

Тема: Розмноження на клітинному рівні

Мітотичний цикл - це ланцюг численних процесів, які послідовно змінюють один одного і приводять клітину до мітозу, в результаті якого з однієї материнської клітини виходять дві дочірні, що містять ідентичний генетичний матеріал. Всі процеси мітотичного циклу скоординовані завдяки складній багатокомпонентній системі регуляції, що здійснює ввімкнення/вимкнення чергових процесів. Ця система передбачає зупинку мітотичного циклу, якщо є ушкодження ДНК або не завершені ключові процеси. В системі регуляції закладена здатність викликати клітинну загибель в разі, якщо порушення не виправляються.

СТАДІЇ МІТОТИЧНОГО ЦИКЛУ

Мітотичний цикл - ланцюг подій, які відбуваються в клітинах, що розмножуються шляхом мітозу. Хоча події мітотичного циклу плавно перетікають одна в іншу, проте прийнято виділяти різні стадії, які морфологічно або біохімічно чітко розмежовані. Поділ на інтерфазу і власне поділ клітини виник ще в ХІХ ст., коли світлова мікроскопія була єдиним методом вивчення клітин, і пов'язана зі зміною стану хроматину: якщо в інтерфазі в ядрі видна суцільна маса хроматину, то з початком мітозу з'являються видимі в світловий мікроскоп ниткоподібні хромосоми (звідси і назва цього типу поділу: грец. mitos – нитка). Поява в 1960-х роках методів авторадіографії та цитофотометрії дозволило виявити, що подвоєння хромосом займає тільки частину інтерфази - період від початку синтезу ДНК до його закінчення назвали синтетичним - S, а інтервали, що відокремлюють його від поділу, - G1 і G2 (англ. Gap - проміжок)

KEY POINT

The cell cycle is the successive series of events in the life of a cell.

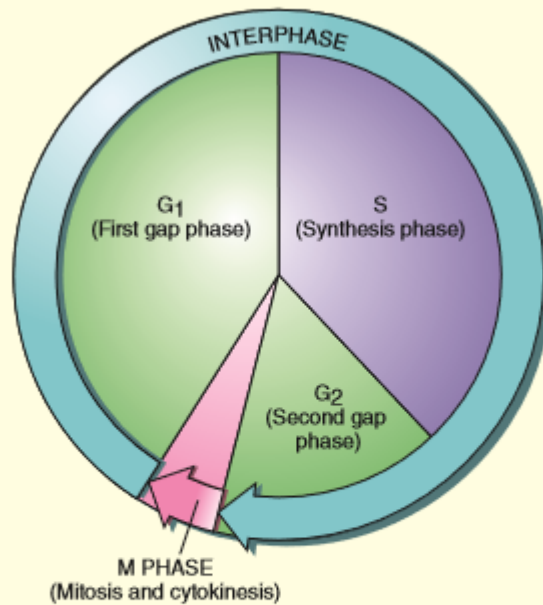


FIGURE 10-5 Animated The eukaryotic cell cycle

The cell cycle includes interphase (G_1 , S, and G_2) and M phase (mitosis and cytokinesis). Proportionate amounts of time spent at each stage vary among species, cell types, and growth conditions. If the cell cycle were a period of 12 hours, G_1 would be about 5 hours, S would be 4.5 hours, G_2 would be 2 hours, and M phase would be 30 minutes.

Тривалість мітотичного циклу клітин, що регулярно діляться зазвичай становить близько 24 годин. G_1 -період - найтриваліший, на нього може припадати половина часу всього мітотичного циклу. S - і G_2 -періоди мають приблизно рівну тривалість. Мітоз у тварин з великим вмістом ДНК в геномі триває кілька годин, у ссавців - 1-1,5 години. У ранньому ембріогенезі мітотичні цикли значно коротші і відрізняються по відносній тривалості різних періодів.

Якщо ДНК синтезується тільки в S -періоді, то синтез РНК відбувається протягом всієї інтерфази, синтез білка - протягом усього мітотичного циклу, хоча під час поділу його інтенсивність становить не більше 25% від рівня інтерфази. Зрозуміло, що в різний час мітотичного циклу спектр синтезованих РНК і білків повинен відрізнятися, що і спостерігається в дійсності. Так, синтез гістонів йде тільки в S -періоді, білків конденсації хроматину - в G_2 -періоді і т. п.



Рис. 2. Інтенсивність реплікації, транскрипції та трансляції на протязі мітотичного циклу.

Если інтенсивність синтезу РНК та ДНК виміряти кількістю встроєних нуклеотидів, то криву синтезу РНК надо провести в 10–15 раз вище.

Поділ клітини складається з ділення ядра (мітоз, або каріокінез) і поділу цитоплазми (цитокінез, або цитотомія). Іноді термін «мітоз» використовується для позначення поділу клітини в цілому і тоді в нього включають стадію цитокінезу. Мітоз не завжди супроводжується цитокінезом, наприклад при розподілі ядер в синцитіальній бластодермі комах.

Мітоз - поділ ядра (клітини), при якому кожне з дочірніх ядер отримує генетичну інформацію, ідентичну генетичній інформації материнської клітини.

Виділення окремих стадій мітозу в основному пов'язано з їх морфологічними характеристиками. Профаза - це конденсація хромосом і перетворення ядерної оболонки. Зникнення ядерної оболонки знаменує перехід до стадії прометафази, під час якої хромосоми з'єднуються з мікротрубочками веретена поділу і після складних рухів шикуються в екваторіальній площині клітини (цей процес називають конгресом хромосом). У метафазі, коли центромерні райони хромосом вже знаходяться в площині, рівновіддаленій від обох полюсів, йде перевірка правильності прикріплення кінетохор. Поділ хроматид в центромерному районі означає перехід до анафази, під час якої відбувається розходження хромосом до полюсів. Нарешті, в телофазі, яка починається після утворення ядерної оболонки, йде деконденсація хроматину, і ядро готується до відновлення процесу транскрипції. Цитокінез зазвичай відбувається під час телофази.

Тривалість окремих стадій мітозу варіює в різних клітинах і у різних видів, але в середньому профази і телофаза рівні за тривалістю і займають 2/3 часу, що залишилася 1/3 приблизно навпіл ділять прометафаза і анафаза. Тривалість метафази становить секунди.

Під час мітозу клітина піддається складним морфологічним перетворенням: змінюється конденсація хроматину; перебудовуються клітинні компартменти і цитоскелет; формуються нові структури (кінетохор на хромосомах і веретено поділу); відбувається рух хромосом; зникає і знову виникає ядерна оболонка. За всіма цими перетвореннями стоять молекулярні процеси, які ми зараз коротко розглянемо.

МОРФОЛОГІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ КЛІТИН В МІТОЗІ І ЇХ МОЛЕКУЛЯРНІ ОСНОВИ

Конденсація хромосом

Ниткоподібні хромосоми, поява яких знаменує початок профазы, складаються з двох хроматид, які перебувають на четвертому рівні упаковки.

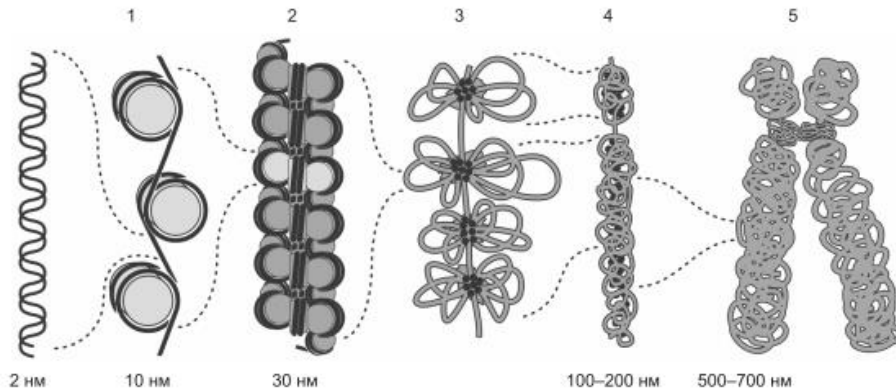


Рис. 3. Уровні упаковки хроматина.

Конденсація с 4-го до 5-го уровня происходит во время профазы.

Сестринські хроматиди пов'язані одна з одною комплексами білків, званих **когезинами**. Основою цих комплексів є білки сімейства SMC (Structural Maintenance of Chromosomes), зокрема SMC 1 і SMC 3. Крім того, в когезиновий комплекс входять білки Scc1 і Scc3 (рис. 4). Вважається, що зв'язування (**когезія**) сестринських хроматид відбувається під час S-періоду безпосередньо в реплікаційній вилиці, коли ДНК сестринських хроматид зближені. Когезини розташовуються по довжині хромосом на відстані не менше десятка т.п.н. один від одного, зв'язуючись переважно з АТ-багатими районами ДНК. Існує дві моделі з'єднання хроматид. Одна передбачає, що когезиновий комплекс утворює кільце діаметром близько 40 нм, яке може розмикатися при роз'єднанні хроматид, інша пояснює зв'язок хроматид поперечними когезиновими сшивками.

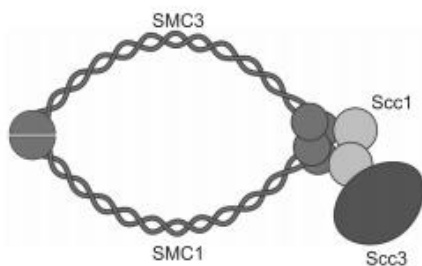


Рис. 4. Стрoение комплексов когезин.

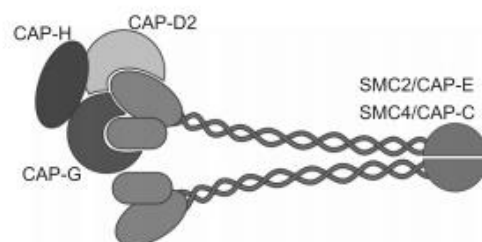


Рис. 5. Стрoение комплексов конденсин.

Протягом всієї профазы відбувається подальша конденсація хромосом. Ця конденсація супроводжується фосфорилуванням гістонів H1 і H3, появою в хроматині багатьох нових білків і, в першу чергу, білків комплексу **конденсин** (рис. 5). В нього також входять білки сімейства SMC: SMC2, SMC4 і ряд додаткових білків. Конденсин з'єднується

з хроматином протягом профазі і упакує його до стану метафазної хромосоми. Експерименти *in vitro* показують, що в місці зв'язування конденсина з кільцевою ДНК утворюються два витки спіралі, при цьому у вільній частині молекули виникає компенсаторна суперспіралізація. Не виключено, що подібний механізм працює і при взаємодії конденсину з профазним хроматином. Одночасно з конденсацією відбувається поступове вивільнення когезину з хромосомних плечей, так що до кінця профазі його залишається не більше 5% від тієї кількості, яка була при вступі клітини в мітоз. Є припущення, що конденсин конкурує з когезином за місця прикріплення і тому витісняє його. У всякому разі, иммунофлюоресцентне мічення виявляє конденсин в основі метафазних хромосом.

Таким чином, кожна з сестринських хроматид конденсує свої плечі незалежно від іншої, а їх зв'язок до кінця профазі зберігається тільки в області центромери. Деконденсація хроматину відбувається в телофазі після утворення ядерної оболонки. Конденсин зникає з хроматину, хромосома «розпушується», але об'єм, займаний нею, збільшується незначно.

Ядерце

Синтез рРНК, як і інших РНК, припиняється до початку мітозу, однак ядерце зберігається протягом всієї профазі. Воно стає меншим в порівнянні з інтерфазним, ущільнюється, його ультраструктура змінюється: практично зникає фібрилярна частина. У профазних перетвореннях ядерця беруть участь білки комплексу конденсин, які з'являються в районі ядерцевого організатора (ЯО) на кордоні G1/M стадій. Зі зникненням ядерної оболонки ядерце починає розпадатися. Частина білків ядерця залишається в області ЯО, і це дозволяє виявляти функціонують ЯО в метафазних хромосомах у вигляді аргентофільного матеріалу в області вторинної перетяжки. Інші компоненти розподіляються по поверхні хромосом у вигляді дрібних крапель, і хромосоми доставляють цих «пасажирів» в область формування дочірніх ядер.

В телофазі в міру розпушення хроматину білки ядерця об'єднуються і формують дрібні ядерця, число яких зазвичай збігається з числом активних ЯО. З початком G1-періоду починається синтез рРНК, обсяг ядерець збільшується, вони зливаються один з одним, тому в інтерфазних ядрах спостерігають менше ядерець, ніж хромосом з вторинними перетяжками.

Ядерна оболонка

У вищих еукаріот сегрегація хромосом в мітозі відбувається після зникнення ядерної оболонки. В інтерфазі у тварин ядерна оболонка представлена внутрішньої і зовнішньої мембраною, ядерними поровими комплексами (ЯПК), вбудованими в ділянки, де зовнішня мембрана перетікає у внутрішню. Внутрішню мембрану ядерної оболонки вистеляє білкова мережа (щільна пластинка, або ламіна). У рослин під внутрішньою мембраною також знаходяться структурні білки, що виконують схожі функції, але вони поки не вивчені так докладно, як у тварин.

Зникнення ядерної оболонки - це складний багаторівневий процес, під час якого всі компоненти оболонки розпадаються на дрібні фрагменти.

Порові комплекси, що представляють собою складні білкові комплекси, розбираються першими. Уже в профазі спочатку зникають периферичні структури ЯПК, потім його центральна частина - транспортер, після цього в ядерній оболонці залишається порожній отвір. Потім зникає щільна пластинка і мембрана розпадається на дрібні бульбашки. Основою щільної пластинки є ламіни - білки, що належать до одного з типів білків проміжних філаментів (ПФ). Так само, як всі білки, ПФ в дефосфорильованому стані мають здатність до самосборки, цитоплазматичні білки ПФ формують довгі 10-12 нм нитки, а ламіни - щільну мережу. Фосфорилування білків ПФ призводить до деполімеризації цих структур.

Ламіни поділяють на два типи: А і В. Ламіни В-типу закорені у внутрішній мембрані за допомогою фарнезильного угруповання, і цей зв'язок встановлюється після їх надходження в ядро і стає постійним. Таким чином, в мітозі, коли ядерна оболонка розпадається на окремі дрібні бульбашки, В-ламіни залишаються пов'язаними з ними, в той час як ламіни А-типу розподіляються в цитоплазмі.

Слід зазначити, що в цитоплазмі в цей час також відбуваються зміни, зокрема відбувається фрагментація протяжних мембранних структур, таких як апарат Гольджі і ЕПР, на дрібні бульбашки.

Збірка ядерної оболонки починається зі злиття бульбашок і їх прикріплення до хроматину. У цьому процесі активну роль відіграють ламіни. Їх дефосфорилування призводить до того, що ламіни А- і В-типу об'єднуються навколо хроматину, формуючи щільну пластинку і зближуючи мембранні везикули. Між близько розташованими бульбашками відразу ж починають збиратися порові комплекси. Так що, коли ядерна оболонка замикається, ЯПК здатні відразу починати роботу. У формуванні нової ядерної оболонки беруть участь не тільки пляшечки із мембран «колишнього» ядра, але і бульбашки з ЕПР.

У цитоплазмі протягом телофази також в результаті дефосфорилування ряду білків відновлюються цистерни ЕРС і апарату Гольджі.

Кінетохори

За прикріплення хромосом до мікротрубочок відповідальні кінетохори, які утворюються в районі центромери. Центромерна ДНК відрізняється від теломерної ДНК великими міжвидовими різноманітностями. У ній часто виявляють повтори АТ-багатих некодуючих послідовностей, що містять паліндроми. На відміну від теломерної, центромерна ДНК характеризується різноманітністю нуклеотидного складу не тільки у різних видів, а й у хромосом в межах одного кариотипа. Тільки у *S. cerevisiae* центромери всіх хромосом близькі за розмірами і мають подібний нуклеотидний склад ДНК. У інших вивчених видів центромерного ДНК різних хромосом набору можуть значно відрізнятися. У людини центромери містять α -сателітні ДНК послідовності довжиною 171 п.н., об'єднані в більш великі блоки, число яких варіює від хромосоми до хромосоми. Припускають, що головним для функціонування центромери є не конкретний нуклеотидний склад ДНК, а та просторова структура, яка дозволяє приєднуватися до неї унікальним «центромерним» білкам. Перш за все, це центромерний варіант гістона H3, який у хребетних називається CENP-A, CENP-C. Ці білки присутні в хроматині центромерного району на протязі всього

клітинного циклу і, очевидно, є основою для приєднання інших білків, які формують кінетохор. У хребетних таких білків не менше 50, і в ході клітинного циклу їх набір в кінетохорі змінюється. Зокрема, під час профазі-метафазі в кінетохор знаходять кінезин-подібний білок CENP - і комплекс білків Augora B, який на початку анафазі виявляється на мікротрубочках, розташованих в екваторіальній області клітини.

Кінетохор починає формуватися вже в профазі як сферичне скупчення білків над центромерою. Хромосома утворює два кінетохори, по одному на кожній хроматиді, орієнтованих в протилежні сторони. Після зникнення ядерної оболонки і приєднання додаткових білків кінетохор ущільнюється і в ньому стають чітко видно кілька шарів. Внутрішній шар, або пластинка, містить CENP-A і CENP-C. Зовнішня пластинка містить різні моторні білки, здатні рухатися по мікротрубочкам. Від зовнішньої пластинки відходить мережа тонких фібрил, яку прийнято називати **короною**. До її складу також входять моторні білки, в тому числі цитоплазматичний дінеїн. Всі частини кінетохора взаємодіють з хроматином, і крім згаданих в них знаходять багато допоміжних білків, одні з них стабілізують мікротрубочки, інші служать для їх взаємодії з хроматином та іншими структурами.

Мікротрубочки

Мікротрубочки складають основу мітотичного апарату - **веретено поділу** (ахроматинове веретено), але у рослин і у тварин багато деталей його формування розрізняються. Це пов'язано, перш за все, з тим, що у тварин протягом усього клітинного циклу існує органела **центросома**. Перед вступом клітини до поділу вона подвоюється, і дочірні центросоми формують два полюси веретена. У рослин два полюси веретена створюються тільки під час поділу клітини, їх структура і спосіб формування інші.

Центросома в інтерфазі тваринної клітини - це щільне білкове скупчення діаметром близько 1 мкм, в центрі якого перпендикулярно один до одного розташовані дві **центріолі**. Навколо центріолей концентруються білки, в тому числі комплекси, в які входить γ -тубулін. Саме ці комплекси (їх називають γ -тубулінові кільцеві комплекси) служать «затравкою» для утворення мікротрубочок. Мікротрубочки в інтерфазній клітині розташовані так, що їх мінус-кінці зібрані в центросоми, а плюс-кінці знаходяться на периферії клітини.

Мікротрубочки є динамічними структурами, тобто вони мають здатність подовжуватися або скорочуватися. Якщо мінус-кінець мікротрубочки знаходиться в матриксі центросоми, то зміна її довжини відбувається тільки за рахунок плюс-кінця; в разі, коли мінус-кінець вивільняється з матриксу центросоми, він також може зменшуватися. При необхідності клітина «вміє» стабілізувати кінці мікротрубочок.

У S-періоді дві центріолі в центросомі трохи відходять одна від одної, і перпендикулярно кожній з них починають рости дві нові центріолі. Напередодні вступу в мітоз в клітині знаходяться дві пари центріолей, тобто по суті, - дві центросоми, але до початку мітозу вони функціонують як єдина структура.

Вступ в мітоз супроводжується повним розбиранням інтерфазних мікротрубочок і появою «самостійності» у двох існуючих центросом. Кожна з них починає продукувати мікротрубочки і робить їх в більшій кількості і з більш високою швидкістю, ніж в інтерфазі.

Нестабільність мітотичних мікротрубочок виражена набагато сильніше, ніж в інтерфазі, тобто вони не тільки швидко виникають, але і швидко деполімеризуються, а на їх місці виникають нові. Ці мікротрубочки набагато коротші від інтерфазних, вони ростуть з центросом в різні боки, їх називають **астральними мікротрубочками**. Мікротрубочки, що ростуть від двох центросом назустріч одна одній, захоплюються моторними білками, які починають рухатися відразу за двома протилежно спрямованими мікротрубочками в напрямку до їх плюс-кінців. З цього моменту такі астральні мікротрубочки перетворюються в міжполюсні. Вони продовжують рости, при цьому область їх перекривання залишається постійною, і в результаті центросоми відсуваються один від одного до тих пір, поки не виявляться на протилежних сторонах ядра.

У тих організмів, у яких ядерна оболонка руйнується задовго до утворення двох полюсів, крім моторних білків, що рухаються по антипаралельним мікротрубочкам, працюють моторні білки, що зв'язують астральні мікротрубочки з мембраною. Вони додатково тягнуть полюси в різні боки.

Після того як зникає ядерна оболонка, астральні мікротрубочки, швидко зростають в довільному напрямку і швидко деполімеризують, ніби «зондують» простір колишнього ядра. Якщо така мікротрубочка захоплюється цитоплазматичним динеїном, який входить до складу корони кінетохора, то вона стабілізується і перетворюється в кінетохорну мікротрубочку. Після цього не важливо, чи захоплена мікротрубочка за плюс-кінець або за бічну поверхню, цитоплазматичного динеїну, а отже, кінетохор, а за ним і хромосома починають рухатися до її мінус-кінця - до одного з полюсів. Так як при цьому русі хромосома повертається цим кінетохором до полюса, то з нею можуть взаємодіяти інші мікротрубочки, що ростуть від цього полюса, і рано чи пізно кінетохор сестринської хроматиди захопить мікротрубочки від протилежного полюса.

Взаємодія з білками кінетохора стабілізує мікротрубочки, причому встановлено, що нитка мікротрубочки, що з'єднана з кінетохором не під прямим кутом (що буває, коли мікротрубочки від одного полюса з'єднуються з кінетохором різних хроматид або, навпаки, один кінетохор з'єднується з мікротрубочками від різних полюсів), виявляється нестабільною. Іншими словами, кінетохор «вміє» оцінювати ступінь натягу кінетохорних ниток. В результаті відбувається «виправлення» помилок прикріплення. Таким чином, існує система, що забезпечує правильне прикріплення хромосом до мікротрубочок веретена.

Після того як кінетохори правильно прикріпилися до полюсів, йде вирівнювання хромосом в екваторіальній площині клітини (конгрес). Цей процес залежить від здатності кінетохорних мікротрубочок до подовження і вкорочення. Короткі мікротрубочки нарощують свою довжину на плюс-кінці, довгі укорочують її і з плюс- і з мінус-кінців. У цих процесах важливу роль відіграє здатність мікротрубочок реагувати на силу натягу, яка змінюється, оскільки хромосоми знаходяться під дією протилежно спрямованих сил. Кінезин-подібні білки тягнуть їх за кінетохор до полюса, що ростучі астральні мікротрубочки «відштовхують» їх від полюса. Крім того, існують ще моторні білки, які з'єднуються з плечима хромосом і, рухаючись по некінетохорним ниткам, допомагають переміщати хромосому до середини веретена. Результатом є такий стан хромосом, при якому сили, що тягнуть їх до різних полюсів, були б рівні, тобто на рівній відстані від обох полюсів.

Розбіжність сестринських хроматид в анафазі відбувається після зникнення їх зв'язку в центромерним районом. Він забезпечується укороченням кінетохорних ниток, по яких рухається до мінус-кінця динеїн-подібний білок, «під'їдають» їх плюс-кінець, з одного боку, і в результаті деполімеризації цих мікротрубочок на мінус-кінці, з іншого. Рух хромосом до полюсів (А-анафаза) - не єдина можливість «розвести» хроматиди на значну відстань для успішного їх потрапляння в різні ядра. Існує ще рух полюсів в сторону один від одного (В-анафаза). Воно забезпечується подовженням перекриваючихся міжполюсних мікротрубочок з активною участю астральних мікротрубочок, які своїми плюс-кінцями взаємодіють з динеїном, закріпленими на плазматичній мембрані за полюсами.

Особливості мітозу рослинних клітин, в першу чергу, пов'язані з відсутністю в них постійно функціонуючої центросоми як центру, в якому зібрані мінус-кінці всіх мікротрубочок. У інтерфазних клітин рослин велика частина мікротрубочок розташована в кортикальному шарі, менша частина відходить від ядра в напрямку до периферії клітини. Є підстави вважати, що мінус-кінці цих мікротрубочок розташовані поруч з поверхнею ядра або безпосередньо на ній. Про це свідчить виявлення поблизу поверхні ядра γ -тубуліну. Перед вступом в мітоз кортикальні мікротрубочки збираються в щільне кільце. У цьому процесі беруть участь і мікрофіламенти. Радіальні мікротрубочки, деполімеризовані в тій чи іншій мірі, розташовуються навколо ядра. Спочатку профазі препрофазне кільце мікротрубочок деполімеризується. У метафазному веретені мікротрубочки орієнтовані своїми мінус-кінцями до периферії клітини, тобто за час профазі вони змінюють свою орієнтацію практично на 180° . Механізм повороту ще не встановлено, але можливо, що вкорочення мікротрубочок його полегшує. Як тільки зникає ядерна оболонка, мікротрубочки швидко полімеризуються, деякі з них своїми плюс-кінцями з'єднуються з кінетохором хромосом, одночасно інші перекриваються плюс-кінцями один з одним. Так виникають кінетохорні і міжполюсні мікротрубочки. Таким чином, їх плюс-кінці розташовуються в області колишнього ядра, а мінус-кінці спочатку спрямовані в різні сторони, потім вирівнюються паралельно один одному і, нарешті, завдяки моторним білкам, які переміщуються до мінус-кінців, збираються разом, формуючи полюси. Подібний процес утворення веретена без участі центросоми описаний для деяких клітин тварин, у яких відсутні центросоми, його також спостерігали в умовах *in vitro*. У порівнянні з тваринами клітинами полюса в клітинах рослин більш «пухкі», в них практично відсутні астральні мікротрубочки, що з'єднують полюс з кортикальним шаром цитоплазми і, можливо, плазматичною мембраною.

Цитокінез

Механізми цитокінезу тварин і рослинних клітин принципово різні. Тваринні клітини діляться за рахунок скорочення актин-міозинового кільця, яке тісно пов'язане з периферією клітини і формує клітинну перетяжку в площині, перпендикулярній веретену ділення. Активними учасниками цитокінезу є мікротрубочки залишкового тільця, які є залишками міжполюсних мікротрубочок які перекриваються.

Плазматична мембрана дочірніх рослинних клітин і розділяюча їх клітинна пластинка будуються з бульбашок, що утворюються в апараті Гольджі, починаючи з центру клітини. Бульбашки прямують до місця формування клітинної пластинки по мікротрубочкам фрагмопласту. На початку цитокінезу фрагмопласт являється пучком

мікротрубочок, розташованих між дочірніми ядрами і перекриваються своїми плюс-кінцями. У міру формування клітинної пластинки центральні мікротрубочки деполімеризуються і фрагментується приймає форму циліндра. Цікаво, що утворення клітинної пластинки починається перпендикулярно площині веретена, але якщо мітотичне веретено формувалося в клітині не перпендикулярно площині препрофазного кільця, то в кінці цитокінезу клітинна пластинка повертається і зливається зі стінками материнської клітини в тому місці, де розташовувалося препрофазне кільце. Тобто на плазматичній мембрані або в кортикальному шарі цитоплазми залишаються якісь мітки, які визначають місце злиття. Визначення площини розподілу цитоплазми клітин у тварин відбувається в анафазі-телофазі, а у рослин ще напередодні мітозу, в G2-періоді.

РЕГУЛЮВАННЯ ТА КОНТРОЛЬ МІТОТИЧНОГО ЦИКЛУ

Безліч подій, з яких складається цикл поділу клітини, добре скоординовані завдяки існуванню складної системи регуляції і контролю. Перш за все, регулюється вступ клітини в поділ. У одноклітинних організмів на частоту клітинних поділів впливають зовнішні фактори, наприклад, при нестачі поживних речовин клітини діляться рідше і можуть взагалі припинити розмноження. У дріжджів така клітинна відповідь заснована на чутливості аденілатциклази до зменшення концентрації поживних речовин у зовнішньому середовищі і зниження активності. В результаті зменшується концентрація цАМФ - внутрішньоклітинного активатора протеїнкінази, яка фосфорилує білок, що приводить клітини в стан готовності до поділу.

У багатоклітинних організмів вступ до поділу визначають не тільки сприятливі для клітини зовнішні умови, а й спеціальні сигнальні молекули - ростові фактори, або **мітогени**, які зв'язуються з рецепторами на поверхні клітин-мішеней і запускають механізм мітотичного циклу. За відсутності таких факторів клітини, що знаходяться в G1-періоді, можуть вийти з циклу і перейти в стан спокою (стадія G0). Цей стан може бути оборотним, і клітини можуть, отримавши сигнал до поділу, почати проліферацію, можуть диференціюватися і втратити здатність до поділу, а можуть вступити в апоптоз.

Взаємодія ростового фактора з рецептором включає внутрішньоклітинну систему регуляції проліферації, яка заснована на активації або інактивації білків шляхом процесів їх фосфорилування/дефосфорилування, що здійснюється протеїнкіназами/протеїнфосфатазами.

Основними регуляторами мітотичного циклу є CDK - циклін-залежні кінази. Їх активність проявляється тільки в комплексі з циклінами, концентрація яких змінюється в ході мітотичного циклу: різні цикліни починають синтезуватися в різний час і можуть піддаватися дуже швидкій протеасомній деградації.

У дріжджів *S. pombe* є єдина Cdk і один вид цикліну. Передбачається, що за рахунок різної порогової активності комплексу Cus-CDK регулюються переходи G1/S і G2/M. У *S. cerevisiae* - 9 циклінів, у людини - не менше 12. Цикліни в основному забезпечують субстратну, тканинну і навіть внутрішньоклітинну специфічність дії CDK. Наприклад, деякі цикліни знаходяться тільки в ядрі, інші - в центросомі і т. д. Один і той же циклін може зв'язуватися з різними CDK і навпаки CDK можуть взаємодіяти не з одним, а з двома різними циклінами. Таким чином, створюються різні поєднання CDK -циклінів, що

забезпечує субстратну специфічність їх дії і дозволяє здійснювати тонку регуляцію процесів мітотичного циклу.

Циклін D працює в G1-періоді і готує перехід в S –стадію. Його часто називають G1-циклін. Циклін E, або G1 / S -циклін, визначає початок синтетичної стадії, його змінює циклін A, який працює в S -періоді, тому іноді його називають S -цикліном, але так як він же бере участь в початкових подіях мітозу, то його разом з цикліном B відносять до мітотичних (M-) циклінів.

Робота комплексів Cus-CDK доповнюється існуванням численних «модифікаторів»: активаторів і інгібіторів протеїнкіназ і протеїнофосфатаз, чинників, які захищають білки від деградації, з одного боку, і чинників мобільної системи деградації «відпрацьованих» білків, з іншого, і т. д. Результатом їх спільної роботи є координація всіх процесів, їх швидке переключення з одного на інший.

Синтез цикліну D запускається після приєднання до рецептора на плазматичній мембрані сигнальної молекули - фактора росту. Поки концентрація Cus D невисока, він не може приєднатися до Cdk, так як його місце зайняте білком p16. Тільки коли концентрація CusD зростає, він витісняє p16 з Cdk. Утворені комплекси CusD-Cdk4Cdk 6 фосфорилують білок Rb, який пов'язував фактор транскрипції E2F. Фосфорильований Rb від'єднується від E2F, і останній активує транскрипцію ряду генів, в тому числі цикліну E, Cdk 2, білків ініціації реплікації а також свого власного. Рівень E 2F підвищується, а так як комплекс CusE -Cdk 2 теж фосфорилує білок Rb і він не може зв'язати E2F, то відбувається багаторазове посилення транскрипції. Синтезуються білки, які беруть участь в реплікації, і клітина долає бар'єр G1 / S.

Підготовка до ключової події інтерфази - синтезу ДНК - починається задовго до S-періоду, в кінці M-фази і в G1-періоді, коли в місцях початку реплікації збираються пререплікативні комплекси, що складаються з декількох білків. Місце збірки цих білків визначається властивостями хроматину, і в пререплікативний комплекс вони вбудовуються відповідно до суворої черговості. В останню чергу приєднуються білки MCM (Mini-chromosome Maintanase). Пререплікативний комплекс може зібратися тільки в умовах низької активності CusA -Cdk 2, так як утворюючі його білки при фосфорилуванні втрачають здатність впізнавати один одного і з'єднуватися разом.

Пререплікативний комплекс є основою для посадки білків реплікації. Після їх приєднання пререплікативний комплекс перетворюється в **реплісому** і клітина переходить з G1- в S-період. У складі реплісоми залишається MCM, який працює в якості гелікази. Повторно увійти до складу пререплікативного комплексу і реплісоми MCM зможе тільки після завершення поділу. Таким чином, в мітотичному циклі забезпечується одноразова реплікація кожного реплікону.

Якщо реплікація завершена повністю, клітина переходить в G2-період, в якому продовжує рости, і починає підготовку до мітозу.

Вхід в мітоз визначає активність комплексу CusB-Cdk1. У міру синтезу циклін B зв'язується з Cdk1, але активність комплексу придушується кіназою Wee, яка фосфорилує Cdk1 по тирозину в 15-му або треоніну в 14-му положенні. Для активації CusB-Cdk1

необхідно дефосфорилування яке здійснює протеїнфосфатаза Cdc25. Активність цієї фосфатази, в свою чергу, контролюється кіназами, відмінними від CDK, так званими Polo-кіназами. Polo-кіназа активує Cdc25. Cdc25 активує комплекс Cys B-Cdk1, який в свою чергу активує Cdc 25. В результаті вибухово збільшується активність комплексу CysB-Cdk1 і клітина переключається на мітотичні процеси.

Комплекс CysA-Cdk1 продовжує працювати на ранніх етапах мітозу, відповідаючи за конденсацію хроматину, формування веретена. За роз'єднання сестринських хроматид відповідає одна з Polo-кіназ, яка фосфорилує білок Scc 1 в когезинових комплексах в плечах хромосом, в той час як зв'язок сестринських хроматид в центромерній області порушується тільки при переході метафаза / анафаза і відповідає за це CysB-Cdk 1.

Крім Polo-кіназ і CDK в мітотичному циклі працюють і інші протеїнкінази. Вони володіють субстратною специфічністю, і нормальне проходження клітини по мітотичного циклу є результатом їх злагодженої спільної роботи. Субстратами кінази B з сімейства Auroga, наприклад, є такі білки, як гістон H3, легкий ланцюг міозину, топоізомераза П_α, кінезин, пов'язаний з центромерним районом хромосом в мітозі, віментін і десмін - білки проміжних філаментів і ін. Кінази Auroga беруть участь в конденсації хромосом і дозріванні кінетохора, в утворенні веретена, в поділі сестринських хроматид в центромерному районі хромосом на кордоні метафаза / анафаза, а також в цитокінезі.

Перехід метафаза / анафаза означає, по суті, вихід клітини з мітозу. До цього часу різко зростає концентрація комплексу CysB-Cdk1. Він активує Auroga A, B кінази і Polo-кіназу, вони, в свою чергу, активують ряд білків, серед яких складний білковий комплекс APC (Anaphase Promoting Complex). APC впізнає білки, що підлягають деградації. APC взаємодіє з білками, що мають спеціальну мітку - бокс деструкції, певну послідовність з декількох амінокислотних залишків, пришиває до них ланцюжок з убіквітину, який, в свою чергу, є сигналом для протеасоми, що руйнує мічені білки. Результатом діяльності APC є поділ сестринських хроматид в центромерному районі, що означає наступ анафази. У числі білків, мічених APC, знаходиться циклін B. Він деградує і Cdk 1 припиняє роботу. Після цього починається дефосфорилування білків під дією фосфатаз. Воно призводить до утворення ядерної оболонки, запуску цитокінезу. Клітина виходить з мітозу і повертається в інтерфазний стан.

Контроль за рухом по клітинному циклу при пошкодженні ДНК базується в основному на здатності ряду білків взаємодіяти з пошкодженою ДНК. Наприклад, щоб зупинити мітотичний цикл на кордоні G1-S, необхідно пригнічувати комплекс Cdk2-CysE. Таким інгібітором є білок P21, але його в клітині немає, поки немає пошкодження ДНК. Як тільки відбувається пошкодження ДНК, до місць розривів приєднується білок 9-1-1, який приваблює сюди кінази ATR / ATM. Вони активуються і фосфорилують кінази Chk 1 і Chk 2, які в свою чергу фосфорилують білок P53. У нормі P53 швидко деградує, але в результаті фосфорилування він стає стійким і накопичується в ядрі. P53 є фактором транскрипції ряду генів, в тому числі гена білка P21. Цей ген транскрибується і синтезується білок P21, який пригнічує комплекс Cdk2-CysE. Як наслідок, S-фаза не настає.

Мейоз, його біологічне значення

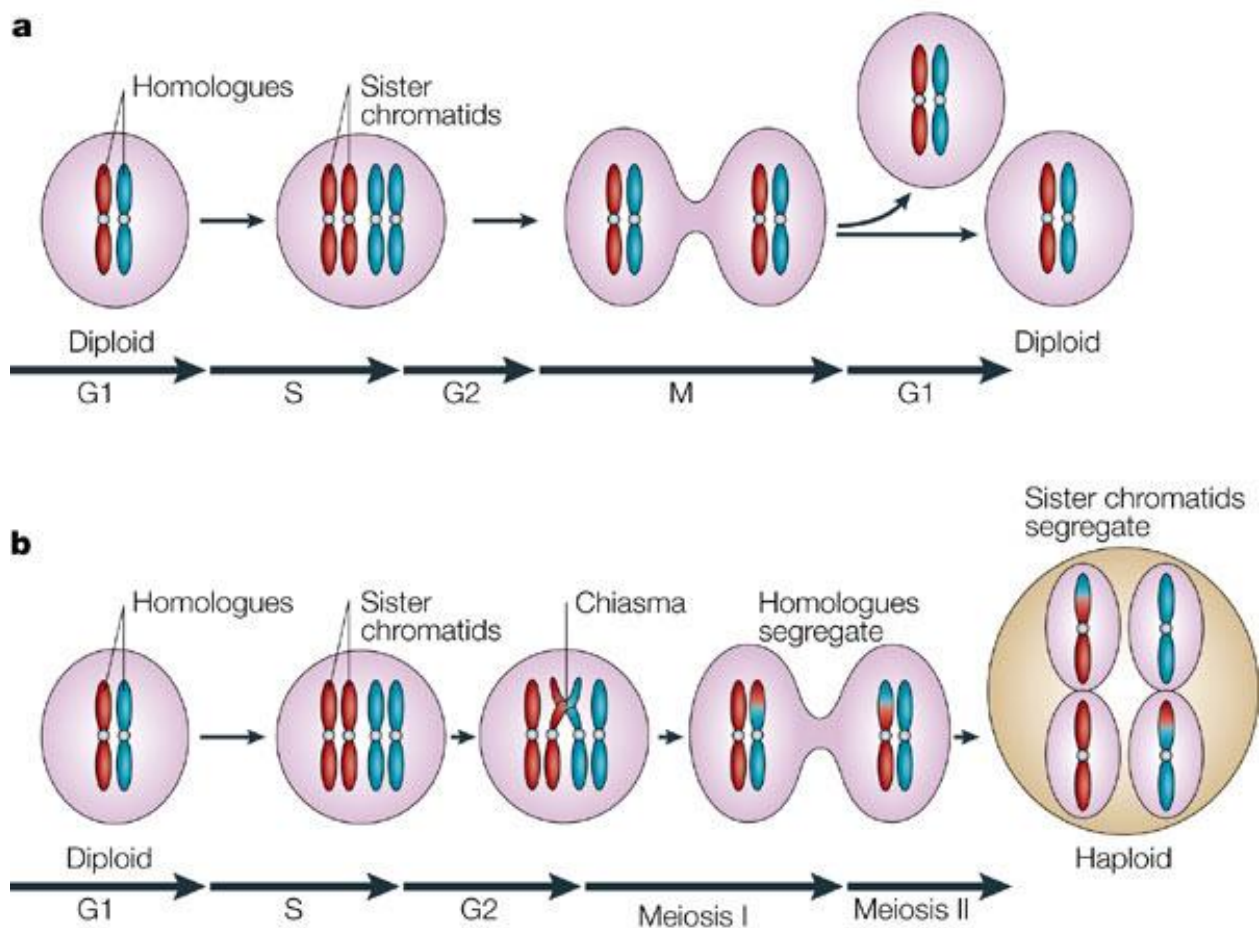
Деякі найпростіші і більшість багатоклітинних зберігають свої види статевим розмноженням (об'єднання двох гамет → зигота → тканини і органи).

Диплоїдність гамет призводить до появи нежиттєздатних поколінь саме тому, для статевого розмноження, гамети повинні бути гаплоїдними (n).

Мейоз – спеціальна форма поділу генеративних клітин, яка призводить до утворення гаплоїдних гамет (сперматозоїдів і яйцеклітин у людини). Визначений набір диплоїдних клітин організму утворює гермінальну лінію (клітини зародкового шляху), що бере участь у розмноженні. Вони дають початок спеціалізованим диплоїдним клітинам у яєчниках і сім'яниках, які можуть поділятися мейозом і призводить до утворення гаплоїдних гамет (сперматозоїдів і яйцеклітин). Первинні гермінальні клітини мігрують у гонади ембріона і підлягає декільком мітотичним поділам (у чоловіків значно більше, ніж у жінок, що може бути фактором, який пояснює статеві відмінності у частоті мутацій) з утворенням овогоніїв у жінок і сперматогоніїв у чоловіків. Подальший ріст і диференціація призводять до утворення первинних овоцитів у яєчниках і первинних сперматоцитів у яєчках. Ці спеціалізовані клітини можуть підлягати мейозу

Фази мейозу

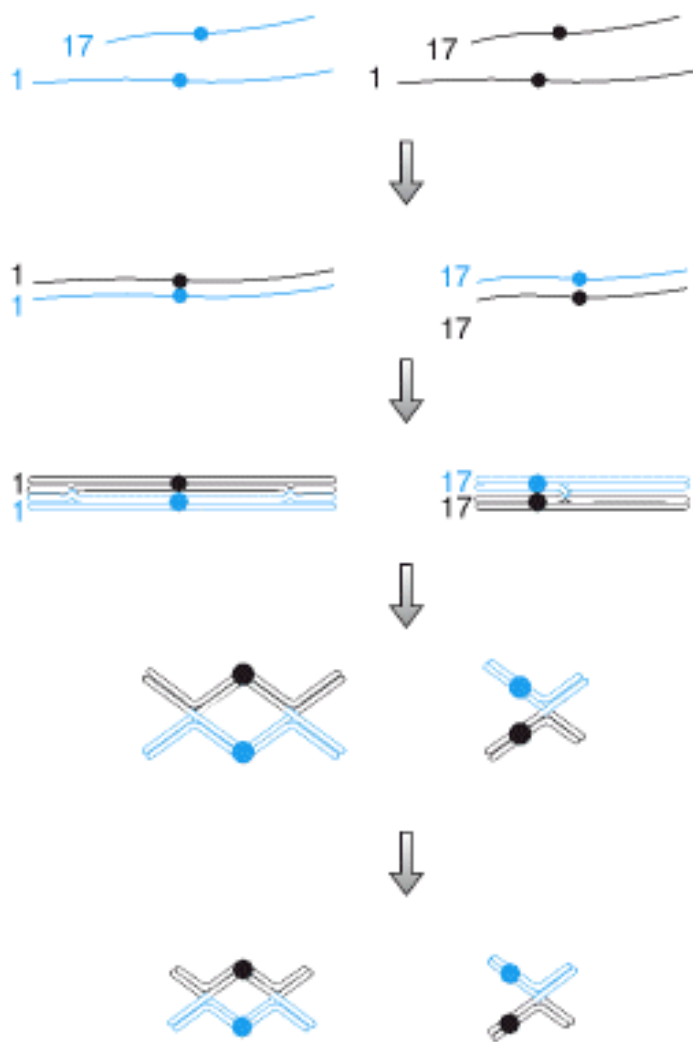
Мейоз включає два послідовних клітинних поділи (мейоз I і мейоз II), але лише один процес реплікації ДНК, тому продукти є гаплоїдними.



Порівняння мітозу та мейозу

Мейоз I (редукційний поділ):

1. Інтерфаза I – S-фаза (реплікація ДНК) відносно триваліша, ніж в інтерфазі мітозу, а G₂-фаза більш коротка або відсутня.
2. Профаза I – дуже тривалий і складний процес, поділяється на 5 субфаз.



Leptotene

Chromosomes are unpaired fine threads consisting of two tightly bound sister chromatids

Zygotene

Maternal and paternal homologs pair together to form **bivalents**

Pachytene

Chromosomes thicken
Crossing-over occurs

Diplotene

Homologs separate but are held together by **chiasmata**

Crossovers can be counted and positions recorded

Diakinesis

Bivalents more contracted

3. Метафаза I – біваленти в метафазній пластинці (сестринські хроматиди гомологів поєднані з одним полюсом).

4. Анафаза I – гомологічні хромосоми кожного бівалента мігрують до різних полюсів. У кожного полюса збирається гаплоїдний набір хромосом.

5. Телофаза I – рідко завершується до початку другого мітозу. Лише у деяких випадках ядерна оболонка може утворюватися навколо гаплоїдної групи хромосом. У більшості випадків мейоз II стартує без цих змін.

Другий мейотичний поділ є ідентичним мітозу, але перший поділ має важливі відміни, метою яких є генерування генетичної відміни між дочірніми клітинами. Це здійснюється двома механізмами: незалежним розподілом батьківських і материнських гомологів і рекомбінацією (кросинговером)

Мейоз II (екваційний, мітотичний поділ) - поділ відповідає звичайному мітозу:

1. Інтерфаза II – короткий період, реплікації ДНК немає (краща назва інтеркінез).
2. Профаза II
3. Метафаза II
4. Анафаза II
5. Телофаза II

Значення мейозу

Зменшення числа хромосом. Гаплоїдність – найважливіше підґрунтя статевого розмноження.

Спадковість і мінливість. У зиготі й у всіх клітинах тіла в парі гомологічних хромосом – 1 батьківська і 1 материнська. Генетичне розмаїття людей – результат 3 процесів:

- випадкового розходження батьківських і материнських хромосом у мейозі I
- кросинговера у профазі мейоза I
- випадковості у об'єднанні гамет

ВИСНОВКИ

Порівняльна таблиця мітозу та мейозу

	Мітоз	Мейоз
Локалізація	Усі тканини	Лише у яєчках і яєчниках
Продукти	Диплоїдні соматичні клітини	Гаплоїдні сперматозоїди і яйцеклітини
Реплікація ДНК і поділ клітин	У нормі одна реплікація на один поділ	Лише одна реплікація, але два клітинних поділи
Тривалість профазі	Коротка (~30 хв у клітинах людини)	Мейоз I тривалий і складний; може тривати роками до завершення
Спарювання гомологів	Немає	Є (у мейозі I)
Рекомбінація	Рідко або у випадках аномалії	У нормі, по меншій мірі, одноразово у кожному плечі хромосоми
Дочірні клітини	Генетично ідентичні	Різноманітні (рекомбінація і незалежний розподіл гомологів)