

Forslag til besvarelse eksamen TFY4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk 3. juni 2009

Oppgave 1

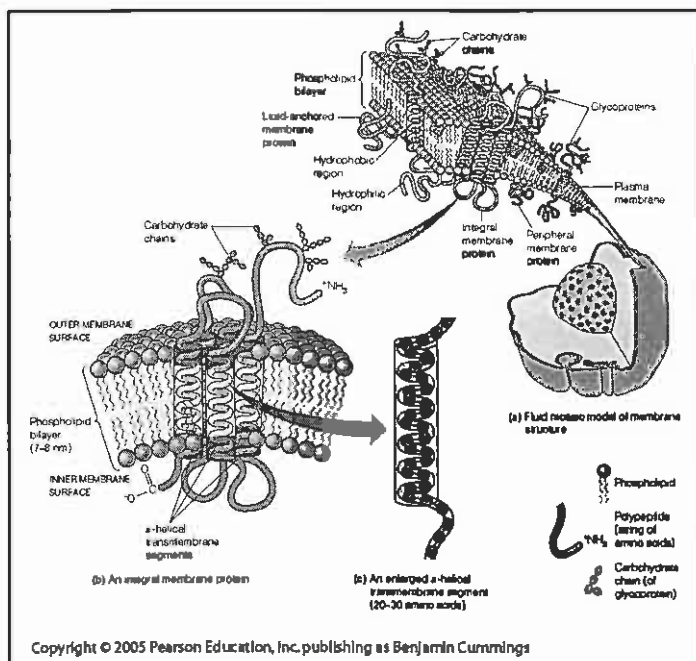
a) Plasmamembranen

- Plasmamembranen består av lipider, proteiner og karbohydrater.
- De finnes tre grupper av lipider: fosfolipider, kolesterol (steroler) og glykolipider.
- Lipidene er amfipatiske, og de danner spontant et dobbeltlag i vannløsning.
- Fosfolipidene består av et polart hode forbundet til to fettsyre kjeder med en fosfatgruppe og glycerol.
- Lipidene orienterer seg slik at det polare hodet vender utover mot membranens overflate, dvs mot vannoppløsningen i cellens ekstracellulære omgivelser eller cytosol. De hydrofobe halene vender innover i membranen.
- Kolesterol legger seg mellom fosfolipidene slik at de polare hodene vekselvirker.
- Karbohydratene er festet til lipider og proteiner på ekstracellulær side av membranen
- Proteinene "flyter" i lipidlaget. Fluid mosaikk modell.
- Proteinene er integral proteiner eller perifere proteiner.

Proteinene er forankret i dobbeltlipidlaget på følgende måter:

Integral proteiner er amfipatiske og det hydrofobe området strekker seg inn i lipid-dobbeltlaget, enten delvis inn i lipid-dobbeltlaget, eller gjennom hele, såkalt transmembran proteiner. Den hydrofobe delen av proteinet danner som regel en α -helix (20-25 hydrofobe aminosyrer) som strekker seg tvers over hele membranen. Transmembranproteinet kan bestå av mange hydrofobe områder som danner α -helixer som strekker seg mange ganger gjennom membranen. Hver α -helix er forbundet med en hydrofil del som befinner seg ekstracellulært eller i cytosol. Slike multiple transmembran proteiner kan danne en polar membran kanal.

- Perifere proteiner er hydrofile og binder seg ikke-kovalent til polare membran overflater.
- Perifere proteiner kan også være forankret i membranen med en fettsyrekjede.



Karbohydrater alltid vender ekstracellulært.:

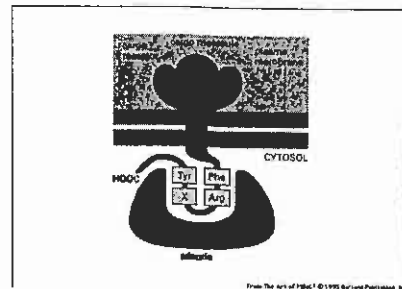
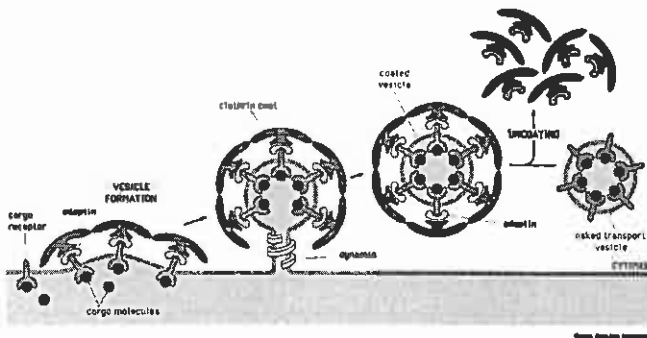
Det skyldes: Karbohydratene settes på transmembranproteinet på luminal side av ER membranen. Glykoproteinene beholder denne orienteringen slik at karbohydratene vender inn mot lumen av vesikler og cisternen i Golgiapparatet. Når vesiklene til slutt smelter sammen med plasmamembranen vil da det som vender inn mot lumen av vesiklene vende ekstracellulært.

b) Reseptor-mediert endocytose

a) *Dannelse av vesikkel:* Vesiklene er omgitt av protein-kappe bestående av klatrin.

Molekylene som skal tas inn i cellen bindes til sin reseptor i membranen. Proteinene 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.

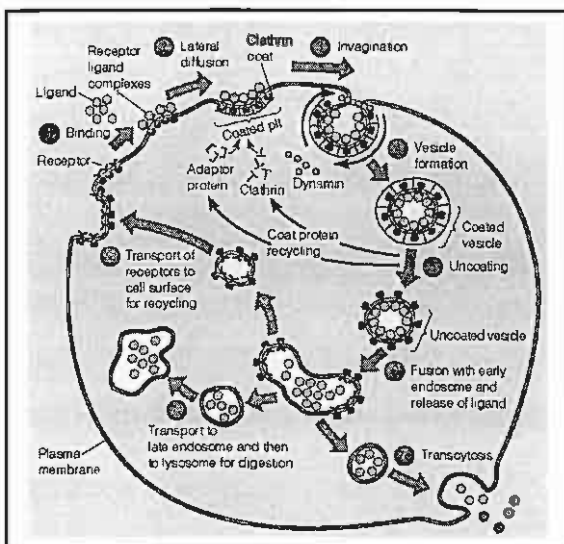


I cytosol faller klatrin kappen av vesikkelen smelter sammen med endosomet. Endosom er en forløper til lysosomet og har i likehet med lysosomer et surt indre miljø. Den lave pH gjør at molekylet dissosierer fra sin reseptor.

Reseptoren resirkuleres til plasmamembranen via en transportvesikkel dannet fra endosomet.

Molekylet har 3 mulige skjebner:

- 1) Nedbryting: går til lysosomet og brytes ned i lysosomet av hydrolytiske enzymer
- 2) Transcytose: Går i vesikkel tilden andre siden av cellen og smelter sammen plasmamembranen og tømmer molekylet ut ved eksocytose
- 3) Endomembransystemet: Går i vesikkel til trans Gogi nettverk, smelter sammen med dette og kan dermed nå alle organellene som inngår i endomembransysmenet (ER, Golgi, Lysosomer)



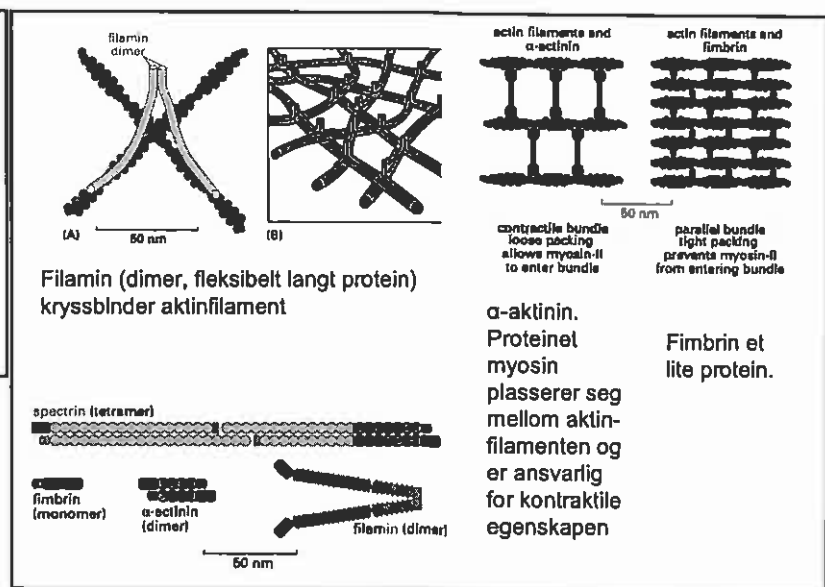
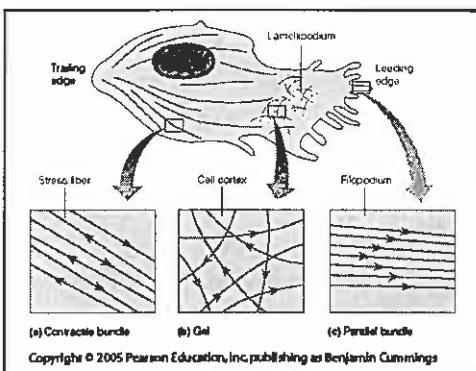
Oppgave 2:

a) Cellens cytoskjelett.

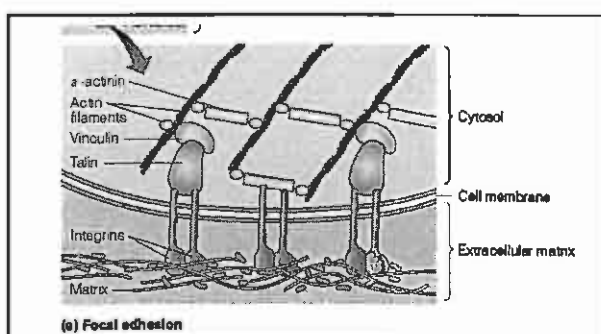
- *Aktin-filament* befinner seg i de fleste celler like under plasmamembranen. Danner et løst nettverk kalt cellens cortex som er festet i plasmamembranen, og finnes i mikrovilli.
- *Mikrotubulus* er lokalisert i cytosol eller i flimmerhår/cilier. Cytoplasmatisk mikrotubulus og befinner seg nærmere kjernen. Minus-enden er festet i centrosomen nær kjernen, og mikrotubulus strekker seg ut over i cytoplasma fra centrosomem.
- *Intermediært filament* befinner seg under cellens cortex og innover mot kjernen. Befinner seg også under kjemekonvoluttene (lamin).

Organisering av aktinfilament

1. Aktinfilament er organisert som ett løst 3-dimensjonalt nettverk, kalt cellens cortex. (Proteinet filamin er ansvarlig for organiseringen).
2. Aktinfilament er organisert i tette parallelle bunter. (Proteinene villin og fimbrin er ansvarlige for organiseringen). Dette finnes bl.a. i fingerliknende strukturer på celle overflaten såkalte mikrovilli.
3. Aktinfilament er organisert i kontraktile bunter. (Buntene holdes sammen av proteinet α -aktinin, og myosin er ansvarlig for de kontraktile egenskapene). Slike bunter finnes i stress-fibre og i den kontraktile ringen som er ansvarlig for delingen av cytoplasma ved cytokinese.



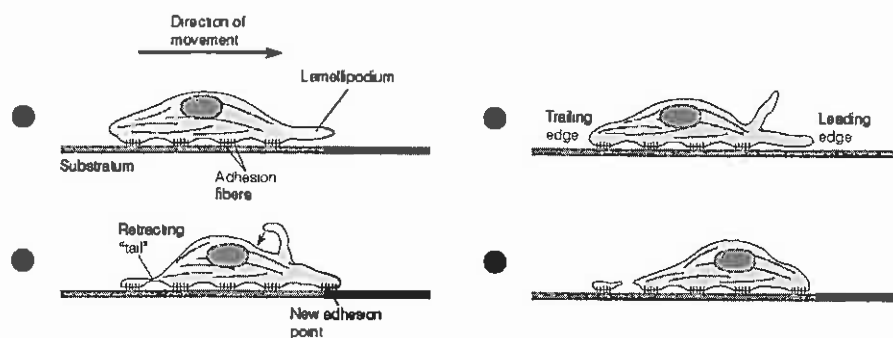
b) Fokalpunkter og cellekrabbing



Cellens aktinfilament er forankret i ekstracellulær matrix (ECM) via fokalpunkter.

Fokalpunktene består av aktinbindende proteiner (vinkulin og talin) som er festet til transmembranproteiner kalt integriner. Integriner er bundet til ECM (collagen eller fibronektin). Se figur

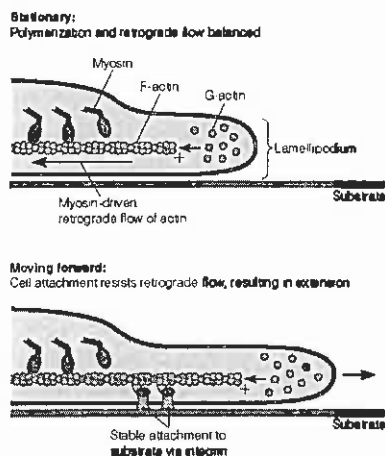
Celler kan krabbe langs ECM som vist på figuren.



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

Mekaniser for cellekravling dårlig kjent. Foregår i 4 trinn:

1. Cellen lager utløpere ved førende ende. To typer utløpere: lamellipodium og filopodium (orientert aktinfilament i bunter).
2. Utløper festes til underlaget i fokuspunkter integriner
3. $\Rightarrow$ dannes strekk i cellen $\Rightarrow$ cellen dras framover for å løsne på strekket
4. Fokuspunktet løsnes og bakre ende av cellen dras etter



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

Utløpere lages ved hemming av såkalt retrograd bevegelse. I celler som ikke beveger seg er det balanse mellom: Mikrofilament beveger seg mot bakenden av utløper. Myosin driver bevegelsen, og ved plussenden fremst i utløperen vokser F-aktin ved at G-aktin adderes.

Når cellen krabber og utløper festes til underlag
 $\Rightarrow$ aktinfilamentet kan ikke draes bakover
 $\Rightarrow$ G-aktin som adderes ved plussenden som medfører at gjør utløperen blir lengre

Oppgave 3 Signalovertføring

a) Aktivisering av det 2. budbærersystemet cAMP

Syntese av cAMP krever at enzymet adenylate cyclase aktiveres av G protein. G protein har fått sitt navn fordi det har GDP/GTP bundet til seg. G proteinet består av 3 polypeptidkjeder, α , β , og γ , og er bundet til cytoplasmatiske side av plasmamembranen. Når GDP er bundet til α -kjeden er de tre kjedene bundet til hverandre, og G proteinet er inaktivt. Når GTP erstatter GDP dissosierer α -kjeden fra resten av G proteinet, og α -kjeden aktiveres. Se figur.

Glucagon binder seg til sin reseptor på cellens plasmamembran. Dett er en reseptor av typen G-protein forbundet reseptor.

⇒ reseptoren aktiveres, bindes til G proteinet og katalyserer reaksjonen som erstatter GDP bundet til G proteinet med GTP

⇒ α -kjeden løsner fra resten av G proteinet og bindingsstedet for adenylate cyclase på α -kjeden eksponeres

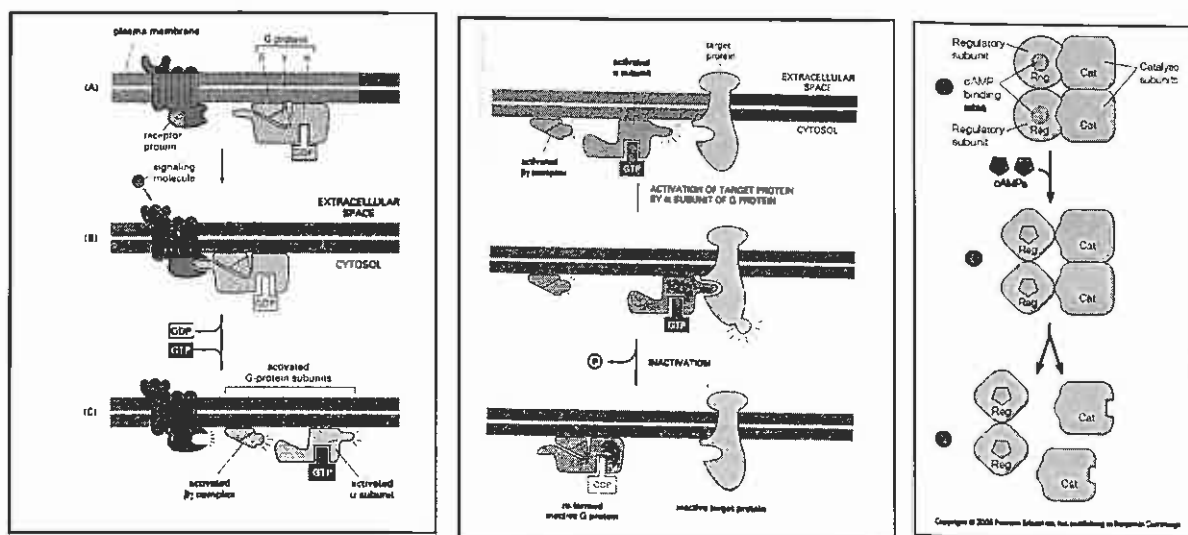
⇒ α -kjeden bindes til enzymet adenylate cyclase som aktiveres

⇒ adenylate cyclase katalyserer reaksjonen $\text{ATP} \rightarrow \text{cAMP}$. Se figur.

Varighet av cAMP aktivering:

α -kjeden har GTPase aktivitet og hydrolyserer $\text{GTP} \rightarrow \text{GDP} + \text{P}_i$ svært fort.

Men så lenge glucagon sitter bundet til sin reseptor er denne aktivert og et nytt GTP vil erstatte GDP. Dvs at så lenge reseptoren er aktivert vil adenylate cyclase være aktiv og produsere cAMP.

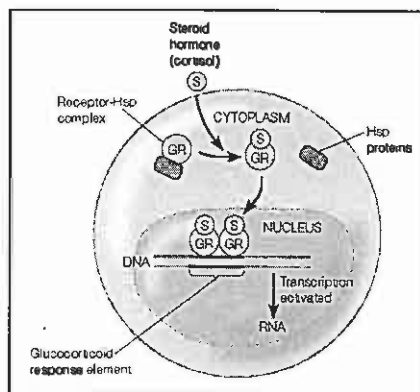


Funksjonen til cAMP: c-AMP virker ved å aktivere c-AMP avhengige protein kinaser, såkalte A-kinaser. Disse kinasene består av et proteinkompleks. Når c-AMP bindes gjennomgår proteinkomplekset en konformasjonsendring som frigjør og aktiverer de funksjonelle subenhetene av enzymet. Enzymet fosforylerer igjen andre intracellulære proteiner.

b) Steroid hormon.

Steroid hormoner er fettløselige og diffundere lett gjennom plasmamembranen.

Inne i cytosol bindes hormonet til sin reseptor. Steroid-reseptorer har tre domener: ett bindes til hormonet, ett bindes til hormon respons elementet på DNA og det tredje aktiverer transkripsjonen. Hormon-reseptor-komplekset er en transkripsjonsfaktor.



Hormon-reseptor-komplekset går gjennom kjerneporene inn i kjernen og bindes til en DNA sekvenser kalt hormon respons elementer. Hormon-reseptor-komplekset påvirker transkripsjonen slik at mRNA dannes og dette medfører påfølgende proteinsyntese.

(Før hormonet bindes til reseptoren kan det være inaktivert ved at det er bundet til et annet protein (HSP). Når hormonet bindes løsner det andre proteinet.)

Oppgave 4 Celledeling og ukontrollert cellevekst.

a) Celledeling

Celledeling består av deling av kjernen kalt mitose og deling av cytoplasma kalt cytokinesen. Fasene i mitose er vist i figuren under. Cytokinesen starter i anafasen og avsluttes i telofasen. De viktigste hendelsene i de ulike fasene er indikert på figuren.

Profasen starter ved at kromatin kondenseres og det mitotiske spindelapparat etableres.

Prometafasen igangsettes idet lamin på innsiden av kjernekonvolutten fosforyleres slik at kjernekonvolutten brytes ned til vesikler. Det mitotiske spindelapparatet kan dermed gå inn i kjerneområdet. Mikrotubulus bindes til proteinkomplekset kinetochore som sitter på DNAsekvensen kalt centromeren der de to søsterkromatinene er festet til hverandre. Det mitotiske spindelapparatet organiseres i kinetochore mikrotubulus, polart mikrotubulus og astralt mikrotubulus som figuren under viser.

I metafasen plasseres kromosomene i ekvatorplanet midt mellom spindelpolene. Dett skjer ved at kinetochore mikrotubulus drar i kromosom. Kraften øker med avstand mellom kromosomet og spindelplan. Astral mikrotubulus skyver kromosomer fra spindelpol. Kraften øker dess nærmere spindelpol kromosomet kommer. Se figur nedenfor

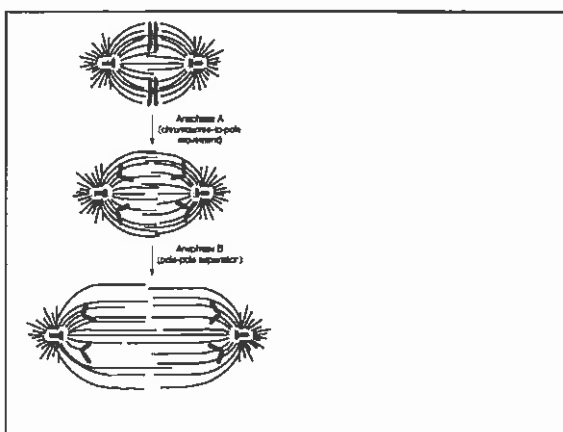
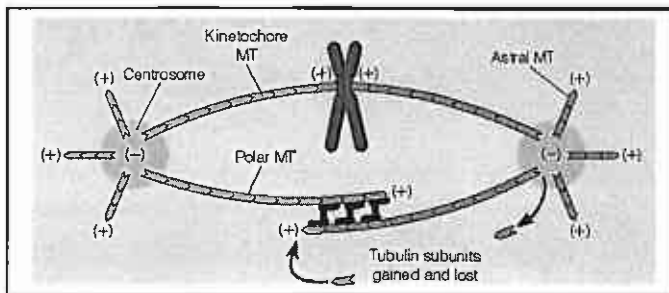
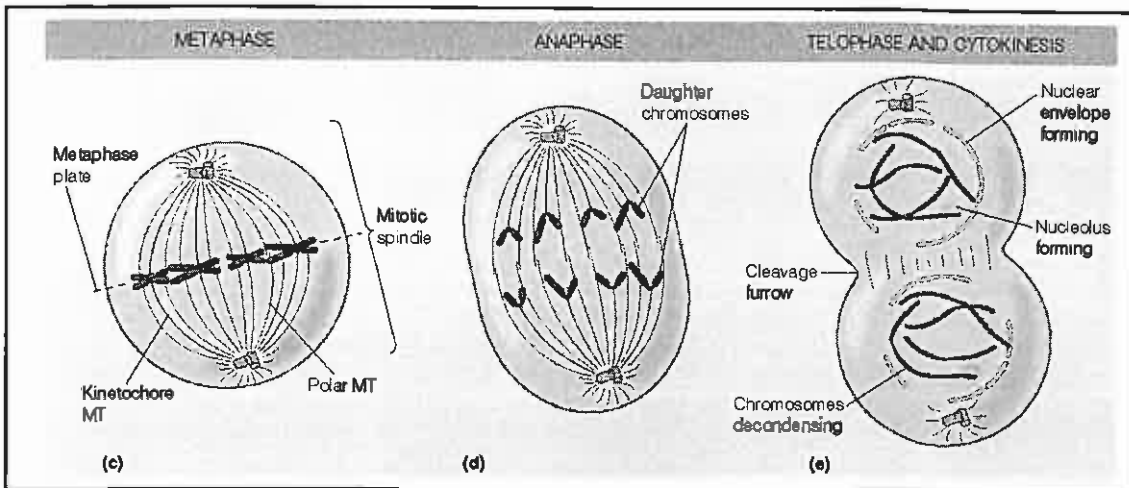
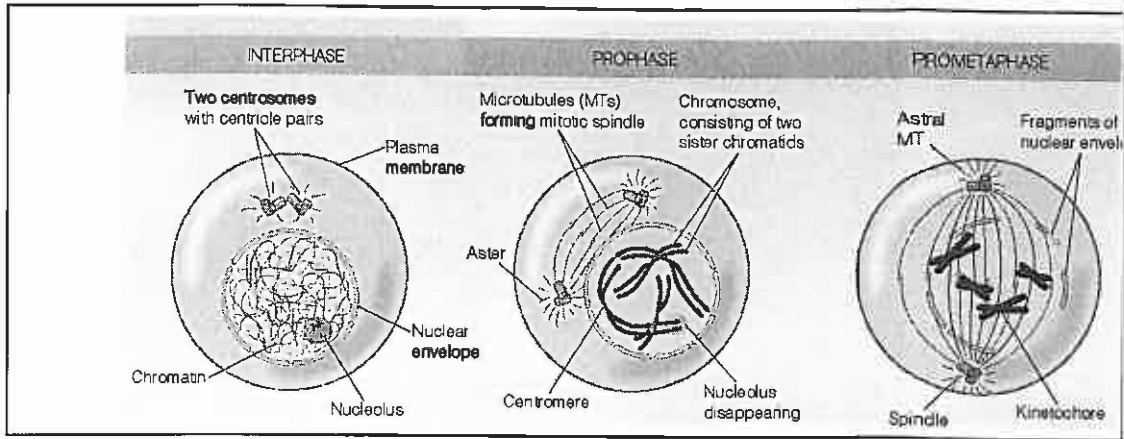
Neste fase anafasen starter ikke før alle kromosomene er bundet til et mikrotubulus

I anafasen trekkes kromosomene til hver sin spindelpol. Anafasen deles i A og B del angitt på figur nedenfor.

(Anafase-promoting kompleks som er regulert av mitotisk cyclin-cyclinavhengig kinase er ansvarlig for at de to søsterkromatidene spaltes fra hverandre. Anafase-promoting kompleks sørger for at enzymet separase bryter ned proteinet securin som holder de to søsterkromatidene sammen. Anafase-promoting kompleks aktiveres når alle kromosomene har festet til det mitotiske spindelapparatet.)

Telofasen er den siste fasen. Kromosomene har da nådd hver sin spindelpol og kjernekonvolutten kan dannes rundt spindelpolen idet lamin defosforyleres.

Cytokinesen deler cytoplasma av cellen. Dette skjer ved at en kontraktile ring av aktinfilament snører sammen cellen inntil to datterceller er dannet. Det starter i anafasen.

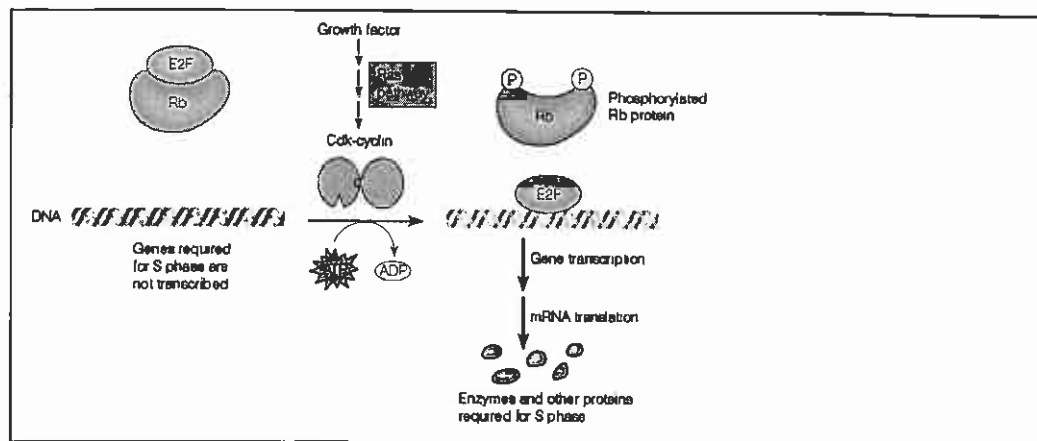


Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings

b) pRb regulerer celleveksten i restriksjonspunktet.

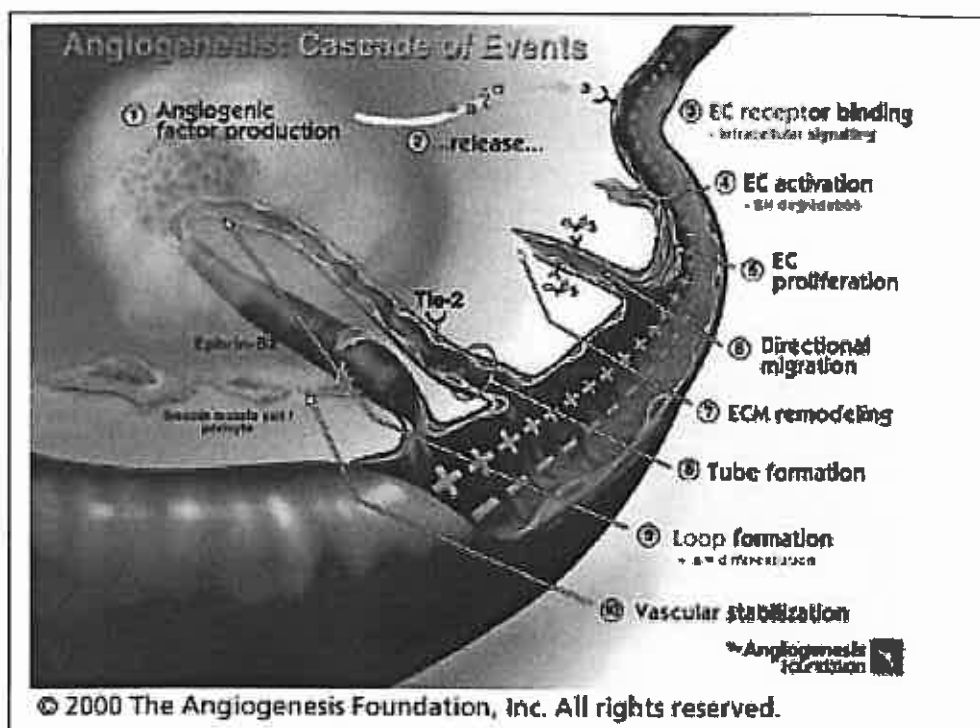
Rb proteinet kontrollerer transkripsjon av gener nødvendig for at cellen skal passere restriksjonspunktet og gå inn i S-fase. Rb proteinet er vanligvis bundet til en transkripsjonsfaktor E2F og forhindrer dermed transkripsjon av nødvendige gener.

Dersom cellen skal passere restriksjonspunktet må E2F frigjøres fra Rb proteinet. Dette skjer ved at G1 cyclin-cdk komplekset aktiveres (via Ras sporet), og cyclin-cdk fosforylerer Rb proteinet. Når Rb proteinet er fosforylert endres konformasjonen og E2F frigjøres. E2F bindes da til DNA og transkripsjon igangsettes.



Oppgave 5: Angiogenese

Angiogenese igangsettes ved at tumorceller skiller ut faktorer som stimulerer dannelsen av nye blodårer såkalt angiogene faktorer som VEGF. Slike faktorer bindes til reseptorer på endotelcellene som danner blodåreveggen. Tumorcellene skiller også ut faktorer som hemmer angiogenese. Normalt er det en balanse mellom stimulerende og hemmende angiogene faktorer. Når de stimulerende faktorene dominerer igangsettes angiogenese



Hovedtrinnene i angiogenesen:

- Angiogene faktorer bindes til reseptorer på plasmamembranen av endotelceller.
- Endotelcellene aktiveres og begynner å dele seg.
- Endotelcellene skiller ut enzymer (matrix metalloproteinaser) som bryter ned basalmembranen som omgir blodårene og bryter ned ekstracellulær matrix.
- Endotelcellene kan dermed bevege seg mot tumorcellene som skiller ut de angiogene faktorene. -
- Endotelcellene deler seg og danner hule rør som former de nye blodårene. Blodårene dannes ved at rørene danner løkker ut fra eksisterende blodårer og blod begynner å flyte gjennom dem.

Oppgave 6 (Vekttall 1)

I denne oppgaven får dere angitt 3 svar, hvorav ett er riktig. Sett kryss ved siden av det riktige svaret. Lever oppgavearket merket med studieprogram, studentnr, og sidetall.

- a) Ved fasilitert diffusjon over membranen går molekylet:

Med sin konsentrasjonsgradient

Mot sin konsentrasjonsgradient uten forbruk av ATP

Mot sin konsentrasjonsgradient med forbruk av ATP

- b) Glukose kan passere plasmamembranen ved:

Passiv diffusjon

Fasilitert diffusjon

H⁺ - pumpe

- c) Vev tåler og utsettes for strekk-krefter på grunn av:

Aktin

Collagen

Glycosaminoglycaner

- d) Vev tåler og utsettes for trykk-krefter på grunn av:

Aktin

Collagen

Glycosaminoglycaner

- e) En viktig funksjon til Golgi apparatet er:

Modifisere proteiner

Resirkulere proteiner

Oksydering av fettsyrer

- f) En viktig funksjon til lysosomer er:

Modifisere proteiner

Resirkulere proteiner

Oksydering av fettsyr

- g) En viktig funksjon til peroxisomer er:
Modifisere proteiner
Resirkulere proteiner
Oksydering av fettsyrer
- h) N-linked oligosakkarider er festet til glykolipider via:
aminoenden av proteinet
serine i sekvensen Asn-X-Ser
asparagine i sekvensen Asn-X-Ser
- i) Et typisk proteoglykan
Er et langt uforgreinet polymer av glykosylerte aminosyrer
Består hovedsakelig av protein
Er omgitt av en sky av positivt ladete ioner
- j) Glykosylering av proteiner starter i:
Cytosol
Endoplasmatisk reticulum
Golgi apparatet
- k) Amplituden av aksjonspotensialet er:
proporsjonal med styrken på stimulus som genererte potensialet
uavhengig av styrken på stimulus som genererte potensialet
uavhengig av styrken på stimulus som genererte potensialet over et bestemt nivå
- l) En forutsetning for at T celler skal gjenkjenne antigener er at MHC proteiner har:
brutt ned antigenet
dannet et kompleks med antigenet
aktivert T cellen
- m) Antistoffer angriper bakterier ved:
utskillelse av profyrin
aktiverer komplimentsystemet
aktiverer makrofager
- n) Hvert immunoglobulin har følgende antall bindingssted for antigen:
Ett bindingssted
To bindingssteder
Fire bindingssteder

o) Operon finnes:

kun i prokaryoter

kun i eukaryoter

både prokaryoter og eukaryoter

p) Ubiquitin er involvert i:

aktivering av transkripsjon

aktivering av translasjon

nedbryting av proteiner

q) RNA syntetiseres i:

Ribosomer

Nucleolus

Nucleosomer