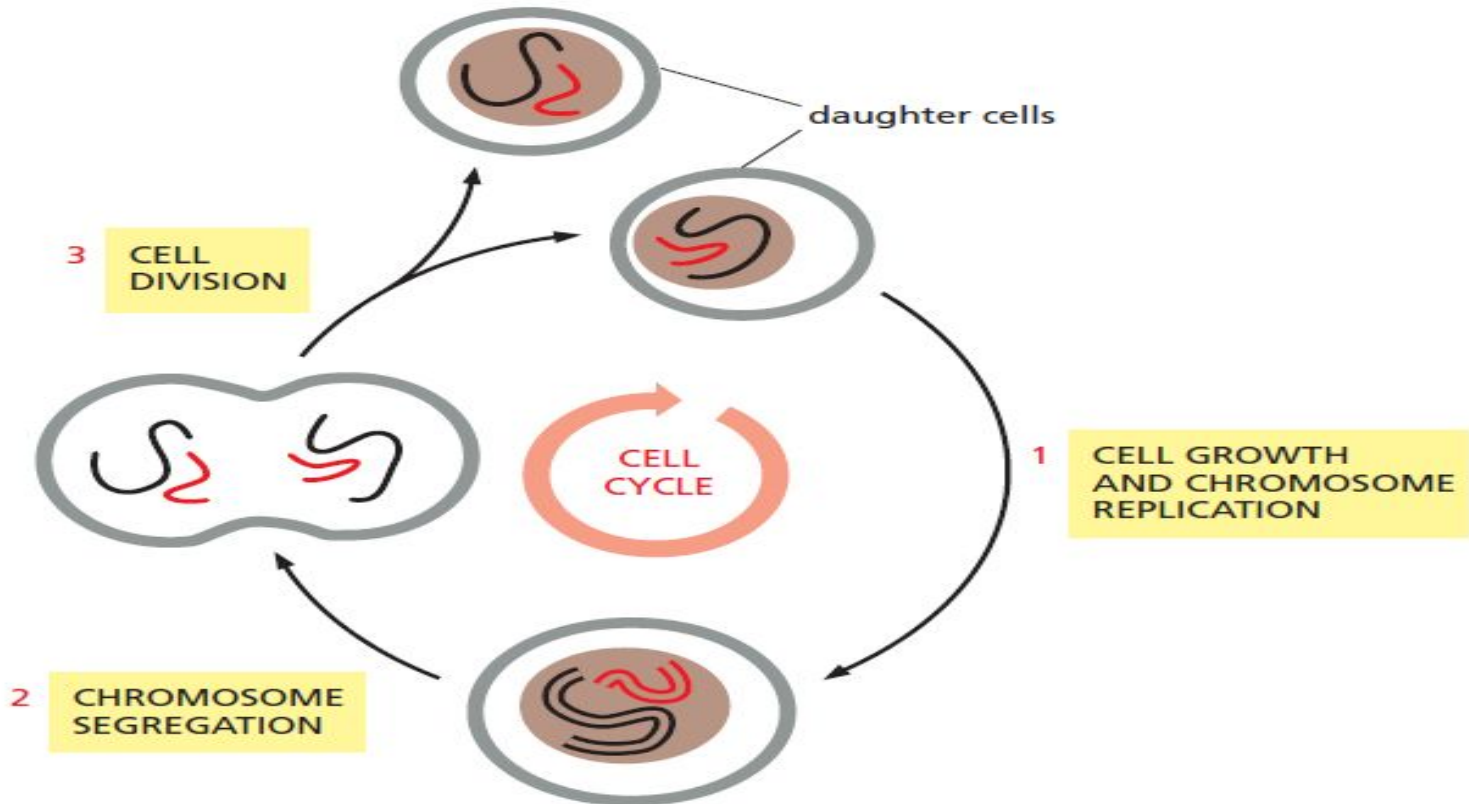
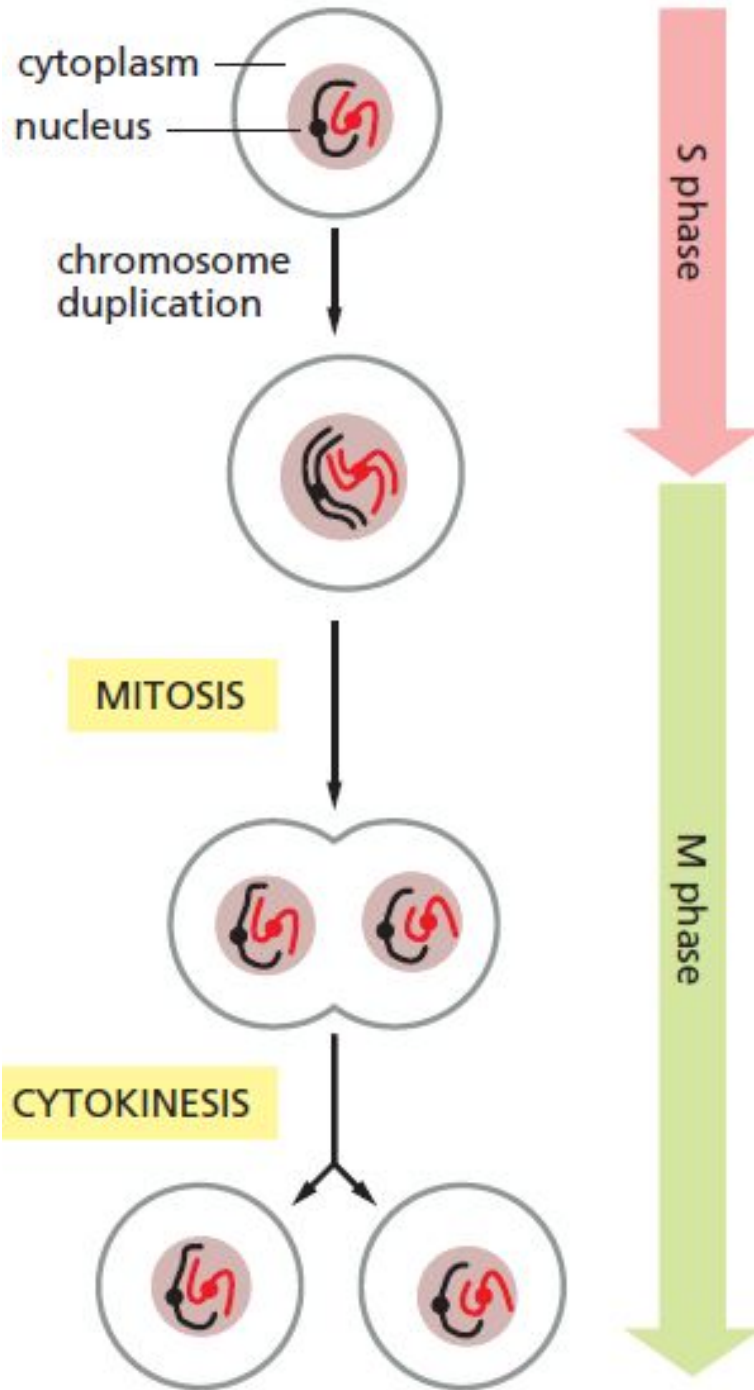
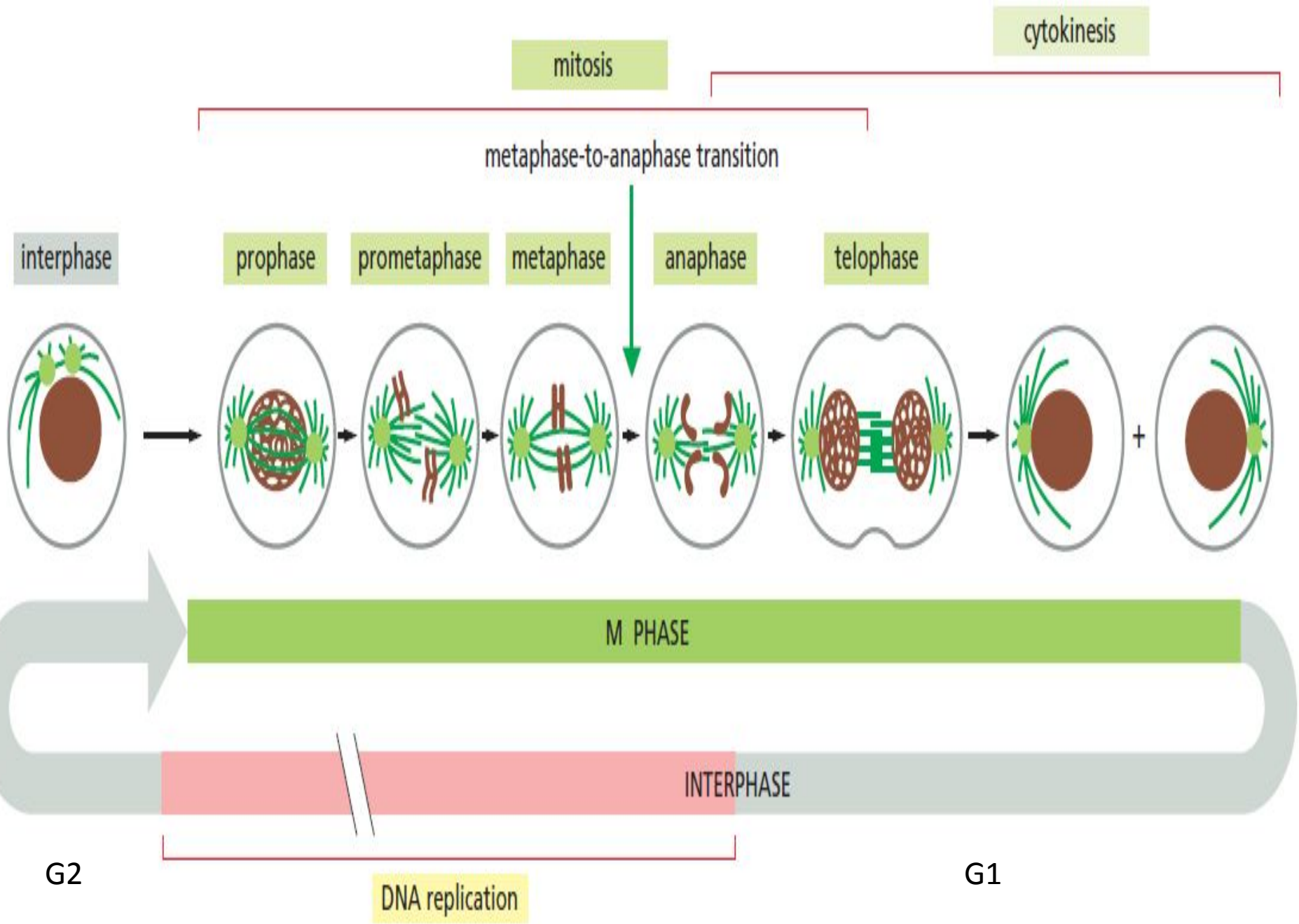


Регуляция Клеточного Цикла

- Каждая клетка происходит от родительской клетки.
- Клетки воспроизводятся, проходя через ряд упорядоченных событий, в результате которых они удваивают своё содержимое и затем делятся надвое.
- Такой цикл удвоения и деления известен как **клеточный цикл**.
- Основной задачей родительской клетки является правильная и полная дупликация клетки

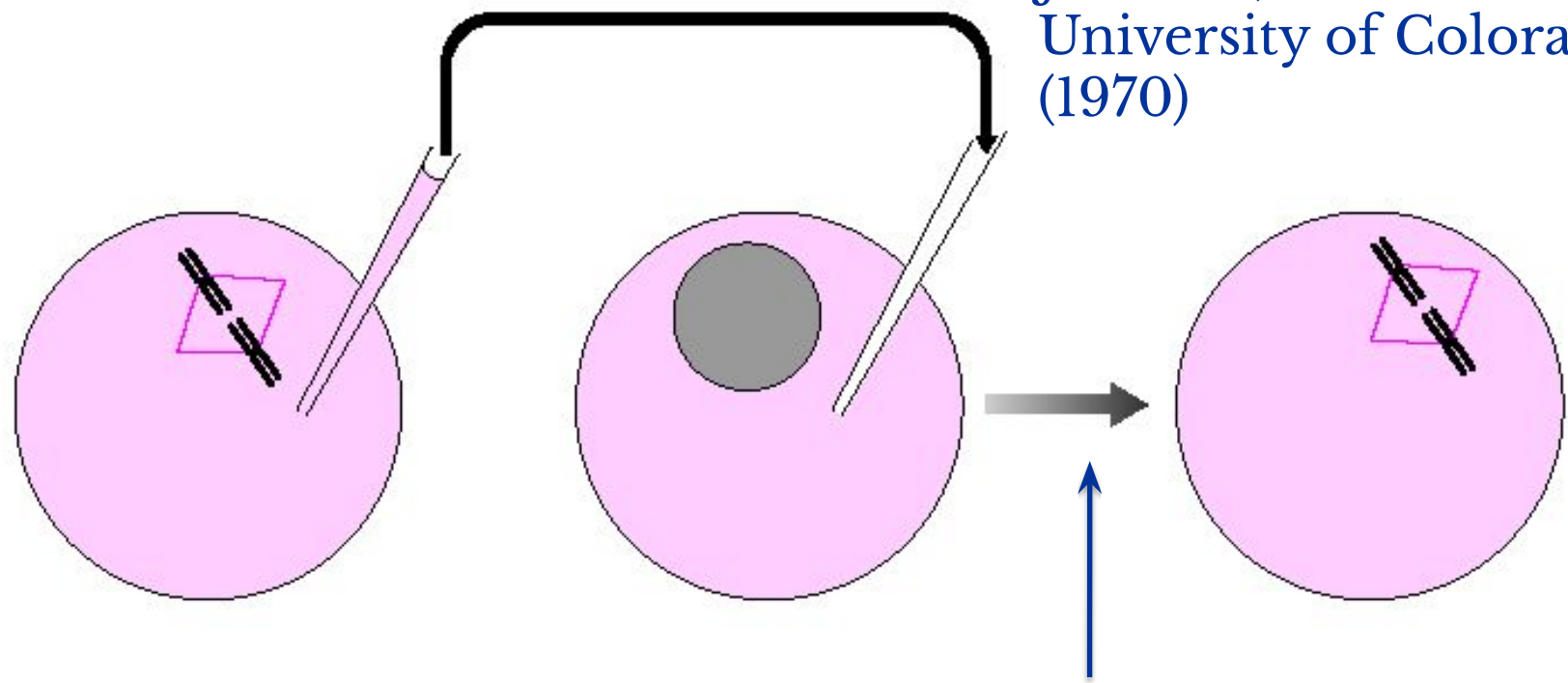






Перенос цитоплазмы из митотической клетки в интерфазную стимулирует вход интерфазной клетки в митоз

Potu Rao and Robert Johnson,
University of Colorado
(1970)



MPF - Maturation Promoting Factor

MPF = Cdk1 + Cyclin B

Cell Cycle Checkpoints...

Is all DNA replicated?

Is environment favorable?

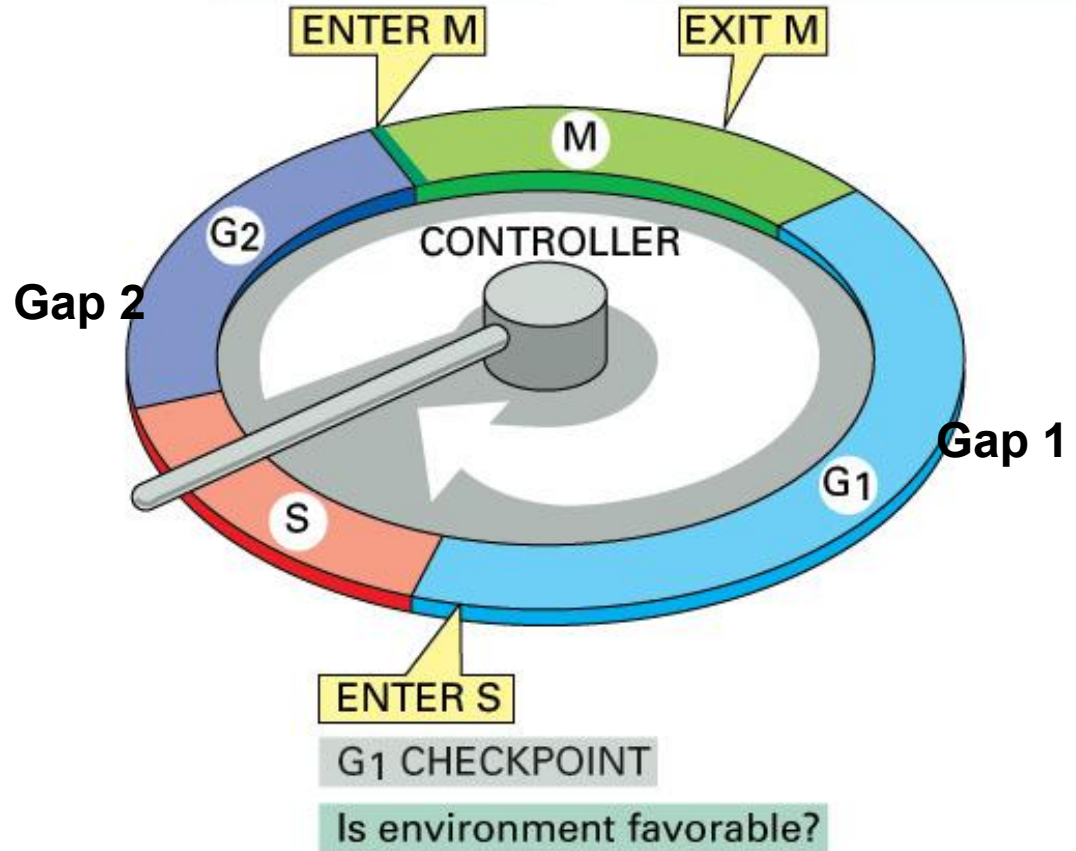
G₂ CHECKPOINT

Are all chromosomes attached to the spindle?

METAPHASE CHECKPOINT

ENTER M

EXIT M



Продвижение по клеточному циклу регулируется на разных стадиях.

Figure 17-14. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Cdk - cyclin-dependent kinases

Saccharomyces cerevisiae (budding yeast)

Schizosaccharomyces pombe (fission yeast)

Leland Hartwell (University of Washington) - working on budding yeast;

Paul Nurse (University of Oxford) working on fission yeast.

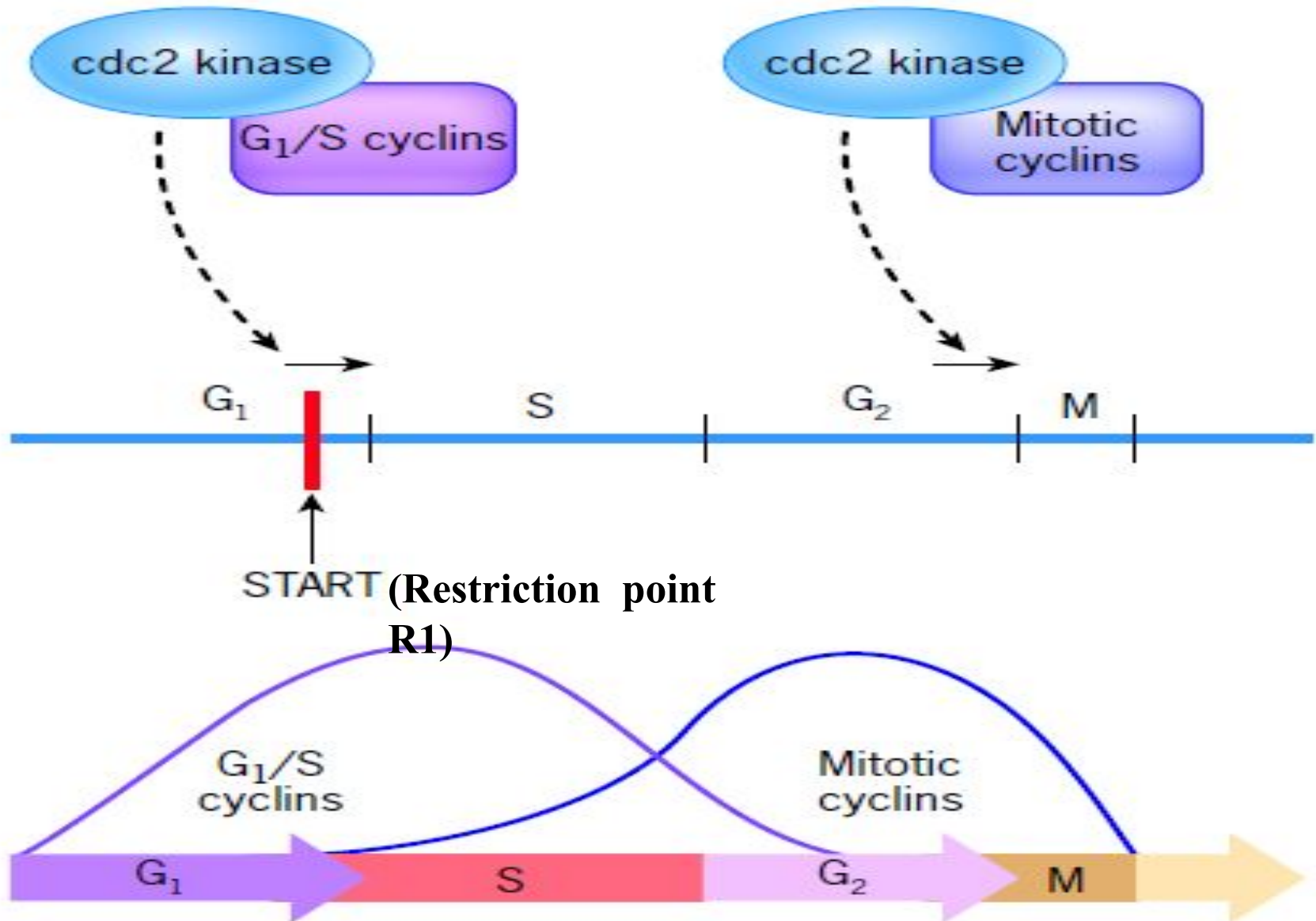


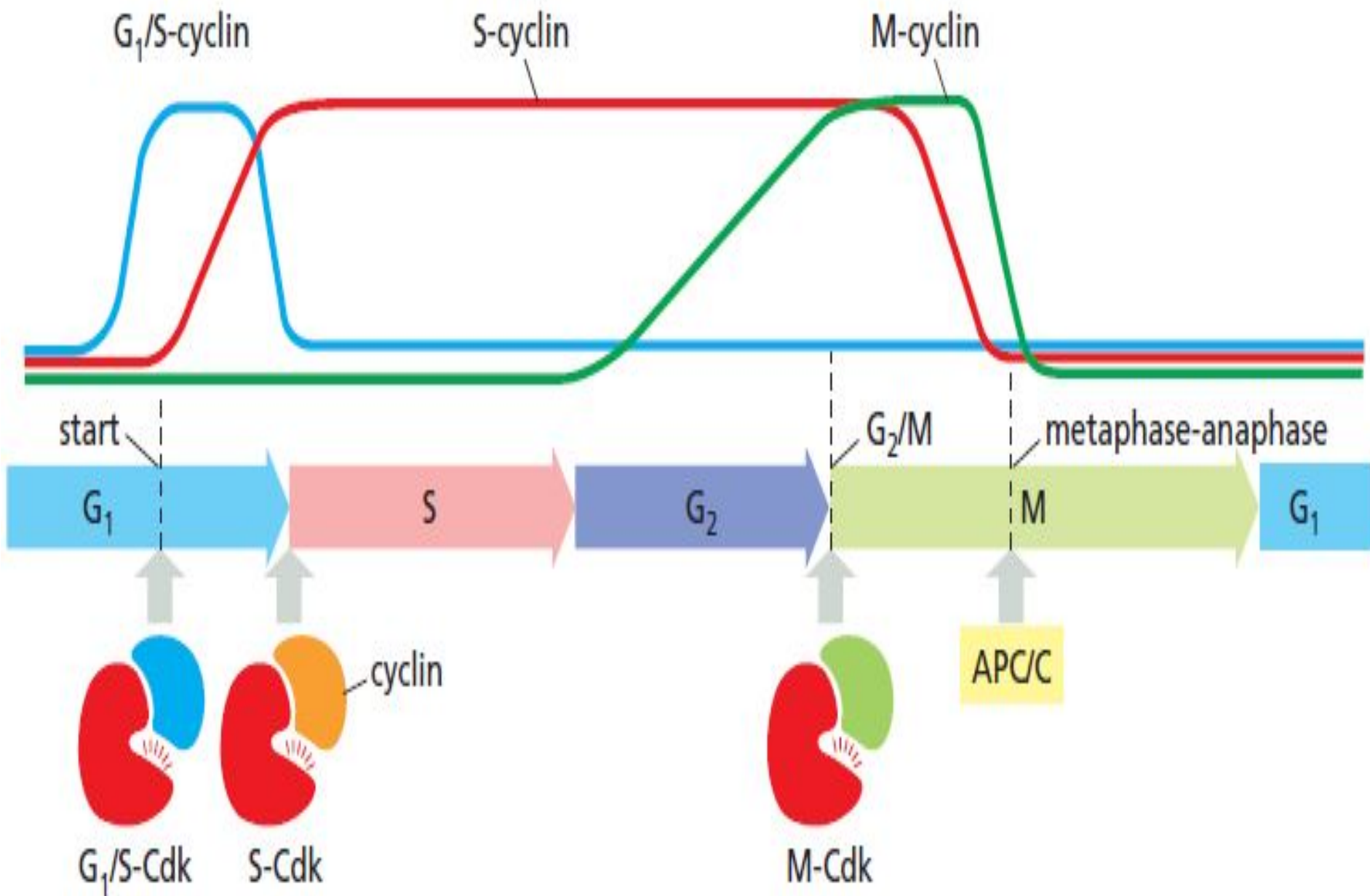
Cdc2 – каталитическая активность =
cdk

Активная Cdk фосфорилирует комплекс мишеней,
участвующих в начале митоза (белки хромосом, ядерной
оболочки,
ядрышка, центросом и т.д.)

Связывание циклина с Cdk's открывает в киназе каталитический
сайт

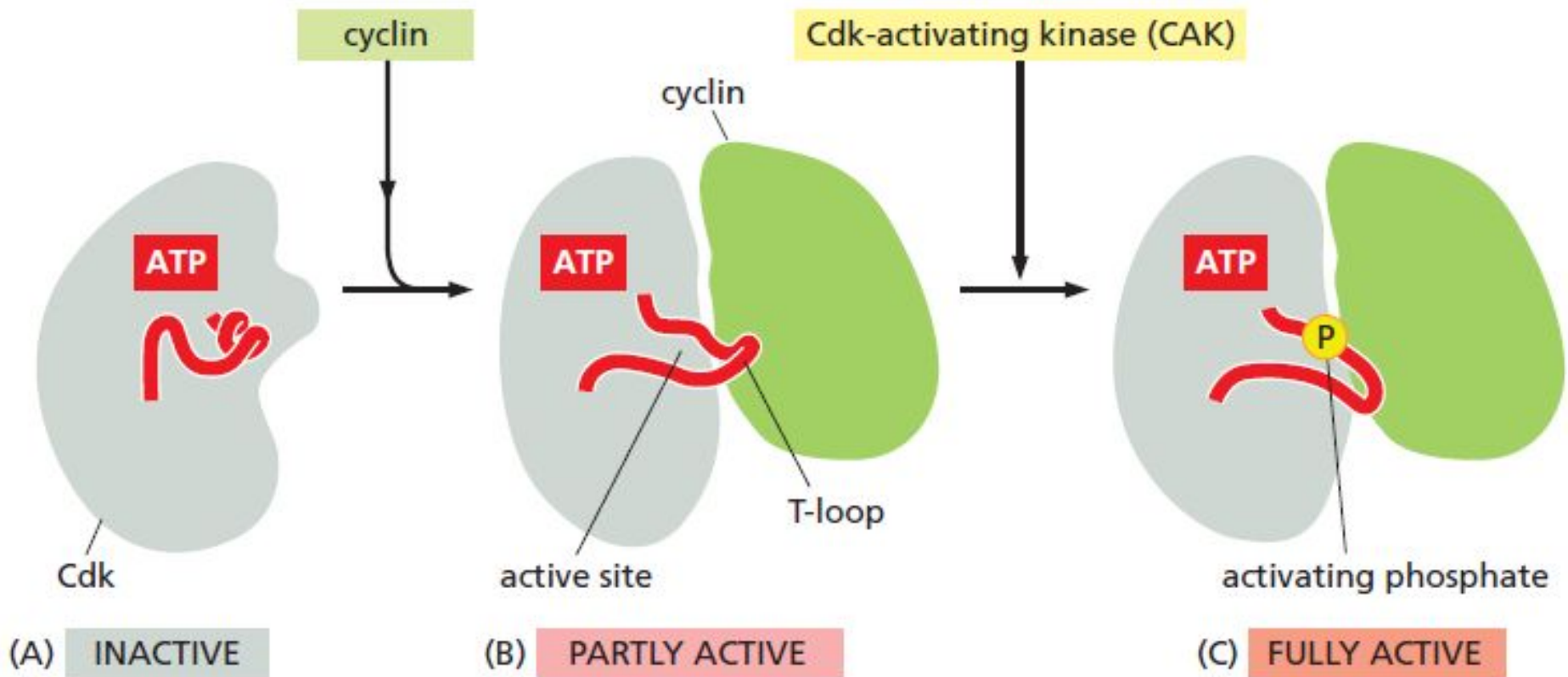
A simplified model for cell cycle regulation in fission yeast

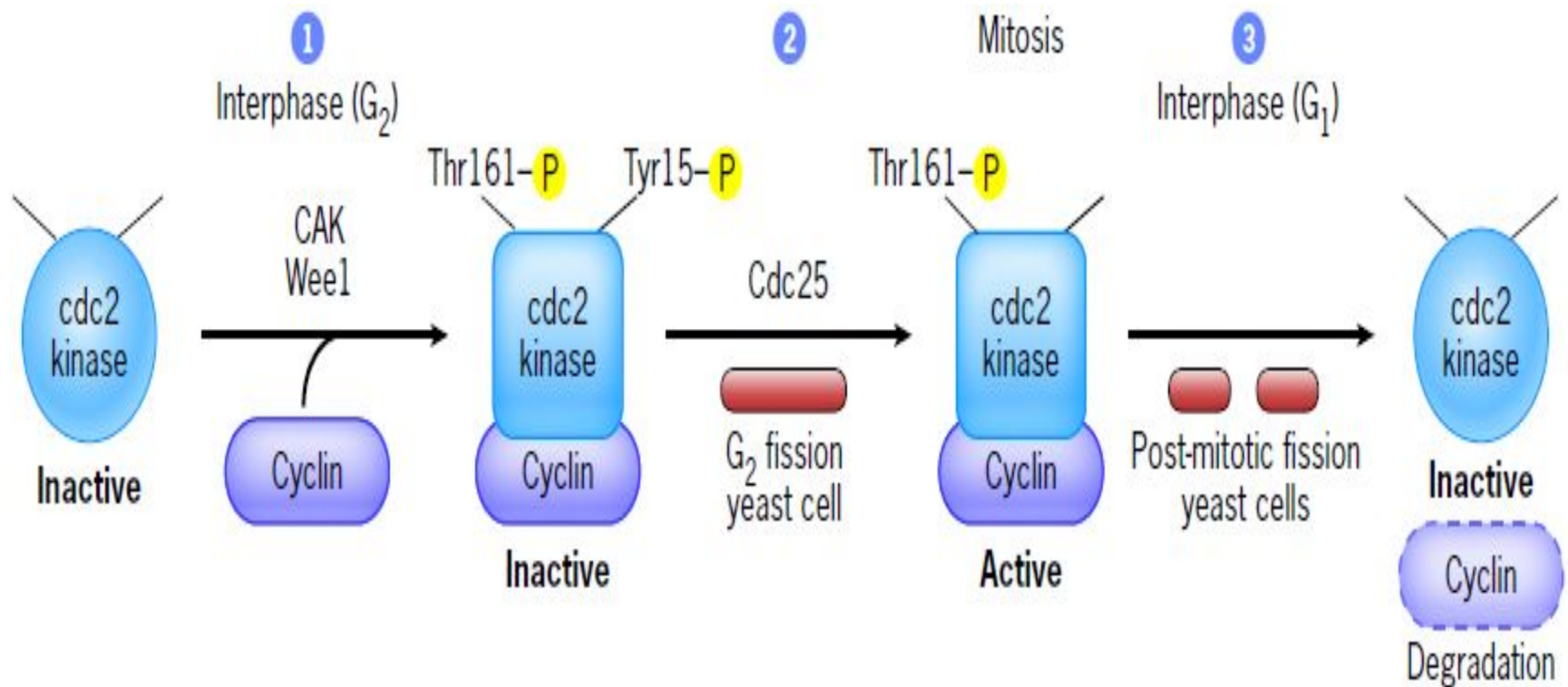
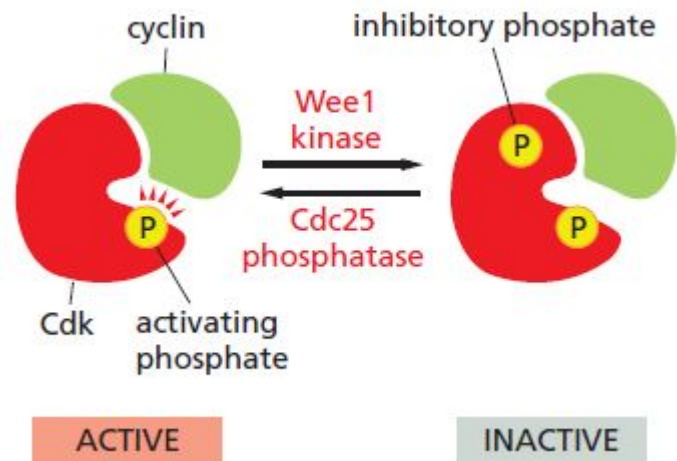
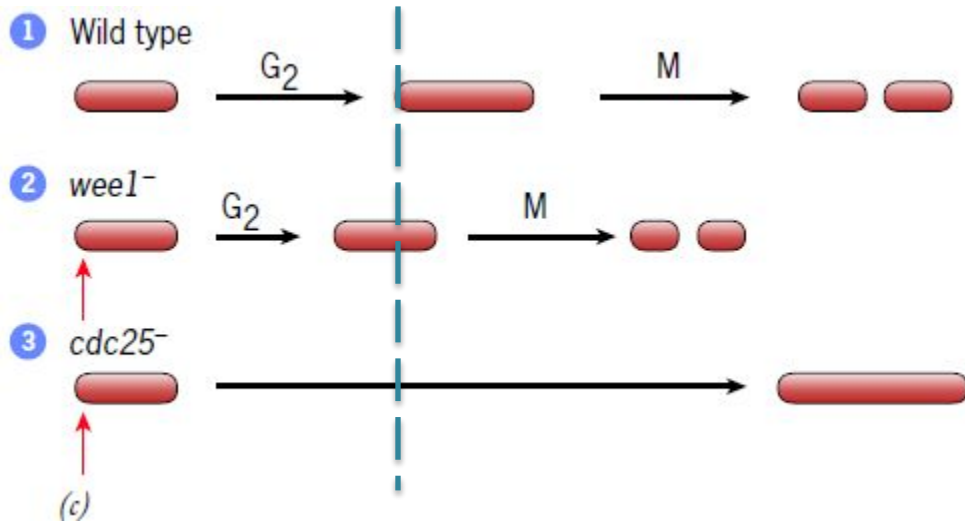




Cdk Phosphorylation/dephosphorylation

Cdk2 and cyclin A

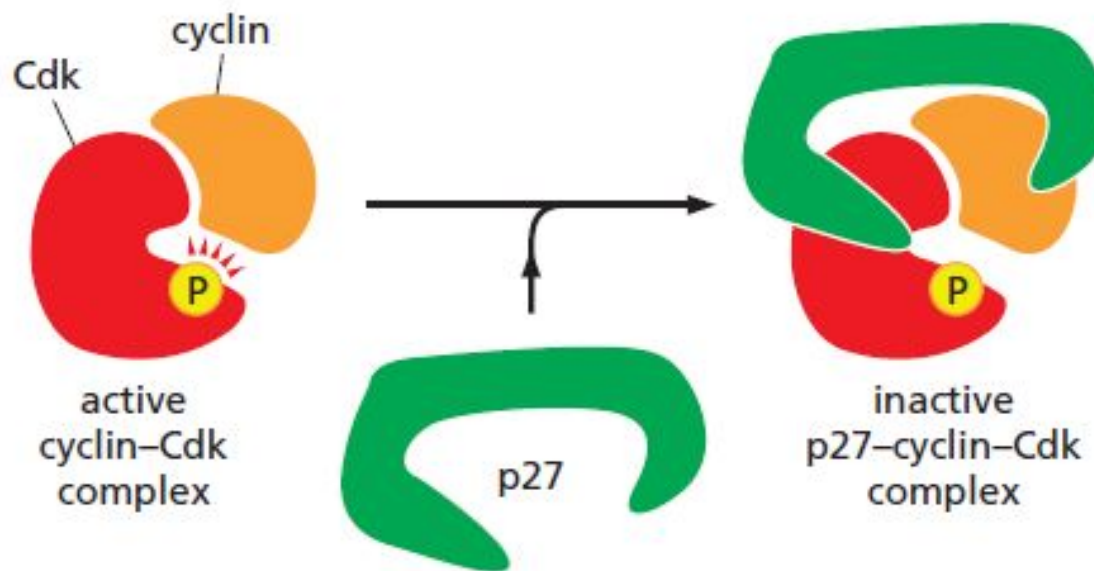




The inhibition of a cyclin–Cdk complex by a CKI (Cdk inhibitor proteins)

Сyclin A–Cdk2 complex связанный с CKI p27, как определено из структурного анализа.

The p27 связывается в комплексе как с циклином, так и с Cdk, разрушая активный сайт Cdk.



metaphase-to-anaphase transition

Продвижение через R1 (START) и через G2/M (R2) идет посредством активации Cyclin-Cdk комплексов;

Продвижение metaphase-to-anaphase (R3) запускается протеолизом определенных белков, что приводит к финальной стадии клеточного деления

Anaphase promoting complex, or cyclosome (APC/C) = ubiquitin ligase

APC/C катализирует убиквитинирование:

- **securin** (удержание сестринских хроматид);
- **S- и M-ЦИКЛИНОВ** (это приводит к инактивации большинства CDK, в результате чего множество белков, фосфорилированных CDK'ми от S- до начала митоза, дефосфорилируются различными фосфатазами к анафазе, что ведет к завершению митоза и цитокинезу)

ubiquitin ligase **SCF**

SCF убиквитинирует:

Определенные SKI в поздней G1, что позволяет активировать S-Cdk's и запустить репликацию DNA.

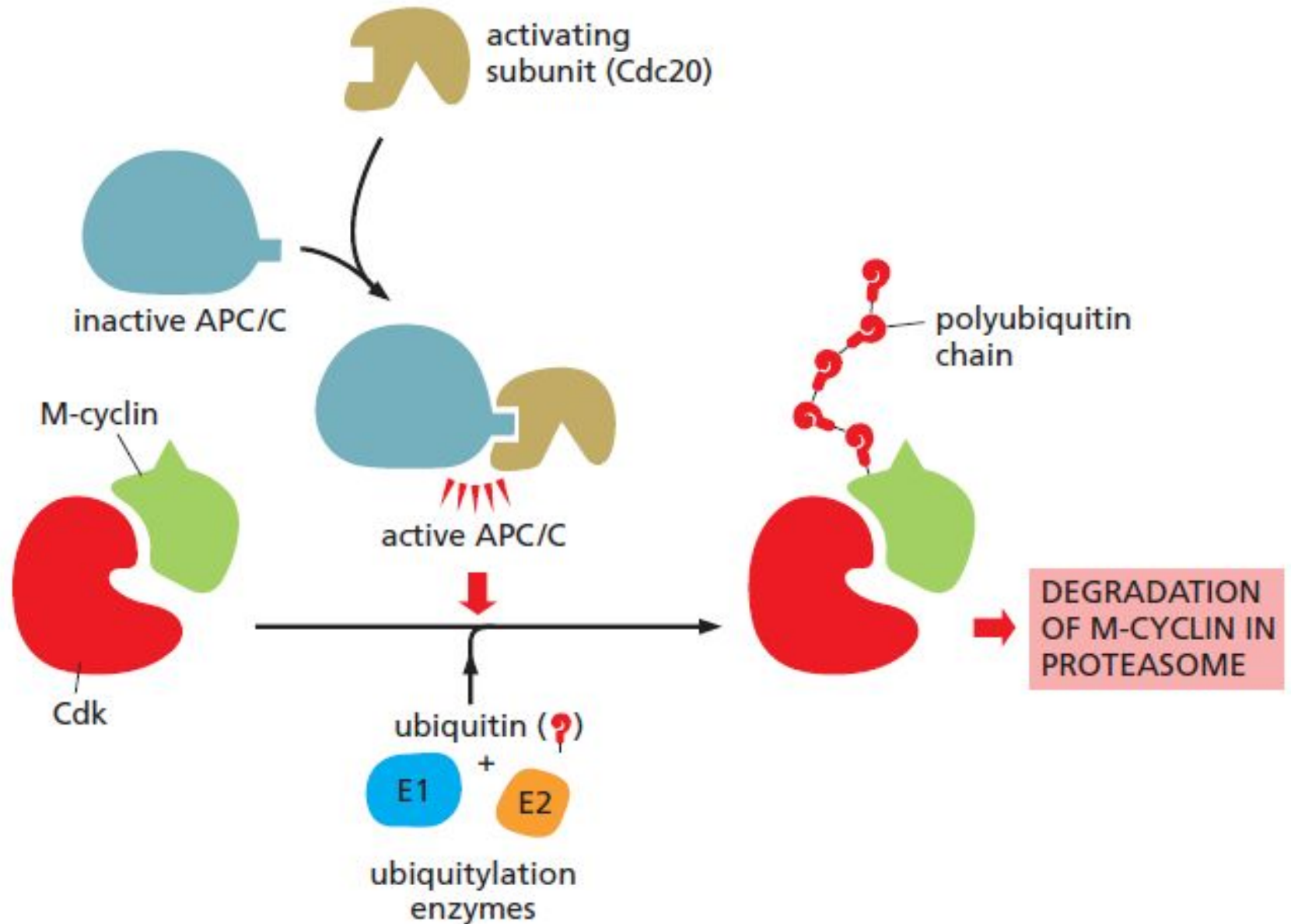
SCF так же разрушает G1/S-cyclins в ранней S phase.

APC/C и **SCF** регулируются по-разному.

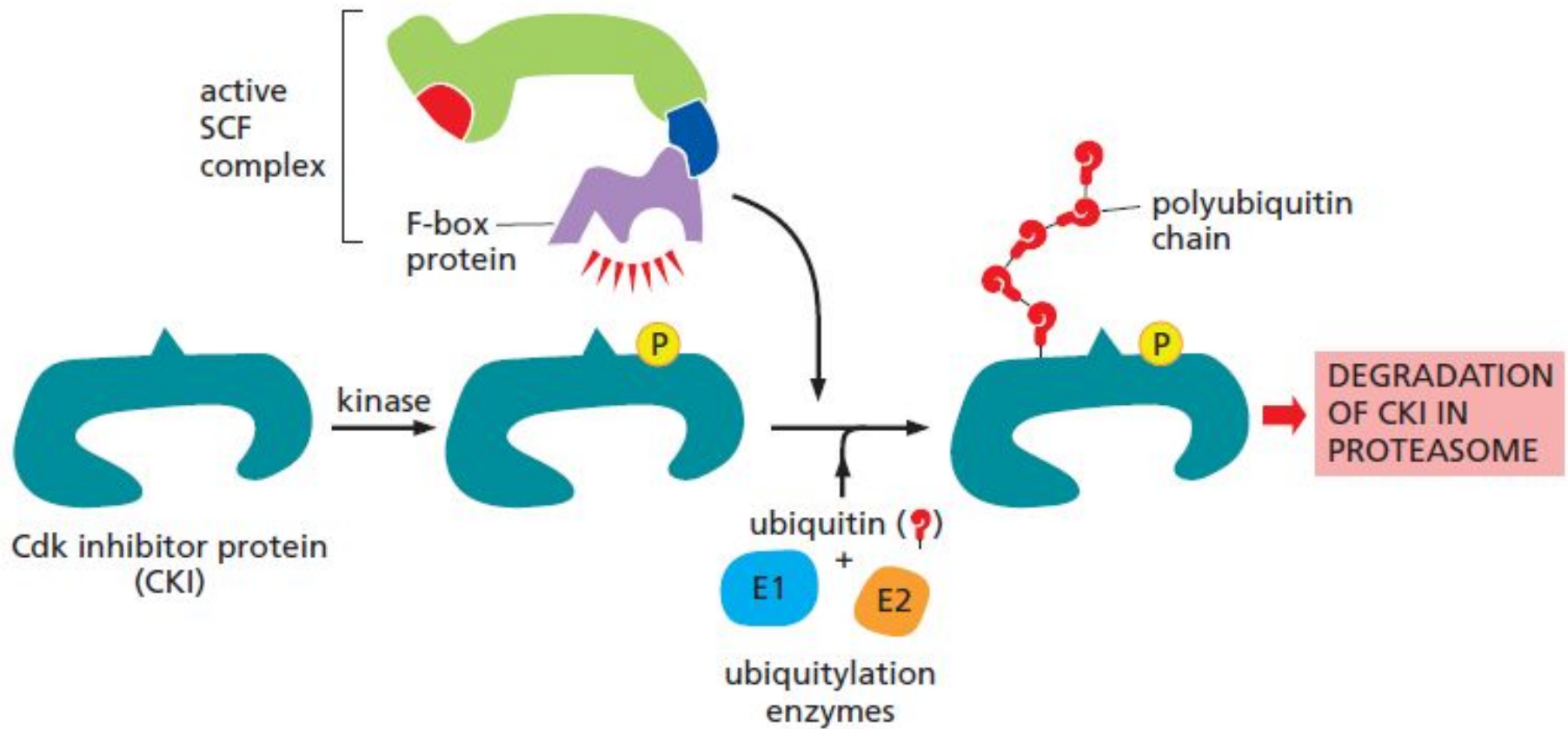
APC/C регулируется связыванием с ней либо **cdc20** (середина митоза), либо **cdh1** (поздняя M- G1);

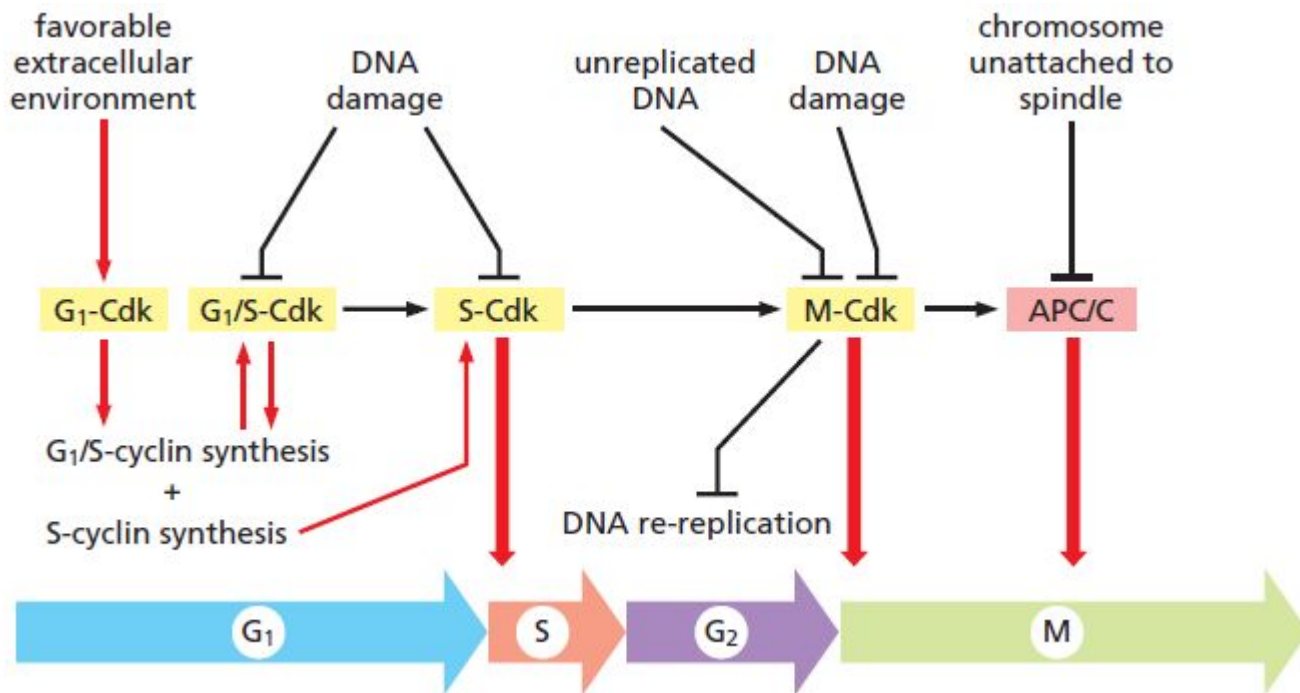
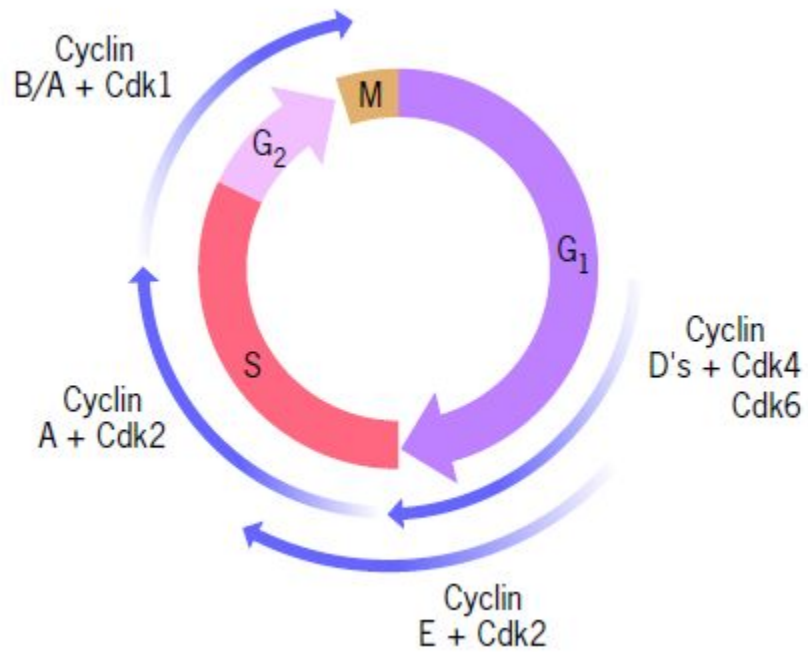
Активность **SCF** постоянна, но регулирование идет за счет фосфорилирования её мишеней

(A) control of proteolysis by APC/C

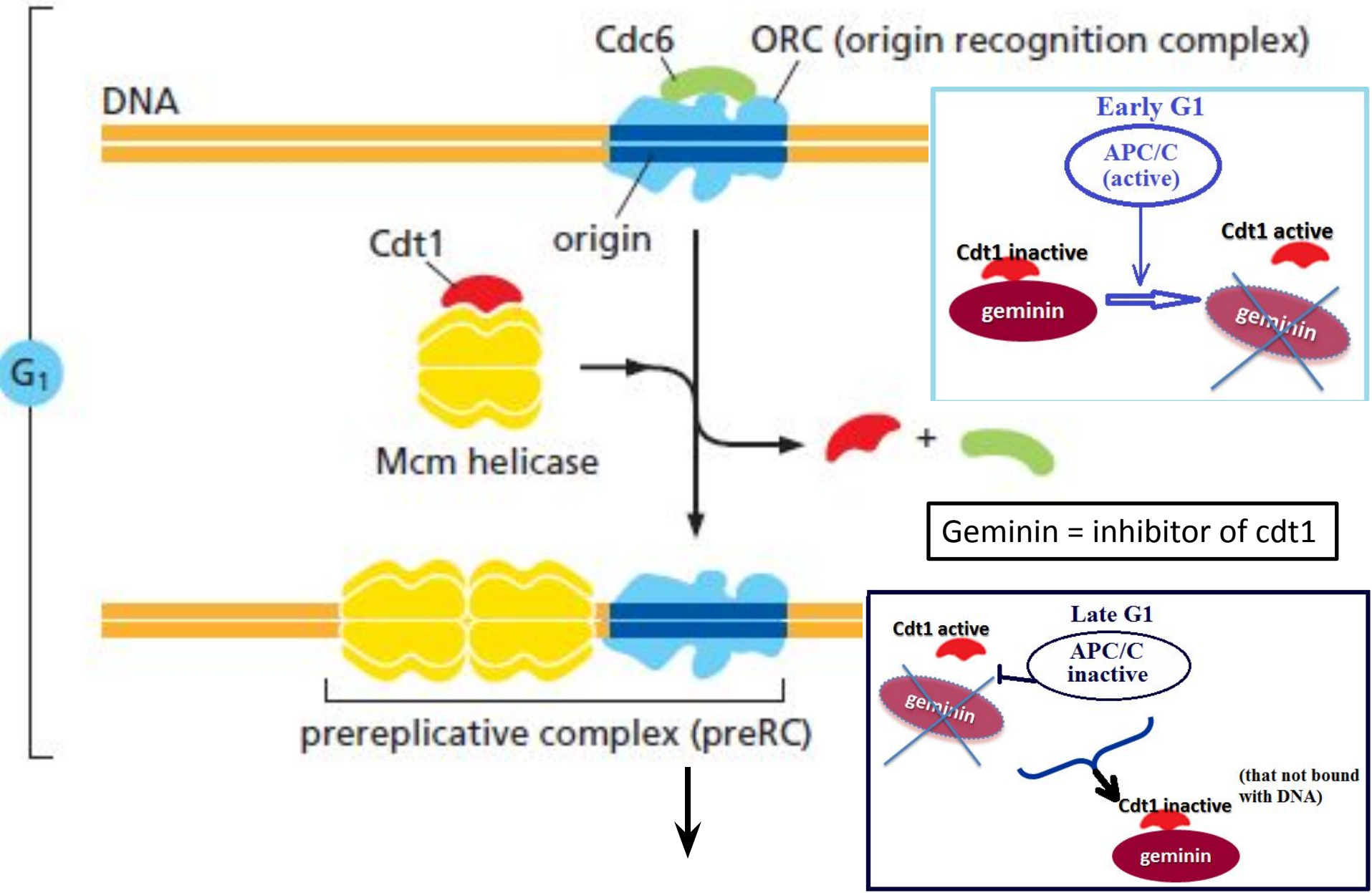


(B) control of proteolysis by SCF

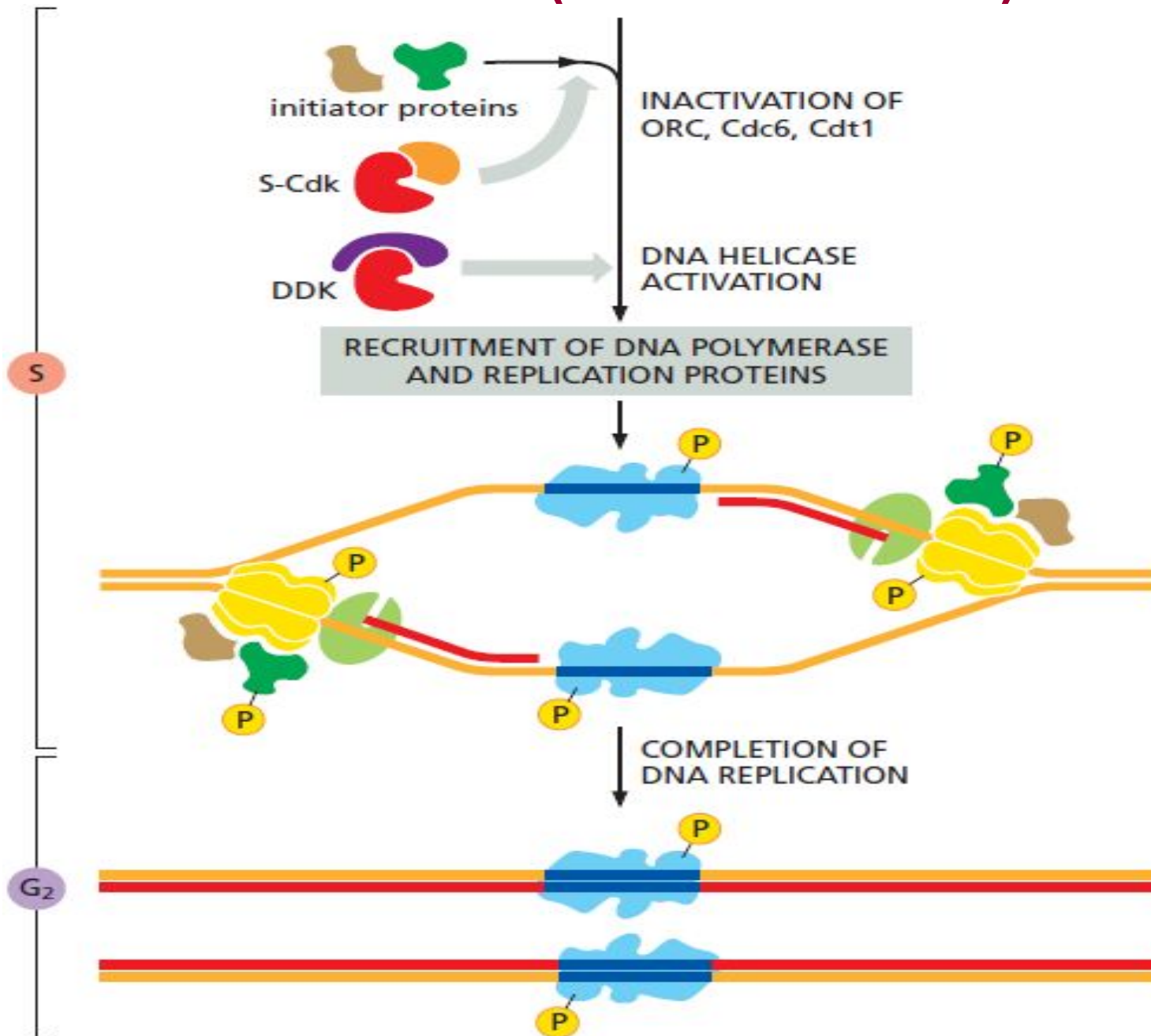




S PHASE

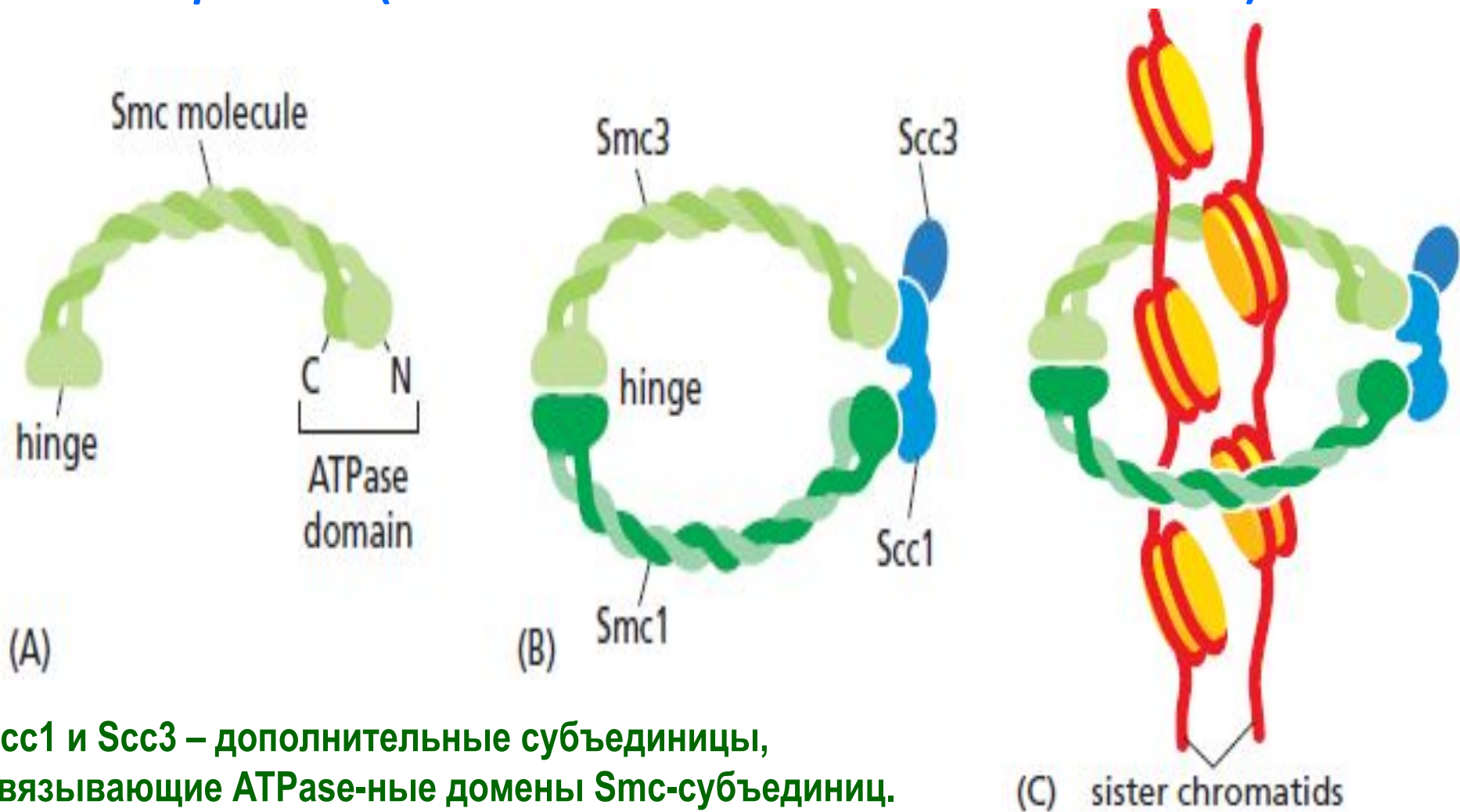


S PHASE (continuation)



Cohesin

SMC proteins (Structural Maintenance of Chromosomes)

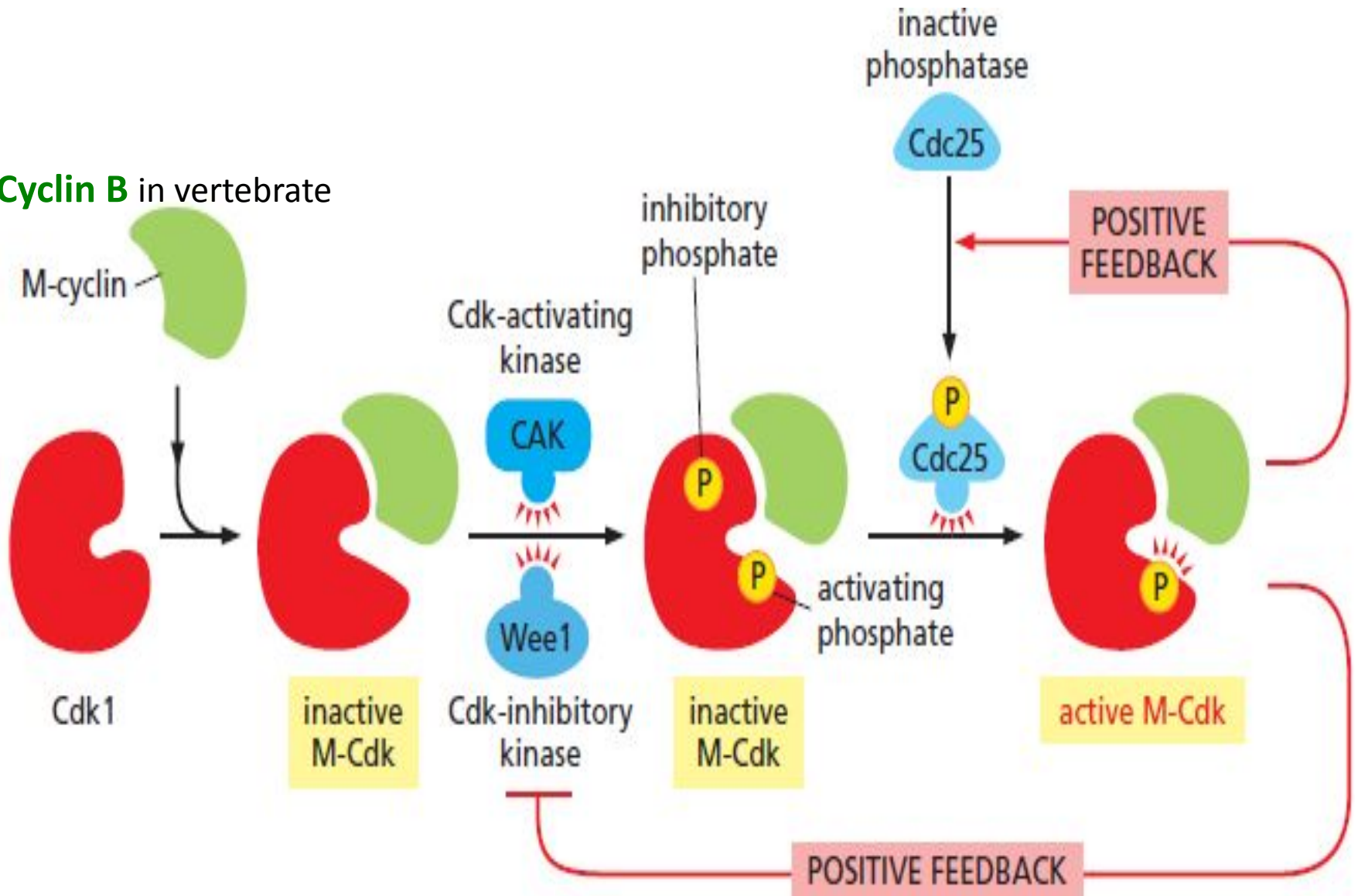


Scc1 и Scc3 – дополнительные субъединицы, связывающие ATPase-ные домены Smc-субъединиц.

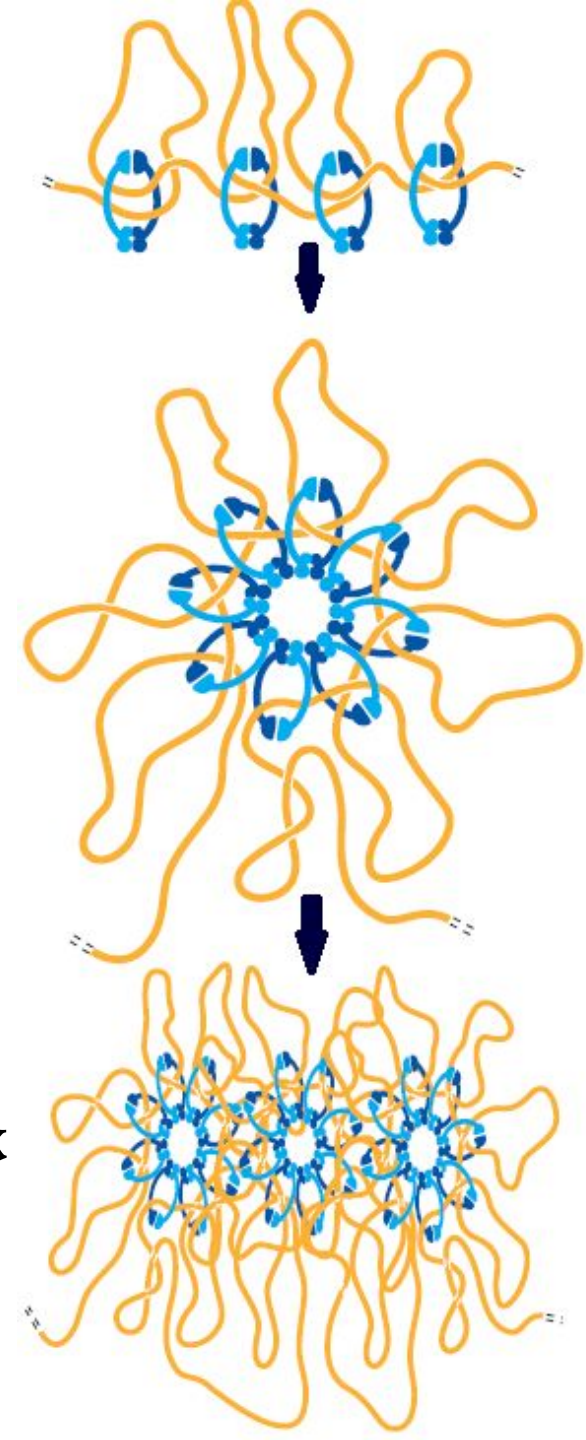
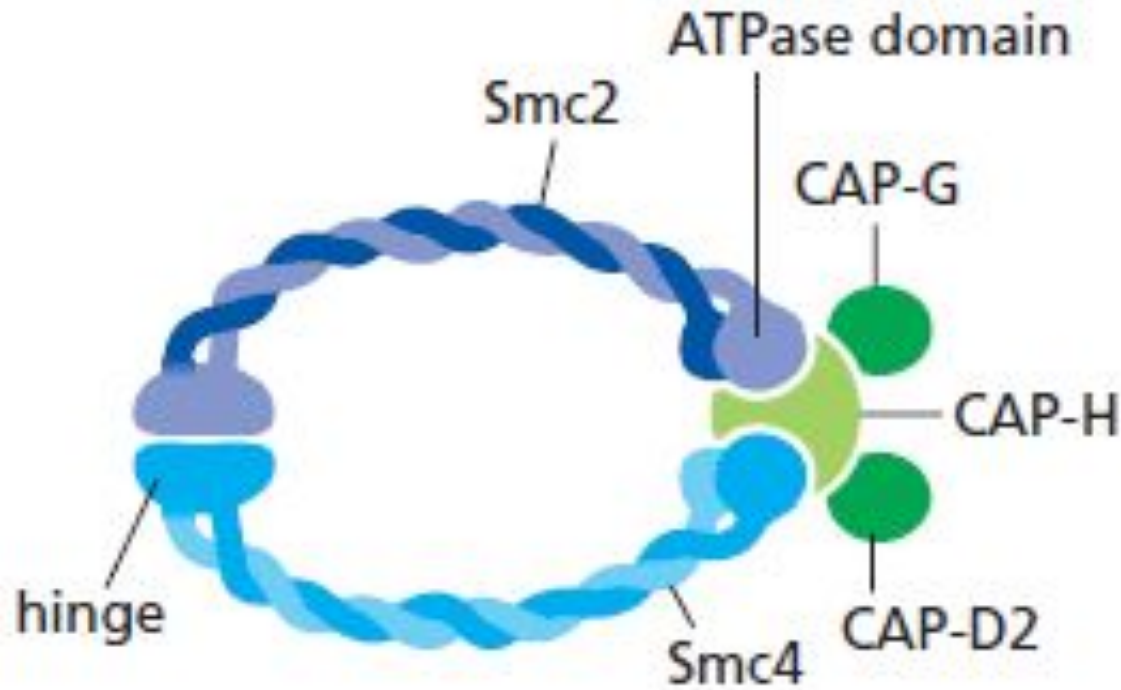
ATPase-ные домены необходимы для загрузки когезина на ДНК

MITOSIS

Cyclin B in vertebrate

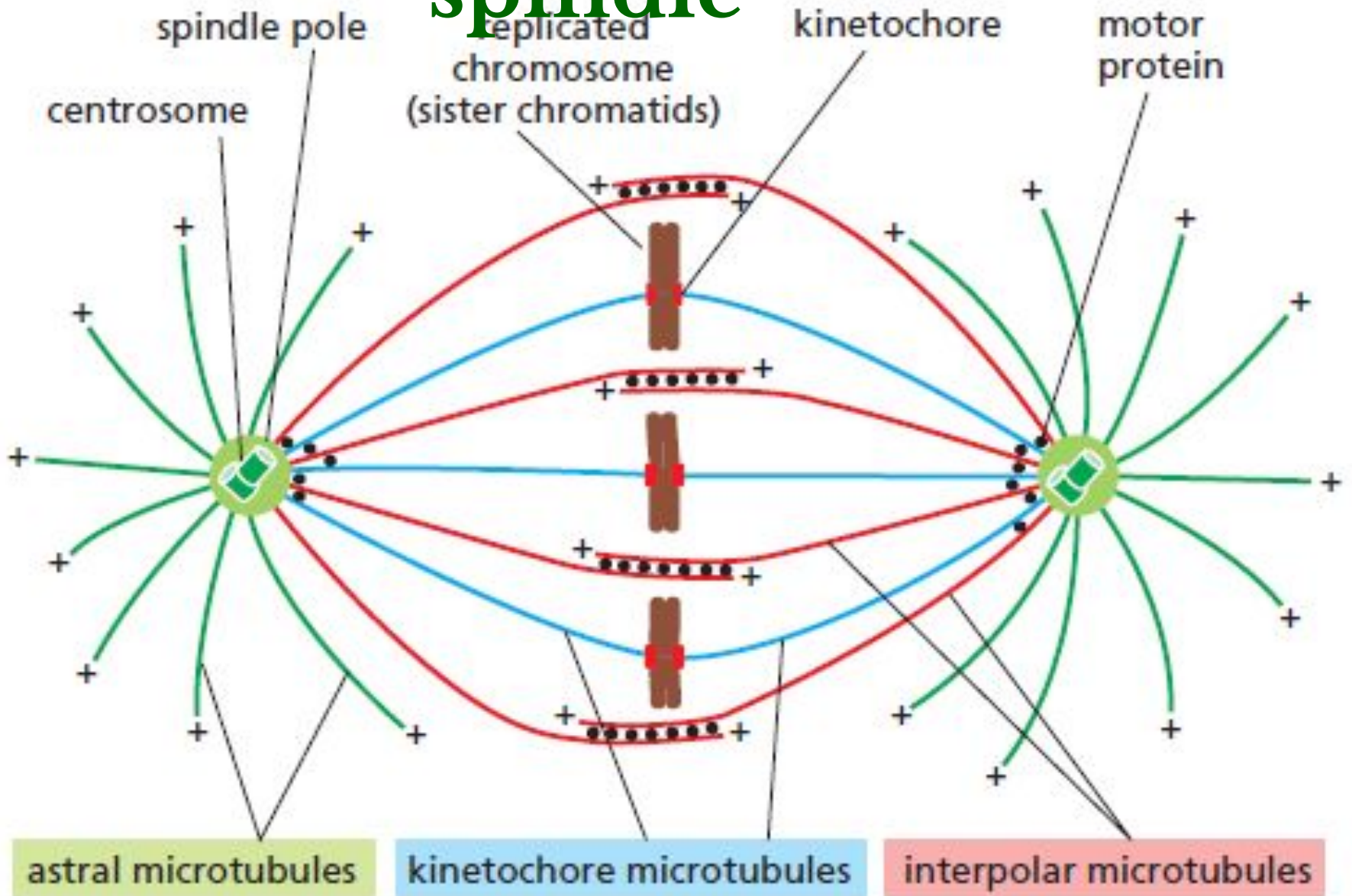


MITOSIS: Condensins

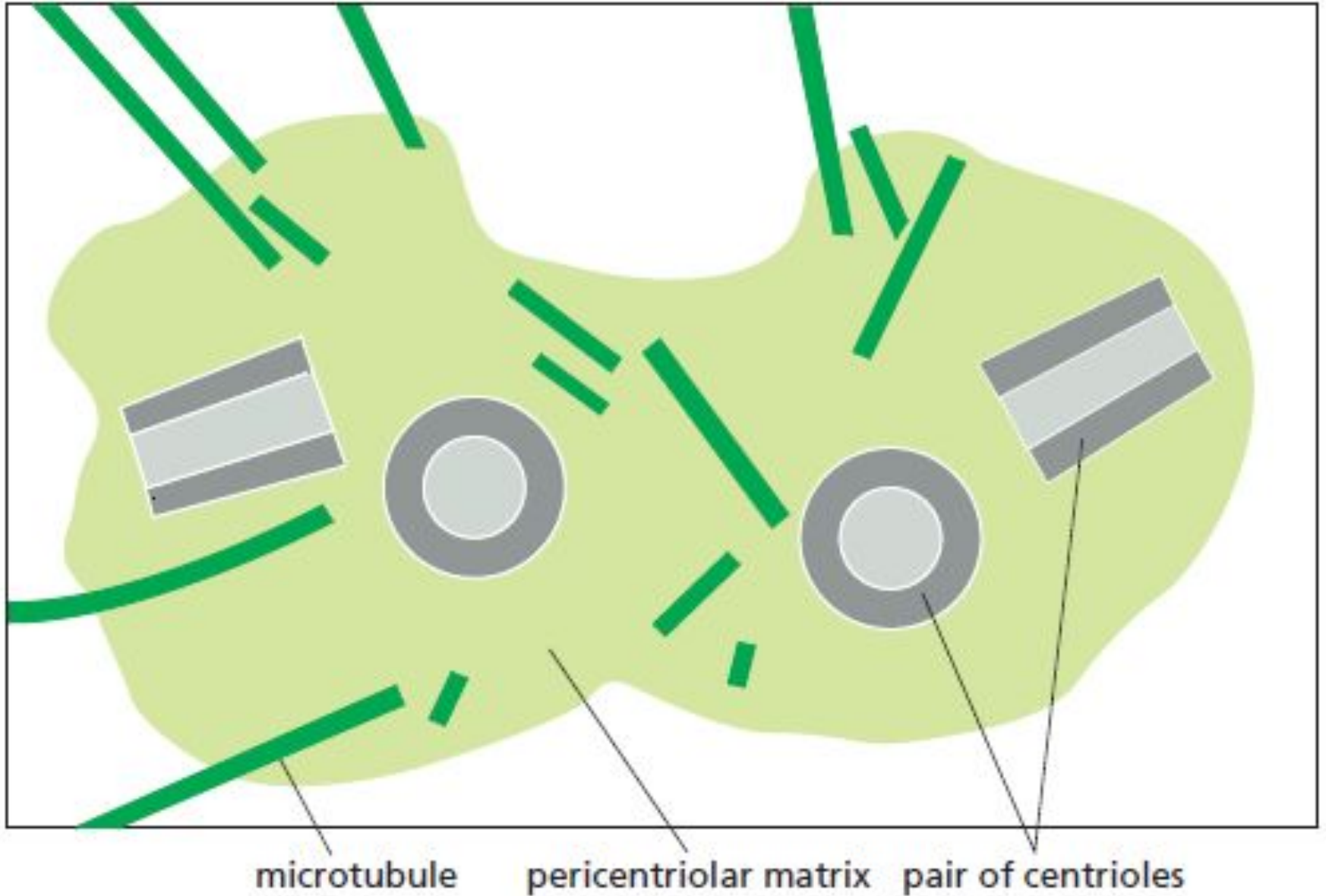


Фосфорилирование конденсинов комплексом **Cyclin B - Cdk** активирует их и стимулирует образование петлевых структур в ДНК

Mitotic spindle

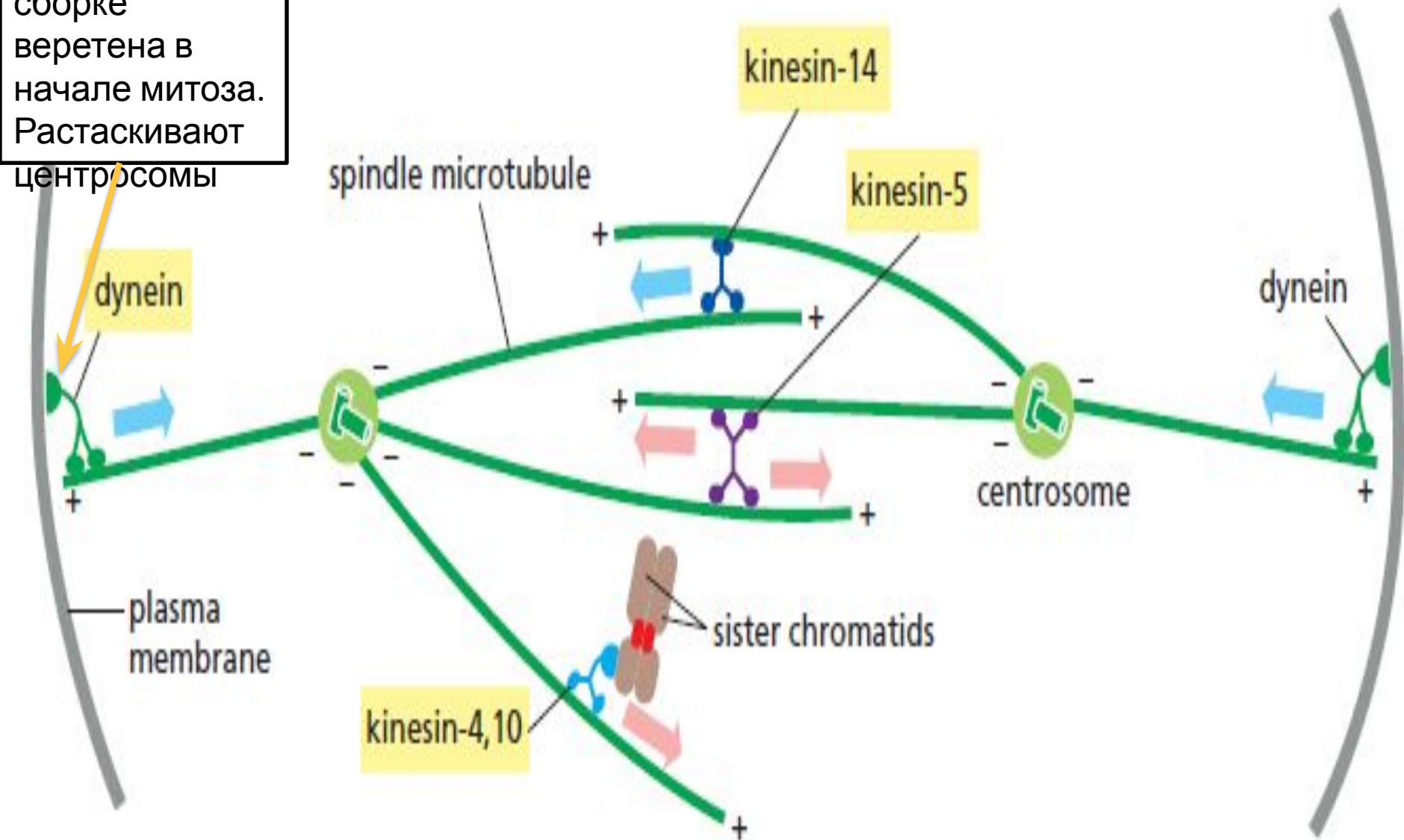


centrosome

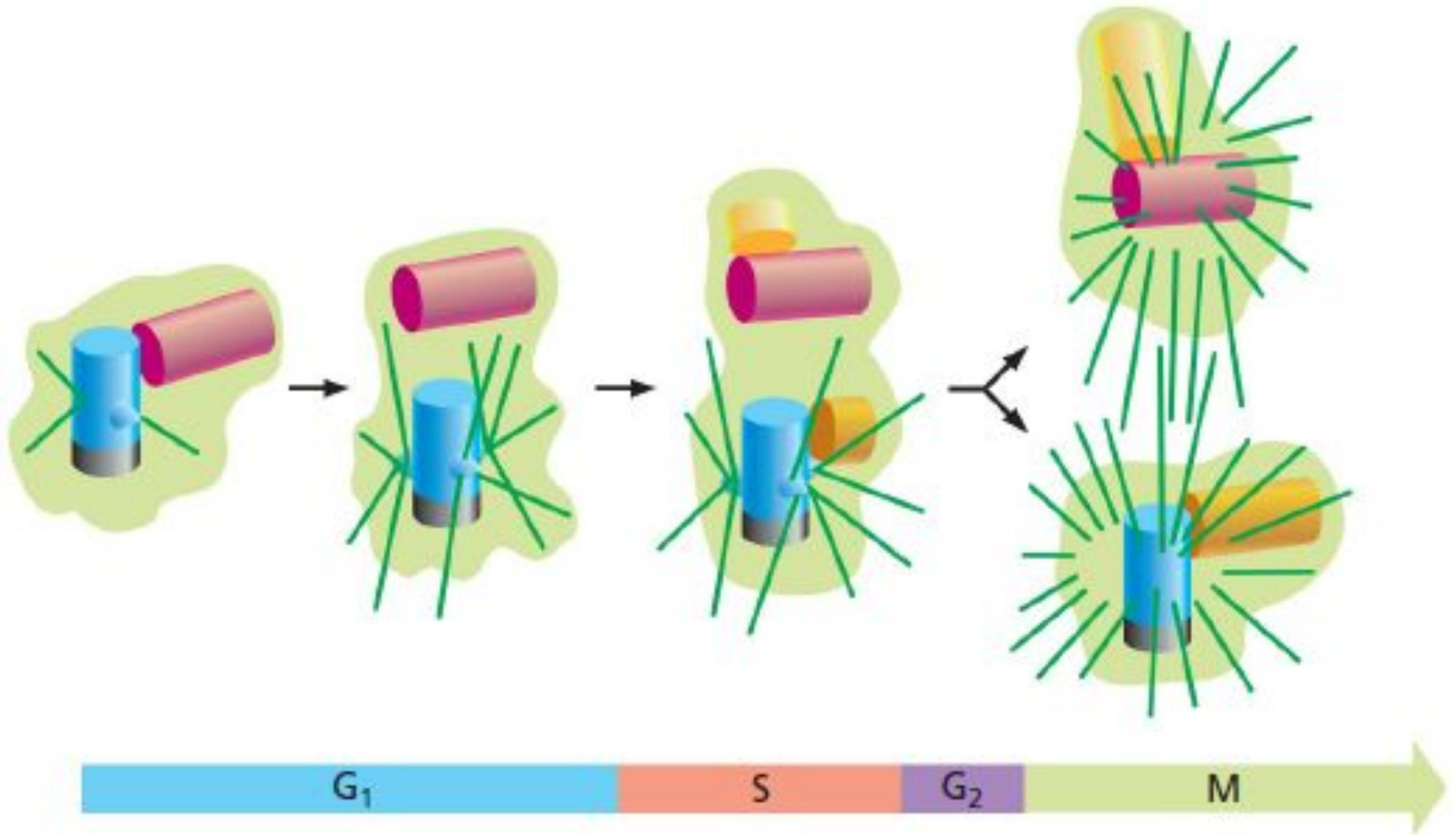


Major motor proteins of the spindle

Участвуют в сборке веретена в начале митоза. Растаскивают центросомы

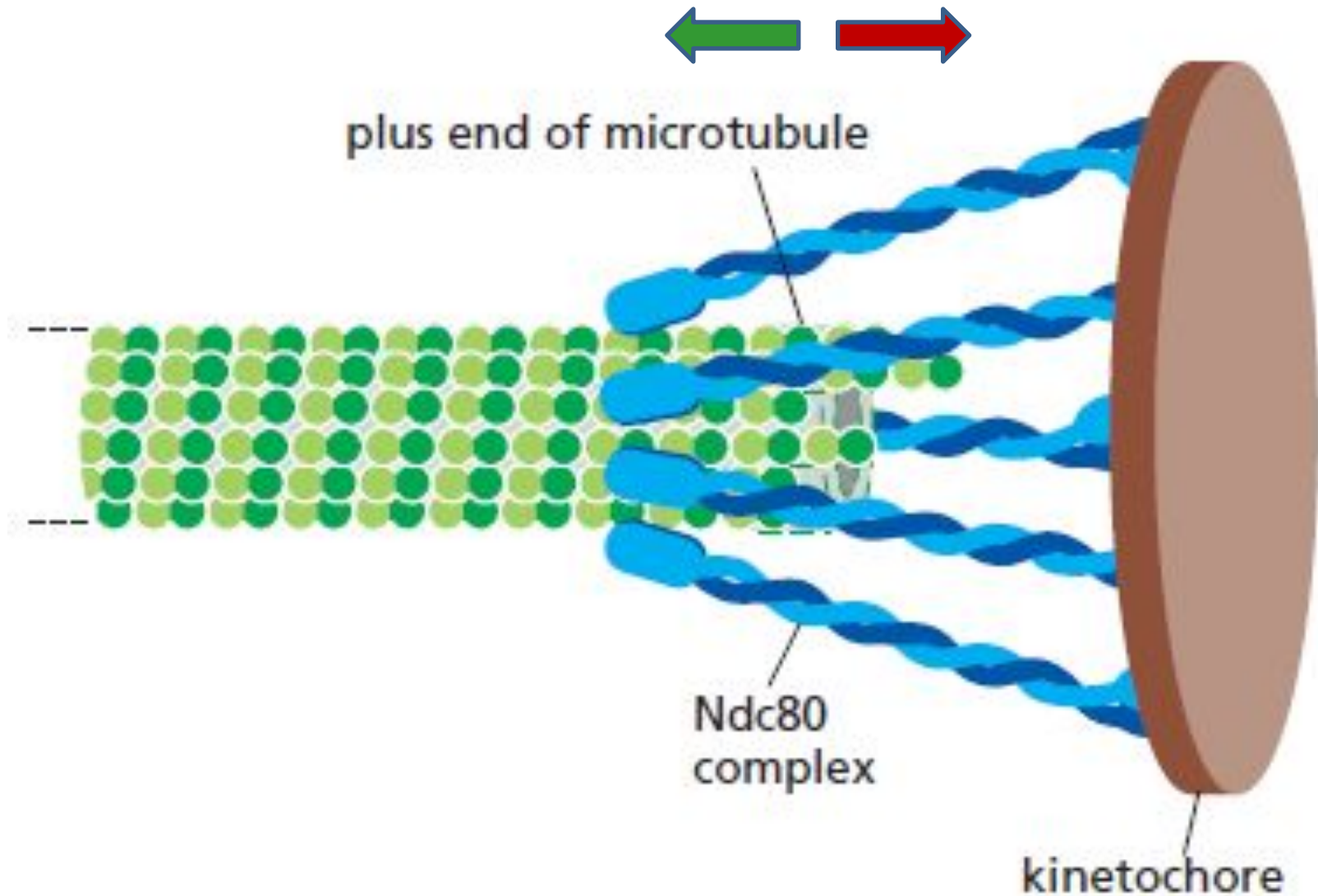


Полуконсервативный механизм дупликации центросом

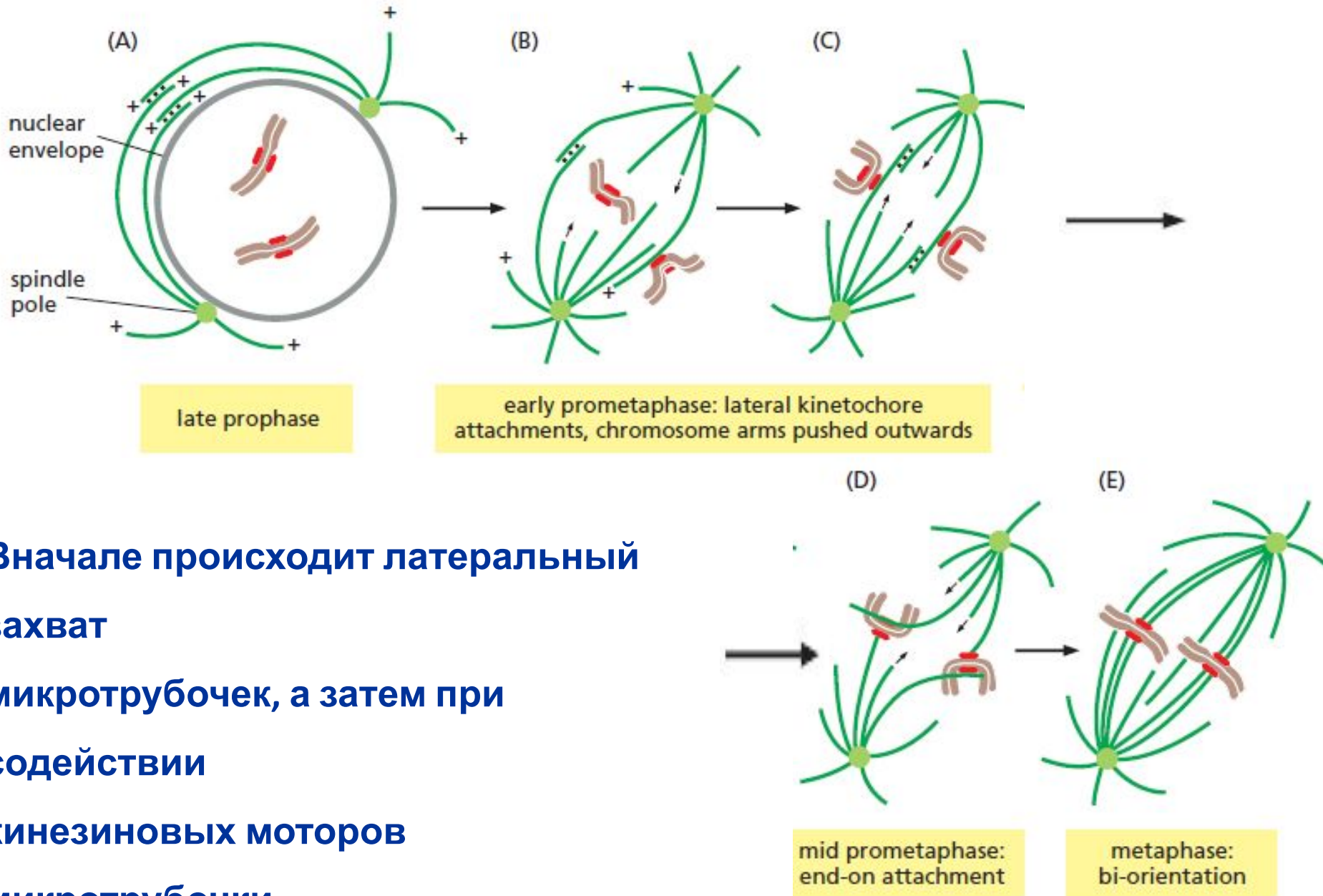


Kinetochores

polymerization and depolymerization
of the microtubule

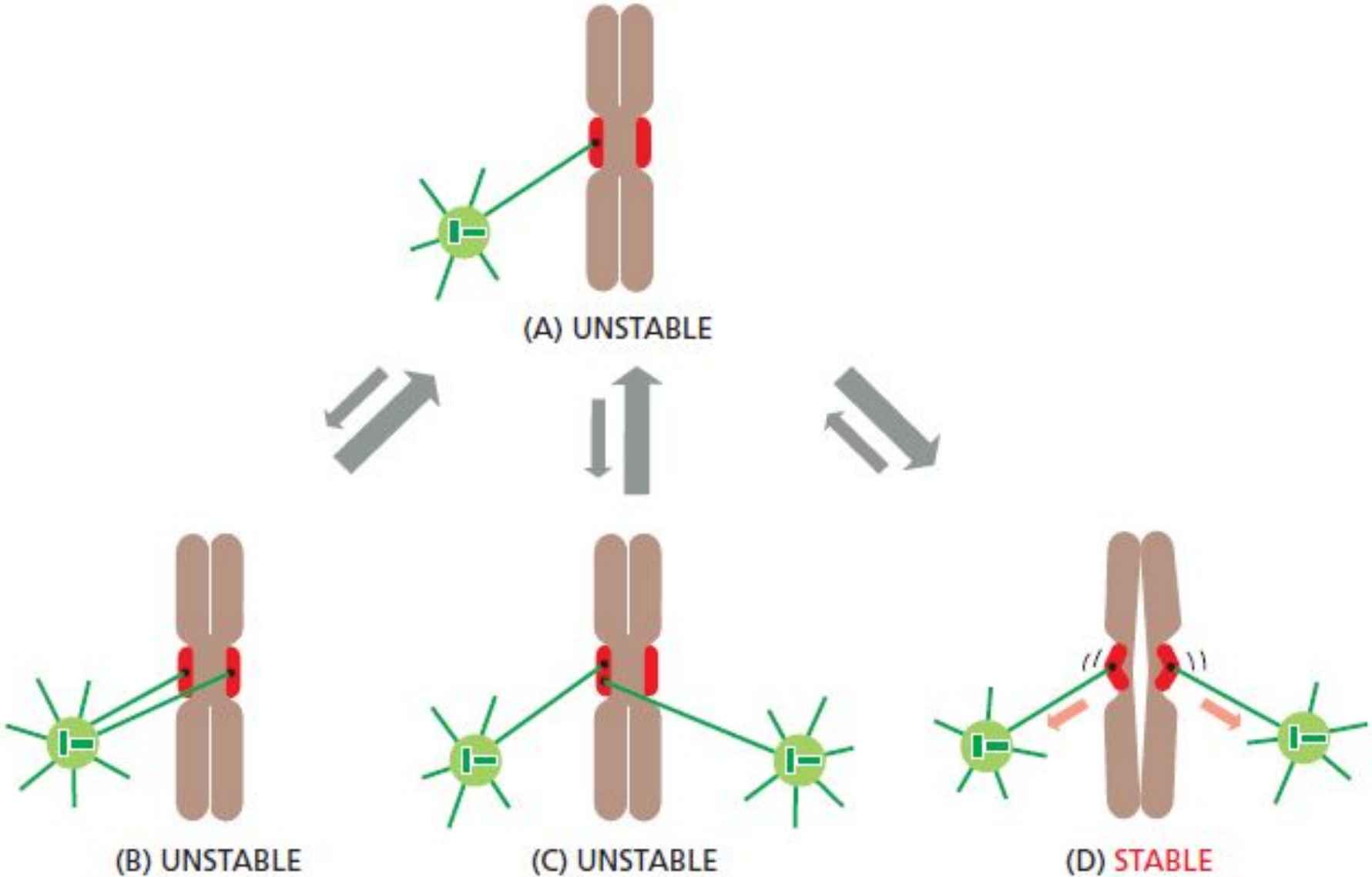


Kinetochores



Вначале происходит латеральный захват микротрубочек, а затем при содействии кинезиновых моторов микротрубочки

Kinetochores: Bi-orientation

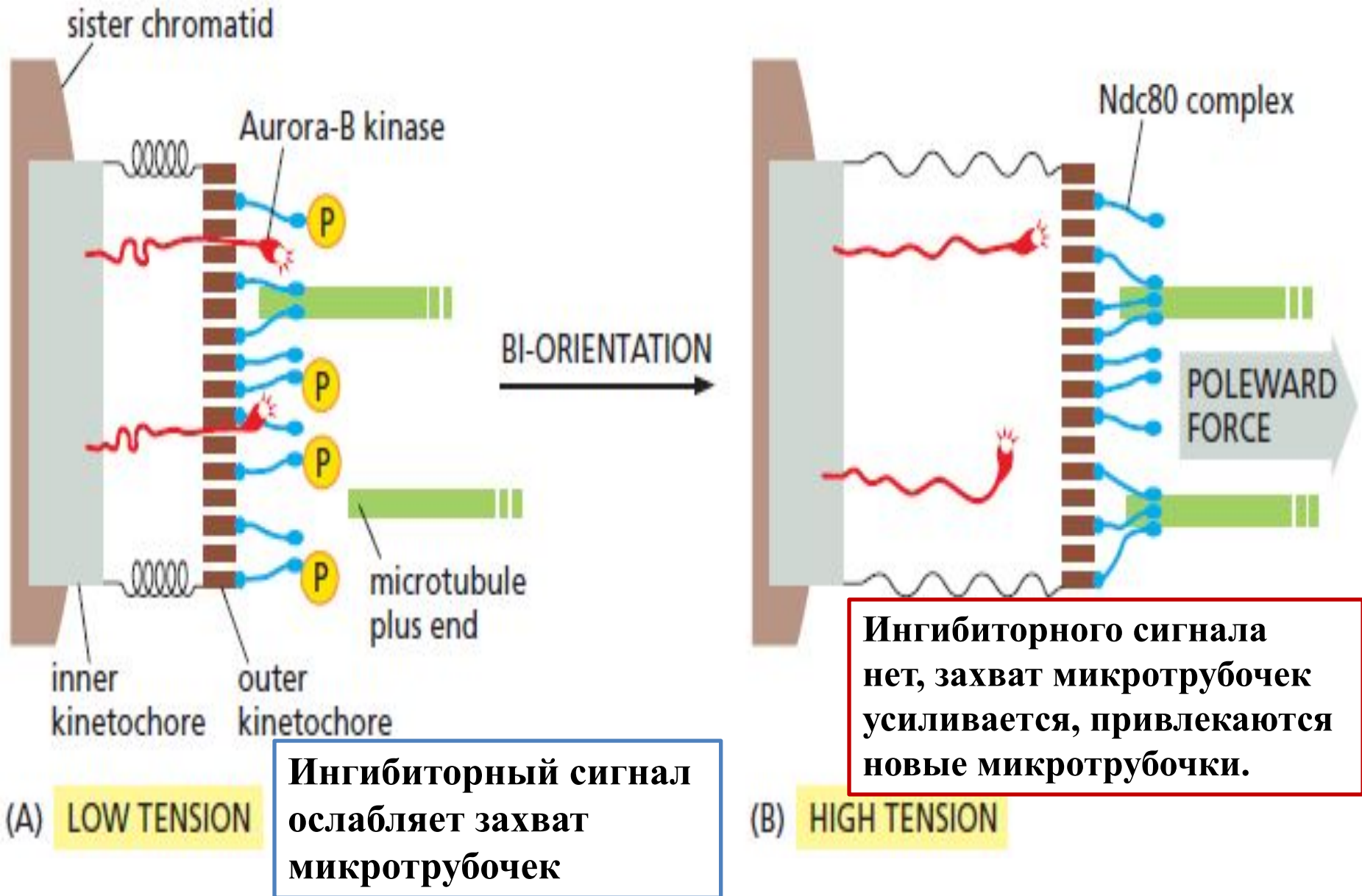


Low

Low

High

Kinetochores: Bi-orientation

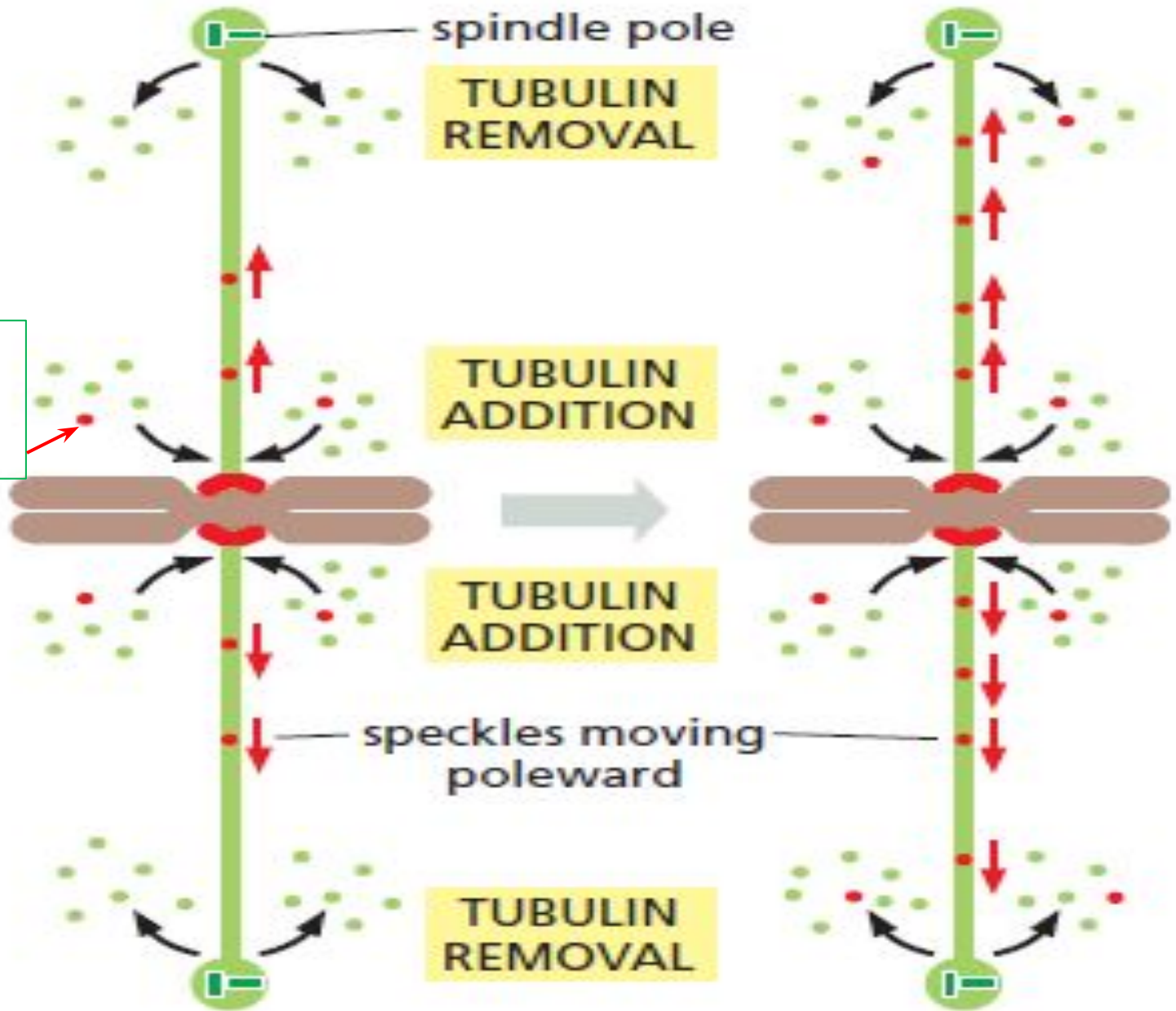


Силы, действующие на веретено

- Сила, направляющая кинетохор к полюсу (разборка микротрубочек в месте прикрепления к кинетохору). **К полюсу**
- Движение самих микротрубочек (растут с +конца, убывают с -конца)(microtubule flux), направленное на движение к полюсам. **К полюсу**
- Полюсное выселение (polar ejection, polar wind, полюсный ветер). **От полюса**

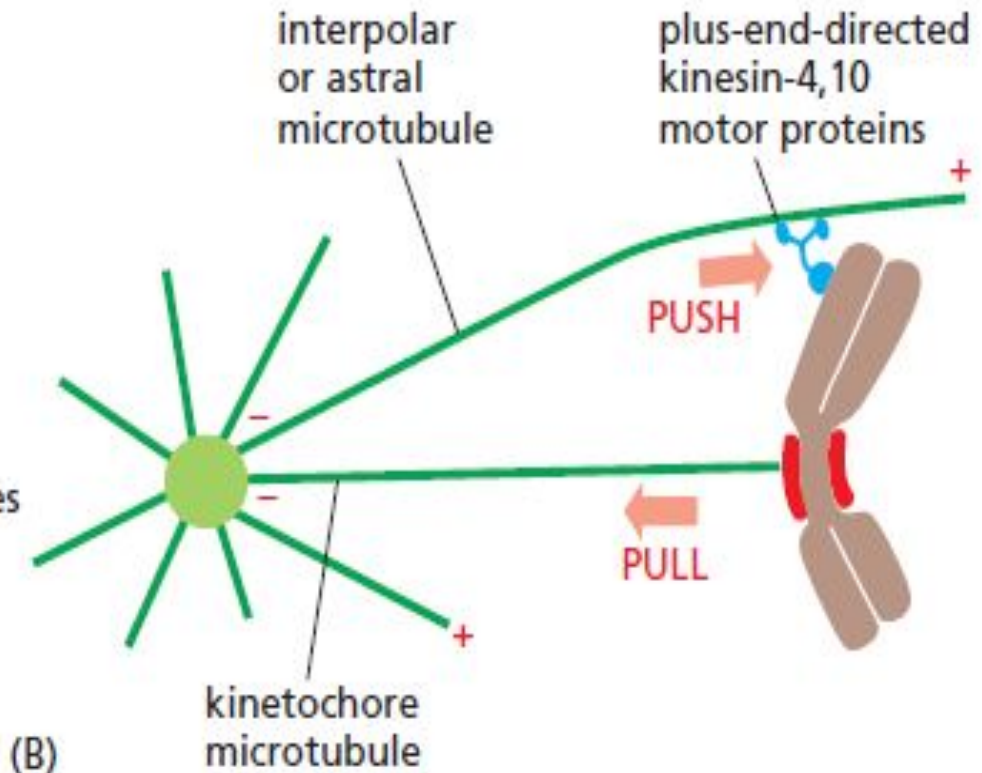
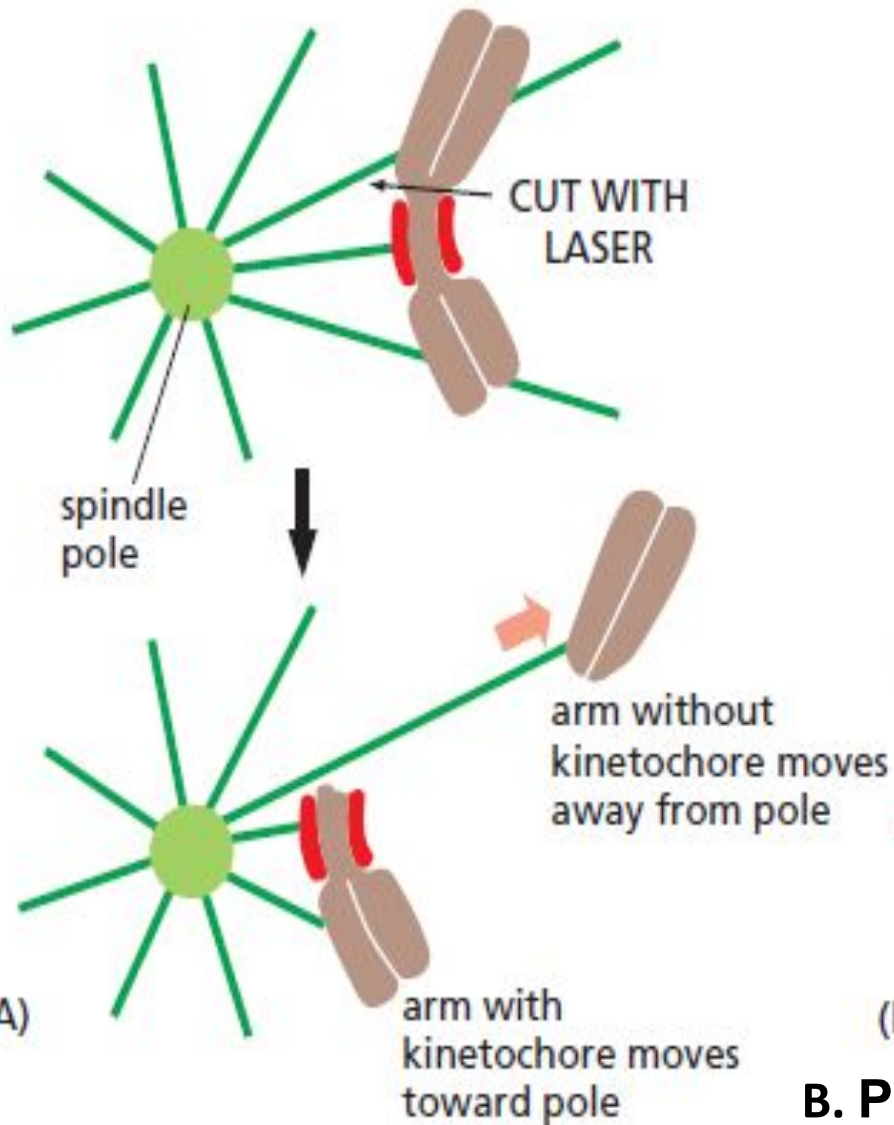
Microtubule flux

Флуоресцентн
о
меченый
тубулин



polar ejection force

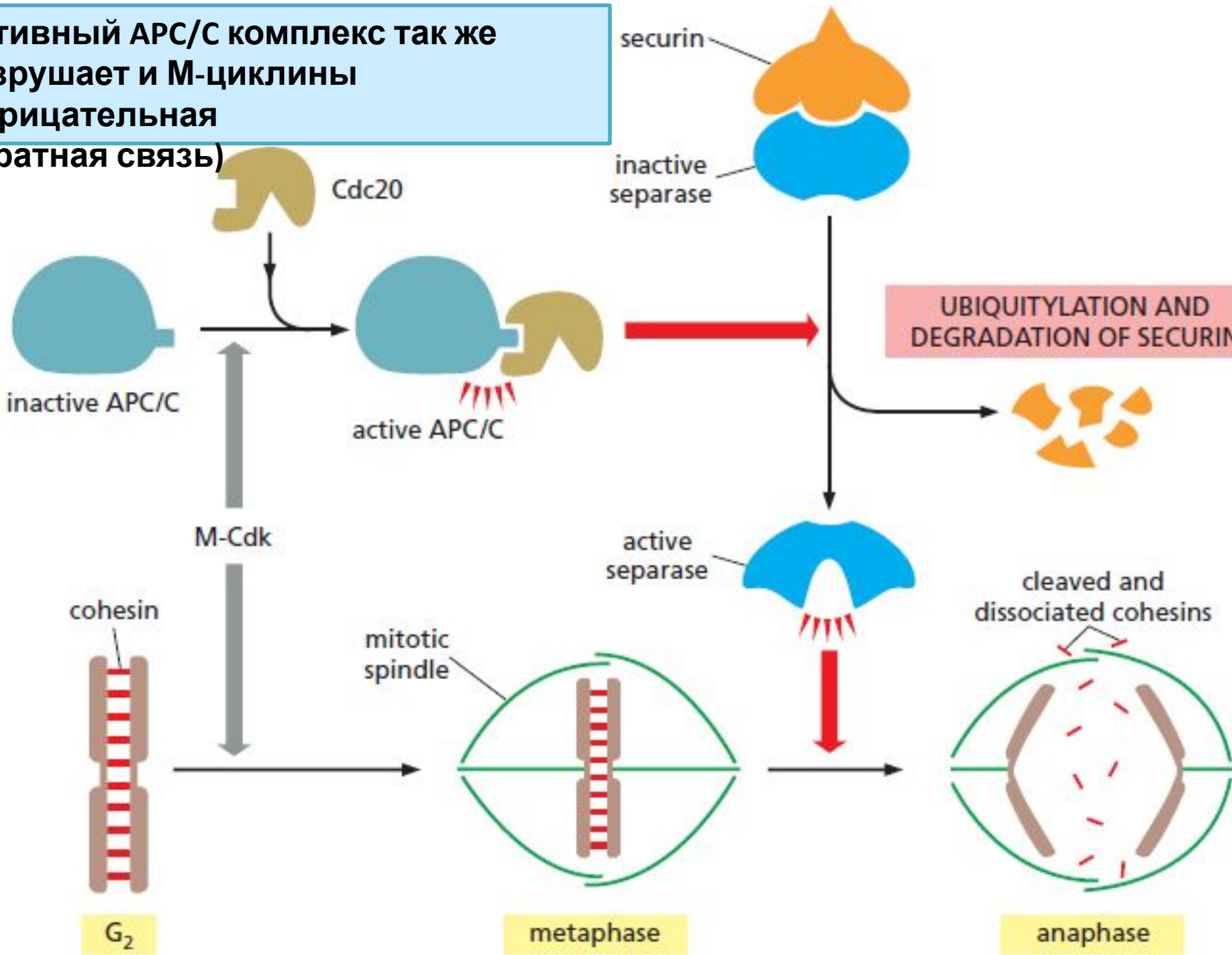
А. Эксперимент с разрезанием лазером



В. Разъясняющая «полюсный ветер» модель

Гасождетис ессртискс

Активный APC/C комплекс так же разрушает и М-циклины (отрицательная обратная связь)



The Spindle Assembly Checkpoint

- **Mad2** белок является проверочным механизмом присоединения к кинетохору трубочек. Если напряжения на микротрубочках, связанных с кинетохором нет, то **Mad2** изменяет свою конформацию так, что связывает комплекс **Cdc20-APC/C**, таким образом инактивируя его и предотвращая переход от метафазы к анафазе.
- **Колхицин, винбластин** – дестабилизируют микротрубочки. Клетка останавливается в митозе.

Telophase

- Разборка веретена;
- Фрагменты ядерной мембраны ассоциируются с отдельными хромосомами и затем соединяются друг с другом; комплекс ядерной поры уже инкорпорирован в эти фрагменты;
- Ядерная оболочка восстановлена, начинает восстанавливаться ламина;
- Ядерные поры начинают накачивать в ядро ядерные белки... Ядро в состоянии интерфазы.

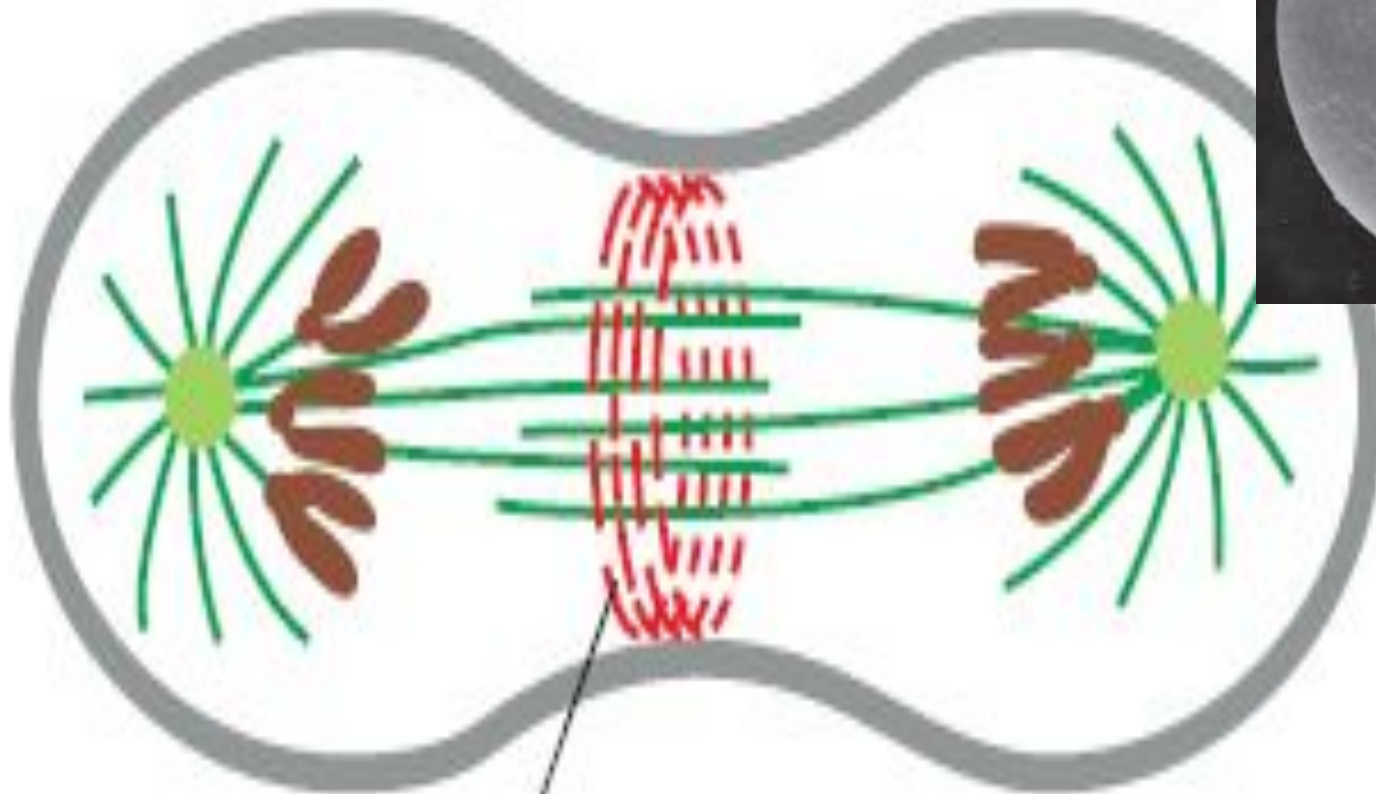
ЦИТОКИНЕЗИС

- Обычно митоз заканчивается цитокинезом.
- Некоторые клетки (ранние эмбрионы дрозофилы, гепатоциты и кардиомиоциты) проходят митоз без цитокинеза, становясь при этом многоядерными клетками.
- Цитокинез начинается в поздней анафазе и заканчивается сразу по окончании митоза.
- Появляется борозда дробления (*cleavage furrow*), под которой находится контрактильное кольцо, состоящее из актиновых и миозиновых-2 филаментов, структурных и регуляторных белков.

CYTOKINESIS

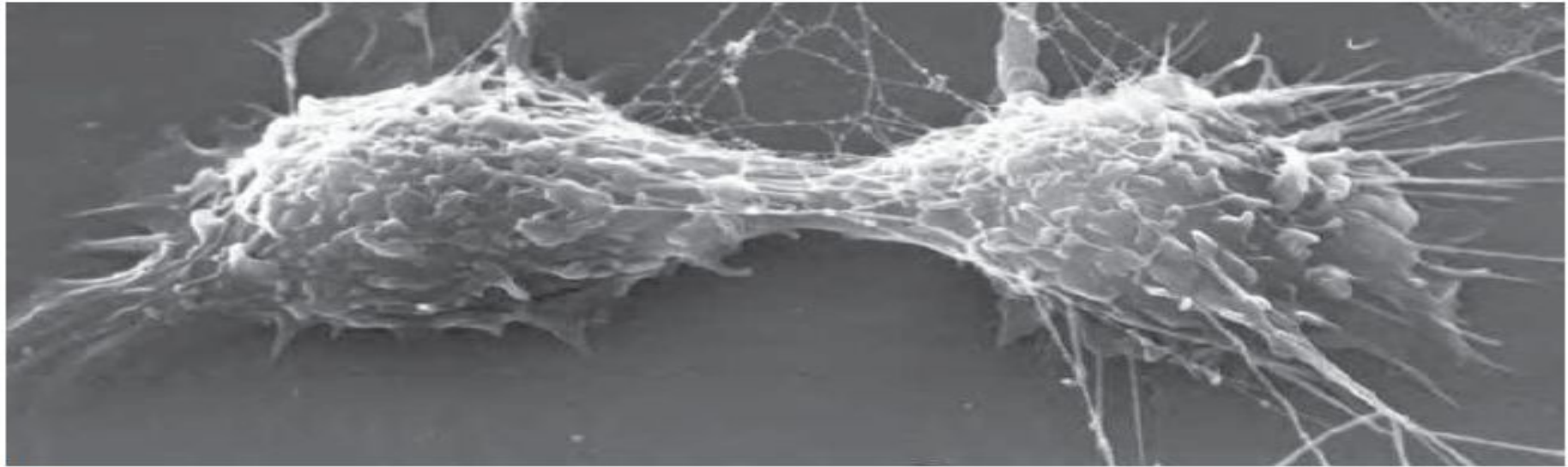


a cleaving frog egg



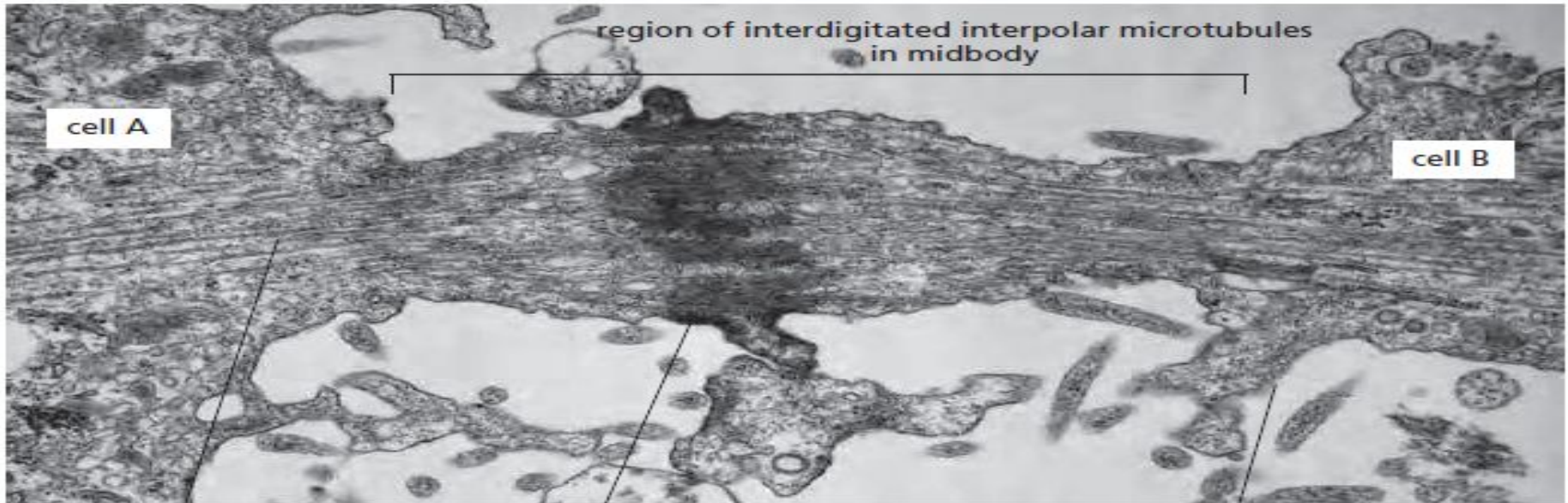
actin and myosin filaments of the
contractile ring

The MIDBODY



(A)

10 μm



(B)

cell A

cell B

region of interdigitated interpolar microtubules
in midbody

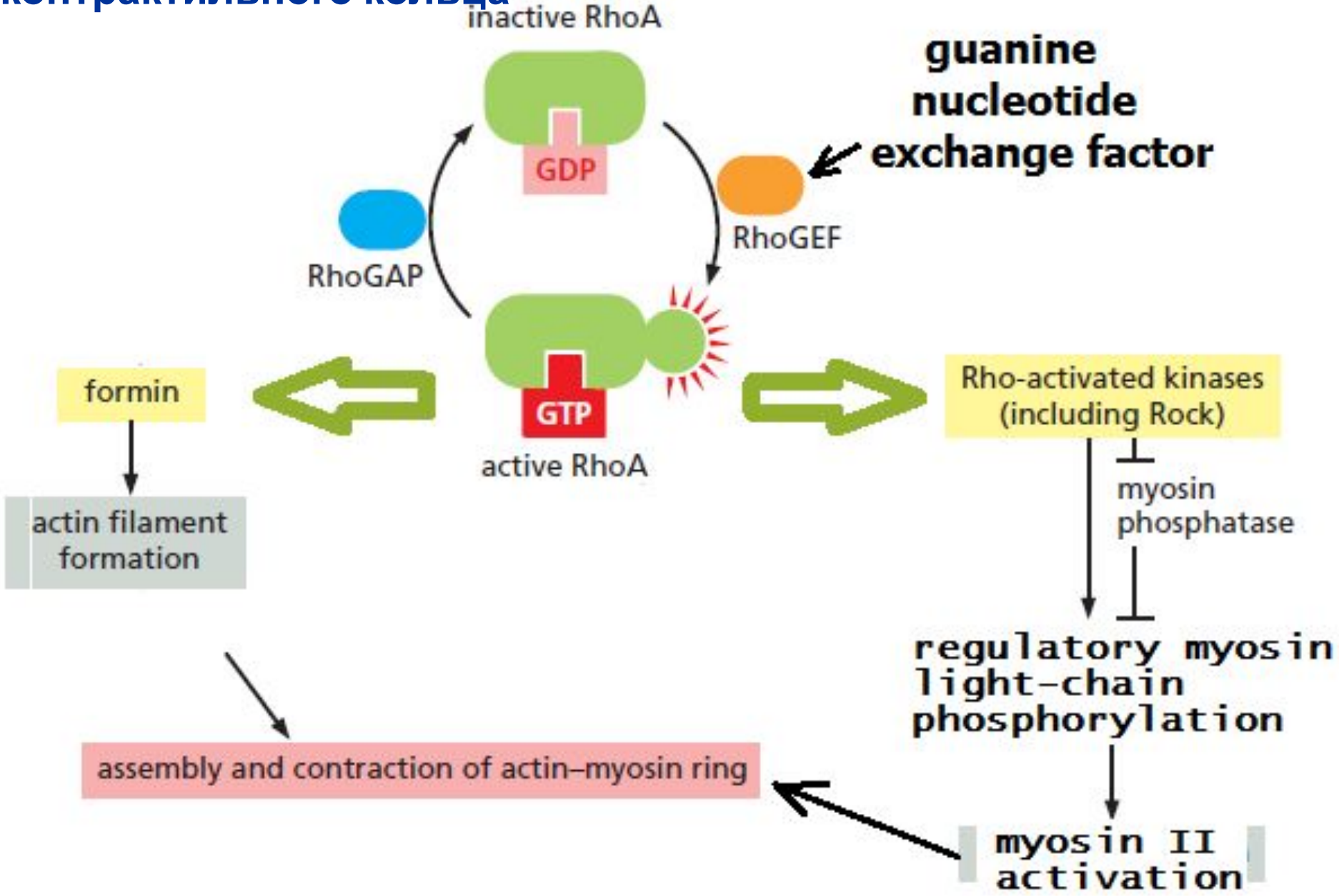
remaining interpolar
microtubules from
central spindle

dense matrix material

plasma membrane

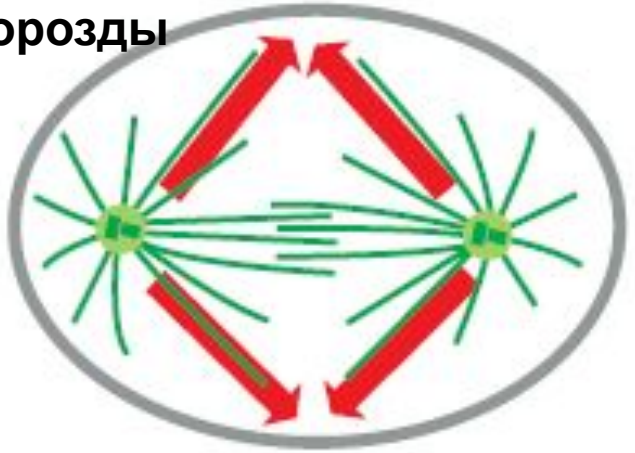
1 μm

Активация *RhoA* включает сборку и сокращение контрактильного кольца



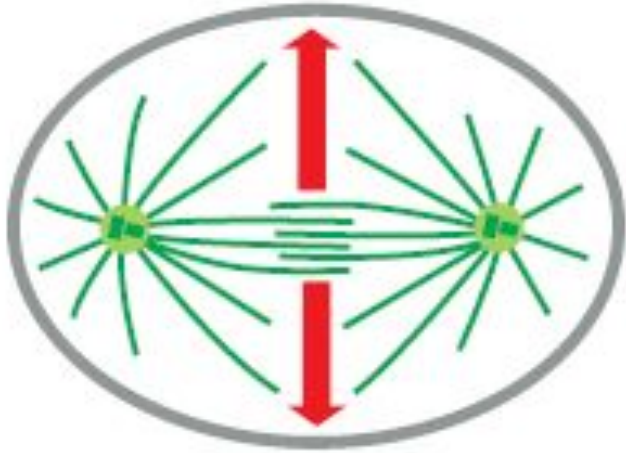
Микротрубочки веретена деления определяют время и место разделения клетки

Астральные трубочки несут сигнал индукции борозды



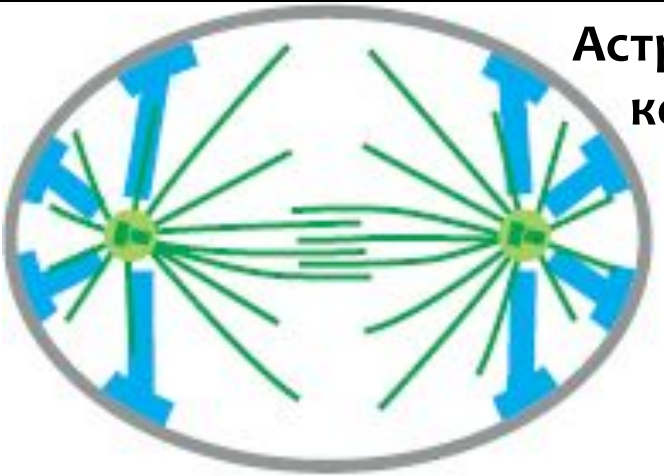
astral stimulation model

клетки



central spindle stimulation model

Центр веретена генерирует сигнал индукции борозды



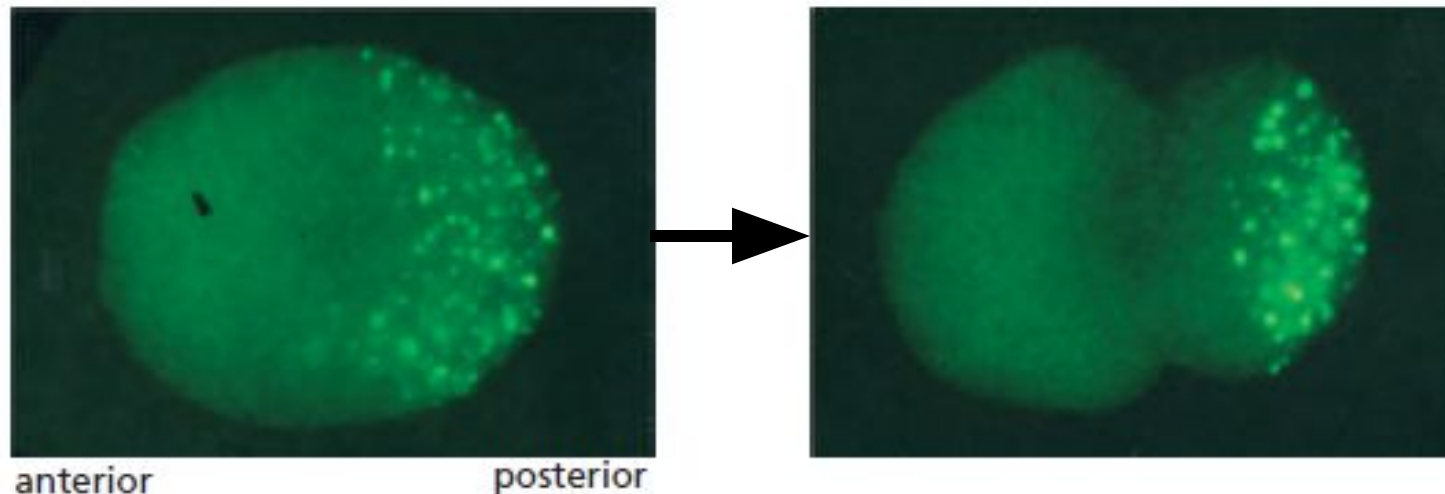
astral relaxation model

Астральные трубочки релаксируют актин-миозиновый кортекс; на экваторе эта релаксация минимальна, что и ведет к сборке контрактильного кольца

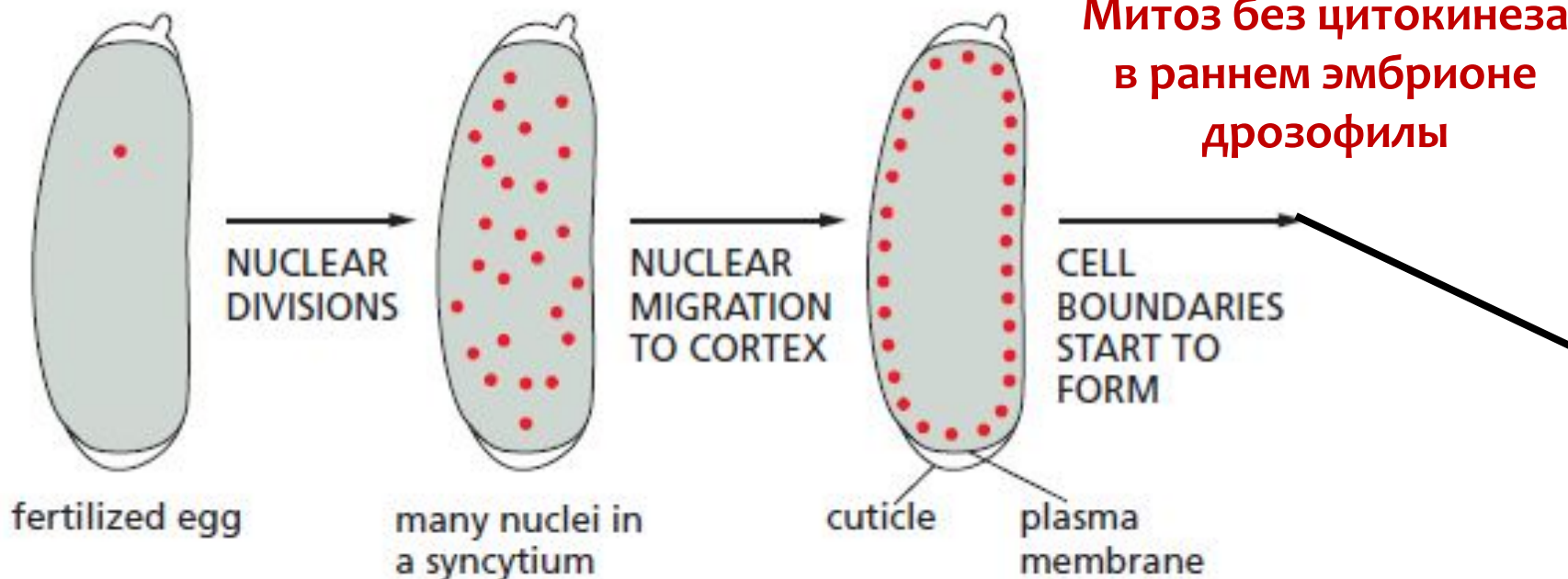
Три модели, объясняющие, как микротрубочки веретена дают сигнал к разделению клетки (цитокинезу)

CYTOKINESIS

- Некоторые клетки делятся ассиметрично, что приводит к их развитию по разным путям.
- Материнская клетка перед делением распределяет некоторые свои компоненты возле одного полюса (***детерминанты клеточной судьбы***).



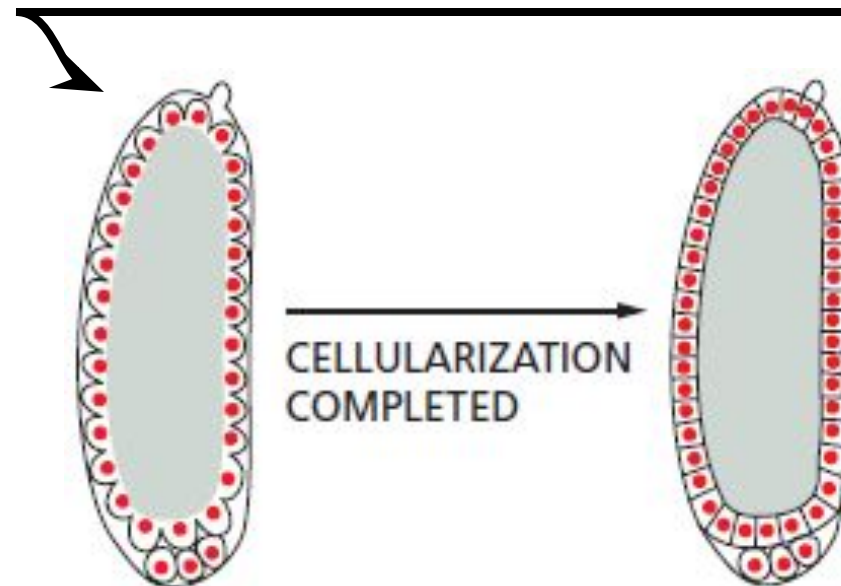
Многоядерные клетки



Митоз без цитокинеза
в раннем эмбрионе
дрозофилы

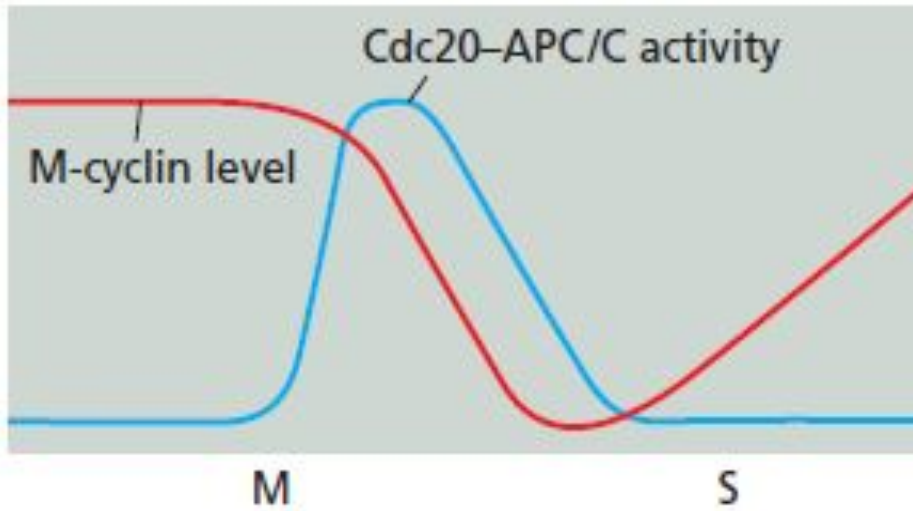
Многоядерная клетка называется **синцитиум**.

У человека мегакариоциты (предшественники тромбоцитов), некоторые гепатоциты, а так же кардиомиоциты приобретают многоядерность подобным путем.



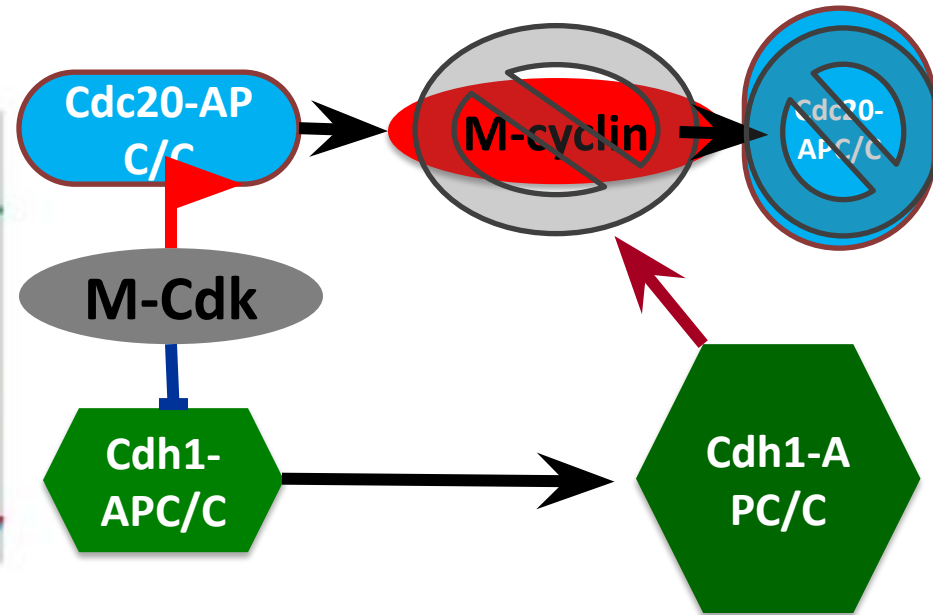
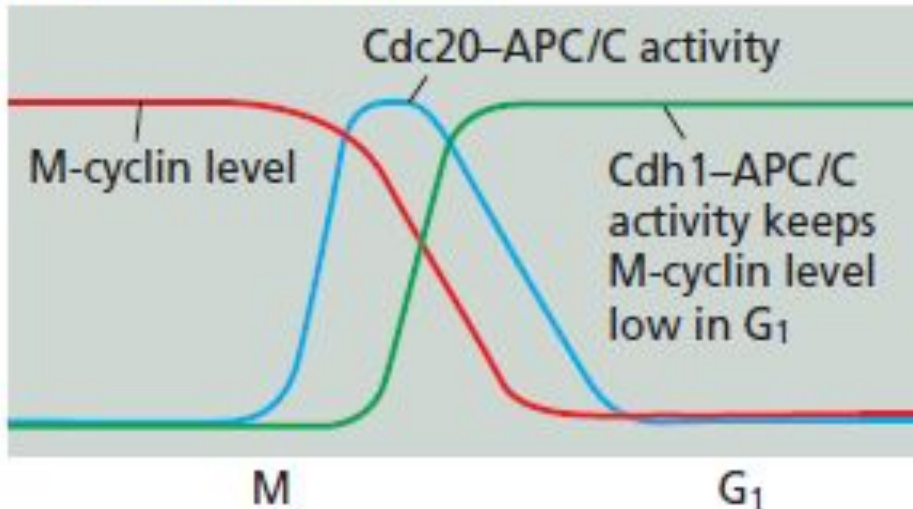
Как клетка поддерживает низкий уровень М-циклина при переходе от М к G₁ фазе

1. (A) embryonic cells with no G₁ phase



М-сдк активирует cdc20-APC/C, он в свою очередь дезактивирует М-циклины, а это ведет к дезактивации самого APC/C, что позволяет вновь накопиться пулу М-циклинов для вхождения в новый митоз

(B) cells with G₁ phase



2. Нарастание уровня

MEIOSIS

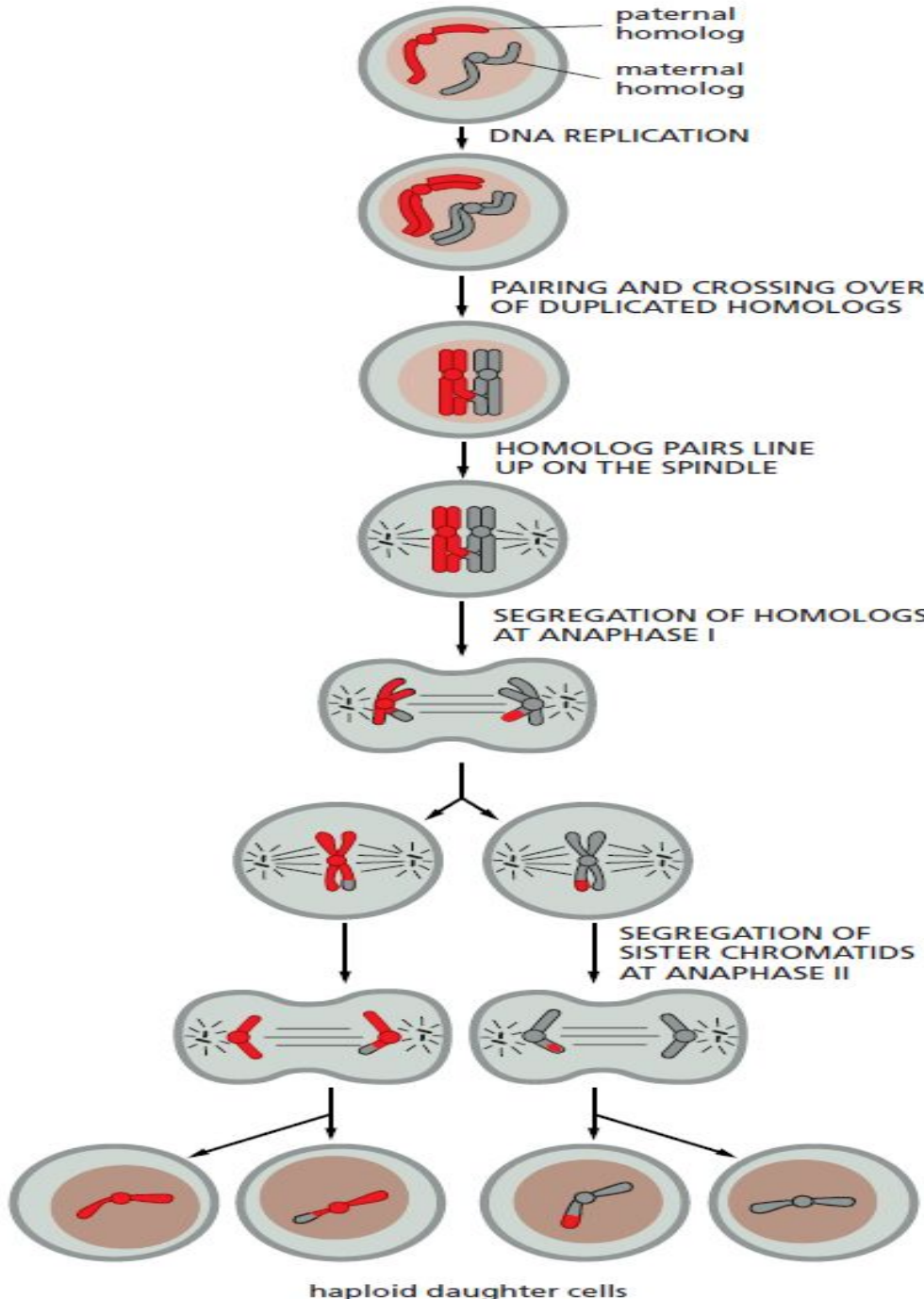
(A) **MEIOSIS**

(B) **MITOSIS**

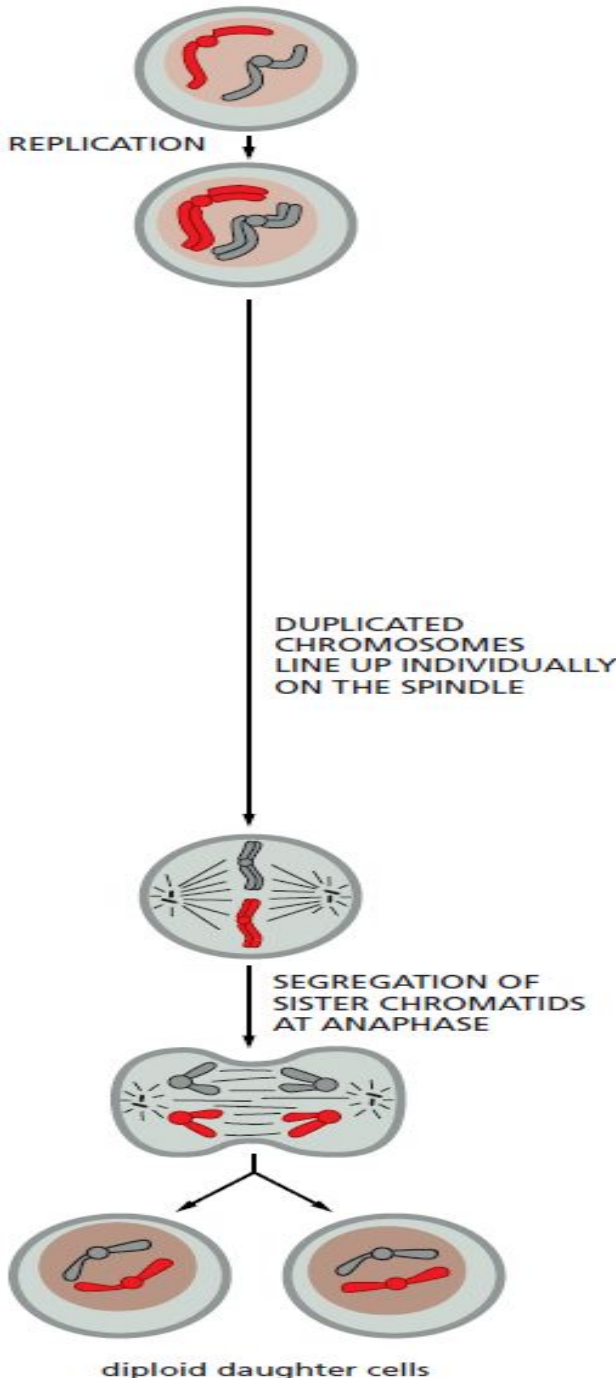
MEIOTIC S PHASE

MEIOSIS I

MEIOSIS II



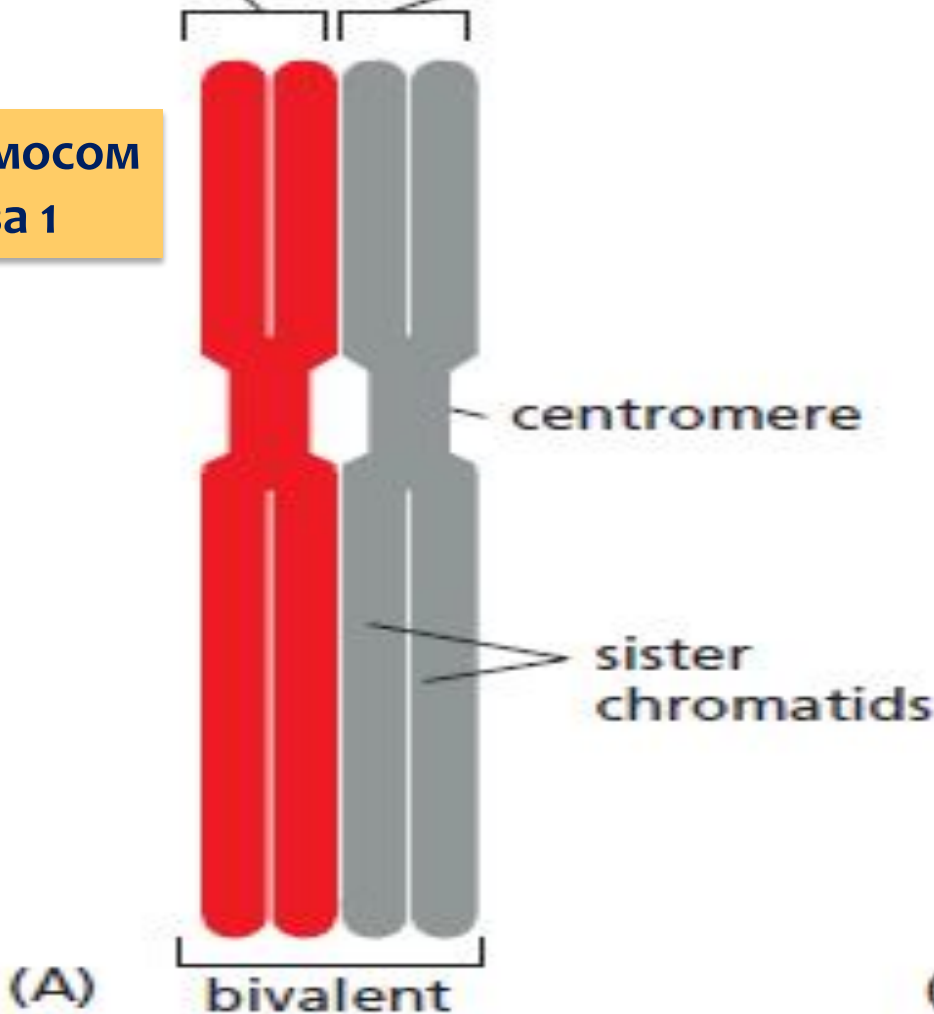
DNA REPLICATION



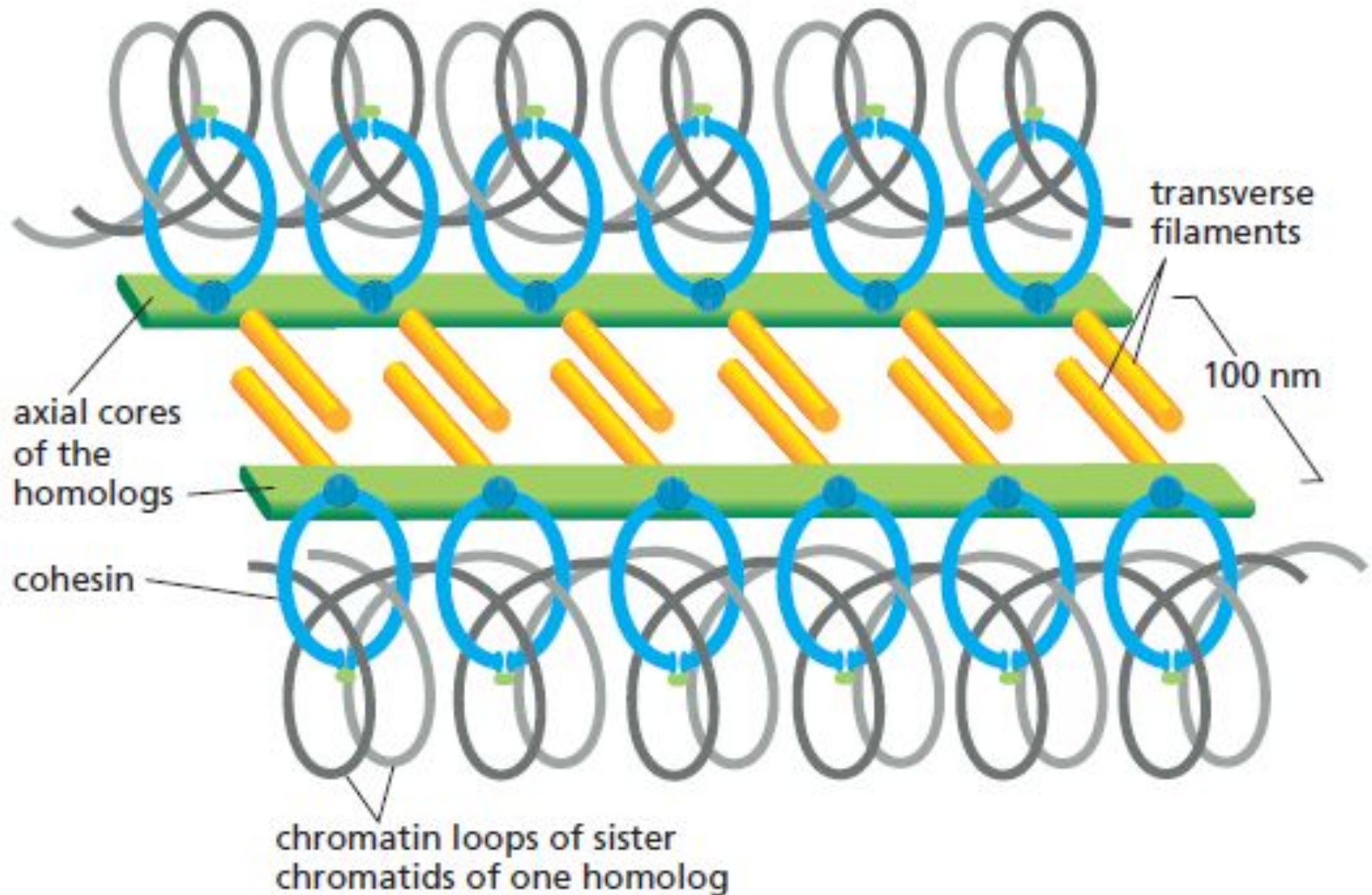
replicated paternal chromosome replicated maternal chromosome

Спаривание хромосом
в профазе мейоза 1

Кроссинговер
в профазе мейоза 1



Synaptonemal Complex



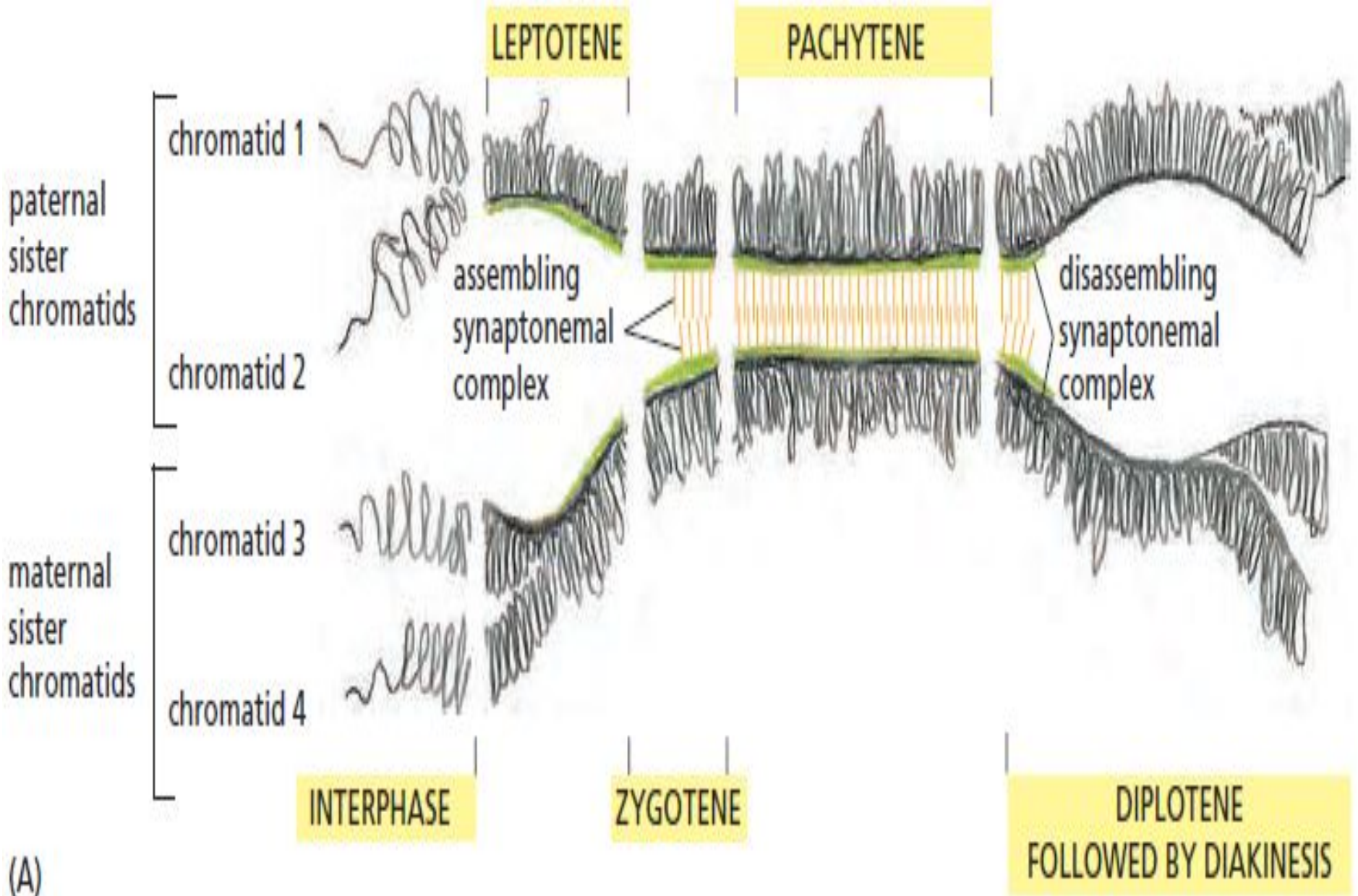
ds DNA breaks

recombination complex

presynaptic alignment

synapsis

Prophase I



(A)



После разборки **синаптонемального комплекса** в **диплотене** и следующей за ним конденсации хроматид могут быть увидены перекрёсты. Эти перекрёсты происходят между несестринскими хроматидами (между гомологами). Фигуры перекреста напоминают греческую букву «**Х**» и называются **хиазмами**. Благодаря хиазмам гомологи удерживаются вместе. Теперь они готовы к сегрегации.

- 1. Оба сестринских кинетохора в гомологе должны быть соединены с ОДНИМ и тем же полюсом веретена.
- 2. Благодаря хиазмам (перекрестам) возникает крепкая сцепка между гомологами, что позволяет им двунаправленно ориентироваться на экваторе веретена.
- 3. Когезия в анафазе 1 снимается только с плеч хромосом, но не с центромерного региона, где находятся кинетохоры. Околоцентромерные когезины защищены от сепаразы в мейозе 1 связанным с кинетохором белком *shugoshin* (яп. «дух-охранник»). Шугошин рекрутирует фосфатазу, которая снимает фосфаты с центромерных когезинов, делая их недоступными для сепаразы. В конце мейоза 1 шугошин инактивируется.

(A) MEIOSIS

kinetochore
microtubules

cohesin

centromere

kinetochore

chromatid

kinetochore

cohesin

haploid daughter nuclei

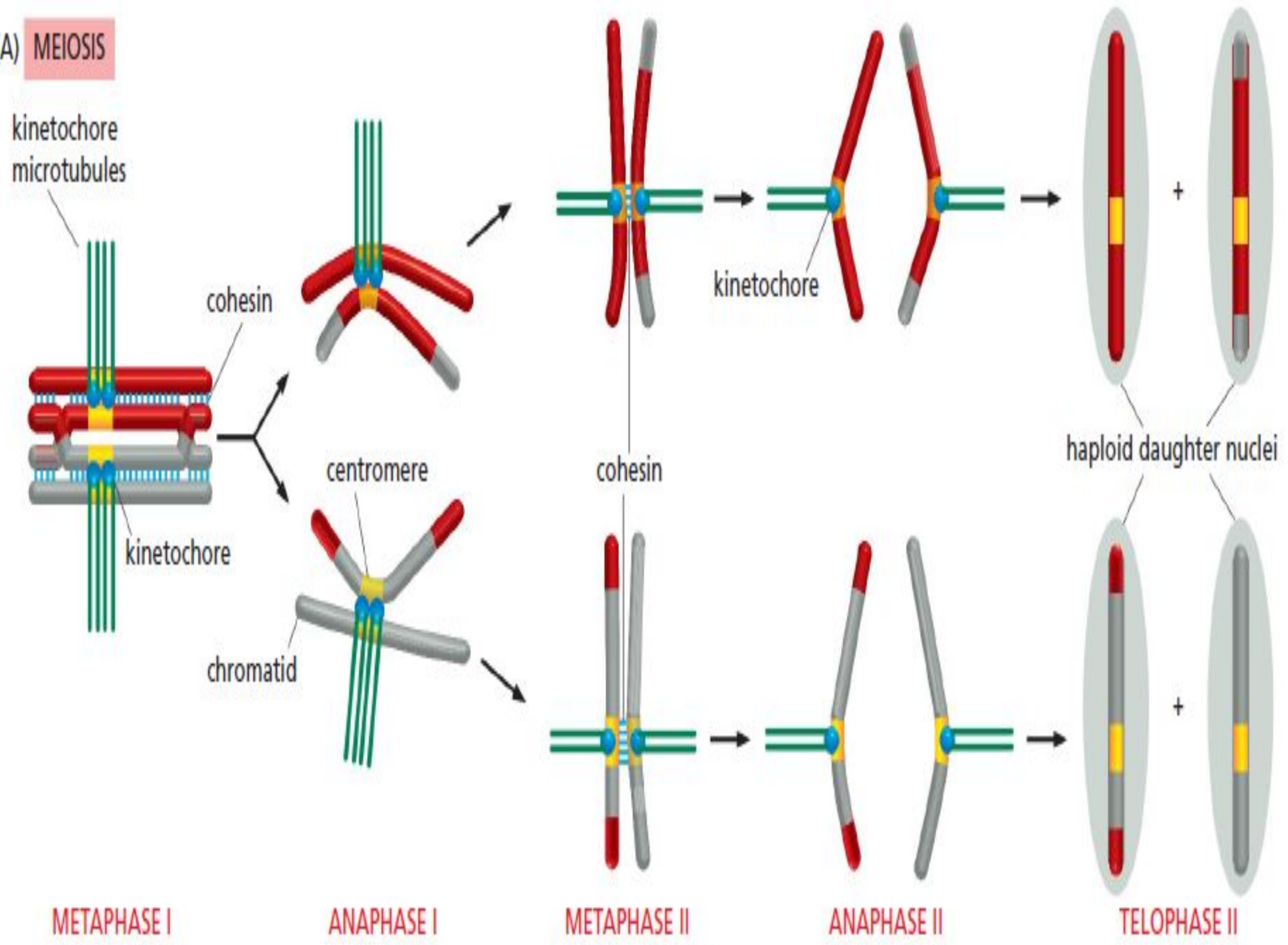
METAPHASE I

ANAPHASE I

METAPHASE II

ANAPHASE II

TELOPHASE II



- Кроссинговер тщательно регулируется: на каждую гомологичную пару хромосом приходится не менее одного (поскольку гомологи должны удерживаться в месте) но и не более трех перекрестов (кроссоверная интерференция).
- В мейозе часто возникают ошибки. Например, неправильное расхождение гомологов – нондизъюнкция, что ведет к появлению лишней или недостающей хромосомы.

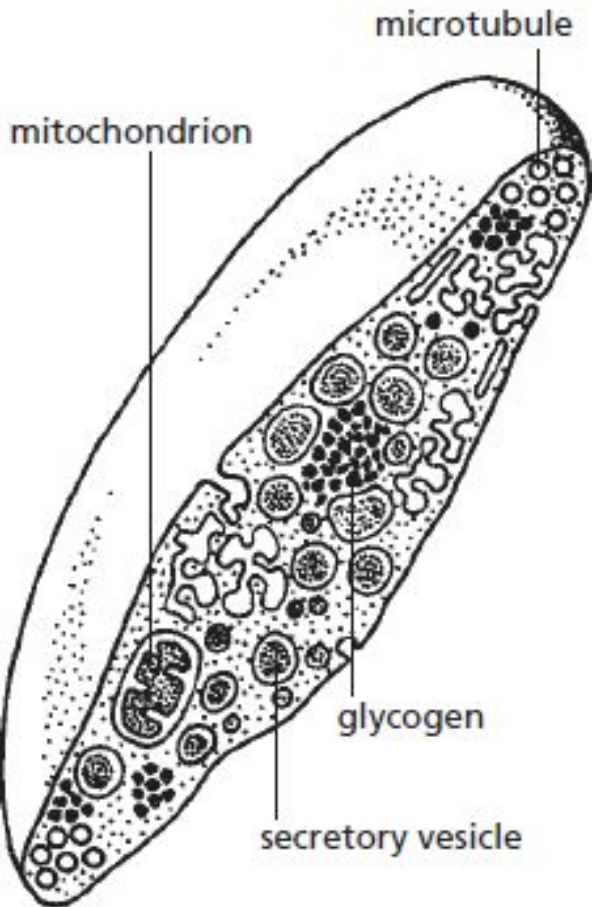
Контроль клеточного деления и роста

Внеклеточные сигналы, регулирующие клеточный рост, деление и «выживание», могут быть разделены на три класса:

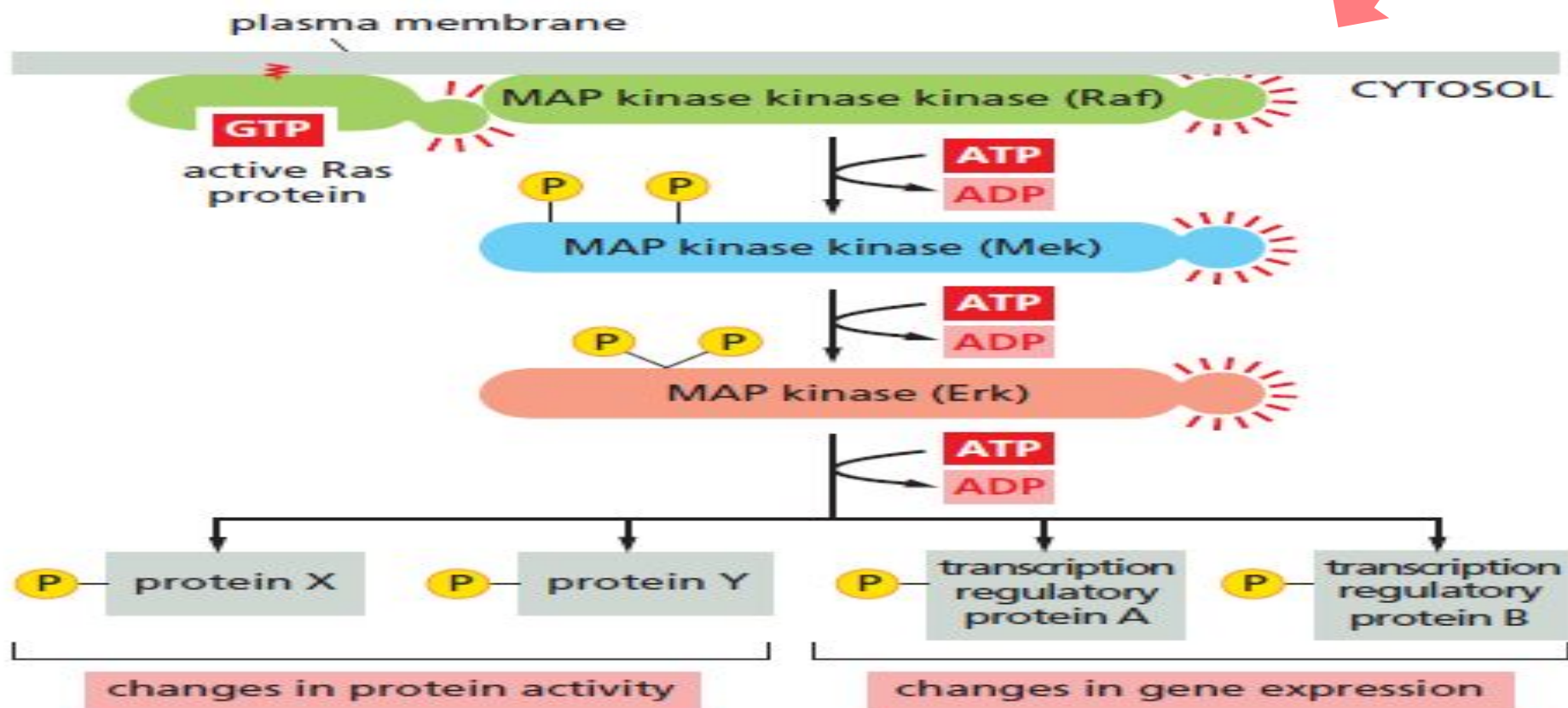
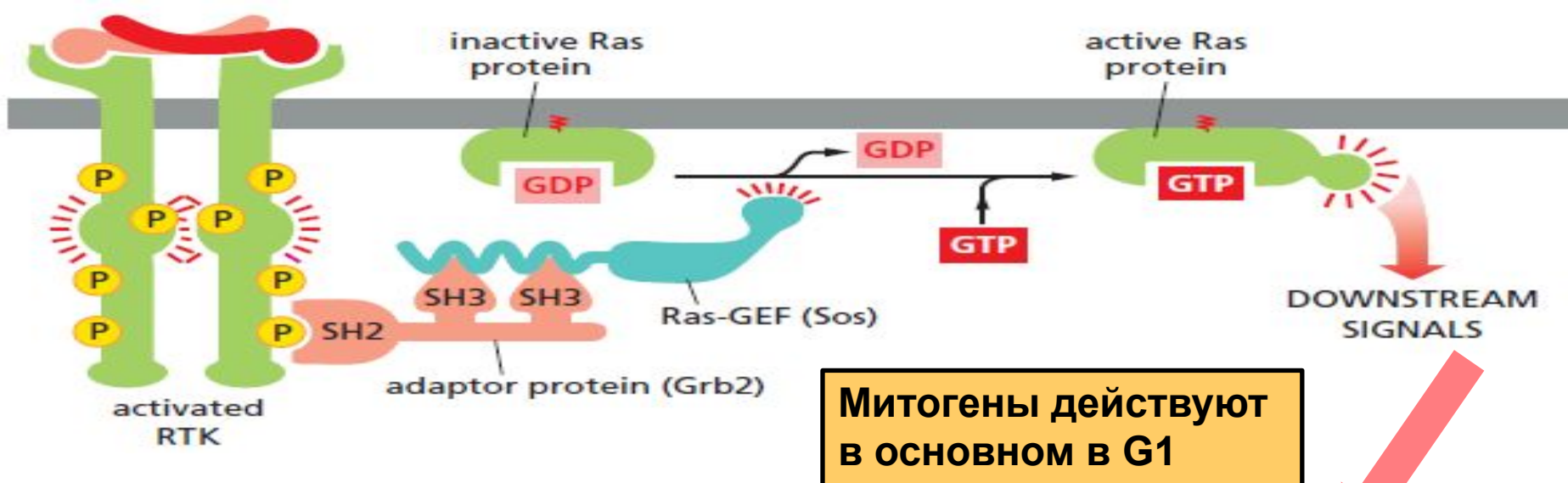
1. **Mitogens** (митогены), стимулирующие клеточное деление, в основном путем активации G1/S-Cdk, что ведет к снятию блока клеточной прогрессии по клеточному циклу.
2. **Growth factors** (ростовые факторы), стимулирующие клеточный рост (увеличение клетки) путем активации синтеза белков и других макромолекул с одновременным подавлением их распада.
3. **Survival factors** (факторы выживания), которые подавляют **апоптоз**, тем самым стимулируя клетку к выживанию.

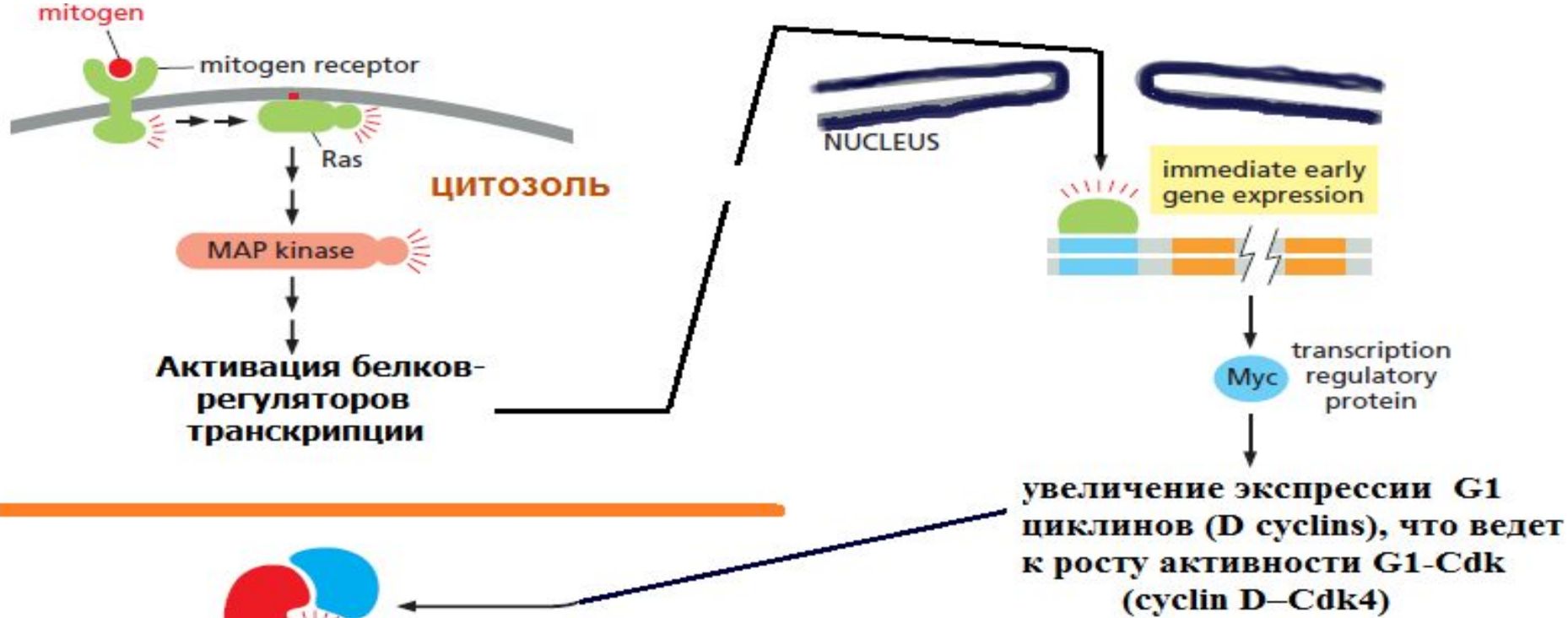
cell growth; cell proliferation: to explain

Platelet (тромбоцит)

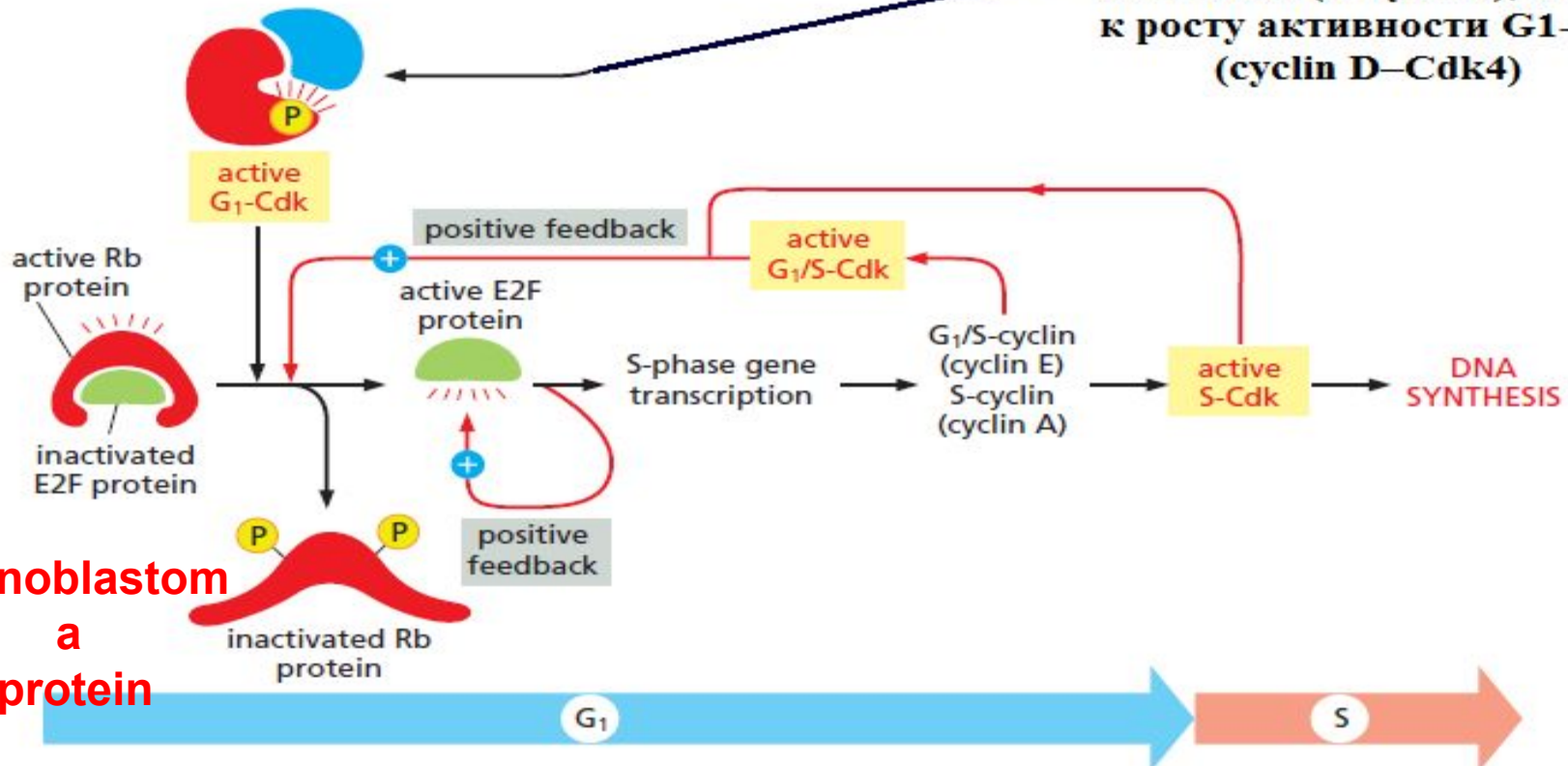


- ***PDGF (platelet-derived growth factor)*** – ростовой фактор с широкой специфичностью;
- ***EGF (epidermal growth factor)***;
- ***Erythropoietin*** – узкоспецифичный ростовой фактор, индуцирующий пролиферацию лишь прекурсоров эритроцитов;
- ***TGF β (transforming growth factor- β)***. Ингибирует пролиферацию некоторых типов клеток, в основном блокируя прогрессию клеточного цикла в G_1 .
- В отсутствие митогенных факторов клетка входит в состояние G_0

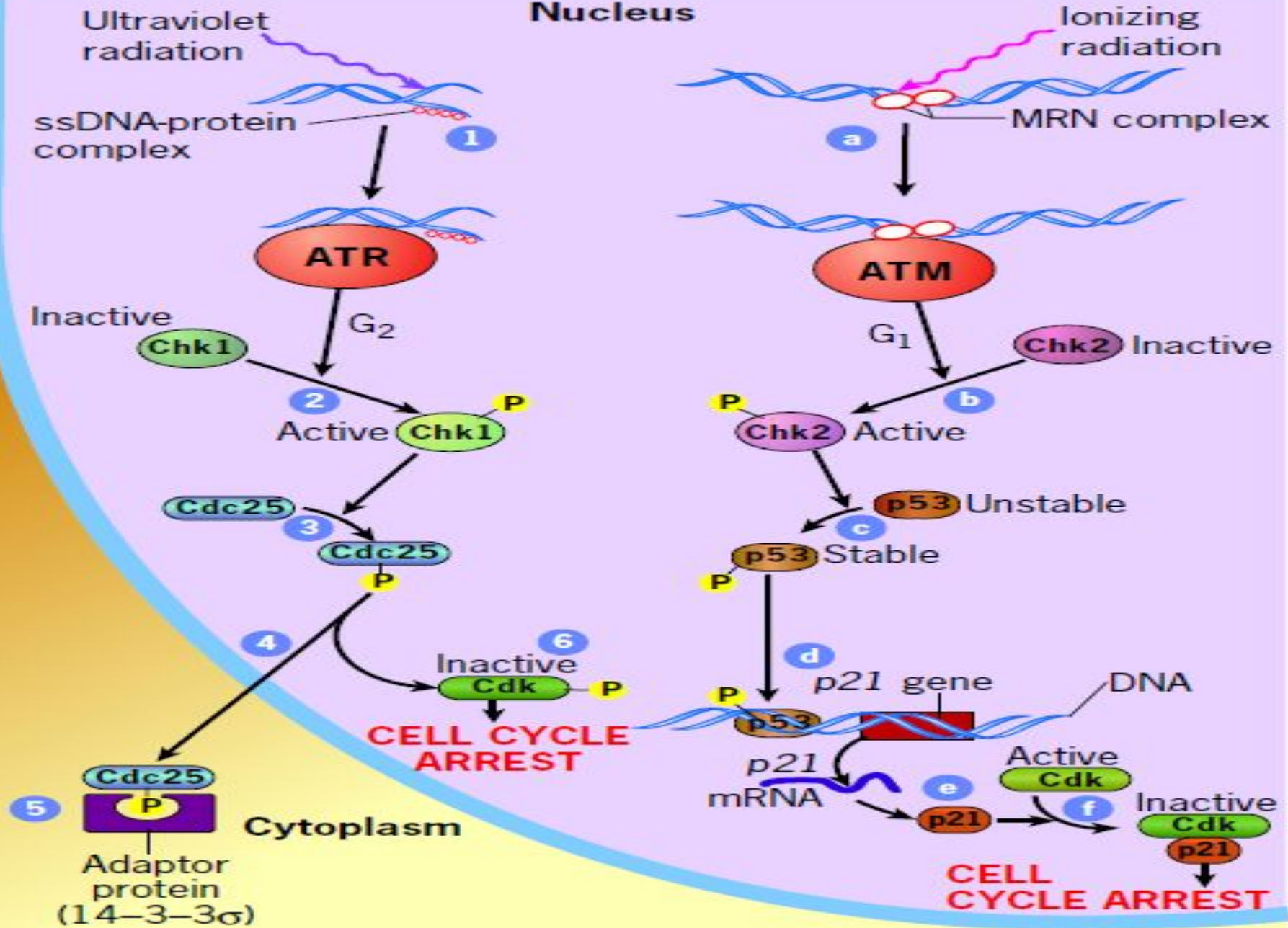


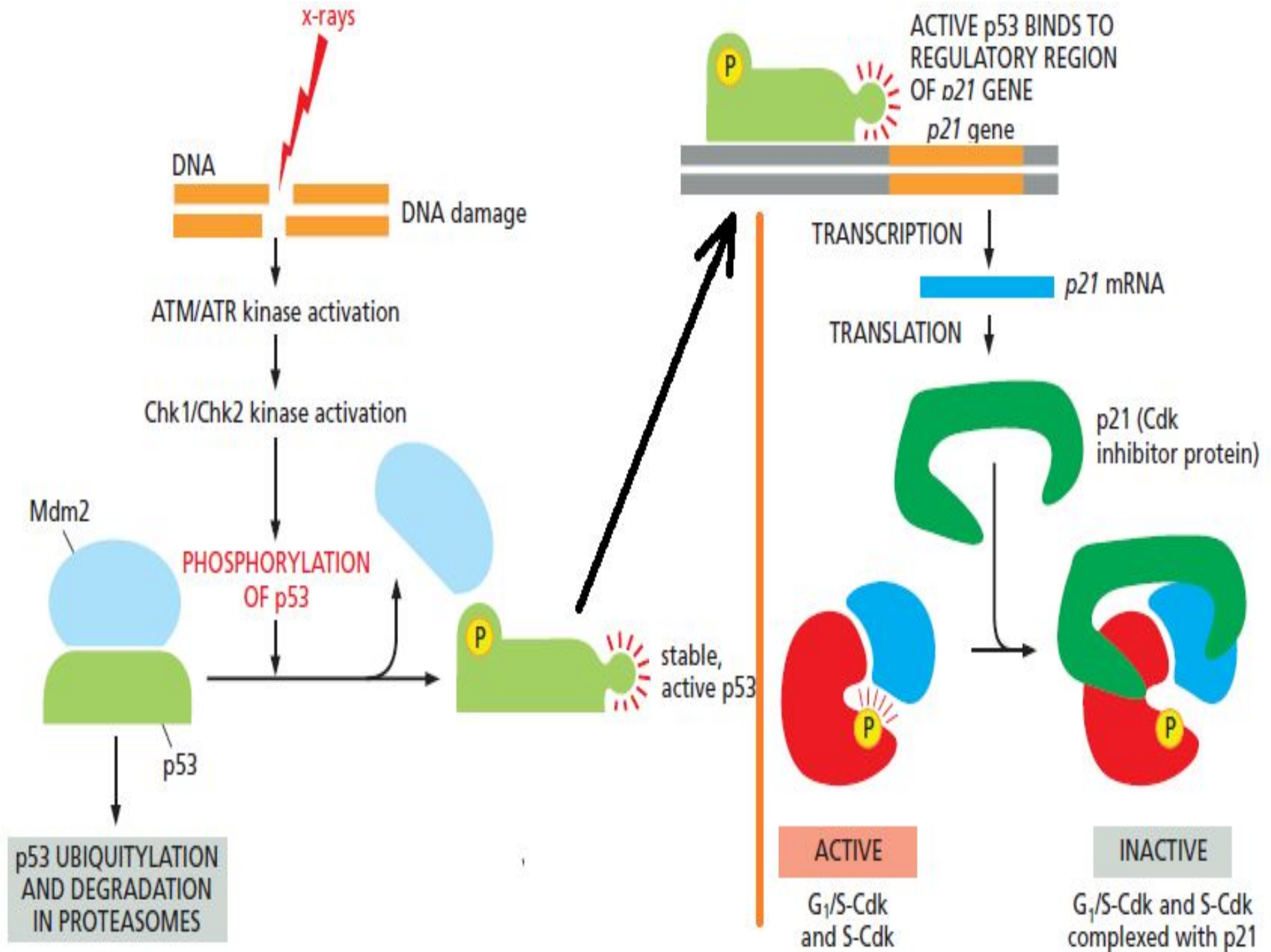


**Retinoblastom
a
protein**

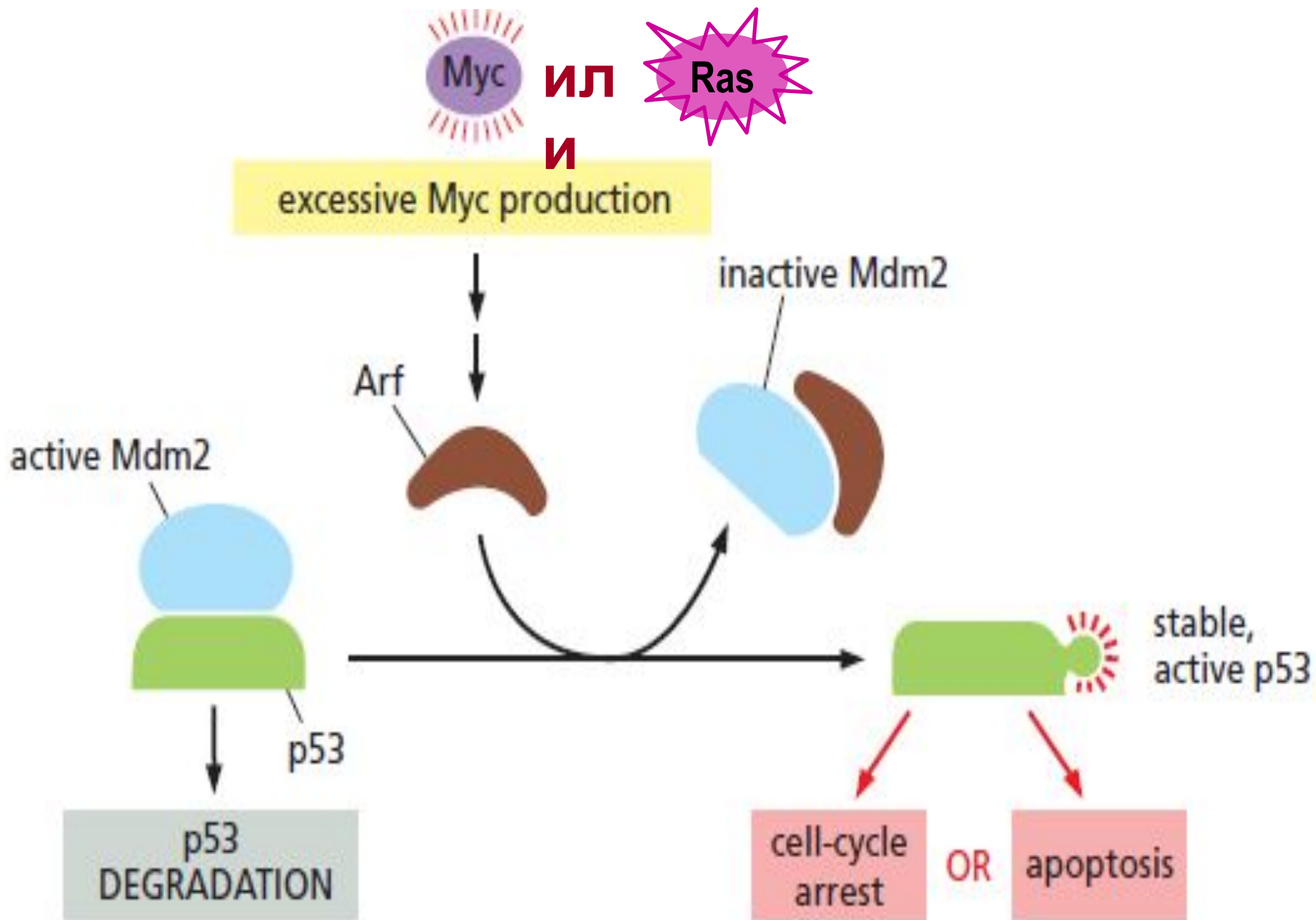


Nucleus



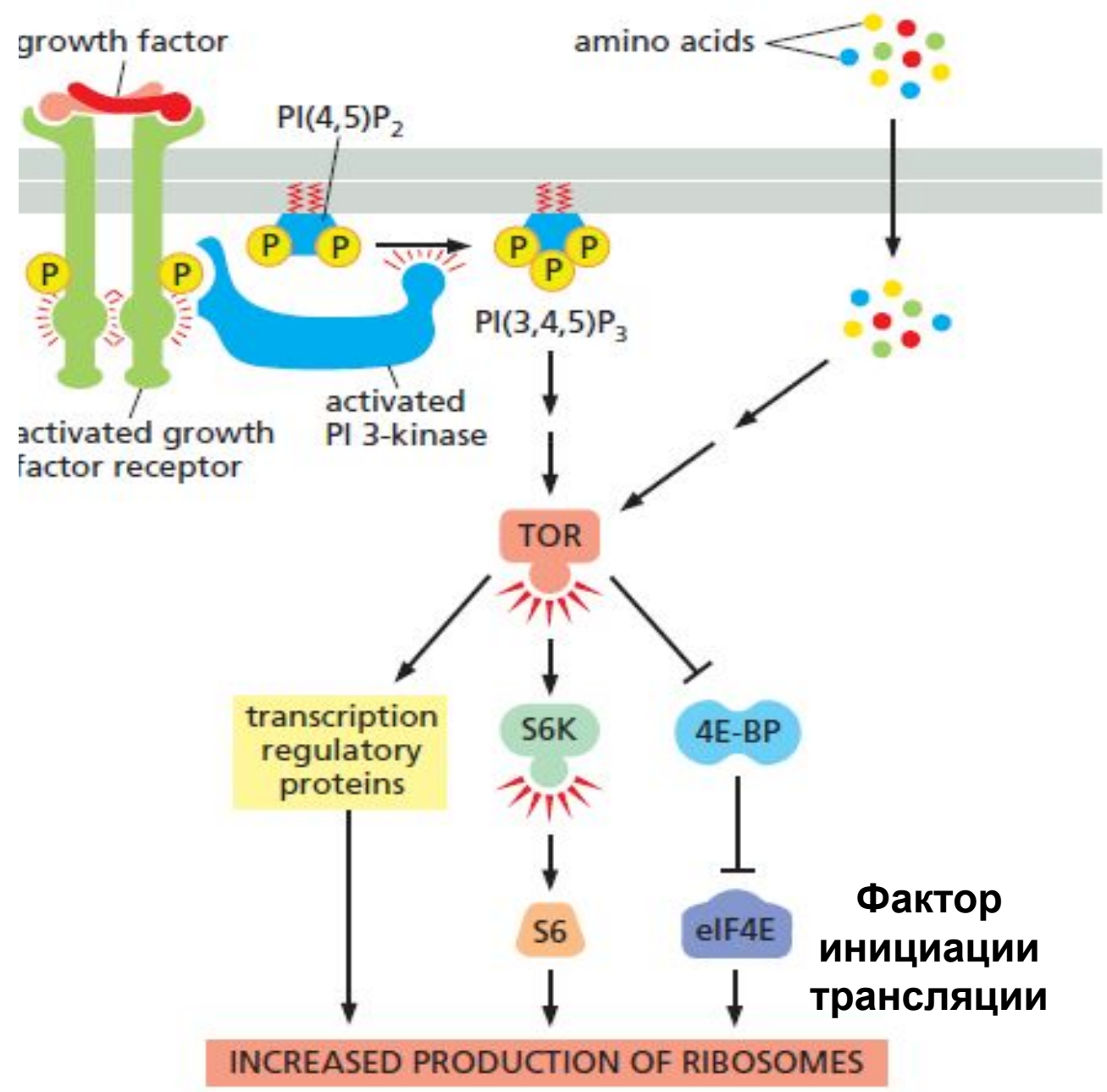


- Клетки имеют ограниченное число делений (предел Хейфлика).
- После этого предела клетки входят в неделящееся состояние, из которого уже никогда не выходят. Это состояние называется репликативным клеточным старением (replicative cell senescence).
- Ограничителем числа клеточных делений служит (среди других механизмов) укорочение длины теломер.
- Избыточная активность пролиферативных сигналов приводит (в нормальных клетках) к аресту клеточного цикла (см след слайд) или



Факторы клеточного роста

phosphoinositide 3-kinase (PI 3-kinase)



S6 Kinase (S6K) – фосфорилирует рибосомальный белок S6, что увеличивает способность рибосом транслировать мРНК рибосомальных белков

Фактор инициации трансляции

INCREASED PRODUCTION OF RIBOSOMES