

Transzporterek vizsgálata lipidmembránokban 2015.

Sarkadi Balázs

**MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport,
Budapest**



A sejtekben:

Mindenütt membránok!

- Membrántranszport fehérjék – típusok, lipid-kapcsolatok
- Membrán-utazás (trafficking) a sejtekben
- Transzporter fehérjék beépülése membránokba
- Membránfehérjék szerkezete és rekonstitúciója lipid környezetbe
- ABC membrán transzporterek
- Membrán toxinok - mesterséges membrán komplexek

Membrántranszport fehérjék – típusok, lipid-kapcsolatok

A membránok szerkezete – membrán modellek

1925: E. Gorter and G. Grendel - phospholipid bilayer

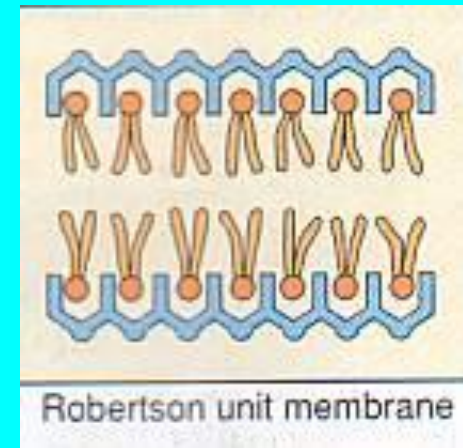
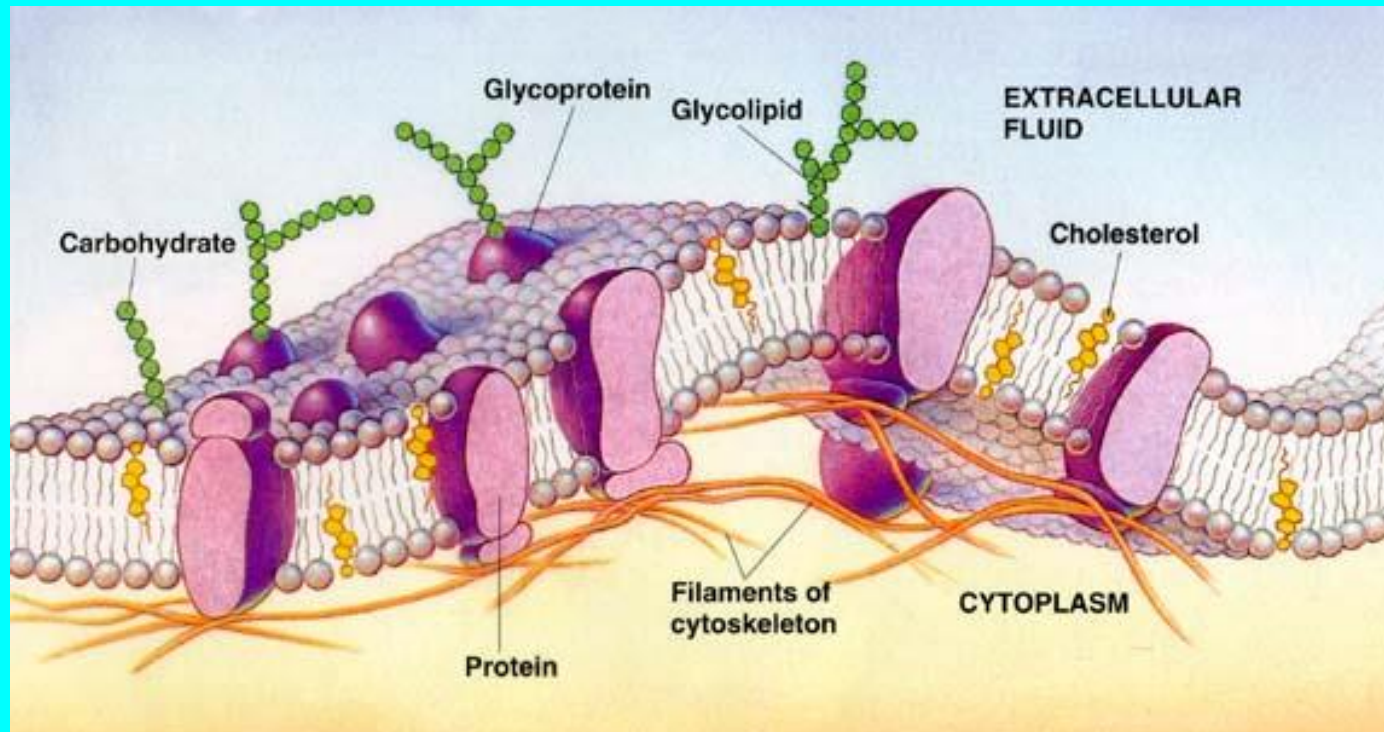
1935: J.R. Danielli and H. Davson – fehérjék is részei!

Sandwich Model

1950's: J.D. Robertson – **Unit Membrane Model**

1972: S.J. Singer and G.L. Nicolson – **Fluid Mosaic Model**

Singer – Nicolson, 1972

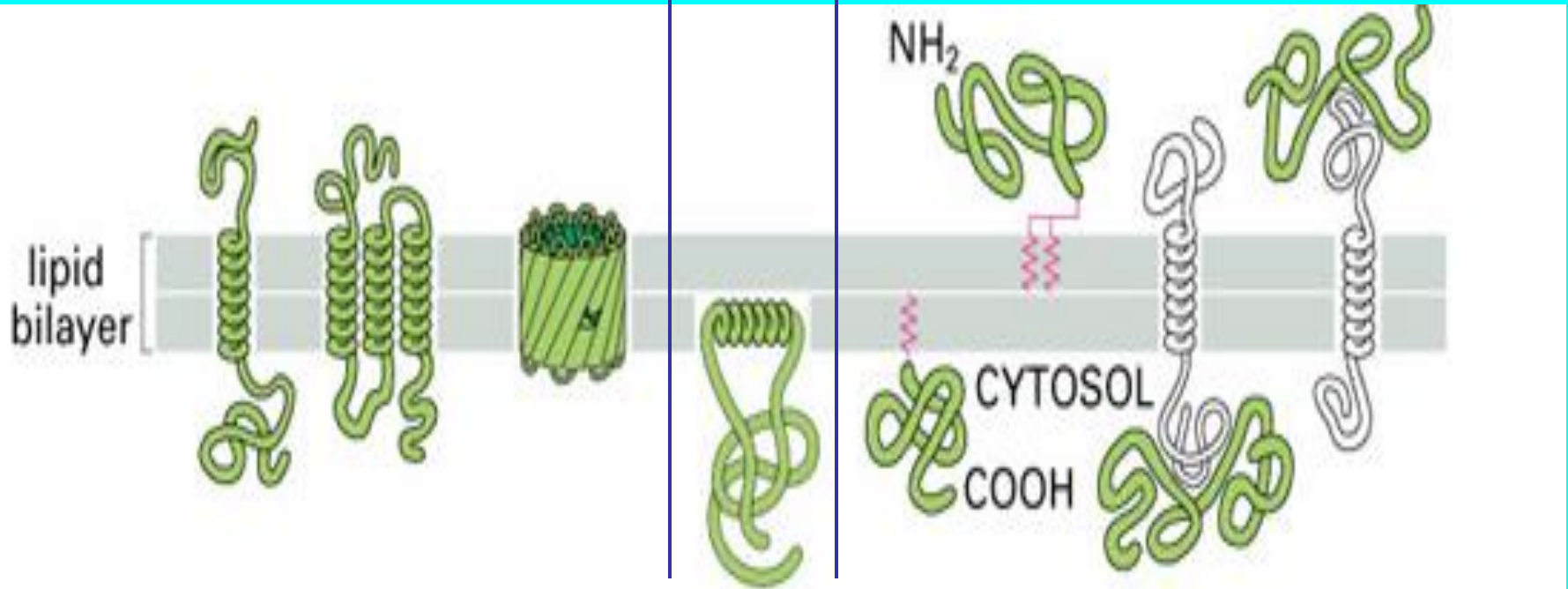


Membránfehérjék

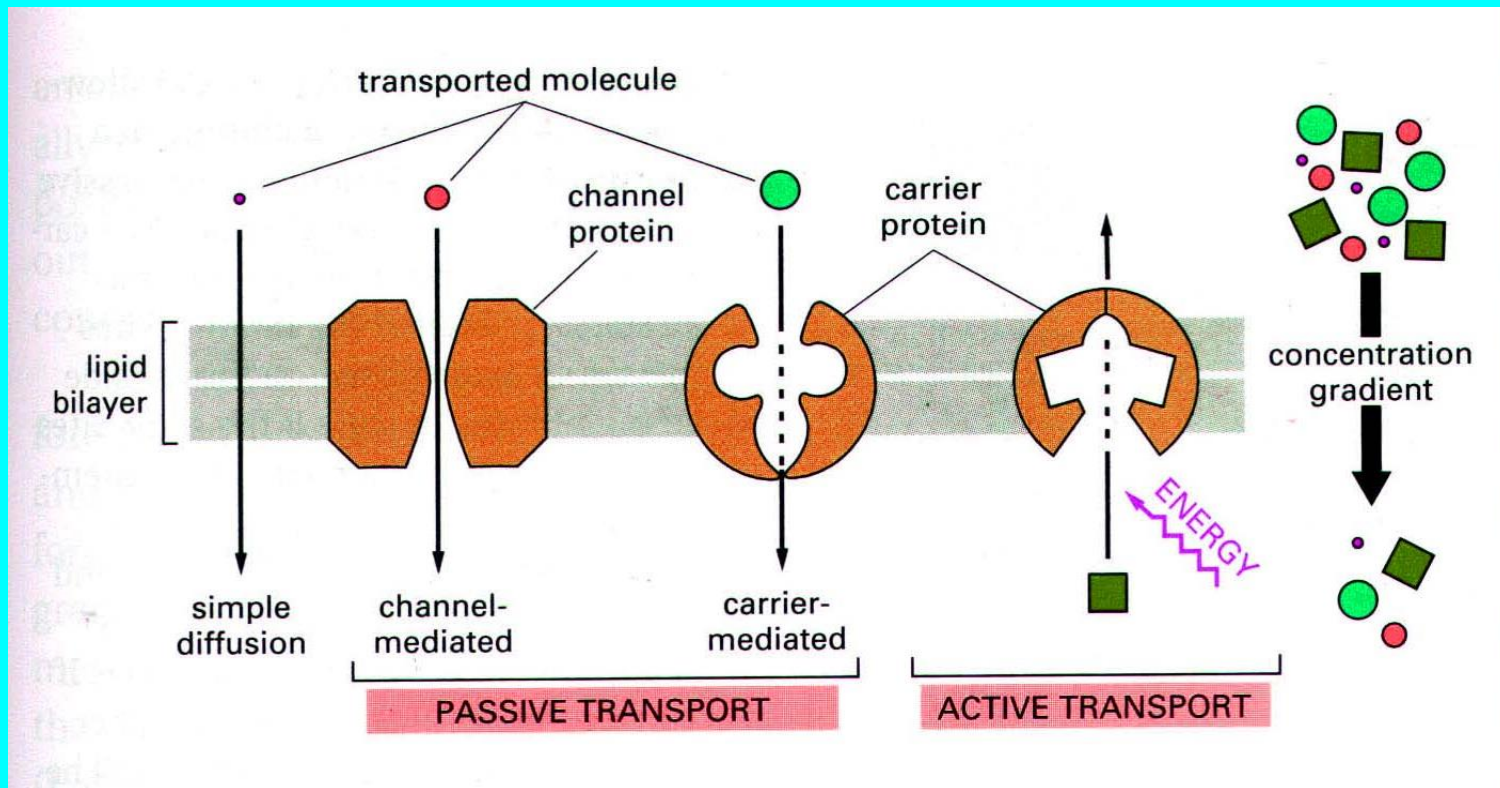
Transzmembrán (integráns)
Single-pass Multi-pass

Membrán-asszociált (perifériás)

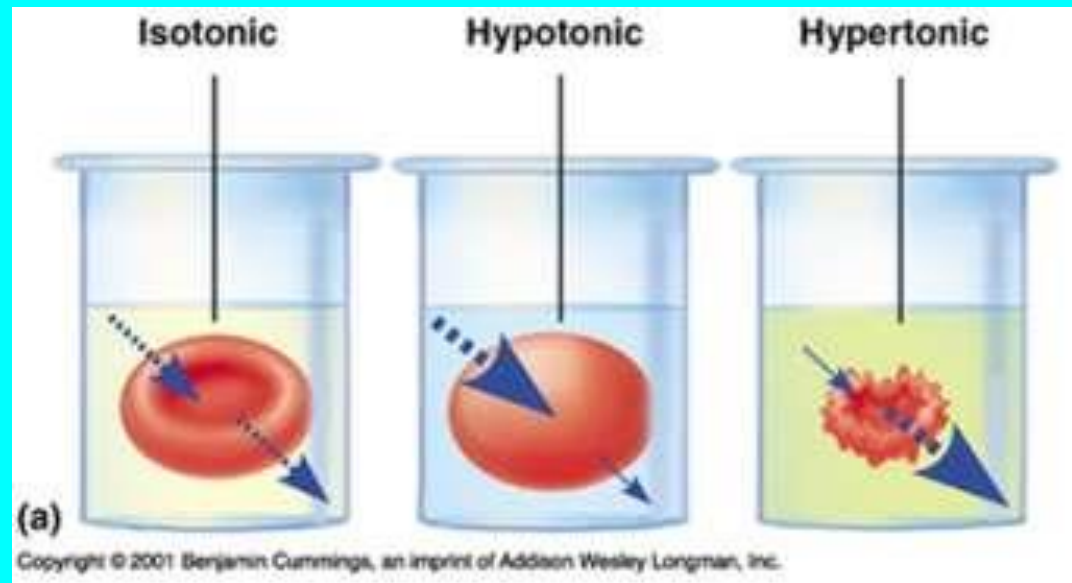
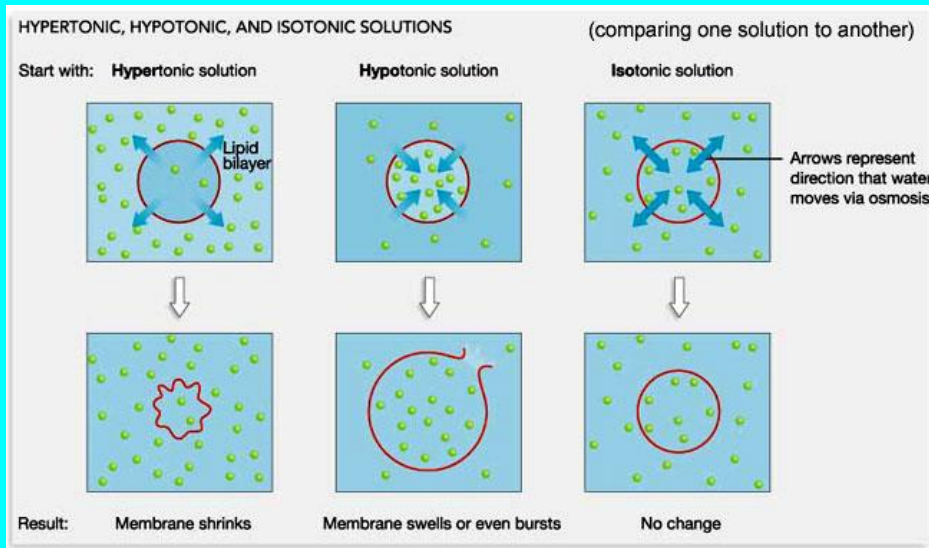
???



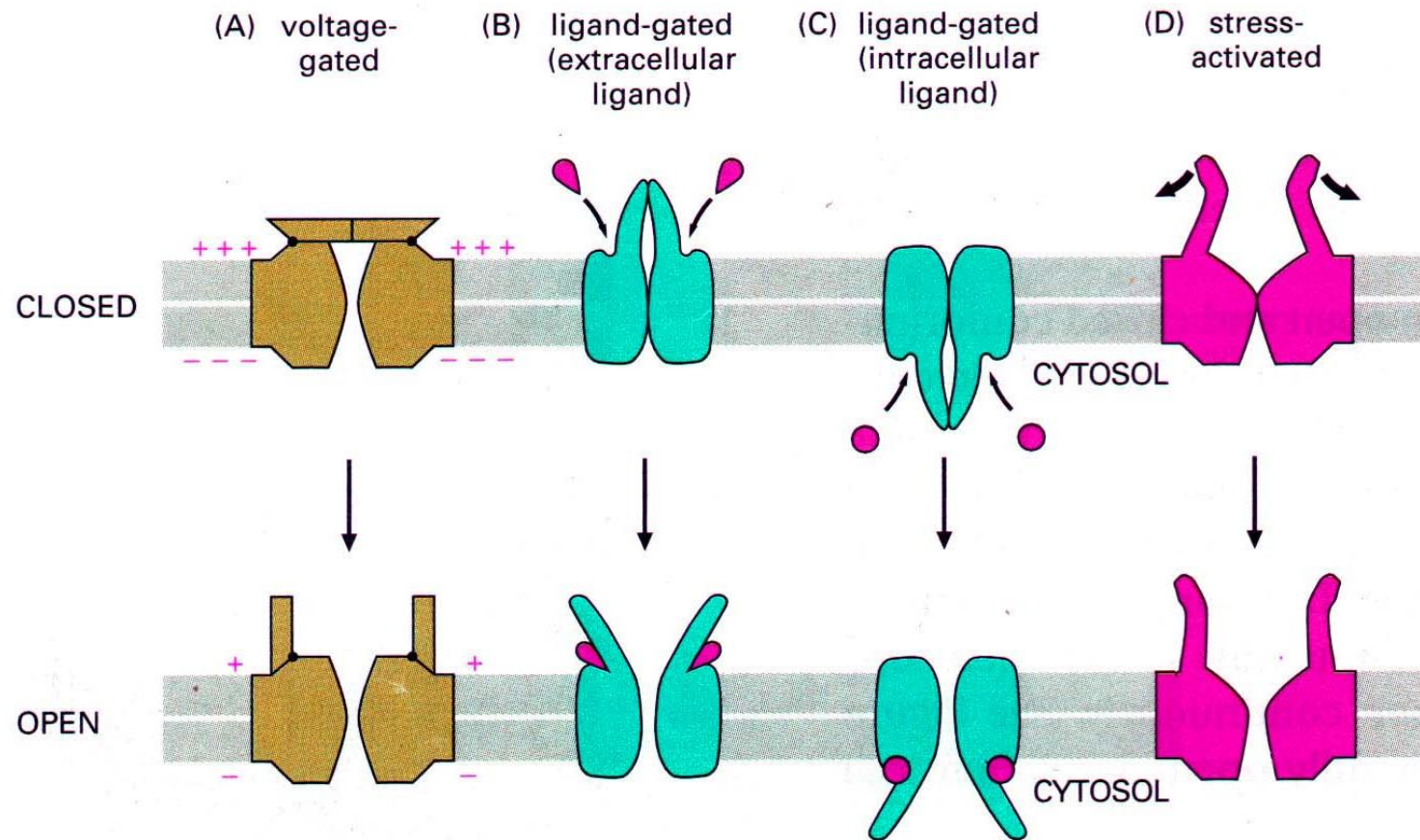
A membrántranszporterek főbb típusai



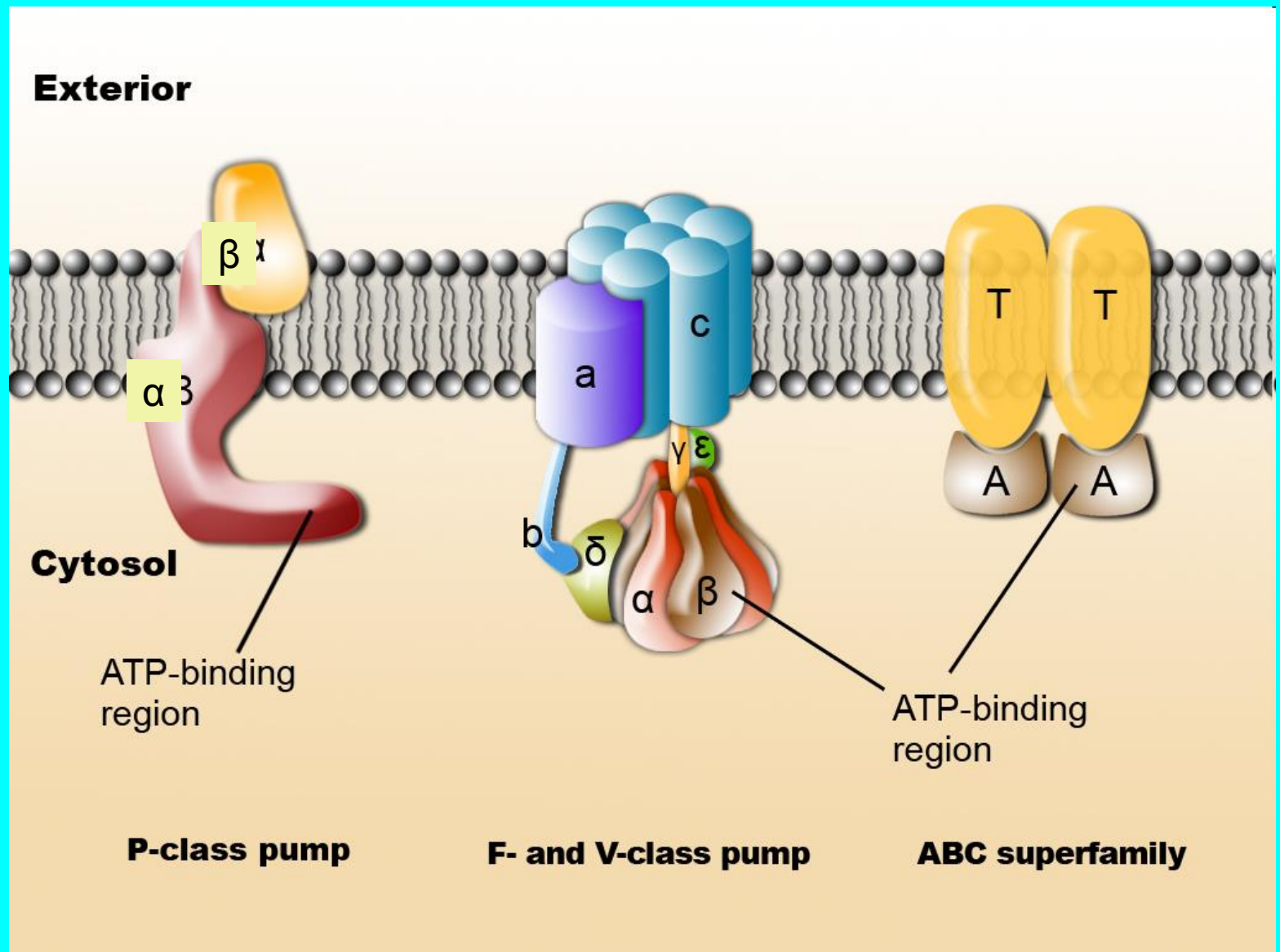
A passzív transzport és az ozmotikus hatások



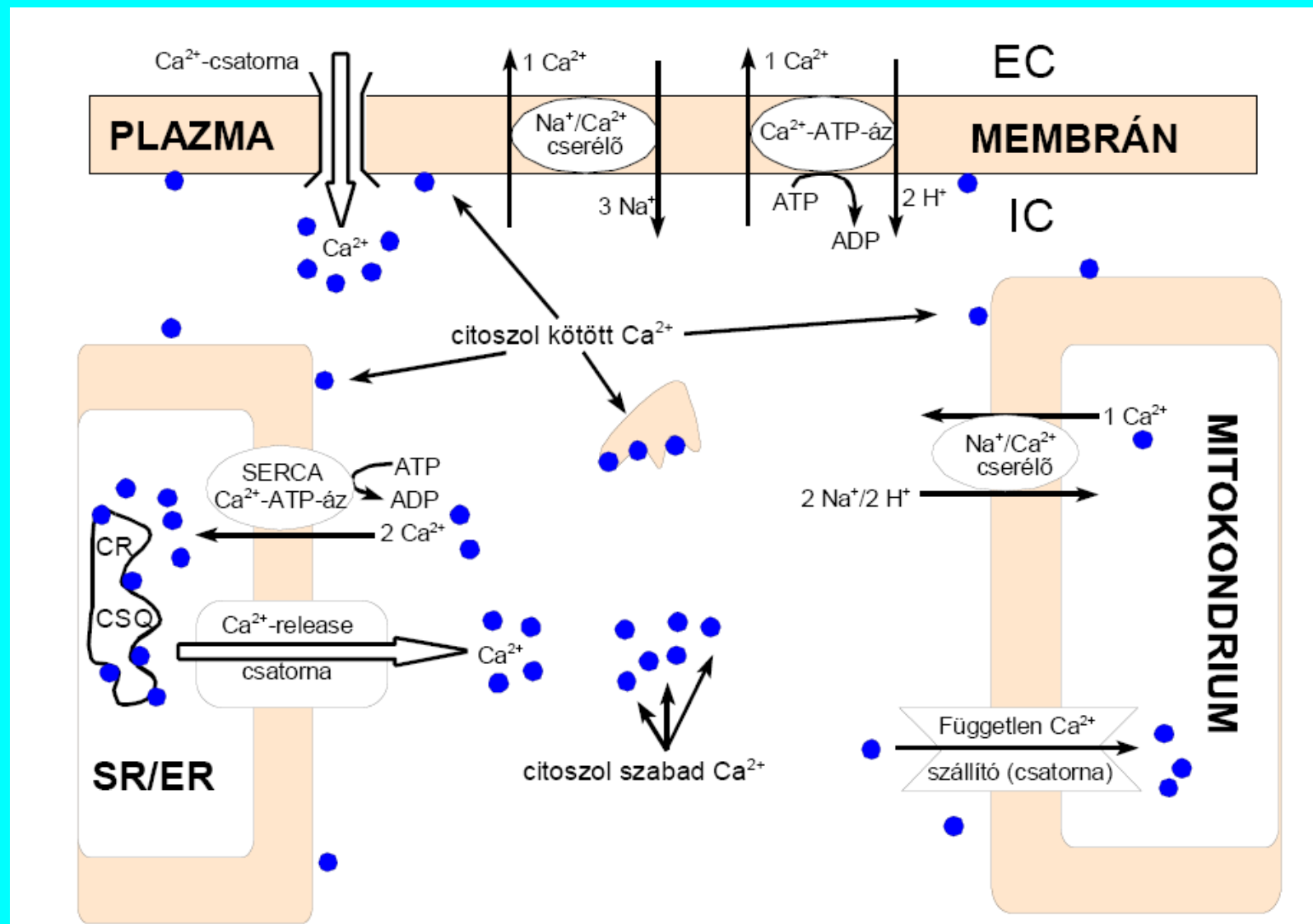
Az ioncsatornák főbb típusai



A transzport ATPázok alaptípusai

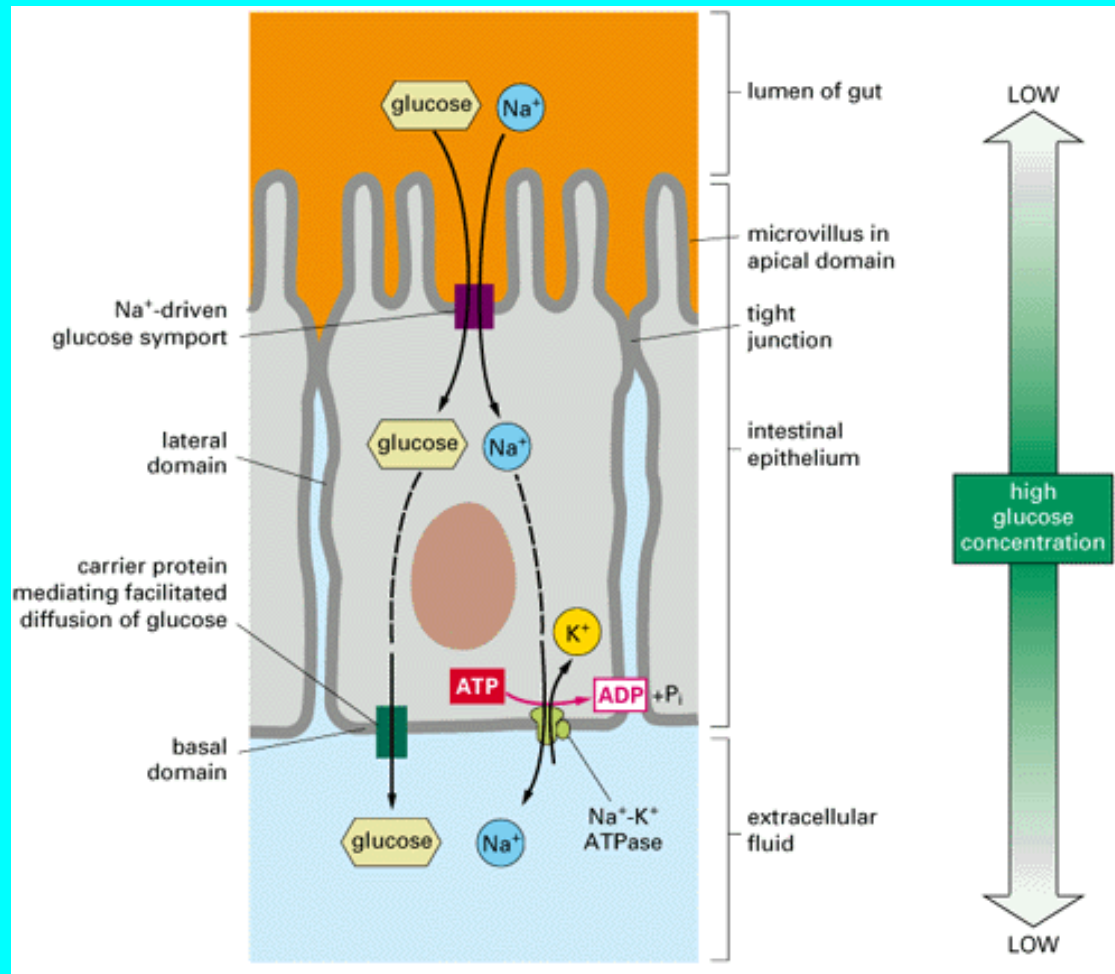


Kalcium transzporterek a sejtben

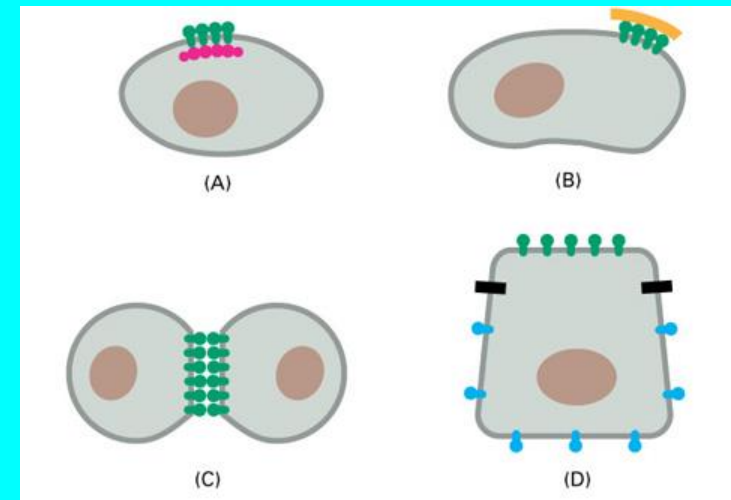


A membrán-transzporterek elhelyezkedése a sejtekben

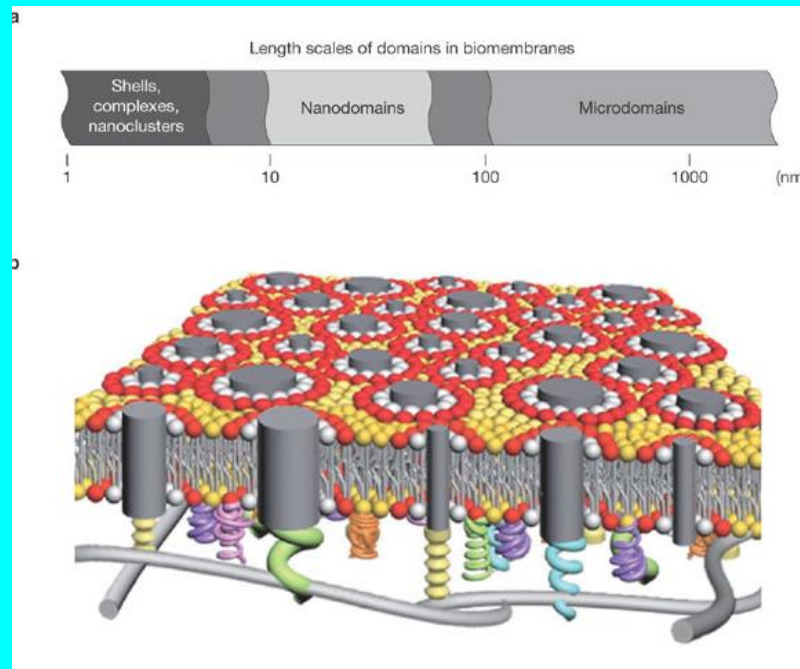
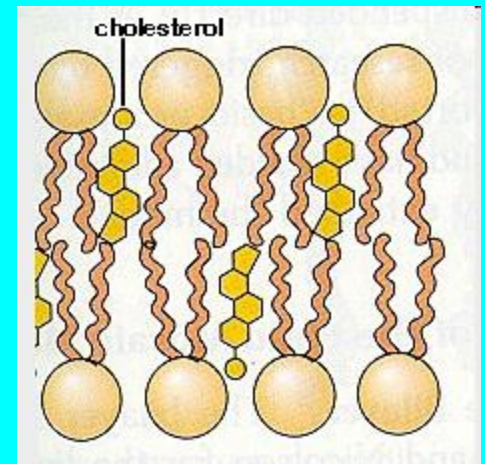
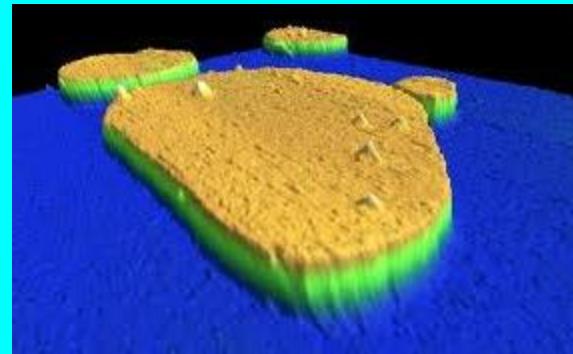
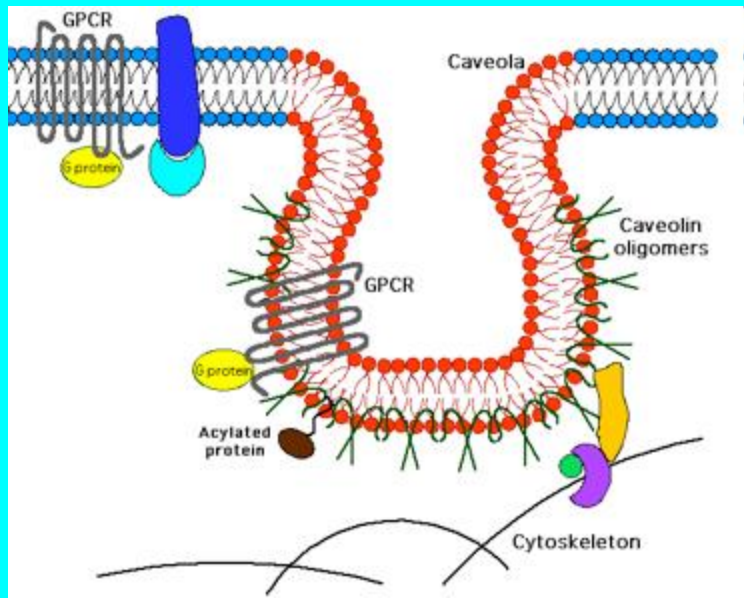
Polarizált sejtek, speciális lokalizáció!



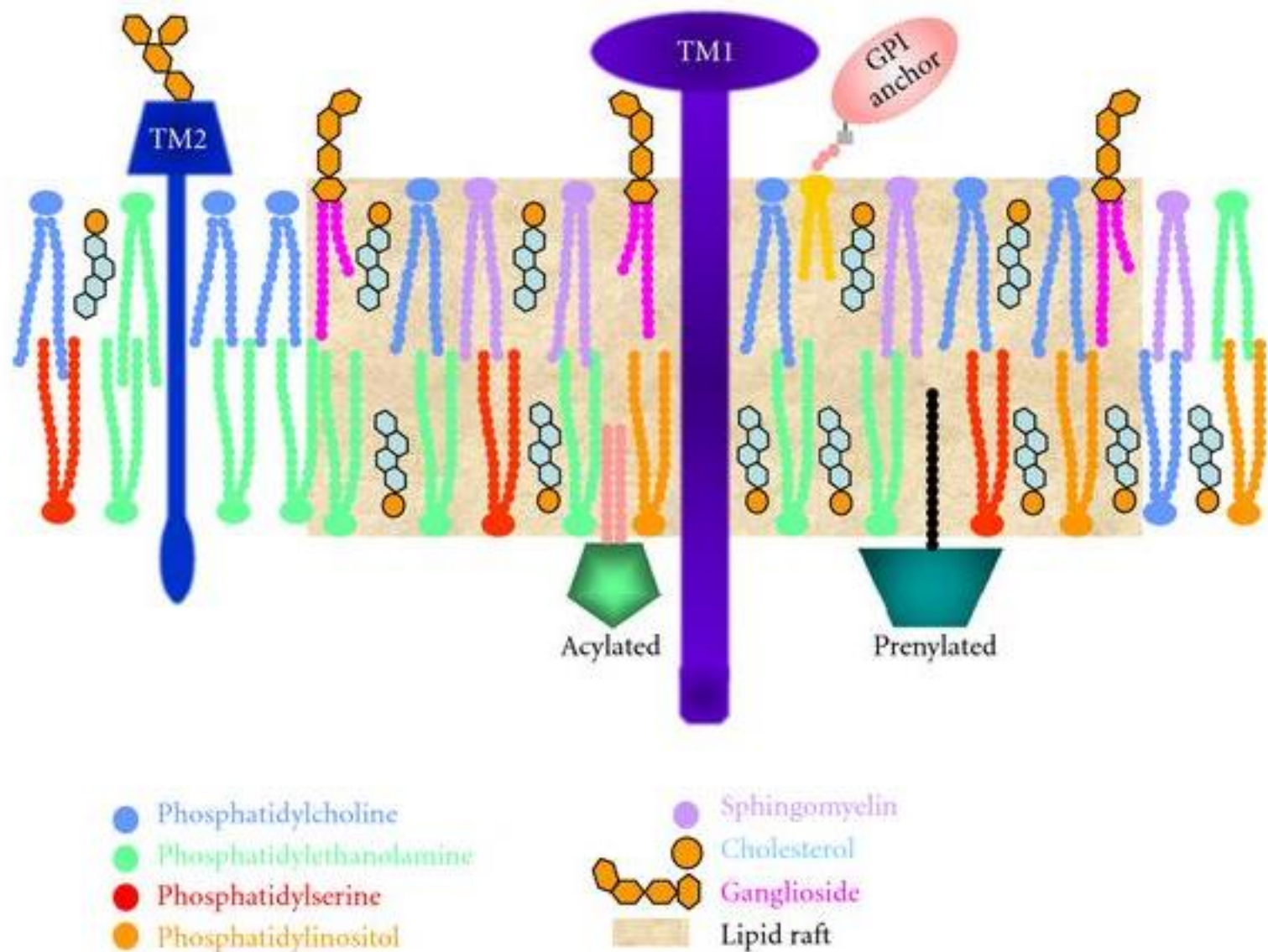
Fehérjék együttes elhelyezkedésben, pl. lipid-tutajokban



Lipid tutajok („rafts”) a membránokban

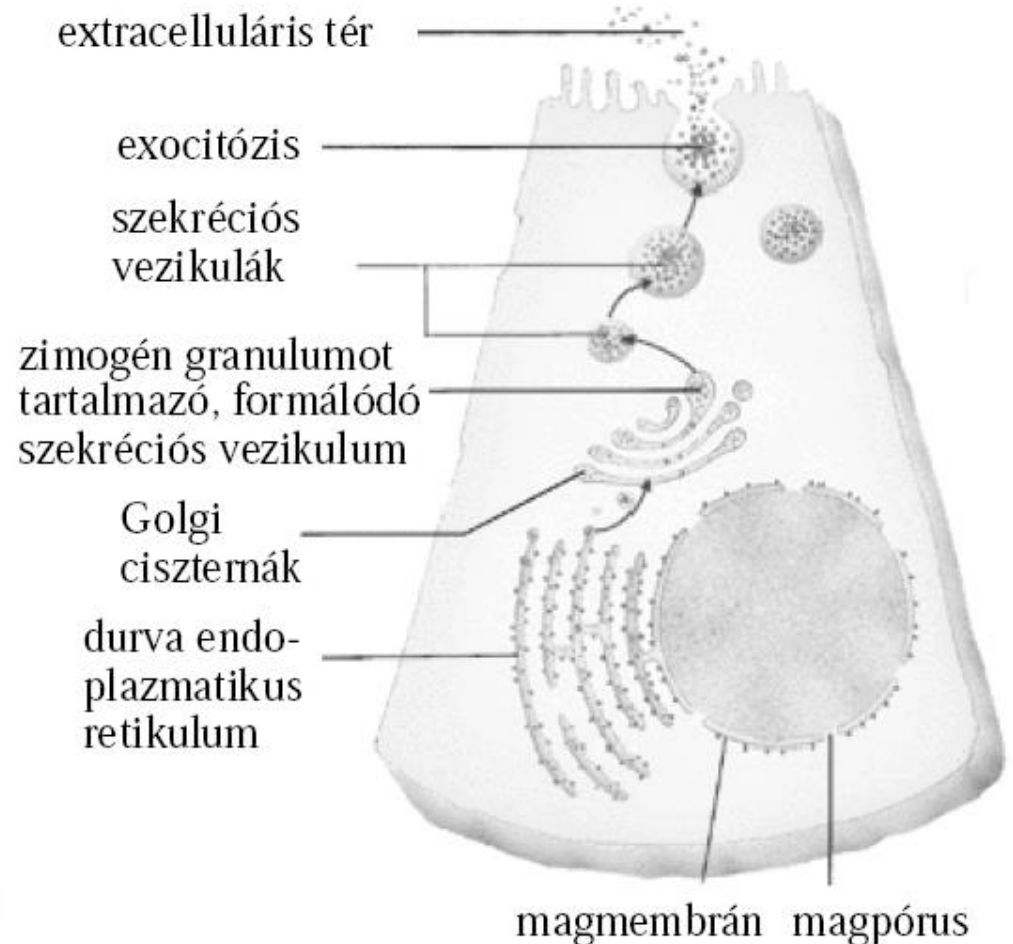
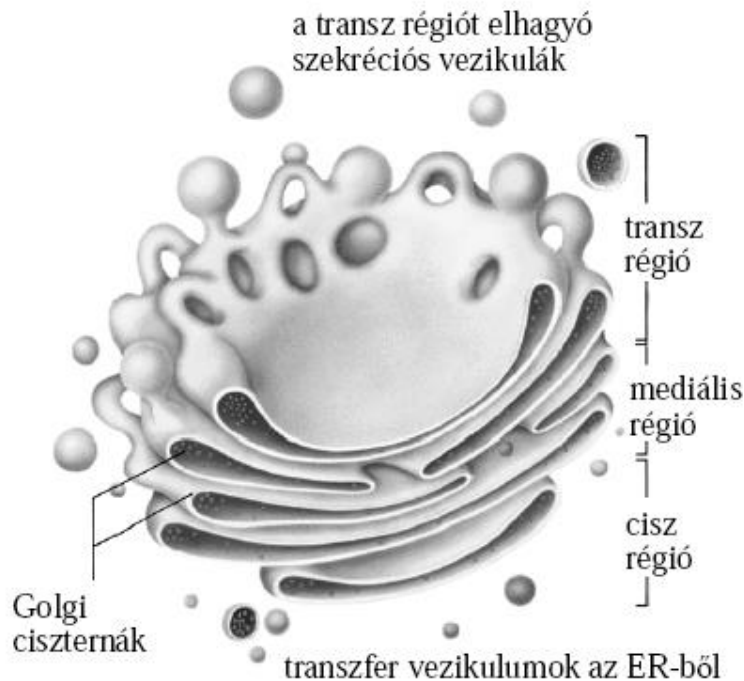


Lipid tutajok („rafts”) a membránokban



Vezikuláris transzportfolyamatok

Membrán-fehérjék utazása (trafficking) a sejtekben

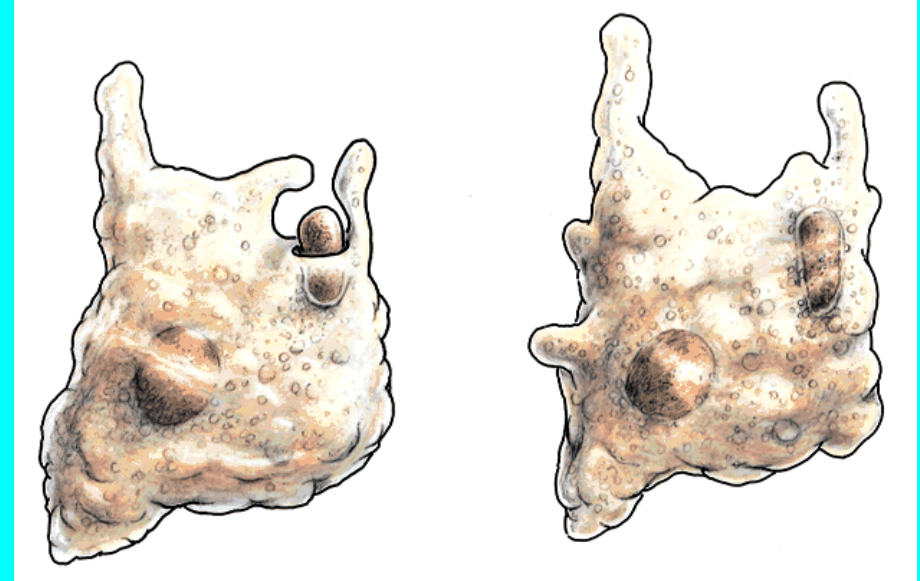
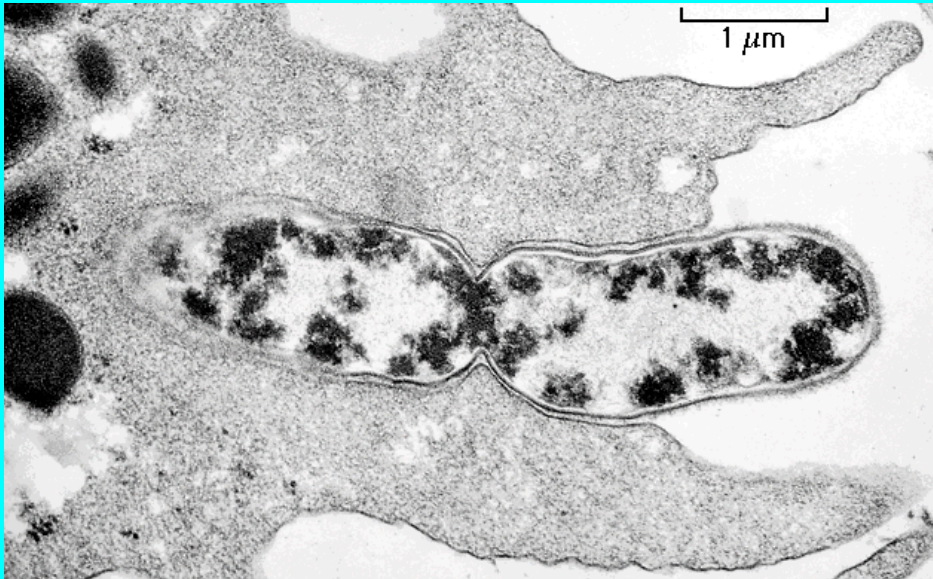


5. A Golgi komplexum felépítése

Az ábra a cisz és transz Golgi hálózatot nem tünteti fel, hanem a cisz és transz Golgi ciszternákkal együtt cisz, ill. transz régióknak nevezi.

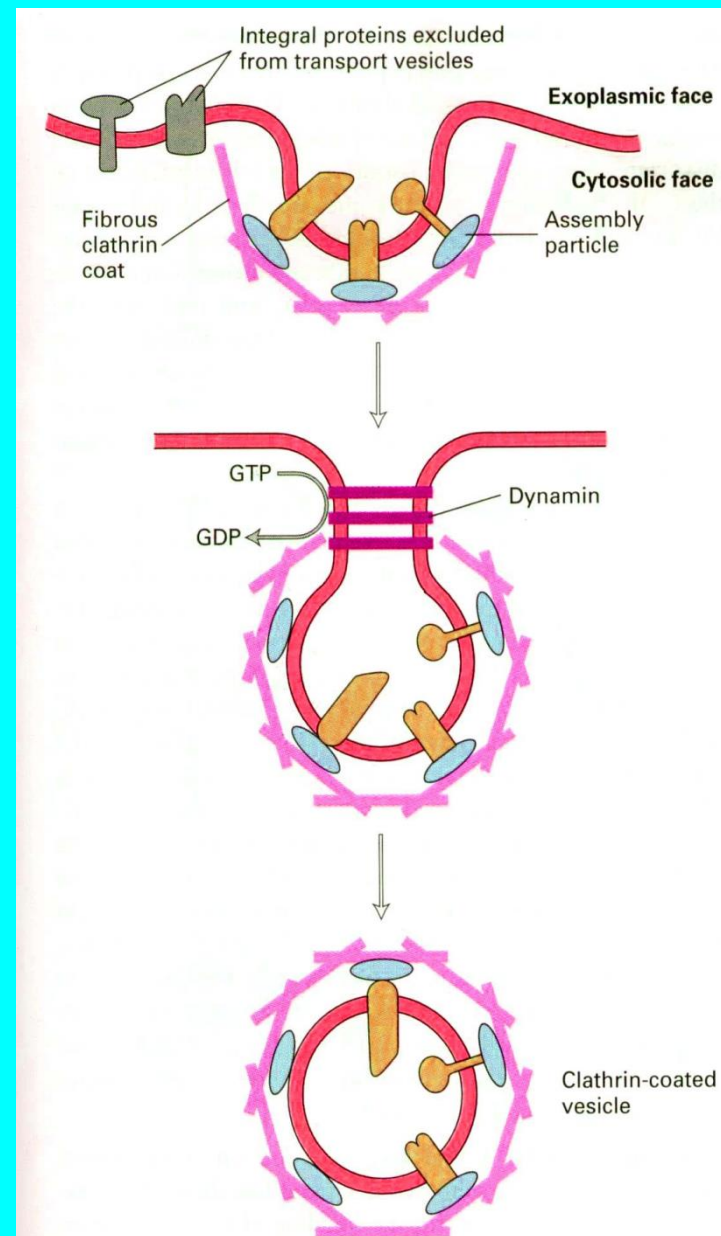
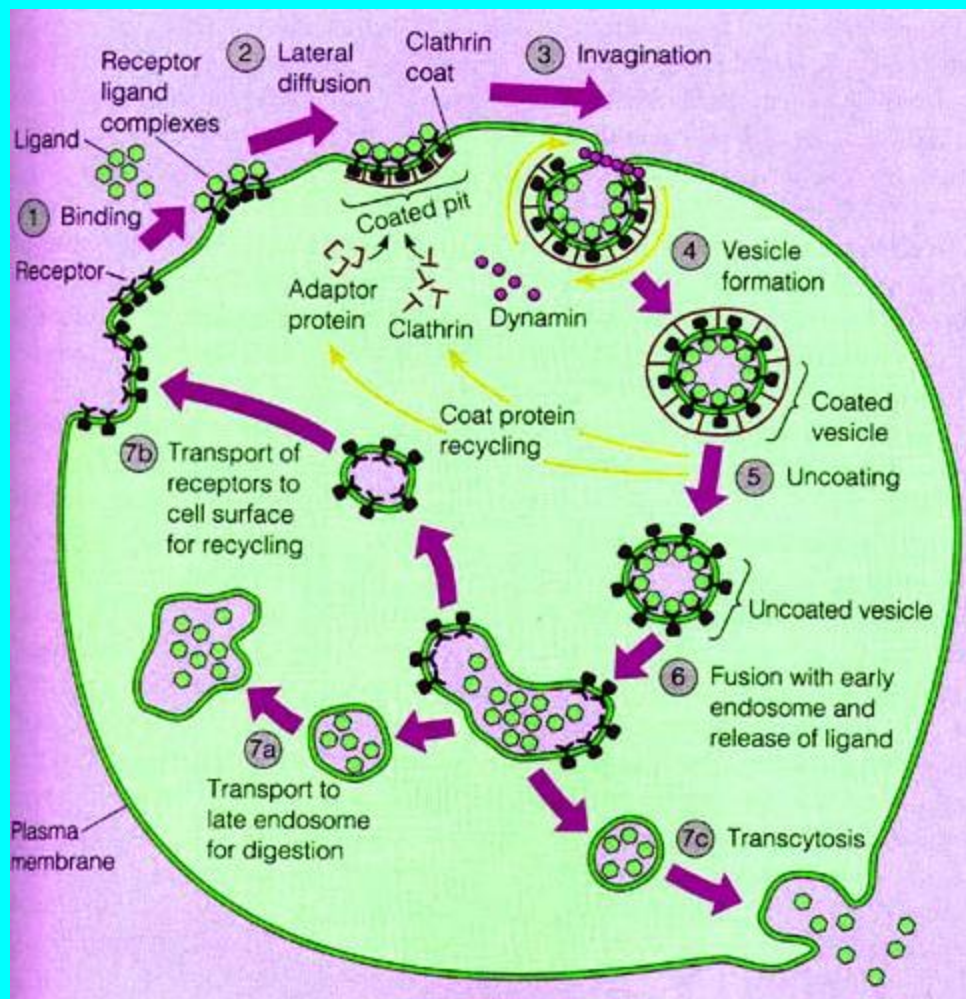
Endocitózis – exocitózis - transzcitózis

Makrofágok – fagocitózis (endocitózis)

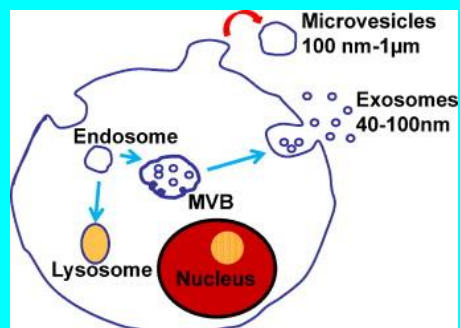
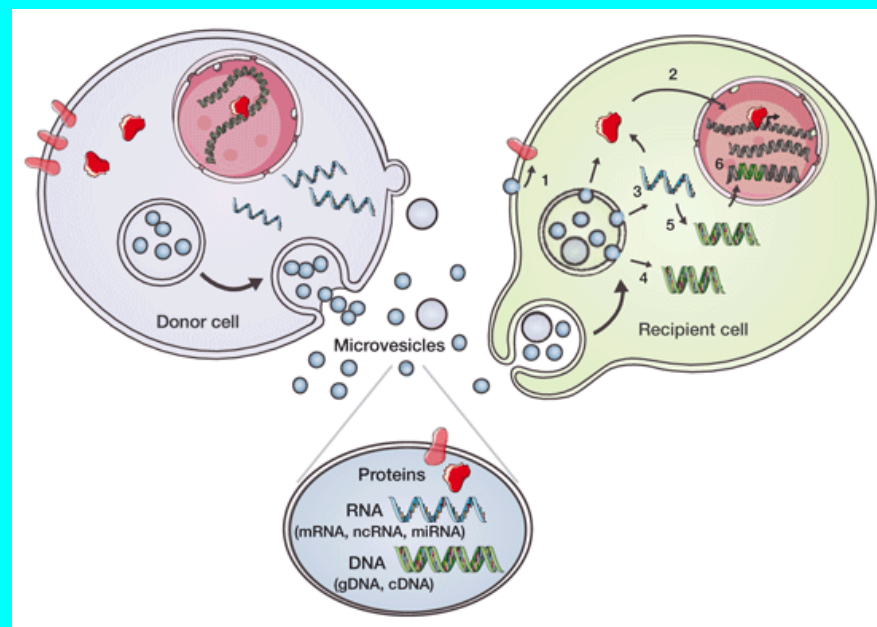
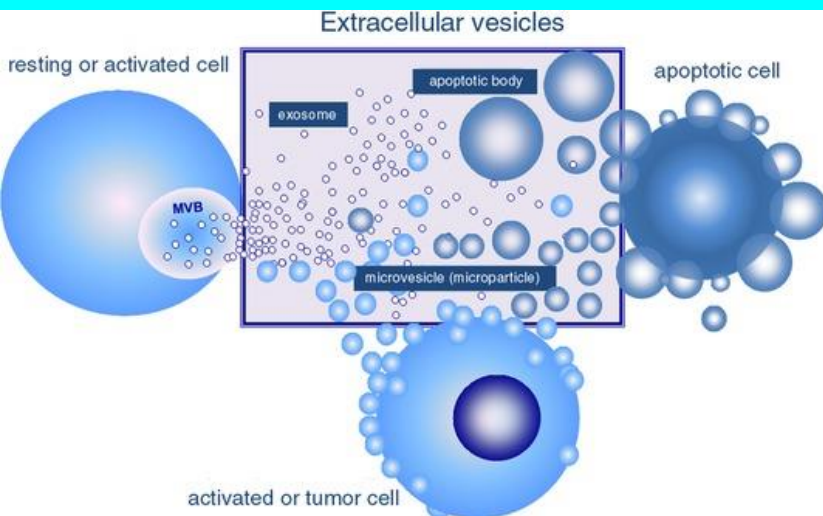


Endocitózis – exocitózis - transzcitózis

Membránfehérjék – mindig membránokban!

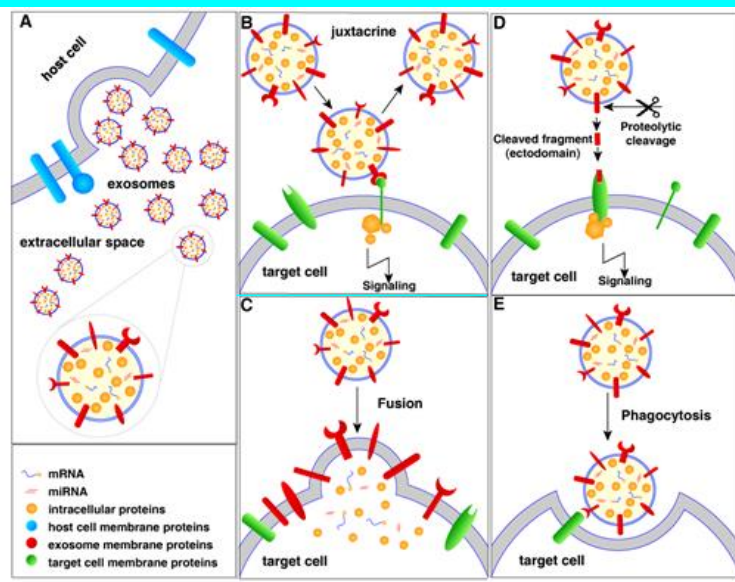


Mikrovezikulák képződése a sejtekből - exoszómák



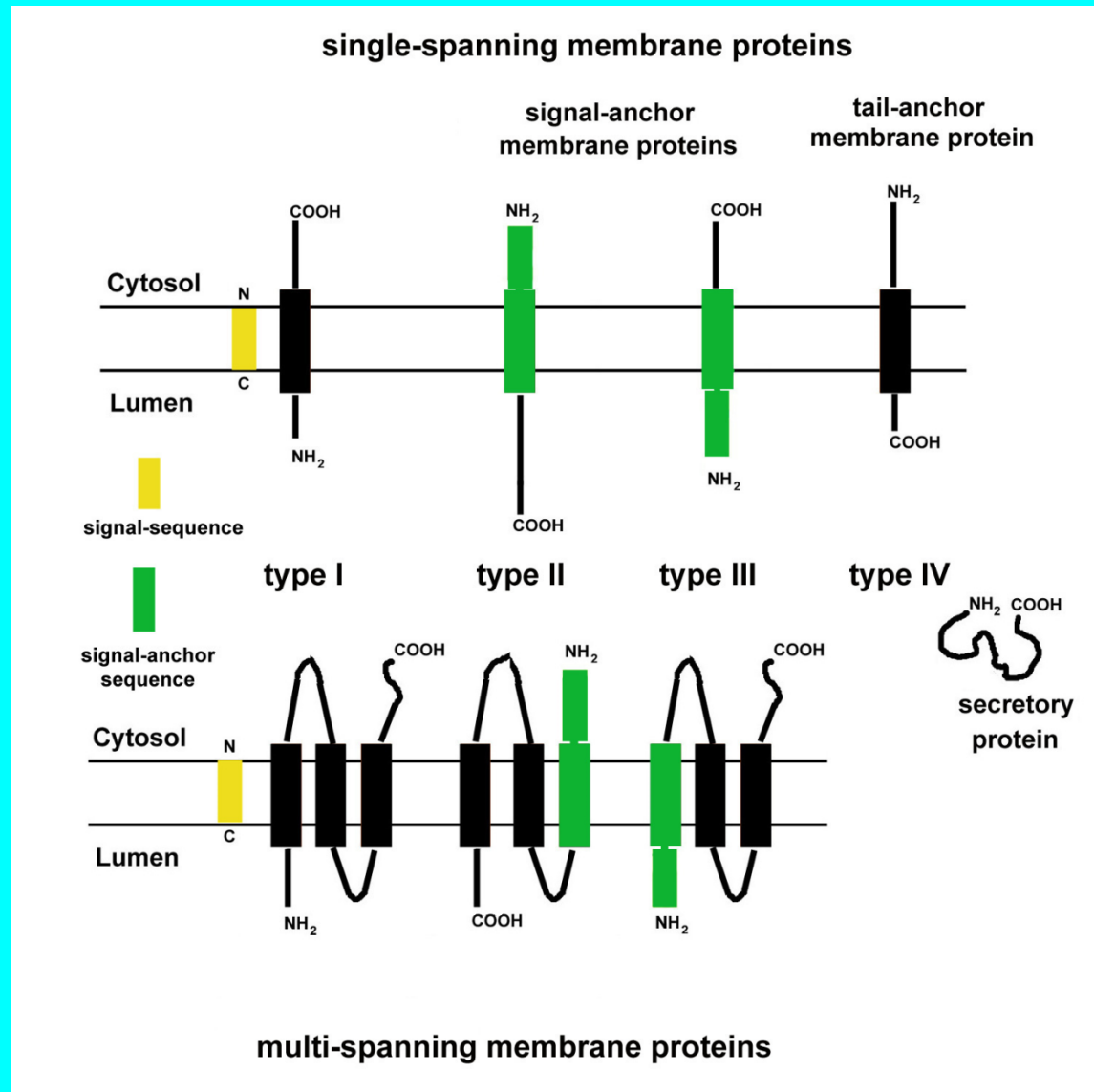
Normál és aktivált (immun)sejtek,
apoptotikus sejtek,
daganatsejtek...

Fontos fiziológiás szabályozó
szerep!



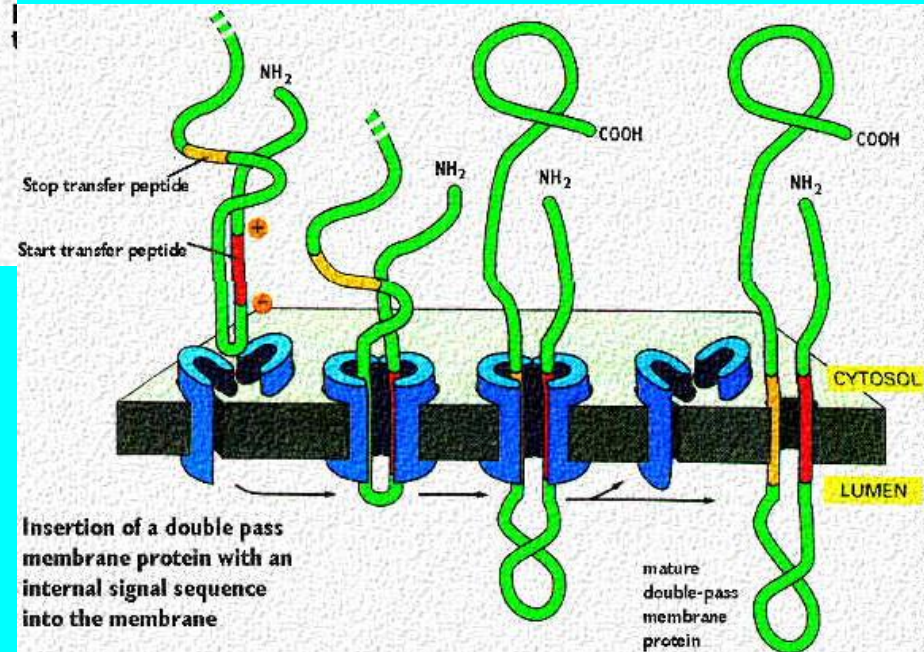
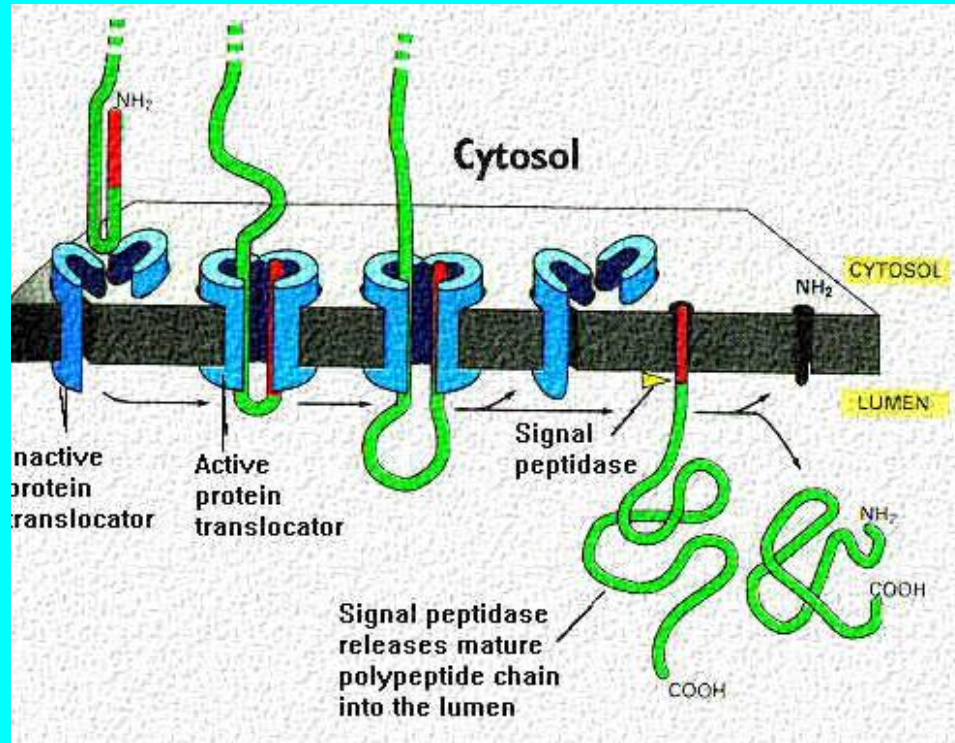
Membránfehérjék szintézise

– mindig lipidmembránokban készülnek!

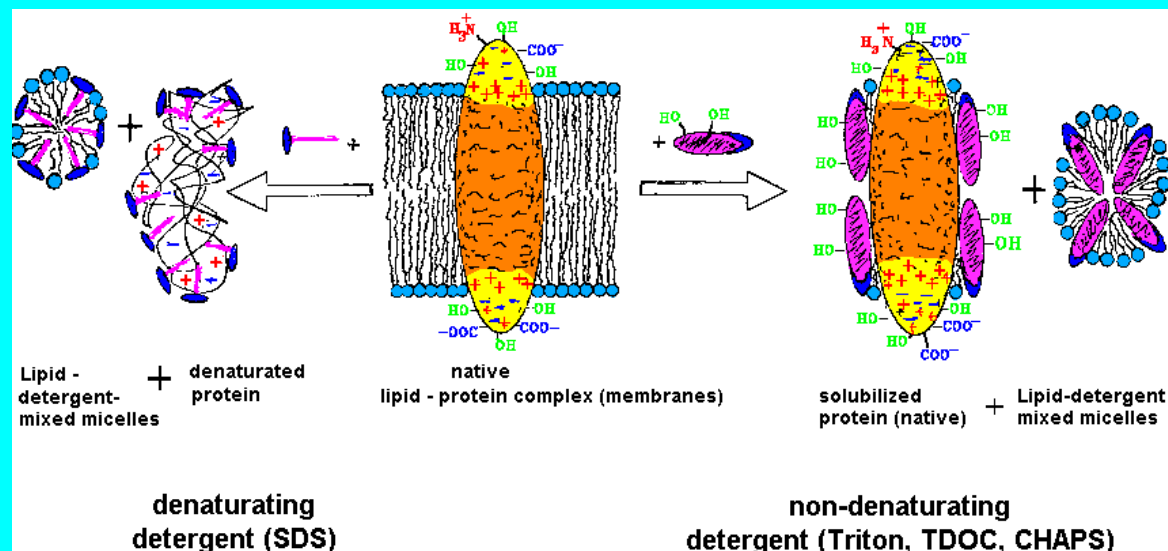


Transzporter fehérjék beépülése membránokba

Membránfehérjék

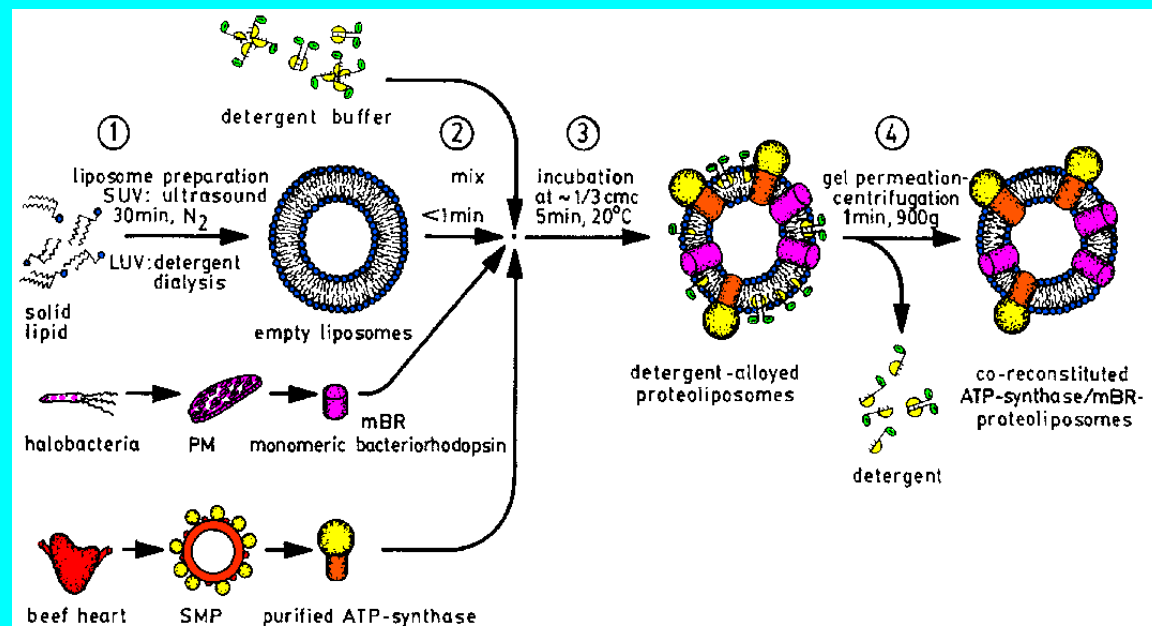


Membránfehérjék szerkezetvizsgálata és beépítése lipidekbe



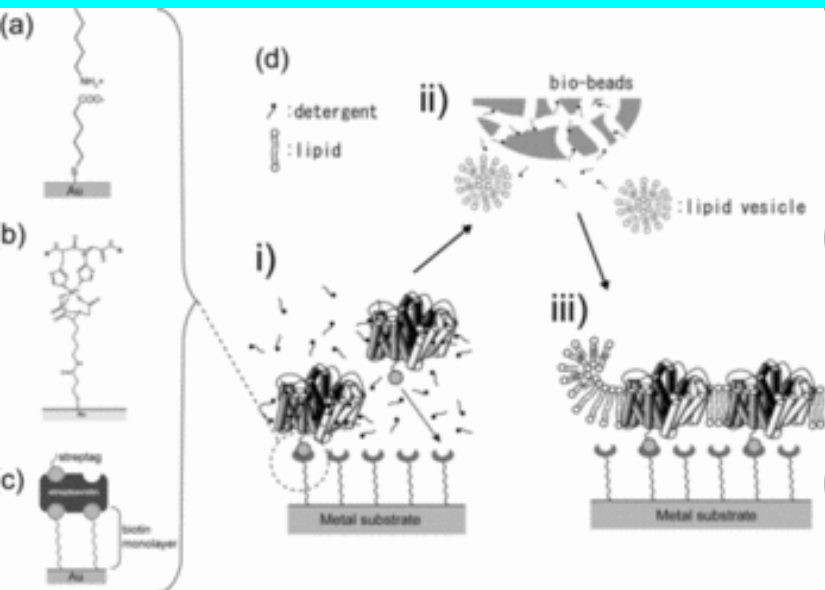
Membránfehérjék izolálása

Membránfehérjék rekonstitúciója



Membránfehérjék rekonstitúciója – atómi szintű szerkezet meghatározása

Membránfehérjék
kristályosítása –
lipid rétegben

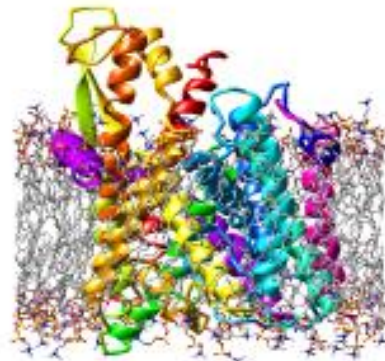


Membránfehérjék
kristályosítása –
háromdimenziós szerkezet!

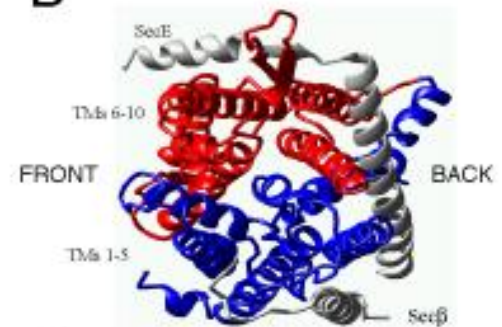
A



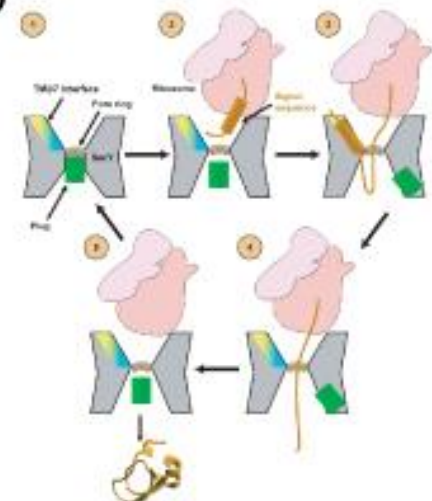
C

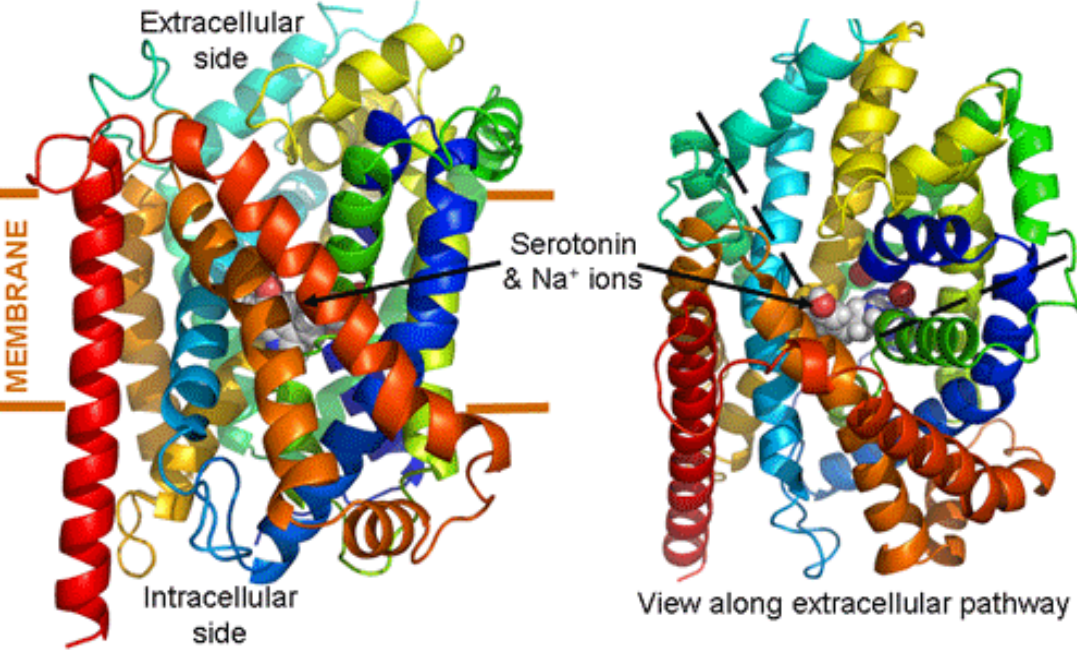


B



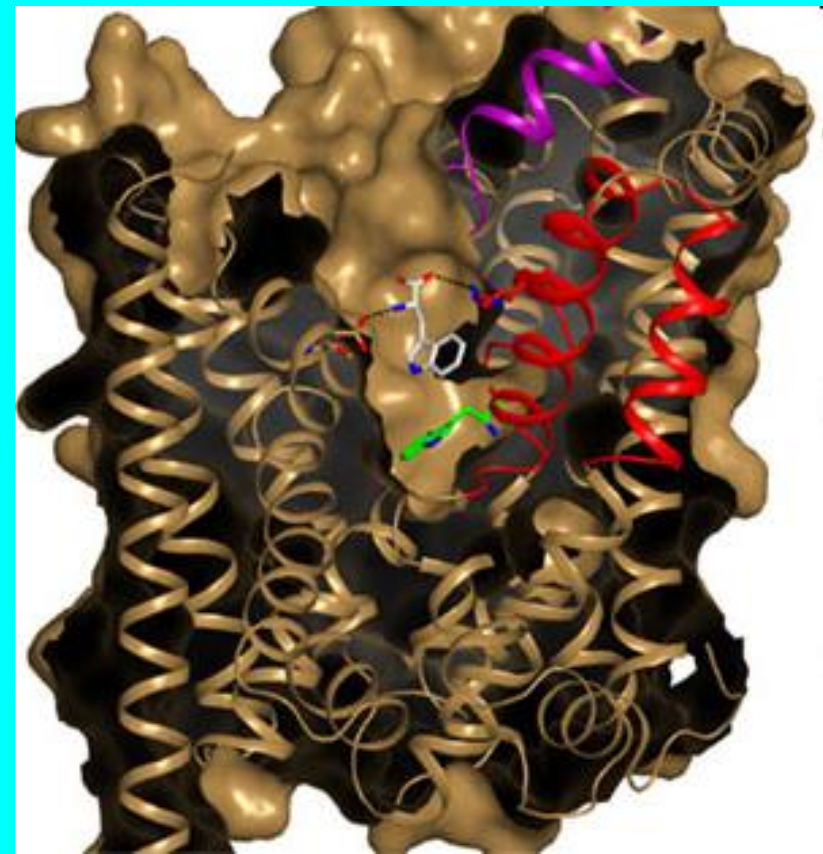
D





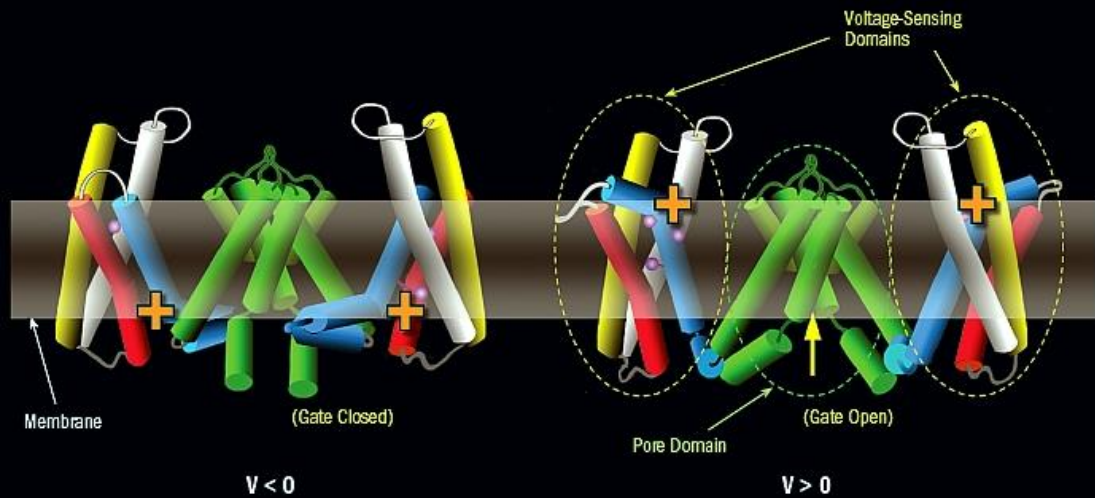
Szerotonin transzporter
Na-függő transzport

Leucin transzporter (Science, 2008)



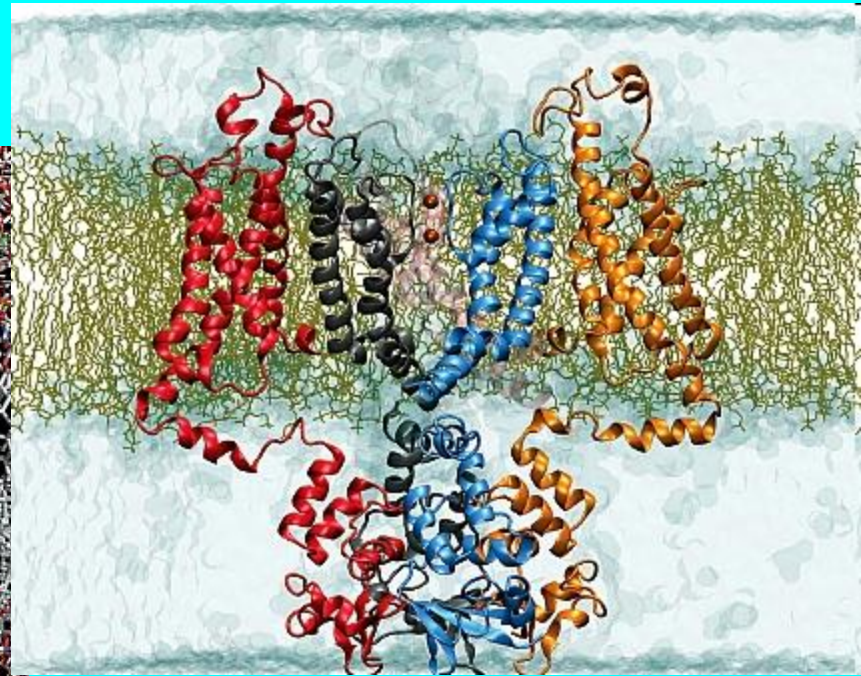
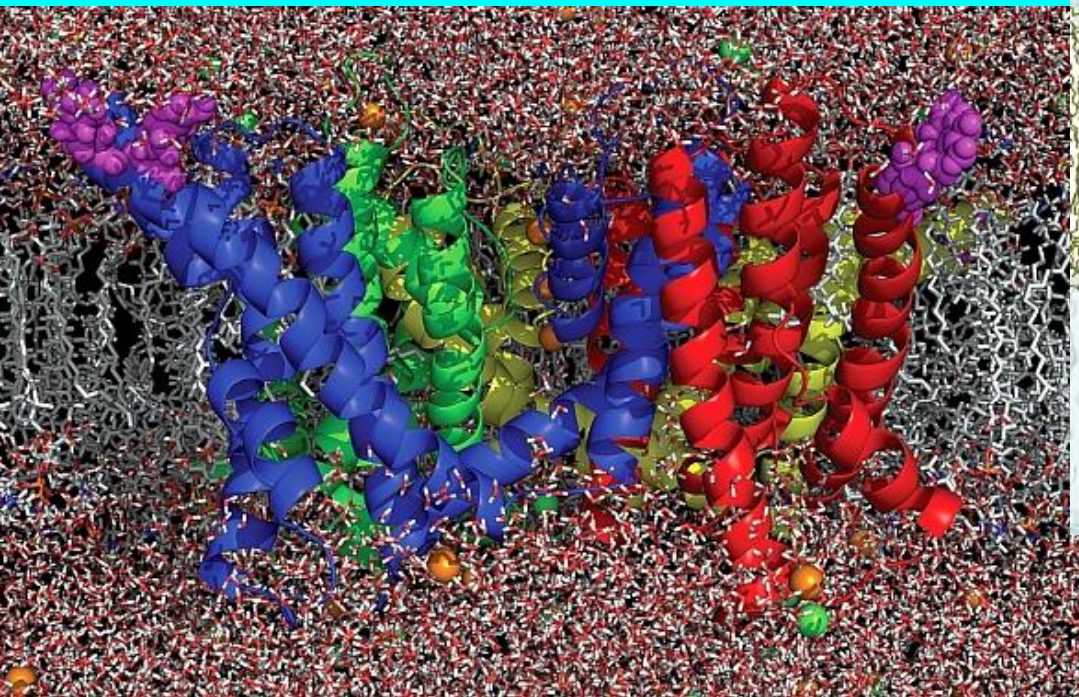
Closed State

Open State

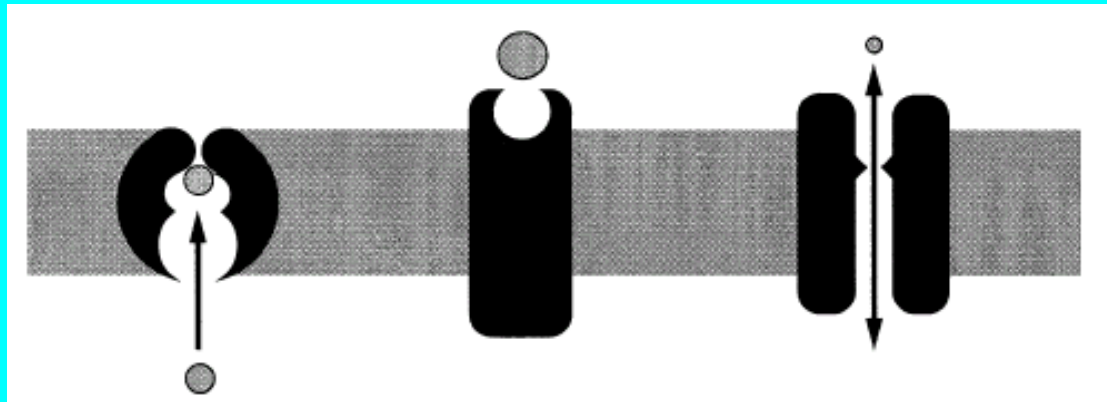


Feszültségfüggő
K⁺ ion csatorna (Kv1.2)

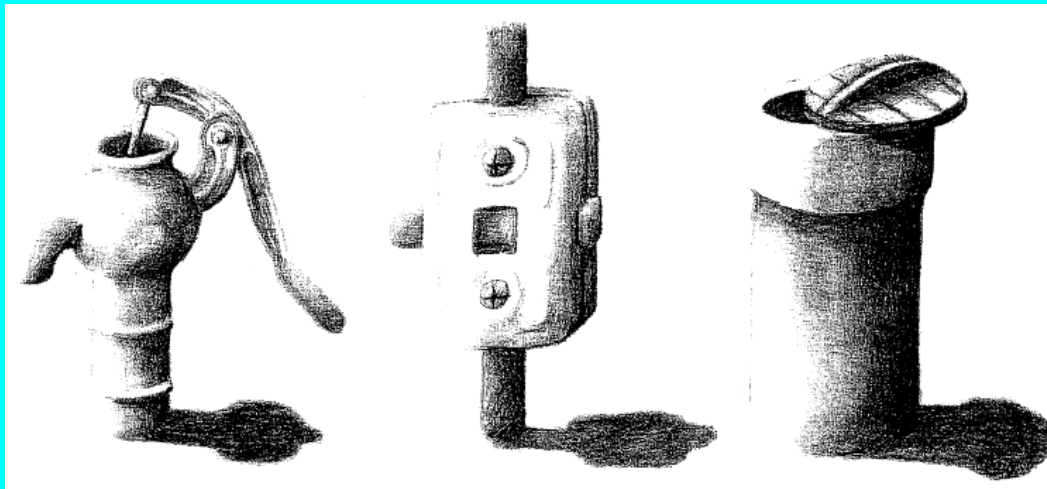
Molekuláris szerkezet
és modellek



ABC transzporterek

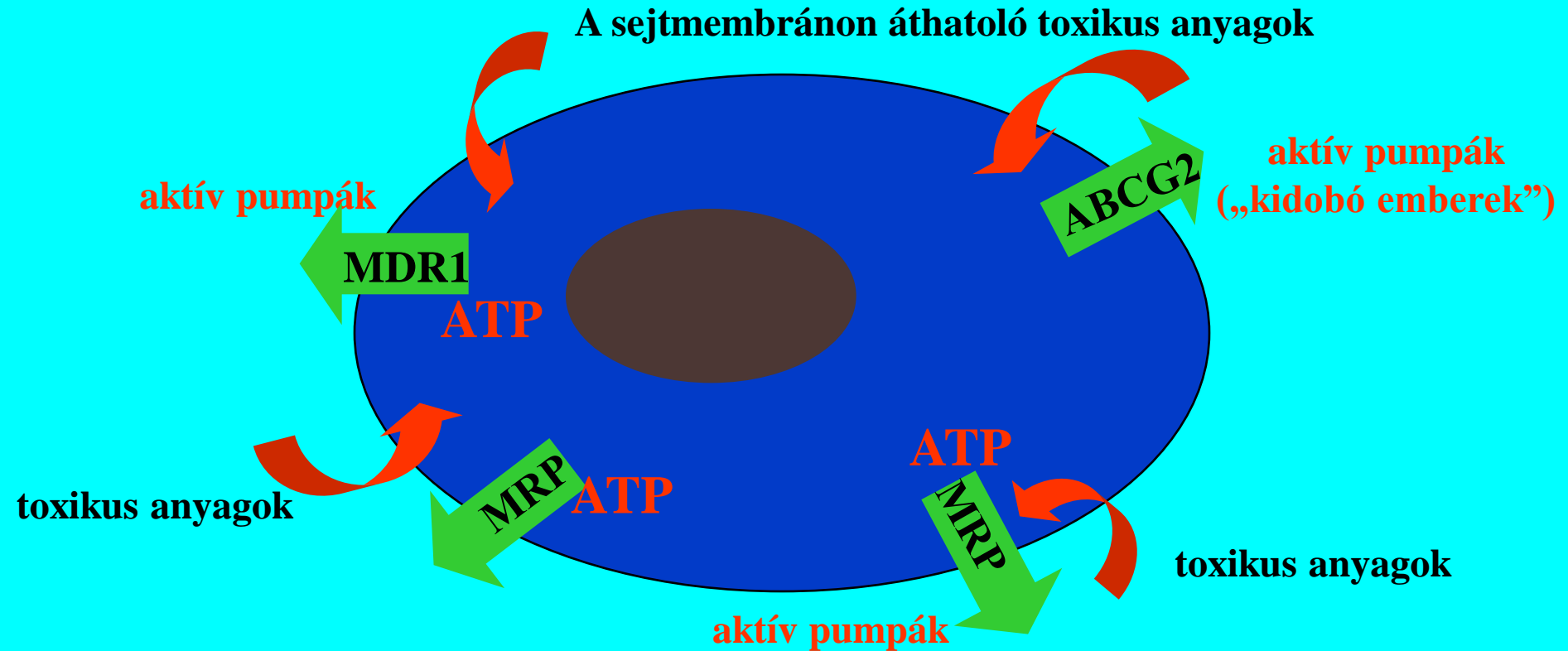


pumpák receptorok csatornák



Az ABC transzporterek: mindezt egyszerre tudják?

A gyógyszer (multidrog)-rezisztencia pumpák – ABC transzporterek

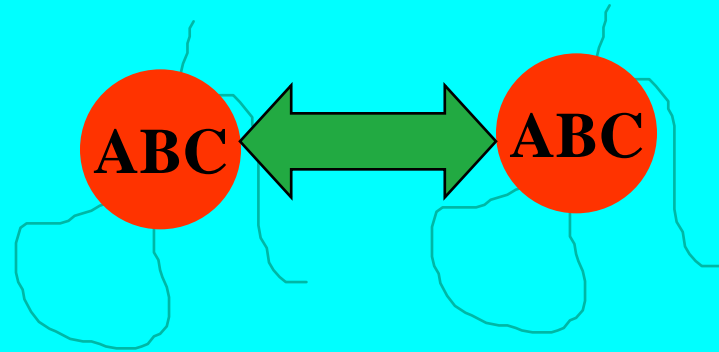
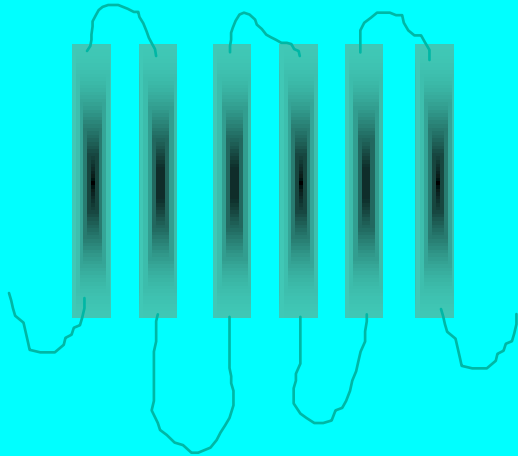


A sejtek és a szervezet védelméért felelős aktív pumpák az ATP energiájával működnek –

a rákos sejtek az ABC fehérjéket a saját védelmükre használják fel

Az ABC transzporterek alap-motívumai:

**6 TMH membrán
domén (TMD)**



Kooperáló ABC domének

Az ABC doménekben:

Walker A

Signature (C)

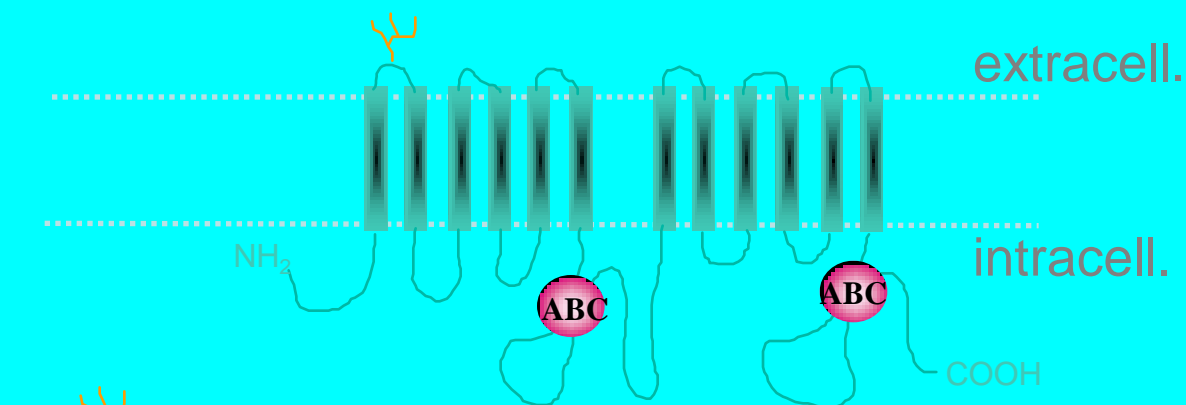
Walker B

**(egyedi az ABC
transzportereknél!)**

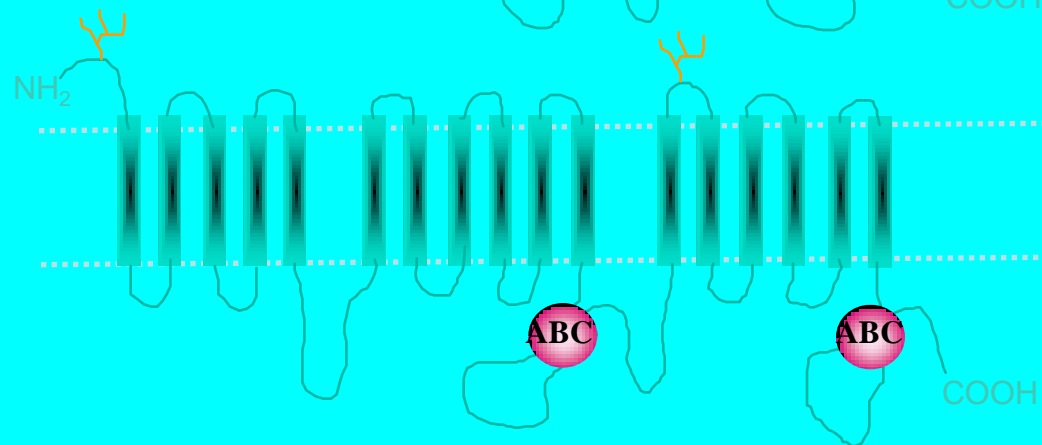
A daganatokban multidrog rezisztenciát okozó

ABC transzporterek

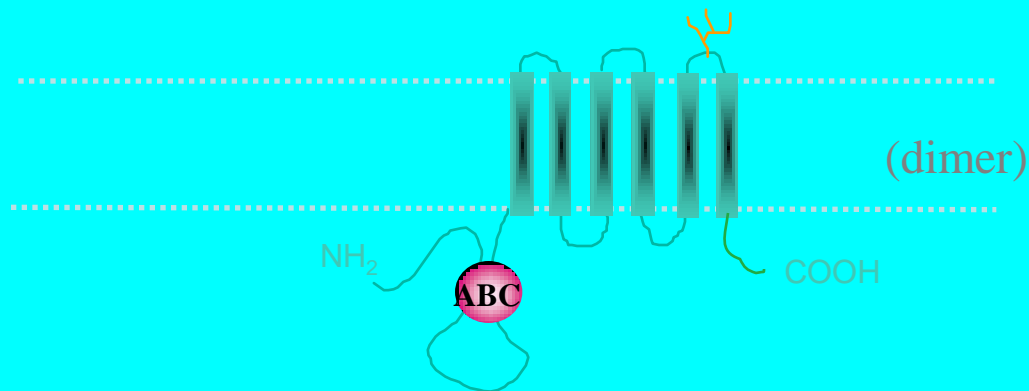
**MDR
család**



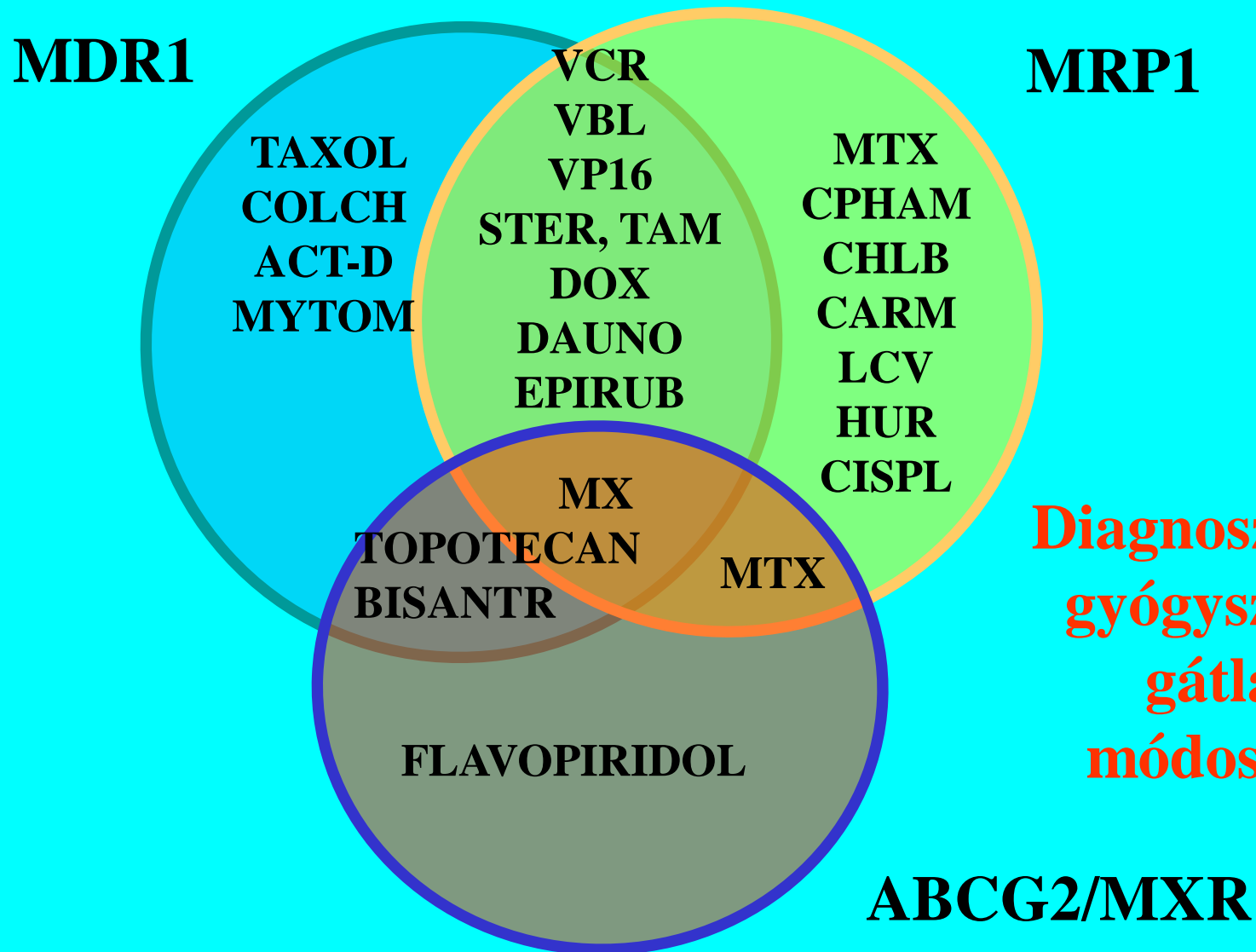
**MRP
család**



**ABCG2
(MXR/BCRP)**

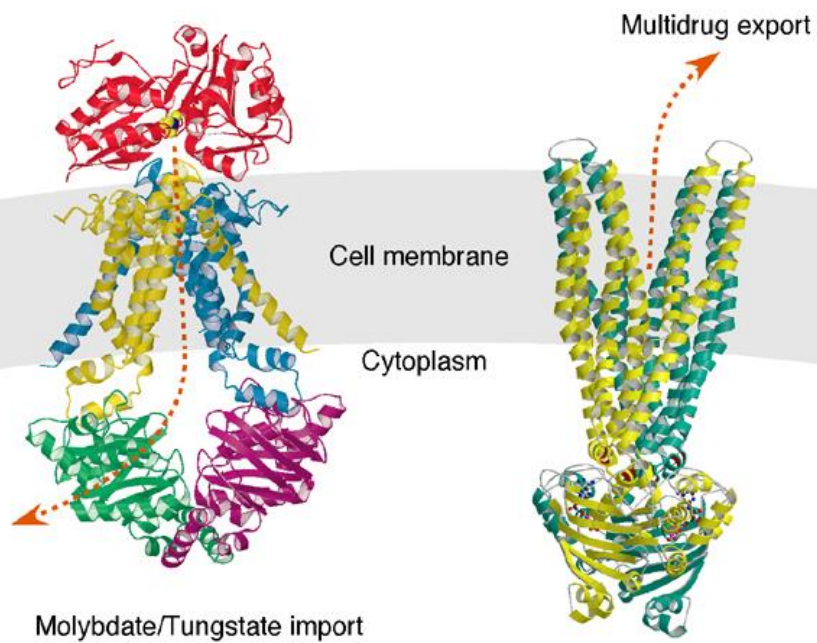


A multidrog rezisztencia fehérjék szerepe rák-ellenes gyógyszereknél

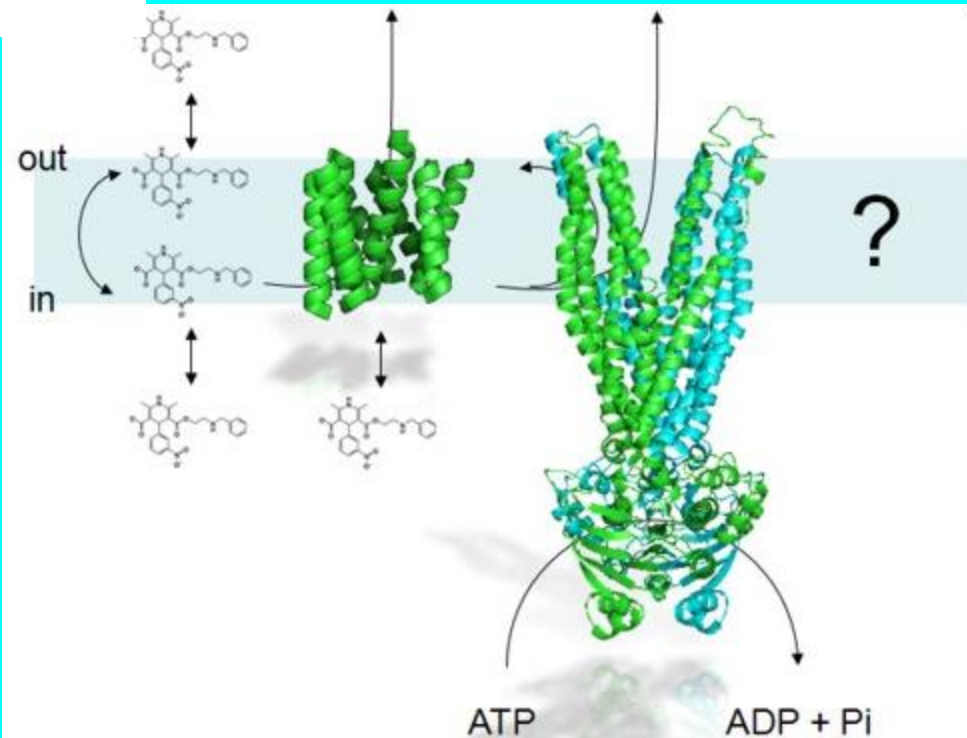


**Diagnosztika –
gyógyszeres
gátlás,
módosítás!**

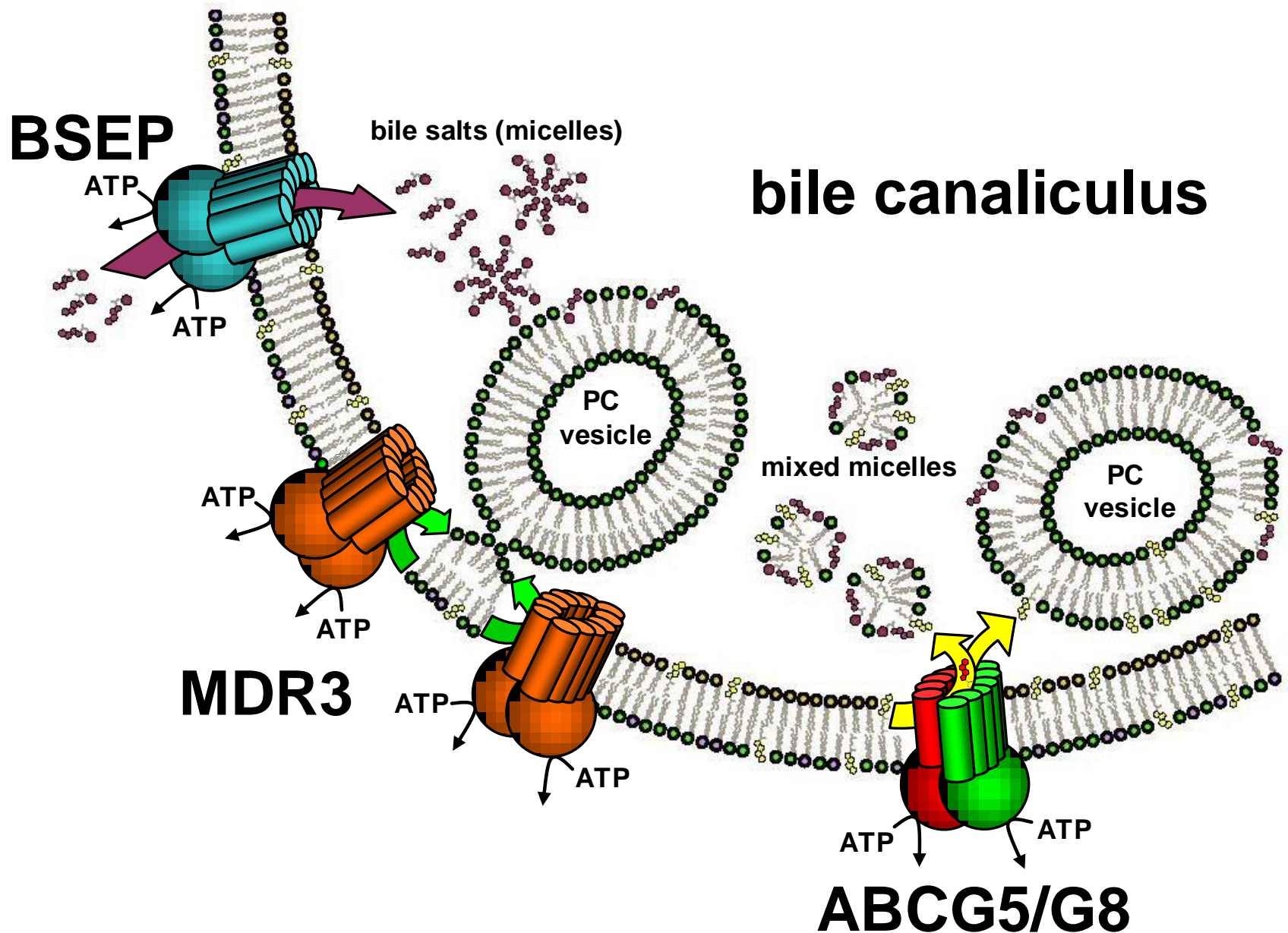
ABC transzporterek



Molekuláris modellek



ABC transporters and lipids in the liver



Anyai
vér-
keringés

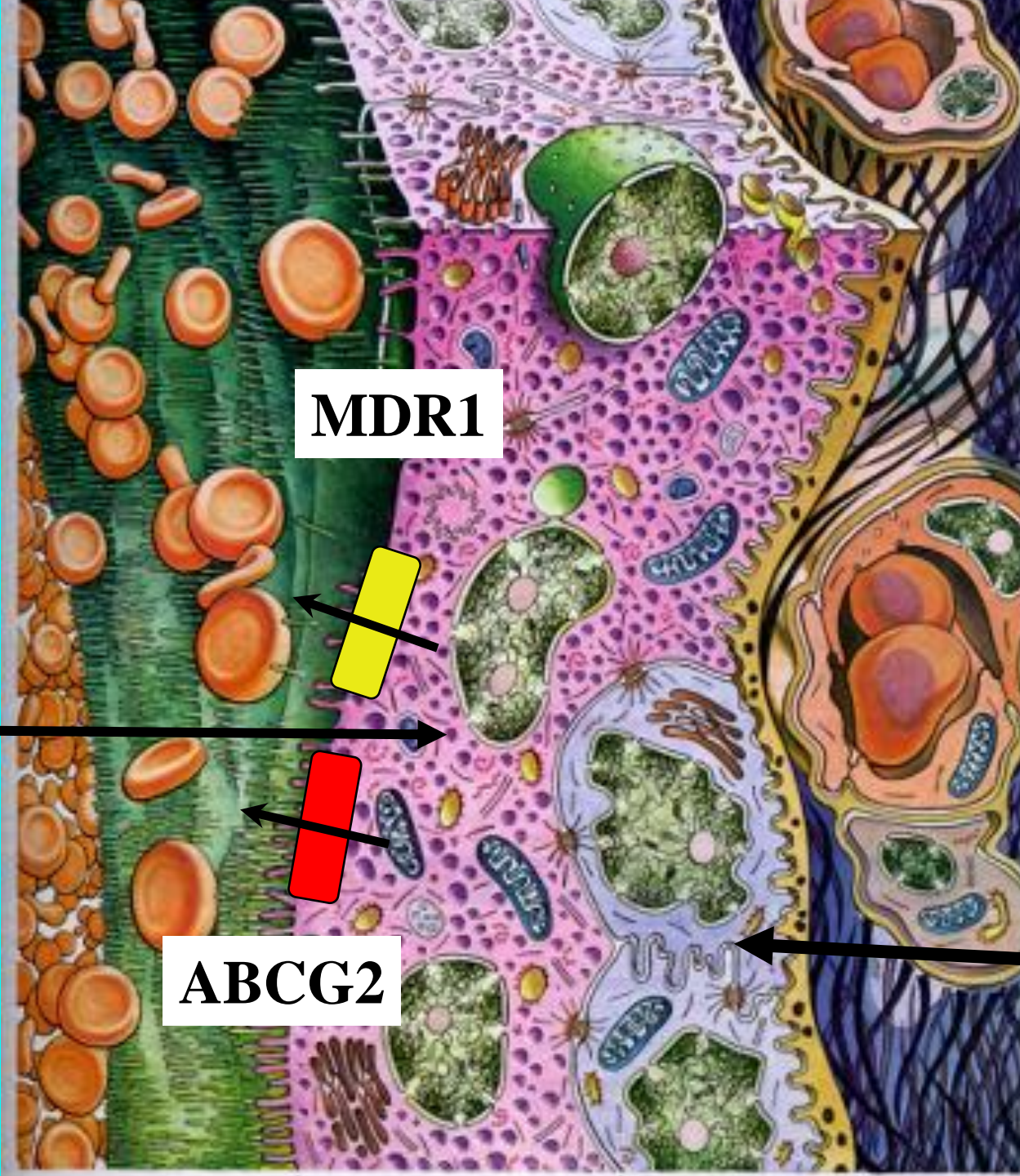
Magzati
vér-
keringés

MDR1

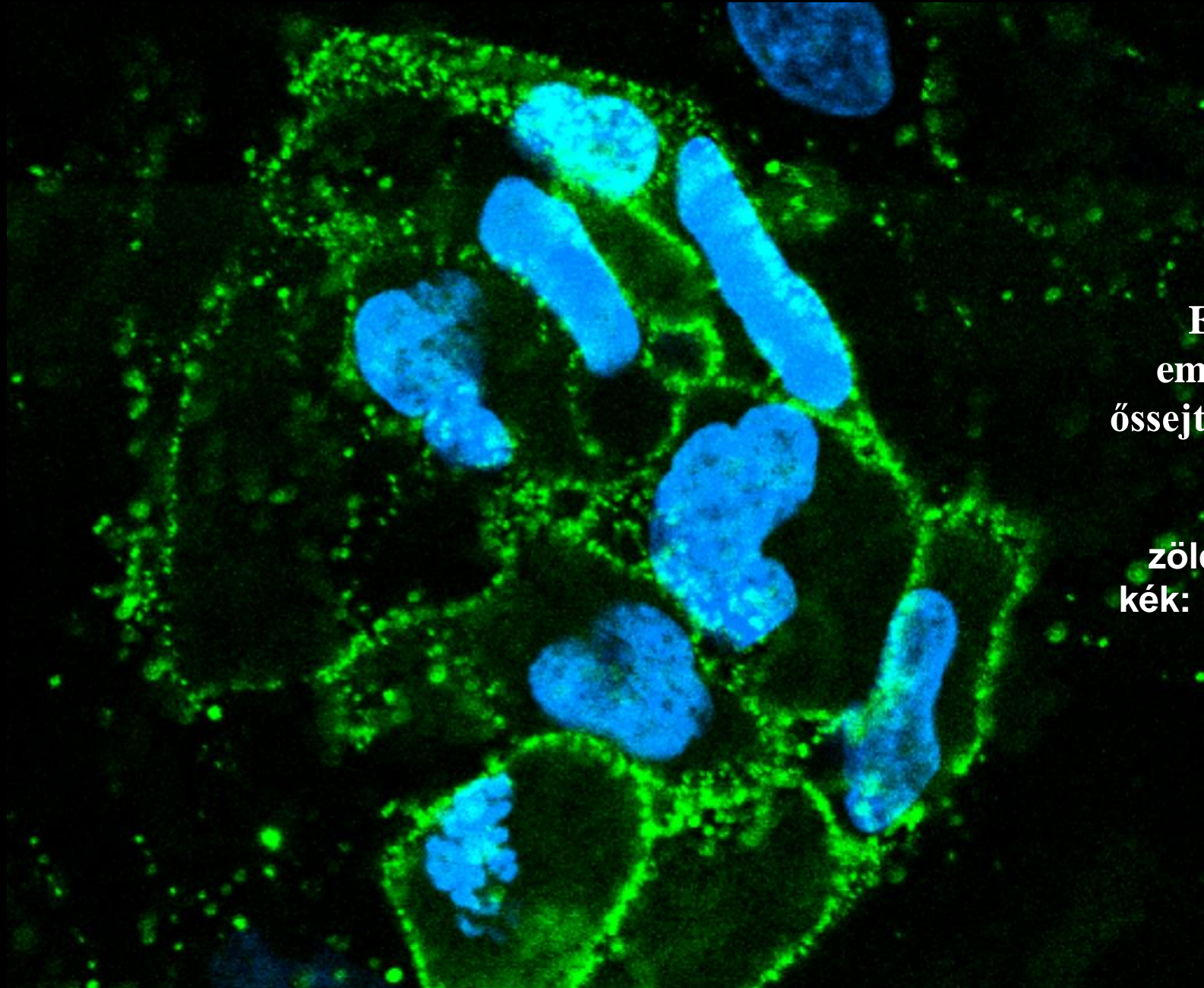
Syncytio-
trophoblast

Cyto-
trophoblast

ABCG2



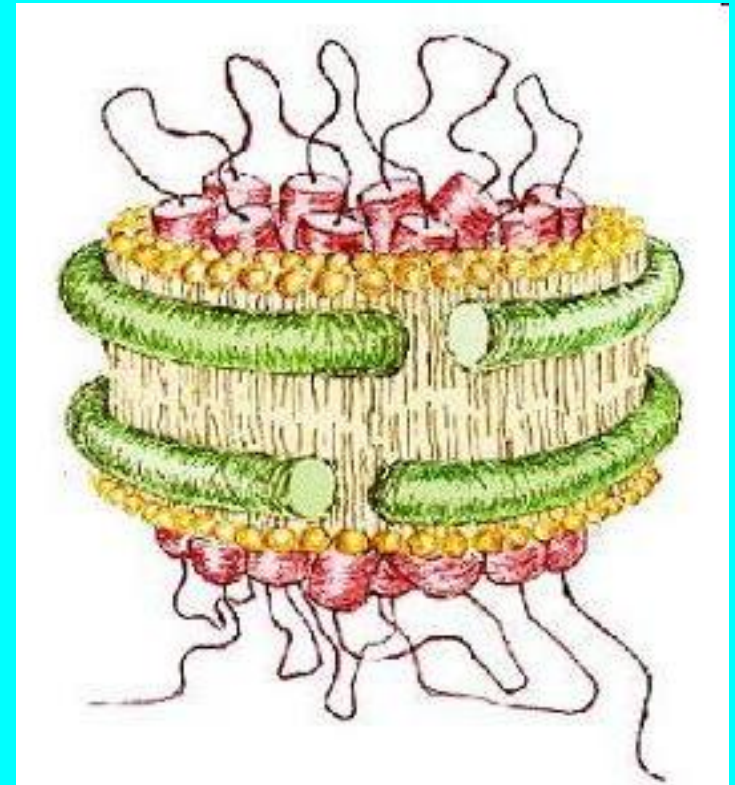
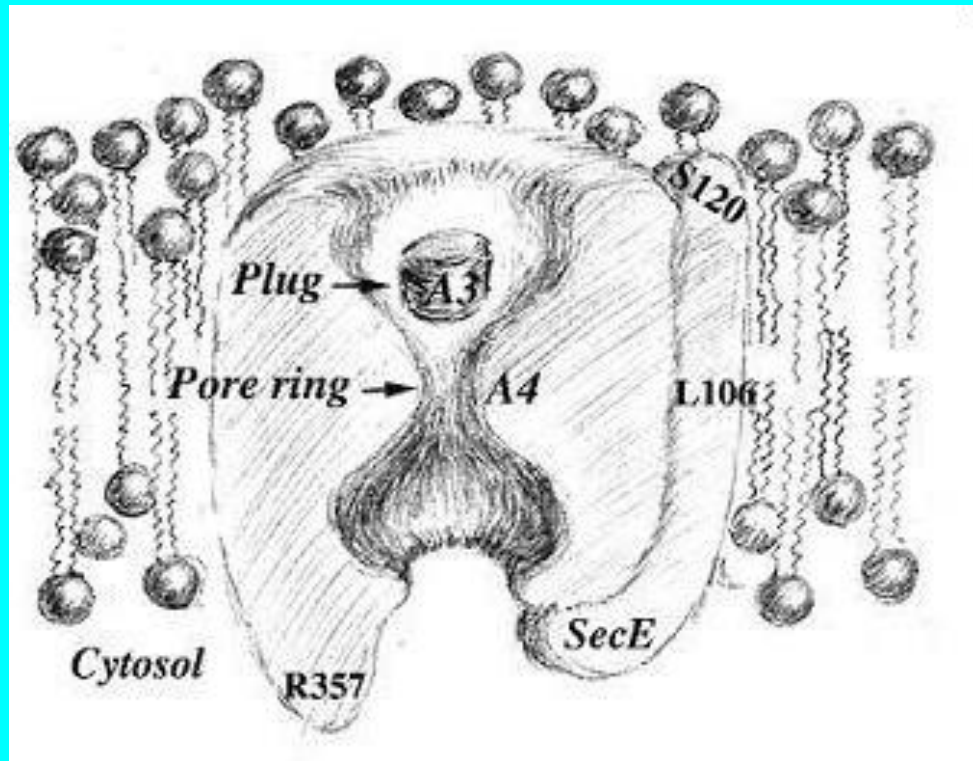
HUES sejtek - ABCG2 kifejeződés – konfokális mikroszkóp



Emberi
embrionális
őssejtek (HuES9)
sejtek

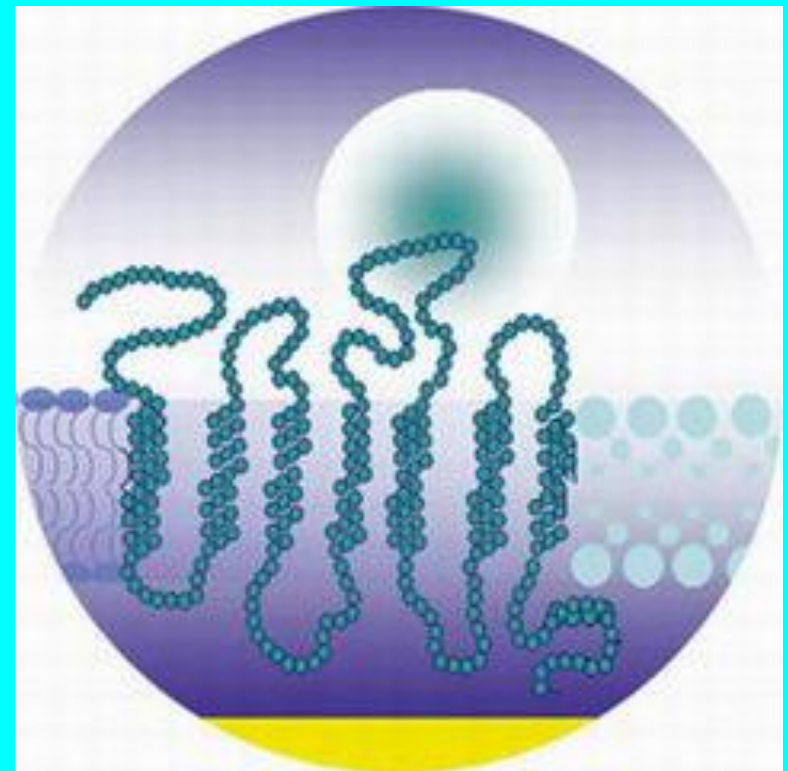
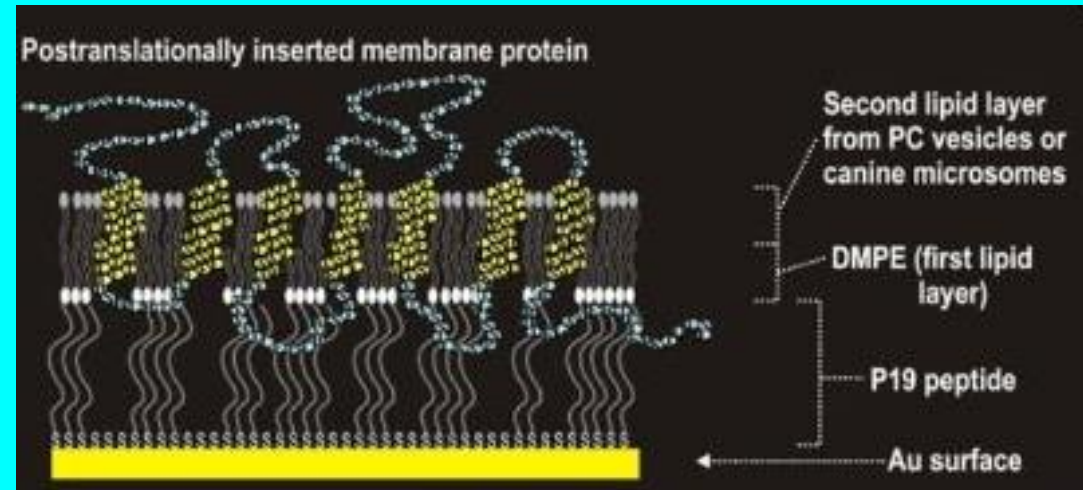
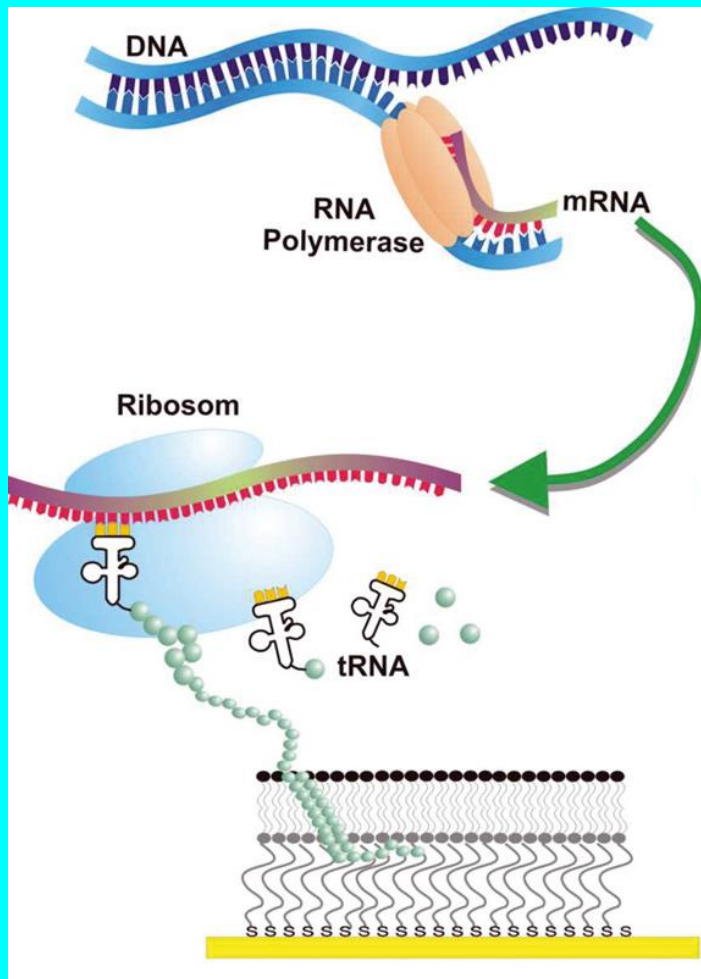
zöld: ABCG2
kék: DAPI (mag)

Mesterséges fehérje-membrán komplexek – új biotechnológiai lehetőségek



Fehérje-beépítés mesterséges membránokba:
Egy példa a „Nanodisc” technológia:
Tanszlokon beépítése lipid membránba - "sushi-szerű",
részecskék, nanoméretű fehérjekorongok!

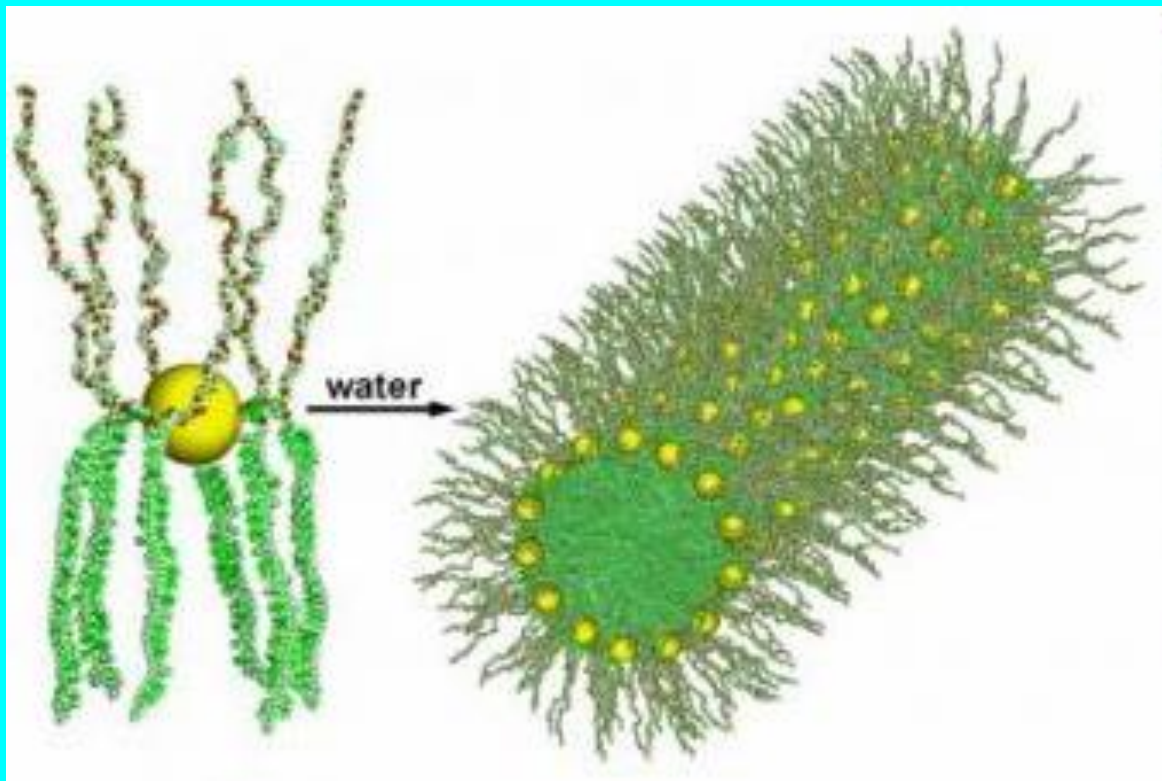
Mesterséges membrán komplexek



Mesterséges szagérzékelő receptor:
Szintetikus lipid membrán szenzor-
alapon

– in vitro szintetizált szag-receptor
fehérje beillesztése:

In vitro szenzor készítése!



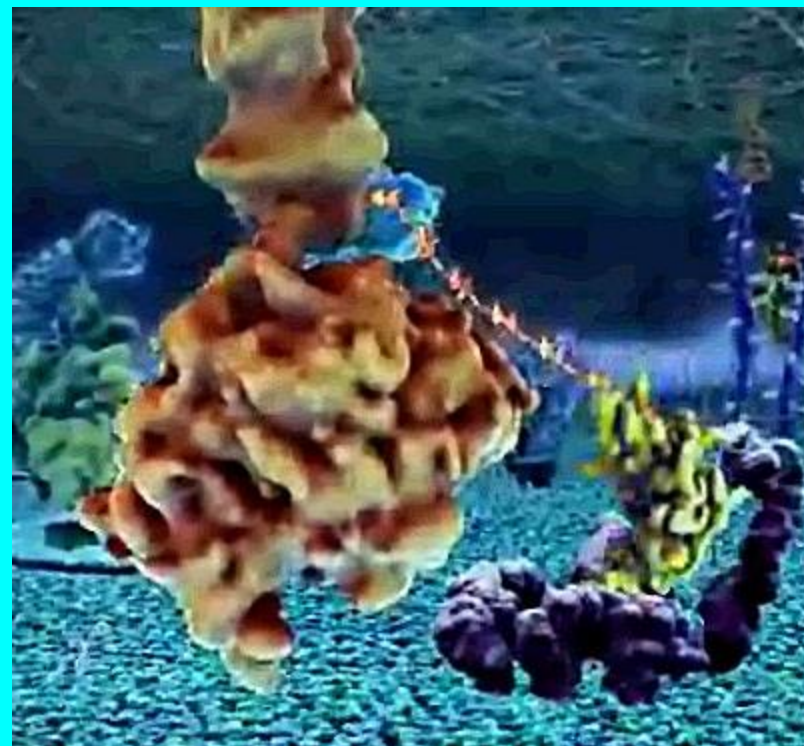
Fém (pl. Arany) részecskék kötése lipidek poláris oldalláncához – új nanostruktúrák létrehozása

Művészet vagy tudomány – művészet a tudományért

BioVisions
at Harvard University



Membránfehérjék utazása lipid
tutajokban a foszfolipid-tengerben



Membránreceptorok
találkozás a lipid-
medencében

https://www.youtube.com/watch?feature=player_detailpage&v=Pfu1DE9PK2w