

### **Målbeskrivelsespunkter for forelæsninger:**

Forelæsninger og SAU timer er tæt kobledede, for derved på bedst mulig måde at dække studiemålene. Såfremt emnerne ligeledes (helt eller delvis) bearbejdes i SAU24 eller SAU12, vil dette være angivet i parentes.

#### **F1: Introduktion**

#### **F2: Energi, katalyse og biosyntese**

Redegøre for at energi fås ved oxidation af næringsstoffer – katabolisme

- Alt der skal forbrændes, skal bruge ilt, og det danner energi, kuldioxid og vand. Forbrænding kan gøres i et trin eller opdeles i flere trin ved hjælp af regulerende enzymer fx – Dette giver et større energi-udbytte. Energien lagres i højenergi-elektron-carriers eller i energirige binder (ATP/GTP osv.).

Redegøre for at energi bruges til arbejde, transport og synteser – anabolisme

- Energi bruges i anabolisme, dvs. arbejde, syntese eller transport. Energien i bindingerne i ATP bruges til at drive mange endergone processer i kroppen. Derudover kan enzymer nedsætte aktiveringsenergien.

Angive at alle reaktioner i stofskiftet er katalyseret af enzymer

- Hvis kroppen ikke benyttede enzymer i stofskiftet, så ville reaktionerne enten forløbe meget langsomt eller slet ikke forløbe. Enzymer nedsætter aktiveringsenergien, og får reaktionen til at foregå hurtige, MEN den ændrer ikke på ligevægten.

Angive at alle reaktioner skal have  $\Delta G < 0$  for at forløbe spontant

- $\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \rightarrow$  Negativ  $\Delta H$  = exergon (spontan) og positiv  $\Delta H$  = endergon (non-spontan)

#### **F3 og F4: Protein struktur og analyse og Protein struktur og funktion (inkl. sau 24)**

Redegøre for aminosyrers hovedgruppeinddeling

- De sure, basiske, polære og non-polære.

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

- Kovalente bindinger mellem aminosyrer (backbone), Hydrogenbindinger mellem backbones (sekundær), Hydrogenbindinger, elektrostatiske kræfter, svovlbroer, hydrofobiske interaktioner (tertiær).

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

- Primær: Arrangeringen af aminosyre i backbone. Sekundær: Backbone interaktioner (alfa-helix, beta-sheets. Tertiær: Måden proteinet foldes på gennem de ovenstående interaktioner. Quarternær: Måden flere proteiner eller polypeptider interagerer og danner et proteinkompleks.

Definere begreberne proteindomæne og subunit

- Proteindomæne: En del af et protein, der har en selvstændig funktion. Subunit: Et protein eller polypeptid, der indgår i et større proteinkompleks.

Beskrive enzyms generelle funktionsmekanisme

- Enzymer mindsker aktiveringsenergien af en reaktion, og dermed øger den hastigheden af reaktionen, men den ændrer ikke Gibbs fri energi eller ligevægtspunktet. De forbruges ikke selv under reaktionen. De hjælper reaktanterne med at binde hinanden. Kan enten bringe reaktanterne tæt på hinanden i rigtig orientering, arrangere elektroner i substratet på en måde, der fremmer reaktionen eller enzymet kan bøje substratet på en måde, der fremmer reaktionen.

Beskrive feedback mekanismer

- Negativ: produktet af den enzymdrevne reaktion hæmmer fx enzymet. Positiv: produktet af den enzymdrevne reaktion får fx den oprindelige reaktion til at gå hurtigere.

Beskrive allosterisk regulering

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

Angive forskellige kovalente proteinmodifikationer med eksempler herpå

- Kovalent binding fosphat, acetyl eller ubiquitin. Fosphat kan lave konformitets ændringer, som regulerer enzymets aktivitet. Derudover kan fosphat lave docking-sites på proteinet, så flere proteiner kan kobles sammen. Acetyl kan binde sig til lysin og dermed regulerer proteinet. Ubiquitin dømmer et protein til destruktion i et proteosom. Desuden kan addition af fedtsyren palmitate til cystein få proteinet til at associerer med cellemembran.

Redegøre for SDS-PAGE og Western Blot

- Man ødelægger S-S bindinger med fx DTT i proteiner, så de ikke folder for kraftigt, hvorefter man lader sit protein sive igennem en gel af polyacrylamid, hvor proteiner har bundet sig til det negativt ladede SDS (sodium-dodecyl-sulfat), hvilket dermed også lader proteinerne negativt. SDS denaturer også proteinet. Det procentvise indhold af polyacrylamid i gelen bestemmer, hvor finmasket gelen er. Når der så sættes en spænding igennem gelen, vil de negativt ladede proteinkomplekser (protein + SDS) bevæge sig mod anoden, og jo lettere proteinet er, des længere vil det komme gennem gelen. Hvis man ønsker en bedre opdeling, så kan man fx have 4% polyacrylamid i det øverste lag, hvor de store proteiner er, mens man for optimal findeling har fx 12% polyacrylamid i den nedre del for at opdele de lette proteiner yderligere. Resultatet af denne SDS page kaldes et western blot, hvis man blotter resultatet ved at mærke proteinet med fx antistoffer.

## F5 og F6: Membranstruktur og Membrantransport (inkl. sau 24)

Redegøre for cellemembraners generelle sammensætning, struktur og fysiske egenskaber

- Cellemembranen består overvejende af en dobbelt lipid-bilag eller phospholipid bilayer. Imellem phospholipider "flyder" membranproteiner og membranlipider såsom kolesterol, som stabiliserer membranen. Der findes flere typer phospholipider fordelt asymmetrisk mellem outer og inner leaflet. **Outer leaflet:** Phosphatidylcholine og sphingomyelin (+glycolipider). **Inner leaflet:** phosphatidylserine, phosphatidylethanolamin og phosphatidylinositol. Når membran dannes, tilføjes ny membran altid på den non-cytoplasmiske side i ER, hvorefter scramblase katalyserer random flytning af phospholipider fra et leaflet til et andet. Derefter katalyserer flippase i Golgi den rigtige arrangering af lipiderne inden menbranstykket sendes videre. Membranen er hydrofil udadtil og hydrofob inden i.

Redegøre for cellemembraners permeabilitet

- Små non-polære molekyler såsom O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> og steroid hormoner kan diffundere direkte igennem.
- Små ikke-ladede polære molekyler såsom vand, ethanol og glycerol kan i lille grad diffundere igennem.
- Større ikke-ladede polære molekyler såsom aminosyrer, glukose og nukleosider kan i ringe grad diffundere igennem.

- Ioner såsom H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Mg<sup>2+</sup> og HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> kan ikke diffundere igennem.
- **GENERELT** gælder, at jo mindre et molekyle og jo færre interaktioner det har med vand (polaritet), jo hurtigere diffunderer det gennem membranen.

Angive rimelige værdier for ionkoncentrationer i ekstra- og intracellulærvæsken

Kationer	Intracellulært	Ekstracellulært
Na <sup>+</sup>	5-10 mM	140-150 mM
K <sup>+</sup>	140-150 mM	5-10 mM
Mg <sup>2+</sup>	0,5 mM	1-2 mM
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>-4</sup> mM	1-2
H <sup>+</sup>	10 <sup>-7,2</sup> M ~ pH = 7,2	10 <sup>-7,4</sup> M ~ pH = 7,4
Anioner		
Cl <sup>-</sup>	5-15 mM	110 mM

Redegøre for membranproteinstruktur og -forankring

- Proteiner kan overordnet være integral- eller perifereproteiner. Integralproteiner inddeles i transmembrane, monolayer associated alfavhelix og lipid linked proteiner.
  - Transmembranproteiner er enten en eller flere alfavhelix, der passerer gennem membranen og kan fx danne en kanal. Betabarrels lavet betasheets er også transmembranproteiner, men er dog meget sjældnere. Monolayer associated alfavhelix er et protein, der er tilknyttet membranen ved hjælp af en alfa helix, der ligger vandret i det ene leaflet.
  - Lipid linked er proteiner, der er bundet kovalent til lipid molekyler, som så er forankret i membranen ved hjælp af deres hydrofobe egenskaber.
  - Protein-attached er et perifært membranprotein, der er bundet nonkovalent (svagt) til andre membranproteiner.
- **Funktionelt** inddeles membranproteiner i.
  - 1) Transportere/kanaler
  - 2) Ankere, der holder fast i andre molekyler
  - 3) Receptorer
  - 4) Enzymes

Angive principperne i osmose

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

Redegøre for de forskellige typer membrantransportører og deres transportmekanismer

- Overordnet er der tre typer transport – aktiv og passiv. Der er tre måder at udføre aktiv transport på.
  - 1) Koblet transport
  - 2) ATP-drevet transport
  - 3) Lys-drevet transport

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

Redegøre for betydningen af Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pumpen

- Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pumpen danner ikke membranpotential, men det vedligeholder derimod membranpotential. Det er derimod Kalium-læk kanalen, der skaber membranpotential. Den skaber den kemiske gradient for natrium, som er nødvendigt for aktionspotential. Derimod bruges natriumgradienten til sekundær aktiv transport.

Beskrive at Na<sup>+</sup>-gradienten, som er skabt ved aktiv transport, er det energetiske grundlag for transport af visse andre stoffers transport imod deres koncentrationsgradient (sekundær aktiv transport)

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

### F7 og F8: Ionkanaler og Membranpotential (inkl. sau 24)

Angive typiske intra- og ekstracellulære ionkoncentrationer

Kationer	Intracellulært	Ekstracellulært
Na <sup>+</sup>	5-10 mM	140-150 mM
K <sup>+</sup>	140-150 mM	5-10 mM
Mg <sup>2+</sup>	0,5 mM	1-2 mM
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>-4</sup> mM	1-2
H <sup>+</sup>	10 <sup>-7,2</sup> M ~ pH = 7,2	10 <sup>-7,4</sup> M ~ pH = 7,4
Anioner		
Cl <sup>-</sup>	5-15 mM	110 mM

Redegøre for tre måder at 'gate' en ionkanal

- 1) Med en extracellulær eller intracellulær ligand, der skaber en konformationsændring
- 2) Spændingsstyrede
- 3) Mekanisk styret

Nævne de kræfter der påvirker retningen af en ionflux

- Ionflux påvirkes af både den kemiske gradient og den elektriske gradient, hvilket også fremgår af Nernst-ligningen. Sammenspillet mellem disse kræfter er meget vigtigt.

Definere og anvende et ligevægtspotential

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

Redegøre for iontransport gennem en cellemembran

- Ioner kan transporteres gennem læk-kanaler eller spændingsafhængelige kanaler med deres gradient (husk at tænk på både kemisk- og elektriskgradient), eller de kan transporteres mod deres gradient ved hjælp af fx ATP – eller ved hjælp af anti- eller

symporte, som fx udnytter en anden ions gradient til at blive transporteret ind i eller ud af cellen.

Forklare og anvende et membranpotential

- Membranpotential er det vægtede gennemsnit af de permeable ioners ligevægtpotential, som det også fremgår af Millman-ligningen. Membranpotential kan forklare aktionspotentialer og ionstrømme henover membranen.

### **F9, F10 og F11: Membrantrafik og organeller I, II og III (inkl. sau 24)**

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

- 1) Porer (cytosol til kerne): I både indre og ydre kernemembran. Tillader fri diffusion af små molekyler, og transporterer aktivt og selektivt specifikke macromolekyler.
- 2) Protein translokatorer (cytosol til ER, mitokondrier eller chloroplaster): Proteinerne er her oftest nødt til at denaturere for at komme ind gennem translokatoren – dog ikke i peroxisomet.
- 3) Vesikler (fra ER til golgi eller fra endomembrane og videre): Proteiner og lipider pakkes i vesikler og sendes videre til målorganellet, hvor de docker til målorganellets membran.

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

- Proteiner har en signalsekvens i deres N-terminale ende, som genkendes af receptorer på målorganellet. Dernæst hjælper import-proteiner (fx translokatorer) med at importere proteinet ind i målorganellet, hvis signalsekvensen er den rigtige.

Beskrive cellens sekretoriske pathway

- Den sekretoriske pathway beskriver proteiner, lipider og kulhydraters vej fra fx ER gennem golgi og videre til membranen, hvor de enten bruges i membranen eller sendes ud af cellen gennem exocytose. I ER dannes og modificeres de, hvorefter de modificeres videre i golgi, før de sendes videre ud gennem trans golgi.

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

- Hvis et protein, der er ved at blive dannet på et ribosom har en ER signal sekvens i sin N-terminale ende, så binder SRP (signal recognition particle) til både ER signal sekvensen og til ribosomet, hvorved translationen hæmmes/mindskes. SRP-ribosom komplekset binder dernæst til en SRP-receptor i ER-membranen, hvorefter SRP slippes samtidig med, at ribosomet nu føres til en translokator i ER-membranen. ER signal sekvensen sættes i translokatoren, hvorefter resten af proteinet følger og translationen genoptages. Dvs. proteiner føres gennem ER-membranen, mens de stadig translateres.

Beskrive hvorledes sekretoriske proteiner overføres til ER lumen

- Proteinets føres gennem translokatoren som et loop. På et tidspunkt under translokationen klippes ER-signalsekvensen (som sidder fast oppe i translokatoren) af ved hjælp af en signal peptidase. ER-signalsekvensen skydes ud i ER-membranen og nedbrydes. Når translokationen er færdig, sendes proteinet nu ud i ER-lumen, hvor det folder igen, og translokatørporen lukker igen.

Beskrive hvorledes forskellige typer af membranproteiner indsættes i ER-membranen

- Der er tre typer, single-pass, double-pass og multi-pass. Single-pass fungerer initialt på samme måde, som når proteiner føres ind i ER lumen. Men inden ER-signalsekvensen klippes af, kommer der en hydrofobisk stop-transfer sekvens (kan ligge forskellige steder på proteinet, fx midten), der stopper translokationen, hvorefter ER-signalsekvensen klippes af en signal peptidase, og proteinet slippes fra translokatoren og sendes ud i membranen.  
Ved double-pass sidder ER-signalsekvensen ikke ude i enden men inde (internal) i proteinet. ER-signalsekvensen klippes denne gang ikke af. Dernæst kommer stop-transfer sekvensen og fungerer på samme måde som ved single-pass. Ved multi-pass har man en serie af skiftende start-transfer og stop-transfer sekvenser.

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

- 1) Disulfidebroer dannes mellem to cysteinaminsyrer ved hjælp af oxidation (hjulpet af enzymer i ER). Denne oxidationen kan ikke ske i cytoplasma, da miljøet i cytoplasma er reducerende. Disulfidebroerne beskytter proteinerne mod enzymer og forandringer i pH uden for cellen enten i membranen eller efter exocytose.
- 2) Mange proteiner laves om til glykoproteiner (N-glykosylering) i ER lumen gennem kovalentbinding til korte forgrenede oligosaccharider, som består af flere forskellige sukre (hjulpet af enzymer, der findes i ER men ikke i cytosolen). Glykosyleringen kan beskytte mod nedbrydning, tilbageholde proteinet indtil det er foldet rigtigt eller det kan guide proteinet til de rigtige vesikler og det rigtige organel (fungerer altså som en signalsekvens). Hele oligosaccharidet overføres til proteinet på en gang fra et dolichol lipid, der sidder i ER-membranen. Overføringen stimuleres, når en rigtig asparaginaminsyre (asp-X-ser eller asp-X-thr) kommer igennem ER-membranen og ind i lumen.

Beskrive foldningskontrollen i ER, herunder betydningen af chaperoner

- Chaperoner tilbageholder proteiner, som er misfoldet, i ER. Hvis de ikke kan refolde, så bliver det smidt ud i cytosolen og nedbrudt. I cystisk fibrose er det chaperoner, der tilbageholder et lidt misfoldet gen, som egentlig kunne virke alligevel, i ER. Dermed mangler man nogen vigtige kloridkanaler.

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

- 1) Budding: Cargoreceptorer med bundet cargo sætter sig i membranen med cargo ind mod golgi lumen eller ud mod extracellulærrummet. Den anden ende af receptoren (som i begge tilfælde vender ind mod cytoplasma) bindes af adaptin, som dernæst binder clathrin til sig. Det bundne clathrin danner clathrincoats, der former vesiklen. Bagefter afsnøre dynamin vesiklen, som er en monomerisk GTPase, ved at hydrolysere bundet GTP. Clathrincoat og adaptin smides efter, at vesiklen er sluppet. Derudover er der COP-coated vesikler mellem ER og golgi samt golgi og golgi.
- 2) Docking og fusion: Vesikler transporteres ofte af motorproteiner langs cytoskeletet rundt i cellen. Når de når til det rigtige organel genkendes et RAB protein på vesiklen af et tethering protein fra target membranen. Dette er første genkendelsesproces, som bringer vesiklen tættere på target membranen. Dernæst binder et par v-snares fra vesiklen med et par t-snares fra target membranen, som dernæst snører sig om hinanden, hvilken tvinger vesiklen meget tæt på target membranen, så de fusionerer

Beskrive protein modifikationer i Golgi apparatet samt sortering til sekretoriske granula, lysosomer og celleoverfladen i TGN

- I golgi modificeres glykosyleringerne på proteinerne yderligere, hvilket kan bestemme, om proteinet skal til lysosomer, plasmamembranen eller ud af cellen, når det slippes fra transgolgi. Derudover kan proteinerne blive O-glykosyleret i golgi. Proteiner, der skal til lysosomer, får phosphoryleret deres mannosesukre, så de udtrykker mannose-6-phosphat, som genkendes af mannose-6-phosphat receptorer i transgolgi netværket, som dirigerer proteinet til lysosomet. Andre ændringer i oligosaccharid kæden finder sted, som dirigerer proteinerne de rigtige steder hen.

Beskrive forskellen på konstitutiv og reguleret sekretion (exocytose)

- Den konstitutive sekretion foregår konstant og ved konstant hastighed. Det drejer sig om proteiner, der skal ud af cellen ved exocytose. Der sendes også konstant lipider og proteiner til plasmamembranen. I den regulerede sekretion oplagres proteinerne i sekretoriske vesikler, hvor de proteinerne bliver opkoncentreret. De sekretoriske vesikler kan så frigives, når cellen modtager et signal om, at der er behov for det pågældende protein.

Beskrive hvorledes nukleære proteiner efter biosyntese dirigeres til kernen

- Nukleære proteiner har et nuclear localization signal, som tillader proteinet at binde til en nuclear import receptor. Nuclear import receptor hjælper proteinet igennem poren, ved at interagere med de cytosoliske fibriller og manurere igennem poren, som minder om en gele grundet netværket af nuclear fibriller (tangskov). Når Receptor-protein-komplekset kommer ind i nucleus, binder ran-GTP til nuclear import receptoren, hvorved proteinet slippes. Receptor-ran-GTP-komplekset bevæger sig dernæst ud i cytoplasma igen, hvor ran-GTP hydrolyseres og slippes fra nuclear import receptoren, som nu er klar til at føre et protein ind igen. Importen er altså energifhængelig – dog ikke af ATP men af GTP.

Beskrive proteinimport i mitokondrier

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

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

- De transporteres gennem vesikler langs fx cytoskelettet. Enten langs mikrotubuli eller aktin vha. af dynein/kinesin eller myosin I.

Beskrive phagocytose og pinocytose

- Pinocytose er, når cellen indtager/ingest'er noget af sin membran og extracellulær væske i vesikler. Pinocytose er udbredt, men raten varierer meget fra celle til celle. En macrofag "sluger" 25% af dens eget væskevolumen hver time. Dvs. at den fjerner 3% af sin plasmamembran hvert minut eller 100% på en halv time. Phagocytose er, når cellen indtager faste stoffer såsom mikroorganismer eller celle debris. Dette gøres fx af makrofager ved, at de indsnører det, der skal phagocyteres, vha. pseudopodier. Det phagocyterede stof/molekyle og omkringliggende

vesikelmembran, kaldes for et phagosom, der fusionerer med et early endosom, som først modnes til et late endosom og dernæst til et lysosom.  
Phagocytose er vigtigt i mange af kroppens processer.

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

- Receptor-medieret endocytose er en specifik type pinocytose. Normal pinocytose er fuldstændig tilfældig. Ved receptor-medieret endocytose placeres receptorer for specifikke molekyler i membranen med deres bindingsite ud mod extracellulærrummet. Når fx LDL binder til receptoren, dannes der en clathrin-coated vesikel, der budder fra plasmamembranen og leveres til endosomet. Endosomet er acidisk (pH 5-6), hvilket er nødvendigt for at få mange af receptorerne til at slippe deres cargo. Dernæst kan der ske tre ting med proteinreceptorerne. Enten sendes de tilbage til det sted på plasmamembranen, hvor de kom fra, så de kan genbruges. Ellers kan de sendes til et andet sted på plasmamembranen, hvilket kaldes transcytose. Sidste mulighed er, at de sendes til lysosomet for at blive nedbrudt. Hvis cargo ikke slippes fra receptoren, så følger cargo receptoren videre. Hvis cargo er sluppet nedbrydes det i lysosomet sammen med resten af indholdet fra endosomet. Late endosomer har nogen lysomale enzymer og kan derfor starte nedbrydningen, indtil late endosomet udvikles til et lysosom, når det har nedbrudt sit indhold.

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

- Lysosomet er et tætpakket og rundt organel, der nedbryder gamle organeller eller extracellulært materiale. Lysosomet holdes acidisk (pH ~5) ved hjælp af en ATP-drevet H<sup>+</sup>pumpe, da de 40 typer hydrolytiske enzymer i lysosomet fungerer optimalt ved denne pH. Dette er den sekundære sikkerhed, hvis membranen ikke holder enzymerne tilbage. Enzymer sendes til lysosomet fra trans golgi, hvis de bliver mannose-6-phosphat mærkede. Derudover ankommer materialer, der skal nedbrydes fra enten endosomer, phagocytose (phagosomer) eller autophagi af organeller (autophagosomer).

## **F12: Mitochondrier og peroxisomer (inkl. sau 24)**

Beskrive mitochondriers morfologi

- Mitochondriet er bønneformet og har fire primære bestanddele.
  - 1) *Matrix*: Her findes mange enzymer, som bl.a. bruges i oxidationen af pyrovate og fedtsyrer til acetyl CoA. Derudover findes der også enzymer til citronsyre cyklusen, som danner NADH og andre elektroncarriers, som bruges til oxidativ phosphorylation. Her findes det mitochondrielle DNA.
  - 2) *Indre membran*: Den indre membran er foldet i mange cristae, hvilket øger overfladearealet. Her findes proteinerne, der bruges ved oxidativ phosphorylation, såsom elektroncarriers og ATP-synthase, som danner ATP.
  - 3) *Ydre membran*: Den ydre membran er en meget permeabel membran, der tillader import af alle molekyler, der er mindre end 5000 daltons, fordi den ydre membran indeholder mange store poriner.
  - 4) *Intermembranrum*: Den kemiske sammensætning er meget lig den i cytoplasma, da den ydre membran er meget permeabel. Indeholder proteiner, der frigives ved apoptose. Har enzymer, der bruger ATP fra matrix til at phosphorylerer nucleotider.

Redegøre for hypotesen om mitochondriets prokaryote oprindelse



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

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

- Elektroncarriers fx NADH, som er meget lidt elektronegativt, afleverer sine to elektroner til NADH-dehydrogenase komplekset, som er lidt mere elektronegativt, hvilket får H<sup>+</sup> (fra vand) til at blive pumpet fra matrix over i det intermembrane rum. Dernæst bærer den mobile elektroncarrier ubiquinone elektronerne videre til cytochrome c reductase komplekset, hvor det samme, som foregik ved NADH-dehydrogenase komplekset, finder sted igen. Hver carrier eller kompleks har hele tiden stigende elektronegativitet. Dernæst bærer cytochrome c elektronerne til cytochrome c oxidase, hvor samme proces fra før finder sted, hvorefter elektronerne gives videre til oxygen, som er meget elektronegativt. Oxygen binder dernæst til H<sup>+</sup> ioner og danner vand.

Den foregående proces har skabt en elektrokemisk H<sup>+</sup> gradient ind mod matrix. H<sup>+</sup> ioner kan følge deres gradient gennem ATP-synthase, som kobler H<sup>+</sup> ionernes influx til dannelsen af ATP ud fra ADP og inorganisk fosfat. ATP-synthase er som en meget lille motor, der driver en akse, der indgår i ATP-dannelsen. Processen i ATP-synthase kan godt vendes om, så vi bruger ATP på at pumpe H<sup>+</sup> ioner ud af matrix.

Redegøre for mitochondriets iltforbrug (oxidativ metabolisme)

- Ilt bruges i mitochondriet til at oxidere pyruvat (fra glykolyse af glykose-6-phosphat) til Acetyl-CoA. Acetyl-CoA bruges dernæst i citronsyre cyklusen, som står for den primære dannelse af NADH. Derudover bruges hoveddelen ilt i elektrontransportkæden og danner vand.

Beskrive mitochondriets nydannelse og proteinimport

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

Mitochondrier fusionerer og fissionerer selvstændigt på næsten samme måde som bakterier. Hvis der er for få, så fissionerer de, og hvis der er for mange, så fusionerer de. Mitochondrier har deres eget mitochondrielle DNA, men da de lever i symbiose med eukaryote celler, så har de opgivet de gener, som ville være nødvendige for selvstændigt virke.

Redegøre for maternal nedarvning, mitochondrial segregering og heteroplasm

- Den materielle nedarvning er resultatet af, at mitochondrier kun nedarves fra Oozyten, dvs. spermatocyt mitochondrierne går tabt ved fusionen af Oozyten og spermatocyt til zygoten. Dermed vil fejl i mitochondrier og mitochondrielt DNA nedarves fra moderen – dog kan den smule mitochondrielle DNA, der findes i cellekernen nedarves fra faren.

- Ved meiotisk deling vil mitochondrierne fordeles mellem dattercellerne tilfældigt, hvilket medfører, at det er helt tilfældigt, hvor mange mitochondrier hver dattercelle modtager eller, hvilke datterceller der modtager syge mitochondrier – så længe alle datterceller modtager minimum et mitochondrie. Dette giver anledning til hetero- og homoplasm, hvor homoplasm betegner de to ydre ekstremer, mens heteroplasm betegner de scenarier, der ligger i mellem. Homoplasm betegner en celle, der kun indeholder enten helt raske mitochondrier eller syge mitochondrier. Heteroplasm betegner så alle de mange scenarier, hvor man har forskellige procentvise fordelinger af hhv. syge og raske mitochondrier i dattercellen. På denne måde kan maternelt nedarvede sygdomme forekomme i forskellige sværhedsgrader alt efter, hvor stor en andel syge mitochondrier de nedarvede datterceller fået tildelt.

Beskrive peroxisomers morfologi, proteinimport og funktion

- Peroxisomer producerer H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hydrogen peroxid) ved hjælp af en række enzymer. De nedbryder gifte, alkohol og fedtsyrer, og nogen peroxisomer kan genkendes på grund af deres krystallignende center. Det skyldes, at peroxisomerne indeholder så høje koncentrationer oxidative enzymer såsom catalase og urate oxidase, at der fremkommer denne krystallignende struktur i peroxisomets centrum. Proteiner importeres primært til peroxisomer fra cytosolen ved hjælp af receptor proteiner i cytosolen, som genkender en signal sekvens på kun tre aminosyrer. Proteinerne importeres ved hjælp af translokatorer, men i peroxisomer behøver proteiner ikke at denaturere undervejs. Proteiner kan også importeres fra vesikler, der sendes fra ER. Disse vesikler kan dernæst selv modnes til peroxisomer.

### **F13: Cytoskelettet (inkl. sau24)**

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

- 1) **Aktin:** Aktin filamenter er tynde og fleksible, og de giver cellen form og er vigtige for cellebevægelser. Derfor ses de også overalt i cellen, men specielt i mikrovilli, filopodia/lamellopodia og den kontraktile ring ved celledeling. Aktin består af en kæde af snoede aktin monomere, der alle vender den samme vej og derfor gør aktin molekylet polært. De er kun 7 nanometer tykke.
- 2) **Mikrotubuli:** Mikrotubuli ses i bevægelige cilia/flageller, som dynein/kinesin afhængelige motorveje gennem cellen og ved celledeling i spindel apparatet. Mikrotubuli består af heterodimere af alfa- og betatubulinsubunits. Disse heterodimere stables ovenpå hinanden i stænger, så mikrotubuli bliver polære med alfasubunits i minus-enden og betasubunits i plus-enden. Stængerne er arrangeret ved siden af hinanden i en cirkulær struktur med et lumen i midten. Hele denne mikrotubuli udgår fx fra et gamma-tubuli kompleks rundt om et centrosom.
- 3) **Intermediære filamenter:** Intermediære filamenter inddeles cytoplasmiske og nukleare filamenter. Cytoplasmiske omfatter keratin- (epitel), vimentin- (bindevæv/muskelvæv) og neurofilamenter. Nukleare filamenter er de intermediære filamenter, der findes i nuclear lamina. Funktionen af intermediære filamenter er primært at beskytte cellen mod mekanisk stress ved at fordele presset/strækket. Intermediære filamenter er bygget op som reb. Først har man en monomer af et alfahelix protein, som dernæst flettes sammen med et andet monomert alfahelix protein og danner dermed snoet dimer. To snoede dimere ligger sig dernæst forskudt og antiparallelt ved siden af hinanden og danner en tetramer. På grund af den antiparallele opbygning af tetrameren er intermediære filamenter ikke polært opbygget. Sidste trin

er, at otte tetramere pakker sig sammen i en reblignende struktur. Disse 8-tetramere kan flettes sammen i enderne med flere 8-tetramere. Alle interaktionerne i intermediære filamenter skabes af non-kovalente kræfter, men med de mange interaktioner får de stadig stor trækstyrke.

Beskrive strukturelle funktioner for aktin, mikrotubuli, samt intermediær filamenter

- Intermediære: Fordeling af stress og en del af desmosomer. Mikrotubuli: Motorvej, cilia, mitotic spindle og holder organeller på plads (polaritet i cellen). Aktin: Cellebevægelse, kontraktile ring, celleform (formgivende og formskabende) og en del af adherence points.

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

- Mikrotubuli: Længden reguleres som resultatet af et forhold mellem tilføjelsens af nye GTP-tubulin dimere og hydrolysen af GTP til GDP på dimererne. Når GTP er bundet, så binder tubulin dimererne bedre til resten af mikrotubuli molekylet, men når GTP hydrolyseres, så binder de dårligere. Derfor vil mikrotubuli vokse så længe, der hurtigere tilføjes GTP-tubulin dimere end GTP hydrolyseres (og omvendt).

Aktin: Aktin polymeriserer ved treadmilling effekt, dvs. aktin monomerer fjernes kun i minus-enden, og aktin monomerer tilføjes kun i plus-enden. Dette medfører, at den enkelte aktin monomer flyttes fra plus-enden til minus-enden, før den evt. dissocierer fra aktinmolekylet. Når aktinmonomerer bindes har de et bundet ATP, som hydrolyseres til ADP kort efter, men da der hurtigt kommer en ny aktinmonomer, så kan ADP først slippe, når aktinmonomeren når til minusenden.

Redegøre for polariseret transport af vesikler på aktin og mikrotubuli.

- Dynein (minus) og kinesin (plus) kan føre molekyler/vesikler langs mikrotubuli. Myosin I eller II ses ofte i kombination med aktin, og aktin/myosin II er ansvarlig for skelet- og hjertemuskel kontraktion.

Beskrive intermediære filamenters vævsspecifikke forekomst.

- Cytoplasmiske filamenter inddeles i keratin- (epitel), vimentin- (bindevæv og muskelfæv) og neurofilamenter. Nucleare filamenter er en gruppe for sig, der findes i nuclear lamina på lumensiden af cellekernen.

#### **F14: Celle-celle og celle-ECM kontakter (inkl. sau24)**

Beskrive kommunikerende, adhærerende, og okkluderende celle-celle kontakter

Kommunikerende: Omfatter kontakter, der formidler kommunikation mellem to celler. Her er tale om gap junctions (kan være elektriske synapser i axoner) og kemiske synapser.

Adhærende/forankringskontakter: Det er kontakter, der mekanisk forankrer celler sammen og omfatter desmosomer, fascia adherence (indskudsskiver i hjertet), zonula adherence, hemidesmosomer og fokale adhæsioner (celle migration).

Okkluderende: Dette er kontakter, der forsejler celler tæt sammen, så der ikke kan passere noget mellem dem, og der er her tale om zonula occludentes, dvs. tight junctions.

Beskrive adhæsive glycoproteiner i ECM

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

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

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

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

Beskrive cellereceptorer (integriner) for adhæsive ECM glycoproteiner

- Integriner er en fællesbetegnelse for bl.a. fibronectinreceptorer og lamininreceptore. De er transmembrane receptorer, der kobler til fx laminin eller fibronectin på extracellulærsiden, og de adhæsive glycoproteiner binder så videre til fx kollagen i ECM. På intracellulærsiden binder de til at plaque, som igen binder til cytoskelettet. I fokale adhæsioner binder plaguet videre til aktin, mens plaguet i hemidesmosomer binder videre til intermediære filamenter.

Ekstra (celle-celle kontakter): I desmosomer er det, i stedet for integriner, desmoglein og desmocollin, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til intermediære filamenter. I zonula adherence er det cadherin, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til aktin filamenter. I zonula occludentes er det bl.a. occludiner og claudiner, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til aktin filamenter.

Redegøre for integriteten af et dækeepithel

- Integriteten af et dækeepitel er resultatet af de mange tight junctions (zonula occludentes), der ligger som et bånd rundt om cellen, så der ikke kommer noget imellem cellerne (paracellulært). Zonula occludentes ekstracellulære komponenter består bl.a. af claudiner og occludiner.

### **F15: DNA og kromosomer (inkl. Sau24)**

Redegøre for DNA struktur og funktion

- DNA (deoxyribonucleic acid) er lavet af to lange polynucleotidkæder, der snoet om hinanden i en dobbelthelix struktur. Hver polynucleotidkæde består af nukleotiderne adenosin, guanosen, cytosin og thymin. Det er hydrogenbindinger mellem disse nucleotider, der holder dobbelt helixen sammen ( $C-G = 3$ ,  $A-T = 2$ ). Nucleotiderne består igen nucleosider af en deoxyribose sukker bundet til en base (adenine, guanin, cytosin, thymin). Disse nucleosider bliver til nucleotider ved at binde til hinanden gennem en phosphodiesterbinding fra det ene deoxyriboses femte carbonatom til det næste deoxyriboses tredje carbonatom.

Redegøre for kromatin struktur herunder histoner og nukleosomer

- Histonkomplekser bestående af H1, H2A, H2B, H3 og H4 danner sammen med DNA nukleosomer. Nukleosomerne består af linker DNA og DNA viklet (næsten 2 gange) rundt om de octamere histonkomplekser. Dette danner 11 nm "perler på snor" strukturen for kromatin. Nucleosomerne kan dernæst pakkes tættere sammen og danne 30 nm strukturen. Strengene af pakkede nucleosomerne kan nu yderligere foldes i loops og danne 700 nm strukturen, som ses i et kromosoms ben. Man ved dog stadig ikke alt om foldningen af kromatin.

Redegøre for histon modifikationer og deres biologiske funktion

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

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

Redegøre for begreberne eukromatin og heterokromatin

- Eukromatin er kromatin, der er pakket mindre tæt, og derfor er det transkriptionelt aktivt. Da det er pakket mindre tæt, farver det ikke ligeså kraftigt blå som heterokromatin ved HE-farvning. Det kan fx ses i sekretorisk aktive celler.

Heterokromatin er kromatin, der er tæt pakket, og derfor er det ikke transkriptionelt aktivt. Det farver desuden kraftigt blå ved HE-farvning, da det er pakket tæt. Det kan fx ses i celler, der skal til at uergå mitose.

Beskrive telomere og centromere

- Centromere er en DNA-sekvens i kromosomet, som genkendes af kinetochore proteiner, som igen kan binde til mikroturbuli fra tentrådsapparatet under mitosen.

Telomerer består af lange repetitive nucleotidsekvenser for enden af kromosomer. På grund af måden DNA replication foregår på (okazaki-fragmenter/5' → 3'), så ville DNA'et blive kortere og kortere for hver replikation, men på grund af telomerer og telomerase forhindres dette normalt. Telomerer tiltrækker telomerase, der forlænger telomeren ved hjælp af en RNA-template (bundet til telomerase). Nu har DNA-polymerase et ekstra stykke, som det kan starte ved og bruge som primer, inden det replikerer den komplimentære streng til den oprindelige telomerasekvens. På denne måde kopieres hele strengen.

Redegøre for begrebet genom

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

Redegøre for begreberne gen og kromosom

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

Beskrive et eukaryot gen

- Eukaryote gener indeholder både exons og introns. Derudover har de en promoter i deres 5'-ende, som indeholder den såkaldte TATA-boks sekvens. Derudover indeholder genet mange regulatoriske sekvenser.

## F16: Det centrale dogme

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

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

Angive processerne for overførsel af genetisk information med baggrund i det centrale dogme

- Det centrale dogme.



Angive hovedtræk i makromolekylernes udviklingshistorie, herunder begrebet "RNA verdenen" og genomets ekspansion og opdeling i strukturelle og regulatoriske områder

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

Redegøre for begreberne "gen" og "transskriptionsenhed"

- Et gen er en DNA-sekvens, der koder for et protein eller et funktionelt rRNA. Transkriptionsenhed er et selvopfundet ord, som stort set ikke kan findes nogen steder på google eller i bøger (fucking idioter). Det er fra startsite til terminator, dvs. det DNA, der koder for pre- mRNA!

### **F17 og F18: DNA replikation & Mutationer og DNA repair (inkl. Sau24)**

Redegøre for DNA polymerasens funktion

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

Redegøre for replikationsmekanismen

- Et stykke DNA, der skal replikeres har indtil flere replikation origins, som genkendes af initiator proteiner kaldet helicase og SSB-proteiner (single-strand DNA-binding protein). Disse splitter nucleotidstrengene fra hinanden, og SSB-proteiner søger for, at de ikke går sammen igen. Dernæst dannes der en to replikation-forks, der arbejder mod hhv. Venstre og højre. Hver replikation-fork har en leadingstrand og en laggingstrand, der hver syntetiserer i 5' -> 3' retningen. Laggingstrand danner okazaki fragmenter, der skal bruge RNA-primase mellem hver okazaki fragment til at danne en RNA-primer, som slidingclamp + DNA-polymerase kan bruge til at starte replikationen. Bagefter klippes RNA-primeren ud, og vha. Ligase og DNA-polymerase lappes hullerne. Leading strand skal kun bruge en primase og medfølgende RNA primer en gang i starten af replikationen. På DNA'et sidder en sliding clamp, som binder sig godt fast til DNA'et. DNA-polymerase kan dernæst binde til sliding clamp, hvorved den kan sidde sikkert koblet til DNA'et. Foran DNA-polymerase i leading strand sidder helicase og fortsat åbner DNA'et op vha. ATP hydrolyse. SSB-proteiner binder til lagging strand.

Forklare funktion af telomerase og biologisk betydning af telomere

- Da DNA-polymerase skal bruge en RNA-primer for at kunne replikere hvert okazaki fragment af lagging strand segmenterne, så vil der altid være et lille stykke DNA tilbage, som ikke kan replikeres på lagging strand. Det ville i princippet gøre lagging strand kortere og kortere for hver celledeling, hvis ikke der var ekstra repetitive telomere sekvenser for enden kromosomer. Telomerer tiltrækker telomerase, der forlænger

telomeren ved hjælp af en RNA-template (bundet til telomerase). Nu har DNA-polymerase et ekstra stykke, som det kan starte ved og bruge som primer, inden det replikerer den komplementære streng til den oprindelige telomerasekvens. På denne måde kopieres hele strengen.

Forklare hvordan mutationer kan opstå

- Der findes bl.a. depurination, deamination, dannelse af fx thymine dimerer (UV-stråling), mismatch under replikation og doublestranded breaks i DNA. Ved depurination mister deoxyribosen fx sin guaninebase, og ved deamination udskiftes en amin med et dobbeltbundet oxygen i cytosinbasen, hvilket omdanner den til uracil. Mismatch sker under replikationen, og rettes ofte af 3' → 5' exonuklease (proofreading), som også findes i DNA-polymerase. Faktorer, der har betydning for mutationdannelse, er fx tid, kemiske stoffer, radioaktiv stråling, livsstil osv.

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

- Proofreading foregår under replikationen, da DNA-polymerase kan opdage sine egne fejl og rette dem med 3'-5' exonuklease (en fejl pr.  $10^7$  nucleotid kopieret). Hvis en fejl undviger proofreading, så kan mis-match repair finde og rette den (en fejl pr.  $10^9$  nucleotid kopieret). Mis-match repair bruger en kompleks af proteiner, der genkender mis-matches. De genkender også den oprindelige streng, så man ikke forværrer skaden. Når de finder en fejl, så skærer de et stykke DNA ud, og resyntetiserer det pågældende DNA på ny.

Forklare excision repair som et eksempel på DNA reparation

- Der findes base excision repair og nucleotid excision repair, alt efter, om fejlen skyldes en ændring af baserne eller et mismatched nucleotid. Base excision repair reparerer fx depurination og deamination. Excision repair består af 3 trin: excision (nuklease), reparation vha. Den oprindelige DNA-streng (repair DNA-polymerase) og til sidst limes strengen sammen med en ligase.

Forklare den biologiske betydning af homolog rekombination mht. DNA reparation

- Homolog rekombination kan reparere dobbeltstrengede brud på DNA uden, at man trimmer DNA'et og mister nucleotidsekvenser som ved non-homolog rekombination. Homolog rekombination er meget vigtigt, da det kan reparere vores DNA, så længe, der findes et intakt oprindeligt komplementært stykke DNA. Derudover bruges det i meiose.

### **F19: Introduktion til mikroskopi (SAU24)**

Angive de principielle forskelle mellem lysmikroskopi (gennemlys og fluorescens) og elektronmikroskopi

- Menneskelige øje: maksimal opløsning – 0,2 mm – belyses med fotoner  
Lysmikroskopi: maksimal opløsning 0,2  $\mu\text{m}$  – belyses med fotoner  
Elektronmikroskopi: maksimal opløsning 0,2 nm – belyses med elektroner

Beskrive metoder til at fremhæve detaljer i præparater, herunder forskellige former for belysning og farvemethoder

- HE-farvning, immunoblotting, fluorescens.

Angive at metoderne bl.a. anvendes til at beskrive celler og vævs strukturer, lokalisere proteiner eller kemiske substanser

- Metoderne bruges bl.a. til at beskrive celler og vævs strukturer, lokalisere proteiner eller kemiske substanser

Redegøre for cellebestanddeles farvbarhed med hæmatoxylin og eosin og sammenhængen med cellens aktivitetsniveau

- Hæmatoxylin farver nukleinsyre i DNA og undergrupperne af RNA blå/basofilt, mens eosin farver proteiner røde/eosinofil. Dermed kan cellens farve sige noget om, hvor aktiv cellen er, og hvilke organeller cellen formentlig indeholder mange af i specifikke områder af cellen.

## F20: Dækeepithel (inkl. sau24 og sau12)

Klassificere og diagnosticere dækeepitheler

Antal lag/form	Plade	Kubisk	Cylindrisk
<b>Enlaget</b>	Endothel i blodkar	Sjælden I udførselsgange + nyreturbuli	Tarmen Kan have mikrovilli, som ses som børstesøm i mikroskop
<b>Flerlaget</b>	Findes i hudlaget Kan være keratiniseret Mange okkluderende kontakter	Sjælden Større udførselsgange	Sjælden Større udførselsgange

Derudover findes pseudoflerlaget epitel i trachea, som har cilia, der kan føre slim op fra luftvejene.

Der findes også urothel i blæren, som kan ændre tykkelse.

Beskrive laterale adhæsiionsmekanismer mellem epithelceller

- 1) Desmosomer – Binder cellerne sammen, og forbinder dem mekanisk. Bruger intermediære filamenter og desmoglein/desmocollin.
- 2) Zonula Occludentes – Skaber en barriere mellem cellerne. Bruger aktin og occludin/claudin.
- 3) Zonula Adherence – Binder cellerne mekanisk sammen i en bælte struktur. Bruger aktin og cadherin.

Beskrive apikale specialiseringer i epitheler

Urothel: Har paraplyceller, der ligger yderst.

Pseudoflerlaget cylinderepitel: Har cilia (9+2 mikroturbuli), der kan flytte slim mekanisk op fra luftvejene.

Enlaget cylinder epitel: Mikrovilli (aktin), der øger det absorberende areal af tyndtarmen.

Flerlaget pladeepitel: Kan være keratiniseret yderst. Gør det hårdt og modstandsdygtigt.

Beskrive opbygning og betydning af basalmembran



- Basalmembranen inddeles overordnet i:
  - 1) Basal lamina
  - 2) Reticulær lamina

Basal lamina inddeles yderligere i lamina lucida og lamina densa, hvor lamina lucida er et artefakt. Lamina densa indeholder lamina, entactin, type IV kollagen og proteoglykaner, mens reticulær lamina består af type I og III kollagen og mange reticulære fibre.

Redegøre for sammenhæng mellem morfologi og funktion af forskellige typer epithel

- Enlaget cylinder epithel – stort volumen gennem mikrovilli (+ de villi de selv er en del af), da de skal absorbere.
- Urothel – kan ændre tykkelse, så blæren kan ændre størrelse.
- Pseudoflerlaget pladeepithel – kan bevæge ting med mekaniske cilia.
- Endothel – skal tillade diffusion af ilt og kuldioxid.

### **F21: Kirtler og sekretion (inkl. sau24 og sau12)**

Beskrive organisering af "sekretionsapparatet" i forskellige typer af secernerende celler

- Man har exokrine og endocrine kirtler. Exokrine afgiver deres indhold til et lumen med udgang ud af kroppen. De opdeles i merokrine, apokrine eller holokrine, og merokrine opdeles yderligere i mucøse, serøse eller blandede. Mucøse beskytter og smører og er tyktflydende. Serøse er tyndtflydende og indeholder ofte enzymer. Endocrine kirtler afgiver deres indhold til blodbanen som fx hormoner.

Identificere secernerende celler i egnede præparater/billeder (EM/LM) på grundlag af morfologiske karakteristika

- HUSK REMSEN! Mucøs/serøs merokrin exokrin acinær kirtel.
- Endocrine kirtler kan være follikulære – ses kun i thyroidea. Ellers er de trabekulære, og her vil de sekretoriske celler ligge op af sinusoider.

Beskrive konstitutiv og reguleret sekretion, herunder inddeling i sekretionsmekanismer (merokrin, apokrin, holokrin)

- Merokrin: Afgiver stof gennem vesikel-PM fusion.
- Apokrin: Afsnører del af PM, som indeholder sekretet + cytoplasma.
- Holokrin: Afgiver hele celler, som på vej mod sekretionen mister bl.a. sine kerner.

### **F22: Muskelvæv (inkl. sau24 og sau12)**

Beskrive og diagnosticere de tre typer af muskelvæv

- Skeletmuskulatur: Er tværstribet, lange, multicellulære, triader.
- Hjertemuskulatur: Er tværstribet, "grenede" med indskudsskiver, en central kerne, mange mitochondrier.
- Glat muskulatur: **IKKE** tværstribet, tenformede, en central kerne.

Redegøre for forskelle og ligheder mellem skelet, hjerte- og glat muskulatur såvel lysmikroskopisk som ultrastrukturelt.

- Skeletmuskulatur: Er tværstribet, lange, multicellulære, triader.

- Hjertemuskelatur: Er tværstribet, "grenede" med indskudsskiver, en central kerne, mange mitochondrier.
- Glat muskulatur: **IKKE** tværstribet, tenformede, en central kerne.

Redegøre for opbygningen af et sarcomer

- Et sarcomer går fra z-linje til z-linje. Fra z-linjerne udgår aktin og titin. Seks aktin kæder ligger rundt om en myosinkæde. Der er et A-bånd, der markerer det sted, hvor aktin og myosin krydser. I-båndet er der, hvor der kun er aktin. M-båndet går gennem midten af myosinkæden, og H-zonen er det område, hvor der kun findes myosin.

Beskriv opbygningen og funktion af en motorisk endeplade

- Den motoriske endeplade er det sted, hvor aktionspotentialer overføres til musklen. Synapsen går ned i en fordybning i muskelcellen. I dette område har PM mange nicotinerge receptorer, som er ligandstyrede ionotrope ionkanaler. Axonknoppen indeholder spændingsstyrede Ca<sup>2+</sup>-kanaler, der starter fusionen til PM af de dockede acetylcholinholdige vesikler. Lidt væk fra den motoriske endeplade findes spændingsstyrede natriumselektive kanaler, der stimuleres når AP udbreder sig langs PM. Dette skaber nye depolarisationer, der kan føres langs t-tubuli osv.

## Nervevæv (bearbejdes udelukkende i sau24 og sau12)

Diagnosticere og beskrive neuroner og gliaceller

Neuroner: Tværskårede neuroner ligner øjne, da myelinskeden er forsvundet. I andre snit vil man kunne se det store soma med udløbere (dendritter og axonet). Neuroner har et veludviklet ER (Nissl substans).

Astrocyt: Stor stjerneformet celle med mange udløbere og en stor lys kerne. Danner ar, giver mekanisk støtte, genoptagelse af transmittere. De adskiller neuroner fra kar, pia mater og andre neuroner. Inddeles i fibrøs og protoplasmisk astrocyt.

Oligodendrocytter: Mindre celle med få uforgrenede udløbere. Mørkere kerne end astrocytter. Myeliniserer flere axoner og flere segmenter pr. axon (i modsætning til Schwanske celler). Opdeles i satellitære (grå substans) og interfascikulære (hvid substans).

Mikroglia: Lille celle med spinkle udløbere og lille mørk kerne, som fagocyterer i CNS (specialiseret makrofag dannet fra monocyt).

Ependym: Enlaget kubisk epitel i ventrikler eller i canalis centralis gennem ryggraden.

Redegøre for strukturen af synapsen og dens funktion

- Synapsen er kontaktområdet mellem neuroner. Synapser kan være axo-dendritiske, axo-somatiske eller axo-axoniske. Synapsen består af en presynaptisk membran (frigiver neurotransmitter), en synaptisk spalte (fysisk mellemrum mellem neuroner på ca. 25 nm) og en postsynaptisk membran (indeholder neurotransmitter receptorer – metabotrope eller ionotrope).

Beskrive myelinisering i CNS og det perifere nervesystem

- I CNS er det oligodendrocytter, der myeliniserer axonerne. En oligodendrocyt kan myelinisere flere axoner på flere segmenter.
- I PNS er det Schwanske celler, der myeliniserer axonerne. En Schwansk celle myeliniserer kun et segment på et axon. Generelt leder myelinisering til større

udbredeshastighed af aktionspotentialer gennem axonet gennem saltatorisk udbredelse.

#### Beskrive perifere nerver

- Perifere nerver består af bundter af axoner fra flere neuroner, der omslutes af en bindevævsskede. Bindevævsskeden indeholder kar og sensoriske nerver, og den kan inddeles i tre lag.
  - 1) Epineuriet (TU-BV)
  - 2) Perineuriet (TU-BV)
  - 3) Endoneuriet (Løst BV)

#### Beskrive motoriske og sensoriske endeorganer, herunder muskelten

- Motoriske endeorganer findes for enden af efferente fibre og kan fx være synapser. Efferente fibre opdeles i somatiske eller viscerale. De somatiske fibre er myeliniserede og kommer fra forhornet i medulla spinalis og terminerer i skeletmuskulatur, mens de viscerale fibre er umyeliniserede og kommer fra autonome gangliaceller og terminerer i hjertemuskulatur eller glat muskulatur. Der dannes IKKE synapser i glat muskulatur eller hjertemuskulatur.
- Sensoriske endeorganer findes for enden (i starten) af afferente fibre. De kan opdeles anatomisk i exteroceptorer (ydre stimuli), proprioceptorer (muskler, sener, led) og interoceptorer (indre stimuli). De aktiveres af en adækvat stimulus som kan være mekanisk, kemisk, termisk eller fotoner. Disse adækvate stimuli skaber et generatorpotential, som frigør neurotransmittere, som igen depolariserer de afferente neuroners membraner i nerven. Hvis der er nok adækvate stimuli, så genereres der tilstrækkelig generatorpotentialer til at frigøre så meget neurotransmitter, at der dannes et aktionspotential i den afferente nerve, som dernæst kan sendes til CNS for yderligere processing. Et sensorisk endeorgan kunne fx være Pacini korpuskler, Ruffini legemer, Merkelceller eller Meissner legemer.
- Muskeltenen er et eksempel på proprioceptorer. Den reagerer på stræk af musklen ved at de specialiserede intrafusale muskelfibre strækkes sammen med musklen, hvilket fører til en deformation af de omkringliggende afferente nerver, så dernæst sender beskeden videre til CNS. Når musklen forkortes, så sørger kontraktion af endestykkerne, der omgiver de intrafusale fibre på hver side, for at de intrafusale fibre forbliver spændte, så følsomheden for stræk i musklen ikke nedsættes. Det er de gamma-efferente nerver, der stimulerer kontraktion af endestykkerne.

#### Beskrive blod-hjernebarrieren og dens funktion

- Forkortes BBB (blood-brain-barrier) og er vigtig for opretholdelse af homeostase i hjernevævet. Den mangler hos fostre, og hos voksne mangler blod-hjernebarrieren i plexus choroideus og de circumventrikulære organer. Anatomisk er blod-hjernebarrieren lokaliseret i endothelet i arachnoidea, hvor mange zonula occludentes mellem endothelceller skaber en barriere, hvor stoffer kun kan komme ind gennem selve endothelcellerne – dermed kan passagen af stoffer ind i hjernen reguleres meget nøje. Dette er nødvendigt, da mange stoffer i blodet såsom aminer og ioner kan påvirke neuronernes aktivitet. Fedtopløselige stoffer passerer relativt let gennem BBB, og det er denne egenskab mange narkotika udnytter. Derudover passerer alkohol let igennem. Stærkt vandopløselige stoffer har derimod svært ved at passere BBB, og skal derimod hjælpes ind af specifikke transportører.

## F23: Bindevæv (inkl. sau24 og sau12)

Beskrive og diagnosticere bindevævstyper (løst, tæt regelmæssigt & uregelmæssigt, fedtvæv)

- Løst bindevæv: Det er ikke særlig specialiseret, og et er rigt på kar og nerver. Det er meget cellerigt, og fibre ligger løst vævet og i tilfældige retninger. Alt dette gør løst bindevæv eftergiveligt og blødt. Løst bindevæv er meget udbredt og kan indeholde alle ekstracellulære komponenter og beskrive bindevævsrelaterede celler. Det findes særlig i lamina propria under epitelcellerne og basalmembranen i huden.
- Tæt bindevæv: Opdeles i hhv. regelmæssigt, uregelmæssigt og elastisk
  - *Regelmæssigt*: Fibre (kollagen) dominerer helt i forhold til celler og grundsubstans. Fibrene forekommer i fiberbundter, der er arrangeret i et velordnet og parallelt system. Dette giver dem stor trækstyrke, og derfor ses de også i sener og ligamenter som skal modstå stort mekanisk træk. Mellem fibre findes seneceller/tendinocytter, men er egentlig bare fibroblaster.
  - *Uregelmæssigt*: Fibre (kollagen) dominerer helt i forhold til celler og grundsubstans. Fibrene forekommer i tykke (grovere end i løst bindevæv) bundter, som er vævet/flettet sammen i et tredimensionelt netværk. Findes i dermis og som kapsler rundt om organer.
  - *Elastisk*: Tykke og parallelt forløbende elastiske fibre, der holdes sammen af løst bindevæv. I mellem elastiske fibre og løst bindevæv findes normale fibroblaster. Elastisk bindevæv findes i bl.a. larynx og ligamenta flava i ryggraden.
- Mukøst bindevæv: Findes primært i fostre i fx navlestrengen og indeholder store fibroblaster, der minder om mesenchymceller. Det har rigeligt intercellulærsubstans/grundsubstans og indeholder mange spinkle kollagenfibre, men det indeholder ingen retikulære eller elastiske fibre.
- Retikulært bindevæv: Er en særlig form for bindevæv, der findes i lymfoidt væv og knoglemarv. Det indeholder retikulære fibre og retikulumceller spredt mellem fibre.

Redegøre for cellernes og intercellulærsubstansens opbygning og funktioner

- Bindevæv inddeles i celler og ECM, og ECM inddeles igen i fibre og grundsubstans.
  - Celler:

<b>Celletype/egenskaber</b>	<b>Funktion</b>	<b>Udseende</b>
<b>Fikse celler</b>		
<b>Fibroblaster</b>	Danner de ekstracellulære komponenter + Myofibriller = myofibroblaster -> Sårkontraktion	Store afladede tenformede med slanke udløbere Cytoplasma er svagt eosinofilt
<b>Retikulumceller</b>	Danner retikulære fibre og findes i lymfoidt væv og k-marv	Stjerneformede og cytoplasma er basofilt
<b>Mesenchymale celler</b>	Relativt uddifferentierede celler, der danner BV-celler Andre celler -> lymfe og k-marv	Mindre end fibroblaster men svære at skelne i histologiske snit
<b>Fedtceller</b>	Oplagring af triglycerider/energi	Kerne er mast ud mod PM Omgivet af tyndt net af retikulære fibre

<b>Vandrende celler</b>		
<b>Monocytytter/makrofager</b>	Fagocytose Fikse/frie makrofager	Stor croissantformet kerne i monocytter specielt
<b>Dendritiske celler</b>	Vigtigste antigenpresenting cells -> udvikles fra både mye-loide og lymfoide stamceller	Minder og neuroner med deres mange udløbere
<b>Lymfocytter</b>	Det adaptive immunforsvar	D: 7µm – kerne fylder mest
<b>Plasmaceller</b>	Danner og afgiver antistoffer	Store med urskive kromatin
<b>Eosinofile granulocytter</b>	Fagocytose, allergi og parasitter	Eosinofile + solbrille kerne
<b>Neutrofile granulocytter</b>	Primære fagocyterende celle	Lapdelt kerne (3-5 lapper)
<b>Mastceller</b>	Bakterieangreb + allergi (histamin + heparin) + kan kalde på neutrofile granulocytter	Kernen skyldes næsten af enormt mange granula

- ECM:
  - *Fibre:* Kollagen fibre (a-I, b-II, c-III, d-IV), retikulære fibre, elastiske fibre.
  - Grundsubstans: Proteoglykaner (GAGs bundet til kerneprotein, som igen er bundet til hyaluronan), adhæsive glykoproteiner (fibronectin, laminin, entactin, tenactin), vand og salte.

Beskrive bindevæts blodderiverede cellers struktur, funktion og dynamik – herunder migration fra blod til løst bindevæv

- Se ovenstående tabel.
- Når monocytter bevæger sig ud i vævene, differentierer de til makrofager. De blodderiverede celler stammer ikke fra de mesenchymale celler i bindevævet, men kommer derimod fra lymfoidt væv eller knoglemarv.

## **F24: Brusk og knoglevæv (inkl. sau24 og sau12)**

Identificere og beskrive de forskellige typer brusk og knoglevæv

- Bruskvæv
  - Fibrøs brusk: Fibrøs brusk er et mellemstadium mellem tæt regulært bindevæv og hyalinbrusk. Fibrøs brusk har intet perichondrie, og det kan genkendes ved, at det i mellem kollagenfibrerne indeholder lacuna med chondrocytter i stedet for fibroblaster. Desuden vil man oftest kunne se hyalinbrusk i præparatet. Fibrøs brusk ses som støddabsorber i menisken i knæet og i intervertebrale disci.
  - Elastisk brusk: Elastisk brusk ligner hyalinbrusk med lacuna med chondrocytter, men det vil indeholde en stor mængde elastiske fibre (kan være farvet røde/brune), som vil være specielt koncentreret omkring lacuna. Med lysmikroskopi kan man se de elastiske fibre "danse", hvis man skruer op og ned for blænden. Elastisk brusk ses i epiglottis og i øremuslingen (auriklen).

- Hyalin brusk: Hyalin brusk er den mest udbredte bruskform, og den ses bl.a. i C-ringene i trachea, led (ledbrusk over epifysen) og i bronkierne. Hyalin brusk fremstår glasklart i lysmikroskop – med relativt små lacuna med chondrocytter. Det skyldes, at fibrene har det samme brydningsindeks som resten af ECM og grundsubstansen. Ledbrusk har **IKKE** et perichondrie.
- Knoglevæv
  - Cortikalt/kompakt knogle: Her er den strukturelle grundenhed osteonet. Et osteon/Haversk system består af en Haversk kanal, som indeholder kar og nerver, og det omgives af koncentriske cirkler kaldet lamella. I disse lamella ligger lacuna, hvori osteocytten befinder sig. Mellem lacuna går der canaliculi, som gør udveksling af signaler og næring mellem osteocytterne mulig. Hele osteonet er omgivet af en cement-linje, og mellem forskellige osteoner findes Volkmannske kanaler, som gør udveksling af næring mellem forskellige osteoner mulig.
  - Trabekulær/spongiøs knogle: Trabekulær knogle består af fine bjælker, der krydser hinanden i alle retninger og danner et svampeagtigt netværk, som udfyldes af rød eller gul knoglemarv. Trabeklerne er tykke i belastningens primære retning, og der findes ikke Haverske eller Volkmannske kanaler, og derfor må osteocytterne ernæres gennem diffusion via canaliculi fra overfladen. Trabeklerne består af lameller med en typisk tykkelsen på 60 µm og en længde på 600 µm.

Identificere og beskrive de cellulære og ekstracellulære elementer i brusk og knoglevæv

- Bruskvæv:

	Funktion
<b>Cellulære</b>	
<b>Mesenchymale celler</b>	Bindevævsstamcelle, som giver ophav til chondroblaster.
<b>Chondroblaster</b>	Chondroblaster danner ECM indtil de ligger i lacuna og bliver til chondrocytter.
<b>Chondrocytter</b>	Chondrocytter er den egentlige bruskcelle, som ligger i lacunaer.
<b>Ekstracellulære</b>	
<b>Fibre</b>	Kollagen type I og II (elastiske fibre i elastisk brusk)
<b>Grundsubstans</b>	Proteoglykaner, GAGs, adhæsive glykoproteiner, vand og salt.

- Knoglevæv:

	Funktion
<b>Cellulære</b>	
<b>Osteocytter</b>	Osteocytter er den egentlige knoglecelle, som dannes når osteoblaster dækkes fuldstændig af nydannet knoglematrix.
<b>Osteoprogenitor celler</b>	Osteoprogenitor celler differentierer fra pluripotente mesenchymale celler, som differentierer videre til osteoblaster. Osteoprogenitor celler er nødvendige for nydannelsen af knogle.
<b>Lining cells</b>	Lining cells dækker alle indre og ydre knogleoverflader, hvor osteoblaster eller osteoclaster ikke er aktiveret. De hviler på osteoid, som de kan nedbryde med kollagenase.
<b>Osteoclaster</b>	Osteoclaster er knogledybrydende multicellulære celler, der

	ikke kan nedbryde osteoid. CFU-GM → Osteoprogenitorceller → Præ-osteoclaster → Osteoclaster.
<b>Osteoblaster</b>	Osteoblaster er knogledannende celler, som syntetiserer osteoid. 10% bliver til osteocytter under knogledannelsen, mens 90% undergår apoptose eller bliver til lining cells efter knogledannelse.
<b>Ekstracellulære</b>	
<b>Organisk</b>	
Fibre	Kollagen type I, som udgør 90% af den organiske matrix.
Grundsubstans	Proteoglykaner, adhæsive glycoproteiner, GAGs og vand
<b>Uorganisk</b>	
Hydroxyapatit	Krystallisk calciumphosphat (den uorganiske matrix udgør ca. 75% af tørvægten af knoglen)

Redegøre for cellernes og intercellulærsbstansens opbygning og funktion

- Se ovenstående skema.

Identificere og redegør for desmal og endochondral forbening

- Desmal/intramebranøs: De flade kranieknogler og nogen ansigtsknogler dannes ved desmal forbening, hvor fortætninger af mesenchymale celler ligger sammen med rigt vaskuleret bindevæv. Herfra differentierer mesenchymcellerne til osteoprogenitorceller og videre til osteoblaster, som begynder at secernere osteoid (organisk matrix). Osteoidet mineraliseres/calcificeres hurtigt af bl.a. calciumphosphat (hydroxyapatit), hvormed øer af nydannet knoglevæv (trabekler) dannes. Der vil altid være et osteoidlag mellem osteoblasterne og den forkalkede/mineraliserede knoglematrix. Osteoblasterne bliver til osteocytter, når de indlejres helt i ekstracellulær matrix, og når trabeklerne når en hvis størrelse kaldes det primitiv spongiosa. Kompakt knogle (primitiv compacta) dannes ved fortsat vækst af trabeklerne og samtidig indsnævring af det vaskulære bindevæv. Begge disse typer primitiv knogle består af vævede trabekler, som senere erstattes af lamellær knogle. Det indsnævrede mesenchym danner periosten.
- Endochondral: Endochondral knogledannelse tager udgangspunkt i en allerede eksisterende brusksmodel (hyalinbrusk) af den pågældende knogle. Det primære ossifikationscenter dannes ved hypertrofi af bruskskcellerne, så lakunerne vokser og reducerer brusksmatrix til tynde septa/skillevægge, som dernæst mineraliseres/calcificeres. Dernæst undergår bruskskcellerne apoptose, hvilket efterlader det calcificerede matrixskelet. Samtidig med denne hypertrofi/bruskskcelledød omdannes perichondriet til periost medialt på knoglen, hvorfra celler differentierer til osteoprogenitorceller, som differentierer og prolifererer videre til osteoblaster. Disse osteoblaster danner (intramembranøst/desmalt) den periostale manchete. Osteoklaster kan dernæst bryde igennem den periostale manchete, hvorved vaskuleret bindevæv med mesenchymceller i form af indvækstappen bryder ind i brusksmodellen og danner osteoblaster og primitiv knoglemarv. Osteoblasterne danner knoglematrix på brusksktrabeklerne, som dernæst mineraliseres, og danner knogletrabekler. Disse knogletrabekler har dermed et karakteristisk udseende med en kerne af calcificeret brusk omgivet af mineraliseret knoglevæv. Videre knoglevækst kræver sekundære ossifikationscentre.

Forklare knogledannelsens, knoglevækstens, og knogleremodelleringens forskellige faser

- **Raske Personer har flotte knogler**

- R:** Et lag af **R**eservebrusk i epifyseskiven
- P:** **P**roliferation af bruskcellerne, der skaber søjler af bruskceller
- H:** **H**ypertrofi af bruskcellerne, der reducerer bruskmatrix til septa
- F:** **F**orkalkning (calciumphosphat/hydroxyapatit) af bruskmatrix (septa) danner et tyndt lag
- K:** **K**nogledeponering af osteoblaster, der sammen med kapillærer invaderer de tomme brusklacuna

- Knogle modellering kendetegnes ved, at osteoblast og osteoclast aktivitet foregår uafhængeligt af hinanden – med overvægt af osteoblast aktivitet, mens knogle remodelering kendetegnes med ligevægt mellem osteoclast og osteoblast aktivitet i knogleremodellerende enheder (BRU).
- I både kompakt knogle og spongiøs knogle udskiftes vævet knogle med lamellær knogle vha. osteoclast borehoveder efterfulgt af osteoblaster, som deponerer knogle fra periferien og ind mod centrum. Men de efterlader i kompakt knoglevæv den haverske kanal, hvor osteoblaster differentierer til lining cells og dækker overfladen ind mod lumen. I spongiøs knogle er osteoclastboret halveret, så det anlægger dale/aflange skåle af lamella frem for koncentriske cirkler af lamella, som det ses i kompakt knoglevæv.

## **F25: Transskription (inkl. Sau24)**

Redegøre for RNA hovedtyperne

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

Redegøre for RNA polymerase funktion

- RNA polymerase dannes RNA ud fra DNA. Der er tre typer:
  - RNA polymerase I: rRNA
  - RNA polymerase II: mRNA
  - RNA polymerase III: tRNA

Redegøre for en promoters funktion, herunder TATA-boks og transkriptionsinitiering

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

Redegøre for funktionen af generelle (basale) transkriptionsfaktorer

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

Redegøre for transskriptionens faser (initiering, elongering og terminering)



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

Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot transskription

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

## **F26: Metoder I (blok D, inkl. SAU24)**

Redegøre for restriktionsenzymmer samt restriktionsanalyse, herunder fortolke et standardresultat

- Restriktionsenzymmer er enzymer med bakteriel oprindelse, hvor de fungerer som en primitiv form for "immunforsvar". Restriktionsenzymmer klipper ved bestemte nukleotidsekvenser i DNA, der ofte er palindromiske (symmetriske omkring et punkt). De kan klippe lige igennem det dobbeltstrengede DNA, eller de kan klippe asymmetrisk og efterlade to "sticky-ends".

Redegøre for nukleinyreanalyse ved gel-elektroforese, herunder fortolke et standardresultat

- Når man har klippet et stykke DNA i stykker med et restriktionsenzym, så kan man tilføje sine DNA fragmenter til en agarose gel og kører en gel elektroferase. Man loader i den negative ende af agarose gelen, som man fører en spænding henover, hvorefter de negativt ladede DNA fragmenter vil vandre mod den positive ende. Jo mindre DNA fragmentet er, jo længere vil det vandre mod plusenden, da mindre molekyler lettere kommer igennem agarose gelen. Dermed kan man se, hvilke størrelser et givent restriktionsenzym klipper DNA'et ud i.

Redegøre for hybridisering

- Når man opvarmer dobbeltstrengt DNA, så denaturerer DNA'et, og de to strenge adskilles, da de hydrogenbindinger, der holder dem sammen, relativt kan brydes. Ved efterfølgende langsom nedkøling, så finder DNA sammen igen i samme struktur som før opvarmningen, hvilket kaldes renaturering. Denne egenskab af auto-hydrogenbinding til komplementære DNA-strenge kaldes hybridisering, og det er udgangspunktet for DNA probes, som bruges til bl.a. at markerer specifikke DNA sekvenser.

Redegøre for Southern og Northern blot analyse, herunder fortolke et standardresultat

- Southern: Bruges til DNA. Man loader sin agarose gel med DNA fragmenter (klippet med restriktionsenzymmer) fra fx forskellige celler. Efter DNA fragmenterne har fået lov at vandre, ligges agarose gelen i en alkali opløsning og et stykke nitrocellulose placeres over agarose gelen. Over nitrocellulosen ligges der fx papirhåndklæder, der suger de alkalidenaturerede DNA fragmenter op mod nitrocellulosen. Derefter anbringes

nitrocellulosen i en forseglet plasticpose, hvor der også tilføjes en DNA probe, som binder til den DNA sekvens (da DNA fragmenterne nu er denaturerede), som man ønsker at påvise. DNA proben kan dernæst påvises ved radioaktivitet eller fluorescens.

- Northern: Bruges til RNA. Her benyttes en afart af ovenstående metode, hvor det stadig er DNA probes, der anvendes.
- Standardresultat: Man kan sige meget om, hvor proteinsyntesen påvirkes ved at lave hhv. southern, northern og western blot for en DNA sekvens og dens tilhørende mRNA sekvens og efterfølgende protein sekvens. På denne måde kan man fx se, om syntesen påvirkes under replikationen, transkriptionen eller translationen.
- BONUS western: Bruges til protein.

Redegøre for PCR og RT-PCR analyse, herunder fortolke et standardresultat samt angive anvendelser

- PCR bruges ved DNA kloning. Her amplificeres en DNA sekvens mange gange gennem cyklusser af denaturering af dobbeltstrengt DNA, annealing af PCR-primere til de adskilte DNA strenge og syntese af komplementære strenge (opvarmning, nedkøling, opvarmning).
- RT-PCR danner cDNA (komplementær) ud fra RNA. Kombinationen af dannelse af cDNA ud fra RNA vha. RT-PCR efterfulgt af PCR af det dannede cDNA bruges bl.a. til HIV test.

Redegøre for EMSA (Electrophoretic mobility shift assay), herunder fortolke et standardresultat

- EMSA bruges til at undersøge bindingen af proteiner til DNA eller RNA sekvenser. Man bruger den bl.a. til at undersøge bindingen af transkriptionsfaktorer til regulatoriske DNA sekvenser.

Redegøre for footprinting, herunder fortolke et standardresultat

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

Angive at ChiP (chromatin immunoprecipitation) kan anvendes til at identificere bindingsite for DNA-bindende proteiner

- Vi skal kun vide, at ChiP kan bruges til at identificere, hvor proteiner binder til DNA-sekvenser.

## **F27: RNA processering (inkl. Sau24)**

Redegøre for forskelle og ligheder mellem pro- og eukaryot mRNA

- Ligheder: Begge består af de samme grundsten (nukleotider med ribose i stedet for deoxyribose). Derudover er thymin byttet ud med uracil i begge typer mRNA, og de dannes begge ud fra et DNA arvemateriale.
- Forskelle: Eukaryot mRNA processeres ved tilføjelse af 5'-cap og poly-A hale. Derudover splices introns ud af færdigt eukaryot mRNA, og efterlader genkendelige proteiner ved alle splicesites. Prokaryot mRNA har derimod meget få tilføjelser efter transkriptionen.

Prokaryot mRNA translateres, mens det endnu er ved at blive transkriberet. I eukaryoter skal mRNA først føres ud gennem kerneporerne vha. diverse modifikationer, som bagefter genkendes, så translationen initieres.

I mange eukaryoter er mRNA polycistronisk (operons), dvs. at det under translationen koder for en række proteiner, der fx skal indgå i et større proteinkompleks.

Forklare mRNA processering, herunder capping, splejsning og polyadenylering

- mRNA i eukaryote celler modificeres primært på tre måder af faktorer på RNA polymerasens hale:
  - Capping er tilføjelsen af en 7-methyl-guanosin til mRNA'et 5' ende. Dette gøres ca. efter 25 nukleotider i under transkriptionen. Dette markerer, at mRNA'et er færdigt.
  - Splejsning er klipning i pre-mRNA'et, hvor introns klippes ud af spliceosomer (indeholder snRRPs), og exons ligesammen. I splice sites sætter der sig proteiner, som genkendes af faktorer, der hjælper mRNA'et ud gennem porerne i kernemembranen.
  - Polyadenylering er tilføjelsen af mange adenosiner i mRNA'et 3' ende i slutningen af transkriptionen. Dette markerer, at mRNA'et er færdigt.

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

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

Redegøre for exons og introns og deres relation til mRNA splejsningsprocessen

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

Redegøre for funktionen af snRNA

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

## **F28: Translation (inkl. sau24)**

Redegøre for den genetiske kode og translation af en mRNA i forskellige læserammer

- Den genetiske kode angiver, hvilke tripletter (tre-på-hinanden-følgende) af nukleotider, der i ribosomet oversættes til specifikke aminosyrer. Flere nukleotid-tripletsammensætninger kan kode for den samme aminosyre. Aminosyrerne bindes sammen vha. peptidbindinger og danner polypeptider/proteiner. Læserammen bestemmes af et start-codon (AUG), hvilket initierer translationen og bestemmer læserammen. Hvis start-codon rykkes, så kan hele opbygningen af proteinet og aminosyrerækkefølgen ændres. På denne måde kan mRNA i princippet læses på tre

måder alt efter hvor start-codon sidder. Stop-codon (UAA, UAG, UGA) bestemmer, hvornår translationen skal stoppe.

Beskrive tRNA struktur og funktion

- tRNA er et RNA-molekyle med trekløver struktur. tRNA indeholder et anticodon, som genkender et codon på mRNA, og i 3' enden af tRNA bindes den aminosyrer, der passer til anticodonet's komplementære codon. Amino-acyl-tRNA synthetase binder den rigtige aminosyrer til det rigtige tRNA ved omdannelse af ATP til AMP.

Beskrive aminoacyl tRNA-synthetase funktion

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

Beskrive ribosom struktur og funktion, herunder rRNA funktion

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

Redegøre for translations-start, -elongering og -stop

- Start: Først går den lille subunit sammen med translations initiations faktorer og et initiator tRNA (med methionine). Initiator tRNA sætter sig i P-site. Dernæst fortsætter det lille subunit langs mRNA, indtil det finder et AUG codon, som genkendes af initiator tRNA'ets anticodon. Herefter dissocierer translations initiations faktorerne, hvorefter det store subunit binder til mRNA/lille subunit.
- Elongering: Derefter sætter det næste ladede tRNA sig i A site, hvorefter aminosyren på initiator tRNA slipper initiator tRNA og danner en peptidbinding med aminosyren på den nyankomne ladede tRNA. Dannelsen af peptidbindingen katalyseres af rRNA i ribosomet. Dernæst translokerer det store subunit mod mRNA'ets 3' ende, så de to aminosyre nu flyttes til hhv. E og P site frem for P og A site. Det lille subunit translokerer også kort efter i samme retning som det store subunit, hvorved initiator tRNA skydes ud af ribosomet. Denne proces gentages, indtil translationen skal stoppes.
- Stop: Når ribosomet møder et stop codon, som ikke koder for en aminosyrer (UAG, UGA UAA), bindes en release factor i A sitet. Denne binding af release factor ændrer aktiviteten af peptidyl transferase i ribosomet, hvilket får det til katalysere additionen af vand i stedet for en aminosyrer til peptidyl-tRNA. På denne måde dannes C-terminalen i proteinet samtidig med, at proteinet frigøres. Herefter slipper ribosomet mRNA-stregen og dissocierer til sine to bestanddele, hvorefter det to subunits er klar til en ny translationscyklus. Flere ribosomer kan arbejde forskudt samtidig på det samme mRNA.

Redegøre for proteasomet og dets funktion

- Proteasomet nedbryder misfoldede eller på anden måde ødelagte proteiner – eller proteiner, der skal reguleres nøje ved fx kort levetid. Disse ødelagte proteiner ubiquitiniseres af specialiserede enzymer, hvilket mærker dem til destruktion.

Redegøre for ribozym og RNA foldning

- Ribosomer kan også kaldes ribozymmer, da de har katalytisk aktivitet. Dette skyldes, at rRNA i ribosomet katalyserer dannelsen af peptidbindingerne mellem aminosyrerne. rRNA funktionelle/katalytiske egenskaber skyldes bl.a., at RNA kan folde ligesom proteiner ved at danne komplementære og nonkonventionelle hydrogenbindinger. Dermed dikteres den tredimensionelle form af rRNA af nukleotidsekvensen – ligesom proteiners tredimensionelle form dikteres af aminosyresekvensen.
- Den enzymatiske egenskab ved rRNA er bl.a. en af grundene til, at man tror, at RNA går forud for DNA i evolutionen, da RNA dermed både kunne klare DNA og proteiners rolle. Med tiden blev rRNA først udkonkurreret af proteiner med hensyn til enzymfunktionen, og senere overtog mere stabile DNA molekyler RNA's rolle som det grundlæggende informationsmolekyle. RNA er nu primært et mellemlid mellem DNA og protein, men som vi har set findes der stadig mange slags funktionelle typer RNA.

## F29: Transskriptionel Genregulering (inkl. Sau24)

Redegøre for transskriptions regulatorer

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

Redegøre for og skitsere enhancer funktion

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

Redegøre for de forskellige niveauer i genregulering

- Geners ekspression kan reguleres på mange måder, da hvert trin (niveau) i proteinsyntesen kan reguleres. Man kan overordnet regulere et gen ekspression på følgende steder i proteinsyntesen:
  - Transkriptionel kontrol (fx de oenstående eksempler med activator/repressor og kromatin remodelling)
  - RNA processing kontrol (den processing, der modner mRNA til eksport fra kernen)
  - mRNA transport og lokaliseringskontrol (mRNA skal føres til ribosomer, før proteinsyntesen kan forløbe videre.
  - Kontrol af mRNA nedbrydning
  - Translationskontrol
  - Kontrol af proteinernes aktivitet (fx aktivering gennem phosphorylering – evt. GPCR)
  - Kontrol af protein nedbrydning (Ubiquitinerings)

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

- Både eu- og prokaryoter benytter sig af transkriptions regulatorer (aktivatorer + repressorer). Prokaryoter kan være polycistroniske, dvs. flere gener kan transkriberes

gennem en promoter. På den måde dannes fx alle subunits, der skal bruges i et større kvaternært protein kompleks samtidigt.

Redegøre for protein-DNA genkendelse

- Proteiner binder typisk gennem tre alfa-helixer til DNA i major groove, da major groove har større specificitet end minor groove, og dermed mindskes fejl i protein-DNA bindingen.

### **F30: Posttranskriptionel og epigenetisk genregulering (inkl. SAU24)**

Redegøre for begrebet epigenetik

- Epigenetik er ændringerne i fænotypen uden ændringer i genotypen, dvs. man ændrer ikke DNA sekvensen. Det er altså mitotisk eller meiotisk arvelige ændringer i genfunktionen, der ikke ændrer DNA sekvensen. Epigenetiske ændringer kunne fx være histonmodifikationer (posttranslationelle ændringer af aminosyrer på histonhaler) og kovalente modifikationer af DNA baser.

Forklare og skitsere DNA methylering og den biologiske funktion

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

Redegøre for kromatins rolle i cellulær genregulering og epigenetik

- I kondenseret kromatin kan transkriberingsapparatet som udgangspunkt ikke komme til. Derfor er cellen nødt til at dekondensere de områder af DNA'et, der skal transkriberes, hvilket kan gøres gennem histonmodifikationer. Histoner kan modificeres på enormt mange måder, hvoraf kun få er kendt på nuværende tidspunkt. Histonmodifikationerne kunne fx være methylering, acetylering eller phosphorylering, og de kan virke ved enten at ændre stabiliteten af kromatinet eller ved at agere som bindingssites for regulative proteiner.

Beskrive miRNA'er og deres funktioner

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

Dette færdige miRNA dannes dernæst RISC komplekset sammen med RISC proteiner, som begynder at søge efter mRNA molekylder med en komplementær nukleotidsekvens til RISC kompleksets bundne miRNA. Nedbrydningshastigheden af mRNA'et afhænger af, hvor bindingsgraden mellem miRNA og mRNA. Binder de stærkt (mange komplementære nukleotid hydrogenbindinger), så nedbrydes mRNA'et hurtigt af en nuklease i RISC komplekset, mens mRNA'et derimod nedbrydes langsomt, hvis miRNA og mRNA ikke binder særlig stærkt (få komplementære nukleotid hydrogenbindinger) ved, at mRNA overføres til andre områder af cytoplasma, hvor andre cellulære nukleaser nedbryder det.

Beskrive siRNA'er og deres funktioner

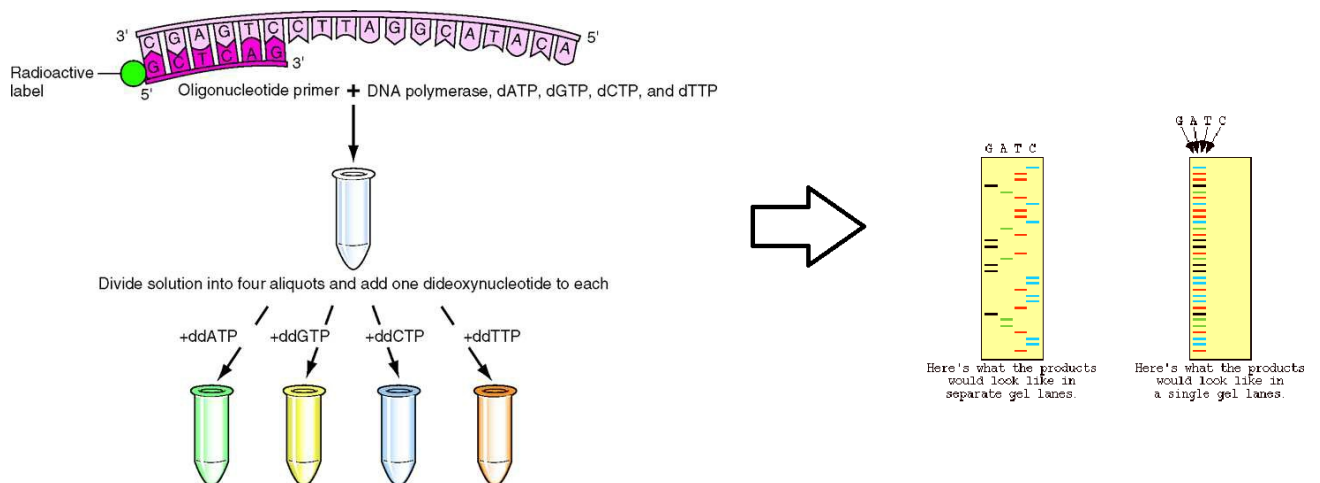
- siRNA aktiveres ved tilstedeværelsen af fremmed dobbeltstretet RNA. Først skæres det fremmede dobbeltstrengede RNA i mindre fragmenter ved hjælp af en nuklease kaldet Dicer. De fremmede dobbeltstrengede RNA fragmenter går sammen med RISC proteiner (ligesom miRNA) og danner et kompleks, hvor kun den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

### F31: Metoder II (blok D, inkl. SAU24)

#### Redegøre for cloning

- DNA kan klones på to forskellige måder. Den gamle metode var gennem vektorer med en speciel DNA sekvens, som man dernæst indsatte i bakterier. Disse bakterier blev dyrket og oprenset, hvilket gav flere kopier af DNA sekvensen.
- I dag bruger man oftest PCR (omtalt tidligere), da det er hurtigere og mere effektivt.

#### Redegøre for Sanger sekventering, herunder fortolke et standardresultat



#### Beskrive "next generation sequencing" samt eksemplificere anvendelser af NGS

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

#### Redegøre for rapportørgen

- Et rapportørgen er fx GFP (green fluorescent protein) er et gene, der fx kobles til syntesen af et givent protein. Dermed kan man se, hvor og i hvilke mængder det pågældende protein dannes, da det vil lyse grønt med GFP under fluorescens mikroskopi.

#### Beskrive transgene dyr

- Transgene dyr har fået fremmede gener indsat i deres genom vha. recombinant DNA technology. Tit indsættes andre sekvenser sammen med selve genet, der sørger for, at genet også transkriberes.

#### Beskrive siRNA'er og deres funktioner

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

### F33: Gen og genom evolution (inkl. SAU24)

Redegøre for hvordan genetiske variationer kan genereres

- Genetiske variationer kan genereres på følgende måder:
  - Mutationer i selve generne
  - Mutationer i regulatoriske DNA sekvenser
  - Gen-duplikation (to af det samme gen lige efter hinanden – kan generere nye gener ud fra gamle)
  - Exon shuffling (shuffling af exoner mellem to gener)
  - Mobile genetiske elementer/transposoner (DNA sekvenser, der kan hoppe rundt i kromosomet og ændre genaktiviteten eller promovere gen-duplikation og exon shuffling)
  - Horizontal gen-transfer (primært i bakterier gennem sex-piluser, *konjuktion* – udveksling af gener)

Redegøre for hvordan punktmutationer kan ændre regulering af et gen

- Punktmutationer i regulatoriske DNA sekvenser er svære at opfange/finde, da de ikke ændrer nukleotidsekvensen i genet og dermed heller ikke aminosyrersekvensen i proteinet, som genet koder for. De kan derimod have stor indflydelse på ekspresion af en gen alt efter, om de påvirker en repressor eller en enhancer – og såfald, hvordan de påvirker hhv. Repressor/enhancer. Malarieresistens skyldes fx en punktmutation i en regulatorisk DNA sekvens, der påvirker ekspresionen af en celleoverflade receptor, som malaria parasiten (*Plasmodium vivax*) binder til. Derudover skyldes laktosetolerans hos nogen folkeslag (primært i Vesten, Australien og dele af Central- og Østafrika) en punktmutation i en regulatorisk DNA sekvens for laktasegenet, hvilket tillader, at laktasegenet transkriberes videre i voksenlivet. Normalt ville transkriberingen af laktasegenet stoppe under de første børneår. Derudover mener man, at punktmutationer i regulatoriske DNA sekvenser, som er opstået for millioner af år siden, bl.a. er skyld i den enorme diversitet, som levende organismer har på Jorden.

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

- DNA duplikationer sker ved homolog rekombination af homologe kromosomer, der går galt. Dette skyldes, at de korte repetitive DNA sekvenser, der skal stå overfor hinanden under den homologe rekombination, får placeret sig forkert i forhold til hinanden, så det ene homologe kromosom får to kopier af det pågældende gen, mens det andet homologe kromosom ikke får nogen kopier af genet. Når først et kromosom har tilegnet sig to (eller flere) kopier af det samme gen, så kan disse gener frit akkumulere mutationer, så længe den oprindelige funktion bevares. Dette resulterer i, at man ofte har flere beslægtede/relaterede gener omkring hinanden i kromosomet, som alle har nogenlunde fælles funktion. På denne måde genereres nye gener ud fra gamle gener.



Globin-familien af gener, der koder for oxygenbærende proteiner, og som ses på tværs af forskellige arter af vertebrater, stammer fra et fælles primordiale (gammelt) gen.

Forklare hvilke informationer der kan opnås ved "comparative genomics"

- Comparative genomics kan først og fremmest vise ligheder og forskelle mellem forskellige arters genomer, og man kan ud fra forskellene, danne sig et indtryk af, hvornår de to arters veje gik fra hinanden. Fx kan vi se, at menneskets deler sine nærmeste fællesforfædre med chimpansen. Tidligere har vi også haft fællesforfædre med gorilla - og endnu længere tilbage også orangutanger. Men en anden vigtig ting, som comparative genomics har afsløret, er, at der findes en række konserverede gener på tværs af fx alle vertebrater eller pattedyr, som er stort set ens mellem alle disse forskellige arter (fx mus, mennesker, kyllinger). Disse konserverede/basale gener er blevet konserveret på tværs af arter gennem *purifying selection*, dvs. individer, der har båret på mutationer i disse gener, er døde (elimineret). Ca. 4,5% af det humane genom ses konserveret i mange pattedyr, men det er kun en tredjedel, der koder for proteiner. Meget koder derimod for funktionelt rRNA og noncoding sekvenser, som man endnu ikke kender funktion af.

Redegøre for transposoner og vira

- DNA-only transposoner: Skifter position enten gennem cut-and-paste transposition eller gennem replikativ transposition. DNA-only transposoner er de mest hyppige mobile elementer i bakterier. Generelt bærer transposoner en transposase, der genkender enderne af mobile genetiske elementer og klipper det mobile genetiske element/transposon ud. Transposoner kan ved fejl flytte exons fra et gen til et andet. Dette sker ved, at transposasen genkender enderne fra to forskellige mobile genetiske elementer – i stedet for at genkende enderne fra det samme mobile genetiske element. På denne måde klipper transposasen alt ud mellem de to genetiske mobilelementer, fx exons. Disse udklippede exons kan bagefter blive sat over i et andet gen.
- Retrotransposoner: Retrotransposoner skifter position ved først at transkribere deres DNA-sekvens, så man opnår et transkriberet stykke mRNA. Dette mRNA laves om til et dobbeltstrengt DNA ved hjælp af enzymet reverse transkriptase, hvorefter den nyesyntetiserede dobbeltstrengede kopi af retrotransposonet kan indsættes i et andet gen/DNA sekvens. Navnet *retro* skyldes, at den genetiske information "flyder" baglæns i forhold til normalt DNA → RNA.
- Virus: Overordnet udnytter viruset værtcellens eget replikations/transkriptions/translations apparat til at syntetisere sit eget DNA, hvormed nye virakopier dannes. Et eksempel kunne være en simpel virus med DNA, der koder for forskellige enzymer (nødvendige for ovetagelsen af proteinsyntesystemet) og den beskyttende proteincoat, der omgiver viruset. Viruset vil bruge cellen til at replikere sit DNA og til at danne nye coat proteiner ud fra virus-DNA'et. Disse nydannede coat proteiner kan der dernæst omgive det nydannede/replikerede virus-DNA, hvorved nye vira dannes, som dernæst kan lysere cellen og sprede sig til andre celler.
- Retrovirus: Retrovira er lidt mere komplicerede end normale vira. De består af et RNA-genom, der bl.a. koder for enzymet reverse transkriptase (er også pakket med RNA'et). RNA-genom og reverse transkriptase er opgivet af en protein coat, som igen er omgivet af en lipidbaseret membran, hvori der findes virus-kodede membranproteiner med forskellige funktioner. Når virusen kommer ind i værtcellen, så smider den sin lipidmembran, hvorefter reverse transkriptase begynder at danne en dobbeltstrengt DNA-kopi af det virale RNA. DNA kopien integreres nu i værtscellens kromosom, hvorefter transkription af det indsatte DNA danner mange nye virale RNA kopier, som

igen kan translateres til coat proteiner, membranproteiner og reverse transkriptase (alle nødvendige for dannelsen af nye virakopier). Translationsprodukterne og det transkriberede RNA kan derfor samles til nye vira partikler, som kan sprede sig gennem kroppen – gennem fx transcytose.

Redegøre for opbygning og analyse af det humane genom

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

### **F35 og F36: Cellesignalering & G-protein koblede receptorer og intracellulære receptorer (inkl. sau24)**

Redegøre for at kommunikation mellem celler kan foregå efter 4 principper: kontaktafhængig, endokrin, para- og autokrin og neuronal signalering

- Kontaktafhængig: Husk notch – ingen amplifikation, dvs. det foregår en én-til-én aktivering, når notchreceptorens aktive del kløves af ved binding til notch. Killer lymfocytter med FAS.
- Endokrin: Gennem blodet – kan være langsom og varer i lang tid.
- Autokrin og parakrin: Påvirkning af cellen selv eller omkringliggende celler gennem signalstoffer.
- Neuronal: Gennem axoner og neurotransmittere – hurtig og varer i kort tid.

Redegøre for at celleaktivering kan ske gennem enten plasma membranens receptorer eller gennem receptorer i cytoplasma eller kernen

- Typen af celleaktivering gennem fx hormoner kan overordnet ske på to måder:
  - PM receptorer: Bruges af fx non-steroid hormoner – ionotrop eller metabotrop.
  - Cytoplasma eller kerne receptorer: Bruges fx af steroid hormoner – i cytoplasma eller i kernen.

Beskrive intracellulære receptorerers funktionsmåde kort

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

Redegøre for princippet for "molecular switch": protein fosforylering og defosforylering

- Phosphorylering og dephosphorylering fungerer som molecular switches for proteiner. De kan enten aktivere eller inaktivere et givent protein, hvilket igen gør, at forskellige kinaser og phosphataser kan bruges til at regulere forskellige proteiner og dermed også forskellige pathways. Kombinationen af bl.a. mange forskellige kinaser/phosphataser og proteiner gør, at de forskellige pathways kan reguleres meget præcist.

Redegøre for principperne for signalering gennem G-protein koblede receptorer

- Der findes tre typer G-protein koblede receptorer (GPCR):
  - **G<sub>s</sub>**: 7TM receptor binder ligand → aktivering af G-protein gennem ADP/ATP udveksling i alfasubunit → alfa subunit dissocierer fra beta-gamma subunitkompleks → alfa subunit aktiverer adenylyl cyklase → adenylyl cyklase danner cAMP ud fra ATP → cAMP aktiverer PKA → PKA kan bl.a. aktivere

transkriptions regulatorer eller aktivere phosphorylase kinase, som dernæst aktiverer glukogen phosphorylase, hvilket fører til glukogen nedbrydning og frigivelse af glukose til cellen/blodet.

- **G<sub>i</sub>**: 7TM receptor binder ligand → aktivering af G-protein gennem ADP/ATP udveksling i alfasubunit → alfa subunit dissocierer fra beta-gamma subunitkompleks → beta-gamma subunitkompleks åbner ligandstyret kalium kanal i plasmamembranen → Hyperpolariserer membranen og gør den svære at aktivere → ses når acetylcholin binder til hjertecellers GPCR.  
G<sub>i</sub> Kan også inhibere adenylyl cyklase → Modsatte effekt af G<sub>s</sub>.
- **G<sub>q</sub>**: Aktivering af G-protein gennem ADP/ATP udveksling i alfasubunit → alfa subunit dissocierer fra beta-gamma subunitkompleks → alle subunits deltager i aktivering af PLC → PLC hydrolyserer inositol phospholipid til DAG og IP<sub>3</sub> → IP<sub>3</sub> sætter sig på IP<sub>3</sub> receptorer i ER og frigør calcium (calciumfrigørelse er vigtig i muskler) → calcium fra ER kan sammen med DAG binde til og aktivere PKC → PKC kan fx phosphorylere forskellige proteiner og på den måde regulere forskellige pathway.

Redegøre for hvorledes nitrogen oxid syntetiseres i endotelceller og den fysiologiske konsekvens heraf

- Acetylcholine binder i den muscarine receptor (G<sub>q</sub>) i en endothel celle → Aktivering af G-protein gennem ADP/ATP udveksling i alfasubunit → alfa subunit dissocierer fra beta-gamma subunitkompleks → alle subunits deltager i aktivering af PLC → PLC hydrolyserer inositol phospholipid til DAG og IP<sub>3</sub> → IP<sub>3</sub> sætter sig på IP<sub>3</sub> receptorer i ER og frigør calcium → calcium går sammen med calmodulin → calcium/calmodulin-komplekset aktiverer af NO synthase (ENOS) → omdanner arginin til NO og citrullin → NO diffunderer over glat muskulatur → NO binder til guanylyl cyklase → guanylyl cyklase omdanner GTP til cGMP → cGMP aktiverer PKG → PKG phosphorylerer rhoA → rhoA inaktiverer ROK → ROK phosphorylerer MLCP → dilation af arterien, da den glatte muskulatur slapper af.

Redegøre for CAM kinasens funktionsmåde og fysiologiske betydning.

- CAM kinase aktiveres af et calcium-calmodulin kompleks, og det er derfor afhængeligt af calciumkoncentrationen ekstracellulært. Calmodulin findes derimod i cytoplasmaet i alle eukaryotiske celler. CAM kinase kan påvirke forskellige pathways gennem kinase aktivitet. CAM kinase er specielt vigtigt i forbindelse med indlæring (LTP/LTD).

Angive fysiologiske konsekvenser af en intracellulær stigning i cAMP og IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup>

- Stigning i cAMP kan gennem PKA påvirke cellens aktivitet på mange måder. PKA kan som tidligere nævt fx aktivere transkriptions regulatorer eller aktivere phosphorylase kinase, som dernæst aktivere glykogen phosphorylase, hvorved glukogen nedbrydes til glykose. Dvs. cAMP er altså vigtig for både regulering genekspression og aktivering af proteiner/enzymer.
- Stigning i IP<sub>3</sub> og dermed også calcium er vigtigt for initiering af mange fysiologiske processer. Specielt i forbindelse med aktivering af alle tre typer muskulatur. Desuden spiller det en vigtig rolle under befrugtning af Oocytten, da befrugtningen (hjulpet på vej af en spermatocyt) aktiverer en forøgelse af den cytoplasmiske calcium koncentration, hvilket signaler til zygoten, at den skal begynde udviklingen. Calcium er også vigtig i forbindelse med fusion af dockede neurotransmitterholdige vesikler til den presynaptiske membran under synaptisk transmission.

Redegøre for fotoreceptorens funktionsmåde. Herunder beskrive cGMP's betydning og hvorledes absorption af 1 foton udmøntes i ændringer på få mV

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

### F37: Enzymkoblede receptorer (inkl. Sau24)

Definere enzymkoblede receptorer

- Enzymkoblede receptorer er transmembrane proteiner, der har en ekstracellulær ligandbindende del og en intracellulær enzymatisk del. Den intracellulære enzymatiske del kan enten selv fungere som et enzym eller den kan danne et kompleks med et andet protein, som fungerer som et enzym.

Beskrive på hvilken måde Receptor Tyrosin Kinaser (RTK) aktiveres

- Receptor tyrosin kinaser (RTK) eller enzym koblede receptorer aktiveres ved, at to signalmolekyler danner en dimer, der aktiverer to inaktive tyrosin kinaser, hvorved de begynder at aktivere hinanden ved at krydsphosphorylere forskellige tyrosiner på hinanden. Dernæst kan forskellige intracellulære signalerings proteiner binde til de phosphorylerede tyrosiner ved hjælp af fx et SH2 domæne, hvilket aktiverer de intracellulære signalerings proteiner.

Nævne adapter proteiner, PI 3-Kinasen og PLC som typer af proteiner der kan binde til aktiverede RTK

- Adaptorproteiner, PI 3-kinase og PLC er alle enzymer, der kan aktiveres af enzym koblede receptorer. PLC kan, som vi skrevet tidligere, også indgå i G<sub>q</sub> vejen.

Beskrive signaleringsveje der aktiveres af RTK

- MAP-kinase: RTK → Aktiverer adaptor protein → Adaptor protein rekrutterer Ras-GEF (guanosin exchange factor) → Ras-GEF aktiverer Ras ved udskiftning af GDP med GTP → Ras kan fx aktivere MAP kinase kinase kinase → MAP 3xkinase aktiverer MAP kinase kinase → MAP 2x kinase aktiverer MAP kinase → MAP kinase kan phosphorylere (ændre aktiviteten af) forskellige transkriptionsregulatorer og proteiner.
- PLC: PLC binder til RTK og aktiveres → PLC hydrolyserer inositol phospholipid (PIP<sub>2</sub>) og danner DAG og IP<sub>3</sub> → IP<sub>3</sub> frigør calcium fra ER (vigtigt ved fx kontraktion af muskulatur) → DAG aktiverer sammen med calcium (frigjort af IP<sub>3</sub>) PKC, som fx kan regulere aktiviteten af forskellige proteiner og pathways.
- PI 3-kinase: PI 3-kinase phosphorylerer inositol phospholipid (PIP<sub>2</sub>) til PIP<sub>3</sub> → Phosphoryleret inositol phospholipid (PIP<sub>3</sub>) agerer bindingssted (PIP<sub>2</sub> og PIP<sub>3</sub> er forankret kovalent i membranen) for protein kinase 1 og AKT → AKT aktiveres af protein kinase 1 og protein kinase 2 → AKT inaktiverer Bad gennem phosphorylering → Inaktiv

Bad frigiver Bcl2, hvormed Bcl2 aktiveres → Bcl2 er anti-apoptotisk → Hvis AKT aktiveres gennem en growth factor, så kan AKT også aktivere Tor → Tor inhiberer protein nedbrydning og stimulerer protein syntese.

Redegøre for aktivering og inaktivering af monomere G-proteiner

- Monomere G-proteiner aktiveres af GEF (guanosin exchange factor) ved at GDP byttes ud med GTP. Inaktivering foregår derimod ved hjælp af GAP (GTPase-activating protein), som stimulerer GTP hydrolyse, så man får et inaktivt monomert G-protein med bundet GDP. Dermed er Ras et monomert G-protein.

Definere onkogener og tumor suppressors i RTK signaleringsveje

- AKT, Tor og Bcl2 er et proto-onkogener, der ved mutation kan blive til onkogener.
- Bad er en tumor supressor.

### **F38 og F39: Cellecycklus & Celledeling (mitose og meiose) (inkl. sau24 og sau12)**

Redegøre for de forskellige faser i cellecycklus

- Cellecycklus opdeles i G1-, S-, G2- og M-fasen, hvor G1-, S- og G2-fasen kaldes interfase, mens M-fasen kaldes mitosen.
  - G1-fasen: I G1- fasen vokser cellen og eventuelle DNA skader reparerer, inden cellen videregår til S-fasen.
  - S-fasen: I S-fasen replikeres cellen sit DNA.
  - G2-fasen: I G2-fasen genoptager cellen sin vækst og kopier de organeller, som ikke kan gendannes selvstændigt eller fissionerer.
  - M-fasen: I M-fasen foregår den egentlige deling af cellen, da den nu er klargjort efter interfase. Her deles cellen dupligerede DNA op i de to datterceller, og de to datterceller adskilles.

Beskrive cykliner og cyklinafhængige kinasers betydning for cellecycklus kontrol

- Cyklinafhængige kinaser er altid til stede i cellerne, men de er ikke aktive, før de binder et cyklin protein. Disse forskellige cyklin proteiners tilstedeværelse varierer cyklisk igennem cellecycklusen, og aktiverer og indgår i kompleks med forskellige cdk'er (cdk-kompleks), som dernæst initierer forskellige cellecycklusfaser, såsom S-fasen (S-cdk kompleks). På denne måde reguleres cellecycklus meget præcist.

Redegøre for betydningen af Rb og p53 i forbindelse med checkpoint kontrol

- Retinoblastoma (Rb) proteinet findes i alle vertebra celler, og normalt binder det til transkriptions regulatorer, så de inaktiveres. Disse transkriptions regulatorer aktiverer gener, som koder for proteiner, der er vigtige for celle proliferation. Mitogener aktiverer G1-cdk og G1/S-cdk, som går ind og phosphorylerer Rb proteinet, som dermed ikke længere kan inaktivere transkriptions regulatorerne.
- Normalt nedbrydes p53 kontinuerligt i cellen i proteasomer, men ved fx dobbeltstrengede DNA skader/breaks (kan ske ved røntgenstråling) phosphoryleres p53, så den aktiveres og ikke længere nedbrydes. Dernæst aktiverer p53 transkriptionen af p21 genet, hvorved p21 cdk inhibitor proteinet dannes. Dette p21 protein kan omslutte og inaktivere G1/S-cdk eller S-cdk kompleksene, så cellen ikke går i S-fasen, indtil DNA skaden er repareret.

Redegøre for princippet i betydningen af laminerne under cellecyklus (fosforylering/defosforylering; nedbrydning/samling af kernemembranen; tilhæftning af kromosomer)

- Nuclear lamina og porerproteiner phosphoryleres, hvormed kernemembranen nedbrydes til mange små vesikler, der indeholder phosphorylede porerproteiner og phosphorylede stykker af nuclear lamina forbundet til tilhørende kernemembranstykker. Under telofasen samles disse phosphorylede dele omkring datter kromosomerne, og delene dephosphoryleres igen, hvorved kernemembranen med porerproteiner og den underliggende nuclear lamina gendannes. Dernæst begynder porerne at pumpe nuclearproteiner ind i kernen, så den vokser, og kromosomerne dekondenserer til deres interfase tilstand, og transkriptionen kan begynde igen.

Beskrive statiske, stabile, og fornyende cellepopulationer i væv

- Statiske: Statiske cellepopulationer deler sig aldrig, og de findes bl.a. i nervesystemet som neuroner eller i muskler som muskelceller.
- Stabile: Stabile cellepopulationer fornyes kun, når de modtager et specifikt celledelingssignal, og de findes bl.a. i leveren som hepatocytter (leverceller).
- Fornyende: Fornyende cellepopulationer deler sig meget ofte grundet fx slid eller lignende, og de findes i bl.a. tarmen som tarmepitel.

Beskrive mitosens stadier morfologisk, herunder kerne og DNA forandringer

- Mitosen inddeles i profase, prometafase, metafase, anafase og telofase:
  - *Profase*: Under profasen dannes tentrådsapparatet, og det starter sin migration mod cellens poler. Kromosomet med de to søster kromatider er her kondenseret og holdt sammen langs hele dets længde.
  - *Prometafase*: Under prometafasen nedbrydes kernemembranen, og tentrådsapparatet kan nu binde til centromerets kinetochore.
  - *Metafase*: Under metafasen stilles kromosomerne op på linje i midten af cellen (ækvator).
  - *Anafase*: Under anafasen begynder tentrådsapparatet at adskille søster kromosomerne. De kinetochore og astrale mikrotubuli forkortes, og de interpolære mikropolære forlænges.
  - *Telofase*: Under telofasen ankommer søsterkromosomerne til hver sin pol af cellen, og to nye kernemembraner gendannes.

Beskrive betydning af M-Cdk aktivitet for mitosen

- M-cdk komplekset forbereder cellen på alle de processer, der skal foregå i starten af mitosen. M-cdk stimulerer sammensætningen af tentrådsapparatet og forbereder de dupliserede kromosomer på at blive segregeret. M-cdk ophobes i løbet af G2-fasen, men det aktiveres først ved slutningen af G2-fasen ved, at Cdc25 fjerner de inhibitoriske phosphater, der inaktiverer M-cdk. Når først M-cdk er aktiveret er det en selvforstærkende effekt, hvor M-cdk aktiverer flere Cdc25, som igen aktiverer flere M-cdk'er.

Beskrive ændringer i celleorganellers struktur og fordeling under mitosen

- Organeller som mitochondrier, ER og golgi kan ikke gendannes spontant ud fra byggeklodser – de skal derimod dannes ud fra allerede eksisterende organeller af samme slags, og derfor skal hver dattercelle modtage minimum et af denne slags

organeller. Andre organeller kan dannes spontant. Generelt fordeles organeller ved hjælp af mikrotubuli og motorproteiner.

Beskrive på hvilken måde cytoskelettets komponenter er involveret i mitosen

- Mikrotubuli står for adskillelsen af søsterkromosomerne. Intermediære filamenter udgår nuclear lamina, som phosphoryleres under kernemembrannedbrydelsen. Aktin (og myosin) indgår i den kontraktile ring – dog under cytokinesen.

Beskrive centrosomet og dets betydning for tetrådsapparatet

- Tetrådsapparatet udgår fra centrosomet, som består af to centrioler, der ligger vinkelret på hinanden. Dvs. centrosomet er centralt i tetrådsapparatet.

Beskrive betydning af centromer og kinetochore

- Centromeret er en DNA sekvens midt i kromosomet, hvortil kinetochore binder. Kinetochore virker som bindingssteder for tetrådsapparatet mikrotubuli under mitosen.

Beskrive cytokinesen

- Cytokinesen beskriver den proces, hvorved cytoplasma deles, og to separate celler dannes. Der dannes en kontraktil ring, som benytter aktin og myosin til at indsnøre midten af cellen, indtil der dannes to celler. Cytokinesen begynder normalt under anafasen, men den afsluttes først efter telofasen, hvilket markerer afslutningen på M-fasen.

Redegøre for de individuelle trin under meiosen

- Meiosen har ingen G-faser, men den har til gengæld to meiotiske delinger (meiose I og II) efter S-fasen:
  - *S-fasen*: DNA replikeres ligesom under mitose.
  - *Meiose I*: Homologe kromosompar danner par i midten af cellen, hvorefter crossover mellem de homologe kromosompar blander de maternale og paternale søsterkromosomer. Overkrydsstedet kaldes en chiasma, og der kommer mellem en og tre crossovers per meiose. Dernæst adskilles de homologe kromosompar (chiasma brydes).
  - *Meiose II*: Søsterkromatiderne skilles, og man får fire ikke-identiske haploide celler. Normal mitose giver i derimod to ens diploide celler.

Redegøre for forskelle mellem meiose og mitose

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

Forklare betydningen af "cross-over" for genetisk variation

- Cross-over øger den genetiske variation ved sammensætte alleler på forskellige måder, hvorved forskellige genkombinationer. Dette medvirker til, at der ikke findes to ens personer – bortset fra enæggede tvillinger.

Redegøre for hvorledes aneuploide gameter kan opstå

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

Identificere mitosefigurer og kromosomer i histologiske og cytologiske præparater

- Man kan generelt genkende metafase, anafase og telofase i præparater. Man skal primært kigge efter kromosomerne.

#### **F40: Apoptose (inkl. sau24)**

Redegøre for fysiologiske karakteristika ved apoptose

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

Definere forskelle mellem apoptose og nekrose

- Apoptose er ordnet, kontrolleret celledød, hvor nabocellerne ikke skades. Under apoptose udvikler cellen irregulariteter/bumser på sin overflade, men bagefter skrumpes cellen, cytoskelettet kollapser og DNA skæres ud i fragmenter. Cellens overflade ændres på en måde, der tiltrækker makrofager, som phagocyterer cellen, før den når at spilde sit indhold ud over sine naboceller. På denne måde kan cellens komponenter genbruges igen – i modsætning nekrose.
- Nekrose opstår ved akut skade, som får cellen til at svulme op og sprænges, hvormed den spilder sit indhold ud over alle sine naboceller, hvilket kan starte den inflammatoriske respons. Her findes intet genbrug af cellens komponenter.

Redegøre for aktivering og funktion af caspaser

- Caspaser er proteaser, der er nødvendige for initiering af apoptosen. En caspase starter som et inaktivt proenzym/procaspase, der aktiveres ved kløvning af sine prodomæner, hvorefter to kløvede procaspaser finder sammen og danner en aktiv caspase.
- Der findes to typer caspaser, hvor den ene aktiverer den anden. Pro-initiator caspaser kløves, finder sammen og aktiveres, når de modtager bestemte apoptotiske signaler, hvorved der dannes aktive initiator caspaser. Disse initiator kan dernæst aktiverer executioner caspaser ved kløvning af pro-executioner caspasernes prodomæner. Disse aktive executioner caspaser kan dernæst aktiverer flere executioner caspaser (kaskade), kløve nuclear lamina (så nukleaser kan kløve DNA) eller kløve cytosoliske proteiner (kunne fx stoppe cellens syntese/funktion).

Redegøre for funktionen af proteiner fra Bcl-2 familien



- Bcl-2 familien består bl.a. af BAK, BAX og Bcl2. BAK og BAX er proapoptotiske, da de fremmer frigørelse af cytochrome c fra mitochondrierne. Bcl2 er derimod antiapoptotisk ved at forhindre BAK og BAX i at frigøre cytochrome c.
- Cytochrome c kan efter frigørelse fra mitochondrierne aktivere adaptor proteiner i cytoplasma, som dernæst samles i et syvarmet kompleks (søstjerne), som tiltrækker procaspase-9, som (ifølge pædagogisk tegning i bogen) fletter sig ind i mellem det syvarmede cytochrome c/adaptorprotein-kompleks' arme. Dette resulterer i dannelsen af apoptosomet, hvori procaspase-9 aktiveres, som nu kan begynde at aktivere executioner procaspaser i cytosolen, hvilket starter caspase-kaskaden.

Definere forskelle og ligheder mellem intrinsic og extrinsic pathway

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

## **F41 og F42: Blod I & Blod II (inkl. sau 24 og sau 12 Blodets celler og knoglemarv)**

Beskrive blodets formede elementer, fordeling morfologi og funktion

- Blodet har tre formede elementer – erythrocytter, thrombocytter og leukocytter.
  - Erythrocytter: Erythrocytter er røde (farvet af hæmoglobin), bikonkave celler uden cellekerne, som tåler deformation, når de passerer igennem sinusoider og små kapillærer. De er kroppens iltbærende celle, da de indeholder hæmoglobin, som er en tetramer fire hæmgrupper, hvilket gør hvert hæmoglobin molekyle i stand til at binde fire O<sub>2</sub> molekyler (carbonanhydrase er også vigtig for deres funktion). Derudover har erythrocytter en diameter på ca. 7,5 µm, men deres størrelse varierer alt efter, hvilket osmolaritet den opløsning, som de befinder sig i, har som resultat af fx ionkoncentrationen. Specielle erythrocytstrukturer i under mikroskop kan være Ghost's og pengerrulledannelse.
  - Thrombocytter: Thrombocytter er vigtige for hæmostasen. De har en diameter på ca. 3 µm, en tyk glycocalyx og de lever ca. 10 dage. Thrombocytter danner en pladethromber vha. overflade receptorer, som binder til Von Willebrand faktorer mellem kollagenfibrerne under endothellaget. Herefter aktiveres de og afgiver bl.a. stoffer, som aktiverer flere thrombocytter og initierer kaskaden af reaktioner, der omdanner prothrombin til thrombin, hvorefter resten af koagulationskaskaden kan forløbe.
  - Leukocytter: Der findes fem 5 typer leukocytter i blodet, som klassificeres som granulære eller agranulære på baggrund af deres indhold af synlige cytoplasmatiske granula. Se delen om bindevæv for mere information.

Beskrive betydning af variationer i antallet af givne celletyper i perifært blod

- I normalt blod er de formede elementer fordelt på følgende måde:

*Erythrocytter:* 5 mio. pr.  $\mu\text{L}$

*Thrombocyter:* 300.000 pr.  $\mu\text{L}$

*Leukocyter:* 7000 pr.  $\mu\text{L}$

Buffycoat ved centrifugering udgøres af thrombocyter og leukocyter. Leukocytallet kan sige noget om, hvorvidt kroppen har en infektion eller lign., mens erythrocyttallet (hæmatokrit) siger noget om, hvor meget ilt, man kan have i sit blod, hvilket bl.a. påvirker respirationen.

Beskrive det hæmopoietiske & vaskulære rums struktur og funktion

- Det hæmopoietiske rum er der, hvor alle blodets formede elementer dannes, og det består af rød knoglemarv, der er fyldt med hæmopoietiske celler blandt et begrænset net af reticulære fibre. De reticulære fibre udgør stromaet. I gul knoglemarv er den røde knoglemarv skiftet ud med fedt. Megakaryocytterne ligger op af sinusoiderne og afgiver thrombocyter til det vaskulære rum, og retikulumceller ligger også tæt på sinusoiderne og danner retikulære fibre.
- Det vaskulære rum afgrænses ind mod det hæmopoietiske rum af sinusoider, og det er her de færdige celler fra det hæmopoietiske rum sendes ud, hvorfra de sendes videre gennem en central vene som leder cellerne ud i blodbanen/de organer/de væv, hvor der er brug for deres funktionen. Det vaskulære rum danner et strukturelt skelet i marven.

Angive de vigtigste morfologiske karakteristika for stamceller og progenitorceller

- Stamceller inddeles i totipotente, pluripotente, multipotente, oligopotente og unipotente stamceller. Mesenchymale stamceller er pluripotente stamceller, der giver ophav til bindevæv. Den hæmopoietiske stamcelle (pluripotent) kan differentiere til multipotente lymfoide eller myeloide stamceller. Lymfoide stamceller giver ophav til B- og T-lymfocytter, mens myeloide stamceller gennem unipotente colony forming units (først dipotente i CFU-GM, som giver unipotente CFU-G og CFU-M stamceller) giver anledning til blast-cellerne (basofil myoblast, eosino myoblast, neutrofil myoblast, monoblast, megakaryoblast, proerythroblast).

Beskrive udviklingen af leukocyter og erythrocytter med vægt på de morfologiske karakteristika

Både erythrocytter og leukocyter dannes ud fra en fælles hæmopoietisk stamcelle, hvorefter de følger ovenstående mønster. Generelt gælder det, at i takt med, at cellerne modnes, så bliver de mindre og mindre basofile og mere og mere eosinofile. Dette skyldes, at proteinsyntesen på ribosomerne aftager, mens proteinindholdet stiger.

- Erythrocytter: Erythroblasten differentierer (gennem mitose) til en basofil erythroblast → Mitose til polykromatofil erythroblast → Mitose til ortokromatisk erythroblast → Kernen udstødes, hvilket giver en retikulocyt → Retikulocytten modnes til en erythrocyt, når den mister sine ribosomer (alt dette varer 5 døgn). Erythropoietin (EPO) regulerer erythrocytdannelsen.

Beskrive dannelsen af megakaryocytter/thrombocyter

- CFU-MEG differentierer til en megakaryoblast som differentierer videre til en megakaryocyt. Megakaryocytten danner thrombocyter ved at afklemme dem ud gennem sinusoiderne i den røde knoglemarv, dvs. fra det hæmopoietiske rum til det

vaskulære rum. Thrombopoietin (TPO) stimulerer proliferation af megakaryoblaster, modning af megakaryocytter og øget trombocytproduktion.

#### **F43: Blodkar (inkl. sau24 og sau12)**

Beskrive den trilaminære opbygning af karvæggen i større kar

- De større kar består af tre hovedlag samt to elastiske lag.
  - Tunica intima: Består af endothel samt lamina elastica interna, som markerer skellet mellem tunica intima og tunica media. Endothelet indeholder tight junctions.
  - Tunica media: Tunica media består primært af glat muskulatur og mange elastiske fibre. Tunica media varierer meget mellem elastiske arterier og muskuløse arterier, men begge typer har grænsende op til tunica adventitia en lamina elastica externa. Elastiske arterier indeholder op til 50 mindre, fenestrerede, elastiske membraner, hvilket gør tunica media i elastiske arterier meget tykkere end i muskuløse arterier. Muskuløse arterier har 4-10 skiftende lag af hhv. muskelceller og kollagen/elastiske fibre, men der er ikke tale om egentlige elastiske membraner.
  - Tunica adventitia: Består af løst bindevæv, adipocytter og *vasa vasorum*. Vasa vasorum består af blod- og lymfekar, som ernærer den perifere del af karvæggen, mens den lumenale side ernæres gennem diffusion gennem endothelcellerne. Tunica adventitia har i muskuløse arterier omtrent samme størrelse som tunica media, mens tunica adventitia i elastiske arterier er meget tyndere end tunica media.

Redegøre for funktion af endothel, muskelceller og elastiske membraner i kar

- Endothel: Ved hjælp af tight junctions mellem endothelcellerne holder arterien tæt, dvs. ting fra blodbanen kan ikke umiddelbart passere gennem arterievæggen. Dog tillades begrænset diffusion. Endothelcellerne har udløbere, som kontakter de glatte muskelceller, hvilket tillader hurtig diffusion af NO fra endothelceller til glatte muskelceller.
- Muskelceller: I arterier har vi et tykt lag glatte muskelceller, som regulerer blodtrykket i blodbanen og blodforsyningen til forskellige organer. Jo mindre arterierne bliver (nærmer til arterioler og kapillærer), des mindre bliver muskellaget. Muskellaget mistes først helt ved overgangen til kapillærer.
- Elastiske membraner: Elastiske membraner inducerer en jævn blodstrøm ved at oplagre potentiel energi under systolen, som de frigør igen under diastolen som kinetisk energi. Dette sørger for, at blodet ikke står stille under diastolen.

Redegøre for endothelcellers tight junctions og deres betydning

- Endothelets tight junctions skaber en permeabilitets barriere mellem lumen af blodåren og arterievæggen, som resulterer i en polaritet på hver side af endothelcellerne.

Klassificere de enkelte dele af karsystemet: arterier, vener, arterioler, venoler, kapillærer og sinusodier

- Arterier: Opdeles til muskulære og elastiske. Arterier starter ved aorta og truncus pulmonaris, hvor de har deres største diameter, som mindskes jo længere ud i vævene de kommer (væk fra hjertet). De har typisk en diameter på over 10 mm for elastiske arterier eller mellem 0,1 og 10 mm for muskuløse arterier.

- Vener: Venerne er de store tilbageførende kar, der ofte mangler glat muskulatur, men de har meget bindevæv. Venerne vil oftest være sammenklappede i histologiske snit pga. den tynde væg. Vener har typisk en diameter på over 10 mm for store vener, 1 til 10 mm for mellemstore vener og 0,1 til 1 mm for små vener.
- Arterioler: Adskilles fra arterier ved, at de har en diameter på under 100  $\mu\text{m}$ , og deres lamina elastica externa mangler.
- Venoler: Venoler har en diameter på 10 til 50  $\mu\text{m}$ , og de hviler på en basallamina, som pericytter ligger op af, der bliver mere fuldstændig i takt med, at venolernes diameter vokser. Endothelet i venoler er forbundet med mindre udviklede/løst organiserede okkluderende kontakter, hvilket gør det til et meget utæt endothel – kun overgået af sinusoider.
- Kapillære: Kapillære inddeles i kontinuerlige kapillære, fenestrerede kapillære og sinusoider. Kapillære er de mindste blodkar med en diameter på under 10  $\mu\text{m}$ , og de danner et netværk mellem meta arterioler og postkapillære venoler (som varierer meget mellem væv), som oftest indeholder mindre blod, end de kan indeholde, da de kapillærbetede indeholder gennemfartskanaler, der fører blodet uden om det forgrenede netværk af mindre kapillære – direkte fra meta arterioler til postkapillære venoler. Derudover findes der arterio-venøse anastomoser mellem arterioler og venoler.
- Sinusoider: Sinusoider er 40-50  $\mu\text{m}$  tykke, og de følger vævet i deres udbredelse. De findes i lever, milt og knoglemarv, hvor stor udveksling/interaktion til blodet er nødvendig. Endothelcellerne i leverens sinusoider indeholder cytoplasmiske huller og indeholder nogen steder okkluderende kontakter og gap junctions.

Identificere større kar (arterier og vener) samt kapillærer og sinusoider i histologiske væv

- Arterier har tre lag (tunica intima, media og adventitia) og har generelt tykkere vægge end vener. Vener vil tit være sammenklappede og have et meget tyndt eller helt manglende muskellag i væggen – de store vener mangler generelt muskler, mens de små vener kan have lidt muskler i varierende mængder. Kapillærer er ca. 10  $\mu\text{m}$  tykke, og erythrocytterne fylder dermed næsten hele kapillæret. Derudover er kapillærene runde i tværsnit eller cylindriske i længdesnit. Sinusoider er 40-50  $\mu\text{m}$  tykke, og de følger vævet i et netværk.

#### **F45: Vævsdannelse og regeneration (inkl. SAU24)**

Beskrive stamcellers generelle karakteristika

- Stamceller er en relativ lille pulje af uddifferentierede og selvfornyende celler. De skal ikke udføre specialiserede funktioner, men de skal derimod danne progenitorceller, der kan differentiere til specialiserede celler med tilhørende specialiserede funktioner. Stamceller reguleres nøje, så de giver de rigtige progenitorceller i det rigtige væv – men de skal også matche fornyelsen af celler med mængden af afdøde celler, alt efter om vævet skal skrumpes, have samme størrelse eller vokse. Da stamceller ikke er differentierede, har de heller ikke genkendelige karakteristika i mikroskop, og de er derfor svære at spotte.

Beskrive induced pluripotent stem cells (iPSCs)

- Induced pluripotent stem cells (iPSC'er) er en ny opdagelse, der tillader forskere at danne stamceller uden brug af rigtige embryoniske stamceller, og dermed kan de etiske problemstillinger (for en tid) overvindes/sidestilles. Man danner iPSC'er ved fx at tage fibroblaster fra et voksent menneskes hud vha. en biopsi og oprensning. Dernæst

introducerer man fibroblasterne for tre transkriptionsfaktorer (Oct3/4, Sox2, Klf4), som dedifferentierer fibroblaster tilbage til en iPSC, som i praksis har alle de samme egenskaber som rigtige ES-celler (embryoniske stamceller). Meget forskning handler lige nu om at kunne redegøre for, hvordan stamceller differentierer til forskellige celler med henblik på signaler osv., så man kan genskabe disse veje, hvilket potentielt kan have et kæmpe helbredende potentiale – man skal "bare" lige finde ud af, hvordan man undgår at inducere cancer i værterne for disse iPSC'er.

Beskrive kommunikerende, adhærerende, og okkluderende celle-celle kontakter

- Kommunikerende: Omfatter kontakter, der formidler kommunikation mellem to celler. Her er tale om gap junctions (kan være elektriske synapser i axoner) og kemiske synapser.
- Adhærende/forankringskontakter: Det er kontakter, der mekanisk forankrer celler sammen og omfatter desmosomer, fascia adherence (indskudsskiver i hjertet), zonula adherence, hemidesmosomer og fokale adhæsioner (celle migration).
- Okkluderende: Dette er kontakter, der forsejler celler tæt sammen, så der ikke kan passere noget mellem dem, og der er her tale om zonula occludentes, dvs. tight junctions.

Beskrive cellereceptorer (integriner) for adhæsive ECM glycoproteiner

- Integriner er en fællesbetegnelse for bl.a. fibronectinreceptorer og lamininreceptore. De er transmembrane receptorer, der kobler til fx laminin eller fibronectin på extracellulærsiden, og de adhæsive glycoproteiner binder så videre til fx kollagen i ECM. På intracellulærsiden binder de til at plaque, som igen binder til cytoskelettet. I fokale adhæsioner binder plaguet videre til aktin, mens plaguet i hemidesmosomer binder videre til intermediære filamenter.

Ekstra (celle-celle kontakter): I desmosomer er det, i stedet for integriner, desmoglein og desmocollin, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til intermediære filamenter. I zonula adherence er det cadherin, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til aktin filamenter. I zonula occludentes er det bl.a. occludiner og claudiner, der binder plaguet mellem to celler sammen. Plaguet binder igen til aktin filamenter.

Redegøre for hovedtrækkene i de forskellige faser af vævsregeneration

- Vævsregeneration opdeles i faserne hæmostase, inflammatorisk, proliferativ og remodelering:
  - Hæmostase: Koagulationskaskaden, som ender med et fibrin clot, hvor fibrin danner et net, der sætter sig på blodpladerne/thrombocytterne, hvormed blødningen stoppes.
  - Inflammation: De 4/5 inflammatoriske kendetegn! Inflammatoriske celler/leukocytter phagocytter bakterier og nedbrydningsprodukter (evt. pus fra andre leukocytter). Derudover frigørelse migratoriske og stimulerende faktorer, der initierer den proliferative fase.
  - Proliferativ: Blodkar tiltrækkes (angiogenese). Dernæst aflejres der kollagen og der dannes nyt epitel samtidig med, at såret begynder at trække sig sammen. Dvs. her dannes de komponenter, der kommer til at udgøre arret, hvilket kræver tilførsel af blod (angiogenese), og sårets overflade areal mindskes gennem kontraktion af såret gennem myofibroblaster.

- Remodellering: Kollagenfibrerne skal justeres, så de ligger parallelt og pænt – det er denne proces, der bestemmer arrets æstetik/hvor grimt det bliver. Desuden undergår de celler, der ikke længere er brug for, apoptose.

#### **F46: Cancer (inkl. sau24)**

Beskrive cancercellens generelle karakteristika (hallmarks)

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

Identificere onkogener og tumor suppressors

- Onkogener: Onkogener er speedere, dvs. hvis et proto-onkogen muteres i et enkelt allel, så bliver det til et funktionelt onkogen, hvilket fungerer som en mursten på speederen. HUSK Ras!
- Tumor suppressor: Tumor suppressorer er bremsere, dvs. hvis en tumor suppressor muteres i to alleler, så fungerer det som en mursten under bremsen/overskærne bremsekabler. HUSK p53, Rb!

Beskrive mutagens egenskaber og den tidsmæssige relation mellem eksposition til mutagenet og dannelsen af den maligne transformation (herunder behov for "multiple hits").

- Mutagener er faktorer, der øger mutationshyppigheden i DNA. Da cancerceller kræver mange forskellige mutationer for at opnå deres Hallmarks, så kræver dannelsen af en malign tumor tid. Normalt ophober vores DNA mutationer løbende gennem livet, og derfor øges sandsynligheden for at udvikle en tumor også med alderen. Mutagener kan som sagt øge hastigheden af denne akkumulering af mutationer, så man øger sandsynligheden for at udvikle en tumor. Behovet for flere mutationer kaldes også behovet for multiple hits. Mutagener opdeles i kemiske og fysiske:
  - Fysiske: Beta- gamma, røntgen og neutronstråling og ultraviolet lys.
  - Kemiske: Sennepsgas, formaldehyd, ethylmethansulfonat, phosphorylering osv.

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