

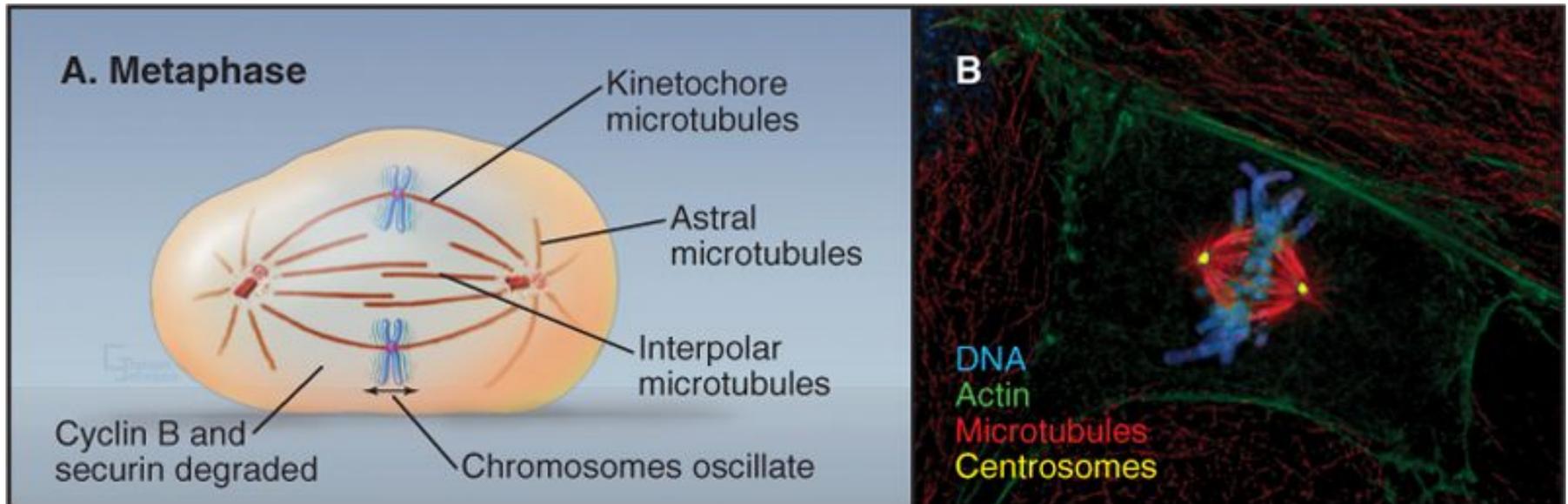
МИТОЗ

Лекция 5

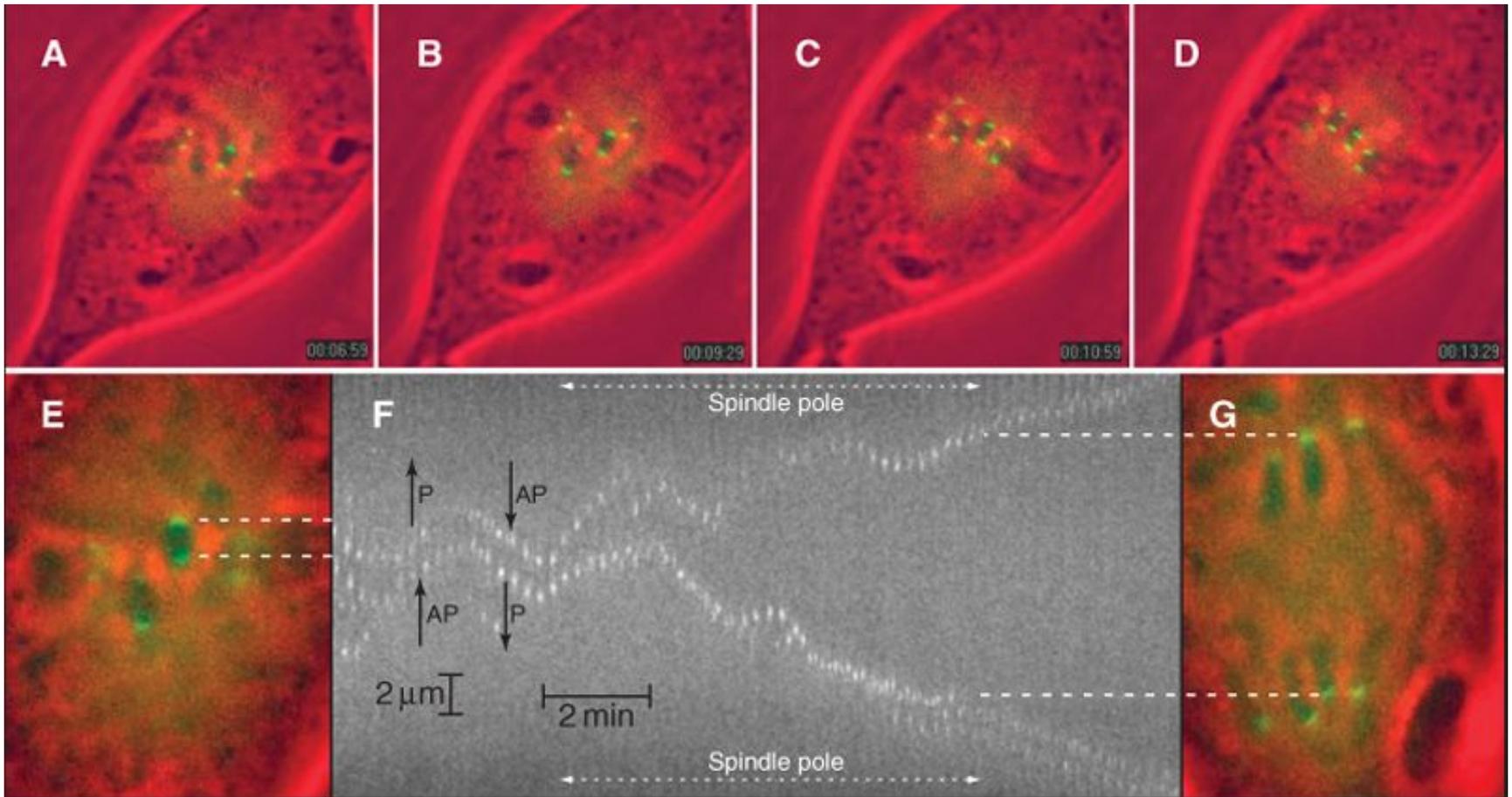
ФАКТОРЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В КОНГРЕССИИ (ВЫСТРАИВАНИИ ХРОМОСОМ В ГЕОМЕТРИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ ВЕРЕТЕНА)

- **1) РОСТ И УКОРАЧИВАНИЕ МИКРОТРУБОЧЕК.**
- **2) СИЛЫ НАПРАВЛЕННЫЕ К ПОЛЮСАМ (ПРИЛОЖЕНЫ НА КИНЕТОХОРЫ - моторы, деполимеризация микротрубочек).**
- **3) СИЛЫ, НАПРАВЛЕННЫЕ ОТ ПОЛЮСОВ (ПРИЛОЖЕНЫ НА КИНЕТОХОРЫ И ПЛЕЧИ ХРОМОСОМ - толкающие силы от некинетохорных и кинетохорных микротрубочек, моторы - хромокинезины).**

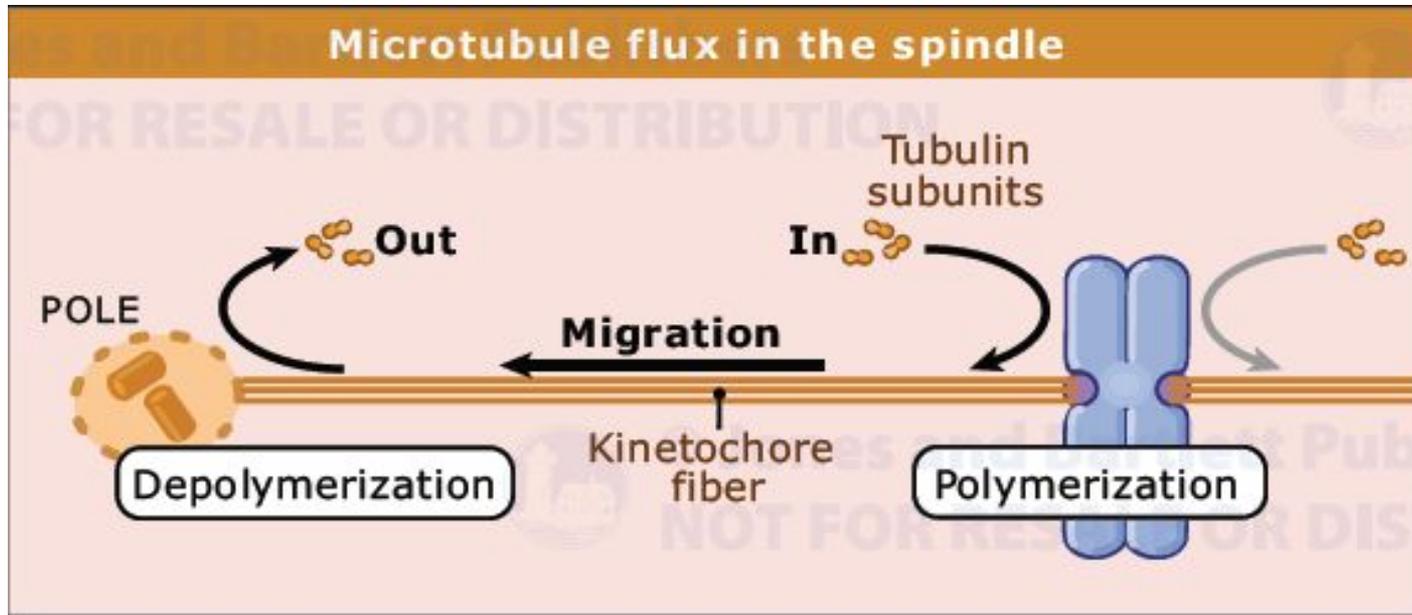
ОСНОВНЫЕ СОБЫТИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ ВО ВРЕМЯ МЕТАФАЗЫ



ОСЦИЛЛИРОВАНИЕ КИНЕТОХОРОВ К ПОЛЮСУ И ОТ ПОЛЮСА ВО ВРЕМЯ ДВИЖЕНИЯ ХРОМОСОМ В ПОЗДНЕЙ ПРОМЕТАФАЗЕ И АНАФАЗЕ

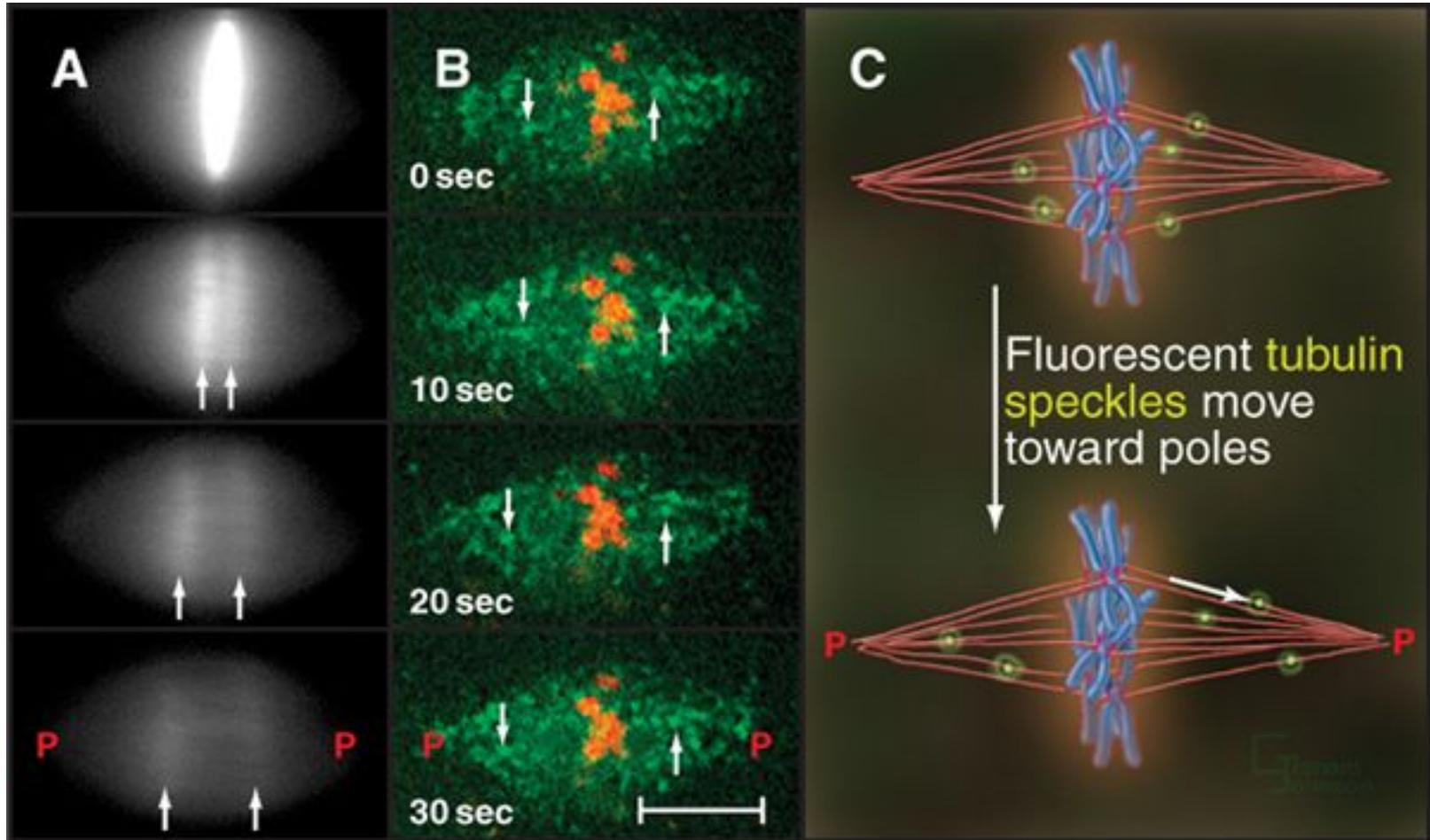


ПЕРЕКЕКАНИЕ СУБЪЕДИНИЦ ТУБУЛИНА ПО МИКРОТРУБОЧКАМ ВЕРЕТЕНА

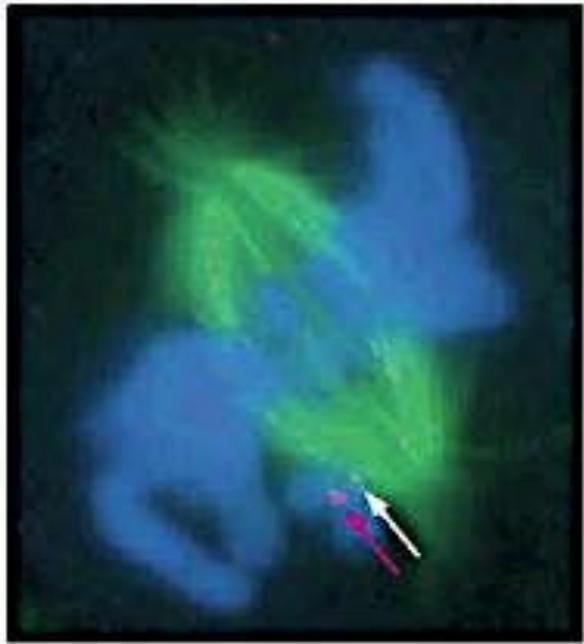


Субъединицы тубулина постоянно включаются в микротрубочки у кинетохоров и перемещаются к полюсам, где они затем отсоединяются. Таким образом, они постоянно перетекают от кинетохора к полюсу в составе микротрубочки или кинетохорной фибриллы. Во время метафазы, длина кинетохорных микротрубочек остается без изменений, так как добавление субъединиц у плюс конца балансируется убавлением субъединиц у минус конца..

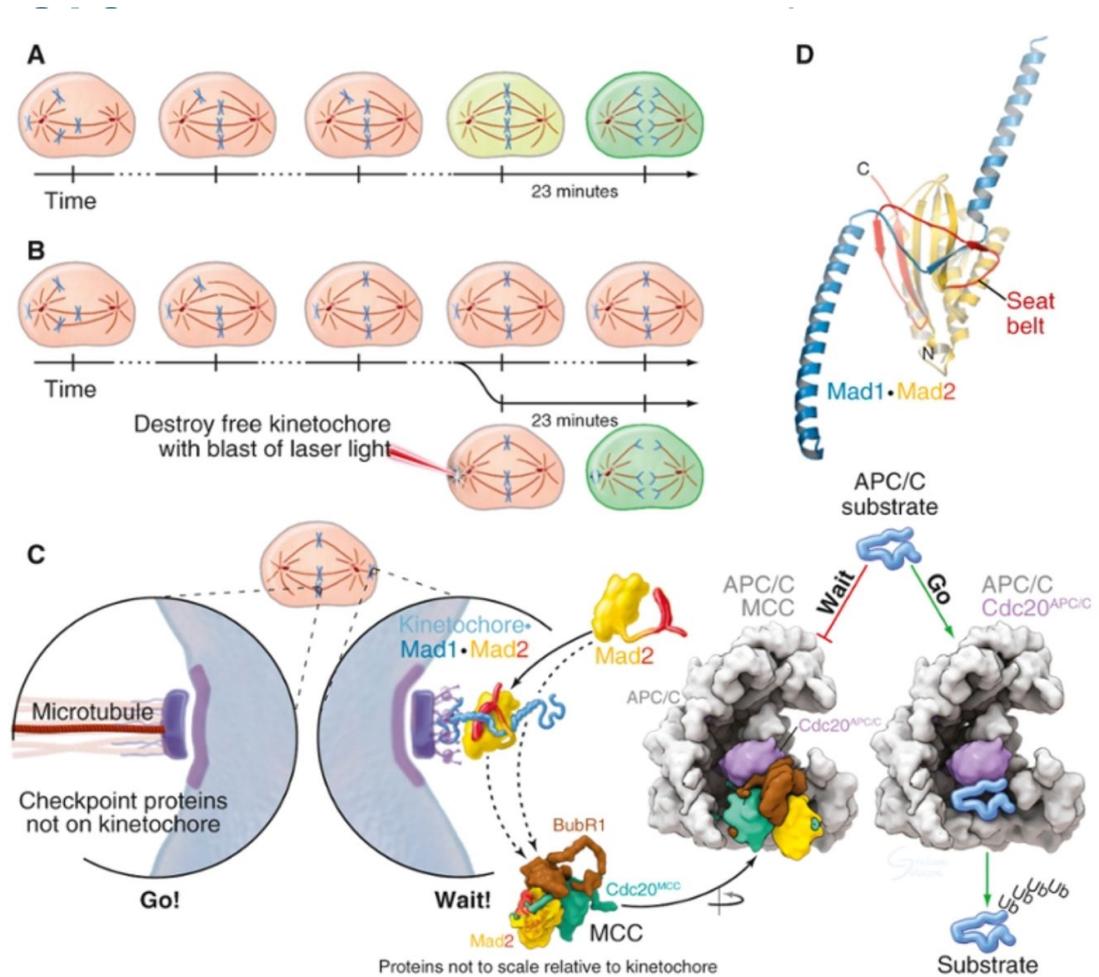
«FLUX» ТУБУЛИНА ВО ВРЕМЯ МЕТАФАЗЫ



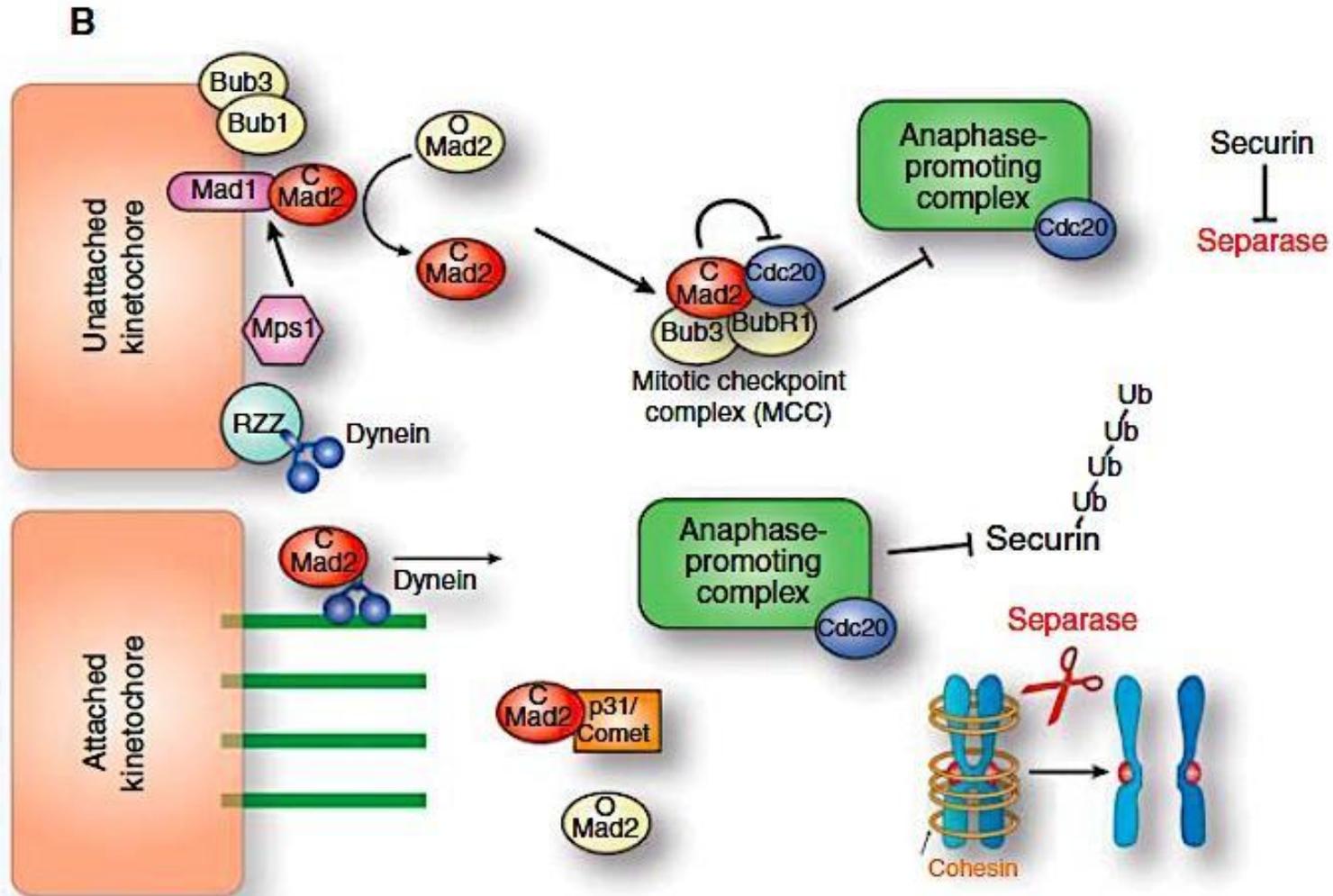
SPINDLE ASSEMBLY CHECKPOINT (SAC) – ПРОВЕРКА ПРИКРЕПЛЕНИЯ ХРОМОСОМ К МИКРОТРУБОЧКАМ ВЕРЕТЕНА



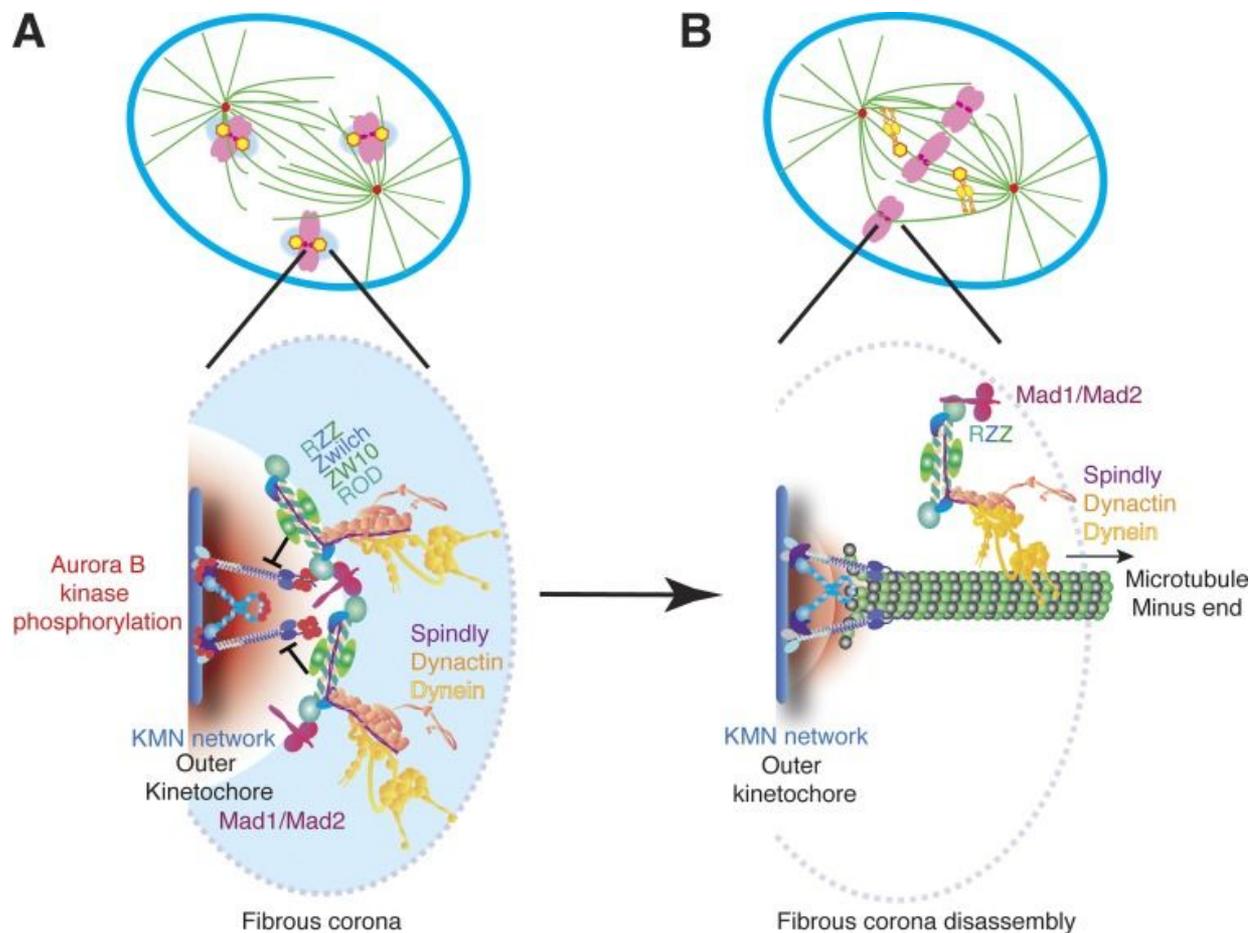
Клетка на стадии прометафазы. На одном кинетохоре хромосомы выявляется белок Mad2 (розовая стрелка). Другой кинетохор (белая стрелка), который прикрепился к микротрубочкам веретена, не содержит Mad2.



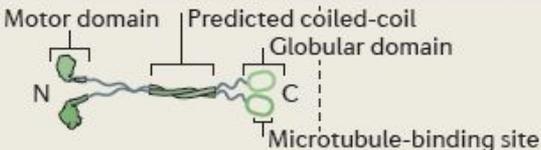
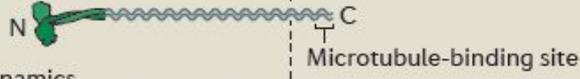
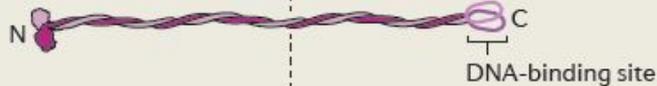
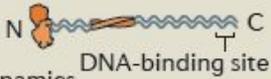
ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ РАБОТЫ БЕЛКОВ SAC НА КИНЕТОХОРЕ



Удаление белков чекпоинта с прикрепленного к микротрубочкам кинетохора (McHugh and Welburn, 2017)

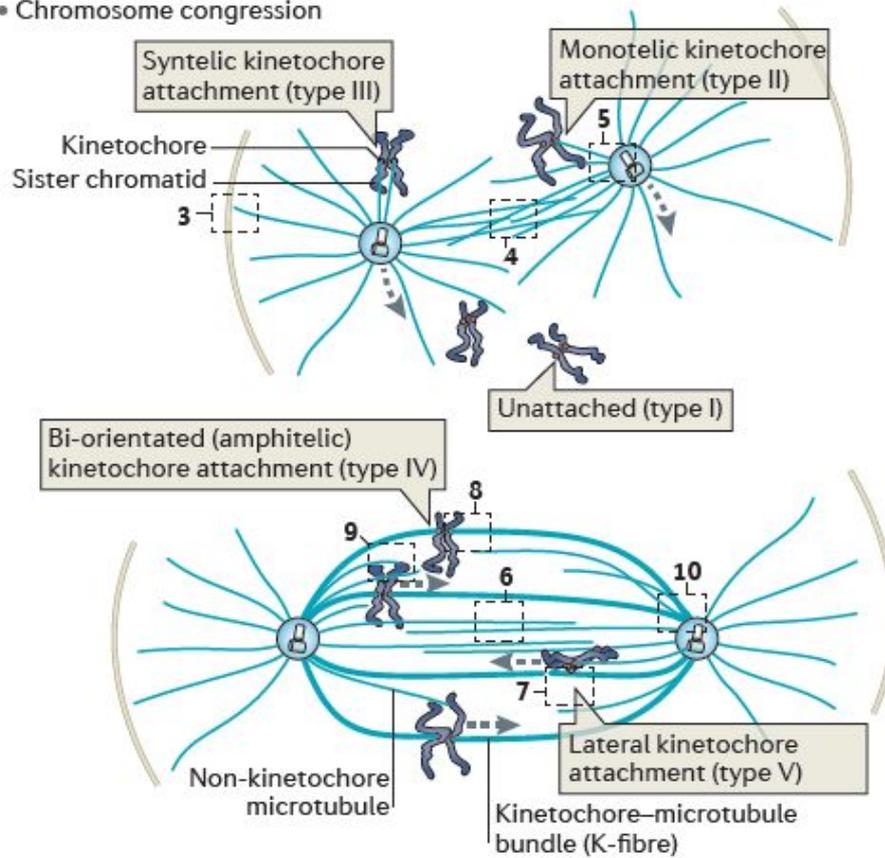


a

Family members (alias) [orthologues]	Directionality and properties	Structural organization	Length (nm)					
			0	25	50	75	100	125
Kinesin-6 for example, KIF23 (MKLP1) and KIF20A (MKLP2) [ZEN-4 and Pavarotti]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end • Non-processive • Oligomerizes • Crosslinks 	 <p>Motor domain Predicted coiled-coil Globular domain N C Microtubule-binding site</p>						
Kinesin-12 for example, KIF15 (hKLP2) [xklp2]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end • Crosslinks with TPX2 	 <p>N C</p>						
Kinesin-7 for example, KIF10 (CENP-E) [CENP-meta and CENP-ana]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end • Processive • $F_{stall} \sim 6$ pN 	 <p>N C Kinetochores Kinetochores-binding site Microtubule-binding site</p>						
Kinesin-5 KIF11 in humans (EG5) [Cin8, Klp61F and Cut7]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus and minus ends • Poor processivity • $F_{stall} \sim 4$ pN • Tetrameric crosslinker 	 <p>N C Microtubule-binding site Microtubule-binding site</p>						
Kinesin-14 KIFC1 in mammals (HSET) [Ncd, Kar3, Klp2 and xctk2]	<ul style="list-style-type: none"> • Minus end • Non-processive • Dimeric crosslinker 	 <p>N C Microtubule-binding site</p>						
Kinesin-8 for example, KIF18A [Kip3, Klp5, Klp6 and Klp67a]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end • Processive • $F_{stall} \sim 1$ pN • Dampens microtubule dynamics 	 <p>N C Microtubule-binding site</p>						
Kinesin-4 for example, KIF4 in mammals [xKlp1 and Klp3a]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end 	 <p>N C DNA-binding site</p>						
Kinesin-10 for example, KIF22 (KID) [Nod]	<ul style="list-style-type: none"> • Plus end • Non-processive (some non-motile) • Dampens microtubule dynamics 	 <p>N C DNA-binding site</p>						
Kinesin-13 for example, KIF2A, KIF2B and KIF2C in humans (MCAK) [xkcm1, Klp59C and Klp10A]	<ul style="list-style-type: none"> • Non-motile • Microtubule depolymerase (minus and plus ends) 	 <p>N C</p>						

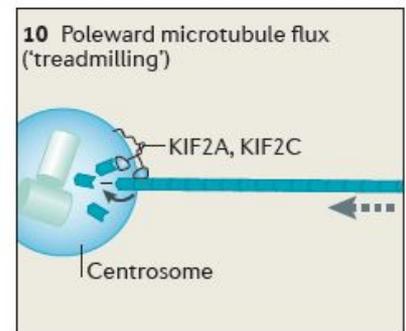
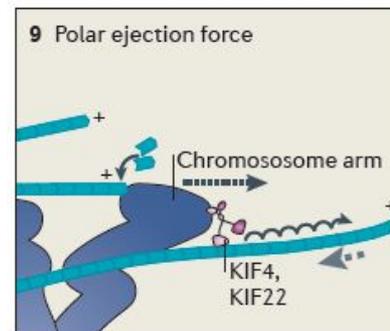
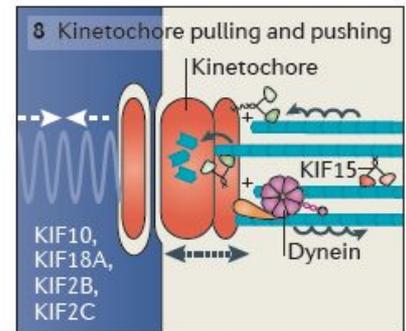
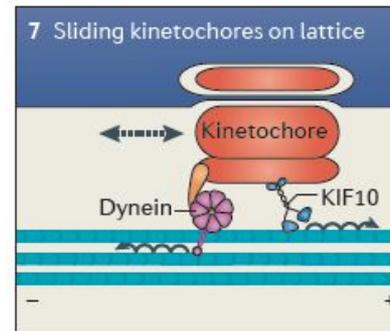
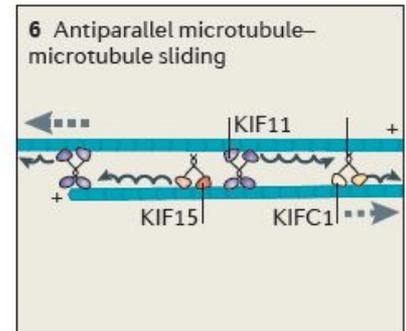
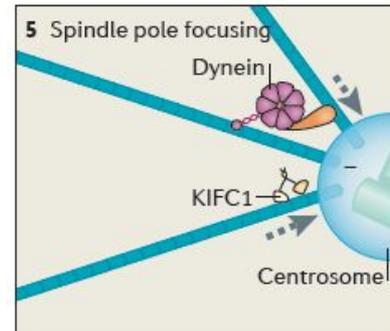
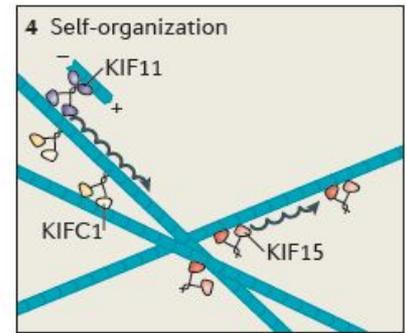
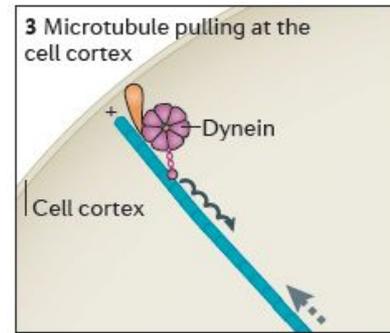
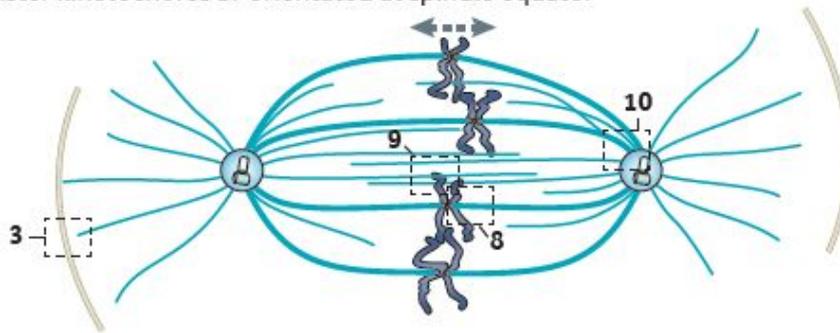
b Prometaphase

- Bipolar spindle formation
- Chromosome congression

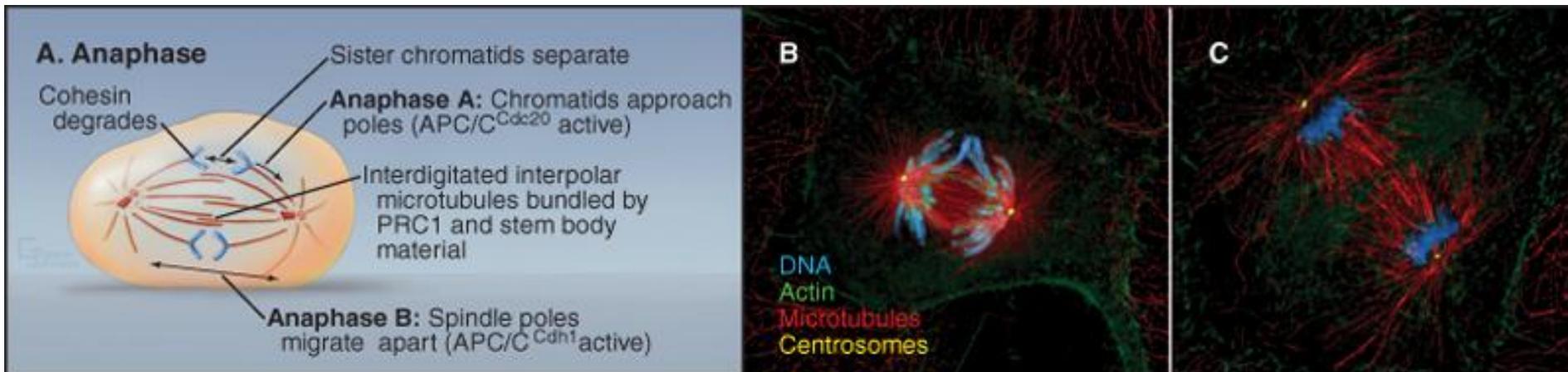


c Metaphase

All sister kinetochores bi-orientated at spindle equator

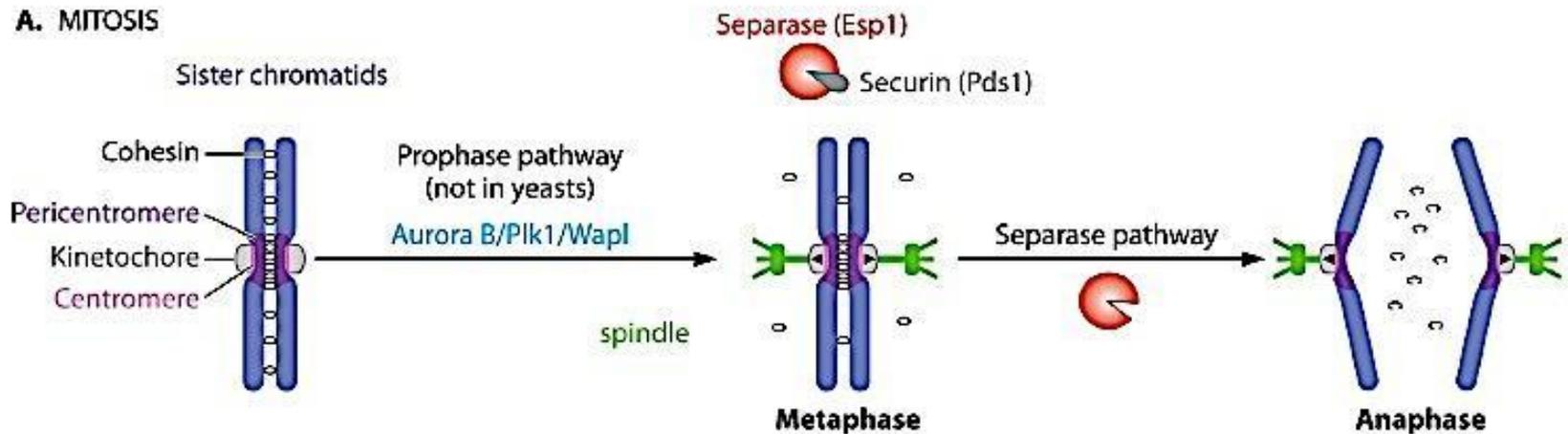


ОСНОВНЫЕ СОБЫТИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В АНАФАЗЕ



© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com

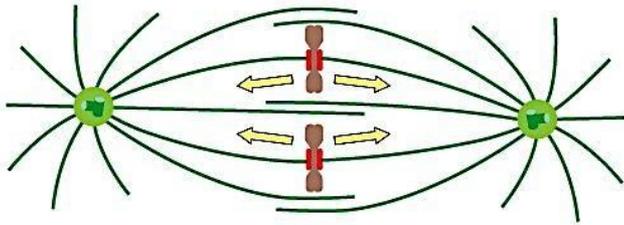
ЭТАПЫ УДАЛЕНИЯ КОГЕЗИНОВ С ХРОМОСОМ ВО ВРЕМЯ МИТОЗА (Martson, 2015)



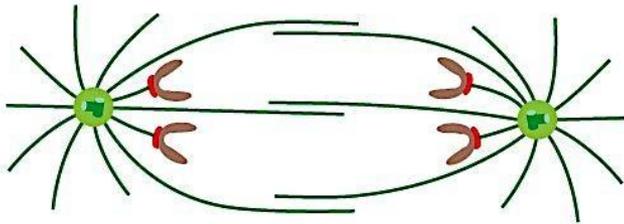
Удаление когезинов в профазе происходит путем фосфорилирования субъединицы Scc3/SA2 когезинов и активации белка Wapl (непротеолитический механизм). Расщепление Scc1 субъединицы при участии сепаразы запускает расхождение хромосом в начале анафазы (протеолитический механизм).

ДВИЖУЩИЕ СИЛЫ АНАФАЗЫ А и АНАФАЗЫ В

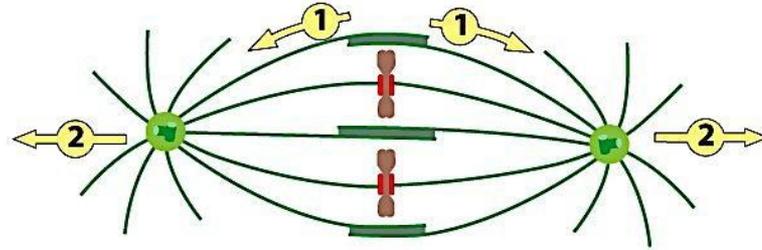
ANAPHASE A



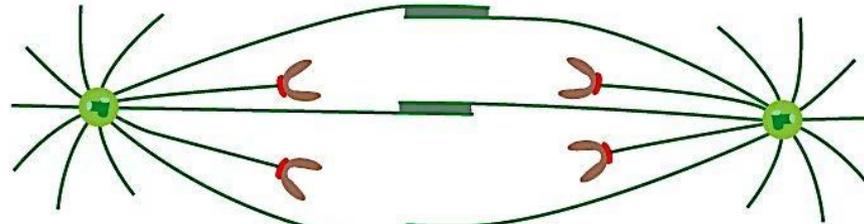
shortening of kinetochore microtubules; movement of daughter chromosomes to poles; forces generated mainly at kinetochores



ANAPHASE B



(1) a sliding force is generated between inter-polar microtubules from opposite poles to push the poles apart; the inter-polar microtubules also elongate; (2) a pulling force acts directly on the poles to move them apart



microtubule growth at plus end of polar microtubules

Anaphase A: Disassembling Microtubules Move Chromosomes toward Spindle Poles (Asbury, 2017)

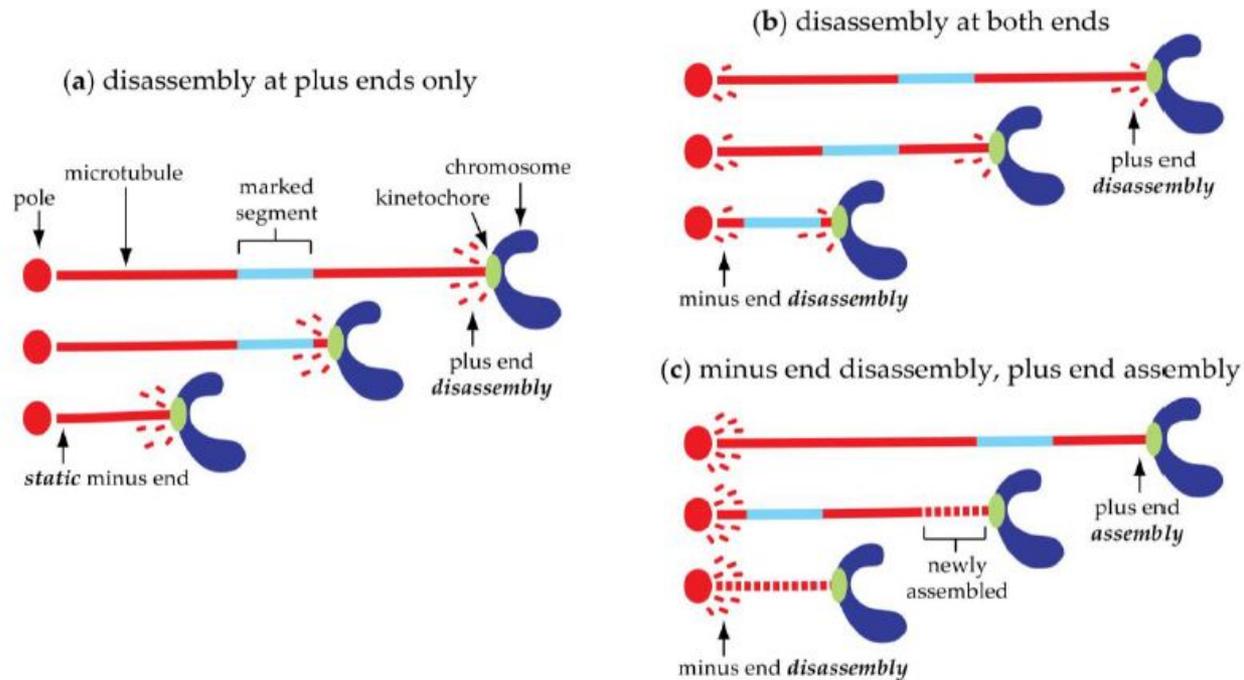
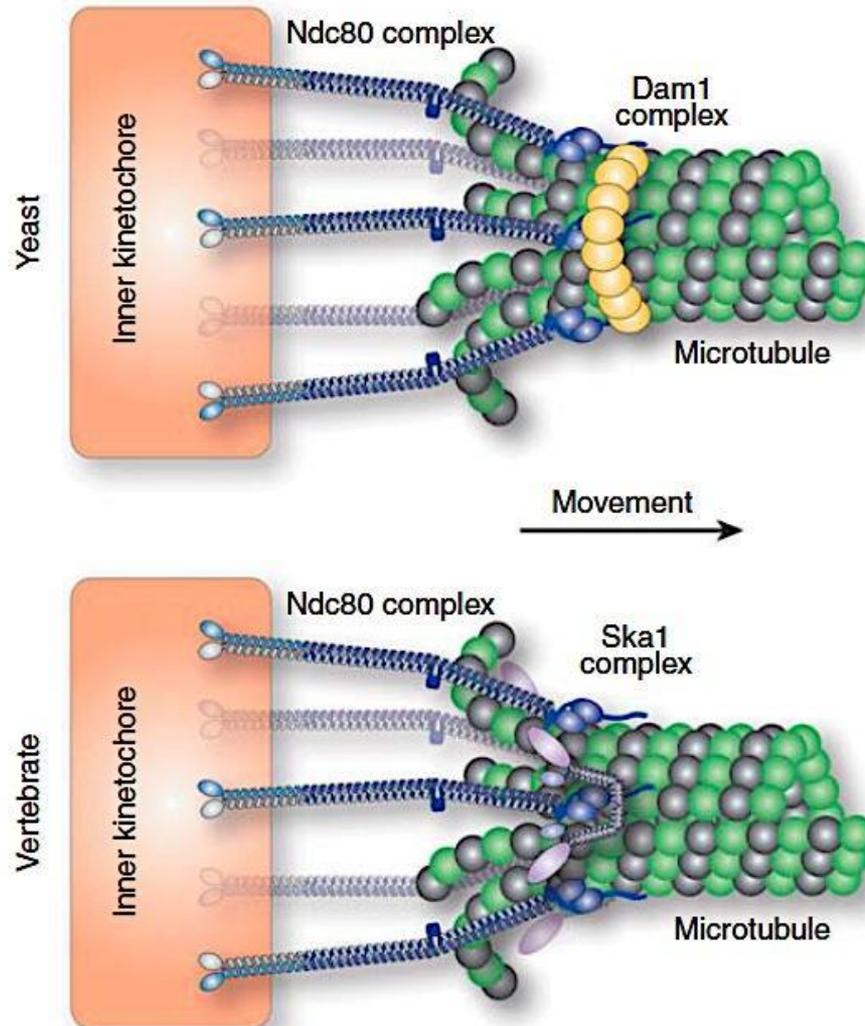
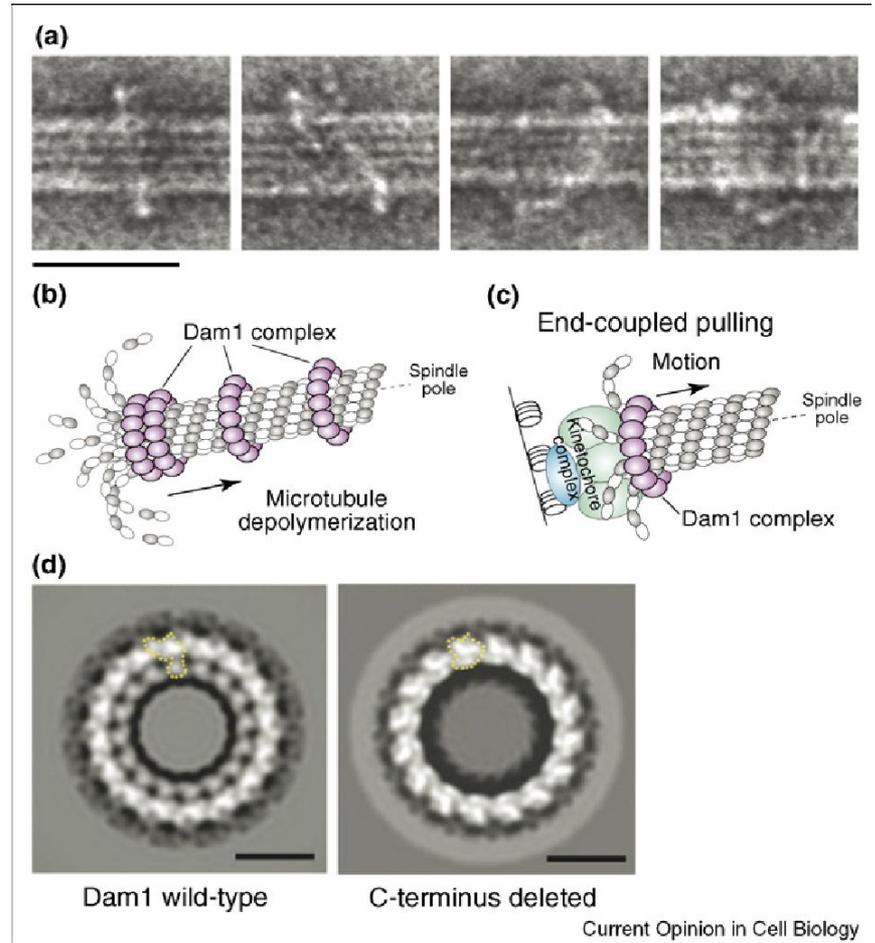
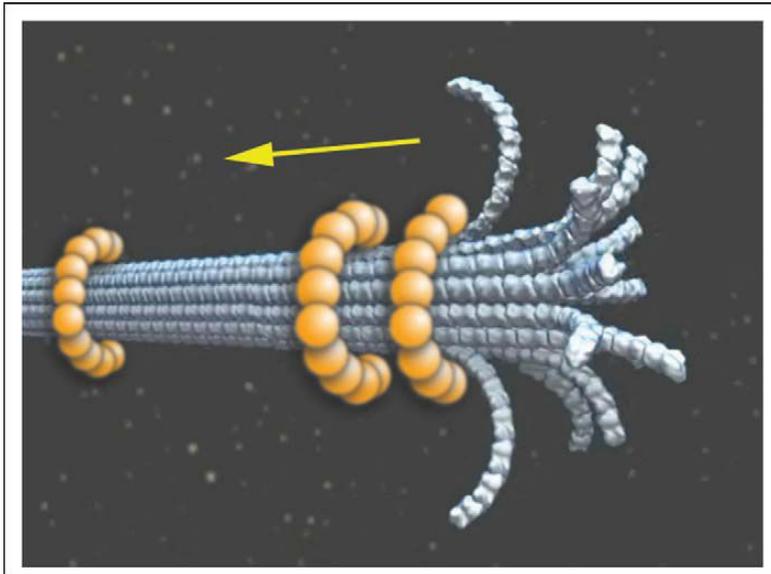
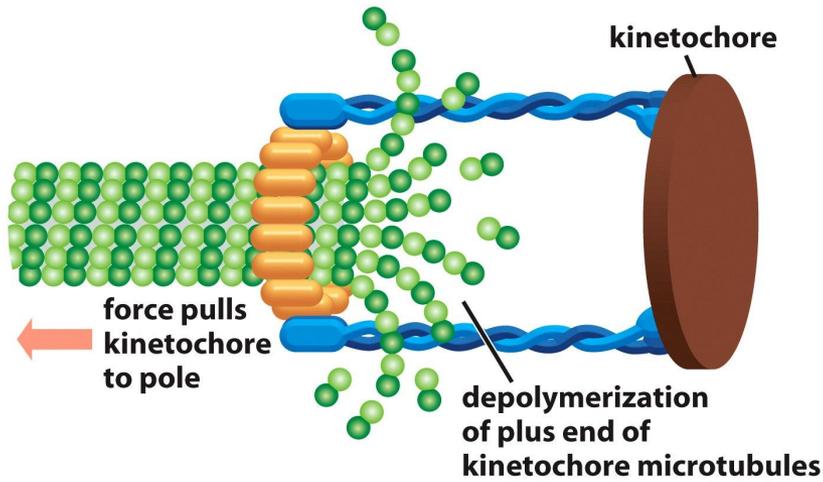


Figure 4. Chromosome-to-pole motion during anaphase A is coupled to microtubule disassembly. (a) Simple mechanism with disassembly occurring only at microtubule plus ends, as seen in yeasts, where minus end attachments to the poles are static and no flux occurs [26–29]. (b) Dual mechanism, as in cultured mitotic human cells, where chromosome-to-pole motion is a superposition of a kinetochore’s movement relative to the microtubules, which is coupled to plus end disassembly, and the microtubules’ flux relative to the poles, which is coupled to minus end disassembly [30]. (c) Mechanism observed for autosomal half-bivalents in meiotic crane-fly spermatocytes, with disassembly at minus ends and assembly at plus ends [10,31]. Switching between mechanism (b) and mechanism (c) has been directly observed in *Xenopus* egg extract spindles [32].

УЧАСТИЕ DAM1 И SKA1 В СОЧЕТАНИИ ПРИКРЕПЛЕНИЯ С ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИЕЙ МИКРОТРУБОЧЕК

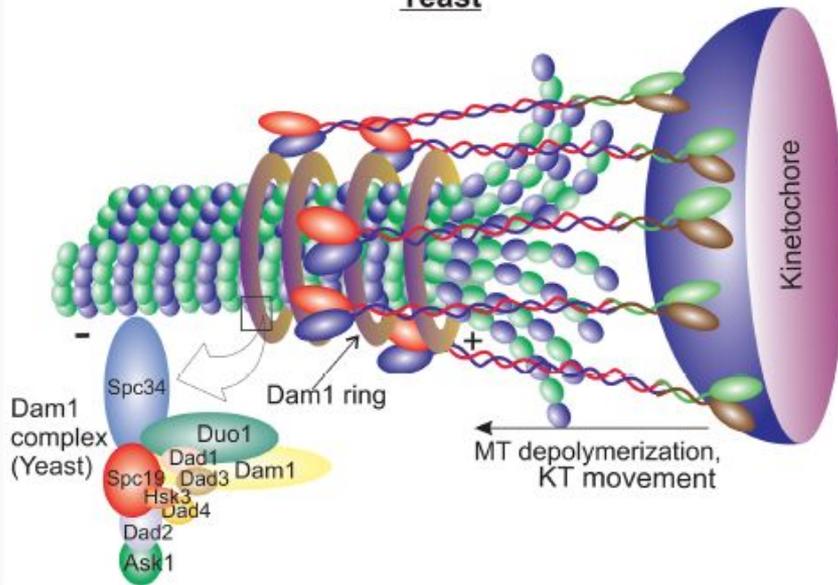


ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СОЧЕТАНИЯ РАЗБОРКИ МИКРОТРУБОЧЕК С ДВИЖЕНИЕМ ХРОМОСОМ К ПОЛЮСАМ

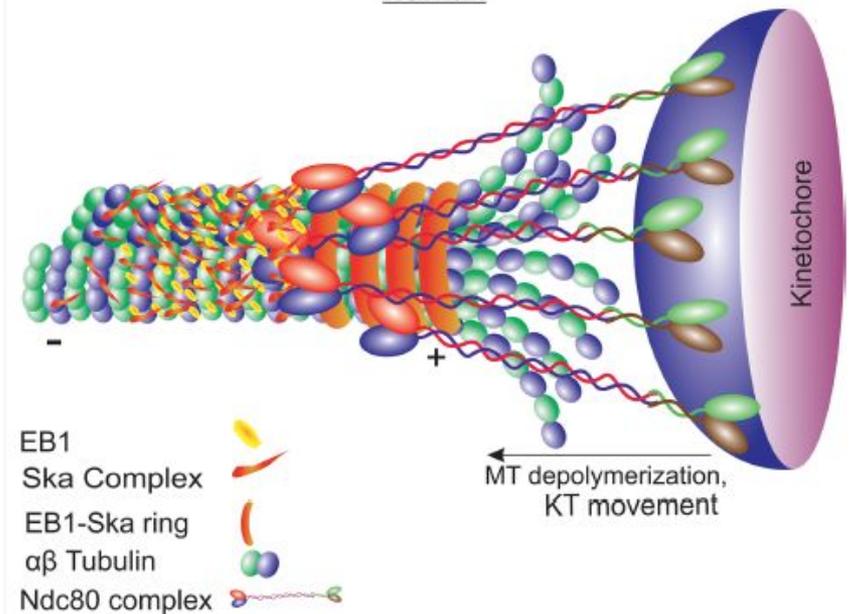


Models showing the possible mechanisms of KT-MT attachment in human cells vs yeast (from Thomas et al., 2017)

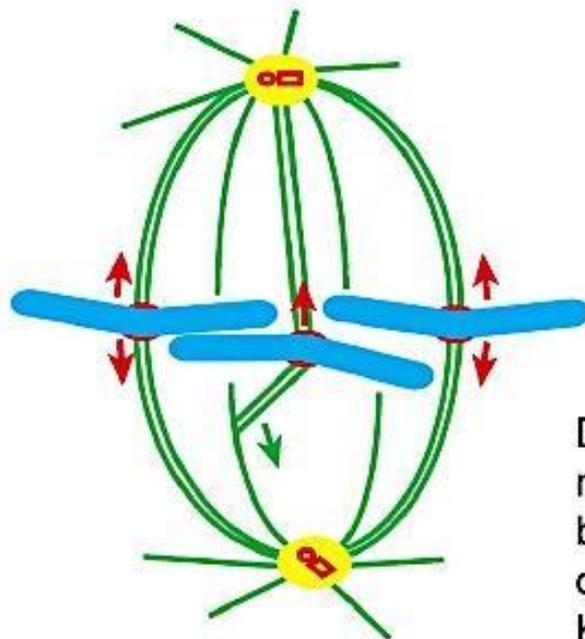
Yeast



Human



Direct kinetochore–spindle pole connections are not required for chromosome segregation (Sikirzhytski et al., 2014)

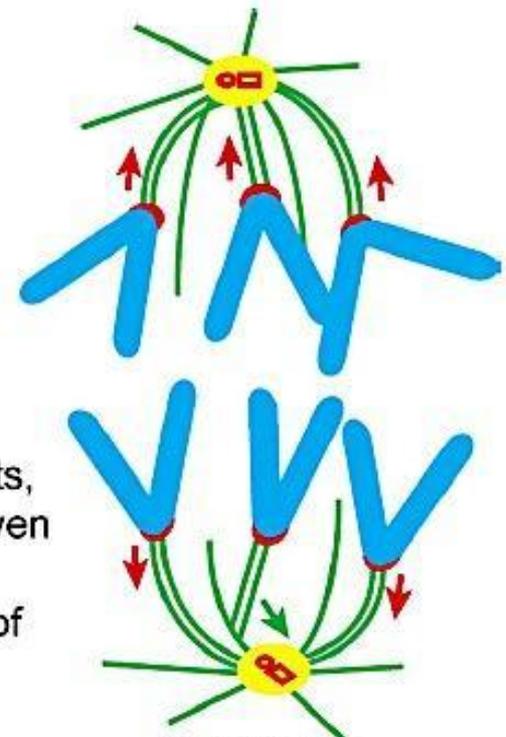


Metaphase

Uniform attachment,
poleward movement
is driven by Pacman

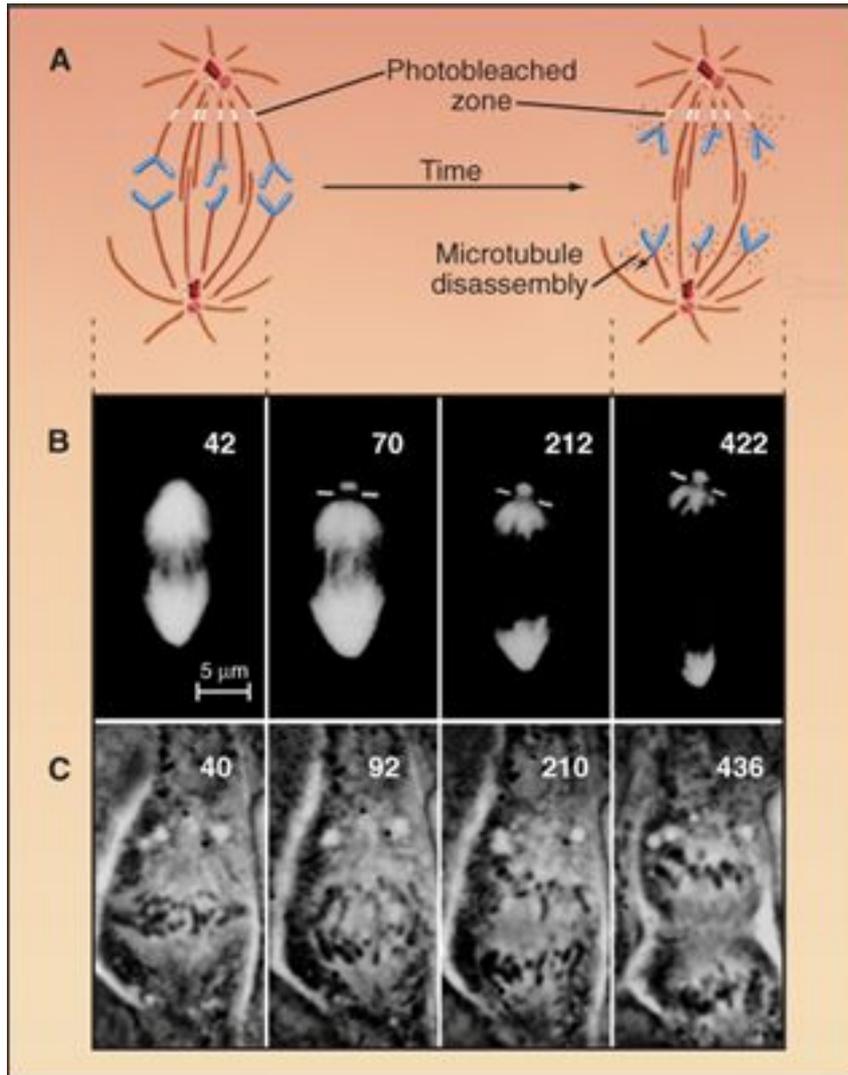


Direct & indirect attachments,
most chromosomes are driven
by Pacman, some rely on
dynein-mediated transport of
K-fiber microtubules



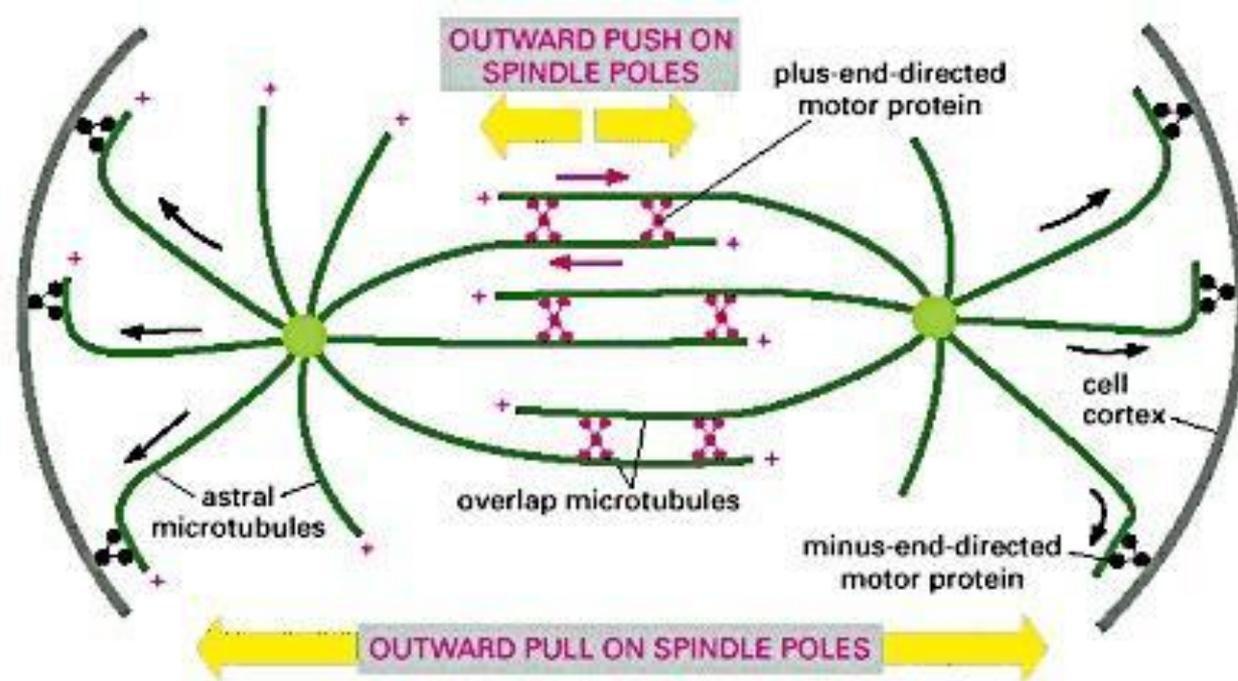
Anaphase

ВО ВРЕМЯ АНАФАЗЫ ХРОМОСОМЫ ДВИЖУТСЯ К ПОЛЮСАМ НА УКРАЧИВАЮЩИХСЯ МИКРОТРУБОЧКАХ



В митотические клетки вводили меченый тубулин, который включался в микротрубочки веретена. Сразу после начала анафазы, с помощью лазера было проведено обесцвечивание полосы около верхнего полюса. Затем наблюдали за флюоресценцией в зоне обесцвечивания. В данной клетке хромосомы достигали обесцвеченную зону быстрее, чем полоса достигала полюса веретена.

ФУНКЦИИ МОТОРНЫХ БЕЛКОВ В АНАФАЗЕ В

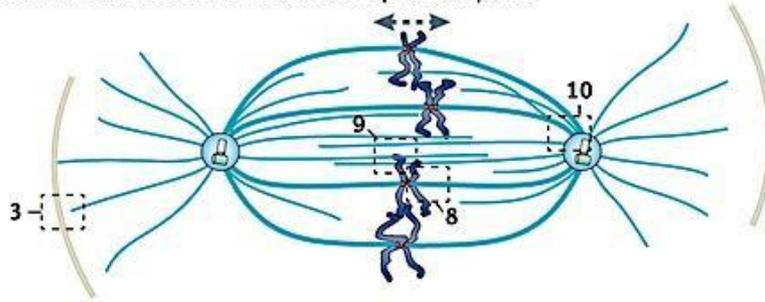


(+) конец ориентированные моторные белки связывают антипараллельные межполюсные микротрубочки и вызывают их скольжение относительно друг друга, расталкивая полюса друг от друга. Красные стрелки обозначают направление скольжения. (-) конец ориентированные моторные белки связываются с клеточным кортексом и с астральными микротрубочками, и тянут полюса в разные стороны. Эти астральные микротрубочки укорачиваются по мере того, как полюса притягиваются к кортексу.

Prime movers: the mechanochemistry of mitotic kinesins (Cross and McAinsh, 2014)

c Metaphase

All sister kinetochores bi-orientated at spindle equator



d Anaphase

- Sister kinetochores move poleward (anaphase A)
- Spindle elongation (anaphase B)

