

Besvarelse eksamen SIF4070 Cellebiologi 7. august 2003

Oppgave 1 Ionetransport. Aksjonspotensial. Na/K ATP ase pumpe

a) Ionetransport

Flux:

Ioner diffunderer passivt gjennom ionekanaler med sin elektrokjemiske gradient, dvs med sin konsentrasjonsgradient og elektriske gradient (som avhenger av konsentrasjonen av ioner ekstracellulært og intracellulært). Ionefluxen avhenger derfor av:

- elektrokjemiske gradient
- permeabiliteten k som blant annet avhenger av antall ionekanaler i membranen.

De tre typer ionekanaler er:

1. reseptor/ligand operative

Åpnes/lukkes ved at en ligand (f.eks. hormon, neurotransmittor) bindes til sin reseptor på plasmamembranen

Finnes på nerveceller, epitelceller i nyrer

2. spennings operative

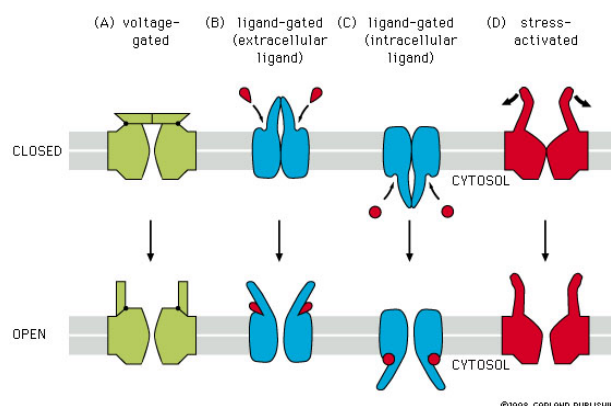
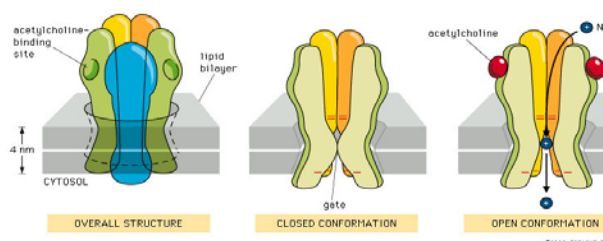
Åpnes/lukkes når membranpotensialet over plasmamembranen endres

Finnes på nerveceller, muskelceller

3. Mekaniske/strekfølsomme

Finnes på muskelceller, hårceller i indre øret

Åpnes/lukkes når plasmamembranen utsettes for mekanisk stress.



Når kanalene aktiveres ved ett av de tre typer stimuli, vil proteinene som danner ionekanalene endre konformasjon slik at kanalen åpnes/ lukkes.

Selektiviteten bestemmes ved: Diameteren av ionekanalene og ladningen og polariteten av proteinene som utgjør kanalen, bestemmer hvilke ioner som kan passere.

b) Aksjonspotensial

Et stimulus danner et gradert potensial som igjen danner aksjonspotensialet dersom endringen i membranpotensial er større enn terskelverdien for dannelse av aksjonspotensial:

Aksjonspotensialet dannes ved at:

1. Na^+ kanaler åpnes pga stimulus

⇒ Na^+ strømmer inn i cellen

⇒ membranpotensialet depolariseres

⇒ spenningsfølsomme Na^+ kanaler åpnes og membranpot. depol. ytterligere.

2. Na^+ kanaler inaktiveres.

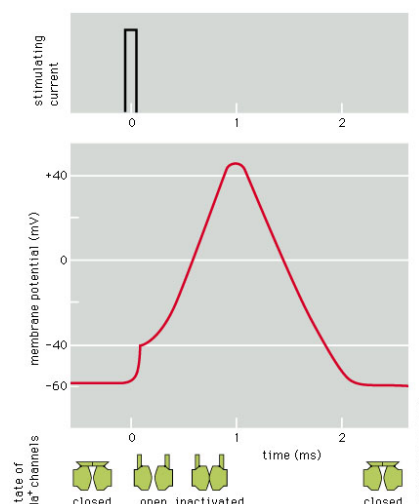
Dette skjer som en forsinket respons på stimulus.

Idet Na kanalene åpnes trigges også inaktivering og påfølgende lukking av Na kanalene samt åpning av K^+ kanaler (se figur)

3. Spenningsfølsomme K^+ kanaler åpnes

⇒ K^+ strømmer ut av cellen

⇒ membranpotensialet går mot hvilepotensialet, hyperpolariseres, før hvilepotensialet gjenopprettes.



Aksjonspotensialet dannes dersom membranpotensialet når terskelverdien for dannelse av aksjonspot.

Stimulus må åpne tilstrekkelig mange Na^+ kanaler slik at terskelverdien nås.

c) Na/K pumpe

Na^+/K^+ pumpen er et transmembranprotein som har 3 bindingssteder for Na^+ og 2 for K^+ , slik at 3 Na^+ molekyler pumpes ut av cellen og 2 K^+ inn.

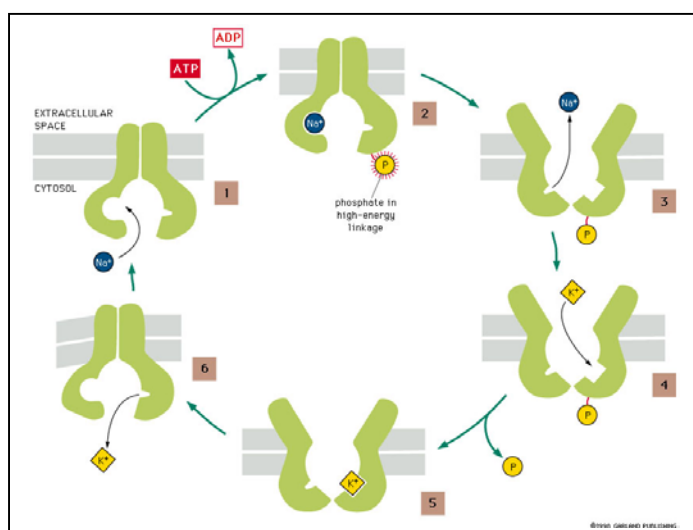
Når konsentrasjonen av Na^+ intracellulært/ K^+ ekstracellulært økes utover cellens normalverdi, begynner pumpen å arbeide:

Na^+ bindes til sitt bindingssted på cytoplasmatiske side. ATP bindes og hydrolyseres slik at pumpen fosforyleres. Pumpen fungerer selv som en kinase.

⇒ pumpen gjennomgår en konformasjonsendring slik at Na^+ overføres til ekstracellulær side

⇒ Na^+ faller av ekstracellulært, Samtidig vil K^+ bindes til pumpen på ekstracellulær side og fosfatgruppen faller av

⇒ pumpen gjennomgår en konformasjonsendring slik at K^+ overføres til cytosol.



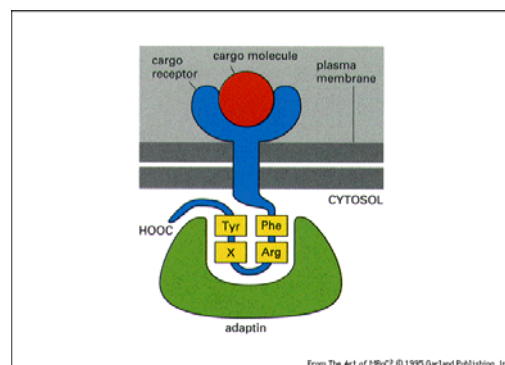
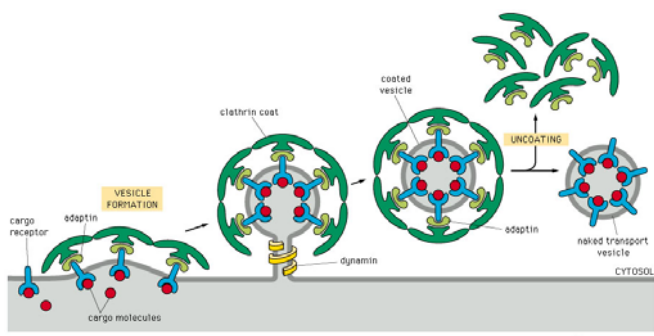
Pumpen har nå transportert 3 Na^+ ut av cellen og 2 K^+ inn, og er klar for en ny syklus.

Oppgave 2 Vesikkeltransport. Endocytose

- a) *Dannelse av vesikkel:* Vesikkelen er omgitt av en protein-kappe. Vesikler som inneholder proteiner som ikke har et spesielt signal om endelig bestemmelsessted er dekket av proteinet coatomer også kalt COP (Coating Protein). Vesikler med proteiner som har et bestemt bestemmelsessted er dekket av proteinet klatrin. Protein-kappen framskaffer krefter nødvendig for å bøye membranen slik at vesikkelen kan dannes.

Molekylene som skal transporteres bindes til sin reseptor i membranen på organellen. Protein adaptin binder seg spesifikt til karboksylhalen av reseptoren og sørger for at molekylene som skal transporteres i vesikkelen kommer i vesikkelen. Adaptin har bindingssted for reseptoren og for klatrin. Klatrin som er et stort flerarmet protein, bindes til adaptin og sørger for at de nødvendige krefter for å bøye membranen slik at en vesikkel kan dannes, produseres.

Det siste trinn i prosessen med å danne vesikkel er et lite GTP-bindende protein kalt dynamin ansvarlig for. Dynamin er som en ring rundt "halsen" på vesikkelen og ved hydrolyse av GTP kneppes vesikkelen av.

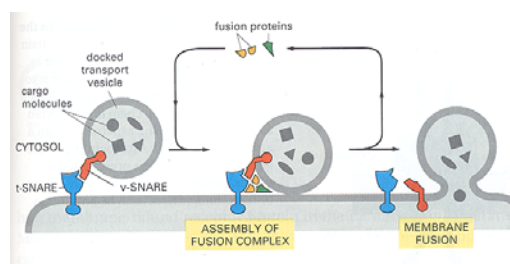
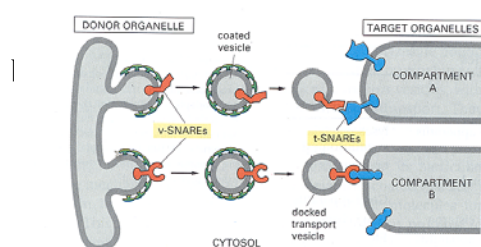


Vesikler bindes til og smelter sammen med sitt bestemmelsessted.

Vesikkelen når sitt bestemmelsessted ved diffusjon dersom veien vesikkelen skal gå er kort. Er veien lang for eksempel langs et axon i en nerveceller går vesikkelen langs mikrotubulus.

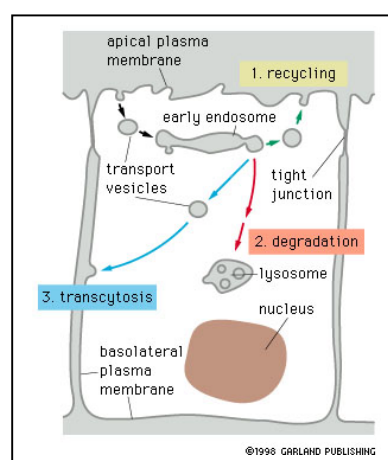
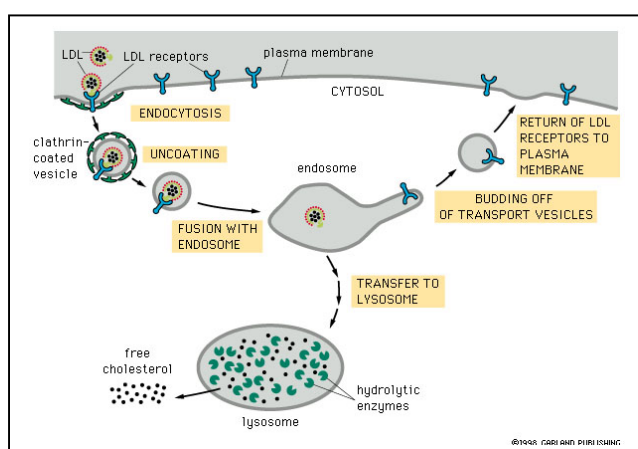
Vesikkelen har på sin overflate en markør kalt v-SNARE som gjenkjenner og binder seg til den komplementære reseptoren t-SNARE på bestemmelsesstedet. Proteinkappen må falle av før v og t-SNARE bindes.

For at vesikkelen og plasmamembranen skal smelte sammen kreves at membranene kommer tilstrekkelig nær hverandre (ca 1,5 nm). Dette krever at vann må fjernes, noe som er energetisk ugunstig. Fusjonen katalyseres av spesielle proteiner i cytosol som danner et fusjonskompleks. Dette proteinkomplekset bidrar til at membranene kommer tilstrekkelig nær hverandre, og at energibarrieren overvinnes. Mekanismen ikke kjent. se figur.



b) Reseptor-mediert endocytose: LDL bindes til sine reseptorer på plasmamembranen og en vesikkel dekket av proteinet klattrin dannes som beskrevet i 2a). I cytosol faller klattrin kappen av vesikkelen smelter sammen med endosomet. Endosom er en forløper til lysosomet og har i likehet med lysosomer et surt indre miljø. Den lave pH gjør at LDL dissosierer fra sin reseptor. Reseptoren resirkuleres til plasmamembranen via en transportvesikkel annet fra endosomet. LDL går til lysosomet der pH er ennå lavere enn i endosomet. LDL brytes ned i lysosomet av hydrolytiske enzymer slik at fritt kolesterol frigjøres og kan benyttes.

Andre typer reseptorer kan også brytes ned i lysosomene eller nå transporteres fra endosomene til andre deler av plasmamembranen via transportvesikler som figuren viser.



Oppgave 3. Stimulering av cellevekst

a) Aktivisering av tyrosin kinase reseptoren:

Signalmolekyl bindes til ekstracellulær del av tyrosin kinase reseptoren. Reseptoren er et enkelt transmembran segment (ikke multipass protein)

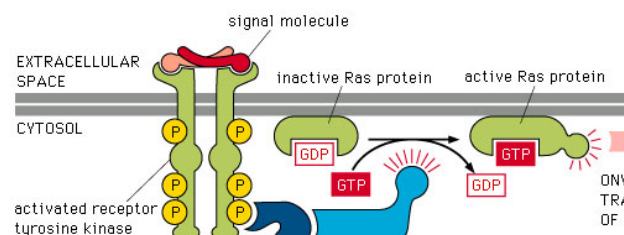
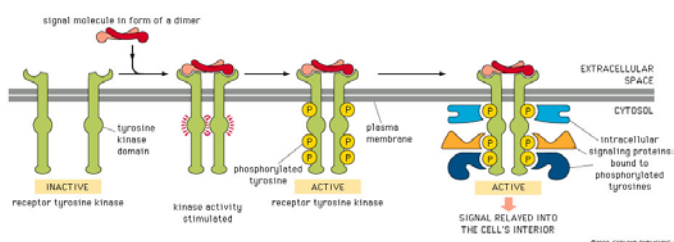
⇒ to reseptorer danner en dimer

⇒ kontakt mellom de intracellulære domenen av reseptorene slik at deres kinaser aktiviseres og de kan fosforilere hverandre. (Fosforileres på aminosyren tyrosine derav navnet)

De fosforylerete tyrosinene fungerer som spesifikke bindingssteder for ulike intracellulære signal proteiner. Signal proteinene igangsetter en kaskade av intracellulære hendelser. Ulike tyrosine kinase reseptorer aktiverer ulike intracellulære proteiner.

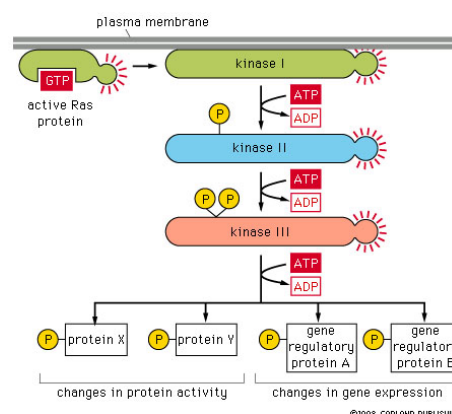
Aktivisering av Ras:

Et vanlig intracellulært signal protein er et såkalt adaptor protein som aktiverer Ras. Ras er et lite GTP bindende protein som sitter på cytoplasmatiske side av plasmamembranen. Ras fungerer som en molekylær bryter: når GDP er bundet er Ras inaktivt. Når GDP byttes ut med GTP blir Ras aktivt. Adaptorproteinet som bindes til fosforylert tyrosine, aktiverer ras-aktivering protein som fjerner GDP fra Ras slik at GTP kan bindes. Ras-GTP er aktivt inntil GTP hydrolyseres til Ras-GDP.



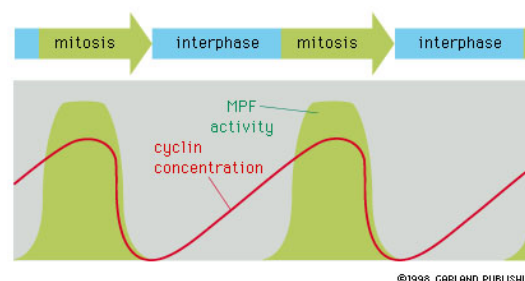
Aktivering av genregulerende proteiner

Ras-GTP aktiverer gen regulerende proteiner ved å aktivere en kaskade av 3 kinaser. Den siste kinasen fosforilerer gen regulerende proteiner slik at de aktiveres og endrer transkripsjonen.



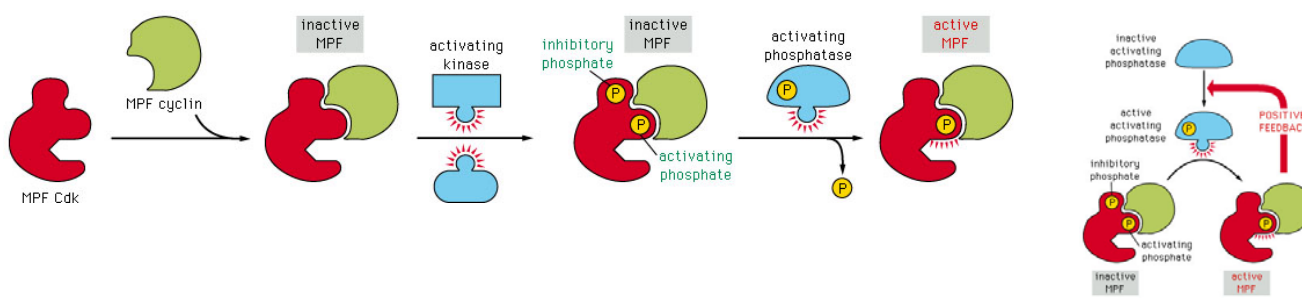
b) Regulering av celledyklus:

Cyclin-cyclin avhengig kinase (cdk) endrer seg gjennom celledyklus som vist i figuren: Konsentrasjonen av proteinet cyclin øker jevnt i interfase fra G1 gjennom S og G2 fase, og faller raskt ved slutten av mitose. Cyclin har ingen aktivitet alene med bundet til cyclin-avhengig kinase. I starten av mitose øker aktiviteten av cyclin-cyclin avhengig kinase komplekset MPF raskt og avtar igjen ved utgangen av mitose som vist på figur.



Aktiveringen av MPF skjer ved fosforylering som vist på figuren:

Cyclin-cdk er inaktivt når det dannes. Cdk fosforyleres på ulike steder, også steder nødvendig for at komplekset skal være aktivt. Fosforyleringen gjør derfor at MPF forblir inaktivt. En fosfatase fjerner fosfatgruppene som sitter på de aktive stedene til MPF og dette aktiverer MPF. I det MPF aktiveres vil det bidra til å aktivere flere fosfataser som igjen aktiverer nye MPF. Denne positive tilbakekoplingen gjør at aktiviteten av MPF øker meget raskt ved inngangen til mitose.



Oppgave 4

- a) En bakterie som lever i kroppen ved 37 °C blir plutselig hevet ut av kroppen der temperaturen er ca 5 °C. Hva av følgende tilpasninger gjør bakterien for å opprettholde membran fluiditeten:
- A. Øker lengden av fosfolipidenes hydrokarbonhaler
 - B. Øker andelen av fosfolipidenes umettede hydrokarbonhaler**
 - Ved lavere temp avtar fluiditeten. Ved å øke andelen av umettede hydrokarbonhaler kan fluiditeten opprettholdes.**
 - C. Øker andelen av fosfolipider med hydrokarbonhaler uten dobbel bindinger
 - D. Reduserer mengden glykolipider i membranen
- b) Tre fosfolipider X,Y, og Z er distribuert i plasamembranen som vist på figuren. For hvilke av disse fosfolipidene finnes det sannsynligvis en flippase?
- A. Bare for X
 - B. Bare for Z
 - C. For X og Y idet fosfolipider plasseres på cytoplasmatisk side av det doble lipidlaget i endoplasmatisk reticulum.**
 - D. For Y og Z
 - E. For X og Z
- c) En DNA sekvens fluorescensmerkes og hybridiseres med rRNA. Hva av det følgende blir da fluorescensmeket:
- A. Kjernekonvolutten
 - B. Kjerne lamina
 - C. Hele kjernen
 - D. Centromerer
 - E. Nukleolus rRNA befinner seg i nukleolus**
- d) Du har sekvensiert et DNA fragment og produsert en gel som vist på figuren. I en rad er det bånd i alle de 4 kolonnene (angitt med pil). Hvilke av følgende eksperimentelle feil kan forklare dette? Begrunn svaret ditt.
- A. Du har ved en feil tilsatt alle de 4 dideoxynucleotidene til en av reaksjonene
 - B. Du har glemt å tilsette deoxynukleotider til reaksjonene
 - C. har glemt å tilsette dideoxynukleotider til hver av reaksjonene
 - D. fraksjon av DNA du har sekvensiert ble kuttet med en restriksjon nuklease**
 - E. Primæren du benyttet hybridiserer til mer enn ett området på DNA fragmentet du skal sekvensiere

Dersom noe sekvensiert DNA templat er kuttet på et bestemt sted med restriksjons nuklease vil polymerasen stanse når den kommer til enden av DNA. Dette medfører at i alle de 4 prøvene vil det finnes DNA sekvenser med samme lengde. De andre alternativene er feil fordi: A: dersom alle de 4 dideoxynucleotidene er tilsatt vil det finnes et bånd ved hver posisjon fordi polymerasen vil stanse ved alle de fire basene A, C, G, T istedenfor ved bare en bestemt base. B: dersom du har glemt å tilsette deoxynukleotider vil det ikke bli noen polymerisering i det hele tatt og ingen bånd.. C: dersom du har glemt å tilsette dideoxynukleotider vil ikke polymeriseringen stanse før ved enden av DNA fragmentet og alle fragmentene vil være av full lengd synlig på toppen av gelen. E: dersom primæren du benyttet hybridiserer til mer enn ett området på DNA fragmentet vil det se ut som to forskjellige sekvenser er plassert oppå hverandre.

- e) Transport av proteiner til endoplasmatisk retikulum (ER). Hva vil skje i hvert av de følgende tilfellene? Anta at i hvert tilfelle er proteinet et løselig protein og ikke et membran protein.
- Du forandrer den hydrofobe aminosyresekvensen som danner ER signalsekvensen til en aminosyresekvens av ladete aminosyrer. **Den endrede signalsekvensen vil ikke bli gjenkjent at signal-gjenkjennende partikkel. Proteinene vil ikke bli transportert til ER**
 - Du forandrer den hydrofobe aminosyresekvensen som danner ER signalsekvensen til en annen aminosyresekvens av hydrofobe aminosyrer. **Proteinene vil bli levert til ER. Det er fordelingen av hydrofobe aminosyrer som er viktig ikke den aktuelle sekvensen.**
 - Du flytter signalsekvensen ved aminoenden til carboxyl-enden av proteinet. **Proteinene vil ikke bli levert til ER. Carboxylenden syntetiseres til slutt og vil ikke bli gjenkjent av signalkjenkjennende partikkel .**
 - Du adderer en signalsekvens for ER til aminoterminalen av et protein som normalt skulle forbli i cytosol. **Proteinene vil bli levert til ER**
- f) Hva av det følgende vil hemme importen av enzymer inn i mitokondrier
- Chaperone proteiner Ja Bidrar til å folde opp proteinet**
 - Et lite molekyl som binder seg til det aktive setet på enzymet Ja molekylet hemmer oppfolding av proteinet**
 - Hemming av ATP syntese Ja ATP er nødvendig**
 - En høy konsentrasjon av frie mitokondrial signal peptider i cytosol Ja Konkurrerer med enzymet om transport inn i mitokondrier**
 - En inhibitor av mitokondrial signal peptidase. Nei ingen effekt
- g) I hvilke av de fire delene i mitokondrier (ytre membran, indre membran, intermembran rommet, matrix rommet) finnes følgende:
- Porin **Ytre membran**
 - det mitokondrielle genom **Matrix rommet**
 - enzymene som inngår i sitronsyresyklusen **Matrix rommet**
 - proteiner i elektrontransport kjeden **Indre membran**
 - ATP syntetase **Indre membran**
 - Transportproteiner for pyruvate **Indre membran**
- h) Achetylcholin bindes til en G-protein-forbundet reseptor på hjertemuskelceller og får hjertemuskelaturen til å slå saktere ved å åpne K^+ kanaler. Hvilke av følgende hendelser kan øke effekten av acetylcholine:
- En høy konsentrasjon av en ikke-hydrolyserbar analog av GTP Øke tiden $\beta\gamma$ - enheten av G-proteinene er bundet til K kanalen og øker dermed effekten av achetylcholin**
 - Kolera toxin som forhindrer GTP hydrolyse Øke tiden $\beta\gamma$ - enheten av G-proteinene er bundet til K kanalen og øker dermed effekten av achetylcholin**
 - Mutasjoner i acetylcholine reseptoren slik at bindingen mellom acetylcholine og dens reseptor blir svakere
 - Mutasjoner i acetylcholine reseptoren slik at bindingen mellom reseptoren og G proteinet blir svakere
 - Mutasjoner i G proteinets β -subenhet slik at bindingen mellom $\beta\gamma$ -subenheten og K^+ kanalen blir svakere
- i) En sopp som kan invaderer humane celler har et gen regulerende protein kalt Inv som aktiverer transkripsjonen av gener som skiller ut proteaser som bidrar til at soppen kan

invadere celler. Inv bindes bare til DNA etter at den er fosforylert av en c-AMP avhengig kinase. Fosfolipase C sporet påvirker også aktiveringen av Inv, og c-AMP fosfodiesterase aktiveres av calmodulin. c-AMP sporet aktiveres i nærvær av ekstracellulære matrix proteiner. Anta at c-AMP og fosfolipase C sporene oppfører seg likedan i soppen som i humane celler. Hvilke av de følgende hendelsene vil tillate transkripsjon av genene som koder for protease i fravær av ekstracellulære matrix proteiner:

- A. **Inaktivering av calmodulin Øker mengden av c-AMP idet calmodulin aktiverer c-AMP fosfodiesterase**
- B. Inaktivering av c-AMP avhengig protein kinase
- C. Inaktivering av protein kinase C
- D. **Inaktivering av fosfolipase C .Reduserer mengden av inositol-trifosfat og dermed Ca²⁺ og aktiviteten av calmodulin.**
- E. Inaktivering av adenylate cyclase

j) A: mikrotubulus, B: intermediært filament C: aktinfilament

- k) Angi hva som er assosiert med mikrotubulus og intermediært filament i listen nedenfor, og angi funksjonen til hvert av begrepene i lista:
- A. 9+2 struktur: Axonemet av mikrotubulus i flimmerhår
 - B. Basal kropp (basal body): Mikrotubulus: Forankringspunkt for axonemet av mikrotubulus i flimmerhår
 - C. Centrosome: Mikrotubulus: Forankringspunkt for cytoplasmatiske mikrotubulus
 - D. Cilia (flimmerhår): Mikrotubulus, flimmerhår på epitelceller for å transportere f.eks støvpartikler ut av luftveiene
 - E. Dynein: To betydninger begge assosiert med mikrotubulus: 1) Armen i axonemet av mikrotubulus i flimmerhår 2) motorisk protein som transporterer vesikler langs mikrotubulus (mot minusenden)
 - F. GTP cap: Mikrotubulus: Stabiliserer lengden av mikrotubulus ved å forhindre depolymerisering
 - G. Keratin: Intermediært filament som gir styrke til epitelceller i hud
 - H. Kinesin: Mikrotubulus, motorisk protein som transporterer vesikler langs mikrotubulus (mot plusenden)
 - I. Mitotisk spindel apparat: Mikrotubulus: ansvarlig for deling av kjernen
 - J. Neurofilament: Intermediært filament. Gir styrke til neuroner
 - K. Nukleært filament: Intermediært filament ligger på innsiden av kjernekonvoluttene og bidrar til å styrke denne
 - L. Tubulin: Mikrotubulus: Byggesteinen
 - M. Protofilament: Mikrotubulus, en kolonne av tubulin

l) Angi hva polymerisering og depolymerisering av aktinfilament er nødvendig for:

- A. Produksjon av kontraktile krefter i celler
- B. Bevegelse av flimmerhår
- C. **Krabbebevegelse av celler Ja**
- D. **Opprettholde formen av celler Ja**
- E. Opprettholde mikrovilli slik at celleoverflaten øker

m) Ved muskelkontraksjon:

- A. Myosin filament blir kortere slik at aktinfilamentene kommer nærmere hverandre
- B. **Tynnfilamentene er bundet til proteiner i Z-platen**

- C. ATP hydrolyse av aktin monomerer driver muskelkontraksjonen
- D. *Myosinhodet "går" langs aktinfilamentet ved konformasjonsendringer forårsaket av binding og hydrolyse av ATP*
- E. *Myosinfilamenter beveger seg fra minus enden av aktinfilament mot plussenden.*
- n) Angi funksjonen til følgende celle-celle kontaktpunkter:
- A. Tight junction/ tett kontaktpunkt: danner tette kontaktpunkter mellom epitelceller i epitelcellelag slik at epitelcellelaget fungerer som en barriere mellom to områder i kroppen med kjemisk ulik sammensetning. Transport over epitelcellelaget må foregå regulert gjennom cellene.
- B. Gap junction/ kanal kontaktpunkt: danner kanaler mellom celler slik at signalmolekyler kan transporteres raskt fra en celle til nabocellen. F.eksempel i hjertmuselceller slik at forkammerne og ventriklene trekker seg sammen koordinert.
- C. Desmosomer: danner kontaktpunkter mellom cellene slik at cytoskjelettet i en celle er forbundet med cytoskjelettet i nabocellen. Dette bidrar til at vev med desmosomer tåler store strekk-krefter. for eksempel hud.
- o) Et typisk proteoglykan molekyl:
- A. er en lang polymer uten forgreiningen bestående av glykosylerte aminosyrer
- B. er positivt ladet og bindes derfor til celleoverflaten
- C. opptar store volum som $10^9 \mu\text{m}^3$.
- D. består i hovedsak av proteiner
- E. **er omgitt av en sky av positivt ladete ioner**

Oppgave 5 (Vekttall 1)

- a) Fluiditeten i membraner avhenger av:
- kolesterol**
 - transmembranproteiner
 - glykolipider
- b) Hvordan endrer transmembranproteiner sin orientering i plasmamembranen:
- Ved flipaser
 - Ved å øke fluiditeten i membranen
 - Orienteringen kan ikke endres**
- c) Store uladete polare molekyler passerer plasmamembranen ved:
- Vanlig diffusjon
 - Fasilitert diffusjon som benytter et bæreprotein**
 - Gjennom en ionekanal
- d) Etter 1 meiose har cellene:
- 23 par kromosomer som er replikert**
 - 23 par kromosomer som ikke er replikert
 - 23 enkle kromosomer
- e) Under celledeling brytes kjernekonvolutten opp i:
- Interfase
 - Profase
 - Prometafase**

f) RNA syntetiseres gjennom cellesyklus i:

Hele interfasen

G1-fasen

S-fasen

g) Når foretrekker du å bruke et elektronmikroskop framfor et lysmikroskop:

Se organeller bevege seg inne i cellen

Ta ut en human celle fra en cellekultur

Studere ribosomer

h) Hvilket av følgende utsagn er korrekt:

Alt DNA befinner seg i kjernen

Human spermcelle og human hvit blodcelle har forskjellig antall kromosomer

Alle eukaryote organismer har samme antall kromosomer i sine celler

i) Hva vil skje dersom kromosomet mangler telomerer:

DNA replikasjon vil ikke initieres effektivt

Kromosomet vil ikke replikeres fullstendig

DNA vil ikke transkriberes.

j) Hvilken organelle fungerer som cellens fordøyelsessystem:

Lysosomer

Golgi aparatet

Mitochondria

k) Glykosylering av proteiner starter i:

Plasmamembranen

Endoplasmatisk reticulum

Golgi apparatet

l) I hvilken av følgende strukturer inngår ikke mikrotubulus:

Flimmerhår

Mikrovilli

Mitotisk spindelapparat

m) Hvilken av følgende funksjoner utføres ikke av mikrotubulus:

Styrker plasmamembranen

Holder organeller i sine posisjoner

Bidrar til å flytte materiale inne i cellen

n) Hvilket cytoskjelett filament bidrar i størst grad til at cellen motstår mekaniske påkjenninger:

Intermediært filament

Mikrotubulus

Aktinfilament

o) Kontraksjon av skjelettmuskulatur krever at intracellulær konsentrasjon av Ca^{2+} øker. Dette skjer ved at Ca^{2+} ionekanaler åpnes i:

Plasmamembranen

Mitochondria
Sarcoplasmatisk reticulum

- p) Antistoffer angriper bakterier ved:
Utskillelse av proteinet perforin
Aktiverer komplimentsystemet
Induserer apoptose
- q) Ved celle-mediert immunforsvar utføres immunangrepet av:
Cytotoksiske T-celler
Makrofager
Neutrofiler