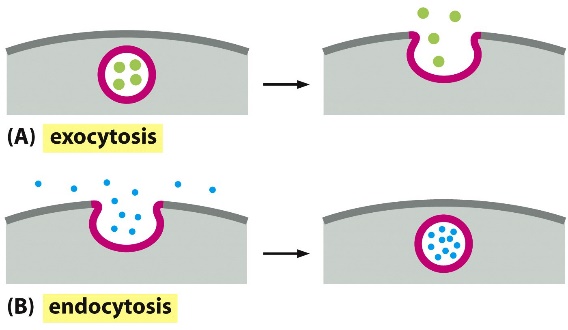
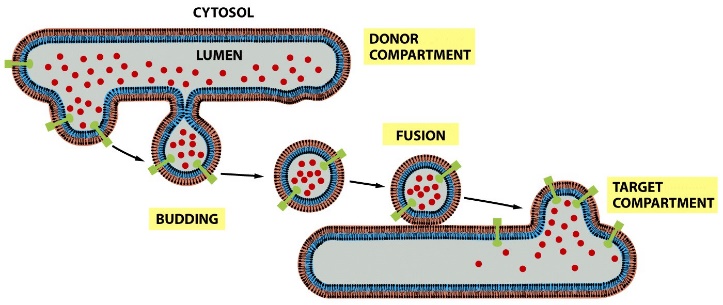
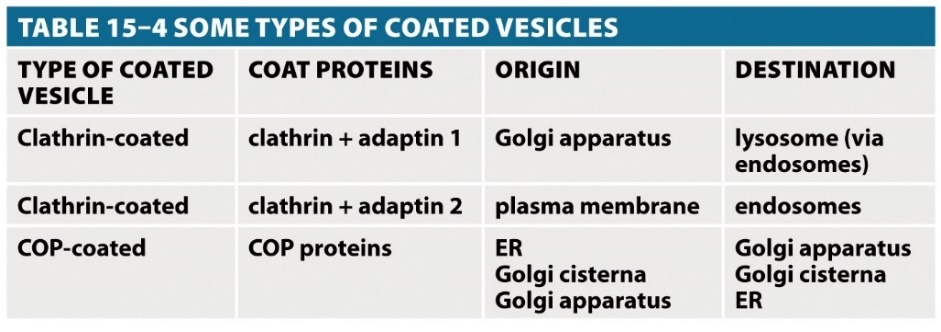
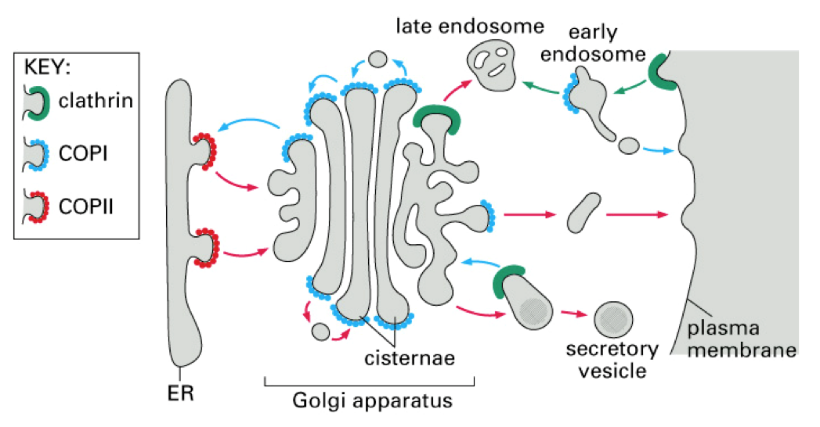
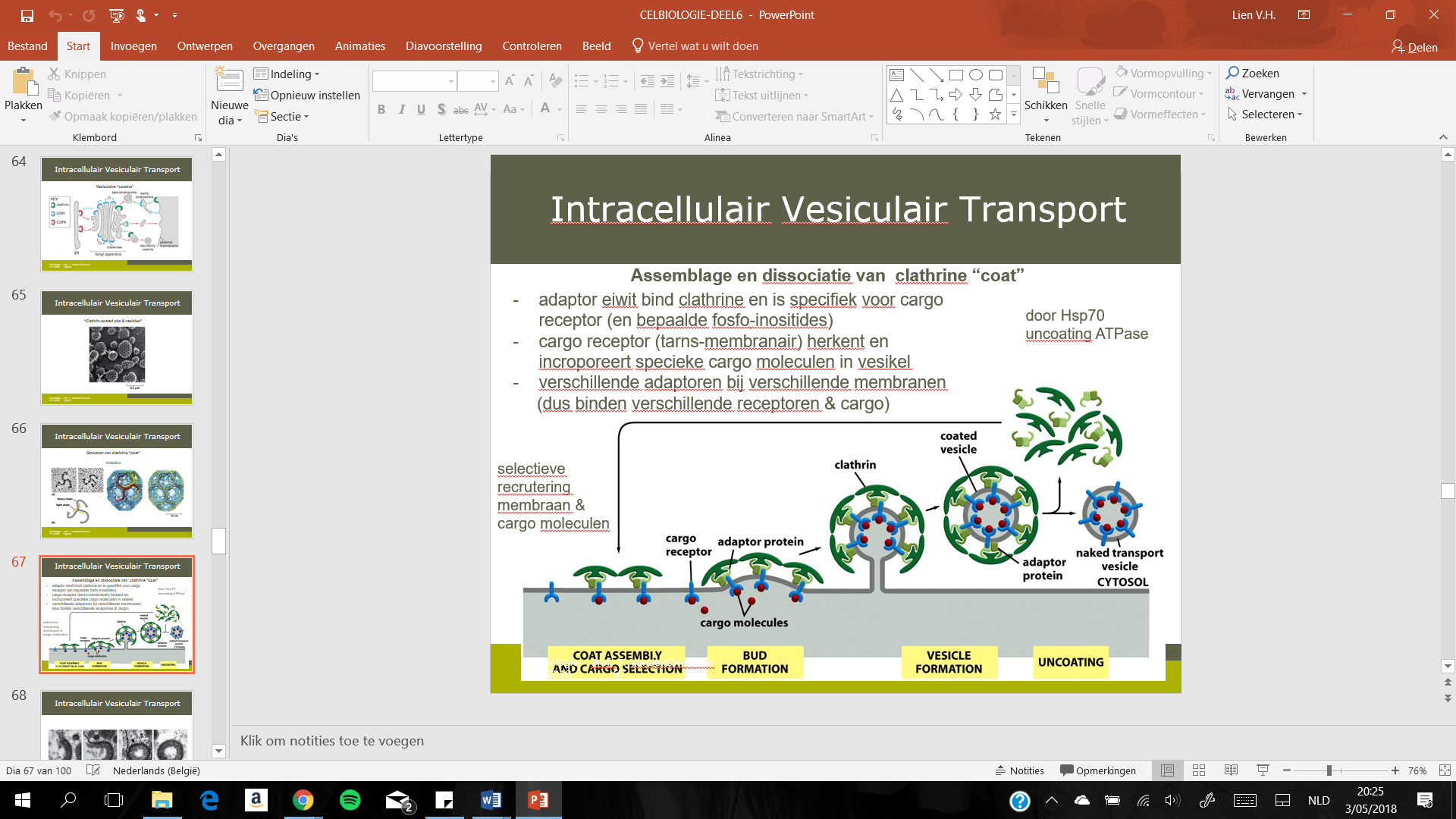
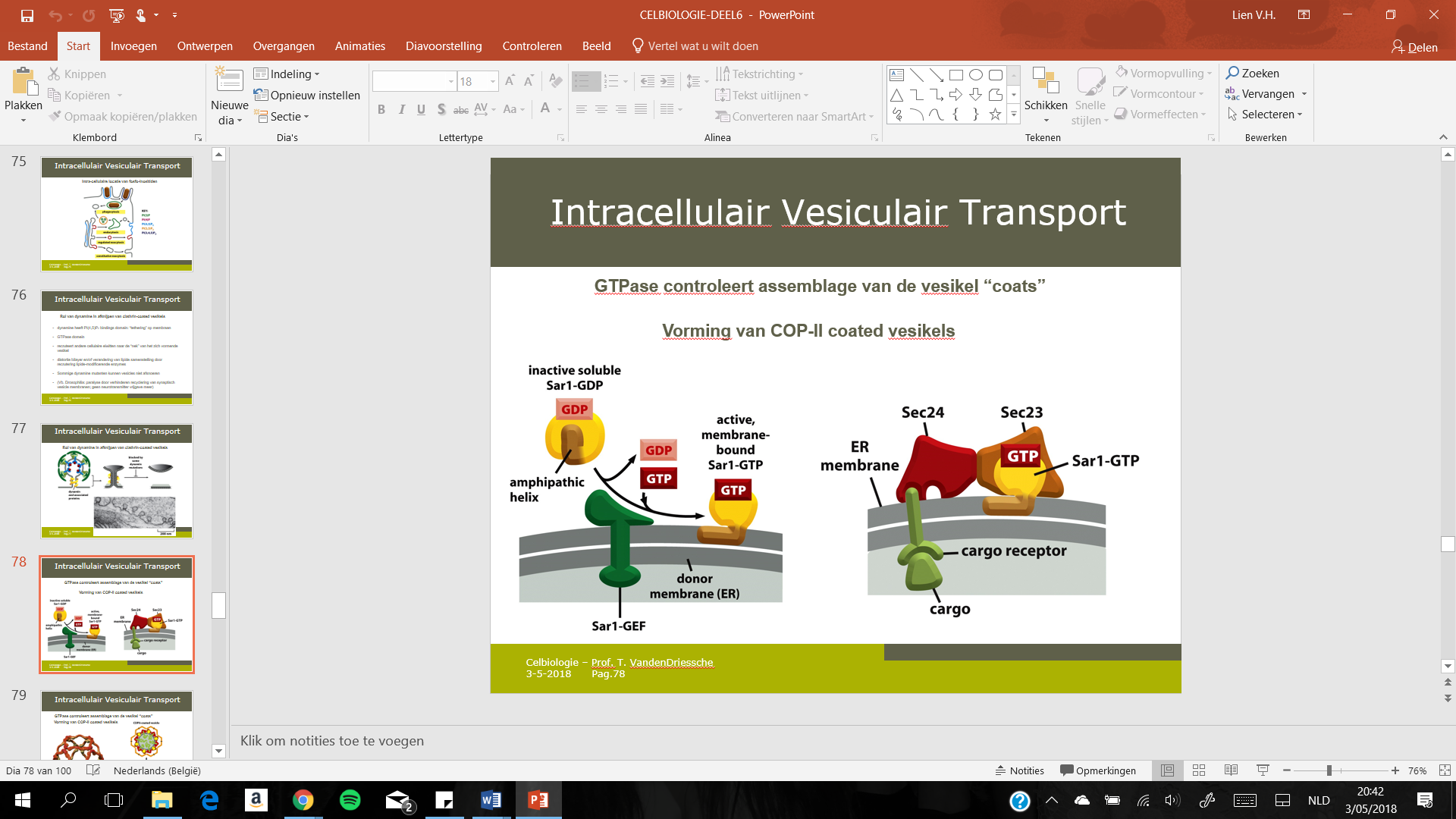
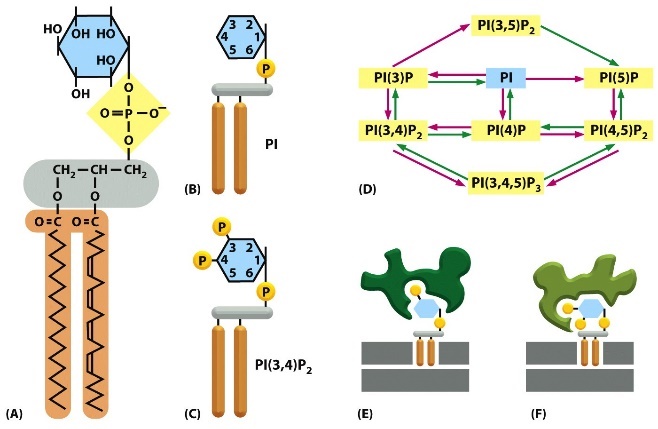
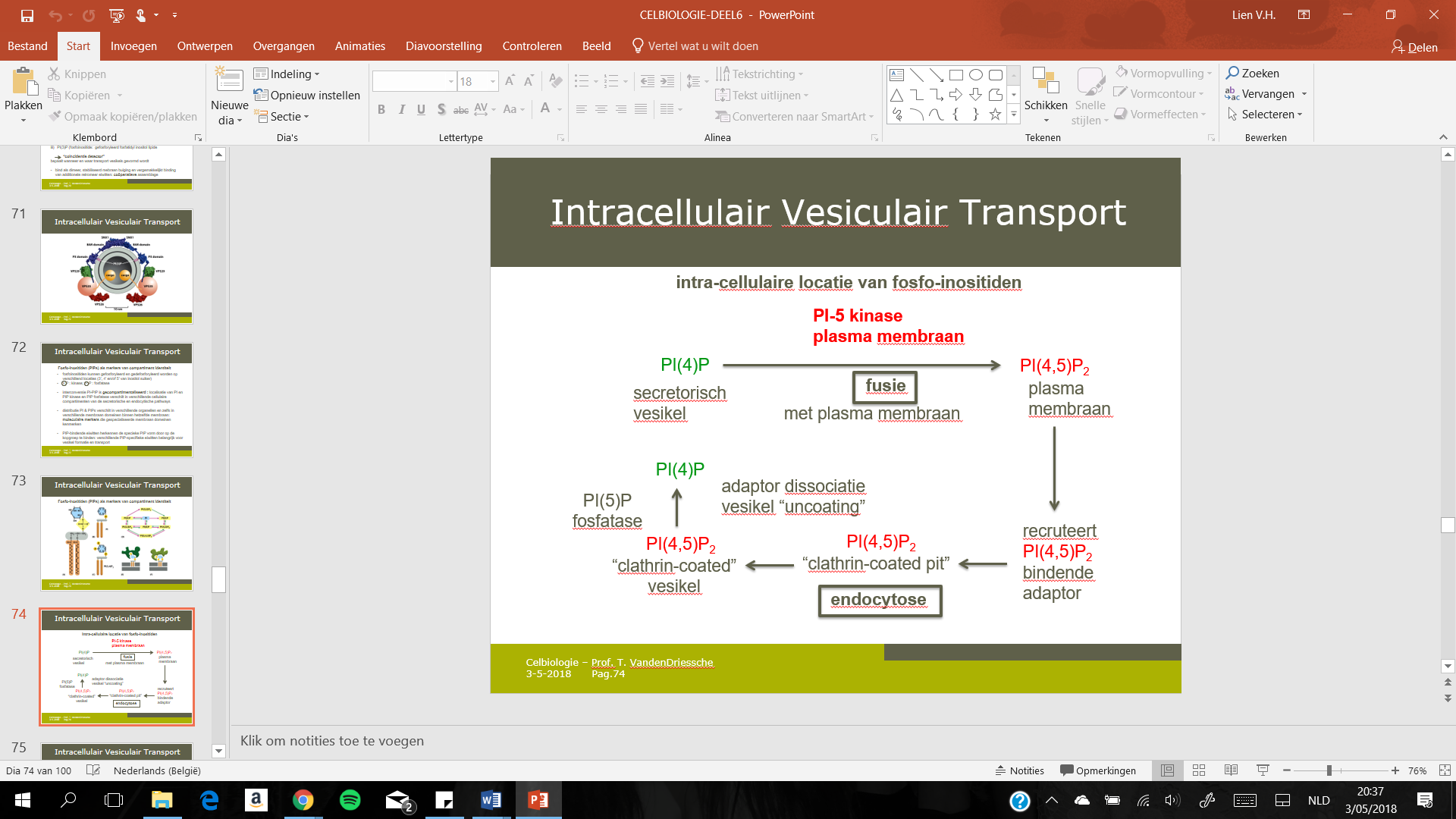
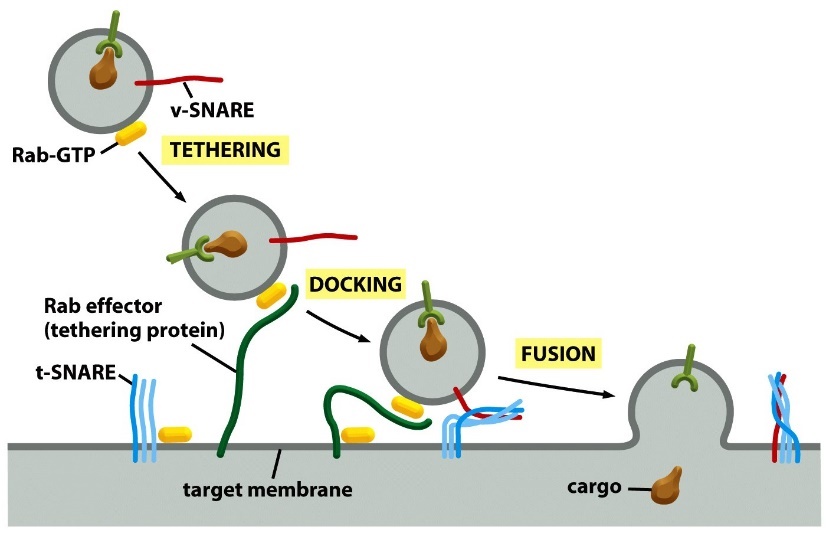
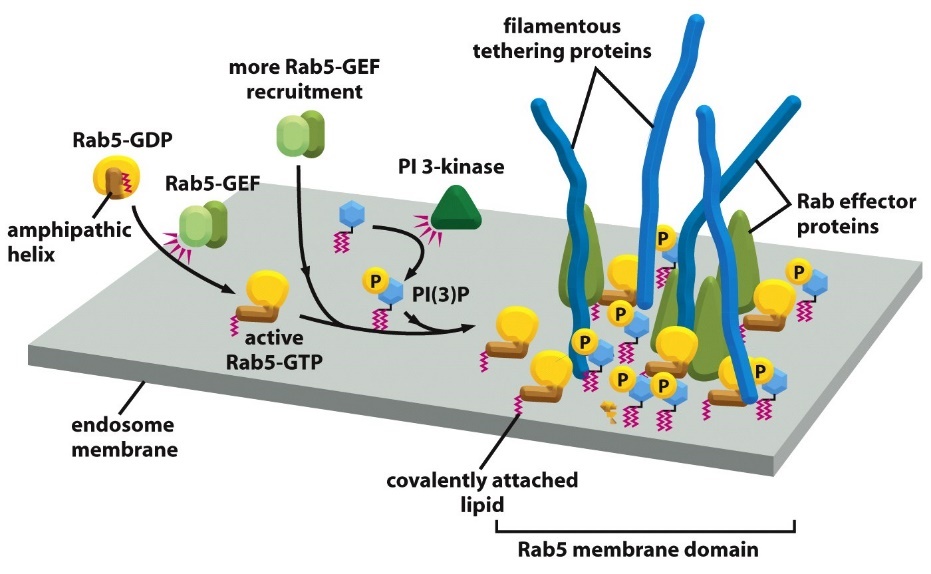
***Hoofdstuk 5: Intracellulair Vesiculair Transport***

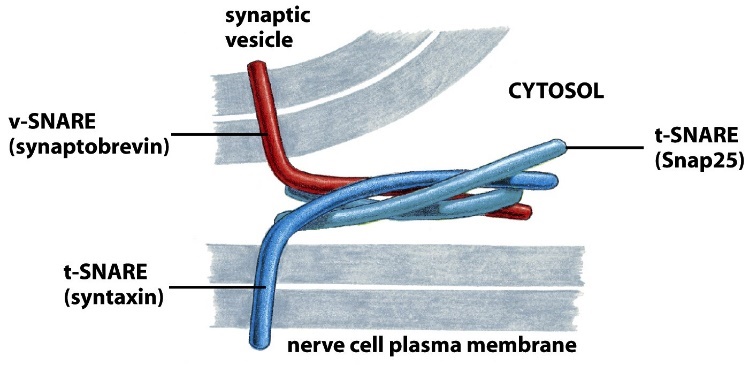
1. Exocytose en endocytose
   1. Exocytose
      1. Fusie transport vesikel met plasma membraan
      2. Vesikel inhoud 🡪 terecht in extracellulaire ruimte
      3. Vesikel membraan vormt continu geheel met plasma membraan
      4. Biosynthetische/secretorische pathway
      5. Nieuw gesynthetiseerde eiwitten, carbohydraten, en lipiden getransporteerd naar plasmamembraan of extracellulaire ruimte
   2. Endocytose
      1. Invaginatie plasma membraan vormt vesikel
      2. Inhoud van vesikel afkomstig van extracellulaire ruimte
      3. Leveren endosomen
   3. Retrieval Pathway: omgekeerd transport naar ER
2. Vesiculair transport
   1. Transport tussen verschillende compartimenten van biosynthetische/secretorische en endocytische pathway gemedieerd door transport vesikels
   2. Transport vesikels afgesnoerd van één compartiment om te fusioneren met een ander
   3. Materiaal als cargo in het lumen en het membraan van het donor compartiment wordt getransfereerd naar recipiënt compartiment
   4. Vesikel afgesnoerd in één compartiment = donorcompartiment 🡪 fuseren met ander compartiment = targetcompartiment
   5. Transport intermediaren omsloten door membraan
   6. Kleine, sferische transport vesicles
   7. Grote irreguliere organel fragmenten
   8. Transporteren eiwitten van ene compartiment naar andere
   9. Transport vesikel en fragmenten opgeladen met hun cargo afkomstig van lumen van ene compartiment
   10. Ontladen van cargo in een ander compartiment gebeurt door fusie met het membraan van dat compartiment
   11. Transport van solubele eiwitten van ER naar Golgi
   12. Geen transmembranair transport 🡪 enkel mogelijk tussen topologisch equivalente compartimenten
   13. Specifieke moleculaire merkers
3. Vesikel “budding” en fusie
   1. Solubele componenten van lumen naar lumen getransporteerd
   2. Membraan getransfereerd in “target” compartiment membraan en behoudt oorspronkelijke oriëntatie van eiwitten en lipiden in “donor” membraan
   3. Niet symmetrisch
      1. Elk transport een geschikte bestemming met specifieke cargo bevat
      2. Budding: eerst binnenlaag van bilayer-membraan versmelten en dan pas buitenlaag
      3. Fusie: eerst buitenlagen van respectievelijke compartimenten en dan pas binnenlaag
4. Vesiculair diversiteit
   1. Vesiculaire coating
      1. Concentreert specifieke eiwitten in bepaalde “patch” geeft aanleiding tot vesiculaire membraan 🡪 selectie specifieke eiwitten voor transport
      2. Vervormt membraan om vesikel structuur te vormen (bepaald ook de vorm van dit vesikel)
      3. Bepaalt transport directionaliteit
      4. 3 types
         1. Clathrine-coating 🡪 medieert transport vanuit plasmamembraan en Golgi-endosoom
         2. COPI-coating 🡪 medieert transport vanuit Golgiapparaat
         3. COPII-coating 🡪 medieer transport vanuit ER
         4. 
         5. Indien zelfde coats in verschillende locaties: incorporatie van additionele coat eiwitten die coat eigenschappen moduleren
         6. Sommige gedifferentieerde cellen hebben ook nog eigen sorteer pathways naast standaard pathways
   2. Hoofdcomponenten Clatherine-coated vesikel
      1. Hoofdcomponent = clathrine
         1. Subeenheid bestaat uit 3 grote (heavy chains) en 3 kleinere (light chain) polypeptide ketens
         2. Triskelion = gevormde drie-benige structuur
      2. Adaptoreiwit
         1. Bevind zicht tussen membraan en clathrine
         2. Zorgen voor associatie van verschillende soorten transmembranaire receptoren met clathrine-coat
            1. Bevatten cargo 🡪 cargoreceptors
         3. Binden op fosfo-inositiden
         4. Associatie en dissociatie:
            1. Adaptoreiwitten en clathrine assembleren met cargoreceoptor
            2. Bud wordt gevormd 🡪 afsnoert tot transportvesikel
            3. Adaptoreiwitten met clathrine gerecycleerd 🡪 transportvesikel samen met cargo en cargoreceptor getransporteerd naar targetcompartiment
         5. Assemblage en dissociatie van clathrine “coat”
            1. Adaptor eiwit bind clathrine en is specifiek voor cargo receptor (en bepaalde fosfo-inositides)
            2. Cargo receptor (tarns-membranair) herkent en incroporeert specieke cargo moleculen in vesikel
            3. Verschillende adaptoren bij verschillende membranen (dus binden verschillende receptoren & cargo)
   3. Retromeereiwitten
      1. Coatings met directe link met specifiek cargoeiwit = retromeereiwitten
      2. Retromeer is= multicomplex eiwit dat cargo transporteert van endosoom naar Golgi-appartaar
      3. Gebeurt enkel als het bindt op cytoplasmatische staart van cargoreceptor 🡪 directe interactie met gebogen dubbele fofoslipidelaag + binden op specifieke gefosforyleerde fosfatidyl-inositol lipiden = fosfoinositiden = PIP
         1. Rol als moleculaire merker van compartimentidentitiet en bij controle over vesiculair verkeer
      4. Fungeren al coïncidentiedetectoren 🡪 welbepaalde plaats en tijdstip
      5. Additionele retomeereiwitten vormen dimeren 🡪 membraankromming stabiliseren
         1. Coöperatieve assemblage 🡪 vorming van budding en uiteindelijk tot transportvesikels die zorgen dat cargo getransporteerd wordt naar Golgi
      6. Transport van endosomen naar Golgi
         1. Recyclage van zure hydrolase receptoren
         2. Retromer is multi-proteïne complex da teen “coat” vormt rondom endosomale membranen, enkel als het stimultaan kan interageren met:
            1. Cytoplasmatische staart van de cargo receptoren
            2. Gebogen fosfolipide bilayer
            3. PI(3)P (fosfoinositide: gefosforyleerd fosfatidyl inositol lipide
      7. Coat-recruitment GTPase eiwit
         1. Nodig voor clathrine-coating van endosomen en coating met COPI en COPII van Golgi en ER
         2. Behoren tot familie van monomerische GTPase
         3. Verantwoordelijk voor vorming van COPI-coating van Golgi-membraan (Arf eiwitten) en COPII-coating van ER-membraan (Sar1 eiwitten)
         4. Complex bevindt zich in cytosol vooral in inactieve toestand GDP-gebonden
         5. COPII-coated vesikel zich vorm vanuit bud 🡪 Sar1-GDP bindt met ER-membraan
            1. GDP komt vrij en wordt vervangen door GTP
            2. Spontane reactie mogelijk: GTP in hogere concentratie aanwezig is in het cytosol dan GDP
            3. Binding van Sar1-GTP op ER-membraan zal zorgen dat verschillende coateiwit subeenheden gerekruteerd worden om budvorming te initiëren
            4. Hydrolyse van gebonden GTP naar GDP zorg voor conformatie verandering van GTPase 🡪 coating demonteert
      8. Fosfo-inositiden (PIPs) als merkers van compartiment identiteit
         1. Fosfoinositiden gefosforyleerd en gedefosforyleerd op verschillend locaties (3’, 4’ en/of 5’ van inositol suiker)
         2. + P : kinase; - P : fosfatase
         3. Interconversie PI-PIP is **gecompartimentaliseerd :** lokalisatie PI en PIP kinase en PIP fosfatase verschilt in verschillende cellulaire compartimenten van de secretorische en endocytische pathways
         4. Distributie PI & PIPs verschilt in verschillende organellen en zelfs in verschillende membraan domeinen binnen hetzelfde membraan: **moleculaire merkers** die gespecialiseerde membraan domeinen kenmerken
         5. PIP-bindende eiwitten herkennen de specieke PIP vorm door op de kopgroep te binden: verschillende PIP-specifieke eiwitten belangrijk voor vesikel formatie en transport

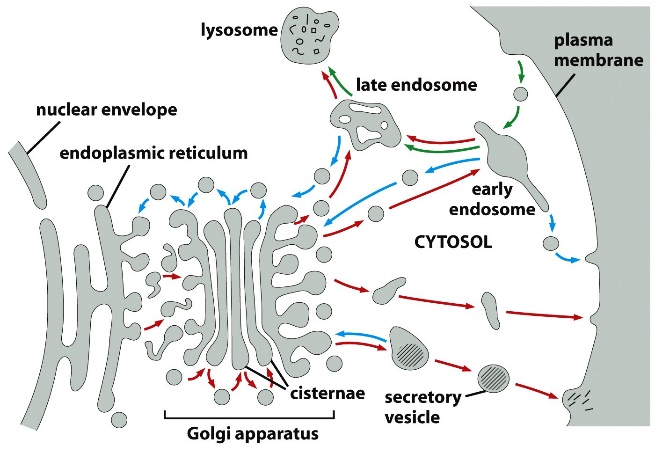
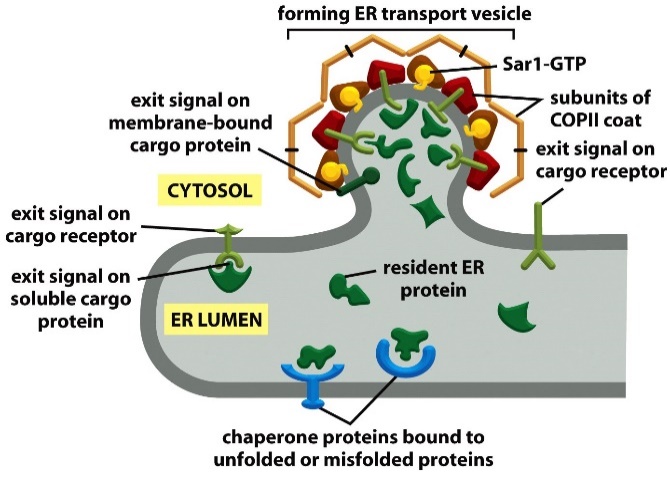
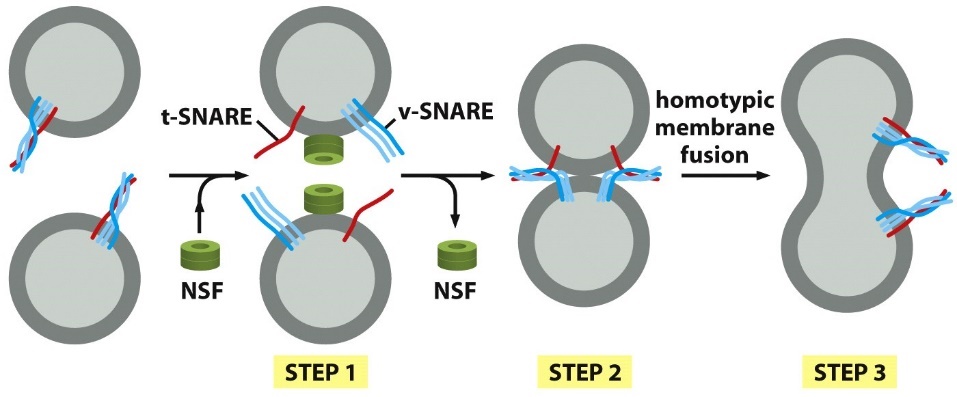
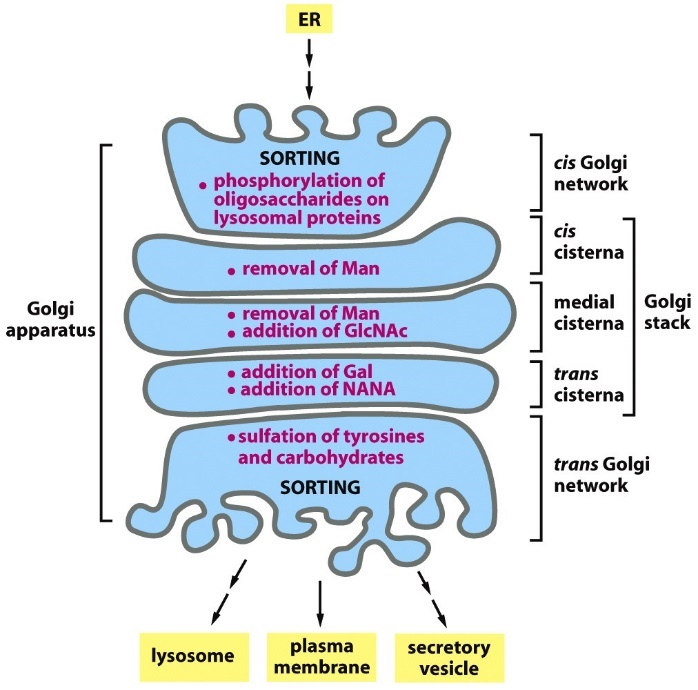


* + 1. Rol van dynamine in afknijping van clathrin-coated vesikels
       1. Dynamine heeft PI(4,5)P2 bindings domain: “tethering” op membraan
       2. GTPase domein
       3. Rekruteert andere cellulaire eiwitten naar de “nek” van het zich vormende vesikel
       4. Distortie bilayer en/of verandering van lipide samenstelling door rekrutering lipide-modificerende enzymes
       5. Sommige dynamine mutanten kunnen vesikels niet afsnoeren
       6. (Vb. Drosophilia: paralyse door verhinderen recyclering van synaptisch vesicle membranen; geen neurotransmitter vrijgave meer)

1. Vesiculaire fusie
   1. Vesiculair verkeer ordelijk en specifiek gebeurt 🡪 transportvesikels selectief targetmembraan herkennen waarmee fusie plaats vind
   2. Rab eiwitten
      1. Centrale rol in specificiteit van vesiculaire verkeer
      2. Geassocieerd met familie van monomerische GTPase
      3. Hoge selectieve distributie 🡪 geschikt als moleculaire merker voor verschillende membraantypes en hun specifieke vesiculaire verkeer
   3. Werking
      1. Analoog met coat-recruiment GTPase eiwitten
         1. Actieve Rab-eiwit gebonden op membraan vesikel 🡪 bindt met Rab-effectoren die vesikel transport, membraan tethering en fusie faciliteren
         2. Rab-effectoren zeer variabel 🡪 motoreiwit (vesikels transporteert langs actinefilamenten en microtubulie), of tetheringeiwitten
            1. Tetheringeiwitten = domeineiwitten met lange slierten, kunnen binden aan Rab-GTP + richting targetmembraan bewegen
            2. Rol interactie SNARE-eiwitten 🡪 rol koppeling van membraantethering aan fusie, aangezien SNARE-eiwitten membraanfusie mediëren
            3. Vorming van Rab5 domein op endosoom

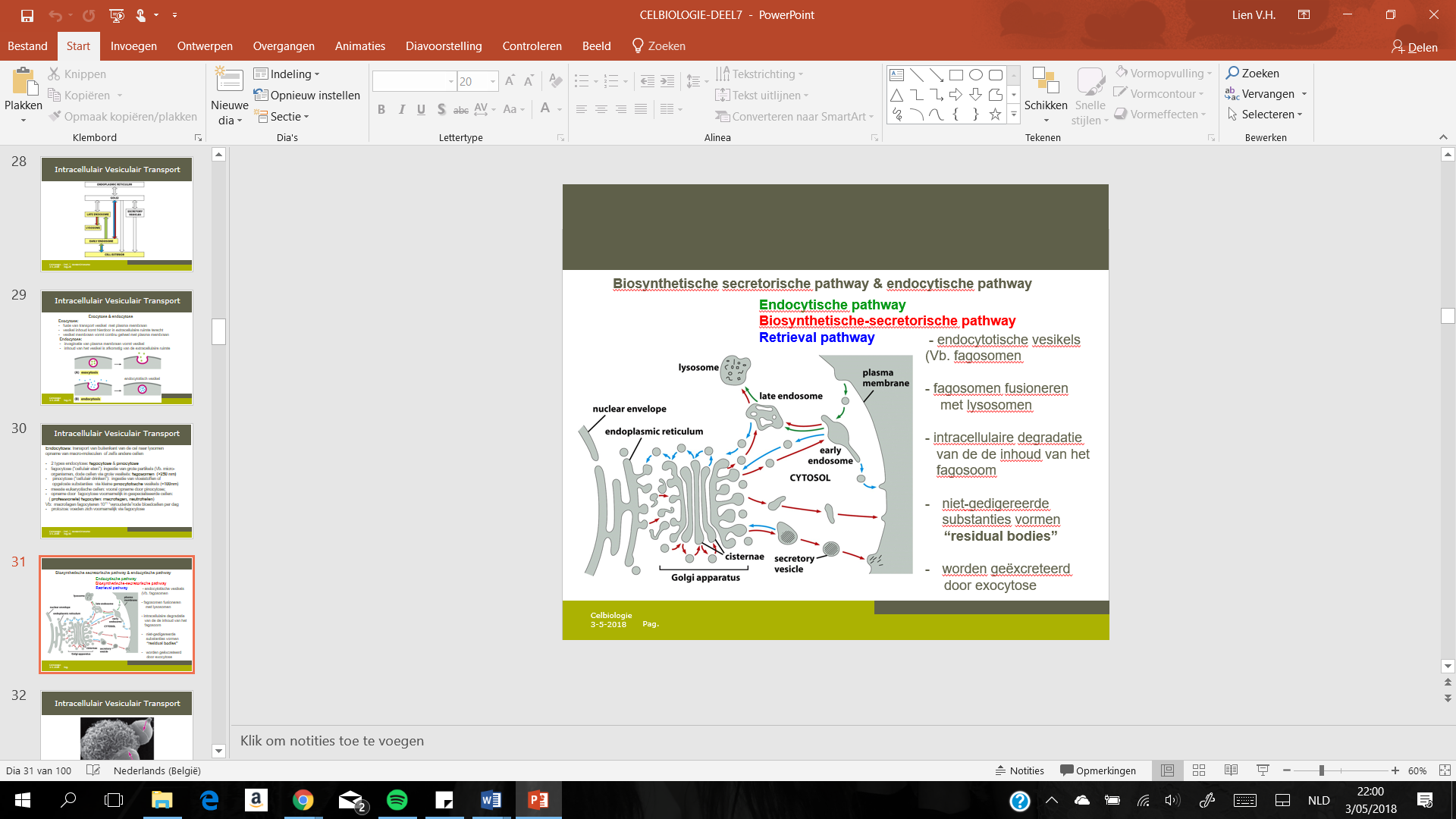
Target sit voor clathrine-coated vesikels afkomstig van plasma membraan

* 1. SNARE-eiwitten
     1. Verantwoordelijk voor katalysering van membraan bij fusie van vesiculair verkeer
        1. Vereist H2O expulsie 🡪 energetisch ongunstig, vergt energie
        2. Bepalen ook specificiteit voor targeting door SNARE diversiteit
     2. NSF dissocieert SNARE complex
        1. Vermijden constitutieve en ongecontroleerde membraan fusie
     3. Additionele rol in specificiteit bij transportproces
        1. Aanwezigheid Rab eiwitten kunnen fusie proces beïnvloeden
        2. Versnellen door dissociatie van inhibitorische eiwitten van t-SNARE in correcte locatie in het membraan
     4. Bestaan uit complementaire set van v-SNARE-eiwitten en t-SNARE-eiwitten
        1. V-SNARE-eiwitten: enkele polypeptideketens die zich op vesikels bevinden
        2. T-SNARE-eiwitten: bestaan uit 2 of 3 eiwitten die zich op targetmembraan bevinden
           1. NSF-eiwit cruciaal, staat in voor dissociatie van trans-SNARE eiwitcomplexen
           2. Constant actief op targetmembraan 🡪 continu complex gevormd worden met v-SNARE-eiwit 🡪 2 membranen kunnen fuseren
           3. Vermijden van constitutieve en ongecontroleerde membraanfusie 🡪 NSF-eiwit dissociatie 🡪 gepaste tijd en plaats van vorming trans-SNARE-eiwitcomplex
        3. Trans-SNARE-eiwitten = complex waar interacties v-SNARE helixdomein en t-SNARE helixdomein gebeuren
           1. Docking en fusie synaptische vesikels die zich bevinden op het plasmamembraan en zenuwceluiteinden tijdens vrijlating van neurotransmitters
           2. Energie nodig voor katalysering van membraanfusie is afkomstig van energie vrij komt als helices interageren om membranen dichter bij elkaar te brengen
     5. Medische relevantie
        1. Clostridium tetani en clostridum botulinum (bateriën) die proteolytische neurotoxines secreteren en vrijlaten in specifieke neuronen.
        2. Doel: SNARE-eiwitten knippen 🡪 blokkering synaptische transmissie 🡪 verlamming (botulisme) en spierspasmen (tetanus)
        3. Botox-behandeling voor cosmetische toepassing werkt volgens hetzelfde principe 🡪 botulinetoxine geïnjecteerd op gezichtsspieren te ontspannen

1. Golgiapparaat
   1. Verantwoordelijk voor
      1. Synthese van polysacchariden
      2. Synthese van glycosaminoglycanen
      3. Synthese van oligosacchariden door glycosylatie van eiwitten en lipiden
      4. Transport van meeste eiwitten en lipiden naar andere cellulaire compartimenten
   2. Eiwitten
      1. Eiwitten ER binnentreden voorbestemd om naar Golgi getransporteerd te worden, verpakt in kleine COPII-coated transport vesikels
         1. Vesikels vrij in gespecialiseerde regio’s van GER = ER-exit sites
         2. Opname van eiwitten is een selectief proces 🡪 eiwitten in deze vesikels geconcentreerd
         3. Cargoreceptoren vertonen exitsignaal dat herkend wordt door COPII-coat eiwitten
         4. Eiwitten zonder exitsignaal opgenomen worden door trnasportvesikel
            1. Eiwitten zonder exitsignlaal functioneren in ER = ER-residenten eiwitten 🡪 minder efficiënt 🡪 lekken uit ER
            2. Secretorische eiwitten in ER in hoge concentratie verlaten zonder hulp van exit signalen of cargo eiwitten
      2. Medische relevantie 1
         1. Sommige cargorecoptoren = lectines en binden oligosacchariden
         2. ERGIC53 = lectine & cargoreceptor bindt op mannose
            1. Herkent stollingsfactoren factor VIII (FVIII) en factor V (FV)
            2. Rol in verpakking eiwitten in transportvesikels in ER
            3. Patiënten met mutatie in ERGIC53 hebben een verlaag niveau van stollingsfactoren FVIII en FV in bloed 🡪 verhoogde kans op bloeding
      3. Medische relevantie 2
         1. Cellen mogelijkheid virussen in cel binnengetreden op te merken + capaciteit om via intracellulair vesiculair transport antigenische peptiden te presenteren aan cytotoxische T-cellen
         2. Proces: virus in cel via endocytose + opgenomen door endosoom
         3. Fusie virus met endosoom: erfelijk materiaal van virus vrij in cel 🡪 replicatie en translatie ondergaan
            1. Erfelijk materiaal = DNA, RNA
         4. Virale eiwitten: proteasoom gedegradeerd worden tot virale peptiden 🡪 via ABC-transporter in ER-lumen getransporteerd worden
         5. ER-lumen binden virale peptiden met klasse I major histocompatibility complex (MHC) moleculen 🡪 getransporteerd naar Golgi
         6. Peptide-MHC complex van Golgi naar celoppervlak getransporteerd worden 🡪 cytotoxische T-cellen herkend
      4. Verschillende transportvesikels gaan met elkaar fuseren
         1. Fusie van membranen van hetzelfde compartiment = homotypische fusie
         2. Gemedieerd door t-SNARE, v-SNARE, en Rab-eiwit interacties
   3. Retrograad transport/Retrieval pathway
      1. Gemedieerd door ER-retrieval signalen
      2. Resterende ER-membraaneiwitten worden via retrograad transport terug naar ER getransporteerd dankzij ER-retrieval signalen die direct verbonden zijn aan COPI-coats
      3. COPI-coats verhogen efficiëntie van retrograad transport naar ER
      4. Solube ER-residente eiwitten bevatten korte ER-retrieval signalen (KDEL-sequentie)
      5. ER-resident eiwit in Golgi terecht komt 🡪 KDEL-receptoreiwit binden 🡪 via COPI-coat weer terug naar ER transporteert
      6. KDEL 🡪 residente ER membraan eiwitten
      7. KKXX 🡪 residente ER membraan eiwitten
   4. Chaperones
      1. Slecht opgevouwen eiwitten of individuele subeenheden blijven in ERtot ze correct opgevouwen of geassembleerd zijn: binden op **chaperones**
      2. BiP: blokkeert exit signaal tot volledig opgevouwen
      3. Indien geen correctie: degradatie (proteasoom)
      4. Voor sommige eiwitten: 90% gedegradeert!
      5. Sommige CFTR mutante eiwitten in CF: degradatie, geen CFTR op plasmamembraan
2. Glycosylatie
   1. Verschillende groepen vormen oligosacchariden een complex i.s.m. specifieke enzymen 🡪 ≠ voor elke verwerkingsstap 🡪 glycoproteïnen en glycosphingolipiden gesynthetiseerd 🡪 elke oligosaccharide belangrijke functie
   2. 2 klassen N-linked oligosacchariden komen voor bij dierlijke glycorproteïnen
      1. Complexe oligosacchariden
         1. N-linked oligosacchariden getrimd in ER waar extra suikers aan binden
      2. High-mannose oligosacchariden
         1. N-linked oligosacchariden getrimd in ER waar GEEN extra suikers aan binden
         2. Bestaan uit twee N-acetylglucosamines en mannoseresiduen
   3. O-linked glycosylatie in Golgi
      1. Mucines, proteoglycanen gesecreteerd (extracellulaire matrix) of membraangebonden
      2. Andere modificaties: Tyr of suiker sulfatering in trans Golgi
   4. Waarom belangrijk ?
      1. Verhoogt solubiliteit van eiwitten
      2. **“glyco-code”:** markeert progressie van opvouwen van eiwitten en medieert binding van eiwitten op chaperones & lectines
         1. Vb. ER-Golgi transport
      3. Suikermoleculen verhinderen dat andere eiwitten in contact treden met het eiwit oppervlak (Vb. verhoogd resistentie voor proteolyse)
      4. Mucus als protectieve laag om cellen te beschermen (Vb. darm epitheel)
      5. Interactie suikers-lectines zeer belangrijk voor cel-cel interacties, ontwikkeling, immune respons, receptor activatie, enz.
3. Oligosaccharide verwerking in Golgiapparaat
   1. Verwerking van oligosacchariden vind plaats
      1. Elk compartiment bevat membraangebonden enzymes
         1. Staan in voor verwerking van oligosacchariden
         2. Enzymen verschillen in elk compartiment
         3. Cis-Golgi vindt katalyse van vroege reactiestappen plaats
         4. Trans-Golgi late reactiestappen gekatalyseerd
4. Lysosomen/Lysosomaal transport
   1. Cel-compartimenten
      1. Omgeven door membraan
      2. Gevuld met hydrolytische enzymen 🡪 nodig voor intracellulaire digestie van macromoleculen
      3. Enzymen = zure hydrolasen 🡪 proteolytisch geactiveerd + enkel actief in zure pH
      4. Lysosomen: pH 4,5-5 d.m.v. V-type ATPases
         1. ATPase pompt H+ in lysosomen met energie van ATP-hydrolyse
         2. H+-gradiënt gebruikt om afbraakproducten naat cytosol te transporteren
         3. Rest van cel beschermd tegen hydrolases door hogere pH in cytosol (pH=7,2) en/of membraan van lysosomen
            1. Membraan bevat geglycolyseerde membraaneiwitten 🡪 helpen beschermen tegen proteases in lumen van lysosomen
   2. Functies
      1. Zorgen voor zeer heterogene morfologie 🡪 verschillende functies zure hydrolases in lysosomen
         1. Afbraak macromoleculen
         2. Vernietigen gefagocyteerde micro-organismen
         3. Productie nutriënten voor cel
         4. Afbraak intra- en extracellulaire debris
      2. Degadratie van dysfunctionele organellen: recuperatie van bestanddelen
         1. Mitochondrie: levensduur 10 dagen
         2. Autofagie GER na drug-geïnduceerde expansie
         3. Wanneer nutriënten limiterend zijn, ondergaat cytosol niet-selectieve digestie in autofagosomen: vrijgave van metabolieten
   3. Drie pathways
      1. Endocytose
         1. Macromoleculen uit extracellulaire vloeistof opgenomen door endocytose
         2. Moleculen in vesikels naar vroege endosoom gebracht 🡪 lysosomale hydrolases aanwezig zijn
         3. Late endosoom (pH=6) 🡪 digestie begint 🡪 mature lysosomen gevormd
      2. Autofagie
         1. Afbreken van ongebruikte/verouderde celonderdelen
         2. Af te breken organel omgeven door dubbel membraan 🡪 autofagosoom
         3. Fuseert met lysosoom (of late endosoom) 🡪 celorganel kan worden afgebroken
      3. Fagocytose
         1. In fagocyten (macrofagen en neutrofielen)
         2. Nemen vreemd object op in fagosoom
         3. Zelfde manier verwerkt als autofagosoom
   4. Trans- en Cis-Golgi netwerk
      1. Cis
         1. Lysosomale eiwitten gemodificeerd 🡪 mannose-6-fosfaat (M6P) groep aan N-linked oligosacchariden toegevoegd d.m.v. GIcNAc-phosphotransferase
         2. Gemodificeerd in CGN: bevatten M6P als moleculaire merker
      2. Trans
         1. Lysosomale eiwitten 🡪 co-translationeel transport 🡪 RER 🡪 Golgiapparaat 🡪 TGN
         2. Bevinden zich transmembranaire M6P-receptoreiwitten 🡪 herkennen M6P-groepen
            1. Receptoren binden op adaptoreiwitten tijdens vorming van clarhrine gecoat vesikel 🡪 snoert zich af van TGN
            2. Vesikels verliezen coating 🡪 fuseren met vroeg endosoom
         3. TGN
            1. Bevat transmembranaire M6P receptoren die op M6P en adaptor eiwitten binden tijdens vorming van clathrine-gecoate vesikels die zich afsnoeren van TGN
      3. Vroege endosoom
         1. pH lager 🡪 hydrolases dissociëren van M6P-receptor
         2. Zure fosfatases de fosfaatgroep van mannose verwijders 🡪 geen signaal meer 🡪 release hydrolases M6P-receptor
         3. Lege M6P-receptoren terug naar TGN verpakt in vesikels met retromeercoat
   5. Transport van lysosomale eiwitten van trans-Golgi netwerk naar lysosomen
      1. Verwijderen van P 🡪 verhindert terugkeer van lysosomale hydrolasen naar Golgi
      2. Sommige M6P eiwitten worden gesecreteerd 🡪 via M6P-receptoren in plasma membraan terug getransporteerd via endosomen naar lysosomen
      3. M6P gekoppeld door herkennen van “patch” aan zure hydrolase
      4. Ook andere sorting pathways van TGN naar endosomen
      5. **Lysosomale secretie** van niet-gedigereerde inhoud
      6. Sommige celtypes gespecialiseerde lysosomale secretie pathway
      7. Vb. melanocyten (huid): pigment

Gespecialiseerde lysosomen (**melanosomen**) bevatten pigment en fusioneren met plasma membraan

* + - 1. Secretie van pigment in extracellulaire ruimte van de epidermis door exocytose
      2. Pigment wordt opgenomen door keratinocyten: huid pigmentatie
      3. Defect in melanosoom exocytose kan tot hypo-pigmentatie leiden



* 1. Exocytose en endocytose
     1. Endocytosis:
        1. Transport van buitenkant van cel naar lysomen opname van macro-moleculen of zelfs andere cellen
        2. 2 types: fagocytose en pinocytose
        3. Fagocytose (cellulair eten)
           1. Ingestie van grote partikels
           2. Vereist activatie

Vereist binding van partikel op fagocyt: specifieke receptoren worden hierbij geactiveerd en gevolgd door signaal transductie en inductie van fagocytische respons

* + - * 1. Receptoren

Antilichaam op binding op Fc Receptoren

Complement binding op complement receptoren

Lectines die oligosachariden herkennen op micro-organismen

Receptor voor apoptotische cellen

Apoptotische cellen

Verliezen asymmetrie in plasma membraan fosfolipiden

Normaal: aan cytosolische zijde van plasma membraan gelokaliseerd

“flippen” naar buitenzijde en worden herkend door specifieke receptoren die fagocytose induceren

Levende cellen

Binden inhiberende receptoren die tyrosine fosfatase rekruteren waardoor fagocytose geblokkeerd wordt

* + - * 1. Pseudopodale extensie en fagosoom vorming

Vereist RhoGTPase die PI3 kinase activeert

Conversies van PI in PIP2 in PIP3

Actine polymerisatie & depolymerisatie

Invaginatie/fagocytose

* + - 1. Pinocytose (cellulair drinken)
         1. Ingestie van vloeistoffen of opgeloste substanties via kleine pinocytotische vesikels
         2. Constitutief proces
      2. Meestal eukaryotische cellen: vooral opname door pinocytose
      3. Opname door fagocytose voornamelijk n gespecialiseerde cellen
      4. Niet allemaal gecoat met clathrine
         1. Caveolae

Geen cytosolische coat, zijn opgebouwd uit caveoline eiwitten, gevormd door membraan micro-domeinen of “lipid rafts”

Afsnoering van dynamine

Aflevering van inhoud aan endosoom-achtig compartimens (caveosoom)

Caveosoom ontwijkt conventionele endosomen en lysosomen.

* 1. Medische relevantie
     1. Genetische defecten veroorzaken diverse lysosomale opstapelingsziekten
     2. Defecten stapelen onverteerde producten op in lysosomen 🡪 pathologische consequenties (zenuwstelsel)
     3. Mutatie in gen codeert voor één van specifieke hydrolases
        1. Defect in GIcNAc-phosphotransferase 🡪 geen fosforylatie van hydrolases 🡪 geen vorming van M6P (Hurler syndroom)
        2. Geen sortering van hydrolase 🡪 gesecreteerd, niet naar lysosomen gebracht 🡪 geen M6P gevormd = Hurler syndroom
        3. Lysosomen geen afbraak 🡪 afvalstoffen zich ophopen en grote intracellulaire inclusies ontstaan (I-cell disease)
     4. Andere manier van afbraak van macromoleculen
        1. Intra- en extracellulaire debris
        2. Via ubiquitinylatie
        3. 3 processen: elk verschillende uitkomst
           1. Mono-ubiquitinylatie

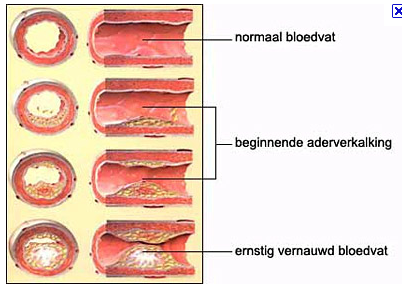
Ubiquitine bindt op één plaats 🡪 regulatie van histonmodificaties

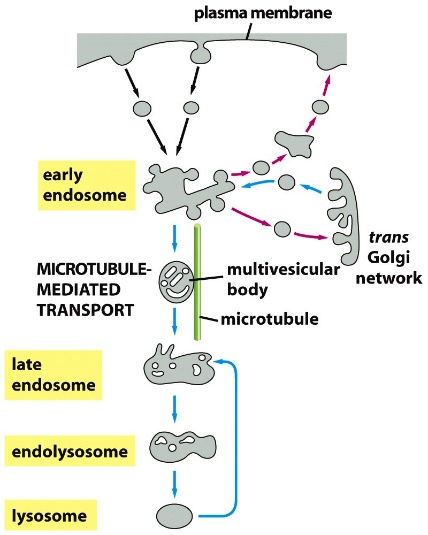
* + - * 1. Muli-ubiquitinylatie

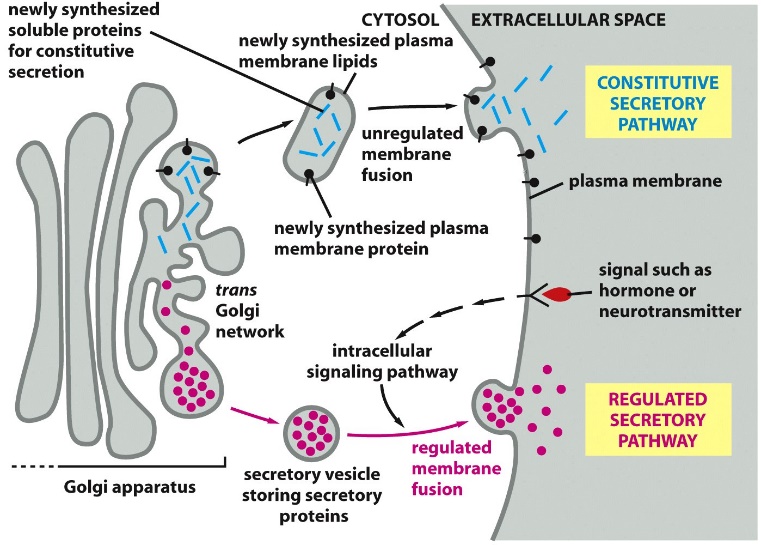
Ubiquitine bindt op meer dan één plaats 🡪 endocytose

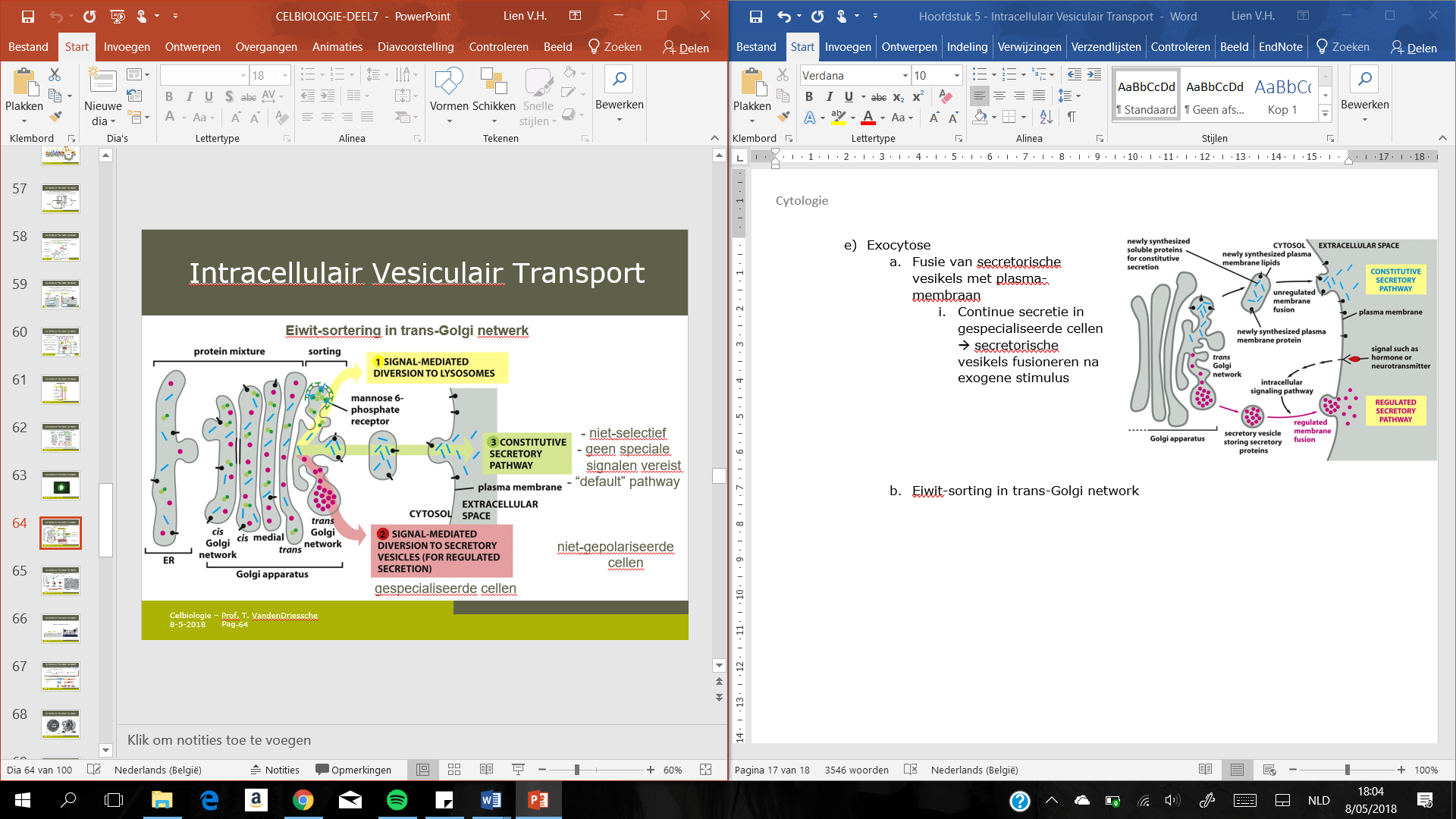
* + - * 1. Ploy-ubiquitinylatie

Ubiquitine bindt op één plaats 🡪 vormt een keten van ubiquitinemoleculen 🡪 degradatie via proteasoom

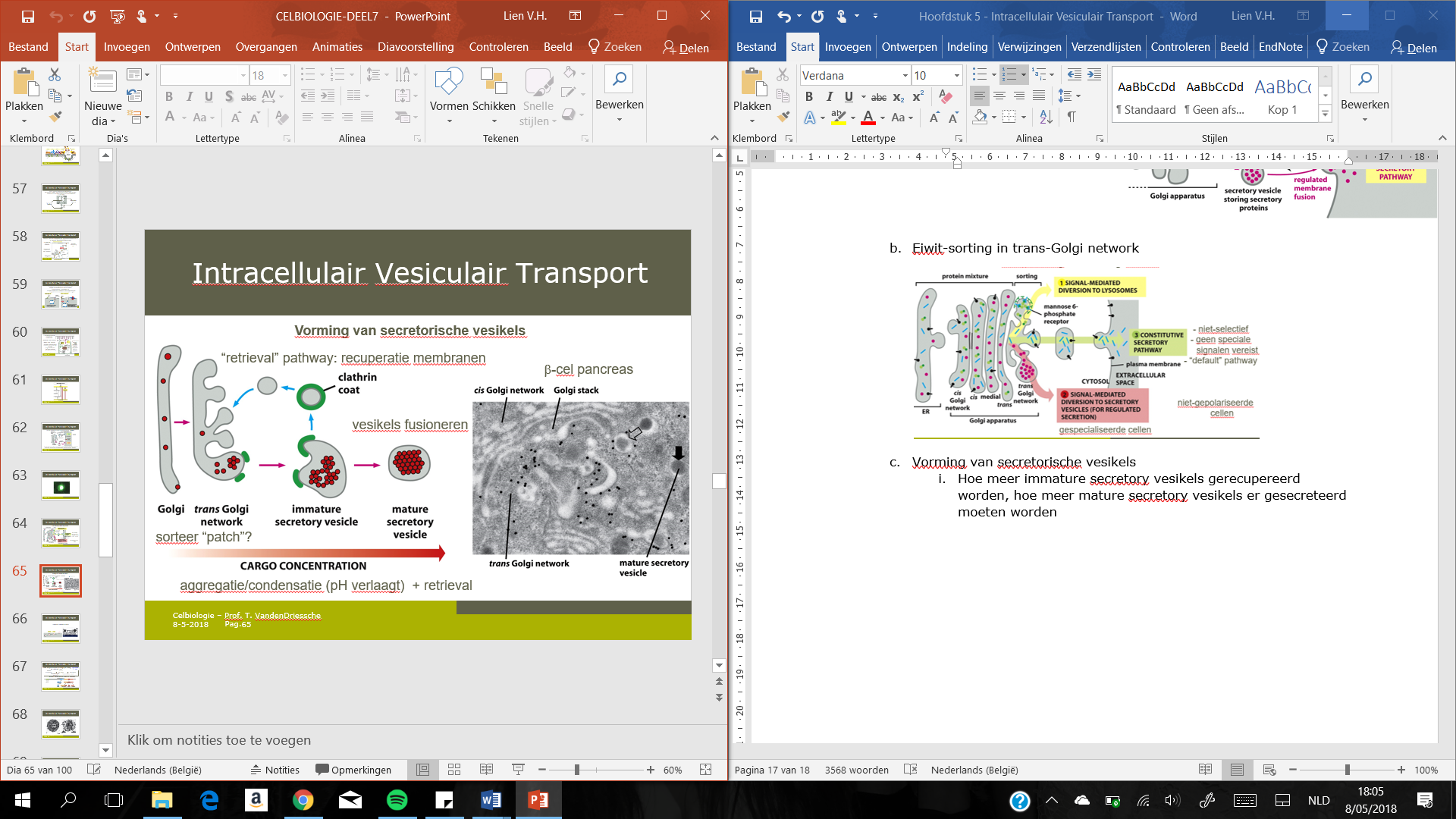
1. Receptor-gemedieerde endocytose
2. Zeer selectief proces oor import van extracellulaire moleculen
   1. Cholesterol wordt zo opgenomen. En is essentieel voor membraanfunctie
3. Cholesterol
   1. In bloed getransporteerd als cholesterylesters o.d.v.v. lipide-eiwitten = low-density lipoproteïnen (LDLs)
   2. Wanneer cel cholesterol nodig heeft voor synthese van membranen zal een LDL-receptor aangemaakt worden en getransporteerd worden naar het plasmamembraan
   3. LDL-partikels binden aan de receptor 🡪 associeert dan met clathrine-molecule via een adaptoreiwit 🡪 getransporteerd naar endosoom 🡪 LDL vrij van receptor door lage pH 🡪 late endosomen naar lysosomen
   4. Cholesterylesters in LDL-partikels hydrolyseren 🡪 cholesterol vrij en door cel gebruikt voor membraansynthese
   5. LDL-receptoren die hun cargo hebben afgeven 🡪 gerecycleerd naar plasmamembraan
   6. Cholesterol in grote hoeveelheid accumuleren 🡪 cel zal voor feedback-loop zorgen 🡪 stopzetten van cholesterolsynthese als synthese van LDL-receptoren
4. Medische relevantie
   1. Familiale hypercholesterolemie (FH)
      1. Erfelijke aandoening waarbij cholesterolgehalte in het bloed aanwezig is
      2. Die individuen hebben een defect of ontbrekend gen voor LDL-receptor 🡪 gereguleerde pathway verstoord 🡪 verhoogde hoeveelheid cholesterol in het bloed 🡪 atherosclerose
      3. LDL-receptor kan afwezig zijn, maar er kunnen ook defecten zijn in extracellulaire binding van recopter met LDL of een defecte internalisatie van de receptor
      4. Interactie van LDL-receptor ven coated-pit verhinder door defect internalisatie
      5. Heterozygoot = verhoogd risico op atherosclerose en hartinfarct
      6. Homozygoot = zeer hoge mortaliteit op jonge leeftijd door atherosclerose en hartinfarcten
5. Intacellulair transport van transmembranaire receptoren na receptor-gemedieerde endocytose
   1. Verschillende LDL-R defecten
      1. Geen LDL-R
      2. Defect extracellulaire binding
      3. Defecte internalisatie: mutatie verhindert interactie van LDL-R met “coated pit”
   2. Heterozygoten LDL-R +/- 🡪 verhoogd risico atherosclerose & hartinfarct
   3. Homozygoten LDL-R-/- 🡪 zeer hoge mortaliteit op jonge leeftijd door atherosclerose/hartinfarct
   4. LDL-R
      1. Bind LDL
      2. Recyclage van receptor
      3. Geen recyclage van ligand
      4. Kan geëndocyteerd worden zelfs indien geen LDL gebonden is
   5. Transferrine receptor (TfR)
      1. Bind tranferrine-Fe
      2. Lage pH in endosomen zorgen voor conformationele wijziging van transferrin: vrijgave van Fe2+ (apo-transferrine, Apo-Tf)
      3. Apo-Tf blijft gebonden op TfR
      4. Apo-Tf wordt samen met TfR gerecycleerd naar plasma membraan
      5. Apo-Tf wordt vrijgegevn in extracellulair milieu en kan opnieuw Fe2+ binden. Tfe wordt
   6. Opiode receptoren
      1. Binden opiaten (morfine, heroine, endorfine)
      2. Ligand activeert receptor
      3. Degradatie van receptor in endosomen
      4. Resulteert in netto verminderde expressie van receptor op plasmamembraan “**receptor down regulation**”
      5. Verminderde gevoeligheid van de cel voor ligand: **desensitisatie**
      6. Minder receptoren 🡪 minder gevoeligheid
      7. Morfine, heroïne 🡪 meer receptoren voor hetzelfde effect
6. Multivesiculaire lichamen

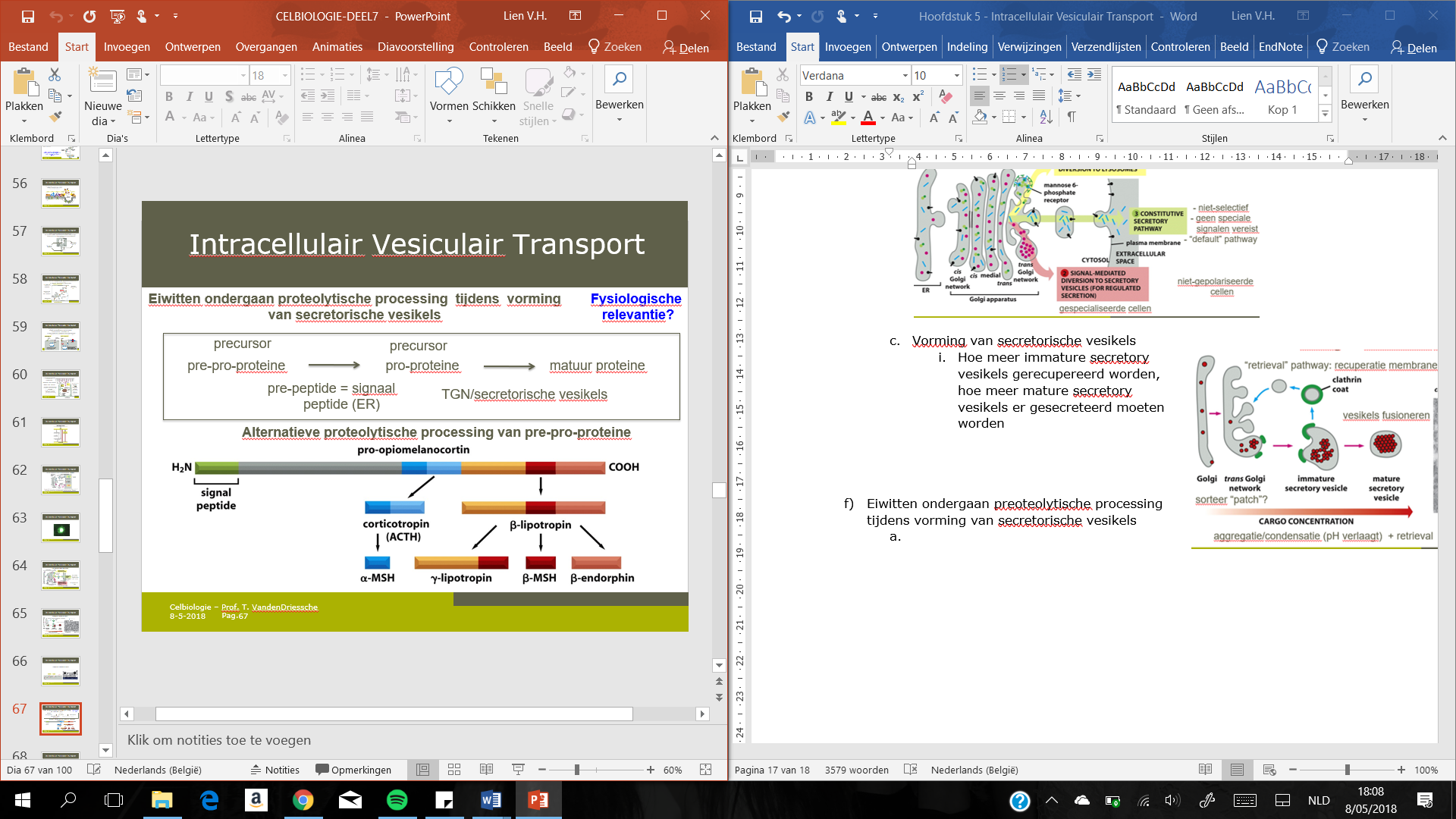


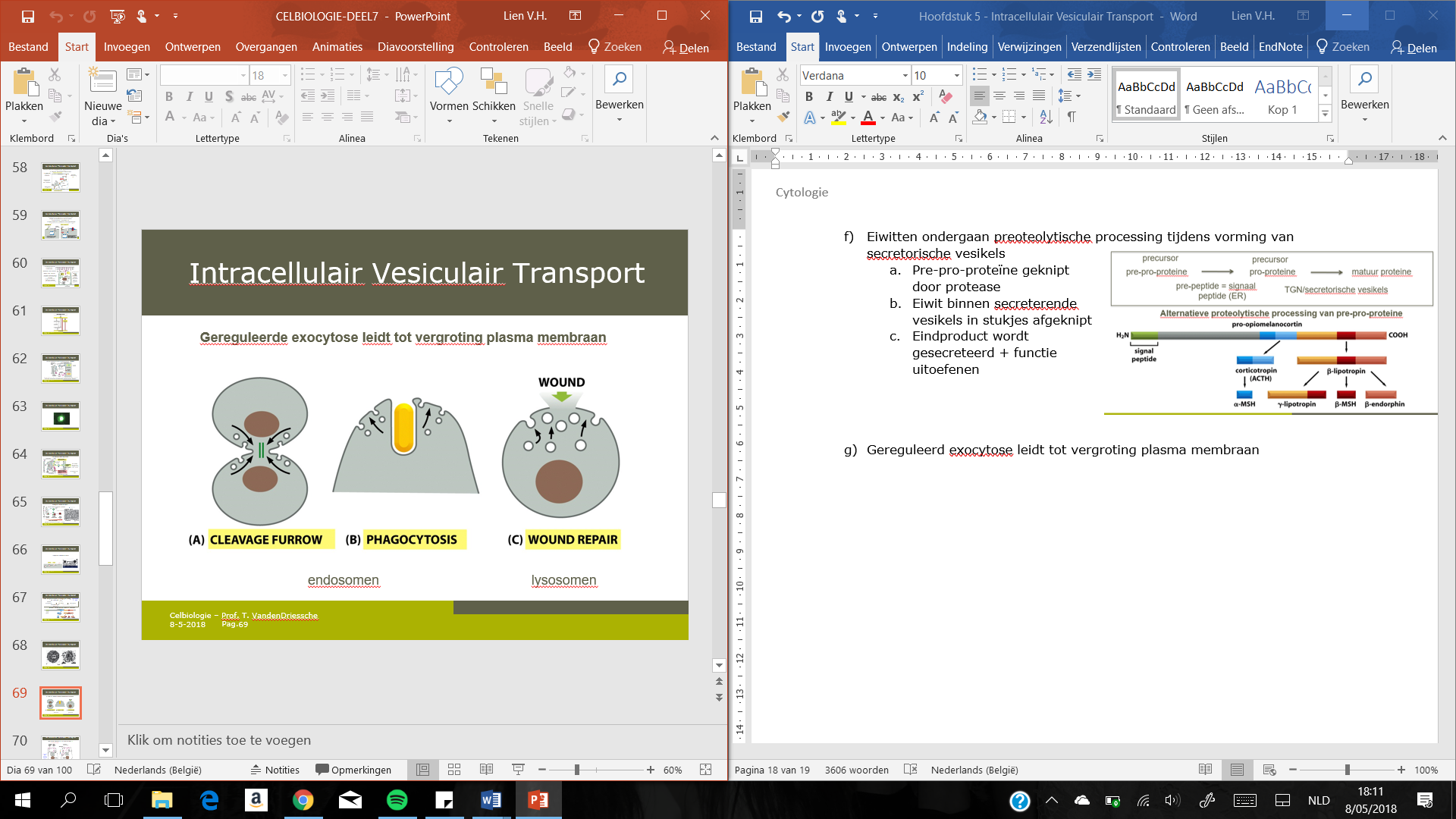
1. Endocytische pathway: Plasma membraan naar lysosomen
   1. Sequestratie van ge-endocyteerde eiwitten in de interne membranen van multicesiculaire lichamen
   2. Digestie van inhoud door lysosomale lipase en proteoase
2. Twee verschillende endosomale compartimenten in epitheelcellen
   1. Basolateraal “vroege” endosomen
   2. Apicale “vroege” endosoom
   3. Recyclage van geëndocyteerde receptoren naar respectievelijke membraan
   4. Geëndocyteerde moleculen die geen transcytose of recyclage ondergaan komen terecht in gemeenschappelijk compartiment
   5. Waarom twee ?
      1. Receptoren opgenomen via apicale zijde hebben specifieke plaatsreceptoren
      2. Functie van receptoren is verschillend
         1. Verschillende receptoren op basale en apicale zijde 🡪 onderscheid maken
      3. Anders gelijkmatig verdeeld 🡪 slecht
         1. s. e. r. i. functie van epitheel 🡪 receptoren basale na recyclage naar basaal 🡪 hetzelfde voor apicale zijde
3. Exocytose
   1. Fusie van secretorische vesikels met plasma-membraan
      1. Continue secretie in gespecialiseerde cellen 🡪 secretorische vesikels fusioneren na exogene stimulus
   2. Eiwit-sorting in trans-Golgi network



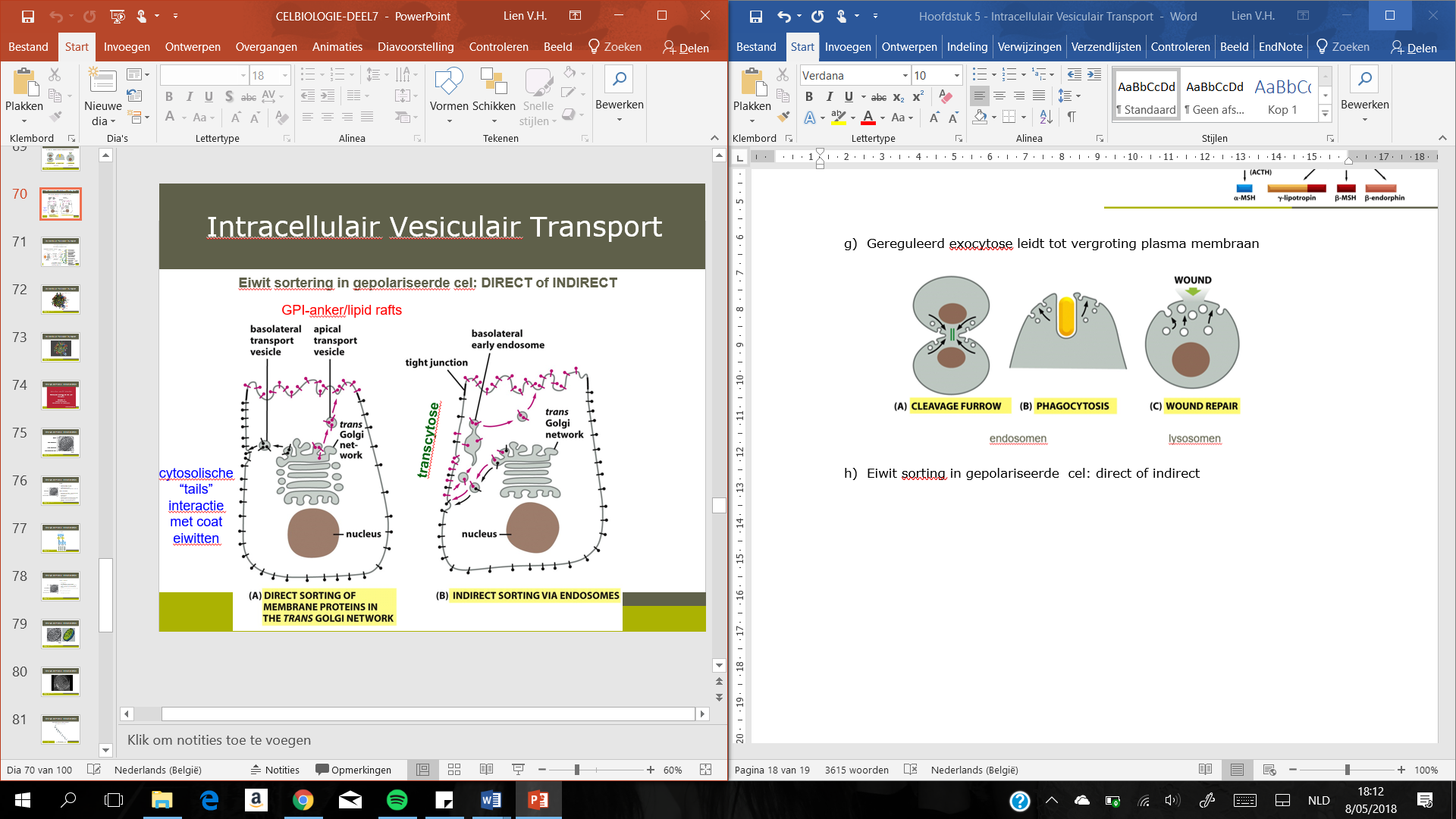
* 1. Vorming van secretorische vesikels
     1. Hoe meer immature secretory vesikels gerecupereerd worden, hoe meer mature secretory vesikels er gesecreteerd moeten worden



1. Eiwitten ondergaan preoteolytische processing tijdens vorming van secretorische vesikels
   1. Pre-pro-proteïne geknipt door protease
   2. Eiwit binnen secreterende vesikels in stukjes afgeknipt
   3. Eindproduct wordt gesecreteerd + functie uitoefenen
2. Gereguleerd exocytose leidt tot vergroting plasma membraan



1. Eiwit sorting in gepolariseerde cel: direct of indirect



1. Synopsis
   1. Multivesiculaire lichamen
      1. Invaginaties gevormd door migratie van (vroege endosomen)
      2. Gevormd tussen het vroege en late endosoom
      3. Fuseren tot een laat endosoom of met andere late endosomen
      4. Laatste stap: converteren late endosomen in lysosomen voor digestie van geëndocyteerde eiwitten
   2. Invaginaties
      1. Essentiële stap voor de complete digestie van geëndocyteerde eiwitten
      2. Buitenste membraan van ML één wordt met het lysosomaal membraan
      3. Vb: Lysosomale hydrolasen kunnen het cytosolische domein van geëndocyteerde transmembranaire eiwitten, zoals de EGF-receptor, niet verteren als het eiwit niet gelokaliseerd is in het multivesiculair lichaam.
   3. Medische relevantie
      1. Transcytose
         1. Endocytoseproces waarbij macromoleculen opgenomen worden en vervolgens doorheen epitheelcellen getransporteerd worden
         2. Receptoren op gespolariseerde epitheelcellen 🡪 geëndocyteerd en volgen een pathway van het endosoom naar plasmamembraan 🡪 Antilichamen uit moedermelk transporteren doorheen epitheel van darm
         3. Antilchaam binden op specifieke receptoren aanwezig op apicale oppervlak van de darmepitheelcellen 🡪 pH-waarde laag
            1. Dit complex zorgt voor internalisatie, via clathrine-coating, om afgeleverd te worden aan vroege endosomen
            2. Intact tot het opgenomen wordt door transportvesikels 🡪 getransporteerd naar basolateraal domein van plasmamembraan
            3. Transitie gemedieerd door recycling endosoom
      2. Recycling endosoom
         1. Basolateraal domein van plasmamembraan waar de pH-waarde neutraal is 🡪 antilichamen dissociëren van de receptoren om uiteindelijk terecht te komen in de bloedbaan van het kind
         2. Uniek
            1. Cellen kunnen de flux van de eiwitten doorheen de transcytotische pathway reguleren
            2. Aanpassen concentratie van specifieke eiwitten in palsmamembraan
         3. Vetcellen en spiercellen
            1. Bevatten grote hoeveelheid intracellulaire pools van glucosetransporters die verantwoordelijk zijn voor de opname van glucose doorheen het plasmamembraan
            2. Membranaire transporteiwitten 🡪 opgeslagen in gespecialiseerde recycling endosomen totdat insluline, via binding aan een insulinereceptor, de cel stimuleert om glucose-opname te verhogen door meer glucosetransprters naar het plasmamebraan te transporteren
2. Vorming van synaptische vesikels
   1. Zenuwcellen
      1. Gebruiken een speciale klasse van secretorische vesikels = synaptische vesikels
      2. Slaan kleine neurotransmittermoleculen op
      3. Neurotransmitters verantwoordelijk voor snelle signalen van zenuwcel tot zenuwcel via chemische synaps
      4. Sommige worden met een hoge snelheid afgevuurd 🡪 vesikels meteen beschikbaar
      5. Na aflevering: componenten van synaptische vesikel terug opgenomen
      6. Via endocytose worden er nieuwe synaptische vesikels afgesnoerd 🡪 geladen met neurotransmitters
      7. Gesecreteerd via exocytose na actiepotentiaal
      8. Proces aangedreven door anti-port H+ - pomp

