

3 Lipoproteine und Membranen

3.1 Micellen, Monolayer, Bilayer, Vesikel und Liposomen

Wasser löst oder dispergiert Verbindungen mit sowohl polaren hydrophilen als auch unpolaren lipophilen Gruppen in Form hochmolekularer Assoziate, die als *Micellen* bezeichnet werden. Moleküle dieser Art heißen amphiphil oder amphipatisch, typische Vertreter sind Seifen, die Salze der Fettsäuren.

Seifen-Micellen bestehen aus Hunderten bis Tausenden von Molekülen, die negativen Carboxylatgruppen orientieren sich in Richtung der wäßrigen Phase und es bildet sich dadurch eine hydrophile Oberfläche aus [*Sternschicht*], und die auch einen Teil der Gegenionen enthält. Das Innere bildet ein hydrophober Innenraum mit einem hydrophoben Kern (Radius 1 - 3 nm). Den äußersten Bereich der Micelle bildet die *Gouy-Chapman-Doppelschicht*, die sich aus den hydratisierten Gegenionen zusammensetzt. Zur Stabilisierung der Micellendispersion tragen die Ausbildung von Wasserstoffbrücken, die Hydratation und die gegenseitige Abstoßung des negativen Ladungsüberschuß bei. Innerhalb der Sphäre wirken zusätzlich hydrophobe Wechselwirkungen von der Waals'scher Art. Die Lebenszeit eines solchen Gebildes beträgt oft nur einige Millisekunden, d.h. sie zerfallen ständig und werden wieder neugebildet. *Inverse Micellen* entstehen durch Lösung von Tensiden im unpolaren Lösungsmitteln.

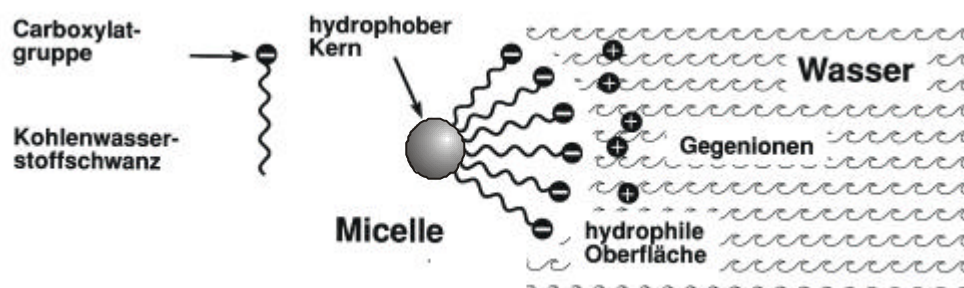


Abbildung 3-1. Teilausschnitt einer idealisiert-kugelförmigen anionischen Micelle mit positiv geladenen Gegenionen.

Ähnlich verhält sich ein polares, amphiphiles Lipid in Wasser. Die Kohlenwasserstoffketten der Fettsäuren bzw. des Sphingosins stellen die lipophilen Strukturteile dar, als hydrophile Gruppierung dienen die Phosphatgruppen bzw. Phosphatester der Aminoalkohole bei den Phosphoglyceriden, bzw. die Kohlenhydrateile oder deren Schwefelsäureester bei den Glykolipiden. Anfangs geht nur ein sehr geringer Lipidanteil in monomolekularer Form in Lösung. Beim Überschreiten einer *Kritischen Micellbildungskonzentration* [*KMK*, *CMC*], die bei ionischen Tensiden bei 10^{-2} mol/l und bei nichtionischen bei 10^{-4} mol/l liegt, assoziiert es zu den micellären Molekülverbänden.

Erhöht man die Konzentration einer wäßrigen Lösung einer amphiphilen Verbindung wesentlich über ihre KMK hinaus, so entstehen aus den sphärischen Micellen zylinderförmige Gebilde, wie durch Röntgen-Kleinwinkelstreuung in Lösung gezeigt wurde. Bei noch höheren Konzentrationen lagern sich diese Zylinder zusammen und bilden *Mesophasen* [*nematische Phasen, Flüssigkristalle*], deren Zustand zwischen dem von isotropen Flüssigkeiten und dem von festen Kristallen liegt. Bei optisch aktiven Molekülen, z.B. Cholesterinderivaten, sind die Vorzugsrichtungen der einzelnen nematischen Schichten gegen einander um bestimmte Winkel gleichsinnig verdreht, so daß mehrere aufeinanderfolgende Schichten eine helikale Überstruktur ausbilden [*cholesterische Flüssigkristalle*]. Nematische Phasen lassen sich durch hochfrequente elektrische Felder in Unordnung bringen und die Flüssigkristalle werden trüb. Durch ein schwaches Gleichstromfeld ordnen sich die Dipole wieder aus, und der Kristall wird wieder klar (Flüssigkristall-Anzeige, LCD).

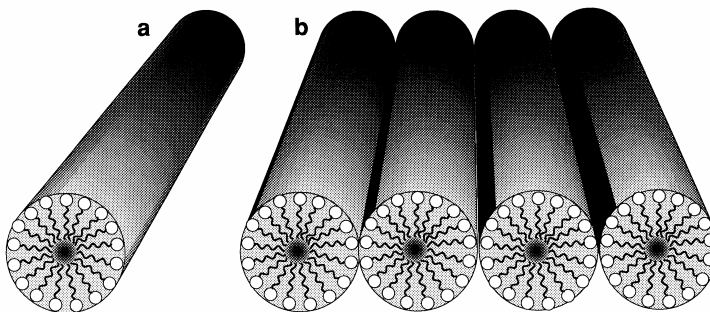
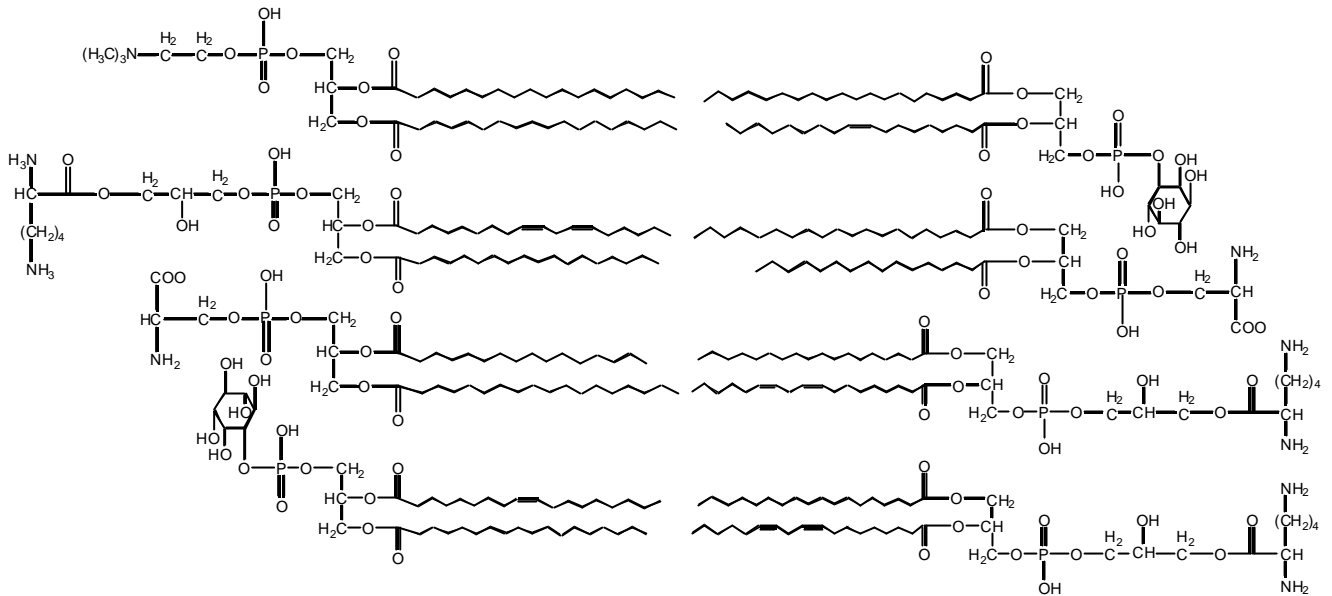


Abbildung 3-2: a) Zylindermicelle, b) nematische Mesophase (Flüssigkristalle).

An Phasengrenzflächen wie Wasser/Luft tendieren amphiphile Moleküle zur Wanderung an die Grenzfläche. Dadurch kommt es zur Ausbildung *monomolekularer Schichten* [*Monolayers*] und zur Erniedrigung der Oberflächenspannung des Wassers. Zwischen zwei getrennten wäßrigen Phasen hingegen bilden sich *bimolekulare Doppelschichten* [*Bilayers*] aus. Solche Bilayersysteme sind Modelle natürlicher Membranen und wurden eingehendst studiert. (Den chemischen Aufbau einer Lipidmembran zeigt Formel 3-14).



Formel 3-1: Aufbau einer Lipidmembran.

Vesikel, die spontan durch Rühren oder Ultraschallung von Phosphoglyceriden in Wasser entstehen, sind in sich geschlossene flüssigkeitsgefüllte Bläschen aus bimolekularen Membranen (Abb. 28). Je nach Genese bestehen sie aus mehreren, zwiebelschalenartig ineinander angeordneten bimolekularen Membranen. Für die Art dieser Überstrukturen ist die Struktur der komplexen Lipide, vor allem das Verhältnis zwischen apolarem Kohlenwasserstoffteil und den polaren Kopfgruppen verantwortlich. Im Gegensatz zu Micellen enthalten Vesikel im Inneren Wasser und nicht hydrophobe CH_2 -Ketten. Sie sind tagelang stabil, lassen sich chromatographisch fraktionieren und können röntgenographisch und elektronenmikroskopisch untersucht werden. *Liposomen* sind Lecithin-Vesikel und dienen als Transport- und Applikationssysteme für Pharmaka and Kosmetika, die sich je nach Zusammensetzung in die wäßrige Innenphase als auch zwischen die Fettsäureketten inkorporieren lassen.

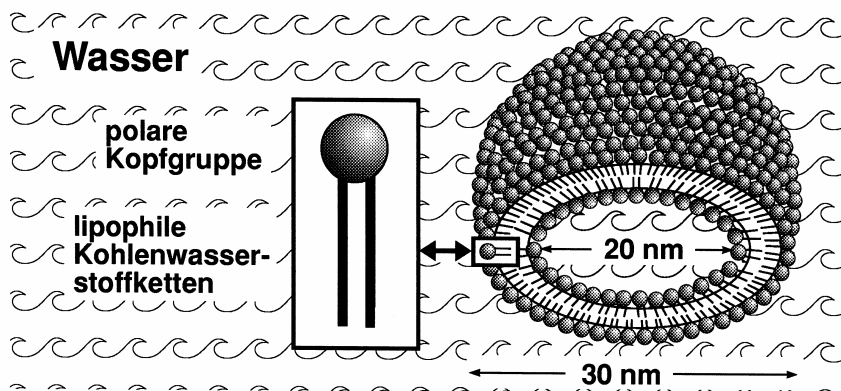


Abbildung 3-3. Mikrovesikel aus einer Bilayermembran, die innere Fläche besteht aus etwa nur halb so vielen Molekülen wie die äußere.

Zur Herstellung von *Lipidmembranen* wird die Lösung eines Lipids über ein 1 - 2 mm großes Loch in einer Platte gestreift und anschließend in Wasser getaucht. Der Lipidtropfen sammelt sich als ringförmiger Wulst, im Zentrum verbleibt eine bimolekulare Schicht, die aufgrund der Dünne ($<$ als Wellenlänge des sichtbaren Lichts) schwarz erscheint [*black lipid membrane, BLM*].

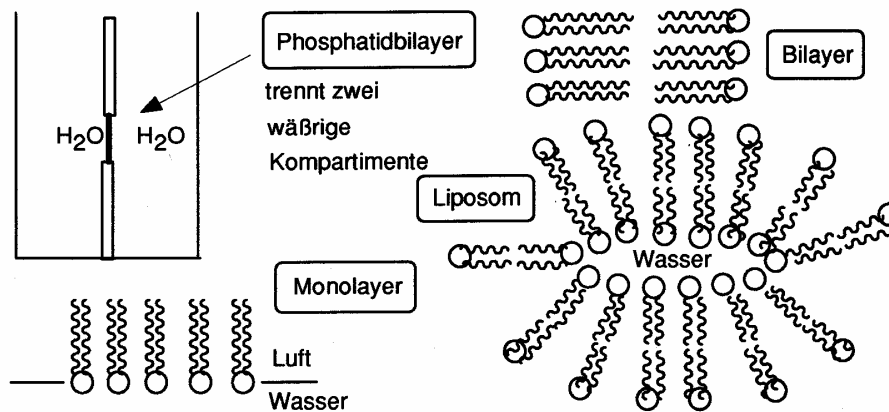


Abbildung 3-4. Monolayer, Bilayer, Liposom und black lipid membrane BLM.

BLMs eignen sich zu Untersuchungen von Stoff- und Ladungstransportphänomenen, wie sie bei der Permeation durch Lipidschichten auftreten. Die Durchlässigkeit der BLM für dipolare Moleküle wie Harnstoff, Glucose oder Glycerin ist wesentlich geringer als für Wasser, besser durchdringen größere nichtgeladene Moleküle mit unpolaren Resten die Membran. Für kleine Ionen wie K^+ , Na^+ , Cl^- , $PO_4H_2^-$, Cholin, usw. stellt eine BLM ein fast unüberwindliches Hindernis dar. Zur Messung der Permeationsgeschwindigkeiten können die Leitfähigkeit, das Membranpotential, der osmotische Druck, Messung der Radioaktivität bei markierten Molekülen oder optische Methoden herangezogen werden.

3.2 Lipoproteine und biologische Membranen

Lipide assoziieren mit Proteinen zu *Lipoproteinen*, die die physikalischen Eigenschaften beider Verbindungsklassen besitzen. Es gibt zwei Typen von Lipoproteinen, die Transport-Lipoproteine und die Membransysteme. Dabei werden die Lipid- und die Proteinkomponente durch hydrophobe Wechselwirkungen der unpolaren Teile der beiden zusammengehalten.

Im Serum von Säugetieren kommen komplexe Lipide und Proteine vor, die relativ konstante Mengenverhältnisse besitzen und die als Transport-Lipoproteine wasserunlösliche Lipide wie Cholesterin, Cholesterinester und Triacylglycerine zwischen den Organen über die Blutbahn transportieren. Sie werden nach Dichte und Partikelgröße charakterisiert, man unterscheidet *Chylomikronen* (Partikelgröße 75 - 1.000

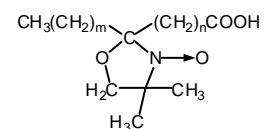
nm), *VLDL* [*very low density lipoprotein*, 30 - 50 nm] sehr niedriger Dichte, *LDL* [*low density protein*, 20 - 22 nm] und *HDL* [*high density lipoprotein*, 7.5 - 10 nm]. Chylomikronen transportieren nach der Nahrungsaufnahme Triacylglycerole und Cholesterin vom Verdauungstrakt in das Gewebe. Der Lipidanteil beträgt zwischen 98 und 99.5 %, der Proteinanteil schwankt zwischen 0.5 und 2 %. Die VLDLs enthalten sehr viel Triglyceride und wenig Protein. Auf ihrem Weg durch den Organismus erhöht sich durch fortlaufende Abspaltung von Triglyceriden ihr Anteil an Cholesterin und es entstehen die cholesterinreichen LDLs. LDL transportiert Cholesterin im Plasma, bindet an der Zielzelle an den *LDL-Rezeptor* und wird von der Zelle aufgenommen. Werden zuviel Fettsäuren aufgenommen oder liegt ein Defekt am LDL-Rezeptor vor, so kommt es zur Anreicherung von LDL und Cholesterin im Blut. Schädigung der Arterienwände kann zur Einlagerung von LDL in die Zellwand führen und es kann sich ein Thrombus bilden, der zu Herzinfarkt oder Schlaganfall führt. HDL hingegen ist u.a. für die Entfernung von Cholesterin aus dem Blut verantwortlich. Man nimmt an, daß gesättigte Fettsäuren die LDL-Partikel modifizieren und die Bindung am LDL-Rezeptor negativ beeinflussen. Dagegen scheinen ungesättigte Fettsäuren den LDL-Rezeptor so zu verändern, daß eine höhere Affinität der LDL-Partikel zum Rezeptor resultiert.

Biologische Membranen sind dünne (ca. 8 nm), zweidimensionale Aggregate aus Doppelschichten von polaren Lipiden, insbesondere Phospholipiden und Proteinen, die bis zu 80% des Zelltrochengewichtes besitzen können. Die Proteine bewegen sich in den weitgehend flüssigen Lipidschichten. Membranen dienen dem Zweck, den freien Stofftransport zu beschränken und zu spezialisieren, gleichzeitig grenzen sie verschiedene wäßrige Kompartimente voneinander und die Zelle nach außen ab. Sie stellen hochselektive Permeabilitätsschranken dar und ermöglichen Stoff- und Informationsaustausch (Zellerregung). Sie besitzen die Fähigkeit, Strukturdefekte spontan zu reparieren. Zellen eukaryotischer Organismen enthalten außerdem eine Reihe intrazellulärer Membranen (z.B. das endoplasmatische Reticulum) und Membran-umschlossene Organellen (Mitochondrien, Zellkerne, Liposomen, usw.), die ihrerseits das Zellinnere in verschiedene Kompartimente aufteilen.

Während die Kapillarmembranen der Blutgefäße, der Lungenbläschen, *etc.* einen relativ raschen Stofftransport erlauben, entsprechen Zellmembranen den bimolekularen Lipidschichten einer *BLM*. Ihre Leitfähigkeit für Ionen ist gering, so dass sich die Elektrolytzusammensetzung des Zellinneren von der der Umgebung deutlich unterscheiden kann. Für den Transport kleiner Moleküle wie Wasser sind *Kinken* verantwortlich, das sind Hohlräume zwischen den Fettsäureketten in Lipiddoppelschichten, die durch Konformationsübergänge von *anti* zur *gauche*-Konformation [*trans-gauche-trans*-Kinken] in den Ketten unter geringem Energieaufwand entstehen und in denen kleine Moleküle Platz finden. Diese Kinken sind beweglich und wandern mit dem Wassermolekül durch die Membran [TRÄUBLE].

Die meisten Membranen besitzen etwa 40 % Lipid- und 60 % Proteinanteil. Membranen, die hauptsächlich als Barrieren wirken, enthalten relativ viel Lipide, während hingegen funktionelle Membranen wie z.B. die Mitochondrienmembran als Träger zahlreicher Enzymsysteme mehr Proteinanteil als Lipidanteil besitzen. *Membranlipide* sind meist polar und hauptsächlich Phospholipide, ihre Zusammensetzung ist strukturbestimmend und charakteristisch für das jeweilige Membransystem, für das Organ und die Art. Das molare Verhältnis der Lipide in einer Membran scheint genetisch determiniert zu sein und kann durch "Fütterung" nicht verändert werden. Im Gegensatz dazu können die Fettsäurekomponenten der Lipide durch Angebot artfremder Fettsäuren durch das Medium variiert werden. Bei den in den Membranen verankerten Proteinen unterscheidet man periphere Proteine, die nur lose angelagert sind, und die integralen Proteine, die die Lipid-Doppelschicht durchdringen. Letztere besitzen oft Bedeutung für den Ionentransport. Biologische Membranen sind asymmetrisch, d.h. sie unterscheiden sich im Aufbau der zellinneren und der äußeren Schicht. Diese asymmetrische Anordnung ist die Grundvoraussetzung für aktive Transportprozesse, bei denen eine Substanz entgegen ihrem elektrochemischen Gradienten von der einen zur anderen Seite "gepumpt" wird.

Mit physikalischen Methoden wie z.B. Elektronenmikroskopie, ORD- und CD-Messung kann man die Anordnung von Lipiden und Proteinen und deren Zusammensetzung bestimmen. Das Innere der Bilayer-Struktur repräsentiert eine kontinuierliche Kohlenwasserstoffphase. Bei einer bestimmten *Phasenumwandlungstemperatur* T_t [*transition temperature*], die einem Phasenübergang kristallin \leftrightarrow flüssigkristallin entspricht, gehen die Alkylketten von einer geordneten Struktur in eine beweglichere über. Die Temperatur T_t hängt sowohl von der Struktur der polaren Kopfgruppe als auch von den Kettenlängen der Fettsäuren und dem Grad ihrer Ungesättigtheit ab. Unterhalb dieser Temperatur liegen gesättigte Acylreste gestreckt in der *all-trans*-Konfiguration vor und bilden ein zweidimensionales, hexagonales Gitter, oberhalb der Umwandlungstemperatur enthält jede Kette mehrere *gauche*-Konformationen, die zu einer lateralen Expansion des Gitters und zu einem ungeordneten Zustand führen. Einwertige Kationen (Na^+ , K^+) erniedrigen die Umwandlungstemperatur und machen die Membran fluider, zweiwertige Ionen (Ca^{2+} , Mg^{2+}) erhöhen hingegen die Umwandlungstemperatur. Ebenso führt die Erhöhung des pH -Wertes (Veränderung der Ladung der Kopfgruppe) zu einer Erniedrigung der Umwandlungstemperatur. Diese Eigenschaften werden u.a. durch Leitfähigkeitsmessungen, Röntgenstreuung, Volumetrie, Mikrokolorimetrie, Markierung der Fettsäuren durch Spin-Markierung und anschließende EPR-Spektroskopie (das ungepaarte Elektronenpaar hat die Spineinstellung in bestimmter Richtung zur Fettsäurekette) oder Fluoreszenzspektroskopie (Abb. 3-5) mithilfe von Fluoreszenzsonden bestimmt.



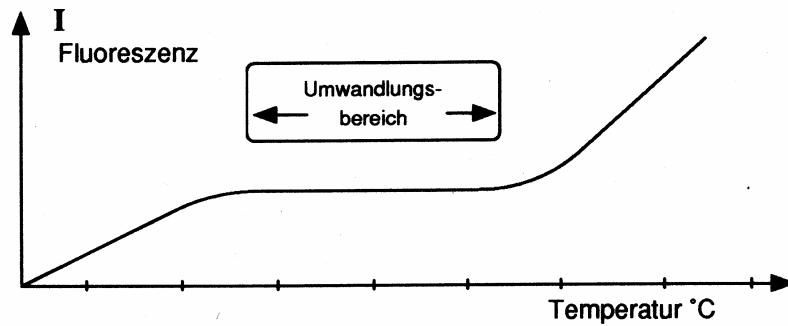


Abbildung 3-5. Fluoreszenzspektroskopische Bestimmung der Phasenumwandlungstemperatur eines Phospholipids.

Beim *fluid-mosaic model* [S.J. SINGER und G.L. NICOLSON, 1972; *mosaic* weil eine biologische Membran Proteine, Cholesterin, Phospholipide und andere Moleküle enthält] bilden Phospholipide als Bilayer eine flexible flüssig-kristalline Matrix, in der sich die Kohlenwasserstoffketten lateral frei bewegen. Sie hat einen hohen Widerstand und ist impermeabel für polare Moleküle. Die funktionellen und löslichen *periphären Proteine* "schwimmen" auf der von unlöslichen *integralen Proteinen* durchsetzten Doppelschichtoberfläche und können lateral diffundieren. Durch eine Aggregation spezifischer Membranproteine in der Ebene, d.h. eine Ungleichverteilung, könnten von einer Membran spezifische, topologische Signale ausgehen (Abb. 3-5).

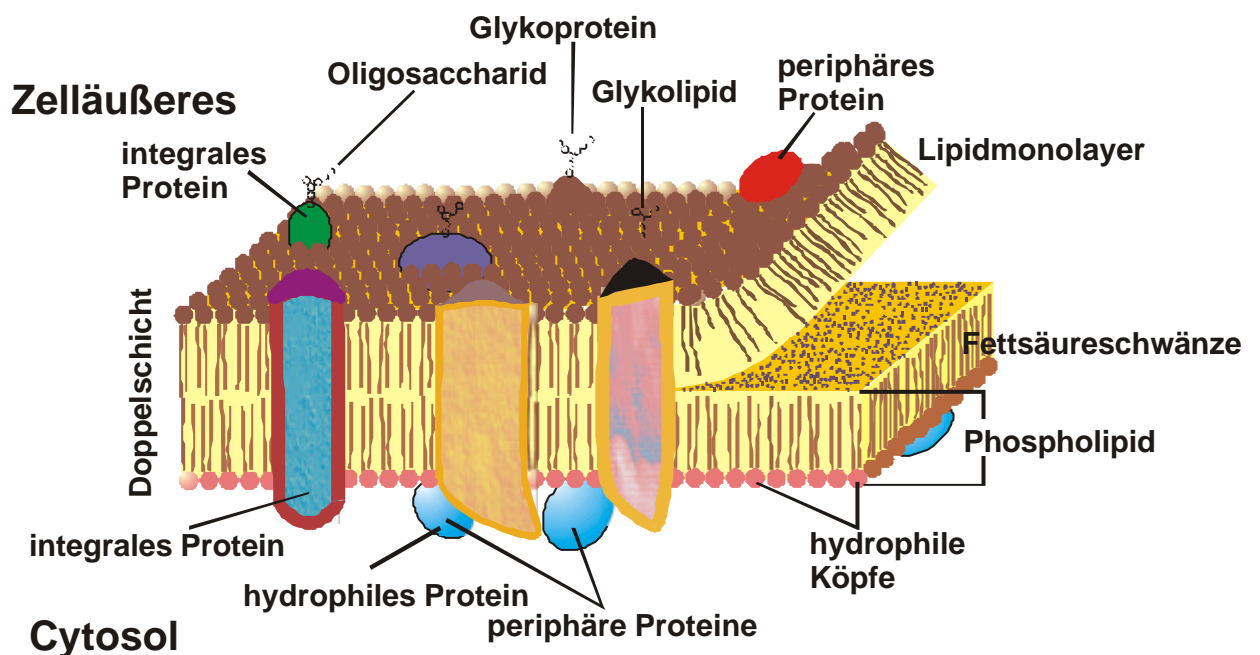


Abb. 3- .

3.3 Literatur

- D. CHAPMAN, *Biological Membranes*, Academic Press, New York (1968).
- G.H. BROWN, *Flüssige Kristalle*, *Chemie in unserer Zeit* 2, 42 (1968).
- H. TRÄUBLE, *Phasenumwandlungen in Lipiden. Mögliche Schaltprozesse in biologischen Membranen*, *Naturwissenschaften* 58, 277 (1971).
- W. KREUTZ, *Strukturprinzipien in Bio-Membranen*, *Angew. Chem.* 84, 597 (1972).
- S.J. SINGER und G.L. NICOLSON, *The Fluid Mosaic Model of the Structure of Membranes*, *Science* 175, 720 (1972).
- R. STEINSTRÄSSER und L. POHL, *Chemie und Verwendung flüssiger Kristalle*, *Angew. Chem.* 85, 706 (1973).
- H.-D. DÖRFLER, *Struktur und Funktion natürlicher und artifizierter Membranen*, *Biol. Rdsch.* 11, 1 (1973).
- H. TRÄUBLE und P. OVERATH, *Biochem. Biophys. Acta* 307, 491 (1973).
- H. TI TIEN, *Bilayer Lipid Membranes (BLM)*, M. Dekker, New York (1974).
- E. BAMBERGER, R. BENZ, P. LÄUGER und G. STARK, *Ionentransport durch biologische Membranen*, *Chemie in unserer Zeit* 8, 33 (1974).
- S.J. SINGER, *The Molecular Organization of Membranes*, *Annu. Rev. Biochem.* 43, 805 (1974).
- M. DAVIES, *Funktionen biologischer Membranen*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1974).
- R. HARRISON und G.G. LUNTUNT, *Biologische Membranen*, Fischer Verlag, Stuttgart (1976).
- S. ABRAHAMSSON und I. PASCHER, *Structure of Biological Membranes*, Plenum Press, New York (1977).
- A.L. LEHNINGER, *Lipide, Lipoproteine und Membranen; Die Biosynthese der Lipide; Der Oxidative Abbau der Fettsäuren*; in *Biochemie*, 2. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim - New York (1977).
- H. SANDERMANN, *Membranbiochemie. Eine Einführung*. Springer-Verlag Berlin (1983).
- J.H. FENDLER, *Membrane mimetic chemistry*, *Chem. Eng. News* 62, 25 (1984).
- G. BENGHA, *Structure and Properties of Cell Membranes*. CRC Press, Vol. 1, Boca Raton (1985).
- U. PFÜLLER, *Mizellen-Vesikel-Mikroemulsionen*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg (1987).
- R.B. GENNIS, *Biomembranes. Molecular Structure and Function*. Springer Verlag (1989).
- J.A.F. OP DEN KAMP, *Biological Membranes; Structure, Biogenesis and Dynamics (Nato ASI Series, SERS H Vol. 82)*, Springer Verlag (1994).
- W.M. GELBART und A. BEN-SHAUL, *Micelles, Membranes, Microemulsions, and Monolayers*, Springer Verlag (1994).
- R. PRASAD, *Manual on Membrane Lipids*, Springer, Heidelberg (1996).