

Клеточный цикл, МИТОЗ и апоптоз

1. Митоз
2. Клеточный цикл
3. Регуляция клеточного цикла
4. Апоптоз: внешний и внутренний пути
5. Генетический контроль апоптоза

Исследования митоза и апоптоза

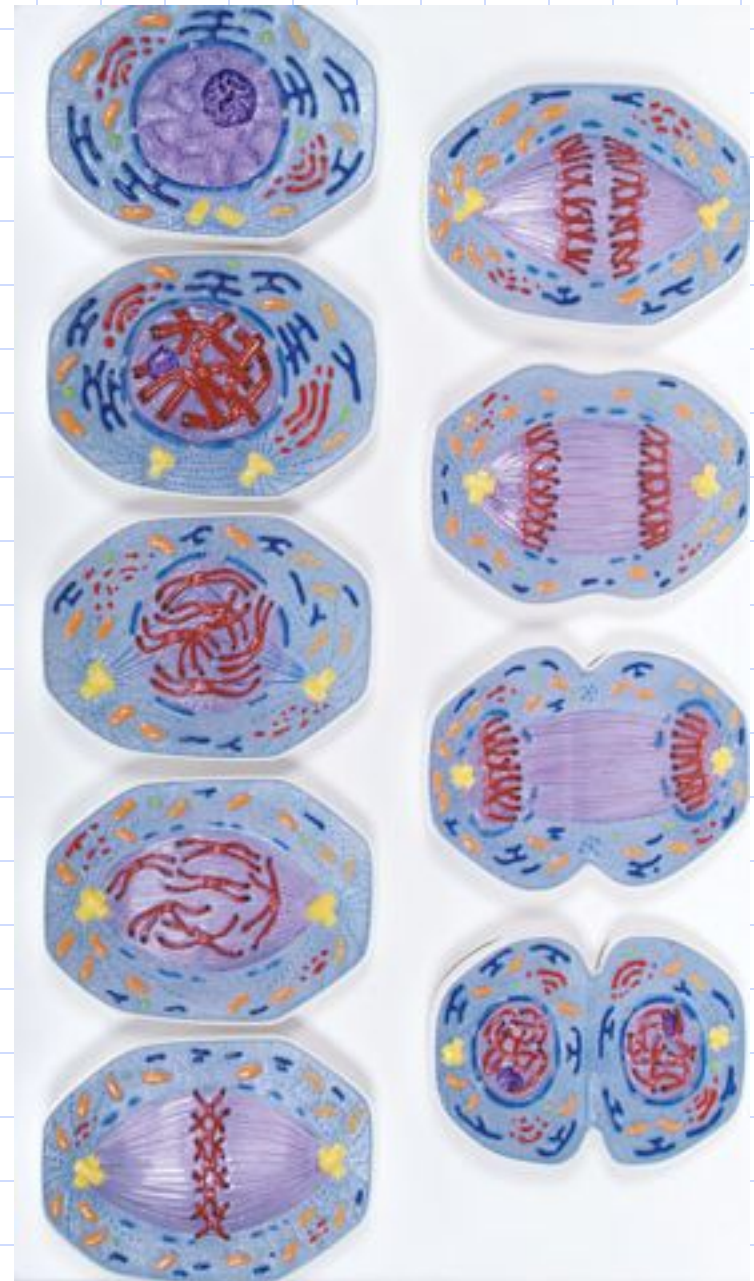
- Клетки возникают только путем деления (Вирхов, 1858)
- Соматические клетки делятся митозом (Флемминг, 1882)
- В интерфазе происходит репликация ДНК (Говард, Пелк, 1953)
- Открытие MPF: фактора промоции созревания (Масуи, Маркерт, 1971)
- Получение мутантов по митозу у дрожжей (Нурс, Хартвелл, 1972)
Открытие циклинов (Хант, 1983)
- Открытие апоптоза (Керр и др., 1973)
- Получение мутантов по апоптозу (Хорвиц, 1981)
- MPF = Cyclin B+cdc2 (Маллер, Ньюпорт, Бич, 1988)



Вальтер Флемминг (1843-1905)

МИТОЗ ЖИВОТНОЙ КЛЕТКИ

- Интерфаза
- Профаза
- Метафаза
- Анафаза
- Телофаза



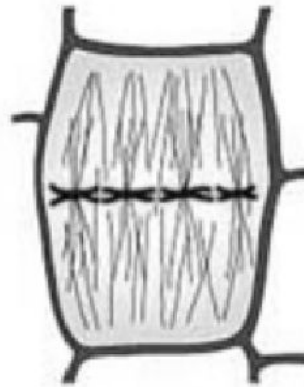
Митоз растительной клетки



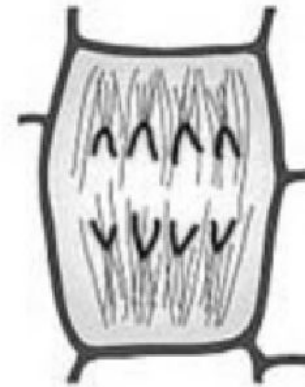
интерфаза



профаза



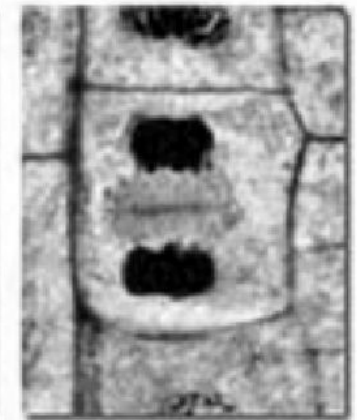
метафаза



анафаза

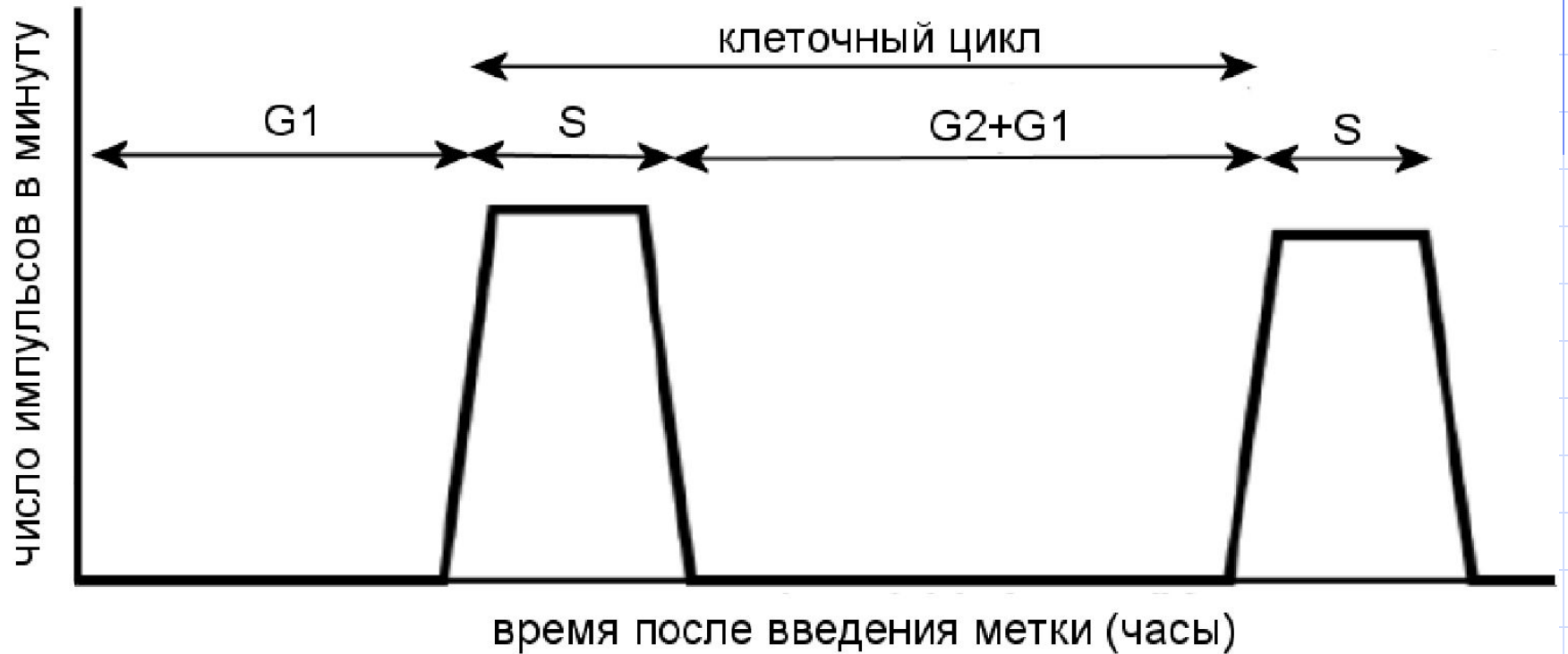


телофаза

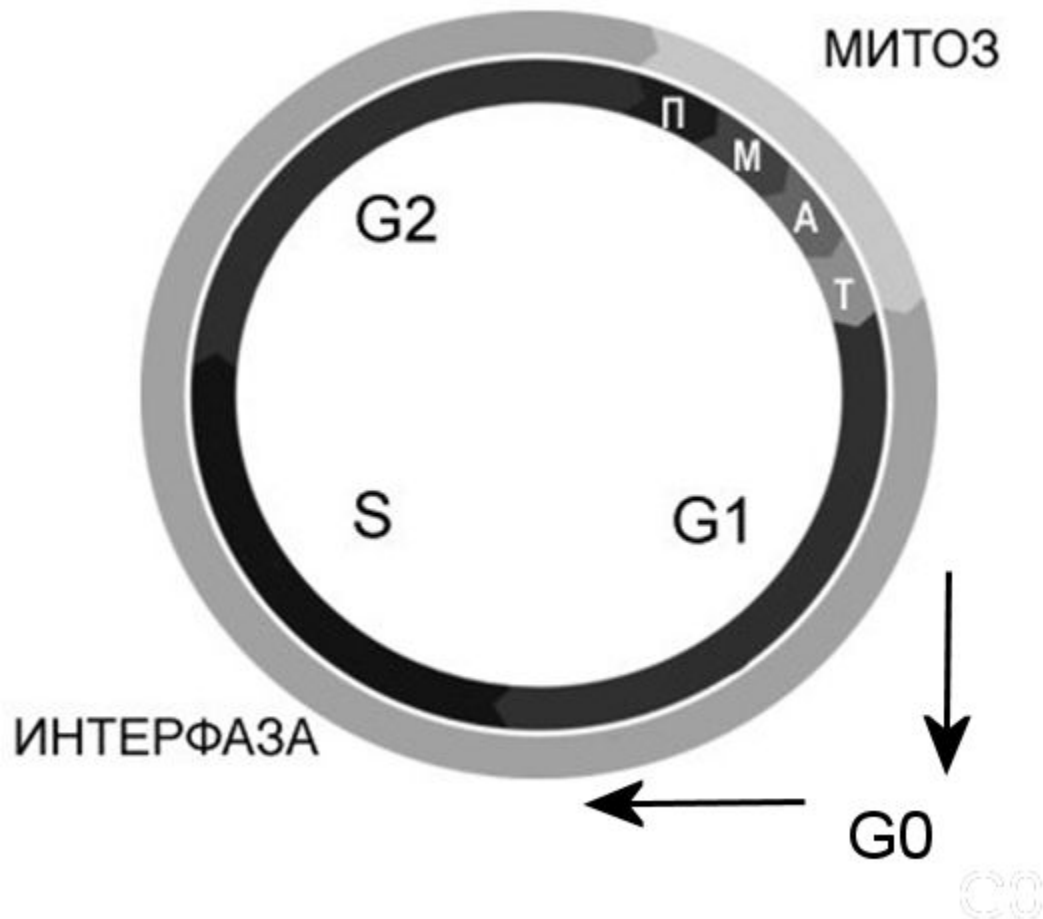


Клеточный цикл (cell cycle, mitotic cycle, life span) – жизненный путь клетки между двумя последовательными делениями: она рождается как дочерняя в результате деления материнской клетки и превращается в две дочерние в результате деления в качестве материнской.

Эксперимент А.Говард и Э.Пелка (1953)



Модель клеточного цикла



- М – МИТОЗ
- G1 – [DNA]= 2C
- S – [DNA]= 2 - 4C
- G2 – [DNA]= 4C
- G0 – ВЫХОД ИЗ ЦИКЛА

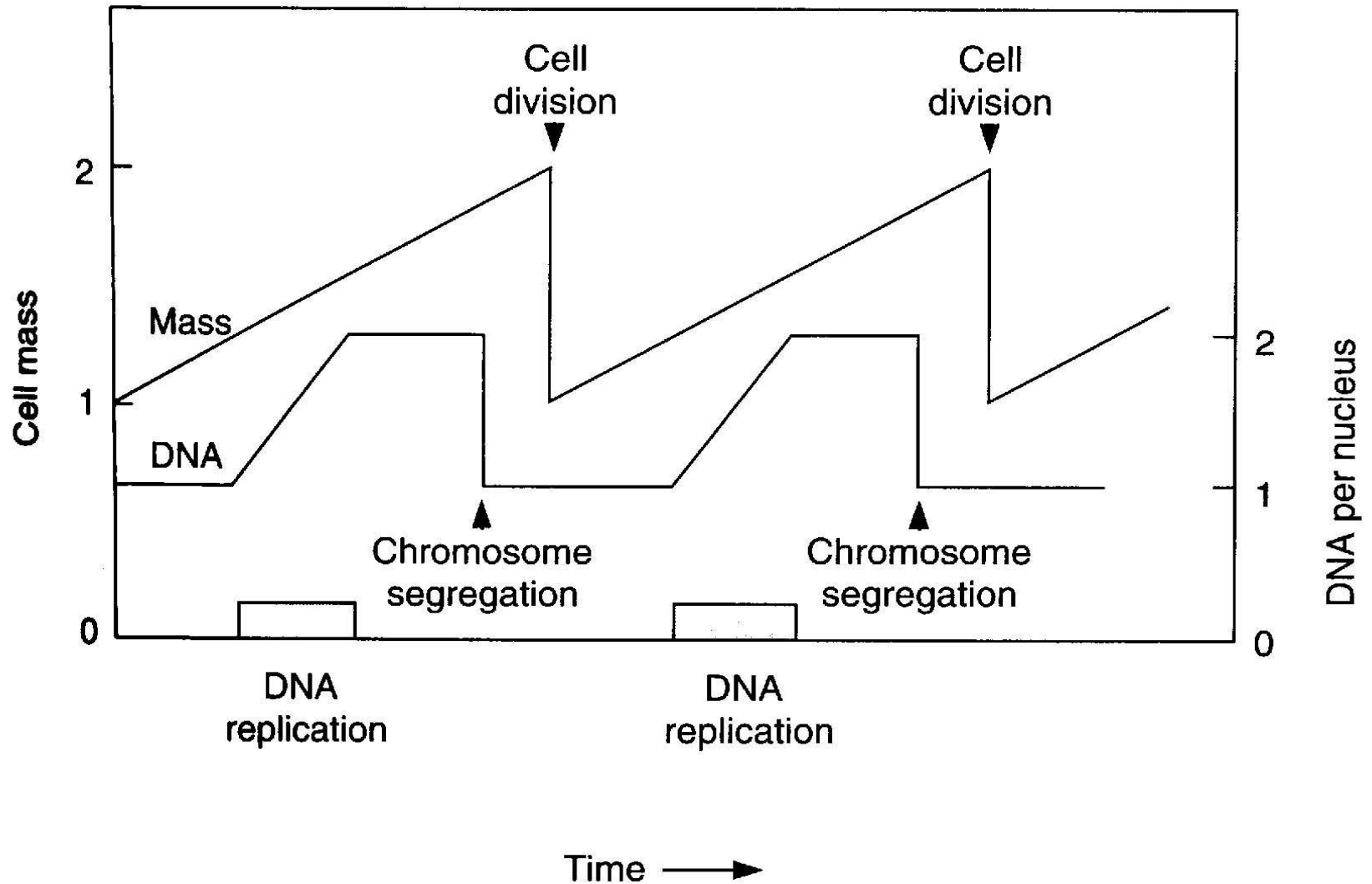
Пролиферативный пул:

$$\text{ПП (\%)} = (N - N_{G0}) / N$$

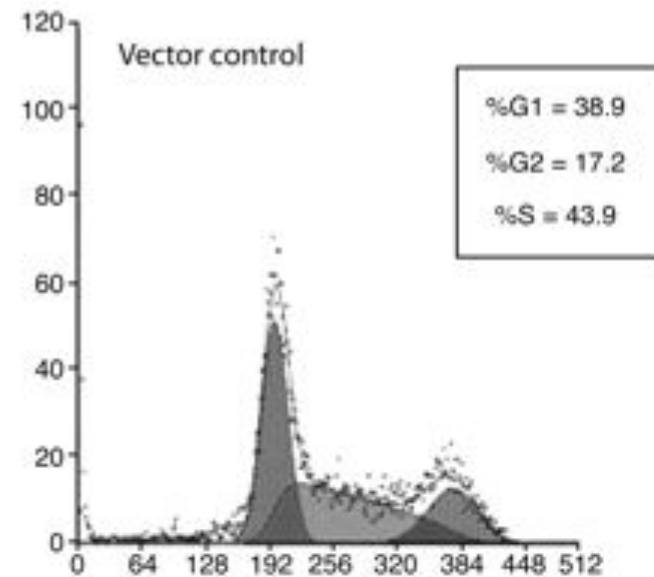
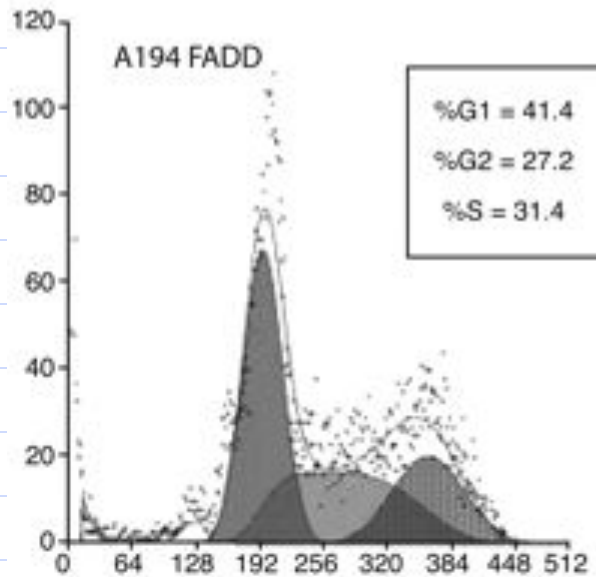
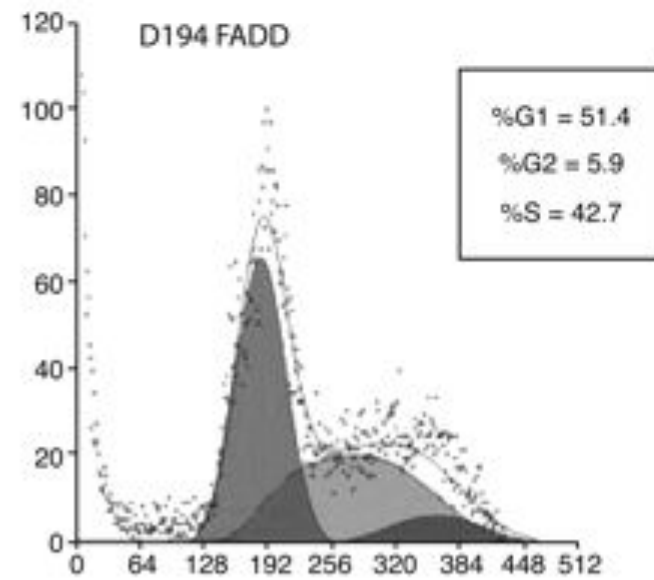
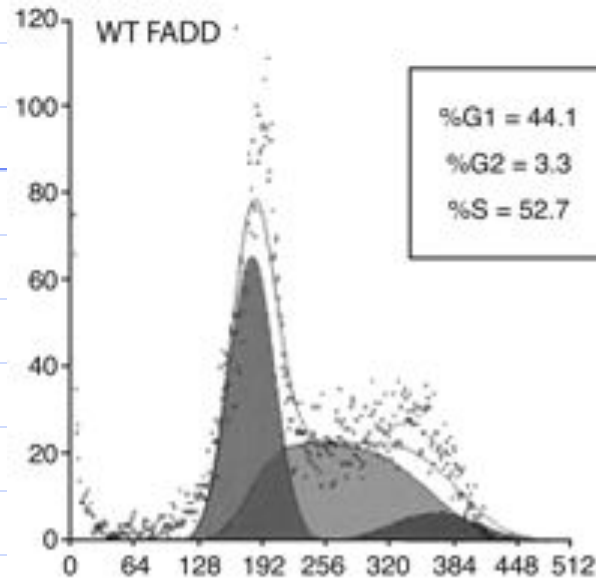
Митотический индекс:

$$\text{МИ} = N_{\text{митозы}} / N$$

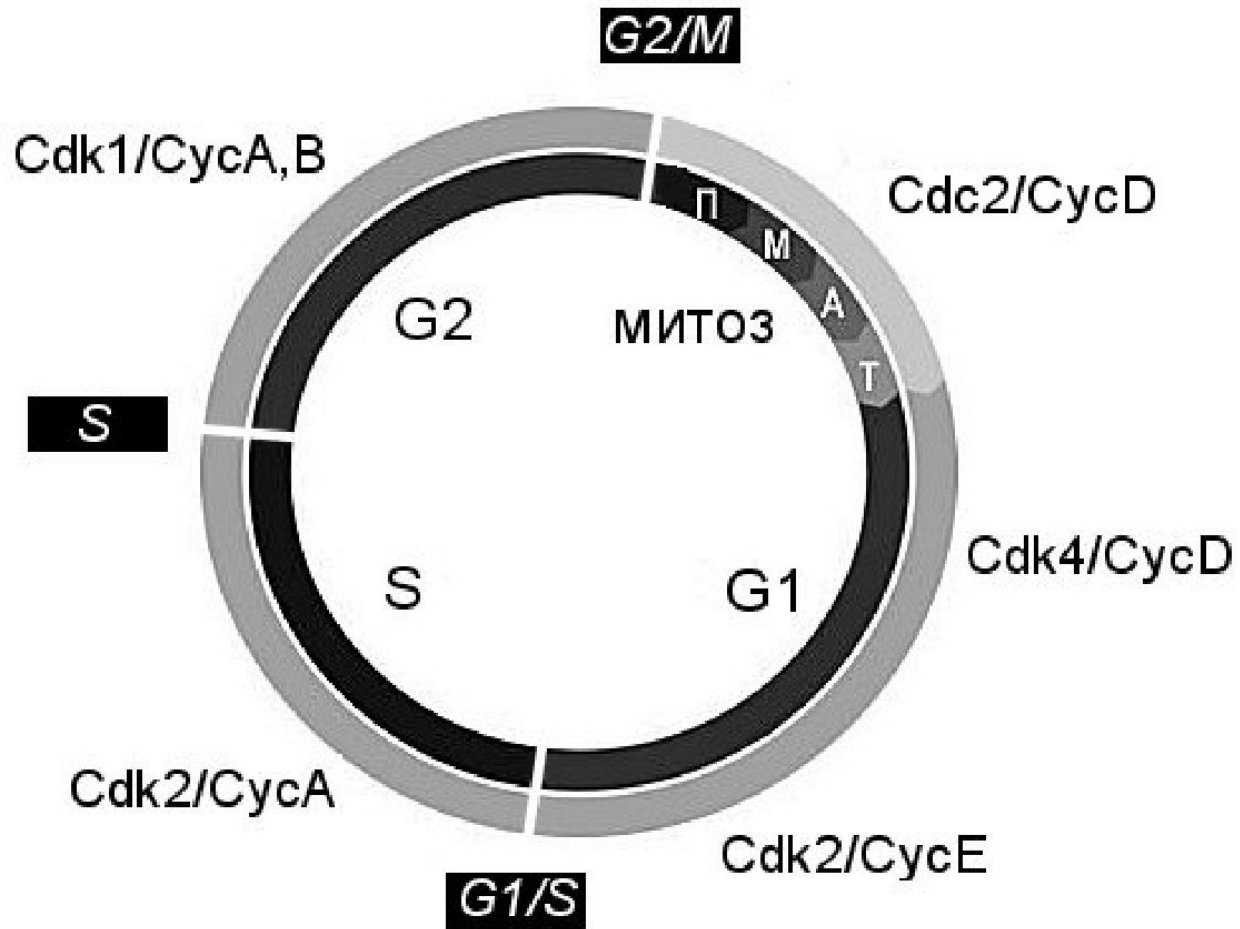
Динамика клеточного цикла



Распределение клеток по количеству ДНК



Регуляция клеточного цикла



Типы клеточной гибели

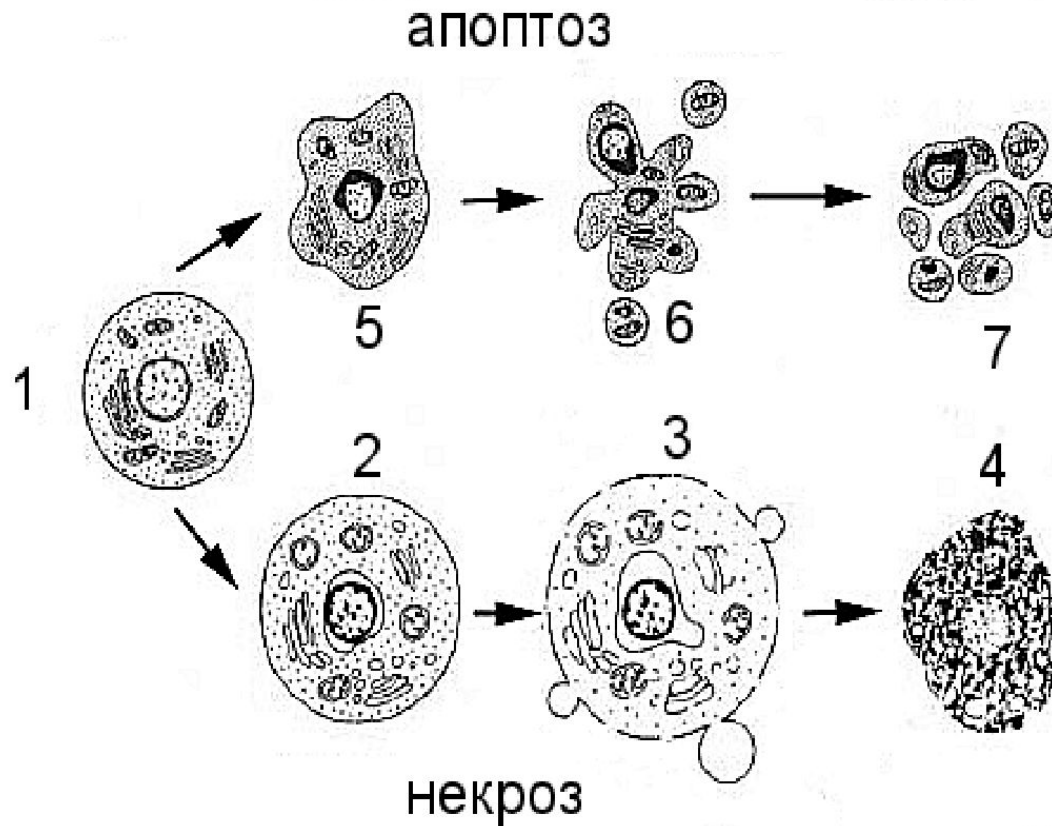
- Некроз
- Апоптоз
- Аутофагия
- Некроптоз
- Корнификация (ороговение)
- Митотическая катастрофа

Апоптоз и некроз



Детекция апоптоза и некроза с помощью АО и БЭ

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

Апоптоз и некроз

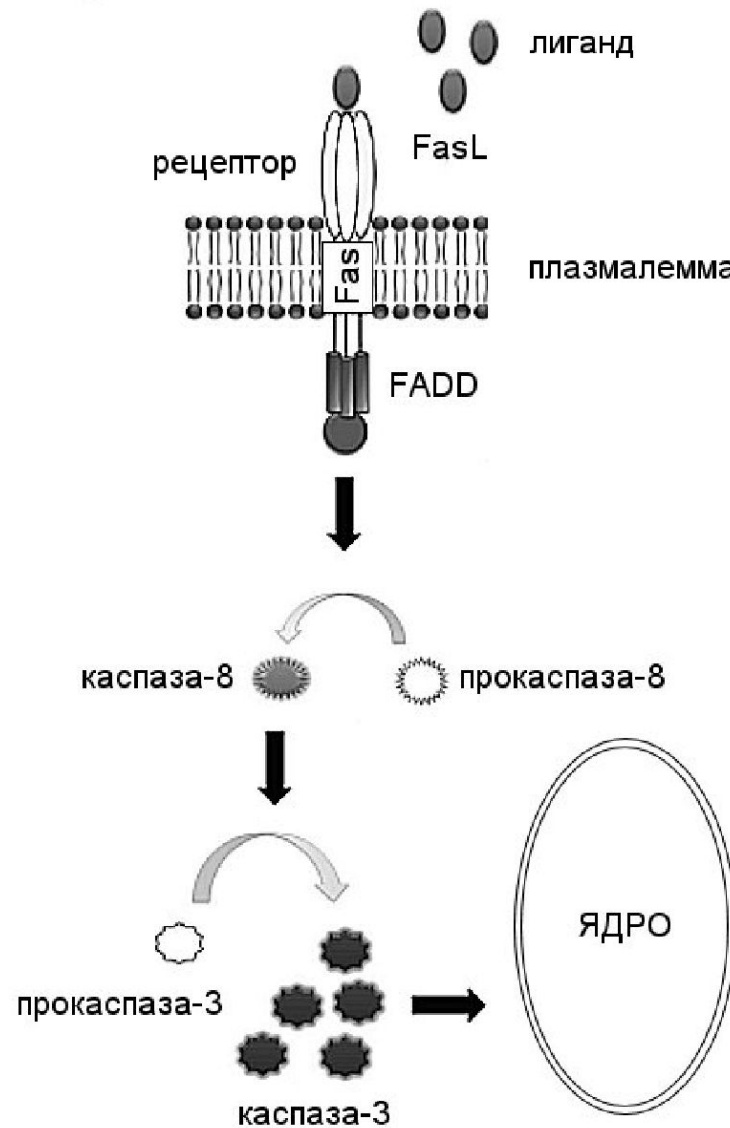
Показатель	Апоптоз	Некроз
Локализация в ткани	Диффузная	Очаговая
Запуск	Специфический молекулярный сигнал	Неспецифические внешние воздействия
Энергозависимость	Есть	Нет
Клеточный метаболизм	Влияет	Не влияет
Генетический контроль	Имеется	Отсутствует
Длительность	до 12 часов	Не более 1 часа
Размер клетки	Уменьшается	Увеличивается
Основной эффект	Деграция ДНК	Деструкция мембран
Локализация эффекта	Ядро	Цитоплазма
Тип патологии ядра	Кариорексис или пикноз	Гидропическое набухание
Ядрышко	Распад на отдельные гранулы	Сохраняет целостность
Цитоплазма	Уплотняется	Разрыхляется
Плазматическая сеть	Может локально расширяться	Деградирует
Митохондрии	Сохраняют целостность	Сжимаются и разрушаются
Лизосомы	Остаются интактными	Разрушаются
Воспаление	Отсутствует	Развивается

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

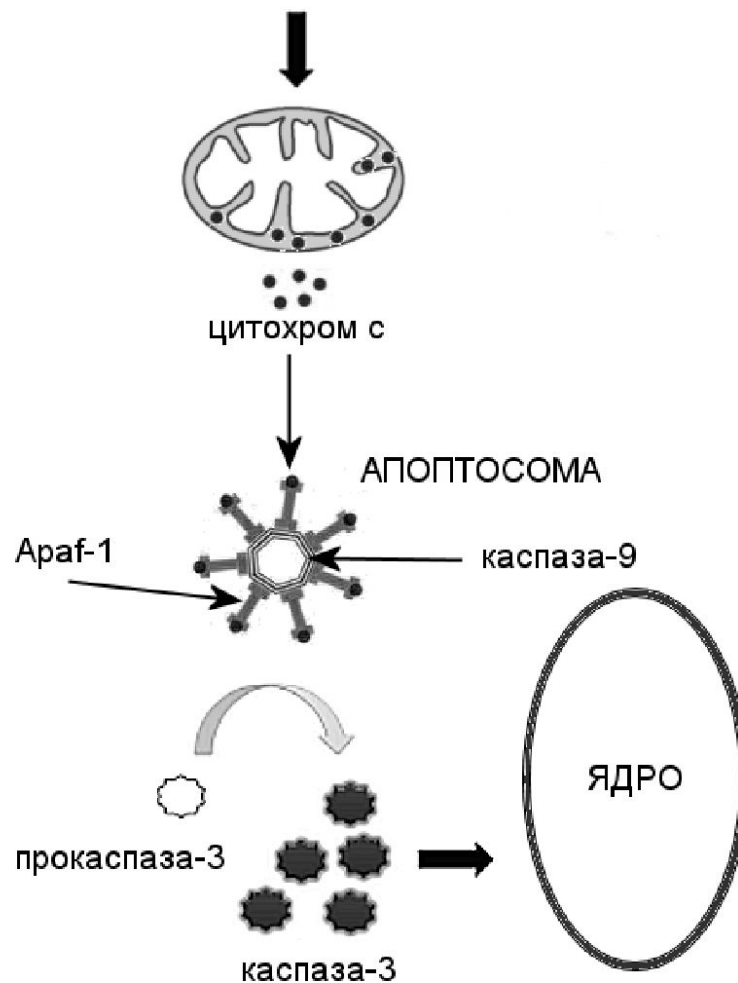
Внешний путь апоптоза



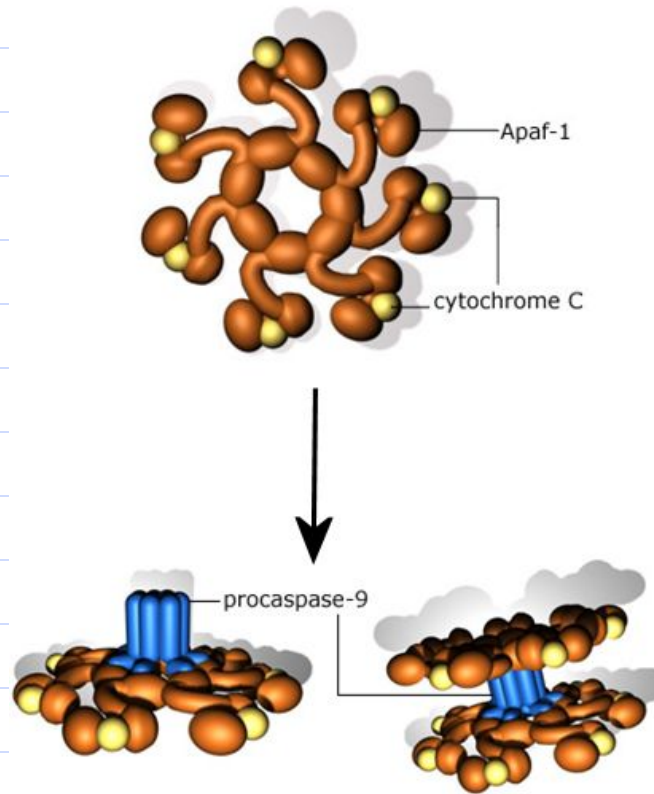
Внутренний путь апоптоза

Гипоксия Окислительный стресс

Повреждения ДНК



Апоптосома



Эффекторная стадия апоптоза

1) Инактивация ферментов, участвующих в репарации ДНК:

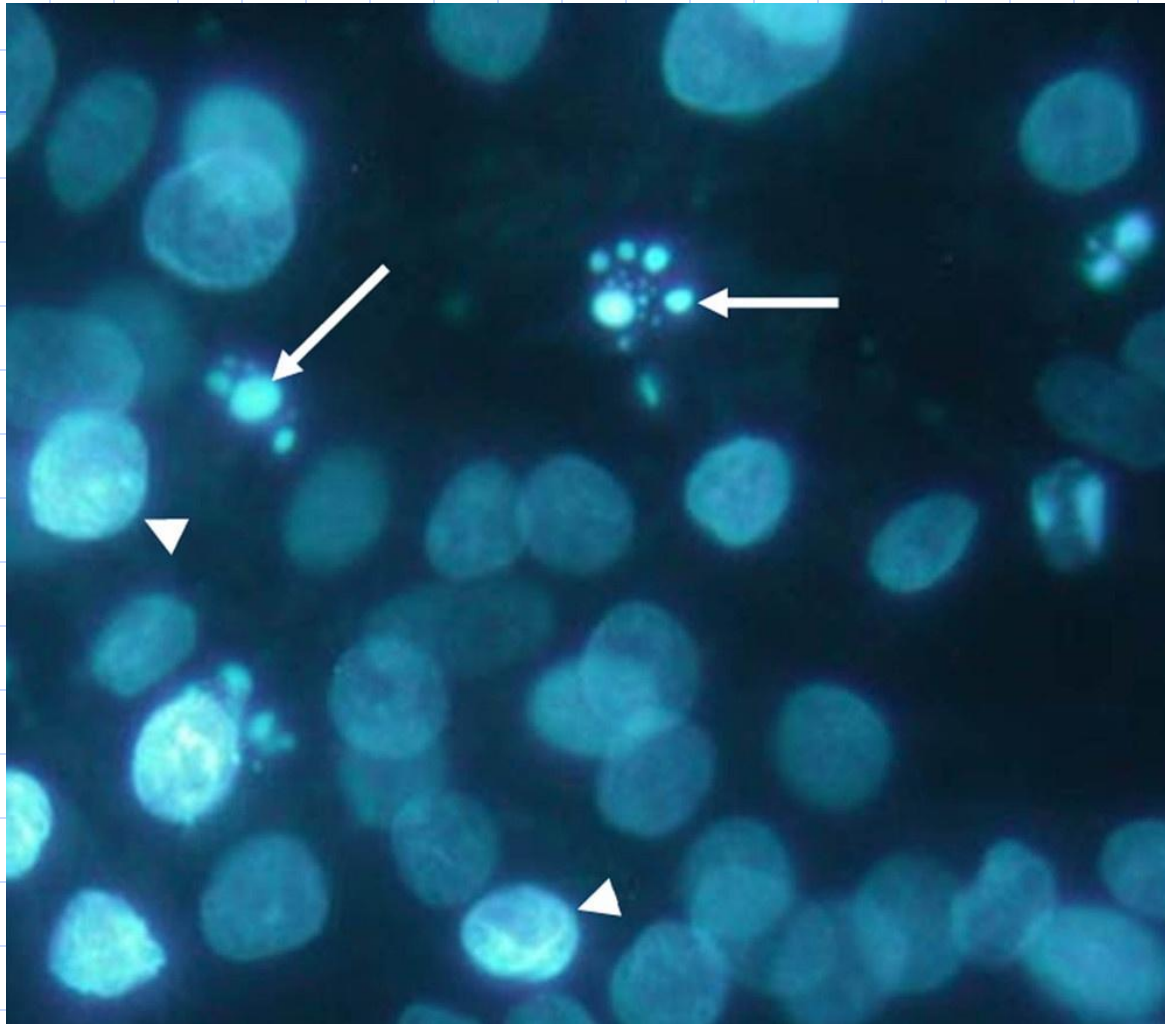
PARP- поли(АДФ-рибозо)полимераза ингибируется каспазой 2)

Деградация ядерных белков: каспаза 6 разрезает ламины, что вызывает конденсацию хроматина

3) Фрагментация ДНК: разрезание ДНК между нуклеосомами

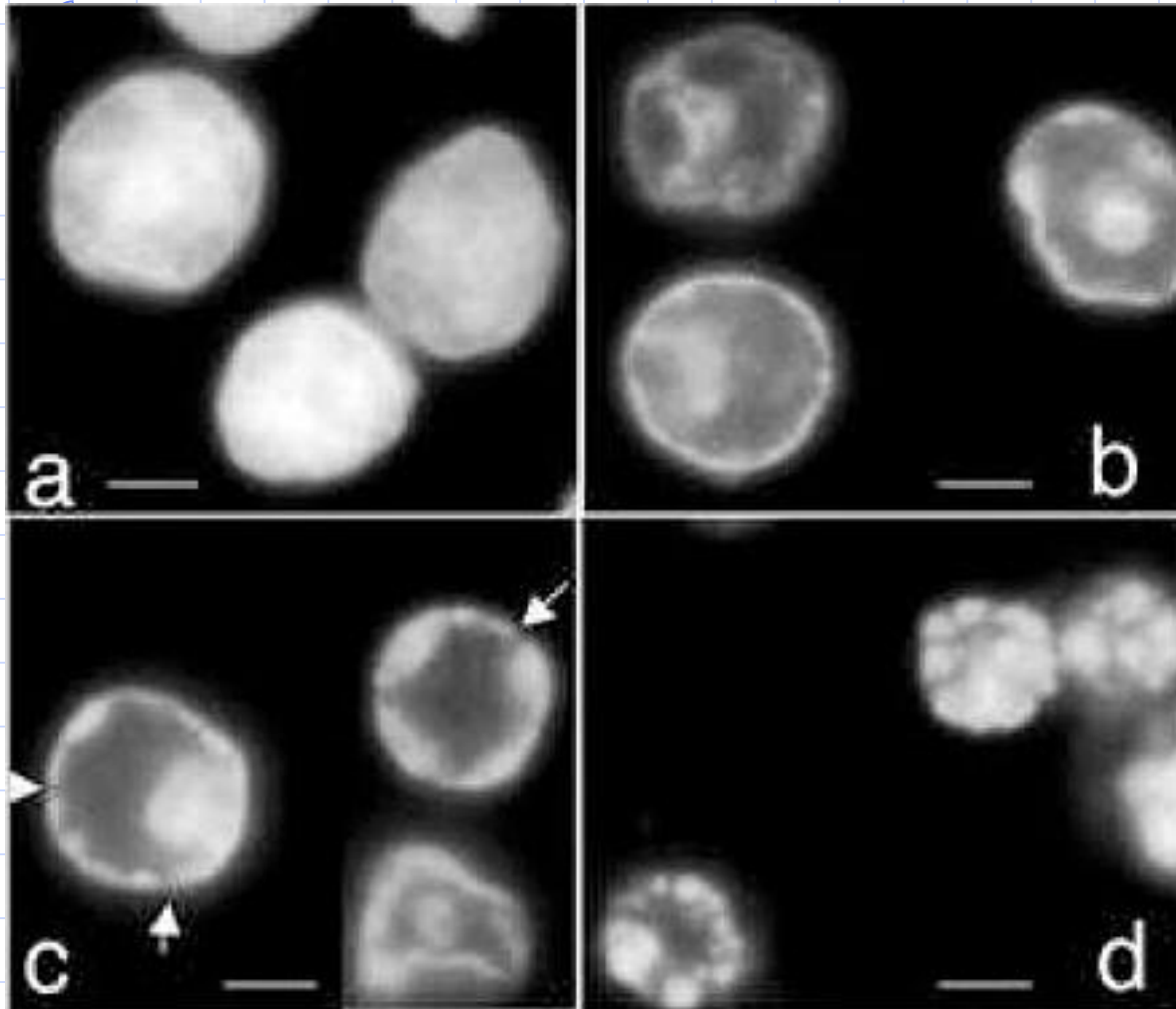
CAD – каспаз-активируемой ДНКазой. CAD находится в комплексе с ICAD, который разрезается каспазой 3.

АПОПТОЗ



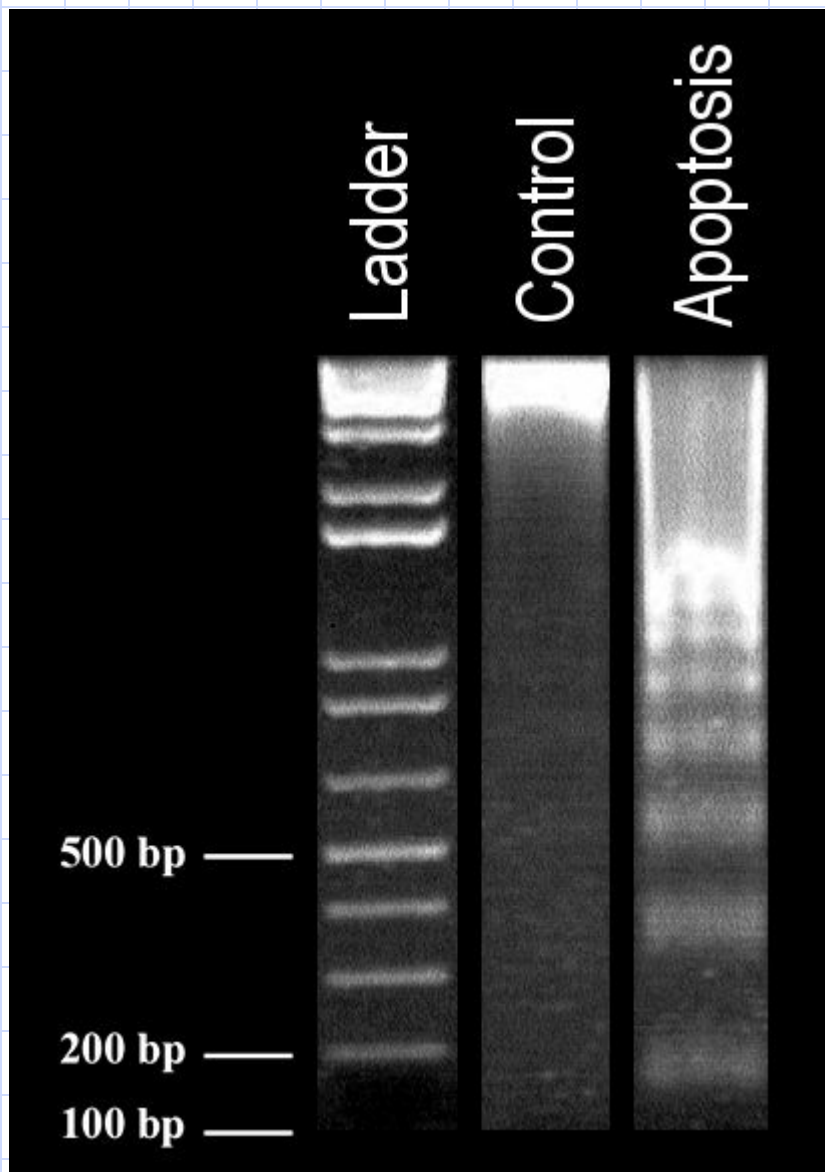
Детекция апоптоза с помощью Hoechst 33342

Изменения морфологии клеточного ядра при апоптозе

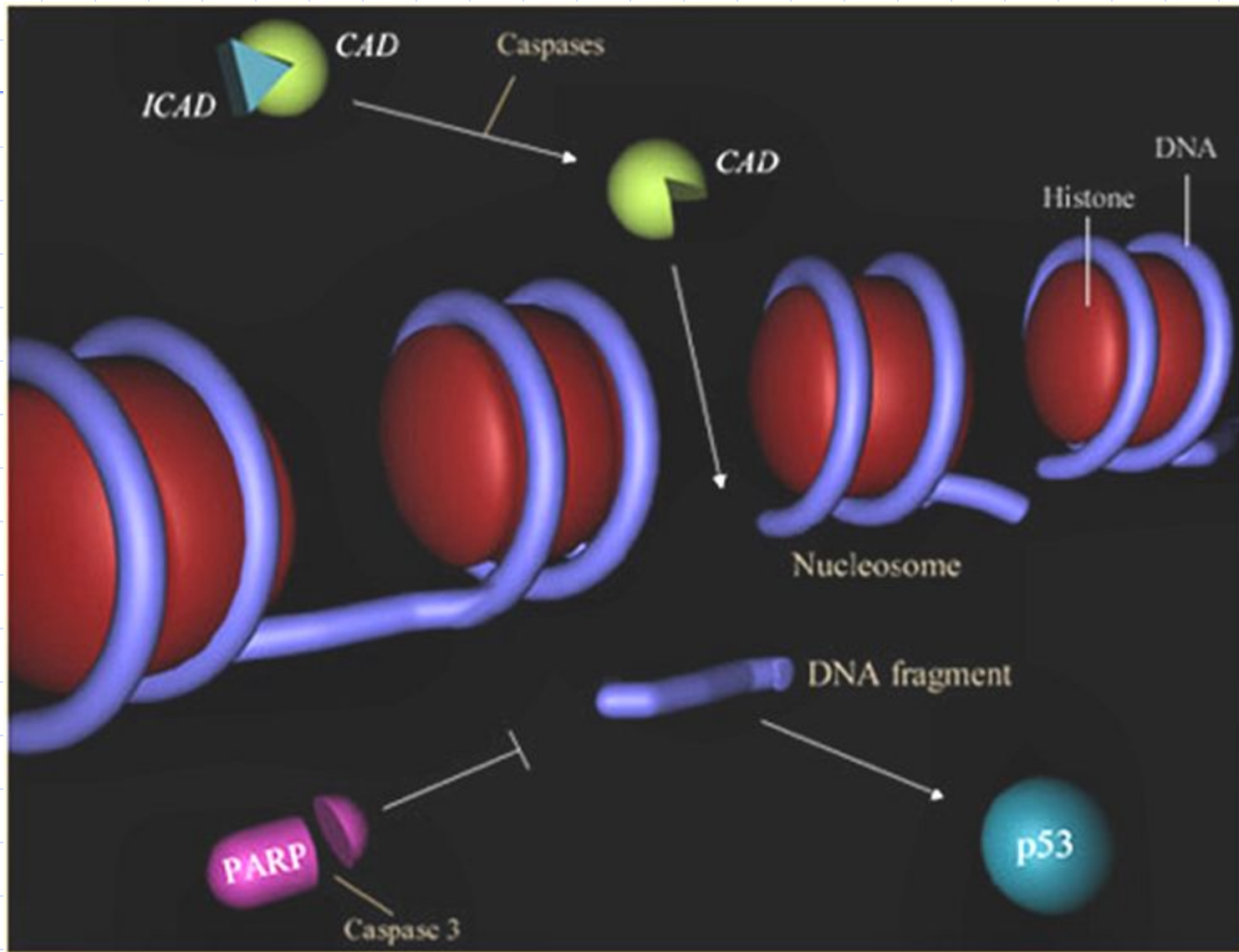


a – интактные ядра,
b – маргинация
хроматина,
c – кариорексис,
d – пикноз

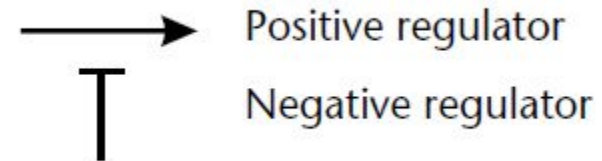
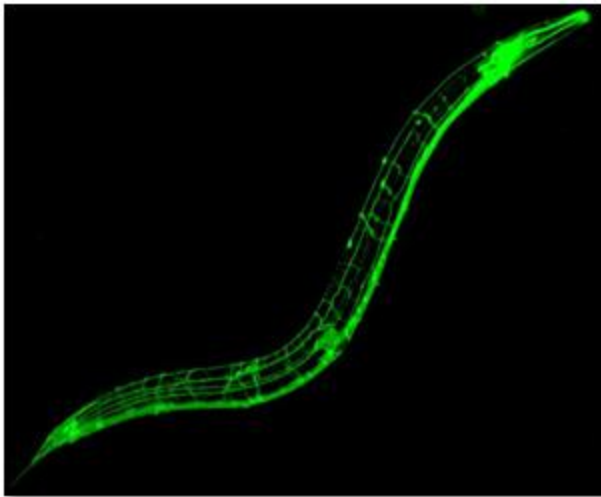
Фрагментация ДНК при апоптозе



Механизм фрагментации ДНК



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



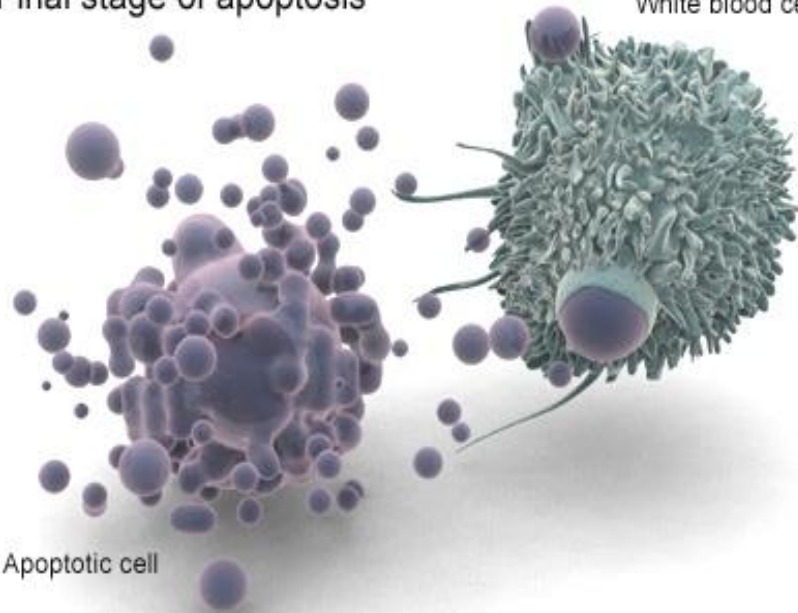
Эволюционная консервативность механизмов апоптоза

	<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

Генетический контроль апоптоза

Final stage of apoptosis

White blood cell



Apoptotic cell

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

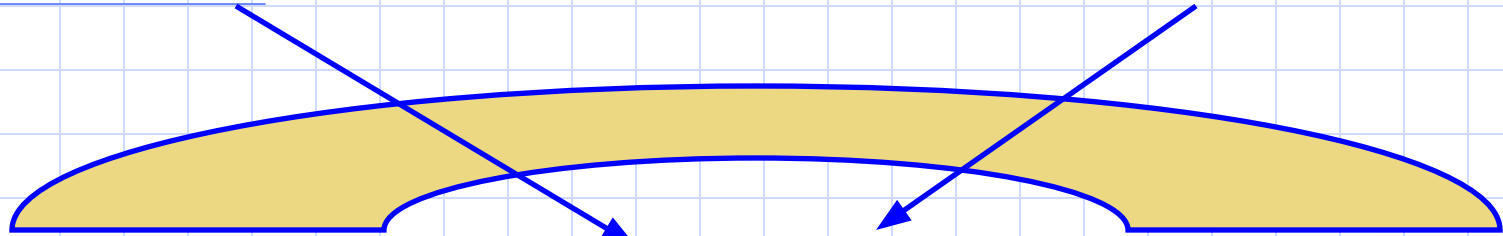
3 DNA damage repair

FANCD2	3p26
APEX1	14q11.2-q12
APEX2	Xp11.21
UNG	12q23-q24.1
TP53	17p13.1

Клетки балансируют между жизнью и смертью

Повреждения

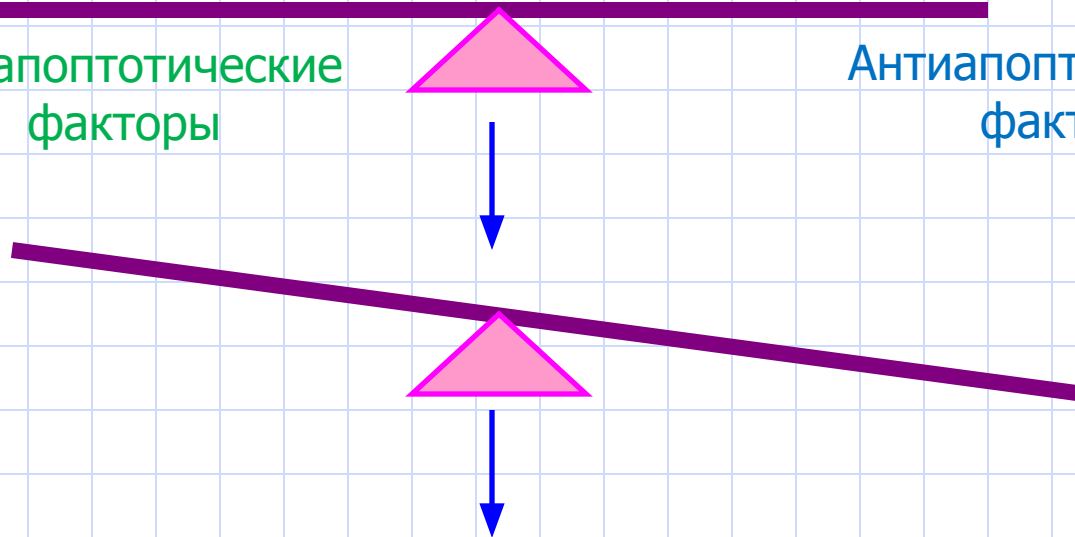
Физиологические факторы смерти



СИГНАЛ СМЕРТИ

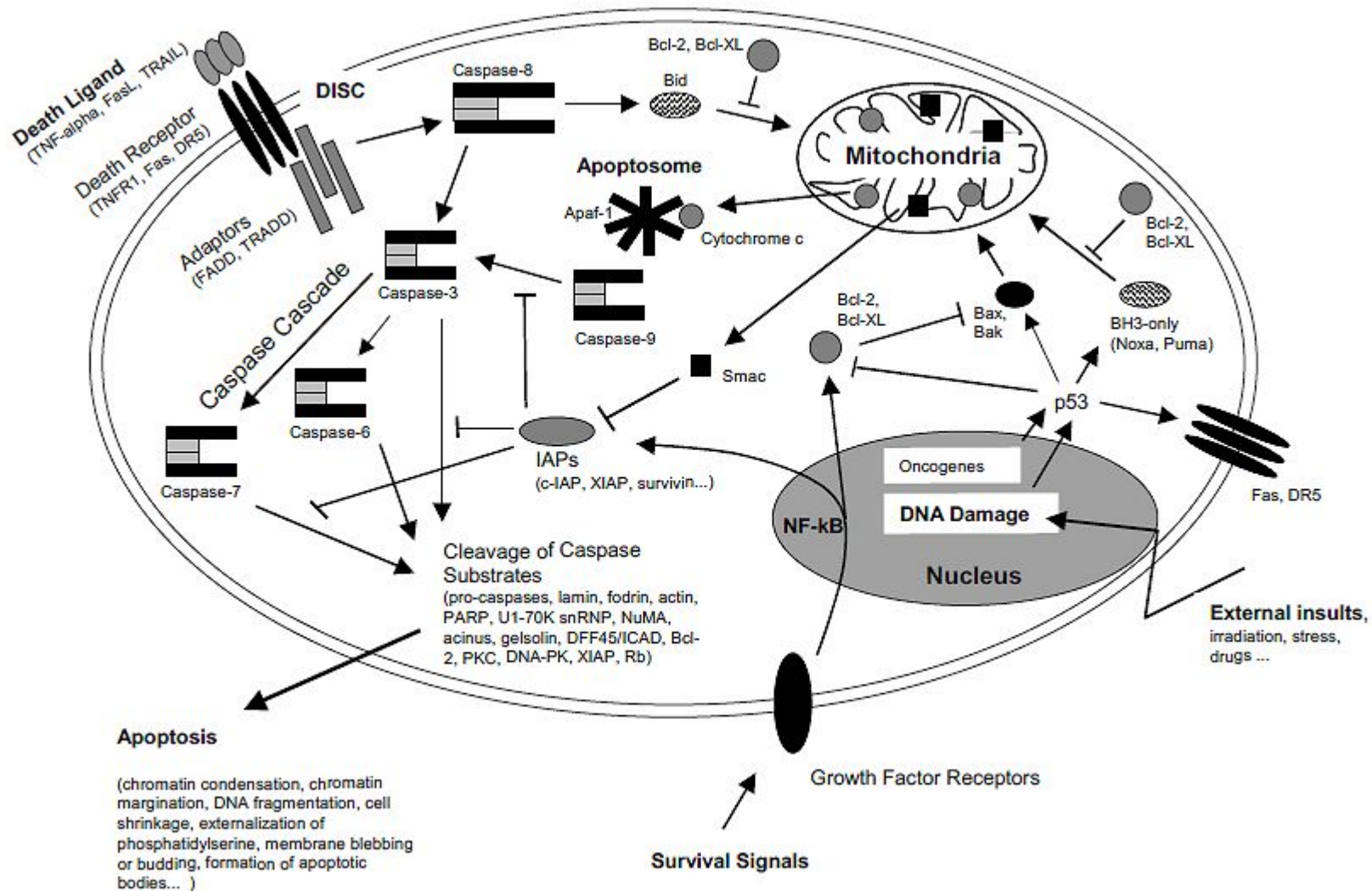
Проапоптотические факторы

Антиапоптотические факторы

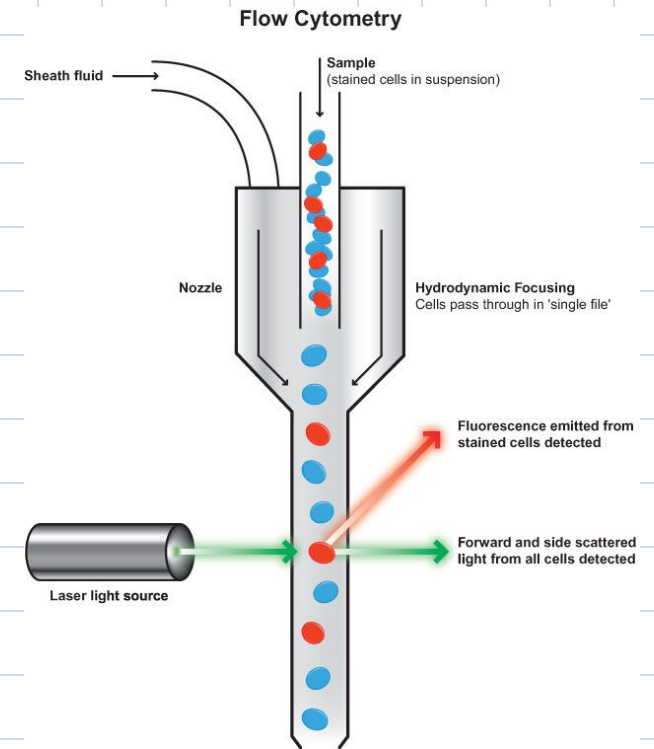


THE END

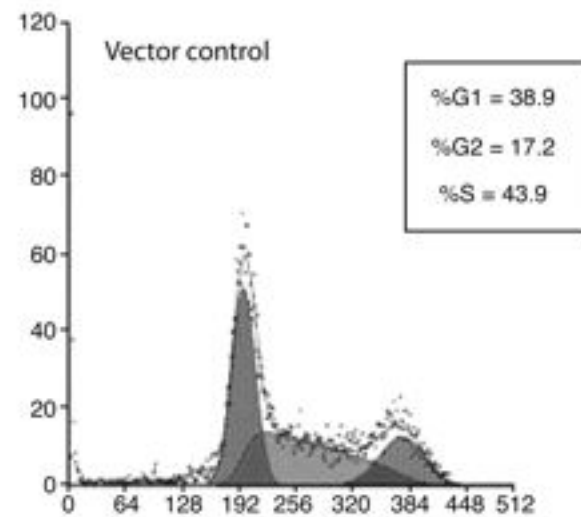
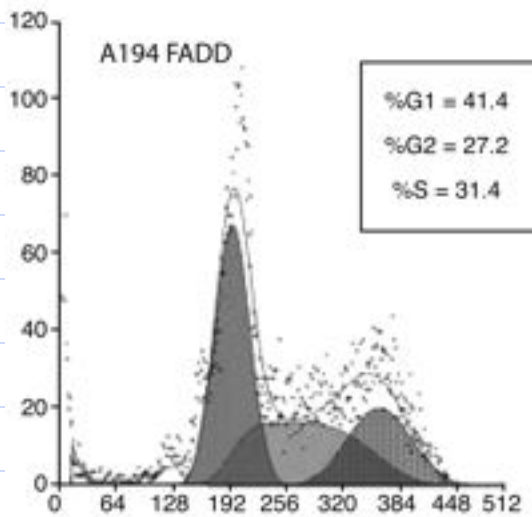
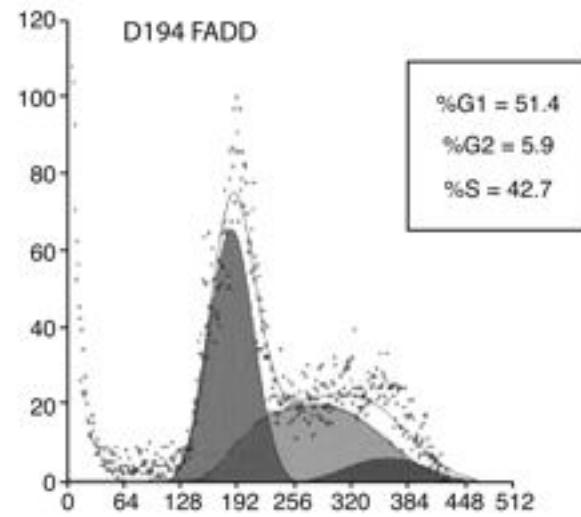
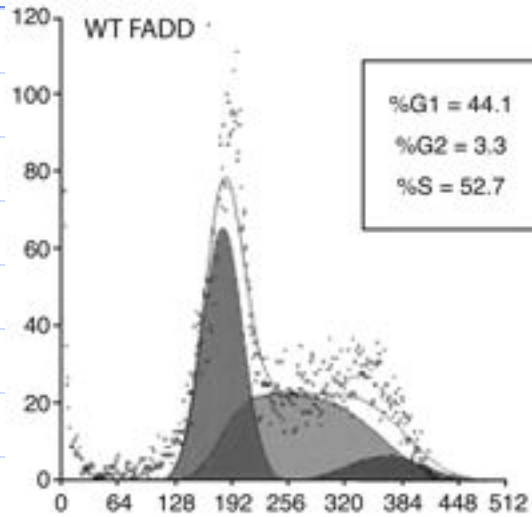
Общая схема апоптоза



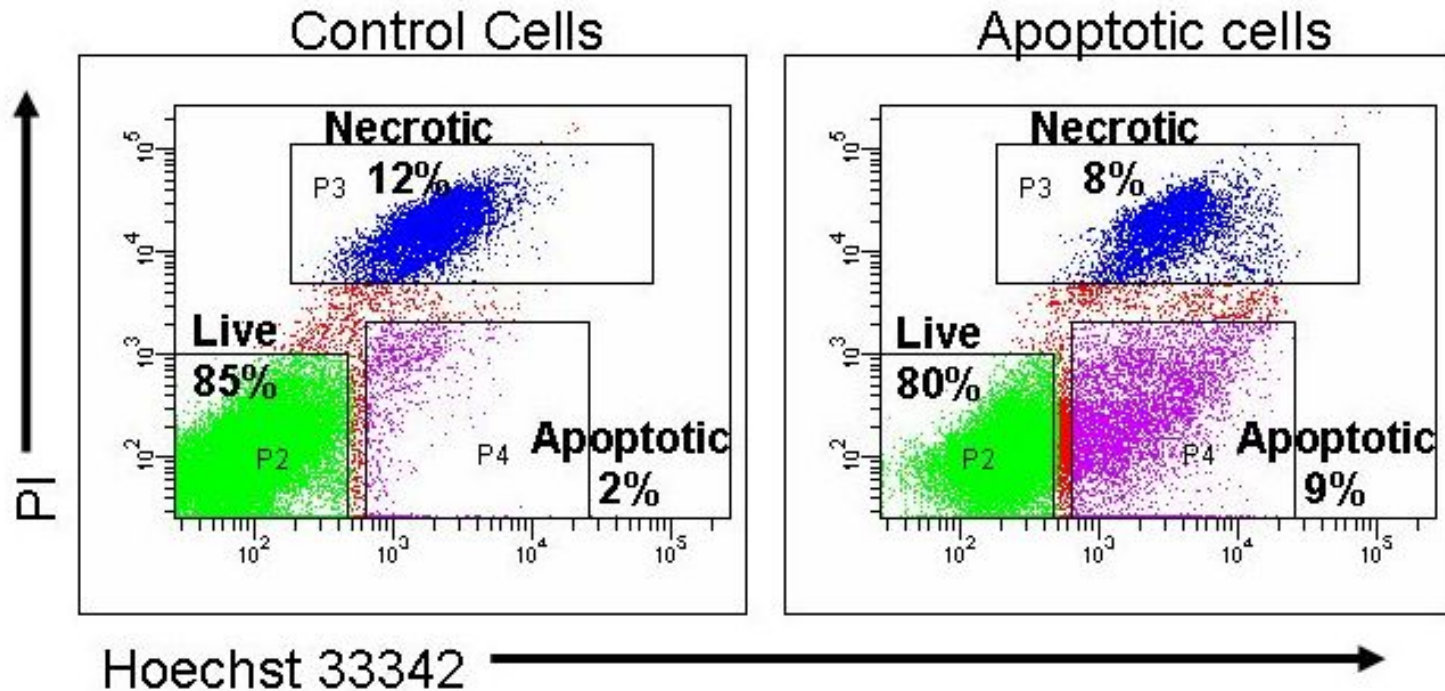
Проточная цитометрия



Распределение клеток по содержанию ДНК



Детекция апоптоза и некроза



Детекция апоптоза с помощью PI и H33342