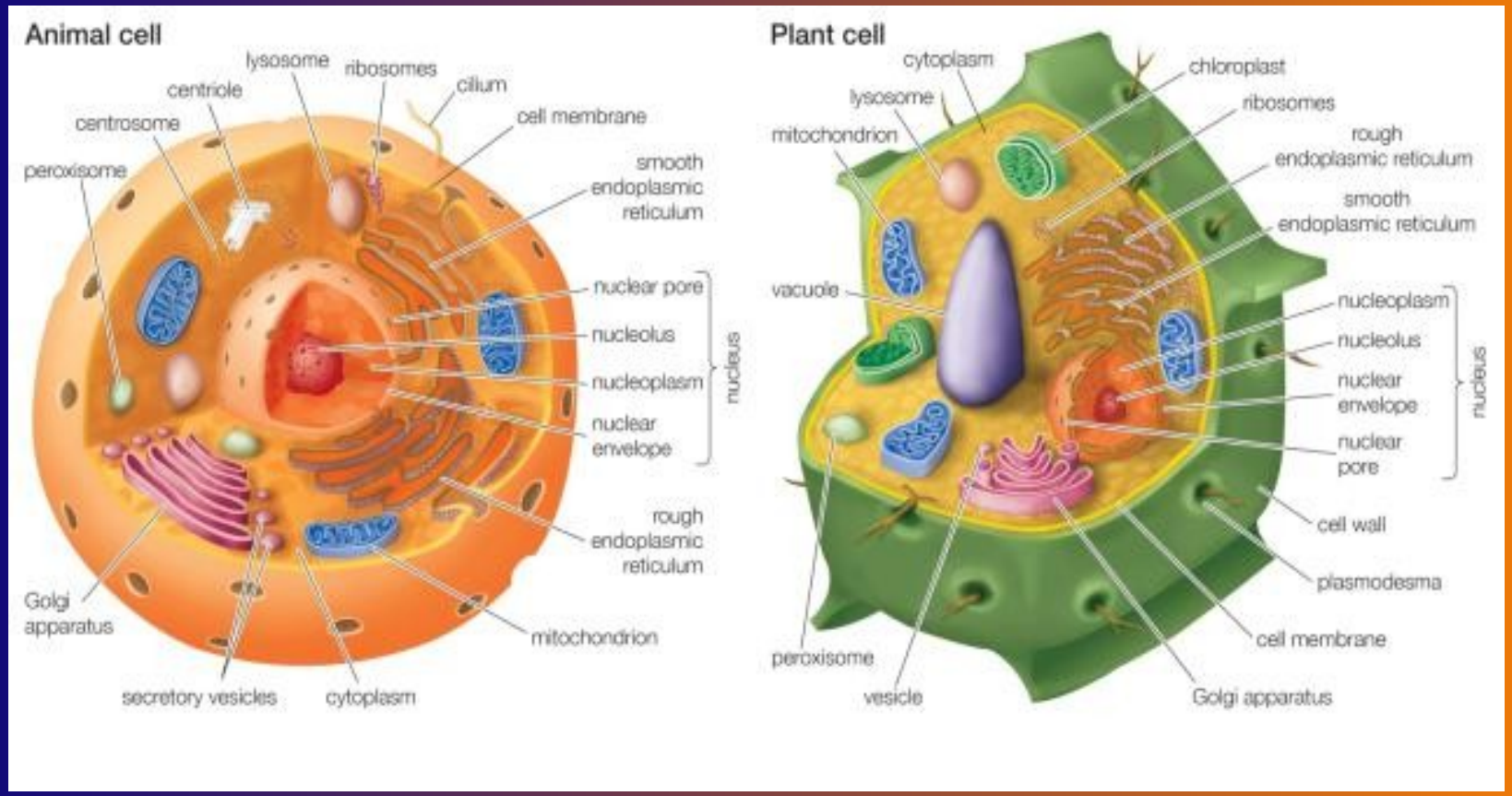
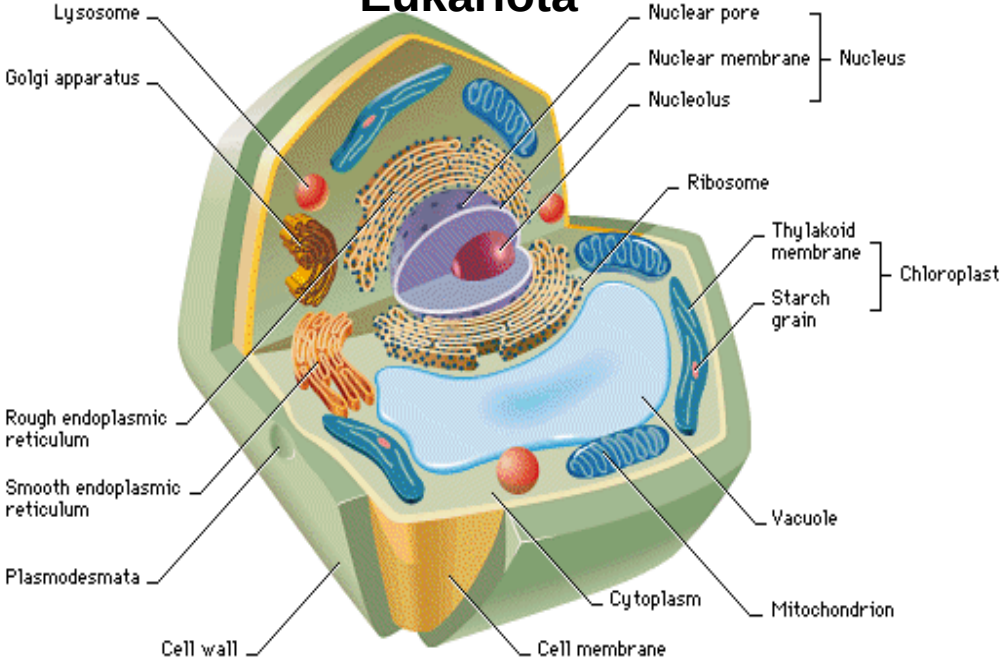
Az állati és növényis sejt általános felépítése



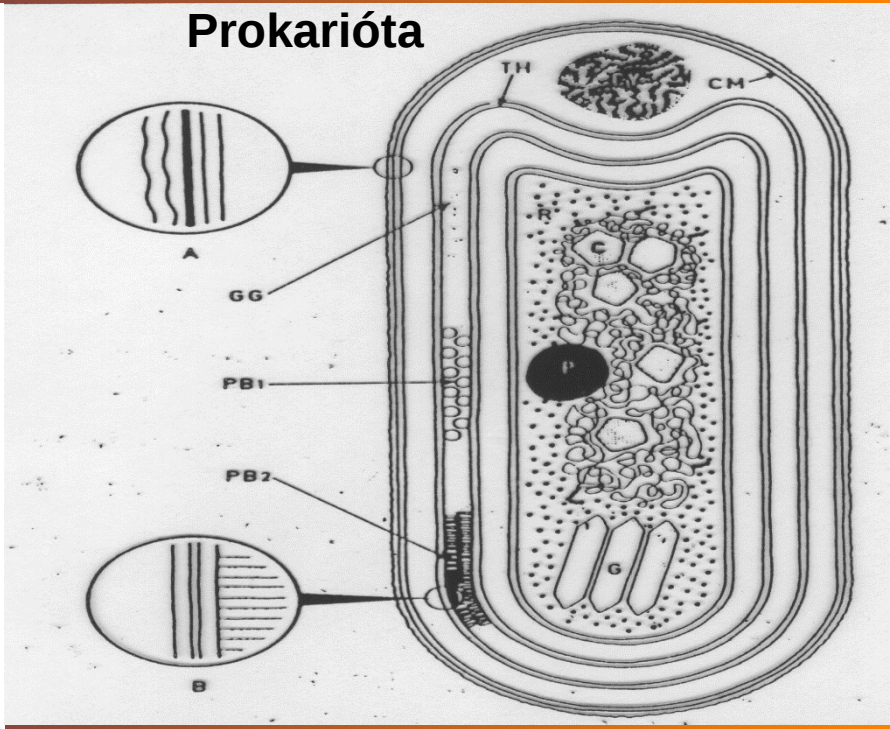
A kompartimentalizáció

A prokariótákban **nem található a plazmamembrántól független** (azzal nem kontinuus) **membránrendszer.** Az eukarióta sejtekben a plazmamembrán által határolt tér belső membránrendszerekkel elválasztott, **különböző méretű és funkciójú terekre, sejtszervecskékre (sejtorganellumokra) tagolódik**. Az azonos funkciójú terek, az azonos sejtszervecskék összessége kompartimentumot alkot. A sejtorganellumok saját membránjában és belső terében speciális folyamatok zajlanak, melyek számára megfelelő körülmények (pH, koncentrációviszonyok stb.) alakulnak ki, továbbá megfelelő komponensek állnak rendelkezésre: izolált és optimalizált reakcióterek jönnek létre.

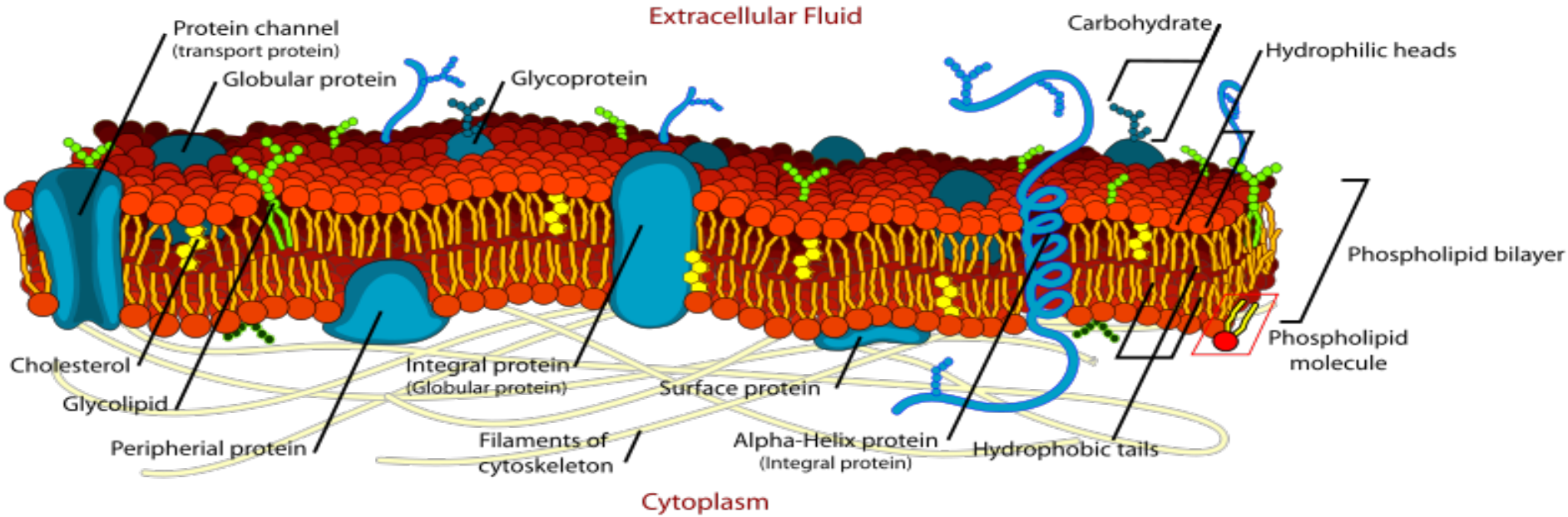
Eukarióta



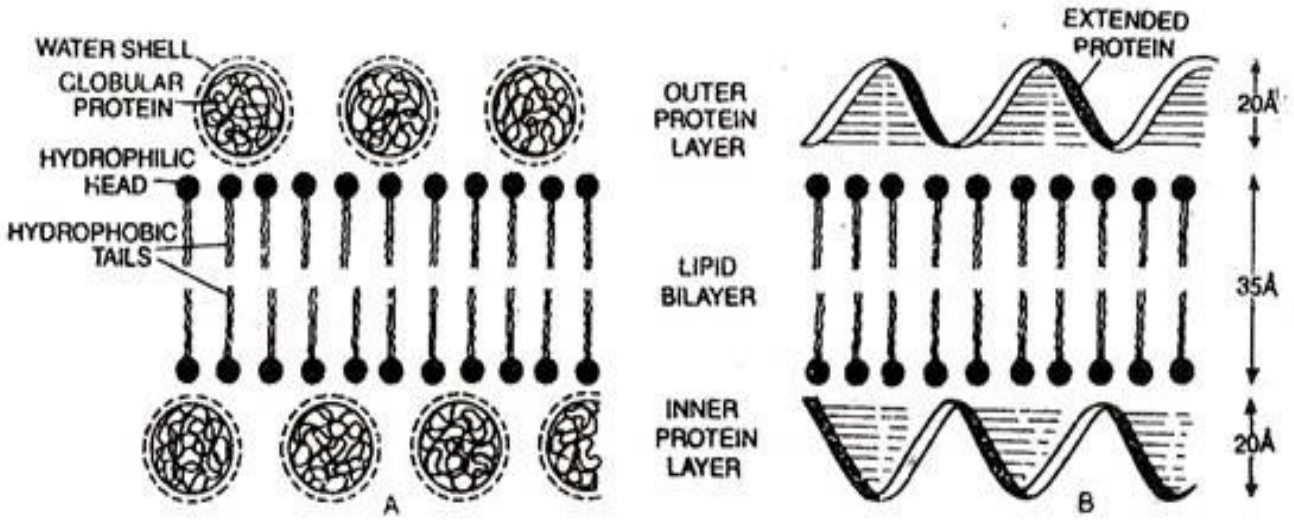
Prokarióta



Az eukarióta sejteket borító plazmamembrán és a sejtalkotók belső membránrendszereket alkotó membránjai alapfelépítése azonos. Az egyes kompartimentumok membránjai és a sejthártya eltérőtulajdonságú tereket határolnak, választanak el és egyben kötnek össze. A különböző sejtorganellumok membránjait vizsgálva jellegzetes eltérések ismerhetők fel, számos specifikus tulajdonságot mutatnak, melyek a membránok lipid- és fehérjeösszetételének (elsősorban ez utóbbi) különbözőségére vezethetők vissza. Mégis, a membránok működésének, felépítésének alapelvei nagymértékben hasonlóak.

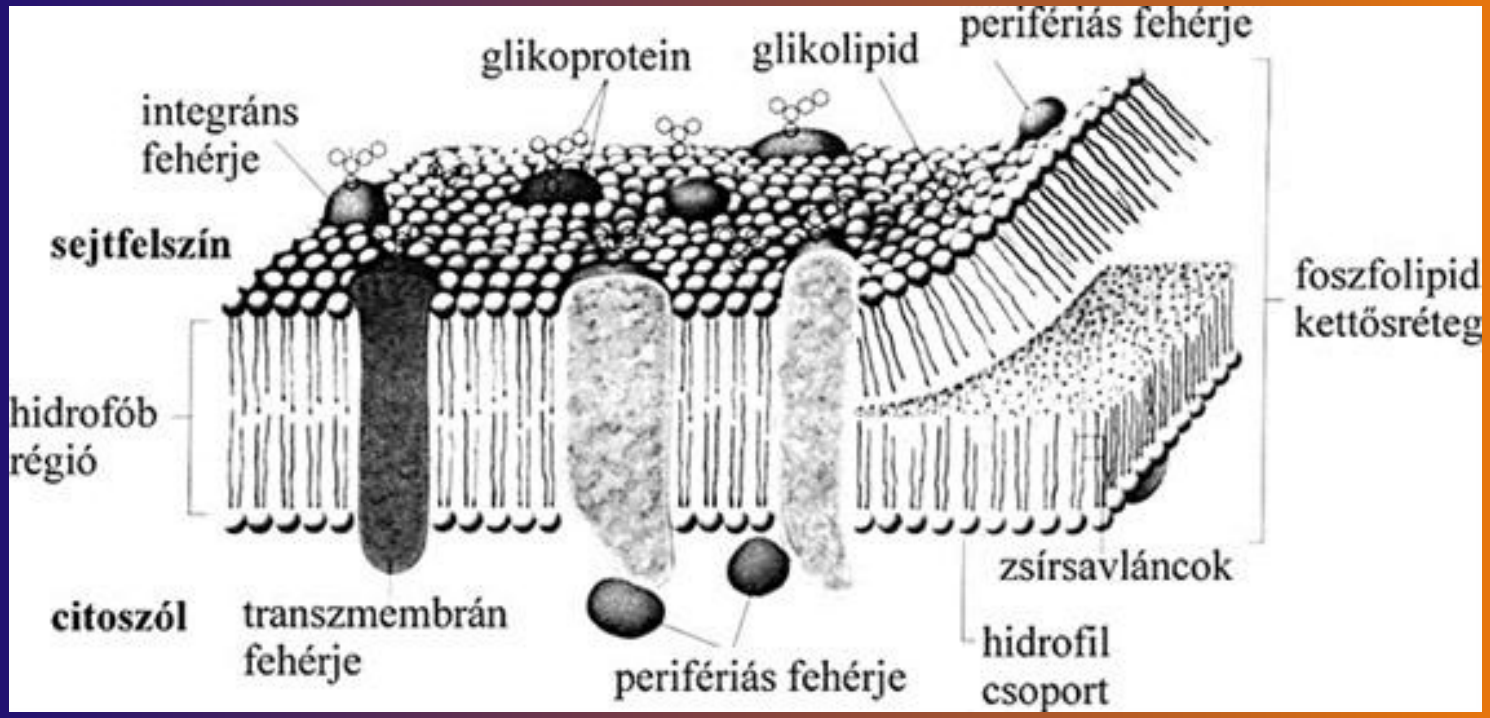


A Davson-Danielli és a Robertson-modell



Lamellar models of plasma membrane. (A) after Danielli and Davson (1935). (B) unit membrane, after Robertson (1959).

Folyékony-mozaik (Singer-Nicolson-modell)



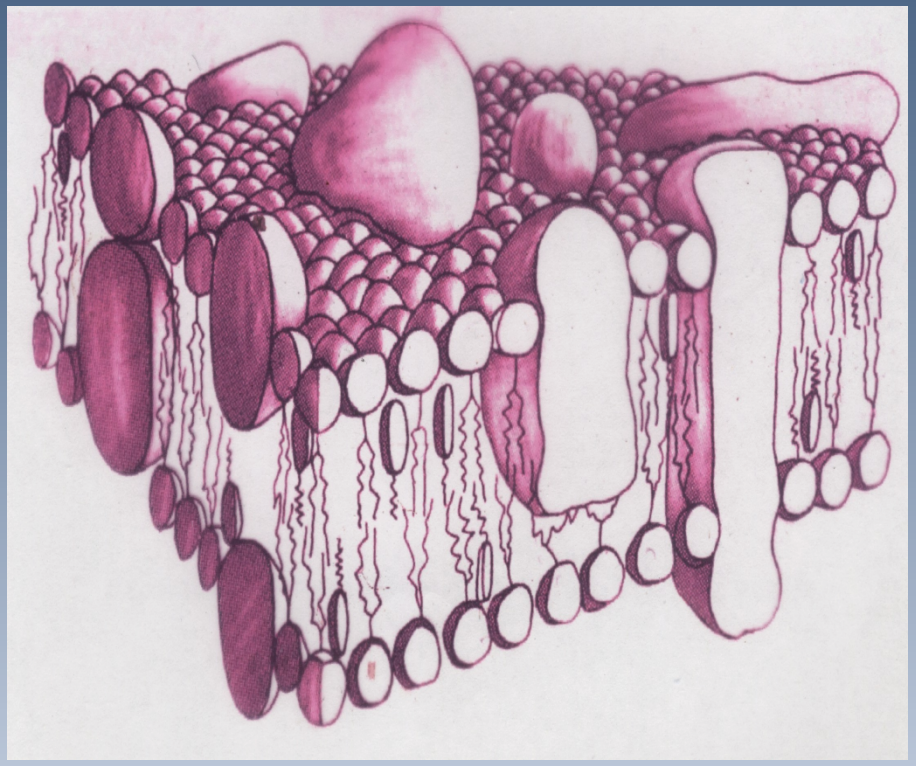
- A membránok specificitását a fehérjék és a szénhidrátok adják

- A membránok vékonyak, nagy felületűek, rugalmas, hajlékony tulajdonságúak

- Típusai:
  - Határoló membrán: sejthártya, sejtalkotók membránjai
  - Belső membránok: ER, Golgi-készülék, lizoszómák, vakuolumok

- A membránokon keresztül zajlanak a sejt transzportfolyamatai

A biológiai membránok felépítése



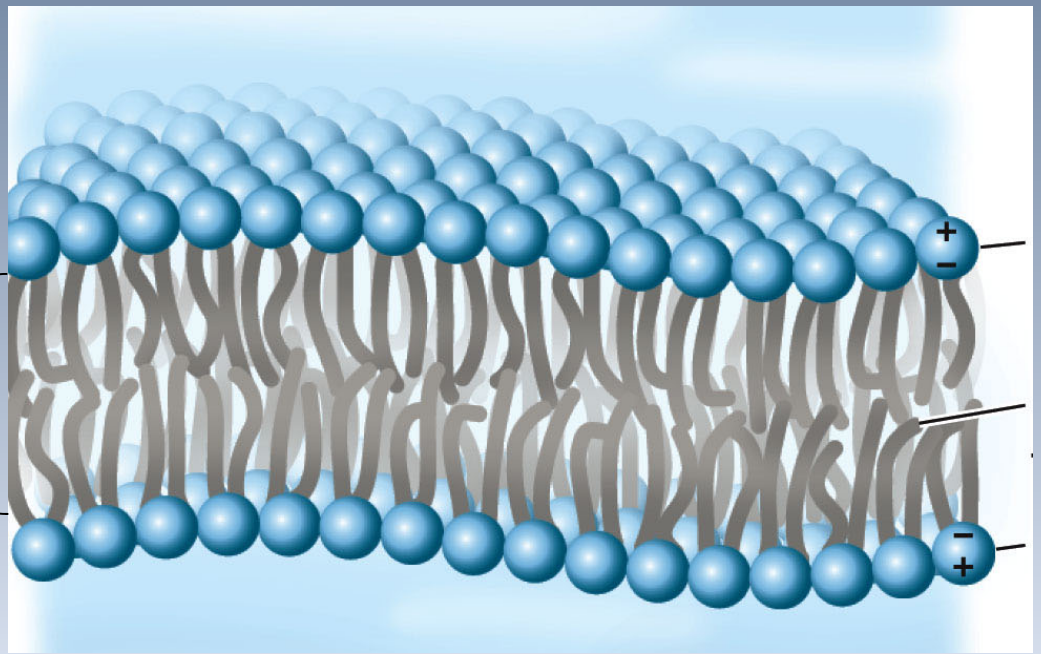
- Az eukarióta sejt membránrendszerei (plazmamembrán, sejten belüli membránok) azonos elvek alapján épülnek fel.
- Felépítésüket tekintve lipidekből és fehérjékből állnak.
- A lipidek túlnyomó része foszfolipid, koleszterin, de tartalmaznak glikolipideket is. A glikolipdek részaránya bizonyos típusú növényi sejtalkotókban megnövekedhet.

Membránalkotó lipidek

Amfipatikusak = kettős oldhatósági tulajdonságot mutatnak

Vizes közegben - struktúrák

Zsírsavoldalláncok között
van der Waals kölcsönhatás
Fejcsoportok között
H-hidak, ionos kötés



Hidrofób zóna
(válaszfal)

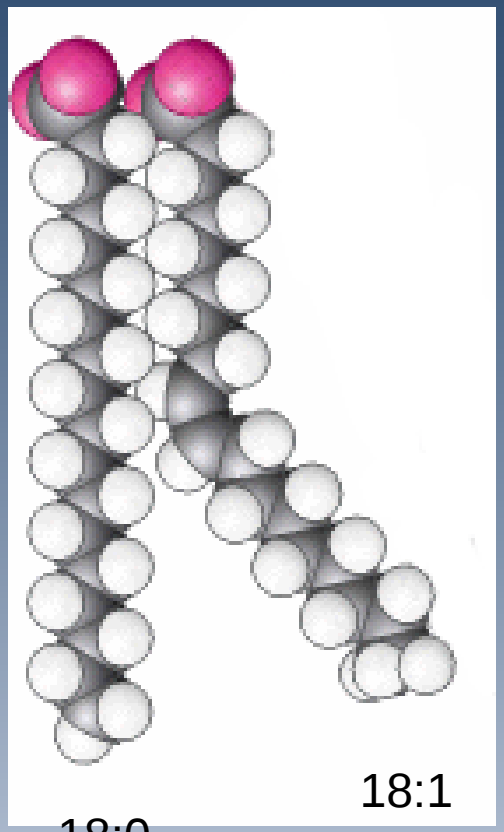
Hidrofil fejcsoport

Hidrofób lábak

Hidrofil fejcsoport

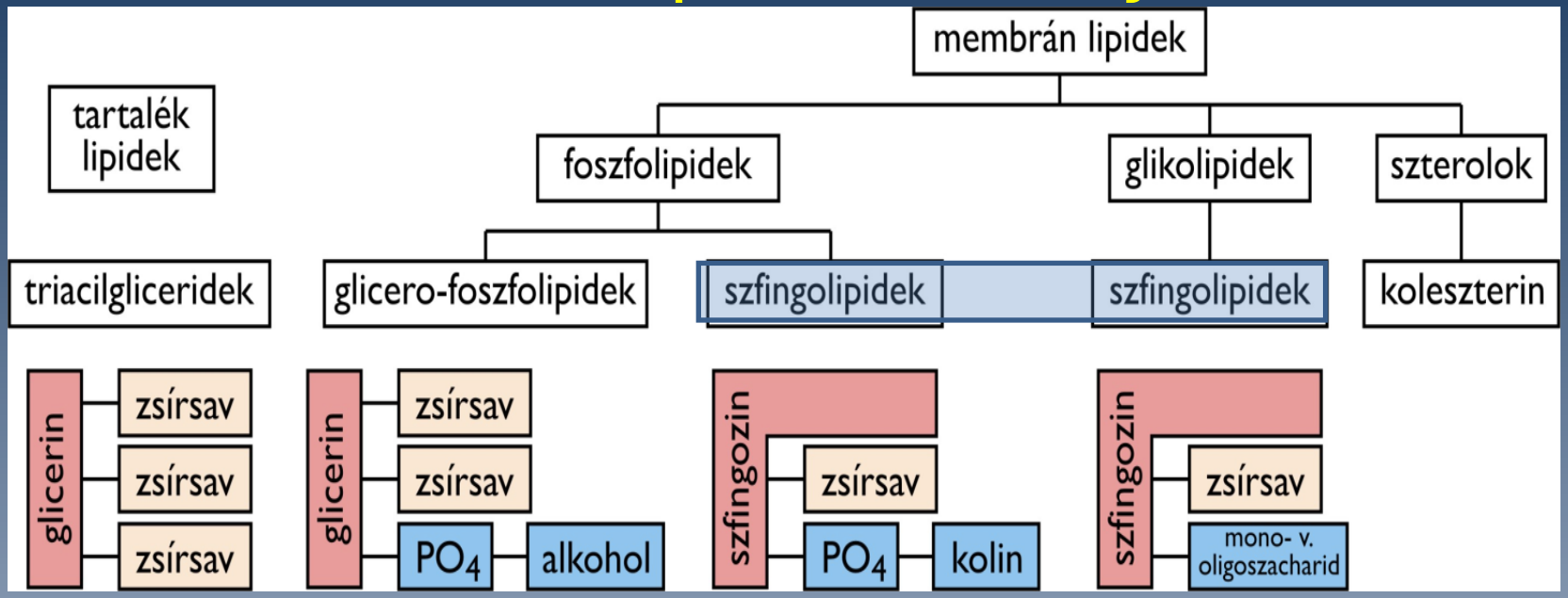
Membránlipidek zsírsavoldalláncai

C atomszám	Kettős kötések	név
14	0	mirisztinsav
16	0	palmitinsav
18	0	sztearinsav
16	1 (Δ9)	palmitolajsav
18	1 (Δ9)	olajsav
18	2 (Δ9,12)	linolsav
18	3 (Δ9,12,15)	linolénsav
20	4 (Δ5,8,11,14)	arachidonsav
20	5 (Δ5,8,11,14,17)	eikozapentaénsav

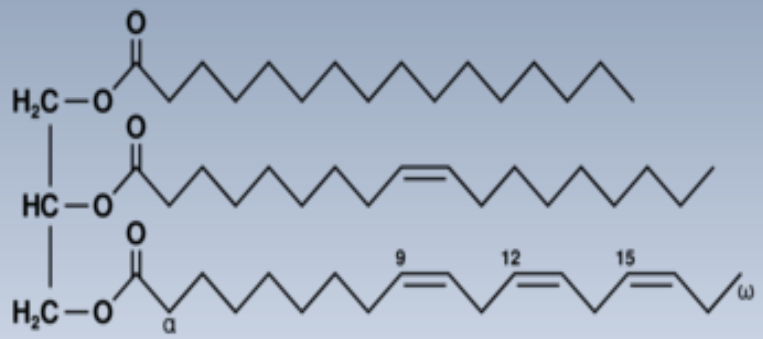


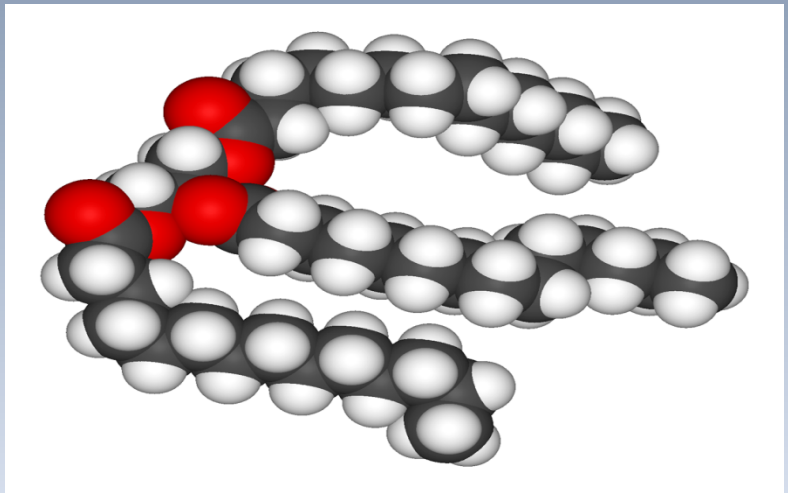
A sejtekben megtalálható különböző lipidmolekulák száma **1000 körül** mozog.

A membránlipidek osztályozása



Triacil gliceridek



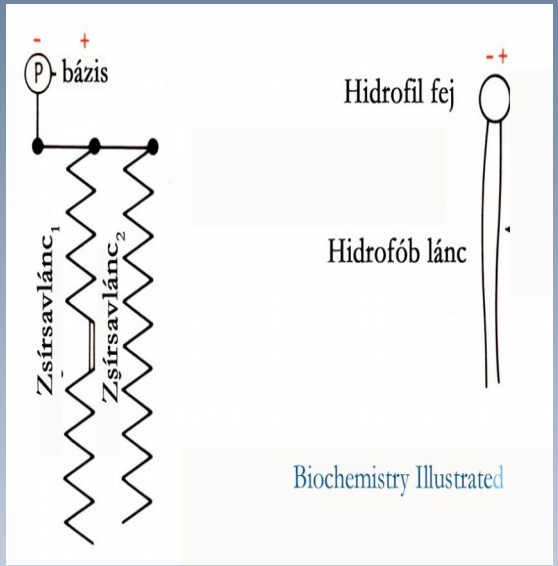


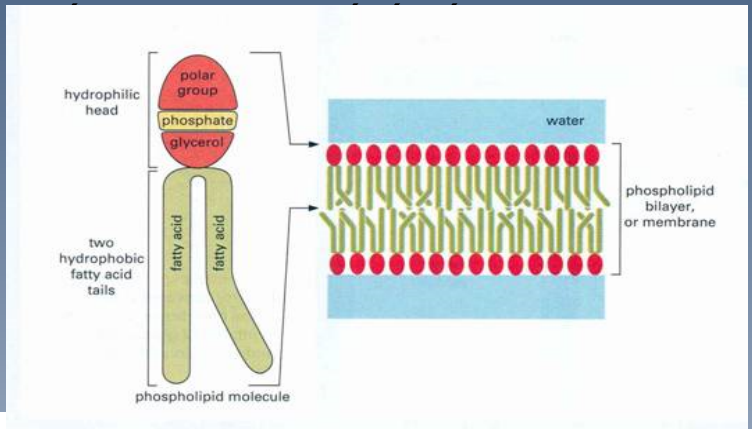
A foszfolipidek biológiai membránok vázát képezik

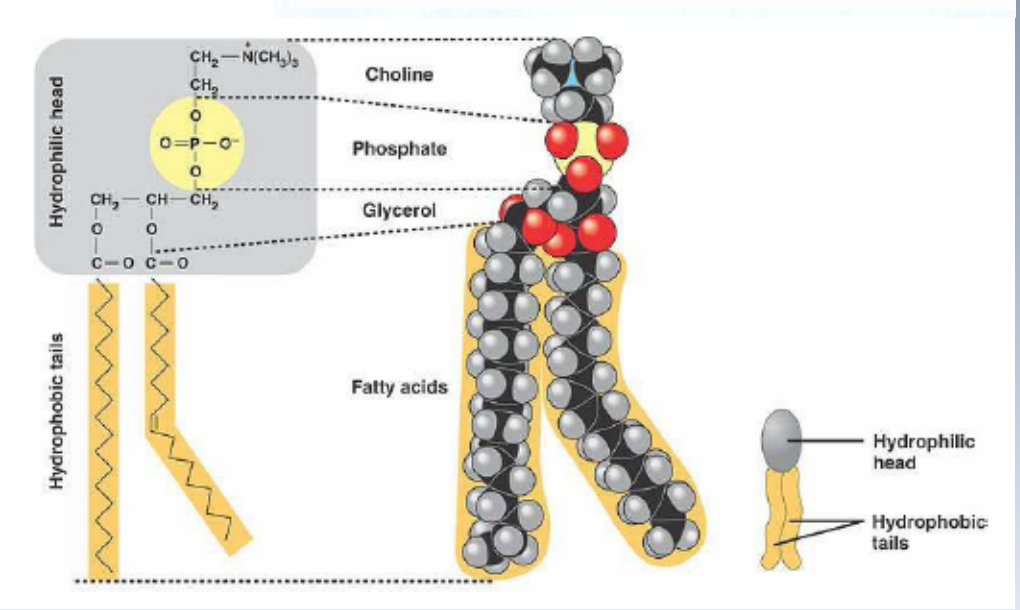
(lipidek fele foszfolipid)

- Alapvegyület foszfatidsav: = glicerin + 2 zsírsav + foszforsav

- Amfipatikus molekulák, egy nagyobb hidrofób és egy kisebb hidrofil résszel (alkalmasak mem

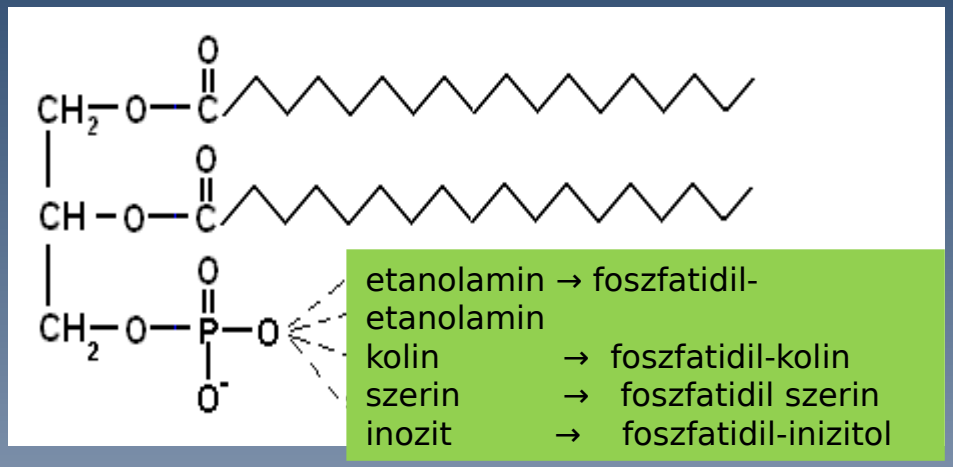




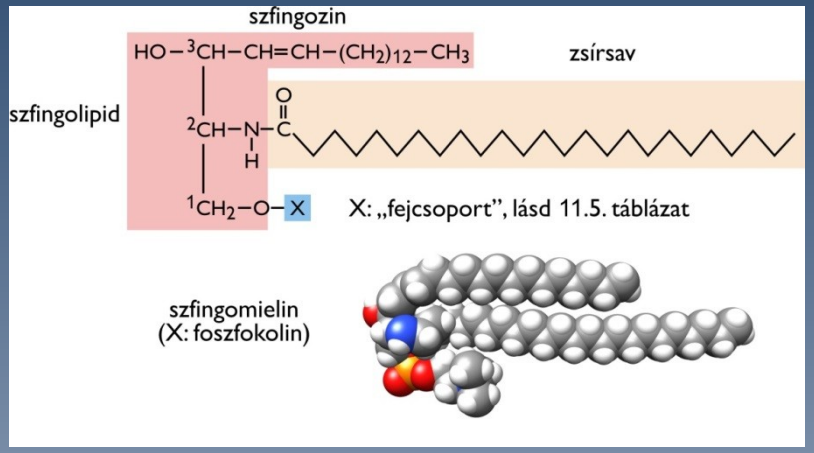


Foszfolipidek

Glicero-foszfolipidek



Foszfát tartalmú szfingolipidek



- Olyan glicerin-észterek, amelyekben a két acil csoport mellett egy foszfátcsoport is található.
- A foszfátcsoporthoz poláros vegyületek (etanolamin, kolin , szerin, inozit) kapcsolódhat.
- Állati sejtekben a foszfatidil-inozitol kisebb ennyiségben fordul elő, növényi menbránokban gyakoribb.
- A zsírsavak állati sejtekben palmitinsav, sztearinsav, vagy olajsav, növényi sejtekben emellett linolsav és linolénsav is előfordul.

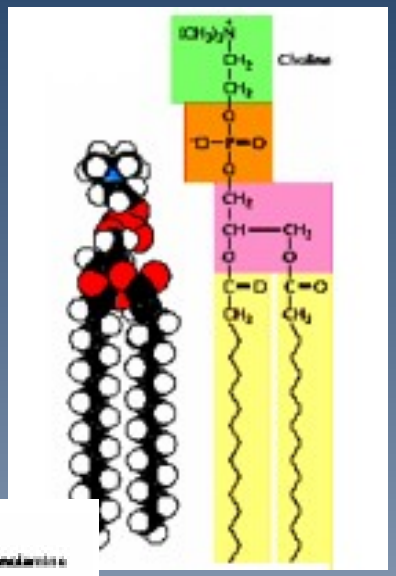
- A szfingolipidek is membránalkotó lipidek, azonban az alkohol komponens nem glicerin, hanem szfingozin.
- A szfingozinban az 1. és a 3. szénatomhoz alkoholos OH-, a 2. szénatomhoz amino-csoport kapcsolódik.
- Legismertebb képviselőik: ceramid, szfingomielin (axonok velőhüvelyében), cerebrozidok, gangliozidok.

Amfipatiás molekulák

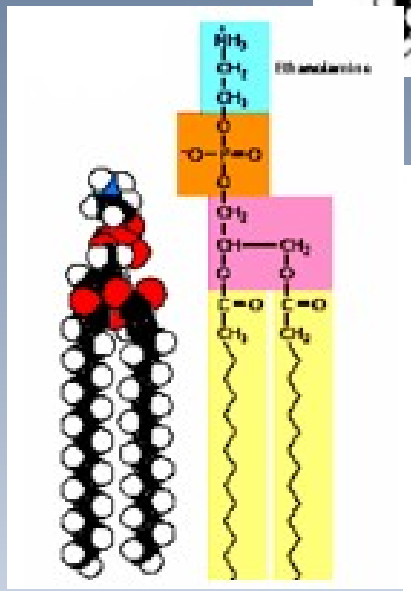
Foszfolipidek

<u>Leggyakoribb foszfolipidek</u>:

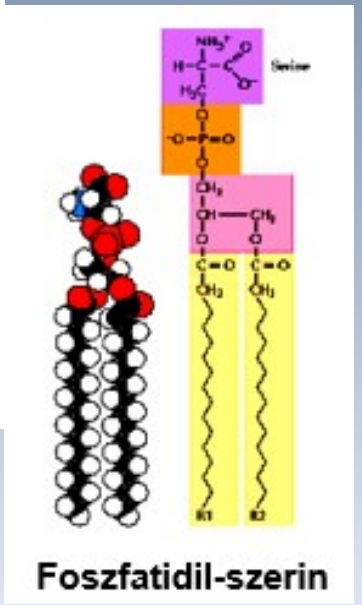
- Foszfatidil-kolin



- Foszfatidil-etanolamin



- Foszfatidil-szerin



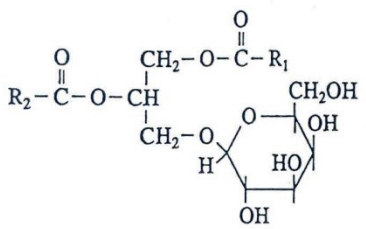
Glikolipidek

Aszimetrikus elrendeződésűek, minden esetben a sejtmembrán külső felszínén vannak (external coat)

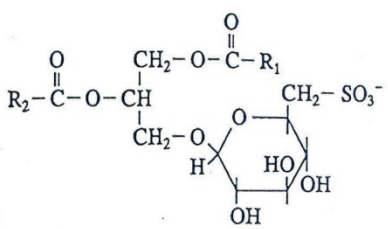
A glicerolhoz a zsírsavakon kívül cukor komponensek kapcsolódnak

- Monogalaktozil-diacil-glirerid, MGDG
- Digalaktozil-diacil-glicerid, DGDG
- Szulfokinovazil-diacil-glicerid, SQDG

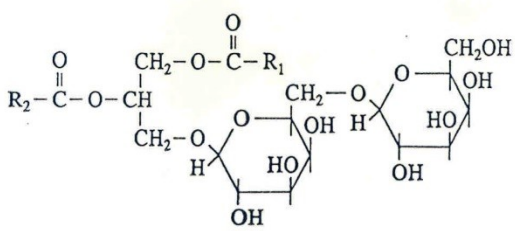
(növényekben fordulnak elő)



monogalaktozil-diacil-glicerid (MGDG)



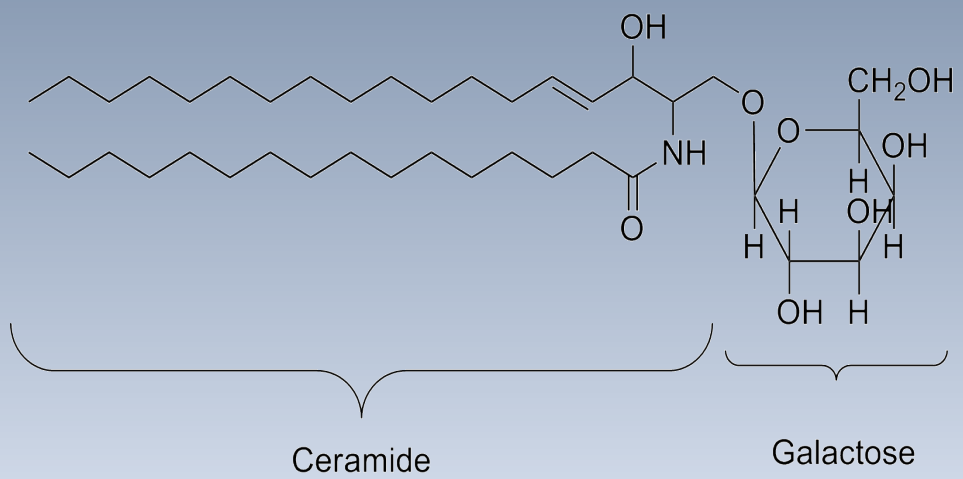
szulfokinovozil-diacil-glicerid (SQDG)



digalaktozil-diacil-glicerid (DGDG)

A lipid molekulához (ceramidhoz) cukor komponensek kötődnek. Lehetnek neutrálisak, ha a cukor komponens nem rendelkezik töltéssel.

- Cerebrozidok
- Gangliozidok (sziálsav tartalmúak, negatív töltésűek)



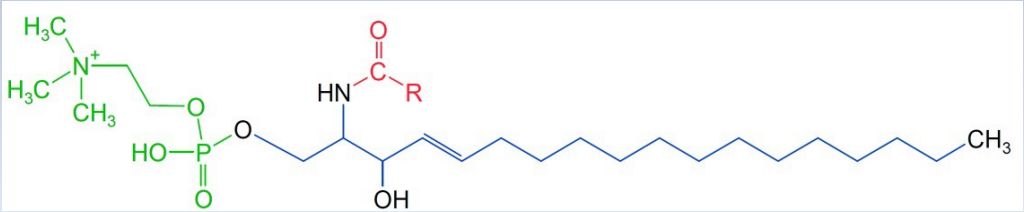
Szfingolipidek

Membránlipidek második legnagyobb csoportja, amfipatikus vegyületek, glicerin helyett szfingozin

Szfingozin = szfingolipidek alapváza, egy hosszú szénláncú aminoalkohol

Ceramidok= szfingozin aminocsoportjához egy zsírsav kötődésével jön létre

Szfingomielin = ceramid alkoholos OH-csoportra egy foszforsav helyeződhet, majd erre egy kolin vagy kolamin kötődhet második alkoholként, foszfodiésztert létrehozva



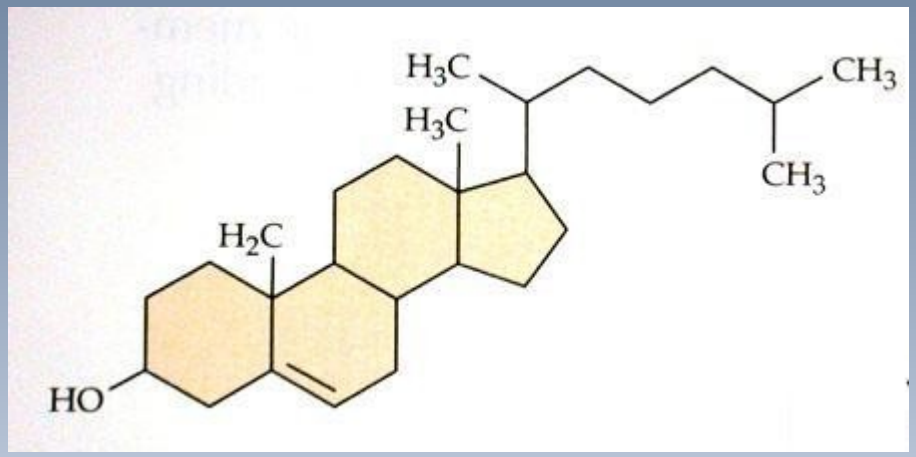
Szterolok

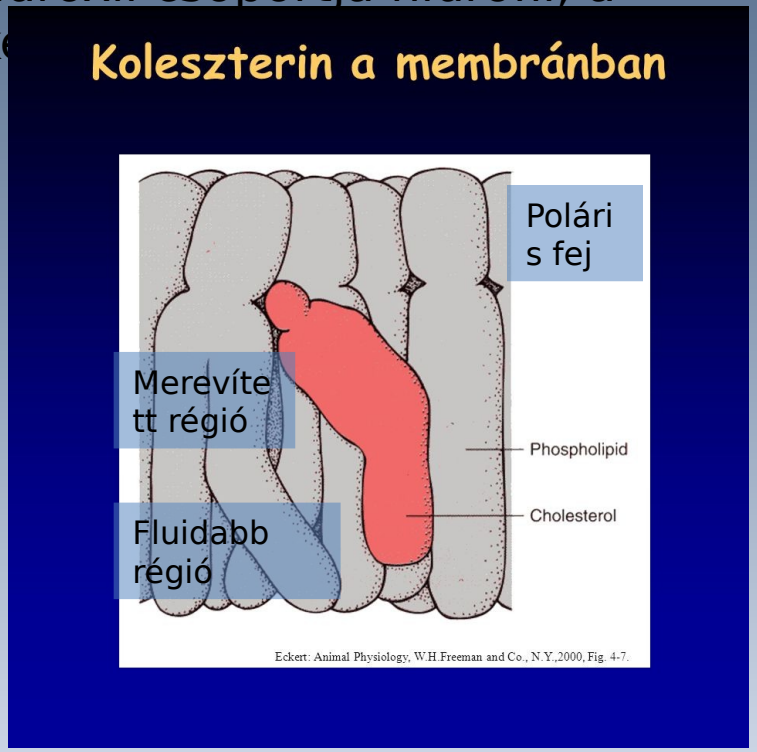
Koleszterin

•A membránokban általában a foszfolipidekkel megegyező arányban fordul elő.

•A foszfolipidekhez hasonlóan amfipátiás.

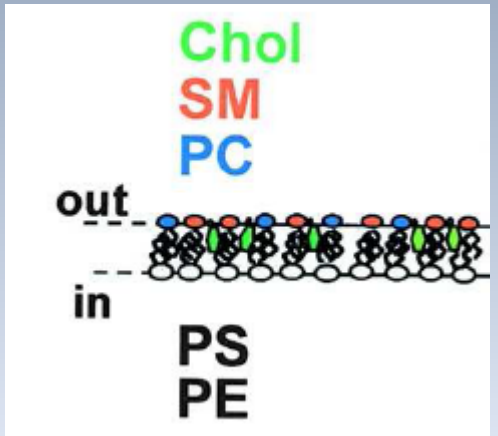
A szteránváz a hozzá kapcsolódó szénhidrogén lánccal hidrofób, a zsírsavláncok között helyezkedik el, a hidroxil csoportja hidrofil, a foszfolipidek poláris fejei között helyezke





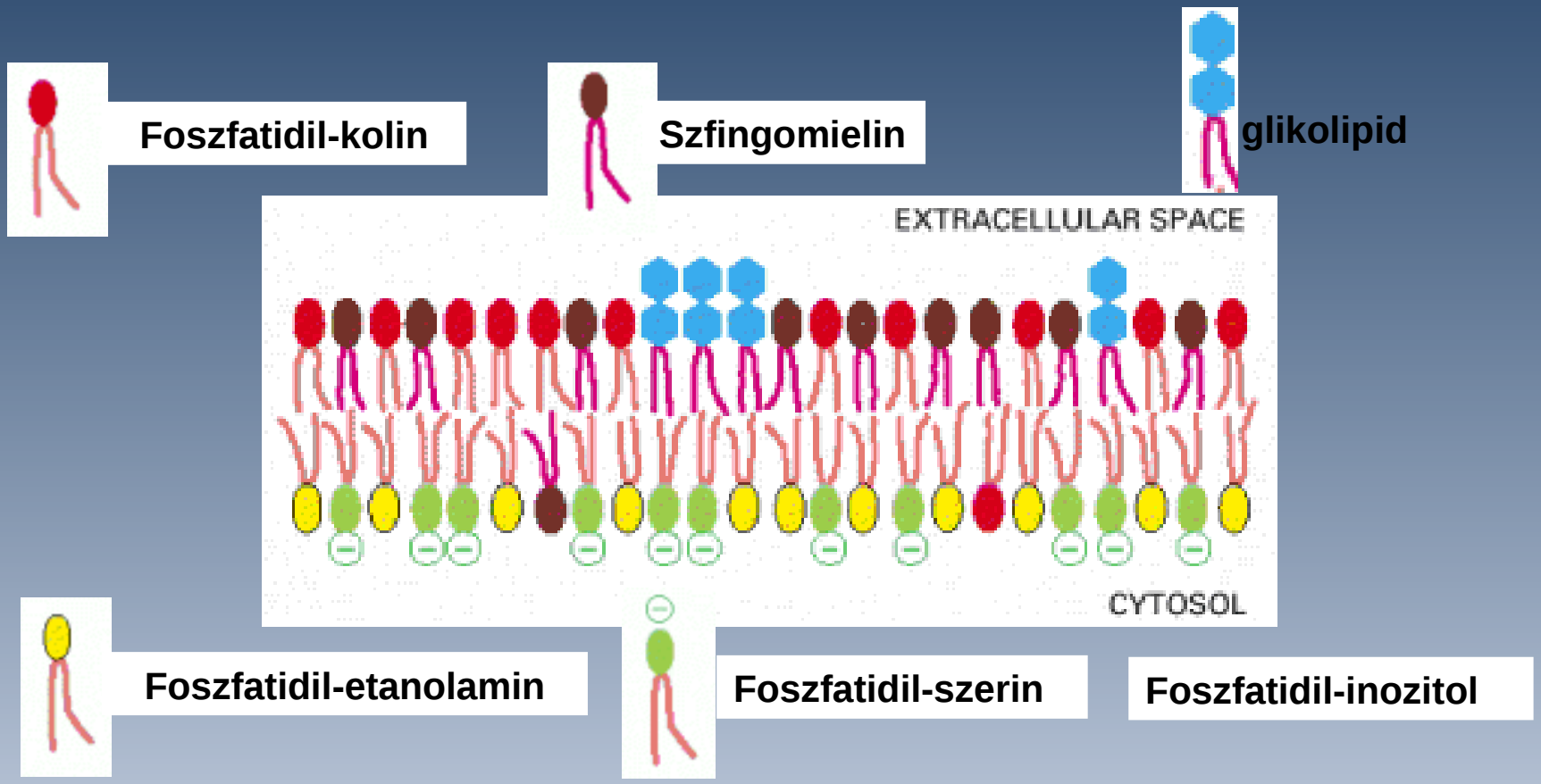
Membrán kettősréteg aszimmetriája

- Állati sejtek plazmamembránjában a különböző lipidosztályok eltérő mennyiségben találhatók meg a kettősréteg két oldalán:
- Elsősorban a sejt felőli oldalon: foszfatidil-szerin; foszfatidil-etanolamin; foszfatidil-inozitol és foszfatidsav
- Elsősorban a külső membránrétegben: foszfatidil-kolin; szfingomielin és glikoszfingolipidek
- Az aszimmetria fenntartásáról enzimrendszerek gondoskodnak



SM: szfingomielin
PC: foszfatidil-kolin
PS: foszfatidil-szerin
PE: foszfatidil-etanolamin

Foszfolipidek aszimmetrikus eloszlása a plazmamembrán két rétegében

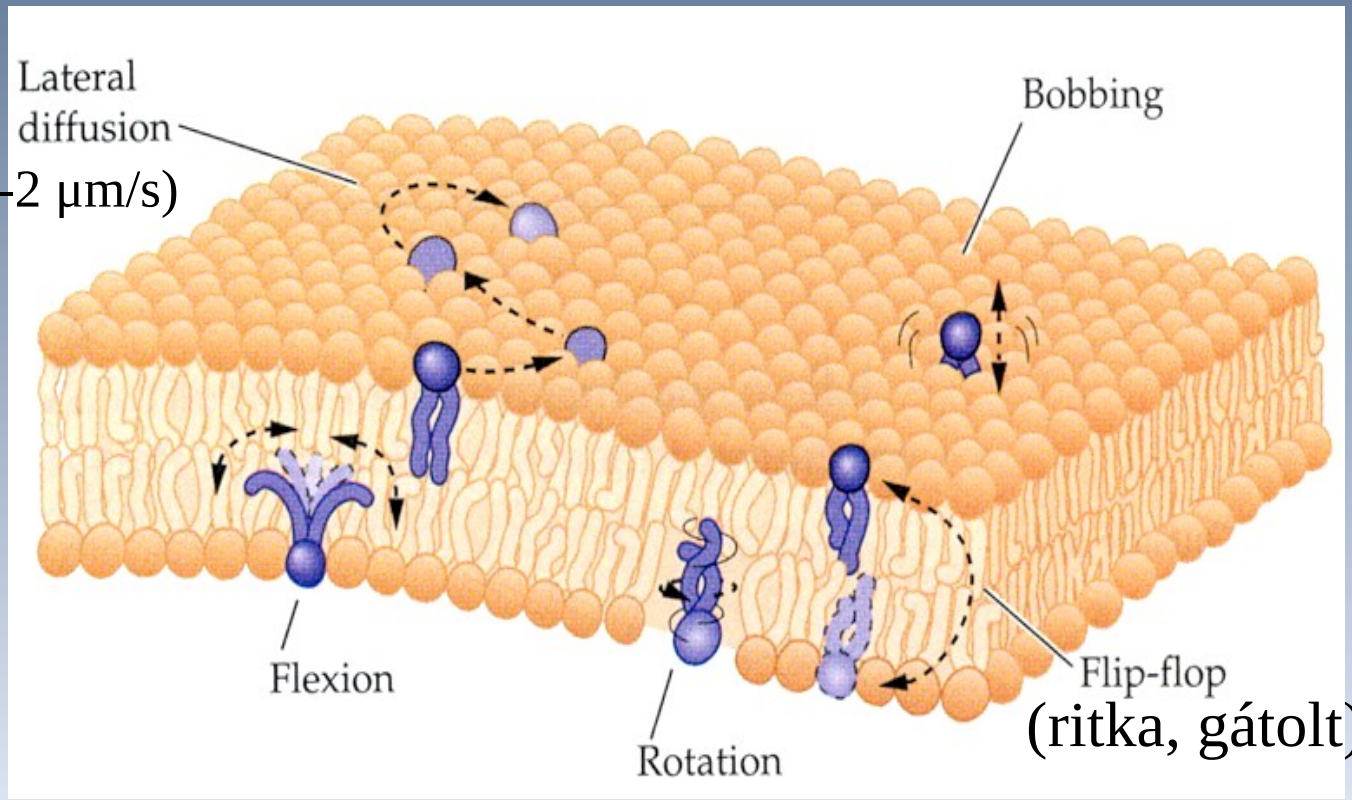


- Töltésbeli különbség – több (-) töltés a citoplazmatikus oldalon
- Több telítetlen zsírsav a citoplazmatikus oldalon

Lipidek mozgása

A foszfolipidek gyorsan mozognak a membrán síkján belül (laterális diffúzió), de igen lassan a két membránsík között

Kovalens kötés hiányában szabadon mozoghatnak



(1-2 µm/s)

(ritka, gátolt)

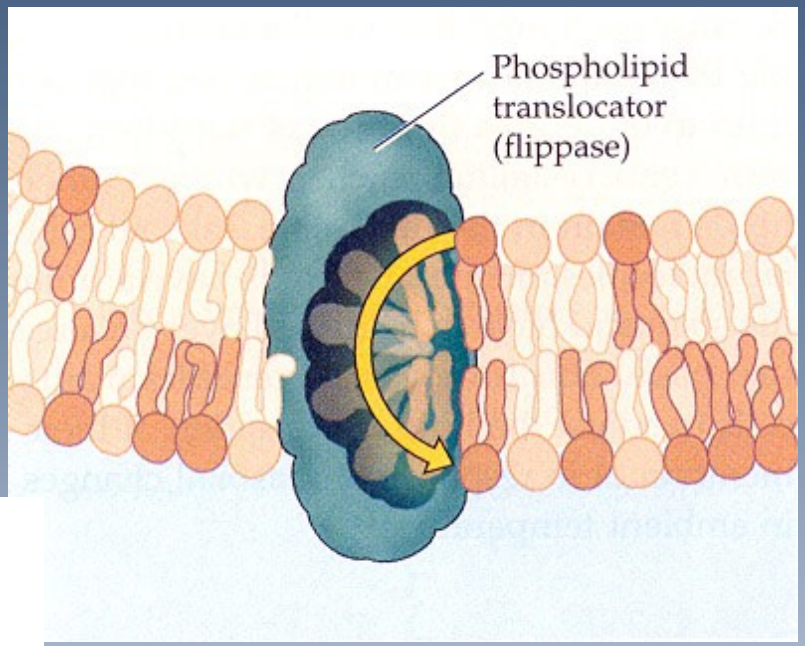
Flippáz, floppáz, szkrambláz

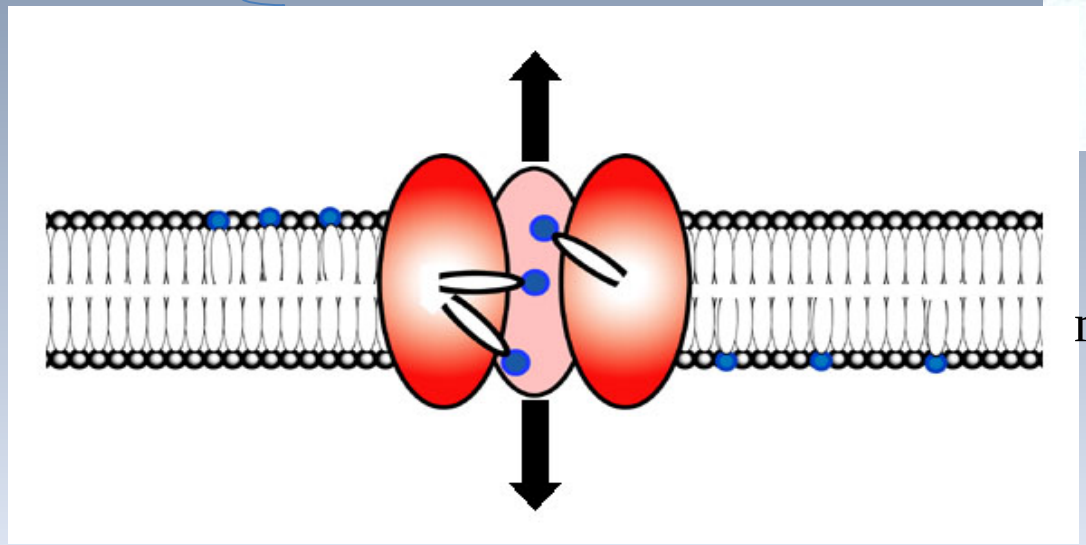
3 enzim működése alakítja ki az asszimetriát

Flippáz: foszfatidil -szerint és foszfatidil-etanolamint kívülről beforgatja

Floppáz: foszfolipideket mozgat kifelé

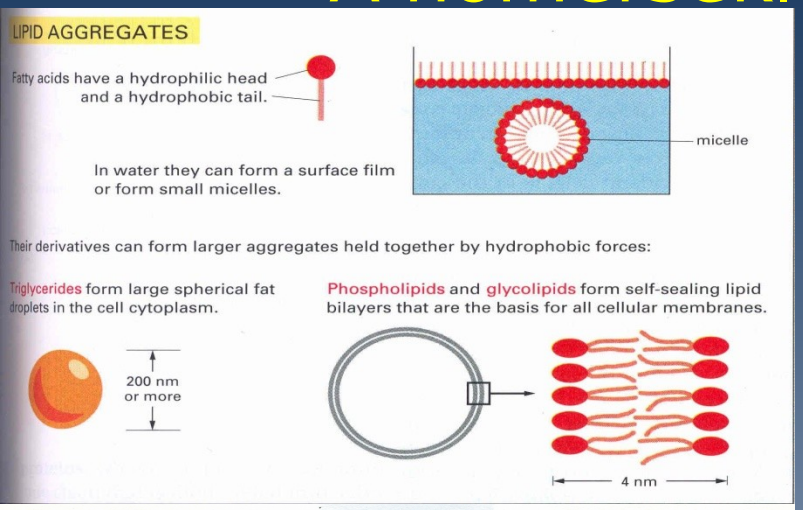
Szkrambláz: foszfolipid transzport a membrán két monolayere között, egyensúlyi állapotban inaktív

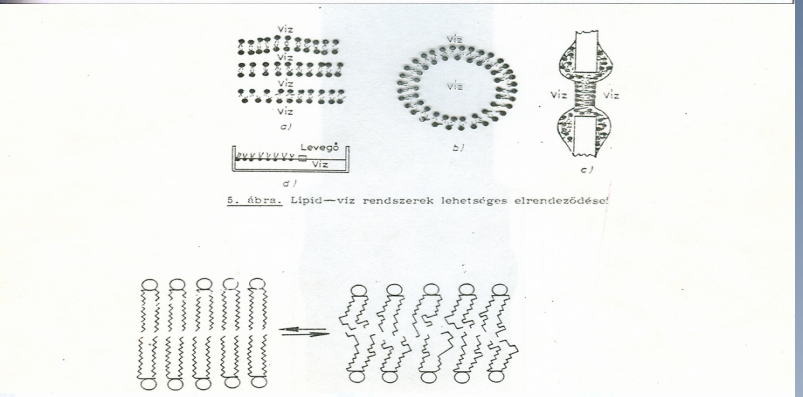




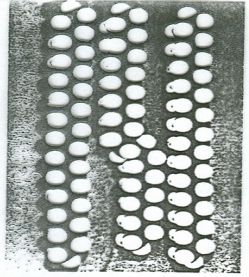
Szkrambláz:
negatív töltésű foszfolipideket mozgatja, belső membránrétegből a külsőbe és fordítva is!

A hőmérséklet és a membránok I.

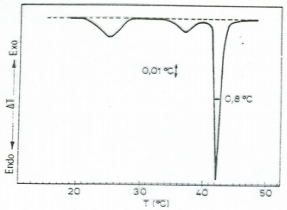



víz
víz
víz

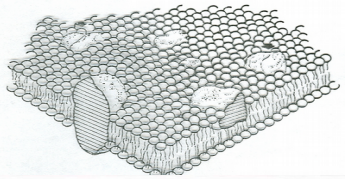
A hőmérséklet és a membránok II.

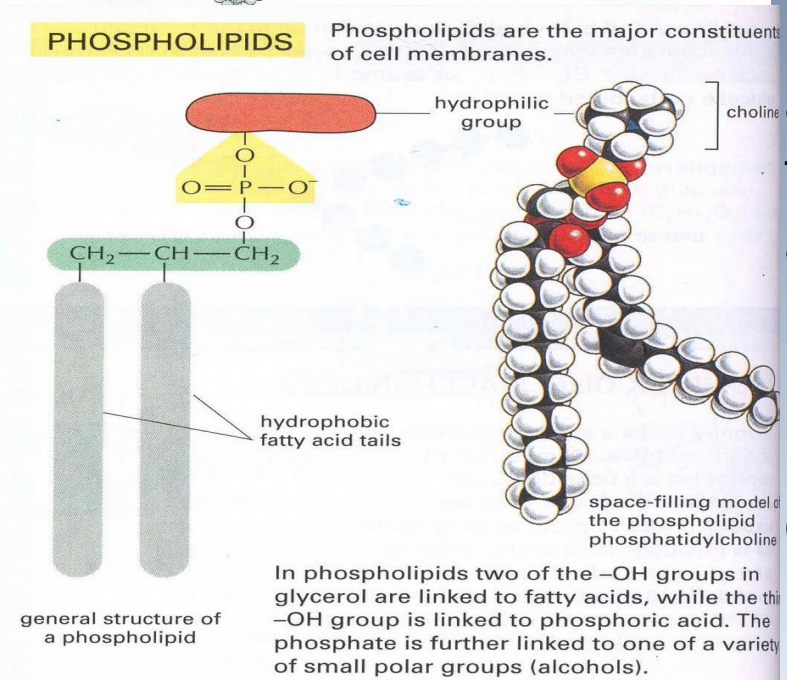


7. ábra. Az ún. 2 g (two gauche) szerkezeti hiba (kink), amely két egymás melletti C—C kötés +120°, illetve -120°-kal való elfordulása révén jött létre



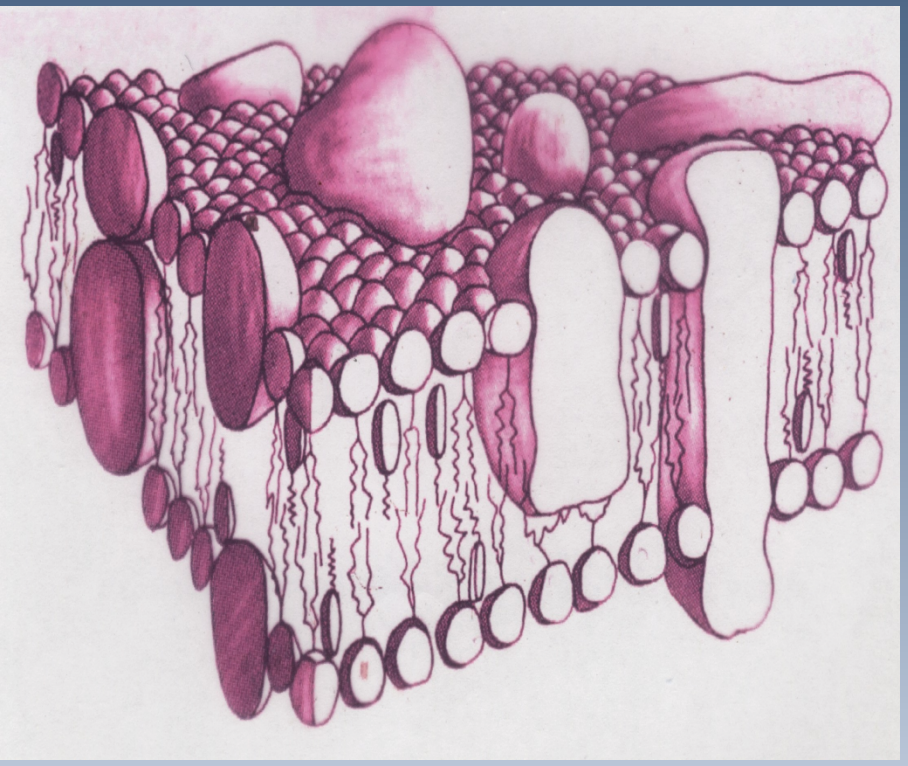
8. ábra. DPPC—víz rendszer fázisátalakulásait jelző differenciál scanning kalorimetriás (DSC) görbe





A hőmérsékletet emelve nő a hőmozgás, fellazul a gélfázis, csökken az intermolekuláris rend: a **C-C-kötések** ± 120°-os elfordulásával törések jönnek létre. Itt még meghtalálható a párhuzamos molekulákból álló kettősréteg, de különbözőképp megtört molekulák egymáshoz képest már elmozdulhatnak. Ez az un. **folyadékkristályos állapot** , amely a molekulák közti erőket tekintve a folyadékokhoz,az optikai és a mechanikai anizotropia miatt a kristályokhoz hasonló. Ilyenkor a fellazult szerkezet miatt nagyobb a permeabilitás, *in vivo* megnő a lipid- és fehérjemolekulák laterális diffúziójának sebessége.

A hőmérséklet és a membránok III.



A **fázisátalakulási hőmérséklet** (a membránfluiditás) a zsírsavláncok hosszától és telítettségétől is függ. A hosszú lánc és a telítettség stabilizálják, míg a telítetlen kötések fluidizálják a membránt.

Mivel a biológiai membránok többféle lipidből állnak, melyekhez különböző hosszúságú, változó mértékben telítetlen zsírsavláncok kapcsolódhatnak, a membrán fiziológiás körülmények között, mint kevert fázisú kettősréteg értelmezhető. Eszerint a több fázisátalakulási hőmérséklet miatt fázis-szeparáció következik be. Ebben vannak folyadékkristályos és rendezett fázisok is. A legmagasabb fázisátmeneti hőmérsékletet túllépve, pl. az egyenletes magas hőmérsékletre történő fűtéssel párhuzamosan a membrán hiperfluidizálódik.

In vivo egy többkomponensű membrán fázisátalakulása széles hőmérsékleti tartományra húzódik szét.

Membránok halmazállapota

- Lipidek két halmazállapota: folyadékkristályos- vagy gél-szerű állapot (fiziológiás állapot: folyadékkristályos)
- Gél állapotban a membránaktivitás leáll, növekszik áteresztő képessége
- Fázis-tranzíció melegítés hatására következhet be
- Hőmérséklet változás a membrán lipidösszetételének változásával jár
- Koleszterin és a membránfehérjék arányának növekedése merevebbé teszi a membránt
- Változó testhőmérsékletű állatok alacsony hő ú fo

Olvadási hőmérséklet

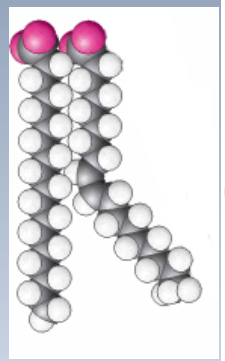
A FOLYADÉKKRISTÁLYOS állapoton belül elkülönül 2 fázisállapot

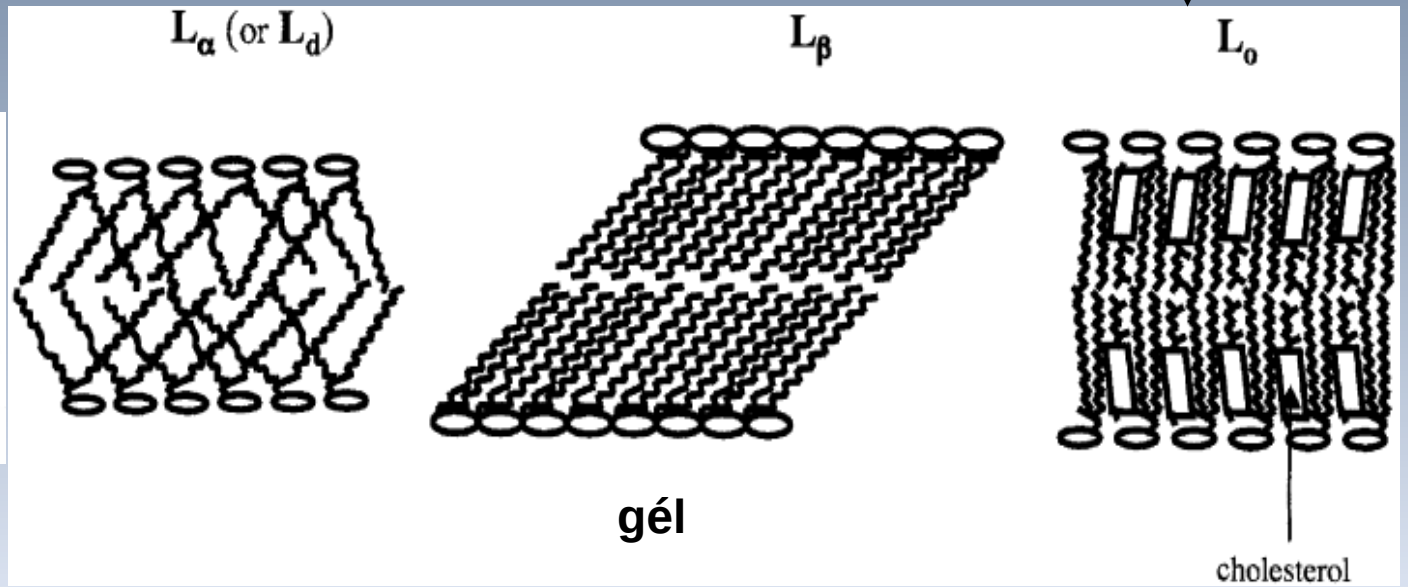
L_d (liquid disordered)

- Alacsony Tm-ű lipidek
- Telítetlen, „megtörött” zsírsavoldalláncok
- Nem tudnak szorosan egymás mellé rendeződni
- Laterális mobilitás

L_o (liquid ordered)

- Magas Tm-ű lipidek és a koleszterin
- Telített, elnyújtott zsírsavoldalláncok
- Szorosan egymás mellé rendeződve
- Laterális immobilitás
- Rezisztensebb a detergens kezelésre
- **Detergens rezisztens régiók** innen származhatnak





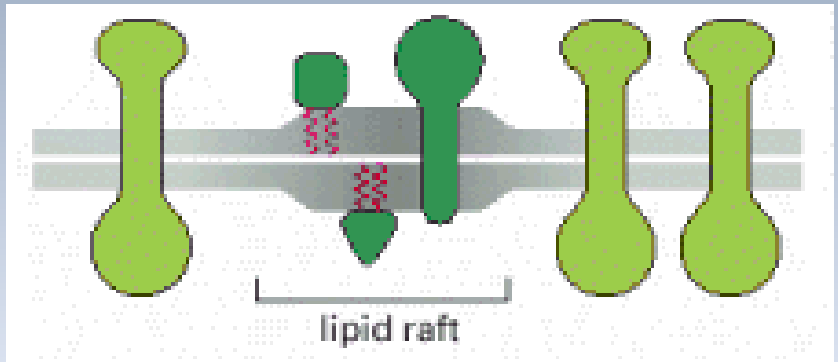
A membrán raft - modellje

Mit nevezünk raftnak?

•strukturált szerkezetű, telített lipidekben, koleszterinben, szfingolipidekben és proteinekben gazdag, alacsony sűrűségű membrán domének

- a környezetétől eltérő lipid és fehérje-összetételű, magasfokú rendezettséget mutató (L_o fázisállapotú) régiók
- a kevésbé rendezett membránmátrixban, mint tengerben úsznak

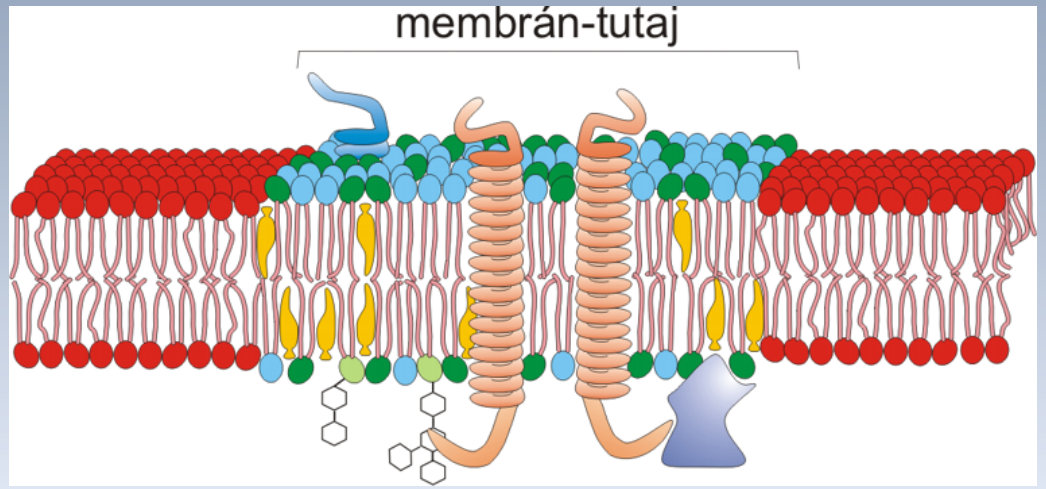
•kis koncentrációban telítetlen zsírsavú lipideket is tartalmaznak



- Egy-egy adott sejtben egyszerre számos (kialakuló, leépülő, fuzionáló) lipid raft létezik minőségileg és mennyiségileg eltérő protein és lipid tartalommal.
- A koleszterin kulcs szerepet játszik a raftok szerkezetének kialakulásában és funkciójában.
- A tipikus lipid raftban a **koleszterin, szfingomielin és glikoszfingolipid** tartalmú rész a kettősmembrán <u>külső</u> felében,

az **etanolamin tartalmú glicerofoszfolipid** raftok elsősorban a plazmamembrán <u>belső</u>, citoszol felőli részében fordulnak elő.

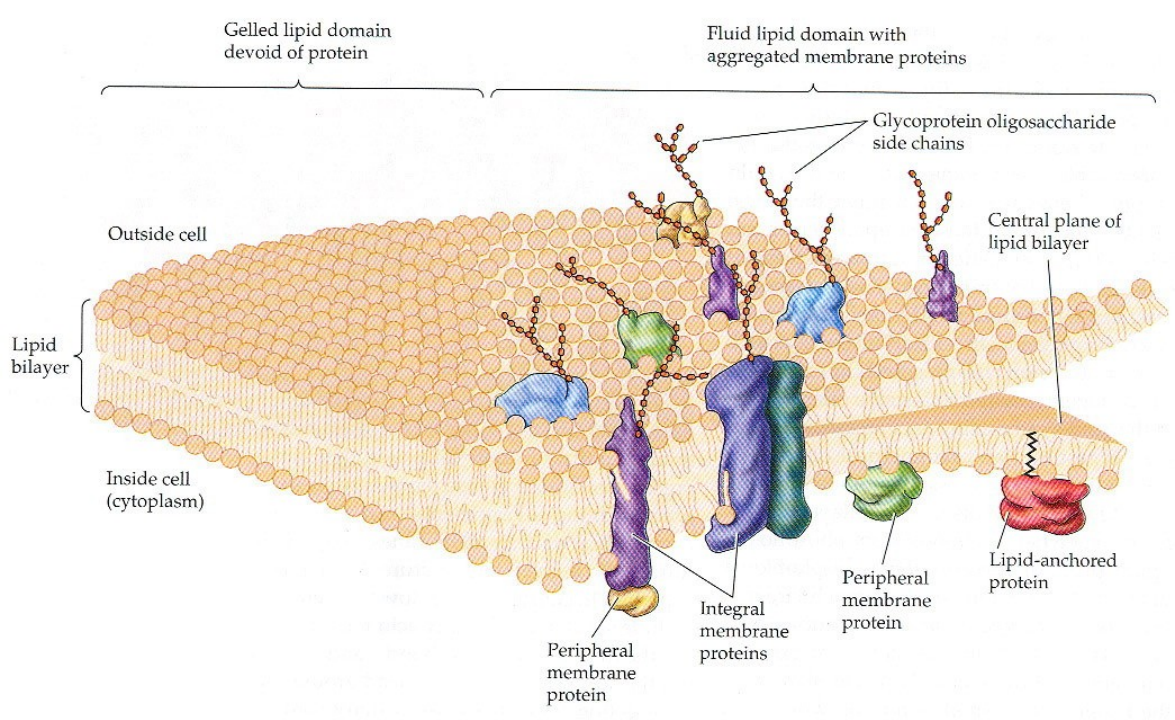
- A lipid raftok - a receptor aktiválása során - képesek megnövelni a különböző molekulák lokális koncentrációját és elősegíteni a szignál átvitel szempontjából fontos molekuláris kölcsönhatások kialakulását.



Raftok szerepe:

- szignáltranszdukciós folyamatokban,
- szekrécióban/endocitózisban,
- patogén kórokozók inváziójában/felvételében,
- apoptózisban,
- a koleszterin és glükóz felvétel szabályozásban,
- a membrán proteinek szelekciójában és szállításában,
- a kalcium homeosztázis szabályozásában,
- a membrán vízcsatorna aquaporinok szabályozásában

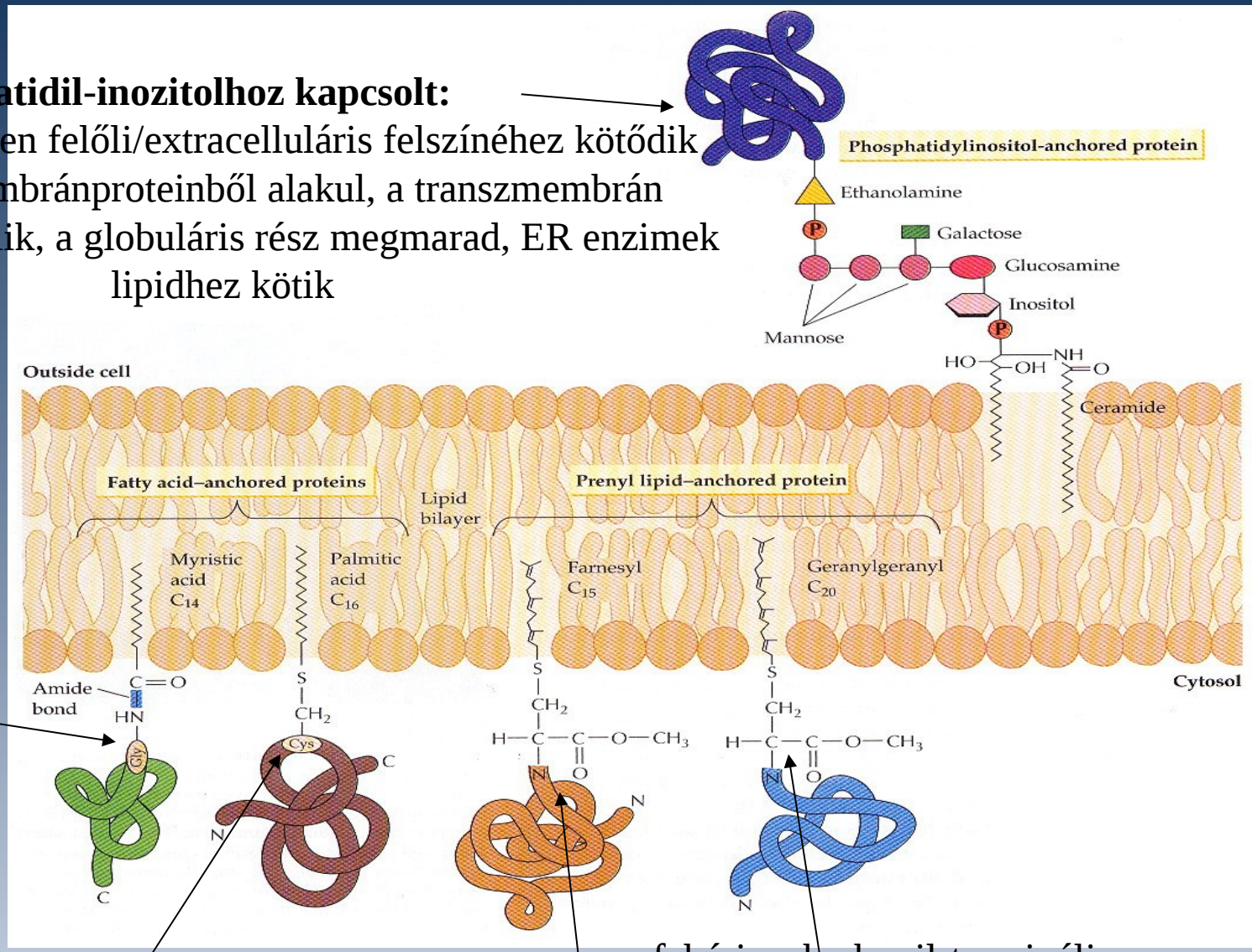
Membránfehérjék
(Singer – Nicolson szerint 2 csoport)



Perifériális membránprotein: vízzel, só- vagy savas oldatokkal a membránból kimosható a membrán károsodása nélkül. Integráns proteinekhez vagy lipidekhez kapcsolódik sóhídon, elektrosztatikus interakción, hidrogén-kötésen keresztül.

Integráns membránprotein: vízben oldhatatlan, csak detergensekkel mosható ki a membránból, miközben annak szerkezete károsodik.

foszfatidil-inozitolhoz kapcsolt:
a membrán lumen felőli/extracelluláris felszínéhez kötődik integráns membránproteinből alakul, a transzmembrán szegmens lebomlik, a globuláris rész megmarad, ER enzimek lipidhez kötik



mirisztinsavhoz az amino-terminális glicinen keresztül kötődik

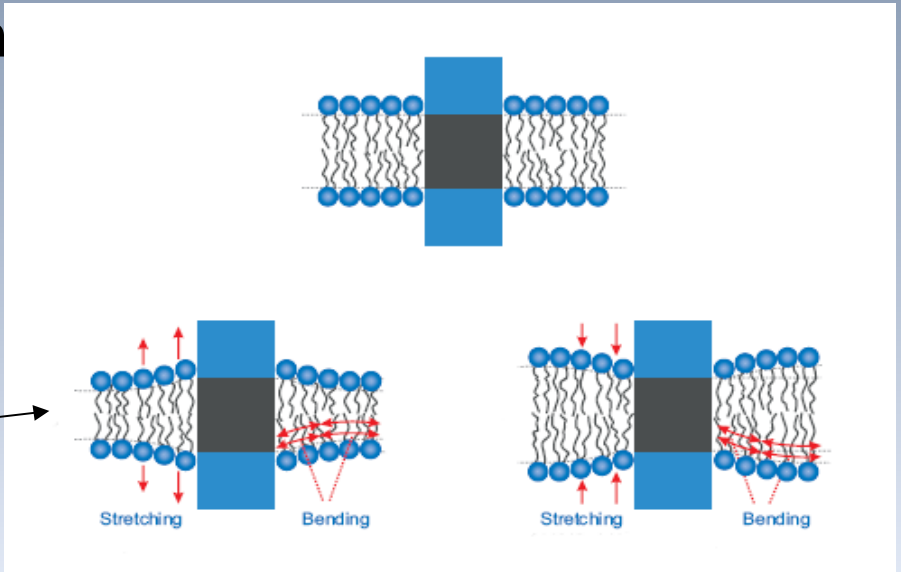
palmitinsavhoz karboxil-véghez közeli ciszteinen keresztül kötődik tioészter kötéssel

a fehérje a karboxil-terminális ciszteinjén keresztül kapcsolódik farnezilhez (C15:3 izoprén egység) geranilgeranilhoz (C20:4 izoprén egység)

Membránfehérjék funkciói

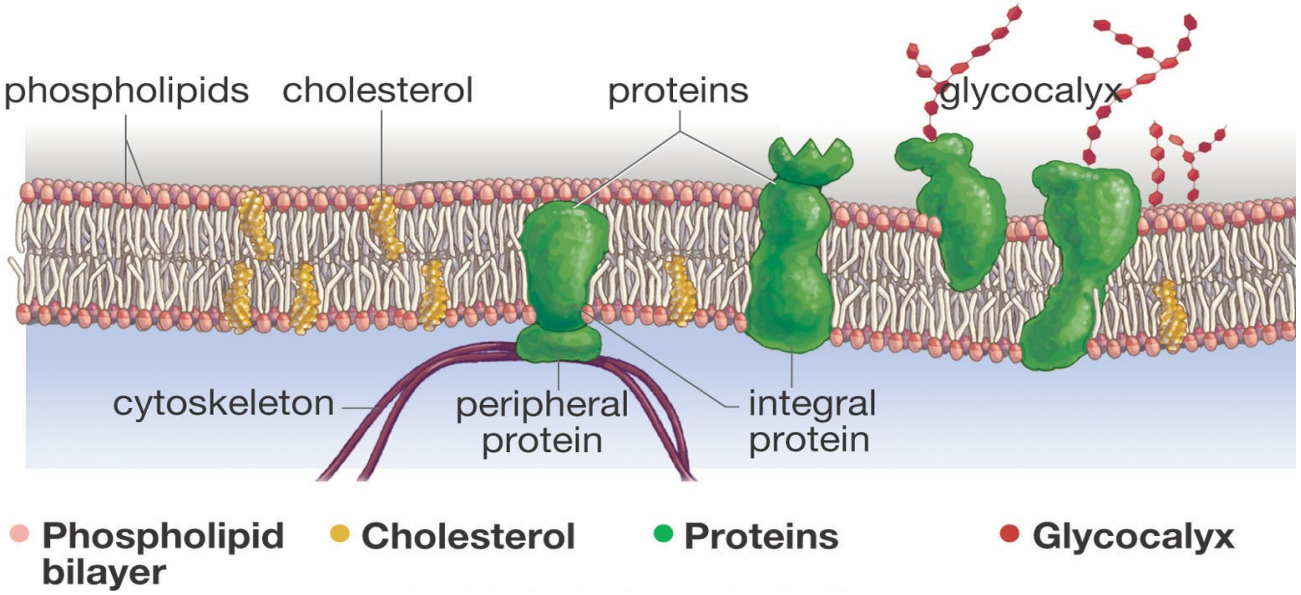
- A membránok változatos funkcióját a fehérjekomponensek biztosítják (jelátvitel, transzportfolyamat):
- Ion csatornák
- Transzporterek (pl. aquaporin)
- Szerkezeti elemek
- Intracelluláris kapcsolódás (sejtváz elemeihez)
- Extracelluláris kapcsolódás
- Receptor funkció (pl. horm
- jeltovábbítás

Fehérjék membránba épülése konformáció változást idéz elő



Eukarióta sejtek membránja

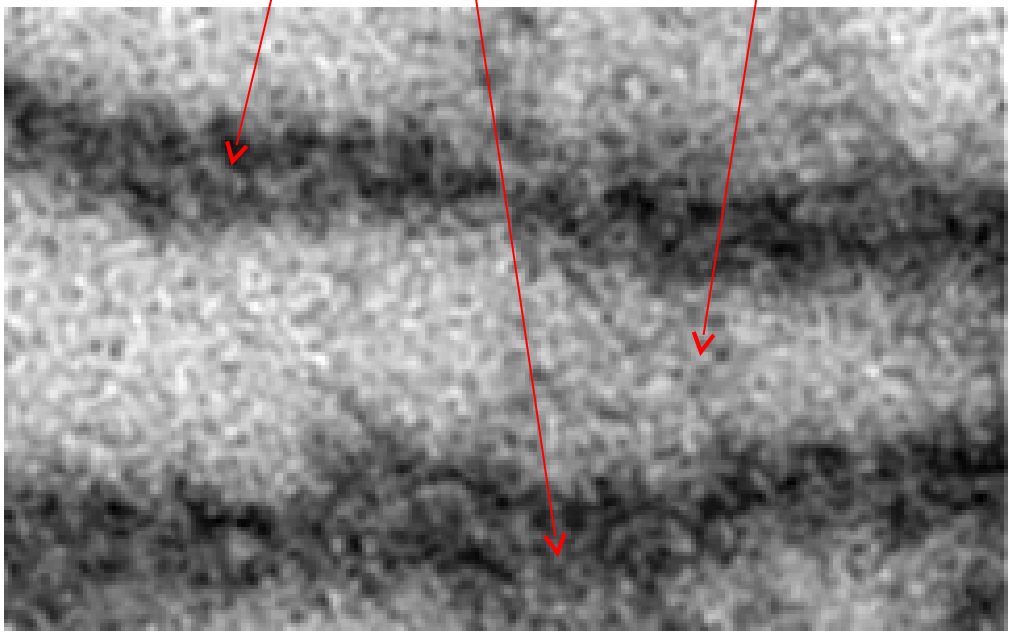
- Határvonal a sejt belseje és környezete között
- Feladata: a sejt és környezete közötti információ- és anyagáramlás biztosítása
- 5-10 nm vastagságú
- Az alapszerkezetet a foszfolipidek határozzák meg
- Lipidekből, fehérjékből és szénhidrátokból épülnek fel
- A lipidek kettősréteget hoznak létre, ebbe ágyazódnak a fehérjék (Singer – Nicolson membránmodell)

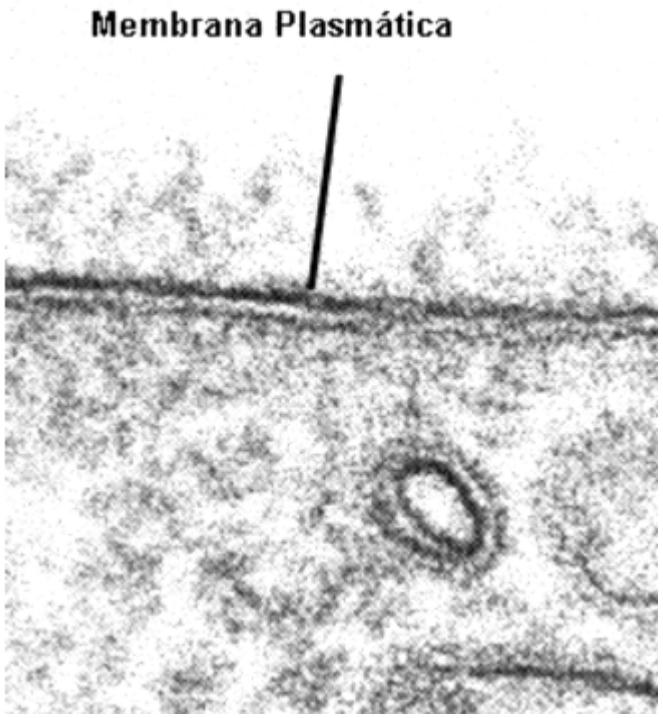


Sejtmembrán

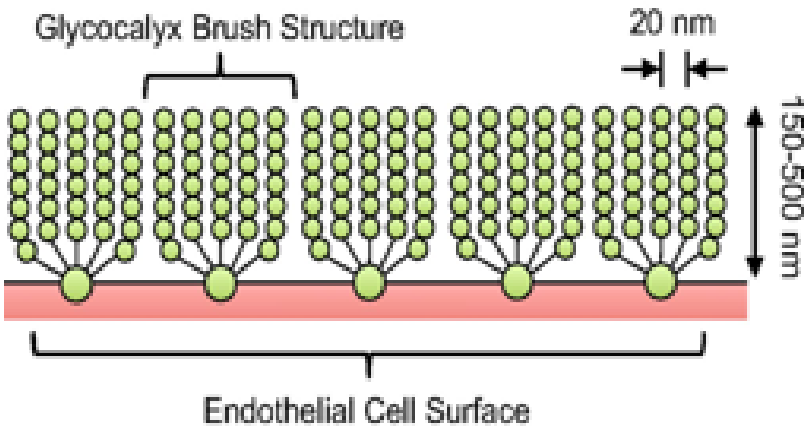
- Sejtet határoló hártyarendszer, elválasztja a sejten belüli teret, de össze is köti a sejten kívülivel
- Alkotórészei:
  - Lipidek (kb. 50% foszfolipid, kb. 25% koleszterol, kb. 25% glikolipid és egyéb lipid):
    - **2 rétegben, apoláris részeikkel fordulnak egymás felé**
    - **Az egyes molekulák oldalirányban könnyen mozognak**
  - Fehérjék
    - **Lehetnek felszínen elhelyezkedők, bemerülők, vagy a membránt teljesen átérők**
  - Szénhidrátok:
    - **Fehérjékhez (glikoproteinek) vagy lipidekhez (glikolipidek) kapcsolódnak**
    - **A hártya külső felületén helyezkednek el (glikokalix)**

sejtmembrán, intercelluláris tér





Sejtburok (glikokalix vagy external coat)



A plazmamembránt kívülről körülvevő (extracelluláris felszínén) szénhidrátokban gazdag burok

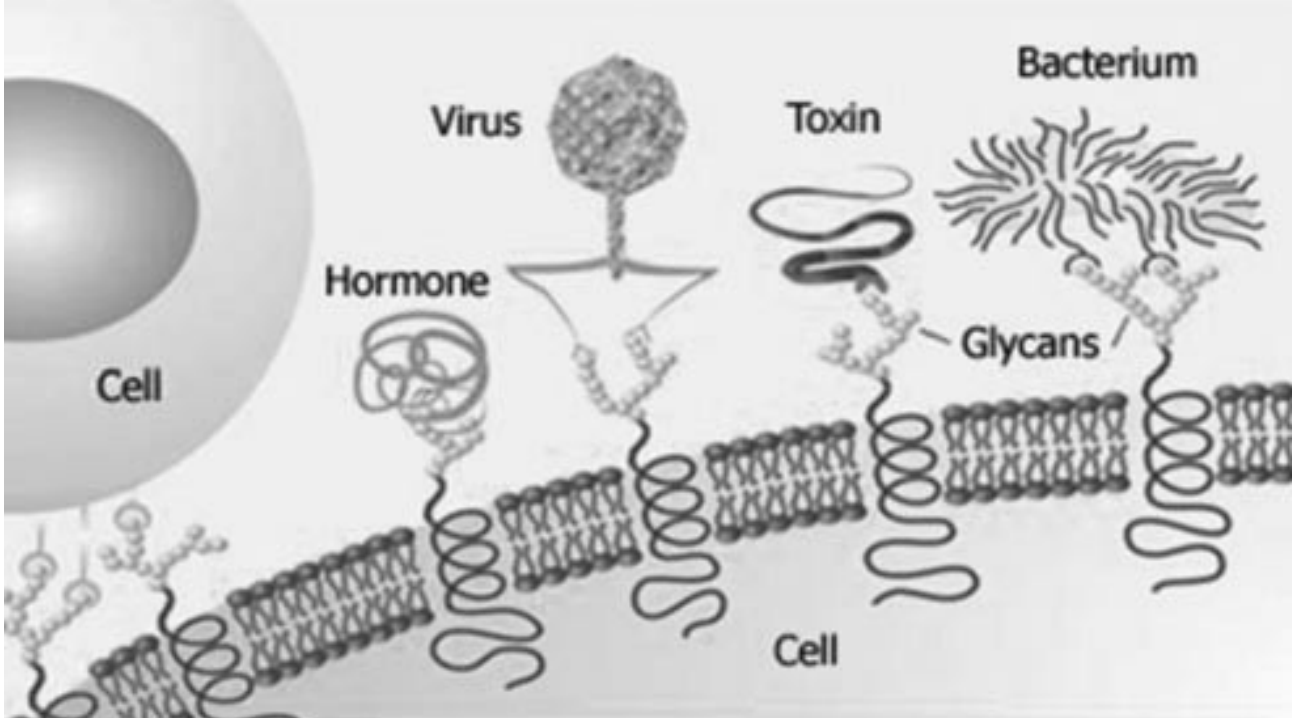
Vegyi összetétel: mannóz, glükóz, galaktóz, fruktóz, glükozamin, N-acetil-glükozamin, sziálsav, hialuronsav

- A monoszacharidok oligoszacharidok formájában integráns membránfehérjékhez (glikoproteidek) vagy lipidekhez (glikolipidek) kapcsolódnak
- Mechanikai és kémiai védelem
- Negatív töltése miatt kationokat köt
- Glikoproteidjei mint markerek vagy antigének funkcionálnak
- Extracelluláris mátrix és a glikokalix együtt szabályozzák a sejtek/szövetek információ áramlását

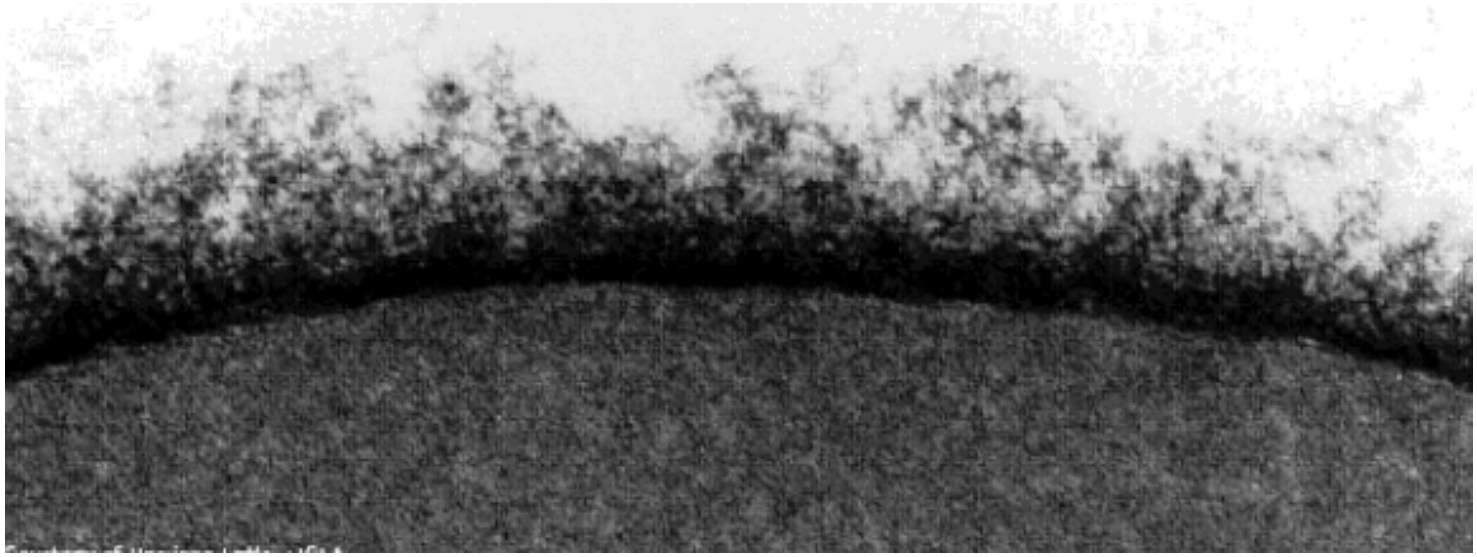
Sejtfelszíni cukrok szerepe

- Sejt-sejt
- Sejt-hormon
- Sejt-vírus
- Sejt-toxin
- Sejt-baktérium

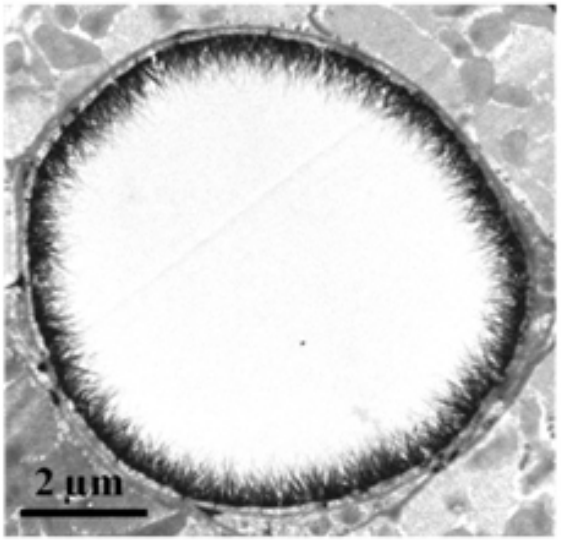
kommunikációban

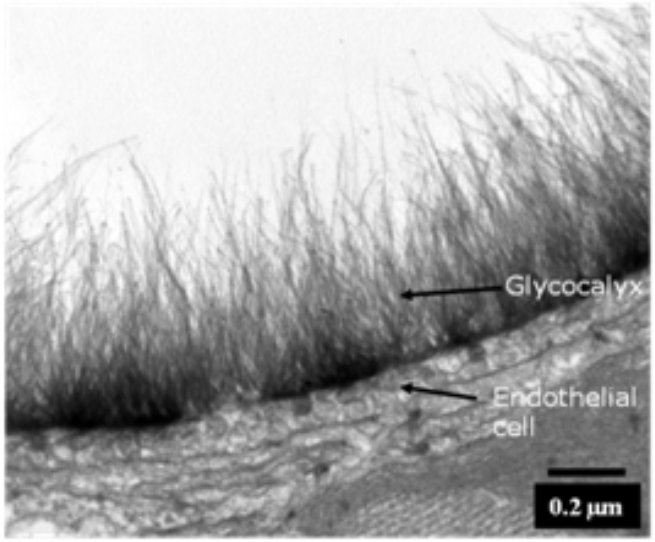


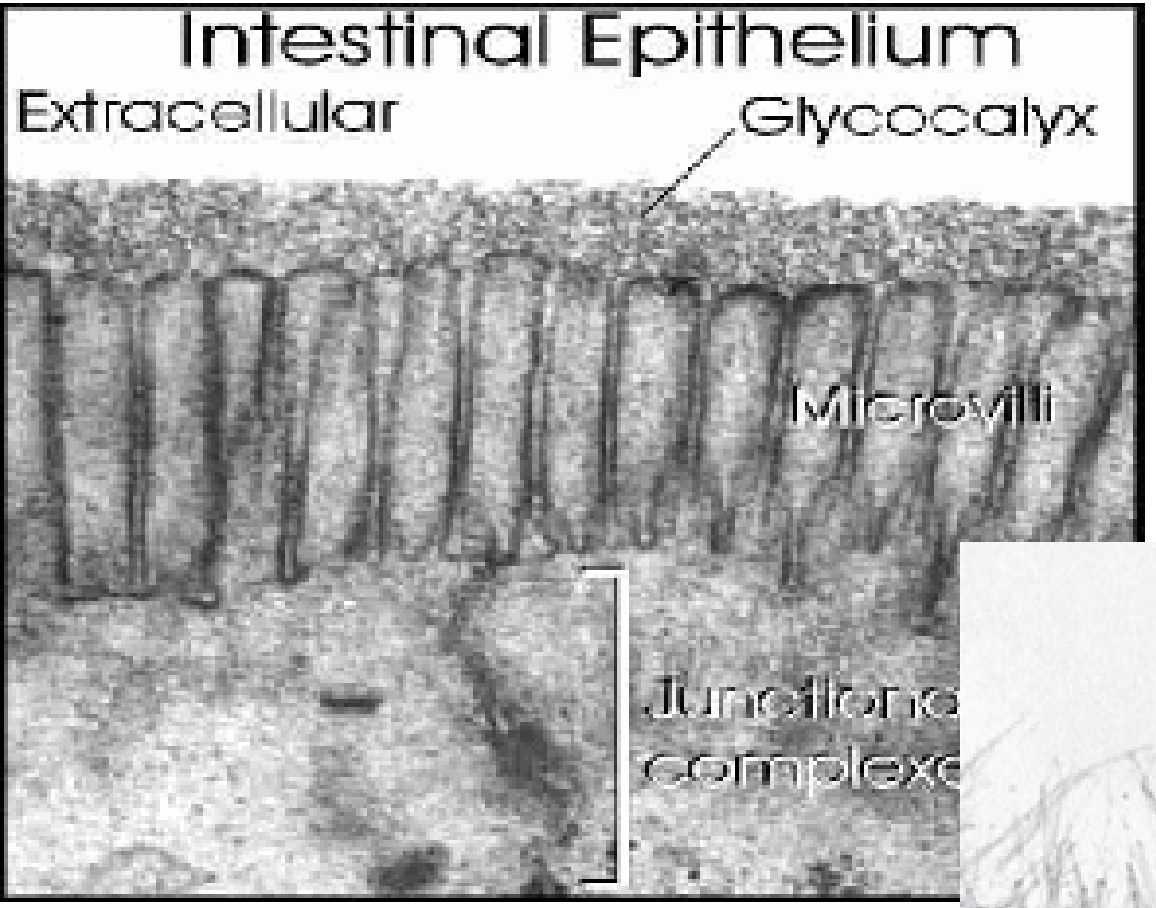
Eritrocita glikokalix (EM felvétel)

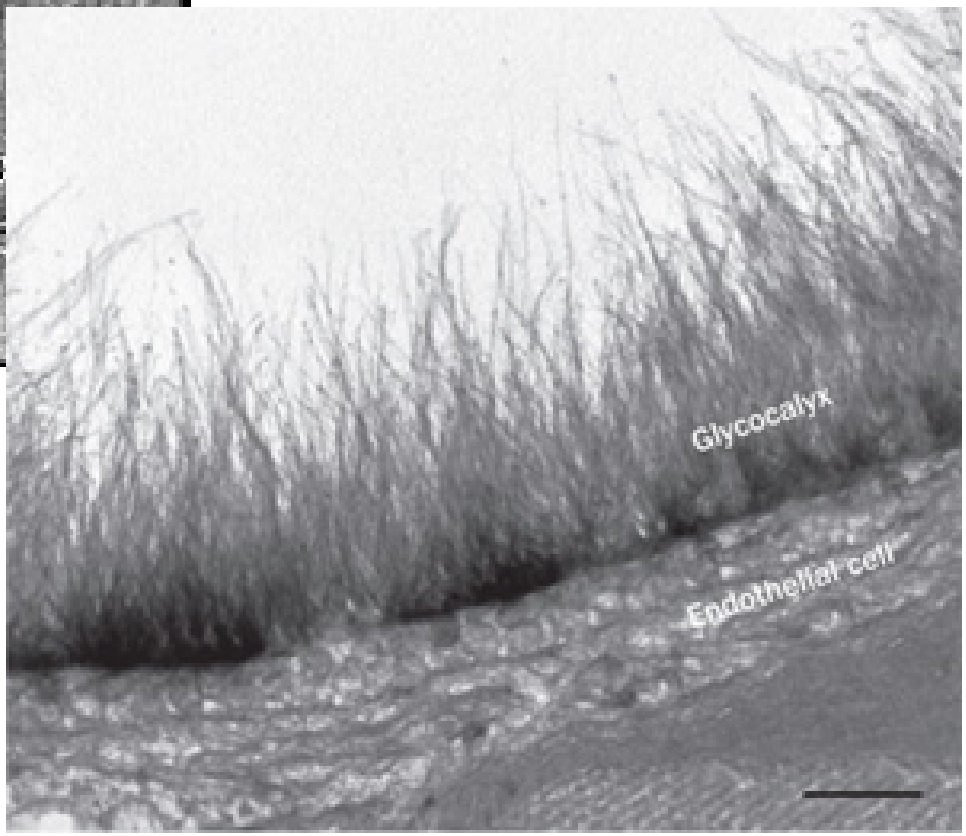


Vererek endothél sejtjeinek sejtburka






Intestinal Epithelium
Extracellular
Glycocalyx
Microvilli
Junctional
complexes


Glycocalyx
Endothelial cell

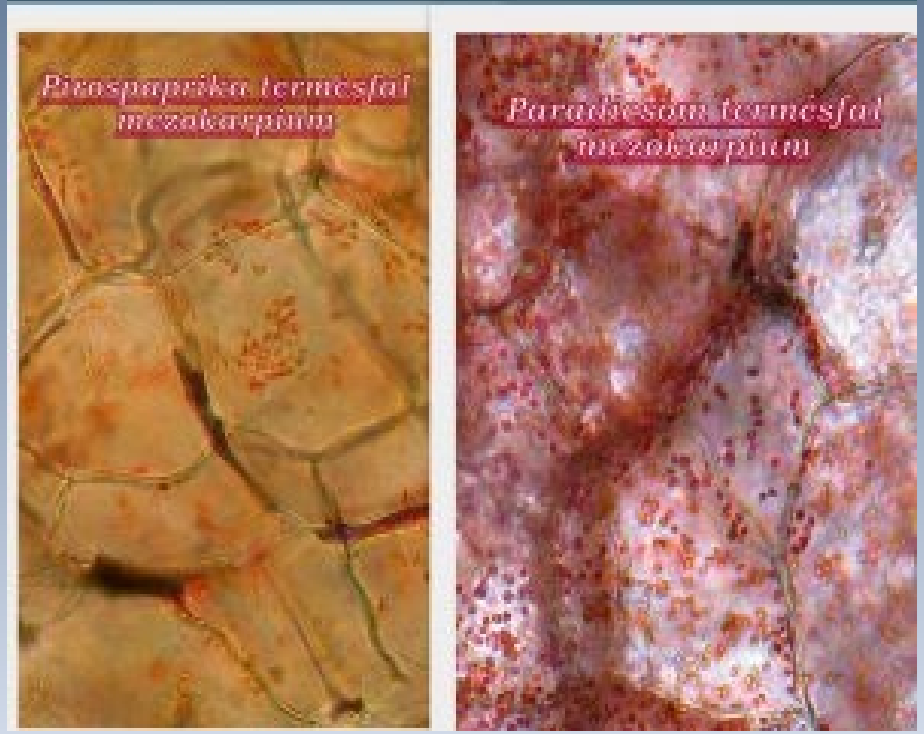
Plasztiszok

Proplasztisz

A különböző plasztisztípusok ebből a kevéssé differenciált proplasztiszból alakulnak ki. Ilyen plasztiszok találhatók a merisztematikus sejtekben, de sok szövetben megmaradnak a proplasztiszok a szövetidifferenciáció után is. Így megtalálhatók az epidermiszsejtjeiben, a rhizodermiszben, és a gyökér más szöveteiben is. Méretük általában 0,2–1 µm, belső szerkezetük gyengén fejlett. A tilakoid rendszer csupán néhány lamellára és a belső membrán kevés invaginációjára korlátozódik. A sztrómában kevés riboszóma és egy, vagy néhány kisméretű keményítőszemcsetalálható.

Kromoplasztisz

A színes, általában sárga, narancsszínű vagy vörös plasztiszok. Színüket a bennük felhalmozódó karotinok és xanthofillok adják. A kromoplasztiszok felelősek nagyon sok termés (paradicsom, paprika), virág (körömvirág, büdöske), vagy a sárgarépa színéért. A kromoplasztiszok kialakulhatnak közvetlenül proplasztiszokból, vagy zöldszínű kloroplasztiszokból is. A kromoplasztiszok működő plasztiszok, és vissza is képesek alakulni kloroplasztisszá, mint ahogy azt a sárgarépa földből kikerülő és megzöldülő részein megfigyelhetjük.



Kristályos és gömb alakú/globuláris/ kromoplasztiszok

Leukoplasztisz

Szintelen plasztiszok, igen fejletlen tilakoidokkal. Elsőrendű feladatuk a lipid anyagcserében való részvétel, elsősorban a monoterpenoidok bioszintézise. A terpenoidok fontos illóolajok, gyanták, melyek gyógyászati, élelmiszeripari alapanyagok is. Maga a klorofill fitol oldallánca, és a karotinoidok is terpenoidok. A terpenoid bioszintézis a növényekben a plasztiszokban és az endoplazmatikus retikulumban történik, de a kiinduló alapanyag a citoplazmában szintetizálódik acetil-CoA-ból. A leukoplasztiszok elsősorban a kiválasztó képletekben, virágokban, epidermiszben találhatók.

Amiloplasztisz

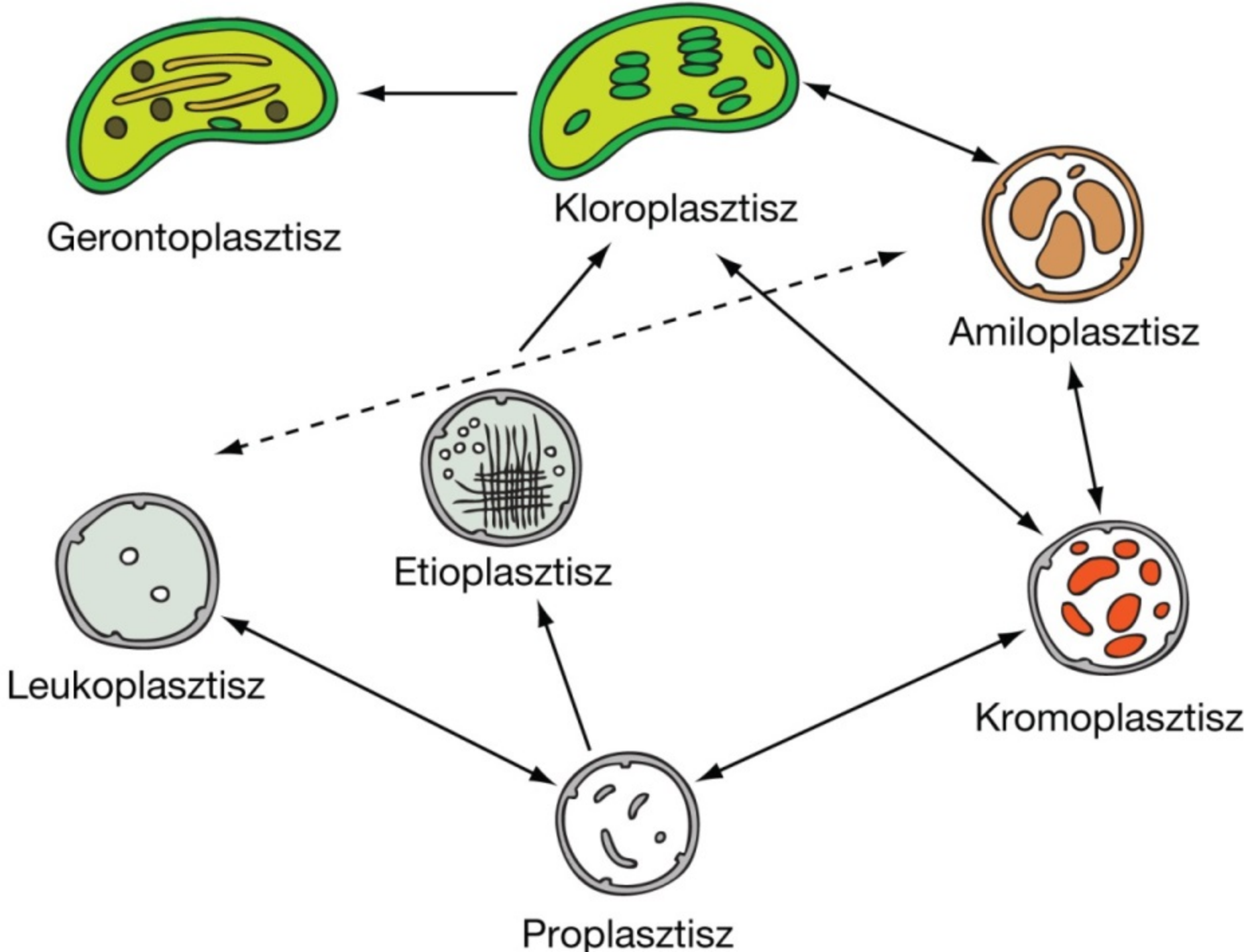
A növényi sejtekben a keményítőraktározás kizárólag plasztiszokban, nagymennyiségben az erre specializálódott amiloplasztiszokban történik. Az amiloplasztiszok belső membránrendszere gyengén fejlett, gyakran az egész sztrómaállományt keményítőszemcsék töltik ki. A növényi keményítő α-1,4-glükózpolimer, (amilóz) melyidőnként 1,6-os elágazásokat is tartalmaz (amilopektin). Amiloplasztiszok elsősorban raktározószervekben, magvakban, termésekben fordulnak elő nagy mennyiségben. Az amiloplasztiszok képesek kloroplasztiszokká alakulni (fényrekerült burgonya megzöldülése) és fordítva.

Etioplasztisz Fényhiányában a proplasztiszból történő kloroplasztisz kialakulásmegakad, és egy speciális plasztisz az etioplasztisz alakul ki. Ez a plasztisztípus nem egy átmeneti forma a kloroplasztisz differenciációjában, hanem inkább egy kerülő útállomásának tekinthető. Fény hatására kápes kloroplasztisszá alakulni.

Gerontoplasztisz

A szeneszcens plasztisz.

Amiloplasztiszokban kialakult kenényítószemcsék növényi sejtekben


Gerontoplasztisz
Kloroplasztisz
Amiloplasztisz
Etioplasztisz
Leukoplasztisz
Kromoplasztisz
Proplasztisz

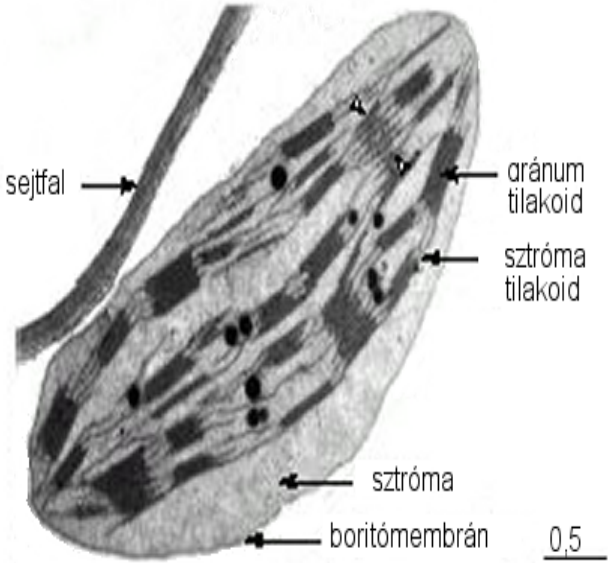
A KLOROPLASZTISZOK

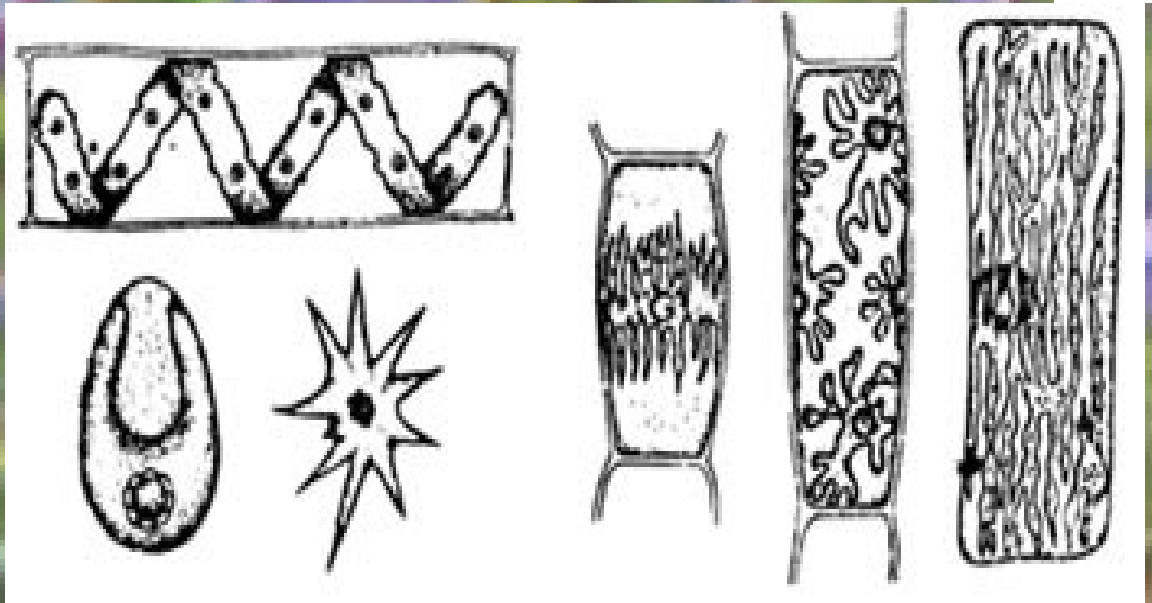
Leggyakrabban lencse alakú képződmények

Átmérő: 3-10 μm

Szám/sejt: spenótsejtejben 20-60.

Átlagos térfogat: spenótsejtekben 34 μm^3

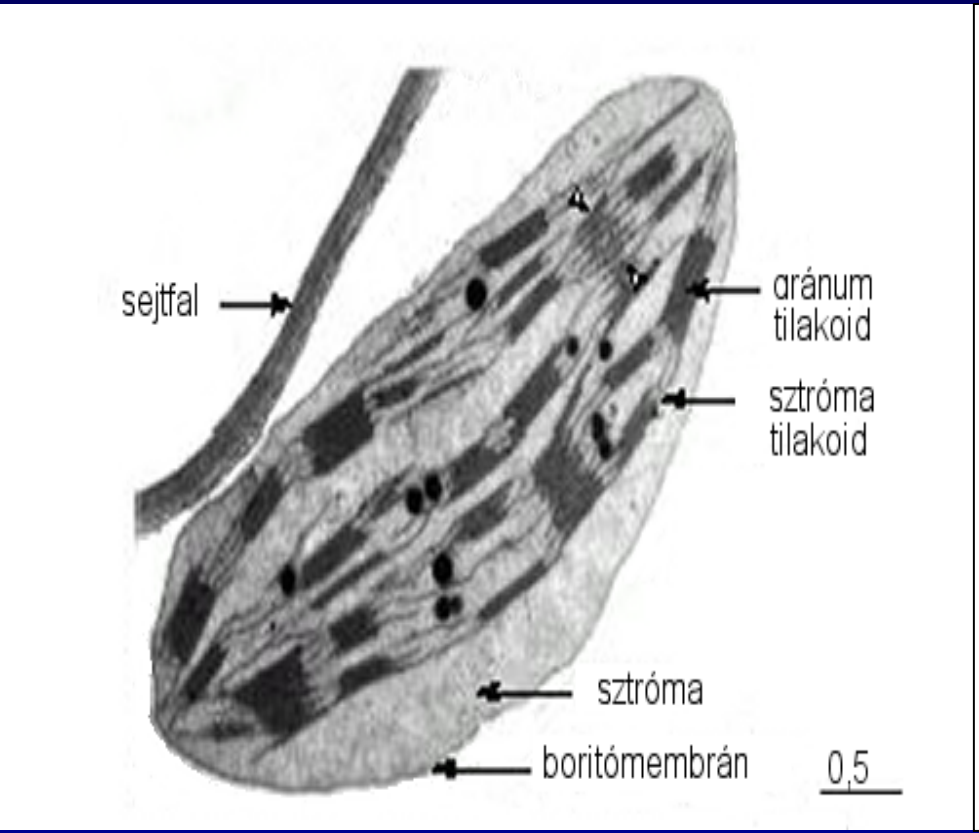


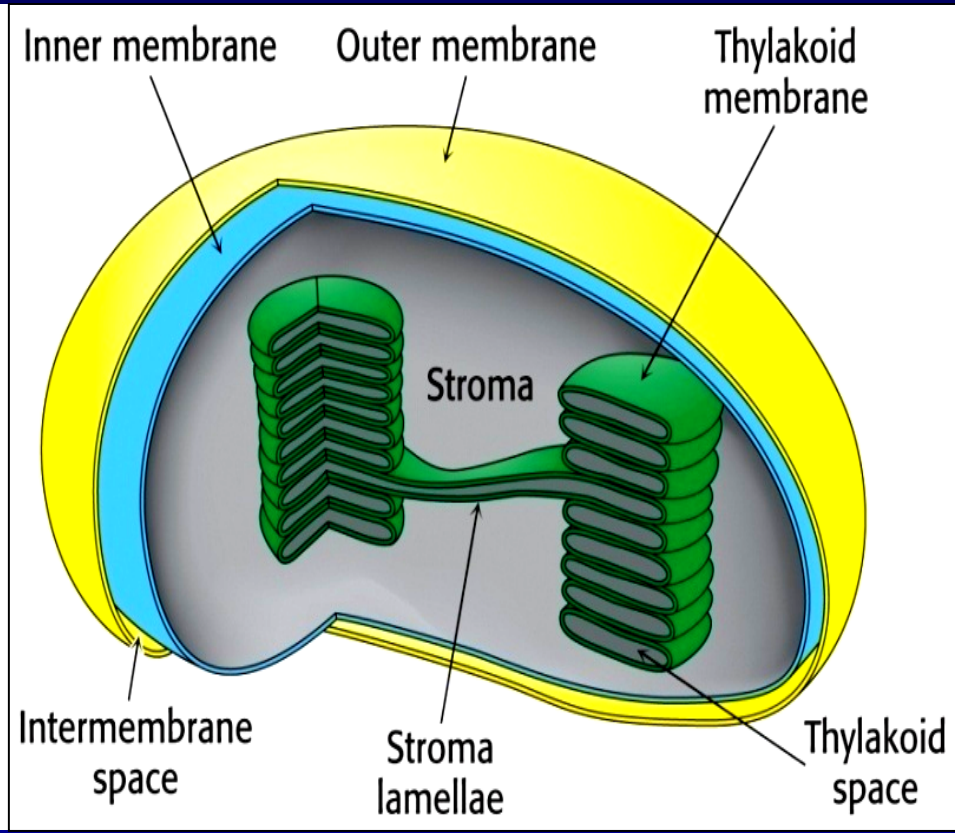


Zöldalgáknál változatos alakok:

csavart fonal, csillag, harang, hálózatosan átlyuggatott

A gránumos kloroplasztisz felépítése I





A gránumos kloroplasztisz felépítése II

Envelope (kettős burkoló membrán) az outer és az inner membrán között 10-20 nm vastag perisztomiális rés.

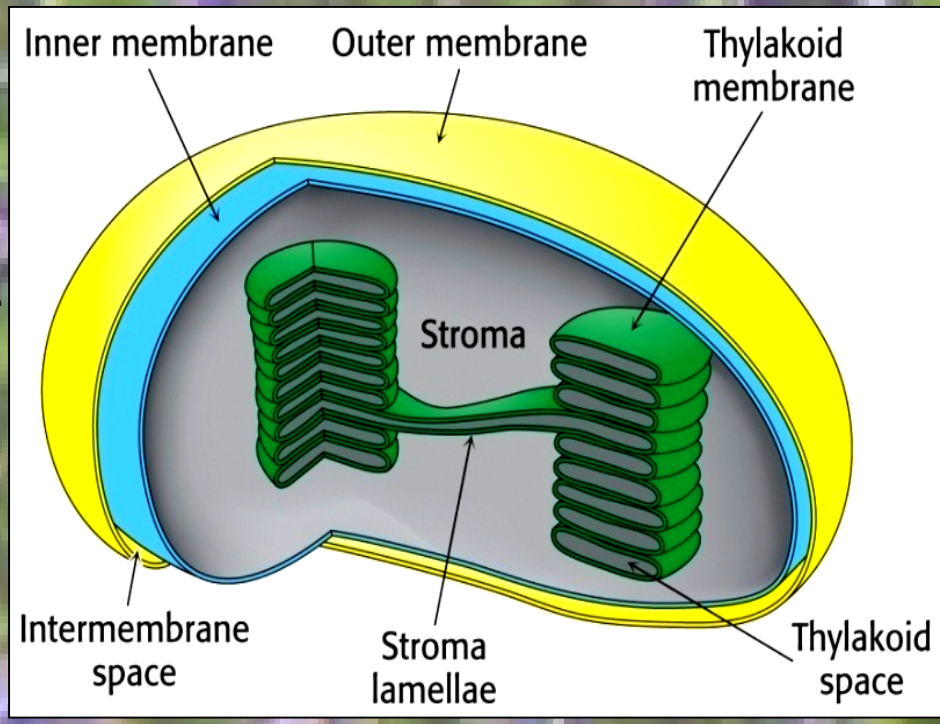
- a külső membrán kis molekuls súlyú anyagokra jól átjárható;
- a belső membrán impermeabilisebb és szabályozza az anyagok ki- és bejutását.

Sztróma: az alapállomány.

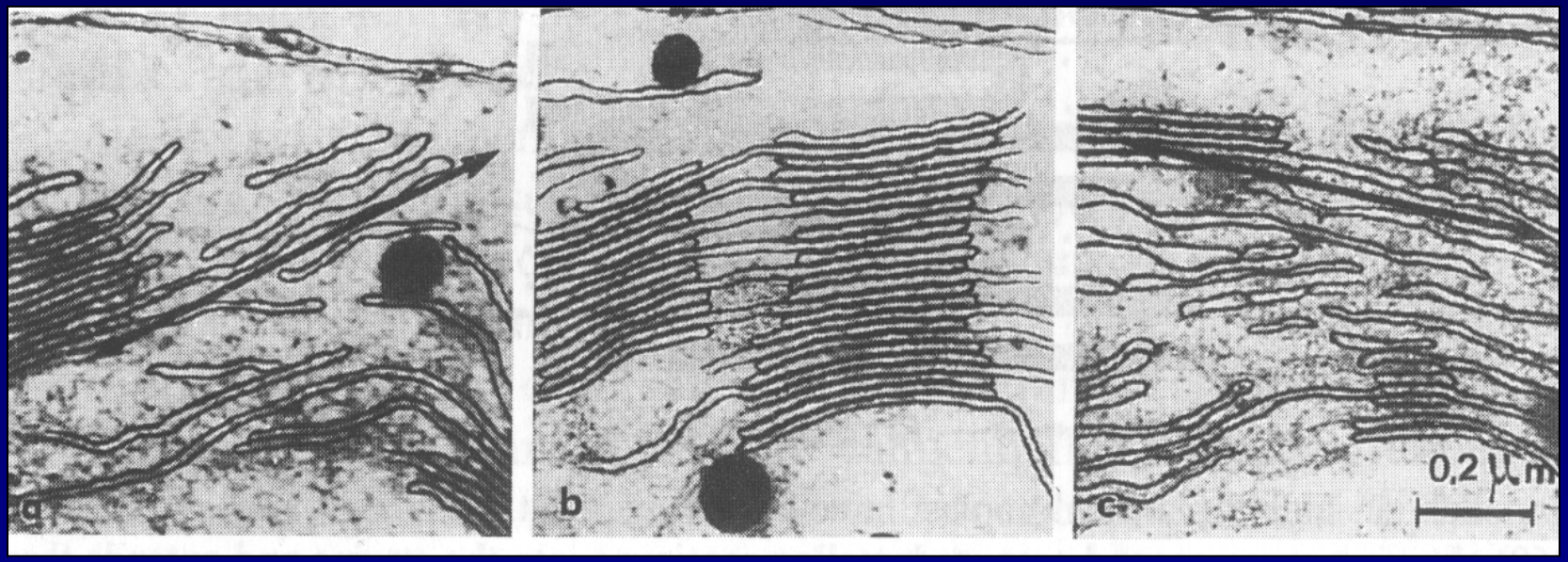
- plasztisz DNS (30 kópiában);
- 70 S riboszómák;
- a CO2 fixálás és redukció enzimrendszerei;
- keményítőszemcsék;
- plasztoglobulusok

Tilakoidok:

- gránumtilakoidok
- sztrómatilakoidok



Teljes sorozatmetszet

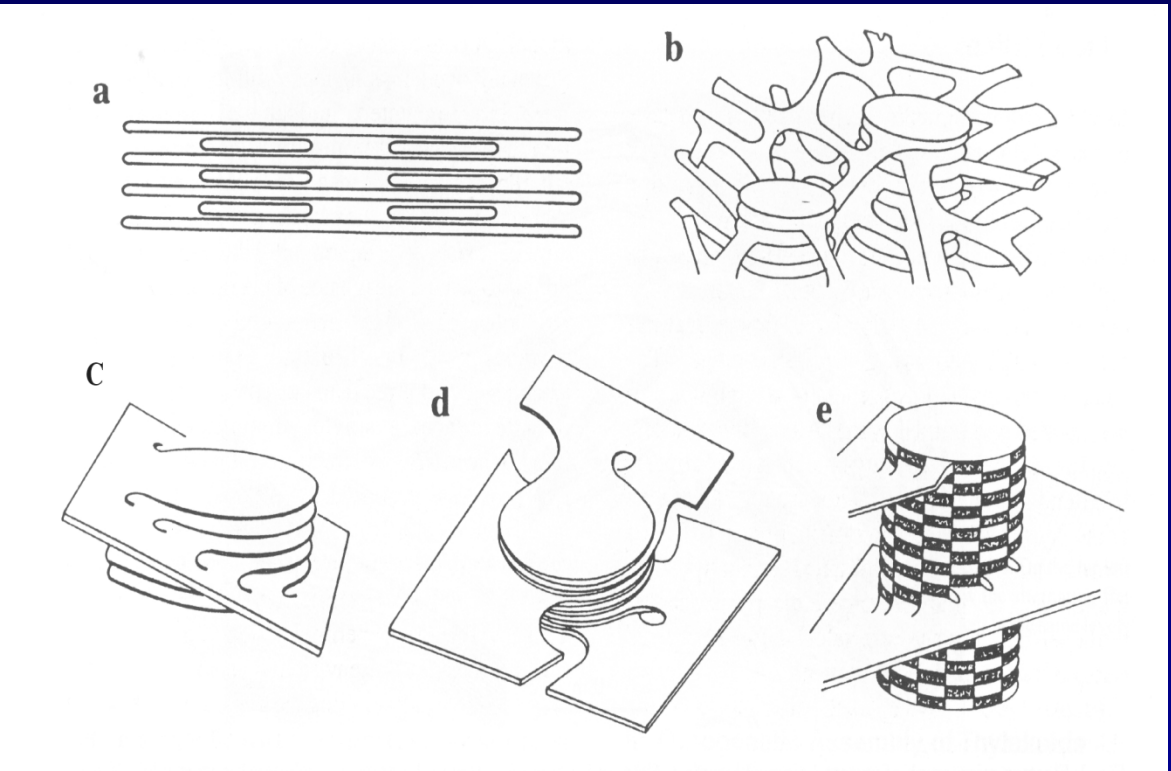


Granum elötti

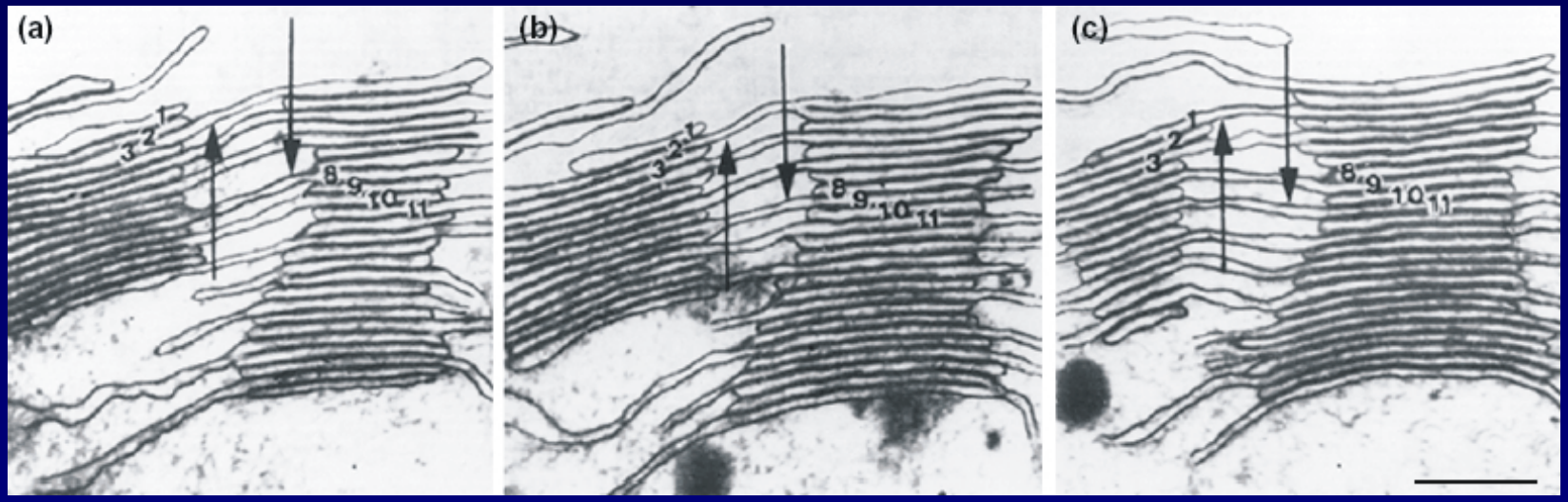
Gránum közepén levő

Gránum mögötti metszet

3 dimenziós elképzelések

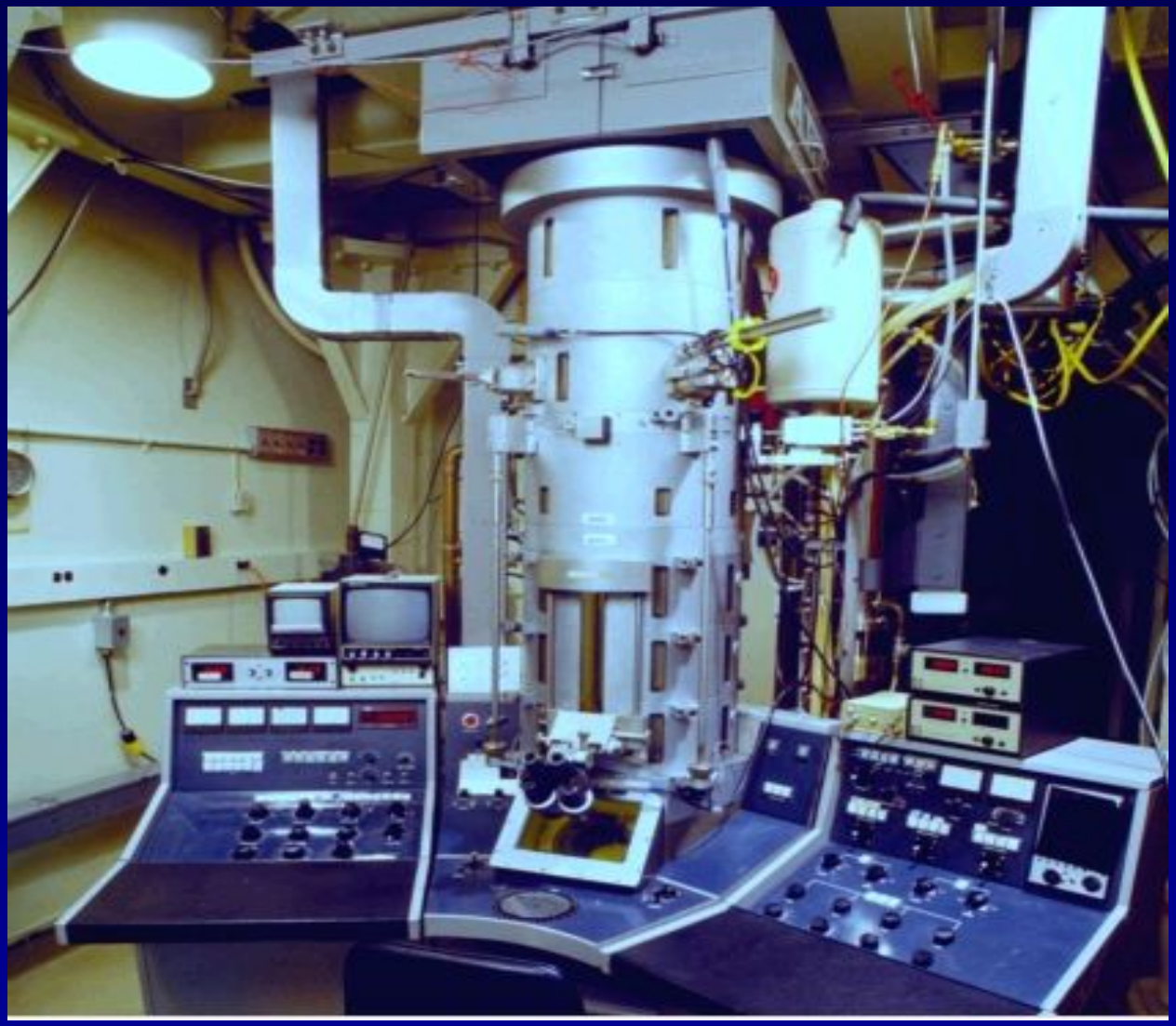


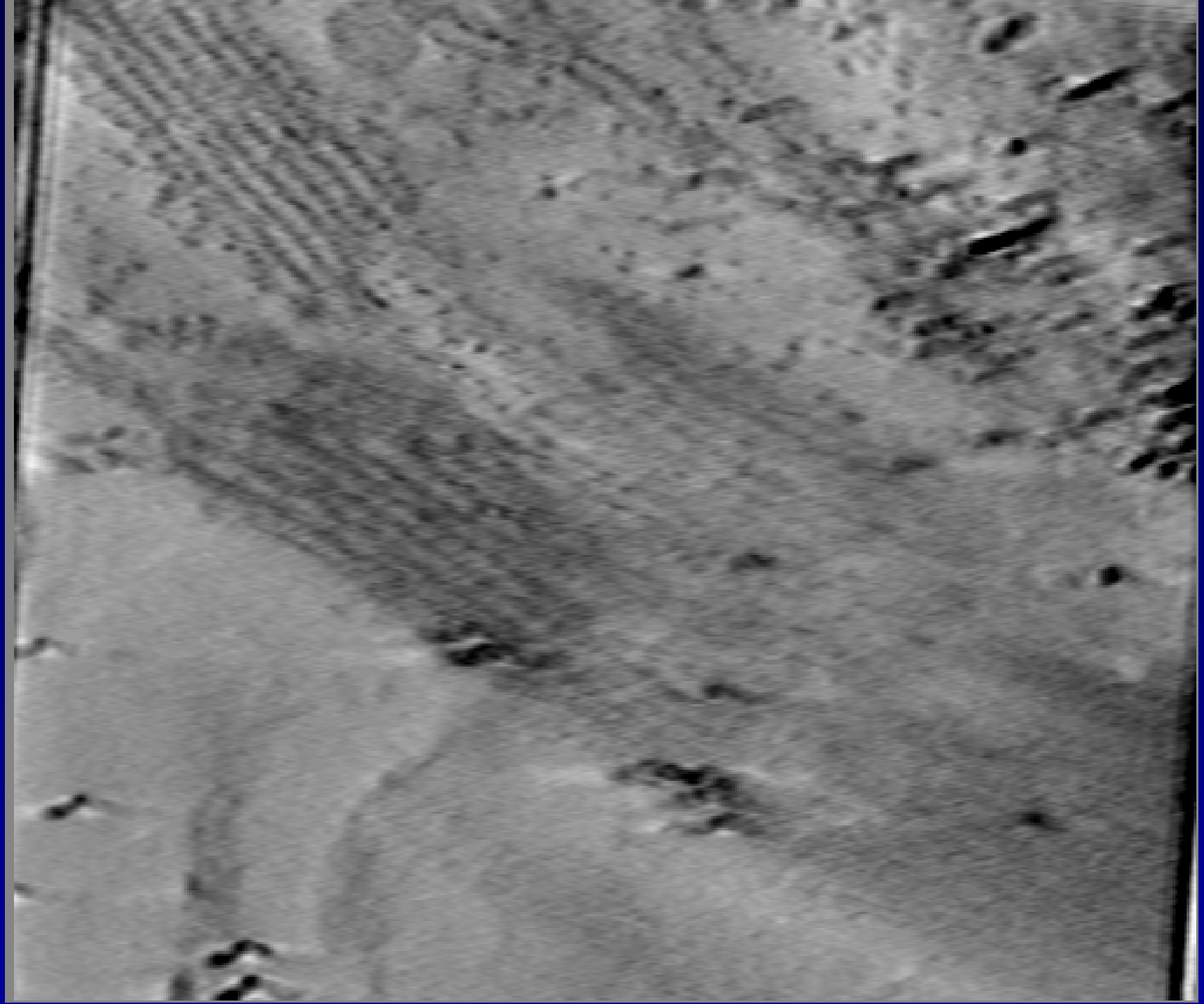
a. Menke (1960)
b. Weier et al. (1963)
c. Heslop-Harrison (1963)
d. Wehrmayer (1964)
e. Paolillo (1970)



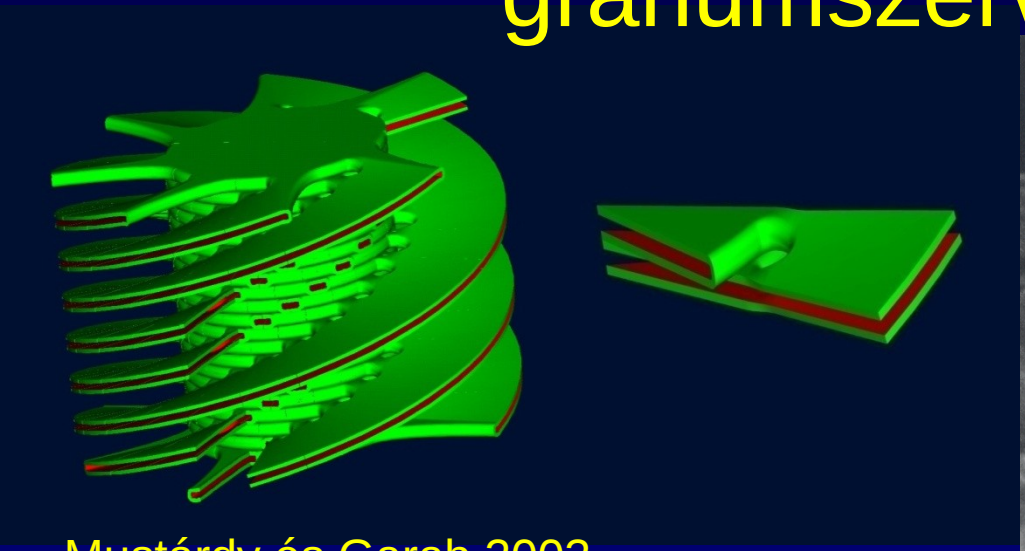
Gránumon belüli metszetek

Elektron tomográf

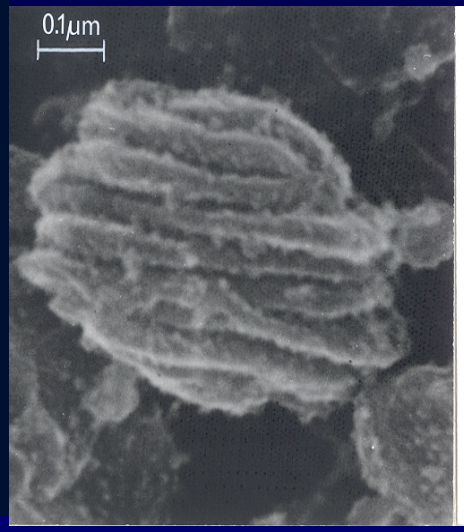


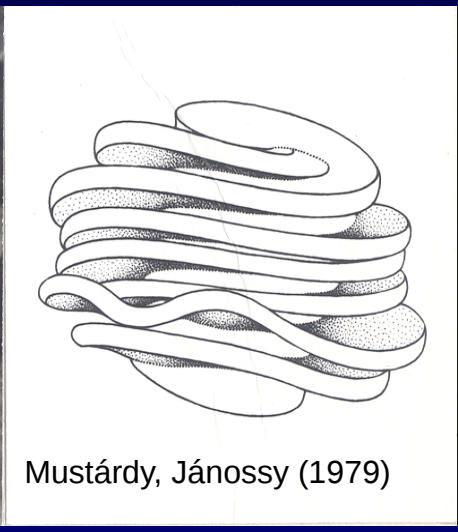


A kloroplasztisz helikális gránumszerveződése

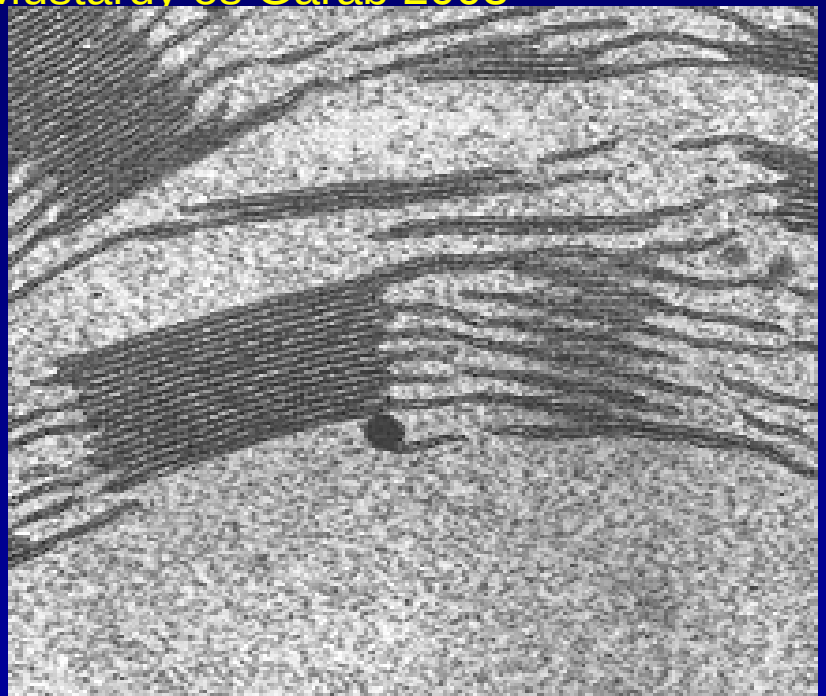


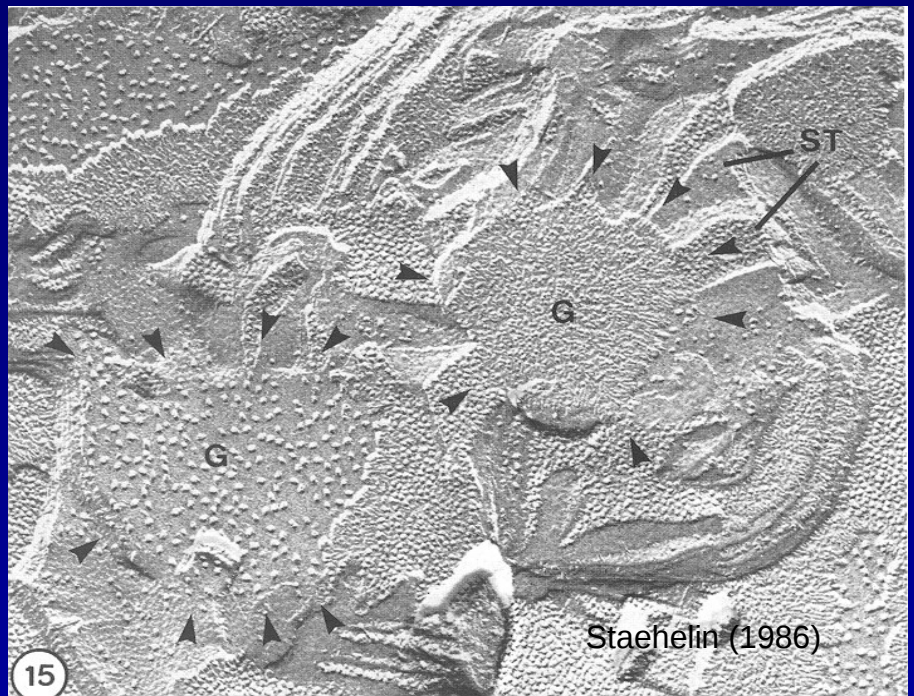
Mustárdy és Garab 2003



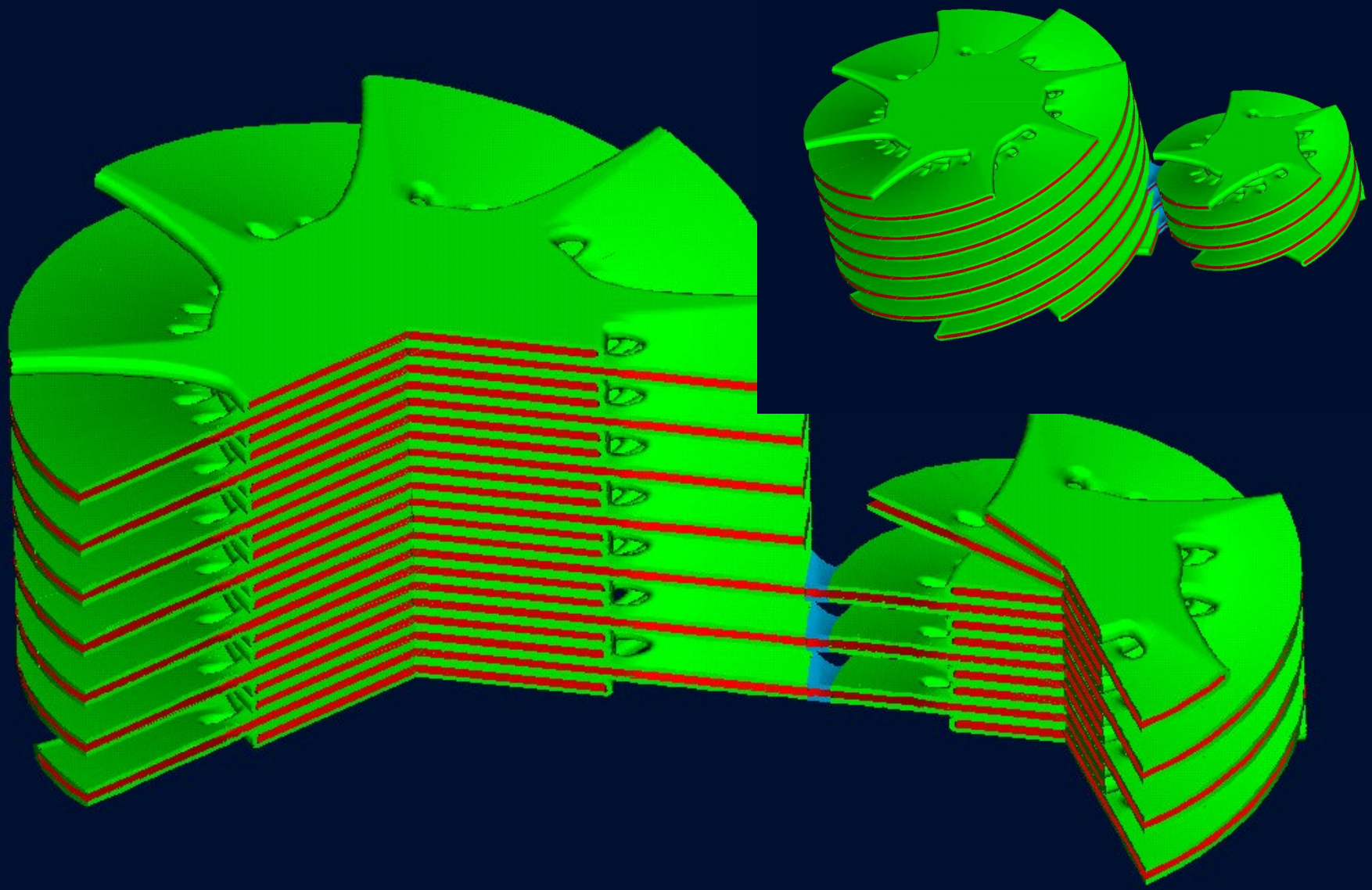


Mustárdy, Jánossy (1979)





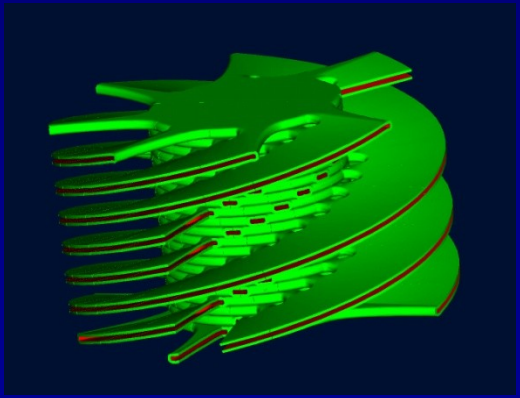
Staehelin (1986)



A helikális elrendeződés funkcionális jelentősége

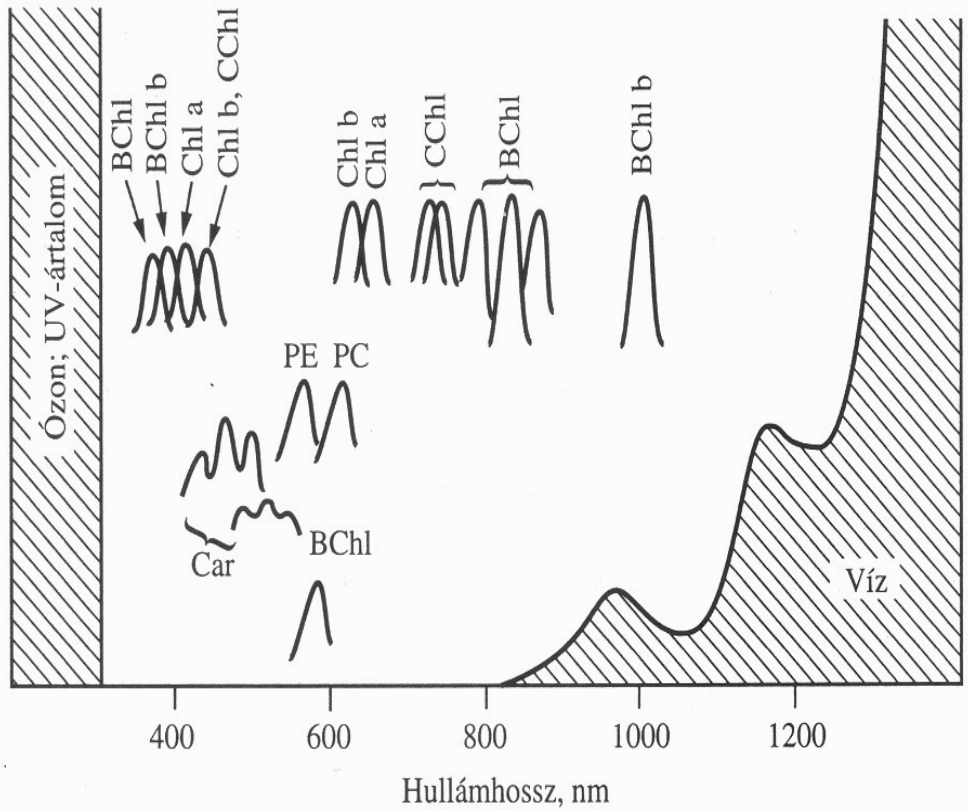
- A tilakoid membránok folyamatos egészet alkotnak, mely egy egységes belső teret (lument) zár magába.
- Az elektrontranszportlánc mobil komponensei szabadon áramolhatnak a két fotoszisztéma között.
- A degradálódott D1 protein helyére a sztróma tilakoidok felületén szintetizálodó új D1 protein könnyen visszatalál.
- A gránum tilakoidokat helikálisan

összekapcsoló sztróma tilakoidok lumene homogén protoneloszlást biztosít és kiegyenlíti az elektromos grádienst is.



A fotoszintetikus pigmentek

- Klorofillok
- Fikobilinek
  (kékbaktériumokban és vörösalgákban)
- Karotinoidok



4.6. ábra. A fotoszintetikus pigmentek főbb abszorpciós sávjai a látható hullámhossz tartományban. Chl – klorofillok, BChl – bakterioklorofillok, CChl – Chlorobium klorofill, Car – karotinoidok, PE – fikoeritrinek, PC – fikocianinok

Pigment-protein komplexek

Detergensekkel kezelt tilakoidokból **gélelektroforézissel** többféle pigment-protein komplex választható el

Klorofill-a-protein komplexek
Reakciócentrum
Reakciócentrum belső antennarendszere
Plaztiszkódoltak

Klorofill-a/b-protein komplexek
Lhcb1, Lhcb2, stb. fénygyűjtő szerep,
Magkódoltak, citoplazmában szintetizálódnak, → későbbi eredet

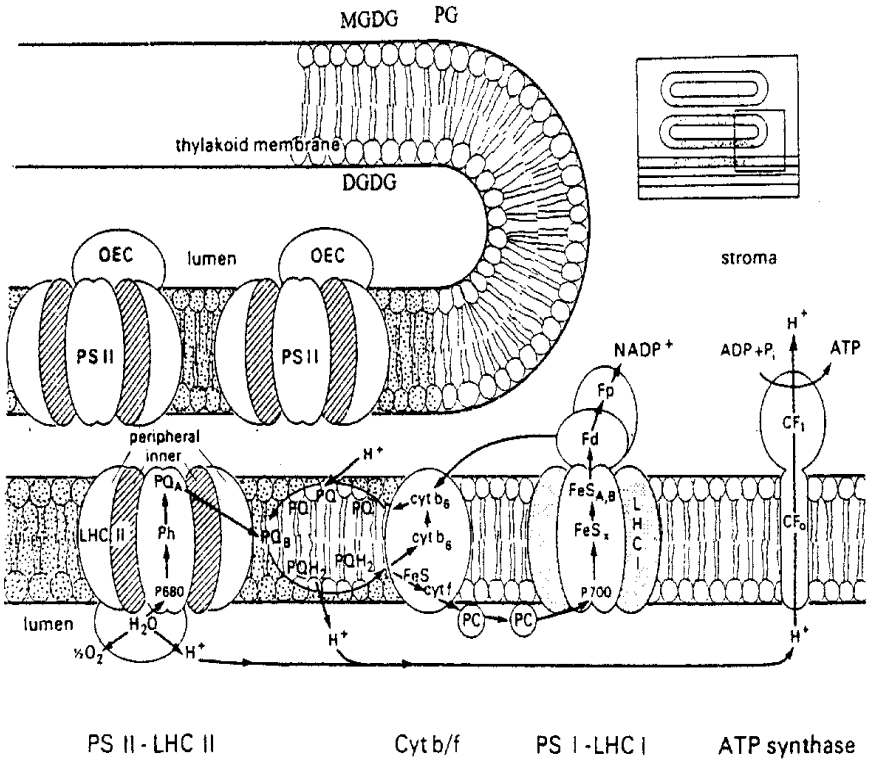
Gélelektroforézissel 4 fő pigment-protein komplex különíthető el:

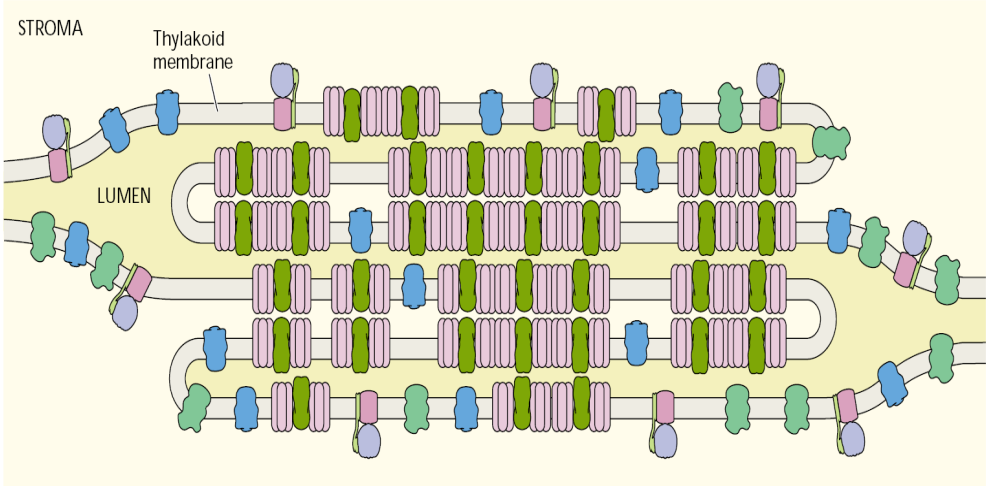
1. Core complex I (CCI) , a PS I reakciócentruma
2. LHC I , a PS I fénygyűjtő komplexe
3. CC II , a PS II reakciócentruma
4. LHC II , a PS II fénygyűjtő komplexe

A komplexek elhelyezkedése gránumos tilakoidokban (laterális heterogenecitás)

A kloroplasztisz makromolekuláris komplexeinek százalékos megoszlása a gránum- és sztrómatilakoidok között

Komponens	**Gránum**	**Sztróma**
PS II	85	15
PS I	15	85
Cyt-b6/f	70-90	10-30
ATP-szintáz	0	100





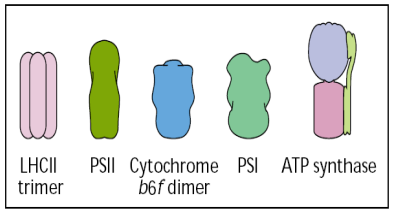
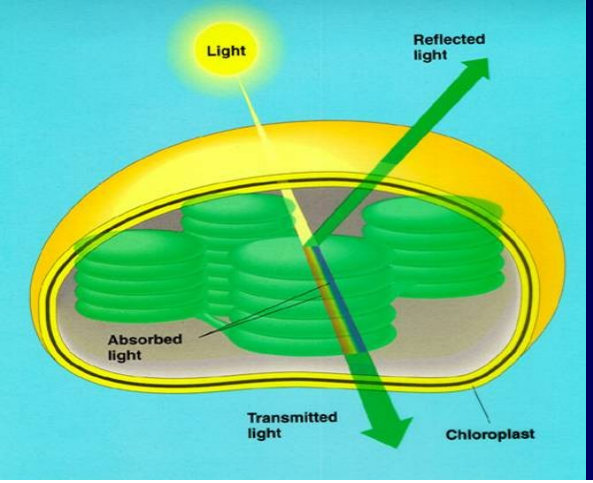
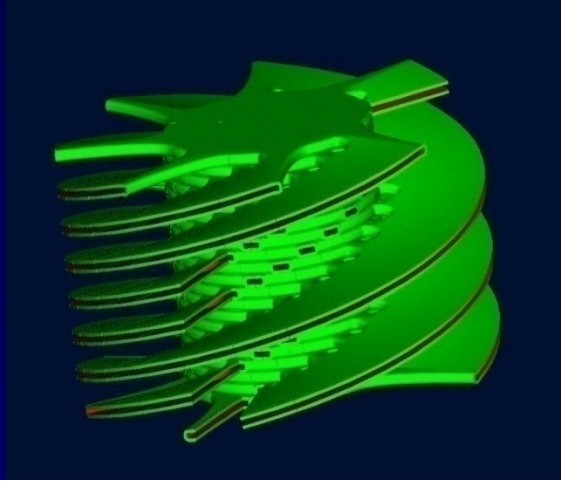
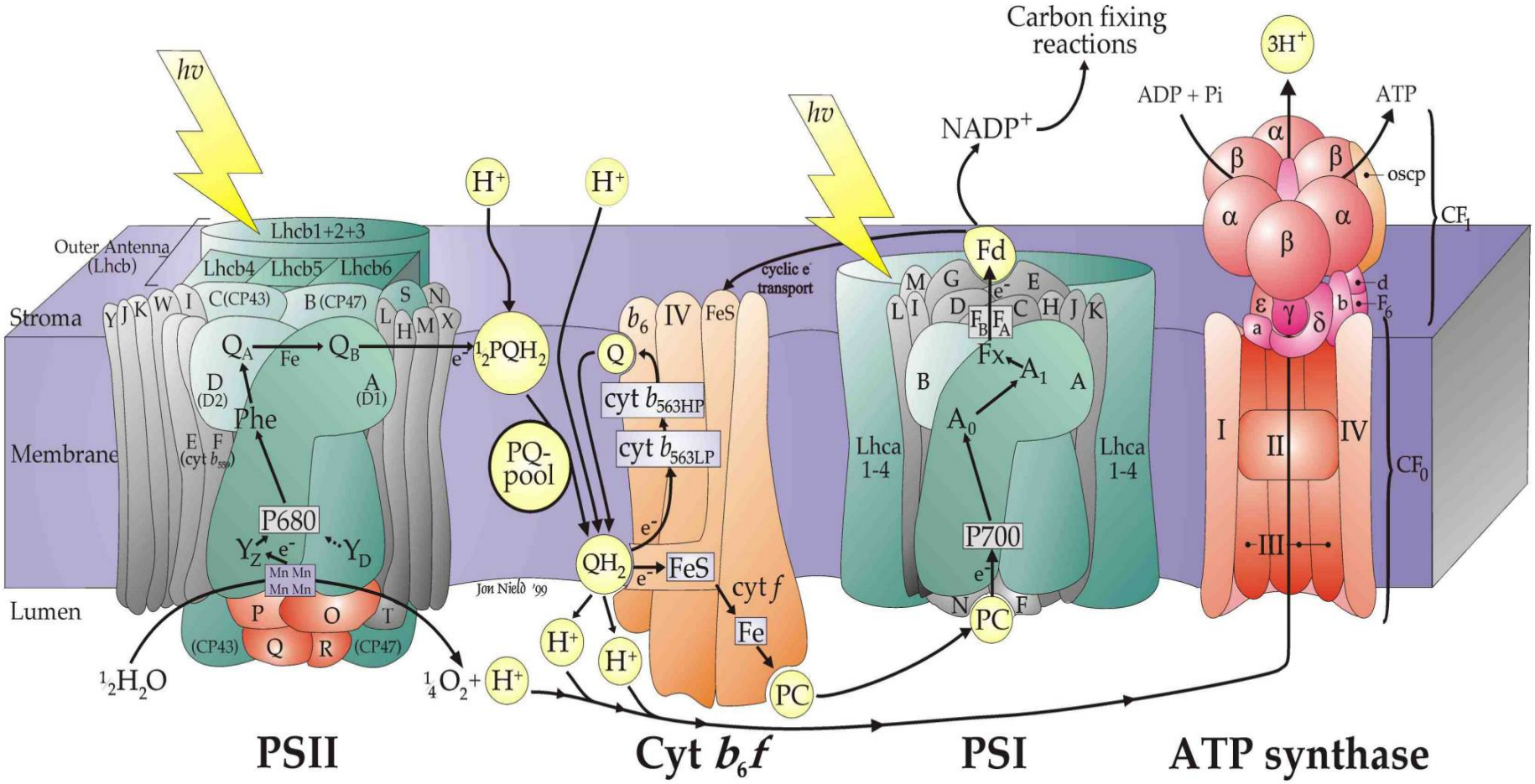


FIGURE 7.18 Organization of the protein complexes of the thylakoid membrane. Photosystem II is located predominantly in the stacked regions of the thylakoid membrane; photosystem I and ATP synthase are found in the unstacked regions protruding into the stroma. Cytochrome b_6f complexes are evenly distributed. This lateral separation of the two photosystems requires that electrons and protons produced by photosystem II be transported a considerable distance before they can be acted on by photosystem I and the ATP-coupling enzyme. (After Allen and Forsberg 2001.)



A fotoszintetizáló apparátus molekuláris felépítése





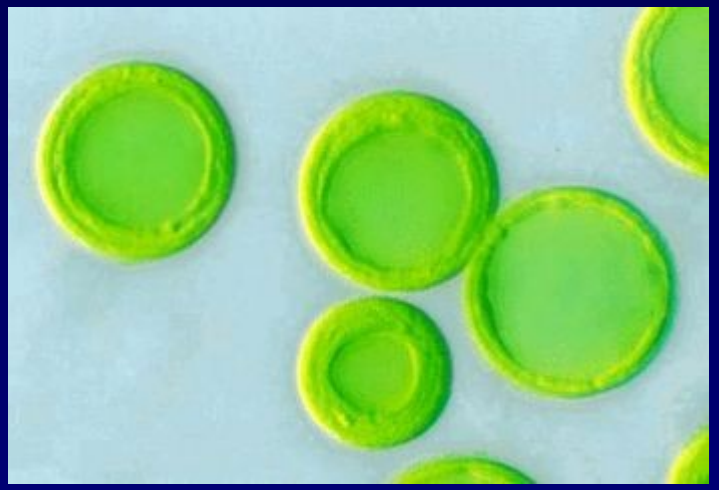
A kloroplasztiszok eredete, az endoszimbionta elmélet

A **prokarióták** közül kloroplasztiszokhoz legjobban a Prochloron fajok tikaloidjai hasonlítanak (kapcsolt és nem-kapcsolt felszínek)

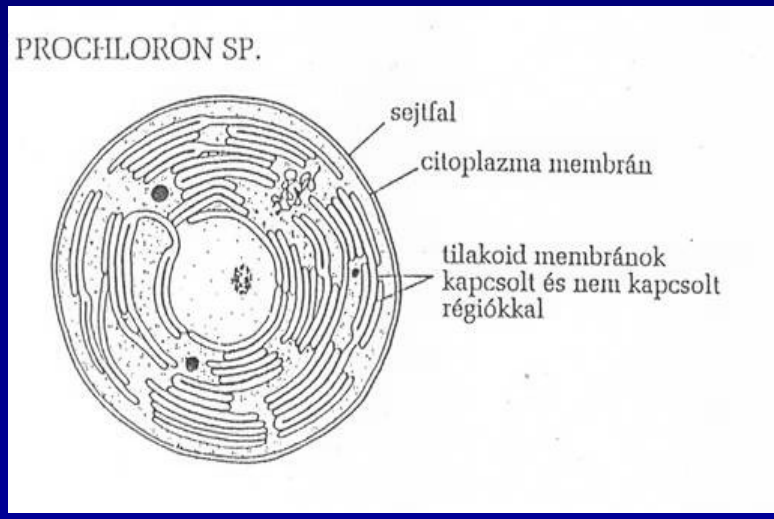
Oxigént termelő, zsákállatokkal szimbiózisban élő szervezetek.

Klorofill *a* és *b* is megtalálható

Endoszimbionta elmélet – a *Prochloron* fajok endoszimbiózisával alakultaki a magasabb rendű növények kloroplasztiszai

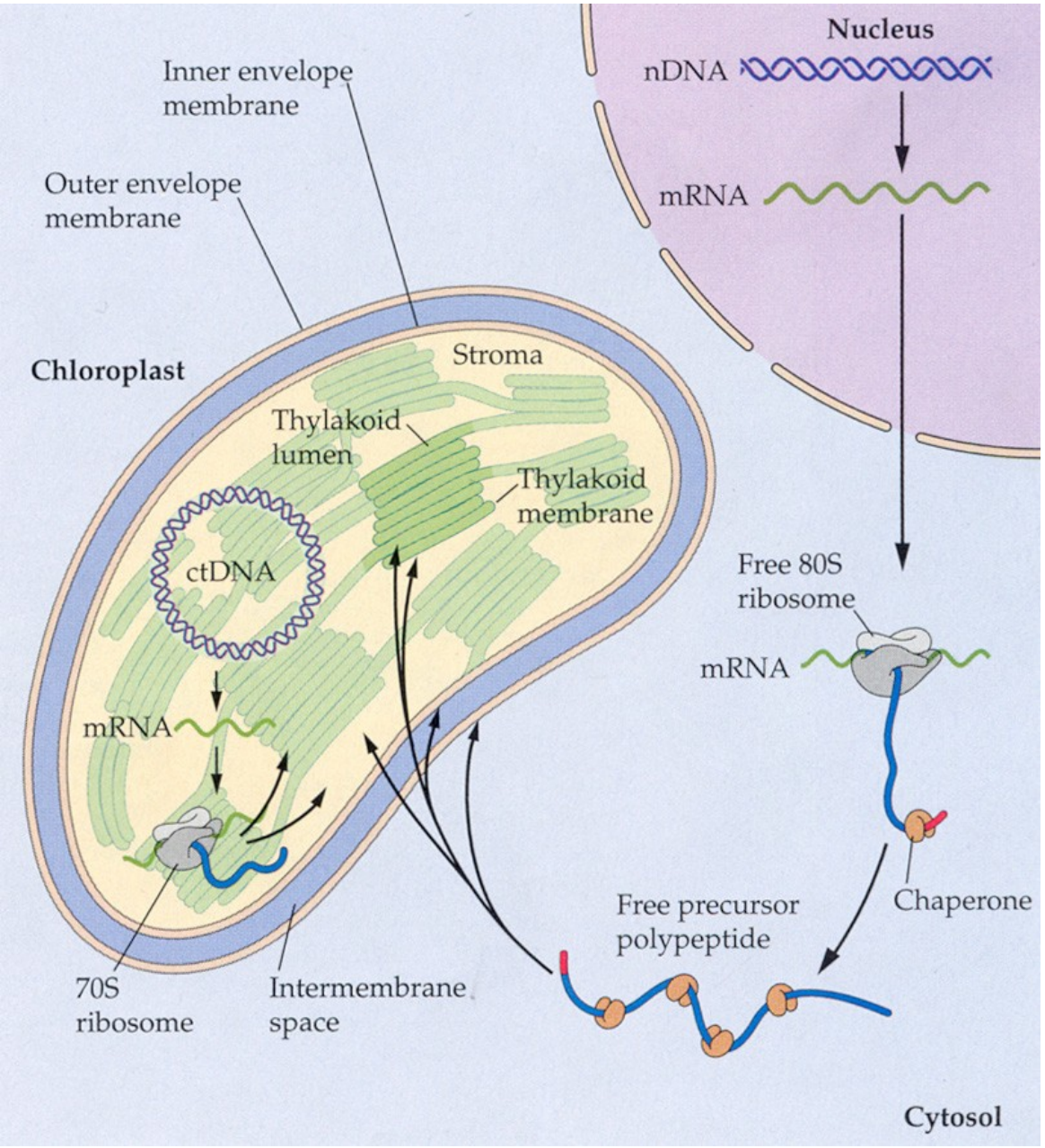


Prochloron didemni



Fehérjetranszport a plasztiszba (targeting)

- A plasztisz számára készülő fehérjék jelentős része a sejtmagban kódolt, és csak egy kisebb része magában a plasztiszban. Pl. a RUBISCO, melynek kisebbik alegységének a génje a magban, a nagyobbiké a plasztiszban található.
- A sejtmagban kódolt fehérjék szintézise a citoplazmában, szabad riboszómákon történik. A fehérjék célbajuttatása végett, az N-terminális végen tranzit peptid szakasz található. A tranzitpeptid biztosítja, hogy a fehérje átjusson a plasztisz két membránján.
- A fehérjéket chaperonok (Hsp 70) transzportra alkalmas formába hozzák, majd a fehérjék kapcsolódnak a plasztisz külső membránján kialakuló transzlokonhoz. Ez a TOC (translocon of the outher chloroplast membrane), míg a belső membránban egy hasonló transzlokon, a TIC (translocon of the inner chloroplast membrane) szerveződik. A két transzlokon összekapcsolódik és a fehérje egyszerre jut át a kétmembránon. A sztrómában levágódik a tranzitpeptid-szakasz, majd chaperonok segítségével (Hsp60) helyreáll a fehérje konformációja.
- Amennyiben a fehérjének még a tilakoid membránon is át kell jutnia, egymásik tranzitpeptid-szakasszal is rendelkezik az első után. Az ilyen fehérjékről a sztrómába kerülve az első tranzit peptid levágódik és így exponálódik a második tranzitpeptid, ami a külső membránokon való átjutáshoz hasonlóan biztosítja a tilakoidmembránon történő át jutást.



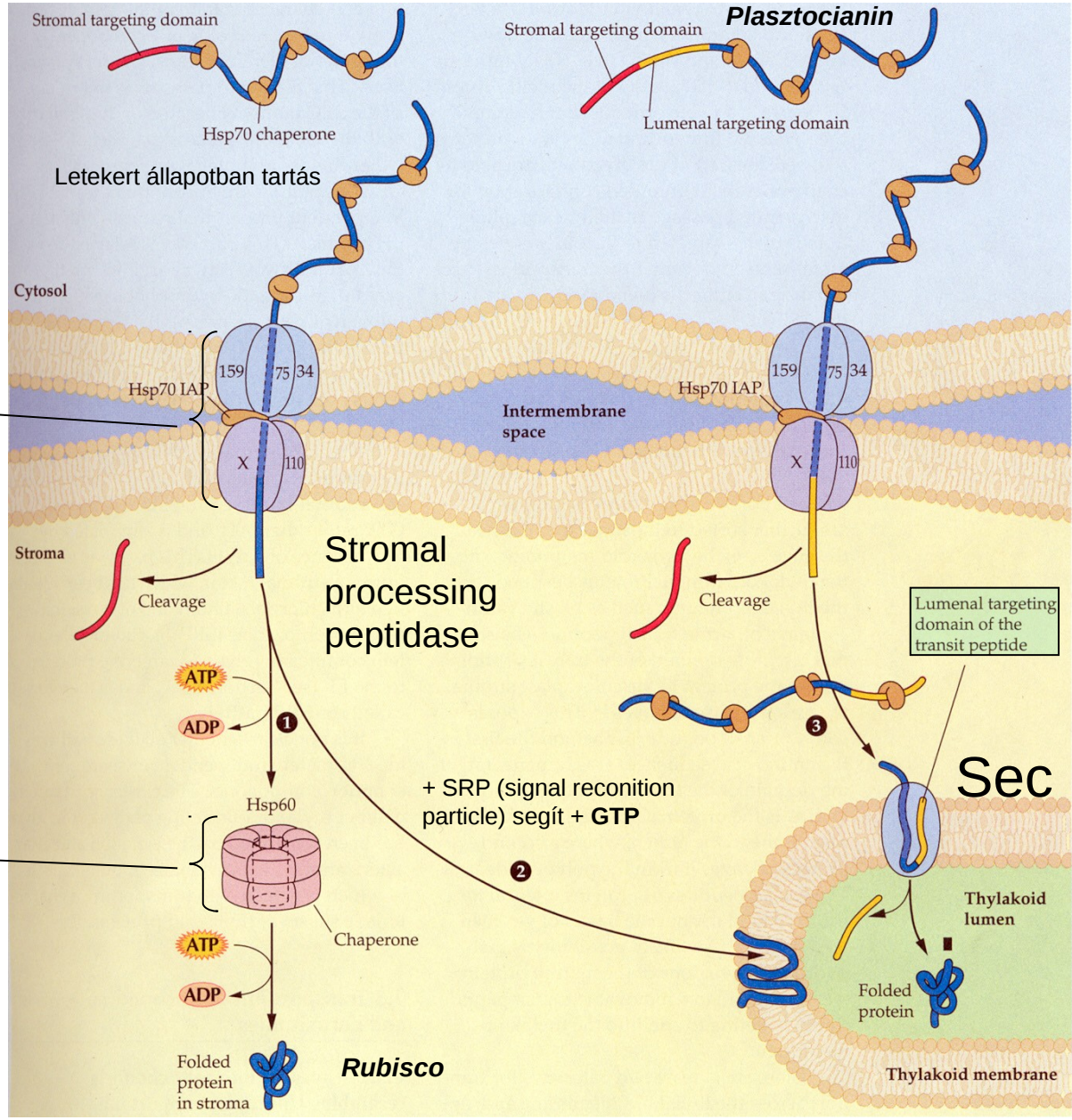
A szabad riboszómákon szintetizálódó fehérje tranzit peptid szekvenciával rendelkezik

Cél lehet: külső borítómembrán, belső borítómembrán, tilakoid membrán, sztróma, lumen, membránok közti tér.

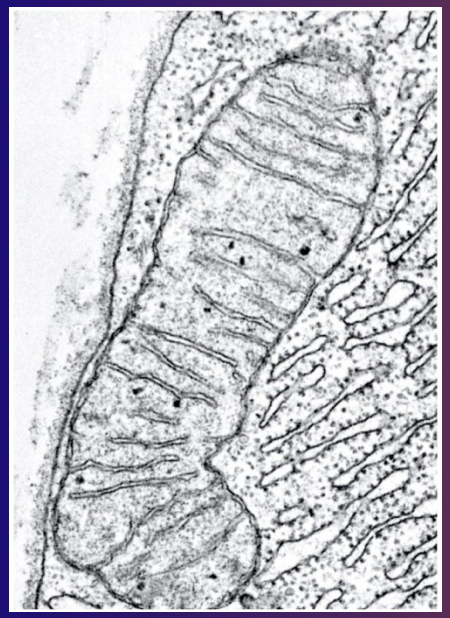
A bejutáshoz kívül és belül **chaperonok** kellenek, valamint a pórusképzésben résztvevő **protein import apparátus + energia** (nukleozid trifoszfátok)

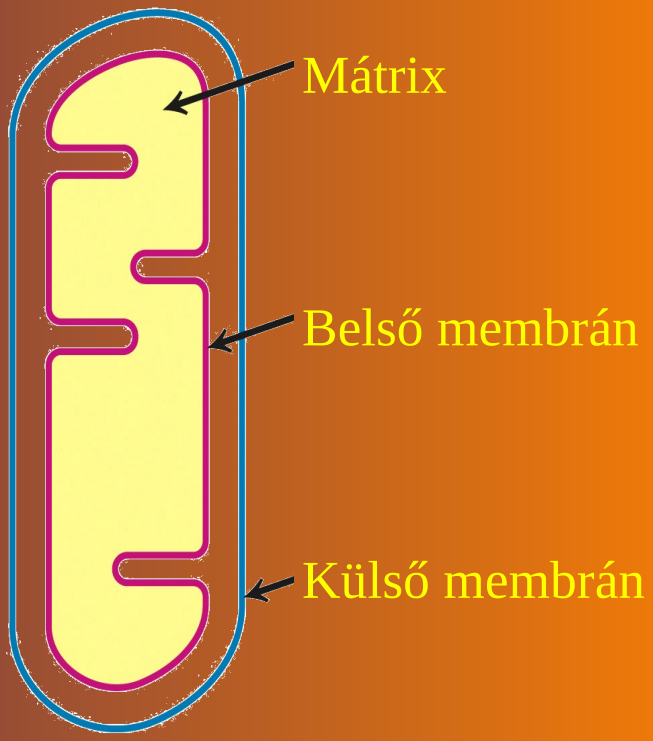
Áll: Toc (translocon of the outer envelope of the chloroplast), **Tic**. Toc34 és Toc159 specifikus **GTP**-kötő proteinek. Toc75 nem találtak funkciót, Hsp70 IAP (import intermediate-associated protein).
Tic110-et azonosították csak a belsőből.
A komplex összetétele a transzport alatt dinamikusan változhat.

Áll: Hsp60 és Hsp10, újratekerik a fehérjét, ATP-függő folyamat



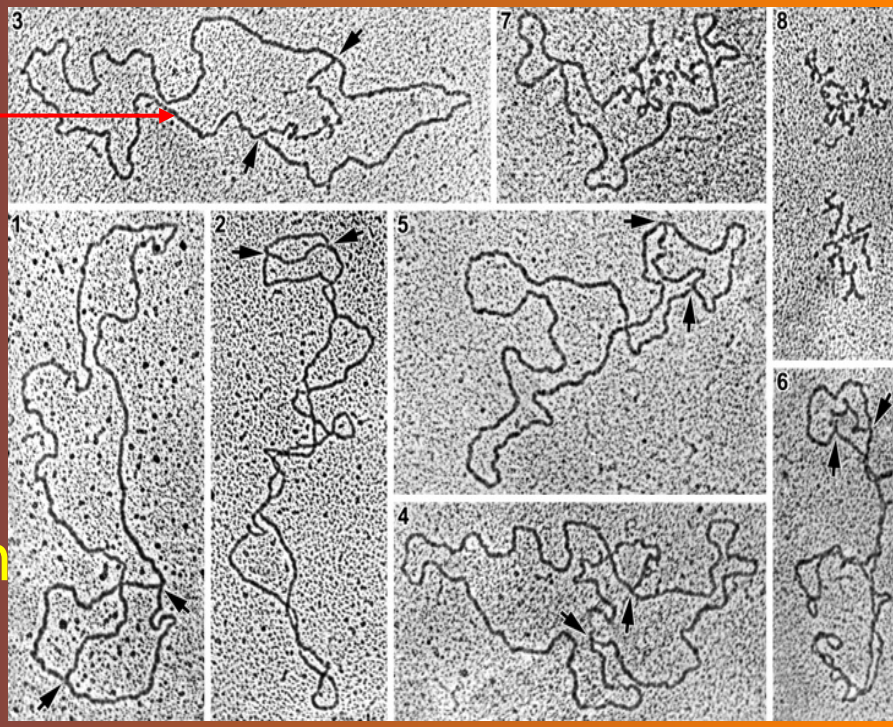
A mitokondriumok I.



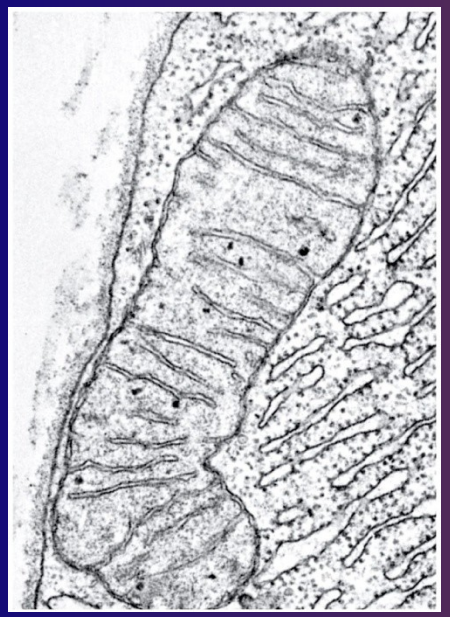


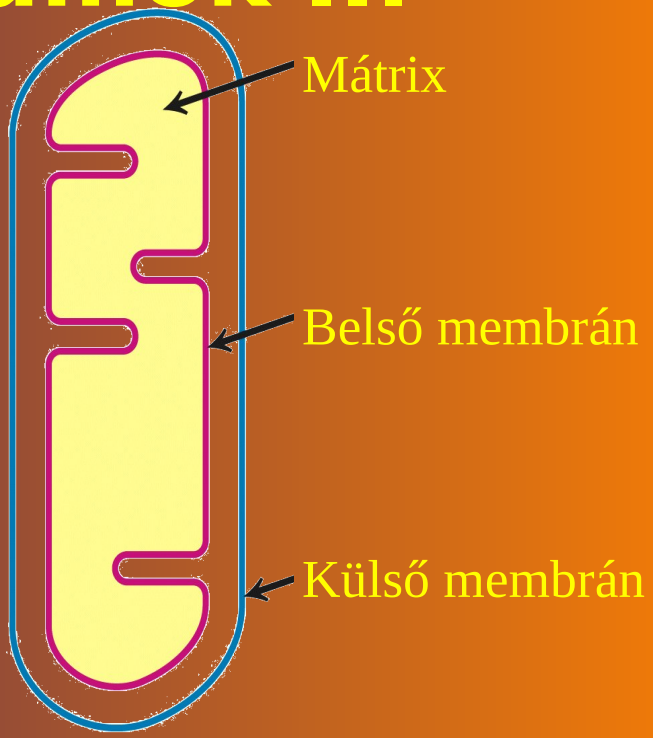
Az összes aerob eukarióta sejtben megtalálható organellumok, az eukarióta sejtek „energiatermelő központjai”.
Endoszimbiotikus eredetű organellumok saját cirkuláris genommal, fehérje szintetizáló apparátussal → A genom mérete nagyfokú változatosságot mutat az eukarióta világban.
A valószínűsíthető ős egy fotoszintetizáló bíborbaktérium lehetett, mely a szimbiózis során elveszítette fotoszintetizáló képességét.

- Mozgékonyak, képesek alakjukat változtatni
- mtDNS: magas mutációs ráta, kis méretű cirkuláris, több kópiában fordul elő
- Osztódás hasadással
- Legtöbb mitokondriális fehérje sejtmagban kódolt, de a miktokondrium mátrixban lévő riboszómákon is történik fehérjeszintézis (emberben 13 polipeptidlánc szintetizálódik)
- Fehérjeszintézis N-formilmetioninnal kezdődik



A mitokondriumok II.





Fontosabb funkcióik:

•a különféle folyamatok teljes, vagy részleges kompartmentálása;

•integritásuk fenntartása mellett a citoszol folyamataival való kapcsolat tartása;

•a mátrixban található a citrát körön kívül a piruvát-dehidrogenáz komplex, a zsírsav és aminosav oxidáció enzimei.

•belső membránrendszerük a terminális oxidáció és az oxidatív foszforiláció színhelye;

•DNS tartalmuk révén specifikus információ átadására, önreprodukcióra és részleges fehérjeszintézisre képesek.

•Ca-ion raktár; sejthalál folyamata; importált lipidek átalakítása kardiolipinné (mk belső membrán kis ionáteresztő tulajdonságáért felelős foszfolipid); szteroid bioszintézis; ammónia detoxikálás

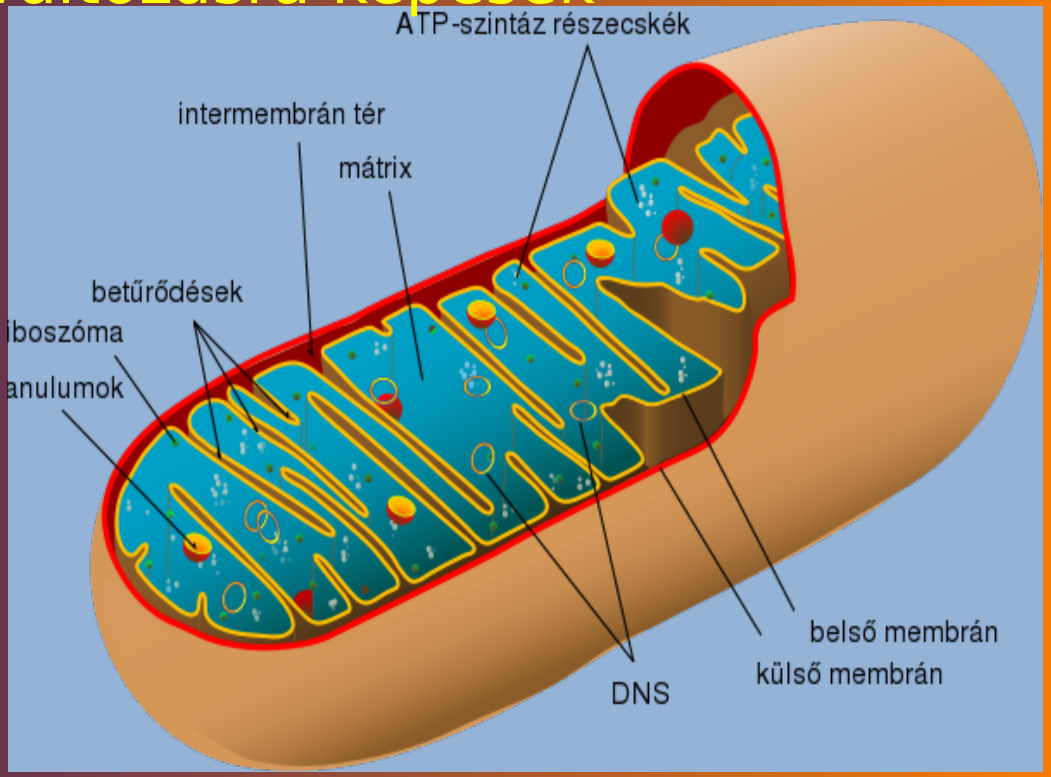
mitokondriumok III.

l = 2μm

d = 1μm

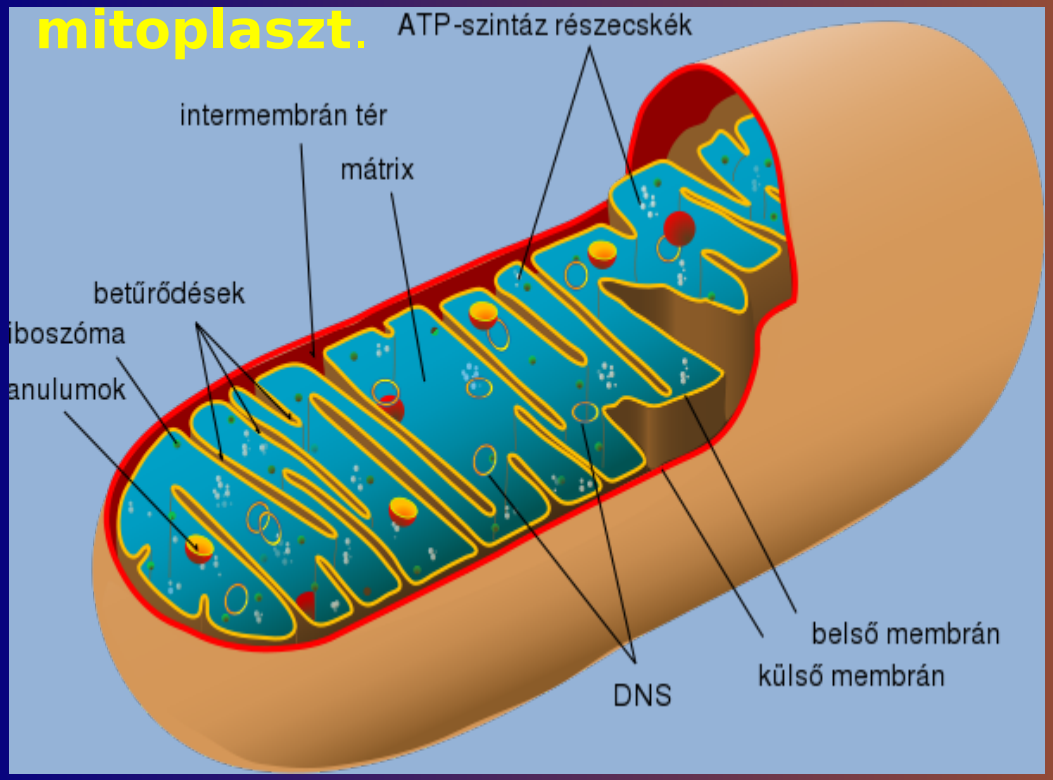
Az anyagcsere intenzitásától függően gyors méret és alakváltozásra képesek

Foszforwolframátos fixálás után a belső membrán matrix felé néző felszínén gömbszerű képletek ülnek, melyek nyéllel kapcsolódnak a membránhoz. Jelenlétüket sokáig vitatták, de mára megállapítást nyert



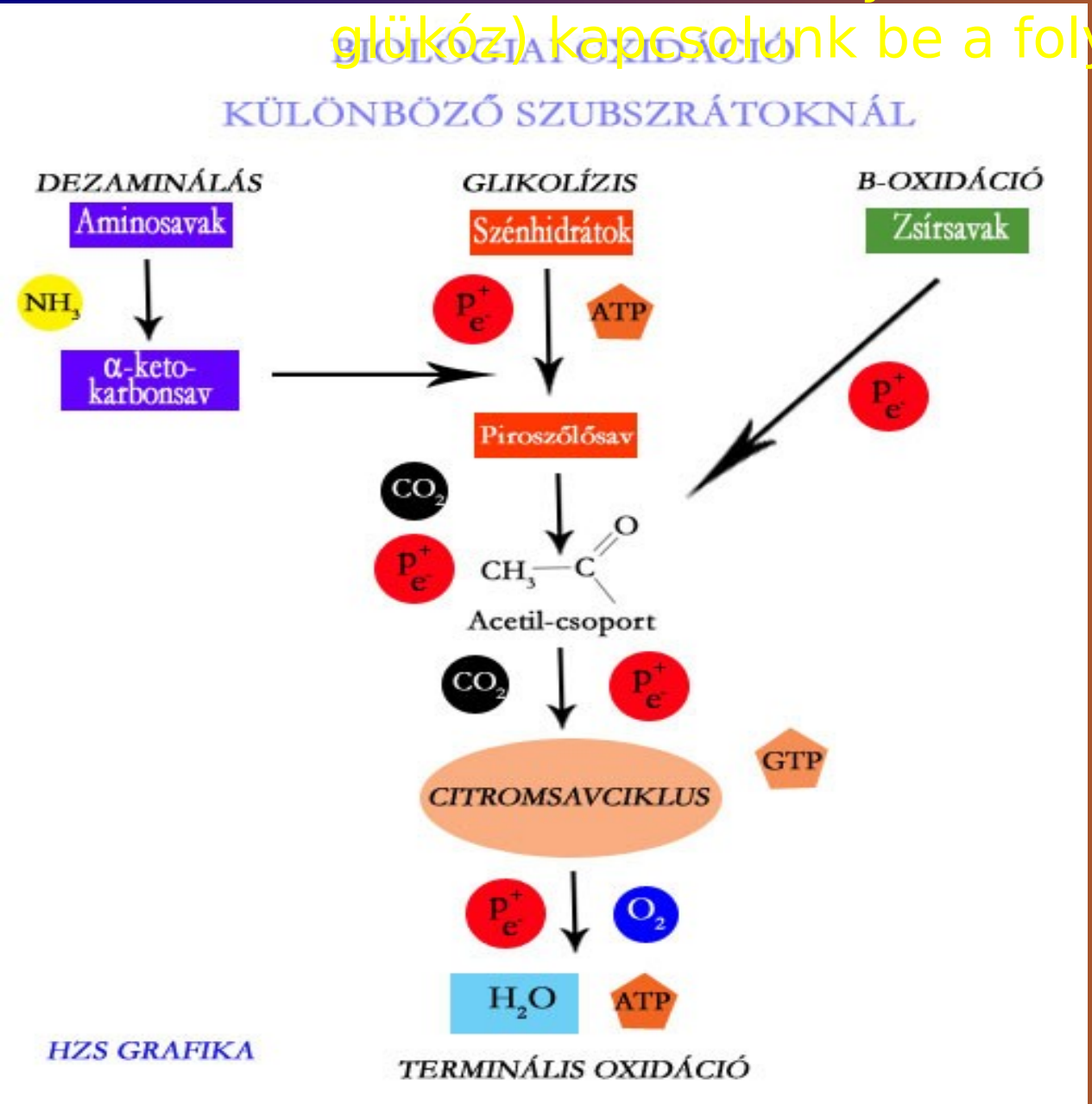
A mitokondriumok IV.

Sűrűséggradiens centrifugálással a külső, a belső membrán és a matrix izolálható és felépítésük vizsgálható.
Külső membrán: nagy lipid és koleszterol tartalmú.
Detergensekkel (digitonin) a mitokondriumról eltávolítható. A külső membrán leválasztása után visszamaradó rész a **mitoplaszt**.



A matrixban lokalizált a citromcasciklus teljes enzimrendszere, míg az belső membrán az elektrontranszportlánc a foszforilálás és a transzporfolymatok összes enzimrendszerét, ill. fehérjéit tartalmazza.

A biológiai oxidáció minden élő szervezetben 4 (2) fő szakaszra osztható, amennyiben szénhidrátokat (pl. glükóz) kapcsolunk be a folyamatba



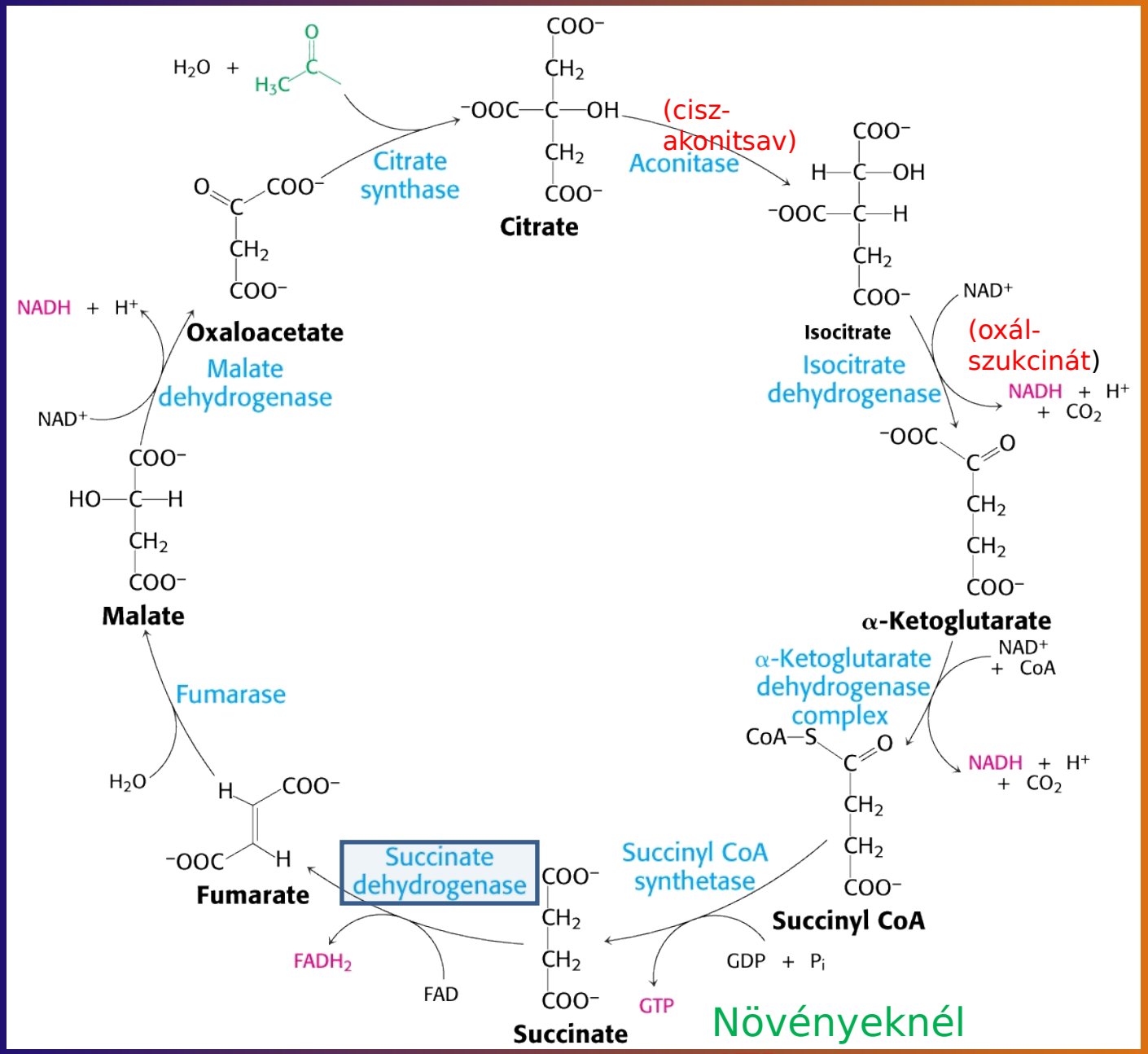
1. szakasz:
(Sejtplazma)
- Szénhidrátoknál: Glikolízis
- Aminosavaknál: Dezaminálás
- Zsírsavaknál: β-

2. szakasz:
A piruvát oxidatív dekarboxilezése

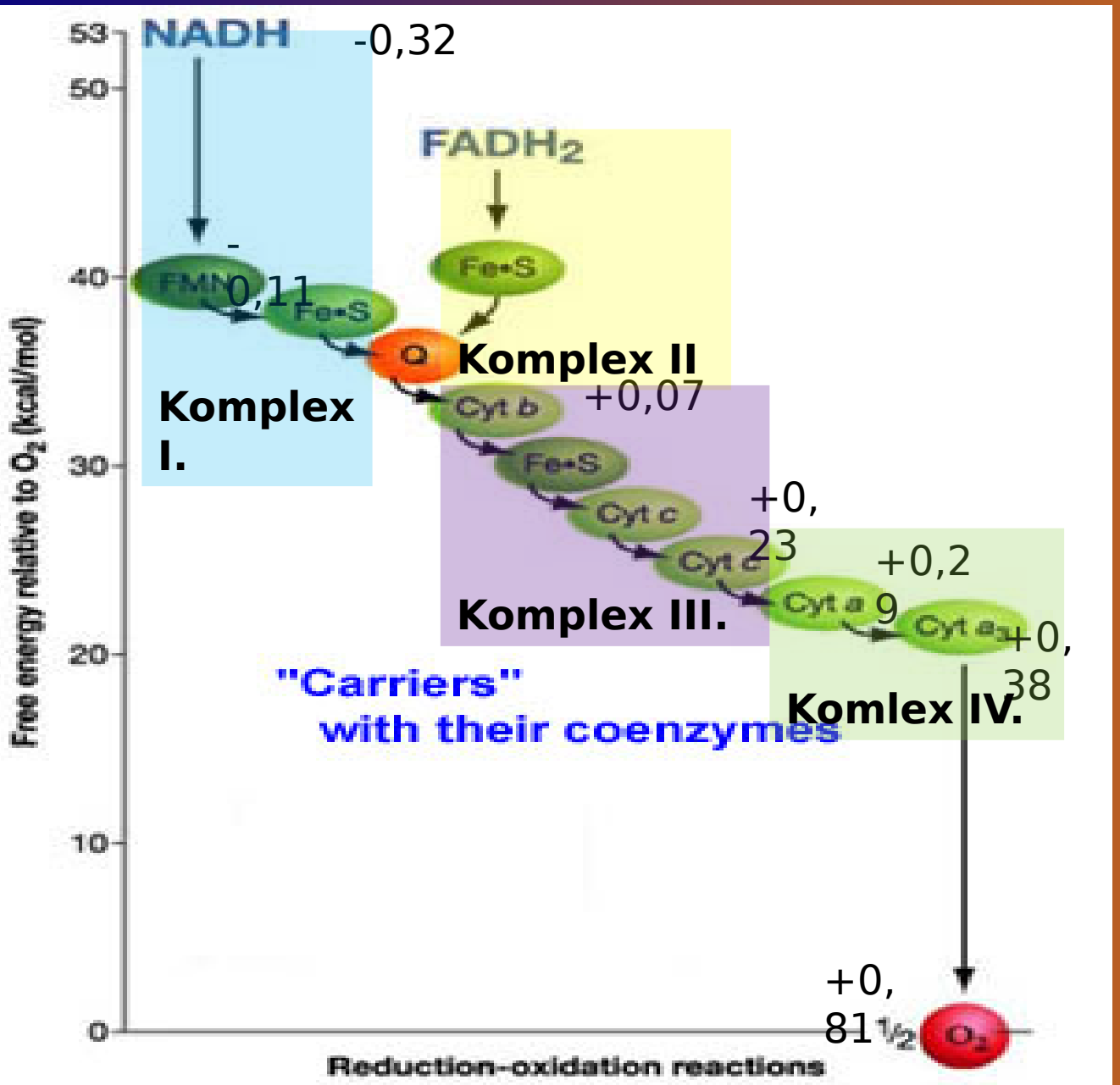
3. szakasz:
(Mitokondrium mátrix)
Citromsavciklus

4. szakasz:
(Mitokondrium belső membránja)
Terminális oxidáció, oxidatív foszforiláció

A citrát (Szent-Györgyi-Krebs) ciklus

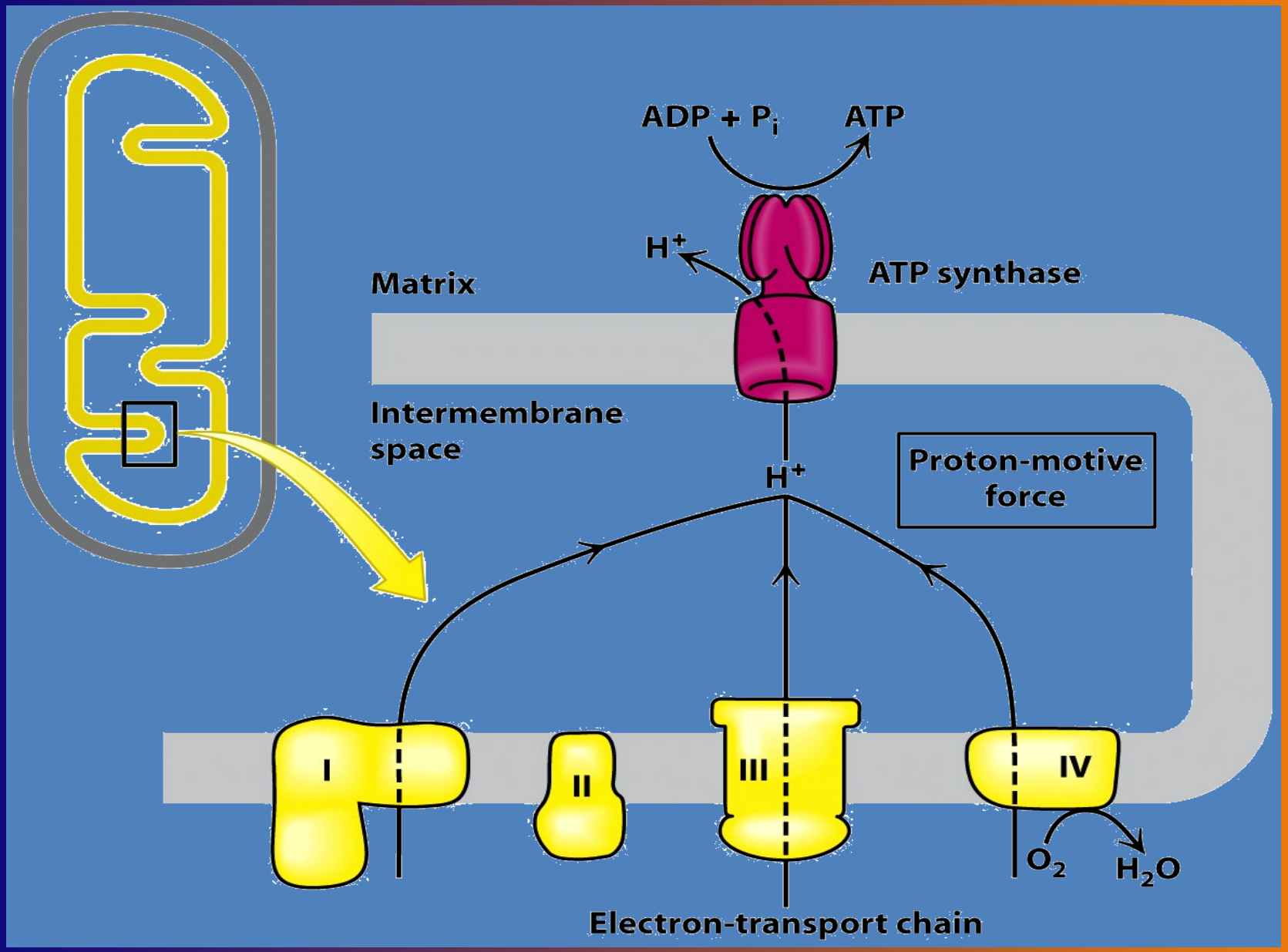


A mitokondriális elektrontranszport

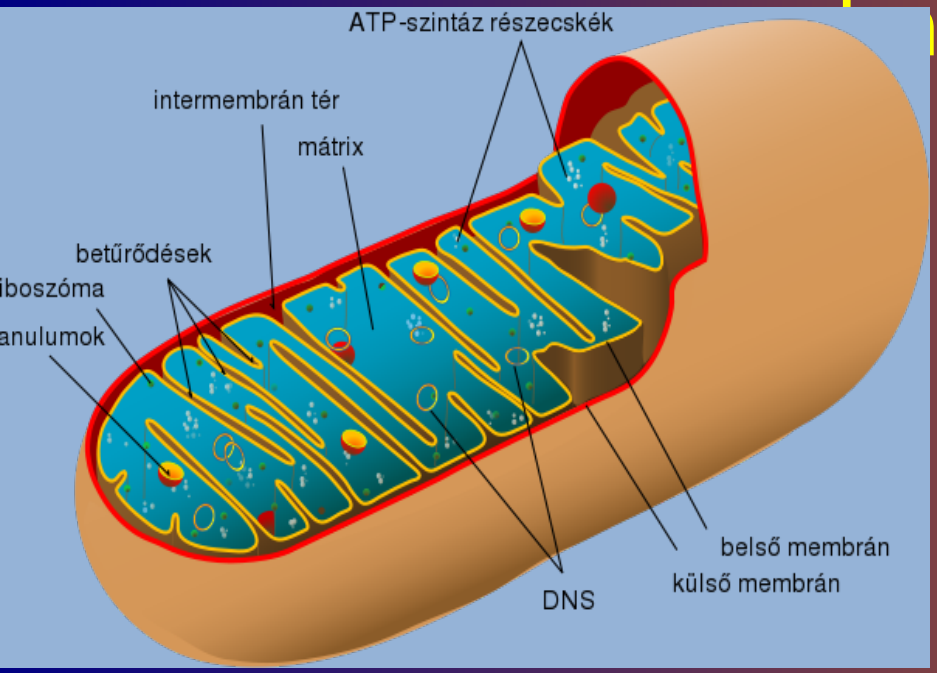


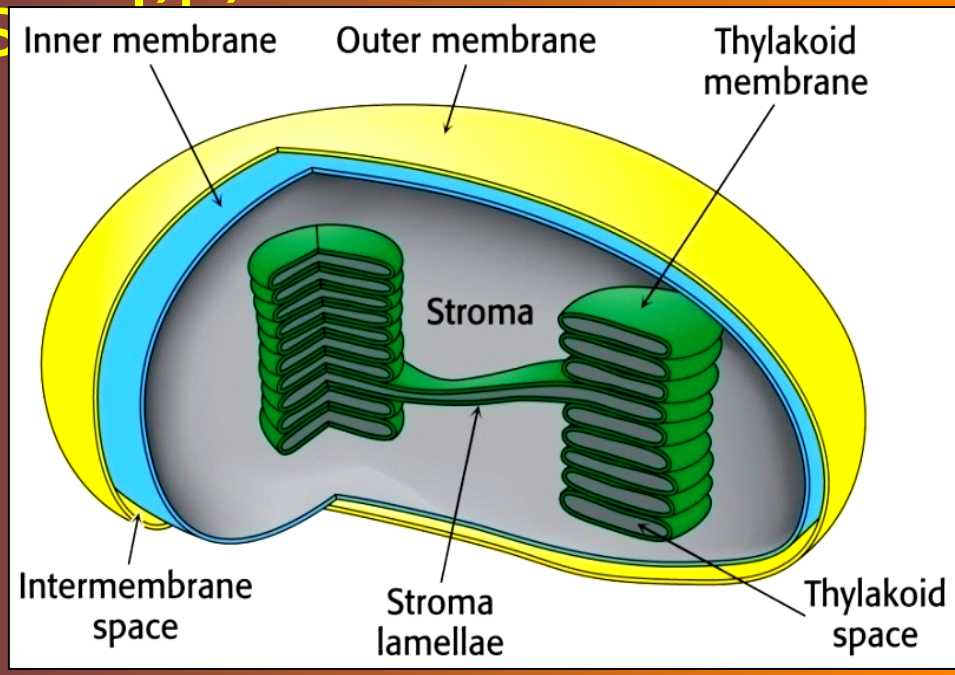
Az UQ *in vitro* redoxpotenciál ja nincs jelölve, mert az erősen pozitív (+0,7 V). Ez azonban nem jelenti azt, hogy *in vivo* ne változna. A sorrend megállapításá hoz gátlószerek is szükségesek!!

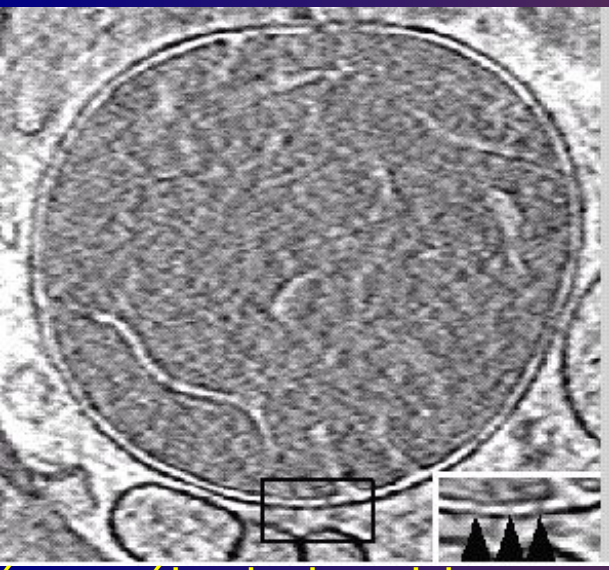
Az oxidatív foszforiláció lényege

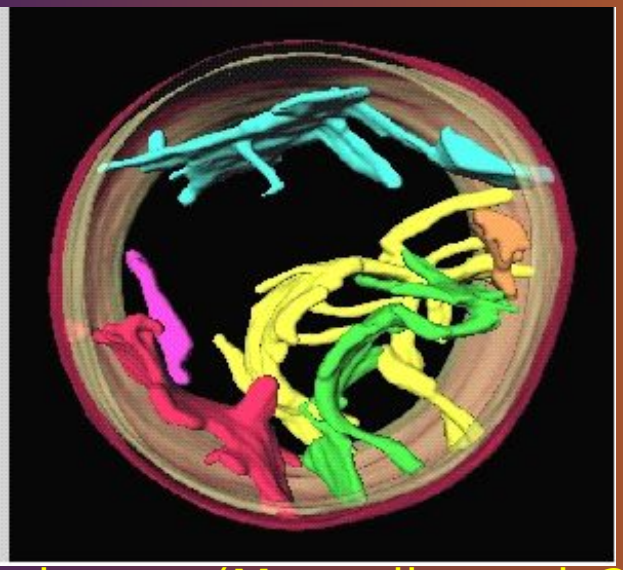


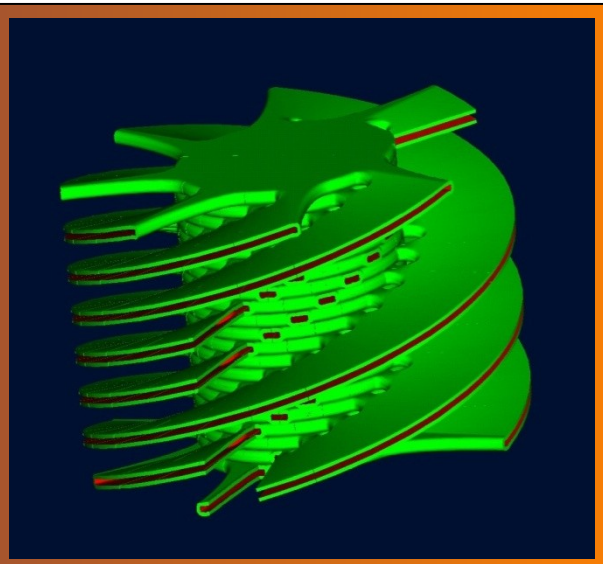
A mitokonrium és a kloroplasztisz











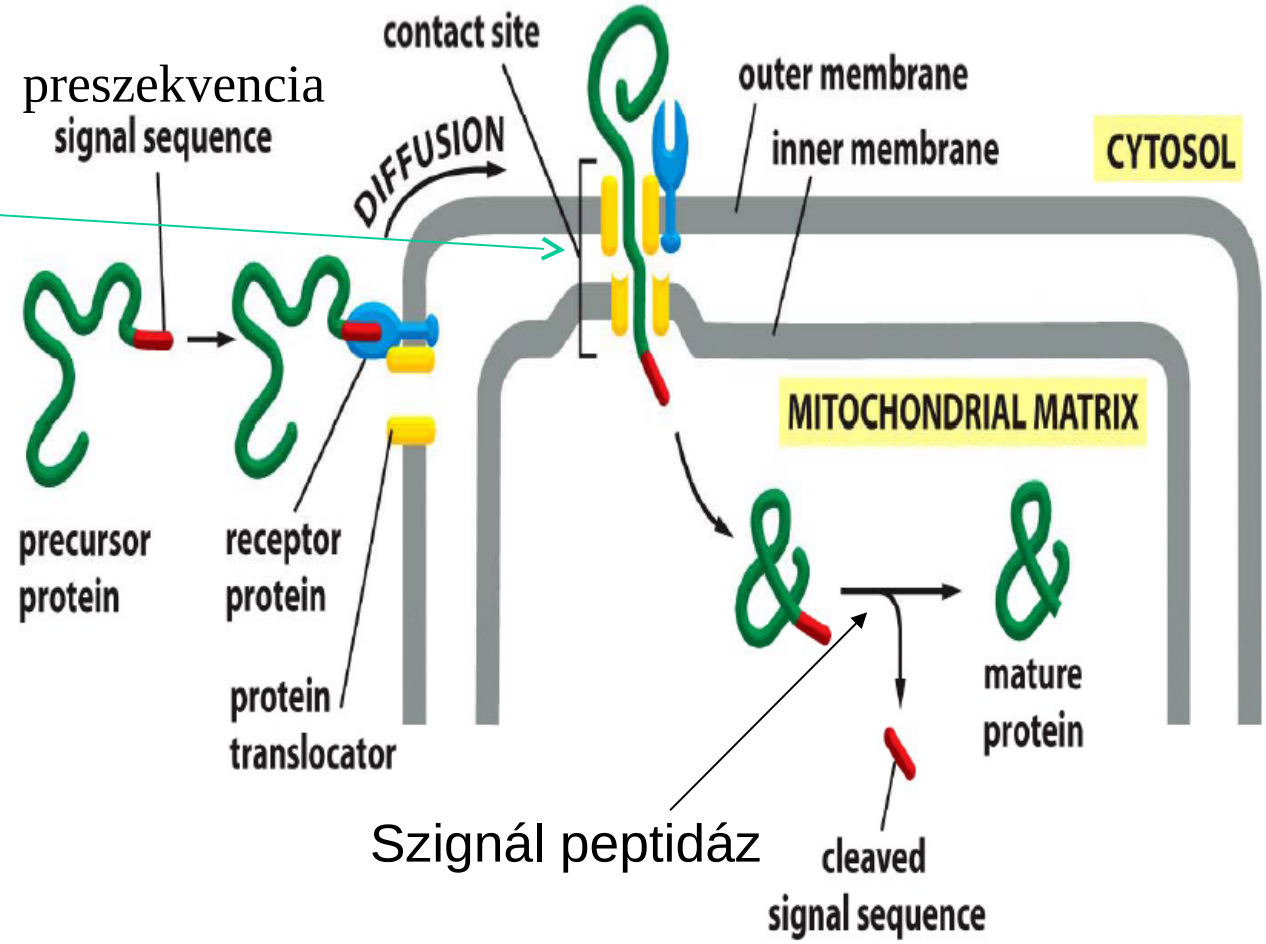
ány máj mitokondrium szerkezete (Mannella et al. 2001)

Mustárdy and Garab (TIPS, 2003)

Mitokondriális fehérjeimport

- Legtöbb mitokondriális fehérje a citoplazmában szintetizálódik
- Ezek a fehérjék mitokondriális lokalizációs szignállal (20-80 aminosav hosszúságú) rendelkeznek (fehérje N-terminális részén)

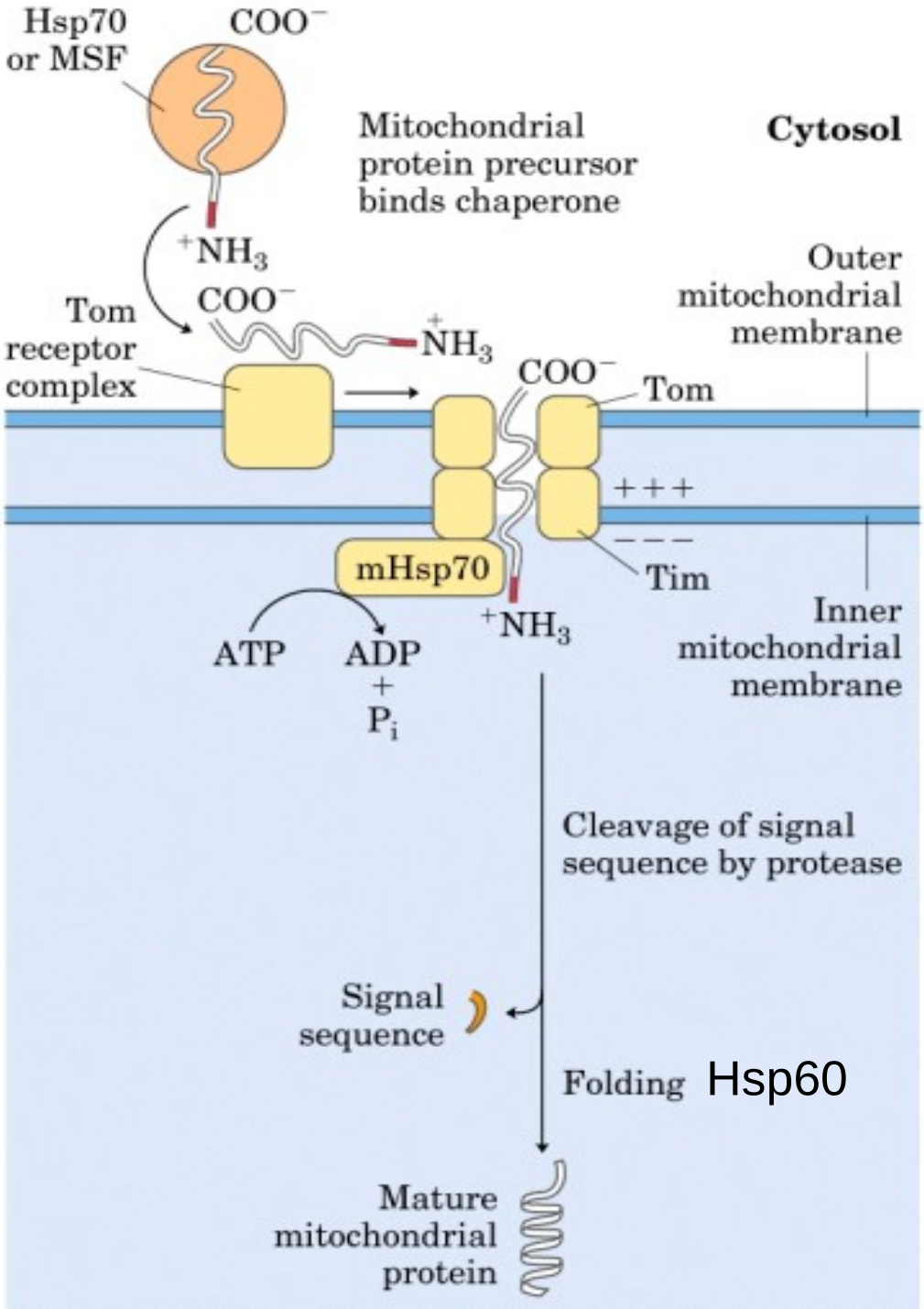
Kontakt hely: átmenetileg a két membrán összekapcsolódik (fehérjék csak itt jutnak át)



Mitokondriális fehérjetranszport

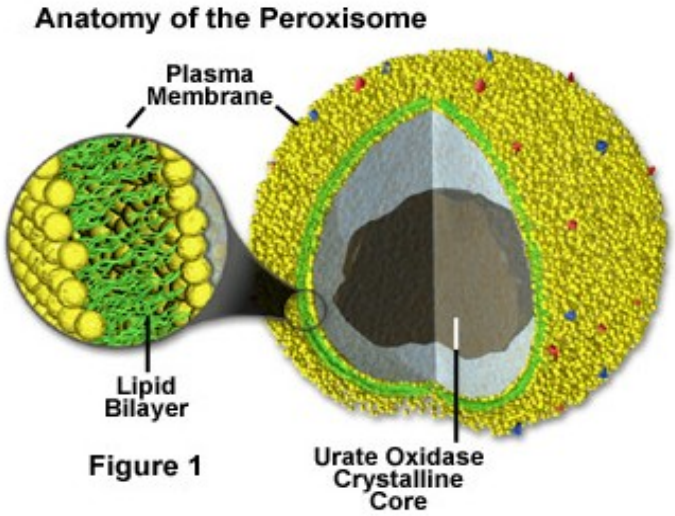
TOM: translocon outer membrane
TIM: translocon inner membrane
Chaperonok (Hsp=hősokk proteinek). Fehérjét kiegyenesített konformációban tartja, csak így történhet meg a szignál felismerése
mHsp (mitokondrium chaperon)
MSF = mitokondriális import stimuláló faktor

Ha a fehérjének a külső membránba vagy a két membrán közti térbe kell kerülnie, akkor csak a TOM-on halad át (start és stop transzfer)

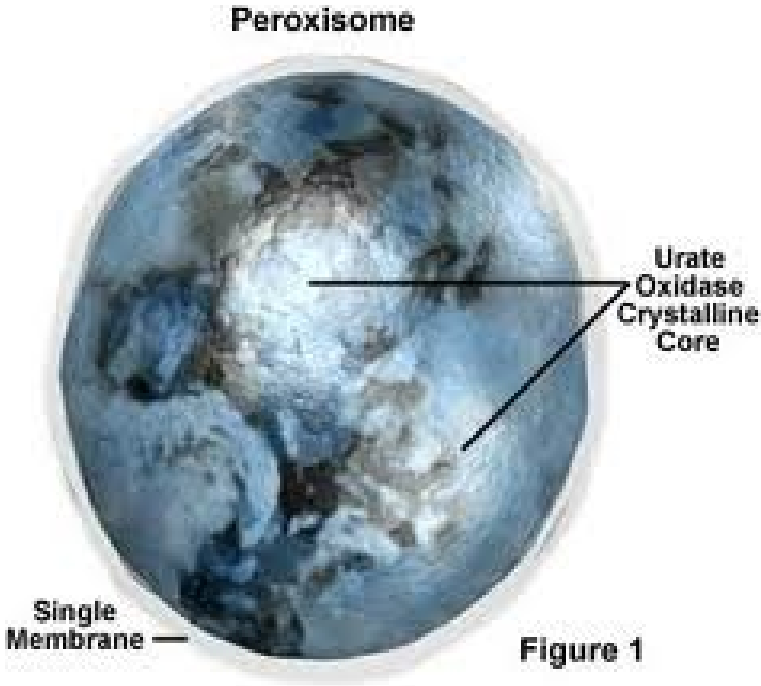


Peroxiszóma/Mikrotestek

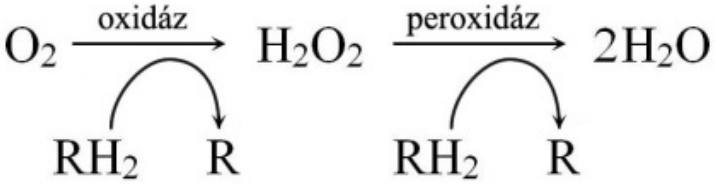
- Egyetlen membránnal körülvett 0,5 µm-es struktúra
- Leggyakrabban máj és vese sejtekben fordulnak elő
- Nincs DNS, se fehérjeszintetizáló apparátusuk
- Fehérjéi (**peroxinok**) a citoplazmatikus riboszómákon szintetizálódnak (peroxiszomális targeting szignál)
- Kettéosztódás: konstitutív és extracelluláris hatásokra
- Két jellegzetes enzime: húgysav-oxidáz, peroxidáz (az enzimeket sokszor olyan nagy mennyiségben tartalmazzák, hogy azok kikristályosodott formát (krisztalloidot) hoznak létre)
- Membránja ER-ből származik (ER-ből mikroperoxiszómák fűződnek le és egymással vagy egy másik peroxiszómával fúzionálnak)



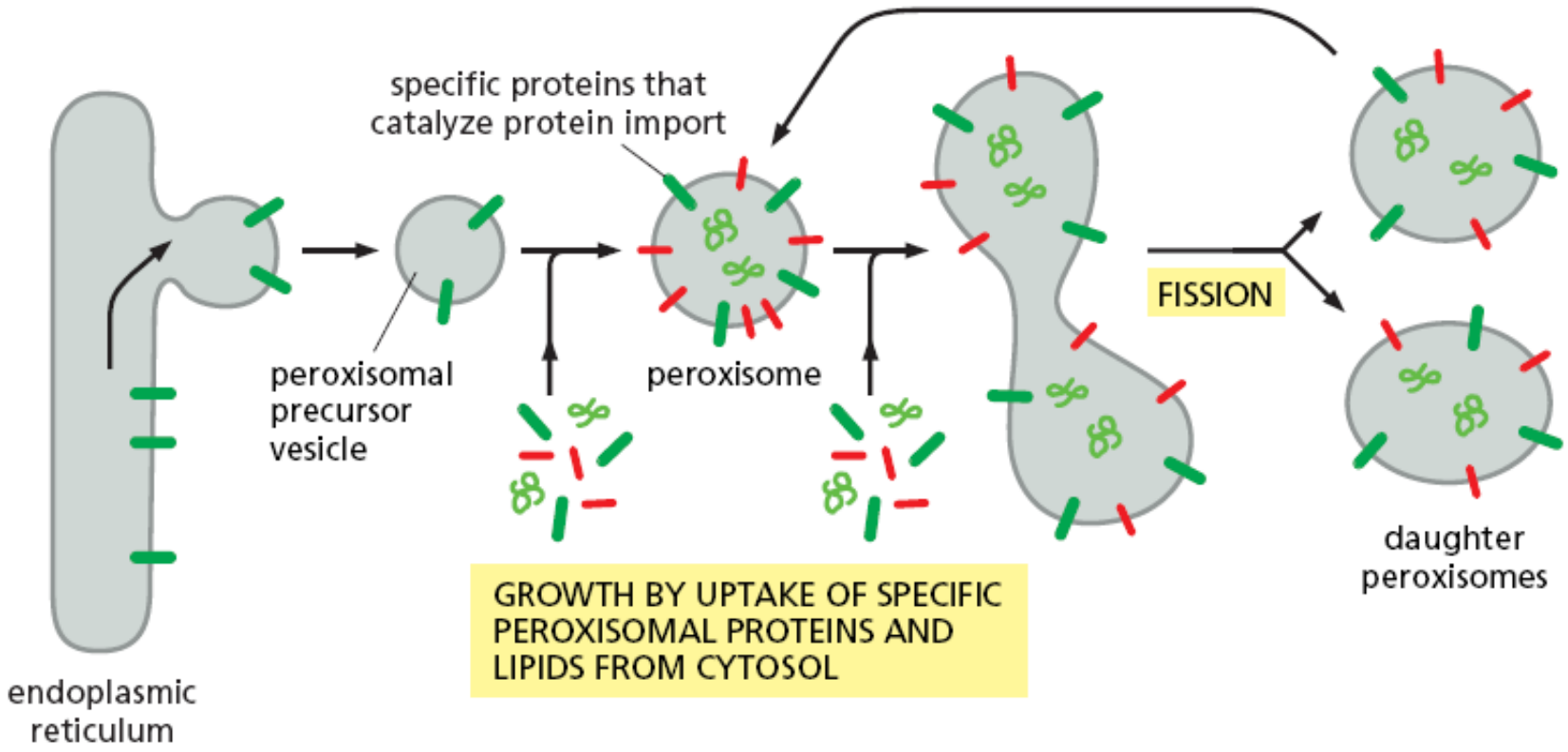
Peroxiszóma funkciója



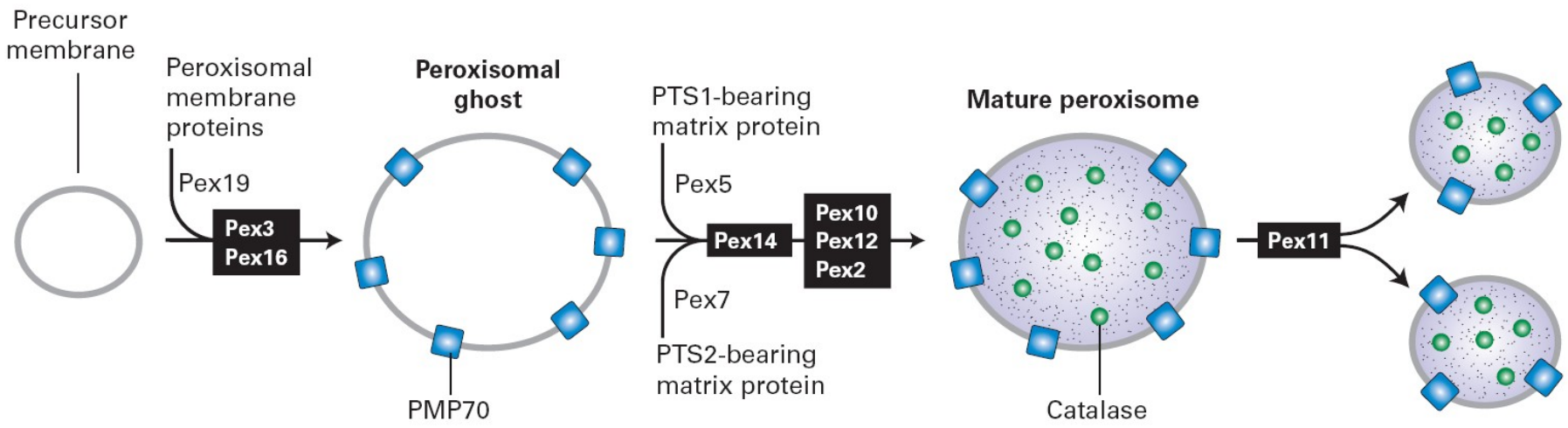
- Kataláz enzim: sejtkárosító hidrogén-peroxidot képes semlegesíteni → antioxidáns védelem
- Purinok, D-aminosavak, lipidek degradációja
- Lebontó reakciók során az energia hő formájában szabadul fel
- Szintézis: koleszterin, epesavak, telítetlen zsírsavak
- **Plazmalogén**: mielinhüvely foszfolipid, mely szintézisének első lépései itt történnek (peroxiszómákat érintő hibák idegrendszeri tünetekkel járnak)
- **Zellweger szindróma**: öröklődő betegség, egyik peroxiszómális membránfehérje hibája miatt „üresek”a peroxiszómák → súlyos máj, vese és



Peroxiszóma eredete



A peroxiszóma membrán körülveszi az üres peroxiszóma mátrixot → **Peroxiszóma membránfehérjéi beépülnek a membránba** → **A membránon keresztül újabb fehérjék importálódnak a mátrixba**



PTS=peroxiszómális targeting szignál

Peroxiszómális poszttranszlációs transzmembrán transzport

Kétféle **peroxiszómális targeting szignál** (PTS1 és PTS2)

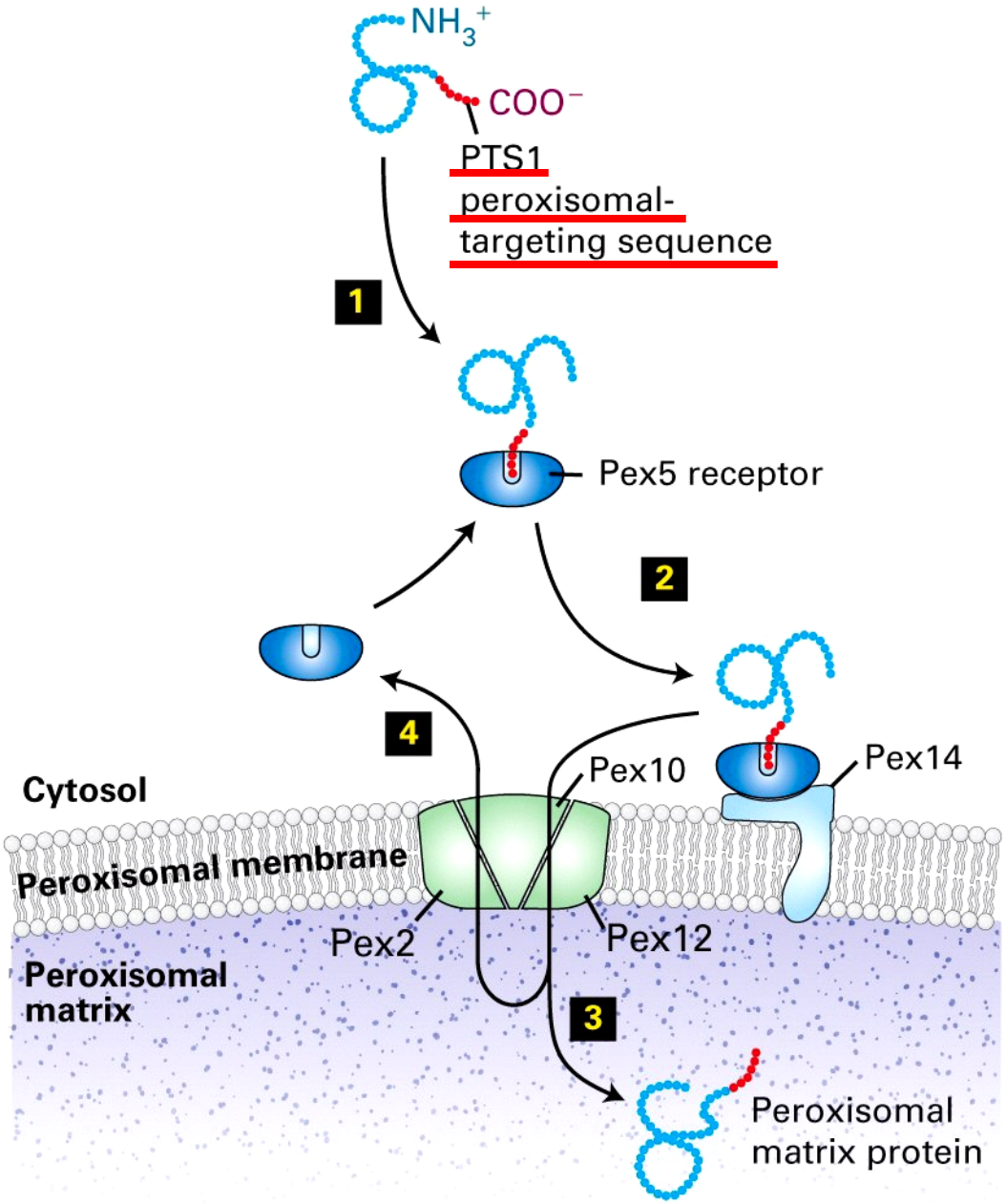
PTS1 – a C-terminálison van, tripeptid (Ser-Lys-Leu; SKL) a peroxiszómális mátrix felé vezet

PTS2 – az N-terminálison van, levágódik róla, a peroxiszómális mátrix felé vezet
ATP kell a bejutáshoz, chaperonok nem biztos, ez jelenleg kutatott!

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	$^{+}H_3N$-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	$^{+}H_3N$-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO^-
Import into ER	$^{+}H_3N$-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO^-

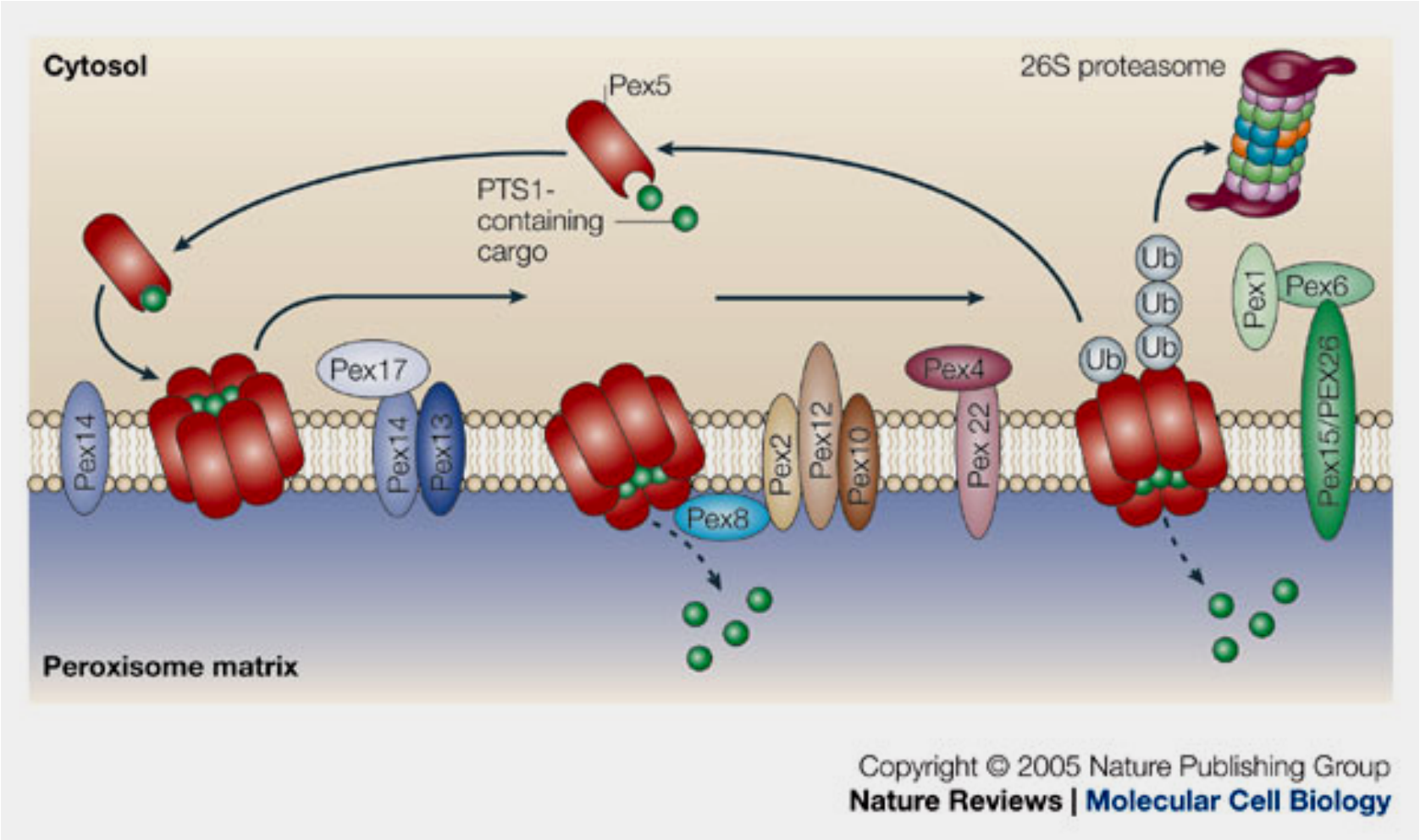
Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in *red* and negatively charged amino acids are shown in *green*. Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in *yellow* and hydroxylated amino acids are shown in *blue*. $^{+}H_3N$ indicates the N-terminus of a protein; COO^- indicates the C-terminus.

A peroxiszóma mátrix fehérjéinek transzportja



Pex = peroxinok

A peroxiszómák felszínén mint *citoszol receptorok* vagy *dokkoló fehérjék* működnek



Pex5:

Membránba integrálódik (peroxiszómális transzlokon része)

Pex8 fehérjén keresztül RING (Pex2,12,10) peroxinokhoz kapcsolódik

A szállított fehérjét elengedi

Receptor removel/recycling (mono- vagy poliubiquitin)