

BESVARELSE PÅ EKSAMEN I FAG 74618 CELLEBIOLOGI

Aug 1997

OPPGAVE 1

a) Sekundær aktiv transport

- Avhengig av en ionegradiant 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 bærerprotein

⇒ allosterisk endring av bærerprotein og affiniteten for glukose endres

⇒ glukose bindes

⇒ 2. Bærerprotein 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 konformasjonsendring tilsvarer lav-affinitetstilstand og glukose og Na^+ faller av bærerprotein.

⇒ 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.

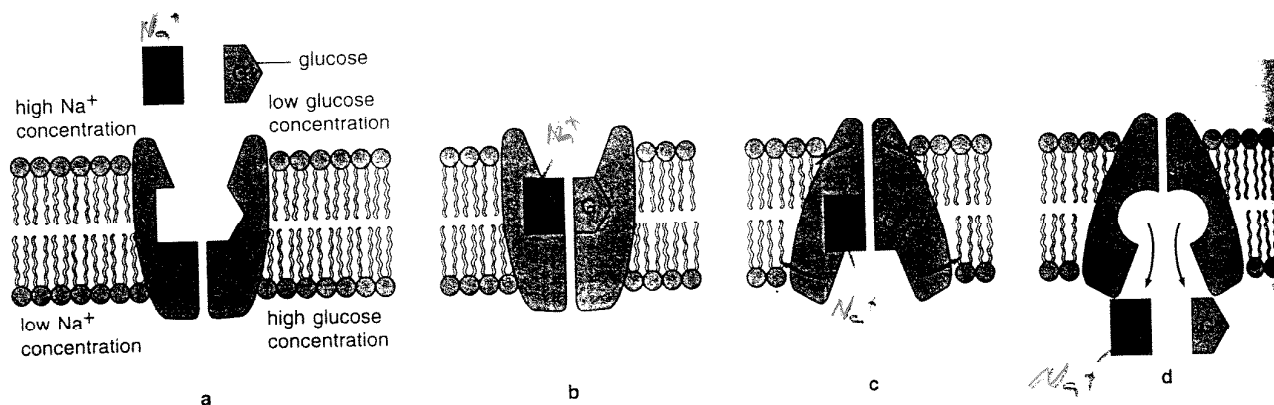


Figure 5-14 Indirect active transport of glucose by symport (see text).

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. Bærerproteinene gjennomgår en konformasjonsendring som gjør at bindingsstedet med molekylet som skal transporteres kommer til den andre siden av plasmamembranen. Molekylet løsner så fra bærerproteinene. Årsaken til konformasjonsendringen er ikke kjent, antar at bindingen av glukose til bærerproteinene medfører konformasjonsendring eller at bærerproteinene oscillerer kontinuerlig mellom de to konformasjonsformene.
- Ulike stoffer har sine spesifikke bærerproteiner.
- Fluxen avhenger av antall bærerproteiner og metningsgrad.

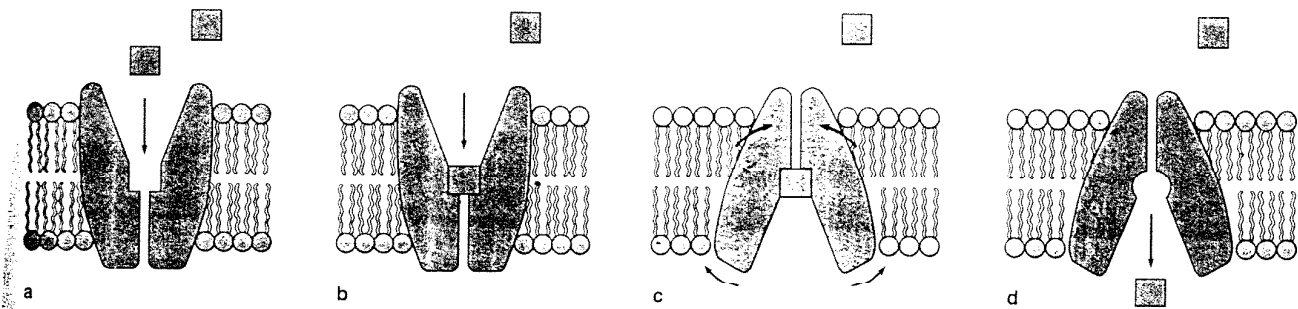


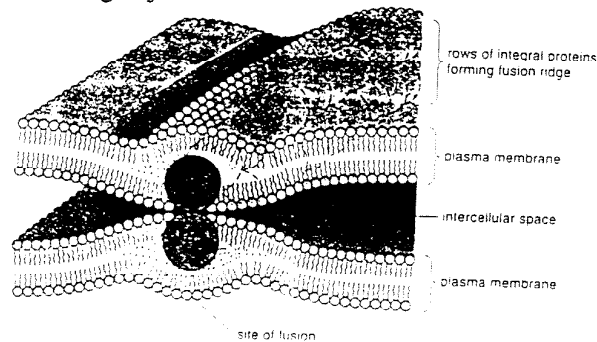
Figure 5-5 Facilitated diffusion according to the alternating conformation model (see text).

b) Tight junction

Sammensmelting mellom plasmamembranproteiner på to naboceller.

Opptre 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.

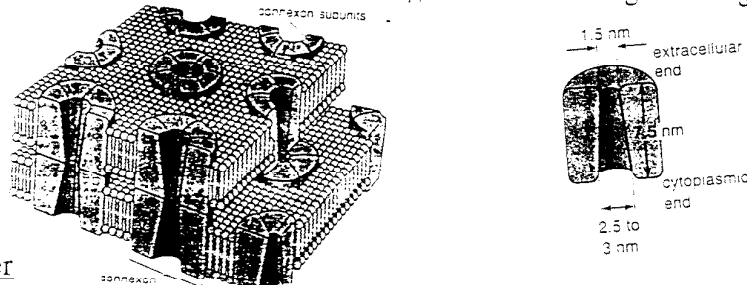


Gap junction

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.

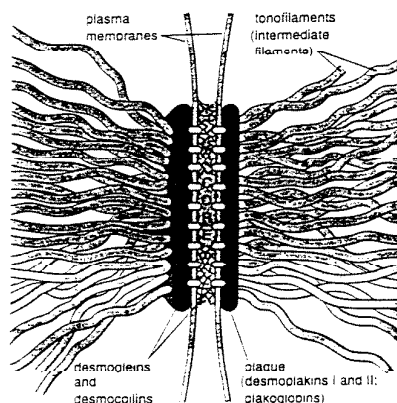
Funksjon: danner en kanal mellom to celler slik at kjemiske molekyler, f.eks signalmolekyler raskt kan transporteres mellom celler. Finnes f.eks. i hjertemuskel og i glatt muskulatur i livmor, slik at muskelcellene kan trekke seg sammen raskt og samtidig.



Desmosomer

Intermediært filament bindes til proteiner som danner en såkalt plaque rett under plasmamembranen. Transmembran proteiner ofte såkalte cadheriner er bundet til proteiner 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 hjertemuskel og hud som utsettes for strekk.



OPPGAVE 2

a) Strukturen til endoplasmatisk reticulum

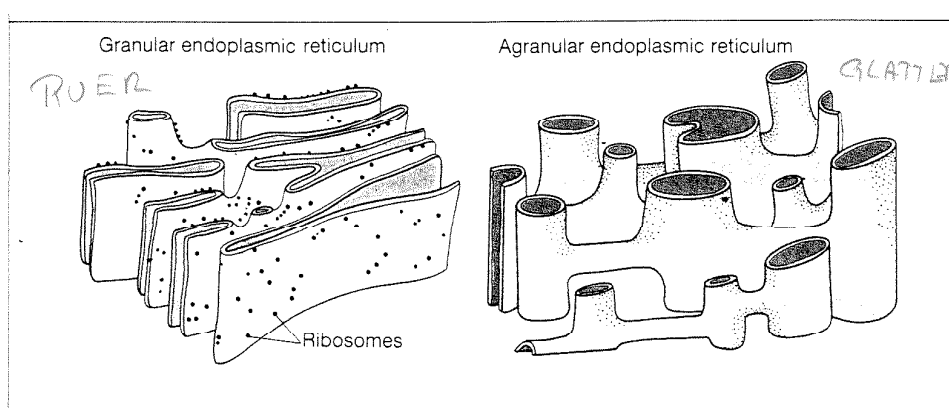
- Glatt og ru endoplasmatisk reticulum (ER)

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:

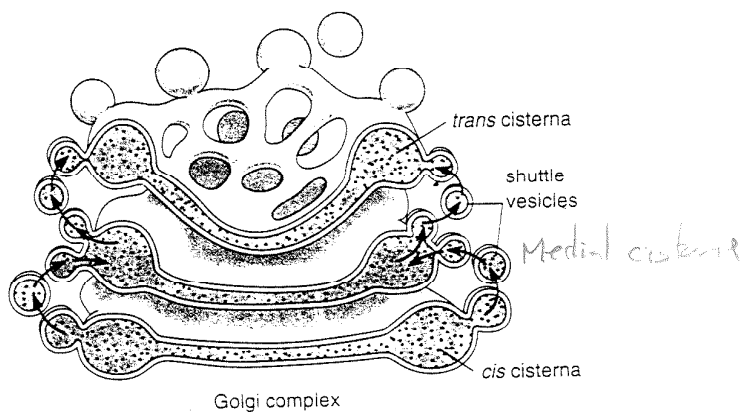
- lipid syntese
- steroide hormoner dannes fra kolesterol i glatt ER
- detoksifiseringsreaksjoner foregår i glatt ER

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.

Oppbygging av Golgi apparatet

Golgi apparatet består av en rekke stabler av flate sekker omgitt av en membran. Sekkene kalles cisterner. Cistenene innen en stabel deles inn i: cis Golgi nettverk/cis cisternen som vender mot endoplasmatisk reticulum, etterfulgt av medial cisternene, trans cisternen / trans Golgi nettverk. Rundt cisternen befinner det seg mange vesikler som transporterer materiale fra endoplasmatisk reticulum til cis Golgi nettverk, og mellom cisternene i Golgi apparatet.



b) Dannelse av vesikler

Vesikklene dannes som avknoppne skudd av ER.

Vesikklene 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.

Dannelse av coatomer-dekkede vesikler avhenger også av proteinet ARF.

ARF er i cytosol, med GDP bundet til seg. En antar at membraner som skal dekket med coatomer har et guanine-nucleotide-frigjørende protein bundet til membranen.

ARF bindet til dette proteinet som fører til at GDP frigjøres og erstattet med GTP.

ARF gjennomgår en konformasjonsendring slik at en fettsyrekjede kommer fram og forankrer ARF i membranen.

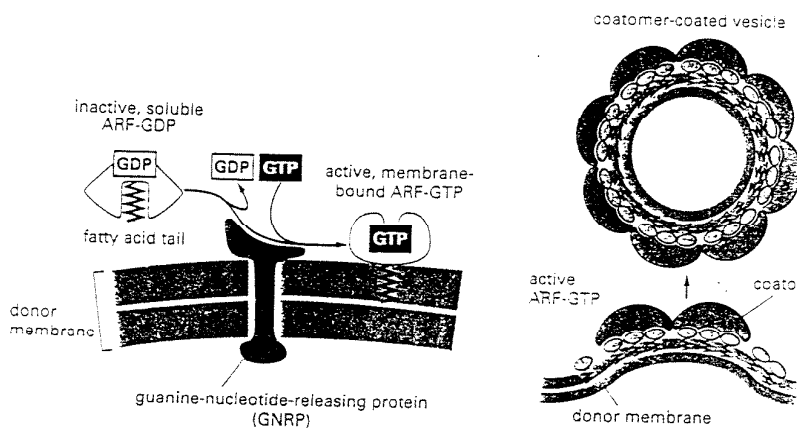
Coatomer subenherter bindes så til ARF-GTP. Dette gjør at membranen bøyes og en vesikkel dannes.

Før vesikkelen er dannet vil proteinkappen falle av. GTP hydrolyseres til GDT og ARF gjennomgår en konformasjonsendring slik at den og proteinkappen faller av vesikkelen.

Reseptorer v-SNARE kommer da tilsyne og binder seg til t-SNARE på target-membranen.

Rab proteiner sjekker at riktig v-SNARE og t-SNARE bindes og at riktig vesikkel og target smelter sammen.

For at vesikkelen og plasmamembranen skal smelte sammen kreves energi (ATP) og vann må fjernes. Dette bidrar ulike proteiner i cytosol med (NSF).



OPPGAVE 3

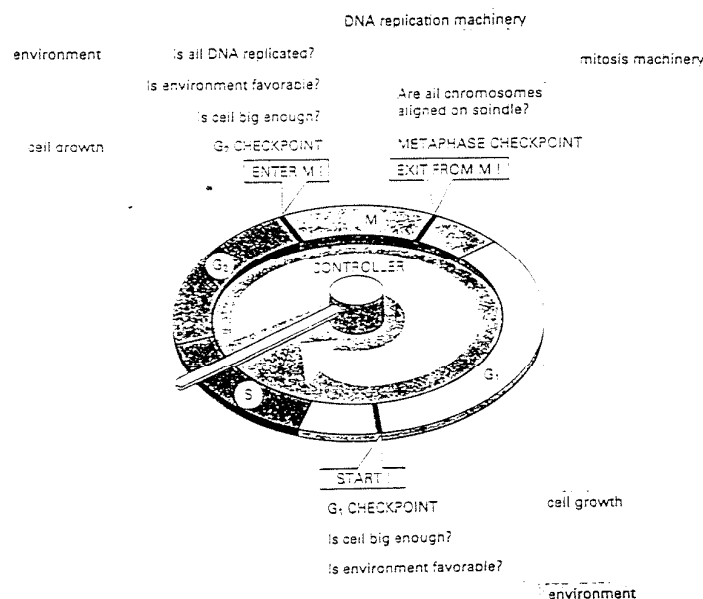
a) Regulering av cellyklus

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.

b) Cyclin

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.



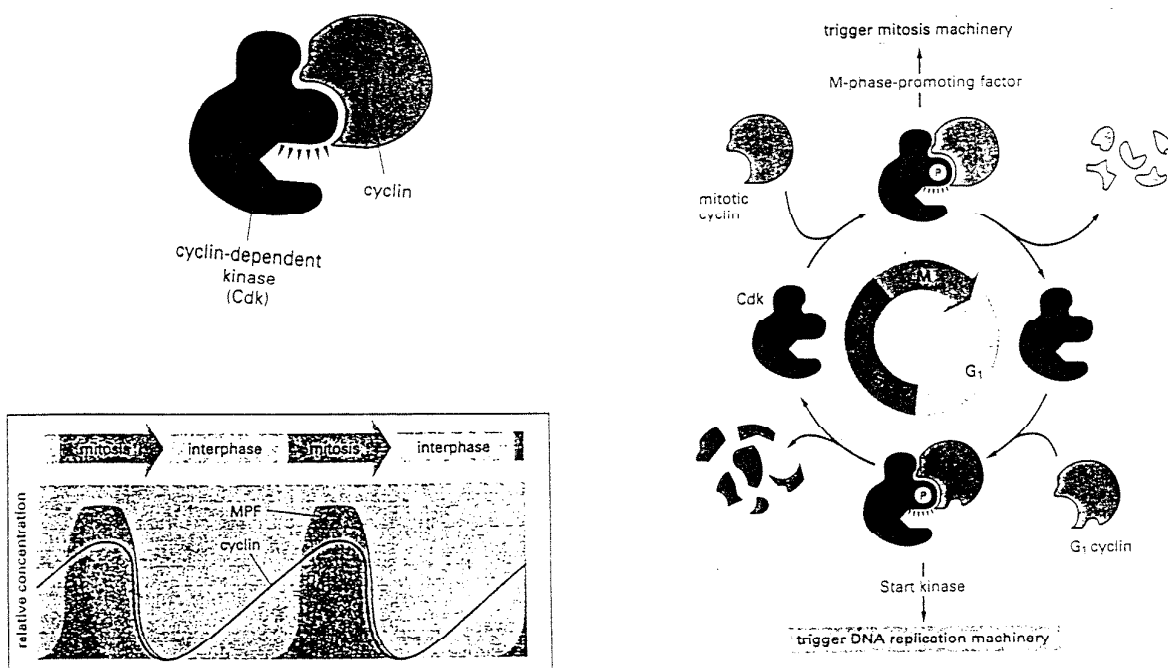
Sjekkpunktet inn i mitose er best kjent. Komplekset av mitotisk cyclin og tilhørende cdk danner et kompleks kalt mitotisk-promoting-faktor (MPF). Konsentrasjonen av MPF varierer gjennom cellyklus idet, konsentrasjonen av cyclin øker jevnt utover interfase og begynnelsen av mitose, som vist på figuren 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. Aktiveringen 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 aminosyresekvens 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-konvolutt, 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 kjernekonvolutt som trigger nedbrytingen av kjernekonvolutt 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.



c) Bestemmelse av fasevarigheter

Antar en ideell reaktion celledistribusjon.
Andelen celler i de ulike fasene i celledivisjonsbestemning ved å integrere over aldersfordelingen:

$$\text{Fraksjon celler i G1: } F_{G1} = \int_0^{\tau_1} n(t) dt$$

$$\text{Fraksjon celler i G2+M: } F_{G2+M} = \int_{\tau_1}^1 n(t) dt$$

Da fraksjon celler i de ulike fasene er bestemt kan τ_1 = cellens alder ved overgangen G1/S og τ_2 = cellens alder ved overgangen S/G2 bestemmes

$$F_{G1} = \int_0^{\tau_1} 2 \ln 2 \exp(-t \ln 2) dt = 2(1 - e^{-\tau_1 \ln 2})$$

$$\tau_1 = - \frac{\ln(1 - \frac{F_{G1}}{2})}{\ln 2} = - \frac{\ln(1 - \frac{0,55}{2})}{\ln 2} = \underline{0,46}$$

$$F_{G2+M} = \int_{\tau_1}^1 2 \ln 2 \exp(-t \ln 2) dt = 2e^{-\tau_1 \ln 2} - 1$$

$$\tau_2 = - \frac{\ln(\frac{1 + F_{G2+M}}{2})}{\ln 2} = - \frac{\ln(\frac{1 + 0,25}{2})}{\ln 2} = \underline{0,69}$$

$$\text{Varigheten av G1} = 18t \cdot 0,46 = \underline{8,3t}$$

$$\text{Varigheten av G2+M} = 18t(1 - \tau_1) = 19t \cdot 0,32 = \underline{5,9t}$$

$$\text{Varigheten av S} = 18t - (8,3 + 5,9)t = \underline{3,9t}$$

OPPGAVE 4

a) Strukturen av et immunoglobulin

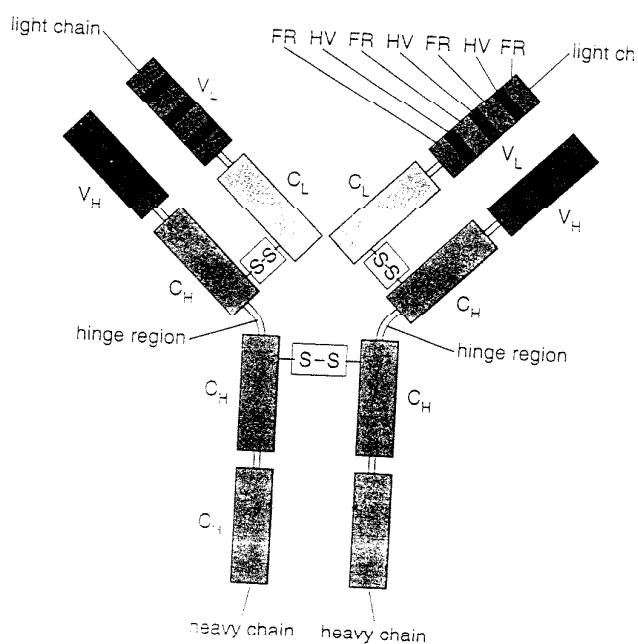
To lett kjeder k eller l og to tunge kjeder a, g, d, e, eller m, holdt sammen av di-sulfat bruer.

Et immunoglobulin består av ett par k kjeder eller ett par l kjeder (ingen kombinasjon) og ett par tungkjeder.

De to lette kjedene består av ett konstant og ett variabelt område.

De tunge kjedene består av ett variabelt område og 3-4 konstante områder.

De variable områdene består av 3 hypervariable segmenter og 4 framework segmenter med lite variasjon i aminosyresekvensen. Det variable domenet er foldet slik at de hypervariable segmentene danner en kløft på enden av Y-armen av immunoglobulinet. Kløften er bindingsstedet for antigenet.



B-celler gjenkjenner fremmed antigen som bindes til immunoglobulin på oveflaten. Antigen/antistoff komplekset taes inn i cellen ved endocytose. I endocytotiske vesikler brytes antigenet ned i fragmenter av proteolytiske enzymer. Vesikler med ny-syntetisert MHC klasse II molekyler (syntetisert i endoplasmatisk reticulum, modifisert gjennom Golgi apparatet, og sortert i trans Golgi nettverk til endocytotisk vesikkel) smelter sammen med de endocytotiske vesiklene. Antigen fragmenter bindes til MHC klasse II molekyll og transporteres til celleoverflaten i vesikkelen. Vesikkelen smelter sammen med plasmamembranen slik at MHC klasse II molekyler med antigen-fragmenter befinner seg på celleoverflaten.

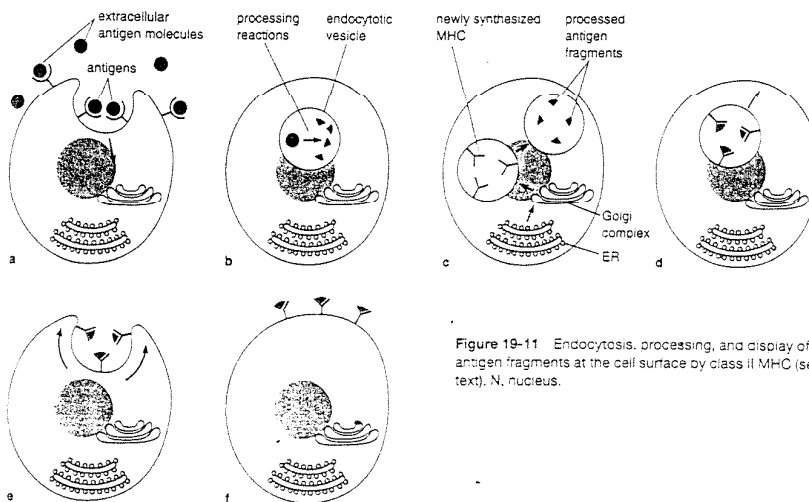
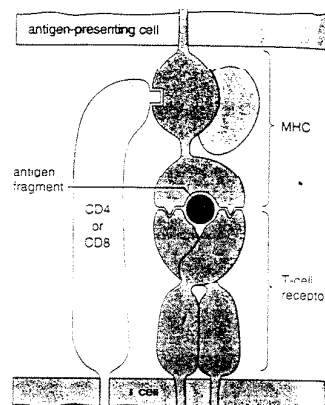


Figure 19-11 Endocytosis, processing, and display of antigen fragments at the cell surface by class II MHC (see text). N, nucleus.

Aktivering av B celler krever aktiverte T_{helper} celler. T_{helper} celler aktiveres ved at T celle reseptor bindes til MHC klasse II molekyll på overflaten av B celler, (makrofag ved primær immunrespons, B-celle ved sekundær immunrespons). MHC klasse II molekyll må ha antigen/fremmede protein-fragmenter bundet til seg, for at T_{helper} celle skal bindes. Denne bindingen er svak og stabiliseres ved at antigenet CD4 på overflaten av T_{helper} celler bindes til MHC klasse II molekyll.

(Aktivering av T_{helper} celler krever også et annet signal: enten ved interleukin (IL-1) som skilles ut av antigen presenterende celle, eller ved binding mellom B7 på overflaten av antigen presenterende celle og CD28 på T_{helper} celle.) (Kravet om dette andre signalet står ikke i læreboka, men er omtalt og beskrivende figur er utdelt i forelesning).



Aktiverte T_{helper} celler skiller ut vekstfaktorer, såkalte interleukiner. Interleukinene virker på B cellene slik at de aktiveres, dvs deler seg og modnes til plasmaceller som produserer antistoffer mot det samme antigenet som genererte immunresponsen.

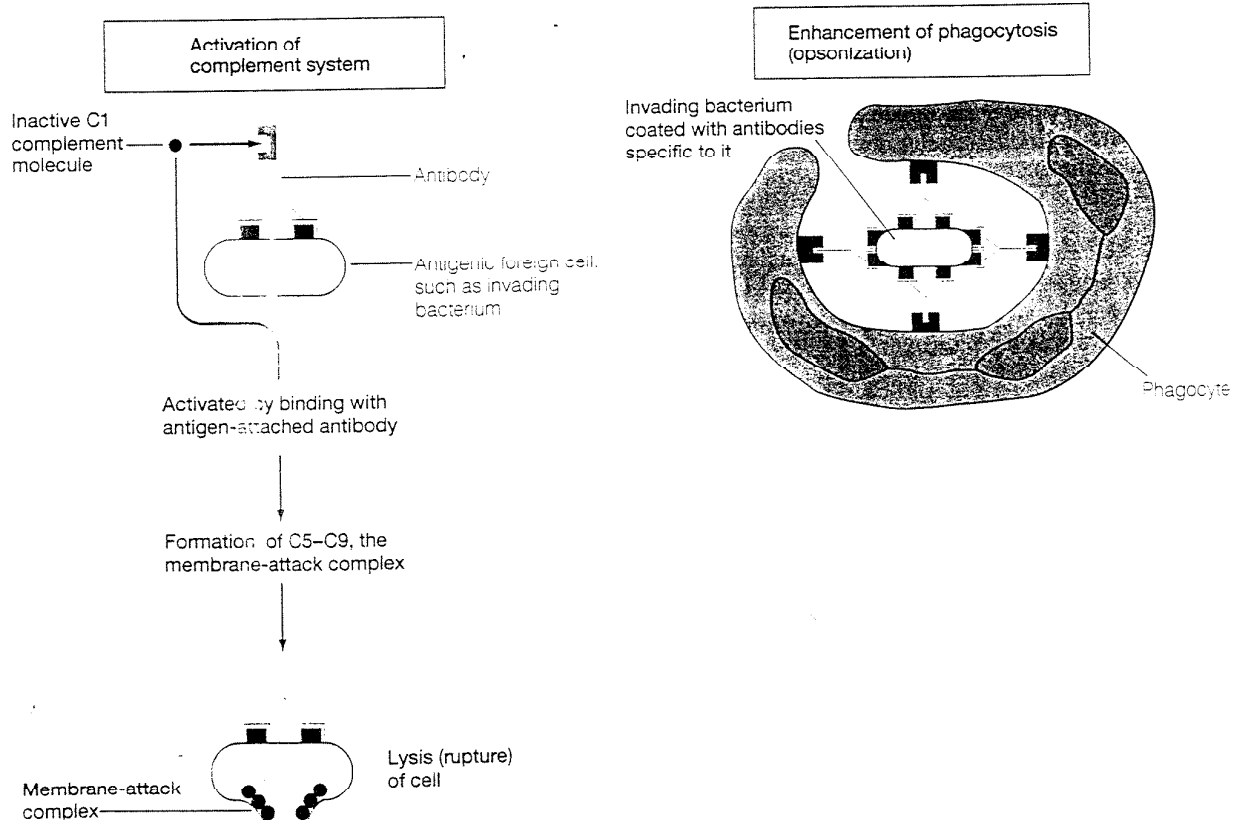
Antistoffene sirkulerer i blodbanen. Når de møter bakterier med antigen som genererte immunresponsen vil bakteriene angripes ved en av følgende mekanismer:

Aktivering av komplement systemet:

Antistoffet bindes til antigen på overflaten av bakteriner. Proteinet C1 i komplementkaskaden bindes til Fc delen av antistoffet. Dette igangsetter komplementkaskaden der sluttproduktet er dannelse av en protein kanal (membrane-attack-kompleks). Protein-kanalen dannes ved at proteinet C9 polymeriseres av C8 slik at en proteinkanal dannes. Dermed vil vann strømme inn i cellen ved osmose, og cellen sprekker (lyser).

Aktivering av antistoff-mediert fagocytose:

Antistoffet bindes til antigenet på overflaten av bakterien. Fc delen av immunoglobulinet bindes til Fc reseptorer på overflaten av fagocytterende celler. Dermed trigges fagocytosen, og bakterien "spises opp".



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 og hva som undersøkes ved de ulike sjekkpunktene.

b) Forklar hvordan en antar at proteinet cyclin er involvert i reguleringen av cellesyklus.

c) Anta en ideell asynkron cellepopulasjon med aldersfordelingsfunksjon

$n(\tau) = 2 \ln 2 \exp(-\tau \ln 2)$. Cellepopulasjonen har en cellsyklustid på 18 t, og andel celler i de ulike fasene er i G1: 55%, i S: 20%, i G2+M:25%. Beregn varigheten av de ulike fasene.

Alle delspørsmål vektlegges likt

Oppgave 4

a) Beskriv strukturen av et immunoglobulin. (Vekttall 1)

b) Forklar hvordan B celler aktiveres (fra ett fremmed antigen gjenkjennes til og med aktivering), og hvordan antistoffer kan bidra til å angripe og drepe bakteriene som aktiverte immunsystemet. (Vekttall 2)

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) De to hovedkomponentene av plasmamembranen er:

- lipider og proteiner
- lipider og karbohydrater
- karbohydrater og proteiner

b) Plasmamembranens fluiditet avhenger av:

- kolesterol
- glykolipider
- integral proteiner

c) Membran fluiditet bestemmer:

- transport av et molekyl over membranen
- bevegelsen av integral proteiner
- osmose

d) Funksjonen til nucleoli er produksjon av:

- DNA
- RNA
- Proteiner

e) Organellen som sannsynligvis stammer fra en annen organisme er:

- lysosomer
- Goligi apparatet
- mitokondria

f) Hovedfunksjonen til mitokondria er:

- bryte med makromolekyler
- syntetisere proteiner
- syntetisere ATP

g) Hovedfunksjonen til lysosomer er:

- bryte med makromolekyler
- syntetisere proteiner
- syntetisere ATP

i) Aktin filament finnes i:

- mikrovilli
- flimmerhår
- centrioler

j) Mikrotubulus finnes i:

- mikrovilli
- flimmerhår
- pseudopodier

STUDENTNR.....

FAKULTET.....

k) Cellens amøbeliknende bevegelser skyldes:

intermediært filament

aktin filament ✗

mikrotubulus

l) Collagen IV finnes i:

extracellulær matrix i løst bindevev

basal membranen ✗

plasmamembranen

m) Collagen I finnes i:

extracellulær matrix i løst bindevev ✗

basal membranen

plasmamembranen

n) Initierting av transkripsjon reguleres ved:

aktivator bindes til transkripsjonsfaktorer ✗

aktivator bindes til RNA polymerase som dermed gjennomgår konformasjonsendring

fosforylering av aktivator

o) Initierting av translasjon reguleres ved:

aktivator bindes til initiatorfaktorer

initiatorfaktor brytes med

fosforylering av initiatorfaktor ✗

p) Glykosylering av proteiner starter i:

endoplasmatisk reticulum ✗

Golgi apparatet

plasmamembranen

q) Cytokinesen starter i:

interfase

anafase ✗

etter telofasen

r) Kromatidtrådene trekkes til hver sin spindelpol i:

metafase

anafase ✕

telofase

s) Kjernemembranen settes sammen i:

metafase

anase

telofase ✕

t) Hva kalles proteiner ansvarlig for celle-ekstracellulær matrix kontakt:

cadheriner

selektiner

integriner ✕

u) Ca^{2+} -ATP ase pumpen pumper:

Ca^{2+} ut av cytosol ✕

Ca^{2+} inn i cytosol

sørger for at konsentrasjonen av Ca^{2+} er den samme i cytosol og ekstracellulært