

CELLBIOLOGI

Översikt/allmänt

(2p) Kroppens regenerativa förmåga bygger på centrala funktioner som celler har. Nämn de fyra viktigaste.

Svar: Cellerna måste kunna och växa och dela på sig, de måste kunna flytta på sig (migrera), interagera med varandra, samt differentiera.

(3p) Det finns två principiellt olika sätt att byta ut celler i en vävnad genom nybildning av celler. Redogör för dessa två olika sätt. Vad är det som stimulerar celler att växa i en vävnad?

Celler kan nybildas antingen genom att en befintlig mogen cell delar sig till två likadana celler, eller celler kan nybildas från omogna stam- eller progenitorceller.

Stam- och progenitorceller har kapacitet för både självförnyelse och differentiering, till exempel till fettceller.

Olika tillväxtfaktorer stimulerar celltillväxt och får celler att initiera en cellcykel.

(2p) Ofta är det så att olika gener deltar i någon form av informationsnätverk där generna påverkar varandra. Beskriv allmänt vilka mekanismer som möjliggör samordning av genuttryck hos ett antal gener.

Nätverk eller samordning av gener kan organiseras genom lokalisering av gener på kromosomen, så att de kan dela aktiverande sekvenser, genom gemensamma transkriptionsfaktorer, eller information som kommer från samma signalmolekyl eller receptor.

(2p) Utveckling av olika vävnader och organ är beroende av ett fåtal viktiga huvudtyper av cellfunktioner hos stamceller. Beskriv fyra huvudtyper av cellfunktioner som behövs för utveckling av vävnader och organ.

Celler måste kunna växa och dela sig (prolifera). Celler måste kunna specialisera sig (differentiera). Celler måste kunna kommunicera (skicka och ta emot information). Celler måste kunna begå apoptos. (Även cellmigrering som delsvar godkänns).

Cellcykeln

(3p) Angiogenes handlar alltid om tillväxt av nya celler, och tillväxt av celler styrs till en stor del av olika typer av tillväxtfaktorer. I angiogenes samverkar till exempel "fibroblast growth factor" med "vascular endothelial growth factor" för att få olika celltyper att skapa nya blodkärl genom celledning. Beskriv cellcykelns huvudfaser, gärna med en bild. Var i cellcykelns finns dess startpunkt? Beskriv även vilka kontrollmekanismer cellen har för att säkerställa att cellcykeln fungerar optimalt. Ange namn och ange även var i cellcykeln dessa kontrollmekanismer utförs.

G1,
S (DNA-syntes),
G2,
M (separation av kromosomer, celledning),
G0 (vilofas).

Cellcykelns startpunkt är "restriction point" vid G1. Cellcykeln har ett antal checkpoints där cellen utför en kontroll av kvaliteten i cellcykeln. Vid G1-checkpoint kontrolleras om miljön är gynnsam. Vid G2/M-checkpoint kontrolleras om allt DNA har replikerats samt om miljön är gynnsam. Vid metafase-checkpoint kontrolleras att alla kromosomer är fastsatta i kärnspolen.

(3p) Kortisol kan även påverka celledning i embryon genom att stimulera celler att genomgå en cellcykel. Redogör kortfattat för cellcykelns olika faser (namn och funktion). Komplettera gärna med en illustration.

Vad är den kortaste fasen av cellcykeln?

Ge fyra exempel på celltyper i kroppen som ofta delar på sig.

Cellcykeln består av följande faser:

G1 – celltillväxt, S – DNA replikation, G2 – kontroll av DNA replikation,
M – kromosomsegregation och celledning, G0 –vilofas.

Den kortaste fasen är M-fasen.

Celltyper som delar sig ofta: t.ex. hårceller, hudceller, könsceller hos män, hematopoetiska stamceller.

(2p) Det finns exempel på cancerceller som slutar att dela sig i närvaro av D-vitamin. Man har visat att detta kan härledas till att nivåerna av en cdk-inhibitor (CKI), p27, ökar i cellerna. Beskriv hur ökade nivåer av en CKI kan påverka celledningen. Nämn även en ytterligare komponent i cellcykelmaskineriet vars nivåer effektivt kan reglera celledning.

CKI p27 binder och inaktiverar cyklin/cdk-komplexen som vanligtvis aktiveras efter G1 checkpoint (start).

Detta leder till att den katalytiska förmågan hos cyklin/cdkkomplexen inaktiveras och då uteblir de normala funktioner som aktiverat cdk vanligtvis medierar; som att initiera DNA-replikation och mitos (1p).

Ytterligare komponenter vars uttrycksnivå påverkar cellcykelprogress är framförallt cykliner, därefter godtas även ubiquitinligaser (APC) samt fosforylerande respektive defosforylerande enzym (1p).

(3p) En viktig cellulär process i sårhäkning är tillväxt av celler. Redogör schematisk för cellcykelns huvudfaser, gärna med en bild med förklaringar, och beskriv kortfattat vad "restriction points" är samt var i cellcykeln dessa finns.

G1, S (DNA-syntes), G2, M (separation av kromosomer, celledelning), G0 (vilofas).
Vid G1-checkpoint kontrolleras om miljön är gynnsam miljö.
Vid G2/M-checkpoint kontrolleras om allt DNA har replikerats samt om miljön är gynnsam.
Vid metafase-checkpoint kontrolleras att alla kromosomer är fastsatta i kärnspolen.

(2p) De olika faserna av utmognad av neutrofila vita blodkroppar utifrån prolifererande omogna celler regleras i till stor del av cellcykelmaskineriet. När de mognat ut till fagocyterande neutrofila blodkroppar delar de sig aldrig mera. Vad kallas denna fas i cellcykeln när cellen inte delar sig mera? Beskriv, gärna med en schematisk bild, de olika faserna i cellcykeln för en aktivt delande/prolifererande cell.

G0-fas, även G0/G1-fas godkänns. Interfas: G1 (gap) tillväxt av organeller, membran, proteiner; S-fas DNA replikation; G2 tillväxt. M-fas: mitos (kärndelning) samt cytokines (celldelning).

(4p) Cellcykeln reglerar produktionen av nya celler. Redogör kortfattat för cellcykelns olika faser (namn och funktion). Förklara vad "check points" har för funktion och var de finns cellcykeln. Rita gärna en bild och komplettera med förklaringar.

Cellcykeln består av följande faser: G1 – celltillväxt, S – DNA replikation, G2 – kontroll av DNA replikation, M –kromosomsegregation och celledelning, G0 – vilofas.
En check point är en kvalitetskontroll i cellcykeln. Är kvalitetskravet inte är uppfyllt så blockeras cellcykeln.
Checkpoint i G1- läser av ogynnsam miljö (skadat DNA),
checkpoint i G2 – läser av oreplikerat eller skadat DNA, ogynnsam miljö och
checkpoint i mitosens metafase känner av om alla kromosomer är fasta vid mitotiska spolen (ligger på "metafasplattan") inför separationen av kromosomerna (anafas).

Apoptos

(2p) Betacellerna i de Langerhanska öarna (som utgör den endokrina delen av pankreas) utsöndrar insulin. Insulin styr upptaget av glukos från blodet till våra celler. Alltför höga nivåer av glukos i blodet utgör en hälsorisk. För att kroppen ska kunna reglera blodglukosnivåerna även vid ändrade metabola förhållanden, till exempel efter viktuppgång, har pankreas utvecklat en förmåga att anpassa antalet betaceller. En ny behandlingsmetod för typ 2 diabetes (T2DM) består i att ge patienterna läkemedel som ökar nivåerna av "glucagon-like peptide-1" (GLP-1). GLP-1 ökar betacellernas celledelning samt minskar betacellernas död via apoptos. Läkemedlet beräknas därmed öka insulinproduktionen. GLP-1 minskar nivåerna av kaspas-3; påverkar detta i första hand celledelning eller apoptos? Hur aktiveras kaspaser och vad är deras uppgift?

Apoptos påverkas.

Kaspaser aktiveras genom klyvning/spjälkning av ett annat kaspas (från protokaspas). Kaspasernas funktion i cellen är att klyva sönder andra proteiner i kärnan och cytoplasman som är viktiga för cellens struktur och funktion.

(2p) Induktion av apoptos står också för en del av den observerade tillväxthämmande effekt D-vitamin har på cancerceller. Bland annat har man sett att D-vitamin minskar nivåerna av bcl-2 i cancerceller. Redogör översiktligt för i vilket steg bcl-2 är involverad samt hur apoptosprocessen fortskrider efter detta steg.

Bcl-2 reglerar utsöndringen av cytokrom-c ur mitokondrierna ut i cytoplasman (1p).

Utsöndrat cytokrom-c binder in till ett större proteinkomplex och bildar apoptosomen som i sin tur binder in och klyver/aktiverar det första pro-kaspaset. Detta pro-kaspas inducerar därefter en klyvningskaskad av ytterligare pro-kaspaser som har till uppgift att klyva och därmed inaktivera målproteiner i cellen (1p).

Genetik

Översikt DNA & gener & kromosomer

(2p) Hur många kromosomer finner man normalt i en somatisk cell? Vissa cancerformer initieras efter en felaktig separation av systerkromatider under cellcykeln. Hur många kromosomer finns det normalt i somatiska celler under mitosen? I vilken fas under mitosen sker separationen av systerkromatider?

46 kromosomer (=72 kromatider). 92 kromosomer. Anafas

(2p) Ange tre funktionella domäner i den eukaryota kromosomen som behövs för att en celledelning skall kunna ske utan förlust av genetisk information till någon av dottercellerna. Ange även antalet av dessa domäner på en typisk kromosom.

Centromer (1) , telomerer (2) i ändarna samt ett replikations origins (stort antal).

(2p) Beskriv kort den genetiska koden på DNA-nivå och på proteinnivå. Vad menas med att koden har redundans?

De fyra DNA baserna ACGT kan bilda totalt 64 olika triplett-kodoner varav 3 utgör stop-kodoner som resulterar i terminering av translation och de övriga 61 kodar för 20 olika aminosyror.

Således kodar flera olika kodon ofta för en och samma aminosyra (redundans).

Gener & sjukdomar

(4p) Det är även känt att vissa typer av hypertoni kan ha ärftliga komponenter. Ge funktionella definitioner för de två huvudtyperna av genetiska sjukdomar. Beskriv även hur man skulle kunna gå till väga för att studera den ärftliga komponenten i högt blodtryck. Vilka typer av studier skulle man kunna genomföra? Skapa en hypotes hur man skulle kunna ta reda på om en sjukdom endast är resultat av miljöpåverkan. Observera – i denna fråga är det viktigt att du fokuserar på att skapa en vetenskapligt motiverad hypotes. Flera olika typer av svar kan godkännas.

De två huvudtyperna av genetiska sjukdomar är enkla och komplexa sjukdomar. I enkla sjukdomar ger en mutation direkt utslag i form av sjukdomen, miljön påverkar inte processen.

Komplexa sjukdomar är resultat av en växelverkan mellan arvet (flera olika gener och genkombinationer) och miljön.

Man skulle kunna studera ärftlighet i familjer och etniska grupper, eller med tvillingstudier.

Man kan studera fenomenet med olika djurmodeller. Flera olika typer av svar kan godkännas när det gäller miljöpåverkan.

(4p) Redogör för vilka typer av genvariation som allmänt förekommer mellan individer, både på gen- och kromosomnivå. Spekulera sedan över vilka typer av genvariation som är lättast och vilka som är svårast, att studera som orsak till ett sjukdomstillstånd.

Flera olika typer av svar kan godkännas. Vanliga typer av genetisk variation är olika punktmutationer i gener (enkla förändringar i nukleotidsekvensen, SNP:s) som kan vara tysta eller påverka aminosyresekvensen av motsvarande protein och därmed dess funktion.

Gener kan även ha deletioner, insertioner, inversioner och translokationer.

Mutationer kan ske både i proteinkodande delar, och i icke-kodande delar som till exempel promotersekvenser eller i intronsekvenser.

Därmed kan en mutation påverka regleringen av genen eller dess splitsningsmönster.

Antalet kopior av en viss gen kan variera mellan olika individer.

Dessutom finns det genetiska skillnader mellan män och kvinnor (kvinnor har två X-kromosomer).

Det kan finnas även skillnader i epigenetisk information mellan individer.

Den typen av genetisk variation som är lättast att studera är enkla genetiska sjukdomar, och de svåraste är mycket komplexa sjukdomar som har ett stort inslag av miljöverkan kombinerad med ett stort antal gener och deras varianter i olika kombinationer. Även epigenetiska effekter är fortfarande svårstuderade.

Epigenetik

(1p) H3K4me utgör ett exempel på kemisk modifiering av de histoner som deltar i den epigenetiska programmeringen av genomet under cellulär differentiering. Ange två andra typer av kemisk modifiering av histoner som förekommer i detta sammanhang.

Acetylering av lysiner,
ubiquitinerings av lysin,
fosforylering av serin eller treonin,
metylering av arginin.

(2p) Beskriv packningsenheten av DNA i kromosomerna, gärna med en figur.

Två kopior av varje histonprotein av typen H2A, H2B, H3 samt H4 bildar en diskoid struktur omkring vilken 147 bp av DNA är lindat i 1,7 varv, tillsammans med sammanlänkande 30-60 bp DNA och ett "linker histone" H1, utgör dessa kromatinets packningsenhet.

(4p) I äggcellen är DNA förpackat på i princip samma sätt som i alla andra eukaryota celler medan spermien har en speciell mycket tätare packning av DNA som sker med hjälp av protaminsulfat. Beskriv hur DNA är förpackat i cellkärnan i en vanlig eukaryot cell (således ej i spermien). Rita gärna en teckning och förklarar strukturen, vad de ingående komponenterna kallas och beskriv deras funktion i cellen.

DNA är packat i kromatin vars packningsenhet är nukleosomen.

En nukleosom består av en histonoktamer med två komponenter av vardera histonproteinerna H2A, H2B, H3 och H4 samt ett linkerhiston H1, därutöver ingår c:a två varv DNA som är lindat i en negativ *supercoil*,

denna är således vänstervriden, d.v.s. spiralen är vriden i motsatt riktning mot den högervridna DNA dubbelspiralen.

En nukleosomenhet organiserar c:a 200 bp DNA varav 147 bp är i direkt kontakt med histonoktameren och resten ingår i mera rörligt länk (linker) DNA.

Varje histonprotein i oktameren har en N-terminal svans som utgör c:a en tredjedel av hela proteinets längd och som radierar ut från nukleosomen och kan kontakta DNA eller närliggande nukleosomer.

Sidokedjorna på aminosyrorna som bygger upp dessa N-terminala histonsvansar modifieras med olika kemiska grupper såsom metyl- acetyl och fosfatgrupper vilka utgör signaler som i vissa fall styr packningsgraden och i andra fall rekryteringen av andra proteiner till kromatinet.

Genom denna modifiering kan genomet programmeras epigenetiskt under fosterutvecklingen så att olika celler får olika vävnadsspecifika genuttrycksmönster.

Vidare deltar dessa modifieringar i den reversibla genregleringen samt förmodligen i alla kända reaktioner som involverar DNA i cellen. En ytterligare funktion av kromatinet är att förpacka och organisera genomet i cellens alla olika faser i cellcykeln.

(För full poäng: Redogör för struktur, ingående komponenter, samt funktionen)

(1p) Namnge två typer av epigenetiska modifieringar av kromatin.

Metylering av DNA, histonmodifieringar eller histonutbyte.

(2p) Cancer är en genetisk sjukdom - och den har både genetiska och epigenetiska aspekter. Beskriv olika typer av genetiska och epigenetiska förändringar som kan leda till cancer.

Mutationer av olika typ som leder till förlust av tumörsuppressorgen eller mutation som leder till överuttryck av onkogen.

Epigenetisk förändring av genregion, inpackning i heterokromatin eller metylering av CpGs i en tumörsuppressorgen.

Genetiska och epigenetiska förändringar kan också samverka på ogynnsamt sätt.

(3,5p) Kromatinet i närheten av telomererna är ofta mer hårt packat jämfört med vissa andra delar av genomet. Vilka beståndsdelar består kromatin av och vad kallas de delar av kromatinet som är "hårt packade" respektive de som är mer öppna? Vad har detta för betydelse för uttryck av gener som finns i dessa två olika typer av kromatin? Ge också exempel på hur de olika typerna av kromatin skapas.

Kromatin består av DNA plus histonproteiner. Telomernära tättpackat kromatin är av heterokromatin natur vilket skiljs från eukromatin som är mer luckert eller tillgängligt/öppet. Gener som är positionerade eller blir positionerade i heterokromatin på konstgjord väg uttrycks för det mesta i lägre utsträckning än de som finns i eukromatin. Om behov finns eller skapas för uttryck av heterokromatinpositionerade gener krävs kromatinremodellering, t.ex. via acetylering av histonproteiner eller via ATP-beroende kromatinremodellerande enzymer för att skapa åtkomst till promotorerna för transkriptionsmaskineriet, osv. Heterokromatin formeras t.ex. via metylering av histonproteinernas ändar.

(1p) Kromatinets position i cellens tredimensionella struktur är också något som påverkar genuttryck. Var i cellkärnan hittar man oftast telomererna?

I cellkärnans periferi, vid kärnans inre membran.

DNA-replikation

(3p) Utan telomeras blir kromosomerna kortare vid varje replikationscykel. Förklara varför. Använd och förklara orden "Okazakifragment" och "Primer" i svaret. Rita gärna.

Den sackande strängen kan inte replikera kromosomändarna eftersom det saknas en sekvens att göra primer av. En primer är en bit DNA eller RNA som binder till komplementär DNA och fungerar som startpunkt för DNA-replikation.

Eftersom replikation bara kan ske i en riktning kommer den sackande strängen att replikeras i motsatt riktning mot hur replikationsgaffeln rör sig. Den sackande strängen replikeras därför i korta DNA-bitar, kallade Okazakifragment.

För varje Okazakifragment behövs en primer för att replikationen ska kunna starta, men det finns inte plats för en primer i slutet av kromosomen.

(1,5p) Förklara hur telomeras förhindrar att kromosomerna förkortas vid replikation.

Telomeras förhindrar att kromosomer förkortas genom att förlänga kromosomernas ändar. Telomeraset består till en del av RNA som används vid basparning för att förlänga den ledande strängen. Detta ger extra plats för en primer att binda och den

säckande strängen kan därmed replikeras.

DNA-reparation

(3p) Redogör kortfattat för hur reparation av DNA går till med mekanismerna "base excision repair" och "nucleotide excision repair". Förklara även varför det är viktigt att fel i DNA repareras.

"Base excision repair" är en mekanism där baser som har blivit felaktigt kemiskt modifierade repareras.

DNA-glykosylas känner igen den modifierade basen och tar bort den.

Endonukleas bryter sockerkedjan och DNA-polymeras fyller i DNA-strängen.

Slutligen sammanfogar DNA-ligas kedjan.

"Nucleotide excision repair" kan reparera nästan vilken DNA-skada som helst (t.ex. tymindimerer eller kemiska modifikationer). Ett enzymkomplex känner igen att DNA-strängen är skadad. Ett nukleas klipper av DNA-strängen på båda sidor om skadan (25 nukleotider). Den felaktiga DNA-strängen tas bort av DNA-helikas. DNA-polymeras och ligas lagar skadan.

Det är viktigt att DNA-reparation sker, för att trygga artens överlevnad samt för att skydda individen mot genetiska förändringar som leder till okontrollerad tillväxt (cancer).

(3p) Folsyrabrist leder till en ökad frekvens av enkel- och dubbelsträngsbrott på DNA:t. Anledningen har visat sig vara att metyleringen av uracil till tymin uteblir vilket medför att uracil (U) inkorporeras i den replikerande DNA-strängen i stor utsträckning. Vilken reparationsmekanism är ansvarig för att reparera en felaktigt inkorporerad bas (uracil)? Beskriv även schematiskt hur reparationen går till. Gör även en hypotes om anledningen till varför inkorporering av uracil nära varandra på var sin sida av DNA-dubbelhelixen kan ge upphov till dubbelsträngsbrott i samband med reparationen.

"Base excision repair".

Glykosylas tar bort basen.

Endonukleas bryter kedjan.

DNA-polymeras och DNA-ligas fyller i och sluter in en ny nukleotid.

Endonukleas bryter kedjan transient (enkelsträngsbrott) men om skadan lagas samtidigt även på motsatt sträng bildas ett dubbelsträngsbrott, som dessvärre är mycket svårare att reparera.

Vilken/vilka varianter av DNA-reparation skulle du föreslå för att åtgärda DNA dubbelsträngsbrott som inducerats i en oocyt? Fundera över hur stor sannolikheten är att denna typ av reparation skall vara lyckosam och alternativa lösningar för organismen att minimera följderna.

Mutationer i könsceller kommer att överföras till avkomma till skillnad från mutationer i somatiska celler som i de flesta fall inte får några konsekvenser och endast i värsta fall drabbar individen i form av t. ex. en tumör.

DSB repareras via "nonhomologous end joining" (NHEJ) eller homolog rekombination (HR). Eftersom spermier och ägg har gått igenom S-fas kan HR användas eftersom det då finns templat (mall) för korrekt reparation nära till hands, i form av systerkromatiden.

Det är en fördel om HR används eftersom det leder till en mer korrekt reparation, NHEJ anses vara "error-prone". För att vara helt säker på att inte felaktig genetisk information

överförs till avkomma vore det kanske allra mest fördelaktigt för artens fortlevnad om den drabbade könscellen istället dör genom inducerad celledöd eller apoptos.

Transkription

(2p) Regleringen av vissa viktiga gener som kodar för proteiner kan vara felaktig hos diabetespatienter. Den vanligaste mekanismen för genreglering är reglering av en gens transkription. Ange vilket RNA-polymeras som kommer att påverkas, och redogör för den vanligaste mekanismen hur aktiviteten hos detta RNA-polymeras kan stimuleras.

RNA-polymeras II. Genom att öka hastigheten för initiering av transkription (via exempelvis funktionella kontakter mellan transkriptionsfaktorer som binder till uppströms s.k. enhancerelement och det basala transkriptionsmaskineriet som byggs upp runt TATA-boxen eller andra promoterelement).

(1p) Hur många möjliga läsramar finns det hos en dubbelsträngad DNA-molekyl? Rita gärna en enkel schematisk bild.

Det finns sex möjliga läsramar, tre i ena strängen och tre på den andra strängen i den motsatta riktningen.

(3p) För att ett längre fusionsprotein skall kunna bildas efter en felaktigt sammansatt DNA-molekyl krävs att den öppna läsramen bibehålls intakt i de båda proteinkodande DNA-sekvenserna som kopplats ihop. Förklara varför och beskriv även den genetiska koden (från DNA till protein) samt vilken aminosyra som sitter i början av ett protein och således är den första i den därefter bildade peptidkedjan.

Den genetiska koden består av tripletter av nukleotider, s.k. kodoner. Var och en av de 20 aminosyrorna motsvaras av en eller oftast flera olika kodoner av de totalt 64 olika kodonvarianterna där tre utgörs av STOP-kodoner.

Aminosyran metionin med kodonet AUG (=ATG på DNA-kedjan) är den första i peptidkedjan och sitter i N-terminalen.

När ett fusionsprotein bildas av felaktigt ihopkopplade DNA-kedjor måste läsramen i de två kodande DNA-sekvenserna bibehållas för att aminosyrasekvensen skall bibehållas.

Varje kodande DNA-sträng har tre olika läsramar och den dubbelsträngade DNA-molekylen har således sex olika läsramar varav endast en utgörs av den "öppna" läsramen, d.v.s. den saknar STOP-kodoner över hela längden av det proteinkodande DNA-segmentet.

(1p) För att albumin ska bildas i en cell måste albumingenen transkriberas och sedan ska det mRNA som bildats läsas av (translateras) för att ge den slutgiltiga produkten: proteinet albumin. Hur fungerar den genetiska koden i translationsprocessen? Om ett kodon inte kodar för en aminosyra vad signalerar den då?

mRNA läses av i nukleotidtripletter, varje kombination av tre nukleotider läses av till en specifik aminosyra. Om den inte kodar för en aminosyra är det ett så kallat stoppkodon och translationen kommer att avslutas vid denna tripplett.

(4p) Då Pelle försökte rädda kantarellerna från att kastas berättade svampexperten att giftet i första hand angriper parenkymatösa organ såsom lever och njurar vilket resulterar i massiv celledöd. Giftet verkar genom att binda till och hämma funktionen av ett viktigt enzym, RNA-polymeras II. Pelle visste inte vad detta enzym hade för betydelse. Beskriv funktionen för samtliga RNA-polymeraser i eukaryota celler samt rita en figur som illustrerar de ingående komponenterna i den process som RNAPolymeraser katalyserar. Namnge också processen.

Alla RNA polymeraser katalyserar tillverkningen av RNA och använder DNA som mall.

Processen kallas transkription (se figur 6-8, sid. 334 i Alberts). RNA polymeras I:

Syntes av ribosomalt RNA;

RNA polymeras II: syntes av mRNA för alla proteinkodande gener;

RNA polymeras III: syntes av tRNA.

Svampgiftet binder till RNA-polymeras II, vilket effektivt stoppar proteinsyntesen i cellen.

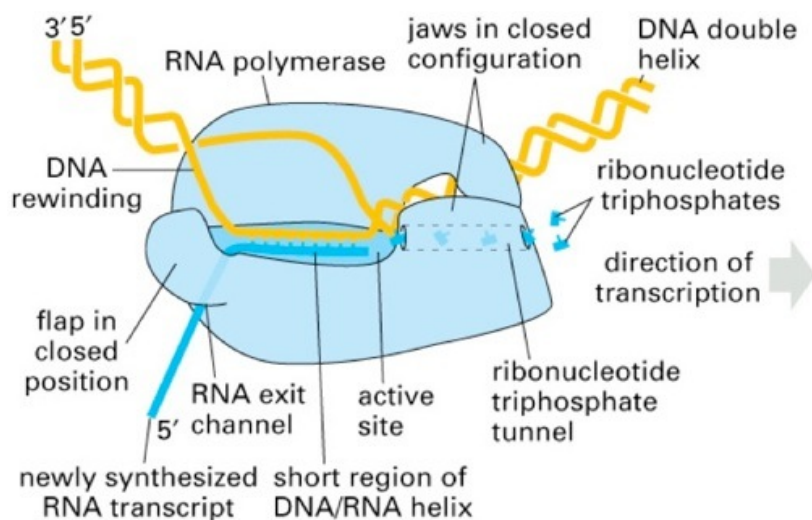


Figure 6-8. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

(4p) Enzymet *laktas* uttrycks i tunntarmsepitelet och är således ett exempel på ett protein som uttrycks vävnadsspecifikt, det vill säga i en speciell celltyp. Många av dessa cellspecifikt uttryckta gener styrs via speciella cellulära signalsystem. Styrningen av uttrycket av en enskild gen kan ske på flera olika nivåer i cellen, en av dessa är styrningen av initieringen av transkriptionen. Förklara verkningsmekanismen för hur transkriptionsprocessen kan aktiveras i en inaktiv gen så att denna övergår i ett aktivt transkriberande tillstånd. Beskriv de olika stegen i händelseförloppet från och med en extracellulär signal (välj själv ett cellulärt signalsystem) som startar processen till och med att RNA-polymeras II har initierat transkriptionen på genen ifråga. Beskriv de olika stegen i processen, helst genom att rita en bild med förklaringar.

En signalkänslig transkriptionsfaktor, t.ex. en hormonreceptor, aktiveras genom att hormonet passerar plasmamembranet och binds till en specifik receptor i cytoplasman eller cellkärnan varefter hormon-receptor komplexet söker sig till en specifik DNA sekvens i en enhancer region (genregulatorisk DNA-sekvens)

där den binder sekvensspecifikt till DNA-segmentet och därmed attraherar ett eller flera kromatin-öppnande komplex, såsom histonacetyltransferaser och/eller vissa histonmetyltransferaser eller SWI/SNF (energi-förbrukande kromatinöppnande komplex) s.k. koaktivatörer, varefter kromatinstrukturen luckras upp så att kringliggande DNA blir tillgängligt för bindning av basala (generella) transkriptionsfaktorer såsom TATA-bindande komplexet TFIID, TFIIB m.fl. samt RNA-polymeras kan bindas och transkriptionen initieras.

Uppluckringen av kromatinstrukturen sker genom att histonsvansarna (N-terminala utskott från histonproteinerna i nukleosomerna) förlorar sin positiva laddning p.g.a. acetylering av lysiner, detta bidrar till att göra DNA tillgängligt så att promotorn öppnas för transkription.

(3p) I en hypotetisk sjukdom finner man att det albumin patienterna producerar inte är fullt funktionellt. Vid närmare undersökning märker man att nivån av mRNA i deras celler är normal. Däremot produceras ett albuminprotein som är större än vanligt. Detta kan bero på att mutationer uppstått under replikationen eller transkriptionen av albumingenen, eller under replikationen eller transkriptionen av en gen för tRNA. Ett femte alternativ är att translationen gått fel. Förklara hur dessa fem alternativ skulle kunna ge upphov till ett för stort albuminprotein.

Albumin är ett protein som bildas under translationen av ett mRNA. Translationen måste avslutas vid ett stoppkodon i mRNA:t för att proteinet skall ha den rätta storleken.

Om detta muteras under replikationen (när ny DNA bildas) eller transkriptionen (när mRNA bildas) p.g.a. att det uppstår fel i dessa processer, kan stoppkodonet förvandlas till ett kodon som kodar för en aminosyra.

I och med detta kommer mRNA:t läsas av till det stoppkodon som kommer efter det normala, och proteinet blir längre (större) än normalt.

En mutation i en gen för tRNA efter felaktig replikation, eller även transkription (se ovan), kan ge upphov till ett tRNA som vanligtvis skulle binda in till ett kodon som kodar för en aminosyra, i stället binder till ett stoppkodon.

Därigenom kommer inte translationen att avslutas vid stoppkodonet utan proteinet blir längre (större) än normalt.

Om translationen går fel så att basparningen mellan tRNA och mRNA inte kontrolleras på ett korrekt sätt kan en aminosyra inkorporeras vid ett stoppkodon.

Detta leder till en förlängning av proteinet.

En ytterligare möjlighet är att ett tidigare initieringskodon har bildats genom mutationen.

RNA-processning

(2,5p) Förklara kortfattat vilka fördelar splitsning av genetisk information kan ha för cellen och organismen.

Svar: Den genetiska informationen hos eukaryotiska organismer (människan) är organiserad så att ur den genetiska information som finns lagrat i kromosomer kan olika kombinationer av informationsbärande delar väljas fram och användas som RNA eller mRNA för translation till proteinet. Därmed kan cellen ta fram olika funktioner eller varianter av ett protein eller RNA-molekyl ur en enda gen. Antalet gener behöver därmed inte vara lika med antalet olika proteinvarianter som förekommer hos organismer.

Cellers rörelse, membran, transportsätt, signalering och kommunikation

Cellmembranet

(3p) Redogör (med ord och skiss) för det humana cellmembranets generella uppbyggnad vad avser molekylära komponenter och sammanhållande krafter. Beskriv också vad som är speciellt med det inre mitokondriemembranet med avseende på molekylära komponenter och egenskaper relativt det yttre mitokondriemembranet.

Skissen skall visa ett dubbelskikt av fosfolipider med insprängda kolesterolmolekyler där det finns omättade fettsyror och därmed knyckar i membranet med mindre hydrofob interaktion som konsekvens. Dessutom skall membranskissen också illustrera insprängda proteinmolekyler.

Sammanhållande krafter är framförallt hydrofob interaktion och van der Waalsinteraktion.

Det inre mitokondriemembranet är extremt tätt p.g.a. en stor halt av proteiner och den speciella dubbla fosfolipiden cardiolipin.

Det yttre mitokondriemembranet skiljer sig från det inre genom att det är permeabelt p.g.a. porer och i övrigt mera liknar det vanliga plasmamembranet, men innehåller fosfatidylglycerol i större utsträckning.

(2p) Hur kan gamma-karboxyleringen via bindningen till kalciumjoner leda till en förstärkt inbindning av koagulationsfaktorerna till en viktig komponent i cellmembranet, som normalt finns på membranets insida, men som efter cellskada exponeras eller enzymatiskt "flip-floppas" till membranets utsida. Beskriv med en principiell skiss och ord hur den aktuella membrankomponenten är uppbyggd och organiserad samt hur den via kalciumjoner också kan bidra till att binda koagulationsfaktorerna med den aktuella modifieringen.

Gamma-karboxyleringen innebär att det kommer att sitta två karboxylgrupper på sidokedjan och därmed effektiviseras inbindningen av kalciumjoner, som frisätts vid cellskada, och som i sin tur via komplexbindning binder till exponerade och negativt laddade fosfolipider – fosfatidylserin.

Skissen skall illustrera fosfatidylserin (FS): ett glycerolskelett med två fettsyror bundna, en negativt laddad fosfatgrupp på kol tre samt alkoholen serin med en plus och minusladdning.

Skissen skall dessutom illustrera hur den negativt laddade FS binder kalciumjoner som i sin tur binder till de två negativa karboxylgrupperna på koagulationsfaktorerna.

(3,5p) Redogör med text samt en eller flera kompletterande skisser för ett typiskt plasmamembrans principiella uppbyggnad, sammanhållande krafter samt förekomst av olika typer av molekyler. Beskriv också hur membranets fluiditet (rörlighet) påverkas av olika dietära lipider.

Ett typiskt cellmembran består av ett dubbelskikt av fosfolipider som sammanhålls genom hydrofob interaktion och van der Waals bindningar. Fosfolipiderna innehåller vanligtvis åtminstone en omättad fettsyra som skapar en knyck i strukturen varvid van der Waals-interaktionen minskar och fluiditeten ökar.

Insprängt i grundstrukturen finns den amfifila kolesterolmolekylen som tätar till

membranet på de nyss nämnda ställena.

I membranet finns dessutom talrika proteiner som i sina intramembranösa delar vänder de hydrofoba sidokedjor utåt mot den hydrofoba miljön medan de i de extra- och intracellulära delarna omvänt vänder de hydrofoba sidokedjorna inåt från vattenlösningen.

Dietära lipider som påverkar membranets struktur och fluiditet är: *trans-fettsyror* och mättade fettsyror som minskar fluiditeten, omättade *cis-fettsyror* som ökar fluiditeten och minskar diametern, kolesterol som på ett temperaturberoende sätt både kan minska och öka fluiditeten.

(Även längden hos fettsyror påverkar membranets fluiditet, diameter och därmed hur membranproteiner passar och fungerar.)

Extracellulär matrix

(2p) Redogör för strukturen på de jättelika aggregat i bindväven där hyaluronsyra ingår. Förklara även hur turgor-effekten i en vävnad uppstår.

Aggrekaner bildas av hyaluronsyra som centralt skelett till vilken proteoglykaner är fästade via länkproteiner.

Proteoglykanerna är via sina sulfaterade, negativt laddade GAGs oerhört hygroskopiska och binder därför så mycket vatten att ett direkt vävnadstryck (turgoreffekt) erhålls.

(2p) Ange fyra viktiga funktioner som ECM (extracellulär matrix) har för celler.

Extracellulär matrix har molekyler som ger struktur, mekanisk hållfast och förankrar celler.

ECM reglerar även intercellulär kommunikation. Matrix behövs för tillväxt och differentiering av celler, samt för cellmigration.

(3p) Ett stort patientproblem vid läkning av stora sår efter brännskador är vätskeförluster. Därför är det viktigt att sårytan kan täckas med ny cellyta så snabbt som möjligt. Detta cellytelager förhindrar att till exempel bakterier och virus enkelt kan infektera den annars blottlagda vävnaden. Den exponerade strukturen vid ett sår är främst den extracellulära matrixen (ECM). Ange namn på tre viktiga komponenter i cellmatrix (förutom kollagen). Hur kan man förklara att ett öppet sår vätskar så mycket, förutom eventuell blödning? Ett exempel på sådana sår kan vara brännskador.

Extracellulära matrixen (ECM) består av elastiska molekyler, sammanlänkande molekyler (t.ex. fibronectin), fibermolekyler, basalmembran och hygroskopiska molekyler (t.ex. proteoglykaner och hyaluronsyra).

De hygroskopiska molekylerna (t.ex. hyaluronsyra) ser till att dra åt sig vatten, vilket leder till en mycket hög tillgänglighet av vatten i den frilagda ECM i sårytan. Detta vatten kan avdunsta, eller t.o.m. rinna av såret.

Det avdunstade vattnet ersätts av nytt vatten från intilliggande vävnad p.g.a. den vattensugande effekten. D.v.s. ECM agerar som pump för att kanalisera bort vatten från den del av ECM som ligger vid sidan av såret. Detta vatten ersätts av vatten från blodet och därmed resten av kroppen.

(1p) Injektioner av hyaluronsyra används inom skönhetsindustrin bland annat för att ge fylligare läppar. Vad är den principiella uppbyggnaden av hyaluronsyra? Vilken egenskap hos hyaluronsyra utnyttjas vid denna teknik?

Repeterad disackarid (surt socker – aminosocker)_n [α -D-glukuronsyra + α -Nacetylglukosamin].

Hyaluronsyran har stor förmåga att hålla vatten [hydratiserade natriumjoner] vilket ger volym och elasticitet åt bindväven.

(1,5p) Redogör för två viktiga funktioner som fiberproteiner har i ECM. Namnge ett vanligt förekommande fiberprotein i extracellulär matrix (ECM).

Fiberproteiner ger struktur och mekanisk hållfasthet och förankrar celler. Till exempel kollagen.

(4p) Enligt vissa studier, kan inte fettceller växa utan att det sker strukturella förändringar i deras närmiljö. Beskriv hur cellernas närmiljö ser ut i en typisk vävnad (till exempel bindväv), alltså utanför cellmembranet. Beskriv dessutom vilka typer av strukturella förändringar som kan vara nödvändiga inom närmiljön innan till exempel fettceller kan växa i volym eller i antal.

"Cellens närmiljö präglas först och främst av den vattenmiljö som alla levande celler befinner sig i.

ECM (extracellulär matrix) är ett dynamiskt tredimensionellt nätverk bestående av komponenter som framställs och exocyteras lokalt av cellerna.

Den fungerar som en sorts byggnadsställning som möjliggör tillväxt av celler för att skapa tredimensionella strukturer.

Den är även viktig i processer där kroppen reparerar eller omsätter sina vävnader.

ECM består av fiberproteiner (kollagen och elastin) som ger matrix struktur och mekanisk hållfasthet samt förankrar celler. Dessutom finns det proteoglykaner samt hyalonsyra som binder joner och vatten och bildar en grundsubstans i det extracellulära rummet.

Glykoproteiner (som till exempel fibronectin) bidrar till stukturen och även förankrar celler.

Dessutom är de viktiga för överlevnad, motilitet, proliferaion och differentiering av celler.

För att celler skall kunna växa och dela på sig, krävs det att matrix modifieras och delvis bryts ned för att skapa utrymme för celltillväxt. ECM är till sin natur en dynamisk struktur som ständigt byggs upp och bryts ned."

Cellskelett och cellrörelse

(4p) Cellmigration (cellrörelse) är också en mycket viktig del av angiogenes. Till exempel endotelcellerna reagerar på olika typer av kemiska signaler som får dem att förflytta sig i rätt riktning för tillväxt av kärl. Beskriv kortfattat hur celler som endotelceller (alltså inte till exempel spermier) flyttar sig i en tredimensionell extracellulär matrix. Namnge viktiga cellkomponenter som deltar, samt namnge de viktigaste stegen i cellrörelse.

Cellrörelse har fyra huvudsteg:

1. Aktinpolymerisering vid plusändan förlänger lamellipodiet i rörelseriktningen.
2. Omfördelning i rörelseriktningen av icke-polymeriserat aktin.
3. Bildning av integrin-medierad fokal adhesion mellan cellulärt aktinfilament nätverk och extracellulära matrix proteiner.
4. Myosin II medierad kontraktion av cellens bakända.

(2p) När en cell börjar röra på sig i matrix krävs att cellen kan mobilisera resurser för detta (till exempel molekylära komponenter). Exempel på dessa är aktinfilament och integriner. Vad har de för funktion i cellrörelse?

Integrin är ett adhesionsprotein som binder mot matrix och aktinfilament under cellrörelsen.

Aktin skapar den initiala cellrörelsen genom att cellen skickar ut aktinförande filopodier och microspikes.

Senare hjälper aktinfilament att dra cellen framåt via sammandragningar.

(4p) Namnge de tre klasserna av komponenter som finns i cellskelettet och beskriv kortfattat funktionen för dessa. Beskriv också hur cellens funktioner skulle ändras om ämnet taxol binder till respektive klass av cellskelettkomponenter (alla tre klasser var för sig).

Aktin: till exempel cellmotilitet, muskelkontraktion, cytokines .

Mikrotubuli: till exempel vesikulär transport, mitos, cytokines.

Intermediära filament: till exempel ger mekanisk styrka till cellerna, formar nukleär lamina.

Hypotes: Taxol är ett ämne som stabiliserar proteinkedjor. Om den band till exempel till aktinfilament, skulle inte cytokinesen fungera normalt och cellen skulle inte kunna dela på sig. Detsamma skulle hända vid bindning till mikrotubuli - mitos skulle avstanna samt cytokines inte fungera. Om taxol band till intermediära filament skulle dessa inte kunna brytas ner och därmed skulle celldelningen påverkas.

(2p) Vilken del av cytoskelettet deltar aktivt i mitos? Hur?

Mikrotubuler [som organiseras av centrosomer] skapar kärnspolen ("mitotic spindle") som fäster i kromosomerna via kinetokorer.

Mikrotubulerna separerar de duplicerade kromosomerna så att de slutligen hamnar i dottercellerna.

(2p) Då enskilda celler förflyttar sig krävs samverkan mellan cytoskelett, plasmamembranproteiner och extracellulär matrix. Beskriv hur det går till när en cell förflyttar sig (migrerar), gärna med en figur. I svaret ska anges

- a) vilken del av cytoskelettet som deltar och vilka strukturer det bildar,
- b) vilka plasmamembranproteiner som är involverade och i vilka strukturer de organiseras, samt
- c) vilka extracellulära matrixproteiner som cellerna utnyttjar för sin vandring.

- a) Aktin, aktinpolymerisering till filament, filopodier, lamellipodier.
- b) Integriner, focal adhesion sites.
- c) Fibronectin, kollagen.

(2p) Vid invagination av ett epitel, till exempel vid bildning av neuralröret, veckas epitelet. Hur går det till? (Ledtråd: Det har att göra med cell-cell adhesionsmolekyler, cell junctions och en speciell del av cytoskelettet). Illustrera gärna med en figur.

I den apikala delen av epitelet (neuroektodermet) är epitelcellerna fästade i varandra med adherens junctions.

Cell-cellkontaktarna i adherens junctions förmedlas av Ecadherin.

På den cytoplasmatiske sidan är E-cadherinmolekylerna (via ett proteinkomplex bestående av bl.a. cateniner) förankrade i buntar av aktinfilament, som löper som ett band runt hela cellen.

Dessa aktinfilamentbuntar är kontraktila, dvs. de kan dra ihop sig.

Då aktinfilamentbuntarna drar ihop sig på ett ställe i epitelet blir de apikala ytorna av cellerna mindre i detta område.

Det leder till inbuktning (invagination) av epitelet i detta område.

(3p) Cushings syndrom kan ge upphov till bristningar i huden (striae) där matrixstrukturen skadas. Utifrån det du har lärt dig på kursen, namnge de två funktionellt viktigaste funktionerna matrix har i detta sammanhang, samt namnge den andra viktiga huvudkomponenten (förutom kollagen) som skapar dessa respektive funktioner. Striae försvinner sakta med åren. Vad är orsaken till detta? ´

Dragstress och tryckstress är de viktigaste funktionerna i detta sammanhang.

Kollagen – motstår dragstress.

Vatten (som binds av proteoglykaner) – motstår tryckstress.

Striae försvinner därför att fibroblaster sakta bearbetar matrix, och därmed försvinner ojämnheter med tiden.

(1p) Sårytan täcks så snabbt som möjligt av ett nytt cellager. Dessa nya celler måste förflytta sig över den delvis skadade och frilagda matrixen. Förklara fokala kontakternas roll i denna dynamiska cellrörelseprocess.

Fokala kontakter är fästpunkter för cellens stressfibrer och cellens fästpunkter mot underlaget.

De utgör alltså länken mellan cellens kontraktionsaktivitet och det omgivande mediet och medierar cellmotilitetsdynamiken.

(4p) Redogör för vilken del av cytoskelettet är inblandad i vesikeltransport inne i cellen, samt namnge två typer av motorproteiner som är inblandade. Hur kan cellen transportera vesiklar åt olika håll i cellen? Beskriv även motorproteinernas struktur i relation till deras funktion, gärna med en bild med förklaringar.

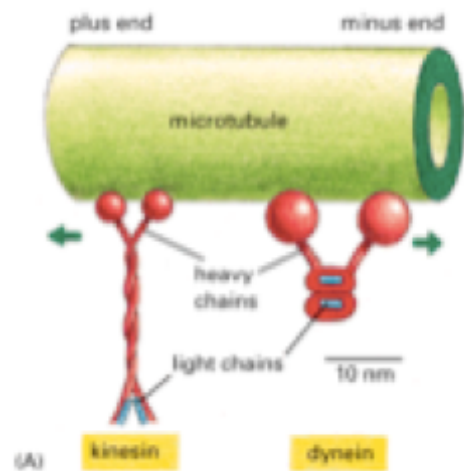
Mikrotubuli (består av tubuliner) är filamentet för transport av vesiklar [och organeller].

Dynein och kinesin medierar transporten; dynein mot (-)-ände och kinesin mot (+)-ände.

Den generella strukturen hos motorproteiner är att de har en motordomän som kan binda ATP och till mikrotubulifilament beroende på typ av motorprotein.

Genom hydrolys av ATP kan rörelse längs filamentet induceras.

Den andra domänen, "svansen", bestämmer vilken typ av last som motorproteinet ska bära med sig.



Cellsignalering

(3p) Alla celler i kroppen simmar i ett hav av information. Ofta är det så att olika celltyper reagerar på en och samma signalmolekyl fast reaktionerna blir olika. Förklara hur cellernas intracellulära informationshantering är organiserat så att en signal kan ge olika effekter hos olika celler. Teoretisera kring vilka fördelar multicellulära organismer kan ha av att en och samma signal kan betyda eller förmedla olika saker.

Celler har olika receptorer, vilket innebär att de tar emot bara vissa signaler.

Efter signalmottagningen, vilket sker genom en receptor, skickas signalen vidare in i cellen genom olika signaltransduktionsvägar.

Olika celltyper kan ha samma typ av receptor, fast olika signalvägar som följer efter. Signalen omvandlas i cellen genom amplifiering, integrering, "cross-talk", bifurkation eller förankring.

Slutligen hamnar signalen hos olika typer av effektormolekyler (t.ex. transkriptionsfaktorer) som påverkar en process, t.ex. genreglering. Även effektorerna kan vara olika hos olika celltyper.

Det kan finnas olika anledningar till att en signal i kroppen kan betyda olika saker för olika celler. Att en och samma signal kan starta eller förändra olika typer av cellulära processer är ett väldigt effektivt sätt att hantera information.

Eftersom cellerna är specialiserade på olika sätt, är det fördelaktigt att använda samma signal för olika celltyper. Andra alternativet vore att ha en specifik signal för varje process, vilket skulle öka antalet specifika signalmolekyler avsevärt, även behovet för mekanismer som skapar signaler.

Jämför gärna med en orkester – alla musiker följer dirigentens instruktioner men skapar ändå olika ljud. Det vore otympligt att ha en dirigent för varje musiker. Dessutom skapar gemensamma signaler en möjlighet att integrera och harmonisera information.

(3p) Förklara varför en enda signal (i detta fall T3) kan påverka aktiviteten hos så många olika gener som kodar för proteiner. Förklara även varför en signal kan åstadkomma helt olika effekter hos olika celltyper. Vad är det allra viktigaste sättet att reglera graden av genaktivitet? Rita gärna en bild som visar hur en signal tas emot av cellen och hur den sedan kan påverka genreglering.

En signal kan mottas av olika cellreceptorer, var och en av dessa kan ha olika signaltransduktionsvägar som leder till olika gener och därmed kan det bli olika effekter. (Detta gärna illustrerat med bild).

Olika celler kan även ha olika kombinationer av cellreceptorer och därmed blir det olika effekter hos olika celler.

Det allra viktigaste sättet att reglera genaktivitet är genom reglering av transkription genom olika transkriptionsfaktorer.

Dock kan även andra processer påverkas, från kromatinstruktur till RNA-processing, transport och translation.

Cell-cell interaktioner (celladhesion och cell junctions)

(1p) Det är viktigt att våra blodkärl kan förbli strukturellt intakta även under besvärliga förhållanden, som till exempel vid hypertoni. En viktig vävnadssammanhållande funktion har i detta sammanhang de intermediära filamenten. Nämn de cell-junctions som är viktiga för de kontakter där intermediärfilamenten ingår.

Desmosomen och hemidesmosomen.

(4p) Vilken typ av junction möjliggör cellkontakter som binder två celler väldigt nära till varandra så att läckage mellan celler inte kan uppstå, som i epitelet? Vilken typ av junction ger mekanisk styrka till en vävnad? Beskriv kortfattat hur dessa junctions ser ut, och namnge de viktigaste huvudtyperna av molekyler som deltar. Förklara vad som är grunden till den funktionella skillnaden mellan dessa två typer av junction. Rita gärna en bild med förklaringar.

Tight junctions är som namnet säger junctions som skapar en väldigt nära kontakt mellan celler för att hindra läckage mellan cellerna.

De består av CAM-molekyler [occludiner och claudiner]. Detta skapar möjlighet att ha en polaritet med celler (basal- och apikal sida).

Desmosomer ger mekanisk styrka till vävnader genom att koppla intermediära filament (cellskelettet) inne i cellen till cadheriner som finns mellan cellerna.

(2p) I "Oncogene-artikeln" framgår det också att de infekterade cellerna får en reducerad förmåga till direkt kommunikation mellan celler. Vilken cell-cellkontakt ("junction") ombesörjer detta? Vilken typ av kommunikation mellan celler kan det handla om?

Gap junctions. Connexiner bildar en direkt por som förbinder två celler.

Små molekyler, upp till c:a 1000 daltons kan passera, liksom buffert, joner och liknande.

Cellerna kommer alltså att få samma pH, jonstyrka, vätskestryck och en jämvikt med vissa mindre makromolekyler.

(2p) När cellerna är på vandring känner de av vilka andra celler de möter på vägen för att på så sätt veta när de har hittat den nya vävnad där de passar in. Varför användes inte de ovan diskuterade junctions för detta? Vilken typ av celladhesionsmolekyl används?

För att utveckla de ovan nämnda junctions krävs att celler har en långvarig interaktion; inte ett flyktigt möte. Det är varianter av CEACAM som används.

(2p) Redogör för vilka junctions som till exempel en hypotetisk cell i epitelcellagret i tunntarmen måste släppa taget med för att kunna vandra iväg. Svaret ska koppla ihop namnet på en specifik junction med dess celladhesionsmolekyl och vilket cellulärt filamentsystem som är kopplat till respektive junction.

Junction - adhesions protein - filamentsystem involverat
tight junction - occludin
adherens junctions - cadherin - aktinfilament
desmosomer - cadherin - intermediärfilament
hemidesmosomer - integrin - intermediärfilament
fokala kontakter - integrin – aktinfilament

(2p) Vilka är den humana cellens viktigaste cell-cell-adhesionsproteiner? Vad kallas de två viktigaste cell-cell-adhesionskomplexen i tarmepitel och vilka är i dessa de huvudsakliga cell-cell-adhesionsproteinerna?

Cadheriner är de viktigaste cell-cell-adhesionsproteinerna.

De två viktigaste cell-cell-adhesionskomplexen i tarmepitel är adherens junctions, klassiska cadheriner (Ecadherin).

De huvudsakliga cell-celladhesionsproteinerna är desmosomer, desmoscolliner och desmogleiner.

Cellulära transportprocesser och sekretion

(1p) Vilken cellbiologisk transportprocess genomgår toxinet vid sin internalisering.

Receptormedierad endocytos

(3p) Syntesen och utsöndringen av de proteiner som ingår i extracellulär matrix sker i speciella celler.

(a) Beskriv kortfattat den väg i cellen som proteinerna tar vid sekretion.

(b) Redogör för skillnaden mellan konstitutiv och reglerad sekretion.

(a) Syntesen av proteinerna sker av ribosomer förankrade vid ER (granulärt ER). Från ER transporteras de med vesiklar till cis-Golgi, sedan genom Golgi-stacken till trans-Golginätverket där de sorteras in i sekretoriska vesiklar, som sedan fuserar med plasmamembranet.

(b) Konstitutiv sekretion sker kontinuerligt. Vid reglerad sekretion ansamlas och anrikas specifika proteiner i sekretoriska vesiklar som sedan utsöndras vid en given specifik signal.

(3p) Transferrin utsöndras till blodet från leverceller. Redogör för transportvägen från ER till blodbana vid konstitutiv exocytos.

Transporten från ER-lumen till cellytan går via vesiklar, först med coatomer-klädda (COP II) vesiklar till ERGIC ("ER-golgi-intermediate-compartment") och cis-golginätverket, sedan vidare genom cis-, mediala- och trans-golgi till transgolginätverket där sortering till olika slutmål sker.

Transferrin, som skall utsöndras genom konstitutiv sekretion, ansamlas i klatrin-klädda vesiklar som knoppar av från trans-golginätverket.

Vesiklarna släpper sitt clathrin-hölje och fuserar med cellmembranet. Ingen speciell signal behövs för denna transportväg. (Speciella proteiner vSNARE i vesikeln och tSNARE i målmembranet ser till att vesiklarna fuserar med rätt membran.)

(3p) Beskriv de cellulära mekanismer som säkerställer att intracellulära vesiklar fuserar med rätt målmembran.

Det finns SNARE:s på både vesikeln (v-SNARE för "vesicle" SNARE) och på målmembranet (t-SNARE för "target" SNARE) och det måste normalt sett vara rätt kombination av v-SNARE och t-SNARE för att vesikeln skall kunna fusera.

Det behövs också en matchande kombination av Rab-GTP:as på den fuserande vesikeln och Rabeffektor på målmembranet.

(2p) HIV smittar ofta via transcytos genom enkla cylinderepitel i analgången samt genom ofullständigt keratiniserade flerskiktade skivepitel i kvinnans vagina, livmoderhalstapp och mannens förhud. Vad betyder transcytos rent generellt och hur skulle transcytos av en HIV-partikel genom en epitelcell kunna fungera?

Överförandet av molekyler och partiklar av olika slag (t.ex. virus) från ett extracellulärt rum till ett annat.

Efter endocytos på den apikala sidan transporteras viruspartikeln – via en apikal tidig endosom - mot plasmamembranet på epitelcellens basala sida där viruspartikeln exocyteras.

(2p) HPV är den vanligaste orsaken till livmoderhalscancer hos kvinnor, peniscancer hos män och analgångscancer hos både könen. Den mest tumörogena virusvarianten, HPV-16, infekterar basala epitelceller genom klatrinberoende receptormedierad endocytos. Beskriv kortfattat vad som händer vid klatrinberoende receptormedierad endocytos.

En ligand känns igen och binds av en plasmamembranspännande receptor.

Receptorn med bunden ligand (eller t.ex. viruspartikel) interagerar med klatrinets adaptorprotein.

Klatrintäcket bildar till en början en så kallad "coated pit" (täckt ingröpning) vid membranytan. Ingröpningen övergår till en fri klatrintäckt vesikel - som innehåller den av receptorn igenkända molekyl - efter att dynamin har snörpt av vesikeln från membranet.

Klatrintäcket faller strax därefter av och vesikeln fortsätter till en tidig endosom.

(3p) Beskriv principen för pinocytos och receptormedierad endocytos samt hur de upptagna ämnen sedan transporteras till lysosomer.

Pinocytos (grek. πίνω=dricka) pågår kontinuerligt och börjar med att en klatrintäckt ingröpning i plasmamembranet snörps av från membranytan med hjälp av dynamin.

Kort därefter lossar klatrintäcket och vesikeln transporteras först till en tidig endosom sedan till en sen endosom som mognar till en lysosom.

Pinocytos medger ett kontinuerligt (ospecifikt) upptag av extracellulär vätska, cellmembran och membranbundna proteiner.

Receptormedierad endocytos inleds med att en receptor i cellmembranet känner igen ett specifikt protein eller partikel som skall endocyteras.

Ett flertal receptorer slår sig samman och anrikas. Via adaptorproteiner binder de klatrin och bildar därigenom en klatrintäckt ingröpning i plasmamembranet. Ingröpningen snörps av från cellytan med hjälp av dynamin. Kort därefter lossar klatrintäcket och vesikeln transporteras till en tidig endosom.

I den tidiga endosomen avskiljs receptorn som återtransporteras till cellmembranet medan det upptagna materialet transporteras vidare till en sen endosom som sedermera mognar till en lysosom.

Receptormedierad endocytos medger ett specifikt upptag av extracellulära soluter som förekommer i låga koncentrationer.

(Korrekta beskrivningar av klatrinberoende pinocytos (via caveolae) ger delpoäng men behövs inte för full poäng.)

(3p) Redogör för huvuddragen i intracellulär transport och sekretion av ett protein som sekreteras (utsöndras) konstitutivt. I din redogörelse av denna kedja, börja vid translation och sluta vid sekretion.

mRNA binder till ribosomen i cytoplasman och translationen inleds.

När de första ~20-30 aminosyrorna kommer ut ur ribosomen så känns de igen av "signal recognition particle" (SRP).

SRP binder till ribosomen och translationen avbryts.

Hela komplexet (mRNA-peptid-ribosom-SRP) binder sedan till SRP-receptorn på ER-membranet och translationen återstartar varvid proteinkedjan åker in i ER-lumen genom translokatorn som spänner ER-membranet. Detta kallas kotranslationell translokation.

Signalpeptiden klipps av ett signalpeptidas och proteinet veckas i lumen. Proteinets transporteras därefter i vesikler från ER till *cis*-golgi, genom golgiapparaten där viss processning sker för att sedan i *trans*-golgi packas in i vesikler för sekretion.

Vesiklerna transporteras därefter till plasmamembranet där de fuserar med membranet och proteinet frisätts till det extracellulära rummet. Vid konstitutiv sekretion sker denna process kontinuerligt.

(4p) Beskriv kortfattat de mekanismer som används i cellen för att se till att ett protein hamnar: utanför cellen, i plasmamembranet, i mitokondrien och i lysosomen.

Utanför cellen:

Protein har en N-terminal signalpeptid som känns igen av SRP. Ribosomen dockar till ER och proteinet translokeras cotranslationellt över ER membranet. Proteinets transporteras genom ER och Golgi för att slutligen utsöndras.

I plasmamembranet:

Protein har en N-terminal signalpeptid som känns igen av SRP. Ribosomen dockar till ER och proteinet börjar translokeras cotranslationellt över ER-membranet. Proteinsekvensen innehåller en eller flera s.k. stopp-"transfer" eller start-"transfer"-sekvenser som styr membranproteinets topologi. Membranproteinets transporteras genom ER och Golgi för att slutligen binda in i plasmamembranet.

I mitokondrien:

Proteinets har en mitokondriell signalsekvens, oftast N-terminal. Proteinets translateras först men veckas inte utan binds upp av chaperon i cytosolen. Proteinets med chaperoner bundet känns igen av en receptor på mitokondriens yttermembran. Under omsättning av ATP förs proteinets igenom mitokondriens yttermembran m.h.a TOM-komplexet (TOM: "transfer over outer membrane") samt genom mitokondriens innermembran med hjälp av TIM-komplexet (TIM: "transfer over inner membrane").

I lysosomen:

Enzymer som skall verka i lysosomen N-glykosyleras med mannos-6-fosfat i *cis*-Golgi. Mannos-6-fosfatmärkningen känns sedan igen av mannos-6-fosfatreceptorn i *trans*-Golgi. Mannos-6-fosfat-receptorn medierar därefter vesikulär transport m.h.a. klatrin till en lysosom eller en mognande sen endosom.

(3p) Redogör med en skiss och ord, på ett sekventiellt korrekt sätt, för hur en typisk fettsyra såsom palmitinsyra på olika sätt (beskriv!) kan tänkas passera olika membraner och vätskerum från fettvävens cytosol till leverns mitokondriematrix och där återfinnas i aktiverad form. Olika hjälpmolekyler, liksom eventuella enzymatiska processer och proteiner som behövs för palmitinsyrans transport skall beskrivas i detalj och namnges.

Från fettcellen fri diffusion eller FATP. I blodbanan transport bunden till albumin.

In i hepatocyten fri diffusion/FATP/FABP, i cytosolen FABPs såsom acylCoAsyntetas (troligtvis belägget på yttre mitokondriemembranets utsida), som katalyserar aktiveringen av fettsyran vilket kräver ATP och CoA.

Ev. passage av acylCoA via porer i yttre mitokondriemembranet för vidare processning m.h.a. enzymet karnitinpalmitoyltransferas 1 (CPT1/CAT1) som katalyserar $\text{acylCoA} + \text{karnitin} \rightarrow \text{acylkarnitin} + \text{CoA}$.

Över inre mitokondriemembranet transporteras acylkarnitin m.h.a. en antiport (translokas) som samtidigt transporterar ut karnitin.

På insidan av inre mitokondriematrix ersätts sedan karnitin med CoA m.h.a. CPT2 vilket genererar acylCoA.

Cellers organeller

ER, Golgi & vesiklar

(2p) Koleratoxinets A-subenhet verkar i cytosolen och för att komma dit använder toxinet signalsekvenser så att det efter internaliseringen till slut hamnar i det endoplasmatiska retiklet. Därifrån tar sig A-subenheten in till cytosolen med hjälp av ett exportsystem som egentligen används för endoplasmatisk retikulär-cytosolisk transport av oveckade eller felveckade proteiner. C-terminalen på toxinets A-subenhet har proteinsekvensen lysin-asparbinsyra-glutaminsyra-leucin (KDEL). Redogör för funktionen av denna C-terminala sekvens.

Den C-terminala sekvensen KDEL används som en signatur för lösliga proteiner som skall verka i ER.

Ibland packas dessa ER-resident proteiner av misstag in i en COPII täckt vesikel och transporteras till Golgi.

I Golgi känns de dock igen av KDEL-receptorn som återbördar dem genom vesikulär COPI-beroende transport tillbaka till ER.

(3p) Laktasgenen kodar för en drygt 1900 aminosyror lång pro-peptid som processas proteolytiskt till ett cirka 1000 aminosyror långt färdigt enzym som är membranförankrat via en C-terminal helix. I laktasenzymets N-terminal finns det en signalpeptid. Redogör för laktasets mest troliga processväg från det att translationen precis är påbörjad till dess att laktaset är frisläppt i det endoplasmatiska retiklets membran.

När *laktasets* signalpeptidsekvens exponeras vid ribosomen binder den signaligenkännande partikeln (SRP) och förhindrar vidare translation i cytoplasman.

mRNA-ribosom-SRP komplexet binder sedan en receptor för SRP i granulärt ER.

Receptorn medierar i sin tur bindning till det ER-membranspännande translokator-komplexet.

SRP dissocierar från signalsekvensen, translationen återstartar och peptidkedjan som translateras transporteras nu genom translokatorn.

Den N-terminala ER- \square signalsekvensen klyvs därefter av cotranslationellt.

När den s.k. "stop-transfer"-sekvensen vid C-terminalen går genom translokatorn \square öppnas den och det membranförankrade *laktaset* släpps iväg lateralt i ER:s bilager.

Lysosomen

(2p) Det finns en organell som konceptuellt kan jämföras med matsmältningssystemet (lysosomen). Redogör för lysosomens funktion i kroppen.

Lysosomen är den organell i cellen där nedbrytningen av olika makromolekyler sker.

Utan en sådan nedbrytning skulle avfallsprodukter ansamlas i cellen. I denna del behandlas lysosomens uppbyggnad och de olika transportvägar som för material till lysosomen.

En av dessa vägar är den endocytotiska vesikeltransportvägen som för material från plasmamembranet och cellens utsida in i cellen. Lysosomen har ett lågt pH eftersom enzymerna kräver detta för sin aktivitet.

Peroxisomen

(1p) Vilka funktioner har peroxisomen?

Peroxisomens huvudfunktion är att bryta ner gifter med hjälp av väteperoxid men den assisterar även mitokondrien med betaoxidation av fetter.

Mitokondrien

(4p) Mitokondriella sjukdomar beror oftast på mutationer i det mitokondriella genomet trots att 99 % av proteinerna som används inne i mitokondrien kodas i kärngenomet. Beskriv mitokondriens membranuppbyggnad och beskriv hur ett lösligt kärnkodat protein kommer in i mitokondriens matrix.

Mitokondrien har ett innermembran och ett yttermembran där yttermembranet är permeabelt för molekyler upp till 5000 daltons molekylvikt emedan innermembranet är impermeabelt även för joner.

Proteiner transporteras posttranslationellt in i mitokondrien genom "transfer over outer membrane" TOM- och "transfer over inner membrane" TIM- komplexen som sitter i yttermembranet (TOM) och innermembranet (TIM).

Under translation i cytoplasman binder cytosoliskt Hsp70 till den translaterade peptidkedjan för att förhindra veckning.

En mitokondriell signalsekvens i proteinets N-terminal känns igen av en receptordel i TOM och peptidkedjan träs igenom TOM samtidigt som det cytosoliska Hsp70 släpper. TIM känner igen signalsekvensen och sedan drar mitokondriell Hsp70 peptidkedjan igenom TIM och hjälper sedan till med veckning inuti matrix.

Signalpeptiden klipps antingen av direkt när proteinet går igenom TIM eller strax efter veckning.

(3p). Hur kan det komma sig att mitokondrien har ett eget separat genom? Föreslå en hypotes som förklarar varför vissa delar av komplex 1 kodas i mitokondrien och inte i kärnan.

För 1.5 miljarder år sedan, i samband med att syrehalten i atmosfären hastigt ökade, upptogs aeroba prokaryoter av tidiga aneroba eukaryoter.

De upptagna aeroba prokaryoterna har under tidens gång förlorat en stor del av sitt ursprungliga genom.

En stor del av de förlorade generna kodas istället i kärnan. Detta kallas för endosymbionthypotesen.

De kärnkodade proteinerna som skall verka inne i mitokondrien transkriberas i kärnan och translateras i cytoplasman för att sedan importeras in i mitokondrien i oveckat skick.

En hypotes som förklarar varför inte alla proteiner (eller RNA komponenter) kodas i kärnan är att vissa är för komplext uppbyggda för att kunna veckas på rätt sätt efter transporten genom mitokondriens dubbelmembran (som sker i oveckat skick).

Detta gäller t.ex. de ribosomala subenheterna och flera av elektrontransportkedjans membranbundna komponenter. De 7 komponenterna av komplex 1 som kodas i mitokondrien är alla membranproteiner och har relativt komplicerad uppbyggnad.

Annat

(2p) Patienter med överproduktion av kortisol får ofta tunn hud och förtunnade kapillärväggar beroende på nedsatt kollagenbiosyntes. Det finns många olika typer av kollagen som skall genomgå olika typer av cellspecifika posttranslatoriska modifieringar för att ett starkt och funktionellt kollagen skall bildas i de olika vävnaderna.

Beskriv fyra principiellt olika posttranslatoriska modifieringar som kollagen (typ1) måste genomgå för att ett starkt kollagen av denna typ skall bildas.

Hydroxyleringar av vissa Pro- och Lys-rester.

Glykosylering av vissa av dessa hydroxylerade aminosyrarester. [Intermittent bildning av disulfidbryggor. Avklyvning av N- och C-terminaler extracellulärt.]

Bildning av modifierade lysinrester – allysin.

Bildning av kovalenta korsbryggor (allysinbryggor).