

ESSENTIAL CELL BIOLOGY

ASMA BASHIR, LÆGE

ALMEN CYTOLOGI, DER TAGER UDGANGSPUNKT I, HVAD EN CELLE ER OG HVORDAN DEN ARBEJDER I KROPPEN.

Pensum:

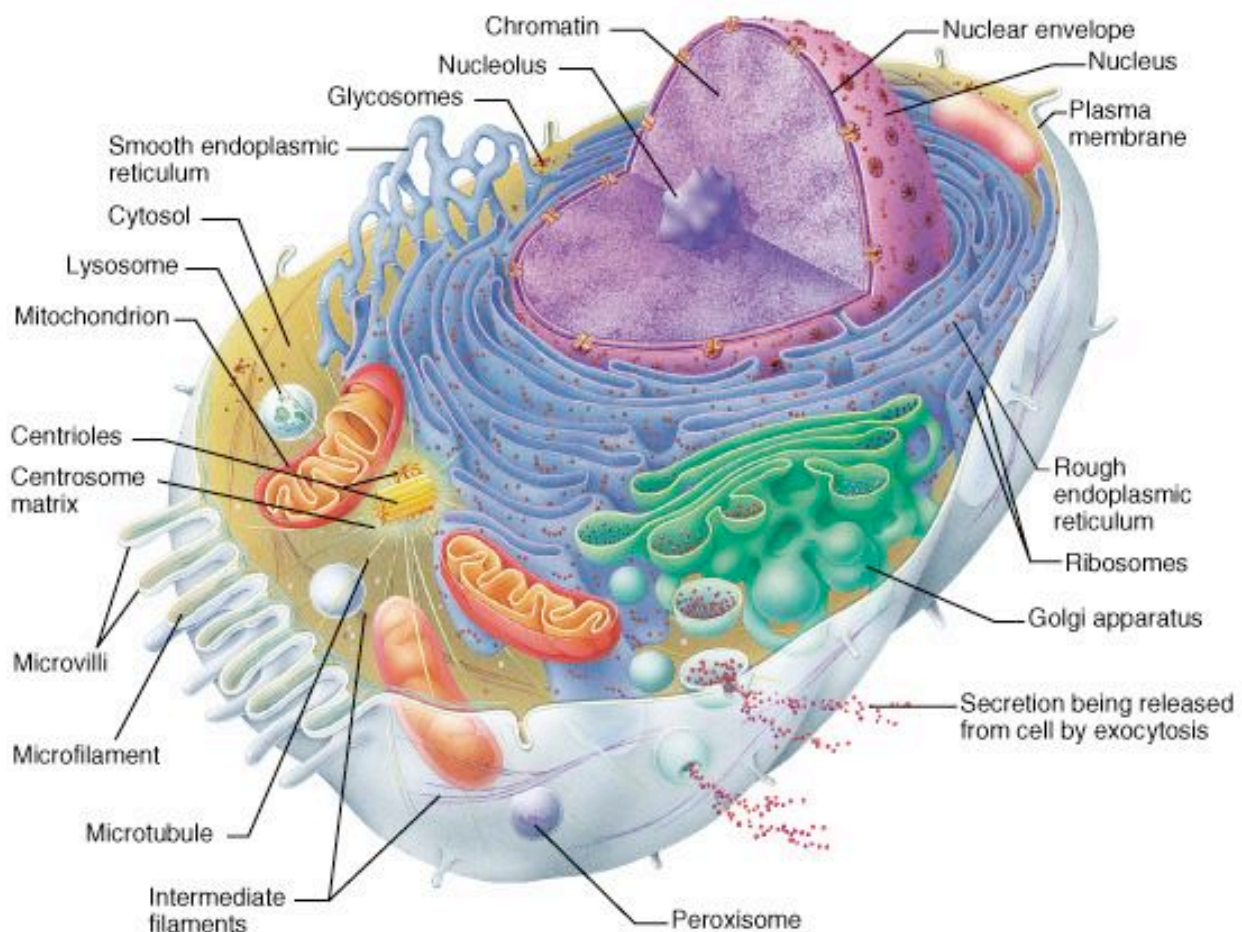
- *Essential Cell Biology (3rd edition)*
- *Noter fra holdtimer og forelæsninger*

INTRODUKTION TIL CELLEN

Der findes ca. 100 millioner forskellige celler:

- Knogleceller
- Fedtceller
- Epitelceller
- Nerveceller

Disse er differentierede celler, der stammer fra embryonisk udvikling fra en single befrugtet celle. Alle celler indeholder samme slags molekyler med samme slags kemiske reaktioner, egenskaber og DNA. Alle celler aflæser (transkriberer) DNA ved hjælp af RNA, og videre syntetiserer (translaterer) til proteiner, som hjælper med at udføre forskellige funktioner. De 20 aminosyrer i proteinerne er sat sammen forskellige vis ligesom alfabeter i ord og giver forskellige informationer. Genomet er arvematerialet, DNA. Udover DNA er celler påvirket af miljøet og historien.



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Cellerne indeholder følgende komponenter:

- Kerne, nucleus – formidler genetisk information om cellens proteinsyntese. Cellekernen er omgivet af en dobbelt kernemembran. Den ydre membran er forbundet med det kornede endoplasmatiske reticulum. Kernelegemet indeholder proteiner, DNA og RNA. Væsken i kernen indeholder et fint netværk af tråde, som består af proteiner og DNA. Disse tråde kaldes kromatin og delvist sammenkrøllede. Dette bevirker, at cellekernen får et kornet udseende.
- Mitokondrierne – ovale organeller, som er omgivet af en dobbeltmembran. De er jævnt fordelt i cellens cytoplasma og antallet varierer fra nogle få til mange hundrede i hver celle. Ydermembranen er glat mens den inderste membran er stærkt foldede. Mitokondrier spiller hovedrolle i energiomsætning. Kulhydrater, proteiner og fedt nedbrydes først af enzymer i cytoplasmaet til mindre sammensatte forbindelser, som så overføres til mitokondrierne. Den endelige nedbrydning til kuldioxid og vand fuldføres i mitokondrierne, og en stor del af den frigjorte energi lagres som kemisk energi i adenosintrifosfat ATP. De er ansvarlige for ca. 90% af cellernes totale ATP-produktion. Fordi mitokondrier bruger oxygen og frigør CO₂, kaldes processen for cellulær respiration.
- Endoplasmatiske reticulum ER – den største af cellens organeller. Den er opbygget af membraner, forlængelse med nucleus ydermembranen, som danner et sammenhængende netværk af væskefyldte rør. Der er to former for ER: en kornet form og en glat form. Den kornede form har talrige korn (ribosomer) bundet til membranoverfladen. Ribosomer består af proteiner og RNA. Der er også frie ribosomer i cytoplasmaet og er med til at producere proteiner ved at sammenhænge aminosyrer. Ribosomer på ER danner hovedsagelige proteiner til eksport (proteinsyntese), og efter proteinsyntese transporteres de videre til Golgi-apparat, så de kommer ikke ud i cytoplasmaet. De frie ribosomer danner proteiner til cellen eget brug. Det glatte form mangler ribosomer og kan derfor ikke danne proteiner og er produktionssted for kolesterol (binyrebark og testes), lipider og fosforlipider. Det er også depot for calcium, som har en vigtig signalfunktion i cellen (sarkoplasmatiske reticulum). I leverceller har ER enzymer, der omsætter glykogen.
- Golgi-apparat – består af fladklemt membransække, som ligger tæt sammen med ER. Når proteiner kommer fra ER, transporteres de til Golgi i små membranblærer (vesikler), hvor deres indhold tømmes direkte i Golgi-apparatets sække. Proteinerne bliver sorteret, pakkes i nye vesikler og fragtes til forskellige dele af cellen. Nogle vesikler finder vejen til cellemembranen, hvor indholdet udskilles ved exocytose. Vesikler kan atter optages i cellemembranen via endocytose, som sørger for, at cellens overflade ikke øges. Golgi-apparatet indeholder enzymer som hæfter kulhydrater eller fosfatgrupper på proteiner. De sørger for at proteiner bliver transporteres de rigtige steder i cellen.
- Lysosomer – runde organeller, som er omgivet af en dobbeltlag membran. De indeholder enzymer, der står for intracellulær fordøjelse og de kan nedbryde bakterier eller fremmede legemer, som optages i cellen ved hjælp af endocytose. Affaldsstoffer bliver fjernet via exocytose. Så længe lysosommembranen er intakt, beskadiger enzymerne ikke cellens egne strukturer. Hvis cellen beskadiges eller dør, går der imidlertid hul på dennes membran, og enzymerne slipper ud. De nedbryder cellen, og processen kaldes autolyse. De deltager også i immunforsvaret.
- Peroxisomer – små organeller, der ligner lysosomer men har andre funktioner. De indeholder enzymer der nedbryder fedtsyrer og aminosyrer. Ved disse reaktioner dannes der hydrogenperoxid, som er en

meget farlig kemisk reaktion. De danner også små vesikler, der er involveret i transport af materialet fra en organel til den anden.

- Cytosol – væsken som omgiver organellerne. Kemisk er cytosol en vandig opløsning, som indeholder mange forskellige organiske forbindelser og uorganiske ioner. Cytosol har et højt proteinindhold og er derfor kolloid opløsning. Det vil sige, at konsistensen er gelagtig.
- Celleskellet – et netværk af forskellige typer af fibre, som virker som cellens ramme:
 - Actin filament (de tynde) – findes i store mængder i cellen især i muskelceller
 - Mikrotubuli – de kraftigste og spiller en rolle i celledelingen, hvor de trækker et sæt kromosomer til hver sin pol i cellen
 - Intermediate filament – giver cellen stivhed ved at danne støtte for cellemembranen

KEMISKE KOMPONENTER AF CELLEN

Der findes følgende bindinger:

- Kovalent binding er når to atomer kommer tæt på hinanden og deler et par af elektroner:
 - Enkelte bindinger – de kan roteres og give forskellige konformationer.
 - Dobbeltbindinger – de er kortere og kan ikke roteres mellem to atomer.
- Non-kovalente bindinger – er svage bindinger, der let kan brydes:
 - Van der waals attraktioner – opstår når to atomer nærmer hinanden i en meget kort afstand, støder sammen og fjerner fra hinanden igen. De to atomer kan tiltrække hinanden og vise en kort binding pga. deres fluktuerende elektriske ladninger. Frastødningen sker fordi summen af deres kerne er samme som summen er deres var der waals ratio. De er svagere end hydrogen bindinger.
- Ion bindinger – bindingen mellem kationer og anioner:
 - Hydrogen bindinger – bindinger med hydrogenmolekylet i vandet. Ved hydrogen bindinger er den ene atom mere elektronnegativt end det andet. Hydrogen bindinger har 1/20 af styrke, kovalente bindinger har, og kan brydes ved termisk bevægelse pga. varme. De bliver hele tiden dannet og brudt.
- Kovalent polær binding – to atomer deler et par af elektroner. Polære stoffer har et elektronnegativt atom der tiltrækker elektroner mere end de andre atomer, hvilket medfører en elektronforskydning, og derved kan være vandopløseligt.
- Apolære stoffer har hverken polære grupper eller ladninger på molekylet og dermed uopløseligt i vandet f.eks. Nitrogen og oxygen, hvor karbon er mere lige med hydrogen.

Makromolekyler (polymere af subunits) er lavet af monomerer af kondensationens reaktion. Molekyler i vandet afgiver hydrogen til det andet molekyle f.eks. H₂O giver proton til andre vandmolekyler og danner H₃O (hydronium ion) og er en syre.

En syre kan være stærk eller svag alt afhængig af hvor hurtigt de afgiver deres proteiner. Man siger at syre er donor. Svage syrer afgiver hurtigt deres elektroner hvis H₃O er lav i opløsning og omvendt.

En base er modsatte af syre f.eks. OH⁻ (hydroxid). Dvs. de er modtagere. (sagt på en anden måde, de reducerer antallet af hydronium molekyler).

Syre har pH under 7, hvor base har pH over 7. I levende celler er der svage baser, som har tendens til at modtage elektroner. De vigtige er baser med aminosyregrupper.

Surhed i en opløsning er defineret af koncentration af H⁺. For at måle den, bruger man pH skala: $\text{pH} = -\log_{10}(\text{H}^+)$. For vandet er det $(\text{H}^+) = 10^{-7} \text{ mol/liter} = \text{pH} = 7.0$. Hvis pH falder, er det fordi proton-koncentrationen stiger.

Stoffer der indeholder karbon, kaldes for organiske stoffer. En celle indeholder organiske molekyler fra 4 store familier: sukker, fedtsyrer, aminosyrer og nukleotider:

- Sukker:
 - Monosakkarider – den simpleste form for glukose.
 - Disakkarider – to monosakkarider f.eks. sukrose
 - Oligasaccharider – 3 til 50 monomere, hvor polysakkarider består af 100 til 1000 subunits. Selvom bruttoformel er det samme, kan forskellige konformationer give forskellige sukkerarter ved at placere OH forskellige steder. Oligasakkarider findes også på plasmamembranen som glykolipider og glykoproteiner, der kan blive genkendt af andre celler, og de giver også basis for forskellige blodtyper.

To molekyler binder sig til hinanden f.eks. 2 monosakkarider ved at fjerne et vandmolekyle. Man kalder processen for kondensationsreaktion. Hydrolyse er det modsatte af kondensation, hvor vandmolekylet er optaget.

- Fedtsyre – består af en hydrofob del og en hydrofil del, dvs. de er amphipatisk. Fedtsyrer indeholder ca. 6 gange så meget energi som i glukose. Den vigtigste funktion af fedtsyre i cellerne er opbygning af membraner som fosfolipider. Fosfolipider som triacylglycerols består af glycerol og fedtsyrer, men fosfolipid har 2 kæder af fedtsyrer i modsætning til triacylglycerols 3 kæder. Den 3 er erstattet af et fosfat molekyle, som er bundet til en lille hydrofilisk komponent koline. Pga. den hydrofobe del er lipidlag i cellen består af to lipidlag, hvor de hydrofobe er vendt mod hinanden, og de hydrofile er vendt mod cytosol og ekstracellulær side. Micelle er en rund kugle bestående af en et enkelt lag fedtsyre for at undgå at komme kontakt med vandet ved at lade de hydrophile sider vendt mod vandet. Der er 4 forskellige typer lipider:
 - Triacylglycerol – opbygget af glycerol og 3 fedtsyrer, der er bundet til glycerol med esterbindinger.
 - Fosfolipid – amphipatiske lipider. Fosfatidylkolin er et eksempel på et fosfolipid og består af glycerol, hvor 2 af hydroxygrupperne er esterificeret med 2 fedtsyrer. Den 3. hydroxygruppe i glycerol er bundet til en fosfatgruppe, der igen er bundet til kolin.
 - Glycolipid – også amphipatiske molekyler, men fosfatgruppen er udskiftet med et kulhydrat.

- Kolesterol – består af 3 sammensatte 6-leddede ringe og en 5-leddet ring (grundstrukturen i steroider).
- Aminosyre består af karboxylsyre og aminogruppe lænket til den samme karbon, kaldes alfa-karbon. Celler bruger aminosyrer til at opbygge proteiner ved at binde til hinanden fra hoved til hale til en lang kæde, hvorefter de folder sig op i 3-dimensionale struktur til et protein. En polypeptid i en proteinkæde har altid en N-terminus, dvs. der sidder en aminogruppe, og en C-terminus hvor der sidder en karboxylgruppe. Den giver proteinet en retning. Der er 20 forskellige aminosyrer, der igen er sammensat på forskellige vis og danner forskellige proteiner.
- Nukleotider – subunits af DNA og RNA. Det er et molekyle bestående af nitrogen i 6 karbon-holdige ring med enten ribose og deoxyribose. Der er forskellige baser i nukleotider: cytosine, thymine og uracil kaldet pyrimidine (en 6-ring), og guanine og adenine er purine, hvor der også sidder en ekstra 5-ring på den 6-ring. Cytosine sidder altid over for guanine, og adenine sidder altid over for thymine i DNA og i RNA over for uracil. RNA er en enkel kæde, og DNA er dobbelt. De begge er koder for genetisk information.

ENERGI, KATALYSE OG BIOSYNTESE

Der foregår hovedsageligt 2 slags reaktioner:

- Katalytiske reaktioner – næringsstoffer nedbrydes til små molekyler og generer energi for at udføre andre reaktioner i cellen.
- Biosyntese eller anaboliske reaktioner – her bruges energi fra katabolisme til at drive syntese af molekyler der former cellen.

Disse to tilsammen kaldes for metabolismen.

Den 1. lov af Termodynamikken handler om at al energi i systemet er bevaret, den bliver ikke opbrugt eller laves, men kan omdannes fra den ene form til den anden, f.eks. kemisk til varmeenergi.

Den 2. lov af Termodynamikken siger, at et hvert isoleret system vil uorden, entropi, stige. Dvs. jo mere uorden, jo højere entropien. Vi kan også præsentere denne lov som sandsynlighed, at hvert system vil ændre sig spontan mod den retning, hvor sandsynligheden er størst. Man bruger energi til at bringe tingene i orden igen. Når cellen bruger energi til at skabe orden inde i cellen, vil den medføre høj varmeenergi, som bliver frigjort udenfor cellen, der bringer uorden, da molekylerne bevæger sig hurtigere.

Fotosyntese og cellulær respiration er komplementære processer. Fotosyntesen bruger energi fra solen til at producere glukose og andre organiske molekyler, som bliver til føde for dyr. Dyr til gengæld bruger oxygen til cellulær respiration, hvor de danner kuldioxid. Plantens molekyler, der fungerer som energi-transportør bruger kuldioxid og vandet til at drive karbon-fiksation, hvor de laver sukkeret igen.

Energifremstillingen i kroppen sker ved redoxreaktioner:

- Oxidation – helt eller delvist tab af elektron i form af tab af H eller tilførsel af ilt, dvs. den er negativ ladet.
- Reduktion – tilførsel af elektroner helt eller delvist i form af at få H tilført eller at få fjernet ilt, dvs. den er positiv ladet.

Når et molekyle fanger en elektron, fanger det ofte også en proton. Man siger også at hydrogenationsreaktioner er reduktioner og dehydrogenationsreaktioner er oxidationer.

Et molekyle kræver en aktiveringsenergi før det kan indgå i en kemisk reaktion, hvor det kommer i en mere stabil tilstand. Når et enzym binder sig til substratet, hæmmer det aktiveringsenergi og dermed øger hastigheden for en bestemt reaktion kan forekomme (katabolisme).

Hvert enzym er specifikt, dvs. det passer kun til et bestemt substrat pga. sin aktive site. Enzymet vil ikke ændre sig under reaktionerne, derfor kan de fungere igen op til 1000 gange.

Uorden kan også måles ved hjælp af den frie energi G, hvor den ændrede frie energi er ΔG . Uorden stiger når brugbar energi omdannes til varme. De reaktioner der skaber mere uorden ved at bruge (nedsætte) den frie energi, giver en negativ G, dvs. de er energi favorable. Omvendt hvis to aminosyrer er sat sammen ved hjælp af en binding og skaber hermed orden, er reaktionen energi ufavorable, fordi der bliver brugt energien. G vil være positiv. Disse ufavorable reaktioner kan kun forekomme, hvis de er parret sammen med en anden høj favorabel reaktion med negativ ΔG , hvor net af ΔG vil være negativ under hele processen.

Hvis koncentration af Y er højere end X, vil reaktion gå fra Y til X, hvor der bliver lavet flere Y af X. ΔG vil blive mere negativ, og hvis reaktionen går fra X til Y, vil reaktionen blive positiv. ΔG for en given reaktion kan skrives som summen af to parter, den første den standard free-energy change ΔG^* og den anden koncentration. ΔG^* repræsenterer når en mol af reaktant er omdannet til en mol af produkt under standard omstændigheder.

Når et molekyle reagerer med det andet, vil reaktionen fortsætte indtil der er nået en ligevægt og $\Delta G = 0$. Dvs. der er lige mange dissocierede molekyler som associerede. Men ligevægt konstanten K og ΔG vil stige, hvis bindingen mellem to molekyler stiger. Og jo højere er konstanten, jo større differencen i frie energi G vil være mellem dissocierede og associerede molekyler. Konstanten er direkte relateret til ΔG^* .

$$\Delta G = \Delta G^* + RT \ln \frac{(C)(D)}{(A)(B)} = \Delta G^* + 0.161 \ln \frac{(C)(D)}{(A)(B)}$$

$$\Delta G = 0 =$$

$$\Delta G^* = -RT \ln \frac{(C)(D)}{(A)(B)} = -RT \ln K = -RT \times 2,303 \log K, \Delta G^* = -1.42 \log K$$

Diffusion sørger også for at molekyler tit støder sammen indenfor kort afstand. Enzymer diffunderer langsommere end små molekyler, derfor vil enzymerne støde sammen med substrater oftere alt afhængig af koncentrationen af substrater. Molekylernes termiske bevægelser sørger for at substratet og enzymet

mødes. De danner svage bindinger indtil termiske bevægelser gør at de dissocierer igen. Disse svage bindinger kan være hydrogen, van der Waals eller elektrostatiske bindinger. Hvis enzymet og substratet ikke passer sammen, vil der kun danne få bindinger, og enzymet og substratet vil hurtigt gå fra hinanden igen. Det er også med til at forhindre en mismatch. Men hvis de passer sammen, forbliver de sammen og reaktionen kan ske.

Koncentration af substratet er proportional med koncentration af produkter. Hvis enzymer sætter sig på alle de substrater de kan, vil der opnå en V_{max} , hvor der ikke mere kan danne produkter og alle enzymer er optaget. V_{max} (turnover number) er typisk 1000 pr. sek, men kan også være 1 til 10.000. V_{max} vil stige, hvis der er flere enzymer. Den beskriver hastigheden af reaktionen ved et givent enzym mængde.

Initialhastigheden er den hastighed, hvormed reaktionen forløber i starten. Til tiden 0 er produkthæmningen minimal og substrat-tilbuddet maksimalt. Derfor er det her, at omsætningshastigheden er størst. Med tiden stiger produkt-hæmningen og substratet bliver forbrugt. Til slut vil der indstille sig en ligevægt mellem substrat og produkt. Jo højere substrat koncentration, desto højere initialhastighed.

Michaelis konstant K_M er et mål for hvor tæt substratet er bundet. Hvis der er lav værdi af K_M , betyder det at substratet er meget fast bundet. Et enzyms K_M er koncentration af substratet som enzymet arbejder på halvdelen af sin max hastighed. Vi siger også, at K_M angiver enzymets affinitet for substratet – jo lavere K_M er jo højere er affiniteten. Enzymerne skal finde deres substrater for at virke. Desuden afhænger virkningen af hvor godt substratet bindes, hvor hurtigt produktet bliver dannet og hvor hurtigt forlader enzymet. Det er vigtigt at vide, når enzymet nedsætter aktiveringsenergi den ene vej, vil det også gøre det den anden vej. ΔG^* og ligevægten vil være uændret.

Steady state er ikke samme som ligevægt. Reaktionen kan være i steady state, hvilket betyder at koncentrationen af enzym-substrat komplekset, enzymet og hastigheden holdes konstant og indtræder i begyndelsen af reaktionen (netto produkt dannelse). Ligevægten beskriver derimod at forholdet mellem substrat og produkt er konstant og indtræder i slutningen af reaktionen (ingen netto produkt dannelse).

Mange enzymatiske processer i cellen kræver energitilførsel for at kunne finde sted. Energien kommer fra oplagringsmolekyler. F.eks. aktiverede carrier f.eks. ATP, der bærer på en fosfat gruppe. Hydrolyse medfører, at fosfatgruppen rives fra og danner ADP og uorganisk P, som er energi favorable. Fosforyleringen af ADP kan danne ATP igen, som er energi ufavorable. Når et molekyle bliver fosforyleret, kalder man det for fosforylations reaktion. Disse reaktioner har mange funktioner: de aktiverer substrater, transskriptionen og leder signalet i nerver.

De andre aktiverede carriere er NAD og NADP, de bærer energien og former 2 energi-rige elektroner og en proton og omdannes til NADH og NADPH (reducerede). Den fosfatgruppe på NADPH giver den en anden form end NADH, der kan binde til enzymets aktive site og kan bringe elektronen et andet sted end NADH. Bliver brugt i biosyntetiske reaktioner som fedtsyresyntese og i detoxifikations reaktioner. De er typisk med i redoxreaktioner. Kondensationen er energi ufavorabel, og hydrolyse er energi favorabel.

Huskeregul:

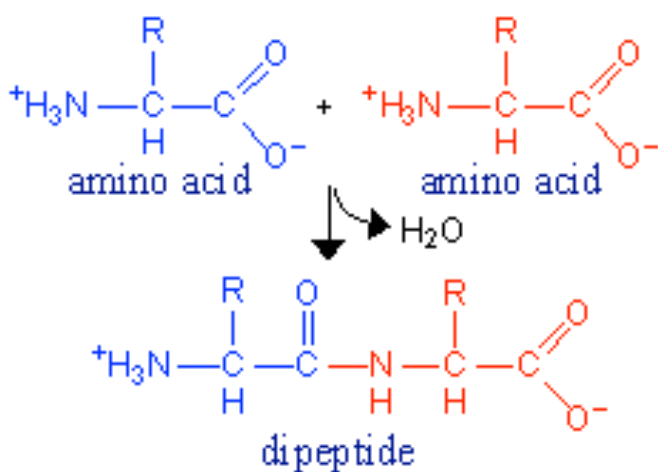
1. enzymer ændrer hastigheden af reaktioner
2. enzymer konsumeres ikke i reaktionerne
3. enzymer ændrer ikke ligevægten af reaktionen
4. enzymer ændrer ikke ΔG

PROTEINETS STRUKTUR OG FUNKTION

Proteiner har mange funktioner:

- Transportmolekyler
- Messenger
- Hormoner
- Receptorer
- Byggemateriale – proteinfibre i hud, sener og knoglernes bindevæv

Et protein er en lang kæde af aminosyrer, hver af dem er bundet sammen via kovalente bindinger. De kaldes for polypeptider, hvis kæder består af over 50 aminosyrer, mens større molekyler kaldes for proteiner.



Et protein består af polypeptid-bagstreng med sidekæde, ofte symboliserer med et R, som enten har en hydrofobisk eller hydrofilisk side. Proteinets har en N-terminus, hvor der sidder en aminogruppe, og en C-terminus, hvor der sidder en carboxylsyre. Man læser altid fra N til C. De foldede sider er bundet sammen via nonkovalente bindinger. De nonkovalente bindinger involverer hydrogen, ion eller/og van der Waals bindinger. Jo flere nonkovalente bindinger, jo mere stabilt fold har proteinet, da

nonkovalente bindinger er svage bindinger. De ikke-polære folder vender indad, således de polære folder vender ud mod cytosol (vandig). Hvis det er polære grupper der vender indad, binder polære molekyler sammen via hydrogenbindinger.

Hvert protein har en 3- dimensional struktur. Proteinets folder altid i den side hvor der bliver brugt mindst den frie energi (G). Hvis proteinet har en forkert konformation (fold), kan det udvikle til forskellige sygdomme eller ændre sin funktion, og i de fleste tilfælde blive degenereret. Det sker ved store forandringer ved temperatur, pH eller sammensætningen. Sygdomme som Alzheimer, Huntington, Prioner, Kogalskab og Creutzfeldt-jakob skyldes protein aggregater (ophobning), dvs. forkerte konformationer.

Proteinets bliver foldet korrekt ved hjælp af molekyllære chaperones. De hjælper proteiner med at folde på en måde, således der bliver brugt mindst frie energi. Et andet protein er disulfid isomerase, der hjælper med

korrekt foldning.

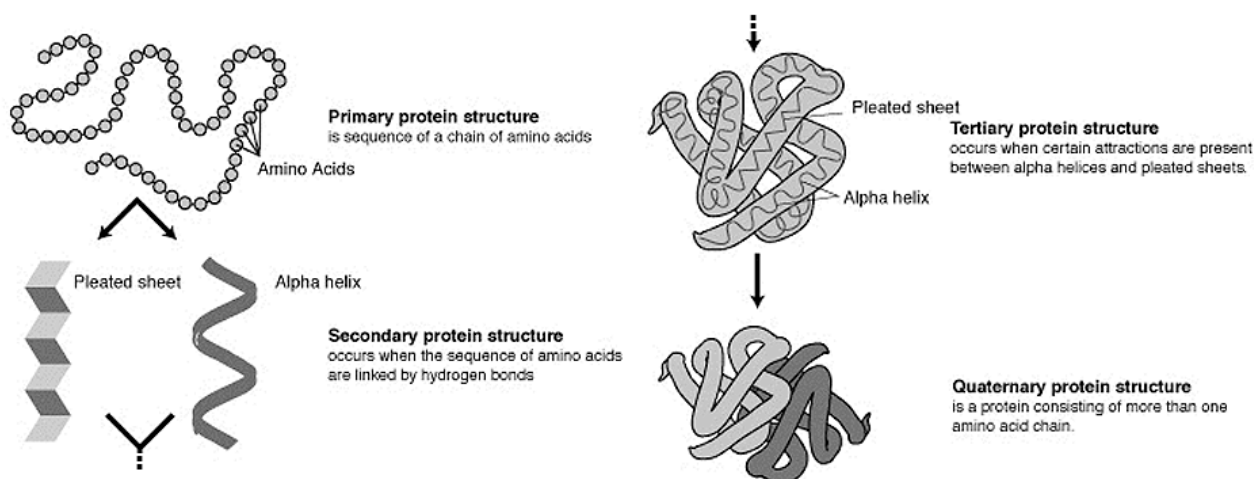
Man kan identificere proteiner via NMR-spektroskopi. Hver af de aminosyrer i proteinerne har et centralt kulstofatom, som har bundet en aminogruppe, en karboxylgruppe og et hydrogenatom. Den biologiske funktion af proteinet afhænger af de kemiske egenskaber på dets overflade og hvordan det binder til de andre molekyler.

Der findes følgende proteiner:

- Globulær proteiner – runde proteiner (hæmoglobin, immunglobuliner, serin proteaser)
- Fibrøse proteiner – kroppens byggemateriale og uopløselige i vand, kan forme filamenter, alfa-keratin.
- Phosphorcarriere HPr – transport protein som transporterer sukker i bakterien. Består af 88 aminosyrer i længden, indeholder både alfa-helix og beta-sheets.

Beta-sheets laver hydrogenbindinger mellem C=O og N-H molekylerne i polypeptid-bagstreng. I alfa-helix er der hydrogenbinding hver 4. polypeptid, lænker C=O til N-H, dvs. den drejer hver 3.6 aminosyre. Den eneste aminosyre der ikke kan lave hydrogen bindinger, er polin, da den mangler en H. Når 2 alfa-helix snører rundt om hinanden, danner de en coiled-coil, hvor de begge har hydrofobe sider vendende indad, dvs. væk fra cytosolen. Denne struktur findes bl.a. i alfa-keratin i huden og hår m.m..

Fibrøse proteiner findes især udenfor cellen, hvor de former ekstracellulær matrix, der hjælper cellerne med at binde til hinanden for at danne væv. Collagen består af 3 polypeptider, hver indeholder en upolær aminosyre glycine på 3. plads. Den får polypeptiderne til at snøre rundt og danner en lang regulær triple-helix.



Det er rækkefølge af aminosyrer i polypeptidkæden som bestemmer proteinernes 3-dimensionale struktur og aktivitet. Denne rækkefølge kaldes for proteinernes primærstruktur. De fleste proteiner har områder, hvor polypeptidkæden enten danner spiraler (alfa-helixer) eller ligger i parallelle folder (beta-foldede plader). Disse mønstre skyldes at polypeptidkæden holdes i en bestemt position pga. hydrogenbindinger mellem atomgrupperne i bagstrengen. Den proteinstruktur, som skyldes hydrogenbindinger mellem atomer i bagstrengen, kaldes for proteinernes sekundærstruktur. Proteinkæden med sekundærstruktur kan foldes og

formes yderligere til globulære enheder og er uafhængig af resten af polypeptidkæden, der kaldes et domain. Det er sidekæderne i polypeptidkæden, som afgør proteinernes tertiærstruktur. Mange af proteiner i legemet har en endnu mere kompliceret form, idet de er sammensat af flere polypeptidkæder, subunits, som har hver sin tertiærstruktur. Den 3- dimensionale sammenhæng mellem subunits bestemmer proteinets kvartiærstruktur.

Hæmoglobin indeholder 2 alfa-globin og 2 beta-globin subunits. Hver af de 4 polypeptider indeholder en hæm gruppe, og kan derfor bærer 4 molekyler af oxygen.

Proteinets andre egenskaber er at binde sig til andre molekyler, dvs. proteinet har en ligand til at danne nonkovalente bindinger til andre molekyler. Det er det andet proteins binding-site, som liganden binder sig til. Den skal passe præcis til den binding-site, ligesom hånd i handske og ændre proteinets form.

Immunglobuliner er også proteiner, antistoffer, som er en del af immunforsvaret, og er med til at bekæmpe infektioner ved at genkende antigener (proteiner/kulhydrater) på fremmede indtrængende stoffer og inaktiverer antigener og sætte mærke på dem til at blive destrueret af andre antistoffer. Ved bindingen inaktiveres bakterien bl.a. ved aktivering af komplementsystemet. De består af 2 tunge og 2 lette polypeptidkæder, der er sat sammen via disulfid bindinger. Hver kæde består flere forskellige domainer. De danner en Y-form, og kan således binde 2 antigener. Antistoffer produceres af B-celler.

Der er 5 klasser:

1. IgG – hyppigt antistof, findes i blod og andre vævsvæske, kan passere placenta, kan aktivere komplementsystemet. Der er 4 underklasser: IgG 1-4
2. IgM – første antistof, der udskilles ved en immunrespons, har 10 antigen-bindingssteder, der medfører effektiv binding til multivalente antigener.
3. IgA – findes i blod, men primært i mucus (slim), mælk og andre sekreter som dimer. Aktivere ikke komplementsystemet.
4. IgD – funktion ukendt
5. IgE – vigtigt mod parasitter, medvirkende til allergiske reaktioner, aktiverer ikke komplement.

Enzymer er også proteiner, som er med at fremme reaktioner hurtigere mellem stoffer, dvs. hastigheden øges og aktivering-energien mindskes. De fungerer som katalysatorer. De stoffer der påvirkes ved enzym, kaldes enzymets substrat, og kan omdannes til produkt eller være med til at bryde kovalente bindinger. Enzymerne har stor grad af specificitet, dvs. at hvert enzym kan genkende sit substrat, og et enzym katalyserer ofte kun en bestemt reaktion. Dette skyldes enzymets specielle form, som bevirker at molekylet har et område, det aktiv site, som passer lige præcis til substratets form.

Mange enzymer er allosterisk, dvs. de kan adoptere 2 eller mere konformationer og dermed deres aktivitet kan blive reguleret ved at skifte fra den ene konformation til den anden. Det gælder også for proteiner og receptor. Enzymet kan have 2 forskellige bindingsite. Der er også nogle reaktionshæmmere der bindes til enzymet i et område uden for det aktiv site, som forandrer enzymets form, så substratmolekylerne ikke kan

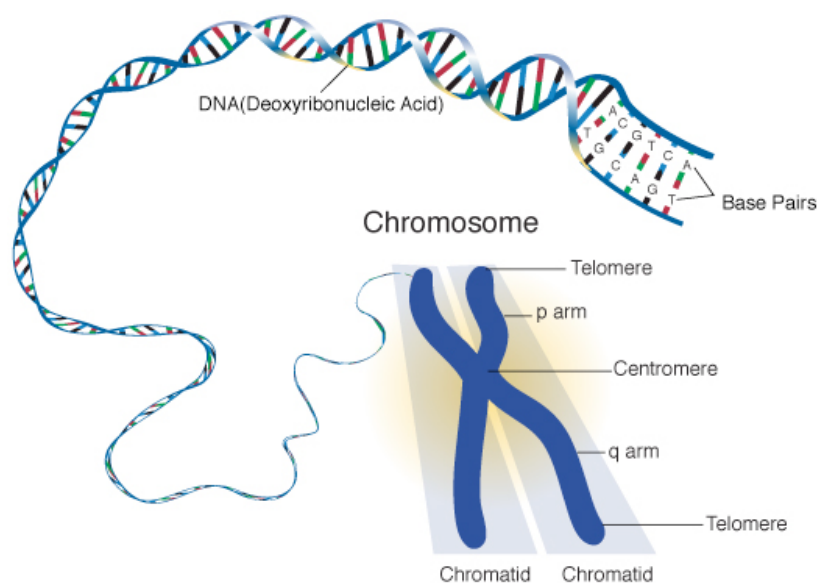
længere bindes til det aktiv site. Det er negativ regulering. Positiv regulering betyder at enzymets aktivitet er reguleret en anden vej end hæmmet. F.eks. reaktionen hvor der bliver syntetiseret mere ATP fra ADP.

DNA OG KROMOSOMER

Det humane genom udgør ca. 3.200.000.000 nukleotider; 2 meter DNA streng pr. celle der er pakket af proteinerne i mere kompakt form. Denne struktur kaldes for kromatin.

Der er normalt 46 kromosomer der kan deles op i 23 par, som hver især har et kromosom fra far (paternal) og et fra mor (maternal). Disse kromosomer kaldes for homologe kromosomer. Et enkelt af de 23 par er ikke-homologt og består af XX hvis hunkøn og XY hvis hankøn og kaldes for sex-kromosomer.

Kromosomer indeholder DNA og proteiner, som blev opdaget i 1900-tallet som trådlignende struktur i kernen af eukaryotiske celler, som bliver synlige når cellen begynder at dele sig.



Et gen er opbygget af DNA, og er en biologisk enhed for information om en given arvelig egenskab hos en levende organisme. Hvert gen koder for et funktionelt RNA molekyle, hvor RNA-molekylet enten kan være et som koder for syntesen af en bestemt polypeptidkæde (mRNA), eller det kan være tRNA, rRNA, snRNA eller scRNA (der indgår i små nukleære ribonukleinpartikler).

DNA indeholder 2 lange polynukleotider kendt som DNA kæder. Hver kæde består af 4 typer af nukleotider, og de 2 kæder er sat sammen ved hjælp af hydrogenbindinger mellem baserne. Deoxyribonukleotid i DNA er sukkeret der hæftesig på en fosfatgruppe. En nitrogenholdig base kan være adenine (A), cytosine (C), guanine (G) eller thymine (T). De er lænket til sukker-fosfat bagstreng ved hjælp af kovalente bindinger. Nukleotidkæder er også polariseret. Når de 2 kæder er lænket sammen ved hjælp af hydrogenbindinger, løber de antiparallel med hinanden. Man kalder enderne for 3-ende hvor der sidder hydroxylgruppe af

sukkeret (en hul) og 5-ende, hvor der sidder en fosfat gruppe (en knob) og man læser altid fra 5 til 3. T vil altid danne par med A og G altid med C. Dvs. hver sekvens af nukleotid er komplementær med den anden sekvens af nukleotid.

A og G er purine (5-ring hæftet på 6-ring), dvs. de består af 2 ringe, og C og T er pyrimidine (6-ring), dvs. de består af en ring. Når helixen drejer sig rundt pr. gang, indeholder den 10 basepar. Som sagt består baserne af aromatiske ringstrukturer. I helixstrukturen ligger de aromatiske ringe som i en stak. Dette bidrager væsentligt til stabiliteten af helixstrukturen.

For at forme et funktionelt kromosom, må DNA molekylet kunne kopiere sig selv, og dele til 2 datterceller. Man kalder processen for celleyklus. En af faserne kaldes for interfase, hvor kromosomerne er lang tynd tråd af DNA i kernen og kan ikke ses i mikroskopet.

Der er 1. type af nukleotidsekvens der fungerer som replikation, origen, som er det sted, hvor duplikation starter i DNA. En 2. sekvens former telomere i hver ende af kromosomet. Telomere indeholder en gentagende nukleotid, der sørger for at enderne også bliver kopieret. De sørger også for at kromosomet ikke bliver misforstået som et knækket DNA af cellen til behov for reparationen. Som celleyklusen fortsætter, fortættes DNA op til mere en kompakt struktur, mitotisk kromosomer, som kan ses i mikroskopet. Her er også en 3. type af DNA, centromere, der sørger for celledelingen hvor hver kopi af duplikeret kromosomer havner i datterceller.

I interfase er kromosomer velorganiseret i nukleus. Nuklear envelop består af 2 membraner. De er støttet af 2 netværk af proteinfilamenter: en kaldes nuklear lamina der former tyndt lag, støtter den inderste membran; den anden er mindre organiseret og omgiver den ydre membran. Disse membraner er punkteret af porer, der er permeable for forskellige stoffer fra cytosol. Inden i kernen er DNA, RNA og proteiner organiseret. Interfasen finder altid sted i en bestemt region af nukleus, så de forskellige kromosomer ikke bliver mikset med hinanden.

Nukleolus ses tydeligt som en afgrænsning i kernen. Hovedbestanddele udgøres af en granulær komponent, fibrillære centre og en tæt fibrillær komponent. Her findes de områder der koder for ribosomalt RNA og hvor RNAet bliver syntetiseret og binder r-proteiner til ribosomale subunits, cellens protein-syntese maskine. De proteiner der pakker kromosomerne kan deles op i to klasser: histoner (udgør hovedmængden af protein i kromatin og er hovedansvarlige for pakningen af DNA idet de binder sig til dette) og nonhistoner (omfatter bl.a. DNA- og RNA-polymeraser og gen-regulatoriske proteiner). Komplekset af begge former for protein med DNA kaldes kromatin. Nukleosomer indeholder 200 nukleotider af DNA pakket med proteiner af 8 histoner. Det er 2 molekyler af hver H2A, H2B, H3 og H4 og en dobbeltstrenget DNA af ca. 146 nukleotider par der er pakket rundt omkring histon octamer mens filamentet imellem nukleosomerne varierer i længde, men ofte er ca. 50 basepar langt. Hver af nukleosom kan separeres fra DNA kæde (op til 80 nukleotid par) med nuklease. Alle 4 histoner er proteiner med aminosyrer lysine og arginine (basisk polære aminosyrer). Disse positive ladede aminosyrer hjælper med at pakke DNA tæt vha. de negative ladede sukker-fosfat

bagstrengen af DNA. Der er også en 5. histon, H1, der trækker nukleosomerne tæt sammen (30-nm fiber) i en zigzag model i form af solenoider.

I interfase findes både kondenseret kromatin (ikke aktivt) og ikke-kondenseret kromatin (aktivt). Det mest kondenserede kromatin er heterokromatin, der udgør ca. 10 % og i humanceller findes det typisk i centromer og telomer regionerne. Indeholder som regel ikke gener, dvs. de er så tæt pakket, at de bliver resistente for at blive udtrykt. Heterokromatin ligger hovedsagelig rundt i kanten af kernen og lidt som klumper i midten, farves basofilt. Resten er eukromatin, som er transskriptiv aktiv. De fleste kromosomer indeholder begge slags.

Et specialtilfælde mht. heterokromatin er XX kromosomerne hvor det ene kromosom inaktiveres fuldstændigt som heterokromatin. Inaktivering sker tidligt i fosterudvikling, så individet ender med en mosaik af de 2 slags celler.

REPLIKATION, REPARATION OF REKOMBINATION

Nøjagtig replikation af DNA er en absolut forudsætning. Det fantastiske ved DNA-dobbeltstrengen er, at hver streng kan bruges til at lave en kopi af den anden. Duplikationsproces kaldes for DNA replikation, som må forekomme før cellen kan producere 2 datterceller.

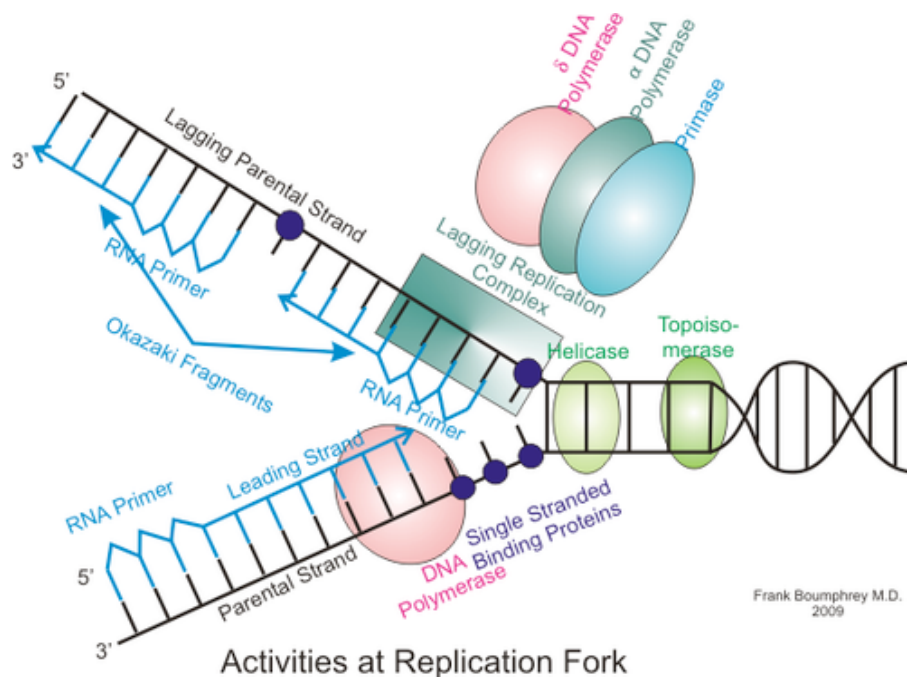
Vi ved, at hver streng af DNA dobbelt-helix indeholder sekvenser af nukleotider der er komplementær til de nukleotider, der er på den anden streng. Hver streng kan fungere som template, en syntese for nye komplementær streng, der gør cellen i stand til at replikere.

DNA replikationen starter med, at et initiator-protein binder til DNA, og adskiller de 2 strenge fra hinanden ved at bryde hydrogenbindinger. Det område, hvor DNA strenge går fra hinanden, kaldes for replikations origins og de er markeret af en særlig sekvens af nukleotider. Der er ikke så mange hydrogen bindinger mellem A og T baser som mellem G og C, derfor er A-T-basepar lettere at bryde fra hinanden, og replikations origin ofte er fundet ved disse baser. Replikations origin former 2 replikation-forks og bevæger sig begge retninger, dvs. replikationen er "bidirectional". Der brydes ca. 1000 nucleotidpar for bakterier og 100 for mennesket. Det humane genom har ca. 10.000 origins, mens bakterier kun har 1.

DNA polymerase er et enzym der syntetiserer en ny DNA streng ved at bruge den gamle streng som template fra 5'ende til 3'ende. Dette enzym katalyserer tilføjelse af nukleotider ved 3'ende af voksende DNA ved at forme en fosfodiester-binding mellem den gamle 3'ende og 5'ende af fosfatgruppe på den ny streng. Hydrolyse af en fosfoanhydridbinding i deoxyribonukleotid trifosfat bidrager med energien, så deoxyribonukleotid-molekyler kan sættes sammen via kondensationsreaktion og frigør pyrofosfat. DNA polymerase bliver ved at være på DNA og bevæger langs strengen og tilfører nukleotider.

Replikationen er asymmetri, dvs. på den ene template går retning fra 3'ende til 5'ende (lagging streng), og i den anden template går fra 5'ende til 3'ende (leading streng). Lagging streng vokser ved at DNA polymerase arbejder baglæns ved at sætte små fragmenter på, kaldes Okazaki fragments. DNA-polymerase er meget præcis da det kun laver fejl hver 107 nukleotidpar, det kopier. DNA-polymerase kan finde fejlen ved hjælp af en error-correcting activity kaldet proofreading. Før det sætter en ny nukleotid på, tjekker den tidlige base om det er den rigtig base. Hvis basen viser sig at være den ikke rigtig, sørger det for at fjerne den og erstatter den med den rigtig base, før det går videre med at sætte en ny base langs streng. Dette kaldes en 3'-5' exonuklease aktivitet, og er kun muligt ved retningen 5'ende til 3'ende, og ikke omvendt.

DNA-polymerase kan forlænge en streng idet det er i stand til at tilføje nukleotiderne til 3'enden af denne, men ikke starte et nyt. Igangsætningen af syntesen katalyseres af enzymet DNA-primase, der er i stand til at syntetisere ganske korte RNA-fragmenter med DNA som skabelon, og som kan starte syntesen fra bunden dvs. direkte fra begyndelsen ved sammenbinding af de 2 første nukleotider i molekylet. Så snart en RNA-primer er dannet, fortsætter DNA-polymerase med at tilføje nukleotider til 3'enden af primeren. RNA-stykkerne fjernes og erstattes med DNA af DNA-repair polymerase, hvorefter Okazaki-fragmenterne bindes sammen af DNA-ligase. Det er de 3 proteiner der erstatter RNA-primers med DNA, er nuklease, repair polymerase og ligase. Der findes endnu et protein, helicase, der bruger energi fra ATP hydrolyse til at sætte farten op, når helixen går fra hinanden. For at DNA-replikationen kan starte, er det vigtigt at DNA template er afsløret til polymerase.



Endnu en komponent af replikationsmaskine – single-strand binding protein – sætter sig på DNA template og dermed med til at forhindre, at baserne finder sammen igen, og lukker for replikationen. Endnu et protein, sliding clamp, sørger for at polymerasen bliver ved at være på DNA-template. På lagging streng frigør sliding clamp polymerasen hver gang Okazaki fragment er fuldført.

Endnu en gruppe af enzymer er knyttet til replikationen af DNA, nemlig topoisomerase I og II, der er lokaliseret lige foran replikations fork og her fremkalder forbigående brud i den ene eller begge DNA-strengene. Formålet med dette er at lette opsnoningen af DNA-helixen, når de 2 strenge skal gå fra hinanden under replikationsprocessen. Under opsnoningen roteres DNA foran replikations fork. Det er kun nødvendigt at rotere stykket frem til det næste klip i DNA-molekylet, foretaget af topoisomerasen. Uden denne ville hele DNA-strengen foran replikations fork skulle roteres, hvilket ville være meget energikrævende og forsinke replikationsprocessen.

Telomerase adderer repetitive sekvenser til enden, så der kan påsættes endnu en RNA primer. Sekvenserne signalerer også, at det er et rigtigt kromosom ende og ikke noget knækket DNA. Hvis fejlen alligevel skulle forekomme, har cellen et backup system – DNA mismatch repair – hvis opgave er at rette disse fejl. DNA-polymerasen laver kun ca. 1 fejl pr. 10.000.000. Den retter ca. 99% af fejl. DNA mismatch repair fjerner en af strengene hvor der er fejlen, og syntetiserer en ny streng. Det er altid den ny streng der bliver fjernet. Ved at fjerne den gamle vil man beskytte fejlen end fjerne den. Hvis skaden ikke repareres i den ny-syntetiserede streng inden replikationen, fås i det ene tilfælde en mutation med nukleotidændring og i dette tilfælde en deletion.

Mutationer kan evolutionært set være en fordel. For det enkelte individ kan det være en stor ulempe. En lille fejl kan have store konsekvenser. En nukleotid forskel kan give en proteinforskel, der giver seglcelle anæmi. Ultraviolet stråler fra solen kan skade DNA ved at danne en kovalentbinding mellem thymine baser, således der dannes thymine dimer. Thymine dimer kan hæmme replikationen og kan udvikle hudskader inkl. cancer. Reparation af DNA skader er afhængige af om de kan genkendes som unaturlige, således at det skadede område på den ene DNA-streng kan fjernes, resyntetiseres og liggeres.

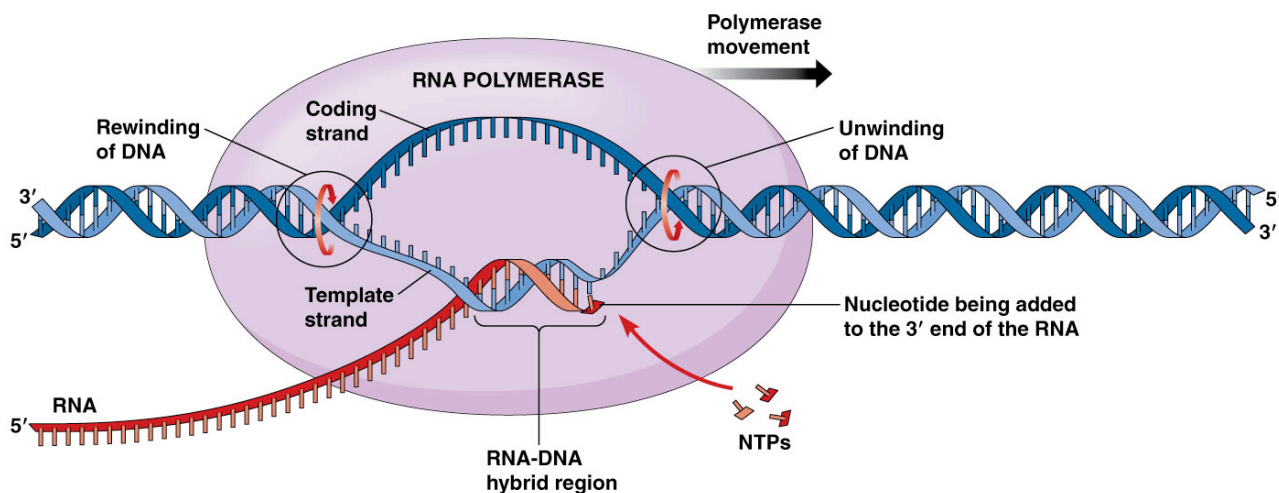
FRA DNA TIL PROTEIN

Det er RNA-sekvenser af kort DNA, der bliver brugt som templat til at lave syntese af proteiner. Fra DNA til RNA kaldes processen for transskription. RNA er også ligesom DNA en lineær polymer bestående af 4 nukleotider lænket sammen ved hjælp af fosfodiester-bindinger. RNA er forskellige fra DNA ved at det indeholder ribose i stedet deoxyribose. Det indeholder urasil U i stedet for thymine T, der også ligesom T danner hydrogenbindinger med A. Det er enkelt strengen.

Når der sker transskriptionen vil RNA strengen være præcis komplementær til DNA strengen, hvor nukleotider enkeltvis bliver tilføjet komplementær til nukleotider på DNA.

RNA-polymerasen kører langs DNA og løsner helixen fra hinanden forfra (en af DNA-streng fungerer som templat) og afslører nukleotider til RNA-subunits, der sættes på komplementært uden at der dannes hydrogenbindinger. Da RNA-polymerasen kører langs DNA, løsriver RNA-strengen fra DNA, og helixen samles igen bagfra. Derfor kan der dannes mange RNA sekvenser inden for kort tid på samme gen. RNA strengen er derfor heller ikke lang, gennemsnitlig ca. 1500 nukleotidpar, hvor DNA kan være op til 250 mil.

nukleotidpar. RNA-polymerase behøver ikke en primer til at starte en RNA-kæde. RNA-transskription er heller ikke hele tiden korrekt, og konsekvenserne er her mindre. Det laver ca. fejlen hver 104 nukleotid hvor i DNA laves hver 107 nukleotider.



Der findes forskellige RNA:

- mRNA, messenger RNA – bærer informationer fra DNA om et gen og indeholder koden for et polypeptid
- tRNA, transfer RNA – oversætter mRNA til protein og rRNA
- Ribosomal RNA – findes i ribosomerne (ribosomer er cellens proteinfabrik)

Promotor er det sted, hvor RNA-polymerase kan binde til DNA. Den indeholder en sekvens af nukleotider, der indikerer starten af proteinsyntese. Kæden fortsætter til den møder en terminator, hvor polymerasen går af, og frigør DNA-templat. RNA-strengen er lavet. Endeligt kan transskriptionen foregå 2 gange, da der er 2 DNA-strengene, men transskriptionen går kun fra 5'ende til 3'ende.

Før det lavede RNA skal ud af kernen for at indgå i proteinsyntese, skal det igennem nogle processer:

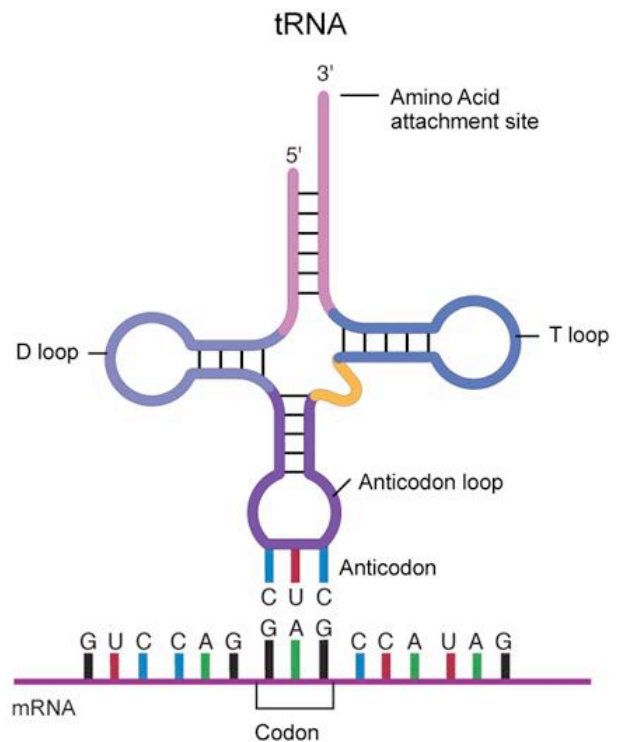
- RNA-capping hvor der bliver tilføjet en guanine nukleotid med en methylgruppe ved 5'ende (cap)
- Polyadenylation hvor den 3'ende bliver trimmet med et enzym og med et andet enzym sat gentagende serier af adenine nukleotider sammen (a poly A-tail)

Disse processer er med til at stabilisere RNA. Men der skal også andre processer til. I mRNA er der nogle ikke-kodende sekvenser kaldes introner, og udtrykt sekvenser kaldes exoner, som normalt er kortere end introner. Introner kan være lange op til 80 til 10.000 nukleotider. Før man kan lave RNA til mRNA, skal intronerne fjernes og sætte exonerne sammen. I hver intron er der en bestemt nukleotid, som er mærket for elimination. Under splejsningen fjernes intron-stykker formidlet af et splejsningskompleks, betegnet et spliceosom. Der er small nuclear RNAs (snRNAs) der binder sig med nogle proteiner for at forme small nuclear ribonucleoprotein particles (snRNPs). SnRNPs er i stand til at finde det rigtige 3' og 5' sted for

kløvning og herefter få forbundet enderne korrekt efter at intron-delen er klippet ud. At fjerne introner har sin fordel. Det gør muligt at rekombinere exonerne af forskellige gener, og dermed nye proteiner.

Den færdig mRNA skal ud til cytosolen gennem nuclear pore complex som genkender og transportere kun de færdige mRNA. mRNA binder sig til nuclear transport receptor som guider transporten gennem poren. De resterende RNA bliver destrueret i kernen til nukleotider af cellulær RNases. De forskellige mRNA har forskellige livstider. Det er bestemt af en bestemt region mellem 3'ende og poly A-tail.

Den nukleotidsekvens af mRNA bliver translateret ind til aminosyresekvens af et protein ved hjælp af genetisk kode. 3 nukleotider i RNA kaldes for en codon, og hver af dem koder for en bestemt aminosyre. Pga. 4 forskellige nukleotider er der $4 \times 4 \times 4 = 64$ forskellige codoner der koder for 20 aminosyrer. Aminosyren kan genkende helt bestemte kombinationer af 3 baser ved hjælp af tRNA, der er ca. 80 nukleotider lang. Den har en kløverbladsstruktur. Selvom de forskellige tRNA-molekyler har forskellige sekvenser, dannes de involverede baseparringer i alle tilfælde dette kløverblad. Der er 4 baseparringsområder. Det er i 3'ende at den respektive aminosyre bindes, mens anticodon-sekvensen findes i den anden ende. Anticodon er den sekvens, der kan baseparre med codon-sekvensen i mRNA.



Gruppen af enzymer der er med til at binde de forskellige aminosyrer til deres respektive tRNA-molekyler kaldes aminoacyl-tRNA-syntetaser. Der bliver brugt energien fra hydrolysen af ATP som så senere bliver brugt til at lænke aminosyrer sammen til voksende polypeptidkæden.

Ribosomerne udgør cellens proteinfabrik. Hvert ribosom er bygget op af forskellige ribosomal RNA og flere end 50 forskellige proteiner til 2 enheder, subunits. Der er en stor subunit og en lille. Den lille matcher tRNA til codon af mRNA mens den store syntetiserer polypeptidkæden. Hver ribosom indeholder 3 sites for tRNA: A, E og P-sites.

Der dannes først et pre-initieringskompleks ved hjælp af den lille subunit. Dette kompleks skal så finde startcodon i mRNA. Denne genkendes af nogle proteiner der hjælper til med at binde pre-initieringskomplekset til mRNA. Herefter glider pre-initieringskomplekset langs mRNA og stopper i de fleste tilfælde første gang der møder AUG. Når det ribosomale initieringskompleks er korrekt anbragt på mRNA, er det parat til den trinvis tilførsel af aminosyrer.

Som ved initiering af translationen kræver der også ved forlængelsen at en speciel gruppe af proteiner deltager. Det drejer sig her om de såkaldte elongeringsfaktorer. Reaktionen er også her en energikrævende proces. Efter starten på translationen er P-site besat af Met-tRNA der er bundet til AUG i mRNA. Det første trin i forlængelsen af polypeptidkæden er at den anden codon i mRNA som findes på A-site i ribosomer, bestemmer, hvilken tRNA der skal bindes mRNA på dette sted. Hvis denne codon f.eks. er CGA, bindes Arg-tRNA. Dernæst skal der dannes en peptidbinding mellem Met og Arg. Det sker ved, at et enzym peptidyl transferase flytter Met fra dets tRNA i P-sites til Arg-tRNA i A-site og binder Met og Arg sammen. På P-site findes nu en tRNA uden en aminosyre bundet, mens der på A-site findes et dipeptid, der er bundet til en tRNA i dette tilfælde altså Met-Arg-tRNA. I det næste trin, som ofte benævnes translokering, flyttes mRNA, så den del, der sidder på A-site og som er bundet til et tRNA med et dipeptid flyttes til P-site på ribosomet. Denne proces gentager sig selv igen og igen, indtil en stopcodon nås, og det sidste trin i polypeptid dannelsen er nået.

Det sidste trin i proteinsyntesen er translationsstop eller translationsterminering. Igen kræves der at specielle proteiner medvirker. Disse proteiner benævnes release factors, er med til at genkende stopcodons i mRNA og med til at frigøre den netop dannede polypeptidkæde fra tRNA. Desuden er faktorerne også med til at frigøre de ribosomale subunits mRNA og den sidste tRNA fra hinanden, så de alle er klar til en ny runde i proteinsyntesen.

KONTROL AF GENUDTRYK

Hver celle har det samme genom, men generne er udtrykt forskellige:

- Nerveceller
- Muskelceller
- Lymfeceller
- M.m.

Sagt på andre ord, celler bærer ikke forskellige gener, men de er udtrykt forskellige.

Mange celler kan ændre genudtryk alt afhængige af ekstracellulære signaler. F.eks. hormonet glukokortikoid bliver frigjort ved sult eller sportsudøvelse, der får leveren til at producere glukose ud fra aminosyren tyrosine ved hjælp af øget mængde af enzym tyrosine aminotransferase. Når der ikke mere er hormonet, produktionen går ned til det normale igen. Mens i fedtceller vil produktionen af tyrosine aminotransferase forblive reduceret. Det vil sige, forskellige celler reagerer forskelligt på forskellige signaler.

Ved promotor-region hvor enzymet RNA-polymerase binder sig til DNA'et, er der placeret et gen der er med til at kontrollere transskriptionen. Der er også regulerende DNA-sekvenser, der tænder eller slukker genet. Men de arbejder ikke alene. De bliver genkendt af genregulerende proteiner, der binder sig til DNA. Det er kombinationen af de to, der er med til at kontrollere transskriptionen. Genregulerende proteiner indeholder DNA-binding motifs. Den består af 3 alfa-helixer, homeodomain, the zinc finger og leucine zipper.

Når et regulerende protein binder sig til nukleotidsekvens, operator, blokerer det adgang til RNA-polymerase til promotor. Det forhindrer transskriptionen af operon (et sæt af gener der er transskriberet i mRNA, kun i bakterier). Disse regulerende proteiner er kendt som repressor.

Hvis det drejer sig om ikke-regulerende gen, kaldes det for konstitutivt gen hvortil de repetitive DNA-sekvenser er lokaliseret der indeholder permanent inaktiveret DNA. Repressor som navnet siger, slukker for genudtryk, dvs. undertrykker dem. Når genet bliver aktiveret, kaldes proteinet for aktivator. F.eks. lac operon i E. coli er kontrolleret af både lac repressor og det aktiveret protein CAP. Lac protein koder for proteiner til import og fordøjer disakkarid laktose. Ved fravær af glukose er genet tændt af CAP for at få carbon, inkl. laktose, som sammen med cAMP stimulerer transskriptionen. Uden laktose vil genet være slukket pga. lac repressor der konstant er bundet til operator. Så kan RNA-polymerasen ikke køre forbi. Det vil sige at kun når laktose er tilstede, at der tændes for generne, der er med i laktoseomsætningen til glukose og galaktose. Laktose fungerer som aktivator, der binder sig til repressoren og derved fjerner den fra operatoren. Hvis der er glukose til stede med laktose, vil cAMP koncentrationen vil falde i cellerne, og transskription af lac operon er lidt effektiv.

Regulering af transskriptioner er forskellige fra bakterier på 4 områder:

- Bakterier indeholder kun en RNA-polymerase, hvor mennesket indeholder RNA-polymerase I, II og III. De er ansvarlige for forskellige typer af transskriptioner af gener. I og III transskriberer gener der koder for tRNA, rRNA og små RNA, der spiller katalytisk rolle i cellen. II spiller hovedrollen i de fleste gener, der koder for proteiner, dvs. mRNA.
- Hos mennesket er RNA-polymerase i modsætning til bakterien nødt til at få hjælp fra proteiner, transkription faktorer, for at binde sig med promotoren.
- Selvom aktivator og repressor er bundet til DNA lang væk fra promotor, kan de spille en rolle i transskriptionen, hvorimod hos bakterien er regulerende protein bundet til DNA tæt på RNA-polymerasen.
- DNA er pakket tæt ind som nukleosom og danner kromatinstruktur.

Transskriptionsprocessen starter med, at RNA-polymerase binder sig til en DNA-sekvens, betegnet en promotor, som er lokaliseret i nærheden af den region, der skal transskriberes. For at binde sig med promotoren og starte transskription, må RNA-polymerase II få hjælp fra transskriptionsfaktorer, kaldes TFIIA, TFIIB m.m.. Promotoren indeholder en DNA-sekvens TATA-box for RNA-polymerase II, som er lokaliseret ca. 25-30 nukleotider væk før promotoren til transskriptionen. TATA-box vil blive genkendt og bindes af TATA-bindende protein som er subunit af TFIID. DNA'et bliver forvrænget af TFIID som først bindes til promotoren som derefter kan bindes af TFIIB. TFIIB bruger ATP til at adskille DNA-helix på en strækning på ca. 15-20 basepar ved transskriptionens start og det fosforylerer også RNA-polymerase II. Når transskriptionen er færdig, defosforyleres RNA-polymerase af enzymet fosfatase, da ellers kan en ny transskription ikke starte.

Omkring den transskriberede gen-sekvens findes forskellige områder af basesekvenser, der har betydning for regulation af transkriptionsprocessen. Selve promotor-sekvens er ubetinget nødvendig for, at genet

overhovedet kan transskriberes, men hertil kommer for mange geners vedkommende såkaldte Enhancers der kan være lokaliseret enten oven- eller nedenfor promotoren og forøger transskriptionen ved at forøge antallet af RNA-polymerase II molekyler. En anden type kan være silencer der hæmmer den. Både enhanceres og silencers aktivitet bestemmes af såkaldte gen-regulatoriske proteiner, der binder sig til dem. Endnu en type gen-regulatorisk DNA-sekvens udgøres af de såkaldte respons-elementer, der ligesom repressorer er lokaliseret overfor promotoren, og som aktiverer transskription af bestemte gener som respons på et signal fra cellens omgivelser.

Mange aktivatorer kan tiltrække histon acetylase, hvor der sættes et acetyl gruppe på lysine på halen af histoner, der giver adgang til DNA og dermed muliggør transskriptionen. På samme måde repressor tiltrækker histon deacetylases, der fjerner acetyl gruppe fra halen af histoner, og hæmmer transskriptionen.

GENER OG GENOMETS UDVIKLING

Genomet indeholder 3.2×10^9 nukleotidpar, fordelt over 22 autosomer og 2 sexkromosomer. Pga. mange variationer er mennesker forskellige. Det menneskelige genom er 25 x længere end alle andre tidligere genomer, og der vil tage endnu flere århundrede, inden man har kortlagt genomet.

Kromosom 22 var den første der blev identificeret med sin sekvens med 48×10^6 nukleotidpar og fylder ca. 1.5% af genomet. Exoner koder for forskellige proteiner mens introner er uvigtige.

Men selv med DNA-sekvens af hele genomet og de fleste gener kortlagt, mangler man stadig meget viden, før man kan sige at gåden om "menneskets genetik" er løst. Mange af de gener, man finder og har fundet, kender man overhovedet ikke funktionen af. Ud fra DNA-sekvensen kan man naturligvis – ved hjælp af mRNA og den genetisk kode – slutte sig til aminosyresekvens af det protein, der laves. Men det siger ikke nødvendigvis ret meget om proteinets rolle i cellen. Det enkelte gen kan kode for blot en del af et funktionelt protein, og det enkelte protein kan spille sammen med få eller mange andre proteiner i en celle eller det kan have forskellige funktioner i forskellige celler eller på forskellige udviklingstrin.

At danne sig en form for overblik over det utroligt komplicerede samspil mellem produkterne fra de forskellige gener i alle de forskellige celletyper i kroppen vil sandsynligvis tage mange år endnu.

MANIPULATION MED GENER OG CELLER

For at undersøge celler er man først nødt til at adskille cellen fra vævet ved hjælp af proteolytisk enzymer og andre agenter, der bryder disse adhæsive bindinger mellem cellerne.

Mange celler holder op med at dele sig, når deres ender, der koder for gentagende sekvens er brugt. Man kan tilføje enzymet telomerase, men så vil de dele sig uhæmmet og kan udvikle til cancerceller. Man tilføjer derfor dem et gen i stedet for der koder for katalytisk subunit af telomerase. Hermed vil cellerne blive

"udødelige", og kan overleve mange år, og man kan analysere forskellige cellelinier. En ny teknik er at man analyserer embryonisk stamceller, der endnu ikke er differentierede, og på den måde kan man få dem til at udvikle sig i en bestemt retning til udvikling af et bestemt væv (kunstige organer) ved hjælp af nogle signal proteiner, der kan bruges som transplantationen, men det er stadig et forsøg.

Restriktionsenzymet f.eks. nuklease er et enzym, der genkender og klipper helt specifikke basesekvenser i det dobbeltstrengede DNA-molekyle. De er udtaget fra bakterier, og deres navne reflekterer deres origins. Afhængig af, hvor ofte denne baserækkefølge findes, vil der dannes DNA-fragmenter af forskellige størrelser. Ved at foretage en gelelektroferase (adskillelse af restriktionsfragmenterne) kan forskellige arters restriktionsfragment-mønster sammenlignes og et muligt slægtskab fastslås. DNA-fragmenter kan adskilles i en agarose-gel eller polyakrylamid-gel. I en særskilt bane på gelen køres størrelsesmarkørerne, dvs. en blanding af DNA-fragmenter, hvis størrelser man kender på forhånd. Ud fra disse kan man så anslå størrelsen på det DNA, man ønsker at undersøge. Der findes forskellige metoder til at visualisere de enkelte DNA-bånd efter en gel-kørsel. De to mest anvendte er enten farvning med et stof, et fluorescerende molekyle (hvorefter kan man belyse den med ultraviolet lys for at se de enkelte DNA-bånd) eller radioaktivt mærkning af DNA.

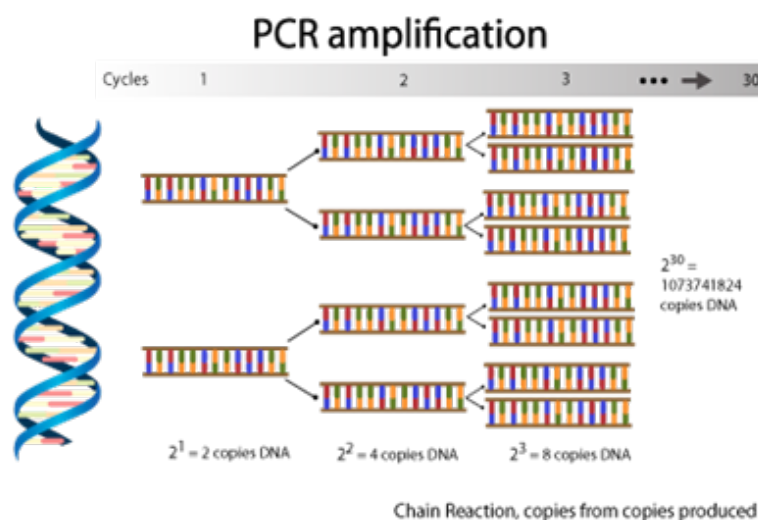
De kemiske bindinger mellem baserne i de to nukleotidkæder er svage hydrogenbindinger, der let brydes f.eks. ved opvarmning. Dette fænomen kaldes for denaturering. Afkøles DNA-molekylerne igen, vil de komplementære nukleotidkæder pga. baseparringsreglerne finde sammen på ny. Dette kaldes for renaturering. Denne viden kan bruges til at identificere tilstedeværelsen af kendte gener i et DNA-molekyle. Hvis man f.eks. mærker et kendt gen med radioaktivitet, og det efter opvarmning og afkøling bindes til et denatureret ukendt DNA-molekyle, ved man, om dette ukendte DNA indeholder det kendte gen eller ej. Denne teknik kaldes for hybridisering.

Indenfor molekylærbiologi refererer klon som regel til en gruppe af identiske celler eller DNA-molekyler, der stammer fra samme oprindelige celler eller samme oprindelige molekyle. Plasmider var de første kloningsvektorer, der blev benyttet i rekombinant DNA-teknologien. Plasmider er cirkulære DNA-molekyler, som findes naturligt i bakterier og gærceller, hvor de er adskilt fra cellens kromosomale DNA. Ligesom cellens kromosomale DNA replikeres før hver celledeling, replikeres også plasmid-DNA mindst en gang, så der ved celledelingen kan overføres mindst en kopi af plasmidet til hver dattercelle. De har restriktions sites. Mange naturlige forekommende plasmider indeholder gener, som under bestemte betingelser er til gavn for værtscellen. F.eks. er der nogle der indeholder gener, der koder for enzymer med evne til at inaktivere forskellige antibiotika. Bakterier der indeholder disse plasmider er altså resistente overfor bestemte antibiotika. Denne egenskab sammen med en anden vigtig egenskab hos mange plasmider, nemlig evnen til at overføre kopier af sig selv til andre bakterieceller af samme eller beslægtede typer, er blevet et stort problem i behandlingen af en del bakterieinfektioner, hvor de sædvanlige antibiotika ikke længere er i stand til at slå infektionerne ihjel.

Plasmidet klippes med et restriktionsenzym, og DNA (ofte et gen) man er interesseret i at klon, klippes med samme restriktionsenzym, så enderne kommer til at passe sammen. Til sidst limes plasmid og gen sammen

med enzymet DNA-ligase og cellen transformeres med det rekombinant plasmid, dvs. man får cellerne til at optage plasmider.

Molekyler der oversættes til DNA ved hjælp af et enzym, revers transskriptase, at det bruger mRNA som skabelon og laver DNA. Dette DNA kaldes for cDNA, altså DNA, der er komplementært til mRNA. Det adskiller sig fra genomisk-DNA ved at kun at indeholde exon-sekvenser. Alle de kunstigt frembragte cDNA-molekyler – der altså repræsenterer alle gener, der udtrykkes i de bestemte celletyper – klones i plasmider eller bakteriofager. Resultatet er et cDNA-bibliotek for de pågældende celletyper. Sådan laver man bl.a. insulin.



For at klonere et stykke DNA, anvender man en metode PCR, polymerase kædereaktion. Følsomheden eller effektiviteten af PCR er så stor, at det er nok med blot en enkelt celle til at undersøge f.eks. tilstedeværelse af bestemte mutationer, som er knyttet til forskellige genetiske sygdomme. Sådan en følsomhed er det ikke overraskende, at metoden er flittigt anvendt til retsgenetiske analyser. Det der sker, at man laver mange kopier af det gen eller DNA-stykke, man er interesseret i, sådan at man får så store mængder af det, at man kan undersøge det yderligere ved hjælp af andre metoder. Det eneste man behøver at kende på forhånd, er en kort DNA-sekvens i hver ende af det DNA-stykke, der skal laves kopier af. Ud fra disse korte sekvenser kan der laves en primer, der passer til hver ende – og ved hjælp af disse og en speciel DNA-polymerase, der kan tåle meget høje temperaturer plus de fire DNA byggesten, kan PCR foregå.

MEMBRANENS STRUKTUR

Alle celler på jorden har en membran til at isolere sig selv fra ude og beskytte sine kemiske stoffer. Den består af lipider (50 x mere lipider end proteiner, da lipidmolekylerne er meget små, ellers 50% proteiner og 50% lipider og kulhydrater) og proteiner og er ca. 5 nm tyk. Udover at beskytte sine organeller, er dens funktion at transportere ernæringsstoffer ind, og affaldsstoffer ud. Membranen har også mange kanaler og pumper. Den har også sanser der får cellen til at reagere i det indre miljø. Molekylerne i membranen bliver

hele tiden fornyet. De indre organeller har også intracellulær membran med andre forskellige barrierer - i modsætning til bakterier, der kun har en enkel membran – og det giver dem hver organel sin egen karakter.

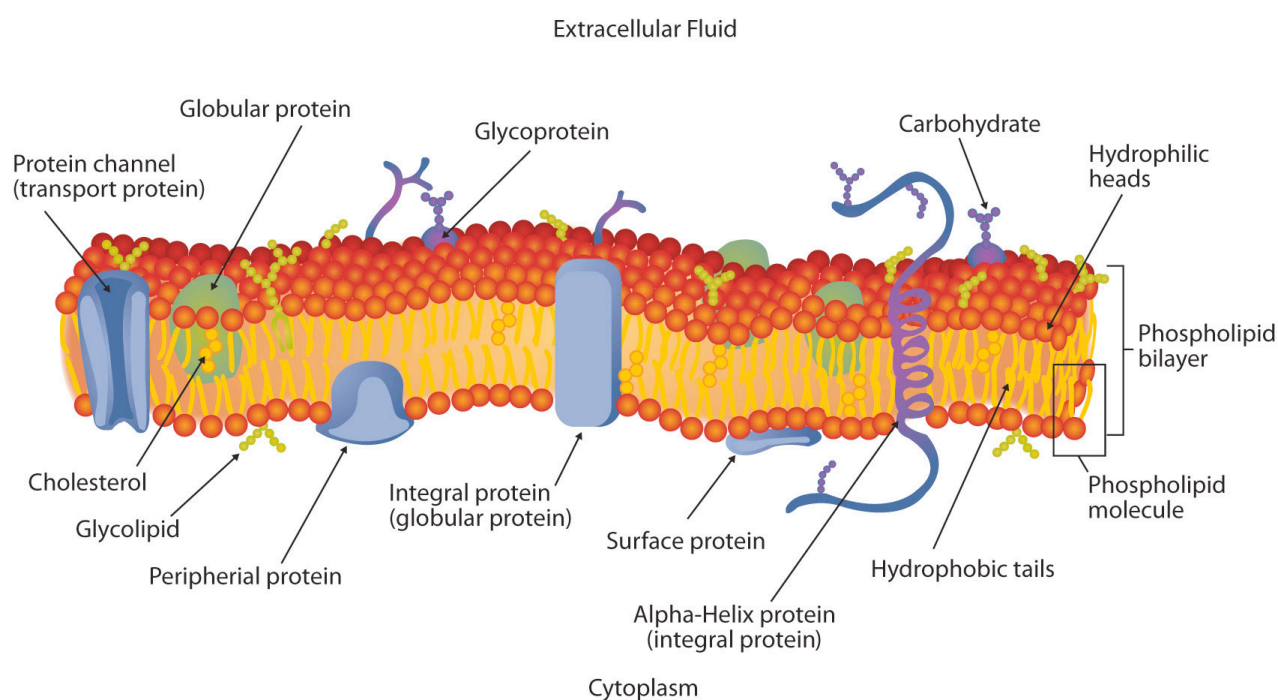
Hvert lag af membranlipid har en eller to hydrofobiske haler med upolære bindinger og en elektrisk ladet hydrofilisk hoved. Disse lipider kaldes fosfolipider (klasse 1), der udgør hovedbestanddelen. Den polære side af en fosfatgruppe er bundet kovalent til to karbonkæder. Den mest almindelige type fosfolipid er fosforatidylkolin, hvor kolin sidder på fosfate. Molekyler med både hydrofile og hydrofobe har et term amfipatik. Fosfatidylserene findes for det meste på den inderside af membranen.

I cellemembranen danner fosfolipiderne derfor et dobbelt molekylelag, hvor de polære hoveder peger ud mod den ekstracellulære og intracellulære vandopløsning. De upolære haler danner en hydrofob midterdel i membranen. Der eksisterer ingen kemiske bindinger mellem fosfolipiderne og de enkelte molekyler kan derfor bevæge sig frit i forhold til hinanden. Dette bevirker, at membranen kan bøjes og strækkes uden at gå i stykker, så cellerne kan ændre form, uden at membranen bliver ødelagt. Membranen indeholder også kolesterol (klasse 2) ved hjælp af svage bindinger og udfylder de steder hvor halen knækker pga. dobbeltbinding og holder fosfolipiderne sammen. Kolesterol gør derfor membranen stærkere og samtidig mindre flydende og varierer meget af type af cellen. Hvis der opstår en slitage, så vil cellemembranen lukke sig selv for at beskytte sig selv mod det vandige miljø og mest energifavorable. Hydrofobe molekyler, der er uladet og upolær (kan ikke lave hydrogenbindinger), vil finde klistre sammen og minimere deres kontakt med vandet. De danner en cagelike struktur, og ordner sig mere regelmæssige og hæmmer entropien. Den 3. klasse af membranen er glykolipider på ydre side af membranen og spiller en stor rolle. Liposomer er vesikler, som formes hvis ren fosfolipidstykker kommer i vandet. De kan variere fra 25 nm til 1 mm i diameter.

I elektronmikroskopet kan man studere at fosfolipider kan bevæge sig mellem naboer i deres eget lag, sjældent flip-flop, dvs. skifte position fra et lag til det andet lag, måske mindre end en gang i måned eller hvis de er transporteret af enzym, flippases. I normale og høje temperatur vil membranen være derfor være meget bevægelig og flydende, og lipidmolekyler vil skifte plads hurtigt i det samme lag og hvor i kolde temperatur vil det være mindre bevægelser, dermed mindre flydende og mindre bevægelse blandt molekylerne. Cellemembranens bevægelse er også afhængig af hvor tæt hydrofobe haler er pakket. En mættet fedtsyre (satureret) har kun enkeltbindinger mellem kulstofatomerne i membranen. Navnet skyldes at sådanne ikke kan addere flere hydrogenatomer til membranen, så molekylet er mættet med hydrogen og giver fedtet en fastere form. En umættet fedtsyre har derimod en eller flere dobbeltbindinger, som giver en knæk på halen og forhindrer dem i at pakke tættere sammen (usatureret), i membranen så antallet af hydrogenatomerne i molekylet er mindre end i en mættet fedtsyre med samme antal kulstofatomer og giver fedtet en mere flydende form.

Hver gang der bliver syntetiseret nye membranstykker af fosfolipid, sættes de altid på det inderste lag af plasmamembranen. For at plasmamembranen skal vokse lige på begge sider, sørger enzymet flippases for, så noget af membranen kommer også på det andet lag. Nogle gange er det bestemte molekyler der kommer på hvert især lag, der giver dem karakteristisk. F.eks. glykolipider sidder altid på ydersiden af membranen.

Alle celler har hele tiden behov for at forny plasmamembranen pga. slitage. Celler der deler sig og vokser, må desuden være i stand til at øge cellemembranens areal. De proteiner som skal bruges i cellemembranen, placeres i vesikel i det endoplasmatiske reticulum. Fra Golgi-apparatet transporteres vesiklerne til cellemembranen og ved exocytose smelter vesikelmembranen sammen med plasmamembranen og bliver en del af denne. På denne måde får membranen tilskud af både proteiner og lipider som er nødvendige for fornyelse og vækst. Glykolipider findes kun på oversiden af plasmamembranen, dvs. mod ikke-cytosolisk side, hvor deres sukker gruppe er afsløret på ydersiden som et beskyttende lag hos alle animalske celler. Glykolipider får deres sukker fra Golgi-apparat af nogle enzymer, så der sørger for at de kun bliver på ydersiden af plasmamembranen.



Inositol fosforlipid er mindre komponenter i cellemembranen, men de spiller en stor rolle i at viderebringe signaler fra cellens overflade til de indre organer. De findes dog kun i den cytosolisk del af plasmamembranen.

Membranproteiner har forskellige funktioner såsom transportmolekyler (de kan bestå af både hydrofile og hydrofobe dele), receptorer, enzymer eller bindingsmolekyler, der binder makromolekylerne sammen. Mellem plasmamembranen flyder proteinerne hvis upolære områder holdes fast i membranens hydrofobe midterdel, så de ikke løsner sig fra membranen og driver ud af cytoplasmaet og de kan sidde forskellige enten kun på den side eller den anden og holdes fast af en eller flere kovalent bundet lipidmolekyler. De proteiner der går gennem hele vejen i lipidlaget, kaldes for integral membranprotein, og dem, der sidder på overfladen, som hurtigt kan løsne sig kaldes for perifere transportmembranen.

Nogle aminosyrer i proteiner i plasmamembranen har en alfa-helix struktur hvor de hydrofobe aminosyrer vender mod de hydrofobe lag. Rygradens aminosyrer i alfa-helix er de hydrofile aminosyrer, der er lænket

sammen via hydrogenbindinger. Fem af dem kan danne en vandholdig kanal, hvor de hydrofobe vender mod det hydrofobe lag i plasmamembranen, og de hydrofile på indersiden, så polære molekyler kan passere. De andre har en beta-sheets form, hvor den ene side er hydrofob og den anden hydrofil, og danner en struktur beta-barrels. En af disse struktur er porin (16 beta-sheets), som mitokondrier og nogle bakterier indeholder og danner store vandholdige porer, der tillader næring og små ioner igennem den ydre membran men forhindrer antibiotika og gifte. De kan kun danne store porer i modsætningen til alfa-helix, da det er begrænset hvor tæt de beta-sheets sidder sammen for at danne barrels. De er i mindretal end alfa-helixer. Detergents ligner fosfolipider meget med en hydrofile del og hydrofobe del. Det eneste forskel er de har kun en hale. Når de kommer i kontakt med vandet, danner de miceller (enkelt lipidlag).

I alle celler er der fibrøse proteiner, kaldes cell cortex, der er hæftet til cytosolisk overflade. Overfladen på et hæmoglobin er bedst forstået. Overfladen af deres cortex er komponenten protein spectrin, 100 nm i længde. De er lænket til membranens proteiner via intracellulære hæftede proteiner. De giver støtte og bevare deres form og hjælper med at ændre formen ved bevægelser.

Stordelen af celler har kulhydrater lænket til membraner, kaldes oligosakkarider, også glykoproteiner. De andre proteiner der har en eller flere polysakkaridkæder kaldes proteoglykaner. De celler og glykolipider er lokaliseret på den ydre side af membran, derfor kaldes karbohydrat lag. De er dog med til at absorbere vandet, derfor giver de membranen en slimet overflade, der hjælper dem til at trænge igennem de mest trange vener og forhindrer dem i at klistre op i karvæggen og med hinanden.

Dette lag har også en anden funktion at genkende de andre celler. F.eks. lektin på karvæggen (ligner receptor) kan genkende neutrofile celler ved infektioner og får dem til at bekæmpe infektionen ved at fange deres oligosakkarider, og få dem til at immigrere til infektionsstedet.

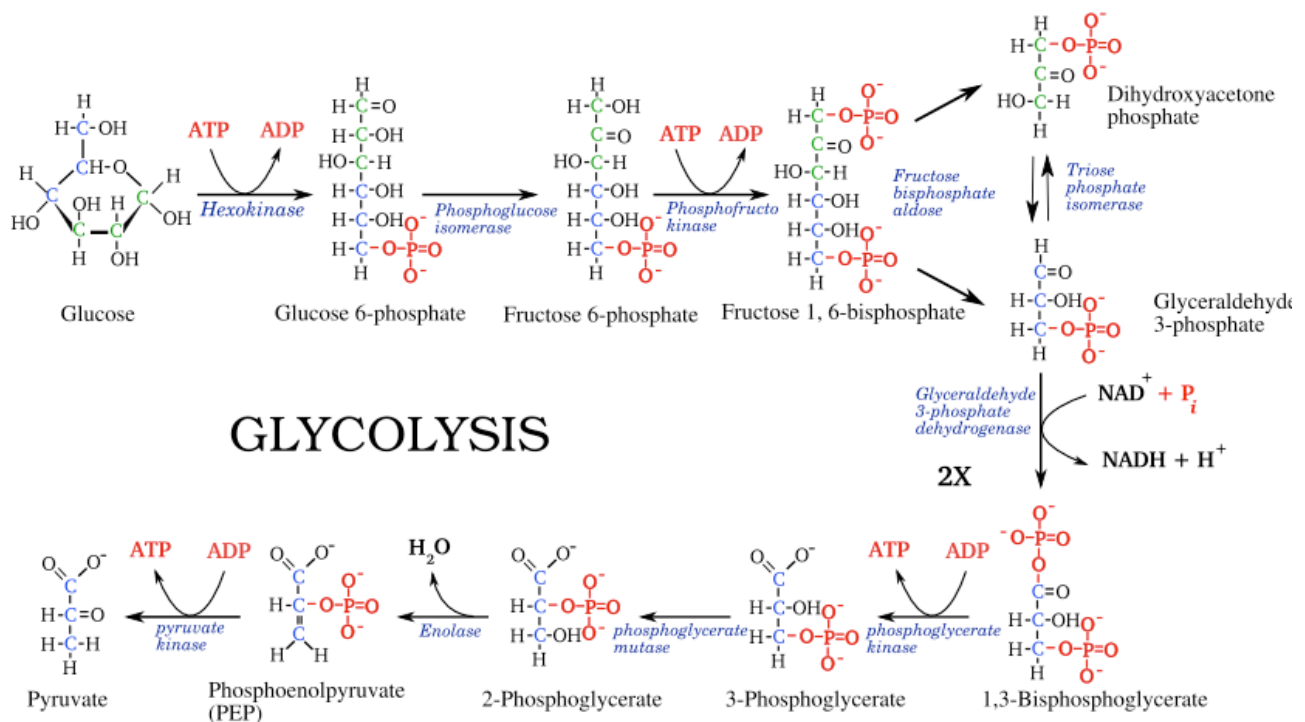
Hver proteinmolekyler kan være lokaliseret i forskellige domainer i plasmamembranen, der gør, at de er adskilt fra hinanden via tights junctions. Der er 3 områder i plasmamembraner: apikal, lateral og basal. Den apikal vender mod ydersiden, hvor de kan optage f.eks. næringsstoffer (epitelceller), og lateral og basal vender mod blodstrømmen og andre celler. På dem er der proteiner. De proteiner på plasmamembranen kan ikke diffundere sig fra den ene domain til den anden domain pga. tights junction.

ATP OG ENERGIOMSETNINGEN I CELLERNE

Den meste af energi findes i form af ATP i cellerne. Mitokondrier findes i alle celler, og det er her, hvor der bliver lavet ATP. I cytosolen omdannes glukose til pyruvat via glykolyse og fedtsyrer til acyl-CoA via lipolyse. Det giver tilsammen Acetyl-CoA. I mitokondrierne er der pr. glukose dannet ca. 30 ATP.

ATP gendannes ved fosforylering af ADP. Dette kræver energi, som bliver tilført ved nedbrydning af næringsstoffer. Disse trin er en serie af såkaldte reduktions- og oxidationsreaktioner.

Glykolysen er en serie på 10 reaktioner, som nedbryder til pyruvatesyre. Det dannes to pyruvatemolekyler (3 kulstofatomer) for hvert glukosemolekyle (6 kulstofatomer). I de første reaktioner forbruges 2 ATP, dvs. hvert pyruvatemolekyle bliver fosforyleret, mens 4 ATP-molekyler nydannes på de sidste reaktionstrin. Nettoresultatet er, at der dannes 2 ATP-molekyler og 2 reducerede NADH₂ (reducerede nicotinamide adenine dinukleotid) for hvert glukosemolekyle, der nedbrydes. Reaktionen kræves nødvendigvis ikke oxygen. Hvert reaktionstrin er afhængig af et bestemt enzym. Det foregår i cytosolen. Under reaktionen omdannes NAD til NADH₂. Hvis NAD ikke gendannes, vil glykolysen gå i stå. Hvis der ikke er nok ilt i cellen, vil brint binde til pyruvat, og der vil danne mælkesyre.



Mitokondrier har deres eget DNA og ribosomerne i matrix, der giver dem lov til at syntetisere proteiner til eget brug, men får også transporteret ud fra. Matrix oplagrer calciumfosfat og regulerer af Calcium-koncentration i cytoplasmaet. Mitokondrier består af en indre og en ydre membran. Den ydre membran indeholder molekyler af transportprotein kaldes porin (vandige kanaler, 16 beta-sheets), der er tilgængelige for molekyler under 5000 Daltons. Den indre membran er utilgængeligt for ioner og de andre stoffer. Her sker pyruvat transport til matrix ved at udnytte den protongradient som dannes ved mitokondriernes iltning til transport af pyruvat og H⁺ via et transportprotein. Iltningen medfører lav H⁺ i matrix og høj H⁺ i mellemrum mellem mitokondriemembraner og dermed høj en diffusionsgradient for H⁺ ind i matrix og dette udnyttes til at trække pyruvat med ind i matrix. Det er her i den indre membran respirationskæden foregår, og indeholder ATP-syntase. Den er foldet (cristae), og har derfor en stor overflade. I indre membran omdannes pyruvat og fedtsyrer (acyl-CoA) til acetyl CoA af enzymer, der er lokaliseret i matrix.

Pyruvate + NAD⁺ + CoASH \rightleftharpoons Acetyl-CoA + NADH + CO₂ Kulstof i Acetyl CoA omdannes til CO₂ i matrix via citronsyrecyklus.

Acetyl-CoA bindes til oxaleddikesyre så der dannes citronsyre og frit CoA. Slutproduktet i kredsløbet er gendannelse af oxaleddikesyre til at koble et nyt Acetyl-CoA.

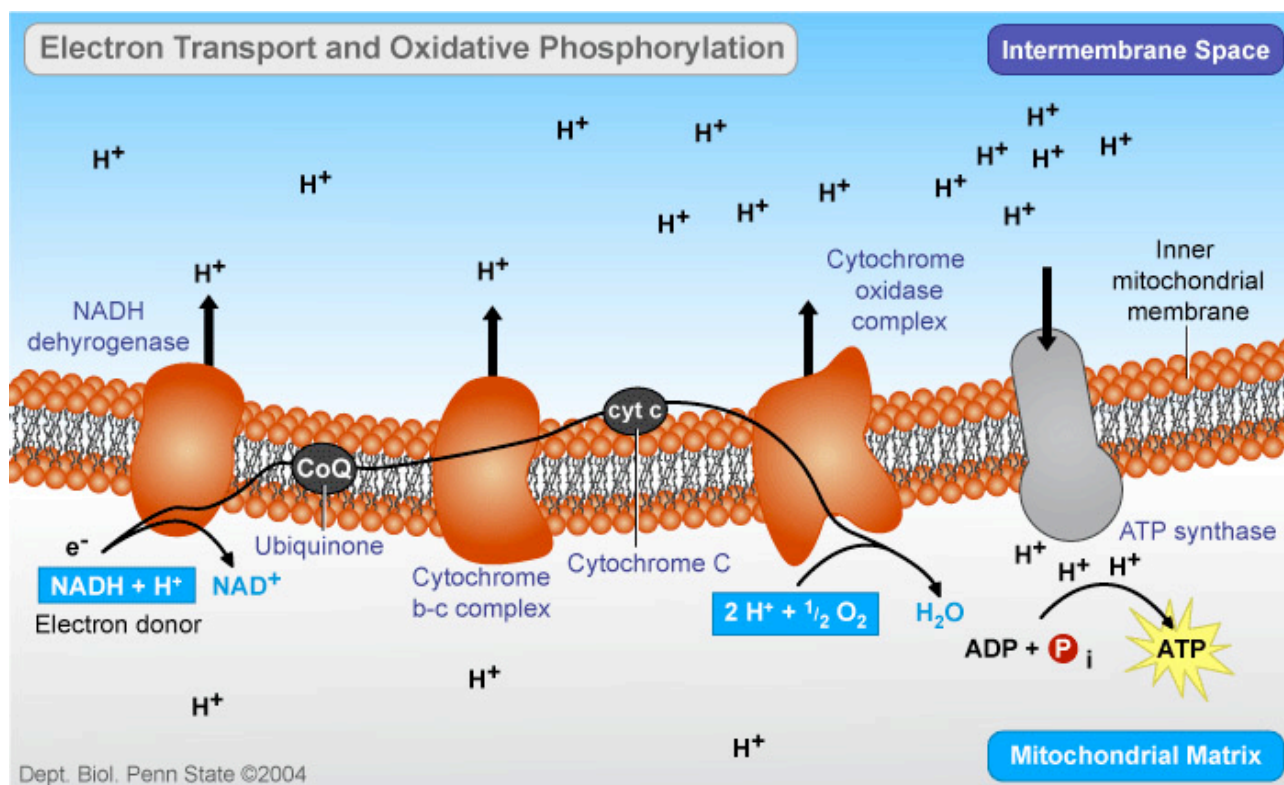
Frit CoA (carriere) kan så optage et nyt pyruvat molekyle med dannelse af Acetyl-CoA. CoA kaldes også Q10. Alle elektroner fra glykolyse og citronsyrecyklus transporteres til elektrontransportkæden i form af NADH eller FADH₂.

Oxidativ fosforylering der er to adskilte rum i mitokondrierne, et indre rum (matrix), og et rum mellem membranerne, intermembran rum. Reaktionen i citronsyrecyklus sker i opløsningen i matrix. De reducerede coenzym NADH og FADH₂, som dannes i citronsyrecyklus, afgiver elektroner til elektrontransportkæden. Samtidig oxideres NAD⁺ og FAD, og de kan dermed påny deltage i redoxreaktionerne i citronsyrecyklus. For hvert nyt led i elektrontransportkæden har molekylerne en stigende tendens til at blive reduceret ved at modtage elektroner. Transportkæden indeholder over 40 proteiner, men kun 15 direkte er involveret i elektrontransport. Elektronerne bliver derfor overført fra led til led i kæden.

Elektrontransportkæden kan deles op i 3 komplekser:

- NADH dehydrogenase complex
- Cytochrome b-c1 complex
- Cytochrom oxidase complex

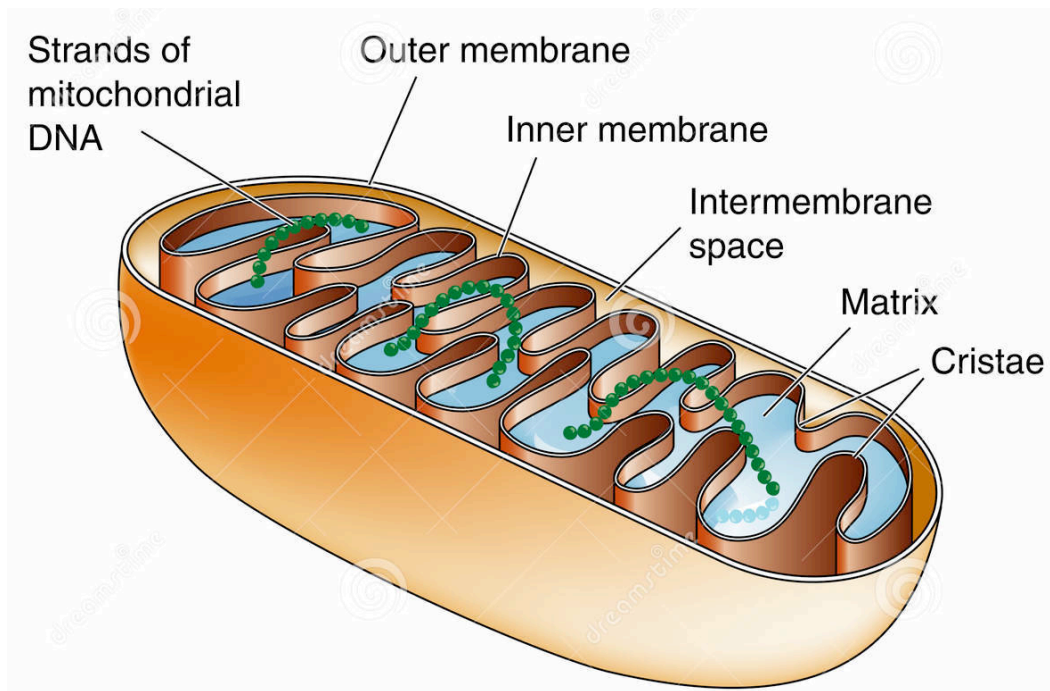
Elektrontransportkæden begynder ved hydrogenion fjernes fra NADH og omdannes til proton og to energirige elektroner (NADH dehydrogenase kompleks). Der sker oxidation-reduktion (dem, der giver elektronerne videre, bliver oxideret, og dem der modtager, bliver reduceret), og det sidste led overfører elektroner til molekylært oxygen, dvs. de reagerer med hydrogenioner (cytochrom oxidase kompleks) og danner vand, og det er her, hvor der bliver brugt al den ilt, som vi indånder. For hver redoxreaktion i elektrontransportkæden frigøres der energi. Det vil sige, at de taber energien for hvert trin. En del af denne energi bliver til varme. Resten af energien udnyttes direkte til at danne ATP. Energien bliver i alle komplekser i kæden udnyttet til at frigøre hydrogenioner fra vandet i matrix til rummet mellem de to membraner. Hermed opstår protongradient som udnyttes til at drive en protein motor der fremstiller ATP ved at presse ADP + P sammen. Matrix har så både lav koncentration af hydrogenioner og en negativ elektrisk spænding i forhold til rummet mellem membranerne hvor pH fortsat er 7 pga. permeabiliteten for visse stoffer fra cytosol. Disse hydrogenioner har derfor stærk tendens til at strømme tilbage til matrix for at udligne protongradient ved diffusion igennem ATP-syntase enzym kanal (hydrofilisk) og driver derved ATP-syntase (den spinner) og fremstiller af ATP ud fra ADP og fosfat for at færdiggøre kemiosmotisk mekanisme. Denne mekanisme kan lave mere end 100 ATP molekyler pr. sekund og der skal ca. 3 protoner til at passere forbi syntasen for at lave hver ATP. ATP-syntase kan både lave ATP eller ATP hydrolyse, dvs. ADP. Oxideringen af de reducerede NADH giver derimod 2.5 ATP-molekyler for hver glukose og for FADH₂ 1.5 ATP. Nettogevinsten bliver 30 ATP molekyler, som nedbrydes fra glykolyse til oxidativ fosforyleringen.



ATP er også nødvendigt for selve mitokondrier til at replikere, proteinsyntese og andre energikrævende reaktioner. Der bliver hele tiden lavet ATP fra ADP og omvendt. ATP er altid ca. 10 x højere end ADP. ATP-syntasen vil gå i stå, når energien drevet fra protongradient er lige med den frie energi, der kræves for at lave ATP.

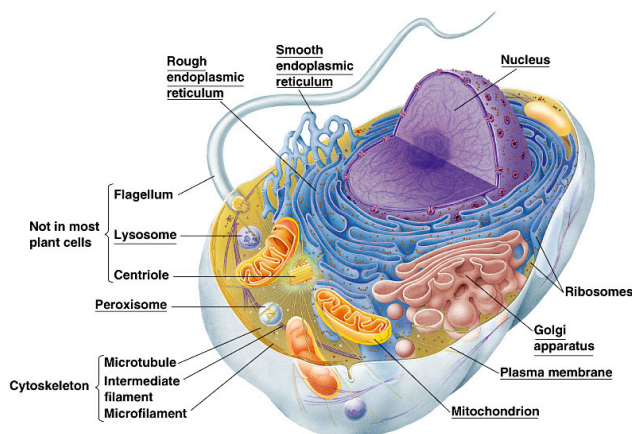
ATP er sammensat af adenin, ribose og 3 fosfatgrupper og er med andre ord et nukleotid med to ekstra fosfatgrupper. ATP er et forholdsvis ustabil molekyle, og den yderste fosfatgruppe kan let fraspaltes ved hydrolyse. Slutprodukterne for denne reaktion, ADP, adenosindifosfat, og uorganisk fosfat, indeholder meget mindre energi end udgangsstofferne ATP og vand. Det bliver derfor frigjort energi ved hydrolysen og denne energi udnyttes til at drive andre reaktioner i cellen.

Mitokondrier's genom indeholder 16.569 nukleotid par, koder for ca. 37 gener. Kloroplast's genomet kan derimod indeholde ca. 120 gener, 120.000 nukleotid par. Mitokondrier anvender færre typer af tRNA end cellens cytoplasma (tRNA bruges til at transportere en bestemt aminosyre til mRNA ved proteinopbygningen). I mitokondrier findes der højst op til 24 tRNA, mens man regner med, at der i ikke-mitochondrielle systemer anvendes mellem 32 og 40 tRNA-typer. Hvis der er defekt i en af tRNA, kan det udvikle til sygdomme, f.eks. MERRF, hvor der er mutation af tRNA, og er karakteriseret ved nedsat syntase af mitokondrielt protein, som er krævet for elektrontransport og ATP produktion. Patienten kan få symptomer i form af muskelsvaghed eller hjerteproblemer og epilepsi eller dement. Grunden til at man bliver ramt i disse organer er det fordi de indeholder flertal af mitokondrier.



Mitokondrier arves kun fra moderen, da sædcellen kun indeholder mitokondrier i sin krop, som bliver ikke befrugtet.

INTERCELLULÆRE KOMPONENTER OG TRANSPORT



En eukaryotisk celle har mange funktioner, men det kræver at alle komponenter i cellen er adskilt af endomembraner, hvor i prokaryotisk celle har kun en komponent, cytosol og DNA. Alle celler har cytosol, som er omringet af celledmembranen (plasmamembranen). Når et protein bliver dannet af ribosomer i cytosolen, og transporteres til et andet sted, kaldes denne transfer for protein sortering, fordi der er indbygget et signal i aminosyrens sekvens.

Vaskulær transport er komponentholdige vesikler der transporteres fra en membran til en anden membran, hvor de smelter sammen med vært komponent.

Organeller er betegnelse for de specifikke strukturer i eukaryotiske celler, der varetager bestemte funktioner. Hver struktur har sit eget miljø. Kernen er den vigtigste organel i cellen, som kommunikerer med cytosolen via sine nukleare porer (består af ca. 100 forskellige hydrofile proteiner), og er omgivet af en dobbelt membran. Den indeholder kromosomer, histonproteiner og nuklear lamina, en bevægelige netværk af filamenter og bidrager til strukturen. Gennem porer kan der syntetiseres proteiner, RNA og ribosomal subunits.

Den ydre membran er en fortsættelse af endoplasmatiske reticulum, ER, et system af sække og poser, der fylder meste af cellen. Ru ER har ribosomer på membranen og syntetiserer proteiner fra cytosolen (vandopløselige proteiner og transmembranproteiner), mens uden ribosomer kaldes glatte ER, som syntetiserer steroider og lipider. F.eks. leverceller indeholder glatte ER, der detoxificerer alkohol. Den bruges også til at opbevare Ca^{2+} , adskilt fra cytosolen. De frie ribosomer syntetiserer proteiner og er til cellens eget brug. Arealet af ER er ca. 20-30 x større end plasmamembranens.

Golgi-apparat ligger tæt på kernen, og modtager lipider og proteiner fra ER, modificerer dem dvs. ændring af oligasakkarider, og sender dem videre til den anden side af cellen.

Lysosomer er med til at opløse de ødelagte organeller samt makromolekyler der er kommet ind i cellen via endocytose. Men først skal de fremmede stoffer forbi en serie af komponenter, endosomer, som indtager de fremmede stoffer og sender nogle af dem tilbage til membranen.

Peroxisomer er nogle pakket molekyler af enkelte membranstykker. De indeholder enzymer der oxiderer lipider og destruerer giftige stoffer.

Mitokondrier og kloroplaster består af dobbeltmembraner, og er med til oxidativ fosforylering og fotosyntese og producerer ATP.

ER, Golgi-apparat, mitokondrier og kloroplaster sidder fast på deres pladser i cellen ved hjælp af mikrotubulus.

Før en celle deler sig, må den duplikere alle sine membranomgivne organeller. Cellen laver ikke organeller fra bunden, men former fra de tidligere organeller. Når organeller skal dele sig, brydes de ned i små vesikler, og dannes igen når datterceller er dannet. Selvom cellerne ikke deler sig, proteinerne bliver hele tiden syntetiseret til cellens eget brug eller udenfor. Proteinerne kommer enten fra ribosomer i cytosol eller via ER, hvor efter de sendes videre til golgi-apparatet. Proteinets skæbne er afhængig af aminosyre sekvens, som kan indeholde en sortering signal (15-60 aminosyrer lang), der vejleder proteinet til en bestemt organel. Det protein der mangler denne sortering signal, forbliver i cytosolen.

Alle proteiner transporteres til ER ved hjælp af ER signalsekvens, som sidder ved N-terminus og åbner translokationskanal gennem membranen. Der er to ting der tilføjes: en signal-recognition (genkendelse) (SRP) der findes i cytosolen, der binder til ER signalsekvens når den kommer frem til ribosomer og SRP receptor i ER membranen.

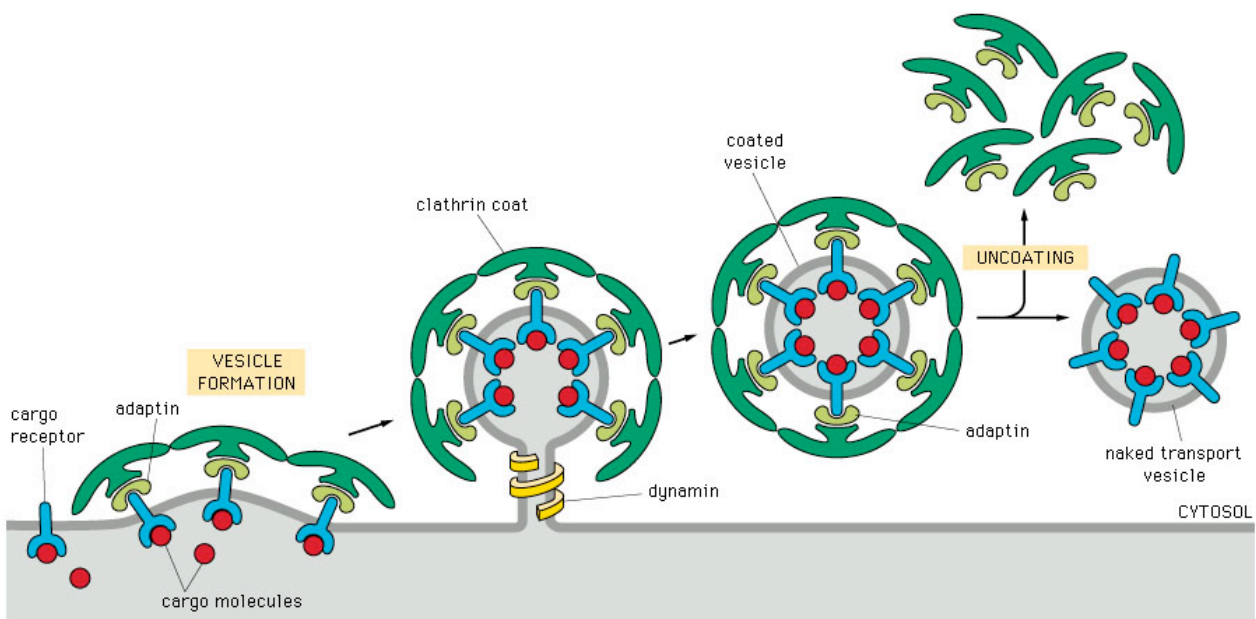
Makromolekyler, som normalt ikke kan komme ind i kernen, skal transporteres ved hjælp af sortering signal på deres N- terminus, hvis de skal ind. Den signal der transporterer et protein fra cytosolen til kernen, kaldes en nuklear lokaliseringssignal (indeholder positive lysiner og argininer). Proteinets receptor, nuclear transport receptor, binder sig til nuklear lokaliseringssite, og hjælper det nye lavede protein ind i pore. Bagefter er der brug for GTP hydrolyse, dvs. aktive energifrigørelse for at transportere proteinet ind i pore.

Når proteiner skal til ER, mitokondrier, kloroplaster eller peroxisomer, bliver de transporteret gennem organellen af protein translokatorer lokaliseret i membranen. Når proteiner skal til organellen, folder de ud for at snoe sig ind gennem membranen, hvilket er anderledes end nuklear porer.

Proteiner fra ER til en anden organel transporteres af transport vesikler, som er fuldt med Cargo proteinmolekyler fra plasmamembranen, som de afsnører fra membranen og giver videre til en anden membranen, når de smelter sammen med den. Transporten sker under forskellige stop.

Transport fra ER til golgi-apparat og videre til en anden organel sker ved hjælp af transport vesikler. Hver vesikel er omgivet af protein på deres cytosolisk side, kaldes for coated vesikel, som hjælper vesikler til at forme formen og sørger for at den kun kommer i kontakt med den membran, som den har tænkt sig at smelte sammen med. Det mest studeret coated protein er clathrin. Når clathrin coated vesikel skal ind i cytosolen fra plasmamembranen, endocytose, eller exocytose fra golgi-apparat, er der en lille GTP-binding protein, dynamin, med til at afsnøre clathrin coated vesikel fra plasmamembranen. Mens clathrin spiller ingen rolle i sig selv.

Adaptin (en anden klasse af coated protein) er med til at fange Cargo molekyler fra plasmamembranen vha. cargo receptor, og samtidig sikre clathrin coated til vesiklen. Der er to typer af Adaptin: en der hjælper med at fange cargo receptor fra plasmamembranen og den anden der binder cargo receptor fra golgi-apparat. Der er også COP-coated vesikler, der er involveret i transport af molekyler fra ER til golgi og fra et sted i golgi til et andet sted i golgi. Når vesiklen er fri, går clathrin coated af, og den nøgne vesikel kan hæfte sig fast på den udsete membran. Hver vesikel har et mærke pga. sin cargo og origin, der kan blive genkendt af de komplementær receptorer på udsete membraner. Familier af transmembran proteiner kaldet V-SNAREs på vesiklen, som er genkendt af t-SNAREs på udsete membranen. Dvs. hver organel har en specifik SNAREs, der sikrer at vesikler havner på de rigtige membraner, hvorefter sker der membranfusion, og samtidig frigør sit indhold af cargoer. Når membranerne skal smelte sammen, skal der være 1.5 nm afstand før membraner kan mikse med hinanden.



Exocytose er når proteiner bliver transporteret fra organeller til plasmamembranen. Mange proteiner i ER får formet disulfid-bindinger ved oxidation af et par cystein sidekæder. De er med at bevare strukturen på proteinet, hvis det møder pH-forandringer eller nedbrydende enzymer udenfor cellen. Mange proteiner i ER lumen omdannes til glykoproteiner ved at kovalentbinde en oligosakkaridkæde der sidder på en special lipid, dolichol. Når proteinet dukker op i ER, vil oligosakkarid-sidekæden hæfte sig fast på aminogruppen af asparagin på proteinet gennem translokation af en oligosakkarid protein transferase. Oligosakkaridkæden er med til at hjælpe proteinet mod degradering og folde proteinet helt eller guide det til de rigtige organeller som transport signal. Processen hvor proteinet får oligosakkaridkæden, kaldes for glykosylation.

De proteiner der er foldet ukorrekt, forbliver i ER ved at binde sig til chaperon proteiner til de er foldet korrekt igen.

Hvis proteiner indeholder ER retention signal ved C-terminus, vil de vende tilbage til ER og aldrig komme til golgi-apparatet.

Golgi-apparat har en cis (entry) til ER og en trans (exit) til plasmamembranen. Den er altid lokaliseret tæt ved centrosomer. Den er opbygget som cisterner, hvor proteiner transportere fra en ene cistern til den anden som vesikler og bliver igen modificeres. Efter golgi-apparat skal de videre enten til lysosomer eller celleoverfladen.

Konstitutiv exocytosisk vej fra golgi-apparat sørger for hele tiden at skaffe nye lipider og proteiner til plasmamembranen for at gøre den større inden celledelingen. Processen kaldes også for sekretion (exocytose), hvor proteiner hele tiden skaffes til cellen eller udenfor cellen. Disse proteiner er ikke aggregerede i vesikler. Der er også reguleret exocytosis vej, som er specialiserede for sekretion, f.eks. insulin. Disse proteiner er aggregerede i vesikler, dvs. høj koncentration af proteinet og venter på et signal før exocytose. Når indholdet er udskilt udenfor cellen, bliver vesikelmembranen en del af plasmamembranen. Man skulle tro, at membranen vil på den måde øge sin overflade, men den bliver modvirket ved endocytose. Endocytose er når cellen modtager store og små molekyler fra plasmamembranen, hvor de forskellige materialer bliver afsløret til de indre organeller bl.a. lysosomerne, som fordøjer dem. Der er to typer af endocytose; Pinocytose er fordøjelse af væske eller mindre vesikler og molekyler (<150 nm). Fagocytose er fordøjelse af større molekyler, mikroorganismer eller store vesikler (>250 nm). Fagocytiske celler er ikke bare vigtigt for at fordøje ernæringen men også andre ting, f.eks. makrofager eller de hvide blodlegemer, der optager fremmede mikroorganismer ved at forlænge deres projektioner af deres membraner kaldet pseudopod og former pseudosomer og beskytter mod infektioner. Mycobacterium tuberculosis agent sørger for at bebo sig i membranfusion der forener fagosom med lysosom. I stedet for blive ødelagt, kan den formere sig videre med makrofagerne.

De store makromolekyler bliver bundet til receptorer, hvorefter de bliver optaget i cellen, processen kaldes receptor-medieret endocytose (HIV-virus kan komme ind i cellen på den måde). F.eks. kolesterol er bundet til proteinet i form af low-density lipoprotein LDL, som binder sig til receptor på cellen, og via endocytose leveret ind i cytosolen til endosomerne, hvor den bliver dissociert fra receptoren og sendes videre til

lysosomer, som nedbryder LDL via hydrolyse og udskilles i cytosolen. Herefter er den klar til membran syntese. LDL når til endosomerne, er clathrin coated kommet af. Hvis LDL receptor protein er ikke fungerende, kan det forårsage hjertesygdomme og hjerteslag, da LDL ikke bliver optaget i cellerne og sætter sig fast på indersiden af arterierne.

Endosomerne skelnes mellem tidlige endosomer og sene endosomer. Tidlige endosomer udvikles til sene endosomer med tiden. pH er ca. 5-6 ved en ATP-drivende protonpumpe fra cytosolen. Deres sure pH spiller en rolle, når receptorerne skal slippe deres cargo. De cargo der bliver dissocieret fra deres receptorer, er dømt til at blive opløst af lysosomerne. Man ved ikke hvordan molekylerne kommer fra endosomerne til lysosomerne. Nogle mener, at endosomer udvikles til lysosomer med tiden. Men noget af endocytisk vesikel vender tilbage til membranen. Hvis vesiklen bliver sendt til en anden domain, kaldes for transcytose.

I lysosomerne er der ca. 40 slags enzymer, der degraderer proteiner, nukleotider, oligosakkarider og fosfolipider. Den har en H-pumpe, der sørger for at pH bliver sure. Den er også glykosyleret. Autofagosom betyder at organeller går sammen med lysosomer og bliver destrueret.

CELLEKOMMUNIKATION

Celler har brug for at kommunikere med hinanden. Det bliver dog mere kompliceret, når det drejer sig om en multicellulær organisme, hvordan de skal modtage og fortolke de forskellige signaler fra de andre celler og koordinere dem.

Kommunikationen kan godt undervejs ændre formen. Denne proces kaldes signal transduktion. Signalcellen vil producere et særligt type af signalmolekyle, som den modtagercelle via sit rette receptor protein opfange og reagere ved.

Der er flere måder, hvorpå celler kan kommunikere med hinanden:

- Via blodstrøm, hvor hormoner transporteres rundt i kroppen som signaler, producerede af endokrine celler.
- Parakrine signaler, der foregår rundt om cellen, som cellen har udskilt, f.eks. ved inflammation.
- Neuronal signal leverer signaler gennem lang afstande via synapser (dendritter til axon). Axon kan være over 1 m lang, signalets hastighed kan være op til 100 m/s.
- Celle-cellekommunikation, direkte kontakt mellem naboceller.

En celle bliver udsat for mange signaler. Men hver celle er besiddelse af en bestemt receptor, der gør, at den kun er modtagelig for lige præcis det signal. Uden receptor vil cellen være døv.

Der er to former for signaloverføringen:

- Når en signal bliver modtaget af modtagercelle, kan den ændre cellens form, bevægelse eller genudtryk. Intracellulært system reagerer forskellige på samme slags ekstracellulær signal.

- En anden form er, når cellen har flere forskellige receptorer (ca. dusin forskellige med 100 af hver). Cellen bliver hypersensitiv for flere forskellige signaler. Responsen vil være stor. Man siger, at hver receptor kun aktiverer en type af celle.

Når cellen modtager signalet, starter der i cellen nogle forskellige signal kaskader:

- Kæden transformer eller transducerer signalet i en molekylær form.
- Den bliver et sted i cellen til der er respons.
- Nogle gange gør kaskaden signalet stærkere.
- Signalet kan også divergere, skabe grene af information bredt i cellen.
- Signalet kan blive moduleret af andre faktor, så signalet er skræddersyet efter omgivelserne.

Der findes sekundære messangers som inositol triphosphat, cAMP eller Ca-ioner.

CYTOSKELETON

Cellens evne til at bevæge og skabe forskellige former afhænger af dens cytoskeleton. Der er et netværk af proteinfilamenter udbredt i cytoplasma. I modsætning til vores skelet, er det meget dynamisk, og hele tiden kan reorganisere sig. Det har mange funktioner såsom transport af organeller, deling af kromosomer til 2 datterceller m.m.

Der findes 3 typer af cytoskeleton:

- Intermediær filament
- Mikrotubuli
- Aktin filament

Hver af disse består af forskellige protein subunit. F.eks. tubulin er subunits i mikrotubuli, og aktin er subunits i aktin filament, og fibrøse proteiner former intermediære filamenter.

Intermediære filamenter er omkring 10 nm og er midt mellem tynd aktin og tyk myosin filament af muskler. De er de stærkteste af alle tre. De er ofte forankret på plasmamembranen, og sætter to celler i kontakt med hinanden via desmosomer. Inden i kernen ligger de som netværk, nuklear lamina, og styrker kernen. De har en N-terminus hoved og en C-terminus hale og en central rod domain, der består af en alfa-helix region, hvor 2 af dem former coiled-coil dimer. Disse 2 dimer igen snører sig sammen via nonkovalente bindinger og danner en tetramer, binder de til hinanden forskudt via nonkovalente bindinger og danner et reb struktur, protofilamenter. Intermediære filamenter kan undergrupperes i 4, alt efter hvor de findes i kroppen:

- Keratin filamenter i epitelceller
- Vimentin og vimentin relateret filamenter i muskelceller
- Neurofilamenter i nerveceller
- Nuclear lamins som styrker kernens membran

Keratin er den hovedsagelig subsnit der er i cellerne. Keratinfilamenterne sætter også cellerne sammen via deres forbindelser desmosomer. Hvis der opstår fejl i generne, der påvirker keratin-funktion, kan man udvikle f.eks. epidermolysis bullosa simplex, hvor skin er meget sårbar for mekanisk påvirkning og kan let gå i stykker. Et andet protein der sætter epitelceller i cross-linking, stabiliserer og forstærker, er plectin (også årsag til denne sygdom og muskeldystrofi, neurodegeneration, man dør kort efter fødsel med denne gendefekt). Plectin og vimentin lænker intermediære filamenter til mikrotubuli, til aktin filament og til adhærensive strukturer i desmosomer.

Intermediære filament i nuclear membranen, lamins, kan blive fosforyleret af proteinkinases, der får filamenter til at gå i stykker, når cellen er i gang med at dele sig under mitose, men ved defosforylering finder de sammen igen i hver dattercelle.

Mikrotubuli har en vigtig rolle i cellerne. De er meget tykke rumlige rør af proteiner, 25 nm, der kan deorganisere i det ene sted i cellen, og reorganisere igen et andet sted. De er dannet af tubulin, en heterodimer bestående af 2 relaterede og meget tæt bundne globulære polypeptidkæder kaldet alfa-tubulin og beta-tubulin. De er sammensat igen af nonkovalente bindinger til at forme en væg af cylinder mikrotubuli, hvor tubulinmolekylerne er pakket rundt som en central del, der i elektronmikroskopet synes at være tom. De er cylinder af 13 protofilamenter med skiftevis alfa-tubuli og beta-tubuli. De har hver deres ende, beta ende kaldes for plusenden, og alfa for minus. Denne polaritet er vigtigt for f.eks. retning af intercellulær transport. De gror fra centrosomer beliggende i nærheden af kernen. Når cellen skal dele sig, mikrotubuli reorganisere sig til mitotisk spindel. De er med til at dele kromosomer i 2 og trækker dem i hver sin ende.

Centrosomer er placeret på den ene side af kernen, når cellen er ikke under delingen. Dens overflade indeholder 100 af ringformede strukturer af en anden slags tubulin, gamma-tubulin. Centrosomer kan ikke ses i mikroskopi, men centriole par (hver af dem lavede af cylinder af kort mikrotubuli, indeholder et sæt på 9 triplet tubuli, funktionen kendes ikke) besidder sig der og tubuli vokser ud fra gamma-tubuli, hvor den minus ende sidder i nucleation site eller starting point, som er vigtigt da det ellers er meget svært at starte tubulin fra bunden. Den plus ende er mod cytoplasma. De nye tubuli kan vokse ved at tilføje subunits, men uden advarsel kan de også skrumpe igen ved at tabe subunits. De frie tubulin indeholder også molekyler af GTP, hver gang subunits tilføjes på det nye voksende tubuli, vokser tubuli, men ved GDP er de ikke bundet så tæt, og kan sendes ud til cytosolen og tubuli vil mindre igen. Når de frie tubuli bliver tilført med GTP, bliver der dannet en GTP-cap. Så længe er der hurtigere tilføjelse af subunits end hydrolysering af GTP, vil tubuli vokse. Hvis tubuli er langsomt, og hydrolysen er hurtigere end tilføjelse af subunits, vil tubuli begynde at tabe subunits og blive mindre.

Mitotisk spindel er kun bevaret, hvis der hele tiden bliver tilføjet og fjernet tubulin subunits. Medikamenter som taxol og colchicine er brugt til netop hæmme celledelingen hhv. ved at binde kraftigt til tubulin subunits og forhindrer dem i at sætte sammen med voksende tubuli og forhindrer dem ved at miste subunits, så de ikke kan skrumpe og dele sig til 2 datterceller. De bruges til cancerbehandling.

De frie plus ende er altid ustabile, fordi der kan blive fjernet og tilført subunits. Tubuli kan dog sætte sig fast på celle cortex i plasmamembranen og dermed stabiliserer den.

Mitochondrier og andre organeller vil altid bevæge i nogle ryk. Man kalder denne form for bevægelse for saltatory movement, som leder mere korrekt end kontinuerlig bevægelse. Denne bevægelse er generet af motor protein, som binder til aktin filament eller mikrotubuli og bruger energien fra hydrolyse af ATP til at

transportere organeller og vesikler. Motor protein der bevæger langs cytoplasmatiske mikrotubuli, f.eks. i axonet, tilhører 2 familier: kinesiner, som bevæger sig mod plus ende af mikrotubuli, væk fra centrosomet, og dyneiner, som bevæger sig mod minus ende, mod centrosomet. De begge har globulære hoveder og haler. De hoveder er enzymer med ATP-hydrolyse aktivitet og sørger for at transporten går den rigtig vej. Halen på motor protein bestemmer hvilken cargo den transporterer.

ER er fordelt i hele cellen, grunden til den er at kinesiner sørger for at trække ER fra midten til enden af cellen, så den er strakt i cellen, hvor dyneiner sørger for at transportere golgi-apparat til midten nær kernen. De kan også danne permanente strukturer som cilier og flagella. Cilier er hårlignende struktur på ca. 0.25 um. Den består af 9 dobbelt mikrotubuli arrangeret i en ring med et par af single mikrotubuli, og er på den måde anderledes end cytoplasmatiske mikrotubuli. Flagella er meget længere end cilier. De slår en gentagende fimrebevægelse og får derved cellen til at flytte sig (og flytter væske langs celleoverflade). Bøjningen af trådene er forårsaget af et motorprotein ciliary dynein protein. Mennesket har flageller på spermatozo og vi har cilier i lungebronkier der danner en "børste" til at fjerne skidt og slimsekreter (mucus). Kvinder har cilier i æggeleder til at transportere ægget frem mod livmoderen. Bakterie flagel er meget anderledes og har ikke en 9 + 2 struktur og indeholder kun et protein nemlig flagellin og er ikke omgivet af cellemembran.

Aktin filamenter er helixal polymer, findes i mikrovilli, kontraktile ring under celledelingen og findes på overfladen af cellen, når den bevæger sig. De er ustabile og kan forme mange strukturer. De er tyndere og mere fleksible og kortere end mikrotubuli, 7 nm i diameter, men der er flere af aktin filamenter end mikrotubuli, derfor har en længde 30 x længere end alle mikrotubuli. De har ligesom mikrotubuli strukturelt polaritet, en plus og en minus ende. De findes sjældent isoleret i cellen, men mere som netværk eller bundter, og er derfor meget stærkere samlet end single. De vokser hurtigere ved plus ende end minus ende. Også her binder de faste ved ATP end ved ADP, hvor aktin filamenten reduceres i sin styrke af binding og bliver ustabil i polymer. Medikamenter som cytochalasins forhindrer aktin polymerizationen, hvor jasplakinolides stabiliserer polymerizationen, således bevægelsen er inaktiveret.

Selvom aktin er i hele cytoplasmaet, associeret med protein motor og danner bundter, ligger den meste af aktin lige under plasmamembran, kaldes cell cortex, der støtter overfladen af cellen, og giver denne styrke. F.eks. det røde blodlegeme, der indeholder spectrin og ankyrin, og indeholder også et netværk af aktin filamenter, de sammen cross-linked danner et 3-dimensionalt netværk.

Aktin afhængig motor protein tilhører myosin familien, de binder til aktin filamenter og hydrolyserer ATP, der skaffer energi til deres bevægelse fra minus ende til plus ende. Der er 2 familier af myosin: myosin-1 og myosin-2. Myosin-1 er meget mere simpel end 2, har et domain hoved og hale. Hovedet har ATP hydrolysering motor aktivator, der gør den i stand til at bevæge langs aktin filamenten og en hale som det binder det, der skal fragtes.

CELLECYKLUS, KONTROL OG CELLEDØD

Cellecyklussen kan deles i 4 faser:

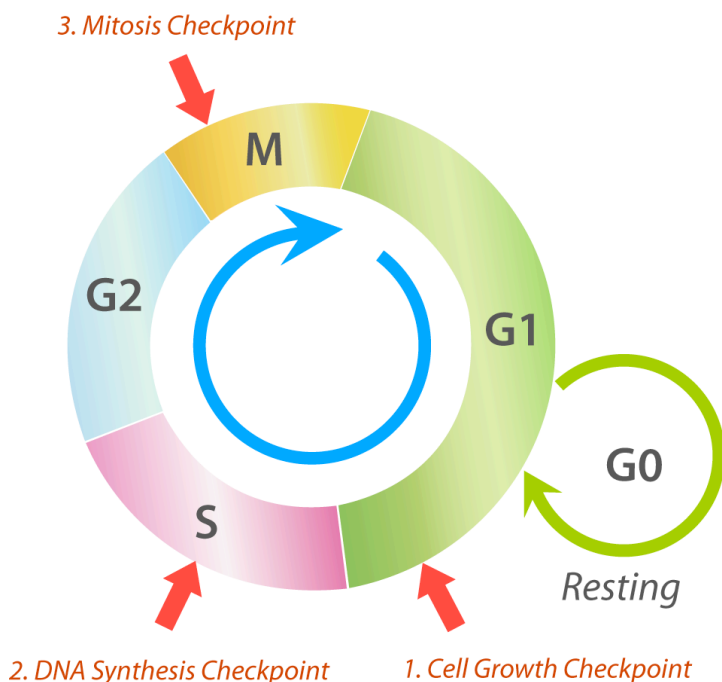
- Interfasen:

- G1-fasen – her sker en syntese af RNA og protein samt de øvrige bestanddele hvorved cellen vokser.
- S-fasen – DNA bliver replikeret, tager ca. 7 timer.
- G2-fasen – her sker yderligere vækst og samtidigt foregår der en kontrol at alt DNA er replikeret korrekt, tager ca. 4 timer.
- M-fasen – her forekommer mitose og cytokinese, tager 1-2 timer.

Enden af G1-fasen og G2-fasen er der en checkpoints, dvs. hvis DNA ikke er replikeret eller der er andre forsinkelser (f.eks. et genregulerende protein p53 der aktiverer transskription af gen der koder for Cdk hæmmende protein p21, der binder sig til G1/S-Cdk og S-Cdk og forhindrer dem i S-fasen), i M-fasen eller hvis der er ikke det miljø for replikationen, går den ikke videre i S-fasen. Cellen går i G0-fasen. Hvis der er defekt i p53, vil det lede til mutation og overproduktion af celler, der er kræftfremkaldende. Man siger at over halvdelen af kræftceller er der fundet mutationen af p53. I M-fasen kan mitose ikke forekomme ved at blokere aktiv APC, så kromosomerne bliver ved at hænge sammen til at spindler har taget fat i alle kromosomer til delingen.

Celler der forlader den normale cyklus og går over i G0-fasen, er differentierede, specialiserede celler som f.eks. nerver, sædceller eller tværstribede muskelceller. Andre celler der aldrig går i denne fase, er stamceller.

The Cell Cycle and the Checkpoints



1. Cell Growth Checkpoint

- Occurs toward the end of growth phase 1 (G1).
- Checks whether the cell is big enough and has made the proper proteins for the synthesis phase.
- If not, the cell goes through a resting period (G0) until it is ready to divide.

2. DNA Synthesis Checkpoint

- Occurs during the synthesis phase (S).
- Checks whether DNA has been replicated correctly.
- If so, the cell continues on to mitosis (M).

3. Mitosis Checkpoint

- Occurs during the mitosis phase (M).
- Checks whether mitosis is complete.
- If so, the cell divides, and the cycle repeats.

Fosforyleringen af proteiner afhænger af cyklin-afhængig protein kinase (Cdks). En gruppe af proteiner, cykliner, der binder sig til kineser, således kineser kan blive enzymatisk aktive. De er med til at fosforylere en

bestemt aminosyre, og dermed kontrollere cell-cycle control system. De er således med til at aktivere og inaktivere visse proteiner og proteinkomplekser der initierer eller regulerer DNA replikation, mitose og cytokinase. Defosforyleringen foregår via andre enzymer, fosfataser.

F.eks. M-cyclin efter den danner kompleks med Cdk til den aktiv form M-Cdk, hjælper cellerne i M-fasen. Efter enden af M-fasen sker der pludseligt fald af M-cyclin drevet af ubiquitin-afhængig proteolytisk system, der binder sig kovalent til M-cyklins molekyler, og inaktiverer Cdk. Selve ubiquitin er styret af en protein-kompleks anafase promoting complex (APC), der tilføjer ubiquitin til cyclin og regulerer mitose. Anafasen er også afhænger af APC, derfor navnet anafase. M-cyclin-Cdk kompleks forsat vil være inaktiv til den bliver fosforyleret af kinase og dens inaktiv site bliver aktiveret af fosfatase (defosfatase) ved at fjerne det hæmmende fosfat gruppe.

Der er flere forskellige slags cykliner og Cdk'er til hver fase af cyklussen.

I S-fasen et regulerende protein Cdc6 binder sig til origin recognition complex (ORC), og fremmer bindingen af nogle andre proteiner for at forme pre-replikative kompleks, der binder sig til origin af replikation og klar til at fyre. Efter fyring bliver Cdc6 og andre proteiner løsrevet fra ORC efter markeret for ubiquitin, og forhindrer hermed rereplikationen. S-Cdk hjælper også med at blokere rereplikationen.

I G1 er Cdk'er inaktive og giver cellen lov til at vokse inden S-fasen.

Celler i multicellulær organisme er højt organiseret. Her handler det ikke bare om celle adspredelse, men også celledød. Når der ikke er brug for celler, de begår selvmord ved at aktivere et intracellulært død program, kaldet Programmed cell death eller man kalder det normalt også apoptose. Man siger at celledød er med at regulere celle antal og balancere celle adspredelse.

Cellenekrose er når celler ved akut skade går i stykker og spilder deres indhold over deres naboceller dvs. cytoplasmaet kommer i kontakt med ekstracellulær rummet og det kan give inflammation. Hvorimod ved apoptose dør cellen helt rent uden at spilde sit indhold på nabocellerne og ødelægge dem. Disse celler skrumper og fortættes yderligere og tiltrækker specialiserede fagocytter, makrofager, der æder disse celler, inden de når at spilde deres indhold.

I modsætning til nekrose er apoptose ofte et led i fjernelse af enkeltceller. Det morfologiske udseende af apoptose er også forskelligt fra nekrose og viser sig ved kondenseringen og ofte fragmenteringen af kernens kromatin og skrumpning af cellen. Til forskel fra den passiv autolyse ved nekrotisk celledød er apoptose en energikrævende proces.

Apoptosen er kontrolleret af en familie af proteaser – enzymer der spalter andre proteiner – kaldet caspaser. De er lavet af inaktiveret procaspase, som er så aktiveret af proteolytisk kløvning som inducerer apoptose. Dermed disse aktiverede caspaser aktiverer andre medlemmer af familien resulterer proteolytisk kaskade.

En af caspaser kløver protein lamin, som former nuklear lamina i kernemembranen. Aktivering af apoptose er all-or-none reaktion. Når den engang er aktiveret, kan den ikke vendes tilbage.

Aktivering af procaspaser er reguleret af medlemmer fra Bcl-2 familie af intracellulære proteiner. De mest vigtige proteiner er Bax og Bak, der frigør cytochrom c fra mitochondrieri cytosol. Cytochrom binder sig til et adaptor protein, som så aktiverer en specifik procaskade, som aktiverer caspase kaskade der leder til apoptose. Andre medlemmer af Bcl-2 familien inkl. Bcl-2 hæmmer procaspase aktivitet og apoptose. De er med til at blokere Bak og Bax til at frigøre cytochrome c fra mitochondrierne. Nogle andre medlemmer fra Bcl-2 familien er også med til at blokere Bcl-2.

Organ og størrelse er bestemt af 3 fundamentale processer:

- Cellevækst
- Celle adspredelse
- Celledød

Hver af disse processer er reguleret af signaler fra andre celler i kroppen. Unicellulære organismer som bakterier deler vokser meget hurtigt og er afhængig af ernæring fra miljøet. I multicellulære organisme er kontrolleret, så en individuel celle kun deler når den anden celle er krævet – enten for vækst eller for at erstatte tabet af celler. For at kunne vokse må den have ekstracellulær signal molekyler, der påvirker cellevækst, celle adspredelse og overlevelse af cellen. Fleste af disse celler enten stimulerer eller hæmmer en eller flere af processerne.

De signalmolekyler, der stimulerer en bestemt proces, deles i 3 store klasser:

- Mitogener der stimulerer celle adspredelse
- Vækstfaktorer der stimulerer cellevækst
- Overlevelsesfaktorer der sørger for cellens overlevelse

De fleste mitogener er sekret signal proteiner, der sætter sig på overfladen af celler, og får receptorerne til at aktiverer intracellulære signaler der stimulerer adspredelse. Disse signaler bremser det som blokerer transient fra G1 til S fasen. Et eksempel er Retinoblastoma protein, som blev identificeret i øjet cancer hos et barn, retinoblastoma, hvor proteinet manglede eller var defekt. Det protein er rigeligt af i alle celler. Mitogener aktiverer intracellulære signaler som aktiverer G1-Cdk og G1/S-Cdk kompleks. Disse kinaser fosforylerer proteinet som frigør det bundet gen regulerende protein som aktiverer gener for transkription for celle formering. En anden af mitogengruppen er Platelet-derived Growth factor eller PDGF. Når blodet koagulerer i såret, frigøres der PDGF, der binder sig til tyrosine kinase i overlevede celler og stimulerer væksten og heler såret.

Hvis celler deler sig uden at vokse, vil de være meget små, massen vil ikke være store. Cellevækst er ikke afhængig af celleyklus, da de begynder først at vokse efter celledelingen er slut. Som mitogener binder vækstfaktorer til celleoverfladen og aktiverer intracellulære signaler der leder til akkumulering af proteiner og

andre makromolekyler og stiger i rate af syntese. PDGF fungerer også som vækstfaktorer og stimulerer cellevækst.

Celler har også brug for signaler for at overleve. Hvis de mangler disse signaler, vil de aktivere deres intracellulært suicide-program og dø af apoptose. Disse signaler er derfor med at regulere hvor og hvornår celler er nødvendige. De binder sig også til overfladen af cellen og ved intracellulære signaler med til at holde suicide-program undertrykt bl.a. ved regulere Bcl-2 familiemedlemmer.

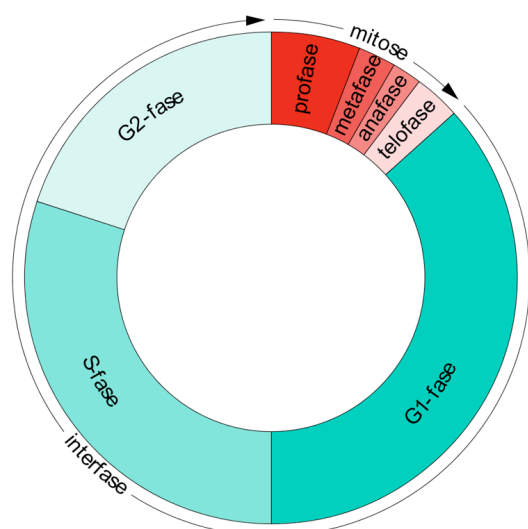
Myostatin er et sekret signalprotein der hæmmer vækst og celleformering, myoblaster der former muskelceller. Hvis man mangler dette protein, vil musklerne blive for stort. Cancer fungerer på samme måde, hvor de vokser ud i nærliggende væv, og ødelægger det.

CELLEDELINGEN

Mitose og cytokinese tilsammen kaldes for M-fasen af cellecyklussen. Det er den mest dramatiske fase i cyklusen. Forberedelsesfase, Interfase, som kan deles op i 3 faser:

- S-fase hvor DNA bliver replikeret
- G1 – mellem M-fase og S-fase
- G2 – mellem S-fase og M-fase der giver cellen tid til at vokse

Det hele er kontrolleret af celle-cyklus kontrol system. Det består af en række af proteiner, der bliver trigger forskellige trin i cyklussen.



I M-fase separer og adskiller cellen sine kromosomer, som er replikeret i S-fasen, så hver dattercelle får en kopi af dens genom. Når kromosomer er dupliseret, holdes de søsterkromatider bundet til hinanden af proteinet cohesins, som samler længder af kromatiderne tæt sammen. I begyndende M-fasen kondenseres DNA molekyler endnu mere af proteinkomplekset condensins og bliver synlige. Cyklin-dependent kinase (Cdk) er proteiner der kontrollerer adgangen til S-fasen og M-fasen. M-Cdk trigger condensins i DNA ved fosforylering af nogle condensin subunits, der faciliterer kondensation af kromosomer så er de pakket så kompakt, at det er nemmere at adskille dem under celledelingen.

Mitotisk spindler består af mikrotubuli og forskellige proteiner, adskiller kromosomer og trækker dem i hver deres ende i cellen (mitose) ved hjælp af mikrotubuli afhængige motor proteiner. Contractile ring består af aktin filamenter og myosin filamenter og danner en ring lige under plasmamembranen i cytokinese og deler cellen i to.

Inden celledelingen må centrosomer duplikeres ligesom kromosomer. Centrosomer er en mikro-organisering center som indeholder proteiner i form af gamma-tubuli ringe, hvor der vokser mikrotubulier ud. Centrosomen indeholder også et par af centrioler, der består af kort mikrotubuli. I interfase duplikerer centrosomer, og ved mitosis start duplikeres og adskilles de to centrosomer og hver af dem indeholder aster af mikrotubulier. De bevæger sig hver deres ende for at danne mitotisk spindel. Når kernen brydes, binder mitotisk spindel sig til kromosomer og trækker dem hver deres ende. De er også trigget af den samme Cdk, der replikerer DNA. I enden af mitose reformer kernens membranen rundt om de separerede kromosomer, og hver dattercelle får sit eget centrosom. Cyklusen er kendt som centrosom cyklus.

I starten af mitose vil de lange mikrotubulier fra interfase omdannet til mange korte mikrotubulier, blive mere dynamiske for at danne mitotisk spindel. De forskellige forandringer er drevet af aktiviteten af forskellige mikrotubuli-associated proteins MAPs, der binder sig til mikrotubulier og stabiliserer dem. Men M-Cdk, der trigger til M-fase, fosforylerer nogle af MAPs, og reducerer deres evner til at stabilisere mikrotubulier. Tilstedeværelse af nogle andre proteiner catastrophins destabiliserer yderligere mikrotubulier og reorganiserer mikrotubulier i starten af M-fase.

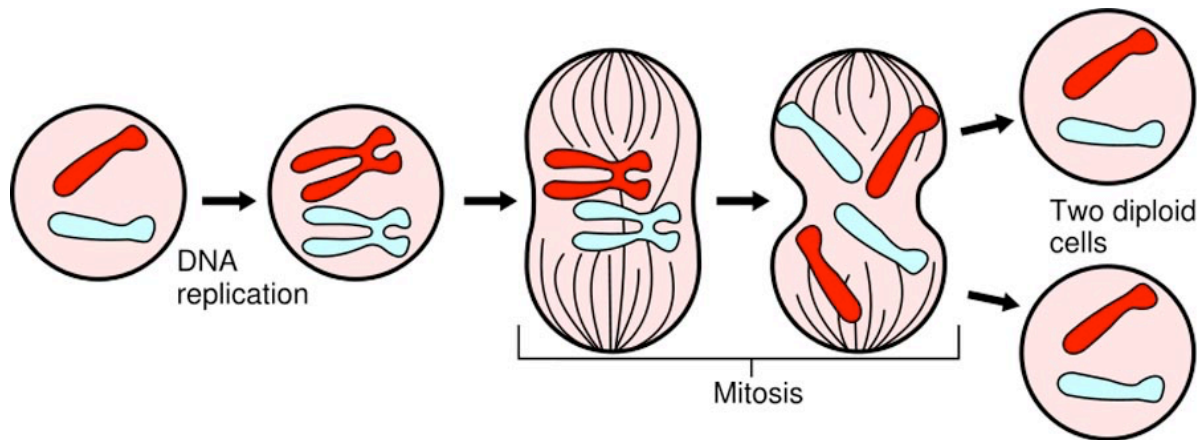
Mikrotubuli's frie ender er dynamisk ustabile. Men under profase vil mikrotubuli fra den ene centrosom vil interagere med mikrotubuli fra den anden centrosom. Denne interaktion vil hjælpe med at stabilisere mikrotubulier og forhindrer dem i at skrumpes igen og former mitotisk spindel. Nu kaldes centrosomer for spindel poler og interaktionære mikrotubuli kaldes for interpolar mikrotubuli. De mikrotubulier der ikke er med i interaktionen, kaldes fortsat for aster mikrotubulier.

Under metaprosen vil kernen brydes ned til små vesikler vha. fosforyleringen og bryder intermediære filamenter af nuclear lamina, et netværk af proteiner, der støtter og stabiliserer kernens membran. Efter kernen er brudt ned, vil mikrotubulier sætte sig fast på kromosomernes kinetochores, som under sent profase og lige før metaprosen havde sat sig på hver side af kromosomernes centromere. Nu kaldes mikrotubuli for kinetochore mikrotubuli. Hvis centromere ikke havde været der, ville kinetochore ikke kunne sætte sig på kromosomet, og dermed ville der ikke være kromosomdeling. De sætter sig på hver deres side på centromere, og dermed er kromatider lænket til spindel poler og kan trækkes hver deres side. Hver kinetochore kan binde ca. 20-40 mikrotubulier.

I begyndelsen af metafase begynder de kromosomer hæftet med mikrotubulier at organisere sig i ækvator af spindel poler og former metafase plate.

Søster-kromatider bliver adskilt under anafase, der kan deles op i anafase A og anafase B. Adskillelse af kromatider sker ved at cohesins bliver fjernet af aktiveringen af Anafase Promoting Complex (APC), der kløver et hæmmende protein, som frigør et proteolytisk enzym, der bryder cohesins. Under anafase A bliver kinetochore mikrotubuli bliver kortere pga. depolymeraseringen, der fjerner tubulin subunits, der også er afhængige af catastrophin både til mikrotubuli og kinetochore og bruger energien af ATP hydrolysen. Under anafase B bevæger spindel poler mod deres pol og interpolar mikrotubulier bliver længere vha. motor

protein, medlemmer tilhørende kinesin og dynein familien. Aster mikrotubuli vender sig væk fra ækvator og peger mod cellens cortex.



I telofasen klistrer små vesikler af kernens membran til de kromosomer og derefter reformer kernens membranen og der dannes nuklear porer. Intermediære filamenter der blev fosforyleret gennem profasen, bliver nu defosforyleret og reformer nuklear lamina. Kromosomer, efter membranen er dannet, dekondenserer sig i deres interfase tilstand og bliver usynlige og dermed er transskriptive aktive. Det er vigtigt at dattercellen, der har delt sig, også får de andre organeller. De bryder også ned i små vesikler, efter de er blevet større, og fordeler sig i datterceller.

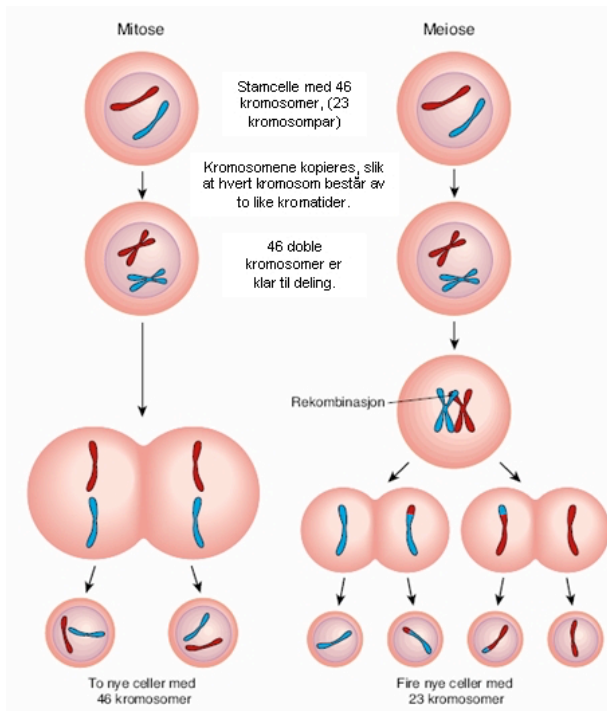
Det første tegn på cytoplasmadeling ses ved anafasen. Der dannes en fure mellem de to dannet kerner lavet af aktin og myosin filamenter, kontraktile ring. Den kontraherer sig til sidste i takt med cytokinetisk proces og deler cellen i 2. Normalt ville cellerne være ens i størrelsen, men under foster udviklingen hvor mitotisk spindle er lokaliseret asymmetrisk, derfor vil cellerne efter celledelingen være i forskellige størrelser, som vil også indeholde forskellige molekyler, de arver, og derfor udvikler sig til forskellige celletyper.

Diploid er når cellen indeholder to sæt kromosomer, 1 fra faderen og 1 fra moderen. Haploid er kun 1 sæt kromosomer, som er i celler der går gennem processen kaldet meiose.

GENETIK, MEIOSIS OG MOLEKYLÆR BASIS FOR ARVNING

Seksuel reproduktion foregår kun i diploid organisme, hvor hver celle indeholder 2 sæt kromosomer, arvet fra forældrene. De specielle celler der er involveret i seksuel reproduktion, germ celler (gametes) er haploid. De indeholder kun 1 sæt kromosomer. De er lavet, når diploid celler deler sig under processen kaldet meiose. Når de haploid celler laver diploid celle sammen (zygote), kombineres nye kromosomer, der er forskellige fra hver forældre. Haploid celler deler sig ikke, eksisterer kun kort og kun har seksuel funktion.

I meiose er der 2 celledelinger. Meiose hos mand kan vare 24 dage, hvorimod hos kvinder kan det vare hele livet. Før diploid germ-line celler deles af meiose i ovarier eller testis, duplikerer de deres 2 sæt kromosomer. Så hver celle indeholder 2 kopier af hvert kromosom, en fra faderen (paternal homolog) og en fra moderen



(maternal homolog). Disse 2 sæt kromosomer er sat sammen ligesom i mitose. Den næste fase er unik for meiose. Den dupliserede paternal kromosomer vil danne par med den dupliserede maternal kromosomer efter befrugtningen.

I diploidkerne er der 2 versioner af hvert kromosom. Der findes alleler, en anderledes form for gener. I profase kondenserer kromatider, i metafase befinder de sig i ækvator og i anafase adskilles de mod hver deres pol.

Når de dupliserede kromosomer danner et par i metafase plate, kaldes de for bivalent dvs. 4 sæt kromosomer. Der sker en cross-over, når der sker en krydsning mellem 2 af non-søster kromatider (rekombinationer), chiasma. Denne proces kaldes for

synaptonemal kompleks. Der kan forekomme flere rekombinationer, dvs. krydsninger. I anafasen bliver 1 cohesins mellem de dupliserede kromatider degraderet, men selve søster kromatider er stadig lænket til hinanden ved centromer. Dette arrangement gør, at kromatider holdes sammen når de bliver trukket hver deres ende af spindles.

Men det er den første celledeling, meiose 1. Her bliver der ikke dannet haploid.

I meiosen placerer 2 kromosomer igen sig i midten af ækvator, og søster kromatider efter degraderingen af cohesins bliver trukket hver deres ende af kinetochore mikrotubulier med et haploid indhold af DNA. Meiosen danner 4 ikke-identiske haploid celler pga. rekombinationer, hvor mitosen danner 2 identiske celler. I hver celle er der derfor 92 kromosomer, 46 par i hver celle - 8.4×10^6 gameter, hvor hver af dem er dupliseret. Hvis meios enslår fejl, hvor haploid celler enten mangler eller har mere end en kopi af kromosomer, kaldes for nondisjunktion. F.eks. Down syndrom, hvor der er en ekstra kopi af kromosom 21 i gameten, hvor den ellers burde være kun 2 ved befrugtningen.

Når udløsningen er der ca. 300 mil. sperm, hvor der kun 200 kommer til ægget. Sperm binder sig ovenpå æggets coat, zona pellucida, og bagefter trænger ind i ægget. Selvom der er mange sperm, så er der kun en, der trænger ind i ægget, og introducerer sit DNA. Når sperm er inde, frigør den Ca^{2+} ioner, der hærdner zona pellucida, så andre sperm ikke kan trænge ind. Når der er sket en befrugtning, kaldes ægget for zygote, hvor de 2 haploid kerner kombinerer deres kromosomer til en diploid kerne.

VÆV OG KRÆFT

Alle celler indeholder samme genom, men er specialiserede i forskellige retninger. Den lineære sekvens af baserne er afgørende for den 3-dimensionale struktur. Væv i kroppen består af forskellige celler med forskellige miljøer. F.eks. endothelial celler findes i karrene og sørger for oxygen, næring og affaldsstoffer. Andre celler er nerveceller og schwannske celler. Makrofager sørger for at komme af med døde celler og fremmedstoffer. Lymfocytter bekæmper infektioner. Andre celler er der af knoglemarv, endokrine celler og muskler.

Selvom væv og celler har deres eget miljø, findes de alligevel i miljøet i kroppen. For at bevare stabilt strukturen kræves der:

1. Celle kommunikation
2. Forskellige former (cadheriner og andre adhesion molekyler) for binding mellem cellerne
3. Hukommelse

Celler bliver hele tiden fornyet. F.eks. knogleceller bliver fornyet ca. hver 10 år. De gamle celler bliver spist af osteoklasten, hvor de nye celler kommer af osteoblasten. De røde blodceller bliver produceret i knoglemarven hver 120 dage.

Hudceller bliver fornyet hver 2. måned.

Hæmopoietisk stamceller laver forskellige former for celler, de røde og hvide blodlegemer og blodplader. Stamceller kan enten forblive stamceller eller differentiere sig til specialiserede celler. I epidermis findes der også stamceller i basalt lag. Og stamceller i tarmene.

Knoglemarvstransplantationer er brugt til at behandle leukæmi eller andre immundefekte sygdomme. Nu mener man at man kan bruge embryonisk stamceller og behandle muskulær dystrofi, Parkinsons disease og sukkersyge. Man mener, at en dag vil man kunne gendanne et helt nyt organ af disse stamceller. Nuklear transplantation er også muligt, men indtil videre har der været misdannede dyreunger, og der er store etiske problemer.

Cellevækst, celledeling, celledød og celledifferentiering er omhyggeligt regulerende processer i kroppen. Hvis reguleringen af disse processer forstyrres og kommer ud af balance, kan der udvikles hvad man under et betegner som kræft eller cancer. Det vil sige, at en celle som på en eller anden måde er undsluppet reguleringen, kan begynde at vokse og dele sig ukontrolleret. Denne celledatters efterkommere vil ofte have arvet egenskaberne for ukontrolleret cellevækst og vil altså også vokse og dele sig uden at reagere på de normale signaler, der regulerer cellevækst og deling. Dette fører i sidste ende til en klon af celler der tilsammen danner en svulst, en såkaldt tumor. Nogle tumorer er godartede, beligne, og har ikke alvorlige følger for organismen, men mange tumorer er ondartede, maligne, og består af celler der kan sprede sig, metastasere, i kroppen og forårsage den sygdom, vi kender som kræft. Årsagen til den ukontrollerede cellevækst skyldes mutationer i gener, der koder for proteiner, som medvirker på et eller andet trin i de processer, der regulerer cellecyklus. En vigtig forskel på cancer og andre genetiske sygdomme er imidlertid, at cancer hovedsageligt skyldes mutationer i somatiske celler, mens de fleste andre genetiske sygdomme skyldes mutationer i

kønsceller, og dermed er disse sygdomme arvelige. Kræft skyldes heller ikke en enkelt mutation, men snarere er et resultat af en ophobning af mutationer i forskellige gener.

Proto-onkogen: et gen, som koder for et protein, der fremmer cellevækst eller deling. Proto-onkogenet kan mutere til et onkogen, der kan være med til at forårsage kræft. Mutationen kan give et ændret protein, eller den kan ændre udtrykket af genet, så der dannes for meget eller for lidt af proteinet. Som regel er det kun nødvendigt at den ene allel ændres.

Tumor-suppressor-gen: et gen, som koder for et protein, der hæmmer celledeling og som hvis det inaktiveres, er medvirkende til kræft. I næsten alle tilfælde er det nødvendigt, at begge alleler muterer. P53 findes i 50% af alle kræfttilfælde. Det koder for et protein, der fungerer som et checkpoint kontrolmekanisme, som er med til at tilbageholde celler med ødelagt DNA i G1 eller i G2 fasen i cellecyklus, indtil det ødelagte DNA er blevet repareret af cellens eget DNA-reparations system. Dvs. det forhindrer cellen i gå ind i mitosefasen og dele sig og forhindrer en spredning af mutationer i organismen, der kan udvikles til kræft.