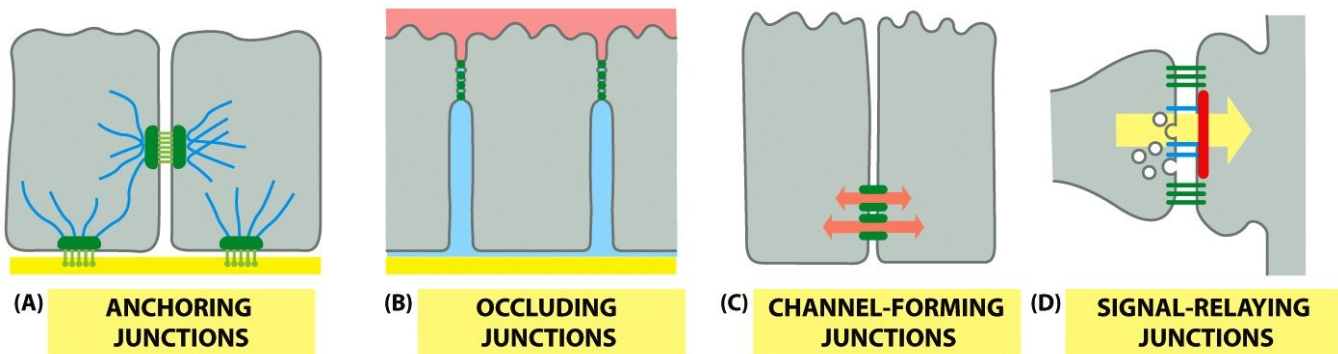


# HOOFDSTUK 7: CELVERBINDINGEN

## Introductie

Gelijkaardige cellen **groeperen** in **weefsels** die verder groeperen in **organen**

- dit komt tot stand door gespecialiseerde verbindingen met elkaar
- binding met de **extracellulaire matrix ECM**: voorziening voor cel interactie en -migratie
- vier types van juncties: darmepitheel vaak als model (komen daar prominent voor)
  - o **hechtingsverbindingen**: mechanische verbinding van cellen met elkaar en ECM
  - o **afsluitende verbindingen**: vormen een (selectief) ondoordringbare cellaag
  - o **kanaalvormende verbindingen**: faciliteren intercellulair transport van kleine mol.
  - o **signaaloverdragende verbindingen**: chemische/immunologische synapsen



## Cel-cel adhesie

### Transmembraanproteïnen mediëren cel-cel adhesie

Meeste adhesiecomplexen bestaan uit **transmembraanproteïnen**

- **hoge turnover** via endo/exocytose: dynamische reactie door assemblage van complexen
- **adhesieproteïnes** fungeren als hubs voor assemblage van signaalcomplexen/cytoskelet
- **celadhesiemoleculen**: reguleren de cel-cel interacties
  - o immunoglobulinen, cadherines, selectines en integrines
  - o **homofiele interactie**: interagerende moleculen zijn identiek (↔ heterofiel)

### Cel adhesie moleculen (CAM's)

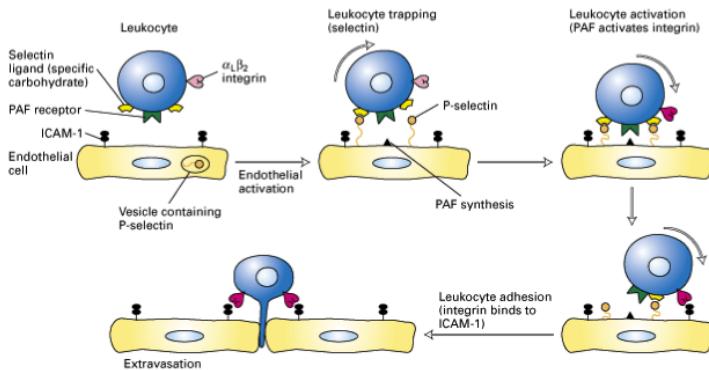
- behoren tot Ig superfamilie: tonen zelfde **lusvormige structuren** als Ig van antilichamen
- zowel homofiel als heterofiel

### Cadherines

- meest abundant; het zijn glycoproteïnen essentieel voor cel-celherkenning en -adhesie
- E-cadherine (epitheel), N-cadherine (neuronen en spieren) en P-cadherine (placenta, ...)
- **naar ECM**: structureel gelijkende cadherine domeinen
- **naar ICM**: indirecte interactie met componenten uit cytoskelet
- **Ca<sup>2+</sup>-afhankelijk**: Ca<sup>2+</sup> bindt scharnier regio en stabiliseert de gestrekte conformatie
- individueel zijn ze niet zo sterk: door associatie vormt zich een sterke hechtingssite
  - o ook snelle degradatie door sequentiële verbreking = **velcro of rits principe**
- **homofiele verb.**: cellen van hetzelfde type kunnen in een gemengd aggregaat associëren
  - o bv. in **embryogenese**: gereguleerde cadherine expressie: scheiding van versch. weefsel
  - o wijzigingen in cadherine-expressie: **epitheliale-mesenchymale transitie EMT**
    - uiteenvallen van epitheelweefsel in mesenchymale cellen
    - ook kankercellen: geen cadherine-expressie → ondergaan EMT → **metastasen**

## Selectines

- suikerbindende eiwitten: interactie tussen leukocyten & endotheelcellen of bloedplaatjes
- elk celtype verschillend selectine: L-sel. op leukocyten, E-sel. op endotheel en P op bloedpl.
- **Ca<sup>2+</sup>-afhankelijke celbinding** bij de **extravasatie** van witte bloedcellen
- **Extravasatie** bij lokale ontsteking
  - o endotheelcellen brengen E- en P-selectines op hun oppervlak bij inflammatie  
→ herkennen de oligosachariden op witte bloedcellen
  - o **PAF Platelet Activating Factor**: hierdoor maken leukocyten integrines aan die zullen binden met I-CAM op endotheelcellen  
→ leukocyt blokkeert en migreert naar onderliggend weefsel



## Hechtungsverbindingen: mechanische koppeling

**Hechtungsverbindingen** zorgen voor een mechanisch continuüm tussen cellen

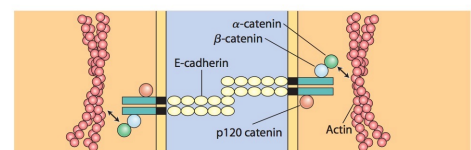
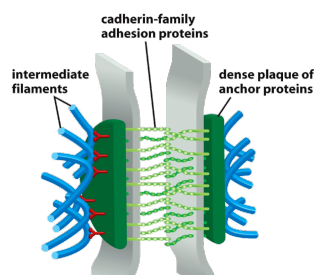
- verankering met componenten vanuit het cytoskelet
- celgroepen functioneren als **geheel** (georganiseerde vervorming of grote weerstand bieden)
- **adherens juncties**: als connectie wordt gemaakt met actine-netwerk
- **desmosomen**: als connectie wordt gemaakt met intermediaire filamenten
- **junctie**: transmembranaire cadherines binden intracellulair aan cytoskelet met adaptorprot.

## Adherens juncties

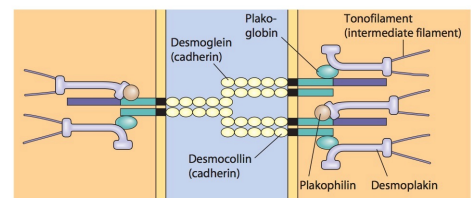
- maken deel uit van **zona adhaerens**: bijzonder prominent in het darmepitheel
  - o apicale band die via E-cadherines en andere proteïnen actine van versch. cellen verbindt
  - o essentiële rol in **morfogeenese**: contractie van actinebundels → vorming van neuraalbuis

## Desmosomen

- structuren die cellen verbinden via verankering aan intermediaire filamenten (grote trekkracht)
- IF geven het weefsel **structurele integriteit**
  - o epitheel: keratine, hartspier: desmine en leukocyten en endotheel: vimentine
- komen vaak voor in weefsels met **grote mechanische stress** (hartspier of epidermis)
- cadherines (desmogleïne, desmocolline) → via **dense plaques** van linker proteïnen aan IF verb.
- **Pemphigus vulgaris**: aanmaak van antilichamen tegen cadherines: slechte hechting van dermale cellen → dramatische blaarvorming



(a) Adherens junction



(b) Desmosome

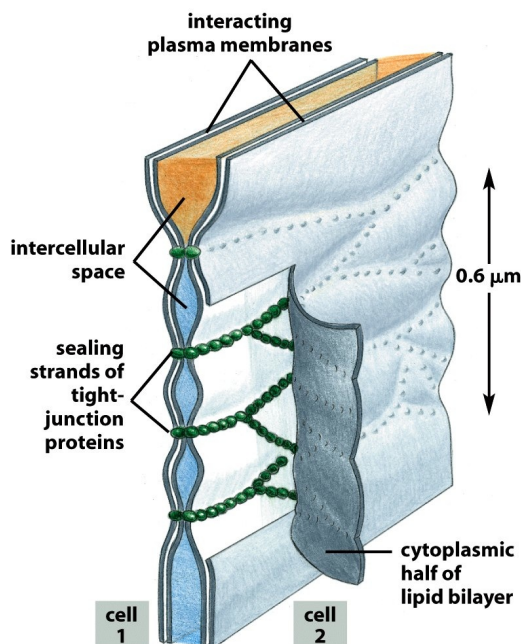
## Afsluitende verbindingen: molecuulbeweging voorkomen

Alle epithelen: **selectieve permeabiliteitsbarrière** via de **tight junctions**

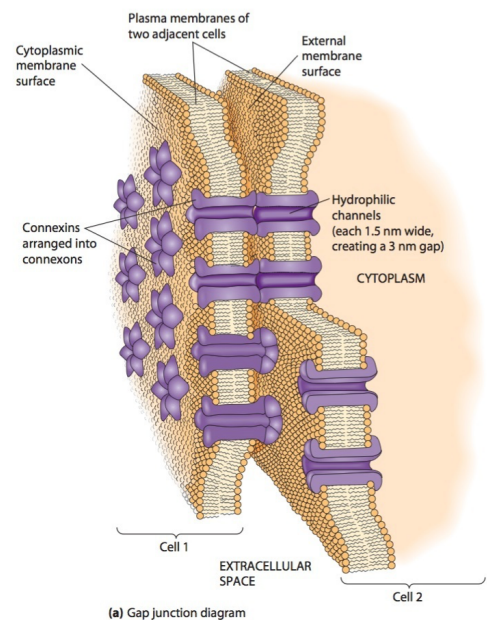
- **verzegelen** de intracellulaire ruimte door vorming van **sealing strands**
  - o dit gebeurt aan het apicaal deel van de cel: de **zona occludens**
  - o **sealing strands**: lange rijen van transmembraanproteïnen (claudine, occludine) die de buitenste membranen van cellen verbinden door homofiele interacties
  - o vóórkomen dat wateroplosbare moleculen weglekken: toch geen absolute dichting  
→ epithelen kunnen de doorlaatbaarheid van tight junctions regelen om tijdelijk meer **paracellulair transport** toe te laten (*naast* ↔ transcellulair: *door* de cel)
    - paracellulair transport: ion transport & absorptie aminozuren/monosach.

Tight junctions zijn niet enkel **selectieve poorten**, ze dienen ook als **hekken**

- blokkeren van de laterale beweging van membraanlipiden- en proteïnen
- onderhouden van de **polariteit**
  - o bv. darmepitheel: aan één zijde spec. transportproteïnen voor **transcellulair transport**
    - vb. glucose carriers (apicaal) en passieve glucose transporters (basaal)



Beeld 2: tight junction



Beeld 1: gap junction

## Communicatieverbindingen

Niet enkel mechanische verbindingen, ook **informatieoverdracht** in multicellulaire context

→ gap junctions, synaps, plasmodesmata

**Gap junctions**: regio's van cytoplasmatisch contact tussen twee cellen

- associatie van 2 **connexonen** (hemikanalen) die elk uit 6 connexines bestaan
- één gap junction: een paar tot duizenden connexonen
- **geringe poriediameter**: enkel anorganische ionen en kleine moleculen (<1,5 kDa)
- **elektrisch** en **metabool** gekoppeld: hartspier (synchrone contractie) darm (peristaltiek)
- permeabiliteit daalt als pH daalt of  $[Ca^{2+}]$  stijgt → bescherming van naburige cellen

# Extracellulaire Matrix ECM

Weefsels bestaan niet enkel uit cellen, maar ook uit een **extracellulaire matrix ECM**

- ECM: glycoproteïnen en polysachariden lokaal geproduceerd door aanwezige cellen
- dun (basale lamina), gelachtig (cornea) of sterk verkalkt (bot, tanden)
- 3 typische klassen van moleculen
  - o **structurele fibreuze glycoproteïnen**: sterkte en flexibiliteit (collageen, elastine)
  - o **proteoglycanen**: gelachtig netwerk, structurele proteïnen zijn hier ingebed
  - o **adhesieve glycoproteïnen**: vasthechting cel aan ECM (fibronectine, laminine)

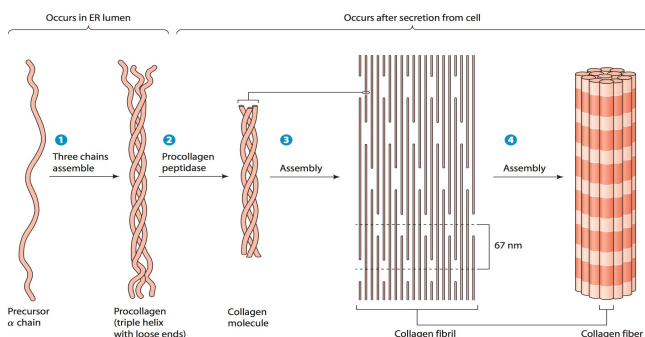
## Fibreuze glycoproteïnen

### Collageen geeft de ECM sterkte

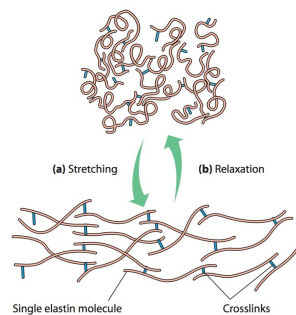
- belangrijkste en meest voorkomender ECM component, productie door fibroblasten
- 3  $\alpha$ -ketens (rijk aan Gly & Pro) die een triple helix vormen
  - aangemaakt als **procollageen**
  - post-translationele modificaties (hydroxylatie voor H-brug vorming)
  - aan uiteinden wordt associatie door niet-helicale az-sequenties voorkomen
  - peptidasen knippen dit tot **matuur collageen** —zelfassociatie→ fibrillen → vezels
- soorten collageen
  - o **fibrillair collageen**: zoals hierboven beschreven
  - o **fibril-geassocieerd collageen**: decoreert oppervlak van collageenfibrillen
  - o **netwerk-vormend collageen**: maakt deel uit van de basale lamina
  - o **verankerend collageen**: verbindt basale lamina met onderliggend bindweefsel
- **Ehlers-Danos syndroom**: collageen mutaties → hyperlaxiteit gewrichten, elastische huid, fragiele bloedvaten

### Elastine geeft ECM flexibiliteit

- hydrofobe elastine-moleculen die covalent (via Lys) verbonden netwerk van random opgevouwen spoelen vormen
- zeer rijk aan Lys en Pro ( $\approx$  collageen) ↔ niet gehydroxyleerd noch geglycosyleerd
- kan **uitrekken**, als spanning wegvalt ook **efficiënt opvouwen** door covalente crosslinks
- **verouderd weefsel**: minder elastine en verhoogde starheid collageen → verrimpelde huid, ...



Beeld 3: Collageen



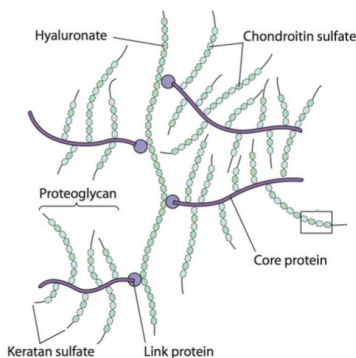
Beeld 4: Elastine



# Structurele proteïnen in een matrix van proteoglycanen

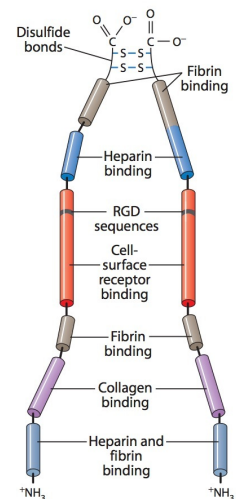
## Collageen en elastine in **gel-achtig netwerk** van **proteoglycanen**

- weerstand bieden tegen compressie en diffusie van macromoleculen
- **proteoglycanen** PG's zijn glycoproteïnen waarop **glycosaminoglycanen** GAG's zijn gebonden
- **GAG's**: disaccharideketens van **aminosuikers** (N-acetylglucosamine of N-acetylgalactosamine) en **urinezuur** (glucuronzuur of iduronzuur)
  - o sterk negatief geladen: door carbonzuurgroepen en sulfatatie
    - lange **hydrofiële** ketens → attractie van kationen → aanzuigen van veel water
    - opbouw van een **turgordruk**
  - o bv. chondroïtine sulfaat, kerataan sulfaat, hyaluronzuur
  - o alle GAG's (excl. hyaluronzuur) via **tetrasacharidelinker** gebonden tot grote PG's
- vb. de proteoglycanen **aggrecan** of **decorin**
  - o rechtstreeks verbonden met collageen om ECM-netwerk op te bouwen
  - o fungeren als **moleculaire zeef** → poriegrootte bepaald door gekoppelde GAG
  - o kunnen moleculen vasthouden: invloed **chemische signalisatie** en **structuur ECM**



## Adhesieve glycoproteïnen

ECM bevat moleculen met **bindende domeinen** voor matrixcomponenten en celoppervlakte-receptoren (integrines) → organisatie van matrix en vasthechting van cellen



## Fibronectine verbindt cellen met ECM

- **fibronectine** is een dimeer van 2 subeenheden samengehouden door disulfide bruggen
  - o bevat verschillende **bindingsdomeinen** voor ECM-comp. en **integrines** (RGD-motief)
  - o het is een **brugmolecule** die cellen vasthecht aan het substraat
- fibronectine zal sterk gealigneerd zijn met de intracellulaire **stress fibers**
  - o actine **promoot** de fibril-opbouw van het fibronectine via **integrine-bindingen**
  - o actine **trekt** → vezels strekken → meer integrine-bindende domeinen beschikbaar
    - er wordt zelfs een **bindingssite** blootgesteld voor zelf-assemblage

## Laminines verbinden cellen met basale lamina

- **basale lamina** ondersteunt epitheelweefsel en scheidt het af van onderliggend bindweefsel
  - o opgebouwd uit laminine: geproduceerd aan weerszijden
    - **brugmoleculen** die cellen binden via integrine-bindend domein
    - verschaft samen met collageen IV trekkracht
    - samengehouden door linkerproteïnen: nidogen en perlecan
  - o lamina: **structurele ondersteuning** en **selectieve permeabiliteitsbarrière**
    - primaire filterfunctie voor cellen en macromoleculen
      - bvb. fibroblasten niet, leukocyten wel door
    - ook polariteit, metabolisme, proliferatie, differentiatie en weefselregeneratie

## Cellen hervormen de ECM

De ECM wordt voortdurend **gevormd en gemodelleerd** naargelang de noden (bv. wondheling)

→ dit doen ze door **proteasen**: de **matrix metalloproteasen** (MMP) en **serine proteasen**

- van belang voor **leukocyten** (binnendringen van geïnfecteerd weefsel)
- in veel kankercellen (metastatische) wordt verhoogde activiteit van MMP vastgesteld
- activiteit wordt op 3 manieren gereguleerd
  - **Lokale activatie**: synthese als inactieve precursoren in de cel → proteasen worden pas geactiveerd uit de cel
  - **Insluiting**: opp. receptoren binden proteasen → sterk gelokaliseerde activiteit
  - **Inhibitie**: tegenwerking van activiteit door secretie protease-spec. inhibitoren

## Cellen hechten zich aan de ECM via integrines

Fibronectine en laminine binden cellen: hiervoor membraangebonden receptoren tot expressie:  
= **integrines**

- heterodimeren uit  $\alpha$ - en  $\beta$ -subeenheid
  - $\beta$ -subeenheid gaat aan cytoplasma-zijde interacties aan met het cytoskelet (IF of MF)
- **focale adhesiepunten**: voor binding van migrerende en niet-epitheliale cellen aan ECM
  - = contactpunten waar actine zich concentreert en via integrines verankerd wordt met moleculen uit ECM → via  $\beta$ -subunit integrine verbonden aan taline, vinculine,  $\alpha$ -actinine
- **bidirectionele activatie**: integrines alterneren tussen open en gesloten toestand
  - conformationele wijziging van buitenaf (outside-in) als van binnenuit (inside-out)
  - bv. als extracellulair domein ligand (bv. fibronectine) bindt → molecule ontvouwt → aan de intracellulaire zijde wordt  $\beta$ -eenheid blootgesteld → taline kan binden
  - gerelateerd met **signaaltransductie**
    - inside-out: MAP kinase induceert de integrine clustering
    - outside-in: afwezigheid van integrine-bindende ECM comp. induceert apoptose
- **verankeringsafhankelijke groei**: feit dat cellen moeten kunnen hechten om te prolifereren
  - activatie van verschillende kinasen (bv. focaal adhesie kinase FAK) t.h.v. foc. adhesie pt.
  - vorm van bescherming → vb. kanker
- **hemidesmosomen**: verbinding van epitheliale cellen aan basale lamina
  - een IF proteïne (vb. keratine) is via plakines verbonden met integrine

## **Plantencelwand**

### Functies van de plantencelwand

- hebben geen botstructuren: toch **opmerkelijke sterkte** dankzij celwand
- **bescherming tegen turgordruk**, ontstaat door osmotisch onevenwicht in intern/extern milieu
  - **turgordruk**: mechanische stevigheid en is drijvende kracht bij celsexpansie tijdens groei
- **selectieve barrière**: water, gassen, ionen, kleine moleculen kunnen door celwand

### Opbouw van de celwand

- zeer omvangrijke vorm van ECM; de dikke wanden ontstaan stapsgewijs tijdens cytokinese
- **synthese**: eerst word een **middenlamella** aangemaakt → wordt gedeeld door naburige cellen
  - tijdens groei zijn primaire celwanden dun en flexibel
  - daarna verhardt de celwand door afzetting van nieuwe lagen → secundaire celwand

## PRIMAIRE CELWAND

**Cellulose:** meest abundante macromolecule op aarde

- lange onvertakte ketens van glucose residuen, verbonden in parallelle rijen via H-bruggen
- zeer grote trekresistentie

**Matrix van pectines:** galacturonrijke polysachariden bedden het cellulosenetwerk in

- negatieve lading → associatie met kationen en sterke hydratatie

**Hemicellulose:** lineaire keten van glucose/xylose met korte zijtakken van glucose, galactose, ...

## SECUNDAIRE CELWAND

→ meestal dikker en rigider: bestaat ook uit cellulose en **lignine**

**Cellulose:** gestapelde parallelle bundels: telkens onder een **andere hoek georiënteerd**

→ grote rigiditeit en kracht

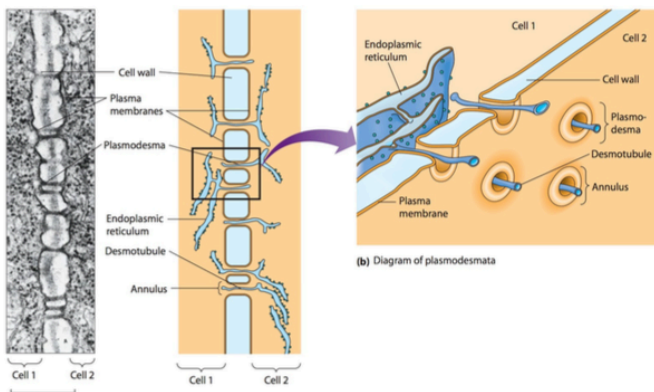
**Lignine:** zeer onoplosbaar polymeer van aromatische alcoholen

- biedt weerstand aan drukkrachten

## Plasmodesmata: cel-celcommunicatie

**Plasmodesmata** vormen het functionele **equivalent** van de **gap junctions**

- structureel zijn zij zeer verschillend: moeten een veel grotere afstand afleggen
- het zijn regio's waar de buitenste membranen van naburige cellen verbonden zijn
- intern **doorkruist door desmotubule**: verbindt het ER van beide cellen
  - o annulus: de ring rond de tubule → zorgt voor cytoplasmatische continuïteit
- **elektrische en metabole koppeling** van cellen
- laten **grote moleculen** door: signaalmoleculen, RNA, transcriptiefactoren, zelfs virussen



### Take-home messages

- Cellen vormen verbindingen met elkaar en de ECM via **adhesie proteïnen**.
- **Cadherines** mediëren **celsortering**, **selectines** spelen een belangrijke rol bij **extravasatie**
- Het (darm)epitheel is een goed model voor **celjuncties**
- **Hechtingsverbindingen** verbinden cellen mechanisch met **elkaar** en met de **extracellulaire matrix**. **Adherens juncties** zijn intracellulair verankerd aan **actine**, desmosomen aan intermediaire filamenten.
- Afsluitende verbindingen (**tight junctions**) vormen een **selectief** ondoordringbare cellaag.
- **Communicatieverbindingen** bestaan uit kanaalvormende verbindingen (**gap junctions**) en signaaloverdragende verbindingen (synapsen). Gap junctions zorgen voor een **elektrische** en **metabole koppeling** van cellen.
- De ECM kent zeer **uiteenlopende vormen**, maar bestaat meestal uit fibreuze **glycoproteïnen** (sterkte en elasticiteit), **proteoglycanen** (turgor) en **adhesieve glycoproteïnen** (aanhechting).
- Cellen hechten zich aan de ECM via **integrines**, ter hoogte van **focale adhesiepunten** (actine) of **hemidesmosomen** (IF). Hechting is direct gekoppeld met **proliferatie**, i.e. verankeringsafhankelijke groei.