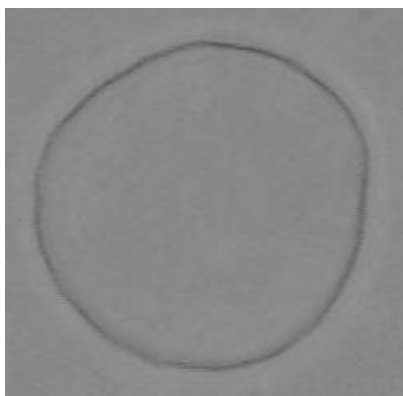


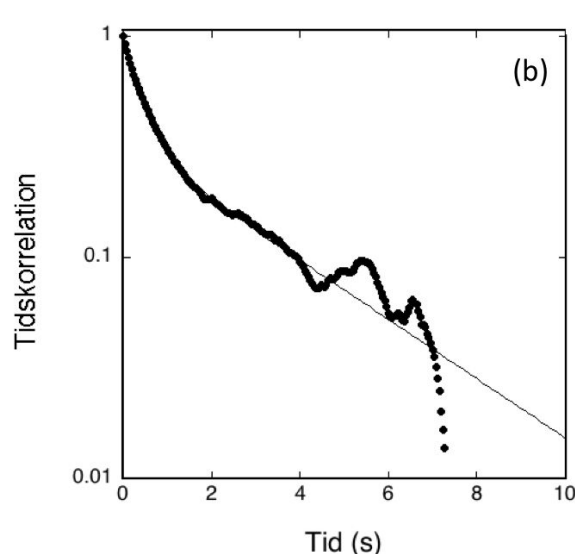
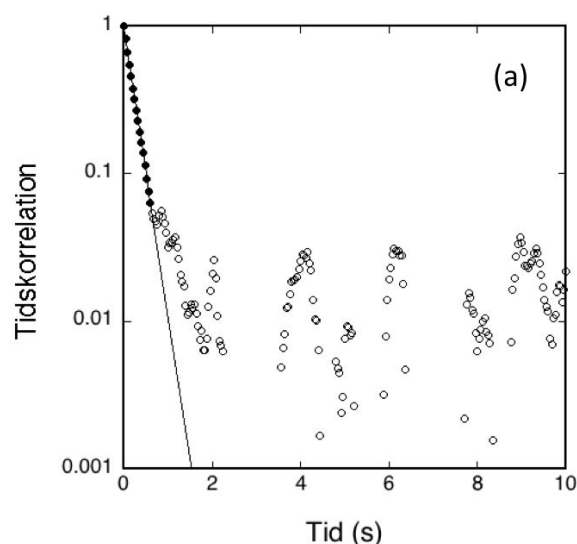
Lipid-proteinvekselvirkninger i biologiske membraner.



Figur 2. Fasekontrastmikroskopisk billede af et stort, fluktuerende liposom (diameter = 35 μm) med Na^+/K^+ -pumper. Fluktuationerne skyldes Brownske bevægelser. Når pumperne bliver aktive ved tilstedeværelse af ATP, forstærkes fluktuationerne, som kan måles ved detaljerede analyser af liposomets kontur, og hvordan den varierer gennem tiden.

Aktive pumper gør membranerne blødere

Vi har for nemheds skyld studeret liposomer med pumper under omstændigheder, hvor Na^+/K^+ -pumpen kun pumper natriumioner over membranen, dvs. hvor ekstracellulært K^+ erstattes af Na^+ . Vi har undersøgt et stort antal liposomer (i)



Figur 3. Normaliseret tidskorrelationsfunktion for mode $n=5$ for store liposomer med tilsvarende reduceret membranspænding. (a) Ikke-aktive membraner beskrevet ved et mono-eksponentielt henfald ved tidlige tider. (b) Aktive membraner med Na^+/K^+ -pumper, som fungerer i tilstedeværelse af ATP. Korrelationsfunktionen er nu beskrevet ved et dobbelt-eksponentielt henfald, hvor den sene henfaldstid fortæller om pumpernes molekylære tidscyklus

uden pumper, (ii) med pumper, som ikke er aktive og (iii) med pumper, som er aktive, fordi der er tilsat ATP [2].

Bøjningsstivheden, som har dimension af energi, er for membraner af den type, vi her studerer, omkring $30 k_B T$ (svarende til $12 \times 10^{-20} \text{J}$ ved stuetemperatur; k_B er Boltzmanns konstant) uden proteiner. Det viser sig nu, at liposomer uden pumper og med inaktive pumper har stort set samme bøjningsstivhed, men så snart pumperne aktiveres, og der pumpes ioner over membranen, bliver membranerne blødere, og det mekaniske stivhedsmodul formindskes med omkring 7-8 $k_B T$.

Samtidig sker der noget meget overraskende med tidskorrelationerne som vist i figur 3. For ikke-aktive membraner henfalder korrelationsfunktionen mono-eksponentielt som teoretisk forventet med en henfaldstid $\tau_1 \sim n^3$, hvor n er "mode"-tallet; når pumperne derimod tilsættes ATP, og membranerne bliver aktive, er korrelationerne beskrevet ved et dobbelt-eksponentielt

henfald. For aktive membraner ved tidlige tider findes den samme henfaldslov som for ikke-aktive membraner, hvorimod henfaldet ved senere tider er uafhængigt af "mode"-tallet n , og henfaldskonstanten τ_1 er en konstant ($\sim 0,5 \text{ sek.}$), som ikke alene er uafhængig af n , men også uafhængig af liposomets egenskaber, f.eks. størrelse og spænding.

Membranfluktuationerne fortæller om pumpens aktivitet

Vores fund af en tidsskala, $\tau_1 \sim 0,5 \text{ sek.}$, som er robust og uafhængig af detaljer af det studerede liposom, er et stærkt tegn på, at denne tidsskala er forbundet med en indre, molekylær egenskab af den aktive pumpe. At dette er tilfældet, understøttes af det faktum, at enzymatiske studier af pumpen har vist, at det tidsbegrænsende trin i pumpens reaktionscyklus indebærer afgivelsen af en fosfatgruppe over en tidsskala på omkring 0,4 sek. [3], altså det samme som vi fandt ved analyse af membranfluktuationerne.

Vores arbejde har vist, at det er muligt at studere detaljer i virkningen af et membranprotein ved at undersøge, hvorledes funktionen af proteinet påvirker de fysiske egenskaber af den membran, hvori proteinet er indlejret. Hermed skulle det også være muligt at bruge membranen som en sensor til at undersøge ændringer i proteinet, som skyldes mutationer eller vekselvirkninger med f.eks. lægemiddelstoffer.

E-mail

Hélène Bouvrais: helene.bouvrais@univ-rennes1.fr

Flemming Cornelius: fc@biophys.au.dk

John H. Ipsen: ipsen@memphys.sdu.dk

Ole G. Mouritsen: ogm@memphys.sdu.dk

Referencer

1. Mouritsen OG. 2012. Membrane protein-lipid match and mismatch. In Comprehensive Biophysics. 5. Membranes (Egelman & Tamm, eds.) Academic Press, Oxford, pp. 245-260.
2. Bouvrais H, F Cornelius, JH Ipsen & OG Mouritsen. 2012. Intrinsic reaction-cycle time scale of Na^+/K^+ -ATPase manifests itself in the lipid-protein interactions of non-equilibrium membranes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109: 18442-18446.
3. Cornelius F. 1995. Phosphorylation/dephosphorylation of reconstituted shark Na^+/K^+ -ATPase: one phosphorylation site per $\alpha\beta$ protomer. Biochim Biophys Acta 1235: 197-204.