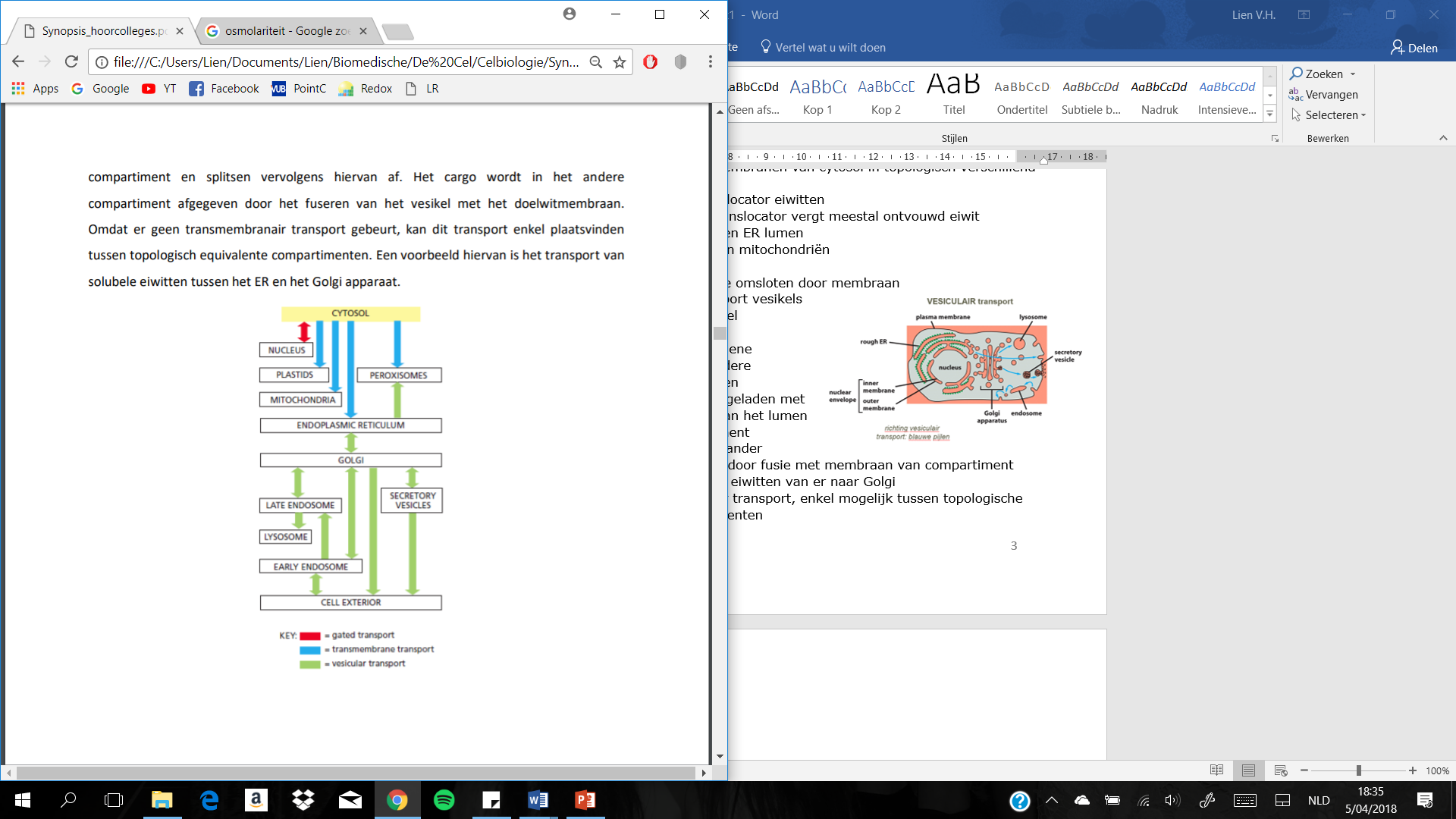
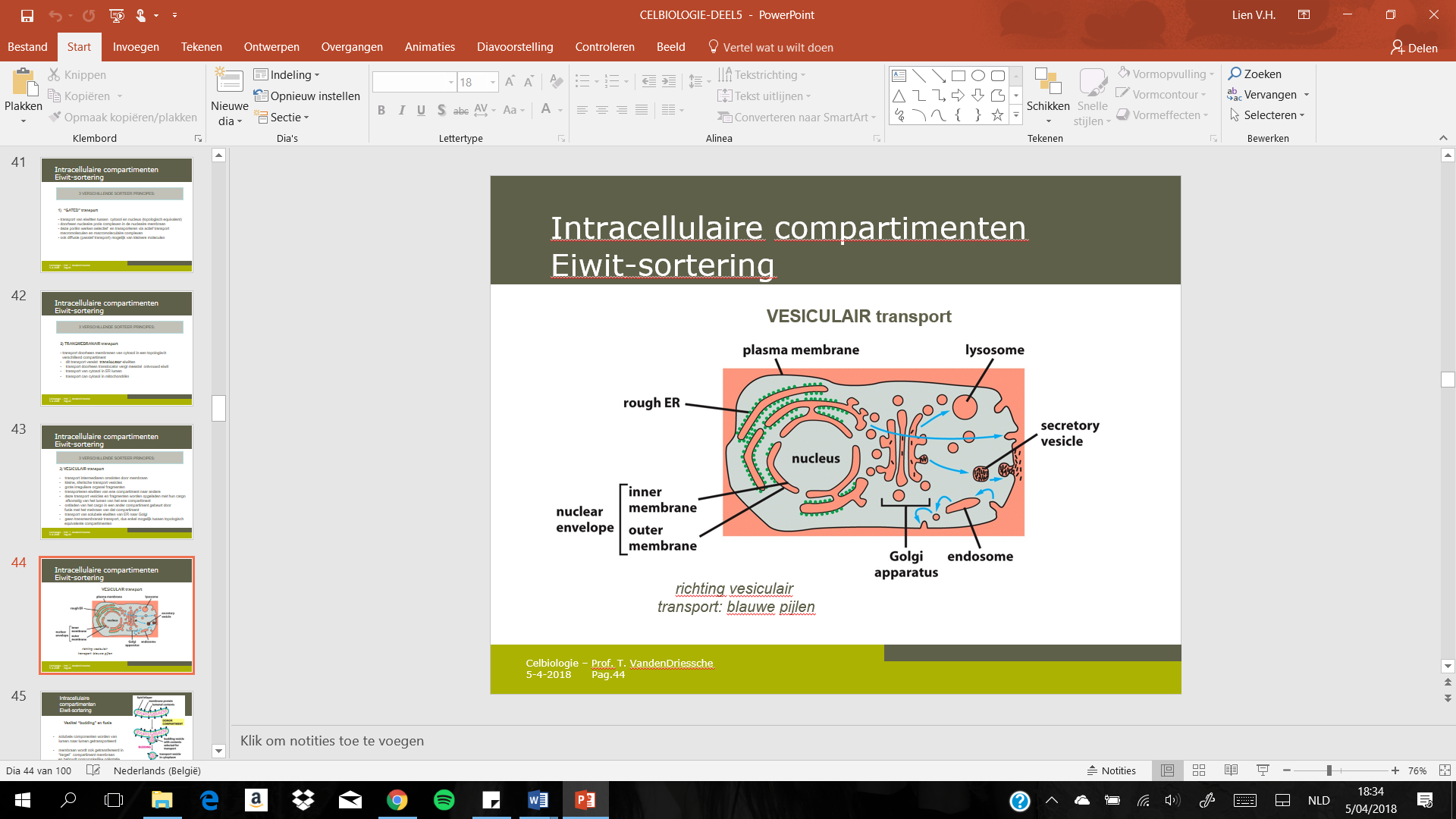
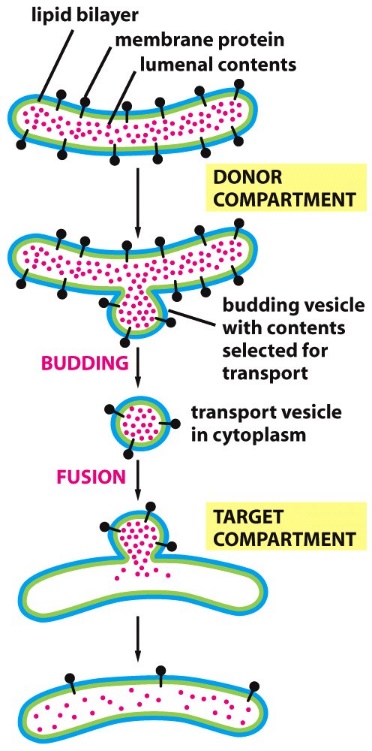
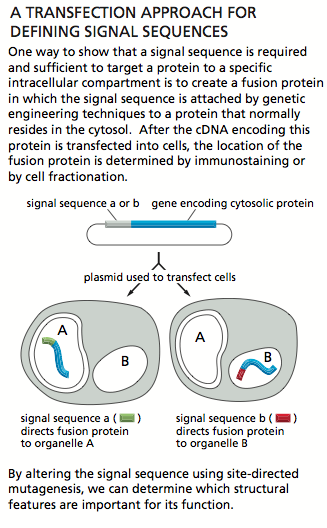
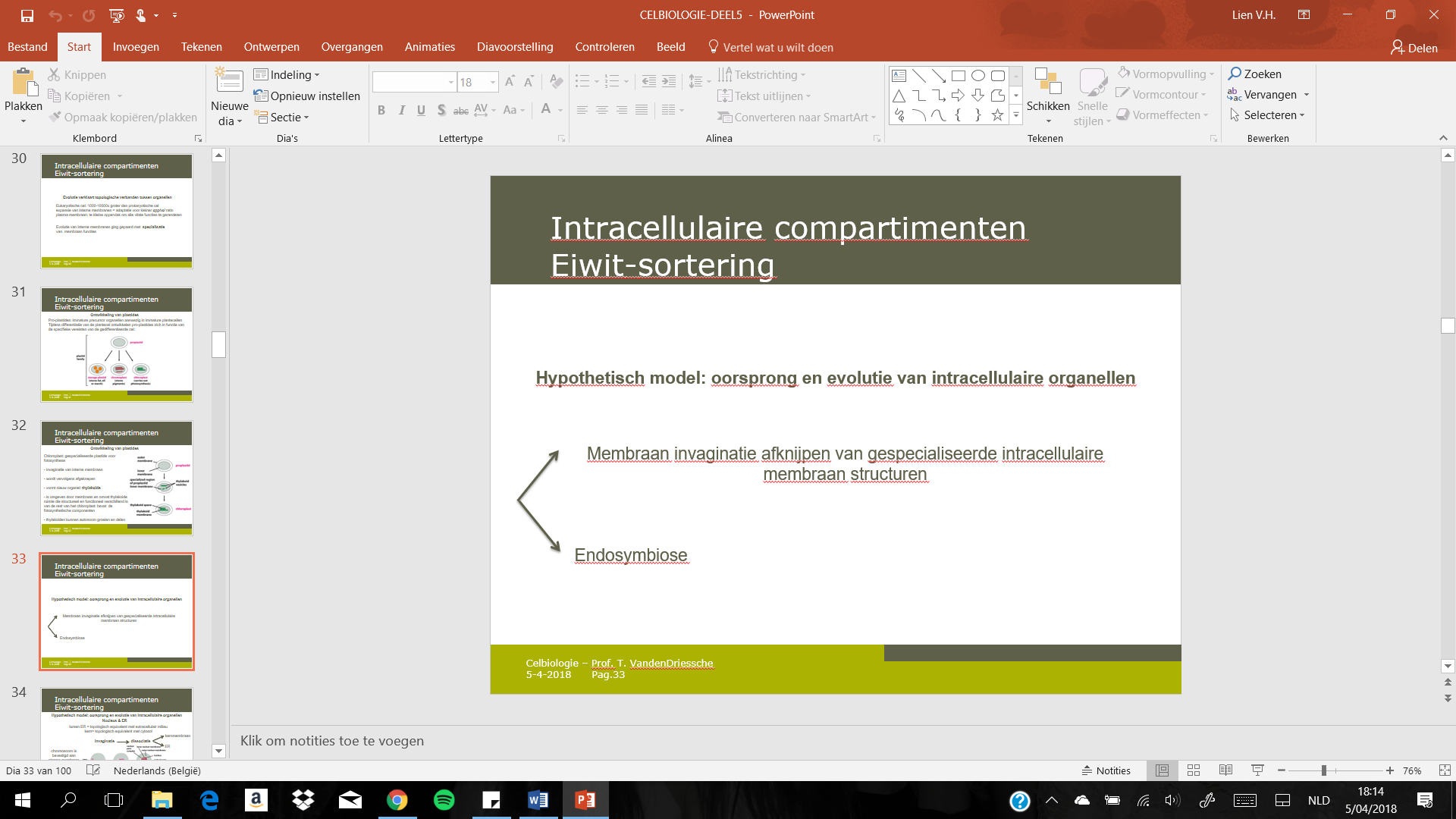
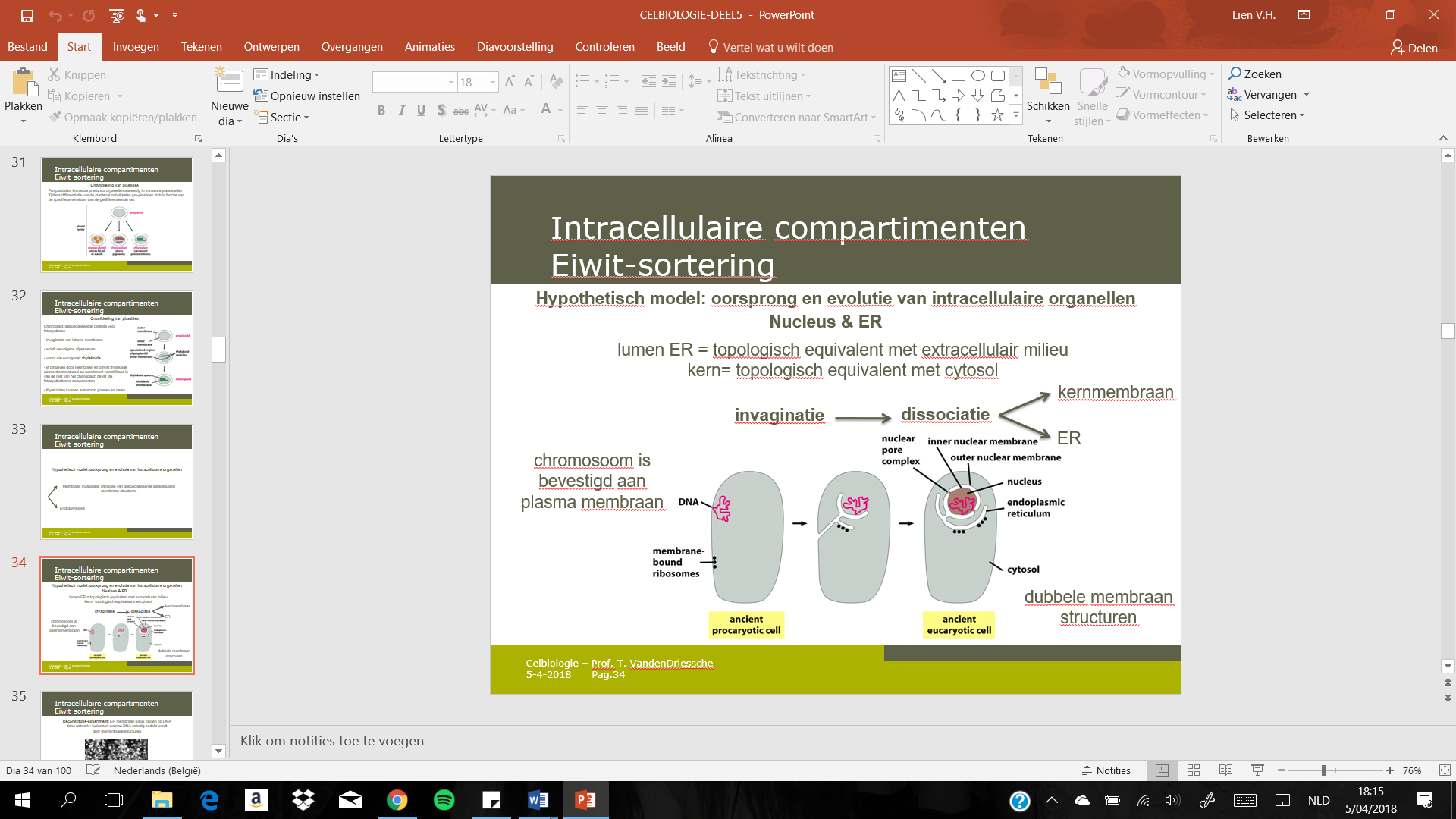
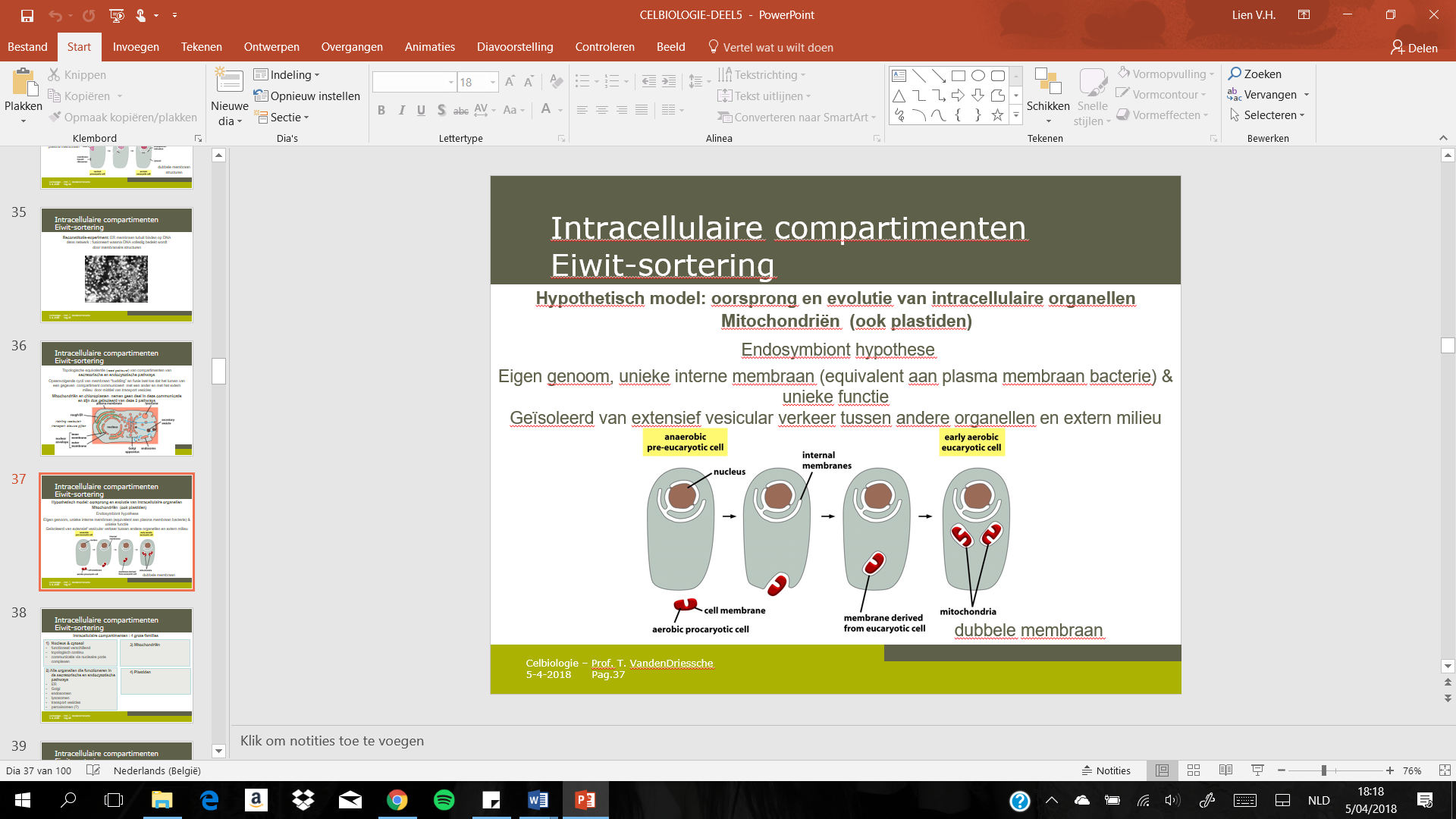
***Hoofdstuk 4: Intracellulaire compartimenten: Eiwit-sorting***

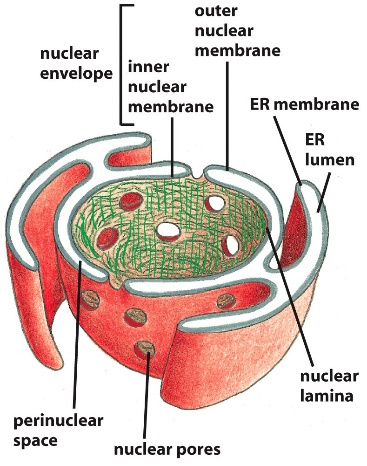
1. Eiwitten bepalen structurele en functionele eigenschappen van organellen
   1. Enzymatische katalyse
   2. Selectief transport van moleculen: in en out
   3. Bepaalde eiwitten zijn organel-specifieke oppervlakte merkers 🡪 zorgen voor transport van juiste moleculen op juiste plaats
2. Belangrijkste organellen van dierlijke cellen
   1. Organel-membraan bevatten specifieke transport eiwitten voor transport van metabolieten
   2. Organellen moeten ook organel-specifieke eiwitten kunnen transporteren
   3. Meestal karakteristieke positie in cel, vereist interactie met cytoskelet
   4. Meeste organellen kunnen niet de novo geconstrueerd worden, maar vereisen vooraf bestaande informatie in het organel zelf

1. 4 grote families van intracellulaire compartimenten
   1. Nucleus en cytosol
      1. Nucleus
         1. DNA en RNA synthese
      2. Cytosol
         1. Eiwitsynthese/degradatie
         2. Intermediair metabolisme:
            1. Degradatie kleine moleculen
            2. Synthese van moleculen als bouwstenen voor macromoleculen
         3. Cytoplasma = cytosol + cytoplasmatische organellen
   2. Alle organellen die functioneren in secroterische en endocytotische pathways
      1. Endoplasmatisch reticulum (ER)
         1. Ruw ER
            1. Bekleed met ribosomen aan cytosolische zijde
         2. Glad ER
            1. Geen ribosomen
         3. Synthese solubele (oplosbaar) en integrale membraan eiwitten
         4. Transport van deze in ER lumen terwijl ze gesynthetiseerd worden
         5. Synthese van lipiden
         6. Stockage van Ca2+
      2. Golgi apparaat
         1. Ontvangt eiwitten, lipiden van ER,
         2. Zorgt voor verzending van deze moleculen naar andere locaties, meestal in parallel met bepaalde covalente modificaties
         3. Bestaat uit Golgi cisternae
   3. Mitochondriën/chloroplasten (planten)
      1. Generen ATP als energiebron
      2. Converteren energie
      3. Chloroplasten zijn een bepaalde vorm van plastiden die ook andere functies hebben in plantcellen
   4. Plastiden
      1. Lysosomen
         1. Bevatten digestieve enzymes
         2. Degradatie van dysfunctionele organellen
         3. Degradatie van macromoleculen en andere partikels die door endocytose werden opgenomen vanuit het extracellulair milieu
      2. Endosomen
         1. Transporteren ge-endocyteerd materiaal naar lysosomen
      3. Peroxisomen
         1. Bevatten enzymes die belangrijker zijn voor bepaalde oxidatie-reacties
      4. Ontwikkeling
         1. Pro-plasmatides: immature precursor organellen aanwezig in immature plantcellen
         2. Differentiatie van plantcel ontwikkelen pro-plastiden zich in functie van de specifieke vereisten van gedifferentieerde cel
         3. Chloroplast: gespecialiseerde plastide voor fotosynthese
            1. Invaginatie van interne membraan
            2. Wordt vervolgens afgeknepen
            3. Vormt nieuw organel: thylakoïde
            4. Omgeven door membraan, omvat thylakoïde ruimte die structureel + functioneel verschillend is van de rest van chloroplast: bevat de fotosynthetische componenten
            5. Thylakoïden kunnen autonoom groeien en delen
   5. Medisch belangrijk
      1. Dysfuncties in organellen 🡪 ziektes
   6. Verschillen in aantal/volume in functie van celtype
      1. Ook celtype specifieke functies kunnen voorkomen bovenop de normale functie
      2. Organellen ±50%
2. Sorteerprincipes
   1. Eiwitten worden gesyntheerd in ribosomen, wel enkele uitzonderingen
   2. Geen sorteersignaal 🡪 eiwit blijft in cytosol
   3. Specifieke sorteersignalen voor transport van: cytosol naar nucleus, ER, mitochondriën, plastiden, peroxisomen ER naar andere cellulaire bestemmingen
   4. 3 principes
      1. Gated transport
      2. Transmembranair transport
      3. Vesiculair transport
   5. Gated transport
      1. Transport eiwitten tussen cytosol en nucleus
      2. Doorheen nucleaire porie complexen in nucleaire membraan
      3. Poriën werken selectief en transporteren via actief transport macromoleculen en macromoleculaire complexen
      4. Diffusie mogelijk van kleinere moleculen
   6. Transmembranair transport
      1. Transport doorheen membranen van cytosol in topologisch verschillend compartiment
      2. Transport vereist translocator eiwitten
      3. Transport doorheen translocator vergt meestal ontvouwd eiwit
      4. Transport van cytosol en ER lumen
      5. Transport van cytosol in mitochondriën
   7. Vesiculair transport
      1. Transport intermediaire omsloten door membraan
      2. Kleine, sferische transport vesikels
      3. Grote irreguliere organel fragmenten
      4. Transport eiwitten van ene compartiment naar andere
      5. Transporteren vesikel en fragmenten worden opgeladen met hun cargo afkomstig van het lumen van het ene compartiment
      6. Ontladen van cargo in ander compartiment gebeurt door fusie met membraan van compartiment
      7. Transport van solubele eiwitten van er naar Golgi
      8. Geen transmembranair transport, enkel mogelijk tussen topologische equivalente compartimenten
   8. Vesikel budding en fusie
      1. Solubele componenten worden van lumen naar lumen getransporteerd
      2. Membraan wordt ook getransfereerd in “target” compartiment membraan en behoudt oorspronkelijke oriëntatie van eiwitten en lipiden in “donor” membraan

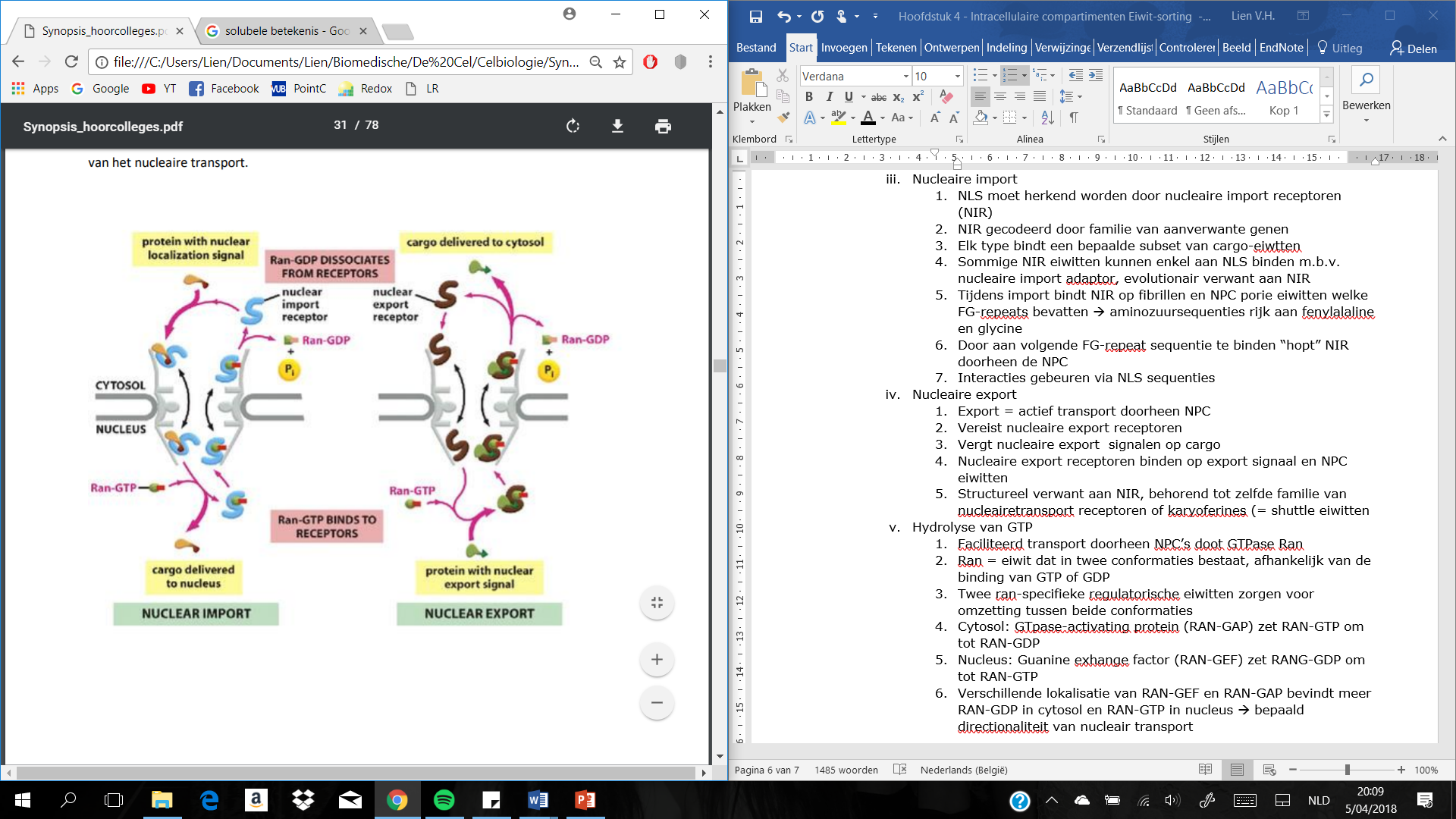
1. Eiwit-sorting: conceptuele diagram
   1. Eiwitten bevatten specifieke aminozuursequenties als sorteer signalen die hun bestemming bepaalt
   2. Bij elk intermediair compartiment wordt een beslissing genomen of het eiwit in dat compartiment blijft of het doorverwezen wordt naar een andere bestemming (wordt bepaald door sorteersignaal)
2. Signaalpeptides
   1. Eiwitten bevatten specifieke aminozuursequenties als sorteersignalen die hun bestemming bepaalt = signaalpeptide
   2. N-terminale signaalpeptides worden afgeknipt door signaal peptidase eenmaal de bestemming werd bereikt
   3. Signaalpeptides kunnen ook intern in eiwit ingebed zijn
   4. In sommige gevallen zijn sorteersignalen samengesteld uit multipele interne aminozuursequenties die een bepaalde 3D conformatie aannemen : signal patch
3. Sorting receptoren
   1. Sorteersignalen herkend door complementaire **sorting receptoren**
   2. Deze receptoren gidsen eiwitten naar hun bestemming waar ze hun cargo afladen
   3. Receptoren werken catalytisch en keren na één targeting ronde terug naar hun initiële locatie waar ze opnieuw gebruikt worden
   4. Meeste “sorting receptoren” herkennen een bepaalde klasse eiwitten eerder dan individuele eiwitten: soort van moleculair “openbaar vervoer”
   5. 
      1. Gen koppelen aan DNA dat codeert voor bepaald eiwitsequentie + eiwitsignaal
      2. Getransfecteerd DNA in cel 🡪 signaal sequentie verandert de gerichtheid van transport
      3. Wel vermoeden hebben waar en welk je gaat aanpassen 🡪 anders loopt het fout
4. Oorsprong van intracellulaire organellen
   1. Topologische verbanden tussen organellen
      1. Verklaring: evolutie 🡪 gepaard met specialisatie van membraan functies
      2. Eukaryotische cel: 1000-10000x groter dan prokaryotische cel
      3. Expansie van interne membranen = adaptatie voor kleiner opp/vol ratio
      4. Plasma membraan: te klein opp om alle vitale functies te garanderen
   2. Hypothetisch model: oorsprong en evolutie van intracellulaire organellen

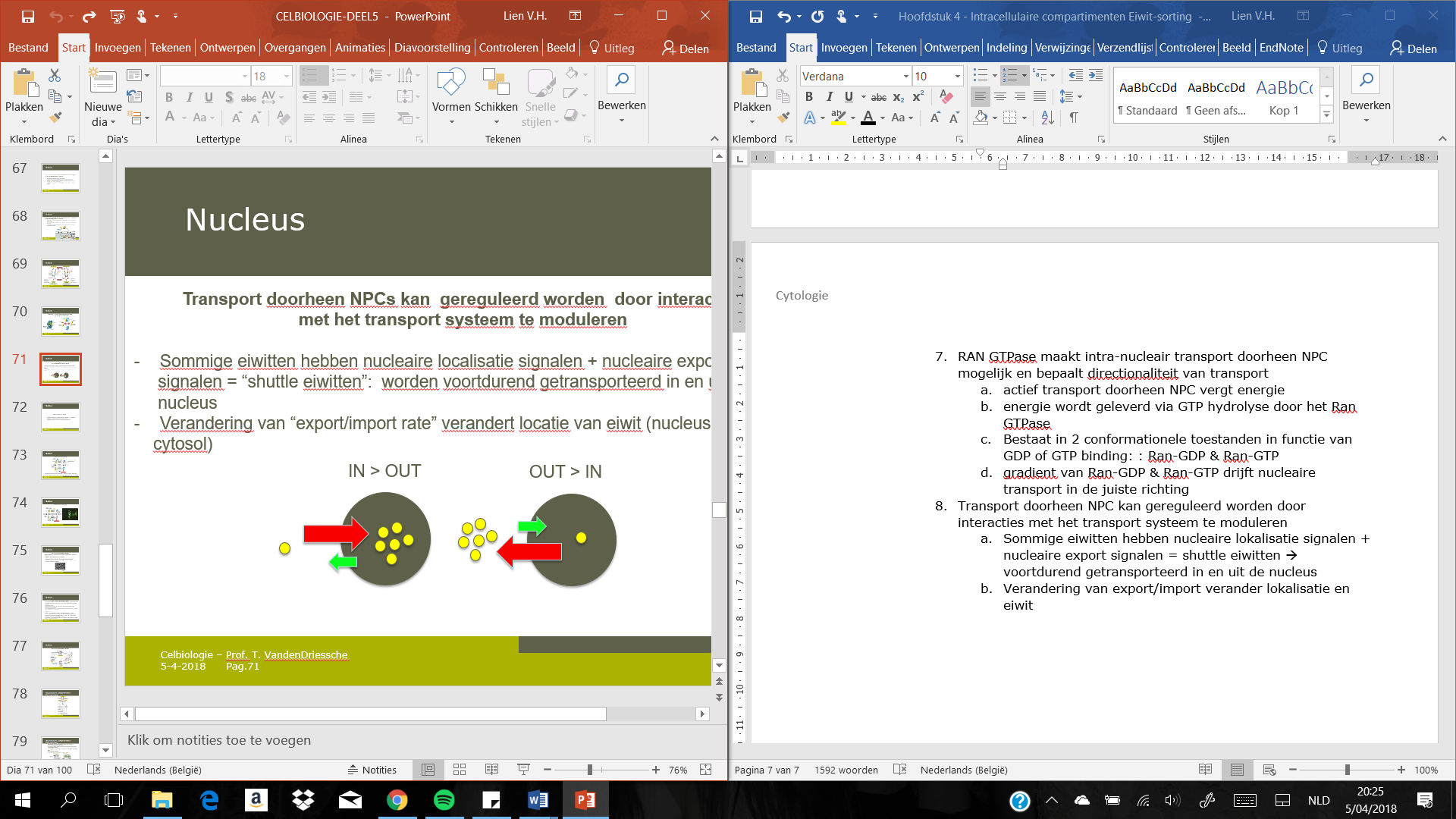
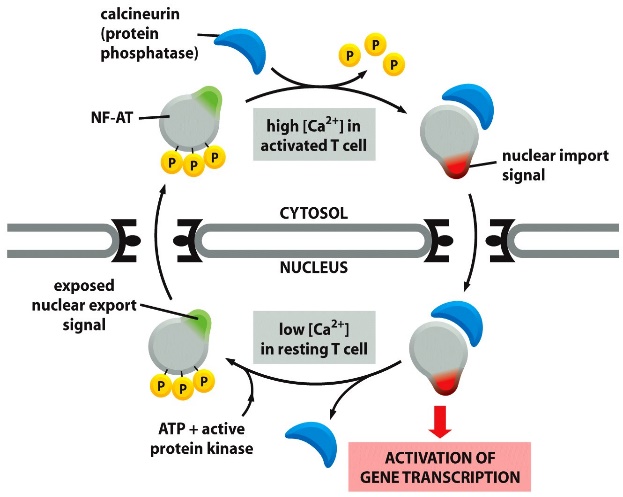


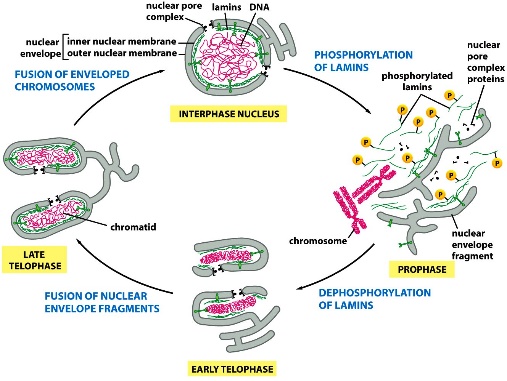
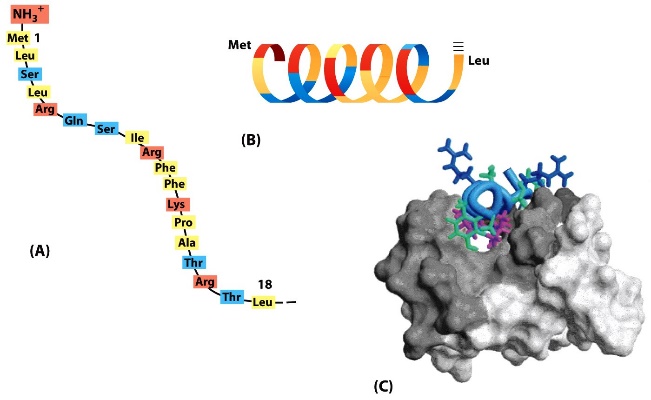
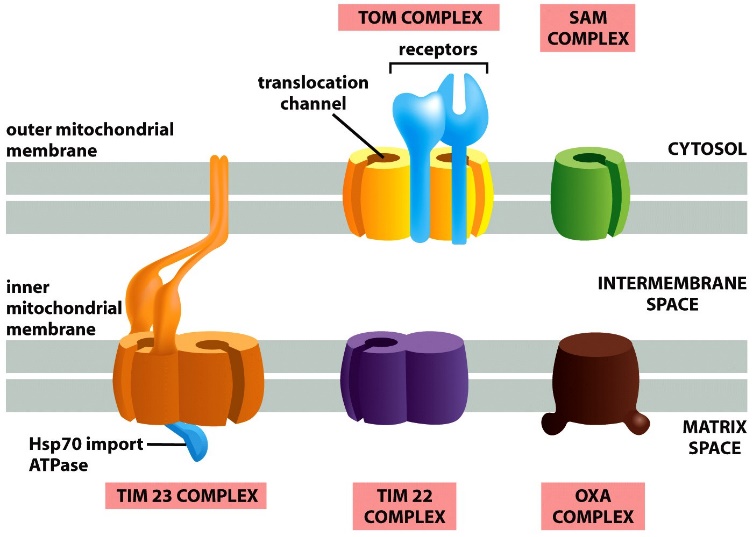
* 1. Evolutie
     1. Gebaseerd op membraaninvaginatie als invaginatie van prokaryotische cellen 🡪 endosymbiotische theorie
     2. Nucleus en ER
        1. Ontstaan door invaginatie van plasmamembraan van PROC
        2. Plasmamembraan bevatten zowel membraangebonden ribosomen als DNA dat bevestigd was aan membraan
        3. Invaginatie membraan: DNA omsloten en zo kern gevormd, ribosomen deel uit gaan maken van ER 🡪 verklaring lumen van ER topologisch equivalent met cytosol
     3. Endosymbiotische theorie
        1. Eukaryotische intracellulaire organellen zijn verworven door evolutie van geïnternaliseerde PROC
     4. Mitochondriën
        1. Ontstaan door opname van aerobische eubacterie in vroeger EUKC
        2. Chloroplasten in planctel: ontstaan door opname van fotosynthetische eubacterie
        3. Beide eigen genoom, eigen functie, unieke interne membraam, welk equivalent is aan plasmamembraan van bacteriën, en ook gelijkaardige eiwitten bevat
        4. Mitochondriaal DNA vertoont overeenkomsten met bacterieel DNA

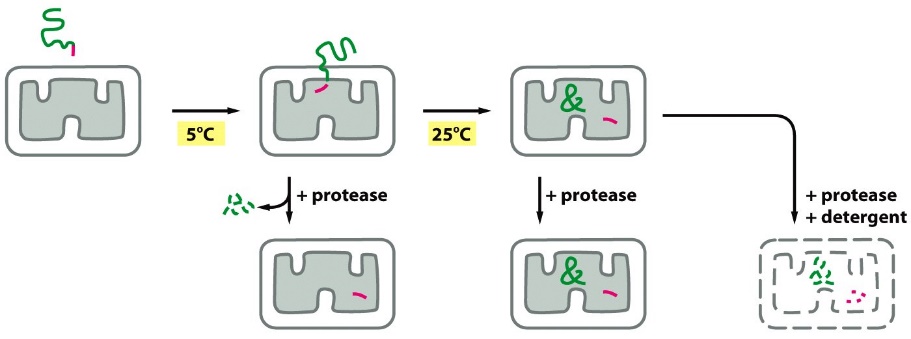
1. Nucleus
   1. Nucleair membraan
      1. Dubbele membraan: continue binnen & buiten membraan
      2. Bevat poriën met nucleaire porie complexen (NPC)
      3. Continu met ER
      4. Nucleaire lamina= fibreus netwerk onder de binnenste membraan: structurele steunfunctie voor nucleaire membraan
      5. Complex bidirectioneel transport
      6. OUT: mRNA, tRNA; IN: histonen, DNA polymerase, RNA polymerase, enz
      7. Import en export: selectief en vereist bepaalde moleculaire signalen
   2. Binnen- en buitenmembraan hebben verschillende samenstelling en functies :
      1. Nucleaire binnenmebraan: ankersites voor chromatine en nuclaire lamina
      2. Nucleaire buitenmembraan: continu met ER, bedekt met ribosomen voor eiwitsynthese
      3. Eiwitten worden getransporteerd in perinucleaire ruimte🡪 continu met ER lumen
      4. Genetische defecten van nucleair membraan 🡪 laminopathieën zoals musculaire dystrofie spier), neuropatatie (zenuwstelsel), dermopahtie (huid), cardiomyopathie (hart), melorheostosis (beenderen), lypdystrofie (vetten), en progeria (veroudering)
   3. Gated transport
      1. Nucleaire porie complexes (NPC)
         1. 4 verschillende types subunits met daarnaast fibrillen aan cytosolische als nucleaire zijde
         2. Korfstructuur aan nucleaire zijde
         3. Grote, hydrofiele poriën 🡪 grote moleculen getransporteerd worden zonder te hoeven ontvouwen
      2. Nucleaire lokalisatiesignalen (NLS)
         1. Transport van nucleaire eiwitten naar nucleus richten
         2. Verantwoordelijk voor selectiviteit van actieve nucleaire import
         3. Signaal bestaat uit korte sequenties van positief geladen aminozuren lysine en arginine
         4. Lokalisatiesignalen kunnen op elke plaats in aminozuursequentie voorkomen en vormen “loops” of “patches” op eiwitopp
         5. Signalen via linker aan cytosolische eiwitten gekoppeld worden

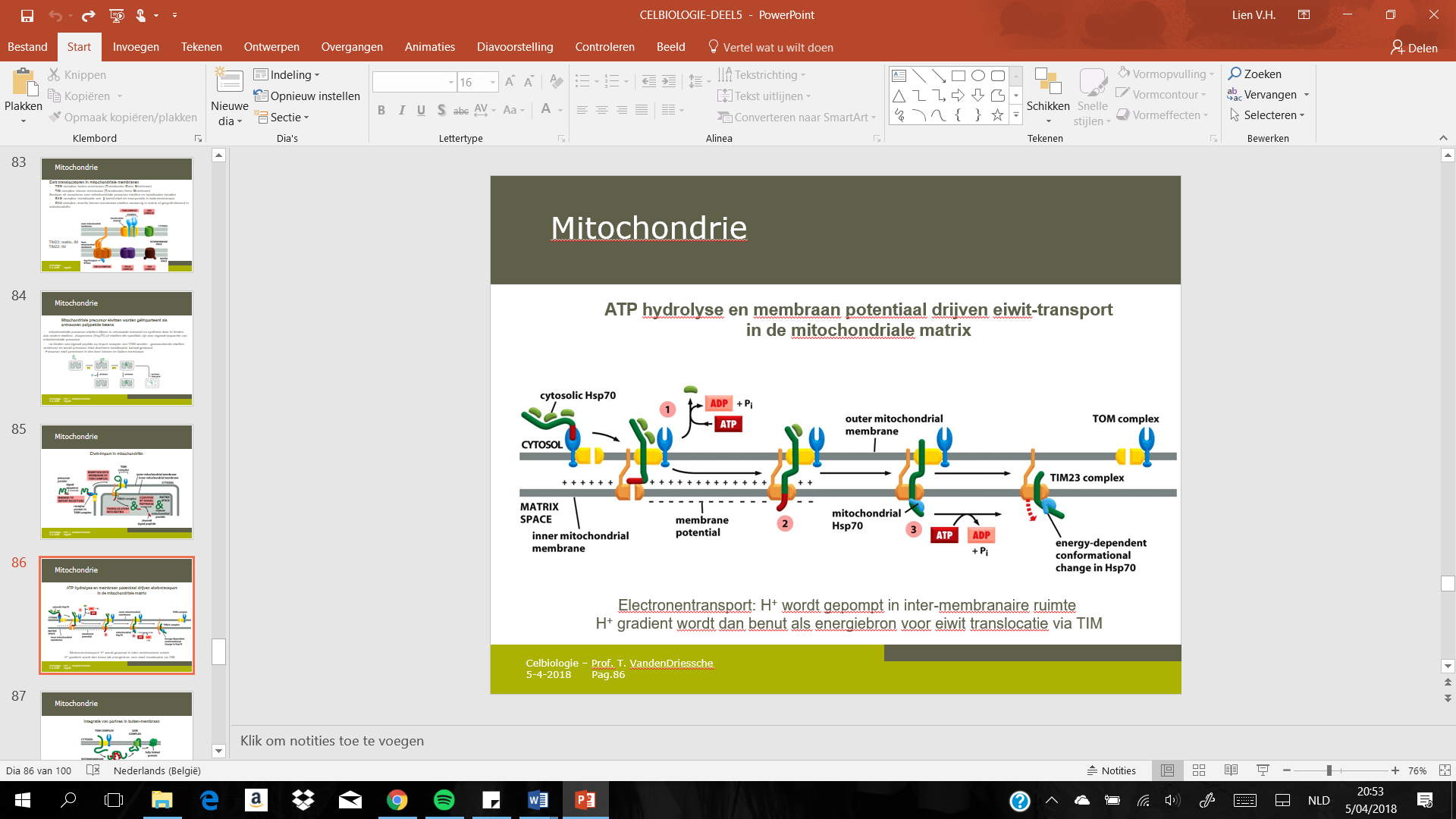
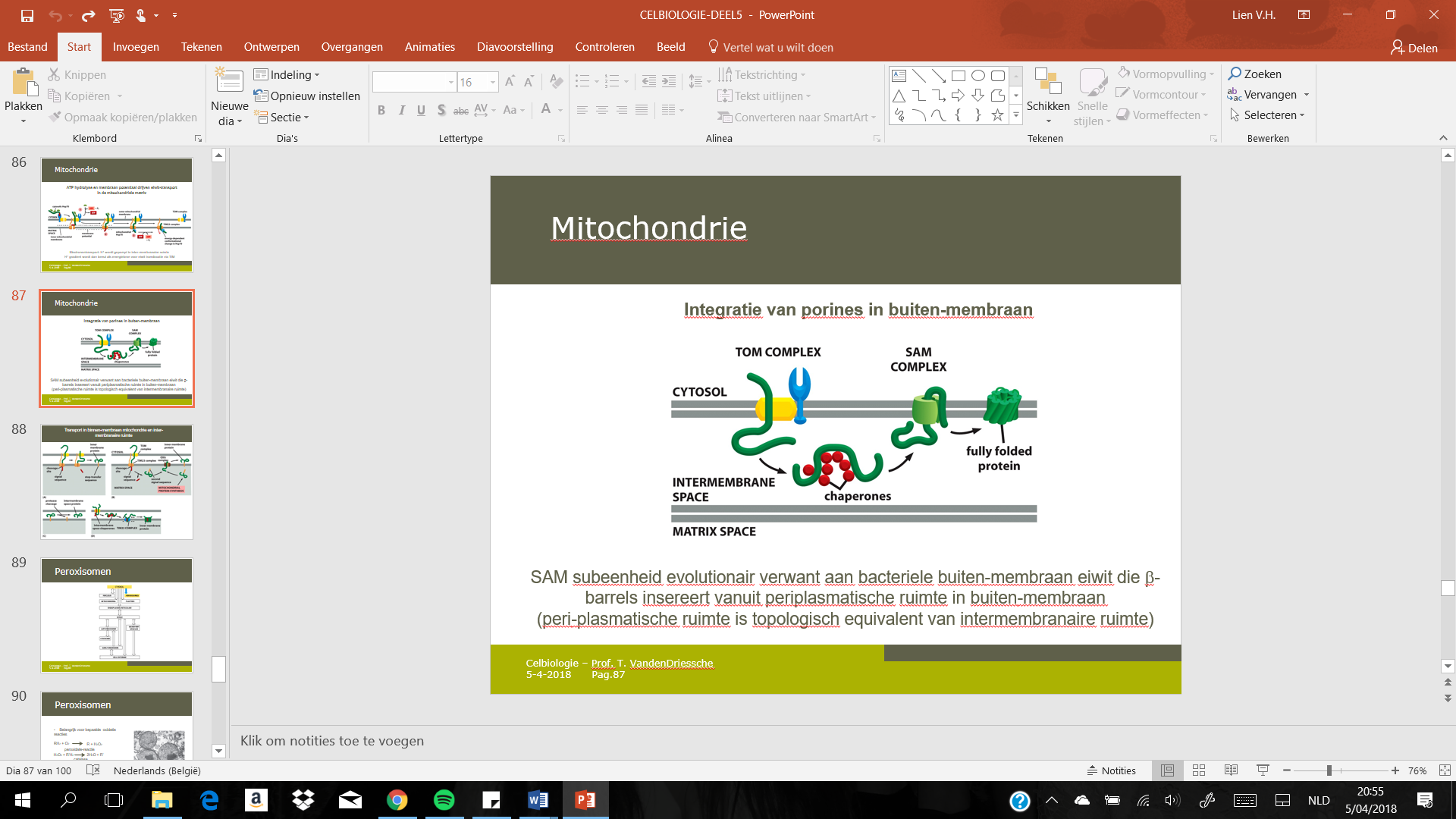
* + 1. Nucleaire import
       1. NLS moet herkend worden door nucleaire import receptoren (NIR)
       2. NIR gecodeerd door familie van aanverwante genen
       3. Elk type bindt een bepaalde subset van cargo-eiwtten
       4. Sommige NIR eiwitten kunnen enkel aan NLS binden m.b.v. nucleaire import adaptor, evolutionair verwant aan NIR
       5. Tijdens import bindt NIR op fibrillen en NPC porie eiwitten welke FG-repeats bevatten 🡪 aminozuursequenties rijk aan fenylalaline en glycine
       6. Door aan volgende FG-repeat sequentie te binden “hopt” NIR doorheen de NPC
       7. Interacties gebeuren via NLS sequenties
    2. Nucleaire export
       1. Export = actief transport doorheen NPC
       2. Vereist nucleaire export receptoren
       3. Vergt nucleaire export signalen op cargo
       4. Nucleaire export receptoren binden op export signaal en NPC eiwitten
       5. Structureel verwant aan NIR, behorend tot zelfde familie van nucleairetransport receptoren of karyoferines (= shuttle eiwitten
    3. Hydrolyse van GTP
       1. Faciliteerd transport doorheen NPC’s doot GTPase Ran
       2. Ran = eiwit dat in twee conformaties bestaat, afhankelijk van de binding van GTP of GDP
       3. Twee ran-specifieke regulatorische eiwitten zorgen voor omzetting tussen beide conformaties
       4. Cytosol: GTpase-activating protein (RAN-GAP) zet RAN-GTP om tot RAN-GDP
       5. Nucleus: Guanine exhange factor (RAN-GEF) zet RANG-GDP om tot RAN-GTP
       6. Verschillende lokalisatie van RAN-GEF en RAN-GAP bevindt meer RAN-GDP in cytosol en RAN-GTP in nucleus 🡪 bepaald directionaliteit van nucleair transport

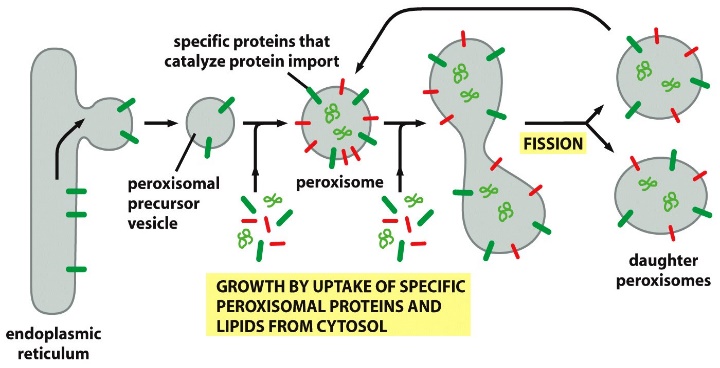
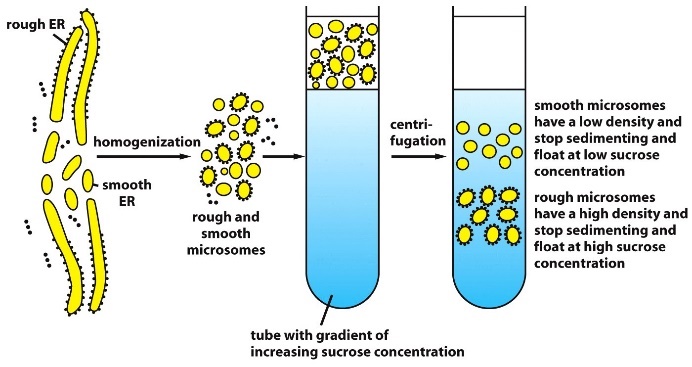
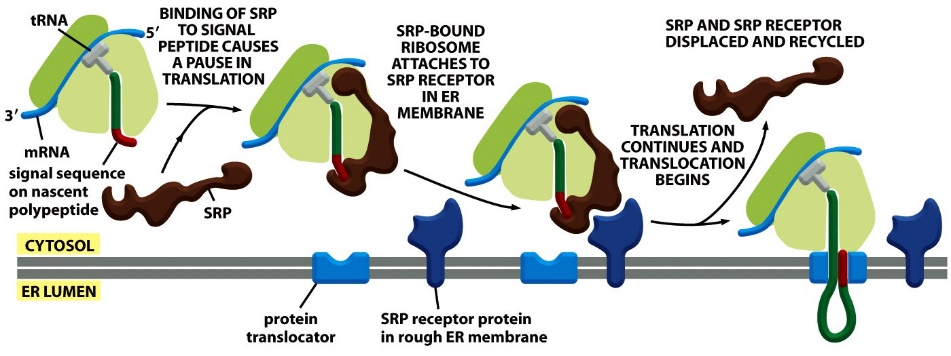


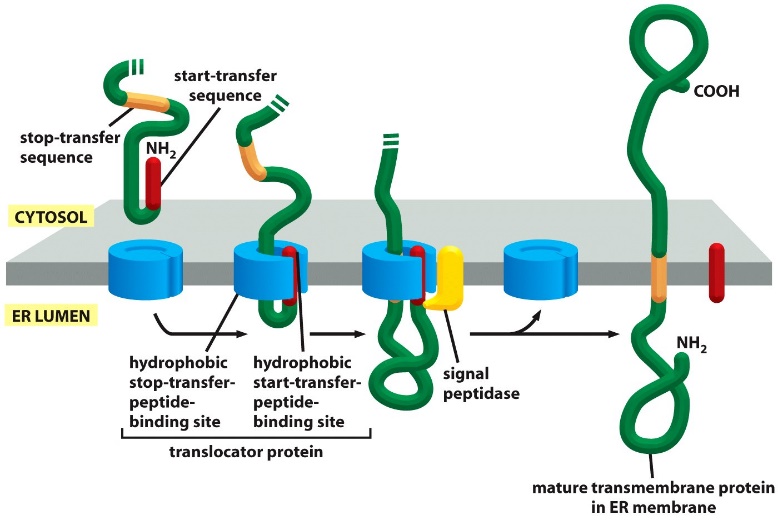
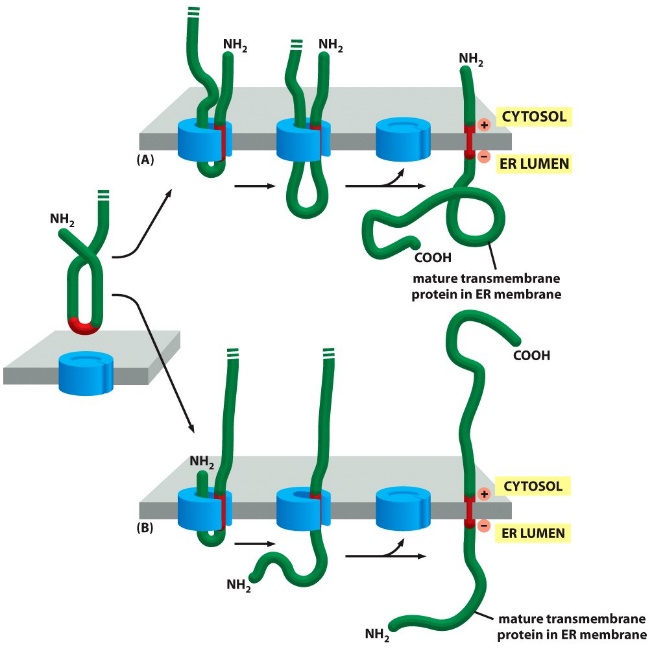
* + - 1. RAN GTPase maakt intra-nucleair transport doorheen NPC mogelijk en bepaalt directionaliteit van transport
         1. actief transport doorheen NPC vergt energie
         2. energie wordt geleverd via GTP hydrolyse door het Ran GTPase
         3. Bestaat in 2 conformationele toestanden in functie van GDP of GTP binding: : Ran-GDP & Ran-GTP
         4. gradient van Ran-GDP & Ran-GTP drijft nucleaire transport in de juiste richting
      2. Transport doorheen NPC kan gereguleerd worden door interacties met het transport systeem te moduleren
         1. Sommige eiwitten hebben nucleaire lokalisatie signalen + nucleaire export signalen = shuttle eiwitten 🡪 voortdurend getransporteerd in en uit de nucleus
         2. Verandering van export/import verander lokalisatie en eiwit
      3. Controle van nucleaire import
         1. Regulatie van nucleaire lokalisatie en export signalen: Vb. fosforylatie
         2. Binding met eiwitten die transport signalen maskeren
         3. Binding op eiwitten die proteïne verankeren aan cytoskelet

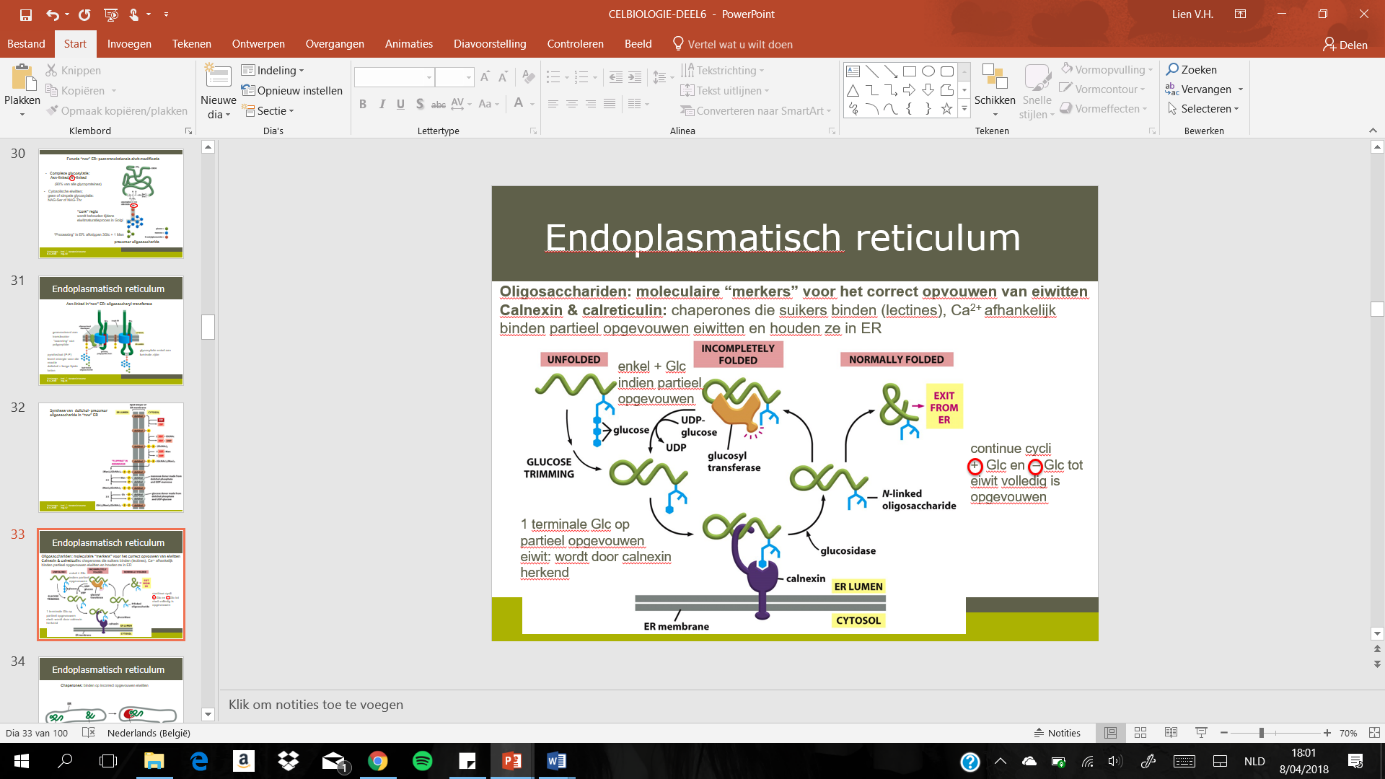
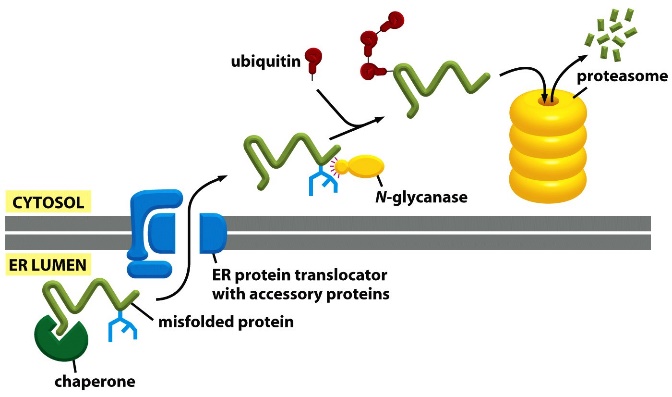
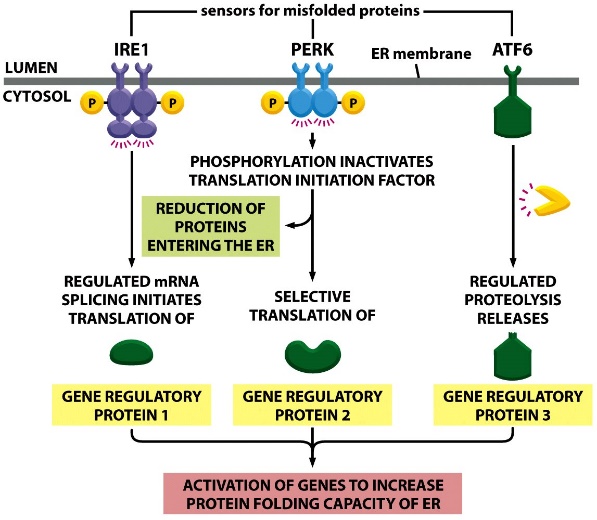
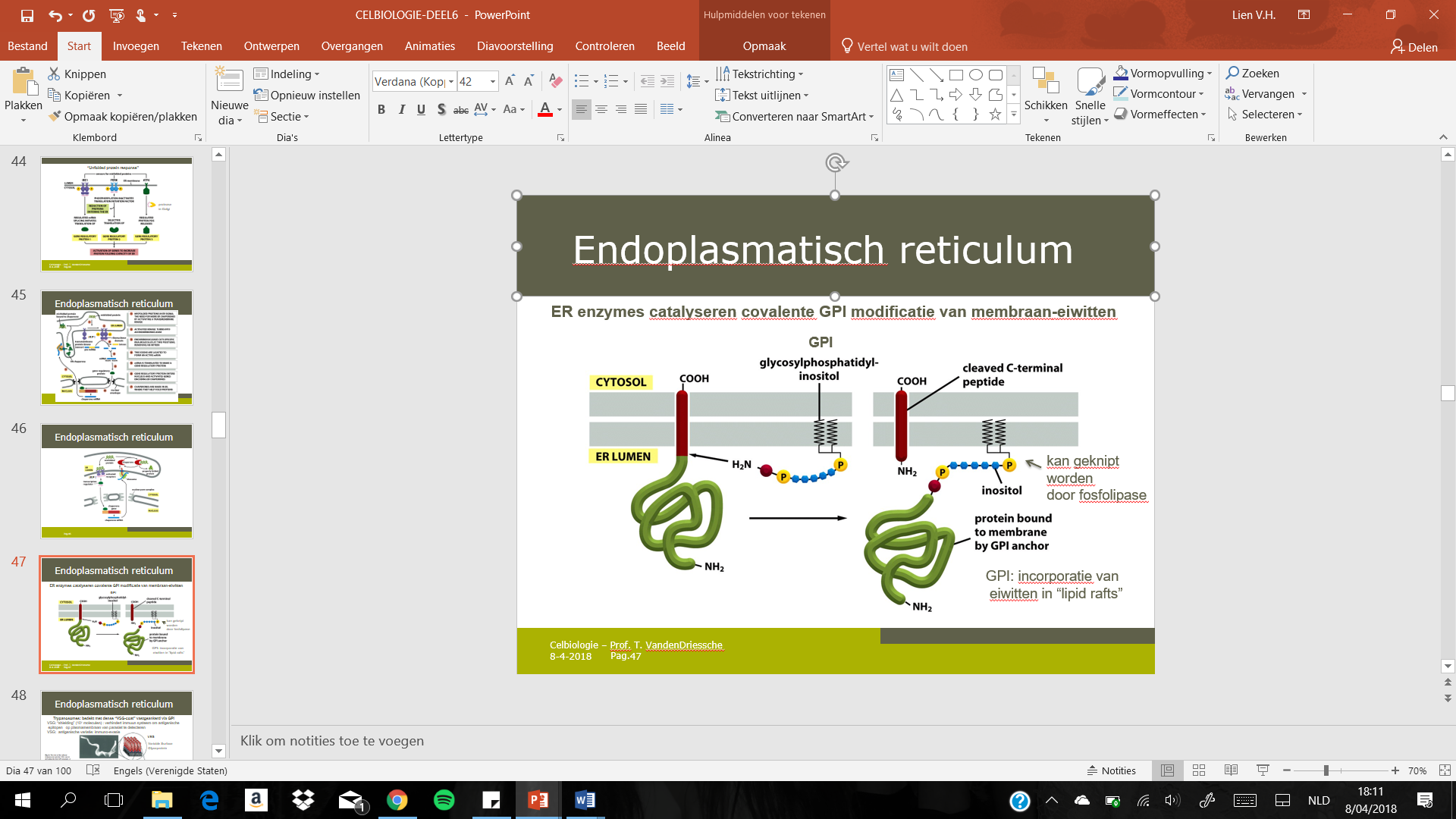
1. Mitose (nog steeds bij nucleus)
   1. nucleaire membraan dissociatie
      1. Nucleaire lamina: 2D netwerk van lamines aan de nucleaire zijde van nucleaire binnen-membraan
      2. Lamines = intermediaire filamenten (cytoskelet)
      3. Lamina zorgt voor stabiliteit en vorm van nucleaire membraan dat eraan verankerd is via NPC en integrale eiwitten van de binnen-membraan
      4. Lamina Interageert ook met chromatine dat op zich ook met integrale eiwitten van binnen-membraan Interageert
   2. Nucleaire membraan dissociatie
      1. Celdeling: fosforylatie van lamines door cycline-afhankelijke proteine kinase **Cdk** geactiveerd tijdens mitose; ook fosforylatie van nucleaire membraan eiwitten
      2. NPC binden op NIR
      3. Dyneine motor eiwitten spelen actieve rol nucleaire membraan te dissociëren van chromatine
      4. Geen barrière meer nucleus-cytosol: redistributie van eiwitten die niet gebonden zijn aan chromatine of membranen
      5. Later tijdens mitose
         1. Ran-GEF: positionele merker voor chromatine tijdens mitose
         2. Ran-GEF: gebonden aan chromatine 🡪 Ran in nabijheid van chromatine vooral in GTP-gebonden conformatie (Ran-GTP): Ran veraf van chromatine door Ran-GAP in Ran-GDP omgezet worden
         3. NLS worden niet weggeknipt bij mitose 🡪 nucleaire eiwitten telkens opnieuw moeten geïmporteerd worden
2. Mitochondriën en chloroplasten
   1. Eiwit-translocatie
      1. Mitochondriën en chloroplasten: eigen DNA, ribosomen en andere componenten voor eiwitsynthese
      2. Meeste eiwitten gecodeerd door nucleus DNA, geïmporteerd worden vanuit cytosol
      3. Elk compartiment van mitochondrie of chloroplast heeft zijn eigen samenstelling
      4. Organellen ontstaan door groei van vooraf bestaande organellen, gevolgd door deling
      5. Groei hang af van eiwit-import
      6. Eiwittransport doorheen membranen = eiwit translocatie
   2. Eiwit-translocatie: cytosol naar mitochondrie
      1. Eiwitten gesynthetiseerd in cytosol als mitochondriale precursor eiwitten
      2. Getransporteerd in mitochondriën via post-translationeel mechanisme
      3. Matrix eiwitten hebben meestal N-terminale signaalsequentie 🡪 afgeknipt door een peptidase
      4. Eiwitten bestemd voor binnen-, buiten-membraan of inter-membranaire ruimte bevatten interne signaal sequentie die niet wordt afgeknipt
      5. Signaal sequenties noodzakelijk en voldoende voor gericht intra-mitochondriaal transport
      6. Signaal-sequentie: amfifiele a-helix: positief geladen aminozuren (rood) aan één zijde, hydrofobe aan tegenovergestelde zijde (geel)
   3. Eiwit translokatoren in mitochondriale membranen
      1. **TOM** complex: buiten-membraan (**T**ranslocator **O**uter **M**embrane)
      2. **TIM** complex: binnen-membraan (**T**ranslocator **I**nner **M**embrane)
      3. Bestaan uit receptoren voor mitochondriale precursor eiwitten en translocator kanalen
      4. **SAM** complex: translocatie van b-barrel eiwit en incorporatie in buitenmembraan
      5. **OXA** complex: insertie binnen-membraan eiwitten aanwezig in matrix of gesynthetiseerd in mitochondriën
   4. Mitochondriale precursor eiwitten worden geïmporteerd als ontvouwen polypeptide ketens
      1. Mitochondriale precursor eiwitten blijven in ontvouwde toestand na synthese door te binden
      2. Aan andere eiwitten: chaperones (Hsp70) of eiwitten die specifiek zijn voor signaal sequentie van mitochondriale precursor
      3. Na binden van signaal peptide op import receptor van TOM worden geassocieerde eiwitten verdreven en wordt precursor eiwit doorheen translocator kanaal gestuurd
      4. Precursor eiwit penetreert in één keer binnen-en buiten-membraan



* 1. ATP hydrolyse en membraan potentiaal drijven eiwit-transport in mitochondriale matrix
     1. 
  2. Integratie van porines in buiten-membraan
     1. d

1. Peroxisomen
   1. Structuren omgeven door één enkel membraan
      1. peroxisomale eiwitten vanuit cytosol geïmporteerd 🡪 bevatten geen DNA of ribosomen
   2. Oxidatiereacties
      1. Door enzymen
      2. Waterstofperoxide wordt gevormd
      3. RH2 +O2 🡪 R + H2O2
      4. Verder peroxidatie reactie
         1. H2O2 gebruikt door catalase om andere substraten (alcohol) te oxideren
         2. 2H2O2 + R’H2 🡪 R’ + 2H2O2
   3. Bèta-oxidatie
      1. Verkorten van vetzuurketens tot Acetyl-CoA moleculen
         1. Terug naar cytosol voor verdere reacties
   4. Essentiële functie
      1. Katalyseren van eerste reactie van biosynthese van plasmalogens = belangrijkste fosfolipiden in myeline
   5. Import signaal
      1. C-terminus van veel peroxisomale eiwitten
      2. Solubele receptoreiwitten in cytosol en dockingeiwitten op cytosolische kant van peroxisomen binden aan deze signaalsequenties
      3. ATP-afhankelijke importproces 🡪 peroxines betrokken
         1. Vormen membraan translocators waardoor eiwit getransporteerd kan worden
         2. Eiwit moet niet ontvouwen worden, transport op eiwittransport naar nucleus lijkt
   6. Deling
      1. Peroxisomale precursorvesikels ontstaan vanuit ER
      2. Kunnen met elkaar of met al bestaande peroxisomen fuseren
      3. Peroxisomale eiwitten en lipiden worden opgenomen vanuit cytosol
      4. Peroxisomen splitsen (fission) tot twee dochter-peroxisomen
   7. Zellweger syndroom
      1. Mutatie in specifieke eiwittranpsort voor peroxisomen 🡪 lege dysfunctionele peroxisomen met hersen-, lever-, en nierdysfuncties tot gevolg
      2. Ook verstoorde biosynthese van plasmalogen 🡪 ontstaan demylinisatie 🡪 neurologisch syndroom
2. Endoplasmatisch Reticulum
   1. + 50% van membranen in cel
   2. Continuatie van nucleaire membraan
   3. Ruimte tussen membranen = ER-lumen of ER-cisterna
   4. Belangrijkste functies:
      1. Eiwit biosynthese
      2. Lipide biosynthese
      3. Opslag Intracellulaire Ca2+ voorraad
      4. Alle transmembranaire eiwitten en lipiden meeste organellen (ER, Golgi, lysosomen, endosomen, secretorische vesicles, plasma membraan) in ER aangemaakt
      5. ER synthetiseert meeste lipiden van mitochondriale en peroxisomale membranen
      6. Eiwitten gescreteerd worden of bestemd voor lumen van de ER, Golgi, lysosomen 🡪 afgeleverd ER lumen
      7. Structurele functionele diversiteit in verschillende celtypes
   5. Ruw ER
      1. Eiwitsynthese vindt plaats
         1. D.m.v. ribosomen die op ER membraan zijn gebonden via co-translationeel transport
      2. Co-translationeel transport
         1. Gepaard met SRP-eiwit + respectievelijke receptor die transport faciliteer
         2. Post-translationeel transport: import eiwitten waarvan polypeptide keten volledig gesynthetiseerd naar miotchr, nucleus, peroxisoom, of cholorplats
   6. Glad ER
      1. Regio’s zonder membraangebonden ribosomen
      2. Biosynthese van lipiden, lipoproteïne partikels en hormonen
      3. Detoxificatie-enzymes bevatten + intracellulaire Ca2+-pool vormen
         1. Cytochrome P450: catalyseert conversie van water-onoplosbare drugs of metabolieten 🡪 anders in membraan accumuleren tot toxisch niveau
         2. Door cel uitgescheiden 🡪 urine
      4. Spiercellen
         1. Glad ER = sacroplasmatisch reticulum
         2. SECRA – eiwit belangrijke rol
            1. Fingeert als P-type calciumpomp 🡪 Ca2+ actief getransporteerd in spiercel
            2. Spiercontractie: Ca2+ uit ER in cytosol gepompt
            3. Spierrelaxatie: Ca2+ terug uit cytosol in ER lumen gepompt
      5. Transitionele ER
         1. Regio van ER waar transportvesikels afgesplitst worden om naar Golgi getransporteerd te worden
      6. Meeste cellen
         1. GER eerder beperkt
         2. Meestal gedeelte glad, gedeelte rum
         3. Ratio RER vs GER varieert functie celtype en specifieke functies
   7. Transmembranaire eiwitten
      1. Gesynthetiseerd langs membraan
      2. Via Golgi en vesiculair transport weg banen naar andere membranen die onderdeel vormen van endocytosiche/secretorische pathway
      3. Eiwitten gesecreteerd: 1ste in ER membraan gesynthetiseerd, via ER lumen in andere topologisch equivalente compartimenten terecht 🡪 extracellulaire milieu te belanden
   8. Microsomen
      1. = Isolatie van gepurifieerde ER-fragmenten
      2. GER microsomen moeilijk te onderscheiden van andere vesikels
      3. Inhepatocyten en spiercellen zijn GER microsomene relatief aangereikt
   9. Co-translationeel transport
      1. Synthese van niet-cytosolische eiwitten, ER-signaalsequentie of N-terminaal “leader” peptide een belangrijke rol
      2. Signal-recognittion particle eiwit (SRP EIWIT)
         1. Niet in cytosol
         2. Zorgt voor binding van signaal sequentie van eiwit
         3. Pauzeert synthese door binding van elongatiefactoren op ribosomen te verhinderen
         4. Complex (= mRNA, ribosomen, gevormde polypeptideketen met signaalsequentie en SRP) wordt getransporteerd naar ER-membraan en bindt via SRP-eiwit op SRP-receptor die ingebed ligt in ER-membraan
         5. Signaalsequentie bindt op eiwit translocator 🡪 SRP-eiwit opnieuw vrij + functie hervatten
         6. Bijgevolg: SRP binding van elongatiefactoren op ribosoom niet verhinderen 🡪 polypeptide synthese weer voorzetten
         7. Keten worden tijdens synthese simultaan getransporteerd doorheen ER = Co-translationeel transport
         8. 2 mogelijke scenario’s afhankelijk van lading t.o.v. signaal sequentie



* 1. Sec61-complex
     1. Opening ER-porie = binding ribosoom aan ER-translocator
     2. Sec61-complex = kern van ER-translocator
        1. 3 subeenheden
        2. N-terminaal ER-“leader”-peptide 🡪 hydrofoob start-transfersignaal 🡪 getransfereerd door dubbele fosfolipide laag van ER
        3. Hydrofoob stop-transfersignaal 🡪 ER-translocator conformationele verander ondergaan als stop-transfersignaal ER-translocator betreed en bindt met binding site 🡪 dissociatie eiwit 🡪 ander deel eiwit lateraal dubbele fosfolipide laag van ER membraan bevindt
        4. Eindresultaat: doublepass transmembranair eiwit
        5. Multipass transmembranaire eiwitten: meerdere start- en stop-transfersequenties met multipass transmembranair eiwit als eindresultaat
  2. Chaperones / Chaperone-eiwitten
     1. Staan in voor post-translationeel transport + begeleiden incorrect opgevouwen eiwitten 🡪 bindt op incorrect opgevouwen sequenties van gesynthetiseerd eiwit, verhinderen eiwit zal aggregeren 🡪 eiwit in ER-lumen behouden
     2. Faciliteert heropvouwing van incorrect opgevouwen eiwit
     3. Calnexine
        1. Herkent terminale glucose residu’s op opgevouwen glycoproteïnes
        2. Incorrect opgevouwen glycoproteïne als ware “gevangené in ER lumen
        3. Glucosidase-enzyme: verwijdert terminale suiker 🡪 eiwit opnieuw vrijkomen
        4. Eiwit correct opgevouwen 🡪 eiwit ER verlaten
        5. Niet correct 🡪 ondergaat eiwit glycosylatie: terminaal glucose residu op oligosaccharidestructuur van glyoproteïne gekoppeld
        6. Glycoproteïne met terminale glucoresidu’s kan opnieuw gebonden worden door calnexine
        7. Cyclus herhaalt zich 🡪 stopt: eiwit correcte conformatie aangenomen
  3. Proteasoom
     1. Ondanks chaperone niet goed opgevouwen ?
        1. Geëxporteerd vanuit ER-lumen om in cytosol gedegradeerd via proteasoom
        2. = multicomplex eiwit, heeft verschillende compartimenten, staan in voor degradatie van incorrecte opgevouwen eiwit, gemedieerd via poly-ubiquitinylatie
        3. Ubiquitine bindt op target + verantwoordelijk voor begeleiding naar proteasoom
        4. Centrale cilinder (met protease als actieve site): knipt slecht opgevouwen eiwitten tot kleine polypeptiden
     2. Medische relevantie
        1. Quality control zeer belangrijk
        2. Soms resistent aan proteasen 🡪 aggregaten veroorzaken + toxisch zijn
        3. Creutzfeldt-Jakob
           1. Neurodegeneratieve ziekte veroorzaakt door amyloïde aggregaten
           2. Pathologische eiwit-aggregaat bestaat uit cross-β-filament: leidt tot amyloïde depositie, welke resistent tegen proteolyse
           3. Eiwit = prion 🡪 infectieus + andere correct gevormde eiwitten vervormen tot homodimeren 🡪 eindresultaat: amyloïde plaque
     3. Voorbeeld
        1. ER mannosidase: knipt mannose uit de core oligosaccharide structuur
        2. ER mannosidase: trage werking: vooral actief op eiwitten lang in ER
        3. Nieuwe oligosaccharide structuur wordt herkend door retro-translocatie systeem
        4. Eiwitten sneller opgevouwen en ER verlaten 🡪 actie van het ER mannosidase ontsnappen aan deze degradatie
  4. Unfold protein response
     1. Accumulatie incorrect opgevouwen eiwitten in ER stimuleert dit
     2. Potentieel schadelijke effecten incorrect gevouwen eiwitten tegen gaan
     3. Stimulatie van meerdere transcripties van genen, coderen voor ER chaperone-eiwitten en eiwitten betrokken in retro-translocatie en eiwit-degradatie
     4. 3 verschillende pathways geactiveerd 🡪 verbetering van opvouw-capaciteit in ER
        1. Activatie PERK
        2. Activatie ATF6
        3. Activatie IRE1
           1. Activeren via fosforylatie
           2. IRE1 receptor = transmembranair kinase
           3. Geactiveerde kinase verwerft endoribonuclease-activiteit 🡪 splicing specifieke RNA’s 🡪 coderen voor specifieke transcriptiefacotren (TF), expressie chaperonegenen activeren
           4. Overeenkomstige chaperone-eiwitten worden in ER aangemaakt via Co-transl transpr 🡪 ER lumen accumuleren
           5. Functie vervullen: binding op incorrect gevouwen eiwitten conformationele wijziging induceren 🡪 correcte 3D-conformatie van betrokken eiwit in kwestie
           6. **Zie laatste pagina voor bijlage**
  5. GPI verankering
     1. Vast geankerd aan membraan via glycosyl-fosfatidyl inositol (GPI) structuur
     2. ER-membraan bevat enzymen die covalente GPI-modificatie van membraaneiwit katalyseren
     3. GPI zorgt ervoor dat membraaneiwit geknipt wordt van ER-membraan door fosfolipase en vrijkomt in ER-lumen
     4. Medische relevantie
        1. Slaapziekte veroorzaakt door trypanosoom, overgebracht door tseetseevlief
        2. Sluimerende staat voorkomen 🡪 ziekte niet in hersenen
           1. West-Afrikaanse slaapziekte jaren duren
           2. Oost-Afrikaanse slaapziekte: agressiever, in enkele maanden fataal
        3. Parasiet hersenen binnen: ontstaat verwardheid, slaapstoornissen, epileptische aanvallen, moeite met lopen, gevoelloosheid in handen en voeten
           1. Patiënt vermagerd snel 🡪 coma 🡪 sterft
           2. Geen behandeling 🡪 dodelijke afloop
        4. Trypanosoom-parasiet
           1. Omgeven door variabele oppervlak-eiwitten (VSG) verankerd via GPI-ankers
           2. VSG-eiwitten: immuunrespons parasiet omzeilen, verschillende mechanismen

Coating van membraan met VSG

Dichte eiwit “coating” 🡪 parasiet afgeschermd voor mogelijke aanval van immuunsysteem van gastheer

Antigenische variatie = immuno-evasie

Immuunsysteem antilichamen genereren die op VSG-eiwitten binden

Moleculaire recombinatie in DNA van trypanosoom-parasiet 🡪 ander VSG-variant op membraan tot expressie

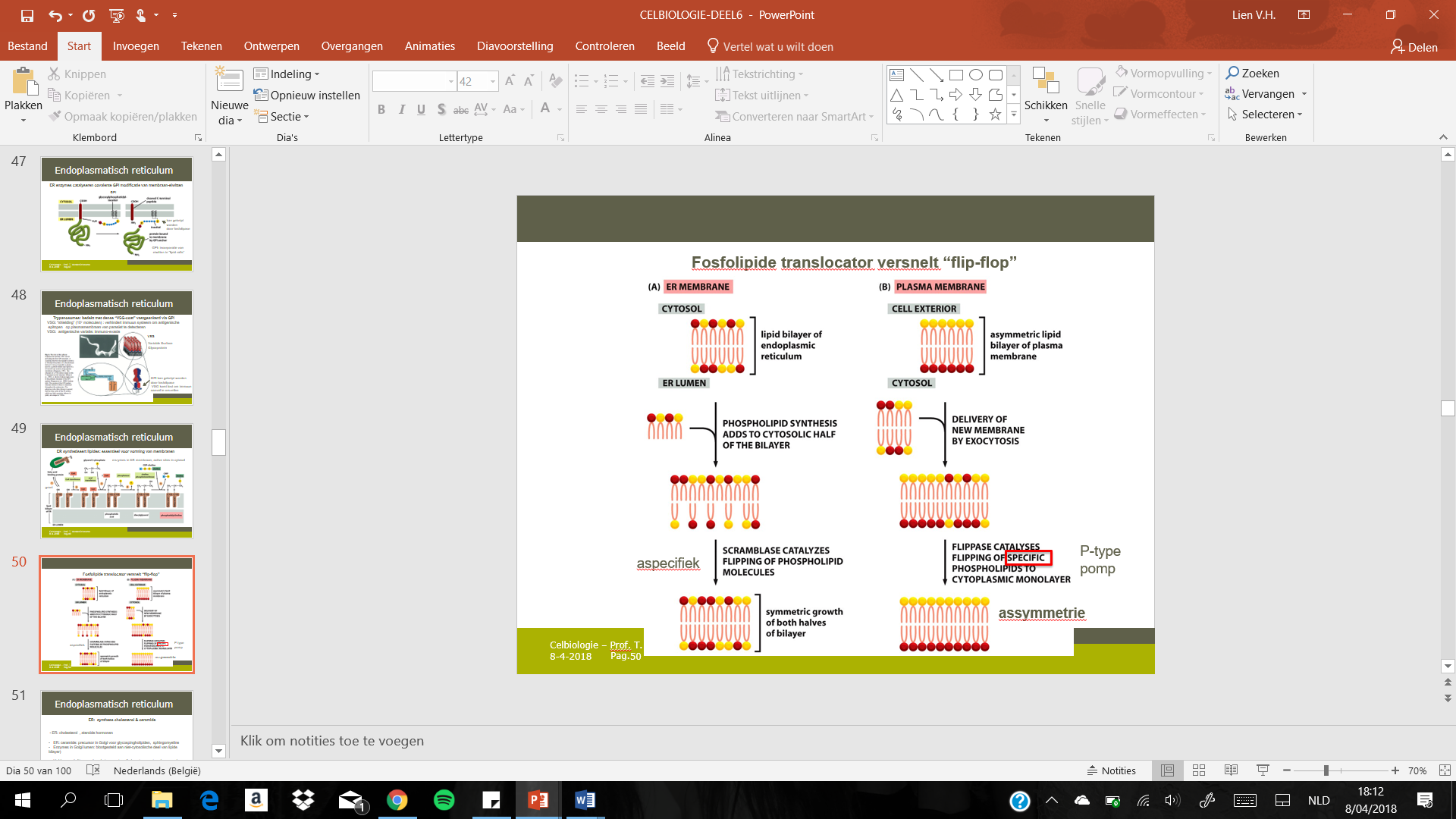
Niet herkent 🡪 nieuwe antilichamen aanmaken

Proces herhaalt zich 🡪 parasiet steeds stap voor

Afknippen VSG als afleidingsmanoeuvre

Afgeknipt van plasmamembraan van parasiet door fosfolipase

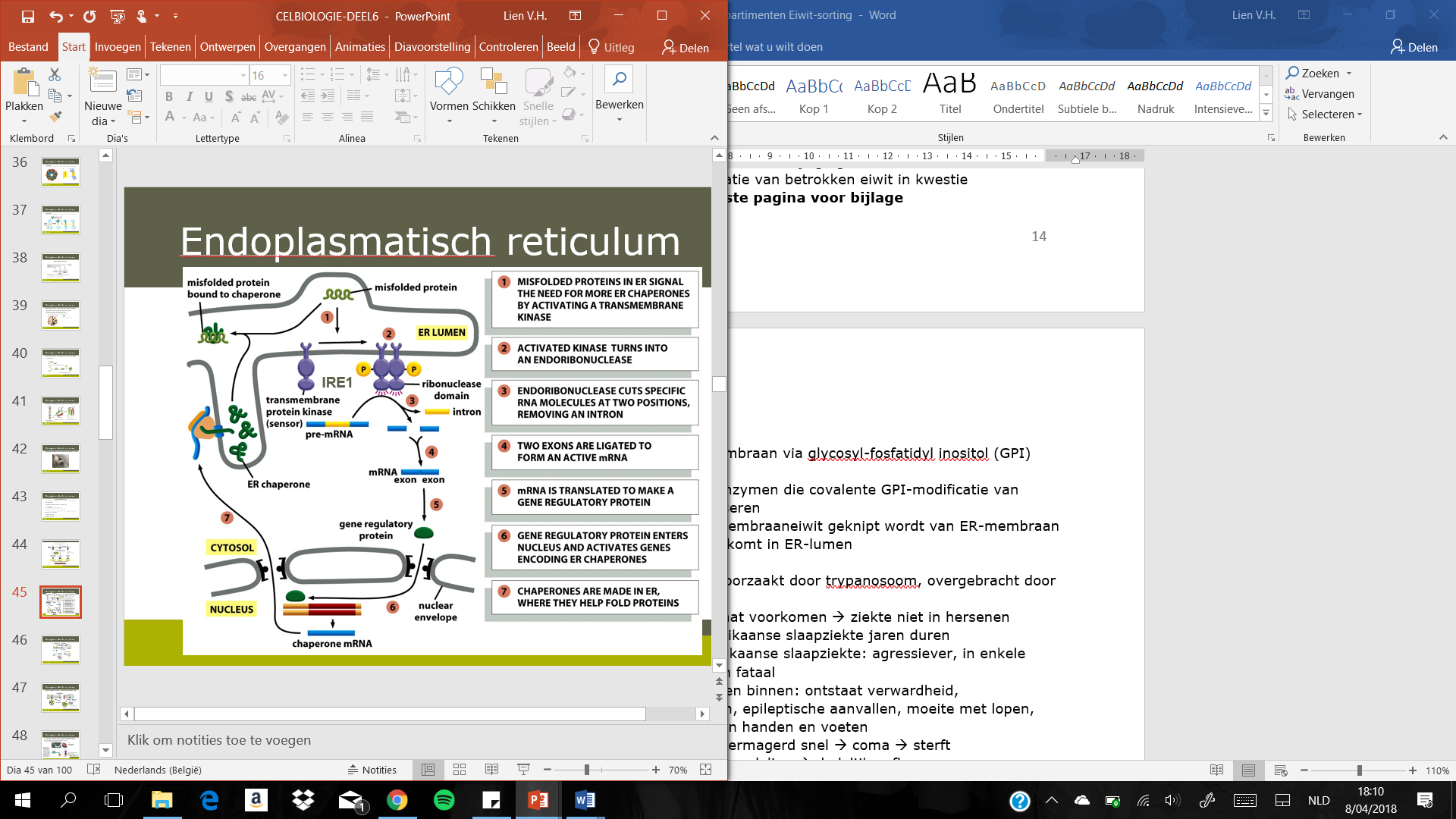
Vrije VSG-molecule = afleidingsmanoeuvre waarop antilichamen binden zonder consequenties voor parasiet

* 1. Synthese fosfolipiden
     1. Essentieel vorming membranen
     2. Vindt plaats in ER
     3. Nieuwe enkel toegevoegd aan cytosolische zijde van ER-membraan
     4. Spontane flip-flop
        1. Naar luminale zijde 🡪 zeer langzaam 🡪 gekatalyseerd door fosfolipide-translocator = scramblase 🡪 membraan waarbij verschillende fosfolipiden evenredig verdeel zijn over beide zijden
     5. Flippase
        1. Fosfolipide-translocator
        2. Verplaatst fosfatidylserine en fosfatidylethanolamine van extracellulaire zijde naar cytosolische zijde
        3. Nieuwe membraanonderdelen via exocytose naar plasmamembraan zijn gebracht
     6. Asymmetrische eigenschap membraan behouden
     7. 

1. ER: synthese cholesterol en ceramide
   1. ER: cholesterol , steroide hormonen
   2. ER: ceramide: precursor in Golgi voor glycospingholipiden, sphingomyeline
   3. Enzymes in Golgi lumen: blootgesteld niet-cytosolische deel van lipide bilayer)
   4. Lipiden en eiwitten via transport vesikels getransporteerd naar andere organellen van secretorische pathway
   5. Mitochondriën: geen de novo lipide synthese, lipiden geïmporteerd

(direct of indirect) uit ER

* 1. - Fosfolipide transport tussen membranen vereist *phospholipid exchange proteins*

IRE1- pathway