

BESVARELSE PÅ EKSAMEN I FAG 74618 CELLEBIOLOGI
8 JUNI 1996

OPPGAVE 1

a) Sekundær aktiv transport

- Avhengig av en ionegradient over membranen, som regel Na^+ som oppstår pga Na^+/K^+ -ATPase pumpen.

- Glukose transporteres mot sin konsentrasjonsgradient, Na^+ med sin konsentrasjonsgradient.

- Et bæreremolekyl 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. En annen modell er at bærerproteinet oscillerer kontinuerlig mellom to konformasjoner

⇒ glukose og Na^+ transporteres over membranen.

Konformasjonsforandringen krever energi som fåes når Na^+ går med sin konsentrasjonsgradient over membranen.

3. Ny konformasjonendring tilsvarer lav-affinitetstilstand og glukose og Na^+ faller av bærerproteinet.

⇒ opprinnelig konformasjon gjenopprettes

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.

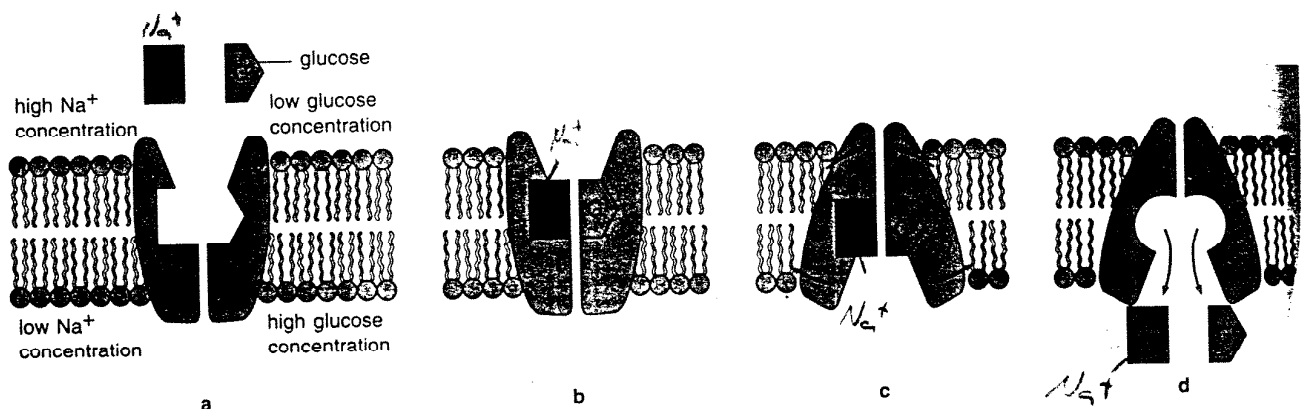


Figure 5-14 Indirect active transport of glucose by symport (see text).

Fasilitert diffusjon

- Fasilitert diffusjon benytter bærerprotein for å transportere molekylet over membranen.
- Molekylet går med sin konsentrasjongradient fra område med høy konsentrasjon til lav konsentrasjon.
- Molekylet som skal transporteres binder seg til et spesifikt bindingssted på bærerprotein. Bærerprotein gjennomgår en konformasjonsendring som gjør at bindingsstedet med molekylet som skal transporteres kommer til den andre siden av plasmamembranen. Molekylet løsner så fra bærerprotein. Årsaken til konformasjonsendringen er ikke kjent, antar at bindingen av glukose til bærerprotein medfører konformasjonsendring eller at bærerprotein oscillerer kontinuerlig mellom de to konformasjonsformene. - Ulike stoffer har sine spesifikke bærerproteiner.
- Fluxen avhenger av antall bærerprotein og metningsgrad.

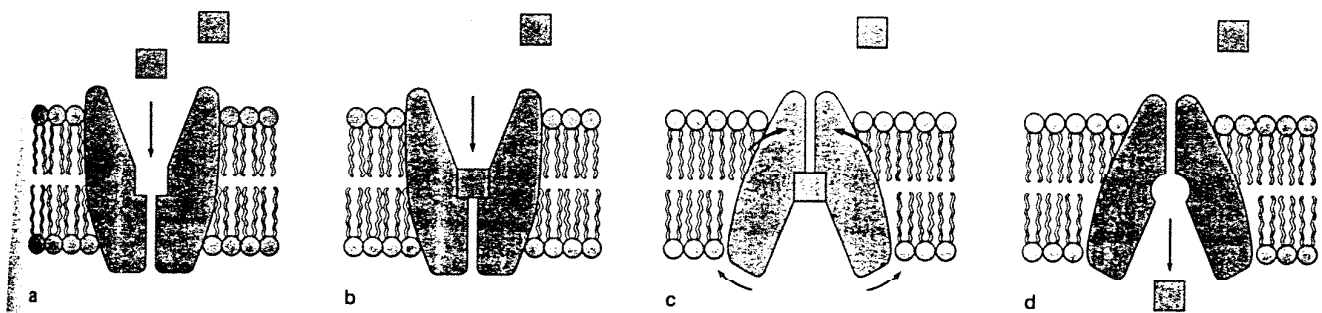


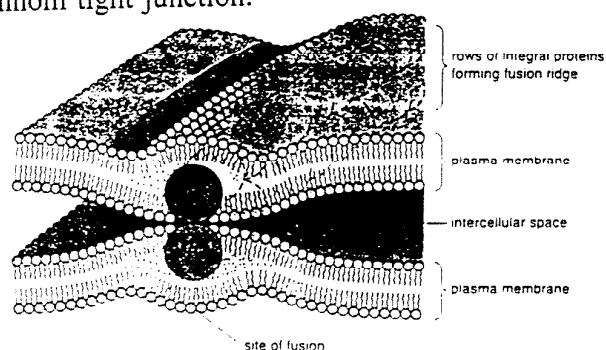
Figure 5-5 Facilitated diffusion according to the alternating conformation model (see text).

b) Tight junction

Sammensmelting mellom plasmamembranproteiner på to naboceller.

Opptreter ofte i serie, dvs sammensmelting mellom en rekke plasmamembran proteiner slik at det bli vanskeligere å trenge gjennom en slik junction.

Funksjon: Finnes mellom epitelceller slik at epitelcellelag danner en barriere, i det molekyler ikke kan passere gjennom tight junction.

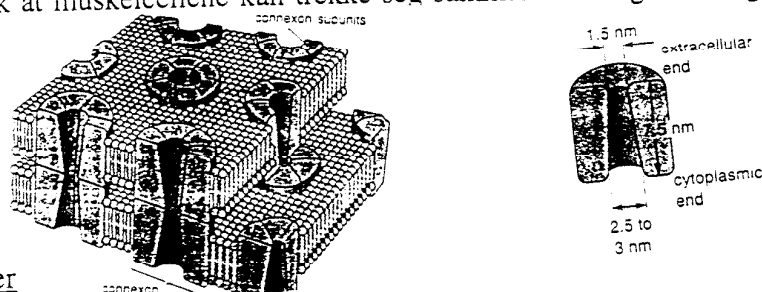


Gap junction

Protein kanal mellom to celler, slik at cytoplasma i naboceller er i direkte kontakt.

Proteinkanalen består av 4-6 proteiner som danner en såkalt connexon. Connexon i to naboceller er plassert slik at de danner en kanal mellom cellene.

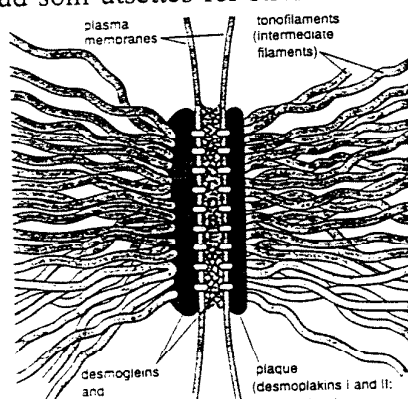
Funksjon: danner en kanal mellom to celler slik at kjemiske molekyler, f.eks signalmolekyler raskt kan transporteres mellom celler. Finnes f.eks, i hjertemuskulatur og i glatt muskulatur i livmor, slik at muskelcellene kan trekke seg sammen raskt og samtidig.



Desmosomer

Intermediært filament bindes til proteiner som danner en såkalt plaque rett under plasmamembranen. Transmembran proteiner ofte såkalte cadheriner er bundet til protein i plaquet og til cadheriner på nabocellen. Cadheriner på nabocellen er igjen bundet til protein i plaquet rett under plasmamembranen som igjen er bundet til intermediært filament.

Funksjon: meget sterk junction som kan motstå store mekaniske påkjenninger. Finnes i f.eks hjertemuskulatur og hud som utsettes for strekk.



OPPGAVE 2

a) proteinet binder seg til ru ER

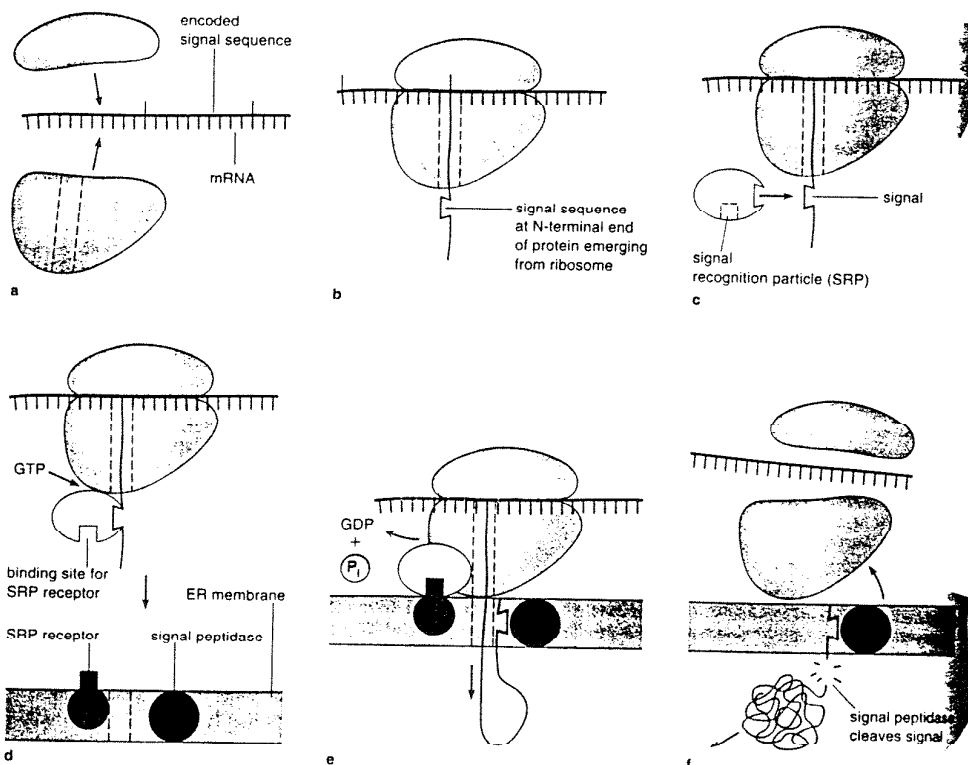
ved såkalt signal hypotese.

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-gjenkjennende 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. Signalpeptidet er hydrofobt så det penetrerer lett plasmamembranen. 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. SGP har GTP bundet til seg.

Proteinet passerer ER membranen:

Når ribosomet bindes til ER åpnes en proteinkanal eller pore i ER membranen.

Polypeptidkjeden passerer gjennom denne kanalen mens det syntetiseres, dvs før det foldes opp. Proteiner i ER membranen og i lumen av ER bidrar også til å tre polypeptidkjeden gjennom poren. Chaperoner (hsp70) i lumen av ER som sørger for at polypeptidkjeden foldes riktig, kan bidra til at polypeptidkjeden trekkes gjennom kanalen. Når hele proteinet har passert ER membranen, og det bare er bundet til membranen ved signalpeptidet, "klipper" en peptidase peptidkjeden av ved signalpeptidet. Proteinene folder seg deretter til sin native form.

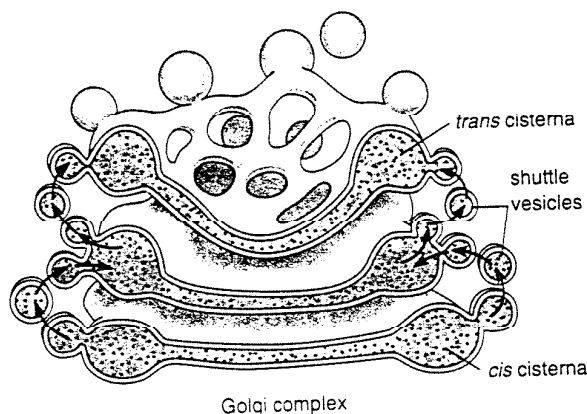
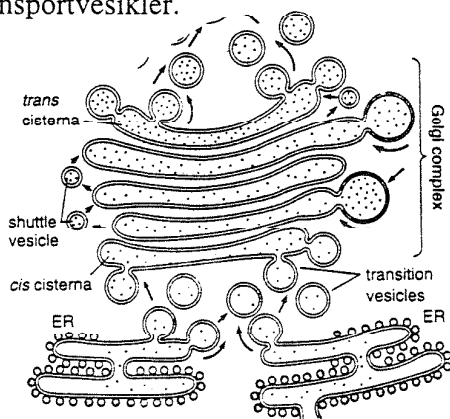


b) Proteinet transporteres til Golgi apparatet

Alle proteiner som når lumen av ER går i transportvesikler til Golgi apparatet. Transportvesiklene dannes som "avknepte skudd" i området på ER som kalles transisjonale elementer. Vesiklene er dekket av proteinet coatmer eller COP (COating Protein) i det de dannes. Proteinkappen faller av i cytoplasma. Vesiklene når cis-Golgi nettverk og smelter sammen med membranen som omgir cis-Golgi nettverk.

c) Proteinet transporteres gjennom Golgi apparatet

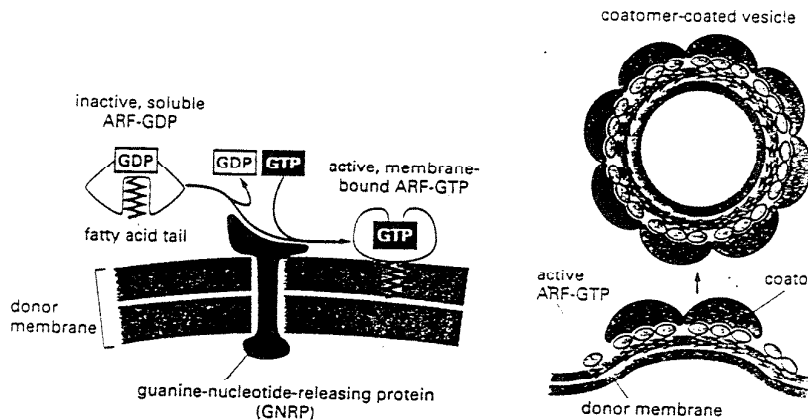
Dersom proteinet ikke har ett signal som sier at det skal forbli i ER, transporteres det gjennom cisternen i Golgi apparatet i coatmer/COP-transportvesikler. Vesiklene dannes som avknepte skudd av membranen som omgir en cisterne og smelter sammen med membranen som omgir neste cisterne. Til slutt når det trans Golgi nettverk. Proteiner som skal for bli i ER har et signal (KDEL-signal) som gjør at proteinene fraktes tilbake til ER i transportvesikler.



Coatmer/COP bidrar til å lage vesiklene. Et annet protein ARF som har GTP bundet til seg er også involvert [som figuren nedenfor (utdelt som supplerende litteratur, står ikke omtalt i boka) viser:

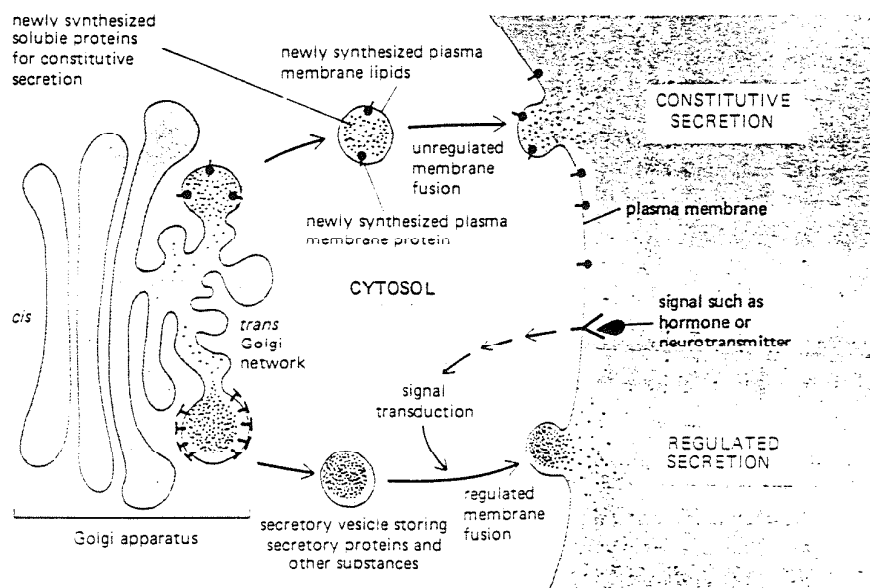
ARF-GDP befinner seg i cytoplasma. Membraner som skal dekkes med COP/coatmer har proteinet guanin-nucleotide-frigjørende protein bundet til seg, og guanin-nucleotide frigjørende protein aktiverer det inaktive ARF-GDP til aktivt ARF-GTP. Aktiveringen medfører konformasjonsendring slik at en fettsyrekjede kommer til syne. Fettsyrekjeden binder ARF-GTP til membranen. Proteiner coatmer /COP bindes så til ARF. Dette medfører et mekaniske stress på membranen som gjør at det bøyes og en vesikkel dannes].

Proteinkappen er involvert i dannelsen av vesikkelen. Proteinkappen faller av i cytosol, og proteiner som fungerer som markører kommer til syne. Disse proteinene gjenkjenner og binder seg til proteiner på targetmembranen (såkalt v-SNARE og t-SNARE proteiner, v=vesikkel, t=target).



d) Proteinet skilles ut av cellen ved exocytose.

Proteiner som ikke er merket skilles ut ved såkalt konstitutiv sekresjon. Proteiner merket lagres i sekretoriske vesikler og skilles ved regulert sekresjon. Et signal (f.eks. cAMP, CA²⁺) angir når sekresjonen skal foregå. Ved begge mekanismene lages transportvesikler som "avknepte skud" av trans Golgi nettverk. Vesiklene er omgitt av en proteinkappe av hhv type coatamer/COP eller klaterin. Vesikler som ikke har signal som angir bestemt bestemmelsessted, men følger den konstitutive veien ER-Golgi-plasmamembranen er dekket med coatamer/COP i det vesikkelen dannes. Vesikler med bestemt bestemmelsessted eller regulert sekresjon er dekket med proteinet klaterin i det vesikkelen dannes.



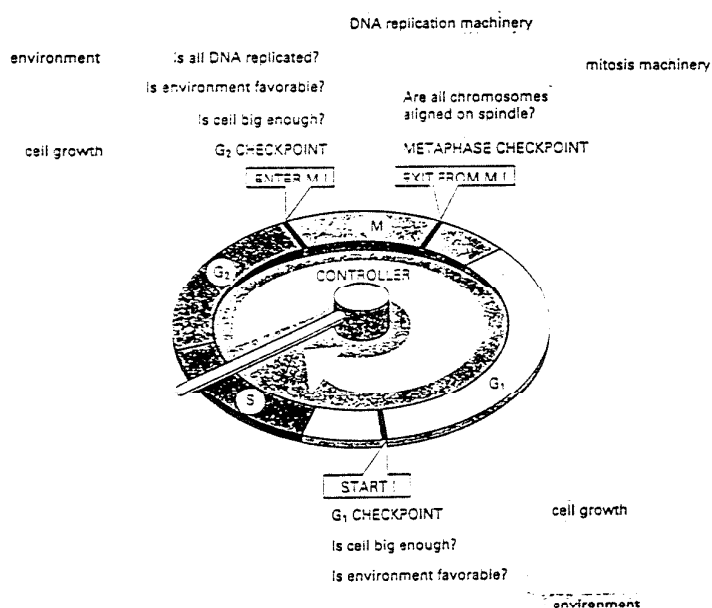
OPPGAVE 3

a) Regulering av cellyklus

Finnes 3 sjekkpunkter i cellyklus:

- sein G1 (også kalt restriksjonspunkt), undersøker om cellen er stor nok til å fullføre cellyklus, og om miljøet som omgir cellen er gunstig.
- inngangen til mitose, undersøker om alt DNA er replikert, om cellen er stor nok (skal være ca fordoblet i forhold til starten av G1) til å gå inn i mitose, og om miljøet er gunstig.
- utgangen av mitose, i metafase, undersøker om alle kromosomene ligger i ekvatorplanet midt mellom spindelpolene før kromatidtrådene kan trekkes til hver sin spindelpol.

Sjekkpunktene utgjøres av de to familiene av proteiner kalt cycliner og cyclin-avhengige kinaser (cdk). Det finnes to hovedklasser av cycliner, mitotiske cycliner som bindes til cdk i løpet av G2 og som er nødvendige for at cellen skal gå inn i mitose, og G1 cycliner som bindes til cdk i løpet av G1 og som er nødvendige for at cellen skal gå inn i S-fase.



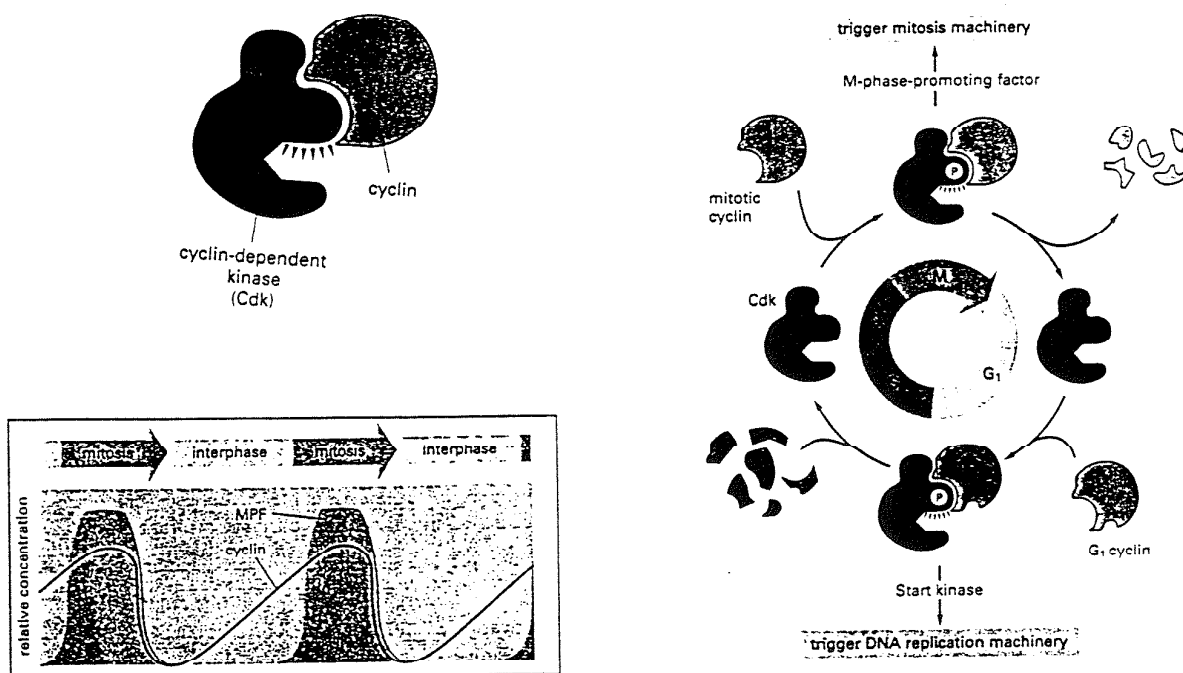
Sjekkpunktet inn i mitose er best kjent. Komplekset av mitotisk cyclin og tilhørende cdk danner et kompleks kalt mitotisk-promoting-faktor (MPF). Konsentrasjonen av MPF varierer gjennom cellyklus idet, konsentrasjonen av cyclin øker jevnt utover interfase og begynnelsen av mitose, som vist på figuren nedenfor. Ved overgangen metafase-anafase i mitose ødelegges cyclin plutselig, konsentrasjonen faller til bunnivå, før cyclin-konsentrasjonen øker igjen i neste interfase. Når cyclin har nådd en viss konsentrasjon bindes det til cdk og MPF dannes. MPF er først inaktivt, men via fosforylering/defosforylering av MPF aktiveres det. Aktivering skjer ved positiv tilbakekopling i det MPF virker på enzymer som aktiverer det slik at mer aktivt MPF dannes. Dermed oppstår en meget rask økning i

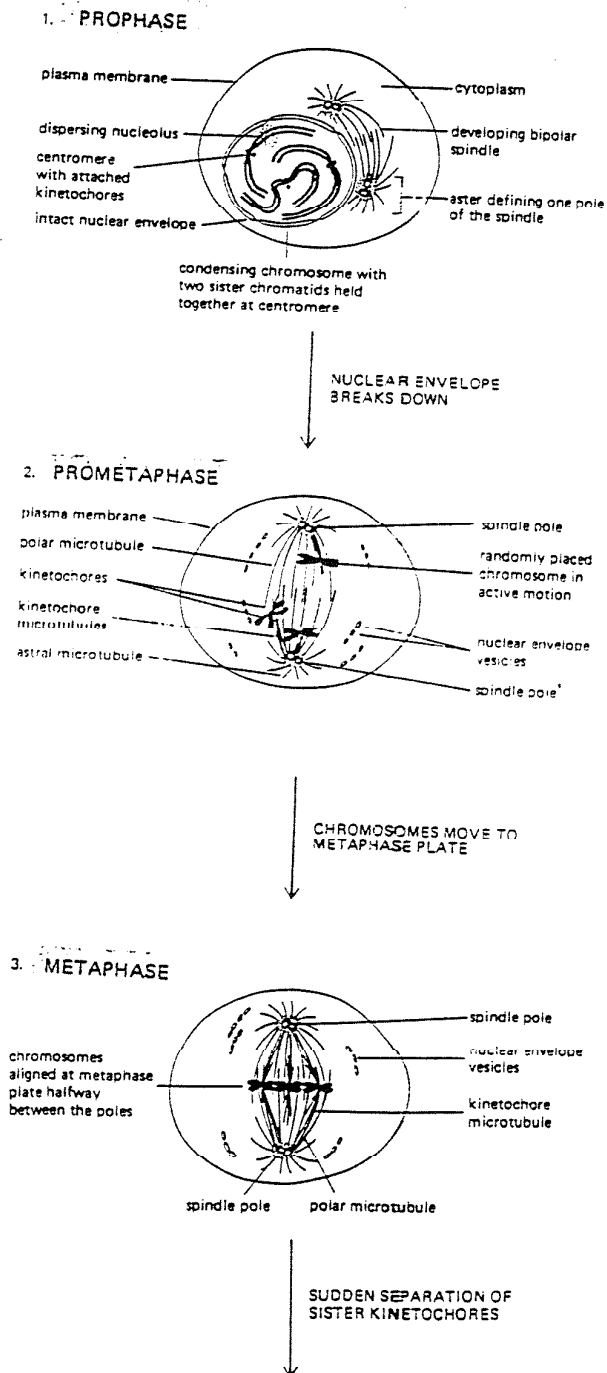
konsentrasjonen av MPF som vist i figuren. Den nøyaktig mekanismen for degradering av cyclin på overgangen metafase-anafase er ikke kjent, men cyclin har en aminosyreskvens som fungerer som et signal om at det skal brytes ned ved proteolyse. Ved degraderingen av cyclin inaktiveres MPF og cellen kan fullføre og gå ut av mitose.

Sjekkpunktet ved metafase-anafase overgangen sikrer at cellene ikke går inn i anafase før metafase er fullført, dvs alle kromosomene skal befinne seg i planet midt mellom spindelpolene før kromatidtrådene trekkes til hver sin spindelpol.

Funksjonen til MPF er via fosforylering å drive cellen inn i mitose. MPF induserer kondensering av kromosomene, nedbrytingen av kjerne-konvolutter, og organiseringen av det mitotiske spindelapparatet. MPF kan virke direkte eller indirekte via en kaskade av fosforyleringer der MPF fosforylerer andre kinaser som så aktiveres og aktiverer nye kinaser osv, og tilslutt inntreffer den cellulære responsen. To eksempler der MPF fosforylerer proteiner direkte er fosforylering av lamin på innsiden av kjernekonvolutter som trigger nedbrytingen av kjernekonvolutter og fosforylering av histon H1 som muligens er involvert i kondenseringen av kromosomene.

Mekanismen for sjekkpunktet i sein G1 fase er dårligere kjent, men prinsippet er antatt å være det samme som ved mitose-sjekkpunktet. Komplekset av G1 cyclin og cdk gjør cellen i stand til å passere restriksjonspunktet slik at cellen går inn i S-fase.



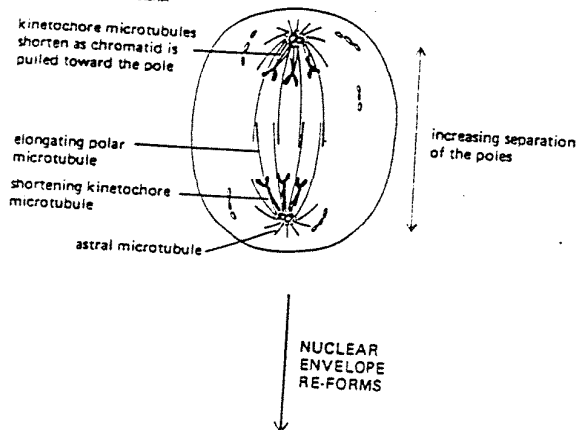
b) CelledelingCelledeling

- Overgangen fra G2 til M.
 - Kromatin kondenseres til kromosomer.
 - Mikrotubulus brytes opp og mitotiske spindel-apparat formes.
- Spindel-apparatet består av mikrotubulus og proteiner og har to poler utenfor kjernen.

- kjernedobbeltmembranen ødelegges og danner membran vesikler. Dette trigges ved rask fosforylering av kjernelamina som i gang setter nedbrytingen av kjernemembranen.
- Spindel mikrotubulus går inn i kjerne-området
- Proteinkomplekset kinetochore på centromeren fester seg til en del av spindel mikrotubulus (kinetochore mikrotubulus) og strekker i kromosomer

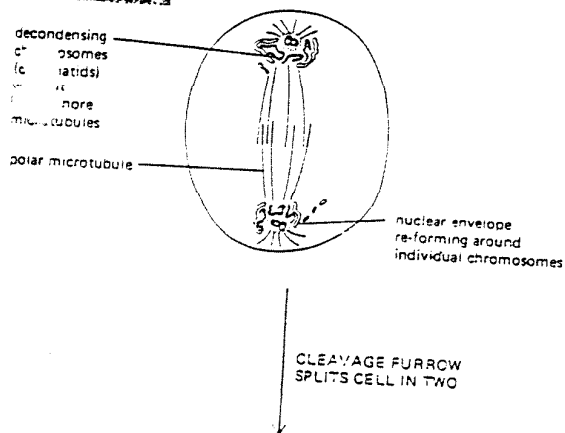
- Kinetochore mikrotubulus plasserer kromosomene i et plan midt mellom spindel polene.

4. **ANAPHASE**



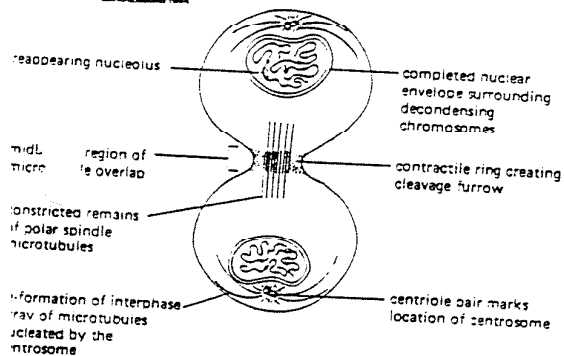
- Kinetochore paret på hver side av kromosomet skilles og trekker kromatidet mot spindelpolen
- kromatidet vender mot.

5. **TELOPHASE**



- Kromatidene når polene i spindel-apparatet.
- Kinetochore mikrotubulus forsvinner.
- Ny kjernedobbeltmembran begynner å dannes rundt hver gruppe av datter kromosomer, ved at kjernemembran vesikler smelter sammen.
- Når kjernemembran er dannet transporteres kjerneproteiner inn gjennom porene.
- De kondenserte kromatidene utvider seg, dekondenseres.
- RNA syntese gjenopptaes, nucleolus blir synlig.

6. **CYTOKINESIS**



- Cytoplasma deler seg. Starter i Anafasen
- Ring av aktin-filament og myosin under plasmamembranen drar plasmamembranen innover mellom de to datter kjernene og vinkelrett på spindelaksen.
- Cytoplasma og organeller deles i to og de to dattercellene dannes.

OPPGAVE 4

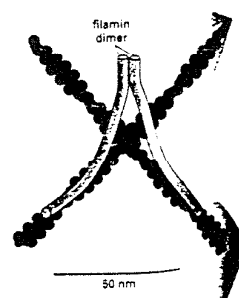
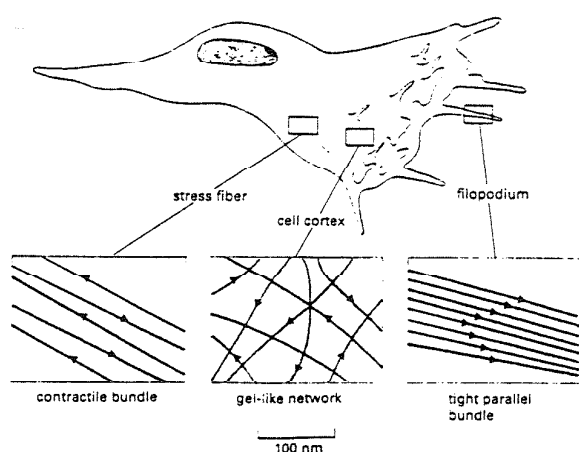
a) Organisering og funksjon av aktinfilament

1. Aktin filament er organisert som ett løst 3-dimensjonalt nettverk, kalt cellens cortex. (Proteinet filamin er ansvarlig for organiseringen). Nettverket befinner seg like under plasmamembranen. Funksjonen:

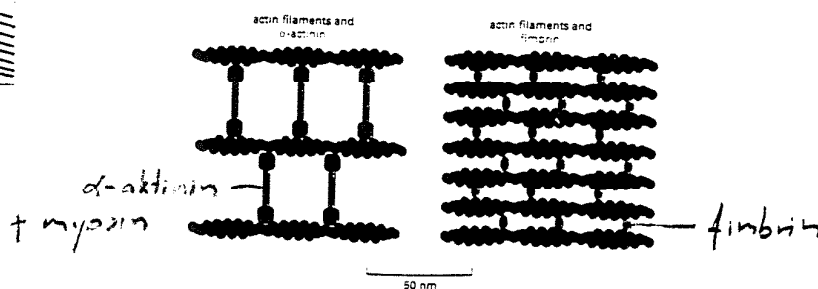
- gi plasmamembranen mekanisk støtte.
- Cellens cortex er også ansvarlig for cellens evne til å bevege seg med amøbeliknende bevegelser.
- festet til proteiner som danner såkalte forankrings-junction mellom celler (adherens junction) og mellom cellen og ekstracellulær matrix (integriner)

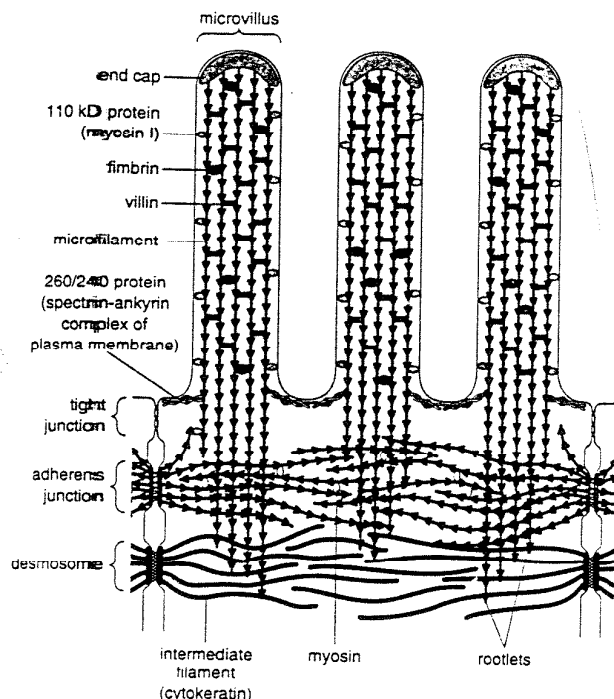
2. Aktin filament er organisert i tette parallelle bunter. (Proteinene villin og fimbrin er ansvarlige for organiseringen). Dette finnes bl.a. i fingerliknende strukturer på celle overflaten såkalte mikrovilli. Funksjonen er å øke cellens overflate. Finnes f.eks på epitelceller i tarm slik at absorpsjonsarealet øker.

3. Aktin filament er organisert i kontraktile bunter. (Buntene holdes sammen av proteinet α -aktinin, og myosin er ansvarlig for de kontraktile egenskapene). Slike bunter finnes i stressfibre og i den kontraktile ringen som er ansvarlig for delingen av cytoplasme ved cytokinese. Stressfibre dannes i celler utsatt for mekanisk stress. De strekker seg fra fokalpunkter i plasmamembranen og innover i cytoplasma.



Løst nettverk: filamin (dimer) kryssbinder aktinfilament i ett 3-dimensjonalt nettverk.





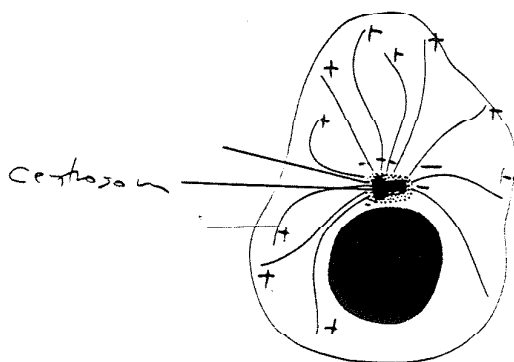
Strukturen av mikrovilli på celleoverflaten.

b) Organisering av mikrotubulus

I cytoplasma strekker mikrotubulus seg ut fra centrosomen/mitotiske organiseringssenter nær kjernen. Centrosomen består av en centriole omgitt av et formløst materiale. Centriolen består av 9 tripletter av mikrotubulus, en hel og to partielle. Triplettene holdes sammen av mikrotubulus-assosierte proteiner.

Minus-enden er forankret i centrosomen. Plus-enden peker utover som vist på figuren. Den kan være bundet til et mikrotubulus-assosiert protein slik at cellen får en polarisert form f.eks. axonet i nerveceller, eller den er ikke bundet og dermed dynamisk ustabil. Funksjonen til cytoplasmatisk mikrotubulus er:

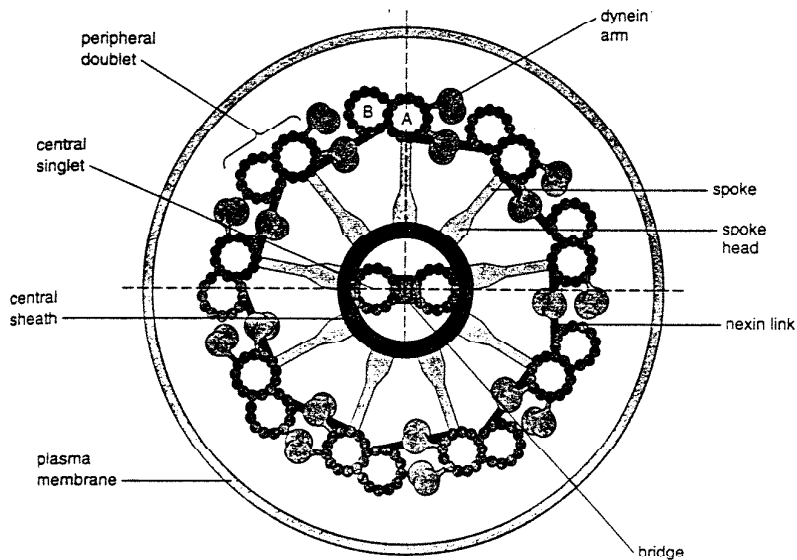
- vesikler og organeller kan bevege seg langs mikrotubulus
- organiserer cytoplasma i det organeller og vesikler er bundet til mirotubulus via mikrotubulus-assosierte proteiner.
- bidrar til å gi cellen mekanisk styrke.
- danner det mitotiske spindelapparatet som trekker de to kromatin-trådene til hver sin spindelpol under mitose.



Flimmerhår er mikrotubulus organisert i såkalt axonem. Mikrotubulus danner et såkalt 9+2 mønster som vist på figuren. Dubletter av 9 mikrotubulus, en hel og en partiell mikrotubulus danner periferien av axonemet. Sentralt finnes to hele mikrotubulus. To nabadubletter holdes sammen av proteinene nexin og dynein. De 2 sentrale mikrotubulus holdes sammen med protein som danner en såkalt bru og et protein-hylster omgir de to sentrale mikrotubulus. Fra hylsteret og til dublettene i periferien strekker det seg proteiner som danner de såkalte eikene. Axonemet er forankret i centriolen.

Funksjon:

Flimmerhårene beveger seg på en regulert, synkronisert måte slik at de utfører en slagbevegelse over epitelcellelaget der de er festet. Slagbevegelser fører til at f.eks. støv og partikler føres oppover i luftveiene, og dermed fjernes.



Oppgave 3 (Vekttall 2)

- a) Cellesyklus er meget nøye regulert, slik at fasene G1, S, G2 og mitose, følger etter hverandre i riktig rekkefølge. Angi sjekkpunktene i cellesyklus, hva som undersøkes ved de ulike sjekkpunktene, og forklar hvordan en antar at disse sjekkpunktene opererer.
- b) Forklar hvordan cellen deler seg, og hvilke faser cellen gjennomløper under celledeling.

Begge delspørsmål vektlegges likt

Oppgave 4 (Vekttall 2)

- a) Mikrofilament (også kalt aktinfilament) kan organiseres på 3 måter. Beskriv de 3 formene og angi funksjonen til de ulike formene.
- b) Mikrotubulus finnes i cytoplasma og i flimmerhår. Beskriv hvordan mikrotubulus er organisert i henholdsvis cytoplasma og i flimmerhår, og angi hvilke funksjoner de to formene for mikrotubulus har.

Begge delspørsmål vektlegges likt

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 cellen syntetiseres fosfolipider:

cytosol
endoplasmatiske retikulum
Golgi apparatet

- b) I tillegg til i kjernen finnes DNA i en annen organelle. Hvilken:

mitochondria
Golgi apparatet
lysosomer

- c) Glykoproteiner på plasmamembrnen
vender kun mot cytosol
vender kun ekstracelulært ✕
finnes på begge sider av plasmamembranen
- d) Fosfolipider beveger seg raskt i plasmamembranen
mellom de to monolipidlagene
innen sitt monolipidlag ✕
beveger seg overhodet ikke
- e) Det viktigste struktur proteiner i ekstracellulær matrix er:
fibronectin
aktinfilament
collagen ✕
- f) Hva kalles transmembran proteiner ansvarlige for celle-celle kontakt:
cadheriner ✕
selektiner
integriner
- g) Hva kalles transmembran proteiner ansvarlig for celle-ekstracellulær matrix kontakt:
cadheriner
selektiner
integriner ✕
- h) Hvor brytes makromolekyler ned:
Golgi apparatet
lysosomer ✕
ekstracllulær matrix

i) Hvor i cellen utføres Krebssyklusen/citric acid syklusen:

- matrixrommet i mitochondria ✓
- indre membranen i mitochondria
- endoplasmatisk reticulum

j) Hvor i cellesyklus foregår proteinsyntese

- G1
- S-fase
- Interfase ✗

k) Antigen bindingsstedet på immunoglobulinet sitter på

- F_{ab}-fragmentet ✗
- F_c-delen
- Bindingssteder på hele immunoglobulinet

l) Aktivering av T_{helper} celler avhenger av

- Cytotoksiske T celler
- MHC molekyl klasse I
- MHC molekyl klasse II ✗

m) Cytotoksiske T celler angriper virus-infuserte celler ved

- fagocytose
- skiller ut perforin ⇒ cellen lyser ✗
- aktiverer komplementsystemet ⇒ cellen lyser

n) Antistoffer angriper bakterier ved

- fagocytose
- skiller ut perforin ⇒ cellen lyser
- aktiverer komplementsystemet ⇒ cellen lyser ✗