

Cellebiologi og genetikk

©Halvor Aarnes 2004. Sist revidert 19-06-06 S. E. & O.

Innholdsfortegnelse

Innledning	1
DNA og kromosomer	2
DNA-replikasjon - fra DNA til DNA	3
Transkripsjon - fra DNA til RNA	4
RNA prosessering og translokasjon	6
Translasjon - fra mRNA til protein	6
RNA-interferens og kosuppresjon	7
Kommunikasjon og signalveier	8
Dyreceller	15
Cellesyklus med sjekkpunkter	18
Apoptose (programmert kontrollert celledød)	19
Celledeling (mitose)	20
Reduksjonsdeling (meiose)- halvering av kromosomtall	21
Genetikk hos menneske	22
Protein og aminosyrer	30
Respirasjon - frigivelse av energi	32
Ioner, transport og membranpotensial	33

Innledning

Til tross for at levende organismer ser forskjellig ut har de genetiske og biokjemiske egenskaper som forener alt levende. Organismene består av celler og nye celler kommer fra tidligere celler. Det er en kontinuerlig linje fra alle cellene idag tilbake til de første cellene på jorda. Celle teorien til Schwann, Schleiden og Virchow viser at alt liv består av celler, og celler er den fundamentale enheten i alt liv. Liv slik vi kjenner det kan ikke eksistere uten celler. Virchow formulerte det slik: *Omnis cellula e cellula*, enhver celle kommer fra en annen celle. Celler kan ikke oppstå spontant, en oppdagelse gjort av Redi viste i 1665. De enkleste livsformene er encellede. I komplekse flercellede organismer er cellene koordinert og organisert i cellevev, organer, og organsystemer. Cellene er omgitt av en cellemembran som atskiller dem

fra de ytre omgivelsene. Cellene deler seg og vokser og organismen utvikler, endrer og reproduserer seg gjennom et livsløp. Den biokjemiske aktiviteten i metabolismen, oppbygning (anabolisme) og nedbrytning (katabolisme) omsetter stoff og energi og produserer avfall og varme. Katabolismen frigir energi ved å spalte komplekse molekyler til mindre deler. Anabolismen trenger energi og lager komplekse molekyler fra enklere bestanddeler. Organismen og metabolismen er regulert ved selvregulering (tilbakekobling av biokjemiske reaksjoner) og homeostase som opprettholder likevekt.

Organismene er **energiforbrukende dissipative strukturer** langt fra likevekt, beskrevet av **irreversibel termodynamikk** med flukser av stoff og energi.

Organismene er i kontakt med omgivelsene og mottar og registrerer informasjon fra omgivelsene via **reseptorer**, og kan reagere på endringer i det ytre miljø. Alle dyr har et stadium med forflytning, f.eks. et larvestadium, selv om det voksne stadiet er fastsittende. Organismene har forskjellige organisasjonsnivåer: molekylært, celle, vev, organer og organismer, og i cellebiologien konsentrerer man seg om molekyler og celler. Celledifferensiering gir cellespesialisering som fører til utvikling av form og mønster. Virveldyrene har mer enn 200 forskjellige celletyper, og forskjellige celler uttrykker forskjellige gener.

Informasjon overføres fra en generasjon til den neste via DNA som inneholder oppskrift for alle proteinene i organismen.

DNA og kromosomer

Celler kan dele seg og danne nye celler for vekst og reparasjon. Informasjonen om cellene er lagret i genomet med DNA i form av kromosomer i cellekjernen og DNA som sirkulært DNA i mitokondriene. Plantene inneholder i tillegg sirkulært DNA i kloroplastene. Den totale mengden DNA i cellekjernen eller organeller kalles **genomet**. Gener er deler av en DNA-sekvens som koder for RNA som deltar i syntese av enzymer og strukturproteiner i cellene. Genene er organisert på en rekke i kromosomene. Noen av genene er lenket sammen og nedarves samlet.

Kromosomer er fargeløse, men fikk navn etter at de kunne bli farget med spesielle fargestoffer. Kromosomene består av kromatin (DNA + protein). DNA er pakket og foldet i kromosomer. Pakkingen skjer ved hjelp av proteiner kalt **histoner**. Histonene er positivt ladet pga. høyt innhold av basiske aminosyrer, og danner **nukleosomer** som er perler på en DNA-snor, hvor DNA er negativt ladet pga. fosfatgruppene. Ca. 146 basepar med DNA ligger rundt en klynge med åtte (2x4) histonmolekyler som danner et nukleosom. Også archaebakteriene inneholder histoner. DNA er ca. 2 nanometer i diameter (nm), og nukleosomene ca. 11 nm i diameter. Nukleosomene pakkes rundt en femte type histon H1 som festes til lenker med DNA og danner en 30 nm fiber. Denne fiberen er festet i løkker i et proteinskjelett.

DNA i B-form danner en høyrehånd heliks hvor sett fra begge ender vender med klokka. Z-DNA er venstrehånd heliks og danner en sikksakk ryggrad hvis det er alternerende puriner og pyrimidiner. Cellenes evne til å skru på eller av gener, **genekspresjon**, gjør at cellene kan differensieres. Det er både ytre og indre signaler som koordinerer uttrykket av gener, og på denne måten kan organismene tilpasse seg til omgivelsene og deres skiftninger.

Størrelsen på genomet varierer mellom organismene hvor størrelsen hos tarmbakterien *Escherichia coli* er $4.7 \cdot 10^6$ basepar (bp), og hos bananfluen *Drosophila melanogaster*: $2 \cdot 10^8$ bp, vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*) $1.25 \cdot 10^8$ bp og mennesket (*Homo sapiens*): $3 \cdot 10^9$ bp per haploid celle. Gjær (*Saccharomyces cerevisiae*) inneholder ca. 6000 gener, bananfluen 14000 gener og eukaryotene kan generelt inneholde opptil 43000 gener fordi det finnes multigenfamilier. Hos prokaryotene består omtrent alt DNA av sekvenser som koder for protein eller RNA, mens eukaryotene inneholder store mengder ikk-kodende DNA bestående av flerkopisekvenser med **repetert DNA** samt ikke-kodende enkeltkopisekvenser kalt **speiser-DNA**. De ikke-kodende sekvensene kalles introner og de kodende kalles eksoner. Prokaryotene har organisert genene i **operoner**, men kjernegenomet er uten operoner (unntatt noen eksempler fra rundormen *Coenorhabditis elegans*).

DNA-replikasjon - fra DNA til DNA

DNA replikasjon vil si at de to trådene i DNA tvinnes ut og hver av dem virker som oppskrift (templat) for en ny tråd, slik at det blir dannet to dobbeltrådede datterDNA. Replikasjonen starter ved en sekvens kalt *ori*. Bakterien *E. coli* med sirkulært kromosom har bare en *ori*, mens eukaryotene har mange.

Det dannes en **replikasjonsgaffel** ved utkveiling av trådene. Kunstig kan man få trådene fra hverandre ved å varme opp til 90 °C. I *E. coli* åpnes dobbeltheliksen med DnaA, DnaB, DnaC pluss et enkelttrådbindende protein. Hydrogenbindingene i DNA brytes og DNA heliksen må rotere for å fjerne stresset ved åpning av replikasjonsgaffelen. Topoisomeraser fjerner superløkker og superhelikser i dobbeltrådet DNA. **Topoisomerase I** bryter fosfodiesterbindingen i den ene trådene. DNA heliksen kan da rotere rundt tråden uten brudd.

Topoisomerase II (gyrase) bindes til to dobbeltrådsteder og kutter begge DNA-trådene slik at et annet kromosom kan passere. Dette er viktig i DNA replikasjonen hos prokaryoter ved å fjerne stress i sirkulært DNA. Topoisomerase II virker ved fysisk stress i kjernen når to kromosomer presser mot hverandre.

Cipro er et antibiotika som hemmer topoisomerase II hos prokaryoter og derved blokkerer DNA replikasjon. Etoposid og amsacrin hemmer også topoisomerase II, mens camptothecin hemmer topoisomerase I. Bakterielle topoisomeraser, kalt gyraser, hemmes av koumariner (novobiocin), kinoliner (naldixinsyre) og fluorokinoloner (ciprofloxacin).

ATP-avhengig DnaB (helicase) beveger seg langs DNA-tråden og bryter hydrogenbindinger. Det er en DnaB for hver tråd, en virker i 5'-3'-retning og den andre i 3'-5'-retning. **DnaC** sørger for at DnaB blir avlevert og satt på rett plass. Når DnaB har åpnet trådene festes enkelttrådbindende protein som retter ut DNA. Nytt DNA lages av enzymet **DNA polymerase III** som lager **fosfodiesterbinding** mellom 3' OH på et sukkermolekyl og 5'-fosfat på det andre sukkermolekylet. DNA polymerase III kan bare feste nukleotider på en fri 3' OH og lager derfor DNA i 5' til 3' retning. Templatet avleses i 3' til 5'-retning. De to DNA heliksene er antiparallele, og en har fri 3'-OH ende og en har fri 5'-fosfat ende. **Ledetråden** blir derfor laget kontinuerlig og **lagtråden** lages diskontinuerlig. Lagtråden lages som korte 5'-3'-segmenter kalt **Okasaki-fragmenter**, oppkalt etter Reiji Okasaki 1968, som kobles

sammen med DNA polymerase og ligase. DNA polymerase III trenger en **primase** som lager korte stykker med RNA komplementært til DNA templat. Flere **RNA primere** lages langs lagtråden. DNA polymerase III korrekturleser replikasjonen og inneholder en 3'-5'-eksonuklease. RNA primere fjernes deretter, og eukaryotene har **ribonuklease H** som fjerner RNA primere. Prokaryoter har DNA polymerase I med 5'-3'-eksonuklease.

Transkripsjon - fra DNA til RNA

Det er tre hovedtyper RNA polymerase hos eukaryotene:

RNA polymerase I i cellekjernen lager **ribosomalt RNA** (rRNA).

RNA polymerase II i plasma i cellekjernen (nukleoplasma) deltar i syntese av **prebudbringer RNA** (pre-mRNA).

RNA polymerase III i nukleoplasma lager **transport RNA** (tRNA) og 5S rRNA.

Før transkripsjonen kan starte trengs **generelle transkripsjonsfaktorer (GTP)** som angir korrekt startsete for transkripsjonen i et **transkripsjonsinitsieringskompleks**.

For å kunne starte transkripsjonen trenger prokaryot RNA polymerase polypeptider kalt **sigmafaktorer**, mens eukaryot RNA polymerase II inneholder 7 generelle transkripsjonsfaktorer (TFII). TFIID bindes til **TATA-boksen** via et TATA-bindende protein, TFIIB bindes, samt TFIIE, TFIIIF og TFIIH som er protein kinaser som fosforylerer RNA polymerase. Noen av GTP fjernes og transkripsjonen starter. RNA polymerase II atskilles fra transkripsjonsinitsieringskomplekset og fortsetter langs antisens-tråden i 3'-5'-retning. **Promotere** er DNA-sekvenser oppstrøms for initieringsstart, og hos eukaryotene må disse minimum bestå av **TATA-boks**, **CAAT-boks** og **GC-boks**. Hver av de tre RNA polymerasene har forskjellige promotere. RNA polymerase II har 100 basepar oppstrøms for initieringsstart en proksimal promotersekvens, og 25-35 basepar oppstrøms ligger TATA-boksen med nukleotidsekvensen TATA AA(A) som angir start for sammensetning av transkripsjonsinitsieringskomplekset. CATT-boks og GC-boks binder **transkripsjonsfaktorer** som regulerer hastigheten på transkripsjonen, og disse distale reguleringssekvensene som ligger i området 1000 basepar fra transkripsjonsstart kalles **cis-virkende sekvenser** siden de ligger inntil transkripsjonsenheten de regulerer. Transkripsjonsfaktorer som bindes til de *cis*-virkende sekvenser kalles **trans-virkende faktorer**. Transkripsjonsfaktorene kalles, som hos prokaryotene, for **aktivatorer** eller **repressorer** avhengig av om de aktiverer eller undertrykker transkripsjonen. Det kan finnes mange *cis*-virkende faktorer som gir positiv eller negativ styringskontroll i promoteren. I tillegg til regulering innen promoter er det mulighet for regulering via kontrollelementer som ligger tusenvis av basepar vekk fra transkripsjonsstart. Økere ("**enhancere**") er slike positive kontrollelementer oppstrøms eller nedstrøms for promoter som øker transkripsjonen f.eks. i syntese av flavonoider i planter. **Responselementer** er *cis*-sekvenser som deltar i genregulering via hormoner eller andre ytre signaler.

Transkripsjonsfaktorene som bindes til DNA er tredimensjonalt organisert og foldet slik at det kommer i direkte fysisk kontakt med initieringskomplekset.

Transkripsjonsfaktorene inneholder to DNA-bindende domener, et strukturelt

evolusjonsmessig konservert transkripsjonsaktiverende domene og et ligandbindende domene. Det er det DNA-bindende domene som fester seg til DNA-heliksen med ionebindinger, hydrogenbindinger eller hydrofob interaksjon.

Transkripsjonsfaktorene deles inn i hovedgrupper avhengig av struktur og hvilket DNA-bindende domene de inneholder:

Zink finger inneholder grunnstoffet zink og bindes som monomer eller dimer til DNA.

Leucinzipper som er et kort alfaheliks polypeptidkjede med aminosyren leucin, og som fester seg til DNA langs den hydrofobe overflaten til leucin. **Basisk zipper** er en varietet av leucinzipper hvor andre basiske aminosyrer kan delvis erstatte leucin. Basiske zipper er vanlige transkripsjonsfaktorer i planter. **Heliks-vending-heliks** består av to alfahelikser atskilt av en vending i polypeptidkjeden. **Heliks-løkke-heliks** transkripsjonsfaktor består av en kort alfaheliks koblet i en løkke til en lenger alfaheliks. En type heliks-vending-heliks transkripsjonsfaktorer som ble først funnet i bananflue blir kodet av såkalte homeotiske gener. **Homeotiske gener** lager transkripsjonsfaktorer bestemmer hvilken struktur som lages på bestemte deler av kroppen. Flere gener deltar i et genprogram for en struktur og skrur derved på og styrer utviklingsprosesser som bestemmer formen og utseende til en organisme (fenotypen). Skjer det en mutasjon i et homeotisk gen kan dette gi **homeose**, feil kroppsorgan dannet på feil sted. Det klassiske eksemplet er en mutasjon som gir genet *antennapedia* i bananflue (*Drosophila*) som gjør at et bein dannes i stedet for en antenne. Alle de homeotiske genene i bananflue inneholder en evolusjonsmessig konservert homeoboks med ca. 60 aminosyrer. Slike homologe homeobokssekvenser finnes i alle dyr og planter og viser det evolusjonsmessige slektskapet hos alle høyerestående organismer på jorda. **MADS-boks gener** i planter koder for heliks-vending-heliks transkripsjonsfaktorer som inneholder et MADS-domene, og avgjør f.eks. plassering og utviklingskjebne til alle bladene som utgjør en blomst.

Bakteriene (prokaryoter) og gjær (eukaryoter) må raskt kunne respondere og tilpasse metabolismen til endring i tilgjengelighet og sammensetning av næringsstoffer i omgivelsene på utsiden av organismen. Mest studert er laktose-operonet (*lac*) i tarmbakterien *E. coli* som er styrt av negativ kontroll via en repressor. Hvis *E. coli* får melkesukker (laktose) i næringsmediet lager RNA polymerase en **polycistronisk** mRNA som inneholder 3 gener på rekke som gjør at bakterien lager enzymene β -galaktosidase, permease og actylase. Disse proteinene gjør at bakterien raskt kan ta opp og omsette laktose. Et annet eksempel er tryptofan-operonet (*try*) i *E. coli* som starter biosyntesen av flere enzymer som deltar i syntesen av aminosyren tryptofan.

Hos bakegjær (*Saccharomyces*) kontrolleres transkripsjonen av de fleste genene av et proksimalt kontrollelement kalt **oppstrømsaktiverende sekvens** (UAS, "upstream activating sequence"). Hvis sukkeret galaktose tilføres til bakegjær startes syntesen av protein fra seks gener som ligger på forskjellige kromosomer og som er nødvendig for opptak og omsetning av galaktose til glukose-1-fosfat. Denne koordinerte transkripsjonen av gener med forskjellig plassering er styrt av UAS som ligger ca. 200 basepar oppstrøms for de seks genene. Alle de seks UAS'ene, selv om de er litt forskjellig, vil binde en felles transkripsjonsfaktor som skrur på alle disse

genene samtidig. Dette er eksempel på koordinert regulering av en gruppe gener ved deling av et felles responselement oppstrøms for promoter.

Grønn fluesopp (*Amanita phalloides*) inneholder α -amanitin som er et syklisk oktapeptid med modifiserte aminosyrer sammen med et purin som biner til RNA-polymerase II og hemmer forlengelse av RNA. Antibiotika som hemmer proteinsyntese hos prokaryoter er aminoglykosider (streptomycin, gentamicin) som påvirker sammenkoblingen i 30S initiseringskompleks. Tetracyclin hemmer aminoacyl-tRNA binding til A-sete på ribosomene hos prokaryoter og eukaryoter, men gir ikke virkning hos eukaryoter siden det ikke kan trenge gjennom plasmamembranen. Macrolider (erytromycin) hindrer frigivelse av tRNA fra A-sete etter at peptidbindingen er dannet.

RNA prosessering og translokasjon

Transkriptet hos prokaryotene kan oversettes direkte til protein, men hos eukaryotene blir det først laget et **primært transkript (pre-mRNA)** med både **introner** og **eksoner**. Intronene blir deretter fjernet ved **RNA prosessering**. pre-mRNA blir pakket inn i en streng med små proteinpartikler kalt **heterogene ribonukleoproteiner (hnRNP)** som består av små nukleære RNA og protein, såkalte **små nukleære ribonukleoproteiner (snRNP, "snurps")**. Noen av snurpsene danner et kompleks kalt **spleisosomer** i skjøten mellom introner og eksoner hvor intronene kuttes ut. I noen tilfeller kan det skje **alternativ RNA-spleising** i det primære transkriptet hvor også eksoner kan tas ut, noe som gir opphav til forskjellige typer polypeptidkjeder. Slik alternativ spleising er sjelden i planter, men enzymene RNA polymerase II og rubisko aktivase er laget ved alternativ skjøting av det primære transkriptet.

Imidlertid, før spleisingen skjer blir pre-mRNA modifisert med "**capping**" i den ene enden, dvs. påheking av 7-metylguanylat via 5'-5'-binding i 5'-enden av transkriptet, og påsetting av en **polyA-hale** med 100-200 adenylsyre i den andre enden katalysert av polyA-polymerase. Både polyA-halen og cappingen beskytter RNA-transkriptet mot nedbrytning katalysert av Rnaser. Begge endene er også nødvendig for å få fraktet transkriptet ut av kjerneporekomplekset slik at de modifiserte transkriptene kommer fram til ribosomene hvor translasjonen skjer. Alle trinnene i RNA-prosesseringen blir regulert og påvirker mengden translasjon, i tillegg kommer transkripsjons- og posttranskripsjonsregulering. Omsetningen og levetiden til mRNA varierer i forskjellige typer cellevev.

Translasjon - fra mRNA til protein

Nylaget mRNA blir fraktet ut av cellekjernen til cytoplasma. Translasjonen skjer med forskjellig hastighet på **polysomer** bundet til endoplasmatisk retikulum (ER) sammenlignet med fri polysomer i cytosol.

Den **genetiske kode** er universell med noen få unntak. I mitokondriene tilsvarer tripletten UGA tryptofan i stedet for et stoppkodon. Hos protister koder triplettene UAA og UAG for glutamin i stedet for et stoppkodon. mRNA er foldet og har både sekundære og tertiære strukturer som kan påvirke tilgangen på startkodonet AUG. Det er flere kodoner for samme aminosyrer, og tilgangen på aminosyrer i form av

aminoacyl-t-RNA varierer i forskjellig vev. Mutasjoner hvor cytosin er metylert til metylcytosin gir en ustabilitet. 5-metylcytosin kan miste aminogruppen og omdannes til thymin. Cytosin som mister aminogruppen omdannes til uracil.

Omsetningen og levetiden til mRNA kan reguleres av små RNA kalt **mikro-RNA (miRNA)**, først oppdaget hos *C. elegans*, og miRNA kan hemme translasjonen hos dyr. Alle mi-RNA blir laget fra et **primært mikro-RNA transkript (pri-miRNA)** bestående av ca. 70 nukleotider som inneholder **palindromer**. Palindromer vil si at det er komplementær inverterte repeterte sekvenser i molekylet som kan reagere med hverandre og danne hårnålsløkker. Hos dyr er de inverterte repeterte sekvensene ikke alltid helt komplementære slik at det dannes en mismatch i hårnålsløkkene og dette kan gjøre at miRNA hemmer translasjon hos dyr, men ikke hos planter. Hos planter deltar miRNA bare i kløyving og spalting av mRNA slik at det ikke lenger kan benyttes til translasjon. Hos dyr blir pri-miRNA laget fra lengre RNA-transkripter i kjernen katalysert av enzymet **DROSHA**, men dette enzymet er ikke blitt funnet i planter.

Hårnålsløkkene i pri-miRNA kan kuttes i dobbeltrådede RNA fragmenter av en ribonuklease i cytoplasma som kløyver dobbeltrådet RNA, og hos dyr kalles dette enzymet **DICER**. DICER gir RNA fragmenter med 21-23 nukleotiders lengde med overhengende nukleotidehaler i 3'-enden av hver tråd. Planter inneholder DICER-lignende proteiner (DCL1), men disse er i motsetning til hos dyr lokalisert til cellekjernen.

Levetiden til nylagete proteiner kan være fra minutter til timer, og mengden av et bestemt protein kan bli regulert av proteinsyntese og proteindegradering.

Det er to hovedtyper for nedbrytning av protein i cellene:

- 1) Lyttiske vakuoler (lysosomer i dyr). Autofagosomer kan ta opp en del av cytoplasma med protein og autofagosomene fusjonerer med lyttiske vakuoler som bryter ned proteinet.
- 2) Ubiquitin-merkete proteiner. **Ubiquitin** er et polypeptid (76 aminosyrer) som kan bindes kovalent i en ATP-avhengig reaksjon til proteiner som skal nedbrytes. Merking av proteiner med ubiquitin gjør at det blir fraktet til rørformet proteinkompleks, proteasomer, hvor proteinet blir nedbrutt. Dette er en måte å regulere proteinmengden i cytosol og cellekjernen. Ubiquitineringen skjer ved at et ubiquitin aktiverende enzym (E1) gir ATP-avhengig adenylering av den C-terminale enden av ubiquitin. Adenylert ubiquitin blir overført til et cysteinmolekyl på et ubiquitinkonjugerende enzym (E2). Proteinene som skal nedbrytes danner et kompleks med en ubiquitin ligase. E2-ubiquitin overfører ubiquitin til et lysin i proteinet bundet til E3.

RNA-interferens og kosuppresjon

I 1990 forsøkte Napoli og medarbeidere¹ å lage petuniablomster med dyp purpur farge via genmodifisering og innsetting av et ekstra gen (*CHS*) for enzymet chalcon syntase som deltar i syntesen av anthocyanin-pigmentene i blomsten.

Overraskelsen var stor da blomstene ble hvite i de genmodifiserte transformerte plantene. Introduksjon av en ekstra kopi av et gen gir undertrykkelse (suppresjon) av

¹Napoli, C., Lemieux, C. & Jorgensen, R.: Introduction of a chalcone synthase gene into *Petunia* results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell* 2 (1990)279-289.

det tilsvarende native genet i planten og skrur det av. Fenomenet ble kalt kosuppresjon. Dette prinsippet ble også brukt til å lage genmodifiserte tomater som fikk redusert nedbrytning av pektin katalysert av enzymet polygalakturonsase, ved å sette inn en ekstra kopi av genet for polygalakturonase tatt fra en annen tomatsort. Et lignende fenomen ble oppdaget av virologer. De fleste plantevirus er enkeltrådet RNA-virus (ssRNA). Det viser seg at planter som uttrykker viruslignende protein er mer resistent mot virus, men også planter som uttrykker korte virale RNA-sekvenser blir også resistente. De korte RNA-sekvensene som tilsvarer sekvenser i det innkommende viruset går til angrep på virus-RNA. Sammenhengen mellom virusresistens, kosuppresjon og RNA interferens via **korte interfererende RNA** (siRNA - "short interfering RNA") ble forklart ved oppdagelsen av enzymet **RNA-avhengig RNA polymerase** (RDRP - "RNA-dependent RNA polymerase"). RDRP lager RNA-dupleks ved lage antisens RNA med sens RNA som templat (oppskrift). Ved innsettingen av genet *CHS* i petunia blir det laget ekstra mRNA for chalcon syntase, noe som gir aktivering av RDRP og produksjon av dobbeltrådet RNA som blir kappet opp i RNA i duplekser vha. DICER-lignende proteiner i cellekjernen. I cytoplasma blir enkeltrådet RNA fra viruset (ssRNA) omdannet til dobbeltrådet RNA via RDRP som igjen blir substrat for DICER-lignende proteiner og kappet opp i dobbeltrådet RNA med 21-23 nukleotiders lengde. Etter at miRNA eller siRNA blir omdannet til RNA-duplekser katalysert av DICER, så vil RNA-dupleksene binde seg til et stort ribonukleosekompleks kalt **RNA-indusert silencing kompleks** (RISC). RISC benytter antisens-tråden som mal til å binde mRNA eller en del av en virussekvensen på lignende måte som antikodonet til tRNA binder seg til mRNA. Mikro-RNA (miRNA) er delvis eller helt komplementær til mRNA sekvensen eller virussekvensen og RISC kløyver deretter RNA midt i bindingsstedet og derved befinner mRNA eller virus-RNA seg i to uvirksomme halvdel. Dobbelttrådet RNA deltar i undertrykkelse (suppresjon) av gener i både dyr, planter og sopp.

Maddox, B.: Rosalind Franklin: The dark lady of DNA. Harper Collins 2002.

Watson, J.D. & Crick, F.H.C.: A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171 (1953) 737.

Kommunikasjon og signalveier

Signaloverføring hos prokaryoter

Celler kommuniserer med hverandre via et signalsystem, og celler sender ut signalmolekyler. Bevegelige bakterier kan forflytte seg avhengig av omgivelsesfaktorene lys, temperatur og saltkonsentrasjon, og dette skjer via et tokomponent reguleringsystem som mottar ekstracellulære signaler. På plasmamembranen eller i periplasmarommet mellom cellevegg og plasmamembran er det **overflatereseptorer** som responderer på kjemiske stoffer kalt **ligander**. Ved binding av en ligand til en overflatereseptor skjer det en konformasjonsendring i reseptoren som gir endring av cytosolsiden av membranen og medfølgende start av en signalrespons. Det skjer en **tokomponent regulering** via et sensorprotein og

responsregulatorprotein. Sensorproteinet inneholder en autofosforylerende histidin kinase hvor signaloverføringen fra mottakerdomene til transmittordomene skjer ved proteinfosforylering. Deretter overføres fosfat fra transmittordomene til en aspartat på mottakerdomene i responsregulatorproteinet, noe som medfører en konformasjonsendring og signaloverføring. Lignende tokomponentsystemer finnes også hos eukaryoter.

Signaloverføring hos eukaryoter

Hvis slimsoppen *Dictyostelium* får dårlige vekstforhold og næringsmangel skiller cellene ut sykklisk AMP (cAMP) som får slimsoppene til å aggregere og danne en flercellet koloni. Spermceller har kjemiske reseptorer som leder dem fram til egget. Dyr overfører signaler via nervesystem og det endokrine hormonsystem, og plantene bruker hormoner som bindes til reseptorer i cytoplasma og cellekjerne. Det **endokrine system** hos dyr kobler hormonproduserende celler et sted i kroppen til hormonresponderende celler et annet sted. Det **autokrine system** sender signal til cellen selv og de nærmeste omgivelsene. Det autokrine system deltar i betennelse, smerteprosesser, aggregering av blodplater og sammentrekning av glatt muskulatur.

Dyr har vannløselige hormoner (som bindes til reseptorer på celleoverflaten med tilhørende konformasjonsendringer) og fettløselige (lipofile) hormoner. Fettløselige steroidhormoner (testosteron, østrogen, kortisol), thyroidhormoner, vitamin D og retinoider (vitamin A-derivater) passerer membranen og binder seg til intracellulære reseptorproteiner som er transkripsjonsfaktorer og kan virke direkte på genekspressjon. **Steroidhormoner** er ligander av type I og binder seg til reseptorer i cytosol assosiert med varmesjokkproteiner (HSP). Ved binding av liganden vil reseptoren dissosiere fra varmesjokkproteinet og bli aktivert. Aktivert reseptor-hormonkompleks går deretter inn i cellekjernen hvor det dimeriseres og bindes til **hormonresponselementer** (HRE) i enhancer-region til steroidstimulerte gener. HRE kan aktivere eller respressere gener.

Thyroidhormoner, vitamin D og retinoider er type II ligander som bindes til reseptorer i cellekjernen. Brassinosteroider er de eneste steroidhormonene man kjenner fra planter og plantene inneholder en brassinosteroid-reseptor som er et transmembranprotein kalt leucinerik repetert reseptor.

Alle de vannløselige hormonene hos pattedyr bindes til reseptorer på celleoverflaten. Ved overføring av et ytre hormonsignal til et indre cellesignal vil hormonreseptorer interagere med GTP-bindende reguleringsproteiner kalt **heterotrimere G-proteiner**, som har syv alfahelikser arrangert som transmembranløkker i membranen. Strukturen heterotrimere G-proteiner ligner på bakterierhodopsin i den halofile bakterien *Halobacterium*, på rhodopsin i øynene hos vertebrater og i vertebrate luktreseptorer. Heterotrimere G-proteiner består av subenhetene α , β og γ , er forskjellig fra monomere G-proteiner, og kan være i aktiv eller inaktiv form. Subenhetene β og γ forankerer heterotrimert G-protein til plasmamembranen på cytoplasmasiden. I inaktiv form er guanosindifosfat (GDP) bundet til α -subenheten, og ved aktivering byttes GDP ut med guanosin trifosfat (GTP). Ved binding av GTP skjer en konformasjonsendring som gir aktivering. Aktivert G-protein aktiverer effektorzymer som lager intracellulære sekundære budbringere. Når GDP byttes med GTP vil α -subenheten dissosiere fra β og γ , slik at α -subenheten kan bindes til effektorzymeret. Heterotrimert G-protein inneholder

enzymet GTPase i α -subenheten som aktiveres og omdanner GTP til GDP straks α -subenheten er bundet til effektorenzymet. GTPase virker som en itern bryter som skrur av aktivt G-protein. Deretter kan α -subenheten med bundet GDP reassosiere med subenhetene β og γ .

Overflatereseptorer kan også virke direkte som enzymer og disse katalytiske reseptorene er festet til membranen via en transmembran-heliks, forskjellig fra 7 alfavheliksreseptorer, og samvirker ikke via heterotrimere G-proteiner.

Hormoner, som er den første budbringeren, overfører informasjonen videre til sekundære budbringere som starter en signalkade som gir cellerespons.

Sekundære budbringer i signaloverføringen (signaltransduksjon) er syklisk AMP (3'-5'-AMP, cAMP), syklisk GMP (3'-5'-GMP, cGMP), syklisk ADP-ribose (cADPR), nitrogenmonoksid (NO), og kalsiumkonsentrasjon (Ca^{2+}) i cytosol. I tillegg kommer de sekundære budbringerne fra nedbrytning av fosfolipidet fosfatidylkolin: 1,2-diacylglycerol (DAG) og inositol-1,4,5-trifosfat (IP3), samt protein kinase og fosfataser.

Subenheten α i det heterotrimere G-proteinet kan binde seg til og aktivere effektorenzymet adenylat syklase. **Adenylat syklase**, også kalt adenylat syklase, som katalyserer omdanning av adenosintrifosfat (ATP) til syklisk AMP (cAMP). Konsentrasjonen av syklisk AMP (cAMP) stiger og aktiverer en **protein kinase A (PKA)** som fosforylerer proteiner. De fosforylerte proteinene lager en kjedereaksjon i signalveien. I ikke-stimulerte celler er protein kinase A inaktiv, men når cAMP bindes til PKA dissosierer to subenheter og den katalytiske subenheten blottlegges. Deretter kan PKA fosforylere threonin eller serin på andre proteiner, og disse kan også være protein kinaser. Prosessen stoppes ved at cAMP inaktiveres av enzymet **fosfodiesterase** som omdanner cAMP til adenosin monofosfat (AMP).

I pattedyr er glukose lagret i lever og muskler i form av glykogen. Når dyrene, inkludert vi, bruker musklene i kroppen må glukose raskt kunne bli frigjort fra glykogen. I en stressreaksjon vil adrenalin (epinefrin) fra binyrene gå over i blodet og bindes til β -adrenerge reseptorer på skjelettmuskler. Bindingen medfører aktivering av heterotrimert G-protein og enzymet adenylat syklase. Dette skjer når enzymet glykogen fosforylase kinase blir fosforylert av PKA, som deretter fosforylerer og aktiverer enzymet **glykogen fosforylase** som bryter ned glykogen til glukose-1-fosfat som kan benyttes til å lage ATP i muskelcellene via glykolyse og Krebszyklus.

I de tilfellene hvor syklisk AMP (cAMP) regulerer ekspresjon av gener vil PKA fosforylere og aktivere transkripsjonsfaktorer kalt **CREB** (cyklisk AMP responselement bindende protein). Aktivert CREB vil deretter kunne binde seg til cAMP-responselement som finnes i promoterregionen til gener som styres via cAMP.

Syklisk AMP (cAMP) kan påvirke cAMP-regulerte kationkanaler, f.eks. I luktreseptorer i neuroner hvor cAMP åpner Na^+ -kanaler og membranen blir depolarisert. Reaksjonen stoppes når cAMP fosfodiesterase omdanner cAMP til AMP.

Betydningen av cAMP i planter er noe usikker. Det finnes CREB-homologer i

planter, og vekst av pollenslanger hos liljer øker i nærvær av cAMP. Syklisk AMP kan aktivere K^+ -kanaler i plasmamembran i mesofyllceller i bondebønner (*Vicia faba*).

Koleratoksin fra kolerabakterien *Vibrio cholerae* kommer inn i cellene i tarmen og fester ADP-ribosyl til et katalyttisk sete for et GTP-protein og derved blokkeres hydrolyse av GTP. Dette medfører at adenylat syklase aktiveres kontinuerlig, konsentrasjonen av cAMP stiger og gir ionelekkasje fra tarmen. Vann følger etter og resultatet er diaré og uttørking av kroppen.

Kalsium som sekundær budbringer

Konsentrasjonen av kalsium (Ca^{2+}) virker som en sekundær budbringer. Vanligvis er konsentrasjonen av Ca^{2+} i cytoplasma meget lav, ca. $10^{-7}M$, fordi Ca^{2+} pumpes ut av cytosol via plasmamembranen og ER katalysert av Ca^{2+} -ATPase, og en plutselig økning virker som en sekundær budbringer. I planter finnes de høyeste konsentrasjonen av Ca^{2+} i vakuolene, hvor en elektrokjemisk protongradient over vakuolemembranen driver opptaket av Ca^{2+} via en Ca^{2+} - H^+ -antiport. Hos dyr kan hormoner gi åpning av Ca^{2+} -kanaler via den sekundære budbringeren IP_3 .

Fosfatidylinositol (PI) i plasmamembranen kan bli omdannet til fosfoinositider: fosfatidylinositol bisfosfat (PIP_2) og fosfatidylinositolfosfat (PIP)

Fosfolipase C spalter fosfolipider mellom hydroksylgruppen i glycerol og fosfatgruppen. Substrat for fosfolipase C er PIP_2 som spaltes til den løselige sekundære budbringeren IP_3 (inositol-1,4,5-trifosfat) og diacylglycerol (**DAG**). DAG er et lipid og forblir bundet til membranen. IP_3 er vannløselig, diffunderer i cytosol og åpner IP_3 -styrte kalsiumkanaler i endoplasmatiske retikulum og tonoplast slik at konsentrasjonen av Ca^{2+} øker i cytosol. Kalsium deltar i sammentrekning av muskler, overføring av nerveimpulser og aktivering av enzymer. Når hormonet vasopressin bindes til en reseptor aktiverer heterotrimert G-protein, og når α -subenheten dissosierer aktiveres fosfolipase C. Virkningen stoppes når IP_3 brytes ned av fosfataser og kalsiumgradienten gjenoprettes av Ca^{2+} -ATPase.

Ved bruk av de fluorescerende stoffene aequorin og fura2 viser det seg at kalsiumeffekten starter på et sted i cellen og brer seg som bølger i cellen. Disse kalsiumoscillasjonene kan være over på sekunder eller minutter.

Den sekundære budbringeren **syklisk ADP-ribose** (cADPR) kan gi endring i Ca^{2+} -konsentrasjon uavhengig av IP_3 , hvor cADPR bindes til og aktiverer ryanodin Ca^{2+} -kanaler (3-ryanodin er et stoff blokkerer kalsiumkanaler) i sarkoplasmatiske retikulum i dyr.

Noen protein kinaser blir aktivert av **Ca-kalmodulin**. Kalmodulin er bindingsseter for 4 Ca^{2+} og ved bindingen skjer det konformasjonsendringer som påvirker enzymer direkte eller via **Ca-kalmodulin-avhengig protein kinase** (CaM protein kinase) som fosforylerer threonin eller serin med tilhørende enzymaktivering. Kalmodulin er et evolusjonsmessig konservert protein bestående av to α -helikser, men finnes ikke i prokaryoter. Det er få CaM-proteinkinaser i planter. Viktige i planter er derimot **Ca²⁺-avhengig protein kinase** (CDPK) som kodes av multigenfamilier og deltar i

overføring av hormonsignaler ved stressresponser. ABA-indusert lukking av spalteåpninger skjer via CDPK, og det finnes i tillegg flere CDPK-relaterte protein kinaser (CRK).

Hos dyr kan DAG (diacylglycerol) aktiverer **protein kinase C (PKC)**. Inaktiv PKC finnes i cytosol. Ved binding av Ca^{2+} til PKC vil det skje konformasjonsendring og binding til PKC-reseptorprotein som frakter Ca^{2+} -PKC til plasmamembranen hvor den bindes til DAG. Hos dyr kan PKC fosforylere transkripsjonsfaktorer, ionekanaler og enzymer. PKC finnes i planter, men det ukjent om PKC blir aktivert av DAG. Et av enzymene som fosforyleres av PKC er MAP kinase kinase kinase som regulerer celledeling og differensiering.

Fosfolipase A₂ og fosfolipase D

Prostaglandiner, prostasykliner, tromboksaner og leukotriener lages i eicosanoid biosynteseveien som har likhetstrekk med IP₃-biosynteseveien, samt syntese av jasmonsyre som deltar i sykdomsrelaterte prosesser i planter. Biosyntesen av eicosanoider starter med kløyving av den umettede fettsyren arachidonsyre fra fosfatidylkolin katalysert av fosfolipase A₂ (PLA₂) og det andre produktet er lysofosfatidylkolin (LPC). Herfra er det to mulige biosynteseveier: syklooksygenase-avhengig vei eller lipoksygenase-avhengig vei. Planter inneholder lite arachidonsyre, men det er høyere innhold hos moser.

LPC kan regulere ionekanaler via protein kinase. Strømmen av Na^+ i hjertemuskelceller påvirkes av en signalvei med protein kinase C og tyrosin kinase. Protein kinase C blir aktivert av LPC uavhengig av fosfolipase C-veien.

Fosfolipase D (PLD) spalter fosfatidylkolin til IP₃ og fosfatidinsyre (PA). PA kan virke som en sekundære budbringer i planter via hormonet ABA.

NO - radikal og signalstoff i gassform

. **Intracellulære reseptorer** finnes i cytosol eller kjerne og binder transmittorer som kommer gjennom membranen. Signalstoffet **NO** (nitrogenmonoksid) er et radikal med kort levetid (halveringstid ca. 10 sekunder) og er en transmittor i cellene. NO lages fra aminosyren arginin når det er nødvendig katalysert av enzymet **NO syntase**:

$\text{arginin} + \text{O}_2 \rightarrow \text{NO} + \text{citrullin}$

NO diffunderer gjennom plasmamembranen og binder seg til et protein i cytosol som virker som NO-reseptor. Konsentrasjonen av syklisk GMP (cGMP) påvirkes av syntese katalysert av guanylat syklase og nedbrytning katalysert av cGMP fosfodiesterase. NO aktiverer syntese av cGMP. Enzymet guanylat syklase inneholder hem som binder NO og virker som en NO-reseptor. Når NO bindes skjer det en konformasjonsendring som aktiverer enzymet som omdanner substratet GTP til cGMP.

NO blir laget i endotelceller, løses og passerer raskt membranen over til celler i glatt muskulatur i nærheten. Den NO-induserte økningen i cGMP får cellene i glatt muskulatur til å avslappes. Nitroglycerin som brukes som middel mot hjertekrampe virker via NO. Det samme gjør potensmiddelet Viagra.

Glatt muskulatur har i tillegg til α -adrenerg reseptor en β -adrenerg reseptor koblet

til adenylat syklase, men inneholder ikke glykogen. Når konsentrasjonen av cAMP stiger aktiveres en cAMP avhengig protein kinase. Denne fosforylerer proteiner som gir avslapning i glatt muskelatur.

Signalveien for syn i øyet hos vertebrater

I øyet finnes tapper som registrerer fargesyn i lys og staver for monokromatisk lys i skumring. Stavene er tubulære celler som i spissen inneholder stabler med tettpakkete membransekker som minner om granastabler i kloroplaster.

Membranene inneholder **rhodopsin**, som er en 7-transmembranreseptor. Rhodopsin består av proteinet **opsin** kovalent bundet til det lysabsorberende **11-cis-retinal**.

Grunnen til at vi kan se er at når pigmentet retinal i cis-konfigurasjon i øyet mottar et foton skjer det en *cis-trans* konformasjonsendring, hvor retinalmolekylet dreier rundt en karbon-karbon dobbeltbinding og danner *trans*-retinal. Grunnen til at molekylet kan dreie rundt dobbeltbindingen er at bindende elektronorbital omdannes til antibindende elektronorbitaler. Denne konformasjonsendringen i retinal ved absorpsjonen av et foton gir en signalkaskade som ender i et aksjonspotensial som kommer fram til synsområdet i hjernen. I mørke lager enzymet guanylat cyklase høye konsentrasjon av cGMP i stavene fra GTP. Plasmamembranen inneholder cGMP-styrte Na⁺-kanaler, og i mørke er det åpne natriumkanaler, høy konsentrasjon av Na⁺ i cytosol og natrium depolariserer membranen i mørke. cGMP bindes til og åpner natriumkanaler som gir depolarisering av nervecellen til et membranpotensial ca. -40 mV. I lys blir opsin bundet til et heterotrimert G-protein kalt **transducin**.

Alfaenheten til transducin bytter GDP mot GTP og dissosierer fra komplekset. Alfa-subenheten aktiverer cGMP fosfodiesterase som bryter ned cGMP til 5'-GMP, konsentrasjonen av cGMP i cytosol synker, natriumkanalene i plasmamembranen lukkes og membranpotensialet synker til ca. -70 mV. Membranen blir hyperpolarisert, og et elektrisk signal hemmer frigivelse av neurotransmittor fra synapsene i stavcellene. Registrering av ett foton gir blokkering av hundrevis av natriumkanaler. Denne endringen i membranpotensial går til andre nerveceller og gir en registrering av lys i hjernen.

Tyrosin kinase og vekstfaktorer

Noen enzymtenkede reseptorer i dyr virker direkte og dette er vanligvis **reseptor tyrosin kinase** (RTK) som fosforylerer tyrosin i proteiner, og reseptor serin/threonin kinase med tilhørende fosfataser. Reseptor tyrosin kinase binder vekstfaktorer bla. nervevekstfaktorer og insulin. Transformerende vekstfaktor β -type reseptor (TGF β R) er en serin/threonin kinase (RSK). Plantereseptor kinaser (PRK) ligner på de tilsvarende reseptor tyrosin kinaser i dyr, men RTK og RSK finnes ikke i planter. Imidlertid er plantereseptor kinaser strukturelt like det man finner i dyr, men de er utviklet uavhengig av hverandre. Det finnes også reseptor celleoverflate protease.

Når ligander bindes til reseptor tyrosin kinase så gir dette autofosforylering. Ligander som binder seg til RTK er vannløselige eller membranbundete peptider, proteinhormoner, insulin eller epidermal vekstfaktor (EGF) og plateavledet vekstfaktor (PDGF). Den delen av reseptor tyrosin kinase som er inne i membranen, transmembrandomene, atskiller det hormonbindende sete på membranoverflaten fra det katalytiske sete på membransiden mot cytoplasma. Siden det bare er en

alfaheliks gjennom membranen skjer det ingen konformasjonsendring når ligander bindes. Binding av ligand gir derimot en dimerisering av reseptorer som ligger inntil hverandre, og som gjør at de katalytiske domenene kommer i kontakt med hverandre og fosforylerer hverandre gjensidig på tyrosin, autofosforylering. Det fosforylerte sete på RTK bindes til inaktive signalproteiner i cytosol, men signalproteinene blir aktivert ved fosforylering av tyrosin og kan derved videre aktivere transkripsjonsfaktorer som deretter går inn i kjernen og påvirker ekspresjon av gener.

En annen mulighet er en signalkaskade som starter med RTK via **monomert G-protein** kalt **RAS**. RAS finnes på den indre overflaten av membranen, virker som en molekylær bryter og starter en protein kinase som leder signal fra RTK til kjernen. RAS-reguleringsveien starter med at et hormon eller vekstfaktor bindes til RTK med påfølgende atkivering av RTK via dimerisering og autofosforylering av katalytisk sete.

Autofosforylering av RTK gir binding til proteinet **GRB2** som er assosiert med proteinet SOS, og GRB2-SOS blir bundet til det aktive fosforyleringssete på aktivt RTK. SOS binder inaktiv form av RAS som finnes på den indre overflaten av plasmamembranen.

Straks RAS bindes til SOS frigis GDP og byttes med GTP, og derved blir RAS aktiv og danner bindingssete for en løselig serin/threonin kinase kalt RAF som finnes i cytosol. Oppgaven til RAS er å feste **RAF** til membranen, som starter en kaskade av fosforyleringsreaksjoner kalt MAPK (mitogenaktivert protein kinase). MAPK-kaskaden er en rekke protein kinaser som sekvensielt fosforylerer hverandre. Fosfat fra MAPKKK (RAF) overføres til MAP kinase kinase (MAPKK) videre til MAP kinase (MAPK). MAPK går inn i kjernen og transkripsjonsfaktorer kan bli fosforylert. Disse transkripsjonsfaktorene kalles serum responsfaktor (SRF), og alle vekstfaktorer som kan bindes til RTK blir fraktet i blodserum. Serum responsfaktorer bindes til og regulerer serum responselementer.

Som alle G-protein inneholder RAS en inaktiv GDP-bindende form, en aktiv GTP-bindende form og GTPase som omdanner GTP til GDP. RAS tilhører en superfamilie av monomere GTPaser som har likhetsstrekk med alfa-subenheten i heterotrimere G-protein. RAS-superfamilien av monomere GTPase omfatter RAS, RAB, ARF, RAN, GEM, RHO og RAC. Plantene inneholder de fleste av disse unntatt RAS, siden plantene heller ikke har RTK. RAB regulerer intracellulær trafikk av membranvesikler. RHO og RAC er overflatereseptorer til aktin cytoskjelettet.

Hvis blodkar skades og må repareres gir blodplatene beskjed om reparasjon via eksocytose av plateavledet vekstfaktor ("platelet-derived growth factor", PDGF). Celler i blodkarveggen har reseptor for vekstfaktoren PGDF. Reseptoren har et ekstracellulært domene med tyrosin kinase aktivitet ut mot cytosol. Uten PGDF kommer ikke reseptoren i kontakt med proteiner med tyrosin som kan fosforyleres. Imidlertid har proteiner med et SH2-domene rett form slik at de kan bli fosforylert. Et slikt SH2-protein er en vekstfaktor resptorbindende protein 2 (GRB2) som tilkaller RAS. Aktiv RAS aktiverer en kjede av protein kinaser **mitogenassosiert protein kinase**. Mitogen vil si at det gir celledeling. En kinase som fosforylerer MAP kinase kalles MAP kinase kinase (MAPKK). MAPKKK aktiveres av RAS. Fosforylert MAP kinase går inn i cellekjernen og fosforylerer en transkripsjonsfaktor som igjen

aktiverer transkripsjonen av genet for cyklin D som deltar i celledeling, gir celledelinger som er med å reparerer blodkaret. PDGF er en av mange type **vekstfaktorer**, hvorav mange virker som reseptor tyrosin kinase. Gener som deltar i celledeling og cellevekst kan virke som et protoonkogen. Et **protoonkogen** er et normalt gen, men hvis det muterer kan det gi opphav til ukontrollerte celledelinger og kreft. Ved å skru av en vekstfaktor reseptor slutter celler å dele seg. RAS er en GTPase som regulerer celledeling og signalveier som påvirkes av vekstfaktorer, og som skruer seg av ved å hydrolysere GTP. Genet *RAS* kan også virke som et **onkogen**, først funnet i virus, seinere oppdaget i dyr. Hvis det skjer en mutasjon i *RAS* kan det bli laget en utgave av *RAS*-protein som ikke inneholder GTPase slik at GTP ikke blir hydrolysert og bryteren står på hele tiden og gir kontinuerlige celledelinger. Kontinuerlig aktiv *RAS* aktiverer celledelinger selv uten vekstfaktorer. Noen av krefttilfellene inneholder mutert *RAS*. *RAS* må farnesyleres for å virke og tipifarnib er en hemmer av protein farnesylase og virker mot noen kreftformer.

Parasitter som trypanosomer, malariaparasitt, leishmania, *Giardia lamblia* og *Entamoeba histolytica* er avhengig av farnesylering av proteiner og er blitt forsøkt behandlet med farnesylasehemmere.

FOS kan virke som et protoonkogen som kan gi opphav til kreft hvis det blir mutert. Proteinene *FOS* som blir laget fra genet *FOS* bindes til et fosforylert protein *JUN* (blir fosforylert av *MAPK*) og til sammen danner de en transkripsjonsfaktor *AP-1*. *FOS* og *JUN* er eksempler på leucin zipper transkripsjonsfaktorer.

Andre eksempler på protoonkogener er *MYC* og *MYB*.

Vekstfaktorer kan også aktivere et kalsiumsignal. Alkaloidet ryanodin kan binde seg til kalsiumkanaler.

Når man spiser et stort måltid stiger glukosekonsentrasjonen i blodet og mengden insulin øker. Insulin bindes til insulinreseptorer. Aktivering av insulinreseptoren gir økning i aktivering av protein kinase B som frakter glukosebærere til plasmamembranen. Mange celler har glukosebærere som frakter glukose over membranen og er aktive hele tiden. Muskel- og fettceller frakter de endocytete glukosebærerne fram til membranen bare når insulin er tilstede, og gjør at disse cellene kan ta opp glukose fra ekstracellulært medium og lagre det i form av glykogen eller fett. Siste trinn i transporten av glukose fra Golgiapparatet til endoplasmatisk retikulum er også avhengig av protein kinase B. Ved insulinavhengig diabetes kan ikke muskel- og fettceller ta opp glukose, noe som gir høy konsentrasjon av glukose i blodet. Glukose fraktes inn i røde blodceller med glukose uniport. Opptak av aminosyrer i epitelceller i tynntarmen skjer ved Na^+ -aminosyre kotransport.

Dyreceller

De fleste eukaryote celler er omgitt av en cellekappe (glykokalyx). Biologiske membraner har vært viktig for utvikling av liv, og består av en dynamisk struktur av lipider og protein. Lipidene i membranene er plassert i et dobbeltlag sammen med proteiner (flytende mosaikkmodell). Noen proteiner er sterkt bundet og integrert i

membranen ved å gå igjennom lipiddobbeltlaget, med hydrofile deler av proteinet på begge sider av membranen og en hydrofob proteinheliks gjennom membranen. Perifere proteiner er løst bundet til membranen. Fettet i membranen er fosfolipider, glykolipider og andre lipider, samt kolesterol. Kolesterol er viktig for strukturen i membranen, og er forkomponent for steroidhormoner.

Plasmamembranen (celleoverflatemembranen, plasmalemma) er **selektivt permeabel** og regulerer transport inn og ut av celler. Små uladete molekyler som oksygen, karbondioksid og vann, og fettløselige steroidhormoner kan gå relativt fritt gjennom membranene, men glukose og ioner som natrium, kalium og kalsium trenger aktive transportmolekyler. Vann går igjennom vannkanaler (**akvaporiner**).

Eksempler på transportproteiner er kanalproteiner og bærerproteiner.

Bærerproteiner sørger for aktiv transport mot en konsentrasjonsgradient. Natrium-kaliumpumpen er en ATP-avhengig transport av kalium og natrium hvor 2 stk. K^+ går inn i cellen for hver 3 stk. Na^+ som går ut. Et **membranpotensial** med ulik fordeling av ladninger på hver side av membranene lager en elektrisk gradient. Membranpotensialet er vanligvis fra -30 til -70 millivolt i forhold til utsiden.

Proteiner i membranene er enzymer og deltar i transport og signaloverføring.

Cadheriner er molekyler som gir kalsiumavhengig sammenklebing (adhesjon) av celler, f.eks. epitelceller i huden.

Aktiv transport ut og inn av celler kan skje ved eksocytose eller endocytose. Ved **eksocytose** skiller cellene ut produkter, f.eks. hormoner eller neurotransmittere, hvor stoffene omgitt av membraner er sekretoriske vesikler som integreres i plasmamembranen samtidig med at innholdet tømmes på utsiden av cellen. Plasmamembranen øker derved i størrelse, og må etterpå reduseres i størrelse. Celler med konstant sekresjon må returnere samme mengde membran tilbake til cellen.

Endocytose vil si at materiale tas opp i cellene. Ved **fagocytose** (cellespising) tar cellene opp større partikler som bakterier eller matpartikler. Eksempler på dette finnes hos protister og hvite blodlegemer hos virveldyr. **Pinocytose** (celledriking) vil si at cellene tar opp oppløst materiale. Celler tar opp kolesterol fra blodet, som fraktes som "low-density" lipoprotein (LDL), via **reseptormediert endocytose**. Rester av kolesterol i blodet kan feste seg til celler i arterieveggen som har LDL-reseptor.

Diffusjon er transport langs og ned en konsentrasjonsgradient. **Eksergoniske reaksjoner** er spontane og frigir energi (Gibbs fri energi (ΔG) er negativ.

Endergoniske reaksjoner er energikrevende (Gibbs fri energi (ΔG) er positiv.

Diffusjon er en eksergonisk reaksjon. En endergonisk reaksjon kan bli drevet ved kobling til en eksergonisk reaksjon ved bruk av ATP. Hydrolyse av ATP har Gibbs fri energi (ΔG) lik -32 kJ mol^{-1} . **Osmose** er diffusjon av vann over en selektivt permeabel membran. Glukose permease frakter glukose inn i røde blodlegemer.

Vakuoler er væskefylte hulrom omgitt av en membran og har forskjellige funksjoner.

Dyreceller er omgitt av et ekstracellulært matris med polysakkarider og protein (kollagen) som til sammen gir proteoglykan. Protein gir strekningsstyrke og elastisitet i vevet, mens polysakkaridene gir en hydratisert gel som fyller hulrommene.

Fibronektin er et glykoprotein som organiserer matris.

Lysosomer er vesikler med fordøyelsesenzymmer og har pH ca. 5. Primære lysosomer er vesikler fra Golgiapparatet og hydrolytiske enzymer lages på grynet

endoplasmatisk retikulum og fraktes inn i lumen.

Peroksysomer er små organeller som lager giftig hydrogenperoksid som må nedbrytes, og finnes i celler som lagrer, lager eller nedbryter lipider. Peroksysomer i lever og nyrer nedbryter giftige stoffer.

Cellekoblinger og kontakt mellom celler

Cellene står i nær kontakt med hverandre via intercellulære koblinger. Cellevegger er en ekstracellulær matriks av sukkerpolymere. Hos plantene er det ekstracellulære mediet tynnere enn det intracellulære og celleveggen hindrer plantecellene i å sprekke. Dyr må derimot ha samme osmolaritet på inn- og utsiden av cellene. Plantecellene er koblet sammen med plasmodesmata, men dyrecellene er koblet sammen på tre forskjellige måter:

1. **Tighte koblinger** med tett segl og binding mellom membraner i naboceller f.eks. overflateepitelceller i tynntarmen. Dette gjør at materiale ikke kommer mellom cellene, noe som er viktig i tarmen. Tighte koblinger finnes også i blod-hjernebarriæren og hindrer at uønskede stoffer kan gå fra blodet over til hjernen.
2. **Gapkoblinger** er små broer som tillater kommunikasjon mellom celler, og ioner og små molekyler kan passere. Gjør at elektriske spenninger kan endres raskt. Kanaler er vannfylte rør gjennom membranen hvor to gapkoblinger møtes. Gapkoblinger i hjertet overfører elektrisk signal raskt mellom cellene i hjertemuskelen og danner en ionestrøm som gir synkroniserte hjerteslag. Gapkoblingene består av transmembranproteinet **connexin**, og seks forskjellige connexiner danner en klynge som åpner og lukker kanalen (gapet) mellom dem, og har lik funksjon som plasmodesmata hos planter, men er mindre. Insulinproduserende celler i bukspyttkjertelen henger sammen med gapkoblinger.
3. **Ankerkoblinger** med ankerceller tillater at vevet strekkes, og gjør at vevet motstår mekanisk stress. Epiteceller bindes til andre celler med ankerkoblinger. **Cadheriner** er en gruppe transmembran ankerprotein. Desmosomer er festepunkter mellom celler og er festet til intermediære filamenter inne i cellene.

Ian Wilmut ved Roslin Institute i Edinburgh i Skotland klonet i 1996/97 sauen Dolly (navn etter Dolly Parton). Det ble brukt cellekjerne fra saueembryo i blastocystestadiet. Celler fra juret ble dyrket opp i cellekultur og fusjonert med en eggcelle fra metafase II uten kjerne. Cellene delte seg til et embryo og ble satt tilbake i sauen. Seinere har mange dyr blitt klonet. Suksessraten er imidlertid lav og de klonete dyrene kan ha genetiske defekter. Dolly utviklet virusindusert lungekreft og artritt. Skrekkscenariet har vært human **reproduktiv kloning** for å skape like mennesker. Ved human **terapeutisk kloning** dupliseres celler til medisinske eller vitenskapelige formål. Det benyttes embryoer som blir til overs etter *in vitro* fertilisering (IVF).

Totipotente stamceller kan gi opphav til alle celler i et individ. Pluripotente stamceller kan gi opptil til mange, men ikke alle celletyper. Neurale stamceller kan danne hjerneceller. Beinmargstamceller kan gi alle typer blodceller. Det arbeides også med terapeutisk kloning insulinproduserende celler i pankreas som kunne tenkes å bli brukt til behandling av sukkersyke, samt hjerneceller som lager dopamin som kanskje kan bli brukt i behandlingen av Parkinsons sykdom.

Cellesyklus med sjekkpunkter

Celledelingssyklus er stadiene en celle passerer gjennom fra en celle blir laget ved celledeling til den deler seg på nytt. Hudceller, celler på innsiden av tarm, og celler i blodmargen deler seg gjennom hele livet. Skjelettmuskelceller og lysfølsomme celler i øyet deler seg ikke etter at de er laget. Cellesyklus kontrolleres av en rekke proteiner som lages fra celledelingsgener.

Cellesyklus består av flere faser. S-fase med syntese av DNA i **DNA replikasjon** og syntese av histoner. S-fasen blir etter et gap (G2) etterfulgt av M-fase med mitose og cytokinese. Mitosen er den korteste av alle fasene i cellesyklus sammenlignet med den lange interfase. Overgangen fra S til M skjer bare en gang per syklus. Imidlertid er S og M atskilt av to G-faser (G1 (første gap) og G2 (andre gap)) som kontrollerer og styrer overgangen mellom de forskjellige fasene. Cellesyklus fra mitose (M) til mitose blir således: M-G1-S-G2-M.

De fleste cellene i kroppen er ferdig differensiert og terminert, og er hvilende celler av typen G0 som ikke lenger kan dele seg, f.eks. nerveceller (gliaceller kan dele seg på nytt). I fasen G2 (andre gap) dobles celledelingsmassen. Man skjønner lett at celledelinger som skjer uten kontroll kan bli katastrofal for organismen. Derfor er det nøye kontroll med hvilke celler som kan passere fra fasen G2 og gå inn i mitosen (M). I celledelingen kondenseres DNA i kromosomene, og kjernemembranen og nukleolus forsvinner midlertidig. Cytoskjelettet omorganiseres og danner mitotisk spindel, og membraner i endoplasmatiske retikulum og Golgiapparatet deler seg opp.

Cytoplasma inneholder flere faktorer som bestemmer om celler skal dele seg, f.eks. M-fase promoterende faktor (MFPF). Viktige i denne sammenhengen er **protein kinaser** som fosforylerer proteiner som er med å regulere celledelingen. MFPF er en **cyklinavhengig protein kinase** (Cdk1) og cyklin B er reguleringsenheten til proteinet. Cdk1 må raskt skrus av eller så blir det flere celledelinger (mitoser). Uten cyklin B er Cdk1 ikke aktivt, som som en ekstra sikkerhet blir cyklin B fosforylert av en protein kinase. Wee1 som fosforylerer aminosyrene threonin og tyrosin på Cdk1 hindrer binding av ATP til kinasen Cdk1. Like etter mitosen blir konsentrasjonen av cyklin B meget lav, men cyklin B lages på nytt og konsentrasjonen av cyklin B øker, men dette er en inaktiv form som er inaktivert pga. av fosforylering via en protein kinase. Ved overgangen fra G2 til mitosen (M) så fjernes fosfor fra cyklin B av en Cdc25.

Hva er det som bestemmer når en celle skal starte syntesen av DNA ved overgangen fra G1 til S ? Celler som har fått replikert sitt DNA hindres i å replikere DNA en gang til ved at cellen dør ved apoptose i stedet for at det skal dannes celler med polyploidi. Overgangen fra G1-fase til S-fase styres av tre cyklinavhengige proteinkinaser Cdk2 (cyklin E), Cdk4 (cyklin D) og Cdk6 og disse er aktive bare når de er koblet til et cyklin jfr. Cdk1 og koblingen til cyklin B.

Replikasjonen av DNA er avhengig av spesielle proteiner og transkripsjonen av disse aktiveres av transkripsjonsfaktoren E2F-1. I celler som er delingsinaktive er transkripsjonsfaktoren E2F-1 bundet til RB. Cdk4 fosforylerer RB for å hindre dem i å binde seg til E2F-1, og E2F-1 kan derved binde seg til en enhancer og aktivere transkripsjonen av DNA. Vekstfaktorer stimulerer celledeling ved å aktivere

transkripsjonen av genet som koder for cyklin D som igjen kan aktivere Cdk4. Straks S-fasen har begynt blir RB defosforylert.

Cdk'ene i G1-fasen blir hemmet av **cyklinavhengig proteinkinase inhibitorprotein** (CKI). Det finnes mange CKI og alle stopper celledelingen. F.eks. Ved heling av sår så stopper celledelingen når de nylagete sårhelingscellene kommer i kontakt med hverandre. Ved kreft og ukontrollert celledeling så er denne kontakthemmingen satt ut av drift.

Transkripsjonsfaktoren p53 lager et inhibitorprotein CKI kalt p21^{CIP1}.

Transkripsjonsfaktoren p53 lages hele tiden og brytes samtidig ned kontinuerlig, men ved skade av DNA så stopper nedbrytningen av p53. Når konsentrasjonen av p53 øker så starter reparasjonen av DNA. p21^{CIP1} lages for å hindre replikasjon av cellene eller det sørger for at celler blir sendt til celledød (apoptose).

Transkripsjonsfaktoren p53 er et protein med molekylvekt 53 kilodalton (53.000 dalton).

Apoptose (programmert kontrollert celledød)

Hos et menneske blir det laget 30 trillioner ($30 \cdot 10^{12}$) celler fra et befruktet egg, og celledelinger av enkelte typer celler fortsetter gjennom hele livet. Ved fysisk skade ved kutt og sår dør celler ved **nekrose**. I en skadet celle synker innholdet av ATP og konsentrasjonen av natrium (Na^+) og kalium (K^+) blir ute av kontroll siden ATPasene mangler energi. Cellene sprekker ved nekrose (lyseres) og celleinnholdet renner ut og gir betennelse i vevet.

Apoptose er noe annet enn nekrose og er en programmert, styrt og kontrollert celledød. Cellene som går inn i apoptose lyseres ikke og lager ikke betennelse, og spises av makrofager. Siden celler lages hele tiden må noen av dem også dø. Celler som organismen ikke trenger dør. Det er bare celler som mottar vekstfaktorer fra andre celler som overlever. Celler får beskjed om å dø når en ligand bindes til et dødsdomene på cellen. Ved apoptose blir cellemembranen pakket inn i membraner og deler av DNA pakkes inn i deler av kjernemembranen og makrofager spiser og fordøyer membranpakkene og innholdet. **Caspase** er hydrolyttiske proteaser som nedbryter proteiner, inneholder cystein, og kutter protein ved aminosyren aspartat. Alle celler inneholder caspase, men de er inaktive pga. et hemmende domene. Når en protease fjerner det hemmende domene så blir caspase aktiv og starter nedbrytning av proteiner.

Hvite blodlegemer i immunapparatet kjenner igjen celler som er infisert med virus pga. virusproteiner på overflaten av cellen, og derved aktiveres Fas som er en dødsdomenereseptor. Når en ligand bindes til dødsdomene blir caspase 8 aktivert. Caspase 8 hydrolyserer og aktiverer effektorcaspase som deretter starter nedbrytningen av den virusinfiserte cellen.

Reseptor tyrosin kinase aktiverer enzymet fosfatidylinositol 3-kinase som danner ladet lipid fosfoinositid-3-fosfat. Lipid fosfoinositid-3-fosfat får proteinkinase B til å bindes til membraner hvor proteinkinase B blir fosforylert og aktivert. Proteinkinase B fosforylerer bcl-2 familien av proteiner koblet til den dødspromoter BAD. Fosforylert BAD er inaktiv og bundet til et protein 14-3-3 kompleks. Aktivt BAD forårsaker hull i mitokondriemembranen og gjør at cytokrom c kommer ut i cellens cytosol. Cytokrom c i cytosol aktiverer caspase 9 som igjen hydrolyserer og aktiverer effektor caspase.

Stressete mitokondrier slipper ut cytokrom c som kommer i kontakt med caspase,

noe som fører til celledød. Hvis dette skjer i celler i hjerte eller hjerne, som ved hjerte- eller hjerneslag kan dette være katastrofalt.

Konsentrasjonen av transkripsjonsfaktoren p53 øker når DNA skades og sørger for DNA reparasjon. Samtidig øker transkripsjonen av bcl2-familien proteinet BAX. BAX får cytokrom c til å komme ut av mitokondriene og ut i cytoplasma og induserer apoptose. Celler som ved solbrenthet ikke kan repareres gjennomgår apoptose og flapper av i store flak. Celledød via protein kinase p38 ligner MAP kinase og aktiveres av cellostress (stressaktivert protein kinase). Protein kinase p38 fosforylerer transkripsjonsfaktoren p53 og hindrer nedbrytning av p53. Transkripsjonsfaktoren p53 gir økt syntese av BAX.

Hos rundormen *C. elegans* hvor man kjenner celleantallet nøyaktig er det 558 celler når rundormen er klekket, og dette øker til 959 celler og 131 celler gjennomgår apoptose.

DNA kan repareres ved baseutkutting katalysert av glykosylase og flere andre reparasjonsmekanismer. Fotolyaser er fotoreaktiveringsenzymmer som stimuleres av blått lys og fjerner thymindimere dannet ved UV-skader. Xeroderma pigmentosum skyldes feil i utkningsreparasjonen av thymindimere pga. mangel på en UV-spesifikk eksonuklease, og blir derved ekstremt følsomme for UV-lys.

Celledeling (mitose)

I mitosen lages to like celler som har det samme celleinnhold. Dette er en koreografi i fem stadier med flytende overgang etter hvordan kromosomene ser ut og hvordan mitotisk spindel flytter kromosomene. Ved mitosen overføres en kopi av hver av foreldrekromosomene til dattercellene.

Intefase utgjør ca. 90% av tiden i celledyklus.

I **profase** blir trådene med kromatin mer kompakte og synlige. Ved kondenseringen deltar proteiner kalt **kondensiner** som er avhengig av ATP. Hvert kromosom består av to **kromatider** med identisk dobbeltrådet DNA sekvens. DNA har blitt replikert i interfase, og hvert kromosom består av to identiske søsterkromatider som er festet til hverandre med proteiner. Mer kompakte kromosomer hindrer brudd og tvinning av DNA. **Centrosomet** som ligger i cytoplasma starter med å lage en mitotisk spindel. Nukleolus forsvinner.

I **prometafase** brytes kjernemembranen ned. Kromosomene kommer i kontakt med spindelapparatet med mikrotubuli. Bunter med mikrotubuli laget i et **mikrotubuliorganiserende senter** (MOS) går fra hver pol i cellen mot ekvatorialplanet i cellen hvor kromosomene befinner seg. Dyreceller har **centrioler** i MOS. På kromosomene er det en innsnevring kalt **kinetochor** dannet rundt et område med satelitt DNA (**centromer**) som gir feste til spindelapparatet.

Metafasen er stabil med to typer mikrotubuli, de som går fra pol til pol i cellen og de som går fra kromatidene til polene. Kromosomene befinner seg fremdeles ved ekvator (metafaseplate), og centrosomene befinner seg ved hver sin pol i cellen.

Anafasen starter med atskillelse av parvise kromatider. Det skjer en degradering av proteinet **kohesin** som limer sammen kromatidene. Mikrotubuli blir kortere og drar kromosomene mot polene og går ut i V-form fra kinetochoren med spissen først, noe som gir minst mulig motstand og mest mulig strømlinjeform når de nå tidligere kromatidene er blitt til ferdige nye kromosomer. I slutten av anafasen har hver pol en fullstendig samling av hvert sitt sett av kromosomer.

I **telofase** blir kromosomene mindre kompakte. Spindelapparatet forsvinner. Kjernemembranen gjendannes og Golgiapparatet, endoplasmatiske retikulum og nukleolus kommer tilbake, og det er dannet en kopi av den opprinnelige cellen.

Cytokinese og deling av cytoplasma vil si at cellene deles ved en **kløyvingsfure** som dannes av aktin med motorproteinene myosin II som avsnører midten av cellen. Hos planteceller dannes i stedet en fragmoplast ved ekvator som gir ny cellevegg.

Kromosomene blir kortere for hver replikasjon. Kromosomene har **telomere** med repetert 5'-TTAGGG-3' som lager en dupleks med løkke bakover. Ved normal aldring blir telomere kortere ved hver DNA-replikasjon og dette gir etter hvert replikasjonshemming. Kjønnsceller eldes ikke på samme måte ved celledeling og telomerlengden beholdes via en **telomerase** som binder seg til enkeltrådet 3'ende. Kreftceller kan inneholde telomerase.

Reduksjonsdeling (meiose)- halvering av kromosomtall

Kroppens celler kan inndeles i de diploide somatiske cellene og haploide kjønnscellene. De reproduktive cellene (gametene) kalt spermceller og eggceller har hos mennesket 23 kromosomer. Kjønnscellene dannes i en reduksjonsdeling (meiose I og II). Det lages en meiotisk spindel og meiosen er delt inn i flere faser. Meiosen går over lang tid, spesielt **profase I** varer lenge. Maternale (hunn) og paternale (hann) kromosomer, hver bestående av to kromatider, legger seg ved siden av hverandre. I profase I dannes **overkrysning (chiasmata)** og maternalt DNA overføres til paternalt DNA og *vice versa* via **rekombinasjon**. Videre i meiose II gir dette kromosomer som er satt sammen av genmateriale fra både hann og hunn. I **metafase I** legger kromosomene seg i metafaseplanet ved cellens ekvator. I **Anafase I** atskilles homologe kromosompar, men denne er forskjellig fra mitosen så kromatidene henger sammen. De to kjernene fra **telofase I** og **cytokinese I** forsvinner raskt, **profase II** er kort. **Metafase II** og **anafase II** er likt som for mitose og kromatidene skiller lag og etter **telofase II** og **cytokinese II** er det fra en celle blitt laget dannes fire haploide gameter i en tetrade som blir fire spermatider hos hannen. Hos hunnen dør tre av cellene ved kontrollert celledød og blir til tre små **polarlegemer** som desintegrerer og en oocyt. Hver gamet er kopi enten fra enten hannen eller hunnen, men det har skjedd overkrysning (chiasmata) og rekombinasjon. Uten overkrysning vil genene være lenket fra en generasjon til den neste. Jo tettere genene ligger sammen desto mindre sannsynlig er det at det dannes chiasmata mellom dem. Et stort antall kromosomer gir også økte kombinasjonsmuligheter og variasjon i kjønnscellene.

Genetikk hos menneske

Homo sapiens har 46 kromosomer i diploide somatiske celler, 2x 22 autosomer og 2 kjønnskromosomer (XX hos kvinner og XY hos menn). Autosomer har gener med to alleleler, menn har bare ett X-kromosom og er hemizygot for X-bundete gener. Genomet i cellekjernen består av 3.2 milliarder ($3.2 \cdot 10^9$) basepar, hvorav mindre enn 2% er kodende sekvenser. Anslaget over hvor mange gener vi har varierer, men man antar ca. 21.000 gener. Et gjennomsnittelig gen har ca. 27.000 basepar, men kan variere fra 1000 til 2.4 millioner basepar. Proteiner varierer i størrelse fra 100 til 5000 aminosyrer. Ca. halvparten av genomet er repeterte sekvenser. Områder som ligger nær gener er rike på GC, mens områder rike på AT ligger lenger unna gener. 99.9% av genomet er likt hos alle mennesker, men det finnes minst to millioner enkeltbasepolymorfier, og mange av disse regner man med kan gi forklaring på hvorfor vi har forskjellige egenskaper. Bortsett fra eneggete tvillinger er ingen mennesker genetisk helt like. Hvert individ er unikt. Genene er heller ikke jevnt fordelt. På kromosom 19 er det masse gener, men kromosom 8 karakteriseres som en genørken med få gener. Y kromosomet har færrest gener (ca. 231) og kromosom 1 har flest gener (ca. 2968). Mange gener er uten kjent funksjon. I framtiden vil forsikringsselskaper og arbeidsgivere være interessert i hvilke genanlegg vi bærer med oss.

Aktiviteten til gener kan modifiseres ved genomisk rearrangering med fysiske endringer i genet, noe som benyttes i utviklingen av immunsystemet og antistoffer. Hvis individet trenger store mengder genprodukt så kan et gen bli kopiert og oppformert under evolusjonen for å dekke etterspørselen.

En somatisk celle hos menneske har 46 kromosomer og hvor antallet halveres til 23 kromosomer i kjønnscellene i meiosen. Kromosomene ordnes i syv grupper etter form og størrelse. 22 kromosompar er like hos kvinner og menn og kalles **autosomer**. Det siste paret er **kjønnskromosomer** og er XX hos kvinner og XY hos menn. 46 kromosomer er en karyotype som er karakteristisk for de fleste celletyper. Disomi er to utgaver av hvert kromosom og er det normale. Polyploidi som er vanlig hos planter er sjelden i dyr. Et ekstra eller et mindre kromosom enn normalt kalles **aneuploidi**. Aneuploidi med uregelmessig fordeling av kromosomene i dattercellene skyldes nondisjunksjon og skjer både for autosomer og kjønnskromosomer, og skjer vanligvis i meiose I eller II. Aneuploidi ender ofte i spontanabort. Aneuploidi for kjønnskromosomer gir ofte mindre dramatiske effekter. F.eks. er det mulig å kompensere for ekstra X-kromosomer ved å lagre dem som Barr-legemer nær kjernemembranen. I noen tilfeller kan det finnes bare en kopi av et kromosom (**monosomi**) og denne tilstanden er letal. I noen tilfeller kan det også finnes et ekstra kromosom (**trisomi**). Vanligvis er også dette dødelig. I 1866 oppdaget J. Langdon Down en sykdom som skulle vise seg å skyldes trisomi for kromosom 21, kalt **Down syndrom**. Feil pga. primær nondisjunksjon for kromosom 21 gjør at disse ikke atskilles i meiosen når egget dannes. Personer med Down syndrom har karakteristisk ansiktsform, er blide, men har mental retardasjon, selv om graden varierer, og de kan være spesielt utsatt for andre sykdommer. Sannsynligheten for å få barn med Down syndrom øker med alderen, men forholdsvis flere med Down syndrom blir født av yngre kvinner. Patau syndrom (trisomi 13) og Edwards syndrom (trisomi 18) gir tidlig død. Translokasjoner er flytting av genstykker fra et til et annet kromosom. Mange spontanaborter har kromosomfeil. Translokasjon ved at en del

av et kromosom fester seg til et ikke homologt kromosom kan gi delesjon, hvor en del av kromosomet mangler, eller duplikasjon. Store delesjoner er letale. En liten andel av personer med Down syndrom har 46 kromosomer, hvor den lange armen på kromosom 21 er translokert til kromosom 14. Individuer med **cri du chat syndrom** har lite måneformet fjes, kattaktig gråt, og skyldes at en del av den korte armen på kromosom 5 mangler.

Kronisk myeloid leukemi, hvor hvite blodlegemer fra beinmargen har celledelinger som er ute av kontroll skyldes en kromosomtranslokasjon mellom kromosom 9 og 22. Dette fører til sammenkobling av halvparten av genet *bcr* på kromosom 22 og halvparten av genet *abl* på kromosom 9. Det fusjonerte genproduktet gir høy tyrosinaseaktivitet.

Alleler er forskjellige utgaver av samme gen som finnes på samme sted (loci) på homologe kromosomer. Diploide celler har to alleler hvor hvert gen. I populasjonsgenetikk studeres den genetiske variasjonen i populasjoner. Alle populasjoner har en genpool som består av alle alleler for alle loci i genomet. Genotypefrekvensen er andelen av en bestemt genotype i populasjonen. Summen av alle genotyper har frekvens lik 1. Fenotypfrekvensen er andelen av en bestemt fenotype i populasjonen. Allelfrekvensen er andelen av et spesifikt allel i populasjonen. Ved genetisk likevekt i en populasjonen endrer ikke allelfrekvensen seg. Dette ble oppdaget av Godfrey Hardy og Wilhelm Weinberg, og kalles **Hardy-Weinberg likevekt**.

For to alleler av et gen, *A* og *a*, er summen av frekvenser lik 1. Hvis *p* er frekvensen for allel *A* og *q* er frekvensen for allel *a* har vi at $p+q = 1$. For to alleler har vi

$$(p+q)^2 = 1$$

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

p^2 angir frekvensen for de dominante homozygotene *AA*, $2pq$ er frekvensen for heterozygotene *Aa* og q^2 er frekvensen for de recessive homozygotene *aa*.

Likevekten gjelder for store populasjoner med tilfeldig parring hvor alle individene har lik mulighet til å parre seg, parringen skjer tilfeldig og det skjer ingen mutasjoner. Allelfrekvensen i små populasjoner kan endre seg ved genetisk drift. **Genetisk drift** er tilfeldige hendelser som endrer allelfrekvensen, og hvis det er få individer i populasjonen kan sjeldne alleler tapes ved en tilfeldighet. Evolusjon er avvik fra Hardy-Weinberg likevekten, hvor det skjer en endring i allelfrekvensen fra en generasjon til den neste ved mikroevolusjon. Hardy-Weinberg likevekt er sjelden hos dyr, siden det foregår evolusjon ved genetisk drift, mutasjoner, genflyt og ikke-tilfeldig parring. Hvis parringen påvirkes av fenotypen gir dette en evolusjonær forandring. Hvis det skjer parring oftere med individer i nærmeste omkrets kan dette medføre innavl og innavlsdepresjon som øker antall homozygoter. Hos dyr kan matmangel, sykdom og predasjon gir endring i populasjonsstørrelsen, en flaskehals, men når populasjonen øker igjen kan allelfrekvensen bli annerledes. Dette kalles grunnleggereffekt, hvor få individer danner grunnlaget for en ny populasjon. Få individer av en stor populasjon kan grunnlegge en ny. Geparden er en populasjonen med genetisk like individer. Dette skaper lite variasjon, og geparden kan derved risikere å dø ut pga. av innavlsdepresjon. Dette er alltid et problem med små populasjoner av utrydningstruete dyr, og er et viktig aspekt innen bevaringsbiologi. Genflyt er migrasjon av parringsklare individer fra en populasjon til en annen. Dette gir økt variasjon og motvirker genetisk drift.

Naturlig utvalg (seleksjon) gir økt adaptasjon og endring i allelfrekvens.

Stabiliserende seleksjon favoriserer normaltypen på bekostning av ekstremtypene. Fødselsvekten er ikke for stor og ikke for liten. Endringer i det ytre miljøet kan favorisere ekstremtypene. Nebbtypen hos fugl endrer seg etter om maten er insekter, små frø eller store frø. Det er vanligvis genetisk polymorfi i en populasjon, men mange polymorfier gir ikke utslag på fenotypen.

Hva med menneskene, har evolusjonen stoppet opp for dem ?, er et spørsmål som man kvier seg for å spørre. Svaret er sannsynligvis Ja, fordi den kulturelle evolusjonen har gjort at vi har fjernet oss fra naturlovene som gjelder andre dyr. Imidlertid har vi den samme hundrevis av millioner av år gamle evolusjonshistorien felles med andre dyr, fram til vår kulturelle evolusjon hadde sin begynnelse.

De fleste genetiske sykdommer skyldes muterte recessive alleler på autosomer. Hvis begge foreldrene er heterotrofe bærere av det sykdomsfremkallende gen er det 25 % sannsynlighet for at det skal bli et dobbeltrecessivt barn for angjeldene gen. En heterozygot med bare ett mutert allel får som regel bare 50% av normalt nivå av angjeldende genprodukt.

Det er en **genetisk preging** fordi det er forskjellig om et gen kommer fra mor eller far. Hvis det skjer en spesiell delesjon på kromosom 15 hos mor kan dette gi Angelman syndrom, et tynt barn med utpreget kjeveparti. Hvis derimot den samme spesielle delesjonen på kromosom 15 skjer hos far utvikles Prader Willi syndrom, et kort, tykt barn med små hender og føtter.

Kusine- og fetterekteskap øker sannsynligheten for at en bærer av recessiv genetisk sykdom skal få barnebarn med ensydom med genetisk årsak, dvs. at det blir barn med homozygote dobbeltrecessive alleler for et sykdomsfremkallende allel, selv om sannsynligheten er relativt liten.

Kjønnskromosomer

Kjønnskromosomene hos mennesker er av typen XX (kvinne) og XY (mann). Spermcellene kan inneholde X eller Y. Hos kvinner blir det ene X-kromosomet inaktivert og kan observeres som **Barr legeme** ved at det forblir festet til kjernemembranen. Ett gen i Barr-kromosomet er aktivt og kalles *xist* - X-inaktiv spesifikt transkript og koder for RNA. Hvis ikke X-kromosomene atskilles i meiosen hos kvinnen vil det bli laget gameter med XX og noen uten kjønnskromosomer 0. Hvis XX krysses med en X gamet dannes karyotypen XXX som er en kvinne med to Barr legemer. Hun er steril, men ellers normal. Hvis XX krysses med Y blir det XXY som er en høy steril mann med små testikler med kvinnelige trekk som bryster og ofte med redusert mental kapasitet (**Klinefelters syndrom**). Kombinasjonen 0Y er dødelig da det ikke går an å leve uten X. X0 med bare ett kjønnskromosom blir en steril kvinne (**Turners syndrom**) hvor ytre og indre genitalia ikke er ordentlig utviklet.

Hvis ikke Y kromosomene atskilles blir det YY gameter. Kombinasjonen XYY blir fertile relativt normale menn.

Rød-grønn **fargeblindhet** er kjønnsbundet. Menn har bare ett locus på kjønnskromosomet, og en mann som får et kjønnskromosombundet resesivt allel fra moren vil uttrykke det. Derfor får menn flere kjønnsbundete sykdommer enn kvinner. Hemofili, hvor et protein for blodlevring mangler, er kjønnsbundet. Det samme er Duchenne muskeldystrofi, som skyldes mangel på muskelproteinet dystrofin.

Kjønnskromosomene hos insekter som gresshopper, kakerlakker og sirisser er av typen XO, hvor hunnen er XX og hannen er XO. Kjønnnet avgjøres av om spermen har X eller ikke.

Fugl, fisk og sommerfugl har et kjønnsystem ZW hvor hannen er ZZ og hunnen er ZW.

Bier og maur har et haplodiploid system hvor hunnen kommer fra befruktete egg og blir diploid, mens hanner kommer fra ubefruktete egg og blir haploid, altså uten far.

Albinisme uten pigment i hår og hud er autosomal recessiv for et gen.

Multiple alleleler, blodtyper, og genetiske sykdommer hos mennesker

Et gen kan ha **multiple alleler** (genutgaver) i en populasjon. Det er mange overflateantigener på blodcellene. Hos mennesket er det multiple alleler for et enzym som hekter sukker på fettmolekyler på overflaten av røde blodlegemer. Disse suktermolekylene virker som overflateantigener, f.eks. **ABO** (AB-null-systemet). Antistoffene fra blodet kan få forskjellige antigentyper til å agglutinere. Allel *B* gir påheking av galaktose. Allel *A* hekter på galaktosamin og allel *O* (null) gir ingen påheking av sukker. Ingen av allelene er dominante slik at begge gir effekt. Allelene *A* + *B* gir både galaktose og galaktosamin og begge uttrykkes hos heterozygoter (kodominante). Dette gir en inndeling i blodgruppene ABO, oppdaget av Landsteiner. Blodtype A - Har A antigener og lager anti-B antistoffer. *AA* homozygot og *AO* heterozygot har begge galaktosamin.

Blodtype B - Har B antigener og alger anti-A antistoffer. *BB* homozygot eller *BO* heterozygot har begge galaktose.

Blodtype AB - Har A og B antigener, og lager ikke antistoffer. *AB* heterozygot og har begge typer sukker som virker som antigener. AB er universalmottaker av blod siden de lager hverken antistoff A eller antistoff B.

Blodtype 0 - Har verken A eller B antigener, og lager anti-A og anti-B antistoffer. *OO* homozygot og mangler sukker. Blodtype 0 er universaldonor med ingen overflate antigener.

For å teste om man kan motta blod gjøres en forlikelighetstest.

Ca. 85% av alle voksne har et antigen kalt **Rhesusfaktor** på røde blodceller (Rh+).

Navn etter oppdagelsen i Rhesus aper. Rhesusnegative (Rh-) mangler

overflatemarkører. Hvis blodceller med Rh- kommer i kontakt med Rh+ vil

immunsystemet lage antistoffer mot antigenet. Hvis en Rh- hunn får barn med en

Rh+ hann kan noe blod fra et Rh+ barn passere placenta (selv om de to kretsløpene er atskilt) og gi antiRh antistoffer som kan gi i sjeldne tilfeller *erythroblastosis fetalis*.

Morens antistoffer kan krysse placenta og ødelegge røde blodceller med Rh+.

Problemet er størst for barn nummer to pga. sensitisering og dannelse av hukommelsesceller i det første svangerskapet.

MN-blodgrupper kan aktivere produksjonen av antistoffer hvis de blir injisert i kanin eller marsvin. Mennesker lager ikke antistoffer mot MN slik at det har ingen betydning ved blodtransfusjon, sammenlignet med ABO-systemet. MM lager antigen M, NN lager antigen N, og MN lager både antigen M og N.

Brune og blå øyne

Brune øyne skyldes et brunt øyepigment og kodes av et dominant gen for brun farge (*BEY*) på kromosom 15. Det betyr at kombinasjonene *BEYBEY* og *BEYbey* begge gir brune øyne. For dobbeltrecessive individer med *beybey* vil *GEY* på kromosom 19 som koder for grønne øyne gi barn med grønne øyne. Grønne øyne er recessiv i forhold til brun og sees bare når brunt pigment ikke er tilstede. Blå øyne er recessiv i forhold til både brune og grønne øyne.

Cystisk fibrose

Et recessivt homozygot allel gir cystisk fibrose. Individene får et tykt seigt slim i luftveier og kjertelkanaler. Dette ødelegger bl.a. ciliene på overflaten i luftveiene som derved ikke fjerner bakterier og sopp sporer. Dette skyldes en mutasjon i et gen som koder for ionetransport av klorid over membraner og gir en feil i kloridtransporten. Det er en feil i foldingen av ionekanalene for klorid slik at klorid ikke kan reabsorberes, men natrium blir reabsorbert. Transporten av klorid er nær knyttet til transporten av vann. Dette gir igjen feil ved fjerning av væske, og partikler blir samlet i et seigt slim i luftveiene som gir pustevanskeligheter og slimet må hostes opp. I tillegg trives bakterier som *Pseudomonas aeruginosa* i slimet. Det er også slimansamling i tarm og bukspyttkjertel som det kan gå betennelse i. Personer med cystisk fibrose har svette med høyere konsentrasjon av salt enn det som er vanlig. Svettekjertlene befinner seg ved forskjellig dyp, og de sekretoriske befinner seg dypest, og salt blir reabsorbert øverst. Ved cystisk fibrose blir ikke saltet reabsorbert, og membranpotensialet i svettekjertlene er -70 millivolt (normalt -30 millivolt). Det har skjedd en mutasjon som gir fenylalanin i posisjon 508, og denne kan registreres med PCR. Det skjer en mutasjon i genet som koder for proteinet CFTR (mutasjon cystisk fibrose transmembranregulator) og heterozygoter har bare halve mengden CFTR.

Sigdcelleanemi

Har en type hemoglobin som klumper seg sammen. Dette gjør at blodcellene blir sigdformet, mens normale blodlegemer er formet som en bikonkav diskos. Heterozygote får en evolusjonsmessig fordel i områder med malaria, siden malariaparasitten ikke trives i det sigdformede blodcellene og heterozygoter overlever. Dobbeltrecessive homozygoter for allelet dør. Mutasjonen gjør at posisjon 6 i β -globinkjeden i hemoglobin hvor glutamat (GAG) er det normale omdannes til valin (GTG), og det blir et unormalt hemoglobin. Sigdcellene blokkerer små blodkar og flyter saktere gjennom årene enn normale blodceller.

Fenylketonuria (PKU)

Arvelig sykdom som skyldes mangel på enzymet fenylalanin hydroksylase slik at aminosyren fenylalanin ikke kan brytes ned på vanlig måte til tyrosin. Dette gir høy konsentrasjoner av fenylalanin som omdannes til fenylpyruvat som kan skade sentralnervesystemet. Fosteret med PKU skades ikke siden moren bryter ned fenylalanin. Hvis en homozygot kvinne med PKU blir gravid, vil fosteret skades hvis moren ikke har en diett uten fenylalanin, selv om fosteret er heterozygot for PKU (maternal PKU). Med ett funksjonelt og ett ikkefunksjonelt allel for fenylalanin hydroksylase er man bærer av sykdommen. Dobbeltrecessive individer kan ikke lage fenylalanin hydroksylase i det hele tatt. Fenylalanin hydroksylase har 451 aminosyrer og mutasjonen for PKU gjør at aminosyre 408 arginin byttes ut med

tryptofan. Tyrosin gir opphav til mørkefarget melanin og individer med PKU blir lys og bleke. Test for PKU kan være å dyrke opp bakterier som trenger fenylalanin (auxotrofe mutanter), på en blodprøve fra den nyfødte, en test utviklet av Robert Guthrie i 1963 og som han ikke patenterte. Frukt og grønnsaker inneholder lite fenylalanin, mens kjøtt egg og fisk inneholder mye. Søtningemiddelet aspartam inneholder fenylalanin.

Alkaptonuria er en genetisk sykdom som skyldes at når tyrosin gjennom flere enzymatiske trinn omdannes til homogentisinsyre så omsettes dette ikke videre og urinen blir mørkefarget.

Fragilt X-syndrom

Skjør ømtålig del nær spissen av X-kromosomet hvor CGG kan være repetert opptil 2000 ganger i genet *FMR1*, altså for mange CGG tripletter, mens normalt er at CGG forekommer ca. 6-60 ganger. Mangler et protein som binder seg til gener som lager nerveceller. Gir mental retardasjon hos noen, oftest hos menn, men ca. 20% av mennene er normale. Det finnes skjøre områder også på autosomer.

Achondroplasia

Skyldes et dominant allel og gir dverger. Heterozygotene er dverger

Tay Sachs

Recessivt homozygot mangler et enzym (β -heksoseaminidase) i lysosomene som bryter ned en type lipider kalt GM₂gangliosid som finnes i hjernen. Feil i fettmetabolismen i hjernen gjør at lysosomene fylles med gangliosider for deretter å sprekke med resultat at hjernen ødelegges. Kan gi blindhet, mental retardasjon og tidlig død. Mutasjonen har økt hyppighet hos Ashkenazijøder fra Ø- og Sentraleuropa.

Hemofili

Mangler faktor som gjør at blod leverer seg. Skyldes bl.a. proteinlevrende proteiner på X-kromosomet for faktor VIII og IX. Kan gi indre blødninger i ledd og sår. Siden hemofili er X-bundet vil alle menn med mutasjonen vil utvikle hemofili. Kongelig hemofili skyldes mutasjon av faktor VIII hos en av foreldrene til dronning Victoria av England. For at en kvinne skal utvikle hemofili må hun arve mutert X-kromosom fra begge foreldrene. Blødere er avhengig av blodtransfusjon, og før 1980 var faktor VIII infisert med HIV-virus og mange blødere fikk på denne måten AIDS. Fra 1992 var faktor VIII virusfri.

Huntingtons sykdom

Huntington gir nedbrytning av hjerneceller og degenerering av nervesystemet med tilhørende bevegelsesvansker og tap av kognitive egenskaper. Viser ikke før i 35-50-årsalderen. Jfr. sangeren Woddy Guthrie. Skyldes letalt dominant allel på kromosom 4. Beskrevet av den amerikanske legen George Huntington i 1872. Påvirker sentralnervesystemet, gir ukontrollerte muskelbevegelser, endret personlighet og mental og fysisk nedbrytning. I enden av kromosom 4 er CAG som koder for aminosyren glutamin normalt repetert 6-35 ganger, men hos mutanter er CAG repetert opptil 150 ganger. Jfr. Fragilt X-syndrom som er CGG repetert, mens myoton dystrofi er CTG repetert. Dette gjør at proteinet huntintin får en hale med

aminosyren glutamin som binder seg til enzymet acetyltransferase. Barn av foreldre med Huntington har 50% sannsynlighet for å få sykdommen. Det er idag ingen kjente midler som kan kurere sykdommen, og det kan gi moralske dilemmaer om man skal forta en gentest eller leve lykkelig uvitende.

Duchenne muskulær dystrofi

Kjønnsbundet recessiv sykdom som skyldes delesjon på X kromosomet. Hvor alvorlig sykdommen blir avhenger av hvor mye av X kromosomet som tapes. Gir nedbrytning av myelinskjeden rundt nerver som går til muskler. Svakere muskler gjør at individene blir bundet til rullestol, og det kan bli svikt i musklene til åndedrettet. Dystrofin protein i skjelettmuskler binder aktincytoskjelettet i muskelceller til det ytre matriks, og dystrofin mangler hos de muterte.

Familiær hyperkolesterolemia (FH)

Feil ved et autosomt dominant allel. Mutasjon av ett av allelene gir sykdommen. Gir økt innhold av kolesterol i de indre veggene i blodkapillarene som kan blokkere årene. Skyldes en feil ved transporten av kolesterol inn i leveren og andre celler. Kolesterol fraktes som et kompleks festet til lipoprotein som tas opp ved endocytose. Individuer med FS mangler et reseptorprotein og binder ikke lipoproteiner.

Familiær Creutzfeldt-Jacob

Dominant og skylder en alternativ foldet form av prionproteinet PrP kalt PrP^{SC} som gjør at alle prionproteiner PrP foldes på en annen måte. Scrapieformen PrP^{SC} gjør altså at normalt PrP laget fra et normalt gen foldes feil. PrP^{SC} har endret form med mange β -plater som binder seg uløselig sammen, hopper seg opp som fibre og gir død av hjerneceller og hulrom i hjernen. En ny utgave av Creutzfeldt-Jacob (transmittert spongiform encefalopati) skyldes **prioner** som blir overført fra dyr til dyr, og også til menneske. Hjernesykdommene scrapie hos sau er kjent for over 200 år siden. BSE ble oppdaget hos kuer i 1980 som hadde spist dårlig oppvarmet slakteavfall fra andre dyr. Kuru var kjent fra kannibaler på New Guinea.

Fiskeluktsyndrom (trimetylaminuria)

Skyldes en mutasjon i *FM03* på den lange armen av kromosom 1. *FM03* gir en feil i flavin monooksygenase 3 som omdanner trimetylamin (TMA) til trimetylamin N-oksidi.

Fisk inneholder trimetylamin-N-oksidi som i bakterier blir omdannet til TMA. Cholin blir omdannet til TMA. Mutasjonen i *FM03* kan være missens, nonsens eller rammeskiftmutasjon. Fisk inneholder trimetylamin N-oksidi, ødelegger ikke protein, og er med å gi lukt i råten fisk.

Xeroderma pigmentosum

Skyldes mangel på et enzym som foretar utklippingsreparasjon av DNA, som derved ikke klipper ut thyminidimere som resultat av UV-stråling.

Blooms syndrom

Skyldes feil i enzymet helicase som derved gir spenninger og brudd i kromosomer og derved flere typer kreft.

Immunsvikt

En form for immunsvikt skyldes en mutasjon i genet som koder for adenosin deaminase som lager et produkt som er nødvendig for modning av hvite blodceller.

Gentesting

Prenatal diagnostikk på embryo kan brukes til å oppdage genfeil og kromosomfeil. Ved ultralyd kan man se om fosteret utvikler seg normalt. Ved amniocentesis tar man ut celler (fostervannsprøve) fra amnionsvæsken rundt fosteret. Man bruker ultralyd og stikker en nål inn i livmoren og amnionvæsken inneholder celler fra fosteret. Prøver fra placenta (morkaken) ("Chorionic villi sampling").

Ved åpen ryggrad (*spina bifida*) hvor neuralrøret ikke lukker seg kan man finne høyt nivå av α -fetoprotein i amnionvæsken.

Ukontrollerte celledelinger

Kreft er celler uten kontrollsystemer som deler seg kontinuerlig. En samling kreftceller kalles en tumor. Flere mutasjoner er nødvendig for at en celle skal utvikle seg til en kreftcelle (neoplastisk transformasjon). Feil i DNA-reparasjon, svikt i kontroll av cellyklus eller overuttrykk av onkogener er et av trinnene. Egenskapen ved kreftcellene kommer fra en eller flere onkogener, gener som gir kreft. Onkogener dannes fra protoonkogener via mutasjoner. Onkogener er funnet i virus som infekterer pattedyrceller, og omformer dem til kreftceller. Kreft kan også skyldes mutasjoner i tumorsuppressorgener.

Peyton Rous kom i 1910 i kontakt med en kyllingfarmer i New Jersey som hadde kyllinger med tumor i brystmuskelen. Rous isolerte et virus fra et filtrat fra kyllingene uten celler, og som kunne gi sarkom. På 1930-tallet kjente man til at kontakt med tjære kunne gi hudkreft. Ekstraherte man tjæren og strøk den på ryggen av mus ga det kreft.

Når alderen hos mennesker passerer 55 så øker sannsynligheten betydelig for å utvikle kreft. I tidligere tider døde man ofte av infeksjonssykdommer og levde ikke lenge nok til at det skjedde genforandringer og feil i kontrollen med celledelingen som kunne føre til kreft. Noen familier er mer utsatt enn andre. Celledeling er en meget komplisert og avansert prosess, hvor det er proteiner som regulerer de fleste trinnene i prosessen. Imidlertid, lever man lenge nok vil noen av kontrollene svikte og celledelingen kommer ut av kontroll. Virus, kjemikalier, alder og gener er mulige årsaker til utvikling av kreft, en prosess som tar lang tid og passerer mange trinn. Godartede svulster ligner vevet de kommer fra f.eks. en fettkul i fett med fettceller. Ondartede (maligne) kreftceller er forskjellige fra vevet omkring, skiller ut stoffer som gir vekst av blodårer (angiogenese) som sørger for næring og oksygen til tumoren som vokser ut i vevet omkring. I noen tilfeller kan kreftcellene spre seg (metastase) med blod eller lymfe til andre kroppsorganer.

Harol Varmus og Machael Bishop studerte Rous sarkomavirus og fant at viruset hadde fire gener, mens andre lignende virus bare hadde tre gener. Det fjerde genet kalte de **onkogen**. De fant et onkogenlignende gen *src* i kyllingene. Viruset hadde tatt opp genet fra kylling og mutert det.

Humant papillomavirus kan være med å forårsake livmorhalskreft. T-celle leukemi

kan forårsakes av humant T-celle leukemivirus (HTLV-1). Kaposi sarkom forårsakes av et herpesvirus som utvikler seg i AIDS-pasienter med et svakt immunsystem. Karsinogener/mutagener, UV-lys og radioaktiv stråling gir mutasjoner. *Ras* er et onkogen fra mennesker og virker som en av/på bryter for celledeling. Det er kjent over 100 forskjellige onkogener hos mennesker.

Tumorsupressorgener ble oppdaget i 1979 og koder for proteiner som styrer cellevekst og celledød. *p53* er et tumorsupressorgen som hindrer kreft ved å drepe celler (apoptose) som inneholder mutasjoner. *p53* stopper cellesyklus i G1-fasen, og virker som en transkripsjonsfaktor som aktiverer et protein som blokkerer interaksjonen mellom et cyklin og en protein kinase. Det er kjent mer enn 20 forskjellige tumorsupressorgener. Noen tumorsupressorgener koder for proteiner som deltar i DNA-reparasjon, noen stopper cellesyklus i G1. Mutasjon i *p53* kan gi kreft. Mutasjoner i gener som koder for enzymer som reparerer skader i DNA kan også forårsake kreft. **Vaskulær endotel vekstfaktorer** gir blodtilførsel til tumorvekst og metastase. Bevacizumab binder seg til en slik vekstfaktor og reduserer vaskuleringen. Tumor nekrosefaktor alfa (TNF- α) deltar i betennelsen i flere autoimmunsykdommer. Krotonolje fra *Croton* inneholder forbolestere som virker som et ko-karsinogen. Alkylerende stoffer metaboliseres i cellene og binder seg til DNA slik at baseparegenskapene endres. Interkalærende aromatiske stoffer kan bli plassert inne i DNA-strukturen og bidra til insersjon eller delesjon. Sigarettøyk inneholder benz[α]pyren, og røkt og grillet mat inneholder nitrosaminer som kan alkylere baser i DNA. Metotrexat er en folinsyreanalog og hemmer syntesen av deoksythimidylat. 5-fluorouracil er en thyminanalog.

Protein og aminosyrer

Forskjellige typer celler inneholder forskjellige typer proteiner, men noen er felles for alle celler og deltar i fundamentale prosesser i metabolismen. Omsetningstrinnene i metabolismen er katalysert av proteiner kalt enzymer. Enzymer senker aktiveringsenergien mellom reaktanter og produkter i enzymreaksjonen. Enzymaktiviteten kan aktiveres eller hemmes (kompetitiv og ikke-kompetitiv hemming) og allosteriske enzymer har avansert regulering. Proteiner deltar i transport, signaloverføringsveier, danner strukturer, og noen er overflatemarkører på celler. Proteomikk er studiet av proteomet - den fullstendige samlingen av alle proteinene i cellene. Proteiner har en spesifikk tredimensjonal struktur som har evne til å gjenkjenne og binde seg til andre molekyler (ligander).

Et peptid inneholder færre enn 50 aminosyrer. α -aminosyrer er byggesteinen for protein. Syregruppen i en aminosyre binder seg til aminogruppen i neste aminosyre med en peptidbinding, og reaksjonen er katalysert av en peptidyltransferase. Venstre side av proteinet får en fri aminogruppe (N-terminal ende) og høyre side får en fri syregruppe (C-terminal ende). Størrelsen på proteinet, aminosyresammensetning av hydrofobe og hydrofile aminosyrer bestemmer egenskapene til proteinet.

Alle aminosyrene har en enbokstavforkortelse og en trebokstavforkortelse.

Asparaginsyre (aspartat, asp, D) og glutaminsyre (glutamat, glu, E) har sure sidekjeder som gir negative ladninger på protein som befinner seg i cytoplasma. Asparagin (asn, N) og glutamin (gln, Q) er amidene til henholdsvis aspartat (saltet av asparaginsyre) og glutamat (saltet av glutaminsyre). Lysin (lys, K) og arginin (arg, R) har basiske sidekjeder og positiv ladning.

Serin (ser, S), threonin (thr, T) og tyrosin (tyr, Y) har hydroksylgrupper (-OH) som danner hydrogenbindinger.

Isoleucin (ile, I), leucin (leu, L), valin (val, V), alanin (ala, A) og fenylalanin (phe, F) har sidekjeder som er hydrofobe. Tryptofan (try, W) har en hydrofob ring. Glycin (gly, G) har H som sidekjede.

Histidin (his, H) har $pK_a = 7.0$ slik at halvparten er negative og halvparten positive ved pH 7.

Cystein (cys, C) med thiol (-SH-gruppe) er svakt sur. To cystein thiol kan danne en disulfidbinding. Methionin (met, M) er en svovelaminsyre. Prolin (pro, P) er en iminosyre.

Prolin og lysin kan hydrolyseres. Aminosyrene serin, threonin, tyrosin, histidin, aspartat og glutamat kan fosforileres. Det er L-aminosyrer som man finner i protein. Det kan være D-alanin i celleveggen hos bakterier, og D-aminosyrer finnes i noen antibiotika.

Protein er bygget opp av en spiral- og stavformet α -heliks og β -plateark (foldeark).

α -heliks er en spiral med 3-6 aminosyrer per runde stabilisert med hydrogenbindinger mellom N og O, og aminosyresidekjedene vender utover.

Alfaheliksen kan utvide seg og proteinet kan virket som en fjær. Keratin i hår, negler og ull danner en alfaheliks. I alfa-heliksen er det van der Waalske krefter, hydrofob interaksjon og disulfidbindinger. I **β -plateark** ligger aminosyrekjedene langs hverandre med hydrogenbindinger mellom peptidbindingene, dvs. holdes sammen med hydrogenbindinger i nabokjeden. Det er to typer β -plateark, en type med alle aminosyrekjedene i samme retning (parallele) eller i alternerende retning (antiparallele). Aminosyresidekjedene stikker ut på hver side av betaplatearket.

Silke laget av fibroin er eksempel på et betaplateark.

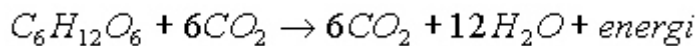
Den primære strukturen til et protein er den lineære aminosyresekvensen. Den sekundære strukturen oppstår ved dreing og folding av polypeptidkjeden stabilisert av hydrogenbindinger. Den tertiære strukturen gir kløfter og utvekster fra overflaten.

Proteiner denatureres av ekstreme temperaturer, pH, detergenter og salter, og urea. Protein reagerer med DNA via zinkfinger. Fire cystein sammen med Zn danner en finger. Tidligere var det vanlig å isolere enzymer ved utsalting med ammoniumsulfat.

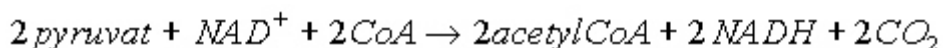
Proteinsyntese skjer på grynet endoplasmatiske retikulum. Proteinsyntesen på fri polyribosomer starter på en aminosyresekvens som gjenkjennes av en signalgjenkjennelsespartikkel bestående av RNA og protein, som fører ribosomene til ER og gjenkjenner fortøyningen i ER. Gjenkjennelsespartikkelen og reseptor trengs ikke lenger og proteinet går inn i ER gjennom membranen ettersom det syntetiseres. Signalsekvensen kuttet av en signalpeptidase.

Respirasjon - frigivelse av energi

Respirasjon deles i **cellulær respirasjon** og **organismerespirasjon**. Ved organismerespirasjon utveksles oksygen og karbondioksid med omgivelsene via lunger eller gjeller. Ved cellulær respirasjon frigis energien i organiske molekyler ved å overføre elektroner og protoner fra de organiske stoffene tilbake til oksygen som blir redusert til vann. De samme elektronene og protonene kommer opprinnelig fra vann i fotosyntesen, og blir ved hjelp av sollys lagret i organiske molekyler. Redoksreaksjoner hos levende organismer kan skje i form av hydrogenatomer (et elektron e^- + H^+). Når et elektron fjernes fra et organisk stoff tar det med seg noe av energien i den kjemiske bindingen det kom fra. Et elektronmed tilhørende energi kan overføres fra en donor til en akseptor. Et elektron mister fri energi når det overføres fra en akseptor til den neste. Cellulær respirasjon består av aerob respirasjon med oksygen som elektronakseptor, samt anaerob respirasjon og fermentering hvor det benyttes en annen elektronakseptor enn oksygen.



Sukker ($C_6H_{12}O_6$) oksideres til karbondioksid (CO_2) og oksygen (O_2) reduseres til vann (H_2O). Sukker blir lagret i dyrecellene i form av glykogen for å unngå osmotiske effekter av sukkeret. **Glykolysen** hvor sukker oksideres til pyrodruesyre (pyruvat) skjer i cytosol i cellene. Hvert trinn i glykolysen er katalysert av et spesifikt enzym, og enzymene senker aktiveringsenergien mellom reaktanter og produkter i enzymreaksjonene. NADH, FAD, koenzym A og vitaminer er koenzymmer. I glykolysen blir glukose med 6 karbonatomer omdannet til to molekyler pyruvat med 3 karbonatomer, og netto utbytte blir kjemisk energi i form av 2 ATP, samt 2 molekyler med reduksjonskraften NADH. Første trinn i glykolysen trenger ATP, men glykolysen er ikke avhengig av oksygen. Pyruvat overføres til mitokondriene i cellene, omdannes til acetyl-koenzym A (acetylCoA) ved en oksidativ dekarboksylering katalysert av enzymkomplekset pyruvat dehydrogenase:



AcetylCoA går inn i **sitronsyresyklus** (Krebsyklus (oppkalt etter Hans Krebs), trikarboksylsyresyklus). Her reagerer oksaloacetat (4 karbonatomer) med acetylCo (2 karbonatomer) og det dannes sitronsyre (6 karbonatomer). I sitronsyresyklus fjernes syregrupper ($-COOH$) som CO_2 ved **dekarboksylering**, og CO_2 pustes ut i organismerespirasjonen. Ved **dehydrogenering** fjernes to og to elektroner (e^-) sammen med en eller to H^+ , og e^- og H^+ blir overført til NAD^+ eller FAD. I sitronsyresyklus blir det produsert produsert ATP, NADH, $FADH_2$ og CO_2 . I **elektrontransportkjeden** (respirasjonskjeden) i membranene i mitokondriene fraktes elektroner fra NADH og $FADH_2$ til oksygen og det blir dannet ATP.

Ved etanolgjæring og melkesyregjæring omdannes pyruvat til henholdsvis etanol eller melkesyre (laktat). Laktat kan hope seg opp i muskelceller hvis cellene har mangel på oksygen.

Aminosyrer fra protein blir deaminert, hvor aminogruppene blir fjernet og skilt ut

gjennom urinen fra nyrene hos pattedyr som **urea**. Fugler og krypdyr skiller ut nitrogen som uløselig urinsyre for å unngå at fosteret blir forgiftet i det amniote egget. Dyr i vann skiller ut nitrogen som ammonium som fjernes med vannmassene.

Organiske molekyler kan lagres i form av fett. Fett har høyt energiinnhold i forhold til volumet (inneholder mye karbon og hydrogen, men lite oksygen). Esterbindingene i fett mellom hydroksylgruppene i glycerol og fettsyrene brytes med enzymet lipase. De frie fettsyrene oksideres deretter til acetylCoA i **β -oksidasjonen**.

Ioner, transport og membranpotensial

Anioner (negative) og kationer (positive) er ioner som har elektrisk ladning. Når ioner beveger seg over membraner vil de endre spenningen over membranen og kan skape et membranpotensial. Hvis flere kationer beveger seg ut av en celle enn det som kommer inn vil dette gi en negativ cytosol, men samtidig gjør dette at positive ioner tiltrekkes cytosol. $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ bruker ATP for å frakte Na^+ ut av dyrecellene og K^+ inn. Hvis energien brukes til natriumtransport vil K^+ komme inn i cellene pga den negative ladningen som skapes. Konsentrasjonen av K^+ er ca. 140 mM på innsiden av cellene og ca. 5 mM på utsiden. Membranpotensialet ved hvilespenning er ca. -80 mV i skjelettmuskelceller, ca. -70 mV i nerveceller og ca. -90 mV i blodceller. Blodceller har bare kaliumkanaler og kalium går ut av cellene inntil likevekt hvor kalium går inn igjen. Konsentrasjonen av klorid (Cl^-) er ca. 5 mM i cytosol, og ca. 100 mM ekstracellulært fordi klorid fraktes ut av cellene pga. det negative membranpotensialet. Ionekanaler som åpnes eller lukkes ved et bestemt membranpotensial kalles spenningsregulerte ionekanaler. Poriner i den ytre mitokondriemembranen står konstant åpne.

Konsentrasjonen av kalsium (Ca^{2+}) i cytosol er ekstremt lavt, og plutselig økning av kalsiumkonsentrasjonen virker som en molekylær bryter i mange prosesser. Kalsium binder seg til proteinet troponin festet til cytoskjelettet i muskelceller og får disse til å trekke seg sammen. Kalsium bundet til proteinet kalmodulin aktiverer enzymet glykogen fosforylase som starter nedbrytningen av glykogen og derved frigis sukker som kan brukes til energikrevende formål i cellene. $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ transportsystemet bytter 1 Ca^{2+} som går ut av cellen med 3 Na^+ som går inn. Hjertemedisinen digitalis fra revebjelle er i små mengder ikke toksisk og hemmer $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$. Dette gir litt økning av konsentrasjonen av Na^+ i cytosol og gjør at hjertemuskelen slår hardere. Transportsystemet for $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ har tre bindingssteder for Na^+ , og hemmes av Na^+ slik at litt mindre Ca^{2+} pumpes ut av cellene. Dette medfører økt konsentrasjon av Ca^{2+} i cytosol som gir kraftigere kontraksjon (sammentrekning) i muskelen.

Ionotropiske celleoverflatereseptorer er ionekanaler som er åpne når et spesifikt stoff er bundet til den ekstracellulære siden av kanalproteinene f.eks. nikotin acetylkolin reseptoren. Når det ikke neurotransmitteren acetylkolin er tilstede er kanalen lukket. Når acetylkolin frigis fra synapser bindes acetylkolin til reseptoren og gjør at natrium og kalium går gjennom kanalen. Natrium går inn i cellen og mer enn tilsvarende kalium går ut av cellen slik at resultatet blir depolarisering av plasmamembranen. Disse ligner IP_3 -regulerte kalsiumkanaler og cAMP regulerte kanaler.

Metabotropiske celleoverflatereseptorer er koblet til enzymer. Når ADP binnes til en reseptor aktiveres en isomer av et G-protein samt en fosfolipase og resultatet er en endring i kalsiumkonsentrasjon og kalsiumsignal. Reseptorer for lukt og β -

adrenerge reseptorer er koblet til isomerer av G-protein som aktiverer adenylatsyklase og konsentrasjonen av cAMP stiger. Adrenalin (epinefrin) bindes mest til β -adrenerge reseptorer og noradrenalin (norepinefrin) bindes mest til α -adrenerge reseptorer. α -adrenerge reseptorer gjør at kalsiumkonsentrasjonen i cytosol øker.

Reseptor tyrosinkinase omdannes til en protein kinase når de blir aktivert og binder en ligand.

Intracellulære reseptorer finnes i cytosol eller kjerne og binder transmittorer som kommer gjennom membranen. Signalstoffet **NO** (nitrogenmonoksid) er et radikal med kort levetid og en transmittor i cellene. NO lages fra aminosyren arginin når det er nødvendig, og NO diffunderer gjennom plasmamembranen og binder seg til et protein i cytosol som virker som NO-reseptor. Enzymet guanylat sykklase er en NO-reseptor som når NO bindes aktiverer enzymet som omdanner substratet GTP til cGMP.

Litteratur:

Bolsover, S.R., Hyams, J.S., Shephard, E.A., White, H.A. & Wiedemann, C.G.: Cell Biology. 2/E. Wiley-Liss 2004.

Campbell, N.A. & Reece, J.B. Biology 6/E. Addison-Wesley 2002

Taiz, L. & Zeiger, E.: Plant physiology. 4E. Sinauer Associates, Inc., Publishers 2006