

A PLAZMA-MEMBRÁNOK KÉMIAI SZERKEZETE

SZÁSZ ILMA

Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet,

Budapest

Plazma-membránnak nevezzük a sejtek felszínét borító határréteget, amelynek vastagságát a legtöbb szerző 30–100 Å-nyire becsüli. A plazma-membrán preparálásához kiindulási forrásul leggyakrabban a vörösvérsejteket, ideg- és agyszövetet, vesét, izmot, májsejteket, tumorsejteket stb. használnak. A vörösvérsejtből történő plazma-membrán izolálási vizsgálatok igazolták, hogy a megfelelő kinyeréshez optimális ionerőt és pH-t (pl. 0,02 M foszfát-puffer, pH 7,4, DODGE et al., 1963) kell alkalmazni. Alacsonyabb ionerő vagy magasabb pH mellett a membrán fragmentálódik és „szimmetrikus” (az eredeti membrán fehérje- és lipid-összetételének megfelelő) anyagvesztés lép fel. Ca^{2+} -kelátorok, hipertóniás sóoldat, detergensnek hatására az eredeti struktúra megbomlik és „aszimmetrikus” anyagvesztés lép fel. A membránok kémiai összetételének vizsgálatához tehát csak megfelelően preparált membránok használhatók fel.

A membrán kémiai összetétele

A plazma-membrán fő összetevői: fehérje, lipid, szénhidrát és víz. A speciálisan adaptálódott myelinhévely membrán kivételével, amelynek lipid-tartalma igen magas, a különböző plazma-membránokban a fehérje és lipid mennyisége nagyjából hasonló. DODGE és munkatársai (1963) adatai szerint pl. a vörösvérsejt-membrán szárazanyagának összetétele a következő:

fehérje	40–48%
lipid	35–45%
szénhidrát	10–15%

A. Lipidek

A plazma-membránok lipid összetételére nézve sokkal több adat áll rendelkezésre, mint a másik fő alkotórészre, a fehérjére vonatkozóan (VAN DEENEN, DE GIER, 1964). Nagy általánosságban a foszfolipid és a koleszterin

százalékos aránya megközelítőleg azonos a magasabbrendű szervezetekben. Feltételezhető, hogy a koleszterin a foszfolipidek zsírsav-láncával kötődve a membrán stabilitását és a lipoidok „folyékony” állapotát elősegíti. Baktériumok plazma-membránjainak összetétele a fent vázoltaktól nagymértékben eltérhet. A koleszterin és szénhidrát teljesen hiányozhat a membránból, és a lipidek folyékony-sága az esszenciális zsírsavak megfelelő arányú szintézise és membránba épülése révén biztosított. A magasabbrendű élőlények különböző speciei között már csak kisebb mérvű ingadozás észlelhető a komponensek arányában. A zsírsavösszetétel az élőlény életkörülményeivel (hőmérséklet) és a diétával változik, úgy, hogy az adott hőmérsékleten folyékony (viszkó-zus) lipidek épüljenek a membránba, amelyek a „natív” fehérjékkel kapcsolódva plasztikus, elasztikus, mobilis szerkezetet hoznak létre. A zsírsavak természete megszabja a lipid-lipid, lipid-fehérje kölcsönhatásokat is. Pl. a telített zsírsavak affinitása egymáshoz nagyobb, a telítetlenek (pl. α -linolen-sav) a helikális fehérjék NCO-kötéseivel illeszkednek jól (BENSON, 1968).

A membrán lipidjei a környezet lipidjeivel kölcsönhatásban állva cserélődnek. Emberi vörösvérsejtekben pl. 12 óra alatt a koleszterin 85–100%-a, a lecitin 7%-a cserélődik ki (VAN DEENEN, DE GIER, 1964).

Emberi plazma-membránban neutrális zsír, szabad zsírsav és koleszterin-észter nem található. A foszfolipid : koleszterin : glikolipid aránya = 4:3:0,5. Az egyes összetevők finomabb analízise membrán fajtánként jellegzetes eltérésért mutat, ami nyilvánvalóan a különböző funkcióval van összefüggésben.

A plazma-membránban előforduló lipidek a következőképpen osztályozhatók:

1. Foszfátidok

Ide tartoznak a *lecitinek*, amelyek a háromértékű alkoholnak, a glicerinnek 2 zsírsavval és 1 foszforsavval képezett észterei és ahol a foszforsav egyik OH-csoportjához még kolin bázis kapcsolódik. A *kefalinok* az előbbiektől abban különböznek, hogy bennük a bázis nem kolin, hanem kolamin. A *plazmalogének* az előbbi vegyületektől abban térnek el, hogy bennük az egyik zsírsav helyét aldehid foglalja el. A *szerinfoszfátidokban* a glicerin, 2 zsírsav és 1 foszforsav mellett egy aminosav, a szerin kötődik a foszforsavhoz. A *szfingomieli-
nekben* a glicerin helyét egy aminoalkohol a szfingozin foglalja el, egy molekula zsírsav ennek aminos csoportjához csatlakozik, míg az alkoholos OH kolin-foszfáthoz kötődik. Az *inozít-foszfátidok* felépítésében a glicerin, 2 zsírsav és 1 foszforsav mellett (a foszforsavhoz csatlakozva) egy aliciklusos polialkohol, az inozit vesz részt (monofoszfoinozitid). Az inozit alkoholos OH csoportjaihoz további foszfátok kötődhetnek (difoszfoinozitid, trifoszfoinozitid). Nem alkotórészként, hanem intermedierként fordulnak elő nyomnyi mennyiségben a foszfátidsavak (glicerinnek 2 zsírsavval és 1 foszforsavval alkotott észterei)

és a lecitinek, kefalinok l zsírsav lehasadása után keletkező monoacil származékai: a *lizolecitinek*, *lizokefalinok* (foszfolipáz A hatására is ez a származék keletkezik).

A foszfatidok közül a lecitin és kefalin ún. ikerionos vegyületek (negatív töltésű foszfát és pozitív töltésű bázikus csoportokkal), míg a szfingomielinek semleges pH-n netto negatív töltést mutatnak. Az ikerionos foszfatidok és a szfingomielinek aránya különböző funkciójú membránokban erősen eltérő. A negatív töltésű foszfát-csoportok, valamint a disszociábilis COOH-csoporttal rendelkező szerinfoszfatidok a membrán permeabilitásában, elaszticitásában, adhezivitásában jelentős szerepet játszó Ca^{2+} -mal, valamint ezzel kompetícióban, pozitív töltésű fehérjékkel ionos kapcsolatot létesíthetnek. Semleges pH tartományban a Ca^{2+} ill. fehérjekötőképesség különösen nagy változásokat mutathat szerinfoszfatidák és foszfoinozitok esetében. A trifoszfoinozitok foszfát-kötései egyben igen labilisak is és foszfomonoészteráz enzim hatására hidrolizálnak. Ennek alapján KAI és HAWTHORNE (1969) feltételezik, hogy ingerlékeny membránok permeabilitási kísérletek alapján „closed” ill. „open” fogalmakkal megkülönböztetett két struktúrállapotát éppen e Ca^{2+} kötések, ill. ilyen kötésben levő Ca^{2+} -ok „release”-e befolyásolja.

2. Neutrális lipidek

Ebbe a csoportba sorolható a plazma-membrán alkotórészei közül a *koleszterin*.

3. Glikolipidek

A zsírsavval kapcsolt szfingozin szénhidrát komponensekkel (oligo-, ill. poliszaharidokhoz) kötődik (l. szénhidrátok).

B. Fehérjék

A plazma-membránok fehérje komponenseit sokkal kevésbé tudjuk jellemezni, mint a lipoid összetevőket. Jorpes 1932-ben leírt stromatin-ja, Calvin 1946-ban izolált elinin-je és stromatin-ja, MOSKOWITZ és CALVIN (1952) frakciói (stromin, S-protein, elinin, stromatin) műtermékeknek bizonyultak. GREEN és munkatársainak (1961) „struktúrfhérje” koncepciója, mely szerint a membrán mintegy 20 enzimén kívül, enzimatikusan inaktív, fiziológiás pH-n oldhatatlan, csak detergenssekkel szolubilizálható, magas hidrofób aminosav és α -helix tartalmú, diszulfid-hidakkal nem stabilizált, 10 000–30 000 mol-súlyú alegységekből álló struktúrfhérjék alkotnák a membrán vázát, nem sikerült megerősíteni.

MARCHESI és munkatársai (MARCHESI, PALADE, 1967; MARCHESI, STEERS, 1968) Ca^{2+} -kelátorok alkalmazásával egy jól definiálható fehérjét izoláltak a

vörösvérsejt membránból, melyet spektrinnek neveztek el. Ez a fehérje a membrán-fehérjék mintegy 10–20%-át képezi. Alacsony ionerősségen oldható, 0,5 mM ATP és 0,1–1 mM Mg^{2+} vagy Ca^{2+} jelenlétében 40–60 Å hosszú csavart filamentumokká rendeződik, amelyek az aktin filamentumaihoz nagyon hasonlóak. Immunológiai módon azonban a spektrin az aktintól eltérő fehérjének bizonyult és a miozin ATPáz aktivitását sem befolyásolja az aktinhoz hasonló módon. Kezeletlen és Ca^{2+} -kelátorral extrahált vörösvérsejt ghostok elektronmikroszkópos képeinek különbözősége alapján feltételezhető, hogy a spektrin-filamentumok a membrán belső felszínén tangenciálisan rendeződve helyezkednek el.

ROSENBERG és GUIDOTTI (1969) továbbfejlesztették a vörösvérsejt membránfehérjék szeparálási lehetőségeit. A spektrin frakció kivonása után 0,8 M NaCl-dal a membránfehérjék mintegy 40%-át tudták szolubilizálni, majd ezt követő organikus oldószerkezeléssel további 10%-ot. Teljes szolubilizálást csak egy további detergens kezeléssel sikerült elérni. Ez az utóbbi frakció gélszűrővel, kromatográfiával, keményítő- és akrilamidgél-elektroforézissel további mintegy 10 frakcióra volt bontható. Ezek molekulásúlya 30 000–240 000 között változott. Funkcionális jelentőségük még ismeretlen.

ZÄHLERNEK (1968) sikerült a detergennel teljesen szolubilizált vörösvérsejt-membrán fehérjéit és lipidjeit gélszűrővel izolálni. A két fő alkotórész rekombinálható volt és elektronmikroszkóposan a kiinduló membránnak megfelelő képet adott. ABH vércsoport tulajdonságait is megőrizte, vizsgált enzimaktivitásai (acetilkolinészteráz, alkálikus foszfatáz) és Rh(D) antigenitása azonban a kezelés során tönkrement.

A membrán enzimaktivitással rendelkező fehérjéket is tartalmaz. Fel-színes elhelyezkedésű az acetilkolinészteráz, míg valószínűleg radiálisan (vektoriálisan) hidalja át a membrán szélességét az ún. transzport ATPáz. Egyéb ATPázok, adenilátcikláz, nukleozidfoszforiláz stb. jellegzetes membrán-enzimek. A citoplazma enzimeit közül számos enzim (pl. a glikolitikus lánc tagjai) a membránhoz kötődve is megtalálhatók.

C. Szénhidrátok

A főbb szénhidrát építőkövek a plazma-membránban a glukóz, galaktóz, N-acetilglukózamin, N-acetilgalaktózamin, a fukóz és a szíálsav. Ezek mukopoliszaharidként peptidekhez, fehérjéhez kapcsolódhatnak vagy, mint már említettük, szfingozinhoz kötődve a glikolipid frakcióban jelennek meg. A szíálsav mindig a membrán külső felszínén foglal helyet peptidekhez kapcsolódva, és biztosítja a membránfelület negatív elektromos töltését fiziológiás pH-n. Az M és N antigének, ill. influenza vírus receptor szintén ebben a frakcióban fordulnak elő. Az intercelluláris kapcsolatokat befolyásoló negatív töltés mellett a felszíni elhelyezkedésű mukopoliszaharidoknak valószínűleg az epithel

védelmében van szerepük. A vörösvérsejtekben a glikolipid frakcióban foglal helyet az ABH vércsoportrendszer. A vércsoportok szerepét a membránban nem ismerjük, de egyes vizsgálatok szerint úgy látszik, hogy struktúra-szabályozó szerepük is van. TOSTESON és munkatársai ui. LK (low potassium) típusú birka-vörösvérsejteken kimutatták, hogy az embrionálisan aktív transzport ATPázal rendelkező vörösvérsejtekben az *m* vércsoport-antigén kifejlődése az enzim aktivitását gátolja. Az enzim azonban nem épül le, hanem megmarad a membránban, a sejteket anti-*m* ellenanyaggal reagáltatva ui. a transzport ATPáz ismét reaktiválódik. Ez az adat az *m* birkavércsoport-antigén és a transzport ATPáz enzim szoros kapcsolatára utal a membránban (TOSTESON, 1971).

A membránok feltételezett szerkezete, membránmodellek

A plazma-membrán fő építőanyagai, a fehérjék és lipidek egyes kutatók szerint lamelláris, mások szerint mozaik struktúrában rendeződnek el a membránban. Ez az alapvető kérdés még ma sem tekinthető eldöntöttnek.

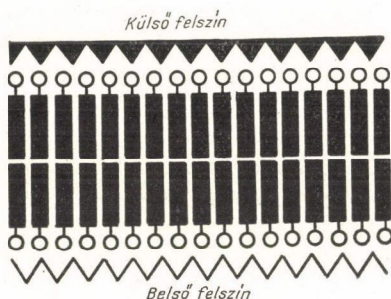
Az első, széles körben elfogadott membránmodell lamelláris struktúrát tételezett fel. DANIELLI és DAVSON (1935) vetették fel az elképzelést azon eredmények alapján, hogy a vörösvérsejt-membrán lipidjei a sejt felszín mintegy kétszeresét tudnák beborítani (GORTER, GREDEL, 1925) és a membrán nagy elektromos kapacitással, de alacsony felületi feszültséggel rendelkezik. ROBERTSON (1960) elektronmikroszkóposan kimutatva a Davson és Danielli által feltételezett trilamináris képet és összevetve más optikai módszerek (kettőtörés, röntgendiffrakció) eredményeivel, valamint a sejt felület negatív töltésével, részleteiben is kidolgozta ezt a modellt. Eszerint a lipidek bimolekuláris rétegben helyezkednek el a membránban, poláris részükkel egymástól elfordulva, apoláris részeiknél van der Waals erővel összekötve, zsírsavláncuk mentén koleszterinnel stabilizálva. Poláris fejeikhez a külső és belső felszínen elektrosztatikus kötések révén nyújtott konfigurációjú fehérjék helyezkednek el tangenciálisan. A membrán külső felszínén még a fehérjéhez kötve szíalsav molekulák is találhatóak. A trilamináris képet helyenként Ångströmnyi, vízzel telt pórusok törik meg, amelyeken keresztül létrejöhet a vízóldékony vegyületek transzportja (1. ábra).

Alapvetően más koncepciót vet fel BENSON (1966). Elképzelésének alapja, hogy a genetikus információt a nukleinsav által indukált fehérjeszintézis hordozza. A rendező elv tehát csak a fehérje lehet, amely rendezetlen gomolyagként elhelyezkedve struktúrájának megfelelően in situ lipideket választ ki és köt meg (2. ábra).

SJÖSTRAND (1963a, b) valamint GREEN és TZAGOLOFF (1966) a „globuláris subunit” modell fogalmát vezették be. A plazma-membrán fragmentációra

és konfluálásra való hajlama, könnyű dez- és reintegrációja alapján feltételezték, hogy lipoprotein „repeating unit”-ok láncolatából áll. Újabban Green hangsúlyozza, hogy a membrán alegységek lipoproteinjei struktúrájukra nézve folyékony kristályoknak tekinthetők.

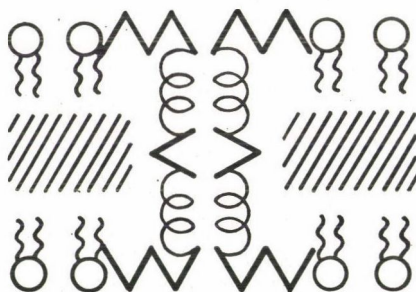
A modern optikai vizsgálómódszerek (ORD, cirkulárdikroizmus, infravörös spektroszkópia stb.) egyértelműen kimutatták, hogy a membrán-fehérjék 25–30%-a helikális szerkezetű és a helixek lipoidokkal kapcsolódnak. A fehérjék fennmaradó része rendezetlen gomolyagként fordul elő, β -nyújtott fehérje-konfigurációt a membránban kimutatni egyáltalán nem sikerült. Ezen adatok alapján LENARD és SINGER (1966), valamint ZAHLER (1968) a lamelláris modellt oly módon módosította, hogy a határfelületekre helyezte a



1. ábra. Davson és Danielli membrán-modellje



2. ábra. Benson membrán-modellje



3. ábra. Lenard és Singer membrán-modellje

gomolyag állapotban levő fehérjéket, míg a helikális fehérjéket radiálisan, a membrán szélességét átszelően, a lipidrétegekkel szoros kölcsönhatásban (3. ábra).

Újabban egyesek a klasszikus Danielli—Davson—Robertson modell és a Lenard—Singer valamint Zahler modell felfogását egyesítik. Feltételezik, hogy a fehérje a rendezőelv és ez a felszínen inkább gomolyag, a membrán mélyében inkább helikális szerkezetű és a lipoidokat kiválogatva, azokkal többszörös kölcsönhatásba lép („multiple interaction” modell). A lipidek fehérje által irányított elrendezése a natív membránban némi tendenciát mutatna a bimolekuláris rétegszerkezet irányában. A szabályos bimolekuláris lipidréteg és a trilamináris kép azonban csak fixálási műtermékként, a fehérjék denaturációja után jönne létre.

WALLACH és GORDON a lamelláris felfogással ellentétes mozaikstruktúrmodell tettek közzé még 1968-ban is, amelyben a fehérjék lipofil részükkel kifelé fordulva mozaikszerűen kapcsolódnak a lipoidokkal. Egyes fehérjeszige-tek közepében hidrophil, befelé forduló fehérjével bélelt vízzel telt pórusokat tételeznek fel.

A fentiekből kiderül, hogy a plazma-membrán struktúrájáról még nagyon keveset tudunk. A fő komponenseit összetartó erőkről azonban már nyugodtan kijelenthetjük, hogy többségükben nem kovalens kötések, hanem gyenge kölcsönhatások és ionos kapcsolódások. A primer komplexeket valószínűleg ionos kapcsolódások hozzák létre és ehhez nem ionos kötéssel neutrális és ikerionos lipidek kötődnek. E gyenge kölcsönhatások teszik lehetővé a membrán gyors és nagymérvű konformáció változását, ami a membrán funkciójának, az anyagtranszportnak strukturális előfeltétele.

IRODALOM

- BENSON, A. A.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **43**, 265 (1966).
 BENSON, A. A.: *Proc. 7th Internat. Congr. Biochem.*, Tokyo, Vol. III., p. 525 (1967).
 BENSON, A. A.: in „*Membrane Models and the Formation of Biological Membranes*”, eds.: L. Bolis and B. A. Pethica, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, p. 190 (1968).
 DANIELLI, J. F., DAVSON, H.: *J. cell. comp. Physiol.* **5**, 495 (1935).
 DODGE, J. T., MITCHELL, C., HANAHAN, D. J.: *Arch. Biochem. Biophys.* **100**, 119 (1963).
 GORTER, E., GREDEL, F.: *J. Exp. Med.* **41**, 439 (1925).
 GREEN, D. E., TISDALE, H. D., CRIDDLE, R. S., BOCH, R. M.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **5**, 81 (1961).
 GREEN, D. E., TZAGOLOFF, A.: *J. Lipid. Res.* **7**, 587 (1966).
 KAI, M., HAWTHORNE, J. N.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **165**, 761 (1969).
 LENARD, J., SINGER, S. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **56**, 1828 (1966).
 MARCHESI, V. T., PALADE, G. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **58**, 991 (1967).
 MARCHESI, V. T., STEERS, E., Jr.: *Science* **159**, 203 (1968).
 MOSKOWITZ, M., CALVIN, M.: *Exp. Cell Res.* **3**, 33 (1952).
 ROBERTSON, J. D.: *Progr. Biophys.* **10**, 343 (1960).
 ROSENBERG, S. A., GUIDOTTI, G.: *J. Biol. Chem.* **244**, 5118 (1969).
 SJÖSTRAND, S.: *Nature* **199**, 1261 (1963a).
 SJÖSTRAND, S.: *J. Ultrastruct. Res.* **9**, 561 (1963b).

- TOSTESON, D. C.: in „Biochemical Evolution and the Origin of Life”, ed.: E. Schoffeniels, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, p. 336 (1971).
- VAN DEENEN, L. L. M., DE GIER, J.: in „The Red Blood Cell”, eds.: C. Bishop, D. M. Surgenor, Acad. Press, New York, p. 243 (1964).
- WALLACH, D. F. H., GORDON, I. A.: Fed. Proc. **27**, 1263 (1968).
- ZAHLER, P.: Vox Sang. **15**, 81 (1968).
- ZAHLER, P.: in „Membrane Models and the Formation of Biological Membranes”, eds.: L. Bolis and B. A. Pethica, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, p. 181 (1968).