**BIOCHEMIE HOOFDSTUK 11: Biologische membranen en transport**

1. De Samenstelling en Architectuur van Membranen

* Membraanfunctie bestuderen aan de hand van compositie
  + Membraan uit proteïnen en polaire lipiden -> bijna alle massa membraan
  + Koolhydraten als deel glycoproteïne
* Membranen
  + = vormen de buitenste grenzen van cellen
  + Controleren het moleculair transport doorheen het membraan/ de grens
    - => (slecht) ondoorlaatbaar voor wateroplosbare moleculen
  + Verdelen de cel in compartimenten
    - => essentieel voor metabolische functies
    - => functies kunnen verdeeld w in de cel
  + Maken selectieve compartimenten door controle door eiwitten
    - Membranen bevatten eiwitten voor selectieve functies: transporters, receptoren, aanhechtingsmoleculen, ...
  + = 2dimensionaal
    - => vergroting van interacties van eiwitcomplexen (betere interacties)
    - => verhoogde probabiliteit enzymatische reacties

1.1 Elke membraantype heeft karakteristieke lipiden en eiwitten

* Membraan
  + Elk membraan is opgebouwd uit karakteristieke lipiden en eiwitten
  + Lipidensamenstelling varieert met organeltype, celtype en ontwikkelingsstadium
* Examen: waar zit variatie in lipidensamenstelling van membranen & in welke groepen zit variatie? (p2 en p3 en p4… geven)
* Ppt p2 = verschillen tussen membranen van **organismen** (het plasmamembraan)
  + Eiwitproporties en lipiden variëren met type van membraan
  + Vb: neuronen hebben myeline sheath (=PM) => bevat vooral veel lipiden
    - Reden: lipiden zijn goede isolators
  + Vb: PM van bacteriën => bevat meer proteïnen dan lipiden
    - Reden: sites voor vele enzym gekatalyseerde processen
* Ppt p3 = verschillen tussen membranen van de **organellen** 
  + In alle organel membranen: dominantie fosfatidylcholine & fosfatidylethanolamine & (sfingolipiden)
  + PM: veel cholesterol & sfingolipiden, maar geen cardiolipin
  + Mitochondriale membranen: weinig cholesterol & sfingolipiden, maar veel cardiolipin (gesynthetiseerd in mitochondrion)
  + Sfingolipiden => lipid rafts
    - Sommige membraanproteïnen zijn covalent gebonden aan lipiden
    - = hydrofobe ankers die het proteine tegen het membraan houden

1.2 Alle biologische membranen hebben een aantal gemeenschappelijke eigenschappen

* Biologisch membraan
  + Eigenschappen
    - Doorlaatbaar voor apolaire moleculen, niet voor polaire
    - Ca. 5-8 nm dik (proteïne beide kanten meegerekend)
  + Structuur
    - Vloeibaar mozaïek model met eiwitten in een ‘zee’ van membranen
      * Reden: Vloeibaar want geen covalente interacties
      * Gevolg: Lipiden en proteïnen kunnen vrij bewegen
    - Fosfolipide dubbellaag
      * Niet-polaire groepen naar binnen & polaire koppen naar buiten
        + => polaire koppen interageren met waterige fase
    - Eiwitten in de dubbellaag
      * Intrinsieke -, perifere eiwitten, ankers en sterolen
        + Intrinsieke helemaal of gedeeltelijk in membraan
      * Oriëntatie van eiwitten in de membraan is asymmetrisch => geeft het membraan ‘sidedness’/ eenzijdigheid
        + = proteïne domein blootgesteld aan 1 kant vh membraan is anders dan blootgesteld aan andere kant => functionele asymmetrie

1.3 De lipiden-dubbellaag is het belangrijkste structurele element

* Fosfolipiden in water => spontane vorming van aggregaten
  + Hydrofobe interacties = deze vorming/clustering van de hydrofobe moleculaire opp. in waterig milieu (≠ chemische interactie hier)
  + Hydrofiele koppen naar waterig milieu + hydrofobe naar binnen
    - Gevolg: reduceren van aantal hydrofobe opp. blootgesteld aan water
    - = thermodynamisch beste structuur
  + Verschillende vormen aggregaten
    - micellen: sferische structuur met hydrofobe delen in centrum en hydrofiele naar buiten
    - dubbellagen: twee lipiden lagen vormen dubbellaag
      * probleem: aan de zijkanten hydrofobe delen in contact met water
      * gevolg: instabiel => dubbellaag plooit tot holle sfeer => stabiel
        + = liposoom/vesikel
* Membraanlipiden-samenstelling evolueert met ontwikkeling
  + 1) Synthese membraanlipiden & eiwitten in het ER
  + 2) Lipiden en eiwitten bewegen in vesikels naar cis golgi & fuseren
  + 3) Door het Golgi bewegen: van cis naar trans
  + 4) Bewegen van trans Golgi naar PM of ander organel
  + Algemeen: dit membraan trafficking gaat gepaard met veranderingen in samenstelling lipiden
    - Vb: fosfatidylcholine in golgi, maar in vesikels die trans golgi verlaten is dit vervangen door cholesterol en sfingolipiden => fusie met PM => PM zal cholesterol en sfingolipiden bevatten
  + Conclusie: er zijn enzymen in golgi die lipiden modificeren gedurende rijping in golgi
* PM lipiden zijn asymmetrisch verdeeld over de twee lagen van de membraan
  + Buitenlaag: fosfatidylcholine en sfingomyeline
  + Binnenlaag: fosfatidylserine, fosfatidylethanolamine en fosfatidylinisitols

1.4 Types membraaneiwitten verschillen in hun associatie met de membraan

* Types membraaneiwitten
  + Integrale eiwitten (gedeeltelijk of volledig)
    - = 'stevig verbonden'
    - = enkel oplosbaar met detergenten, organische solventen,….
    - => Sterk interageren met hydrofoob deel
    - Vb: α-helices, β-barrels
  + Perifere eiwitten
    - = los gebonden aan membraan door zwakke bindingen (elektrostatische interactie, H-bruggen)
    - = oplosbaar met detergenten, zoutconcentraties, hoge pH
  + Amfitrope eiwitten
    - = ‘membraangebonden’ eiwitten
    - = niet-covalente interactie met membraaneiwit of -lipide of covalent gebonden aan lipide anker

1.5 Hydrofobe zones van integrale membraaneiwitten associëren met membraanlipiden

* Integrale membraaneiwitten
  + Hun hydrofobe zones interageren met membraanlipiden
    - Soms meerdere keren door membraan (meerdere hydrofobe sequenties)
    - AZ keten in membraan meestal α-helix
    - Gevolg: integrale eiwitten zijn stevig gebonden aan membraanlipiden want zou veel EN kosten indien hydrofobische zones verplaatsen van contact met membraanlipiden naar contact met water
  + Hun hydrofobe zones interageren met annulaire lipiden
    - = fosfolipiden in associatie met oppervlakte van eiwit (vb aquaporine)
    - = fosfolipiden die niet covalent aan een eiwit hangen & daarmee het eiwit verankeren in het membraan
    - Vb: aquaporine = integraalmembraaneiwit
      * Hieraan zijn aantal lipiden aan gefosforyleerd => indien detergenten => vallen nog altijd niet uit elkaar

1.6 De topologie van een integraal membraaneiwit kan soms worden voorspeld door de sequentie

* Topologie = ruimtelijke structuur van eiwit tov membraan
* Integraal membraaneiwit
  + 3D structuur / kristalstructuur (topologie) van membraaneiwitten moeilijk te bepalen
    - Reden: membraaneiwitten kristaliseren slecht uit want slecht wateroplosbaar => we krijgen geen stabiel rooster
  + Oplossing: bepalen van de hydropathie index en hydropathie plot
* Bepalen van hydropathy index en hydropathy plot
  + Methode
    - analyseren AZ sequenties => zo voorspellen of het integrale membraaneiwitten zijn (2° structuur)
    - aanwezigheid van > 20 hydrofobe AZ is aanwijzing voor transmembraan **helix** of membraan **anker** 
      * reden: > 20AZ dan lang genoeg om door membraan te gaan
  + Hydropathie plot
    - = truc van noise reductie
    - = manier om in 1° sequentie te speuren naar potentiële transmembraaneiwitten **(helices of ankers)**
    - Voorstelling: grafiek
      * X-as: residu nummer vb: eiwit glycoforine 130AZ
      * Y-as hydropathie index
    - Principe:
      * voor elk AZ kijken naar de hydropathie index
  + Hydropathie index
    - = zegt iets over de hydrofobiciteit v/e AZ
    - = de verandering in vrije energie wanneer een bij het verplaatsen van een AZ van een hydrofoob solvent naar water
      * Positief => hydrofoob
      * Negatief => hydrofiel
    - Het is de **gemiddelde** hydropathie index => venster genomen
      * Vb: op plaats 50 -> hydropathie index = -3
        + Dwz -3 is de gem. hydropathie v/e aantal AZ rond het AZ op plaats 50
      * Reden: door venster of gemiddelde te nemen => ruis uit data halen
      * Opmerking: goede keuze van venster is belangrijk
        + => wil ruis wegfilteren maar geen informatie
        + Vb: venster 5AZ veel ruis => venster 30AZ minder ruis => venster 150AZ geen ruis, geen info
* Extra: **β-barrel**
  + = kunnen naast α helices ook transmembraaneiwitten vormen
  + = veel voorkomen motief in integrale membraaneiwitten
  + Vorming
    - 20 of meer transmembranaire segmenten vormen β-sheets die een cilinder vormen = β-barrel
    - Optimale H brug vorming tussen de β-sheets

1.7 Covalent gebonden lipiden verankeren sommige membraaneiwitten

* Sommige eiwitten in membraan verankerd door covalent te binden met lipiden
  + De vastgehechte lipide heeft een hydrofoob anker
    - => steekt in de lipidendubbellaag
    - => bindt het eiwit covalent & verankerd het eiwit
* Lipide-linked membraanproteïnen
  + Aan BINNENKANT membraan
    - Vb: palmitoyl groep vastgemaakt door thioester binding met Cys (of Ser)
    - Vb: farnesyl / geranylgeranyl vastgemaakt aan C-terminaal Cys
  + aan BINENNKANT & BUITENKANT membraan
    - Vb: N myristoyl groep vastgemaakt aan een amino-terminaal Gly
  + Aan BUITENKANT membraan
    - Vb: GPI anker
      * = glycosyl fosfatidylinisitol (fosflipide, glycerol, fosfaat) + suikers + fosfaat + ethanolamine + eiwit
        + => suiker is covalent gebonden aan terminale C vh eiwit door ethanolamine
      * Functie: Hechten van eiwitten aan membranen door lipiden

2. Membraandynamica

* Membranen
  + = beweeglijk = vloeibaar
  + Dynamica
    - **(1)** Beweging in vlak ~ Temperatuur ~ vloeibaarheid
    - **(2)** Beweging van ene naar andere zijde vh membraan
    - **(3)** Lipid rafts

2.1 De acyl-groepen zijn in verschillende mate geordend **(1)**

* Acylgroepen zijn in verschillende mate geordend **(1)**
  + De structuur en flexibiliteit van de membraan varieert met de temperatuur
    - T < fysiologisch T: gel fase / parakristallijne dubbellaag
      * => beperkte beweeglijkheid (acyl ketens)
    - T > fysiologisch T: vloeibare toestand /vloeibaar-ongeordend
      * => wel beweging in acyl ketens
    - T = fysiologisch T: vloeibaar-geordende toestand
      * => weinig beweging in acyl ketens
      * => beweging in vlak van membraan mogelijk
  + Sterolen
    - = vlakke structuur
    - => beïnvloeden de vloeibaarheid vh membraan
      * Sterolen die interageren met fosfolipiden die onverzadigde vetzuur acyl ketens hebben => pakken deze samen => zorgen voor minder beweging in dubbellaag
      * Sterolen die interageren met sfingolipiden en fosfolipiden die verzadigde vetzuur acyl ketens hebben => zorgen voor meer beweging dubbellaag => vloeibaar
    - Bij normale/fysiologische T
      * Membraan normaal vloeibaar-geordend
      * => sterolen verhinderen vloeibaarheid
      * => verhinderen beweging van acyl-ketens
      * Conclusie: meer sterolen => minder vloeibaar
    - Bij lagere/ sub-fysiologische T
      * Membraan normaal teveel gel/ weinig vloeibaar
      * => sterolen fixen minder dichte pakking van moleculen=> sterolen stimuleren vloeibaarheid
  + Vetzuurcompositie & verzadigingsgraad
    - Lange verzadigde vetzuren => gel fase
    - Onverzadigde vetzuren => knikken => minder goede pakking => vloeibaar
* Lipidensamenstelling varieert met groeicondities om membraanfluïditeit constant te houden onder verschillende temperaturen
  + Vb: bacteriën
    - Bij lage T: bacteriën synthetiseren meer onverzadigde vetzuren => meer knikken => meer beweeglijkheid => vloeibaar
    - Conclusie: zowel bij lage als hoge T vloeibaar in bacteriën
* Conclusie: wat beïnvloedt beweeglijkheid/ vloeibaarheid?
  + 1) inbouwen sterolen
  + 2) veranderen van vetzuren & verzadigingsgraad

2.2 Trans-dubbellaag beweging van lipiden vereist katalyse **(2)**

* Trans-dubbellaag beweging van lipiden **(2)**
  + = beweging loodrecht/verticaal door membraan
  + Vereist katalyse
    - Reden: moeilijk want polaire groep moet door hydrofobe omgeving naar andere kant
    - => kost EN => dus gekatalyseerde reactie
* Principe: Flip flop diffusie v/e lipide
  + Nadeel: gebeurt zeer traag
  + Flipflop ondersteund door aantal eiwitten/ enzymen
    - => zullen de hydrofiele kop in hydrofoob deel brengen => ∆G >0
    - => helpen maw de lipiden van de ene naar andere kant vh membraan
    - Flippase
      * = verwant aan P type ATPasen (hydrolyseert ATP)
      * = enzymen die fosfatidylethanolamine PE en fosfatidylserine PS van buitenkant naar binnenkant (cytosol) verplaatsen
      * => ATP/ energie nodig
    - Floppase
      * = leden van de groep ABC transporters
        + ABC transporters transporteren actief hydrofobe substraten naar buiten
      * = enzymen die fosfolipiden (algemeen) van binnenkant (cytosol) naar buitenkant verplaatsen
      * => ATP/ energie nodig
    - Scramblasen
      * = enzymen die fosfolipiden (algemeen) volgens de concentratiegradiënt doorheen het membraan verplaatsen
        + hoog -> laag
      * => gefaciliteerde diffusie
      * => geen ATP nodig (EN komt vd concentratiegradiënt)
* Flipflop => Controle van asymmetrie en membraankromming
  + Asymmetrie membraan:
    - Buitenlaag: fosfatidylcholine en sfingomyeline
    - Binnenlaag: fosfatidylserine, fosfatidylethanolamine en fosfatidylinisitols
  + Wanneer plots fosfatidylserine aan buitenkant is
    - => triggert apoptose (celdood)

2.3 Lipiden en eiwitten diffunderen lateraal in de lipiden-dubbellaag **(1)**

* Laterale diffusie van lipiden en eiwitten **(1)**
  + = beweging horizontaal in het vlak vh membraan
  + Voordeel: zeer snel
* 2 experimenten om laterale diffusie **lipiden te** volgen
  + => fluorescerende proben binden aan polaire kopgroepen van lipiden
  + 1) FRAP
    - = f luorescence r ecovery a fter p hotobleaching volgen
    - Doel: de laterale diffusiesnelheid meten
    - 1) Cel gecoat met fluorescerende molecule => fluorescerende molecule bindt covalent met lipiden
    - 2) Kleine regio vd chromofoor uitbleken met laserstraal (5 μm2)
    - 3) Fotonen bleken de chromoforen/pigmentmoleculen => ‘lijkt gat in membraan’
    - 4) Fluorescente/ongebleekte lipiden diffunderen naar gebleekte regio & gebleekte lipiden diffunderen weg
    - 4) Herstel van fluorescentie meten -> snelheden ca. 1 μm/s
    - Conclusie: de laterale diffusiesnelheid is ca 1 μm/s
  + 2) ‘Single particle tracking’
    - = bewegingen van 1 enkele molecule volgen
    - Conclusie: lipiden diffunderen lateraal binnen smalle, discrete zones (afgelijnde gebieden)
      * Beweging van ene naar andere zone is zeldzaam
      * => gaat wel via hop diffusie
    - Reden: proteïnen verbonden met cytoskelet => vormen de afbakening/hekken van de zones waarin lipiden ku bewegen => bewegingsbeperking
      * Er zijn onderliggende structuren die eiwitten verankeren vb: spectrine (cytoskeletachtig proteine)

2.4 Sfingolipiden en cholesterol clusteren samen in membraan ‘rafts’ **(3)**

* Lipidraft Lipiden verdeling in één enkel ‘blad’ van de membraan is niet willekeurig
  + Sfingolipiden (lange verzadigde vetzuren) kunnen tijdelijke clusters vormen, zonder glycerofosfolipiden (1 onverzadigde keten & 1 verzadigde)
    - Gevolg: de lange verzadigde ketens van sfingolipiden => ku meer compacte, stabiele associaties vormen met ringsysteem van cholesterol
    - => grotere oplosbaarheid van cholesterol in deze groep sfingolipiden
      * => vorming van sfingolipide-cholesterol rafts
* Lipide rafts
  + = clustering van sfingolipiden en cholesterol in membraan
  + = sfingolipide-cholesterol rafts /microdomeinen
  + = zones in membraan die gespecialiseerd zijn
  + Kenmerken
    - Maken de membraan iets dikker en meer geordend (minder vloeibaar)
    - Relatief aangereikt in integrale membraaneiwitten
      * Met 2 types lipide hechtingen
      * 1) integraal proteïne heeft 2 lang-keten vetzuren covalent gebonden aan Cys
      * 2) integraal proteïne is via GPI anker gebonden
    - Concentratie van specifieke eiwitten verhoogt kans op interactie
  + Verschillen van het membraan vd raft met gewone membraan:
    - 0) dikker membraan en meer geordend, minder vloeibaar
    - 1) veel langere vetzuurstaarten
      * Reden: Want dikker membraan om te overbruggen
    - 2) meer sfingolipiden
      * Reden: Want glycerofosfolipiden worden weggedreven
    - 3) hoge cholesterol concentraties
      * Reden: cholesterol is oplosbaarder
    - 4) concentratie van specifieke eiwitten
      * Reden: aanreiking
      * => hierdoor een concentratie van functies
      * => verhoogt kans op interacties
    - 5) meer GPI ankers
      * Reden: Aanreiking

3. Transport van opgeloste stof door membraan

3.1 Algemeen

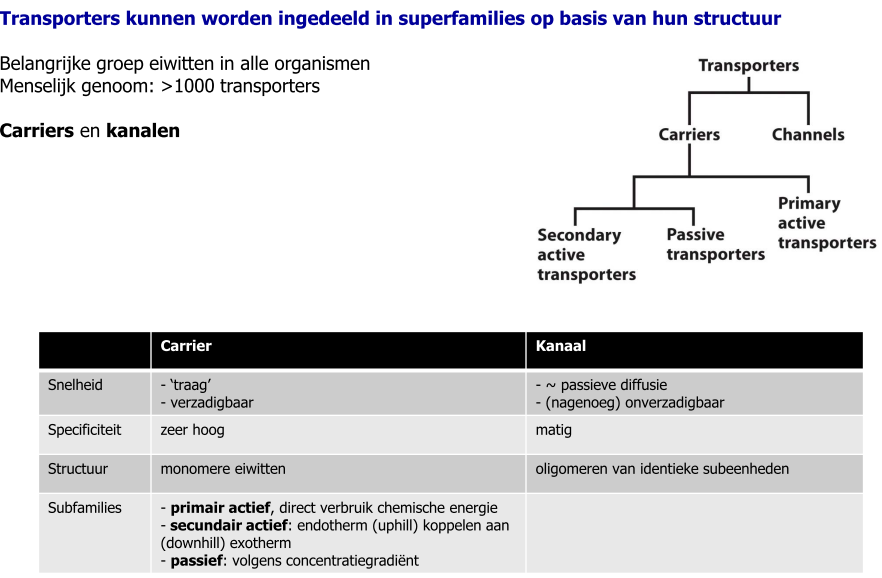
* Membraan is ondoorlaatbaar => transport nodig
* Soorten transport
  + 1) simpele diffusie
    - Apolaire moleculen
    - Met concentratiegradiënt mee
  + 2) Gefaciliteerde diffusie (passief transport) => transporter: Carrier
    - = diffunderen als er een pad/weg is (eiwitten) die open staan
    - Met elektrochemische / concentratie gradiënt mee
  + 3) 1° actief transport => Transporter: Carrier
    - = eiwit dat transport regelt, voorziet zelf de energie
      * Door hydrolyse ATP, door chemische reactie
      * Sommige door lichtenergie
    - = direct verbruik van chemische EN
    - EN nodig
    - Tegen of met elektrochemische gradiënt (gaat allebei)
  + 4) 2° actief transport => Transporter: Carrier
    - = als er een gradiënt bestaat van een ion, die concentratiegradiënt gebruiken voor transport van andere moleculen
    - = endotherm (uphill) koppelen aan (downhill) exotherm
    - = cotransport
    - Tegen of met concentratiegradiënt / elektrochemische gradiënt
    - Reden 2°: want er moet eerst een concgradient gemaakt worden door 1° actief transport
  + 5) Ionenkanalen => Transporter: kanalen
    - Geen EN nodig
    - Met elektrochemische gradiënt mee
    - Kunnen gated zijn door ion of ligand
  + 6) Ionoforen
    - = als eiwit aan oppervlak een ion bindt => lading ion wordt afgeschermd door een hydrofobe omgeving
      * => eiwit beweegt met ion door het membraan => laat ion los
    - Met elektrochemische gradiënt mee
* Transporteiwitten / transporters => zorgen voor CONTROLE
  + Door structuur eiwit => specificiteit regelen & transportsnelheid

3.2 Passief transport wordt gefaciliteerd door membraan eiwitten

* Begrippen
  + Indien concentratieverschil over permeabele membraan => diffusie
    - Opgeloste deeltjes gaan van hogere naar lagere conc. diffunderen tot gelijke concentratie
  + Indien (netto) ladingsverschil over membraan => transmembraan elektrische gradiënt
    - = membraanpotentiaal (Vm)
      * = enkel verschil van lading overheen membraan
      * Vm >0: meer pos. lading in cel dan buiten
      * Vm<0: meer neg. lading in cel dan buiten
  + => membraanpotentiaal beïnvloedt beweging van deeltjes over membraan
  + => beweging van geladen deeltje bepaald door concentratiegradiënt én ladingsgradiënt
    - = elektrochemische potentiaal / gradiënt
* Transport definitie:
  + Bewegen van polair of geladen deeltje (in oplossing) door membraan
    - => opheffen van watermantel rond het deeltje
    - => diffusie door hydrofobe zone (deeltje is weinig opgelost hierin)
    - => hoge activatie energie / hoge EN barrière
      * Gevolg: membraan bijna impermeabel voor polaire/geladen mol.
    - => deeltje terug in oplossing gaan aan andere kant vh membraan
      * Door de hydratatie/ watermantel vorming aan andere kant vh membraan => wordt EN om watermantel te verwijderen + door membraan te bewegen wel teruggewonnen
  + Ppt foto
    - Simpele diffusie: heel hoge ENbarrière om watermantel los te maken, maar energie wel teruggewonnen indien deeltje terug in oplossing gaat
* Integrale membraaneiwitten
  + Een membraaneiwit voorziet een alternatieve omgeving waar molecule in oplossing kan gaan (een hydrofiele omgeving)
    - = gefaciliteerde diffusie
    - => controle!
    - => activatie EN/ ENbarrière verlaagt
  + Mechanisme
    - 1) Ligand associeert met eiwit door zwakke interacties
      * => hieruit komt energie vrij
    - 2) Energiewinst door binding compenseert verlies watermantel
    - 3) Dus activatie-energie/ verlaagt
    - Conclusie: ‘alternatieve route’ met lagere ‘activatie’ energie
      * => gefaciliteerde diffusie (passief transport)
  + Transporters (permeasen)
    - Eiwitten vormen kanalen met hydrofiele ‘core’
    - Substraatspecificiteit !

3.3 Transporters kunnen worden ingedeeld in superfamilies op basis van hun structuur

* Transporters
  + Belangrijke groep eiwitten in alle organismen
  + In menselijk genoom >1000 transporters
  + 2 soorten: carriers en kanalen (zie tabel!!)
    - Indelen in superfamilies op basis van hun structuur
    - Kanalen
      * = poriën waarlangs vooral ionen w doorgelaten
      * Onverzadigbaar: meer ionen toekomen => meer transport (sneller)
    - Carriers
      * Verzadigbaar: als meer substraat, ligand of molecule erbij komt => transport gaat niet altijd sneller
        + => er is een punt waar snelheid niet meer toeneemt indien men meer S/ moleculen/ ionen toevoegt



3.4 De glucose transporter van erytrocyten ondersteunt passief transport

* GLUT = glucose transporter
* GLUT1
  + **Passief transport**
  + = glucose transporter die erytrocyten/ RBC voorziet van suiker/ glucose
    - RBC (erytrocyt) strikt afhankelijk van bloed glucose voor metabolisme
    - Glucose in bloed beweegt in cel door GLUT1
  + Structuur
    - type III integraal eiwit (dwz veel alfa helices)
    - ~ 45 kD
    - 12 transmembraan helices
    - Hydrofiel kanaal (amfipatisch)
      * AZ residuen die in membraan zitten zijn zeer hydrofoob
      * => Residuen organiseren zich zo dat 1 kant helix hydroob is en 1 kant hydrofiel voor transport glucose
      * => cluster helices lijnt zich zo op dat polaire kanten naar elkaar zijn & hydrofobe kanten interactie met membraan
        + => hydrofiel kanaal vormen
  + Mechanisme
    - Glucose bindt GLUT => conformatieverandering T1 naar T2 => vrijstellen glucose in cytoplasma aan andere kant => herstel conformatieverandering T2 naar T1 => klaar om nieuwe glucose te binden
      * Binding is reversibel!!!
      * ~ Rocking banana
  + Kinetiek: Vergelijking met enzymatische reactie
    - Grafiek
      * Extracellulaire glucose conc x-as & V0 op y-as
      * Vmax want carrier is verzadigbaar
      * => hoe snelheid varieert met de extracellulaire glucose conc.
    - Kt ≈ Km (zegt iets over transport)
      * = affiniteit voor substraat
      * = staat in verband met concentratie
      * Als Kt=S => V0 = 1/2Vmax
    - Glucose in bloed: 4.5-5mM & GLUT1 Kt=1,5mM voor D-glucose
      * => affiniteit Kt lager dan concentratie in bloed
        + Gevolg: carrier zal altijd bezet zijn = grote snelheid
      * > 3000mM voor L-glucose => ≠ specifiek tov 1,5mM
  + Tabel
    - GLUT1 = 1 lid van een gen/eiwitfamilie / glucosetransporters
    - Deze 12 GLUT’s kennen we door de bioinformatica
      * Door sequenties in menselijk genoom te vglen met sequenties van transporters waarvan we de sequentie al kenden
    - GLUTs verschillen: GLUT’s zijn niet gelijk verdeeld over de weefsels
      * In sommige weefsels doen 1ne GLUT het beter dan de ander
    - Observatie:
      * 1) hoe weten in welke weefsels, als niets weten van de GLUTs?
        + Via transcriptieanalyse => ipv naar DNA (genoom) naar mRNA kijken => mRNA vglen met elke sequentie
      * 2) possibly no transport function
        + Voorspellen obv DNA sequenties => hierdoor toch niet alle functies kennen

3.5 Defect glucose en watertransport in twee vormen van diabetes

* Diabetes
  + 0) GLUT4 opgeslagen in membranen van vesikels
  + 1) Maaltijd => bloed glucose > 5mM (hoog!)
  + 2) Hierdoor verhoging vh insuline gehalte vrijgelaten door pancreas
  + 3) Insuline bindt met receptor => triggert beweging vd vesikels naar PM
    - => wnnr vessikels fuseren met PM => meer GLUT4 in PM brengen
  + 4) meer GLUT4 in actie => 15X verhoogde glucoseopname
    - Reden: GLUT4 helpt bij het opnemen van overtollige glucose door myocyten en adipocyten
  + 5) Wanneer dan bloed glucose conc. normaal wordt => insuline level daalt => GLUT4 verwijderd van PM door endocytose => GLUT4 opgeslagen in vesikels
  + Conclusie: activator van de receptor door insuline controleert of GLUT aanwezig is
* Type I diabetes (juveniele diabetes)
  + = als het vorige mechanisme niet werkt
  + = onvermogen om insuline vrij te stellen & dus om GLUT transporters te bewegen
    - => resulteert in lage glucoseopname in spieren en vetweefsel
    - Gevolg: een langdurige periode van hoog bloed glucose
  + = insuline-afhankelijk

3.6 Actief transport levert beweging van moleculen tegen concentratie of elektrochemische gradiënt

* Actief transport
  + Levert beweging van moleculen tegen concentratie of elektrochemische gradiënt
  + Opname tegen een concentratiegradiënt
    - EN toevoer nodig: zonlicht, redox, ATP afbraak, co-transport
    - 1° actief: directe koppeling met exotherme reactie (e.g. ATP afbraak)
      * => ATP hydrolyse => EN vrij => beweging tegen gradiënt
    - 2° actief: koppeling van exotherm en endotherm transport
      * => Gradiënt gemaakt door 1° actief transport => 1ne molecule mee met gradiënt voorziet EN voor cotransport
      * Antiport = Als de 2 substraten in de tegengestelde richting bew.
      * Symport = Als de 2 substraten in dezelfde richting bewegen
* Als netto ladingstransport => dan transport proces = elektrogeen
  + = transport dat een elektrische potentiaal produceert
* Energie voor transport
  + ~ elektrochemische potentiaal
  + ~ lading en concentratieafhankelijk -> ΔGt = RT ln (C2/C1) + Z F Δψ
  + F: Faraday Cte; Z: lading; Δψ: membraanpotentiaal (~ 0,05 V)

3.7 P-type ATPasen ondergaan fosforylering tijdens de katalytische cyclus

* P-type ATPasen
  + = familie van actieve transporters
  + = kation transporters
    - => eiwitten die H+ uit cellen pompen
  + = integraal proteïnen
  + Functie: katalyseren ionen transport/uitwisseling
  + Naamgeving: worden reversibel gefosforyleerd op Asp door ATP
    - fosforylatie op Asp => conformatieverandering=> voor H+ beweging door membraan
  + Structuur:
    - Zie SERCA
  + Vanadaat als inhibitor
    - Lijkt op fosfaat => kan fosforylering verstoren door binding op ATPAsen
  + > 70 in menselijk genoom
  + Vb: Ca2+ ATPase = EN gebruiken om Ca2+ te transporteren
  + Vb: Na+K+ ATPase = Na en K uitwisselen door ATP hydrolyse
  + Vb: flippase, planten PM P-type ATPase
* Vb: SERCA pompen
  + = P ATPasen pomp (transmembranair deel)
  + = sarcoplasma en ER Ca2+ ATPase pomp
  + Functie: transport Ca2+ in PM en ER
  + Structuur
    - 1 polypeptide
    - ~ 110kDa
    - Domeinstructuur:
      * N domein: nucleotide (ATP) en Mg2+ binding domein
      * P domein: rol:
        + 1) als Ca bindt => ATP kan binden
        + 2) ATP => ADP => subeenheid w gefosforyleerd (op Asp)
        + 3) Fosforylering van ASp => ∆ conformatie => Ca2+ vrij
      * M domein: transmembraan
      * A domein: actuator

3.8 ABC transporters gebruiken ATP voor het actief transport van een variëteit aan substraten

* ABC transporters
  + Functie: transporteren AZn, peptiden, eiwitten, metaalionen, lipiden, ...
    - Tegen concentratiegradiënt
  + Structuur
    - 2 “ATP binding cassette (ABC) (motief)
      * = eiwitplek voor binding ATP (nucleotide)
    - 2 (of meer) transmembraan domeinen met elk 6 transmembraanhelices
  + Energie: ATP binding met substraat maakt EN vrij voor transport
    - ca. 1 ATP / substraat molecule
  + Voorkomen:
    - Meestal in PM, maar ook in ER, mitochondria en lysosomen
    - Wijd verspreid: 48 genen in mens dat ABC transporters coderen, 31 in gist,.
  + Vb: ABC voor cholesterol export, ABC voor antibioticaresistentie
  + Vb: Flippasen: ABC transporters involved in de compositie vd dubbele lipidenlaag behouden => lipiden van ene laag naar andere laag brengen
* Vb: Multi-drug transporter (MDR1b) in mensen
  + = ABC transporter
  + functie: transporteert hydrofobe moleculen zoals medicijnen (adriamycine, doxorubicine, vinblastine) uit de cel
    - => vermijd de accumulatie van deze medicijnen in tumor => geen therapeutische effecten
    - => resistentie van tumoren voor deze anti tumor medicijnen

3.9 Niet functioneel ionenkanaal in cystische fibrose/mucovisidose (taaislijmziekte)

* Taaislijmziekte
  + = ernstige ziekte als gevolg van obstructie van longen
  + = in longen opstapeling van mucusweefsel => hierin stapelen bacteriën op => ziekten, longen blokkeren,…
  + Hoofdoorzaak: defect Cl- kanaal = CFTR ~ ABC transporter, maar kanaal& geen pomp
    - 1) Deletie/mutatie van Phe in genoomsequentie
      * Gevolg: Phe niet in gemuteerd eiwit ingebouwd
    - 2) Slechte inbouw in membraan => wijziging van fosforylatiesies => geen activatie door cAMP afhankelijke kinasen
    - 3) Geen fosforylering => Cl- kanaal is gesloten => laat geen Cl- ionen door
    - 4) Gebrekkig Cl- transport => minder water excretie => mucuslaag gedehydrateerd & dik in longen
    - 5) door dikke laag => verminderde werking cilia (zwepen bacteriën af) => opstapeling van debris => toegenomen infecties

3.10 Ionengradiënten leveren de energie voor secundair-actief transport

* Secundair actief transport
  + Energie: energie wordt geleverd door de ionengradiënten
* Lactose transporter in E Coli
  + Energie: energie 2° transport wordt geleverd door H+ gradiënt
  + Functie: H+ gedreven cotransport van lactose
    - 1) H+ gradiënt opgebouwd door energiemetabolisme (1° actief transport)
    - 2) H+ kan niet door membraan => als cotransport met lactose in cel brengen
    - “rocking banana model” voor openen en sluiten
  + Structuur
    - 1 polypeptide (417 AZn)
    - 12 transmembraan helices
    - Tweevoudige symmetrie
  + Grafiek
    - Veel meer opname dan te verklaren door diffusie
    - Lactose stijgt zolang er ENhuishouding doorgaat
      * => als CN- toevoegen => ENhuishouding blokkeren => concentratie in cel neemt af => lactosetransport valt stil
    - Als mutaties in lactose of cel leefde al in CN- => dan werkt lactose transporter niet (??)
* Glucose transport in darmepitheel cellen
  + Energie: energie 2° transport wordt geleverd door ionengradiënt
  + => Opname van glucose met Na+ gradiënt en membraanpotentiaal (negatief in cel)
    - * Opname Na+ volgens elektrische gradiënt
    - (1) Excretie van glucose in bloed door gefaciliteerde diffusie
    - (2) Opbouw Na2+ gradiënt door actief transport (Na+/K+-ATPase)
  + Conclusie: Cellen zijn gepolariseerd !!!!!
    - => verschillende kanten van de cel zijn niet idem uitgerust met de eiwitten
    - => bepaalde transporters komen wel voor, andere niet
    - 2 redenen wrm polarisatie kan: eiwitten bewegen niet zomaar & junctions
* Ionoforen
  + = circulair peptide opgelost in membraan dat ionen kan transporteren door dat ze hydrofiele binnenkant maken
  + = moleculen (soms eiwitten) die ionengradiënt *selectief* vernietigen
    - => toxisch
    - => of antibiotisch (valinomycine (K+), monensine (Na+))
      * Killen van bacteriën door onderbreken 2° actief transport
  + Vb: **Valinomycine**, K+ ionofoor
    - klein cyclisch peptide (12 AZn)
    - Schermt/ neutraliseert K+ lading af door omringende O ionen
    - Peptide is dan shuttle => transporteert K+ door membraan volgens concentratiegradiënt => vermindert gradiënt (vernietigd)

3.11 Aquaporines vormen hydrofiele transmembraan kanalen voor water

* Aquaporines
  + = waterkanelen/ waterporiën
  + = transmembraan eiwitten
  + Functies: volume RBC, productie zweet, tranen, speeksel, urine,…
  + Functie: laten water doorheen membraan
    - Zeer lage activatie energie => water in continue stroom
  + Selectief: geen transport van H3O+
    - Geen + lading H transporteren
  + Structuur
    - Tetrameer (4 poriën): elke subeenheid 6TM helices + 2 korte a-helices
  + Specificiteit: positieve ladingen (Arg, His) verhinderen H3O+ doorgang
  + Regulatie van opening door fosforylering

3.12 De structuur van een K+ kanaal onthult de basis voor zijn specificiteit

* Gated zijn van kanalen
  + = gecontroleerd zijn van kanalen door conc. & lading
  + => zorgt voor specificiteit
* K+ kanaal (niet goed in les)
  + K+ kanaal van lividans gekristalliseerd => deze structuur = basis voor specificiteit
  + Structuur
    - 4 identieke subeenheden: 2TM helices + kort helix
    - Dubbele conische structuur
    - 4 bindingsplaatsen voor K+: 2x H2O + 2x K+
    - => zeer hoge specificiteit in ‘pore region’
    - => ‘ion selectivity filter’ => K+ >>> Na+
  + Werking: aan beide zijden van membraan => (-) geladen residu’s
    - => Lokaal hogere kation (K+ niet Na/) concentraties
    - => K+ komt binnen met watermantel
    - Stabilisatie door (-) lading op korte a-helices
    - => verlies van watermantel
    - Stabilisatie door -C=O in selectivity filter
    - => perfecte 3D coordinatie voor K+ niet Na+
  + Essentie: hoe kan kanaal selectief ionen doorlaten?
    - Weg voorzien waar maar 4 ionen door kunnen
    - Alfa-helix heeft lading aan uiteinden => stabiliseren K+

3.13 De acetylcholine receptor is een ligand gated kanaal

* Prikkeloverdracht: diffusie van acetylcholine naar PM vd spiercel
  + => binding aan acetylcholine receptor
  + => inwaartse stroom van Ca2+, Na+
  + => depolarisatie van PM en contractie van spiercel
* Nicotine acetylcholine receptor = GATED versie
  + 2αβγ => elk met 4TM helices
  + Essentie: acetylcholine bindt aan α subeenheden van tetrameer αβγop de acetylcholine bindingsplaatsen
    - => door binding ligand opent kanaal / gate
    - => opening is tijdelijk
  + Gated want ligand binden = openen