

Besvarelse eksamen TFY 4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk 28 mai 2004

Oppgave 1

a) Transport av elektriske signal

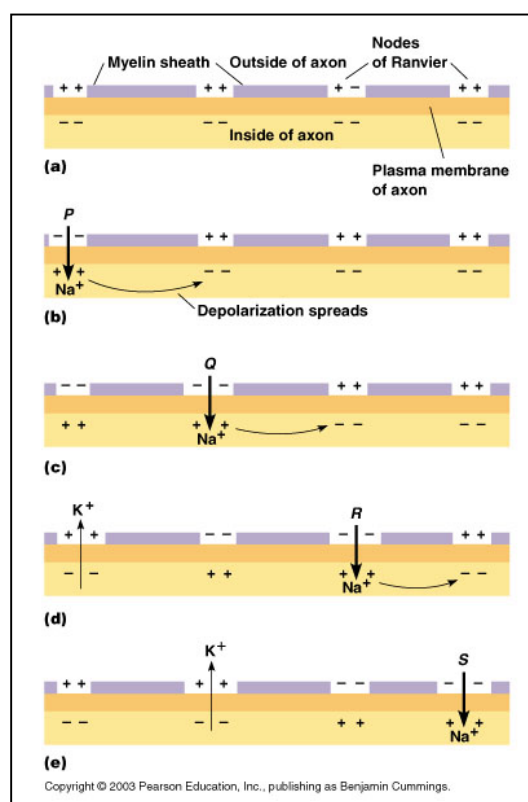
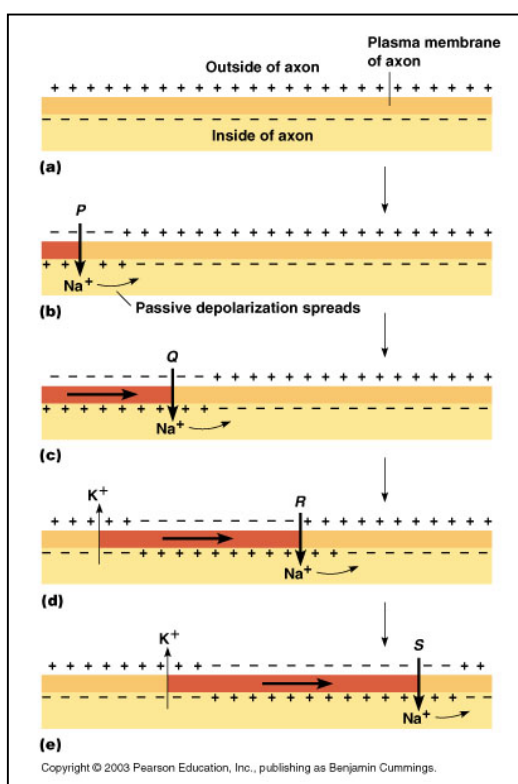
Aksjonspotensialet transporteres ved at et segment av axonet der aksjonspotensialet dannes depolariseres idet Na^+ transporteres inn cellen, dvs innsiden av plasmamembranen blir mer positiv og utsiden mer negativ. Dette fører til ionestrømmer langs membranen på utsiden og innsiden av membranen mellom det depolariserte området til omkringliggende områder som dermed depolariseres. På innsiden av plasmamembranen går positive ioner fra det depolariserte området til nasegment av membranen. På utsiden av membranen i motsatt retning. Dersom depolariseringen er større enn terskelverdien som kreves for å danne et aksjonspotensial dannes aksjonspotensialet.

Aksjonspotensialet transporteres videre ved at neste segment depolariseres av ionestrømmer som strømmer til/fra området.

Aksjonspotensialet transporteres kun en vei fordi et område som allerede er depolarisert er refrakt en kort periode og lar seg ikke depolarisere i denne perioden.

Amplituden av aksjonspotensialet forblir konstant nedover axonet. Dersom terskelverdien for å danne aksjonspotensial passeres er amplituden av aksjonspotensialet bestemt.

Fordelen med myelin er at aksjonspotensialet transporteres mye raskere. I området med myelin dannes ikke aksjonspotensialet, kun i Ranvier knutene mellom myelin laget som har en utstrekning på 1-2 mm. Aksjonspotensialet "hopper" altså fra Ranviers knute til neste Ranviers knute slik at færre områder langs axonet trengs å depolariseres og færre aksjonspotensial dannes.



b) Kjemisk synapse mellom to neuroner:

Aksjonspotensialet når axonterminale og depolariserer denne.

⇒ spenningsfølsomme Ca^{2+} kanaler i plasmamembranen åpnes og Ca^{2+} strømmer inn i axonterminalen med sin konsentrasjonsgradient. Konsentrasjonen av Ca^{2+} i axonterminalen stiger

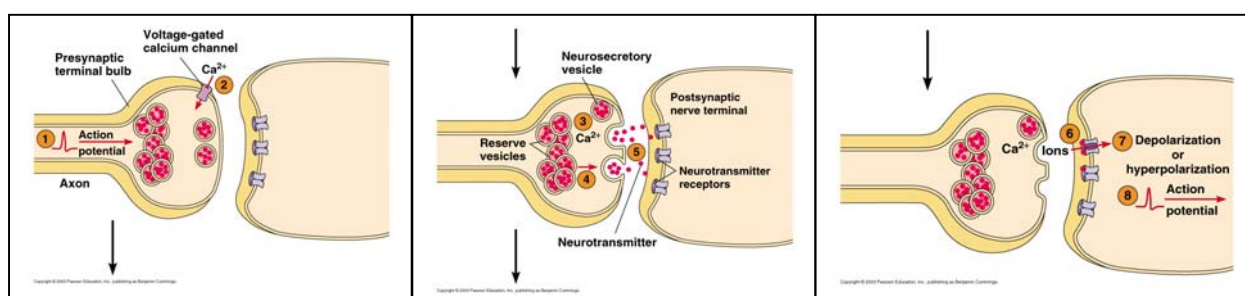
⇒ vesikler som inneholder neurotransmitter beveger seg til cytoplasmatisk side av plasmamembranen ved synapsen.

Vesiklene er festet til cytoskjelettet og beveger seg langs dette, frigjøres så fra cytoskjelettet og festes til et proteinnettverk på cytoplasmatisk side av membranen.

Vesiklene tømmer sitt innholde ut i den synaptiske kløften ved eksocytose

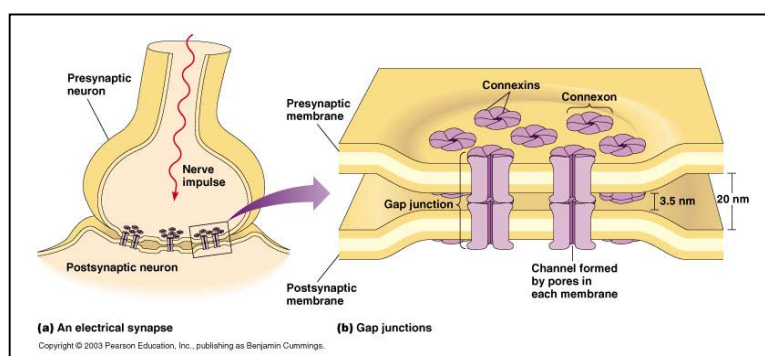
⇒ neurotransmittoren diffunderer over synapsen og binder seg til reseptor-operative ionekanaler på nabo-neuronet

⇒ Ionestrøm inn/ut av nabo-neuronet som depolariseres og aksjonspotensial dannes.



Hovedforskjellen på kjemisk og elektrisk synapse er at ved kjemisk synapser må en neurotransmitter diffunderer mellom neuronene som har en viss avstand mellom seg.

Ved elektrisk synapse er cytoplasma i de to nabocellene i direkte kontakt med hverandre. Gap junction er en proteinkanalen består av 4-6 transmembranproteiner som danner en såkalt connexon. Connexon i to naboceller er plassert slik at de danner en kanal mellom cellene. Fordelen ved elektrisk synapse er at den er raskere enn kjemisk synapse pga av den direkte kontakten mellom de to cellene. Denne type synapse finnes i muskelvev som hjertemusklatur og glatt muskulatur der hele muskulaturen må kontrahere samtidig. Gap junction sørger for rask depolarisering av alle muskelcellene.



c) Tett kontaktpunkt: Sammensmelting mellom plasmamembranproteiner på to naboceller.

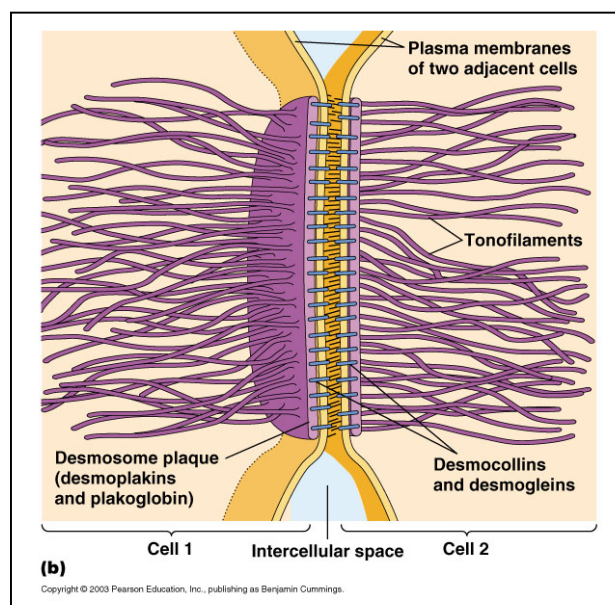
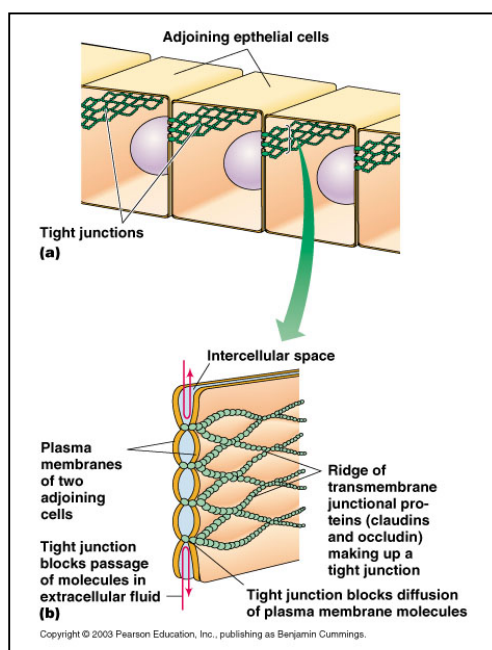
Opptrer ofte i serie, dvs sammensmelting mellom en rekke plasmamembran proteiner slik at det blir vanskeligere å trenge gjennom en slik kontaktpunkter. Funksjon: fungerer som barrierer mellom to kjemisk forskjellige områder. Finnes mellom epitelceller som danner et epitelcellelag

Stoffer som skal passere epitelcellelaget må passere gjennom cellene ikke mellom dem. Transporten gjennom cellene kan reguleres. Epitelcellelag finnes blant annet i: tarmkanalveggen fungerer som en barrierer mellom traminnholdet og blodet. I huden, i veggen av nyrenes rørsystem.

Forankringskontaktpunkt: To naboceller er forbundet via cellens cytoskjelett. Cellen cytoskjelett 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 cytoskjelettet. Finnes to hovedgrupper av forankringskontaktpunkter: Adherens og desmosomer der det er henholdsvis aktin filamentet og intermediært filament som inngår.

Funksjon: Tåler store mekaniske strekk-krefter. Finnes i vev som utsettes for slike påkjenninger som for eksempel hud og mellom hjertemuskelceller.

Cellene fungerer som en enhet.



Oppgave 2

a) Intracellulær signaloverføring

Aktivisering av tyrosin kinase reseptoren

Signalmolekyl bindes til ekstracellulær del av tyrosin kinase reseptoren. Reseptoren er et enkelt transmembran segment (ikke multipass protein)

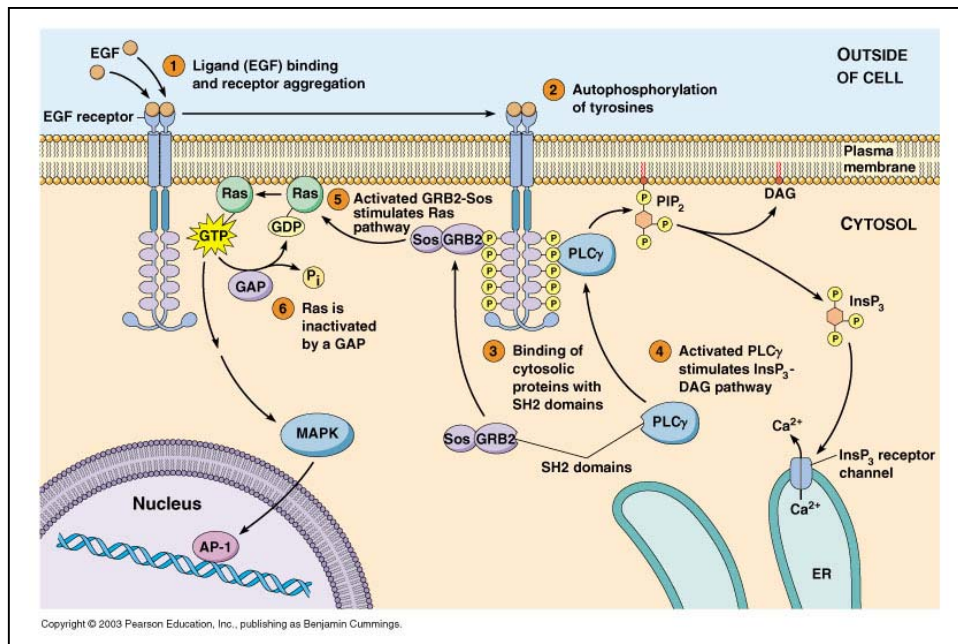
⇒ to reseptorer danner en dimer

⇒ kontakt mellom de intracellulære domenen av reseptorene slik at deres kinaser aktiveres og de kan fosforylere hverandre. (Fosforyleres på aminosyren tyrosine derav navnet)

De fosforylerete tyrosinene fungerer som spesifikke bindingssteder for ulike intracellulære signal proteiner. Signal proteinen igangsetter en kaskade av intracellulære hendelser. Ulike tyrosin kinase reseptorer aktiverer ulike intracellulære proteiner.

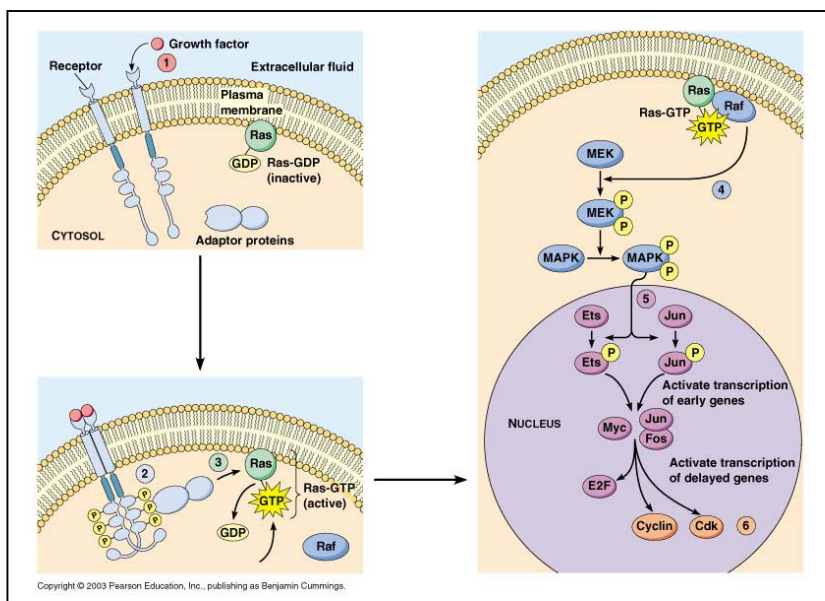
Aktivering av Ras:

Et vanlig intracellulært signal protein er et såkalt adaptor protein 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. Proteinene som bindes til fosforylert tyrosine, aktiverer Ras-aktivering protein som fjernes GDP fra Ras slik at GTP kan bindes. Ras-GTP er aktivt inntil GTP hydrolyseres til Ras-GDP.

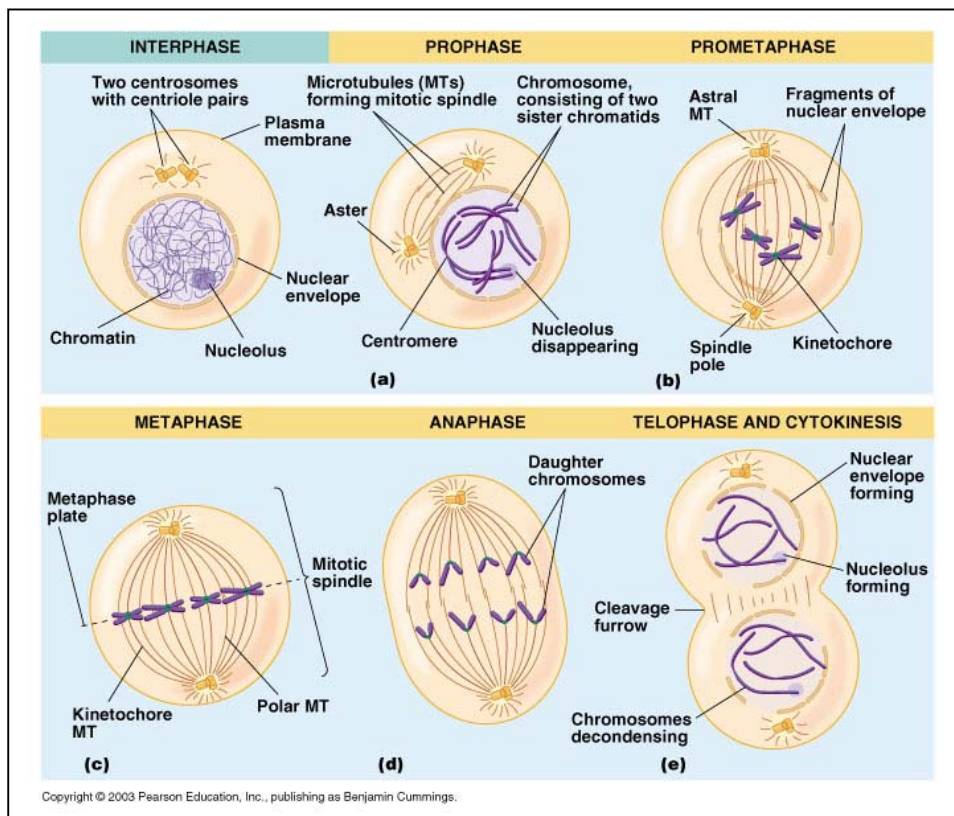


Aktivering av genregulerende proteiner

Ras-GTP aktiverer genregulerende proteiner ved å aktivere en kaskade av kinaser. Den siste kinasen fosforylerer genregulerende proteiner slik at de aktiveres og endrer transkripsjonen. (for eksempel ved å aktivere cyclin).



b) Celledeling



Profase:

- Kromatin kondenseres
- Mitotisk spindel apparat begynner å dannes
- Nukleolus forsvinner

Prometafase:

- Fosforylering av kjernelamina som trigger nedbryting av kjernekonvolutten som danner vesikler
- Spindel mikrotubulus går inn i kjerneområdet
- Proteinkomplekset kinetochores settes sammen på DNA sekvensen centromer og fester seg til noe av spindel mikrotubulus. Denne delen av mikrotubulus kalles kinetochores mikrotubulus

Metafase:

- Kromosomene plasseres i planet midt mellom spindelpolene.
- Antar at dette skyldes kinetochores mikrotubulus som drar i kromosomene og/eller at astral mikrotubulus skyver kromosomene fra spindelpolene.

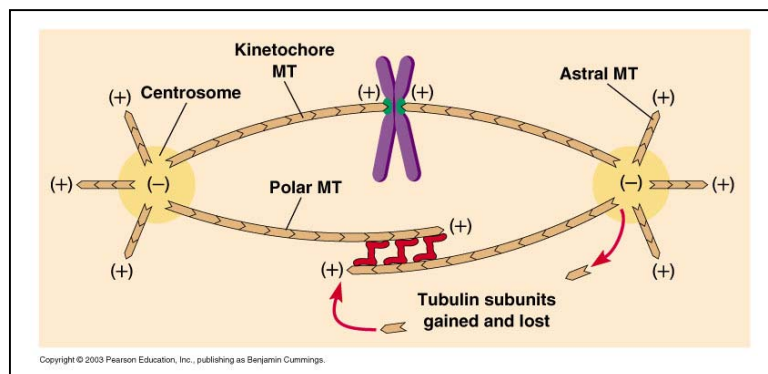
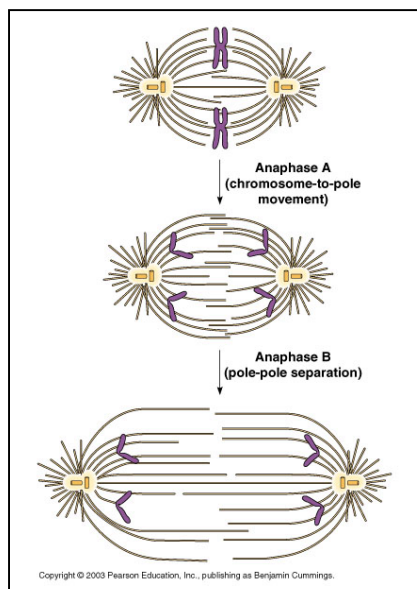
Anafase:

Anafase A:

- Hver kromatid tråd trekkes mot sin spindelpol ved at mikrotubulus depolymeriserer ved kinetochores. Motor proteiner beveger seg langs mikrotubulus mot spindelpol, og mikrotubulus depolymeriserer når motorproteinene har passert.

Anafase B:

- De to spindelpolene går lenger fra hverandre. Modell for mekanismen: Polart mikrotubulus glir langs hverandre ved hjelp av motor proteiner. Det fører til en kraft som presser spindelpolene fra hverandre. En annen modell er at astralmikrotubulus forankret til cellens cortex via motoriske proteiner drar i spindelpolene.



Telofase:

- Datter kromatidtrådene når spindelplene og kinetochore mikrotubulus forsvinner.
- Ny kjernekonvolutt dannes rundt hver gruppe av datter kromatidtråder. Igansettes ved defosforylering av kjernelamina
- De kondenserte kromatidene dekonteres
- Nukleoli dannes

Cytokinesen:

- starter i anafasen
- Cytoplasma deler seg ved at plasmamembranen rundt midten av cellen vinkelrett på spindelaksen trekkes sammen slik at cytoplasma og organeller/organellefragmenter deles i to. Det er en kontraktile ring av aktinfilament med myosin som ligger rett under plasmamembranen som er ansvarlig for sammentrekningen eller avkneppingen.

c) Cellens cytoskjelett

Lokalisering av filamentene:

-Aktin-filament organisert på 3 måter:

- a) befinner seg like under plasmamembranen. Danner et løst nettverk kalt cellens cortex som er festet i plasmamembranen,
- b) finnes i fingerliknende utstikkere kalt mikrovilli.
- c) lokalisert i kontraktile fibre i muskelceller og som stressfibre

- *Mikrotubulus* organisert på to måter:
 - a) *Cytoplasmatisk mikrotubulus* befinner seg nærmere kjernen. Minus-enden er festet i centrosomen nær kjernen, og mikrotubulus strekker seg ut over i cytoplasma fra centrosomem.
 - b) Mikrotubulus befinner seg også i flimmerhår (cilier) og flageller.

- Intermediært filament befinner seg to steder i cellen:
 - a) under cellens cortex og innover mot kjernen
 - b) danner kjernelamina på innsiden av kjenekonvolutten

Funksjonene:

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

- *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.

- *Cytoplasmatisk mikrotubulus:*
- 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

- *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.

Oppgave 3: Immunologi

a) Antigen presentasjon

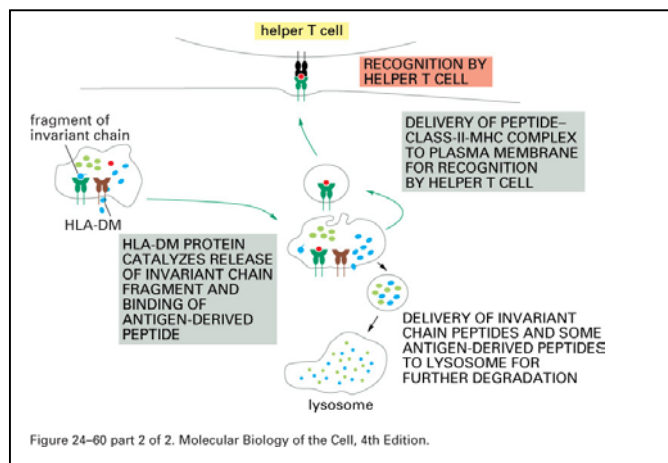
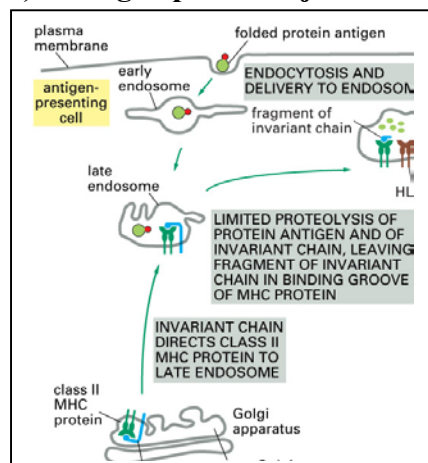


Figure 24-60 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

- Bakterien eller bakterielt antigen tæs inn i antigen presenterende celle ved fagocytose eller endocytose og når endosomer
- Dersom T celle reseptor på T hjelpecellen skal kunne gjenkjenne det fremmede antigenet må det være bundet til MHC klasse II proteiner. Disse proteinene syntetiseres i ER og transporteres via Golgi apparatet til endosomet der bakterielt antigen kan bindes til det.
- MHC klasse II har en peptidkjede kalt invariant kjede bundet til. Denne kjeden har to funksjoner: Den forhindrer at andre proteiner i ER eller Golgi bindes til MHC og den hjelper til med å dirigere vesiklene med MHC til endosomet.
- I endosomer eller lysosmer brytes invariant kjeden ned og fragmenter av bakterielt antigen bindes til MHC klasse II.
- MHC klasse to med bakterielt antigen transporteres til plasmamembranen i vesikler. MHC klasse II sitter i membranen av vesikkelen og blir dermed sittende i plasmamembranen når vesikkelen smelter sammen med plasmamembranen.

b) Aktivering av T hjelpe celle og B celler

Aktivering av T hjelpecelle:

Aktivering av T hjelpe celle krever to signal:

1. T celle reseptoren på T hjelpe cellen gjenkjenner og bindes til MHV klasse II med bakterielt antigen.

Denne bindingen er svak og stabiliseres av CD 4 på T hjelpecellen som bindes til MHC klasse II

2. Costimulerende protein: Proteinene B7 på antigen presenterende celle bindes til proteinet CD28 på T hjelpe cellen.

Denne bindingen er nødvendig for videre intracellulær signaloverføring. Dersom denne bindingen ikke finner sted vil T hjelpecellen inaktiveres.

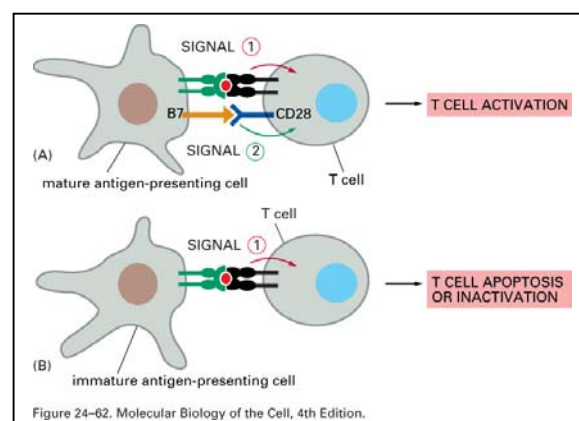
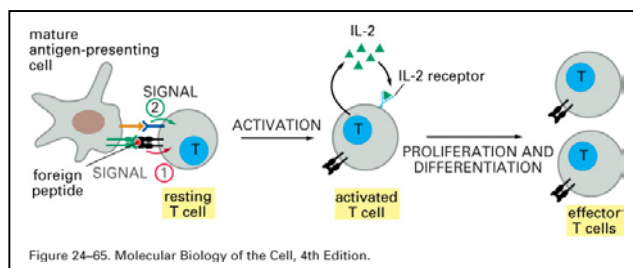


Figure 24-62. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

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

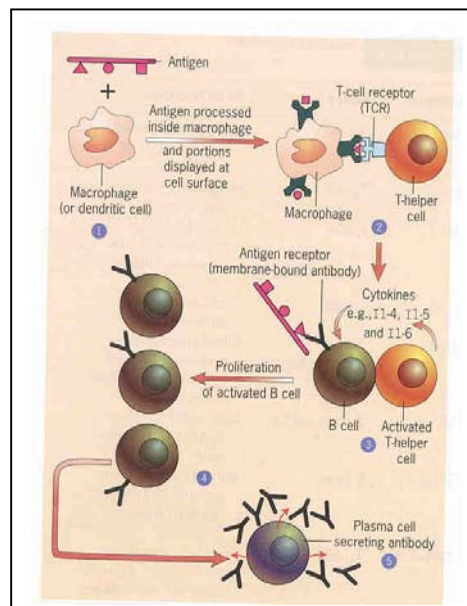
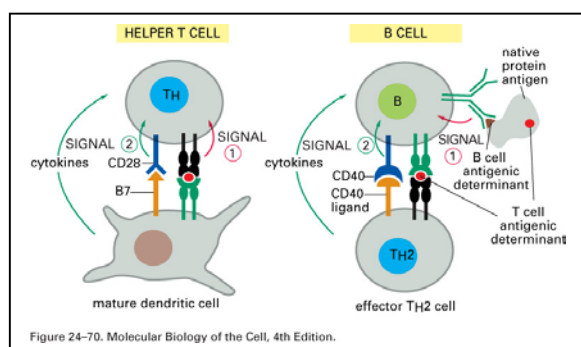


Aktivering av B celler:

Krever to signal:

1. B celler aktiveres av T hjelpeceller som har bundet det samme bakterielle antigenet til sine antistoffer som T hjelpe cellen er aktivert med via binding til MHC klasse II.
2. Proteinet CD 40 på B celler bindes til CD40 ligandet på T hjelpecellen.

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 bakterielle antigenet som genererte immunresponsen.



c) Antistoff angrep

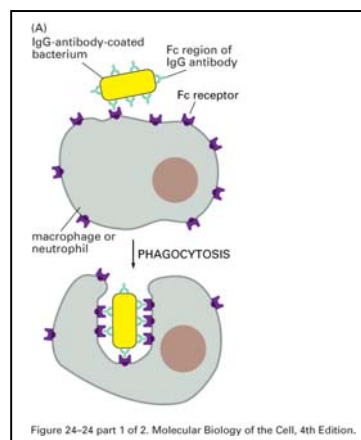
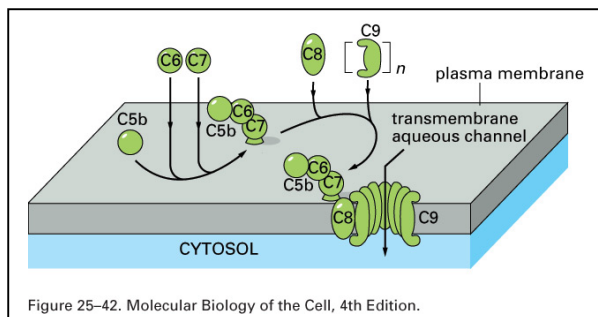
Antistoffene sirkulerer i blodbanen. Når de møter bakterier med antigen som genererte immunresponsen vil bakteriene angripes ved en av følgende mekanismer:

i) Aktivering av komplement systemet:

Antistoffet bindes til antigen på overflaten av bakterien. Proteinet C1 i komplementkaskaden bindes til Fc delen av antistoffet. Dette igangsetter komplementkaskaden der sluttproduktet er dannelse av en proteinkanal. Proteinkanalen 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».



Oppgave 4 (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.

- Karbohydrater på membranen av endoplasmatisk reticulum:
 - finnes ikke
 - vender alltid ut mot cytosol
 - **vender alltid inn mot lumen (det indre) av endoplasmatisk reticulum**
- Følgende molekyl passerer plasmamembranen ved passiv diffusjon:
 - Na^+
 - **Etanol**
 - Mannose
- Hvilket av følgende opptrer ikke ved aktiv transport:
 - **Transport i en retning med konsentrasjonsgradient**
 - Koplet transport
 - ATP-hydrolyse drevet transport
- Du ønsker å detektere karbohydrater på plasmamembranen. Hvilket av de følgende molekylene kan da benyttes:
 - **Lektiner**
 - Cadheriner
 - Integriner
- Kinaser bidrar til:
 - **å skru proteiner av/på**
 - bryte med mRNA ved å detektere polyA halen
 - bryte med ødelagte proteiner

- f) Intracellulær signaloverføring involverer ofte G-proteiner. Disse virker ved direkte å:
- diffundere til endoplasmatisk reticulum og binde seg til Ca^{2+} reseptorer
 - aktivere kinaser
 - **aktivere adenylate cyclase**
- g) Apoptose aktiveres ved:
- Vekstfaktorer bindes til sin reseptor
 - **DNA skade**
 - Antistoff bindes til antigen
- h) Hormoner syntetiseres i:
- Cytosol
 - Golgi apparatet
 - **Endoplasmatisk reticulum**
- i) Proteiner passerer membranene av mitokondrier:
- i en foldet tilstand
 - ufoldet ved ko-translasjon
 - **ufoldet etter at translasjonen er avsluttet**
- j) Transport av proteiner inn i lumen av endoplasmatisk reticulum:
- krever ikke energi
 - **krever energi i form av GTP**
 - Krever energi i form av ATP
- k) v-SNARE deltar direkte i
- dannelse av transportvesikler
 - transporten av vesikler
 - **bindingen av vesikler til target organelle**
- l) DNA må pakkes for å få plass i kjernen. Nivåene av pakking har rekkefølgen:
- **Nucleosomer - kromatin fiber – kromatin løkker – heterokromatin**
 - kromatin fiber – kromatin løkker - nucleosomer – heterokromatin
 - nukleosomer – kromatin løkker – kromatin fiber – heterokromatin
- m) Funksjonen til nucleolus:
- involvert i pakkingen av DNA
 - nedbryting av RNA
 - **dannelse av ribosomer**
- n) Hvilket protein er ansvarlig for at epitelcellelag tåler strekk:
- **keratin**
 - collagen
 - aktin
- o) Glykosaminoglykaner finnes i store mengder i vev som utsettes for:
- **Kompresjon**
 - Strekk

- Lav pH
- p) Et proteoglykan er karakterisert ved:
- en lang polymer uten forgreininger
 - består hovedsakelig av protein
 - ***er omgitt av en sky av positivt ladete ioner***
- q) Funksjonen til collagen er:
- å forankre cellen til ekstracellulær matrix
 - bidra til at vevet tåler å utsettes kompresjon
 - ***bidra til av vevet tåler å utsettes for strekk***
- r) Funksjonen til fibronektin er:
- ***å forankre cellen til ekstracellulær matrix***
 - bidra til at vevet tåler å utsettes kompresjon
 - bidra til av vevet tåler å utsettes for strekk
- s) Ved DNA replikasjon må DNA delvis tvinnes opp. Dette kan skje ved:
- ***acetylering av histoner***
 - protonering av histoner
 - inaktivering av histoner
- t) Når gen regulerende proteiner skal bindes til DNA må:
- DNA- helixen tvinnes helt opp
 - DNA- helixen tvinnes delvis opp
 - ***DNA-helixen kan forbli inntakt***