Cellbiologi

Sammanfattat av Kajsa Dahlin N10

Cellen i stort

Ligger i storleksordningen 0.2 – 20 µm.

Mikroskop:
Ögat >200 µm Ljusmikroskop > 200 nm Elektronmikroskop > 0.2 nm
Robert Hooke var den första som använde sig av flera linser i ett mikroskop, dock av låg kvalité.
Leeuwenhoek var en linstillverkare (mikroskop med en lins) som bl.a först beskrev bakterien, identifierade muskelns tvårstringsstruktur, undersökte blodkroppar och fann sexuell reproduktion hos små insekter.
Det gemensamma för celler är deras celldelning; uppstår ur andra celler genom delning, de är uppbyggda av organiska ämnen samt de innehåller bl a DNA. Protetinsyntes sker i ribosomer.
Prioner - protein som kan infektera och ej avaktiveras. Deformerar DNA (t ex galna kosjukan).

Cytoplasman

Cytosolen
75-90% vatten
Innehåller bl.a joner, glukos, protein, AA, FA, ATP osv.
Här sker t ex *glykolysen* (*se avsnitt Cellens energi*)

Cellorganeller
Utför särskilda uppdrag, den har specifika enzym och organeller varierar mellan cellerna.

Växtcellen

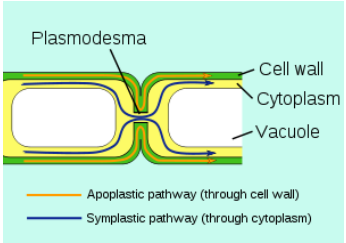
Det som särskiljer en växtcell är dess cellvägg, vakuoler, totipotens (förmågan att återskapa en fullständig individ från en somatisk cell), plastider.
En växtcell är ca 50 µm.

Vakuolen
Det är en membranbunden organell som finns främst i växtceller. De är vätskefyllda blåsor som är fyllda med vatten som bl.a innehåller viktiga enzymer. Vakuolen bildas genom sammansmältningen av vesiklar, och är i princip bara större versioner av dessa. De främsta upppgifterna en vakuol har är:

Isolera ämnen som skulle kunna vara ett hot mot cellen.
Att rymma vatten och slaggprodukter.
Att bibehålla det hydrostatiska trycket i växten och stödja strukturen.
Att bibehålla rätt pH-värde.
Att rymma mindre molekyler.
Att exportera oönskade partiklar ut ur cellen.

Cellväggen
Cellväggen omger hos vissa celler själva cellmembranet, och är en stödjande vägg av cellulosa. Cellväggarna ger skydd och stadga till växtens stam och blad och innehåller bl.a *lignin* som ger träd sin styrka. En viktig funktion i cellväggen är att fungera som ett tryckkärl, att förhindra överexpansion när vatten kommer in i cellen.

Plasmodesmata
De är mikroskopiska kanaler som korsar cellväggarna hos växter, och möjliggör transport och kommunikation mellan dem. Cellväggen är genomsläpplig för små lösliga proteiner och annat, men plasmodesmatan möjliggör direkt intercellulär transport av ämnen. Det finns två olika slags plasmodesmata; Primära som bildas vid celldelning, och sekundära som kan bildas mellan mogna celler.



Plastider
De är organeller i cellen hos växter och alger där tillverkning och lagring av flera

viktiga kemikalier, som t ex stärkelse, äger rum. De innehåller också ofta pigment som är aktiva i fotosyntesen som de ansvarar för. Hos växter kan de utvecklas till olika former beroende på behovet. Det finns:

Kloroplaster för fotosyntes
Kromoplaster för lagring av pigment
Amyloplaster för bl.a lagring av stärkelse
Gerontoplaster som kontrollerar avveckling av fotosyntesmaskineriet

Vävnader

Basal vävnad

Kollenkym
Parenkym
Sklerenkym

Kärlvävnad – *Vascular tissue*

Transportsystem, har tjocka cellväggar.

Floem – organisk transport
Xylem – oorganisk transport

Dermal vävnad

Ytterskikt på växter. Hårstrukturer.

Epidermis
Stomata (klyvöppning)

Genetisk transformation

En genetisk förändring av en cell genom direkt upptag av genetiskt material från dess omgivning genom celmembranet. Detta kan ske antingen naturligt eller på konstgjord väg, och oftast hos bakterier.Det finns också två andra processer genom hur genetisk information tillförs en bakterie. Begreppet finns också för djur- och växtceller men eftersom det tyder på progression till cancer bör det undvikas. Där brukar det kallas *transfektion*.

Agrobakterium

Agrobacterium är ett släkte av gramnegativa bakterier som använder horisontell genöverföring att orsaka tumörer i växter. Agrobacterium är välkänd för sin förmåga att överföra DNA mellan sig själv och växter, och därför har det blivit ett viktigt verktyg för genteknik.

Annat:

Ärkebakterierna är extremofiler som ligger lite mellan bakterier och eukaryota celler, de ”blev av” med kärnorna under utvecklingen.
Epidermis – Kallas även överhuden och är det lager av celler som täcker växterna och bildar en gräns mellan själva ”kroppen” och den yttre miljön. Funktionerna den har är att skydda mot vattenförlust, reglerar gasutbytet, utsöndrar särskilt i rötterna vissa föreningar och absorberar vatten och mineralämnen.

Baktericellen, livets utveckling och stamceller

Livets utveckling

Alla levande organismer har gemensamt ursprung, och många centrala funktioner är konserverade, dvs de är oförändrade i de olika arterna, t ex ribosomer. De som inte är lika nödvädiga har grad
S förändrats genom evolutionen.

Det finns tre domäner bland de nu levande organismerna; bakterier, arkéer och eukaryoter.

Endosymbiontteorin

Den idag dominerande teorin om hur uppkomsten av eukaryota celler har gått till. Teorin går ut på att mitokondrier och plastider (t ex kloroplaster) en gång i tiden var frilevande prokaryoter (bakterier) som upptogs av andra prokaryoter och utvecklat ett liv i symbios. Det endosymbiontiska samarbetet mellan prokaryoterna har lett till utvecklingen av dagens eukaryota organismer.De har båda dubbla membran och delar sig i en process som liknar bakteriers.

Problemet med replikation – lösningen RNA

Autokatalys krävs för att evolutionära processer ska kunna verka -> RNA! RNA kan vara både bärare av genetisk information och ha katalytisk aktivitet, och kan fungera som ”ribozym”; det är RNA som katalyserar bildningen av peptidbindningar vid proteinsyntesen. Proteinerna håller bara strukturen. Hypotesen om RNA-världen innebär att små korta RNA-molekyler som bildats spontant, även ska ha haft förmågan att katalysera sin egen

fortsatta replikation. Det finns dock flera problem som behöver lösas för att RNA-hypotesen helt ska hänga ihop. De största problemen med hypotesen är att RNA är instabilt då det exponeras för ultraviolett strålning, hur nukleotiderna kunde aktiveras och bindas, bristen på löst fosfat, som behövs till nukleotidkedjans ryggrad, och att kvävebasen cytosin är instabil och lätt genomgår hydrolys.

Hur uppstår en genetisk variation?

1. Mutation i en gen, t ex punktmutation
    - Kan uppstå genom:
        - Replikationsfel: ca 1 fel/10^4 baser. De flesta korrigeras av *proofreading* och *mismatchreparationer*: 1 fel/10^9 baser.
        - Viss kemisk instabilitet av baser.
        - DNA-skador (t ex Uvstrålning, kemiska ämnen)
    - Slumpmässiga mutationer
    - Effekt på genproduktion
    - Effekt på individens/organismens ”fitness”
        - Neutral mutation (vanlig) – finns kvar i populationen
        - Negativ mutation – konkurreras ut.
        - Positiv mutation (ovanlig) – ger ökad konkurrenskraft
2. Mutationer regulatorisk region
3. Genduplikationer
    - Kan uppstå genom *homolog rekombination*. Efter duplikationen kan kopiorna utvecklas olika.
        - En kan upprätthålla den normala funktionen.
        - En kan gradvis förändras till ny funktion, duplikation av exoner -> kan se nya domäner i ett protein.
4. ”Exon shuffling”
    - Kan ge utbyte och omkombinering av domäner i protein (stor drivkraft i evolutionen).
5. Mobila genetiska element
6. Horisontell genöverföring
    - Överföring av gener mellan olika arter.
7. Sexuell förökning
    - Gener blandas om.

Tyst mutation – påverkar inte sekvensen av aminosyror / sekvensen av aminosyror förändras men att den förändringen inte ger upphov till förändrad funktion hos proteinet.
Missensemutation – en nukleotid byts ut mot en annan och leder till att fel aminosyra kodas vid translationen. Detta leder till att proteinet som byggs upp av aminosyrorna kan få en annan form och funktion.
Nonsensmutation – ett baspar hos DNA förändras så att istället för den aminosyra som skulle kodas, så introduceras ett stoppkodon vilket terminerar translationen och ger upphov till en trunkerad proteinprodukt. Sker detta tidigt i translationen så kan det leda till ett icke fungerande protein.
Frameshift mutation(”läsramsmutation”) - en nukleotid (eller flera, det får dock inte vara ett tal som är jämnt delbart med tre) tas bort eller läggs till på ena enkelsträngen i DNA-molekylen. Detta leder till att alla nukleotider hamnar ett (eller flera) steg före eller efter sitt egentliga läge. Eftersom nukleotiderna tre och tre kodar för aminosyror kommer detta att göra att de aminosyror som kodas efter frameshiften antagligen med största sannolikhet kommer att bli någon annan aminosyra.

Bakterier

Genöverföring hos bakterier

Kan ske genom:
- Transformation (upptag av naket DNA från omgivningen)
- Transduktion (virus kan ta med och överföra kromosomala gener)
- Plasmid-driven överföring via cell-cell-kontakt.

Mikrober står för den allra största delen av den biologiska mångfalden, och är icke synliga med blotta ögat. Till mikroberna räknas bakterier, alger, urdjur, jäst, mögel och virus. De förekommer överallt i vår miljö. En del av mikroberna förorsakar sjukdomar andra är nyttiga t.o.m. livsviktiga för oss, de bryter ner död materia i naturen. De driver grundämnenas kretslopp, och påverkar också bl a vädret.

Bakterier är prokaryoter och saknar därmed membranomsluten cellkärna. De har enklare cellulär struktur, oftast utan membranomslutna organeller. Deras DNA är fäst vid cellmembranen. De saknar också mitikondrier, kloroplaster, ER och Golgiapparat.

Trots att bakterinerna är enkelt byggda är deras ämnesom-sättning ibland mycket komplicerad och specialiserad. Detta gör att bakterierna kan utnyttja nästan vilka organiska substrat som helst.
Ett exempel på detta är cyanobakterierna (blågröna alger), som absorberar sitt kol (C) ur luftens koldioxid och sitt kväve (N) ur luftens kväveföreningar.

De finns i olika former: Coccus (sfäriska), rod (stavformade) och spirillum(spiralformiga)

Cellväggen
En bakterier cellvägg består av *peptidoglykan* (molekylärt nätverk som byggs upp av kedjor av två sockermolekyler som är tvärbundna av bryggor av korta peptider). Cellväggen är måltavla för viktiga antibiotika.Flera av våra viktigaste antibiotika blockerar t ex enzymer inblandade i cellväggssyntes. Lysozym bryter glykoidbindningarna mellan peptidoglykanets sockermolekyler. Nedbrytning av cellväggen orsakar vanligen *lysis*, dvs att cellen brister.

Gramfärgning
Bakterierna indelas i två stora grupper med ledning av cellväggens uppbyggnad, Gramfärgningen särskiljer dessa typer av cellhöljen hos bakterier.

1. Gram-positiva

Tjock vägg av peptidoglykan. Oftast mer åtkomligt för behandling med t ex penicillin och lysozym.
Peptidoglykanlagret är tunt och finns i periplasmatiska rummet. Ett yttermembran omsluter cellen, och utgör en barriär för många antibiotika och andra toxiska substanser.

Bakteriers kromosom
Kromosomerna är tätt packade med gener, och det finns inga introner samt väldigt lite repetitivt eller icke-kodande DNA. Kromosomerna är cirkulära.

Nukleoiden
Kromosomen är ca 1 mm lång och därmed mycket tätt packad. DNA är organiserat och förpackat av DNA-bindande proteiner, dock saknar bakterier histoner och nukleosomer.

Transkription och translation är direkt kopplade och sker i cytoplasman, jämfört med eukaryota celler där de är fysiskt separerade

Cytoskelett
Föregångare till eukaryoters cytoskelett har hittats hos bakterier. De har stor betydelse för att bestämma cellens form och tredimensionella organisation. Mikrotubulis föregångare bildar ring som styr celldelningen (utbredning inom alla bakterier, hälften av arkéerna och kloroplaster). Aktins föregångare bestämmer cellens form (stavformiga bakterier), och det intermediära filamentets föregångare ger böjd form (utbredning hos vissa bakterier).

Endocytos och exocytos förekommer inte i prokaryoter.

Pili och *fimbrae* är hårlika proteinutskott var funktioner är:

- Vidhäftning (t ex till värdcell, ytor, andra bakterier)
- Fungerar som ”adhesiner” (cellytekomponenter som t ex underlättar vidhäftning). De flesta fimbriae av gramnegativa bakterier fungerar som adhesinerna, men i många fall är det en liten subenhet protein vid spetsen av fimbriae som är själva adhesinet.
- Viktiga för virulens hos många patogener (*virulensfaktor*: kolonisering av en nisch i den mottagande, hämning av värdens immunsvar, få näring från värden mm)
- *Twitching motility* (flagelloberoende av form av bakteriell translokation över fuktiga ytor. Det sker genom förlängning, binda upp, och sedan indragning av *polära typ IV pili*, som fungerar på ett sätt som liknar en dragkrok.
- *Sex pili*. Nödvändigt för att etablera kontakt mellan bakterieceller vid konjugativ överföring av DNA. (*Konjugation* innebär att en s.k. konjugativ plasmid (t.ex. F-plasmid i *Ecsherichia coli*) överför en kopia av sig själv till en ny värdcell.)

Motilitet
Tre huvudtyper:

Simning (drivs av flagell)
Twitching (drivs av pili)
Glidande (längs ytor)

Flagellen
Ett stelt spiralvridet filament som är uppbyggt av proteinet flagellin. Det har en ”cap”-struktur vid spetsen, och en sk ”hook” utgör en böjlig länk mellan dess basalkropp och filamentet. Basalkroppen är en motor som består av statiska och rörliga ringar vilka förankrar flagellen i cellhöljet. Rotationen av flagellen drivs av protongradienten (inströmmande protoner). Den byggs upp stegvis inifrån cellen, basalkroppen bildas först. Filamentet växer genom att nya subenheter läggs till vid spetsen. ”cap”-strukturen hjälper proteinerna att hamna på rätt plats (annars skulle de pumpas rakt ut i mediet).

Arkéer

Skiljer sig lika mycket från bakterier som från eukaryoter, men är prokaryoter. De har en stor diversitet i cellmorfologi, fysiologi, metabolism etc. Många lever i extrema miljöer – men de är också mycket vanliga i andra miljöer.

Utmärkande egenskaper
Prokaryot cellorganisation
Variabla cellväggar bestående inte av peptidoglykan men utav protein, polysackarider och glykolipider.
Membranlipiderna består av långkedjiga kolväten (ej fettsyror) som kopplas via eterbindningar till glycerol ist för esterbindningar.
RNA-polymeras och enzymer för DNAreplikation är mer lika eukaryoters än bakteriers.

Djurcellen, membran och cytoskelettet/cellrörelser

Djurcellen översiktligt

En cells storlek beror på framförallt volymarean, molekylers diffusionshastighet och koncentrationen av viktiga molekyler (kollisionsmöjligheter).

Djurcellen har fyra strukturella beståndsdelar:

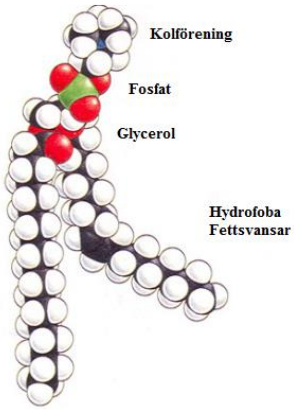
- Plasmamembran
- Kärna
- Organeller
- Cytosol

Som en översikt är det membranproteiner, främst glykoproteiner, som identifierar ämnen och kommunikation. Cytoskelettet sköter cellens stabilitet, samt den inre transporten tillsammans med basalkroppar och axonem. Syntesen sköts av ribosomer, GER och SER. Sortering och förpackning sköts av golgiapparaten och in- och ut-transport ur cellen av membranet och cytoskelettet. Nedbrytning av vesiklar som lysosomer och endosomer, lagring av vakuoler och vesiklar samt energiförsörjning av mitokondrier.

Membran (allmänt)

Mycket töjbart tack vare sin flytande uppbyggnad. Membranet har många olika funktioner:
- mekaniskt stöd
- barriär
- reglera export och import
- för att reglera information, de har receptorer som fungerar som mottagarmolekyler för signaler utifrån. Receptorerna förmedlar signalmolekylernas budskap till cytoplasman och kärnan
- i mitokondrier/kloroplaster är membranet en plats för energiomvandling.

Små molekyler, t.ex. vatten, penetrerar membranet med hjälp av osmotiska krafter medan största delen av transporten genom cellmembranet regleras mycket noggrant. Till detta finns speciella kanaler för t. ex olika joner eller socker. Dessa kanaler byggs upp av proteiner, och på detta sätt kan cellen upprätthålla inre optimala betingelser. Även cellmembranets struktur är betydelsefull. Ett exempel på detta är mikrovilli på tunntarmens epitelceller, som förstorar ytarealen och därmed underlättar apsorptionen av näringsämnen.



Fosfolipid

Membranlipider

Fosfolipider (fosfatgrupp)
Fosfoglycerider
Sfingolipider
Glykolipider (kolhydrat)
Sfingolipider
Cerebrosider
Gangliosider

Steroler (mer rigid/platt form, ringstrukturer)
Kolesterol

Lipiderna är alltid i rörelse. Detta gör de genom rotation, *lateral diffusion* (rörelse i sidled) och *flipflop* (förflyttning mellan lager) och de kan också byta plats med varandra. Membranets flytbarhet bibehålls genom att kolesterol hindrar lipiderna från att tätpackas. Även fettsyrornas dubbelbindningar ger utrymme och förhindrar tätpackning. Högre temperatur ger fler dubbelbindningar.

Funktion
Transportörer
Ankare
Receptorer/enzym

Membranproteiner
I membranet sitter också olika sorters proteiner. Med hjälp av dessa membranproteiner fäster cellen vid andra celler eller i cellens inre strukturer. De reglerar transporten av näringsämnen, joner, gaser osv, och detekterar och överför elektriska och kemiska signaler samt sköter cell-cellkommunikationen. Cellmembranets proteiner har ofta sockergrupper kopplade till sig. Proteinerna kan t ex vara transmembrana, dvs ha delar både utanför och innanför cellen i form av t ex *alfa-helixar* eller *beta-barrels* . De kan också vara budna till glykolipider, eller till andra protein, sk *glykoprotein*. Kolhydraterna sitter fästa på glykolipider eller glykoprotein och ger en "slajmig" yta, skyddar från fysisk/kemisk skada samt känner igen celler.

Ett sätt att transportera ämnen över membranet är genom *diffusion (se Nerv- och sinnessignaler)*. Annars använder man sig av *transportproteiner*:

Kanalprotein
Kräver ingen energi, och ingen strukturförändring.
Jonkanalering - är mycket selektiva och kan regleras m h a spänning, ligander (t ex acetylkolin) eller mekaniskt.
Aquaporiner – porer (proteiner) inbäddade i cellmembranet som reglerar vattenflödet.
Poriner (mitokondrier/kloroplaster) - beta -barrel proteiner som fungerar som en por genom vilken molekyler kan diffendera.

Bärarprotein
Konformationsföränderliga samt <u>kräver energi.</u>
Passiv (i gradientens riktning)
Uniport - arbetar genom att binda till en lös molekyl i taget och transportera den i gradientens riktning.
Aktiv (tillför energi)
Indirekt transport - cotransportörer. Dessa skiljer sig åt genom *symport* (samma håll för co-transportören) och *antiport* (motsatt håll).
Direkt transport - pumpar (ATP-pumpar där de drivs av ATP mot sin gradient). ATP lämnar P och blir ADP. Pumpen fosforyleras och konformationsförändring triggas, ämnet släpps ut som varit bundet på "rätt" sida. Pumpen defosforylseras.
P-pumpar - transporterar joner.
*V-pumpa*r - protonpump
ABC-transportör

Ett ämne transporteras m.h.a ett bärarprotein:
Ämnet binder in till proteinet utanför cellen. Proteinet ändrar sin konformation, och transporterar på så sätt ämnet genom membranlipidlagret. Det släpps sedan ut på insidan av cellen och proteinet går tillbaka till sin ursprungliga form.

Djurcellens organeller

Här finns:

Endomembransystemet:
Cellkärnan
ER (endoplasmatiskt retikulum)
Golgiapparaten
Endosomer
Lysosomer
Dessutom:
Peroxisomer
Inklusioner
Mitokondrier
Ribosomer

Endomembransystemet (detaljer nedan) : Syntes i ER -> transport till Golgi -> transport i Golgi->

1. utsöndringsvesiklar
2. endosomer -> endocytos ->
    1. recycling av plasmamembrankomponenter
    2. sena endosomer blir till lysosomer
    3. retrograd transport återför specifika proteiner.

Cellkärnan - Bibliotek och kontrollcentrum
Består av kärnmembran som ansluter till ER, nukleär matrix, kromatin och nukleoler.
Kärnmembranet är dubbelt, med det *perinukleära mellanrummet* i mitten. Det inre membranet vilar på nukleär *lamina* (intermediära filament). Det yttre hänger sammans med ER vars lumen hänger samman med den perinukleära mellanrummet. Det yttre membranet är liksom ER ofta fullt av ribosomer som syntetiserar proteiner. Kärnmembranet delar in cellen, skyddar nysyntetiserad RNA samt skapar en transportbarriär. En framträdande struktur i membranet är *kärnporerna* som förbinder cytoplasman med nukleoplasman.

Aktiv transport ut ur/in i cellen sker m.h.a transportprotein och s.k ”adressetiketter”, vilket kräver energi i form av GTP.

Import: NLS (nuclear localization signals), syntesproteiner för DNA och RNA.
NLS är en aminosyrasekvens som "taggar" ett protein för import till cellkärnan av kärn-transporter. *Importin* flyttar andra proteinmolekyler in i kärnan genom att binda till ett särskilt erkännande sekvens, NLS.

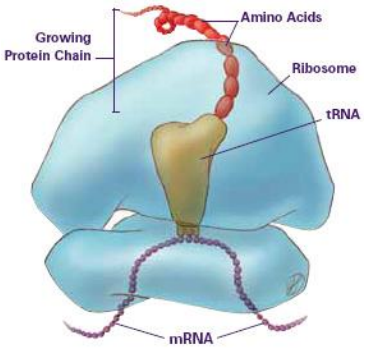
Export: NES (nuclear export signals), ribonukleoproteiner
NES är en kort aminosyrasekvens på fyra hydrofoba rester i ett protein som ”målsätter” det för export från cellkärnan till cytoplasman via nukleära porer. NES är igenkänd och bunden av *exportiner* (hjälper proteiner ta sig ut ur kärnan).

DNA viras kring *histoner*. Kromatin finns samlat i cellkärnan och förankrat i dess kärnmembran vid *centromerer* (kromosomens mitt där de båda kromatiderna hänger samman)och *telomerer* (kromosomens ändar).

Nukleär lamina – en del av cellkärnans skelett och består av intermediära filament som stödjer membranet och tillhandahåller förankringspunkter för kromatinet.
Nukleoler – är cellkärnans ribosom-ihopsättnings-fabriker. De varierar stort i antal, storlek och form. Deras inre struktur består av fibriller av DNA som kodar för rRNA-gener, och *granula* av rRNA och proteiner som bildar ribosomala subenheter (se nedan).

Ribosomer – tillverkar proteiner
De finns både fria i cytoplasman och membranbundna på ytan av bl a GER och kärnmembranet. De är flera 100 000 ribosomer/cell.
Ribosomen består av två subenheter som sätts samman vid proteinsyntes, vilket sker i fyra steg:

1. mRNA binder in
2. tRNA med aminosyra binder in
3.tRNA flyttas



4. tRNA lämnar ribosomen

Dessa subeneheter finns fria i cytoplasman men kan stundtals fästa in till membranet kring cellkärnan och ER. Det kan observeras att flera ribosomer kan fästa in samtidigt på en mRNA = *polyribosom* eller *polysom*, de är ett kluster av ribosomer på en mRNA.

ER (Endoplasmatiskt Retikulum) – Cellens fabrik

Är ett dynamiskt system av membrantuber och säckar. Dessa är uppbyggt av *cisternae* som är membransäckar och *lumen* som är innehållet. Här tillverkas membrankomponenter för alla membran i cellen (lipider – fosfolipider, kolesterol). Dessa tillverkas i cytosoltillvända monolagret i ER-membranet. Eftersom fosfolipider inte flippar spontant i någon större utsträckning finns det specifika fosfolipidtranslokatorer (*flippaser*) som för över fosfolipiderna till andra sidan. Det finns två versioner av ER:

GER (Granulerat ER) – tillverkar/modifierar/kontrollerar proteiner/membrankomp.
Ansluter till kärnans yttre membran, har ribosomer på utsidan. Molekyler modifieras i GER, vecklas ihop och förs ihop till multimera proteiner där felaktiga proteiner sorteras bort.

SER (Slätt ER)
Ansluter till GER. Här sker:

- Oskadliggörande av gifter (främst lever, lunga, tarm)
- Kolhydratmetabolism (nedbrytning av glykogen till glukos)
- Kalciumlagring (Ca2+ viktigt i muskelceller)
- Steroid- och fettsyntes (t ex könshormoner och fosfolipider)

Ribosomer som sitter fast på GER tillverkar både lösliga och membranbundna proteiner som ska till organeller i endomembransystemet, plasmamembranet och till export från cellen. Proteinerna förädlas till viss del i GER, ibland direkt när de tillverkats.

Proteiner förs över i GER-membranet eller lumen på två sätt:

1. Cotranslationellt (under tiden det bildas)
2. Posttranslationellt (efter att det bildats)

Golgikomplexet – sorterar och packar proteiner

Golgi består av staplar av membranbundna strukturer som kallas *cisternae*. Komplexet, även kallat ”golgistack”, innehåller ”cis”-golginätverk(CGN), ”trans”-golginätverk(TGN) och ”medial”-cisternen. Dessa tre är biokemiskt och funktionellt olika. Proteiner, lipider och andra ämnen från ER kommer till Golgi med (coated)transportvesiklar. I golgi slutförs sortering och packning av proteiner som sedan skall transporteras ut ur cellen genom *exocytos*(se nedan).
Anterograd och *retrograd transport* balanserar mängden membran och återför specifika proteiner både till Golgi och till ER, som har mekanismer som håller kvar avdelningsspecifika proteiner. Förutom förpackning och sortering tillverkar Golgi glykoproteiner och tar hand om endocytotiskt upptagna proteiner.

Exocytos – Cellerna utsöndrar stora biomolekyler genom att innesluta dem i en vesikel som sedan avknoppas från dess cellmembran. Exocytos kan verka för att utsöndra avfallsprodukter hos encelliga organismer. Hos flercelliga organismer har exocytos även signalerande och regulatorisk funktion Vesiklar rör sig m.h.a motorproteiner längs mikrotubuli till cellmembranet. Det finns konstitutiv eller reglerad(m.h.a Ca2+) exocytos. Detta gäller bl a hormoner, slem, mjölkproteiner och nedbrytningshormon.

Endocytos

Fagocytos – Stora partiklar (bakterier, cellskräp)
Pinocytos – Molekyler (hormoner, tillväxtfaktorer, enzymer, antikroppar mm)

Två typer: Receptormedierad och Clathrinberoende(vätske-endocytos), förmodligen till för att reglera cellmembranets storlek.
Clathrin - Ett protein som spelar en viktig roll i bildandet av belagda vesiklar.
Dynamin - Dynamin är en *GTPas* (enzym som kan binda och hydrolysera GTP) ansvarig för endocytos i eukaryota cellen. De är främst involverade i uppdelning av nybildade vesiklar från membranet på ett ”cellfack” och deras inriktning till och fusion med ett annat fack, både på cellytan samt på Golgiapparaten.

Endosomer

Det som händer med det som cellen tar upp är *transcytos* eller att de hamnar i endosomer eller i *lysosomer*(se nedan). Endosomer är systemet av sura vesiklar. Dessa bilas genom endocytos och avknoppningar från Golgi-komplexet. En endocytovesikel har ca pH 7 medan *tidiga endosomer* ett pH på ca 5,9 – 6,5, något som påverkar

receptorbindningar och gör att receptorerna kan återvinnas och liganderna skickas dit de skall. Om bindningen inte påverkas kan komplexen:

- Transporteras till lysosom för nedbrytning
- Föras till TGN (”trans”-golginätverket) för vidare transport i endomembransystemet
- Föras vidare till andra delar av cellmembranet, sk. transcytos. Viktigt för att t ex föra över antikroppar från mamman till fostret.

Sena endosomer innerhåller alla typer av nedbrytningsenzym som finns i lysosomer och har pH 5,5. De har tappat förmågan att sammansmälta med endocytosvesikler. De omvandlas till lysosomer genom att ytterliggare sänka pH och aktivera nedbrytningsenzymer. Alternativt sammasmälter de med lysosomer vilka levererar sitt innehåll.

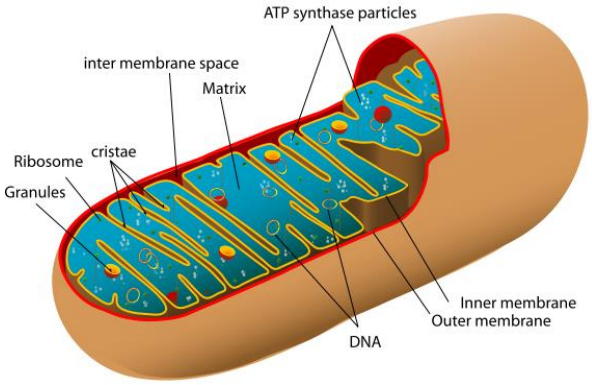
Lysosomer – Cellens sopstation
Lysosymer kan bryta ner alla typer av biologiska molekyler, både cellens egna (*autofaga* lysosomer) och sådana som tagits upp via endocytos (*heterofaga* lysosomer). De har ett enkelt, tätt glykolyserat membran som skyddar resten av cellen från nedbrytningsenzymer. Lysosomer har pH 4-5, något som i sig delvis bryter ner makromolekyler. Resterna transporteras ut i cytosolen eller transporteras ut ur cellen. I cellen omvandlas endocytiska veiskler till endosomer och därefter till lysosomer.

<u>Nu lämnar vi endomembransystemet som vi gått igenom ovan!</u>

Perixosomer – Cellens kemfabrik
Peroxisomer finns i olika storlekar, har ett enkelt membran och innehåller *oxidas* och *katalas* (enzym). Enzyminnehållet varierar dock med celltyp/art/utvecklingsstadium. De har en kristallin kärna. Peroxisomer omvandlar vatten, detoxifierar farliga ämnen, oxiderar fettsyror, metaboliserar kväveinnehållande ämnen och bryter ner ovanliga substanser.

Lagringsvesiklar, ”inklusioner” – cellens lagerlokaler
Cellen lagrar ämnen i dessa *inklusioner*, som är lipiddroppar, glykogen i leverceller.

Mitokondrier – cellens kraftverk, tillverkar ATP
De har dubbla membran; det yttre är mycket genomsläppligt för små molekyler via poriner. Mellan de två lagrerna finns det kontinuerliga intermembranutrymmet. Det inre membranet är ogenomsläppligt, innehåller bl a elektrontransportkedjans enzym samt ATP-producerande enzym. I mitokondriens matrix finns enzym, DNA-molekyler (ofta cirkulärt) och ribosomer. Man kan lägga märka till att Christae som är veck av innermembran ökar membranytan flera gånger om. Matrix är en näringslösning. Proteiner avsedda för mitokondrierna färdas inte i vesiklar. Mer om hur mitokondrien omvandlar partiklar till energi kommer i *Cellens energi*. Mitokondriens plasticitet gör att de lite smått ändrar form hela tiden.



Endosymbiontteorin
Teorin säger att kloroplaster och mitokondrier egentligen är bakterier (härstammar från), med tanke på att prokaryoter utför sin ATP-syntes direkt i cytoplasman och p.s.s att det motsvaras av mitokondriens inre membran.

Cytoskelettet och cellrörelser

Cytoskelett
Är mycket dynamiskt och består av *mikrotubuli*, *mikrofilament* och *intermediära filamenten*. De olika filamenten bildar ett komplext nätverk, som fäster vid kärnan och cellmembranet. Cytoskelettet bestämmer cellens form. Mikrofilamenten är mycket viktiga för cellens rörelser (bl.a. i muskelcellerna). Både mikrofilamenten och mikrotubuli sönderfaller och nybildas snabbt beroende på cellens olika behov. De intermediära filamenten är av mer bestående natur, vars funktion är att stärka cellen mot mekaniska påfrestningar. Dessa tre hålls samman av sammanlänkande proteiner som tillhör plaktinfamiljen.

Mikrotubuli –rep-liknande rörformade utskott av tubulin som är mycket dynamiska. Den är viktig för att behålla cellens struktur och utgör t ex spindeln under mitos. Många proteiner binder till mikrotubuli. Mikrotubuli fäster i centrosomerna, och golgi är placerat vid dessa vilket ger effektiv transport till och från golgiapparaten, som packar och processar proteiner från ER och skickar dem vidare. Halten av tubulinmolekyler i cytoplasman bestämmer takten för både uppbyggnaden och nedbrytningen av mikrotubuli. När koncentrationen av tubulinmolekyler överskrider en s.k. kritisk nivå är polymerisering av mikrotubuli möjlig.
Mikrofilament –Alfahelixar uppbyggda av *aktin*, och är polära med - och + - ände där de växer snabbast på plus-sidan. De svarar för mycket av mobiliteten hos organismer, och m.h.a aktinbindande protein kan de bilda olika former, t ex nätverk. De är sammandragande och genererar spänning. *Terminal web* är den tätare delen av cytoskelettet där *mikrovilli (*mycket små utskott som är uppbyggda av aktinfilament -> större area) sitter fast. Mikrofilamentknippen här är bundna till denna som ger styvhet åt mikrovilli.
Intermediära mediat - Mest stabil och olöslig, är något elastisk, ej polariserade och viktiga för hur bra celler sitter ihop med varann. De är vävnadsspecifika och finns bara i multicellulära organismer. Det finns flera klasser av dem, t ex *kerarinfilament* (epitelceller) och *neurofilament* (nervceller).

MTOC (MikroTubuliOrganiserande Centra)
Finns i eukaryota celler, här växer mikrotubuli fram. MTOC har de två uppgifterna att organisera flageller och cilier samt organisation av mitotiska och meiotiska spindelapparaturen som separerar kromosomer under celldelningen De två olika MTOC är centrosomen(2 centrioler) och basalkroppar(1 centriol). *Centrosomen*, fungerar som det den huvudsakliga MTOC i djurceller samt som regulator av cell-cykel-progressionen. Den är också en förankringspunkt för minusänden. MTOC fungerar så att tubulin bildar ringformade komplex som bildar förankringspunkter för mikrotubuli-ändar som ger en fix polaritet-> + ligger perifiert i cellen.

Cellmigration
Sker m h a mikrofilament och orienterar sig efter s.k *taxier* och *tropism* (fototaxis är t ex när en organism svarar mot ljus beroende på intensitet och riktning). Migrationen kan styras med exempelvis kemiska gradienter (t ex konc. av joner).

Mikrofilamentbaserad rörelse – t ex muskelsammandragning och migrerande celler (*se avsnitt cellrörelser*)
Mikrotubulibaserad rörelse – t ex snabb axonal transport, se nedan.

Vesiklar som lysosomer och endosomer transporteras längs mikrotubuli i cellerna. M.h.a *kinesin* och *dynein* (bägge motorprotein i eukaryota celler) kan vesiklarna förflyttas mot mikrotubulis + eller - ändar.

Dynein
Celler kan också flytta på sig eller sin omgivning m h a cilier eller flageller, i vilka båda använder sig av dyneinet *Axonemal*. I celler används annars *cytoplasmatiskt dynein*.
Både cilier och flageller har *basalkroppar* (bildas m.h.a centrioler) och är plasmamembranutskott.
Cilie – hårliknande utskott av mikrotubuli från epitelceller med vågaktig piskande rörelse med vilken den transporterar partiklar och slem. Korta, används för förflyttning och för att flytta miljön förbi cellen.
Flagell – Består främst av mikrotuber som böjer sig m.h.a dynein.Liknar en piska och har ger vissa celler, t ex spermier, förmågan att simma. Långa, används för förflyttning i vätska.

Kinesin
Rör sig längs mikrotubulifilament och drivs genom hydrolys av ATP. Denna rörelse stöder flera cellulära funktioner inklusive mitos, meios och axonal transport. De flesta rör sig mot den positiva änden av mikrotubuli.

Så hur rör sig en cell över en yta?
Lamellipodia - *C*ytoskelettal aktinprojektion på den rörliga kanten av cellen. I lamellipodia finns aktin kallade mikrospikar, och när de sträcker sig utanför lamellipodiums gränser kallas de filopodier. Lamellipodia finns främst i mycket rörliga celler, till exempel keratinocyter av fisk och grodor. De tros vara själva motorn som drar cellen framåt under processen av cellmigration. Detta tillsammans med aktin-polymerisering där, hjälper till att förlänga lamellerna framåt och därmed främja cellens front. Det fungerar alltså som en styranordning för celler i processen för kemotaxi.
Filopodier - smala cytoplasmiska projektionen som skjuter ut utanför framkanten av lamellipodia i migrerande celler. De innehåller aktinfilament tvärbundet i buntar av aktinbindande proteiner. Filopodier kommer i kontakt med underlaget och sammanväxer med det, vilket kopplar den till cellytan. Många typer av migrationsceller

använder filopodia, som tros vara inblandade i både sökandet efter kemiska signaler och påföljande förändring i riktning. Filopodier används också för förflyttning av bakterier mellan cellerna, för att kringgå värdens immunsystem.

Cellen känner sig hela tiden för genom att sträcka ut tunna *filopoder*. Lamellipoden fäster vid underlaget. I cellens front polymeriseras snabbt aktin och bildar filament som förlänger cellen på den sidan. När lamellipoden är ordentligt fästad vid underlaget börjar den dra kärnan och resten av cytoplasman efter sig. Samtidigt lossnar fästpunkterna i cellens bakända.

Ruffling – Bildandet av en rörlig cellyta som innehåller ett nätsystem av nypolymeriserade aktinfilament.

DNA, proteinsyntes och celldelning

DNA-manipulation
Individen är ej helt transfomerad -> *chimär*. Avkomman kan dock komma att bli helt transformerad.
Exempel i naturen är *Agrobacterium* som induceras av jordlevande bakterie, den bildar knölarpå växter som tar så mycket energi att växten producerar mindre.

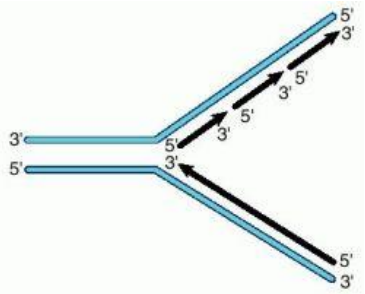
Transformation
DNA-bit med rätt egenskap plockas ut och sätts in i en vektor (bärare). Det finns en metod som placerar plasmiden i cellen, i genomet. Den måste tas emot stabilt.
Partikel-kanoner
Skjuter in DNA i cellen, ibland (det är många som skjuts in samtidigt) hamnar den i mottagarcellens genom.
Elektroporering
Elshock-> öppnar membran tillfälligt.
Mikroinjektion
Används mest för djurceller, annars får man passa på vakuolen.

DNA-struktur och replikation
Informationsflöde för DNA som replikeras:
Replikation -> Transkription -> Translation
En liten skillnad i genomtyp kan ge stor skillnad i fenotyp, detta kan även stämma mellan arter (se t ex människan och myran.)
Nukleotid: De molekylära byggstenarna som DNA och RNA är uppbyggt av; sockermolekyl, fosfatgrupper och en kvävebas (*purin* (dubbelringar; guanin och adenin) och *pyrimidin* (enkelringar; cytosin och tymin)). G och C binder med 3 vätebindningar, A och T med 2.
i 5’ - änden fosfatgrupp
i 3’ - änden OH-grupp

DNA-former
A-DNA: ca 11 nukleotider/helixvarv
B-DNA: 10,4 nukleotider/helixvarv
Z-DNA: 12 nukleotider/helixvarv, vänstervridet

B-DNA finns naturligt i cellen, A- och Z-DNA kan bildas då t ex proteiner manipulerar B-DNA i cellen. De negativt laddade fosfatgrupperna är riktade utåt från spiralen.

Replikation av DNA



Är semikonservativ. En replikation börjar på flera ställen i samma sträng, *DNA-polymeraset* (enzym som avläser DNA-sträng och sätter på motsv. nukleotider.) startar syntesen, enzymet måste ha en startpunkt, en 3’-OH *primer*. Denna är RNA som senare kommer att plockas bort ur den nya strängen.
DNA-polymeraset kan bara bygga nukleotid-strängar i en molekylär riktning, från 5'-änden till 3'-änden. Detta gör att DNA-polymeras på den ena strängen kan arbeta kontinuerligt mot replikationsgaffelns delningspunkt och flytta fram i den takt strängarna delar sig (*leading strand*). Men på den andra strängen arbetar DNA-polymeras i riktning bort från replikationspunkten. Därför måste polymeraset vänta tills ett litet avsnitt av DNA frilagts. Då kan det börja

kopiera. Men snart kommer polymeraset tillbaka till det avsnitt som kopierades tidigare. Då upphör kopieringen av detta avsnitt.Kopieringen av denna andra kedja (*lagging strand*) sker i *Okazakifragment* och delvis parallellt genom att flera RNA-primas och DNA-polymeras arbetar samtidigt. Fragmenten byggs inte sammanhängande av DNA-polymeras utan sammanfogas i ett senare steg av ett DNA-ligas.
Replisom - en komplex molekylär maskin som utför replikering av DNA.

Ligas – används för att sätta ihop två olika DNA-fragment.
Helikas - sköter uppdelningen av DNA i två strängar, vätebindningarna bryts.
Gyras - rätar ut helixen innan replikation.

Replikationsproblemet
DNA-plymeras kan ej replikera de linjära DNA-molekylerna ända ut (det lämnar ett hål när sista primern tas bort). Informationen där förloras, detta innebär:

* att våra kromosomer förkortasunder vår livstid. Cellerna löser detta genom att sätta "ovidkommande" sekvenskoder och info där, dvs korta, repetetiva sekvenser och därför kommer ingen viktig genfunktion förloras.
* Det räcker inte till nästa generation, men ett enzym förlänger kromosomerna i könscellerna så att avkommorna kan klara av sin egen kromosomförkortning senare.

Insättning av felaktig kvävebas vid replikation leder till mutation; nedärvd förändring i DNA-sekvensen. Dessa as bort med polymerasets *proofreading system* som kontrollerar syntetiserad DNA, och åtgärdar fel när de hittats.

Sickle-cell anemi är ett exempel, och beror på en punkmutation i en hemoglobin-gen. (Hemoglobinet kan inte bära syret på samma sätt vilket leder till syrebrist i blodet.) Det är endast skillnad på en nukleotid.

Proteinsyntesen

Detta är den process i cellen där proteiner tillverkas. Detta är en flerstegsprocess som börjar med transkription och slutar med translation, och skiljer sig lite åt mellan eukaryoter och prokaryoter.

Transkription
Här översätts genetisk information i cellens DNA till information i RNA. Processen utgår från den ena av trådarna i DNA:ts alfahelix. Enzymet *RNA-polymeras* (som står för själva översättningen från DNA till mRNA) binds in till en specifik position hos DNA:t, *promotorn*, som markerar transkriptionens startpunkt. Efter detta delas DNA:t, och enzymet förflyttar sig längs den ena DNA-strängen och skapar en komplimenterande RNA-sekvens, *mRNA*. DNA:ts kodsekvens översätts med komplementerande sekvens där enda skillnaden är att nukleotiden *tymin* byts ut mot *uracil*.

Processen avslutas med att mRNA-kedjan förses med skyddande molekyler i ändarna för att förhindra nedbrytning. Dessa är olika beroende på om det är en 3' eller 5'-ända.
I eukaryoter sker processen i flera steg. Först tillverkas en preliminär mRNA-sekvens, som sedan redigeras genom att *intron*sekvenser (kodar inte något protein) tas bort, vilket kallas *splicing.* De kvarvarande kodande sekvenserna, *exonerna,* kombineras ihop till den slutliga mRNA-sekvensen.
Transkription sker i eukaryota celler nästan alltid i kärnan. Den nyskapade mRNA-molekylen transporteras sedan ut ur kärnan till cellens ribosomer. Hos prokaryoter sker transkriptionen i cytoplasman.
TATA-box - DNA-sekvens som anses vara kärnpromotersekvensen, det är bindningsplatsen för antingen transkriptionsfaktorer eller för histoner (de blockerar varandra), och deltar i processen för transkription av RNA-polymeras.

Translation
Detta är den process i cellen där ribosomerna använder mRNA för att bygga protein. När DNA har transkripterats till mRNA transporteras den till en ribosom utanför cellkärnan. Ribosomen sätter sig runt mRNA och avläser kvävebaserna tre och tre(*kodon*). En aminosyrabärande *tRNA*(med rätt passform till det kodon som läses av) matas in i ribosomen, släpper aminosyran och matas ut igen. Sedan kommer nästa tRNA och släpper sin aminosyra som fäster på den förra. På så sätt byggs en polypeptid upp som slutligen resulterar i ett protein.

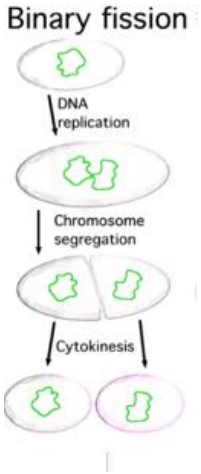
Var ett visst protein syntetiseras beror på vardet ska användas; de flesta bildas av ribosomer bundna till, och hamnar i, cellens *endoplasmatiska nätverk* där de t ex kan *glykolyseras* (kolhydrater får fästa på proteinerna).

Celldelning och mitos

Hur klyver sig celler?

Bakterieklyvning

DNA replikeras, celldelas genom *binär fission* och delas två olika delar. Membranet växter utifrån och in, och det bildas två ung. lika stora nya celler.



Djurcell

Det bildas en klyvningsfåra, ”svångremmen” sitter på insidan av cellväggen av *aktin* och ”trådar”. Se mer under *cytokines*.

Cytoplasman pressas till två delar, och delas sedan. Se *mitos* nedan.

Växtcell

Startar inifrån. Även här pågår mitos, men skillnaden ligger i själva cytokinesen. Cytoplasman delas mellan de båda nya kärnorna genom att bilda en cellplatta (en ny cellvägg) mellan dem.

Jästcell

Modercellen delas och en dottercell som är mindre (assymmetriskt) knoppas av , och får växa till modercellens storlek innan den kan bli en modercell. Innehållet i dessa är inte helt lika.

Vad händer med arvsmassan?

Eukaryot cell

Arvsmassan ligger i kärnan. Humana: 6*10^9 baspar uppdelade i linjära DNA-molekyler

Prokaryot cell

Cirkulär DNA-molekyl -> ingen ändpunkt,3.5*10^6 baspar. DNA ligger ”fritt” i cytoplasman, men omgärdar och skyddad av proteiner.

Kromatin – DNA packat med proteiner.
Nuklesom – 8 histoner (4 olika, par av varje) med ca 1.46 baspar DNA lindat kring.
Histoner – Positivt laddade.Eftersom DNA är negativt laddat skapas det en jonbindning.

Kromatinet packas olika mycket längs med kromosomen:

Eukromatin – Löst packat
Heterokromatin – Tätpackat
G-bandning – heterokromatin binder mer glemsafärg än eukromatin.
Glemsafärg

En människa har 46 kromosomer/cell.*Diploida* celler: 2n, *haploida* celler: n.

Cellcykeln

G0: Cellen har lämnat cellcykeln, tillfälligt eller permanent, och delar sig därmed inte, den sköter istället sina vanliga uppgifter, som till exempel nervsignalering

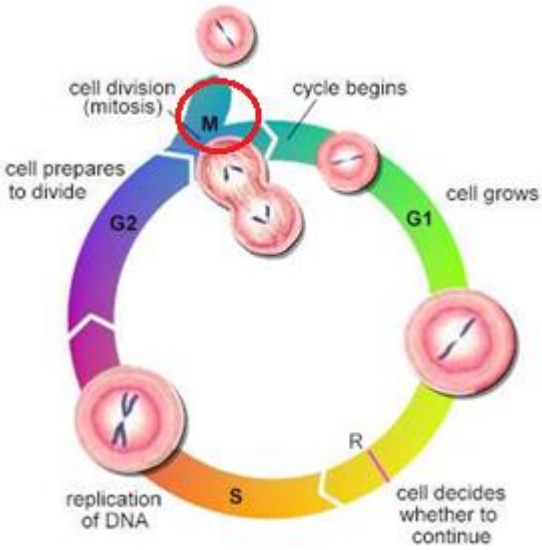
G1: Cellen ökar i storlek, proteiner, kolhydrater och lipider karakteristiska för celltypen tillverkas, och cellen gör sig redo för DNA-syntes

S: DNA-replikation

G2: Olika kontrollmekanismer kontrollerar att cellen är redo och i rätt skick för att genomgå mitos

M: Mitos

Kromosomerna är endast synliga under mitos.
MPF (protein) initierar mitotiska händelser och stimulerar nedbrytning av kärnmembran, kromosomkondensation och uppbyggnad av kärnspolen.



Interfas

Cellens normala tillstånd (räknas eg. inte till M-fasen) var man inte kan urskilja enskilda kromosomer. DNA är löst packade trådar, och i slutet av fasen replikeras varje DNA-molekyl.

Profas

Kromatin kondeseras och packas till *kromosomer* m.h.a *histoner*. De är nu dubblerade, och paren kallas *kromatider*. Nära kärnan finns det *centrosomer* som består av ett par centrioler. Detta centrosom är centrum för cellens *mikrotubuli* (*se cytoskelettet*). En cell ärver endast en centrosom, replikeras av kärnan innan en ny mitos påbörjas och har då två. Mikrotubulin formar mitotiska spindlar som är strukturer vars uppgift är att separera kromosomerna till dottercellen.

Prometafas

Kärnhöljet kring kromosomerna löses upp så att mikrotubuli kan skjuta in sig till kromatiderna. Varje kromosom bildar två proteinkomplex som kallas *kinetochore* vid centromeren, där mikrotubuli kan binda in vid kromosomernas ”midja”.

Metafas

Centrosomerna börjar dra kromosomerna genom de fästa centromererna mot två ändar av cellen. Kromosomerna faller under spänningen från de två ändarna och radar upp sig i metafasplattan.

Anafas

De proteiner som binder systerkromatider klyvs och får möjligheten att separeras. Samtidigt förlängs de mikrotubuli som inte bundit till någon kromosom och skjuter på så sätt de två centrosomerna ifrån varandra.

Telofas

Två nya kärnmembran bildas från resterna av moderkärnan. I dessa kärnor finns lika många kromosomer som fanns i moderkärnan.Mitos är nu färdig, men celldelningen är än inte slut.

Cytokines

Mitosen avslutas med att en ring av aktinfilament omger punkten där dottercellerna hålls samman och knipsar av plasmamembranet så att två fristående celler bildas.

Meios

Den celldelning som sker när könsceller bildas kallas däremot meios. 23 kromosomer härstammar från fadern och 23 från modern, och då varje kromosom ärvs i dubbel uppsättning har människan 46 kromosomer. Våra könsceller har hälften så många, då kromosomuppsättningen skulle dubbleras för varje generation i annat fall. Bildningen av könsceller föregås därför av reduktionsdelning (meios) som ger halverat kromosomantal.

Cellcykelreglering

CDK är som tidigare nämnt protein som i komplex reglerar cellcykeln och kallas för cyklin-cdk-komplex. När CDK är aktiverade fosforylerar de selektivt protein. De är också involverade i regleringen av transkriptionen, mRNA-bearbetning, och differentiering av nervceller. De fyra viktigaste mekanismerna för CDK-reglering:

- *Cyklinbindning*

  Den aktiva, ATP-bindande, platsen ligger i en liten slags klyfta på alla *kinaser* (enzymer som katalyserar fosforylering av proteiner) mellan en amino- och en karboxi-terminal lob. CDK har en ATP-bindande plats som kan regleras av cyklinbindning. Fosforyering av CDK-aktiverade kinas ökar komplexaktiviteten; utan cyklin blockeras klyftan och placeringen av flera viktiga aminosyror är inte optimalt för ATPbindning, med cyklin kan två alfa-helixar byta plats för att tillåta ATPbindning.
- *Fosforylering* – fosfatgrupp fäster på en aminosyra i proteinkedjan, dvs den överförs från ATP. Då proteinet är ett enzym kan fosforyleing öka eller minska dess aktivitet, vilket spelar en central roll i ämnesomsättningen.

  Fullständig kinasaktivitet kräver aktivering av fosforylering på en viss aminosyra ansluten till den aktiva platsen. Det beror på organismen om detta inträffar före eller efter cyklibindningen.
- *Reglering av hämmande fosforylering*

  Denna mekanism är avgörande för regleringen av cellcykeln, olika *fosfataser*(enzym, som direkt motsatt kinas, tar bort fosfatgrupp från sitt substrat) och kinaser kan reglera dess tillstånd.
- *Bindning av CDK-hämmande subenheter*

En cyklin-beroende kinas-hämmare är ett proetin som interagerar med ett cyklin-CDK-komplex för att blockera kinasaktivitet, vanligtvis under cellcykelns **G1**, som svar på yttre signaler eller från skadat DNA.

Olika cyklin-CDK-komplex reglerar olika faser av cellcykeln, och cyklin bryts ner snabbt och byggs uppp igen efter behov. P53 (tumörsupressor) är en *transkriptionsfaktor* som detekterar DNA-skador och *inhiberar* (stannar upp/hämmar) cellcykeln så den kan repareras innan det replikeras.

Stamceller
Stamceller finns i benmärg, huden och i tarmen och är *multipotenta*, de genererar också celler som även de kan utvecklas till andra differentierade celler. T ex kan blodstamscellen utvecklas till många typer av andra diff.celler, som t ex röda blokroppar eller lymfocyter.

Terminalt differeniterade innebär att cellerna när de väl blivit specialiserade på en viss funktion inte kan ”byta tillbaka”. Dessa har permanent inaktiverat vissa gener, som finns men inte kan uttryckas. Däremot kan de användas för att ge upphov till en ny individ, t ex det *klonade fåret Dolly* (kärnan togs från en juvercell).

Reproduktiv kloning – Embryot får utvecklas till en ny individ.
Terapeutisk kloning –Embryot delas upp i tidigt stadium, cellerna odlas sedan i provrör och stimuleras till differentiering.
IPS – Inducerade pluripotenta stamceller där generna introduceras med virusfaktorer.
Bra med att klona djur: förökning av transgena djur med goda egenskaper(t ex producering av protein som kan utvinnas ur mjölken, blodkoaguleringsfaktorer för blödarsjuka) och för organtransplantation.

Oxidativ fosforylering – överför energi i en form som är användbar för många processer i cellen, dvs skapar det bränsle, ATP, som cellen använder när det krävs energi. Det är det sista steget i cellandningen (respirationen) och utförs i eukaryoters i mitokondriens inre membran.

Cell- och vävnadstyper samt Blodet

Celltyper	Vävnadstyper	Organ
Epitelceller	Epitel	Funktionell blandning av olika vävnads- och celltyper.
Bindvävsceller	Bindväv	
Muskelceller	Muskelvävnad	
Nervceller	Nervvävnad	

Epitelceller
En typ av specialiserade celler som bygger upp *epitel* (en typ av vävnad som täcker kroppens ytor)och olika typer av körtlar. Uppgifter:
- Avgränsning (omger kroppshåligheter, blodkärl, hud)
- Mekaniskt skydd (hud, blodkärl)
- Kontrollerat utbyte (aktivt som t ex tarm, blodkapillärer) med gaser, vatten, joner, näringsämnen
- Transport (cilier i luftstrupe)
- Sensorisk information (kontakt med omvärlden, hud, sinnen)

Utseende och funktion hänger ihop:
Enskiktade epitelceller: diffusion, filtrering, absorption (lungor, blodkärl)
Flerskiktade epitelceller: skydd (munnen, huden)
Flerradiga epitelceller: flimmerhår, sekretion (luftstrupe, körtlar)

De har hög generativ förmåga, vilket är bra då de slits mycket, och står alla fast i *basallamina* (ett lager av extracellulär matris som utsöndras av epitelceller , fast förankrad i bindväv).
Endotelceller- Platta celler för effektivt gasutbyte, finns i tunna skikt i kapillärerna som har olika permeabilitetsbehov (genomträngningsförmåga) beroende på var de finns.

Sluten kapillär – Med tight junctions, finns i skelett och muskler
Fenestrerad – Med porer och intakt basallamina, finns i njurar och tunntarm
Sinus – Med ”hål” där blodet sköljer igenom och tar upp/avger substanser, t ex levern

Hud

Stark och elastisk, regenererar snabbt. Skyddar mekaniskt och mot patogener. Celler skapas vis basallamina och dör och packas allteftersom cellerna blir fler under dem och flyttar dem uppåt. Detta lager kallas *epidermis*. Längst upp vid ytan är det näringsbrist och packat med plattade, keratinfyllda döda celler.

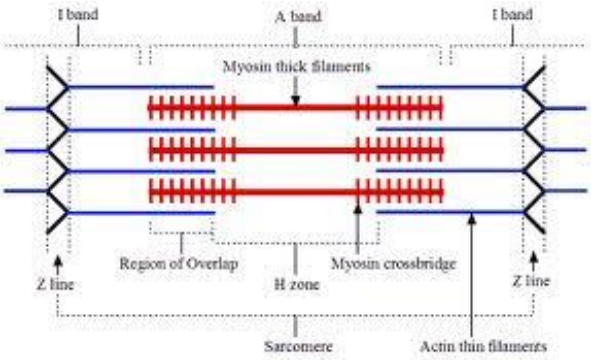
Bindväv

Fibroblaster gör bindväv som ger stöd och skydd åt andra celler. Fibroblaster bildar *kollagen* (starkt) och *elastin* (elastiskt), och det är proportinerna som bestämmer bindvävens egenskaper.

Muskelceller

Alla fungerar på samma sätt, det som skiljer olika muskelceller åt är dess kontraktionsapparat som är olika organiserad.

Sarkomér – sammandragande enhet av protein i muskelfibriller som finns i muskelfibrer som gör det möjligt att dra ihop en muskel.



Skelettmuskelceller

- Tvärstrimmiga
- Flera kärnor/cell
- Mitokondrier
- Viljestyrda

Aktin – bygger upp tunna filament

Myosin – bygger upp tjocka filament

Muskler kontraherar m h a myosin och aktin, vilket kräver ATP och kalcium.

Sarcoplasmatiskt retikulum är ett specialiserat slätt ER som lagrar Ca-joner för reglering av muskelkontraktion.

Aktionspotential - > Ca i cellen från nervceller.

Troponin reglerar muskernas kontraktilitet, och sitter fast på *tropomysin* som reglerar aktinets aktivitet vilket innebär att myosinets förmåga att binda till det regleras. När Ca frigörs binder det till troponin som låser upp tropomysinet från aktinet.

Hjärtmuskelceller

- Oregenbundet förgrenad
- En kärna/cell
- Många mitokondrier

Celler som skall kontrahera är bundna till varandra med *interkalerande plattor* som består av desmosomer(... för styrka) och gap junctions (... för kommunikation). Hjärtmuskelceller är mycket uthålliga med många mitokondrier och stort syrebehov.

Glatta muskelceller

- Få mitokondrier
- En kärna/cell
- Ej viljestyrd

Ofta associerade med *epitelceller* (bygger upp epitel/körtlar och finns oftast mellan organ och kroppsdelar, t ex blodkärl) Reglerar ofta diametern på t ex luftvägar och blodkärl eller ger *peristaltiska rörelser* (... i tarmen). Mycket långsam rörelse och få mitokondrier, myosin- och aktinfilament är oorganiserade.

Nervceller

Se avsnitt *Nerv- och sinnessignaler*

Blodkroppar

Röda blodkroppar

De bildas i röd benmärg och bryts ner av makrofager i mjälten, levern och i röd benärg. Transporterar syre till och koldioxid från cellerna. De saknar cellkärna (”slit och släng”), och lever ca 180 dagar. Väldigt elastiska vilket gör att de kan ta sig igenom smala blodkärl. De

saknar mitokondrier och förbrukar därför inget syre själva. Hemoglobin, ett protein, står för syrgastransporten i blodet.

Blodplättar
Ingen cellkärna, lever 5-9 dagar. De utsöndras i blodbanan och stoppar blödningar genom att klumpa ihop sig och bilda proppar som binder till *fibrin* (bildas från lösligt fibrinogen i blodet). Vid koagulationen sätts en reaktion igång som leder till att fibrinogen omvandlas till detta slags nätverk av trådar, fibrin. I nätverket kan sedan blodplättar och röda blodkroppar fastna, vilket leder till att såret slutar blöda. Fibrin medverkar även vid bildning av blodkroppar.

Vita blodkroppar
Är vårt immunförsvar som tar hand om patogener och främmande ämnen. Livstiden är några dagar – flera år beroende på blodkropp. De har cellkärna, men inget hemoglobin. Även dessa bildas i röda benmärgen.

Megakaryocyt - en benmärgsell ansvarig för produktionen av *trombocyter* (blodplättar), som är nödvändiga för normal blodkoagulation. I allmänhet är megakaryocyter 10 till 15 gånger större än en typisk röd blodkropp, i genomsnitt 50-100 nm i diameter.
Makrofager - en typ av vita blodkroppar som ingår i det ospecifika immunförsvaret. Ordet betyder "storätare", och makrofager fungerar genom att äta upp främmande celler såsom bakterier, en process som kallas för fagocytos. Den främmande mikroorganismen omsluts av makrofagen, varigenom den utsätts för en rad nedbrytande processer däribland reaktiva syreföreningar och proteinnedbrytande enzymer.

Sammanhållande strukturer och ”Extracellulära matrixen”

Extracellulär matrix - Substans som finns mellan djurceller, motsvarande i växtceller är cellväggen. Celler tillverkar molekyler som transporteras ut ur cellen och bildar ett skyddande lager runt den, ”extracellulära bildningar”. Kring alla celler, förutom de celler som cirkulerar i blodet, finns denna substans vilken består av ett nätverk av proteinfibrer. Extracellulär matrix finns i alla typer av vävnader, men särskilt mycket i bindväv och brosk, och är viktigt för vidhäftning, celldelning, cellrörelse och differentiering. I cellmembranet sitter proteiner, kallade *integriner*, som är receptorer som förbinder ECM med de omgivande cellerna. Integrinerna sticker ut på vardera sida om cellväggen så att de enkelt kan överföra signaler mellan intracellulära proteiner och ECM-proteiner. Molekylerna i extracellulärmatrix har olika fysikaliska egenskaper, vilket påverkar vävnadernas egenskaper såsom elasticitet och draghållfasthet.
Molekylerna i extracellulärmatrix kan indelas i tre huvudgrupper:

1. *Proteoglykaner* (bildar matrix och ”klistrar samman” de strukturella proteinerna som binder vatten)
2. *Strukturella proteiner* (*kollagen* och *elastin* -> styrka, flexibilitet*)*
3. A*dhesiva/vidhäftande proteiner* (fäster celler till matrix)

Basallamina - en specialform av extracellulärmatrix, som förekommer på gränsen mellan epitelceller och bindväv samt runt muskel- och fettceller och runt stödjecellerna i det perifera nervsystemet. Epitelcellerna fäster vid basalmembranen och de kan också röra sig längs denna. Den andra sidan av basalmembranen vätter mot bindväven. Basallamina fungerar som både strukturstöd och som barriär, där barriären är selektiv beroende på var den finns.

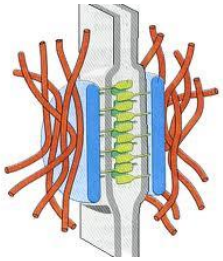
Cell- cellförbindelser
Fasta förbindelser är nödvändiga för att organ och vävnader skall bildas. Det finns flera typer:

Tight junctions – Förekommer mellan epitelceller. Bildar en tät barriär mellan celler för att förhindra att potentiellt farliga ämnen diffunderar mellan cellerna vilket tvingar dem att passera genom cellens cytoplasma. Särskilt täta sådana finns i njurtubuli där urinen koncentreras. Epitelceller skall förhindra att ämnen lösta i urinen skall återabsorberas av kroppen. M.h.a tight junctions förmår organismen hålla största delen av innehållet inne i tarmen och selektivt överföra näringsämnen genom epitelcellerna till blodkretsloppet. Förhindrar också proteiners rörlighet i membranet -> polära celler.

Gap junctions – Är cytoplasmatiska kontakter-> tillåter cellkommunikation, bildar kanaler mellan två intilliggande celler så joner och små molekyler kan passera. Gap junctions förekommer rikligt under embryonalstadiet, där de är mycket viktiga för koordineringen av fosterutveckligen, men de är också vanliga i t ex hjärta och hjärna. Gap junctions uppehåller cellernas homeostatiska tillstånd samt vävnadernas funtioner, och de förmedlar intracellulära signaler med hjälp av bl.a Ca^{++}-joner.
Adhesive junctions – Proteinkomplex mellan celler i epitala vävnader som förankrar cytoskelettet.

Hemidesmosomer - Förankrar cellen vid det extra-cellulära matrixet. Tunna filament löper från cellmembranet till basalmembranet och kopplar dem samman.

Desmosomer – ”Tryckknappar” och fästpunkter som är mycket starka och binder cell till cell.



Mellan dessa bildas desmosomkärnan som består av filament och proteiner från proteinfamiljen *Kadherin*. Dessa överbryggar avståndet mellan närliggande epitelceller genom att binda till kadheriner på den andra cellen. Desmosomer förekommer främst i epitel, som bör tåla hård yttre påfrestning, och är förankrade vid cytoskelettet. På samma sätt som i hemidesmosomer löper tunna filament från de intilliggande cellernas cellmembraner in i det intercellulära området. Här finns många olika adhesionsproteiner.

Adhesionsbälten – Långa sammanhängande partier, aktinfilamenten kan dra ihop sig och p.s.s ändra cellens utseende. Viktiga under utvecklingen av olika kroppsdelar i embryot.

Integriner
Cellytereceptorer som går genom cellmembranet och integrerar cytoskelettet med ECM. Vanligtvis så informerar receptorer en cell om molekylerna i sin omgivning och cellen reagerar. Inte bara utför integriner denna signalering, men driver också ett ”inside-out-lägescheck”. Således överför de information från ECM till cellen samt avslöjar cellens status till utsidan, vilket leder till snabba och flexibla svar med förändringar i miljön, exempelvis för att möjliggöra blodets koagulation av blodplättar.

Huvudgrupperna i EMC

1. *Proteoglykaner*
Mycket stora molekyler som bäddar in kollagen och elastin i ett gelliknande nätverk. De är hydrofila och negativt laddade, vilket innebär att de drar till sig katjoner som i sin tur drar till sig vatten som ger den gelaktiga strukturen. Proteglykaner består av *glucosaminoglykaner* (GAG) som sitter fast på ett kärnprotein.

Exempel på en GAG är *Hyaluronsyra* som finns i brosk både bundet och fritt. Som bunden kan den bidra till mycket långa elastiska proteoglykaner med stor återhämtningsförmåga. Som fri kan man hitta den i höga koncentrationer i ledbrosk, ledvätska, navelsträng och i ögat hos djur och människa, och den fungerar som smörjmedel i t ex leder, men finns också i hornhinna och linser då den har högt brytningsindex.
Aggrecan, en sorts proteoglykan, har en viktig uppgift i brosk. Dess negativa laddning binder rikligt med Na^{+}-joner och via dem vatten-> jämnare tryck i benet.

2. *Strukturella proteiner*
Kollagen – strukturfiber som som svarar för ca 30 % av alla kroppens proteiner. Det har hög draghållfasthet och är mycket starkt beroende på dess struktur. Trippelhelixen bildas spontant redan inne i ER, innan det nybildade proteinet utsöndrats, eftersom de enskilda kedjorna har låg vattenlöslighet. Denna kallas *prokollagen*. Sedan transporteras de ut och omvandlas av *prokollagenpeptidas* till kollagen. Dessutom klyvs proteinkedjornas bägge ändar av genom proteolys, vilket gör det möjligt för de små kollagenfibrillerna att slå ihop sig till tjockare kollagenfiber. Dessa bildar spontant *fibriller* och därefter *fibrer*.
Elastin – Vanligaste elastiska fibern, och består av molekyler som är kovalent bundna till varandra i ett nätverk. De är upppbyggda av tvärbundna fibrer som ger elasticiteten. Elastin är viktigt i t ex lungor, hud och blodkärl. Kollagen bestämmer hur långt elastin kan sträckas.

Exempel på hur proportionerna av dessa har betydelse för egenskaperna hos ECM:

Ben
Tillverkas av *osteblaster* (inbäddade mindre aktiva kallas *osteocyter*).
Benstommen utgör organismens stödstruktur. Skelettet bestämmer kroppens form.
Benvävnaden är mycket hård och hållfast och har många olika uppgifter, och är en form av högt specialiserad bind- eller stödjevävnad. Alla stödjevävnader består av öppna cellförband, dvs. cellkropparna ligger inte intill varandra utan skiljs åt av mellansubstans (intercellulärsubstans). Detta gäller också benvävnad.

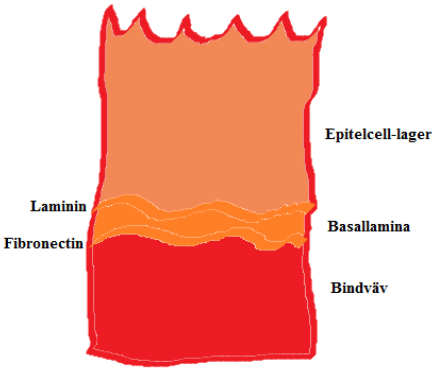
Brosk

Tillverkas av *kondroblaster* (inbäddade mindre aktiva kallas *kondrocyter).*
Brosk fungerar som stötdämpare vid lederna i skelettet. Under organismens utveckling utgör brosk modeller för benbildningen. Brosk är en halvhård vävnad. Detta beror på den intercellulära substansen, som innehåller både kollagenfibrer och aggrecan. Brosk saknar blodkärl, vilket har stor betydelse för broskets ämnesomsättning. Tillgången på näring är beroende av diffusion från ytan, t.ex. ledvätskan. Brosk saknar nerver. Detta innebär att ledytorna kan glida längs varandra utan att det gör ont. I moget brosk sker föga celldelning, vilket innebär att broskets förmåga att läka skadade delar är mycket begränsad.
Bindväv
Här tillverkas ECM främst av *fibroblaster* som tillverkar och arrangerar fibrer. Bindväv är den allmännna benämningen för vävnader, som härstammar från mesodermet. Bindväven är en stödjevävnad, som stödjer hela kroppen och alla dess olika organ. Bindväv innehåller vanligtvis blodkärl. Via dessa blodkärl får organismen sin näring. Utbytet av ämnesomsättningsprodukter och slaggprodukter, som bildas vid ämnesomsättningen, sköts av bindvävens blodkärl.

-*blast*: aktiv cell som tillverkar någonting
-*cyt*: mindre aktiv, upprätthåller miljön
-*klast*: bryter ned

3. *Adhesiva/vidhäftande proteiner*
Bildar länkar mellan ECM och integriner i cellmembranet. Membranproteiner i den yttre ytan av cellmembran i nervsystemet som bl a är involverade i utvecklingen av embryot. Binder proteoglykaner och kollagen till varandra och till receptorer, t ex integriner på cellytan. Exempel är *fibronectin* och *laminin*. De håller ihop ECM med sig själv och med cellen.

Fibronektin – viktig för cellernas fom och för deras rörelse. Celler kan följa spår av fibronectin. Det finns också löst fibronectin i blodet som behövs för att det skall koagulera.
Laminin – Finns främst i basallamina som separerar epitelceller från bindväv som ligger runt t ex muskel- och fettceller.



Laminin binder cellerna till basallamina medan fibronectin förankrar celler från underliggande bindväv till basallamina.

Vad avgör en cells storlek?
Cellstorlek styrs av flera faktorer: Storleken på cellen styrs av metaboliska krav. DNA måste finnas tillgänglig för att producera enzymer och proteiner som behövs för korrekt funktion. En för liten cell kommer inte ha tillräckligt med DNA för att stödja livet och en cell för stor kommer att behöva en enorm mängd DNA för att bedriva sin verksamhet. En andra begränsning innebär yta till volym-förhållandet. Eftersom cellen ökar i storlek, ökar volymen geometriskt medan ytan ökar aritmetiskt. Eukaryota celler klara av dessa problem i att de innehåller membranbundna organeller. Dessa organeller bryta upp volymen för cellen att utföra olika funktioner som skär ner på nödvändiga råvaror.

Genexpression och molekylärbiologiska metoder

Genomorganisation och genexpression

Vad är genexpression?
Det är den process där information från en gen används i syntesen av en funktionell genprodukt, som t ex proteiner. I icke-proteinkodande gener som t ex rRNA, tRNA osv bildas inte proteiner utan en funktionell RNA. Denna process används i alla eukaryoter och prokaryoter. Flera av stegen i processen kan regleras, såsom transkriptionen, RNA-splicing och translationen av ett protein. Denna reglering ger cellen kontroll över struktur och funktion och är grunden för t ex celldifferentiering, anpassningsförmågan och mångsidigheten hos en organism. Av detta inses lätt att genreglering också kan ha ett finger med i spelet i evolutionära förändringar eftersom kontrollen över timing, plats och mängd genuttryck kan ha en djupgående effekt på funktionerna av generna i en organism.
I genetiken är genuttryck den mest grundläggande nivån på vilken en genotyp ger upphov till fenotyp.

Viktiga skillnader:

Gen – en sekvens av DNA för information om ärftliga egenskaper, som i allmänhet kodar för ett visst protein. De är sporadiskt förekommande i en DNA-molekyl.
Genom – helheten av en organisms ärftliga information kodad i DNA.
Kromosom - En kromosom innehåller en lång tråd av DNA i vilken hela eller delar av genomet finns. Den innehåller förutom rullade DNA-strängar även bundna proteiner och andra nukleotidssekvenser.
Kromatin - komplex av DNA och proteiner (mest histoner som är +-laddade och DNA –laddat -> jonbindning)

Genomet
Organeller kan ha eget DNA, t ex mitokondrier och kloroplaster. Kromosomerna är cirkulära, organisationen liknar en bakteriecell. Det finns också många kopior av dem i varje organell.
Bakteriers genom är kompakta och har hög gendensitet medan endast ca 5% av det humana genomet är exoner och kodande.

Eukromatin - kromosomsegment som är mindre hårt packade och är därmed lättare tillgängliga för transkription av RNA-polymeraser.
Heterokromatin - hårt packade segment av en kromosom i en eukaryot cell. Dessa kromosomsegment saknar helt transkriptionell aktivitet.
G-bandning – teknik som används för att producera en synlig *karotyp(*karakterisering av antal, form och storlek på kromosomerna) genom att färga kondenserade kromosomer. De framträder mörka och ljusa band, kombinationen avgör vilka det rör sig om. Heterokromatin binder mer *glemsafärg* än eukromatin

Genfamilj – Repeterade kodande gener med samma funktion, tex histoner, rRNA, immunoglobin, aktin. Flera familjer kan b ilda en supergenfamilj, t ex globingenerna (3 genfamiljer; alfa-, beta-hemoglobin samt myoglobin. Var från början samma gensekvens som duplicerats).
Hemoglobin – syrebärare
Myoglobin – Syreförvaring i muskler

Ribosomer
Består av både protein och RNA. tRNA levererar aminosyran till ribosomen som skall sättas ihop till peptidkedja och fungerar även som en adaptor mellan RNA och protein.

Konsekvenser av mutationer
Punktmutation-Insättning av annan/samma aminosyra eller terminering. (Tänk på triplettavläsningen)

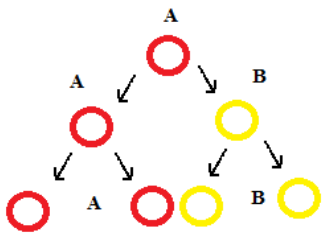
Reglering av genexpression

DNA->(transkription)->RNA(transkript)->(translation)->protein
Antalet transkript bestämmer antalet proteiner.

Eukaryoters transkription sker i kärnan, translationen i cytoplasman (överföring över membranet)
Prokaryoters sker ute i cellen, *repressor* och *aktivator* kan styra transkriptionsstarten.
Promotor – Initieringsplats för transkriptionen, dvs DNA-region med särskilda sekvenser, och binds in av proteiner som reglerar initieringen.
Operon – uttrycket av flera genprodukter, styrs från samma promotor.

Märk: Konserverade DNA-sekvenser är lika i olika arter om de är viktiga!

Genspecifika transkriptionsfaktorer skiljer sig i sammansättningen mellan ”arter” (hög nivå)
Generella transkriptionsfaktorer ligger på en basal nivå.
”Nivån” innebär här hur snabb initieringen av syntesen är, dvs ”avfyrningshastigheten”. Högre hastighet/nivå -> flest transkript.
Enhancer – Kan stimulera transkription genom inbindning av aktiverande protein.



Den röda ringen A till höger illustrerar en x-kromosom. I delningen inaktiveras den ena m.h.a metylering och tätpackning i heterokromatin. Hälften av dottercellerna har aktiva kromosom -> balans för kvinnor. Detta är en bra regleringsmekanism för promotorn.

All information behövs inte i genomet (som bekant). Allt används inte från DNA till RNA. De som klyvs bort p g a avsaknande av kodande DNA kallas *introner* och det görs genom *splicing*. De resterande som sammanfogas till

RNA kallas *exoner*.
Splicing görs av särskilda proteinkomplex som känner igen konserverade trängar i kanterna på genomet. Intronerna bryts ned, och de kvarvarande skall översättas till protein.
G-proteiner binder GTP (guanintrifosfat), och är receptorprotein vid cellens utkant som känner av cellens inre, den är överföraren av information. Binder många olika ligander, t ex näringsämnen eller hormon) GTP aktiveras och kan fortsätta signalera till andra proteiner i cellen vilket (stegvis) leder till förändring i gen-expressionen.

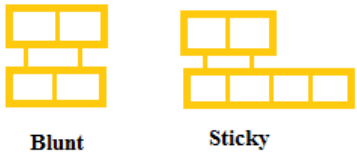
Annat:
RNA-polymeras behöver hjälp att binda in till promotorn
Protein/nukleotidsvans snurrar ihop sig och blir en slutknut för RNA:t (Transkriptet får en svans i 5'-änden av A-nukleotiden som binder till protein och rullar ihop sig till en boll.)
Skyddar mot nedbrytande enzymer.
Gör att RNA överlever ute i cytoplasman.
Sen måste de degraderas igen när de inte behövs längre. Borttagandesker i eukaryota celler.
Yttre faktorer kan signalera en ändrad genexpression (signaltransduktion)

Molekylärbiologiska metoder

DNA-tekniker
Etidiumbromid - är aromatisk, så går in i hydrofoba miljön i DNA:t. Flourescerar vid belysning med UV-ljus.

Elektrofores används för att separera större och mindre molekyler. Man lägger en spänning över *agarosgel* som gör att DNA i sin renaste form kommer att vandra då de är negativt laddade. Små molekyler tar sig längre genom gelen än stora. Man kan sedan jämföra molekylerna med kända ämnen beroende på hur långt de vandrat.

Endonukleas – ett restriktionsenzym som används både i naturen och artificiellt. Alla klyver en igenkänningssekvens, så man väljer enzymet beroende på vad som skall klyvas. De kan också klyva på olika sätt, antingen får man *blunt* eller *sticky* ends.
Klyvningen spelar roll vid sammanfogningen av DNA vilket görs med ATP och ligaser.



Denaturering av DNA: strängseparation.
- Hög temperatur
- Högt pH (förändring)
- ➔ Vätebindningar bryts, men ryggraden bibehålls.
- Låt svalna
- Sänk pH igen.
- ➔ Nukleotidparen återbildas

Detta används i hybridiseringstekniker (vi kan på detta sätt bilda nya strängar. "Släng i en singel och se vad som händer."

PCR – Polymerase Chain Reaction
Används för att framställa stora mängder av en viss DNA-sekvens. Detta sker genom en kemisk reaktion i flera steg utförd med hjälp av ett enzym av typen DNA-polymeras. Metoden kräver två korta DNA-snuttar av oligonukleotider som kallas primers; en som binder till vardera av ursprungs-DNA:ts strängar. Avståndet mellan dessa primers bestämmer hur stor den tillverkade DNA-kopian blir. Enzymet DNA-polymeras bygger sedan en ny sträng av DNA med primern som start.
(*Oligonukleotid*: används ofta som prober för att detektera komplementära DNA- eller RNA-sekvenser, och används t ex i *Southern blot, se nedan*.)

1. Strängar separeras med värme, 98 grader.
2. Primers ska binda in till start/slut-ändarna på DNA-sekvensen vid specifik, lägre temperatur (här: 50 grader)
3. DNA-polymeraset påbörjar sin syntes, "byggstenar" i form av nukleotider närvarar. Temperaturen är nu höjd igen till 72 grader (lite lägre än vid starten). Dessa 1-3 kommer att gå cykliskt många gånger, fragmenten "rättas till" för varje varv, fler och fler blir rätta.

PCR används bl a för personidentifikation. Det finns en amplifiering av regioner med repeterade sekvenser: 2-100 baspar. Man kan analysera olika regioner samtidigt.

Southern blot-hybridisering
Används för att fastställa molekylvikten och den relativa mängden av en viss DNA-sekvens. Ett DNA-prov körs på gelelektrofores, ofta efter att först ha fragmenterats genom klyvning av restriktionsenzym. Sedan överförs DNA-bitarna till ett membran. Där får de binda, hybridisera, till en DNA-sekvens som man märkt in så att den går att detektera, en *prob*. När man tvättat bort prober som inte bundit till DNA-sekvenserna på membranet detekterar man proben. Den bild som erhålls visar dels den eller de platser där proben bundit, och därigenom hur stor den bit DNA som proben bundit till är, och dels ger signalens styrka ett mått på den relativa förekomsten av DNA-sekvensen.

Microarray
Metod för att samtidigt mäta de relativa koncentrationerna mRNA för tusentals olika gener i ett prov, exempelvis odlade celler eller en vävnad. Det finns olika varianter av metoden, men alla har det gemensamt att en yta, ofta ett nylonmembran eller en kiseldioxidyta, delas in i tusentals olika mindre områden (celler). Varje typ av oligonukleotid motsvarar en viss sekvens i ett specifikt mRNA-transkript. Sedan inkuberar man med ett *templat*, t ex cDNA, och läser sedan av hur stor mängd som bundit till sonderna i cellerna.

Kloning
Kloning – könslöst framställa celler/organismer med identiska arvsanlag. Inom gentekniken används det i samband med att en bit DNA från en organism överförs till en mikroorganism som genom delning bildar en molekylär klon, en samling individer som var och en innehåller det överförda DNA-segmentet.

Hybrid-DNA-teknik – hörnstenen i gentekniken, då den gör det möjligt att fritt flytta gener mellan levande organismer. Genom detta kan mottagaren få nya egenskaper, och kallas *transgena organismer*.

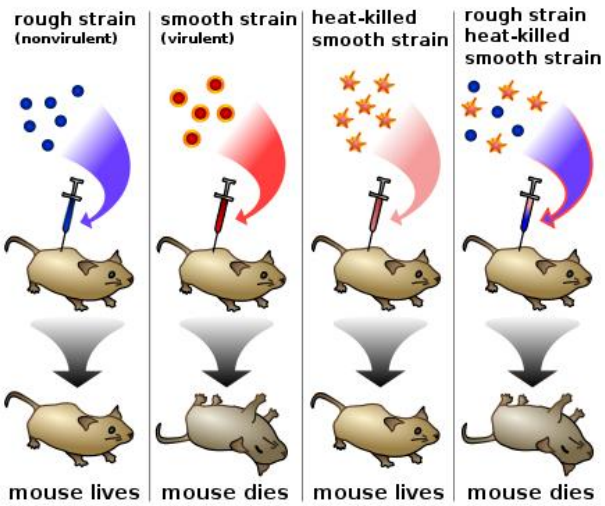
Kloningsvektorer
För att propagera rekombinant DNA i t ex en bakterie krävs detta, som är en DNA-molekyl som kan replikeras och nedärvas stabilt i värdeorganismen och fungerar som en bärare av det främmande DNA:t. En vanlig typ är baserade på *plasmider*, som är DNA-molekyler som replikeras oberoende av bakteriens kromosom. Den innehåller ett *origin of replication*, och gener som styr kontrollen av replikationen, unika klyvningsställen för restriktionsenzymen, och en selekterbar markör så man kan hitta de som klonats (ex gen för antibiotikaresistens).

Restriktionsenzym
Funktion: Skydd mot virusinfektion och främmande DNA hos bakterier. Är som redan sagt ett enzym som klyver vid specifik DNA-sekvens, och också ett system som modifierar det egna DNAt på just den sekvensen genom metylering för att inte bryta ner sig själv av misstag. Igenkänningssekvensen är ofta en palindrom med 4-8 baspar.

DNA-ligas
Funktion: behövs vid DNA-reparation och replikation.

- Finns i alla levande organismer
- Enzymet kan skapa en fosfidesterbindning mellan en 5'-PO4 och en 3'-OH-grupp.
- Kan skapa bindningar mellan två trubbiga ändar.
- Överskjutande komplementära ändar ökar effektiviteten då de kan hållas samman av basparning.

Transformation
Definition: En bakterie som tar upp naket DNA från omgivningen. Griffiths experiment (se bilden) var ett av de första experimenten som föreslog att bakterier har möjlighet att överföra genetisk information genom transformation. Det används två stammar av pneumokocker (som infekterar möss). En av dem täcker sig själv med en polysackaridkapsel som skyddar den från värdens immunförsvar, vilket leder till värddjurets död, den andra inte har denna skyddande kapsel och besegras av värdens immunförsvar.



3 typer:

- Naturlig kompetens (endast vissa bakterier, ex streptokockerna i bilden.)
- Artificiellt inducerad kompetens (t ex med CaCl2 och värmeshock)
- *Elektroporering* - Celler och DNA appliceras i ett elektriskt fält vilket öppnar upp tillfälliga håligheter i cellens membran, igenom vilka plasmiden kan passera in i cellen

Viktigt är att notera att alla inte tar upp plasmiden, här måste en selektion ske så att de som tagit upp den får växa och resten dör.

Bibliotek
Används när vi skall klona en tidigare okänd gen. Ett bibliotek består av en stor samling bakteriestammar, och är en sampling av kloner som var och en innehåller en liten bit av genomet från en viss organism, och tillsammans representerar de alla, eller en del av generna hos denna. I biblioteket kan man sedan leta reda på de kloner som innehåller just den genen man söker. Varje koloni är en unik klon och innehåller en vektor som bär på ett unikt DNA-fragment från den främmande organismen.

Genomiska bibliotek
Innehåller en samling kloner som var och en innehåller en bit av genomet hos en viss organism, och som tillsammans representerar hela genomet hos organismen. (Varje klon innehåller en slumpmässigt vald del.)
Bilbioteket innehåller all genetisk information, och alla gener finns representerade med lika hög frekvens.

cDNA-bibliotek
Innehåller en samling kloner som innehåller DNA-kopior av mRNA från en viss vävnad eller celltyp, och endast kodande DNA. *cDNA* är komplementärt DNA.
Endast de gener som uttrycks i den vävnad som mRNA:t isolerats från finns med. Frekvensen i biblioteket beror av i vilken utsträckning genen uttrycktes i vävnaden.

Det finns olika sätt att hitta en viss gen i biblioteket:
DNA-hybridisering – En radioaktivt märkt *prob* innehåller en bit av genens sekvens och kan hybridiseras mot DNA-avtryck av varje bakteriekoloni på ett filter. (Mäter graden av genetisk likhet mellan olika enkelsträngade DNA-sekvenser.)
Detektion av genprodukt (mha t ex antikroppar)- Proteinavtryck av varje koloni tas på ett filter. Sen undersöker man vilka kolonier som reagerar med en antikropp som känner igen det protein du söker.
Detektion av genens funktion – I vissa fall kan den främmande genen ge en egenskap eller funktion till värdcellen som är lätt att upptäcka, t ex produktion av ett visst enzym.

För att klona en tidigare okänd gen kan man också, om man känner till tillräckligt mycket för att kunna produceran producera specifika primers för PCR, enkelt amplifiera och klona den från genomiskt DNA eller cDNA (utan att först skapa ett bibliotek).

Expressionsvektorer
T ex en plasmid.
För E.coli bör den innehålla:

- reglerbar, stark *promotor* som kan driva transkriptionenav den klonade genen.
- Transkriptionsterminator efter genen
- Sekvenser som styr translationen (dvs bindningsställe för ribosomen)

Det finns dock nackdelar med att använda E.coli som expressionssystem:

- Kodonpreferens kan avvika från rekombinanta genen
- Processning sv proteinet sker ej på samma sätt som i t ex djurceller
- Veckning av proteinet kan vara problematiskt (kan bildas olösliga inklusionskroppar)
- Proteaser kan bryta ned proteinet.

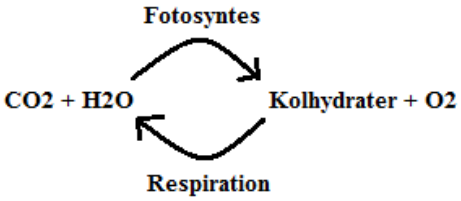
Det finns andra alternativa expressionssystem, som andra bakterier, jästceller, insektsceller, djurceller och transgena djur och växter.
Vektorn kan inehålla en sekvens för en s.k *affinitetstag* (en extra aminosyrasekvens som förenklar proteinreningen).

Modifiering av klonade gener
Specifika mutationer kan man få genom *riktad mutagenes (*en mutation skapas vid en definierad plats i en DNA-molekyl). Detta är användbart för att t ex undersöka betydelsen av ett mutant proteins funktion jämfört med den vanliga varianten, eller för att undersöka effekten av mutationen på genens funktion. Återför den muterade varianten av genen i originalorganismen och undersök dess effekt på fenotypen.

Rapportörgen – Kan användas för att bestämma var och när en viss gen uttrycks, och var i cellen dess genprodukt är lokaliserad. Ett exempel är genen för det gröna flourescerande proteinet *GFP*. Den används bl a som genexpressionsrapportör och proteinmålsökning.

Cellens energi

Anabolism
”Föregångar”-molekyler (aminsyror, socker, fettsyror, kvävebaser) blir till makromolekyler (protein, polysackarider, lipider, nukleinsyror)
Använder energin (ATP, NADH, FADH2 osv) för att bygga makromolekyler.

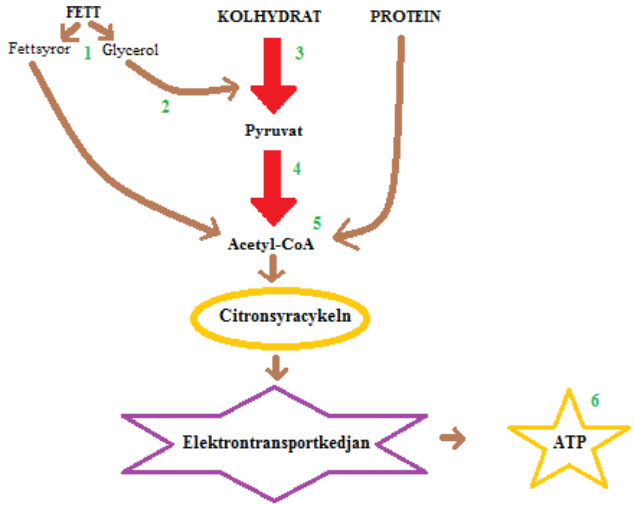


Katabolism
Energirika näringsämnen (kolhydrater, fetter, protein) blir till energiutarmade slutprodukter (CO2, H2O, NH3)
Bryter ned och producerar kemisk energi.

Redoxpotential
elektrisk potential som mäter en substans affinitet per elektrone(det vill säga energi som frigörs när föreningen bildas eller splittras dividerat per elektron). När elektroner far "neråt" i en redoxreaktion frigörs energi. (En oxidation innebär ett tagande av elektroner från det ämne som oxideras.)

ATP
Adenosintrifosfat är en nukleotid och cellens energivaluta. I ena änden av molekylen sitter tre fosfatgrupper bundna i en kedja. Den yttersta av dessa fosfatgrupper kan avges under utvecklande av energi. Denna reaktion kan kopplas till, och därmed driva, energiförbrukande reaktioner i cellen. När denna fosfatgrupp förloras kallas molekylen ADP, adenosindifosfat.

Översiktligt energi till elektrontransportkedjan



1. Fett spjälkas i svan och molekyl.
2. Energi tas omhand.
3. Sker utanför mitokondrien
4. Sköts av ett stort enzym i mitokodrien.
5. CO2 avges. Resten sätts på bärarmolekyl.
6. Mest energi!

Elektronbärare

NADH
Organisk molekyl som fungerar som vätebärare i bl. a citronsyracykeln och glykolysen. Med hjälp av enzymer tar NAD+ upp två elektroner samt en proton och bildar NADH, som senare lämnar ifrån sig vätet och elektronerna i andra reaktioner.

FADH2
Ett koenzym som även den fungerar som vätebärare i citronsyracykeln. FAD tar upp två protoner och bildar FADH2, dessa kan sedan avges för att bygga upp energibäraren ATP eller i processer där något ämne skall reduceras med väte. I betaoxidationen och i citronsyracykeln reduceras FAD till FADH2. I mitokondriemembranet sitter enzymer som oxiderar FADH2 till FAD, vilket ger 1,5 ATP per FADH.
FAD + 2 H+ + 2 e- -> FADH2

Kinoner
Oxiderad kinon -> 2 e- + 2 H+ -> reducerad kinon

Järn-svavelcentra

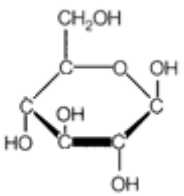
Cytokrom

Respirationen

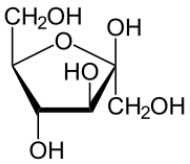
- Glykolysen

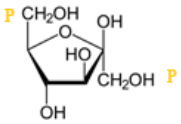
- Puryvatoxidering
- Fettsyraoxidering
- Citronsyracykeln

Glykolysen (katabolism)
Sker: i cytoplasman.
En glukosmolekyl (6C) splittras i två 3C-föreningar, som oxideras till pyrodruvsyra (3C).
De första stegen i glykolysen går ut på att tillföra energi i form av ATP till glukosmolekylen, för att under den senare delen utvinna energi i form av ATP och NADH. Vi har glukos, och tillför energi i form av ATP, och glukos omvandlas till fruktos. Vi kommer få tillbaka denna energi senare.



→



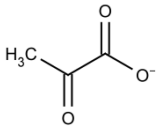


Fruktos har två fosfatgrupper och kallas därför för *fruktos 1,6-difosfat.*
Molekylen splittras i två trekols-socker, glyceralaldehyd 3-fosfat.
Kedjan oxideras och avges delvis som NADH och ATP, kvar blir två pyruvater.
(En del av energin binds in i NADH som har hög redoxpotential som används för att driva andra processer.)

In: 2 ATP, 1 glukos
Ut: 4 ATP, 2 NADH, 2 pyruvater
Netto: **2 ATP, 2 NADH, 2 pyruvater**

Glukoneogenesen (anabolism)
Energikrävande process som motsvarar en bakvänd glykolys. Glukos bildas från andra enklare föreningar som cellen inte kan bryta ner, ex laktat, glycerol och alanin. Detta sker huvudsakligen i levern under fasta. Startmolekylerna kan även vara vilken som helst i citronsyracykeln eller glykolysen samt vissa aminosyror som bryts ner i olika delar av kroppen.
3- eller 4-kolssocker -> glukos

Pyruvatoxidationen



Sker: i mitokondrien
Pyruvat är anjonen till karboxylsyran pyrodruvsyra. Den kan skapas från glukos genom glykolysen, konverteras tillbaka till kolhydrater via glukoneogenes eller till fettsyror genom acetyl-CoA. Pyruvat kan också användas för att bygga alanin och omvandlas till etanol. Pyrodruvsyran transporteras in i mitokondrierna, där själva cellandningen äger rum. Före nästa steg dekarboxyleras pyrodruvsyran (koldioxid avgår från karboxylgruppen), och återstoden oxideras till ättiksyra, bunden som acetyl-coA.
Pyruvat + CoA -> acetyl-CoA + CO2 + NADH

Anaerob respiration och Jäsning
Vid hög fysisk ansträning, som konditionsträning, kan pyrodruvsyran tillverkas snabbare än den oxideras. Då uppstår mjölksyra genom *mjölksyrejäsning* som bryts ned i blodet. När mjölksyran når levern oxideras en del av den till koldioxid och vatten, och en del av syret försvinner på vägen Mjölksyrebildningen är en bra process, eftersom regenerering av NAD + ser till att energiproduktionen bibehålls och motion kan fortsätta.

Mjölksyrajäsning
Då det inte finns syre är den primära mekanismen för skapandet av ATP glykolysen, som reducerar NAD+ till NADH. Då NAD+ bara finns i en viss mängd måste NADH fortsätta oxideras för att regenerera NAD+, vilket görs genom elektrontransportkedjan i den oxidativa fosforyleringen och kräver syre. Denna process är inte tillgänglig under anaeroba förhållanden, istället donerar NADH sina extra elektroner till pyrvatmolekylerna som bildar laktat. NAD+ regenereras då och glykolysen kan fortsätta. Mjölksyran används sen för glykosproduktion i levern vilket är <u>energikrävande</u> (4 NADH, 6 ATP) men man vinner på det då man har mycket energi kvar i mjölksyran.

In: glukos, 2 ADP, 2 NAD+ (katalyserande)
Ut: 2 ATP, 2 laktat, 2 NAD+
Netto: **2 ATP, 2 laktas**

I heteromjölksyrejäsning omvandlas en pyruvat till laktat, och den andra omvandlas till etanol och koldioxid i *etanoljäsning*, se nedan.
I homomjölksyrejäsning bildar både pyruvaten laktat. Den senare processen är unik då det är den enda respirationsprocessen som inte producerar en gas som biprodukt.

Etanoljäsning
Jäsning leder till utsöndring av alkohol och koldioxid. Glukos blir precis som förut genom glykolysen 2 pyruvat, men istället skickas 2 protoner in och kol lämnar ämnet som 2 koldioxid. Kvar är då 2 acetaldehyd som m.h.a NADH blir 2 etanol. Glukos kan inte återbildas då koldioxiden avgivits.

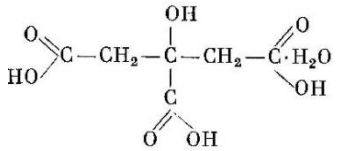
In: glukos, 2 ADP, 2 NAD+ (katalyserande), **2 H+**
Ut: 2 ATP, 2 etanol, 2 NAD+, 2 CO2
Netto: **2 ATP, 2 etanol, 2 CO2**

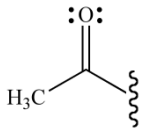
Anaerob respiration: Organismer skickar elektroner från en donator till en sista elektronacceptor genom en elektrontransportkedja som omvandlar kemisk energi till en elektrokemisk gradient. Energin lagrad i gradienten används sedan i en annan reaktion med ATP-syntas för att generera ATP. Syre är en mycket bra elektronacceptor då det är mycket oxiderande, och ”ersättarna” är inte lika bra vilket innebär att mindre energi frigörs per oxiderad molekyl, och är mindre effektivt.
Jäsning: ATP är direct syntetiserad från fosforylerade intermediärer av metaboliserade föreningar utan någon inblandning av en elektrontransportkedja. Eftersom det är finns någon extern elektronacceptor (som t ex syre) så måste celler producera sin egen elektronacceptor för att behålla sin redox-balans.

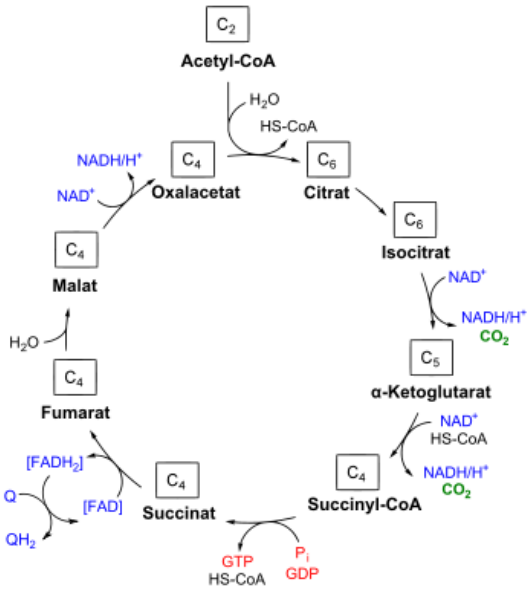
Beta-oxidationen (**katabolism**)
Sker: i mitokondriens yttermembran och matrix
Fetter innehåller dubbelt så mycket energi som kolhydrater och proteiner. Fettnedbrytningen börjar genom att fetterna spjälkas till fettsyror och glycerol. Betaoxidationen, även kallad *fettsyraoxidationen*, är en nedbrytningsprocess av fettsyror. Först aktiveras fettsyrorna på mitokondriernas yttermembran m.h.a CoA till karboxylsyragruppen som bildar *acyl*-CoA, som vandrar genom mitokondriens innermembran med hjälp av aktiv transport. I mitokondriens matrix sker sedan nedbrytningen av fettsyror
Processen är cyklisk och varje varv avslutas med att två kolatomer har avspjälkats i form av en acetylgrupp länkat till en koenzym A vilket bildar acetyl-CoA. Det som är kvar av fettsyran efter varje varv går in i cykeln på nytt, och upprepas tills fettsyran är helt nerbruten till acetylgrupper. Varje varv i betaoxidationens cykel ger:
- FADH2, NADH, H+ som alla skickas till elektrontransportkedjan (eller till reaktioner där något skall reduceras med väte).
- Acetyl-CoA som skickas till citronsyracykeln.
- Fettsyra-CoA varje varv utom sista, och skickas tillbaka in i cykeln igen.

Citronsyracykeln (katabolism)
Citronsyracykeln är ett av leden i cellandningen. I procesen används syre och därför är det en aerob process. Energi utvinns i form av högenergimolekylerna NADH, FADH2 och GTP (som sen blir ATP). De två kol som går in i citronsyracykeln under detta varv genom acetyl-CoA (och innan dess pyruvat) i cykeln kommer i <u>nästa varv</u> att omvandlas till koldioxid (det varvet kommer nästa två kol in i cykeln, osv)

Utgångsmaterialet för processen är oxalättiksyra och acetyl-CoA, av vilken den första återbildas av citronsyracykeln eller bildas av pyruvat, och den senare genom nedbrytning av fettsyror samt nedbrytning av pyruvat. Ättiksyreresten i acetyl-coA kopplas fast på en syra (oxalättiksyra) med 4 kolatomer så citronsyra (6C) bildas. Under processen avgår naturligtvis två koldioxid; dessutom reduceras fyra vätebärare, och en ATP bildas. Per glukos blir detta åtta vätebärare och två ATP.





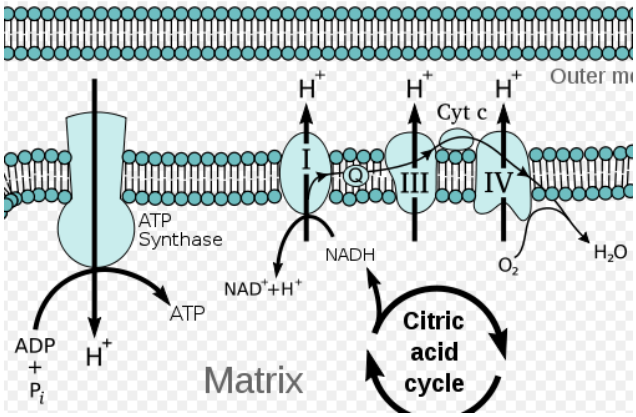


Elektrontransportkedjan

Sker: i mitokondriens innermembran.

Arrangemang av proteiner som lämnar elektroner till varandra så att det genomlöper en sekvens av allt lägre potentiella energier. Funktionen är att omvandla kemisk energi/ljusenergi till andra former av kemisk energi (t ex ATP) som organismen kan behöva till de processer som kräver enrgitillskott. Gemensamt för elektrontransportkedjor är att proteinerna bildar större proteinkomplex som sitter inbäddade i ett membran.När elektronerna går igenom kedjan pumpas protoner eller andra psitivt laddade jonslag från ena sidan av membranet till den andra så en laddningsskillnad, membranpotential, uppstår. Membranpotentialen kan sedan användas för att utföra arbete t ex för att driva transport av ämnen in i cellen, eller så kan ett annat proteinkomplex använda den för att tillverka ATP. De två vanligaste elektrontransportkedjorna:

1. Andningskedjan i våra mitokondrier som omvandlar energi från sönderdelandet av vår mat till ATP. (se nedan)
2. Fotosyntesen i växternas kloroplaster, som omvandlar energin i fotoner till kemisk energi i form av t ex kolhydrater. (se nedan i *Fotosystem*)



Mitokondriens elektrontransportkedja: energi som tillfälligt lagrats i form av NADH och $FADH_2$ som kommer från till exempel glykolysen och citronsyracykeln omvandlas till ATP. Tre proteinkomplex i innerbmembranet transporterar elektroner till den slutgiltiga elektron-acceptorn O2, och strömmen av elektroner driver pumpning av protoner från mitokondriens matrix till utrymmet mellan membranen. Den spänning som uppstår används sedan för att driva det proteinkomplex som bygger ATP (ATP-syntas) från ADP och fosfatjoner.

<u>Komplex I</u> är ingångsport för NADH från citronsyracykeln och innehåller *flavin* och järn-svavel-kluster.

<u>Komplex II</u> är ingångsport för succinat, och är inte ett protein. Komplexet innehåller flavin i form av FAD. Båda komplexen lämnar elektronerna till koenzym Q (ubikinon) som skickar dem vidare till nästa vätepump.

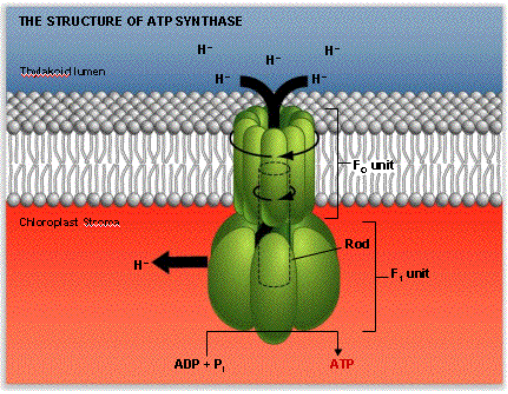
<u>Komplex III</u> innehåller *hemgrupper*(binder till enzymer för att bidra till dess katalytiska förmåga) och järn-svavel-kluster

<u>Cytokrom C</u> – lämnar över elektronerna till komplex IV.

<u>Komplex IV</u> – innehåller hemgrupper och kopparcentra. Elektronerna lämnas till syrgas och bildar vatten.

ATP-syntas

Ett enzym med central roll inom metabolismen som ansvarar för det sista steget i syntesen av ATP (*adenosintrifosfat*). ATP-syntaset sitter i mitokrondriens inre membran och katalyserar bildandet av ATP från ADP (*adenosindifosfat)* och H2O genom att en del av enzymet roterar. Den roterande rörelsen drivs av en ström av vätejoner som strömmar från membranets utsida (med sin gradient). Enzymet använder protonernas energi i form av kemisk potential för att skapa ATP.



ATP-syntas använder H+ för att producera ATP medan V-pumpar använder H+ för att styra protoner mot sin gradient.

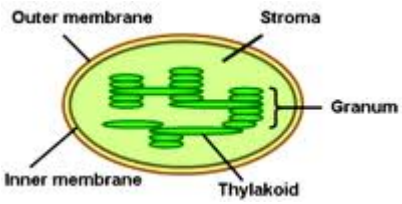
Fotosyntesen

Fotosyntesen producerar syre, och sker i kloroplasterna.
Ljusreaktionen(fånga ljusenergi och ladda energibärare): H20 + ljus -> O2
Mörkerreaktionen(med energin göra socker ur koldioxid och vatten): CO2 -> Kolhydrater
Växter har både kloroplaster och mitokondrier. Kloroplasterna skickar vidare coker som sedan går in i mitokondriens citronsyracykel och ut kommer ATP.

Kloroplasten

Linsformade organeller som omges av ett dubbellipidmembran.
Består av:

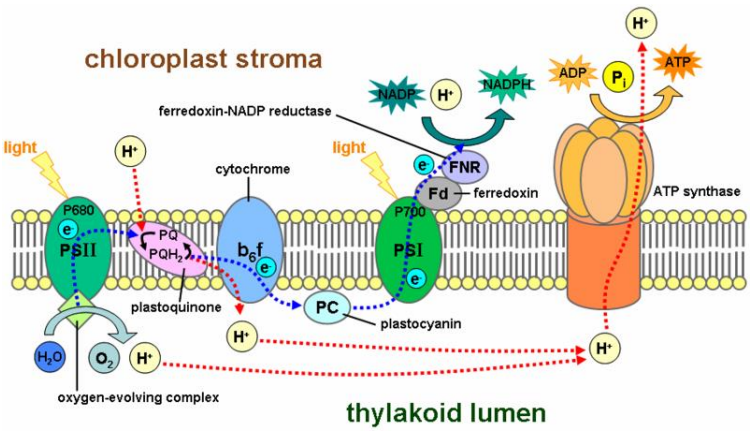
Yttermembran - Här finns många olika poriner som bildar stora porer i membranet. På detta vis är mitokondrier och kloroplaster lika. Genom dessa vandrar olika lösliga ämnen både passivt och selektivt.
Innermembran - Är nästan totalt ogenomsläpplig, och genom detta membran måste ämnet transporteras med hjälp av speciella transportproteiner.
Tylakoidmembran - Membranblåsor med klorofyllkomplex, det är här själva fotosyntesen sker.
Stroma - Vätskan som finns kring tylakoiderna.



Fotosystem

Ett fotosystem innehåller både ljusabsorberande ***antennkomplex*** och ett ***reaktionscentrum***.
Antennkomplex är ljusabsorberande system som är proteinpigmentkomplex med t ex klorofyll i eller på fotosyntetiska membran. Pigmentmolekylerna är speciellt arrangerade i och runt fotosystem som är inbäddade i tylakoidmembranen. De absorberar fotoner och överför exitationsenergin från ett antennpigment till följande, tills det når pigmentmolekylen i reaktionscentrum. Energin exiterar pigmentmolekylen till en högre nivå, vilket leder till att elektronen via en oxidations-reduktionsreaktion överförs till den primära mottagaren i elektrontransportkedjan.

De två närvarande accepterade fotosystemenheterna är Fotosystem II och Fotosystem I, som har sina egna distinkta klorofyllreaktionscentrum som heter P680 och P700 vilka är pigment med olika absorpstionsmaximum i den röda delen av ljusspektrat.
P680 - Fotosystem II:s primära donator, hänvisar till någon av de två speciella klorofylldimerer (även kallad särskild par) som uppför sig som en enhet. Oxiderad P680 är det starkaste kända biologiska oxidationsmedlet, vilket gör det möjligt att oxidera vatten under fotosyntesen.
P700 – Fotosystem I:s primära donator, är det starkaste kända biologiska reduktionsmedlet. Det är mer komplext än Fotosystem II eftersom den har ett mer komplext antennsystem, har fler subenheter i sin övergripande struktur och kan uppvisa cykliska eller icke-cykliska elektronöverföringar från exiterade P700 till elektronacceptorn.



En foton absorberas av fotosystem II, och lyfts från låg- till högenergitillstånd. Den faller sedan ner till lågenergitillståndet och släpper sin energi som plockas upp av en intilliggande pigmentmolekyl som använder den till att höja en elektron till högre energitillstånd etc tills energin når fotosystemet, där den höjs igen och tas omhand av elektrontransportkedjan.
Elektronen når sedan fotosystem I (P700) där det får vänta tills den exciteras av en annan foton, och omvandlar tillslut NAD+ till NADH.

Protoner pumpas in i tylakiodmembran för att generera en protongradient som ska generera ATP.

Jämförelse mitokondrier/kloroplaster

	Mitokondrier	Gemensamt	Kloroplast
Organeller mm.	Christae, matrix (jmfr stroma)	Ytter- och innermembran, kanalproteiner kvar, DNA, ribosomer	Stroma (jmfr matrix), tylakoidmembran
	E- från citronsyracykeln med restprodukterna fetter och kolhydrater till protongradient där de pumpas på tre ställen. Med syre bildas vatten. H2O och CO2 är produkterna.		E- exciteras i PS II med H2O till protongradient och pumpas på ett ställe. Elektronen bildar NADPH som går in i C3cykeln med restprodukten CO2. Produkterna är O2 och Kolhydrater.

C3-cykeln
En trekolsförening blir tillsammans med CO2 genom flera mellansteg en sexkolsförening som sen släpper en glyceralaldeyd ur cykeln och sedan reduceras till 3 kol igen och gör om cykeln. Av glyceraldehyd kan socker, fettsyror och aminosyror bildas till kostnad av 9 ATP och 6 NADPH.

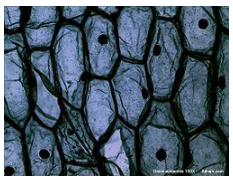
Fosforylering
Oxidativ fosforlyering överför energi till en form användbar för många processer i cellen, adenosintrifosfat (ATP). Det är det sista steget i cellandningen och utförs i eukaryota celler i mitokondriens inre membran. Här överförs elektroner från ett substrat till syre, vilket ger energi för bildning av ATP. Största delen av den energi, som fås från glukos och andra energikällor, härrör från den oxidativa fosforyleringen.

Avbildningstekniker och nanotillämpningar

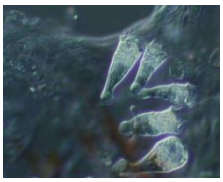
Mikroskop
Ögat: ca 0,5 mm
Ljusmikroskop: ca 200 nm
Elektronmikroskop: ca 2 nm
En eukaryot cell är ca 10-100 µm
En bakterie är ca 1-10 µm

Fixering av celler

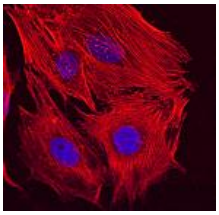
Tar man bort en cell från människorkroppen så börjar cellen förändras. Syretillförseln upphör och en föruttnelseprocess startar orsakad till stor del av egna enzymer, måste minimeras för att preparaten ej skall förändras. Vid fixering så denatureras proteinerna vilket inaktiverar enzymerna och det sker en förskjutning av vävnadens vattenhalt. Ämnen som kan användas vid fixering kan vara aldehyder, alkoholer, metalloxider och syror. Ofta blandar man olika ämnen för att få en bra kombination.



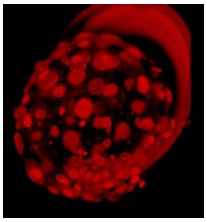
Ljusmikroskop - Vanligt ljus från lampa passerar preparatet och kan fokuseras med olika linser. Detta är mest för färgade och fixerade celler, och är både enkelt och billigt. Linser används.



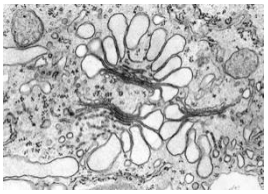
Faskontrastmikroskop – Preparatets tjocklek och brytningsindex förskjuter ljusets fas, och kan översättas m.h.a linser och ”fasplatta” till mörkt och ljust.



Flourescensmikroskop – Filtrerat ljus från t ex en Hg-lampa går genom preparatet och ljuset esciterar inmärkta strukturer i cellen. Vi ser ljuset som emitteras. Används oftast för omärkta fixerade celler. Det finns ett visst problem med ströljus. Man tittar inte med samma våglängd som man belyser med.

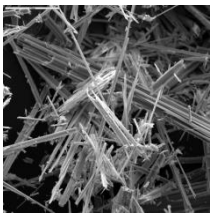


Konfokalmikroskop – Ljuset från en laser exciterar inmärkta strukturer i cellen. Ljuset som emitteras detekteras selektivt lager för lager och genererar bilder som tillsammans blir en 3D-bild. Ströljus elimineras -> skarp bild. Oftast används fixerade celler, men även levande kan fungera beroende på infärgningen. Lyser på en enda punkt och vandrar över materialet (likt AFM) -> ritar upp en bild av ytan.



TEM – En ström av elektroner passerar genom preparatet där de avlänkas olika mycket beroende på materialets täthet. Linserna är elektromagnetiska. Eftersom elektronstrålen har kortare våglängd än ljus kan man få en mycket bättre upplösning. Kräver mycket tunna preparat och avancerad preparatbehandling. (Vatten måste bytas ut mot t ex paraffin.)

SEM – Fungerar likt TEM, men elektronerna passerar ej igenom provet, de reflekteras.



Röntgendiffraktion – elektromagnetisk strålning ger exakta atompositioner

AFM – Atomic force microscope är ett ”scanning probe microscope” med mycket flexibilitet. AFM är en mycket hög upplösningstyp av SPM, med påvisad upplösning av en nanometer, mer än 1000 gånger bättre än den optiska diffraktionsgränsen. Informationen samlas in genom att en mekanisk sond känner sig fram över ytan. Piezoelektriska element används som underlättar små men noggranna och precisa rörelser på (elektroniska) kommando och gör mycket exakt scanning möjlig.

STED - Stimulated Emission Depletion microscopy är en fluorescensmikroskopiteknik som använder den icke-linjära ”av-exitationen” av fluorescerande färger för att övervinna upplösningsgränsen som följer av diffraktion med vanliga konfokala laserskanningsmikroskop. Därför kan det också beskrivas som en form av superupplösningsmikroskopi. Ett konfokallaserskanningsmikroskop använder en fokuserad laserstråle för att belysa en liten del av provet. Lasern är inställd på en frekvens som väcker fluorescensen från färgmolekylerna i provet, och upplösningen av ett sådant mikroskop är begränsad till den lilla plats där strålen kan fokuseras. I

STED-mikroskop är diffraktionsgränsen krönt av riktade, starka ”av-excitationer” av färgmolekyler, i praktiken stängs de av. En upplösning på upp till 5,8 nm kan då uppnås.

Antikroppsinmärkning – inmäkrning för fluoroscens och konfokalmikroskopi.
Antikropp - Y-formade proteiner som används av kroppens immunsystem för att upptäcka och identifiera främmande ämnen. Antikroppens funktion är att binda sig till specifika ytmolekyler på dessa smittämnen och på så sätt göra det möjligt för andra vita blodkroppar och komplementproteiner att eliminera dem från kroppen.

GFP – Green fluorescent protein.
Ett protein som fluorescerar grönt vid belysning med blått eller ultraviolett ljus. Genom att isolera genen som tillverkar GFP och gentekniskt koppla ihop denna med en celltyp man vill studera, kan man studera celler eller förloppet inom celler. Inom cell- och molekylärbiologi är GFP ett ovärderligt redskap som gör det möjligt för forskarna att studera cellers livsprocesser med blotta ögat.

Nanotillämpningar

Virus
De minsta biologiska enheterna som kan infektera levande organismer. Virus brukar inte räknas som en livsform, då de saknar egen ämnesomsättning, och ej kan föröka sig på egen hand, utan beskrivs ofta snarare som "ett mellanting mellan levande och död materia". De kan inte föröka sig utan att infektera en levande cell. Med hjälp av cellens maskineri tillverkar viruset fler viruspartiklar.

Nanooptik
- Diffraktionsbegränsning
- Exakt positionering

FIONA - Fluorescence imaging with one-nanometer accuracy
En enmolekylsfluorescensteknik som används för att lokalisera enskilda flourescerande molekyler till inom ca 1,5 nm. Denna resolution erhålls genom att analysera fluorescensbilden eller punktspridningsfunktionen och montering till en gaussisk funktion.

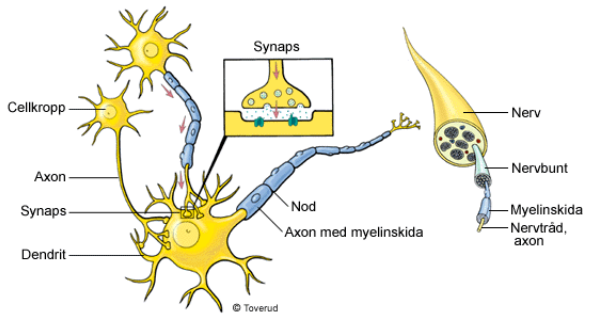
STORM - Stochastic optical reconstruction microscopy

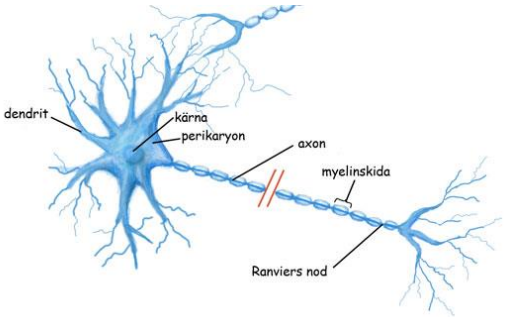
Lab on a chip
är en enhet som integrerar en eller flera laboratorium funktioner på ett enda chip på bara millimeter till ett par kvadratcentimeter. Det handlar om hantering av extremt små vätskevolymer ner till mindre än picoliter. Partikelsortering.

Nano-pit array
De var gjorda för att putta tippen av AFM-mikroskopet mot ytan som skulle undersökas med en piezokristall.

Nerv- och sinnessignaler

Nervceller / neuroner



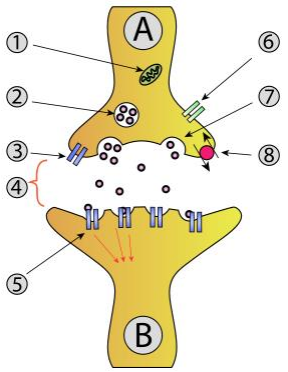


Det finns över 40 000 nervceller / cell. Nervcellen är ansvarig för mottagandet och överförandet av nervimpulser. Den kan betraktas som nervsystemets mest grundläggande enhet, även om neuron inte är den enda celltyp som finns i nervsystemet. Antalet neuroner i hjärnan beräknas uppgå till ungefär 100 miljarder. Alla neuron är dock uppbyggda på samma sätt.

- en eller flera *dendriter* som tar emot nervsignaler
- en cellkärna "*soma*" i mitten
- axon som skickar ut nervsignaler.

Aktionspotential
Det sammansatta elektrokemiska fenomenet längs nervcellers utskott (processer) som följer till exempel på signalöverföringen i en synaps. När en aktionspotential anländer till den bortre änden av axonen (presynaptisk terminal), överförs signalen på kemisk väg genom att neurotransmittorer frisläpps. Dessa neurotransmittorer binder till receptorer på dendriten och ger eventuellt upphov till en aktionspotential i nästa neuron. Den är en snabb förändring av spänningen över en nervcells membran. Urladdningen beror på att natrium och kaliumjoner snabbt passerar genom cellens yta, cellmembranet. Impulsen sprids sedan i nervcellen och dess utskott, och fortsätter sedan till andra celler. Den används för signalering mellan nervceller hos djur, men även i viss begränsad utsträckning växter

Synaps
Kontaktpunkten mellan två nervceller kallas synaps, mellan en nervcell och en muskelcell kallas det motorisk ändplatta, mellan en nervcell och en körtelcell kallas det igen för synaps. Den vedertagna bilden av en synaps består av en presynaptisk del i axonens ände (*presynaptisk terminal*), det *synaptiska gapet* och en *postsynaptisk* del i den andra nervcellen. Information från en sådan synaps överförs genom att så kallade *neurotransmittorer* frisläpps från den presynaptiska terminalen och som sedan genom diffusion når den postsynaptiska neuronen. När en neurotransmittor binder till en receptor på postsynaptiska cellen förändras membranpotentialen, vilket kan alstra en aktionspotential.



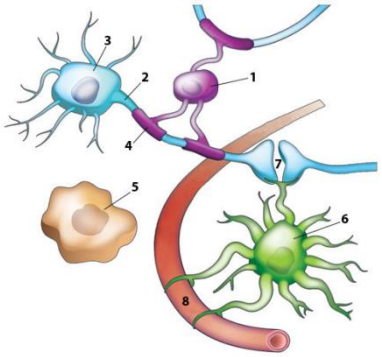
1. Mitokondrie
2. Vesikel med neurotransmittor
3. Automatisk receptor (mottagare av transmittorsubstans)
4. Synapsgap med fria transmittorer
5. Postsynaptiska receptorer
6. Ca2+ - kanal
7. Exocytos
8. Återupptagning av transmittorsubstans

Transmittorer
En molekyl som förmedlar en nervsignal på kemisk väg från en nervcell till en annan i nervsystemet. Neurotransmittorer existerar både i det centrala nervsystemet (CNS) och i det perifera nervsystemet (PNS). Neurotransmittorer lagras i vesiklar inom specialiserade ansvällningar på axonen som utgör den presynaptiska delen av synapsen, och som svar på en aktionspotential frisläpps de till den synaptiska klyftan. I mottagarcellen binder de så till specifika receptorer och två saker kan inträffa:

1. Jonkanaler öppnas och den postsynaptiska cellens membranpotential förändras.
2. En kemisk reaktion kan startas.

Vanliga neurotransmittorer i centrala nervsystemet är serotonin, GABA, dopamin, histamin, adrenalin, noradrenalin och acetylkolin.

Gliaceller
De är icke-neuronala celler för vilka man nu identifierat fyra huvudfunktioner: att omge nerveller och hålla dem på plats, att leverera näringsämnen och syre till nerveller, att isolera en neuron från en annan, och att förstöra patogener och avlägsna döda nerveller. Vissa gliaceller fungerar främst som fysiskt stöd för nerveller. Andra reglerar den inre miljön av hjärnan, speciellt den vätska som omger nerveller och deras synapser.



Det finns många olika gliaceller:
1. *Oligodendrocyter* – skickar ”projektiler ”som lindar axon.
2. *Axon* - utskott som tar kontakt med bl a andra nervceller.
3. Nervcell
4. *Myelin*- isolerande -> impuls kan fortplanta sig fortare.
5. *Mikroglia*- är i huvudsak hjärnans immunceller.
6. *Astrocyter*
7. Synaps
8. Lokalt blodkärl

Astrocyter (6) bedriver en mängd aktiviteter. Deras långa förlängningar kan övervaka nivåer av nervaktivitet antingen längs axoner i synapserna (7) och, när dessa aktiviteter är höga, signal till lokala blodkärl (8) att vidga, öka blodtillförseln till hårt arbetande nervceller. Astrocyter producerar också och utsöndrar ämnen som har ett stort inflytande på utformningen och eliminering av synapser.

Axonal transport
En cellulär process som ansvarar för förflyttning av organeller till och från en neurons cellkropp, genom cytoplasman av dess axon. Axoner troddes tdigare inte ha några ribosomer eller sätt att producera proteiner, och troddes också därför förlita sig på axonal transport för sina proteinbehov. Det har dock visat sig att mRNA har blivit translaterat i axoner. Axonal transport är också ansvarig för att flytta molekyler som är avsedda för nedbrytning av axonet tillbaka till cellkroppen, där de bryts ned av lysosomer. Rörelse mot cellkroppen kallas *retrograd* transport och rörelse mot synapsen kallas *anterograd* transport

Funktionella nervcellsklasser

1. Sensoriska neuroner (afferent)	Hämtar information från perifera till centrala nervsystemet.
2. Interneuroner	multipolär nervcell som förbinder afferenta neuron och efferent nervceller i nervbanor. 99 % finns i hjärnan och ryggraden.
3. Efferenta neuroner	Motsatt afferent, bär nervimpulser från det centrala nervsystemet till effektenheter som muskler och körtlar. *Motorneuroner* kallas de efferenta neuronerna som är inblandade i muskelkontroll.

Receptorer
I ett sensoriskt system är en *sensorisk receptor* nervänden som svarar mot en stimulans i den interna eller externa miljön i en organism. Som svar på stimuli genererar de graderade potentialer kallade *receptorpotentialer*:

1. Mekaniska receptorer (mekanisk stress eller påfrestningar)
2. Termoreceptorer (temperatur)
3. Fotoreceptorer (ljus)
4. Kemoreceptorer (kemisk stimuli)
5. Nociceptorer (smärta)

Receptorpotential- Den transmembrana potentialskillnaden på en sensorisk receptor. Inflödet av ström kommer ofta föra membranpotential av sensoriska receptorer mot tröskeln för att utlösa en aktionspotential.

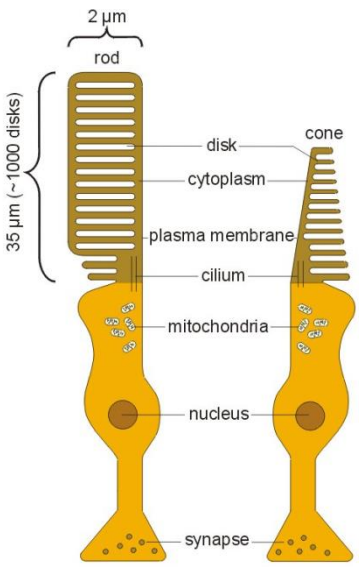
Stimulansvaraktigheten varierar med vilka receptorer som stimuleras.

- Snabbt anpassade receptorer. En mekanoreceptor som svarar snabbt på stimulans, men som snabbt anpassas och stoppar skicka signaler om stimulansen förblir konstant, t ex känslan av kläder.
- Långsamt anpassade receptorer. En mekanoreceptor som reagerar långsamt på stimulans och fortsätter skicka signaler så länge stimulans fortsätter.

När de fria nervändarna stimuleras hämmar den aktuella neuronen de överlappande kring den så att man kan avgöra platsen för stimuli.

Somatiska receptorer initierar känslan i huden, muskler, senor och leder. Receptorerna svara på beröring och tryck, temperatur och smärta samt kroppsställning och rörelse.

Synen - Fotoreceptor
Finns i ögats näthinna och är kapabel till ljustransduktion. Den stora biologiska betydelsen av fotoreceptorer är att de omvandlar elektromagnetisk strålning till signaler som kan stimulera biologiska processer. Dvs fotoreceptorproteiner i cellen absorberar fotoner och utlöser en förändring i cellens membran potential.



De två klassiska fotoreceptorerna är stavar och tappar, båda bidrar med information som används av det visuella systemet för att bilda en representation av den visuella världen, vår syn. Det finns stora funktionella skillnader mellan stavar och koner. Stavar (rods) är extremt känsliga, och kan utlösas av ett mycket litet antal fotoner. Detta förklarar varför färgerna inte kan ses vid låga ljusnivåer: endast en typ av fotoreceptor cellen är aktiv.

Smakreceptorer
Många olika kemikalier kan generera upplevelsen *smak* genom att på olika sätt aktivera våra smakreceptorer. Varje grupp har en distinkt signaltransduktionsmekanism:

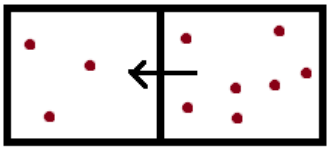
Sött (glukos)
Surt (H+)
Salt (Na2+)
Bittert (associerat med giftiga substanser, särskilt stryknin och arsenik)
Umami (ex glutaminsyra)

Membranpotential

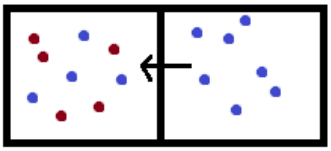
Den elektriska spänningen mellan den intracellulära- och extracellulära miljön hos en nervcell.

Diffusion över membran
Diffusion – Den spontana spridningsprocess som äger rum när något, oftast gaser eller vätskor, med en egenskap skilt från omgivningen sprids, blandas och jämnas ut. Diffusionen över ett cellmembran kräver ingen energi och processen kallas därför för passiv transport.

Permeabelt – Substansen kan diffendera genom membranet.

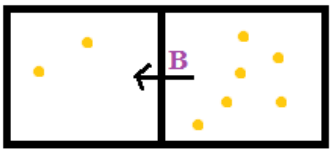


Enkeldiffusion – Ämnet sprids över membranet åt det håll där koncentrationen är som lägst.

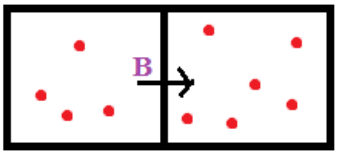


Osmos - Om membranet är genomträngligt för vätskan men inte för de salter som finns i vätskan (*semipermeabelt*), så kommer vätskan att strömma genom membranet till dess att osmotisk jämvikt uppstått.

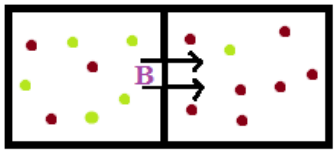
Om mebranet ej är permeabelt krävs ett bärarprotein.



Faciliterad diffusion. Substansen färdas i gradientens riktning via ett bärarprotein.



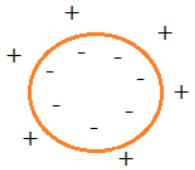
Primär aktiv transport. Denna bärarprotein transporterar substratet mot gradientes riktning och kräver därför energi.



Sekundär aktiv transport. Den gröna går med gradienten och drar med sig den röda mot sin gradient (gröna är ”motorn”). Antiport och symport.

Cellers membranpotential

Cellmembranet har dock en viss inneboende egenskap av genomsläpplighet för kaliumjoner i "vilotillståndet", vilket leder till en förskjutning av nettoladdningen mot ett negativt värde i förhållande till insidan av cellen.
Det kostar energi att hålla membranpotentialen.



Jämviktspotential

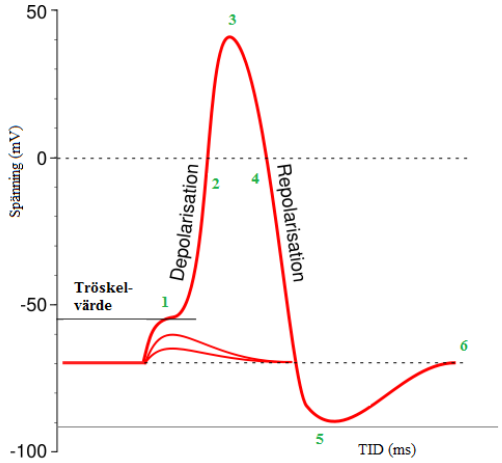
Över ett cellmembran är jämviktspotentialen av ett jonslag den spänningsskillnad som råder då det inte sker någon nettotransport över membranet av detta jonslag. Varje jonslag har en specifik jämviktspotential som beror av jonens koncentrationskillnad mellan utsida och insida.

Ek+:-90 mV ENa+: 60 mV

Graderad potential – Orsakas av stimuli, transmittor i synaps eller pacemakeraktivitet. Om Na-kanaler öppnas förändras membranpotentialen lokalt, dvs förflyttar sig med avtagande amplitud (kort räckvidd). Graderad potential (*Gp*) är effektiv på korta avstånd. GP som når tröskelvärdet utlöser aktionspotentialen (*Ap*) som har en fix amplitud. Gp kan summeras.

Aktionspotential, steg för steg

Läs mer om *aktionspotential* längre bak i texten.
Orsakas av graderad potential, förflyttar sig med konstant amplitud (lång räckvidd). Enkelriktat flöde.



1. Graderade potentialen når tröskelvärde, spänningskänsliga Na+ -kanaler öppnas.
2. Öppna Na+ -kanaler depolarisetar membranet mer och öppnar fler Na+ -kanaler (pos.feedback)
3. Nära toppen minskar Pna abrupt genom att inaktivationsgates stänger Na+ -kanalerna.
4. Membranet repolariserar genom långsamt öppnande K+ -kanaler.
5. Membraner hyperpolariseras (sjunker under sin vilopotential, -70 mV) av de långsamma K+ -kanalerna.
6. Alla spänningskänsliga kanaler är stängda, membranpotential återställd till viloläge.

Kemisk transmission i synapser

Orsakas av Gp eller Ap. Transmittor diffunderar över spalten (kort räckvidd). Enkelriktad transmission, och mängden frisläppta transmittorer kodar signalstyrkan.