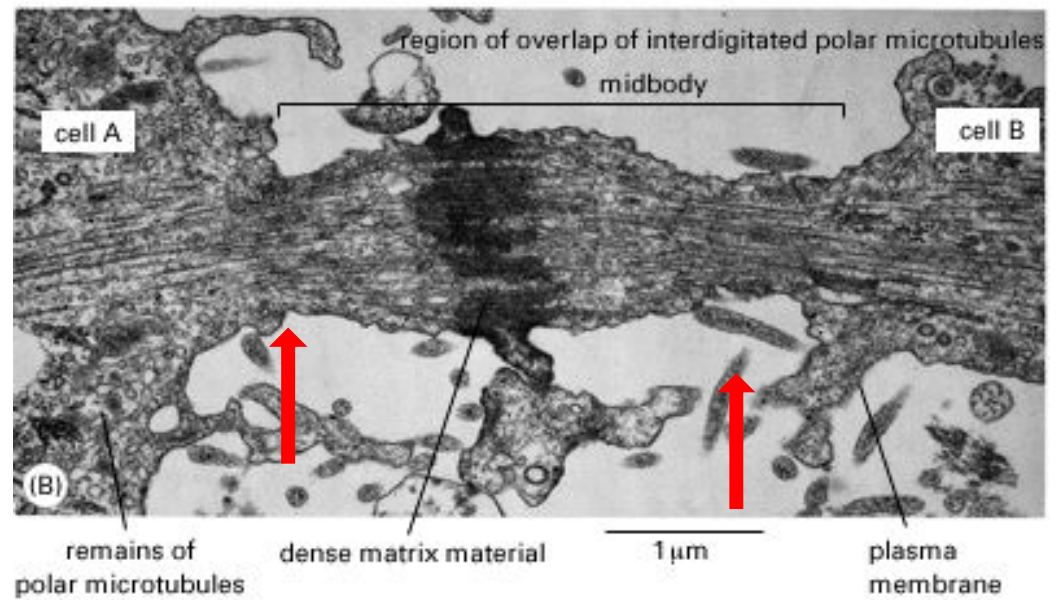
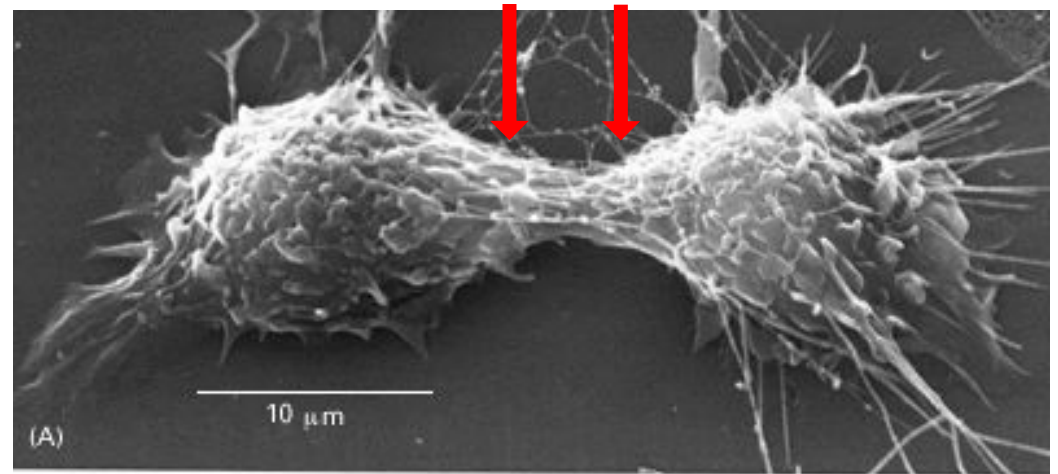


Лекция 7

**Митотические пункты
контроля, продолжение**

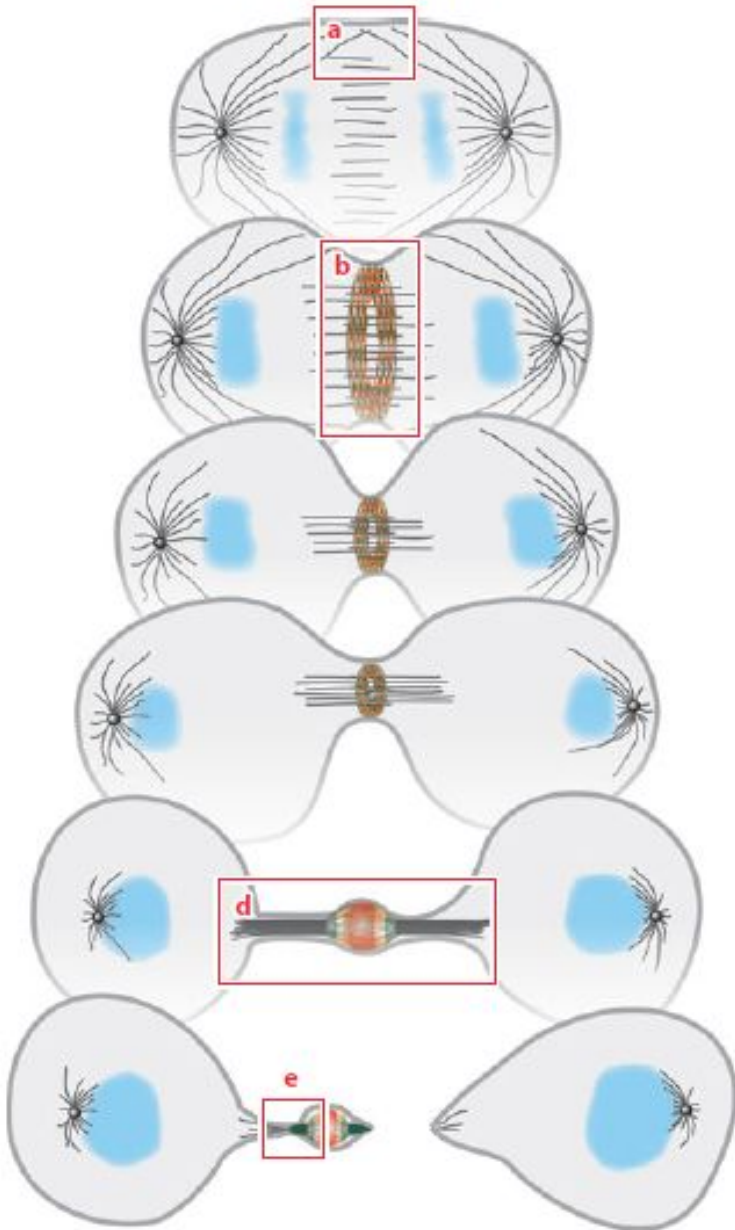
Старение клеток

ЦИТОКИНЕЗ



Тельце Флемминга

Cytokinesis at a glance



Цитокинез

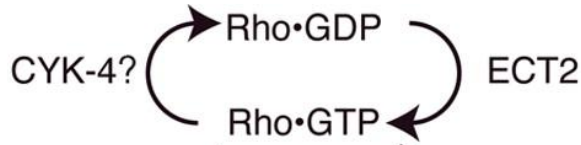
Сжатие мембран происходит с помощью сокращения актомиозинового кольца – его надо сформировать (1) и затем дать сигнал к сокращению (2).

После того, как мембраны сблизятся, должен сработать механизм слияния (3)

Формирование акто-миозинового кольца

GAP (GTF-ase activating protein)

GEF (GTF-exchange factor)



ROCK

MYPT

rMLC-PO4

active myosin II

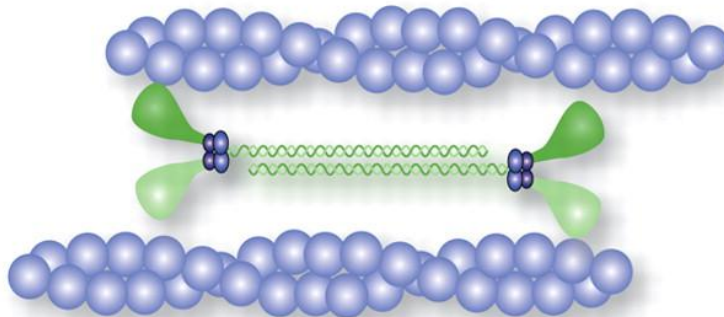
formin-homology proteins

profilin

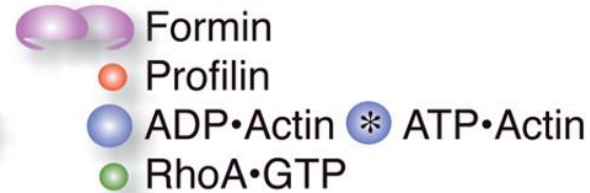
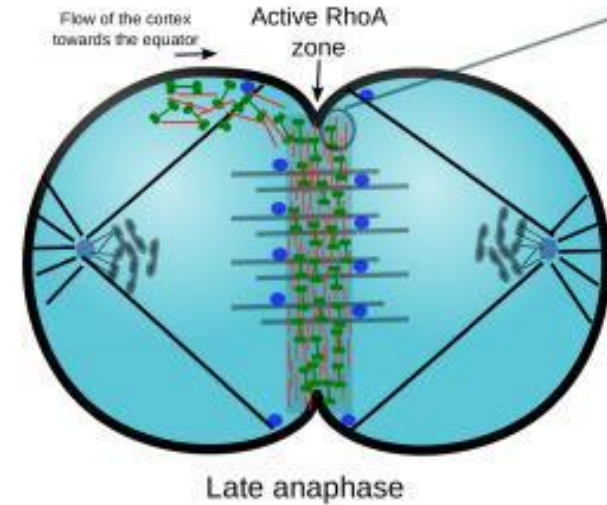
f-actin

contractile ring

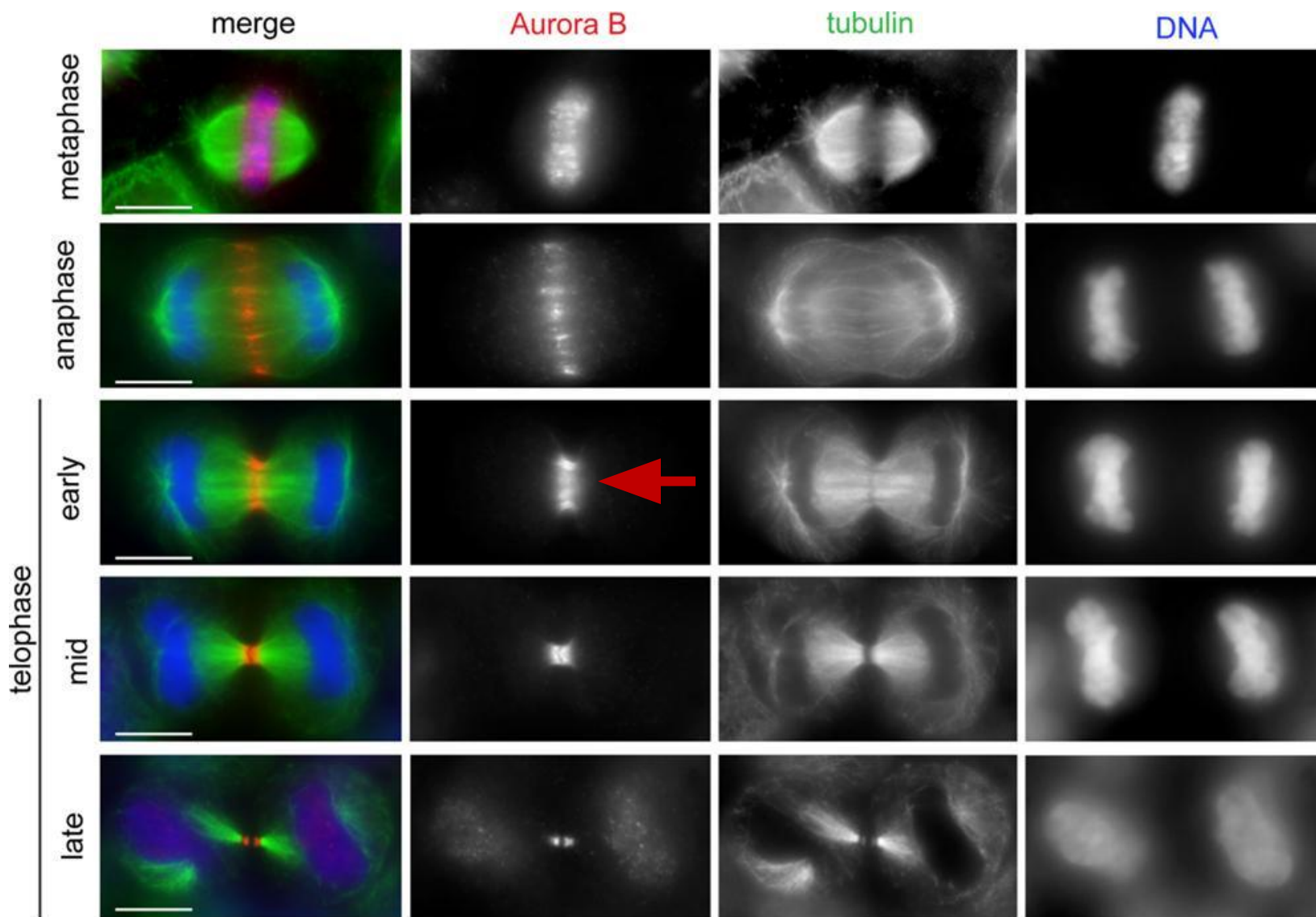
Myosin II



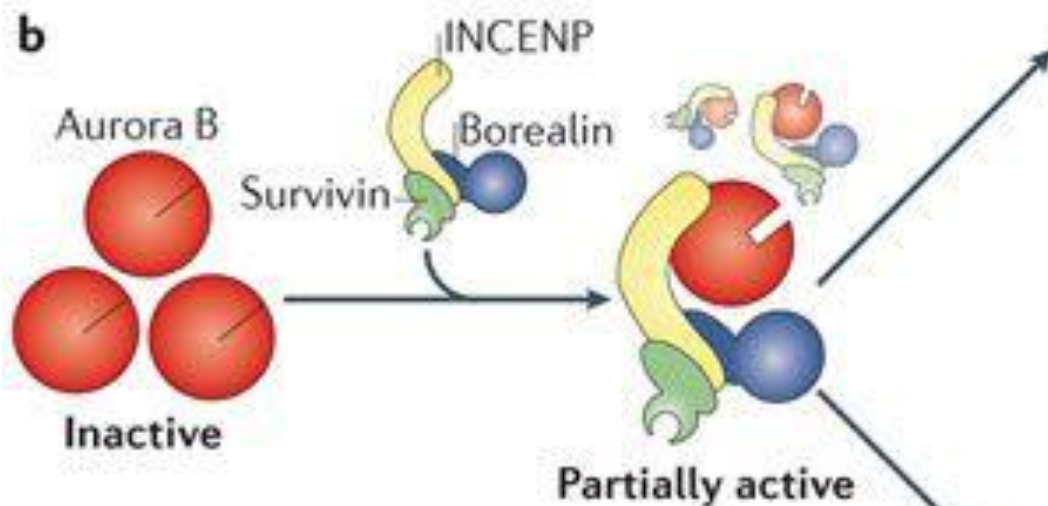
Actin and Myosin II



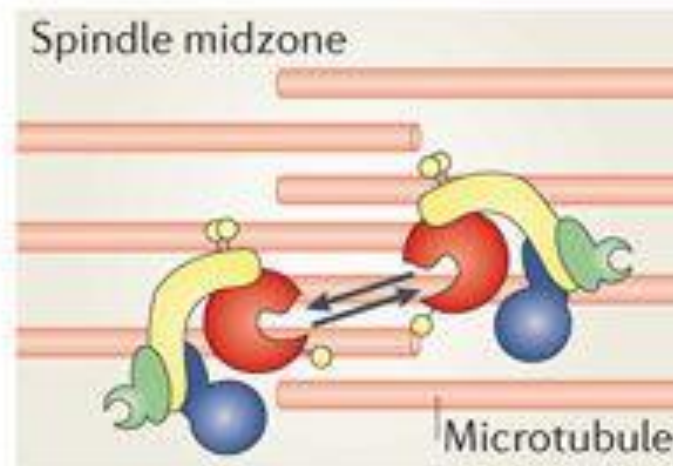
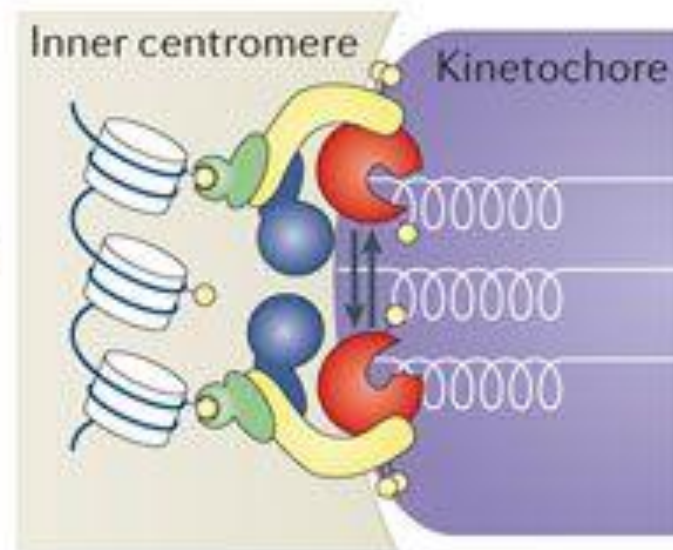
Локализация Авроры В в митозе



Перемещение CPC по микротрубочкам



До анафазы

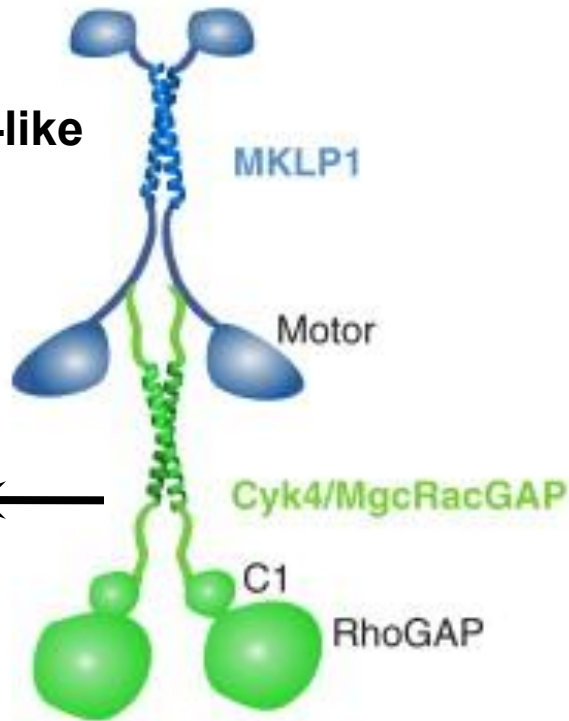


Fully active

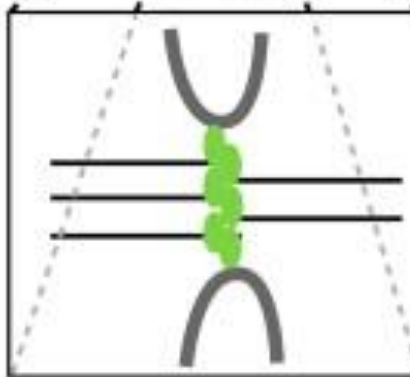
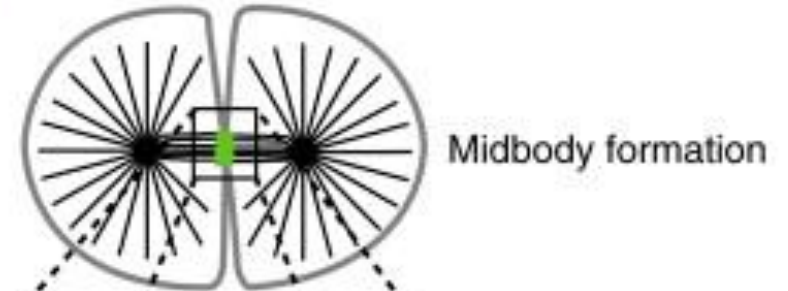
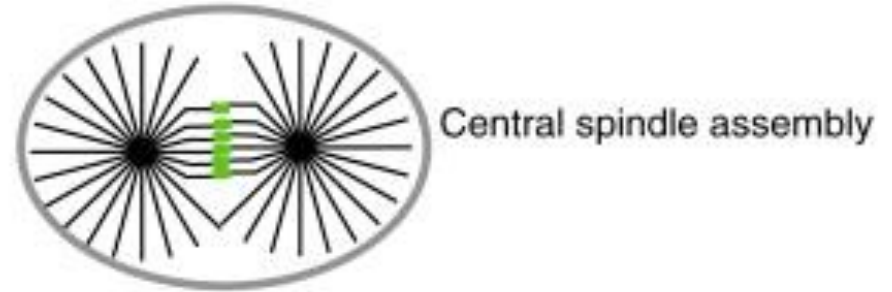
MKLP2 mitotic kinesin-like protein 2 – моторный белок, связывается с INCENP и перемещает весь комплекс CPC по микротрубочкам

A Centralspindlin tetramer

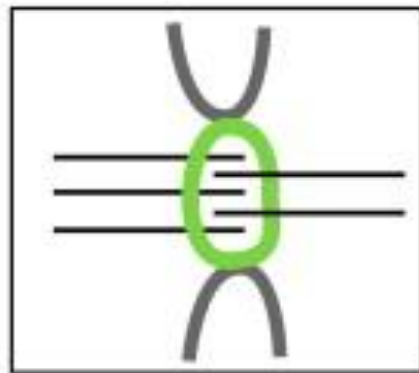
mitotic kinesin-like protein 1



B

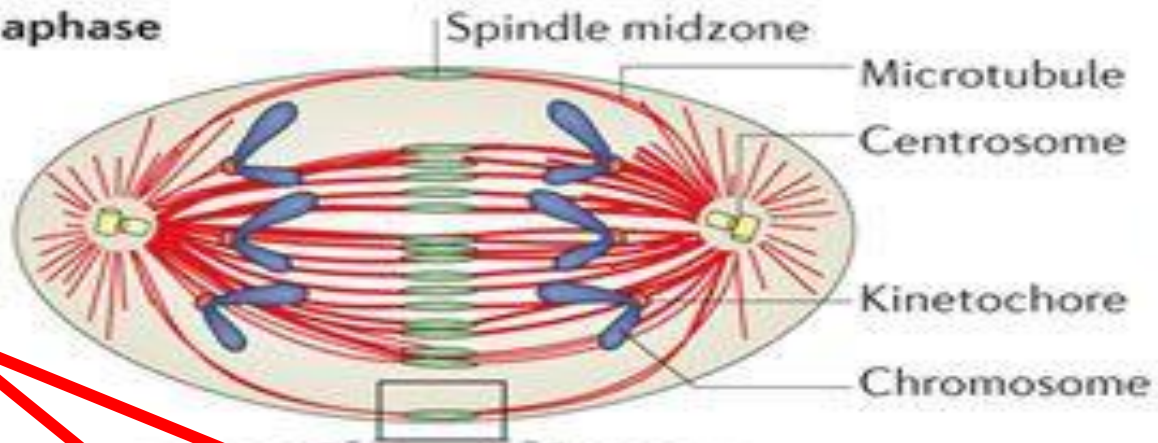


C

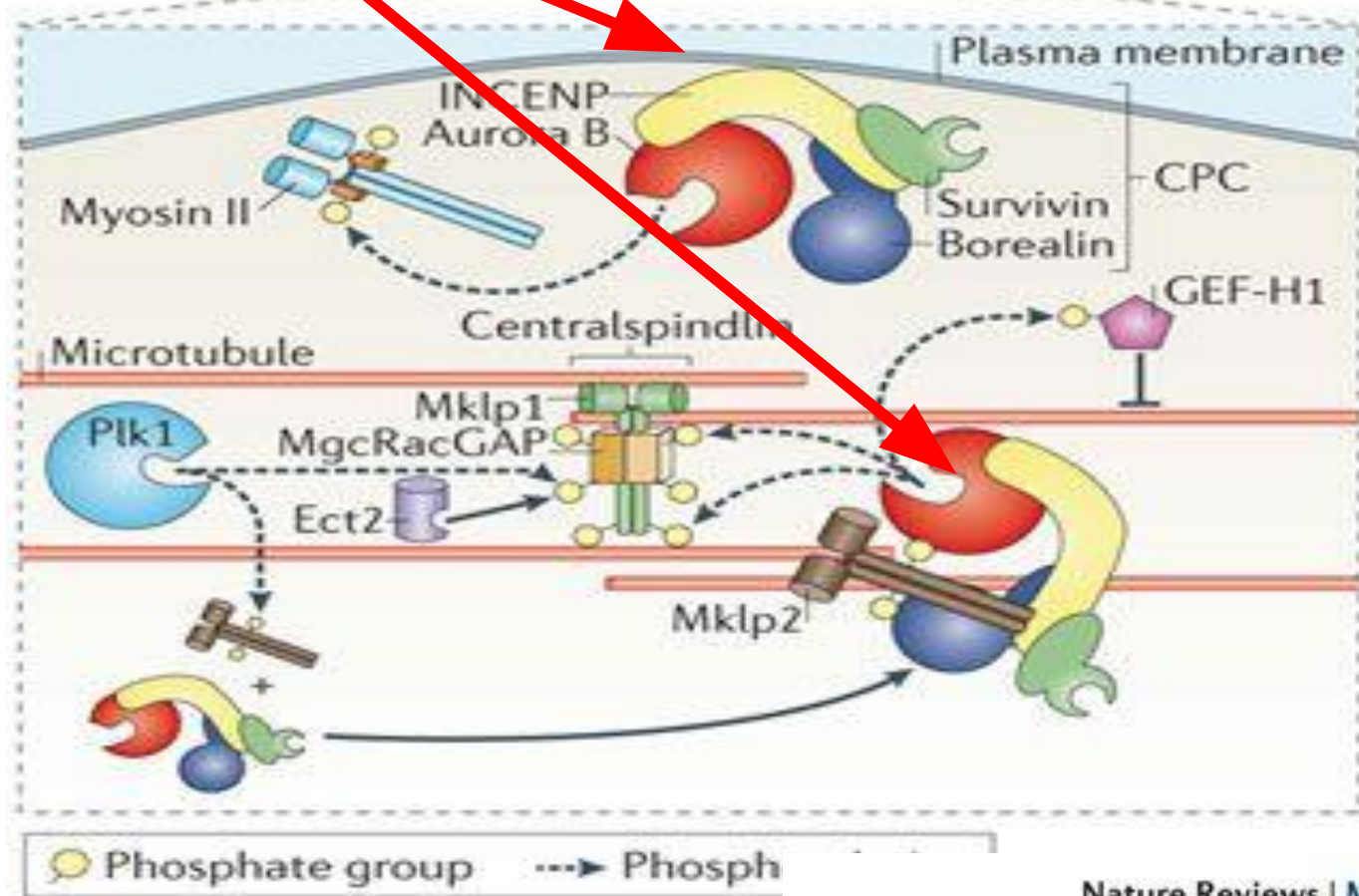


14-3-3

a Late anaphase



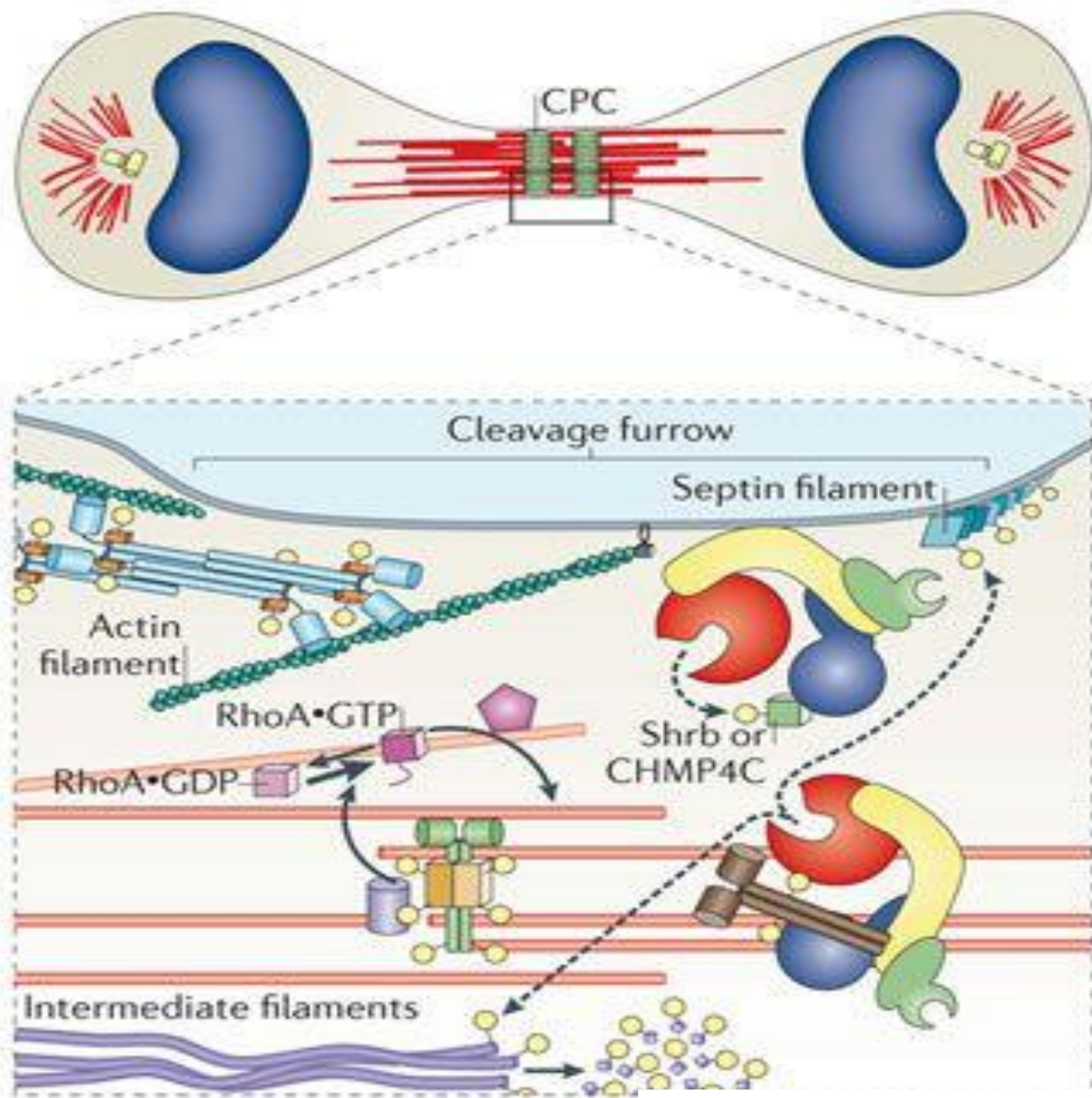
Два места
расположения
CPC в анафазе



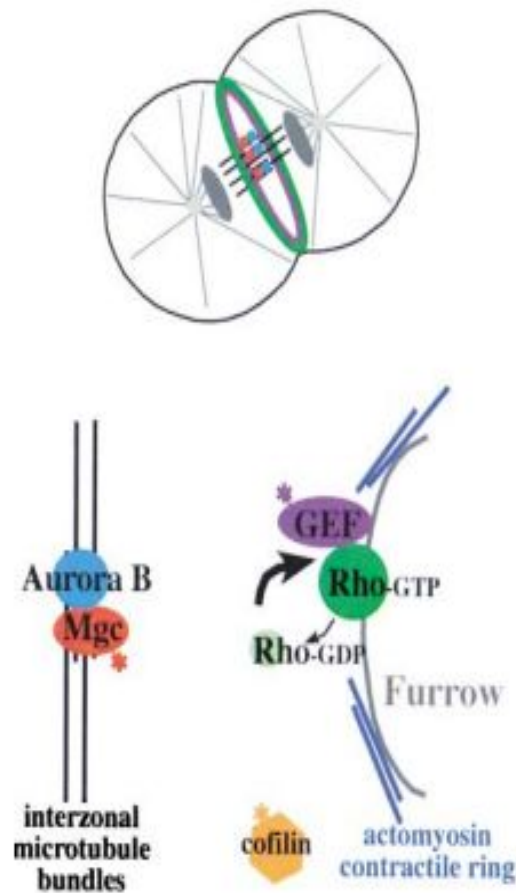
mitotic
kinesin-like
protein
2

epithelial
cell-transforming
2 (Ect2).

b Telophase and cytokinesis



A Furrow Ingression



B Cytokinesis Completion

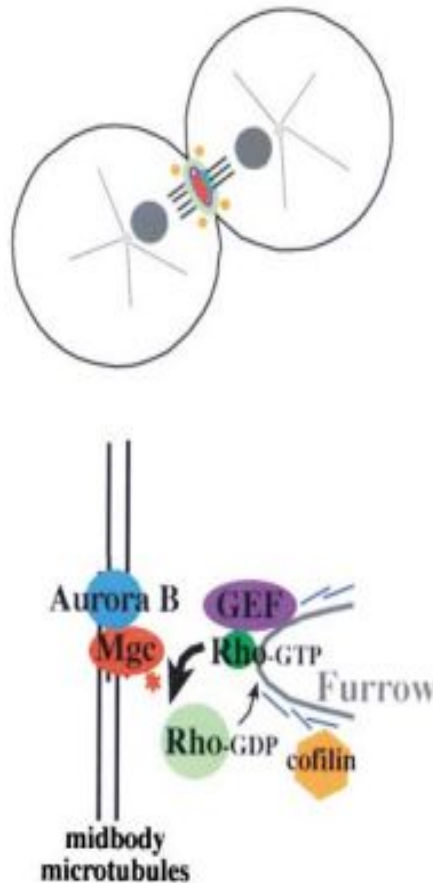


Figure 1. A Model in which Furrow Contraction and Localized RhoA GAP Activity Promote Cleavage Furrow Disassembly during Completion of Cytokinesis

(A) Furrow ingression: Aurora B (blue circle) and MgcRacGAP (in a complex with the MKLP-1 kinesin; red oval) localize to interzonal microtubule bundles that form between the segregating chromosomes during late anaphase. Aurora B phosphorylates Mgc (red asterisk) converting it to a RhoA GAP, but the distance between the microtubule bundles and membrane-bound RhoA and the presence of phosphorylated, active Rho GEF result in the net activation of RhoA (RhoA-GTP; dark green). Active RhoA promotes furrow assembly and contractility and leads to the phosphorylation of cofilin, blocking its actin filament severing activity.

(B) Cytokinesis completion: contraction of the cleavage furrow around the compacted midbody microtubules brings RhoA in close apposition to aurora B-activated MgcRacGAP. This increase in the local concentration of RhoA GAP activity in combination with inactivation of the RhoA GEF by dephosphorylation

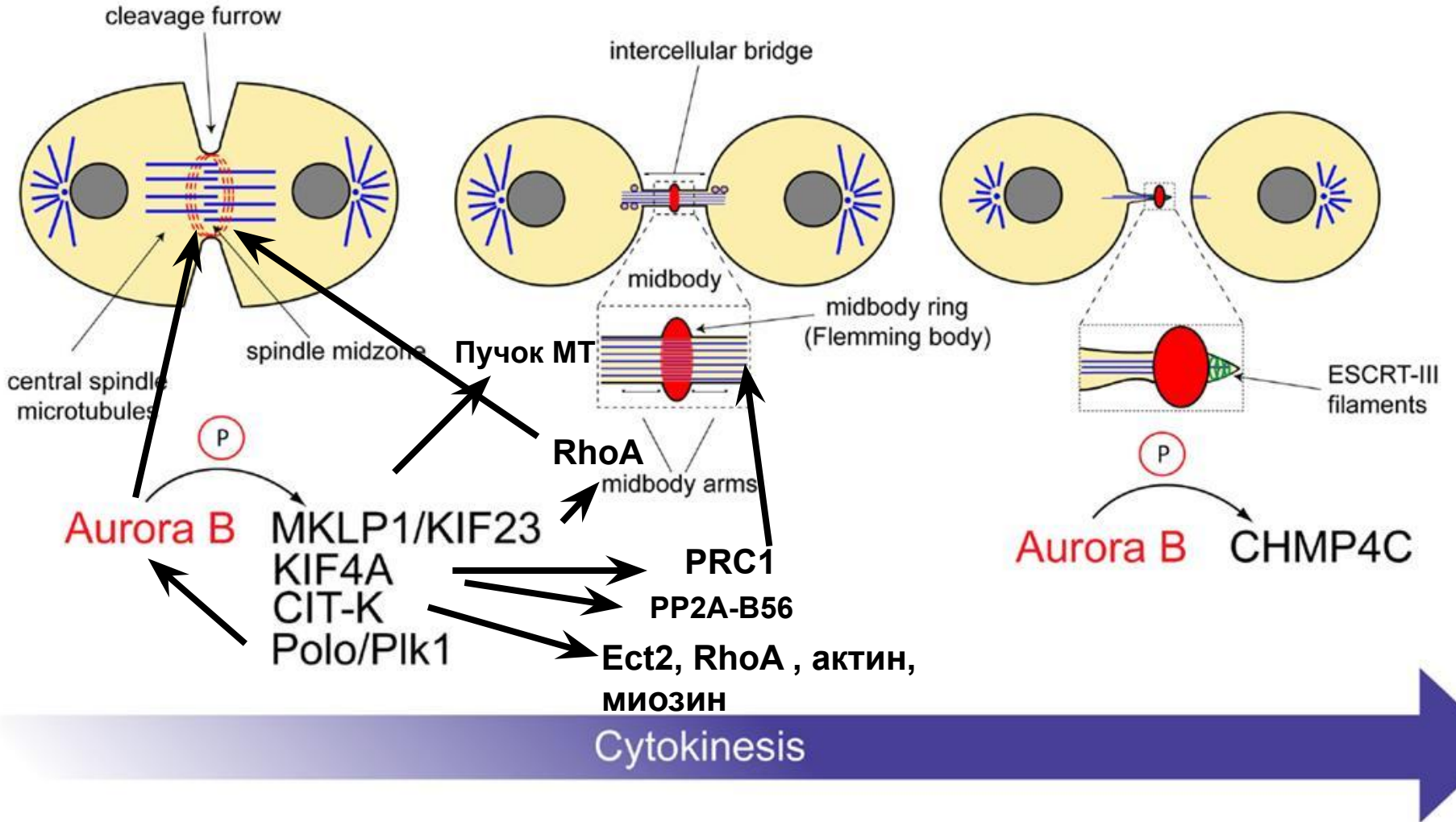
leads to the net inactivation of RhoA (RhoA-GDP; light green). Inactivation of RhoA results in cofilin dephosphorylation and activation. Cofilin-mediated severing of actin filaments contributes to cleavage furrow disassembly.

Telophase

Early

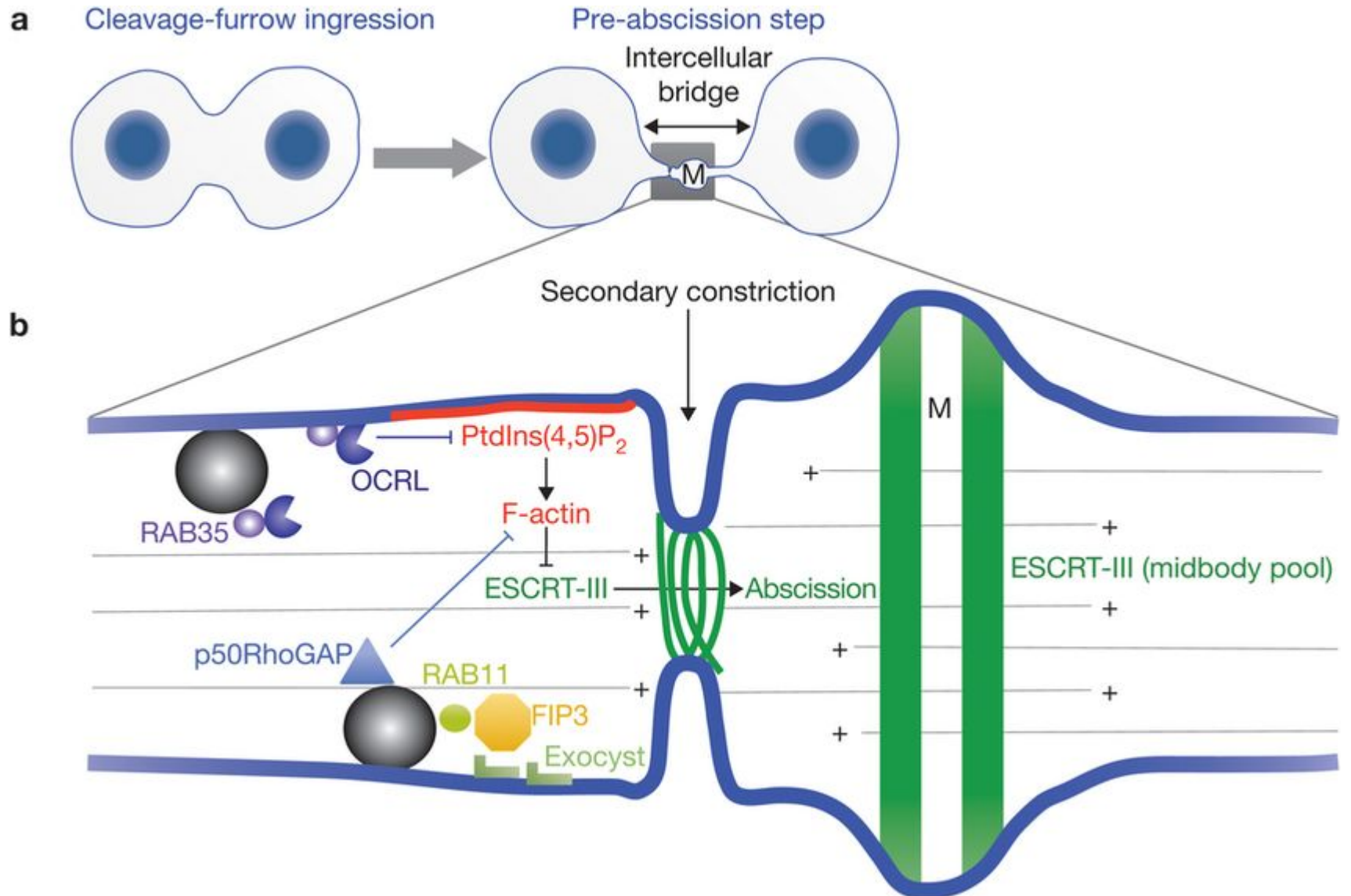
Late

Abscission

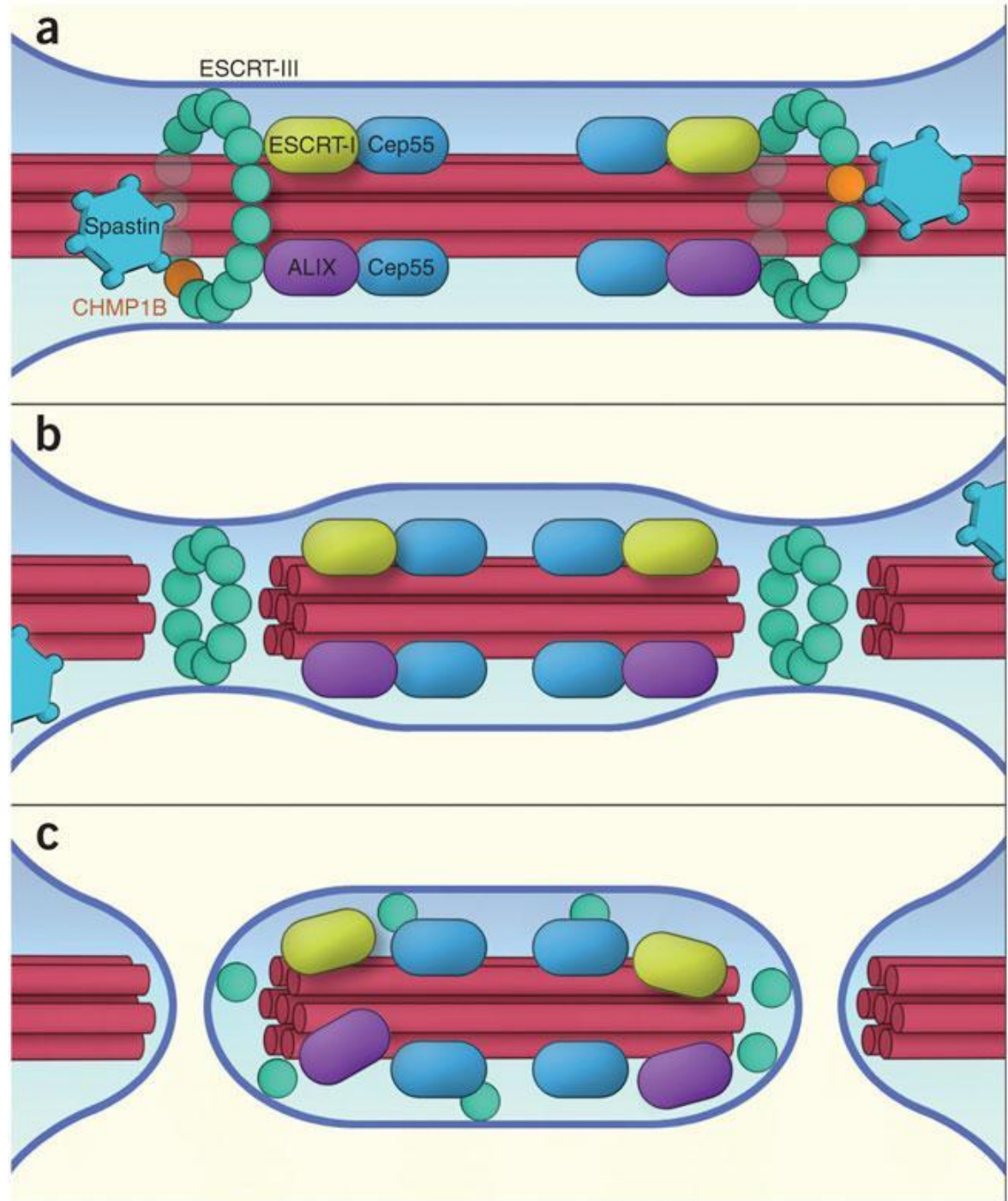


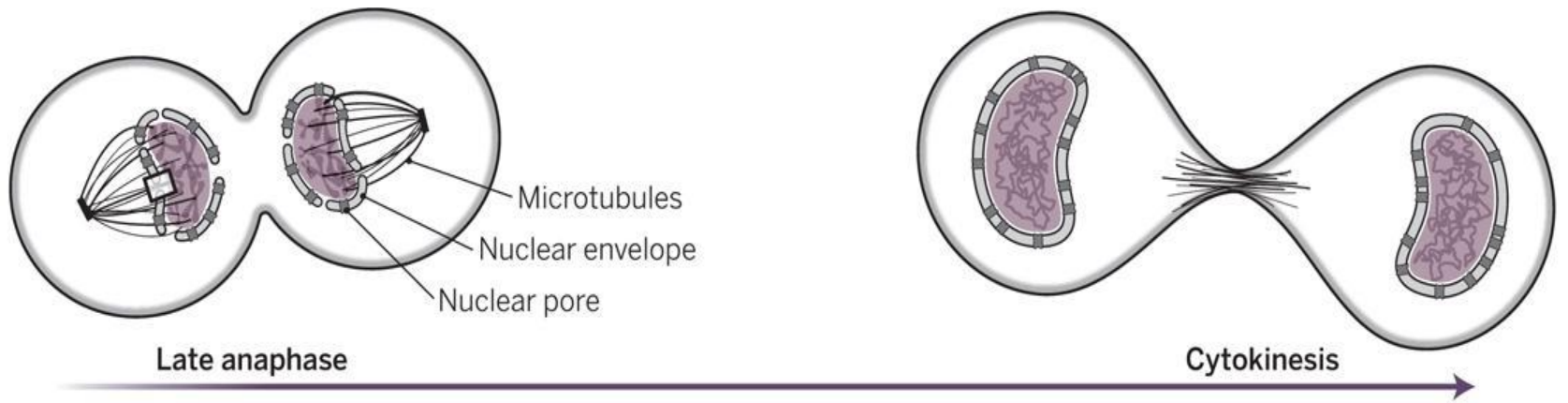
Цитронкиназа CIT-K

Цитокинез

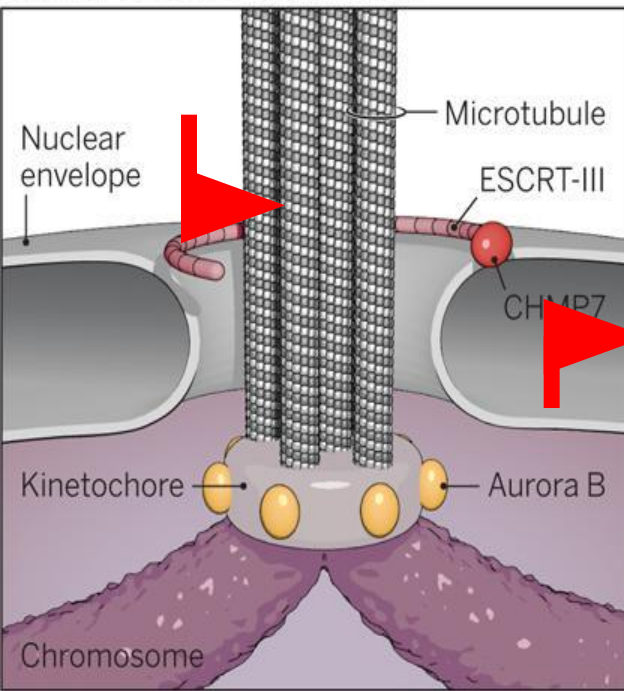


Цитокинез

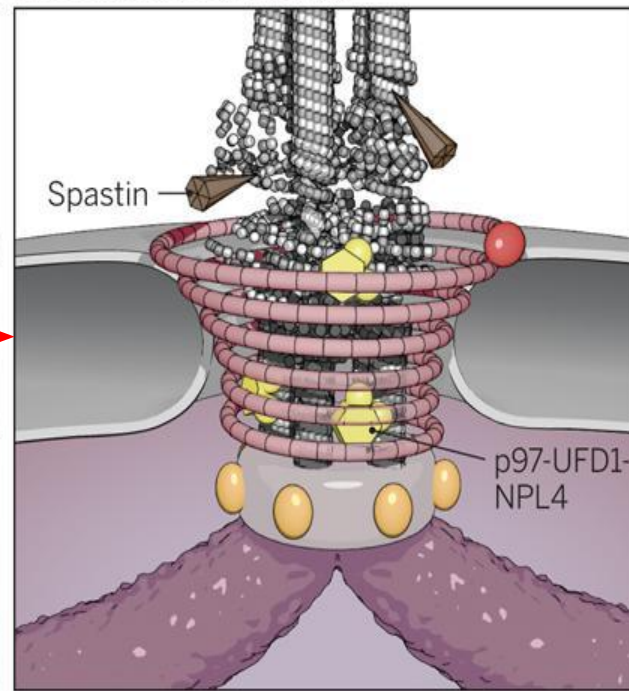




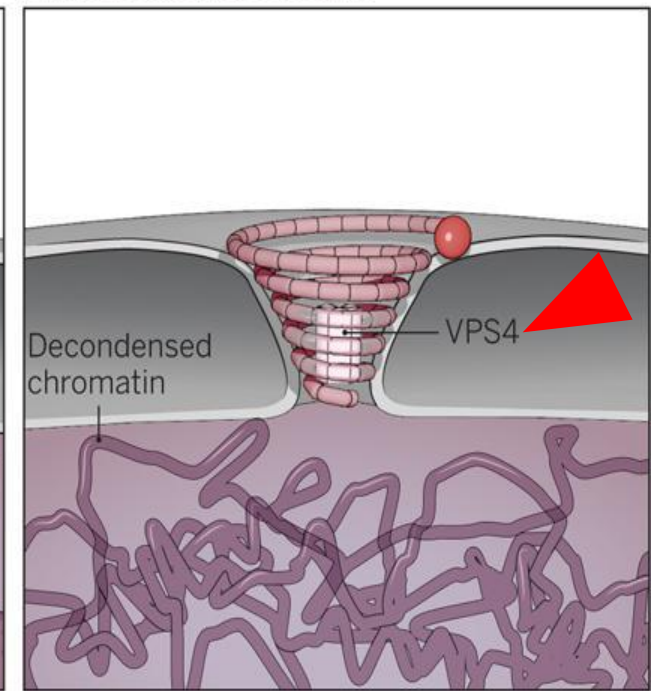
Nuclear envelope fenestration

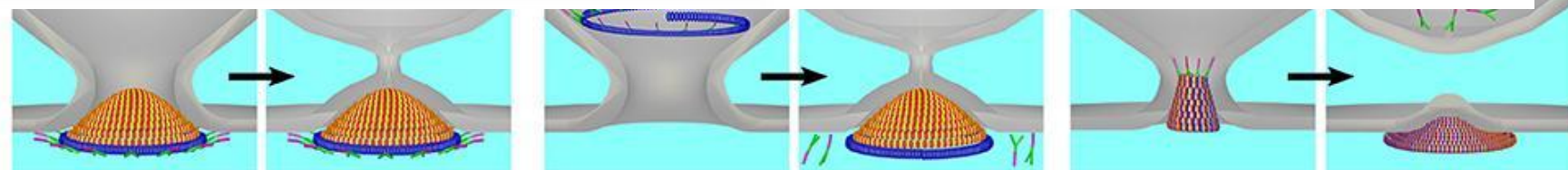
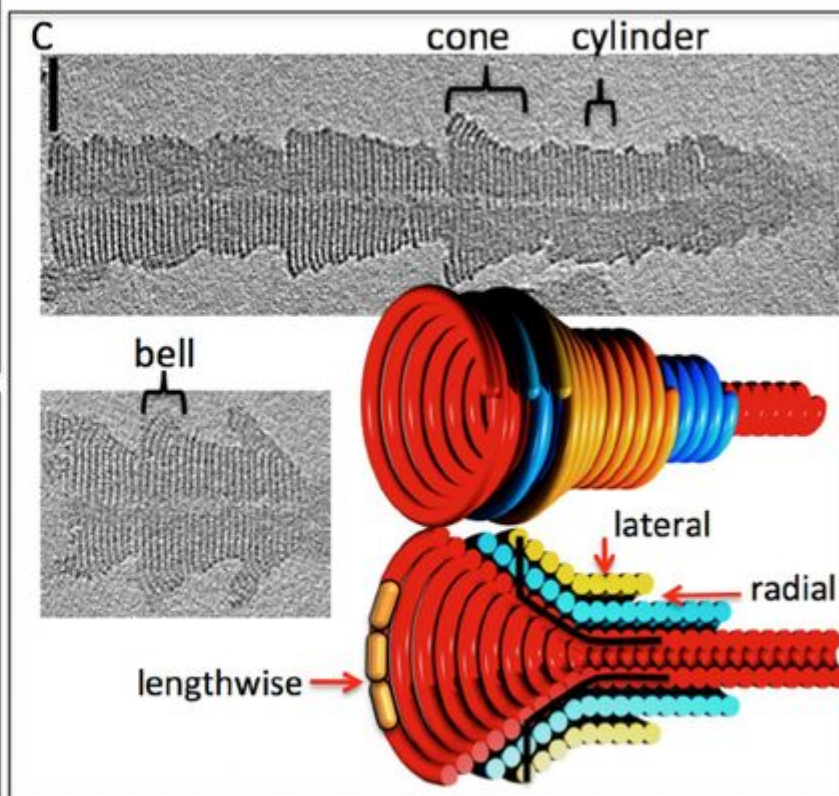
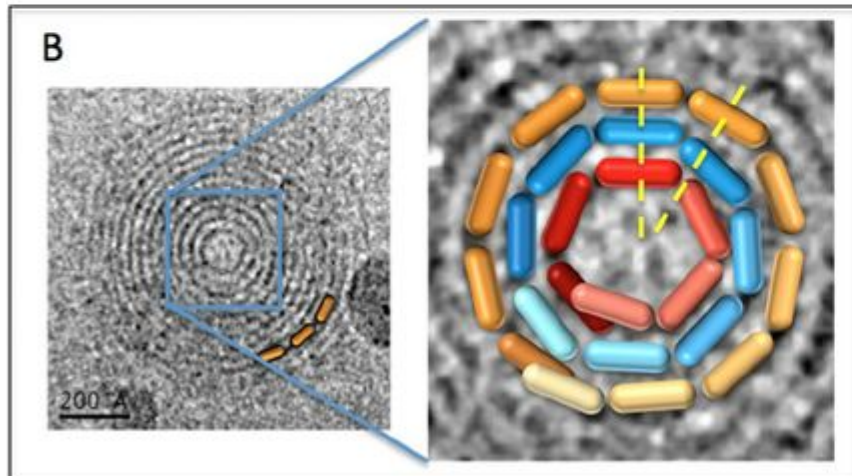
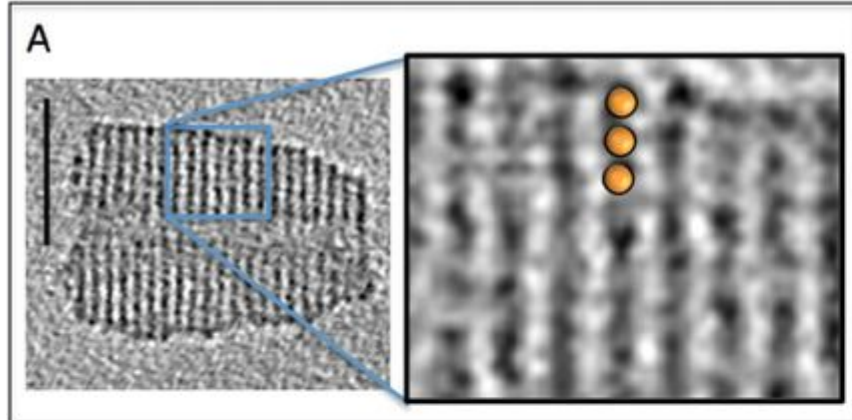


Microtubule remodeling

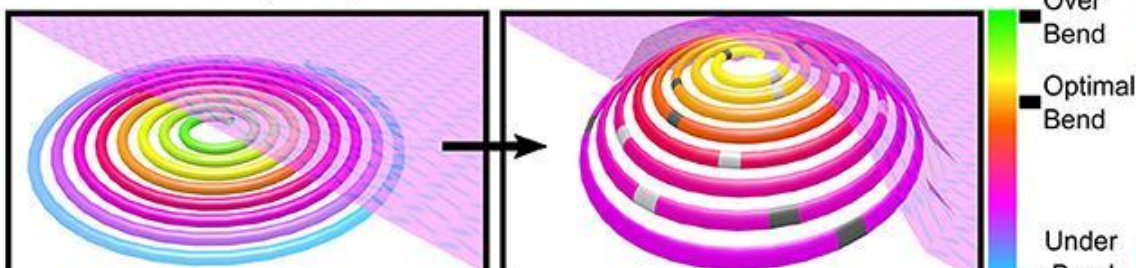


Nuclear envelope closure

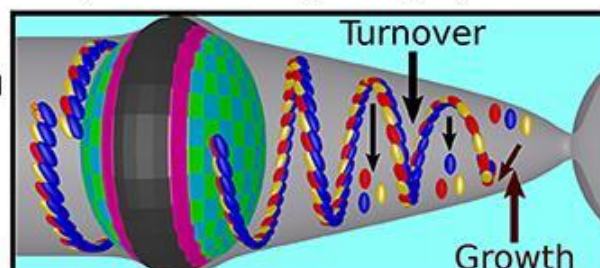




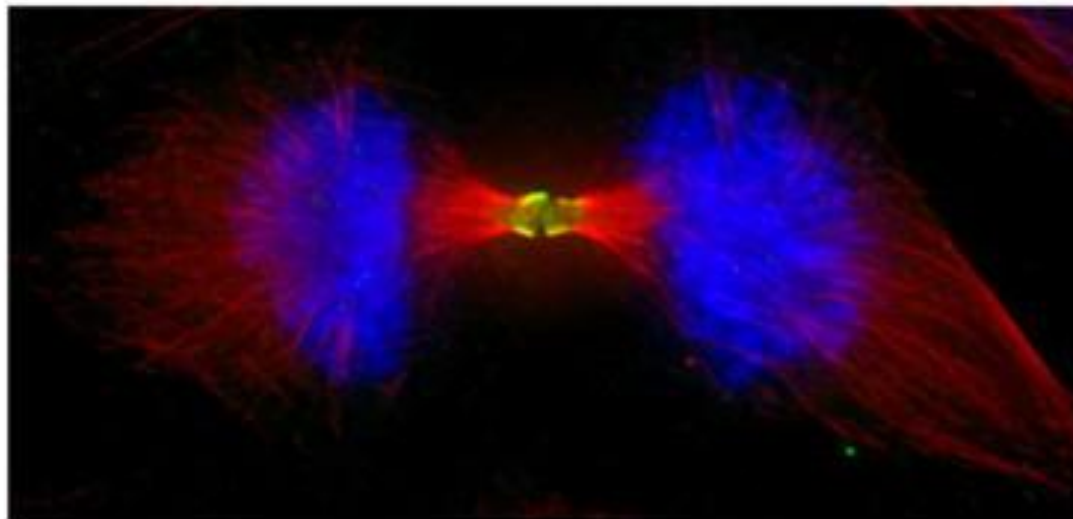
D Vps2/Vps24 Induced Deformation



E Dynamical Sliding during Cytokinesis



(a)



APC/Cdh1

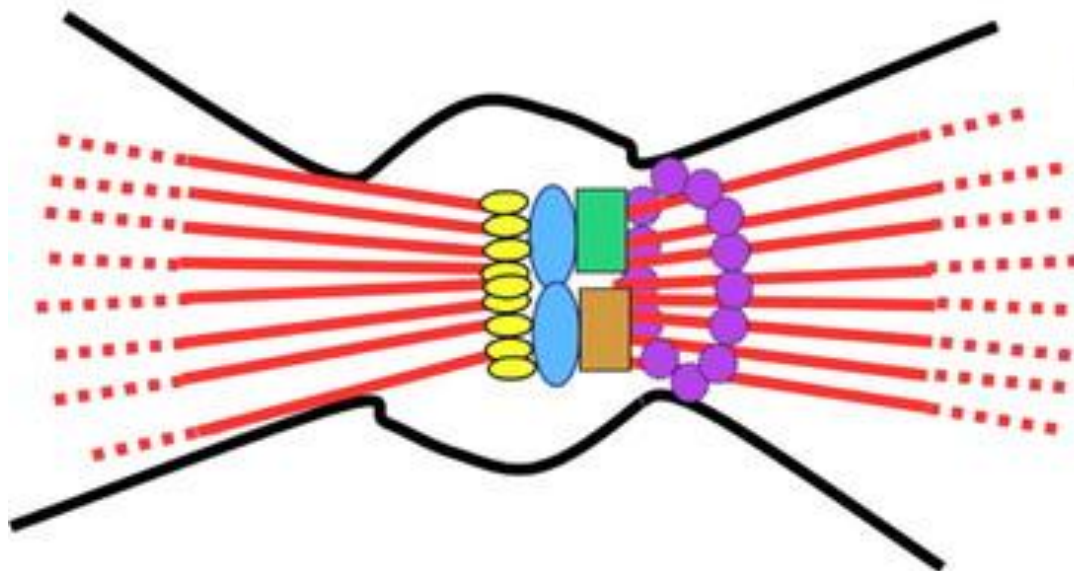


Plk1

AuroraB



(b)



MKLP1

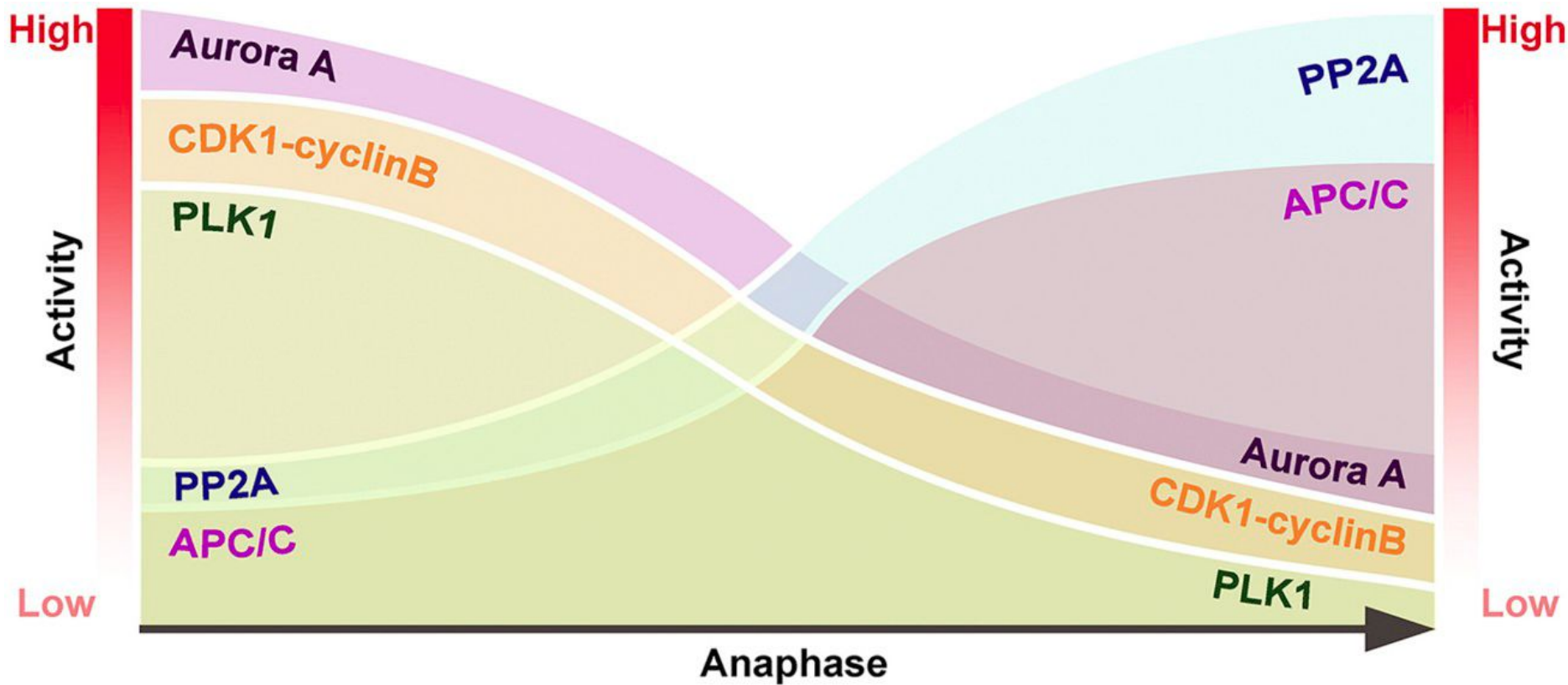
Cep-55

Tsg101

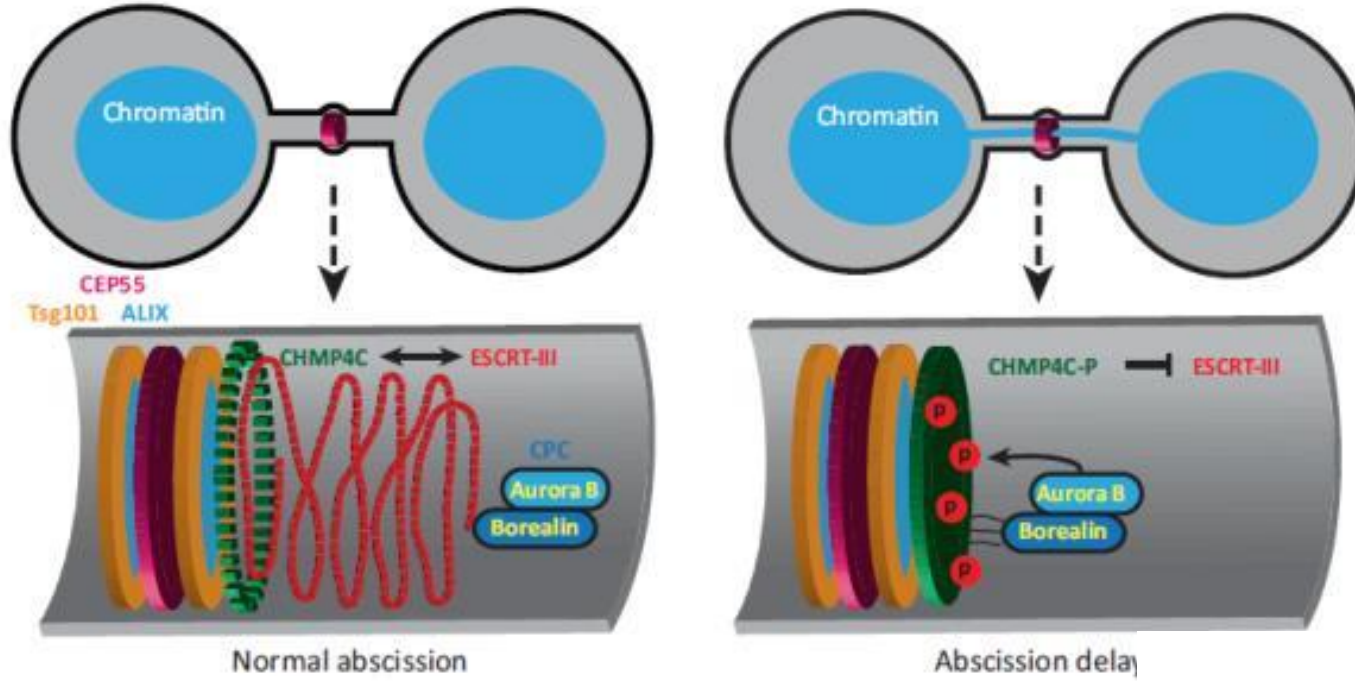
ALIX

ESCRT-III

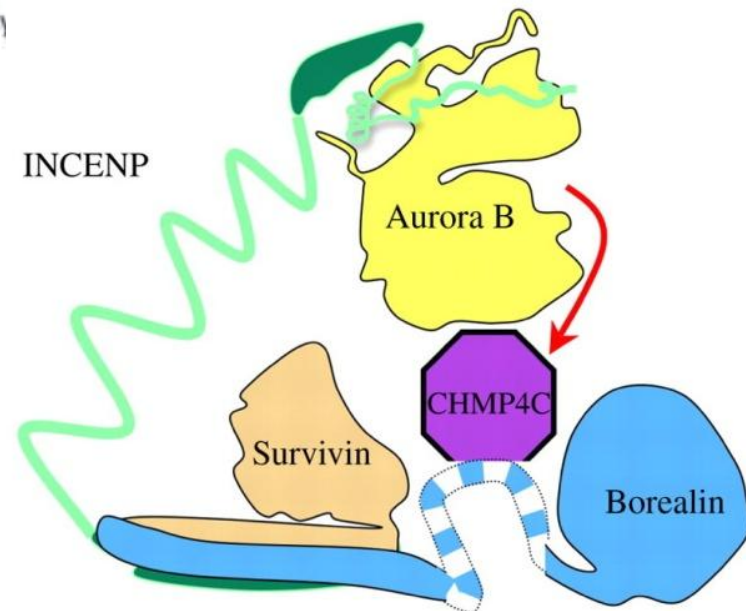
Изменение активности киназ и фосфатаз в анафазе



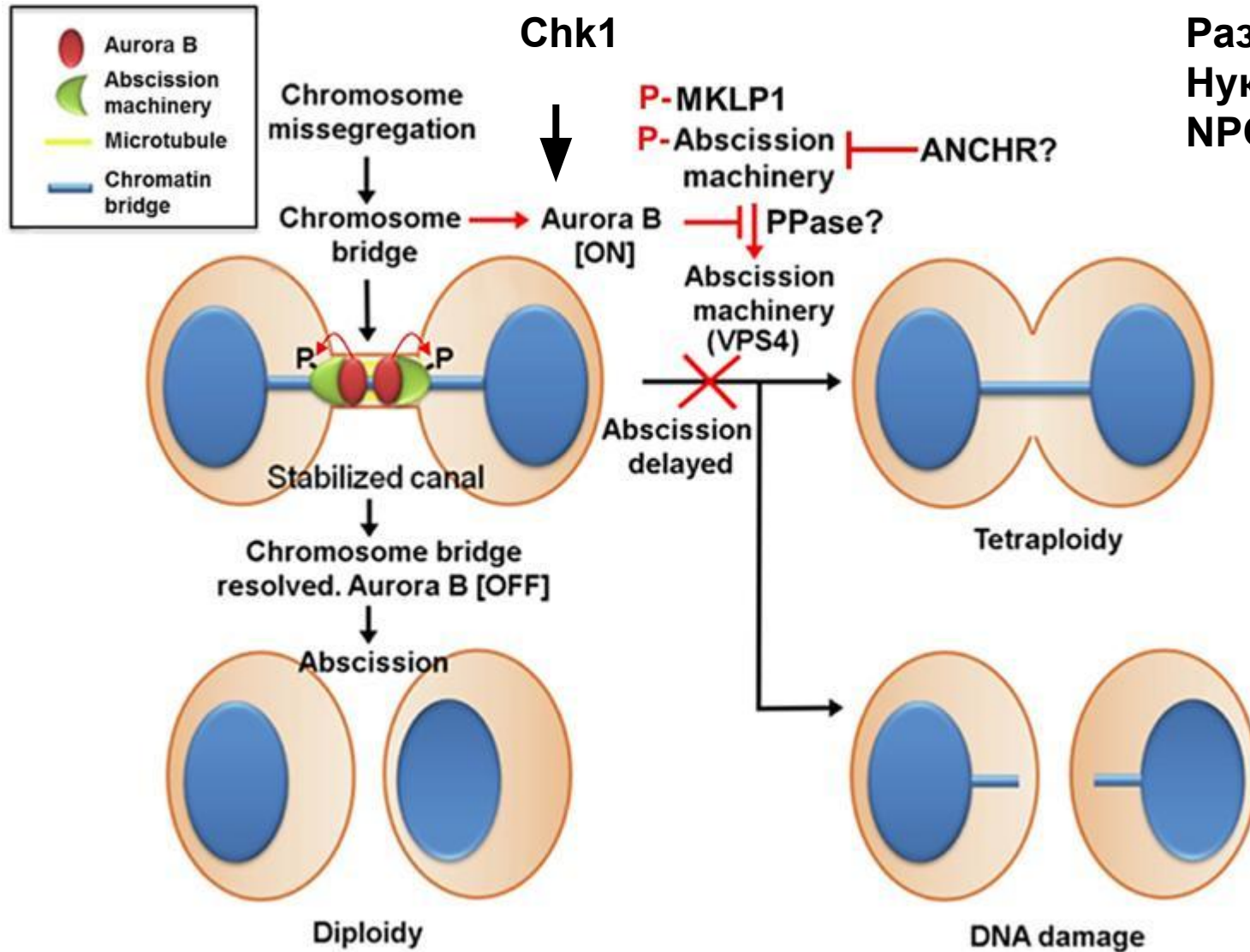
The abscission checkpoint



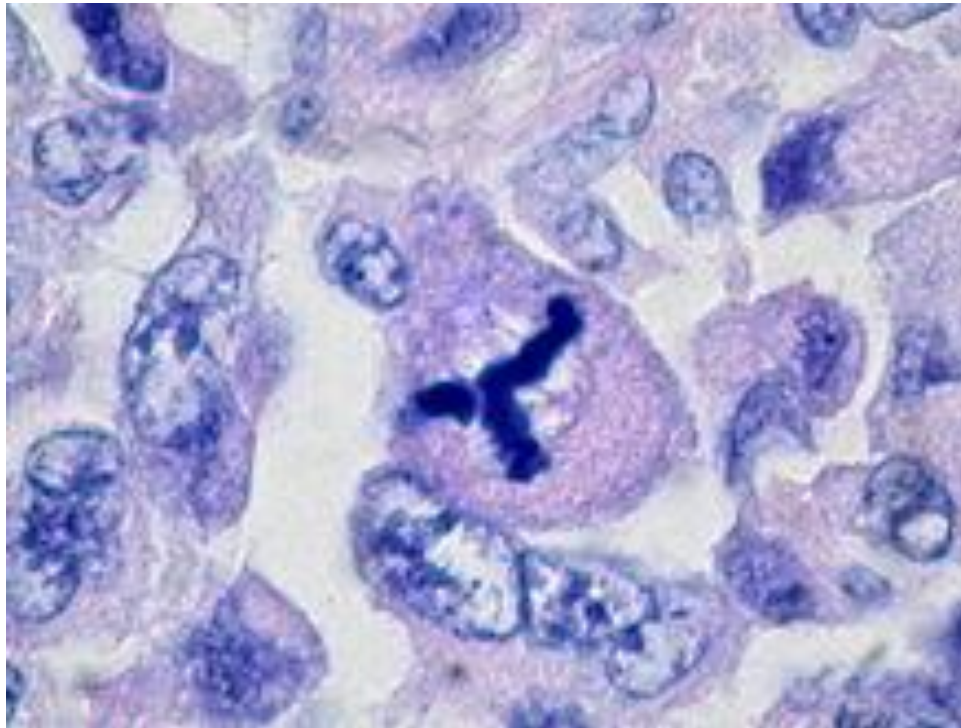
«NoCut»



При наличии хромосомного моста включается чек-поинт The abscission checkpoint



Патологические митозы



Повреждение ДНК

Нарушение числа полюсов

Нарушение прикрепления МТ к кинетохору

Нарушение формирования веретена

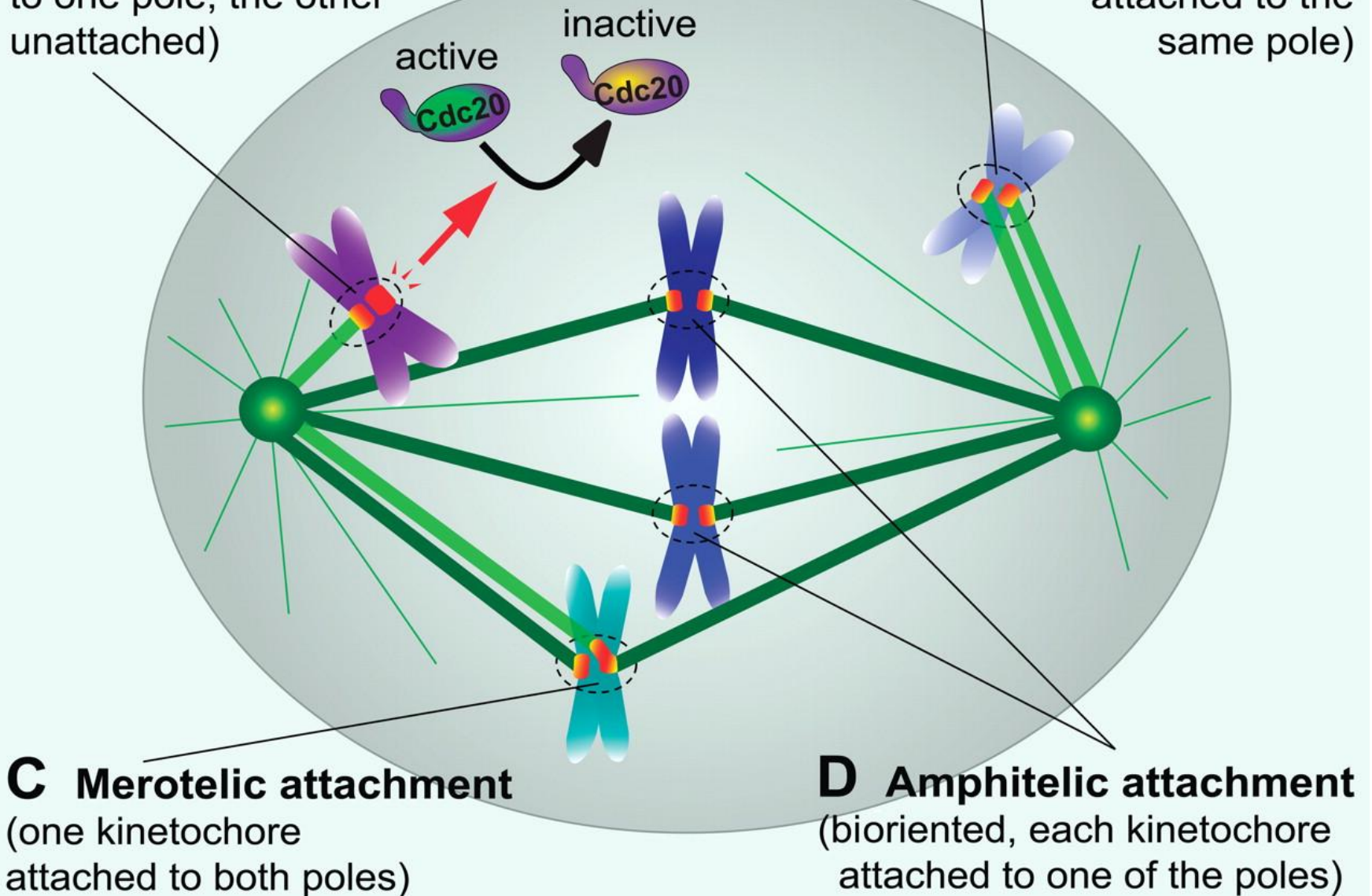
Нарушение цитотомии

A Monotelic attachment

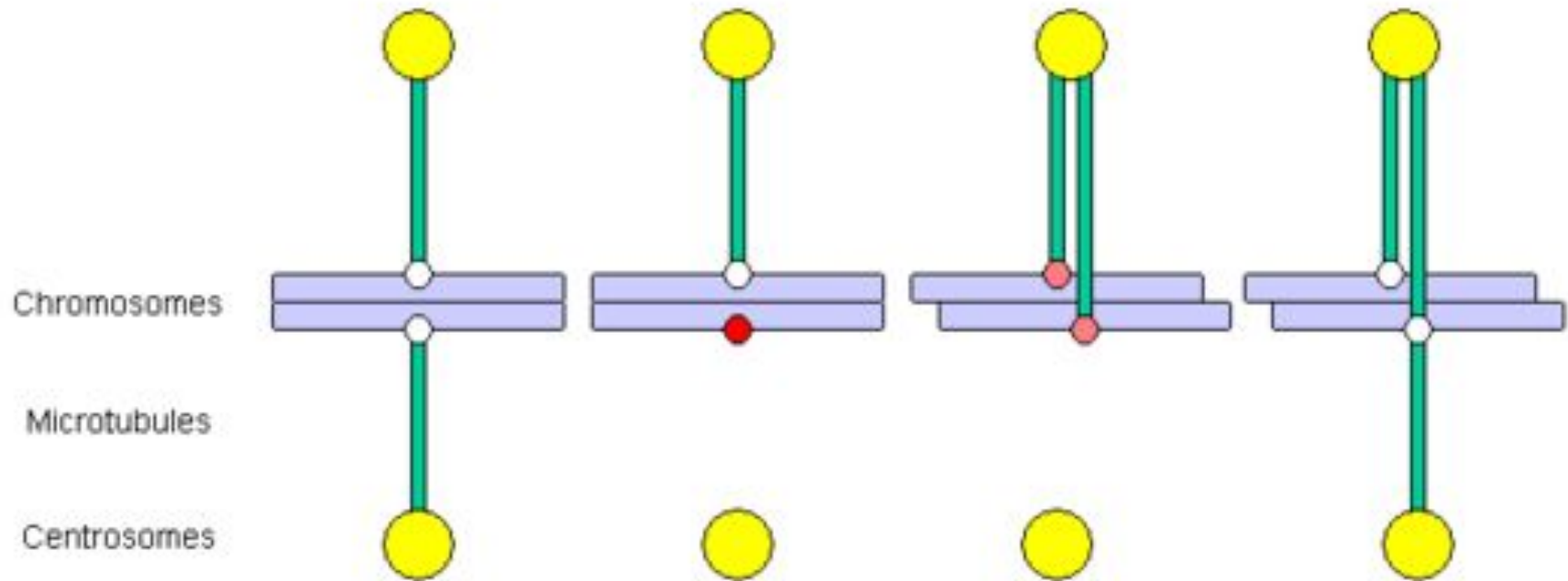
(one kinetochore attached to one pole, the other unattached)

B Syntelic attachment

(both kinetochores attached to the same pole)

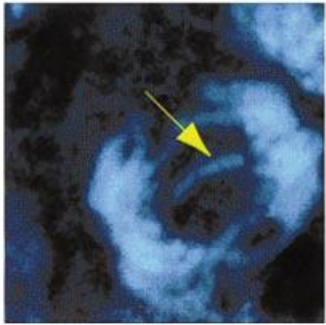
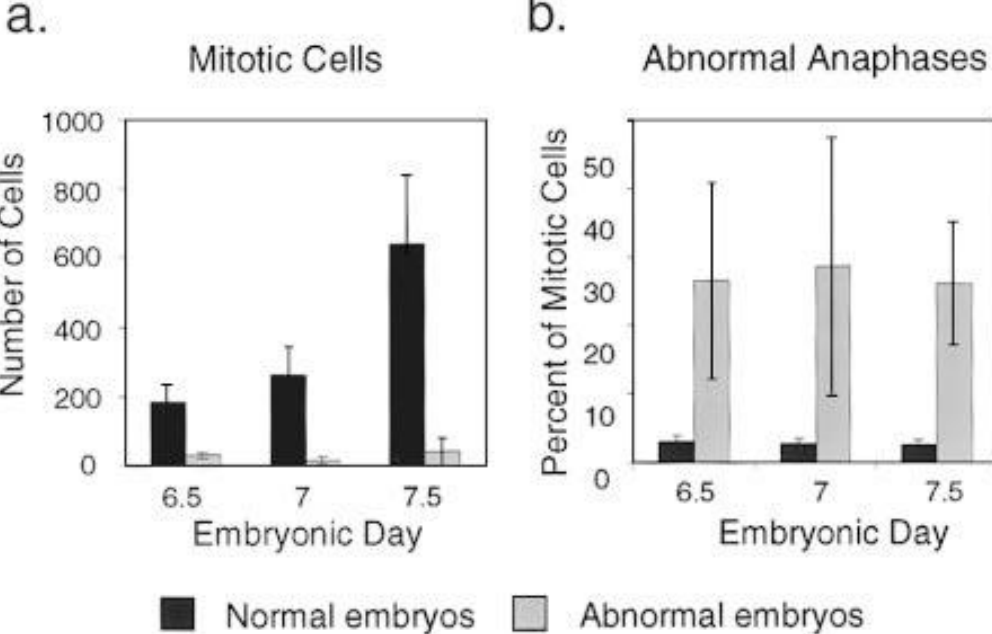


Варианты нарушений взаимодействия кинетохоров и микротрубочек

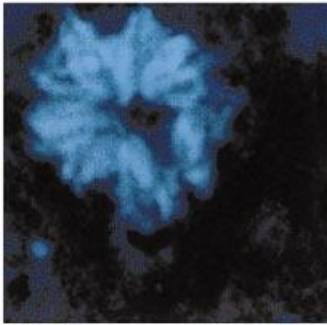


Configuration	Amphitelic	Monotelic	Syntelic	Merotelic
Centromeric tension	Yes	No	No	Yes
Spindle checkpoint	Inactive	Active	Active	Inactive

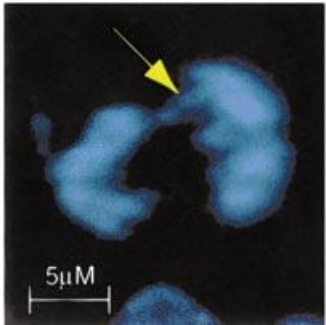
Analysis of Chromosome Missegregation in *Mad22/2* Cells



d.



f.

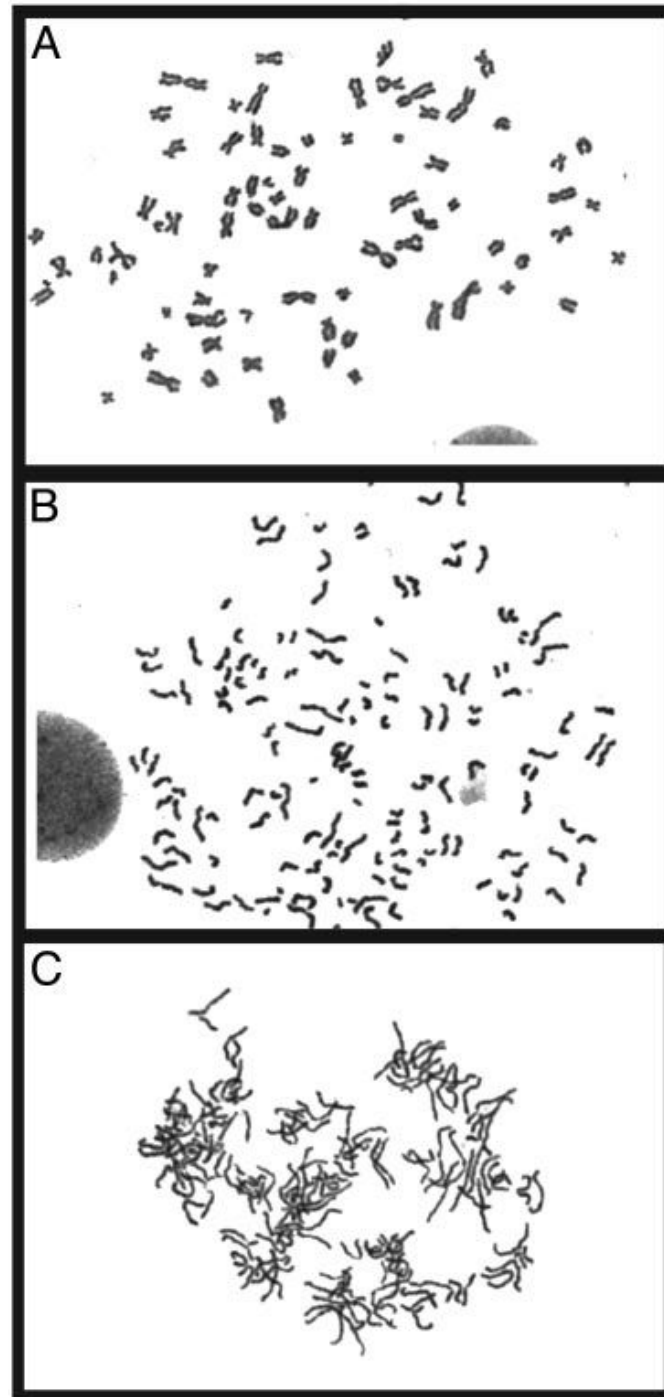


Altered chromosome morphology from severe MAD2 depletion.

Shown are normal metaphase spread from a lamin-transfected cell (A) .

A MAD2knockdown HaCaT cell showing premature sister chromatid separation with normal condensation (B).

(C) Metaphase spread from a MAD2 knockdown HaCaT cell displaying both premature sister chromatid separation and incompletely condensed chromosomes



ПАТОЛОГИЯ МИТОЗА

"отставшие хромосомы"

МНОГОПОЛЮСНОСТЬ

неравномерное расхождение хромосом
-анеуплоидия

ПОЛИПЛОИДИЯ

нарушение расхождения
хромосом

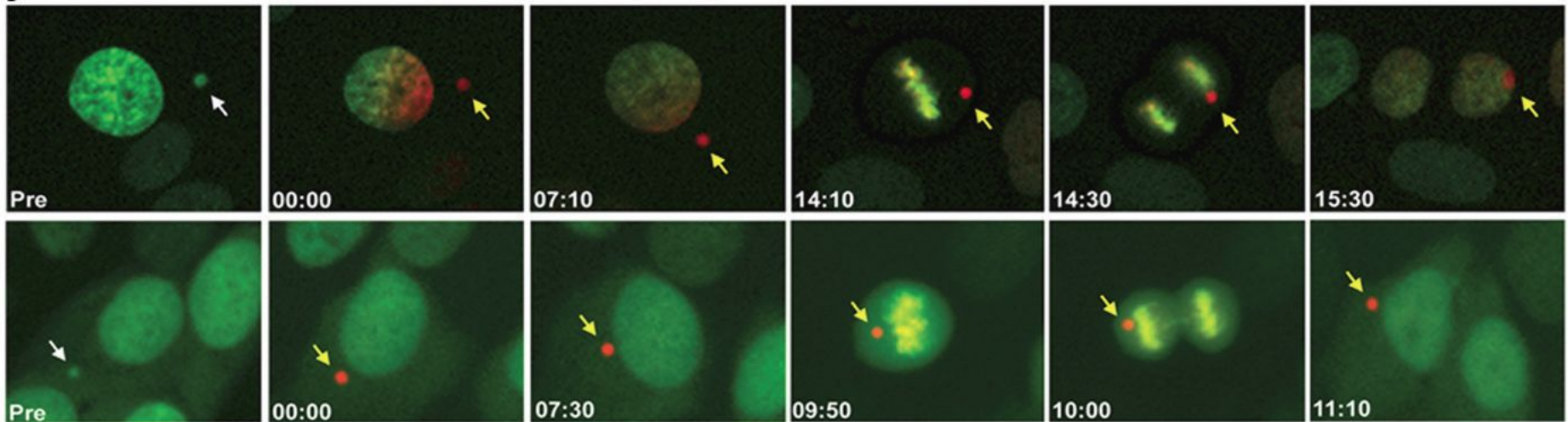
нарушение цитокинеза



Судьба микроядер.

Микроядро вошло в состав основного ядра

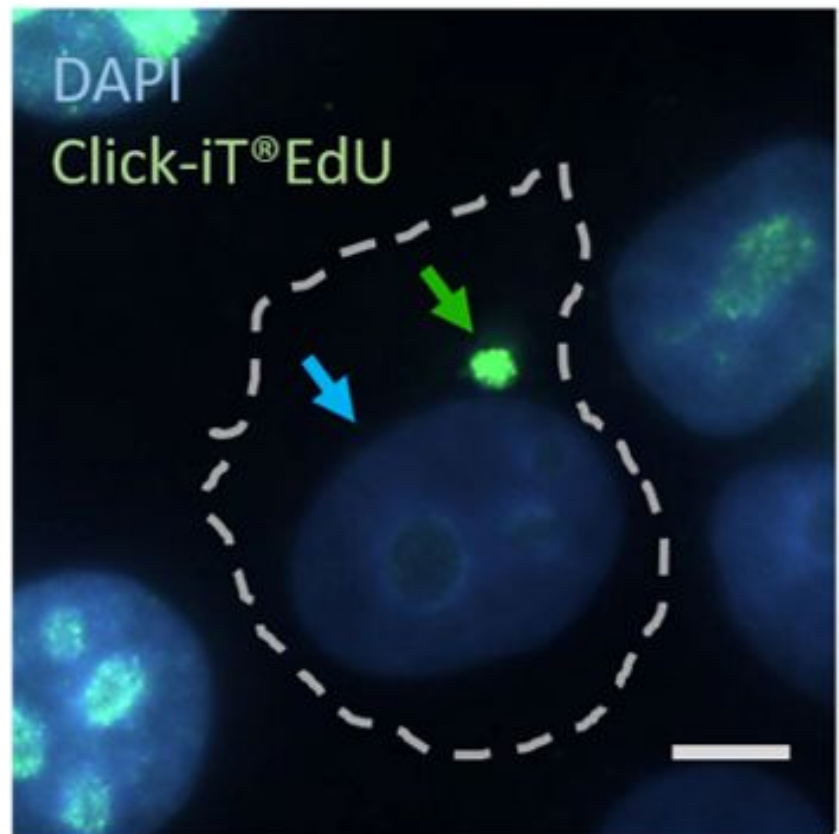
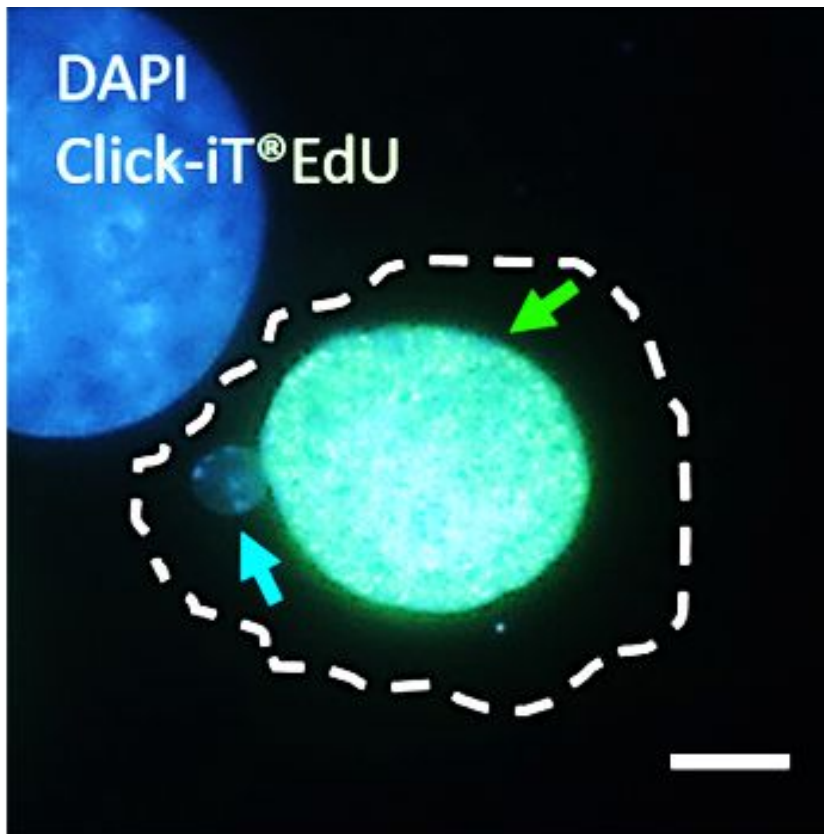
j



Микроядро осталось в цитоплазме

Асинхронность процессов репликации в основном ядре и микроядре

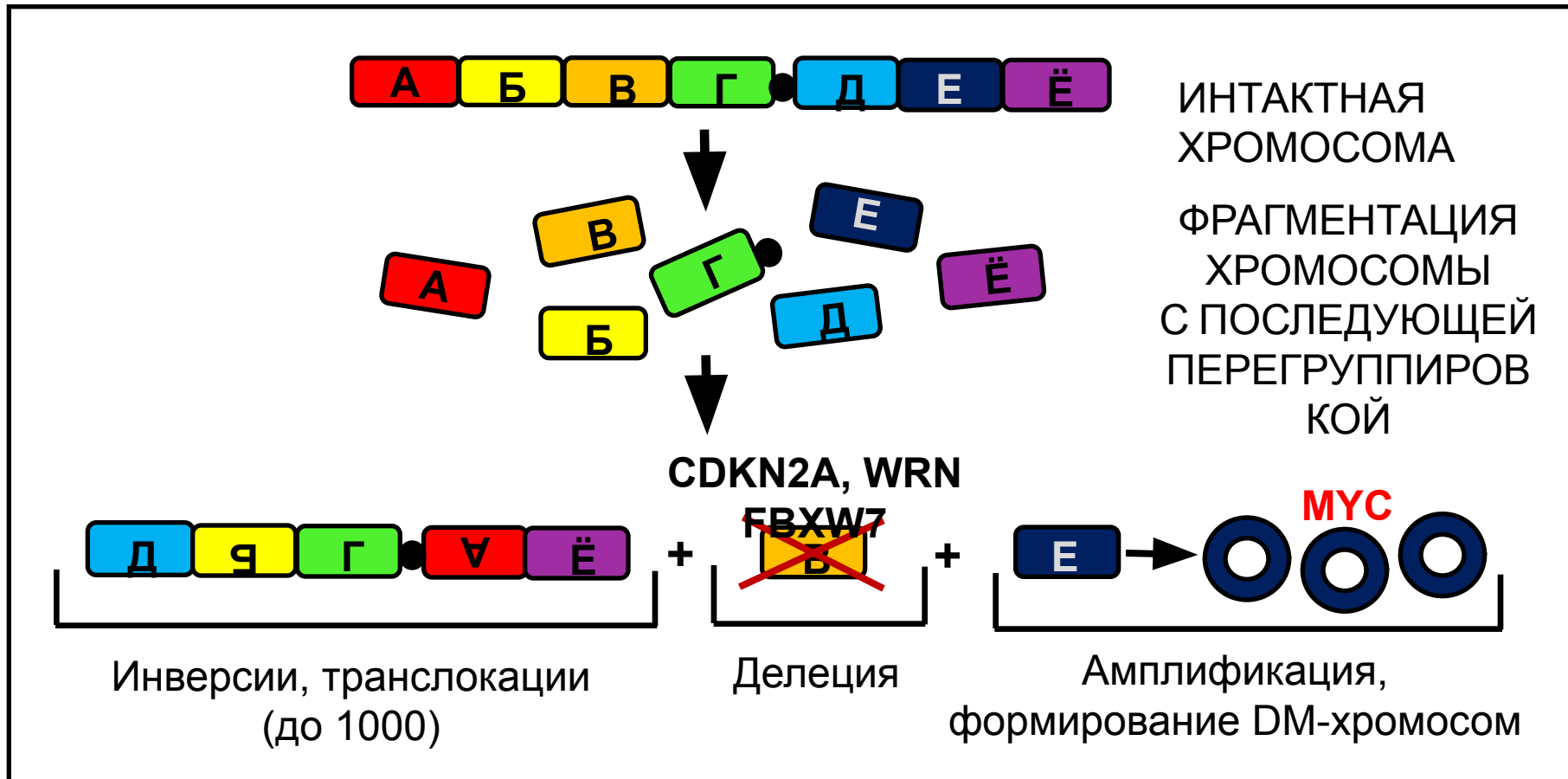
Асинхронное протекание процессов репликации:
 $87,8 \pm 0,9\%$ (A431) – $91,2 \pm 0,7\%$ (MCF-7)

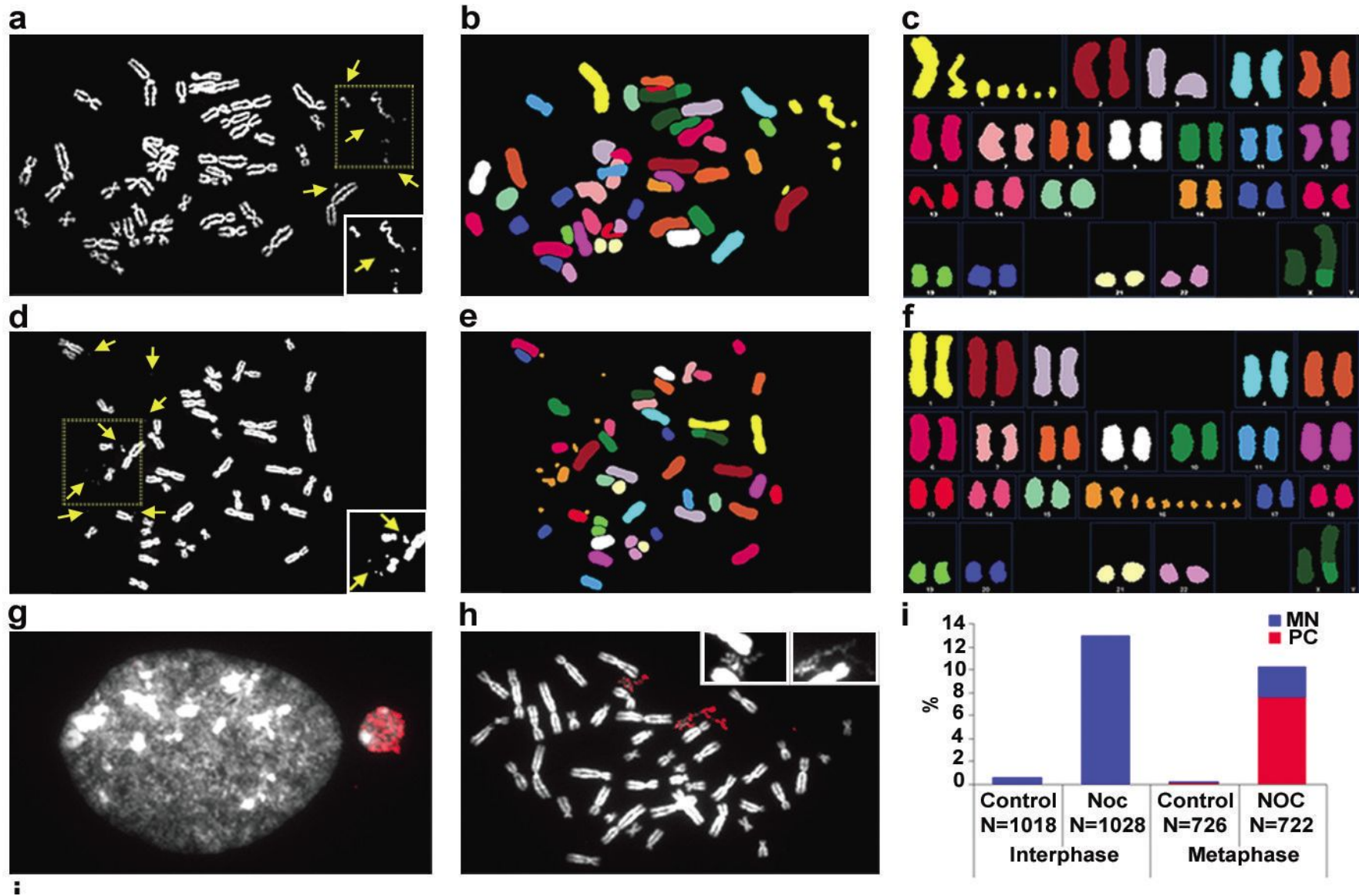


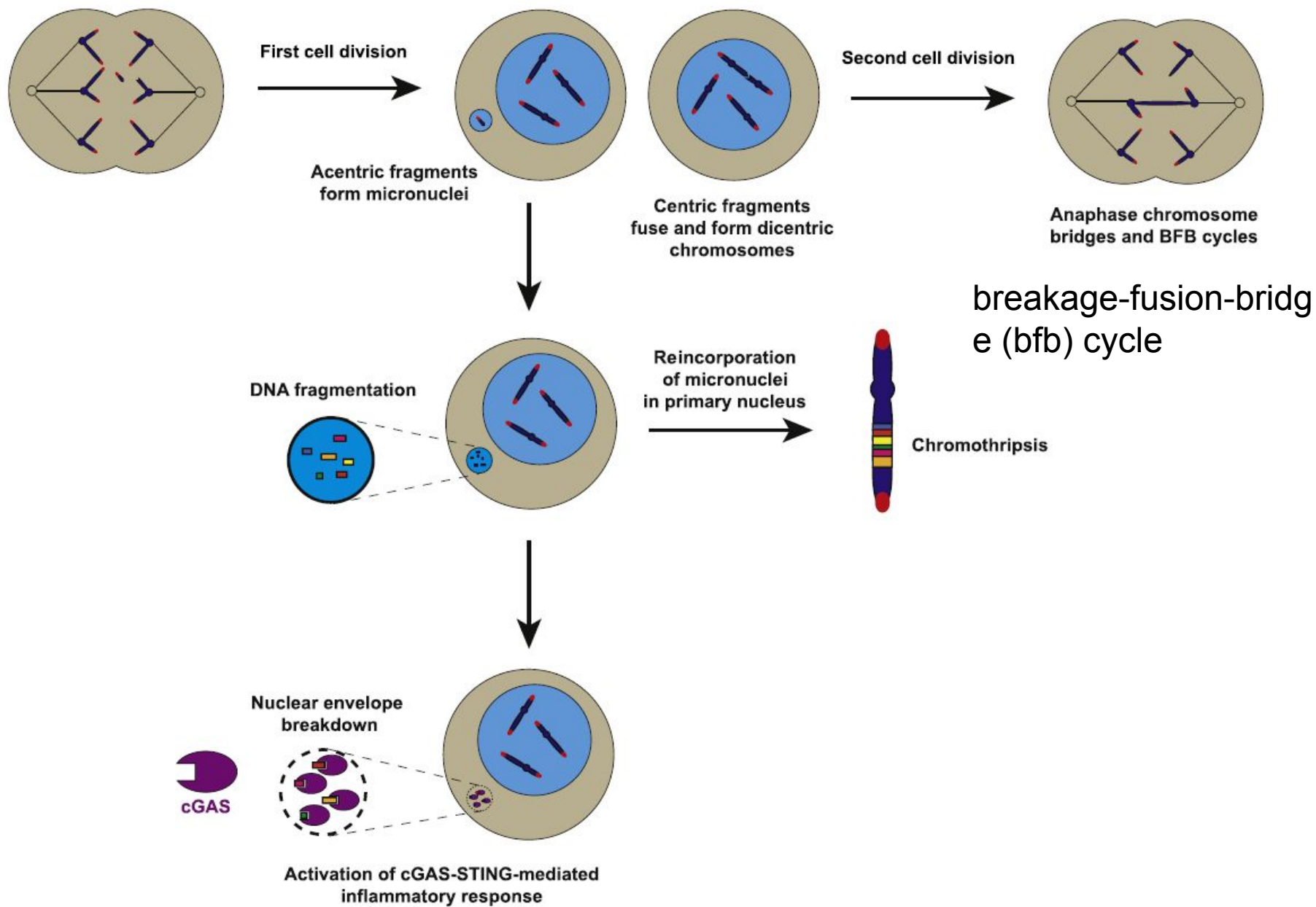
MCF-7, масштабный отрезок – 10 мкм

Процесс хромотрипсиса и его вклад в канцерогенез

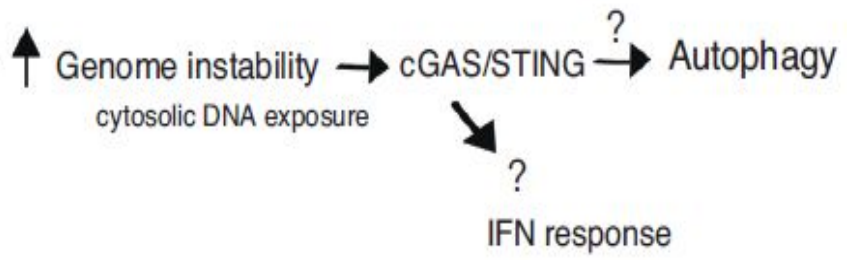
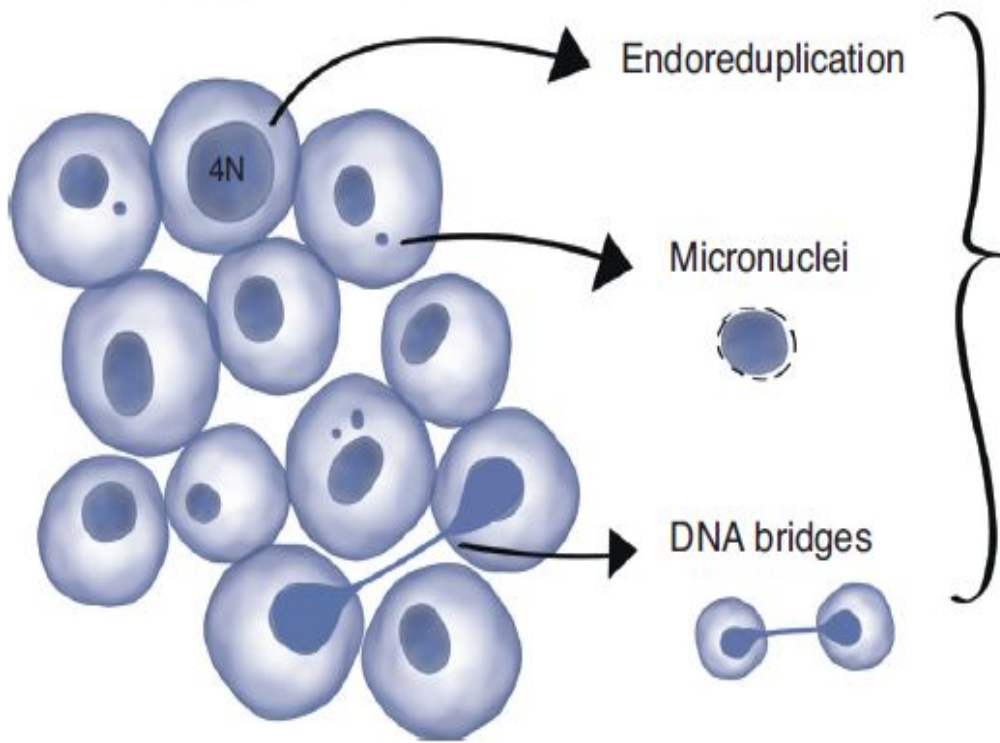
Все зло от хромотрипсиса, а хромотрипсис случается в микроядрах!







Telomere Crisis



СТАРЕНИЕ КЛЕТОК И Клеточный цикл



Cell senescence and aging



<https://www.jci.org/articles/view/95148>

<https://nrccrm.ru/patient-guide/live-healthy/age-keys/>

<https://biomolecula.ru/articles/zachem-kletki-stareiut>

**Существует несколько механизмов
старения клеток**

Replicative senescence

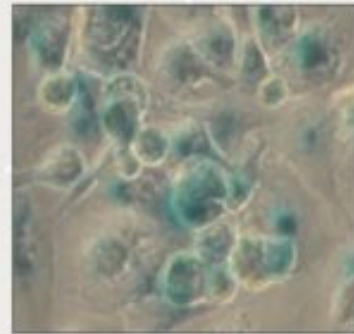


Telomere shortening (ageing)

Physiological senescence



- Embryonic development
- Wound healing
- Tissue remodelling
- Tumour protection
- Brain homeostasis



Stress-induced premature senescence



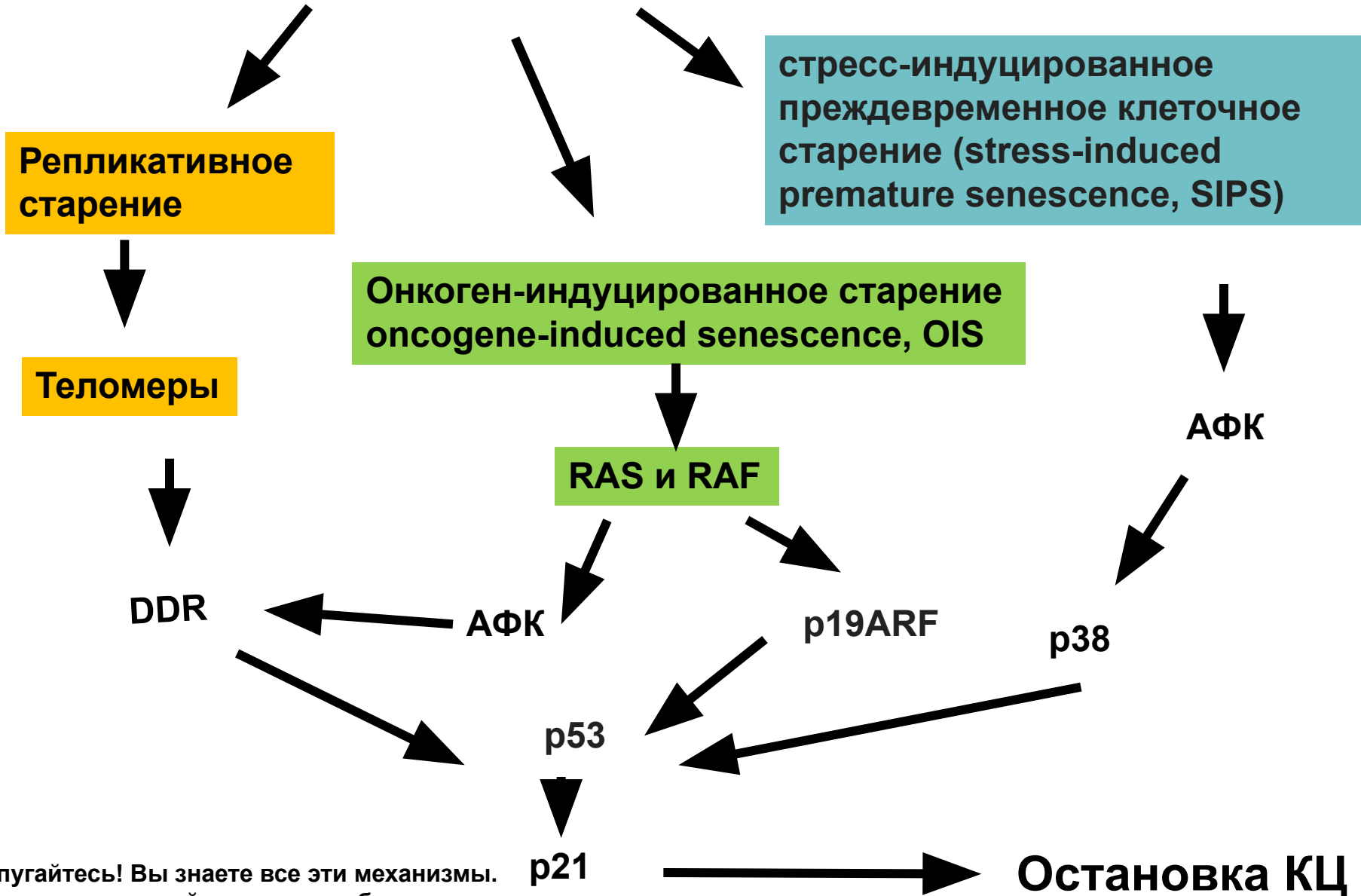
- Activation of oncogenes
- Inhibition of tumour suppressor genes
- DNA damage
- ROS
- Metabolic stress
- Epigenetic stress
- Spindle stress
- Nucleolar stress
- Brain disorders, liver, muscle and cardiovascular diseases

Drug-induced senescence (chemical-induced SIPS)



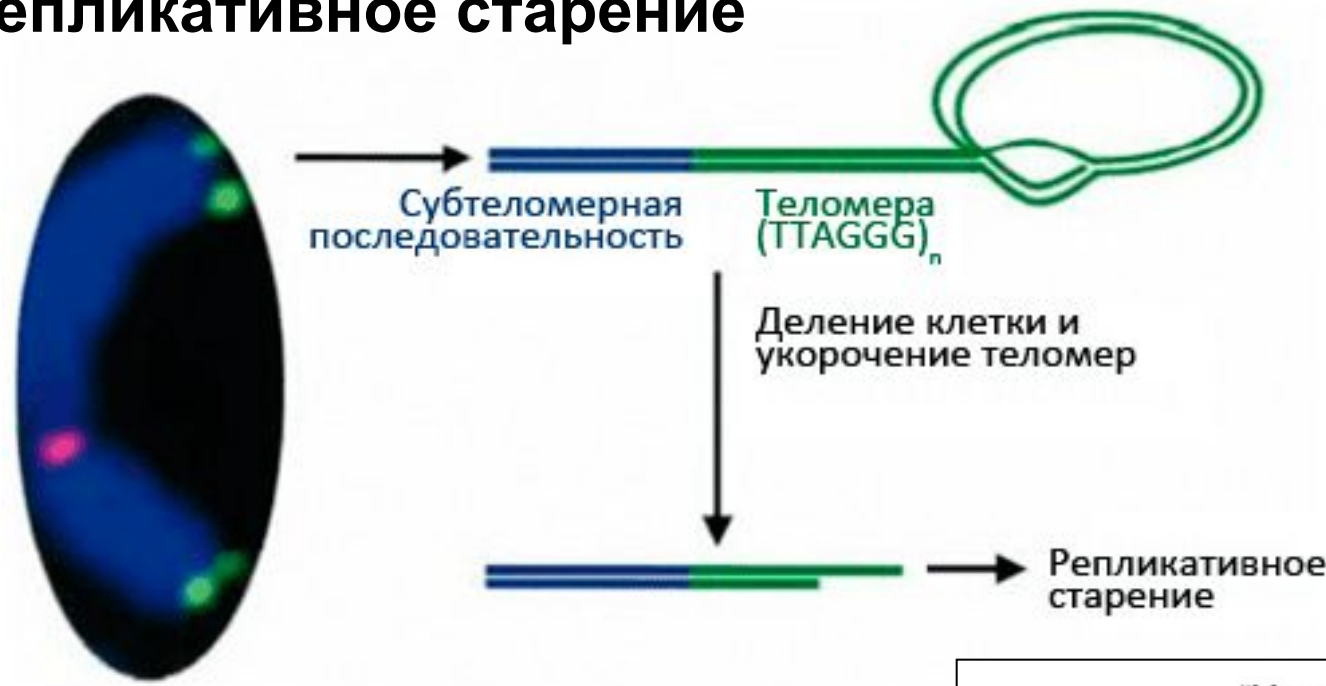
- CDK inhibitors
- HAT/HDAC inhibitors
- PKC activators
- Genotoxic drugs

Клеточное старение

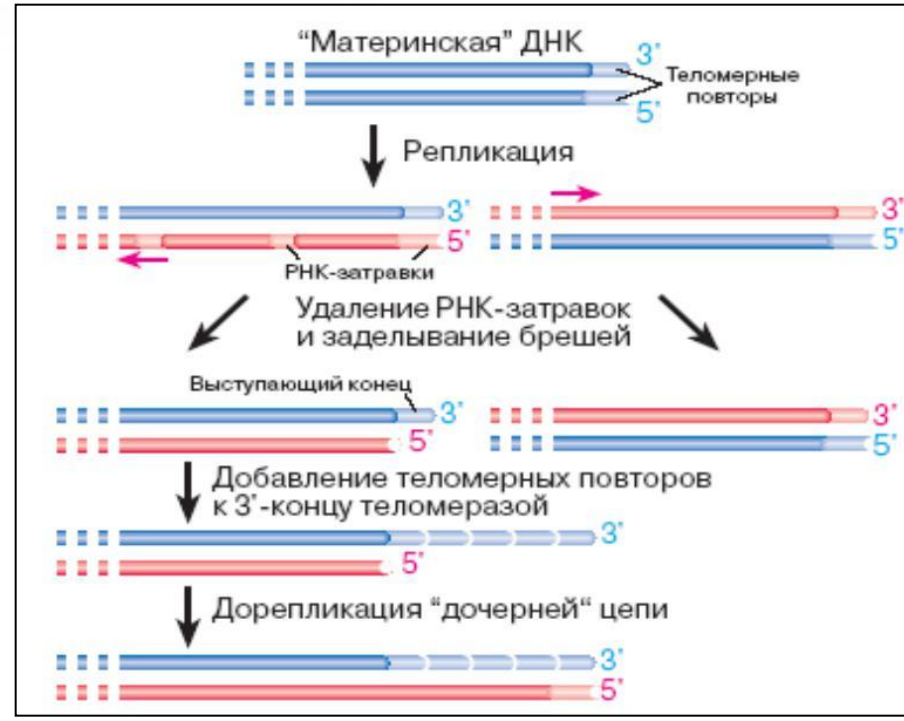
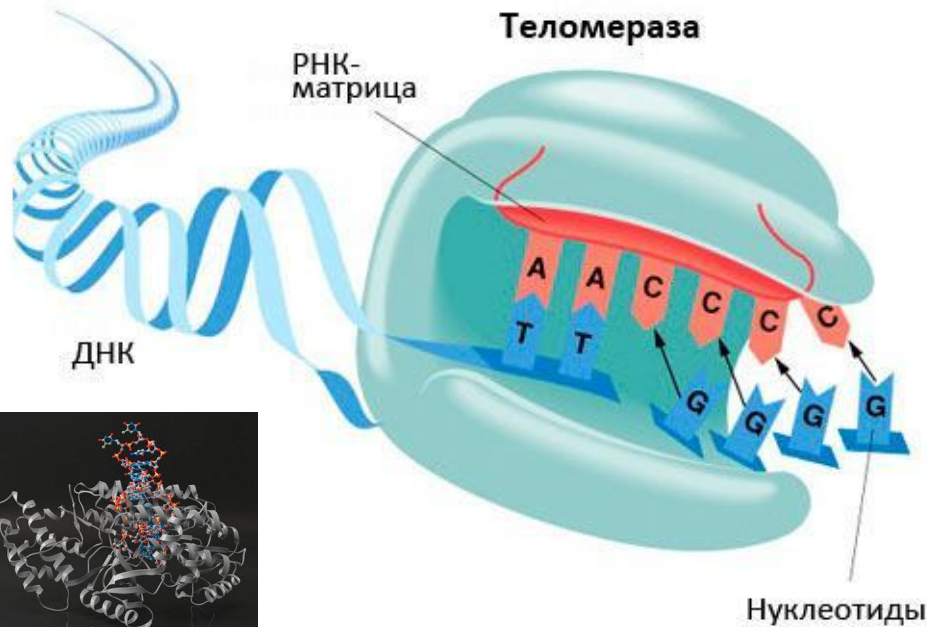


Не пугайтесь! Вы знаете все эти механизмы.
На следующих слайдах это тоже будет

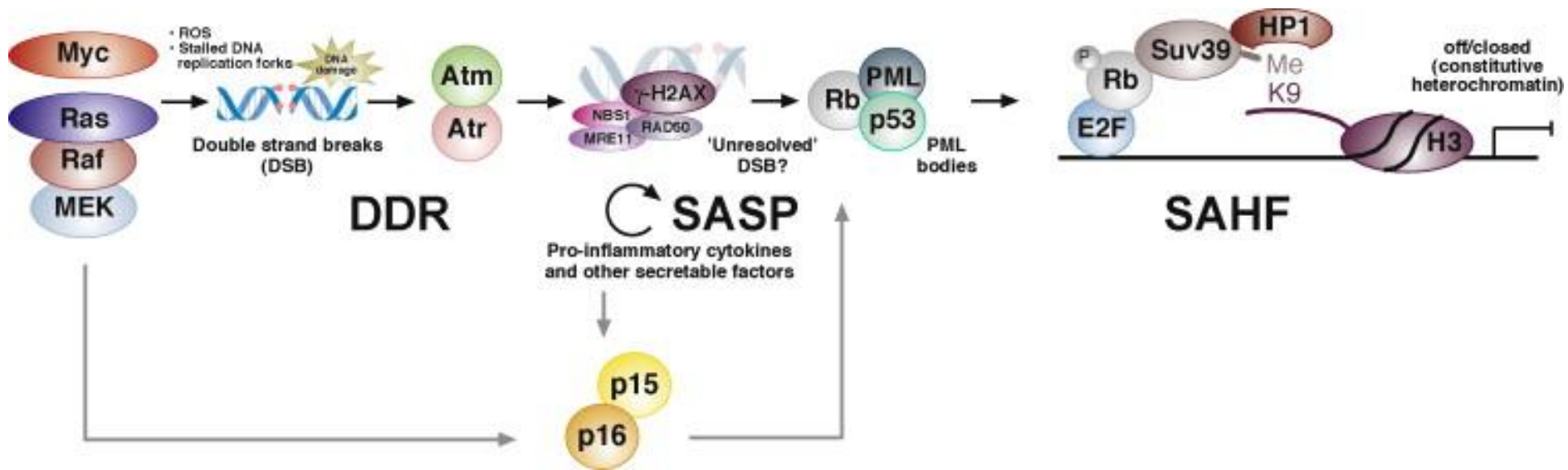
Репликативное старение



Научно-популярно для интересующихся на биомолекуле:
 Старение — плата за подавление раковых опухолей?
<https://biomolecula.ru/articles/starenie-plata-za-podavlenie-rakovykh-opukholei>

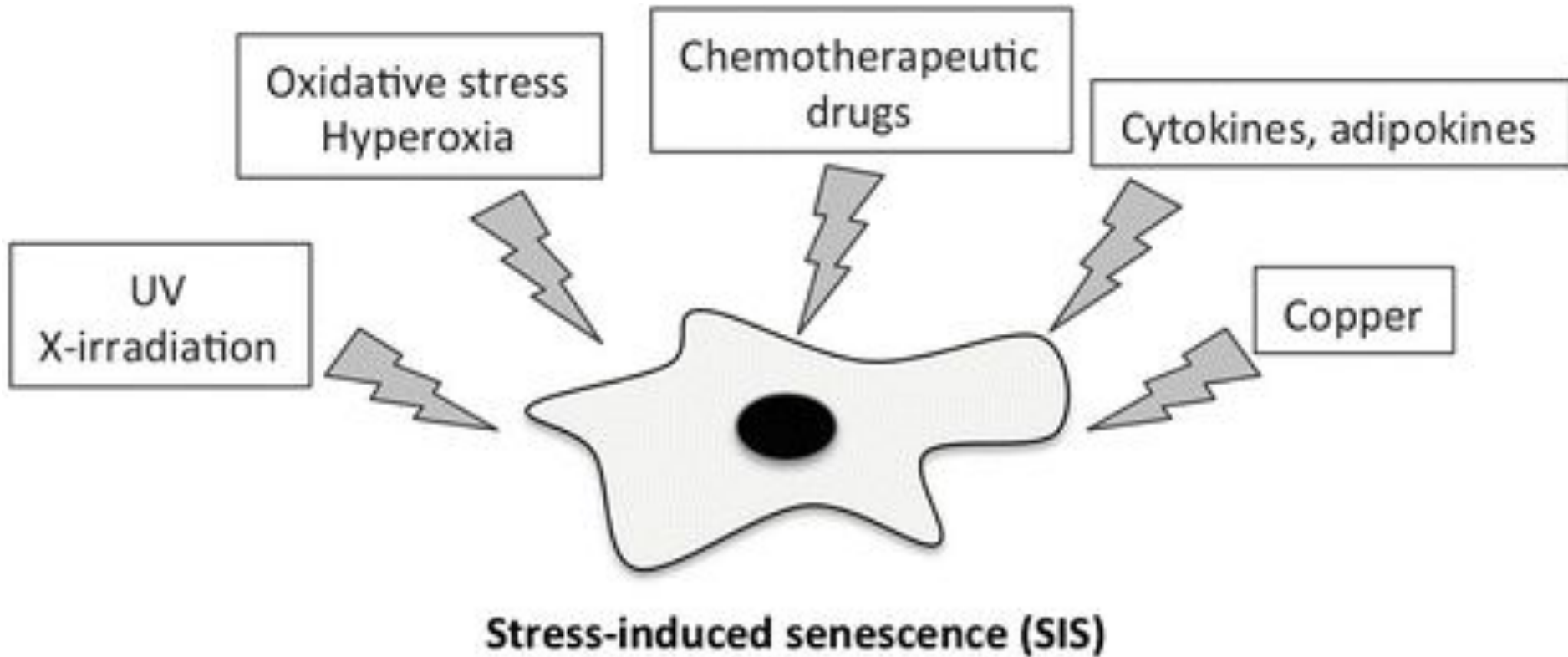


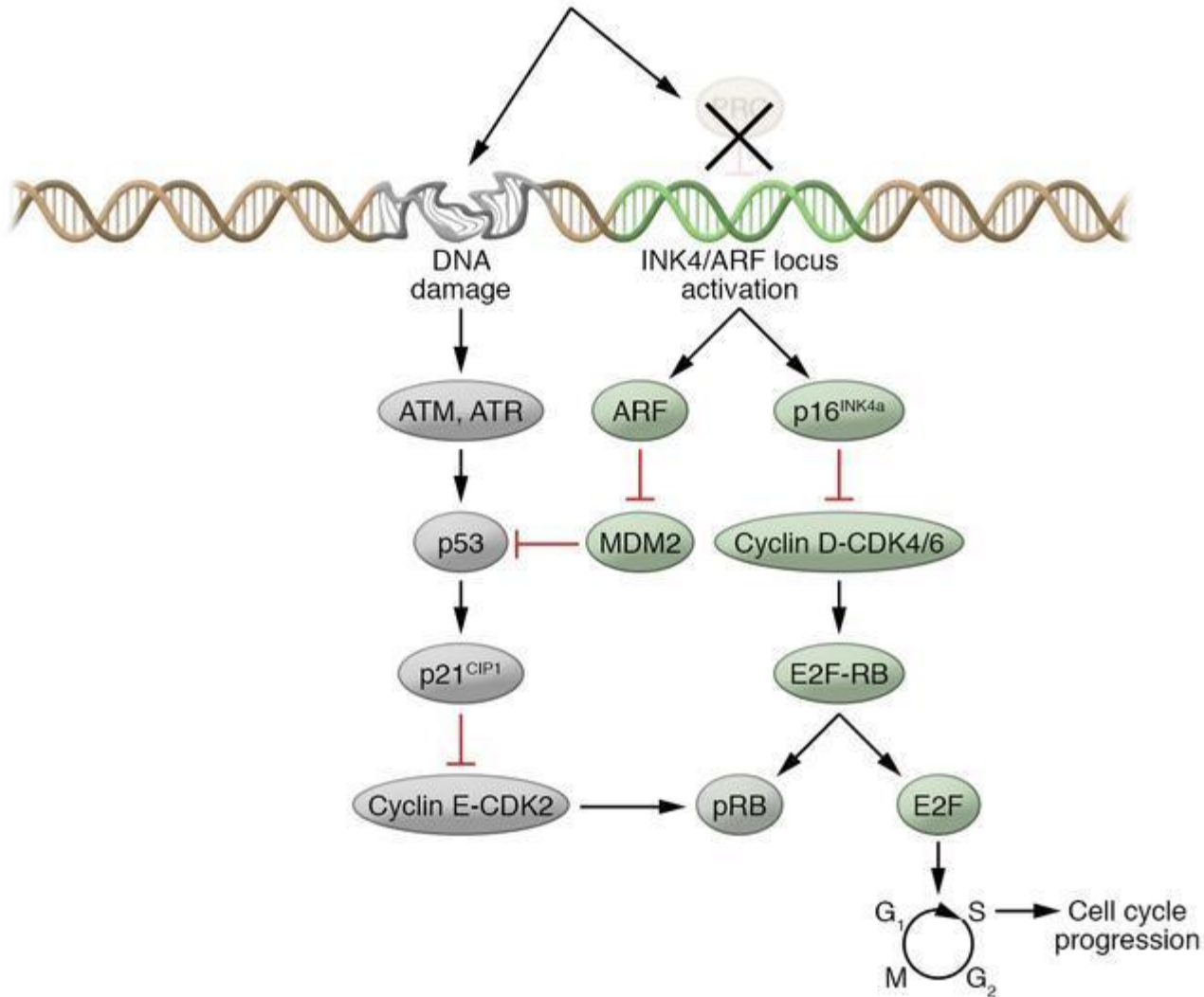
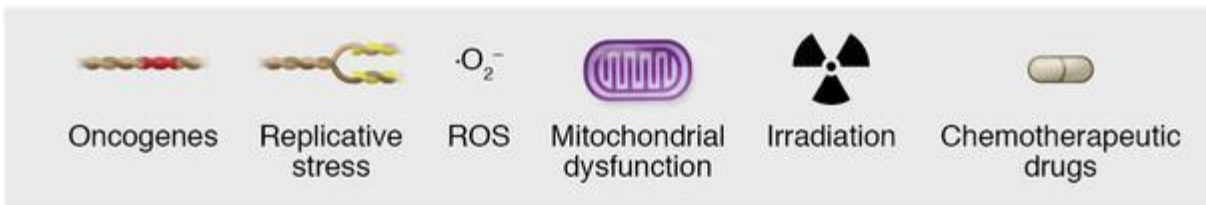
Онкоген-индуцированным клеточным старением (oncogene-induced senescence,

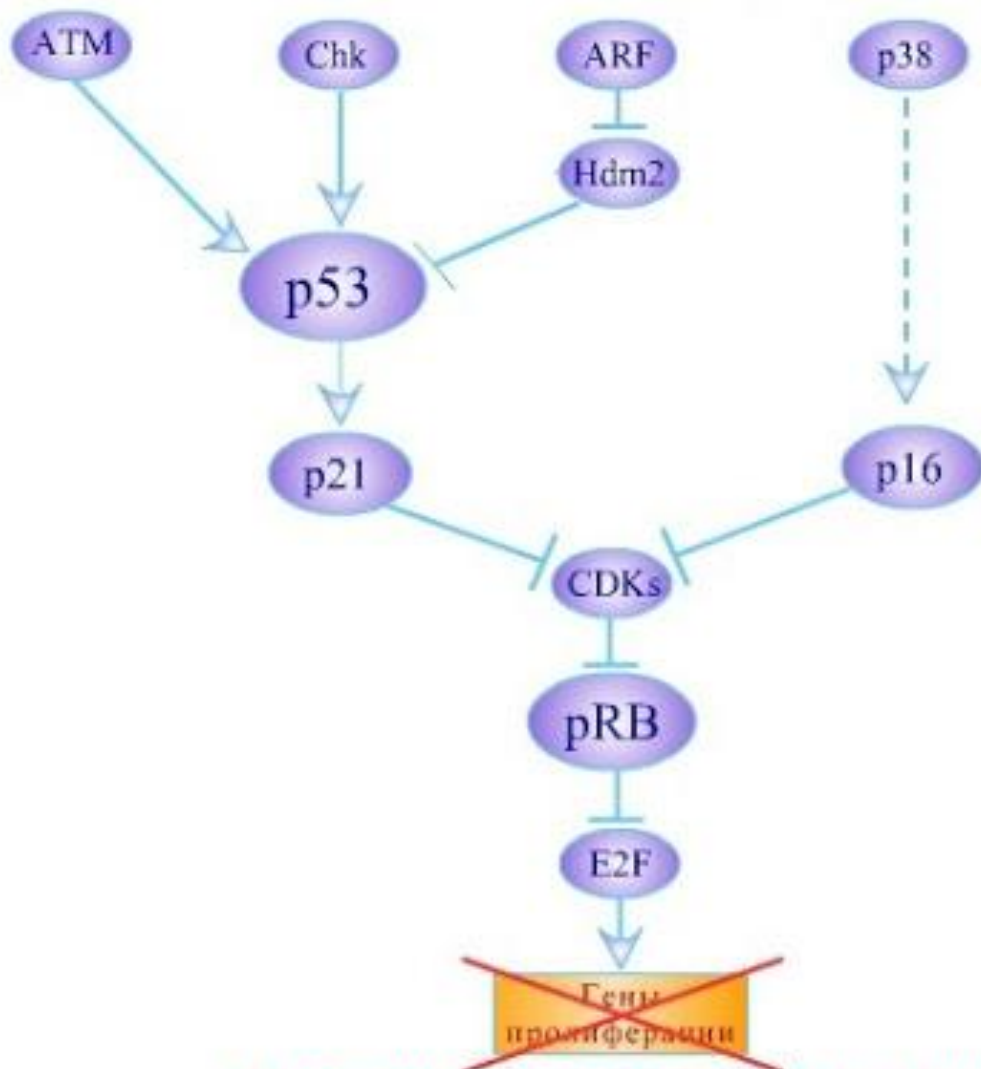


Prototypic oncogene-induced senescence (OIS) by Ras/Raf/Mek. Activated Ras/Raf/Mek oncogenes damage DNA, thereby triggering cellular DNA damage response (DDR) signaling involving ATM/ATR kinases and various components of the double strand break (DSB) repair machinery. Signals from unresolved DSB are relayed to the tumor suppressor p53, PML and pRB, which eventually promote a dynamic process of local, senescence-associated heterochromatin foci (SAHF) formation with the help of histone methyltransferases (such as Suv39h1) in the vicinity of E2F-responsive target genes, thereby transcriptionally silencing E2F-dependent S-phase genes. Moreover, persistent DSB may also trigger a second senescence-associated response, the massive production of largely pro-inflammatory cytokines and other secretable factors (termed "senescence-associated secretory phenotype [SASP]"), considered to reinforce the senescent arrest. Notably, the Myc oncogene is also known to evoke reactive oxygen species (ROS) and DNA replication stress like Ras/Raf-type oncogenes, and a small fraction of Myc-activated cells directly enter senescence in a cell-autonomous fashion.

Стресс-индуцированное преждевременное клеточное старение (stress-induced premature senescence, SIPS).

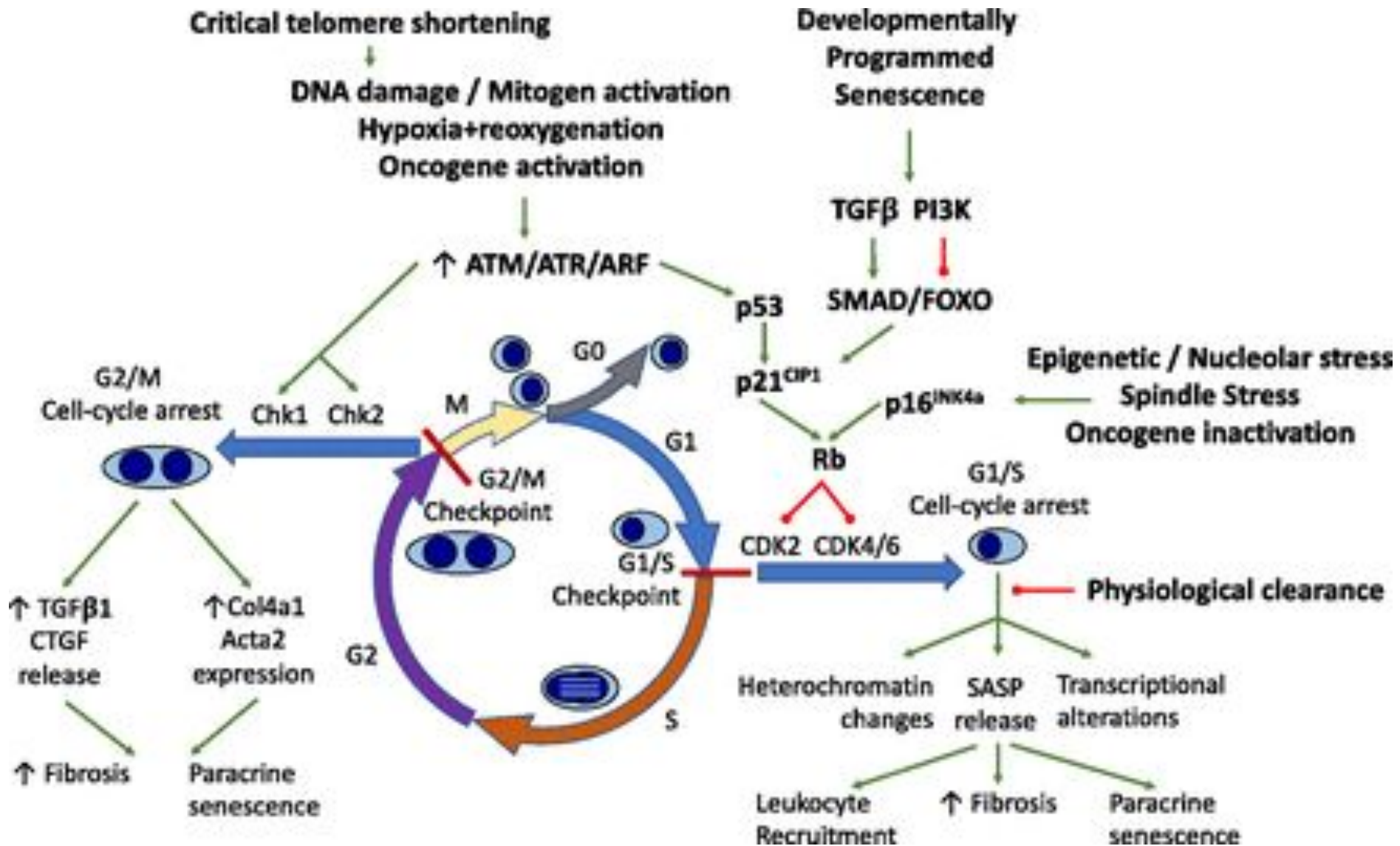






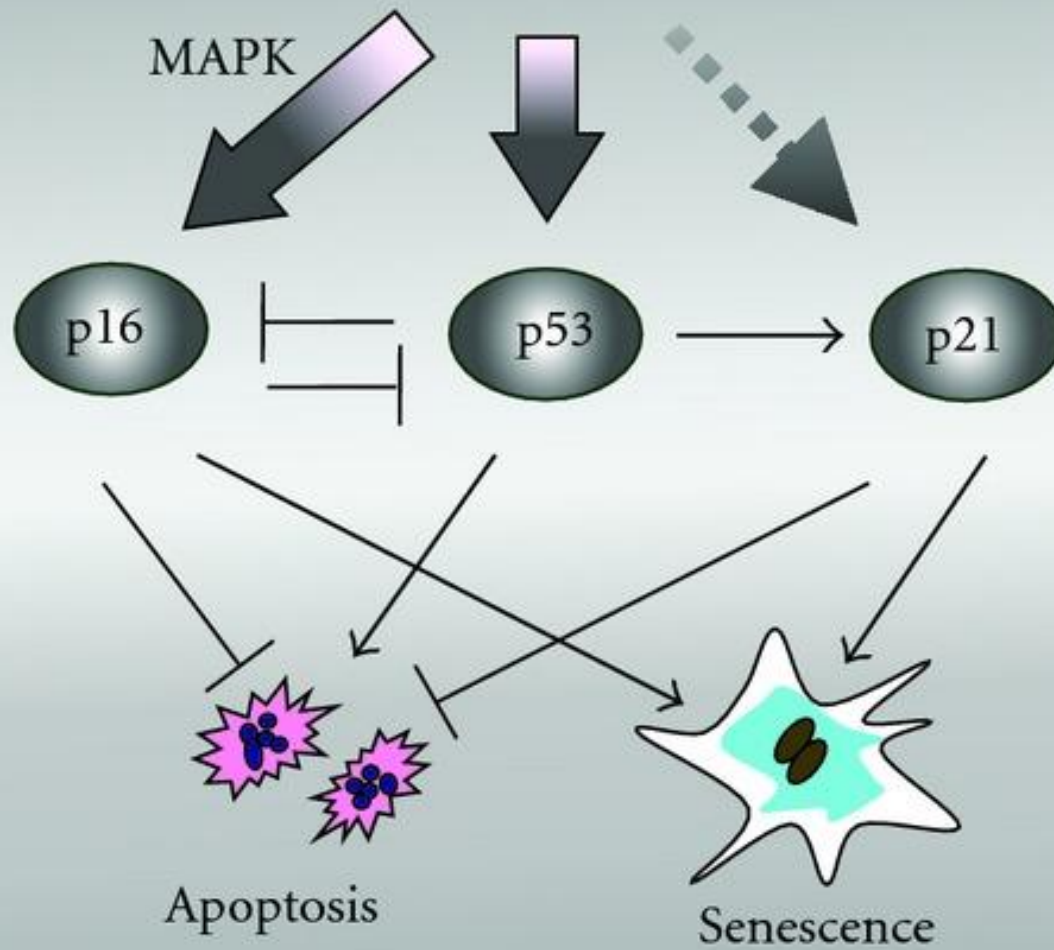
РЕПЛИКАТИВНОЕ СТАРЕНИЕ

В почках- остановка G1 или G2

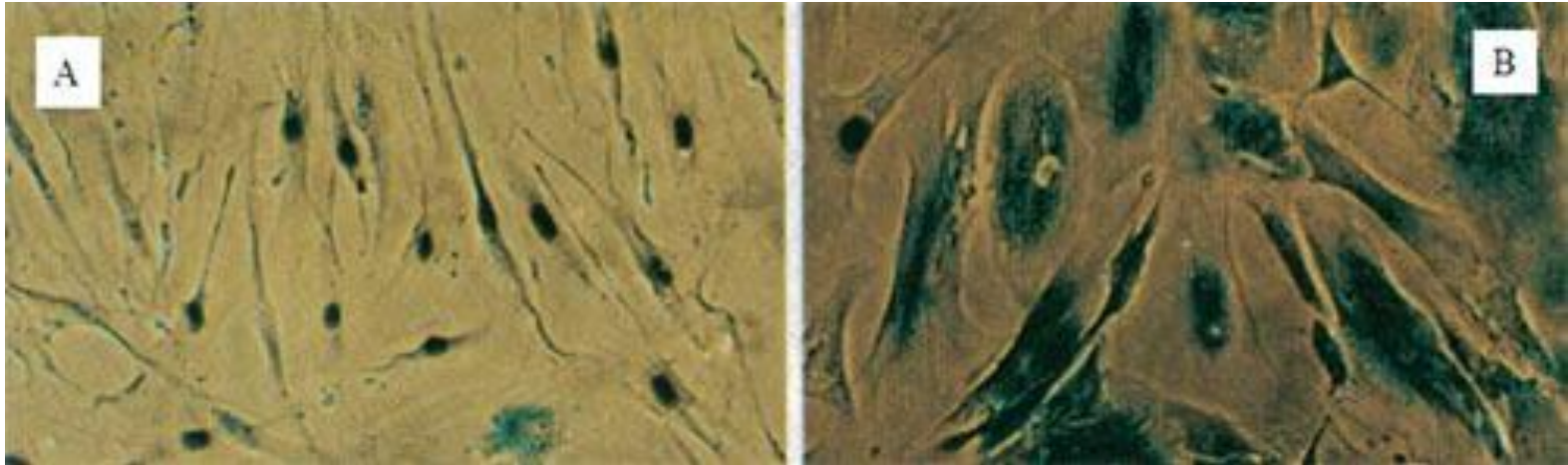


Stress

(Culture age; ionizing radiation)



Senescent cells



Фенотип стареющих клеток:

Увеличение размеров

Увеличение размера
ядра/многоядерность

Увеличение размера аппарата

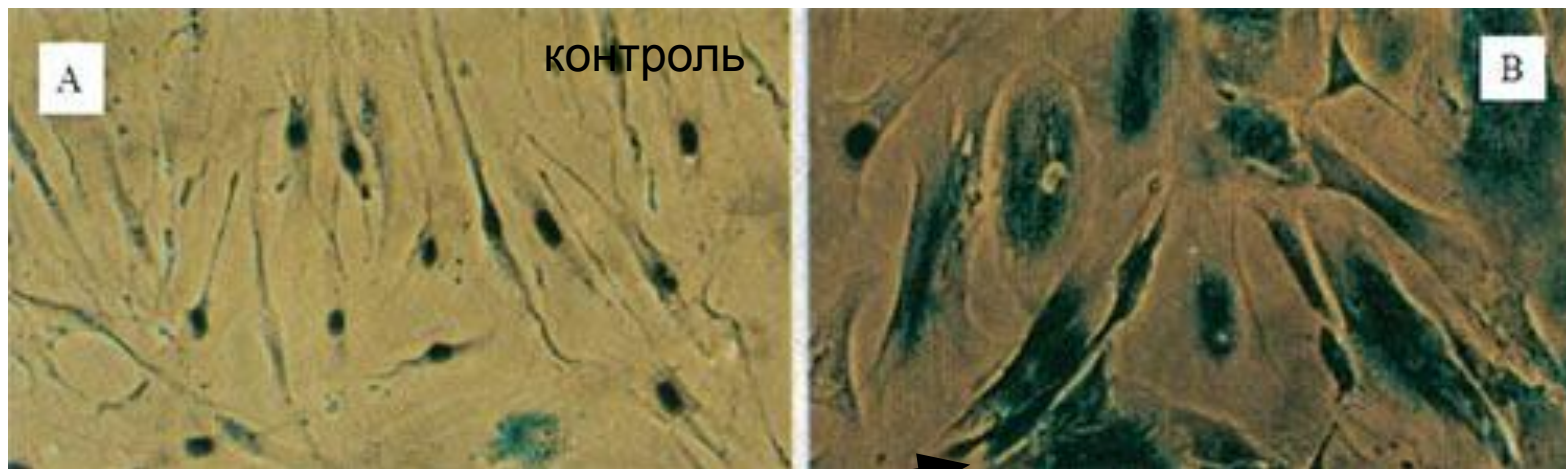
Гольджи

Вакуолизация цитоплазмы (стресс
ЭПР)

Биомаркеры клеточного старения.

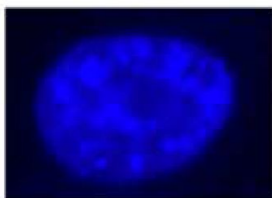
1. Ассоциированная с клеточным старением β -галактозидаза (senescence-associated beta-galactosidase, SA- β -Gal).
2. Белок HMGB1 (high-mobility group protein B1).
3. Фосфорилированный гистон γ H2AX.
4. Ассоциированные с клеточным старением гетерохроматиновые фокусы (SAHF).
5. Белок промиелоцитарного лейкоза (PML).

Маркеры стареющих клеток

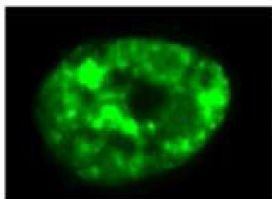


SA-β-галактозидаза

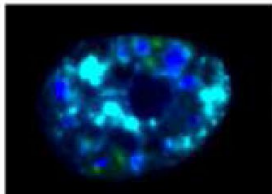
стареющие



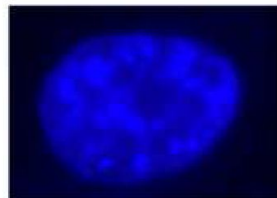
SAHF
DAPI



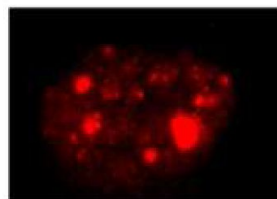
H3K9meth



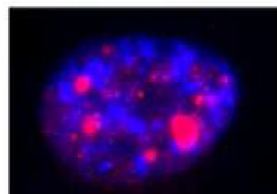
merged



DAPI

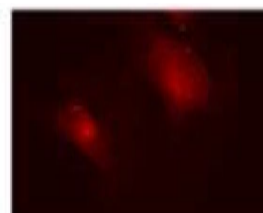


γH2AX



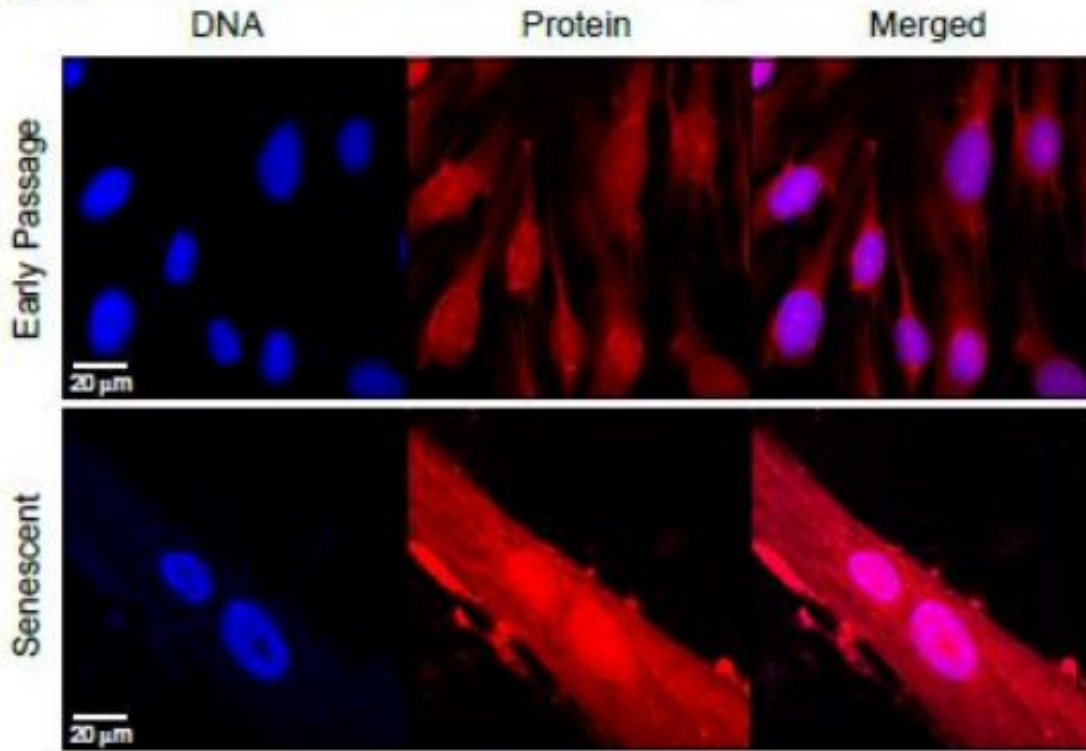
merged

стареющие контроль

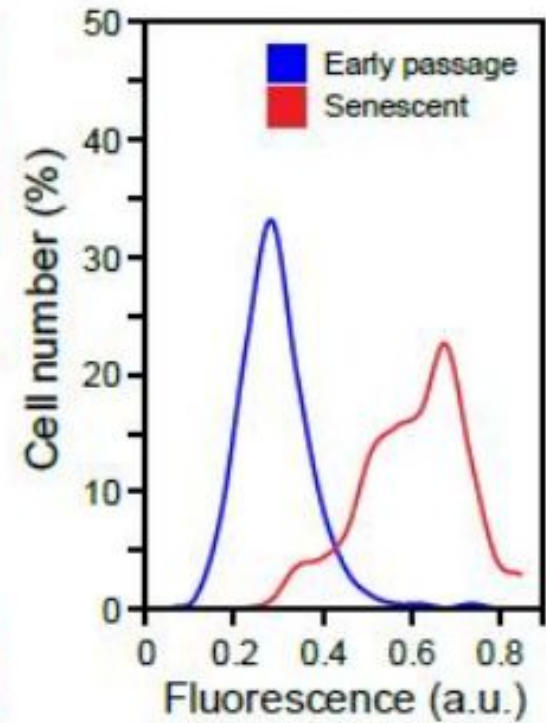


p16^{INK4a}

(A) Human fibroblasts, NanoOrange staining



(B) Histograms, NO

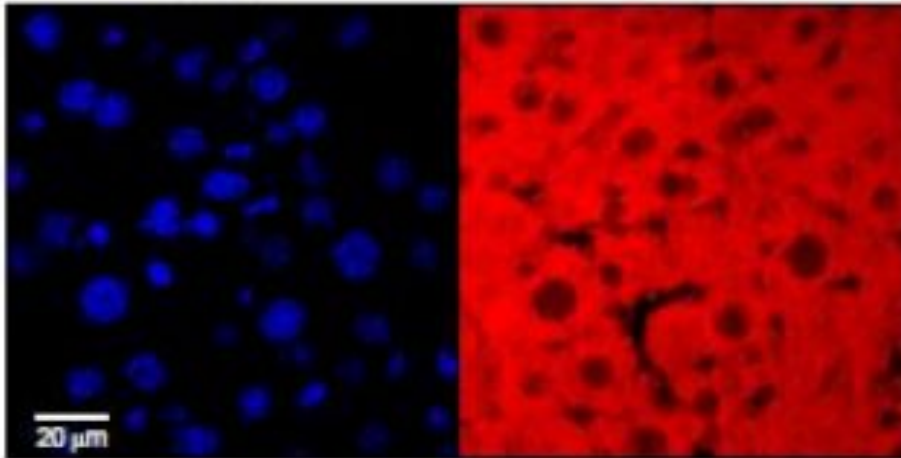


Еще один маркер – увеличение содержание тотального белка в клетках
Это мышинные фибробласты на разных пассажах.

(A) Mouse liver, young

DNA

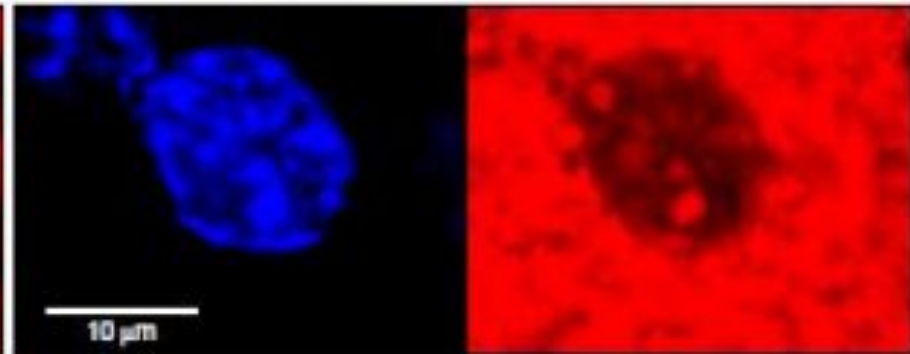
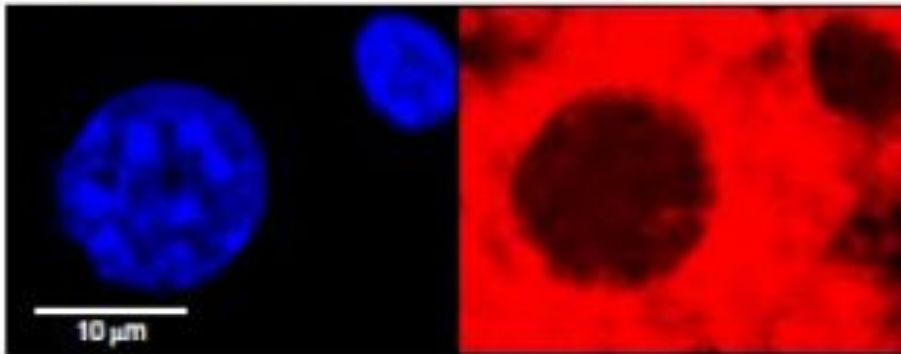
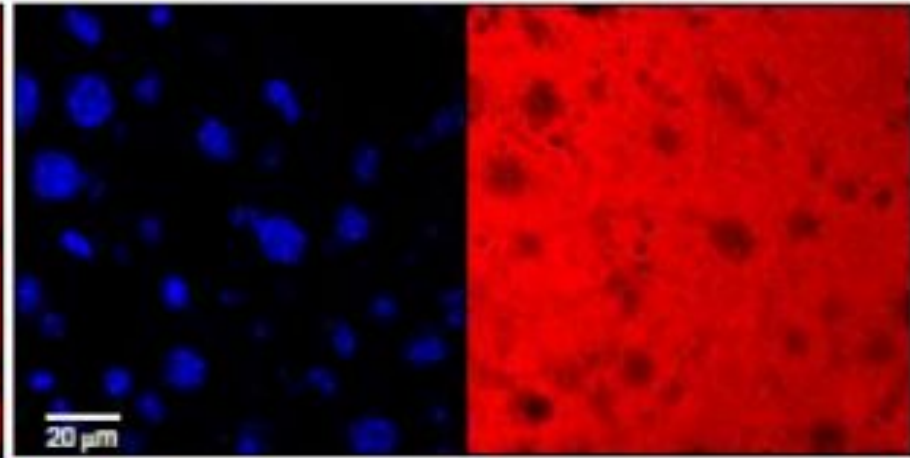
Protein



(B) Mouse liver, old

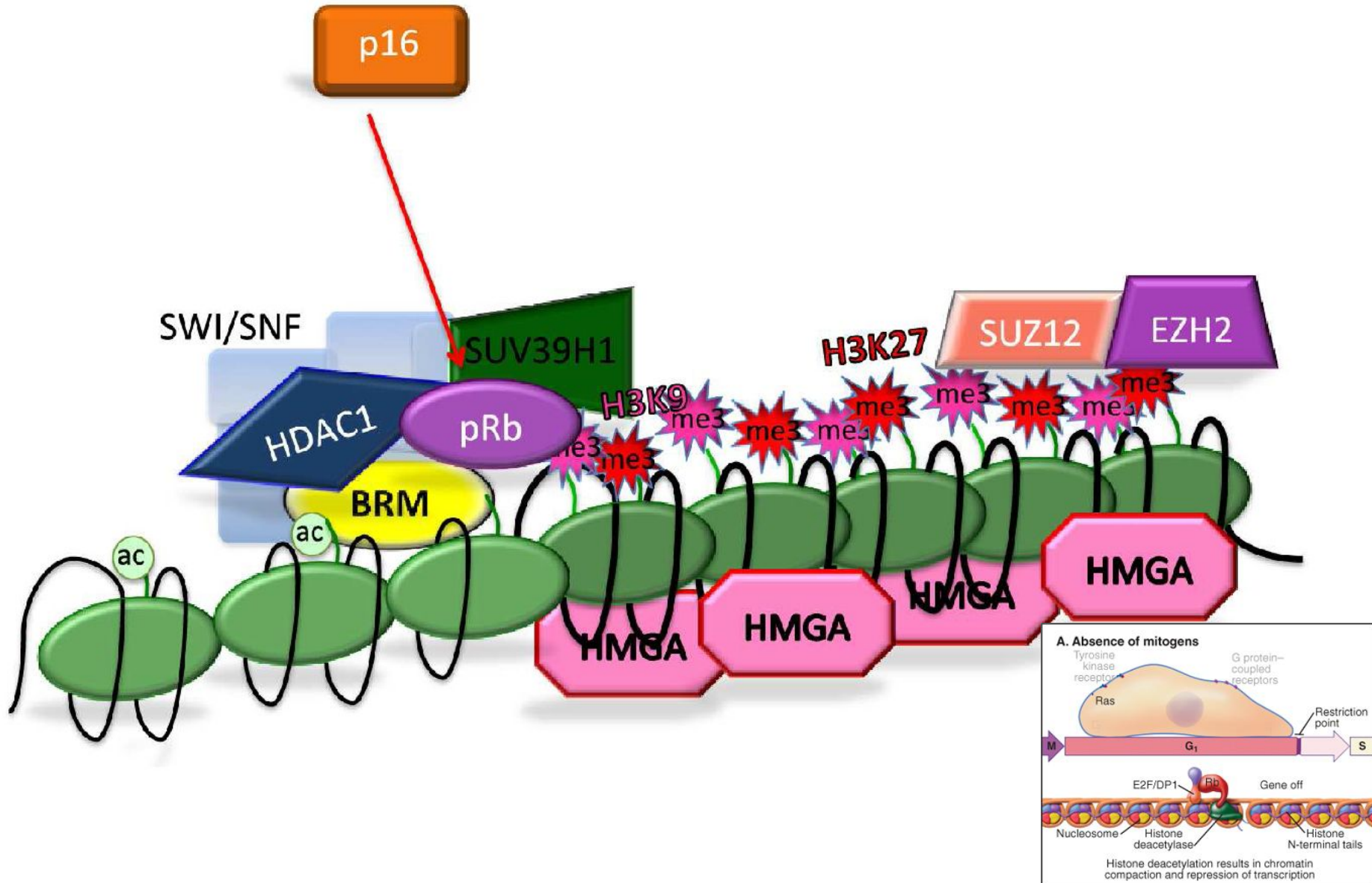
DNA

Protein



А это гепатоциты молодых и старых мышек. Увеличение содержания белка не так выражено. Однако видно накопление белка в ядре гепатоцита.

Ассоциированные с клеточным старением гетерохроматиновые фокусы (SAHF).

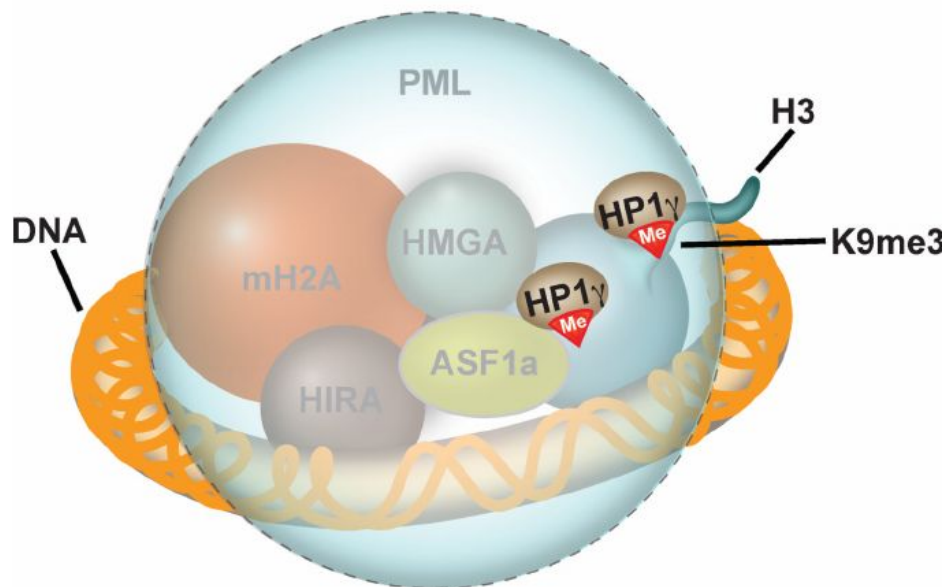


PML

Oncogenic Expression
(H-RAS V12, N-RAS, BRAF)



hyper-replication/ATR checkpoint
p16^{INK4A}/p53 upregulation



DNA Damage
Tumorigenesis

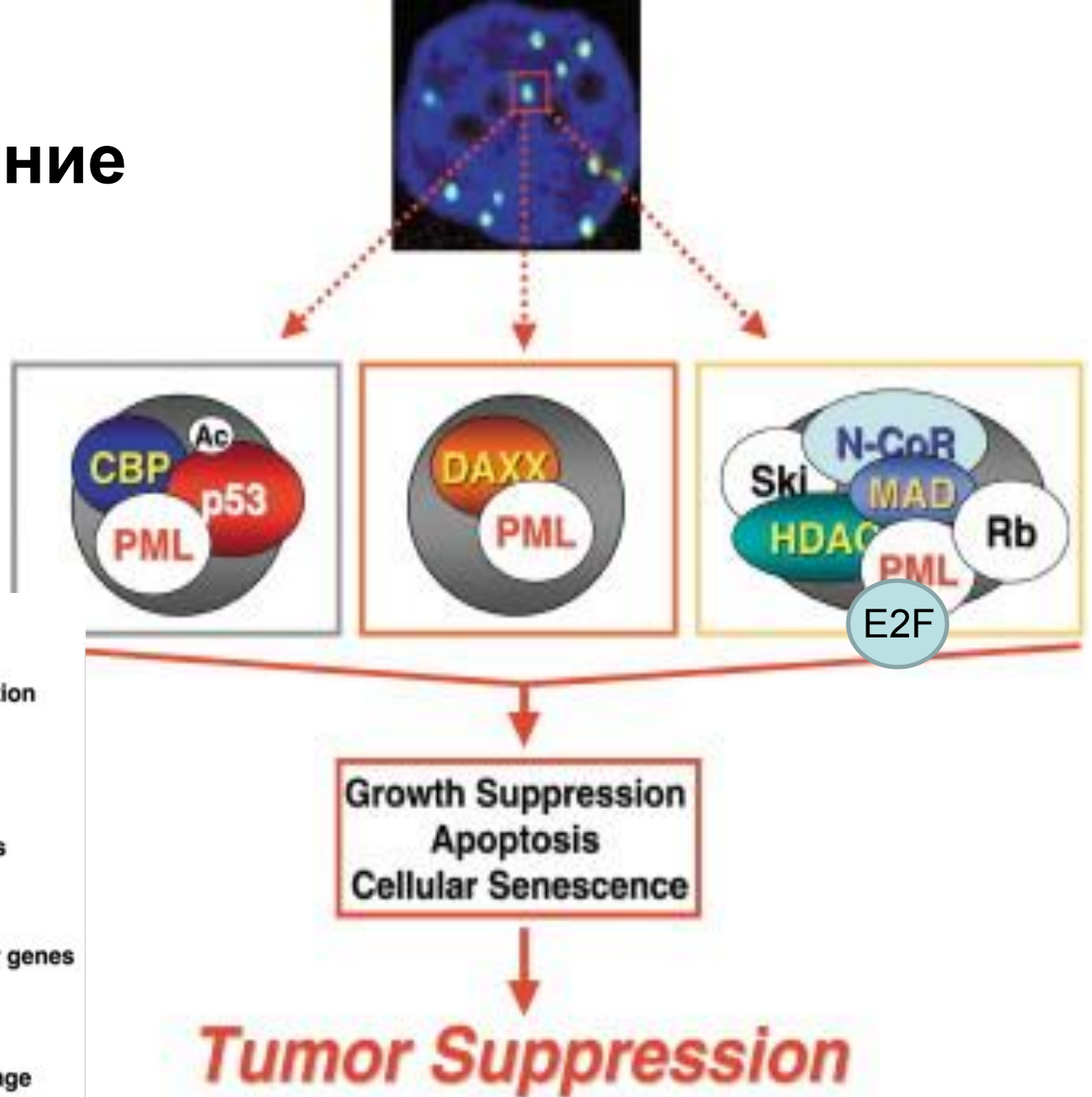
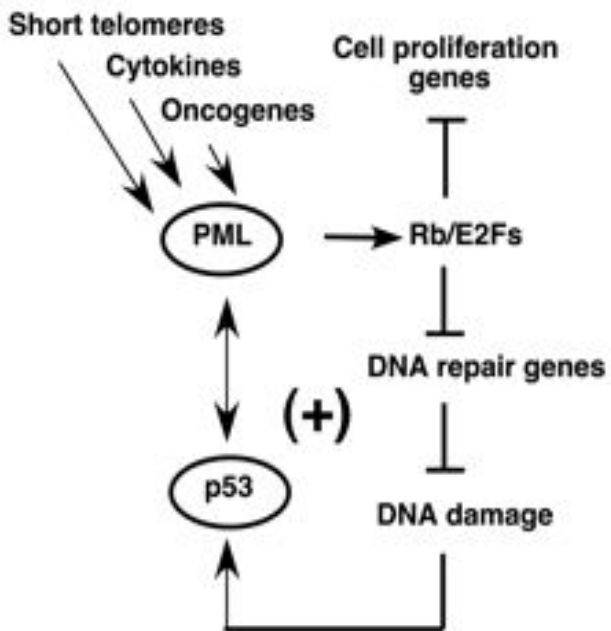
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00626-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00626-8)

<http://genesdev.cshlp.org/content/25/1/41.full>

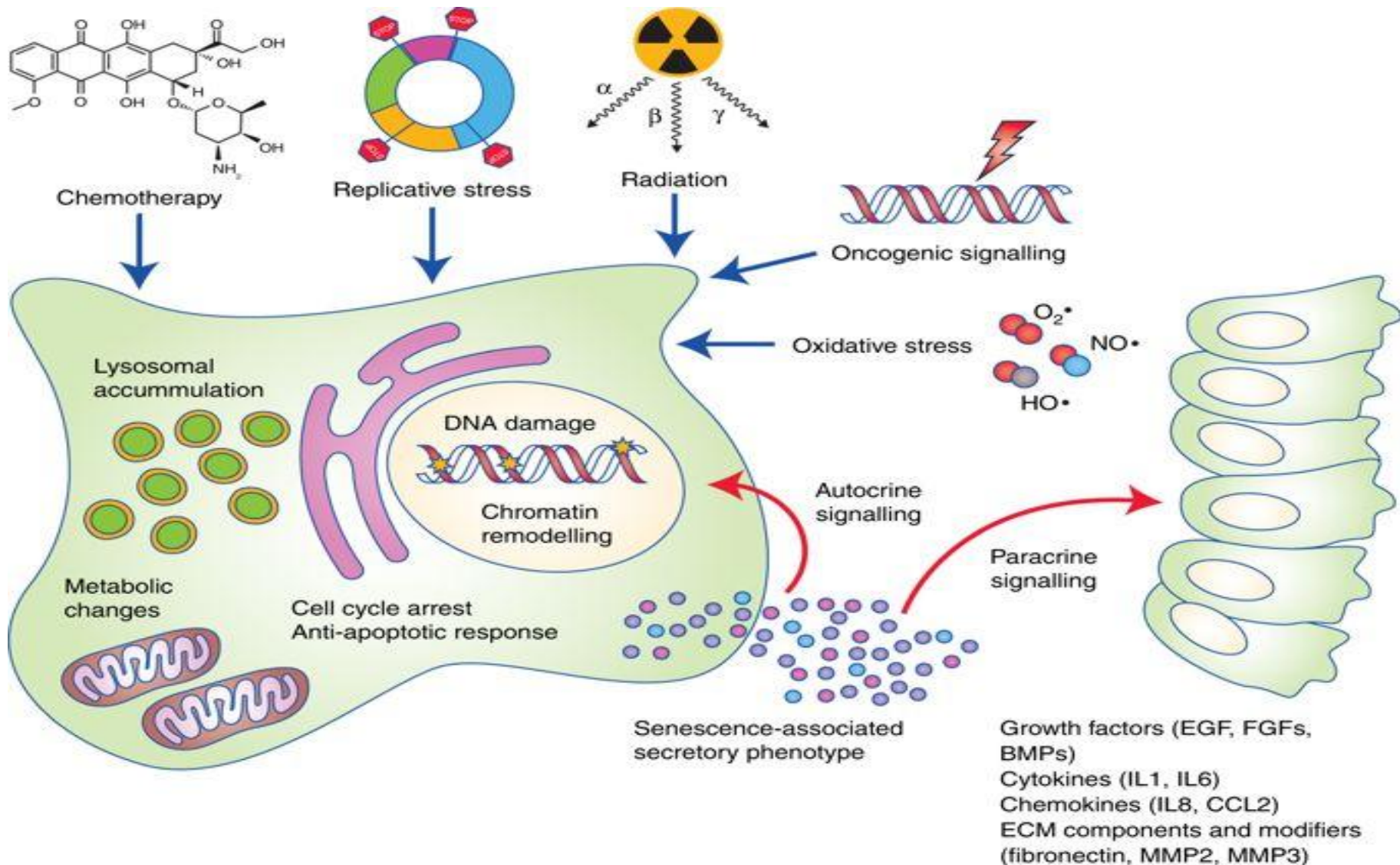
Белок промиелоцитарного лейкоза
(PML)

PML- ингибирование генов

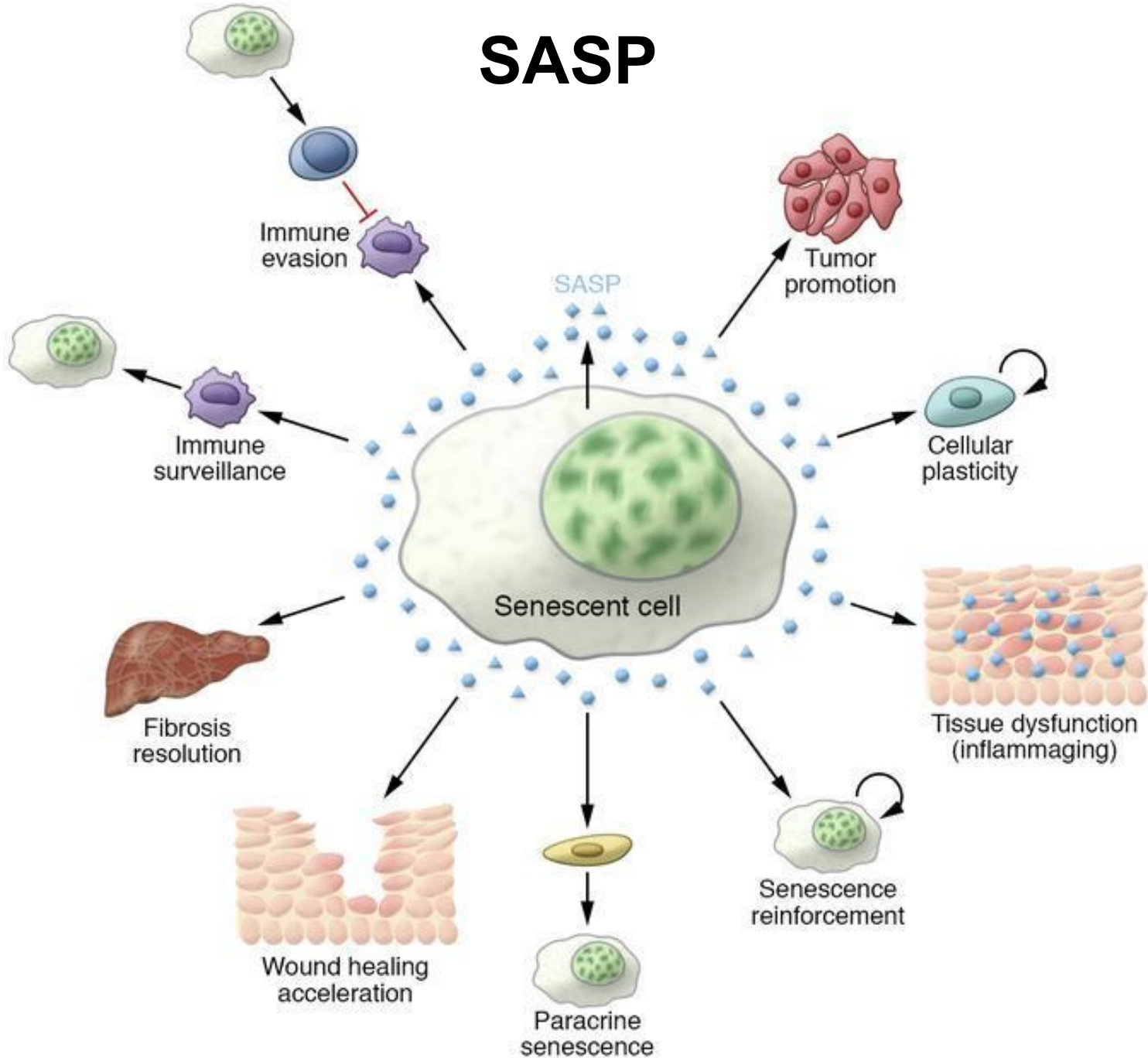
A



Ассоциированный с клеточным старением секреторный фенотип (senescence associated secretory phenotype, SASP)



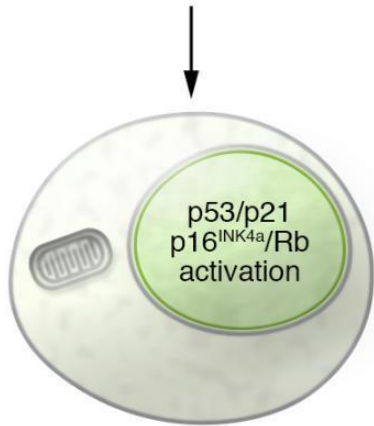
SASP



Старение - это динамичный многоступенчатый процесс

Senescence initiation

Senescence-inducing signals, e.g., oncogene activation, DNA damage

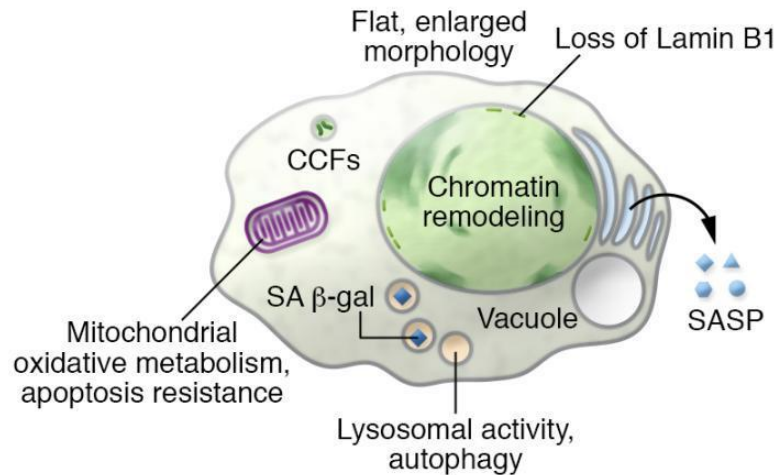


Cell cycle exit

Быстрое старение

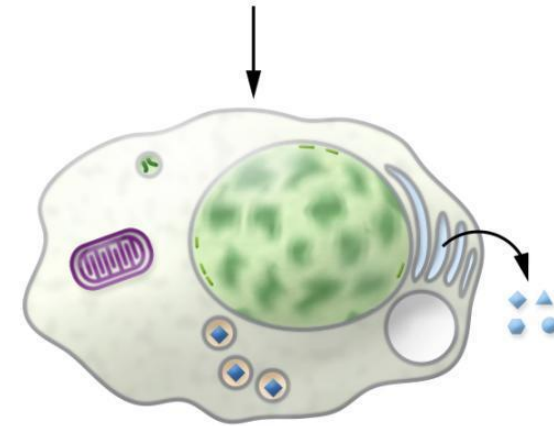
Early senescence

Progressive chromatin remodeling, implementation of senescence program



Late senescence

Triggered by aging or long-term, unscheduled damage



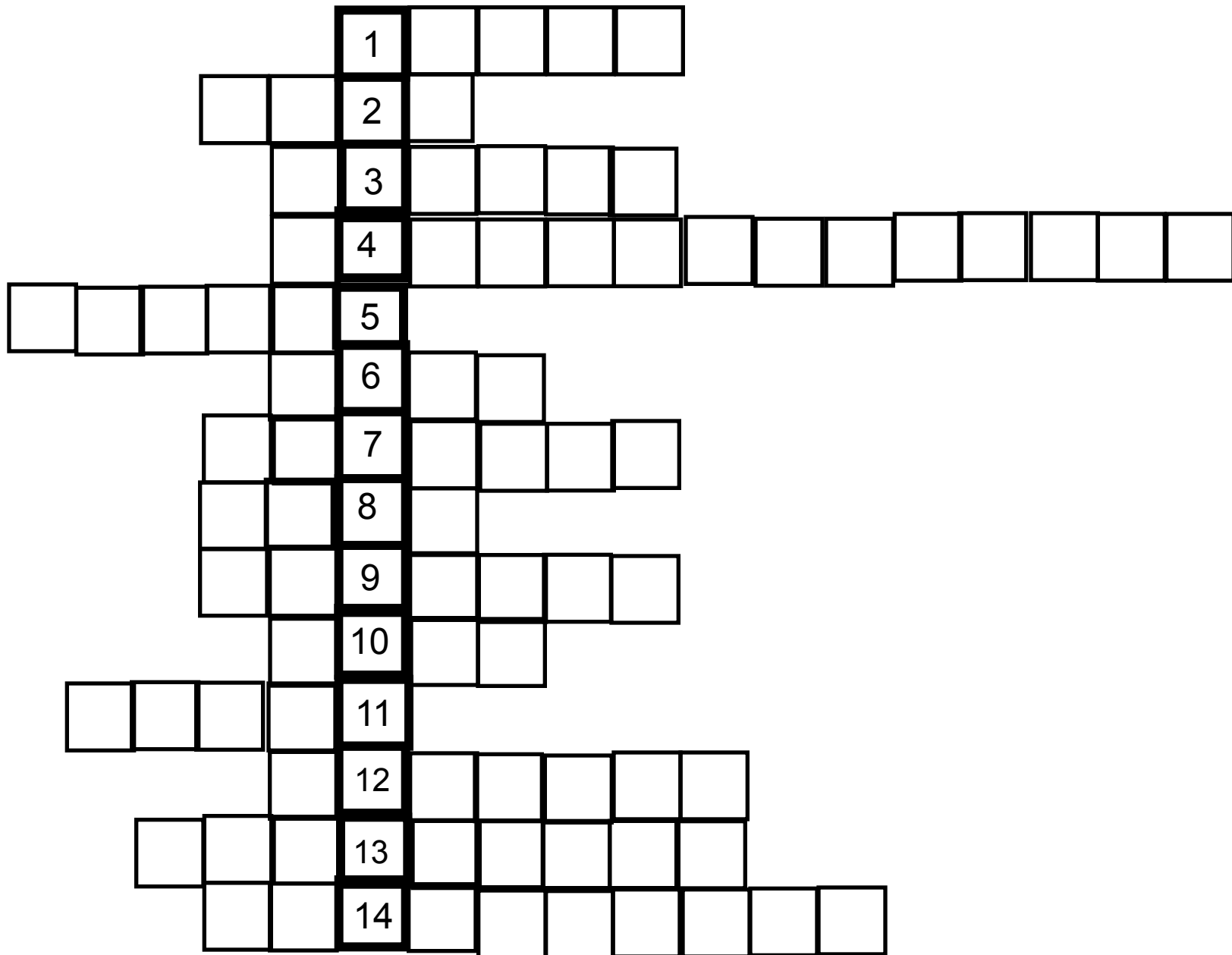
Chronic inflammation ("inflammaging"), diversification of senescent phenotype

Хроническое старение

А теперь задание!

Я старалась, но может где и ошиблась 😊))

Можно изобразить на листочке,
сфотографировать и отправить



Цитокинез

a

Midbody core
KIF4, PRC1 (centralspindlin,
Cep55, ALIX?)

Secondary
ingression
zone

~0.2 μm

~1-2 μm

Midbody flank
MKLP2, Aurora B,
CENP-E

Midbody
MTs

b

Midbody ring
Ect2, anillin, RhoA, ARF6,
centralspindlin, Cep55, ALIX

ESCRT-I

ESCRT-III

Abscission site
Spastin, ESCRT-III,
VPS4, RhoA, anillin

