

Transzporterek vizsgálata membránokban 2017.

Sarkadi Balázs

MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport,
MTA-TTK
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

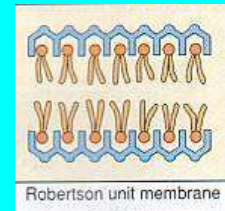
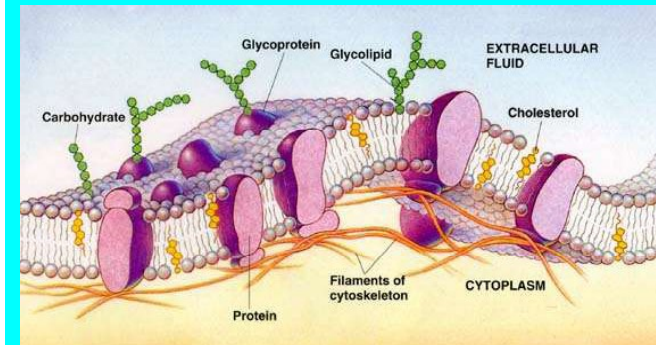
Membrántranszport fehérjék – típusok, lipid-kapcsolatok

A membránok szerkezete – membrán modellek

Singer – Nicolson, 1972



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**

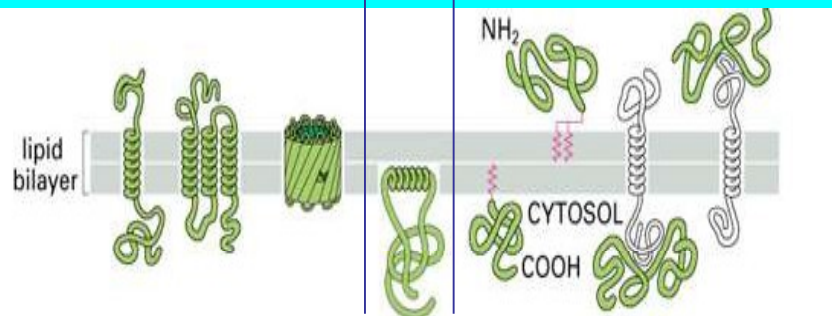


Membránfehérjék

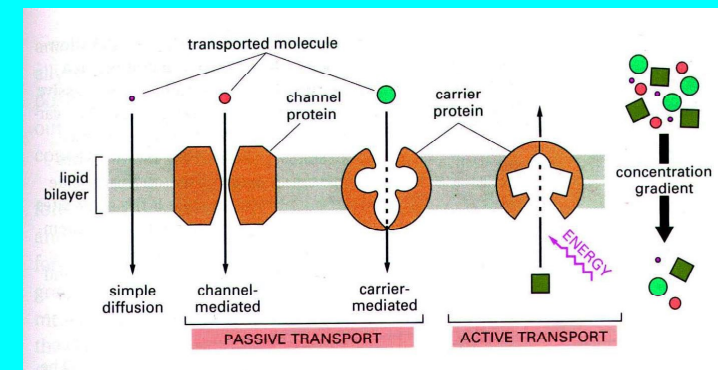
Transzmembrán (intergráns)
Single-pass Multi-pass

Membrán-asszociált (perifériás)

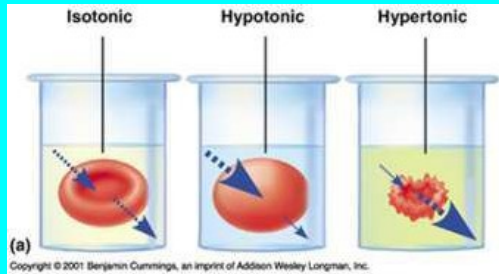
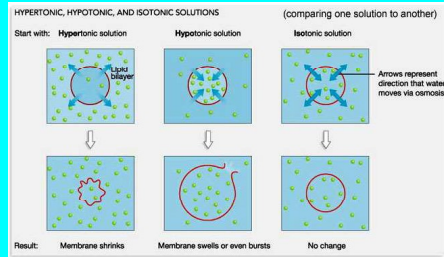
???



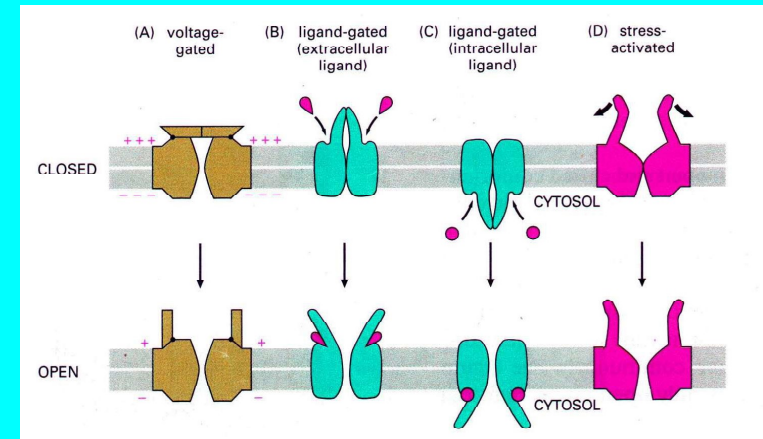
A membrántranszporterek főbb típusai



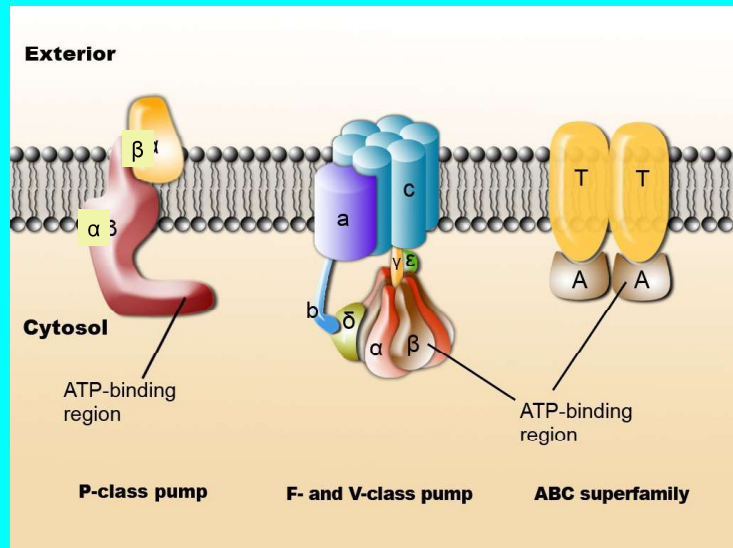
A passzív transzport és az ozmotikus hatások



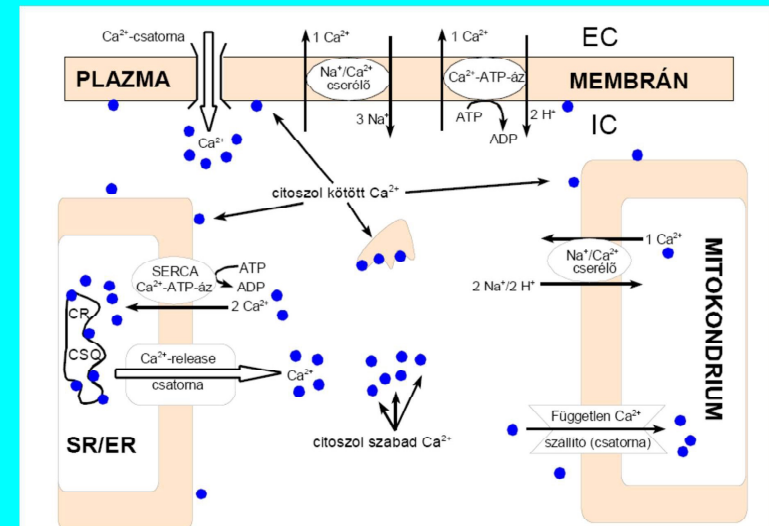
Az ioncsatornák főbb típusai



A transzport ATPázok alaptípusai

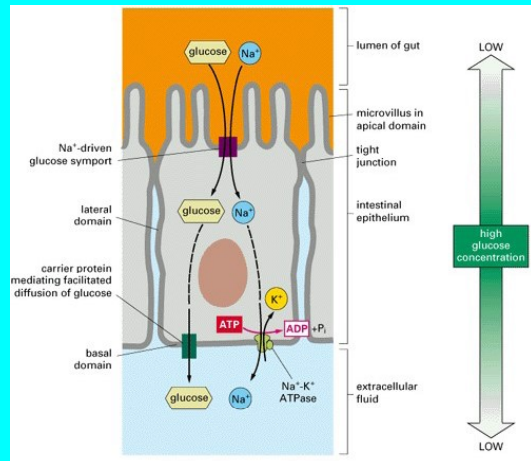


Kalcium transzporterek a sejtben

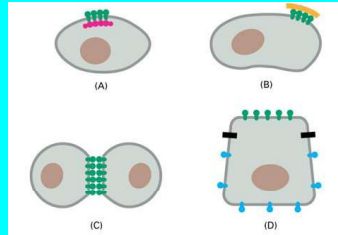


A membrán-transzporterek elhelyezkedése a sejtekben

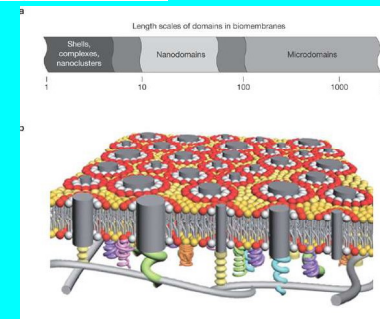
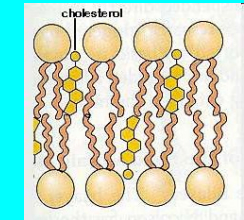
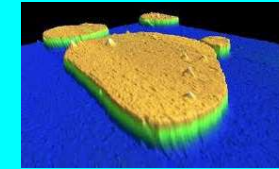
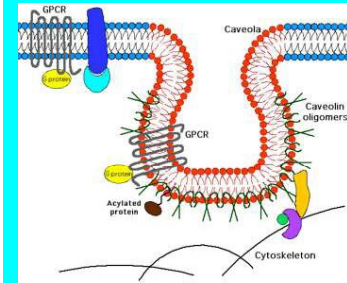
Polarizált sejtek, speciális lokalizáció!



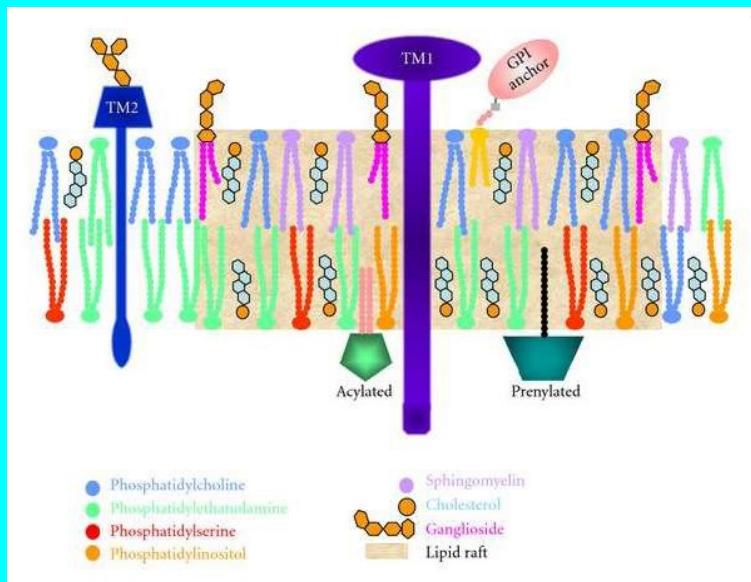
Fehérjék együttes elhelyezkedésben, pl. lipid-tutajokban



Lipid tutajok („rafts”) a membránokban

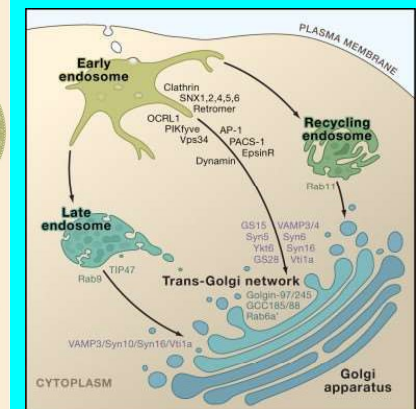
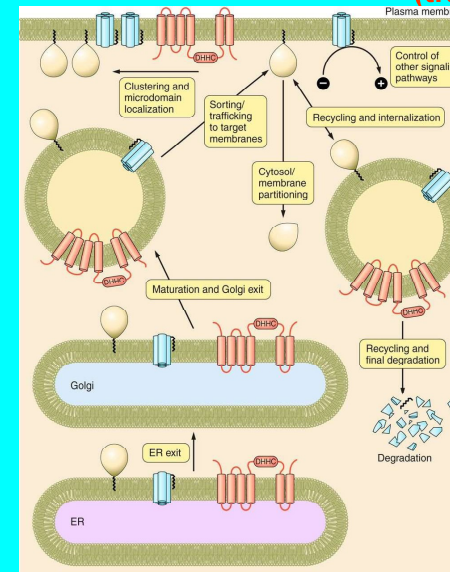


Lipid tutajok („rafts”) a membránokban



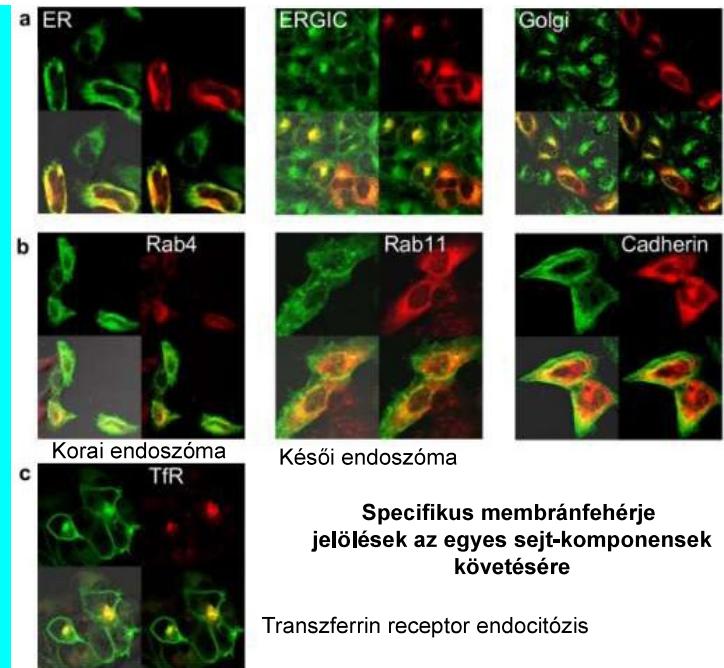
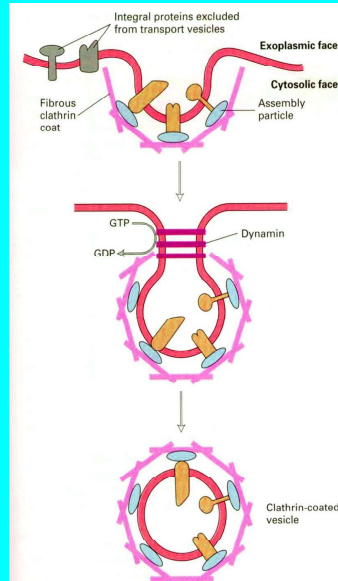
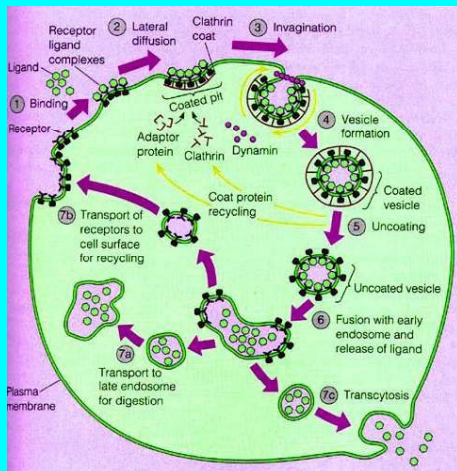
Vezikuláris transzportfolyamatok

Membrán-fehérjék utazása (trafficking) a sejtekben



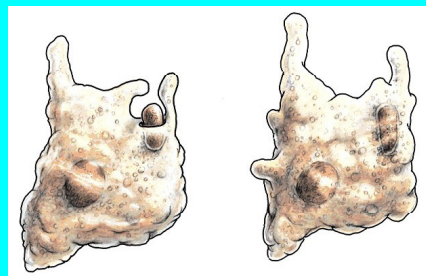
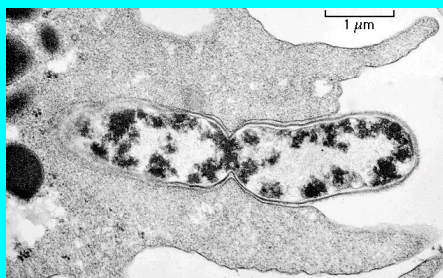
Endocitózis – exocitózis - transzcitózis

Membránfehérjék – mindig membránokban!

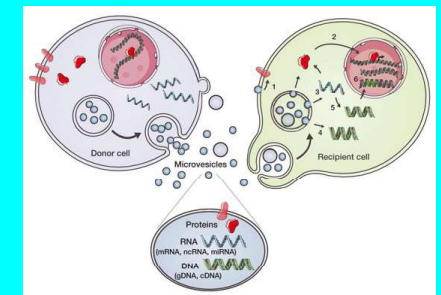
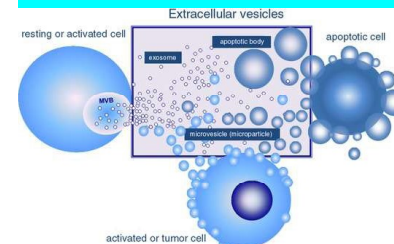


Endocitózis – exocitózis - transzcitózis

Makrofágok – fagocitózis (endocitózis)

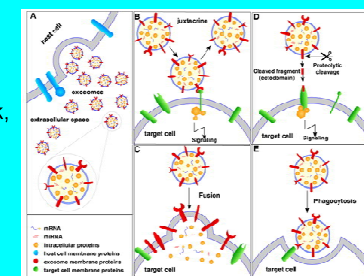


Mikrovezikulák képződése a sejtekből - exoszómák

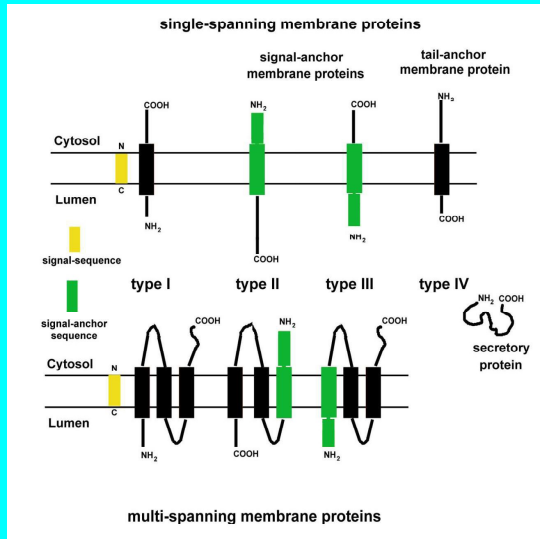


Normál és aktivált (immun)sejtek, apoptotikus sejtek, daganatsejtek...

Fontos fiziológiás szabályozó szerep!

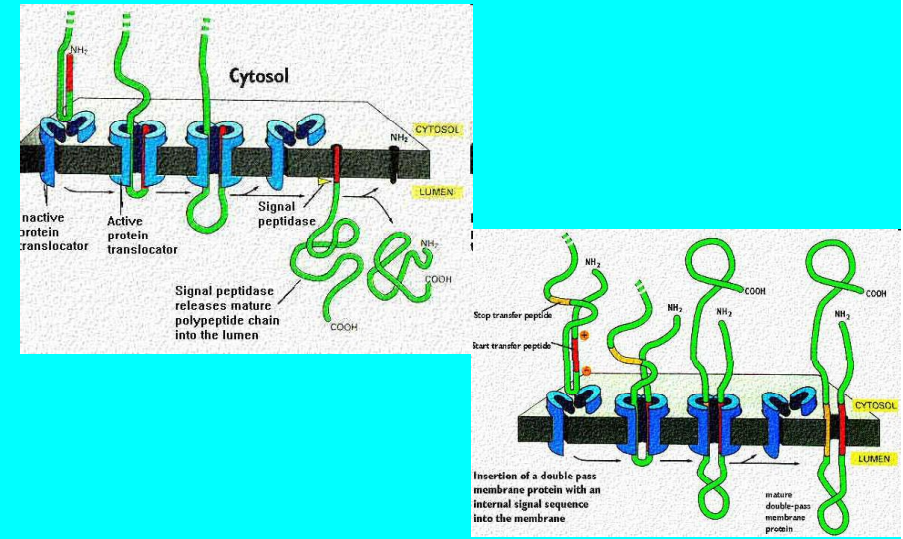


Membránfehérjék szintézise – mindig lipidmembránokban készülnek!

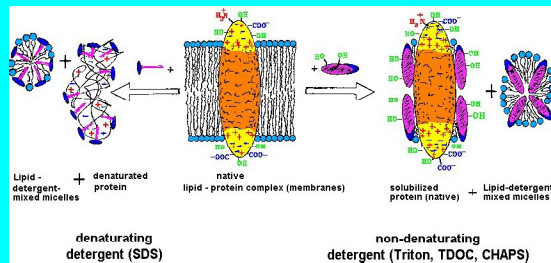


Transzporter fehérjék beépülése membránokba

Membránfehérjék

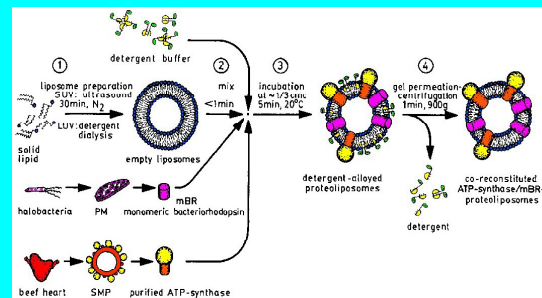


Membránfehérjék szerkezetvizsgálata és beépítése lipidékbe



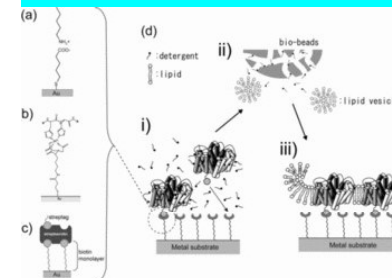
Membránfehérjék izolálása

Membránfehérjék rekonstitúciója

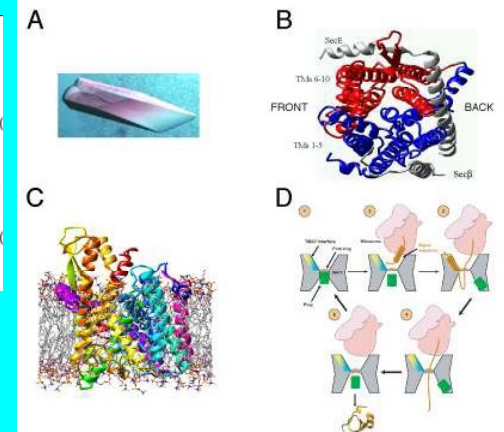


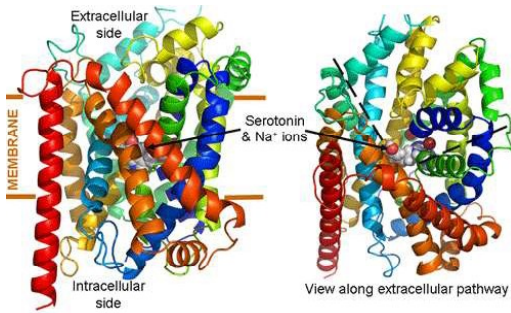
Membránfehérjék rekonstitúciója – atómi szintű szerkezet meghatározása

Membránfehérjék kristályosítása – lipid rétegben



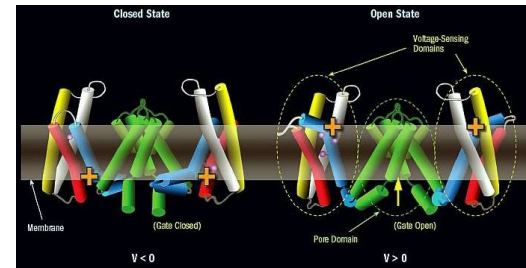
Membránfehérjék kristályosítása – háromdimenziós szerkezet!





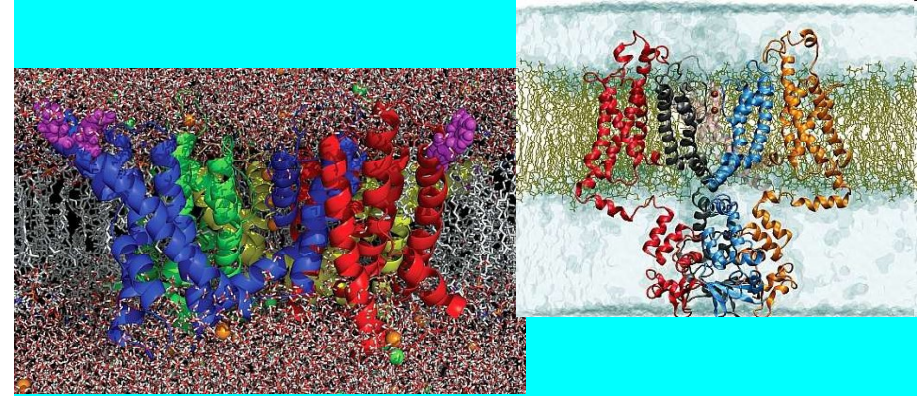
Szerotonin transzporter
Na-függő transzport

Leucin transzporter (Science, 2008)

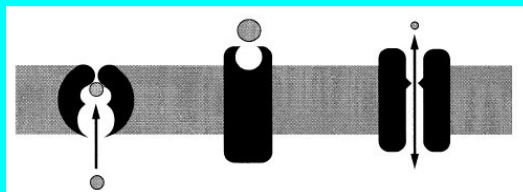


Feszültségfüggő
K⁺ ion csatorna (Kv1.2)

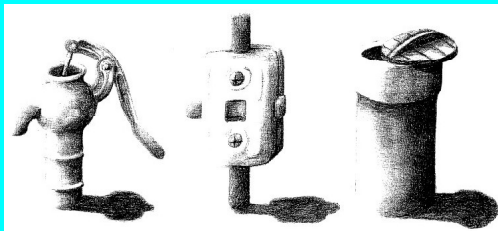
Molekuláris szerkezet
és modellek



ABC transzporterek

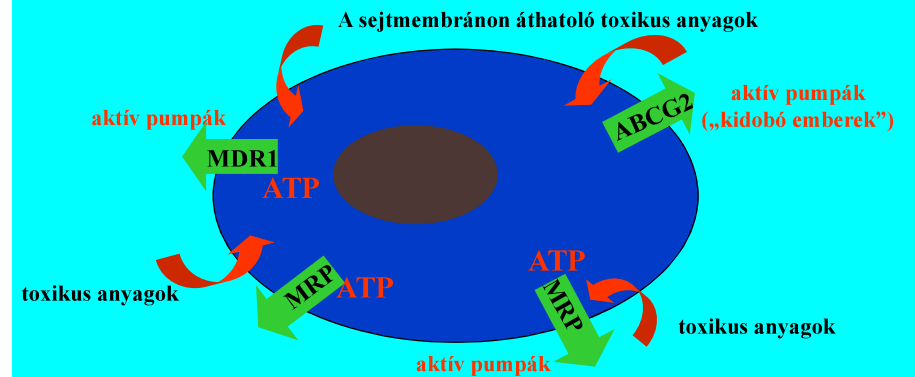


pumpák receptorok csatornák



Az ABC transzporterek: mindezt egyszerre tudják?

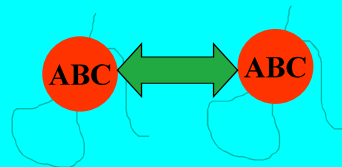
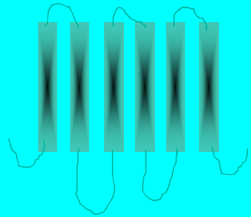
A gyógyszer (multidrog)-rezisztencia pumpák – ABC transzporterek



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

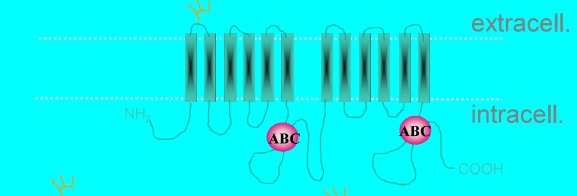
Signature (C)

Walker B

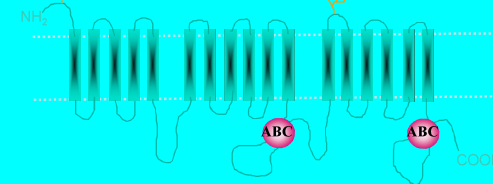
(egyedi az ABC
transzportereknél!)

A daganatokban multidrog rezisztenciát okozó ABC transzporterek

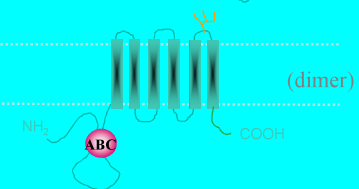
MDR
család



MRP
család

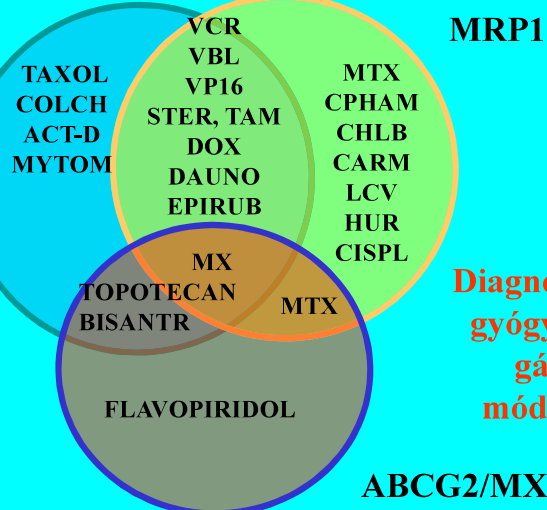


ABCG2
(MXR/BCRP)



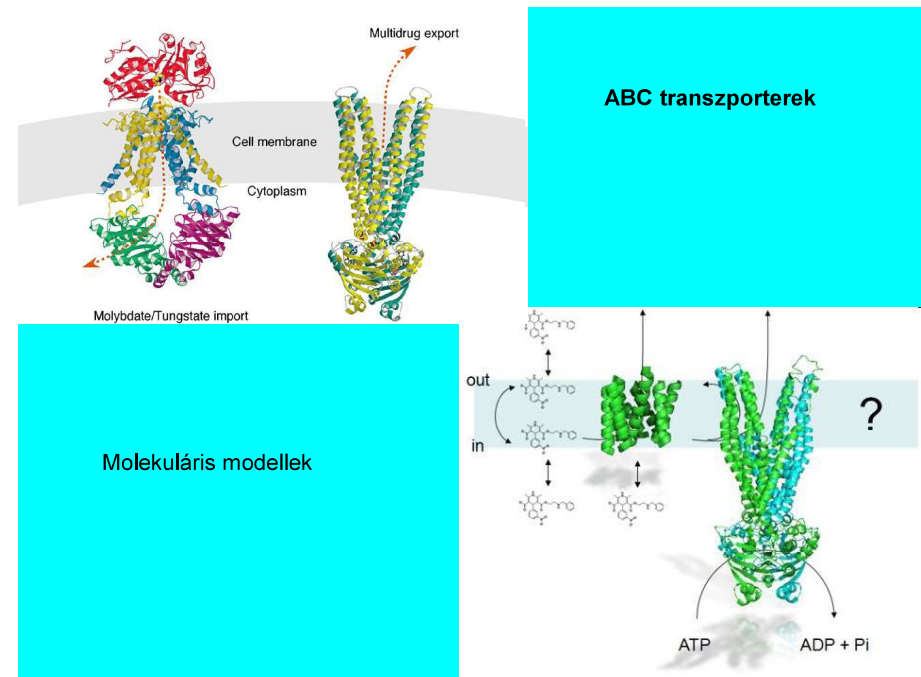
A multidrog rezisztencia fehérjék szerepe rák-ellenes gyógyszereknél

MDR1

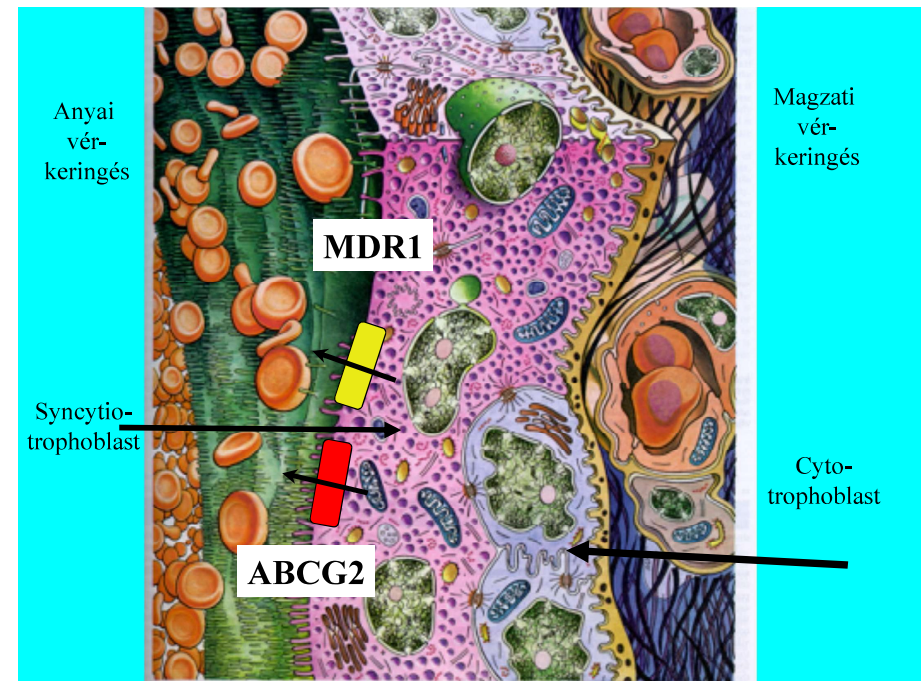
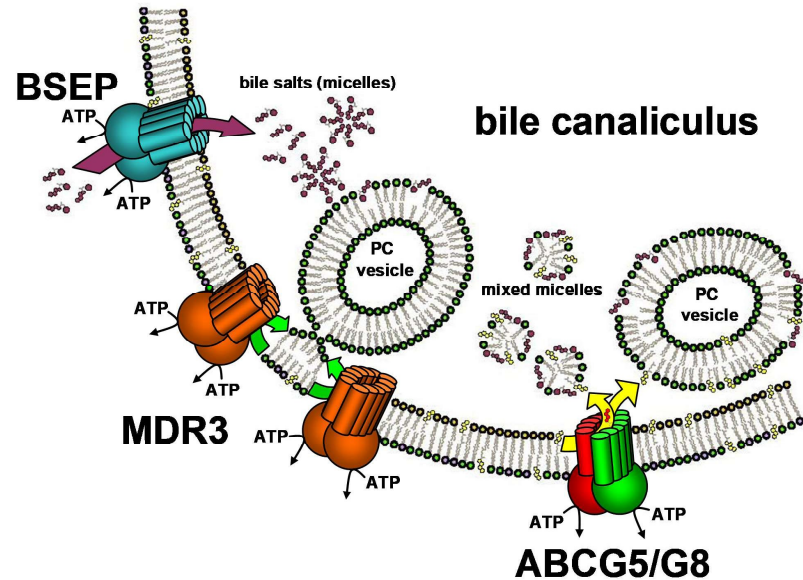


Diagnosztika –
gyógyszeres
gátlás,
módosítás!

ABCG2/MXR



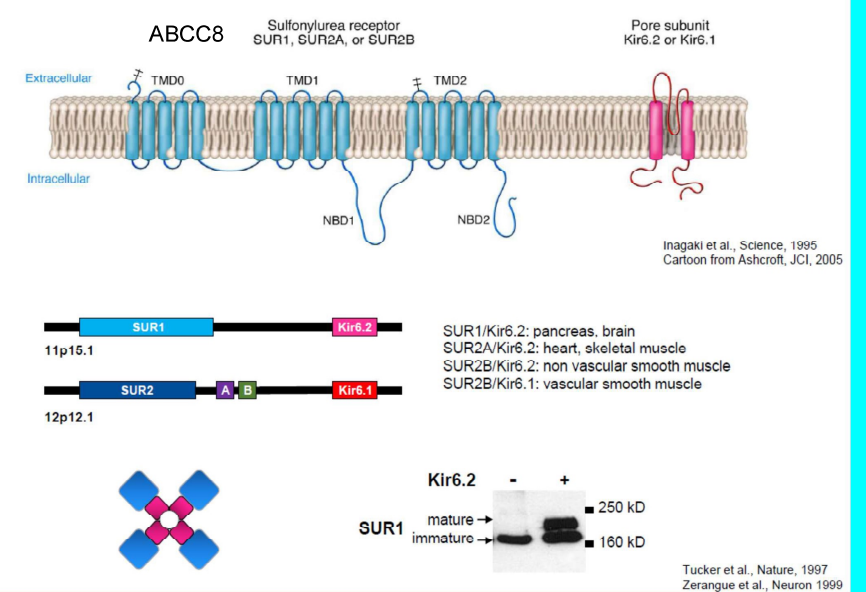
ABC transzporterek és lipidek a májban



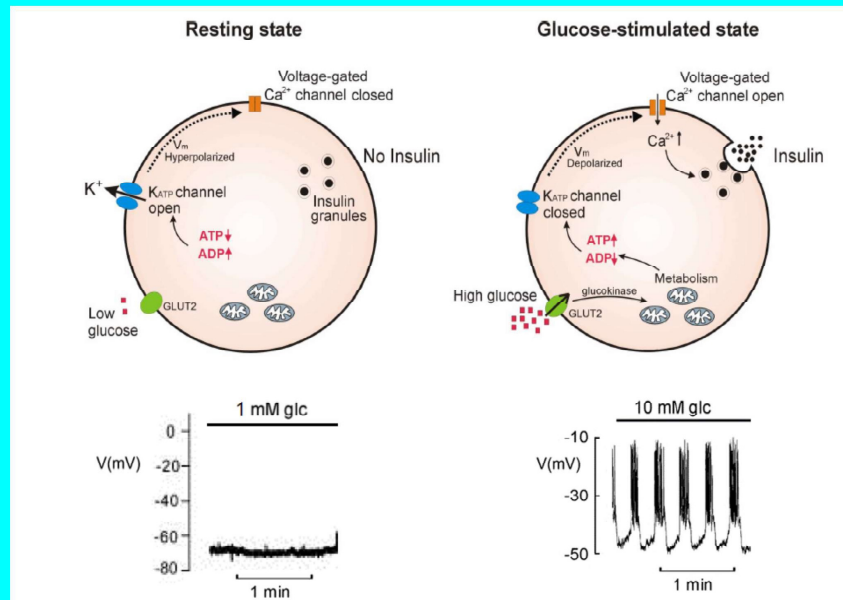
HUES sejtek - ABCG2 kifejeződés – konfokális mikroszkóp



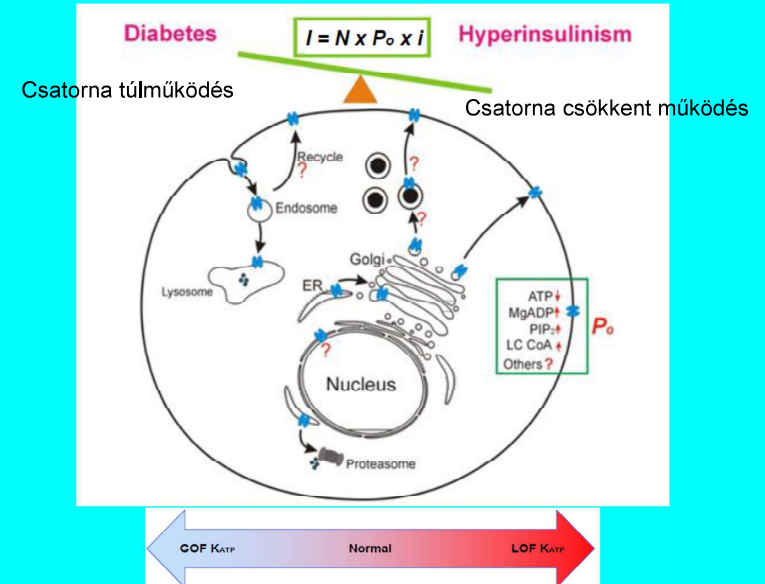
KATP csatorna a szigetsejtekben – az ABCC8 és egy Kir csatorna komplexe



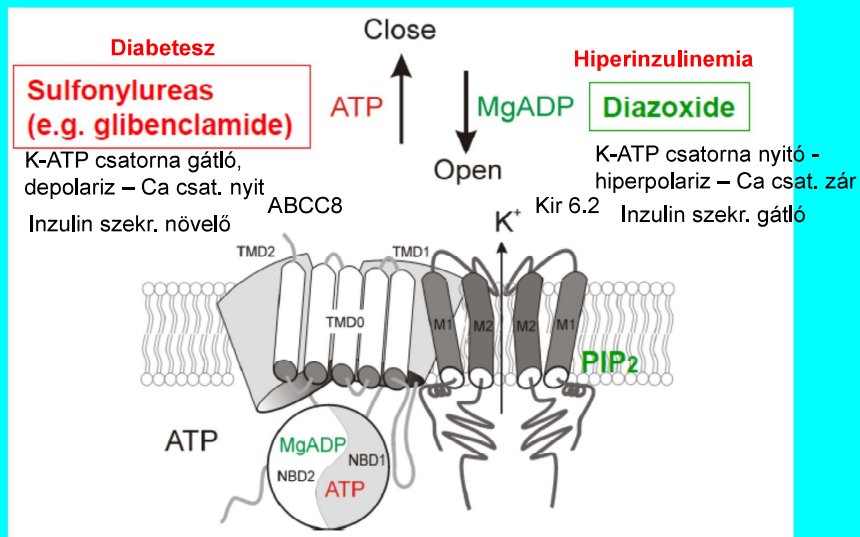
Inzulin szekréció a hasnyálmirigy szigetsejtekben



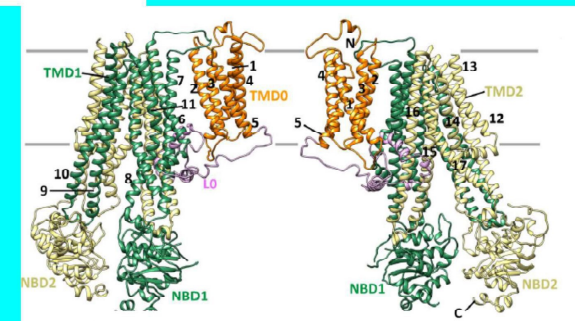
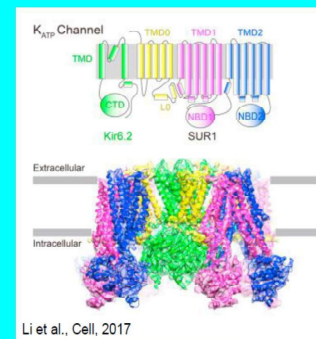
Az inzulin szekréció betegségei



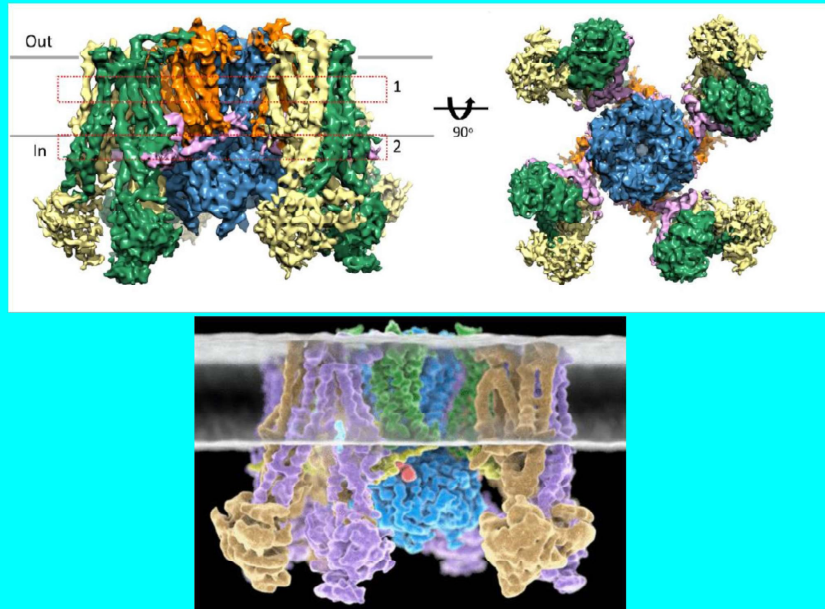
Az inzulin szekréció betegségeinek gyógyszeres kezelése



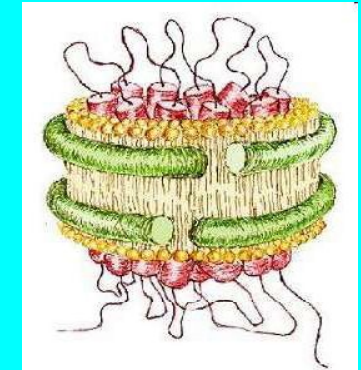
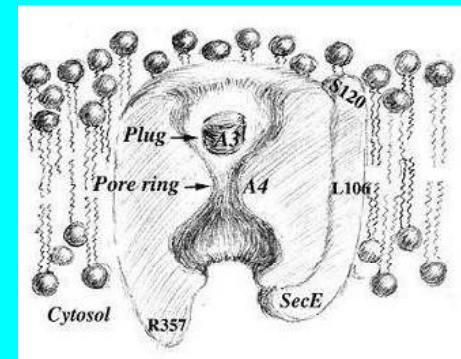
Az ABCC8 és a Kir6.2. csatorna komplexének szerkezete



Az ABCC8 és a Kir 6.2. csatorna komplexének szerkezete

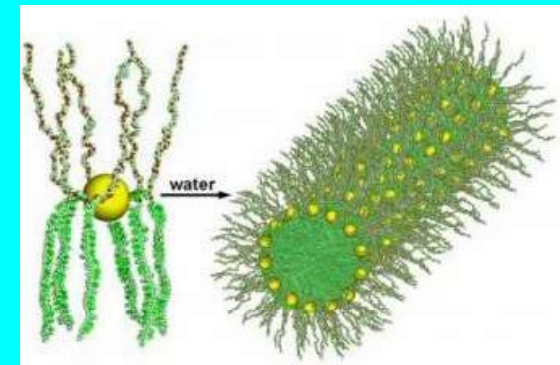
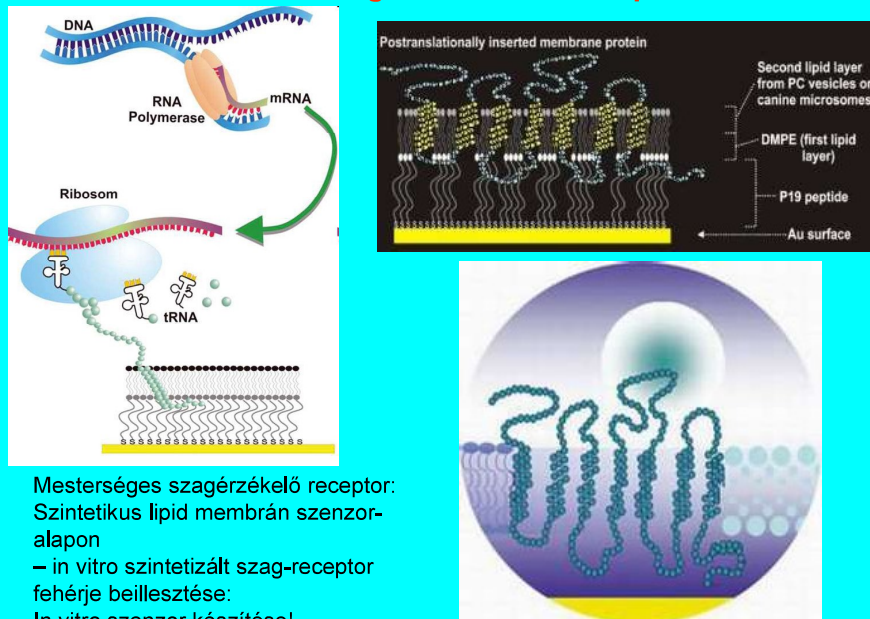


Mesterséges fehérje-membrán komplexek – új biotechnológiai lehetőségek



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

Mesterséges membrán komplexek



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