

Besvarelse eksamen i TFY4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk 6 juni 2008

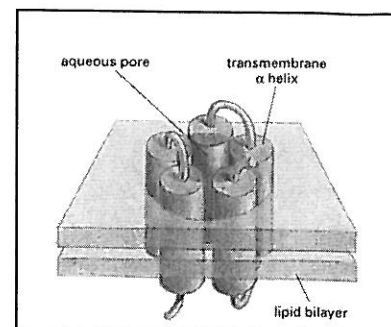
Oppgave 1

a) *Beskriv hvordan transmembran-proteiner som danner en ionekanal organiserer seg/orienterer seg i dobbellipidlaget*

Transmembran proteinene som danner veggen av ionekanal er amfipatiske og de hydrofobe sekvensene danner en alfa-helix som utgjør veggen i ionekanal mens hydrofile sekvenser befinner seg ekstracellulært eller i cytosol. Veggene består enten av flere individuelle transmembran-proteiner som strekker seg en gang over membranen eller såkalt multipass proteiner som strekker seg mange ganger over membranen.

Alfa-helixene er orientert med sine hydrofile sidegrupper pekende inn i kanalen og hydrofobe aminosyrer inn i dobbeltlipidlaget.

På denne måten dannes en hydrofil kanal. Se figur



b) *De tre typer ionekanaler er:*

1. reseptor/ligand operative

Åpnes/lukkes ved at en ligand (f.eks. hormon, neurotransmittor) bindes til sin reseptor på plasmamembranen

Finnes på nerveceller, epitelceller i nyrer

2. spennings operative

Åpnes/lukkes når membranpotensialet over plasmamembranen endres

Finnes på nerveceller, muskelceller

3. Mekaniske/strekkfølsomme

Åpnes/lukkes når plasmamembranen utsettes for mekanisk stress.

Finnes på muskelceller, hårceller i indre øret

c) *Transport over ionekanal*

Ioner diffunderer passivt gjennom ionekanalene og drives av den elektrokjemiske gradient, dvs ionets konsentrasjonsgradient og den elektriske gradient over membranen. (Den elektriske gradienten skyldes forskjellen i den totale ione-sammensetningen ekstracellulært og intracellulært og danner membranpotensialet).

Ionet vi diffunderer med sin konsentrasjonsgradient.

Den elektriske gradienten kan enten bidra til ionetransporten eller virke mot

konsentrasjonsgradienten, avhengig av ionets ladning. Den elektriske gradienten driver positive ioner over membranen og inn i cellen og motvirker diffusjonen av positive ioner ut av cellen.

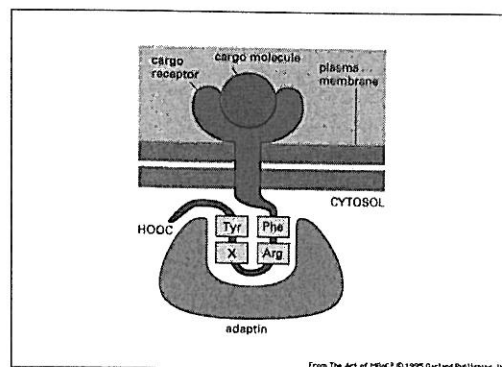
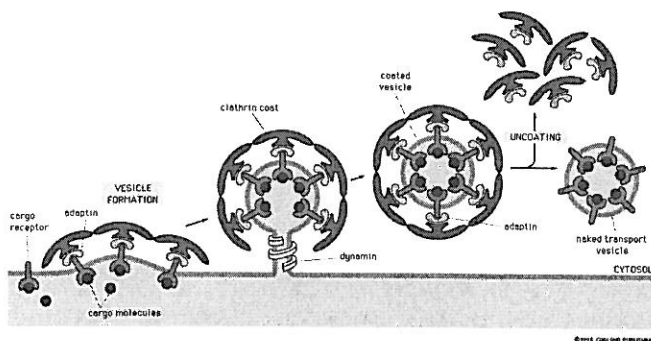
Oppgave 2

a) *Dannelse av vesikkel:*

Vesiklene er omgitt av en protein-kappe. Vesikler med proteiner som har et bestemt bestemmelsessted (i dette tilfellet et hormon som skal skilles ut av cellen) er dekket av proteinet klatrin. Protein-kappen framskaffer krefter nødvendig for å bøye membranen slik at vesikkelen kan dannes.

Molekylene som skal transporteres bindes til sin reseptor i membranen på organellen. Proteinene adaptin binder seg spesifikt til karboksylhalen av reseptoren og sørger for at molekylene som skal transporteres i vesikkelen kommer i vesikkelen. Adaptin har bindingssted for reseptoren og for klatrin. Klatrin som er et stort flerarmet protein, bindes til adaptin og sørger for at de nødvendige krefter for å bøye membranen slik at en vesikkel kan dannes, produseres.

Det siste trinn i prosessen med å danne vesikkel er et lite GTP-bindende protein kalt dynamin ansvarlig for. Dynamin er som en ring rundt "halsen" på vesikkelen og ved hydrolyse av GTP kneppes vesikkelen av.

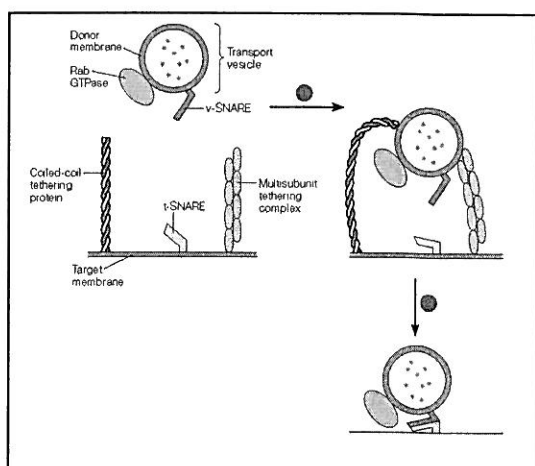


b) Vesikler gjenkjenner og bindes til sitt bestemmelsessted.

Vesikkelen har på sin overflate en markør kalt v-SNARE som gjenkjenner og binder seg til den komplementære reseptoren t-SNARE på bestemmelsesstedet. Proteinkappen må falle av før av og t-SNARE bindes.

I tillegg har mål-membranen såkalte tjøringsproteiner som bidrar til at vesikkelen fanges opp av målmembranen.

Proteinet Rab sikrer at riktig v-SNARE og t-SNARE bindes. Rab er en GTPase.



Oppgave 3

a) Collagen funksjon og struktur

Funksjon: Gi vevet mekanisk styrke slik at det tåler strekk-krefter.

Collagen struktur: består av 3 α -helix polypeptidkjeder. α -helixen har en aminosyre sekvens karakterisert ved $(\text{Glycine-X-Y})_n$, glycine befinner seg altså i hver 3. posisjon. De 3 α -helixene holdes sammen av hydrogen bindinger. Collagen molekyler går sammen og danner fibre av ulik diameter og lengde. Collagen α -helixer organiseres i fibriller (10-300 nm i diameter) og videre i fibre (flere μm i diameter).

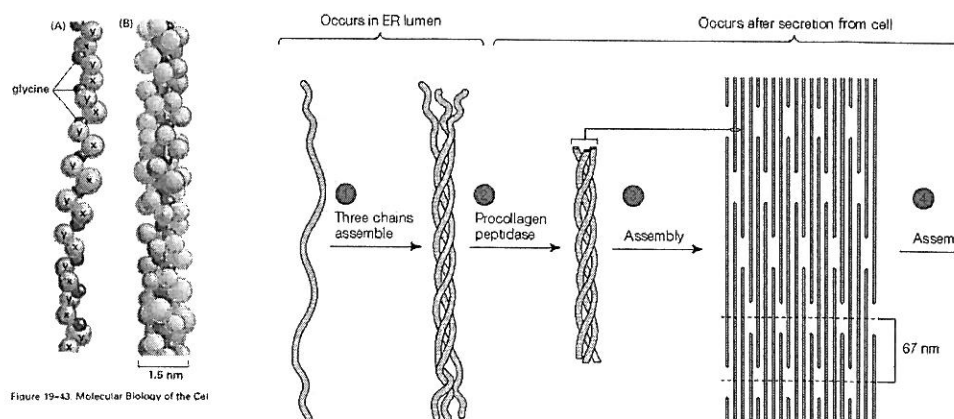
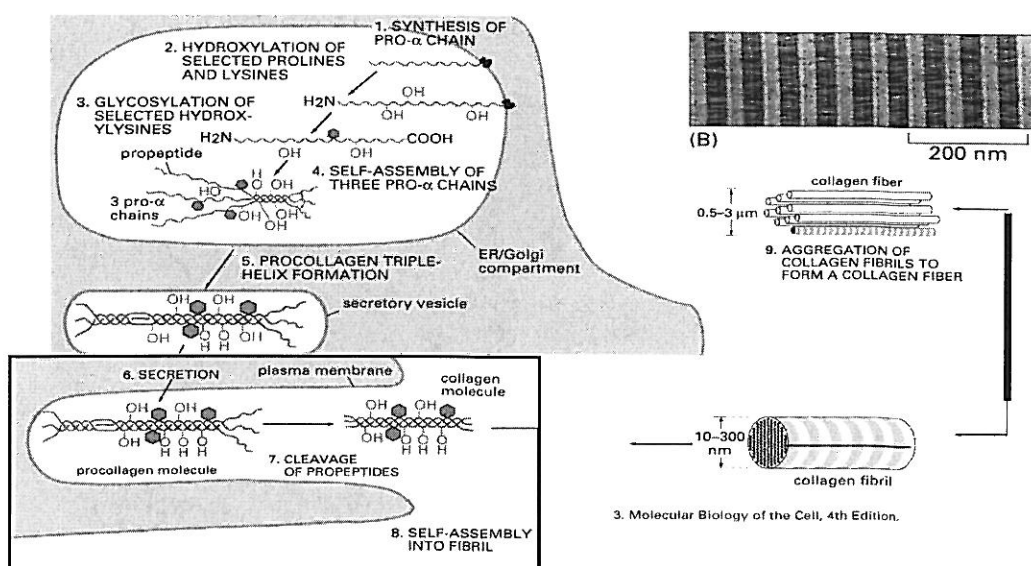


Figure 19-43 Molecular Biology of the Cell

b) Collagen består av tre α -helixer. (Disse syntetiseres på ribosomer som sitter på membranen av ru ER. I lumen av ER går de tre α -helixene sammen og danner procollagen). På begge ender av trippel-helixen befinner deg seg korte peptidkjeder som ikke inngår i helixen. Disse peptidkjeden forhindrer at trippelhelixen kan danne collagen fibriller. Når procollagen skilles ut av cellen vil enzymet procollagen peptidase spalte av de korte peptidkjedne på begge endene, og collagen dannes. Collagen danner spontant fibriller og fibre.

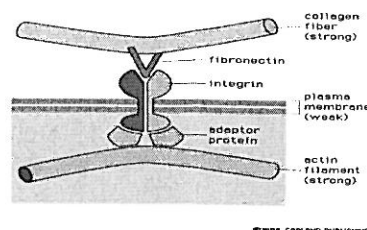
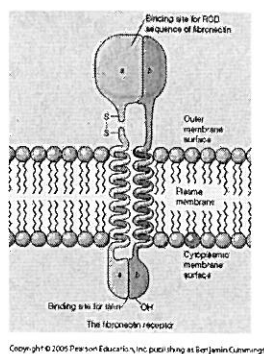
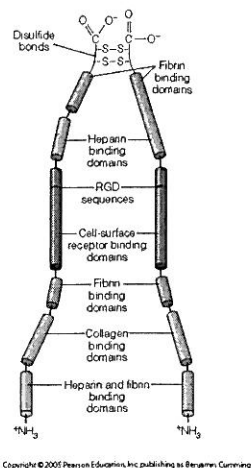


3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

c) *Collagen er forankret til cellen via*

1. collagen reseptor på overflaten av cellen. Slike collagen reseptorer tilhører gruppen av integriner
2. fibronektin reseptor på overflaten av celle. Fibronektinreseptor som er en annen type integrin bindes til fibronektin i ekstracellulær matrix. Fibronektin er et såkalt adhesivt

protein som har flere globulære områder med bindingssted for ulike molekyler deriblant collagen.



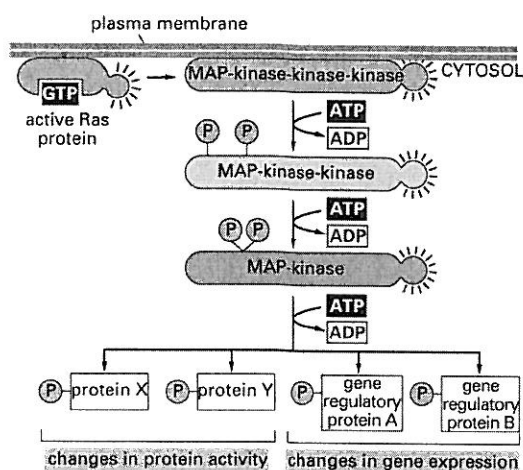
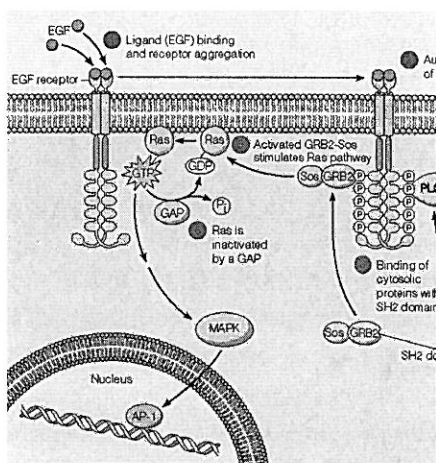
Oppgave 4

Inaktivering av tyrosin kinase reseptor

Når tyrosin kinase ikke aktiveres vil Ras sporet ikke aktiveres. (Proteiner i cytosol som GRB2 kan ikke binde til reseptoren og dermed vil ikke SOS som aktiverer Ras ikke binde til GRB2). Ras proteinet er et G-bindende protein som aktiverer MAPK (Mitogenavhengig protein kinase).

MAPK opptrer i en kaskade der et MAPK aktiverer det neste ved fosforylering som igjen aktiverer det neste ved fosforylering. Dette skjer ikke når tyrosin kinase reseptoren ikke aktiveres.

Når MAPK ikke er aktivert vil nødvendige transkripsjonsfaktorer for celledeling ikke aktiveres. Slike transkripsjonsfaktorer er blant annet ansvarlige for syntese av cyclin og cyclinavhengig kinase. Disse proteinene er nødvendige for celledeling.

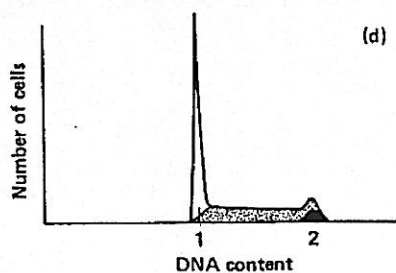


Oppgave 5

a) Finnes 3 sjekkpunkter i cellesyklus:

- sein G1 også kalt restriksjonspunkt, undersøker om cellen er stor nok til å fullføre cellesyklus, om DNA er skadet, og om miljøet som omgir cellen er gunstig med hensyn på vekstfaktorer og næringsstoffer.
- Sein G2/inngangen til mitose, undersøker om alt DNA er replikert, om DNA er skadet, om cellen er stor nok (skal være ca fordoblet i forhold til starten av G1) til å gå inn i mitose.
- utgangen av mitose, i metafase-anafase overgan, undersøker om alle kromosomene ligger i ekvatorplanet midt mellom spindelpolene og at kinetokore-mikrotubulus er bundet til alle kromosomene før kromatidtrådene kan trekkes til hver sin spindelpol.

b) DNA histogram



Et DNA histogram viser antall celler som er registrert langs y-aksen som funksjon av mengde DNA i hver celle langs x-aksen. G2+mitose vil ha dobbelt så mye DNA som G1 og befinner seg dobbelt så langt ute på x-aksen. S-fase celler ligger mellom G1 og G2-mitose toppen. (DNA innholdet er proporsjonalt med mengde fluorescerende fargestoff som er bundet til cellen som igjen er proporsjonalt med mengde fluorescens som er registrert og er tilordnet et bestemt kanalnummer langs x-aksen.)

Oppgave 6

a) Cellesyklus arrest

For å unngå at skadet DNA replikeres sjekkes DNA for eventuell skade før inngangen i S-fase (restriksjonspunktet), i G2 fase og i mitose.

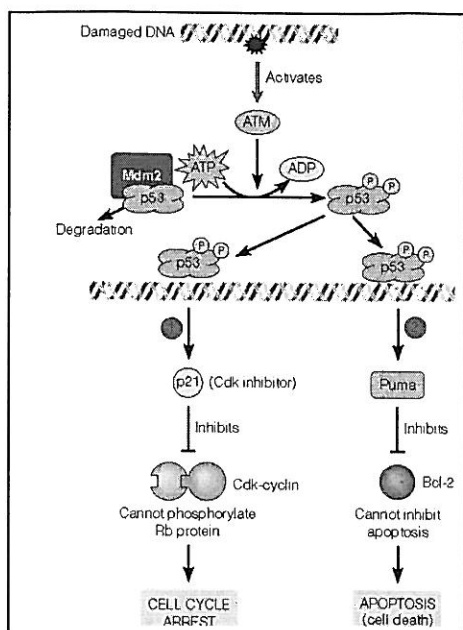
(DNA skade aktiverer en kinase kalt ATM kinase

⇒ Denne kinasen fosforylerer tumor-supressor-proteinet p53. Dette stabiliserer p53 som ellers ville bli merket for degradering via ubiquitin-proteasomet.)

⇒ p53-fosforylert fungerer som en transkripsjonsfaktor og binder seg til DNA der den regulerer transkripsjonen av genet som koder for proteinet p21. p21 er en hemmer av cyklin-avhengig kinase (cdk)

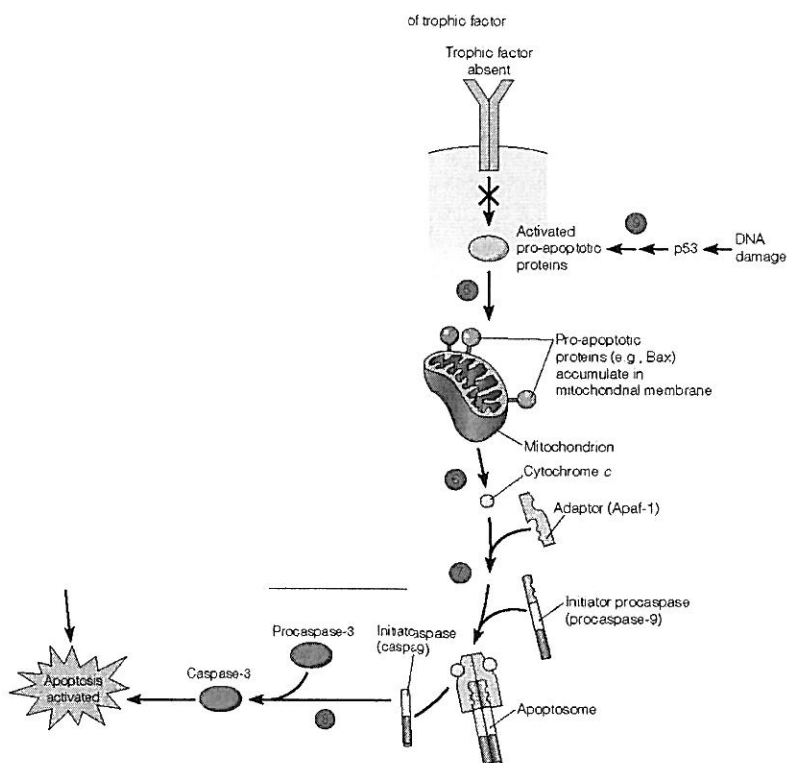
⇒ dannelsen av komplekset cyclin-Cdk hemmes. Slike kompleks er ansvarlige for at cellen kan passerer sjekkpunktene gjennom cellesyklus. Når cyclin-cdk komplekset ikke dannes stanses cellen i cellesyklus.

⇒ cellesyklusarrest



b) Apoptose

Dersom DNA ikke repareres vil cellen gjennomgå programmert celledød/apoptose. Apoptose induisert ved strålingskade er vist i figuren



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings

DNA skade aktiverer p53 som igjen aktiverer såkalte pro-apoptostiske proteiner (eks BAX). Pro-apoptostiske protein akkumuleres i den ytre membranen av mitokondria og trigger frigjøringen av cytochrome C fra mitokondria.

Cytocrome C i cytosol danner komplekser (kalt apoptosem) med andre proteiner (Bindes til adaptorproteinet Apaf-1 som igjen bindes til initiator procaspase/procaspase-9) .
 Proteinkomplekset (apoptosome) aktiverer initiator caspasen (caspase-9)
 Initiator caspasen aktiverer bødde-caspasen (caspase-3) som induserer apoptose
 Apoptose medfører en rekke morfologiske endringer av cellen, kromatin kondenseres, og cellen krymper og apoptotiske "legener" dannes og disse kan fagocytteres.

Opgave 7

a) Dannelse av IP_3

Reseptoren til acetylcholin er en reseptor bundet til et G protein. G proteinet er et stort transmembran protein bestående av 3 subenheter α , β , γ med GDP/GTP bundet til α -subenheten. Når GDP er bundet er G proteinet inaktivt.

Acetylcholine bindes til reseptoren (se figur)

⇒ konformasjonsendring av reseptoren

⇒ bindingstedet for G proteinet eksponeres på cytoplasmatisk side

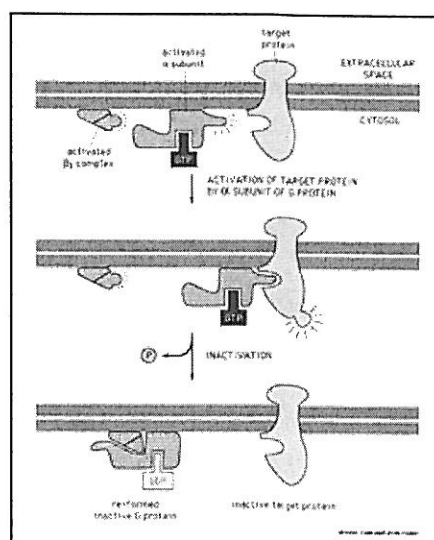
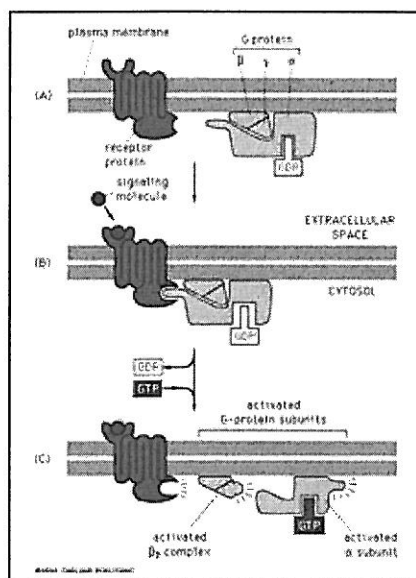
⇒ G protein bindes til reseptoren

⇒ GDP faller av og erstattes med GTP

⇒ subenhetene av G proteinet dissosierer og den aktiverte α enheten diffunderer i plasmamembranen

⇒ α enheten bindes til target proteinet som er fosfolipase C

⇒ fosfolipase C er aktivert



Target protein
=fosfolipase C

Fosfolipase C katalyserer reaksjonen:

Fosfoinositol-bifosfat → diacylglycerol + inositol trifosfat.

Fosfoinositol bifosfat er et fosfolipid i plasmamembranen.

Diacylglycerol forblir værende i plasmemembranen på cytoplasmatisk side

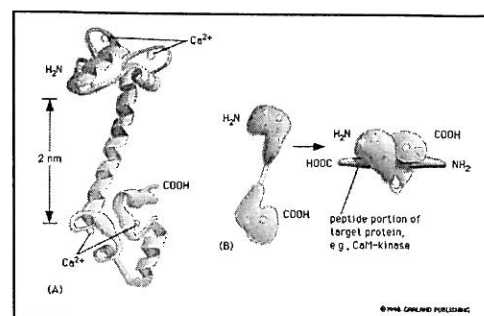
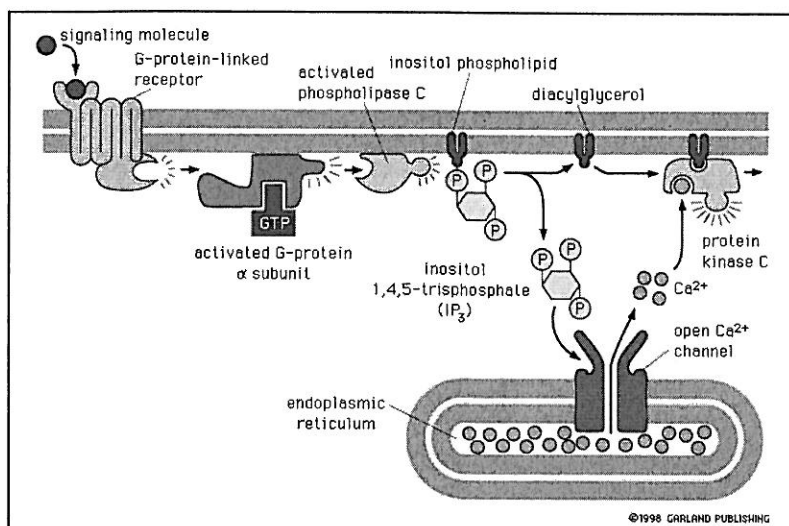
Fosfolipase C kan også aktiveres via tyrosinkinase reseptor. Acetylcholine vil ikke bindes til denne reseptoren, men de som har beskrevet aktivering av fosfolipase via tyrosine kinase har fått full poeng-uttelling for det.

b) *Konsentrasjonen av Ca^{2+} i cytosol øker*

Inositol trifosfat er et lite vannløselig molekyl som diffunderer ut i cytosol og binder seg til sin reseptor på membranen til endoplasmatisk reticulum eventuelt andre organeller. Reseptoren for inositoltrifosfat er en reseptor-operativ ionekanal og bindingen åpner Ca^{2+} ionekanaler. Ca^{2+} går ut i cytosol og fungerer som en videre budbærer med flere funksjoner:

c) *Funksjonen til Ca^{2+} i glatt muskelcelle*

Ca^{2+} binder seg til Ca^{2+} bindende proteiner. Det viktigste av slike proteiner er calmodulin. Når Ca^{2+} er bundet endrer calmodulin konformasjon slik at det kan bindes til en rekke proteiner deriblant myosin lettjede kinase i glatte muskelceller. Dette aktiverer myosin lettjede kinase og muskelkontraksjon kan igangsettes.



Calmodulin

Oppgave 8 (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.

- a) Fosfatidylserine er et negativt ladet plasmamembran lipid. Det
- finnes i begge monolipidlagene
 - **vender kun mot cytosol**
 - vender kun ekstracellulært
- b) Proteiner passerer membranene av mitokondrier:
- i en foldet tilstand
 - ufoldet ved kotranslasjon
 - **ufoldet etter at translasjonen er avsluttet**
- c) - Transmembran proteiner som er ansvarlige for celle-celle kontakt, kalles:
- **Cadheriner**
 - Lektiner
 - Integriner

- d) Mikrotubulus er den strukturelle komponenten i:
- **flimmerhår**
 - stressfibre
 - mikrovilli
- e) Celle bevegelse skyldes:
- **aktin filament**
 - mikrotubulus
 - intermediært filament
- f) På innsiden av kjernekonvolutten finnes et proteinnettverk som består av:
- aktin filament
 - mikrotubulus
 - **intermediært filament**
- g) Under celledeling brytes kjernekonvolutten opp i:
- Anafase
 - Profase
 - **Prometafase**
- h) rRNA syntese foregår:
- **i nukleolus i kjernen**
 - i ribosomer i cytosol
 - i endoplasmatisk reticulum
- i) Syntese av fosfolipider foregår i:
- cytosol
 - **membranen i endoplasmatisk reticulum**
 - Golgi apparatet
- j) Cytokinesen starter i:
- interfase
 - **anafase**
 - etter telofasen
- k) Hvilket av følgende utsagn om glykosylering er sant:
- sukker overføres til proteinet en og en fra dolichol
 - **oligosakkaridene på proteinet er forskjellig når det forlater endoplasmatisk reticulum og Golgi apparatet**
 - glykosylering av et protein skjer når hele proteinet er ferdig syntetisert i endoplasmatisk reticulum
- l) Ved celle-mediert immunforsvar, utføres immunangrepet av:
- **cytotoxiske T-celler**
 - makrofager
 - neutrofiler
- m) Antistoffer angriper bakterier ved:
- **aktivering av komplementsystemet**

- utskillelse av perforin
 - aktiverer makrofager
- n) Operon finnes:
- ***kun i prokaryoter***
 - kun i eukaryoter
 - både prokaryoter og eukaryoter
- o) Ubiquitin er involvert i:
- aktivering av transkripsjon
 - aktivering av translasjon
 - ***nedbryting av proteiner***
- p) Elektrisk synapse kalles også:
- porin
 - ionekanal
 - ***gap junction (gap forbindelse)***
- q) Autofagosom dannes:
- ved eksocytose og brytes ned i lysosomer
 - ved endocytose og brytes ned ekstracellulært
 - ***i cytosol og brytes ned i lysosomer***