

Medicinsk Celle- og Vævsbiolog

Indhold

Medicinsk Celle- og Vævsbiolog.....	1
F2 og F3: Protein struktur og analyse og Protein struktur og funktion	2
F4 og F5: Membranstruktur og Membrantransport.....	6
F6 og F7: Ionkanaler og Membranpotentialt	11
F8 – F10: Intracellulær proteinsortering I, II og III.....	13
F11: Mitokondrier og peroxisomer.....	20
F12: Cytoskelettet.....	23
F13: Celle-celle og celle-ECM interaktioner	27
F14: Det centrale dogme.....	30
F15: DNA og kromosomer.....	31
F20 og F21: DNA replikation & Mutationer og DNA repair.....	34
Transskription.....	39
RNA processering	42
Translation	45
Transkriptionel genregulering.....	51
Posttranskriptionel og epigenetisk genregulering.....	55
Gen og genom evolution.....	57
Cellesignaler, GPCR og intracel. receptorer	63
Cellesignaler og enzymkoblede receptorer.....	67
Cellecyklus og mitosen.....	69
Meiose	73
Apoptose.....	76
Cancer	79

F2 og F3: Protein struktur og analyse og Protein struktur og funktion

✚ Redegøre for betydningen af ΔG for reaktioners forløb

Kemiske systemer vil søge hen mod den laveste mulige energi ΔG .

Det gør den ved at afgive energi (fx entropi til omgivelserne)

Reaktioner kan forløbe spontant ved en negativ ΔG , derfor exergon reaktion.

Kemiske systemer vil søge mod ligevægt.

Termodynamikkens hovedsætninger: LUKKET SYSTEM

1. Energien er konstant: Den totale energi af et lukket system er konstant. Energi kan hverken skabes eller tabes, kun omdannes eller flyttes.

✚ Beskrive relationen mellem ΔG og ligevægt

Der gælder følgende sammenhæng mellem ΔG og ligevægtsbrøken Y .

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R \cdot T \cdot \ln(Y)$$

Hvor ΔG er gibbs fri energi ændring, ΔG° er standardændringen af Gibbs fri energi, R er gaskonstanten (8,31 J/(mol·K)), T er temperaturen i K og Y er reaktionsbrøken.

Der er ligevægt når $\Delta G = 0$. Dette betyder at der ved ligevægt gælder følgende sammenhæng:

$$0 = \Delta G^\circ + R \cdot T \cdot \ln(K) \quad (\text{Ved ligevægt})$$

Dette kan også omskrives til:

$$\Delta G^\circ = -R \cdot T \cdot \ln(K)$$

✚ Beskrive betydningen af entropi for biologiske systemer.

Cellen er en del af de biologiske systemer, cellen er IKKE et lukket system. Derfor sørger cellen for at skabe indre orden, ved hjælp af energi. Derudover eksporterer den uorden.

Termodynamikkens hovedsætninger: LUKKET SYSTEM

1. Den totale entropi (uorden) vil altid øges.

✚ **Forklare hvorfor en celle (liv) kræver energi (metabolisme)**

Karakteristika for liv:

Isoleret fysisk og kemisk rum (cellemembran)

Kommunikation med omverden (åbent system)

Ikke ligevægt (Steady state)

Kotrollerede kemiske reaktioner

Koblede kemiske reaktioner

Skaber orden (mindsker entropi)

Forbruger energi – eksporterer entropi til omgivelserne (metabolisme)

Proteiner kontrollerer det

En celle kræver energi da den kan omdanne det til arbejde.

Metabolisme

Katabolisme (Nedbrydning) -> Energi -> Anabolisme (Opbygning)

Katabolisme: Oxidation af næringsstoffer = Energi

Alt der skal forbrændes, skal bruge ilt, og det danner energi, kuldioxid og vand.

Energien lagres i højenergi-elektron-carriers eller i energirige binder (ATP/GTP)

Anabolisme: Energi = Arbejde, transport og synteser

Energien i bindingerne i ATP bruges til at drive mange endergone processer i kroppen. Derudover kan enzymer nedsætte aktiveringsenergien.

✚ **Redegøre for aminosyrers hovedgruppeinddeling**

Sure (asparaginsyre, glutaminsyre – slutter på COO⁻)

Basiske (lysin, arginin, histidin – slutter på NH_{2/3})

Uladet polær (asparagin, glutamin, serin, tyrosin, threonine, cystein – har O i enden)

- Serin, threonine og tyrosin kan fosforyleres, da de har OH.
- Cystein kan danne disulfidbindinger, da den har SH i slutningen.

Ikke-polære (alanin, valin, leucin, isoleucin, prolin, phenylalanin, methionin, tryptophan, glycin, cysteine – ikke noget O i enden)

Histidin, kan både være positiv og negativ ladet, pga af pKa.

✚ **Angive de bindinger/kræfter, som medvirker til dannelsen af proteinets struktur**

Et protein er lavet af en lang kæde aminosyrer forbundet med kovalente peptidbindinger (mellem C og N fra to aminosyrer). Unikke aminosyre-sekvenser kendetegner forskellige typer proteiner. På proteinets "rygrad" sider sidekæderne der giver aminosyrerne deres kemiske egenskaber fæstnet..

Hver foldet kæde holdes på plads af forskellige svage ikke-kovalente bindinger som hydrogenbindinger (mellem H og O), dipol-dipol bindinger (+ og -) og van der Waal attraktioner (London bindinger), ionbindinger, og hydrofobe lommer.

Kovalente bindinger er stærkere end ikke-kovalente og der skal derfor mange ikke-kovalente bindinger til at folde

et protein.

Redegøre for proteiners organisering i primær-, sekundær-, tertiær- og kvarternærstruktur

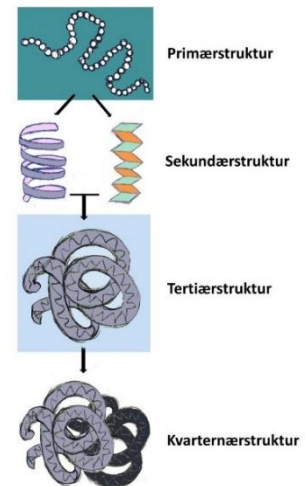
Proteiner er organiseret i flere niveauer der ikke er uafhængige men er bygget ovenpå hinanden indtil den 3-dimensionelle form er fremkommet.

Primær struktur: aminosyre sekvensen (kovalente bindinger).

Sekundær struktur: indeholder alfa helixes og beta sheets der formes i visse segmenter af polypeptidkæden (ionbindinger, hydrogenbindinger, dipol dipol, hydrofobe kræfter (van der Waall)).

Tertiære struktur: indeholder tilfældige krøller, loops og folder der formes mellem N- og C-terminalerne (ionbindinger, hydrogenbindinger, dipol dipol, hydrofobe kræfter (van der Waall)). Et protein er foldet.

Kvartær struktur: et kompleks af flere polypeptidkæder (ionbindinger, hydrogenbindinger, dipol dipol, hydrofobe kræfter (van der Waall)).



Definere begreberne proteindomæne og subunit

Proteindomæne: En del af et protein, der har en selvstændig funktion.

Subunit: Et protein eller polypeptid, der indgår i et større proteinkompleks.

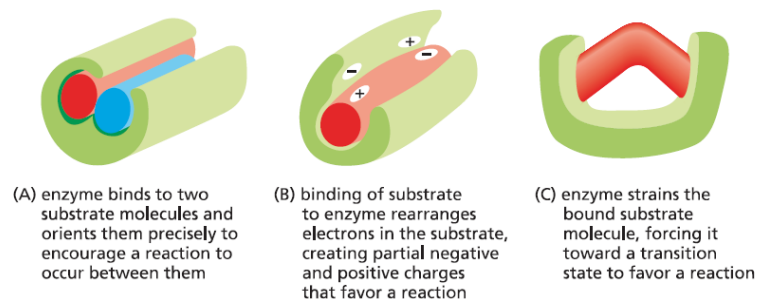
Beskrive enzymers generelle funktionsmekanisme

Enzymer mindsker aktiveringsenergien af en reaktion, og dermed øger den hastigheden af reaktionen, men den ændrer ikke Gibbs fri energi eller ligevægtspunktet.

De forbruges ikke selv under reaktionen.

De hjælper reaktanterne med at binde hinanden:

- Kan enten bringe reaktanterne tæt på hinanden i rigtig orientering
- Arrangerer elektroner i substratet på en måde, der fremmer reaktionen.
- Enzymet kan bøje substratet på en måde, der fremmer reaktionen.



Beskrive feedback mekanismer

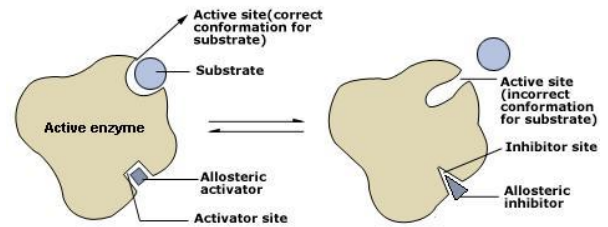
Negativ: produktet af den enzymdrevne reaktion hæmmer fx enzymet.

Positiv: Produktet af den enzymdrevne reaktion får fx den oprindelige reaktion til at gå hurtigere.

Beskrive allosterisk regulering

Et regulerende molekyle sætter sig på enzymet et andet sted end active site, og ændrer enzymets form, hvormed enzymet fx ændrer konformitet i active site, hvilket resulterer i deaktivering.

Kan enten være positiv eller negativ, hvis den er positiv aktiverer den enzymet, da den ændre konformitet, på en måde som gøre det muligt at binde substrat.



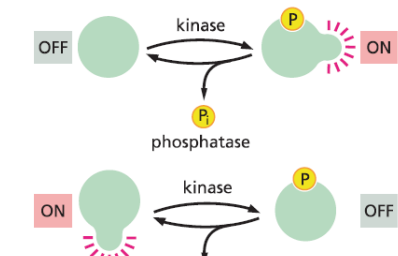
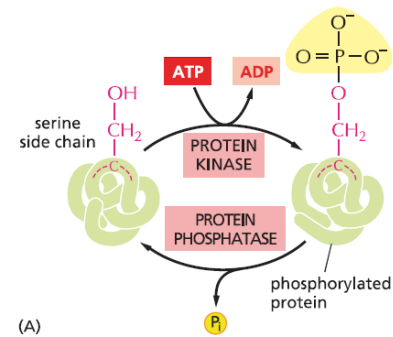
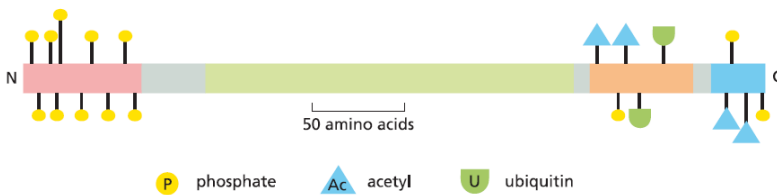
Angive forskellige kovalente proteinmodifikationer med eksempler herpå.

Kovalent binding med **phosphat**, **acetyl** eller **ubiquitin**.

Phosphat kan lave konformitets ændringer, som regulerer enzymets aktivitet. Derudover kan phosphat lave docking sites på proteinet, så flere proteiner kan kobles sammen.

Acetyl kan binde sig til lysin og dermed regulerer proteinet.

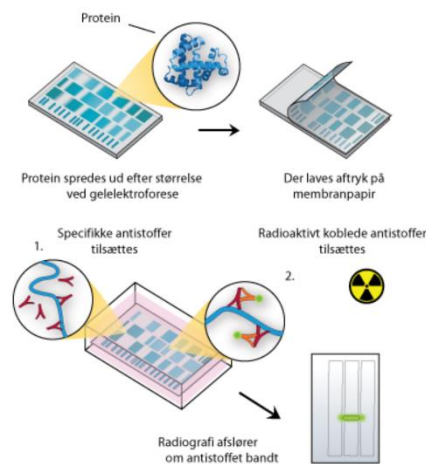
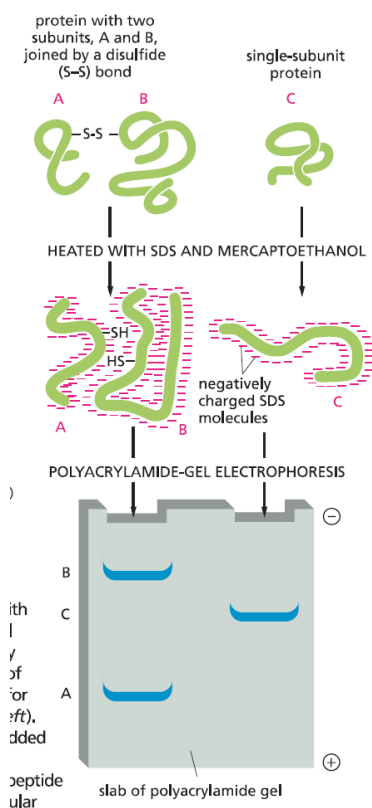
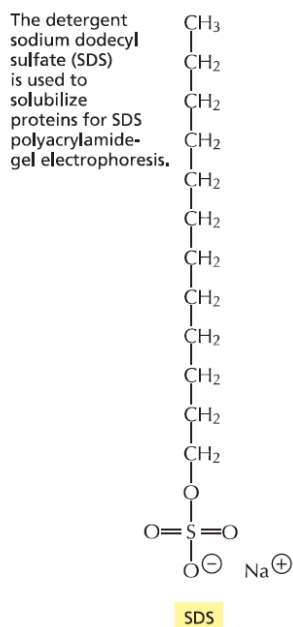
Ubiquitin dømmer et protein til destruktion i et proteosom.



Redegøre for SDS-PAGE og Western Blot, herunder fortolke et standardresultat

1. SDS tilsættes for at denaturere proteinet (ved at bryde non-kovalente bindinger) og for at tilføre proteinet en overordnet negativ ladning således, at størrelsen af proteinet bliver bestemmende for
 1. placeringen på banen.
 2. DTT (et reducerende stof, der bryder svovlbroer), tilsættes også.
 3. Hvorefter man lader sit protein sive igennem en gel af polyacrylamid, hvor proteiner har bundet sig til det negativt ladet SDS (Sodium-dodecyl-sulfat), hvilket dermed også lader proteinerne negativt.
 4. SDS denaturer også proteinet.
 5. Det procentvise indhold af polyacrylamid i gelen bestemmer, hvor finmasket gelen er. Når der så sættes en spænding igennem gelen, vil de negativt ladede proteinkomplekser (protein+SDS) bevæge sig mod anoden, og jo lettere proteinet er, des længere vil det komme gennem gelen.

Hvis man ønsker en bedre opdeling, så kan man fx have 4% polyacrylamid i det øverste lag, hvor de store proteiner er, mens man for optimal finddeling har fx 12% polyacrylamid i den nedre del for at opdele de lette proteiner yderligere. Resultatet af denne SDS page kaldes **et western blot**, hvis man blotter resultatet ved at mærke proteinet med fx antistoffer.



Figur 1. Western blotting.

F4 og F5: Membranstruktur og Membrantransport

Redegøre for cellemembraners generelle sammensætning, struktur og fysiske egenskaber.

Cellemembranen består hovedsageligt af phospholipider der er arrangeret i et dobbeltlag med de hydrofile hoveder rettet mod lumen og cytosolen og de hydrofobe haler vendt ind mod hinanden.

Vandmiljøet på begge sider af membranen gør at membranen ikke kan skilles ad men det holder ikke lipiderne og proteiner fra at rotere om egen akse og flytte rundt i membranen. **Bevægeligheden** af en cellemembran ved en given temperatur afhænger af phospholipidets sammensætning, især opbygningen af hydrocarbon halerne; jo tættere halerne er pakket desto mere vikøst og mindre flydende vil membranen være. To egenskaber hydrocarbon halerne afgør hvor tæt lipiderne ligger i membranen: længden og summen af dobbeltbindinger de indeholder.

Kolesterol påvirker membranens fluiditet ved at udfylde rummet mellem nabo phospholipidmolekyler og således afstives membranen og bliver mindre permeabel.

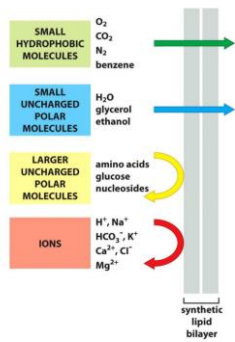
De fleste membranfunktioner er foretaget af **proteiner** der fungerer som transportører af næringsstoffer og ioner, fæstner membranen til faste konstrukturer (makromolekyler) - ankere, receptorer der detekter kemiske signaler og enzymer der katalyserer. Proteinerne kan opdeles i to grupper; de integrale som går gennem membranen og de periferer der er forbundet til proteiner der er fæstnet i membranen.

Lipiderne på membranens yderste lag har **sukre** bundet til sig via kovalente bindinger. Størstedelen af proteinerne har ligeledes korte kæder af sukre (oligosaccharider) bundet til sig og hedder så **glykoproteiner**. Dette

carbohydratlag beskytter overfladen, absorberer vand og giver derved cellen en **slimet overflade**. De øverste carbohydrater spiller også en rolle i celle-celle genkendelse og sammenklæbning.

Redegøre for cellemembraners permeabilitet.

Cellemembranen er semipermeabel.

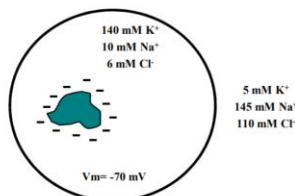


Angive rimelige værdier for ionkoncentrationer i ekstra- og intracellulærvæsken.

COMPONENT	INTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)	EXTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)
Cations		
Na ⁺	5–15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0.5	1–2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴	1–2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁸ (10 ^{-7.2} M or pH 7.2)	4 × 10 ⁻⁸ (10 ^{-7.4} M or pH 7.4)
Anions*		
Cl ⁻	5–15	110

* The cell must contain equal quantities of positive and negative charges (that is, be electrically neutral). Thus, in addition to Cl⁻, the cell contains many other anions not listed in this table; in fact, most cellular constituents are negatively charged (HCO₃⁻, PO₄³⁻, proteins, nucleic acids, metabolites carrying phosphate and carboxyl groups, etc.). The concentrations of Ca²⁺ and Mg²⁺ given are for the free ions. There is a total of about 20 mM Mg²⁺ and 1–2 mM Ca²⁺ in cells, but this is mostly bound to proteins and other substances and, for Ca²⁺, stored within various organelles.

Table 12-1 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

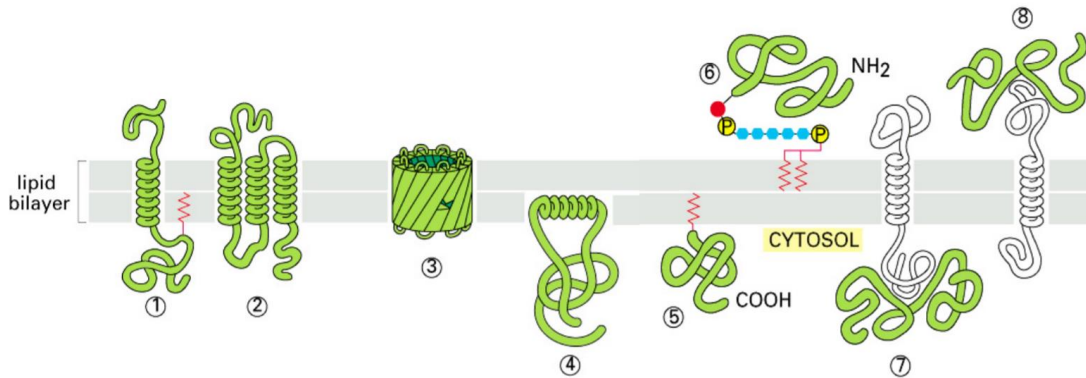


Redegøre for membranproteinstruktur og -forankring.

Proteiner kan overordnet være integrale eller perifere proteiner.

Proteinerne inddeles også i:

- Transmembranproteiner: er enten en eller flere alfa-helix, der passerer gennem membranen og kan fx danne en kanal. Betabarrels som er lavet af betasheets er også transmembrane, men er dog sjældne. (1,2,3)
- Monolayer associated alfa-helix: er et protein, der er tilknyttet membranen ved hjælp af alfa helix, der ligger vandret i det ene leaflet. (4)
- Lipid linked: er proteiner, der er bundet kovalent til lippid molekyler, som så er forankret i membranen ved hjælp af deres hydrofobe egenskaber. (5,6)
- Protein-attached er et perifært membranprotein, der er bundet nonkovalent til andre membranproteiner (7,8)

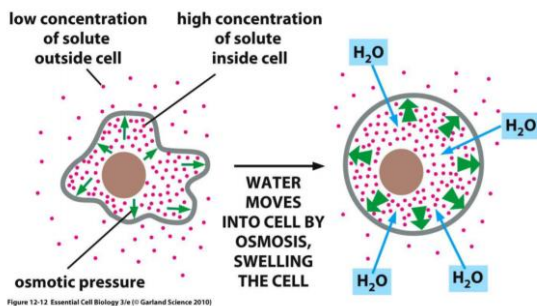


Funktionelt:

- 1) Transportere/kanaler
- 2) Ankere, der holder fast i andre molekyler
- 3) Receptorer
- 4) Enzymer

Angive principperne i osmose.

Osmose er diffusion af vand. Vand vil altid forsøge at være lige koncentreret henover en semipermeabel membran, hvor kun vand kan bevæge sig henover. Dvs. hvis du kommer en vindrue ned i vand med meget salt, så vil vandet bevæge sig ud af vindruen. Fra høj til lav vandkoncentration.



Redegøre for de forskellige typer membrantransportører og deres transportmekanismer.

Passiv transport: Kræver ikke energi (Fra høj til lav)

Hovedforskellen mellem kanaler og transportører er måden hvorpå de skelner mellem stoffer - tillader transport af nogen men ikke af andre.

Kanaler: skelner mellem stoffer på baggrund af størrelse og elektrisk forskel. En kanal danner en hydrofil pore gennem cellemembranen hvor specifikke uorganiske ioner og i nogen tilfælde andre små molekyler kan diffundere igennem. Kanaler transporterer molekyler hurtigere igennem membranen end transportører.

Transportører: tillader kun transport af molekyler eller ioner der passer i transportørens binding site. Når en substans binder til binding sitet forekommer der en

konformationsændring i transporteren der gør at stoffet transporteres til den anden side af membranen.

Aktiv transport kan kun foretages af transportører mens passiv transport kan foretages af både transportører og kanaler.

‘Klasser’ af membrantransportører

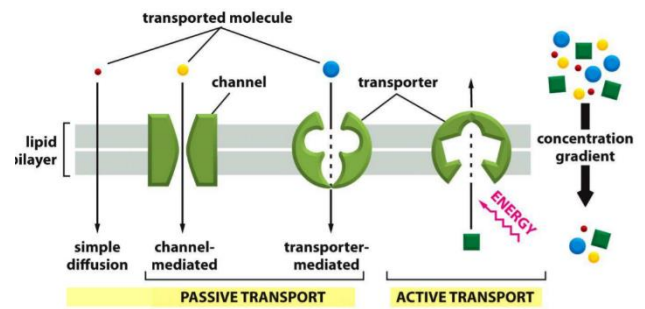


Figure 12-4 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)



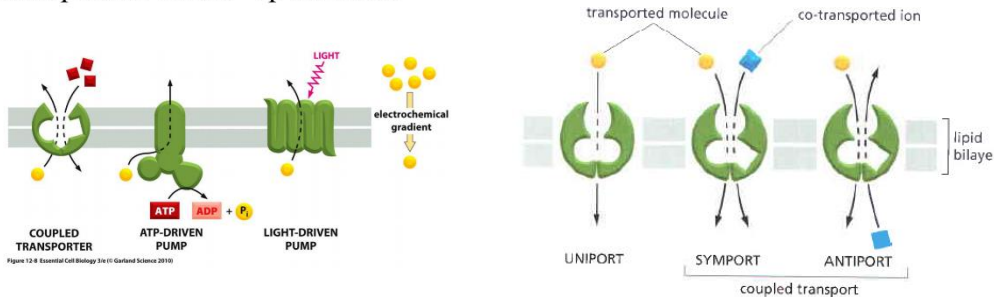
Aktiv transport

Der er tre måder at udføre aktiv transport på.

- 1) Koplek transport: man koplek transporten af et stof der går op af koncentrationsgradienten med transporten af et stof der går ned af koncentrationsgradienten således at der samlet set for begge stoffer gås ned af bakke.
- 2) ATP-dreven pumpe: koplek transport af et stof op af en koncentrationsgradient med hydrolysen af ATP der omdannes til ADP + P - energien heraf driver transporten af stoffet.
- 3) Lys-dreven pumpe: koplek transport af et stof op af en koncentrationsgradient med et tilskud af energi fra lys - energien herfra driver transporten af stoffet.

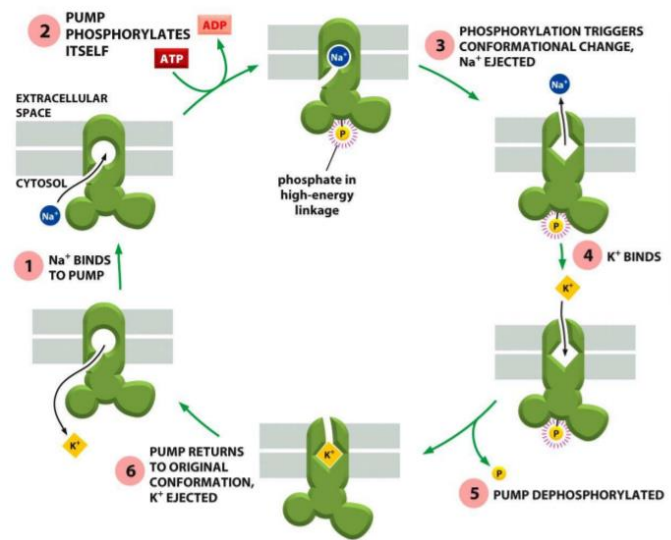
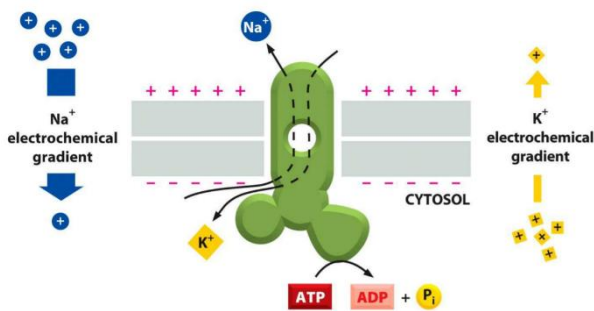
Derudover kan transportere fungerer som uniporte (passiv), symporte eller antiporte. De to sidstnævnte ses i koblet transport, hvor en fordelagtig gradient for fx en ion driver transporten af en anden ion med en ufordelagtig gradient.

Aktiv transport benytter energi til at transportere et stof ‘op ad bakke’



Redegøre for betydningen af Na⁺/K⁺-pumpen.

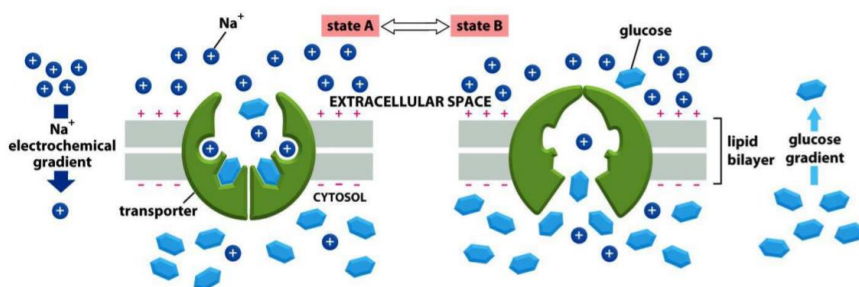
Denne pumpe danner ikke membranpotentialen, men det vedligeholder derimod membranpotentialen. Det er derimod kalium-kanalen, der skaber membranpotentialen. Den skaber den kemiske gradient for natrium, som er nødvendigt for aktionspotentialen. Derimod bruges natriumgradienten til sekundær aktiv transport.



✚ **Beskrive at Na⁺-gradienten, som er skabt ved aktiv transport, er det energetiske grundlag for transport af visse andre stoffers transport imod deres koncentrationsgradient (sekundær aktiv transport).**

Sekundær aktiv transport er en koblet transport der sker under udnyttelse af iongradienter som etableres ved aktiv Na⁺/K⁺-transport.

Natrium bruges bl.a. i en symport til at bringe glukose ind i cellen ved sekundær aktiv transport i tarmen. Der findes mange natriumdrevne kanaler i dyr og planter, såsom natrium-hydrogen antiport. Sekundær kommer af, at der allerede er foregået aktiv transport for at skabe natriumgradienten.



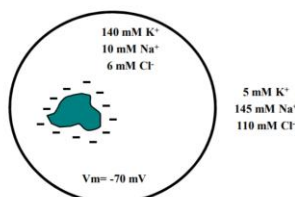
F6 og F7: Ionkanaler og Membranpotential

Angive typiske intra- og ekstracellulære ionkoncentrationer

COMPONENT	INTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)	EXTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)
Cations		
Na ⁺	5-15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0.5	1-2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴	1-2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁸ (10 ^{-7.2} M or pH 7.2)	4 × 10 ⁻⁸ (10 ^{-7.4} M or pH 7.4)
Anions*		
Cl ⁻	5-15	110

* The cell must contain equal quantities of positive and negative charges (that is, be electrically neutral). Thus, in addition to Cl⁻, the cell contains many other anions not listed in this table; in fact, most cellular constituents are negatively charged (HCO₃⁻, PO₄³⁻, proteins, nucleic acids, metabolites carrying phosphate and carboxyl groups, etc.). The concentrations of Ca²⁺ and Mg²⁺ given are for the free ions. There is a total of about 20 mM Mg²⁺ and 1-2 mM Ca²⁺ in cells, but this is mostly bound to proteins and other substances and, for Ca²⁺, stored within various organelles.

Table 12-1 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

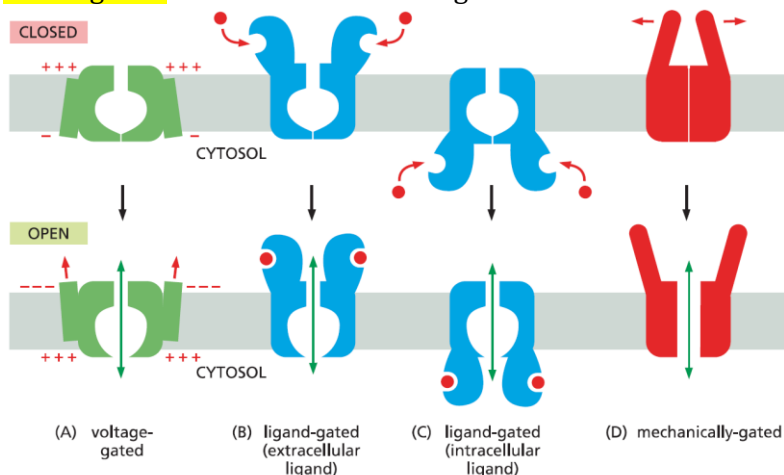


Redegøre for tre måder at 'gate' en ionkanal

Spændings-gated: gaten/ion-kanalen åbnes som respons på en ændring i spænding over membranen - kontrolleret af membranpotential.

Ligand-gated intracellulær + ekstracellulær: ion-kanalen åbnes som respons på binding af en kemisk ligand på enten den intracellulære eller ekstracellulære side.

Stress-gated: en mekanisk kraft tvinger ionkanalen til at åbnes -> fx hårcellerne i ørerne.



Nævne de kræfter der påvirker retningen af en ionflux.

Ionflux: bevægelse af ioner over membranen.

Elektrokemisk gradient - dvs. koncentrationsgradient + spændingsgradient.

Fremgår også af nernst ligning.

Definere og anvende et ligevægtspotential

En ions ligevægtspotential henover en membran opnås, når den kemiske gradient og den elektriske gradient er lige store. Fx starter en kemisk gradient med at trække natrium ind i cellen, men når mere natrium kommer ind i cellen, så bliver cellen mere positiv og cytoplasmaet lige uden for membranen mere negativt, hvilket så gradvist begynder at hive natrium tilbage ud af cellen. Når disse to modsatrettede kræfter er lige store, så har ionen nået sit ligevægtspotentiale.

$$V_{eq} = \frac{59}{z} \times \log \frac{C_o}{C_i}$$

✚ Redegøre for iontransport gennem en cellemembran.

Ionkanaler er ionselektive - dvs. de lader kun specifikke ioner krydse membranen. Ionselektivitet afhænger af diameter og form af ionkanalen og af fordelingen af ladede aminosyrer i denne. Ionkanalen er smal i visse områder og tvinger derved kontakt mellem ioner og ionkanal således at kun ioner med den rigtige størrelse og ladning kan passere. Hvis ladning inde i ionkanal matcher ladning af indkommende ioner vil disse frastødes og kan derfor ikke komme igennem -> negativ ladning + negativ ladning = frastødning, positiv ladning + negativ ladning = tiltrækning.

De fleste ioner er omsluttet af vandmolekyler da de er opløst i vand, for at kunne passere den snævre ionkanal må de smide vandmolekylerne.

✚ Forklare og anvende et membranpotential.

Alle celler har en elektrisk potentiel differens over deres cellemembran - dvs. et membranpotential. Enhed = mV

Ved et membranpotential tages der hensyn til permeabiliteten af alle ioner.

"membranpotential = det vægtede gennemsnit af de permeable ioners ligevægtspotential".

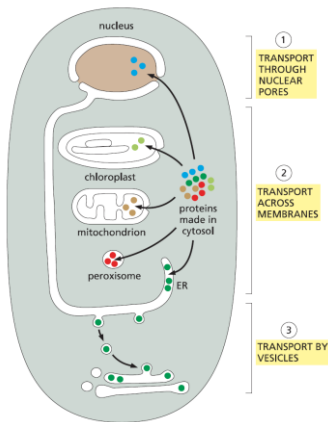
"vægtede": ioners permeabilitet for membranen er forskellig hvilket der tages hensyn til ved udregning af membranpotential gennem millmanligningen.

$$V_m = \frac{g_{Na} \times V_{Na} + g_K \times V_K}{g_{Na} + g_K}$$

Millmanligningen er ikke indeholdt i målbeskrivelsen eller nævnt i bogen. Den er kun tiltænkt som hjælp. g = ledningsevnen (konduktansen), et udtryk for i hvilken grad ionen kan komme igennem cellemembranen, målt som ladninger der passerer. Vil blive behandlet til øvelse 1.

F8 – F10: Intracellulær proteinsortering I, II og III

✚ **Beskrive de tre overordnede mekanismer som cellen bruger til at importere proteiner til organeller.**



- **Transport gennem kerneporer:** Til kernen
- Transport over membraner ved proteintranslokatorer:** ER, mitokondrier, peroxisomer
- Transport via vesikler:** Den sekretoriske pathway

mRNA i cytosol → peptid i cytosol → Giver følgende muligheder:

- 1) ER (ikke foldet) → Golgi → Plasmalemma/Lysosomer
- 2) Kernen
- 3) Cytosol
- 4) Mitokondrier (ikke foldet)/Peroxisomer

Man kan også gå fra ER til peroxisomer og kernen.

✚ **Beskrive den overordnede strategi i protein import (signal-sekvenser, receptorer og import-proteiner)**

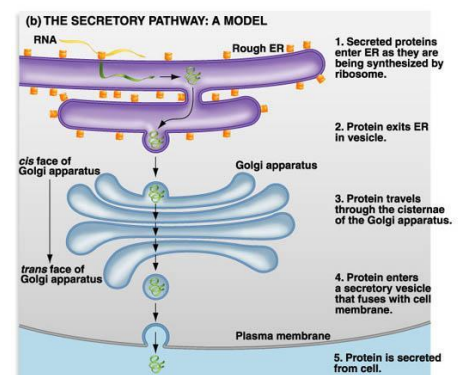
Signalsekvenser: lange kæder af aminosyrer (15-60) der oftest kløves fra proteinet når det er sorteret (nået sit målsted), sekvensen angiver proteinets mål, oftest beliggende i N-terminalen. Selvom signalsekvenser leder til samme mål kan de være meget forskellige.

Receptorer: binder til proteinerne der skal transporteres og hjælper disse på vej enten ved at føre dem igennem kerneporen eller ved at sidde i membranen og lede proteinerne det rigtige sted hen.

Importproteiner: de proteiner der transporteres.

✚ **Beskrive cellens sekretoriske pathway**

Syntetiseret proteiner fra ribosomer på ER membranen, foldes og modificeres i ER, transporteres via vesikler til cis-Golgi hvor de færdig-modificeres og det besluttet om de skal sendes videre eller leveres tilbage til ER, i trans-Golgi opdeles de alt efter senere formål (sekretion, nedbrydning etc.), transporteres de via vesikler til enten cellemembranen eller endosomer og lysosomer.

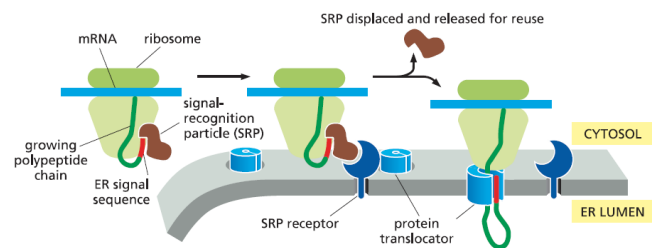


Beskrive hvorledes proteiner føres til endoplasmatisk reticulum (ER) ved hjælp af ER signaler, SRP, SRP receptor og translokations kanal.

Aminosyresekvensen/proteinet som skal dannes under translationen i ribosomer, vil gerne til ER, dette gøres ved hjælp af nedenstående:

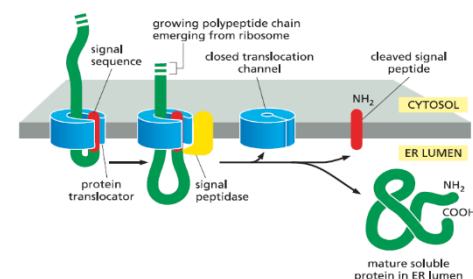
Der findes 2 protein komponenter

- SRP (Transportprotein) der ligger i cytosolen genkender ER-signalsekvensen (mange lysin) og binder der til. Derudover er der også SRP-receptor, indlejret i ER-membranen og genkender SRP.
- Når SRP binder til ER-signalsekvensen nedsættes hastigheden af proteinsyntesen i ribosomet indtil ribosomet og dets SRP lokaliserer en SRP-receptor på ER. Efter binding med receptor frigives SRP og sender ribosomet til en translokationskanal og proteinsyntesen fortsætter med de nysyntetiserede proteins fremkommen ned i ER-lumen. Signalsekvensen fungerer desuden ved at åbne translokationskanalen. Signalsekvensen er fæstnet til membranen (Da den er hydrofob) mens resten af proteinkæden aktivt transporteres gennem kanalen som et loop, undervejs klippes signalsekvensen af et enzym peptidase på ER-lumens side af membranen og frigives fra kanalen ind i membranens dobbeltlag hvor det nedbrydes. Når C-terminalen af proteinet har passeret membranen frigives proteinet til ER-lumen hvor det foldes og translokationskanalen lukkes.



Beskrive hvorledes sekretoriske proteiner overføres til ER lumen.

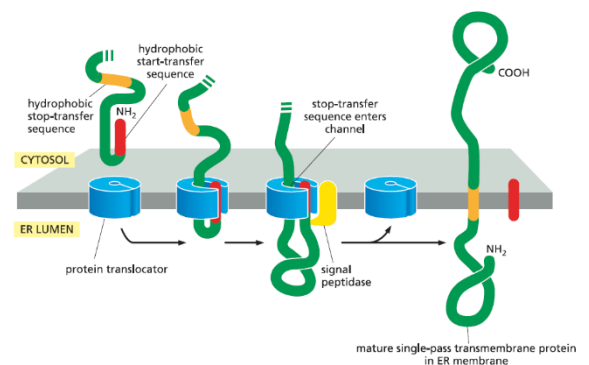
Signalsekvensen er fæstnet til membranen mens resten af proteinkæden aktivt transporteres gennem kanalen som et loop, undervejs klippes signalsekvensen af et enzym peptidase på ER-lumens side af membranen og frigives fra kanalen ind i membranens dobbeltlag hvor det nedbrydes. Når C-terminalen af proteinet har passeret membranen frigives proteinet til ER-lumen hvor det foldes og translokationskanalen lukkes.



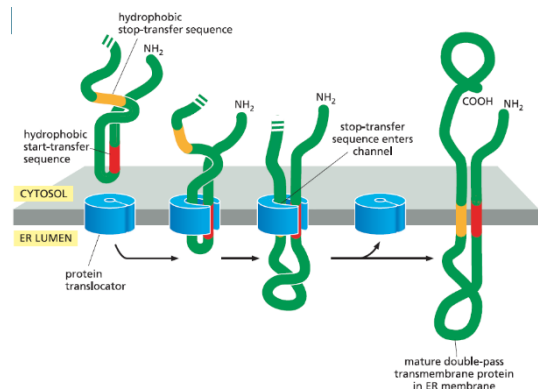
Beskrive hvorledes forskellige typer af membranproteiner indsættes i ER-membranen.

Singlepass transmembranprotein: Translokation indledes via tilstedeværelse af ER signalsekvens i Nterminalen af peptidkæden.

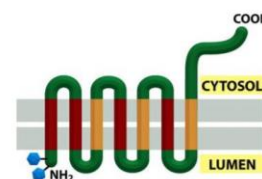
Under den videre syntese fremkommer en ny hydrofob aminosyresekvens (stoptransfer sekvens), der medfører at resten af det syntetiserede protein ikke føres gennem translokationskanalen, men forbliver i cytosolen. Den N-terminale ER signalsekvens kløves fra og proteinet bliver et single-pass protein med N-terminalen i ER-lumen, og C-terminalen i cytosolen.



Doublepass transmembranprotein: ER signalsekvensen er her lokaliseret inde i peptidkæden, og fungerer udover som start-transfer sekvens også som transmembran domæne, da det ikke spaltes fra. Når stop-transfer sekvens kommer i kontakt med translokationskanalen, stopper transfer ind i lumen af ER.

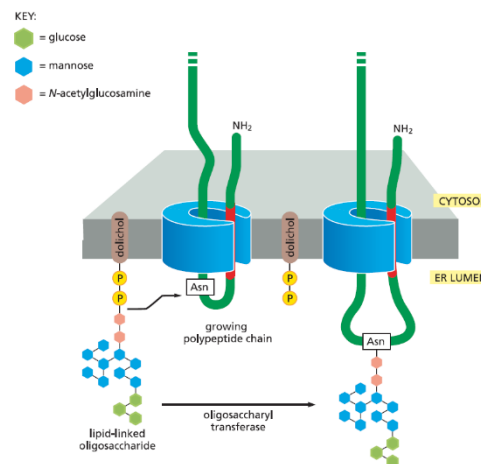


Multipass transmembranprotein: For multipass findes flere stop- og start-sekvenser.



Beskrive modifikationer af proteiner i ER (disulfid bindinger og glykosylering).

- 1) Disulfid-bindinger: Dannes mellem to cysteinaminsyrer ved hjælp af oxidation. Denne oxidation kan ikke ske i cytoplasma, da miljøet i cytoplasma er reducerende. Disulfidbrøerne beskytter proteinerne med enzymer og forandringer i pH uden for cellen enten i membranen eller efter exocytose.
- 2) Glykosylering: Mange proteiner laves om til glykoproteiner (N-glykosylering) i ER lumen gennem kovalentbinding til korte forgrede oligosaccharider, som består af flere forskellige sukre. Glykosylering kan beskytte mod nedbrydning, tilbageholde proteinet indtil det er foldet rigtigt eller det kan guide proteinet til de rigtige vesikler og det rigtige organel. Hele oligosaccharidet overføres til proteinet på en gang fra et dolichollipid, der sidder i ER-membranen. Overføringen stimuleres, når en rigtig asparaginsyre kommer igennem ER-membranen og ind i lumen.



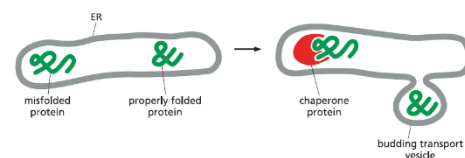
ER funktioner: Overordnet

glat ER: Afgiftning, lipidsyntese, Ca²⁺-lager.

ru ER: Foldningskontrol, N-glykosylering, disulfidbror mellem cystein, foldning.

Beskrive foldningskontrollen i ER, herunder betydningen af chaperoner

Allerede under translokation til rER associeres det syntetiserede protein til chaperoner. Chaperoner guider foldningen af proteinet og hindrer, at det transporteres mod Golgi, før proteinet er korrekt foldet. I det tilfælde, at proteinet ikke foldes korrekt vil chaperoner tilbageholde proteiner, som er misfoldet i ER. Hvis de ikke kan refolde, så bliver det smidt ud i cytosolen, hvor det nedbrydes af proteasomer. I cystisk fibrose er det chaperoner, der tilbageholder et lidt misfoldet gen, som egentlig kunne virke alligevel, i ER. Dermed mangler man nogen vigtige kloridkanaler.

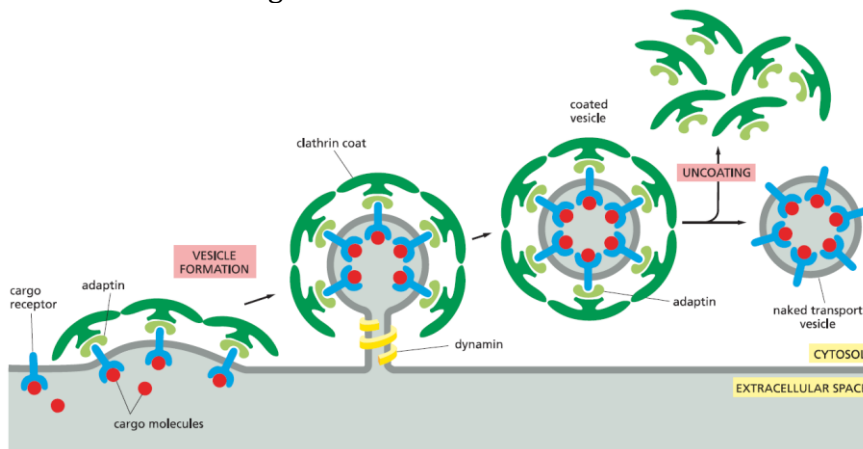


✚ **Beskrive de overordnede mekanismer bag vesikel transport, herunder budding, docking og fusion samt de proteiner som er involveret heri (clathrin, COP, adaptiner, cargo receptorer, dynamin, Rab/SNAREs, cytoskelet og motorproteiner)**

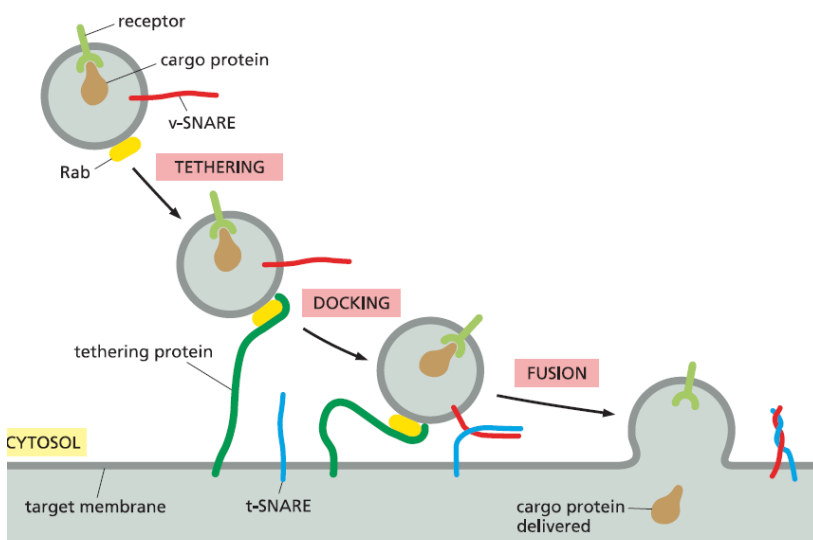
Budding: **Cargoreceptorer** med bundet **cargo** sætter sig i membranen med **cargo** ind mod golgi lumen eller ud mod extracellulærrummet. Den anden ende af receptoren bindes af **adaptin**, som dernæst binder **clathrin** til sig. Det bundne **clathrin** danner **clathrincoats**, der former vesiklen. Bagefter afsnøre **dynamin** vesiklen, som bruger GTP som energikilde, ved at hydrolysere bundet GTP. **Clathrincoated** og **adaptin** smides efter, at vesiklen er sluppet.

COP 1: Fra Golgi til ER **eller** ved konstitutiv sekretion fra golgi til plasmalemma.

COP 2: Fra ER til Golgi



Docking og fusion: Vesikler transporteres ofte af motorproteiner langs cytoskelletet rundt i cellen. Når de når til det rigtige organel genkendes et **RAB protein** på vesiklen af et **tethering protein** på target membranen. Dette er første genkendelsesproces som bringer vesiklen tættere på target membranen. Dernæst binder et par **v-snares** fra vesiklen med et par **t-snares** fra target membranen, som dernæst snører sig om hinanden, hvilket tvinger vesiklen meget tæt på target membranen så de fusionerer. Ved fusion afleverer vesikler både indhold og membran til målmembranen. Efter fusion sikrer proteiner at v- og t-SNAREs vikles fra hinanden så de kan bruges på ny.



✚ **Beskrive protein modificeringer i Golgi apparatet samt sortering til sekretoriske granula, lysosomer og celleoverfladen i TGN.**

Golgiapparatet: i cis-Golgi vurderes det om proteinerne skal fortsætte til videre sortering igennem Golgi eller om de skal vende tilbage til ER. Under resten af proteinernes vej gennem Golgis cisterner **modificerer proteinernes oligosakkarider** (fjernelse/tilføjelse af sukre). **Fx skal proteiner der skal til lysosomer, få**

phosphoryleret deres mannosesukre, så de udtrykker **mannose6-phosphat**, som genkendes af mannose-6-phosphat receptorer i transgolgi netværket, som dirigerer proteinet til lysosomet. I transnetværket er proteinerne færdigdannede og er klar til at blive transporteret til lysosomer eller plasmamembranen. O-glykosylering: tilføjelse af sukker på OH-gruppen i serin og threonin.

✚ **Beskrive forskellen på konstitutiv og reguleret sekretion (exocytose)**

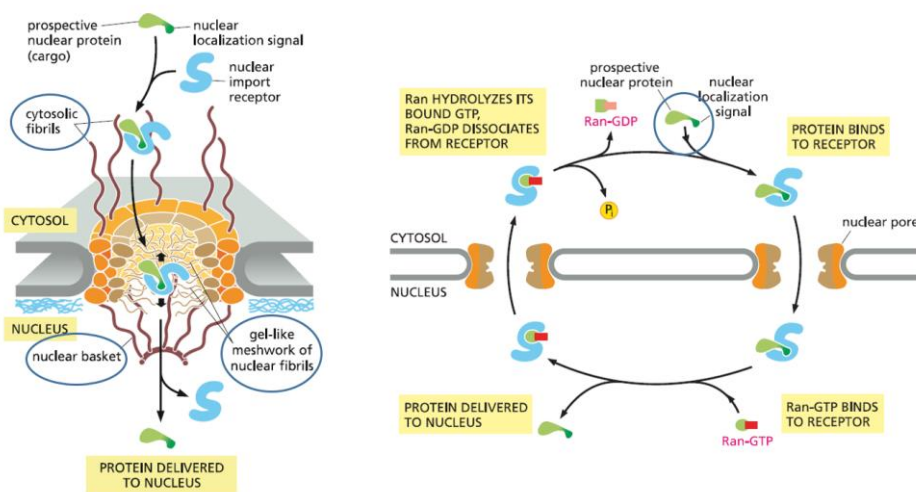
Konstitutiv: sker kontinuerligt og forsyner plasmamembranen med nylavede lipider og proteiner.
 Reguleret: foregår kun i celler der er specialiseret til sekretion. Produktet opbevares i vesikler nær plasmamembranen og fusionerer først når et ekstracellulært signal modtages.

✚ **Beskrive hvorledes nukleære proteiner efter biosyntese dirigeres til kernen.**

Nukleære proteiner har et **nuclear localization signal**, som tillader proteinet at binde til en **nuclear import receptor**. **Nuclear import receptor** hjælper proteinet igennem poren, ved at interagere med de **cytosoliske fibriler** og manuerere igennem poren, som minder om en gele grundet netværket af nuclear fibriller. Nuclear import receptoren forstyr/bryder de nuclear fibriller, som medføre at proteinet kan komme igennem poren, da bindingerne i gelen ophæves. Når receptoren-protein-komplekset kommer ind i nucleus, binder **ran-GTP** til **nuclear import receptoren**, hvorved proteinet slippes. Receptor-ran-GTP-komplekset bevæger sig dernæst ud i cytoplasma igen, hvor ran-GTP hydrolyseres og slippes fra nuclear import receptoren, som nu er klar til at føre et protein ind igen. Importen er altså energiafhængig, dog ikke af ATP, men af GTP.

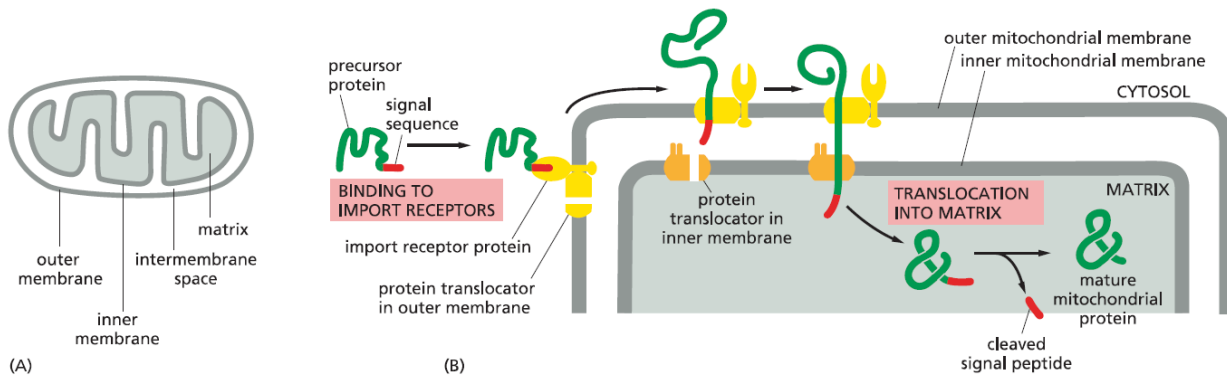
FAKTA

Kerneporiner/Kerneporer: Består af 30 forskellige proteiner. Selektiv membran. Det der kan komme igennem skal højst være 5000 D, de molekyler der er over skal have hjælp af et transportprotein. Der bliver transporteret 500-1000 mol/s.



✚ **Beskrive proteinimport i mitokondrier.**

Proteiner, der skal ind i mitokondrier, skal denatureres for at komme ind. Først genkendes en **signalsekvens** på **protein** af et **import receptorprotein**, der er associeret med en ydre protein translokator. **Den ydre translokator** + protein diffunderer lateralt i den ydre membran, indtil den finder en **indre protein translokator** (indre membran), hvorefter proteinet føres gennem begge translokator med signalsekvensen først. Når hele proteinet er inde i matrix, kløves signalsekvensen, og chaperoner hjælper med at renaturere proteinet. Chaperoner hjælper også med at trække proteinet igennem translokatorerne.



✚ **Beskrive hvorledes proteiner, der ikke er membranforankrede transporteres fra organel til organel.**

De transporteres gennem vesikler langs fx cytoskelettet. Enten langs mikrotubuli eller aktin og myosin I.

✚ **Beskrive phagocytose og pinocytose.**

Pinocytose: Når en celle indtager/ingest' er noget af sin membrane og extracellulær væske i vesikler. Der dannes altså et clathrin pit, afsøring med dynamin. Herefter fusionerer den med endosomet, som sortere det der skal anvendes og det der ikke skal anvendes, det der ikke anvendes sendes over til lysosomer, det der skal anvendes sendes ud til membranen. Pinocytose er udbredt, men raten varierer meget fra celle til celle. En makrofag "sluger" 25% af dens eget væskevolumen hver time. Dvs at den fjerner 3% af sin plasmamembran hvert minut.

Phagocytose: Makrofager og neutrofile granulocytter

Når cellen indtager faste stoffer såsom mikroorganismer (bakterier/vira) eller celle debris (reste/affald). Dette gøres fx af makrofager ved, at de indsnører det, der skal phagocyteres via pseudopodier. Det phagocyterende stof/molekyle og omkringliggende vesikelmembran, kaldes for et phagosom, der fusionerer med et early endosom, som først modnes til et late endosom og dernæst til et lysosom. Phagocytose er vigtigt i mange af kroppens processer.

Overblik:

- 1) Opregulerer, gøre sig klar, når den møder en mikroorganisme med fremmede receptorer.
- 2) Opfanger eller indsnører bakterien - der dannes en omkringliggende vesikelmembran om bakteriet, som kaldes for phagosom.
- 3) Fusionerer med et lysosom, der dannes phagolysosom.

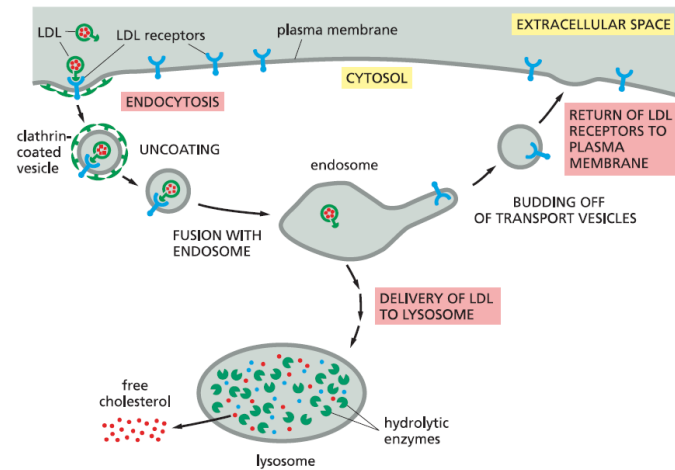
✚ **Beskrive receptor-medieret endocytose og den videre intracellulære pathway for endocyteret materiale.**

- Receptor medieret endocytose: makromolekyler binder til komplementære receptorer på celleoverfladen og kommer ind i cellen som et receptor-makromolekyle kompleks i clathrin-dækkede vesikler. Vesiklerne smider clathrin-beklædningen og fusionerer med det tidlige endosom der ligger lige under plasmamembranen. I de tidlige endosomers sure miljø (forårsaget af en H⁺-pumpe) dissocierer makromolekylet fra dets receptor. Receptoren budder i en transportvesikel væk fra endosomet og "rejser" så videre via 1 af 3 veje;

- 1) vender tilbage til samme domæne i plasmamembranen som det kom fra.
- 2) kommer til lysosomer hvor de nedbrydes.

3) fortsætter til et andet domæne i plasma membranen. Imens makromolekylet er i det tidlige endosom modnes dette til et sent endosom idet det fusionerer med andre tidlige endosomer eller med et allerede eksisterende sent endosom. Enzymer i det sene endosom starter nedbrydelsen af makromolekyler. Denne nedbrydning fortsættes mens endosomet modnes til et lysosom.

- Endosomer fungerer som en vejviser fra plasmamembran til lysosom som golgi fungerer fra ER til plasmamembran.

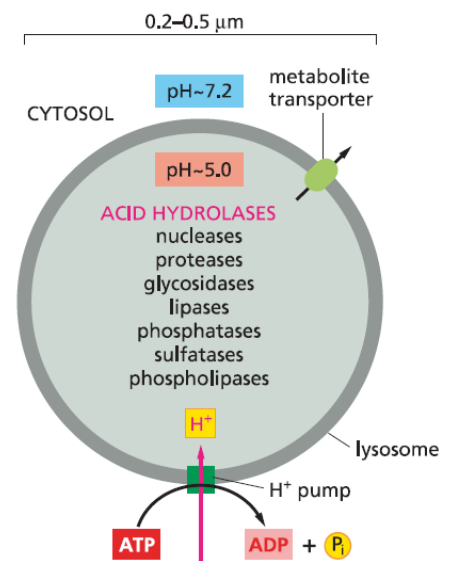


✚ Beskrive lysosomets opbygning og funktion, samt hvor i cellen proteiner sorteres til dette organel.

Lysosomet er tætpakket og rundt organ, der nedbryder gamle organeller eller extracellulært materiale. Lysosomet holdes surt (pH-5) ved hjælp af en ATP-drevet H⁺-pumpe, da de 40 typer hydrolytiske enzymer i lysosomet fungerer optimalt ved denne pH.

Lysosomets membran indeholder transportører der tillader det endelige produkt af nedbrydelsen af makromolekylerne at komme ud i cytosolen hvorfra de sekreses eller bruges i cellen

Sortering: de specialiserede nedbrydningsenzymer og lysosomets membranproteiner syntetiseres i ER, transporteres gennem Golgi hvor de i cis Golgi bliver mærkede med en specifik sukkergruppen, i trans Golgi genkendes deres afmærkning af en receptor, denne genkendelse tillader enzymerne at sorteres og pakkes i forskellige transportvesikler der afleverer deres indhold til lysosomer via sene endosomer.



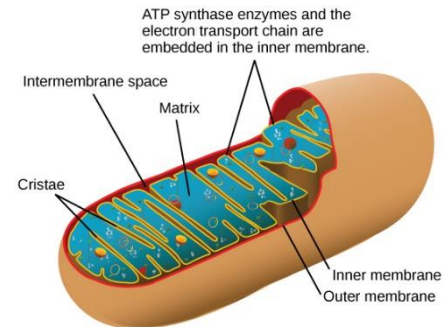
Der findes 3 veje hvortil materiale kommer til lysosomer på: (Endosomer, phagosomer, autophagosom)

1. Via phagocytose: ekstracellulære partikler i vesikler fusionerer med lysosomer.
2. Via receptormedieret (dvs. en specialiseret form af pinocytose): ekstracellulær væske og makromolekyler i vesikler fusionerer med endosomer der udvikles til lysosomer.
3. Via Autophagi: bruges når forældede dele i cellen selv skal nedbrydes. Organellen omsluttet af en dobbeltmembran og danner autophagosome der fusionerer med lysosomer.

F11: Mitokondrier og peroxisomer

✚ Beskrive mitokondriers morfologi

- **Ydre membran:** fosfolipider, kolesterol, porer/poriner hvorigennem ioner mindre end 5 kDa kan diffundere, TOM (Translokator Outer Membrane) hvorigennem proteiner i udfoldet form kan passere.
- **Intramembranøse rum:** samme sammensætning ionmæssigt og lidt proteinmæssigt som cytosol
- **Indre membran:** indeholder fosfolipider og kolesterol, danner cristae (indbulinger i membranen) for at øge overfladen, TIM (Translokator Inner Membrane) hvorigennem proteiner kan transporteres, fosfolipidet cardiolipin der gør membranen nærmest impermeabelt – dette betyder altså at membranpotentialet kan opretholdes idet ioner ikke kan diffundere herover, proteiner der indgår i elektrontransportkæderne samt ATP-synthasen
- **Matrix:** indeholder hundredevis af **enzymer** heriblandt nogle der kan oxidere fedtsyrer og pyrovat i citronsyre cyklen, **DNA** hvorfra en lille del af det protein mitokondriet bruger dannes.

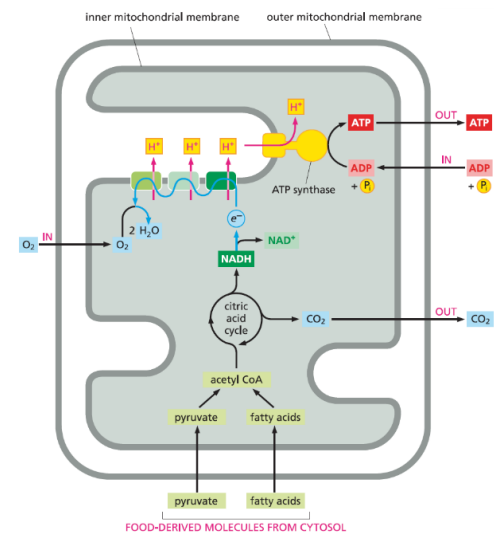


✚ Redegøre for hypotesen om mitokondriets prokaryote oprindelse.

Man mener, at en tidlig eukaryot celle har spist/indgået en symbiose med en tidlig prokaryot, der har indholdt mitokondrier. Denne symbiose gav eukaryoten energi til at blive flercellet og udvikle sig, mens mitokondriet fik mulighed for at få sendt yderligere proteiner fra værtscellen, hvorved de kunne udvikle sig. Denne teori baseres på, at mitokondrier har deres eget sæt mitokondrielt DNA, der danner nogen få proteiner, som mitokondrier bruger. Derudover kan mitokondriet fussionerer og fissionerer uden brug af de normale mitotiske principper.

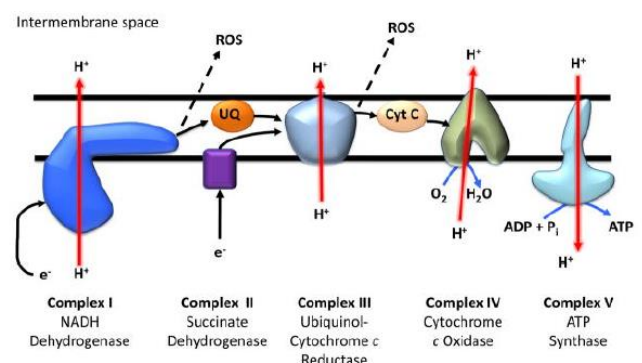
✚ Beskrive sammenhængen mellem elektrontransportkæden, den elektrokemiske gradient og ATP-syntese.

Elektrontransportkæden består af 4 respirations enzym komplekser der indeholder metalioner og andre kemiske grupper der baner vej for elektroner gennem komplekset og fungerer som en proteinmaskine der pumper protoner over membranen.



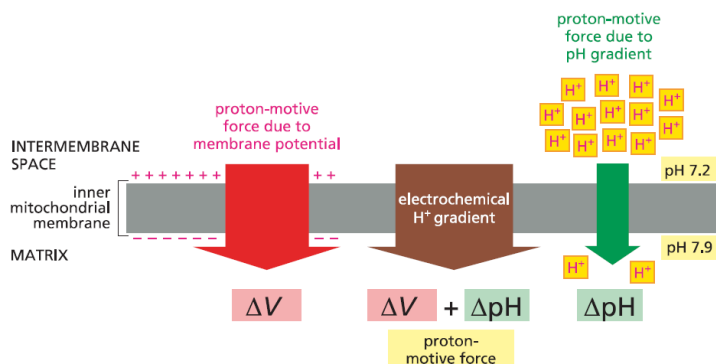
- **Glykolyse (nedbrydning af glukose) sker i cytosol hvor produktet er pyrovat samt meget lidt ATP, andre madmolekyler nedbrydes ligeledes til fedtsyre.**
- **Pyrovat og fedtsyrer kommer ind i mitokondriets matrix hvor de af enzymer omdannes til acetyl CoA**
- **Citronsyre cyklen metaboliserer acetyl CoA ved at oxidere denne og fraspalte CO2 som et affaldsprodukt. Cyklusen reducerer NAD+ til NADH der er et bæremolekyle for højenergi elektroner. Herudover genererer cyklen højenergi elektroner der bliver båret af de aktiverede bæremolekyler NADH og FADH2.**
- **Bæremolekylerne donerer deres højenergi elektroner til elektrontransportkæden idet de oxideres til NAD+ og FAD – der nu kan genbruges i cyklen.**
- **Kompleks I og II modtager elektroner. Elektronerne transporteres videre til kompleks III vha. carriormolekylet ubiquinone.**
- **Fra kompleks III til IV anvendes carriormolekylet cytochrome C.**
- **Efter de har passeret kompleks IV sker der følgende:**

$$4e^- + 2H^+ + 1/2O_2 = H_2O$$



Hvad er formålet med elektrontransporten?

Elektronerne starter med et højt energiniveau men dette falder for hvert kompleks de når. Energien fra elektronerne anvendes til at pumpe H⁺ fra matrix til det intramembranøse rum vha. proteinkomplekserne. Der skabes herved en elektrokemisk gradient (hvor både den kemiske og elektriske gradient går samme vej → derfor stor elektrokemisk gradient) over den indre membran mhp. H⁺, hvilket gør det energimæssigt favorabelt for H⁺ at komme tilbage i matrix.

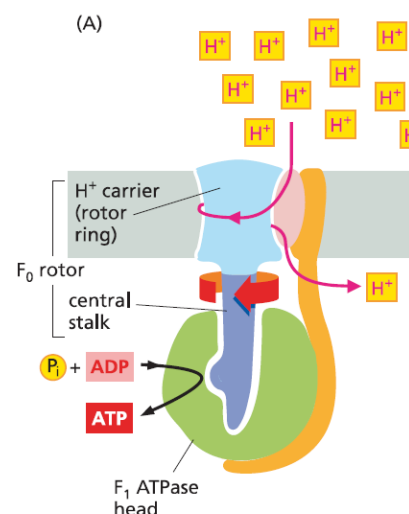


Passagen af H⁺-ionerne gennem ATP-synthasen driver den energimæssige ufavorable omdannelse af ADP + P til ATP.

ATP-synthasen er et stort multisubunit protein som er formet som hovedet på en slikkepind der går ind i matrix. **Hovedet** er via en **stilk** forbundet til den **transmembrane H⁺ carrier** der findes i den indre membran.

Idet protonerne passerer den **transmembrane H⁺ carrier** forårsager deres bevægelse at **stilk** inden i hovedet begynder at rotere hurtigt. Subunits i **stilk** gnides mod subunits i **hovedet** hvilket skaber mekanisk energi.

Stilkens bevægelse leder til en konformationsændring af subunits i **hovedet**. Den mekaniske deformation i form af konformationsændringen omdannes til kemisk bindingsenergi idet subunits omdanner ADP + P til ATP der så indeholder den kemiske bindingsenergi.

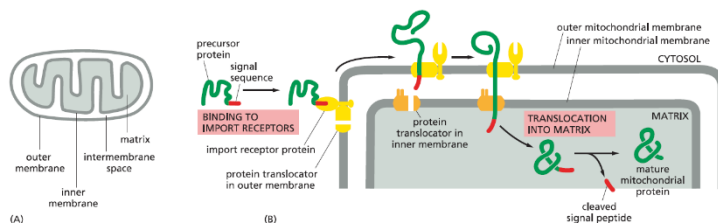


Redegøre for mitokondriens iltforbrug (oxidativ metabolisme)

- Glykosylering (dvs. dannelsen af pyruvat ud fra glukose) er en anaerob reaktion (kræver ikke direkte ilt), sker udenfor mitokondriet
- I mitokondrierne fortsætter den anaerobe proces gennem citronsyre cyklussen og det meste af vejen gennem elektrontransportkæden – sidste skridt i elektrontransportkæden er dog aerob da elektroner her bindes til O₂ for at danne vand: $4e^- + 2H^+ + 1/2O_2 = H_2O$

Beskrive mitokondriens nydannelse og proteinimport

Proteiner, der skal ind i mitokondrier, skal denatureres for at komme ind. Først genkendes en **signalsekvens** på **proteinet** af et **import receptorprotein**, der er associeret med en ydre protein translokator. Den ydre translokator + protein diffunderer lateralt i den ydre membran, indtil den finder en indre protein translokator (indre membrane), hvorefter proteinet føres gennem begge translokatorer med signalsekvens først. Når hele proteinet er inde i matrix, kløves signalsekvens, og chaperoner hjælper med at renaturere proteinet. Chaperoner hjælper også med at trække proteinet igennem translokatorerne.



Nydannelse: kort levetid så kontinuerlig nydannelse er nødvendig, sker uafhængigt af celledeling idet de indeholder eget DNA, nye mitokondrier opstår ved vækst og deling af allerede eksisterende mitokondrier.

✚ **Redegøre for maternal nedarvning, mitochondrial segregering og heteroplasm**

- **Maternel nedarvning:** noget der er nedarvet kun fra moderen – fx mitokondrier; findes i moderens æg men på sædcellen når de ikke med ind i ægget når det befrugtes idet de her sidder på sædcellens hale der efterlades udenfor ægget.
- **Mitochondrial segregering:** fordelingen af mitokondrier.
Fordeling: forekommer i alle celletyper bortset fra i de røde blodlegemer, jævnt fordelt i cytoplasmaet, der er en større koncentration i celler med stort energiforbrug (muskler, sædceller), flest cristae i celler med højt energiforbrug.
- **Heteroplasm:** Ved heteroplasm indeholder celler både normale og abnormale (når det er sket en genændring/mutation) mitokondrier. Indeholder cellen mange abnormale bliver man syg.

✚ **Beskrive peroxisomers morfologi, proteinimport og funktion**

Morfologi.

- Membranafgrænset – kun én membran, afrundede, intet DNA, udseende varierer, mere eller mindre fint granuleret indhold, forekommer i næsten alle celletyper men flest i lever og nyreceller.

Funktioner (afgiftningsreaktioner, oxidativ metabolisme)

- Indeholder enzymer (katalse er fælles for dem alle, ellers varierer enzymerne) der er involveret i omsætningen af hydrogenperoxid (et skridt i afgiftning af fx alkohol).
- Peroxisomer er også involveret i lipidnedbrydning (bl.a. betaoxidation af fedtsyrere).

Nydannelse og proteinimport

- Nydannelse: dannes udelukkende fra allerede eksisterende peroxisomer ved vækst og deling.
- Proteinimport: proteinerne syntetiseres i de frie ribosomer i cytosolen og indeholder en C-terminal signalsekvens der målretter proteinerne til peroxisomer hvor signalsekvensen genkendes af en receptor i membranens cytoplasmatiske overflade, hvilket fører til import af proteinet.

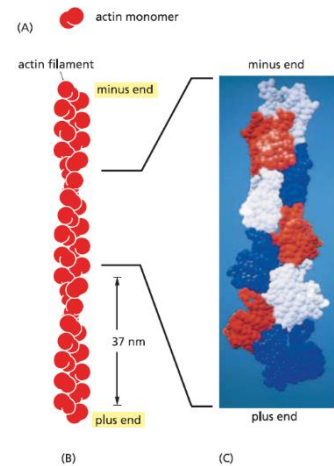
F12: Cytoskelettet

Beskrive opbygning og lokalisation i cellen af aktinfilamenter, mikrotubuli, samt intermediær filamenter.

Aktin

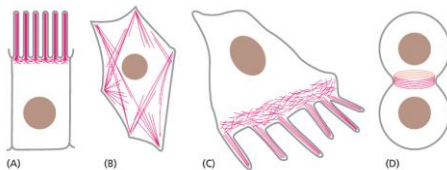
Opbygning:

- 7 nm (diameter)
- G-aktin (monomer) er dette filaments subunit der er polariseret, $2 \cdot G\text{-aktin} = F\text{-aktin}$, $2 \cdot F\text{-aktin} = \text{alfa helix}$.
- tynde og fleksible og de giver cellen form og er vigtige for cellebevægelser. - - - - -
- Tvistet dobbeltspiral af identiske G-aktin molekyler
- Polariseret



Lokalisation:

Koncentreret i cellens cortex (ydre), men strækker sig igennem hele cellen, men specielt i mikrovilli, filopodia/lamellopodia og den kontraktile ring ved celledeling, sarcomer.



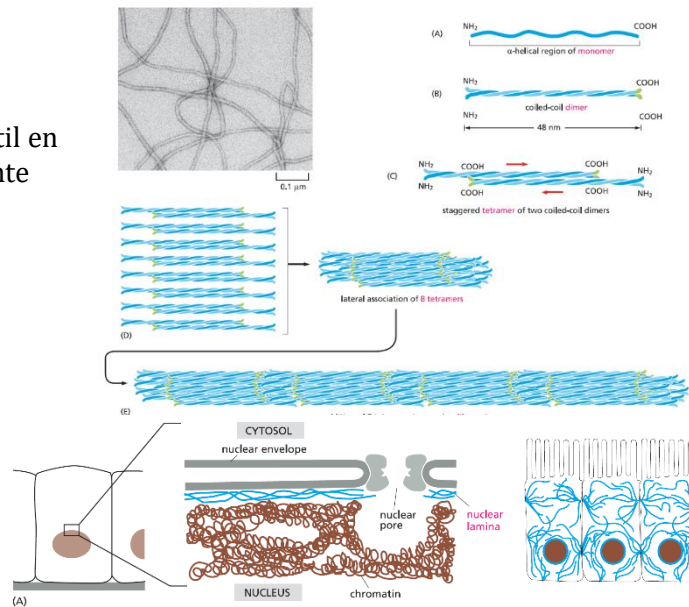
Intermediære filamenter

Opbygning:

10 nm (diameter), to fibrøse proteiner (subunits) bliver til en coiled-coil dimer, to dimere danner gennem nonkovalente bindinger en tetramer hvori dimererne ligger en anelse forskudt, 8 tetramerer binder sig ved ender og sidder og danner en reb lignende struktur.

Lokalisation:

Overalt, vævsspecifikt, danner netværk i cytoplasma og omkring kerne og ekstenderer mod periferien, ofte fæstnet til plasmamembran ved celle-celle forbindelser fx desmosomer, findes i kernen; et net af nukleære lamina (en type intermediær filament) ligger lige under kernekonvolutten og støtter denne.



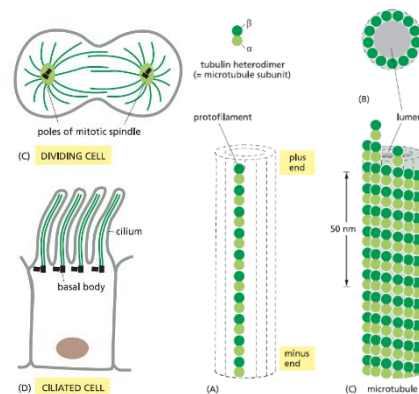
Mikrotubuli

Opbygning:

25 nm (diameter), alfa- og beta-tubulin udgør vha. nonkovalente bindinger et heterodimér (protofilament), 13 parallelle protofilamenter udgør en cylinder der kaldes mikrotubuli, polariserede: har en plus-ende (beta-tubulin) og en minus-ende (alfa-tubulin) hvor plus-enden altid ligger øverst.

Lokalisation:

Dannes af centrosomerne der findes tæt på kernerne (centrioler ligger i centrosom men er ikke med i dannelsen af mikrotubuli), centrosomerne indeholder ringformede strukturer dannet af gamma-tubulin – dette er mikrotubulis starting point eller nukleation point, minus-enden er indlejret i centrosomet mens plus-enden vokser udaf, centrosomerne er mikrotubulus-organiserende centrum (MTOC), cilier.



✚ Beskrive strukturelle funktioner for aktin, mikrotubuli, samt intermediær filamenter.

Aktin

Strukturelle specialiseringer i cellens cortex: pseudopodier inkl. lamellopodier og filopodier, mikrovilli, stereocilier.

Cell crawling – ved nydannelse af fokale adhæsioner med kontakt til aktinfilamenter i lamellopodier/filopodier.

Celle-celle og celle-ECM kontakter – forankring af epithelceller til hinanden via Adherens junctions (adhæsionsbælter), og forankring af celler til ECM via fokale adhæsioner. - Kontraktion – af kontraktile celler inkl. muskelceller.

Cytokinese – afsnøring af datterceller via den kontraktile ring.

Vesikeltransport – transport af vesikler (oa.) på aktinfilamenter, typisk i cellens cortex.

Mikrotubuli

Organelorganisering – rER 'spændes ud' i cellen (kinesin), mens Golgi holdes på plads ind mod centrum (dynein).

Vesikeltransport – vesikler og organeller kan transporteres aktivt via motorproteiner (kinesin, mod plusenden; dynein, mod minusenden).

Centrosom – opbygning af centriolerne, og nucleating sites (γ -tubulin).

Cilier og flageller – dyneinmedieret bevægelse.

Celledeling – indgår i tetrådsapparatet (kinetochore, interpolære og astrale mikrotubuli)

Intermediær filamenter

Bibringer celler generel mekanisk styrke.

- Celle-celle og celle-ECM kontakter – forankring af epithelceller til hinanden og til basalmembranen ved hhv. desmosomer og hemidesmosomer.

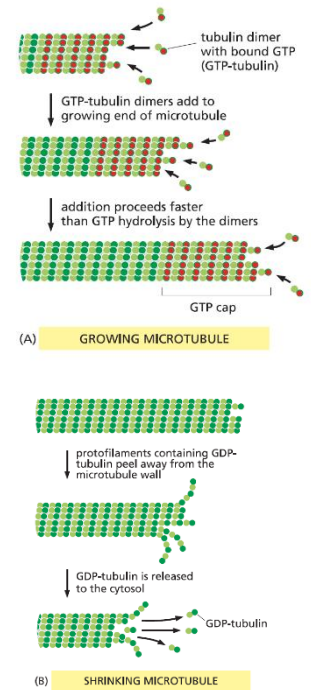
- Opretholdelse af kernemembranstruktur – indgår i den nucleære lamina.

✚ Beskrive dynamik af aktinfilamenter og mikrotubuli (vækst og nedbrydning).

Mikrotubuli

Mikrotubuli vokser fra plus-enden ved at vokse ud fra centrosomet ved tilføjelse af alfa- og beta-tubulin subunits pludselig skrumper den dog ved at miste subunits fra den frie ende igen – dette kendes som dynamisk ustabilitet.

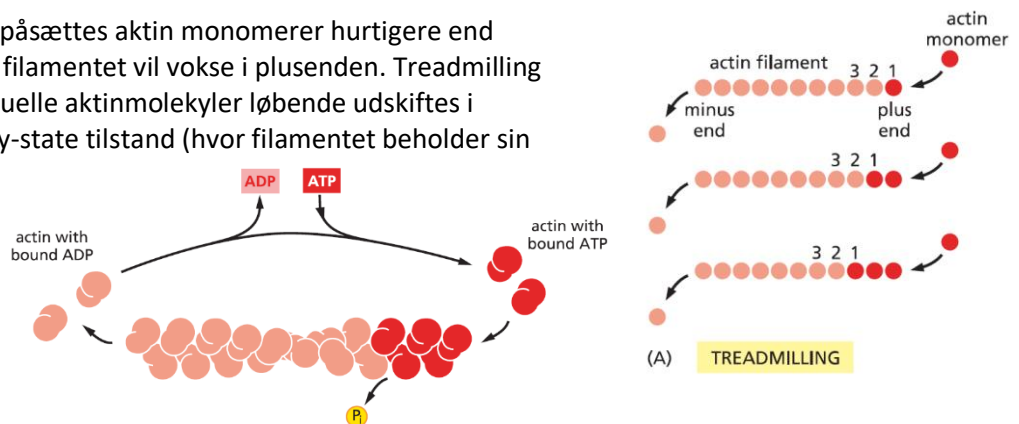
- **Årsag til vækst:** når mikrotubuli vokser skyldes det at der tilføres GTP-tubulin til den frie ende, hvilket danner en GTP-cap. Så længe GTP-cappen eksisterer vil mikrotubuli fortsætte med at vokse idet GTP-tubulin binder tættere end GDP-tubulin og GTP-tubulin tilføres hurtigere end GTP'en kan nå at hydrolyseres.
- **Årsag til skrumpning:** Pga. tilfældige kemiske processer vil tubulin på den frie ende nå at hydrolysere sin GTP til GDP inden nye GTP-tubulin tilføjes. GDP er løsere bundet end GTP hvilket får mikrotubuli til at skille sig ad og skrumpne – denne skrumpning vil fortsætte fordi resten af mikrotubulien er opbygget af GDP-tubulin. De fraspaltede tubulinsubunits findes i cytosolen og kan genbruges til endnu en opbygning. Skrumpningen kan fortsætte enten til ende så en ny mikrotubuli kan "vokse" frem eller den kan pludselig begynde at vokse igen.



Aktin

Aktin polymeriserer ved treadmilling effekt, dvs. aktin monomerer fjernes kun i minus-enden og aktin monomerer tilføjes kun i plusenden. Dette medfører at det enkelte aktin monomer går fra plus til minus enden før den kan blive dissocieret. Når aktin monomer binder har de et ATP på monomerer, som hydrolyseres til ADP kort efter, men da der hurtigt kommer et nyt aktinmonomer, kan det først slippes væk når det når minusenden.

Ved filament polymerisering påsættes aktin monomerer hurtigere end hydrolysering finder sted, og filamentet vil vokse i plusenden. Treadmilling processen betyder, at individuelle aktinmolekyler løbende udskiftes i filamentet, og selv ved steady-state tilstand (hvor filamentet beholder sin længde) vil individuelle aktin subunits bevæges fra plus- mod minusenden.



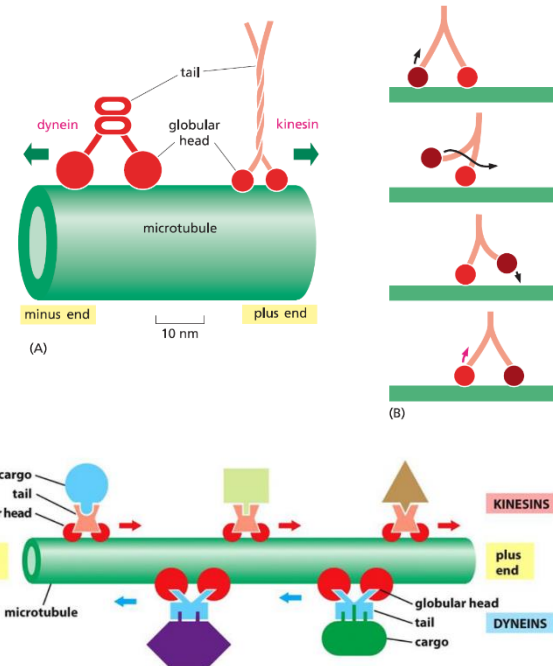
🚦 Redegøre for polariseret transport af vesikler på aktin og mikrotubuli.

Mikrotubuli

Vesikler, mitokondrier og andre små membranindelukkede organeller bevæger sig vha. **motorproteiner** langs MT via saltatoriske bevægelser. **Motorproteiner** anvender energi fra en gentagen ATP-cyklus gennem hydrolyse.

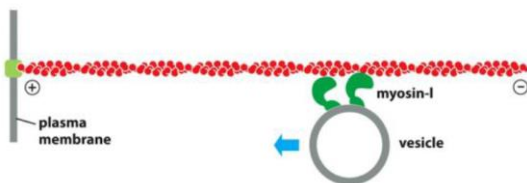
Motorproteiner der bevæger sig langs cytoplasmisk MT kan opdeles i to familier der begge er opbygget af dimerer med to globulære ATP-bindende hoveder og en enkelt hale. Hovederne interagerer med MT på en specifik måde så bevægelsen kun foregår i én retning. Halen forbindes med fx en vesikel og bestemmer derved hvad motorproteinet skal transportere. Hovederne er enzymer med ATP-hydrolyserings aktivitet der giver motorproteinet energi til at løsrive sig og binde sig længere nede af MT.:

- Kinesiner: bevæges mod plus-enden af MT.
- Dyneiner: bevæges mod minus-enden af MT.



Aktin

Myosin-I er et accesorisk protein med et enkelt globulært hoved og en hale der kan forbindes med et molekyle eller et organel i cellen. Dette tillader hoveddomænet at flytte vesikler i forbindelse med aktin. Hovedgruppen af myosin går altid mod plus-enden af aktinfilamentet vesiklerne flyttes altså mod plus-enden.



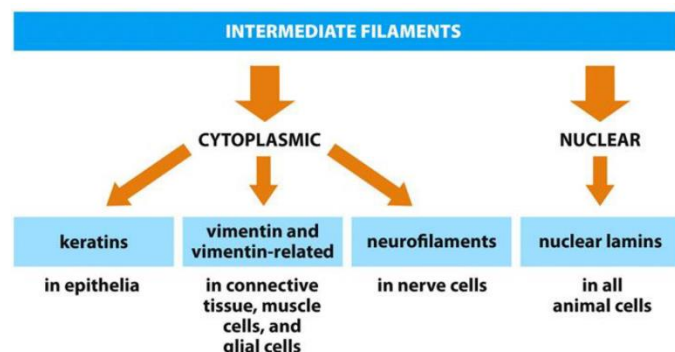
Kort og overordnet:

Hurtig transport af vesikler foregår via motorproteiner langs polariserede cytoskeletfilamenter, enten mikrotubuli eller aktin. Under energiforbrug kan vesikler transporteres mod plusenden af mikrotubuli vha. *kinesiner*. Tilsvarende vil motorproteiner kaldet *dyneiner* transportere vesikler mod minusenden af denne filamenttype. Transport via aktinfilamenter foregår typisk i cellens cortex, mod plusenden via *myosin* (typisk myosin-I eller -V).

✚ Beskrive intermediære filamenter vævsspecifikke forekomst.

Proteinerne der indgår i de intermediære filamenter opdeles i 4 klasser på baggrund af ligheder og forskelle i aminosyresekvensen – det er påvist via immunhistokemi at forskellige intermediære filamenter er eksisterende i forskellige celler:

- **Keratinfilamenter:** kun i epithelceller, spiller en væsentlig rolle i huden mekaniske funktion (desmosomer, hemidesmosomer).
- **Vimentinfilamenter:** forekommer i bindevævs-celler, muskelceller og gliaceller, yder mekanisk støtte i disse celler.



- **Neurofilamenter:** forekommer i nerveceller, yder mekanisk støtte – især i axon.
- **Nukleære laminer:** forekommer i alle animale cellers kerne.

F13: Celle-celle og celle-ECM interaktioner

✚ **Beskrive kommunikerende, adhærerende, og okkluderende celle- kontakter.**

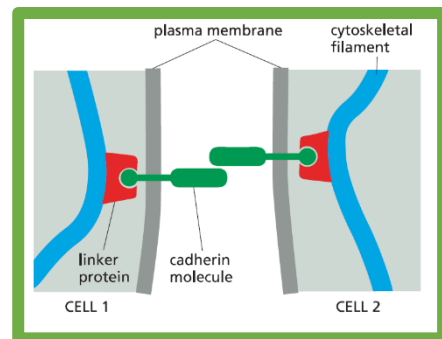
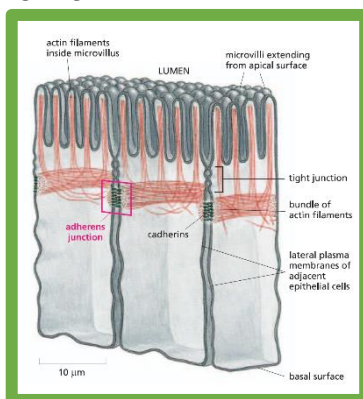
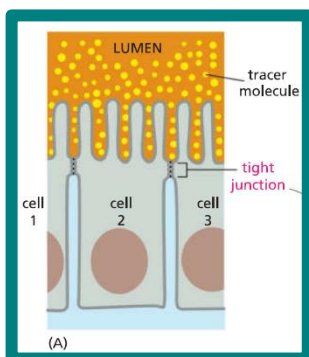
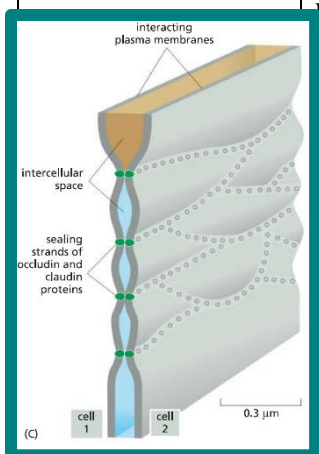
	Okkluderende celle-celle kontakt
	Tight junction/zonula occludens
Placering	Lateralt-apikalt
Cytoskeletrelation	Aktin
Struktur	Bæltekontakt rundt om hele cellen – membranen kun punktvist forbundet, transmembrane proteiner: <u>occludin + claudin</u> + JAM, plaque-proteiner: Zo-1 + 2 + 3
Funktion	Opdeler cellen i en basal og apikal del (polariserer cellen – fx er sammensætningen af membranproteiner forskellig) – disse kontakter aflukker intracellulærrummet imod lumen nær epithelets luminale overflade hvilket mindsker permeabiliteten – molekyler er derfor nødt til at "vandre" gennem cellen, holder naboceller sammen – mekanisk rolle, regulerer paracellulær pathway – de fungerer altså som en barriere for lateral diffusion af membranproteiner. Eksempel: Blod-hjerne barrieren og nyren.

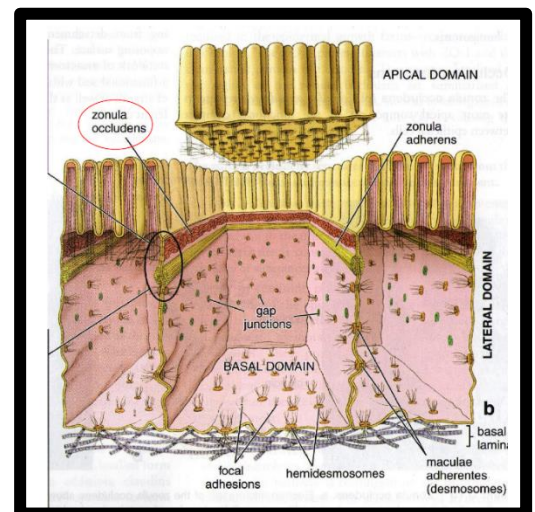
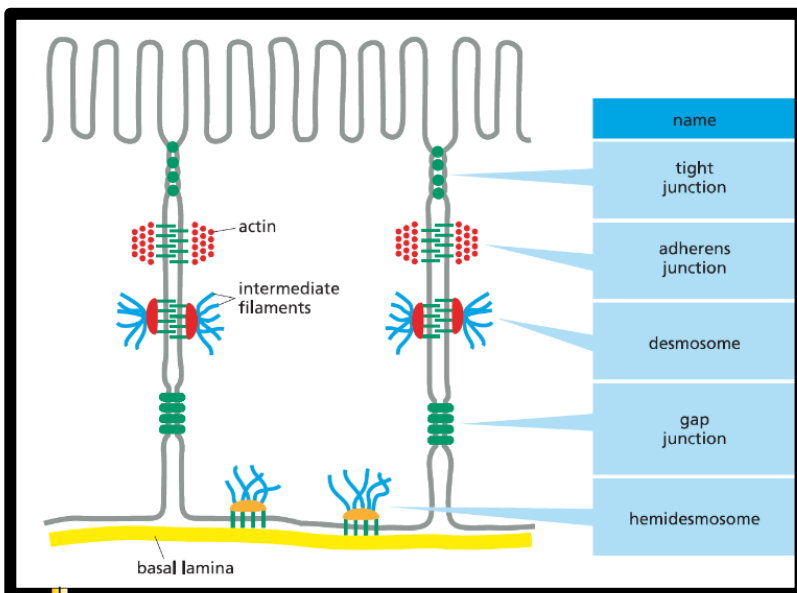
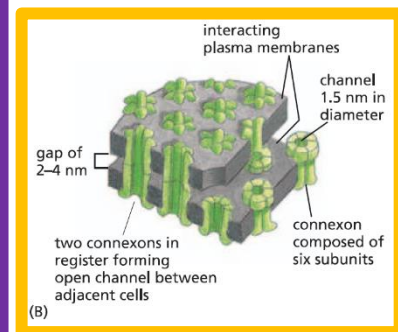
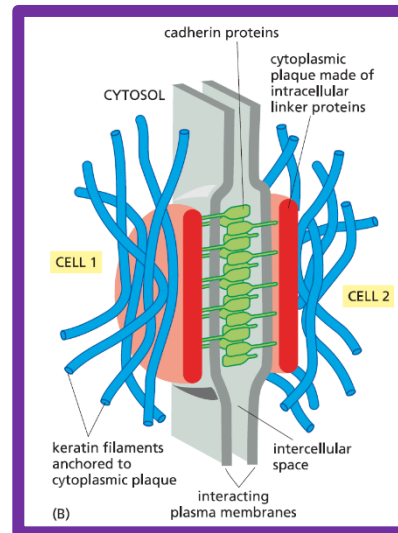
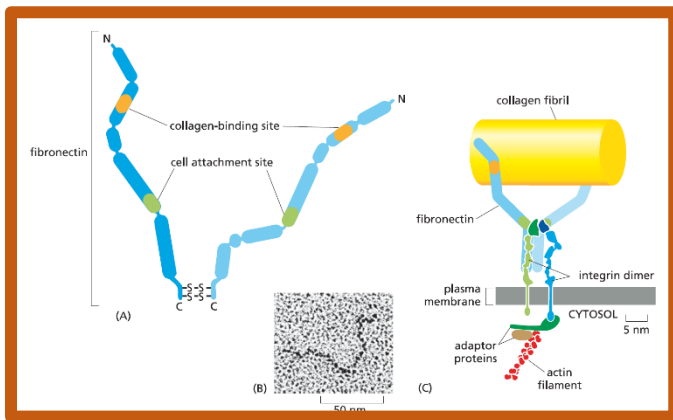
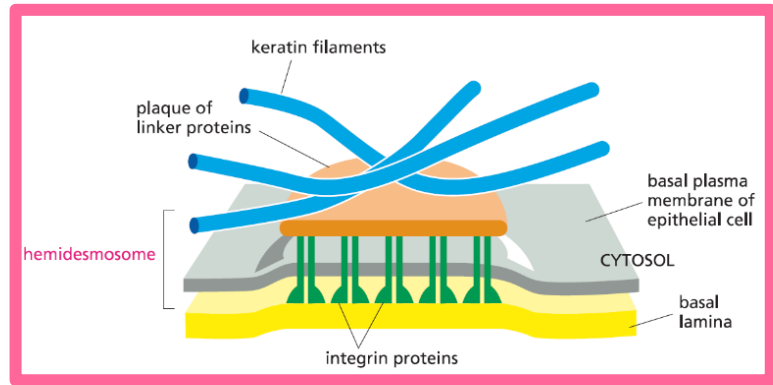
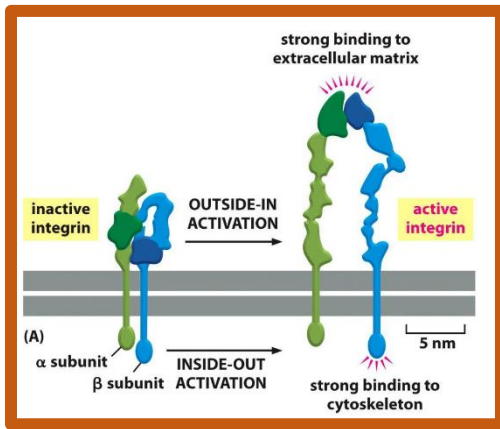
	Adhærerende (forankrende) cellekontakter			
	Celle-celle kontakter		Celle-ECM kontakter	
	Zonula adherens	Desmosomer	Hemidesmosomer	Fokale adhæsioner
Placering	Lige basalt for zonula occludens	Basalt for zonula adherens	Basalt	Basalt
Cytoskeletrelation	Aktin der kontakter plaquen direkte	Intermediære filamenter der	Intermediære filamenter der	Aktin der kontakter plaquen direkte

		kontakter plaquen som buer.	kontakter plaquen direkte.	
Struktur	Bæltekontakt rundt om hele cellen, transmembrane proteiner: cadheriner – hæfter dels i plaque og dels i modstående cadheriner på overforstående celler, plaquen består af proteinet vinculin Afhængig af Calcium i det extracellulær rum.	Punktkontakt, transmembrane proteiner: cadheriner, plaquen består bl.a. plakoglobin og desmoplakin der forankrer Intermediære filamenter til plaquen	Et halvt desmosom forbundet med ECM, transmembrane proteiner: integriner der går fra cellen og ud og binder til laminin der forekommer i ECM. Laminin binder til nidogen, som derefter binder til kollagen 4, dette sker i lamina densa.	Transmembrane proteiner: IF binder til plaquen som binder til integriner der går fra cellen og ud samt laminin og binder til fibronectin (der er bundet til kollagen) der findes i ECM. Fibronectin går helt ud til lamina reticularis.
Funktion	Mekanisk styrke – gør at epitelet kan udspændes	Mekanisk styrke – disse er stærkere end zonula adherens pga. indholdet af intermediære filamenter	Mekanisk styrke, binder celler til basalmembran	Mekanisk styrke Protrusion, attachment, contraction. Philopodier = filamenter Lamelopodier = Plader

	Kommunikerende cellekontakter
	Nexus, "Gap junction"
Placering	Overalt imellem cellerne
Cytoskeletrelation	Ingen
Struktur	Transmembrant protein: connexin → connexin * 6 = connexon (hul, cylindrisk) → 2 connexoner = nexus → en hul kanal der strækker sig ud fra en celle til en anden.
Funktion	Danner passage for uorganiske ioner og små vandopløselige molekyler fx aminosyre- grænsen er 1000 D. Elektriske signaler (Aktionspotentiale) og pH-buffer.

Illustrationer til tabellerne





• Beskrive adhesiv glykoprotein i ECM.

Fibronectin: er en dimer bundet sammen af disulfidbindinger, og det har bindingssteder for kollagen, heparin, fibrin og integriner. Det er fibronectins evne til både at binde til celle overfladernes integrin og til extracellulær matrix's kollagen der gør, at det fungerer som et adhæsivt glykoprotein mellem celler og ECM.

Laminin: Laminin er et korsformet adhæsivt glykoprotein, der kan sammenbinde de øvrige dele kollagen IV (basallamina), hvor det primært findes. Laminin har bindingssteder for basallamina, entactin og integriner. Dermed kan det også medvirke til forankring af celler til ECM.

Entactin/Nidogen: Entactin kaldes også nidogen, og man mener, at det fungerer ved at sammenbinde laminin med kollagen IV.

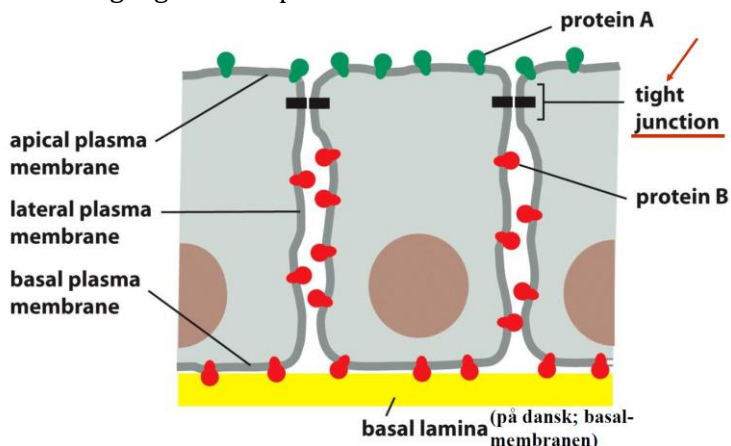
Tenascin: Består af 6 underenheder, ser stråler ud fra et centralt bindingspunkt. Findes kun sparsomt i voksne, men man mener det har betydning for cellemigration/vandring og udvikling af axoner i det embryonale væv.

✚ **Beskrive cellereceptorer (integriner) for adhæsive ECM glycoproteiner.**

Integriner er transmembrane proteiner involveret i cellers kontakt til ECM, og indgår bl.a. i hemidesmosomer og fokale adhæsioner. Hemidesmosomer giver forankring af epithelceller til basallamina, mens fokale adhæsioner typisk er involveret til cellers adhæsion i bindevæv, inkl. cellulær migration. I begge tilfælde forankres cytoskelettet (intermediære filamenter eller aktin) via linkerproteiner til den cytosolære del af integriner, som extracellulært er forankret til kollagenfibre via multiadhæsivt glykoprotein (laminin eller fibronectin).

✚ **Redegøre for integriteten af et dækkepithel.**

Dækkepitheler danner generelt en beskyttende, og barrieredannende 'membran' på legemets ydre og indre overflader. Integriteten af et dækkepithel er resultatet af de mange tight junctions, der ligger som et bånd rundt om cellen, så der ikke kommer noget imellem cellerne (paracellulært). Tight junctions sidder som et "bælte" og afgrænser apikal membranen fra den basolaterale plasma membran.



F14: Det centrale dogme

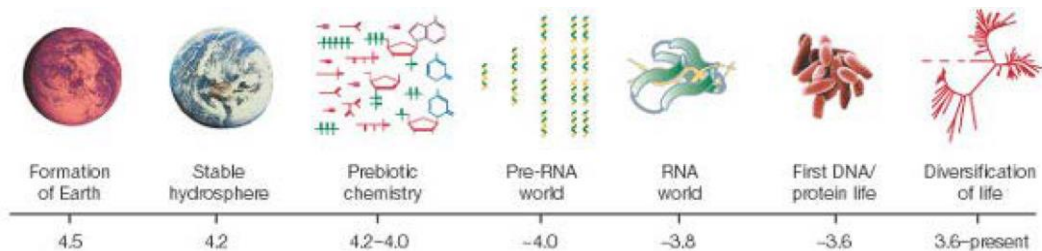
Centrale dogme: er et princip, der siger, at omsætningen af information sker fra DNA over RNA til protein. Kort beskrevet omskrives (transskriberes) DNA i den menneskelige cellekerne til små transportable RNA-molekyler, som efter pre-processering kaldes messenger RNA (mRNA). Herefter transporteres mRNA ud af kernen, og i cytoplasmaet aflæses koden i mRNA'et i ribosomerne, som oversætter (translaterer) denne kode til aminosyrer, der er byggestenene i proteiner. På denne måde syntetiseres alle cellens nødvendige proteiner.

✚ **Angive at DNA, RNA og protein er molekyler, der på den ene side indeholder sekvensinformation og på den anden side er fysiske molekyler, hvis struktur er afgørende for deres funktion.**

DNA, RNA og protein er alle fysiske molekyler, der alle har en række kemiske og fysiske egenskaber, der er bestemt af deres meget forskellige molekylære opbygning. Specielt protein afviger fra DNA og RNA.

- ✚ **Angive processerne for overførsel af genetisk information med baggrund i det centrale dogme.**
DNA (*Transkription*) → RNA (*Translation*) → Protein
- ✚ **Angive hovedtræk i makromolekylernes udviklingshistorie, herunder begrebet "RNA verdenen" og genomets ekspansion og opdeling i strukturelle og regulatoriske områder.**

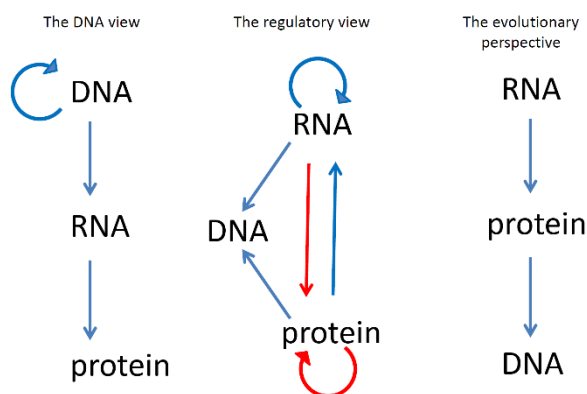
Man mener at rækkefølgen rent evolutionært er 1) RNA 2) Protein 3) DNA. RNA kan replikere sig selv og har også katalytiske egenskaber, som stadig bruges i dag. Senere kom proteiner til med deres større mangfoldighed, og dermed kunne man opnå flere og mere præcise enzymatiske reaktioner. Dernæst afløste DNA ifølge teorien. Dernæst afløste DNA ifølge teorien RNA som bærer af genetisk information, da DNA er mere stabil. RNA er dermed primært det formidlende led mellem DNA og protein nu.



- ✚ **Redegøre for begreberne "gen" og "transkriptionsenhed".**

Et gen er en DNA-sekvens, der koder for et protein.

Transkriptionsenheden er fra startsite til terminator, det DNA der koder for præ-mRNA.

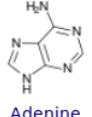
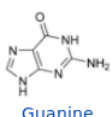
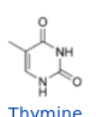
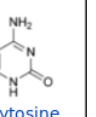
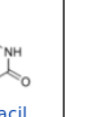
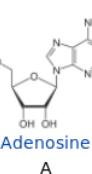
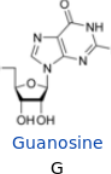
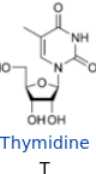
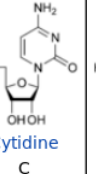
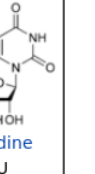


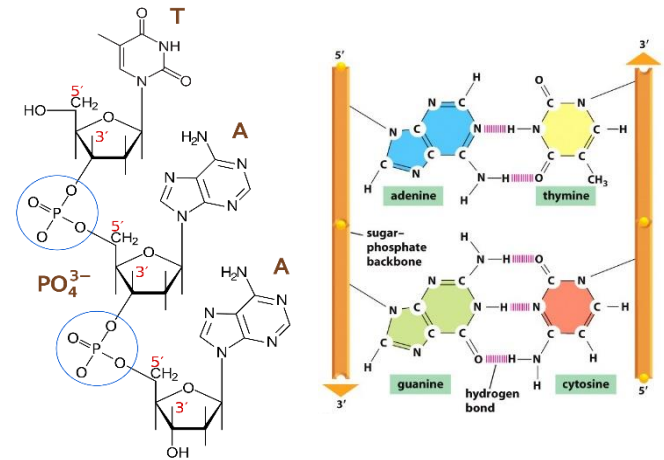
F15: DNA og kromosomer

- ✚ **Redegøre for DNA struktur og funktion.**

DNA (deoxyribonucleicacid) er opbygget af to lange polynucleotidkæder, der er snoet om hinanden i en dobbelthelix struktur. Hver polynucleotidkæde består af nukleotider. Nucleotider består af en fosfatgruppe, sukker og base. Nukleosider består igen af en deoxyribose sukker og base delen. Disse nukleosider bliver til nucleotider ved at binde til hinanden gennem en phosphodiesterbinding fra det ene deoxyriboses femte carbonatom til det næste deoxyriboses tredje carbonatom.

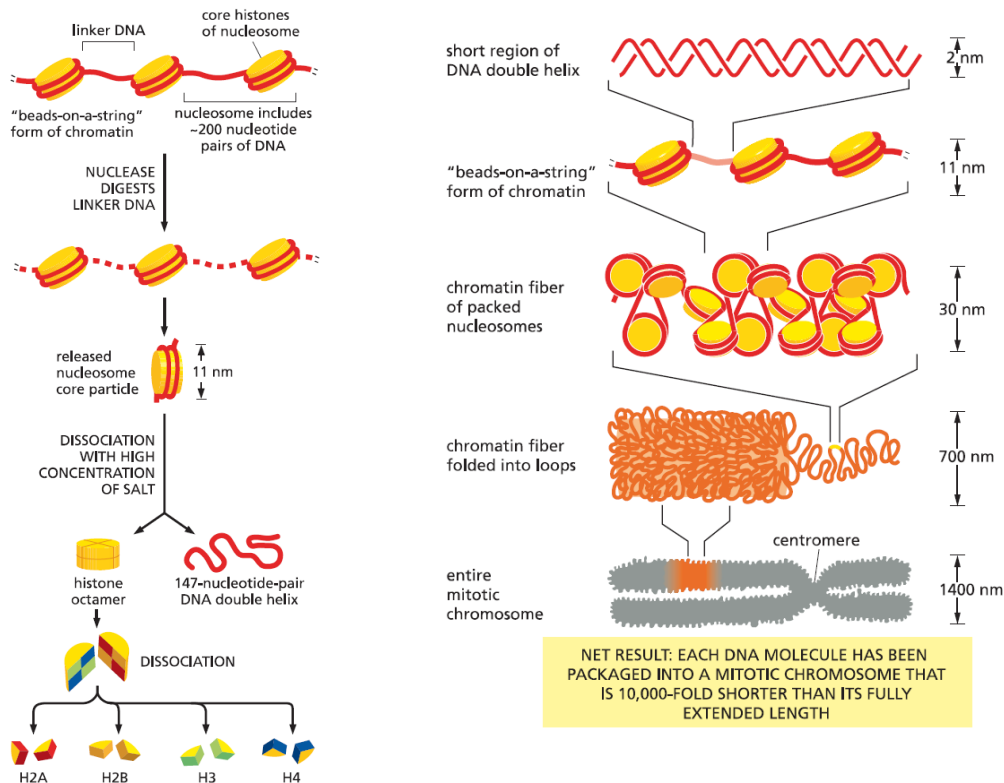
Det er hydrogenbindinger mellem disse nucleotider der holder dobbelt helixen sammen (Antal hydrogenbindinger mellem; C-G=3, A-T=2).

Nucleobase	 Adenine	 Guanine	 Thymine	 Cytosine	 Uracil
Nucleoside	 Adenosine A	 Guanosine G	 Thymidine T	 Cytidine C	 Uridine U



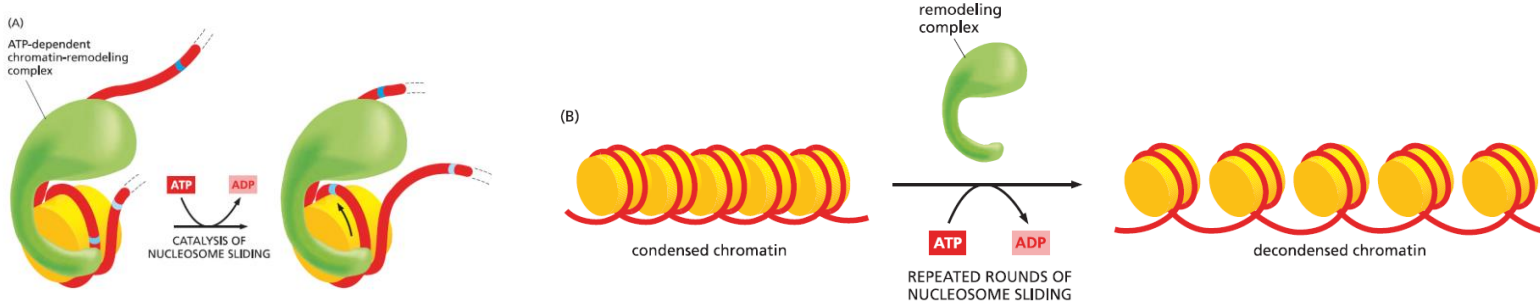
Redegøre for kromatin struktur herunder histoner og nukleosomer.

Histonkomplekser bestående af H2A, H2B, H3 og H4 danner sammen med DNA nukleosomer. Nukleosomer består af linker DNA og DNA viklet (næsten 2 gange) rundt om de octamere histonkomplekser (8 proteinkompleks). Dette danner 11 nm "perler på snor" strukturen for kromatin. Nucleosomerne kan dernæst pakkes tættere sammen og danne 30 nm strukturen. Strengene af pakke nukleosomer kan nu yderligere foldes i loops og danne 700 nm strukturen, som ses i et kromosoms ben. Man ved dog stadig ikke alt om foldningen og kromatin.

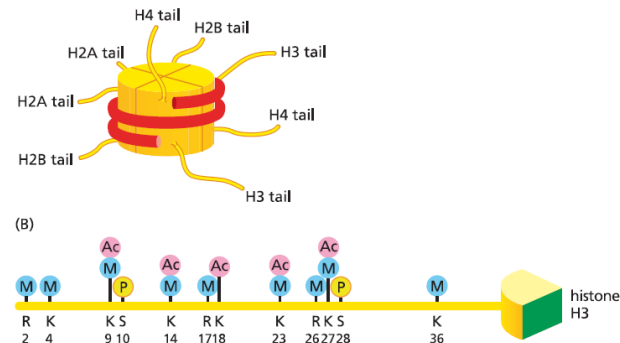


Redegøre for histon modifikationer og deres biologiske funktion.

- 1) Histoner kan modificeres ved hjælp af histon modification complexes, som ved hjælp af ATP-hydrolyse skal spinde kromatin rundt om histonerne og dermed ændre på, hvilke kromatinsekvenser, der befinder sig på det pågældende histonkompleks. På denne måde kan afstanden mellem nukleosomer fx øges eller forkortes.



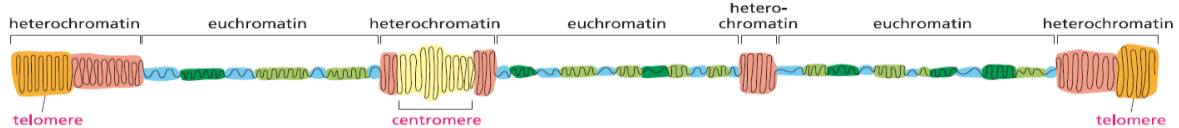
- 2) Histoner kan også modificeres ved at binde phosphat-, acetyl- eller methylgrupper til haleparrerne af H2A, H2B, H3, H4. Disse modifikationer kan ændre på stabiliteten af kromatinfiberen, men de kan også fungere som dockingsites for regulative proteiner. Der findes mange kombinationer af kovalente modifikationer, da der er otte haler, som alle kan modificeres langs hele halen, nogen steder kan der endda være flere modifikationer på det samme sted på halen. Man kender kun ganske få kombinationer.



Redegøre for begreberne eukromatin og heterokromatin.

Eukromatin er kromatin, der er pakket mindre tæt, og derfor er det transkriptionelt aktivt. Da det er pakket mindre tæt, farver det ikke ligeså kraftigt blåt som heterokromatin ved HE-farvning.

Heterokromatin er kromatin, der er tæt pakket og derfor ikke transkriptionelt aktivt. Det farver desuden kraftigt blåt ved HE-farvning.



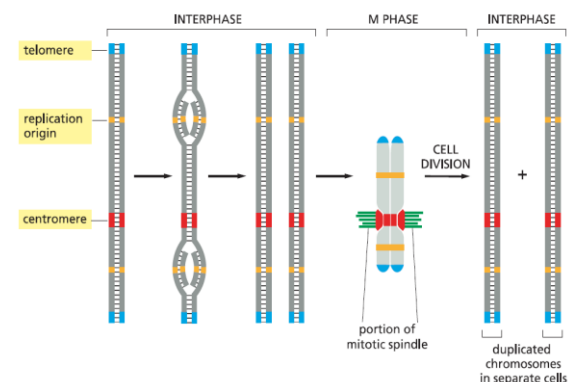
Beskrive telomere og centromere.

For at danne et funktionelt kromosom er det ikke nok at DNA molekylet kun bærer dets gener, det skal også være i stand til at blive replikeret. Hvert kromosom har flere begyndelsessteder for replikationen, et centromer og to telomere. DNA sekvenser har forskellige egenskaber:

Promotor/Begyndelsessteder for replikation: her begynder kopieringen af DNA - hvert kromosom indeholder flere af disse steder for at sikre, at hele DNA'et bliver replikeret hurtigt.

Telomerer: findes for enden af kromosomerne og indeholder en nukleotidsekvens der gør det muligt at kopiere disse ender. At de dækker enderne forhindrer at cellerne tager fejl af enderne som et stykke DNA der trænger til repair.

Centromere: hjælper med at holde kromosomerne sammen indtil de er klar til at blive adskilt i anafasen i mitosen (tenrådene binder hertil), samt tillader at en kopi af hvert kromosom fordeles til hver sin dattercelle.



Redegøre for begrebet genom.

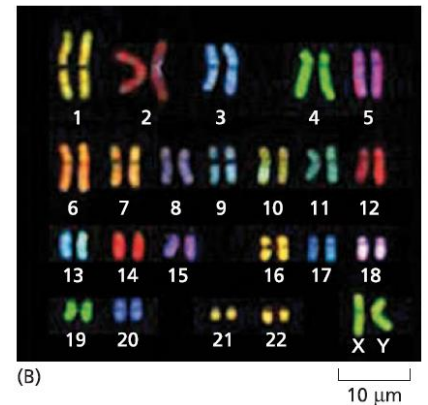
Genomet er alt det genetiske materiale (DNA'et og dets indhold), som alle celler i den pågældende organisme indeholder. En del af genomet er fx genotypen, der igen koder for fænotypen.

Redegøre for begreberne gen og kromosom.

GEN: Et gen er en DNA-sekvens, der koder for dannelsen af protein eller funktionelt RNA, som dernæst kan diktere organismens fænotype.

KROMOSOMER: en struktur i eukaryote celler hvori lange dobbeltstrengede DNA-molekyler er pakket.

Kromosomer i eukaryote celler består af DNA der er tæt bundet til specialiserede proteiner (histoner), proteinernes funktion er at folde og pakke DNA'et til en kompakt struktur. Kromosomstrukturen tillader enzymer at komme til DNA'et. Mennesket har to kopier af hvert kromosom - et fra faderen og et fra moderen, som kaldes homologe kromosomer. De eneste nonhomologe kromosompar er mænds kønskromosomer hvor Y er fra faderen og X fra moderen. Mennesket indeholder 46 kromosomer, Kromosomernes vigtigste funktion er at bære generne der er den arvede funktionelle enhed.



Beskrive et eukaryot gen.

Eukaryote gener indeholder både exons og introns.

Introns: de mellemliggende sekvenser i genet der ikke koder for noget - udgør ofte størstedelen af genet. **Exons:** de kodende sekvenser - er ofte kortere end introns hvilket betyder at det kun er korte dele af eukaryotiske gener der koder for noget.

Derudover har de en promotor (igangsætter) i deres 5'ende, som indeholder den såkaldte TATA-boks sekvens. Derudover indeholder genet mange regulatoriske sekvenser.



Redegøre for DNA polymerasens funktion.

Funktionen af DNA polymerase er at duplikere DNA, hvilket gøres under S-fasen i celledeling. DNA polymerase indeholder bl.a. helicase og primase, som er vigtige under replikationsprocessen. To funktioner proofreading og polymerisering.

Redegøre for replikationsmekanismen.

Et stykke DNA, der skal replikeres har flere replikations origins, som genkendes af initiator proteiner kaldet helicase og SSB-proteiner (Single-strand-DNA binding protein). Disse splitter nucleotidstrengene fra hinanden og SSB-proteiner sørger for, at de ikke går sammen igen.

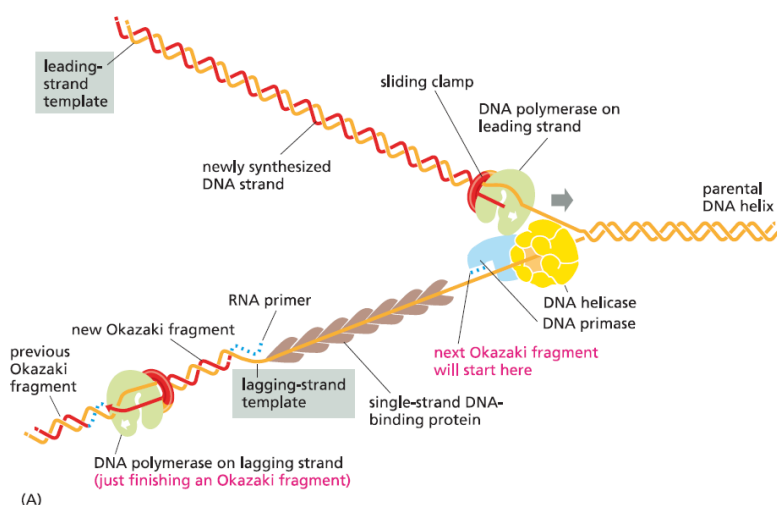
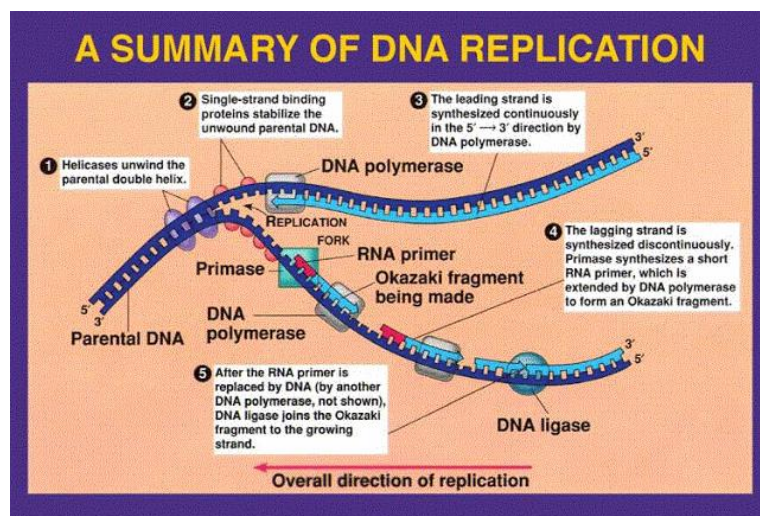
Dernæst dannes der to replikations-forks, der arbejder mod hhv. venstre og højre. Hver replikationsfork har en leadingstrand og en laggingstrand, der hver syntetiserer i 5' -> 3' retningen. Laggingstrand danner okzaki fragmenter, der skal bruge RNA-primase mellem hver okzaki fragment til at danne en RNA-primer, som slidinglamp+DNA-polymerase kan bruge til at starte replikationen.

Bagefter klippes RNA-primeren ud via ligase og DNA polymerase lapper hullerne. Leading-strand skal kun bruge en primase og medfølgende RNA primer en gang i starten af replikationen.

På DNA'et sidder en sliding clamp, som binder sig godt fast til DNA'et. DNA-polymerase kan dernæst binde til sliding clamp, hvorved den kan sidde sikkert koblet til DNA'et. Foran DNA-polymerase i leading strand sidder helicase og fortsat åbner DNA'et og via ATP-hydrolyse. SSB proteiner binder til lagging strand.

For at danne en kontinuerlig DNA streng kræves 3 enzymer.

- 1) En RNA-nuklease der genkender RNA sekvensen (dvs. primere) og nedbryder denne.
- 2) En repair polymerase der erstatter RNA med DNA ved at anvende enden af okazaki fragmenterne som en primer.
- 3) En DNA ligase der forbinder 5' phosphatenden af en af de nysyntetiserede DNA fragmenter med 3' hydroxyl-enden af det næste fragment.



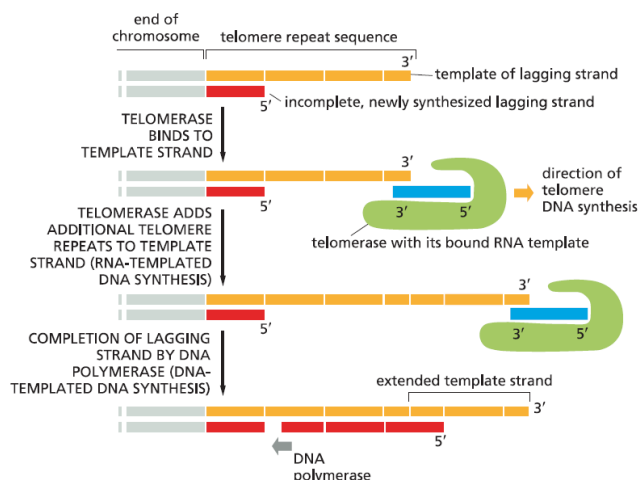
Forklare funktion af telomerase og biologisk betydning af telomere.

Da DNA kun kan syntetiseres i 5' -> 3' retningen fremkommer et problem for enden af en lagging strand idet

der ikke er plads til en RNA primer, der danner udgangspunktet for DNA syntese, her.

For at løse dette problem har eukaryoter en speciel nukleotidsekvens bygget ind i deres telomere for enden af DNA-strengene. Denne telomeriske DNA sekvens tiltrækker enzymet telomerase. Ved at anvende en indbygget RNA template hvis sekvens er komplementær til DNA templatet tilføjer enzymet en serie af gentagne DNA sekvenser til 3' enden af template strengen hvorved denne forlænges. Der er nu plads til en RNA primer og DNA polymerasen kan derved syntetisere DNA.

Biologisk betydning: uden telomerase ville en del af DNA'et gå tabt ved hver replikation.



🔗 Forklare hvordan mutationer kan opstå.

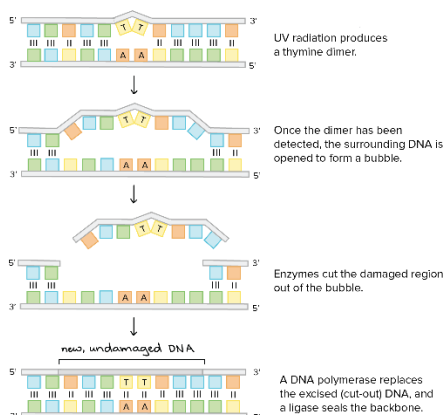
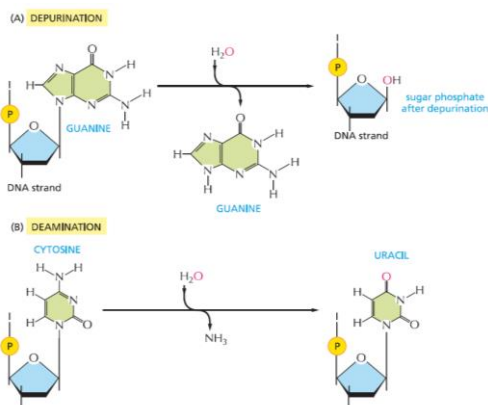
Mutation: en permanent ændring i DNA. Da proteiner syntetiseres ud fra RNA som syntetiseres fra DNA kan en ændring i DNA sekvens have alvorlige følger for dannelsen af proteiner og disses virkemåde. Mutationer sker sjældent men når det sker skyldes det enten at DNA replikationen eller DNA repair mislykkedes.

Depurination: fordi DNA kontinuerligt kolliderer med andre molekyler forekommer kemiske forandringer i DNA. Fx kan guanin og adenin løsriveres fra DNA'et ved en spontan reaktion kaldet depurination -> ødelægger ikke bindingerne men flår dem fra hinanden.

Deamination: spontant tab af en aminosyregruppe fra cytosin i DNA hvilket producerer basen uracil.

Thymine dimer: TT går sammen.

Kan alle fixes med exision repair.



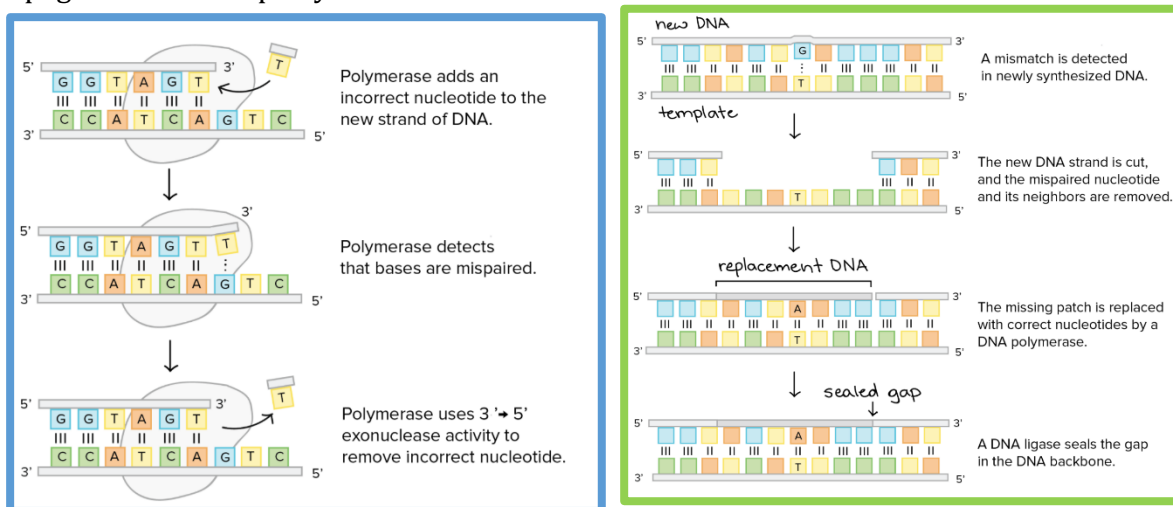
🔗 Forklare proofreading og mis-match repair mekanisme og deres biologiske betydning.

Proofreading:

DNA-polymeraser er enzymerne, som bygger DNA i celler. Under DNA-replikation (kopiering) kan de fleste DNA-polymeraser "kontrollere deres arbejde" med hver base, som de tilføjer. Denne proces kaldes korrekturlæsning (proofreading). Hvis polymerasen detekterer, at et forkert (ukorrekt parret) nukleotid er blevet tilsat, vil det fjerne og erstatte nukleotidet med det samme, inden der fortsættes med DNA-syntese. Den retter dem med 3'-5'-exonukleaser.

Mis-match:

Hvis en fejl undviger proofreading, så kan mis-match repair finde og rette den. Mis-match repair bruger en kompleks af proteiner, der genkender mis-matches. De genkender også den oprindelige streng, så man ikke forværrer skaden. Når de finder en fejl, så skærer de et stykke DNA ud, og resyntetiserer det pågældende DNA på ny.

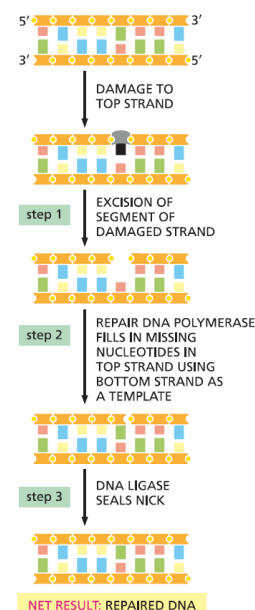


Forklare excision repair som et eksempel på DNA reparation.

Der findes **base excision repair** og **nucleotid excision repair**, alt efter, om fejlen skyldes en ændring af baserne eller et mis-match eller et mis-matched nucleotid.

Base excision repair reparer fx depurination og deamination.

Nucleotid excision repair består af 3 trin: excision (nuklease), reparation via den oprindelige DNA-streng (Repair DNA-polymerase) og til sidst limes strengen sammen med en ligase.



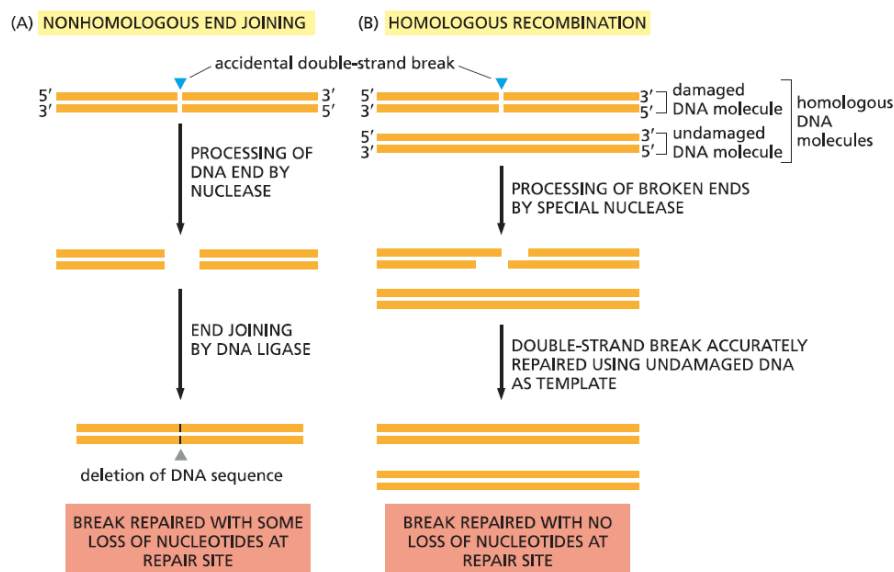
✚ Forklare den biologiske betydning af homolog og non-homolog end-joining.

Homolog rekombination - DNA dobbelt streng brud.

En af de to ødelagte komplementære DNA strenge bliver fjernet via en nuklease. Herefter vil den ene streng vha. nogle specialiserede enzymer gå ind og baseparre med det homologe DNA kompleks. Her dannes et "branch point" hvor de to DNA strenge (den fra brudet og den fra det homologe stykke DNA) krydser over. Herefter bliver det ødelagte DNA elongeret af en DNA polymerase. Hvorefter det går fra hinanden og en ligase sætter de to ødelagte strenge sammen igen.

Non-homolog endjoining: - DNA Dobbelt streng brud

Ved "nonhomolog end-joining" repareres DNA **dobbeltstrengsbrud** ved at de to brudte ender bringes sammen ved hjælp af en gruppe proteiner og enderne bliver sat sammen ved ligering af DNAet. (Denne "quick and dirty" reparation medfører normalt at nukleotider tabes ved reparationsstedet).



Transskription

🚩 Redegøre for RNA hovedtyperne

RNA hovedtyper	Funktion
rRNA	Det er funktionelt RNA, som bl.a. findes i ribosomer, og det kan have en katalytisk funktion.
mRNA	Det er det såkaldte "Infocarrier" mellem DNA og protein.
tRNA	Det er et molekyle, der bringer den aminosyrer til ribosomkomplekset, som netop matcher det codon, der udtrykkes på mRNA'et. tRNA og aminosyre sættes sammen ved hjælp af aminoacyl-tRNA-synthetase.

Type of RNA	Function
messenger RNAs (mRNAs)	code for proteins
ribosomal RNAs (rRNAs)	form the core of the ribosome's structure and catalyze protein synthesis
microRNAs (miRNAs)	regulate gene expression
transfer RNAs (tRNAs)	serve as adaptors between mRNA and amino acids during protein synthesis
other noncoding RNAs	used in RNA splicing, gene regulation, telomere maintenance, and many other processes

🚩 Redegøre for RNA polymerase funktion

RNA polymerase er et enzym, der katalyserer dannelsen af RNA ud fra en DNA-skabelon. Det består af flere polypeptider. Der er følgende tre typer:

RNA polymerase I	rRNA
RNA polymerase II	mRNA
RNA polymerase III	tRNA

Type of Polymerase	Genes Transcribed
RNA polymerase I	most rRNA genes
RNA polymerase II	all protein-coding genes, miRNA genes, plus genes for other noncoding RNAs (e.g., those in spliceosomes)
RNA polymerase III	tRNA genes 5S rRNA gene genes for many other small RNAs

🚩 Redegøre for en promoters funktion, herunder TATA-boks og transskriptionsinitiering

En promoter er en DNA-sekvens i starten af genet, der regulerer genets ekspression. TATA-boksen er en sekvens i en DNA promoter, der genkendes af generelle transkriptions-faktorer.

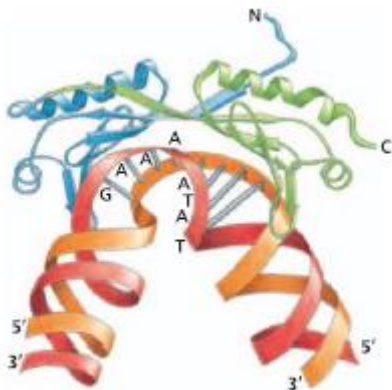
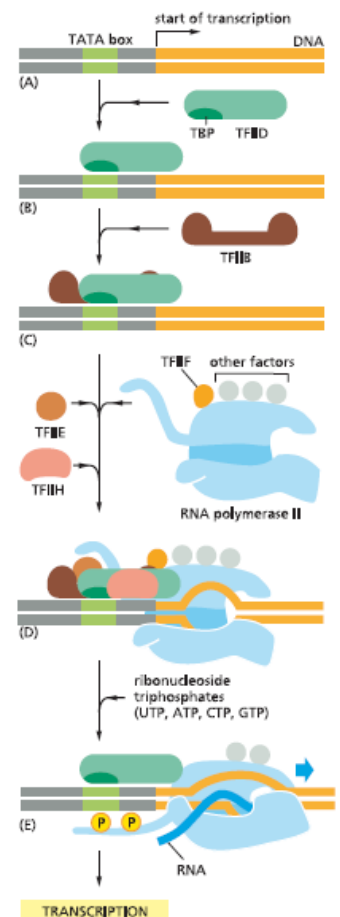


Figure 7–13 TATA-binding protein (TBP) binds to the TATA box (indicated by letters) and bends the DNA double helix The unique distortion of DNA caused by TBP, which is a subunit of TFIID (see Figure 7–12), helps attract the other general transcription factors. TBP is a single polypeptide chain that is folded into two very similar domains (blue and green). The protein sits atop the DNA double helix like a saddle on a bucking horse (Movie 7.4). (Adapted from J.L. Kim et al., *Nature* 365:520–527, 1993. With permission from Macmillan Publishers Ltd.)

🚩 Redegøre for funktionen af generelle (basale) transskriptionsfaktorer

De generelle transskriptionsfaktorer hjælper med tiltrækning og aktivering af RNA polymerase. TATA-boks binding protein på TFIID binder til TATA-boksen, hvorefter TFIIB også kommer til. Herefter tiltrækkes andre transskriptionsfaktorer såsom TFIIF. TFIIF splitter DNA'et op og phosphorylerer RNA polymerasens hale, hvilket sætter transskriptionen i gang. Herefter dissocierer de fleste generelle transskriptionsfaktorer.

Figure 7–12 To begin transcription, eukaryotic RNA polymerase II requires a set of general transcription factors. These transcription factors are called TFIIB, TFIID, and so on. (A) Many eukaryotic promoters contain a DNA sequence called the TATA box. (B) The TATA box is recognized by a subunit of the general transcription factor TFIID, called the TATA-binding protein (TBP). For simplicity, the DNA distortion produced by the binding of the TBP (see Figure 7–13) is not shown. (C) The binding of TFIID enables the adjacent binding of TFIIB. (D) The rest of the general transcription factors, as well as the RNA polymerase itself, assemble at the promoter. (E) TFIIF then pries apart the double helix at the transcription start point, using the energy of ATP hydrolysis, which exposes the template strand of the gene (not shown). TFIIF also phosphorylates RNA polymerase II, releasing the polymerase from most of the general transcription factors, so it can begin transcription. The site of phosphorylation is a long polypeptide “tail” that extends from the polymerase.



🚩 Redegøre for transskriptionens faser (initiering, elongering og terminering)

Transskriptionens faser	Funktion
Initiering	Initieringsfasen består af samlingen af RNA polymerase og de generelle transskriptionsfaktorer omkring TATA-boksen i genets promoter.
Elongering	Elongeringen starter ved, at TFIIF phosphorylerer RNA polymerasens hale, hvilket sætter RNA polymerasen i gang. Samtidig dissocierer de fleste generelle transskriptionsfaktorer. Under elongeringen klippes introns løbende ud af spliceosomer (indeholder snRRPs), og efter ca. 25 nukleotider, tilføjes en 7-methyl-guanosin til 5'-5' enden gennem en 5'-5' triphosphatbro.
Terminering	Transkriptionen afsluttes med poly-A modifikation af 3'-enden ad mRNA'et

🚩 Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot transskription

Generelt er alt i eukaryote celler mere kompleks end i prokaryote celler. I prokaryote celler binder RNA polymerasen til en sigmafaktor, hvorefter komplekset binder til DNA. Her fortsætter komplekset langs DNA'et indtil det møder en promoter, hvorefter sigmafaktoren slippes, og RNA polymerasen starter transkriptionen hen ad DNA'et alene, indtil RNA polymerasen møder en terminator.

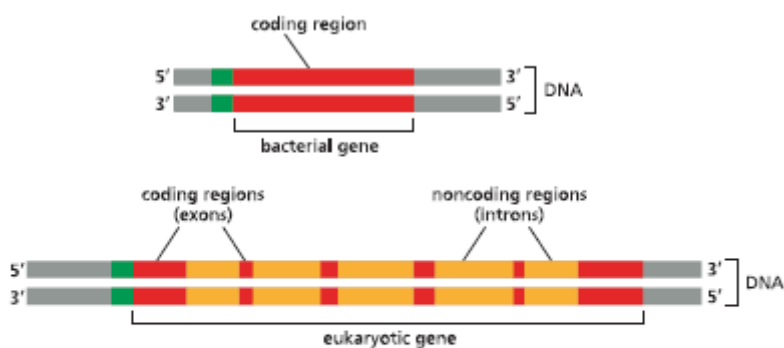


Figure 7-17 Eukaryotic and bacterial genes are organized differently. A bacterial gene consists of a single stretch of uninterrupted nucleotide sequence that encodes the amino acid sequence of a protein (or more than one protein). In contrast, the protein-coding sequences of most eukaryotic genes (exons) are interrupted by noncoding sequences (introns). Promoters for transcription are indicated in green.

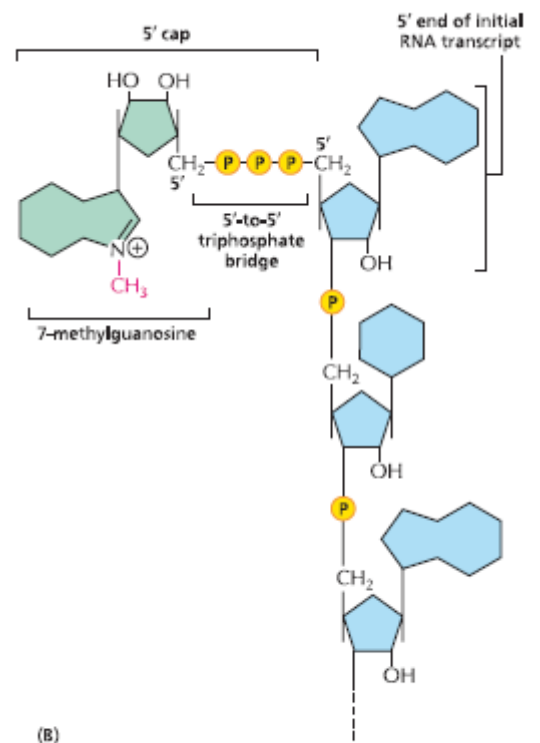
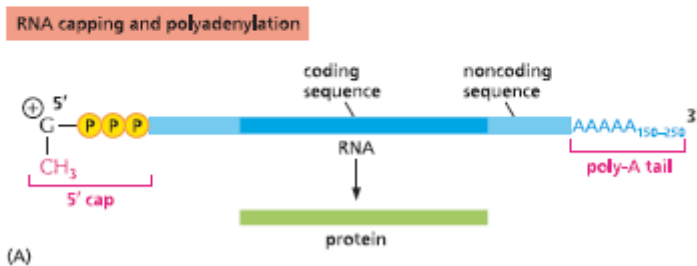
RNA processing

✚ Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot mRNA

Ligheder: Begge består af de samme grundsten (nukleotider med ribose i stedet for deoxyribose). Derudover byttes thymin ud med uracil i begge typer mRNA, og de dannes begge ud fra et DNA arvemateriale.

Forskelle: Eukaryot mRNA processeres ved tilføjelse af 5'-cap og poly-A hale. Derudover splices introns ud af færdigt eukaryot mRNA, og efterlader genkendelige proteiner ved alle splicesites. Prokaryot mRNA har derimod meget få tilføjelser efter transskriptionen. Prokaryote mRNA translateres, mens det endnu er ved at blive transskriberet. I Eukaryoter skal mRNA først føres ud gennem kerneporerne vha. diverse modifikationer, som bagefter genkendes, så translationen initieres. I mange eukaryoter er mRNA polycistronisk (operons), dvs. at det under translationen koder for en række proteiner, der fx skal indgå i et større proteinkompleks.

Figure 7-16 Eukaryotic pre-mRNA molecules are modified by capping and polyadenylation. (A) A eukaryotic mRNA has a cap at the 5' end and a poly-A tail at the 3' end. Note that not all of the RNA transcript shown codes for protein. (B) The structure of the 5' cap. Many eukaryotic mRNA caps carry an additional modification: the 2'-hydroxyl group on the second ribose sugar in the mRNA is methylated (not shown).



✚ Forklare mRNA processering, herunder capping, splejsning og polyadenylering

mRNA i eukaryote celler modificeres primært på tre måder af faktorer på RNA polymerasens hale:

Capping

Det er en tilføjelse af en 7-methyl-guanosin til mRNA'et 5'- ende. Dett gøre ca. efter 25 nukleotider i under transskriptionen. Dette markerer, at mRNA'et er færdigt.

Splejsning

Splejsning er klipning i pre-mRNA'et, hvor introns klippes ud af spliceosomer (indeholder snRRPs), og exons ligeres sammen. I splicesites sætter der sig proteiner, som genkendes af faktorer, der hjælper mRNA'et ud gennem porerne i kernemembranen.

Polyadenylering

Det er tilføjelsen af mange adenosiner i mRNA'et 2'ende i slutningen af transkriptionen. Dette markerer, at mRNA'et er færdigt.

✚ Redegøre for alternativ mRNA processering (splejsning) og den biologiske funktion heraf

mRNA splicing er ikke bare et fast splejsningsmønster. Spliceosomerne kan klippe mange forskellige introns ud og på den måde kombinere exons på mange måder. Introns og exons er dermed ikke faste størrelser, men det varierer fra situation til situation. Konsekvensen af denne alternative splejsning er, at et gen kan transskriberes på mange forskellige måder, og dermed kan vore relativet få gener kode for enormt mange proteiner og funktionelle rRNA molekyler.

✚ Redegøre for exons og introns og deres relation til mRNA splejsningsprocessen

Introns og exons er som sagt ikke faste størrelse, men det varierer fra situation til situation. Under en transskription agerer et DNA-stykke i en større gen introns, mens det samme stykke DNA i en anden celle eller på et andet tidspunkt agerer som exon. Eller måske en blanding af de to.

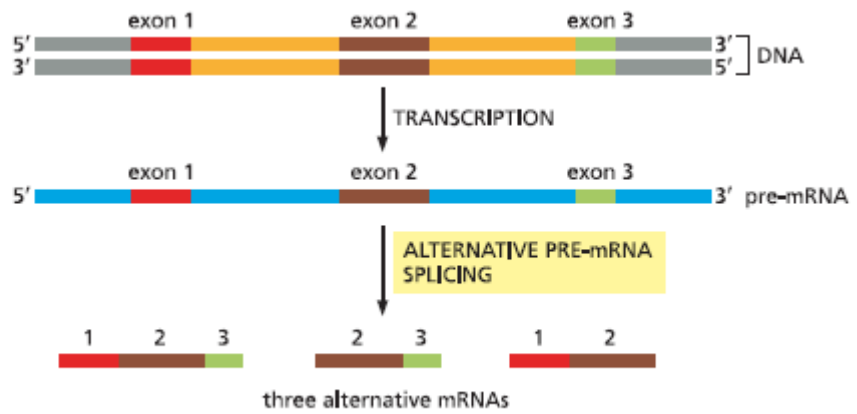
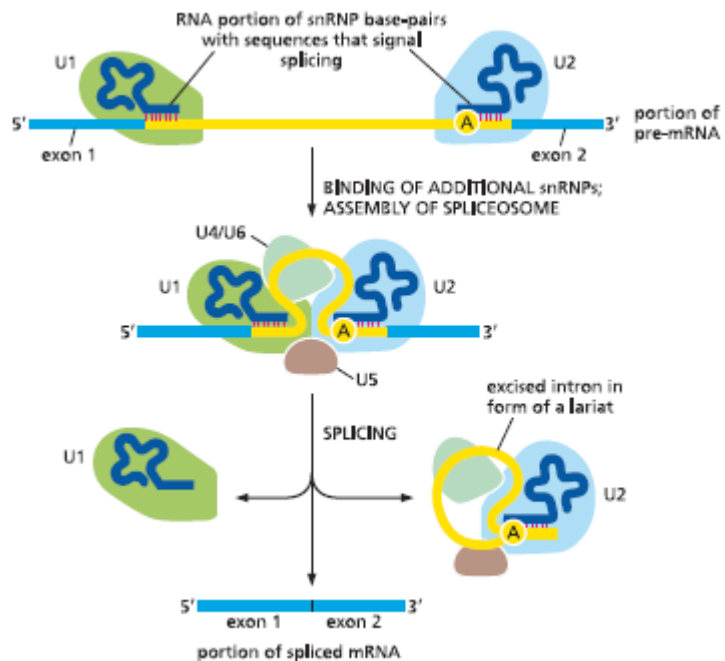


Figure 7–22 Some pre-mRNAs undergo alternative RNA splicing to produce various mRNAs and proteins from the same gene. Whereas all exons are present in a pre-mRNA, some exons can be excluded from the final mRNA molecule. In this example, three of four possible mRNAs are produced. The 5' caps and poly-A tails on the mRNAs are not shown.

🔗 Redegøre for funktionen af snRNA

snRNA (small nuclear RNAs) indgår sammen med proteiner i snRNPs (small nuclear ribonucleo-proteins)- også kaldet "snurps". snRNPs genkender splice-sites sekvenser i pre-mRNA gennem baseparring. I snRNPs udgår kerne af spliceosomer.

Figure 7–21 Splicing is carried out by a collection of RNA–protein complexes called snRNPs. There are five snRNPs, called U1, U2, U4, U5, and U6. As shown here, U1 and U2 bind to the 5' splice site (U1) and the lariat branch point (U2) through complementary base-pairing. Additional snRNPs are attracted to the splice site, and interactions between their protein components drive the assembly of the complete spliceosome. Rearrangements in the base pairs that hold together the snRNPs and the RNA transcript then reorganize the spliceosome to form the active site that excises the intron, leaving the spliced mRNA behind (see also Figure 7–20).



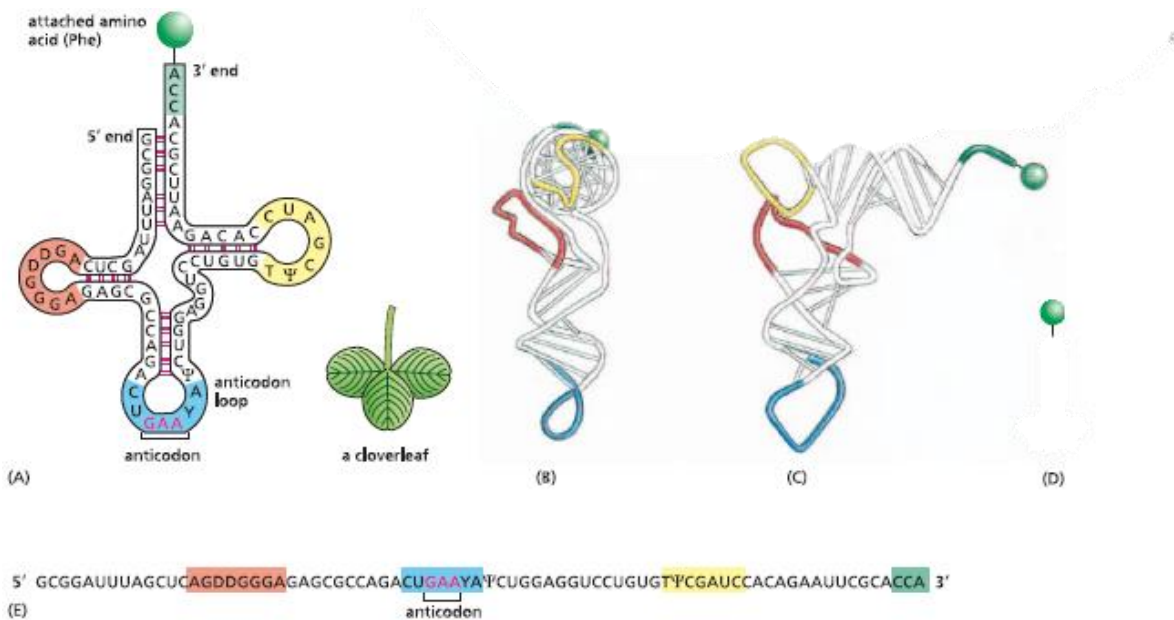


Figure 7–29 tRNA molecules are molecular adaptors, linking amino acids to codons. In this series of diagrams, the same tRNA molecule—in this case, a tRNA specific for the amino acid phenylalanine (Phe)—is depicted in various ways. (A) The conventional “cloverleaf” structure shows the complementary base-pairing (red lines) that creates the double-helical regions of the molecule. The anticodon loop (blue) contains the sequence of three nucleotides (red letters) that base-pairs with a codon in mRNA. The amino acid matching the codon–anticodon pair is attached at the 3' end of the tRNA. tRNAs contain some unusual bases, which are produced by chemical modification after the tRNA has been synthesized. The bases denoted Ψ (for pseudouridine) and D (for dihydrouridine) are derived from uracil. (B and C) Views of the actual L-shaped molecule, based on X-ray diffraction analysis. These two images are rotated 90° with respect to each other. (D) Schematic representation of tRNA, emphasizing the anticodon, that will be used in subsequent figures. (E) The linear nucleotide sequence of the tRNA molecule, color-coded to match A, B, and C.

🔗 Beskrive aminoacyl tRNA-synthetase funktion

Som sagt er det aminoacyl-tRNA synthetase, der binder de rigtige aminosyrer til de rigtige tRNA molekyler kovalent sammen. Energien, der skal til for at lave disse kovalente bindinger, kommer fra omdannelsen af ATP til AMP.

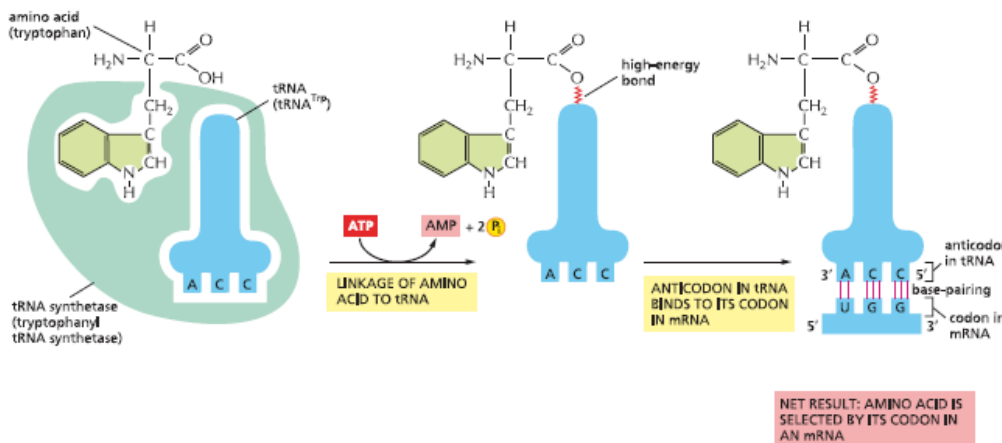


Figure 7–30 The genetic code is translated by the cooperation of two adaptors: aminoacyl-tRNA synthetases and tRNAs. Each synthetase couples a particular amino acid to its corresponding tRNAs, a process called charging. The anticodon on the charged tRNA molecule then forms base pairs with the appropriate codon on the mRNA. An error in either the charging step or the binding of the charged tRNA to its codon will cause the wrong amino acid to be incorporated into a protein chain. In the sequence of events shown, the amino acid tryptophan (Trp) is selected by the codon UGG on the mRNA.

✚ Beskrive ribosom struktur og funktion, herunder rRNA funktion

Ribosomer består af en stor subunit og en lille subunit, som hver består af proteiner og rRNA. De to subunits sidder ikke sammen, når de ikke indgår i translation. De lille subunit binder methionine og translation initieringsfaktorer, hvorefter det fortsætter langs mRNA, indtil det finder en AUG-sekvens, hvorefter den store subunit går sammen med den lille subunit. Ribosomet har hhv. et E, P og A site (omvendt ape). Man mener, at rRNA katalyserer peptidbindingsdannelsen mellem aminosyrerne. Flere ribosomer kan arbejde forskudt på det samme mRNA.

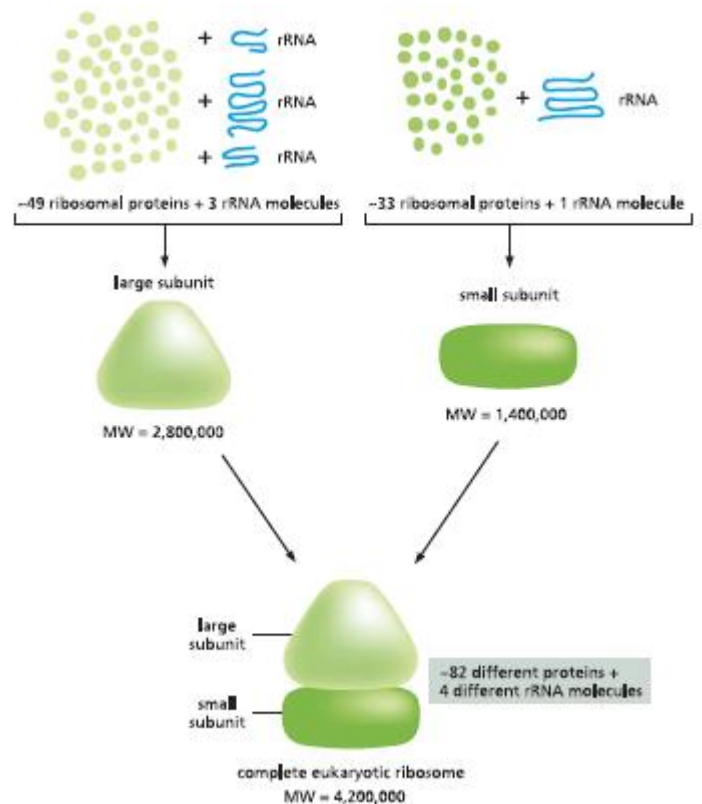


Figure 7-32 The eukaryotic ribosome is a large complex of four rRNAs and more than 80 small proteins. Prokaryotic ribosomes are very similar: both are formed from a large and small subunit, which only come together after the small subunit has bound an mRNA. Although ribosomal proteins greatly outnumber rRNAs, the RNAs account for most of the mass of the ribosome and give it its overall shape and structure.

✚ Redegøre for translationsstart-, elongering- og stop

Begreb	Betydning
Start	Først går den lille subunit sammen med translations initiations faktorer og et initiator-tRNA (med methionine). Initiator tRNA sætter sig i P-site. Dernæst fortsætter det lille subunit langs mRNA, indtil det finder et AUG codon, som genkendes af initiator tRNA'ets anticodon. Herefter dissocierer translations-initiationsfaktorerne, hvorefter det store subunit binder til mRNA/lille subunit.
Elongering	Derefter sættes det næste ladede tRNA sig i A site, hvorefter aminosyren på initiator trNA slipper initiator tRNA og danner en peptidbinding med aminosyren på det nyankomne ladede tRNA. Dannelsen af peptidbindingen

katalyseres af rRNA i ribosomet. Dernæst translokerer den store subunit mod mRNA'ets 3' ende, så de to aminosyrer nu flyttes til hhv. E og P site frem for P og A site. Det lille subunit translokerer også kort efter i samme retning som den store subunit, hvorved initiator tRNA skydes ud af ribosomet. Denne proces gentages, indtil translationen skal stoppes.

Stop

Når ribosomet møder et stop codon, som ikke koder for en aminosyre (UAG, UGA, UAA), bindes en release factor i A sitet. Denne binding af release factor ændrer aktiviteten af peptidyl transferase i ribosomet, hvilket får det til katalysere additionen af vand i stedet for en aminosyre til peptidyl-tRNA- På denne måde dannes C-terminalen i proteinet samtidig med, at proteinet frigøres. Herefter slipper ribosomet mRNA-strengen og dissocierer til sine to bestanddele, hvorefter det to subunits er klar til en ny translationscyklus. Flere ribosomer kan arbejde forskudt samtidig på det samme mRNA.

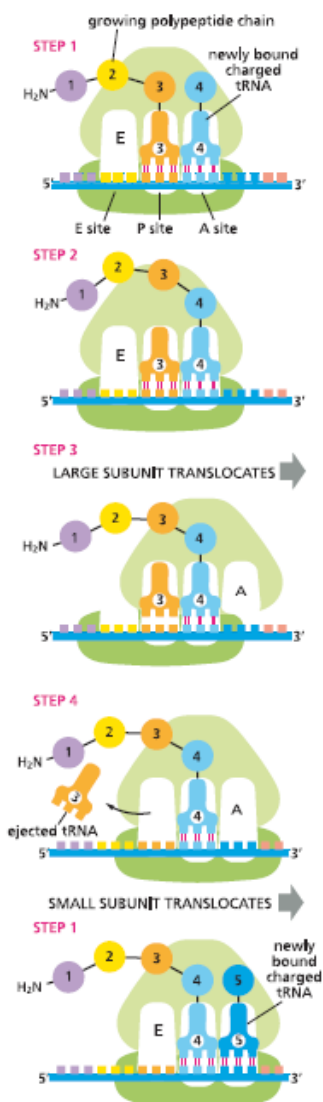


Figure 7–34 Translation takes place in a four-step cycle. This cycle is repeated over and over during the synthesis of a protein. In step 1, a charged tRNA carrying the next amino acid to be added to the polypeptide chain binds to the vacant A site on the ribosome by forming base pairs with the mRNA codon that is exposed there. Because only the appropriate tRNA molecules can base-pair with each codon, this codon determines the specific amino acid added. The A and P sites are sufficiently close together that their two tRNA molecules are forced to form base pairs with codons that are contiguous, with no stray bases in between. This positioning of the tRNAs ensures that the correct reading frame will be preserved throughout the synthesis of the protein. In step 2, the carboxyl end of the polypeptide chain (amino acid 3 in step 1) is uncoupled from the tRNA at the P site and joined by a peptide bond to the free amino group of the amino acid linked to the tRNA at the A site. This reaction is catalyzed by an enzymatic site in the large subunit. In step 3, a shift of the large subunit relative to the small subunit moves the two tRNAs into the E and P sites of the large subunit. In step 4, the small subunit moves exactly three nucleotides along the mRNA molecule, bringing it back to its original position relative to the large subunit. This movement ejects the spent tRNA and resets the ribosome with an empty A site so that the next charged tRNA molecule can bind (**Movie 7.8**). As indicated, the mRNA is translated in the 5'-to-3' direction, and the N-terminal end of a protein is made first, with each cycle adding one amino acid to the C-terminus of the polypeptide chain. To watch the translation cycle in atomic detail, see **Movie 7.9**.

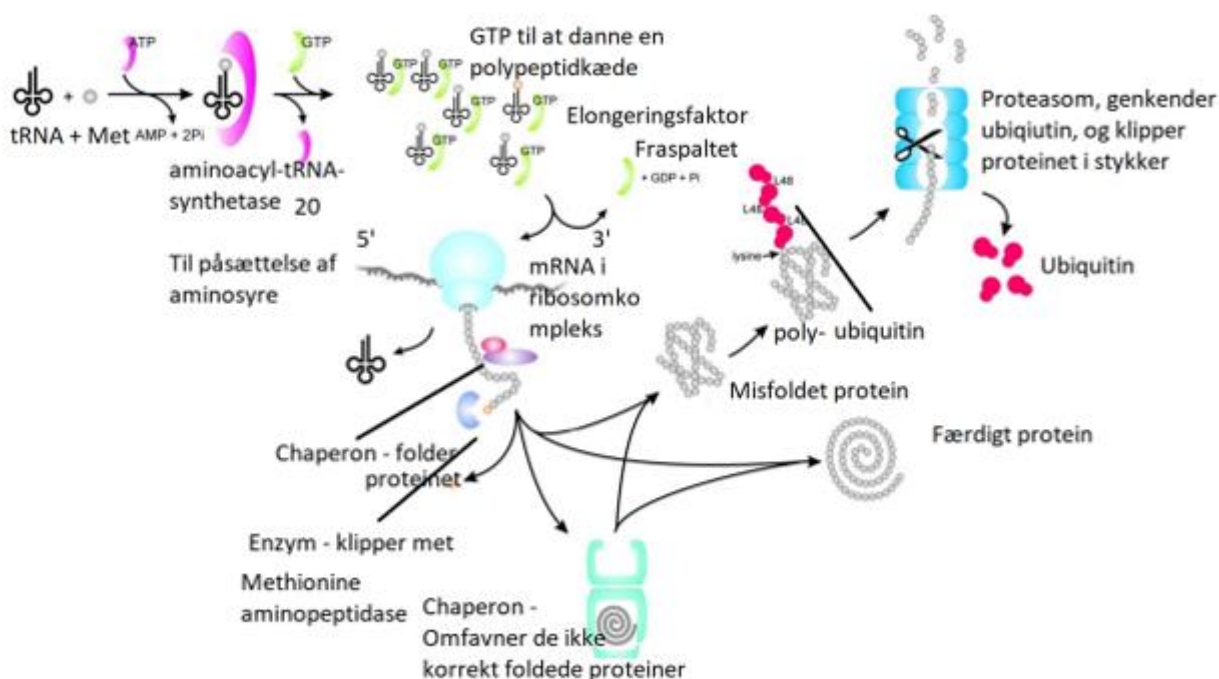
🚩 Redegøre for proteasomet og dets funktion

Proteasomet nedbryder misfoldede eller på anden måde ødelagte proteiner - eller proteiner, der skal reguleres nøje ved fx kort levetid. Disse ødelagte proteiner ubiquitiniseres (*er tale om nedbrydelse af proteiner. det er signal protein, som binder sig til almindelige proteiner igennem en isopeptid binding fra dens aktiveret C term COOH, til en lysine på proteinet. Efter flere påhæftelser af ubiquitin på proteinet (som en hale på den første), danner det et større kompleks der fører det over til proteasomet. Som her nedbryder proteinet til peptid fragmenter via forskellige proteaser og konformationelle ændringer til at denaturer den. Peptid fragmenter bliver så videre nedbrudt til aminosyre og ubiquitin bliver frigivet til genbrug.*) af specialiserede enzymer, hvilket mærker dem til destruktions.

🚩 Redegøre for ribozym og RNA foldning

Ribosomer kan også kaldes ribozym, da de har katalytisk aktivitet. Dette skyldes, at rRNA i ribosomet katalyserer dannelsen af peptidbindingerne mellem aminosyrerne. rRNA funktionelle/katalytiske egenskaber skyldes bl.a. at RNA kan folde ligesom proteiner ved at danne komplementære og nonkovanentionelle hydrogenbindinger. Dermed dikteres den tredimensionelle form af rRNA af nukleotidsekvensen - ligesom proteiners tredimensionelle form dikteres af aminosyresekvensen.

Den enzymatiske egenskab ved rRNA er bl.a. en af grundene til, at man tror, at RNA går forud for DNA i evolutionen, da RNA dermed både kunne klare DNA og proteiners rolle. Med tiden blev rRNA først udkonkurreret af proteiner med hensyn til enzymfunktionen, og senere overtog mere stabile DNA-molekyler RNA's rolle som det grundlæggende informationsmolekyle. RNA er nu primært et mellemlid mellem Dna og protein, men som vi har set findes der stadig mange forskellige typer RNA.



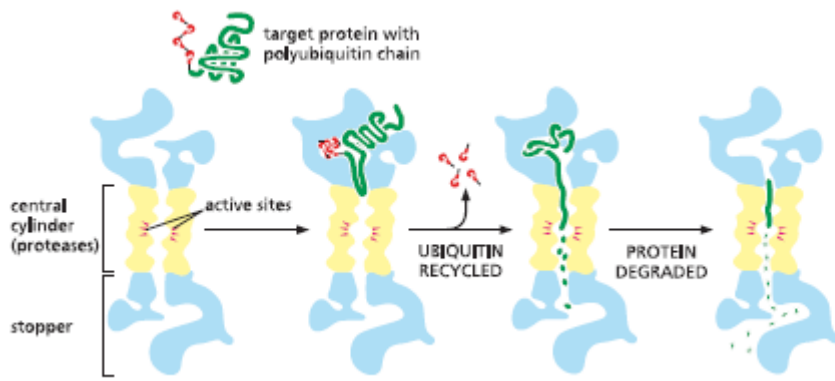


Figure 7-41 Proteins marked by a polyubiquitin chain are degraded by the proteasome. Proteins in the stopper of a proteasome (blue) recognize target proteins marked by a specific type of polyubiquitin chain. The stopper then unfolds the target protein and threads it into the proteasome's central cylinder (yellow), which is lined with proteases that chop the protein to pieces.

🔗 Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot translation

Prokaryotic translation	Eukaryotic translation
It occurs on 70 S Ribosomes	It occurs on 80 S Ribosomes.
It is a continuous process as both transcription and translation occur in cytoplasm.	It is a discontinuous process as transcription occurs in nucleus while translation on cytoplasm.
mRNA is polycistronic	mRNA is monocistronic.
First amino acid taking part is fMet.	First amino acid is Met(methionine)
It is a faster process, adds about 20 amino acids per second.	It adds one amino acids per second, thus a slower process.
It requires three initiation factors IF1, IF2, IF3	It requires a set of nine initiation factors.
After translation formyl group from first formylated methionine is removed, retaining methionine in the polypeptide chain.	The whole of initiating methionine is removed from the polypeptide chain.
It requires three release factors RF1, RF2 and RF3 in the termination.	It requires single release factor eRF1.
mRNA life is short(few seconds to two minutes) as mRNA is unstable.	mRNA has a life of few hours to few days; it is quite stable.

Transkriptionel genregulering

Redegøre for de forskellige niveauer i genregulering

Geners ekspression kan reguleres på mange måder, da hvert trin (niveau) i proteinsyntesen kan reguleres. Man kan overordnet regulere et gens ekspression på følgende steder i proteinsyntesen:

- Transkriptionel kontrol (fx eksempler med activator/repressor og kromatin remodelling)
- RNA processing kontrol (den processing, der modner mRNA til eksport fra kernen)
- mRNA transport og lokaliseringskontrol (mRNA skal føres til ribosomer, før proteinsyntesen kan forløbe videre).
- Kontrol af mRNA nedbrydning
- Translationskontrol
- Kontrol af proteinernes aktivitet (fx aktivering gennem phosphorylering - evt. GPCR)
- Kontrol af protein nedbrydning (Ubiquitinerings)

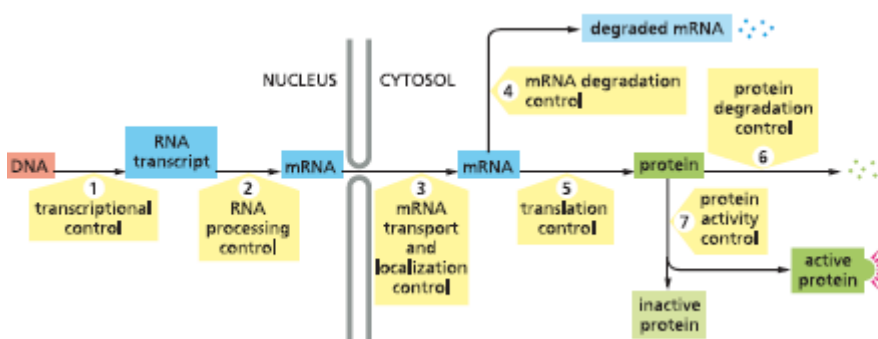


Figure 8-3 Gene expression in eukaryotic cells can be controlled at various steps. Examples of regulation at each of these steps are known, although for most genes, although for most genes, the main site of control is step 1—transcription of a DNA sequence into RNA.

Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot gen-organisation og genregulering (herunder begrebet operon)

Både eu- og prokaryoter benytter sig af transkriptionsregulatorer (aktivatorer + repressorer). Prokaryoter kan være polycistroniske, dvs. flere gener kan transkriberes gennem en promotor. På den måde dannes fx alle subunits, der skal bruges i et større kvaternært protein kompleks samtidigt.

Prokaryote benytter sig af operoner der kan aktiveres afhængigt af omgivelserne og starter RNA

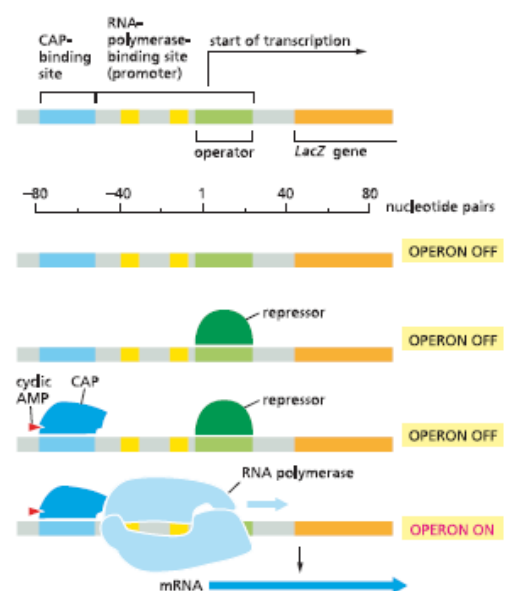


Figure 8-9 The Lac operon is controlled by two transcription regulators, the Lac repressor and CAP. When lactose is absent, the Lac repressor binds to the Lac operator and shuts off expression of the operon. Addition of lactose increases the intracellular concentration of a related compound, allolactose; allolactose binds to the Lac repressor, causing it to undergo a conformational change that releases its grip on the operator DNA (not shown). When glucose is absent, cyclic AMP (red triangle) is produced by the cell, and CAP binds to DNA. LacZ, the first gene of the operon, encodes the enzyme β -galactosidase, which breaks down lactose to galactose and glucose.

polymerasen. Operon (region i bakteriers DNA hvor produktion af bestemte enzymer reguleres) består af en operator og en promotor samt flere enzymkodende gener. Et repressorprotein kan

blokere bindingen mellem DNA polymerase og promoter regionen ved at binde til operator

regionen. Koncentrationen af slut proteinet (kodet af operons gener) kontrollere produktionen; er protein koncentrationen lav opreguleres produktionen og omvendt.

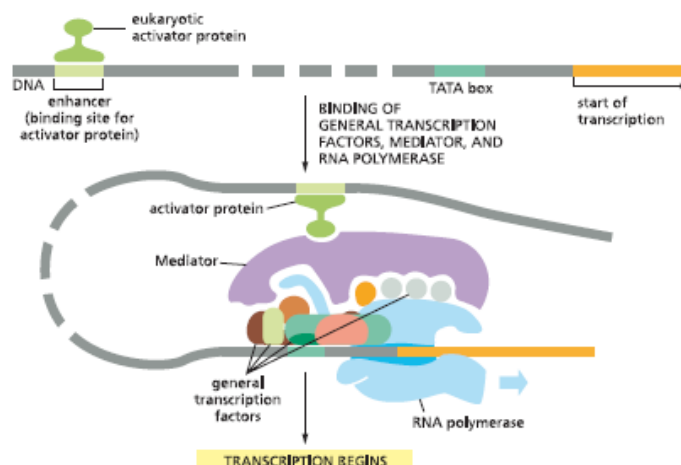
🚩 Redegøre for transskriptionsregulatorer

Transskriptionsregulatorer binder til regulatoriske DNA-sekvenser (IKKE promotere - det er RNA polymerase osv.). Disse transskriptionsregulatorer kan i eukaryoter sidde langt fra selve genet, da DNA'et kan folde på mange måder. Transskriptionsregulatorerne interagerer med major groove i DNA dobbelt helixen gennem tre alfa-helixer, hvoraf det ene alfa-helix (3) interagerer med baseparrerne gennem serin, arginin eller asparagin.

🚩 Redegøre for og skitsere enhancer funktion

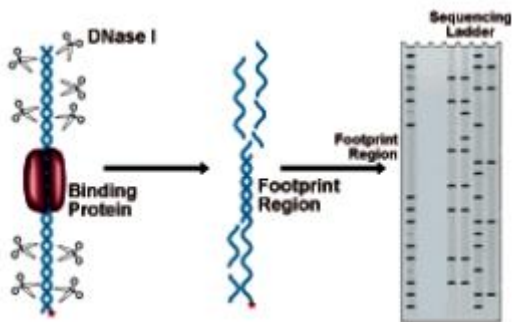
En enhancer er en DNA-sekvens, der agerer bindingssite for et aktivator protein, der gennem en mediator kan stimulere transskriptionen af et bestemt gen. Som sagt kan enhanceren ligge flere tusinde nukleotider fra selve genet. Et aktivator protein kan fx initiere transskriptionen af et gen ved at påvirke nucleosomstrukturen gennem rekruttering af kromatin-remodelling komplekser.

Figure 8-10 In eukaryotes, gene activation can occur at a distance. An activator protein bound to a distant enhancer attracts RNA polymerase and general transcription factors to the promoter. Looping of the intervening DNA permits contact between the activator and the transcription initiation complex bound to the promoter. In the case shown here, a large protein complex called Mediator serves as a go-between. The broken stretch of DNA signifies that the length of DNA between the enhancer and the start of transcription varies, sometimes reaching tens of thousands of nucleotide pairs in length. The TATA box is a DNA recognition sequence for the first general transcription factor that binds to the promoter (see Figure 7-12).



✚ Redegøre for footprint, herunder fortolke et standardresultat

DNA footprinting bruges tit i forlængelse af EMSA. Man klipper det pågældende stykke DNA i mange stykker vha. fx nukleaser, hvilket giver en masse forskellige DNA fragmenter af specifikke størrelser. Dernæst bruger man den samme sammensætning af nukleaser på det samme stykke DNA, men denne gang er der bundet et protein, som man vil undersøge. Dermed vil der efter nuklease klipning mangle en række bånd i forhold til før. Dette footprint angiver dermed, hvor proteinet binder.



Posttranskriptionel og epigenetisk genregulering

✚ Redegøre for begrebet epigenetik

Epigenetik er ændringerne i fænotypen uden ændringer i genotypen, dvs. man ændrer ikke DNA-sekvensen. Det er altså mitotisk eller meiotisk arvelige ændringer i genfunktionen, der ikke ændrer DNA-sekvensen.

Epigenetiske ændringer kunne fx være histonmodifikationer (posttranslationelle ændringer af aminosyrer på histonhaler) og kovalente modifikationer af DNA baser.

✚ Forklare og skitsere DNA methylering og den biologiske funktion

Baserne guanosin og cytosin kan bl.a. methyleres, og methylering er generelt kovalent modifikation, der mindsker expressionen af et gen ("silencer"/hæmmer). Derudover bruges methylering også ved aldersgenkendelse af DNA-streng, som fx er vigtigt ved homolog rekombination efter DNA-skade.

✚ Redegøre for kromatins rolle i cellulær genregulering og epigenetik

I kondenseret kromatin kan transkriberingsapparatet som udgangspunkt ikke komme til. Derfor er cellen nødt til at dekondensere de områder af DNA'et, der skal transkriberes, hvilket kan gøres gennem histonmodifikationer.

Histoner kan modificeres på enormt mange måder, hvoraf kun få er kendt på nuværende tidspunkt.

Histonmodifikationerne kunne fx være methylering, acetylering eller phosphorylering, og de kan virke ved enten at ændre stabiliteten af kromatinet eller ved at agere som bindingssites for regulative proteiner.

✚ Beskrive miRNA'er og deres funktioner

miRNA precursors dannes i nucleus, som et dobbeltstrengt miRNA molekyle med 5'-cap (7-methyl.guanosin med 5'-5' triphosphate bro) og poly-A hale. Denne precursor eksporteres ud af kernen, hvor den bliver processeret (kløvet) til en dobbeltstrengt miRNA intermediate, som derefter processeres videre til et færdigt enkeltstrengt miRNA.

Dette færdige miRNA dannes dernæst RISC komplekset sammen med RISC-proteiner, som begynder at søge efter mRNA molekyler med en komplementær nukleotidsekvens til RISC kompleksets bundne miRNA.

Nedbrydningshastigheden af mRNA'et afhænger af, hvor bindingsgraden mellem miRNA og mRNA. Binde de stærkt (mange komplementære nukleotid hydrogenbindinger), så nedbrydes mRNA'et hurtigt af en nuklease i RISC komplekset, mens mRNA'et derimod nedbrydes langsomt, hvis miRNA og mRNA ikke binder særlig

stærkt (få komplementære nukleotid hydrogenbindinger) ved, at mRNA overføres til andre områder af cytoplasma, hvor andre cellulære nukleaser nedbryder det.

Beskrive siRNA'er og deres funktioner

siRNA aktiveres ved tilstedeværelsen af fremmede dobbeltstrengt RNA. Først skæres det fremmede dobbeltstrengede RNA i mindre fragmenter ved hjælp af en nuklease kaldet Dicer. De fremmede dobbeltstrengede RNA fragmenter går sammen med RISC proteiner (ligesom miRNA) og danner et kompleks, hvor kun den ene af de to strenge i hvert fragment bruges i RISC-komplekset. Dette RISC/siRNA-kompleks søger nu efter andet fremmed RNA, som det hurtigt nedbryder, hvis det er komplementært til siRNA'et i RISC-komplekset.

Redegøre for CHIP (chromatin immunoprecipitation), herunder fortolke et standardresultat

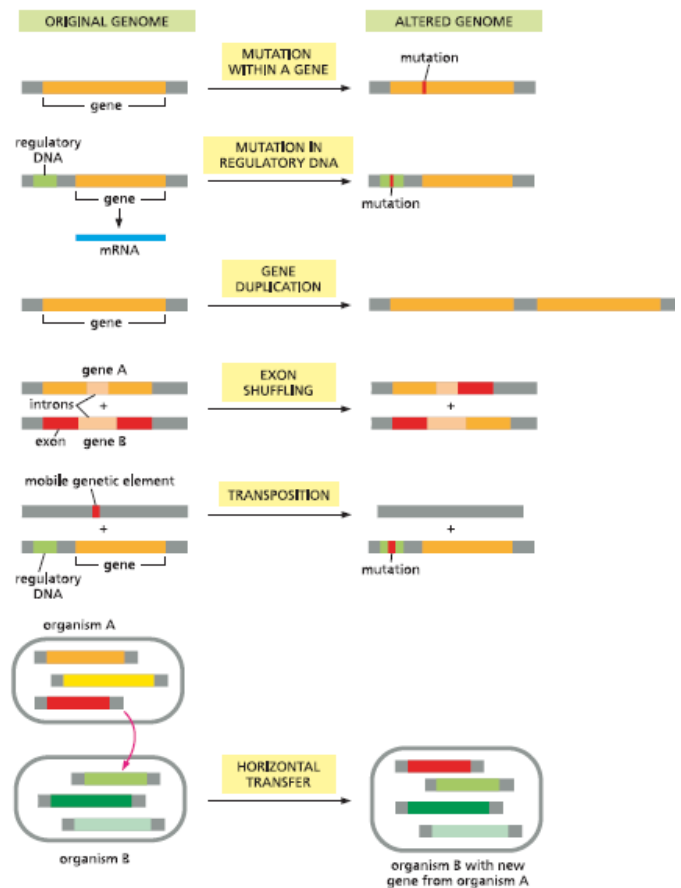
Anvendes til at identificere, hvor proteiner binder til DNA sekvenser.

Gen og genom evolution

✚ Redegøre for hvordan genetiske variationer kan genereres

Generiske variationer kan genereres gennem følgende mekanismer:

- Mutationer i selve generne
- Mutationer i regulatoriske DNA-sekvenser
- Gen-duplikation (to af det samme gen kommer lige efterhinanden → kan generere nye gener ud fra gamle)
- Exon shuffling (shuffling af exoner mellem to gener)
- Mobile genetiske elementer/transposoner (DNA-sekvenser, der kan hoppe rundt i kromosomet og ændre genaktiviteten eller promovere gen-duplikation og exon shuffling)
- Horizontal gen-transfer (primært i bakterier gennem sex-piluser, konjunktion - udveksling af gener)



Redegøre for hvordan punktmutationer kan ændre regulering af et gen

Punktmutationer i regulatoriske DNA-sekvenser kan være svære at opfange eller finde, da de ikke ændrer på nukleotidsekvensen i genet, og derved heller ikke aminosyrer-sekvensen i proteiner, som genet koder for.

De kan derimod have en stor indflydelse på ekspresion af et gen, alt efter om de påvirker en repressor eller en enhancer, og i så fald, hvordan de påvirker hhv. repressor/enhancer.

- [En enhancer](#) er en DNA-sekvens, der agerer bindingssite for en aktivator protein, der gennem en mediator kan stimulere transkriptionen af et bestemt gen.
- [En repressor](#) kan komme i vejen for de basale transkriptionsfaktorer eller RNA-polymerase, hvilket resulterer i at de ikke kan binde til promotoren eller begynde transkription.

Eksempelvis skyldes malariaresistens en punktmutation i en regulatorisk DNA-sekvens, som påvirker ekspresionen af en celleoverflade receptor, som malaria parasit (*plasmodium vivax*) binder til.

Derudover skyldes laktosetoleransen hos folkeslag (primært i vesten, central og øst Afrika samt Australien) en punktmutation i en regulatoriske DNA-sekvens for laktasegenet, som tillader, at laktasegenet transkriberes videre i voksenlivet.

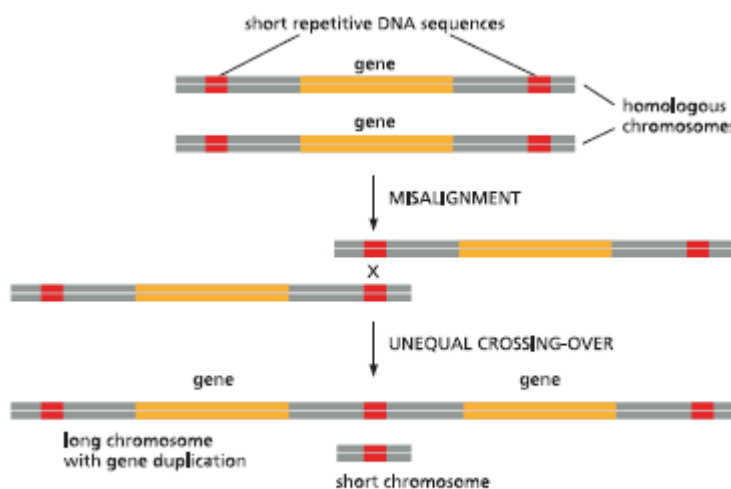
Det menes at punktmutationer i regulatoriske DNA-sekvenser, som er opstået for millioner af år siden, bl.a. skyldes den enorme diversitet, som levende organismer har Jorden.

Redegøre for hvordan familier af relaterede gener kan opstå ved DNA duplikationer

DNA-duplikationer sker ved homolog rekombination af homologe kromosomer, der går galt. Homolog rekombination giver en vigtig mekanisme for at lappe ødelagte dobbelt helix. Dette skyldes, at de korte repetitive DNA-sekvenser, der skal stå overfor hinanden under den homologe rekombination, får placeret sig forkert i forhold til hinanden, så det ene homologe kromosom får to kopier af det pågældende gen, mens det andet homologe kromosom ikke får nogen kopier af genet.

Når først et kromosom har tilegnet sig to (eller flere) kopier af det samme gen, så kan disse gener frit akkumulere mutationer, så længe den oprindelige funktion bevares. Dette resulterer i, at man ofte har flere beslægtede/relaterede gener omkring hinanden i kromosomet, som alle har nogenlunde fælles funktion. På denne måde generes nye gener ud fra gamle gener. Globin-familien af gener, der koder for oxygenbærende proteiner, og som ses på tværs af forskellige arter af vertebrarer, stammer fra et fælles primordiale (gammelt) gen.

Figure 9-8 Gene duplication can be caused by crossovers between short, repeated DNA sequences in adjacent homologous chromosomes. The two chromosomes shown here undergo homologous recombination at short repeated sequences (red), that bracket a gene (orange). These repeated sequences can be remnants of mobile genetic elements, which are present in many copies in the human genome, as we discuss shortly. When crossing-over occurs *unequally*, as shown, one chromosome will get two copies of the gene, while the other will get none. The type of homologous recombination that produces gene duplications is called *unequal crossing-over* because the resulting products are unequal in size. If this process occurs in the germ line, some progeny will inherit the long chromosome, while others will inherit the short one.



Forklare hvilke informationer der kan opnås ved “comparative genomics”

Comparative genomics kan først og fremmest vise ligheder og forskelle mellem forskellige arters genomer, og man kan ud fra forskellene danne sig et indtryk af hvornår de to arters veje gik fra hinanden.

Eksempelvis kan man se, at mennesket deler sine nærmeste fællesforfædre med chimpansen. Tidligere har vi også haft fællesforfædre med gorilla, og endnu længere tilbage også orangutanger.

Men en anden vigtig ting, som comparative genomics har afsløret, er, at der findes en række konserverede gener på tværs af fx alle vertebra eller pattedyr, som er stort set ens mellem alle disse forskellige arter (fx mus, mennesker, kyllinger). Disse konserverede/basale gener er blevet konserveret på tværs af arter gennem purifying selection, dvs. Individuer, der har båret på mutationer i disse gener, er døde (elimineret)-

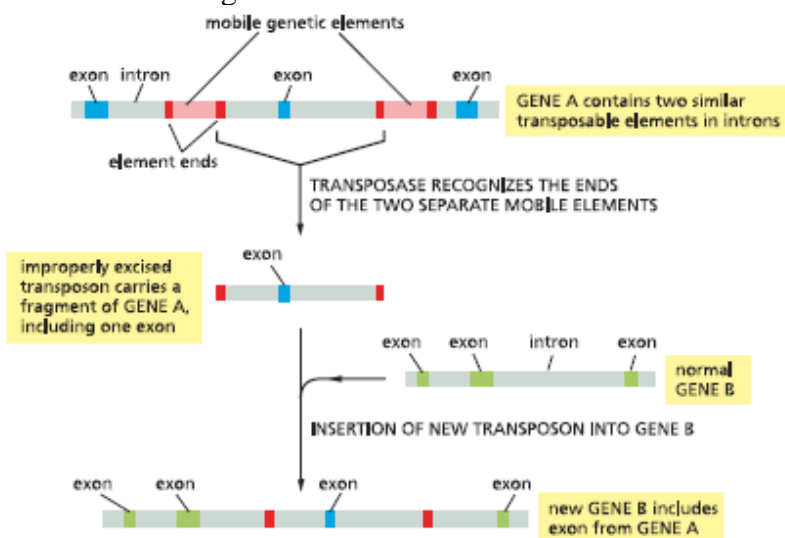
Ca. 4.5% af det humane genom ses konserveret i mange pattedyr, men det er kun en tredjedel, der koder for proteiner. Meget koder derimod for funktionelt rRNA og noncoding sekvenser, som man endnu ikke kender funktion af.

Redegøre for transposoner og vira

DNA-only transposoner

Skifter position enten gennem cut-and-paste transposition eller gennem replikativ transposition. DNA-only transposoner er de mest hyppige mobile elementer i bakterier. Generelt bærer transposoner en transposase, der genkender enderne af mobile genetiske elementer og klipper det mobile genetiske element/transposon ud. Transposoner kan ved fejl flytte exons fra et gen til et andet. Dette sker ved, at transposasen genkender enderne fra to forskellig mobile genetiske elementer - i stedet for at genkende enderne fra det samme mobile genetiske element. På den måde klipper transposasen alt ud mellem de to genetiske mobile-elementer, fx exons. Disse udklippede exons kan bagefter blive sat over i et andet gen.

Figure 9–26 Mobile genetic elements can move exons from one gene to another. When two mobile genetic elements of the same type (red) happen to insert near each other in a chromosome, the transposition mechanism occasionally recognizes the ends of two different elements (instead of the two ends of the same element). As a result, the chromosomal DNA that lies between the mobile genetic elements gets excised and moved to a new site. Such inadvertent transposition of chromosomal DNA can either generate novel genes, as shown, or alter gene regulation (not shown).



Retrotransposoner

Retrotransposoner skifter position ved først at transskribere deres DNA-sekvens, så man opnår et transskriberet stykke mRNA. Dette mRNA laves om til et dobbelt-strengt DNA ved hjælp af enzymet reverse transkriptase, hvorefter den nye syntetiserede dobbeltstrengede kopi af retrotransposonet kan indsættes i et andet gen/DNA-sekvens. Navnet retro skyldes, at den genetiske information flyder baglæns i forhold til normalt DNA → RNA.

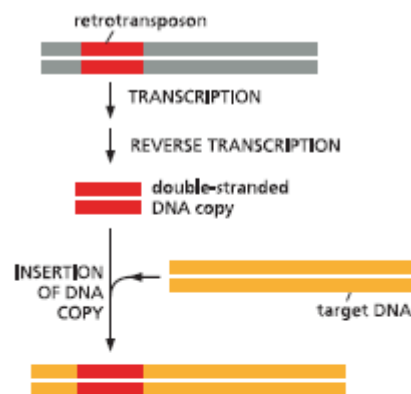


Figure 9–27 Retrotransposons move via an RNA intermediate. These transposable elements are first transcribed into an RNA intermediate. Next, a double-stranded DNA copy of this RNA is synthesized by the enzyme reverse transcriptase. This DNA copy is then inserted into the target location, which can be on either the same or a different DNA molecule. The donor retrotransposon remains at its original location, so each time it transposes, it duplicates itself. These mobile genetic elements are called retrotransposons because at one stage in their transposition their genetic information flows backward, from RNA to DNA.

Virus

Overordnet udnytter virusser værtcellens eget replikations/transskriptions-/translationsapparat til at syntetisere sit eget DNA, hvormed bliver nye virakopier dannet.

Eksempelvis kan en simpel virus med DNA, der koder for forskellige enzymer (nødvendige for overtagelsen af proteinsyntesystemet) og den beskyttende proteincoat, der omgiver virusset. Virusset vil anvende cellen til at replicere

Sit DNA og til at danne nye coat protein ud fra virus-DNA 'et. Disse nydannede coat proteiner kan dernæst omgive det nydannede/replicerede virus-DNA, hvorved nye vira dannes, som dernæst kan lysere cellen og sprede sig til andre celler.

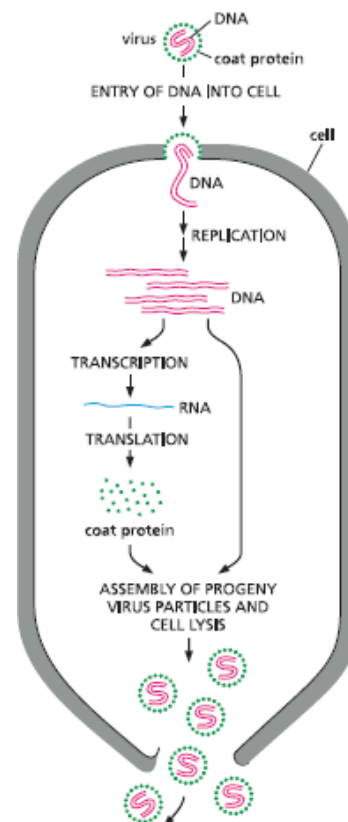


Figure 9–29 Viruses commandeer the host cell's molecular machinery to reproduce. The hypothetical simple virus illustrated here consists of a small double-stranded DNA molecule that encodes just a single type of viral coat protein. To reproduce, the viral genome must first enter a host cell, where it is replicated to produce multiple copies, which are transcribed and translated to produce the viral coat protein. The viral genomes can then assemble spontaneously with the coat protein to form new virus particles, which escape from the cell by lysing it.

Retrovirus

Retrovira er lidt mere komplicerede end normale vira. De består af et RNA-genom, som bl.a. koder for enzymet reverse transkriptase (som også er pakket med RNA'et). RNA-genom og reverse transkriptase er omgivet af et protein coat som igen er omgivet af en lipidbaseret membran, hvori der findes virus kodede membranproteiner med forskellige funktioner. Når virussen kommer ind i værtceller, så smider den sin lipidmembran, hvorefter reverse transkriptase begynder at danne en dobbeltstrengt DNA-kopi af det virale RNA.

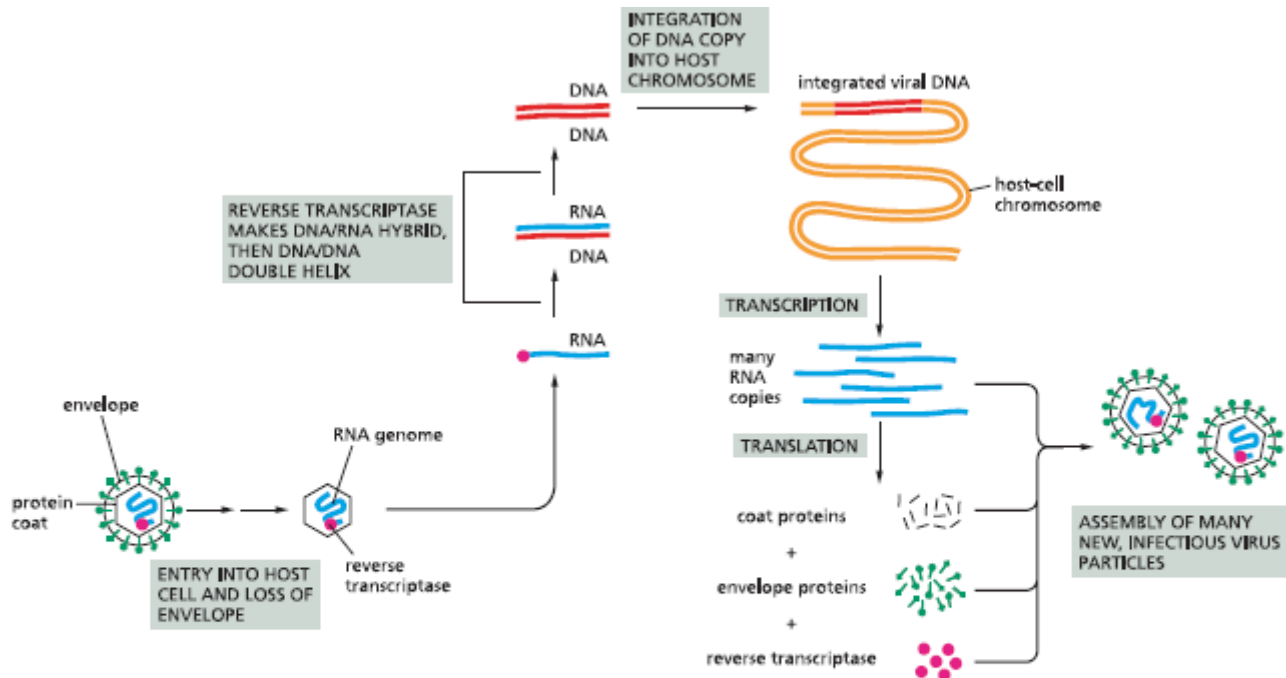


Figure 9–30 The life cycle of a retrovirus includes reverse transcription and integration of the viral genome into the host cell's DNA. The retrovirus genome consists of an RNA molecule (blue) that is typically between 7000 and 12,000 nucleotides in size. It is packaged inside a protein coat, which is surrounded by a lipid-based envelope that contains virus-encoded envelope proteins (green). The enzyme reverse transcriptase (red circle), encoded by the viral genome and packaged with its RNA, first makes a single-stranded DNA copy of the viral RNA molecule and then a second DNA strand, generating a double-stranded DNA copy of the RNA genome. This DNA double helix is then integrated into a host chromosome, a step required for the synthesis of new viral RNA molecules by a host-cell RNA polymerase.

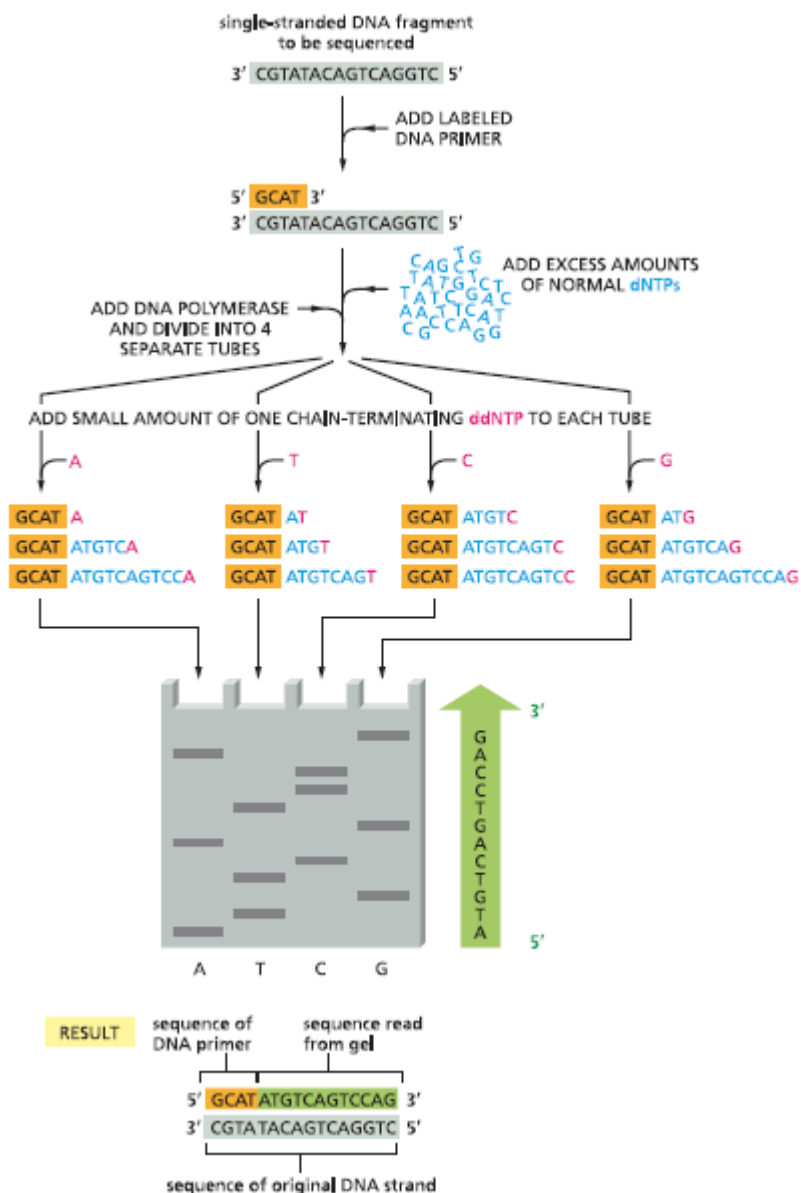
Redegøre for opbygning og analyse af det humane genom

Det humane genom indeholder ca. 21.000 proteinkodede gener og 9000 ikke proteinkodede gener (fx rRNA). Udover disse mange gener findes der en enorm andel ikke kodede DNA og repetitivt DNA, som man kun ved ganske lidt om - og inde i det enkelte gen udgøres størstedelen af DNA-sekvenserne af introns. Dvs det menneskelige genom og de dertilhørende gener er langt fra kompakte størrelser.

Redegøre for Sanger sekventering, herunder fortolke et standardresultat

Sanger sekvensering eller (Dideoxy DNA-sekvensering) som det også kaldes er en metode som anvendes til at bestemme DNA sekvensen.

En dideoxynukleosid trifosfat (ddATO, ddCTO, ddGTO eller ddTTO) med tilhørende base men uden -OH på 3' tilføres til et mix hvor en DNS streng er ved at blive repliceret. Her hopper denne version af DNA ind på et af nukleotidernes pladser, men forhindrer på den anden måde videre replikation da den mangler 3'-OH gruppen. Da man ved hvilken base den har haft på. Ved man hvilken base den har sat sig på (den komplementære på templatestrengen) og dermed ved man at hvor replikationen er stoppet, sidder dette nukleotid på template strengen. Denne proces fortsætter til bestemmelse af alle nukleotider på strengen. Produkterne er separeret ved electrophoresis i fire parallelle baner.



Redegøre for "next generation sequencing" samt eksemplificere anvendelser af NGS

Det er nye moderne måder, der har gjort sekvensering af hele genomer meget billigere og hurtigere, end det var for blot 10-20 år siden. I dag tager sekvensering af et helt genom ca. 1-2 dage og koster 1000-1500 dollars. Prisen falder fortsat.

Cellesignalering, GPCR og intracel. receptorer

✚ Redegøre for kontaktafhængig, endokrin, neuronal og para- og autokrin signalering

Kontaktafhængig: Et signal molekyle som er bundet til en celles membran, og virker på andre celler, der har en receptor, til dette signal molekyle. (Notch og delta)

Endokrin: Hormoner der bliver sendt ud til blodbanen, og kan have en effekt på en celle langt væk. Virker således over lange distancer. Den kan være langsom og varer i lang tid.

Parakrin & Autokrin: En celle som secernerer et signalmolekyle til det omkringliggende væv. De virker således lokalt. De påvirker cellen selv, eller de omkringliggende celler via. Signalmolekyler.

Neuronal: Neuroner som transmitterer deres signal over axonet til en target celle.

Virker også over længere afstande, dog mere specifikt end endokrin. Det er hurtigt og varer i kort tid.

✚ Redegøre for at celleaktivering kan foregå via receptorer i plasma membranen eller via intracellulære receptorer

Hydrofile og/eller store signalmolekyler kan ikke krydse plasma membranen og påsættes derfor som ligander på celleoverflade receptorer der videregiver signalet.

Andre små hydrofobe signalmolekyler (eksempelvis steroid hormoner) diffunderer over membranen og aktiverer enzymer direkte eller binder til intracellulære receptorer enten i cytosol eller nukleus.

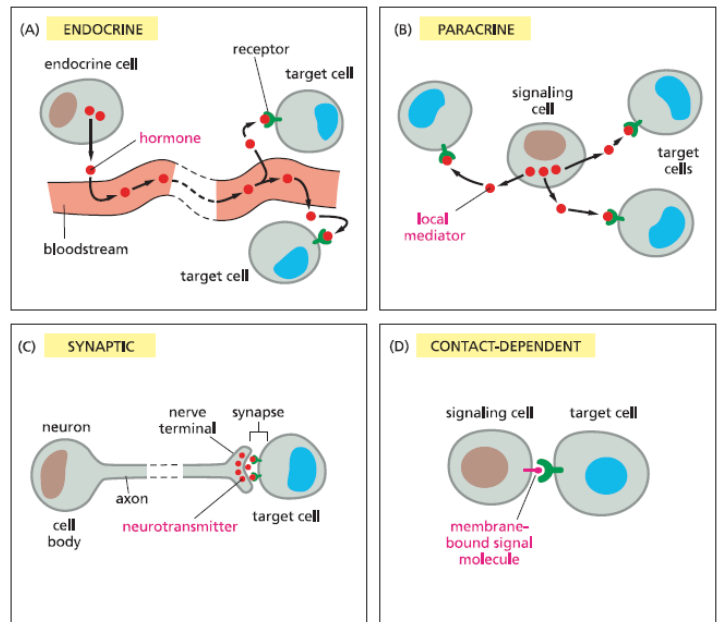


Figure 16-3 Animal cells use extracellular signal molecules to communicate with one another in various ways. (A) Hormones produced in endocrine glands are secreted into the bloodstream and are distributed widely throughout the body. (B) Paracrine signals are released by cells into the extracellular fluid in their neighborhood and act locally. (C) Neuronal signals are transmitted electrically along a nerve cell axon. When this electrical signal reaches the nerve terminal, it causes the release of neurotransmitters onto adjacent target cells. (D) In contact-dependent signaling, a cell-surface-bound signal molecule binds to a receptor protein on an adjacent cell. Many of the same types of signal molecules are used for endocrine, paracrine, and neuronal signaling. The crucial differences lie in the speed and selectivity with which the signals are delivered to their targets.

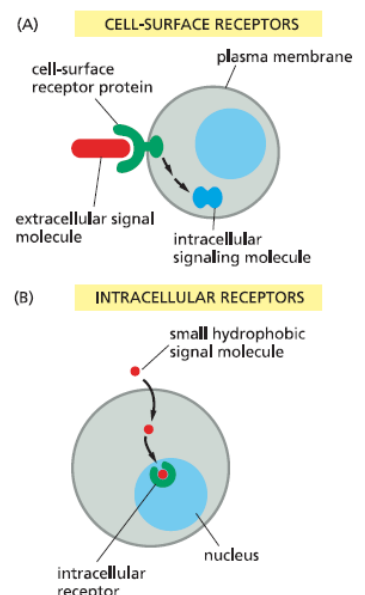


Figure 16-8 Extracellular signal molecules bind either to cell-surface receptors or to intracellular enzymes or receptors. (A) Most extracellular signal molecules are large and hydrophilic and are therefore unable to cross the plasma membrane directly; instead, they bind to cell-surface receptors, which in turn generate one or more intracellular signaling molecules in the target cell. (B) Some small, hydrophobic, extracellular signal molecules, by contrast, pass through the target cell's plasma membrane and either activate intracellular enzymes directly or bind to intracellular receptors—in the cytosol or in the nucleus (as shown here)—that then regulate gene transcription or other functions.

✚ Redegøre for intracellulære receptorers funktionsmåde

Intracellulære receptorer binder til fx et steroid hormon og danner et kompleks, som derefter kan sætte sig i DNA i kernen og regulere ekspressionen af forskellige gener.

Eksempler på dette er IP3 og steroidhormoner.

✚ Redegøre for princippet for "molecular switch"

Et protein kan aktiveres gennem fosforylering (kinase) og inaktiveres gennem en defosforylering (fosfatase). De to store kasser er:

- a. Serin/threonin kinaser
- b. Tyrosin kinaser

Derudover findes GTP-bindende proteiner (G-proteiner), som er tændte når de har bundet GTP og slukket når de har bundet GDP.

✚ Redegøre for signalering gennem G-protein koblede receptorer.

✚ Redegøre for nitrogen oxid syntese i endothelceller

Neurotransmitteren acetylcholine forårsager at blodkarrene dilaterer ved binding til receptorer på overfladen af endothelcellerne, hvilket resulterer i en stimulering af cellerne til at lave og frigive NO (nitrogen oxid). Nitrogen oxid diffunderer ud af endothelcellerne og ind i omkringliggende glatte muskelceller, hvor det regulerer aktiviteten af specifikke proteiner hvilket får muskelcellerne til at relaxere (slappe af).

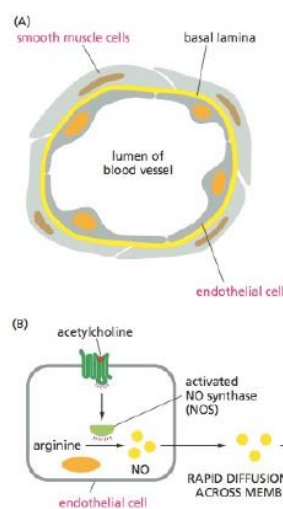


Figure 16-11 Nitric oxide (NO) triggers smooth muscle relaxation in a blood-vessel wall. (A) Simplified drawing shows a cross section of a blood vessel with endothelial cells lining its lumen and smooth muscle cells surrounding the outside of the vessel. (B) The neurotransmitter acetylcholine causes the blood vessel to dilate by binding to receptors on the surface of the endothelial cells, stimulating the cells to make and release NO. The NO then diffuses out of the endothelial cells and into adjacent smooth muscle cells, where it regulates the activity of specific proteins, causing the muscle cells to relax. One key target protein that can be activated by NO in smooth muscle cells is guanylyl cyclase, which catalyzes the production of cyclic GMP from GTP. Note that NO gas is highly toxic when inhaled and should not be confused with nitrous oxide (N₂O), also known as laughing gas.

Et nøgle target protein kan blive aktiveret af nitrogen oxid i glatte muskelceller er guanylyl cyklase, som katalyser produktionen af cGMP fra CTP.

🚩 Redegøre for calcium/calmodulins rolle ved aktivering af CAM kinasen.

Når Ca^{2+} /calmodulin-afhængige protein kinaser (CaM-kinaser) er aktiveret ved binding til calmodulin komplekser med Ca^{2+} har de en indflydelse på andre processer i cellen ved at fosforylere selektive proteiner. De er derfor afhængige af calciumkoncentrationen

I den mammaliane hjerne er der mange af en neuron specifik CaM-kinase ved synapser hvor man mener det spiller en vigtig rolle for en indlæring og hukommelse. Denne CaM-kinase er aktiveret af pulser af Ca^{2+} signaler der forekommer under neural aktivitet.

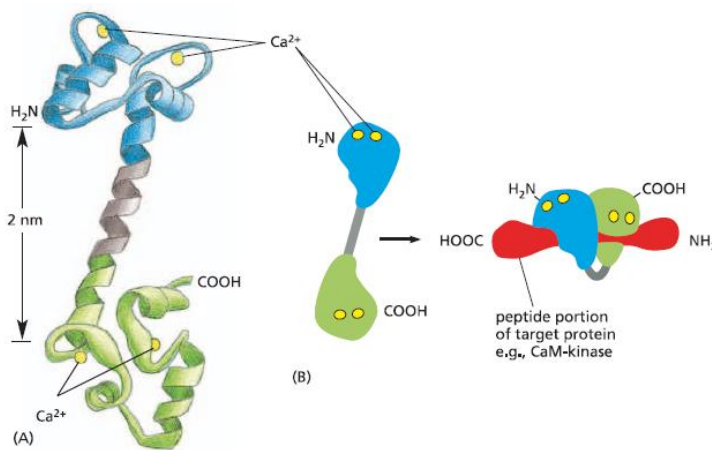


Figure 16–29 Calcium binding changes the shape of the calmodulin protein. (A) Calmodulin has a dumbbell shape, with two globular ends connected by a long α helix. Each end has two Ca^{2+} -binding domains. (B) Simplified representation of the structure, showing the conformational changes in Ca^{2+} /calmodulin that occur when it binds to an isolated segment of a target protein. In this conformation, the α helix jackknives to surround the target (Movie 16.5). (A, from Y.S. Babu et al., *Nature* 315:37–40, 1985. With permission from Macmillan Publishers Ltd; B, from W.E. Meador, A.R. Means, and F.A. Quiocho, *Science* 257:1251–1255, 1992, and M. Ikura et al., *Science* 256:632–638, 1992. With permission from the AAAS.)

Redegøre for fotoreceptorens funktionsmåde

I fotoreceptorernes ydre segment (sidder inde i øjet), der ligner en stak pandekager, findes der mange rhodopsin molekyler (7TM) → Et rhodopsin molekyle kan absorbere en foton, hvorved 500 Gt-proteineres transducin (alfa subunits) aktiveres (Rhodopsin + transducin = CPCR) → Dette aktiverer 500 cGMP phosphodiesterase molekyler, som hydrolyserer 10^5 cGMP → cGMP holder normalt kationkanaler i plasmamembranen åbne, men nu falder koncentrationen af cGMP så hurtigt, at cGMP dissocierer fra kationkanalerne, som derfor lukkes → Dette gør at $10^6 - 10^7 Na^+$ -ioner pr. sekund ikke kan passere ind i cellen i en periode på ca. 1 sekund → Dette skaber kortvarigt en lille hyperpolarisering i cellen på ca. 1 mV (skabt af en foton), som resultere i en ændret hastighed af neurotransmitter frigørelse, hvilket hjernen opdager og fortolker.

- ✚ **Anvende grundlæggende viden om celledatering til at redegøre for den fysiologiske konsekvens af NO syntese i endothelceller, CAM kinase aktivitet i neuralt væv og aktivering af rhodopsin i fotoreceptoren**

Cellesignalering og enzymkoblede receptorer

🌈 Definere enzymkoblede receptorer

Enzymkoblede receptorer er transmembrane-proteiner, som har en receptor på ydersiden, men er ikke koblet til et G-protein. Desuden har de en intracellulær enzymatisk del. De enzymkoblede receptorer kan fungere som et enzym eller fungerer som en docking station, der kan aktivere enzymer. Den intracellulære enzymatiske del kan udover selv at fungere som et enzym, også danne et kompleks med et andet protein, som fungerer som et enzym. Når de enzymkoblede receptorer er stimuleret, aktiverer enzymerne en intracellulær signal pathway.

RTK er den største gruppe af de enzymkoblede receptorer.

🌈 Redegøre for Receptor Tyrosin Kinase (RTK) aktivering og signalering

Receptor tyrosin kinaser (RTK) eller enzym koblede receptorer aktiveres ved, at to signalmolekyler danner en dimer, som går fra det ekstracellulære rum til cytosollen. Herefter aktiveres to inaktive tyrosin kinaser, hvorefter de begynder at aktivere hinanden ved at krydsphosphorylere forskellige tyrosiner på halerne i cytosollen. Hver krydsforforyling af tyrosin fungerer som en docking site for forskellige intracellulære signal proteiner, der hjælper videre i cellens indre. De forskellige intracellulære signalerings proteiner binde til de phosphorylerede tyrosioner vha. fx et SH2 domæne, hvilket aktiverer de intracellulære signaleringsproteiner.

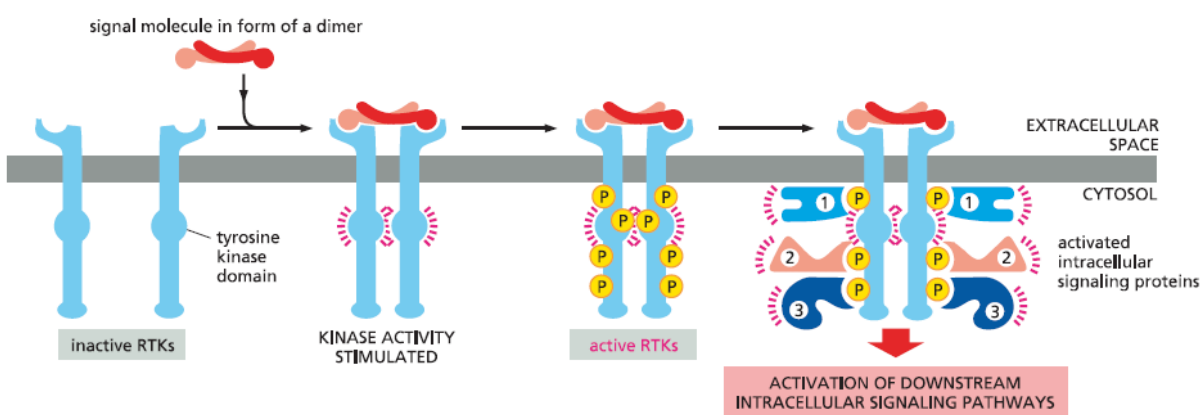


Figure 16–32 Activation of an RTK stimulates the assembly of an intracellular signaling complex. Typically, the binding of a signal molecule to the extracellular domain of an RTK causes two receptor molecules to associate into a dimer. The signal molecule shown here is itself a dimer and thus can physically cross-link two receptor molecules; other signal molecules induce a conformational change in the RTKs, causing the receptors to dimerize (not shown). In either case, dimer formation brings the kinase domains of each cytosolic receptor tail into contact with the other; this activates the kinases to phosphorylate the adjacent tail on several tyrosines. Each phosphorylated tyrosine serves as a specific docking site for a different intracellular signaling protein, which then helps relay the signal to the cell's interior; these proteins contain a specialized interaction domain—in this case, a module called an SH2 domain—that recognizes and binds to specific phosphorylated tyrosines on the cytosolic tail of an activated RTK or on another intracellular signaling protein.

🚦 Definere onkogener og tumor suppressors i RTK signaleringsveje

RAS = Onkogen, idet RAS kan bliver overaktivt, hvis det ikke får lov til at smide GTP. Kan ske hvis RAS-GAP bliver inaktiveret.

AKT = indirekte, idet der kan føre til aktivering af TOR, der stimulerer protein syntetisering og forhindrer protein nedbrydning.

AKT, Tor og Bcl2 er et proto-onkogener, der ved mutation kan blive til onkogener

Bad er en tumor supressor

Cellecyklus og mitosen

✚ Beskrive statiske, stabile, og fornyende cellepopulationer i væv

De statiske cellepopulationer deler sig aldrig. De kan findes bl.a. i nervesystemet som neuroner eller i muskler som muskelceller.

De stabile cellepopulationer bliver kun fornyet, når de modtager et specifikt celledelingssignal, og de kan findes i leveren som hepatocytter (leverceller). Kan også være endothelceller

De fornyende cellepopulationer deler sig meget ofte. Dette skyldes eksempelvis slid eller lignede, og de findes bl.a. i tarmen som tarmepitel.

✚ Redegøre for de forskellige faser i cellecyklus og for check points kontrol

Cellecyklus forekommer i fire faser (*G₁*, *S*, *G₂* - og *M*-fasen).

Cellen vokser fortsat i den såkaldte interfase, som består af (*G₁*, *S*, *G₂* -fasen), hvorimod *M*-fasen kaldes for mitosen.

G₁-fasen: Cellen vokser og eventuelle DNA-skader kan repareres, inden cellen fortsætter ind i *S*-fasen.

S-fasen: Her replikkerer cellen sit DNA.

G₂-fasen: I *G₂*-fasen genoptager cellen sin vækst, og der sker en kopiering af dennes organeller, som ikke kan gendannes selvstændigt eller fissionerer.

M-fasen: Her sker den egentlige deling af cellen, da den nu er klargjort efter interfasen. Cellen deles, og det dupliserede DNA kommer i to datterceller, og de to datterceller bliver efterfølgende adskilt.

Celle-cyklussens kontrol system sikre at nøgleprocesserne i cyklussen forekommer i den korrekte sekvens. Den kontrollerer processerne kører med uret, at alt foregår korrekt, og der ingen fejl opstår under de enkelte trin.

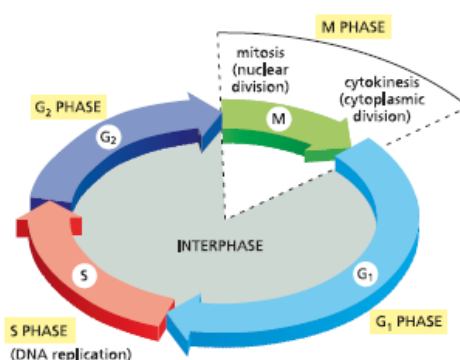
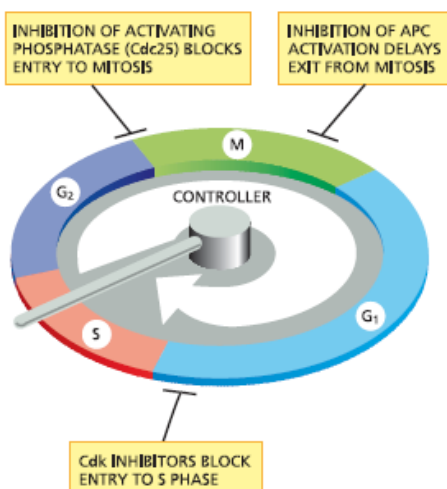
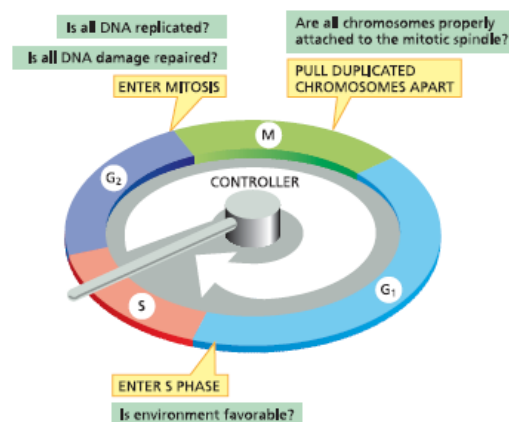


Figure 18-2 The eukaryotic cell cycle usually occurs in four phases. The cell grows continuously in interphase, which consists of three phases: *G₁*, *S*, and *G₂*. DNA replication is confined to *S* phase. *G₁* is the gap between *M* phase and *S* phase, and *G₂* is the gap between *S* phase and *M* phase. During *M* phase, the nucleus divides in a process called mitosis; then the cytoplasm divides, in a process called cytokinesis. In this figure—and in subsequent figures in the chapter—the lengths of the various phases are not drawn to scale: *M* phase, for example, is typically much shorter and *G₁* much longer than shown.

Figure 18-3 The cell-cycle control system ensures that key processes in the cycle occur in the proper sequence. The cell-cycle control system is shown as a controller arm that rotates clockwise, triggering essential processes when it reaches particular transition points on the outer dial. These processes include DNA replication in *S* phase and the segregation of duplicated chromosomes in mitosis. The control system can transiently halt the cycle at specific transition points—in *G₁*, *G₂*, and *M* phase—if extracellular or intracellular conditions are unfavorable.



🔗 **Redegøre for mitosens stadier morfologisk, herunder cytoskelet, kerne og DNA-forandringer**

Mitose - cytoskelet

Mikrotubuli er ansvarlige for adskillelsen af søsterkromosomerne.

De intermediære filamenter udgår nuclear lamina, som phosphoryleres under kernemembrannedbrydelsen.

Aktin (og myosin) indgår i den kontrakile ring - dog under cytokinesen.

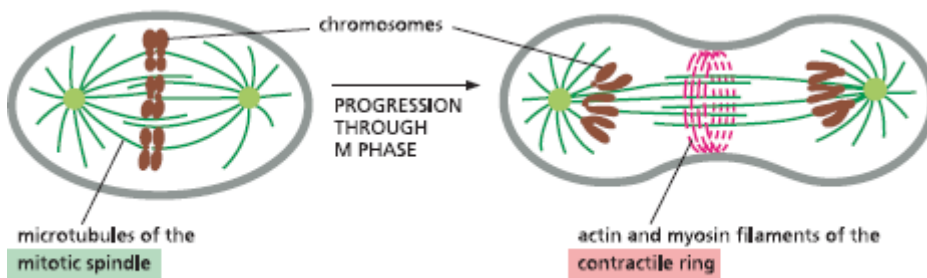
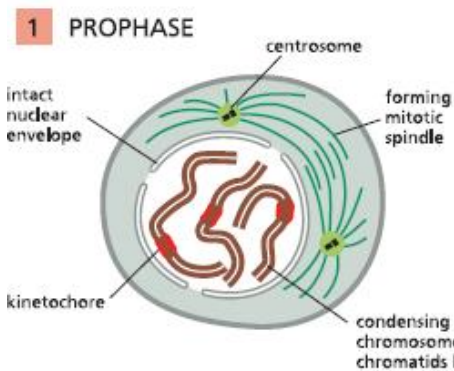


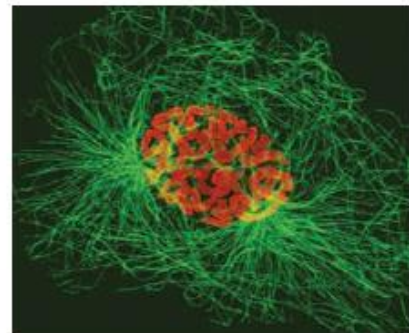
Figure 18–19 Two transient cytoskeletal structures mediate M phase in animal cells. The mitotic spindle assembles first to separate the duplicated chromosomes. Then, the contractile ring assembles to divide the cell in two. Whereas the mitotic spindle is based on microtubules, the contractile ring is based on actin and myosin filaments. Plant cells use a very different mechanism to divide the cytoplasm, as we discuss later.

Mitosen inddeles i profase, prometafase, metafase, anafase og telofase

Profase → Under profasen dannes tetrådsapparatet, og det starter sin migration mod cellens poler. Kromosomer med de to søster kromatider er her kondenseret og holdt sammen langs hele dets længde.

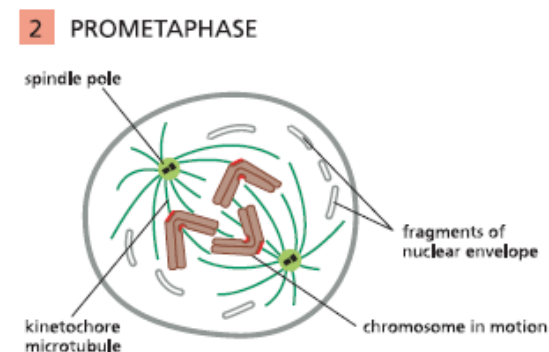


At **prophase**, the duplicated chromosomes, each consisting of two closely associated sister chromatids, condense. Outside the nucleus, the mitotic spindle assembles between the two centrosomes, which have begun to move apart. For simplicity, only three chromosomes are drawn.

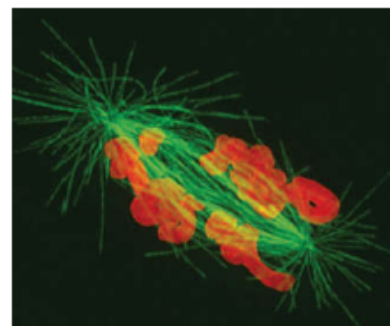


time = 0 min

Prometafase → Under prometafasen nedbrydes kernemembranen, og tetrådsapparatet kan nu binde til centromerets kinetochore.



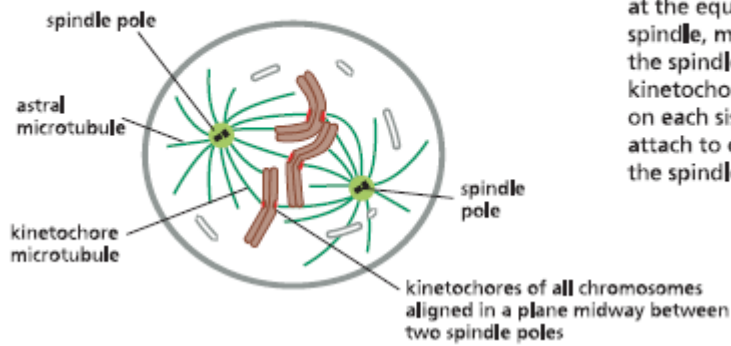
Prometaphase starts abruptly with the breakdown of the nuclear envelope. Chromosomes can now attach to spindle microtubules via their kinetochores and undergo active movement.



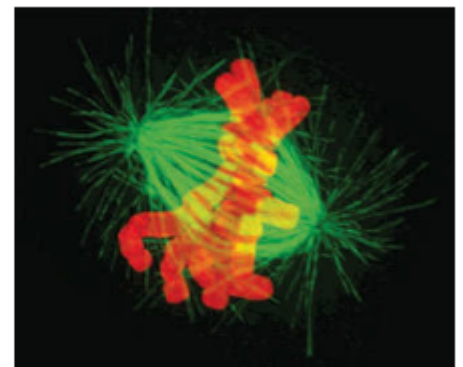
time = 79 min

Metafase → Kromosomerne stille op på linje i midten af cellen (ækvator).

3 METAPHASE



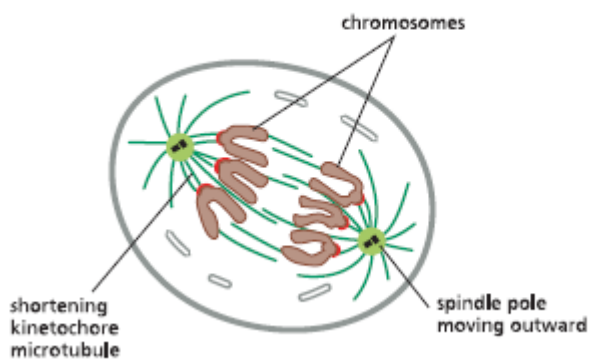
At **metaphase**, the chromosomes are **aligned** at the equator of the spindle, midway between the spindle poles. The kinetochore microtubules on each sister chromatid attach to opposite poles of the spindle.



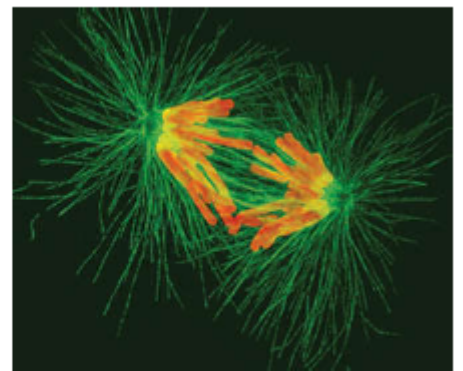
time = 250 min

Anafasen → Tentrådsapparatet begynder at adskille søster kromosomerne. De kinetochore og astrale mikrotubuli forkortes og de interpolære mikropolære forlænges.

4 ANAPHASE



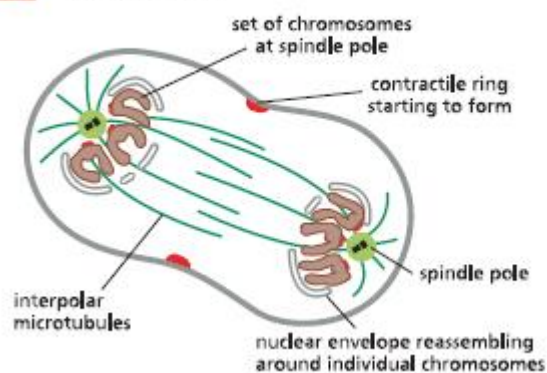
At **anaphase**, the sister chromatids **synchronously separate** and are pulled slowly toward the spindle pole to which they are attached. The kinetochore microtubules get shorter, and the spindle poles also move apart, both contributing to chromosome segregation.



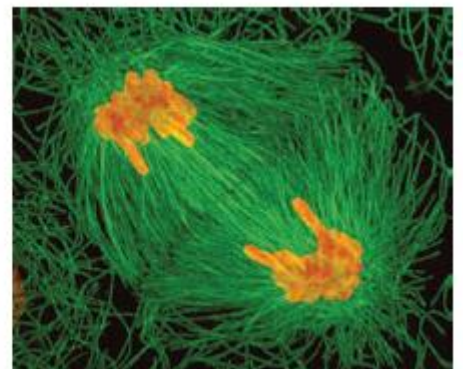
time = 279 min

Telofase → Søsterkromosomerne ankommer til hver sin pol af cellen, og to nye kernemembranen gendannes.

5 TELOPHASE



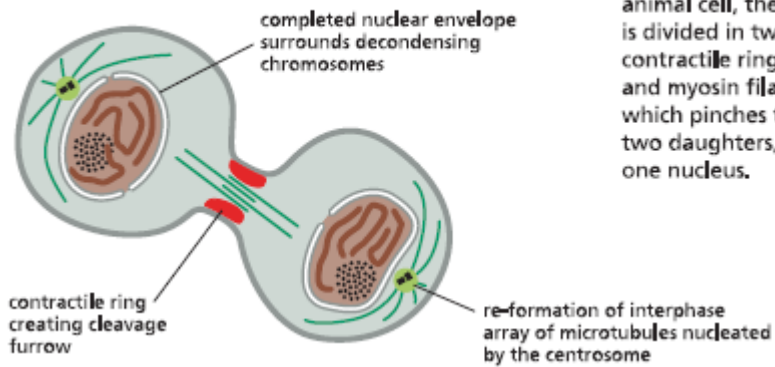
During **telophase**, the two sets of chromosomes arrive at the poles of the spindle. A new **nuclear envelope reassembles** around each set, completing the formation of two nuclei and marking the end of mitosis. The division of the cytoplasm begins with the assembly of the contractile ring.



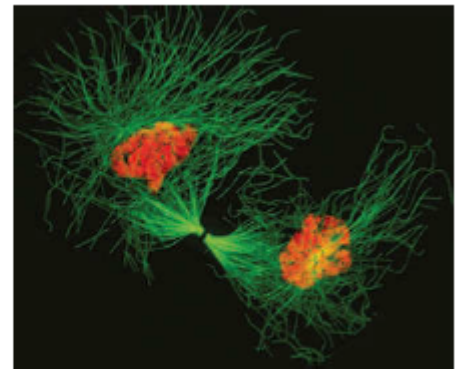
time = 315 min

Cytokinese → Cytoplasma deles, og de to separate celler dannes. Der bliver dannet kontraktile ringe, som benytter aktin og myosin til at indsnøre midten af cellen, indtil der dannes to celler. Cytokinesen begynder normalt under anafasen, men den afsluttes først efter telofasen, hvilket markerer afslutningen på M-fasen.

CYTOKINESIS



During **cytokinesis** of an animal cell, the cytoplasm is divided in two by a contractile ring of actin and myosin filaments, which pinches the cell into two daughters, each with one nucleus.



time = 362 min

- ✚ Beskrive ændringer i celleorganellers struktur og fordeling under mitosen
- ✚ Anvende grundlæggende viden om M-Cdk medieret regulering af kromosom kondensering, tetrådsapparatet, kernemembran-vesikulering og APC aktivitet til at beskrive mitosens stadier morfologisk

s. 603-633

Meiose

✚ Redegøre for de individuelle trin under meiosen

Meiosen har ingen G-faser, dog har den derimod to meiotiske delinger (meiose I og II), som kommer efter S-fasen.

S-fasen → Her sker der en replikation af DNA (som i mitosen)

Meiose I → De homologe kromosompar danner par i midten af cellen. Herefter sker der en crossover mellem de homologe kromosompar, hvilket blander de maternale og paternale søsterkromosomer.

Stedet hvorpå overkydningen sker, kaldes for chiasma. Der opstår

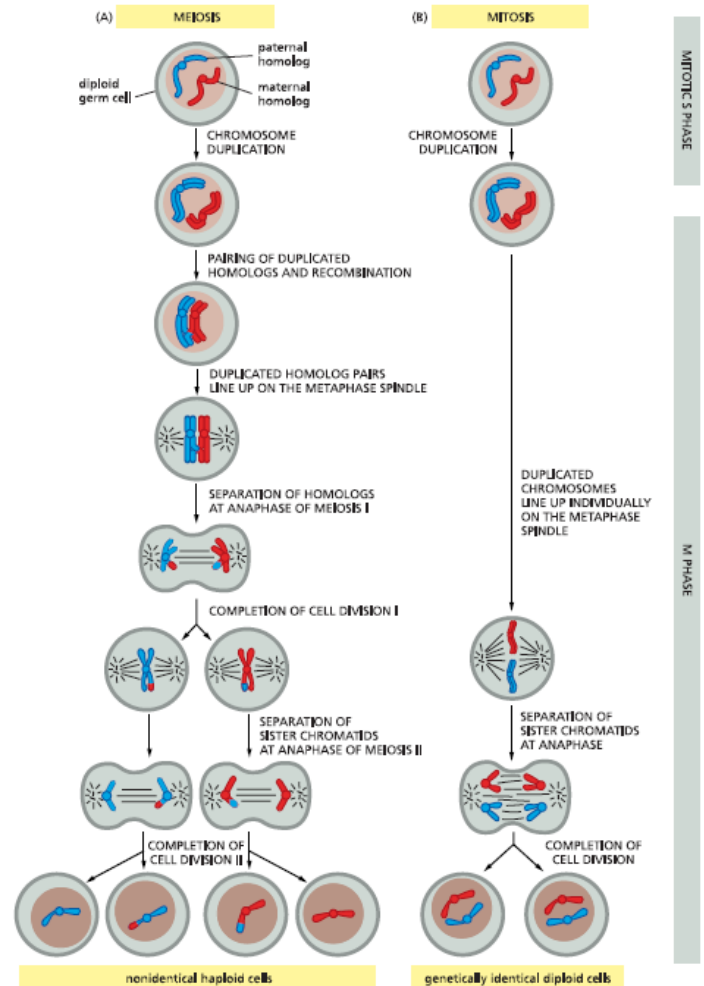
mellem en og tre croosover pr. meiose. Derefter bliver de homologe kromosompar adskilt (chiasma brydes).

Meiose II → Søsterkromatiderne skilles, og man får fire ikke identiske haploide celler. Normal mitose giver derimod to ens diploide celler.

Diploid → med to kromosomsæt

Haploid → med et enkelt kromosom

Figure 19-7 Meiosis generates four nonidentical haploid cells, whereas mitosis produces two identical diploid cells. As in Figure 19-4, only one pair of homologous chromosomes is shown. (A) In meiosis, two cell divisions are required after chromosome duplication to produce haploid cells. Each diploid cell that enters meiosis therefore produces four haploid cells, whereas (B) each diploid cell that divides by mitosis produces two diploid cells. Although mitosis and meiosis II are usually accomplished within hours, meiosis I can last days, months, or even years, because of the long time spent in prophase I.



✚ Forklare betydningen af ”cross-over” for genetisk variation

Homolog rekombination kaldes også for ceoss-over.

Processen beskriver hvordan udvekslingen af DNA foregår mellem to identiske - eller meget ens - nukleotid sekvenser. Dette sker under den lange profase ved det første meiotiske deling, og medfører typisk i fysisk rokering af homologe segmenter fra de maternelle og paternelle kromosomer. Danner grundlag for genetisk variation.

Processen er katalyseret af en protein maskine og afhænger af samlingen af et synatonemal kompleks. Komplekset holder de homologe pat sammen og placerer dem så den genetiske rekombination kan foregå mellem ikke søster kromatider. Hver dupligerede homolog holdes sammen af en eller flere chaisma som er forbindelsen mellem de to ikke-søster kromatider.

Cross-over har en stor betydning for genetisk variation. Det giver ikke blot nye kombinationer afmaternel og paternel gener, men spiller også en rolle i deling da de holder homologe kromosomer sammen under profase I og sikre dermed at maternelle og paternelle homologe segregerer fra hinanden korrekt ved den første meiotiske deling.

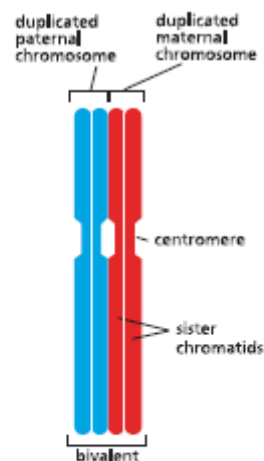


Figure 19-9 Duplicated maternal and paternal chromosomes pair during meiosis I to form bivalents. Each bivalent contains four sister chromatids and forms during prophase of meiosis I, well before attaching to the meiotic spindle.

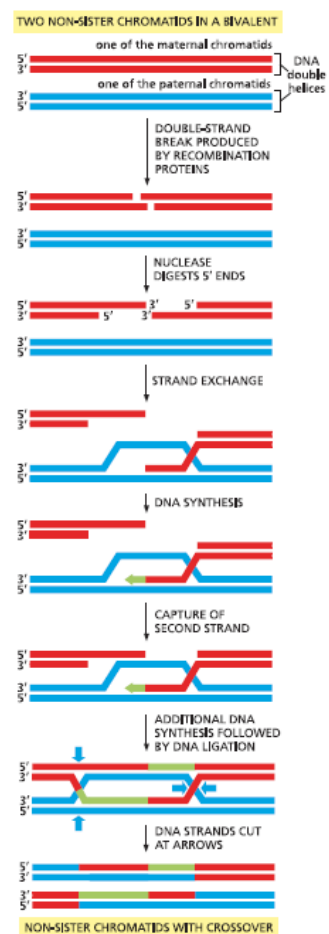


Figure 19-10 During meiosis I, non-sister chromatids in each bivalent swap segments of DNA. Here, only two of the four sister chromatids in the bivalent are shown, each drawn as a DNA double helix. During meiosis, the protein complexes that carry out this homologous recombination (not shown) first produce a double-strand break in the DNA of one of the chromatids (either the maternal or paternal chromatid) and then promote the formation of a cross-strand exchange with the other chromatid. When this exchange is resolved, each chromatid will contain a segment of DNA from the other. Many of the steps that produce chromosome crossovers during meiosis resemble those that guide the repair of DNA double-strand breaks in somatic cells (see Figure 6-30).

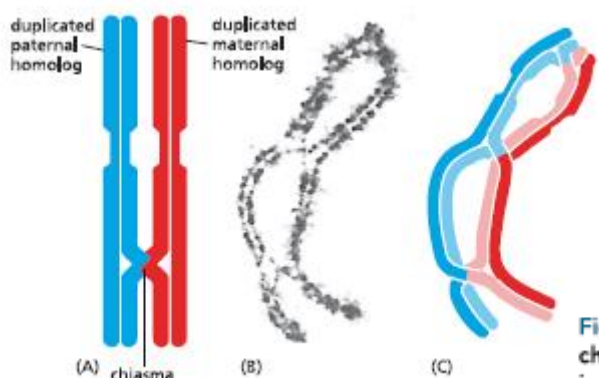
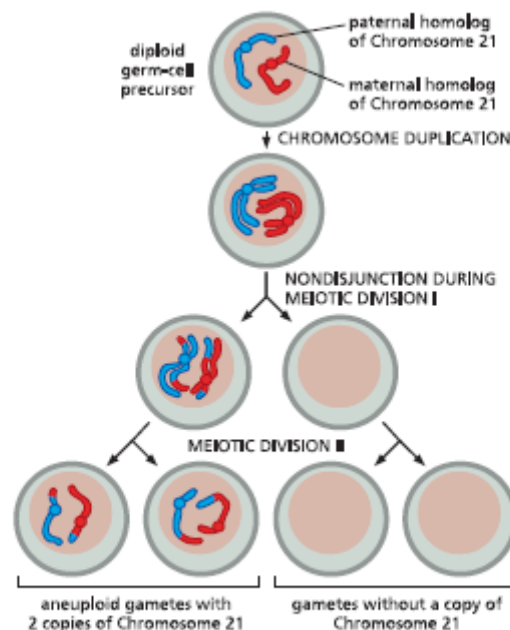


Figure 19-11 Crossover events create chiasmata between non-sister chromatids in each bivalent. (A) Schematic set of paired homologs in which one crossover event has occurred, creating a single chiasma. (B) Micrograph of a grasshopper bivalent with three chiasmata. (C) As the maternal and paternal homologs start to separate in meiosis I, chiasmata like those shown here help to hold the bivalent together. (B, courtesy of Bernard John.)

Redegøre for hvorledes aneuploide gameter kan opstå

Aneuploide gameter er celler med et forkert antal kromosomer, og de kan opstå, når de homologe kromosompar ikke adskilles ved den første meiotiske deling. På denne måde opnår man to celler med to kopier af et givent kromosom og to celler uden nogen kromosomer. Dette ses fx ved Down syndrom, hvor der opstår aneuploide gameter, der enten har for mange eller for få kromosom 21

Figure 19-16 Errors in chromosome segregation during meiosis can result in gametes with incorrect numbers of chromosomes. In this example, the duplicated maternal and paternal copies of Chromosome 21 fail to separate normally during the first meiotic division. As a result, two of the gametes receive no copy of the chromosome, while the other two gametes receive two copies instead of the proper single copy. Gametes that receive an incorrect number of chromosomes are called aneuploid gametes. If one of them participates in the fertilization process, the resulting zygote will also have an abnormal number of chromosomes. A child that receives three copies of Chromosome 21 will have Down syndrome.



Anvende grundlæggende viden om meiose og mitose til at redegøre for forskelle og ligheder mellem disse

	Meiose	Mitose
G1- og G2-fase	Manglende/meget kort	Lange og nødvendige
Antal mitotiske delinger	2	1
Varighed	Dage/måneder/år	Timer
Crossover	Ja	Nej
Kromosomstilling	Dupliserede Homologe kromosompar ved siden af hinanden	Dupliserede kromosompar på linje over og under hinanden
Antal S-faser	1	1
Slutresultat	4 haploide datterceller	2 diploide datterceller

Apoptose

✚ Redegøre for fysiologiske karakteristika ved apoptose

Apoptose er kontrolleret celledød. Kontrolleret apoptose er bl.a. vigtigt, når fosteret udvikler fingre, eller når epitelceller dør i tarmen. Apoptose og celledeling i kroppen foregår normalt lige hurtigt, men når væv/organer skal vokse eller skrumpes, så skal forholdet mellem apoptose og celledeling forskydes.

UPR (Unfolded protein response) kan inducere apoptose.

Cytochrome C i det intermembranøse rum i mitokondrierne kan frigives til cytosollen af Bax og Bak og starte apoptosomet

p53 er en transskriptions regulator der kan aktivere transkriptionen af p21; et Cdk inhibitor protein, der binder til C1/S-Cdk og S-Cdk således at cellecyklus stopper i G1 og ikke går videre til S-fasen (replikation) før DNA er repareret. Hvis DNA'et ikke kan repareres kan p53 påvirke cellen til at undergå programmeret celledød, apoptose.

Manglende p53 ---> uhæmmet replikation af skadet DNA ---> høj grad af mutation ---> mulig cancer celle.

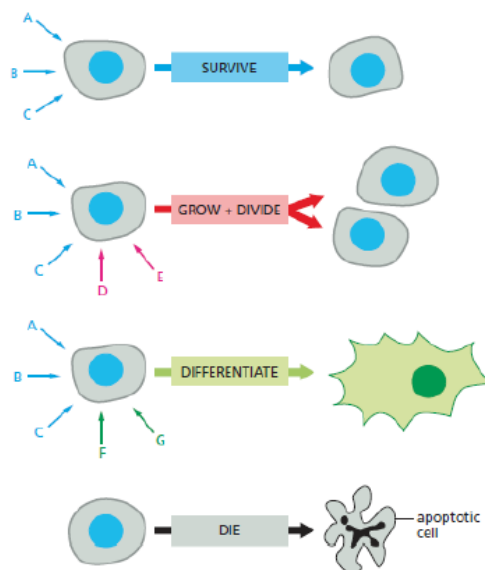


Figure 16-6 An animal cell depends on multiple extracellular signals. Every cell type displays a set of receptor proteins that enables it to respond to a specific set of extracellular signal molecules produced by other cells. These signal molecules work in combinations to regulate the behavior of the cell. As shown here, cells may require multiple signals (blue arrows) to survive, additional signals (red arrows) to grow and divide, and still other signals (green arrows) to differentiate. If deprived of survival signals, most cells undergo a form of cell suicide known as apoptosis (discussed in Chapter 18).

🚦 Definere forskelle mellem apoptose og nekrose

Apoptose er ordnet, kontrolleret celledød, hvor nabocellerne ikke skades. Under apoptose udvikler cellen irregulariteter på sin overflade, men bagefter skrumper cellen, cytoskelettet kollapser og DNA skæres ud i fragmenter. Cellens overflade ændres på en måde, der tiltrækker makrofager, som phagocytterer cellen, før den når at spilde sit indhold ud over sine naboceller. På denne måde kan cellens komponenter genbruges igen – i modsætning nekrose.

Nekrose opstår ved akut skade, som får cellen til at svulme op og sprænges, hvormed den spilder sit indhold ud over alle sine naboceller, hvilket kan starte den inflammatoriske respons. Her findes intet genbrug af cellens komponenter.

🚦 Redegøre for aktivering og funktion af caspaser og Bcl-2 familien

Bcl-2 familien består bl.a. af BAK, BAX og Bcl2. BAK og BAX er proapoptotiske, da de fremmer frigørelse af cytochrome c fra mitochondrierne. Bcl2 er derimod antiapoptotisk ved at forhindre BAK og BAX i at frigøre cytochrome c.

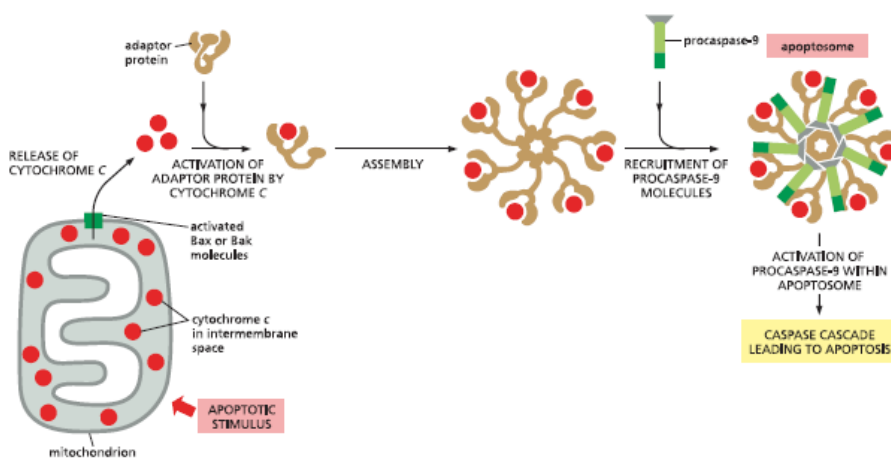


Figure 18–39 Bax and Bak are death-promoting members of the Bcl2 family of intracellular proteins that can trigger apoptosis by releasing cytochrome c from mitochondria. When Bak or Bax proteins are activated by an apoptotic stimulus, they aggregate in the outer mitochondrial membrane, leading to the release of cytochrome c by an unknown mechanism. The cytochrome c is released into the cytosol from the mitochondrial intermembrane space (along with other proteins in this space—not shown). Cytochrome c then binds to an adaptor protein, causing it to assemble into a seven-armed complex. This complex then recruits seven molecules of a specific initiator procaspase (procaspase-9) to form a structure called an apoptosome. The procaspase-9 proteins become activated within the apoptosome and then go on to activate executioner procaspases in the cytosol, leading to a caspase cascade and apoptosis.

Cytochrome c kan efter frigørelse fra mitochondrierne aktivere adaptor proteiner i cytoplasma, som dernæst samles i et syvarmet kompleks (søstjerne), som tiltrækker procaspase-9, som fletter sig ind i mellem det syvarmede cytochrome c/adaptorprotein-kompleks' arme. Dette resulterer i dannelsen af apoptosomet, hvori procaspase-9 aktiveres, som nu kan begynde at aktivere executioner procaspaser i cytosolen, hvilket starter caspase-kaskaden.

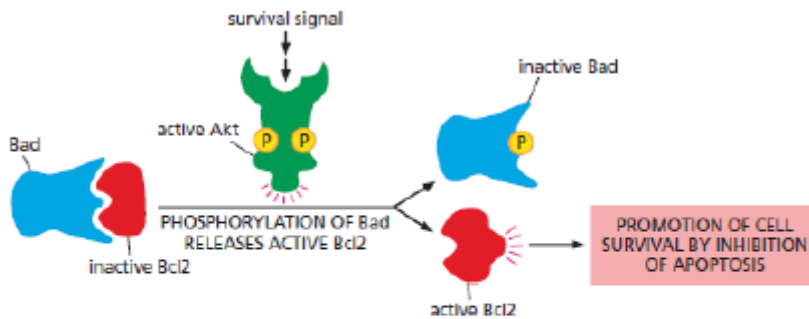


Figure 16–36 Activated Akt promotes cell survival. One way it does so is by phosphorylating and inactivating a protein called Bad. In its unphosphorylated state, Bad promotes apoptosis (a form of cell death) by binding to and inhibiting a protein, called Bcl2, which otherwise suppresses apoptosis. When Bad is phosphorylated by Akt, Bad releases Bcl2, which now blocks apoptosis, thereby promoting cell survival.

✚ Redegøre for intrinsic og extrinsic pathway

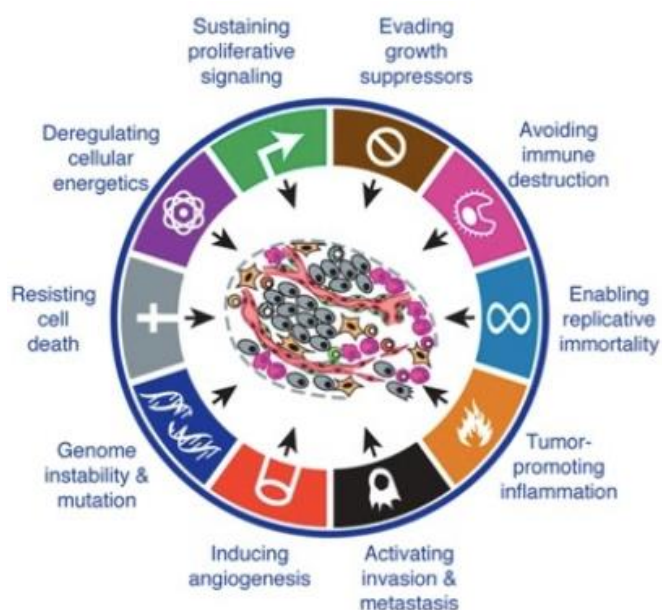
Intrinsic: Intrinsic pathway aktiveres af BAK og BAX, som frigør cytochrome c fra mitochondrierne. Bcl-2 familien kan som tidligere nævnt reguleres af fx survival factors, og derfor burde det måske kaldes pseudo-intrinsic pathway.

Extrinsic: Extrinsic pathway er apoptose, der induceres af udvendige/ekstracellulære faktorer. Dette gøres typisk gennem ekstracellulære signaler på to overordnede måder – enten ved at regulere aktiviteten af medlemmer af Bcl-2 familien (BAK, BAX, Bcl2) eller ved at aktivere receptorer proteiner i celleoverfladen, der hedder deathreceptors. En kendt deathreceptor, FAS receptoren, aktiveres af FAS-liganden, som findes på kiler lymphocytter. Dermed inducerer kiler lymphocytter formationen af et death-inducingsignaling-complex (DISC) ved at adaptor proteiner forbinder procaspase 8 til FASreceptoren. Dette aktiverer procaspase 8 (på samme måde som gennemgået i det ovenstående), så man får funktionelle caspase 8 molekyler, som dernæst kan aktivere executioner caspaser. Dermed undergår cellen apoptose, og kiler lymphocytten kan fortsætte sit arbejde.

Cancer

✚ Beskrive cancercellens generelle karakteristika (hallmarks)

- 1) Undgår apoptose
- 2) Vedligeholder konstant proliferativ signalering - deler sig uhæmmet
- 3) Undgår væksthæmmere – hypertroferer/vokser uhæmmet
- 4) Metastaser – har invasive egenskaber, hvormed de penetrerer basallamina og spreder sig til underliggende bindevæv og blodet.
- 5) Genaktiverer telomerase – cellen kan dele sig uendeligt mange gange. Udødelighed.
- 6) Angiogenese – vha. fx VEGF tiltrækker cancerceller blodkar, der nærer deres store energibehov



✚ Beskrive mutagens egenskaber og redegøre for den tidsmæssige relation mellem eksposition til mutagenet og malign transformation

Mutagener er faktorer, der øger mutationshyppigheden i DNA. Da cancerceller kræver mange forskellige mutationer for at opnå deres Hallmarks, så kræver dannelsen af en malign tumor tid. Normalt ophober vores DNA mutationer løbende gennem livet, og derfor øges sandsynligheden for at udvikle en tumor også med alderen. Mutagener kan som sagt øge hastigheden af denne akkumulering af mutationer, så man øger sandsynligheden for at udvikle en tumor. Behovet for flere mutationer kaldes også behovet for multiple hits.

Mutagener opdeles i kemiske og fysiske:

Fysiske: Beta- gamma, røntgen og neutronstråling og ultraviolet lys.

Kemiske: Sennepegas, formaldehyd, ethylmethansulfonat, phosphorylering osv.

Derudover findes der vira, der kan optræde som mutagener og fx fremkalde tumorer (HPV).

✚ Anvende grundlæggende viden om cancercellers karakteristika samt signaleringsveje i non-neoplastiske celler til at identificere onkogener og tumor suppressors

Onkogener: Onkogener er speedere, dvs. hvis et proto-onkogen muteres i et enkelt allel, så bliver det til et funktionelt onkogen, hvilket fungerer som en mursten på speederen. HUSK Ras!

Tumor suppressor: Tumor suppressorer er bremsere, dvs. hvis en tumor suppressor muteres i to alleler, så fungerer det som en mursten under bremsen/overskårne bremsekabler. HUSK p53, Rb!

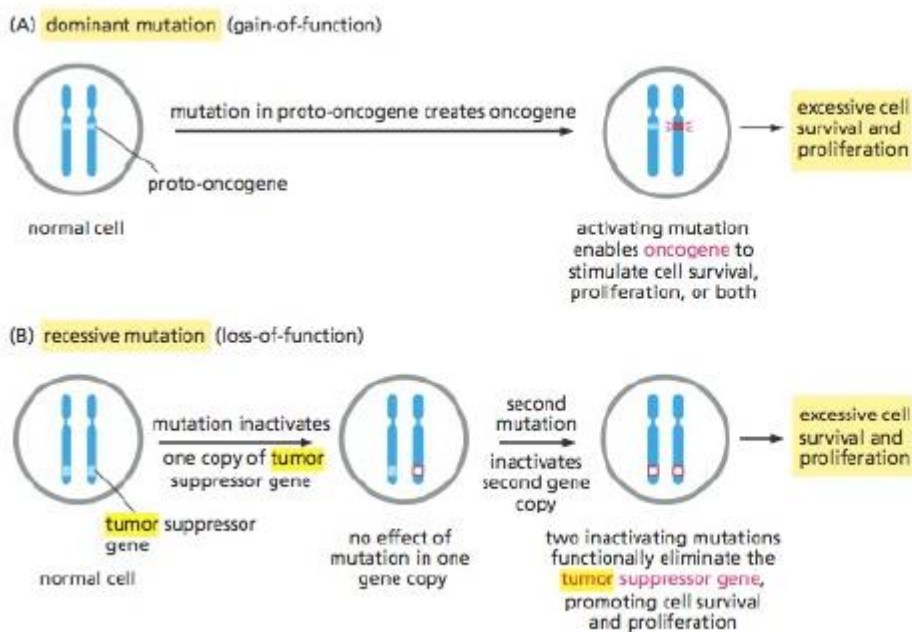


Figure 20–48 Genes that are critical for cancer are classified as **proto-oncogenes** or **tumor suppressor genes**, according to whether the dangerous mutations are **dominant** or **recessive**. (A) Oncogenes act in a dominant manner: a gain-of-function mutation in a single copy of the proto-oncogene can drive a cell toward cancer. (B) Loss-of-function mutations in **tumor suppressor** genes generally act in a recessive manner: the function of both copies of the gene must be lost to drive a cell toward cancer. In this diagram, normal genes are represented by *light blue squares*, activating mutations by *red rays*, and inactivating mutations by *hollow red rectangles*.

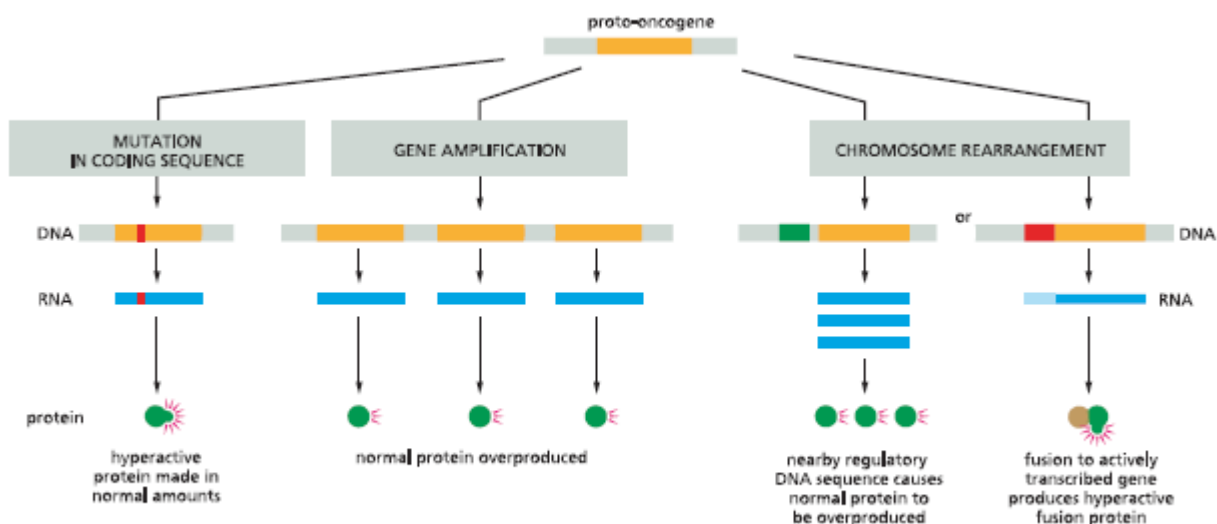


Figure 20–49 Several kinds of genetic change can convert a proto-oncogene into an oncogene. In each case, the change leads to an increase in the gene's function—that is, it is a gain-of-function mutation.