

Rakutsükkel: Mitoos



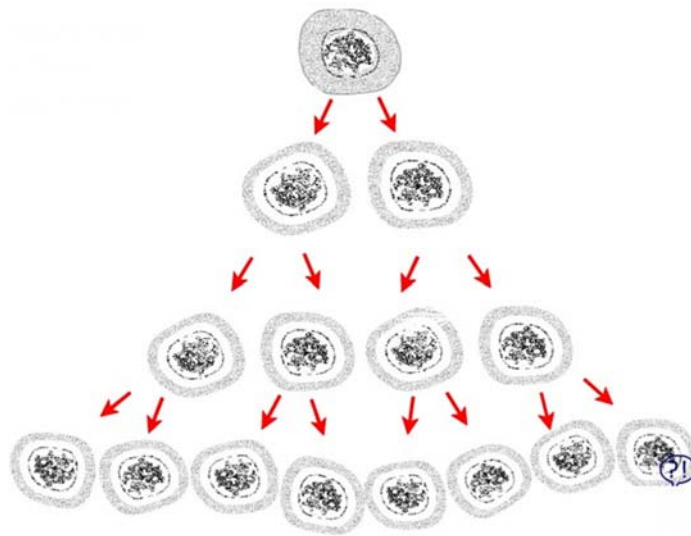
Sisukord

11.	Rakutsükkel	2
11.1.	Rakutsükli faasid	2
11.1.1.	Interfaas	3
11.1.2.	G1 ja G2 faas	3
11.1.3.	S-faas	4
11.1.4.	Mitootiline faas	4
	Profaas	6
	Prometafaas	7
	Metafaas	8
	Anafaas	9
	Telofaas	9
	Tsütokinees	9
11.2.	Rakutsükli kestus	11
11.3.	Rakutsükli regulatsioon	13
11.1.5.	Raku kasvu ja jagunemise kontroll	19
	Kokkuvõte	20
	Terminid/mõisted	21

11. Rakutsükkel

11.1. Rakutsükli faasid

Kõik elusorganismid koosnevad rakkudest. *Omnis cellula e cellula* - rakk tekib rakust. Ainuraksetel organismidel tekitab iga jagunemine uue organismi. Hulkrakse organismi väljaarenemine algab üksikust viljastatud munarakust, millest kujuneb paljude edasiste jagunemiste tulemusena täiskasvanud organism. Ka täiskasvanud organismis toimub pidevalt uute rakkude teke, et asendada vananenud ja hukkunud rakke, millega säilitatakse organismi toimimine. Organism sureb kui rakkude jagunemine mingil põhjusel lakkab (näiteks suure doosi radioaktiivse kiirguse või mõnede mürkide toimel). Seetõttu on raku jagunemine organismile eluküsimus. Seega, hulkrakne organism sõltub oma elu jooksul raku jagunemisest, kuna sel oluline roll paljunemisel, kasvamisel ja kudede uuenemisel. (Joonis 1)



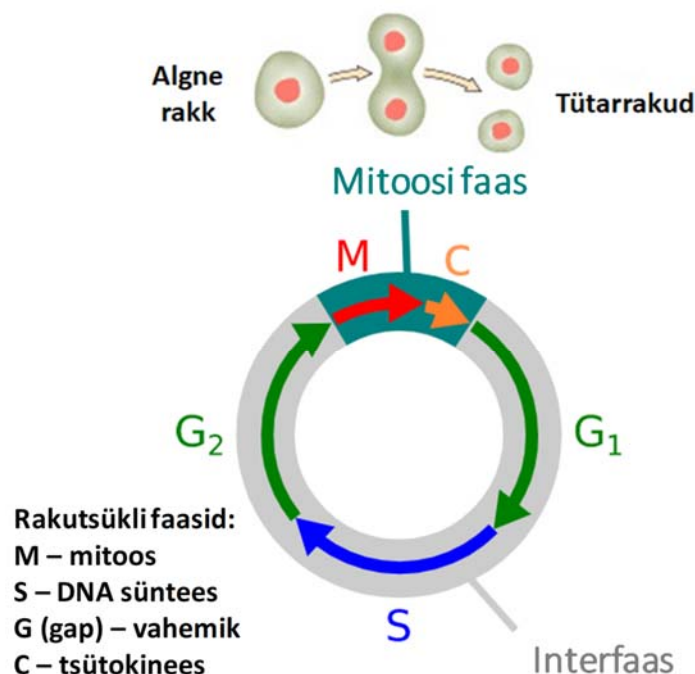
Joonis 1. *Omnis cellula e cellula* - rakk tekib rakust.

Raku jagunemine on eluslooduse kõige komplekssem koordineeritud protsess. Rakk on nagu keeruline molekulaarne masin, millel on kümneid tuhandeid funktsionaalseid detaile ja sõlmi. Kõik need raku funktsionaalsed osad, organellid ja kromosoomid peavad raku pooldumise puhul olema täpselt emaraku sarnaselt kopeeritud ja uuesti loodud ehk duplitseeritud.

Kõige olulisem on jagunemise protsessi juures aga see, et tegemist ei ole lihtsalt detailide kopeerimisega, vaid raku duplitseerimise tuhandet üksikud sündmused peavad olema üksteise suhtes ajaliselt ja järjestikuliselt kooskõlastatud, sest vastasel juhul tekivad jagunemisprotsessis vead. Näiteks, kromosoomide jagunemine ei tohi toimuda enne seda kui kromosoomid on täielikult duplitseeritud, sest vastasel juhul pärivad rakud endale vigased kromosoomid. Defektselt jagunenud kromosoomid aga tähendavad rakule surma või anomaaliaid nagu näiteks rakkude kontrollimatu pooldumine vähkkasvaja puhul.

Need korduvad sündmused, mida kasvavad ja jagunevad rakud korduvalt läbivad, nimetatakse **rakutsükliks** – raku eluperiood ühest jagunemisest teiseni.

Rakutsükkel jaguneb laias laastus **mitoosi faasiks** (*mitosis*) – raku jagunemine, ja **interfaasiks** ehk vahefaasiks, mis moodustab ajaliselt umbes 90% kogu rakutsükli kestusest. (Joonis 2)



Joonis 2. Rakutsükkel jaguneb **mitoosi** faasiks (**M** – *mitosis*) ja **interfaasiks** ehk vahefaasiks. Interfaas jaguneb omakorda kaheks **vahemik-faasiks**, **G₁** ja **G₂** (**G** – *gap*) ja **DNA sünteesi faasiks** (**S** – *synthesis*). Osa mitoosi faasist moodustab **tsütokinees** (**C** – *cytokinesis*). Raku jagunemine on osa rakutsüklist!

11.1.1. Interfaas

Interfaasis toimub kõikide rakukomponentide sünteesimine, et tagada tekkivatele tütarakkudele kõik vajalik uue rakutsükli alustamiseks. Enamike rakukomponentide (organellid, tsütoplasma jne) kahekordistumine ei ole täpselt kontrollitud. Piisab sellest, kui mingit organelli või tsütoplasma komponenti enne raku jagunemist ligikaudu kahekordistatakse ning seejärel jaotatakse kahe tütaraku vahel ligikaudu võrdselt.

Interfaas on rakutsükli pikim faas, sest jagunev rakk veedab selles faasis umbes 90% oma rakutsükli ajast. Selleks, et rakk saaks liikuda interfaasist mitootilisse faasi, peavad olema täidetud paljud sise- ja välistingimused.

Interfaas sisaldab omakorda kolme etappi: G₁, S ja G₂. (**Joonis 2**)

11.1.2. G₁ ja G₂ faas

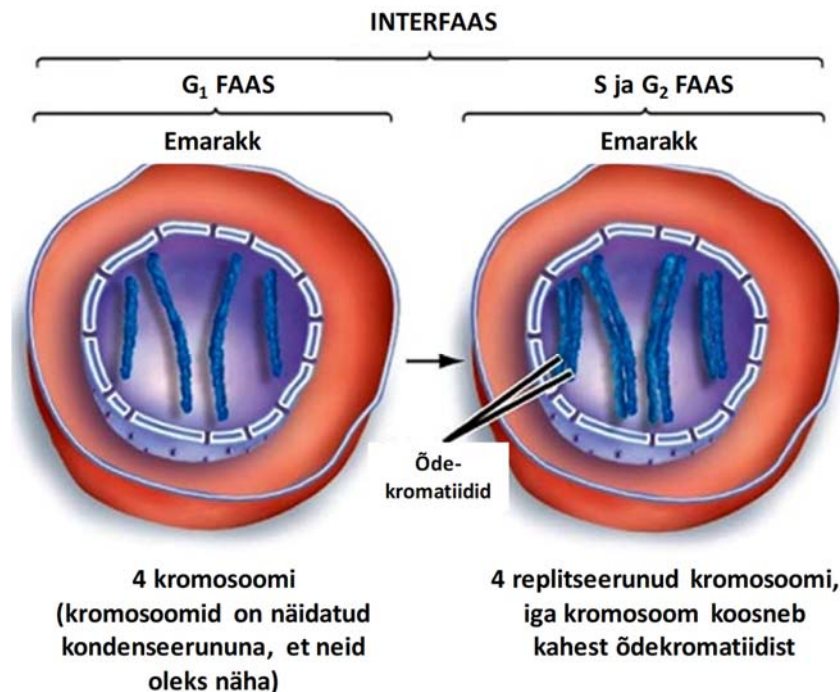
S faasi ja M faasi eraldavad niinimetatud **vahemik** ehk **gap faasid** (G - inglise k. *gap*), millest esimene, **G₁ faas**, eelneb vahetult S faasile ja teine, **G₂ faas**, mis eraldab S faasi ja M faasi. G₁ ja G₂ faas annavad rakule vajaliku aja kasvamiseks sh muude rakukomponentide kordistamiseks.

G₁ faas on interfaasi esimene etapp (esimene vahemik faas), kus rakk on biokeemiliselt üsna aktiivne. Rakud akumulatsioonivad kromosomaalse DNA ja sellega seotud valkude ehitusplokke ning koguvad piisavalt energiavarusid, et läbi viia tuumas iga kromosoomi replikatsioon.

G₂ faasis täiendab rakk oma energiavarusid ja sünteesib valke, mis on vajalikud kromosoomide liigutamiseks mitoosi käigus. Mõned rakuorganellid dubleeritakse ja tsütoskelett demonteeritakse, et oleks olemas ressursid mitootilise faasi läbimiseks.

11.1.3. S-faas

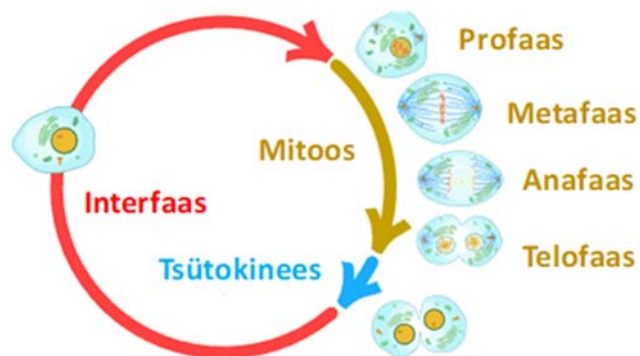
Rakutsükli keskne funktsioon on sünteesida uus koopia kromosomaalset DNA-d ja jaotada duplitseeritud kromosoomid kahe tütaraku vahel. Seega, S-faasis ehk DNA sünteesi faasis (S – *synthesis*) tagab DNA replikatsioon identsete DNA molekulide paaride – õdekromatiidide – moodustumise. (Joonis 3)

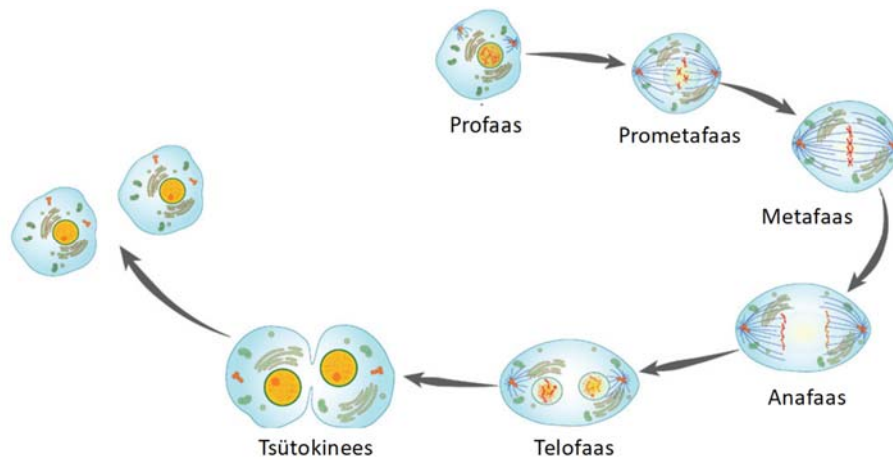


Joonis 3. Rakutsükli interfaas sisaldab omakorda kolme etappi: G₁, S ja G₂. S-faasis toimub kromosoomide duplitseerimine ehk DNA kahekordistumine.

11.1.4. Mitootiline faas

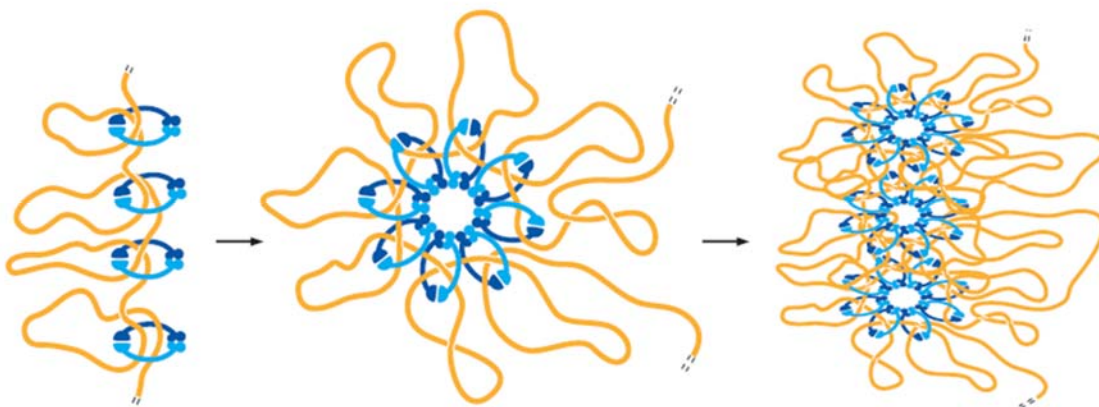
Peale S ja G₂ faaside läbimist siseneb poolduma aktiveeritud rakk M faasi. **M faas** ehk **mitootiline faasis** (M – *mitosis*) on mitmeastmeline protsess, mille käigus dubleeritud kromosoomid joondatakse, eraldatakse ja jagatakse kahe uue, identse, tütaraku vahel st toimub raku jagunemine. Mitootilise faasi esimest osa nimetatakse **karüokineesiks** ehk tuuma jagunemiseks ja selle alam-faasideks, kus toimub kromosoomide ja tuuma jagunemine. Mitoos jagatakse viieks etapiks: **profaas**, **prometafaas** (**varajane metafaas**), **metafaas**, **anafaas** ja **telofaas**. (Joonis 4)





Joonis 4. Rakutsükli mitoosi faasid.

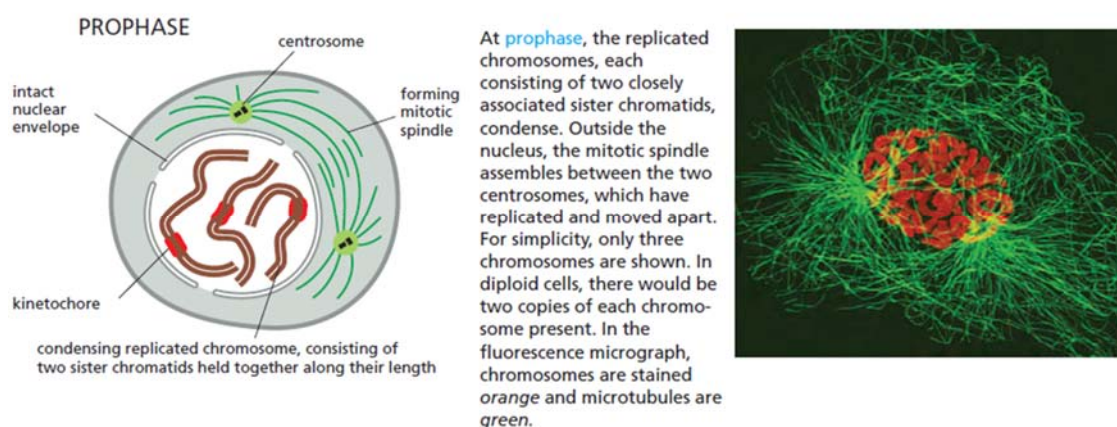
Selline mitoosi faaside klassifikatsioon on ajalooline ja määratud peamiselt mikroskoobist nähtud kromosomaalsete muutuste järgi. Üleminekut G_2 -faasist M-faasi pole mikroskoobis võimalik täpselt fikseerida. Kromatiin, mis on interfaasis difuusne, kondenseerub aeglaselt kompakseteks kromosoomideks. Kaob tuumake, sest kondenseerunud kromatiinilt ei toimu enam RNA transkriptsiooni. Kromosomaalsed muutused mitoosis võib jaotada kaheks: **õdekromatiidide kondensatsioon** (ehk kokkupakkumine) ja **õdekromatiidide resolutsioon** (lahutamine) eraldi ühikuteks. Peale DNA replikatsiooni lõppu on õdekromatiidid suures segases puntras, millest neid kahe tuuma vahel jaotamisel tuleks ette lugematul hulgal sõlme ja ahelate purunemisi. Seetõttu on rakk arendanud välja vägagi elegantse süsteemi, mis õdekromatiidide eraldamist siiski võimaldab. Esiteks, lahendatakse topoloogilised probleemid nii, et eraldamise protsessis ei tekiks sõlmi, silmuseid ja ahelate purunemist pinge all, ja teiseks, pakitakse füüsiliselt eraldatud kromosoomid kompaktselt kokku. Nii kromosoomide kokkupakkumise kui lahutamise eest vastutab viie alaühikuline ringikujuline valgukompleks **kondensiin**. (**Joonis 5**) Loomarakkudes, kus kromosoomid on eriti pikad, lühendab kondenseerumine kromosoomi umbes 10 000 korda. Kromosoomide kondensatsioon aitab eraldada õdekromatiidid.



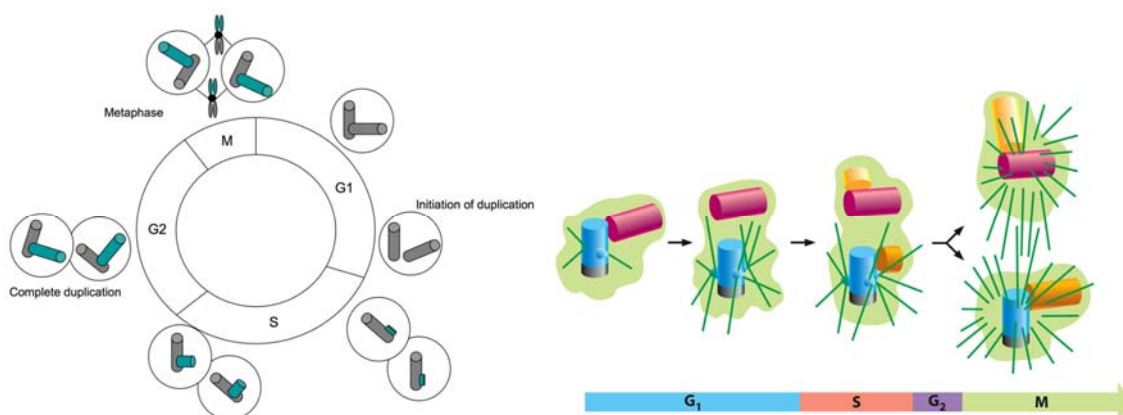
Joonis 5. Kondensiin on viie alaühikuga valgukompleks, mis sarnaneb kohesiiniga (**Joonis 23**). Ei ole selge, kuidas kondensiin katalüüsib kromosoomi DNA restruktureerimist ja tihenemist, kuid see võib moodustada rõngasstruktuuri, mis ümbritseb DNA silmuseid igas õdekromatiidis.

Profaas

Üleminekut G_2 -faasist M-faasi pole mikroskoobis võimalik täpselt fikseerida. Kromatiin, mis interfaasis on difuusne, kondenseerub aeglaselt kompakseteks kromosoomideks. Kaob tuumake, sest kondenseerunud kromatiinilt ei toimu enam RNA transkriptsiooni. **Profaasis** lagunevad ka tsütoplasmaatilised mikrotuubulid ning varajases profaasis moodustuvad esialgu paksud torujad kromosoomid ja õdekromatiidid pole eraldi nähtavad. (Joonis 6) Profaasis lagunevad ka tsütoplasmaatilised mikrotuubulid ning hakkab moodustuma mitoosiaparaadi peamine komponent **kääviniidistik** ehk **mitoosi kääv** (*spindle*, *mitotic spindle*). Kääv on bipolaarne struktuur, millest sõltub õdekromatiidide lahutamine kahe tütaraku vahel kõigis eukarüootides. Kääv koosneb mikrotorukestest nendega seotud valkudest (kinesiinid), mis on ühendatud erinevate poolustega ja mille ülesandeks on tirida kromosoomi pooluste poole. **Mitoosikäävi moodustumine algab tsentrosoomide duplitseerimisega.** (Joonis 7) Mitoosi käävi moodustumise peamine dünaamiline etapp on tsentrosoomi duplitseerumisele järgnev uue ja vana tsentrosoomi lahknemine eri käävipooluste suunas.



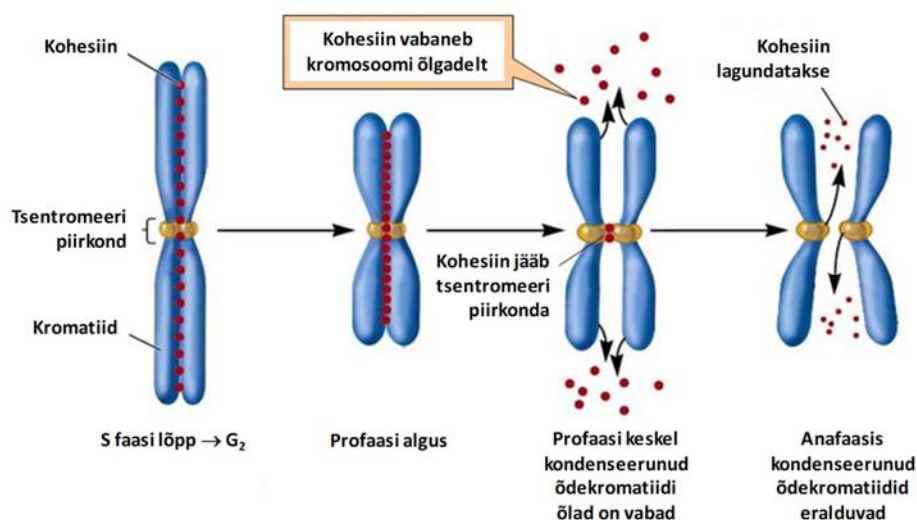
Joonis 6. Rakutsükli mitoosi faasid: **profaas**.



Joonis 7. Tsentrosoomi duplitseerumine ja käävi mikrotorukeste organiseerimine. Tütartsentrioolid on näidatud kollasega ja peritsentriooli maatriks rohelisena.

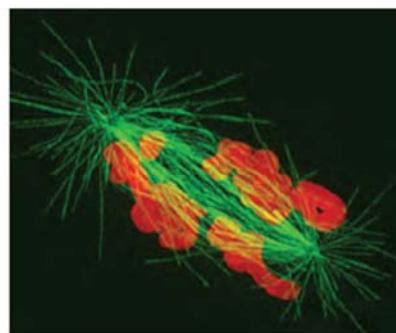
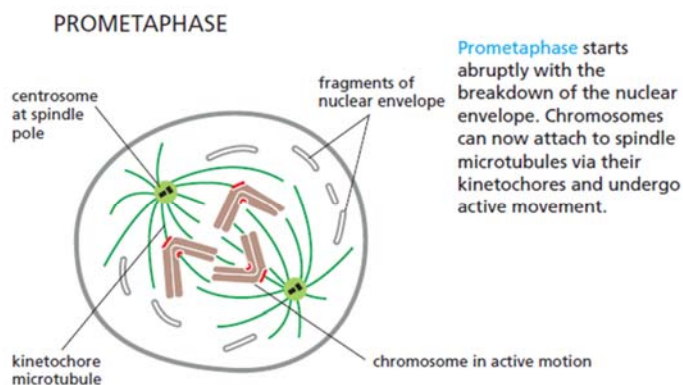
Prometafaas

Edaspidi, **prometafaasi** ja **metafaasi** ajal, aga toimub DNA kondenseerumine ja lahutamine üheaegselt ning õdekromatiidid hakkavad ilmema. Kuna selgroogsete rakkudes eraldatakse kokkupakkumise ja resolutsiooni käigus duplitseerunud kromosoomidelt ka **koheisiin**, kuid seda vaid kromosoomide õlgadelt, mitte tsentromeersest osast, mis lõpptulemusena annab metafaasis kondenseeritud õdekromatiididele iseloomuliku X tähe kuju. (Joonis 8)

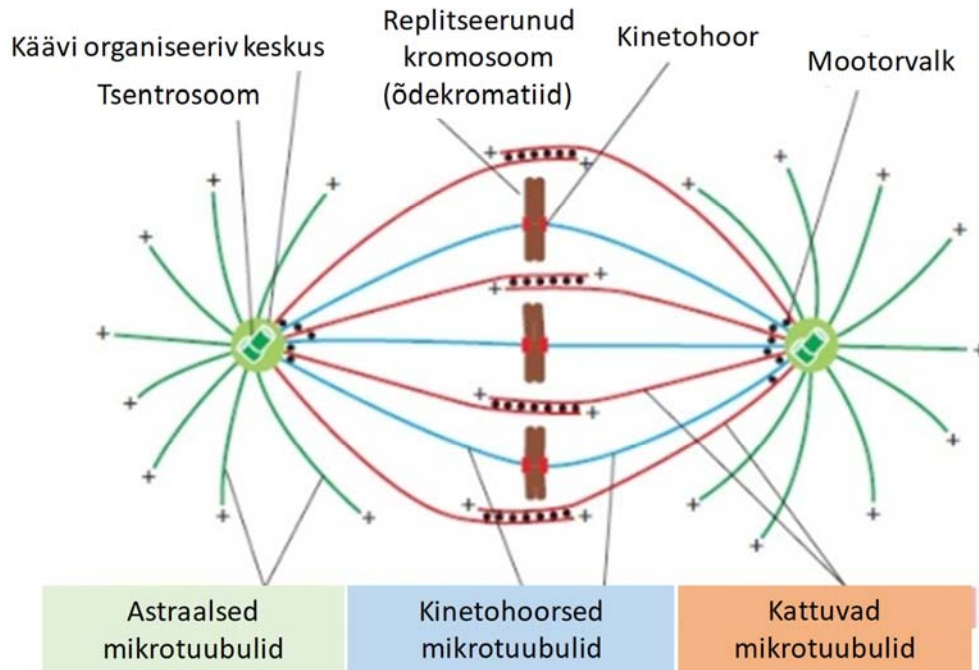


Joonis 8. Kromosoom mitoosi ajal.

Prometafaas algab tuumamembraani lagunemisega fragmentideks. Need tuumamembraani fragmendid jäävad nähtavaks kääviniidistiku ümbruses kogu mitoosi ajal. Kääviniidid, mis alguses olid väljaspool tuuma, levivad üle selle rakuosa, kus enne oli tuum. Kromosoomide tsentromeeride külge moodustuvad **kinetohoorid**, mis seovad enda külge osa mikrotuubulitest – neid nimetatakse **kinetohoorseteks mikrotuubuliteks**. Käävi ülejäänud mikrotuubuleid nimetatakse **kattuvateks mikrotuubuliteks** (on suunatud raku keskossa, kuid ei kinnitu kinetohoorile) ja **astraalseteks mikrotuubuliteks** – on suunatud raku perifeeriasse. (Joonis 10)



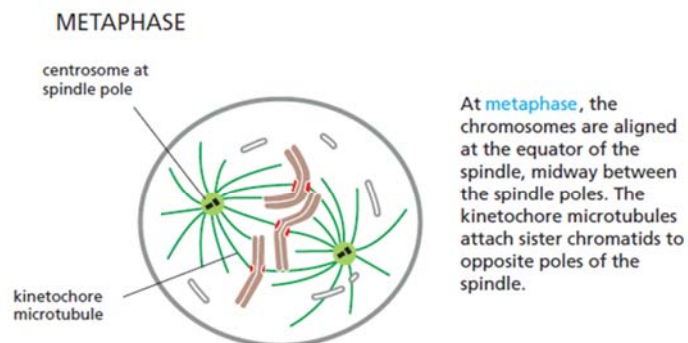
Joonis 9. Rakutsükli mitoosi faasid: **prometafaas**.



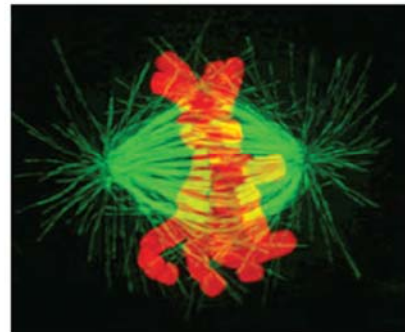
Joonis 10. Mitootilise kääviniidistiku moodustavad kolme tüüpi mikrotuubulid: Kromosoomid kinnituvad kinetohoorsetele mikrotuubulitele. Käävi ülejäänud mikrotuubuleid nimetatakse kattuvateks mikrotuubuliteks (on suunatud raku keskossa, kuid ei kinnitu kinetohoorile) ja astraalseteks mikrotuubuliteks, mis on suunatud raku perifeeriasse.

Metafaas

Metafaasis reastatakse kromosoomid kinetohoorsete mikrotuubulite abil ühele tasapinnale kahe pooluse vahel. Sel hetkel on kromosoomid juba liikumiseks valmis, nende kinetohoorid on aktiivsed ning kumbki kinetohoor püüab liikuda poolusele. Liikumist aga veel ei toimu, sest kinetohooride poolt tekitatav jõud tasakaalustatakse vastastikku tänu sellele, et õdekromatiidid on tsentromeeri abil ühendatud. (**Joonis 11**)



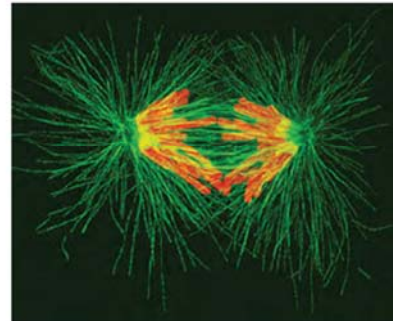
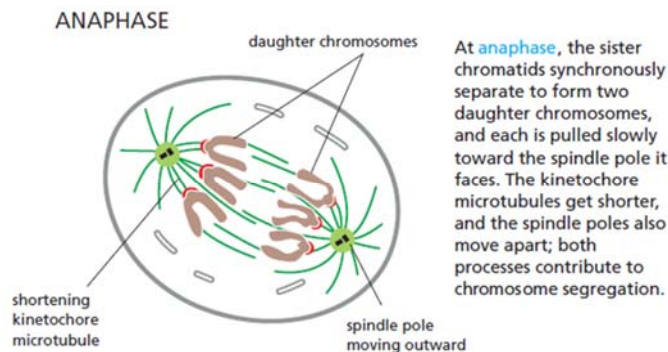
At **metaphase**, the chromosomes are aligned at the equator of the spindle, midway between the spindle poles. The kinetochore microtubules attach sister chromatids to opposite poles of the spindle.



Joonis 11. Rakutsükli mitoosi faasid: **metafaas**.

Anafaas

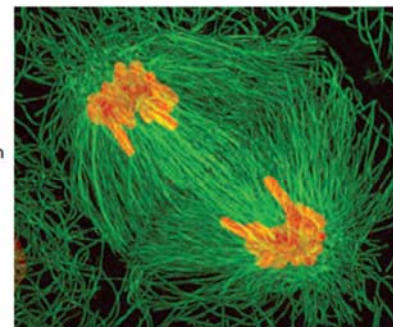
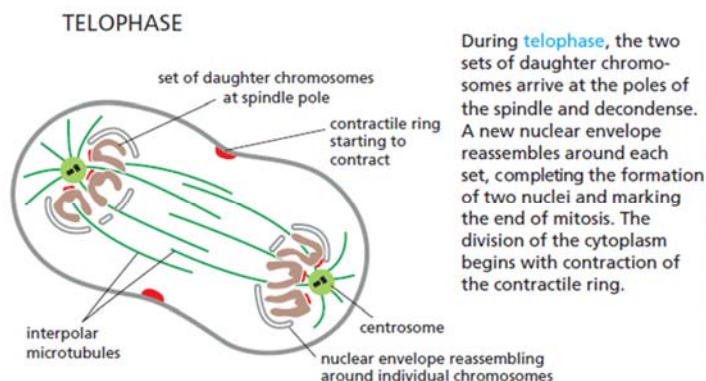
Anafaas algab järsku, õdekromatiidid alustavad liikumist pooluste suunas. Liikumise kiirus on ca $1\mu\text{m}/\text{min}$. Anafaas kestab tüüpiliselt mõne minuti. (**Joonis 12**)



Joonis 12. Rakutsükli mitoosi faasid: **anafaas**.

Telofaas

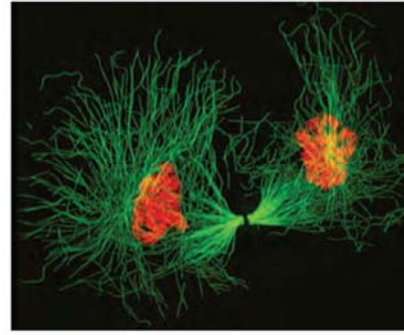
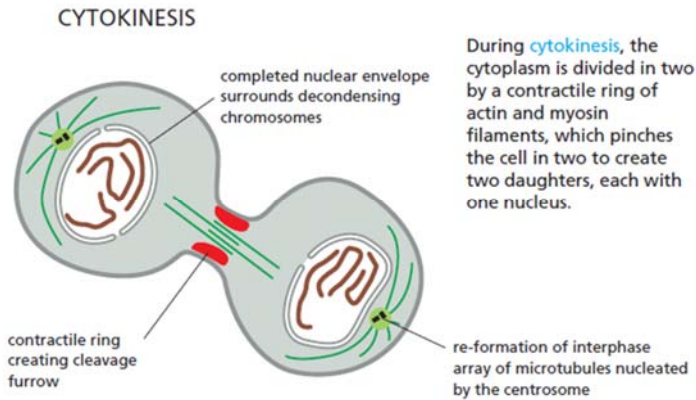
Telofaasis lahknevad õdekromatiidid (kromosoomid) jõuavad poolustele, kinetohoorsed mikrotuubulid kaovad. Tütartuumade ümber moodustub uus tuumaümbris. Kromatiin dekontendseerub, ilmuvad uuesti tuumakesed. (**Joonis 13**)



Joonis 13. Rakutsükli mitoosi faasid: **telofaas**.

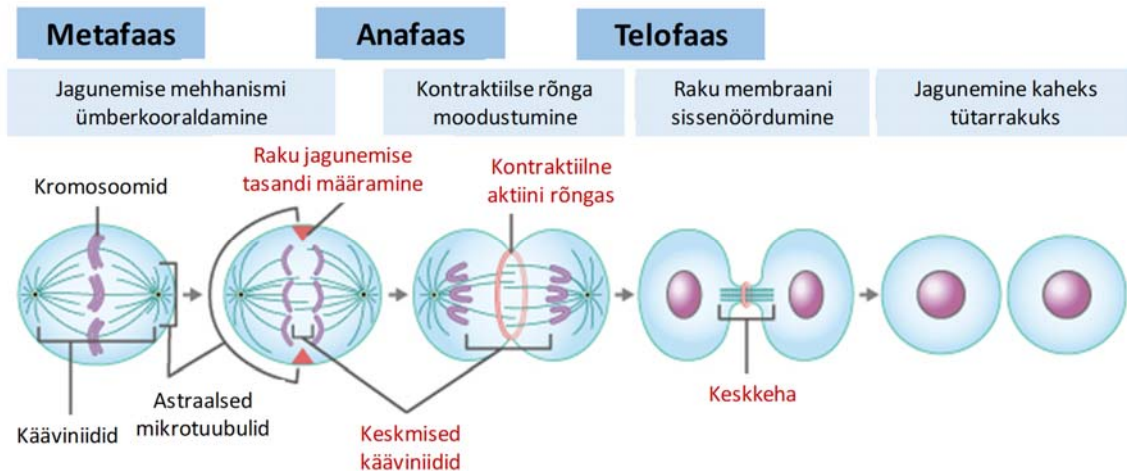
Tsütokinees

Mitootilise faasi teine osa, mida nimetatakse **tsütokineesiks**, on tsütoplasmaatiliste komponentide (sh raku organellide) füüsiline jaotamine kahe tütarraku vahel, mille tulemusena jaguneb lõplikult kogu rakk. (**Joonis 14**) Tsütokinees on keeruline protsess, mis koosneb arvukatest etappidest, mida esindavad leidlikud interaktsioonid raku pinnal oleva aktiini tsütoskeleti, tsütoplasma mikrotuubulite ja rakusisese vesikulaarse transpordi vahel.



Joonis 14. Rakutsükli mitoosi faasid: **tsütokinees**.

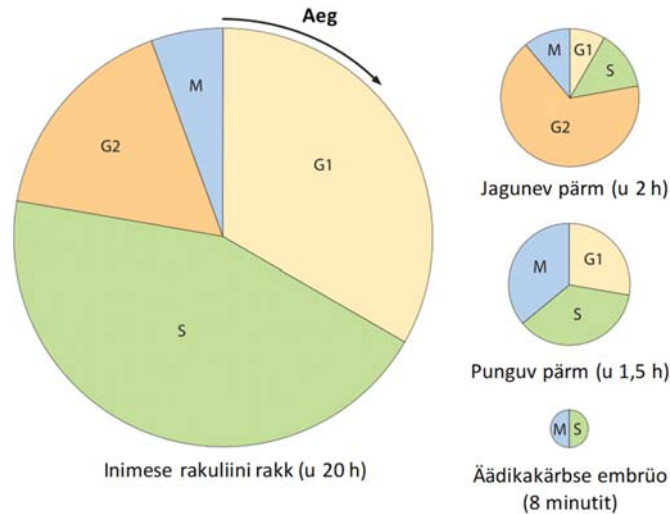
Tsütokinees algab tihti juba anafaasis. Aktiinist ja müosiinist moodustub **kontraktiline struktuur – aktiini rõngas**, mis paigutub raku keskele käävi teljega risti. See struktuur tekitab jõu, mis on vajalik plasmamebraani sissenõrdumiseks. Aktiini rõnga kokkutõmbumine põhjustab rakumembraanil ahenemist, moodustades lõhe. Lõhe süvendamise jätkumiseks on oluline **keskkelgede** olemasolu. Kui vagu jõuab raku keskele, puutub raku pind kokku keskse kääviga, moodustades struktuuri, mida nimetatakse **keskkehaks**, mis mängib olulist rolli raku võimalikul eraldamisel kaheks sõltumatute rakumembraanidega tütararakudeks. Tsütokinees lõpeb kahe uue tütaraku eraldumisega teineteisest. (**Joonis 15**)



Joonis 15. Tsütokineesi etapid.

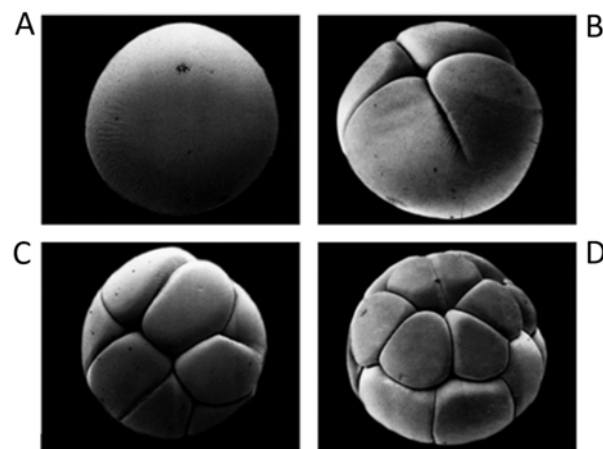
11.2. Rakutsükli kestus

Erinevate kudede, erinevate liikide ja erinevas arengustaadiumis olevate kudede rakkude jagunemistsüklike kestused varieeruvad väga suures ulatuses. (**Joonis 16**)



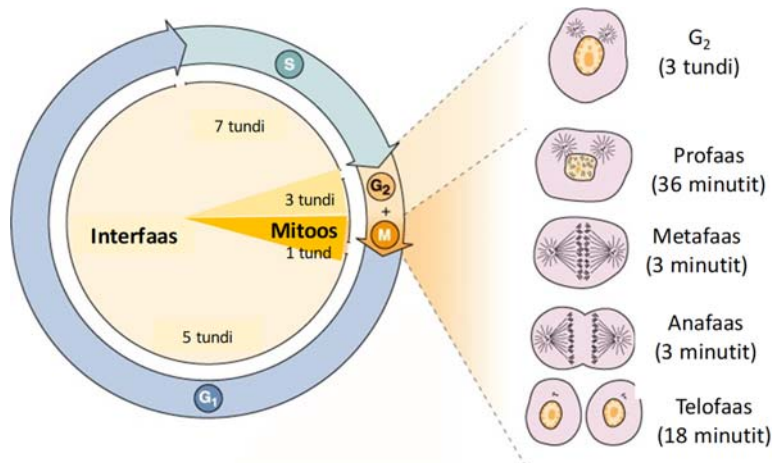
Joonis 16. Rakutsükli ajalise kestuse näited erinevat tüüpi rakkudel. Iga sektordiagramm näitab rakutsükli osa, mis on pühendatud rakutsükli igale etapile. Iga diagrammi pindala on võrdeline üldise rakutsükli kestusega.

Kõige kiiremini käib rakutsükkel hariliku puuviljakärbse (*Drosophila melanogaster*) varajase embrüo rakkudes, umbes 8 minutiga. Seal toimub eriline jagunemise vorm – **lõigustumine** (*cleavage*), kus G_1 ja G_2 faasid praktiliselt puuduvad ning tsükli läbimine sõltub ainult S-faasist (DNA replikatsioon) ja M-faasist. Sellise jagunemistüübi juures pole vaja aega, et sünteesida uusi rakukomponente – need on juba valmis sünteesitud munaraku küpsemise ajal. Lõigustumise ajal munarakk lihtsalt jaguneb paljudeks väiksemateks rakkudeks. Vaata pilti konna näitel. (**Joonis 17**)

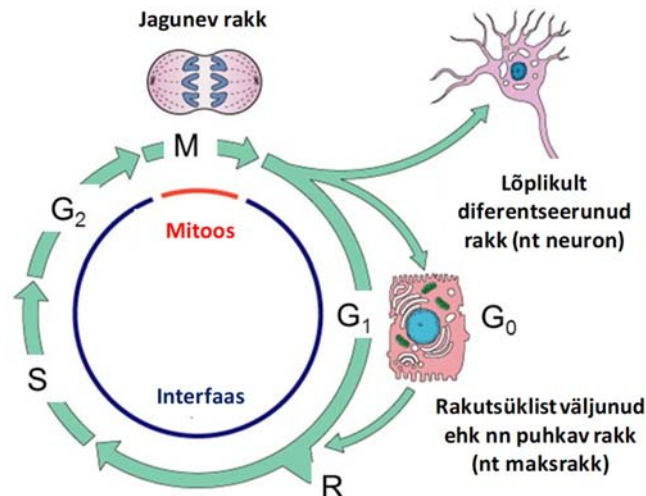


Joonis 17. Konna viljastatud munaraku (**A**) lõigustumise etapid: esimene lõigustumine (**B**), teine lõigustumine (**C**) (4 rakku) ja neljas lõigustumine (**D**) (16 rakku). Märka rakkude suuruse erinevust pärast neljandat jagunemist. Pildid on tehtud skaneeriva elektronmikroskoobiga.

Standardne rakutsükkel, kus on esindatud kõik faasid, kestab märksa kauem. Kiiresti jagunevad kõrgemate eukarüootide rakud (näiteks sooleepiteeli ja vereloome tüvirakud) läbivad tsükli 11-24 tunniga, sellest M-faas kestab 1-2 tundi. **(Joonis 12)** Täiskasvanud inimese maksarakud jagunevad keskmiselt 1 kord aastas, immuunmälu kandvad T-lümfotsüüdid võivad jagunemata olla palju aastaid. On ka selliseid rakutüüpe, mis ei jagune enam kunagi (närvirakud, südame- ja skeletilihase rakud, silma läätse rakud jt) – nende jagunemistsükkel on peatunud G_1 faasis nad on nn **puhkefaasis** ehk **G_0 -faasis**. **(Joonis 18 ja Joonis 19)**



Joonis 18. Rakutsükli faaside keskmine kestus inimese rakkudes. G_1 faasi (presünteesi) kestus varieerub, mis sõltub paljudest teguritest, sealhulgas rakkude jagunemise kiirusest koes.

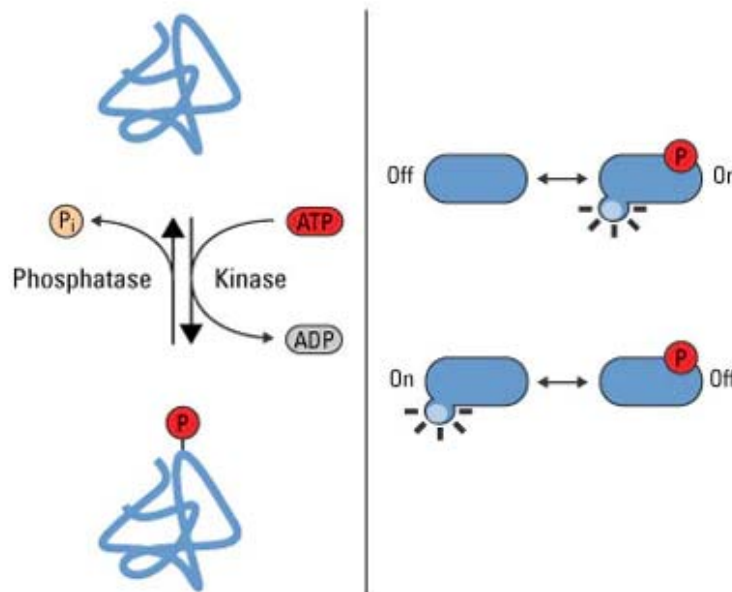


Joonis 19. Rakutsükkel ja rakkude diferentseerumine (spetsialiseerumine). Jagunevates rakkudes (nt soole epiteelkoe rakud) eristatakse rakutsükli kahe järjestikuse mitoosi vahelise intervalliga. Pärast jagunemist siseneb rakk vahemik faasi (G_1), mille jooksul DNA süntees lakkab ning toimub RNA ja valgu süntees, kui rakk täidab oma spetsiifilist funktsiooni. Rakutsükli jätkavad rakud läbivad uuesti kontrollpunkti (**R**), mis kohustub uuesti korraldama rakkude jagunemise ja jätkama sünteesi (**S**) faasi, mille jooksul kõik kromosoomid replitseeruvad. S-faasile järgneb lühike vahemik faas (G_2), mille jooksul lakkab DNA süntees ja proteiini süntees jätkub. M-faas on mitoosi periood. Pärast iga tsükli on üks tütar rakk pühendunud diferentseerumisele ja teine jätkab tsükli. Mõned rakutüübid, näiteks hepatotsüüdid, on nn **vaiksed** (*quiescent*). Pärast raku mitoosi hakkavad rakud oma spetsiaalseid funktsioone täitma (**G₀**) ega sisene rakutsükli uuesti, välja arvatud juhul, kui neid stimuleerib teiste rakkude kaotus. Lõplikult diferentseerunud rakud (neuronid) ja ei saa rakutsükli uuesti siseneda.

11.3. Rakutsükli regulatsioon

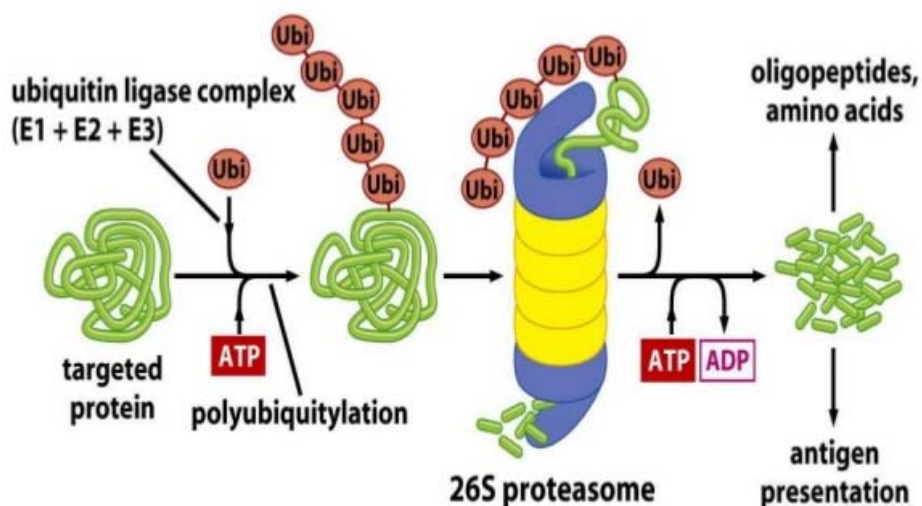
Rakutsükli kulgemist võib võrrelda automaatpesumasinaga, kus toimuvad teatud kindlad protsessid ranges järjestuses. Kõigepealt võetakse masinasse sisse vesi, soojendatakse see kindla temperatuurini, pestakse teatud aeg, loputatakse ja tsentrifuugitakse pesu kuivaks. Pesumasinal töötab kontrollerr, mis lülitab vastavad sündmused üksteisele järgnevalt sisse. Kuigi kontrollerr võiks käia konstantse kiirusega, andes iga protsessi kulgemise jaoks kindla aja, on ometi tsükli teatud punktides kontrollpunktid, kus tagasiside abil kontrollitakse ühe või teise protsessi kulgemist (mõõdetakse vee taset masinas, selle temperatuuri jne) Järgmist etappi ei käivitata enne, kui eelmine pole lõpetatud. Täpselt samuti kulgeb ka rakutsükkel, kus teatud kriitilistes punktides kontrollitakse, kas eelnenud etapp on lõpetatud.

Peamised rakkude pooldumist reguleerivad mehhanismid toimivad läbi valkude fosforüülimise ja ubikvitineerimise. Valkude **fosforüülimine** ja **ubikvitineerimine** on kõige levinumad valkude post-translatoorse modifitseerimise vormid ja neid protsesse koordineerivad ensüümid – proteiinkinaasid ja ubikvitiinliigaasid moodustavad kõige suuremad ensüümperekonnad eukarüootides. Näiteks imetajatel on ca 500 proteiinkinaasi ja 600 ubikvitiin liigaasi. **Proteiinkinaasid** lisavad fosfaatgruppe reguleeritavate valkude seriini, treoniini või türosiini külghelate hüdroksüülrühmade külge. Fosfaatide lisamine muudab valgu omadusi ja seetõttu võib seda protsessi mõista kui **lülitit**. Ühes valgus on tavaliselt mitmeid spetsiifilisi fosforüülimiskohti, mis avab erineva loogikaga lülituskombinatsioonide võimalusi. Proteiinkinaasidele vastukaaluks töötavaid ensüüme nimetatakse **fosfataasideks**. Need ensüümid eemaldavad valkudele fosfaatrühmi ja selline kahe kiirelt töötava vastupidise ensüümi kombinatsioon võimaldab **fosfolülite** paindlikku sisse-välja lülitamist. Niimoodi saab sisse-välja lülitades kontrollida reguleeritavate valkude omaduste mitmeid aspekte – lokalisatsiooni, degradatsiooni, ensümaatilist aktiivsust, kompleksimoodustumist jne. (**Joonis 20**)



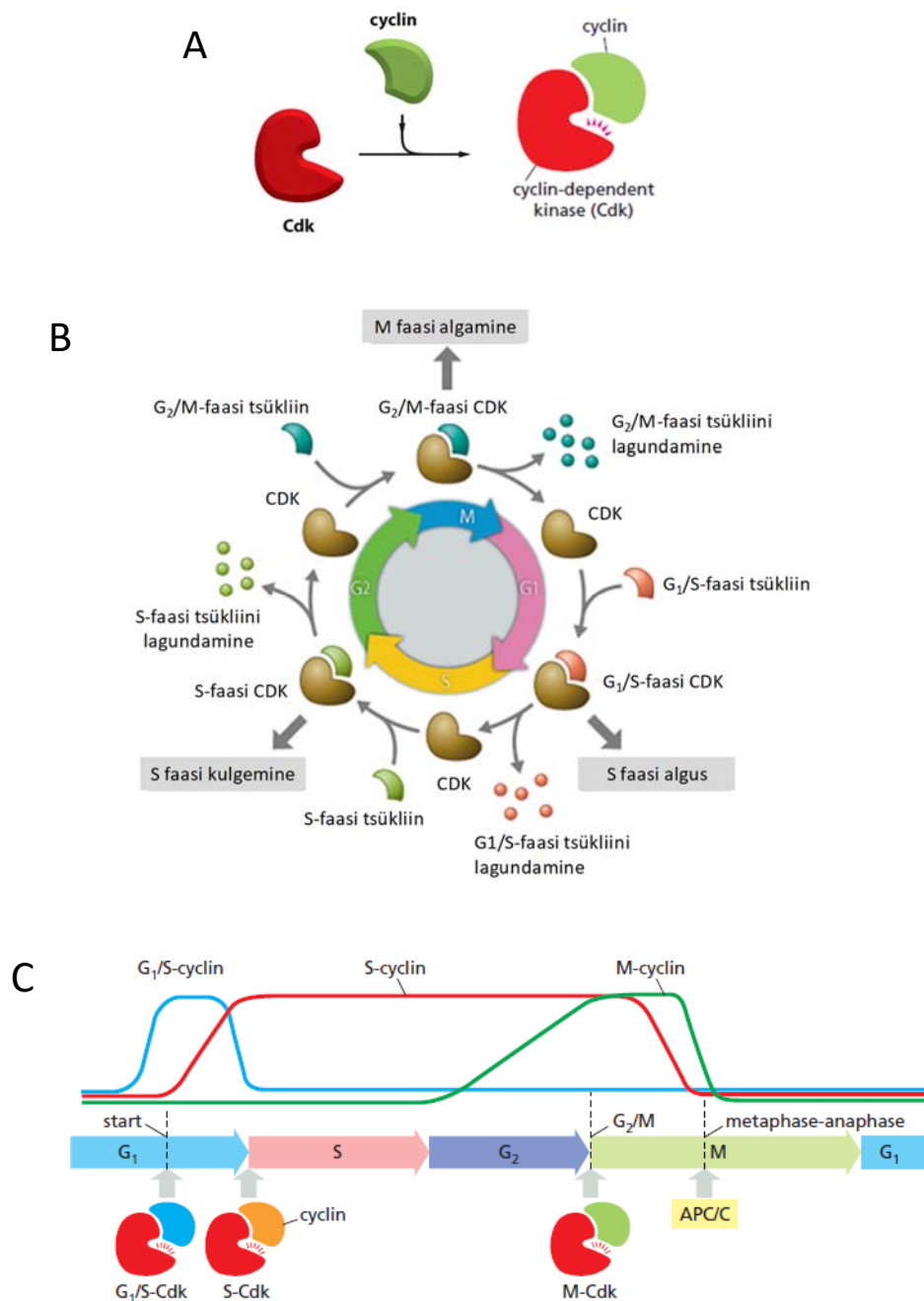
Joonis 20. Fosforüülimine on pöörduv post-translatoorne modifitseerimise viis, mis reguleerib valgu funktsiooni. Vasakpoolne joonis: proteiinkinaasid vahendavad seriini, treoniini ja türosiini külghelate fosforüülimist ja fosfataasid muudavad valkude fosforüülimise fosfaatrühma hüdroolüüsi teel ümber. **Parempoolne joonis:** fosforüülimine põhjustab valkude konformatsioonilisi muutusi, mis aktiveerivad (ülemine näide) või inaktiveerivad (alumine näide) valgu funktsiooni.

Ubikvitineerimise puhul lisavad ligaasid valkude lüsiini külgahelatele väikeseid **ubikvitiinvalgu molekule**, mis omakorda moodustavad hargnevaid **polüubikvitiin** ahelaid. Rakutsükli kontekstis on ubikvitineerimise peamiseks funktsiooniks **valkude degradatsioon ubikvitiin-proteasoomses degradatsiooni rajas**. Nimelt kasutab **proteasoom** valkudele lisatud ubikvitiinahelaid degradeerimisele määratud valkude äratundmiseks ja sidumiseks. Nii fosforüülimise kui ka ubikvitineerimise algsignaalid (*upstream signals*) antakse kinaasidele või ligaasidele teiste signaalimolekulide abil aktiveerimise, kiirendatud sünteesi või ümberlokaliseerimise läbi. Selline signaal antakse rakutsükli kontrollsüsteemile näiteks siis kui raku sensormehhanismid tunnetavad keskkonna mõttes soodsat olukorda pooldumiseks, või kui rakk registreerib eelneva rakutsükli staadiumi lõppemise ja initsieerib järgmise staadiumi. (**Joonis 21**)



Joonis 21. Ubikvitiini-proteasoomi süsteem. Proteasoom on peamine mittelüsoosomaalse endoproteaasi ensüümide kompleks, mis asub kõigi eukarüootsete rakkude tsütoplasmas ja tuumas. Sellel on kriitiline roll enamiku lühiajaliste rakusiseste valkude lagundamisel, mis kontrollivad rakulisi sündmusi, nagu rakutsükkel, transkriptsioon, DNA parandamine, rakusurm, signaali ülekanne, metabolism, morfogenees, diferentseerumine, antigeeni esitlemine ja neuronite funktsioon. Proteasoom vastutab ka valkude kvaliteedi kontrolli eest, kõrvaldades kahjustatud ja ebanormaalsed valgud. Proteasoom on vähemalt 66 valgust koosnev suur õõnes ja silindriline 26S ensümaatiline kompleks. See koosneb katalüütilisest 20S südamikust (kollane) ja kahest 19S või 11S regulatoorsest ühikust mõlemas otsas (tumesinine). Proteasoomi kark tunneb ära polüubikvitiini ahelaga tähistatud valgud ja siirdab need seejärel proteasoomi tuuma, kus need lagundatakse. Varases staadiumis eraldatakse ubikvitiin substraat-valgust ja võetakse uuesti ringlusse. Translokatsiooni proteasoomi südamiku-ossa vahendab ATPaaside tsükkel, mis laguneb substraat-valgu läbi proteasoomi tuuma keerutades ja teisest otsast vabanevad substraatvalgust järele jäänud peptiid-jupid.

Rakutsükli käivitav ja käigus hoidev masinavärk kujutab endast tsükliiselt toimivat biokeemilist süsteemi. See baseerub kahel peamisel valkude perekonnal, milleks on **tsükliin-sõltuvad kinaasid** (*cyclin dependent kinase, CDK*) ja **tsükliinid**. Tsükliin-sõltuvad kinaasid indutseerivad kindlate regulaatorvalkude seriini ja treoniini jääkide fosforüleerimist ning tsükliinid, mis nendega seostuvad kontrollivad kinaaside aktiivsust. Tsükliin-sõltuvate kinaaside ja tsükliinide komplekside moodustumine toimub tsükliiselt, kusjuures need tekivad ja lagunevad igas rakutsükli, millest ka nimi – tsükliinid. (**Joonis 22**)



Joonis 22. Rakutsükli kontroll tsükliini-CDK (tsükliin-sõltuvad kinaas) komplekside abil. (A) Rakutsükli juhtimissüsteemi kaks põhikomponenti. Kui tsükliin moodustab CDK-ga kompleksi, aktiveeritakse kinaas, et käivitada spetsiifilised rakutsükli sündmused. Ilma tsükliinita on CDK inaktiivne (passiivne). (B) Rakutsükli pearegulaatoriteks on rakutsükli faasi spetsiifilised tsükliinid ja tsükliinsõltuvad kinaasid. (C) Rakutsükli juhtimissüsteemi tsükliin-CDK kompleksid. Kolme peamise tsükliini tüübi kontsentratsioonid kõiguvad rakutsükli jooksul, samas kui CDK-de (ei ole näidatud) kontsentratsioonid ei muutu. G₁ hilisperioodil põhjustab G₁/S-tsükliini taseme tõusu G₁/S-CDK komplekside moodustumist, mis käivitavad progressi Stardi ülemineku kaudu. S-CDK kompleksid moodustuvad S-faasi alguses ja käivitavad DNA replikatsiooni, samuti mõned varased mitootilised sündmused. M-CDK kompleksid moodustuvad G₂ ajal, kuid neid hoitakse inaktiivses olekus; nad aktiveeritakse G₂ lõpus ja mitoosi sisenemisel G₂/M üleminekul. Eraldi regulatiivne valgukompleks, APC/CDK, algatab metafaasist anafaasi ülemineku.

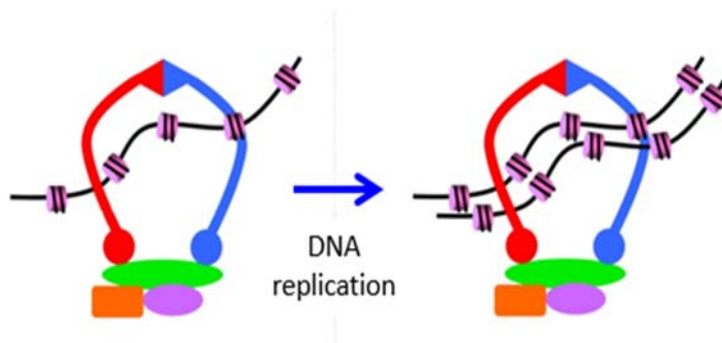
G1 faas on stabiilne CDK inaktiivsuse faas, mis on vajalik järgmisesse rakutsüklisse sisenemise koordineerimiseks. Kui pooldumise initsiaatorsignaalid rakukeskkonnas puuduvad, siis võib rakk minna pikemaajalise mittepooledu olekusse, mida kutsutakse ka **G₀ staadiumiks**.

Iga rakutsükli faasi käivitamine otsustatakse raku poolt kindlas **kontrollpunktis (checkpoint)**. G₁-faasi ajal rakk seirab oma ümbrust ning omaenda suurust ja kui aeg on küps, siis rakk alustab DNA replikatsiooni. Rakutsükkel algab kui erinevate väliste ja sisemiste signaalide olemasolul käivitub G₁ tsükliinide süntees ja G₁-CDK aktivatsioon. G₁-faasi lõpul on kontrollpunkt – **G₁-faasi kontrollpunkt** – kus rakutsükkel vajadusel peatatakse. G₁-CDK omakorda aktiveerib G₁/S ja S-CDK kompleksid, mis käivitavad hilises G₁ faasis **Start** lüliti (**Start** pärmis ja **Restriction point** imetajate rakkudes) ja tagavad S-faasi lülitused, mis initsieerivad kromosoomide dupliteerumise S-faasis ehk siis selle punkti läbimisel käivitatakse raku DNA replikatsioon ja algab S-faas. Nende lülite aktivatsioon on väga rangelt kontrollitud, tagamaks, et rakud jagunevad ainult siis kui kõik tingimused on täidetud ja ka seda, et **otsus rakutsüklisse siseneda on pöördumatu**.

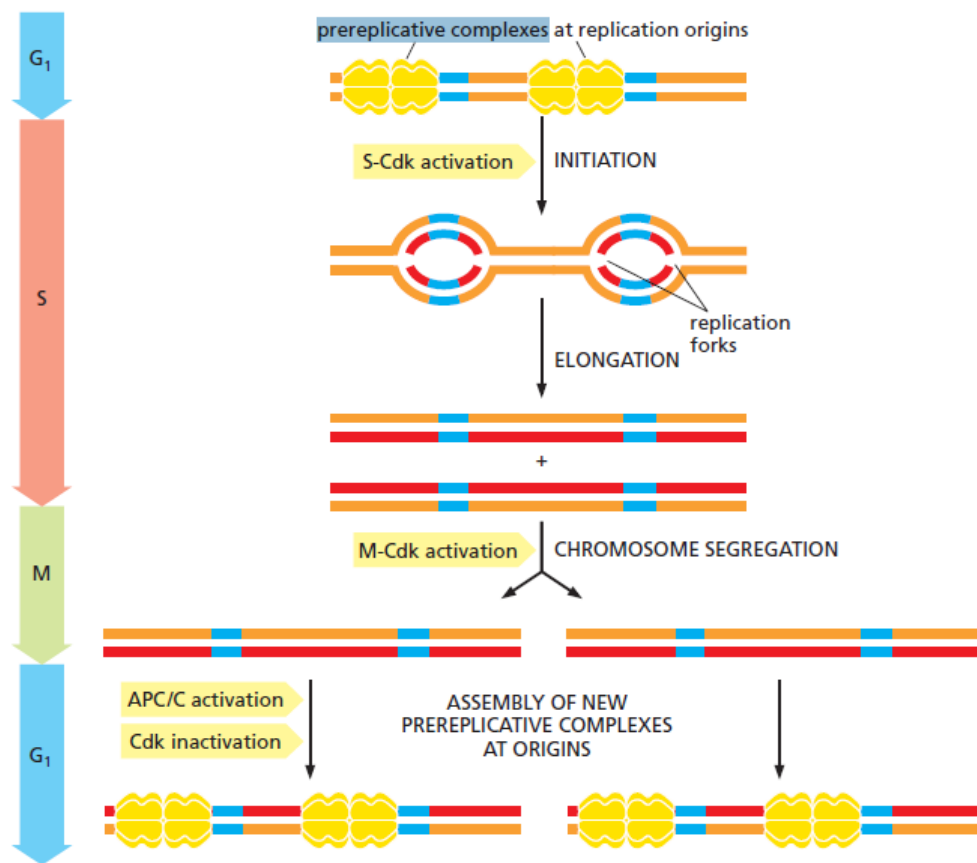
S-CDK initsieerib replikatsiooni ja garanteerib, et see toimub vaid ühe korra rakutsükli jooksul

CDK-I on replikatsioonis täita kaks vastupidist rolli. Esiteks, on CDK replikatsiooni käivitaja ja teiseks takistab ta juba replitseerunud DNA segmentidelt uut käivitust, et garanteerida, et replitseeritaks vaid üks ja ainult üks genoomi koopia. DNA replikatsioon algab arvukatelt **replikatsiooni lähtepunktidelt (replication origins)**, mis eukarüooidil paiknevad üle kogu kromosoomi. Replikatsiooni lähtepunktid muudetakse aktiivseks ehk litsenseeritakse juba mitoosi lõpus ja varajases G₁ staadiumis. See protsess toimub siis kui mitootilise CDK aktiivsus on langenud alla teatavat kriitilist taset ja lähtepunktide DNA regioonidele kinnitub replikatsioonieelkompleks (*prereplicative complex* või *pre RC*), mis koosneb kahest koopiast DNA helikaasist ja replikatsioonifaktoritest. Teiseks etapiks on DNA helikaasi aktiveerimine litsentseeritud lähtepunktidel ja DNA replikatsiooni initsieerimine. Selle tulemusel hakkab DNA helikaas DNA kaksikahelat lahti harutama ning DNA polümeraas ja teised replikatsiooni faktorid tuuakse lähtepunktidesse ning replikatsioon algab. (Joonis 24)

S faasi lõpuks on kaks õdekromatiidi kogu oma pikkuses ühendatud **koheesiini valgukompleksi rõngaste** abil. (Joonis 8)(Joonis 23) Selline ühendus on vajalik eeltingimus kahe sõsarkromatiidid ühendamiseks erinevate käävi poolustega mitoosis.



Joonis 23. Replikatsiooni käigus moodustunud sõsarkromatiide hoiab koos **koheesiini** kompleks, mis moodustab suure rõnga. Kompleksil on viis subühikut. Punase ja sinisega on tähistatud kaks *coiled coil* valku Smc1 ja Smc3, mis moodustavad suurema osa rõngast ja kuuluvad SMC valkude (Structural Maintenance of Chromosomes) gruppi. Kohesiin hoiab sõsarkromatiide koos kuni metafaas-anafaas lülituseni, mille käigus SMC alaühikuid ühendav valk proteolüütiliselt katki lõigatakse ja käävi saab sõsarkromatiidid üksteisest eemaldada.



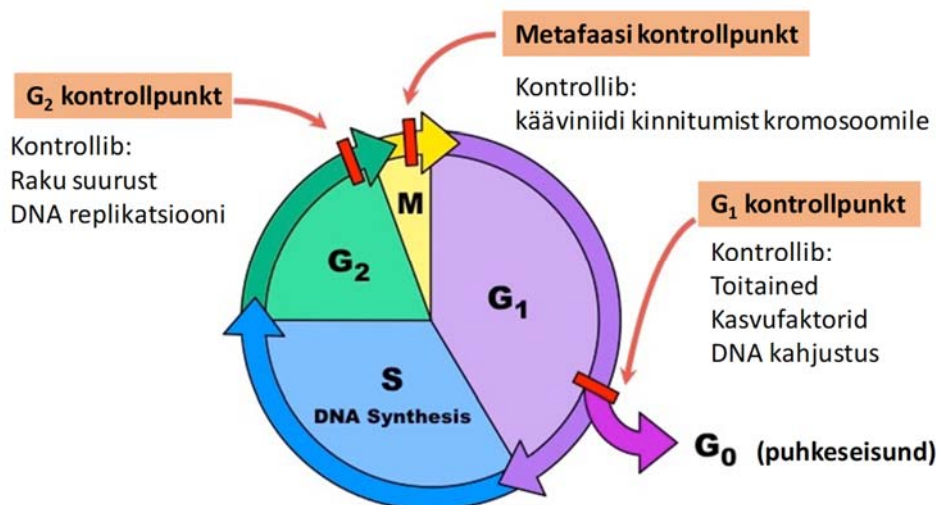
Joonis 24. Kromosoomi dubleerimise kontroll. Ettevalmistused DNA replikatsiooniks algavad hilises mitoosis ja G₁ faasis, kui mitu valku laevad DNA helikaase replikatsiooni alguspunktidest, moodustades **prereplikatiivse kompleksi (preRC)**. S-CDK aktiveerimine omakorda viib **DNA helikaaside** aktiveerumiseni, mis keeravad replikatsiooni alguspunktidest DNA heeliksi lahti ja DNA replikatsioon saab alata. Kaks **replikatsioonikahvlit** liiguvad igast lähtekohast välja, kuni kogu kromosoom on dubleeritud. Seejärel eraldatakse dubleeritud kromosoomid M-faasis. S-CDK aktiveerimine S-faasis hoiab ära ka uute preRC-de kogunemise mis tahes lähtepunktis kuni järgmise G₁-ni - tagades sellega, et iga lähtepunkt aktiveeritakse igas rakutsüklis ainult üks kord.

G₂-faas annab rakule vajaliku aja, mis võimaldab tal kontrollida, kas DNA replikatsioon on lõpetatud. Läbides **G₂-faasi kontrollpunkti**, alustab rakk M-faasi. Kõrgematel eukarüootidel toimivad väliskeskkonnast tulevad rakutsükli seiskavad signaalid valdavalt G₁-kontrollpunktile, seetõttu G₁-faasi pikkus võib eri rakkudel olla väga erinev. **Rakutsükli kulgemist kontrollivad süsteemid tagavad selle, et järgmine etapp ei käivitu enne, kui eelmine on korrektselt lõpetatud.** Üks paremini uuritud kontrollsüsteeme rakkudes on see, mis takistab M-faasi algust seni, kuni DNA replikatsioon pole lõpetatud. Selles punktis – G₂-faasi kontrollpunkt – suudab rakk kontrollida, kas DNA replikatsioon on lõpetatud, kas raku suurus on piisav, kas DNA pole vigastatud. Sellise kontrolli vajalikkus on ka hästi mõistetav, sest kui rakk alustaks mitoosi mittetäielikult replitseeritud kromosoomidega, ei saaks tütarakkude vahel võrdselt jaotada pärilikku materjali ja see oleks rakkudele surmav. **Rakule on eluliselt tähtis, et S-faasi ajal replitseeritaks kogu DNA. Kuid samavõrd tähtis on see, et seda tehtaks ainult 1 kord.** Rakkudel on mingi kontrollmehhanism, mis takistab uue replikatsioonitsükli käivitamist, kui DNA on 1 kord juba replitseeritud. Kontrollsüsteem, mis kontrollib kromosoomide kinnitumist kääviinidele – **M-faasi kontrollpunkt** – on vajalik selleks, et kui rakk alustaks anafaasi siis kui kõik

kromosoomid pole kinnitunud kääviniitidele, saavad tütararakud ebavõrdse hulga ödekromatiide. Loomarakkudes paiknevad tsentrosoomid ja mikrotorukesed tsütoplasmas. Selleks, et kääv saaks kontakti kromosoomidega toimub tuumamembraani lagunemine. Selle protsessi päästab valla M-faasi CDK, mille aktiivsuse tõustes fosforüülitakse mitmed tuumapooride komplekside ja tuumalamiini valgud. Selle tagajärjel laguneb tuumamembraan fragmentideks ja mikrotorukeste pluss otsad saavad luua füüsilise kontakti kromosoomide kinetohooridega.

Mitoosi lõppedes langeb CDK aktiivsus mitootiliste tsükliinide degradatsiooni ja CDK inhibiitorite sünteesi tõttu nullilähedaseks.

Rakkude poolt kõige enamkasutatavam on **G₁/S-faasi kontrollpunkt**, kus paljude rakkude tsükkel peatub, kui raku jagunemine pole soovitatav organismile. (Joonis 25)



Joonis 25. Rakutsükli faaside käivitamise peamised kontrollpunktid.

Rakutsükli kontrollmehhanismi peaülesanne on korraldada kromosoomide duplitseerimine ja segregatsioon ehk üksteisest eraldamine. Selleks käivitatakse DNA replikatsioon ja lülitatakse sisse molekulaarsed mehhanismid, mis kontrollivad seda, et kromosoomid duplitseeritaks vaid täpselt ühes korduses ja vaid üks kord rakutsükli jooksul. Teiseks initsieeritakse duplitseeritud kromosoomide kontrollitud ruumiline jaotumine kahe tütaraku vahel. Selleks reguleerib rakutsükli kontrollsüsteem tsentrosoomide duplitseerumist, kromosoomide kondenseerumist, tuumamembraani lagunemist, käävi moodustumist, kromosoomide kinnitumist kääviga kinetohooride kaudu, ödekromatiidide lahknemist ja teisi seotud protsesse. Ülejäänud raku osad nagu membraan ja raku organellid paljunevad või kasvavad paralleelselt raku kasvuga pooldumise käigus ja jaotuvad vabalt kahe tütaraku vahel, seega pole nad otseselt seotud rakutsükli keskse kontrollmehhanismiga.

Üherakulistel organismidel sõltub rakkude jagunemine põhiliselt toitainete kättesaadavusest ümbritsevast keskkonnast. Pärmirakud näiteks peatavad jagunemise ainult siis, kui saavad naaberrakkudelt signaali paardumise faktori näol. See peatab raku jagunemise ja valmistab rakke ette konjugeerumiseks. Muidu on ainuraksetel organismidel pidev evolutsiooniline surve võimalikult kiireks jagunemiseks, sest vastasel juhul nad tõrjutaks lihtsalt teiste, kiiremini jagunevate rakkude poolt välja.

Hulkade organismi rakkudel aga ei piisa jagunemiseks lihtsalt toitainete olemasolust ja keelavate faktorite puudumisest. Peavad olema ka kindlad positiivsed signaalid, mis indutseerivad rakke

jagunema. Paljud sellised signaalid on tuntud valgulistest **kasvufaktoritena**, mis seotakse raku pinna retseptorite poolt.

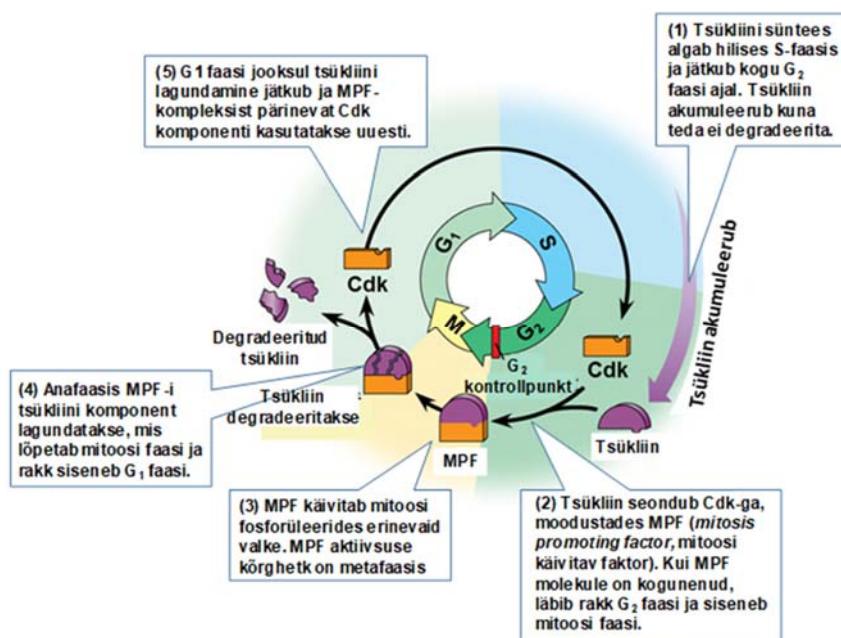
11.1.5. Raku kasvu ja jagunemise kontroll

Organi või organismi suurus sõltub kogu tema rakumassist, mis omakorda sõltub nii rakkude arvust kui nende suurusest. Rakkude arv sõltub raku jagunemise ning raku surmade arvust. Üsikutel organitel ja kogu organismi suurus on seega määratud kolme fundamentaalse protsessi poolt: raku kasv, raku jagunemine ja raku eluiga.

Kui rakud jaguneksid ilma vahepeal kasvamata, siis jääksid nad iga rakutsükli läbimise järel järjest väiksemaks ja seega kokkuvõttes ei toimuks totaalse rakumassi kasvu. Enamikes jagunevates rakkudes on raku jagunemine seetõttu seotud nende kasvuga. Üherakuliste organismide nagu pärmi puhul sõltub nii raku kasv kui raku jagunemine ainult toitainete olemasolust. Imetajarakkudes sõltuvad aga nii raku kasv kui jagunemine teiste rakkude poolt toodetud ekstratselulaarsetest signaalimolekulidest, nagu **kasvufaktorid** ja **mitogeenid**.

Ekstratselulaarsed signaalimolekulid, mis kontrollivad rakkude kasvu, jagunemist ja ellujäämist on tavaliselt kas sekreteeritavad valgud, raku välispinnaga seotud valgud või ekstratsellulaarse matriksi valgud. Füsioloogilise funktsiooni järgi saab neid jagada kolme klassi:

1. **Mitogeenid**, mis stimuleerivad rakkude jagunemist peamiselt läbi G₁-lülitite. G₁-CDK aktiivsuse kontrolli all olevad lülitid vabastavad rakud negatiivsetest kontrollimehhanismidest ja inhibiitoritest, mis muidu takistavad sisenemist rakutsükklisse ja progressiooni läbi tsükli.
2. **Kasvufaktorid**, mis stimuleerivad raku kasvu läbi valkude ja teiste makromolekulide sünteesi indutseerimise ning nende lagundamise inhibeerimise.
3. **Ellujäämisfaktorid**, mis toetavad rakkude säilimist ja paljunemist surudes maha programmeeritud rakusurma ehk apoptoosi signaalid.



Joonis 26. Mitoosi reguleerivate molekulaarsete mehhanismide ülevaade.

Kokkuvõte

Rakkude jagunemine algab tavaliselt raku sisu dubleerimisega, millele järgneb rakusisu jagamine kahe tütaraku vahel. Kromosoomi dubleerimine toimub rakutsükli S-faasis, samas kui enamik teisi raku komponente dubleeritakse kogu tsükli vältel pidevalt. M-faasi ajal eraldatakse replitseerunud kromosoomid eraldi tuumadesse (mitoos) ja rakk jaguneb seejärel kaheks (tsütokinees). S-faas ja M-faas eraldatakse tavaliselt vahefaasidega (*gap*), mida nimetatakse G_1 ja G_2 , mil rakutsükli kulgu reguleerivad erinevad rakusised ja rakuvälised signaalid. Rakutsükli korraldus ja kontroll on evolutsiooni käigus väga konserveerunud.

Rakutsükli kontrollsüsteem käivitab rakutsükli sündmused ning tagab nende õige ajastamise ja üksteisega kooskõlas olemise. Kontrollsüsteem reageerib erinevatele rakusisesetele ja rakuvälistele signaalidele ning peatab rakutsükli, kui rakk kas ei suuda mõnda olulist rakutsükli protsessi lõpule viia või kui ebasoodsates keskkonnatingimustes või raku endas on suuremad kahjustused. Kontrollsüsteemi kesksed komponendid on tsükliinsõltuvad kinaasid (CDK-d), mille aktiivsus sõltub tsükliinidest. Erinevate tsükliin-CDK-komplekside tegevuses toimuva tsükliilisusega hoitakse erinevad rakutsükli sündmused kontrolli all. Seega S-faasi tsükliin-CDK kompleksid (S-CDK) aktiveerivad S faasi, M-faasi tsükliin-CDK kompleksid (M-CDK) aga aktiveerivad mitoosi. Tsükliin-CDK komplekside aktiivsust kontrolliv mehhanism hõlmab CDK subühiku fosforüülimist, CDK inhibiitorvalkude (CKI) sidumist, tsükliinide proteolüüsi ja muutusi CDK regulatoreid kodeerivate geenide transkriptsioonis. Rakutsükli kontrollsüsteem sõltub olulisel määral ka ensüümikompleksist, ubikvitiini liguasidest, mis katalüüsivad rakutsükli kriitilisi sündmusi kontrollivate spetsiifiliste regulaatorsete valkude levikut nende degradeerimise kaudu. **(Joonis 26)**

S-faasis toimuv kromosoomide dubleerimine hõlmab kogu DNA molekuli täpset replikatsiooni igas kromosoomis, samuti kromatiini valkude dubleerimist, mis seostuvad DNA-ga ja reguleerivad kromosoomi funktsiooni erinevaid aspekte. Kromosoomi dubleerimise käivitab S-CDK aktiveerimine, mis aktiveerib valgud, mis pakivad DNA lahti ja algatavad selle replikatsiooni replikatsiooni alguspunktides. Kui replikatsiooni alguspunkt on aktiveeritud, pärsib S-CDK ka valke, mis on vajalikud selleks, et saaks uuesti DNA replikatsiooni algatada. Seega aktiveeritakse iga replikatsiooni *origin* S-faasis üks kord ja ainult üks kord rakutsükli jooksul ning seda ei saa uuesti kasutada enne järgmist rakutsükli.

M-CDK käivitab varajase mitoosi sündmused, sealhulgas kromosoomi kondenseerumine, mitootilise käävi kokkupaneku ja ödekromatiidi paari kinnitumise käävi mikrotuubulitele. Käävi moodustumine loomarakkudes sõltub suuresti mitootiliste kromosoomide võimest stimuleerida lokaalset mikrotuubulite tekkimist ja stabiilsust. Paljud rakud kasutavad käävi kokkupanemise hõlbustamiseks ka tsentrosoome. Anafaasis stimuleeritakse ödekromatiide koos hoidvate valkude lagundamine. Ka M-CDK inaktiveeritakse. Sellest tulenev CDK sihtmärk valkude defosforüülimine on vajalik sündmuste jaoks, mis lõpetavad mitoosi, sealhulgas käävi lagunemise ja tuumaümbrise uuesti moodustamise.

Pärast seda, kui mitoos on lõpetanud tütaruumade moodustumise, lõpetab tsütokinees rakutsükli, jagades kogu raku sisu tütarakkude vahel. Loomarakkudes määratakse kontraktiilse rõnga positsioon anafaasi käävi mikrotuubulitest lähtuvate signaalide abil. CDK sihtmärkide fosforüülimine, mis tuleneb CDK inaktiveerimisest anafaasis, käivitab tsütokineesi õigel ajal pärast anafaasi. Pärast tsütokineesi siseneb rakk madala CDK aktiivsusega stabiilsesse G_1 faasi, kuniks saabub signaal uuesti rakutsükli sisenemiseks.

Terminid/mõisted

Rakutsükkel
Mitoos
Interfaas
G₁ faas,
G₂ faas
S-faas, sünteesi faas
M-faas
Karüokinees
Profaas
Prometafaas
Metafaas
Anafaas
Telofaas
Õdekromatiid
Kondensiin
Mitoosi kääv
Kääviniidistik
Kohesiin
Kinetohoor
Kinetohoorsed mikrotuubulid
Kattuvad mikrotuubulid
Astraalsed mikrotuubulid
Tsütokinees
Aktiini rõngas
Lõigustumine
G₀-faas
Proteiinkinaas
Fosfataas
Fosfolülit
Ubikvitiin
Proteasoom
Tsükliin-sõltuvad kinaasid
Tsükliinid
Rakutsükli kontrollpunkt
Replikatsiooni lähtepunkt (*replication origin*)
Kohesiin kompleks
Mitogeen
Kasvufaktor
Ellujäämisfaktor