

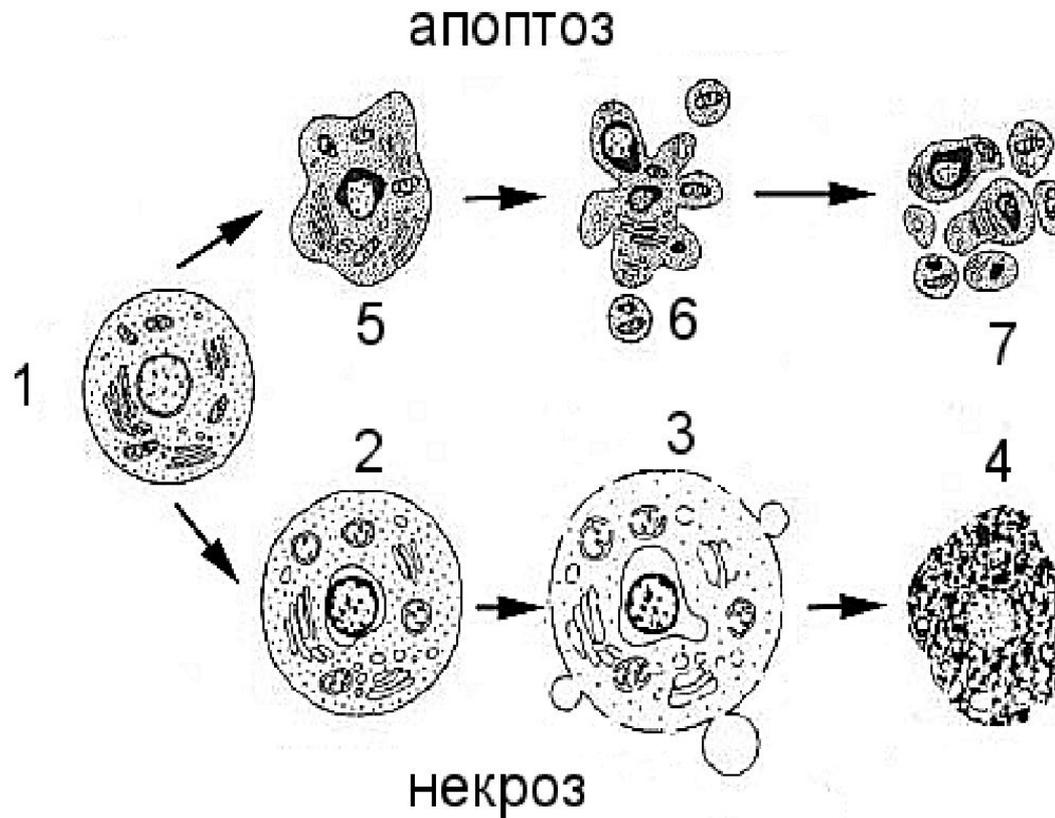
АПОПТОЗ

1. Типы клеточной гибели
2. Биологическое значение апоптоза
3. Три стадии апоптоза
4. Внешний и внутренний пути
5. Эффекторная стадия
6. Регуляция апоптоза
7. Генетический контроль
8. Методы детекции апоптоза

Типы клеточной гибели

- Некроз
- **Апоптоз**
- Аутофагия
- Некроптоз
- Көрнификация (ороговение)
- Митотическая катастрофа

Апоптоз и некроз



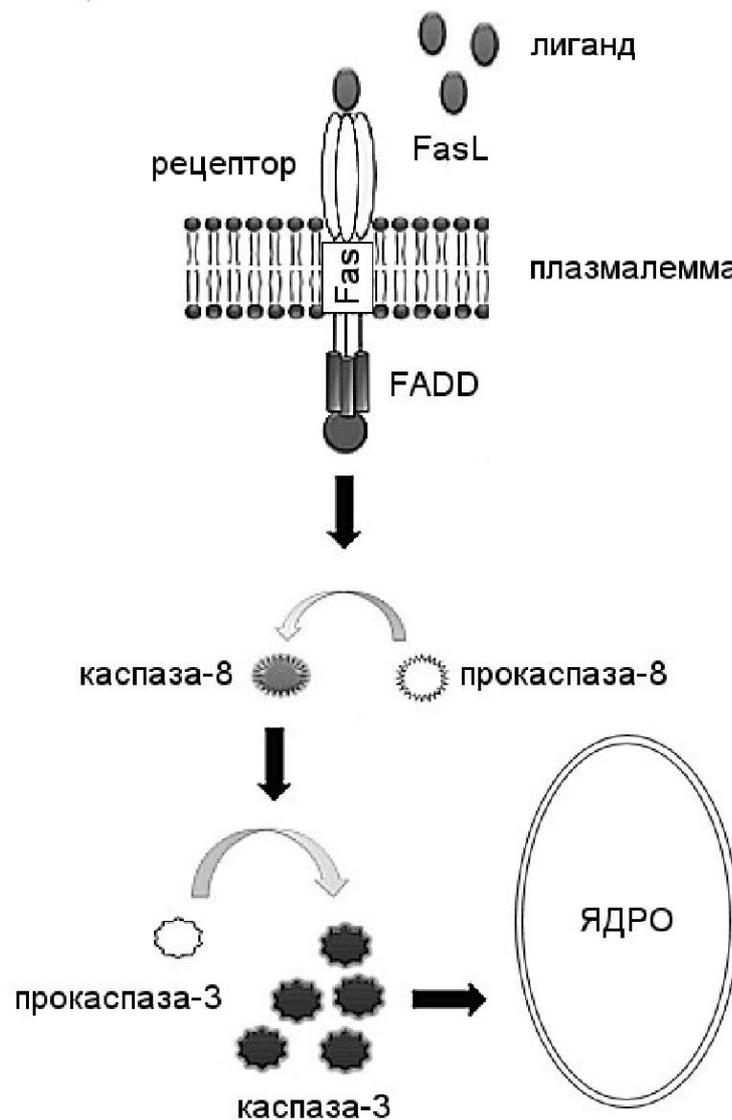
1 – интактная клетка, 2 – набухание цитоплазмы, 3 –пузырение плазмалеммы, 4 – лизис клетки, 5 – маргинация хроматина, 6 – распад на апоптотические тельца, 7 – фагоцитоз телец

Процесс апоптоза

состоит из трех стадий:

1. **Запуск**, который обеспечивается лиганд-рецепторными комплексами
2. **Передача сигнала в цитоплазме** с помощью каспаз и других белков
3. **Фрагментации ДНК в клеточном ядре** специфическими ДНКазами

Внешний путь апоптоза - I



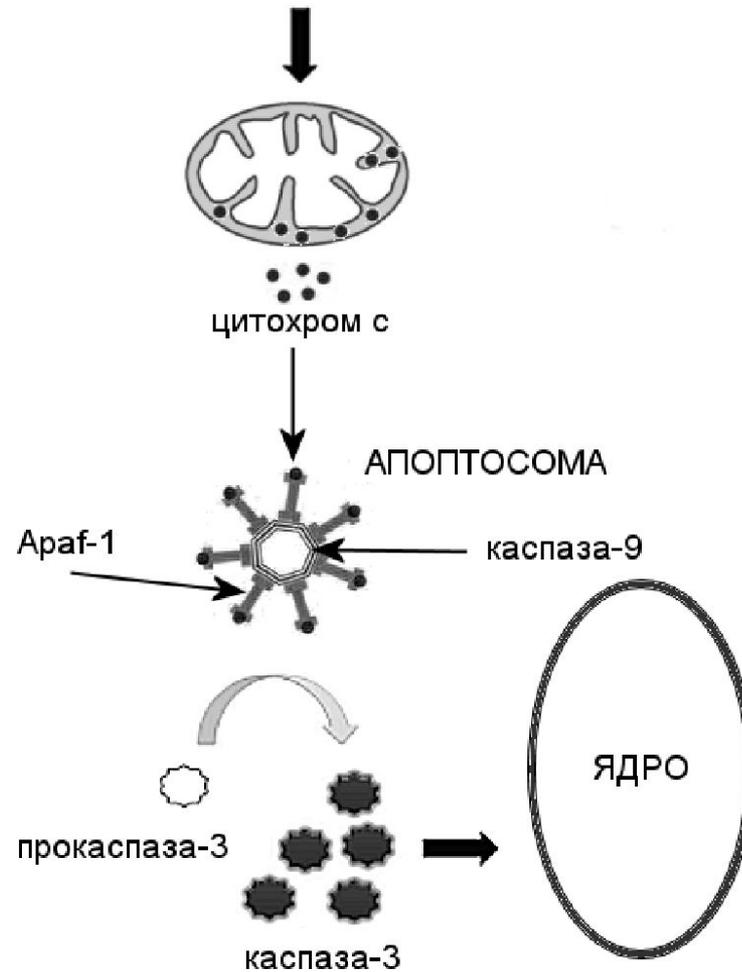
Внешний путь апоптоза - II

Обозначение	Полное наименование
FasL	Лиганд синтетазы жирных кислот
FasR	Рецептор синтетазы жирных кислот
FADD	Ассоциированный с Fas домен смерти
RIP	Взаимодействующий с рецептором белок
DED	Домен эффектора смерти
Каспаза-8	Цистеиновая протеаза, разрезающая спаренные остатки аспарагиновой кислоты

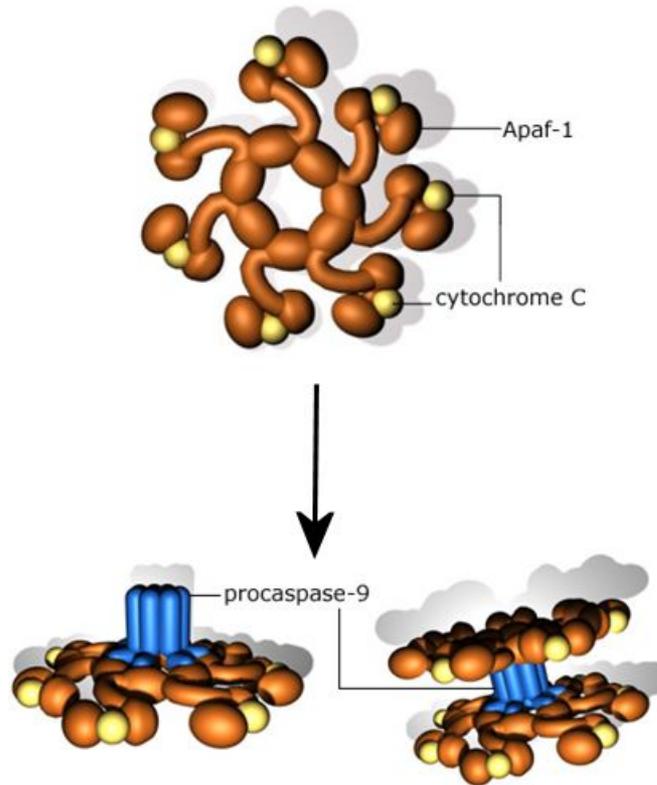
Внутренний путь апоптоза - I

Гипоксия Окислительный стресс

Повреждения ДНК



Апоптосома



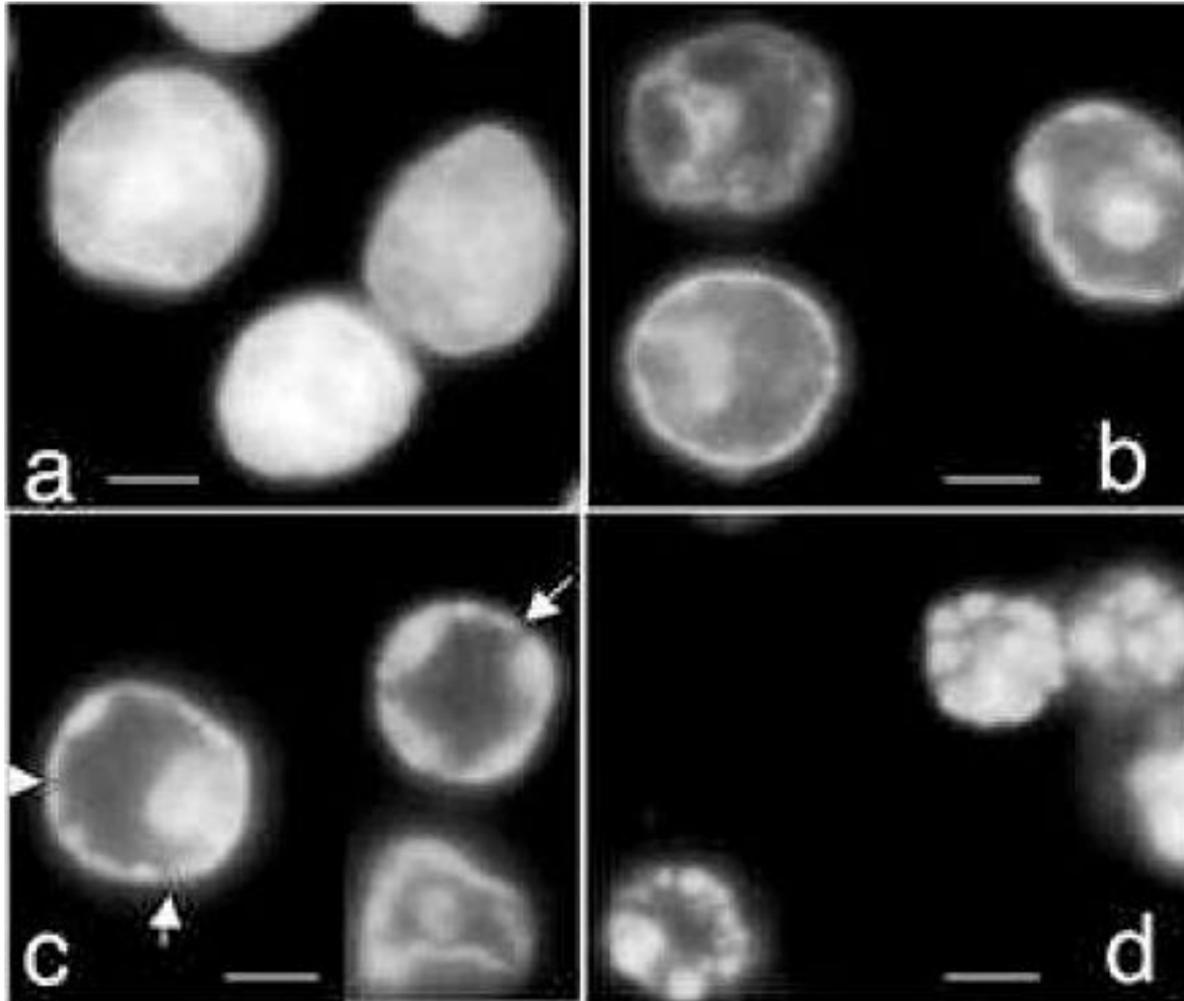
Внутренний путь апоптоза - II

Обозначение	Полное наименование
Smac/DIABLO	Второй митохондриальный активатор каспаз
IAP	Ингибитор белков апоптоза
Araf-1	Фактор активации апоптотических протеаз
Каспаза-9	Цистеиновая протеаза, разрезающая спаренные остатки аспарагиновой кислоты (Asp-Asp)
AIF	Фактор индукции апоптоза
HtrA2/Omi	Белок-регулятор зависимой от температуры сериновой протеазы

Эффекторная стадия апоптоза

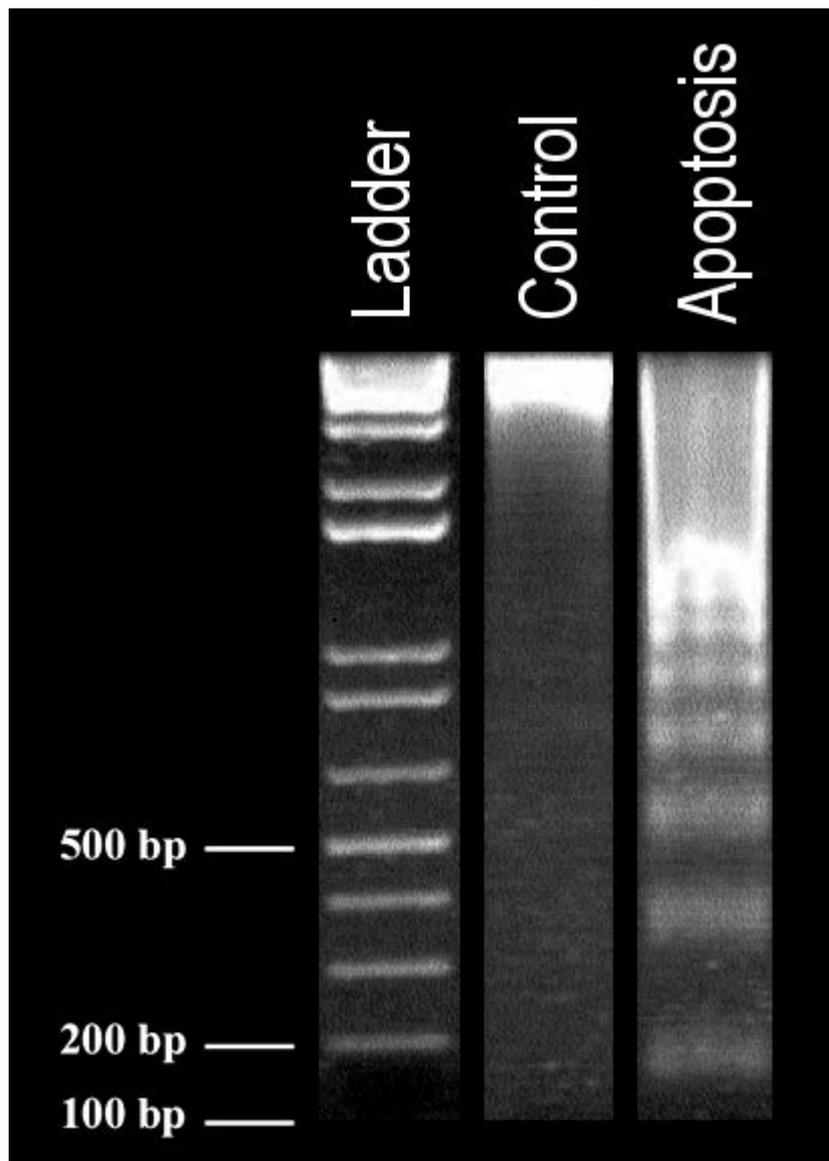
- 1) Инактивация ферментов, участвующих в репарации ДНК:
PARP- поли(АДФ-рибозо)полимераза ингибируется каспазой 2)
- Деградация ядерных белков: каспаза 6 разрезает ламины, что вызывает конденсацию хроматина
- 3) Фрагментация ДНК: разрезание ДНК между нуклеосомами
CAD – каспаз-активируемой ДНКазой. CAD находится в комплексе с ICAD, который разрезается каспазой 3.

Изменения морфологии клеточного ядра при апоптозе



а – интактные ядра,
б – маргинация
хроматина,
с – кариорексис,
д – пикноз

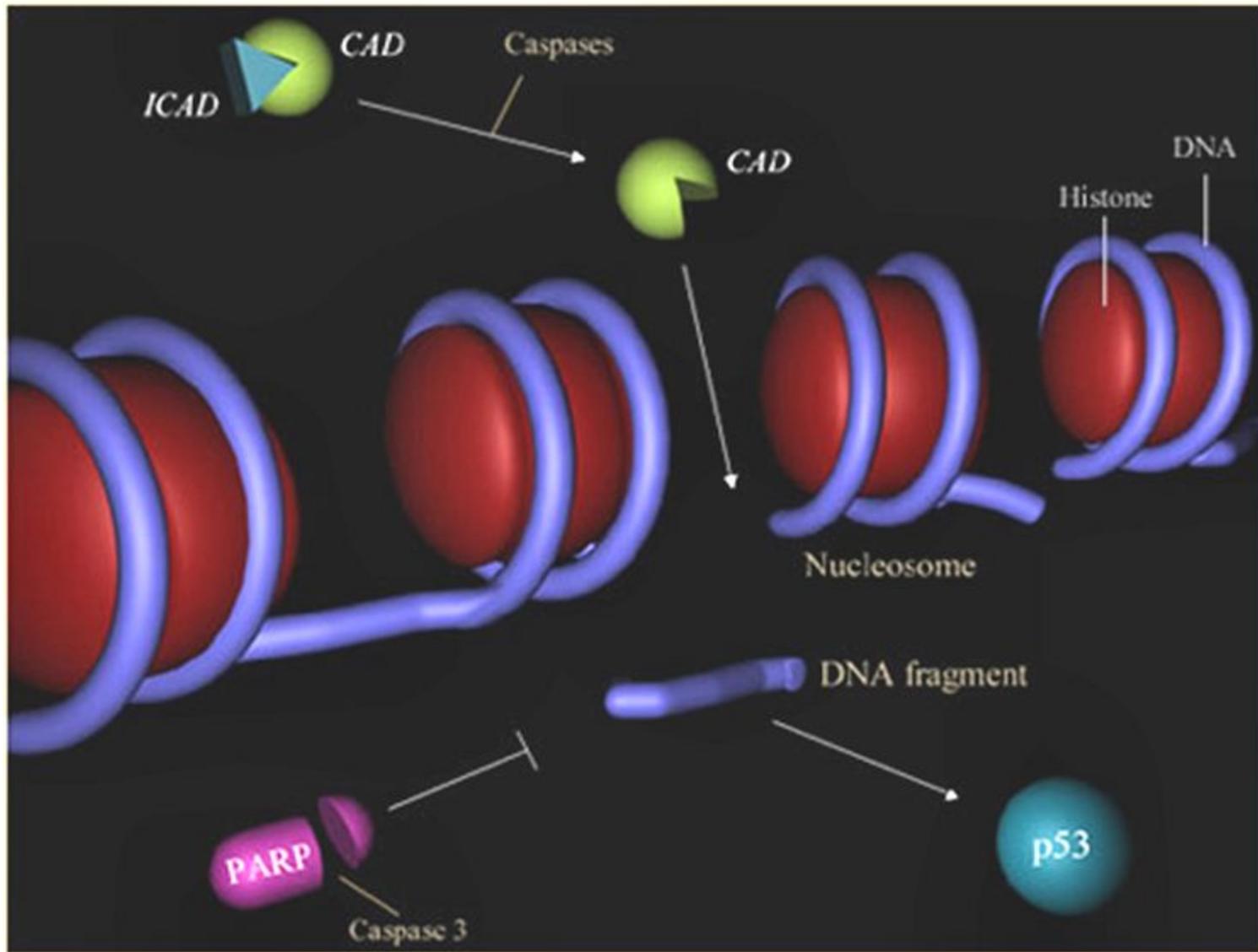
Фрагментация ДНК при апоптозе



Эффекторная стадия апоптоза

Обозначение	Полное наименование
Каспаза-3	Цистеиновая протеаза 3
Каспаза-6	Цистеиновая протеаза 6
Каспаза-7	Цистеиновая протеаза 7
Каспаза-10	Цистеиновая протеаза 10
PARP	АДФ-рибозилтрансфераза
Альфа-фодрин	Альфа-спираль спектрина
NuMA	Белок митотического веретена
CAD	Активируемая каспазой 3 ДНКаза
ICAD	Ингибитор CAD

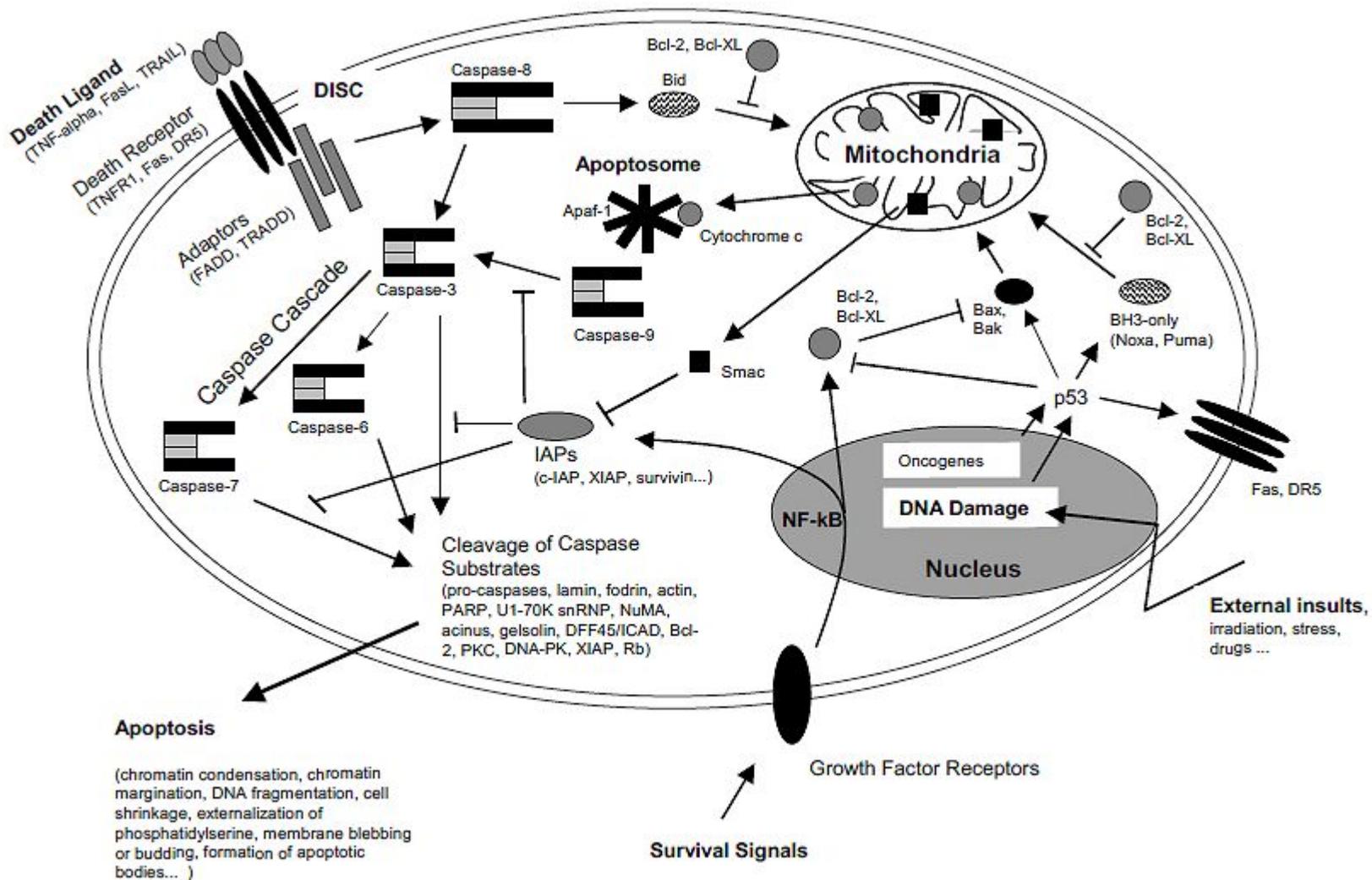
Механизм фрагментации ДНК



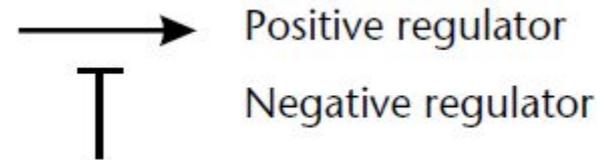
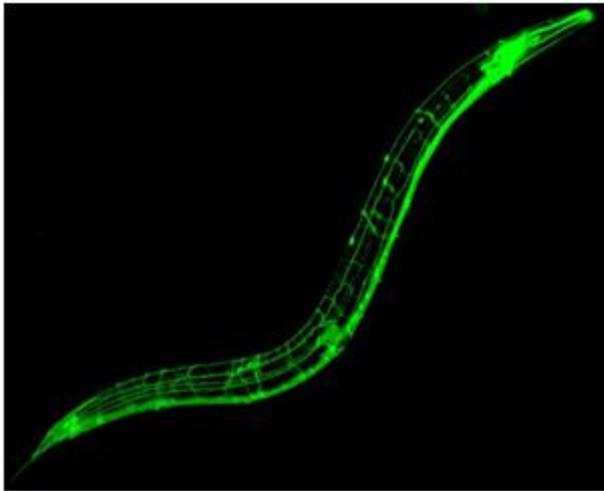
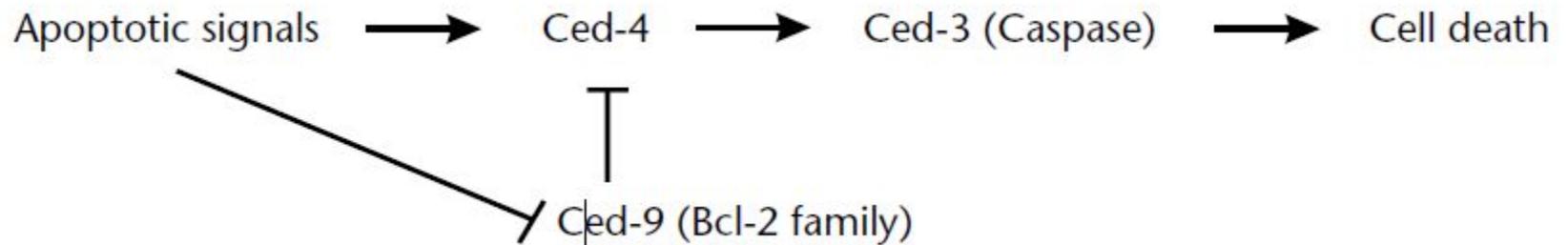
Эволюционная консервативность механизмов апоптоза

	<i>D. melanogaster</i>			Mammals	
	<i>C. elegans</i>	Intrinsic	Extrinsic	Intrinsic	Extrinsic
Apoptosis promoter	EGL-1	Debcl	Wengen/Eiger	Bax BH3-only proteins	Fas/FasL TNFR1/TNF- α DR4,5/TRAIL
Inhibitor	CED-9	Buffy (?)		Bcl-2, Bcl-x _L	FLIP
Adaptor	CED-4	Dark	dFADD	Apaf-1	FADD TRADD
Initiator caspase	CED-3	Dronc	Dredd	Caspase-9	Caspase-8
Caspase inhibitor		Diap-1	Diap-1	IAP	IAP
Inhibitor of IAP		Reaper, Grim, Hid	Reaper, Grim, Hid	Smac/Diablo Omi/HtrA2	Smac/Diablo
Effector caspase	CED-3	Dcp-1, Drice	Dcp-1, Drice	Caspase-3, caspase-7	Caspase-3, caspase-7

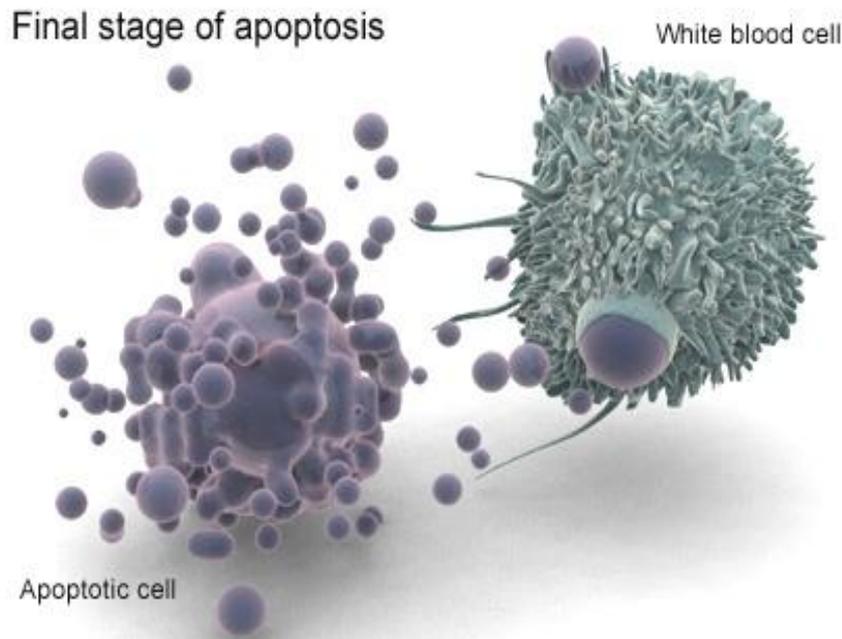
Общая схема апоптоза



Генетический контроль апоптоза у *Caenorhabditis elegans* (S.Brenner, R.Horwitz)



Генетический контроль апоптоза



U.S. National Library of Medicine

Function & Gene	Cytoband
1 Proapoptosis	
FDX1	11q22
BCAP31	Xq28
BNIP1	5q33-q34
VDAC1	5q31
FDXR	17q24-q25
BAK1	6p21.3
TNFSF10	3q26
FAS	10q24.1
CASP6	4q25
CASP3	4q34
BAD	11q13.1
BID	22q11.1
BBC3	19q13.3-q13.4
CYCS	7p15.2
APAF1	12q23
2 Antiapoptosis	
CLN3	16p12.1
MCL1	1q21
BCL2L1	20q11.21

Клетки балансируют между жизнью и смертью

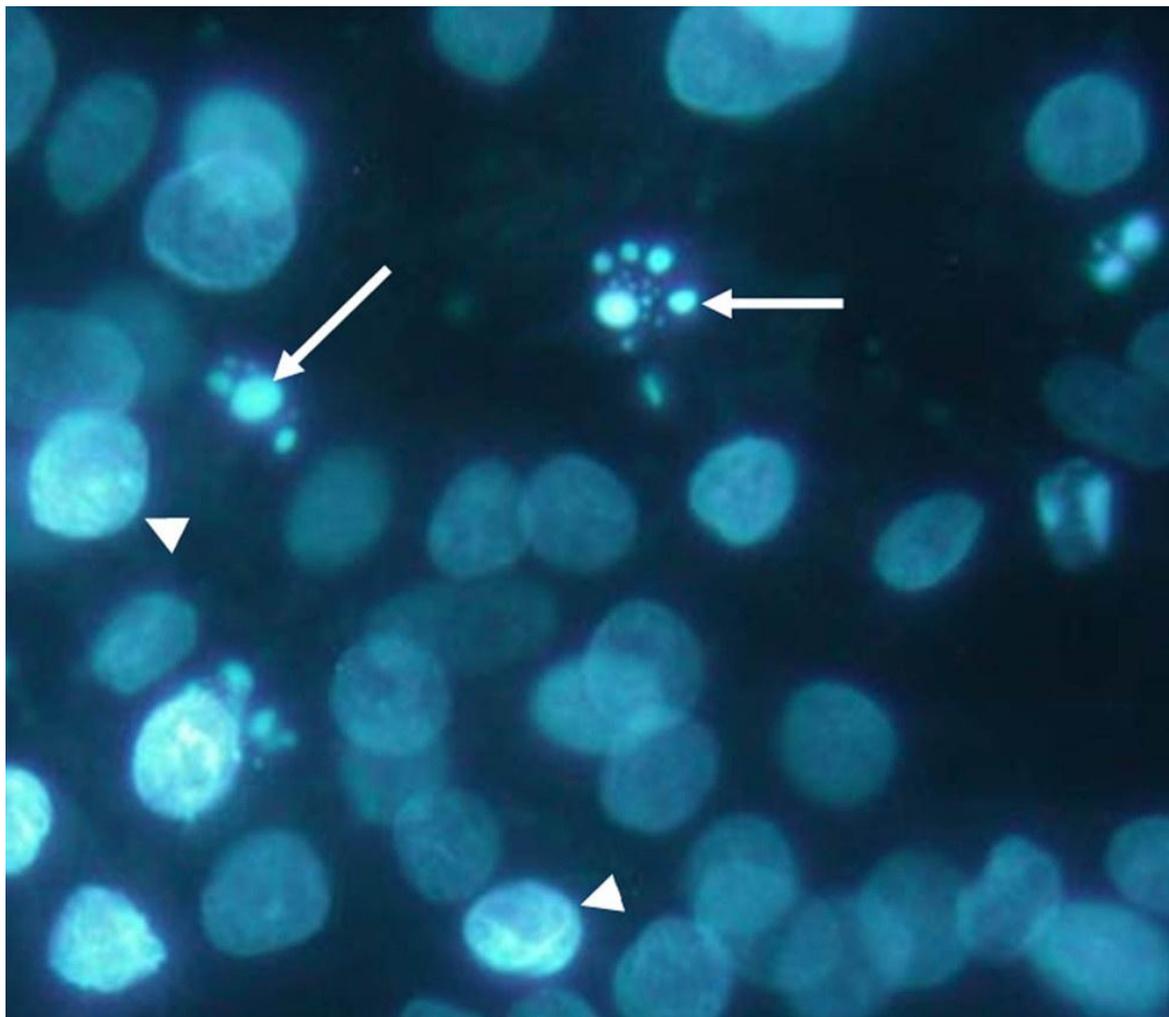


Детекция апоптоза и некроза



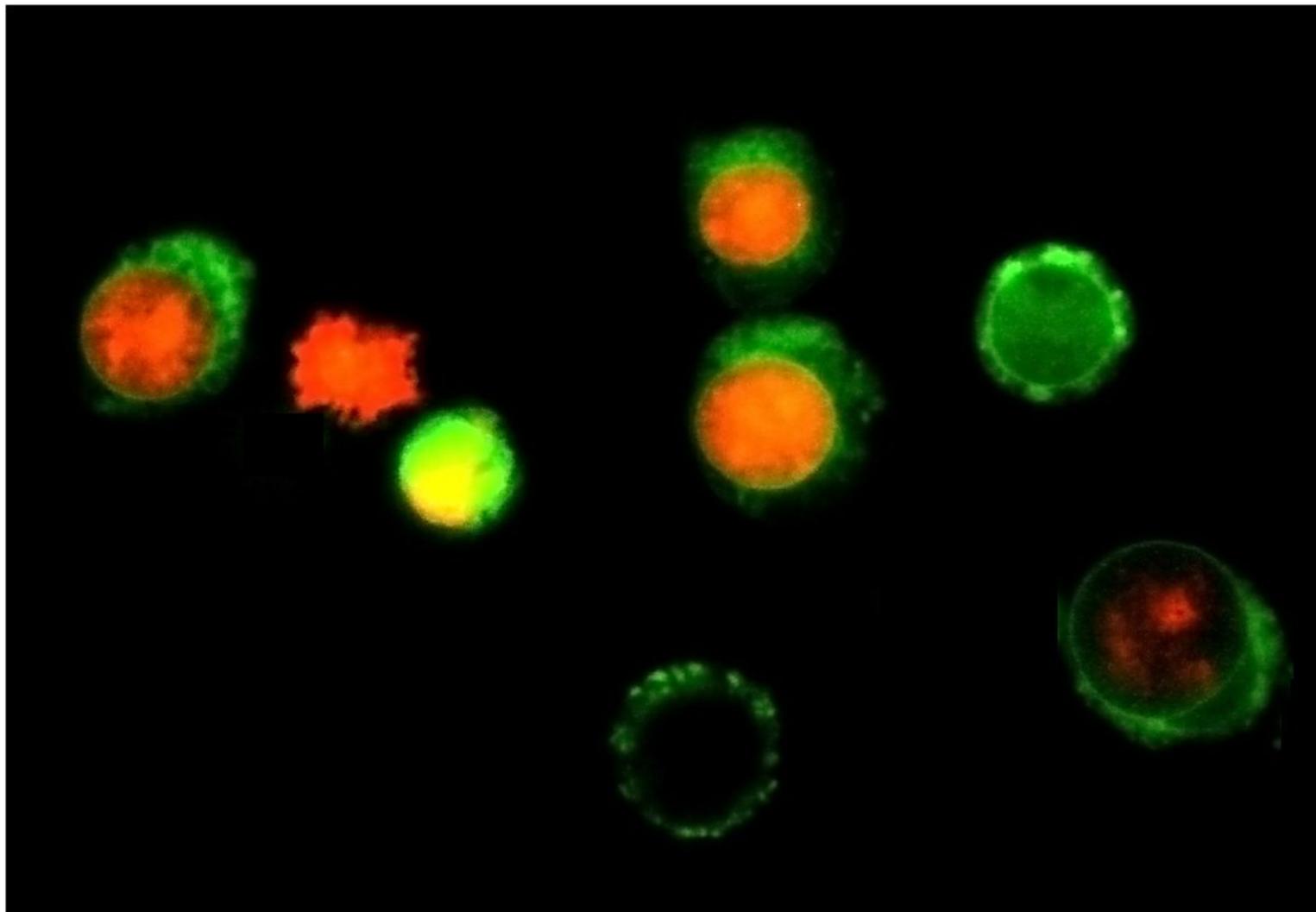
Детекция апоптоза и некроза с помощью АО и БЭ

Детекция апоптоза



Детекция апоптоза с помощью Hoechst 33342

Детекция апоптоза и некроза



Детекция апоптоза и некроза с помощью БЭ и Родамина123