

Besvarelse eksamen i emnet TFY4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk 1 juni 2010

Oppgave 1: Transport over membraner. Na^+/K^+ -ATPase pumpe

Na^+/K^+ pumpen er et transmembranprotein som har 3 bindingssteder for Na^+ og 2 for K^+ , slik at 3 Na^+ molekyler pumpes ut av cellen og 2 K^+ inn mot sine konsentrasjonsgradienter. Na^+/K^+ pumpen er et allosterisk protein med to konformasjoner.

Når konsentrasjonen av Na^+ intracellulært/ K^+ ekstracellulært økes utover cellens normalverdi, begynner pumpen å arbeide:

Na^+/K^+ pumpen har en konformasjon der høy-affinitet bindingssted for Na^+ vender intracellulært. Na^+ bindes til sitt bindingssted på cytoplasmatisk side.

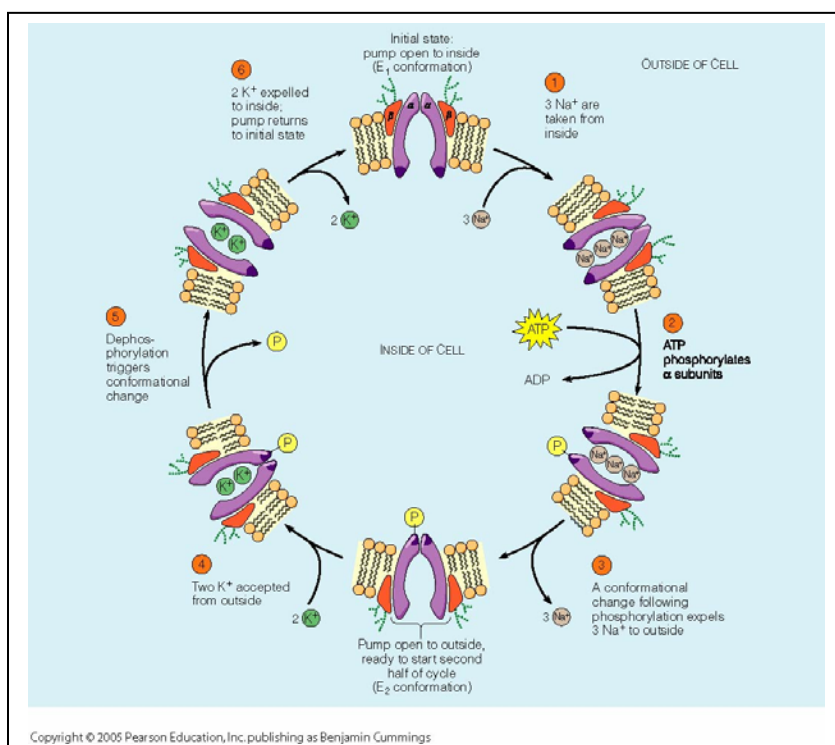
⇒ ATP hydrolyseres slik at pumpen fosforyleres. Pumpen fungerer selv som en kinase.

⇒ pumpen gjennomgår en konformasjonsendring til sin andre konformasjonstilstand og Na^+ overføres til ekstracellulær side

⇒ I denne konformasjonstilstanden er bindingsstedet for Na^+ lav-affinitet bindingssted og Na^+ faller av ekstracellulært, og bindingsstedet for K^+ er høy-affinitet bindingssted slik at K^+ bindes til pumpen på ekstracellulær side.

⇒ fosfatgruppen faller av

⇒ pumpen gjennomgår en konformasjonsendring til opprinnelig tilstand og K^+ overføres til cytosol.



Pumpen har nå transportert 3 Na^+ ut av cellen og 2 K^+ inn, og er klar for en ny syklus.

Oppgave 2: Synapse

Kjemisk synapse mellom to neuroner:

Aksjonspotensialet når axonterminalen 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

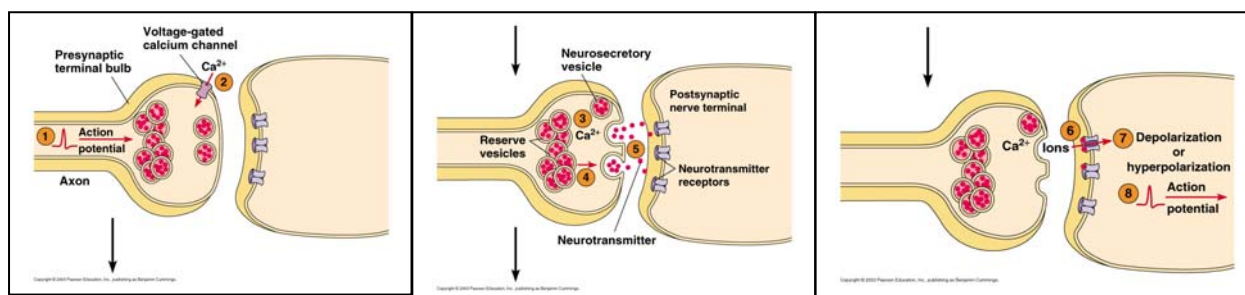
⇒ vesikler som inneholder neurotransmitter beveger seg til cytoplasmatiske side av plasmamembranen ved synapsen.

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

Vesiklene tømmer sitt innhold ut i den synaptiske kløften ved eksocytose

⇒ neurotransmitteren diffunderer over synapsen og binder seg til reseptor-operative ionekanaler på nabo-neuronet (postsynaptisk neuron)

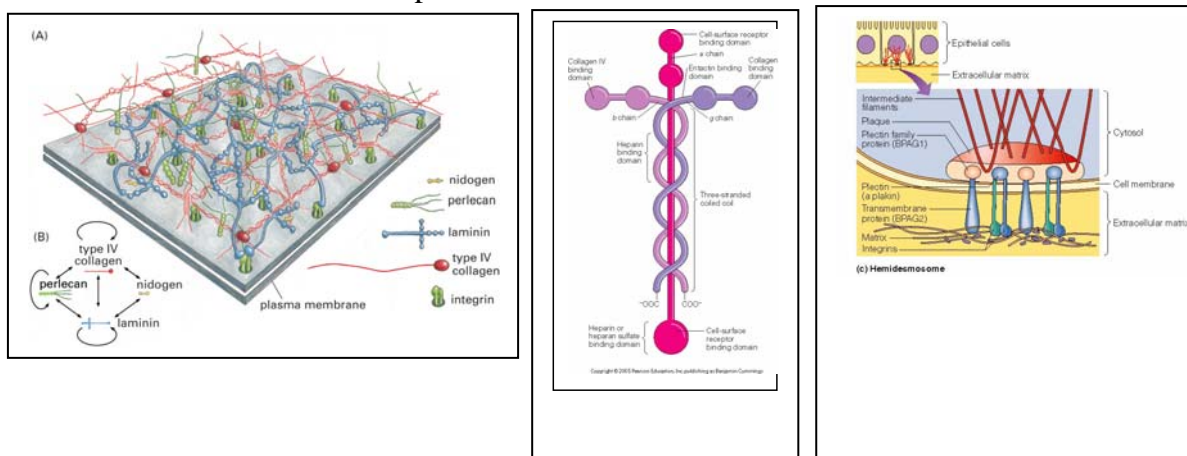
⇒ Ionestrøm inn/ut av nabo-neuronet som depolariseres. Når terskelverdien for aksjonspotensial passerer dannes aksjonspotensialet.



Oppgave 3: Basal lamina

a) The structure of the basal lamina

The basal lamina is a thin sheet of specialized extracellular matrix, typically 50 nm thick, underlying the epithelial cells. The basal lamina can be considered a 2D-network consisting of collagen IV as the structural protein. Collagen IV forming a 2D network is also binding to the glycoprotein perlecan and the glycoprotein nidogen. The figure to the left shows the interaction between the various proteins.

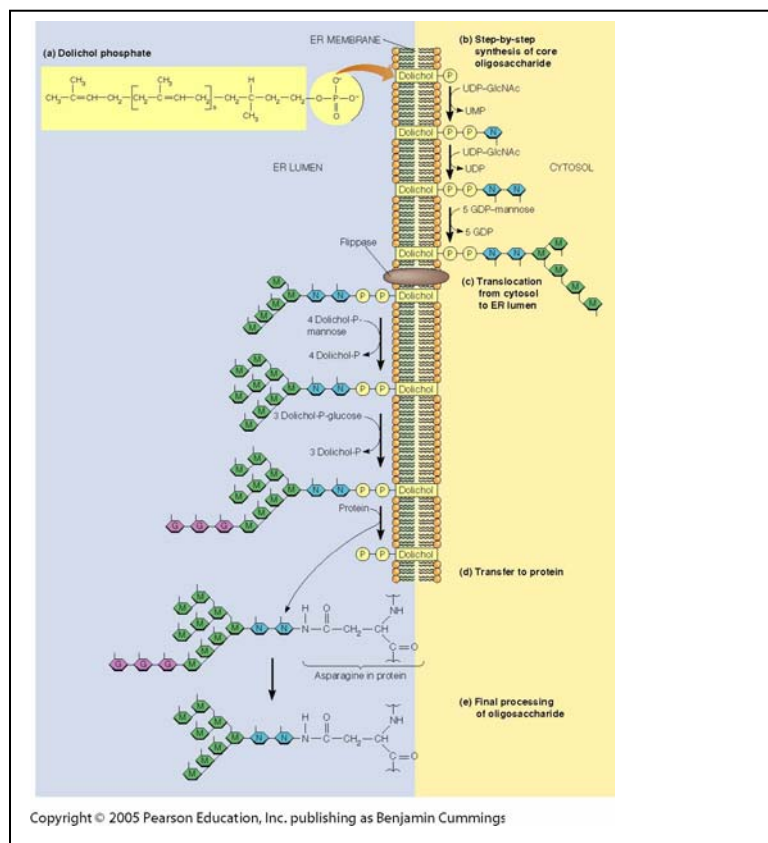


b) Binding of epithelial cells to the basal membrane

- The integrin laminin receptor binds epithelial cells to the basal lamina via the adhesive protein laminin.
- Laminin consists of three polypeptides with several domains binding to a receptor on the cell surface and to components in the basal lamina such as collagen IV.
- In the cytosol the integrin/laminin receptor binds to a plaque of protein and to this plaque intermediate filament is attached.
- Together this forms a hemidesmosome: Laminin-laminin receptor-plaque-intermediate filament as shown in the figure above.

Oppgave 4: Glykosylering av proteiner

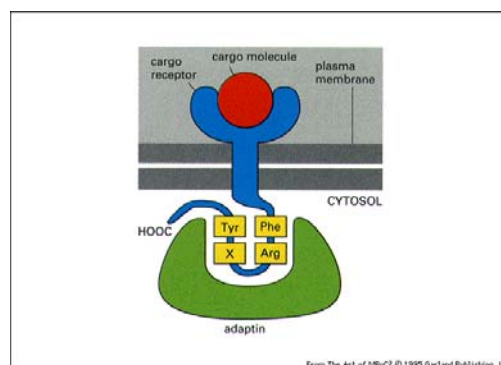
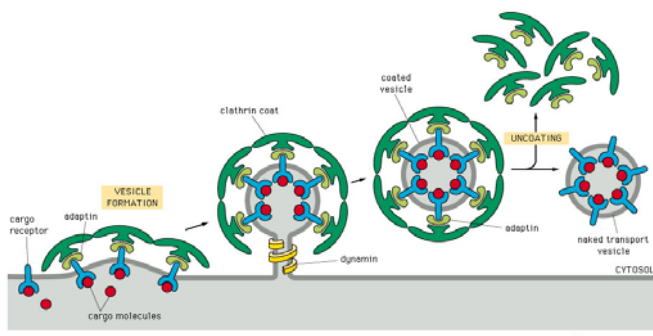
- Glykosyleringen starter på lipidet dolichol som sitter i membranen på ER
- Karbohydrater adderes ett og ett til dolichol.
- Først legges sukkermolekylene til på cytosol side, så skjer en translokasjon av sukkermolekylet til luminal side der syntesen fullføres. En flippase er ansvarlig for dette.
- Oligosakkaridet består av N-acetylglucosamin, mannose, glukose, til sammen 14 sukker
- Dette oligosakkaridet overføres ved en transferase i ett trinn samlet til NH₂ gruppen på asparagin-molekyl i proteinet
- Dette skjer under proteinsyntesen idet asparagin-molekylet i sekvensen Asn-X-Ser/Thr, kommer inn i lumen av ER (gjennom kanalen i ER membranen), dvs før protein syntesen er avsluttet og proteinet foldet.



Oppgave 5: Vesikkeltransport

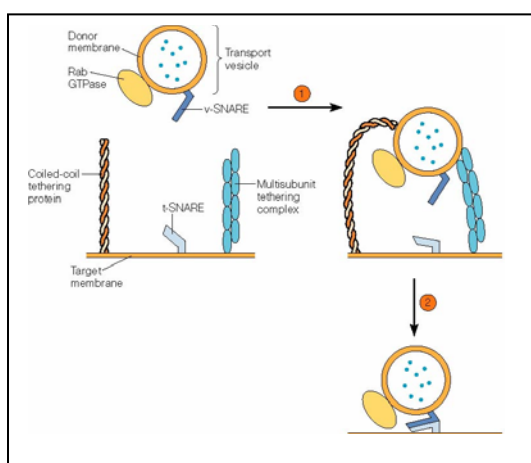
- Forklar hvordan klatrin-dekkede vesikler dannes,
 - Vesikkelen er dekket av en kappe av proteinet klatrin.

- 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 riktige molekyler transporteres 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) hvordan vesikkelen vet hvilken membran den skal smelte sammen med.

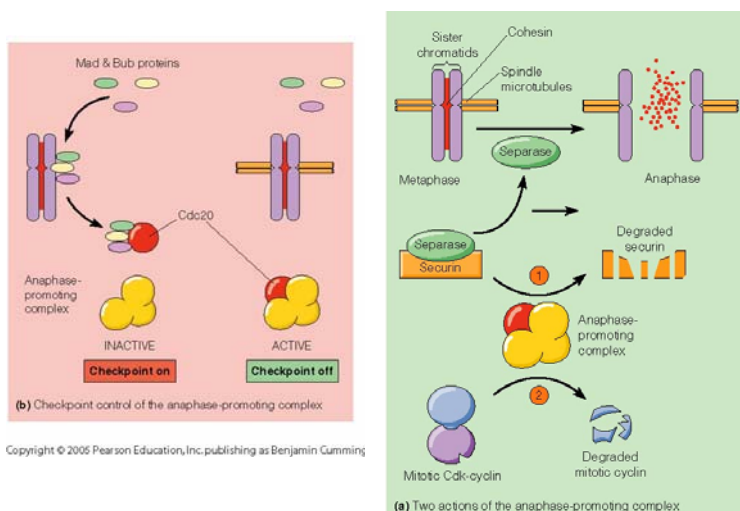
- Vesikkelen har på sin overflate en markør kalt v-SNARE som gjenkjenner og binder seg til den komplementære reseptoren t-SNARE på bestemmelsesstedet. Proteinkappen må falle av før av og t-SNARE bindes.
- I tillegg har mål-membranen såkalte tjøringsproteiner som bidrar til at vesikkelen fanges opp av målmembranen.
- Proteinene Rab sikrer at riktig v-SNARE og t-SNARE bindes. Rab er en GTPase.



Oppgave 6: Regulering av celledeling

a) The cells can not enter anaphase before all chromosomes are attached to kinetochore microtubule. This is required to make sure that the new daughter cells will receive a complete set of chromosome. If some chromosomes were not attached to kinetochore microtubule they would not be pulled towards the spindle pole.

- b) Anaphase can not start before the anaphase-promoting complex has been activated.
- Chromosomes not having microtubule bound are organizing some proteins (mad and bub) into a complex that prevents the protein cdc20 from activating the anaphase-promoting complex (see figure).
 - When microtubule is binding to kinetochore on all chromosome, cdc20 are able to bind to the anaphase-promoting complex.
 - The complex can then exert its function which is to target the protein securin and securin is degraded.
 - The enzyme separase is released from the securin-separase complex. Separase will cleave the protein cohesin holding the two sister chromatids together.
 - When cohesin is degraded, the two sister chromatids can be pulled to the two spindle poles.
 - The anaphase-promoting complex also is responsible for the degradation of the mitotic cyclin-dependent kinase-cyclin, thereby allowing the cells to fulfil mitosis.



Oppgave 7: Signalovertføring: Inositol- Ca^{2+} sporet

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)

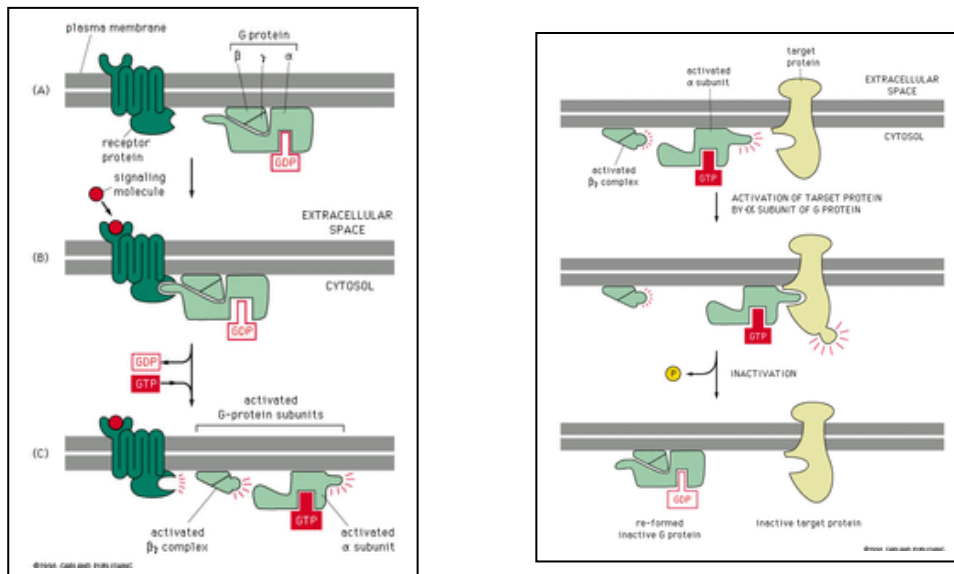
- ⇒ konformasjonsendring av reseptoren
- ⇒ bindingstedet for G proteinet eksponeres på cytoplasmatiske side
- ⇒ G protein bindes til reseptoren
- ⇒ GDP faller av og erstattes med GTP
- ⇒ subenheterne av G proteinet dissosierer og den aktiverte α enheten diffunderer i plasmamembranen
- ⇒ α enheten bindes til target proteinet som er fosfolipase C
- ⇒ fosfolipase C er aktivert

Fosfolipase C katalyserer reaksjonen:

Fosfoinositol-bisfosfat \rightarrow diacylglycerol + inositol trifosfat.

Fosfoinositol bisfosfat er et fosfolipid i plasmamembranen.

Diacylglycerol forblir værende i plasmamembranen på cytoplasmatiske side



Target protein
=fosfolipase C

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

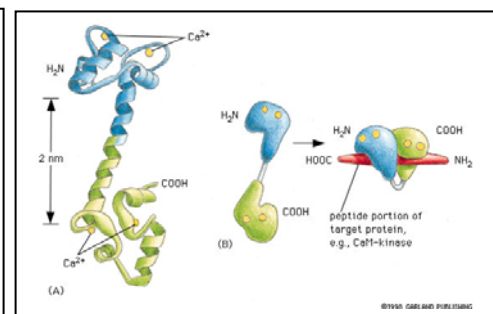
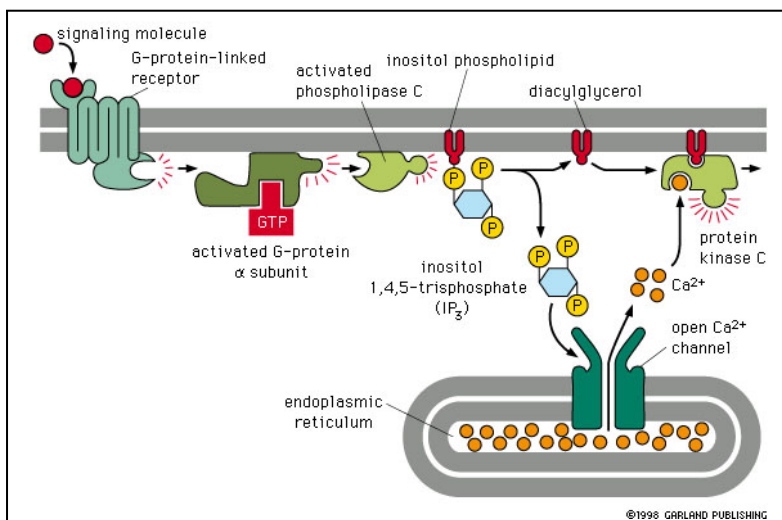
Inositol trifosfat er et lite vannløselig molekyl som diffunderer ut i cytosol og binder seg til sin reseptor på membranen til endoplasmatisk reticulum eventuelt andre organeller.

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 binde til en rekke proteiner deriblant myosin lettjede kinase i glatte muskelceller. Dette aktiverer myosin lettjede kinase og muskelkontraksjon kan igangsettes.



Calmodulin

Oppgave 8: Spredning av kreft (metastasering)

Trinnene i metastaseringsprosessen er beskrevet i figuren:

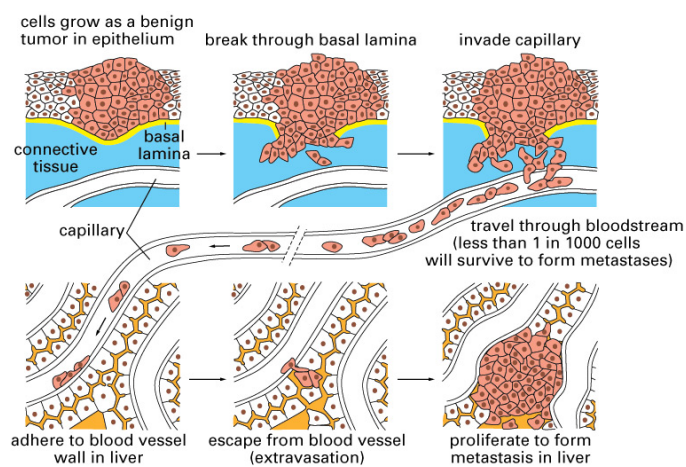


Figure 23-15. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Kreftcellen vokser og deler seg og danner en primær svulst.

Kreftcellene har andre egenskaper enn normale celler som favoriserer spredning:

a) kreftceller skiller ut proteaser (metalloproteinaser) slik at de kan degradere basalmembranen som skiller epitelvev og bindevev og basalmembranen langs endotelcellene i kapillær-veggen, og bryte ned ekstracellulær matrix.

b) Cadherin er et celle-celle gjenkjennende transmembranprotein som er uttrykt i mindre grad i kreftceller enn i normale celler. Det gjør det lettere for kreftceller å løsrive seg fra naboceller.

c) Kreftceller har en større mobilitet enn normale celler. Dette skyldes signalmolekyler produsert av omkringliggende vertsceller eller av kreftcellene selv.

Trinnene i metastaseringen er:

- 1) Tumorceller invaderer omkringliggende vev ved å skille ut proteaser som bryter ned basal membranen og ekstracellulær matrix
- 2) Kreftcellene når sirkulasjonen, enten via lymfeårer eller direkte til blodårer. Dersom de når lymfeårene først vil lymfeårene seinere tømme innholdet sitt i venene slik at kreftcellene ender opp i blodsirkulasjonen.
- 3) I sirkulasjonen vil de kunne feste seg til endotelceller som danner blodåreveggen.
- 4) Kreftcellene må forlate blodårene og deretter brytes seg vei gjennom ekstracellulær matrix. Ekstracellulær matrix brytes ned av proteasene som kreftcellene skiller ut. I ekstracellulær matrix vil kreftcellene finne et passende sted å slå seg ned, dele seg og danne en ny svulst såkalt metastase.

Oppgave 9: 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) Fluiditeten i membraner avhenger av:
kolesterol
 transmembranproteiner
 glykolipider

- c) Hvordan endrer transmembranproteiner sin orientering i plasmamembranen:
Ved flipaser
Ved å øke fluiditeten i membranen
Orienteringen kan ikke endres
- d) Store uladete polare molekyler passerer plasmamembranen ved:
Vanlig diffusjon
Fasilitert diffusjon som benytter et bæreprtein
Gjennom en ionekanal
- e) Proteiner passerer membranene av mitokondrier:
I en foldet tilstand
Ikke-tfoldet ved kotranslasjon
Ikke-foldet etter at translasjonen er avsluttet
- f) Et signal-gjenkjennende protein gjenkjenner en signalsekvens som angir at peptidet skal til:
Mitokondria
Endoplasmatisk reticulum
Gjelder både mitokondria og endoplasmatisk reticulum
- g) Transmembranproteiner som er ansvarlige for celle-celle kontakt, kalles:
Cadheriner
Lektiner
Integriner
- h) Mikrotubulus er den strukturelle komponenten i:
flimmerhår
stressfibre
mikrovilli
- i) Celle bevegelse skyldes:
Aktin filament
Mikrotubulus
Intermediært filament
- j) Hvilket protein er ansvarlig for at epitelcellelag tåler strekk:
Keratin
Collagen
Aktin
- k) På innsiden av kjernekonvoluttene finnes et protein-nettverk som består av:
Aktin filament
Mikrotubulus
Intermediært filament
- l) Under celledeling brytes kjernekonvoluttene opp i:
Anafase
Profase
Prometafase

- m) Syntese av fosfolipider foregår i:
Cytosol
Membranen i endoplasmatisk reticulum
Golgi apparatet
- n) Hovedfunksjonen til lysosomer er:
Syntetisere proteiner
Modifisere proteiner
Resirkulere proteiner
- o) Et nukleosom består av:
rRNA
Histoner
Lipoproteiner
- p) Histoner passerer gjennom kjerneporekomplekset ved:
Passiv diffusjon
Krever ATP
Krever G-bindende protein
- q) Tumor suppressor genet RB har som funksjon:
Induserer apoptose dersom DNA er skadet
Stanser cellen i restriksjonspunktet dersom cellen er for liten
Stanser cellen ved inngangen til mitose dersom alt DNA ikke er replikert
- r) Oncogener har som funksjon:
Stimulere cellevekst
Reparere DNA skade
Hemme cellevekst