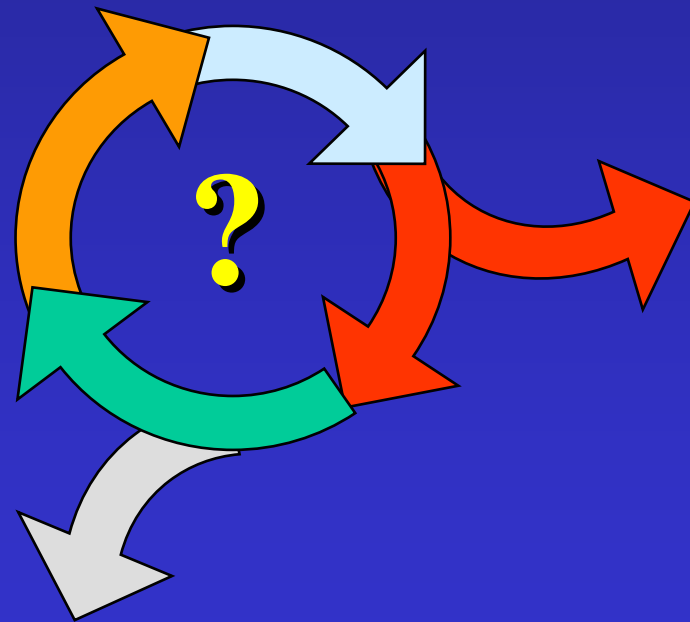


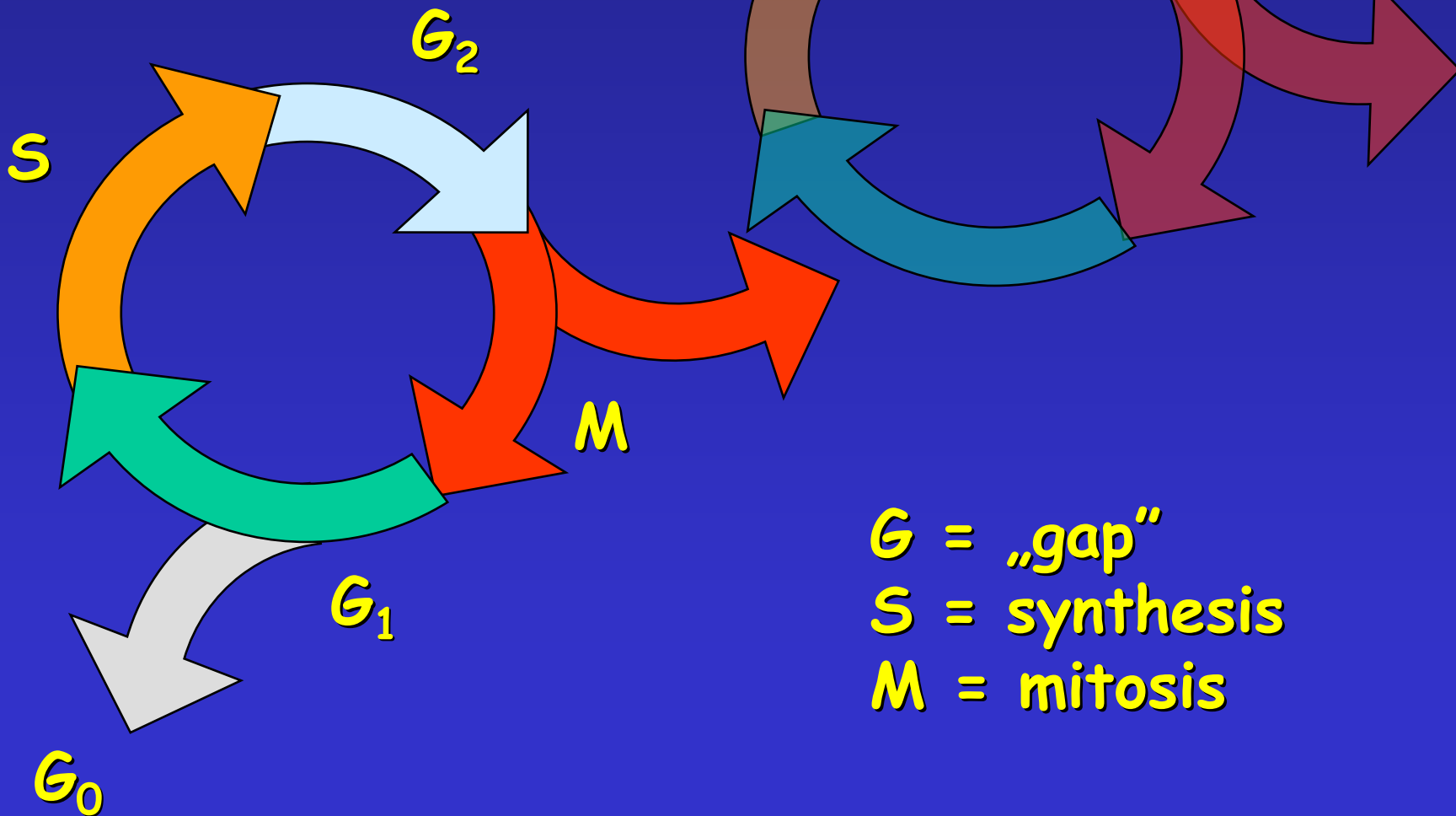
Molekuláris sejtbiológia

A sejtciklus szabályozása



Dr. habil. Kóhidai László
Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és
Immunbiológiai Intézet

Sejtciklus fázisai



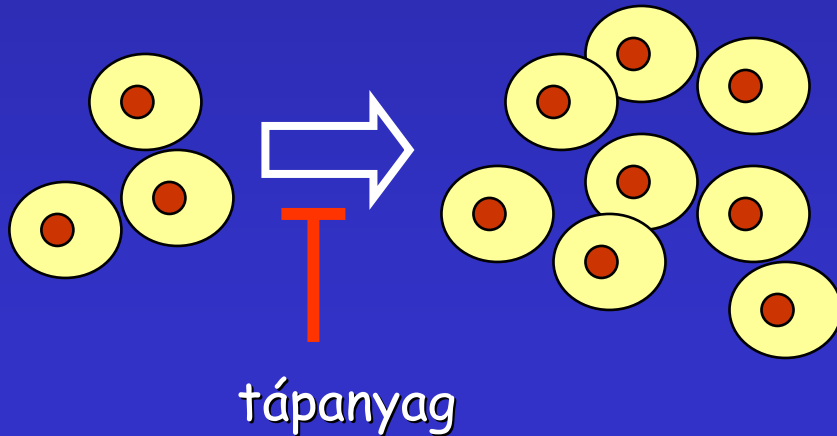
Sejtciklus - Kutatás

Search of PubMed (April 10, 2001)

Terms [All Fields]	Number of Papers
Cell Cycle &	184,476
Cell Cycle & Thymidine	19,466
Cell Cycle & Microscopy	14,394
Cell Cycle & Radiation	11,906
Cell Cycle & Virus	11,194
Cell Cycle & Bacteria	10,675
Cell Cycle & Cytometry	10,143
Cell Cycle & Electron Microscopy	9,811
Cell Cycle & Yeast	8,879
Cell Cycle & BrdUr	4,556
Cell Cycle & Xenopus	2,013
Cell Cycle & Recombinant DNA	1,808
Cell Cycle & Molecular Biology	595

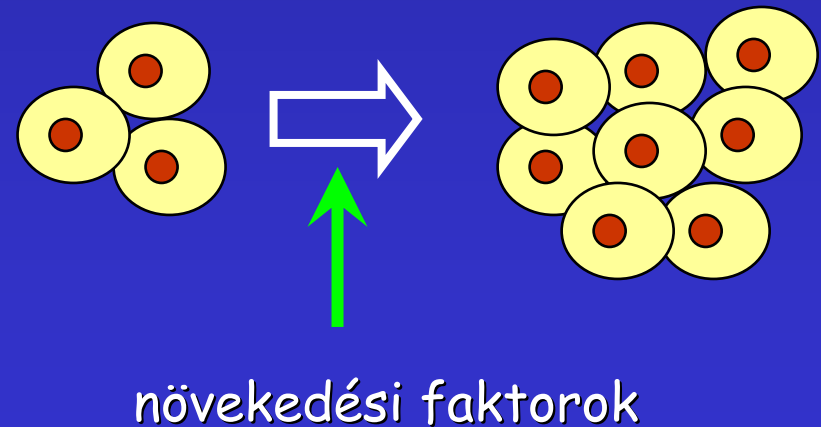
Egysejtűek

- egyedi jelleg
- rövid ciklusok
- főleg gátló szabályozó tényezők
- pl. táplálék, paracrin anyagok



Szövetesek

- sejtek közötti kommunikáció
- serkentő szabályozás



Sejtciklusok fő típusai

Embrionális:	sejtek mérete csökken egyetlen irányító - MPF nincs ellenőrzési pont
Standard:	gyakran osztódó sejtek irányítók - SPF (G1-S) - MPF (S-M)
Soksejtűekre jell.:	sejtek G_0 -ban (nincs ciklin) ciklinek, CDK-k növekedési faktorok

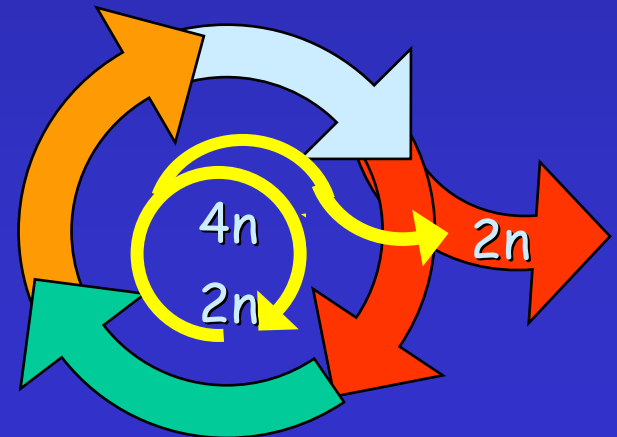
Sejtciklus fázisainak fő jellemzői

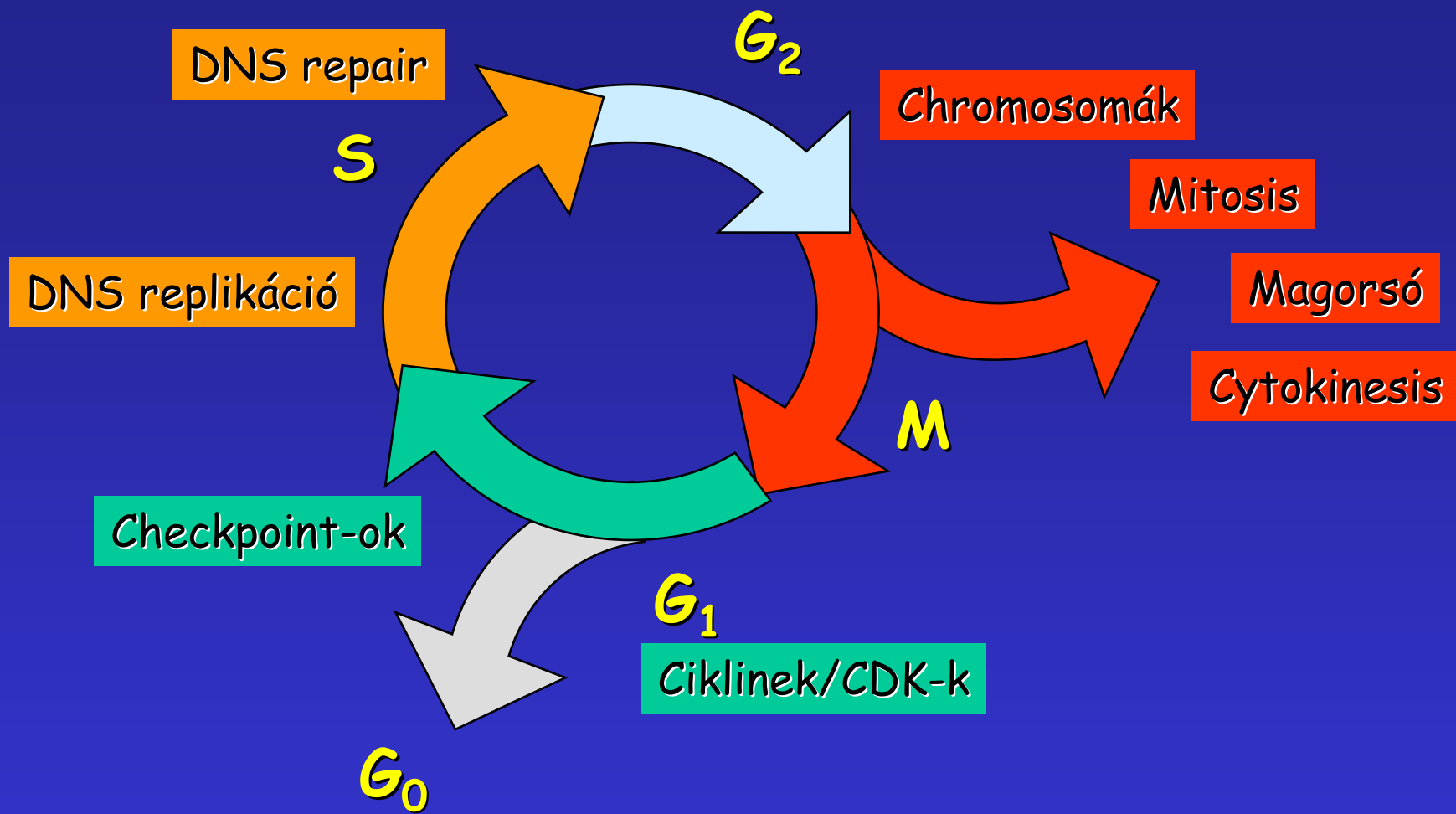
G_1 = növekedés és kromoszómák előkészítése a replikációra

S = DNS és centriolumok megkettőződése

G_2 = előkészítés a mitosisra

M = mitosis





Öregedés

Tumorok

Apoptosis

Differenciálódás

Aszimmetrikus osztódás

Növekedési faktorok (1)

- fehérjék
 - specifikusság
 - paracrin termelődés
 - alacsony koncentrációban hatnak
-
- $G_0 - G_1$ átmenet
 - differenciálódás
-
- sejtek letapadása
 - kontakt gátlás

Növekedési faktorok (2)

EGF - hám, mesenchima, glia

IGF - chondroblast, fibroblast

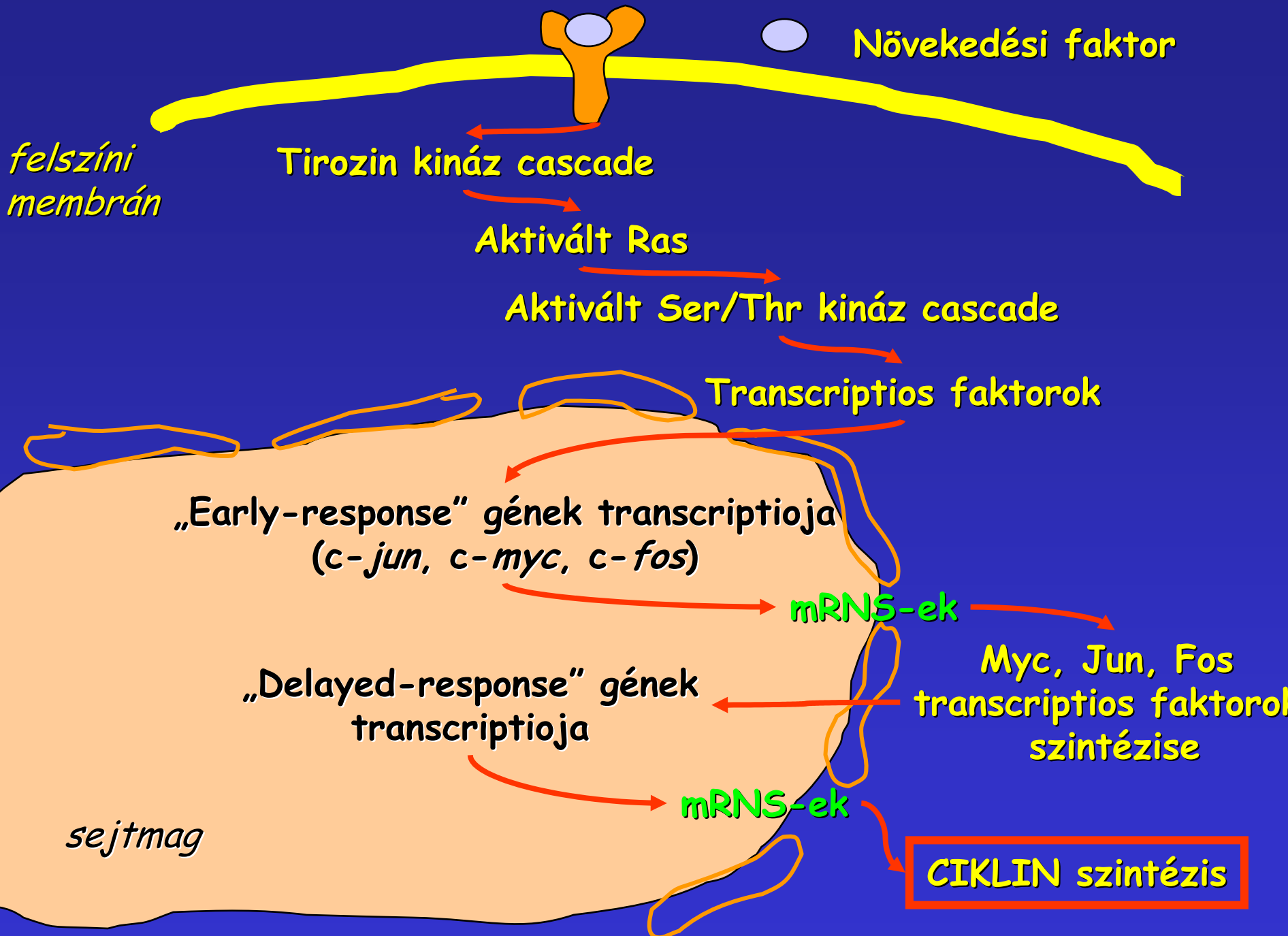
FGF - fibroblast, endothel

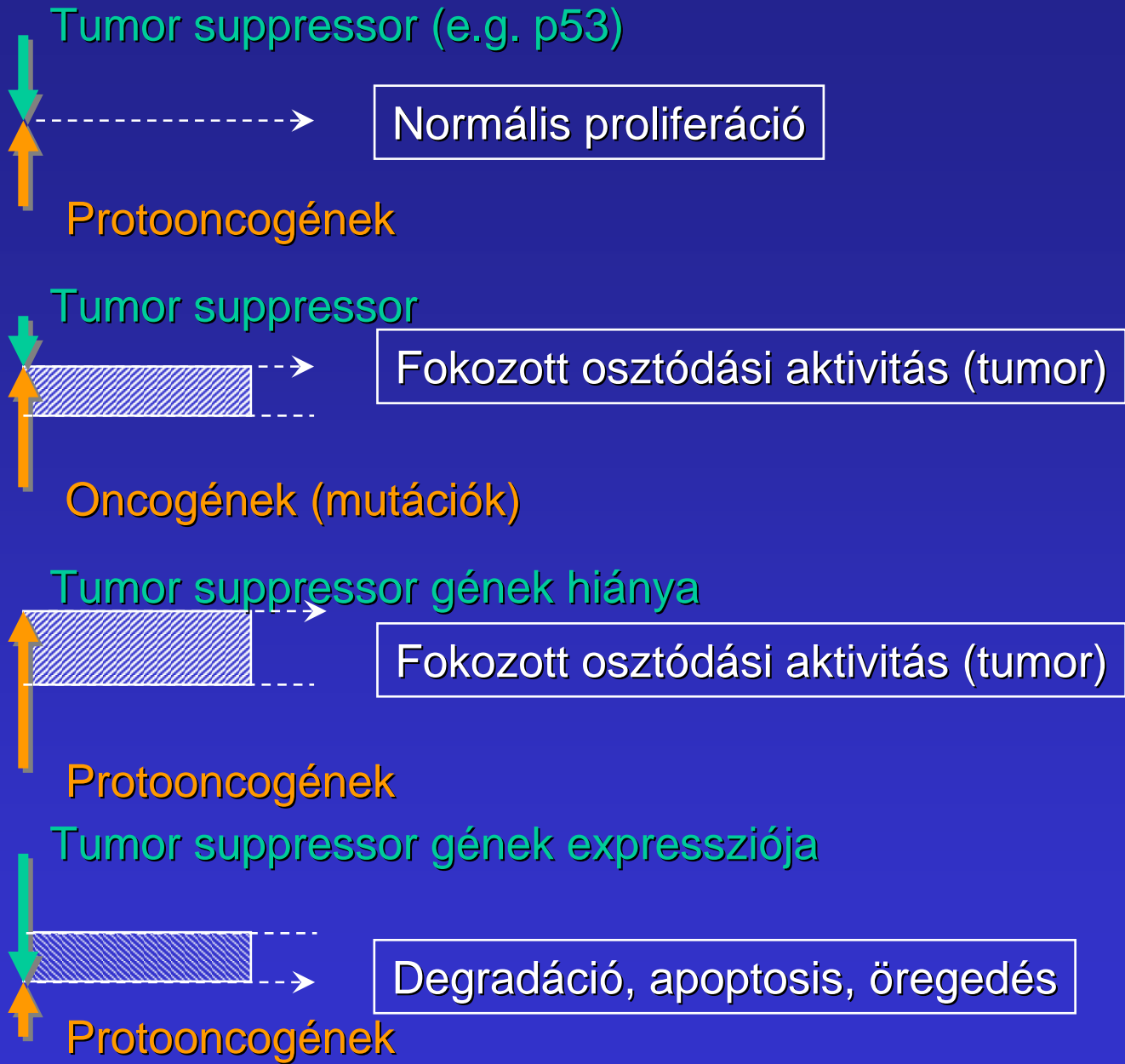
TGF - számos célsejt

NGF - axonok

PDGF - érfal sejtjei

Egyes citokinek pl. interferon, TNF





Sejtciklus szabályozásának elemei

- Ciklinek
- Ciklin-dependens kinázok (CDK)
- Ciklin-dependens kináz inhibitorok (CKI)
- Anaphase-promoting complex (APC)

Ciklinek jellemzése

- A sejtciklus különböző fázisaiban termelődő szabályozó fehérjék
- 13 (vagy több) ismert emlős ciklin
- „ciklin-box” - 100 aminosav hosszúságú homológ CDK-t kötő szakasz
- G1-ciklinek - gyors degradáció - C-terminális „PEST” szekvencia
- S-ciklinek
- M-ciklinek - hosszabb élettartam - lebomlásuk ubiquitin-függő
N-terminális „destrukciós-box”-nál;
mitosis megkezdése előtt
- Ciklinek lebomlása CDK inaktivációját eredményezi

Ciklin-dependens kinázok (CDK)

- Ciklinekkel alkotnak komplexet - ezáltal aktiválódnak
- Legalább 6 emlős CDK-t ismerünk
- Foszforiláció:

Aktiváló hatású:

CDK2 vagy CDK4 - Thr₁₆₀ ← p40^{mol5} ← Ciklin H

Gátló hatású is lehet:

CDK2 - Thr₁₄, Tyr₁₅ ← wee1/mik1 protein kináz

- Szintjük a sejtben közel állandó - a ciklinekhez való kapcsolódásukkal szabályoznak
- Típusaik: G1-, S- és M-fázis CDK-k

Ciklin-dependens kináz inhibitorok (CDKI)

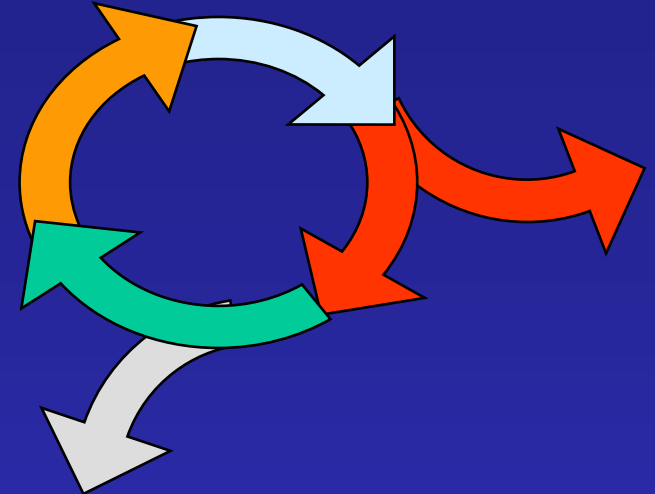
- Legalább 7 eltérő emlős CDKI-t ismerünk
- G1/S CDK-t kötők - p21, p27, p57
- INK4 (inhibitor of CDK4) - p15, p16, p18, p19

ezek a ciklin D - CDK4 vagy - CDK6 komplexekre hatnak

Anaphase-promoting complex (APC)

- proteolítikus enzimek
- a sister chromatidokat összetartó **cohesin**-ek lebomlását indítja be
- az M-fázis ciklinek lebomlásáért felelősek

G_0 fázis



G_0 esetében a mitózisért felelős gének gátolt állapotban vannak

Átmeneti vagy végleges fázis

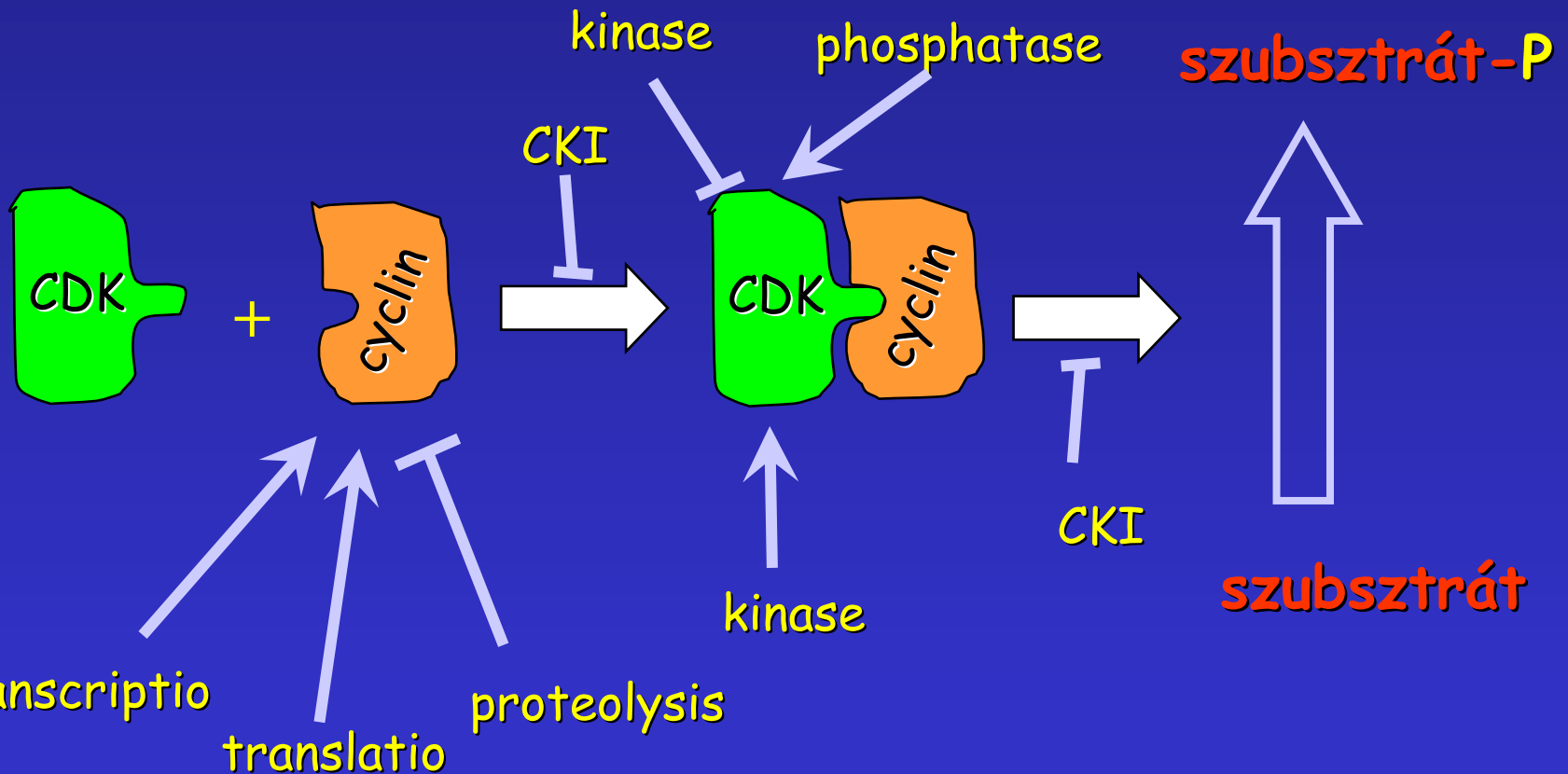
DE a soksejtű szervezet legtöbb sejtje G_0 -ban van !

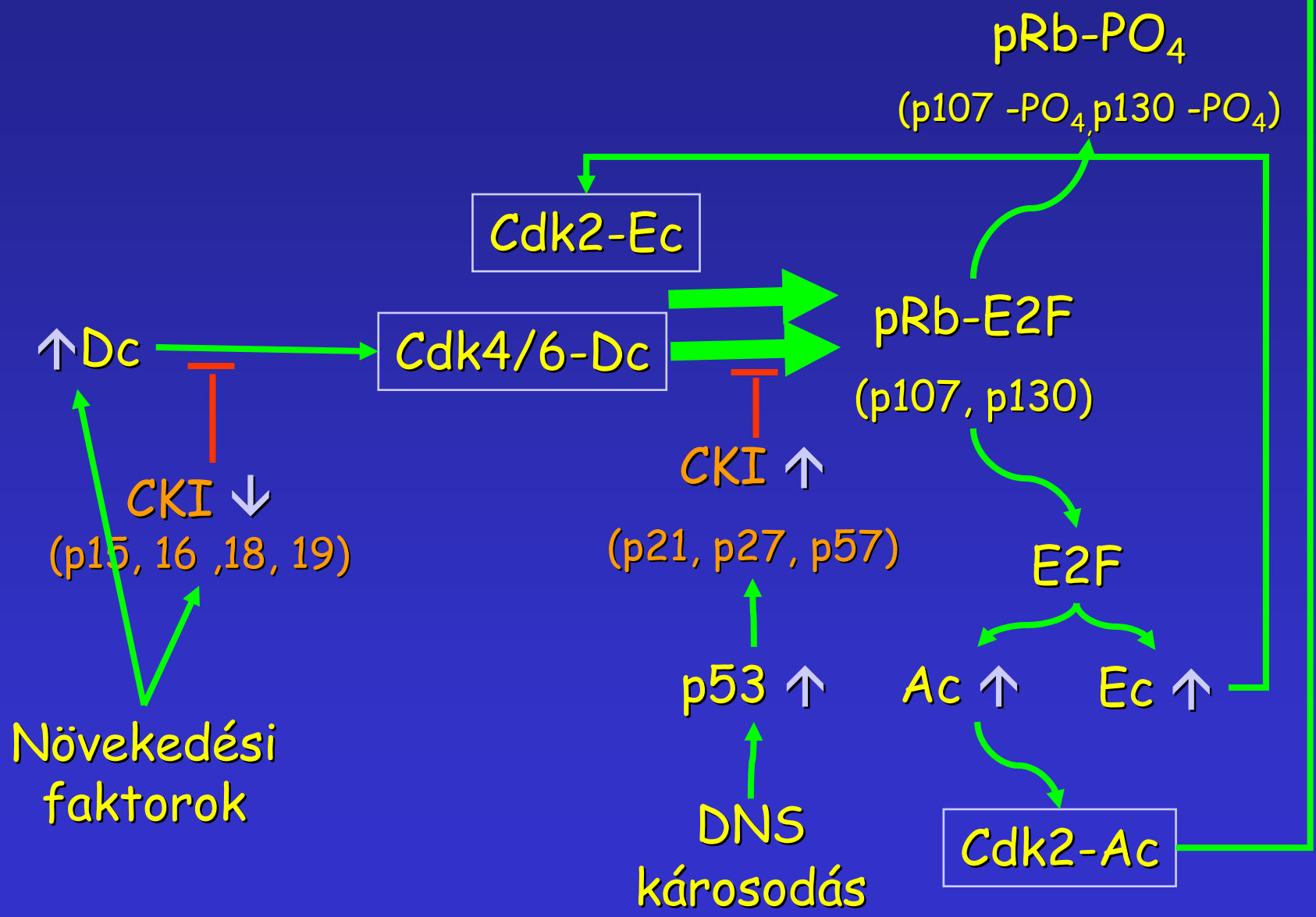
Limfociták - antigén stimulusra

G_1 fázisba térnek vissza

Tumoros sejtek **NEM** képesek G_0 -ba lépni - ez folyamatos osztódásuk egyik oka

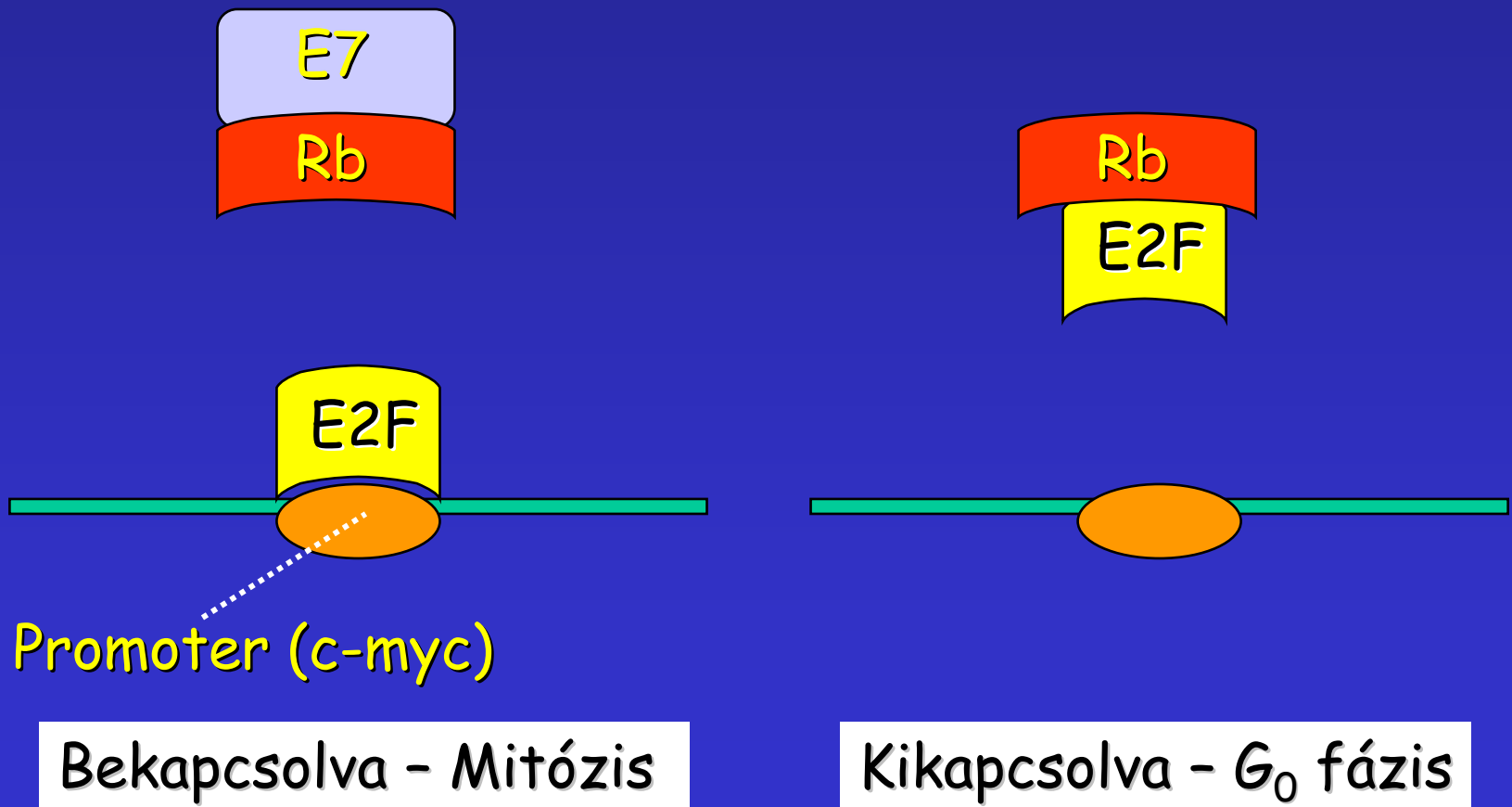
Sejtciklus kontrollja





Tumor-szupresszor funkció

E7 = human papilloma vírus termék
Rb = retinoblastoma protein
E2F = transzkripció faktor



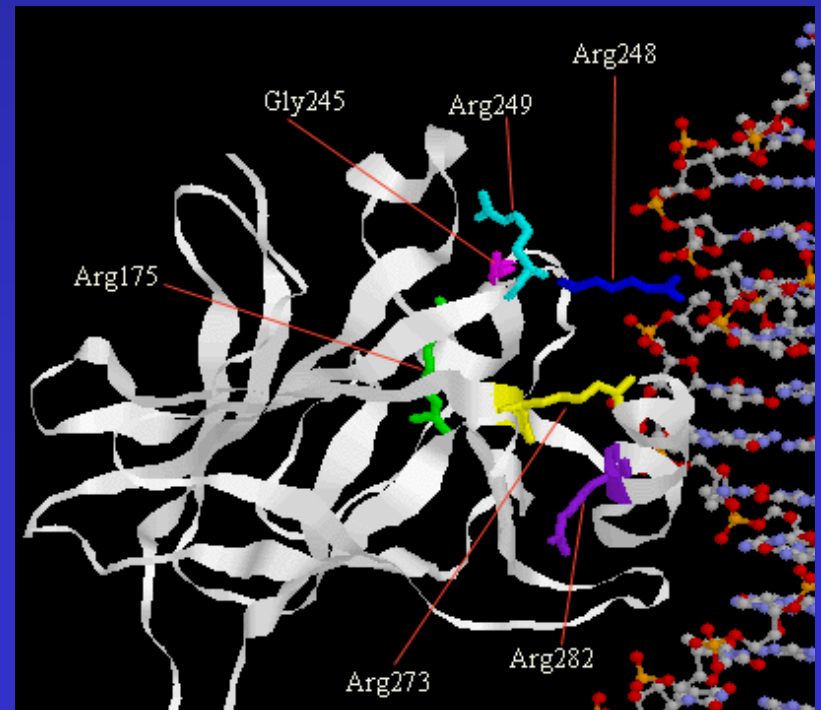
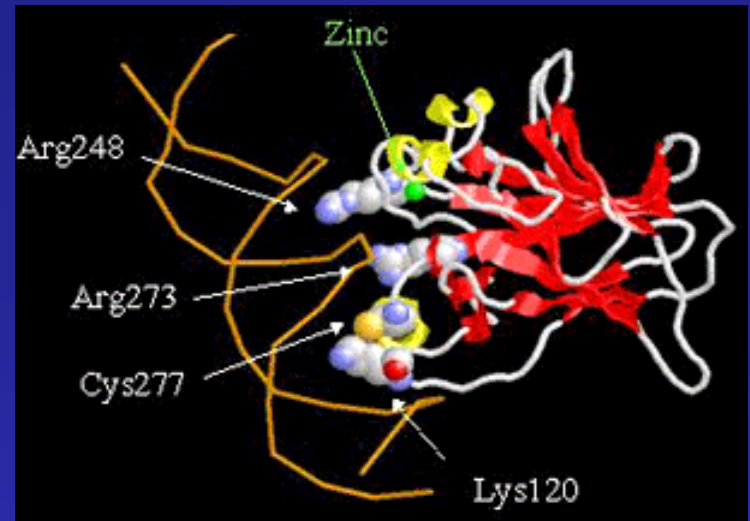
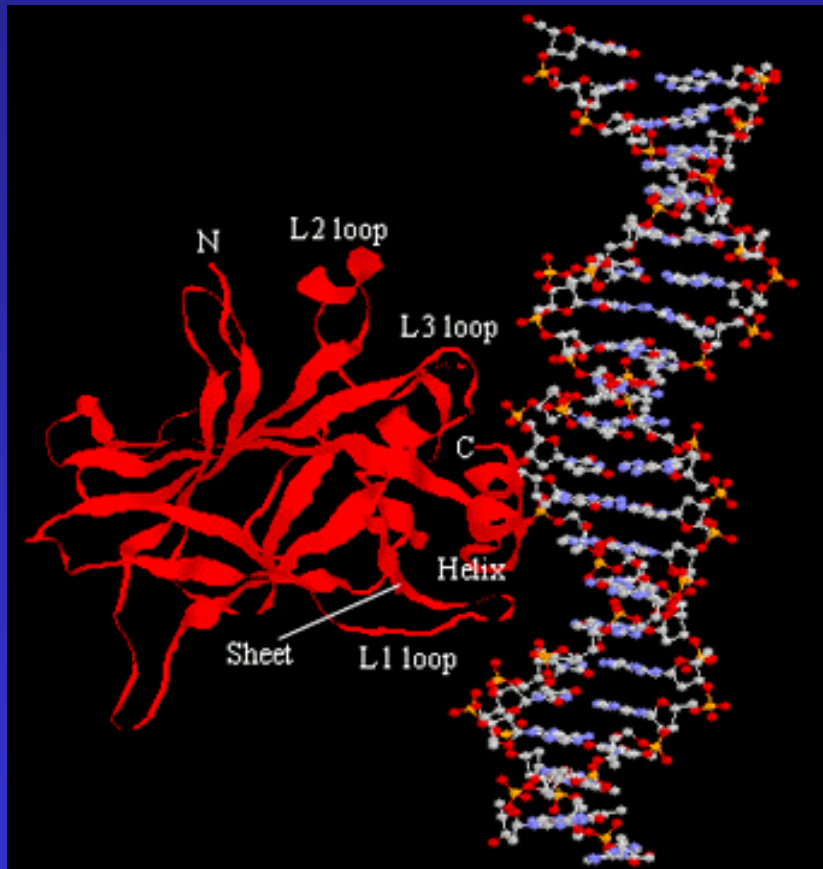
p53

- a DNS sérüléseit jelzi (G_1 és G_2 fázisokban)
- E2F transzkripciós faktorhoz kötődés
- E2F promoterhez (c-myc vagy c-fos) való kötődésének gátlása
- kijavítható - „kis hibák” - esetén a sejtciklus felfüggesztését okozza
- nagyon sérült DNS esetén apoptózist indukál

p53

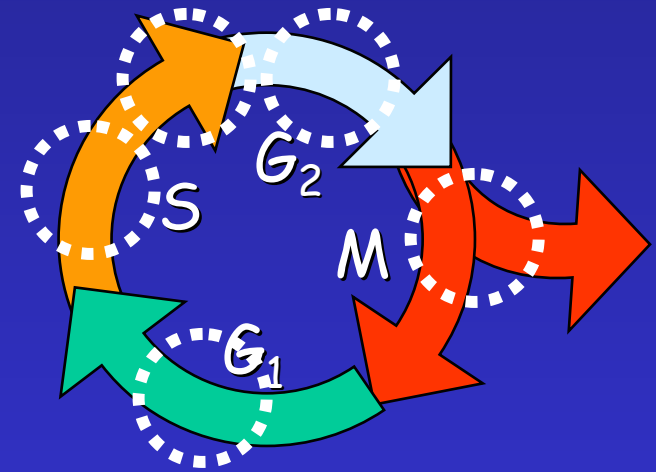
- a p53 génje recesszív
- csak mindkét kópia mutációjakor esik ki ez az ellenőrző funkció → tumor-szupresszor gén
- ha csak a mutáns változat van a sejtben az tumorrá alakulhat át (emberi tumorok 50%-ában nincs működő p53 protein !)
- nagyon magas p53 szintek - korai öregedés, halál

p53 - DNS

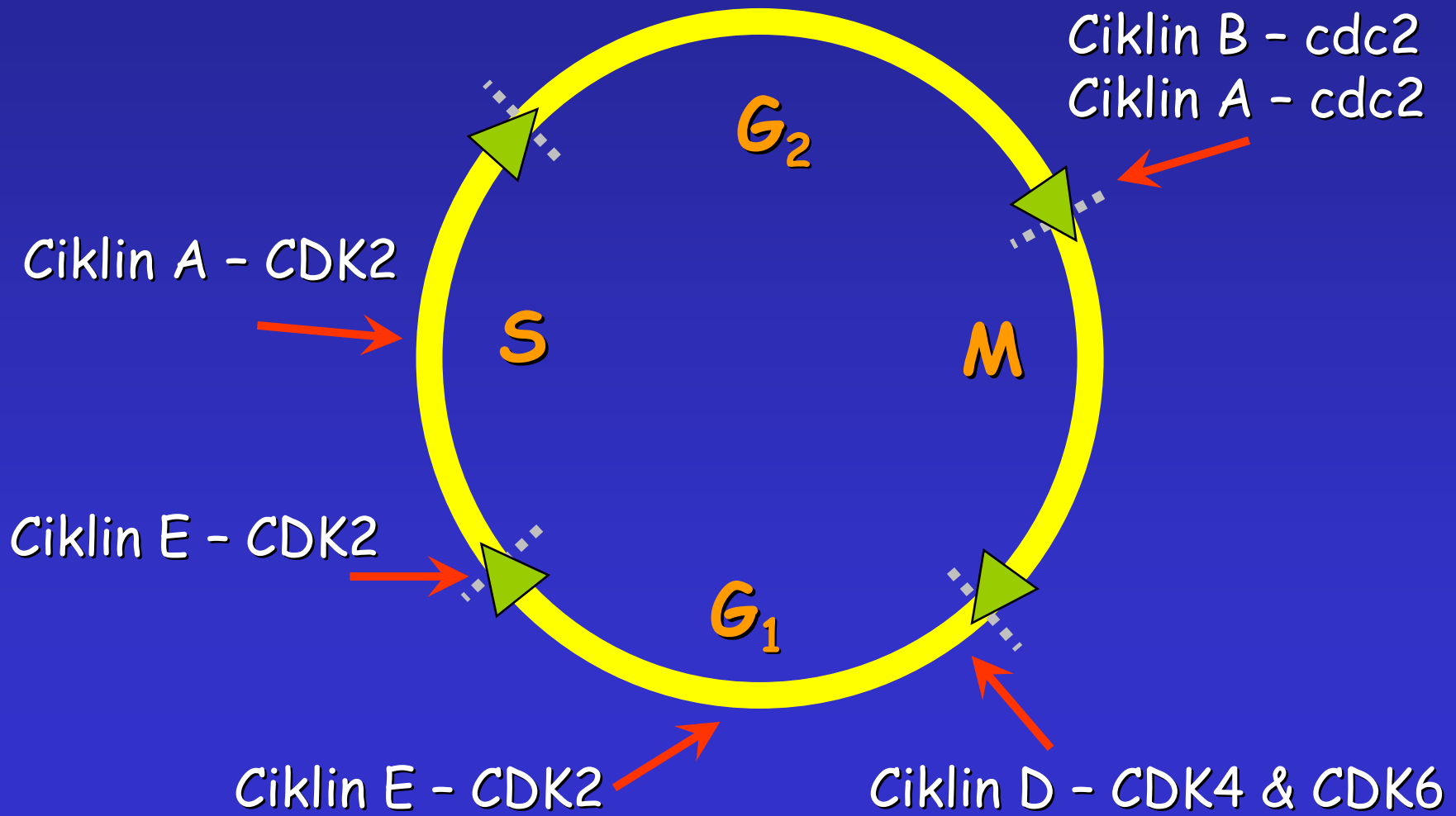


„Checkpoint”-ok

- S-fázis befejezett volta ?
Okazaki fragmentumok jelenlétéig a sejt **NEM** léphet ki az S-fázisból
- DNS minősége ?
 G_1 -checkpoint
S-fázis alatt
 G_2 -checkpoint
- Mitotikus orsó minősége ?
M-checkpoint - orsó-kinetochore kapcsolat
orsótubulusok rendezettsége
kijavíthatatlan hiba esetén → **APOPTOSIS** beindítása

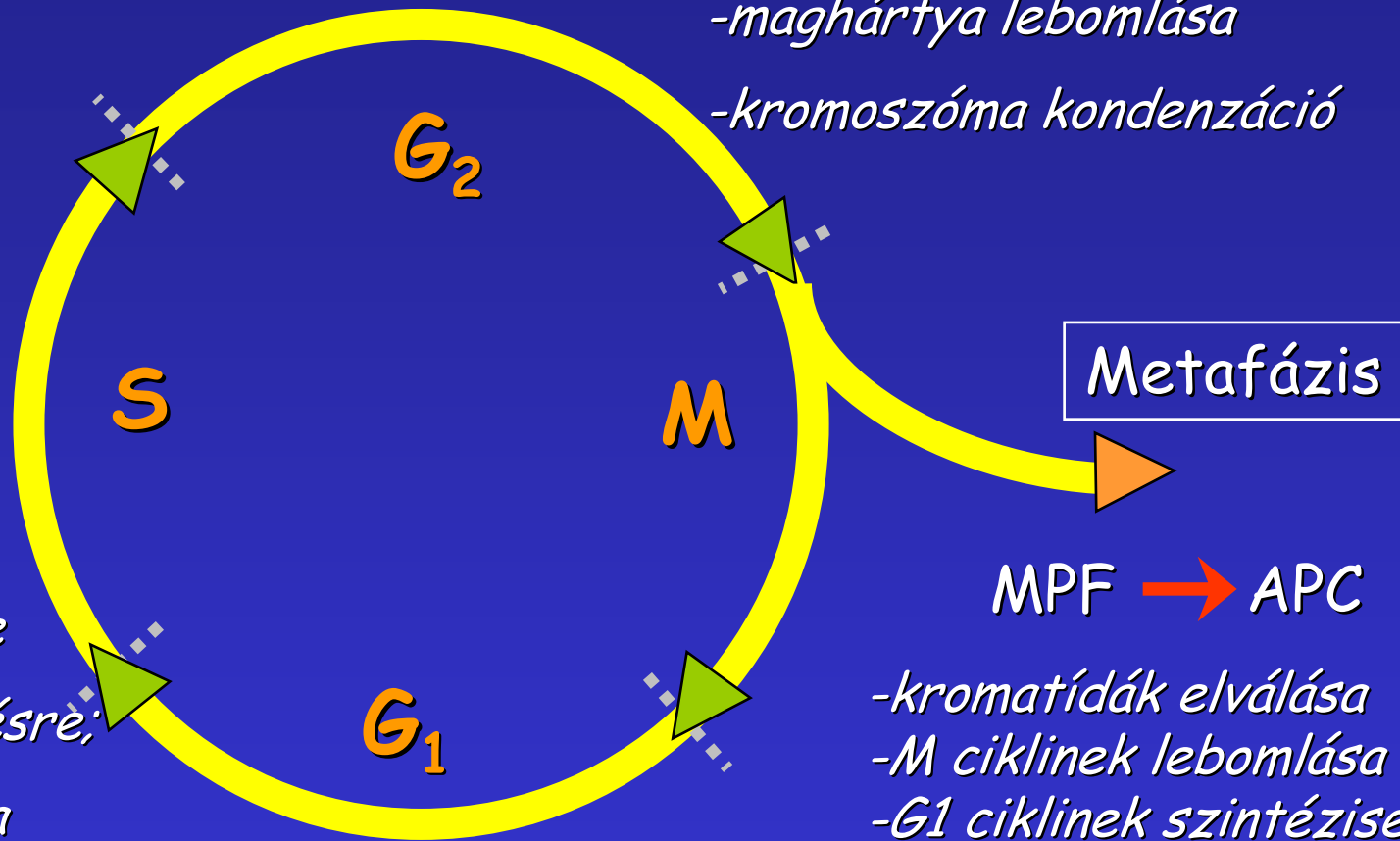


A sejtciklus szabályozása



-G1 és S ciklin-CDK-k (ciklin E) ↓
-M ciklinek ↑

MPF ↑
-mitotikus orsó összeépülése
-maghártya lebomlása
-kromoszóma kondenzáció



Metafázis

MPF → APC

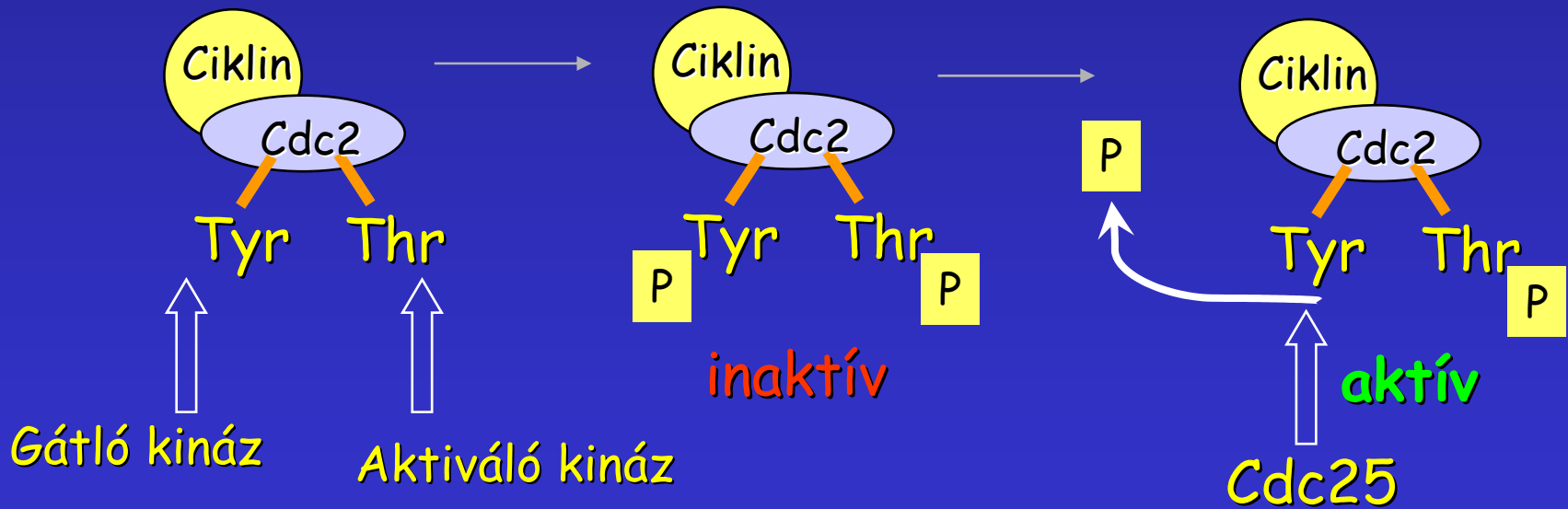
-kromatidák elválása
-M ciklinek lebomlása
-G1 ciklinek szintézise
-geminin degradációja

SPF ↑
-sejt előkészítése az S-fázisba lépésre;
-DNS duplikációra

G1 ciklinek- CDK ↑
-DNS előkészítése replikációra

MPF = Mitosis promoting factor

CDK1 és Ciklin B komplexe



MPF szubsztrátjai

- H1 hiszton - chrs. kondenzáció
- Laminok - sejtmaghártya lebomlása
- MAP-ok - mitotikus orsó
- Phosphatase - egyre több MPF
- Myosin L lánc - morfológiai változások

cdc2 gén



S-ciklin

p34
CDK

M-ciklin

S-ciklin

p34
CDK

p34
CDK

M-ciklin

ATP

ADP

ATP

ADP

S-fázis

Mitózis-specifikus
reakciók

A DNS replikáció kontrollja

Pozitív kontroll („licensing“):

- **ORC** (origin recognition complex) proteinek
- Járvélkos proteinek (G_1 -fázisban nő a koncentrációjuk)
Cdc6, Cdt1 - az ORC-hez kötődve fedik a DNS-t
MCM proteinek fedettség **KELL** a DNS replikációhoz

Az S-fázisba lépést követően: **Cdc6** és **Cdt1** leválik
MCM a replikációs villa elején
marad

Negatív kontroll:

- Geminin** G_2 -ben meggátolja az **MCM** kapcsolódását az új
DNS-sel

Az előadásban felhasznált képanyag fellelési helyei:

Bruke, B., Ellenberg, J. Remodelling the walls of the nucleus.
Nature Reviews-Molecular Cell Biology, 3:487 (2002)

Craig, et al., Exp. Cell Res. 246:249 (1999)

Doxsey, S. Re-evaluating centrosome function
Nature Reviews-Molecular Cell Biology, 2:688 (2001)

Kitagawa, K, Hieter, Ph. Evolutionary conservation between budding yeast and human kinetochores

Nature Reviews-Molecular Cell Biology, 2:678 (2001)

Musacchio, A., Hardwick, K.G. The spindle checkpoint: Structural insights into dynamic signalling

Nature Reviews-Molecular Cell Biology, 3:731 (2002)

Walczak, C.E., Mitchison, T.J. Kinesin-related proteins at mitotic spindle poles: Function and regulation

Cell, 85:943 (1996)

Walczak, C.E., Mitchison, T.J., Desai, A.

Cell, 84:37 (1996)

Web.uvic.ca/~bioweb/people/choy/Parslow/tsld035.htm