

Молекулярные механизмы
регуляции клеточного цикла.

Апоптоз

Что такое и зачем нужен клеточный цикл?

- **Клеточный цикл (синоним: жизненный цикл клетки)** - это период жизни клетки от её рождения до образования дочерних клеток или смерти.
- Для того чтобы клетка смогла полноценно разделиться, она должна увеличиться в размерах и создать достаточное количество органоидов. А для того чтобы не растерять наследственную информацию при делении пополам, она должна изготовить копии своих хромосом. И, наконец, для того чтобы распределить наследственную информацию строго поровну между двумя дочерними клеткам, она должна в правильном порядке расположить хромосомы перед их распределением по дочерним клеткам. Все эти важные задачи решаются в процессе клеточного цикла.

Периоды Клеточного цикла

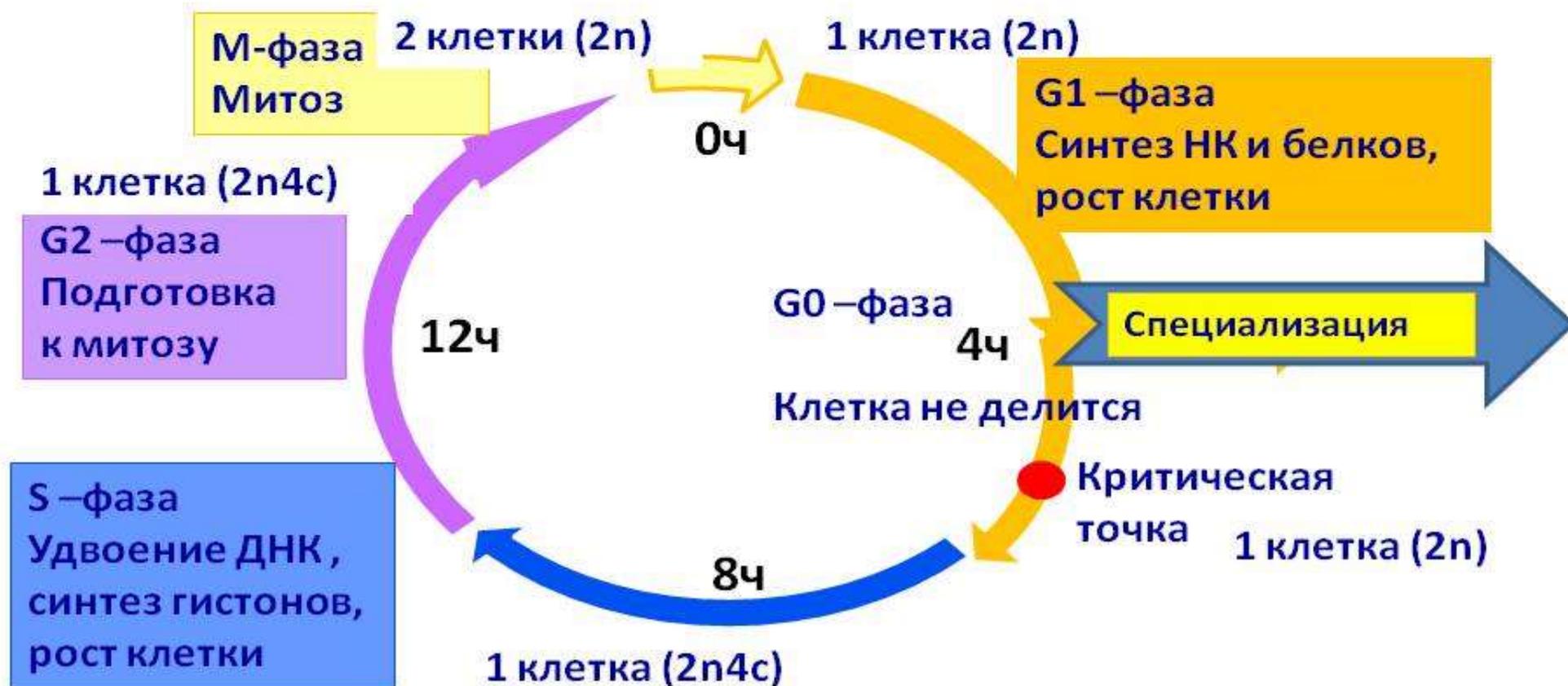
Пресинтетический (G1). Синтеза ДНК еще не происходит. Интенсивные процессы биосинтеза белка. Образование органоидов. На деспирализованных молекулах ДНК синтезируются и-РНК. Клетка активно растет в размерах, запасает вещества, необходимые для деления.

Синтетический (S). Происходит удвоение генетического материала путем репликации ДНК. Количество наследственного материала удваивается. Получаются Двуххроматидные хромосомы.

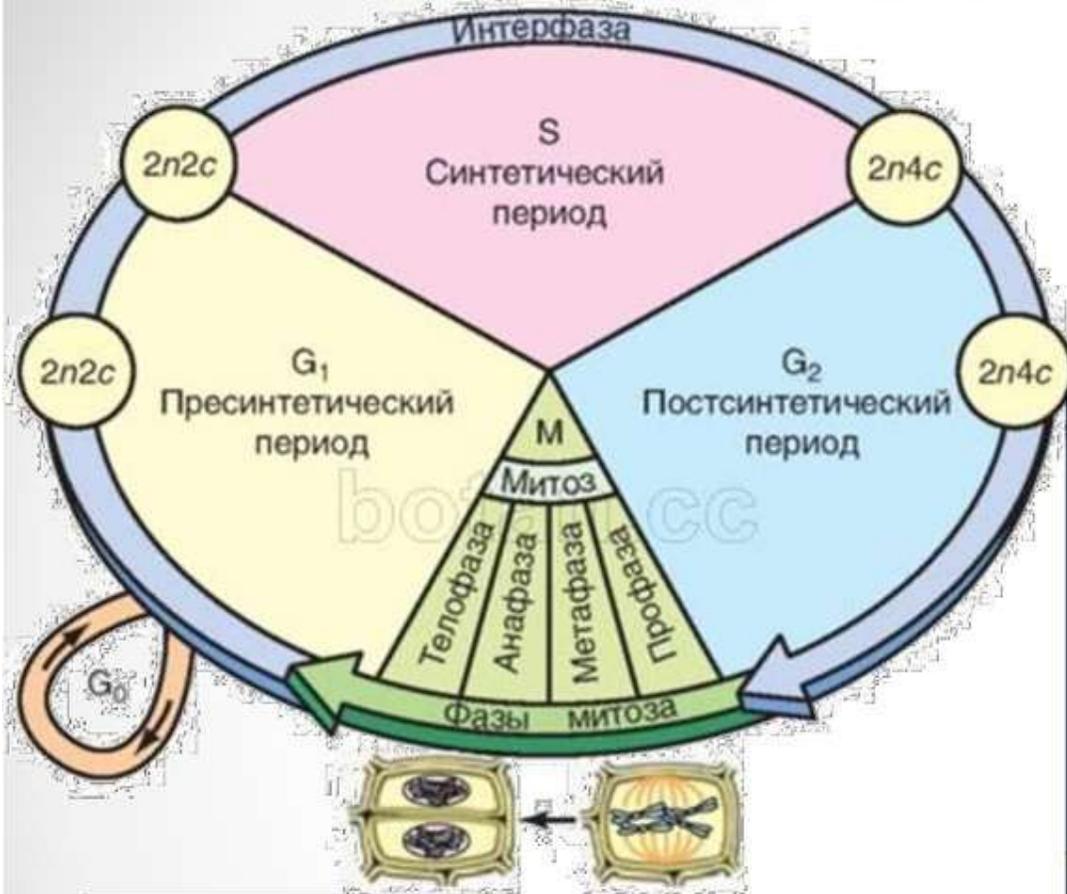
Постсинтетический (G2). ДНК уже не синтезируется, но происходит исправление недочетов, допущенных при синтезе ее в S период (репарация). Также накапливаются энергия и питательные вещества, продолжается синтез РНК и белков.

Клеточный цикл

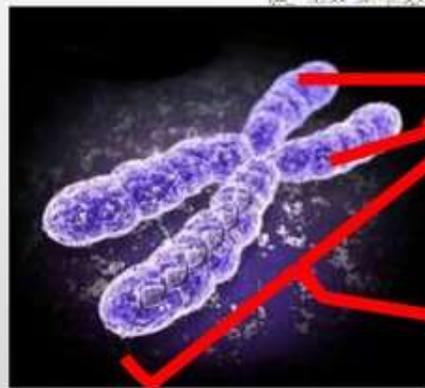
Клеточный цикл - это период существования клетки от момента ее образования путем деления материнской клетки до собственного деления или смерти.



Клеточный цикл. Митоз



Дано: в клетке здорового человека 46 молекул ДНК.
 Вопрос: сколько у него молекул ДНК и хромосом в разные стадии жизненного цикла?



Хроматида

Хромосома

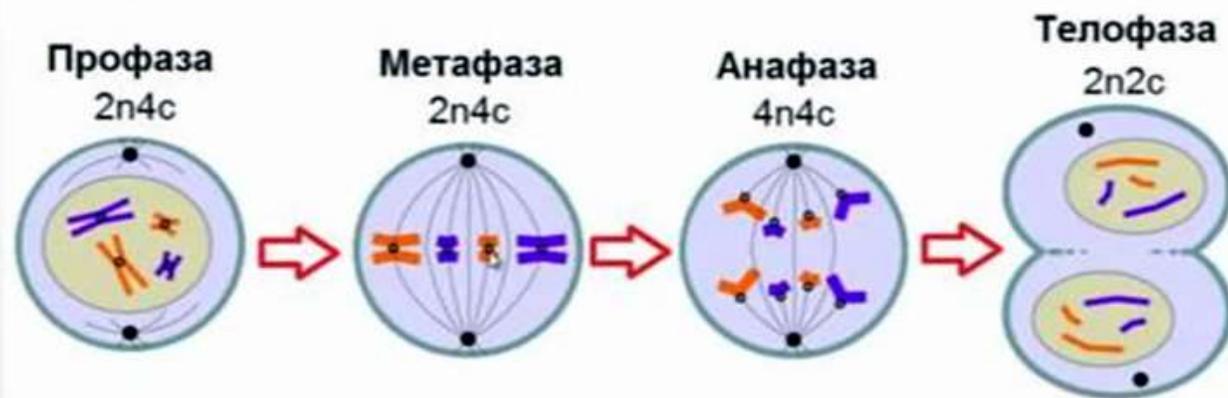
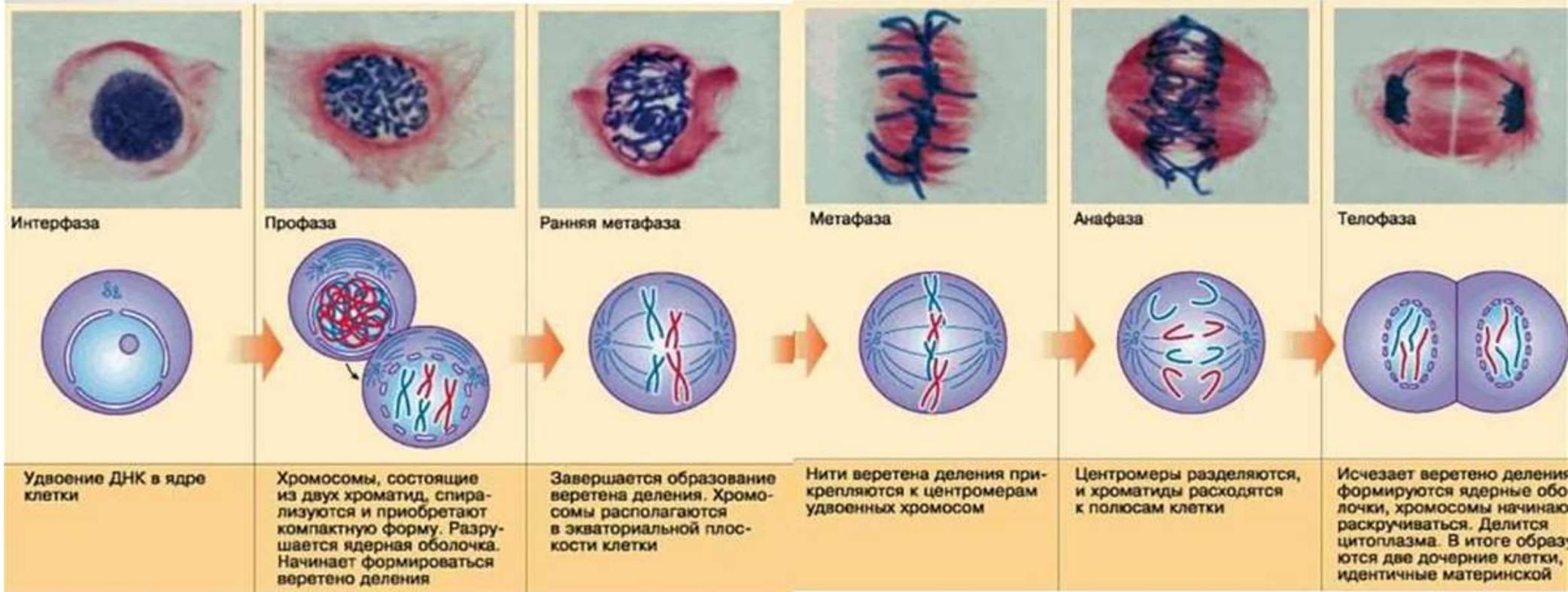
	Пресинтетический период	Синтетический период	Постсинтетический период
Молекул ДНК	46	92	92
Хроматид	46	92	92
Хромосом	46	46	46

МИТОЗ



Фазы		Процессы, происходящие в клетке
Фазы МИТОЗА	Профаза $2n4c$	Двухроматидные хромосомы спирализуются, ядрышки растворяются, центриоли расходятся к полюсам клетки, ядерная оболочка растворяется, образуются нити веретена деления
	Метафаза $2n4c$	Нити веретена деления присоединяются к центромерам хромосом, двухроматидные хромосомы сосредотачиваются на экваторе клетки
	Анафаза $2n4c \rightarrow 2n2c$	Центромеры делятся, однохроматидные хромосомы растягиваются нитями веретена деления к полюсам клетки
	Телофаза $2n2c$	Однохроматидные хромосомы деспирализуются, формируется ядрышко, восстанавливается ядерная оболочка, происходит деление цитоплазмы

Митоз



Циклины и циклин-зависимые киназы

- **Циклин зависимые киназы (Cdk)** - это клеточные машины, которые запускают события клеточного цикла и являются своеобразными часами этих событий. Кроме того, они выполняют функцию информационных процессоров, которые интегрируют внеклеточные и внутриклеточные сигналы для тонкой координации событий клеточного цикла. Изучение Cdk необходимо для понимания фундаментальных механизмов контроля клеточного цикла.

Регуляция активности Cdk

- Циклин зависимые киназы (Cdk) – это семейство АТФ-зависимых протеинкиназ, схожих между собой по структуре и функции. Главная структурная особенность – наличие определенных препятствий, не позволяющих Cdk связывать субстраты в активном центре без активаторной субъединицы – циклина.
- В гетеродимерной (состоящей из 2 разных субъединиц) протеинкиназе циклин является регуляторной субъединицей, а Cdk (циклин-зависимая киназа) – каталитической субъединицей.

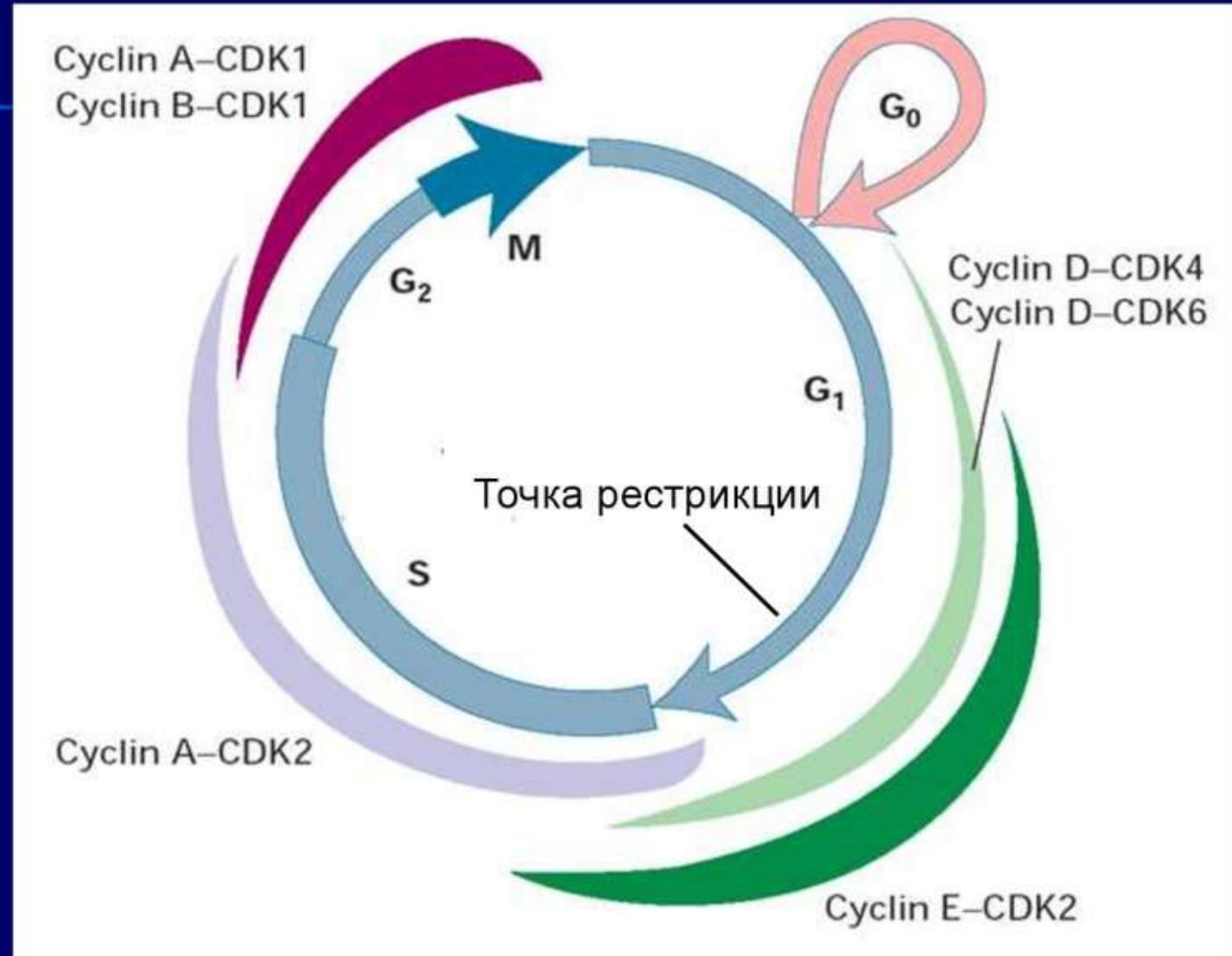


Регуляция клеточного цикла: циклинзависимые киназы

Молекула киназы (Cdk) состоит из одной неактивной субъединицы. Для активации необходимо связывание с **циклином**. В активном димерном комплексе «циклин–Cdk» циклин — активаторная, а Cdk — каталитическая субъединица.

- ▶ **Циклин D–Cdk4/Cdk6** функционирует в начале G_1 -периода, способствует прохождению клеткой точки рестрикции.
 - ▶ **Циклин E–Cdk2** — вторая половина G_1 -периода.
 - ▶ **Циклин A–Cdk2** — S-период.
 - ▶ **Циклин B–Cdk2** — S-период.
 - ▶ **Циклин B–Cdk1** — G_2 -период, вводит клетку в митоз (MPF — митозстимулирующий фактор).
-

Активность **Циклин-Cdk** комплексов клеток млекопитающих в ходе клеточного цикла культивированных G_0 -клеток, стимулированных к делению ростовыми факторами

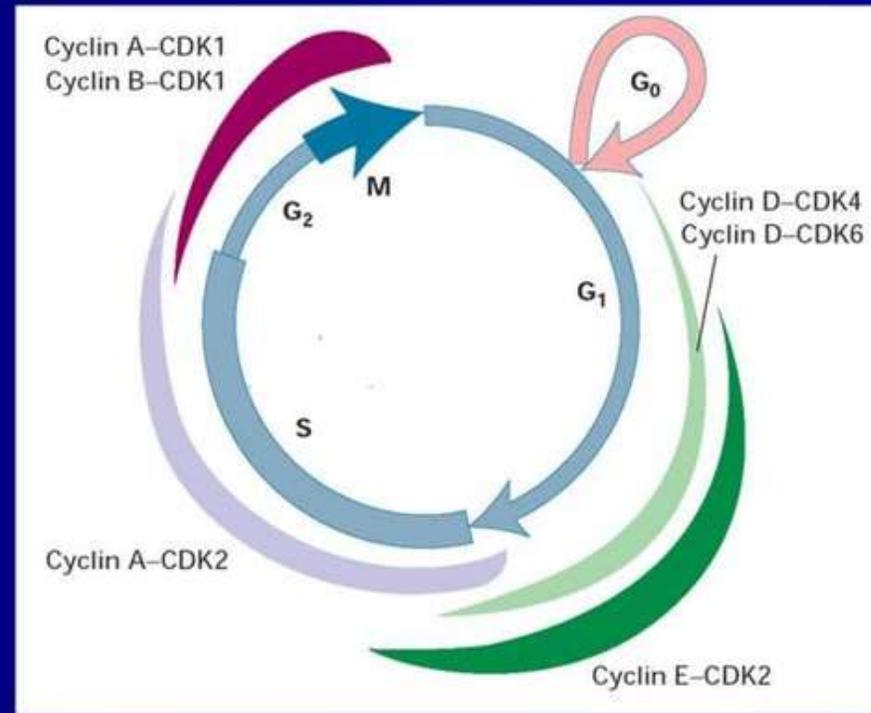


Способы регуляции содержания и активности Cdk

1. Регуляция синтеза самих Cdk.

- Не все Cdk одновременно присутствуют в клетке на разных стадиях ее цикла. Важным моментом является активация гена той или иной Cdk.

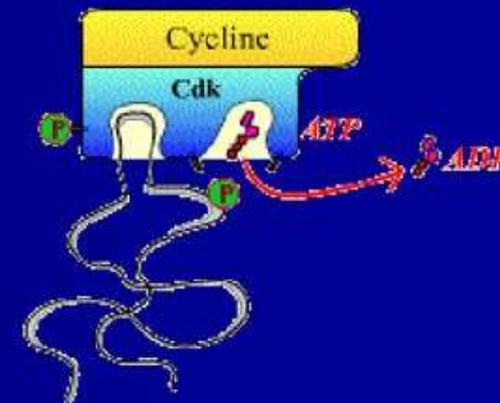
Например, комплексы G1 периода (Циклин D-Cdk4/6 и циклин E-Cdk2) запускают транскрипцию гена киназы Cdk1, которая необходима для образования комплексов G2 и M.



Способы регуляции содержания и активности Cdk

2. Регуляция активности Cdk.

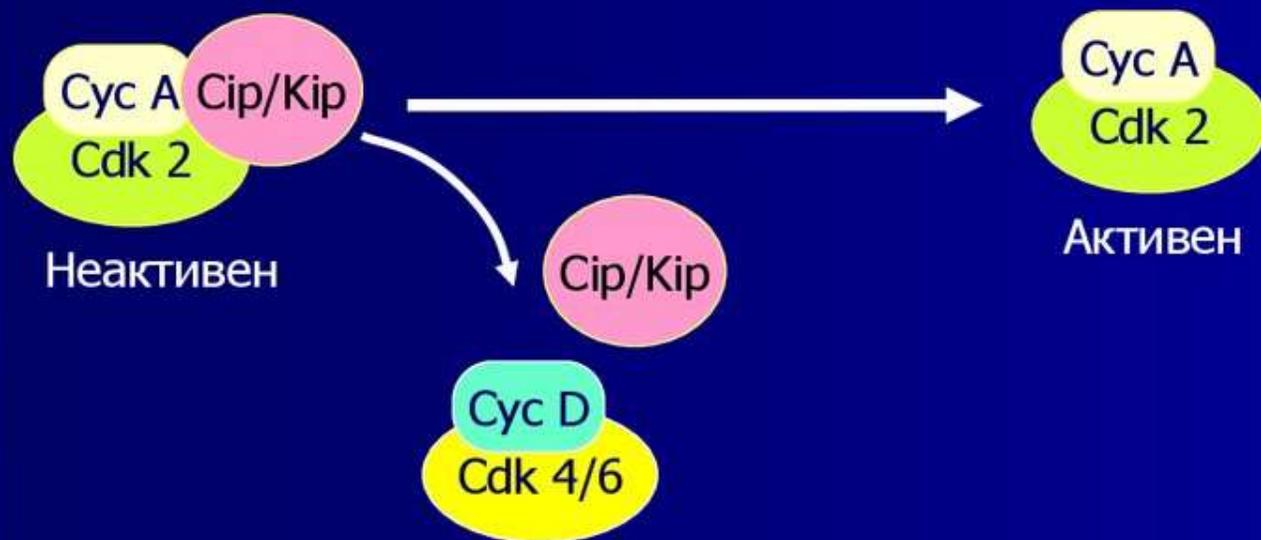
- Первичный механизм активации - связывание с субъединицей циклина.
- Активирующее фосфорилирование Cdk. Связывание циклина A с Cdk2 увеличивает киназную активность последней на несколько порядков. Это объясняется конформационными изменениями Cdk. Фосфорилирование Cdk необходимо лишь для улучшения связывания с белковым субстратом.



Способы регуляции содержания и активности Cdk

2. Регуляция активности Cdk.

- Связывание с ингибиторной субъединицей



Способы регуляции содержания и активности **Cdk**

2. Регуляция активности Cdk.

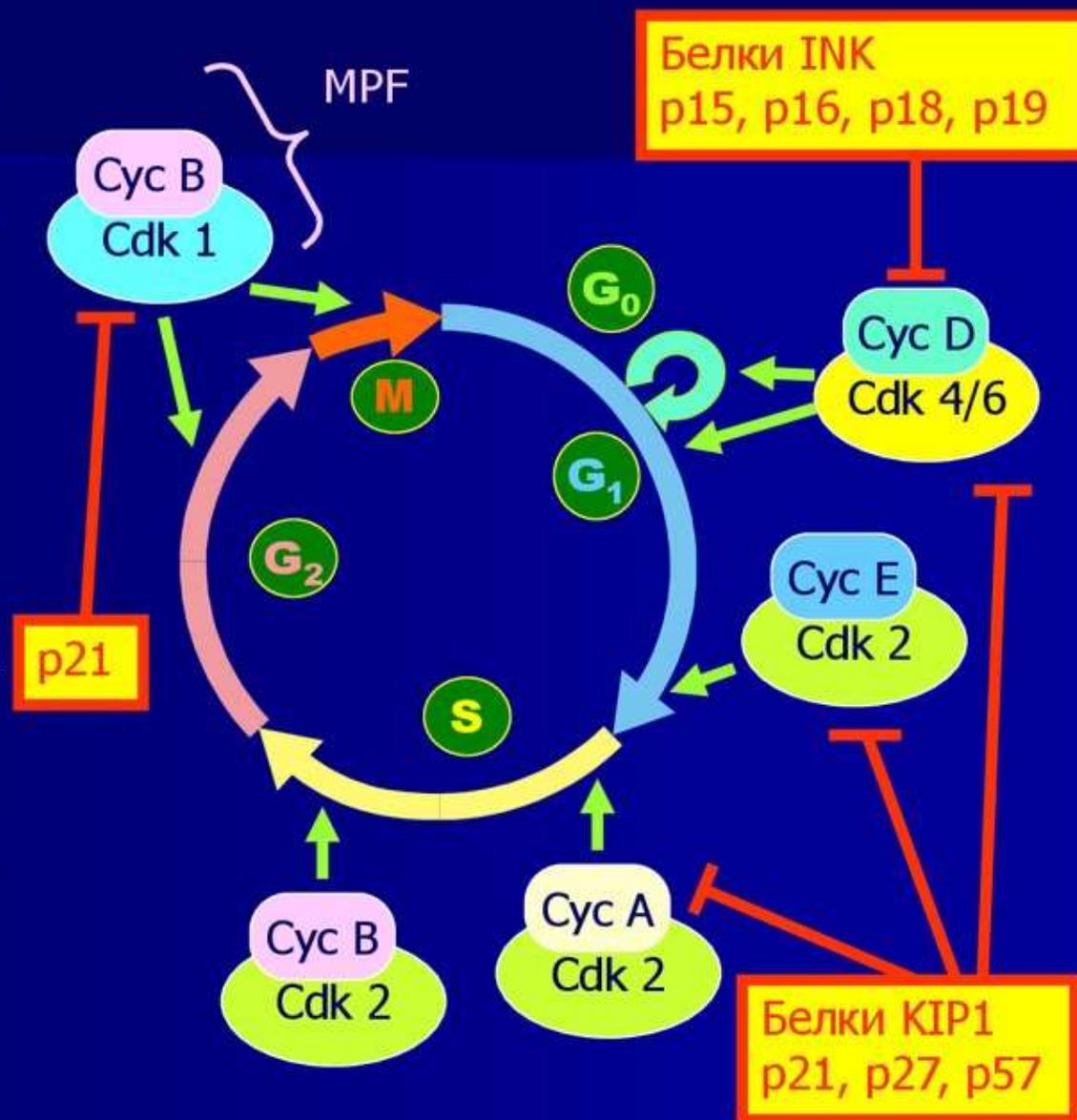
- Связывание с ингибиторной субъединицей

Существует два основных семейства СКІ (cyclin kinase inhibitor) белков, осуществляющих ингибирование Cdk. Представители первого семейства Cip/Kip (CDK inhibitory protein) - p21, p27 и p57, ингибируют Cdk2 и Cdk4/6 циклиновые комплексы, осуществляя G1 и G1/S контроль. Представители второго семейства INK4 (inhibitor of kinase 4) - p15, p16, p18 и p19, узкоспецифичны для Cdk4/6-цД комплексов и осуществляют аналогичные функции.



Ингибирование активности Cdk

Как следует из функциональных особенностей СКІ, их активация происходит, когда дальнейшее продолжение клеточного цикла нежелательно. Например, лишение клеток питательных веществ приводит к увеличению уровня **p27**, а внеклеточный ингибитор роста TGF- вызывает увеличение уровня **p15**. Повреждения ДНК активирует транскрипцию **p21** под действием белка p53. Белок **p21** способен ингибировать белок PCNA, принимающий участие в репликации ДНК. Таким образом, осуществляется остановка клетки в сверочной точке G1 фазы, что позволяет клетке репарировать повреждения ДНК.



Способы регуляции содержания и активности Cdk

2. Регуляция активности Cdk.

- **Ингибирующее фосфорилирование** вносит вклад в отсчет времени митоза. До митоза комплекс циклин B-Cdk1 инактивирован фосфорилированием по треонину-14 и тирозину-15. Фосфорилирование остатков у позвоночных осуществляется Myt1 и Wee1 соответственно. К концу G2 резкое дефосфорилирование этих двух остатков активирует Cdk1 и запускает митоз. Дефосфорилирование осуществляется фосфатазами семейства Cdc25.

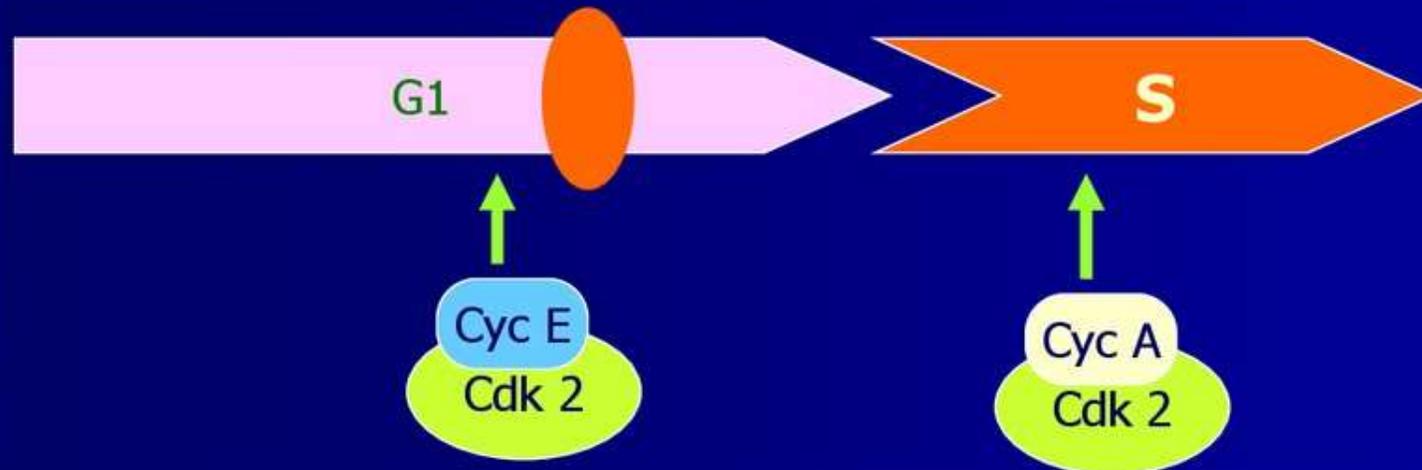


Регуляция циклинов

Регуляция циклинов осуществляется на двух уровнях.

- транскрипция генов
- деградация белка

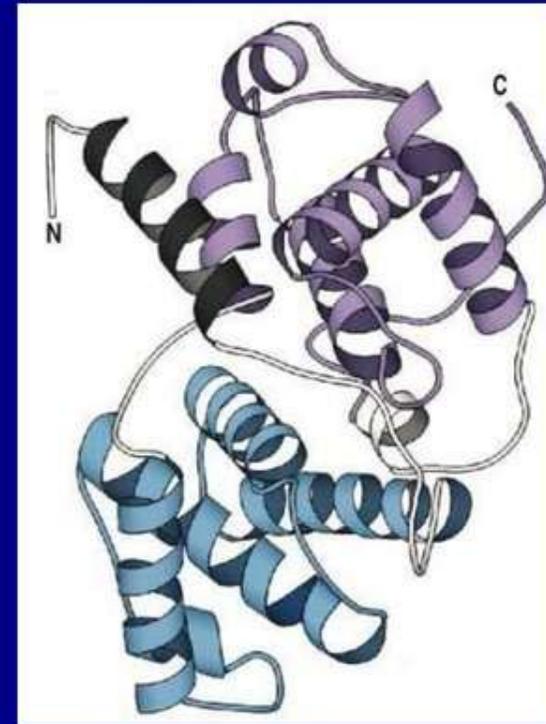
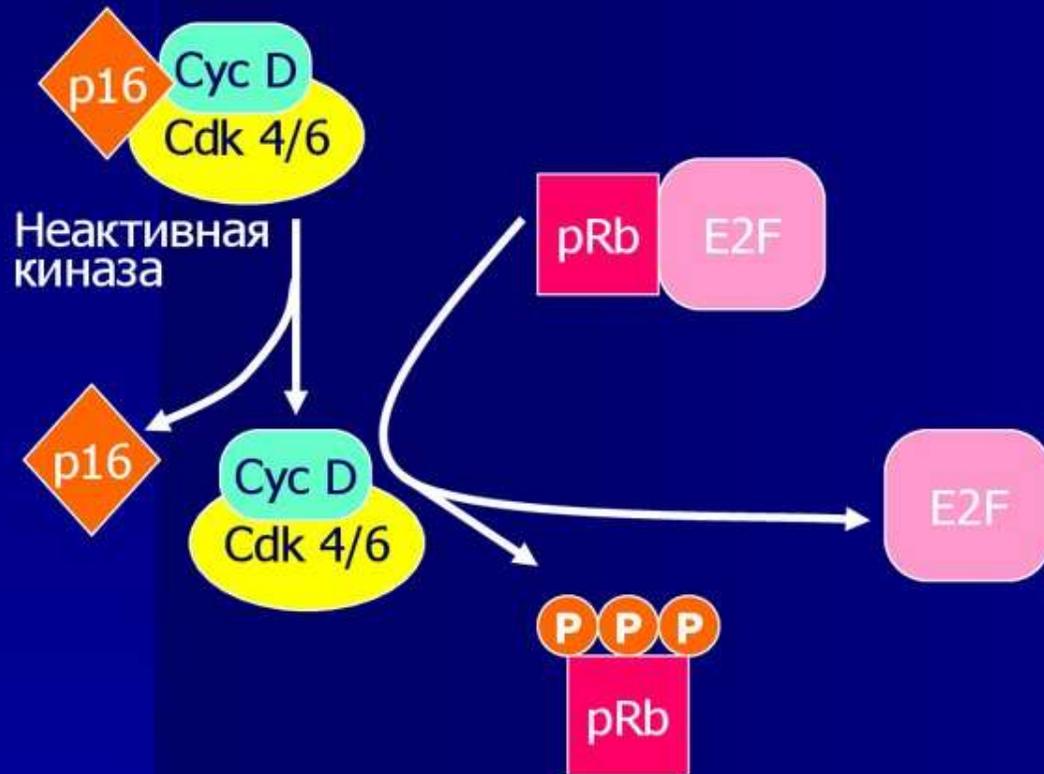
Регуляция транскрипции генов циклинов у высших эукариот изучена на примере перехода **ограничительной точки клеточного цикла**. Центральную роль в этом переходе играет **E2F** - фактор транскрипции некоторых генов, необходимых для синтеза ДНК в S фазе. Он стимулирует также транскрипцию генов **циклина А**, **циклина Е** и своего собственного гена.



Регуляция циклинов

- Транскрипция генов

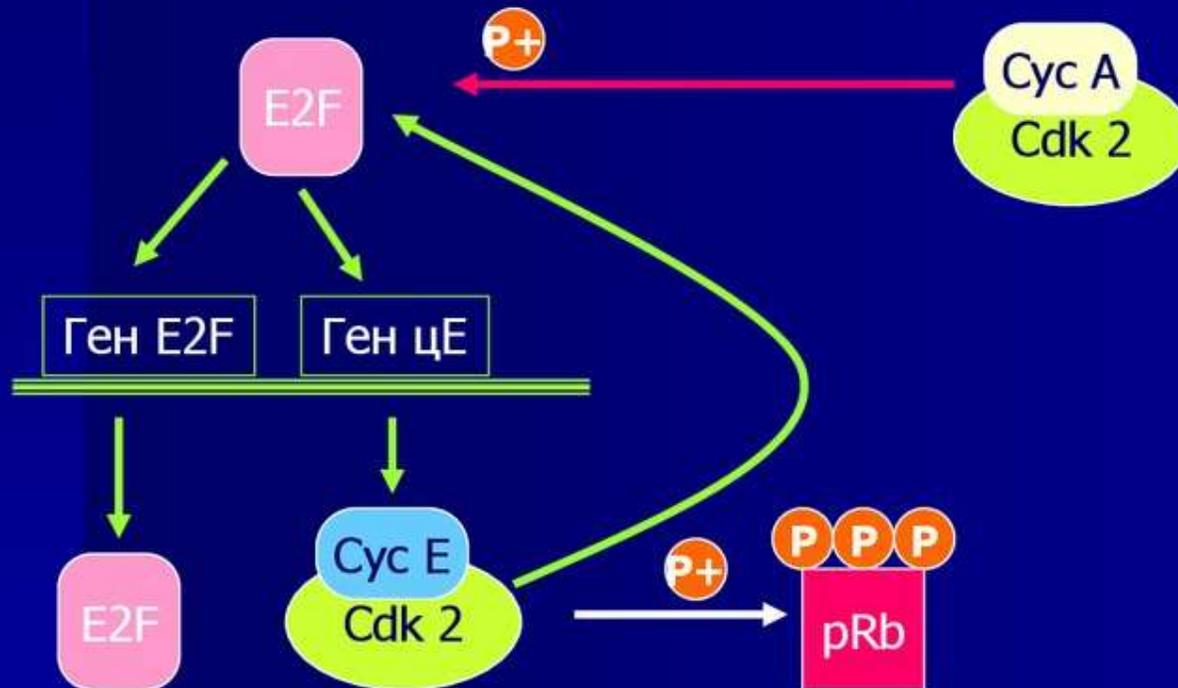
В неделящихся клетках и клетках G1 фазы белок **pRb** находится в нефосфорилированном состоянии. Белок pRb ингибирует E2F, связываясь с ним. Факторы роста стимулируют транскрипцию циклина D. Происходит накопление комплексов циклин D-Cdk4, которые начинают фосфорилировать Rb, что приводит к его диссоциации от E2F.



Регуляция циклинов

- Транскрипция генов

Освободившийся E2F стимулирует транскрипцию своего гена и гена **циклина E**. Образующийся вследствие этого комплекс Cdk2-цE, еще активнее фосфорилирует pRb. Таким образом, сеть эффектов через петлю положительной обратной связи приводит к быстрому возрастанию E2F зависимой транскрипции и переходу клетки в начало S фазы. Вскоре после этого в клетке появляются комплексы Cdk2-цA, которые фосфорилируют E2F, уменьшая его способность связываться с ДНК.

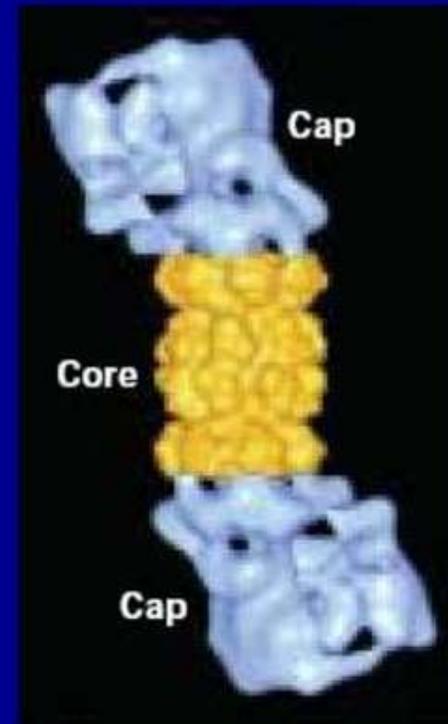


Регуляция циклинов

- Разрушение протеолизом

Таким образом контролируется, например, выход из митоза. Деструкция митотических циклинов необходима для начала телофазы и подготовки к следующему циклу. Распад короткоживущих белков является **убиквитин-зависимым**. **Убиквитин (Ub)** – небольшой белок (76 ам), который связывается с белками, тем самым «метит» их для разрушения в протеосомах.

Протеосомы - это нелизосомальные мультикаталитические **протеиназы**, обнаруженные у эукариот, широко распространенные в цитоплазме. Большая часть цитозольного протеолиза осуществляется именно протеосомами. Протеосома состоит из 14 субъединиц, представляющих собой различные протеазы. Они образуют бочкообразную структуру с активными центрами внутри. Большие протеазные комплексы по крайней мере из десяти различных полипептидов образуют дно и крышку такой бочки. Их роль, видимо, заключается в транспорте убиквитинированных белков в центр бочки.



Регуляция **циклинов** - разрушение протеолизом

Для присоединения Ub к белку-мишени требуются три фермента.

- **Убиквитин-активирующий фермент (E1)**

- Формирует по С-концу Ub тиоэфирную связь

- **Убиквитин-конъюгирующий фермент (E2)**

- принимает Ub на себя.

- **Убиквитин-лигаза (E3)**

- переносит Ub с E2 на белок.

- E2 и E3 представлены различными формами, специфичными в отношении тех или иных белков

- Помеченные цепочками Ub белки быстро разрушаются в протеосомах



Механизм действия комплексов Циклин-Cdk

Действие МИТОГЕНОВ

Практически все сигнальные пути, регулирующие пролиферацию клеток, направлены на комплексы G1 периода – в основном Cdk4/6-цD и, в меньшей степени, Cdk2-цE. Именно данные комплексы запускают очередной процесс деления клетки.

