

University of Groningen

Tuning the lipid bilayer: the influence of small molecules on domain formation and membrane fusion

Bartelds, Rianne

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2018

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Bartelds, R. (2018). *Tuning the lipid bilayer: the influence of small molecules on domain formation and membrane fusion*. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Nederlandse samenvatting

Alle levende organismen bestaan uit cellen omgeven door een membraan. Dit membraan bestaat uit een lipide bilaag welke transport-, receptor- en kanaaleiwitten bevat. Lipiden met volledig verzadigde vetzuren en cholesterol vormen domeinen, genaamd 'rafts', wanneer ze in de juiste verhouding worden gemengd met lipiden die onverzadigde vetzuren bevatten. Eiwitten associëren met deze rafts of worden juist buitengesloten, waardoor bepaalde eiwitten dicht bij elkaar komen of juist bij elkaar uit de buurt worden gehouden.

Omdat rafts zo klein zijn (10-200 nanometer) en dynamisch, zijn modelsystemen ontwikkeld om interacties tussen lipiden en eiwitlocalisatie te kunnen onderzoeken. Één van deze model membranen zijn gigantische unilamellaire vesikels (GUVs), welke tientallen micrometers groot kunnen zijn en daardoor bestudeerd kunnen worden met lichtmicroscopie. GUVs bestaande uit drie ingrediënten namelijk lipiden met verzadigde vetzuren, lipiden met onverzadigde vetzuren en cholesterol scheiden in twee fasen: een dichte geordende vloeibare L_o fase en een meer vloeibare L_d fase.

In dit proefschrift heb ik laten zien dat kleine moleculen zoals suikers, koolwaterstoffen en bepaalde lipiden de fase scheiding beïnvloeden. In hoofdstuk 2 beschrijf ik hoe niet-reducerende suikers de menging van lipiden vergroten waardoor de L_o en L_d fasen kunnen verdwijnen, een eigenschap die zou kunnen verklaren hoe deze niet-reducerende suikers planten, ongewervelden en microorganismen beschermen tegen uitdroging. De suikers vertragen het moment waarop membranen onder droogtestress over gaan van vloeibaar kristallijn naar gelachtig. In hoofdstuk 3 zijn soortgelijke effecten gezien voor aromatische koolwaterstoffen. Hier verdween de fase scheiding alleen bij moleculen met een grootte vergelijkbaar aan pyrene en welke zich verdeelden over zowel de L_o als L_d fase.

In hoofdstuk 4 beschrijf ik de verdeling (partitie) van het model peptide WALP over de L_o en L_d domeinen van de membraan. WALP localiseert normaliter in de L_d fase, maar computersimulaties hadden laten zien dat palmitoylering (de toevoeging van een lipide met verzadigde vetzuurstaarten) de overgang van L_o naar L_d mogelijk maakt. In samenwerking met een collega in de organische chemie is een nieuwe trifunctionele linker ontwikkeld en gesynthetiseerd. Toevoeging van de palmitoylgroep veranderde de verdeling van het peptide over L_o en L_d niet; ook verlenging van het peptide of verandering van het membraan door toevoeging van de ganglioside GM1 hadden geen effect.

Het tweede deel van dit proefschrift is gericht op kleinere vesikels, zogenoemde grote-unilamellaire vesikels (LUVs). Ik heb onderzocht of LUVs gebruikt kunnen worden om medicijnen te beschermen tegen te vroege afbraak en of vesikels geschikt gemaakt kunnen worden om te laten fuseren met andere membranen. Vesikels gemaakt van niet-ionogene oppervlakte-actieve stoffen zijn gekarakteriseerd in hoofdstuk 5. Ik laat zien dat deze vetachtige stoffen gesloten vesikels kunnen vormen, niosomen genoemd, die qua eigenschappen te vergelijken zijn met vesikels gebaseerd op lipiden. De niosomen zouden een kosten-effectief alternatief kunnen vormen voor bestaande op lipiden-gebaseerde liposomen die nu veelal worden gebruikt voor medicijnafgifte.

Om een synthetische cel te vormen moeten verschillende onderdelen bij elkaar worden gebracht. Één benadering om dat te doen is om twee of meerdere populaties van vesikels met elkaar te laten fuseren. Benaderingen om dat te doen worden samengevat in hoofdstuk 6, aangevuld met eigen resultaten. In dit hoofdstuk wordt duidelijk dat fusie een delicate balans is

tussen het verstoren van het membraan en handhaven van de permeabiliteitsbarriere. Ik ben er in geslaagd membraanfusie te realiseren zonder noemenswaardige lekkage van de vesikelinhoud door gebruik te maken van een commercieel verkrijgbaar enzym welke de kopgroepen van een deel van de lipiden afknipt. Hierdoor wordt de buitenste helft van de membraan verstoord en kan deze fuseren met die van een naburige vesikel, zonder dat de inhoud van de vesikels naar buiten lekt.