

Besvarelse eksamen i TFY4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk 20 mai 2011

Oppgave 1

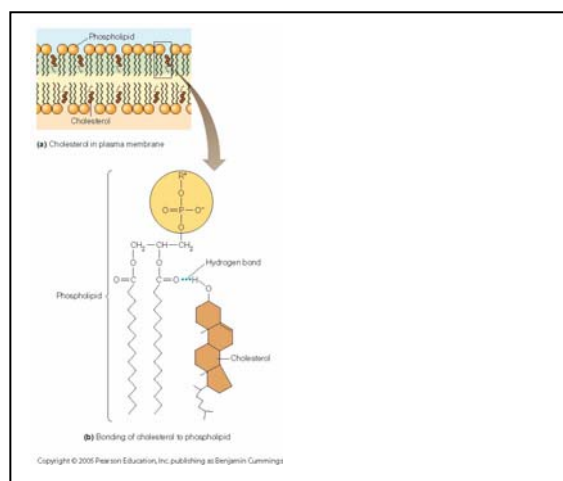
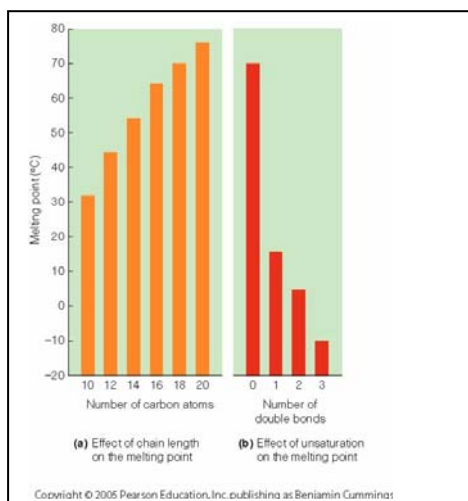
a) Membranens overgangstemperatur og fluiditet bestemmes av:

- Lengden på karbohydrat-halene av fosfolipidet. Lengre haler medfører at fosfolipidhalene kan vekselvirke mer med hverandre. Det øker overgangstemperaturen fra krystallinsk til flytende tilstand. Fluiditeten avtar.

- Andel cis-bindinger/metningsgraden av fosfolipidhalen. Cis-bindinger bidrar til at fosfolipidhalen får en knekk og det gjør det vanskeligere for den dem og pakkes.

Overgangstemperaturen avtar. Det øker fluiditet.

- Kolesterol. Kolesterol er et lite lipid som legger seg mellom fosfolipidene. Det polare OH hodet og kolesterol vekselvirker med de polare hodene på fosfolipidene og ringstrukturen av kolesterol begrenser mobiliteten av øvre del (mot det polare hodet) av fosfolipidet. Dette begrenser bevegeligheten av fosfolipidene og vanskeliggjør faseovergang og overgangstemperaturen øker. Kolesterol påvirker fluiditeten forskjellig over og under overgangstemp. Fluiditeten avtar når membranen er flytende og øker ved temp under overgangstemp.



b) Epitelcellelag

Funksjoner; 1) Kjemisk barriere mellom to områder med forskjellig kjemisk sammen setning. f.eks tarm og blod

2) Sørge for stor absorpsjon av næringsstoffer fra tarm til blod trenger derfor stort overflate areal.

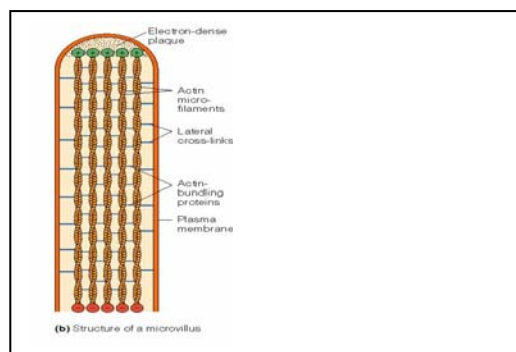
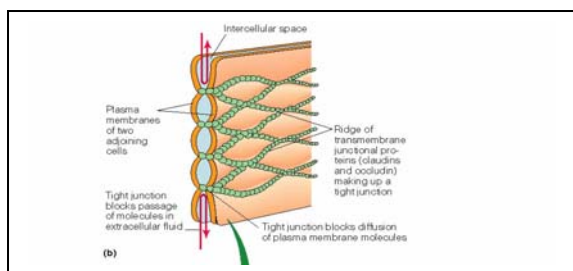
Oppnås ved:

1) Tette kontaktpunkter mellom epitelcellene i epitelcellaget.

Kontaktpunktene er dannet av plasmamembran-proteiner i de to nabocellene som er smeltet sammen i et trådliknende mønster og i flere høyder av epitelcellen for å sørge for blokkering av molekyler mellom cellene.

Epitelcellene kan også holdes sammen av forankringskontaktpunkter for slik at laget skal kunne tåle store mekaniske påkjenninger

2) Fingerliknende utstikkere på den apikale celleoverflaten såkalt mikrovilli sørger for stort absorpsjonsareal. Tett bunt av aktin-filament holdt sammen av aktin-bindende proteiner danner mikrovilli se fig.



c) Sekundær aktiv transport

Glukose transporteres mot sin konsentrasjonsgradient ved hjelp av et ion som regel Na^+ som transporteres med sin konsentrasjonsgradient.

Na^+ ionegradient oppstår pga Na^+/K^+ -ATPase pumpen.

En kjenner ikke til mekanismen for bærerproteinet i detalj. En modell er at bærerproteinet oscillerer kontinuerlig mellom to tilstander som vist på figuren. En annen modell er at bærerproteinet endrer konformasjon når både Na^+ og molekylet som skal transporteres (glukose) bindes. I begge tilfeller gjelder følgende:

- Et bærermolekyl spesifikt for glukose har forskjellig affinitet for glukose på de to sidene av plasmamembranen. Dette oppnås ved:

1. Na^+ bindes til bærerproteinet

⇒ allosterisk endring av bærerproteinet og affiniteten for glukose endres

⇒ glukose bindes

2. Bærerproteinet endrer konformasjon. Spontant eller pga bindingen.

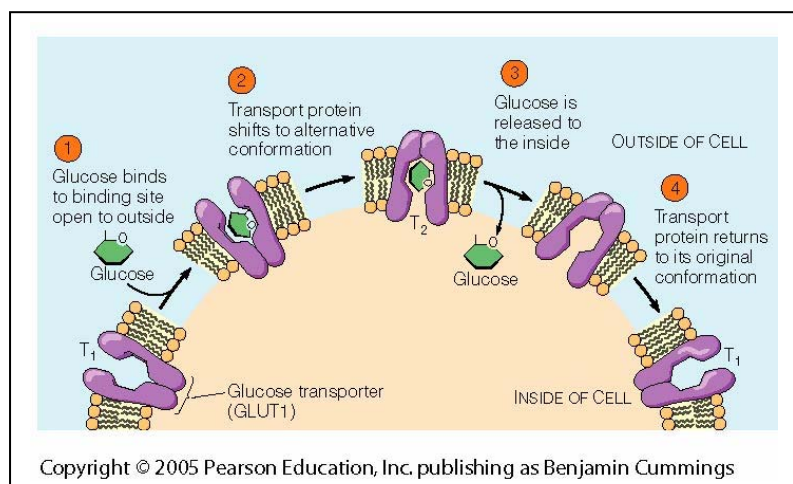
⇒ glukose og Na^+ transporteres over membranen.

3. Den nye konformasjonsendringen tilsvarer lav-affinitetstilstand og glukose og Na^+ faller av bærerproteinet.

⇒ opprinnelig konformasjon gjenopprettes

Det hele gjentas.

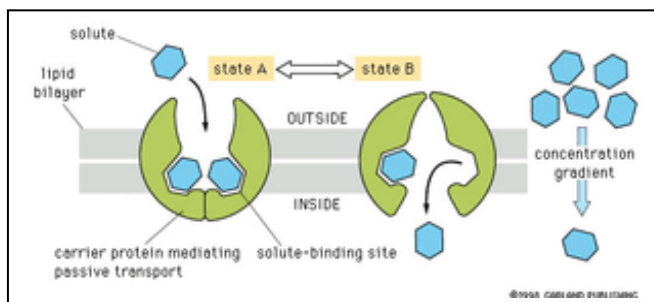
Konsentrasjonen av Na^+ ekstracellulær er mye høyere enn intracellulært. Derfor vil langt flere Na^+ binde seg til bærerproteinet ekstracellulært og dermed produsere høy-affinitetsbindingssted for glukose når bærerproteinet har en konformasjon som binder ekstracellulær glukose. Nettoflux av glukose blir derfor mot sin konsentrasjonsgradient inn i cellen.



Fasilitert diffusjon

Glukose transporteres inn i leverceller med sin konsentrasjonsgradient og ved hjelp av et bærepotein, dvs at transportmekanismen er fasilitert diffusjon.

Mekanismen er slik (antatt modell): Et bærepotein med bindingssted og stor affinitet for glukose oscillerer spontant mellom to konformasjoner. I konformasjon 1 vender bindingsstedet ekstracellulært og mange glukosemolekyler bindes fordi konsentrasjonen av glukose er høy. I konformasjon 2 vender bindingsstedet intracellulært (se figur).



Glukose faller av og andre glukosemolekyler kan bindes. Det er imidlertid få molekyler som vil bindes fordi konsentrasjonen av glukose er lav intracellulært. Resultatet blir en netto transport av glukose over membranen inntil konsentrasjonen av glukose er like stor i blod som intracellulært.

Oppgave 2: Muskekontraksjon

Organisering sarcomer: Myofibriller består av repeterende sarcomerer bestående av tynn og tykk filament organisert som figur viser. Tynn filament består av aktinfilament (to identiske kjeder bestående av det globulære proteinet aktin tvunnet sammen i en dobbelt helix) og proteinene tropomyosin og troponin.

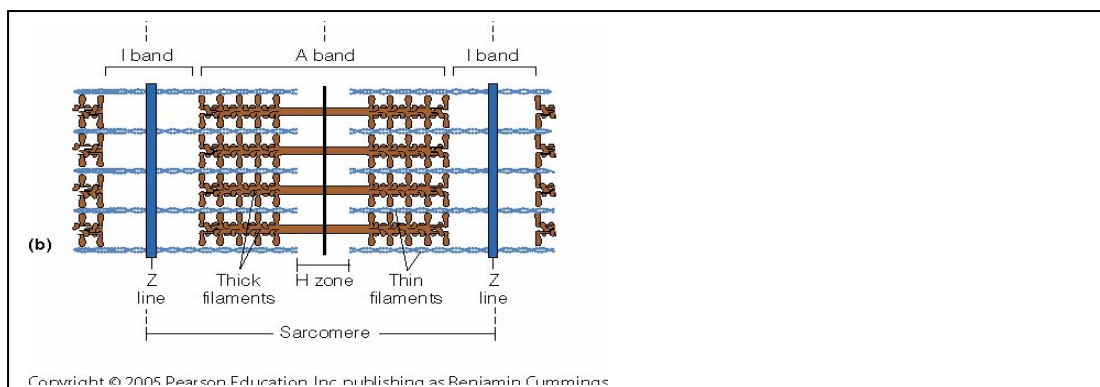
Tropomyosin (aktin-bindende) ligger langs aktinfilament. Troponin er et proteinkompleks med bindingssted for tropomyosin og Ca^{2+} .

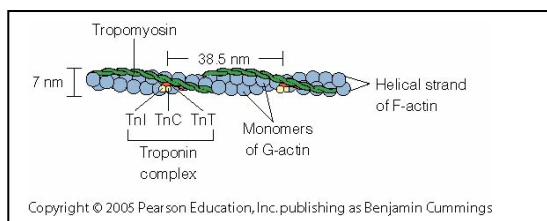
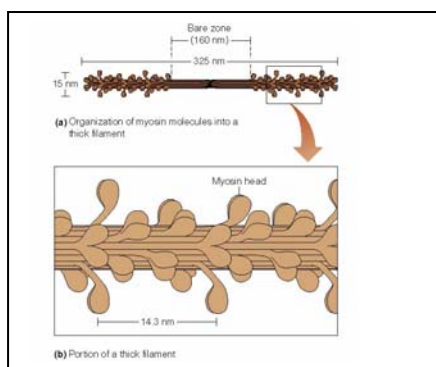
Aktinfilamentene danner parallelle bunter adskilt med proteinet aktinin.

Tynn filamentene er forankret i proteiner som danner z-linjen og tykk filamentet er forankret til z-linjen via proteinet titin,

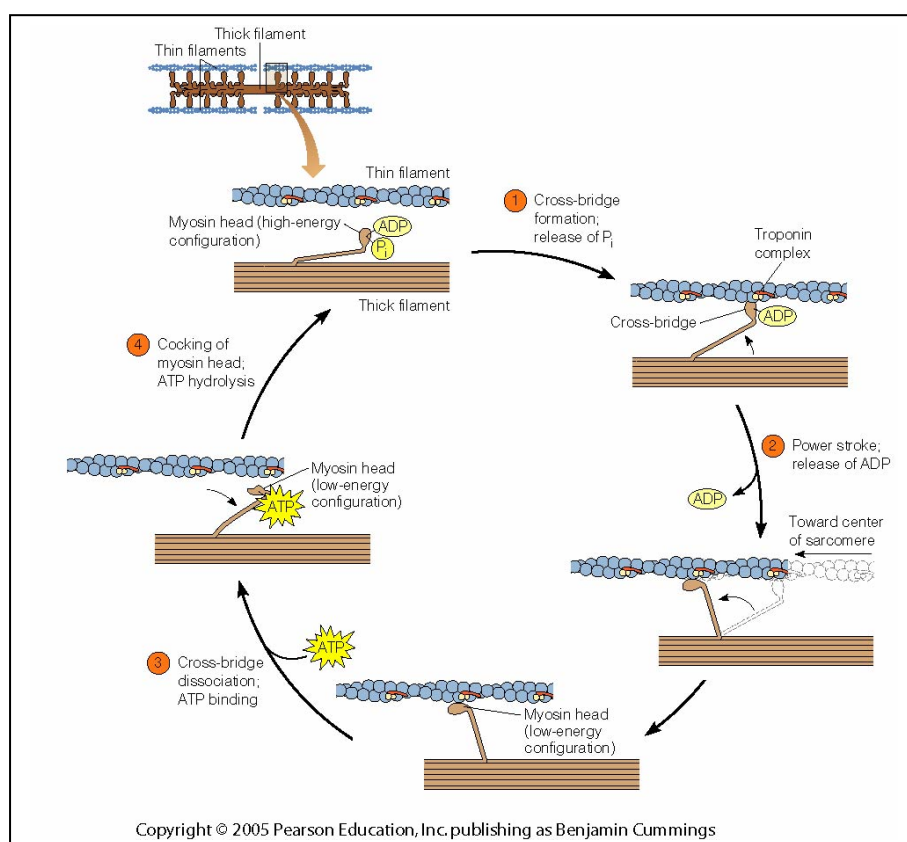
Tykk filament består av proteinet myosin (en dobbelt helix med to globulære hoder).

Myosinhodet har bindingssteder for aktin og ATPase aktivitet. Myosinhodet danner kryssbruene mellom tynn- og tykk filament.





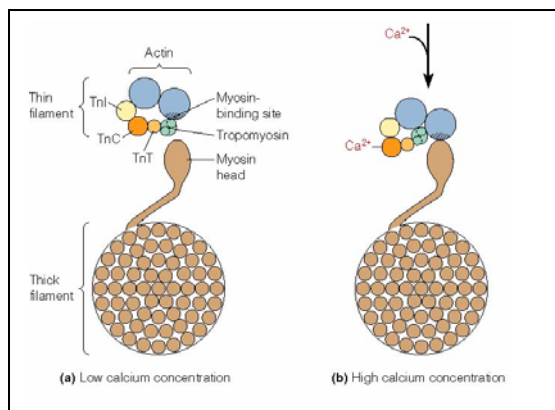
Kryssbrusyklus: Myosin vandrer langs aktinfilamentet slik at sarcomerer kan kontraheres ved såkalt syklisk kryssbru som vist på figur.



- 1. Muskel stimuleres til kontraksjon,** krever Ca^{2+} . Myosinhodet bindes til aktin. Myosinhodet er i en høyenergetisk tilstand med ADP og P_i bundet
- 2. Arbeidslaget.** Bindingen til aktin utløser energien i myosinhodet slik at myosinhodet beveger seg langs aktinfilament. Tynnfilament dras mot sentrum av sarcomer
- 3. Bindingen mellom myosin og aktin brytes.** ATP bindes og affiniteten reduseres
- 4. ATP hydrolyse.** Energien frigjort ved hydrolyse lagres i myosinhodet. ADP og P_i stadig bundet til myosin. Syklusen kan gjentas. Aktin beveges 5 nm /syklus

Ca^{2+} kreves for å igangsette kryssbrusyklusen: Ca^{2+} øker i cytoplasma og binder seg til proteinet troponin på tynnfilamentet.

- I en muskel som slapper av vil proteinet tropomyosin på tynn filamentet blokkere bindingsstedet for myosin på aktin. Tropomyosin holdes i denne posisjonen av troponin.
- Når Ca^{2+} binder seg til troponin, endrer troponin sin konformasjon slik at det drar tropomyosin vekk fra bindingsstedet for myosin på aktin. Dermed kan myosinhodet binde seg til aktin og den såkalte "kryss-bru" syklusen igangsettes og muskelen kontraheres.



Oppgave 3: cellevekst. Apoptose

a) Cellesyklus arrest

For å unngå at skadet DNA replikeres sjekkes DNA for eventuell skade før inngangen i S-fase (restriksjonspunktet), i G2 fase og i mitose.

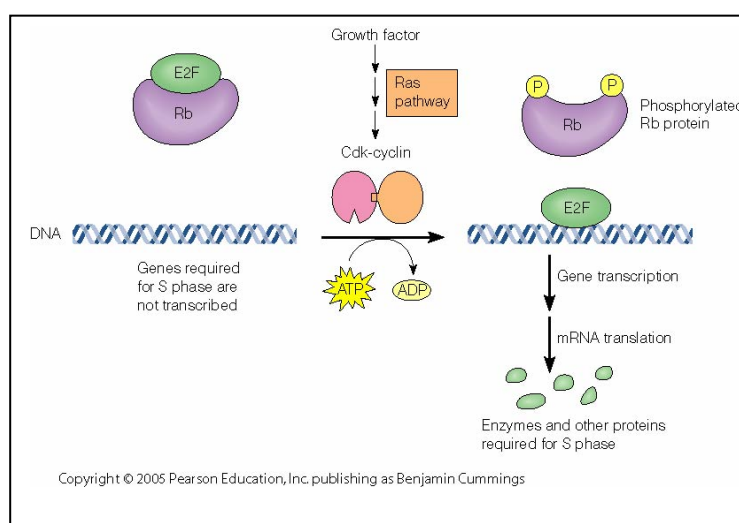
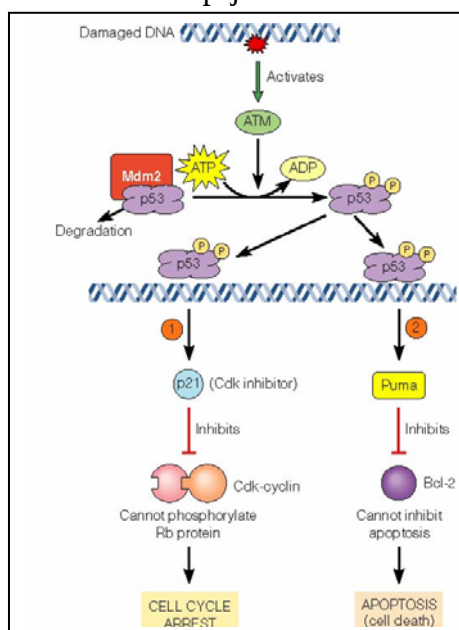
DNA skade aktiverer en kinase kalt ATM kinase

⇒ Denne kinasen fosforylerer tumor-supressor-proteinet p53. Dette stabiliserer p53 som ellers ville bli merket for degradering via ubiquitin-proteasomet.

⇒ p53-fosforylert fungerer som en transkripsjonsfaktor og binder seg til DNA der den regulerer transkripsjonen av genet som koder for proteinet p21. p21 er en hemmer av cyklin-avhengig kinase (cdk)

⇒ dannelsen av komplekset cyclin-Cdk hemmes. Slike kompleks er ansvarlige for at cellen kan passere sjekkpunktene gjennom cellesyklus ved at

Cyclin-CdK fosforylerer Rb proteinet. Dette kan nå cyclin-CdK ikke gjøre. Rb stanser dermed cellen i restriksjonspunktet ved at den forhindrer transkripsjon av enzymer og proteiner som er nødvendige for å gjennomføre S-fase. Transkripsjonen forhindres ved at Rb binder transkripsjonsfaktorer.



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

b) Apoptose

DNA skade aktiverer p53 som fungerer som en transkripsjonsfaktor ansvarlig for syntese av en rekke proteiner involvert i apoptose. Et slikt protein er såkalt pro-apoptotisk protein (Bax). Det er vanligvis en balanse mellom anti og pro- apoptotiske proteiner. p53 sørger for at denne balansen vipper i favør av apoptose.

Pro-apoptose protein fører til at cytochrome C frigjøres fra mitokondrier, ved å åpne kanaler i mitokondria.

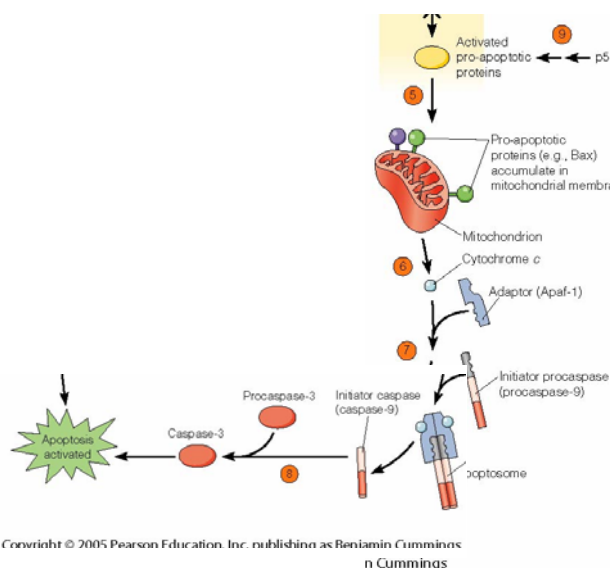
CytochromeC aktiverer initiator prokaspase (prokaspase-9) som sammen med adaptorprotein (proteinet Apaf-1)danner et stort kompleks kalt apoptosom.

Apoptosomet aktiverer procaspase 9 til initiator caspase (caspase 9)

Initiator caspase aktiverer deretter bøddel-caspase (caspase 3)

Bøddelcaspase igangsetter apoptose

Se figur.



Bøddelkaspasen degraderer en rekke proteiner. F.eks kjerne lamina slik at kjernen fragmenteres, cellens cytoskjelett brytes ned og celle-celle feste punkter brytes ned slik at celler løsner fra hverandre

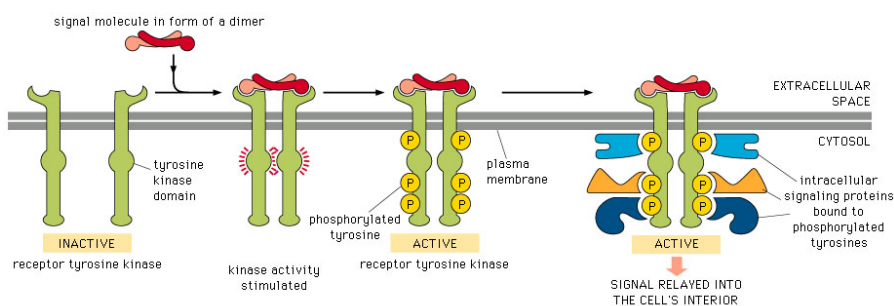
C) Aktivering Ras sporet

Vekstfaktor bindes til ekstracellulær del av tyrosin kinase reseptoren. Reseptoren er et enkelt transmembran protein

⇒ to reseptorer danner en dimer

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

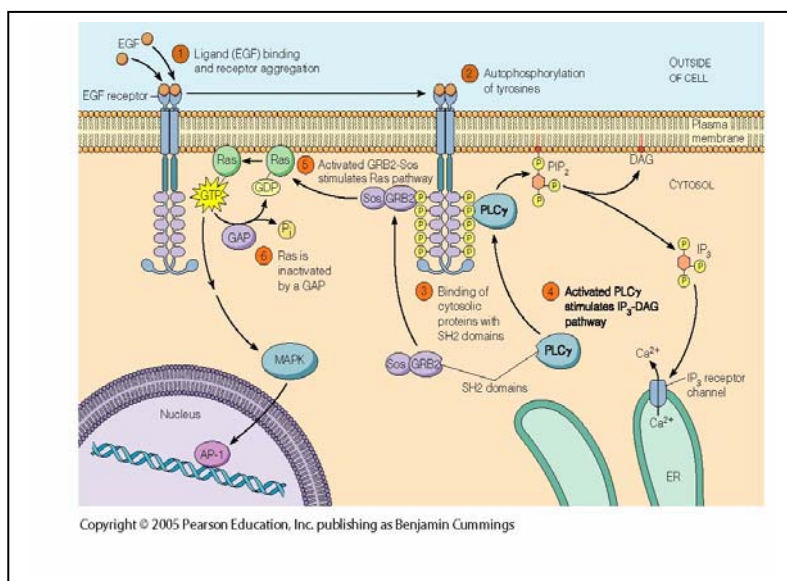
De fosforilerete tyrosinene fungerer som spesifikke bindingssteder for ulike intracellulære signal proteiner. Disse proteinene har et såkalt SH2 domene som gjenkjenner fosforylert tyrosin. Signal proteinene igangsetter en kaskade av intracellulære hendelser.



Aktivering av Ras:

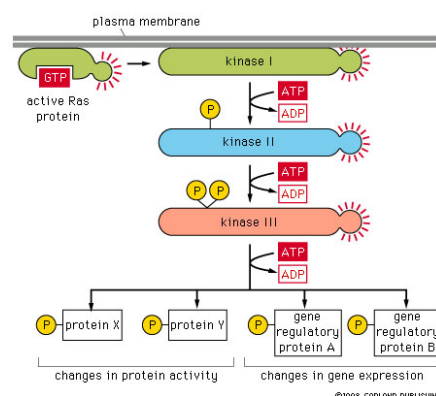
Et vanlig intracellulært signal protein er et såkalt adaptor protein kalt GRB2 som binder seg til fosforylert tyrosine. Til GRB2 bindes et protein kalt SOS som er en guanine-nukleotide exchange faktor (GEF) og som aktiverer Ras. Ras er et lite GTP bindende protein som sitter på cytoplasmatiske side av plasmamembranen.

Ras fungerer som en molekylær bryter: når GDP er bundet er Ras inaktivt. Når GDP byttes ut med GTP blir Ras aktivt. 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 fosforylerer gen regulerende proteiner slik at de aktiveres og endrer transkripsjonen.



Oppgave 4 Proteinsyntese. Immunologi

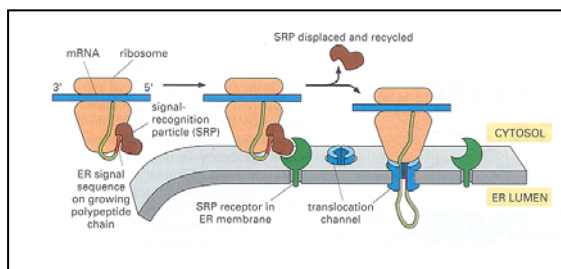
a) Syntese av MHC klasse II proteiner

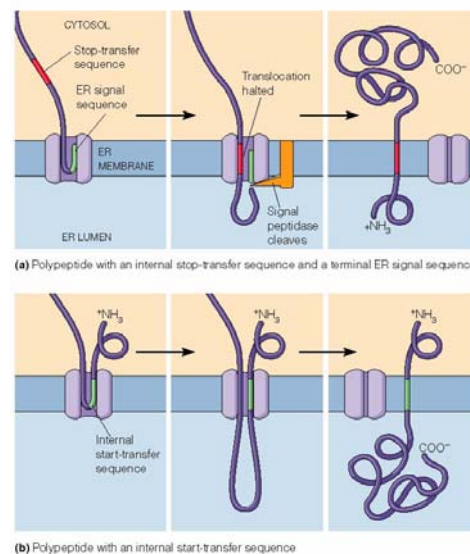
Proteiner som skal til ER har en signalsekvens (består av ca 20 aminosyrer) som oftest utgjør den første sekvensen på peptidkjeden. Se figuren.

Denne signalsekvensen gjenkjennes av en signal-gjenkjennende partikkel (SRP) i cytosol, og binder seg til signalsekvensen. SRP sirkulerer mellom cytosol og membranen på ru ER. Proteinsyntesen stanser/går saktere så lenge SRP er bundet til signalsekvensen (skyldes sannsynligvis at partikkelen blokkerer for bindingsstedet for neste t-RNA).

SRP fører ribosomet med peptidkjeden som har signalsekvensen til ER. På membranen på ru ER sitter en reseptor for SRP. SRP binder seg til sin reseptor og dermed bindes ribosomet og peptidet til ER. Se figuren.

SRP løsner og går tilbake til cytosol. Proteinsyntesen fortsetter så på ER.





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

Inkorporering av proteinet i ER membranen:

Proteinet passerer gjennom en kanal assosiert med reseptoren for signal-gjenkjennende partikkel. Poren er dynamisk dvs den åpnes når signalsekvensen som er hydrofob plasseres i membranen på ER. Proteinet syntetiseres og tres samtidig gjennom poren (såkalt co-translasjon)
 Når en hydrofob aminosyresekvens =stopsekvens passerer membranen stanser translasjonen. Syntesen forsetter på cytoplasmatiske side.
 MHC klasse II er en dimer bestående av to transmembranproteiner som setter sammen på ER membranen

b) Det fremmede antigenet taes opp i cellen ved endocytose. Den endocytotiske vesikkelen går til lysosomer der antigenet brytes ned til fragmenter
 MHC klasseII proteinet går fra ER via Golgi til en vesikkel som smelter sammen med lysosomet. Til MHC klasseII er det bundet et protein til bindingsstedet for antigen fragmentene. Dette proteinet brytes ned i lysosomene og antigenfragmentene kan bindes.

c) Aktivisering av Thjelpecelle

Aktivisering av T hjelpe celle krever:

- MHC m/ fremmed antigenpeptid bundet til T-celle reseptor
- Kostimulerende protein: B7 proteiner på antigen presenterende celle bindes til C28 på T hjelpe celle. Dersom denne bindingen ikke er tilstede vil T hjelpecellen dø ved apoptose eller den blir ikke-responsive.
- Cytokiner (Interleukin 2) skilles ut av Thjelpecellen og virker tilbake på seg selv. Det gir en positive tilbakekopling som bidrar til raskere å aktivere Thjelpecellen

Oppgave 5

Ekstracellulær matrix: Komponenter og funksjon

Ekstracellulær matrix består av et nettverk av proteiner og polysakkarider.

Collagen Funksjon: Gi vevet mekanisk styrke slik at det tåler strekk-krefter.

Elastin: Funksjon: Gi vevet elastisitet og fleksibilitet slik at det ikke rives i stykker når det utsettes for strekk

Fibronectin Funksjon: Forankrer cellen i ECM ved at det binder seg til integrinet fibronectinreseptor på overflaten av cellen og bindes seg til andre komponenter i ECM.

Glykosaminoglykaner Funksjon

1. Danner geler som fiberpoteiner ”flyter”
Negative ladninger på glykosaminoglykaner:
⇒ kationer (Na^+) tiltrekkes, osmotiske aktive
⇒ store mengder vann inn i ekstracellulær matrix
2. ⇒ Rask diffusjon av næringsstoffer, metabolitter, hormoner og liknende mellom blod og celler
3. ⇒ Stort væsketrykk som motstår ytre trykk krefter

Sammen med *proteoglykaner* som er GAG bundet til proteiner reguleres trafikken/aktiviteten av molekyler (kjemiske signalmolekyl og enzymer) mellom celler.

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) En viktig funksjon til Golgi apparatet er:

Modifisere proteiner

Resirkulere proteiner

Oksydering av fettsyrer

- b) En viktig funksjon til lysosomer er:

Modifisere proteiner

Resirkulere proteiner

Oksydering av fettsyrer

- c) Endomembransystemet inkluderer ikke:

Kjernen

Golgi apparatet

Mitokondrier

- d) Funksjonen til cAMP er:

Åpner Ca^{2+} ionekanaler

Aktiverer kinase

Aktiverer proteinet calmodulin

- e) Glykosylering av proteiner starter i:

Cytosol

Endoplasmatisk retikulum

Golgi apparatet

- f) Detoksifisering av giftige substanser foregår i:

glatt endoplasmatisk retikulum

ru endoplasmatisk retikulum

Golgi apparatet

- g) Amplituden av aksjonspotensialet er :
 proporsjonal med styrken på stimulus som generer potensialet
 uavhengig av styrken på stimulus som generer potensialet
uavhengig av styrken på stimulus som generer potensialet over et bestemt nivå
- h) Den delen av neuronet som transporterer elektriske signal inn mot cellekroppen kalles:
 axon
dendritt
 neurotransmittor
- i) Membranpotensialet bidrar til å øke fluksen inn i cellen av:
 glukose
 Cl^-
 Ca^{2+}
- j) Funksjon til siRNA er:
Degradere mRNA
 Degradere DNA
 Øke transkripsjonsraten
- k) Kinetokore:
Beveger spindel-mikrotubulus under anafase
 Er DNA-sekvensen lokalisert i centromeren
 Forbinder spindel-mikrotubulus til nucleolus
- l) Vesikler som transporterer proteiner selektivt er omgitt av en protein kappe bestående av:
 Laminin
Klatrin
 COP
- m) v-SNARE deltar direkte i:
 dannelsen av transportvesikler
 transporten av vesikler langs mikrotubulus
binding av vesikler til target organelle
- n) Taxol bindes til mikrotubulus. Dette fører til:
stabilisering av mikrotubulus
 depolymerisering av mikrotubulus
 polymeriseringsraten av mikrotubulus øker
- o) Operon finnes:
kun i prokaryoter
 kun i eukaryoter
 både i prokaryoter og eukaryoter
- p) Ubiquitin er involvert i:
 aktivering av transkripsjon
 aktivering av translasjon
nedbryting av proteiner

q) Transport av proteiner inn i mitochondrier hemmes av:

chaperone

ATP syntese hemming

Ca^{2+}

r) Elektrisk synapse kalles også:

porin

ionekanal

gap junction (gap forbindelse)

s) En forutsetning for at en svulst skal vokse er:

det dannes et blodårenettverk (angiogenese)

kreftceller sprer seg til andre deler av kroppen (metastasing)

apoptose hemmes

t) I kreftceller er Wnt-signalsporet alltid skrudd på, og dermed er celle-proliferasjonen alltid

på. Dette skyldes:

overflatereseptoren er alltid aktivert

proteinet APC aktiveres og frigjør transkripsjonsfaktorer

proteinet β - catenin brytes ikke ned og kan igangsette transkripsjon