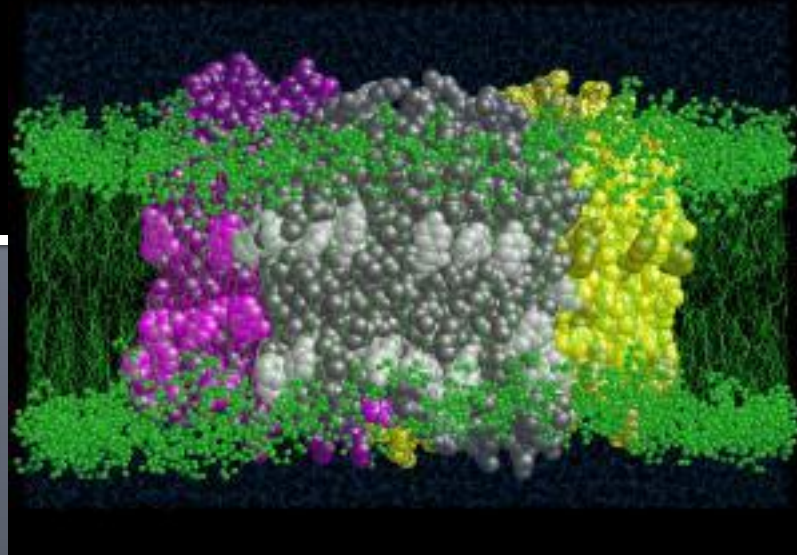




ΕΙΔΙΚΑ ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Ρύθμιση οργάνωσης και λειτουργίας βιολογικών μεμβρανών



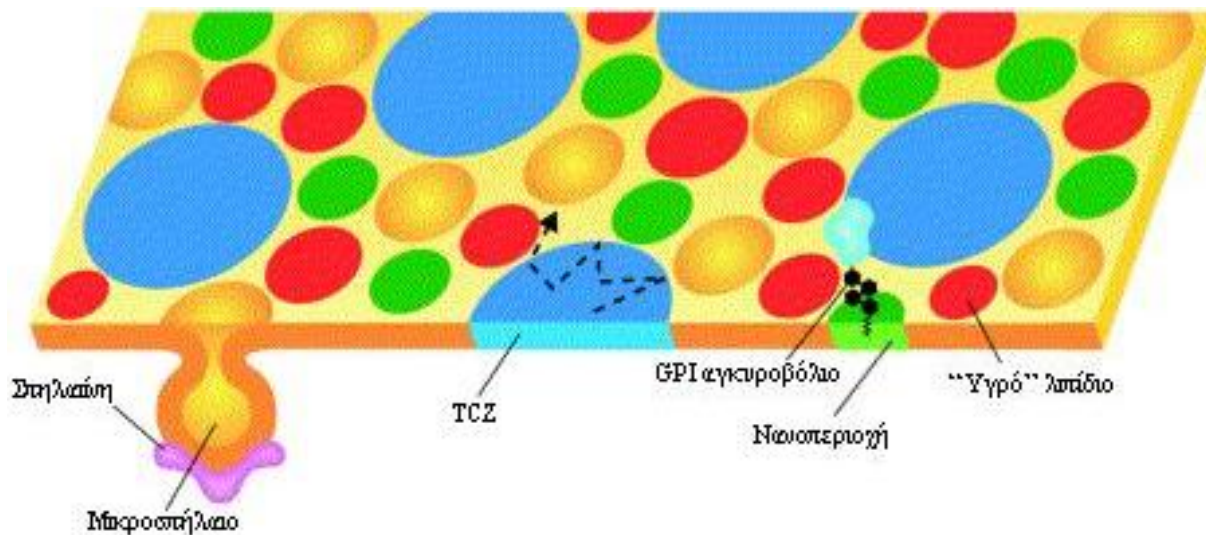
Μαριάννα Χ. Αντωνέλου, *Ph.D.*

Λέκτορας Τμήματος Βιολογίας,
Πανεπιστημίου Αθηνών

2014

ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Μοντέλο τεκτονικών πλακών



Υψηλότερα-χαμηλότερα
επίπεδα οργάνωσης-
domains

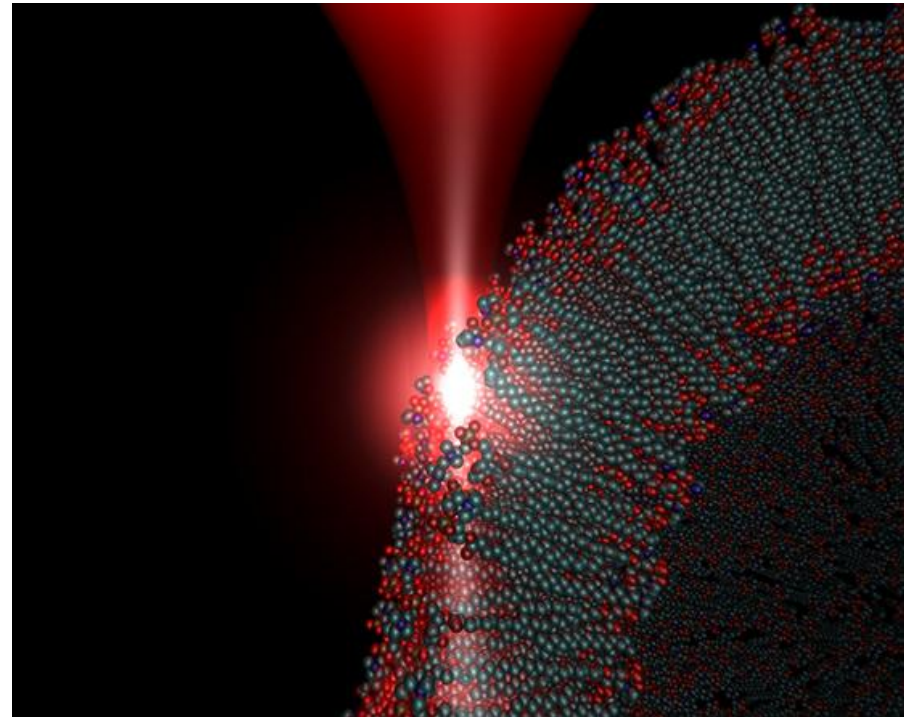
Current Opinion in Cell Biology

Οι βιολογικές μεμβράνες είναι **δυναμικά σύμπλοκες δομές** που απαρτίζονται από ξεχωριστές και αλληλοεπιδρώσες **μικροπεριοχές** συγκεκριμένης **σύστασης** σε λιπίδια και πρωτεΐνες οι οποίες υφίστανται σχετική **μετακίνηση** η μία ως προς την άλλη στα πλαίσια της λιγότερο οργανωμένης ημίρρευστης λιπιδιακής διπλοστιβάδας.

Σημεία ενδιαφέροντος

Συστατικά-Βιοσύνθεση-Μοντέλα Οργάνωσης
Μεμβράνης- Ενδοκυτταρική μεταφορά λιπιδίων

- ✓ **Λιπιδιακές φάσεις ΠΜ**
- ✓ Φυσικοχημικές ιδιότητες (πχ. μεμβρανική **ρευστότητα**, κίνηση)
- ✓ **Ασυμμετρία** μεμβρανών
- ✓ **Αλληλεπιδράσεις** λιπιδίων- πρωτεϊνών
- ✓ Σημαντικά **λιπίδια**
 - ❖ Χοληστερόλη
 - ❖ Κεραμίδιο και παράγωγα
 - ❖ Φωσφοϊνοσιτίδια



ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Οι μεμβράνες επηρεάζονται από τη θερμοκρασία:

Κίνηση φωσφολιπιδίων στη διπλοστιβάδα

$T < 0^{\circ}\text{C}$

Όχι σημαντικές κινήσεις φωσφολιπιδίων (χαμηλή ενέργεια)

Στενό πακετάρισμα / δύσκαμπτη μεμβράνη

Πρωτεΐνες-κανάλια αποδιατάσσονται (αύξηση διαπερατότητας μεμβράνης)

Σχηματισμός κρυστάλλων πάγου (σχάση/διαπερατότητα)

$0^{\circ}\text{C} < T < 45^{\circ}\text{C}$

Κινητικότητα φωσφολιπιδίων (υψηλή ενέργεια)-Μερικώς διαπερατή μεμβράνη-**Χαλαρό πακετάρισμα** (θερμοκρασία-κίνηση-διαπερατότητα)

$T > 45^{\circ}\text{C}$

Τήξη διπλοστιβάδας-**μεγάλη διαπερατότητα**

Μόρια νερού εκτείνονται στο εσωτερικό-μεγάλη πίεση στη μεμβράνη

Κανάλια, μεταφορείς αποδιατάσσονται –δεν ελέγχεται είσοδος-έξοδος ουσιών

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Μοντέλο ρευστού μωσαϊκού: Παρεμβολή πρωτεϊνών στην ημίρρευστη διπλοστιβάδα λιπιδίων- Υποπεριοχές σε διαφορετικές «φάσεις»:

Υγρή κατάσταση

Liquid-disordered phase-L_d

Κανονική «υγρή» φάση

Φάση υγρού κρυστάλλου

Φυσιολογικές θερμοκρασίες

Άτακτη οργάνωση-Κινητικότητα λιπιδίων

L_a (ή L_d)



Ελεύθερη περιστροφή
Πλευρική διάχυση

Κατάσταση πήγματος

Solid gel phase-L_β

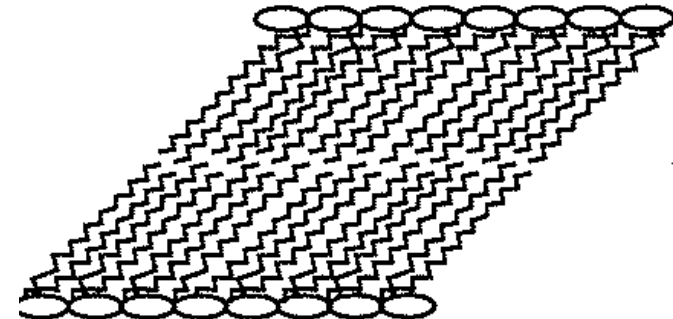
Μη-φυσιολογική

Ψύξη

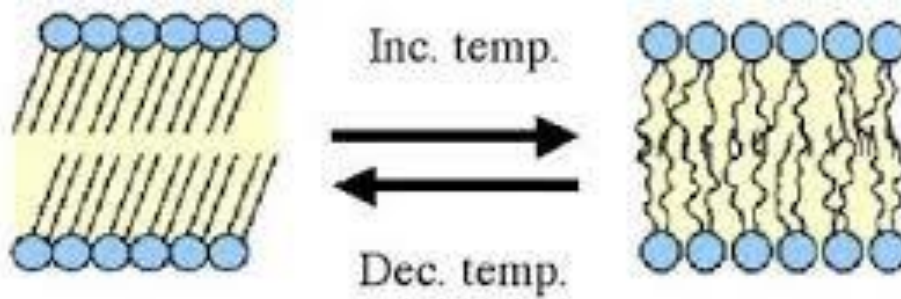
Λιπίδια ακίνητα-Υψηλή τάξη

Πλήρως εκτεταμένες αλυσίδες ΛΟ

L_β



ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

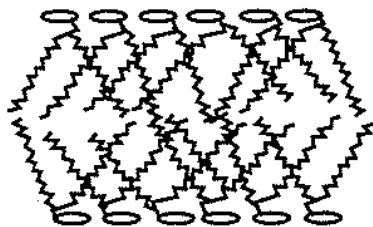


Very regular,
Ordered structure

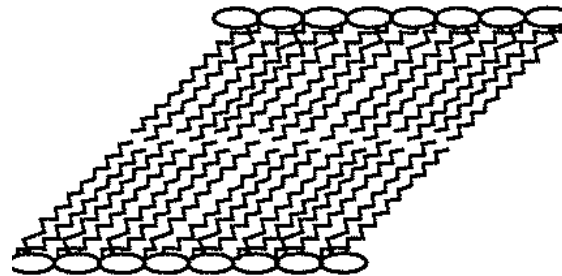
Less tightly packed,
Hydrocarbon tails
Disordered.

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

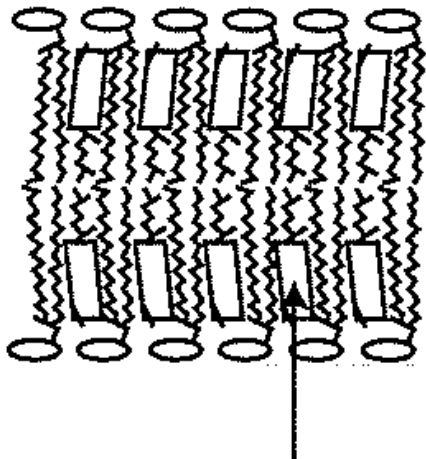
L_{α} (ή L_d)



L_{β}



L_o



Χοληστερόλη

Υγρή κατάσταση

Liquid-ordered phase- L_o

Φάση υγρής διάταξης

Φυσιολογικές θερμοκρασίες

Διατεταγμένη οργάνωση-Κινητικότητα λιπιδίων

Λιπιδιακές σχεδίες

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

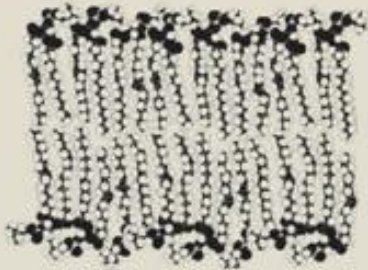
Veatch SL, Nature Chemical Biology 4:225 (2008)



Liquid-crystalline,
liquid-disordered
 L_d (L_d or L_o)

$S = \text{Low}$

$D_T = \text{Fast } (-1 \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1})$



Solid gel
 s_g (or L_g)

$S = \text{High}$

$D_T = \text{Slow } (10^{-3} \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1})$



Liquid-ordered,
'raft'
 L_o (or L_s)

$S = \text{High}$

$D_T = \text{Fast } (-1 \mu\text{m}^2 \text{s}^{-1})$

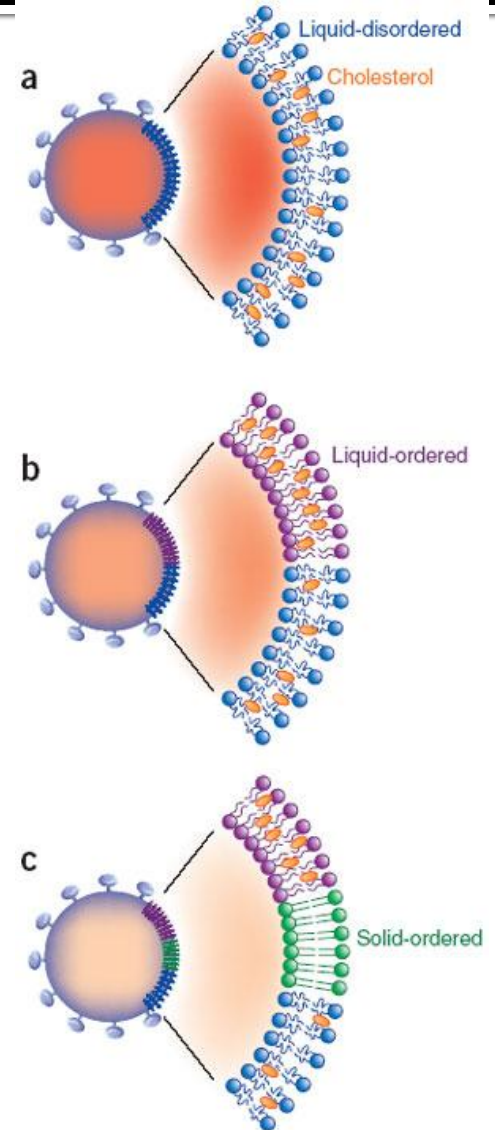
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Μπορούν να **συνυπάρχουν**
στη μεμβράνη

➤ **Τ°C**

➤ **χημική σύσταση**

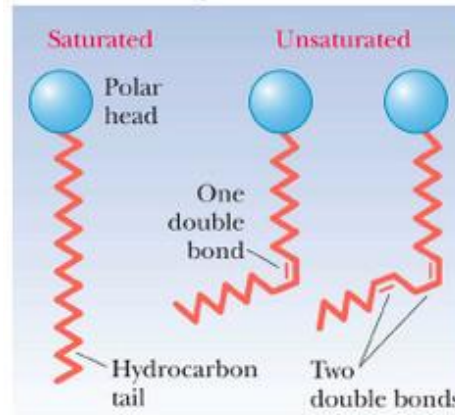
⇒ **Διαχωρισμός φάσεων** σε
φυσιολογικές θερμοκρασίες



ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Liquid-disordered phase-L_d Λιπίδια με ακόρεστες υδατανθρακικές αλυσίδες
Γλυκεροφωσfolιπίδια (PC)

Cis-διπλός δεσμός στο κέντρο μιας από τις 2 αλειφατικές αλυσίδες ⇒ χαλαρό πακετάρισμα
Χαμηλή θερμοκρασία τήξης T_m (<0°C)
Πάνω από το σημείο τήξης L_d

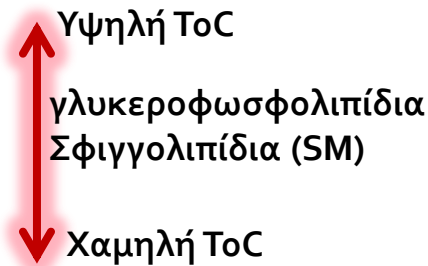


Solid gel phase-L_β Λιπίδια με μακριές, κορεσμένες υδατανθρακικές αλυσίδες
Σφιγγολιπίδια πχ SM
Υψηλή θερμοκρασία τήξης T_m (37°C)

Liquid-ordered phase-L_o Στερόλες
Από μόνες τους δεν σχηματίζουν bilayer phases αλλά σχηματίζουν L_o σε συνδυασμό με bilayer-forming lipids
Σφιγγολιπίδια και χοληστερόλη

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Liquid-disordered phase-Ld



Solid gel phase-Lβ

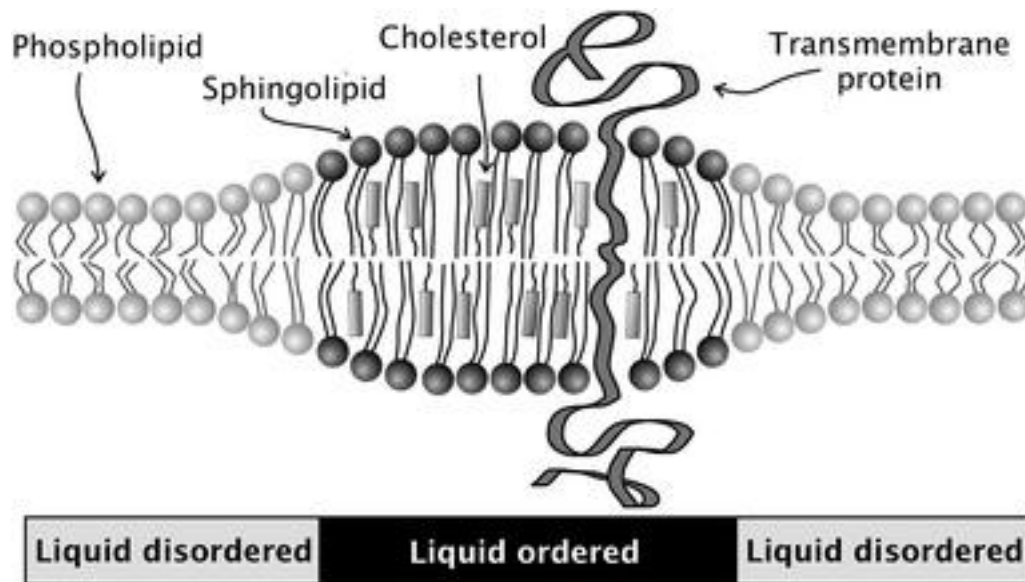
Θερμοκρασία μετάπτωσης: μήκος κ βαθμός κορεσμού λιπαρών ακυλικών αλυσίδων

Πχ PC με κορεσμένη αλυσίδα C16 και ακόρεστη C18.....00C (Ld in nl ToC)
SM κορεμένες αλυσίδες C24.....450C (Lβ in nl ToC)
⇒ Mixture in Ld and Lβ phase

Μείγμα γλυκεροφωσfolιπιδίων και σφιγγολιπιδίων: σφιγγολιπίδια/στέρες περιοχές σε θάλασσα υγρών γλυκεροφωσfolιπιδίων...σε φυσιολογική θερμοκρασία

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Liquid-ordered phase-Lo Στερόλες πχ. Χοληστερόλη. Εκτείνονται και πακετάρονται στενά αλλά με ελευθερία πλευρικής κίνησης

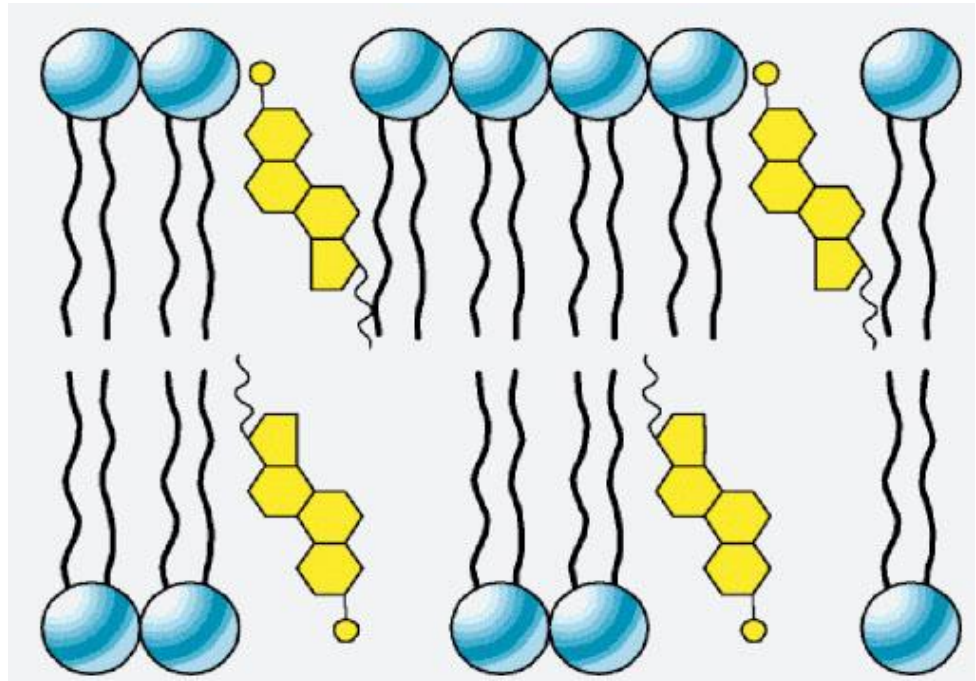
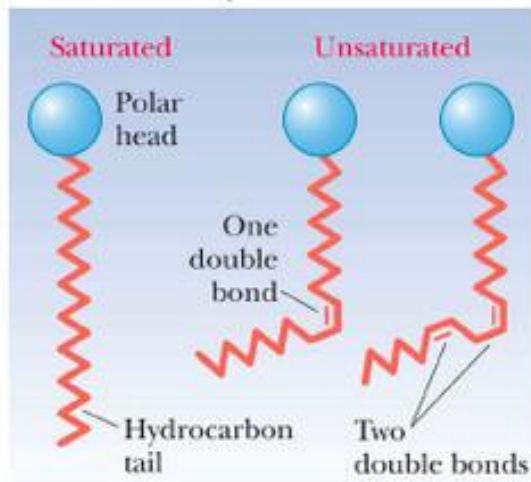


Προλαμβάνει τη στενή επαφή των αλειφατικών αλυσίδων L β
 \Rightarrow υγρή φάση με ιδιότητες ενδιάμεσες Ld και L β

Semrau S and Schmidt T, Soft Matter, 2009,5, 3174-3186

ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ

Συγγένεια χοληστερόλης για σφιγγολιπίδια

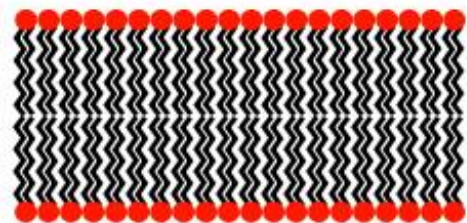


Χοληστερόλη C₁₂

Γλυκεροφωσfolιπίδια διπλός δεσμός C₉, C₁₀ ⇒ μείωση αλληλεπιδράσεων van der Waals με χοληστερόλη

SM: μεγάλα ποσά κορεσμένων αλυσίδων σε στενή επαφή με τη χοληστερόλη

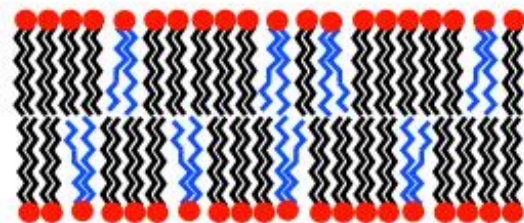
ΛΙΠΙΔΙΑΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ ΠΜ



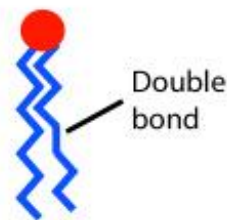
Saturated lipids only



Saturated

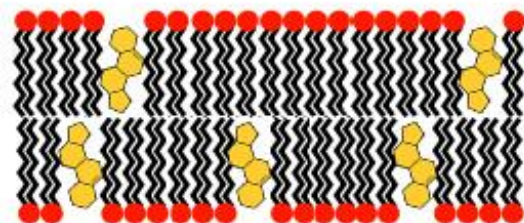


Mixed saturated and unsaturated



Double bond

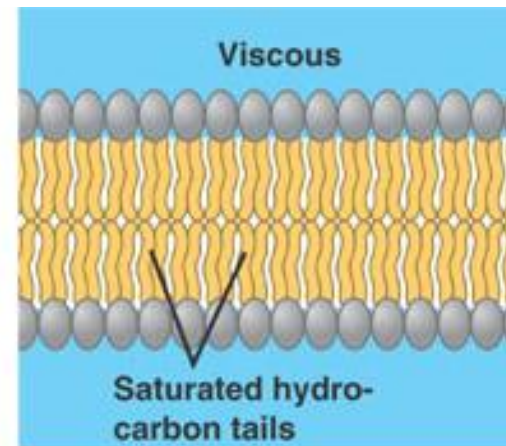
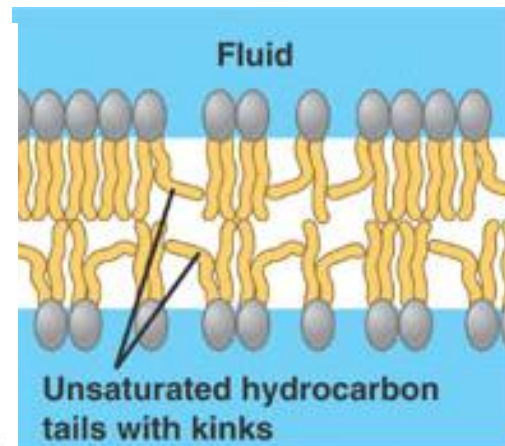
Monounsaturated



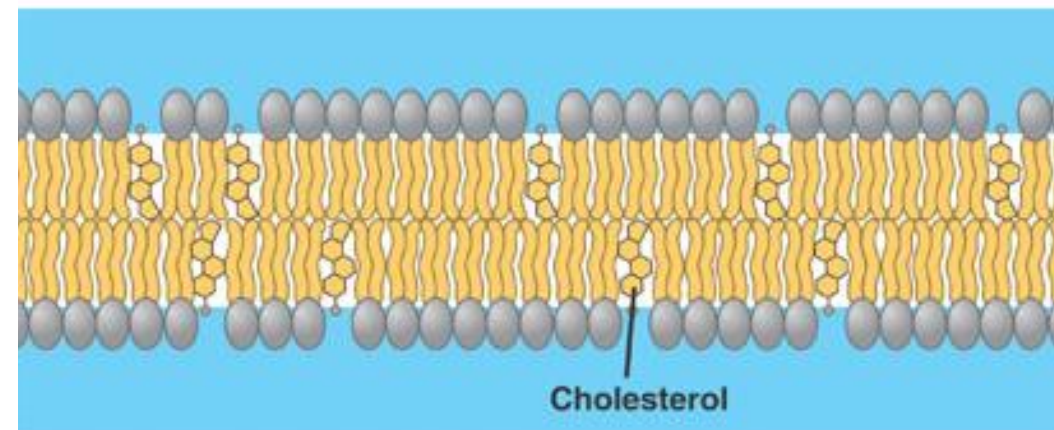
Membrane with cholesterol



Cholesterol



(b) Membrane fluidity



(c) Cholesterol within the animal cell membrane



ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΡΕΥΣΤΟΤΗΤΑ

As the "fluid mosaic model" emphasizes the cell membrane is fluid

Lipid phase is fluid

Membranes fuse during cytokinesis, exocytosis, phagocytosis, etc.

Some membranes **are designed for fusion**: e.g., sperm-egg, myoblasts

Specificity of fusion is defined by protein receptors

ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΡΕΥΣΤΟΤΗΤΑ

Ιξώδες λιπιδιακής διπλοστοιβάδας-Ικανότητα αλλαγής σχήματος-Ελαστικής παραμόρφωσης

Κινητικότητα πρωτεϊνών σε επίπεδο μεμβράνης-Συσσωμάτωση-**Αλληλεπίδραση**
Προσέλκυση-επαφή-αλληλεπίδραση-αποχωρισμός

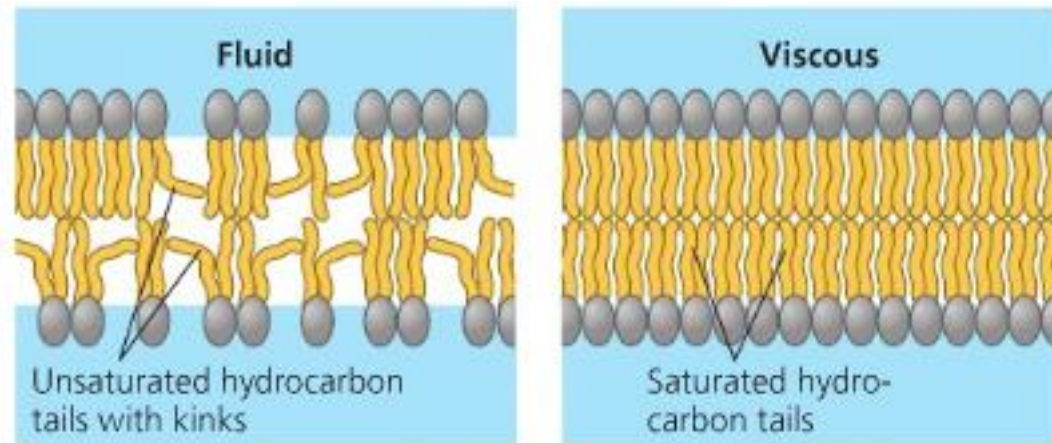
Μετακίνηση μεμβρανικών συστατικών-Μεμβρανική συγκρότηση (αύξηση με είσοδο λιπιδίων και μεμβρανών)

Κυτταρική **κίνηση**-διαίρεση

Διακυτταρικές **συνδέσεις**

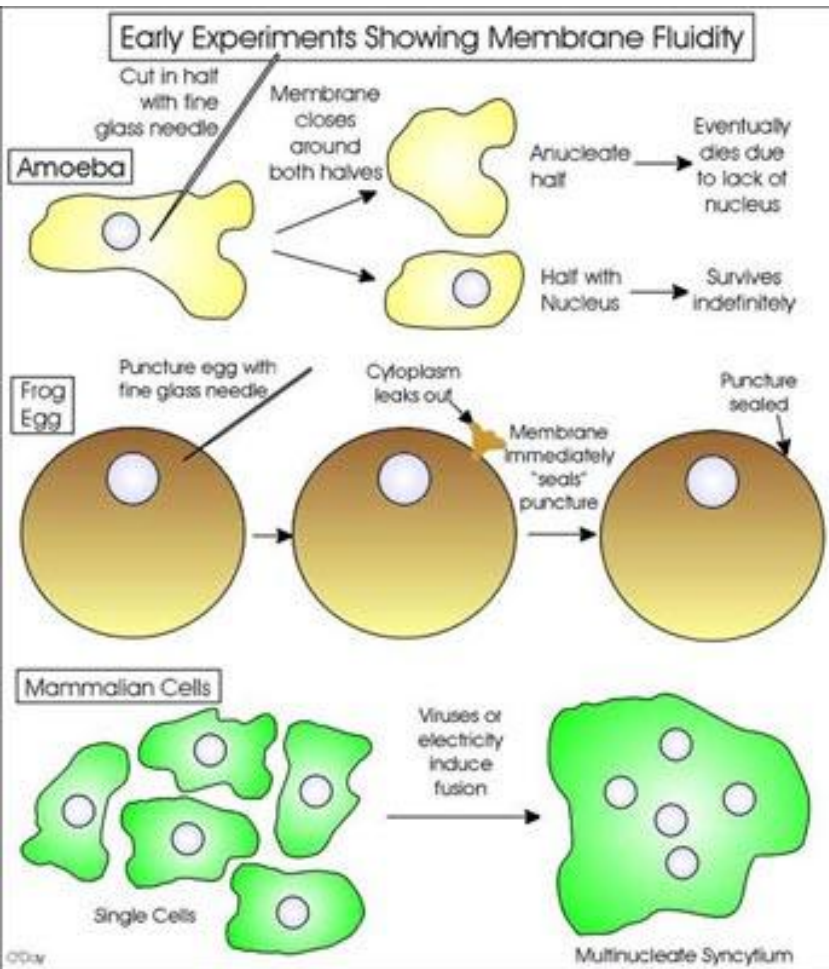
Έκκριση-ενδοκύτωση

red blood cells try to squeeze through blood capillaries



(b) Membrane fluidity. Unsaturated hydrocarbon tails of phospholipids have kinks that keep the molecules from packing together, enhancing membrane fluidity.

ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΡΕΥΣΤΟΤΗΤΑ

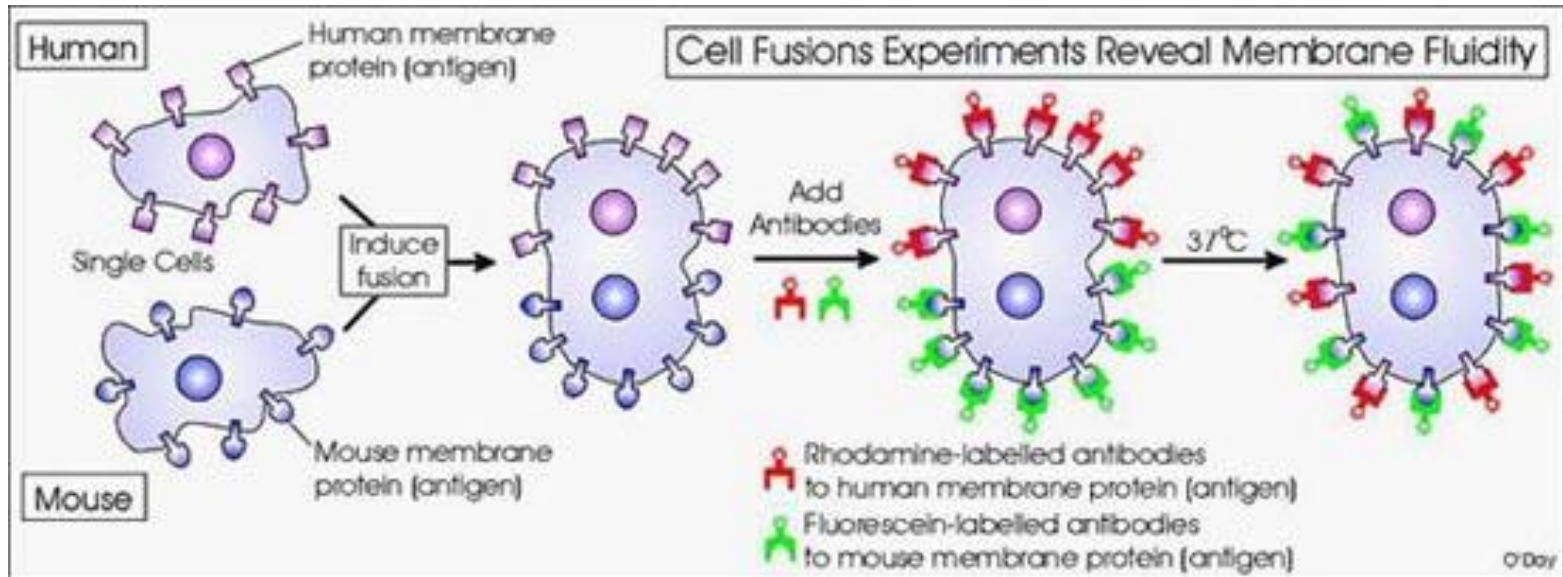


Cut *Amoebae proteus* in half with glass needle:
membrane closes around both halves

Stick glass needle into a frogs egg: it **seals up** and egg is normal

Treat cells with certain viruses or electricity: cells that don't normally fuse will **fuse together**

ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΡΕΥΣΤΟΤΗΤΑ



human and mouse cells were induced to **fuse** to verify the **fluidity** of the cell membrane.

ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΡΕΥΣΤΟΤΗΤΑ

Fluidity depends upon types of lipids, temperature, etc.

Αύξηση **θερμοκρασίας** \Rightarrow αυξημένη ρευστότητα

Μήκος υδατανθρακικών αλυσίδων φωσfolιπιδίων.

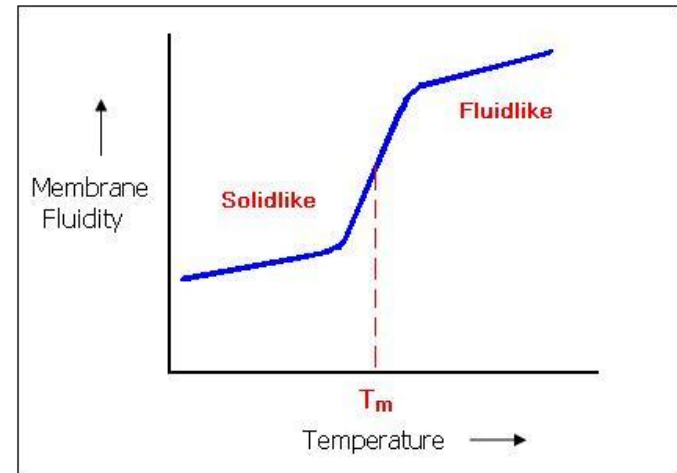
Μεγαλύτερο μήκος \Rightarrow αυξημένες αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους \Rightarrow δημιουργία δύσκαμπτων δομών

Κορεσμός υδατανθρακικών αλυσίδων φωσfolιπιδίων.

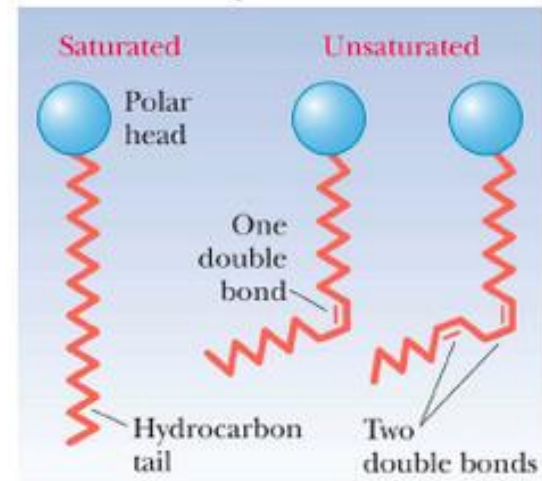
Αλυσίδες με διπλό δεσμό δεν διαθέτουν το μέγιστο αριθμό ατόμων H.

Επίσης ο δεσμός σχηματίζει ένα μικρό «κόμπο» στην αλυσίδα \Rightarrow δεν μπορεί να πακεταριστεί εύκολα με άλλες

Membrane Fluidity vs. Temperature

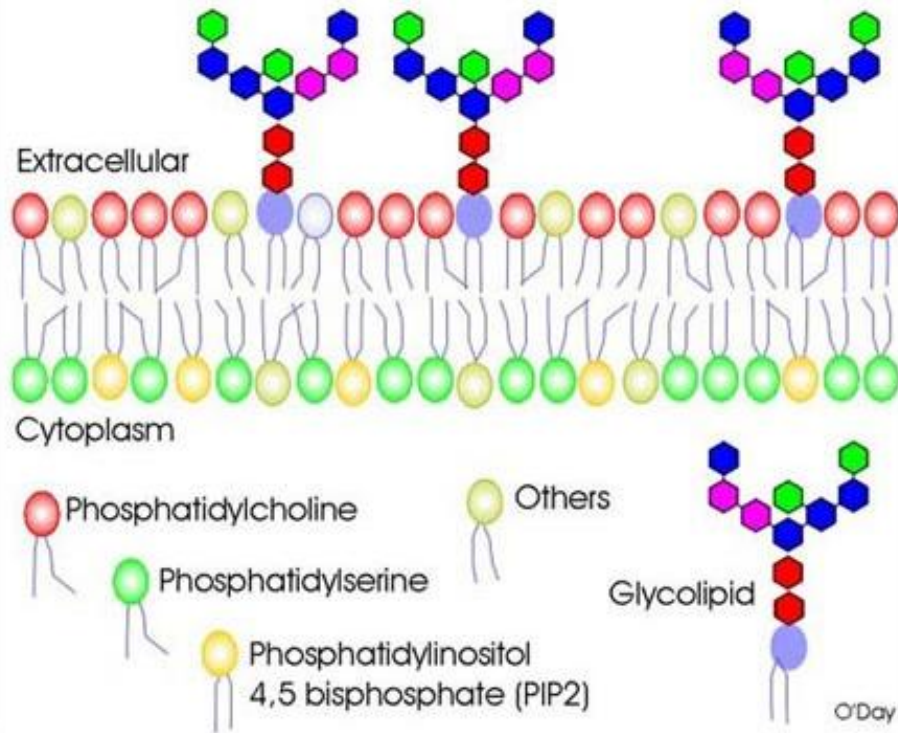


With an increase in temperature, the sharp transition is made from a more rigid membrane to a more fluid one.



ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Ασύμμετρη κατανομή ΟΛΩΝ των συστατικών της μεμβράνης



Λιπιδιακή σύσταση 2 μονοστιβάδων ΠΜ

ΕΞ: αποκλειστικά **PC** (red)

SM

γλυκολιπίδια, γλυκοσφιγγολιπίδια (blue)

ΕΣ: κυρίως PE

φωσφοϊνοσιτόλη

φωσφατιδικό οξύ

αποκλειστικά **PS** (-q) (green)

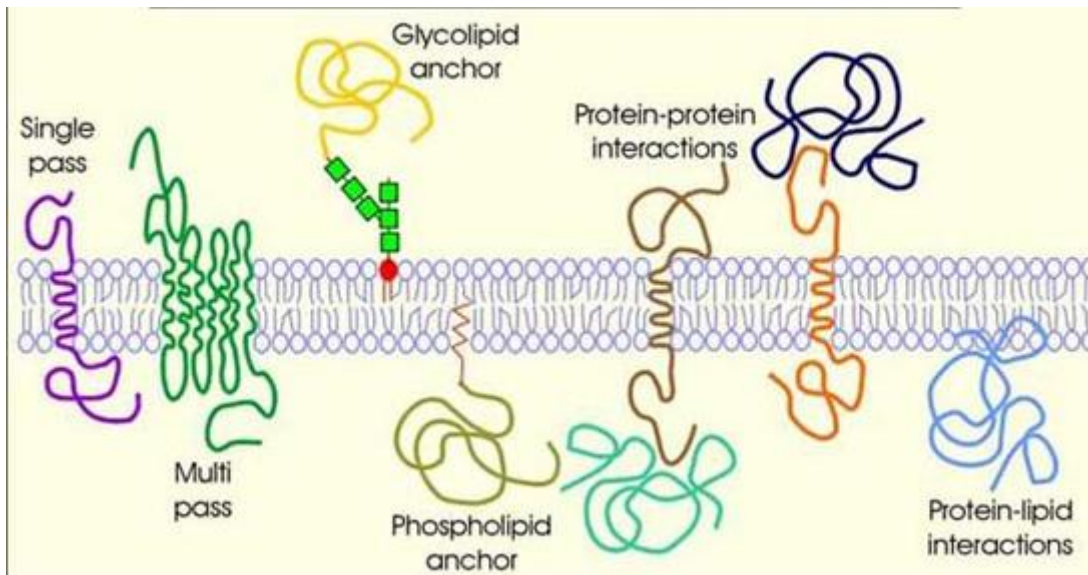
Ηλεκτρικό φορτίο 2 μονοστιβάδων ΠΜ

Ιξώδες 2 μονοστιβάδων ΠΜ

Τα περισσότερα φωσfolιπίδια και χοληστερόλη και στις 2 μονοστιβάδες (σε διαφορετική ποσότητα)

Ασυμμετρία: Ζωικά και πιθανόν φυτικά κύτταρα

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ



Ασύμμετρη κατανομή πρωτεϊνών

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Ετερογενής
κατανομή λιπιδίων
ανάμεσα:

- μονοστιβάδες μιας μεμβράνης
- διάφορα είδη μεμβρανών
- στον ίδιο τύπο ΠΜ

ΕΔ

60%PC-25%PE, 10% Ptlns
Συμμετρική κατανομή λιπιδίων
Ακόρεστα γλυκερολιπίδια

Golgi

Βαθμιαία αλλαγή λιπιδιακής σύστασης κατά μήκος των σάκων μέχρι την ΠΜ
Ασύμμετρη κατανομή σφιγγολιπιδίων, γλυκερολιπίδια

ΠΜ

25%PC-15%PE, 30-40% ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ, 10% ΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ, 5% PS
Εμπλουτισμένη σε σφιγγολιπίδια, PS, χοληστερόλη, κορεσμένα γλυκερολιπίδια
Ασύμμετρη κατανομή: αμινοφωσφολιπίδια ΕΣ vs. σφιγγολιπίδια ΕΞ

Lys, Ενδοσώματα

Ίδια λιπιδιακή σύσταση με ΠΜ + **λυο-δι-φωσφατιδικό οξύ** (LBPA, ΕΣ)

Υ, Mit

Λιπιδιακή σύσταση παρόμοια με ΕΔ + **καρδιολιπίνη** σε εσωτερική Mit μεμβράνη

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Ετερογενής κατανομή
λιπιδίων ανάμεσα:

- μονοστιβάδες μιας μεμβράνης
- διάφορα είδη μεμβρανών
- στον ίδιο τύπο ΠΜ

πολωμένα επιθηλιακά
κύτταρα

κορυφαία περιοχή: εμπλουτισμός σε γλυκοσφιγγολιπίδια

Βασική-πλευρική περιοχή: ίδια με μεμβράνη μη-πολωμένων
κυττάρων

ΠΜ RBCs

ΕΣ: περισσότερα ακόρεστα λιπίδια, χοληστερόλη (75%), μικρότερο
ιξώδες (πιο «υγρή»)

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Δημιουργία και διατήρηση – Ρυθμιστικοί παράγοντες ασυμμετρίας:

1. Βιοσύνθεση λιπιδίων στο ΕΔ
2. Μηχανισμοί ελέγχου κίνησης λιπιδίων
3. Αλληλεπιδράσεις λιπιδίων με πρωτεΐνες που προϋπάρχουν στη διπλοστιβάδα
4. Κυτταρικός σκελετός
5. Ιδιότητες λιπιδίων

πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες επιλέγουν το κατάλληλο μικροπεριβάλλον ανάμεσα από προϋπάρχουσες λιπιδιακές φάσεις?

Οι πρωτεΐνες οργανώνουν το δικό τους λιπιδιακό μικροπεριβάλλον?

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Λειτουργικότητα

Διαχωρισμός εξωκυττάριων-εσωκυττάριων διαμερισμάτων-Οριοθέτηση

Εξειδίκευση λειτουργίας μεμβρανών

Σωστός προσανατολισμός διαμεμβρανικών πρωτεϊνών (πχ. γλυκοπρωτεΐνες)

Υποδοχείς, ομάδες κυτταρικής αναγνώρισης και προσκόλλησης, αλληλεπιδράσεις

Γλυκολιπίδια: υποδοχείς εξωκυττάριων συνδετών-Σηματοδότηση

PS-/ΕΣ: συνδέεται με Lys, Arg

PS/ΕΞ: Γηρασμένα κύτταρα, κυτταρική αναγνώριση, φαγοκυττάρωση, απόπτωση

PS/ΕΞ PLTs: έναρξη πήξης αίματος

Φωσφατιδυλική ινοσιτόλη ΕΣ: μεταφορά μηνυμάτων από ΠΜ σε cyt

Σφιγγολιπίδια/Χοληστερόλη domains ΕΞ: αναγνωρίζονται από GPI-πρωτεΐνες και παλμιτιλιωμένες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες

ΕΣ μονοστιβάδα: αλληλεπιδράσεις με περιφερειακές μεμβρανικές πρωτεΐνες που διαθέτουν μυριστικές και παλμιτικές ομάδες (όχι πρενυλικές ομάδες)

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Λειτουργικότητα

Ειδικές αλληλεπιδράσεις **cyt πρωτεϊνών** με ειδικές ομάδες κεφαλής λιπιδίων ΕΣ μονοστιβάδας-Χωρίς τροποποίηση λιπιδίων ή

Μετά από **τροποποίηση** κεφαλής λιπιδίων \Rightarrow ειδική σε τόπο και χρόνο σύνδεση πρωτεϊνών σε μεμβράνη. Α) Φωσφορυλίωση Β) Διάσπαση

Τα κύτταρα λειτουργούν επειδή οι μεμβράνες τους είναι ασύμμετρες...

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Πρωτεΐνες



Λιπίδια

50% των λιπιδίων μιας περιοχής: κοντά σε μεμβρανικές πρωτεΐνες
ΑΝΤΙΣΤΡΕΠΤΕΣ ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Πλευρική ετερογένεια βιολογικών μεμβρανών-**Διαμερισματοποίηση μεμβράνης**

Πρωτεΐνες



Τάξη και κινητικότητα αλυσίδων ΛΟ

Εκλεκτική
συγγένεια***

Κινητικότητα λιπιδίων/ακινητοποίηση τμήμα λιπιδίων
Πλευρική οργάνωση λιπιδίων

Λιπίδια



Κατανομή, δομή, λειτουργία πρωτεϊνών και ρύθμιση
δράσης πολυπρωτεϊνικών συμπλόκων

Δομικά συστατικά

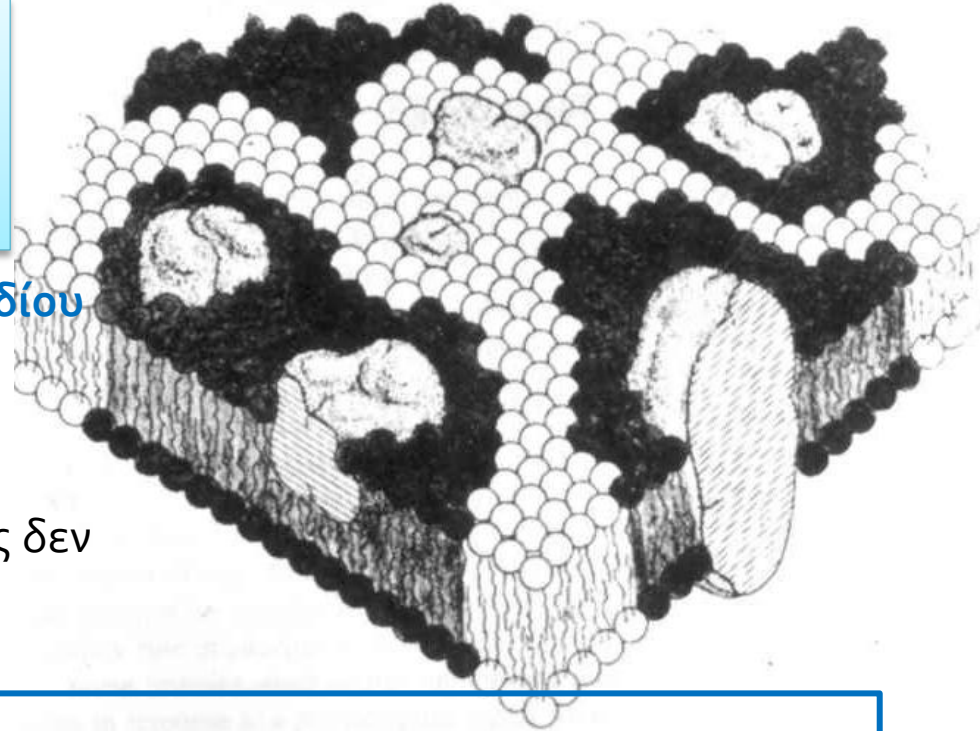
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Λιπιδιακά κελύφη

Lipid shells: μικρότερη συνάθροιση λιπιδίων στην ιεραρχία των πλευρικά οργανωμένων λιπιδίων της μεμβράνης- Περιβάλλουν μια πρωτεΐνη

Δυναμικές αλληλεπιδράσεις **πρωτεΐνης-λιπιδίου**
Ευκίνητα στο επίπεδο της μεμβράνης
Μέχρι **50%** πρωτεΐνη

Δεσμοί van der Waals: στα σημεία σύνδεσης δεν επιτρέπεται η δίοδος ουσιών



Ρόλος:

Λιπίδια: **ρυθμιστικά διαλύματα** πρωτεΐνης: **απομόνωση** πρωτεϊνών από μη ειδικές επιδράσεις άλλων λιπιδίων ή πρωτεϊνών μεμβράνης

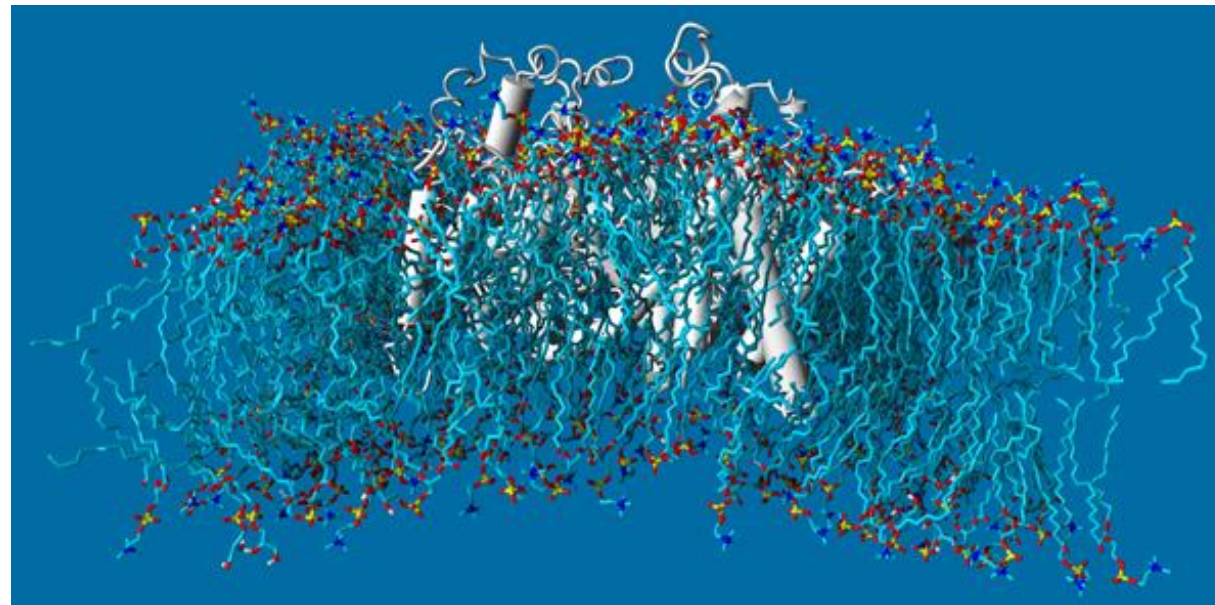
διαλογή και **καθοδήγηση** πρωτεϊνών στις λιπιδικές σχεδίες/μικροπήλαια με σκοπό τη λειτουργική αλληλεπίδραση

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ- ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Λιπιδιακά κελύφη

Συγκεκριμένες πρωτεΐνες: σπηλαιίνες, φλοτιλίνες, στοματίνες, πρωτεΐνες που διεισδύουν στη διπλοστοιβάδα λόγω μεγάλης συγγένειας σύνδεσης με ορισμένα λιπίδια

Συγκεκριμένα λιπίδια: σφιγγολιπίδια/χοληστερόλη



ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ- ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

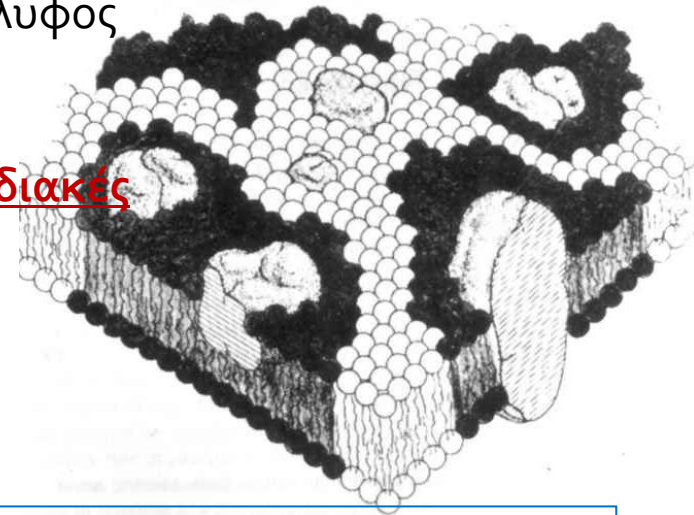
Λιπιδιακά κελύφη

Συχνά: προσέλκυση πρωτεϊνών που περιβάλλονται από κέλυφος

Αν συμβούν αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης- πρωτεΐνης:

Οι πρωτεΐνες του κελύφους ενώνονται σχηματίζοντας λιπιδιακές
σχεδίες-

Αυτόνομες λειτουργικές μονάδες ή πρόδρομα λειτουργικών
περιοχών (ΠΡΕΠΕΙ να ενωθούν σε λιπιδιακές σχεδίες??)



Πρωτεΐνες με μικρή συγγένεια σύνδεσης για τα λιπίδια ΛΣχ:

1. Ενώνονται με υπάρχουσες σχεδίες διαμέσου διαπρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων, ή
 2. Ολιγομερίζονται \Rightarrow λιπιδιακή αλληλεπίδραση \Rightarrow δημιουργία και σταθεροποίηση μιας λειτουργικής λιπιδιακής σχεδίας
- 1,2: ρύθμιση διαπρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων (πχ. phosphorylation) καθορίζει τη σύνδεση αυτών των πρωτεϊνών με τις λιπιδιακές σχεδίες

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

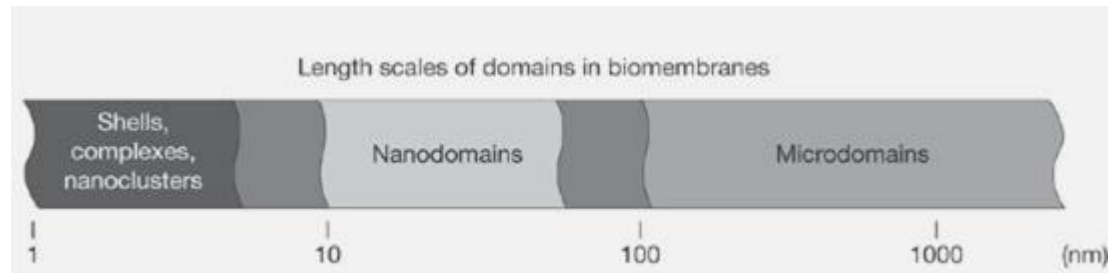
Λιπιδιακά κελύφη

Προαπαιτούμενα:

1. Αυτοσυγκρότηση συμπλόκων **χοληστερόλης-φωσfolιπιδίων** (σφιγγολιπιδίων)
2. **Συγγένεια σύνδεσης** ορισμένων πρωτεϊνών με αυτά τα σύμπλοκα

Συνήθως 15-30 μόρια/κέλυφος, σε αναλογία **2:1** σφιγγολιπίδια/χοληστερόλη

Διάμετρος κελύφους με 80 μόρια λιπιδίων **7nm**.



Jacobson et al., Nature Cell Biology 9, 7 - 14 (2007)

Μηχανισμός διαλογής και αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών που βασίζεται στα λιπίδια

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Πρωτεΐνες	Αλληλεπιδράσεις
σπηλαιίνη-1, συναπτοφυσίνη, προμινίνη, α-αιμολυσίνη, NAP-22	χοληστερόλη
MARCKS	PS
Βασικές πρωτεΐνες	Όξινα φωσfolιπίδια
Πρωτεϊνικές δομές: «αναδίπλωση αννεξίνης», περιοχή C2 (PKC, PLA ₂ κλπ)	Σύνδεση περιφερικών πρωτεϊνών σε μεμβράνη: cyt Ca ⁺⁺
PH domain	PI _{4,5} P ₂

Συσσωμάτωση PS: απαραίτητη προϋπόθεση για PKC*

Κατεύθυνση πρωτεϊνών σε συγκεκριμένα λιπιδιακά domains: λιπιδιακή σύσταση + μεμβρανικοί πρωτεϊνικοί υποδοχείς

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Αννεξίνες

Υδατοδιαλυτές

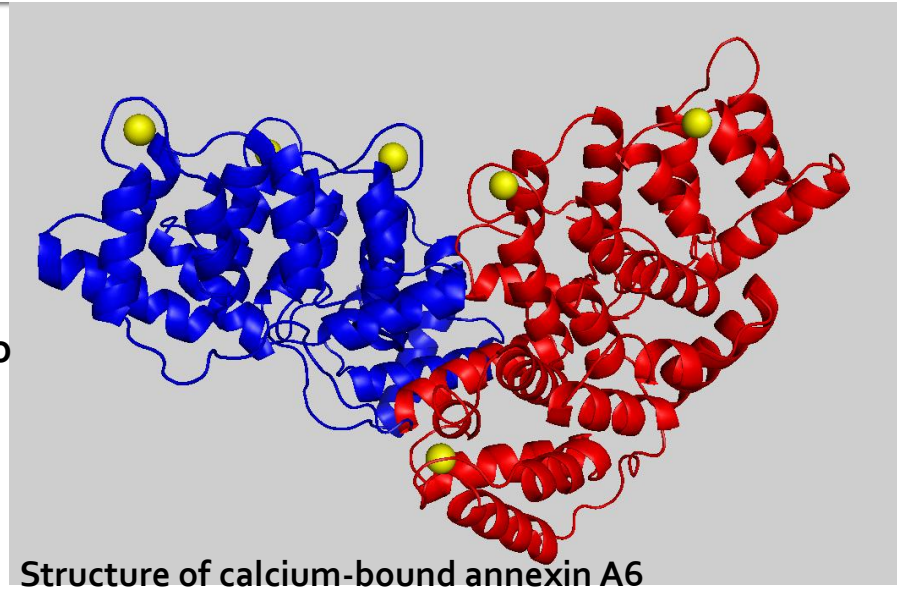
Σύνδεση με Ca^{++}

Συνδέονται με φωσφολιπίδια με ασβεστιοεξαρτώμενο τρόπο

Μετά τη σύνδεσή τους στις μεμβράνες συσσωματώνουν όξινα φωσφολιπίδια

Αλληλεπιδρούν με: S100, C2-proteins, G proteins, πρωτεάσες, πρωτεϊνικές κινάσες, κυτταρικό σκελετό (με ακτίνη πιθανόν στα μικροσπήλαια-οργάνωση μικροσπηλαίων)...

Ρύθμιση: ομοιόστασης Ca^{++} , δραστικότητα ιοντικών καναλιών-ενζύμων, μεμβρανική κυκλοφορία, εξωκύτωση-ενδοκύτωση κá



Κυτταρικός σκελετός ↔ αννεξίνες ↔ lipid domains

Μεταγωγή σήματος / μυϊκή συστολή

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

C2 proteins

C2 motif: 130aa β-sheets

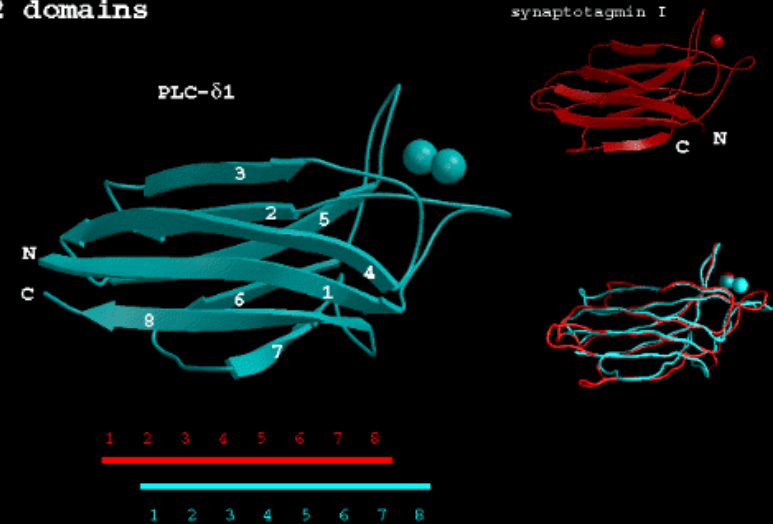
Συνδέτες: **Ca⁺⁺**, **φωσφολιπίδια**, ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες

C2-Ca⁺⁺: αλλαγή σε ηλεκτροστατικότητα πρωτεΐνης

C2-proteins: Πρωτεΐνες-μεταγωγείς σήματος που αλληλεπιδρούν με τις μεμβράνες

- PLA₂, PLC, PI 3-κινάσες αποκαρβοξυλάση PS (λιπιδιακός μεταβολισμός)
- PKC (φωσφορυλίωση πρωτεϊνών)
- συναπτοταγμίνη, radfilin, DOC2, Munc13, perforin (μεμβρανική κυκλοφορία)
- Ras-GAP, BUD2 (ρύθμιση GTPάσης)
- κοπίνες (?)

C2 domains



ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

PH proteins

PH motif: 100aa, συντηρημένη τριτοταγή διαμόρφωση στις διάφορες PH-proteins

PH motif : Προσελκύει πρωτεΐνες στις μεμβράνες και επηρεάζει λειτουργικότητα διάφορων πρωτεϊνών επάγοντας κρίσιμες **δομικές αλλαγές** σε αυτές

PH proteins: Πλεκστρίνη και άλλες πρωτεΐνες: PLC, PLA₂, kinases, GTPάσες (που συμμετέχουν σε μεταφορά κυστιδίων), β-σπεκτρίνη, ένζυμα μεταβολισμού φωσφορικής ινοσιτόλης

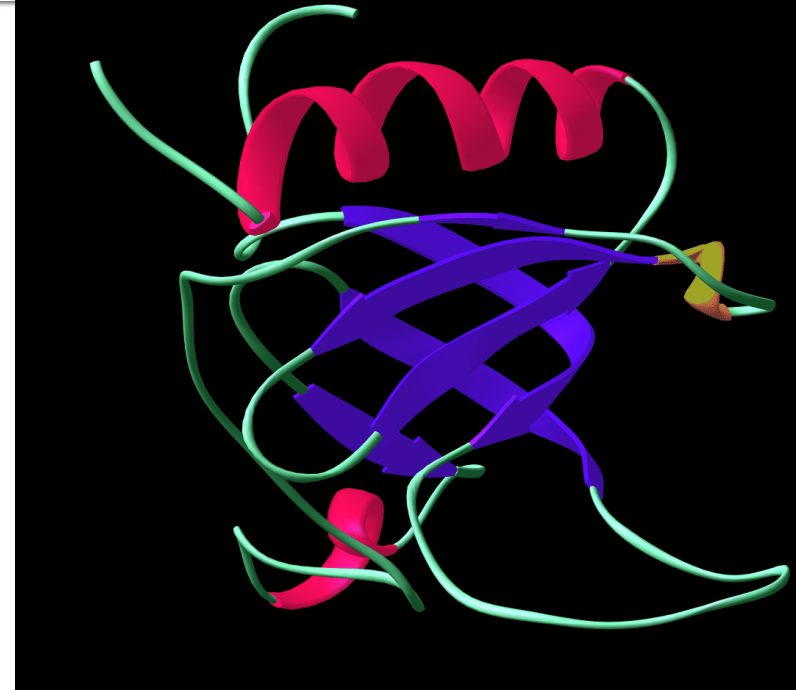
Μεταγωγή σήματος, δράση κυτταροσκελετού

Συνδέτες:

PH-πλεκστρίνης: PI_{4,5}P₂ και άλλα **φωσφολιπίδια** με αρνητικά φορτισμένες κεφαλές

PH-PLC: ουδέτερα λιπίδια

Zhang et al., Structure 3:1185 (1995)



The pleckstrin homology domain of **beta-spectrin** is 122 amino acid residues long. It consists of **two antiparallel beta-sheets** which are packed against one another forming a beta-sandwich which is shown in purple. **Two right-hand alpha helices** are shown in magenta, and a single 310 alpha helix is shown in gold.

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

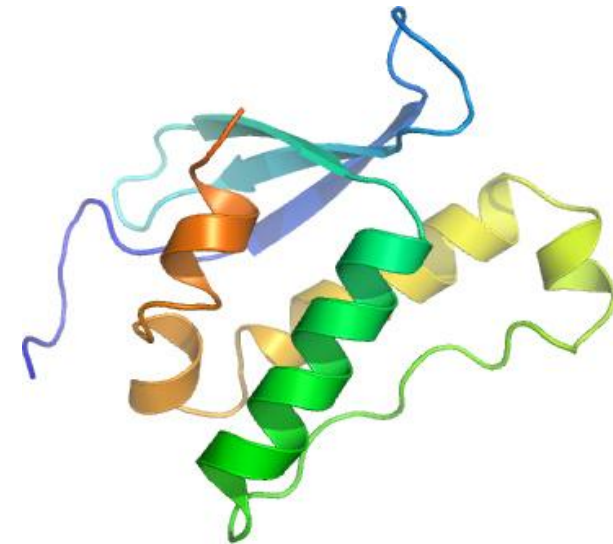
PI –PX (Phox homology) domains interaction:

PX domain: 120aa- Σύνδεση πρωτεϊνών σε PI οργανιδίων ([phosphoinositide-binding structural domain](#))

phosphatidylinositol-3-phosphate (PtdIns(3)P) is the **primary target of PX domains** binding to phosphatidic acid, phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate (PtdIns(3,4)P₂), phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate (PtdIns(3,5)P₂), phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PtdIns(4,5)P₂), and phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PtdIns(3,4,5)P₃) has been reported as well

PX proteins: μεταγωγείς σήματος (ενδοκυτταρική μεταφορά, membrane trafficking, protein sorting, lipid modification, κυτταρική αύξηση/επιβίωση, οργάνωση κυτταροσκελετού κλπ) NADPH oxidase, PLD, PI-3-kinases

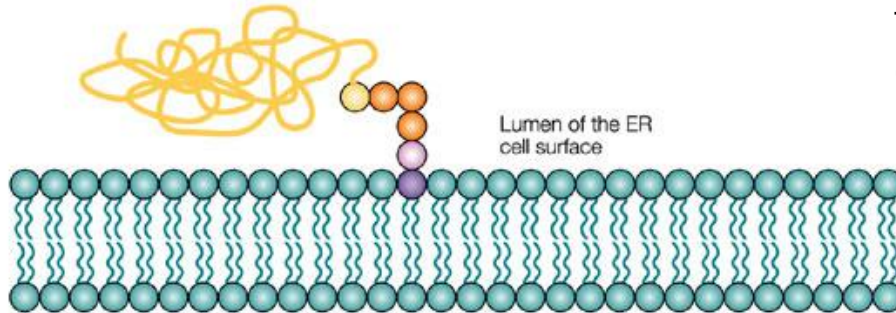
Σωστός εντοπισμός σε μεμβράνη →
Αλληλεπίδραση με άλλες πρωτεΐνες
(PX-domain is also a protein-protein interaction domain)



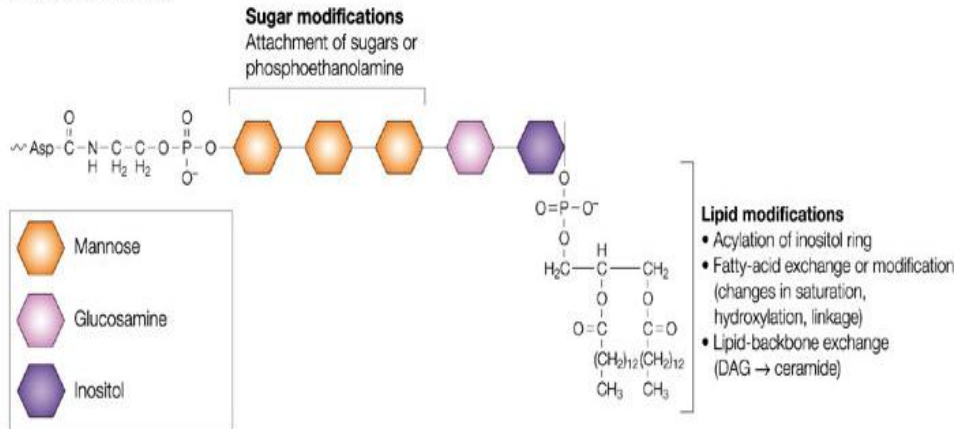
ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

GPI-συνδεδεμένες πρωτεΐνες και λιπίδια:

a GPI-anchored protein in the membrane



c GPI core structure



GPI-anchored proteins are embedded in the extracellular or luminal leaflet of membranes through their **glycolipid moieties** and are not directly accessible from the cytosolic face of the membrane

The conserved core consists of **ethanolamine phosphate** in an amide linkage to the carboxyl terminus of the protein, **three mannose** residues (orange), **glucosamine** (blue) and **phosphatidylinositol** (purple). It can be modified and is subject to various remodelling reactions of the lipid moiety (addition of extra sugars or ethanolamine phosphates to the mannose residues; acylation of the inositol ring; changes in the fatty acids (length, saturation, hydroxylation), or their types of linkage to the glycerol backbone (acyl to alkyl); or remodelling of the entire diacylglycerol to ceramide)

ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙΔΙΩΝ-ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

GPI-συνδεδεμένες πρωτεΐνες και λιπίδια:

Αλληλεπιδράσεις: λιπίδιο-λιπίδιο, λιπίδιο-γλυκάνη, λιπίδιο- πρωτεΐνη (σταθεροποίηση)

Μακρίες, κορεσμένες ακυλικές αλυσίδες ΚΑΙ μοτίβο: εκλεκτική σύνδεση με σφιγγολιπίδια

Αγκυρόβόληση πρωτεΐνης σε διπλοστιβάδα:

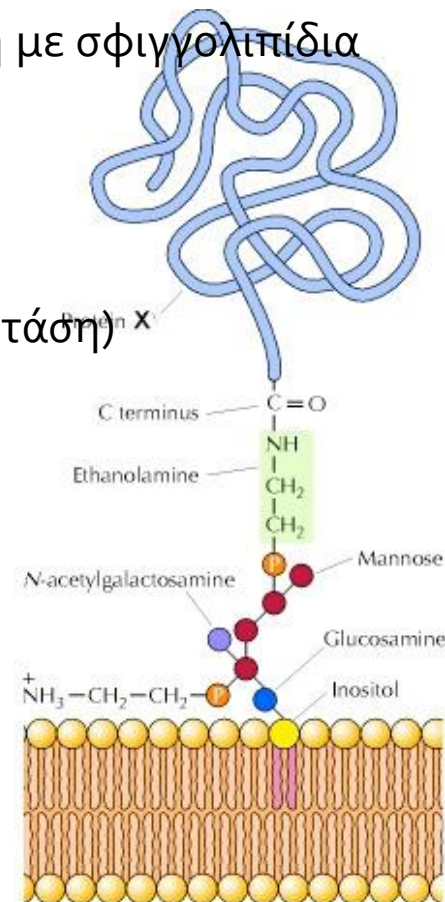
1. ΕΞ: COOH και γλυκοζυλιωμένα φωσφολιπίδια (πχ. αλκαλική φωσφατάση)

2. ΕΣ: Cys/COOH-4aa

3. χημική τροποποίηση άκρου πρωτεΐνης. Πρωτεόλυση/μεθυλίωση

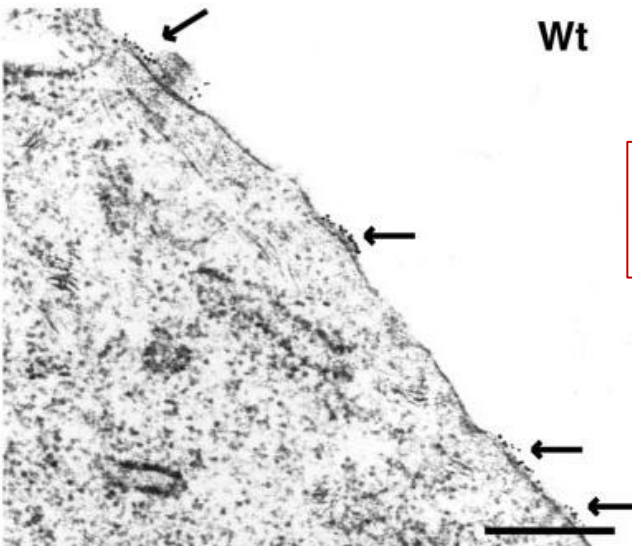
Παλμιτικές ομάδες λιπαρών οξέων και Cys (θειο-εστερικός δεσμός)

Μυριστικές/παλμιτικές ομάδες ΛΟ και Gly (NH₂, αμιδικός δεσμός)



ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΛΙΠΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

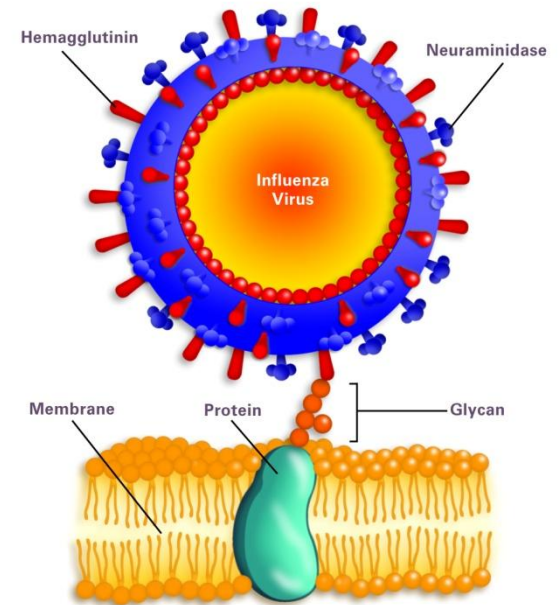
Αιματογλουτινίνη (γλυκοπρωτεΐνη) ιού γρίπης (IVH):
σύντηξη φακέλου ιού με ΠΜ κυττάρου-ξενιστή. Αυξάνει τάξη
ακυλικών ομάδων στα λιπίδια διπλοστιβάδας- εκλεκτική σύνδεση σε
ΛΣχ κυτταρικής επιφάνειας-προαγωγή μεμβρανικής σύντηξης



several enveloped viruses, including influenza virus, Ebola virus, and HIV-1, assemble at rafts and bud from these rafts

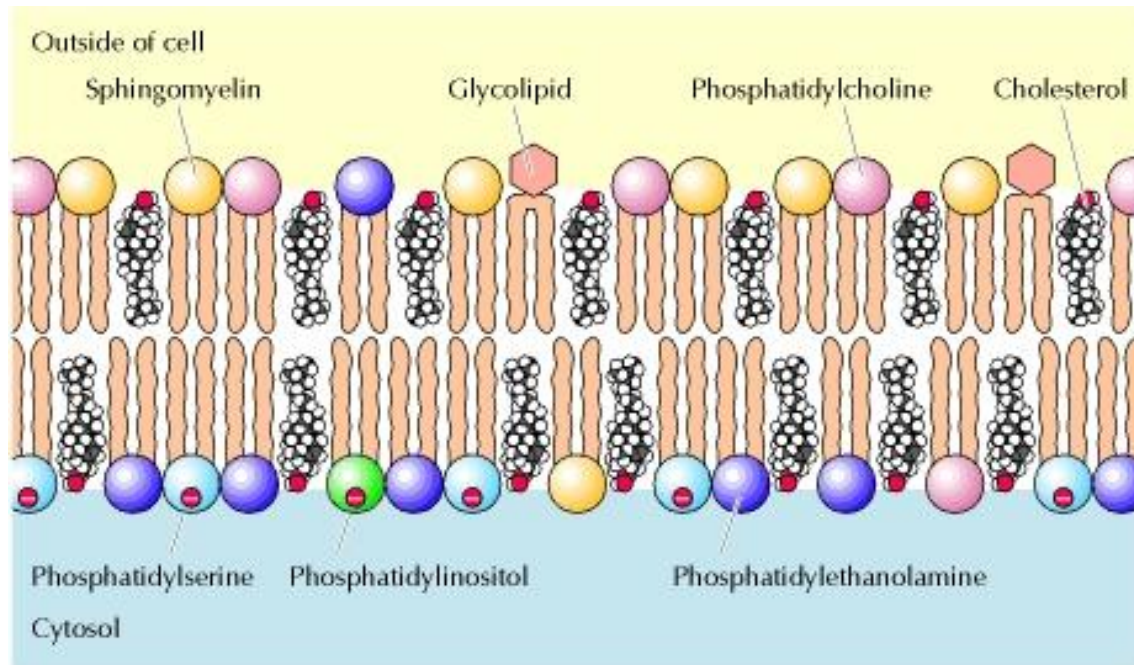
influenza virus has a lipid composition more similar to that of a raft (high SM and cholesterol content) than the overall plasma membrane

HA clusters in rafts (associates intrinsically with lipid rafts-residues in its TM domain are important for raft association) to provide a **sufficient concentration** of HA in budding virus to mediate **efficient virus– cell fusion** (*Takeda et al., PNAS 100(25):14610, 2003*)



ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΛΙΠΙΔΙΑ

- Χοληστερόλη
- Κεραμίδιο και παράγωγα
- Φωσφοϊνοσιτίδια



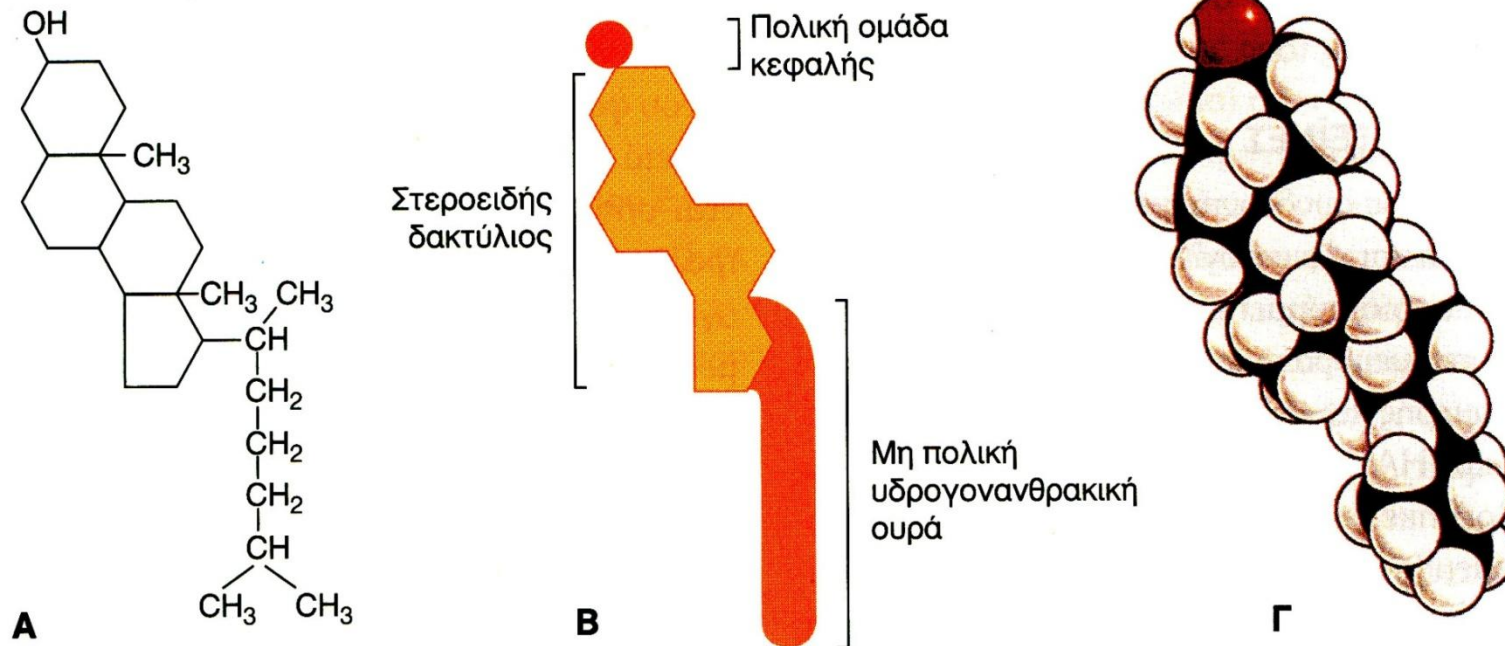
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Στεροειδείς ορμόνες

Στερόλη μεμβρανών ζωικών κυττάρων

Δομικό συστατικό μεμβρανών

Πλευρική ετερογένεια σε επίπεδο μεμβράνης (μεταγωγή σήματος, μεμβρανική κυκλοφορία κλπ)



Εικόνα 1.15. Δομή του μορίου της χοληστερόλης. (Από Alberts και συν., 2002).

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Αλληλεπιδράσεις με φωσfolιπίδια

Ακυλικές αλυσίδες λιπιδίων (μήκος/βαθμός κορεσμού)

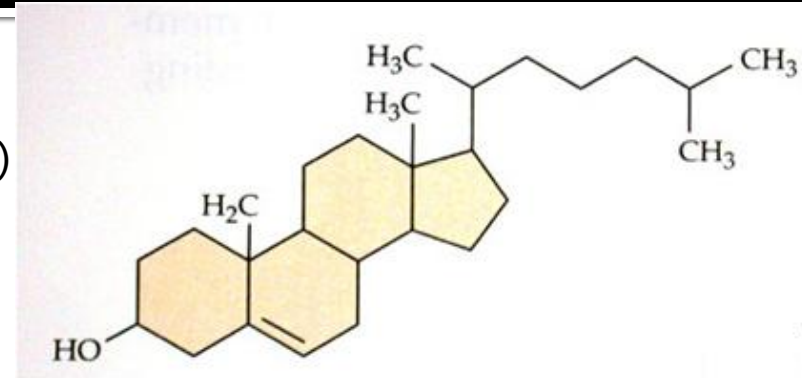
Κορεσμένα φωσfolιπίδια: Ισχυρά (HC chains)

Σφιγγολιπίδια, SM: Ισχυρά

Ακόρεστα λιπίδια: Χαλαρά

Πολυακόρεστες αλυσίδες: Καθόλου

ΚΟΜΒΟΙ στο επίπεδο διπλών δεσμών)



ΑΥΞΑΝΕΙΤΗ **ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ** στα άκρα των λιπιδιακών (κορεσμένων) αλυσίδων
ΕΛΑΧΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ **ΕΛΕΥΘΕΡΟΥ ΟΓΚΟΥ** ⇒ **ΜΕΙΩΣΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ** ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

Binds to hydrophobic tails of phospholipids causing them to **pack closer together**
(**less fluid, more rigid membranes**)

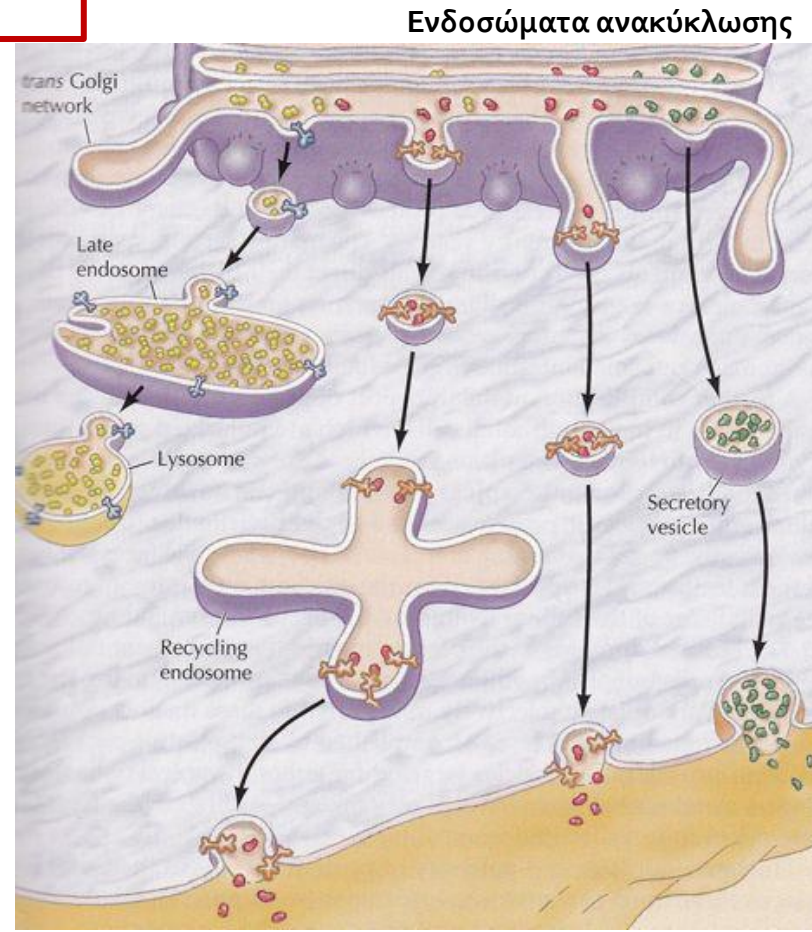
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ενδοκυττάρια κατανομή (μη-εστεροποιημένη)

ΕΔ << συσκευή Golgi cis < Golgi trans <<< ΠΜ

Τελικά ενδοσώματα/Lys << Ενδοσώματα
ανακύκλωσης

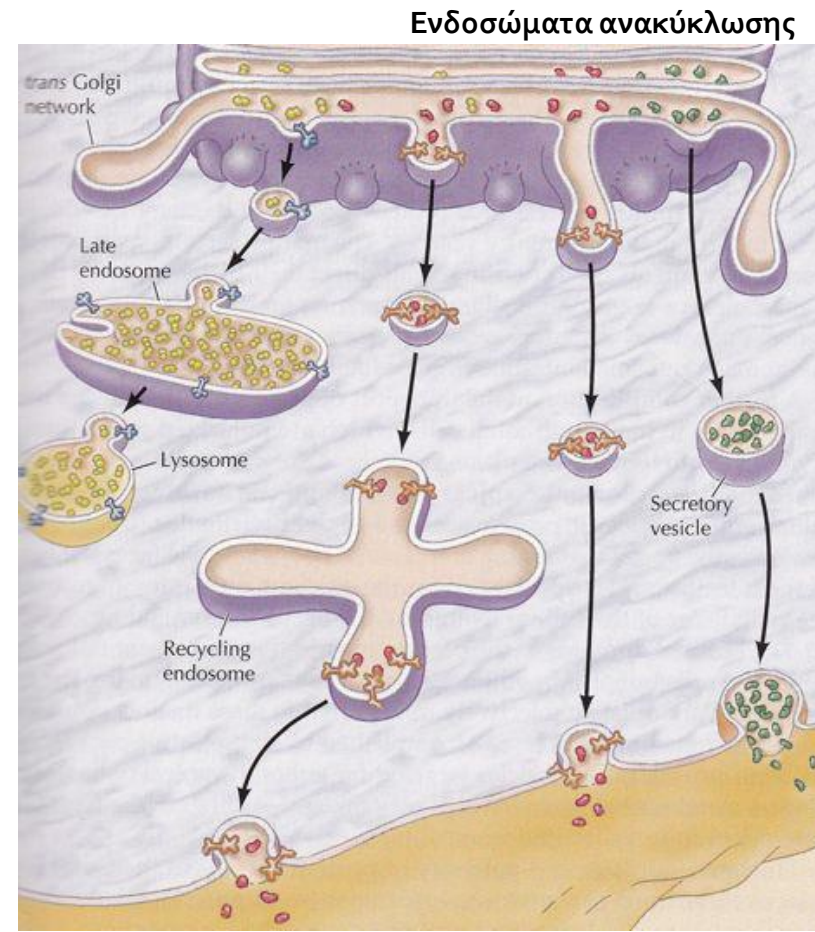
Βασική/πλευρική περιοχή << Κορυφαία
περιοχή πολωμένων κυττάρων



ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ενδοκυττάρια κατανομή (μη-εστεροποιημένη)

1. **Μετακίνηση** ανάμεσα στις λιπιδιακές μονοστιβάδες
2. **Σταθεροποίηση** σε μεμβρανικά domains
3. Εμπλουτίζεται ή αποκλείεται εκλεκτικά από **κυστίδια μεταφοράς**
4. Σύνδεση με ειδικές **cyt πρωτεΐνες-μεταφορείς**



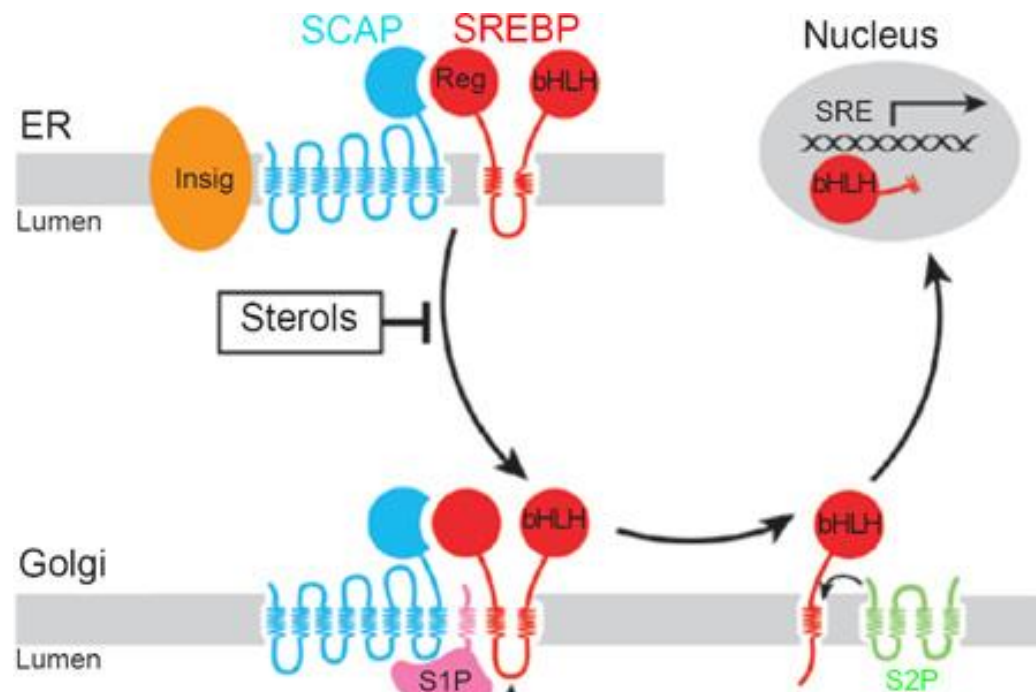
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ρύθμιση συγκέντρωσης (ανάδραση)

Η συγκέντρωση της χοληστερόλης στις μεμβράνες ΕΔ καθορίζει την κυτταρική ομοιοστασία της χοληστερόλης

Αύξηση χοληστερόλης στο ΕΔ \Rightarrow αποικοδόμηση **hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH)**

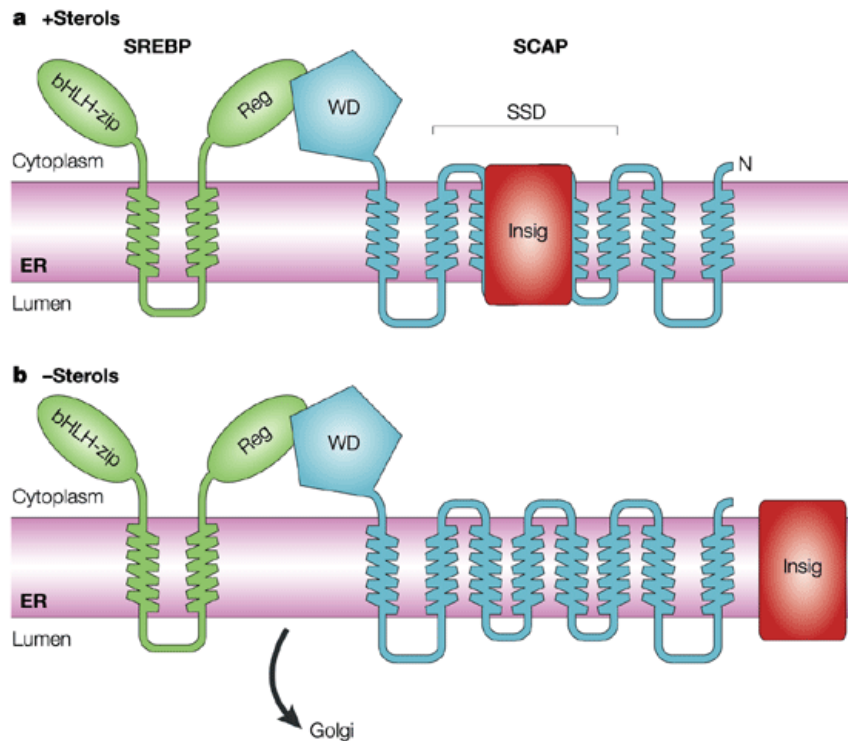
Μείωση χοληστερόλης στο ΕΔ \Rightarrow SCAP*(sterol sensor)/ **θραύση SREB (Golgi)** \Rightarrow μετατόπιση θραύσματος στον πυρήνα \Rightarrow έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν σε ρύθμιση χοληστερόλης



ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ρύθμιση συγκέντρωσης (ανάδραση)

Robert B. Rawson. Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 631-640, 2003



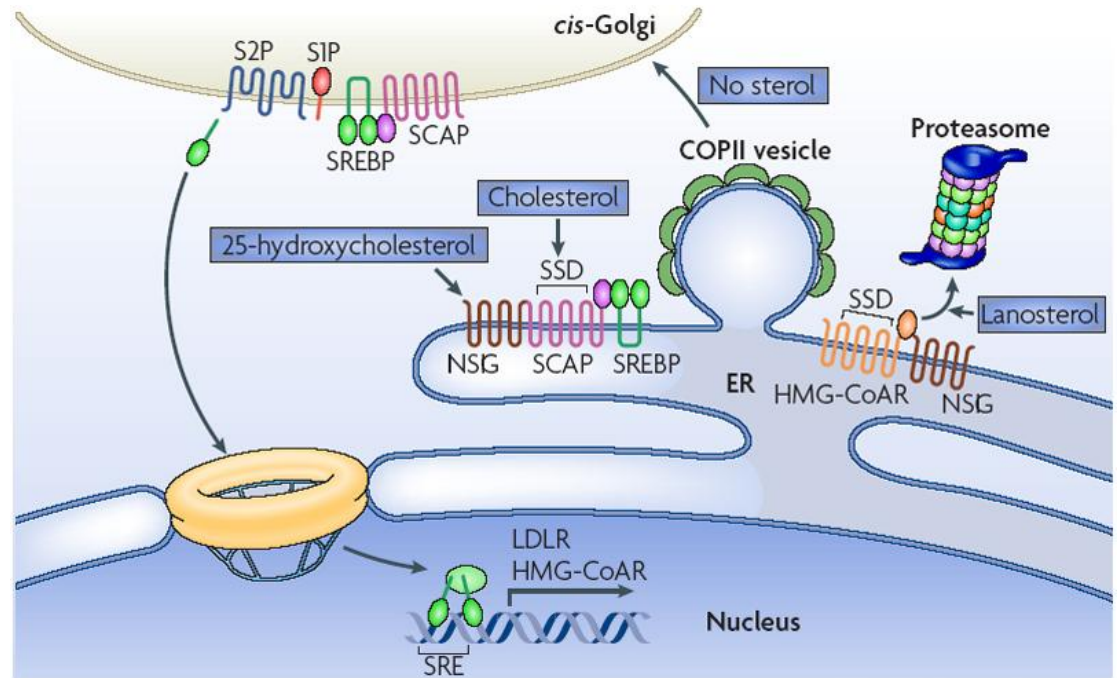
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

In the presence of sterols: complexes of **SREBP** (sterol regulatory element binding protein) and **SCAP/sterol sensor** (SREBP-cleavage-activating protein) remain in the (ER). Retention in the ER requires interaction between the sterol-sensing domain (SSD) of SCAP and **Insig-1 or -2** (ER retention proteins). This interaction is strongly enhanced by **cholesterol** (in the case of Insig-1), or is absolutely dependent on cholesterol (in the case of Insig-2).

In the absence of sterols: SCAP and the Insig proteins do not interact. The SREBP–SCAP complex is then free to be packaged into **COPII vesicles** and travel to the **Golgi** apparatus to be processed.

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ρύθμιση συγκέντρωσης (ανάδραση)



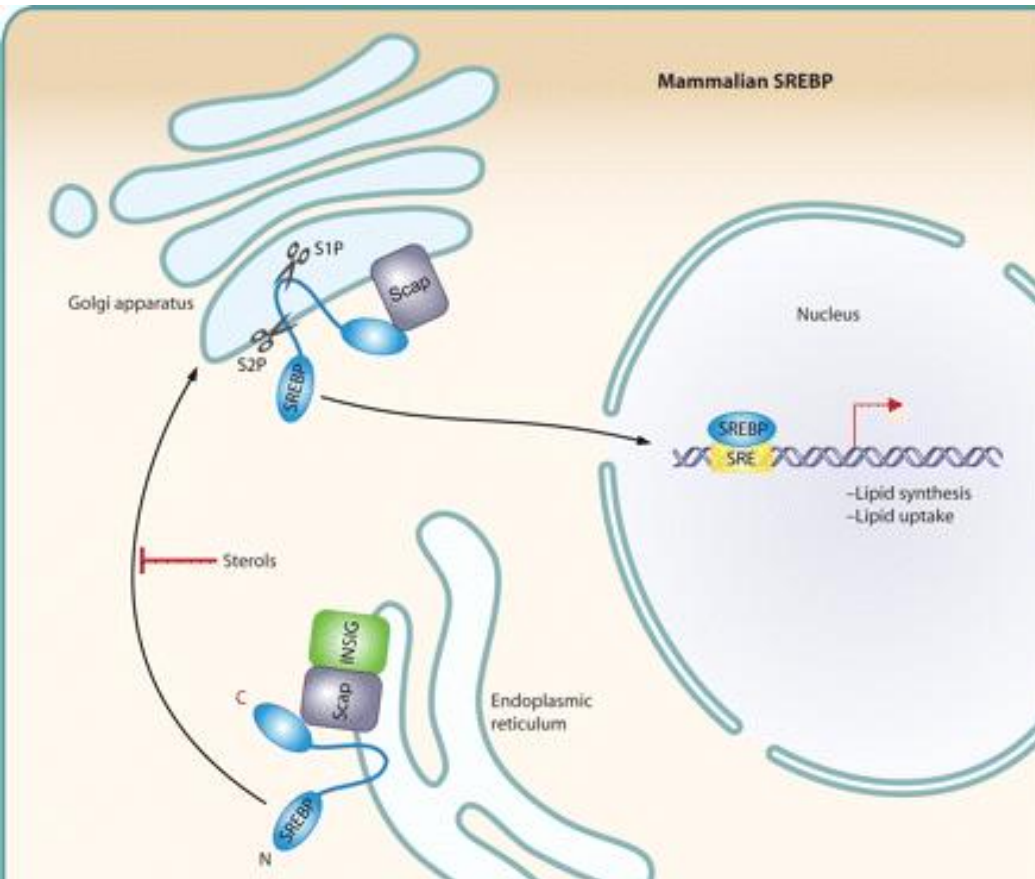
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Transport of SREBP to the Golgi is needed for proteolytic release of the transcription factor, which is then transported to the **nucleus** to **activate sterol-regulated genes** (such as hydroxymethylglutaryl CoA reductase (HMG-CoAR)) and the low density lipoprotein receptor (LDLR).

SSD, sterol-sensing domain; SRE, sterol regulatory element

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ρύθμιση συγκέντρωσης (ανάδραση)



Mammalian SREBP pathway

1. Under sterol replete conditions, the **SREBP-Scap complex** is retained in the ER bound to **INSIG**.

2. When sterol levels decrease, **SREBP-Scap** is transported to the **Golgi apparatus**, where SREBP is **cleaved** by the site 1 and site 2 proteases.

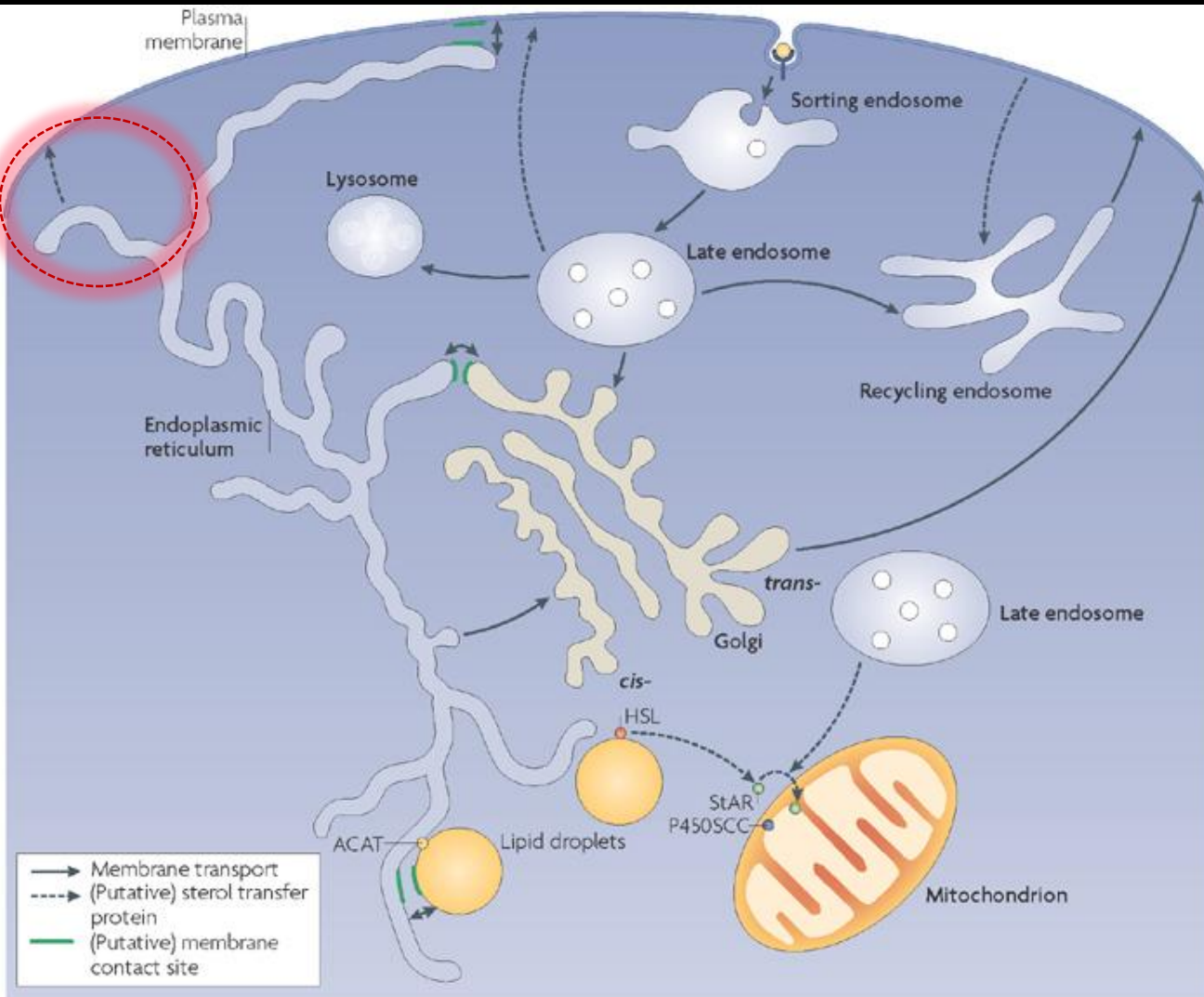
The **soluble N terminus of SREBP** enters the **nucleus** and activates **genes** required for the **synthesis** and **uptake** of sterols and other lipids.

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

Ενδοκυτταρική μεταφορά

1. Ενσωμάτωση σε **κυστίδια** που μεταφέρουν μεμβρανικά συστατικά από το ένα οργανίδιο στο άλλο
2. Ταχεία διάχυση με τη βοήθεια cyt **πρωτεϊνικών μεταφορέων** από τη μια μεμβράνη στην άλλη
3. Ταχεία **ανταλλαγή** μεταξύ δύο όμορων μεμβρανών
4. **Σπηλαιίνη**: συνδέεται με χοληστερόλη ΚΑΙ σχηματίζει σύμπλοκο με πρωτεΐνες-μοριακούς συνοδούς χοληστερόλης και τη μεταφέρει από το ΕΔ στην ΠΜ

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



1. ER to PM: mostly bypasses the Golgi complex (**cyt sterol carrier proteins**) (2 phases, 60min, 5-6h).

Μικροσπήλαια και ένα σύμπλοκο συνοδών πρωτεϊνών (σπηλαιίνη, HSP56, κυκλοφιλίνες)

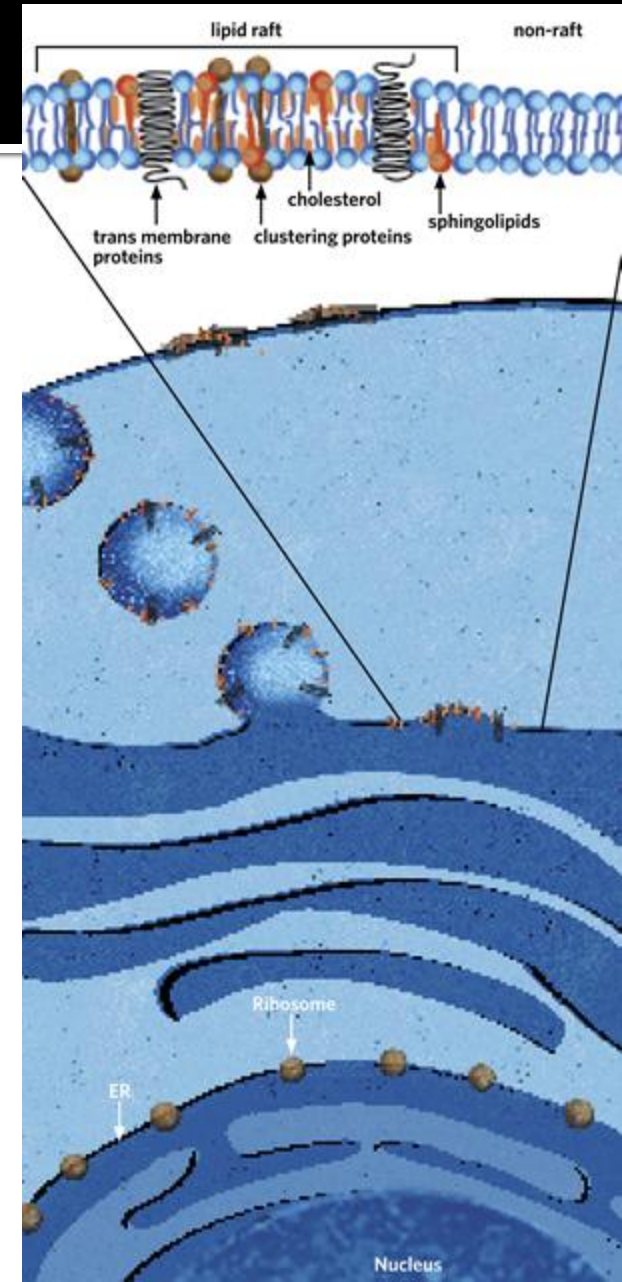
Secondary: through Golgi/lipid rafts

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

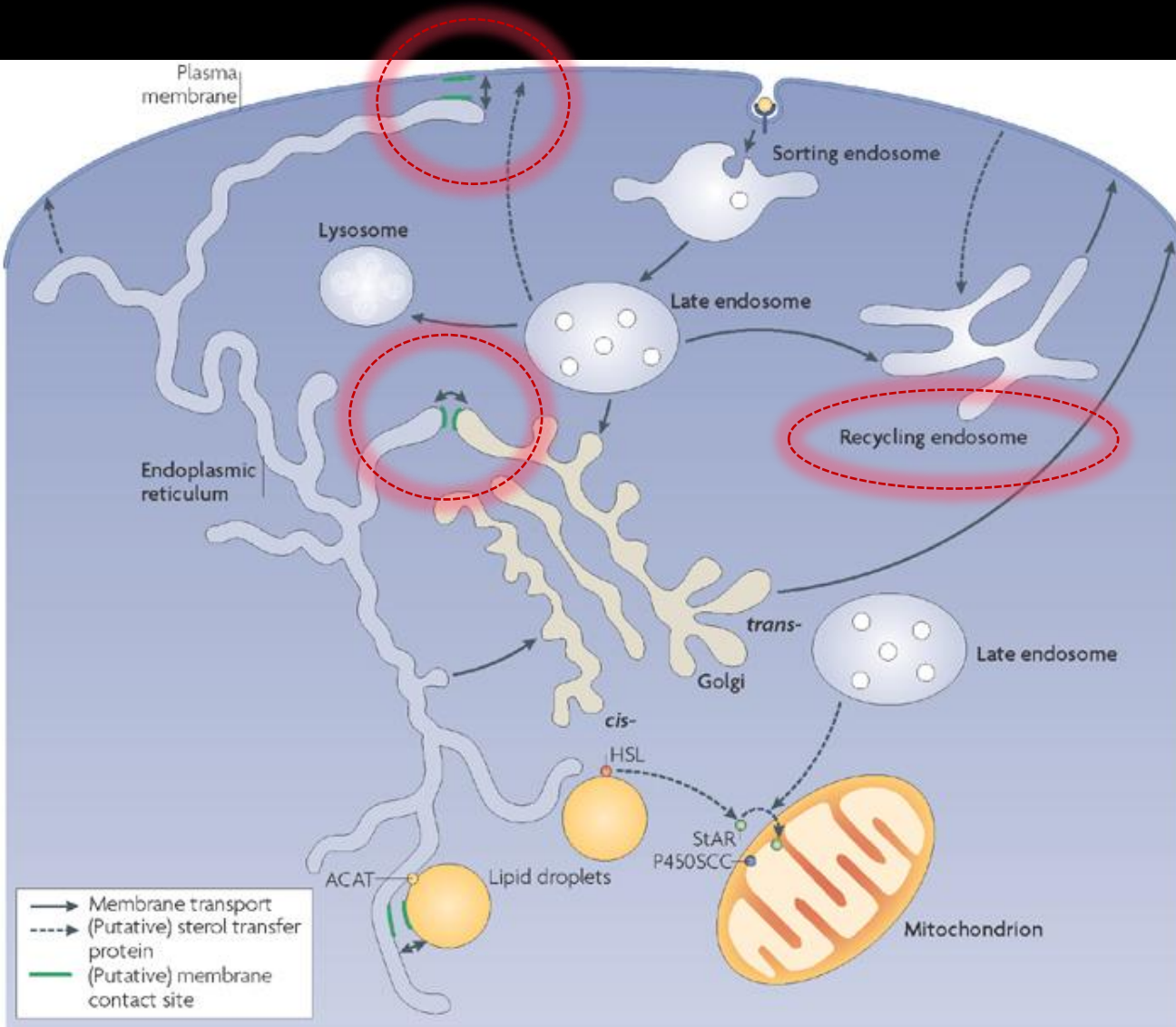
ER (through lipid rafts) → Golgi → PM

Λιπιδιακές σχεδίες εμπλουτισμένες σε **χοληστερόλη**, SM, γλυκοσφιγγολιπίδια σχηματίζονται στη συσκευή **Golgi** και μεταφέρονται εκλεκτικά στην κορυφαία κυτταρική επιφάνεια

The components of a **lipid raft**, some of which are produced in the **ER**, begin to coalesce in the **trans Golgi network**. Raft membranes are enriched for cholesterol and sphingolipids and also contain **clustering proteins** and trans membrane proteins. **Raft vesicles extruded from the Golgi traffic to the surface** where they can separate into smaller raft compartments



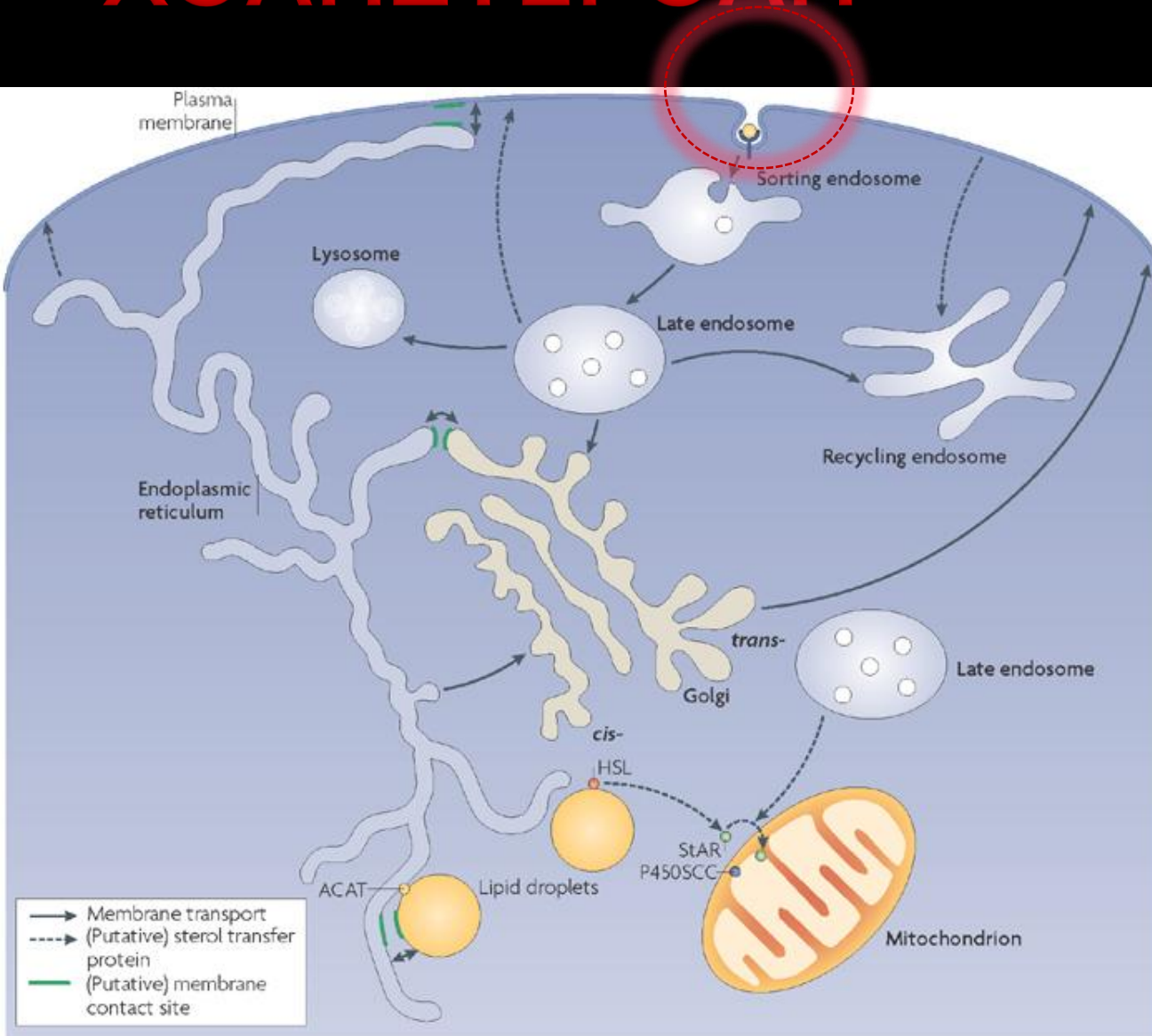
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



2. Some proteins regulate the formation of **direct membrane contacts** (sterol exchange-green)

3. **Recycling Endosomes membranes** have high affinity to receive **cholesterol** (ves- and ATP-independent process) because of their enrichment in **sphingolipids**

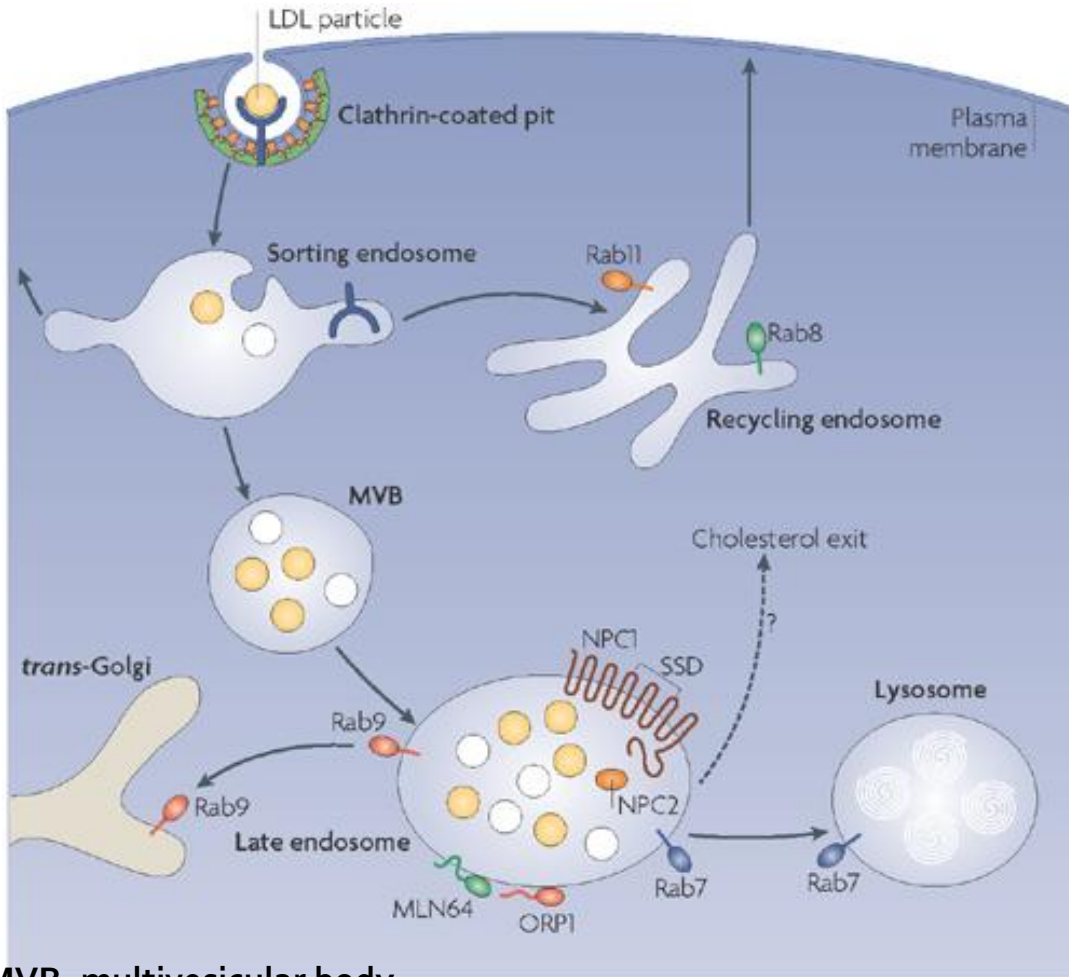
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



4. **PM to endosomes** (membrane trafficking)

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ

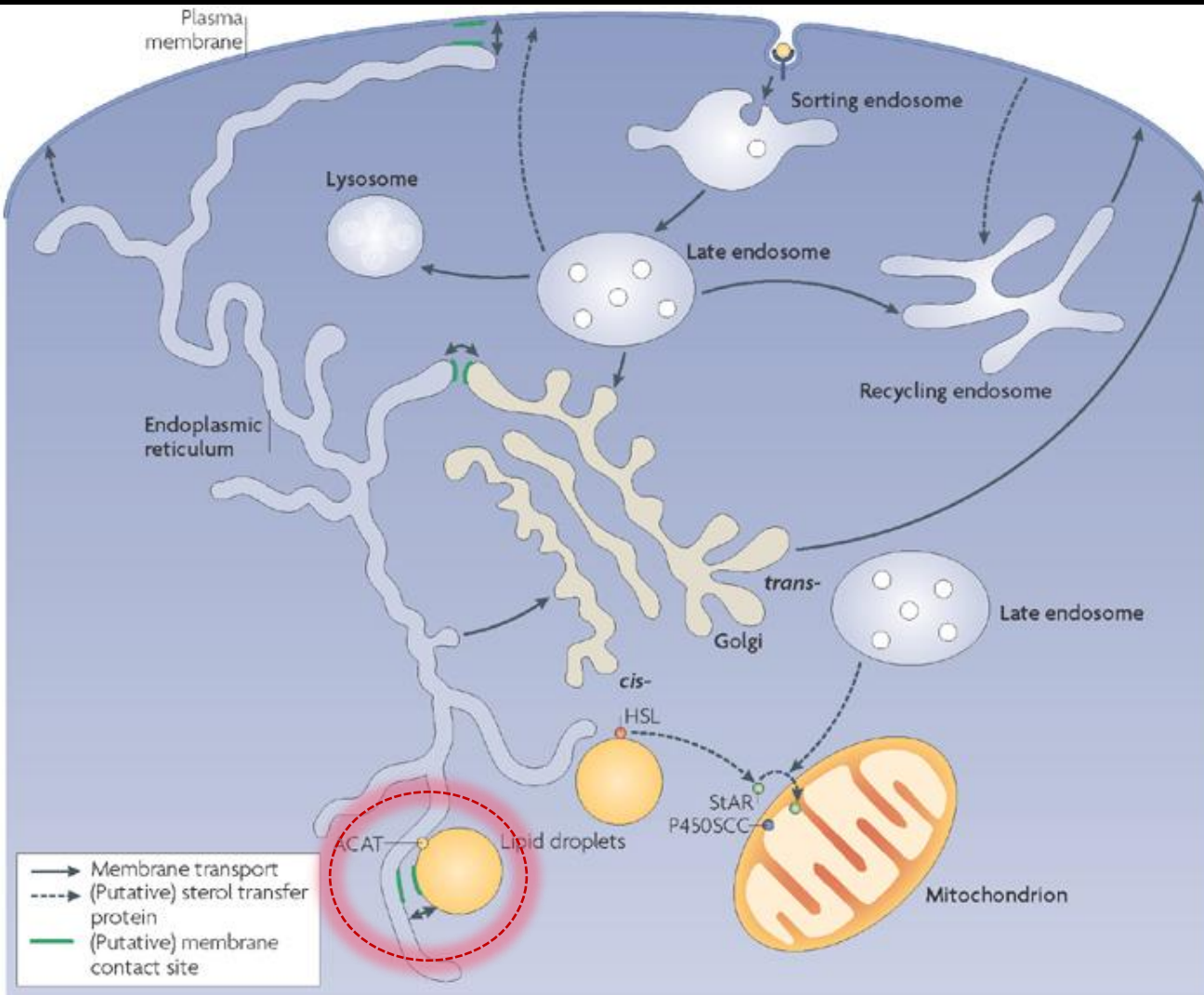
Ενδοκυτταρική μεταφορά



1. LDL-R and LDL particles to early sorting endosomes (R-recycling to the PM)
2. LDL to late endosome/lys compartments for hydrolysis to free cholesterol
3. Free cholesterol can **exit the endosomal system for delivery to PM or ER (NPC proteins dependent)**
4. **MLN64, ORP1** (sterol-binding proteins): organize late endosomal membrane trafficking
5. **Rab GTPases**: regulate sterol-dependent endosomal trafficking
6. Cholesterol is enriched in the internal membranes of **multivesicular endosomes** and depleted from **lysosomes**, which implies that cholesterol efflux takes place before cargo delivery to lysosomes

MVB, multivesicular body
SSD, sterol-sensing domain

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



5. Excess cholesterol in the ER (or in the PM moves to the ER) is esterified by ACAT to be stored in cyt lipid droplets

6. Μιτοχόνδρια: σύνθεση στεροειδών ορμονών.

Mit use cholesterol from several stores:

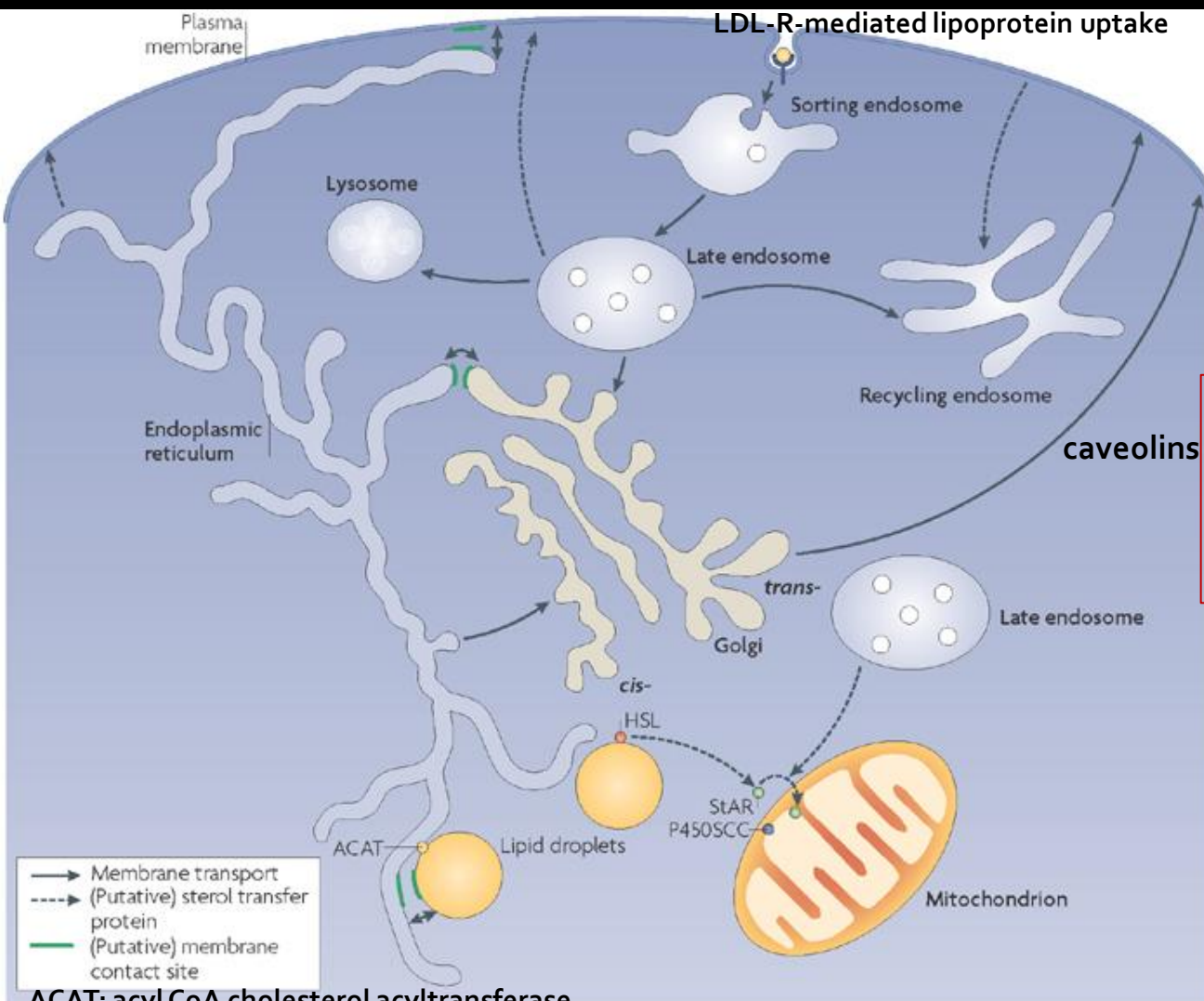
LDL-derived

De novo synthesized in **the ER**
From **lipid droplets** (on hydrolysis of cholesteryl esters by hormone sensitive lipase HSL)

SCP-2: promotes cholesterol transfer from lipid droplets to mit
EΞ

ACAT: acyl CoA cholesterol acyltransferase
StAR: steroidogenic acute regulatory protein

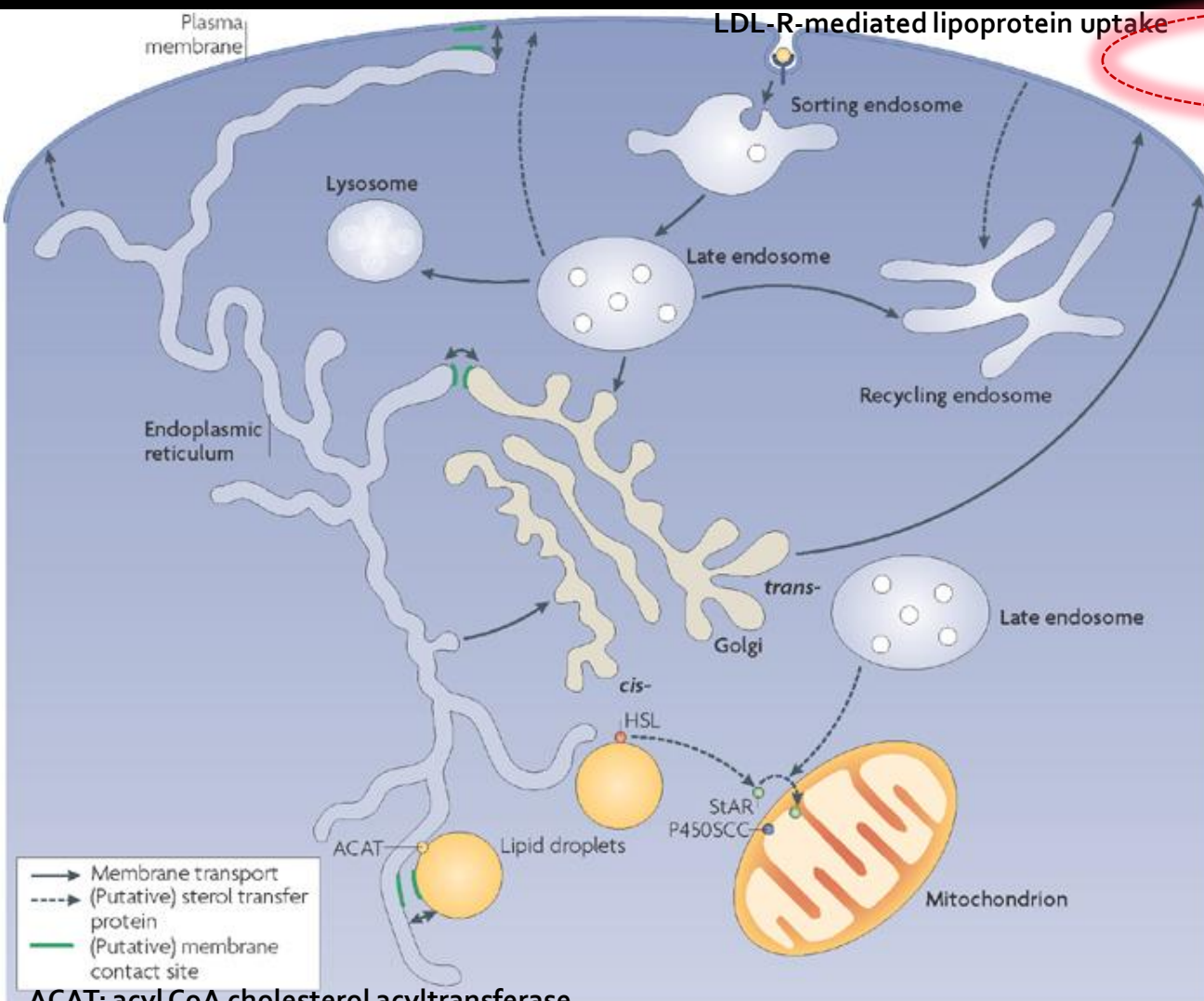
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



StAR (cholesterol transfer protein) is targeted to **outer mit** to facilitate the movement of cholesterol **to the inner mit** membrane ((steroidogenesis) (EΞ to EΣ))

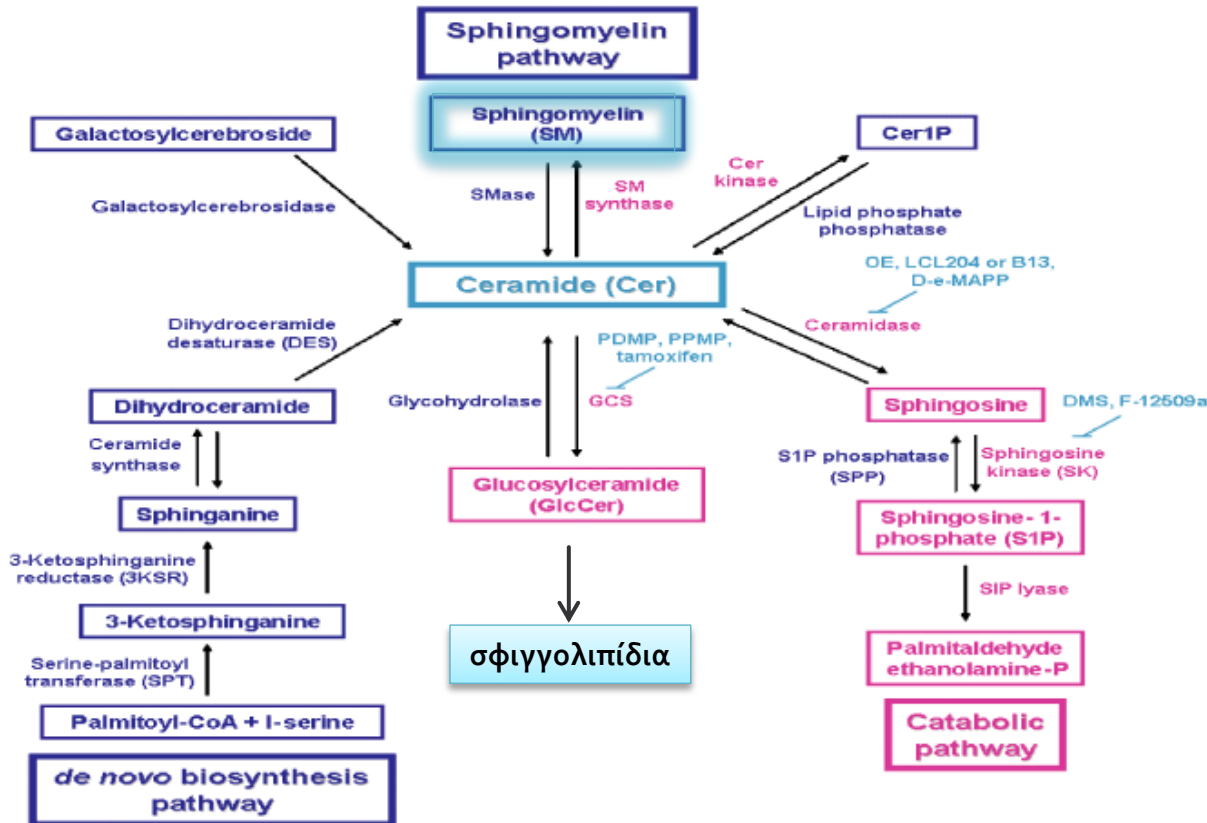
ACAT: acyl CoA cholesterol acyltransferase
StAR: steroidogenic acute regulatory protein

ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ



ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

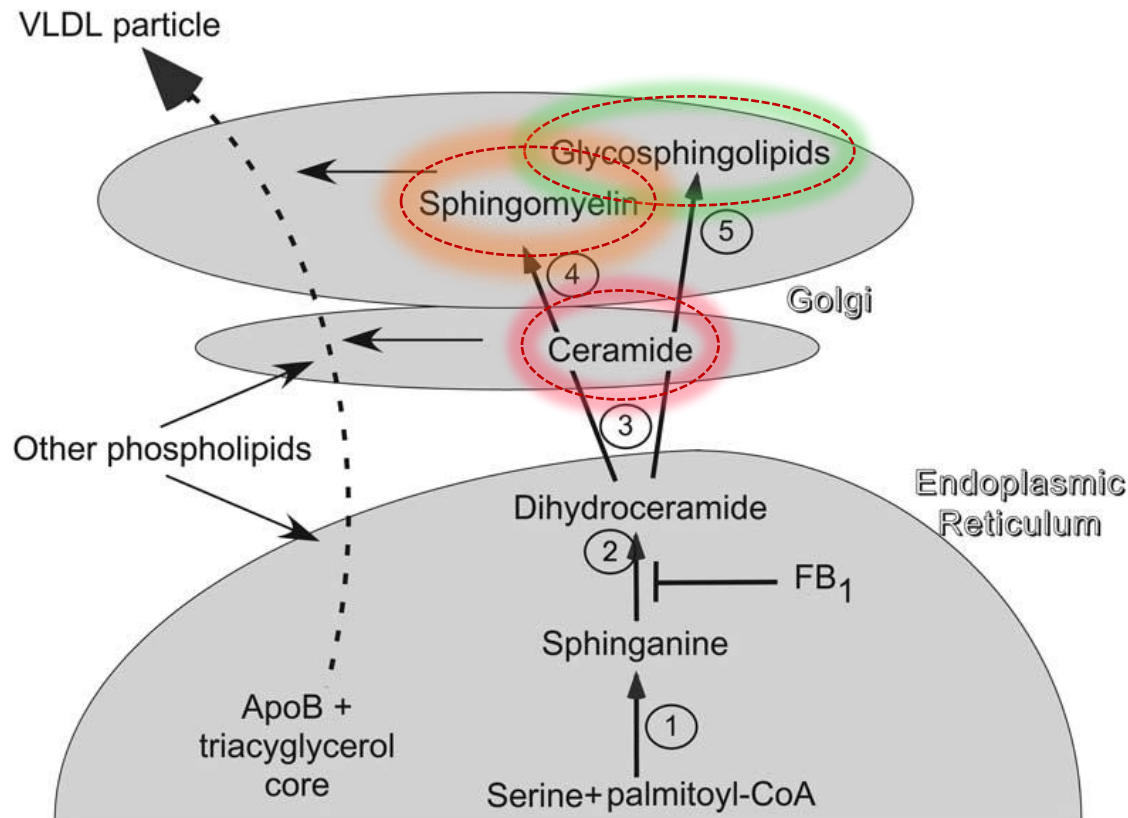
Metabolic pathways involved in ceramide biosynthesis and degradation



Λιπιδιακός διαμεσολαβητής
 κυτταρικής αύξησης,
 διαφοροποίησης,
 θανάτου

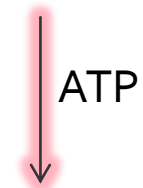
Enzymes that remove or generate ceramide contribute to **cancer cell growth or death**

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ



Σύνθεση:

Ceramide: ΕΔ (ΕΞ)

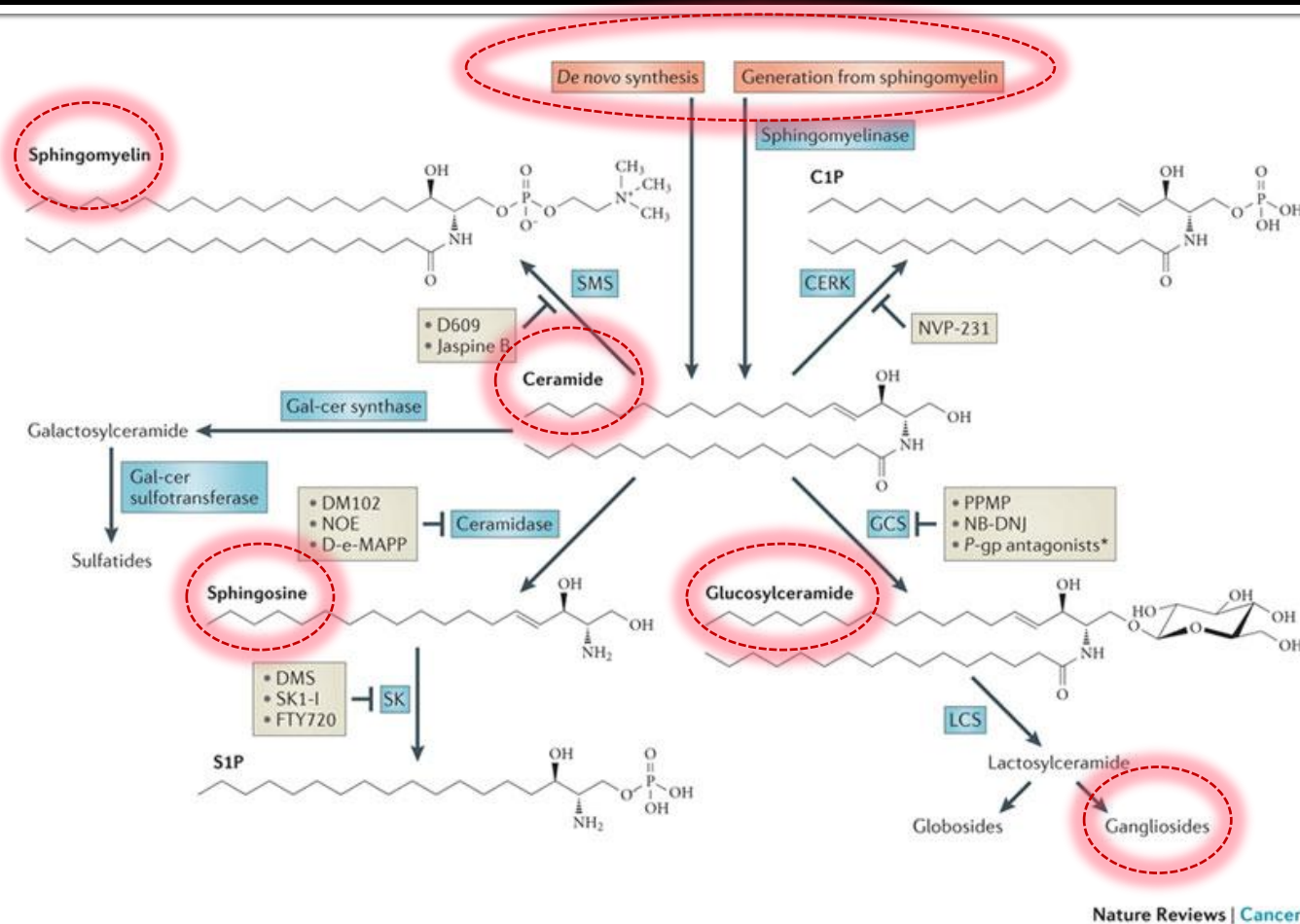


GlcCer: Golgi (ΕΞ/cis)

SM: Golgi (ΕΣ/cis)

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

Samy A. F. Morad & Myles C. Cabot
Nature Reviews Cancer 13, 51-65, 2013



Nature Reviews | Cancer

Sphingomyelinases cleave **SM** at the phosphodiester bond that is proximal to ceramide, producing ceramide and choline phosphate

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

Besim Ogretmen & Yusuf A. Hannun
Nature Reviews Cancer 4, 604-616, 2004

1. Cer → SM

SMS (συνθάση της SM): (+ **DAG**-απαραίτητη για βιογένεση κυστιδίων από το TNG)

SM

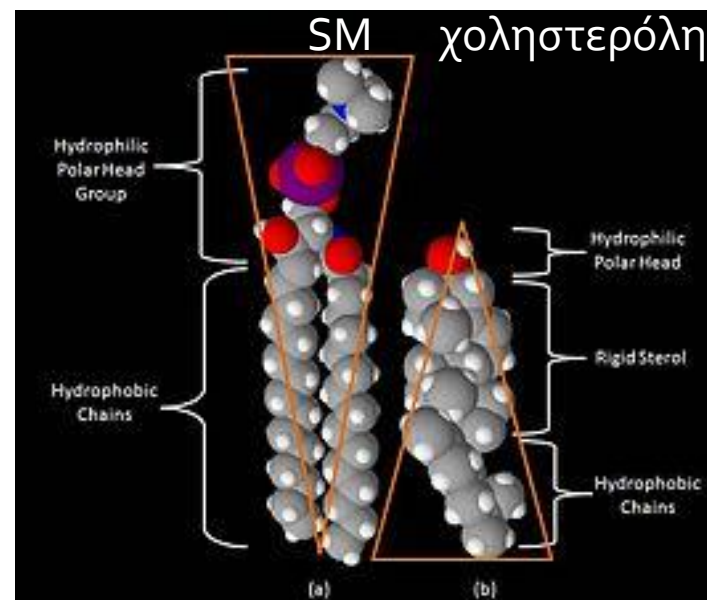
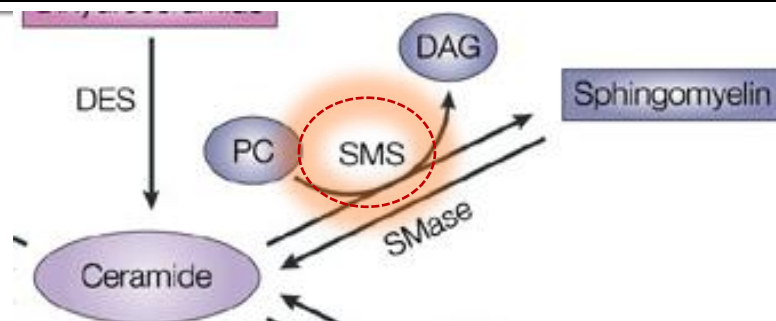
SM, γλυκοσφιγγολιπίδια → **ΠΜ** (κυστιδιακή μεταφορά) (εμπλουτίζουν ΛΣχ/μικροσπήλαια ΠΜ)

SM (**ΕΞ** κυρίως/ 10-20% ΕΣ)

2-15% των φωσφολιπιδίων στα θηλαστικά

RBCs, φακός οφθαλμού, περιφερικό ΝΣ, **εγκέφαλος**

Δομικό συστατικό και μεταγωγή σήματος (Lipid rafts) (κεραμίδιο, σφιγγοσίνη, DAG απόπτωση, γήρανση)



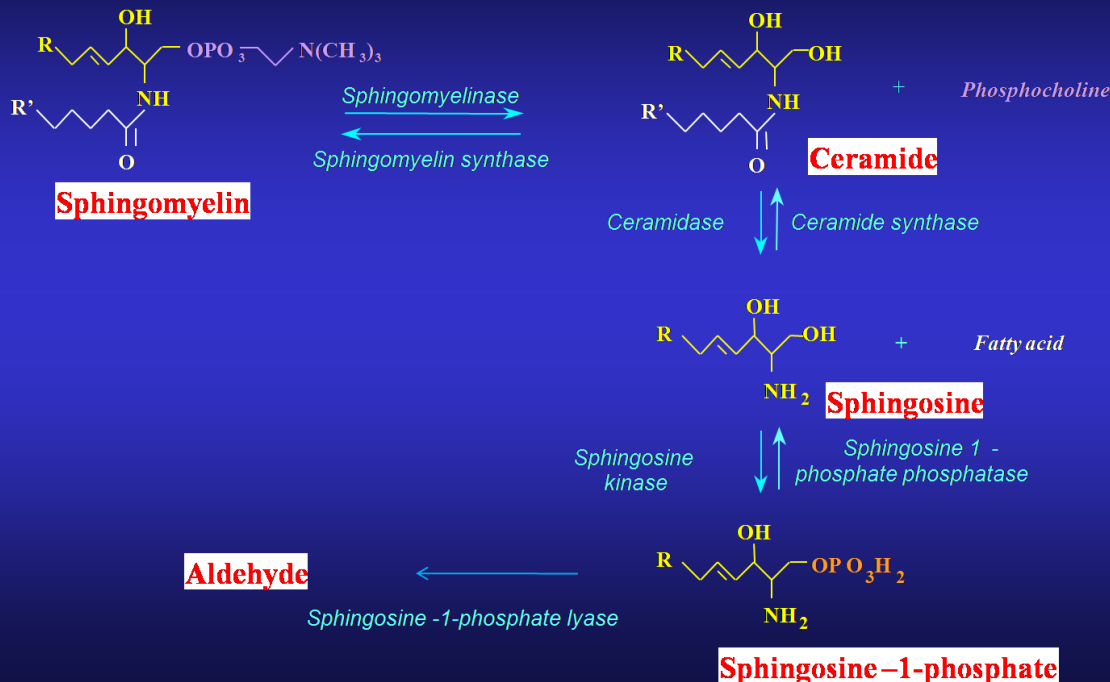
Ρύθμιση βιοσύνθεσης και μετακίνησης **SM**: επίπεδα **χοληστερόλης** ΠΜ

ΣΦΙΓΓΟΜΥΕΛΙΝΗ

Χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης \Rightarrow OSBP (oxysterol binding protein) cyt to Golgi

ceramide \rightarrow ER to Golgi \Rightarrow SM biosynthesis

The 'Sphingomyelin' cycle



Membrane **sphingolipids** are in a constant state of **turn-over**.

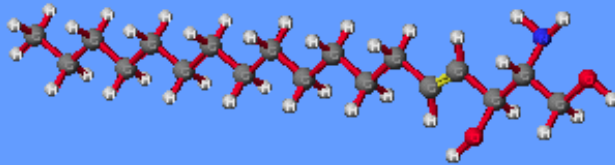
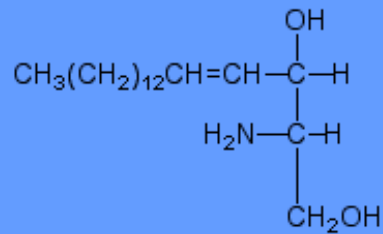
SM molecules are being broken down to smaller compounds and then reassembled again from those same compounds.

The first break-down product is another sphingolipid, **ceramide**, which in turn is broken down to **sphingosine**, which in turn is phosphorylated to **sphingosine-1-phosphate**.

Each of these conversion steps is **reversible** via the action of different **enzymes**. This dynamic state of play is known as the **sphingomyelin cycle**.

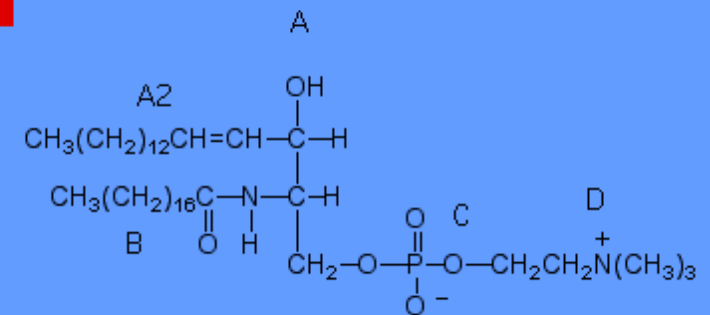
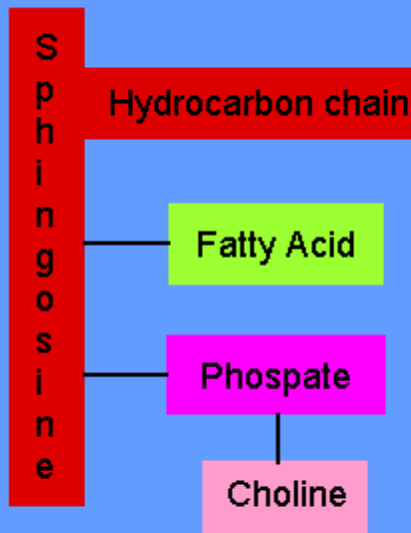
ΣΦΙΓΓΟΜΥΕΛΙΝΗ

Sphingosine



C. Ophardt, c. 2003

Sphingomyelin

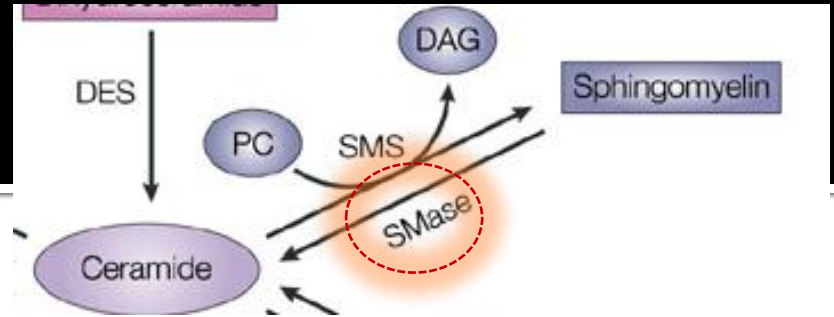


C. Ophardt, c. 2003

Όξινες/ουδέτερες σφιγγομυελινάσες **aSMase/nSMase**

Υδρόλυση: και στις 2 μονοστιβάδες

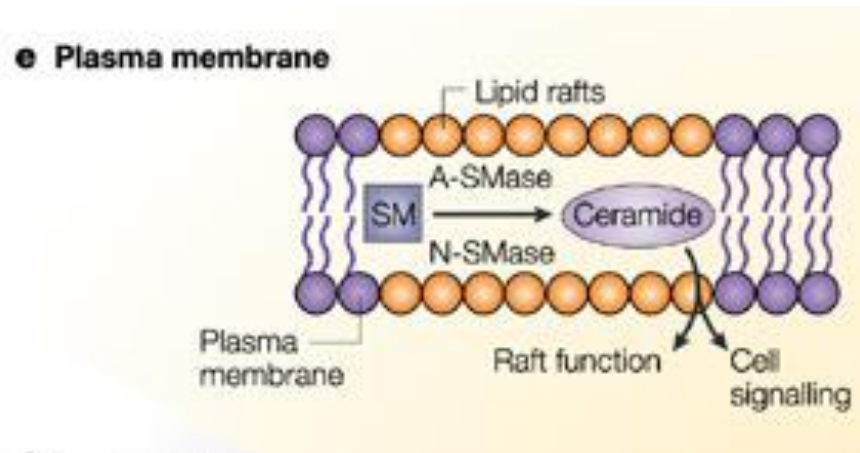
Ύστερα από κυτταρική διέγερση



2. SM of PM → Cer (hydrolysis)

Κυτταρικό στρες/σηματοδότηση: Κυτταροκίνες, ligands υποδοχέων απόπτωσης, μέσα διαφοροποίησης, αντικαρκινικά φάρμακα κλπ

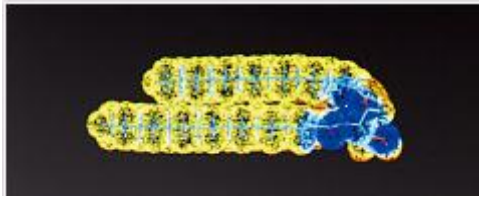
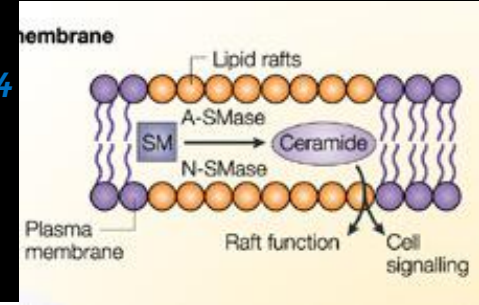
(e) The generation of **ceramide** in the plasma membrane can occur within **lipid rafts**. Ceramide produced here **can affect specific signalling pathways** generated by receptors aggregated in the rafts, such as **FAS**.



Παροδικός σχηματισμός κεραμιδίου στην ΠΜ ⇒

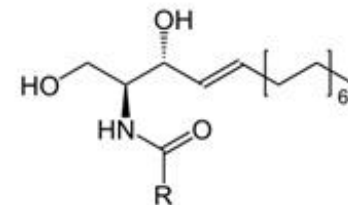
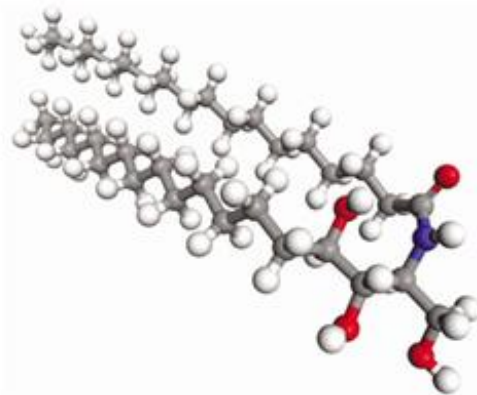
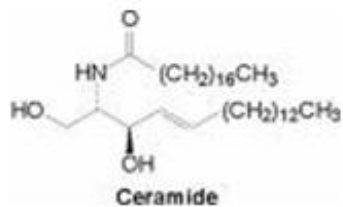
- Συγκέντρωση υποδοχέων στις λιπιδιακές σχεδίες
- Σχηματισμός ενδοσωμάτων

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

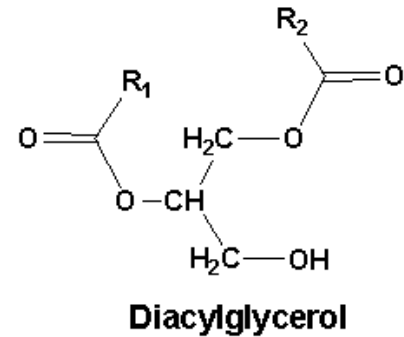
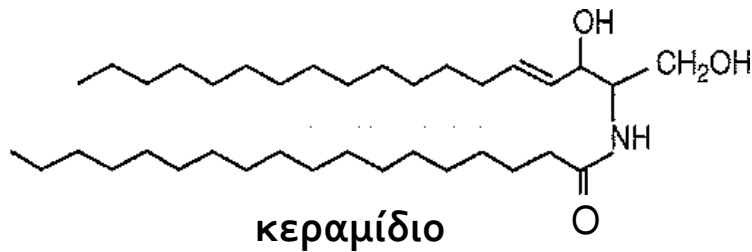


Cer: σχήμα **κώνου**
αυτοσυσσωμάτωση
ασύμμετρος σχηματισμός σε μεμβράνη \Rightarrow κυστιδιοποίηση

Αύξηση **καμπυλότητας** μεμβρανικών domains
Σύντηξη/σχάση
Κυστιδιοποίηση
Διαχωρίζεται πλευρικά σε λιπιδικές σχεδίες/μικροσπήλαια
Πακετάρεται στενά σε ομοδιμερή και πολυμερή με **σφιγγολιπίδια** και **χοληστερόλη**
Φραγμός διαπερατότητας διπλοστιβάδας



ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ



Προκαλεί αύξηση της **ρευστότητας** της μεμβράνης

Αυξάνει τάξη ακυλικών αλυσίδων στη διπλοστιβάδα/

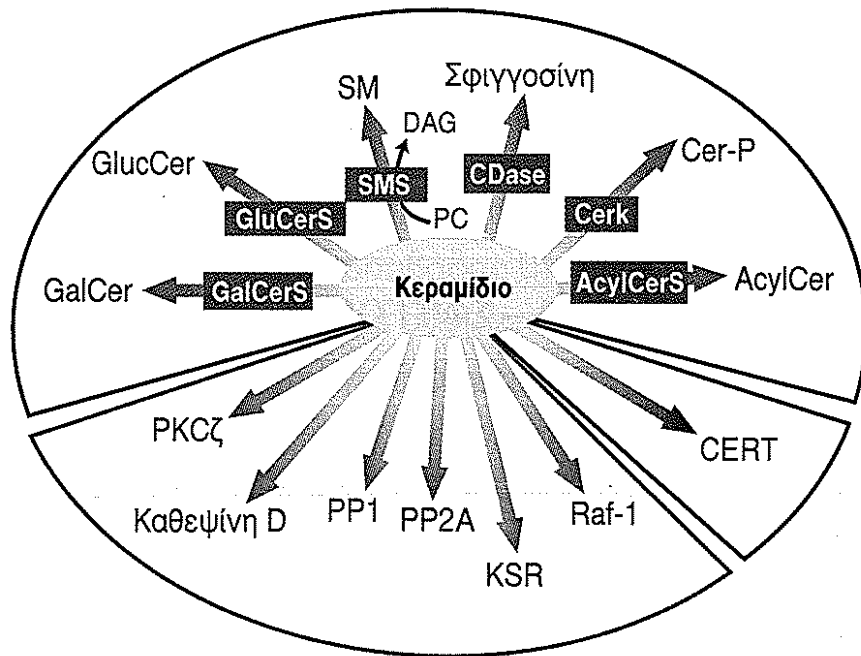
Αύξηση **σταθερότητας**

Προάγει και σταθεροποιεί σχηματισμό **Lipid rafts/μικροσπηλαίων**

Δε μεταφέρεται αυτόματα μεταξύ των μονοστιβάδων

Εύκολη μετακίνηση **flip-flop**

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ



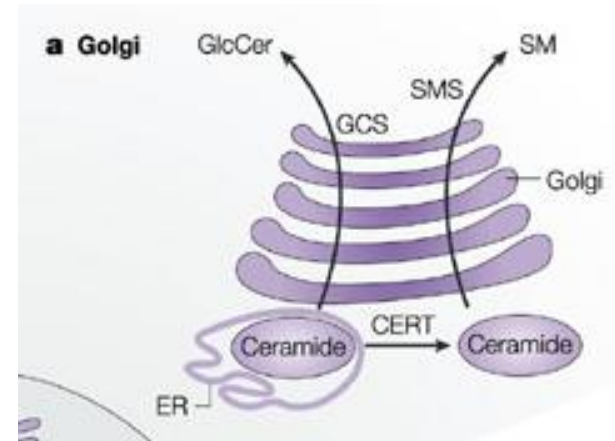
Εικόνα 1.19. Απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων του κεραμιδίου με διαφορετικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες αυτές χωρίζονται σε δύο κύριες ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του κεραμιδίου (μπλε). Η δεύτερη ομάδα αποτελείται από σηματοδοτικά μόρια τα οποία ρυθμίζονται, τουλάχιστον μερικώς, από την αλληλεπίδραση τους με το κεραμίδιο (πράσινο). Μια ακόμη πρωτεΐνη, η CERT (κόκκινο), αλληλεπιδρά με το κεραμίδιο και θεωρείται ως πρωτεΐνη μεταφοράς του κεραμιδίου. (Από Hannum και Luberto, 2004).

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

(a) **De-novo-generated cer** (ER) is transported by **CERT** (ceramide transfer protein) to the Golgi membranes for the synthesis of **SM, DAG, γλυκοσφιγγολιπίδια**.

(Cer can also be converted to **GlcCer** by the action of glucosylceramide synthase (GCS) in the Golgi, but this is not CERT-dependent)

Στο Golgi: το cer συμμετέχει σε δημιουργία **λιπιδιακών σχεδιών** και στην κυστιδιακή μεταφορά τους στην **ΠΜ**



*Besim Ogretmen & Yusuf A. Hannun
Nature Reviews Cancer 4, 604-616, 2004*

Η **de novo σύνθεση** του κεραμιδίου επιτελείται κυρίως για τη σύνθεση των **σφιγγολιπιδίων** και το σχηματισμό των **ΛΣχ**

Υπάρχει μικρό απόθεμα cer στα μιτοχόνδρια το οποίο αυξάνεται κατά την απόπτωση

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

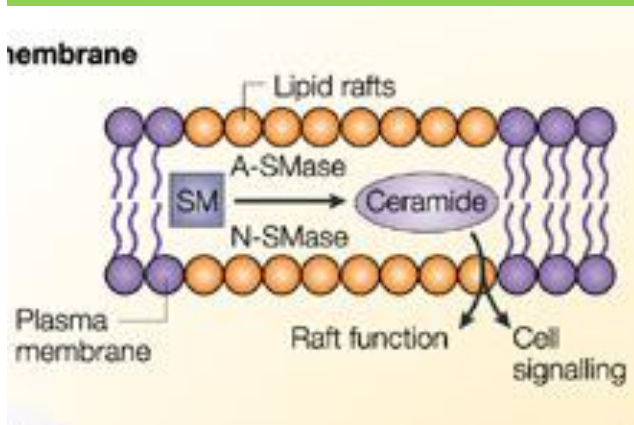
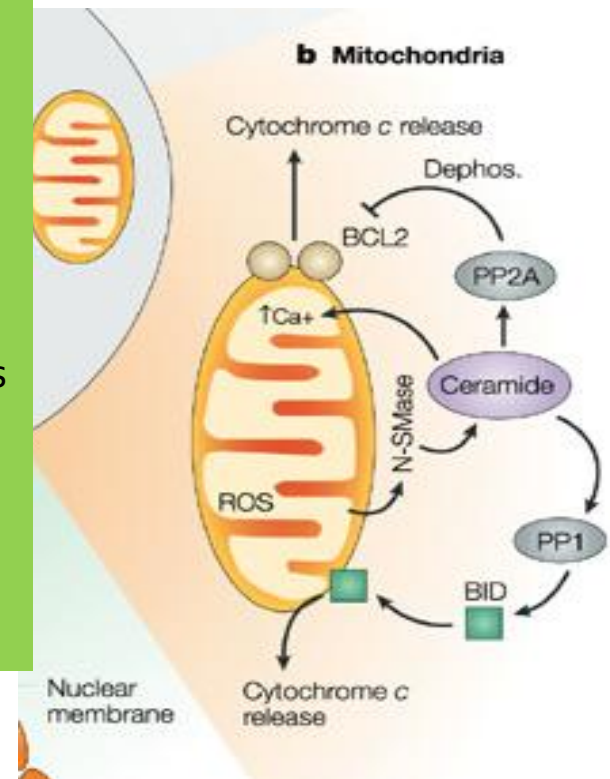
Besim Ogretmen & Yusuf A. Hannun
Nature Reviews Cancer 4, 604-616, 2004

(b) In **mitochondria** cer is generated by neutral sphingomyelinase (N-SMase), which can be activated by mit-generated ROS.

Cer can activate the ceramide-activated **protein phosphatases** PP1, PP2.

PP2A can then dephosphorylate and **inactivate anti-apoptotic proteins** such as BCL2 and AKT, leading to **apoptosis**. PP1 also acts on the pro-apoptotic protein BID.

Επηρεάζεται διαπερατότητα ΕΞ μιτοχονδριακής μεμβράνης
Απελευθέρωση **cytC** (**ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΩΝ ΚΑΝΑΛΙΩΝ**)

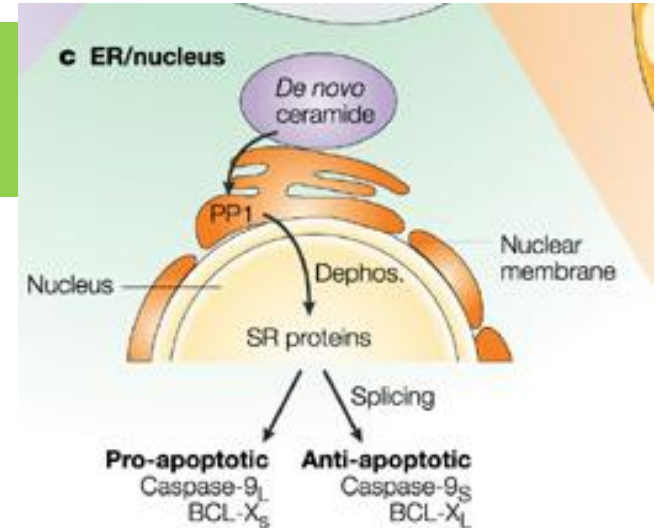


Στην ΠΜ: θραύση SM \Rightarrow
Ρυθμίζει δημιουργία αποπτωτικών σωμάτων

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

Besim Ogretmen & Yusuf A. Hannun
Nature Reviews Cancer 4, 604-616, 2004

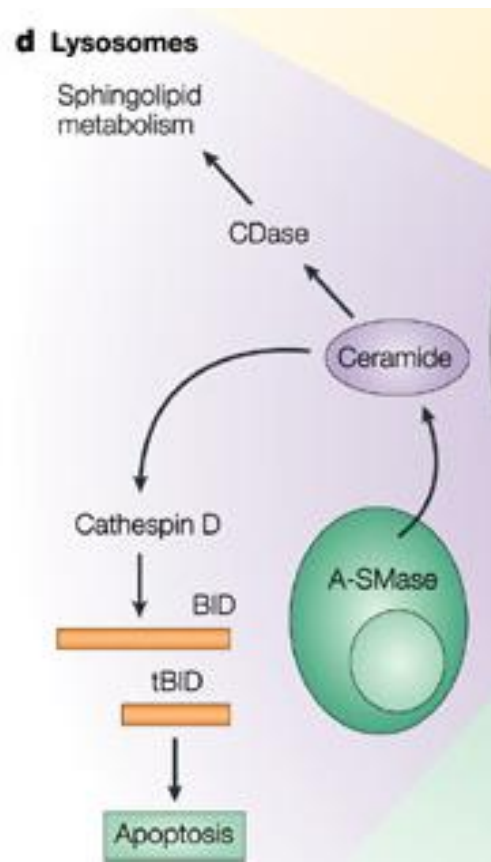
In the **ER/nucleus**, de-novo-generated ceramide can activate **PP1**, which leads to dephosphorylation of SR proteins that mediate the alternative splicing of **BCL-X**.



In **Lys** ceramide is generated by the action of **acid SMase** (A-SMase). Here, ceramide can activate **cathepsin D** and mediate activation of the pro-apoptotic protein **BID**, cleaving it to truncated BID (tBID) leading to activation of caspase-9 and caspase-3, resulting in **apoptosis**.

Ceramide generated in lysosomes can also be used as a substrate for acid ceramidase for the generation of **sphingosine** and, from this, the generation of sphingolipids in other compartments.

CDase, ceramidase. SMS, sphingomyelin synthase.



ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

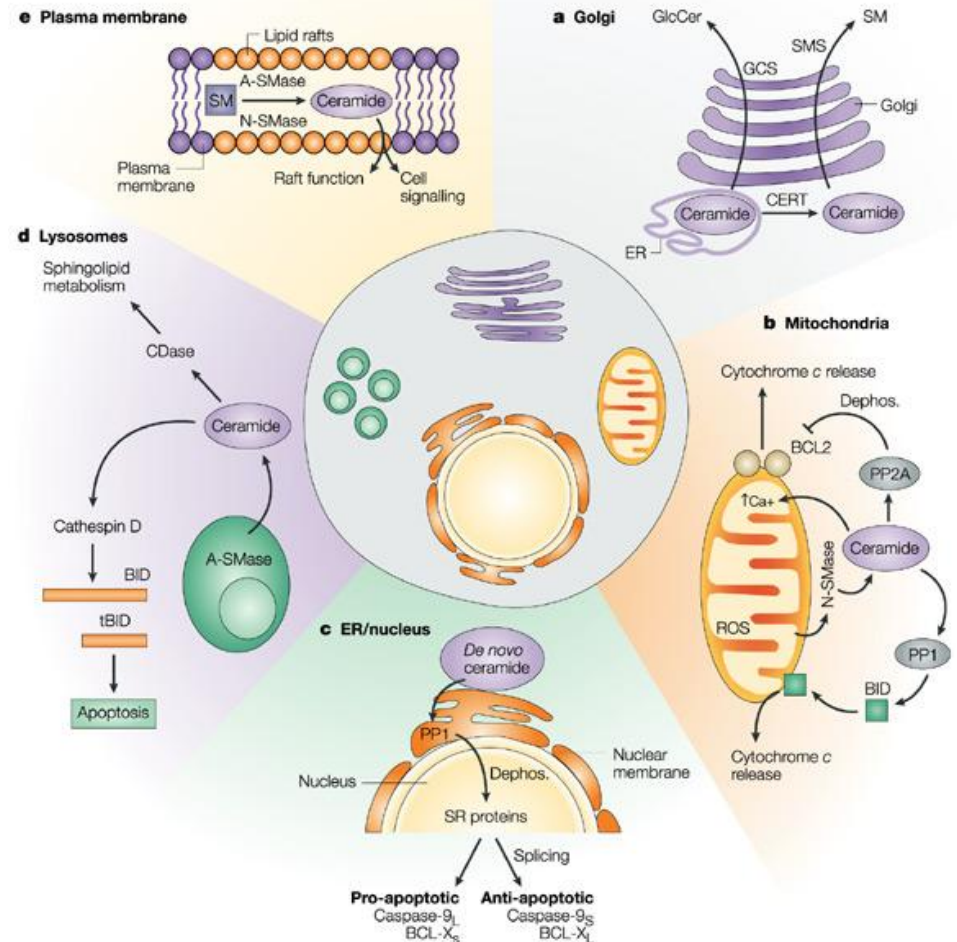
Besim Ogretmen & Yusuf A. Hannun
Nature Reviews Cancer 4, 604-616, 2004

Κυτταρικό στρες, απόπτωση \Rightarrow δημιουργία κεραμιδίου

(de novo ή διαμέσου δράσης SMases)

Πχ. FasL/Fas* \Rightarrow cer formation (1min) in lipid rafts (aSMase) \Rightarrow ligated Fas concentration in those lipid rafts

Το ενδογενές κεραμίδιο συμμετέχει στη μεταγωγή αποπτωτικών σημάτων

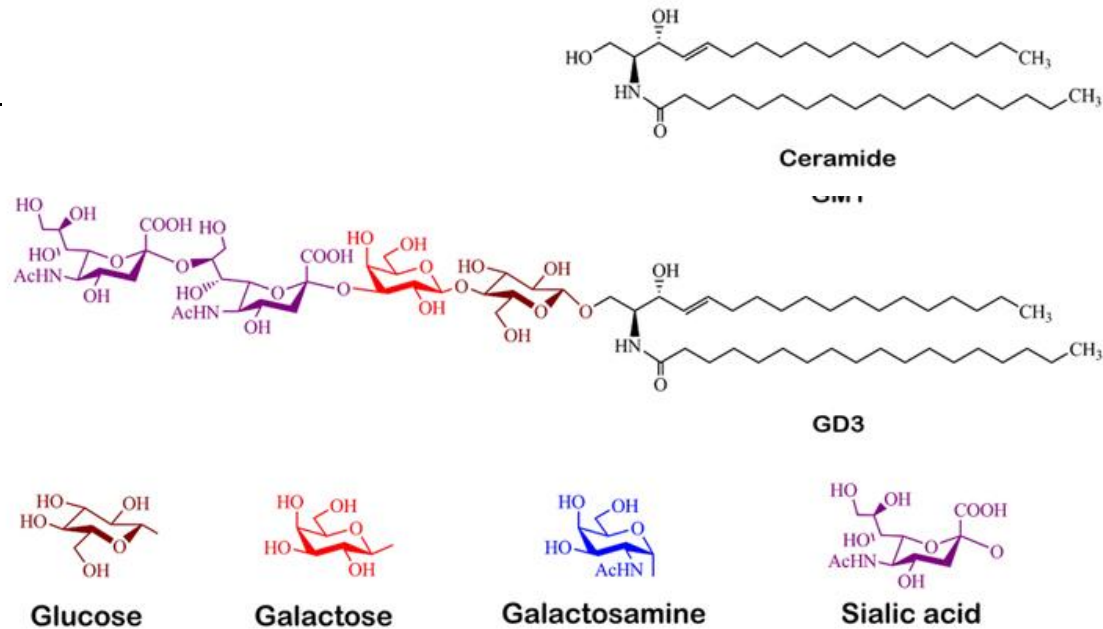


ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

Γλυκοσφιγγολιπίδιο G_{D3}

immunosuppressive ganglioside G_{D3}
involved in tumor-mediated immune dysfunctions

All gangliosides are composed of a common **hydrophobic ceramide moiety** along with a **hydrophilic oligosaccharide chain**, which varies in length and composition and contains one or more **sialic acid** residues.



Συντίθεται στο Golgi από Cer

Υψηλές συγκεντρώσεις σε λιπιδιακές σχεδίες, μικροσπήλαια ΠΜ

ΚΕΡΑΜΙΔΙΟ

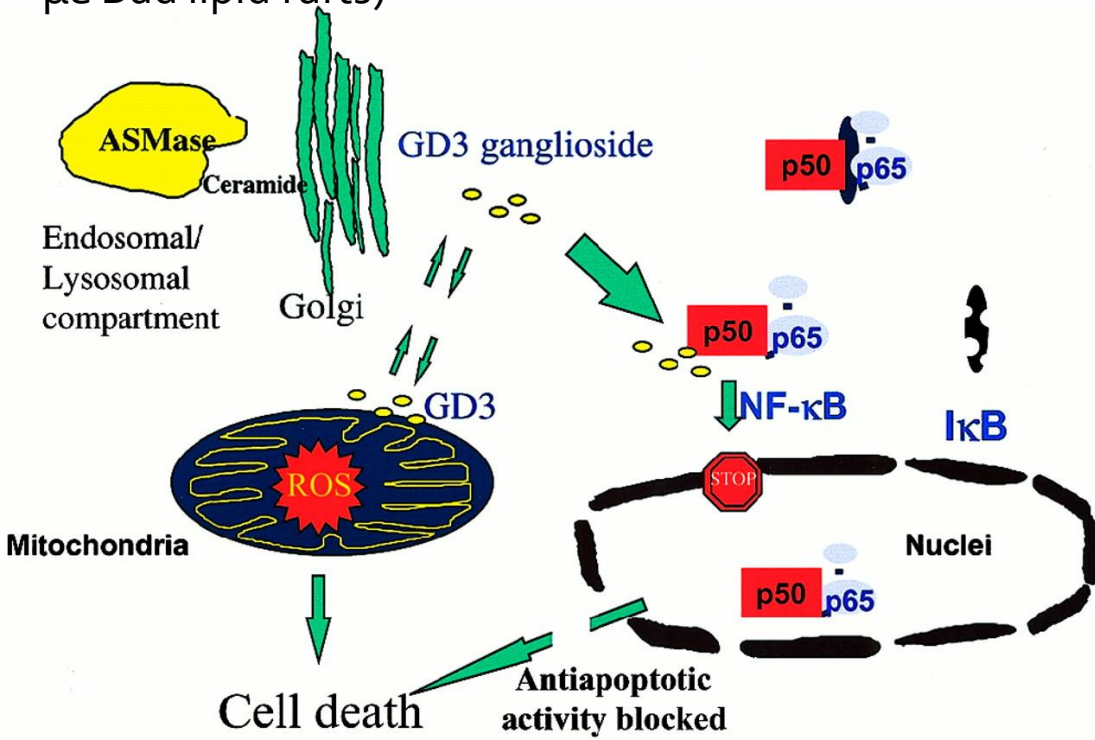
FASEB Journal 15(6):1068, 2001

Γλυκοσφιγγολιπίδιο G_{D3}

καθοδήγηση αποπτωτικού σήματος από ΠΜ στα mit

Υπερέκφραση G_{D3} \Rightarrow απόπτωση

Fas* \Rightarrow ενδοκυτταρική ροή G_{D3} : αύξηση σύνθεσης, εξαφανίζεται από ΠΜ (ενδοκύτωση που προάγεται από Cer), μετακινείται με κυστίδια στα Mit (πιθανόν μαζί με Bad lipid rafts)

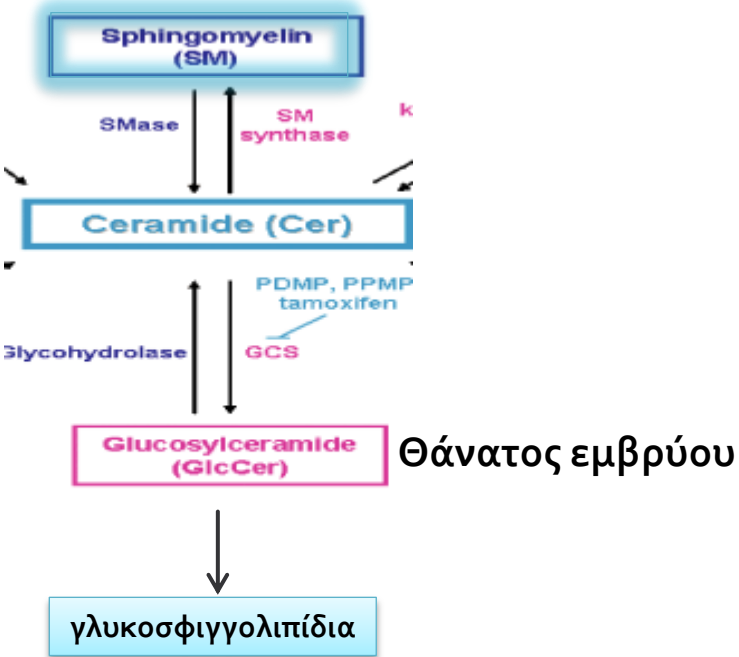


The bifunctional mechanism whereby G_{D3} elicits apoptosis in hepatocytes.

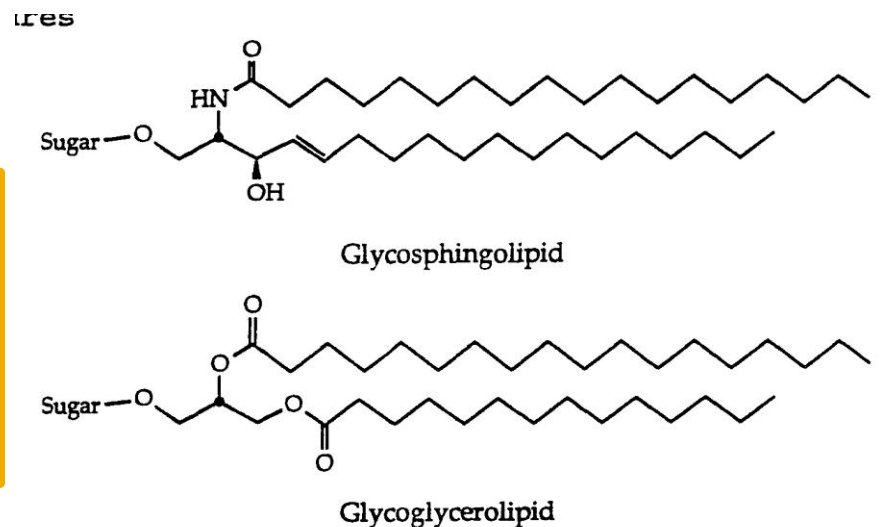
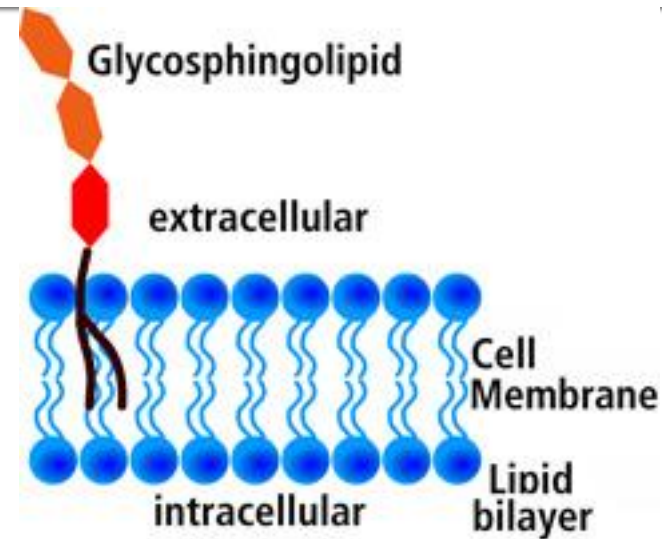
G_{D3} synthesized from ceramide released by the acidic *sphingomyelinase* exerts a dual mechanism in cell killing, which combines:

1. the mitochondrial-dependent apoptosome activation and
2. the suppression of the NF- κ B-dependent survival pathway.

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ



- Μεγάλος βαθμός κορεσμού
- Υψηλή θερμοκρασία μετάπτωσης
- Αλληλεπίδραση με χοληστερόλη (όχι τόσο υψηλή συγγένεια όσο η σύνδεση χοληστερόλης-SM)



ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

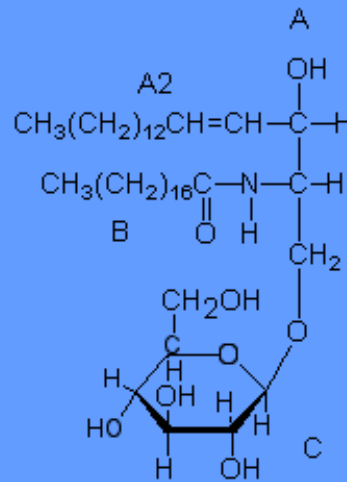
Glucocerebroside

S
p
h
i
n
g
o
s
i
n
e

Hydrocarbon chain

Fatty Acid

Carbohydrate



complex lipids

Those that contain several carbohydrates are called **gangliosides**

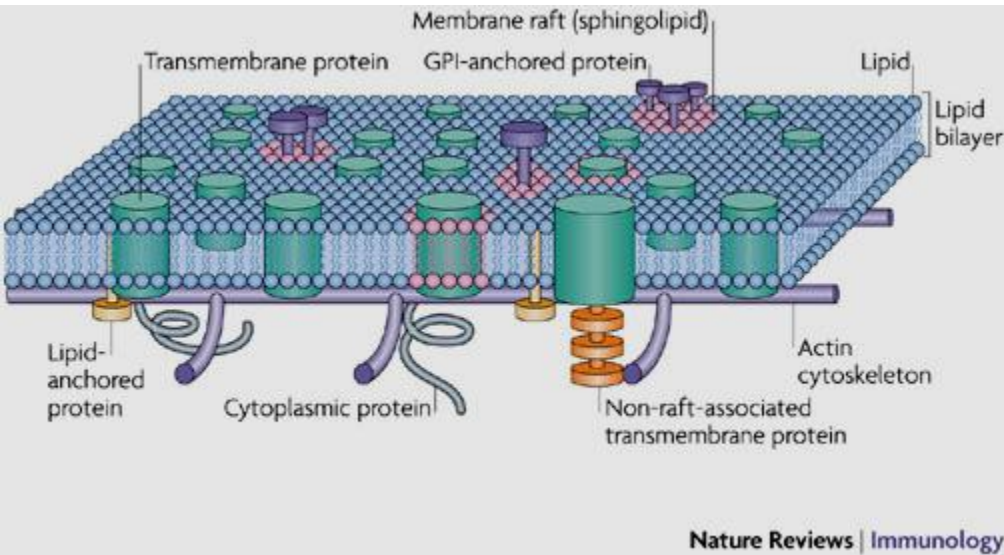
The carbohydrates are most often **glucose** or **galactose**.

Glucocerebroside (glucose) has the specific function to be in the cell membranes of macrophages

Galactocerebroside is found almost exclusively in the membranes of brain cells

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

Antonella Viola & Neetu Gupta, *Nature Reviews Immunology* 7, 889-896, 2007



Κύριο συστατικό λιπιδιακών σχεδιών (SM, χοληστερόλη)
Χώροι μεταγωγής σήματος (GPI, apoptosis etc)

sphingolipids, glycosphingolipids and **phosphatidylcholine** are enriched at the **outer leaflet** .

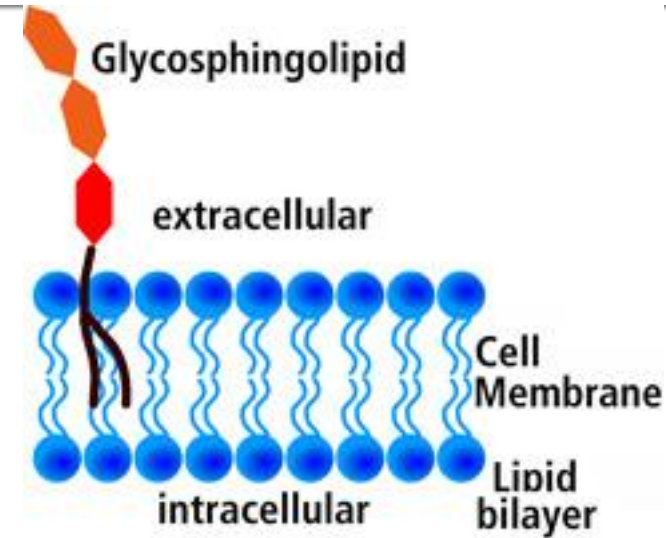
The nanodomain (less than 5 nm) organization of **membrane rafts** (shown in pink) — heterogeneous, highly dynamic, **sterol- and sphingolipid-enriched domains** — as proposed based on the distribution of **glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins** (shown in purple) in cell membranes of resting cells is shown.

According to the '**shell hypothesis**', transmembrane **proteins** may be transiently surrounded **by raft-like lipids**.

At the inner leaflet of the plasma membrane, **actin and actin-binding proteins** interact with lipids and proteins, generate membrane compartments and are **key regulators of membrane-raft dynamics**.

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

GSLs (και μεταβολίτες):εμβρυογένεση/διαφοροποίηση
κυτταρική γήρανση
απόπτωση

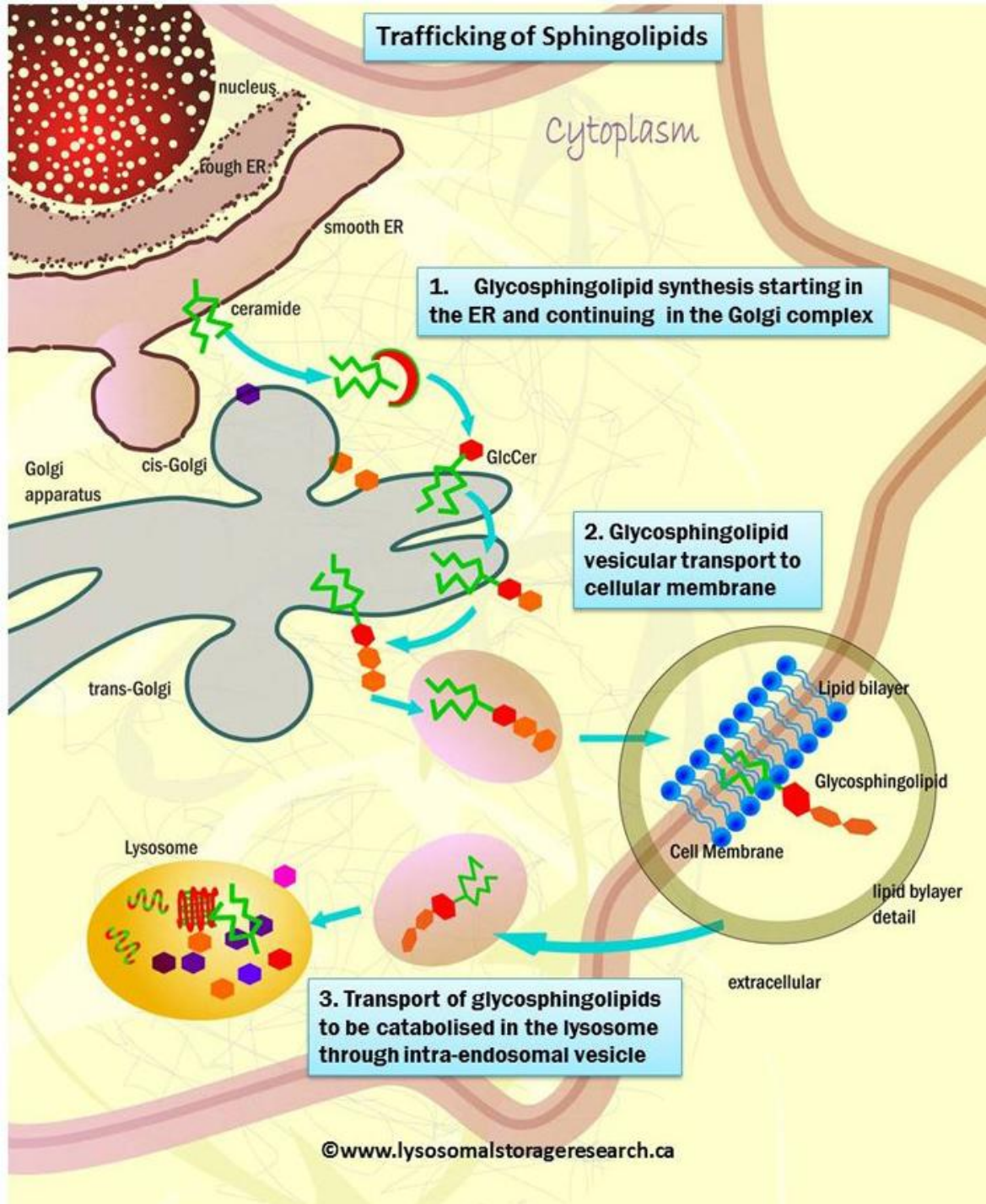


GSLs: θέση συγκέντρωσης μορίων μεταγωγής σήματος
Μικροπεριοχές (με ή χωρίς χοληστερόλη)⇒ διαχωρισμός και μετακίνηση συστατικών ⇒
δημιουργία εξειδικευμένων μεμβρανικών περιοχών

Μεταβολίτες (κεραμίδιο, σφιγγοσίνη):δεύτερα μνμ, μεταγωγείς ή ρυθμιστές μεταγωγής
σήματος, απόπτωση κλπ

Σφιγγοσίνη-1P: δρα εξωκυτταρικά (Receptors) και ενδοκυτταρικά (interacting proteins)

Trafficking of Sphingolipids



ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

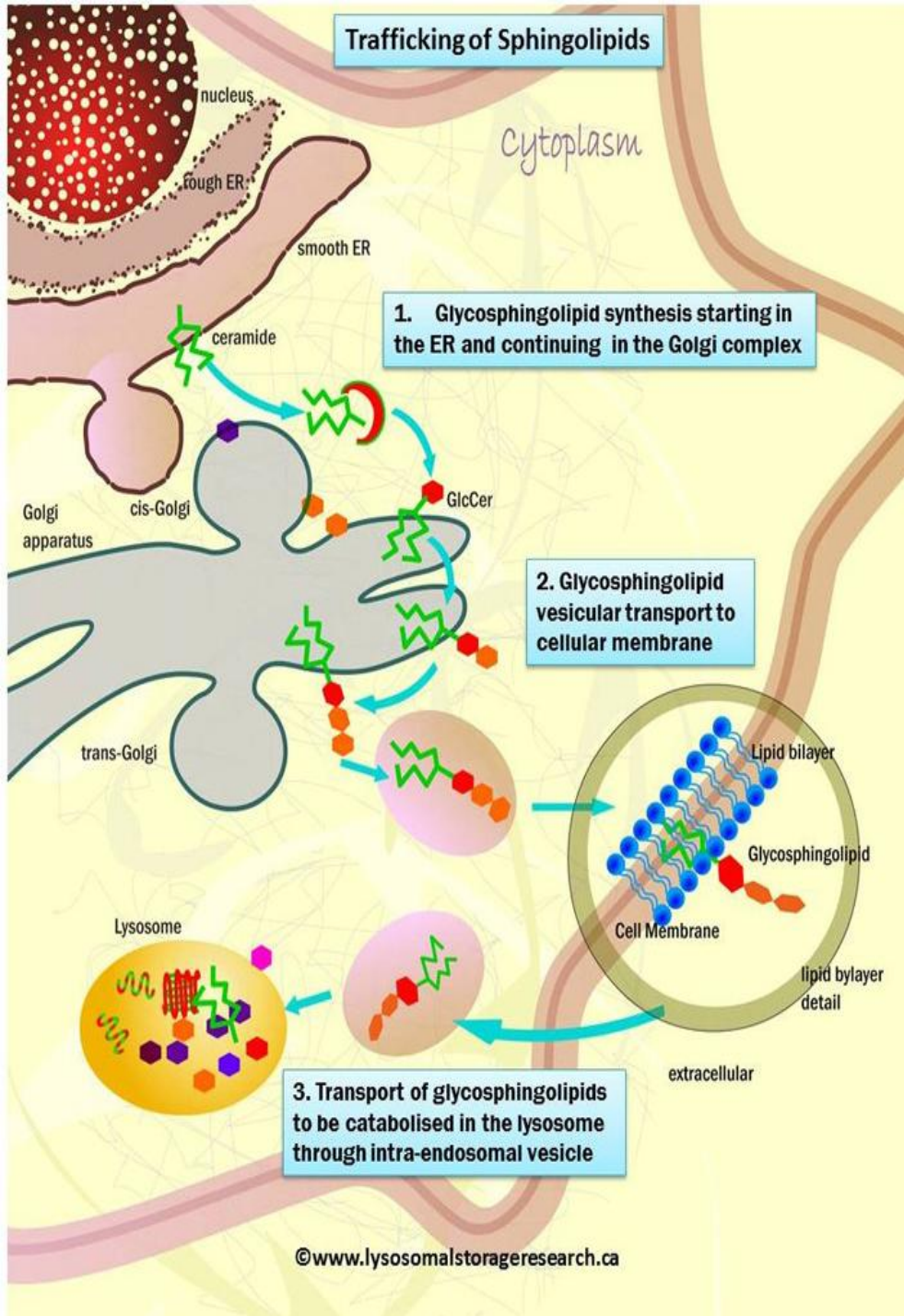
Ceramide is synthesized on the cyt side of the **ER** and is then transferred by the vesicular transport to the **Golgi** apparatus for synthesis of **GlcCer** or by a non-vesicular pathway, using ceramide transfer protein (CERT), for biosynthesis of **SM**

1. Synthesis of GlcCer takes place on the **cytosolic face of the Golgi complex** through the action of **glucosylceramide synthase** (which transfers a **glucose** residue from a UDP-glucose to the 1-position of the ceramide in the β -glycosidic linkage).

The next reaction, catalyzed by **lactosylceramide synthase**, is the addition of **galactose** from a UDP-galactose donor to **GlcCer** in the lumen of the trans-Golgi complex

Further glycosylation steps are catalyzed by **glycosyltransferases** with different specificities and result in the formation of **complex glycosphingolipid structures**

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ



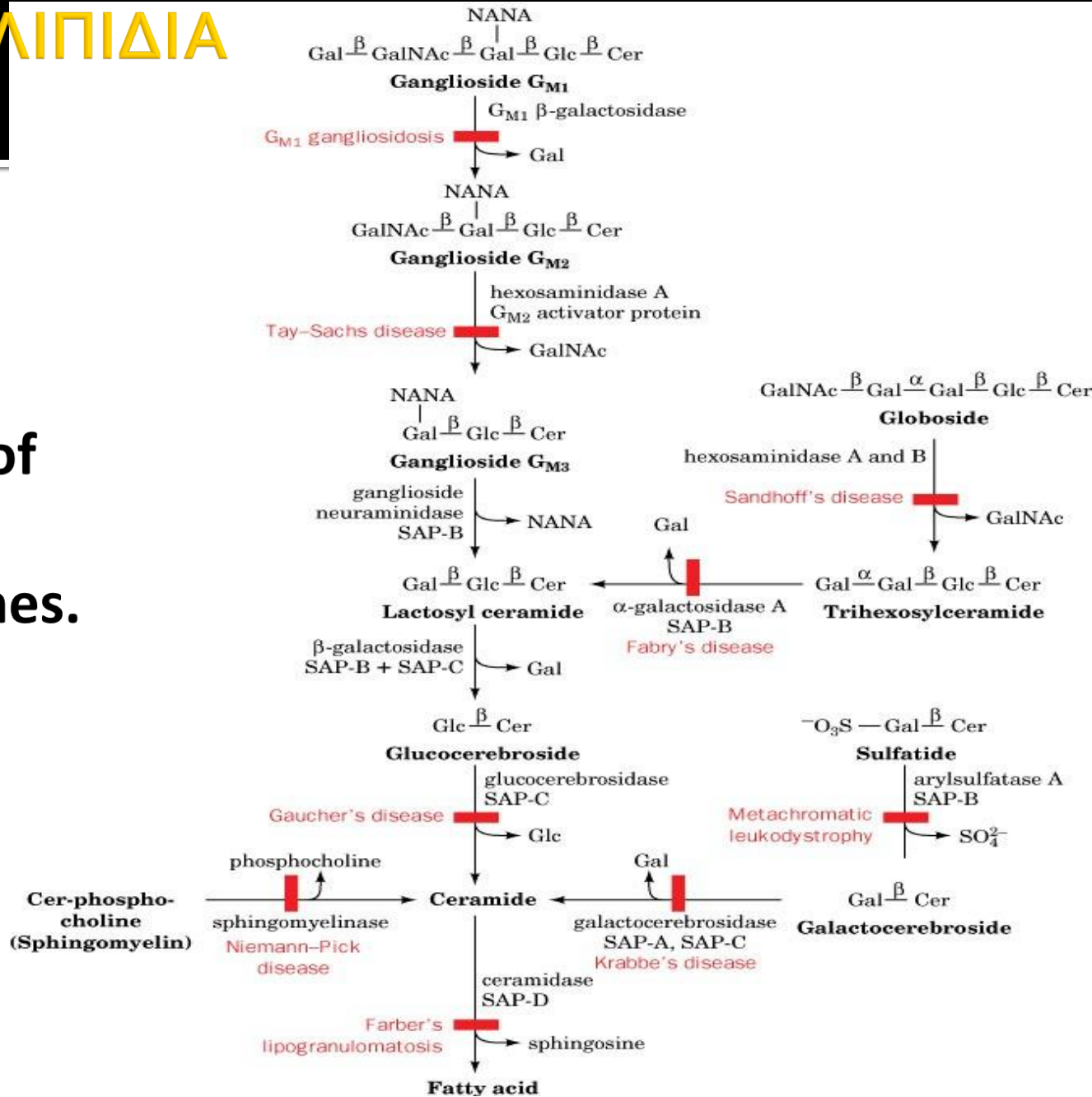
2. After biosynthesis, complex glycosphingolipids reach the **PM** through **vesicular transport**. Throughout their biosynthesis, glycosphingolipids remain membrane-bound, with a **topography** that is equivalent to the **extracellular orientation** of the glycans of glycosphingolipids in the plasma membrane, to which they are transported.

3. The components destined for **catabolism** are delivered to **lysosomes** via the **endosomal system**, in which **sorting** takes place, with other components being returned to the **PM** or directed to the **Golgi**.

The **degradation of glycosphingolipids** occurs in the lysosomal compartment via a **stepwise cleavage** of monosaccharide units starting at the non-reducing end of the saccharide chain. The reactions are catalyzed by **exoglycosidases** with optimal acidic pH. Mutations causing deficiency of either the lysosomal enzymes or the cooperating protein activators lead to lysosomal storage and **sphingolipid storage disease**.

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

The breakdown of sphingolipids by lysosomal enzymes.



ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

Sphingolipid Storage Diseases

Disease	Enzyme Deficiency	Principal Storage Substance	Major Symptoms
G _{M1} Gangliosidosis	G _{M1} β-galactosidase	Ganglioside G _{M1}	Mental retardation, liver enlargement, skeletal involvement, death by age 2
Tay–Sachs disease	Hexosaminidase A	Ganglioside G _{M2}	Mental retardation, blindness, death by age 3
Fabry's disease	α-Galactosidase A	Trihexosylceramide	Skin rash, kidney failure, pain in lower extremities
Sandhoff's disease	Hexosaminidases A and B	Ganglioside G _{M2} and globoside	Similar to Tay–Sachs disease but more rapidly progressing
Gaucher's disease	Glucocerebrosidase	Glucocerebroside	Liver and spleen enlargement, erosion of long bones, mental retardation in infantile form only
Niemann–Pick disease	Sphingomyelinase	Sphingomyelin	Liver and spleen enlargement, mental retardation
Fabry's lipogranulomatosis	Ceramidase	Ceramide	Painful and progressively deformed joints, skin nodules, death within a few years
Krabbe's disease	Galactocerebrosidase	Deacylated galactocerebroside	Loss of myelin, mental retardation, death by age 2
Metachromatic leukodystrophy (Sulfatide lipidosi)	Arylsulfatase A	Sulfatide	Mental retardation, death in first decade

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

Cytoplasmic membranous body in a neuron affected by **Tay–Sachs disease**



Courtesy of John S. O'Brien, University of California at San Diego Medical School

ΓΛΥΚΟΣΦΙΓΓΟΛΙΠΙΔΙΑ

“Lysosomal storage diseases are inborn *errors of metabolism*, the hallmark of which is the accumulation, or storage, of macromolecules in the late endocytic system. They are monogenic disorders that occur at a collective frequency of **1 in 5,000 live births** and are caused by *inherited defects in genes* that mainly encode lysosomal proteins, most commonly *lysosomal enzymes*.

A subgroup of these diseases involves the lysosomal storage of glycosphingolipids. Through our understanding of the genetics, biochemistry and, more recently, cellular aspects of sphingolipid storage disorders, we have gained insights into fundamental aspects of cell biology that would otherwise have remained opaque. In addition, study of these disorders has led to significant progress in the development of *therapies*, several of which are now in routine *clinical use*”

Platt FM. Sphingolipid lysosomal storage disorders. Nature 5:510(7503):68-75, June 2014.

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ

Προέρχονται από την PI

Differential phosphorylation at the 3, 4, and 5 position on the **inositol ring** allows for the generation of **seven distinct phosphoinositides**. All seven are found naturally occurring in the cell membranes of all **higher eukaryotes**

PI4P, PI5P, PI3P, PI4,5P2, PI3,5P2, PI3,4P2 και PI3,4,5P3

Σύνθεση PI: **ΕΔ**

Φωσφορυλίωση PI: ΕΔ

πυρήνας

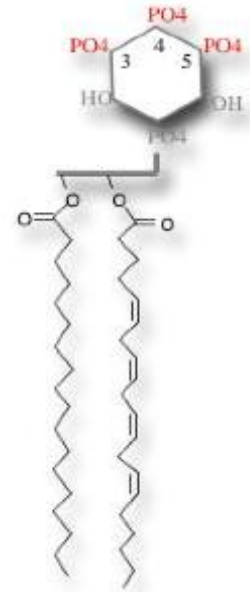
Golgi

ενδοσώματα

ΠΜ

⇒

Διαφορετικά ενδοκυτταρικά αποθέματα φωσφοϊνοσιτιδίων



Phosphoinositide **kinases** and **phosphatases** can rapidly convert one specific phosphoinositide into another.

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ

Υδρόλυση:

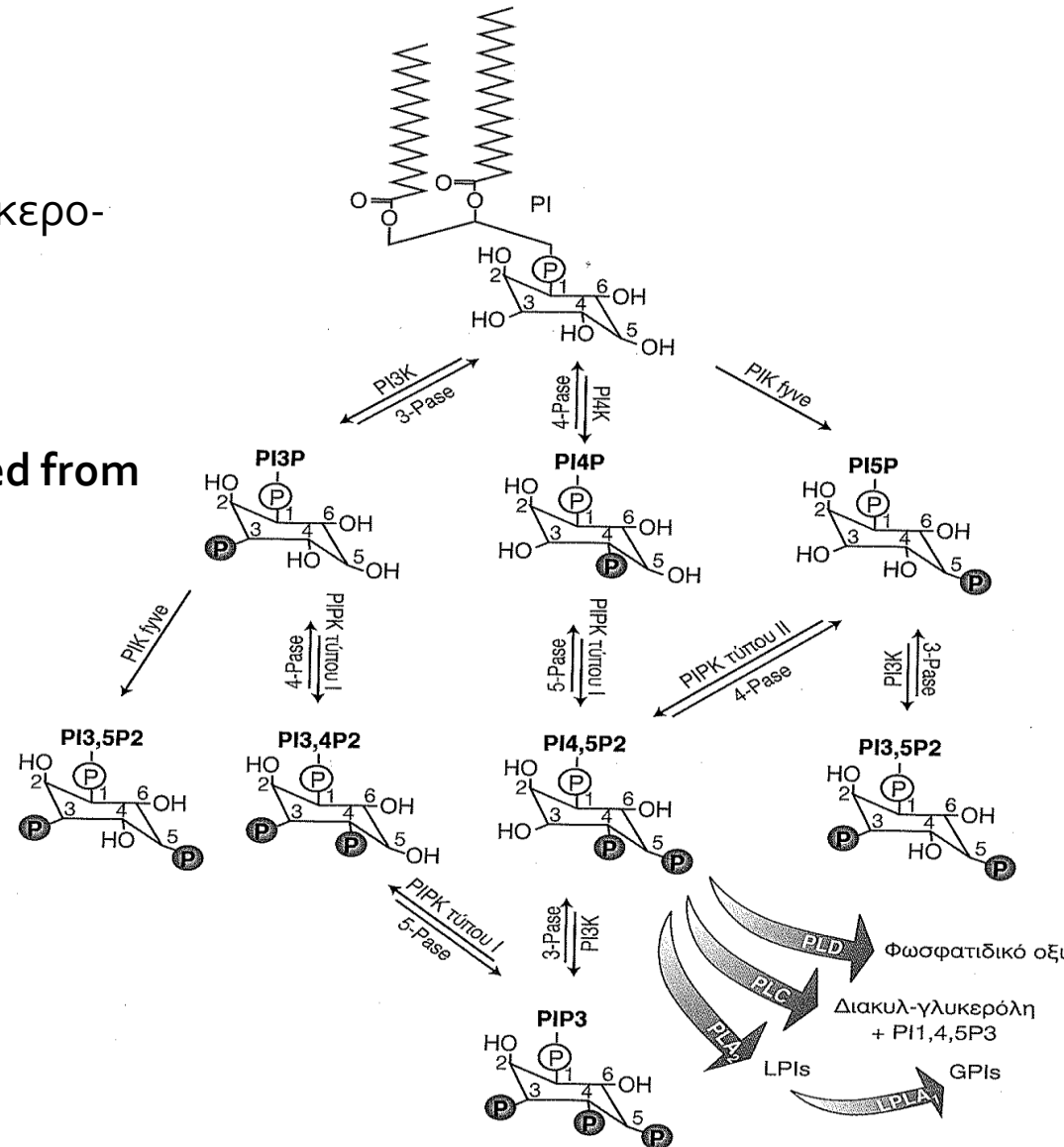
PLC (δρα ειδικά στην $PI_{4,5}P_2$)

PLA₂ (λυο-φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη, γλυκερο-φωφο-ινοσιτόλη)

PLD: φωσφατιδικό οξύ

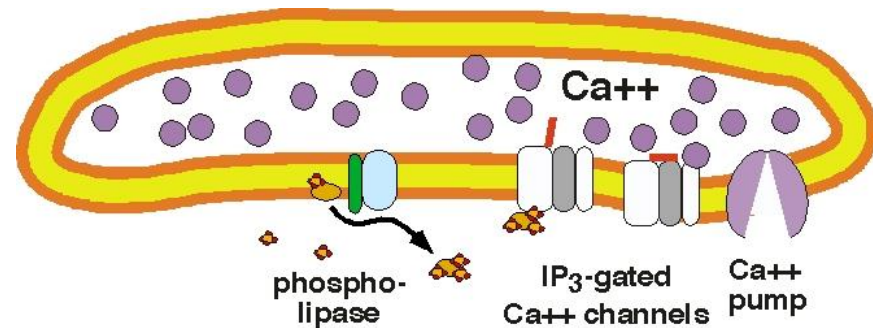
signaling molecules that can be produced from phosphoinositides:

- **Inositol trisphosphate (IP₃)**
- **DAG**
- **phosphatidic acid**



ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ

1. Τροποποίηση γεωμετρίας διπλοστιβάδας \Rightarrow αλλαγές στην καμπυλότητα μεμβράνης
2. Ρύθμιση εκβλάστησης, κίνησης, σύντηξης μεμβρανών
3. Μεμβρανικοί προσδέτες για συγκεκριμένα πρωτεϊνικά μοτίβα
4. Πρόδρομα μόρια δεύτερων μηνυμάτων



Ειδική δράση **κινασών/φωσφατασών** σε συγκεκριμένες μεμβρανικές περιοχές ή κυτταρικά οργανίδια \Rightarrow αλλαγή σε τοπική συγκέντρωση φωσφοϊνοσιτιδίων

\Rightarrow ΧΡΟΝΙΚΗ / ΤΟΠΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΣΤΙΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ-ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ_ΚΑΘΟΔΗΓΗΣΗ ΣΕ ΟΡΓΑΝΙΔΙΑ

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ

PIMBs: protein phosphoinositide-binding modules

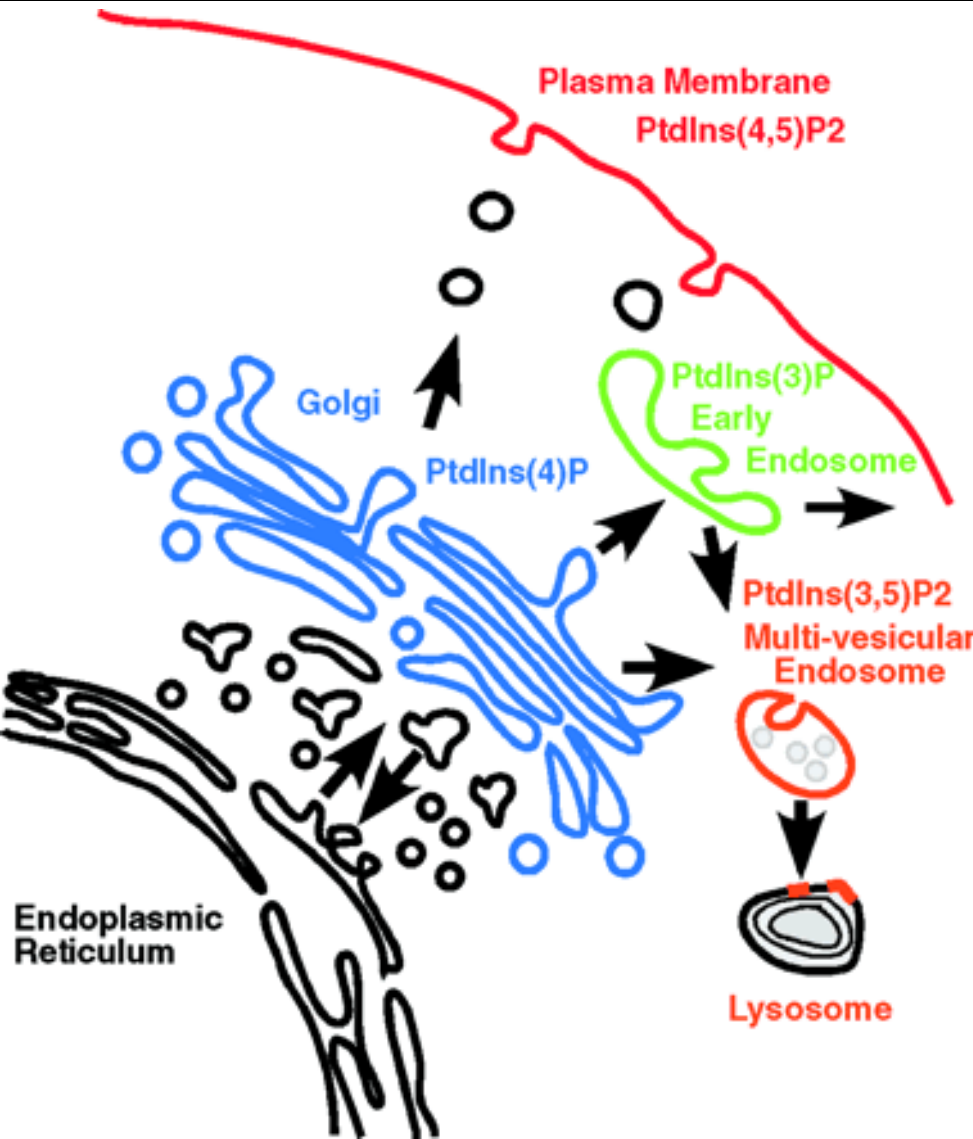
- ❖ Προσέλκυση αυτών των πρωτεϊνών σε συγκεκριμένες θέσεις-έλεγχος κατανομής, καθοδήγηση πχ. σε οργανίδια
- ❖ Αλλοστερική διαμόρφωση ενζυμικών δραστηριοτήτων

Πίνακας 1.1. Αλληλεπιδράσεις φωσφοϊνositιδίων με πρωτεϊνικές περιοχές – Ενδοκυτταρική θέση

Φωσφοϊνositίδιο	Πρωτεϊνική περιοχή σύνδεσης με το φωσφοϊνositίδιο	Ενδοκυτταρική θέση PI
PI1,4,5P3	FYVE EEA1 protein PX	Αρχικά ενδοσώματα
PI4,5P2	PH E/ANTH	Συσκευή Golgi Καλυμμένες με κλαθρίνη εσοχές
PI3,4,5P3	PX PH	Αρχικά ενδοσώματα Συσκευή Golgi
PI3,4P2	PH	Δεν έχει καθοριστεί
PI3,5P2	PX Πολυκυστιδιακά σωματίδια/TE Μεμβρανική ανακύκλωση	Αρχικά ενδοσώματα
PI4P	PH	Συσκευή Golgi ΕΔ

Ρύθμιση εκκριτικής κυκλοφορίας

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ



The major phosphoinositide species are concentrated at distinct sites in intracellular membrane traffic pathways and may serve as organelle markers.

The major concentration of phosphatidylinositol 4-phosphate [PtdIns(4)P] (blue) is at the Golgi complex, and very little free PtdIns(4)P is detected at the PM or on endosomes.

PtdIns(3)P (green) is concentrated on early endosomes.

The majority of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PtdIns(4,5)P₂] (red) is at the PM at steady state.

PtdIns(3,5)P₂ (orange) is found on multivesicular endosomes and lysosomes.

Some phosphoinositides are found in the endoplasmic reticulum and in the nucleus, but probably do not play major roles in membrane traffic.

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ

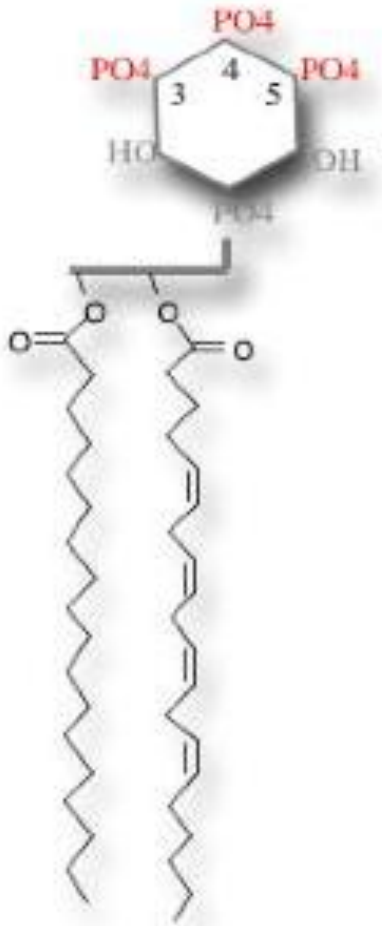
PI_{4,5}P₂: Σχηματισμός/αποκοπή κυστιδίων κλαθρίνης, απομάκρυνση κλαθρίνης από κυστίδιο, πρόσδεση πλέγματος κλαθρίνης στην ΠΜ

Συνδέεται ειδικά με πρωτεΐνες ενδοκύτωσης: εψίνη, CALM, GTPάση δυναμίνη, AP180

PI_{4,5}P₂ → PI₄P (αποφωσφορυλίωση διαμέσου συναπτοζανίνης)

1. Απομάκρυνση κλαθρίνης από το καλυμμένο κυστίδιο
2. Αρνητική ρύθμιση αλληλεπίδρασης καλύμματος κλαθρίνης με τη μεμβράνη

ΦΩΣΦΟΪΝΟΣΙΤΙΔΙΑ



Φωσφορυλίωση σε θέση 3 δακτυλίου ινοσιτόλης:
Μεταγωγή σήματος/μεμβρανική κυκλοφορία κλπ

Πολλοί υποδοχείς χρειάζονται την παρουσία
φωσφορικής κινάσης 3 (PI3K) (φωσφορυλίωση PI) →
αλληλεπίδραση με PH- πρωτεΐνες και μεταβίβαση
σήματος

ΣΥΝΟΨΗ-1

Video-1

- ❑ Η χημική σύσταση των μεμβρανών είναι **δυναμική** και **πολύπλοκη**
- ❑ Η **ΠΜ** και οι **ενδοκυττάριας μεμβράνες** έχουν σε αρκετές περιπτώσεις διαφορετική σύσταση (Λειτουργία)-Βιοσύνθεση λιπιδίων: αλλάζει η σύσταση κατά τον άξονα **ΕΔ-Golgi cis/trans-ΠΜ**
- ❑ Οι πρωτόγονες μεμβράνες πιθανόν **δεν είχαν διπλοστιβάδες** λιπιδίων
- ❑ **Διπλοστιβάδα**: -κλειστή αυτοσυγκροτούμενη δομή σε υδατικά περιβάλλοντα-Ασύμμετρη-Ρευστή-Ελαστική (σύντηξη/σχάση/καμπυλότητα/εκβλάστηση/εγκόπλωση).
- ❑ Στους ανώτερους οργανισμούς: χαρακτηρίζεται από **τεράστια δομική ποικιλομορφία λιπιδίων**
Τα λιπίδια έχουν **δομικούς** και κρίσιμους **λειτουργικούς** ρόλους, ακόμα και αυτά που βρίσκονται σε μικρά ποσοστά (πχ. φωσφοϊνοσιτίδια). **Buffers** μεμβρανικών πρωτεϊνών-διαλογή πρωτεϊνών κλπ
Αλλάζουν τη χημεία της κυτταρικής επιφάνειας για να σηματοδοτήσουν ένα κύτταρο πχ. για **καταστροφή** από το ανοσολογικό σύστημα. **Φωσφοϊνοσιτίδια**: σηματοδότηση-καμπυλότητα-κυστιδιοποίηση-έλεγχος κατανομής πρωτεϊνών σε οργανίδια-πρόδρομα μόρια δευτέρων μηνυμάτων
- ❑ **Δύσκολη στη μελέτη**: λεπτή και εύθραυστη δομή-απροσπέλαστη στο οπτικό μικροσκόπιο (EM, AFM κλπ)

ΣΥΝΟΨΗ-2

□ Μοριακό μέγεθος-σχήμα-ιδιότητες-πακετάρισμα λιπιδίων (πχ. **διπλοί δεσμοί** των ακόρεστων λιπαρών οξέων): επηρεάζουν ιδιότητες μεμβράνης πχ. καθορισμός **φάσης** διπλοστιβάδας. Κατάσταση πηγματος- υγρές φάσεις. Ευελιξία-**κινητικότητα δομής-Διαλογή πρωτεϊνών-Καμπυλότητα/εκβλάστηση**

□ Η **χοληστερόλη** εξοπλίζει τις μεμβράνες των ζωικών κυττάρων με σημαντικές ιδιότητες (ενίσχυση διπλοστιβάδας, μείωση **διαπερατότητας, μικροδιαμερισματοποίηση, ρύθμιση ενεργότητας** μεμβρανικών πρωτεϊνών). Επειδή οι διπλοστιβάδες ορίζονται ως τα όρια του κυττάρου και των διαμερισμάτων του, αυτές οι μεμβρανικές πρωτεΐνες εμπλέκονται σε πολλές ενδο- και δια-κυτταρικές διαδικασίες **σηματοδότησης** ή στη διαδικασία της μεμβρανικής **σύντηξης** (είσοδος ιών σε κύτταρα, γονιμοποίηση κλπ)

□ Δραστικότητα-Τοπική συγκέντρωση-Σύνθεση/υδρόλυση/εκλεκτική μεταφορά λιπιδίων

□ Χοληστερόλη-σφιγγολιπίδια (*de novo* κεραμίδιο): σχηματισμός **ΛΣχ-** Ρυθμιστές **μεταγωγής σήματος**

□ Κυτταρικό στρες: Κεραμίδιο/γλυκοσφιγγολιπίδια και σηματοδοτικό μονοπάτι απόπτωσης

ΣΥΝΟΨΗ-3

- ❑ **Πρωτεΐνες και λιπίδια**: Αντιστρεπτές δυναμικές αλληλεπιδράσεις. **Μοντέλο υγρού μωσαϊκού** και **Τεκτονικών πλακών**
- ❑ Πολλές από αυτές τις ιδιότητες μελετήθηκαν σε **τεχνητές διπλοστιβάδες-μοντέλα** που παράγονται στο εργαστήριο.
- ❑ Κυστίδια που παράγονται από τέτοιες διπλοστιβάδες χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη για **μεταφορά φαρμάκων**

[Video-2](#)