**CELBIOLOGIE Hoofdstuk 5: Membranen**

1. Functie van membranen

* Membranen hebben 5 functies
  + Compartementalisatie
    - Membranen definiëren de grenzen van de cel en haar organellen
    - Vormen een hydrofobe barrière voor ongewenste moleculen
  + Lokalisatie van functie
    - Brengen lokaal moleculen samen -> concentratie -> zodat ze met elkaar kunnen reageren
    - Zorgen voor een ceoncentratiegradiënt die nutriënten opvangen
  + Selectief transport
    - Isoleren, maar ook doorlaatbaar
    - Selectieve doorlaatbaarheid door gespecialiseerde transporters
  + Signaaldetectie
    - Detecteert en induceert fysische en chemische veranderingen in de omgeving
  + Intercellulaire communicatie
    - Cel-cel, cel-substraat, receptor-signaal interacties
* Deze functies zijn gerealiseerd door unieke en gereguleerde compositie

2. Membraanstructuur

* Membraan
  + = een viskeuze lipide dubbellaag waarin een mozaïek van proteïnen/ eiwitten ronddobbert
  + Hoeveelheid eiwitten varieert van locatie en affiniteit op basis van hydrofobe eigenschappen
* Ijsbergtheorie
  + Membraan heeft een fluïditeit
    - Alle componenten, lipiden en eiwitten, zijn continu in beweging
  + Membranen zijn geen homogene structuren
    - Bepaalde lipide-proteïne complexen organiseren zich in microdomeinen = lipid rafts = regio’s waar lipiden samenkomen en verdikkingen vormen

3. De lipide dubbellaag

* Onderdelen:
  + Samenstelling
  + Lipidendubbellaag vormt spontaan gesloten compartimenten
  + Lipidendubbellaag
    - Is visceus
    - Heterogeen
    - Asymmetrisch

3.2 Samenstelling

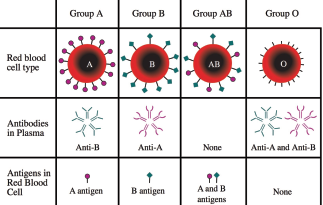
* Lipidensamenstelling
  + is sterk verschillend tussen organellen en cellen van dieren en planten
  + bepaalt de membraanstijfheid en membraandikte
* Lipidendubbellaag bestaat uit:
  + fosfolipiden
  + sterolen: cholesterol
  + glycolipiden

Fosfolipiden

* Er bestaan verschillende soorten van fosfolipiden
  + Esters van vetzuurketen met een ruggengraat van glycerol = fosfoglyceriden
  + Esters van vetzuren met een ruggengraat van sfingose = sfingolipiden
* Belangrijkste fosfoglyceriden
  + Fosfatidylcholine
  + Fosfatidylethanolamine
  + Fosfatidylserine
  + Fosfatidylinositol
* Belangrijkste sfingolipide
  + Sfngomyeline -> dierlijke membranen

Glycolipiden

* Glycolipiden = suikerhoudende lipiden
  + Hebben de meest uitgesproken asymmetrie in de membranen
  + Liggen enkel op buitenste membraan -> associëren daar in lipid rafts op basis van H-bruggen via hun suikerdeel en door hydrofobe interacties met hun onverzadigde koolwaterstofdeel
* Functies:
  + Beschermen epitheelcellen tegen extreme omstandigheden vb: lage pH
  + Spelen rol in cel-cel herkenning
  + Spelen rol in immuunrespons
    - Glycosfinolipiden kunnen antigenen in immunreacties fungeren vb: bloedgroepen
      * Glycolipide A,B,AB,O
      * Patiënt A maakt antilichaam aan tegen bloedgroep B
      * A gaat B herkennen en vernietigen
      * AB kan van iedere groep bloed nemen -> geen antilichamen
      * O = geen glycolipide -> heeft wel antilichamen tegen A en B
        + Wordt niet herkend door patiënten = universele donor
      * Antichamen kunnen binden -> vormen clusters -> agglutineren



Sterolen

* In membraan van de meeste eukaryote cellen
* Cholesterol = meest bekend
  + Kleiner en minder amfipatisch dan fosfolipide
  + Nestelt zich tussen de fosfolipiden in -> membraan stabiliseren

3.1 lipidendubbellagen vormen spontaan gesloten compartimenten

* Membraanlipiden
  + Hebben een amfipatisch karakter
    - hydrofiel aan 1 zijde, hydrofoob aan de andere zijde
    - polaire kopgroep = hydrofiel
    - apolaire staarten = hydrofoob
  + Hierdoor vormen ze in waterige oplossingen spontaan micellen of dubbellagen
    - Dubbellagen zijn enkel stabiel aan een water-vet (hydrofoob/hydrofiel) interface -> zullen in waterige oplossingen zelf opvouwen tot de meest energetische structuur = sfeer of lisosoom
* De dubbele lipidenlaag is dus een zelfregulerend systeem -> daarom 2 lagen nodig!

3.3 lipidendubbellaag is een visceuze vloeistof

* Fosfolipiden mobiliteit:
  + Axiale rotatie =kunnen roteren rond eigen lente-as
  + Laterale diffusie =kunnen binnen 1 laag lateraal diffunderen
  + Flip-flop **=** diffusie tussen de 2 dubbellagen
    - Gebeurt zelden spontaan
    - Enkel als flipases aanwezig zijn = enzym
* Membraanfluïditeit
  + Temperatuursafhankelijk
  + Heeft een kenmerkende transitietemperatuur Tm
    - Hierbij gaat het membraan over van vloeibare naar gelachtige toestand = fase transitie
    - Deze fasetransitie verhindert de membraanfunctie -> wil vloeibaar blijven!
  + Transitietemperatuur verlaagt bij:
    - Meer onverzadigde vetzuren & korte vertzuurketens
      * Dubbele bindingen -> openstaande structuur (knik) -> vetzuren kunnen niet dicht naast elkaar liggen -> losser gestapeld -> lager smeltpunt -> vergroot de fluïditeit
      * Hoe korter hoe moeilijker naast elkaar liggen
      * <-> verzadigde en lange: regelmatige en dichte schikking
    - Meer cholesterol (ambivalente rol)
      * Bepaalt de membraanstijfheid door innesteling tussen de fosfolipiden -> OH groep gericht naar de hydrofiele koppen van de fosfolipiden
      * Bij koude temperaturen gaat membraan hierdoor niet verstarren
      * Tweezijdig gevolg
        + Enerzijds: zorgt voor meer ordening en gestrekte configuratie -> membraan minder vloeibaar bij hoge temperaturen ☹
        + Anderzijds: voorkomt het de gelvorming mij lage temperaturen -> de transitietemperatuur verlaagt 😊
      * Indien geen cholesterol -> geen sterk membraan -> cellen overleven niet
  + Bacteriën, gist en poikilotherme dieren
    - Hun lichaamstemperatuur fluctueert -> gaan hun samenstelling van membraan aanpassen aan groeitemperatuur en kunnen zo vloeibaarheid regelen = homeoviskeuze adaptatie
    - Vb: aantal onverzadigde vetzuurketens aanpassen

3.4 lipidendubbellaag is heterogeen

* Geen random distributie van lipiden in een membraan
  + Dynamisch patchwork van verschillende domeinen
* Lipid rafts
  + = microdomeinen aangerijkt in sfingolipiden, cholesterol en glycoproteïnen
    - Lipiden en glycoproteïnen vormen lipid rafts
  + = regio’s waar lipiden samenkomen en verdikkingen vormen
  + Spelen belangrijke rol bij celsignalisatie doordat ze een concentrerend platform voor proteïne interacties kunnen vormen

3.5 lipidendubbellaag is asymmetrish

* Asymmetrie
  + Alle lipiden worden gesynthetiseerd/ gemaakt op het cytoplasmatische deel vh ER
  + Translocators verdelen lipiden over de 2 membranen
    - De 2 membranen verschillen sterk in samenstelling
    - Gevolg: negatief geladen aan de cytosolzijde
    - Vb: rode bloedcellen
      * Lipiden met een aminogroep liggen in de binnenste monolaag
      * lipiden met choline liggen in de buitenste monolaag
  + De cel houdt zijn asymmetrie in stand met behulp van enzymen vb: flipasen
  + Glycolipiden bevinden zich enkel aan de buitenzijde
    - Worden afgewerkt in het golgi
* Functie asymmetrie
  + Intracellulaire en extracellulaire signaalfunctie
    - Het voorkomen van specifieke cytoplasmatisch geörienteerde componenten van de lipide dubbelmembranen in de buitenste membraan = signaal voor afsterven vd cel
    - vb: fosfatidylinositol
      * Fosfatidylinositol-lipide kinases voegen fosfaat groepen toe aan inositol ring (PI3-kinase)
      * Fosfolipases splitsen de inositol fosfolipide moleculen in 2 fragmenten
      * Apototische cellen transloceren fosfatidylserine naar buitenste membraan

4. Membraanproteïnen

* Vriesbreektechniek
  + Cel of membranen snel bevroren in vloeibaar stikstof -> daarna harde slag -> breukvlak is het hydrofobe midden van de dubbellaag (zwakste) -> binnenzijde van het membraan wordt zichtbaar!
    - Levert een beeld van de positie van eiwitmoleculen in de membraan
    - Benadrukt de asymmetrie vh membraan

4.1 Classificatie van membraanproteïnen

* Membraanproteïnen verschillen in hun affiniteit voor het hydrofobe binnenste
  + Verschillen hierdoor ook in de mate van interageren met de membraan
* 3 groepen
  + Integrale membraanproteïnen
  + Perifere membraanproteïnen
  + lipide-verankerde membraanproteïnen

4.1.1 Integrale membraanproteïnen

* Integrale membraanproteïnen
  + Amfipatisch karakter
    - Beschikken over 1 of meer hydrofobe regio’s
      * ze vertonen affiniteit voor het midden van het membraan
    - Beschikken ook over hydrofiele regio’s die uit het membraan steken
  + Ze overspannen het hele membraan met hydrofiele uitsteekstel aan beide zijden
    - Ze hebben een cytoplasmatisch, transmembraan- en extracellulair domein **= transmembraanproteïnen**
  + Configuratie:
    - Bestaan uit α-helix of β-sheet
      * Α-helix = proteïne moet hydrofoob zijn
      * B -sheet= proteïne kan zowel hydrofoob als hydrofiel zijn
    - In een cilindrische conformatie vormen ze β-barrels
      * Verschillende β-sheets worden samengebracht met de hydrofiele groepen naar binnen en de hydrofobe naar buiten gericht
      * Ontstaat een hydrofiel kanaal -> selectief doorlaatbaar
      * Vaak bij poriën
  + Proteïne kan single pass (1x) of multi-pass door membraan geplooid zijn
* Hydropathie index
  + = beschrijft de vrije energie die nodig is om opeenvolgende polypeptidesegmenten van non polair solvent naar water over te brengen
  + = voorspelt of welke affiniteit een molecule heeft voor water
    - Veel energie -> AZ = hydrofoob = hoge pieken
    - Weinig energie -> AZ = hydrofiel
  + Zegt alleen of transmembraansegmenten hydrofoob of hydrofiel zijn, niet hoeveel!

4.1.2 Perifere membraanproteïnen

* Perifere membraanproteïnen
  + Hebben geen hydrofobe regio’s
  + Associëren aan één kant via zwakke van der waalskrachten en H-bruggen met integrale membraaneiwitten, fosfolipiden en glycolipiden
  + Eenvoudig weg te wassen

4.1.3 Lipide-verankerde membraanproteïnen

* Lipide-verankerde membraanproteïnen
  + Nestelt zich aan één kant van het membraan
  + Membraanproteinen zijn covalent gebonden aan een lipide groep
  + Koppeling
    - Aan binnenste zijde: gekoppeld aan vetzuur of isoprenylgroep
    - Aan buitenste zijde: verankerd via glycosylfosfatidylinositol of GPI anker
      * GPI rol in signaaltransductie

4.2 Proteïnen zijn ook asymmetrisch verdeeld

* Extracellulair
  + Glycosylatie en disulfide bindingen
* Cytosol = reducerende milieu
* Glycocalix = glycoproteïnes + glycolipids
* Functies:
  + Bescherming (epitheel)
  + Celherkenning (moleculaire signatuur)
  + Elektrische effecten (ladingen)

4.3 Mobiliteit van membraanproteïnen

* Membraanlipiden zijn mobiel -> membraaneiwitten ook
  + Proteïnen zijn wel variabeler in de mate van mobiliteit
  + Sommige eiwitten kunnen vrij diffunderen en andere worden sterk afgeremd
* Bewijs 1 mobiliteit
  + Gebruik maken van soort-specifieke antilichamen -> gemerkt met verschillend gekleurde fluorescente stoffen
  + Bij 4°C -> vloeibaarheid vh membraan is zo laag -> membraaneiwitten bewegen niet
  + Bij 37 °C -> gemerkte moleculen verspreiden door passieve diffusie over het gehele membraan + vermengen zich volledig -> waarnemen via fluorescerend materiaal
* Bewijs 2 mobiliteit
  + Ontdekking van patching = cellen incuberen met antilichamen die binden met specifieke integraalproteïnen
    - eerst verspreiding van de antilichamen
    - daarna vormen ze groepjes in 1 gebied van het celoppervlak = capping
    - laterale diffusie gemeten via fotobleking -> hoe snel de fluorescentie weer verschijnt na fotobleking van een kleine regio met sterk gefocuste laserbundel = fluorescence recovery
* Restricties in mobiliteit
  + Veel cellen hebben de mogelijkheid om de beweeglijkheid van bepaalde membraaneiwitten op grote schaal te beperken
  + Kan beperkt worden door verschillende interacties in en tussen cellen:
    - Door interactie met componenten in de cel
    - Door interactie met componenten uit de cel
    - Door interactie met componenten op de membraan van een andere cel
    - Door fysische barrières in gepolariseerde cellen
  + Interactie met componenten in de cel
    - Cortex
      * = raamwerk van transmembraanproteïnen en filamenten (spectrines)
      * Geeft mechanische steun en limiteert proteïne diffusie (koraalbeweging = beperkte mobiliteit afwisselen met grote kortstondige verplaatsingen)
        + Bij membraan van de rode bloedcellen -> spectrines vormen de linkermolecule met het corticaal cytoskelet
        + In andere cellen -> spectrine achtige moleculen vormen netwerk tegen de cytoplasmatische zijde vd celmembraan -> zetten barrières op -> mobiliteit van proteïnen wordt zo beperkt tot kleine regio’s
    - Tight junctions
      * = intercellulaire fysische barrières in celmembraan
      * = afsluitende celverbindingen die typisch worden teruggevonden in het epitheel vd darmwand
      * Functie
        + Het verhinderen vd beweging van membraanproteïnen vd apicale naar de basale zijde van de membraan
        + Het blokkeren van het binnendringen van vreemde stoffen tussen de cellen

5. Kernpunten

* Membranen zorgen voor compartimentalisatie, lokalisatie van functie, selectief transport, signaaldetectie en intercellulaire communicatie
* Biologische membraan is een lipidendubbellaag: uit fosfolipiden, cholesterol en glycolipiden met proteïnen erin. De fluïditeit wordt bepaald door de specifieke samenstelling
* Membranen zijn viskeus, heterogeen en asymmetrisch en dit heeft een 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 mobiel, maar kunnen beperkt worden in hun mobiliteit door de verankering aan de cytoplasmatische of extracellulaire zijde, interacties met andere cellen of fysiologische barrières.
* kan beperkt worden door verankering aan cytoplasmatisch of extracellulaire zijde,
* Specifieke lipiden en glycoproteïnen vormen lipid rafts