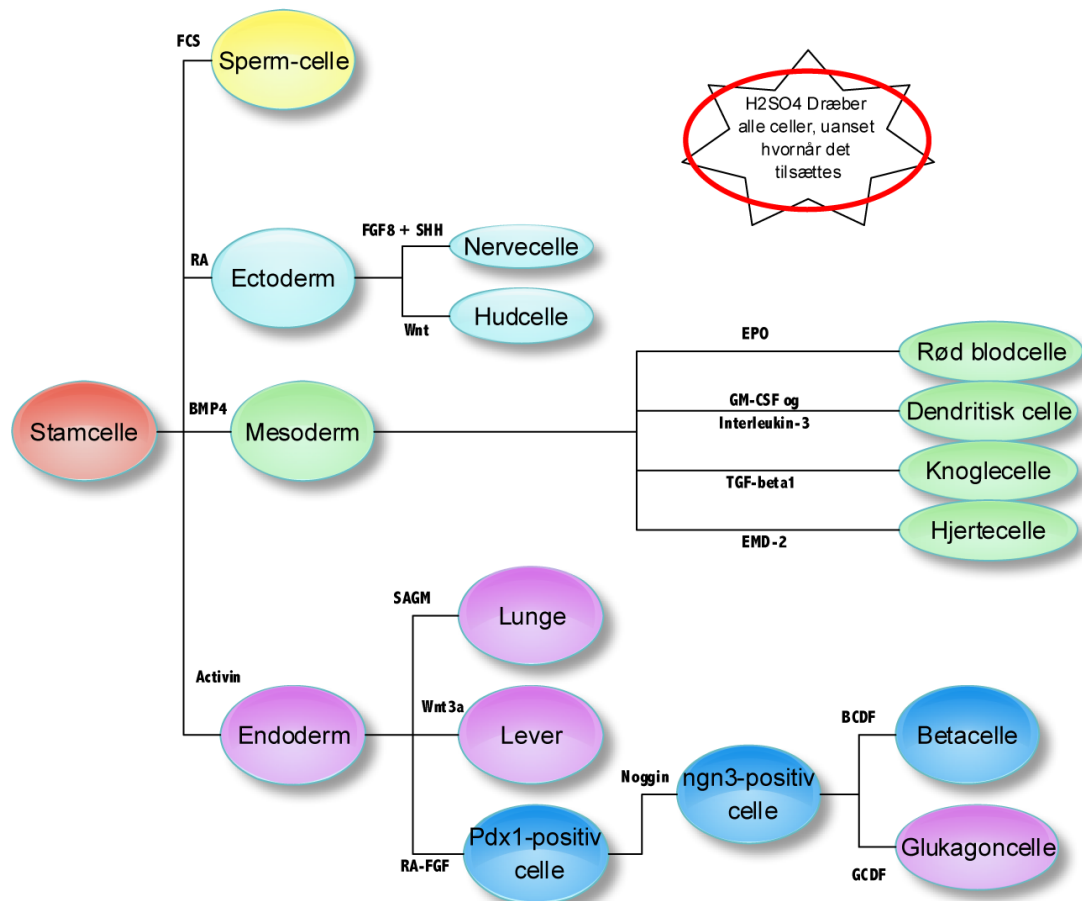


# Svar til opgaver om stamceller og helbredelse af sukkersyge

## Hvilke signalstoffer giver hvilke celler

På figuren er angivet de celletyper det er muligt at danne i det virtuelle laboratorium, samt hvilke stoffer der skal tilsættes for at danne dem. Eleverne vil først kende alle stofferne, når alle opgaverne er løst. Fx tilsættes først RA og derefter Wnt for at lave en hudcelle.



## 1. Stamcellelaboratoriet

- (1) Et signalprotein binder sig til en receptor på overfladen af en celle. (2) Det aktiverer en transkriptionsfaktor der (3) binder sig til en DNA-streng med genet RegB på, hvorved det aktiveres. (4) Genet transkriberes til mRNA og (5) translateres til et færdigt protein, der også er en transkriptionsfaktor (en aktivator). Den dannede transkriptionsfaktor aktiverer 4 gener hvorved der dannes 4 forskellige receptorproteiner.
- Aktivator, da bestemte gener udtrykkes, når transkriptionsfaktoren binder til dem.
- Stoffer der kan binde til de dannede receptorer, binder til celleoverfladen. Stofferne er EPO, GM-CSF, TGF-BETA1 og EMD-2,

der alle kan omdanne mesodermale celler til nye celletyper i det virtuelle laboratorium.

4. Samme som 1., dog er proteinet ved 3b en repressor.
5. Ud fra de dannede proteiner (hæmoglobin og decarboxylase), kan konkluderes at der dannes røde blodlegemer.
6. Ja, der dannes røde blodlegemer.
7. Fra den første fig. vides at der dannes 4 receptorer, der kan binde EPO, GM-CSF, TGF-BETA1 og EMD-2. Disse 4 stoffer er sandsynlige kandidater til at kunne differentiere en mesodermal celle til nye celletyper.
8. Ja, de 4 stoffer danner alle nye celletyper

#### BONUSSPØRGSMÅL:

- a) EPO stimulerer dannelsen af røde blodlegemer, også i voksne mennesker (fra voksne stamceller i knoglemarven). Dette giver cykelrytternes blod end bedre evne til at binde ilt, hvilket kan forbedre deres præstation. EPO kan altså både differentiere mesodermale stamceller, og voksne knoglemarvsstamceller, der begge må have EPO-receptorer på overfladen.
- b) Telomerase sørger for at opretholde telomerene, en repetitiv sekvens for enden i kromosomenderne. Ved hver celledeling mistes lidt af telomerene, hvilket gør at cellen kun kan dele sig et begrænset antal gange. Telomerase-genet er udtrykt i stamceller, og gendanner telomererne, så cellerne kan dele sig uendeligt – genet slukkes dog når stamcellerne differentierer sig. Uden telomerasegenet aktiveret kan kræftceller ikke dele sig uhæmmet – derfor har en celle der ikke udtrykker telomerase, mindre risiko for at blive til en kræftcelle.

## 2. Laboratorierapport

1. Det centrale dogme: Gen → mRNA → protein. Koncentrationen af mRNA er altså et udtryk for hvilke gener der bliver udtrykt.
2. Eleverne forsøger højst sandsynligt at tilsætte alle de viste stoffer til stamcellerne, og finder ud af at følgende virker: FCS, RA, BMP4 og Activin. Figuren viser at disse stoffer kan danne hhv. spermcelle, ectoderm, mesoderm og endoderm.
3. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> er svovlsyre, og dræber derfor cellerne. Den høje ændring i mRNA-koncentration skyldes, at svovlsyren fuldstændig ødelægger mRNA-strengene.

## 3. Mikroskop

1. Pdx1 og alle andre transkriptionsfaktorer findes inden i cellen (hvor deres rolle er at regulere bestemte gener).
2. TGF-beta1 er ikke tilstede i eller omkring den udviklende bugspytkirtel, da der ikke er nogen rød farve. Derfor konkluderes at

TGF-beta1 sandsynligvis ikke spiller nogen rolle for aktiveringen af Pdx1.

3. KGF-receptoren findes i de samme celler der udtrykker Pdx1, hvilket ses af at disse celler er gule (i billedrækken med KGF-receptor). Der er både det grønne Pdx1 og det røde KGF-receptorprotein, hvilket vises som gult.
4. KGF findes udenfor de celler der udtrykker Pdx1. Samtidig findes KGF-receptorer på overfladen af de celler der udtrykker Pdx1. Det tyder på at KGF binder til receptorer på overfladen af cellerne, hvorved Pdx1 aktiveres/udtrykkes. Det bekræftes i det virtuelle laboratorium, hvor KGF kan differentiere en endodermal celle til en Pdx1 positiv celle.
5. Det formodes at KGF binder til receptorer på overfladen af cellerne, hvorved Pdx1 aktiveres/udtrykkes.
6. Kun endodermale celler har KGF-receptorer på overfladen. Derfor vil KGF ikke have nogen effekt på f.eks. *mesodermale* celler, da KGF ikke kan binde til overfladen, og dermed ikke aktivere Pdx1.

#### 4. Fluorescensgrafer

1. Grafen for RFP udviser meget stor lysintensitet for rigtig mange celler. Det skyldes at det protein der er tilsat, selv er det selvlysende rapporterprotein. Derfor vil det røde lys ikke betyde at Ngn3-genet er aktiveret, men blot at der er tilsat RFP til cellekulturen. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> denaturerer alt RFP hvorfor ingen celler lyser. Noggin, GPDF og BMP-4 har grafer der gør dem værd at teste i laboratoriet, hvor Noggin er den bedste pga. flest celler med høj intensitet.
2. Noggin, GPDF og BMP-4 testes.
3. Noggin differentierer Pdx1-positive celler til en Ngn3-positive celler.

#### 5. Mail om iPS celler

1. Ja, langt flere raske børn.
2. Sådanne forsøg kan kun udføres på forsøgsdyr i lande med en lovgivning, som tillader dette. Tilsvarende laboratorieforsøg på menneskeceller i Danmark ville kræve tilladelse af det danske Ethiske Kommittesystem. Det ville formentlig kræve en ændring af den danske "Lov om kunstig befrugtning", hvis iPS-afledte æg og sædceller nogensinde skulle komme i brug som alternativer på IVF klinikker (IVF= in vitro fertilitet = kunstig befrugtning)
3. Selvstændig vurdering.

#### 6. Antisense RNA forsøg

1. Antisense mRNA strengen er komplementær til en bestemt mRNA-streng. Antisense RNA- og mRNA-strengen vil derfor danne dobbeltstrengt RNA, der ikke kan translateres. Derudover nedbrydes dobbeltstrengt RNA meget hurtigt. Derfor inhiberes proteinsyntesen af det pågældende gen – genet udtrykkes ikke.

2. De 4 RNA sekvenser vil binde til komplementære mRNA-sekvenser (vist i fed skrift):

UACAGUCCCCAGCCCC...
<b>AUGUCAGGGGUCGGGG</b>
CGGCACCAGACCGU...
<b>GCCGUGGUCUGGCA</b>
ACAGGGGAAGGU...
<b>UGUCCCCUCCA</b>
CGGCGGGCGGCACCG...
<b>GCCGCCCGCCGUGGC</b>

3. I tekstfilen med gen-sekvenser søges på de DNA-sekvenser, der passer til ovenstående RNA-sekvenser (U erstattes med T). Følgende konstateres:
- Den første sekvens (ATGTCAGGGGTCGGGG) findes i "Human Fibroblast growth factor 8 (**FGF8**) on chromosome 10"
  - Den anden sekvens (GCCGTGGTCTGGCA) findes ikke (den må have lavet dobbeltstrenget rna med mRNA fra et andet gen end de 4 viste)
  - Den tredje sekvens (TGTCCCCTTCCA) findes i "human Sonic Hedgehog (**SHH**) on chromosome 7"
  - Den fjerde sekvens (GCCGCCCGCCGTGGC) findes i "Wingless-type MMTV integration site family, member 1 (**Wnt1**) on chromosome 12"
4. Ja, FGF8+SHH findes i en flaske i det virtuelle laboratorium. Wnt1 findes også. Af figuren øverst i opgaverne, og figuren i artikel 2 i teori-materialet om udviklingsbiologi, ses at hudceller og nerveceller laves fra ectodermale celler
5. Ovenstående svar kombineret med oplysningerne om "Ændringer i fosterudviklingen" leder til følgende konklusion:
- FGF8 er nødvendig for udviklingen af nerveceller (den første sekvens inhiberer udtryk af FGF8-genet, hvilket fører til *"Stort set ingen udvikling af nervesystemet, kun tilstedeværelse af dysfunktionelle nerveceller"*)
  - SHH er *også* nødvendig for udviklingen af nerveceller (den tredje sekvens inhiberer udtryk af SHH-genet, hvilket fører til *"Stort set ingen udvikling af nervesystemet, kun tilstedeværelse af dysfunktionelle nerveceller"*)
  - Wnt1 er nødvendig for dannelsen af hudceller (Den fjerde sekvens inhiberer udtryk af Wnt1 der fører til *"Ingen dannelse af hudceller"*)
- Da FGF8 og SHH er signalstoffer der er nødvendig for udviklingen af nerveceller, er det oplagt at tilsætte det til ectodermale celler, og se om de det inducerer dem til at udvikle sig til nerveceller (hvilket de gør). Det samme gælder Wnt1,

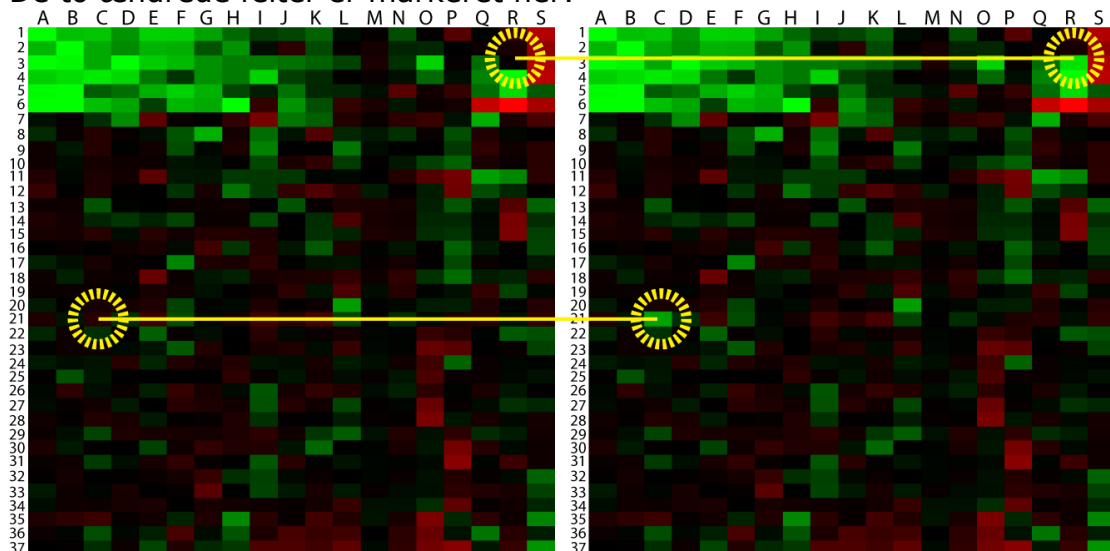
fører til udviklingen af hudceller ved tilsættelse til ectodermale celler.

## 7. Blokeret fosterudvikling

- Nej, det kan det ikke – der kan også være tale om transkriptionsfaktorer. Bla. er Ngn3 en transkriptionsfaktor (fremgår af teori-materialet).
- SAGM kan tilsættes for at udvikle lungeceller, Wnt skal tilsættes for at udvikle hudceller (vides også fra opg. 6), Wnt3a kan tilsættes for at udvikle leverceller.

## 8. Proteinchip-analyse af blodprøver

De to ændrede felter er markeret her:



Der er tale om øget genudtryk i felt **R3** og **C21**. Et opslag i tabellen (nederst i opgaven) giver følgende: **1BUY** og **BCDF\***. **BCDF** udvikler betaceller ved tilsættelse i laboratoriet. Hvis "1BUY" indtastes på [www.pdb.org](http://www.pdb.org) fås følgende:

" Title: HUMAN ERYTHROPOIETIN, NMR MINIMIZED AVERAGE STRUCTURE"

Hvis eleverne slår "HUMAN ERYTHROPOIETIN" op på wikipedia, står at det forkortes EPO – nogle ved det måske i forvejen. Det vil derfor være nærliggende at tro at patienten har stjålet EPO i laboratoriet, og indsprøjtet det i blodet under forsøget (Langrend kræver rigtig mange røde blodceller, ligesom cykelsport) – EPO giver flere røde blodceller.