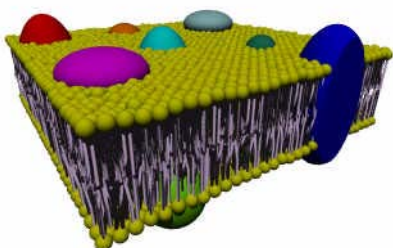


Βιολογικές Μembrάνες και Μembrανικές Πρωτεΐνες

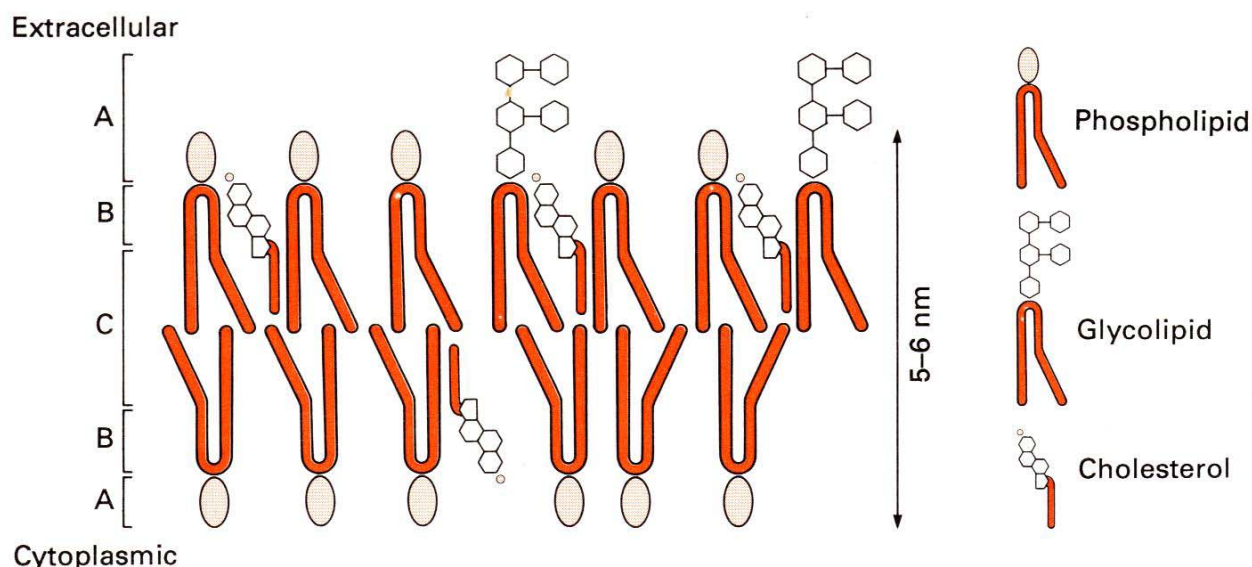
8.1. Σύνθεση και δομή βιολογικών μεμβρανών

8.1.1 Η κυτταρική μεμβράνη



Εικόνα 8.1. Σχηματική αναπαράσταση της κυτταρικής μεμβράνης.

Οι βιολογικές μεμβράνες έχουν περιγραφεί σαν δισδιάστατα υγρά που αποτελούνται από δύο επιφάνειες που περιέχουν κυρίως λιπιδικά μόρια. Οι μεμβράνες αποτελούνται από μία διπλή στοιβάδα αμφιπαθικών λιπιδίων κυρίως φωσφολιπιδίων και γλυκολιπιδίων. Οι εξωτερική πλευρά της κάθε επιφάνειας συντίθεται κυρίως από ιοντικές και πολικές ομάδες που αλληλεπιδρούν με τους υδατικούς πολικούς διαλύτες ενώ η εσωτερική συντίθεται από τις αλυσίδες των υδρογονανθράκων των λιπιδίων. Οι λιπιδικές αλυσίδες διατάσσονται παράλληλα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες υπάρχει αρκετή ευκαμψία που επιτρέπει περιστροφές γύρω από τις αλειφατικές αλυσίδες. Τα μη πολικά άκρα των αλυσίδων έρχονται σε επαφή στο μέσο της λιπιδικής στοιβάδας δημιουργώντας ένα υδρόφοβο φράγμα αδιαπέραστο από πολικά μόρια αλλά διαπερατό από μικρά υδρόφοβα μόρια όπως η αιθανόλη ή το DMSO. Οι ενσωματωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες και τα λιπιδικά μόρια που περιορίζονται μέσα στην διλιπιδική στοιβάδα μπορούν να διαχέονται πλευρικά. Το κυριότερο χαρακτηριστικό της προσομοίωσης της μεμβράνης σαν δισδιάστατο πολυμορφικό υγρό είναι ότι περιγράφεται σαν ένα δυναμικό σύστημα όπου πρωτεΐνες και λιπίδια μπορούν να μετακινούνται και να αλληλεπιδρούν.



Εικόνα 8.2. Η οργάνωση των αμφιπαθικών λιπιδίων στις βιολογικές μεμβράνες γίνεται στην διπλοστοιβάδα έτσι ώστε το κεντρικό υδρόφοβο τμήμα της μεμβράνης να περιέχει τις λιπιδικές αλυσίδες των φωσφολιπιδίων και γλυκολιπιδίων ενώ οι πολικοί φωσφοδιεστέρες ή γλυκοσυλιωμένες αλυσίδες βρίσκονται στις εξωτερικές πλευρές της μεμβράνης.

Οι κυτταρικές μεμβράνες περιέχουν ποικίλα λιπιδικά και μη λιπιδικά μόρια που ρυθμίζουν με ακρίβεια τις φυσικές ιδιότητες της συγκεκριμένης μεμβράνης δημιουργώντας μία ποικιλία περιβάλλοντος γύρω από τις μεμβρανικές πρωτεΐνες. Η σύνθεση των μεμβρανών αλλάζει από κύτταρο σε κύτταρο και ακόμη και στο ίδιο κύτταρο.

Τύπος Μεμβράνης	Ποσοστό % λιπιδίων (κατά βάρος)		
	Γλυκολιπίδια	Φωσφολιπίδια	Χοληστερόλη
Ανθρ.Ερυθροκύτταρα	11	61	22
Μυελίνη	28	41	22
Μιτοχόνδρια ήπατος (ποντίκι)	< 5	80	4
Ενδοπλασματικό δίκτυο	< 5	75	8
Πρωτοπλάστες βακτηρίων	Ίχνη	80 – 90	0
Φυτικοί χλωροπλάστες	80	12	0

Πίνακας 8.1. Το ποσοστό γλυκολιπιδίων, φωσφολιπιδίων και χοληστερόλης σε διαφορετικούς τύπους της μεμβράνης.

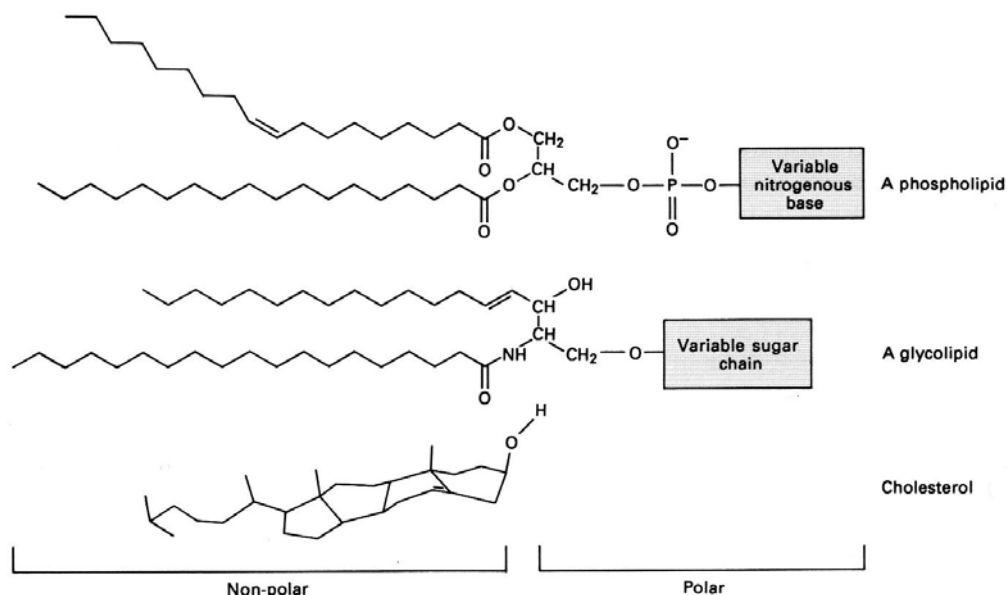
Οι εξωτερικές μεμβράνες το απομονώνουν από το περιβάλλον και οι πρωτεΐνες που βρίσκονται σε αυτές τις μεμβράνες επιτρέπουν στα κύτταρα να αντιδρούν σε εξωτερικά ερεθίσματα και να ρυθμίζουν την είσοδο πολικών σημάτων και θρεπτικών ουσιών. Οι εσωτερικές μεμβράνες των κυττάρων διαχωρίζουν οργάνδια και οι πρωτεΐνες σε αυτά επιτρέπουν σε αυτά να επικοινωνούν με άλλες περιοχές του κυττάρου. Επειδή οι μεμβράνες είναι δισδιάστατες επιφάνειες εντοπίζουν και συγκεντρώνουν κυτταρικά συμπλέγματα που ρυθμίζουν τη φύση και κατεύθυνση των κυτταρικών σημάτων. Παρ' ότι παίζουν σημαντικούς ρόλους στην κυτταρική λειτουργία, η γνώση για την δομή των κυτταρικών πρωτεϊνών περιορίζεται από την δυσκολία της διάλυσης και κρυστάλλωσης των μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Όπως υπάρχει διαφοροποίηση των κυτοπλασματικών μερών του κυττάρου έτσι υπάρχει και διαφοροποίηση στις μεμβράνες. Εκτός από τις πρωτεΐνες, τα κύρια συστατικά των μεμβρανών είναι τα λιπίδια και η χοληστερόλη με μικρά ποσοστά άλλων ενώσεων όπως λιπαρά οξέα. Τα

σχετικά ποσοστά αυτών των ενώσεων ποικίλει από μεμβράνη σε μεμβράνη και ακόμη μεταξύ των πλευρών της μεμβράνης. Οι δομές των λιπιδίων, χοληστερόλης και λιπαρών οξέων περιγράφονται στην εικόνα 8.2.

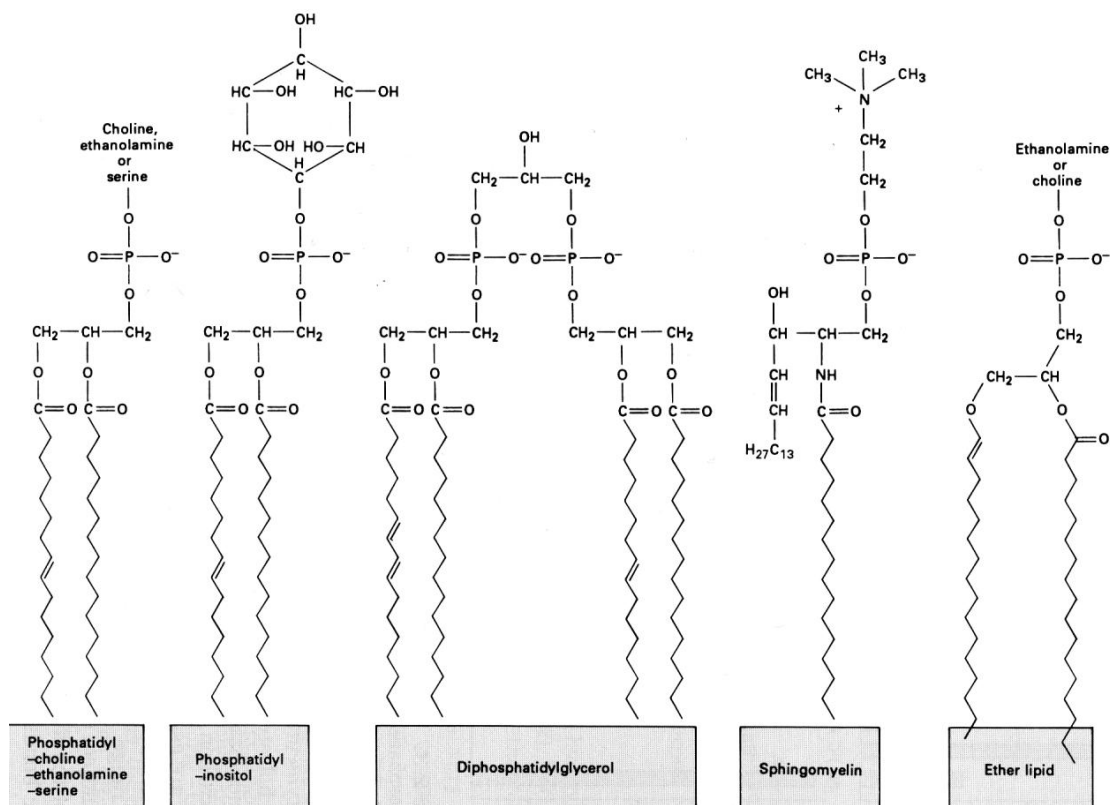
8.1.2. Η δομή των λιπιδίων

Τα λιπίδια χαρακτηρίζονται από μία πολική ομάδα και δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων. Στα περισσότερα λιπίδια η κεντρική ομάδα είναι μία γλυκερόλη όπου συνδέονται οι δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων και μία πολική (κυρίως φωσφορική ομάδα).



Εικόνα 8.3. Η δομή των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης.

Η Φωσφατιδυλοχολίνη είναι μία από τις κυριότερες φωσφορικές ομάδες που παρατηρούνται σε βιολογικά λιπίδια. Είναι μία επαμφοτερίζουσα ιοντική ομάδα με αρνητικό φορτίο στην φωσφορική ομάδα και θετικό φορτίο στην αμίνη. Το φωσφατιδικό οξύ, η φωσφατιδυλογλυκερίνη και η φωσφατιδυλοσερίνη είναι επίσης κοινές αρνητικά φορτισμένες πολικές ομάδες λιπιδίων. Μερικές ομάδες είναι μικρότερες και λιγώτερο ενυδατομένες κάτι που προκαλεί τάσεις στην διλιπιδική επιφάνεια επειδή οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες είναι περισσότερο έκθετες. Μερικές ομάδες τροποποιούνται με μεγάλα υδατανθρακικά συμπλέγματα που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και αναγνώριση των κυττάρων. Οι πολικές κεφαλές των λιπιδίων συμμετέχουν με ισχυρές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και υδρογονικούς δεσμούς με τα αμινοξικά κατάλοιπα της επιφάνειας διεπαφής των μεμβρανικών πρωτεϊνών και το φορτίο και το υδατικό μικροπεριβάλλον τους μπορεί να επηρεάσει την δραστικότητα των περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών.



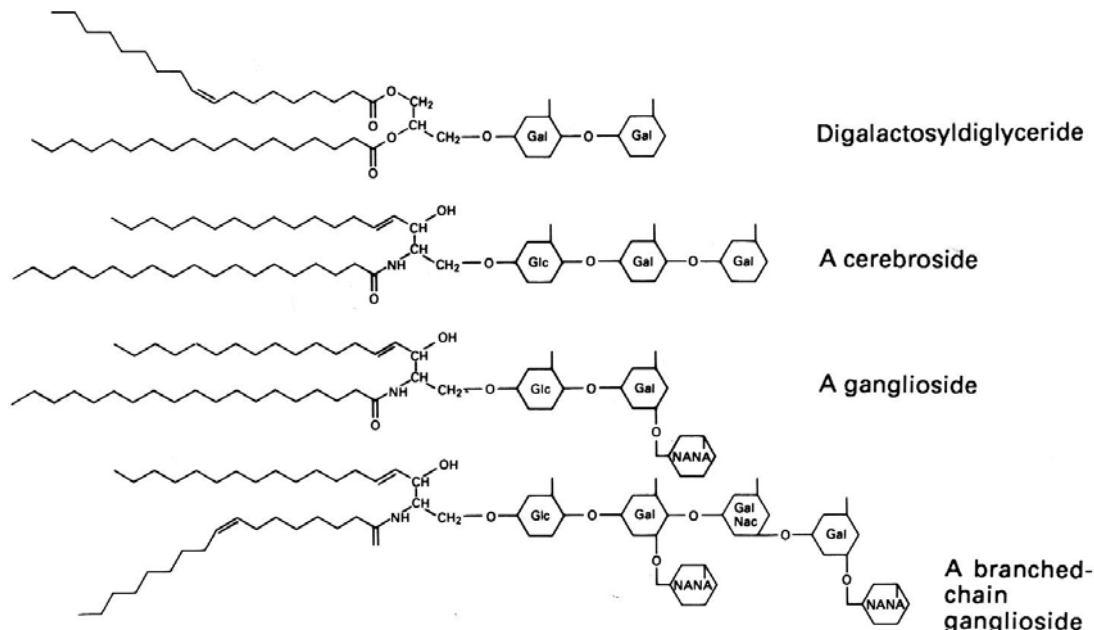
Εικόνα 8.4. Τα μοριακά είδη φωσφολιπιδίων.

Οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των λιπιδίων έχουν μήκος 14-24 ανθράκων και εξ' αιτίας του μηχανισμού σύνθεσης τους έχουν πάντα άρτιο αριθμό ανθράκων. Οι αλυσίδες είναι συνήθως παράλληλες μεταξύ τους. Περιστροφές γύρω από τους δεσμούς άνθρακα – άνθρακα (C-C) κατά μήκος των αλυσίδων προσδίδουν στις αλυσίδες την *trans* (επιμήκη) ή *gauche* (στρεβλωμένη) στερεοδομή. Η *trans* επιτρέπει στις αλυσίδες να βρίσκονται κοντά η μία στην άλλη ενώ η *gauche* αυξάνει την απόσταση μεταξύ της στρεβλωμένης αλυσίδας και των γειτονικών της. Το πόσο κοντά βρίσκονται οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες υπαγορεύει τις φυσικές ιδιότητες της μεμβράνης όπως την μετακίνηση των λιπιδίων, την διαπερατότητα από πολικές ομάδες και την μετάπτωση φάσης από ρευστή σε κολλώδη. Στην κολλώδη φάση οι λιπιδικές αλυσίδες είναι ευθυγραμμισμένες με λίγες περιστροφές γύρω από τους απλούς δεσμούς C-C που βρίσκονται κυρίως στην *trans* μορφή. Η υγρή μορφή της μεμβράνης χαρακτηρίζεται από σχετικά υψηλή διάχυση των μεμβρανικών συστατικών και μικρότερο πάχος της διλιπιδικής στοιβάδας εξ' αιτίας του μεγάλου αριθμού *gauche* ισομερών των υδρογονανθρακικών αλυσίδων. Οι διπλοί δεσμοί C=C στις αλυσίδες επίσης μπορούν να βρεθούν σε *trans* ή *cis* μορφή. Λιπίδια με κεκορεσμένες ή *trans* ακόρεστες αλυσίδες συσσωρεύονται με μεγάλη πυκνότητα. Λιπίδια με *cis* ακόρεστες αλυσίδες, που είναι και οι πλέον συνήθεις στις βιολογικές μεμβράνες, συσσωρεύονται με μικρότερη πυκνότητα εξ' αιτίας των παραμορφώσεων των αλυσίδων. Η παρουσία διπλών *cis* δεσμών μειώνει το μήκος της υδρογονανθρακικής αλυσίδας και έτσι διλιπιδικές μεμβράνες ακόρεστων λιπιδίων είναι λεπτότερες από τις αντίστοιχες κεκορεσμένες του ίδιου αριθμού ανθράκων.

Η χοληστερόλη είναι μία πολυκυκλική δομή με μία πολική ομάδα υδροξυλίου που μπορεί να αλληλεπιδρά με ομάδες επάνω ή κοντά στην μεμβρανική επιφάνεια. Η χοληστερόλη επηρεάζει την ρευστότητα της μεμβράνης. Στην ρευστή φάση της μεμβράνης η χοληστερόλη ελαττώνει την περιστροφική ελευθερία των γειτονικών υδρογονανθρακικών αλυσίδων και έτσι ελαχιστοποιεί την ρευστότητα ή αλλιώς δημιουργεί ακαμψία στην μεμβράνη. Στην κολλώδη φάση η χοληστερόλη δρα ως πρόσμιξη που ελαττώνει την τάξη μεταξύ των καλά πακεταρισμένων λιπιδικών αλυσίδων. Η χοληστερόλη βρίσκεται σε υψηλά ποσοστά σε μερικές κυτταρικές μεμβράνες.

Τα λιπαρά οξέα αποτελούνται από μία καρβοξυλική ομάδα προσδεδεμένη σε μία αλιφατική αλυσίδα 14-24 αιθυλομάδων (CH₂) και είναι φυσιολογικό προϊόν της πέψης των λιπών. Η βασική

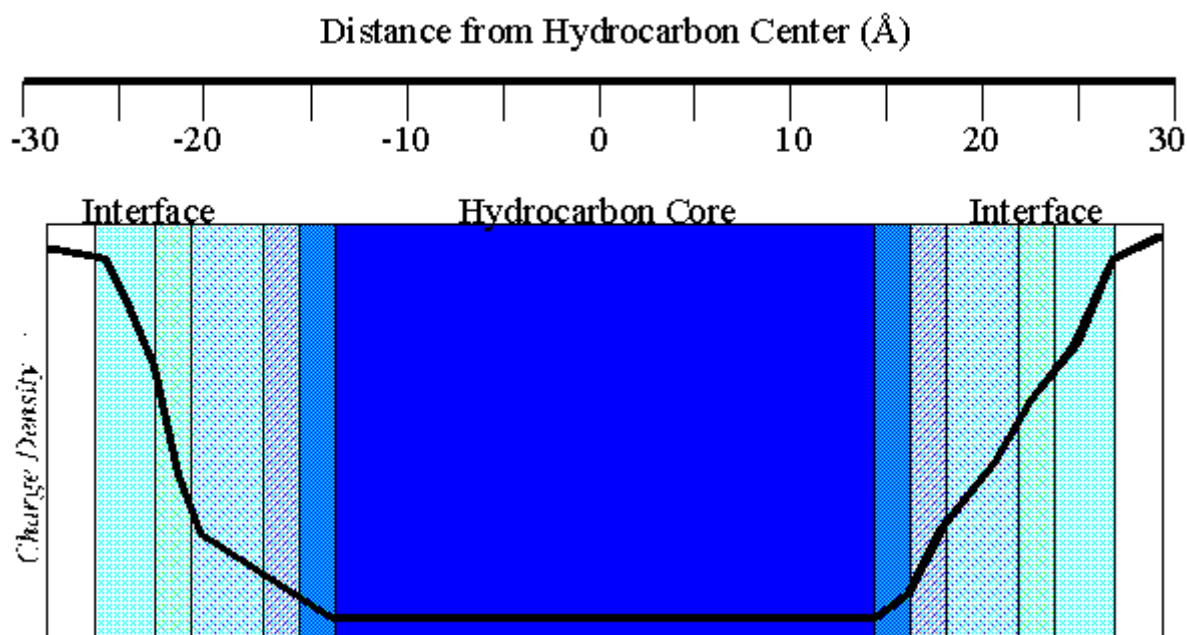
διαφορά τους από τα αντίστοιχα λιπίδια με δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες είναι ότι τα λιπαρά οξέα μπορούν ελεύθερα να ενσωματώνονται σε μεμβράνες και να μεταπηδούν ή να κατανέμονται στις δύο στοιβάδες της διλιπιδικής μεμβράνης. Αυτό συμβαίνει επειδή το pK της καρβοξυλικής ομάδας μεταβάλλεται από ~3 σε ~7 στο περιβάλλον της μεμβράνης κάνοντας την ομάδα αυτή περισσότερο διαλυτή στην μεμβράνη.



Εικόνα 8.5. Τα μοριακά είδη γλυκολιπιδίων.

8.1.3. Η μεμβρανική διηλεκτρική διαβάθμιση.

Η φυσική ιδιότητα που κάνει την λιπιδική μεμβράνη ένα καλό φραγμό σε πολικές ή υδατοδιαλυτές ομάδες είναι η απότομη διηλεκτρική διαβάθμιση. Η μεγάλη αλλαγή της διηλεκτρικής σταθεράς μεταξύ της ιοντικής λιπιδικής κεφαλής και του λιπαρού εσωτερικού (της τάξεως ~80 ~έως ~2 Debye) συμβαίνει σε σχετικά μικρή απόσταση και κάνει την μεμβράνη ενεργειακά πολύ ασύμφορη για την ενσωμάτωση ενός φορτίου (20Kcal/mol) ή την ύπαρξη δότη ή δέκτη πρωτονίου (υδρογονικός δεσμός) (5Kcal/mol). Με αυτό τον τρόπο η διηλεκτρική διαβάθμιση επηρεάζει την αμινοξική σύσταση των μεμβρανικών πρωτεϊνών. Επειδή η πεπτιδική κύρια αλυσίδα αποτελείται από πολικά καρβονύλια και αμινομάδες που σχηματίζουν υδρογονικούς δεσμούς, η ενσωμάτωση πολυπεπτιδικών αλυσίδων στην μεμβράνη θα είναι ενεργειακά πολύ ασύμφορη αν οι υδρογονικοί δεσμοί δεν ικανοποιούνται. Γι' αυτό τον λόγο οι μεμβρανικές πρωτεΐνες προσλαμβάνουν τέτοιες δευτεροταγείς και τριτοταγείς στερεοδομές που ικανοποιούν αυτούς τους υδρογονικούς δεσμούς.



Εικόνα 8.6. Από Wimley and White *Biochim. Biophys. Acta* 1376: 339-352. (1998) Η διαβάθμιση της πολικότητας (μαύρη γραμμή) μιας μεμβράνης διολεοφωσφατιδυλχολίνης (μπλέ γραμμοσκιάσεις)

Το πάχος της διλιπιδικής στοιβάδας καθορίζει το μήκος της περιοχής με χαμηλή διηλεκτρική σταθερά που ορίζει τελικά ποιες περιοχές της πρωτεΐνης βρίσκονται στο εσωτερικό, το εξωτερικό και την επιφάνεια διεπαφής της μεμβράνης. Έτσι το πάχος της διλιπιδικής στοιβάδας μπορεί να σταθεροποιεί κάποιες στερεοδιατακτικές καταστάσεις της πρωτεΐνης. Το πάχος της υδρόφοβης περιοχής της μεμβράνης πρέπει να βρίσκεται κοντά στο μήκος της υδρόφοβης περιοχής της μεμβρανικής πρωτεΐνης. Εάν το μήκος της πρωτεΐνης είναι μεγαλύτερο ή μικρότερο η πρωτεΐνη μπορεί να δημιουργεί συσσωματώματα σε μια προσπάθεια να ελαχιστοποιεί τις ενεργειακά ασύμφωνες αλληλεπιδράσεις. Επίσης οι πρωτεΐνες μπορεί να παραμορφώνονται για να προσαρμόσουν το μήκος τους σε αυτό της διλιπιδικής στοιβάδας.

8.2. Μεμβρανικές πρωτεΐνες.

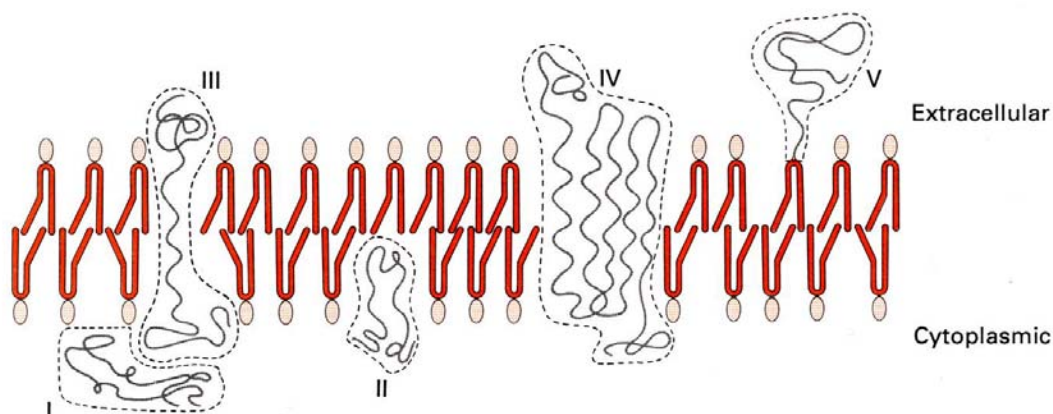
8.2.1. Ιδιότητες μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Όλες οι βιολογικές μεμβράνες περιέχουν πρωτεΐνες. Ο λόγος βάρους πρωτεΐνης- λιπιδίων κυμαίνεται από 3,6 στην μιτοχονδριακή μεμβράνη μέχρι 0,25 στην μεμβράνη της μυελίνης. Οι πρωτεΐνες που ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη και έχουν ένα τουλάχιστον πολυπεπτιδικό κομμάτι να διασχίζει την διλιπιδική στοιβάδα λέγονται μεμβρανικές πρωτεΐνες. Πολλές πρωτεΐνες από αυτές περιέχουν και γλυκοσιδικές αλυσίδες που συνήθως προσκολλώνται στην αμιδική ομάδα του αμινοξέος ασπαραγίνη. Οι πρωτεΐνες αυτές λέγονται γλυκοπρωτεΐνες.

Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες βρίσκονται σε ένα πολύ ασύμμετρο περιβάλλον σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τους στο κυτόπλασμα. Το περιβάλλον των μεμβρανικών πρωτεϊνών έχει μία πολική (υδατική) περιοχή εκτός της μεμβράνης, μία πολική (ιοντική) περιοχή στην μεμβρανική επιφάνεια και μία λιπόφιλη περιοχή στο εσωτερικό της μεμβράνης. Το διαφορετικό περιβάλλον με διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες θέτει δομικούς περιορισμούς στις μεμβρανικές πρωτεΐνες και επίσης ρυθμίζει την δυναμική τους λειτουργία.

Όλες οι μεμβρανικές πρωτεΐνες έχουν μία συγκεκριμένη επάνω-κάτω ή πλευρική προς την μεμβράνη διευθέτηση στην διλιπιδική στοιβάδα. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες ανάλογα με την θέση τους στη μεμβράνη χωρίζονται σε κατηγορίες.

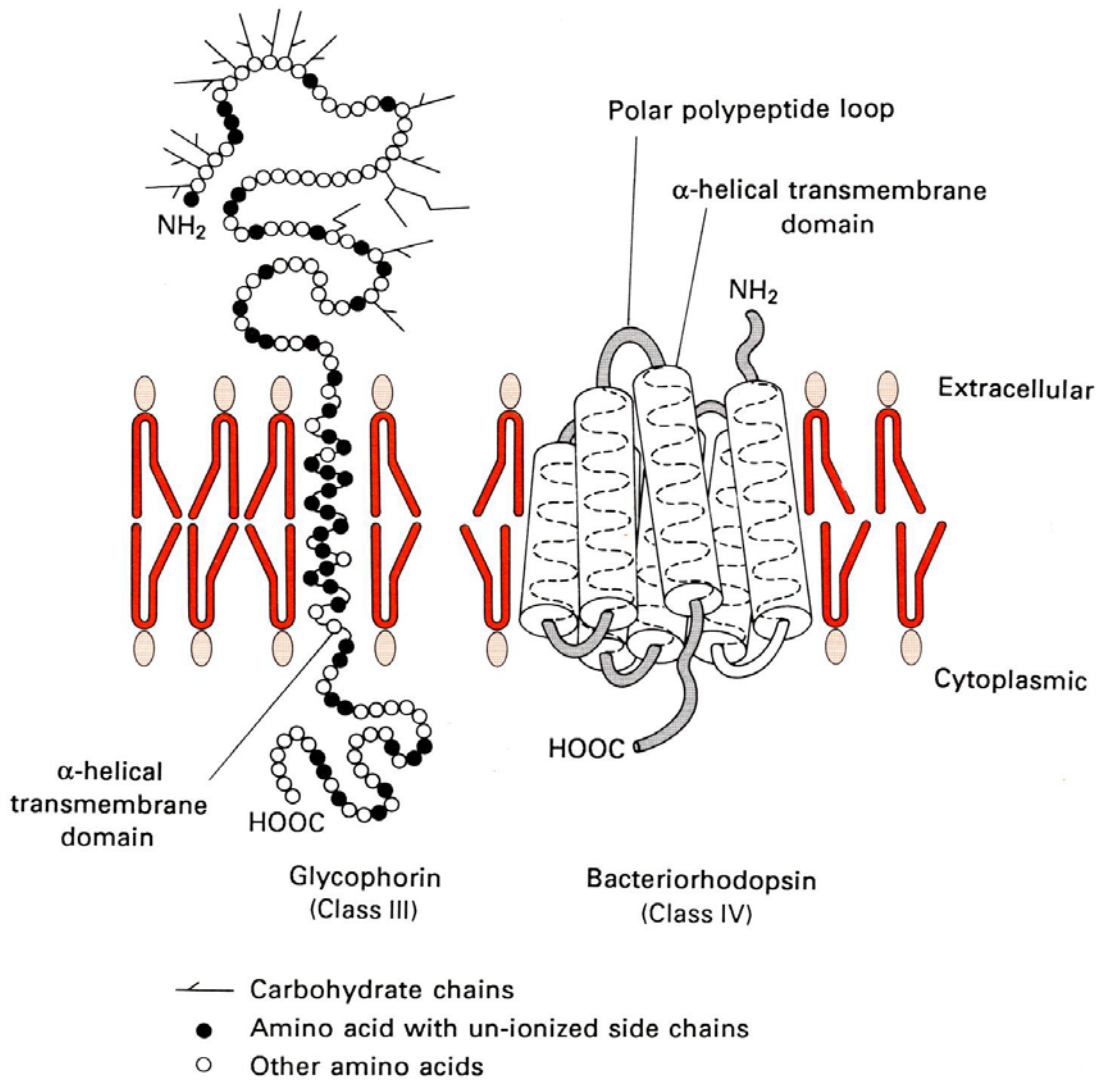
- I. Περιφερειακές.
- II. Μερικά εισερχόμενες στην μεμβράνη.
- III. Διαμπερείς της μεμβράνης με ένα μεμβρανικό τμήμα.
- IV. Διαμπερείς της μεμβράνης με πολλά μεμβρανικά τμήματα.
- V. Περιφερειακές με σύνδεση με λιπίδια.



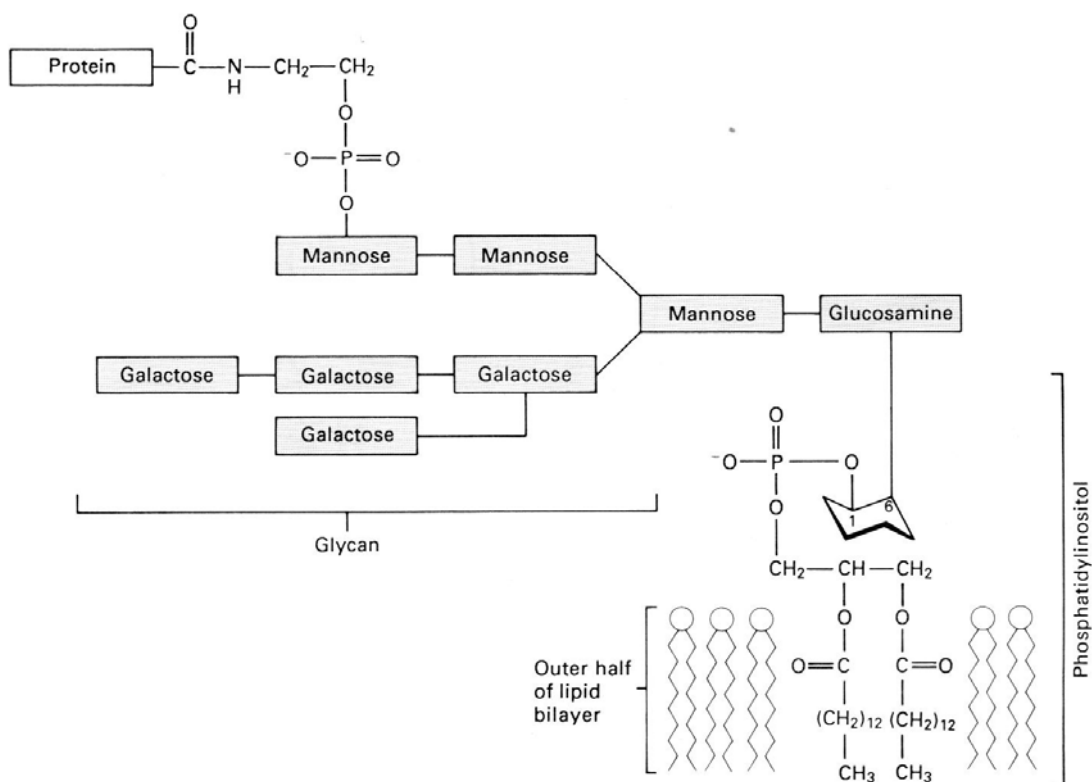
Εικόνα 8.7. Οι κατηγορίες μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Μερικές πρωτεΐνες προσδένονται στην μεμβράνη με ιοντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αμινοξέων με θετικό φορτίο και αρνητικά φορτισμένων ομάδων των κεφαλών των λιπιδίων (κατηγορία I). Άλλες προσδένονται με μεταβιοσυνθετικές προσαρτήσεις μυριστικού, παλμιτικού, φαρνεσυλικού και άλλων λιπαρών οξέων, ή λιπιδίων όπως η γλυκοφωσφατιδική ινοσιτόλη που τις συγκρατεί σε περιοχές κοντά σε πρωτεϊνικούς συντρόφους τους (κατηγορία 5). Επειδή οι πρωτεΐνες αυτές ακολουθούν τους κανόνες των κυτοπλασματικών διαλυτών πρωτεϊνών δεν θα μελετηθούν περαιτέρω.

Ο όρος μονοτροπική ή περιφερειακή μεμβρανική πρωτεΐνη αναφέρεται σε πρωτεΐνες που λίγο εισχωρούν στην μεμβρανική επιφάνεια (κατηγορία III). Πολλές περιφερειακές πρωτεΐνες μπορούν να απελευθερώνονται από την μεμβράνη μεταβάλλοντας την ιοντική δύναμη του διαλύτη.



Εικόνα 8.8. Η τοπογραφία των τάξεων III και IV των μεμβρανικών πρωτεϊνών στην διλιπιδική στοιβάδα.



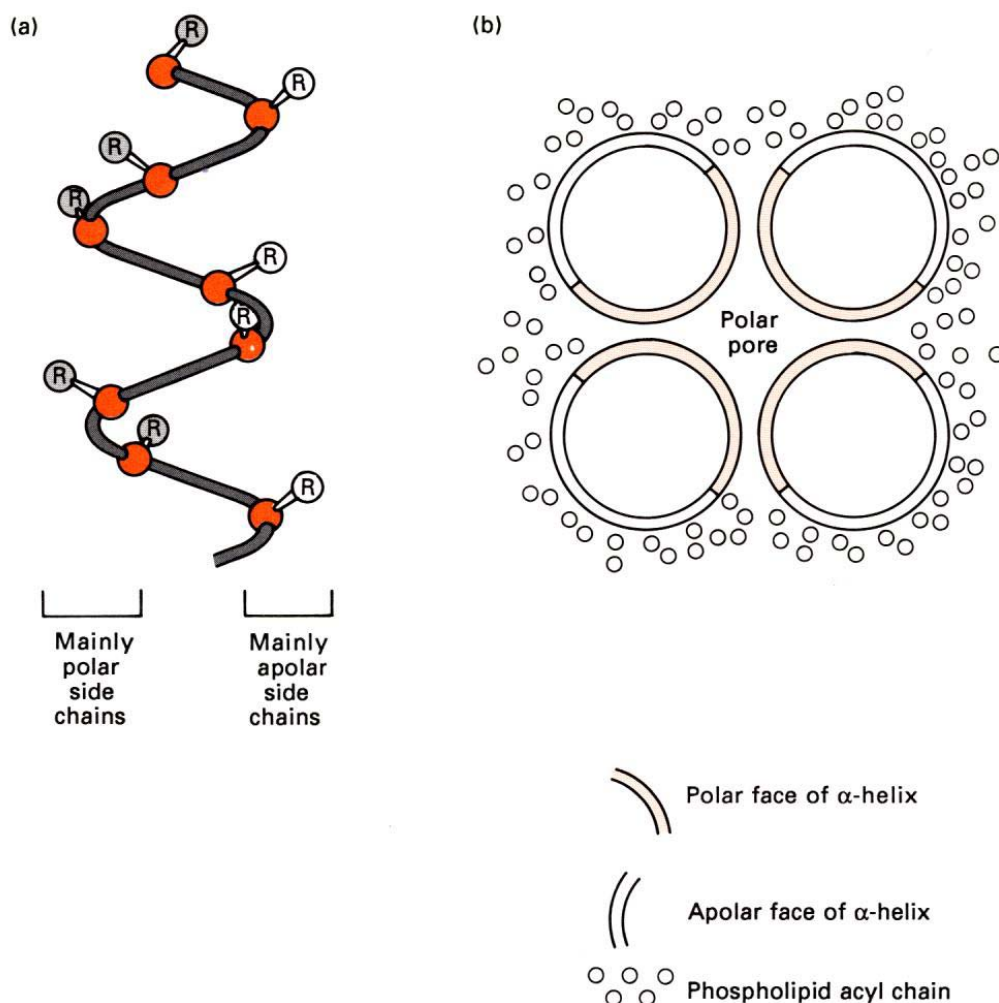
Εικόνα 8.9. Η μοριακή δομή μιας πρωτεϊνής τάξεως V.

Η μεγαλύτερη κατηγορία μεμβρανικών πρωτεϊνών είναι οι ολοκληρωτικά ενσωματωμένες ή διαμεμβρανικές διτοπικές ή πολυτοπικές πρωτεΐνες. Αυτές μπορούν να αποχωριστούν από την μεμβράνη μόνον με διακοπή της διλιπιδικής στοιβάδας με την επίδραση απορρυπαντικών.

Η ενσωμάτωση των μεμβρανικών πρωτεϊνών στην μεμβράνη είναι αποτέλεσμα τριών παραγόντων:

- I. Της ανάγκης σύμπτωσης των διηλεκτρικών ιδιοτήτων των αμινοξικών πλευρικών αλυσίδων με τα λιπίδια.
- II. Της ανάγκης ικανοποίησης των υδρογονικών δεσμών.
- III. Της ανάγκης ευθυγράμμισης με την διάταξη των αλυσίδων υδρογονανθράκων.

Οι πληροφορίες για τα δομικά στοιχεία των μεμβρανικών πρωτεϊνών προκύπτουν από τα πειραματικά δεδομένα των μεθόδων κρυσταλλογραφίας και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας και λιγότερο από τον πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό (NMR), τον συντονισμό φθορισμού (FR), κυκλικό διχρωϊσμό (CD) και πρωτεϊνική πέψη.



Εικόνα 8.10. Το μοντέλο ενός πολικού μεμβρανικού πόρου. α) διαμεμβρανική α -έλικα της πρωτεΐνης που σχηματίζει τον πόρο. β) Τομή της πρωτεΐνης παράλληλα με την κυτταρική μεμβράνη.

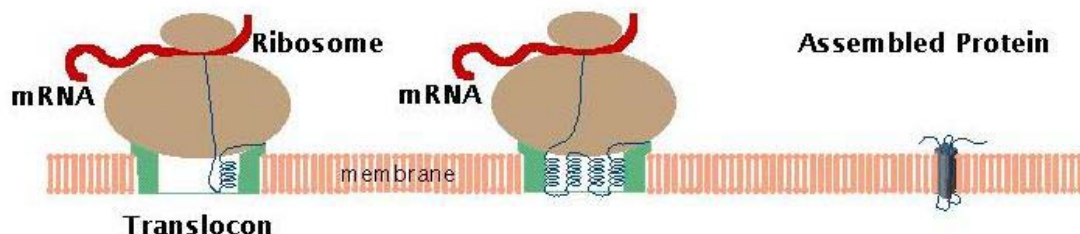
8.2.2. Γενικές αρχές διπλώματος και σταθερότητας μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Μία βασική θερμοδυναμική αρχή χαρακτηρίζει την δομή και σταθερότητα των μεμβρανικών πρωτεϊνών. Το θερμοδυναμικό κόστος της μεταφοράς φορτισμένων και πολικών μοριακών ομάδων στο υδρόφοβο υδρογονανθρακικό εσωτερικό των μεμβρανικών διπλοστοιβάδων είναι αρκετά υψηλό. Αυτό έχει τις εξής συνέπειες.

- Η πλειονότητα των αμινοξικών καταλοίπων των διαμεμβρανικών τμημάτων πρέπει να είναι μη πολικά (π.χ. Αλανίνη, Βαλίνη, Λευκίνη, Ισολευκίνη, Φαινυλαλανίνη).
- Οι πολικές CONH ομάδες των πεπτιδίων της πρωτεϊνικής αλυσίδας πρέπει να συμμετέχουν σε υδρογονικούς δεσμούς ώστε η ενεργειακή διαφορά της μεταφοράς τους στο υδρόφοβο εσωτερικό να είναι μικρή. Αυτό επιτυγχάνεται με κανονικές στερεοδιατάξεις όπως οι α -έλικες όπου όλοι οι υδρογονικοί δεσμοί σχηματίζονται εντός των στοιχείων της δευτεροταγούς δομής και οι β -πτυχωτές επιφάνειες όπου οι υδρογονικοί δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ των β -κλώνων.

8.2.3. Η συγκρότηση των μεμβρανικών πρωτεϊνών και η ενσωμάτωσή τους στην κυτταρική μεμβράνη.

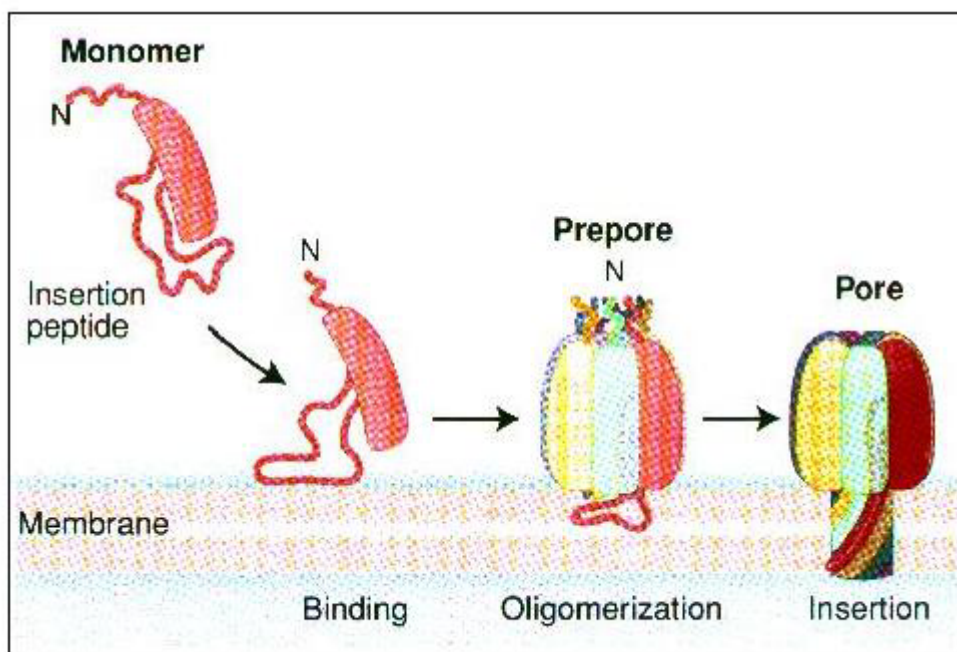
Οι ιδιοσυστατικές (constitutive) μεμβρανικές πρωτεΐνες με την έκφραση τους από το ριβόσωμα προσκολλώνται σε ένα μεμβρανικό πρωτεϊνικό σύμπλοκο που λέγεται translocon (βλέπε κεφάλαιο 12). Αυτό προσφέρει την διαμεμβρανική σήραγγα δια μέσου της οποίας η νέα μεμβρανική πρωτεΐνη εισέρχεται στην μεμβράνη. Μετά την ολοκλήρωση της πρωτεϊνοσύνθεσης το ριβόσωμα αποχωρίζεται από το translocon και η πρωτεΐνη απελευθερώνεται στην μεμβράνη για να πάρει την τελική στερεοδομή της.



Based on Borel and Simon (1996) *Cell* 85:379 and Do *et al.* (1996) *Cell* 85:369. Illustration by S. White

Εικόνα 8.11. Η δημιουργία και ενσωμάτωση ιδιοσυστατικών μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Οι μη ιδιοσυστατικές (non-constitutive) μεμβρανικές πρωτεΐνες είναι πρωτεΐνες όπως τοξίνες και αντιμικροβιακά πεπτιδία που ενσωματώνονται στην μεμβράνη με διαφορετικό τρόπο. Συνήθως η ενσωμάτωση επιτυγχάνεται με φυσικοχημικές διεργασίες στις μεμβράνες στόχους. Σε αυτές ανήκουν η α-αιμολυσίνη του σταφυλόκοκκου, οι τοξίνες που σχηματίζουν κανάλια, τα αντιμικροβιακά πεπτιδία της ντεφενσίνης κλπ.



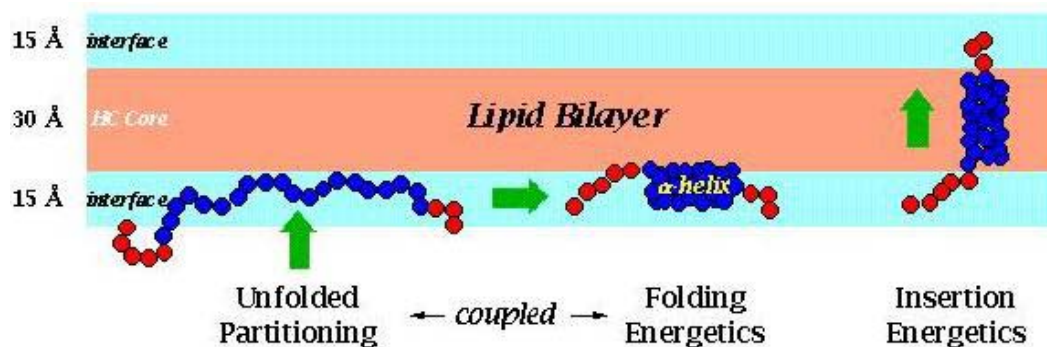
From Engelman (1996) *Science* 274:1850. Illustration by K. Sutliff. © 1996 A.A.A.S.

Εικόνα 8.12. Η ενσωμάτωση μη ιδιοσυστατικών μεμβρανικών πρωτεϊνών (α-αιμολυσίνη)

Ανεξάρτητα με τον τρόπο που η πρωτεΐνη βρίσκει να εισέλθει στην μεμβράνη, μετά την ενσωμάτωση της ενεργειακά βρίσκεται σε ένα ελάχιστο που προέρχεται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνικών υπομονάδων και των λιπιδίων. Επειδή η διπλωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη είναι αδιάλυτη σε πολικό διαλύτη, η δε ξεδιπλωμένη πρωτεϊνική αλυσίδα αδιάλυτη στη μεμβράνη (ή οργανικό υδρόφοβο διαλύτη) η κατανόηση του μηχανισμού της αναδίπλωσης της μεμβρανικής

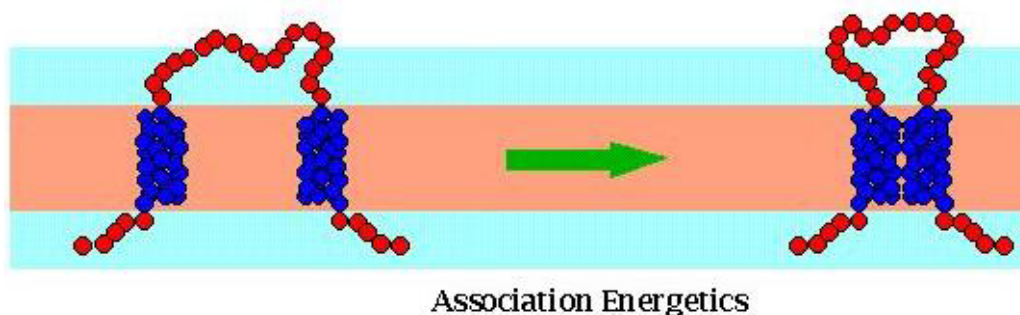
πρωτεϊνικής αλυσίδας γίνεται με την μελέτη ανεξάρτητων τμημάτων της που σχηματίζουν στοιχεία δευτεροταγούς δομής και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

- Το πρώτο στάδιο είναι η δημιουργία των στοιχείων δευτεροταγούς δομής στην επιφάνεια διεπαφής της διλιπιδικής μεμβράνης. Αυτή γίνεται με την ελάττωση της ελεύθερης ενέργειας που προκύπτει από την δημιουργία υδρογονικών δεσμών μεταξύ των πεπτιδίων. Αυτή είναι περίπου 0.5kcal/mol για β-πτυχωτή επιφάνεια και 0.4kcal/mol για α-έλικια για κάθε πεπτίδιο και αθροιστικά μπορεί να είναι πολύ μεγάλη (5kcal/mol για την μελλιλίνη).



Εικόνα 8.13. Η δημιουργία α-ελίκων και η είσοδος τους στην μεμβράνη

- Το δεύτερο στάδιο και το λιγότερο κατανοητό είναι η είσοδος του στοιχείου της δευτεροταγούς δομής στην μεμβρανική διλιπιδική στοιβάδα. Αυτό εξαρτάται από την αλληλεπίδραση των εξωτερικών (υδρόφοβων) πλευρικών αλυσίδων με την επιφάνεια διεπαφής της μεμβράνης. Υπολογίζεται ότι το ενεργειακό κόστος αυτής της διεργασίας μπορεί να είναι από 0-1.6kcal/mol.



Εικόνα 8.14. Η αλληλεπίδραση των στοιχείων δευτεροταγούς δομής μέσα στην μεμβράνη.

- Το τρίτο στάδιο είναι η αλληλεπίδραση των στοιχείων της δευτεροταγούς δομής μεταξύ των, μέσα στην μεμβράνη. Έχει δείχθει ότι είναι δυνατή η δημιουργία του φυσικού συμπλόκου της βακτηριοροδοφίνης από διαμεμβρανικά τμήματα που έχουν εισχωρήσει στην μεμβράνη ανεξάρτητα. Αυτό υποδεικνύει ότι το στάδιο της ενσωμάτωσης στην μεμβράνη είναι ανεξάρτητο από αυτό της ενδομεμβρανικής σύνθεσης της πρωτεΐνης.

8.3. Δομή μεμβρανικών πρωτεϊνών.

8.3.1. Πρωτοταγής δομή διαμεμβρανικών πρωτεϊνών.

Κλίμακα Υδροφοβικότητας. Επειδή το εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης είναι μη πολικό, είναι αναμενόμενο τα επιφανειακά αμινοξικά κατάλοιπα των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών να έχουν κυρίως μη πολικές πλευρικές αλυσίδες. Με αυτή την προϋπόθεση είναι δυνατή η πρόβλεψη των τμημάτων της πρωτεΐνης που θα βρίσκονται στο εσωτερικό της μεμβράνης. Έτσι έχουν οριστεί κλίμακες υδροφοβικότητας που δίνουν αριθμητικές τιμές στην υδροφοβικότητα των αμινοξικών πλευρικών αλυσίδων. Ενώ όμως ο υδροφοβικός χαρακτήρας ορισμένων αμινοξέων, όπως η λευκίνη, είναι φανερός για άλλα όπως η γλυκίνη ή η σερίνη δεν είναι. Υπάρχει μία πληθώρα κλιμάκων υδροφοβικότητας των αμινοξέων που προέρχεται από μελέτες διαλυτότητας, κρυσταλλογραφικές μελέτες ή συνδυασμό και των δύο.

Πίνακας 8.2. Whole-Residue Hydrophobicity Scales from (White and Wimley, 1999)

Amino Acid	$\Delta G(\text{interface})$ (kcal/mol)	$\Delta G(\text{octanol})$ (kcal/mol)
Ala	0.17 \pm 0.06	0.50 \pm 0.12
Arg ⁺	0.81 \pm 0.11	1.81 \pm 0.13
Asn	0.42 \pm 0.06	0.85 \pm 0.12
Asp ⁻	1.23 \pm 0.07	3.64 \pm 0.17
Asp ⁰	-0.07 \pm 0.11	0.43 \pm 0.13
Cys	-0.24 \pm 0.06	-0.02 \pm 0.13
Gln	0.58 \pm 0.08	0.77 \pm 0.12
Glu ⁻	2.02 \pm 0.11	3.63 \pm 0.18
Glu ⁰	-0.01 \pm 0.15	0.11 \pm 0.12
Gly	0.01 \pm 0.05	1.15 \pm 0.11
His ⁺	0.96 \pm 0.12	2.33 \pm 0.11
His ⁰	0.17 \pm 0.06	0.11 \pm 0.06
Ile	-0.31 \pm 0.06	-1.12 \pm 0.11

Leu	-0.56 ± 0.04	-1.25 ± 0.11
Lys ⁺	0.99 ± 0.11	2.80 ± 0.11
Met	-0.23 ± 0.06	-0.67 ± 0.11
Phe	-1.13 ± 0.05	-1.71 ± 0.11
Pro	0.45 ± 0.12	0.14 ± 0.11
Ser	0.13 ± 0.08	0.46 ± 0.11
Thr	0.14 ± 0.06	0.25 ± 0.11
Trp	-1.85 ± 0.06	-2.09 ± 0.11
Tyr	-0.94 ± 0.06	-0.71 ± 0.11
Val	0.07 ± 0.05	-0.46 ± 0.11

Οι κλίμακες υδροφοβικότητας βασίζονται στον υπολογισμό της ελεύθερης ενέργειας μεταφοράς από ένα πολικό (υδατικό) διαλύτη σε ένα διαλύτη που μιμείται την κυτταρική μεμβράνη όπως ή οκτανόλη. Οι τιμές υδροφοβικότητας που προέρχονται από τις κρυσταλλογραφικές δομικές μελέτες βασίζονται στον υπολογισμό της υδροφοβικότητας σε συνάρτηση με την προσβασιμότητα του διαλύτη στην επιφάνεια του αμινοξικού καταλοίπου. Μία σφαίρα ακτίνας 1.4Å που αναπαριστά ένα μόριο νερού σαρώνει την επιφάνεια του μορίου και έτσι υπολογίζεται η επιφάνεια επαφής με την Van der Waals επιφάνεια όλων των αμινοξικών καταλοίπων της πρωτεΐνης.

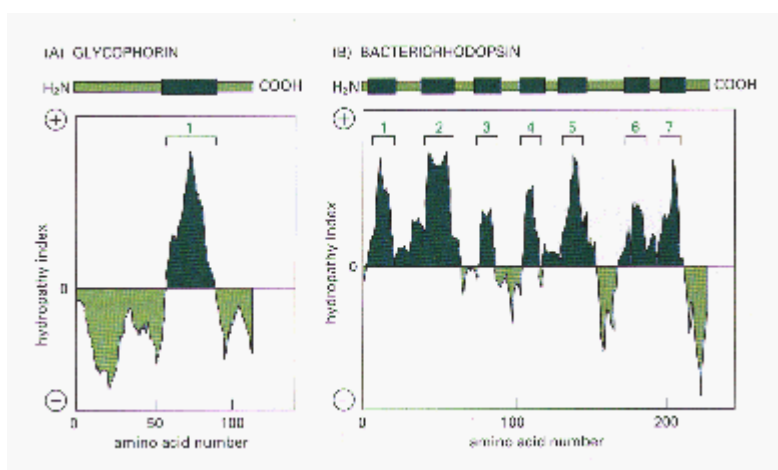
Για την πλειονότητα των αμινοξέων οι δύο μέθοδοι υπολογισμού υδροφοβικότητας δίνουν συγκρίσιμες τιμές αλλά διαφέρουν σε κατάλοιπα των οποίων οι πλευρικές αλυσίδες έχουν και πολικό και μη πολικό χαρακτήρα όπως λυσίνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη και αργινίνη.

8.3.2. Δευτεροταγής δομή μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Επειδή το εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης δεν περιέχει νερό ή άλλα πολικά μόρια τα πολικά άτομα της κύριας πολυπεπτιδικής αλυσίδας μπορούν να σχηματίζουν υδρογονικούς δεσμούς μόνο προς τις πλευρικές αλυσίδες και άλλα άτομα της κύριας αλυσίδας. Παρατηρείται ότι οι μεμβρανικές πρωτεΐνες προτιμούν στοιχεία δευτεροταγούς δομής όπου τα πεπτιδικά αμίδια και καρβονύλια σχηματίζουν υδρογονικούς δεσμούς μεταξύ τους σε κανονικούς σχηματισμούς, ήτοι α-έλικες και β-πτυχωτές επιφάνειες. Η προτίμηση δημιουργίας υδρογονικών δεσμών των ατόμων της κύριας πολυπεπτιδικής αλυσίδας προς άλλα επίσης της κύριας αλυσίδας και όχι των πλευρικών, εξηγείται από το ότι τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις θα περιόριζαν τον διαθέσιμο στερεοδιατακτικό χώρο, κάτι που θα ήταν εντροπικά μη επιθυμητό. Επίσης τυχαίες στερεοδιατάξεις θα άφηναν πιθανά ελεύθερα πολικά άτομα που δεν θα συμμετείχαν σε υδρογονικούς δεσμούς με αποτέλεσμα την διακοπή της διάταξης των υδρόφοβων υδρογονανθρακικών αλυσίδων.

Τα περισσότερα διαμεμβρανικά τμήματα είναι α-έλικες. Όλες οι πρωτεΐνες των οποίων η δομή έχει προσδιοριστεί και διασχίζουν την κυτταρική μεμβράνη μία φορά την διασχίζουν με μία α-έλικα. Επίσης και οι περισσότερες πρωτεΐνες που διασχίζουν την κυτταρική μεμβράνη περισσότερο από μία φορές περιέχουν α-έλικες στο διαμεμβρανικό τμήμα. Ελάχιστες την διασχίζουν με β-πτυχωτές επιφάνειες. Η προτίμηση της χρήσης α-ελίκων για τα διαμεμβρανικά τμήματα μπορεί να οφείλεται στο ότι το μήκος των β-πτυχωτών επιφανειών να μην μπορεί να ισορροπήσει μικρές αλλαγές στο πάχος της διλιπιδικής στοιβάδας όπως η α-έλικα. Επίσης μπορεί να οφείλεται στο ότι οι α-έλικες μπορούν να εισέλθουν στην μεμβράνη κάθε μία ανεξάρτητα κατά το δίπλωμα της πρωτεΐνης (αφού οι υδρογονικοί δεσμοί έχουν ήδη ικανοποιηθεί) ενώ οι β-κλώνοι πρέπει πρώτα να σχηματίσουν τις β-πτυχωτές επιφάνειες πριν την είσοδο στην μεμβράνη.

Η πρόβλεψη των διαμεμβρανικών τμημάτων μιας πρωτεΐνης βασίζεται στον παρακάτω υπολογισμό. Επειδή οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των λιπιδίων είναι 14-24 CH₂ σε μήκος, κάθε διαμεμβρανική α-έλικα πρέπει να περιέχει περίπου 18 αμινοξικά κατάλοιπα ενώ κάθε διαμεμβρανικός β-κλώνος 7 κατάλοιπα. Εάν για κάθε κατάλοιπο οριστεί και μία τιμή υδροφοβικότητας (ανάλογα με τον χαρακτήρα της πλευρικής του αλυσίδας) και η αμινοξική ακολουθία σαρωθεί με ένα πλαίσιο 18 ή 7 καταλοίπων η τιμή της υδροφοβικότητας ενός πλαισίου πάνω από την τιμή βάσης μπορεί να σχετίζεται με τον αν μία περιοχή της ακολουθίας θα περιλαμβάνει μια διαμεμβρανική περιοχή της πρωτεΐνης. Στην εικόνα 8.15 δίνεται η εφαρμογή της μεθόδου Kyte-Doolittle για την βακτηριοροδοψίνη και την γλυκοφορίνη.



Εικόνα 8.15. Ο δείκτης υδροφοβικότητας για τις πρωτεΐνες βακτηριοροδοψίνη και γλυκοφορίνη.

Είναι ενδιαφέρον ότι πολλές μεμβρανικές πρωτεΐνες περιέχουν το αμινοξύ **προλίνη** (που διακόπτει την συνέχεια της α-έλικας) στο διαμεμβρανικό τμήμα τους. Στις μεμβρανικές πρωτεΐνες η προλίνη μπορεί να αλλάζει την κλίση της ελικοειδούς περιοχής ή να ρυθμίζει την κάθετη θέση της έλικας σε σχέση με άλλες γειτονικές ελικοειδείς αλληλεπιδρούσες περιοχές όπως στην περίπτωση του της ροδοψίνης (εικ. 8.22).

8.3.3. Τριτοταγής δομή μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Ο τρόπος που διπλώνουν οι μεμβρανικές πρωτεΐνες αναμένεται να είναι παρόμοιος με αυτόν των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών στο ότι αρχικά σχηματίζονται τα στοιχεία δευτεροταγούς δομής και κατόπιν αυτά συνδυάζονται και σχηματίζουν την τριτοταγή δομή. Το πότε όμως η πρωτεΐνη εισέρχεται στην μεμβράνη δεν είναι καθορισμένο. Στην περίπτωση της γλυκοφορίνης το δίπλωμα της πρωτεΐνης γίνεται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο γίνεται η είσοδος της πολυπεπτιδικής αλυσίδας στην μεμβράνη και ο σχηματισμός των α-ελίκων και στο δεύτερο ο συσχετισμός των τελευταίων για την δημιουργία της τελικής τριτοταγούς δομής. Αυτός είναι πιθανά και ο κυρίαρχος μηχανισμός για α-ελικοειδής μεμβρανικές πρωτεΐνες. Εναλλακτικά για πρωτεΐνες με β-πτυχωτές επιφάνειες πιθανότατα πρώτα σχηματίζεται η β-πτυχωτή επιφάνεια και κατόπιν εισέρχεται στην μεμβράνη.

Ο συσχετισμός των διαμεμβρανικών τμημάτων της πολυπεπτιδικής αλυσίδας μετά την είσοδο τους στην μεμβράνη γίνεται με το παρακάτω μηχανισμό. Οι μη πολικές περιοχές των διαμεμβρανικών τμημάτων προσανατολίζονται με τέτοιο τρόπο ώστε να καλύπτονται στο εσωτερικό της πρωτεΐνης ή στις επιφάνειες διεπαφής και να μεγιστοποιείται το πακετάρισμα μεταξύ των ελίκων. Έτσι προτιμάται ενεργειακά η αντιπαράλληλη διάταξη γειτονικών α-ελίκων.

8.3.3.1 Γενικές παρατηρήσεις στο ρόλο των αλληλεπιδράσεων της κυτταρικής μεμβράνης και της επιφάνειας διεπαφής της με την δομή των μεμβρανικών πρωτεϊνών.

Οι αλληλεπιδράσεις που κάνουν οι μεμβρανικές πρωτεΐνες με τα πολικά τμήματα της λιπιδικής επιφάνειας είναι αρκετά ισχυρές σε σύγκριση με τις van der Waals αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεΐνης και υδρογονανθρακικών αλυσίδων των λιπιδίων. Επειδή η ενέργεια των πρώτων αλληλεπιδράσεων είναι αντιστρόφως ανάλογη της απόστασης ($1/r^3$), μικρές αλλαγές στο εύρος της διλιπιδικής στοιβάδας έχει ως αποτέλεσμα την σταθεροποίηση ή αποσταθεροποίηση της πρωτεϊνικής στερεοδομής. Αντίστοιχα, οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της διαμεμβρανικής περιοχής της πρωτεΐνης και των λιπιδίων εκτείνονται σε μία μεγαλύτερη επιφάνεια ώστε οι τυχόν τοπικές τροποποιήσεις να μην είναι σημαντικές. Κατ' αυτό τον τρόπο τα αμινοξέα στο εσωτερικό της μεμβράνης σταθεροποιούν την γενική τοποθέτηση της πρωτεΐνης στη μεμβράνη, αλλά οι αλληλεπιδράσεις της επιφάνειας ρυθμίζουν τις λεπτομέρειες της σταθεροποίησης της πρωτεϊνικής στερεοδιάταξης.

8.3.3.2 Ο ρόλος του πακεταρίσματος των λιπιδίων στην στερεοδομή και λειτουργία των μεμβρανικών πρωτεϊνών

Με βάση τον ρυθμιστικό ρόλο των επιφανειακών επαφών λιπιδίων και πρωτεΐνης έχει μελετηθεί το πως η διάταξη των λιπιδίων επηρεάζει την λειτουργία της πρωτεΐνης. Είναι πιθανό οι κινήσεις των μεμβρανικών πρωτεϊνών να είναι ευαίσθητες στην ρευστότητα των λιπιδικών αλυσίδων. Αυξάνοντας την πυκνότητα των λιπιδίων ελαττώνεται και η ταχύτητα κίνησης στο παράλληλο με τα λιπίδια επίπεδο.

8.3.4. Η Τεταρτοταγής δομή των μεμβρανικών πρωτεϊνών

Οι ίδιες αρχές που αναπτύχθηκαν για την αλληλεπίδραση των στοιχείων δευτεροταγούς δομής στην ανάπτυξη της τριτοταγούς δομής ισχύουν και στην αλληλεπίδραση μεταξύ πολυπεπτιδικών αλυσίδων ή πρωτεϊνικών μονάδων στην δημιουργία της τεταρτοταγούς δομής. Από την διερεύνηση μεμβρανικών συστημάτων όπως είναι η γλυκοφορίνη και η βακτηριοροδοψίνη είναι φανερό η σημασία της αλληλεπίδρασης μεταξύ των στοιχείων δευτεροταγούς δομής στο διαμοριακό πακετάρισμα παρ'ότι και χημικές διασυνδέσεις παρατηρούνται σε πολλά συστήματα.

8.3.4.1 Η δομή πρωτεϊνών που προσδένονται στην μεμβράνη και των περιφερειακών πρωτεϊνών.

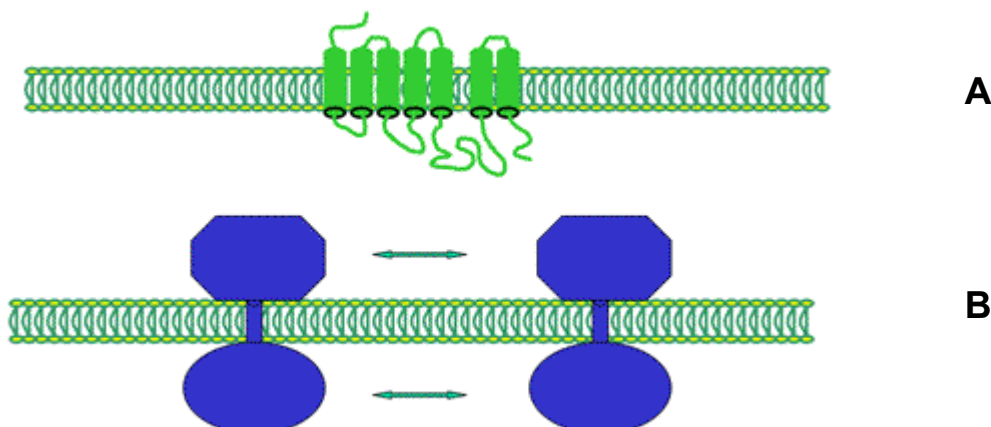
Είναι γνωστό ότι πολλές περιφερειακές πρωτεΐνες προσδένονται στην επιφάνεια της μεμβράνης με μεταβιοσυνθετικές αλλαγές όπως μιρυστυλίωση ή φαρνεσιλίωση ή GPI συνδέσεις (Εικ. 8.9). Η ενέργεια αυτών των συνδέσεων (περίπου 0.2Kcal/mol) δεν είναι ικανή για να κρατήσει την πρωτεΐνη προσκολλημένη στην μεμβράνη. Οι πρωτεΐνες που προσκολλώνται στην μεμβράνη πρέπει να έχουν και άλλες περιοχές αλληλεπίδρασης με την μεμβράνη με δομικές ενότητες που στοχεύουν σε πολικές κεφαλές λιπιδίων ή βασικά αμινοξικά κατάλοιπα που αλληλεπιδρούν με αρνητικές πολικές κεφαλές λιπιδίων. Επειδή οι περισσότερες μεμβράνες έχουν ένα μεγάλο αριθμό φωσφολιπιδίων οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις συμβάλουν ενεργειακά κατά το μεγαλύτερο ποσοστό στην πρόσδεση.

Εκτός όμως από τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις πολλές πρωτεΐνες προσδένονται στην μεμβράνη δια μέσου υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων με την δημιουργία αμφιπαθικών δομών, όπως α-ελίκων. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η μελιτίνη (η πρωτεΐνη του κεντριού της μέλισσας) που σχηματίζει ένα αμφιπαθικό τετραμερές του οποίου οι υδρόφοβες περιοχές μπορούν να διαπερνούν την μεμβρανική επιφάνεια. Η διαπερατότητα της μεμβράνης από αμφιπαθικές έλικες είναι συνάρτηση της φύσης της μεμβρανικής επιφάνειας και της έκθετης υδρόφοβης επιφάνειας της πρωτεϊνικής δομής, όπως και τυχόν ανωμαλιών της μεμβρανικής επιφάνειας.

8.4. Οικογένειες Μεμβρανικών Πρωτεϊνών.

Πολλές διαμεμβρανικές πρωτεΐνες είναι και δομικά και λειτουργικά συγγενείς.

Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα και ο υποδοχέας της ινσουλίνης έχουν μία εξωκυττάρια δομική ενότητα πλούσια σε δισουλφιδικούς δεσμούς και μία ενδοκυττάρια δομική ενότητα που είναι μία κίνηση της τυροσίνης (Εικ. 8.16.β). Οι δύο ενότητες συνδέονται με μία διαμεμβρανική έλικα.



Εικόνα 8.16. Σχηματική αναπαράσταση (A) των υποδοχέων που δεσμεύουν πρωτεΐνες G και (B) του υποδοχέα της ινσουλίνης.

Μία άλλη σημαντική οικογένεια διαμεμβρανικών πρωτεϊνών είναι η οικογένεια των υποδοχέων που δεσμεύουν πρωτεΐνες G (πρωτεϊνών που δεσμεύουν το νουκλεοτίδιο γουανίνη) (εικ.8.16.α). Οι υποδοχείς αυτοί συμμετέχουν στην μεταβίβαση ποικίλων σημάτων στο κύτταρο (από φως στην ροδοψίνη, νευροδιαβιβαστές στους μουσκαρινικούς και αδρενεργικούς σε γενετικές φερομόνες στην οξυτοσίνη). Παρά την μεγάλη λειτουργική ποικιλομορφία όλοι οι υποδοχείς δεσμεύουν πρωτεΐνη G για την μεταφορά του σήματος από την μεμβράνη. Το κοινό δομικό τους χαρακτηριστικό είναι οι επτά διαμεμβρανικές α-έλικες σε καθωρισμένη τοπολογία με μικρά εξωμεμβρανικά τμήματα.

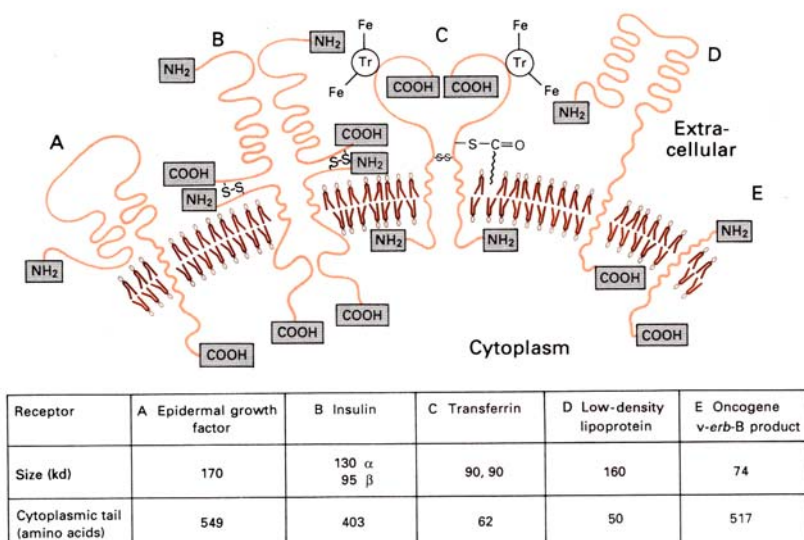
8.4.1. Μεμβρανικοί υποδοχείς

8.4.1.1. Γενικά στοιχεία.

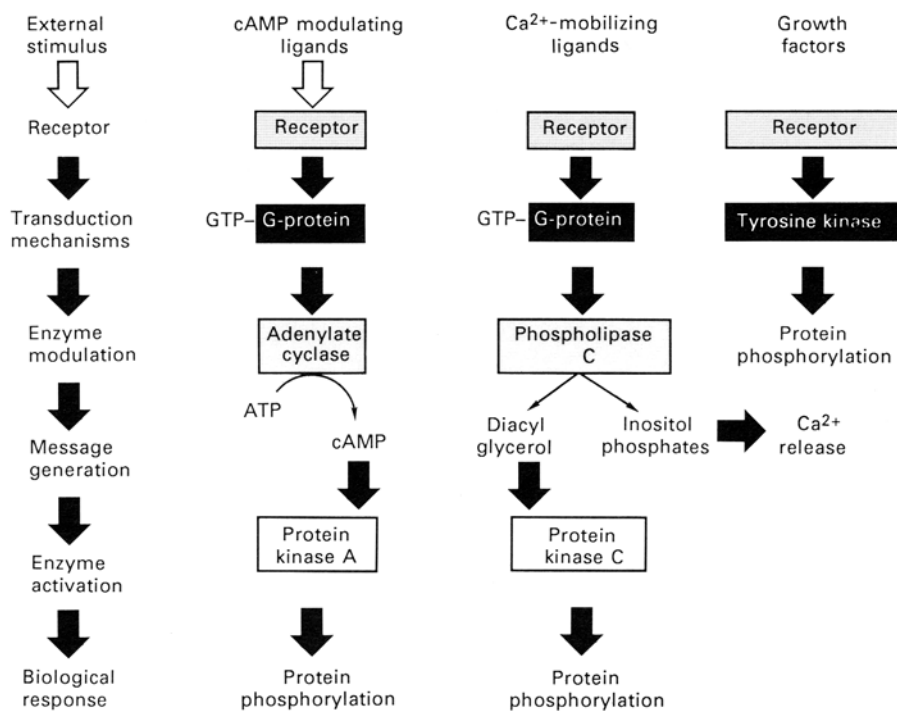
Οι μεμβρανικοί υποδοχείς είναι απαραίτητοι για την διαμεταγωγή εξωτερικών ερεθισμάτων και μηνυμάτων. Στις δράσεις τους συμπεριλαμβάνεται ο έλεγχος της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης, μεταφορικές πρωτεΐνες, η απορρόφηση σιδήρου, κυτταρική αλληλεπίδραση κλπ. Οι περισσότεροι μεμβρανικοί υποδοχείς διασχίζουν την μεμβράνη περισσότερες από μία φορές και συχνά έχουν πολλές δομικές ενότητες (domains).

Πίνακας 8.3.
Ταξινόμηση των υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας.

Receptor type	Nature of ligand
Receptors linked to ion channels Na ⁺ Cl ⁻ Cl	Nicotine acetylcholine γ-Aminobutyric acid (GABA) Glycine
Receptors with protein kinase activity	Epidermal growth factor (EGF) Insulin Platelet-derived growth factor (PDGF)
Receptors that <i>activate</i> adenylate cyclase	β-Adrenergic Vasopressin Glucagon Thyroid-stimulating hormone (TSH) Histamine Adenocorticotrophic hormone (ACTH) Prostacyclin Parathyroid hormone
Receptors that <i>inhibit</i> adenylate cyclase	α-Adrenergic Muscarinic acetylcholine Prostaglandin E ₁ Adenosine Opiate
Receptors that activate phosphoinositide hydrolysis (phospholipase C)	α-Adrenergic Muscarinic acetylcholine Substance P Gonadotrophin-releasing hormone Angiotensin Thyrotrophin-releasing hormone Thromboxane A ₂
Receptors that activate phospholipase A	Histamine Vasoactive intestinal peptide Bradykinin
Receptors that modulate the immune response	Various antigens, antibodies and lymphokines
Receptors linked to the extracellular matrix (Integrins)	Fibronectin
Receptors that function as delivery systems	Transferrin Asialoglycoproteins Low-density lipoproteins



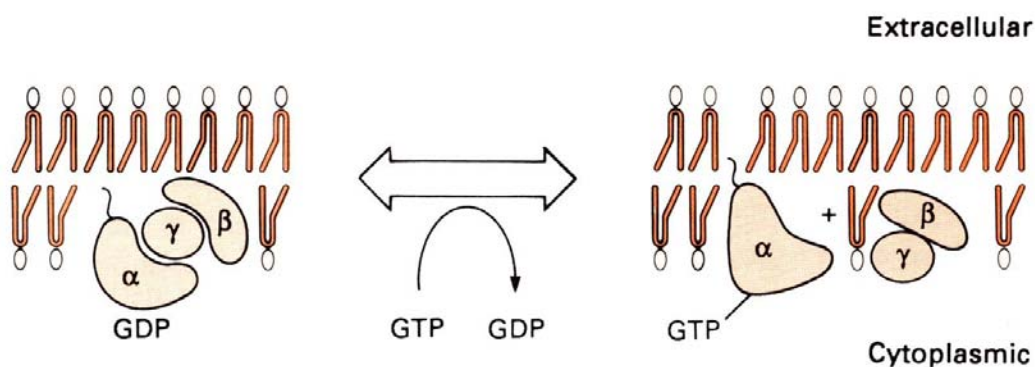
Εικόνα 8.17. Πρωτεϊνόμενη διάταξη στο χώρο διάφορων υποδοχέων στην πλασματική μεμβράνη.



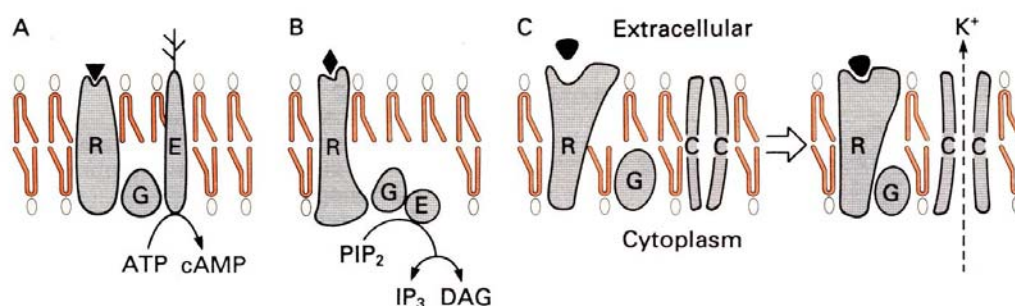
Εικόνα 8.18. Περίληψη των διεργασιών στην πλασματική μεμβράνη και στο εσωτερικό του κυττάρου διάφορων κατηγοριών υποδοχέων στην εξωκυτταρική διέγερση.

8.4.1.2. Υποδοχείς που σχετίζονται με πρωτεΐνες που δεσμεύουν GTP.

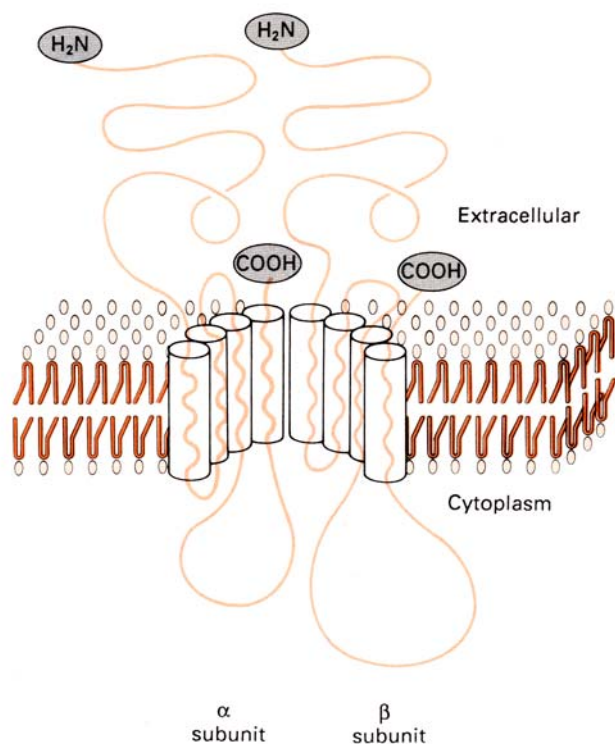
Αυτοί ενεργοποιούν τον GTP-GDP κύκλο των πρωτεϊνών G κατόπιν ερεθίσματος (χημικού ή φυσικού) στην εξωκυτταρική πλευρά της μεμβράνης.



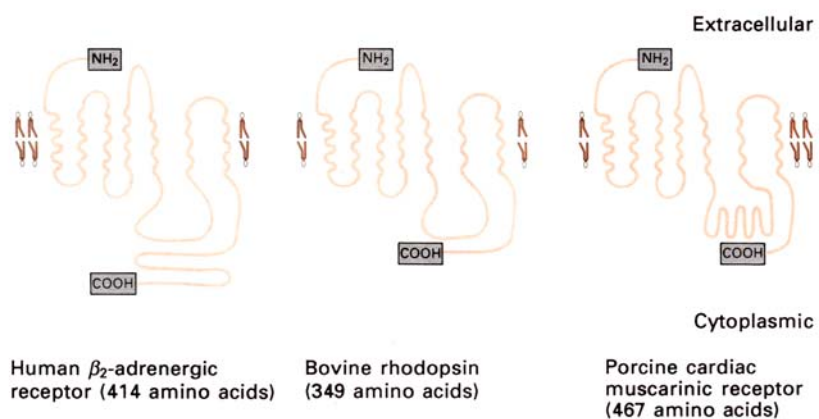
Εικόνα 8.18. Ο GTP-GDP κύκλος των G-πρωτεϊνών. Η α-υπομονάδα της G-πρωτεΐνης συνδέεται με την μεμβράνη διαμέσου ενός μυριστικού οξέος.



Εικόνα 8.19. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης των υποδοχών που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες G. α) Διέγερση της κυκλάσης της αδενίνης (E) από τον υποδοχέα (R) με την συμμετοχή της πρωτεΐνης G. β) Διέγερση της φωσφολιπάσης C από τον α-αδρενεργικό υποδοχέα για την παραγωγή IP₃ και διαγλυκερόλης (DAG). γ) Διέγερση του μουσκαρινικού υποδοχέως σε καρδιακά κύτταρα από την ακετυλοχολίνη οδηγεί διαμέσου της πρωτεΐνης G στο άνοιγμα του ιοντικού καναλιού ιόντων καλίου.



Εικόνα 8.20. Μοντέλο του μεμβρανικού τμήματος υποδοχών που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες G.



Εικόνα 8.21. Δομικά μοντέλα τριών υποδοχών που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες G. Παρότι η τριτοταγής δομή είναι παρόμοια η ομοιότητα στην πρωτοταγή είναι πολύ μικρή.

Πίνακας 8.4.
Παραδείγματα διαμεταγωγής σήματος από υποδοχείς που αλληλεπιδρούν με πρωτείνες G.

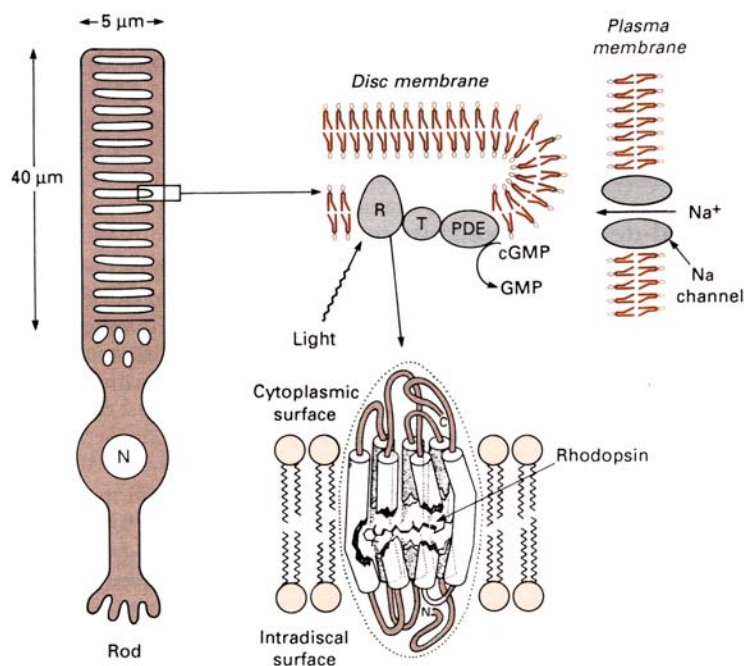
Υποδοχέας	Ερέθισμα	Τελεστής	Τύπος G-Πρωτεΐνης	Παράδειγμα Απόκρισης
β -Adrenergic	Adrenalin	Adenylate cyclase	G_s	Glycogen breakdown Acceleration of heart rate
Serotonin	Serotonin	Adenylate cyclase	G_s	Widespread, e.g. neuronal excitability
Glucagon	Glucagon	Adenylate cyclase	G_s	Glycogen breakdown
Rhodopsin	Light	cGMP phospho- diesterase	Transducin	Visual excitation
Mast cell IgE	IgE-antigen	Phospholipase C	?	Secretion
Muscarinic subtypes	Acetyl- choline	K^+ -channel Phospholipase C Adenylate cyclase	? ? G_i	Slowing of heart rate Excitation or inhibition of central neurons

8.4.1.3. Ροδοψίνη.

Η μετατροπή της ενέργειας του φωτός σε ηλεκτροχημικό παλμό γίνεται στα ραβδία και τα κωνία των οπτικών οργάνων. Οι μεμβράνες των δίσκων των ραβδίων που βρίσκονται στο οπτικό όργανο περιέχουν ροδοψίνη (εικ. 8.22), μεταγωγάση (transducin T) και φωσφοδιεστεράση (PDE) που υδρολύει το κυκλικό GMP. Η σύλληψη του φωτονίου από το 11 cis ρετινοϊκό οξύ που περιέχεται στην ροδοψίνη το μετατρέπει σε trans με αποτέλεσμα στερεοδομικές αλλαγές στην ροδοψίνη και ενεργοποίηση της αλληλεπίδρασης της με την πρωτεΐνη G (εικ.8.23).



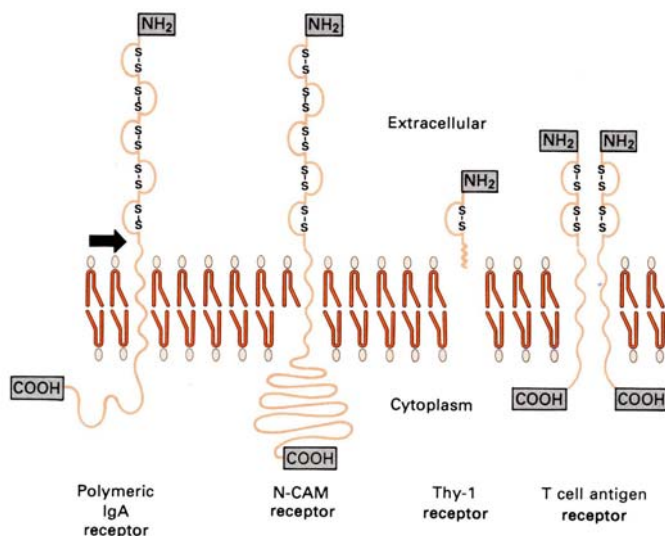
Εικόνα 8.22. Η δομή της ροδοψίνης



Εικόνα 8.23. Η διεργασία μετατροπής του φωτονικού σήματος σε νευρικό παλμό.

8.4.1.4. Υποδοχείς ανοσοποιητικού συστήματος.

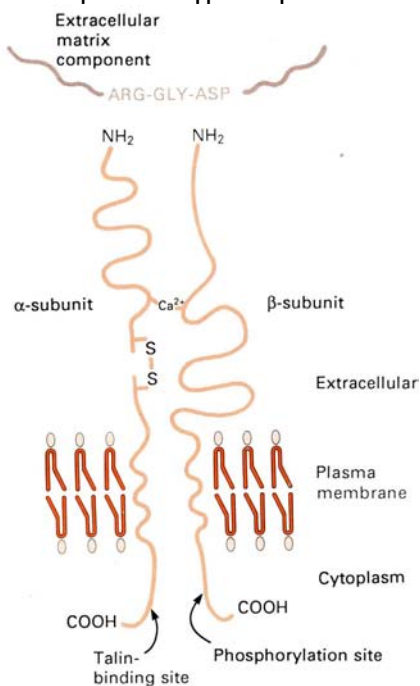
Οι υποδοχείς αυτοί έχουν δομικές ενότητες που έχουν την δομική μορφή των ανοσοσφαιρινών και συνδέονται με την διακυτταρική αναγνώριση. Μερικά παραδείγματα τέτοιων υποδοχέων δίνονται παρακάτω.



Εικόνα 8.24. Σχηματική αναπαράσταση υποδοχέων ανοσοποιητικού συστήματος.

8.4.2. Συνδετικές πρωτεΐνες.

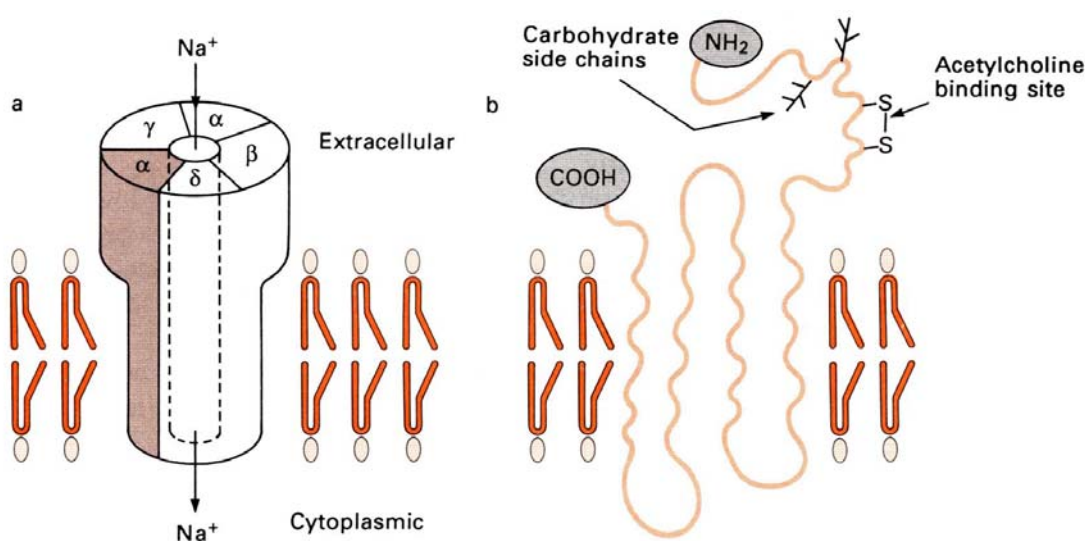
Οι υποδοχείς της πλασματικής μεμβράνης που περιέχουν τμήματα που προσκολλούνται στο εξωκυτταρικό πλέγμα λέγονται συνδεάσες (integrins).



Εικόνα 8.25. Σχηματική αναπαράσταση της συνδεάσης.

8.4.3. Ιονικά κανάλια. Αννεξίνη, ΑΤΡάση

Οι κυτταρικές μεμβράνες συνδέονται άμεσα με την επιλεκτική μετακίνηση ιόντων μεταξύ κυτάρου και εξωτερικού περιβάλλοντος. Τα κύτταρα επικοινωνούν με χασματικές συνδέσεις και ιοντικά κανάλια (βλ. Κεφ. 9). Αυτά είναι κανάλια που βρίσκονται ενσωματωμένα σε περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης και επιτρέπουν της ρυθμιζόμενη σύνδεση μεταξύ του κυτοπλάσματος διαδοχικών κυττάρων. Τα κανάλια είναι 1.6-2.0 nm σε διάμετρο και επιτρέπουν ιόντα και μεταβολίτες μοριακού βάρους έως και 1 kD να περνούν και στις δύο κατευθύνσεις. Μία χαρακτηριστική περίπτωση ρυθμιστικού υποδοχέα ιόντων νατρίου που έχει μελετηθεί εκτενώς είναι ο νικοτινικός υποδοχέας της ακετυλοχολίνης .

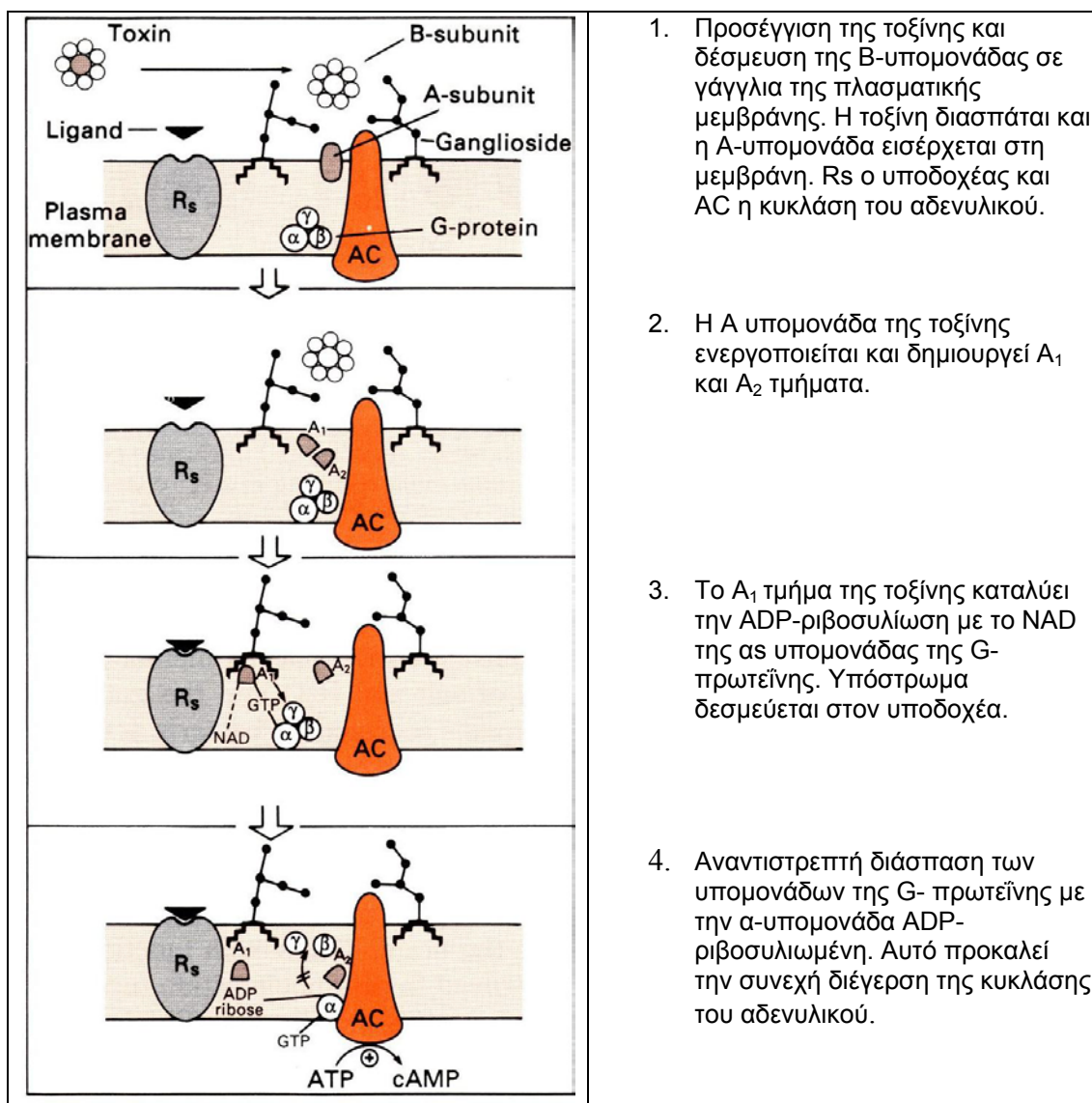


Εικόνα 8.26. Μοντέλο του νικοτινικού ακετυλοχολινικού υποδοχέα. α) αποτελείται από δύο α και από μία β, γ, δ υπομονάδας που συμμετέχουν στην δημιουργία ενός ιοντικού καναλιού. β) Η προτεινόμενη θέση του στην κυτταρική μεμβράνη.

Ο υποδοχέας ακετυλοχολίνης του εγκεφάλου ενέχεται στην εμφάνιση πολλών κλινικών συμπτωμάτων της ασθένειας Alzheimer. Επίσης, η αντίδραση της νικοτίνης με τον υποδοχέα αυτόν ευθύνεται για την εξάρτηση στο κάπνισμα. Με την κατανόηση σε βάθος της στερεοδομής των σημείων πρόσδεσης των υποκαταστατών του υποδοχέα (νικοτίνης, ακετυλοχολίνης και α-bungarotoxin), μπορούν μελλοντικά να σχεδιαστούν εκλεκτικοί αγωνιστές και ανταγωνιστές των υποκαταστατών αυτών για την θεραπευτική αντιμετώπιση της Alzheimer και για τη απαλλαγή από την έξη στο κάπνισμα.

8.4.4. Η τοξίνης της χολέρας. Μηχανισμός δράσης

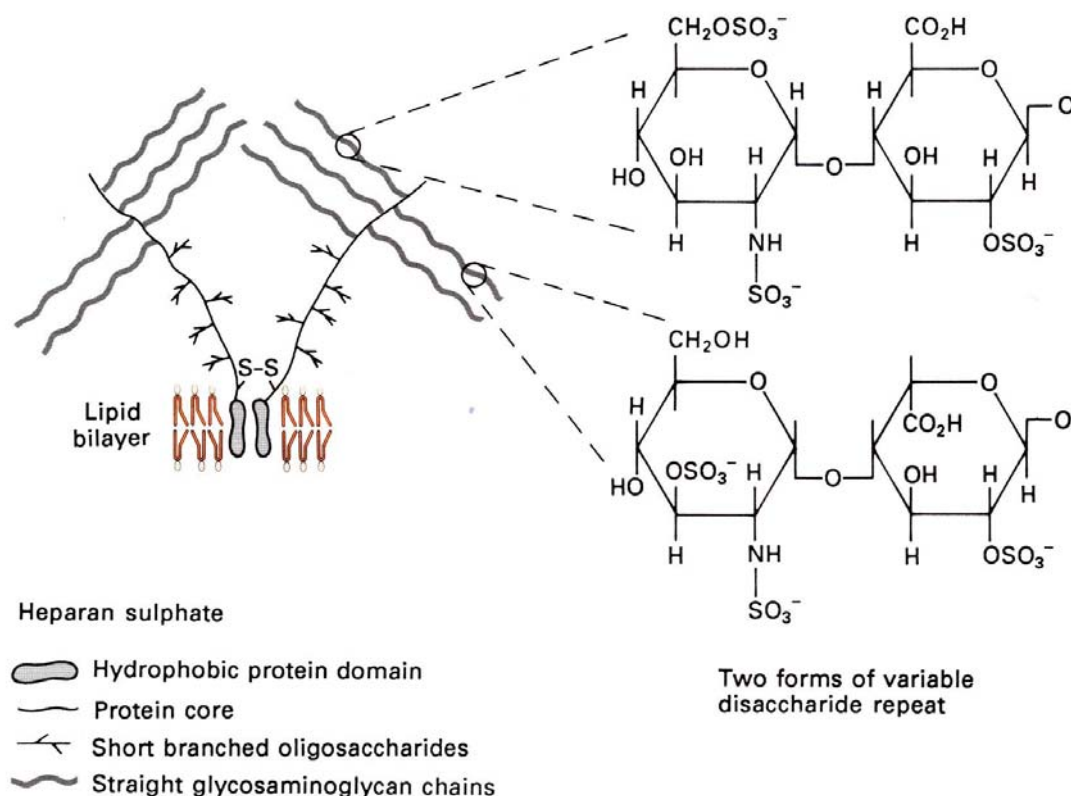
Πολλές τοξίνες παρεμβαίνουν στο ρόλο των G-πρωτεϊνών στην μεταβίβαση σήματος. Αυτό οφείλεται στο ότι πολλές φυτικές και βακτηριακές τοξίνες έχουν παρεμφερή δομή που αποτελείται από δύο υπομονάδες που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Ο μοριακός μηχανισμός της δράσης της τοξίνης της χολέρας στην διέγερση της δράσης της κυκλάσης της αδενίνης στην εντερική κυταροπλασματική μεμβράνη δίνεται στην εικ. 8.27. Η αυξημένη παραγωγή cAMP που επάγεται από την δέσμευση της τοξίνης στα γάγγλια των πλασματικών μεμβρανών των εντερικών κυττάρων προκαλεί την ανεξέλεγκτη έκλυση αλάτων και νερού στο έντερο.



Εικόνα 8.27. Ο μηχανισμός δράσης της τοξίνης της χολέρας.

8.5. Ο γλυκοκάλυκας.

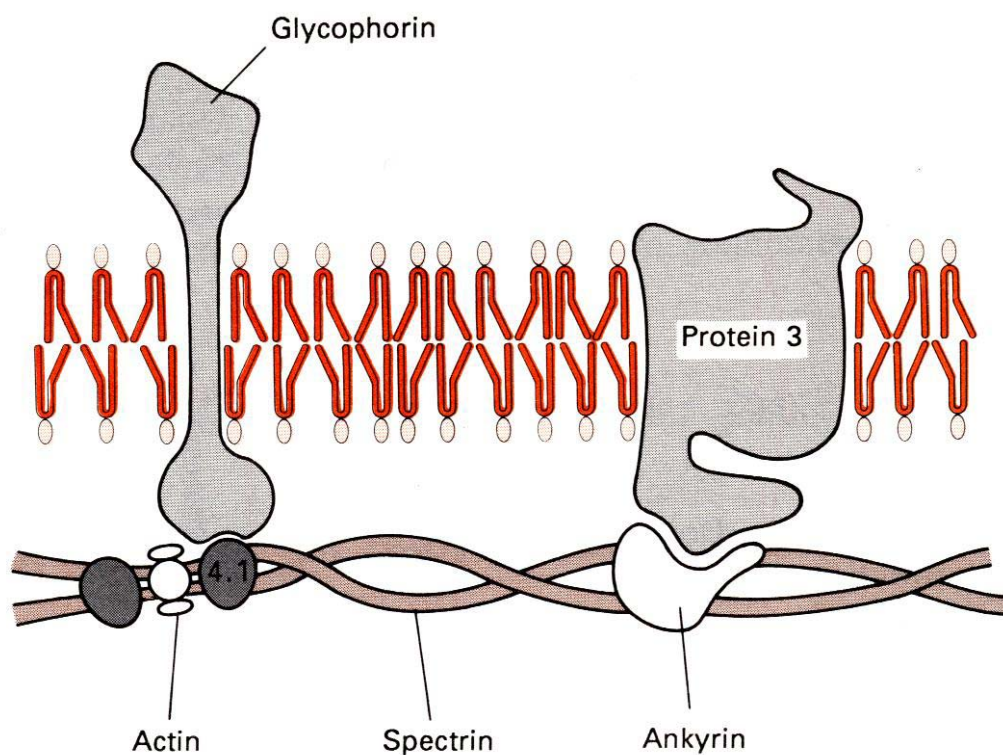
Η περιοχή εξωτερικά της λιπιδικής στοιβάδας που κυρίως αποτελείται από υδατάνθρακες λέγεται γλυκοκάλυκας ή κυτταρικό περίβλημα. Το περίβλημα αυτό μπορεί να έχει πάχος μέχρι και 50 nm. Ο γλυκοκάλυκας αποτελείται από τα εξωκυτταρικά τμήματα των γλυκοσυλιωμένων μεμβρανικών πρωτεϊνών.



Εικόνα 8.28. Σχηματική αναπαράσταση του γλυκοκάλυκα και των προτεωγλυκοσιδίων.

8.6. Ο Κυτταροσκελετός.

Ο κυτταροσκελετός σταθεροποιεί την πλασματική μεμβράνη και διατηρεί το σχήμα του κυττάρου. Συχνά περιέχει ινίδια ακτίνης και ένας μεγάλος αριθμός πρωτεϊνών αλληλεπιδρά με αυτά.



Εικόνα 8.29. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού και ενσωματωμένων μεμβρανικών πρωτεϊνών της μεμβράνης ερυθροκυττάρων.

Παράρτημα 1.

Δομές μεμβρανικών πρωτεϊνών.

<i>ΠΡΩΤΕΪΝΗ</i>	PDB κωδ.	<i>Αναφορά</i> (Σύνδεση με PubMed)
<i>MONOTOPIC MEMBRANE PROTEINS</i>		
Prostaglandin H2 synthase-1. Sheep. 3.5 Å	1PRH	Picot et al. (1994)
Cyclooxygenase-2. <i>Mus Musculus</i> . 3.0 Å.	1CX2	Kurumbail et al. (1996)
Squalene-hopene cyclase. <i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i> . 2.0 Å.	2SQC 3SQC	Wendt et al. (1999)
<i>TRANSMEMBRANE PROTEINS</i>		
Bacteriorhodopsin (<i>Halobacterium salinarium</i>)		
2D xtals. EM. 3.5 Å.	2BRD	Grigorieff et al. (1996)
2D xtals. EM. 3.0 Å.	1AT9	Kimura et al. (1997)
3D xtals. X-ray. 2.5 Å.	1AP9	Pebay-Peyroula et al. (1997)
3D xtals. X-ray. 1.9 Å.	1QHJ	Belrhali et al. (1999)
3D xtals. X-ray. 2.3 Å.	1BRX	Luecke et al. (1998)
3D xtals. X-ray. 1.55 Å.	1C3W	Luecke et al. (1999)
3D xtals. X-ray. D96N mutant (BR) 1.80 Å. 3D xtals. X-ray. D96N mutant (M) 2.00 Å.	1C8R 1C8S	Luecke et al. (1999)
3D xtals. X-ray. 2.9 Å.	1BRR	Essen et al. (1998)
Photosynthetic Reaction Centers		
<i>Rhodospseudomonas viridis</i> . 2.3 Å.	1PRC	Deisenhofer et al. (1985)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> . 3.0 Å.	1PSS	Yeates et al. (1987)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> . 3.1 Å.	2RCR	Chang et al. (1991)
Light Harvesting Complexes		
<i>Rhodospseudomonas acidophila</i> . 2.5 Å	1KZU	McDermott et al. (1995)

<i>Rhodospirillum molischianum</i> . 2.4 Å.	1LGH	Koepke et al. (1996)
Photosystems		
Photosystem I. <i>Synechococcus elongatus</i> 4.0 Å.	2PPS	Schubert et al. (1997)
β-Barrel Membrane Proteins - Multimeric (Porins)		
Porin. <i>Rhodobacter capsulatus</i> . 1.8 Å	2POR	Weiss & Schulz (1992)
Porin. <i>Rhodospseudomonas blastica</i> 1.96 Å	1PRN	Kreutsch et al. (1994)
OmpF. <i>E. coli</i> . 2.4 Å.	2OMF	Cowan et al. (1992)
PhoE. <i>E. coli</i> . 3.0 Å.	1PHO	Cowan et al. (1992)
Maltoporin. <i>Salmonella typhimurium</i> . 2.4 Å.	2MPR	Meyer et al. (1997)
β-Barrel Membrane Proteins - Monomeric/Dimeric		
OmpA. <i>E. coli</i> . 2.5 Å.	1BXW	Pautsch & Schulz (1998)
OmpX. <i>E. coli</i> . 1.9 Å.	1QJ8	Vogt & Schulz (1999)
OMPLA (outer membrane phospholipase A) ^{NEW} <i>E. coli</i> . 2.1 Å. monomer (1QD5) and dimer (1QD6)	1QD5 1QD6	Snijder et al. (1999)
FhuA. <i>E. coli</i> . 2.5 Å.	2FCP	Ferguson et al. (1998)
FhuA + ferrichrome-iron. <i>E. coli</i> . 2.7 Å.	1FCP	Ferguson et al. (1998)
FepA. <i>E. coli</i> . 2.4 Å.	1FEP	Buchanan et al. (1999)
Non-constitutive. Toxins, etc.		
□ Alpha-hemolysin. <i>Staphylococcus aureus</i> . 1.9 Å.	7AHL	Song et al. (1996)
LukF. <i>Staphylococcus aureus</i> . 1.9 Å.	1LKF 2LKF 3LKF	Olson et al. (1999)
<u>Ion Channels</u>		
KcsA Potassium, H ⁺ gated. <i>Streptomyces lividans</i> . 3.2Å.	1BL8	Doyle et al. (1998)
MscL Mechanosensitive. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . 3.5 Å.	1MSL	Chang et al. (1998)
RESPIRATORY PROTEINS		
Fumerate Reductase Complex. <i>Escherichia coli</i> . 3.3Å.	1FUM	Iverson et al. (1999)

Fumarate Reductase Complex. <i>Wolinella succinogenes</i> 2.2 Å.	1QLA 1QLB	Lancaster et al. (1999)
ATP synthase (F ₁ c ₁₀). <i>S. cerevisiae</i> . 3.9 Å. X-ray structure is a C α model derived from composite of 1BMF , 1A91 , & 1AQT	1QO1	Stock et al. (1999)
<u>Cytochrome C Oxidases</u>		
Bovine Heart. 2.8 Å.	1OCC	Tsukihara et al. (1996)
<i>Paracoccus denitrificans</i> . 2.8 Å.	1AR1	Iwata et al. (1995)
<u>Cytochrome bc₁ Complexes</u>		
Bovine Heart Mitochondria (5 subunits). 2.9 Å.	1QCR	Xia et al. (1997)
Chicken Heart Mitochondria. 3.16 Å.	1BCC	Zhang et al. (1998)
Bovine Heart Mitochondria (11 subunits). 2.8 - 3.0 Å.	1BGY	Iwata et al. (1998)

Αναφορές.

Belrhali, H., Nollert, P., Royant, A., Menzel, C., Rosenbusch, J. P., Landau, E. H. & Pebay-Peyroula, E. (1999). Protein, lipid, and water organization in bacteriorhodopsin crystals: A molecular view of the purple membrane at 1.9 Å resolution. *Structure* **7**:909-917.

Buchanan, S. K., Smith, B. S., Venkatramani, L., Xia, D., Esser, L., Palnitkar, M., Chakraborty, R., van der Helm, D., & Deisenhofer, J. (1999). Crystal Structure of the outer membrane active transporter FepA from *Escherichia coli*. *Nature Struc. Biol.* **6**:56-63.

Chang, C. H., Elkabbani, O., Tiede, D., Norris, J. & Schiffer, M. (1991). Structure of the membrane-bound protein photosynthetic reaction center from *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochemistry* **30**, 5352-5360.

Chang, G., Spencer, R. H., Lee, A. T., Barclay, M. T. & Rees, D. C. (1998). Structure of the MscL homolog from *Mycobacterium tuberculosis*: A gated mechanosensitive ion channel. *Science* **282**, 2220-2226.

Cowan, S. W., Schirmer, T., Rummel, G., Steiert, M., Ghosh, R., Paupit, R. A., Jansonius, J. N. & Rosenbusch, J. P. (1992). Crystal structures explain functional properties of two *E. coli* porins. *Nature (London)* **358**, 727-733.

- Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R. & Michel, H. (1985). Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction centre of *Rhodospseudomonas viridis* at 3Å resolution. *Nature (London)* **318**, 618-624.
- Doyle, D. A., Cabral, J. M., Pfuetzner, R. A., Kuo, A. L., Gulbis, J. M., Cohen, S. L., Chait, B. T. & MacKinnon, R. (1998). The structure of the potassium channel: Molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science* **280**, 69-77.
- Essen, L., Siegert, R., Lehmann, W. D., & Oesterhelt, D. (1998). Lipid patches in membrane protein oligomers: crystal structure of the bacteriorhodopsin-lipid complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**:11673-11678.
- Ferguson, A. D., Hofmann, E., Coulton, J. W., Diederichs, K., & Welte, W. (1998). Siderophore-mediated iron transport: Crystal structure of FhuA with bound lipopolysaccharide. *Science* **282**, 2215-2220.
- Grigorieff, N., Ceska, T. A., Downing, K. H., Baldwin, J. M. & Henderson, R. (1996). Electron-crystallographic refinement of the structure of bacteriorhodopsin. *J. Mol. Biol.* **259**, 393-421.
- Iverson, T. M., Luna-Chavez, C., Cecchini, G., & Rees, D. C. (1999). Structure of the *Escherichia coli* fumarate reductase respiratory complex. *Science* **284**, 1961-1966.
- Iwata, S., Lee, J. W., Okada, K., Lee, J. K., Iwata, M., Rasmussen, B., Link, T. A., Ramaswamy, S. & Jap, B. K. (1998). Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc₁ complex. *Science* **281**, 64-71.
- Iwata, S., Ostermeier, C., Ludwig, B. & Michel, H. (1995). Structure at 2.8 Å resolution of cytochrome *c* oxidase from *Paracoccusdenitrificans*. *Nature (London)* **376**, 660-669.
- Lancaster, C. R. D., Kröger, A., Auer, M. & Michel, H. (1999). Structure of fumarate reductase from *Wolinella succinogenes* at 2.2 Å resolution. *Nature* **402**, 377-385.
- Snijder, H. J., Ubarretxena-Belandia, I., Blaauw, M., Kalk, K. H., Verhij, H. M., Egmond, M. R., Dekker, N. & Dijkstra, B. W. (1999). Structural evidence for dimerization-regulated activation of an integral membrane phospholipase. *Nature (London)* **401**:717-721.

- Stock, S., Leslie, A. G. W., & Walker, J. E. (1999). Molecular architecture of rotary motor in ATP synthase. *Science* **286**:1700-1705.
- Kimura, Y., Vassilyev, D. G., Miyazawa, A., Kidera, A., Matsushima, M., Mitsuoka, K., Murata, K., Hirai, T. & Fujiyoshi, Y. (1997). Surface of bacteriorhodopsin revealed by high-resolution electron crystallography. *Nature (London)* **389**, 206-211.
- Koepke, J., Hu, X. C., Muenke, C., Schulten, K. & Michel, H. (1996). The crystal structure of the light-harvesting complex II (B800- 850) from *Rhodospirillum rubrum*. *Structure* **4**, 581-597.
- Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., Gildehaus, D., Miyashiro, J. M., Penning, T. D., Seibert, K., et al. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature (London)* **384**, 644-648.
- Kreusch, A., Neubuser, A., Schiltz, E., Weckesser, J., & Schulz, G. E. (1994). Structure of the membrane channel porin from *Rhodopseudomonas blastica* at 2.0 Å resolution. *Protein Sci.* **3**, 58-63.
- Luecke, H., Richter, H. T. & Lanyi, J. K. (1998). Proton transfer pathways in bacteriorhodopsin at 2.3 Angstrom resolution. *Science* **280**, 1934-1937.
- Luecke, H., Schobert, B., Richter, H. T., Cartailler, P. & Lanyi, J. K. (1999). Structure of bacteriorhodopsin at 1.55 angstrom resolution. *J. Mol. Biol.* **291**, 899-911.
- Luecke, H., Schobert, B., Richter, H. T., Cartailler, P. & Lanyi, J. K. (1999). Structural changes in bacteriorhodopsin during ion transport at 2 angstrom resolution. *Science* **286**, 255-260 .
- McDermott, G., Prince, S. M., Freer, A. A., Hawthornthwaite-Lawless, A. M., Papiz, M. Z., Cogdell, R. J. & Isaacs, N. W. (1995). Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature (London)* **374**, 517-521.
- Meyer, J. E. W., Hofnung, M. & Schulz, G. E. (1997). Structure of maltoporin from *Salmonella typhimurium* ligated with a nitrophenyl-maltotrioxide. *J. Mol. Biol.* **266**, 761-775.

- Olson, R., Nariya, H., Yokota, K., Kamio, Y., & Gouaux, E. (1999). Crystal structure of Staphylococcal LukF delineates conformational changes accompanying formation of a transmembrane channel. *Nature Struct. Biol.* **6**:134-140.
- Pautsch, A. & Schulz, G. E. (1998). Structure of the outer membrane protein A transmembrane domain. *Nature Struct. Biol.* **5**, 1013-1017.
- Pebay-Peyroula, E., Rummel, G., Rosenbusch, J. P. & Landau, E. M. (1997). X-ray structure of bacteriorhodopsin at 2.5 Å from microcrystals grown in lipidic cubic phases. *Science* **277**, 1676-1681.
- Picot, D., Loll, P. J. & Garavito, R. M. (1994). The x-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H₂ synthase-1. *Nature (London)* **367**, 243-249.
- Preusch, P. C., Norvell, J. C., Cassatt, J. C. & Cassman, M. (1998). Progress away from 'no crystals, no grant'. *Nature Struct. Biol.* **5**, 12-14.
- Schubert, W.-D., Klukas, O., Krauß, N., Saenger, W., Fromme, P. & Witt, H. T. (1997). Photosystem I of *Synechococcus elongatus* at 4Å resolution: Comprehensive structure analysis. *J. Mol. Biol.* **272**, 741-769.
- Song, L., Hobaugh, M. R., Shustak, C., Cheley, S., Bayley, H. & Gouaux, J. E. (1996). Structure of staphylococcal α -hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science* **274**, 1859-1866.
- Tsukihara, T., Aoyama, H., Yamashita, E., Tomizaki, T., Yamaguchi, H., Shinzawa-Itoh, K., Nakashima, R. & Yoshikawa, S. (1996). The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome *c* oxidase at 2.8 Å. *Science* **272**, 1136-1144.
- Vogt, J. & Schulz, G. E. (1999). The structure of the outer membrane protein OmpX from *Escherichia coli* reveals possible mechanisms of virulence. *Structure Fold. Des.* **7**, 1301-1309.
- Weiss, M. S. & Schulz, G. E. (1992). Structure of porin refined at 1.8 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **227**, 493-509.
- Wendt, K. U., Lenhart, A., & Schulz, G. E. (1999). The structure of the membrane protein squalene-hopene cyclase at 2.0 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **286**:175-187.

White S. H. and Wimley, W. C. (1999). Membrane protein folding and stability: Physical principles. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **28**:319-365.

Xia, D., Yu, C.-A., Kim, H., Xia, J.-Z., Kachurin, A. M., Zhang, L., Yu, L. & Deisenhofer, J. (1997). Crystal structure of the cytochrome bc_1 complex from bovine heart mitochondria. *Science* **277**, 60-66.

Yeates, T. O., Komiya, H., Rees, D. C., Allen, J. P. & Feher, G. (1987). Structure of the reaction center from *Rhodobacter sphaeroides* R-26: Membrane-protein interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 6438-6442.

Zhang, Z. L., Huang, L. S., Shulmeister, V. M., Chi, Y.-I., Kim, K. K., Hung, L.-W., Crofts, A. R., Berry, E. A. & Kim, S.-H. (1998). Electron transfer by domain movement in cytochrome bc_1 . *Nature (London)* **392**, 677-684.