

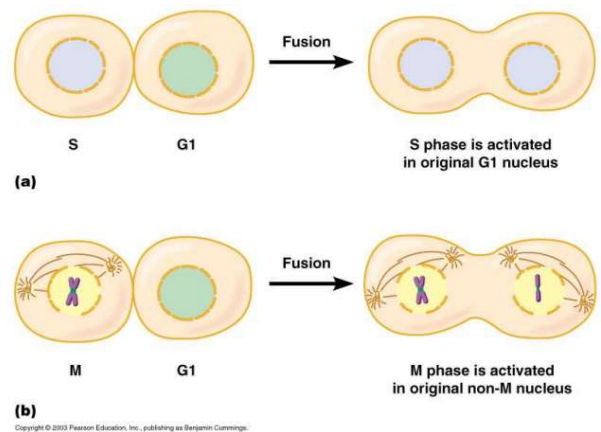
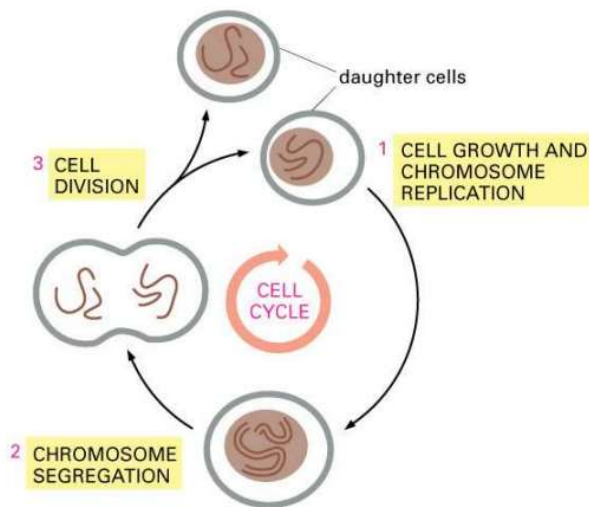
# REGULÁCIA BUNKOVÉHO CYKLU

## Koordinácia bunkového delenia

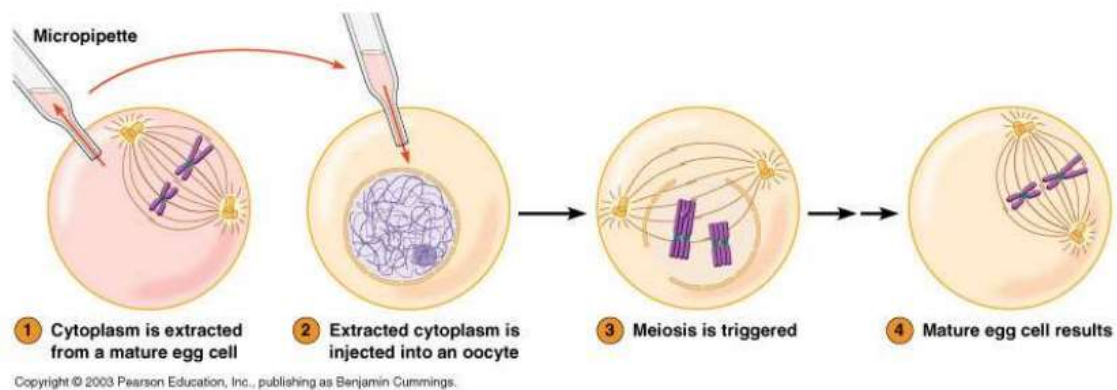
- mnohobunkové organizmy potrebuje koordináciu bunkového cyklu medzi rôzne tkanivá a orgány
- kritické pre normálny rast, vývoj a údržbu
  - koordinovať časovanie bunkového cyklu
  - koordinovať posudzovanie bunkového cyklu
  - nie všetky bunky môžu mať rovnaký bunkový cyklus

Bunkový cyklus : bunky zdvojnásobia ich obsah a rozdelia sa

Dôkaz, že cytoplazmatické signály kontrolujú BC



Dôkazy o zrážaní (alebo mitóze). Podpora faktora (MPF) - Masui et al. 1971



Cyklus delenia buniek (cdc) mutantov v kvasinkách (neskoršie 1980 )

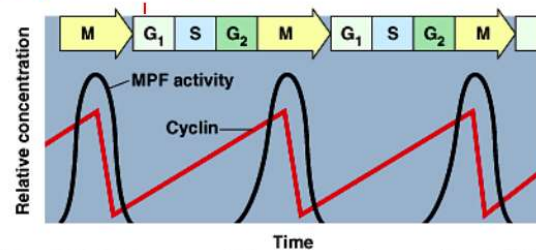
- Hartwell (Nobelova cena, 2001) a kolektív pracovali s rastúcimi kvasinkami *S. cerevisiae*
  - nájdené mutanty citlivé na teplotu sa zastavili v nejakom bode bunkového cyklu
- Surse (Nobelova cena, 2001) a kolektív pracovali so štiepnými kvasinkami *S. pombe*

- Nájdený gén, nazývaný *cdc2*, nevyhnutný na prechod G2 (kontrolný bod)
- *cdc2* sa ukázala ako nová proteínová kináza – cyklín dependentná kináza (Cdk)  
- so všetkými náprotivkami eukaryotických buniek.

### Cyclins & Cdks

the stages

triggers



Leland H. Hartwell  
checkpoints

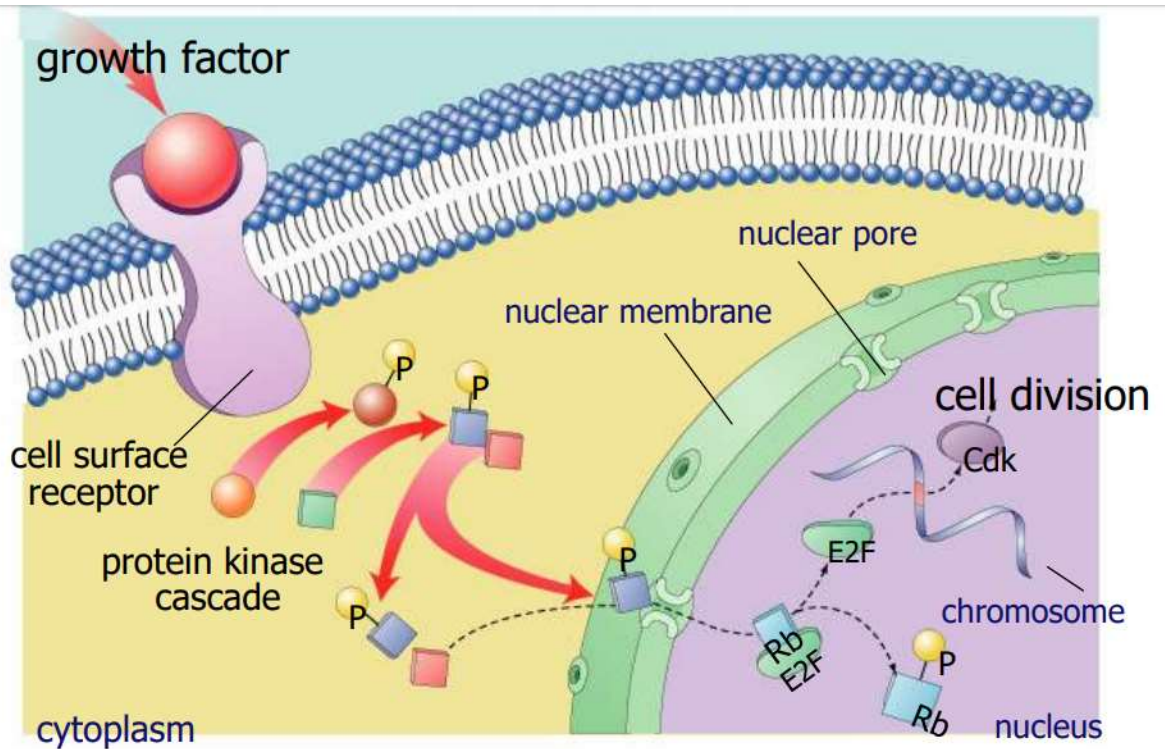


Tim Hunt  
Cdks



Sir Paul Nurse  
cyclins

### Signály faktora rastu



### Erytropoetín (EPO)

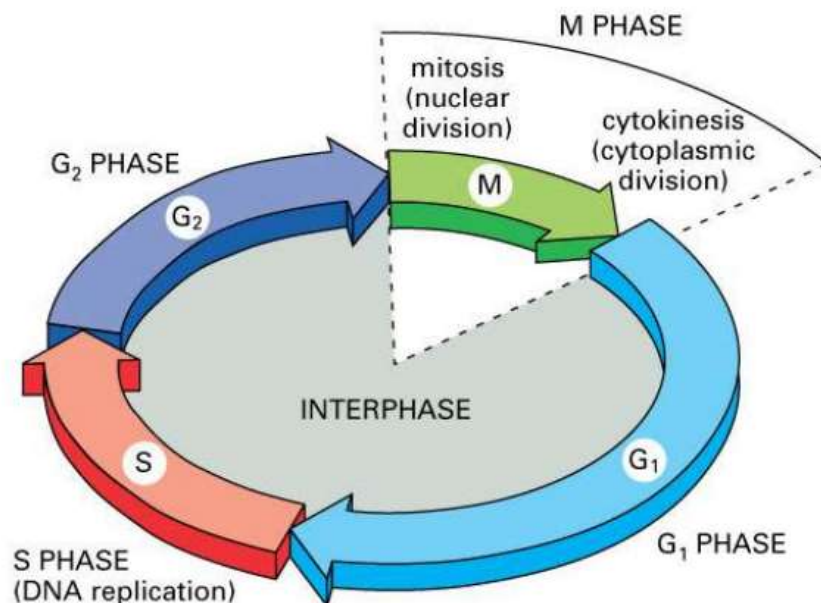
- hormón produkovaný obličkami, ktorá podporuje tvorbu červených krviniek v kostnej dreni
- Obličky, ktoré tvoria EPO, sú špecializované a citlivé na nízky obsah kyslíka v krvi. Tieto bunky uvoľňujú EPO keď je hladina kyslíka v obličkách nízka. EPO potom stimuluje kostnú dreň produkujú viac červených krviniek a tým zvyšujú kapacitu krvi v kyslíku.

### Frekvencia bunkového delenia

Frekvencia rozdelenia buniek sa mení podľa typu bunky :

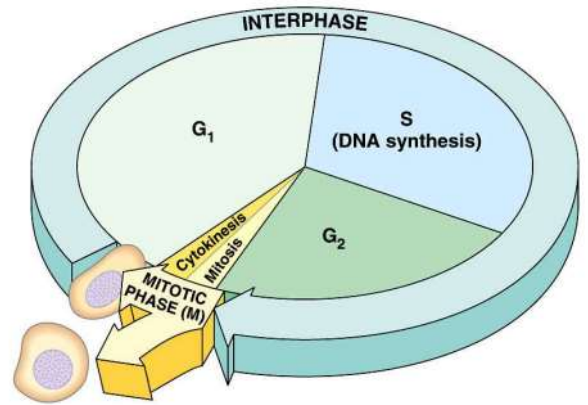
- EMBRYO
  - bunkový cyklus <20 minút
- KOŽNÉ BUNKY
  - 12-24- hodinový cyklus
  - často sa rozdeľujú počas celého života
- PEČEŇOVÉ BUNKY
  - ponechali si schopnosť delenia ale uchovávajú to v rezerve
  - delia sa raz za rok alebo dva
- ZRELÉ NERVOVÉ BUNKY A SVALOVÉ BUNKY
  - po zrelosti sa vôbec nedelia
  - natrvalo v G<sub>0</sub> fáze

### Bunkový cyklus môže byť rozdelený do 4 fáz



## INTERFÁZA

- 90% životného cyklu buniek
- bunka robí svoju "každodennú prácu"
- produkuje RNA, syntetizuje proteíny / enzýmy
- pripravuje sa pre duplikáciu, ak je spustená



Rozdelené na tri fázy:

### 1.) G<sub>1</sub> – 1. fáza (rast)

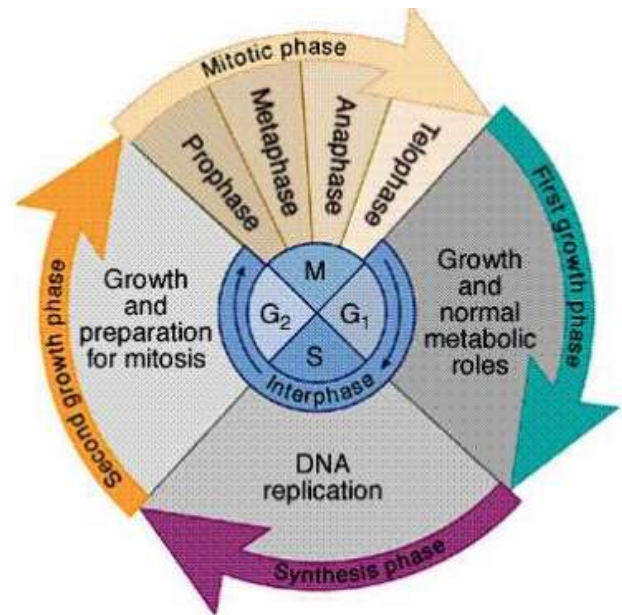
- bunka robí svoju každodennú prácu
- bunka rastie

### 2.) S – fáza – syntéza DNA

- kopíruje chromozómy
- duplikuje centrioly

### 3.) G<sub>2</sub> fáza – 2. fáza (rast)

- príprava na rozdelenie
- bunka rastie viac
- vyrába proteíny, organely, membrány



Progresia bunkového cyklu je regulovaná spätnou väzbou od intracelulárnych udalostí

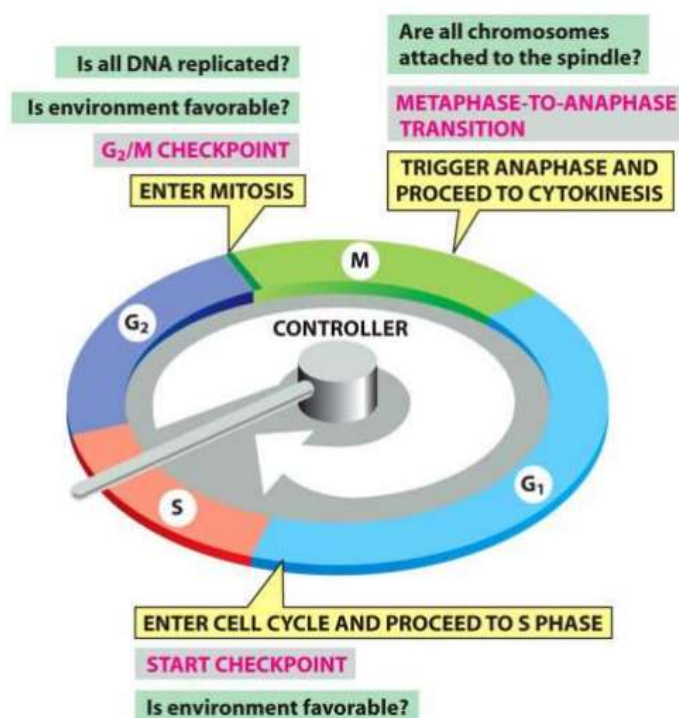


Figure 17-14 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



## SIGNÁLY BUNKOVÉHO CYKLU

Kontroly bunkového cyklu

### Cyklíny

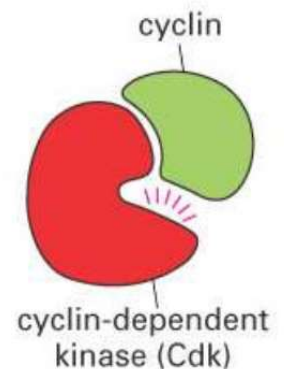
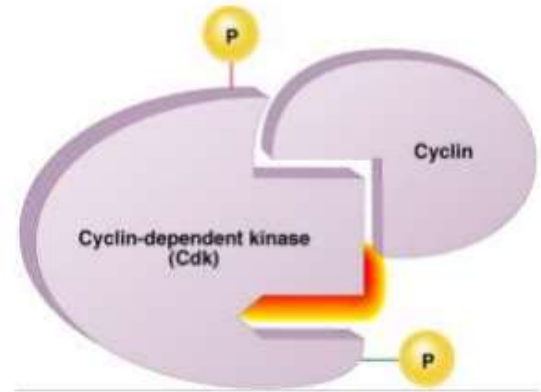
- regulačné proteíny
- úrovne cyklu v bunke

### Cdks

- cyklín-dependentné kinázy
- fosforyluje bunkové proteíny
  - aktivuje alebo deaktivuje proteíny

### komplex Cdk-cyklín

- spúšťa prechod cez rôzne etapy bunkového cyklu

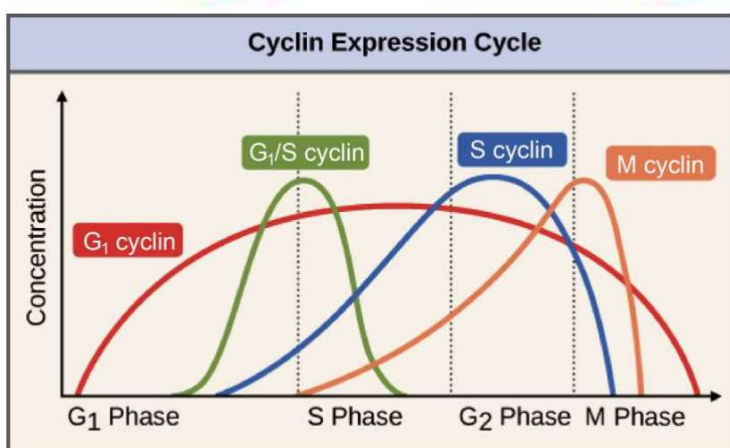
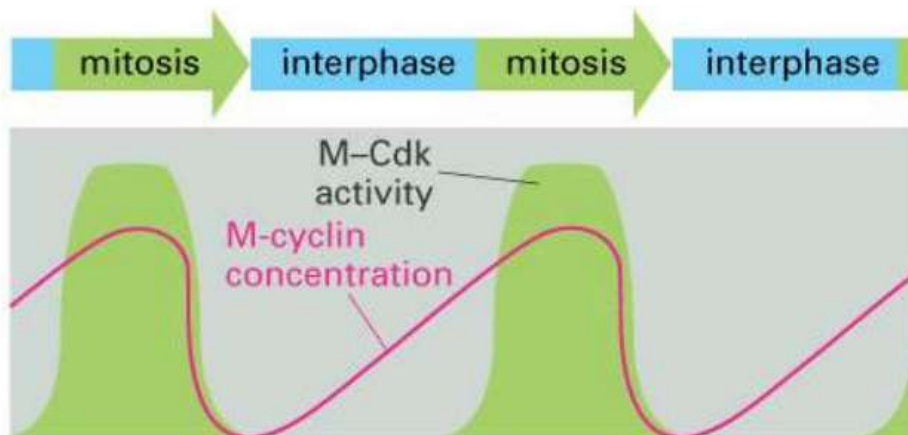


## Cyklín-dependentné proteínové kinázy riadia progresie bunkového cyklu

- Cyklín-dependentné kinázy (Cdks) sú neaktívne, ak nie sú viazané na cyklíny
- aktívny komplex fosforylátov nadväzujúcich cieľov
- Cyklin pomáha nasmerovať Cdks na cieľové proteíny

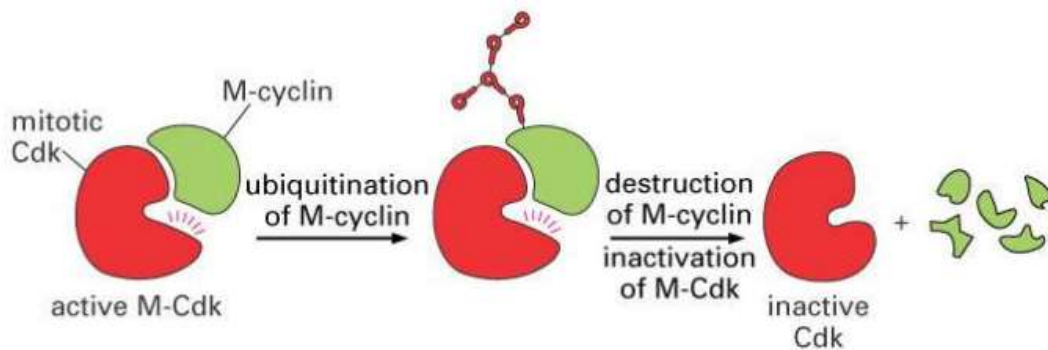
## Bunková hladina (mitotického) M-cyklínu stúpa a klesá počas bunkového cyklu

- M-cyklínové hladiny sú nízke počas interfázy, ale postupne zvyšuje sa na maximálnu úroveň počas mitózy
- Aktivita M-cdk je podobne nízka v interfáze, ale zvyšuje sa v mitóze



Bunkové hladiny cyklínov počas bunkového cyklu

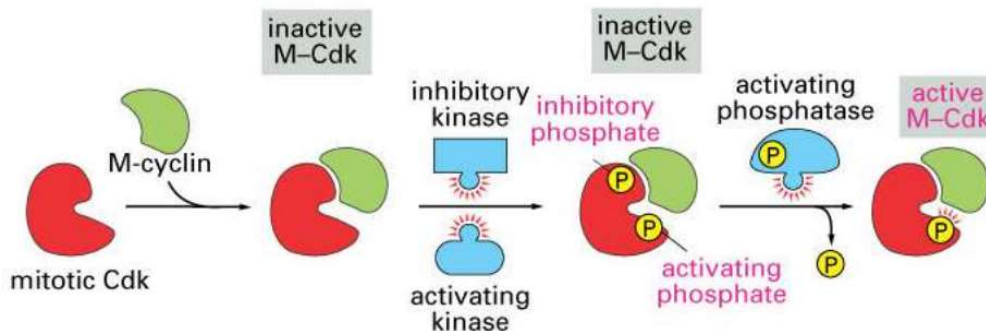
### Množstvo cyklínov (a aktivita Cdk) je regulovaná degradáciou proteínov



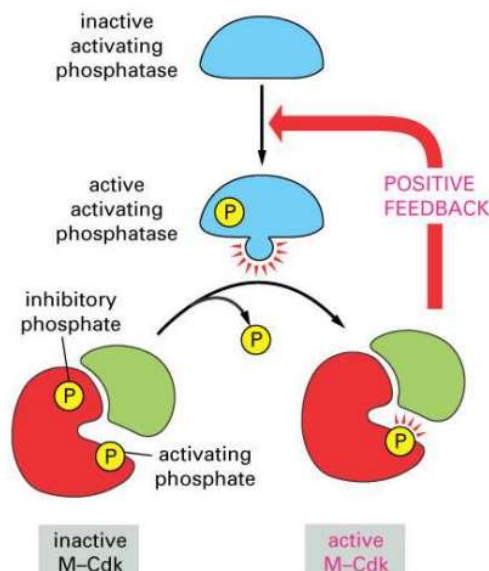
M-cyklín sa stáva kovalentne modifikovaný pridaním viacnásobných kópií ubikvitínu na konci mitózy

- Ubiquitinácia je sprostredkovaná komplexom podporujúcim anafázu (APC)
- Ubiquitácia označuje cyklíny na ničenie veľkými proteolytickými strojmi nazývaný proteazóm

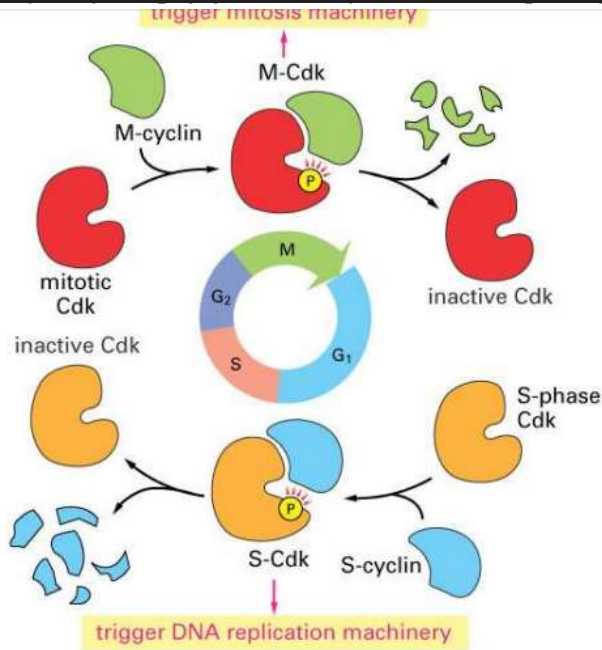
### Cdks sú tiež regulované cykly fosforyláciu a defosforyláciu



### Cdk sa aktivuje nepriamo pozitívnym spôsobom - spätnou väzbou



**Rozličné cyklíny sa spájajú s odlišnými Cdk s na spúšťajú rôzne udalosti bunkového cyklu**



**S-Cdk spúšťa replikáciu DNA - jej zničenie zabezpečuje stane sa to raz za bunkový cyklus**

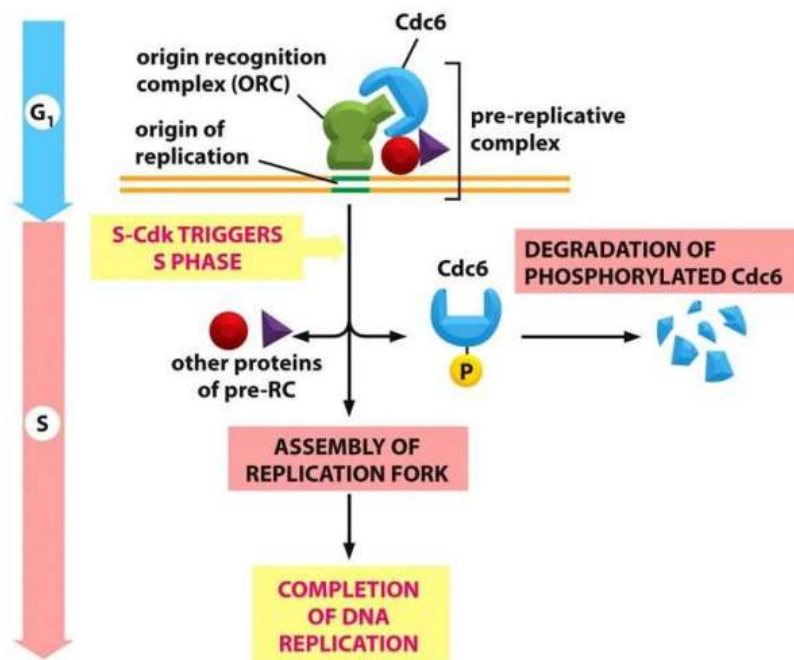


Figure 18-14 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

## Kontrolné body zabezpečujú pokračovanie bunkového cyklu bez chýb

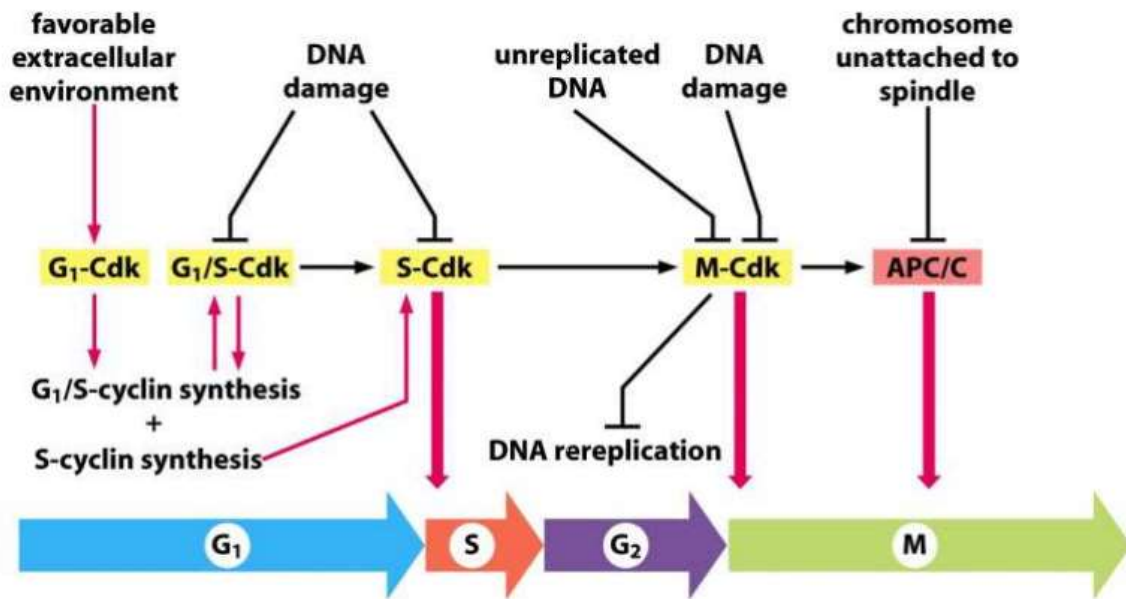
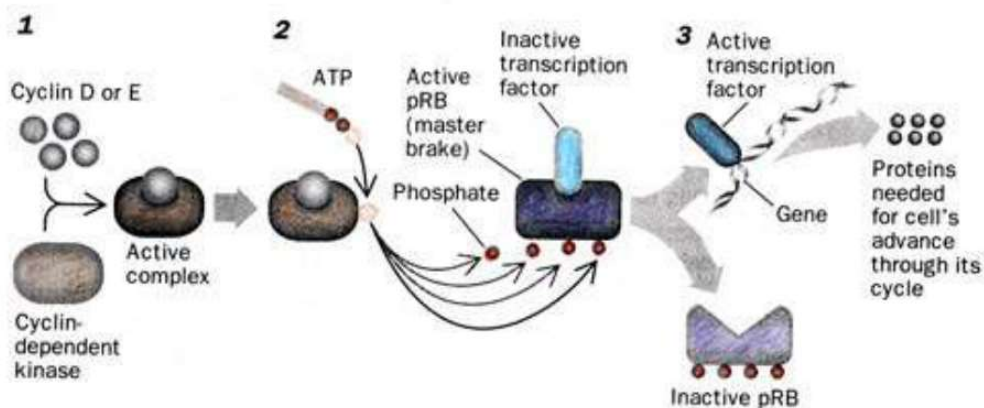


Figure 17-21 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

## Kontrolné body - pRB-retinoblastóm proteín

- pomenovaný tak preto, že v rakovine retinoblastómu oboje alely génu sú mutované, takže nie je žiadny proteín produkovaný
- pRb zabraňuje rozdeľovaniu alebo postupovaniu bunky prostredníctvom bunkového cyklu, keď je DNA poškodená.
- Kontrola sa vyskytuje pri S (fáza syntézy DNA), pretože pRb viaže a inhibuje transkripčné faktory E2F rodiny
- Keď je pRb v tejto úlohe neúčinná, zmutované bunky môžu pokračovať v rozdelení a môžu sa stať rakovinovými

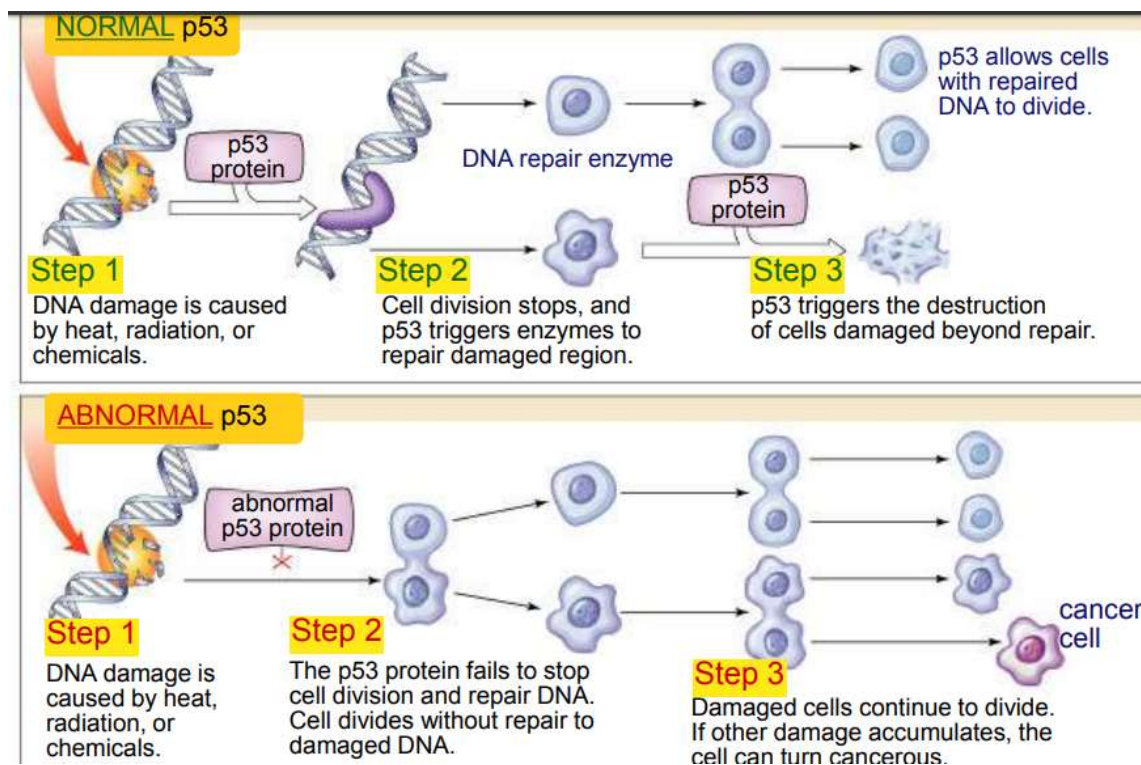
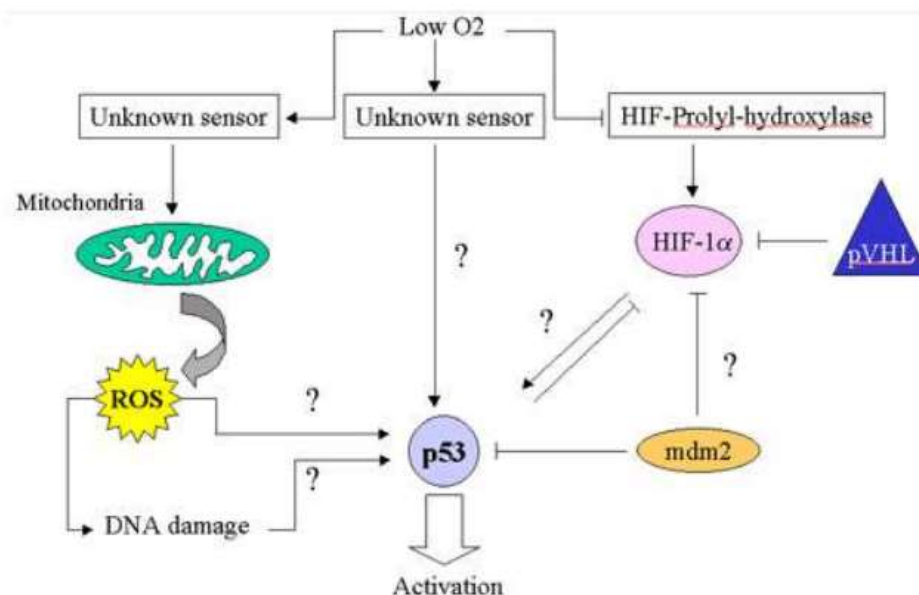




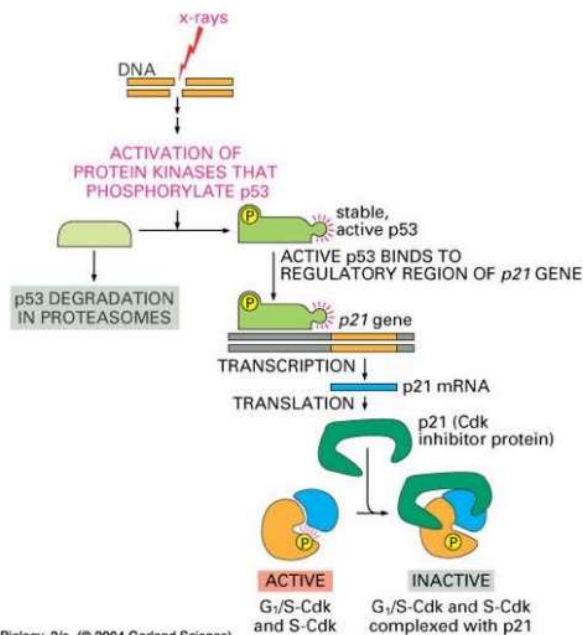
## Kontrolné body - pRB-retinoblastóm proteín - faktory E2F

Family members		Legend
E2F1		<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>cyc A</b> - Cyclin A binding domain</li> <li>• <b>DNA</b> - DNA-binding domain</li> <li>• <b>DP1,2</b> - domain for dimerization with DP1, 2</li> <li>• <b>TA</b> - transcriptional activation domain</li> <li>• <b>PB</b> - pocket protein binding domain</li> </ul>
E2F2		
E2F3a		
E2F3b		
E2F4		
E2F5		
E2F6		
E2F7		
E2F8		

## Kontrolné body - proteín p53



## Kontrolný bod: poškodenie DNA zastavuje bunkový cyklus v G1



## Kontrolný bod: zostava vretena:

Mitóza nesmie byť ukončená, pokiaľ nie sú všetky chromozómy pripojené k mitotickému vretenu

Mitotický kontrolný bod oneskoruje metafázu na anafyzový prechod do všetkých pripojených chromozómov

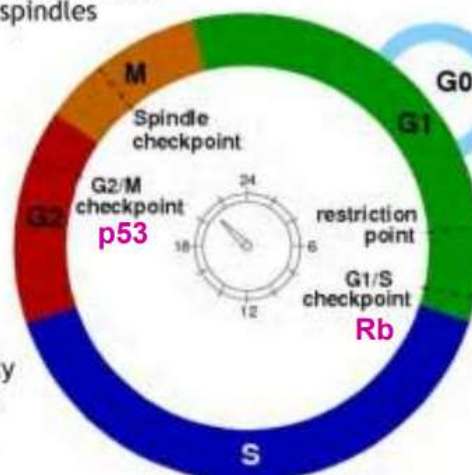
Dlhodobá aktivácia kontrolného bodu -> bunková smrť

- Mechanizmus mnohých protinádorových liekov

## Kontrolné body bunkového cyklu

**M phase** - In mitosis chromosomes drawn apart by molecular motors, cell divides. Many cancer drugs like taxol act here freezing the process and causing apoptosis. There is a checkpoint to ensure chromosomes are correctly attached to the spindles before segregation.

**G2/M** - cell arranges and checks chromosomes. There is a major checkpoint here to ascertain that DNA replication has successfully occurred. If not, a normal cell undergoes apoptosis.



G1 is entered when the cell senses growth signals or mitogens. These start the process of cell division.

**S phase** - DNA is synthesised. Many cytotoxic anti-cancer drugs act here to disrupt DNA synthesis.

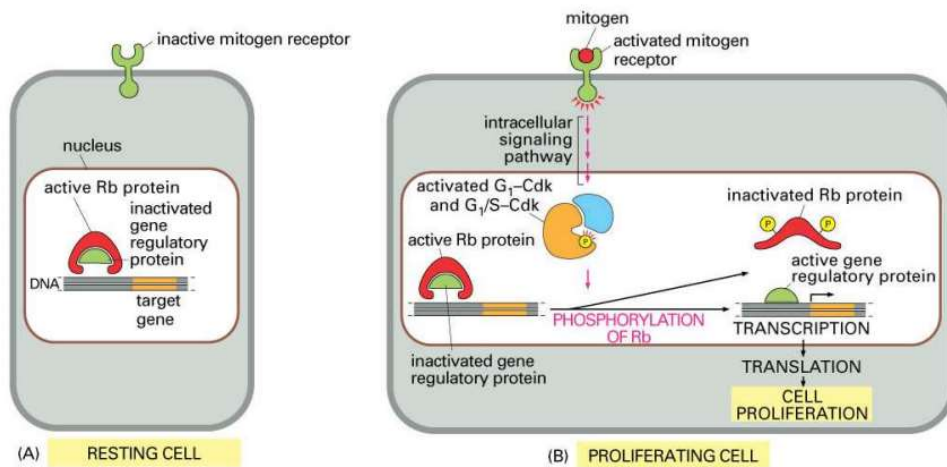
Zvieracie bunky vyžadujú extracelulárny signály na rozdelenie, rast a prežitie:

**Mitogény** - stimulujú bunkové delenie prekonaním bunkového cyklu - "brzda", ktorá vedie k  $G_0$

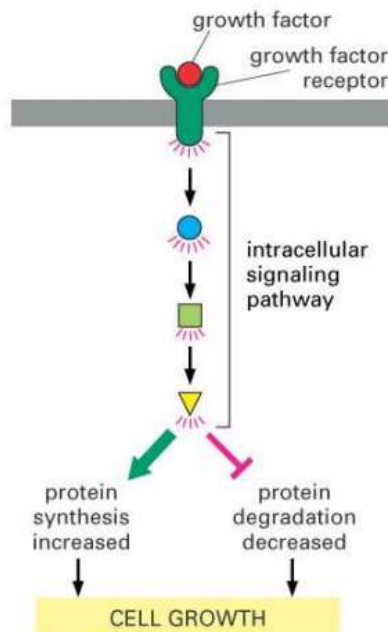
**Faktory rastu** - stimulácia rastu (zvýšená veľkosť buniek) o podpora syntézy a inhibície degradácie makromolekuly

**Faktory prežitia** - potlačenie apoptózy

Mitogény stimulujú šírenie inhibíciu proteínu Rb



Rastové faktory zvyšujú syntézu a pokles degradácie makromolekúl

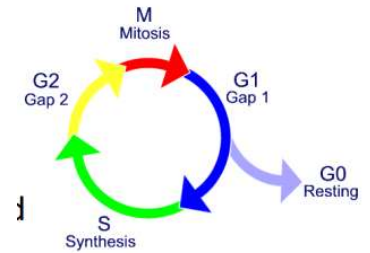




## Bunky sa môžu stiahnuť z bunkového cyklu a demontovať regulačný mechanizmus

G0 je pokojový stav

- Cdk's a cyklíny zmiznú
- Niektoré bunky sú v G0 dočasne a rozdeľujú sa zriedkavo (hepatocyty)
- Iné diferencované bunkové typy (neuróny) strávia svoj život v G0

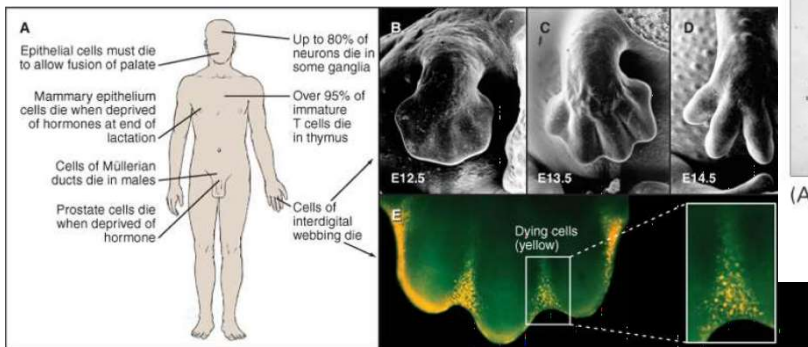


## Apoptóza: potreba bunkovej smrti v mnohobunkových organizmoch

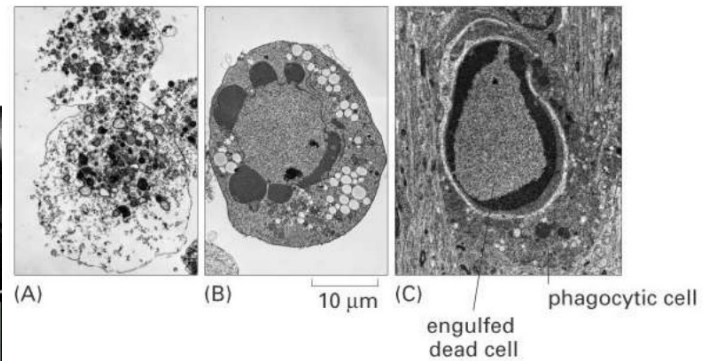
Embryonálna morfogénéza

- Zabíjanie imunitnými efektorovými bunkami
- Zapojenie rozvíjajúceho sa nervového systému
- Regulácia životaschopnosti buniek hormónmi a rastovými faktormi (väčšina buniek zomrie, ak nedostanú signály prežitia iné bunky)

## Vývojovo regulovaná apoptóza

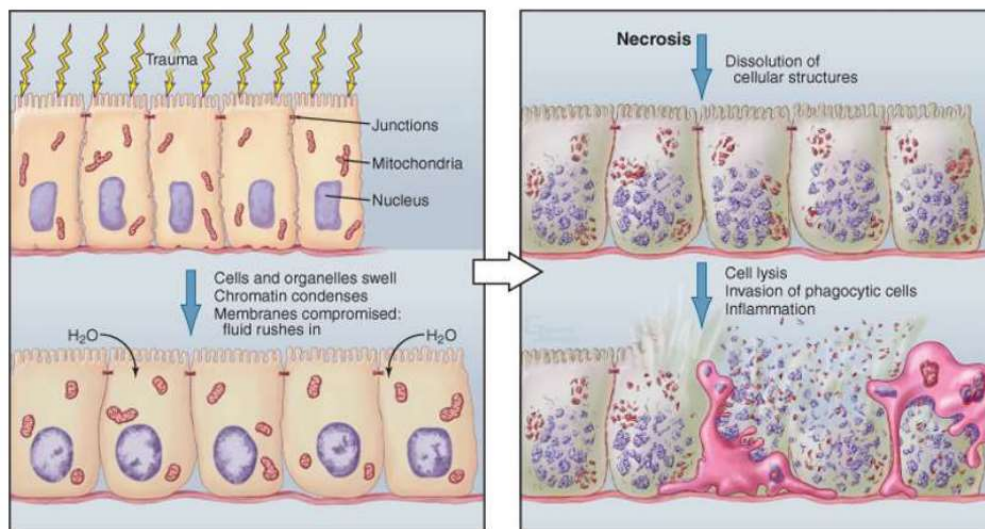


© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com



apoptóza vs. nekróza

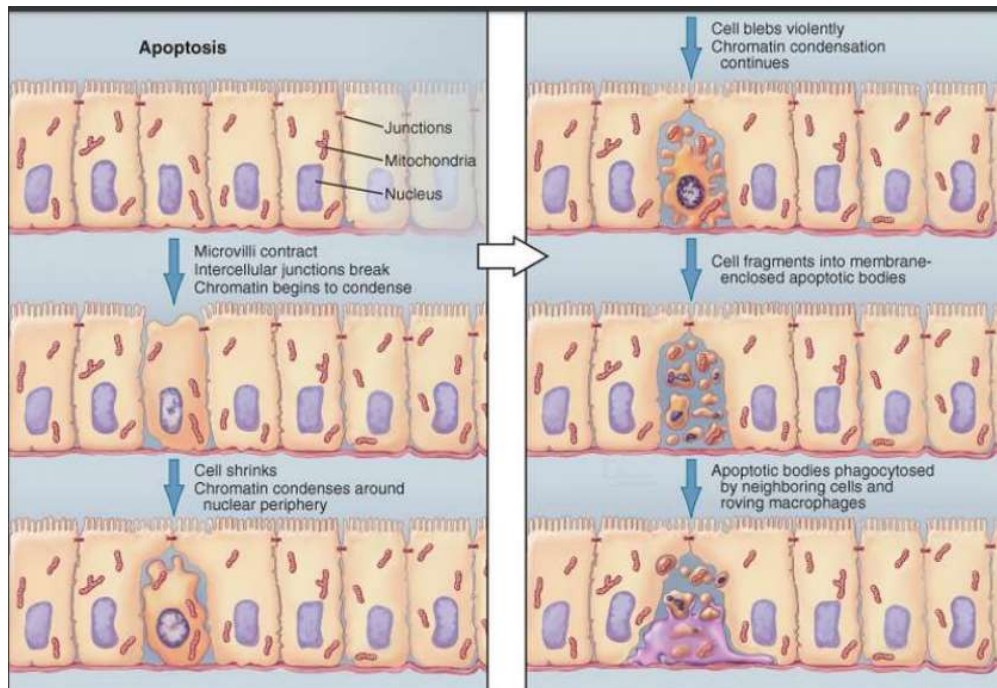
## NEKRÓZA



© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com



## APOPTÓZA



- Kaspázy sú špecializované proteázy ktoré sprostredkovávajú apoptózu
- 

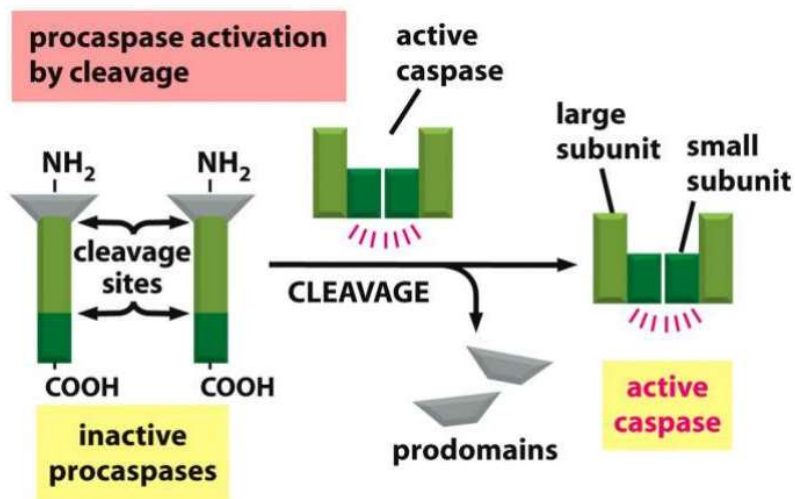


Figure 18-5a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Apoptóza je sprostredkovaná intracelulárna proteolytická kaskáda

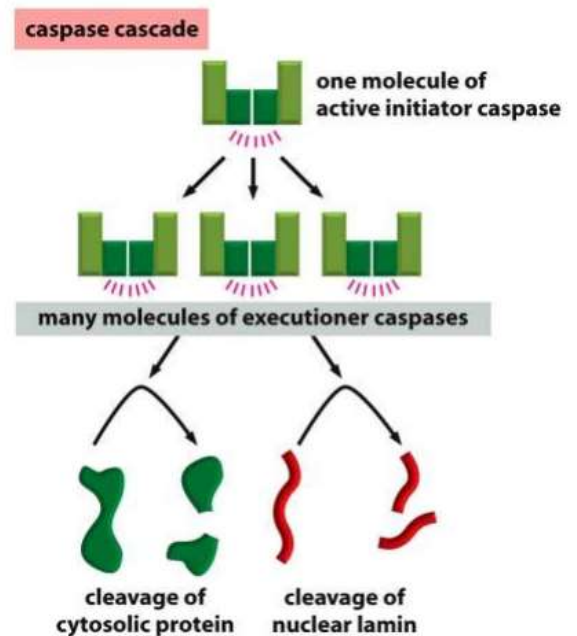


Figure 18-5b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Bunkové receptory smrti reguluje vonkajšia dráha apoptózy

Vlastná cesta apoptózy závisí od mitochondrií

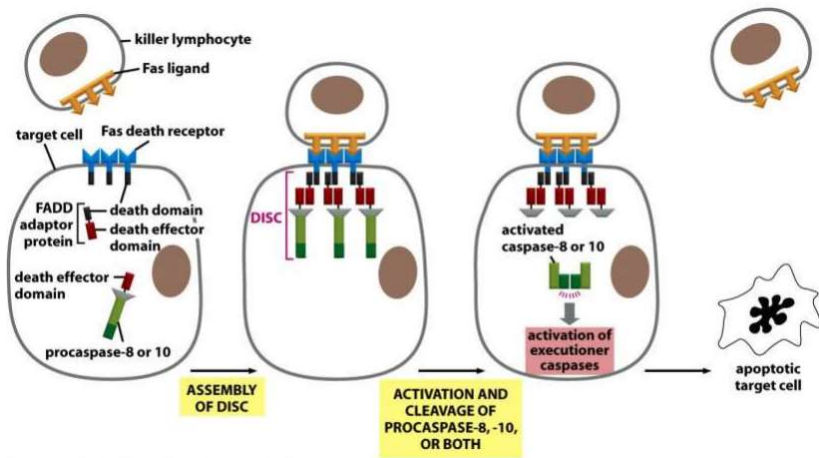
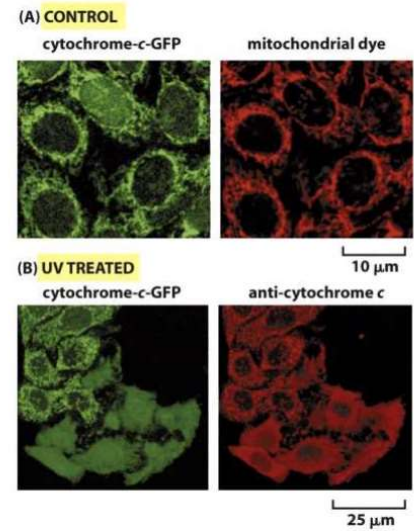


Figure 18-6 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Bcl-2 rodina proteínov reguluje vnútornou cestou apoptózy

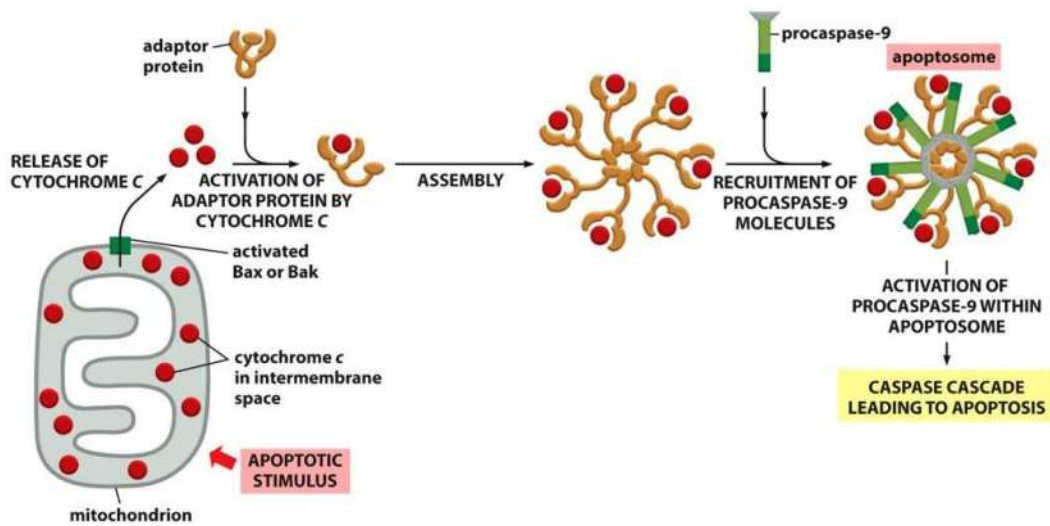
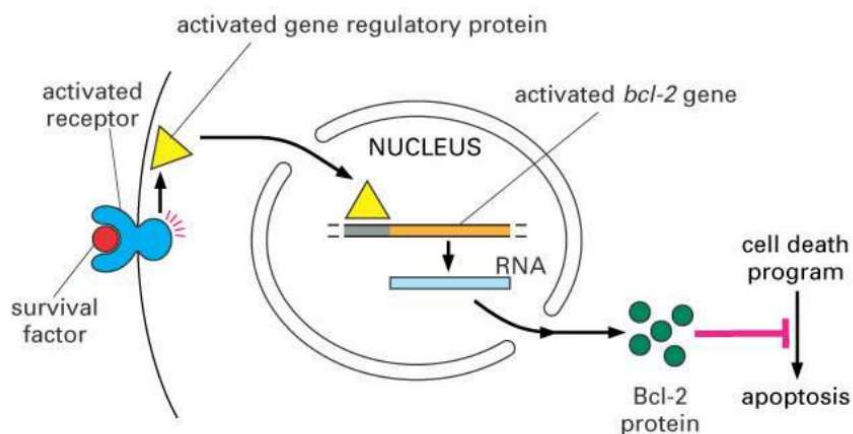
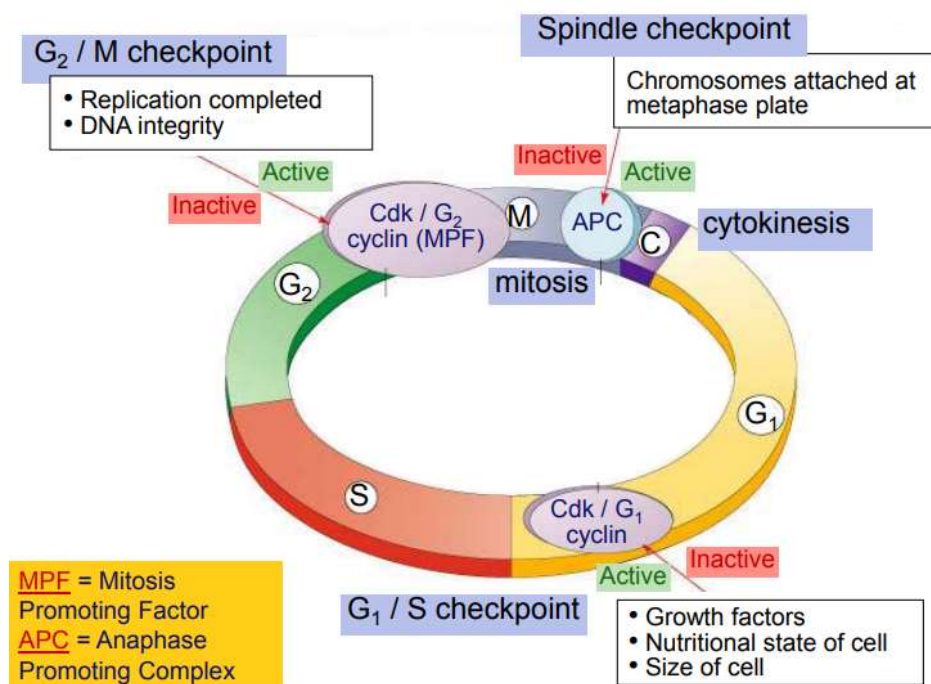


Figure 18-40 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Faktory prežitia potláčajú apoptózu reguláciu Bcl-2 proteínov





## Rakovina a bunkový rast

Rakovina je v podstate zlyhanie riadenia bunkového delenia

■ neobmedzený, nekontrolovaný rast buniek

Akú kontrolu stratíte?

- Stratia kontrolný bod
- Gén p53 hrá kľúčovú úlohu v obmedzení G<sub>1</sub> / S bod
- proteín p53 zastaví bunkové delenie, ak detekuje poškodenú DNA
- možnosti:
  - stimuluje opravné enzýmy na fixáciu DNA
  - vytláča bunku do G<sub>0</sub>
- pokojná fáza
  - udržiava bunku v zástave G<sub>1</sub>
  - spôsobuje apoptózu poškodenej bunky

Všetky typy rakoviny musia ukončiť aktivitu p53

## Vývoj rakoviny

Rakovina sa vyvíja až po tom, čo bunka zažije ~ 6 kľúčových mutácií ("hitov")

- **neobmedzený rast**
  - Zapnuté gény stimulujúce rast
- **ignorovať kontrolné body**
  - vypnuté gény na potlačenie nádorov (p53)
- **úniková apoptóza**
  - vypnutie samovražedných génov
- **nesmrteľnosť** = **neobmedzené rozdelenie**
  - zapnuté gény pre údržbu chromozómov
- **podporuje rast krvných ciev**
  - zapnuté gény rastu krvných ciev
- **prekonať závislosť od ukotvenia a hustoty**

- vypnutie génu snímača dotyku

## NÁDORY

Masa abnormálnych buniek

### ➤ Benígny nádor

- abnormálne bunky zostávajú v pôvodnom mieste ako hruda
- p53 zastavil delenie buniek
- väčšina nespôsobuje vážne problémy & môže byť odstránená operáciou

### ➤ Zhubný nádor

- bunky opúšťajú pôvodnú lokalitu
- prichádzajú o pripojenie k blízkym bunkám
- prenášané krvou a lymfatickým systémom do iných tkanív

- **viac nádorov = metastáz-----** poškodenie funkcií orgánov v celom rozsahu tela