

МИТОЗ АПОПТОЗ КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Ваш наставник Даниил Игоревич Шмидт 😊

Клеточный цикл

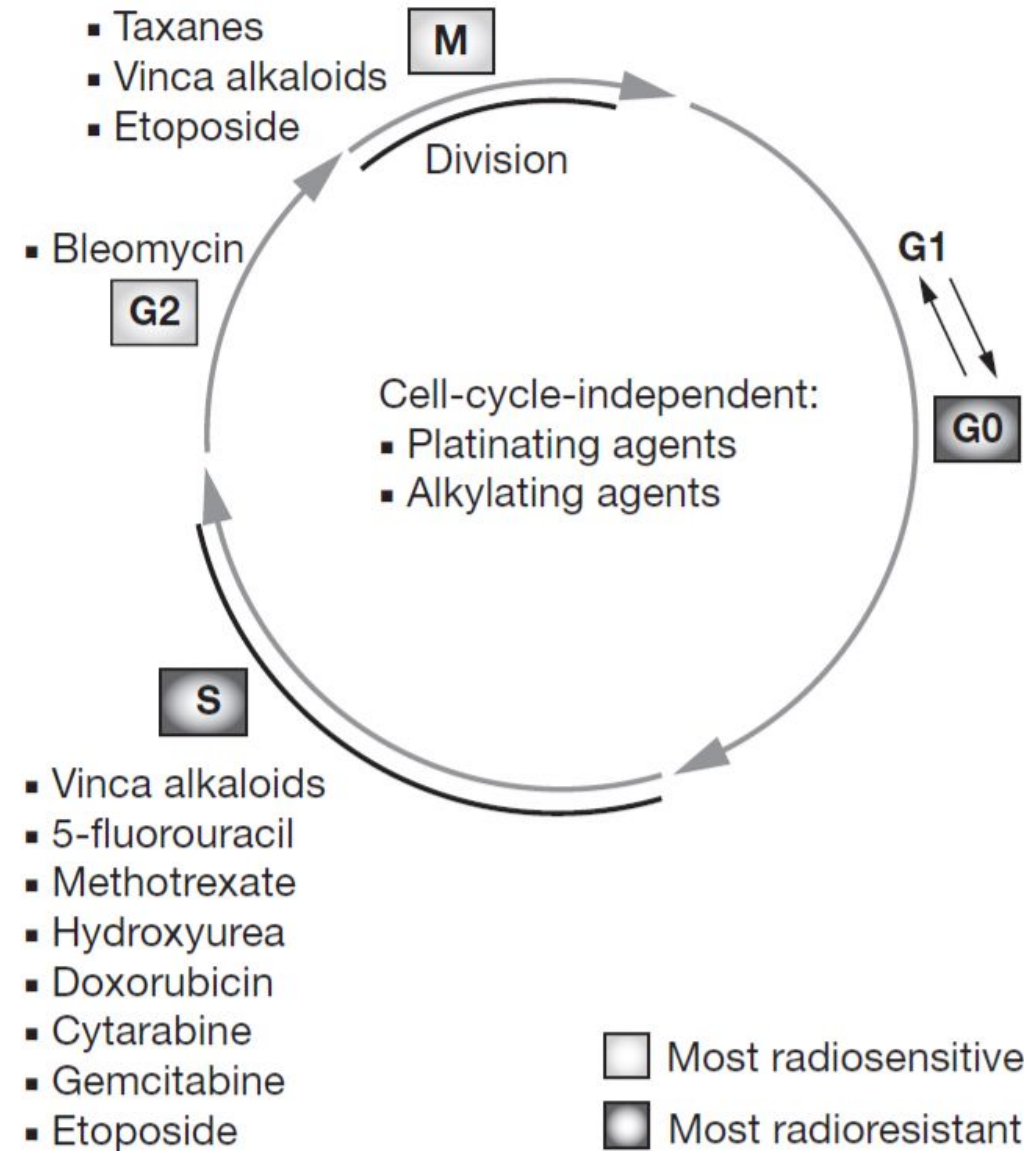
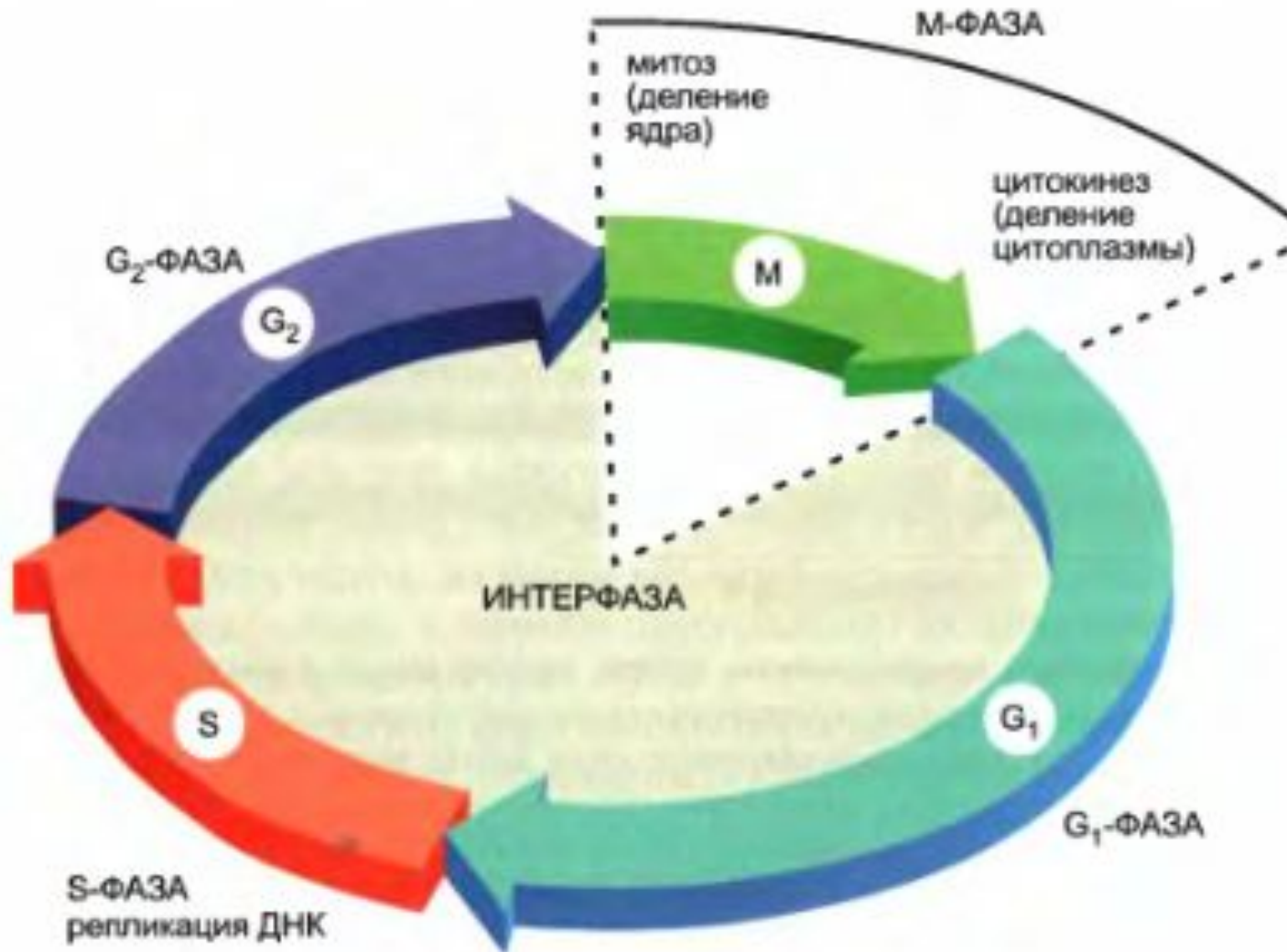
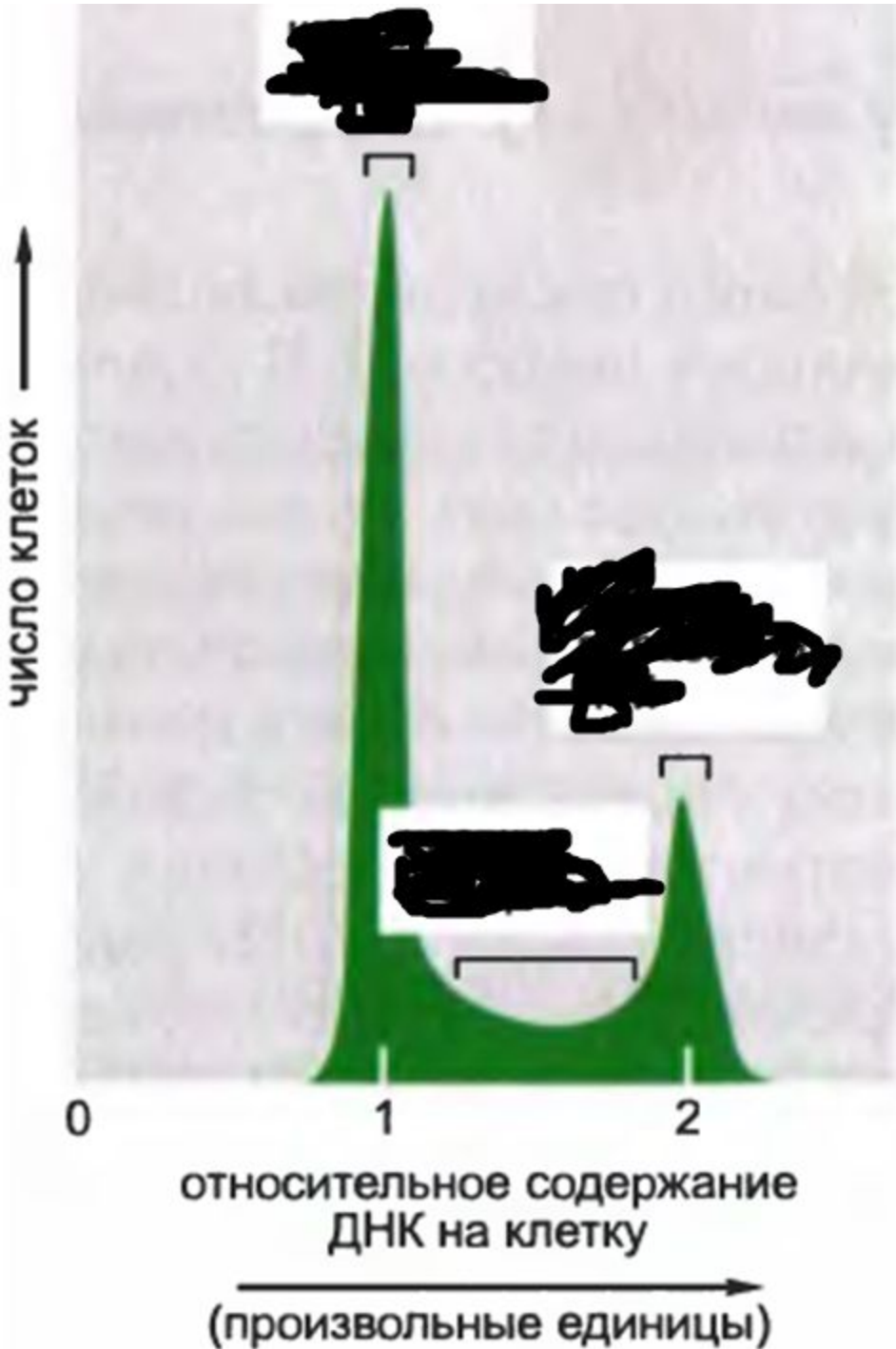
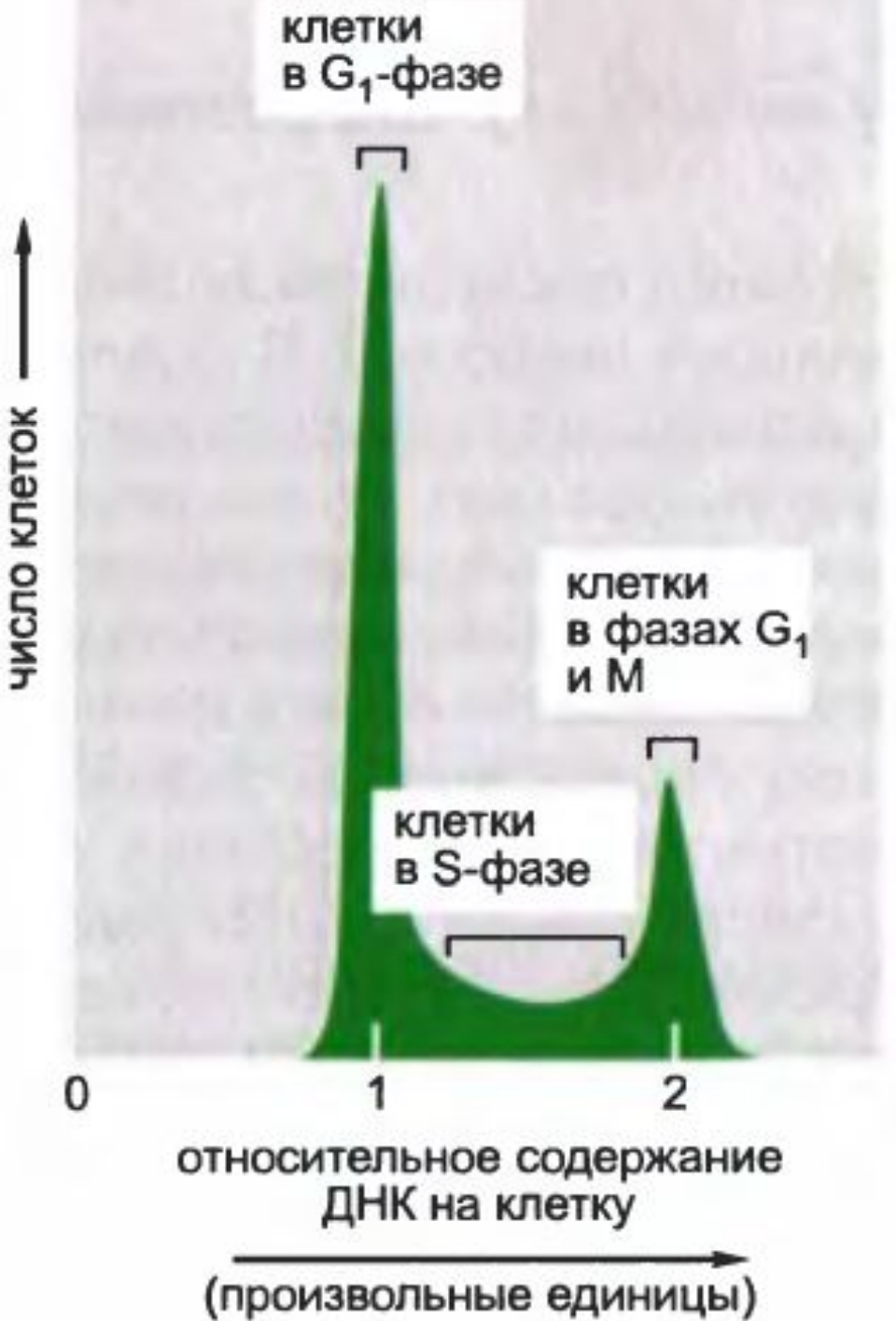


Figure 4 Cell-cycle schematic and respective sensitivity to chemotherapeutic agents.



Объясните график

- Клетки в каких фазах образуют пики?
- Клетки в каких фазах образуют пространство между пиками?
- Умение читать графики очень важно для врача (а для исследователя и подавно)!



Проверьте себя

- Молодцы!

Что происходит в интерфазе?

G1

- Рост клетки (увеличение размеров органелл)
- Удвоение органелл

S-фаза

- Репликация ДНК
- Синтез гистонов
- Удвоение клеточного центра

G2-фаза

- Дополнительный рост
- Подготовка к митозу (конденсация хромосом, реорганизация цитоскелета)

Как запомнить фазы митоза на всю
жизнь?

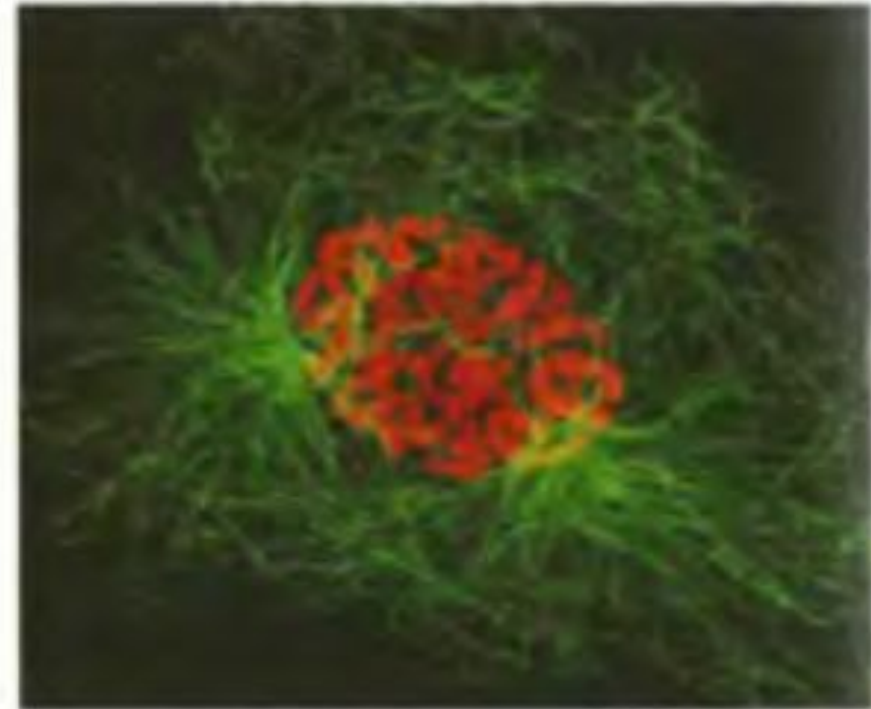


Профаза

1 ПРОФАЗА



В **профазе** реплицированные хромосомы, состоящие из двух связанных сестринских хроматид, конденсируются. Вне ядра между двумя реплицированными и разошедшимися центросомами собирается веретено деления. Для простоты показаны только три хромосомы. В диплоидных клетках присутствует по две копии каждой хромосомы. На микрофотографии хромосомы окрашены оранжевым, а микротрубочки — зеленым.

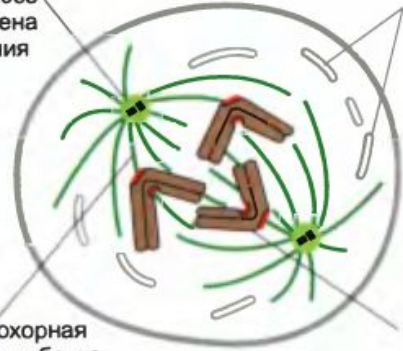


Метафаза

2 ПРОМЕТАФАЗА

центросома
в полюсе
веретена
деления

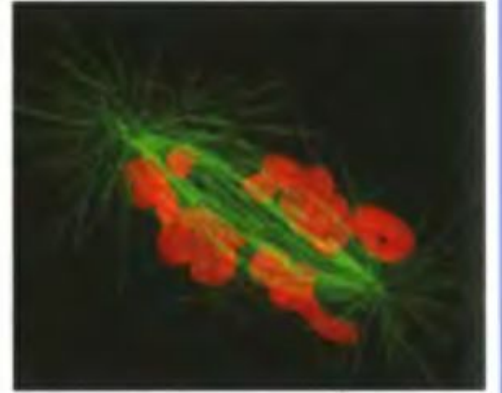
кинетохорная
микротрубочка



фрагменты
ядерной
оболочки

активно
движущаяся
хромосома

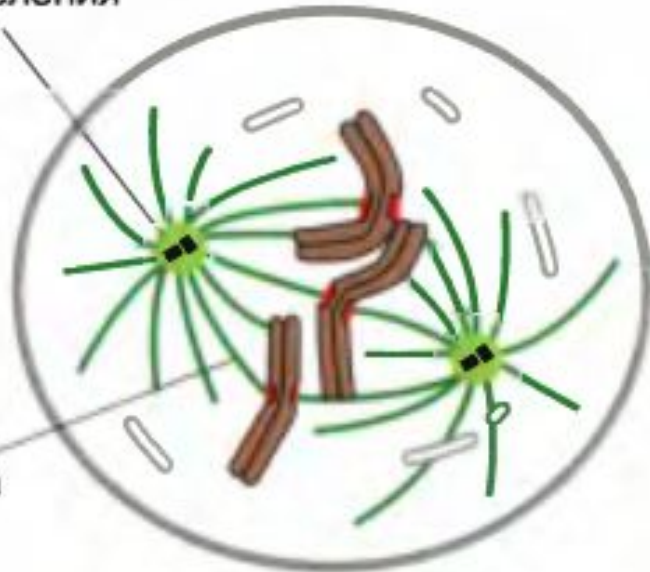
Прометафаза начинается внезапно с разрушения ядерной оболочки. Теперь хромосомы способны присоединиться к микротрубочкам веретена через кинетохоры и активно двигаться.



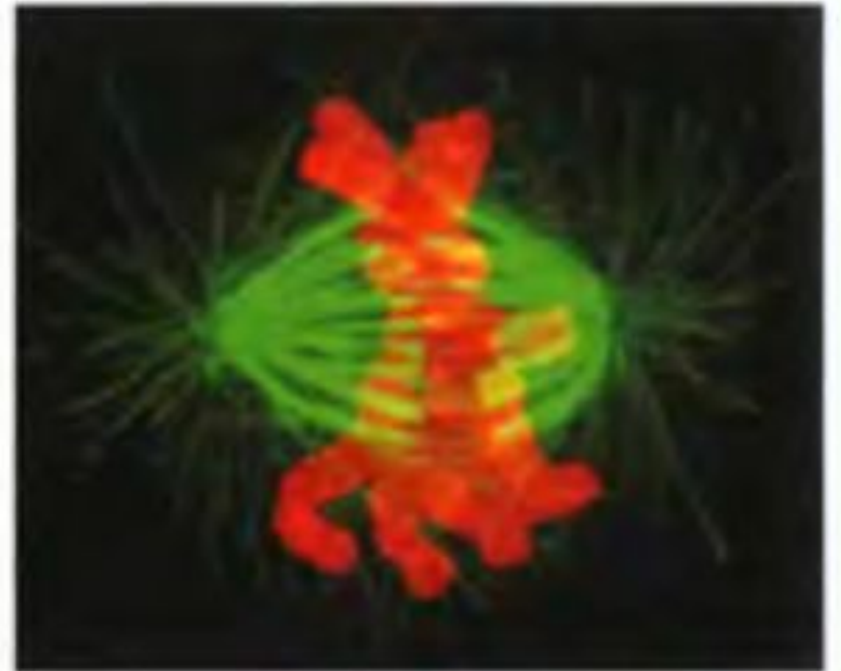
3 МЕТАФАЗА

центросома в полюсе
веретена деления

кинетохорная
микротрубочка

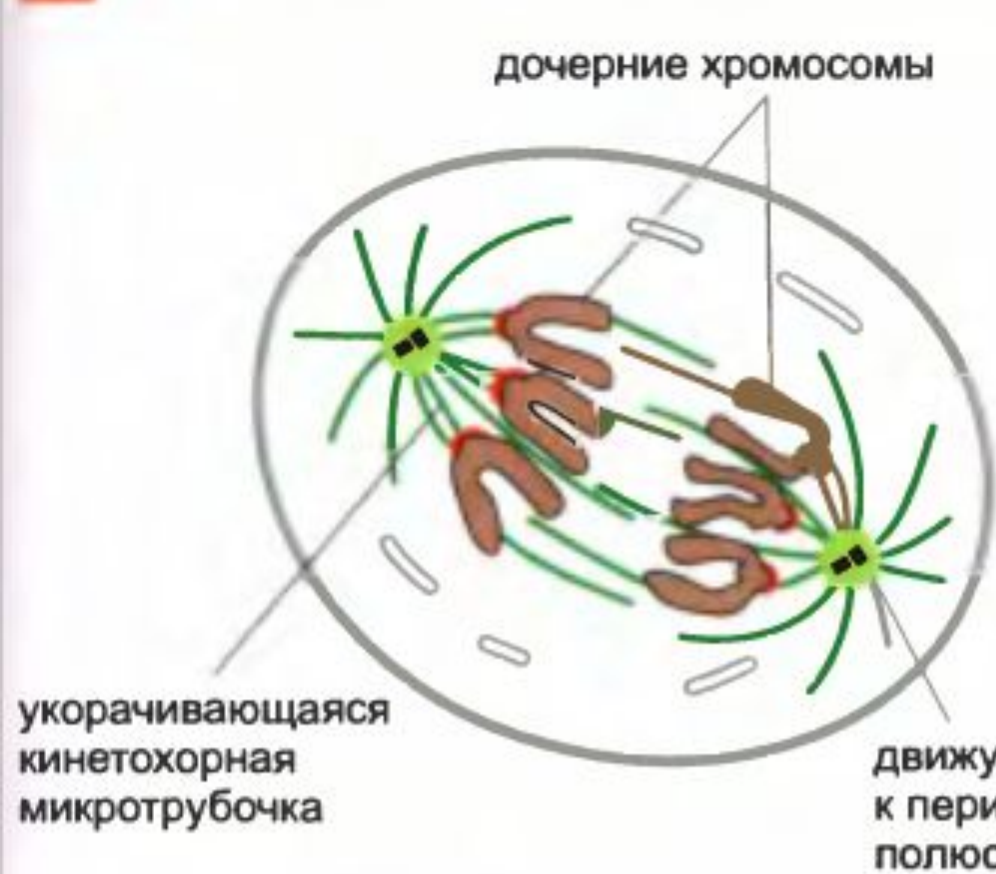


В **метафазе** хромосомы выстраиваются по экватору веретена деления на полпути между полюсами веретена. Кинетохорные микротрубочки соединяют сестринские хроматиды с противоположными полюсами веретена.

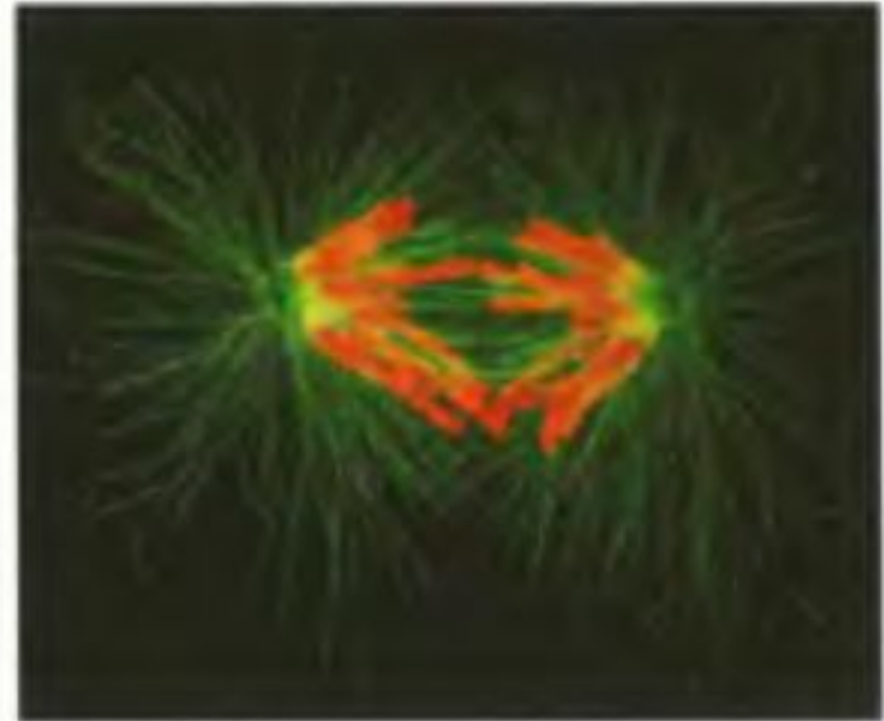


Анафаза

4 АНАФАЗА



В **анафазе** сестринские хроматиды синхронно расходятся с образованием двух дочерних хромосом, медленно растаскиваемых к противоположным полюсам веретена деления. Кинетохорные микротрубочки укорачиваются, и полюса веретена также удаляются друг от друга; оба процесса вносят вклад в расхождение хромосом.



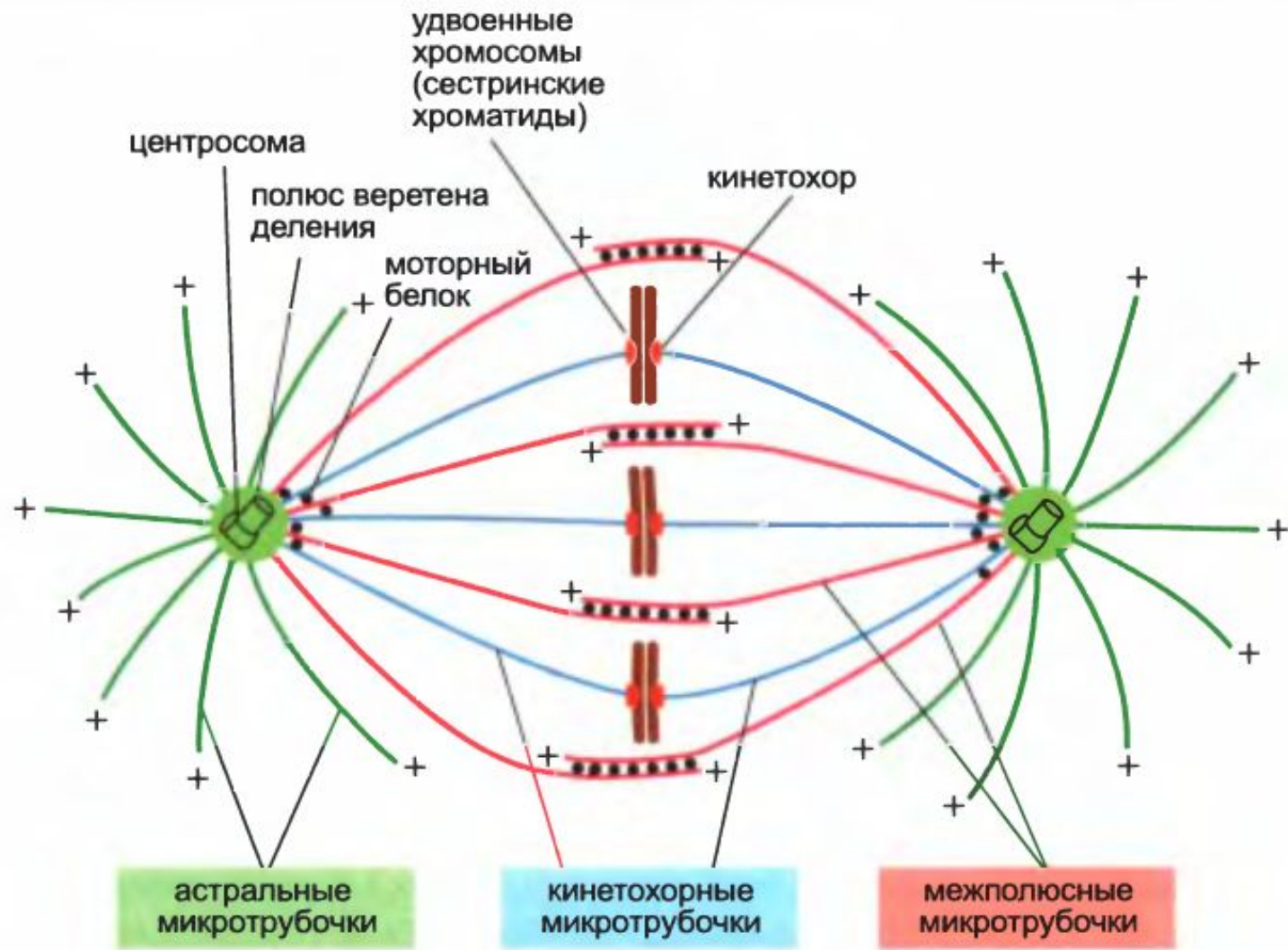


Рис. 17.28. Три класса микротрубочек веретена деления животной клетки. Плюс-концы микротрубочек направлены наружу от центросом, тогда как минус-концы закорены в полюсах веретена деления, которые в данном примере образованы центросомами. Кинетохорные микротрубочки соединяют полюса веретена с кинетохорами сестринских хроматид, тогда как межполюсные микротрубочки противоположных полюсов переплетаются на экваторе веретена. Астральные микротрубочки исходят из полюсов в цитоплазму и обычно взаимодействуют с клеточным кортексом, способствуя правильному расположению веретена в клетке.

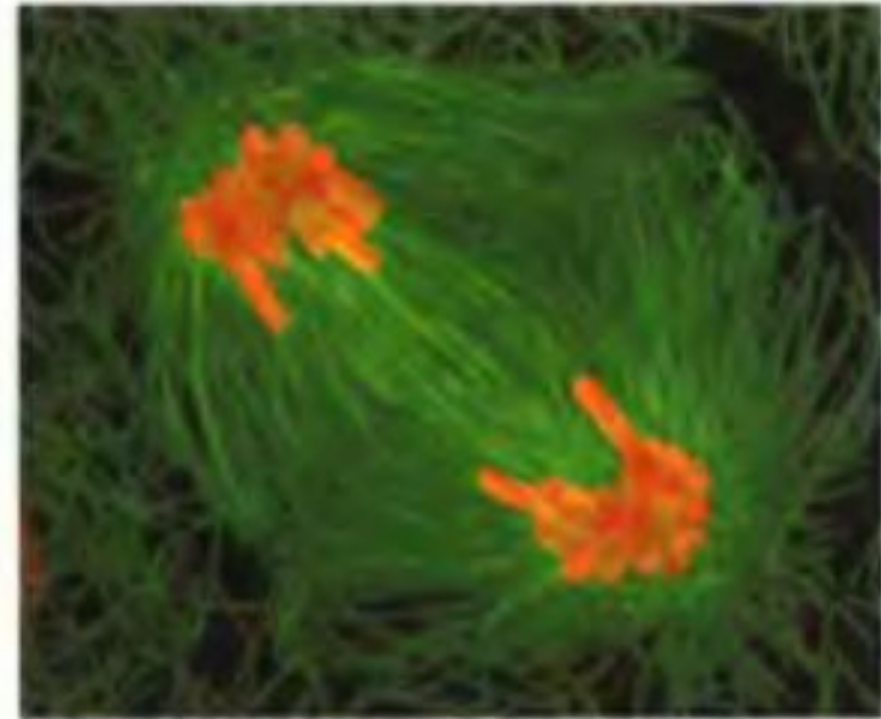
Телофаза

5 ТЕЛОФАЗА

набор дочерних хромосом
на полюсе веретена

начинающее
сокращаться
сократимое кольцо

Во время **телофазы** два набора дочерних хромосом достигают полюсов веретена деления и деконденсируются. Вокруг каждого набора собирается новая ядерная оболочка. Завершение образования двух ядер отмечает конец митоза. Разделение цитоплазмы начинается с сокращения сократимого кольца.



перекрывающиеся
микротрубочки

центросома

начинающая собираться
вокруг индивидуальных
хромосом ядерная оболочка



а)

20 мкм

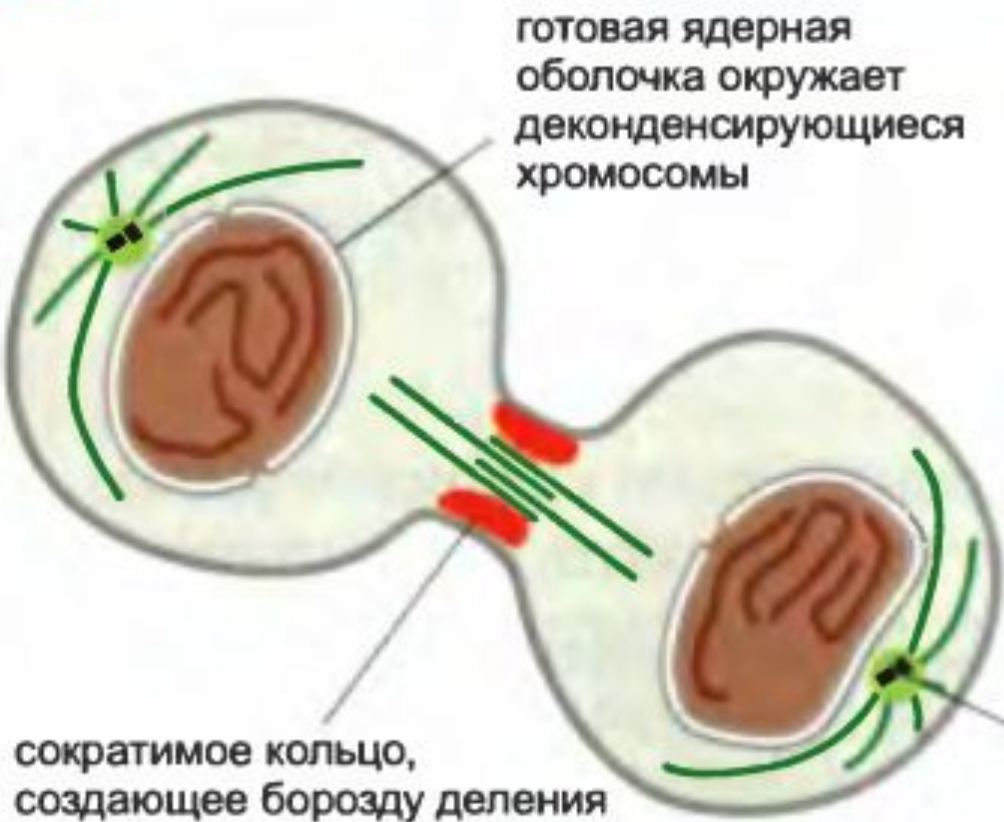


б)

Рис. 17.43. Расхождение сестринских хроматид в анафазе. При переходе от метафазы (а) к анафазе (б) сестринские хроматиды внезапно разделяются и начинают двигаться к противоположным полюсам веретена деления — как показано на данных световых микрофотографиях клеток эндосперма *Haemaphys* (лилии), окрашенных мечеными золотом антителами против тубулина. (С любезного разрешения Andrew Bajer.)

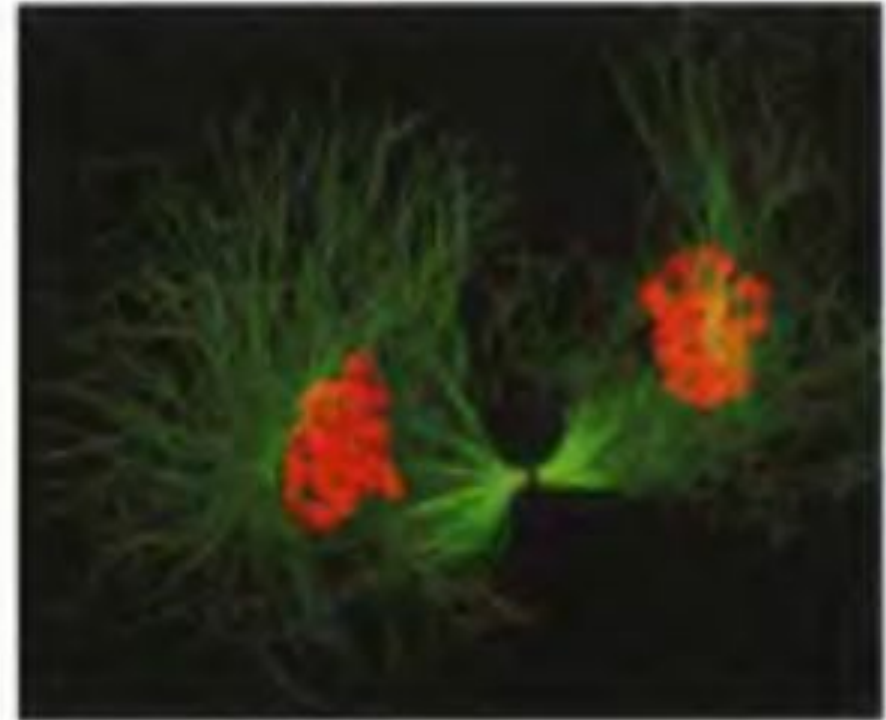
Цитокинез

6 ЦИТОКИНЕЗ



Во время **цитокинеза** цитоплазма разделяется надвое состоящим из актиновых и миозиновых филаментов сократимым кольцом. Сократимое кольцо разделяет клетку на две дочерние, каждая из которых несет по одному ядру.

формирование интерфазной структуры микротрубочек, нуклеируемое centrosомой



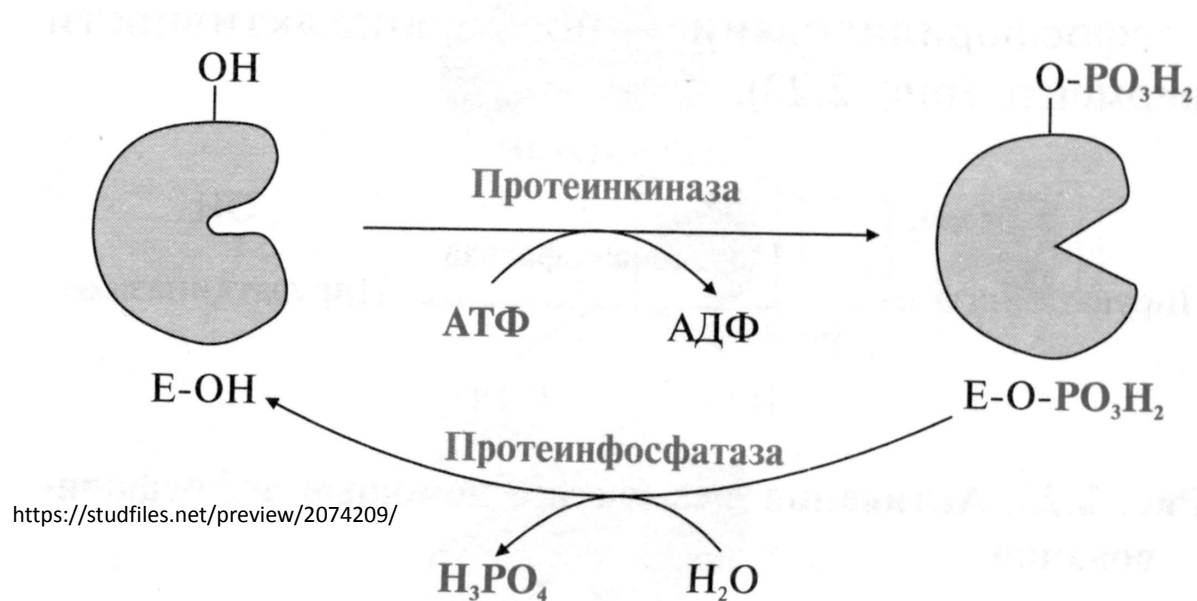
(Микрофотографии предоставлены Julie Canman и Ted Salmon.)

Контроль клеточного цикла



Система контроля клеточного цикла зависит от циклин-зависимых киназ (Cdk)

- Предлагаю вспомнить, что такое киназа, протеинкиназа



<https://studfiles.net/preview/2074209/>



Рис. 17.15. Два ключевых компонента системы контроля клеточного цикла. Когда циклин образует комплекс с Cdk, протеинкиназа активируется и запускает определенные события клеточного цикла. Без циклина Cdk неактивна.

Подавление активности Cdk

- Ингибирующее фосфорилирование
- Белки-ингибиторы Cdk (CKI)
- Убиквитинирование циклинов APC/C

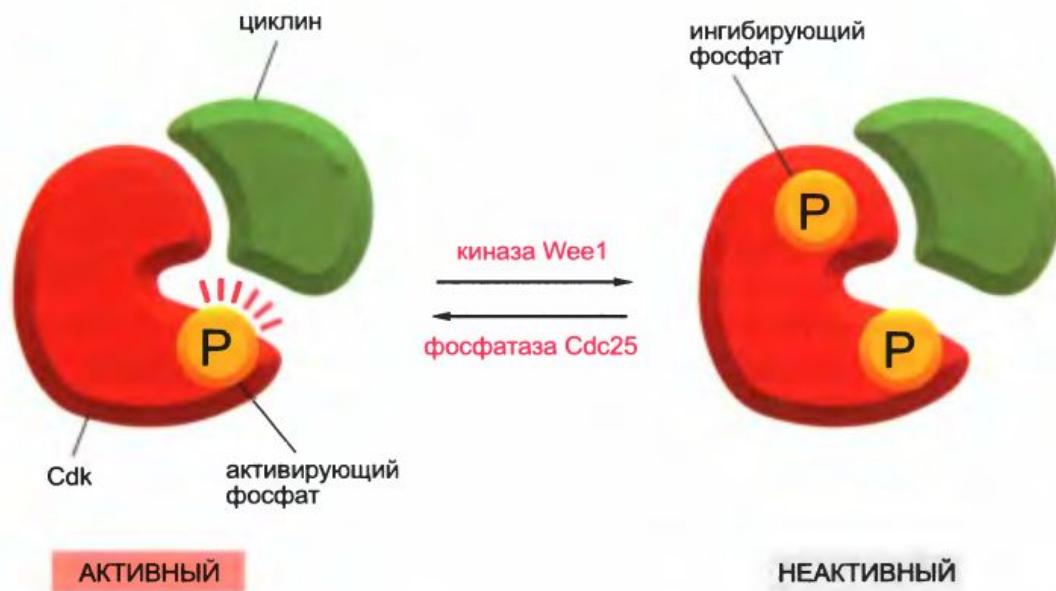


Рис. 17.18. Регуляция активности Cdk ингибирующим фосфорилированием. Активный комплекс циклин-Cdk выключается, когда киназа Wee1 фосфорилирует два близкорасположенных сайта над активным сайтом. Удаление этих фосфатов фосфатазой Cdc25 активирует комплекс циклин-Cdk. Для наглядности показан только один ингибиторный фосфат. САК добавляет активирующий фосфат, как показано на рис. 17.17.

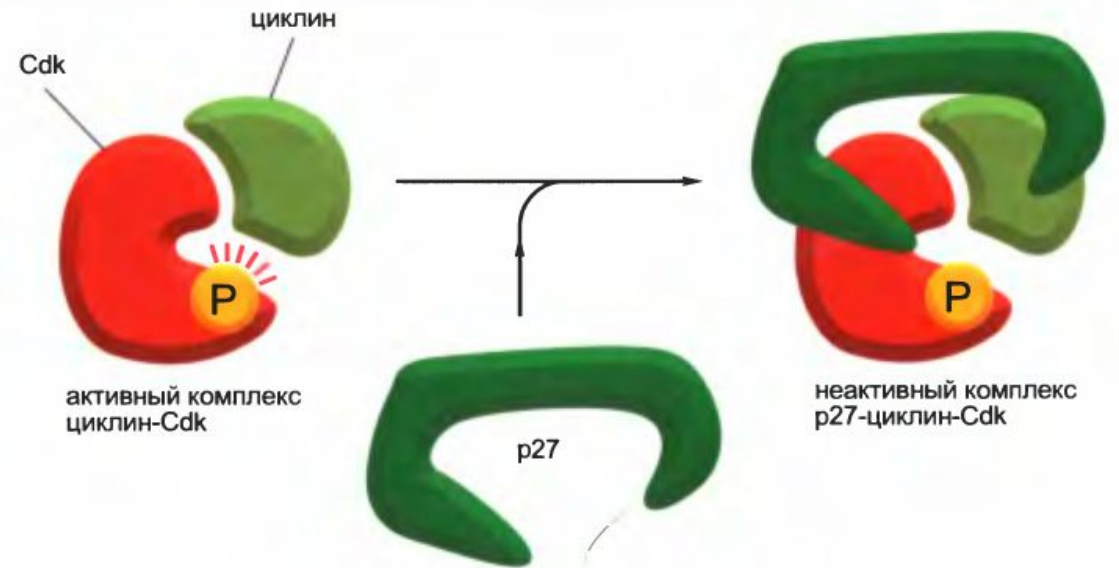
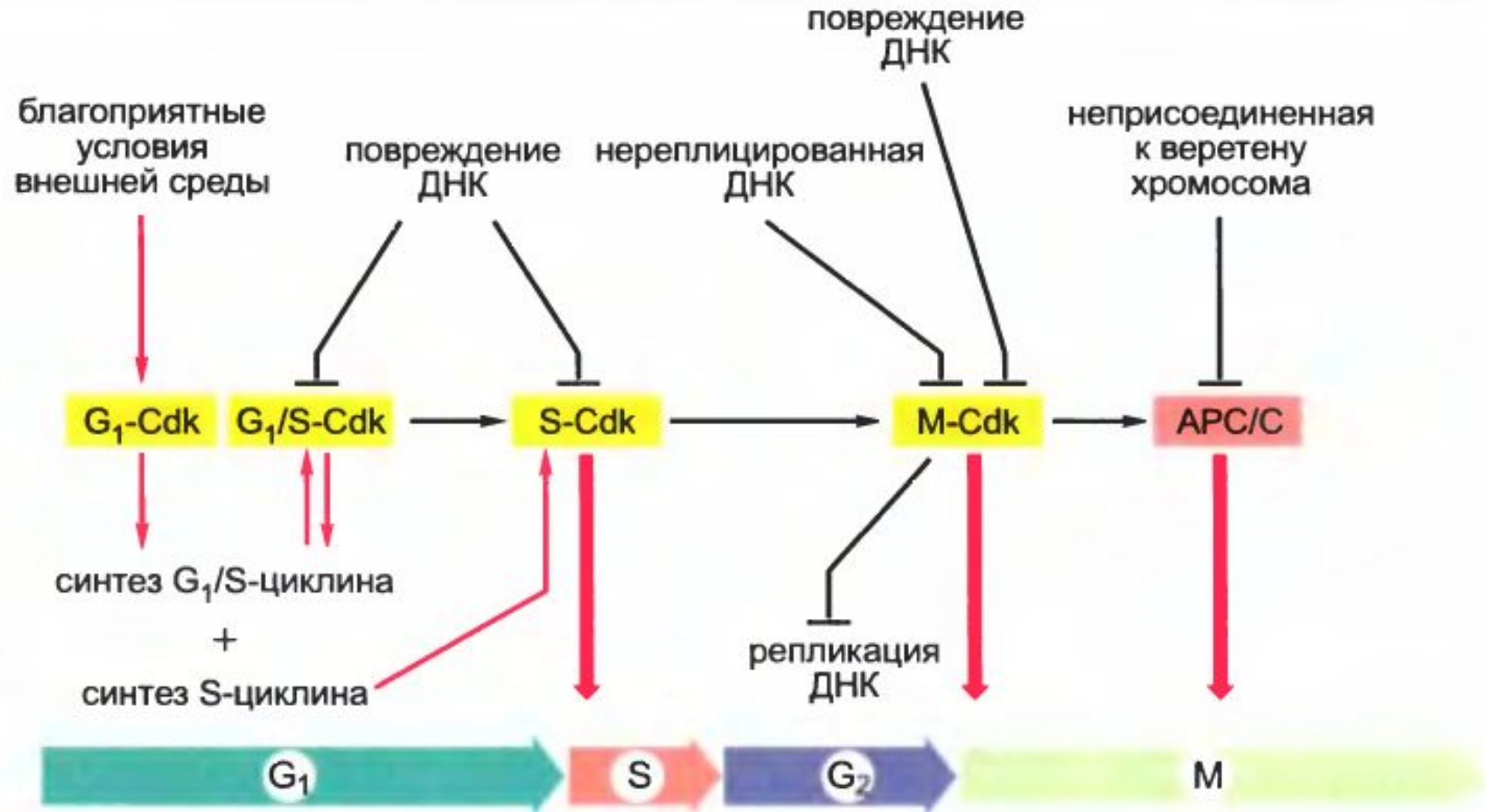


Рис. 17.19. Ингибирование комплекса циклин-Cdk белком CKI. Данный рисунок основан на полученной методом рентгеновской кристаллографии трехмерной структуре человеческого комплекса циклин A-Cdk2, связанного с CKI p27. p27 одновременно связывает в комплексе как циклин, так и Cdk, нарушая активный сайт Cdk. Он также входит в АТФ-связывающий сайт, еще сильнее ингибируя ферментативную активность.

Система контроля клеточного цикла – это сложная биохимическая система



Разные комплексы циклин-Cdk активны в разные фазы клеточного цикла

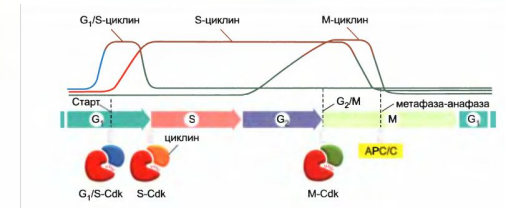
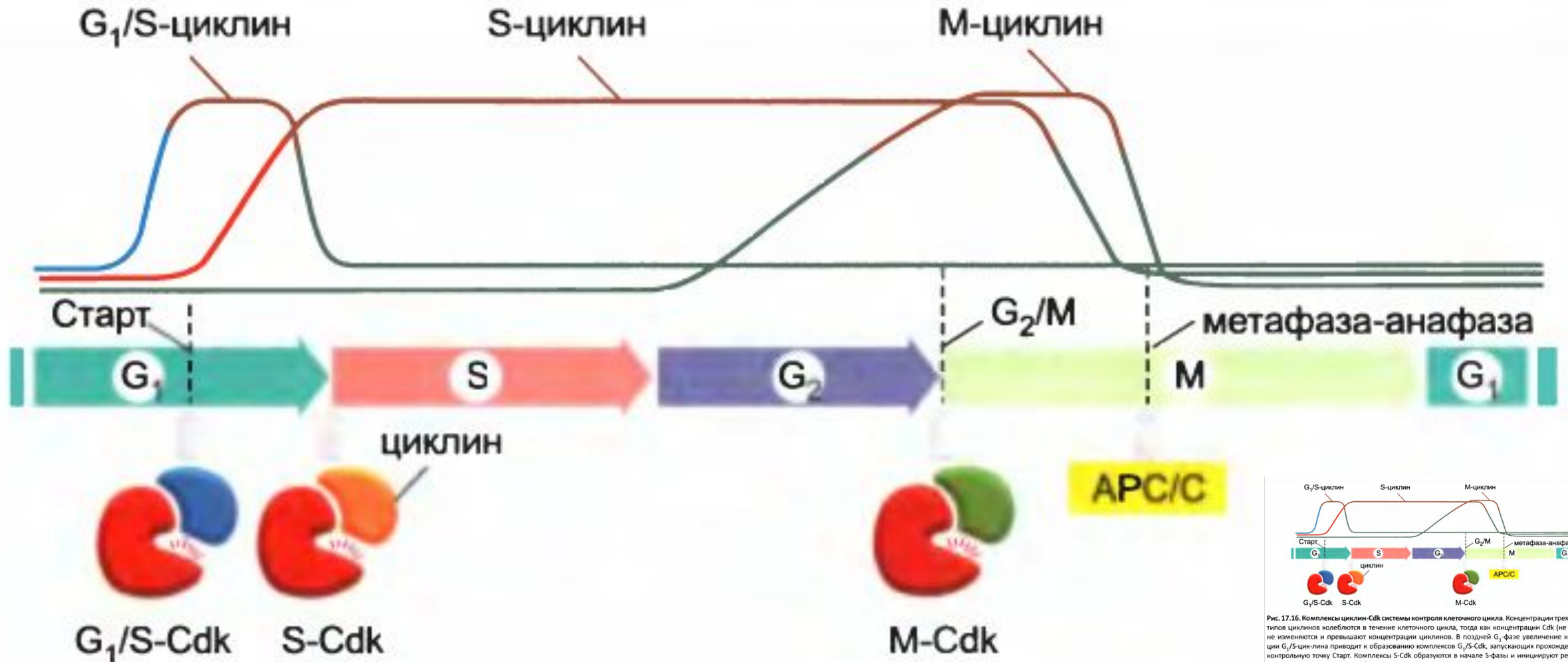
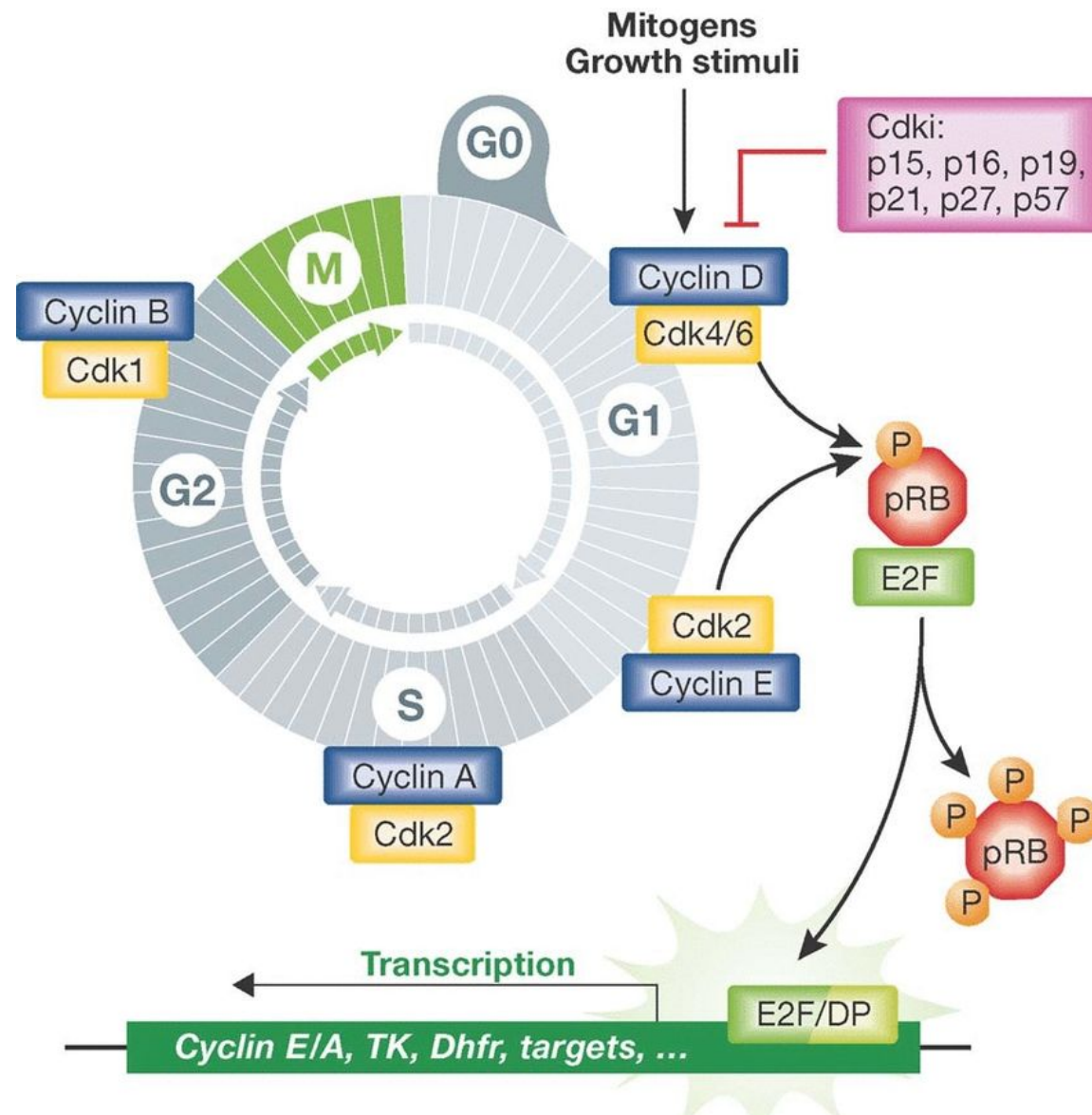


Рис. 17.16. Комплексы циклин-Cdk системы контроля клеточного цикла. Концентрации трех основных типов циклинов колеблются в течение клеточного цикла, тогда как концентрации Cdk (не показано) не изменяются и превышают концентрации циклинов. В поздней G₁-фазе увеличение концентрации G₁/S-циклина приводит к образованию комплексов G₁/S-Cdk, запускающих прохождение через контрольную точку Старт. Комплексы S-Cdk образуются в начале S-фазы и инициируют репликацию ДНК и некоторые ранние события митоза. Комплексы M-Cdk формируются в G₂, но удерживаются в неактивном состоянии механизмами, которые мы опишем позднее. Эти комплексы активируются в конце G₂ и запускают ранние события митоза. Другой регуляторный белок APC/C инициирует переход от метафазы к анафазе.

КОМПЛЕКС ЦИКЛИН-CDK	ПОЗВОНОЧНЫЕ	
	ЦИКЛИН	CDK-ПАРТНЕР
G1-Cdk	D*	Cdk4, Cdk6
G1/S-Cdk	E	Cdk2
S-Cdk	A	Cdk2, Cdk1**
M-Cdk	B	Cdk1

Роль комплексов циклин-Cdk в различные фазы клеточного цикла

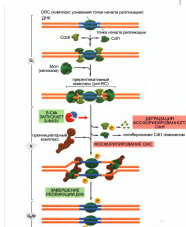
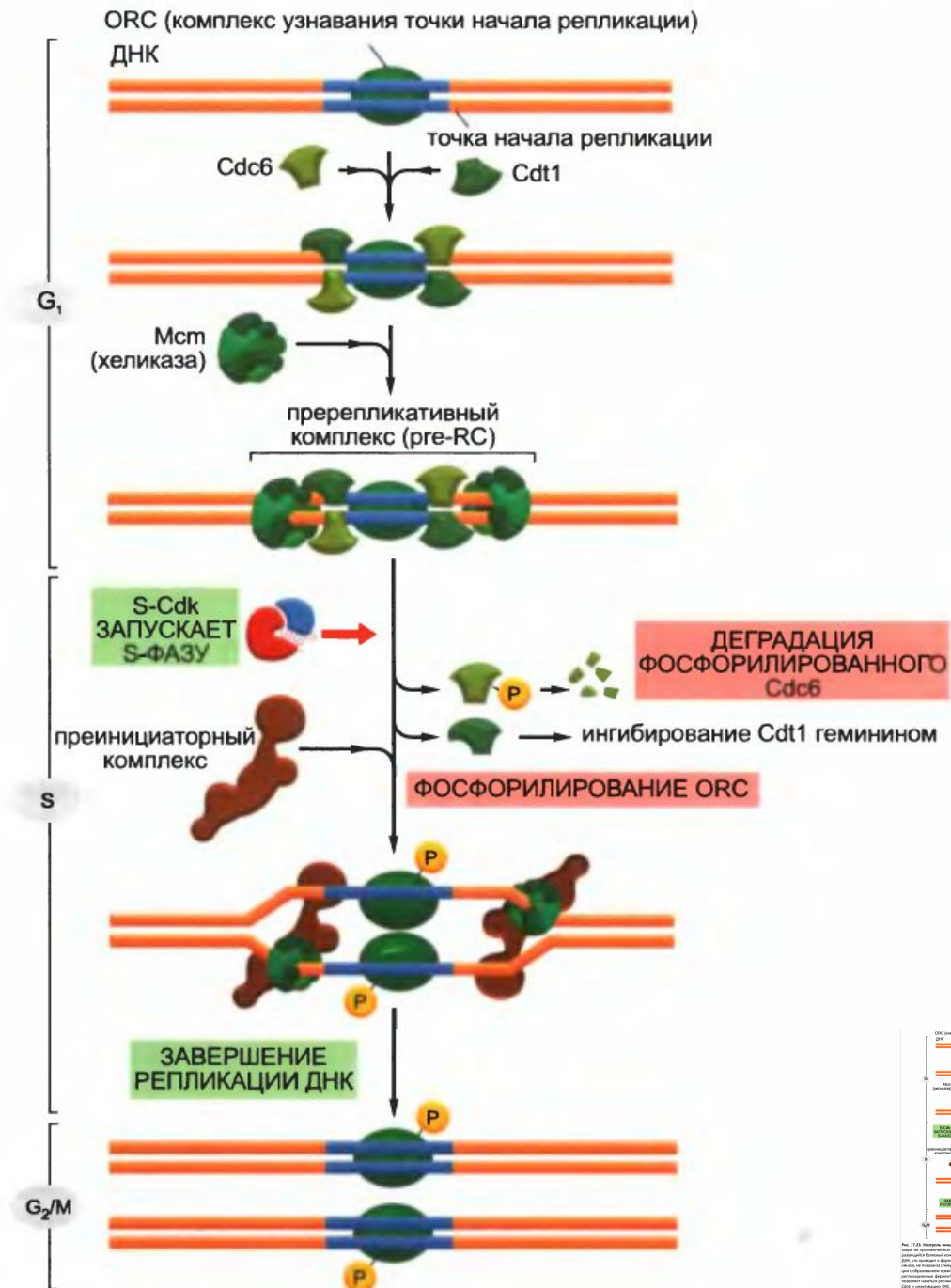
- **G1, G1/S-циклины**, накапливаясь, инициируют вход в клеточный цикл (в S-фазу).
- Комплекс циклина D с Cdk4/6 фосфорилирует pRB, который после этого диссоциирует от транскрипционного фактора E2F, который запускает синтез генов, необходимых для начала синтетической фазы.



Роль комплексов циклин-Cdk в различные фазы клеточного цикла

S-Cdk

- инициирует активность ферментов, участвующих в репликации ДНК (фосфорилирует белки в репликационной вилке для начала репликации)
- Предотвращает сборку пререпликационного комплекса (pre-RC собирается в поздней M/ранней G1 фазах) – механизм, обеспечивающий однократность репликации ДНК



Роль комплексов циклин-Cdk в различные фазы клеточного цикла

M-Cdk

- Уровень резко повышается в G₂/M-рестрикционной точке
- Запускает конденсацию хромосом
- Контролирует ранние фазы митоза (профазу, прометафазу, метафазу)
- Фосфорилируя белки мишени, запускает сборку веретена деления и прикрепление к нему хроматид

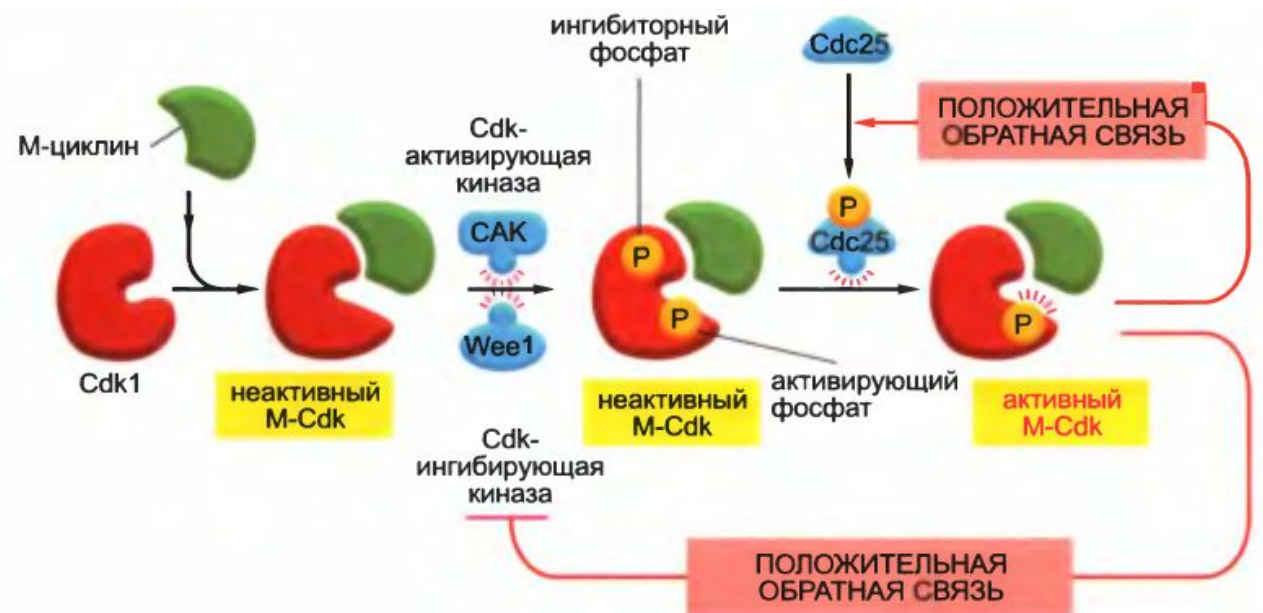
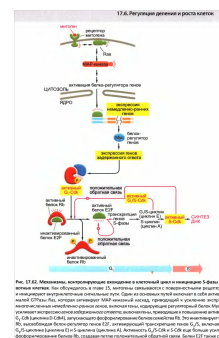
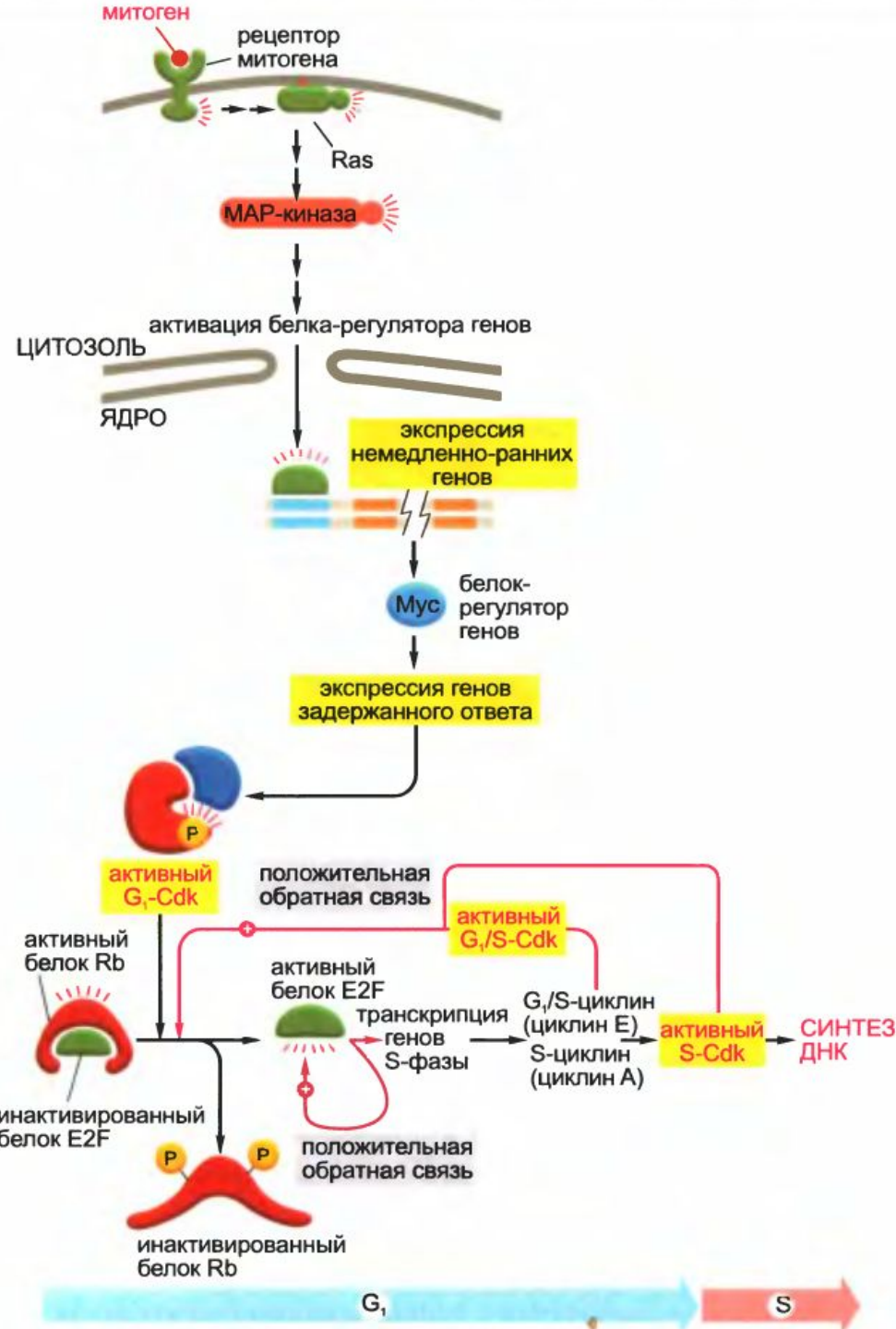


Рис. 17.25. Активация M-Cdk. Cdk1 связывается с M-циклином по мере увеличения его концентрации. Образующийся комплекс M-Cdk фосфорилируется по активному сайту Cdk-активирующей киназой (CAK) и по паре ингибиторных сайтов киназой Wee1. Затем такой неактивный комплекс M-Cdk активируется в конце G₂-фазы фосфатазой Cdc25. Cdc25 стимулируется комплексом M-Cdk, что приводит к формированию положительной обратной связи. Эта связь усиливается благодаря способности M-Cdk ингибировать Wee1.

Регуляция роста и деления клеток

- Рост и деление клеток регулируется внутренними программами и внешними факторами.
- К внешним факторам относят внеклеточные сигнальные молекулы. Они могут быть растворимые или связанные с ВКМ или другими клетками.
- Внеклеточные сигнальные молекулы:
- Митогены (увеличивают G1/S-Cdk), факторы роста (стимулируют синтез белка), факторы выживания (ингибируют апоптоз), кейлоны (ингибируют деление клеток) и др.
- Стимулируют или ингибируют рост и деление клеток.

Митогены активируют MAPK-каскад



Повреждение ДНК блокирует клеточное деление: ответ на повреждение ДНК (DDR)

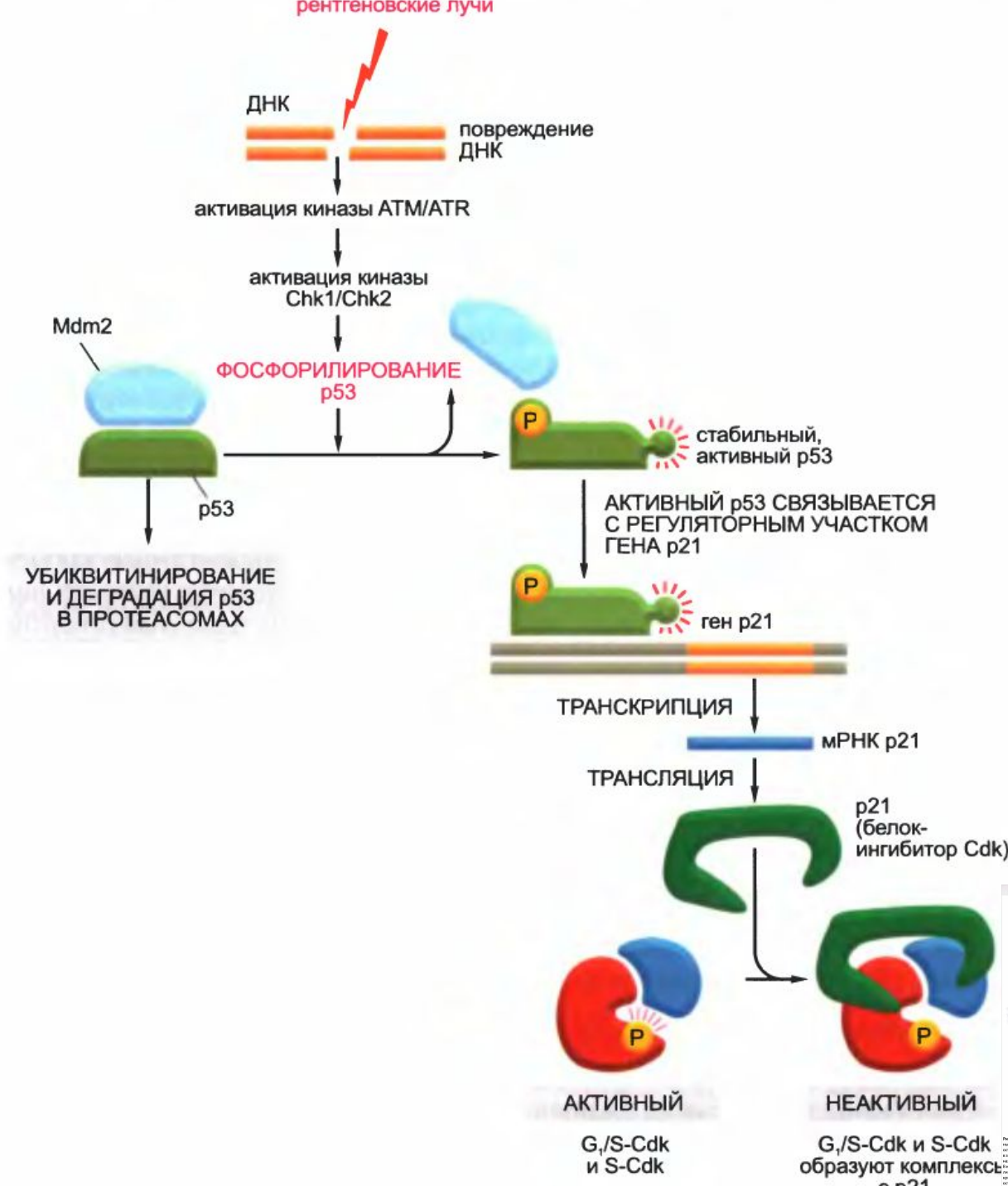
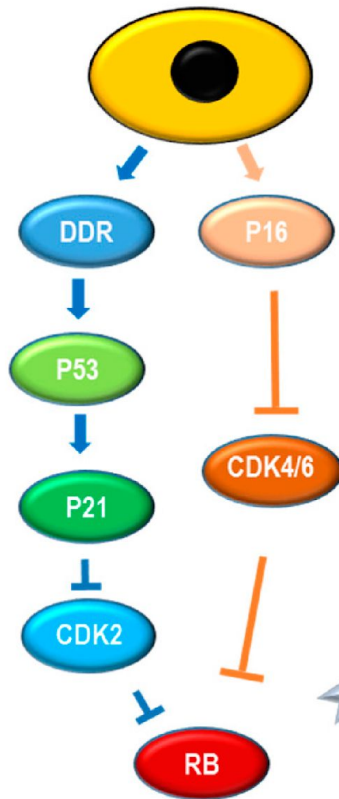


Рис. 17.63. Как повреждение ДНК останавливает клеточный цикл G₁. При повреждении ДНК активируется киназа ATM/ATR, которая фосфорилирует p53. Это приводит к стабилизации p53 и его активации. Активный p53 связывается с регуляторным участком гена p21, что инициирует транскрипцию и трансляцию p21. p21 действует как ингибитор Cdk, блокируя активный комплекс G₁/S-Cdk и S-Cdk, что останавливает клеточный цикл G₁.

Клеточное старение

Клеточное старение

- Репликативное старение
- Индукцированное стрессом преждевременное старение



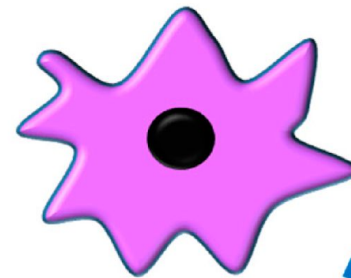
Клетки, подвергнувшиеся старению;

Необратимая остановка
клеточного цикла

Секреторный фенотип, ассоциированный со старением
(Senescence-associated secretory phenotype)

(SASP)

- Внеклеточные ферменты, деградирующие матрикс (MMP2)
- Факторы роста (GM-CSF, HGF)
- Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6)

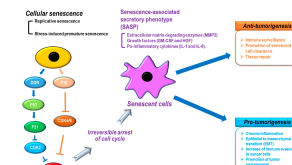


Противоопухолевые эффекты

- *Усиление иммунного надзора
- *Усиление ликвидации стареющих клеток
- *Репарация ткани

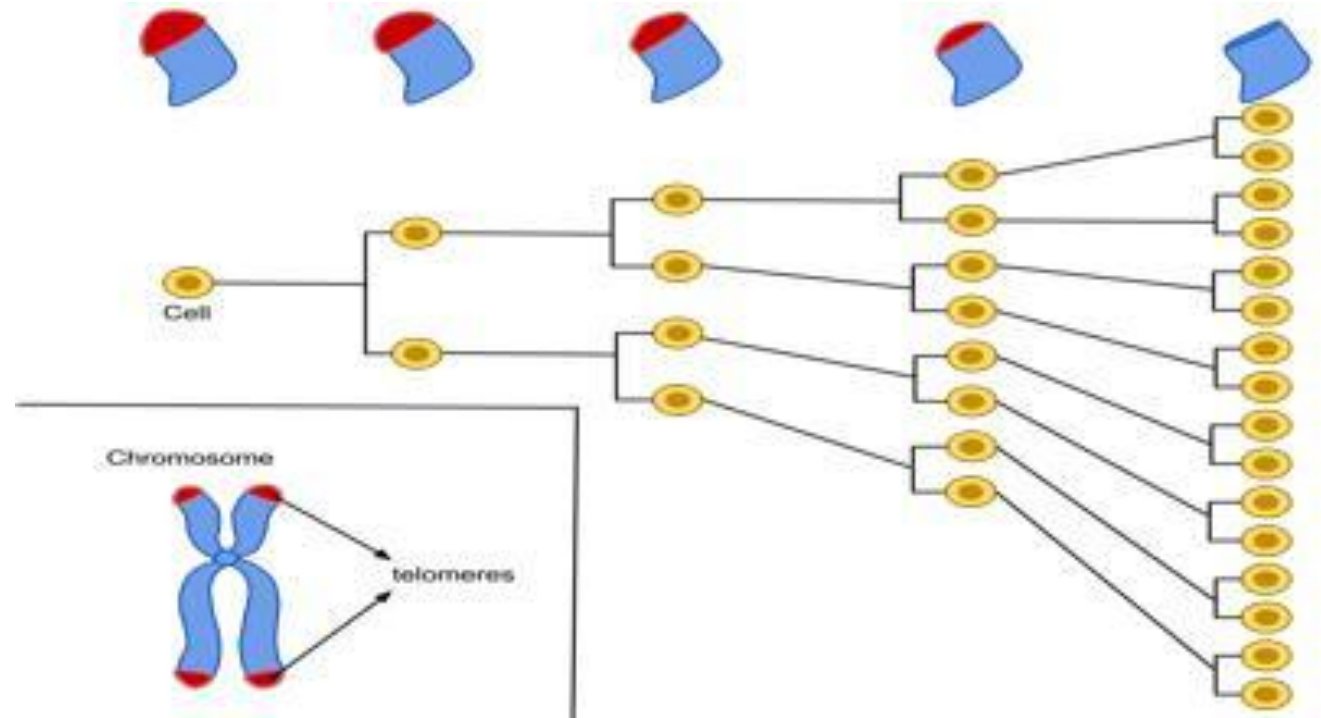
Канцерогенный эффект

- *хроническое воспаление
- *Эпителиально-мезенхимальный переход
- *Способствуют избеганию иммунного надзора опухолевыми клетками
- *Стимуляция ангиогенеза



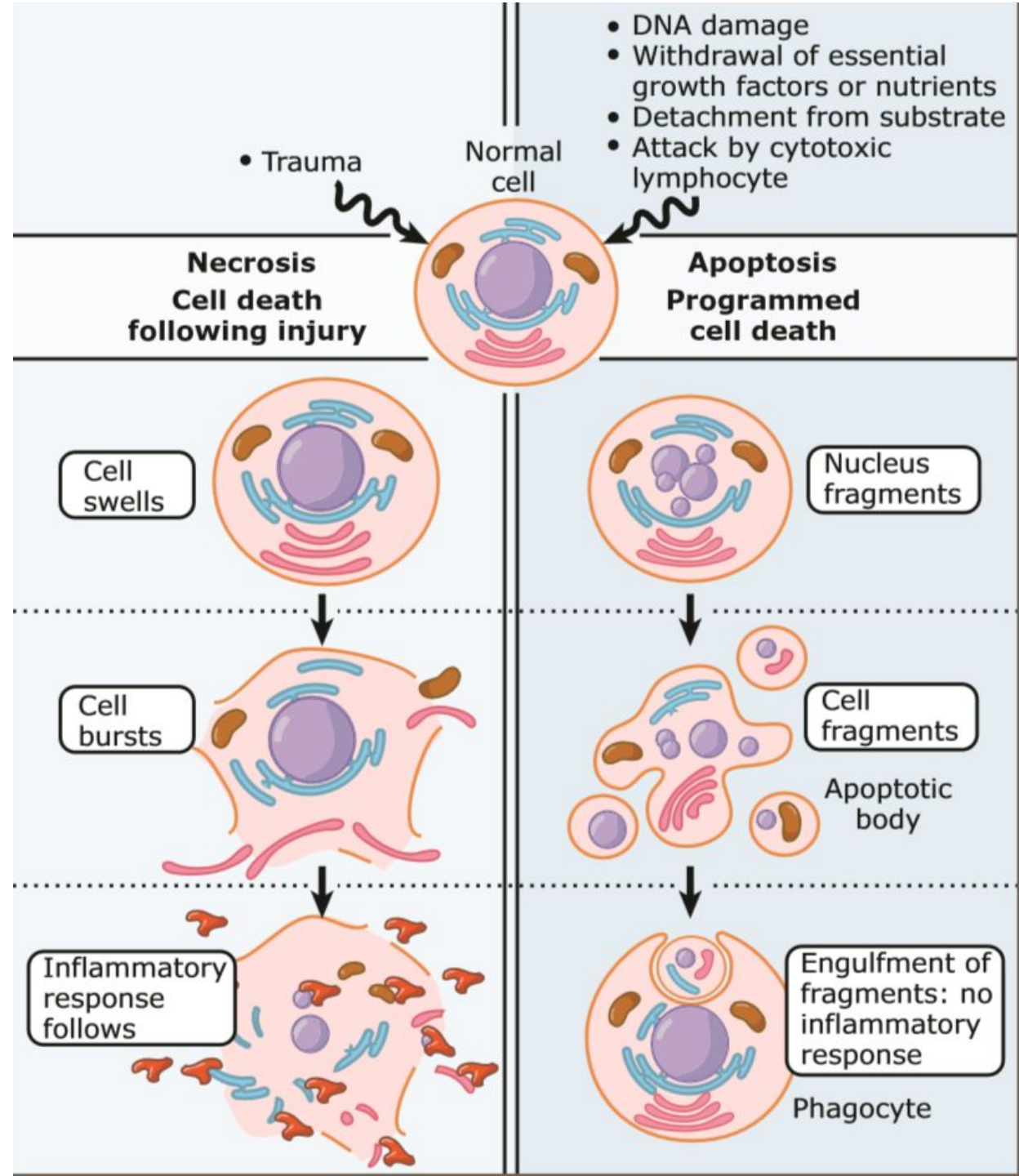
Репликативное старение, теломеры, лимит Хейфлика

- Репликативное старение запускается при укорочении теломер до определенного уровня
- При укорочении теломер активация пути DDR ведет к остановке клеточного цикла и либо старению, либо апоптозу



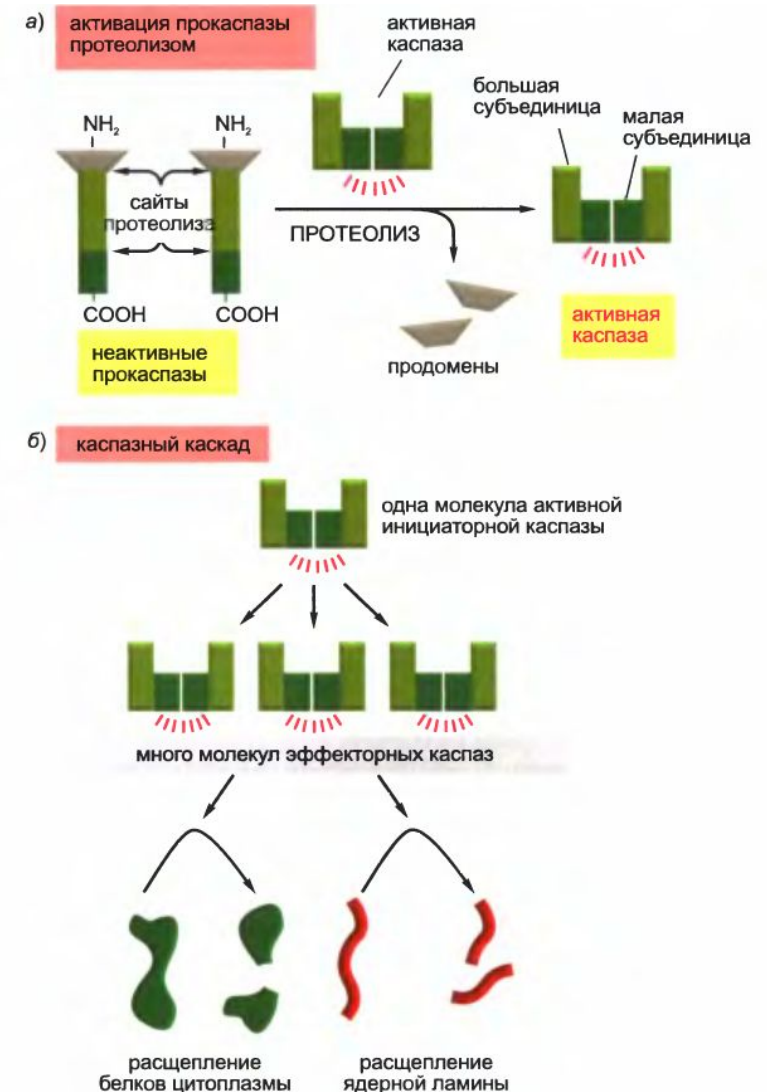
Программированная гибель клетки

- Апоптоз
- Пироптоз
- Нетоз (Етоз)
- Некроптоз
- Когда?
- Внутриклеточный стресс, связанный с повреждением клеточных структур (Повреждение ДНК, митохондрий, накопление неправильно свёрнутых белков) – активация внутреннего пути апоптоза
- Получение сигнала извне (от иммунной клетки - цитотоксического лимфоцита или NK-клетки) – активация внешнего пути апоптоза
- Отсутствие сигнала извне (факторов роста)

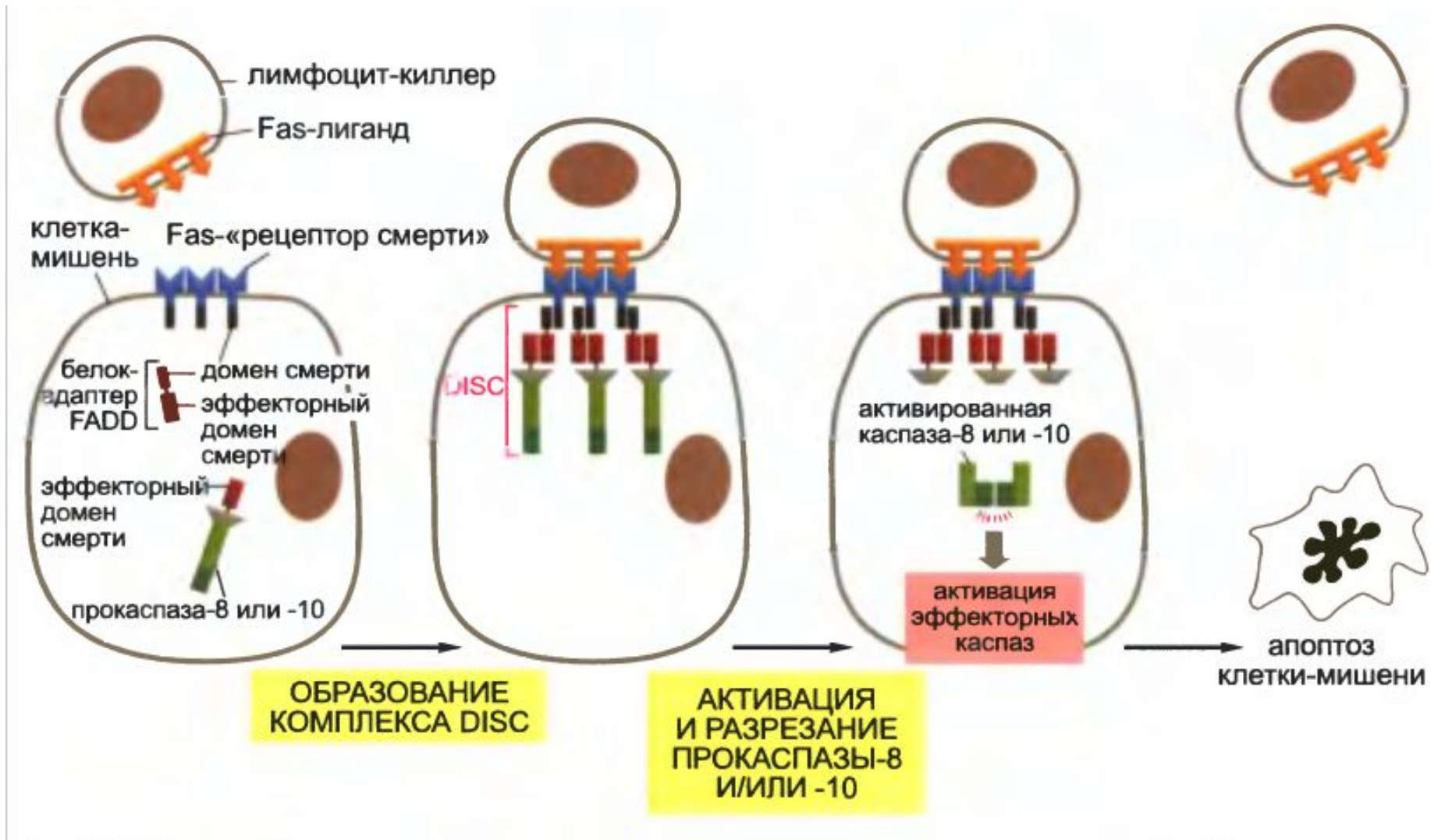


Главные белки апоптоза - каспазы

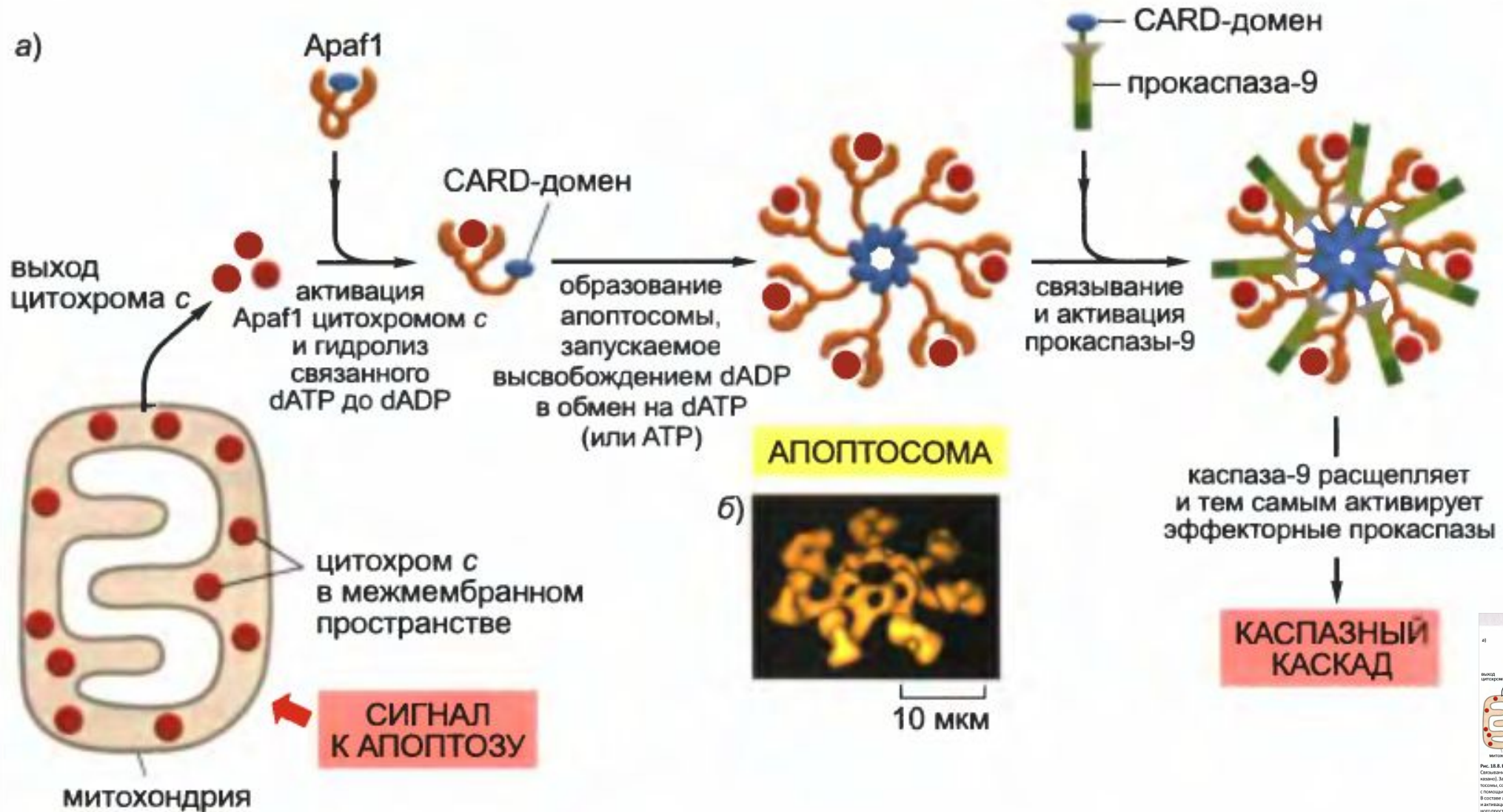
- Инициаторные каспазы – каспаза 2, 8, 9, 10
- Эффекторные каспазы – 3, 6, 7
- **Caspase** – **cysteine-dependent aspartate specific** protease – цистеиновые протеазы (ак цистеин в активном центре), расщепляющие белки строго после ак остатка аспартата.
- Мишени: другие каспазы, белки ядерной ламины (разрушение кариолеммы), ингибиторы нуклеаз (фрагментация ДНК), белки цитоскелета и адгезии (клетка принимает округлую форму и открепляется от других клеток)



Внешний путь апоптоза



Внутренний путь апоптоза



Глава 18. Апоптоз 1723

Рис. 18.8. Внутренний путь апоптоза. а) Схема активации Apaf1 высвободившимся в цитоплазму цитохромом с. Сопоставление с цитохромом с приводит к тому, что Apaf1 гидролизует связанный с ним dATP до dADP (не показано). Замена dATP на dATP или ATP (не показано) индуцирует образование большой петлеобразной структуры, состоящей из молекул Apaf1 с цитохромом с, последовательно связанных прокаспазой 9 с помощью CARD-доменов (карды регуляторный домен), имеющихся на каждой из молекул белков. В составе апоптосомы молекулы прокаспазы 9 полимеризуются и стабилизируются в результате ионизации солидация — ионизация — прокаспазы. Другие белки, высвободившиеся из мембранного пространства, не показаны. б) Модель трехмерной структуры апоптосомы. Обратите внимание, что некоторые специфичны для терминальной апоптосомы по отношению к количеству содержащему прокаспазы 9 [6, от D. Adlhart et al., Mol. Cell 9: 423–432, 2002. С разрешения издательства Elsevier].

Регуляция апоптоза

- Белки семейства Bcl2 регулируют внутренний путь апоптоза

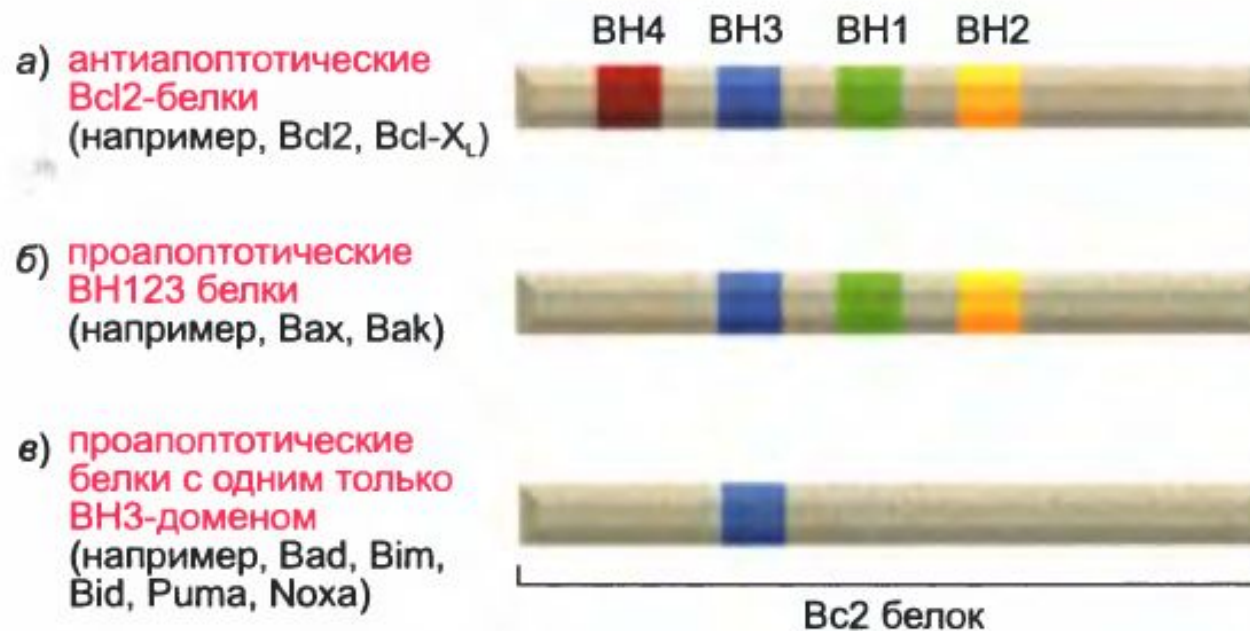
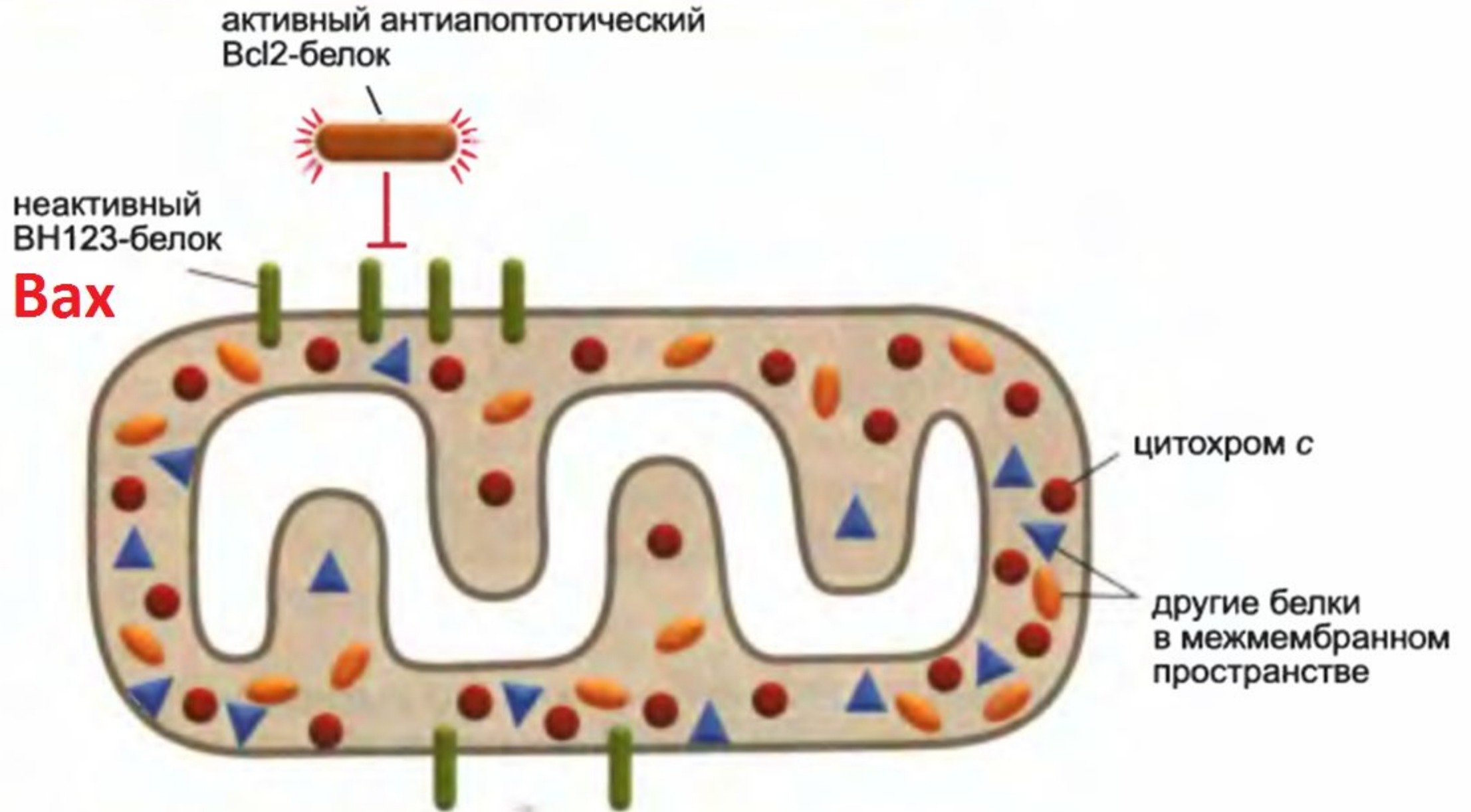
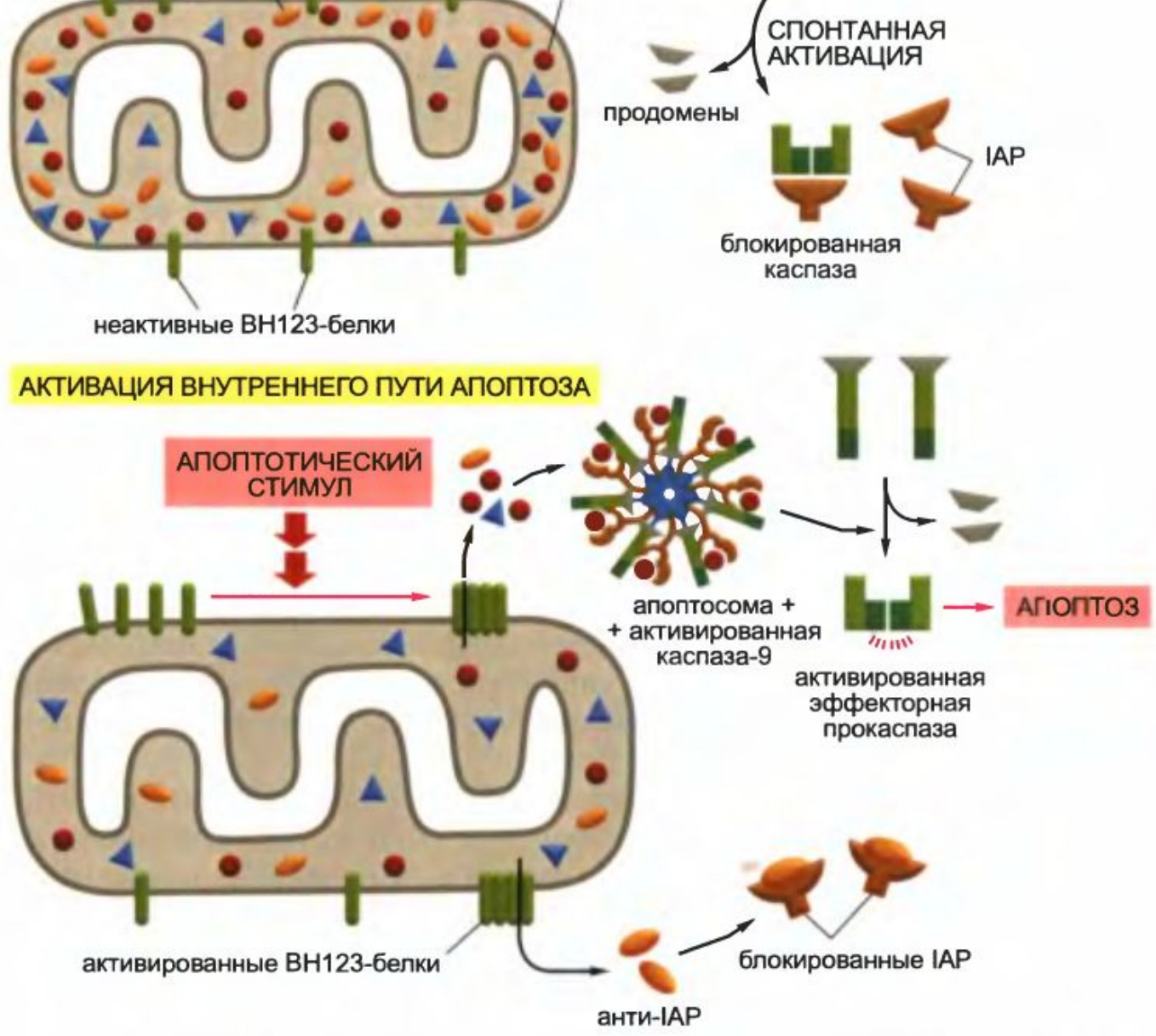


Рис. 18.9. Три класса Bcl2-белков. Обратите внимание, что только один домен присущ всем белкам семейства Bcl2 — это домен BH3; он участвует в прямом взаимодействии между проапоптотическими и антиапоптотическими белками.

а) ВНУТРЕННИЙ ПУТЬ АПОПТОЗА НЕ АКТИВИРОВАН



Р
•



т каспазы

Рис. 18.12. Предполагаемая роль IAP и анти-IAP в управлении апоптозом у млекопитающих. а) В отсутствие апоптотического стимула IAP предотвращают спонтанный апоптоз, который могла бы вызвать самоактивация прокаспаз. IAP локализованы в цитоплазме и связываются со спонтанно активированными прокаспазами, ингибируя их. Некоторые IAP являются также убиквитин-лигазами, навешивая убиквитиновые метки на каспазы, с которыми они связываются, обрекая их на расщепление в протеасоме

Факторы выживания ингибируют апоптоз

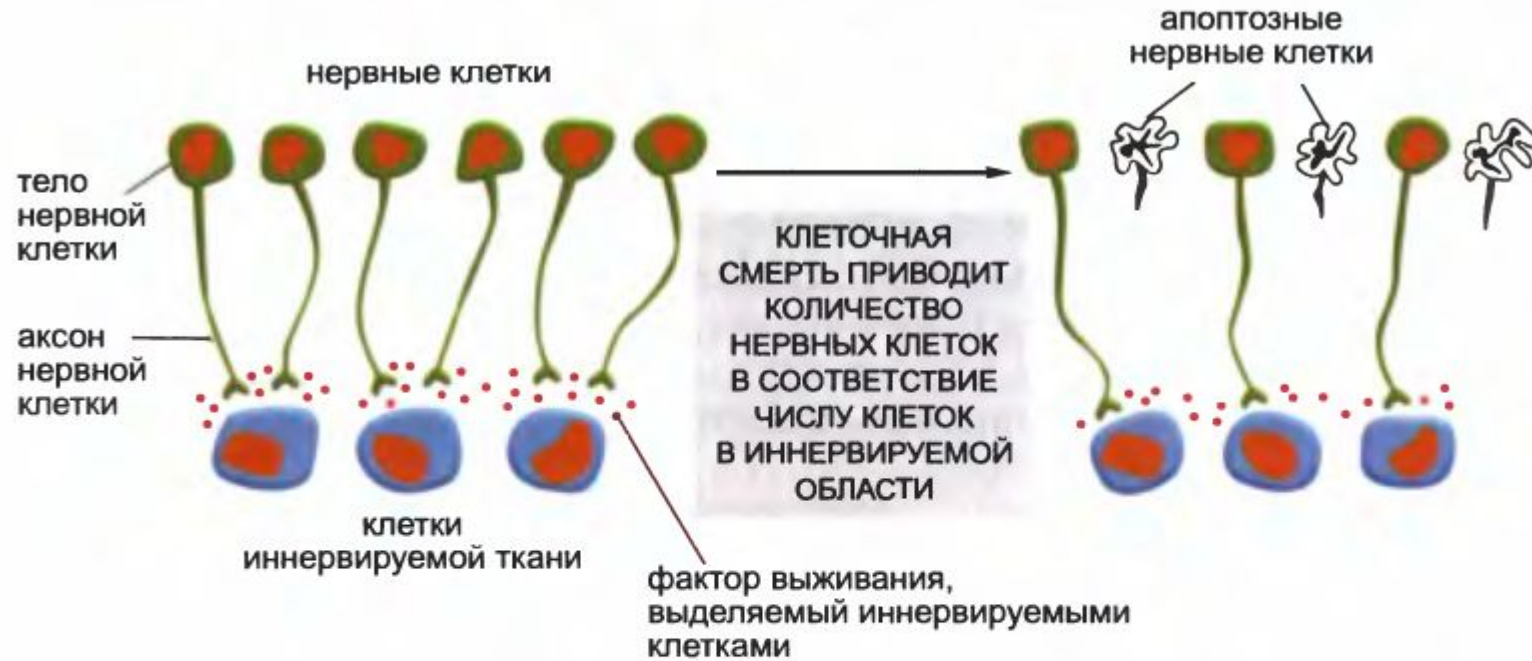
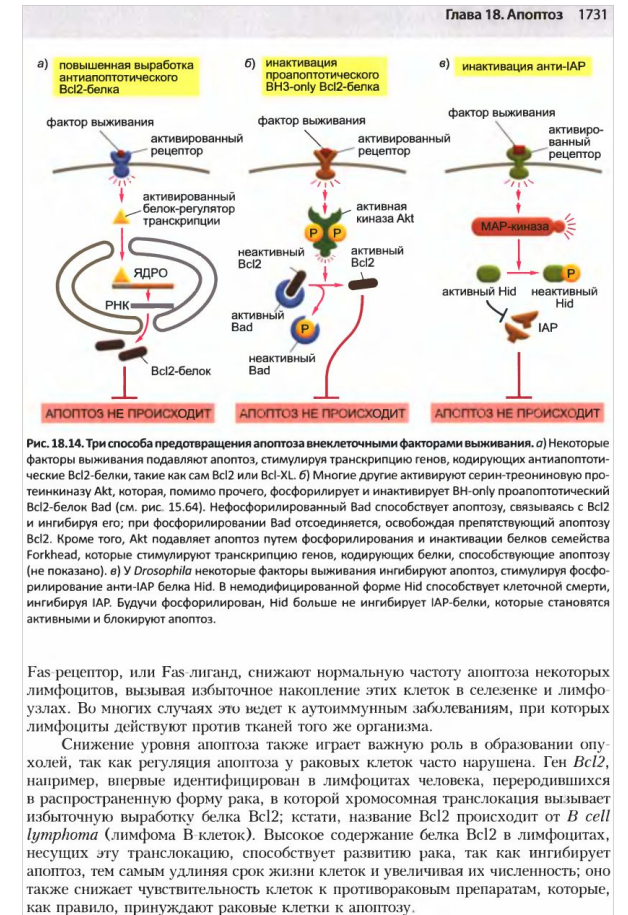
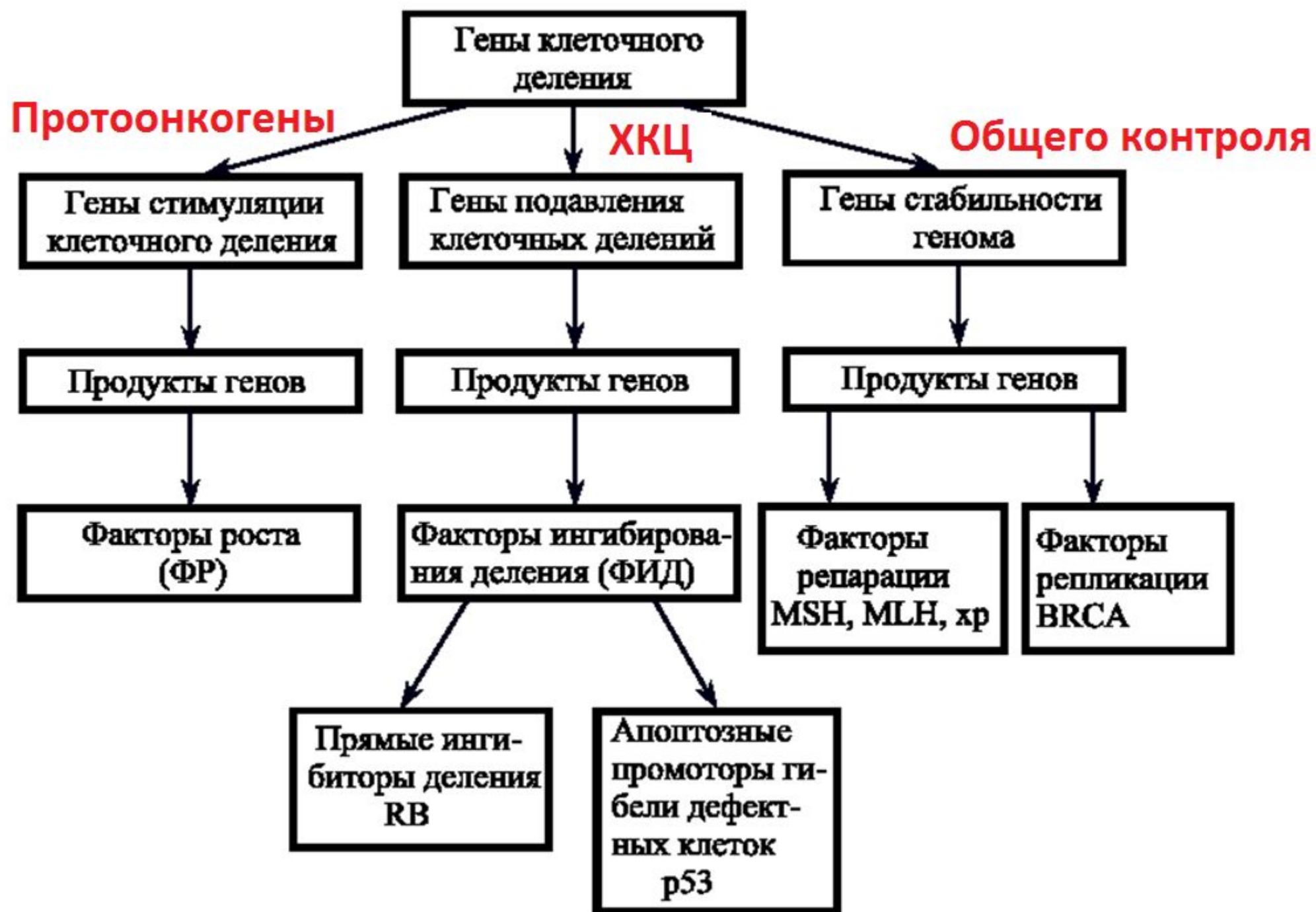
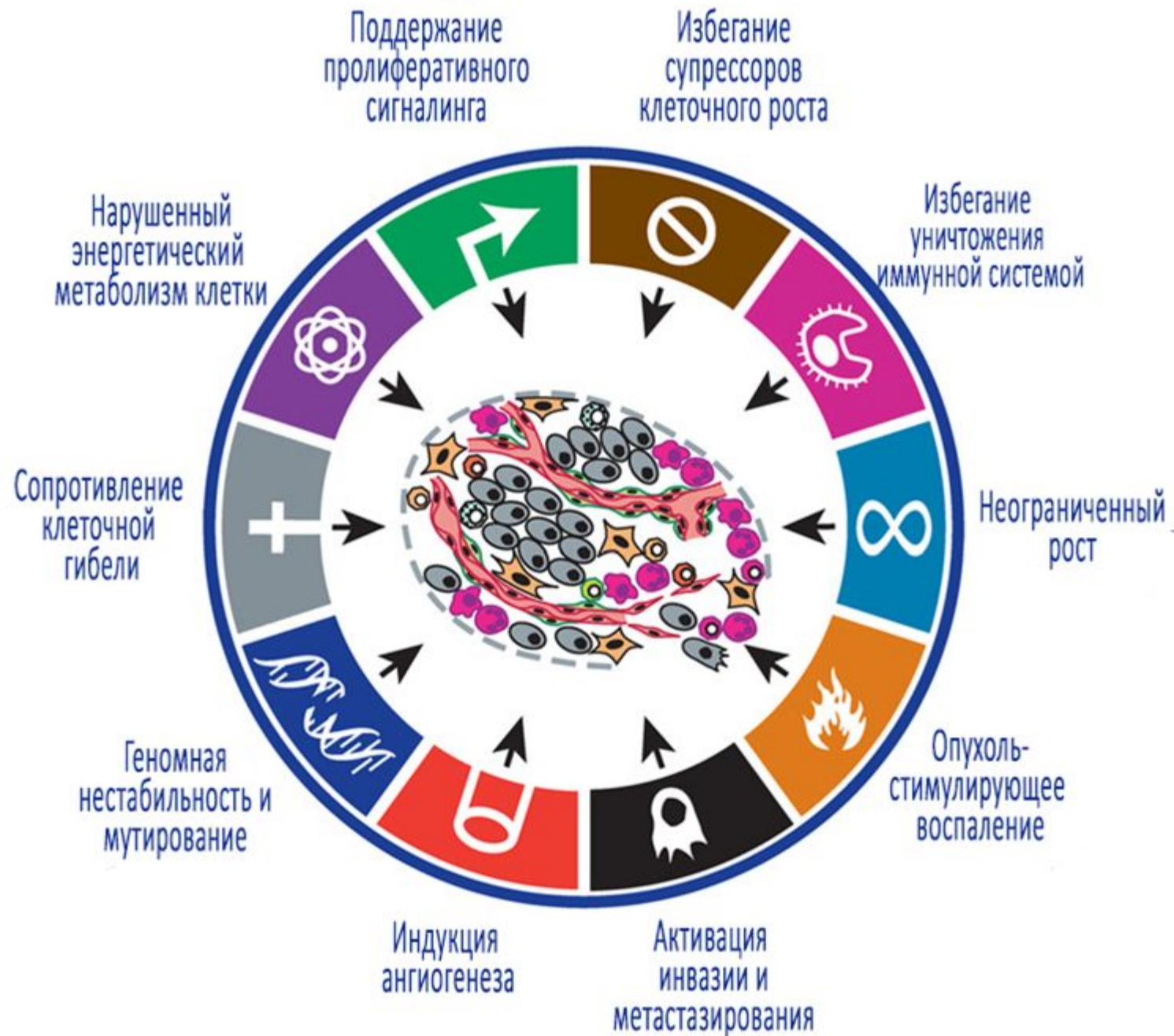


Рис. 18.13. Роль факторов выживания и клеточной смерти при установлении соответствия числа развивающихся нервных клеток количеству клеток иннервируемой ткани. Ограниченного количества факторов выживания, выделяемых иннервируемыми клетками, недостаточно для выживания всех возникающих нервных клеток. Поэтому некоторым клеткам не хватает факторов выживания для предотвращения апоптоза. Подобная стратегия перепроизводства с последующей отбраковкой позволяет с надежностью установить такое количество нейронов, что у всех иннервируемых клеток установится контакт с нервной клеткой, и лишние нервные клетки будут автоматически удалены.





Ключевые признаки рака:

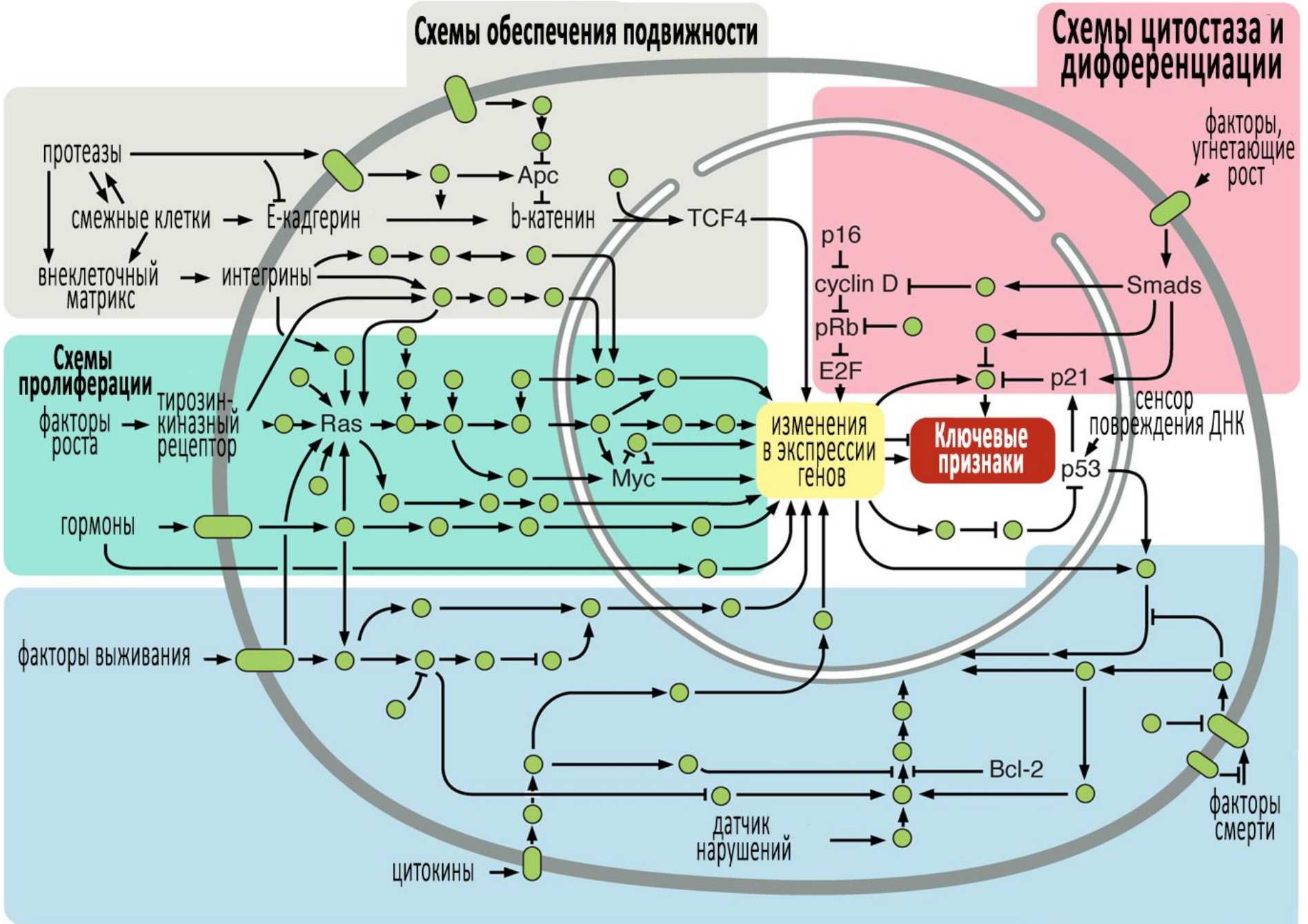


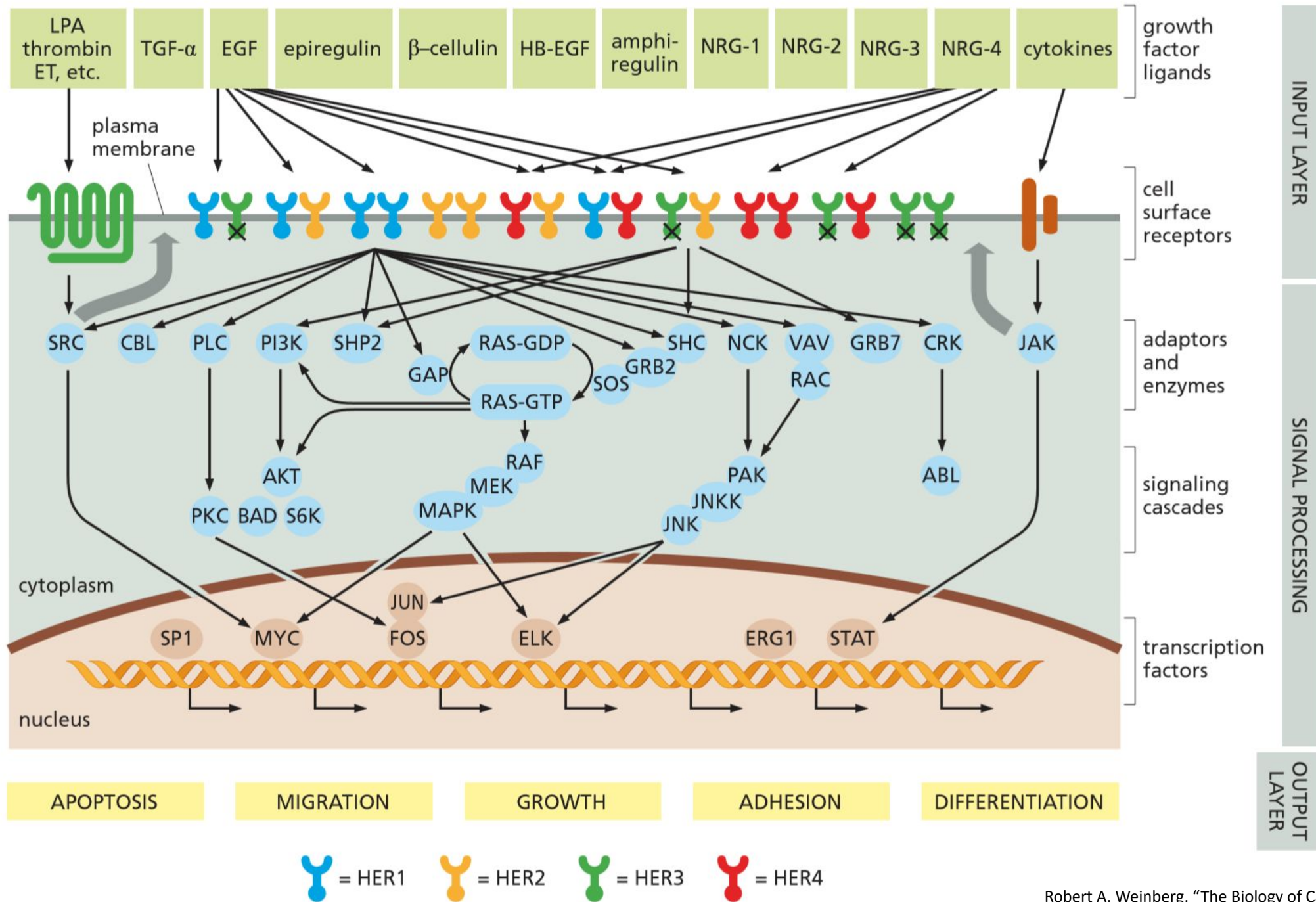
Механизмы приобретения опухолевого генотипа

- Активация протоонкогенов
- Инактивация генов-супрессоров опухоли

Каким образом?

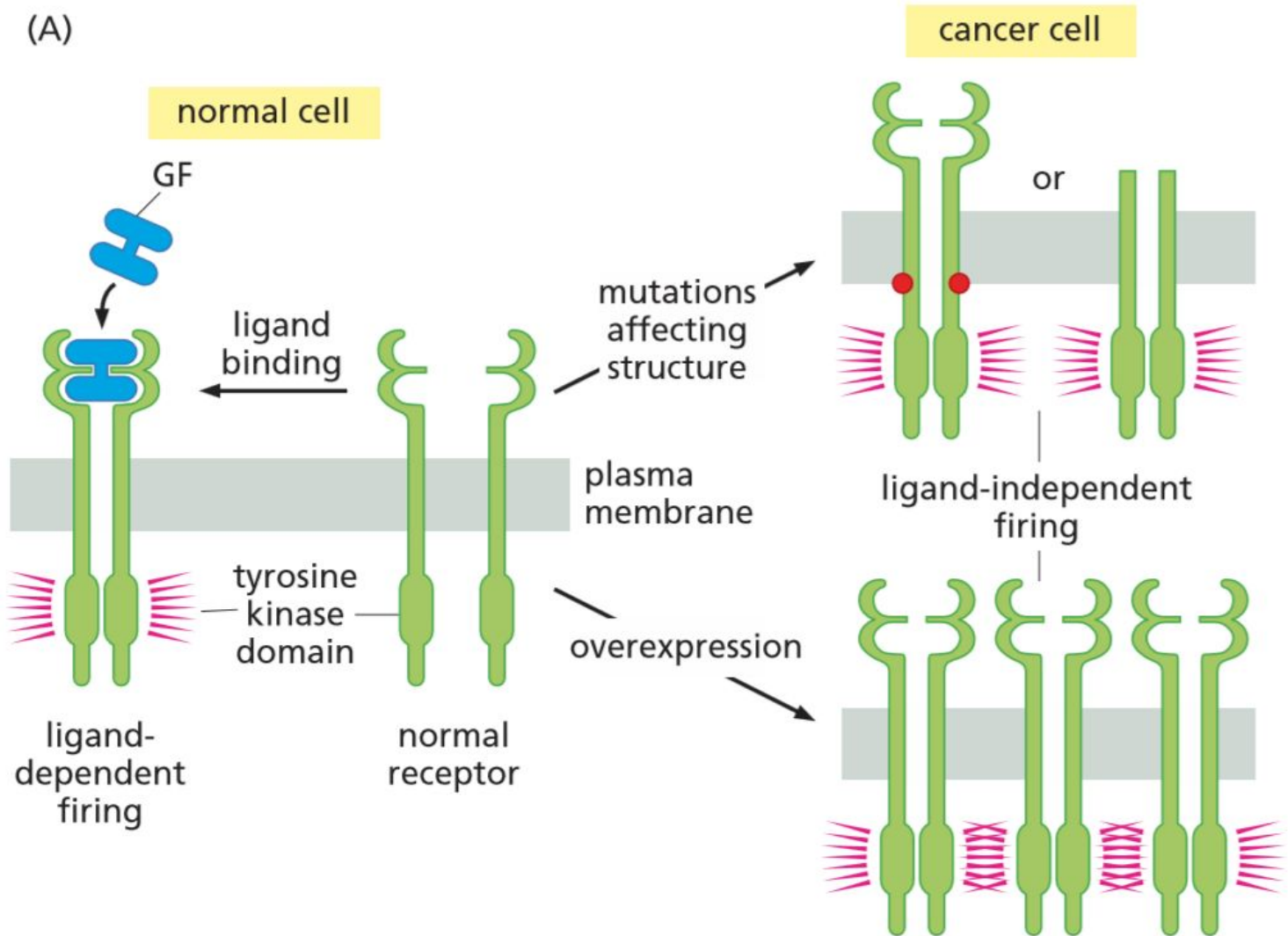
- Точечная мутация (изменение активности или количества, если мутация в регуляторном участке)
- Амплификация (увеличение количества)
- Делеция
- Транслокация (под влияние мощного промотора, образование fusion-генов и соответствующих белков)
- Инверсия, анеуплоидия и др



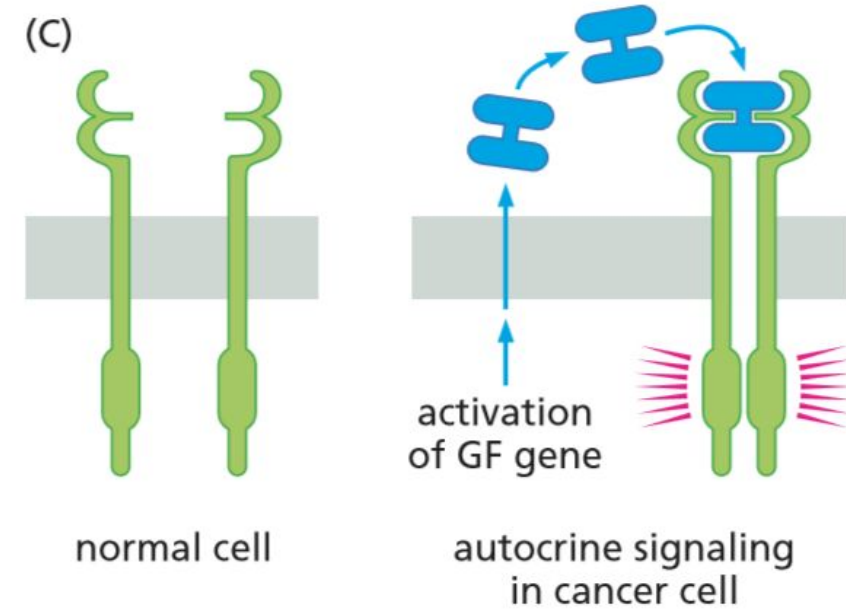


Избыточный сигналинг с RTK

(A)



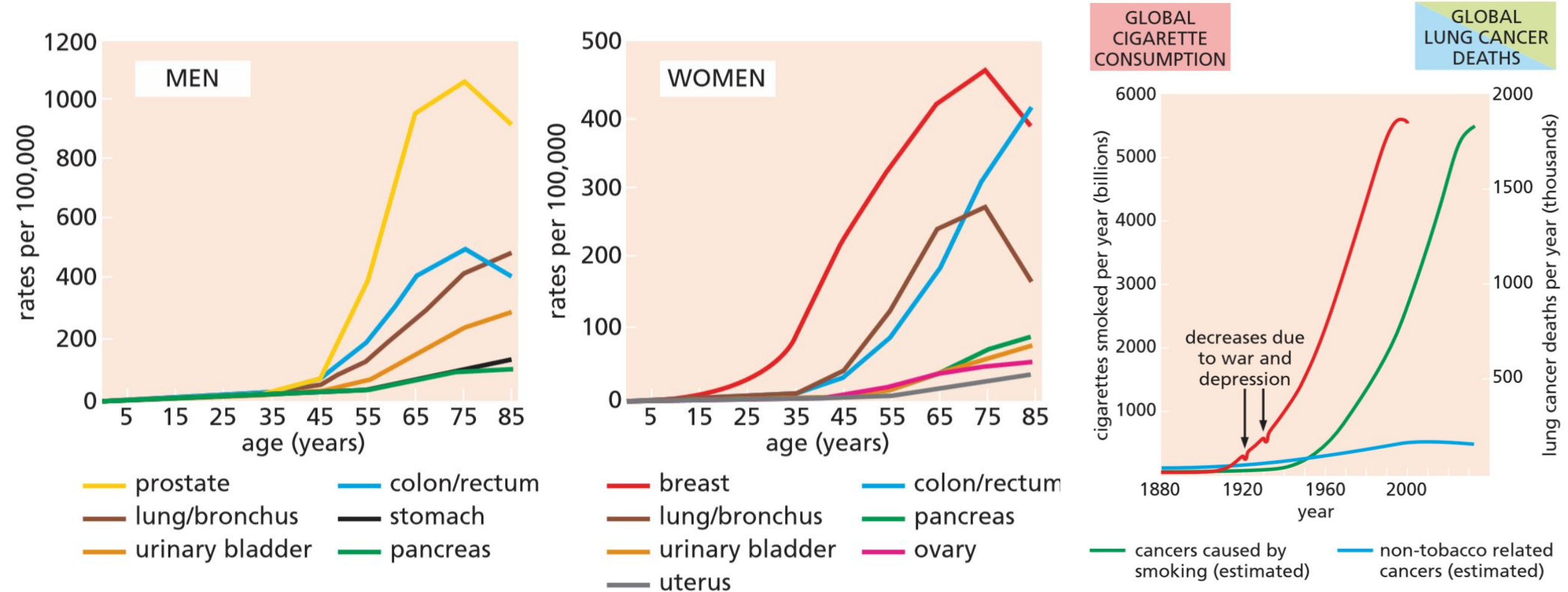
(C)

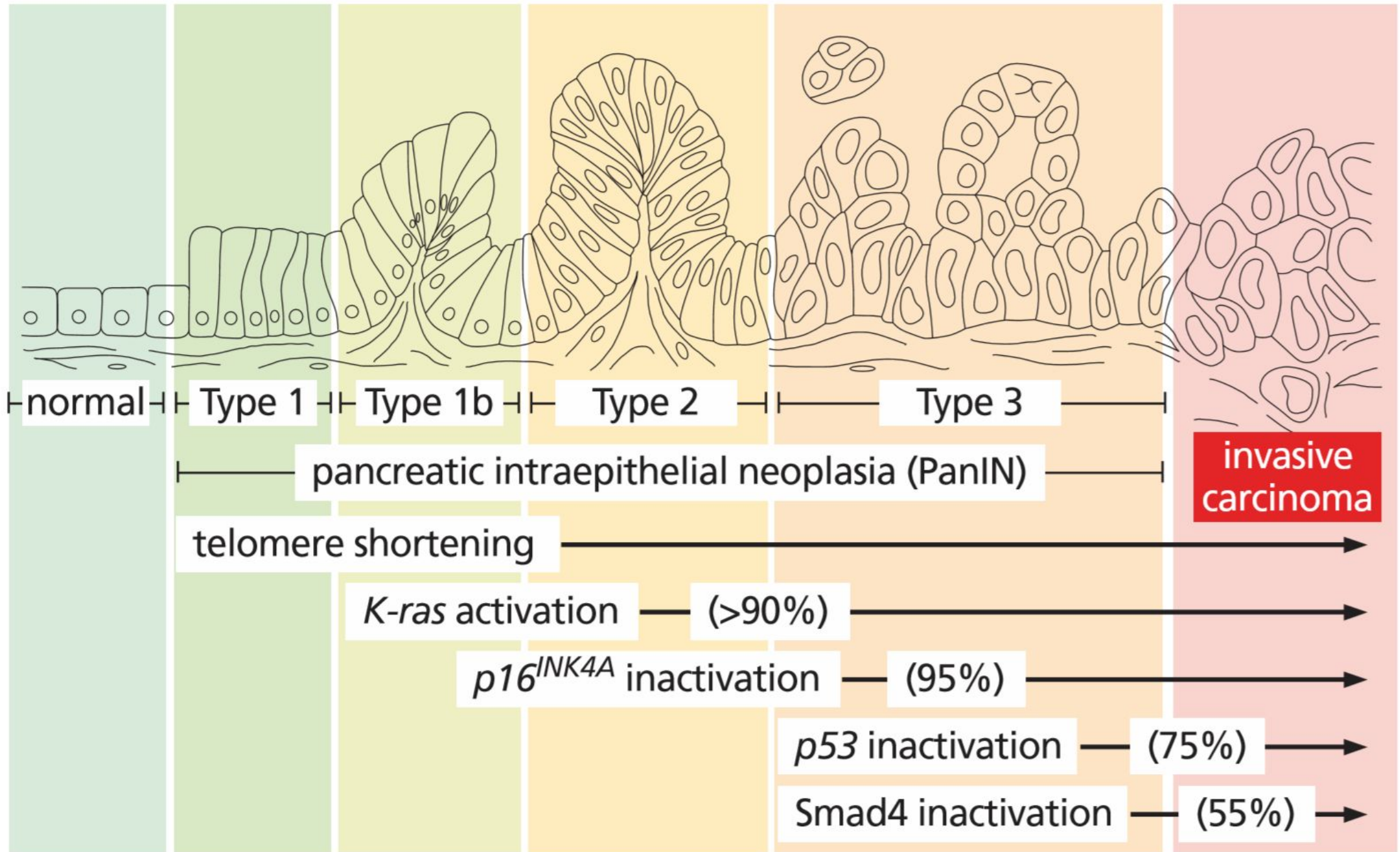


(D)

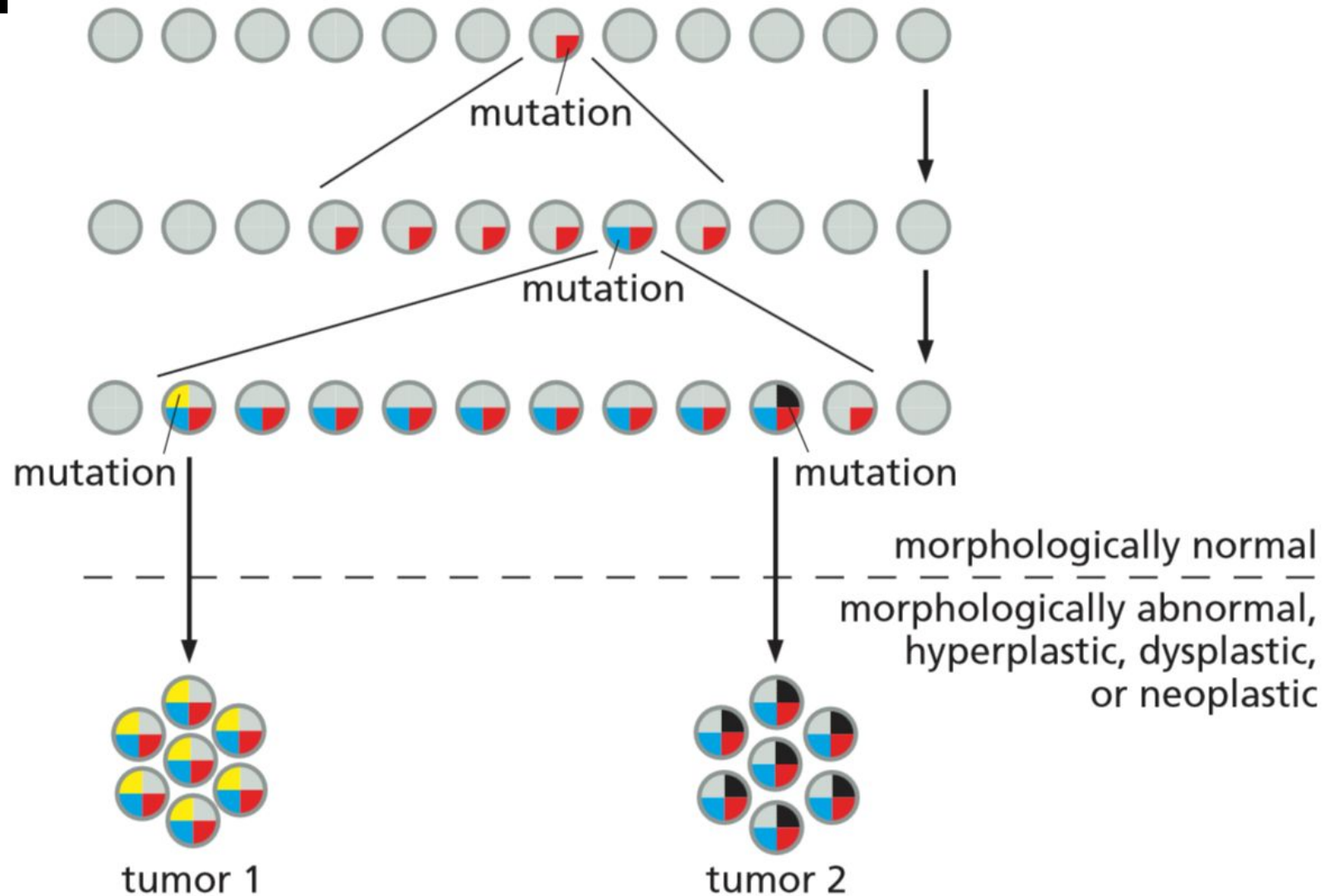


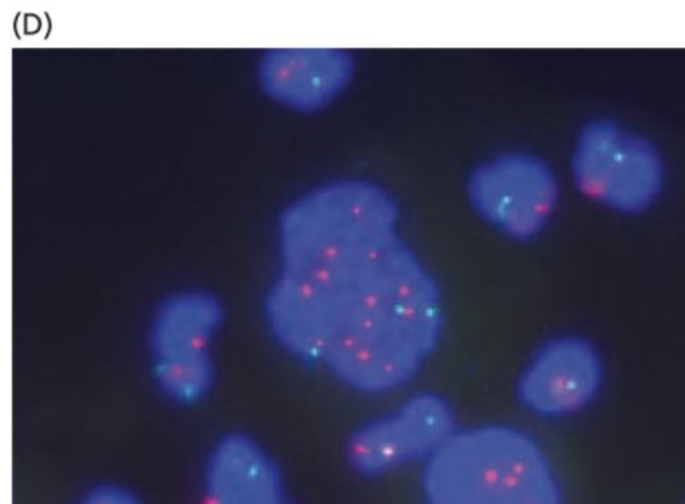
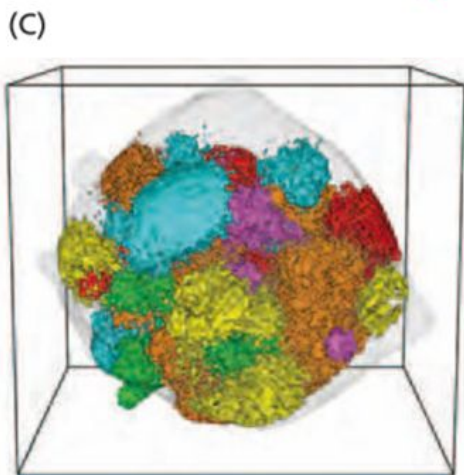
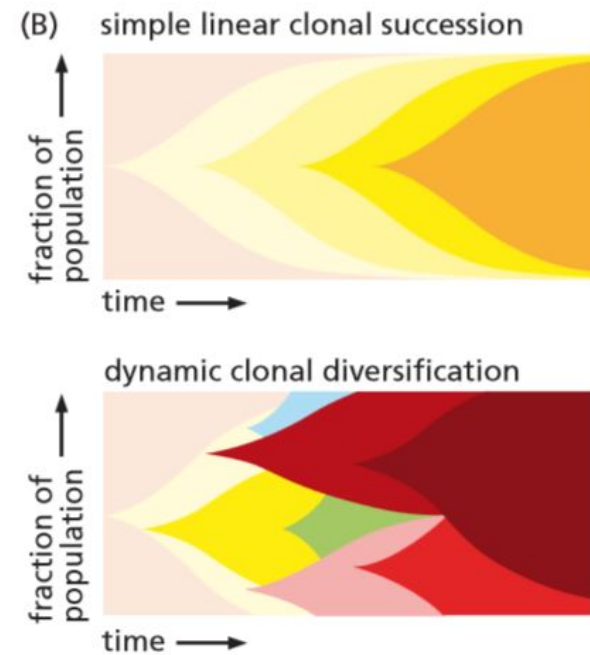
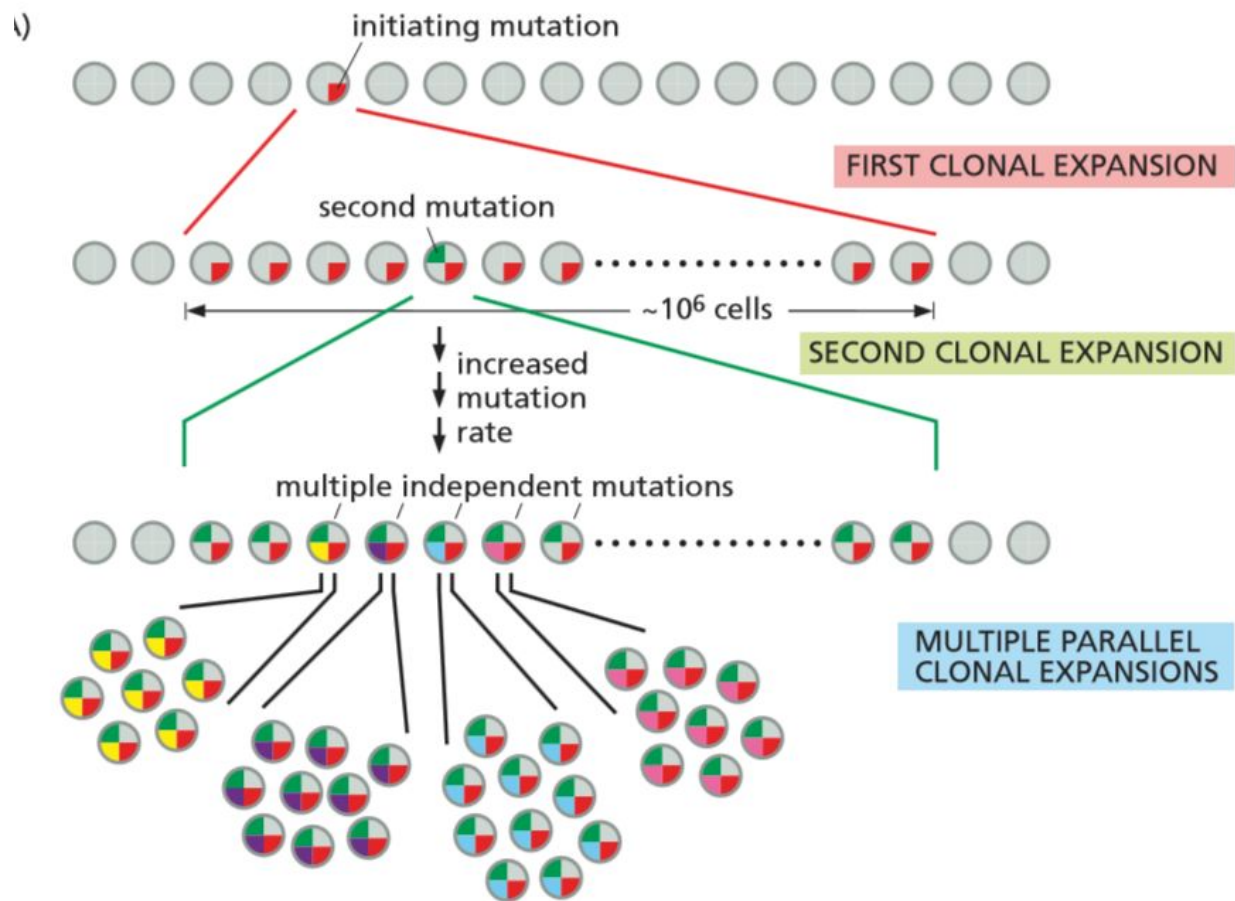
Канцерогенез – ступенчатый процесс, занимающий годы



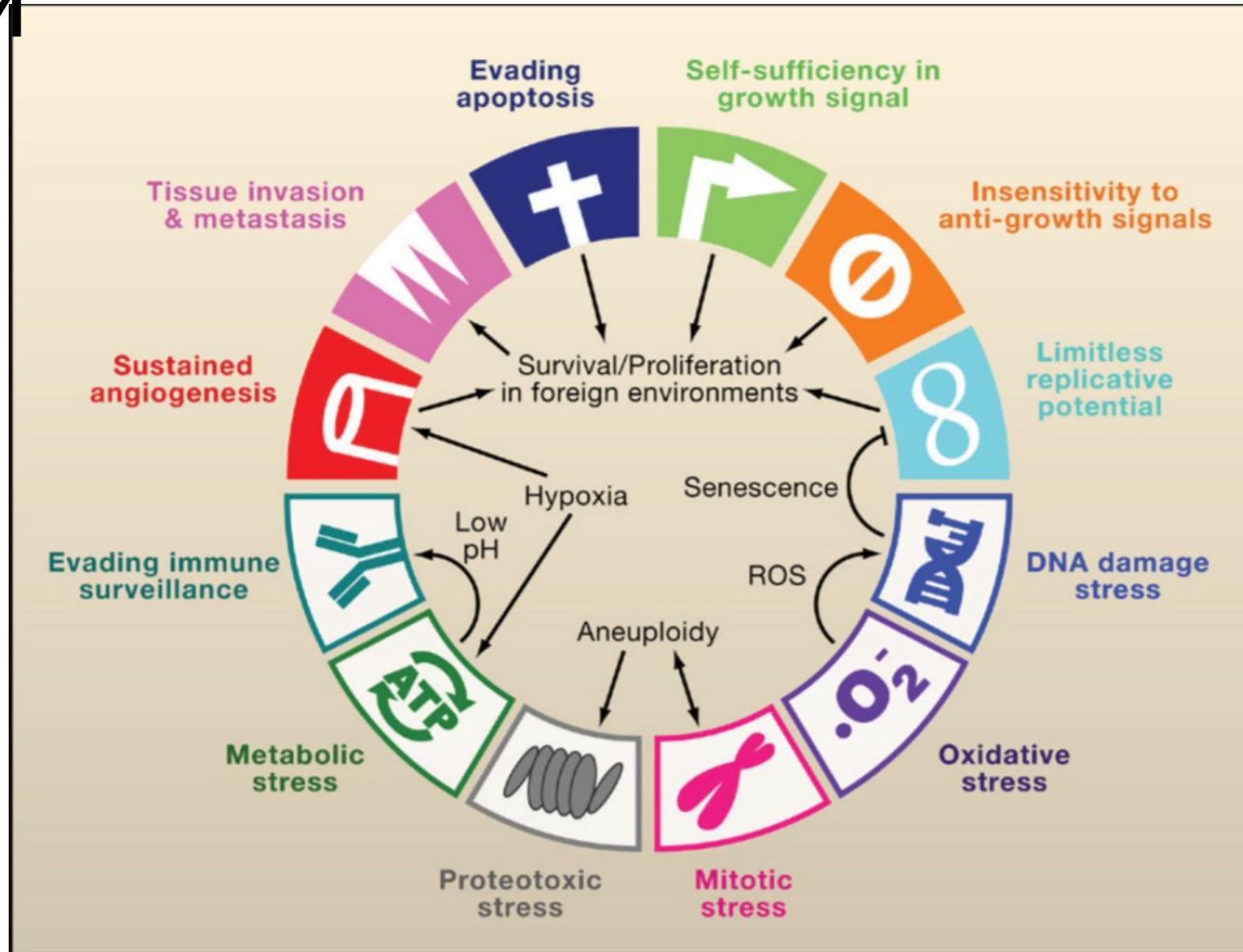


Канцерогенез – это клональная эволюция

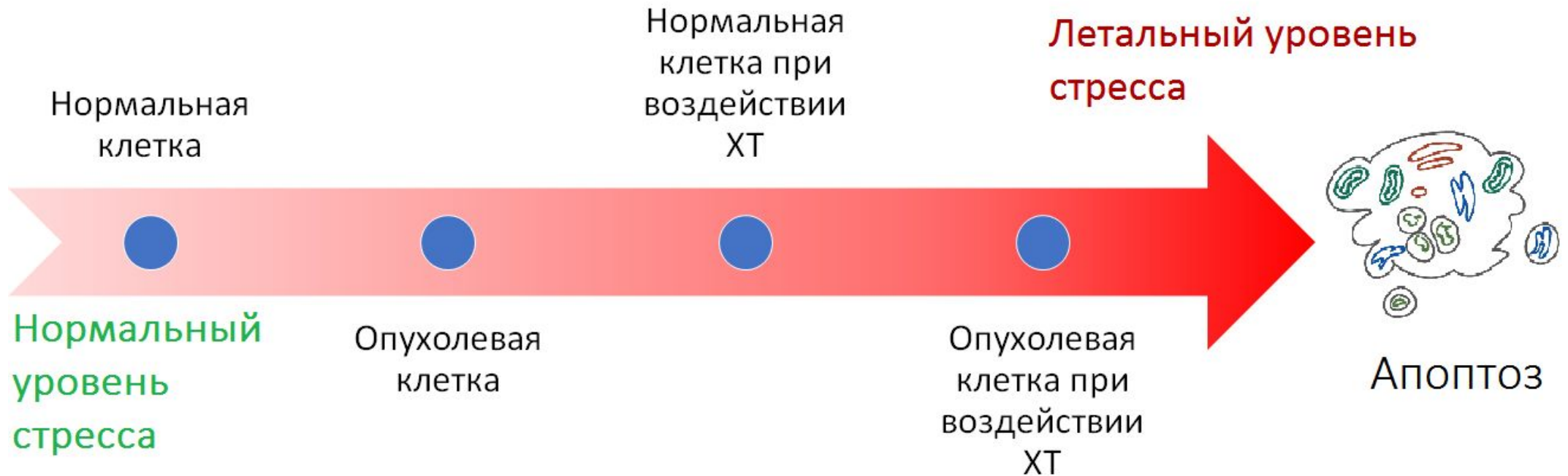




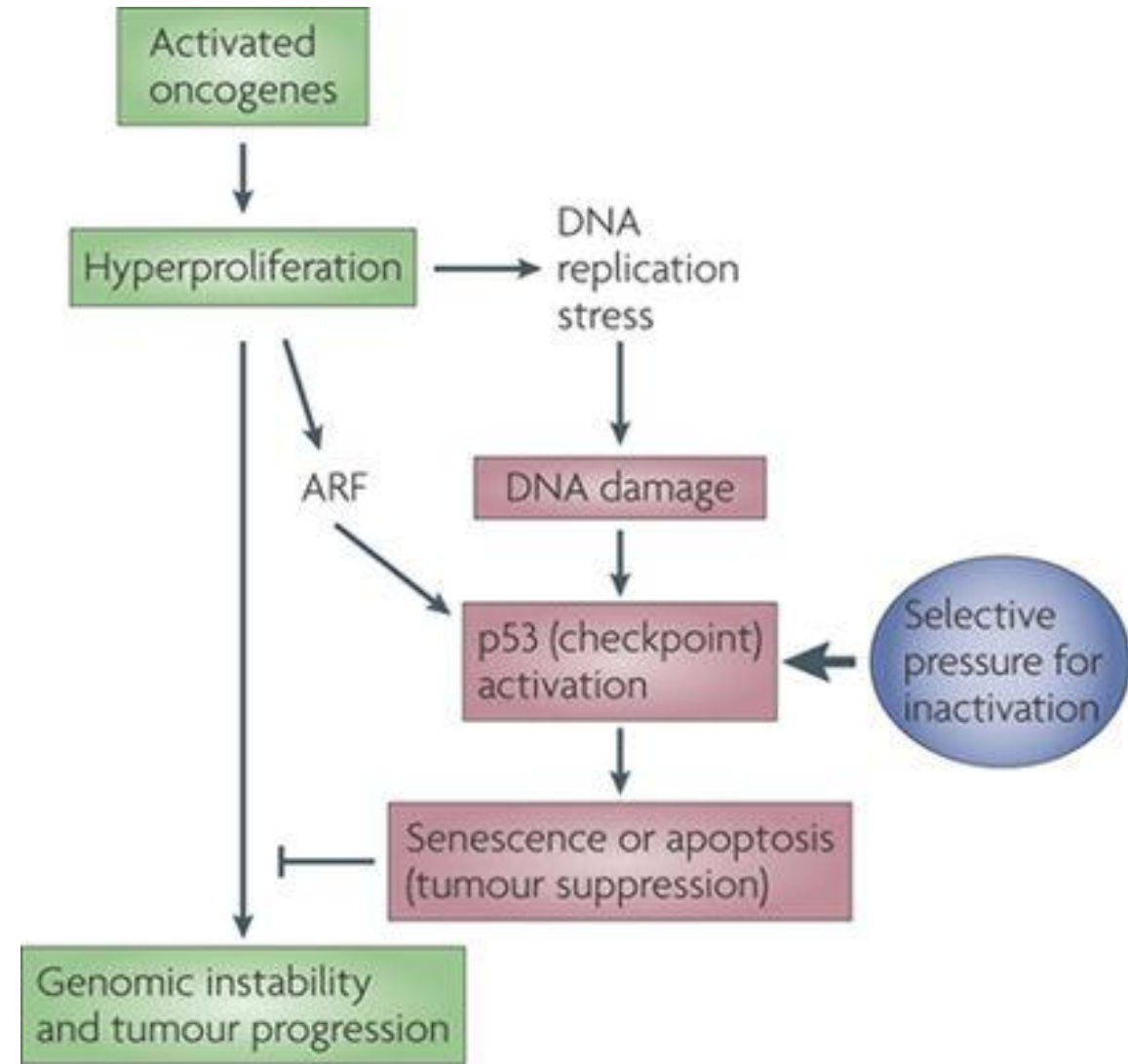
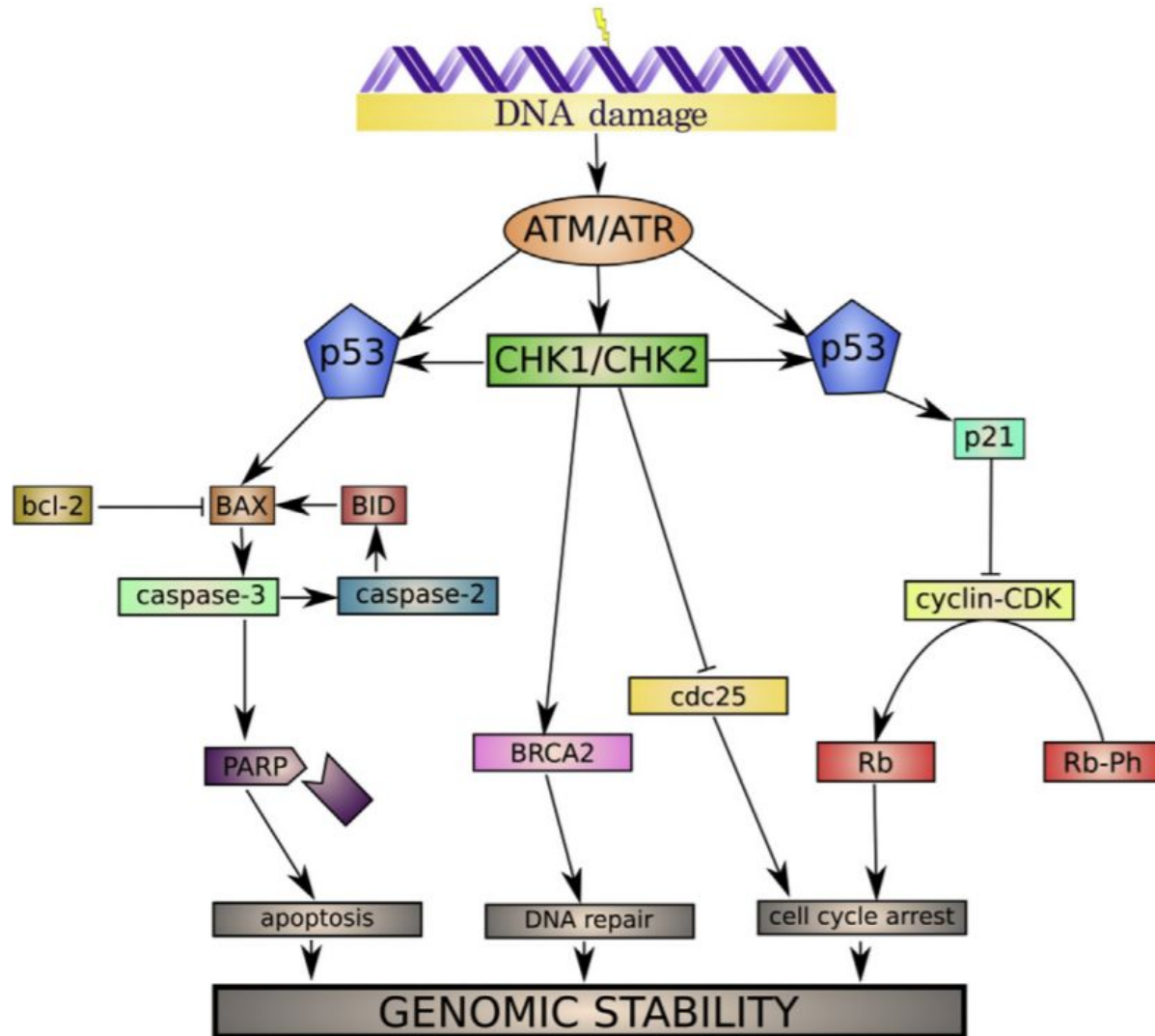
Стрессорный фенотип опухолевой клетки



Уровень стресса в клетках

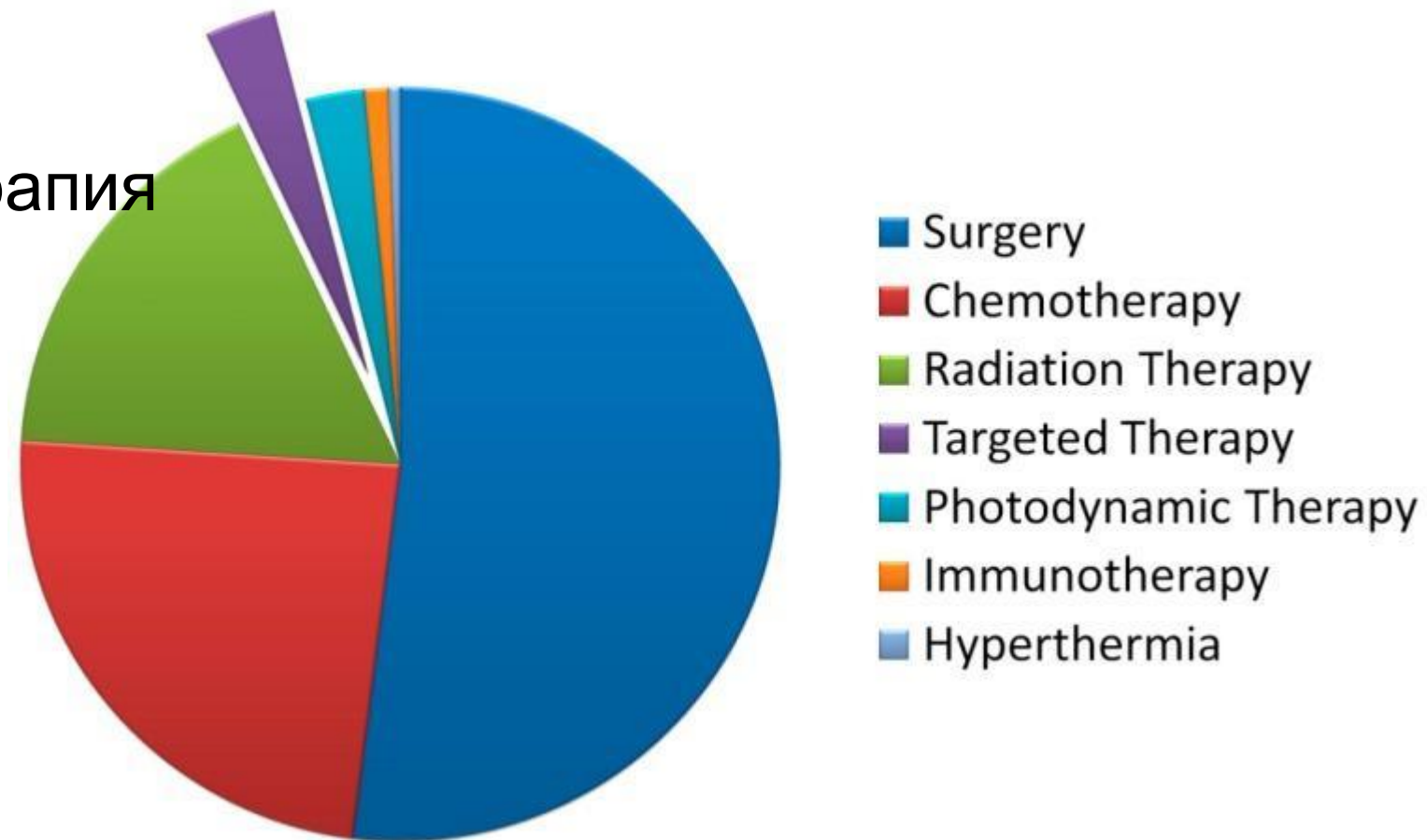


DNA Damage Response



Противоопухолевая терапия

- Хирургия
- Лучевая терапия
- Цитостатическая химиотерапия
- Гормональные препараты
- Таргетная терапия
- Иммунотерапия
- Генная терапия*



Список литературы

- Иллюстрации с неуказанным источником взяты из Альбертс Б. и др. - Молекулярная биология клетки – 2013.
- Ссылки на остальные иллюстрации см. Под иллюстрациями