

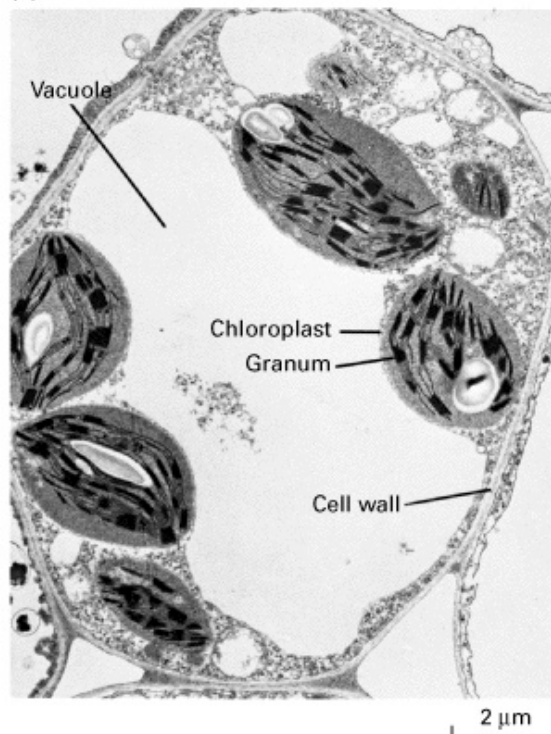
Kap. 5 - vår 2002(forts.)

Del 5.4 Celleorganeller

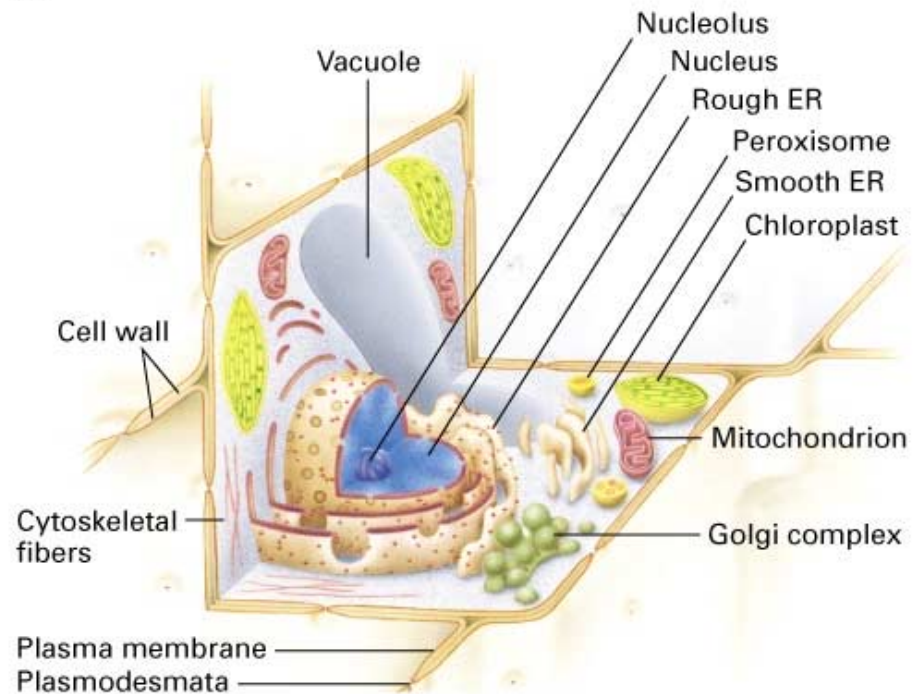
En typisk plantecelle

En oversikt over plantecellen er vist i Fig. 5-43 (under). Merk forskjeller mellom de dyre- og plantecelletyper ; i planten finnes bl.a. cellevegg, plasmodesmer , kloroplaster og vakuole, men ikke cilier og lysosomer.

(a)



(b)

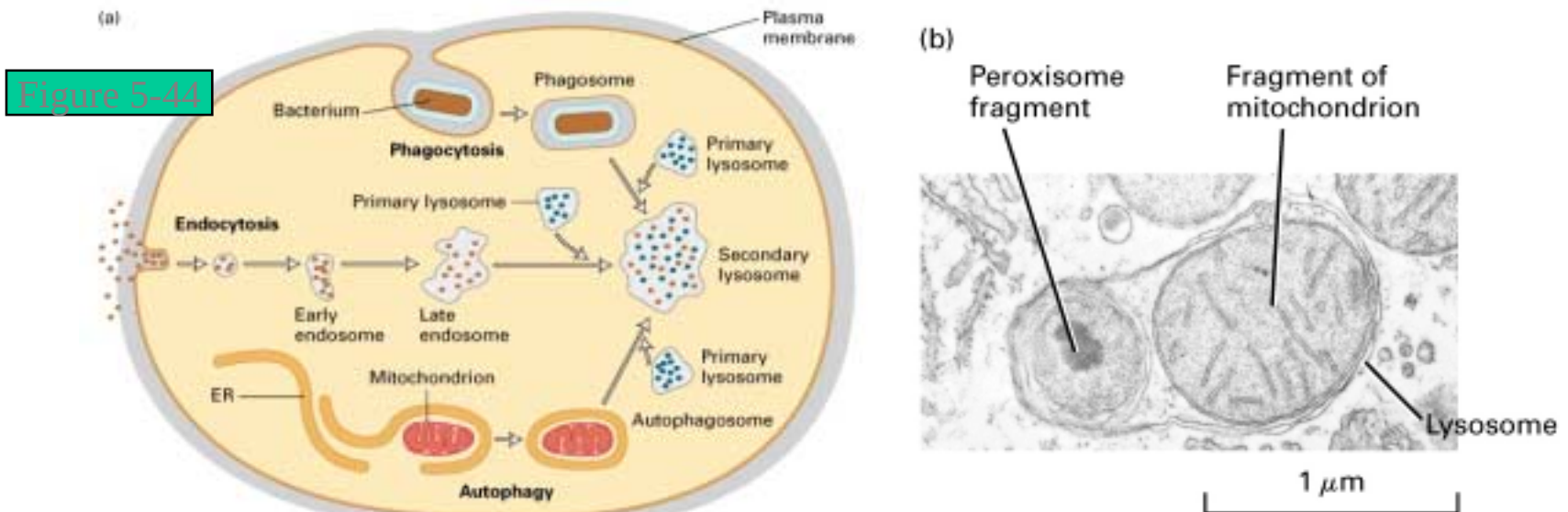


Celleorganeller :

Lysosomer

Lysosomer :

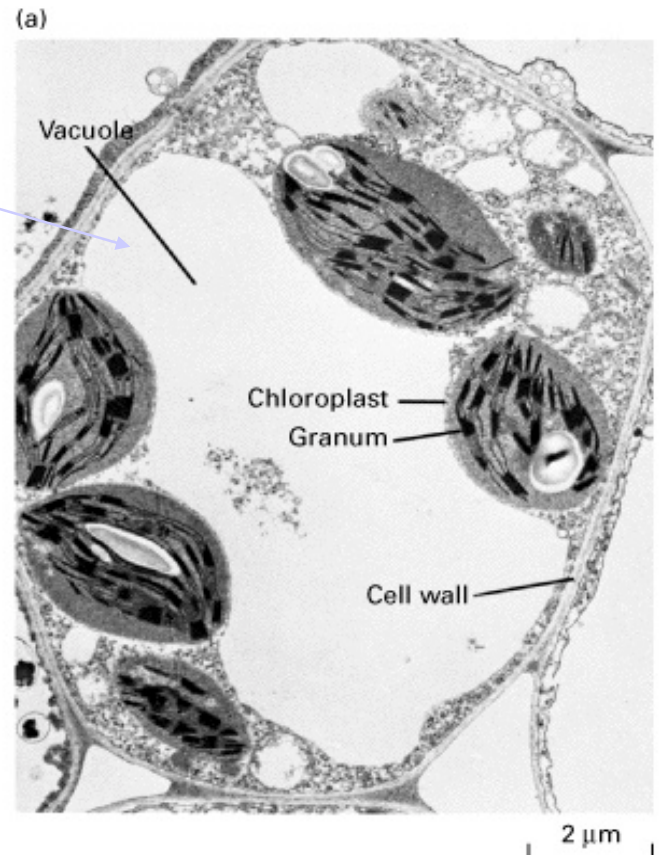
- Omsluttet av en spesiell membran som sikrer at innholdet av *degraderende enzymer* i lumen av organellen ikke ukontrollert slipper ut i cytosol.
- Fungerer som nedbrytere av materiale som cellen tar opp (*endocytose* eller *fagocytose*).
- Inneholder ulike typer enzymer - nukleaser, proteaser, fosfataser m.fl. Fellesbetegnelsen på disse er *sure hydrolaser*, pH=4.8 er optimum. Den lave pH opprettholdes gjennom hydrogen-pumpe og Cl-kanal i membranen. Hvis lysosomet sprekker opp vil ikke enzymene direkte nedbryte cytosol som har pH=7.2.
- Viktig å ha kunnskap om de ulike *nedbrytningsprosesser* som lysosomer deltar i (fagocytose, endocytose) bla. av peroxisomer og mitokondrier - se Fig. 5-44 b.
- Skille mellom *primære* og *sekundære* lysosomer og "selvutslettelsen" (*autofagi*).



Celleorganeller : Vakuoler

Vakuoler :

- Typisk forekomst i *planteceller*, omgjes av en enkel membran (tonoplast). Utgjør en betydelig del av cellen (--> 80%).
Inneholder vann, ioner, visse fargestoffer, avfallsprodukter, sukrose og aminosyrer.
- Vakuoler i planteceller fungerer tildels som lysosomer i dyreceller.
- Vakuolen er viktig i plantecellens *vannbalanse* - sentrale begreper her er turgor, vannpotensial, osmose.



Celleorganeller : **Peroxisomer**

Peroxisomer :

- Finnes både i dyre- og planteceller, avgrenset av en enkel membran, inneholder oksidaser som bruker molekylært oksygen til nedbrytning av organiske forbindelser (bl.a. fettsyrer) under dannelse av *hydrogenperoksid*. Dette spaltes av *katalase* til vann og oksygen.
- Hovedoppgavene er oksydasjon av *fettsyrer* og nedbrytning av *toksiske produkter* i lever- og nyreceller til ikke-toksiske avfallsprodukter.
- Genetisk betinget sykdom [X-linked adrenoleukodystrophy (ADL)] skyldes manglende evne i kroppen til å nedbryte lange fettsyrer - en sykdom som gir en dødelig utgang i ungdomsårene.

Celleorganeller : **Endoplasmatisk retikulum**

Endoplasmatisk retikulum (ER) :

- Det mest omfattende membransystem i alle celletyper (Fig. 5-47, Fig. 5-48). Deles i *glatt* (s-ER) og *granulert* (r-ER) endoplasmatisk retikulum.
- s-ER ; syntesested for fettsyrer og fosfolipider. I leverceller brukes s-ER til å detoxifisere hydrofobe kjemikalier (pesticider, carcinogener) som deretter skilles ut av kroppen.
- r-ER ; ribosomer bundet til r-ER syntetiserer visse membran- og organellproteiner og alle proteiner som senere skal transporteres ut av cellen. Mer detaljer om dette i Kap. 17.

Mitokondrier og **kloroplaster** omtales detaljert i Kap. 16.

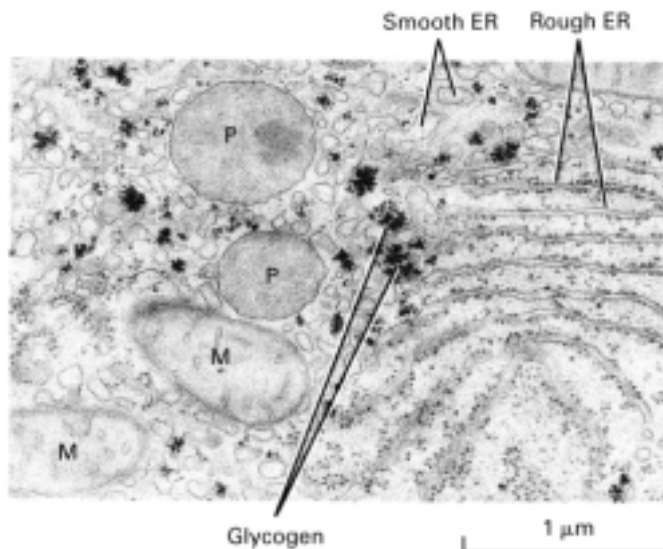


Figure 5-47

TEM-bilde av ER ; granulert (r=rough) med ribosomer og glatt (s= smooth dvs. uten ribosomer). Bildet viser også to peroxisomer (P), to mitokondrier (M) og glykogen-korn (piler)

Syntese og frigjøring av sekretoriske proteiner

(a)

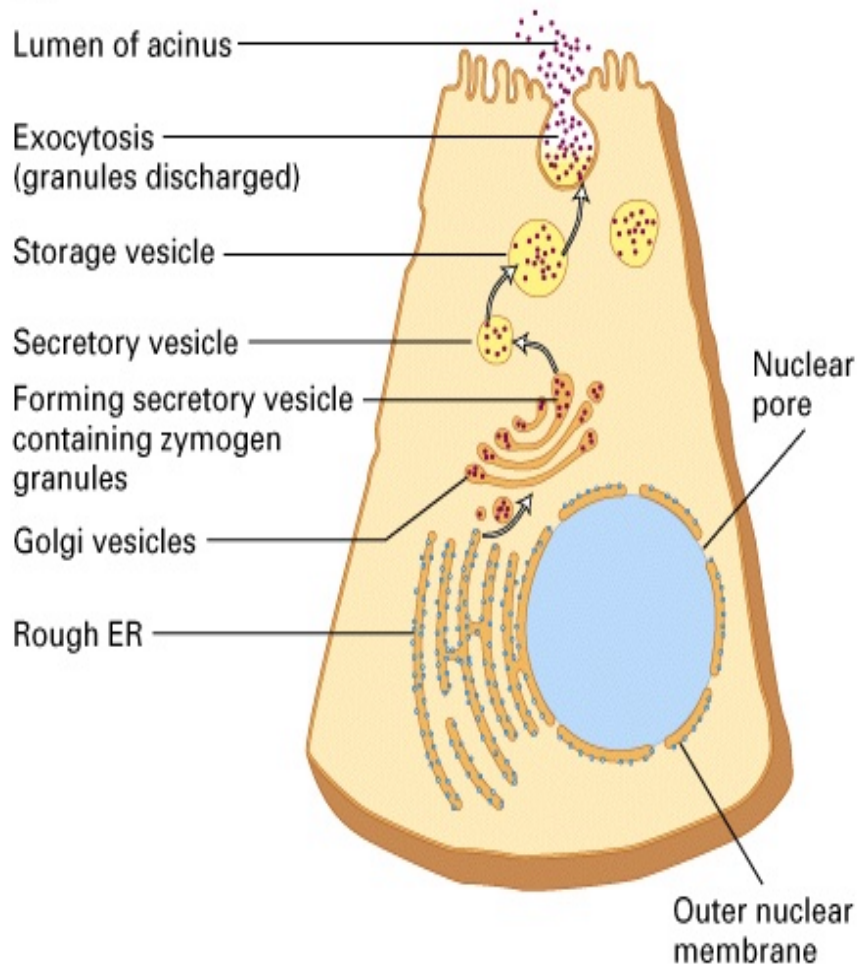


Figure 5-48

Etter at proteinene er syntetisert i r-ER blir disse transportert i vesikler til Golgi, hvor de konsentreres og pakkes i sekretoriske vesikler. I pankreas (bukspyttkjertelen) er innholdet korn av zymogener dvs. forløpere for pankreas-enzymmer. De sekretoriske vesikler samles i større lagrings-vesikler før de utskilles fra pankreas ved exocytose fra de acinare celler.

Golgi-apparatet

Golgi-apparatet :

- Proteiner dannet i r-ER vil som vist i (Fig. 5-48a) umiddelbart etter syntese transporteres i små *vesikler* over i Golgi-apparatet - også kalt Golgi-komplekset. Golgi-komplekset består av en serie av flate membraner eller sekker - delt i tre regioner (*cis*, *medial* og *trans*). 3-D modellen er viktig og må læres (Fig. 5-49).
- Vesiklene fra ER fusjonerer med *cis*-regionen i Golgi-komplekset hvor fra proteinene modifiseres.
- Den videre transport mot brukersted (plasmamembran, lysosomer eller andre organeller; se Kap. 17) skjer vha *Golgi-vesikler* som er omgitt av et lag med fiber-proteinet *clathrin* (Fig. 5-26).

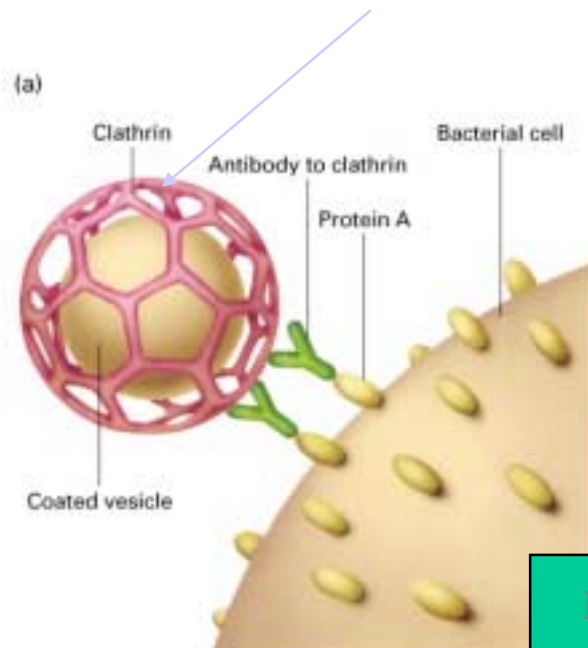
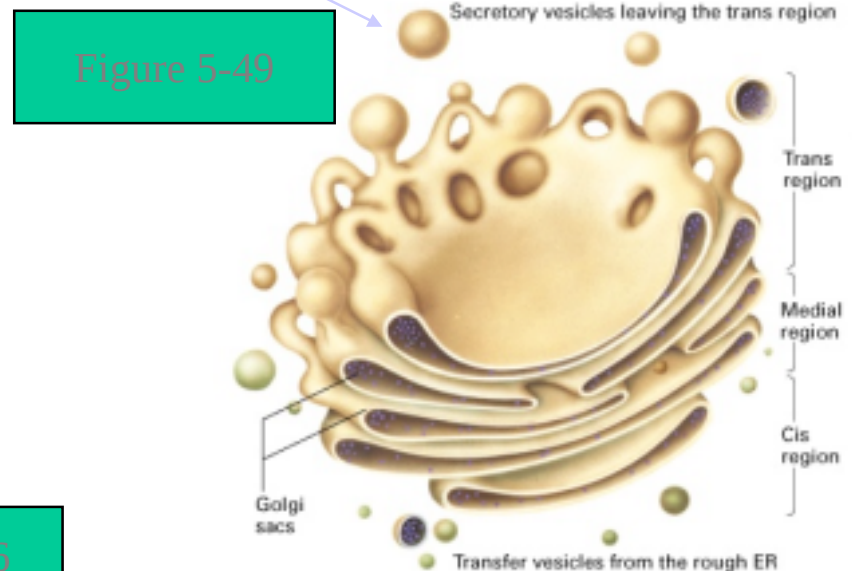


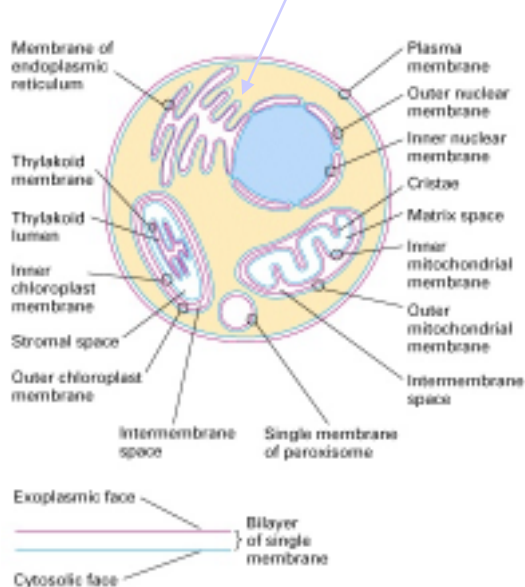
Figure 5-26



Cellekjernen

Cellekjernen :

- Cellekjernen er omgitt av to membraner, hver med et forfolipid-lag og ulike typer proteiner. Den ytre del er i mange celler (ikke alle) i kontakt med r-ER (Fig. 5-31). De to membraner fusjonerer i kjerne-porene (Fig. 5-42b) - som lett sees ved frysefraktureringsteknikk (Fig. 5-50).
- Når det gjelder kjernens funksjon (produksjon av DNA/RNA og dannelse av kromosomer) i celler som vokser og differensieres, så er den omtalt i Kap. 4 og Kap. 9. Merk at i modne røde blodlegemer (erythrocytter) er kjernen i hvile og ikke-aktiv.
- Nukleolus sees i alle stadier av cellens vekst og utvikling. Denne er syntesested for ribosomalt-r- RNA og også noen ribosomale proteiner påleires - før transport via kjerneporene ut i cytosol.
- Nukleoplasma (dvs. ikke-nukleolus-området) har høyt innhold av DNA. Dette synes å være bundet opp til fiberproteiner (laminer) som ligger på innsiden av den indre kjernemembranen.



Cytosol

Cytosol :

- Kunnskap om den indre struktur og 3-D av cytosol kan oppnåes ved bruk av seriesnitting eller konfokal-scanning mikroskopi. Cytosol har et omfattende nettverk av mikrofilamenter, mikrotubuli og internediære filamenter (Fig. 5-51 og Fig. 5-52) som blir mer utførlig behandlet i Kap. 18 og Kap. 19.
- Cytosol i mange celler inneholder inklusjonslegemer som er korn som ikke er avgrenset av en membran - f.eks. glykogen som er en lagringsform for energi i dyreceller (Fig. 5-47) og fettdråper (triacylglyceroler) som finnes både i plante- og dyreceller.
- I cytosol foregår de viktigste stoffskifteprosesser (bl.a. glykolysen) og innholdet av enzymer er derfor høyt.

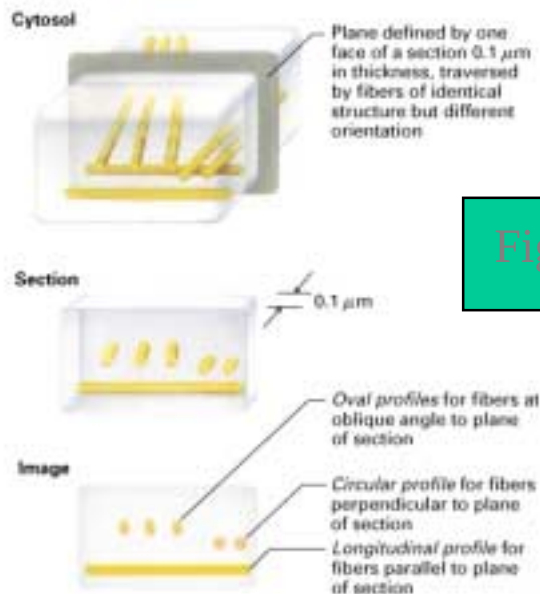


Figure 5-51

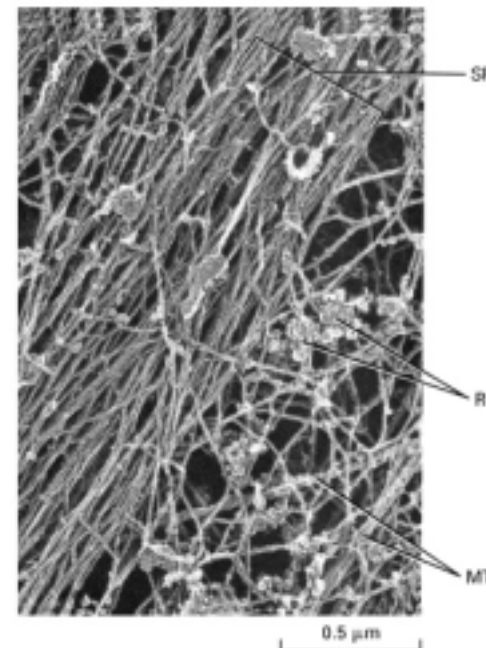


Figure 5-52
TEM-bilder av actin mikrofilamenter (SF= stressfibre), mikrotubuli (MT) ribosomer (R).

Fremtidsperspektiver

- Forfatterne av læreboken fokuserer på at man i fremtiden vil søke mot :
 - bedre mikroskopiske teknikker med øket oppløsningsevne for påvisning av ett proteinmolekyl - i stedet for som idag tusenvis ved bruk av immunofluorescensteknikk
 - utvikling i cryo-EM med ufiksert materiale og forbedret databasert bildeanalyse som vil f.eks. kunne gi kunnskap om den romlige struktur av ribosomer og membranproteiner.
 - mer kunnskap om vesikel-transport fra ER-->Golgi --> lysosomer. Her kreves forbedrete immunologiske teknikker med høyere spesifisitet og forbedret Mab-spesifikk-organell-rensing.

Forelesning Kap. 5 - knyttet til demonstrasjoner

VELKOMMEN

TIL

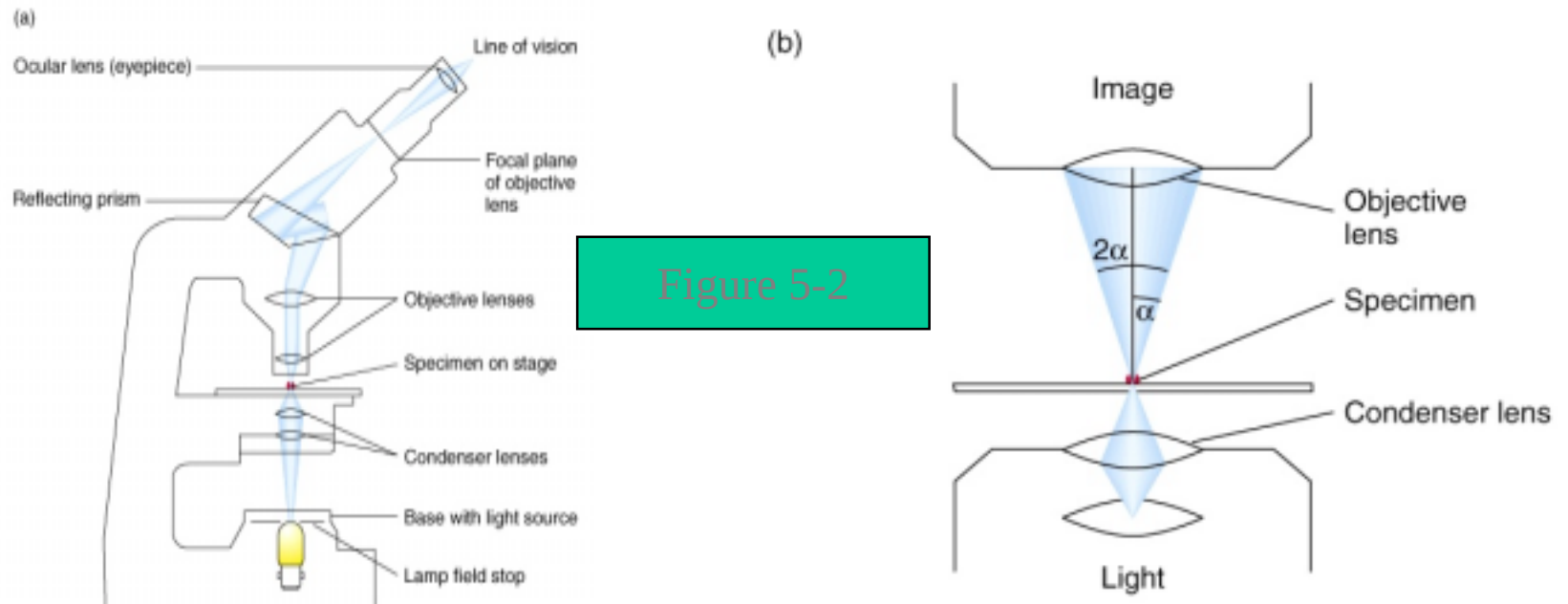
PLANTEBIOSENTERET

- Tirsdag 19. mars 2002



Del 5.1 Mikroskopiske teknikker

- **Lysmikroskopet** - sentrale elementer er ;
 - Mikroskopets oppbygging (Fig. 5-2), okular- , objektiv-, kondensor-linser
 - Oppløsningsevne(D) ($> 0.2 \mu\text{m}$) - avhenger av vinkel apertur (α), brytningsindeks (N), bølglengde (λ)



Lysmikroskopet (forts.)

- Preparering av biologisk materiale - fiksativer (f.eks. formaldehyd, glutaraldehyd), innleiring (paraffin, plast), snitting (Fig. 5-3), frysing, kontrastering/farging (hematoxylin, eosin, benzidin, fuchsin), cytokjemisk farging (Fig. 5-4)
- I praktiske demonstrasjoner vil det på PBS bli vist bruk av en ultramikrotom (se senere)

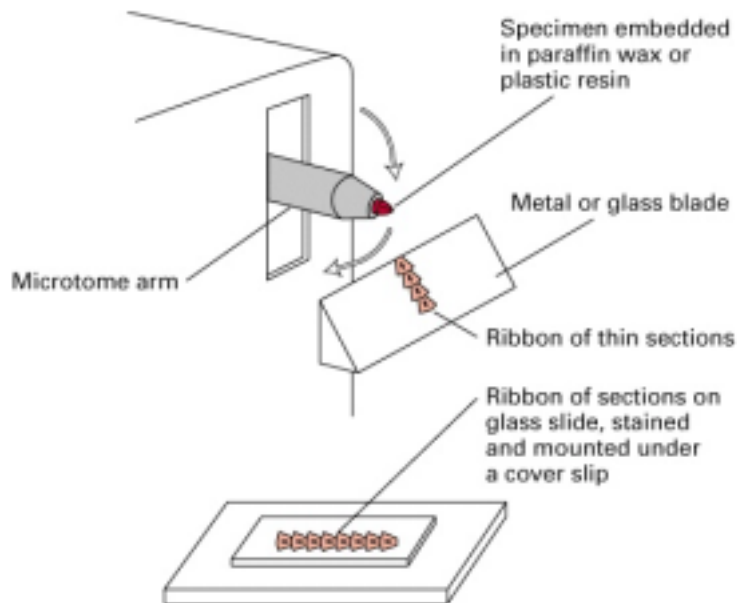
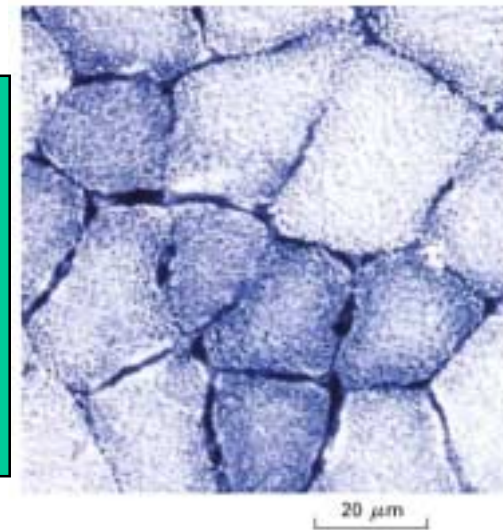


Figure 5-3

Figure 5-4
Skjelett-muskel cyto-
kjemisk farget for
påvisning av ravsyre-
dehydrogenase i mito-
kondrier



Fluorescens-mikroskopi

- Mikroskopi basert på fluorescerende farging (eksitasjon-->fluorescens)
- Anvendelse : Bruk av rhodamine/Texas gir rødt lys , Cy3 gir oransje, fluorescein gir grønt - koblet til antistoffer (Ab) og bindes til antigen (immunofluorescens mikroskopi ; Fig. 5-1) for påvisning av spes. proteiner. Både i fikserte og levende celler. Grønt fluorescerende protein (GFP) er naturlig forekommende (bioluminescence) - kan introduseres som GFP-gen (Fig. 5-7).

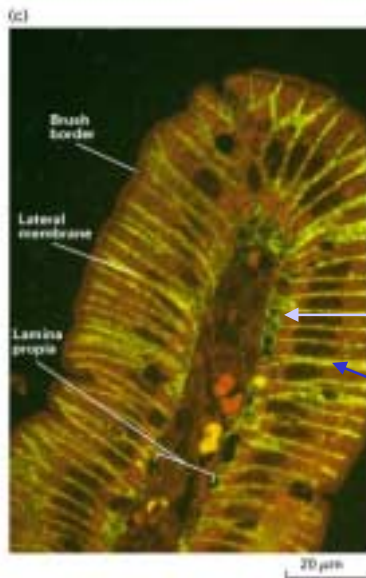
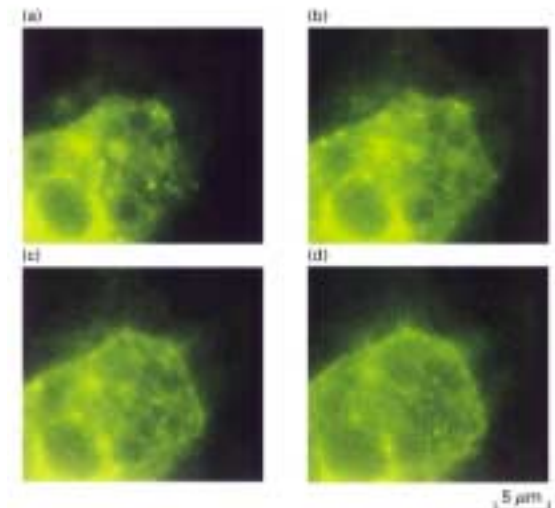


Figure 5-1

Epitel-celler fra tynntarmen observert i et fluorescens-mikroskop, farget med : Evans-blått (gir rød fluorescens) og antistoff for GLUT2 (glukose transport-protein; gul-grønn)

Figure 5-7

Grønt fluorescerende protein (GFP) benyttet for påvisning av GLUT4



Konfokal-mikroskopi

- 3-D rekonstruksjoner :
 - *Konfokal scanning mikroskopi*; gir 3-D bilder av hele celler uten svakheter knyttet til antigenisitet og ulike fokuseringsplan i snittede celler (Fig. 5-9). Et nytt konfokal-mikroskop plassert i Realfagsbygget disponeres bl.a. av Botanisk inst./Plantebiosenteret
 - Deconvolution mikroskopi gir også tverrsnitt-bilder (optisk snitting; Fig. 5-10) av celler basert på en matematisk operasjon kalt dekonvolusjon.

Figure 5-9

Egg fra sjøpinnsvin, eksponert for anti-tubulin antistoff. (a) sett i et vanlig fluorescens-mikroskop og (b) i et konfokal-mikroskop. Viser mitotisk spindel.

