

HOOFDSTUK 2: MEMBRANEN

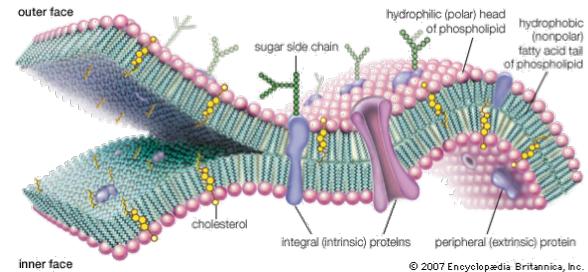
Functie van membranen

1. Compartimentalisatie
 - a. vormen hydrofobe barrière tegen ongewenste moleculen
2. Lokalisatie van functie
 - a. complexe moleculen concentreren zodat zij kunnen reageren → cellen zijn klein
 - b. opname tegen de concentratiegradiënt in **kost energie**: energie moet opgenomen worden
→ enkel zo kunnen levensbelangrijke reacties doorgaan
3. Selectief transport
 - a. ervoor zorgen dat relatieve constante omstandigheden in stand worden gehouden
4. Signaaldetectie
 - a. membraan: een **gevoelige interface** dat veranderingen detecteert/induceert
 - b. via cel-cel, cel-substraat of receptor-signalen interacties
5. Intercellulaire informatie
 - a. informatie uit de buitenwereld doorgeven aan andere cellen/organisme
→ levensomstandigheden van cel/organisme optimaal te houden

Membraanstructuur

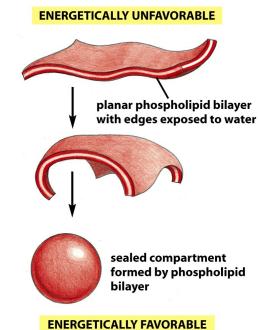
de **ijsbergtheorie** (Singer en Nicolson, 1972): fluid mosaic model

- **viskeuze zee** van lipiden in een dubbellaag georganiseerd, waarin vanalles rondtobbert
- belangrijke eigenschap: **fluïditeit van het membraan**: continu in beweging ≠ volledig homogene structuren, ook microdomen van lipide-proteïnen = **lipid rafts**
- vorming van een **sfeer** is energetisch meest gunstig ('micel')



Samenstelling

membraanlipiden: **amfipatisch**: hydrofiele kopgroep en hydrofobe staart



Fosfolipiden

- esters van vetzuurketens met ruggengraat van glycerol (fosfoglyceriden)
of ruggengraat van sfingosine (sfingolipiden)

Glycolipiden:

- suikerhoudende lipiden op buitenste membraan (H-brug via suikerdeel en hydrofobe interacties met staart)
- bescherming (vb. bij lumen van epitheel), cel-cel herkenning
- vb. glycosfingolipiden (A,B,O antigenen), gangliosiden (voor elektrische signaaltransductie)

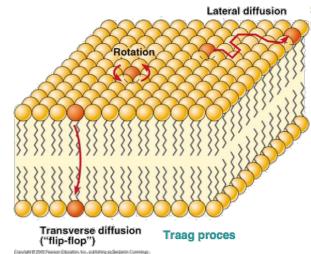
Sterolen

- voornaamste is cholesterol: nestelt tussen lipiden en stabiliseert membraan

Membraanfluïditeit

Lipidendubbellichaam is een **viskeuze vloeistof**: ze hangt niet vast

- **laterale diffusie**: omtrek van een bacterie in ongeveer een seconde
- **axiale rotatie**: rotatie rond de eigen lengteas
- **flip-flop**: diffusie tussen 2 dubbellagen; zelden spontaan, nood aan flippases



de **vloeibaarheid of fluïditeit** is afhankelijk van de temperatuur

- **transitieteratuur T_m** : temperatuur vloeibaar → gel (fasetransitie)
 - o deze verlaagt bij meer **onverzadigde** vetzuren en **kortere** vetzuren
 - o verzadigde vetzuren: lange verzadigde kunnen makkelijker schikken en denser worden dan onverzadigde met een 'knik' in de koolstofketen
- om essentieel te functioneren moet het membraan in vloeibare toestand blijven
 - fase transitie verhindert de membraanfunctie

Homoviskeuze adaptatie

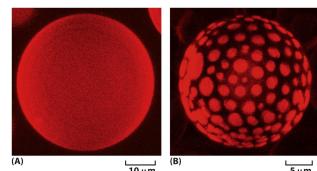
- voor bacteriën, gist en poikilotherme (koudbloedige) dieren
- samenstelling van het membraan wordt aangepast aan de omgevingstemperatuur
 - vloeibaarheid van het membraan kan zo geregeld worden

Cholesterol in membraan

- **belangrijk**: mutanten zonder cholesterol gaan spontaan lyseren (openbreken)
- bepaalt **membraanstijfheid**: innesteling tussen fosfolipiden: OH naar hydrofiele kop
 - **fluïditeitsbuffer**: membraan is meer geordend en het voorkomt gelvorming
- verlaagt de membraanpermeabiliteit voor kleine moleculen
- bacteriën hebben dit niet: wordt gecompenseerd door dikke celwand

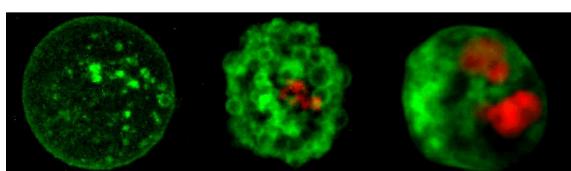
Inhomogeniteit

- geen random distributie van lipiden in een membraan
- dynamisch patchwork van verschillende domeinen
- **lipid rafts**: microdomen van sfingolipiden, cholesterol en glycoproteïnen



Asymmetrie

- alle lipiden worden aan de cytoplasmatische kant van het ER gemaakt
- **translocators** verdelen lipiden over de twee membranen
- asymmetrie wordt in stand gehouden door **scramblases** en **flippases**
- vb. in RBC
 - o lipiden met terminale aminogroep (binnenkant) → negatieve lading
 - o lipiden met choline (buitenkant)
- **functionele betekenis**
 - o voor intracellulaire signaaltransductie
 - o voor extracellulaire signaling: apoptotische cellen transloceren fosfatidylserine (flipflop) naar de buitenste membraan → vlag voor macrofaag om te komen opruimen

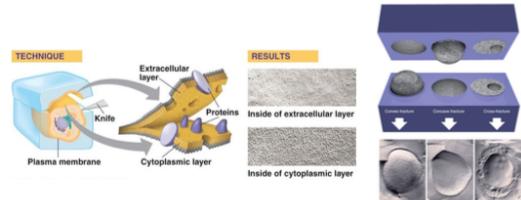


een apoptotische cel transloceert fosfatidylserine naar buitenste membraan

Membraanproteïnen

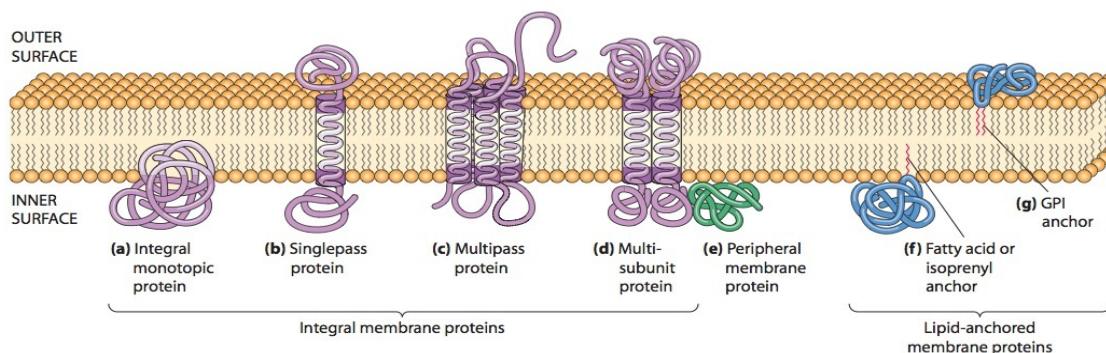
Freeze-fracture electron microscopy

- membraan bevoren in vloeibare stikstof
 - krijgt slag van diamanten mes
- hydrofobe midden: minste resistentie (enkel zwakke Van Der Waals krachten)
 - breukvlak in het midden van het membraan
 - eiwitcomponenten breken niet makkelijk en blijven achter
- **exoplasmic face** (trans) aan de buitenoppervlak ↔ **protoplasmic face** (cis) aan cytoplasma



Classificatie van membraanproteïnen

- verschillen in affiniteit voor het hydrofobe binnenste en dus ook de wijze waarop ze interageren met de membraan



Integrale membraanproteïnen

- **amfipatisch karakter:** **hydrofobe regio's** vertonen affiniteit met hydrofobe midden
 - o ook **hydrofiele regio's** die uit membraan steken
 - essentieel onderdeel: moeilijk te isoleren, membraan is kapot na isoleren
- **transmembraaneiwitten** (de meesten)
 - o overspannen heel het membraan met hydrofiele uitsteeksels aan beide zijden
 - cytoplasmatisch, transmembraan en extracellulair domein
 - o **single-pass** (één keer in membraan geplooid) of **multi-pass** (meerdere keren)
 - o vaak **α-helices**, soms ook **β-sheets** (samengebracht als **β-barrel***)
 - o **multi-pass**: zijgroepen van hydrofiele groepen interageren en versterken membraan
 - o eigenschappen
 - **sterk geglycosyleerd:** enkel extracellulair
 - extracellulair: oxiderend milieu → Cys geoxideerd en vormt **disulfidebruggen**
 - intracellulair: reducerend milieu (gewone -SH groepen)

***β-barrel:** zoals planken die samengehouden worden door hoepels voor een ton

- hydrofiele groepen naar de binnenkant, hydrofobe naar buiten
- hydrofiel kanaal dat selectief doorlaatbaar is (vb. porines)

hydropathy index: vrije energie om opeenvolgende polypeptide segmenten (10-20 az) van non-polar solvent naar water over te brengen

- enkel voor α -helices
- kan het aantal hydrofobe segmenten van een transmembraaneiwit voorspellen

Perifere membraanproteïnen

- hebben **geen hydrofobe regio's**
- via zwakke Van der Waals en H-bruggen geassocieerd aan één kant van:
 - integrale membraaneiwitten
 - polaire fosfolipiden
 - glycolipiden
- vrij **een eenvoudig weggewassen** door buffers met hoge zoutsterkte
→ zonder beschadiging van het membraan of de cel

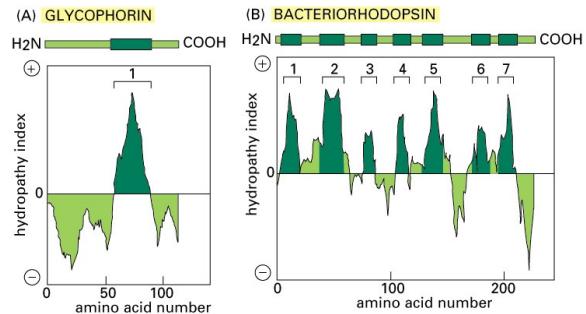


Figure 10-20 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

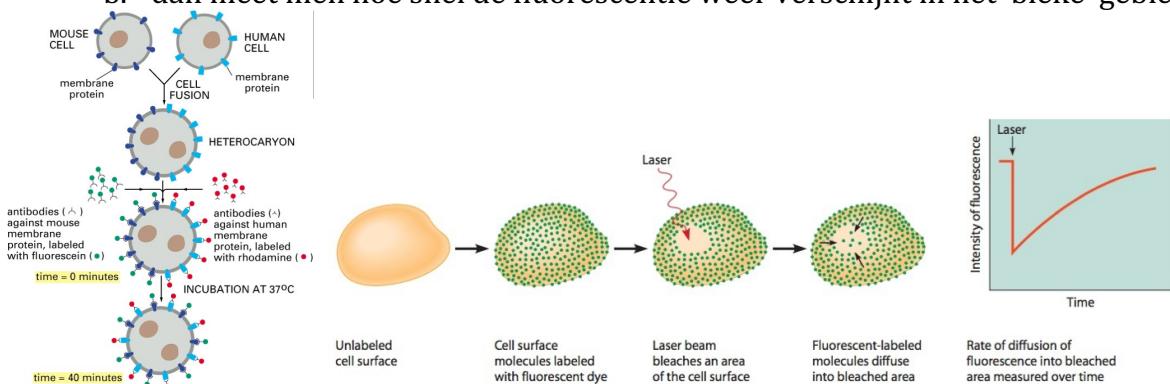
Lipide-verankerde membraanproteïnen

- covalent gebonden lipiden groep aan één zijde van de membraan
- binnenste membraan aan **vetzuur** of **isoprenyl**
buitenste membraan aan **GPI anker** (vnl. proteïnen in lipid rafts)
 - **GPI anker** rol in signaaltransductie: kan herkend en geknipt w. door fosfolipase C
- alle **glycoproteïnen** aan de buitenzijde: vorming van suikerlaag of **glycocalyx**
 - rol in bescherming (epitheel), celherkenning en elektrische effecten (ladingen)

Mobiliteit van membraanproteïnen

Beweis voor mobiliteit

1. **Fusie-experiment** van Freye en Edidin: vorming van **heterokaryon** tussen mens en muis
 - a. fluorescente kleurstoffen aan soort-spec. antilichamen = groen anti-muis, rood anti-mens
 - b. bij 4°C nauwelijks beweging, bij 37°C gemerkte moleculen bewegen via passieve diffusie
2. **Patching:** incubatie van antilichamen met integrale proteïnen in een cel
 - aanvankelijk homogene spreiding
 - al gauw vormen ze groepjes (**patches**), op langere termijn alles in één gebied (**capping**)
3. **FRAP: Fluorescent Recovery After Photobleaching**
 - a. laserstraal bleekt de fluorescentie van proteïnen in een bepaald gebied
 - b. dan meet men hoe snel de fluorescentie weer verschijnt in het 'bleke' gebied



Restrictie in mobiliteit

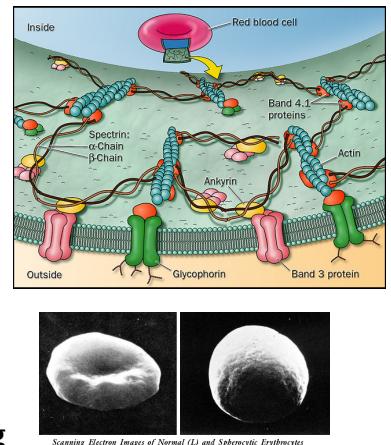
cellen **kunnen zelf** de beweeglijkheid beperken

→ doel: gelokaliseerde membraanfunctie, polarisatie of net homogene verdeling garanderen

1-2: groepering door hydrofiele interacties: beperking van beweging door interactie van verschillende transmembraaneiwitten met één perifeer membraaneiwit

1. verankering aan de cytoplasmatische zijde = **intracellulaire groepering**

- vb. **corticaal cytoskelet** bij rode bloedcellen
 - **cortex**: dens netwerk van transmembraanproteïnen en filamenten (spectrines)
 - barrières beperken mobiliteit (lees: ze kunnen nog bewegen), geven wel steun
 - **spherocytose**: RBC worden sferisch i.p.v. donut door spectrine deficiëntie



2. verankering aan de extracellulaire zijde = **extracellulaire koppeling**

- vb. hechting van cellen aan de extracellulaire matrix van de **basale lamina**

3. interactie met membraanmoleculen van andere cellen

4. fysische barrières tussen naburige cellen

- vb. **tight junctions**
 - verhinderen beweging van membraanproteïnen van apicaal naar basaal
 - blokkeren het binnendringen van vreemde stoffen tussen de cellen

TAKE-HOME MESSAGES

- Membranen zorgen voor **compartimentalisatie**, **lokalisatie van functie**, **selectief transport**, **signaaldetectie** en **intercellulaire communicatie**
- Een biologische membraan is een **lipidendubbellaag** opgebouwd uit **fosfolipiden**, **cholesterol** en **glycolipiden**, met daarin **proteïnen**. De fluïditeit wordt bepaald door de specifieke samenstelling.
- Membranen zijn **viskeus**, **heterogeen** en **asymmetrisch** en dit heeft functionele relevantie.
- Er bestaan **integrale**, **perifere** of **lipide-verankerde** membraaneiwitten.
- Het aantal hydrofobe segmenten van een transmembraaneiwit kan voorspeld worden op basis van de **hydropathie index**.
- Membraaneiwitten zijn meestal **zeer mobiel**, maar **kunnen beperkt worden** in hun mobiliteit door verankering aan de cytoplasmatische of extracellulaire zijde, interacties met andere cellen of fysische barrières.
- Specifieke lipiden en glycoproteïnen vormen **lipid rafts**.