

# Eksamen TFY4260 Cellebiologi og cellulær biofysikk, 27 mai 2024

## Løsningsforslag

### Oppgave 1 Angiogenese- Intracellulær signaloverføring

Kreftceller begynner å dele seg og danne en svulst. Det er foreløpig ingen blodårer i svulsten så kreftcellene mangler oksygen. Dette vil trigge at kreftcellene skiller ut angiogene faktorer som stimulerer dannelsen av nye blodårer. Vaskulær-endothel vekst faktor, VEGF, er en slik faktor. VEGF når fram til endotelecellene som danner veggen i eksiterende blodårer.

a) Hva er transportmekanismen for VEGF fram til endotelcellene?

Svar:

Diffusjon.

b) VEGF binder seg til sin reseptor på plasmamembranen av endotelcellene. Dette er en tyrosin kinase reseptor. Bindingen av VEGF til sin reseptor stimulerer endotelcellene til å dele seg. Beskriv hendelsesforløpet fra VEGF binder seg til tyrosin kinase-reseptoren til endring i transkripsjon som får cellene til å dele seg.

Svar:

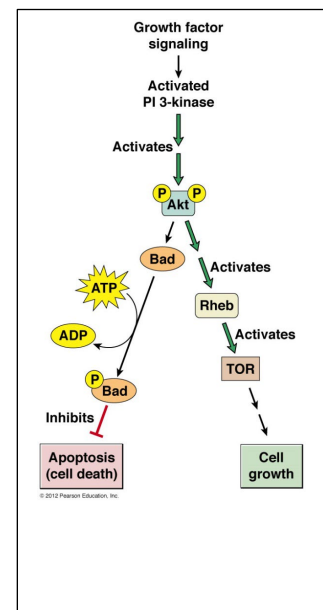
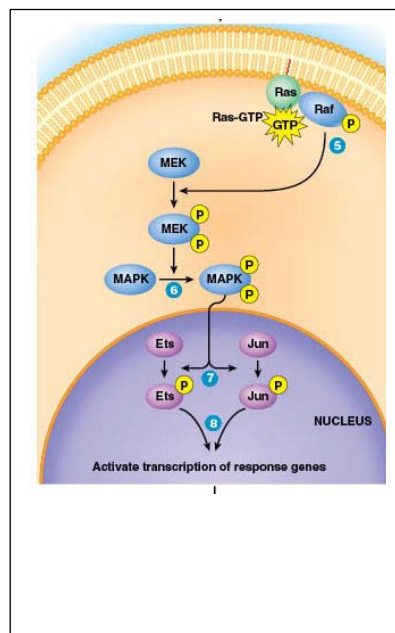
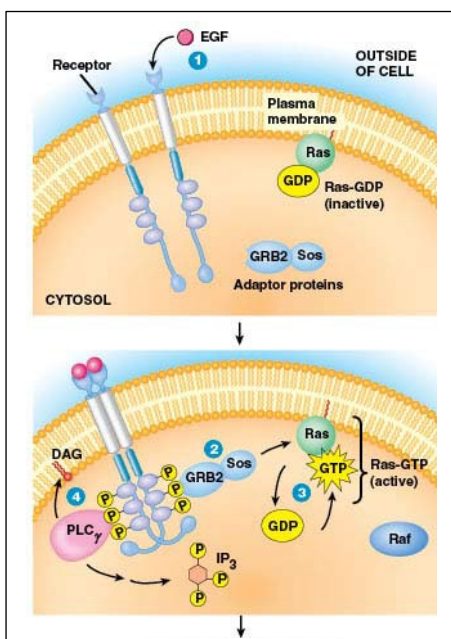
VEGF bindes til reseptor. Dette igangsetter kryssfosforylering av tyrosin og et protein (GRBE) bindes til fosforylerte tyrosin.

Et protein en «guanine-nucleotide-exchange factor» (GEF) bindes til proteinet på fosforylert tyrosin. GEF vil aktivere Ras ved at Ras-GDP omformes til Ras-GTP.

Ras-GTP aktiverer en kinase (Raf). Denne kinasen aktiverer så en kaskade av kinaser. Dette ender med at en kinase går inn i kjerne og fosforylerer transkripsjonsfaktorer. De fosforylerte transkripsjonsfaktorene vil endre transkripsjon av gener som koder for proteiner viktig for cellevekst

### Alternativt svar

Aktivering av tyrosin-kinase reseptor kan aktivere fosfatidylinositol-3-kinase (PI3K) som aktivere kinasen Akt. Ved aktivering av en rekke proteiner vil cellyklusus arrest hemmes og dette bidrar til cellevekst.



## Oppgave 2 Syntese collagen - ekstracellulær matrix

Ved angiogenese vil endotelcellene deler seg og danne rør-liknende strukturer inn i ekstracellulær matrix. Endotelcellene skiller ut enzymet collagenase for å bryte ned collagen slik at rørene av endotelceller får plass.

a) Hvor i cellen syntetiseres collagenase?

Svar:

På ribosomer på ru ER.

b) Hvordan transporteres collagenase fram til plasmamembranen?

Svar:

I vesikler fra ER til cis-Golgi nettverk. I vesikler gjennom Golgi til trans-Golgi nettverk. I sekretoriske vesikler som smelter sammen med plasmamembranen

c) Hvordan skilles collagenase ut av cellen? Beskriv prosessen.

Svar

Ved exocytose.

Reseptoren v-snare på vesikkel bindes til t-snare på plasmamembranen. De får hjelp av tjøringsproteiner som «fanger» vesikkelen. G-proteinet Rab kontrollerer at riktig v-snare er bundet til riktig t-snare, og «låser» de komplementære v-snare t-snare. De to membranene dras nærmere hverandre. Vann mellom membranene må fjernes. Membranen på vesikkelen smelter sammen med plasmamembranen. Denne prosessen er energikrevende og en rekke proteiner er involvert. |innholdet i vesiklene tømmes ut av cellen.

d) Ekstracellulær matrix består av collagen, glycosaminoglycaner og fibronektin. Angi kort funksjonen til disse tre bestanddelene av extracellulær matrix.

Svar

Collagen- bidrar til å gi vevet mekanisk styrke. Vevet tåler strekk-krefter

Glycosaminoglycaner danner en gel og er negativt ladet pga sulfat- og carboxylgrupper. De negative ladninger tiltrekker seg positive ioner, særlig Na<sup>+</sup> som det er mye av. For å opprettholde osmotisk trykk vil vann gå inn i vev med mye glycosaminoglykaner. Dette bidrar til at vevet tåler kompresjons-krefter. Gelen fungerer også som en transportbarrierer næringsstoffer og oksygen må diffundere gjennom.

Fibronektin er et adhesivt protein. RGD-sekvensen på fibronektin bindes til fibronektinreseptor på celler. Denne reseptoren er et integrin og forankrer cellen til ECM. Fibronektin har også bindingssteder til collagen og andre molekyler i ECM.

### Oppgave 3 Aksjonspotensial

Elektriske signaler transporteres langs aksonet ved aksjonspotensial.

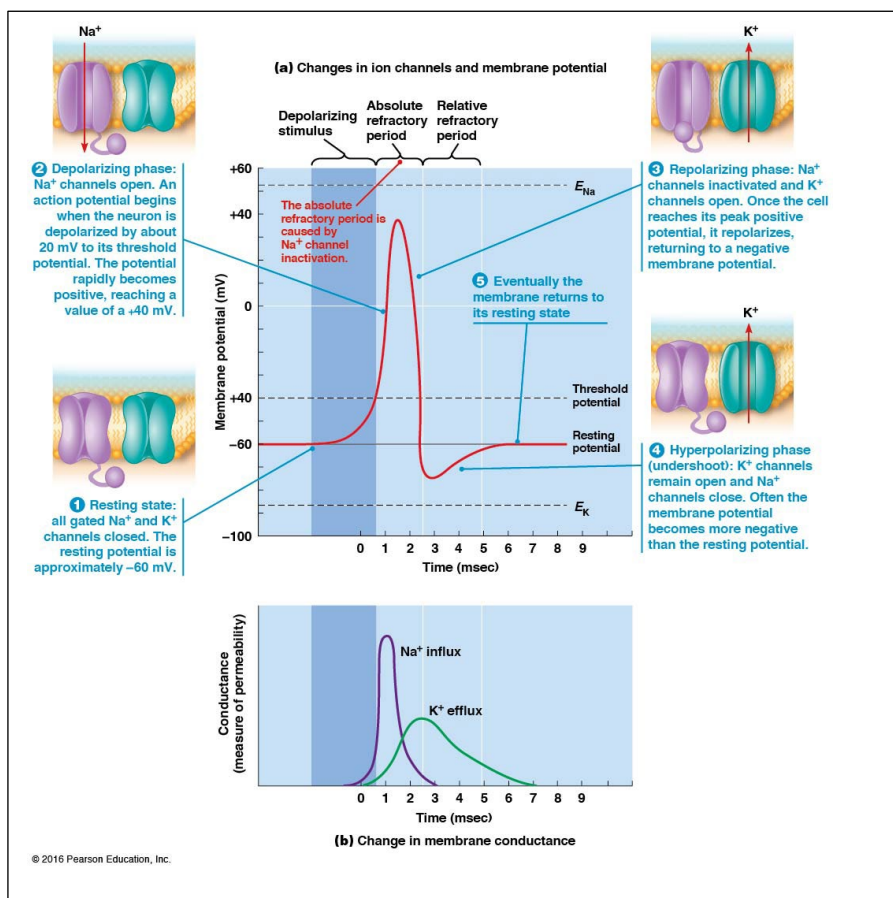
a) Forklar hvordan et stimulus for eksempel smerte, genererer et aksjonspotensial.

Svar:

Dendrittene mottar stimulus og et reseptorpotensial dannes. Dette potensialet spres seg passivt over cellekroppen til axon hillock der aksjonspotensialet dannes. I axon hillock er tettheten av spenningsfølsomme Na<sup>+</sup> er høy.

Spenningsfølsomme Na<sup>+</sup> kanaler åpnes og Na<sup>+</sup> strømmer inn i cellen og membranpotensialt øker, depolarisering. Endringen i membranpotensialet vil føre til at flere spenningsfølsomme Na<sup>+</sup> kanaler åpnes, en positiv feedback mekanisme, derfor en meget rask endring av membranpotensialet. En terskelverdi må passeres for at aksjonspotensialt skal dannes.

Na<sup>+</sup> kanalene inaktiveres dvs de kan ikke åpnes av et nytt stimulus og spenningsfølsomme K<sup>+</sup> kanaler åpnes. K<sup>+</sup> strømmer ut av cellen og vi har en repolarisering. Repolariseringen er så stor at membranpotensialet bli mer negativt enn hvilepotensialt inntil K<sup>+</sup> kanaler lukkes og hvilepotensialet gjenopprettes. Se figur Det er det samme stimulus som igangsetter åpning og inaktivering av Na<sup>+</sup>kanaler og åpning av K<sup>+</sup> kanaler.



b) Styrken på stimulus for eksempel smerte, bestemmer frekvensen av aksjonspotensial. Forklar dette.

#### Svar

Styrken på stimulus bestemmer hvor raskt et nytt aksjonspotensial kan dannes, dvs av frekvensen av aksjonspotensial. En forutsetning for å danne et nytt aksjonspotensial er at terskelverdien passerer, dvs en viss depolarisering må skje.

I relativ refrakt periode kan et nytt aksjonspotensial dannes, men det krever et sterkt stimulus. Dvs dess sterkere stimulus jo raskere vil et nytt aksjonspotensial dannes i relativ refrakt periode.

#### **Oppgave 4 Aktiv transport over membraner**

Molekyler for eksempel glukose, kan gå mot sin konsentrasjonsgradient over membraner ved indirekte aktiv transport.

Forklar prinsippet for indirekte aktiv transport.

Hva er hovedforskjellen mellom direkte og indirekte aktiv transport.

#### Svar:

Aktiv transport krevet at bæreproteinet har forskjellig affinitet i de to konformasjonen av bæreproteinet. Glukose transporteres mot sin konsentrasjonsgradient ved hjelp av et ion som regel  $\text{Na}^+$  som transporteres med sin konsentrasjonsgradient.  $\text{Na}^+$  ionegradienten oppstår pga  $\text{Na}/\text{K}^+$  ATPase pumpen. Når  $\text{Na}^+$  bindes til bæreproteinet for glukose gjennomgår bæreproteinet en konformasjonsendring og et høyaffinitetsbindingssted for glukose dannes. Glucose bindes.

Glukose og  $\text{Na}^+$  transporteres over membranen sammen og bæproteinet endres konformasjon

Den nye konformasjonsendringen tilsvarer et lavaffinitetsbindingssted for glukose. Glukose faller av.  $\text{Na}^+$  faller av pga den lave konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  på denne siden av membranen.

Opprinnelig konformasjons gjennomrettes. Det hele gjentas

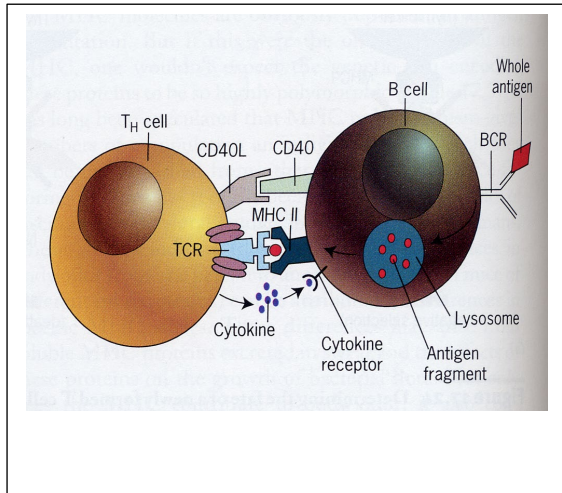
$\text{Na}^+$  pumpes ut igjen av cellen med  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpen.

Hovedforskjellen mellom direkte og indirekte transport er at ved direkte aktiv transport benyttes ATP direkte for å fosforylere  $\text{Na}/\text{K}^+$  ATPase pumpen. Fosforyleringen forårsaker konformasjoneendringen av bæreproteinet. Ved indirekte transport nyttiggjøres  $\text{Na}$  gradienten dannes ved direkte aktiv transport og  $\text{Na}^+$  bidrar til at glucose kan bindes til bæreproteinet.

## Oppgave5 Immunologi

Du er utsatt for et bakterie-angrep. De bakterielle antigenene gjenkjennes av B celler. Forklar hvordan B cellene aktiveres og blir plasmaceller.

### Svar



Bakterielt antigen bindes til immunglobulin/antistoff på overflaten av B celler. Antigenet tas inn i B cellen og bindes til MHC klasse II reseptoren på B cellen. B celler fungerer nå som en antigen presenterende celle for T hjelpe celler.

I tillegg kreves to andre signal:

-CD40 på Bcell bindes til CD40 ligand på T hjelpe celle

- Cytokines IL-4 skilles ut fra T hjelpe celler og bindes til reseptor på B cellen.

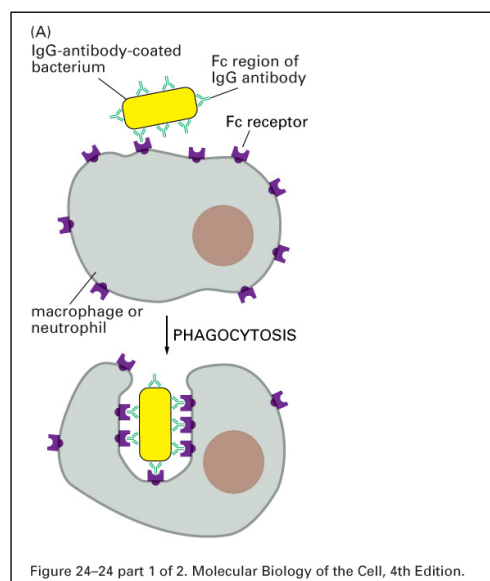
Dette igangsetter klon-seleksjonsutvelgelsen.

B celler differensierer til plasma celler som produserer store mengder antistoff . Plasma celler skiller ut antistoffer som gjenkjenner antigen som igangsatte immunresponsen.

b)Plasmacellene skiller ut store mengder antistoffer som skal uskadeliggjøre bakteriene. Beskriv to hovedmekanismer for antistoff-angrep på bakteriene.

### Svar:

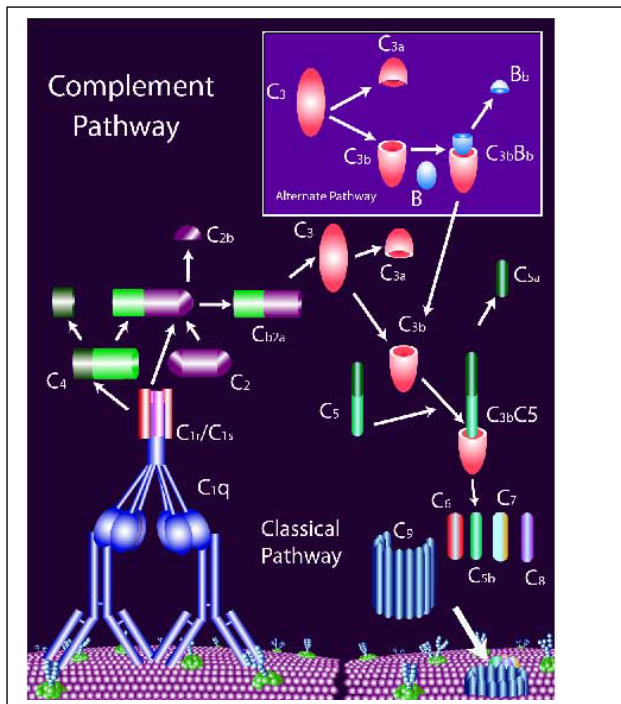
Antistoff -mediert endocytose



Antistoffet bindes til bakterien som har antigen som antistoffet gjenkjenner på sin overflate. Fc halen av antistoffet peker ut fra bakterien og bindes til sin reseptor på fagocytterende celler som makrofager eller neutrofiler.

Det dannes «utsikkere» som omfavner bakterien. Polymerisering av aktinfilament er ansvarlig for dannelsen av «utstikkerne». Bakterien tas inn i den fagocytterende cellen og brytes ned i lysosomer.

## Komplement aktivering:



1. Antistoffer bindes til antigener på overflaten av bakterien

2. Sirkulerende protein C1q binder til Fc-fragment av antistoffet

3 Dette igangsetter en kaskade av proteiner som fusjonerer og splittes.

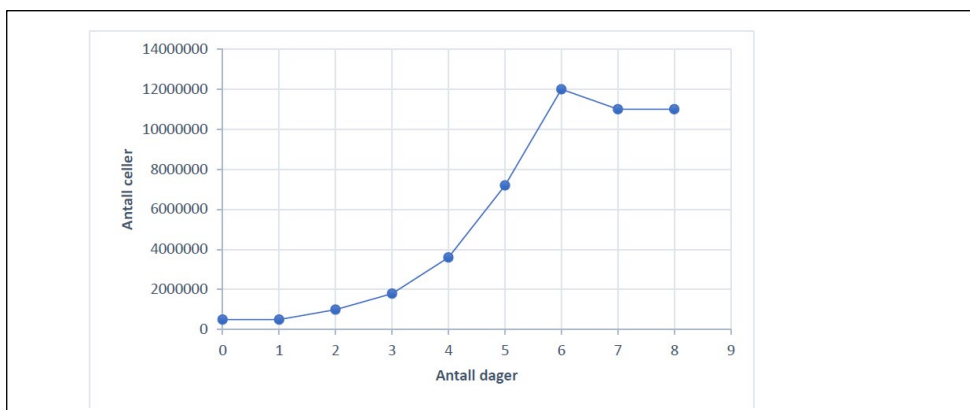
Dette resulterer i dannelsen av membranangreps-komplekset som danner en pore i membranen på bakterien. Bakterien sprekket.

## Oppgave 6 Cellevekst

Figuren viser en typisk vekstkurve for en cellelinje.

Forklar hvorfor vekstkurven har denne formen.

Bestem doblingstiden og vekstraten for cellene i den eksponentielle fasen.



### Svar:

Første fase: Lag fase, vanligvis 1-2 dager. Liten økning i antall celler. Cytoskjelettet i cellen omorganiseres slik at cellen kan feste seg til celledyrkingsflasken, og cellene tilvennes nytt medium.

Log fase: cellene deler seg eksponentielt. Cellen er i eksponentiell vekst så de har tilstrekkelig med næringsstoffer og oksygen, og det er tilstrekkelig plass

Platå fase: Antall celler er tilnærmet konstant. Det er lite plass i celledyrkingsflasken for nye celler

Doblingstiden bestemmes i den eksponentielle fasen. Antall celler N er gitt ved

$$N = N_0 e^{kt}$$

der  $N_0$  er antall celler ved tid  $t=0$  og  $k$  is vekstraten. Vekstraten kan uttrykkes ved doblingstiden  $T_d$

$$2N_0 = N_0 e^{kT_d}$$

$$k = \frac{\ln 2}{T_d}$$

$$N = N_0 e^{\frac{\ln 2}{T_d} t}$$

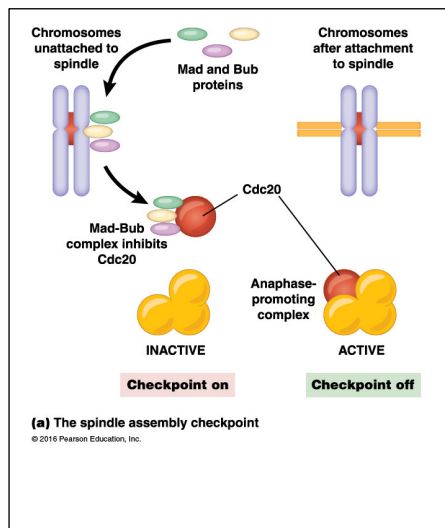
Fra vekstkurven er  $T_d = 1 \text{ døgn} = 24 \text{ timer}$

Vekstraten bestemmes fra likningen over når  $T_d$  er bestemt.  $k = 0.028/\text{time}$

### Oppgave 7 Cellyklus regulering

For at de to søsterkromatidene skal kunne trekkes til hver sin spindelpol må proteinkomplekset kinetochor på centromerene være bundet til mikrotubulus. Mikrotubulus bundet til kinetochor kalles kinetochor mikrotubulus. Kinetochor mikrotubulus må være bundet til alle kromosomene. Forklar hvordan det sjekkes at kinetochor mikrotubulus er bundet til alle kromosomene.

Svar:



Dersom mikrotubulus ikke bundet til kinetochore , vil Mad-Bub akkumuleres på kinetochore, og bli del av et større protein kompleks (kalt mitotisk sjekkpunkt kompleks). Dette komplekset bindes til proteinet Cdc20.

Dersom Anafase Promotion kompleks (APC) skal være aktivt og igangsette anafasen, må Cdc20 være bundet til APC. Når Mad-Bub bindes til Cdc20 kan Cdc20 ikke bindes til APC, APC er inaktiv.

En aktiv APC vil bryte ned proteinene securing og cyclin Nedbrytig av securin gjør at enzymet separase frigjøres og kan bryte ned proteinkomplekset cohesin som holder de to søsterkromatinene sammen.

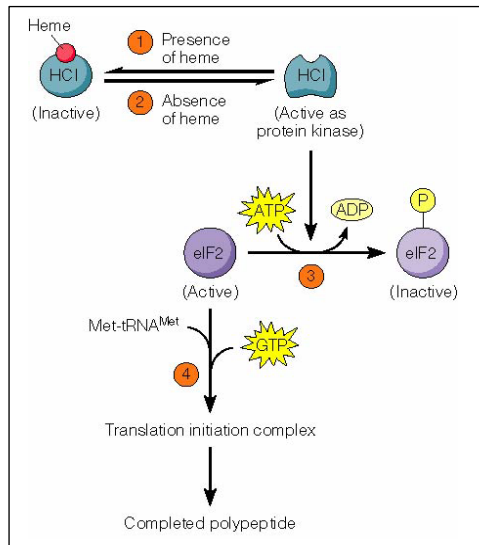
Nedbrytingen av cyclin gjør at cyclin-cyklin avhengig kinase ikke lenger er aktivt og cellen går ut av mitose.

### Oppgave 8 Regulering av translasjon

I røde blodceller er hem bundet til globulin i komplekset hemoglobin. Translasjon av globulin reguleres av hem. Forklar hvordan syntesen av globulin reguleres.

Svar

Dersom hem ikke er tilstede trengs ikke globin og syntesen hemmes. Dette skjer via kinasen kalt hem-kontrollert-inhibitor (HIC). Se figur



Dersom hem er tilstede ønskes syntese av globin.

Hem bindes til kinasen hem-kontrollert-inhibitor (HIC) slik at kinasen er inaktiv. Kinasen kan da ikke fosforylere proteinet eIF2 som er viktig for å igangsette translasjon.

Det aktive eIF2 vil starte syntese av globin.

## Oppgave Sant Usant

### Angi om utsagnet er sant eller usant. Gi en begrunnelse

1. Kolesterol er viktig for fluiditeten av membraner

Sant: kolesterol bidrar til at fosfolipidhalene beveger seg mindre og fluiditeten reduseres

2. Desmosomer finnes mellom hjertemuskelceller og forankrer aktinfilament i en celle til aktinfilament i nabocellen.

Usant: Det er intermediært filament som er forankret til desmosom-plakk. Desmosom-plakk er videre forankret til cadheriner

3. For å aktivere mitotisk cyclin og mitotisk cyclinavhengig kinase er det ikke tilstrekkelig å fosforylere komplekset.

Sant: 2 kinaser må fosforylere mitotisk cdk. Disse to fosfatgruppene blokkerer aktivt sted på kinasen. Den ene fosfatgruppen på fjernes med en fosfatase før komplekset er aktivt.

4. DNA kan transkribes i mitose.

Usant. DNA er så tett pakket/kondensert at det ikke kan transkribes. Det er viktig for at DNA ikke transkribes ved celledeling.

5. Glykosylering av proteiner starter i cis Golgi nettverk og deretter modifiseres karbohydratsammensetningen gjennom Golgiapparatet.

Usant: Starter i ER. 14 sukkerenheter adderes samlet tile proteinet mens det syntetiseres og tres gjennom kanalen på membranen av ru ER

6. Cytokinesen der cytoplasma deles i to starter etter telofasen.

Usant: Starter i anafasen. Den kontraktile aktin ringen starter kontraksjonen i anafase

7. I synapsen skilles neurotransmitterer ut ved exocytose. Exocytosen trigges av at Na<sup>+</sup> kanaler åpnes og membranpotensialet endres.



Usant: Det er spenningsfølsomme Ca<sup>2+</sup> kanaler som åpnes og slik at vesikler med neurotransmittere smelter sammen med plasmamembranen i synapsen.

8. Insulin regulerer konsentrasjonen av glukose i blod ved å øke opptaket av glukose inn i celler, syntetiserer glycogen, og hindre nedbryting av glycogen.

Sant: Konsentrasjonen av glukose i blod må reduseres og lagre av glukose i form av glycogen produseres.

9. Rb proteinet registrerer at DNA er skadet og igangsetter apoptose dersom skaden ikke kan repareres.

Usant Det er p53 som gjør dette.

10. Mitochondria er ikke en del av endomembransystemet

Sant. Endomembransystemet syntetiseres proteiner på ribosomer på ru ER. Proteiner til mitokondria syntetiseres på ribosomer i cytosol

### **Oppgave: Flervalgsoppgave**

**Nedenfor finner dere 4 alternative svar. Kun ett svar er riktig.**

Prometafase igangsettes ved at lamin fosforyleres og dermed degraderes lamin. Dette reguleres av

#### **Cyclin-cyclinavhenig kinase kompleks**

Ubiquitin-sporet

RB proteinet

Histoner

Molekyler som lett kan diffundere passivt over plasmamembranen

H<sup>+</sup>

Vann

#### **Oksygen**

Glukose

Du skal detektere karbohydrater på celleoverflaten. Hvilket molekyl vil du benytte

Integriner

Cadheringer

CAM (Cell Adhesion Molecule)

#### **Lektiner**

Fosfolipider syntetiseres i

#### **Endoplasmatisk reticulum**

Golgi apparatet

Mitochondria

Lysosomer

Fosfolipider som skal til mitochondria går dit ved hjelp av

Vesikler

#### **Spesifikke proteiner**

Diffusjon

Konveksjon

DNA må replikeres bare en gang. For å forhindre at DNA replikeres mer enn en gang vil proteiner som igangsetter replikasjon

- **fosforyleres**
- metyleres
- acetyleres
- Brytes ned ved ubiquitin-sporet

Posttranslasjonskontroll i eukaryoter inkluderer:

Kondensering av kromatin og degradering av mRNA

RNA prosessering og protein syntese

**Regulering av proteiner inn i organeller**

Transkripsjon

Blod-hjerne barrieren danner en fysisk barriere som forhindrer at giftige molekyler kommer inn i hjernevevet. Den viktigste årsaken til denne fysiske barrieren er

**Tight junction (tette-kontaktpunkter) mellom endotelcellene**

Transmembranproteinet cadherin mellom endotelcellene

CAM (Cell-Ahesion Molecule) mellom endotelcellene

integriner mellom endotelcellene

Kontraksjon av glatt muskulatur reguleres av  $Ca^{2+}$ . Det skjer ved at  $Ca^{2+}$  bindes til

Troponin

Tropomyosin

**Myosin lettkjede kinase**

Myosin

Før cellen kan dele seg må centriolene fordobles. Det skjer i

G1

S-fase

G2

**Interfase**

Astral mikrotubulus er ansvarlig for at

Kromosomene trekkes til hver sin spindelpol

**de to spindelpolene trekkes nærmere plasmamembranen**

Cytokinesen

Kromosomene plasseres i cellens «ekvatorplan» i metafasen

Histoner er ansvarlig for pakkingen av kromatin. Karakteristiske trekk ved histoner

**Små positivt ladete protein**

Store negativt ladete proteiner

- Små negativt ladete protein
- Store negativt ladete protein

På innsiden av kjernekonvolutten er det et protein-nettverk. Det består av

Aktinfilament

Mikrotubulus

**Intermediært filament**

Collagen

Detoxifisering av giftige stoffer foregår i

**Endoplasmatisk reticulum**

Golgi

Lysosomer

Mitochondria

Syntese av steroidehormoner foregår i

**Endoplasmatisk reticulum**

Golgi

Lysosomer

Mitochondria

Vesikler som skiller ut proteiner fra celler ukontrollert (konstitutiv sekresjon) har proteinkappen

Klatrin

**COP**

Caveolin

Dynamamin

Hvilket av fosfolipidene nedenfor er essensielt i intracellulær signaloverføring?

Fosfatidylcholin

Fosfatidyletanolamin

**Fosfatidylinositol**

Fosfatidylserine

Hovedfunksjonen til lysosomer er:

Syntetisere proteiner

Modifisere proteiner

**Resirkulere proteiner**

Transkribere proteiner

Flimmerhår består av

Aktinfilament

**Mikrotubulus**

Intermediært filament

Collagen fibre

I celler som vandrer dannes det utstikkere som skyldes polymerisering av

Mikrobtubulus

Intermediært filament

**Aktinfilament**

Collagen