Samenvatting signaaltransductie

# Les 1 – Algemene principes

Definitie signaaltransductie:

* Communicatie tussen verschillende cellen, leidend tot sociale samenleving
* Moleculaire mechanismen voor communicatie celmembraan en intracellulaire locaties en die cell. verandering teweegbrengen
* Circuits voor doorgeven info en beïnvloeden van processen via ‘schakelaars’

Oorsprong:

* Bij evolutie van meercelligen?
* Bij evolutie verschillende celcompartimenten?
* Primitieve basis: ontstaan na omsluiting celinhoud door celmembraan (kort na 1ste cellen)

*Basisprincipe:* gedrag w beïnvloed door omgeving + omliggende cellen

* Chemotaxis, fototaxis, thermotaxis (prokaryoten)
  + Ectothiorodospira + Rhodospirillum: fotosensorische yellow-proteines (pyp)
    - Groen licht -> fotosynthese -> naar licht toe migreren
    - Blauw licht -> schadelijk -> van licht weg migreren
* Celherkenning:
  + Voortplanting -> uitwisseling DNA gameten
  + Gist: uitwisseling “mating type” factors (feromonen)
    - Alleen tussen mating type A en mating type α
* Ontwikkelingsbiologie: opbouw structuren, organen
  + Amoebe: van ééncellig naar kolonie naar meercellige samenleving
    - Signaalmolecule: cAMP
* Metabole integratie, homeostase, gedrag

*Basisprincipes:*

1. Cellulair metabolisme: glycolyse ↑ door insuline

A. Vetcellen: glucoseopname -> lipidesynthese door GIP, GLP-1, glucagon

2. Cellulaire functie: beweging, secretie

A. Acetylcholine -> meerdere effecten: contractie (skelet), ontspanning (hart), secretie (speekselklier)

3. Levenscyclus: groei, proliferatie, differentiatie, dood

A. Indien dierlijke cel afzonderen van signalen andere cellen -> dood

Oplossing: serum met signaalmoleculen

B. Kankercellen: signalen niet nodig om te leven

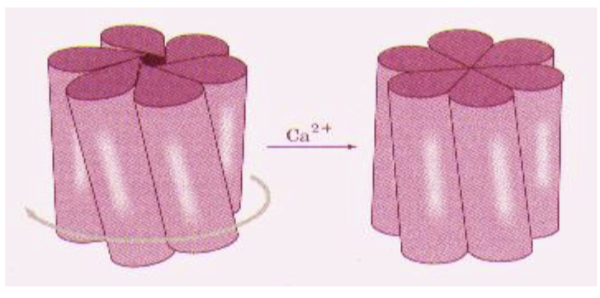
Terugkerende thema’s:

* Moleculaire complexiteit
* Combinatorische eigenschappen
  + Componenten ontvangen en zenden multipele signalen uit
  + Zelfde componenten aangewend in verschillende signaalwegen
* Integratie tot pathways en netwerken
  + Fosfatasen en substraten

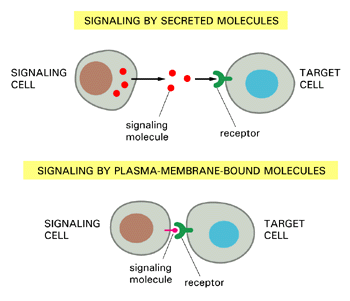
Signalen:

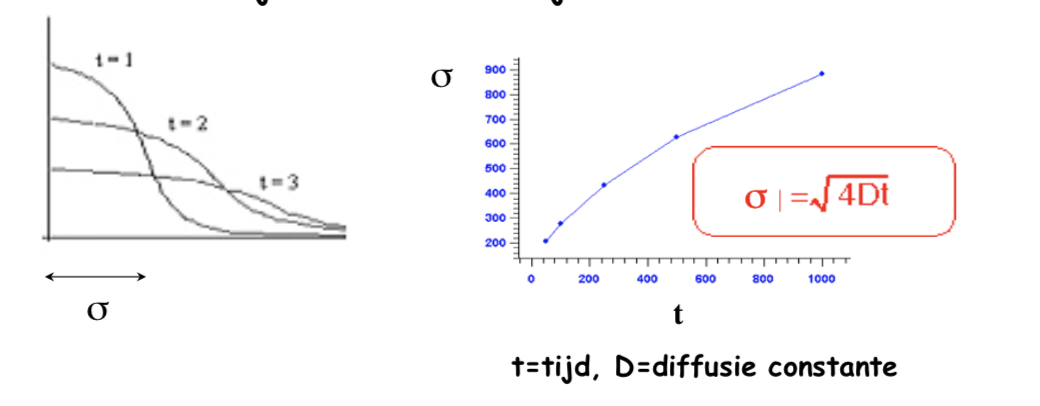
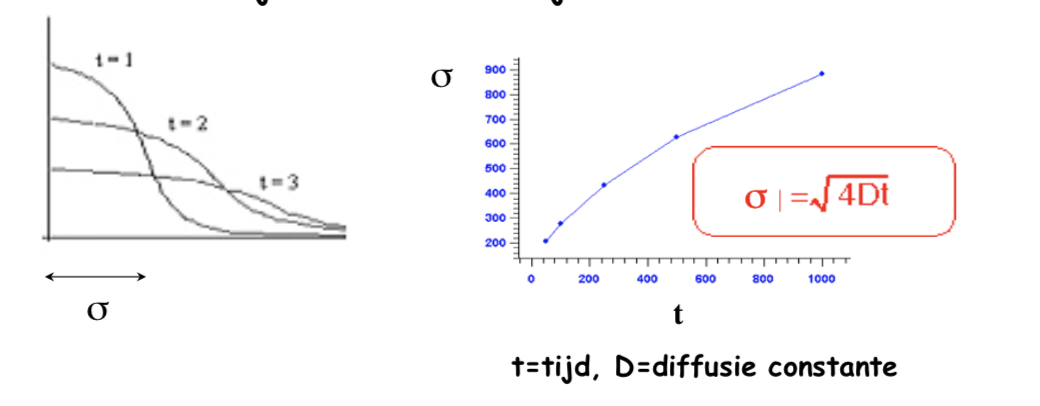
* Fysisch: fotonen, geluid, vloeistofdruk, tijd
* Chemisch: moleculen
  + Fysiologische, farmacologische, pathologische betekenis
* Transductie vooral in cel: interpretatie

Connecties:

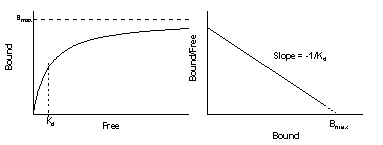
* Direct (koppeling):
  + Gap junctions
    - 6 connexines vormen kanaalvormig connexon
    - Snelle modulatie door allosterische regeling
    - Trage modulatie door regeling connexine genexpressie
  + Fysiologisch: hartspier -> contractie door elektrische stroom via gap junction
  + Pathologisch: uitbreiding necrose door overmaat Ca2+ via gap junction
* Indirect (chemisch):
  + Endocriene signalisatie: signaalmoleculen geloosd in bloed -> transport
  + Synaptische signalisatie: via synapsen van neuron naar doelwitcellen

*Chemische signalen:* detectie door doelwitcel door herkenning ligand d.m.v. receptoreiwit

1. Autocriene signalisatie: bij populatie identieke cellen
2. Paracriene signalisatie: 2 soorten cellen (zenders en ontvangers)
3. Endocriene signalisatie: paracrien via bloed

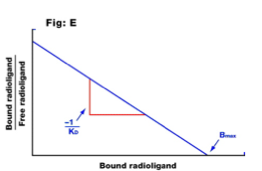
* Secretie naar extracellulaire matrix
* Soms signaalmolecule blijvend op celoppervlakte -> op beide cellen effect
  + Vb. Fas-receptor en Fas-ligand
    - Ontvangende: dood; signaliserende: proliferatie
* Soms zonder tussenkomst receptor
  + Vb. effect NO op guanylyl cyclase in gladde spier
* Snelle afbraak signaalmoleculen:
  + Vb. afbraak cGMP door PDE5
  + Viagra: inhibeert PDE5 -> betere doorbloeding door meer cGMP
* Soms intercellulaire communicatie
  + Vb. organeldood -> apoptose
* Soms signaaltransuctie zonder liganden door constitutieve actieve receptoren
  + Vb. Histamine H3-receptoren op neuron
* Soms meerdere liganden op zelfde receptor
  + Vb. Acetylcholinereceptor

*Kinetiek:*

* Diffusie o.i.v. van Δ-concentratie: Gausscurve
  + Naarmate tijd -> plattere curve
  + Sigma: m/s
  + Diffusieconstante D: m2/s
    - Met B: gebonden ligand, F: vrije ligand

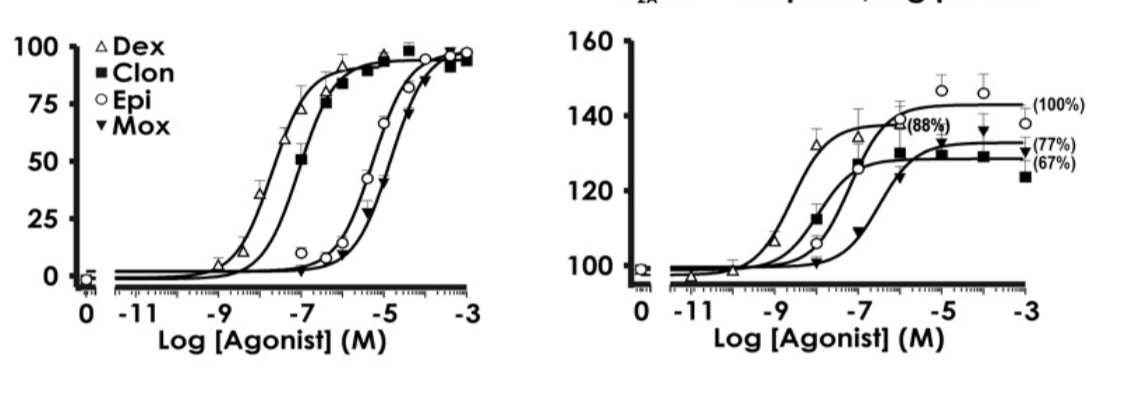
Scatchard plot

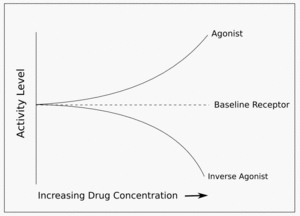
* + Hoe hoger KD, hoe slechter receptor



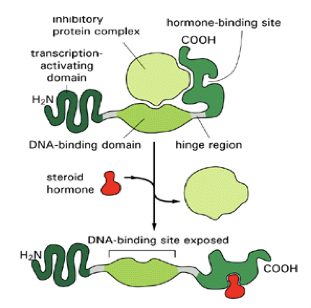
*Effect van ligand:*

* Agonisten: moleculen die receptor activeren
  + Partiële agonisten: veroorzaken gedeeltelijke respons
  + Full agonisten: veroorzaken respons even sterk als bij natuurlijke ligand
    - Vb. adrenaline op adrenerge receptoren
  + Geen verband tussen bindingssterkte receptor-ligand en effect ligand!
    - Vb. 10% receptoren bezet door epinephrine -> 100% effect op cel
  + Let op logaritmische schaal: epinephrine = 10-5,5 M

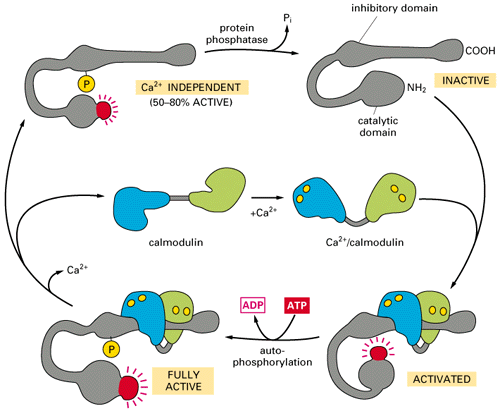


* Antagonisten: moleculen die op receptoren binden maar geen activatie induceren
  + Competitieve antagonisten: bezetting receptor natuurlijke ligand
    - Vb. Interleucine 1-receptorantagonist (IL-1RA): bindt op zelfde receptor als interleucine
  + Non-competitieve antagonisten: verhinderen receptoractivatie op andere manier
* Inverse agonisten: moleculen die activiteit van recepor verlagen zonder aanwezige agonisten
  + Enkel bij receptoren met basale activiteit
    - Vb. Histamine receptor H2: actief zonder histamine
    - Sommige H-receptorantagonisten remmen deze constitutieve werking -> inverse agonisten

*Receptoren:* eiwitten en glycoproteinen

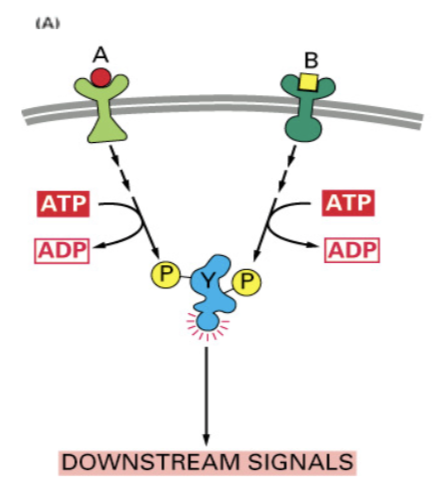
* Celmembraan receptoren: detecteren hydrofiele liganden die cel niet zelf binnenkomen
  + Ionkanalen: binding ligand opent/sluit kanaal
  + G-proteine gekoppeld: binding ligand activeert G-proteine dat afzonderlijk enzyme/ionkanaal activeert
  + Enzymreceptoren: binding ligand activeert enzymdomein receptor/geassocieerd molecule
* Intracellulaire receptoren: kleine hydrofobe signaalmoleculen door celmembraan heen
  + 3 domeinen: ligandbindend, DNA-bindend, transcriptie activerend
  + hormoon-receptorcomplex: geactiveerd DNA-domein -> stimuleert transcriptie
    - hetero- of homodimeer

*Moleculaire interacties:*

* Proteine-proteine interacties: vaak beïnvloed door kleine liganden (nucleotiden, Ca2+, retioïnezuur…)
  + Scaffolds, adaptors, chaperonines
  + Vorming/verbreking eiwitcomplex (G-proteine, calmoduline)
  + Covalente modificatie: fosforylatie (Tyr, Thr, Ser)
    - (In)activatie van enzymatisch domein/signaalreceptor
    - Kinasen fosforyleren, fosfatasen defosforyleren
  + Conformatieverandering (ionkanaal)
  + Translocatie (steroïde receptor)
  + Eiwitafbraak (cliënteiwitten van HSP-90)
  + Multi-stateregeling: verschillende activatietoestanden door combinatie proteïne- en ion binding en fosforylatie
    - Vb. Calmoduline-afhankelijke kinase II (CaM Kinase II: 4 verschillende activatietoestanden
    - Eiwit blijft actief na verdwijnen signaal (Ca+)

*Second messengers:*

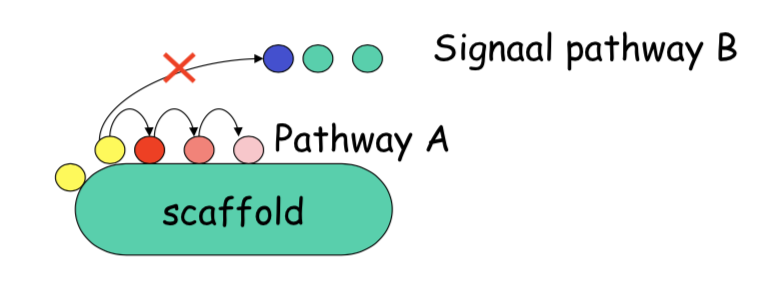
* Geactiveerde enzymen produceren veel kleine intracellulaire signaalmoleculen
* 2nd messengers verspreiden signaal dmv diffusie in cel
  + Vaak vrijzetting andere 2nd messengers



*Intergratie van signalen:*

* Signalen verschillende oorsprong worden geïntegreerd door modificatie gemeenschappelijk eiwit/eiwitcomplex

*Isolatie van signalen:*

* 1 signaalmolecuul in verschillende pathways
* Isolatie van mogelijke receptoren door sequestratie op scaffold (anker-/stellingeiwit)

*Amplificatie van signalen:*

* 1 receptor activeert meerdere G-proteïnen die elk veel 2nd messengers produceren
* Vb. Rhodopsine: 1 foton-receptor -> amplificatie -> 107 ionen

*Intracellulaire doelwitten:*

* Regulatie genexpressie (activatie transcriptiefactor in kern)
* Verandering cytoskelet (induceren beweging/reorganisatie celstructuur)
* Wijziging metabole pathways
* Veel processen worden aangezet door externe factoren ipv nieuwe synthese

*Signaaltransductie in menselijk genoom:*

* Slechts 23 v.d. 1543 menselijke receptoren ook in invertebraten
* 2000 orthologe eiwitten vertebrata – invertebrata
* Complexere signaaltransductie bij vertebrata

# Les 2 – Vetoplosbare hormonen

*Steroïden:*

* + Cortisol (gluconeogenese) (bijnierschors)
  + Aldosteron (K+-secretie) (bijnierschors)
  + Testosteron (ontwikkeling) (testis)
  + Oestrogeen (ontwikkeling) (ovaria)
  + Progesteron (implantatie embyo) (corpus luteum)
  + Calcitriol (calciumresorptie) (nier)

*Andere hydrofobe liganden:*

* + Schildklierhormoon (celmetabolisme, thermogenese) (schildklier)
  + Retinoïden (genexpressie) (voeding, metabolisme, medicijnen)
  + Vetzuren (genexpressie, metabolisme) (cellen, voeding)
  + Arachidonzuurderivaten (inflammatie) (cellen)

*Eigenschappen:*

* Trage werking:
  + Langzame schommelingen in bloed
  + Gebonden aan dragereiwitten voor transport
  + Fractie diffundeert door membraan naar intracellulaire receptor
  + Migratie complex naar kern -> transcriptiefactor
  + Genexpressieverandering duurt lang

*Synthesepaden:*

* Synthese mineralocorticoïden: stappen kennen, structuren niet van buiten!
* Synthese glucocorticoïden: stappen kennen, structuren niet van buiten!
* Synthese testosteron (androsteendoin): stappen kennen, structuren niet van buiten!
* Synthese estradiol & estron (androsteendion): stappen kennen, structuren niet van buiten!
  + Rol 17-ketoreductase:
* Snelheidbeperkende stap bij synthese steroïde hormonen: cholesterol desmolase
  + Stimulatie adenylyl cyclase -> cAMP ↑ -> PKA ↑ -> stimulatie cholesterol desmolase
* Synthese calcitriol: stappen kennen, structuren niet van buiten!
* Synthese schildklierhormoon: stappen kennen!
  + I- -> I2 -> I+ -> T3 & T4 -> thyroxine (T3)
* Synthese eicosanoïden:
  + Arachidonzuur wordt (door COX-1 (constitutief) & COX-2 (induceerbaar)) omgezet in:
    - Leukotriënen
    - Prostacyclines (PGI2)
    - Prostaglandines (PGH2, -D2, -E2, -F2, -J2)
    - Thromboxanen (TXA2) -> aggregatie
  + Non Steroidale Anti-Imflammatoire Drugs (NSAIDs): inhibitie COX-2 (vb. aspirine)
  + Anti-Imflammatoire Drugs: verlagen arachidonderivaten (vb. cortisol)
* Synthese vitamine A: stappen kennen, structuren niet van buiten!

# Les 3a – Wateroplosbare hormonen

*Eigenschappen:*

* Afgeleiden van AZ, kleine liganden, peptiden
* Circuleren vrij in boed
* Snel afgebroken/verwijderd in bloed (sterke schommelingen)
* Meestal via 2nd messengers
* Snelle werking na actieve secretie: transport secretiegranulen en fusie met plasmamembraan
  + Neurotransmitters: milliseconden
  + Peptidehormonen: minuut
  + Groeifactoren: meer tijd door gentranscriptie

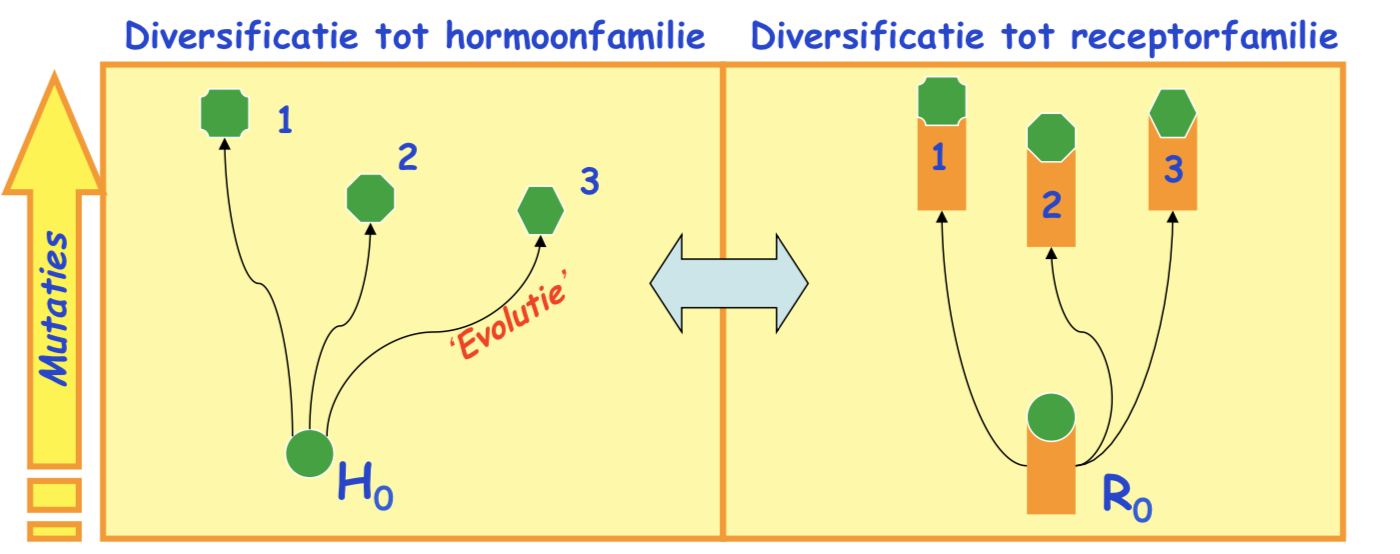
*Neurotransmitters:*

* + Acetylcholine (spiercelactiviteit)
  + (Nor)adrenaline (glycemie, bloeddruk) (Tyr)
  + Dopamine (cognitie, beweging, bloeddruk, antidepressie) (Tyr)
  + Serotonine (angst, nausea) (Trp)
  + Glutamaat (excitatie synaps) (neuron)
  + GAB (inhibitie synaps) (glu)
  + Histamine (neuron) (onsteking)

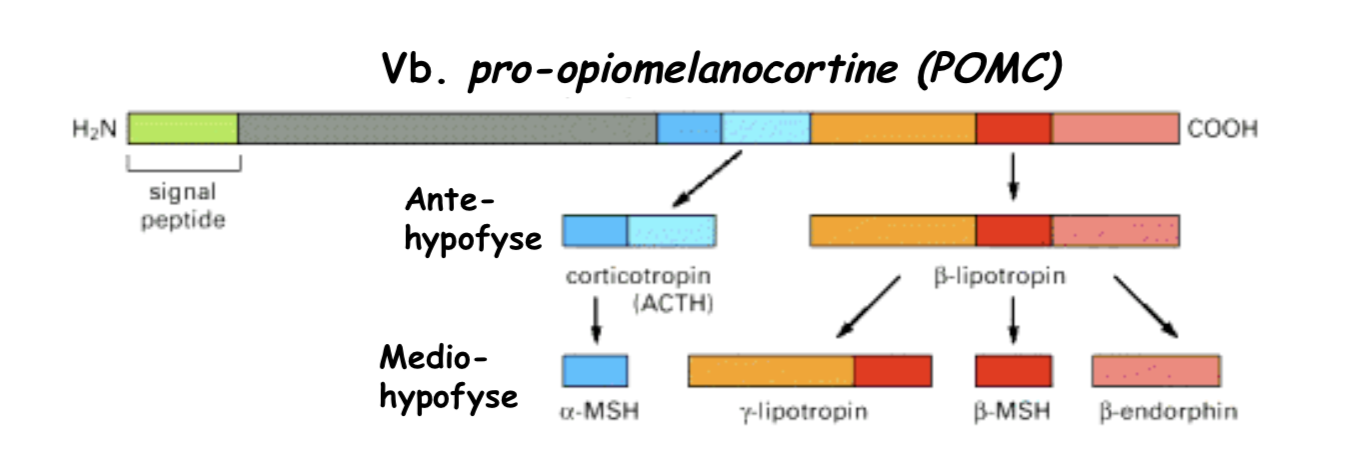
*Synthesepaden:*

* Biosynthese catecholaminen: stappen kennen, structuren niet van buiten!
  + Effect: bloeddrukstijging, sneller hartritme, glycogeenafbraak & lipolyse ↑, insulinesecretie ↓
  + Tijdelijk effect in synapsspleet:
    - Snelle enzymatische afbraak door MAO en COMT
      * MAO-remmers: anti-depressiva
    - Snelle re-uptake door transporters in presynaptisch membraan
* Biosynthese histamine (paracrien hormoon):
  + Productie in mastcellen door histidine decarboxylase
  + Verschillende H-receptoren:
    - H1: ontstekingsverschijnselen
    - H2: zuursecretie maagmucosa
    - H3: verlaging neurotransmitters, eetlust
  + Antihistaminaca: H1-R en H2-R antagonisten (wel binden, geen reactie)
    - H1: anti-allergisch
    - H2: maagzuursecretieremmers
    - H3: slaapverwekkend
* Biosynthese serotonine (5-HT): stappen kennen, structuren niet van buiten!
  + Effecten: bloeddrukverhogend, geluk
  + Remming uptake: MDMA, cocaïne, antidepressiva, amfetamines…

*Peptidehormonen:*

* Eigenschappen:
  + Vrij in bloed
  + Gecodeerd in menselijk genoom
  + Stimuleert doelwitcel door membraanreceptoren
  + Aangemaakt door verspreide endocriene cellen (maagdarmkanaal, hart, nier) en endocriene klieren (hypothalamus, hypofyse, bijschildklier)
* Geconserveerde genen, toch synthetische verbetering mogelijk
  + 1 gen aan basis 1 hormoonfamilie, dus 1 gen voor gemeenschappelijke voorouder receptoren

*Synthese:*

* Productie peptidehormonen: synthese als polyproteïne pro-hormoon
  + Te klein om herkend te worden door cargoreceptoren in granulen & voor co-translationele translocatie doorheen ER-membraan
  + Verschillende processings in verschillende weefsels door pro-hormoon convertasen
    - Start in Golgi, afsnoering voor clathrinemantels (merker voor immature hormoonvesikels), daarna verder in secretievesikels
  + N-linked oligosaccharidecores worden aangehecht op hormoon in ER -> specifieke werking & extracellulaire levensduur hormoon & receptor
* Secretie peptidehormoon:
  + NT in kleine synaptische vesikels, mature peptidehormonen in ‘dense core vesikels’
    - * Docking: wachten onder oppervlak celmembraan
  + Constitutieve (zonder signaal) en geregelde (met signaal vb. hormoon/NT/Ca) secretie
* Binding peptidehormoon:
  + Complementaire set v-SNAREs en t-SNAREs
  + Hulp van Rab-proteïne
* Lipid Rafts in celmembraan: cholesterol, glycolipiden, GPI-verankerde eiwitten, eiwitten met groot transmembranair domein (membraanreceptoren)

*Grote klassen van de peptidehormonen:*

Neuro-endocriene cellen in supra-optische kern hypothalamus scheiden releasing en inhiberende hormonen uit in poortader die vertakt in hypofysaire voorkwab

* 1. Thyrotropine releasing hormoon (TRH) – schildklier
  + 3 residus: pyroglutamaat, histidine, pro-NH2
  + TRH -> TSH -> thyroïde hormonen [-> - TSH]
* 2. Corticotropine releasing hormoon (CRH) – bijnier
  + CRH -> ACTH -> cortisol [-> - ACTH]
* 3. Gonadotripine releasing hormoon (GnRH) – gonaden
  + GnRH -> LH en FSH -> stimulans ovaria en testes
* 4. Groeihormoon releasing hormoon (GHRH) – groei
  + GH -> IGF-1 -> groeischijven uitgroeien, bescherming neuronen
* 5. Prolactine releasing hormoon (PRH) – lactatie
  + Positief effect:
    - Stimuleert secretie prolactine (dopamine remt)
    - Effect groter tijdens zwangerschap
    - Verlaging insuline-receptoren vetweefsel heupen, verhogen borsten
* Hypofysaire glycoproteïne hormonen: TSH, FSH, LH
  + Veel suikers -> groot
  + Twee peptideketens: zelfde alfa, veschillende beta
  + N-linked glycosylering
  + Na secretie: halfwaardetijd 2-3 h
    - Tijdens rondgang in bloed: afbraak siaalresidus door sialidasen
    - Blootgelegde galactoseresidus herkend door lever -> opname door lever
* Placental gonadotropine (hCG): verwant aan FSH/LH
  + Zelfde werking, meer siaalzuurresten (lager in bloed)
  + Neemt rol LH over tijdens zwangerschap
    - Stimuleert aanmaak progesteron in corpus luteum

# Les 3b – Wateroplosbare hormonen

*Hormonen v.h. maag-darmkanaal:*

* Slechts weinig peptidehormonen bekend
  + 1. Secretine (28 AZ): proximale dunne darm
    - Familie: incretines
    - Secretiestimulus: lage pH
    - Stimuleert exocriene pancreas (productie HCO3-)
  + 2. Gastrine (17 AZ):
    - Secretiestimulus: halfverteerde eiwitten in maag & n. vagus
    - Secretieinhibitus: lage pH & somatostatine S28
    - Stimuleert secretie maagzuur door falietale cellen
  + 3. Cholecystokine CCK (33 AZ):
    - Secretiestimulus: halfverteerde lipiden in maag & n. vagus
    - Vertraagt maaglediging, stimuleert lediging galblaas en productie spijsverteringenzymen door exocriene pancreas
  + 4. & 5. GIP en GLP-1:
    - Secretiestimulus: glucose -> K-cellen -> GIP -> bloed -> L-cellen -> GLP-1
    - Combinatie glucose, GLP-1 en GIP naar endocriene pancreas om insulinesecretie te stimuleren (incretine-effect)
    - Halfwaardetijd: 2 min.
    - Vorming GLP-1 varianten uit pre-pro-glucagon polypeptide in L-mucosacellen darm
  + 6. Somatostatine S-28 (28 AZ): darm
    - Secretieinhibitus: n. vagus
    - Remt maagsecretie, exocriene pancreassecreties, insuline- en glucagonsecretie
    - S-14 in endocriene pancreas

*Hormonen van de endocriene pancreas:*

* Belang glucose-, AZ-, lipidehomeostase
* Insuline - betacellen
* Glucagon - alfacellen
* Somastatine S14 - deltacellen
  + Remt secretie insuline en glacagon
* Pancreatic Peptid Hormone (PP) - Eilandjes van Langerhans
  + Stimuleert maagsecretie, remt motiliteit maag/darm

*Bloedvolume en bloeddrukregelende peptidehormonen:*

* Antidiuretisch hormoon (ADH) – posterieure hypofyse
  + Stimuleert wateropname in niertubuli en urinecollecteerbuisjes
* Atrial Natriuretic factor (ANF) – voorkamers hart
  + Bevordert Na+-excretie
    - Verlaagt bloedvolume en druk
* Angiotensine II (AT-II) – nier, long
  + Vasoconstrictor, verhoogt aldosteronsecretie
  + Kort aanwezig in bloed
  + Angiotensinogeen -> angiotensine I -> angiotensine II
* Vasoconstrictoren: samentrekken vaatwanden
  + Verhogen bloeddruk
  + Vb. ADH, angiotensine, andrenaline

*Calcemieregelende peptidehormonen:*

* Parathyroïde Hormoon (PTH) – bijschildklier
  + Activatie door lage calcemie
    - Lege Ca2+-receptor -> PTH -> Osteoclast activating Factors (OAF) -> fosfatasen en hydrolasen -> vertering matrix botweefsel (CaOH)
  + Activatie vitamine D3 tot calcitriol gestimuleerd door PTH
    - Verhoogde calciumopname in darm en nier
* Calcitonine – schildklier
  + Remming osteoclasten, stimulans osteoblasten
    - Opname calcium uit bot, in botmineraal
  + Verlaagt reabsorptie Ca2+ door niertubules

*Groeifactoren:*

* Neurotrofines (trofische factoren)
* Nerve Growth Factor (NGF) –
  + Groei en overleving zenuwcellen
* Epidermal Growth Factor (EGF) –
  + Groei epidermale cellen
* Erytropoïetine (EPO) – nieren
  + Glycoproteïne
  + Bij gebrek zuurstoftransport
  + Bindt op EPO-R van bloedcelvoorlopers -> differentiatie nieuwe RBC
* Colony Stimulating Factors (CFS) – stamcellen
  + Differentiatie en groei stamcellen tot verschillende types bloedcellen
* IGF-1 & 2 –
  + Insuline-achtige werking (anabool)
  + Celdeling stimuleren

*Cytokines:*

* Regeling immuunsysteem, ontstekingsreacties, metabolisme, groei cellen en weefsels
* Voorbeelden:
  + Interleukines (IL-1 t.e.m. 36)
  + Interferons (IFN)
  + Tumor Necrosis Factors (TNF)
  + Transforming Growth Factors (TGF)
  + Leptine
* Eigenschappen:
  + Hoge conserveringsgraad bij alle dieren
  + Hoge affiniteit receptoren
  + Pleiotropie (verschillende functies 1 cytokine)
  + Redundantie (overlap in functies)

*Cytokine-receptoren:*

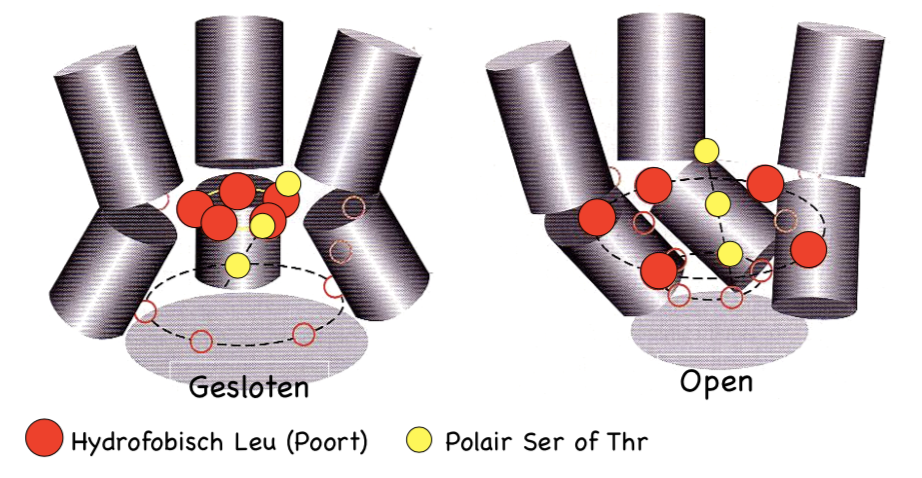
* Klasse 1: IL-6, IL-11, LIF
  + Transmembraaneiwitten die cytokines herkennen
  + Verschillende types ketens:
    - Specifieke cytokineherkenning
    - Specifieke signaaltransductie in cel
  + Dimerisatie in hexamerisch complex
* Klasse 2: IFN
  + Actief na virale infecties -> effect op RBC
  + Zowel ligandbindend als signaaltransducerend domein
  + Oligomeren (dimeren)
* Klasse 3: TGF
  + Herkenning via 2 receptorcomponenten
  + Pentamere structuur
  + Activatie Ser/Thr-kinase
* Klasse 4: TNF, FAS, TWEAK, TRAIL
  + Extracell. cysteïnerijke domeinen
  + Intracell. dead-domains
  + Trimerisatie na ligandbinding
  + Zelf geen enzymatische activiteit
    - Binden adaptors -> recruteren cytosolische eiwitten (proteasen, kinasen…)

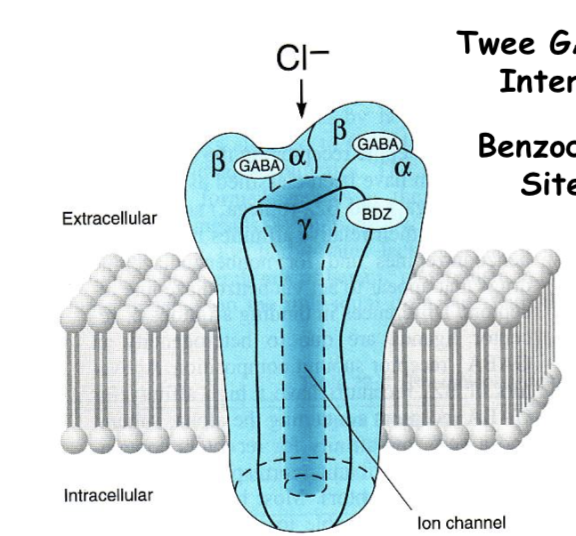
# Les 4 – Ionkanaalreceptoren (LGIC’s)

*Indeling:*

* Cys-loopreceptoren
  + 5 subeenheden
    - N-terminaal extracell. domein, 4 transmembranaire domeinen, intracell. domein
    - Cys-loop door Cys-X-Cys-structuur (disulifdebrug)
  + Grote functionele variabiliteit door heteropentameren
  + Inhibitorische (anion-selectieve) receptoren: glycinereceptor, GABA-receptor
  + Excitatorische (kation-selectieve) receptoren: 5-HT-receptor, histaminereceptor
* Ionotrope glutamaatreceptoren
  + NMDA-receptor
  + Kainaatreceptor
  + AMPA-receptor
* ATP-responsieve (purinerge) kanalen
  + P2X-receptor

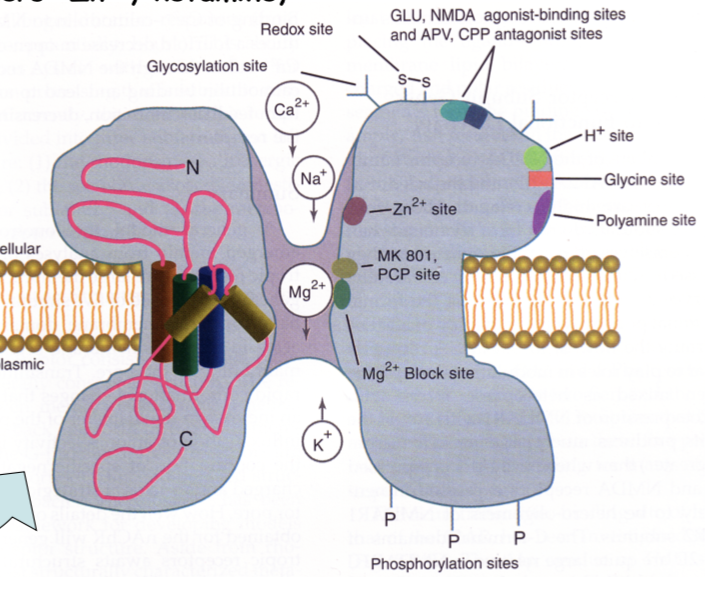
*Nicotinerge ACh-receptor:*

* Conductiviteit postsynaptische neuromusculaire membranen verhogen door Ach of nicotine
* Combinatie ionkanaal en neurotransmitter-receptor
* Cilindrische en pentamere opbouw
  + Alfa-subeenheid
  + Beta-, gamma-, deltasubeenheden
    - Bindingssites voor ACh op overgangen
  + Kanaalruimte
* Bij binding ACh: verplaatsing M2-helices
  + Opening kanaal door rotatie: hydrofobe Leu-poort
  + Influx Na+  geleid door Ser en Thr
  + Na lange blootstelling: sluiten (desensitisatie)
* Ionstroom alleen signifcant als 2 ACh per AChR
* Verwant aan 5-HT2-receptor
  + Beiden transporteren kationen (bepaald door zure residu (Glu) in top en bodem)



*GABA-receptor:*

* 2 GABA-bindingssites op alfa-beta-interfaces
* Benzodiazepine-bindingssite op alfa-gamma-interface
  + Benzodiazepines verhogen probailiteit GABA-R-opening
* Transport anionen (bepaald door basische residu’s (Arg) in top en bodem)
  + Transport Cl—ionen



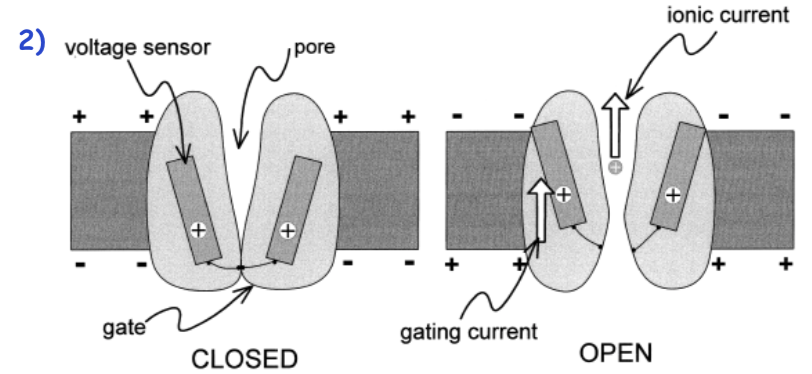
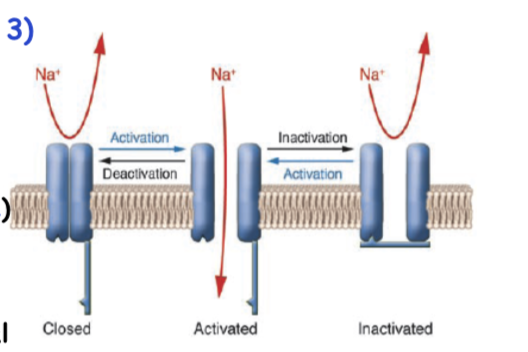
*NMDA-receptor:*

* Excitatorische en toxische effecten glutamaat
* Tetramerisch, heteromerisch ionkanaal
  + 4 hydrofobe helices
  + M2: wand centrale porie (maar niet transmembranair)
* Agonisten: NMDA en Glu, co-agonist: Glycine (versterkt effect)
* Negatieve modulatoren: Mg2+, Zn2+

*Belang bij spiercontracties:*

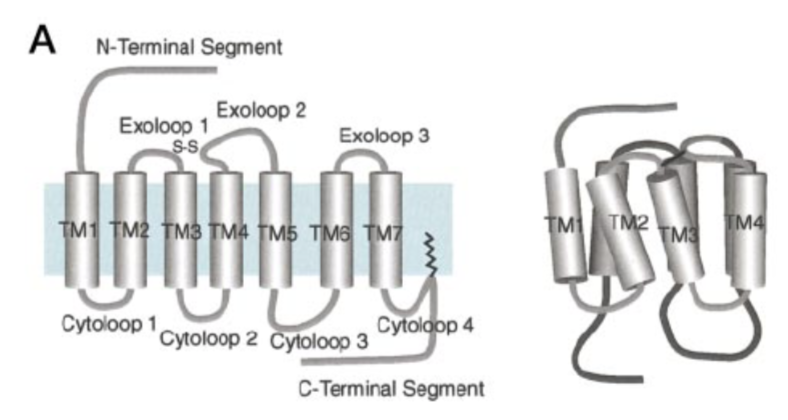
* Instroom Na+-ionen -> lokale depolarisatie sarcolemma
  + Actiepotentiaal verspreid via T-tubuli
  + Stimulans T-tubule Ca2+-kanalen, vervolgens Ca2+-release kanalen
  + Calcium uit ER naar cytoplasma -> spiercontractie
* Rustwaarde terug door Cl—kanalen

*ΔV-gevoelige Na+-kanaal:*

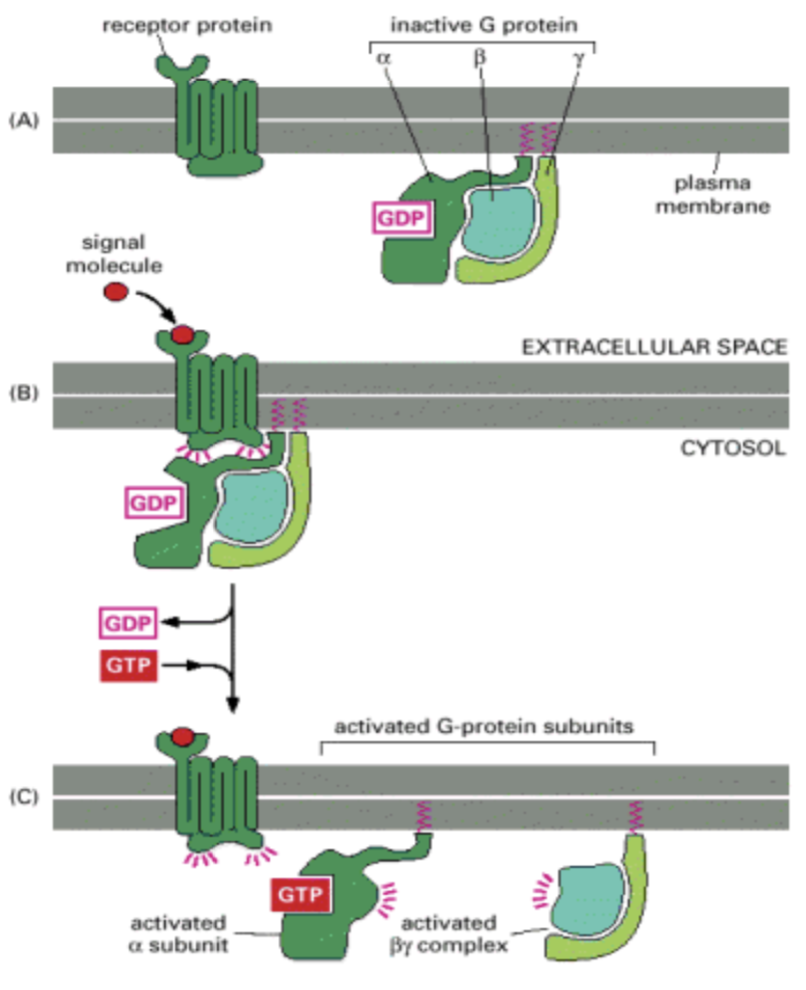
* Voltagegevoelige ionkanalen
* Veel verschillende soorten
* Transmembranaire domeinen vormen gesloten kanalen bij rustpotentiaal
* Omkering membraanpotentiaal: aantrekken bepaalde geladen groepen
  + Opening door verschuiving gebonden domeinen
* 3 fases: activatie, desactivatie, inactivatie
  + Activatie: geïnduceerd door depolarisatie
  + Inactivatie: cytoplasmatische domeinen sluiten kanaal af
  + Desactivatie: na repolarisatie van membraan

# Les 5 – G-proteïne gekoppelde receptoren (GPCR)

*Algemeen:*

* 100-tal subfamilies
  + Mutaties -> oorzaak erfelijke en somatische aandoeningen (kanker, infertiliteit…)
* Opbouw
  + Extracell. N-terminaal deel
  + 7 transmembranaire domeinen (7-helix receptors)
  + 3 exolussen, 3-4 cytolussen
  + Intracell. C-terminaal deel
* Signaaltransducitie via G-proteïne
* 1 ligand werkt op verschillende GPCRs

*Indeling:*

* Klasse I: Rhodopsine-groep
  + Visuele pigmenten
  + Verschillende types:
    - Eicosanoïde-R
    - Nucleotide-R
    - Neurotransmitter-R
    - Peptidehormoon-R
    - Glycoproteïne-R
    - Protease geactiveerde receptoren
* Klasse II: Glucagon-groep
  + Verschillende types:
    - Calcitonine-R
    - Corticotropine Releasing Hormoon-R
    - Glucagon-R
    - Parathyroïd Hormoon-R
* Klasse III: mGlu-groep
  + Verschillende types:
    - Calciumsensoren
    - GABAB-R
    - Metabotrope glutamaat-R (mGlu-R)

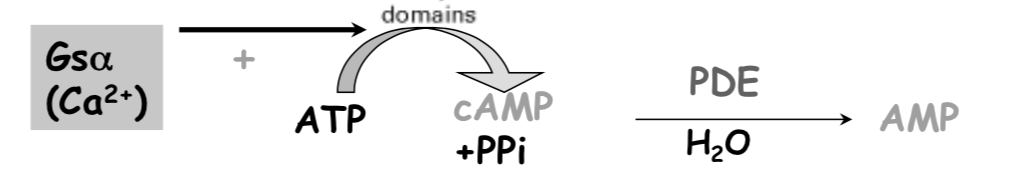
*Trimerische G-proteïnen (signaaltransductie):*

* G-proteïnen bestaan uit α-GDP, β-GDP, γ-GDP
* Uitwisseling GDP voor GTP
  + Uiteenvalling in α-GTP-monomeer en βγ-dimeer
    - Beïnvloeden effectorenzymen
  + Blijven verankerd in plasmamembraan
    - α (myristaat)
    - βγ (farnesyl)
* Ingebouwde GTPase-activiteit
  + Gα-GTP -> Gα-GDP (terug naar beginsituatie)
  + RGS versnelt hydrolyse GTP
* Homologe desensitisatie: GPCR’s door G-receptor kinasen (GRK) geïnactiveerd via fosforylatie in ligand-gestimuleerde toestand

*Medisch belang:*

* Cholera toxine: waterige diarree
  + ADP-ribosylering van Gsα
  + GTPase-activiteit uitgeschakeld
  + G-proteïne permanent actief
    - Aanmaak cAMP darmmmucosacellen
* Pertussis toxine: kinkhoest
  + ADP-ribosylering Giα en Goα
  + Permanente inactivatie subeenheden (bevroren in GDP-vorm)

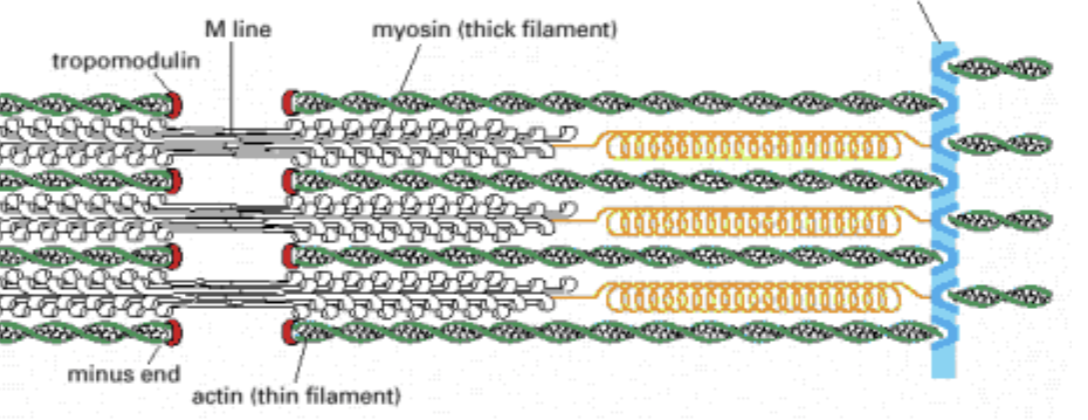
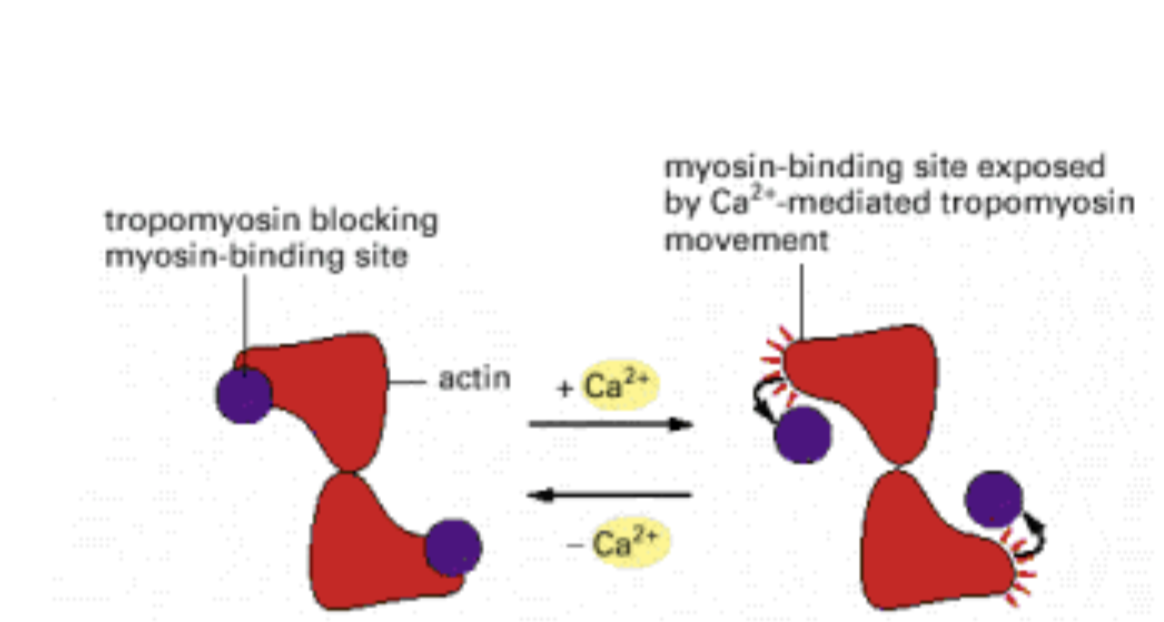
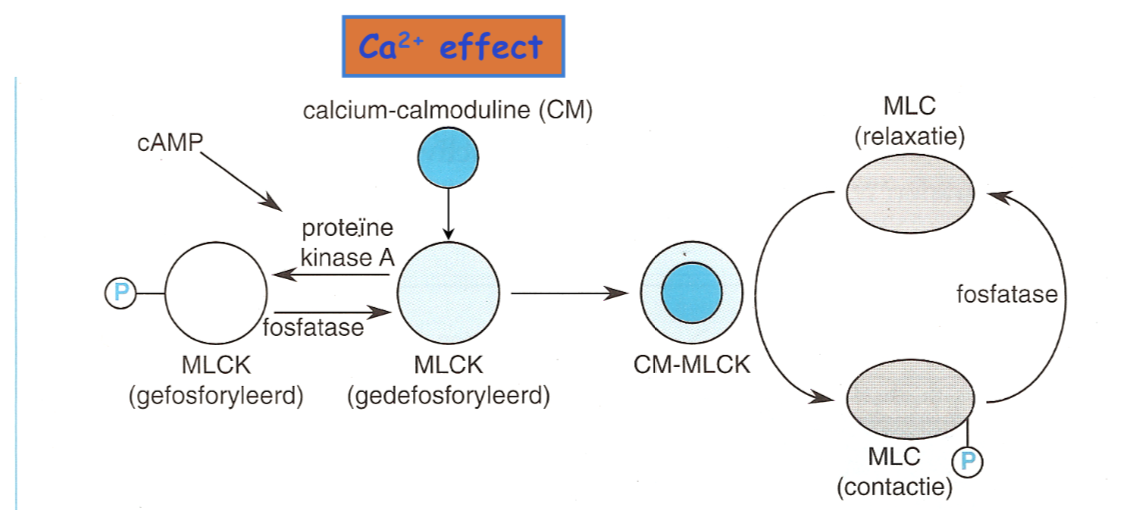
*Signaaltransdyctie via adenylylcyclasen en cAMP:*

* Stimulatie integrale membraan enzyme Adenylyl Cyclase (AC) door sommige G-proteïnen
  + Katalyseert vorming cAMP als 2nd messenger
  + Snelle reactie mogelijk door zeer lage basale concentratie cAMP
    - Lage c door fosfodiësterase enzym (PDE)
  + Sommige AC’s ook calmoduline nodig voor max. activiteit
* Inhibitie AC door Gαi in GTP-vorm
* AC-stimulerend: glucagon en adrenaline
* AC-inhiberend: somatostatine
* cAMP stimuleert Proteïne Kinase A (PKA)
  + Inactieve vorm PKA: 2 katalystische en 2 regulatorische subeenheden
  + cAMP bindt op R-eenheden -> C komen los en worden actief
  + Snelle fosforylatie doelwiteiwitten
  + Belang lokalisatie PKA!
    - Bepaald door ankereiwitten (AKAP’s)
    - Zorgen ook voor verdere activatie C -eenheden
* OFF-mechanismen:
  + cAMP afgebroken door fosfodiësterasen (PDE)
    - inhibitie cAMP door caffeïne, threobromine…
  + door PKA gefosforyleerde eiwitten w gedefosforyleerd door proteïne fosfatasen (PPasen)
* landurige effecten signaaltransductie via cAMP:
  + PKA-gemedieerde fosforylatie van cAMP Response Element Binding (CERB) (transcriptiefactor)
    - Herkent cAMP Response Element-sequenties in DNA
    - Activeert transcriptie geselecteerde genen

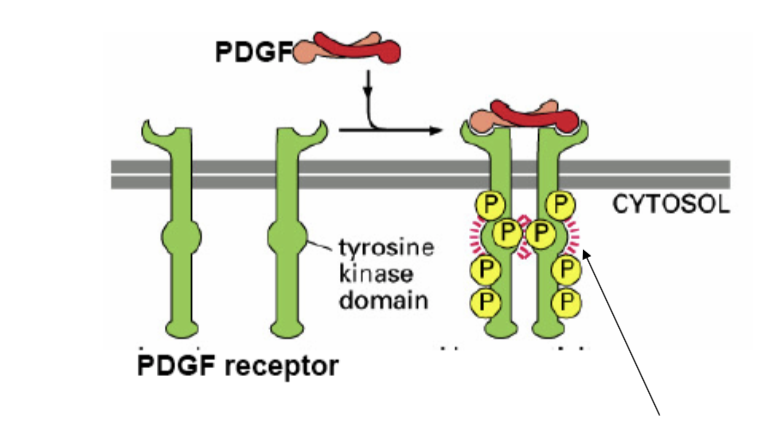
*Signaaltransductie via fosfolipase C (PLC-β):*

* Exocriene pancreas, gestimuleerd door ACh
* Na binding ACh op muscarinerge AChR: activatie fosfolipase C via G-eiwit
  + PLC-β splitst fosfatidylinositol-4,5-bifosfaat (PIP2) in inositol-1,4,5-trifosfaat (IP3) en diacylglycerol (DAG)
    - 2 2nd messengers
    - IP3: openen IP3-gated Ca2+-kanaal -> Ca2+ naar cytosol
    - DAG (membraangebonden): recruteert Proteïne Kinase C (PKC) naar membraan en activeert
      * PKC fosforyleert Ser en Thr residu’s
      * Activatie PKC ook via Ca2+

*Signaaltransductie via Calcium:*

* Snelle variaties intracell. Ca2+-concentratie belangrijk bij signaaltransducties
  + Rust: 10-30 nM
  + Activatie: 300 nM (door calmoduline, troponine C…)
  + Extracell.: 1 nM
* ON-mechanismen:
  + 1a. ΔV-gevoelige Ca2+-kanalen in plasmamembraan openen bij depolarisatie
  + 1b. LGIC-Ca2+-kanalen (vb. NMDA-lutamaatreceptor)
  + 1c. Calcium-Release Activated Channels
  + 2. IP3-gated Ca2+-kanaal (IP3-receptor)
  + 3. Ryanodine-receptor: staat Ca2+ af uit ER
    - cADP is ligand voor kanaal
* OFF-mechanismen:
  + 1. Calciumpompen in plasmamembraan
    - A. Na+/Ca2+-uitwisseling: onrechtstreeks gebruik ATP (verbruikt Na+-gradiënt van actieve Na+/K+-pomp)
    - B. PMCA’s (plasmamembraan Ca2+-ATPasen): brengen cytoplasmatische [Ca2+] basaal door ATP-hydrolyse
      * Regeling door calmoduline (detecteert gestegen [Ca2+])
  + 2. Calciumpompen in ER-membraan (SERCA’s)
    - Pompen Ca2+ van cytosol naar ER-lumen m.b.v. ATP-hydrolyse
      * Regeling door fosfolambaan
  + 3. Calciumbufferende eiwitten in cytosol, MC, ER
    - Lage affiniteit voor Ca2+, maar 10-tallen bindingsplaatsen
    - Bufferende werking: binden Ca2+ als c te hoog e.o.
* Effecten in cel: transiënte stijging 10-300 nM genoeg voor cell. effect
  + Binding Ca2+ met Ca2+-gevoelige eiwitten (annexines, calmoduline, troponine C)
* Calmoduline:
  + Bindt tot 4 Ca2+-ionen
    - Grote conformatieverandering
    - Vaak subeenheid groter complex
  + Bindt Fosforylase Kinase in spier
    - Geactiveerd door PKA (cAMP = adrenaline) en calmoduline, breekt glycogeen af
    - Synergie tussen 2 2nd messengers Ca2+ en cAMP
    - Ook synergie in cellen waarin AC calmoduline-eenheid bezit (dus gevoelig voor Ca2+)
  + Antagonisme cAMP en Ca2+ wanneer PDE aanwezig is (gestimuleerd door calmoduline)
* Troponine C:
  + Directe rol spiercelcontractie
  + Dunne filament skeletspier:
    - Actinepolymeer
    - Tropomyosine en troponinecomplex
  + Bij afwezigheid Ca2+: tropomyosine schermt actinepolymeer af van interactie koppen dikke filament (myosine zware en lichte keten)
  + Binding met Ca2+ -> conformatieverandering, w doorgegeven aan troponinecomplex
    - Langgerekte tropomyosine over actinefilament -> interactie myosinekop en actine mogelijk
    - Actine stimuleert ATPase van myosinekoppen -> beweging (spiervezels verkorten)
* Myosin Light Chain Kinase (MLCK):
  + Gladde spiercellen contraheren in antwoord op Ca2+ door activatie MLC-Kinase (MLCK) door calmoduline
  + Fosforylatie MLC door MLCK
  + Gevoelig voor cAMP als 2nd messenger (kan gefosforyleerd w door PKA)
    - Fosforylatie: uitschakeling (cAMP -> relaxatie

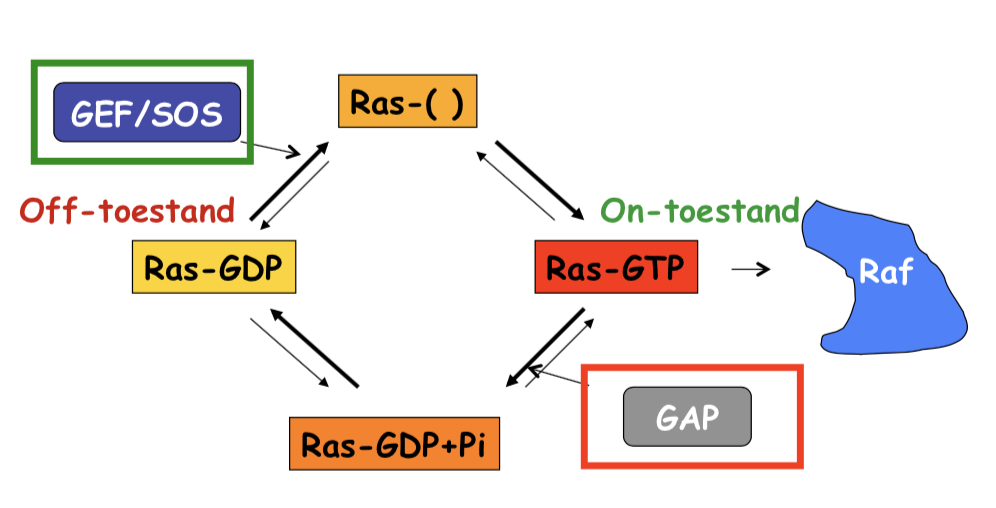
# Les 6 – Tyrosine Kinase receptoren

* Transmembranaire eiwitten
  + Soortgelijke TK-domein aan intracell. zijde
  + Extracell. zijde is variabeler
* Activatie d.m.v. dimerisatie van 2 TK-domeinen
  + Dichter bij elkaar door PDGF
  + Intracell. delen autofosforyleren elkaar
* Fosfotyrosines ontstaan, herkenbaar door specifieke eiwitten -> signaaltransductie
  + SH2-domein op eiwitten (vb. GEF en GAP)
    - Ev. extra factoren recruteren via SH-3 complex

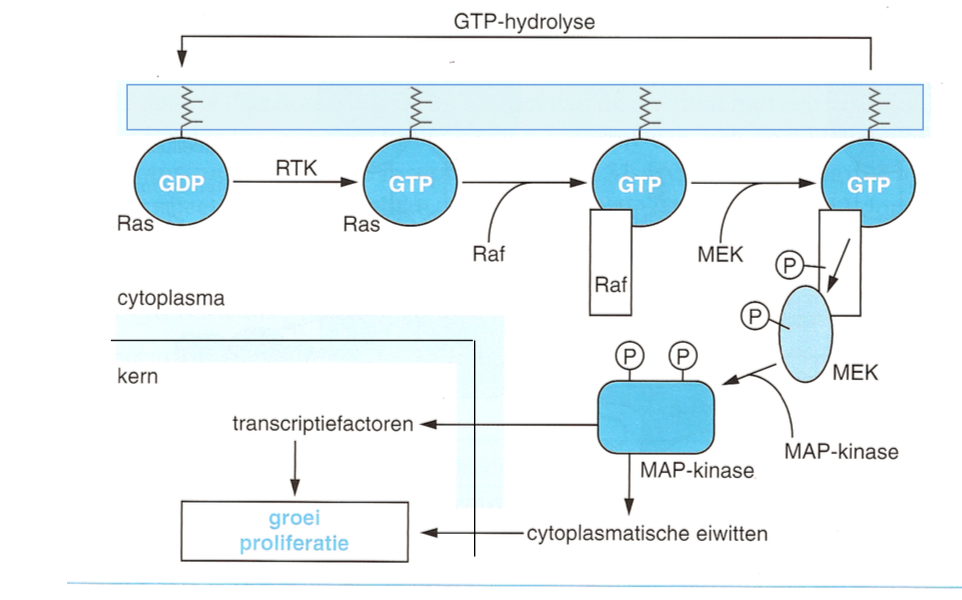
## Fosfolipade C-γ weg

* Splitsing inositolfosfolipiden (zie PLC-β)

## Fosfo-inositide-3OH-kinase weg (PI3-K)

* Fosforylatie van inositol op 3’ OH door PI3-kinase
* Vb. Proteïne kinase B (proto-oncogen) wordt geactiveerd door PKB-kinase door fosforylatie
  + Belangrijk bij proteïnesynthese, celgroeifactoren
  + Defosforylatie door Proteïne Fosfatase 2A

## Ras weg

* GTP-cyclus van kleine G-eiwitten
  + Hoge affiniteit voor GDP en GTP
  + Lage intrinsieke dissociatieconstante
  + Lage intrinsieke GTPase-activiteit
* Helpereiwitten om bovenstaande problemen te verhelpen/tegenwerken
  + GEF, Raf, GAP
* Activatie/inactivatie Ras:
  + 1. Ras is membraangebonden via farnesylgroep
  + 2. RTK-activatie leidt tot binding GRB2 en SOS
  + 3. SOS induceert release van GDP uit Ras
  + 4. GTP-Ras is actief en induceert bio-effect
  + 5. GAP induceert GTPase-activiteit Ras -> signaal stopt
* Ras/MAPK weg: Ras-activatie op TKR -> verhoogde fosforylatie cytoplasm. eiwitten en transcriptiefactoren
  + 1. Ras bindt en activeert Raf-kinase, dat MEK bindt en fosforyleert
  + 2. MEK fosforyleert MAP-kinasen
  + 3. MAPK fosforyleert transcriptiefactoren, enzymen, ribosomale eiwitten…

*Signaaltransductie van insuline/GFI-I:*

1. Binding insuline heft inhibitie β-keten TK-activiteit op
2. RTK-domeinen gefosforyleerd
3. RTK fosforyleert IRS1 en IRS2
4. IRS1 en IRS2 recruteren 3 eiwitten

* Insuline verhoogt Ras-activiteit en PI3-K weg
* GLUT4-translocatie en verhoogde glucose-opname doorPKB-activatie
* Diabetes door deletie IRS2

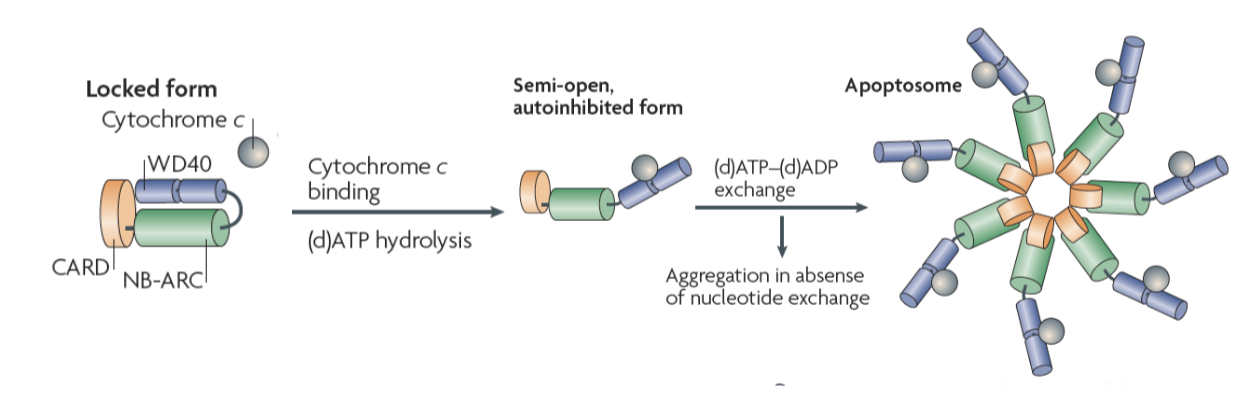
# Les 7 – celdoodsignalen (NIET KENNEN)

* 2 wegen voor inductie apoptose:
  + *Intrinsieke weg:* cel beslist zelf af te sterven
  + *Extrensieke weg:* receptorgemedieerd
  + Convergeren t.h.v. caspasen
* Caspasen: cysteineproteasen
  + 14 caspasen
  + Gesynthetiseerd als pro-caspasen, daarna proteolyse ter activatie
    - Grote en kleine subeenheden gescheiden door andere caspasen
    - Actieve caspase -> heterotetrameer
  + 3 groepen:
    - Initiatorcaspasen: lang pro-domein met DED- of CARD-domein
      * Activeren effectorcaspasen
      * Activatie door multi-component adaptor complex -> bespoedigt homodimerisatie, daarnaconformationele verandering
    - Executiecaspasen (effectorcaspasen): kort pro-domein
      * Caspase 3 klieft belangrijke cell. eiwitten (actine, lamine…)
      * Klieving -> conformatieverandering in 5 lussen
    - Overigen: inflammatie, celmaturatie
    - Algemeen: procaspase vormt dimeer, activatie door proteolyse in lus 2
  + Caspase 3:
    - Membraanblebbing via ROCKI-klieving
    - Ontmanteling celstructuur
    - DNA-fragmentatie

*Extrensieke apoptoseweg:*

* Death ligands binden op Death receptoren (DR)
  + TNF-R-familie (vb. Fas)
* T-celactivatie resulteert in expressie Fas-ligand (FasL)
  + Binding op FasR andere T-cel -> elkaar doden

*Intrinsieke aptoptoseweg:*

* Gezonde cellen: buitenste MC-membraan alleen doorlaatbaar voor metabolieten, niet eiwitten
* Stress -> opening VDAC/ANT-porie in buitenste MC-membraan
  + Cyt C in cytoplasme -> no return
  + Bindt op APAF-1 -> vormt apoptsosoom (7 cyt C, 7 APAF-1, 7 ATP)
  + Apoptosoomgebonden caspase 9 activeert caspase 3
  + Caspase 3 klieft intracell. eiwitten (apoptose)
* BCL verhindert vrijzetting cyt C
* BAX induceert openingen in MC-membraan