

BESVARELSE I FAG 74618 CELLEBIOLOGI 1
EKSAMEN 16 JUNI 1995

OPPGAVE 1

- Proteinet histon binder seg til DNA (positiv ladning på histoner til negativt ladet DNA)
- DNA tvinner seg rundt en kjerne på 8 histoner og danner nucleosomer.

Kan observeres i elektron mikroskop som "perler på en snor". DNA er tvunnet to ganger rundt histon-oktameren som består av 2 kopier av H2A, H2B, H3 og H4. Mellom nucleosomene finner en såkalt linker-DNA.

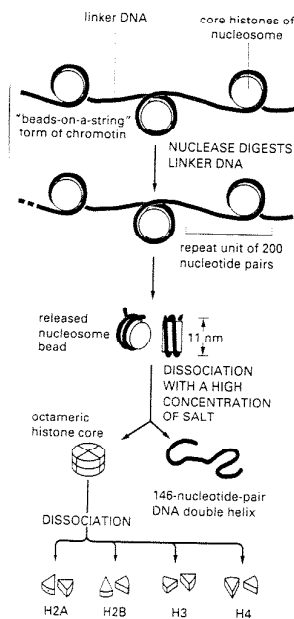


Figure 8-10 The nature of the nucleosome. (A) depicts two views of the three-dimensional structure of the histone octamer; the general path of the DNA wrapped around it is indicated by a coiled tube (top) and a series of parallel lines (bottom). Two H2A-H2B dimers (blue) flank an H3-H4 tetramer. The histone octamer is thus composed of two each of histones H2A, H2B, H3, and H4, with a total mass of about 100,000 daltons. (B) The nucleosome consists of two full turns of DNA (83 nucleotide pairs per turn) wound around an octameric histone core, plus the adjacent "linker DNA." The part of the nucleosome referred to here as the "nucleosome bead" is released from chromatin by digestion of the DNA with micrococcal nuclease. In each nucleosome bead 146 nucleotide pairs of DNA double helix (about 1.8 turns) remain wound around the octameric histone core. (A, courtesy of Evangelos Moudrianakis.)

- Nucleosomer pakkes videre oppå hverandre i kromatin-fibre med diameter 30 nm. Denne kromatin-fiberen består av områder med og uten nucleosomer. (Nucleosom-frie områder sensitive for DNase).

Histon H1 er antatt å være ansvarlig for denne pakkingen. Det globulære hodet på H1 binder seg til et nucleosom og armene på histonet er i kontakt med histon-kjernen på nærliggende nucleosomer.

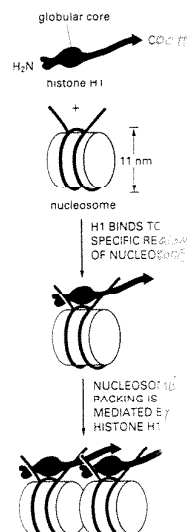


Figure 8-15 The way histone H1 is thought to help pack adjacent nucleosomes together. The globular core of H1 binds to each nucleosome near the site where the DNA helix enters and leaves the histone octamer. When H1 is present on the nucleosomes, 166 nucleotide pairs of DNA are protected from micrococcal nuclease digestion, compared with 146 nucleotide pairs for nucleosomes lacking H1 (see Figure 8-10).

- Antar at kromatin-fiberen er foldet i kromatin-løkker som strekker seg ut fra en sentral kromosomal akse og kromatin-fibre som ikke danner slike strukturer, men er meget kondenserte og befinner seg langs aksen. Slik folding er påvist i lampbrush kromosom.

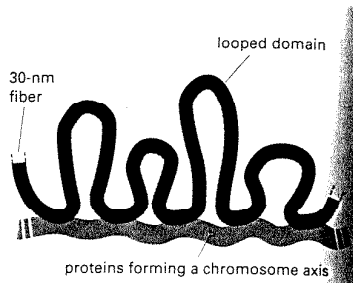
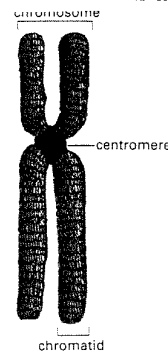


Figure 8-18 A model of chromosome structure. A section of a chromosome is shown folded into a series of looped domains, each containing perhaps 20,000 to 100,000 nucleotide pairs of double-helical DNA condensed in a 30-nm chromatin fiber.

- Pakkingen rundt histon-kjerne avhenger av basesammensetningen. (A-T bøyes lettere enn G-C, maksimalt antall A-T basepar i minor groove)
- Når cellene går inn i mitose kondenseres kromatinet ytterligere og en kan observere i mikroskop den karakteristiske kromosom-strukturen i metafasen. En antar at fosforylering av histon H1 er involvert i denne kondenseringen.



OPPGAVE 2

a) Strukturen til endoplasmatisk reticulum

- Glatt og ru endoplasmatisk reticulum (ER)

Glatt ER: rørliknende struktur. Ingen ribosomer på overflaten, derfor glatt utseende.

Ru ER: form av flate sekker med ribosomer utenpå, derfor det ru utseende.

- ER danner et eneste kontinuerlig hele, dvs glatt og ru ER henger sammen
- ER danner et kontinuum med den ytre av kjernens to membraner.

Funksjonen til ER

Funksjonen til glatt ER:

- lipid syntese
- steroide hormoner dannes fra kolesterol i glatt ER
- detoksifiseringsreaksjoner foregår i glatt ER

Funksjonen til ru ER:

- protein syntese. Ribosomer festet på yttersiden av membranen syntetiserer proteiner.
- I lumen av ru ER bindes karbohydrater til proteiner, 14 sukkerenheter bindes.

b) Signal hypotese

Hvorvidt proteinet forblir i cytosol eller ikke, avhenger av et signalpeptid som består av ca 20 aminosyrer som utgjør den første sekvensen på peptidkjeden. Dette signalpeptidet gjenkjennes av en signal-gjenkjenkende partikkel (SGP), som binder seg til signalpeptidet. SGP sirkulerer mellom cytosol og membranen på ru ER. Proteinsyntesen stanser så lenge SGP er bundet til signalpeptidet (skyldes sannsynligvis at partikkelen blokkerer for bindingsstedet for neste t-RNA). SGP fører ribosomet med peptidkjeden som har signalpeptidet til ER. På membranen på ru ER sitter en reseptor for SGP. SGP binder seg til sin reseptor og dermed bindes ribosomet og peptidet til ER. SGP løsner og går tilbake til cytosol. Proteinsyntesen fortsetter så på ER. Mekanismen for hvordan SGP løsner er dårlig kjent, antar at hydrolyse av GTP er involvert.

Proteinet passerer ER membranen:

Proteinet passere gjennom en kanal assosiert med reseptoren for signal-gjenkjenkende partikkel. Poren er dynamisk: åpnes når ribosom med polypeptidkjede festes, og lukkes når ribosomet løsner etter avsluttet proteinsyntese. Når hele proteinet har passert ER membranen, og det bare er bundet til membranen ved signalpeptidet, "klippes" peptidkjeden av ved signalpeptidet. Proteinets folder seg deretter til sin native form.

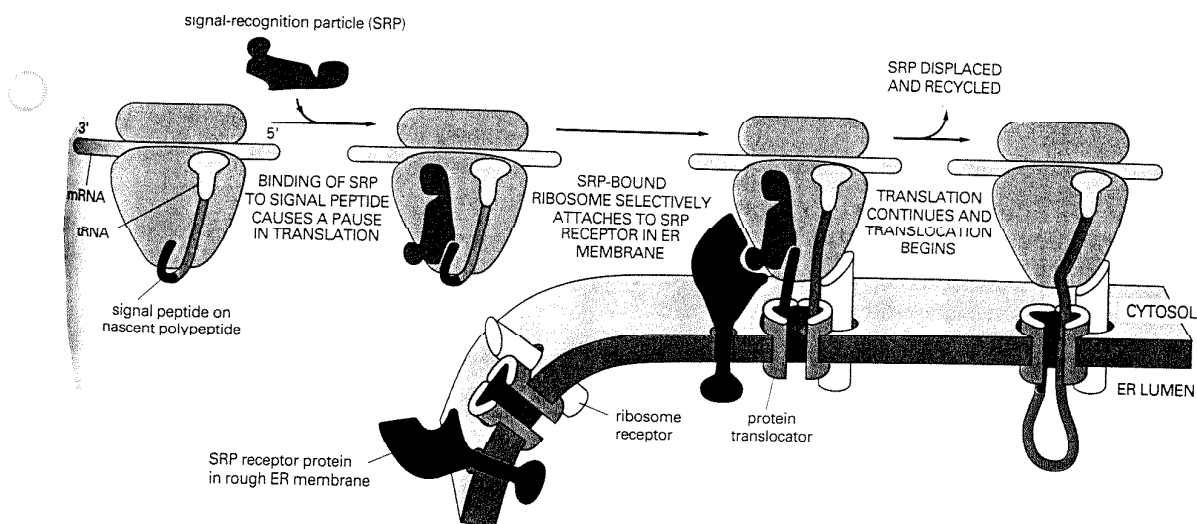


Figure 12-40 How ER signal peptides and SRP direct ribosomes to the ER membrane. The SRP and the SRP receptor are thought to act in concert. The SRP binds to the exposed ER signal peptide and to the ribosome, thereby inducing a pause in translation. The SRP receptor in the ER membrane, which is composed of two different polypeptide chains, binds the SRP ribosome complex. In a poorly understood reaction that involves multiple GTP-binding proteins, the SRP is released, leaving the ribosome on the ER membrane. A multisubunit protein translocation apparatus in the ER membrane then inserts the polypeptide chain into the membrane and transfers it across the lipid bilayer.

OPPGAVE 3

a) Strukturen til cytoskjelettet:

- Intermediært filament består av 5 hovedtyper proteiner (karatiner, vimentinliknende proteiner, neurofilament proteiner, lamininer)
- Disse er alle lange fiberliknende monomerer med et sentralt α -helix område, en carboxyl- og amino ende.
- Intermediært filamentet dannes ved at to monomerer danner en "coil-coil" dimer der α -helix områdene ligger parallelt. To dimere danner videre en antiparallell tetramer. Tetramerer er videre pakket sammen i lengderetning og oppå hverandre som vist på figuren. Trinn d og e i organiseringen er ikke kjent i detalj. Intermediært filament danner en rør-liknende struktur med diameter ca 8-10 nm. (Derav navnet intermediært, diameter mellom aktinfilament og mikrotubulus). Denne diameteren tilsier at intermediært filament består av 8 tetramerer i tversnitt.
- Intermediært filament er en ikke-polar struktur, dvs begge endene er like og symmetrisk.

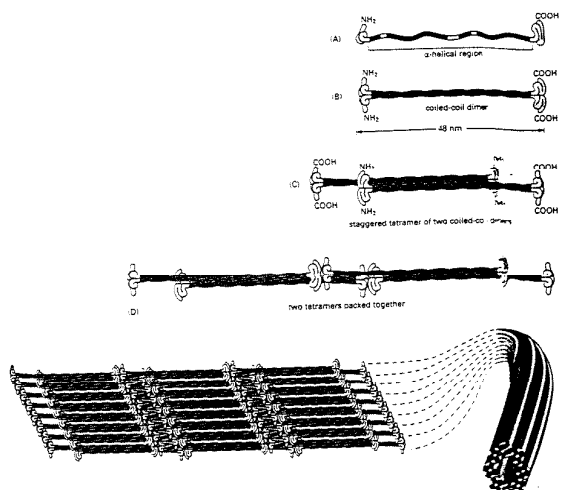
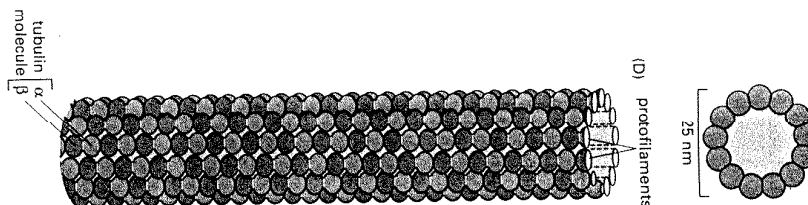
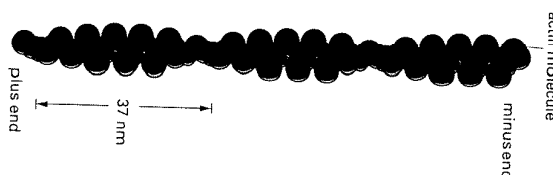


Figure 16-14 A current model of intermediate filament construction. The monomer shown in (A) pairs with an identical monomer to form a dimer (B) in which the conserved central rod domains are aligned in parallel and wound together into a coiled-coil. Two dimers then line up side by side to form an antiparallel tetramer of four polypeptide chains (C). Within each tetramer the dimers are staggered with respect to one another, thereby allowing it to associate with another tetramer, as shown in (D). In the final rope-like intermediate filament, tetramers are packed together in a helical array (E). An electron micrograph of the final filament is shown upper left. (Diagrams based on data from Murray Stewart; micrograph courtesy of Jeff Quinlan.)

- Mikrotubulus består av dimeren α -tubulin pluss β -tubulin som polymeriserer og danner et protofilament. 13 slike protofilament danner mikrotubulus, en sylindrisk struktur med diameter ca 25 nm. Lengden kan tilsvare cellens diameter.
- Mikrotubulus er polart, med en rask voksende (plus) ende og en langsomt voksende (minus) ende.



- Aktin-filament består av det monomeren G(globulært)-aktin som polymeriserer og to aktin-tråder danner en helix, med diameter 8 nm.
- Aktin-filament er polart, med en rask voksende (plus) ende og en langsomt voksende (minus) ende.



b) Lokalisering av filamentene:

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

c) Funksjonen:

Alle filamenttypene bidrar til å gi cellen mekanisk styrke og opprettholde cellens form.

- Intermediært filament: Gi cellen mekanisk styrke. De andre filamenttypene bidrar også til dette, men intermediært filament er viktigst.
- Laminin danner et rutelignende nettverk på innsiden av kjernens dobbeltmembran og bidrar til å gi kjernemembranen mekanisk styrke
- Intermediært filament er festet til desmosomer som danner celle-celle kontaktpunkter.

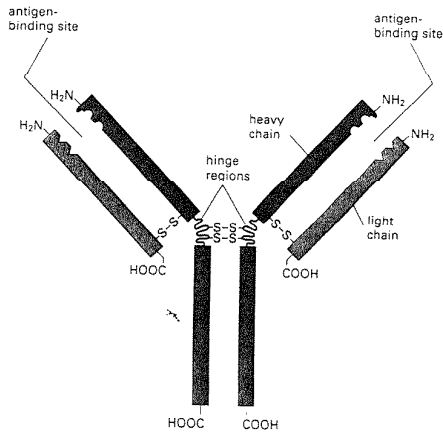
- Cytoplasmatisk mikrotubulus er involvert i bevegelse av organeller og vesikler. Mikrotubulus-assosierte motorproteiner bundet til vesikler eller organeller beveger seg langs mikrotubulus, dvs mikrotubulus organiserer cytoplasma.
- Mikrotubulus danner det mitotiske spindelapparatet som trekker de to kromatin-trådene til hver sin spindelpol under mitose.
- Mikrotubulus i flimmer hår er ansvarlig for flimmerhårets bevegelse

- Aktin-filament involvert i cellebevegelse. En del celletyper eksempel makrofager og fibroblaster har amøbe-liknende bevegelser.
- Aktin-filament ansvarlig for cytokinesen (deling av cellen), idet en ring av aktin-filament og aktin-bindende proteiner danner en kontraktile ring under plasmamembranen som snører av cytoplasma.
- Aktin-filament er ansvarlig for muskelkontraksjon
- Mikrovilli på celleoverflaten består av bunter av aktin-filament holdt sammen av aktin-bindende proteiner.
- Aktin-filament er festet til celle-celle kontaktpunkter kalt cadheriner og til kontaktpunkter mellom cellen og ekstracellulær matrix såkalte integriner.

OPPGAVE 4

a) Strukturen til et immunoglobulin:

Figure 23-17 A schematic drawing of a typical antibody molecule. It is composed of two identical heavy chains and two identical light chains. Note that the antigen-binding sites are formed by a complex of the amino-terminal regions of both light and heavy chains, but the tail and hinge regions are formed by the heavy chains alone.



Funksjonen til Fab-fragmentet: bindingsstedet for antigenet.

Funksjonen til Fc-delen:

- binder komplement
- binder fagocytterende celler som makrofager, neutrofiler slik at antistoff-mediert fagocytose igangsettes

b) Aktivering av celle-mediert immunsystem

I virus-antigen gjenkjennes:

- Den virus-infiserte cellen uttrykker på sin celle overflate MHC klasse I antigen assosiert med det virale antigenet. Dette komplekset gjenkjennes og bindes av den cytotoxiske cellen. (forventer ikke at studenten forklarer hvordan viral-antigen bindes til MHC klasse I protein.)
- Antigen presenterende celle, ofte en makrofag, uttrykker på sin overflate MHC klasse II antigen, assosiert med det virale antigenet. Dette komplekset gjenkjennes og bindes av T helper celler.
- Bindingen mellom MHC kompleksene og T-celle reseptor er lav, derfor trengs koreseptorer (CD8 og CD4 på hhv cytotoxiske T celler og T helper)

II Aktivering

- Aktivering av T helper celle:

I tillegg til viral antigen bundet til MHC-klasse II antigen kreves for aktivering også et annet signal: interleukin-1 (IL-1) eller molekylet B7 på plasmamembranen av antigen-presenterende celle som bindes til CD28 på T helper celle.

Aktivering av T helper celler \Rightarrow T helper celle skiller ut IL-2 og syntetiserer reseptorer for IL-2 på sin plasmamembran. IL-2 fungerer som autokrin og får T helper celler til å proliferere.

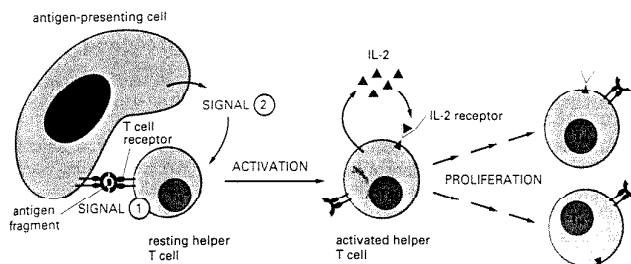


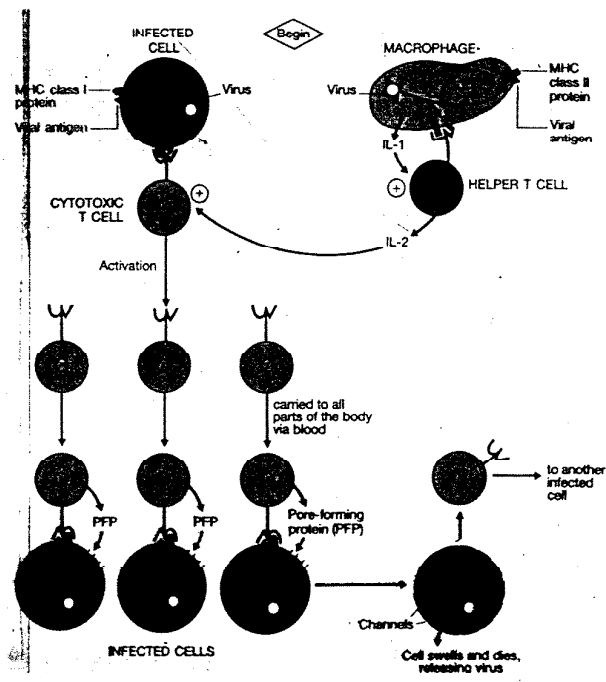
Figure 23-56 The stimulation of T cell proliferation by IL-2. Signals 1 and 2 activate the helper T cell to make IL-2 receptors and to secrete IL-2. The binding of IL-2 to its receptors stimulates the cell to grow and divide. When the antigen is eliminated, the T cells eventually stop producing IL-2 and IL-2 receptors, so cell proliferation stops. We shall see later that some helper T cells do not make IL-2; their proliferation, like that of cytotoxic T cells, is stimulated by IL-2 made by neighboring helper T cells.

- Aktivering av cytotoxiske T celler

T helper celle aktiverer cytotoxiske T celler ved å skille ut IL-2 (og γ -interferon)

⇒ cytotoxiske T celler prolifererer

Figuren nedenfor oppsummerer virkningsmekanismene for celle-mediert immunsystem.



III Cytotoxiske T celler angriper virus-infisert celle

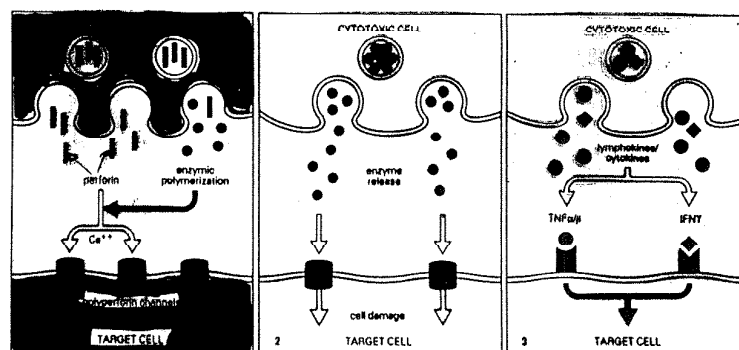
Aktiverte cytotoxiske T celler sirkulerer i blodet og binder seg til celler infisert med det samme viruset som i gang satte aktiveringen, dvs celler som uttrykker det virale antigenet bundet til MHC klasse I antigen.

- Cytoskjelettet i cytotoxiske celler endres slik at den infiserte cellen kan angripes: centrosomen og Golgi apparatet orienteres mot kontaktpunktet med targetcelle.

- Cytotoxiske T celler skiller ut ved exocytose, et pore dannende protein (perforin), som danner porer i infisert celle og får den til å sprekke. Perforin skilles ut som monomer, binder seg til plasmamembranen på infiserte celler der den polymeriserer og danner porer.

- Cytotoxiske T celler kan skille ut enzymer som også angriper infisert celle via porene.

- Interferon- γ og tumor nekrose faktor kan skilles og bindes til reseptorer på plasmamembranen til den infiserte cellen ⇒ proteinsyntese endres ⇒ cellen ikke deler seg og tilslutt ødelegges.



Student nr.....

Fakultet

Oppgave 5 (Vekttall 1)

I denne oppgaven får dere angitt 3 svar, hvorav ett er riktig. Sett kryss ved siden av det riktige svaret.

a) Hvor i cellyklus syntetiseres proteiner:

G1-fase

S-fase

Interfase

b) Hvor i cellyklus syntetiseres DNA:

G1-fase

S-fase

Interfase

c) De to kromatin-trådene trekkes til hver sin spindelpol i mitose i:

metafase

anafase

telofase

d) Glykoproteiner på plasmamembranen

vender kun mot cytosol

vender kun ekstracellulært

finnes på begge sider av plasmamembranen

e) Negativt ladete fosfolipider på plasmamembranen

vender kun mot cytosol

vender kun ekstracellulært

finnes på begge sider av plasmamembranen

f) Plasmamembranens fluiditet avhenger av:

kolesterol

glykolipider

fosfolipidets "hode"-gruppe

Studentnr.

Fakultet

g) Det viktigste proteinet i ekstracellulær matrix er:

collagen ✗

aktin

mikrotubulus

h) Na^+/K^+ -ATPase pumpen på plasmamembranen pumper

Na^+ ut / K^+ inn i cellen ✗

Na^+ inn / K^+ ut av cellen

Sørger for at konsentrasjonen av Na^+ og K^+ er den samme i cytosol og ekstracellulært

i) Ca^{2+} -ATPase pumpen pumper

Ca^{2+} ut av cytosol ✗

Ca^{2+} inn i cytosol

Sørger for at konsentrasjonen av Ca^+ er den samme i cytosol og ekstracellulært

j) Proteoglykaner settes sammen i:

cytosol

Endoplasmatisk reticulum

Golgi apparatet ✗

k) ATP produseres ved hjelp av enzymer som befinner seg i mitochondria i:

matrix rommet

den indre membranen ✗

intermembran rommet

l) Reseptorer på celleoverflaten som binder proteiner i ekstracellulær matrix kalles:

cadherin

selektin

integrin ✗