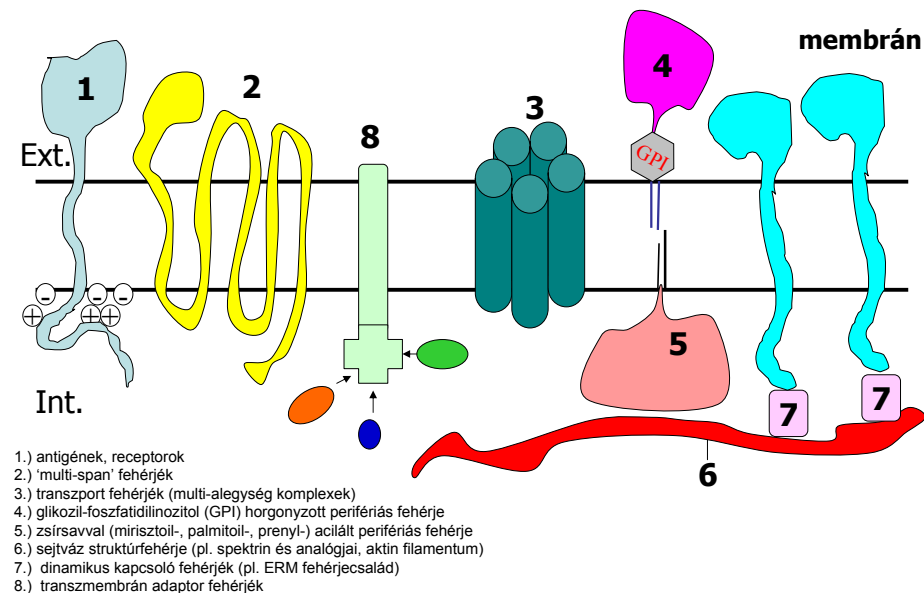


A sejtmembrán molekuláris szerveződése, membrán mikrodomének

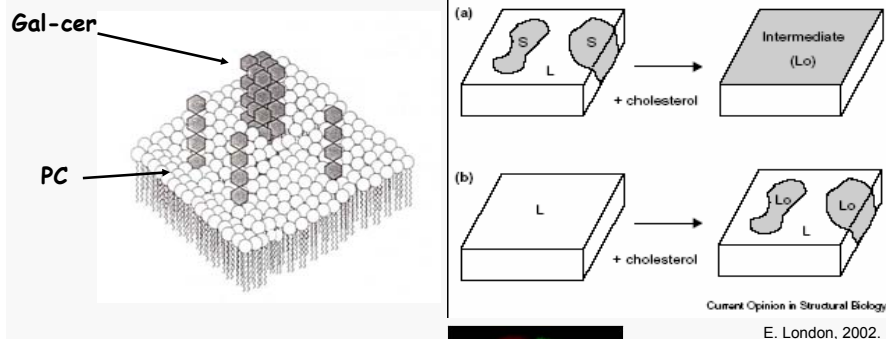
- A sejtmembrán molekuláris szerveződése
- A membrán mikrodomének (lipid tutajok, caveolák), avagy a lipidek és fehérjék „társasége”
A mikrodomének funkcionális jelentősége
- A sejtmembrán molekuláris szerveződésének és funkciójának új vizsgálati lehetőségei: 'egy molekula detektálás' ultragyors videomikroszkópiával

A membránfehérjék globális szerkezete és kapcsolódása a lipid kettősréteghez:

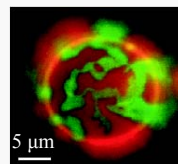


Homogén-e a membrán lipid kettősréteg?

- Lipid mikroheterogenitás többkomponensű mono- és bilayerekben, liposzómákban (LUV): mikroklorimetria, FRAP, ESR
- Spontán **GSL**, **SM** **szegregáció** két/háromkomponensű PC bilayerekben
- A **koleszterin** mint stabilizáló faktor



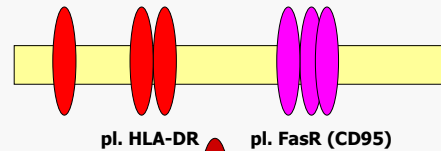
Fluid (zöld) és gél fázisú (piros) lipid domének kétkomponensű liposzóma modellmembránban (SNOM, Kinnunen, 2002)



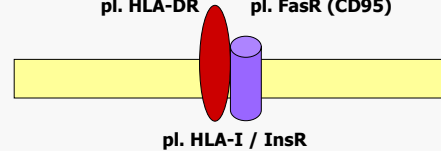
A plazmamembrán jelentős laterális és vertikális heterogenitást, „mikrodomén szerkezetet” mutat eukaryóta sejtekben

A fehérje-asszociáció / 'csoportosulás' különböző szintjei:

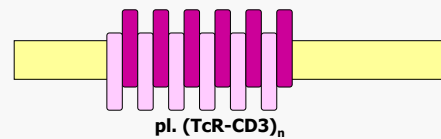
- **Homo-asszociáció:**
(5-10 nm)



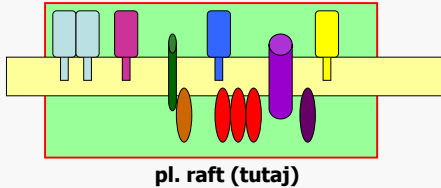
- **Hetero-asszociáció:**
(5-10 nm)



- **Fehérje cluster:**
(50 – 500 nm)

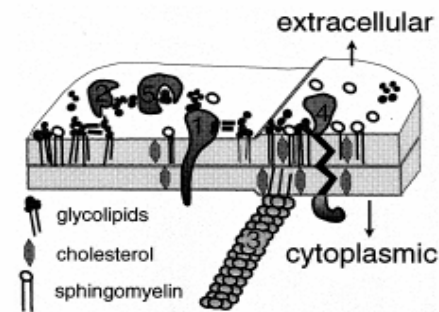


- **Membrán mikrodomén:**
(20 nm – 1 µm)

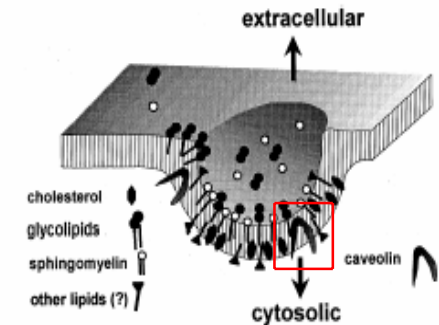


Membrán mikrodomének: „lipid tutajok” (raft) és caveolák

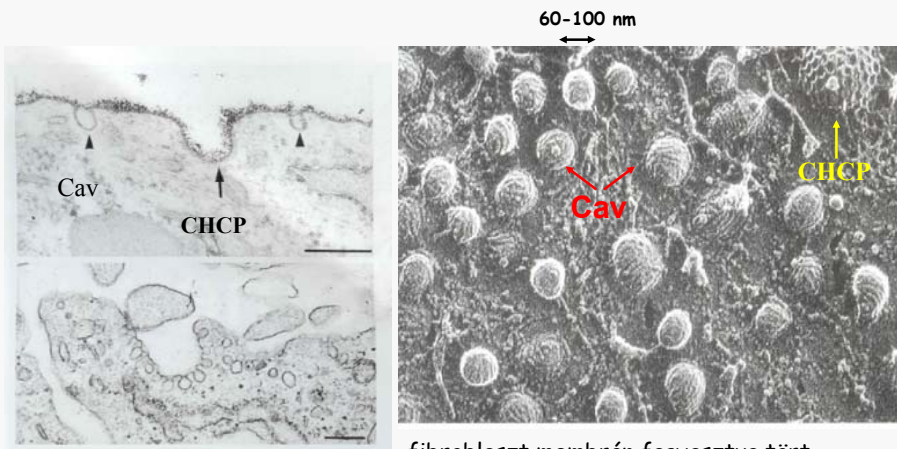
lipid raft



caveola

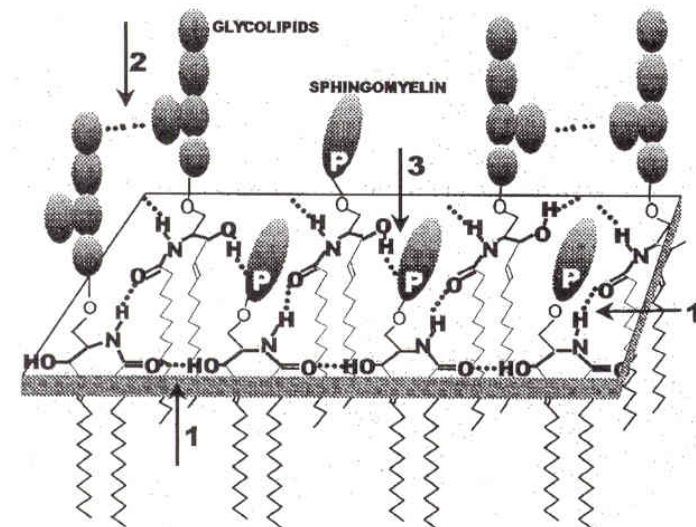


Caveola mikrodomének elektronmikroszkópos detektálása

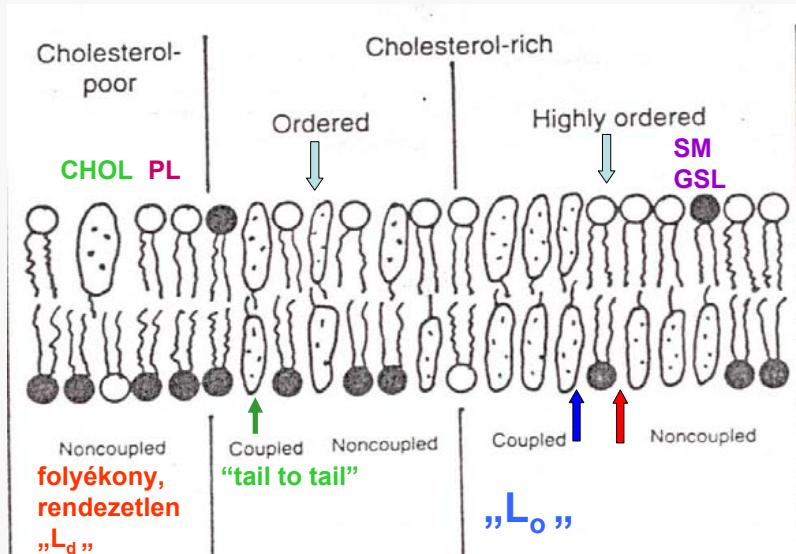


fibroblaszt membrán fagyasztva tört
citoplazmatikus felszíne: *caveolák* és
chlatriin-burkos csapda

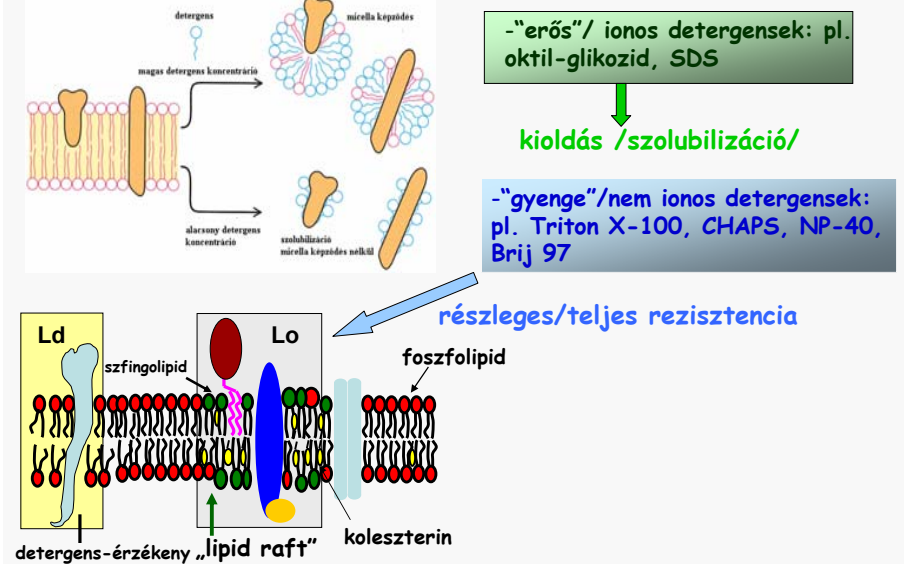
A 'GSL domének' stabilitása membránokban: kiterjedt H-híd hálózat



Laterális, koleszterin-stabilizált lipid (GSL) mikrodomének biológiai membránokban

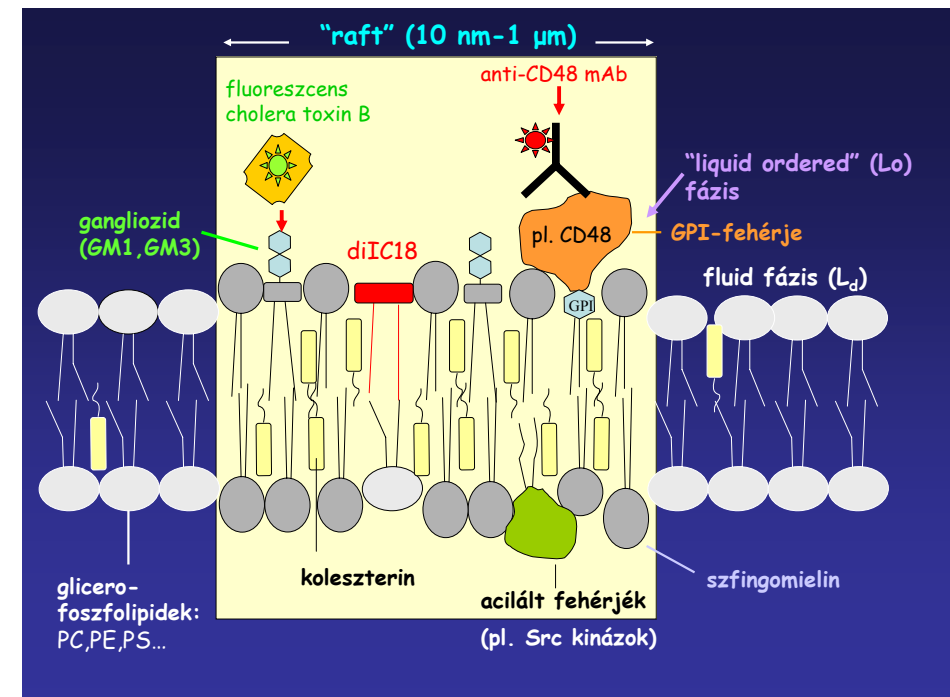


Membránfehérjék szolubilizálása detergenssel



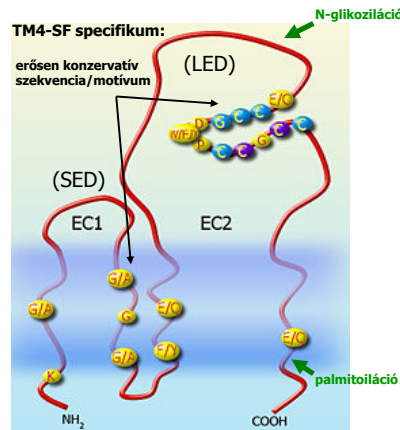
Raft/caveola mikrodomének (DRM) lipid összetétele

Lipid	% of total membrane lipid in DRM	Sejttípus
- koleszterin	26	MDCK epitél sejtek
	11	fibroblasztok
	30	limfocita
	32	mikroglia, neuron
- szfingomielin	90	MDCK epitél sejtek
	50-70	fibroblasztok
- ganglioizidok	67	MDCK epitél sejtek
	85-95	B,T-limfociták
- foszfatidiletanolamin (PE)	6	MDCK epitél sejtek
- foszfatidilszerin (PS)	10	fibroblaszt
- foszfatidilkolin (PC)	4	limfocita
- foszfatidilinozitol (PI)	5	mikroglia
- PIP2	50	MDCK epitél sejtek
	40	limfocita
- ceramide	50	MDCK epitél sejtek
- DAG	50	A431 sejtek
		fibroblasztok



A „tetraspan web„: TM4-SF fehérjék

- 34 tetraspan fehérje ismert emlősökben, ebből 33 humán is
- Képesek „konformációs pányvázóként” (scaffolding) többféle fehérje szelektív horgonyzására a membrán egy területén. A kapcsolódó fehérjékkel nagyobb, több száz fehérjéből álló 'hálózatot' is tudnak képezni a membránban



„TEM domének”

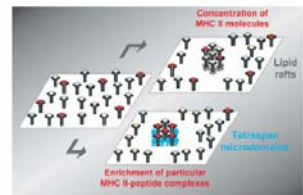


Fig. 11. Tetraspan microdomains and lipid rafts differ in their class II-peptide content. A schematic representation of which class II-peptide content originates from tetraspan or lipid raft microdomains.

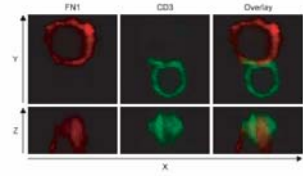
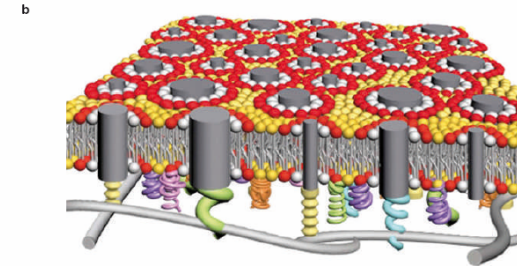
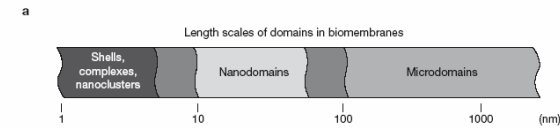


Fig. 12. CD4/8 microdomains are involved in vesicle formation between DCs and T-helper cells. Monoclonal anti-CD4 and anti-CD8 were used to label the surface of DCs, which were then fused with CD4/8-expressing T cells. The cells were stained with anti-CD4 (red) and anti-CD8 (green) antibodies. The images show the localization of these proteins in the cell membrane.

A plazmamembránok laterális doménszerkezete



- ☺ **Laterális fehérje denzitás: 10-30.000/μm² ; lipid fajlagos felület: 0.68 nm² ; α-helix fajlagos felület: 1.1 nm² ; fehérjék által elfoglalt terület: single-span: ~ 1 nm², tetraspan: 4.5 nm², sevenspan: ~ 8 nm²**
- ☺ Egy 30x30 nm² területű membrándoménbe így befér pl. : vagy 32 lipid, vagy 15 single-span fehérje, vagy 12 tetraspan, vagy 8 sevenspan fehérje ill. ezek megfelelő kombinációi

A biológiai membránok finomszerkezete

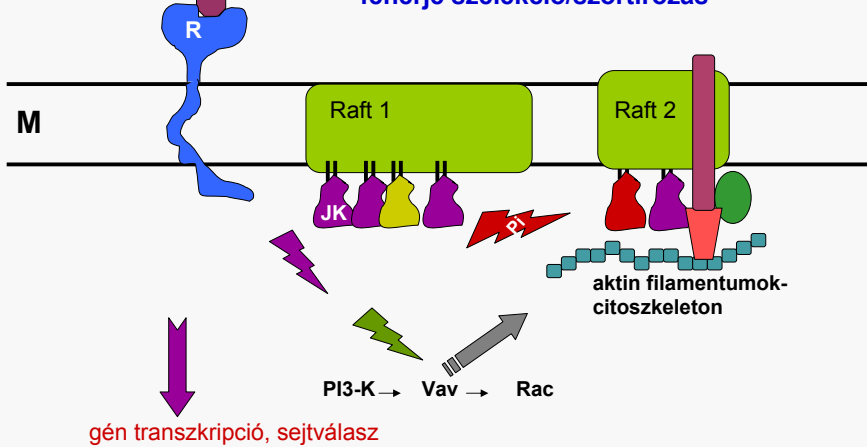
- **mikroheterogenitás: membrán mikrodomének (20 nm-akár ~μm átmérő), dinamikus, tranziens molekulacsoportosulások (speciális lipid és fehérjeösszetétel)**
- **lipid-lipid és fehérje-lipid kölcsönhatások, fehérje konformáció és TRMD (transzmembrán hélix)-hossz dominál a lipid raft doménekben belül**
- **fehérje-fehérje kölcsönhatásokon alapuló mikrodomének is vannak, mint pl. „Tetraspan-web” (TEM)**

A membrán mikrodomének funkcionális jelentősége:

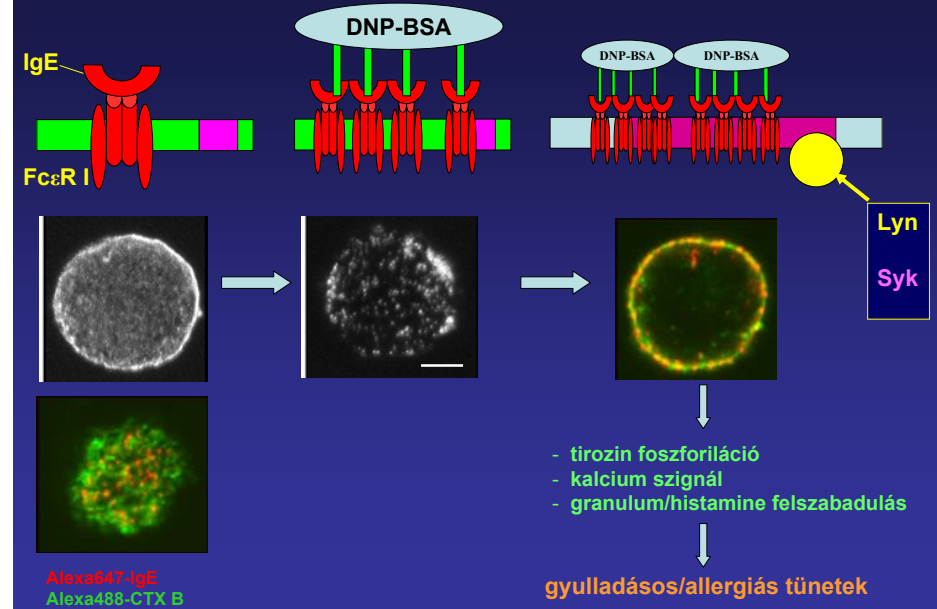
- **Jelátvitel, sejt-kommunikáció kontrollja (immunrendszer, idegrendszer)**
- **Különböző patogének (vírusok, baktériumok, protozoák) transzportja sejtekbe**

Lipid raftok és a limfocita jelátvitel

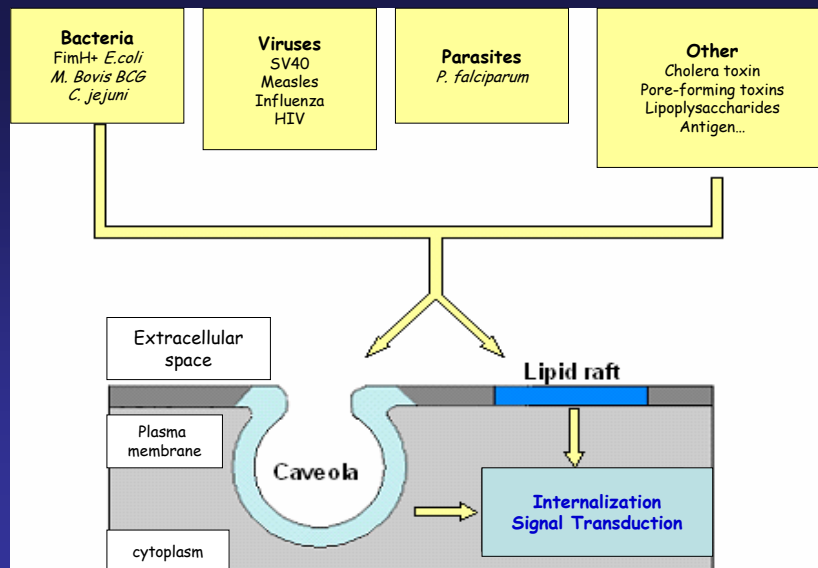
- kompartmentalizáció: „toborzás/kapcsolás”
- izolálás, kinetikai szabályozás
- szignál integrálás (PI3-K/Vav/Rac; raft-aggregáció, receptor clustering)
- fehérje szelekció/szortírozás



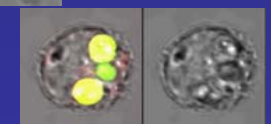
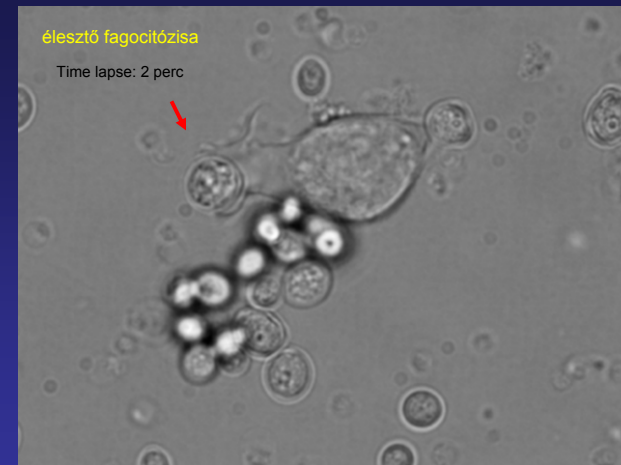
A raftok szerepe az allergén-válasz kialakulásában (RBL-2H3 mucosa hízósejtek)



A membrán mikrodomének a különféle patogének célpontjai



Élesztő és apoptotikus sejtek felvétele/fagocitózisa aktivált makrofágok által erős koleszterin/raft függést mutat!



T sejtek, monociták, DC fertőzése HIV vírussal

