

BESVARELSE I FAG 74618 CELLEBIOLOGI I
EKSAMEN 15 MAI 1999

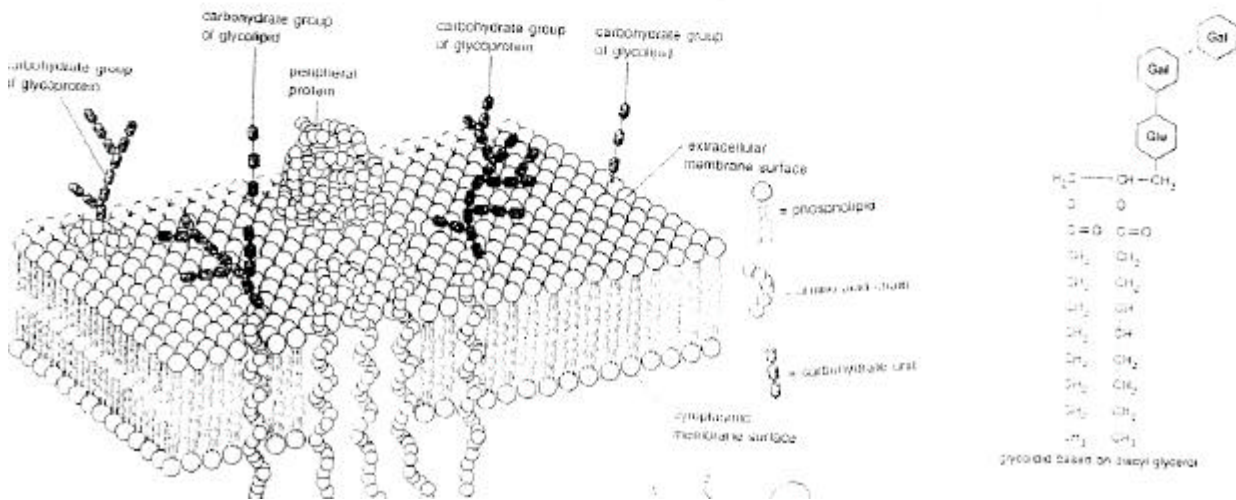
OPPGAVE 1

a) Strukturen av plasmamembranen

- Plasmamembranen består av lipider, proteiner og karbohydrater.
 - De finnes tre grupper av lipider: fosfolipider/fosfoglycerider (forventer ikke at de skal kunne navnene på fosfolipidene), kolesterol og glykolipider.
 - Lipidene er amfipatiske, og de danner spontant et dobbeltlag i vannløsning. Lipidene orienterer seg slik at det polare hodet vender utover mot membranens overflate, dvs mot vannopløsningen i cellens ekstracellulære omgivelser eller cytosol. De hydrofobe halene vender innover i membranen.
 - Fosfolipidene består av et polart hode forbundet til to fettsyre kjeder med en fosfatgruppe og glycerol.
 - Proteinene "flyter" i lipidlaget.
 - Proteinene er integral proteiner eller perifere proteiner.
- Integral proteiner er amfipatiske og det hydrofobe området strekker seg inn i lipid-dobbelaget, enten delvis inn i lipid-dobbelaget, 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. Transmembranproteinene 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 membrankanal idet proteinet orienterer seg slik at hydrofile aminosyresidekjeder vender inn mot en polar kanal, og hydrofobe sidekjeder innover i membranen.
- Perifere proteiner er hydrofile og binder seg ikke-kovalent til polare membran overflater.
 - Perifere proteiner kan også være forankret i membranen med en fettsyrekjede.

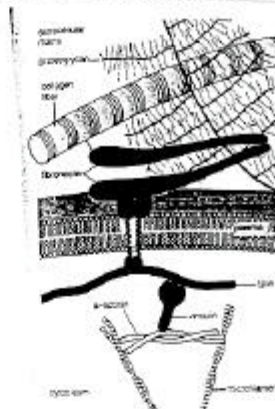
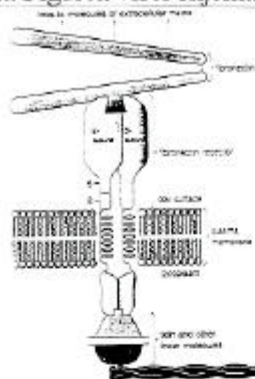
Plasmamembranen er asymmetrisk.

- Sammensetningen av lipider i de to monolagene i lipid-dobbelaget er forskjellig. Lipid-monolaget som vender inn mot cytosol er negativt ladet (fosfatidylserin som er negativt ladet befinner seg bare i monolaget mot cytoplasma).
- Proteinene har en bestemt orientering som også bidrar til asymmetrien.
- Karbohydratene befinner seg utelukkende på ekstracellulær side av plasmamembranen. Karbohydrater er bundet til lipider eller proteiner, hhv glykolipider eller glykoproteiner. Karbohydrater kan festes til fosfolipidene og danne nøytrale glykolipider eller negativt ladete gangliosider. Et glykolipid består av få oligosakkarid-kjeder, mens et glykoprotein kan bestå av mange oligosakkarid-kjeder. Glykoproteinet kan også være et proteoglykanmolekyl.



b) Fokalpunkt

Cellen forbindes til ekstracellulær matrix via integriner. Integriner er transmembran proteiner med en spesifisitet for extracellulære proteiner. Figuren viser hvordan fibronektin (med sin RGD sekvens) bindes til integrinet fibronektin reseptor. Fibronektin er igjen bundet til collagen og glykosaminoglykaner i ekstracellulær matrix. Integrinet er på cytoplasmatiske side forbundet til de aktin-bindende proteinene talin og vinculin. α -aktinin er bindeprotein mellom vinculin og aktinfilament. Figuren viser skjematisk fokalpunktet.



c) Transport langs mikrotubulus

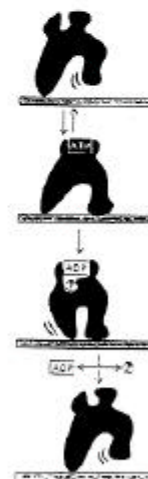
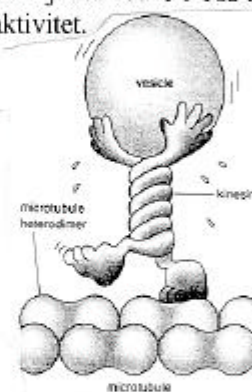
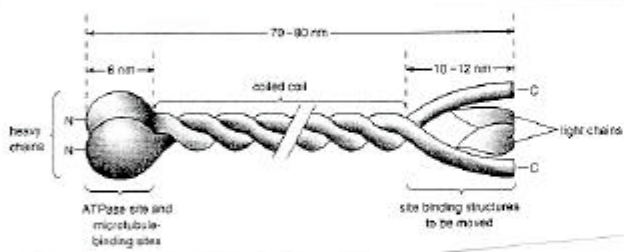
Vesikler transporters langs mikrotubulus ved hjelp av motoriske mikrotubulus assosierte proteiner som kinesin og dynein. (Kinesin går fra minus senden mot plus enden, og dynein går motsatt vei).

Kinesin består av to tunge kjeder tvunnet rundt hverandre, og to lette kjeder ved COOH enden.

Amino-enden av proteinene har to globulære hoder med ATPase aktivitet.

Disse globulære hodene bindes til mikrotubulus.

Vesikkelen bindes til COOH enden.



De motoriske proteinene beveger seg langs mikrotubulus ved bruk av ATP:

1. ATP bindes til kinesin \Rightarrow konformasjonsendring av kinesin
2. $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i \Rightarrow$ konformasjonsendring og
3. Kinesin beveger seg langs mikrotubulus
4. ADP og P_i frigjøres \Rightarrow konformasjonen gjenopprettes
5. Det hele gjentas og gir en bevegelse i en retning

d) andre funksjonen til mikrotubulus:

- organiserer cytoplasma i det organeller og vesikler er bundet til mikrotubulus 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
- ansvarlig for at flimmerhår og flageller beveger seg

OPPGAVE 2

a)

i) Proteinet når ER

Hvorvidt proteinet går til ER avhenger av et signalpeptid (består av ca 20 aminosyrer) som utgjør den første sekvensen på peptidkjeden. Se figuren. Dette signalpeptidet gjenkjennes av en signal-gjenkjenkende partikkel (SRP), som binder seg til signalpeptidet. SRP sirkulerer mellom cytosol og membranen på ru ER. Proteinsyntesen stanser så lenge SRP er bundet til signalpeptidet (skyldes sannsynligvis at partikkelen blokkerer for bindingsstedet for neste t-RNA). SRP fører ribosomet med peptidkjeden som har signalpeptidet 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. Mekanismen for hvordan SRP løsner er dårlig kjent, antar at hydrolyse av GTP er involvert. SRP har bindingssted for GTP.

Proteinet passerer ER membranen:

Proteinet passere gjennom en kanal assosiert med reseptoren for signal-gjenkjenkende partikkel. Poren er dynamisk: åpnes når ribosom med polypeptidkjeden 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" signalpeptidet av ved en peptidase. Peptidet har en signalsekvens som gjenkjennes av peptidasen. Proteinene folder seg deretter til sin native form. Se figuren.

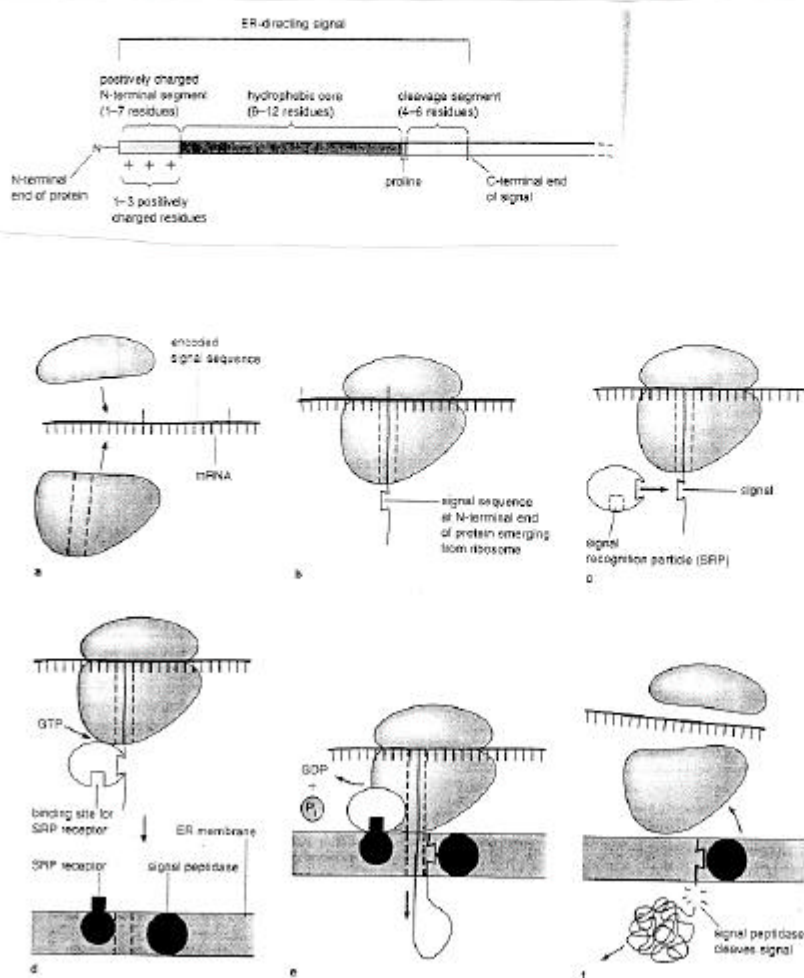


Figure 20-8 The signal mechanism directing proteins to the ER (see text).

ii) Proteinet når mitochondria

- Proteiner som skal til mitochondria har en signalsekvens på aminoenden av polypeptidkjeden. Signalsekvensen (lengre enn signalsekvensen for ER, ca 70 aminosyrer) består av noen positivt ladete aminosyrer, etterfulgt av en amfipatisk sekvens. Den amfipatiske sekvensen består ofte av ca 20-25 polare og upolare aminosyrer som kan danne en helix som strekker seg gjennom membranen. Se figuren (20-13). Hvis proteinet skal til andre deler av mitochondria enn matrix rommet etterfølges den første signalsekvensen av en annen signalsekvens.

- Protein med signalpeptid for mitochondria bindes til chaperone for å forhindre at proteinet foldes helt opp, slik at det lettere kan passere membranen.

- Signal sekvensen gjenkjennes av en reseptor (MOM=Mitochondria Outer Membrane) på den ytre membranen som omslutter mitochondria.

Proteinet passerer membranene

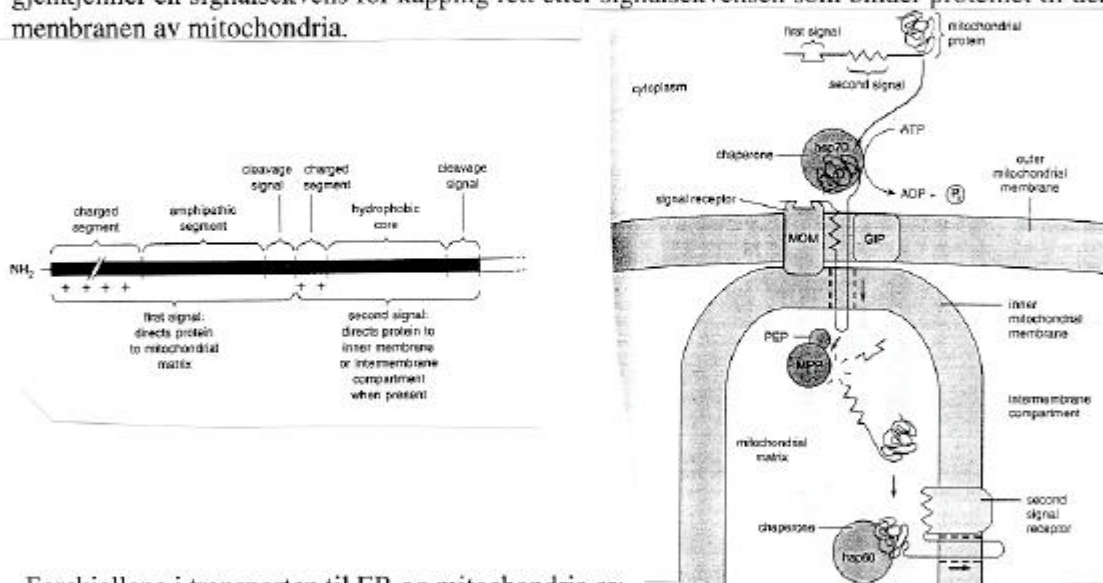
Proteinet transporteres inn i matrixrommet gjennom spesielle kontaktpunkter mellom den ytre og indre membranen.

- Reseptorene overfører proteinet til et annet protein "general insertion protein (GIP)" som danner en kanal gjennom den ytre membranen. Andre protein fortsetter kanalen gjennom den indre membranen.

- Transporten gjennom proteinkanalene krever ATP, idet proteinet (delvis foldet) må foldes opp.

- Chaperoner både i cytosol og i matrixrommet bidrar til å transportere proteinet gjennom kanalen og til å folde det riktig i matrix rommet.

- Før proteinet kan foldes kapper en peptidase i matrixrommet signalsekvensen av. Peptidasen gjenkjenner en signalsekvens for kapping rett etter signalsekvensen som binder proteinet til den ytre membranen av mitochondria.



Forskjellene i transporten til ER og mitochondria er:

1. Proteiner som skal til ER gjenkjennes av signal-gjenkjennende partikkel, og transporteres til ER ved SRP. Proteinet har bare så vidt begynt sin syntese, signalsekvensen er syntetisert, når dette skjer. Det er SRP som har reseptor på ER membranen, ikke signalsekvensen. Proteiner som skal til mitochondria syntetiseres helt ferdig. Det er signalsekvensen som bindes til en reseptor på den ytre membranen av mitochondria.
2. I ER cotranslokteres proteinet, dvs det syntetiseres mens det passerer membranen. Krever derfor ikke ATP for og foldes opp og passere membranen. Proteiner som passerer mitochondria membranen er delvis foldet, og krever ATP for å passere.

OPPGAVE 3

a) Aktivering av det 2. budbærer systemet 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.

Glucagon binder seg til sin reseptor på cellens plasmamembran

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

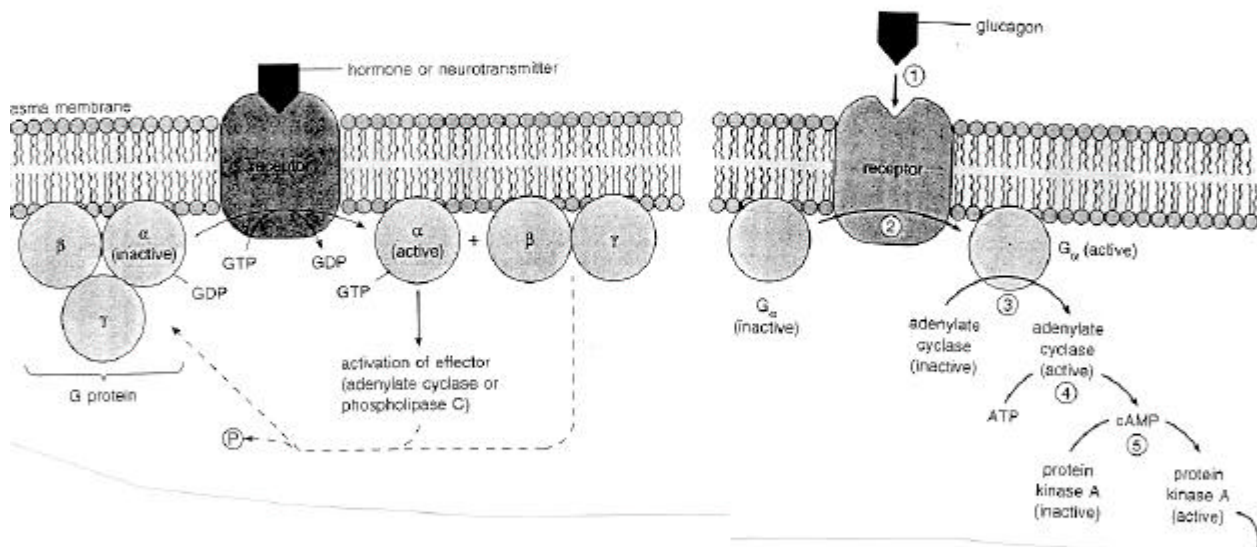
⇒ α -kjeden løsner fra resten av G proteinet og bindingsstedet for adenylate cyclase på α -kjeden eksponeres

⇒ α -kjeden bindes til enzymet adenylate cyclase som aktiveres

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

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

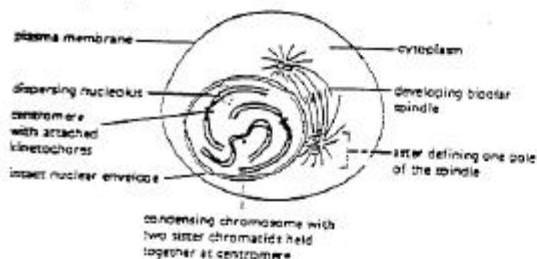
Men så lenge glucagon sitter bundet til sin reseptor er denne aktivert og et nytt GTP vil erstatte GDP. Dvs at så lenge reseptoren er aktivert vil adenylate cyclase være aktiv og produsere cAMP.

Funksjonen til cAMP

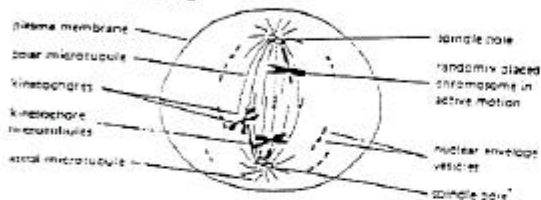
cAMP aktiverer protein kinaser (en gruppe protein kinaser kalt protein kinase A, fordi det er cAMP Avhengige kinaser)

b) CelledelingCelledeling

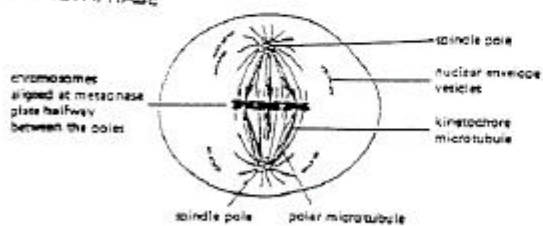
1. - PROPHASE

NUCLEAR ENVELOPE
BREAKS DOWN

2. - PROMÉTAPHASE

CHROMOSOMES MOVE TO
METAPHASE PLATE

3. - METAPHASE

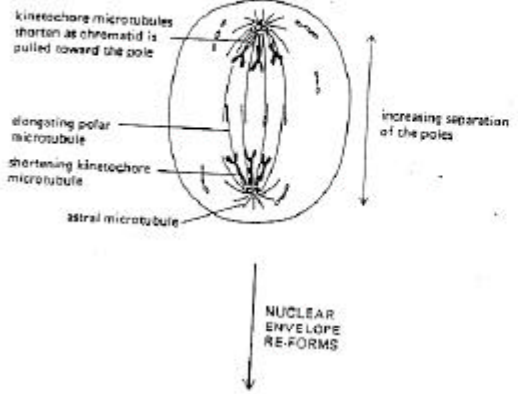
SUDDEN SEPARATION OF
SISTER KINETOCHORES

- 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 kromosomen.

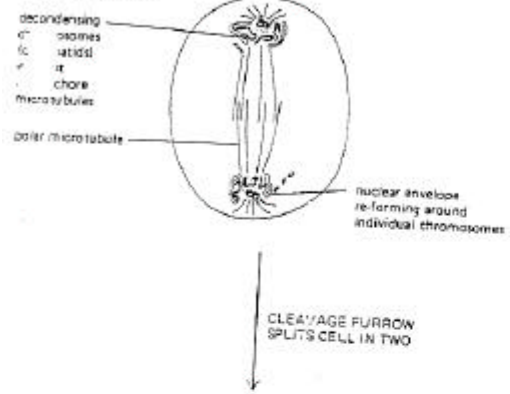
- Kinetochore mikrotubulus plasserer kromosomene i et plan midt mellom spindel potene.

4. ANAPHASE



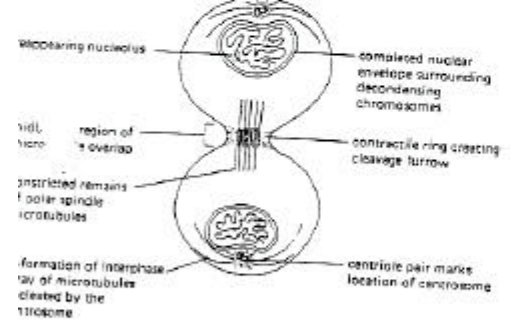
- Kinetochore paret på hver side av kromosomet skilles og trekker kromatidet mot spindel-polen
- kromatidet vender mot.

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, de-kondenseres.
- RNA syntese gjenopptas, nucleolus blir synlig.

6. CYTOKINESIS



- Cytoplasma deler seg.
- 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) Et fremmed antigen presenteres for T helper celler

B-celler gjenkjenner fremmed antigen som bindes til immunoglobulin på overflaten.

Antigen/antistoff komplekset tæs inn i cellen ved endocytose. I endocytotiske vesikler brytes antigenet ned i fragmenter av proteolytiske enzymer. Vesikler med ny-syntetisert MHC klasse II molekyler (MHC=MajorHistoCompatibility, på norsk vevsforlikelighetsantigener) (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 molekyler og transporteres til celleoverflaten i vesikkelen. Vesikkelen smelter sammen med plasmamembranen slik at MHC klasse II molekyler med antigen-fragmenter befinner seg på celleoverflaten. I denne formen når antigenene er bundet til MHC klasse II molekyler, kan T helper celler gjenkjenne antigenen

T_{helper} celler aktiveres

ved at T celled reseptor bindes til MHC klasse II molekyler på overflaten av B celler. MHC klasse II molekyleret 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 molekyleret.

Aktivering av T_{helper} celler krever også et annet signal: enten ved interleukin (IL-1) som skiller ut av antigen presenterende B-celle, eller ved binding mellom B7 på overflaten av antigen presenterende celle og CD28 på T_{helper} celle.

Aktiverte T_{helper} celler skiller interleukin IL-2, og reseptorer for IL-2 syntetiseres på overflaten av T_{helper} celler, og T_{helper} cellene deler seg.

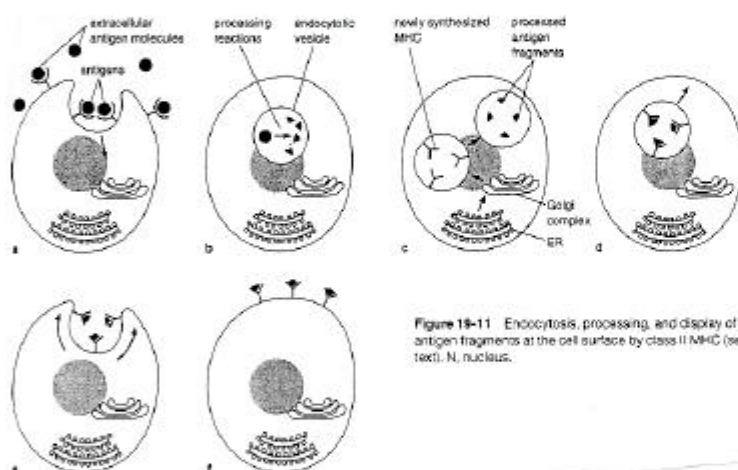
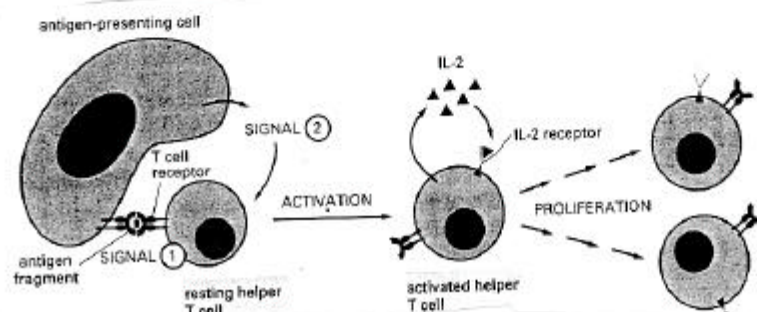
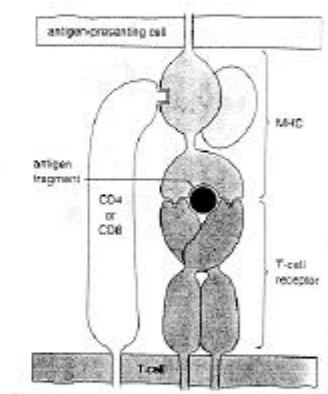


Figure 19-11 Endocytosis, processing, and display of antigen fragments at the cell surface by class II MHC (see text). N, nucleus.



b) B celle aktivering og antistoff angrep

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.

Antistoff angrep

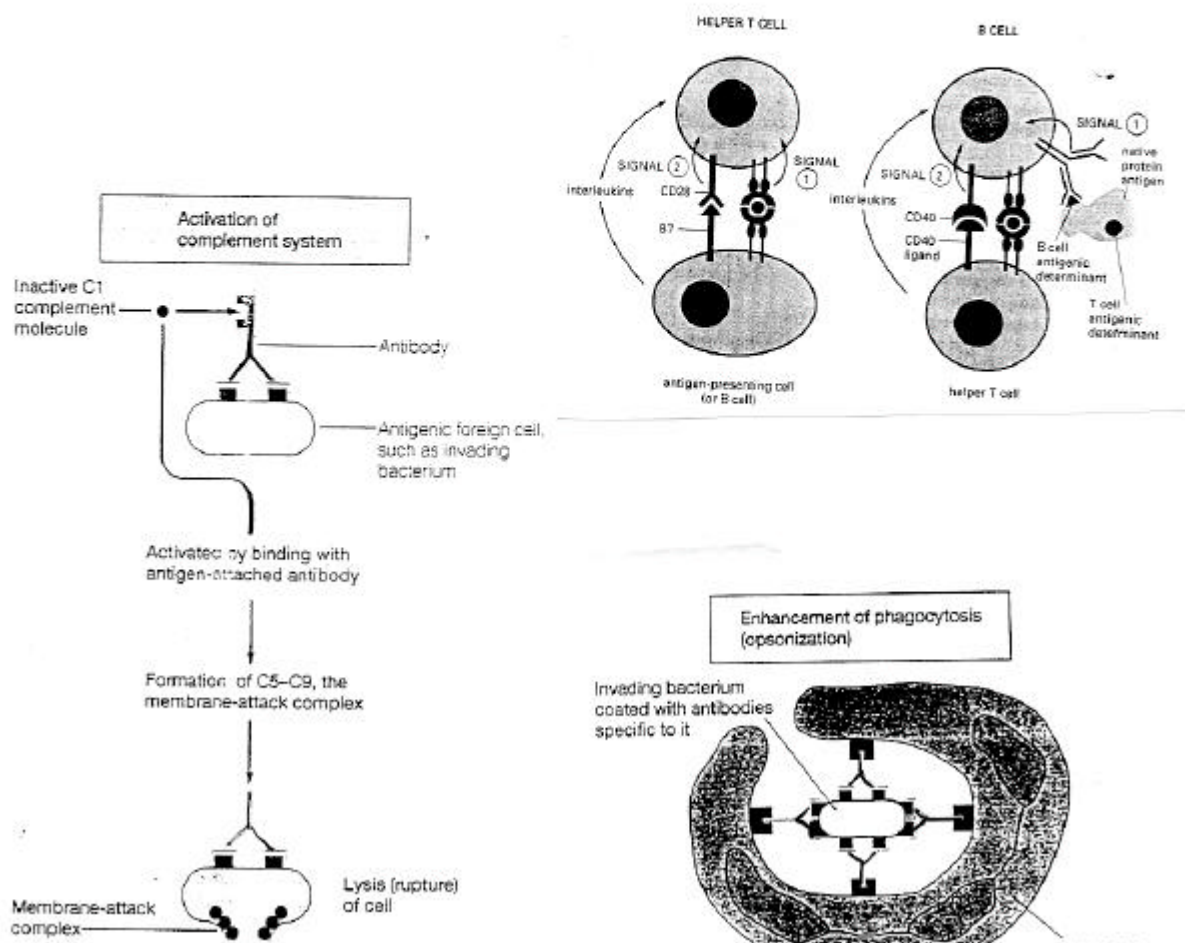
Antistoffene sirkulerer i blodbanen. Når de møter bakterier med antigen som genererte immunresponsen vil bakteriene angripes ved en av følgende mekanismer:

i) Aktivering av komplement systemet:

Antistoffet bindes til antigen på overflaten av bakterien. Protein C1 i komplementkaskaden bindes til Fc delen av antistoffet. Dette igangsetter komplementkaskaden der sluttproduktet er dannelse av en proteinkanal (membrane-attack-kompleks). Proteinkanal 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).

ii) Aktivering av antistoff-mediert fagocytose:

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



STUDENTNR.....
FAKULTETNR.....

Oppgave 4 (Vekttall 2)

- a) Forklar hvordan et fremmed antigen presenteres for T helper celler, og hvordan T helper celler aktiveres. (Vekttall 1)
- b) Forklar hvordan B celler aktiveres, og beskriv to mekanismer for hvordan antistoffer kan bidra til at bakteriene som aktiverte immunsystemet drepes. (Vekttall 1)

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) 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) Desmosomer er forankret på cytoplasmatisk side til:
Aktin-filament
Mikrotubulus
 Intermediært filament
- d) Transmembran proteiner som er ansvarlige for celle-celle kontakt, kaller:
 Cadheriner
Lektiner
Integriner
- e) Vev tåler og utsettes for strekk-krefter på grunn av:
Aktin
 Collagen
Glycosaminoglycaner
- f) Vev tåler og utsettes for trykk-krefter på grunn av:
Aktin
Collagen
 Glycosaminoglycaner

STUDENTNR.....
FAKULTETNR.....

- g) Cellens amøbeliknende bevegelse skyldes:
 Aktinfilament
Mikrotubulus
Intermediært filament
- h) Hovedfunksjonen til Golgi apparatet er:
Syntetisere proteiner
 Modifisere proteiner
Resirkulere proteiner
- j) Hovedfunksjonen til lysosomer er:
Syntetisere proteiner
Modifisere proteiner
 Resirkulere proteiner
- k) Vesikler som transporterer proteiner selektivt er omgitt av:
Laminin-kappe
 Klatrin-kappe
Coatamer-kappe
- l) Ved transkripsjon endrer histonene seg ved:
Metylering
 Acetylering
Fosforylering
- m) Gen regulerende proteiner binder seg til DNA sekvensen:
 CAAT
TATA
AUG
- n) RNA syntetiseres i:
Ribosomer
 Nucleolus
Nucleosomer
- o) RNA syntetiseres gjennom celledylingen i:
 Hele interfase
S-fasen
G1-fasen
- p) Ved celle-mediert immunforsvar, utføres immunangrepet av:
 Cytotoksiske T-celler
Makrofager
Neutrofiler