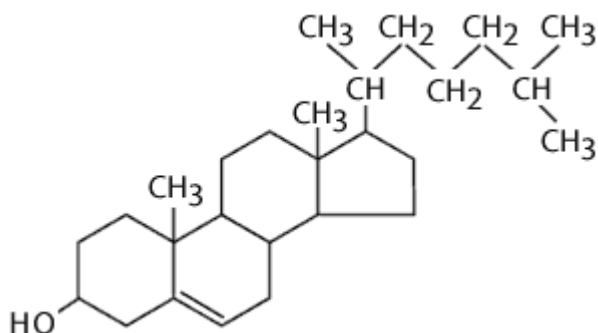
U međusobnom prepoznavanju stanica proteini imaju tek posrednu, a ugljikohidrati ključnu ulogu. Glikolizirani proteini građeni su od proteina i šećera povezanih  $\alpha$ -1,4 glikozidnom vezom, zovu se glikoproteini, te imaju važnu ulogu u međustaničnoj komunikaciji. (Voet D., Voet J., 2004.) Na Slici 6. žutom bojom je prikazan proteinski dio glikoproteina, a dvije razgranjene strukture predstavljaju ugljikohidrate.



**Slika 6.** Tercijarna struktura glikoproteina (Preuzeto s [www.britannica.com](http://www.britannica.com))

Naziv ugljikohidrati odražava sastav spoja; ugljik i vodu. (Weiss T.F., 1996.) Ugljikohidrati se u organizmu nalaze kao oligomeri ili polimeri – više monosaharidnih građevnih jedinica čija je opća formula  $C_n(H_2O)_n$ . (Weiss T.F., 1996.) Konačni broj i način razgranjenja monosaharidnih jedinica vezanih na protein nije genetički kodiran, nego ovisi o enzimima koji kataliziraju reakciju polimerizacije. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.)

## 2.5 Kolesterol



**Slika 7.** Struktura kolesterola (Preuzeto s [http://www.abc.net.au/health/library/img/cholesterol\\_structure.gif](http://www.abc.net.au/health/library/img/cholesterol_structure.gif))

(hidroksilna skupina) i ugljikovodični lanac. (Voet D., Voet J., 2004.) Kolesterol se u membranu umeće tako da njegova slabo polarna hidroksilna glava veže polarnu glavu lipida,

Plazmatske membrane (Cooper G. M., 2000.) i lipidne splavi (Belov V.N. i suradnici, 2009) su bogate kolesterolom, koji ima ključnu ulogu u regulaciji fluidnosti membrana. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Struktura kolesterola (Slika 7.) sarži planarnu jezgru od četiri fuzionirana prstena na koju je vezana polarna glava

dok nepolarni rep pri visokim temperaturama onemogućuje preslobodno gibanje masnih kiselina fosfolipida, a pri niskim temperaturama ih sprječava da se previše približe. (Cooper G. M., 2000.)

Zanimljivo je da je kolesterol u visokim koncentracijama toksičan, pa je zato ekspresija kolesterola strogo regulirana na biosintetskoj i transkripcijskoj razini. (Ehehalt R., Simons K.). Bez obzira na toksičnost kolesterola, njegova koncentracija u membrani je visoka, pri čemu je koncentracija unutar lipidnih splavi dvostruko viša no koncentracija izvan splavi. Dakle, stanica stabilnost splavi, pa tako i funkcionalnu organizaciju proteina unutar splavi, plaća povišenom koncentracijom kolesterola. (Belov V.N. i suradnici, 2009)

### 3 Značajke membrana

#### 3.1 Potencijal na membrani

Potencijal na membrani nastaje kao posljedica difuzije iona niz koncentracijski gradijent, te aktivnog transporta iona uz koncentracijski gradijent. (Weiss T.F., 1996.) Ravnotežni potencijal na membrani nastaje kada su struje iona zbog aktivnog i pasivnog transporta jednake i obično iznosi -20 do -100 mV. (Burggren W., French K, 2002.). Nagle promjene potencijala membrane koje se šire niz akson neurona bez umanjivanja nazivaju se akcijski potencijali i predstavljaju živčani impuls. Akcijske potencijale osim neurona mogu prenositi i mišićne i sekretorne stanice, te stanice jednostaničnih organizama. (Burggren W., French K, 2002.) Potencijal na membrani uvjet je normalnog funkcioniranja organizma, a izjednačenjem potencijala na membrani organizam umire.

#### 3.2 Lipidne splavi

Lipidne splavi (ili mikrodomene) su agregati sfingolipida, proteina i kolesterola, koje zbog gustog pakiranja sfingolipida imaju veliku gustoću. (Ehehalt R., Simons K., 2002.). Usavršavanjem STED mikroskopije, lipidne splavi prestaju biti hipotetski model kojime se pokušava objasniti dinamika membrane, te nastaje slika u kojoj sfingolipidi i proteini stvaraju interakcije s lipidima unutar struktura (< 200 nm) koje sadrže kolesterol (Belov V.N. i suradnici, 2009.) i koje, bez obzira na gusto pakiranje, imaju karakteristike tekućeg mozaika u kojem je difuzija dopuštena. (Ehehalt R., Simons K., 2002.)

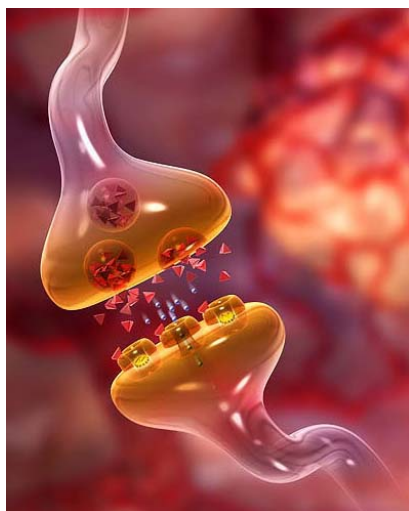
Difuzija se unutar splavi odvija na dvije razine; difuzija proteina i lipida unutar i van splavi, te difuzija splavi kroz membranu. (Ehehalt R., Simons K., 2002.) Za razliku od difundirajućih proteina, usidreni i transmembranski proteini dulje se zadržavaju u splavi. (Ehehalt R., Simons K., 2002.). Uopćeno, afinitet proteina prema splavi razlikuje se kada je protein izvan splavi i u splavi. Naime, ulaskom proteina u splav, proteini se često modificiraju tako da se njihov afinitet vezanja za elemente splavi poveća. (Ehehalt R., Simons K., 2002.).

Kolesterol ima ključnu ulogu u nastanku i održanju strukture splavi; istodobno stabilizira splav vežući se za sfingolipide i ograđuje splav od ostatka membrane jer se nalazi vezan između rubnih sfingolipida splavi i fosfolipida membrane. (Ehehalt R., Simons K.,

2002.) Ukratko, kolesterol u splavima djeluje poput ljepljivosti bez čije prisutnosti dolazi do destabilizacije i raspada splavi. (Ehehalt R., Simons K., 2002.)

Mjesto nastanka splavi je Golgijevo tijelo, odakle se premješta na membranu. (Ehehalt R., Simons K., 2002.). Uloga splavi je mnogostruka, uključujući i transport na membrani, te prijenos signala (Ehehalt R., Simons K., 2002.). Splavi djeluju i kao strukture na kojima su organizirani proteini, a čijim udruživanjem i povezivanjem nastaju veće funkcionalne jedinice. (Ehehalt R., Simons K., 2002.).

## 4 Sinaptička plastičnost



**Slika 8.** Shematski prikaz sinapse  
(Preuzeto s  
<http://images3.jlist.com/g1/synapse.jpg>)

Sinapsa (Slika 8.) je veza između dva neurona ili neurona i druge ciljane stanice preko koje presinaptički neuron utječe na postsinaptičku stanicu. (Burggren W., French K, 2002.) Postoje električne i kemijske sinapse. Električne sinapse su membrane neurona spojene čvrstim spojevima, tako da se promjena potencijala direktno prenosi sa presinaptičke na postsinaptičku stanicu.

Kemijske sinapse su sporije u odnosu na električne, a kod njih se potencijal postsinaptičke stanice mijenja posredno, preko kemijske tvari male molarne mase, tj. neurotransmitera, koju otpušta presinaptički neuron, a veže se za receptor na postsinaptičkoj membrani. Receptor na koji je vezan neurotransmiter aktivira kanale ili je i sam kanal kojim ulaze kationi i depolariziraju postsinaptičku membranu.

Osim opisanog brzog kemijskog prijenosa, postoji i tzv. spori kemijski prijenos kojime neurotransmiteri (peptidi ili biogeni amini) aktiviraju receptore koji utječu na signalne puteve stanice. Signalnim putevima se mijenja vodljivost iona. Stanice istodobno mogu imati i spori i brzi kemijski sinaptički prijenos. (Burggren W., French K, 2002.)

Plastičnost neurona je promjena neurona stjecanjem iskustva, zbog čega su životinje sposobne učiti i prilagođavati se novim situacijama. Za plastičnost neurona uvelike je odgovorna sinaptička plastičnost, odnosno, promjene na sinapsi. Sinapse koje se ne mogu trajno modificirati ne mogu sudjelovati u dugotrajnom pamćenju. (Burggren W., French K, 2002.) Kliničkim istraživanjima utvrđeno je da hipokampus mozga proizvodi barem dio sjećanja. Visokofrekventnim (50 Hz) ili niskofrekventnim (2 Hz) (Burggren W., French K, 2002.) podraživanjem hipokampusa dolazi do promjene sinaptičke djelotvornosti u vidu dugotrajne potencijacije (Long Term Potentiation) ili dugotrajnog potiskivanja (Long Term Depression). Rezultat LTP je dugotrajno povišenje amplitude postsinaptičkog potencijala u odnosu na presinaptički, dok je LTP obrnut. Dakle, vanjski čimbenik utječe na trajnu promjenu sinapse koja mijenja postsinaptički potencijal. (Burggren W., French K, 2002.)

## 5 Uloga difuzije u varijabilnom sastavu membrana

Kod eukariotskih organizama, sinteza lipida odvija se na citoplazmatskoj strani Golgijeva aparata (Voet D., Voet J., 2004.) odakle se lipidi premještaju u membrane drugih organela. Membrana je dinamička struktura, promjenjivog sastava (Choquet D., Triller A., 2003.) čije flipaze kataliziraju „flip – flop“ prijelaz iz jednog sloja lipida u drugi niz koncentracijski gradijent, dok fosfolipid translokaze uz utrošak ATP-a lateralno premještaju fosfolipide iz područja niže u područje više koncentracije fosfolipida. (Voet D., Voet J., 2004.) I lipidi i proteini mogu slobodno lateralno difundirati ukoliko nisu vezani za citoskelet ili statičnu strukturu u membrani.

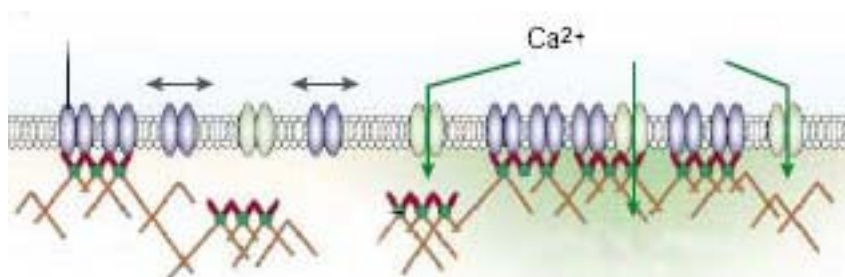
Osim slobodne difuzije lipida i proteina u membrani, oni mogu difundirati i kroz lipidne splavi nešto manjom brzinom difuzije. (Belov V.N. i suradnici, 2009.)

### 5.1 Postsinaptička membrana

Sastav postsinaptičke membrane brzo se mijenja endocitozom, egzocitozom i difuzijom. Postsinaptička membrana neurona sadrži više tipova receptora akumuliranih u mikrodomene koje se nalaze nasuprot presinaptičkim završecima iz kojih izlaze neurotransmiteri. (Choquet D., Triller A., 2003.) Mikrodomene imaju uređenu ultrastrukturu lipida i njima pridruženih proteina, te im sastav slabo varira zbog usidrenosti transmembranskih proteina o citoskelet. (Choquet D., Triller A., 2003.) Ovoj teoriji u prilog ide i činjenica da proteini s domenom ispučenom prema citoplazmi (za vezanje citoskeleta) slabije difundiraju od njihovih mutanata s kraćim citoplazmatskim domenama. (Choquet D., Triller A., 2003.)

## 6 Molekularna osnova sinaptičke plastičnosti hipokampusa

Točan mehanizam dugotrajne potencijacije (LTP) i dugotrajnog potiskivanja (LTD) nije u potpunosti razjašnjen. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Poznato je da se tijekom LTP u postsinaptičku membranu umeću AMPA ([ $\alpha$ ]-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionska kiselina) i NMDA (N-metil-D-aspartat) receptori (Holcman D., Schuss Z., 2004.) koji uzrokuju depolarizaciju postsinaptičke membrane. LTP počinje umetanjem NMDA receptora koji unose  $\text{Ca}^{2+}$  u stanicu (Bredt D. S., Nicoll R. A., 2003.) što usporava difuziju AMPA receptora. (Slika 9.) (Holcman D., Schuss Z., 2004.)



**Slika 9.** Ulaskom  $\text{Ca}^{2+}$  u stanicu kroz NMDA receptore (zeleno) stanični sekelet organizira se tako da se AMPA receptori imobiliziraju (Prilagođeno na temelju Choquet D., Triller A., 2003.)

AMPA receptori vežu glutamat (Bredt D. S., Nicoll R. A., 2003.), a sintetiziraju se u Golgijevom tijelu odakle se dopremaju u postsinaptičku membranu aksona ili dendrita. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Nije poznato umeću li se izravno na područje postsinaptičke gustoće, odnosno odmah nasuprot presinaptičkim glutamatergičnim završecima ili se umeće u ekstrasinaptički dio postsinaptičke stanice. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) AMPA receptori se kategoriziraju prema svojoj C-terminalnoj domeni na GluR1, GluR2, GluR3 i GluR4 pri čemu GluR1 ima dugačak, GluR3 kratak, a GluR2 i GluR4 rep varijabilne dulje. (Bredt D. S., Nicoll R. A., 2003.) Duljina GluR domene određuje koeficijent difuzije, odnosno, vrijeme zadržavanja proteina unutar lipidnih splavi. (Holcman D., Schuss Z., 2004.)

## 7 Difuzija na membrani

U slučaju normalne difuzije, prosječni kvadrat udaljenosti difundirajuće čestice proporcionalan je vremenu;

$$\langle r^2 \rangle = 4Dt$$

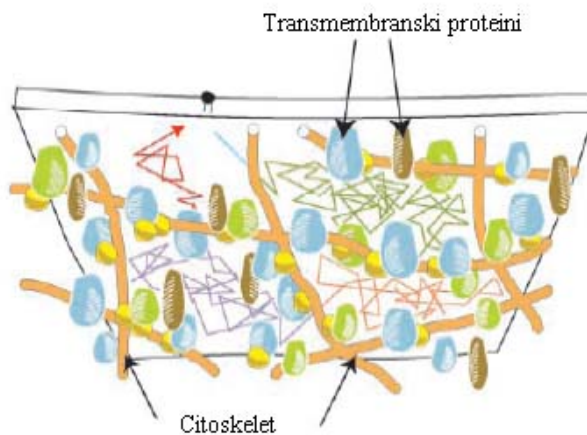
pri čemu je  $D$  koeficijent difuzije, a  $t$  vrijeme. (Saxton M. J, 1994.) U anomalnoj difuziji, u obzir se uzima i eksponent anomalne difuzije  $d_w$ ,

$$\langle r^2 \rangle \sim t^{\frac{2}{d_w}}$$

Ako je  $d_w = 2$ , difuzija je normalna, a ako je  $d_w > 2$ , difuzija je usporena. (Saxton M. J, 1994.)

Usporena difuzija može se opisati s dva ekvivalentna modela; modelom kolaca i modelom lipidnih splavi. (Choquet D., Triller A., 2003.)

### 7.1 Model kolaca



**Slika 10.** Usidreni membranski proteini djeluju kao kolci ograničavajući gibanje fosfolipida (strelice u boji). (Prilagođeno na temelju Fujiwara T. i sur, 2002.)

U odnosu na umjetne dvosloje, brzina difuzije lipida u staničnoj membrani manja je 5 – 100 puta. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) Smanjenje brzine difuzije može biti posljedica interakcija među lipidima i proteinima, interakcija s ekstracelularnim matriksom ili zbog membranskih mikrodomena (lipidnih splavi).

(Fujiwara T., Jacobson H, 2002.)

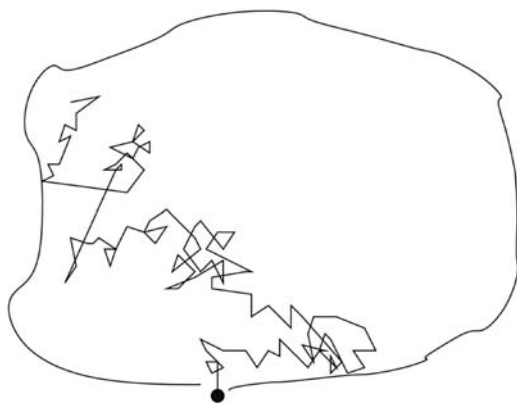
Proučavanjem 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) fluorescencijski, utvrđeno je slijedeće: molekula DOPE-a kreće se unutar 230 nm oko 11 ms u prosjeku brzinom difuzije  $5,4 \mu\text{m}^2/\text{s}$  nakon čega prelazi na slijedeću domenu od 230 nm (Slika 10.). (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.)

DOPE je lipid koji ne čini strukturu lipidnih mikrodomena, a brzina njegove difuzije unutar područja od 230 nm ( $5,4 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ) gotovo je jednaka brzini fosfolipida u umjetnoj



membrani. Ipak, kada se gleda makroskopski pomak DOPE-a kroz više domena, njegova difuzija puno je sporija što ukazuje na kompartmentizaciju membrane na mikrodomene. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) Naposlijetku je utvrđeno da usporeno gibanje nije posljedica ekstracelularnog matriksa, lipidnih splavi ili interakcija među proteinima i lipidima, nego zbog aktinskog citoskeleta pričvršćenog za membranu. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) Difuzija je usporena jer je oko mjesta pričvršćenja citoskeletnog elementa gustoća fosfolipida veća, pa sporije difundiraju, odnosno da je povećano hidrodinamičko trenje. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) Efekt usporavanja lipida vidi se na lipidima promatranima na vanjskoj strani membrane iako je citoskelet vezan sa unutrašnje strane jer je 30% transmembranskih proteina povezano s citoskeletom. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) Transmembranski proteini povezani s elementima citoskeleta čine „kolce“, tj. prepreke u difuziji fosfolipida koji slobodno difundiraju po principu Brownovog gibanje bez preskakanja. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.)

## 7.2 Model ogradica membranske splavi



**Slika 11.** Bijeg čestice iz zatvorene mikrodomene. Sve druge površine su reflektirajuće osim malog otvora. (Prilagođeno i preuzeto s <http://www.pnas.org/content/104/41/16098/F1.expansion.html>)

Uočeno je da nasumično gibanje receptora u membrani ima dvije faze koje se međusobno izmjenjuju; u jednoj fazi receptor difundira normalno bez prepreka, dok se u drugoj fazi giba unutar ograničenog prostora. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Vrijeme koje receptor provede izvan zatvorenih domena ovisi o broju, gustoći i veličini mikrodomena. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Veličina zatvorene domene nije

poznata, ali se prema vremenu provedenom unutar domene može pretpostaviti koje interakcije receptor stvara s drugim strukturama domene. (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Zbog stvaranja interakcija, usporava se brzina difuzije receptora (Holcman D., Schuss Z., 2004.). Zatvorenu domenu u modelu predstavlja disk unutar kojeg protein difundira, a čije su granice odbijajuće, osim jednog mjesta na kojem receptor može izaći iz domene. (Slika 11.) (Holcman D., Schuss Z., 2004.) Vrijeme zadržavanja (AMPA) receptora u zatvorenoj domeni je reda veličine jedne minute. (Holcman D., Schuss Z., 2004.)

Model kolaca ne isključuje istodobno postojanje modela ogradica. Dakle, na istoj membrani molekula može biti difuzijski ograničena i zbog reflektivnog ruba lipidne mikrodomene i zbog vezanja aktinskih filamenata za transmembranske proteine. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.) S obzirom na to da najnovija istraživanja (Belov V.N. i suradnici, 2009.) ukazuju na to da na membrani doista postoje strukture koje ne odstupaju od modela lipidnih splavi, model kolaca podrazumijeva dvostruku kompartmentizaciju, odnosno ograničenje difuzije na razini oba modela. S druge strane, model ogradica oko membranske mikrodomene ne uzima u obzir utjecaj vezanja transmembranskih proteina i aktinskih filamenata na difuziju. (Holcman D., Schuss Z., 2004.)

## 8 Zaključak

Hidrofobni efekt i van der Waalsove interakcije osnova su stabilnosti membrana. S obzirom na brojne uloge u komunikaciji, izlučivanju, prenošnju signala, zaštiti, održanju stalnog sastava unutarstaničnog prostora i homeostazi općenito, širok raspon uloga i struktura membranskih proteina je očekivan. Galaktolipidi biljaka su najzastupljeniji lipidiu biosferi jer čine 70 – 80% tilakoidnih membrana. (Cox M.M., Nelson D.L., 2005.) Kolesterol povećava fluidnost i rigidnost membrane istim mehanizmom; umetanjem hidroksilne skupine kraj glave fosfolipida, te ugljikovodičnog lanca kraj masnih kiselina fosfolipida. Fluidnost membrana ovisi i o broju nezasićenih lanaca masnih kiselina. Ravnotežni potencijal na membrani ovisi o svim ionima koji su pokretni, a na njega najveći utjecaj ima kalij jer je membrana za njega napropusnija. (Weiss T.F., 1996.)

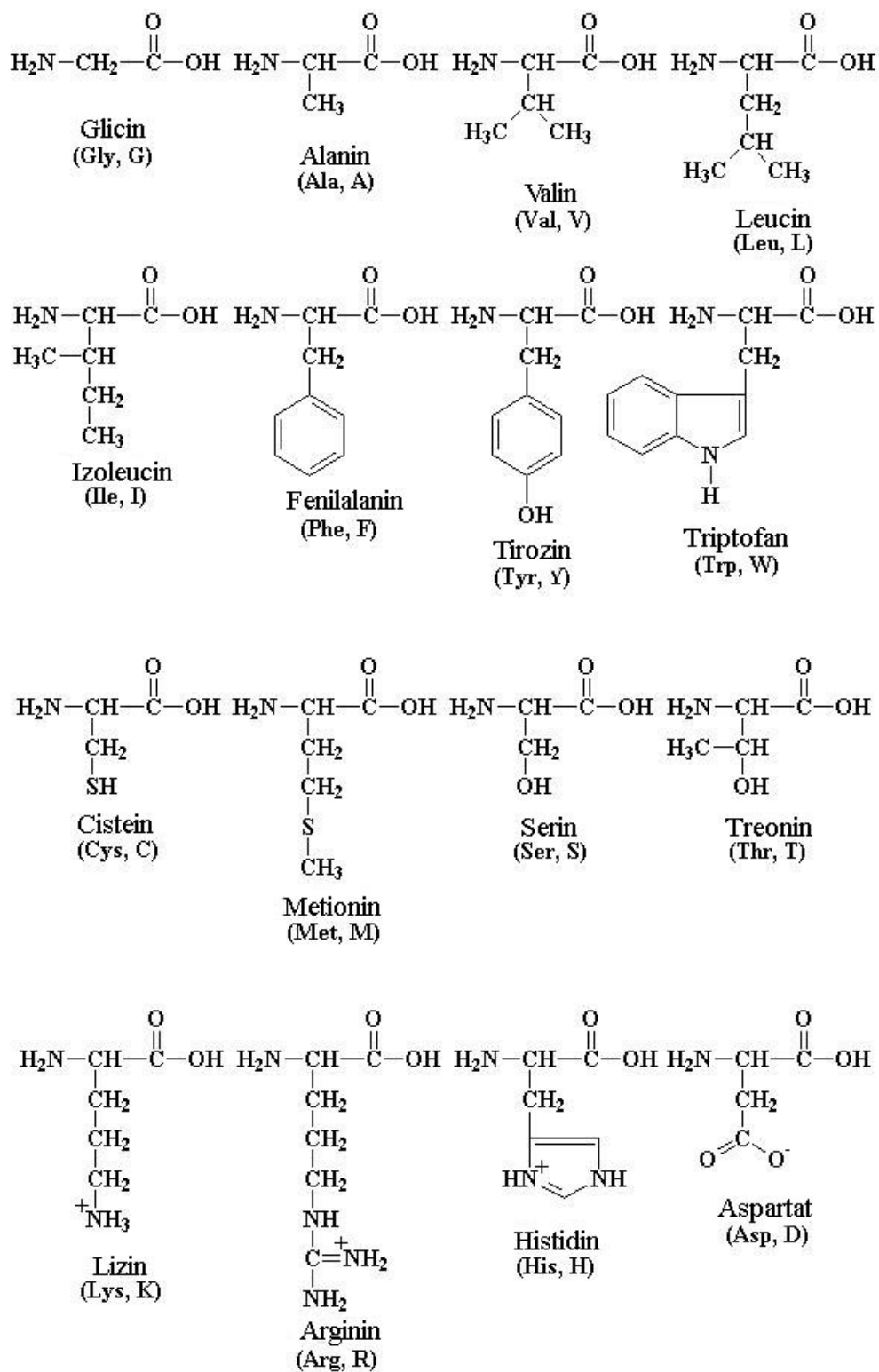
Sinapsa je spoj na kojem se prenosi signal pre-sinaptičkog neurona na post-sinaptičku stanicu direktno ili preko neurotransmitera, a informacija se prenosi kao promjena u ravnotežnom potencijalu membrane. Osim ekscitirajućih depolarizacijskih signala, neuronima se prenose i inhibirajući hiperpolarizacijski signali.

Iskustveno učenje temelji se na promjeni broja receptora u membrani (npr. AMPA receptora) ili kovalentnoj modifikaciji kanala. LTP i LTD na sinapsama hipokampusa posljedica su djelovanja vanjskog čimbenika, a na molekularnoj razini se radi o smanjenju brzine difuzije AMPA receptora modulacijom NMDA receptorima pomoću  $Ca^{2+}$ . (Holcman D., Schuss Z., 2004.)

Umjetni fosfolipidi imaju veću brzinu difuzije od onih u biološkim membranama jer su biološke membrane visokoorganizirane dinamičke tvorevine prožete kompaktnim membranskim mikrodomenama. Manja brzina difuzije u biološkim membranama pokušava se objasniti modelom kolaca i modelom ogradica na mikrodomenama. (Belov V.N. i suradnici, 2009.) Model kolaca temelji se na steričkom zasjenjivanju, hidrodinamičkom trenju i velikoj gustoći fosfolipida oko transmembranskih proteina vezanih za elemente citoskeleta (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.), dok se model ogradica na mikrodomenama oslanja na stvaranju interakcija molekule unutar domene s drugim molekulama u istoj domeni. (Holcman D., Schuss Z., 2004.)

Naposlijetku, model kolaca ne odbacuje istodobno postojanje ogradica na mikrodomenama, čime kao mogućnost nastaje i dvostruka kompartmentizacija. (Fujiwara T., Jacobson H, 2002.)

## 9 Dodatak A\* – Neke uobičajene L-aminokiseline



\*Preuzeto i prilagodeno sa <http://pslc.ws/macrog/kidsmac/images/amino.gif>

## 10 Literatura

- Belov V.N., Eggeling C., Hein B., Hell S.W., Medda R., von Middendorff C., Polyakova S., Ringemann C., Sandhoff K., Schönle A., Schwarzmann G., Direct observation of the nanoscale dynamics of membrane lipids in a living cell, *Nature*, Vol 457, 2009
- Bredt D. S., Nicoll R. A., AMPA receptor trafficking at excitatory synapses, *Neuron*, Vol. 40, 2003
- Burggren W., French K., Randall D., Eckert *Animal Physiology: Mechanisms and adaptations*, 5th edition, W.H. Freeman and Company, 2002, pp. 114 - 215
- Cooper G. M., *The Cell: A molecular approach*, 2nd edition, Sinauer Associates Inc., 2000, pp.79 - 86
- Choquet D., Triller A., The role of receptor diffusion in the organisation of the postsynaptic membrane, *Nature*, Vol. 4, 2003
- Cox M. M., Nelson D. L., *Lehninger principles of biochemistry*, 4th edition, W.H. Freeman and Company, 2005, pp. 343 - 420
- Ehehalt R., Simons K., Cholesterol, lipid rafts and disease, *The Journal of clinical investigation*, Vol 110, 2002
- Fujiwara T., Jacobson H., Kusumi A., Ritchie K., Phospholipids undergo hop diffusion in compartmentalized cell membrane, *The Journal of Cell Biology*, 2002
- Hoekstra R. F., Stearns S. C., *Evolution – an introduction*, 2nd edition, Oxford University Press, 2005, pp. 355 - 357
- Holcman D., Schuss Z., Escape through a small opening: receptor trafficking in a synaptic membrane, *Journal of Statistical Physics*, Vol. 117., 2004
- Johnson G.B., Losos J.B., Raven P.H., Singer S. R., *Biology*, 7th edition, McGraw-Hill, 2002, pp.105 - 122
- Saxton M. J., Anomalous diffusion due to obstacles: A Monte Carlo study, *Biophysical Journal*, Vol. 66, 1994

Voet D., Voet J., Biochemistry, 3rd edition, Wiley, 2004, pp. 382 - 450

Weiss T. F., Cellular biophysics Volume 1: Transport, MIT Press, 1996, pp. 10 - 40

[http://www.abc.net.au/health/library/img/cholesterol\\_structure.gif](http://www.abc.net.au/health/library/img/cholesterol_structure.gif)

<http://www.colorado.edu/intphys/Class/IPHY3730/image/membrane.jpg>

<http://images3.jlist.com/g1/synapse.jpg>

<http://www.nature.com/nrm/journal/v6/n3/images/nrm1591-i1.jpg>

<http://www.pnas.org/content/104/41/16098/F1.expansion.html>

<http://pslc.ws/macrog/kidsmac/images/amino.gif>

## 11 Sažetak

Plazmatska i druge stanične membrane odvajaju prostor specijalne namjene i uvjeta, te služe kao mjesto odvijanja staničnih procesa. Premda sastav membrana ovisi o funkciji, sve su membrane lipidni dvosloji prožeti proteinima. Membrane opisujemo modelom tekućeg mozaika prema kojem je slobodan prijelaz lipida iz jednog sloja u drugi, te je dopuštena difuzija lipida i proteina. Smanjenje dodirnih površina hidrofobnih molekula i vodenog otapala entropijski je povoljno zbog čega su membrane samoorganizirajuće strukture.

Cilj ovog rada bio je proučiti međusobni odnos sastavnih komponenti membrana, te na temelju tih spoznaja povezati difuziju na membrani s ograničenjima koja proizlaze iz interakcija unutar membrane i njoj okolnih struktura.

Prijenos živčanih signala neuronima kompleksna je mreža strukturnih, difuzijskih i elektrostatskih čimbenika. Ne postoji jedinstven model koji opisuje difuziju na biološkoj membrani jer promjenjivost sastava, te broj struktura i procesa vezanih uz membrane ostavlja puno mjesta za razvitak različitih teorija o razlozima usporenosti difuzije.

## 12 Summary

Apart from being an active biological structure, plasmalemma and other cell membranes separate intraplasmic space, which possess special features and purpose. Membranes are lipid bilayers with embedded proteins and function-specific structures. Liquid mosaic characteristics of membranes allow lipid flip-flops between leaflets and diffusion of lipids and proteins within one leaflet. Due to entropy-driven clustering of hydrophobic tails, lipids spontaneously form bilayer self-sealing membranes.

Within the framework of this thesis, structural and functional interactions of membrane components were sought into with intention of coupling diffusion rate decrease with formation of molecular interactions between membrane (and cellular) components.

Action potential formation and transmission is a complex interplay of neurone structure, diffusion and electrical properties of neurons. A variety of membrane diffusion models exists as a consequence of membrane omnipresence and variability.