

Лекция 13. Контроль клеточного цикла

Дифференцировка клеток

Понятие о потентности

Система принятия решений

Клеточный цикл

Контрольные точки

Точка рестрикции

Циклины/циклин-зависимые киназы

Регуляция активности

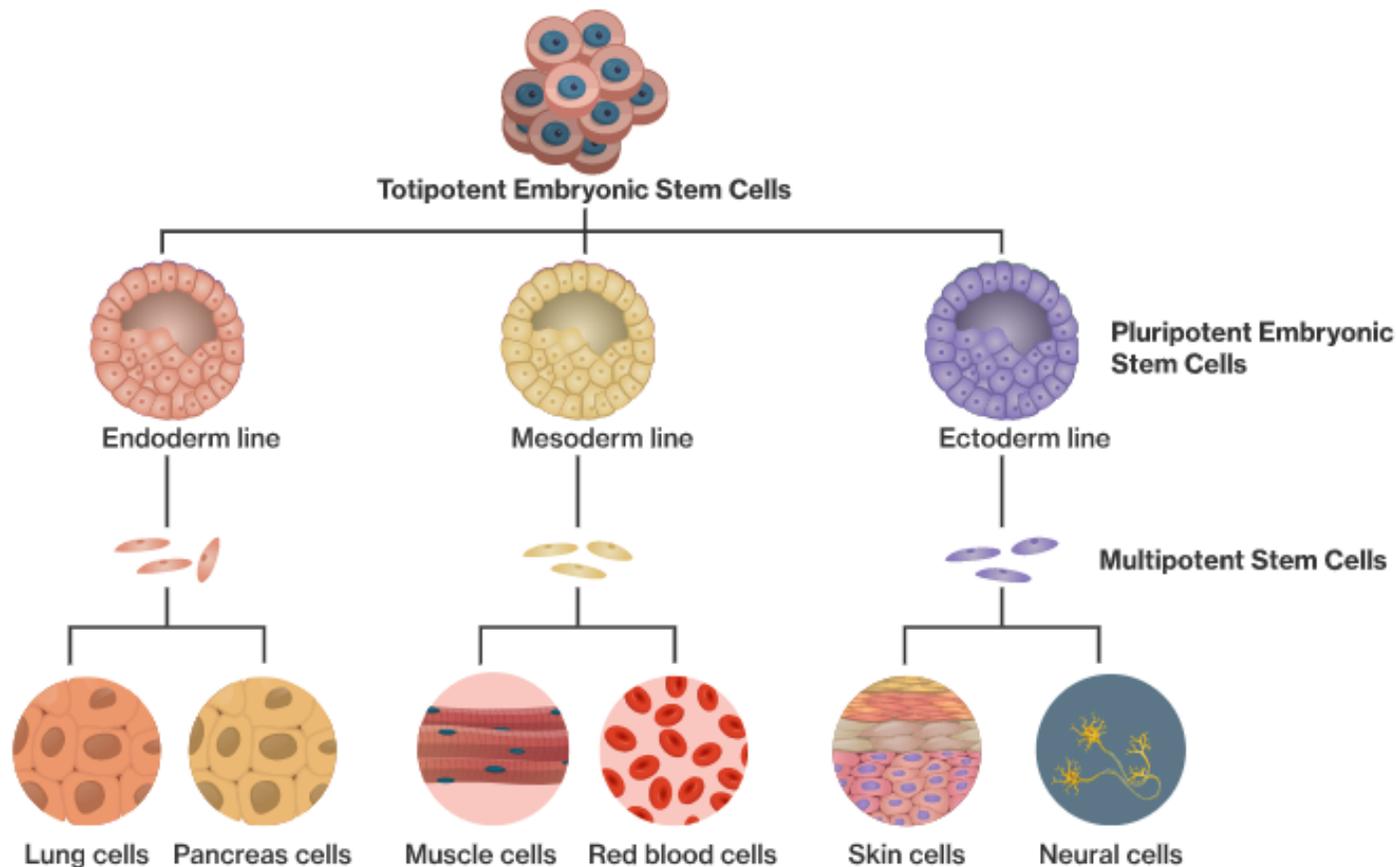
Необратимость клеточного цикла

Признаки злокачественной трансформации



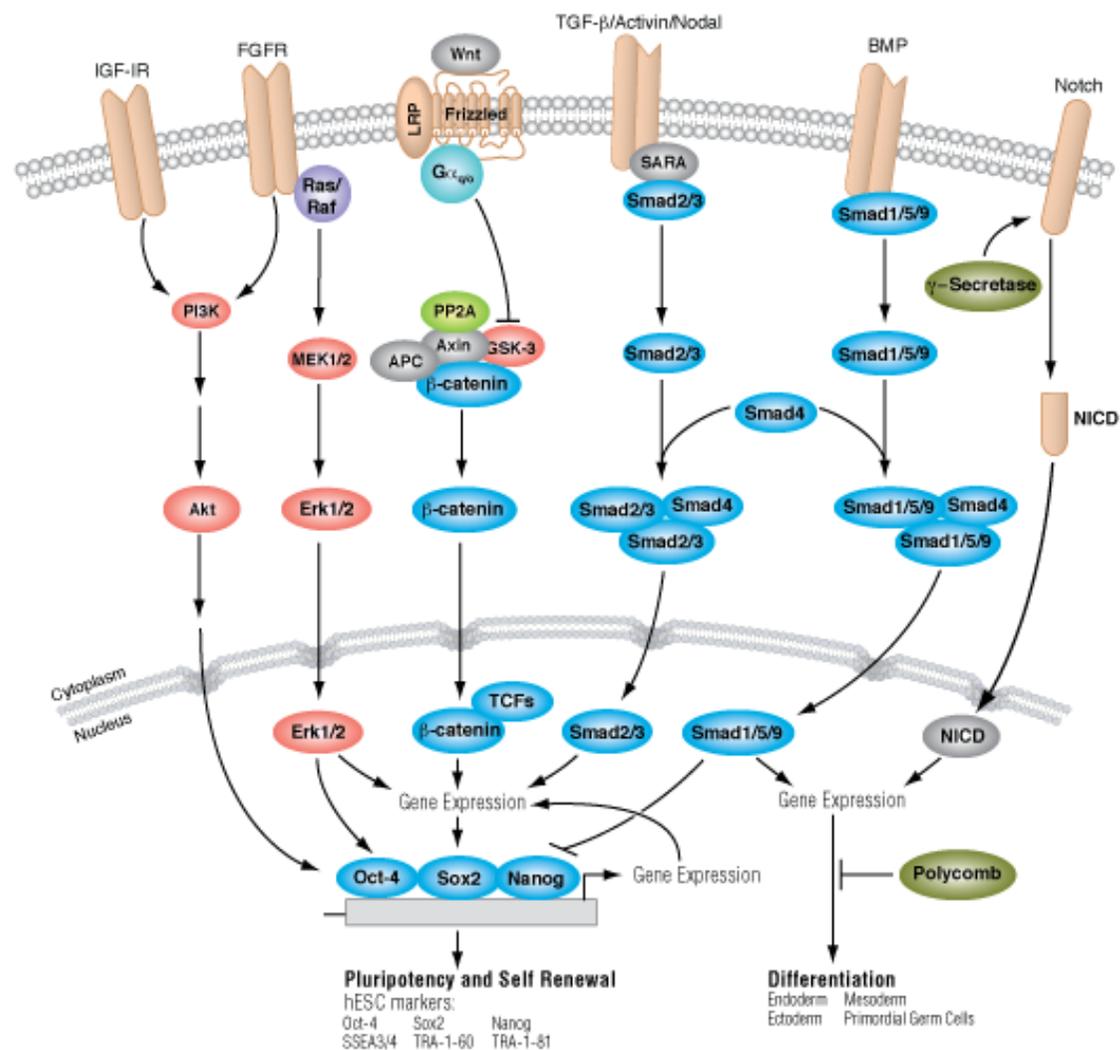
Дифференцировка клеток

Stem Cell Differentiation

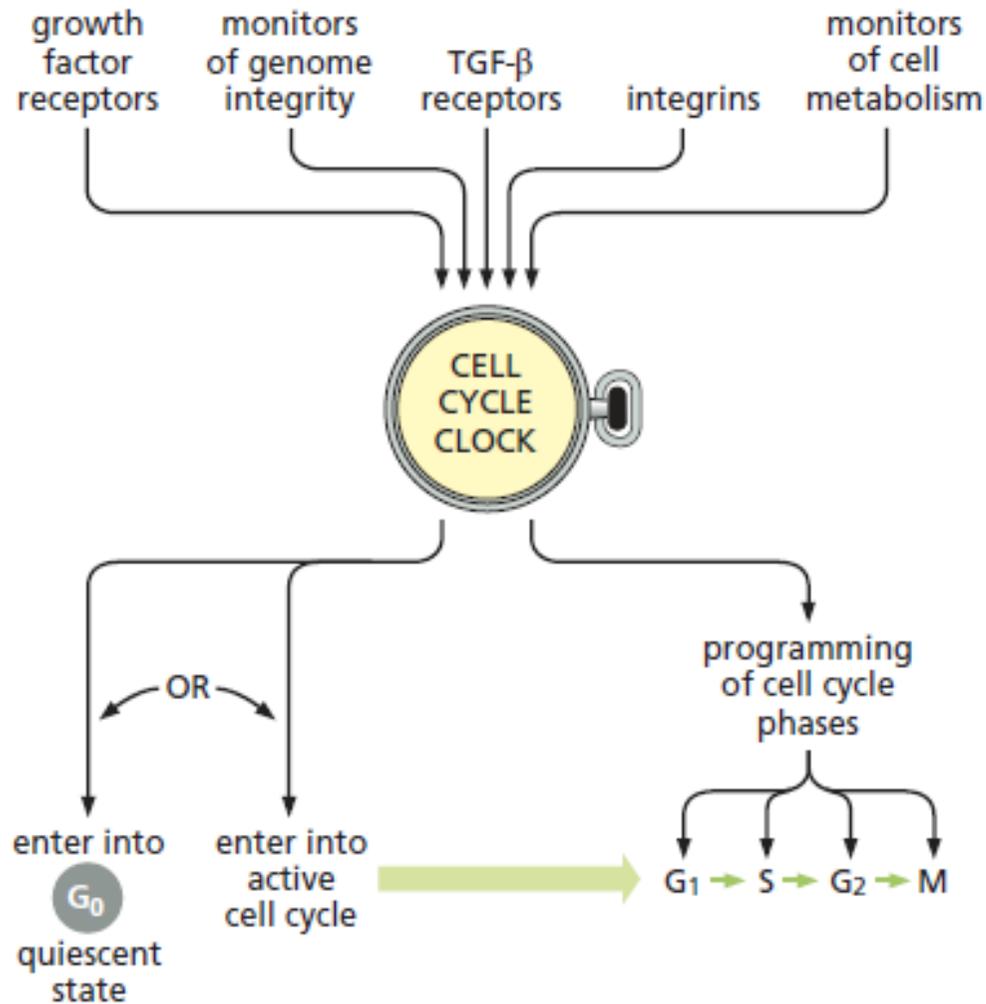


От момента образования зиготы и до формирования зрелых органов и тканей клетки проходят многостадийный процесс дифференцировки. Часть клеток сохраняет потенциал к пролиферации (взрослые стволовые клетки) и обеспечивает постоянное обновление тканей организма, давая потомство активно пролиферирующих ранних предшественников, которые в дальнейшем созревают до терминально дифференцированных постмитотических клеток.

Плюрипотентность vs Дифференцировка

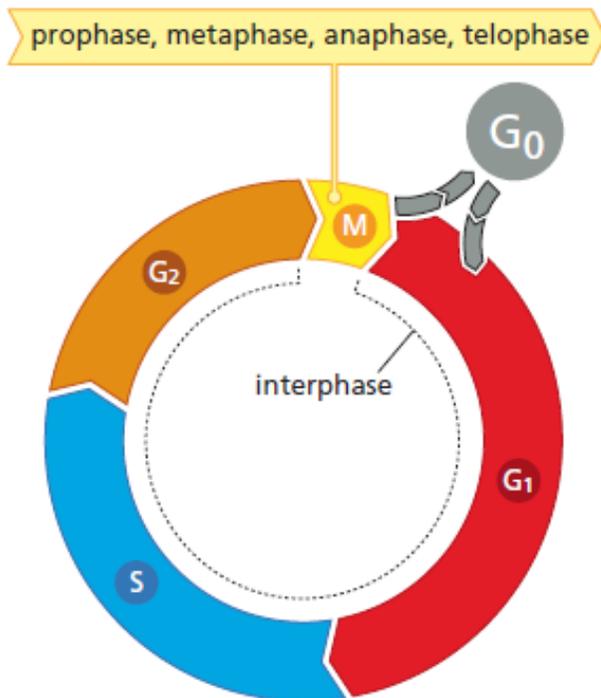
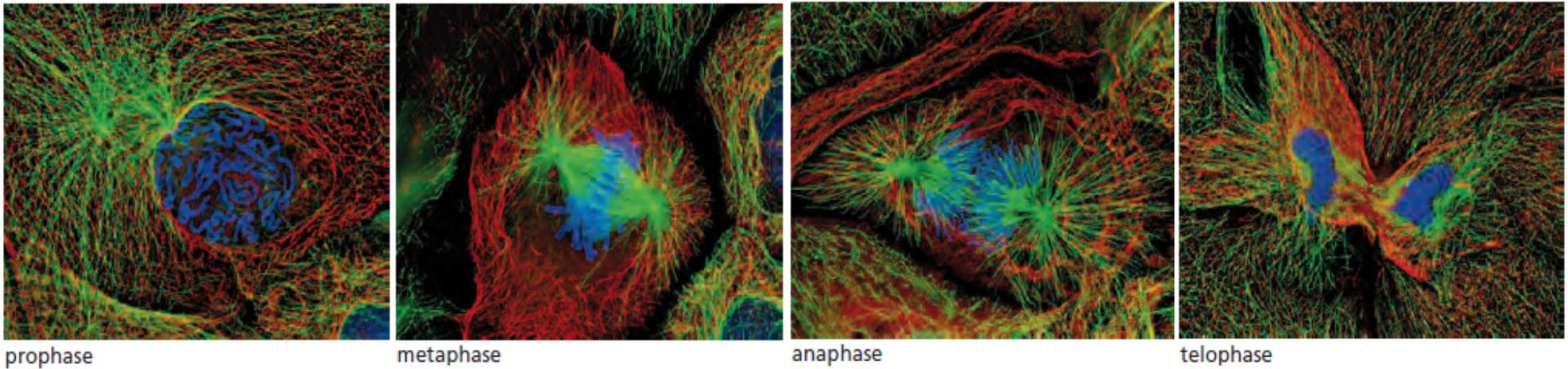


Система принятия решений



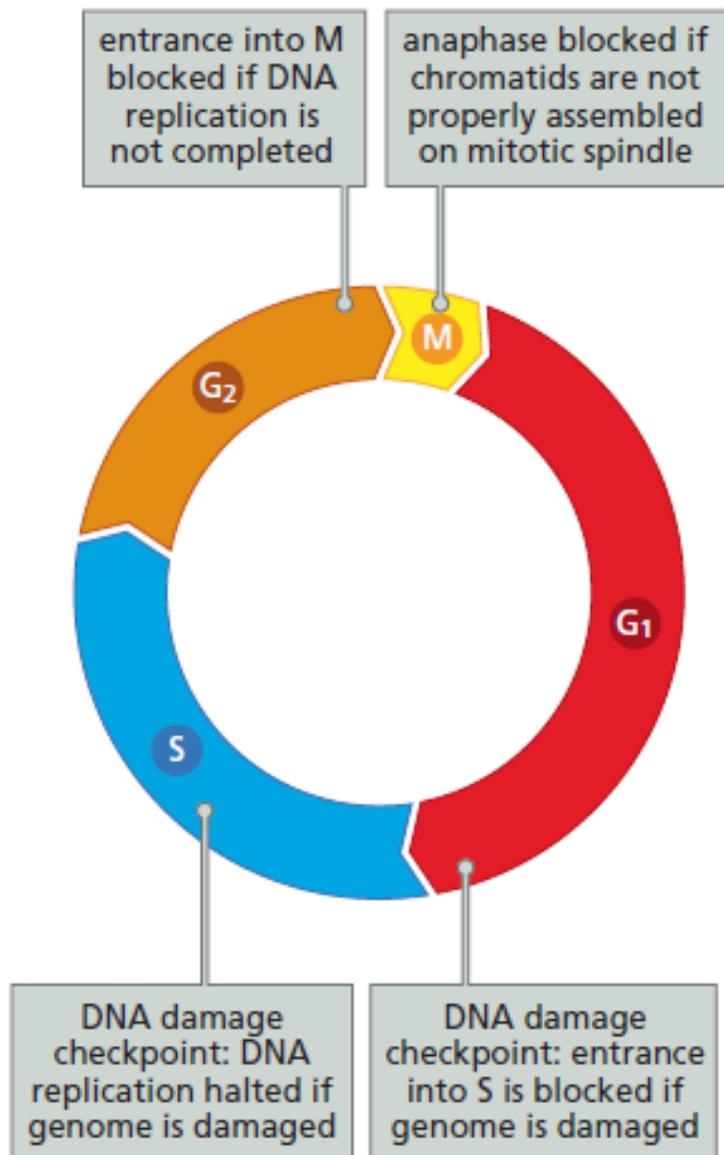
- Клетка обладает высокоорганизованной системой принятия решений, регулирующей фазы клеточного цикла;
- Интегрируя сигналы из окружающей среды и от внутренних систем контроля, клетка принимает решение о переходе в активную фазу клеточного цикла, либо состояние покоя (бинарная логика);

Фазы клеточного цикла



- Клеточный цикл принято разделять на две стадии: клеточный рост (G₁, S, G₂) и клеточное деление (кариокинез, цитокинез);
- Продолжительность: G₁ (6-12 часов), S (6-8 часов), G₂ (3-4 часа), M (1 час);

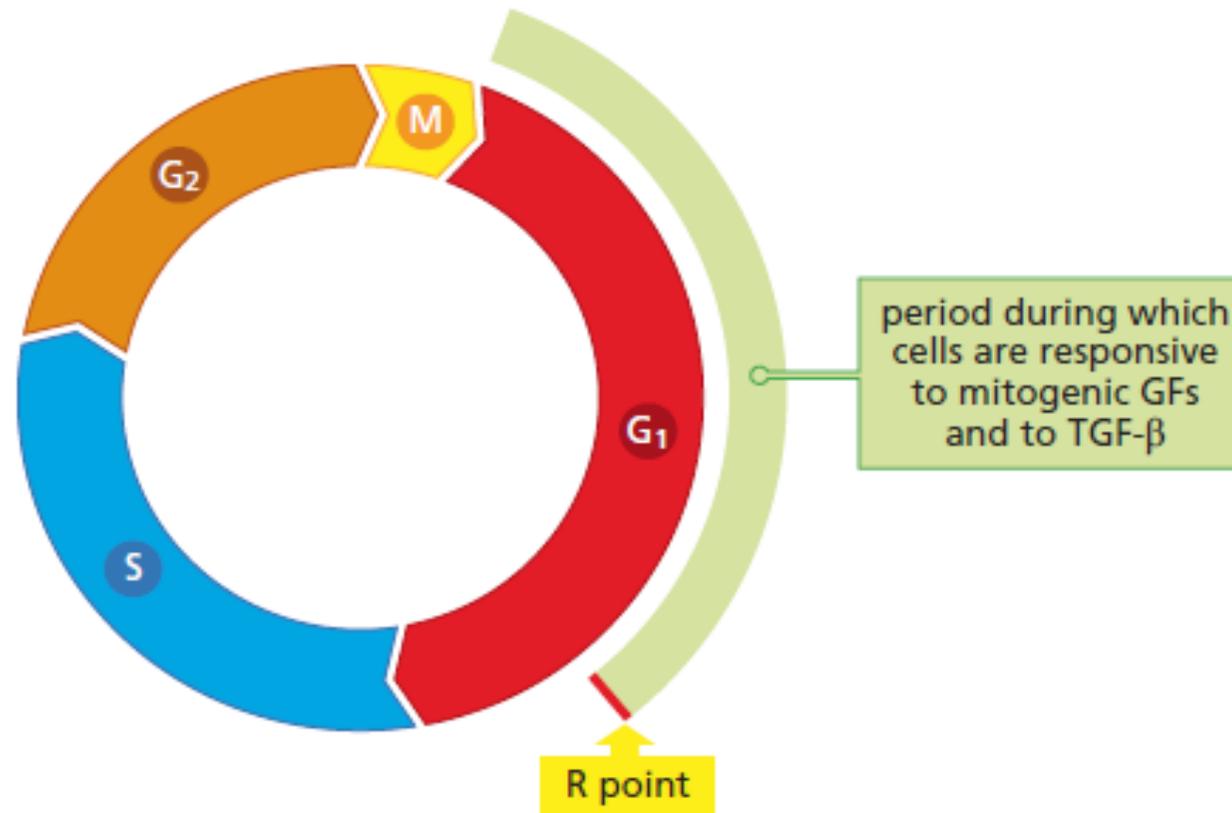
Система «контрольных точек»



Система «контрольных точек» выполняет две основные функции:

- Контроль качества выполненных работ на каждой из стадий;
- Последовательный переход от стадии к стадии согласно плану.

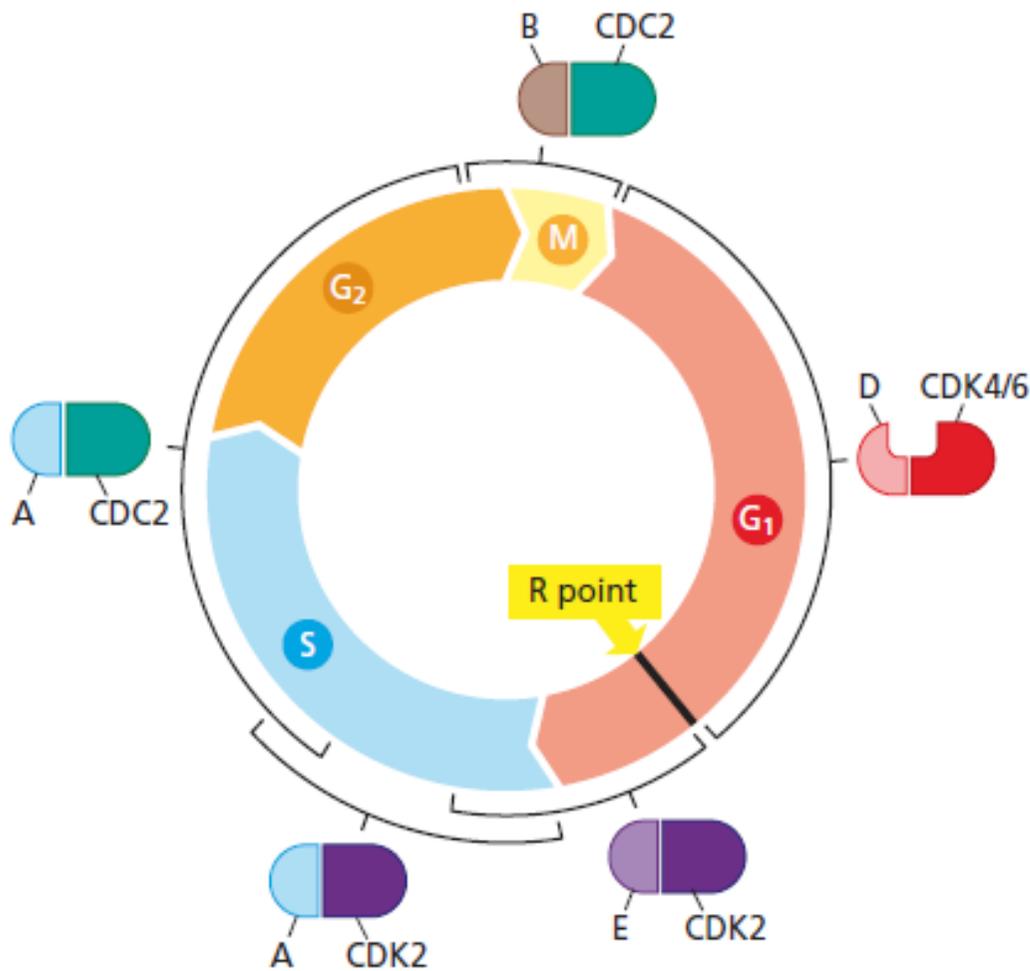
Точка рестрикции



На стадии G₁ выделяют непродолжительный период (1-2 часа) в течение которого внутриклеточная система контроля, на основании полученных сигналов из окружающей среды (митогенные/ анти-митогенные) и данных от внутренних сенсоров, принимает решение (R – restriction point):

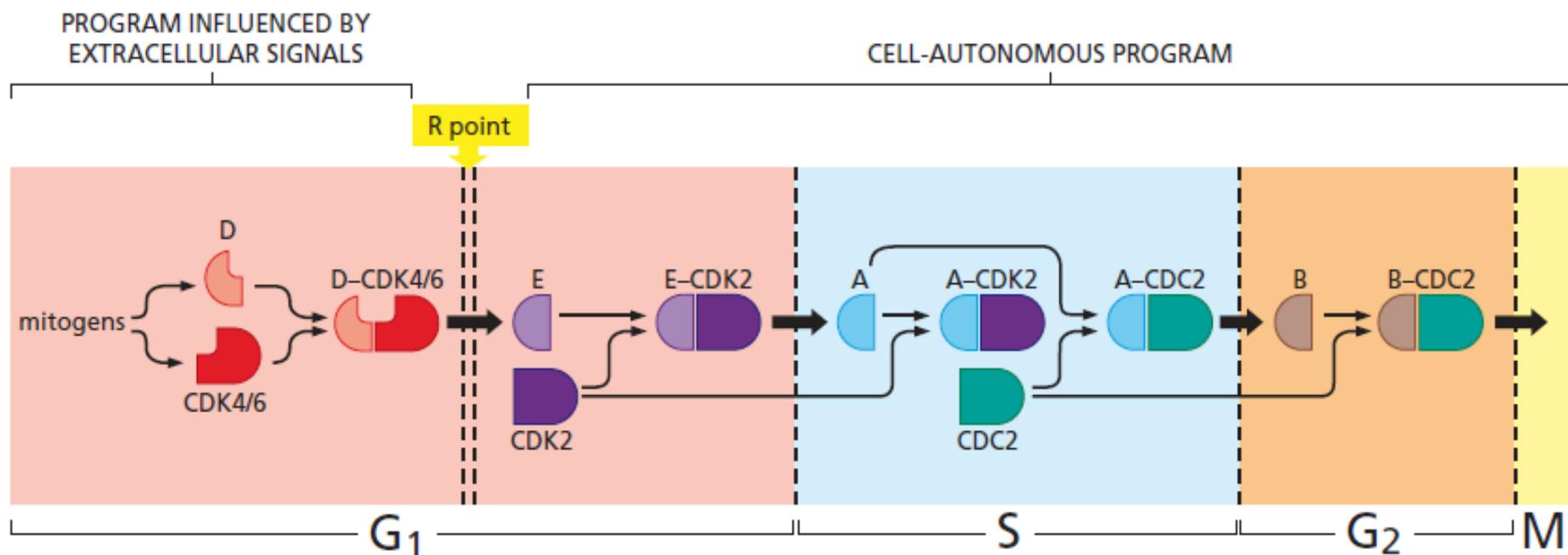
- Задержаться в G₁;
- Перейти в состояние покоя (G₀);
- Двигаться дальше по клеточному циклу (S → G₂ → M).

Циклины/циклин-зависимые киназы



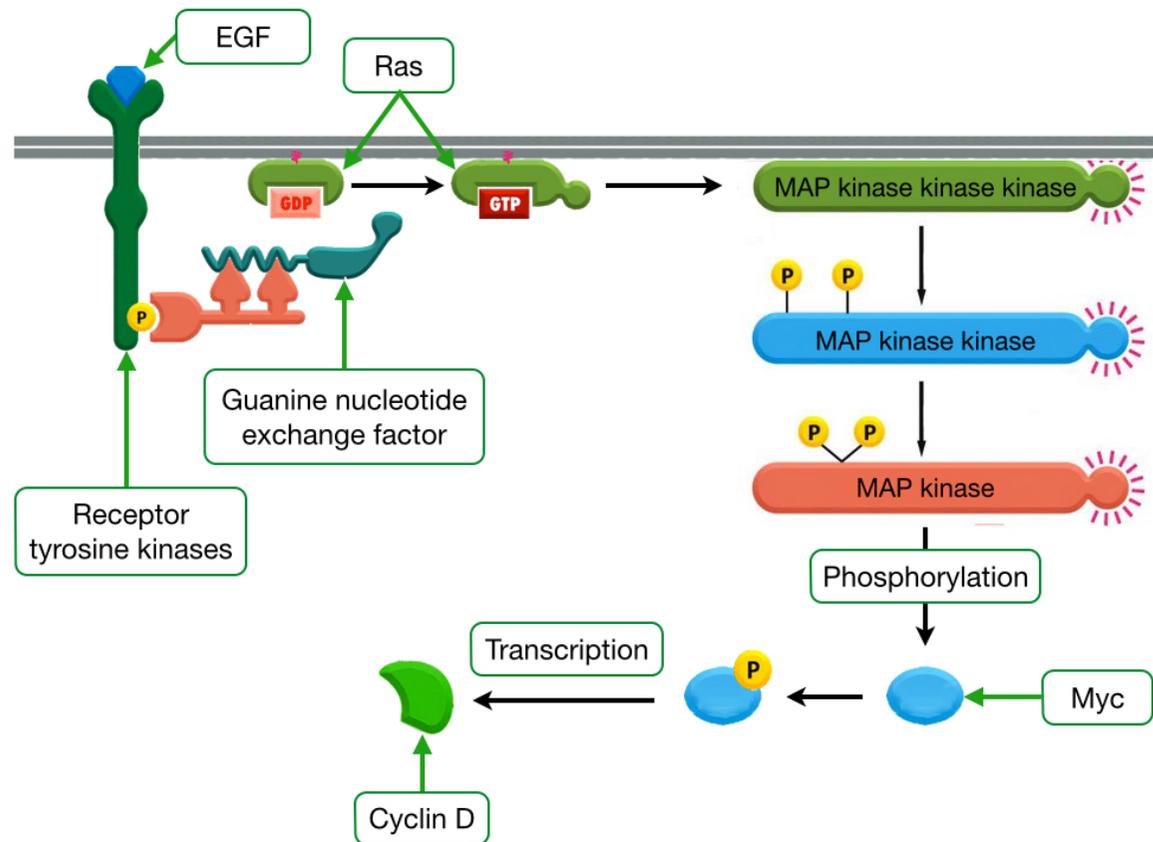
- Комплексы циклин/циклин-зависимая киназа специфичны для каждой стадии клеточного цикла;
- Флуктуация уровней соответствующих циклинов внутри клетки обеспечивает планомерное продвижение по фазам клеточного цикла.

Последовательность событий



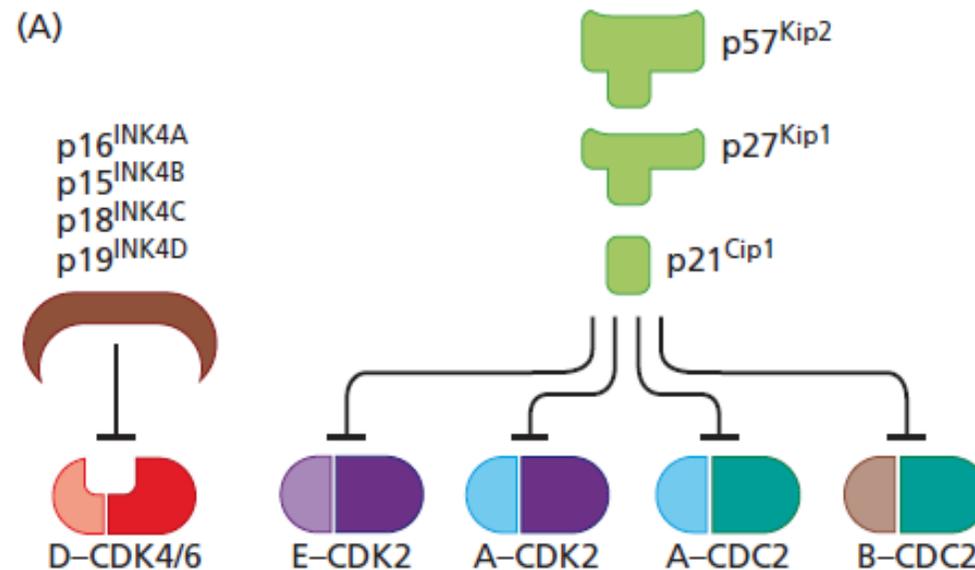
- циклины типа D начинают экспрессироваться в ответ на стимуляцию клетки митогенами, что приводит к запуску дальнейшей цепочки событий;
- колебания уровней циклинов A, B, E, в зависимости от фазы клеточного цикла, обеспечивается благодаря внутреннему сигналингу и убиквитин-зависимой системе деградации белков;
- каждый последующий комплекс циклин/ЦЗК подавляет экспрессию предыдущего циклина, что обеспечивает однонаправленное продвижение по клеточному циклу.

Экзогенная индукция экспрессии циклинов типа D



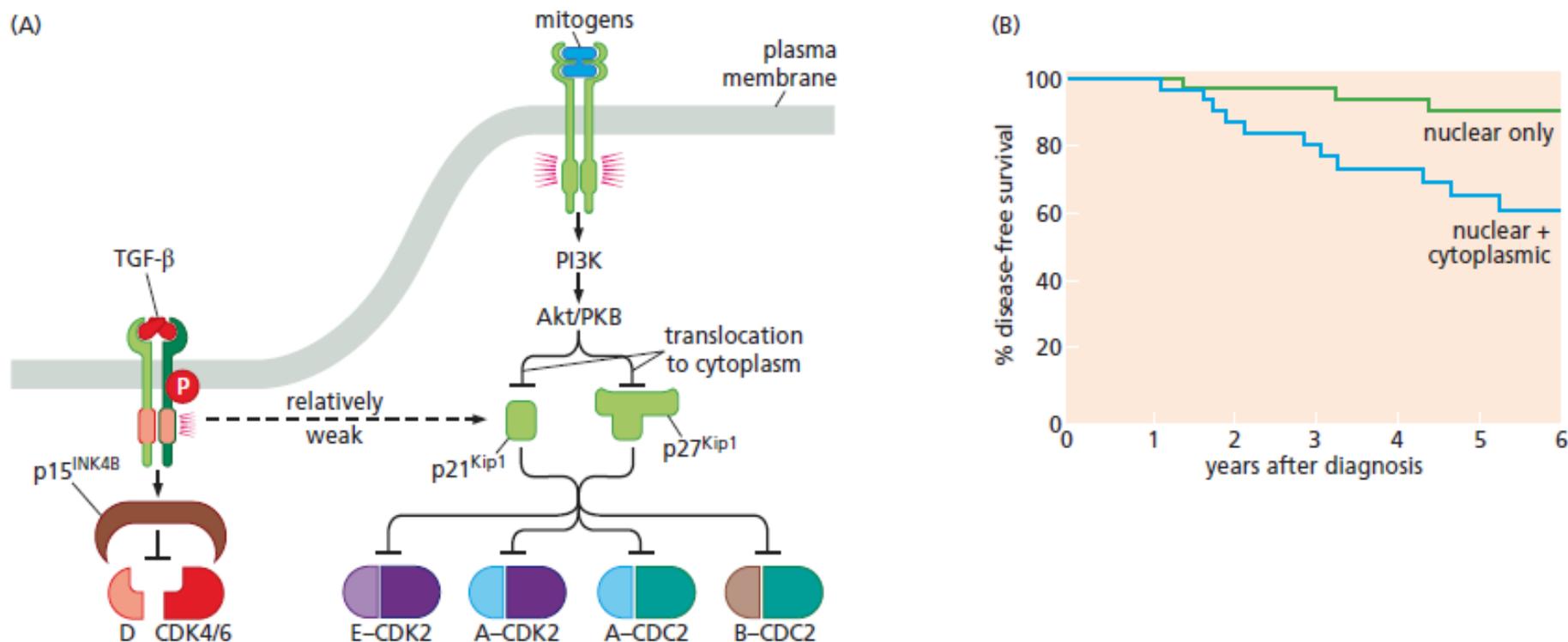
- В ответ на стимуляцию митогенными факторами в клетке активируется сигнальный каскад, приводящий к запуску экспрессии циклина D.

Ингибиторы циклин-зависимых киназ (CKIs)



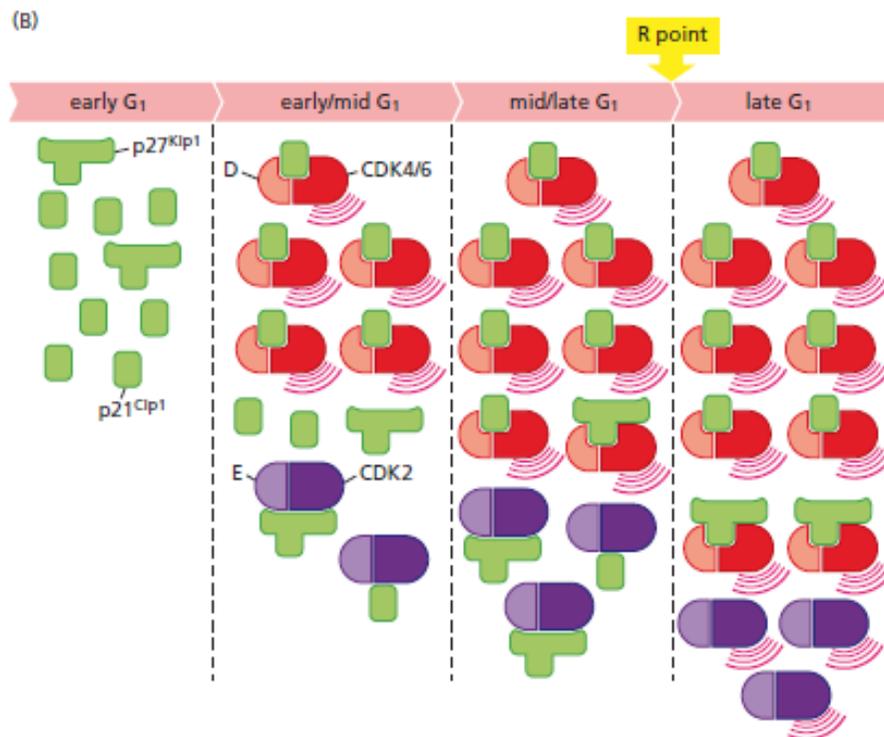
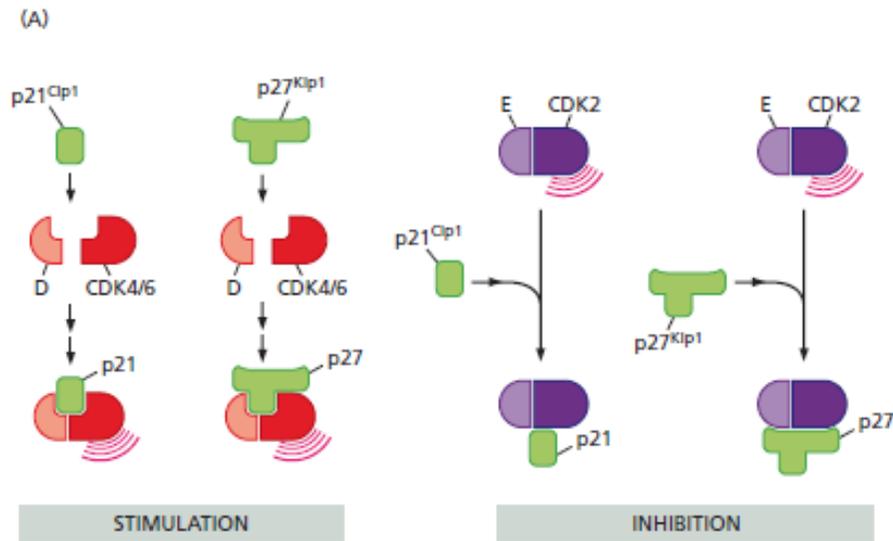
- Описано семь CKIs;
- p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C}, p19^{INK4D} – ингибиторы CDK4/6;
- p21^{Cip1}, p27^{Kip1}, p15^{INK4B} – ингибиторы CDK2/CDC2;
- CKIs блокируют АТФ-связывающий регион, снижая каталитическую активность CDK, а также способны связывать регион CDK, отвечающий за взаимодействие с молекулой циклина.

Экзогенная/эндогенная регуляция активности СКІ



- Запуск сигнального каскада с рецептора TGF- β приводит к активации p15^{INK4B}, что блокирует дальнейшее продвижение по циклу клеток, не достигших «точки рестрикции», но не влияет на клетки в поздней G1 фазе и +;
- Продвижение по клеточному циклу клеток, прошедших «точку рестрикции», может быть заблокировано эндогенными сигналами (физиологический стресс - повреждение ДНК), активирующими p21^{Kip1}, который, в свою очередь, блокирует работу CDK, действующих в S и G2 фазах;
- С другой стороны, митогенные сигналы способны приводить к инактивации СКІ (фосфорилирование p21^{Kip1} и перемещение в цитоплазму);
- Нарушения сигналинга Akt/PKB приводят к релокализации p21^{Kip1} и существенно ухудшают прогноз у пациентов с раком молочной железы;

Ингибиторы ингибиторов

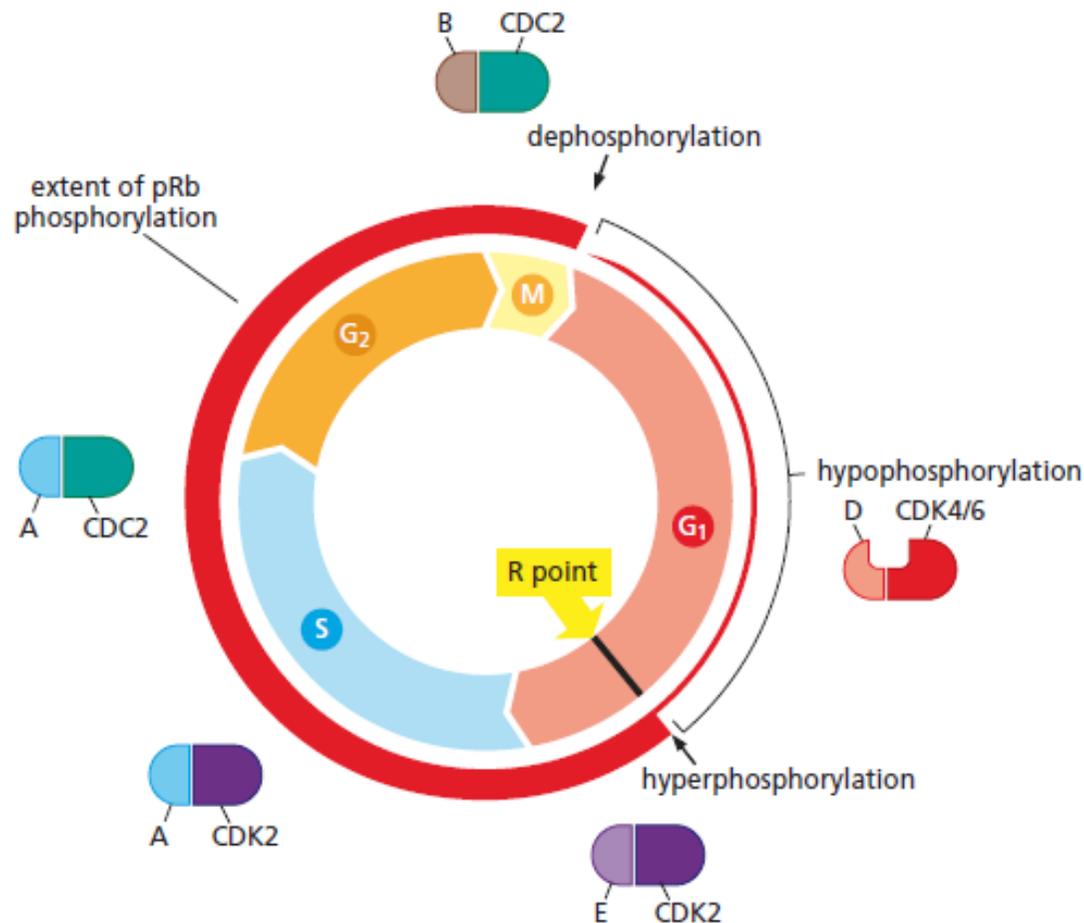


- CKI (p21^{Cip1}, p27^{Kip1}) связываются с комплексами циклин-CDK, действующими в ранней G₁, и активируют их, а комплексы циклин-CDK, действующие после «точки рестрикции» ингибируют;

- Связывание описываемых CKI с комплексами D-CDK4/6 высвобождает комплексы циклин E-CDK2, в результате чего происходит переход через «точку рестрикции».

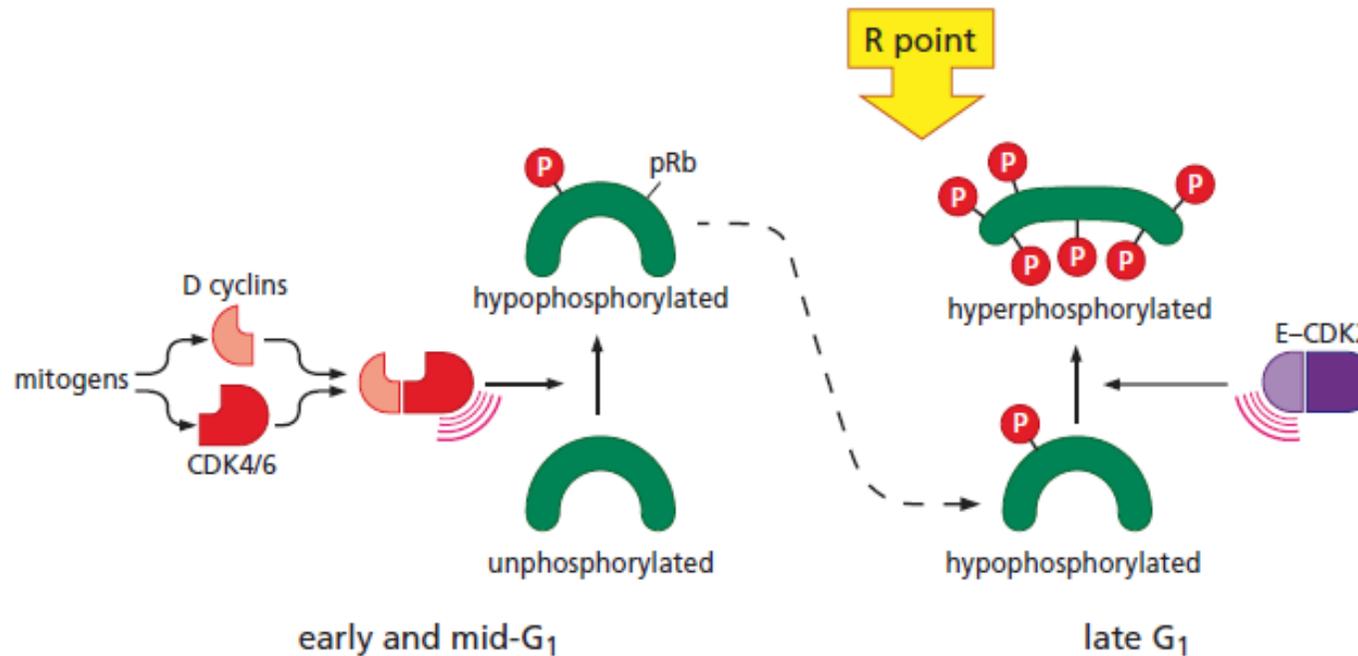
pRB

мастер-регулятор клеточного цикла



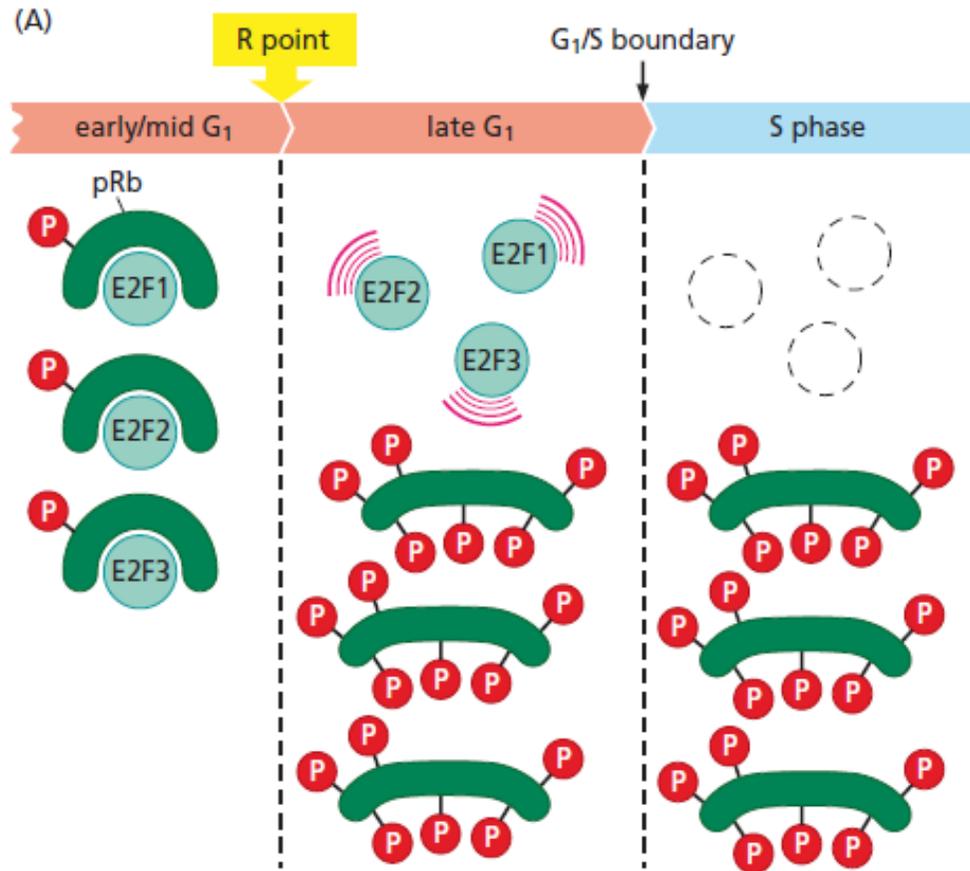
- Статус фосфорилирования pRB изменяется в зависимости от фазы клеточного цикла и определяется активностью комплексов циклин-CDK

Регуляция активности pRB



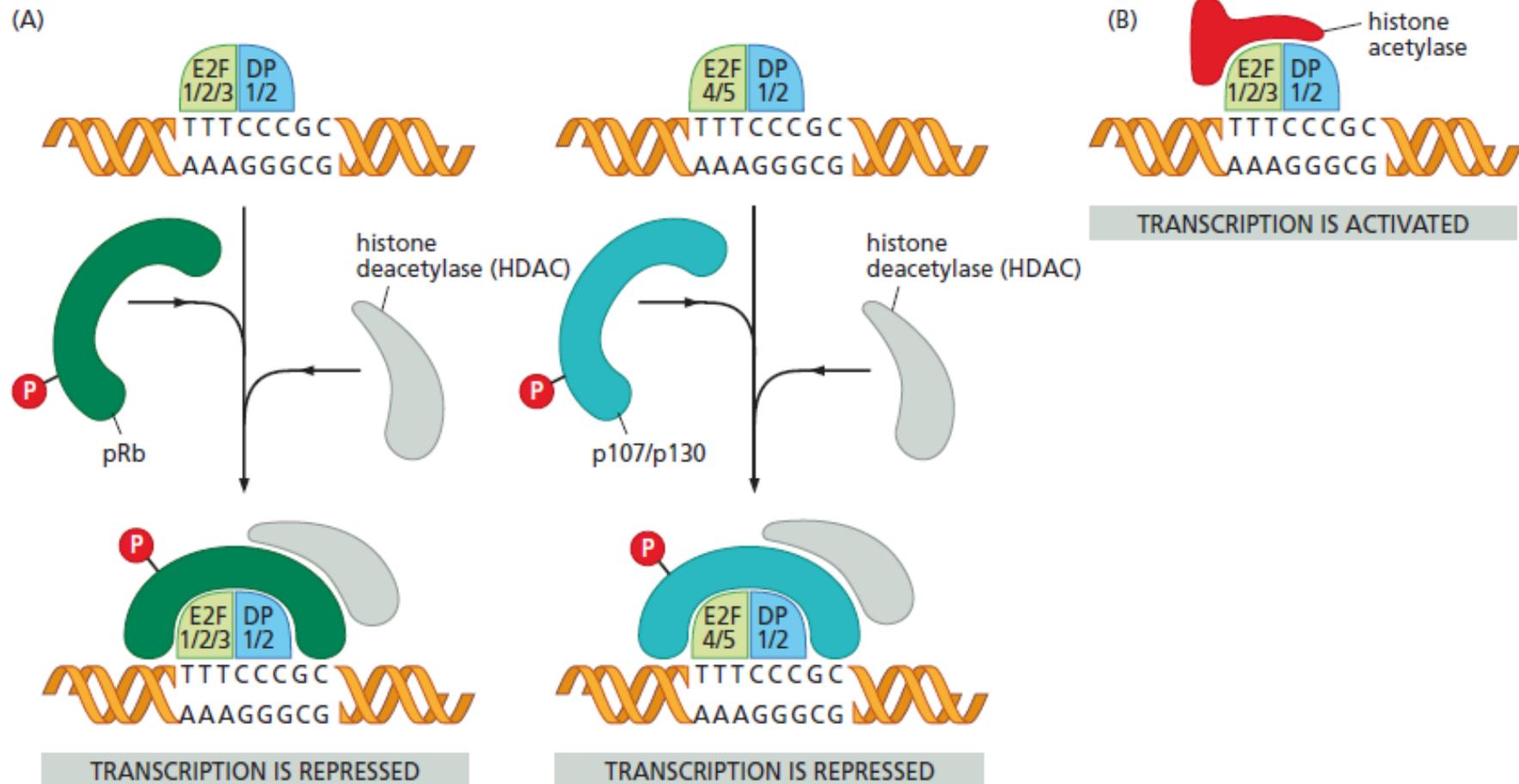
- По умолчанию дефосфорилированный (активный) pRB ингибирует продвижение по клеточному циклу, блокируя переход через «точку рестрикции»;
- Активированный комплекс D-CDK4/6 (при условии достаточного по интенсивности и продолжительности воздействия митогенных факторов) частично фосфорилирует pRB и, таким образом, делает его подходящим субстратом для дальнейшего фосфорилирования комплексом E-CDK2;
- Гиперфосфорилирование pRB приводит к его полной инактивации и клетка проходит «точку рестрикции»;
- Дальнейшее поддержание гиперфосфорилированного (инактивированного) состояния pRB обеспечивается благодаря активности комплексов циклин-CDK, действующих в S и G₂ фазах клеточного цикла;
- По окончании клеточного цикла происходит дефосфорилирование и реактивация pRB белком-фосфатазой PP1.

pRB блокирует группу ТФ E2F



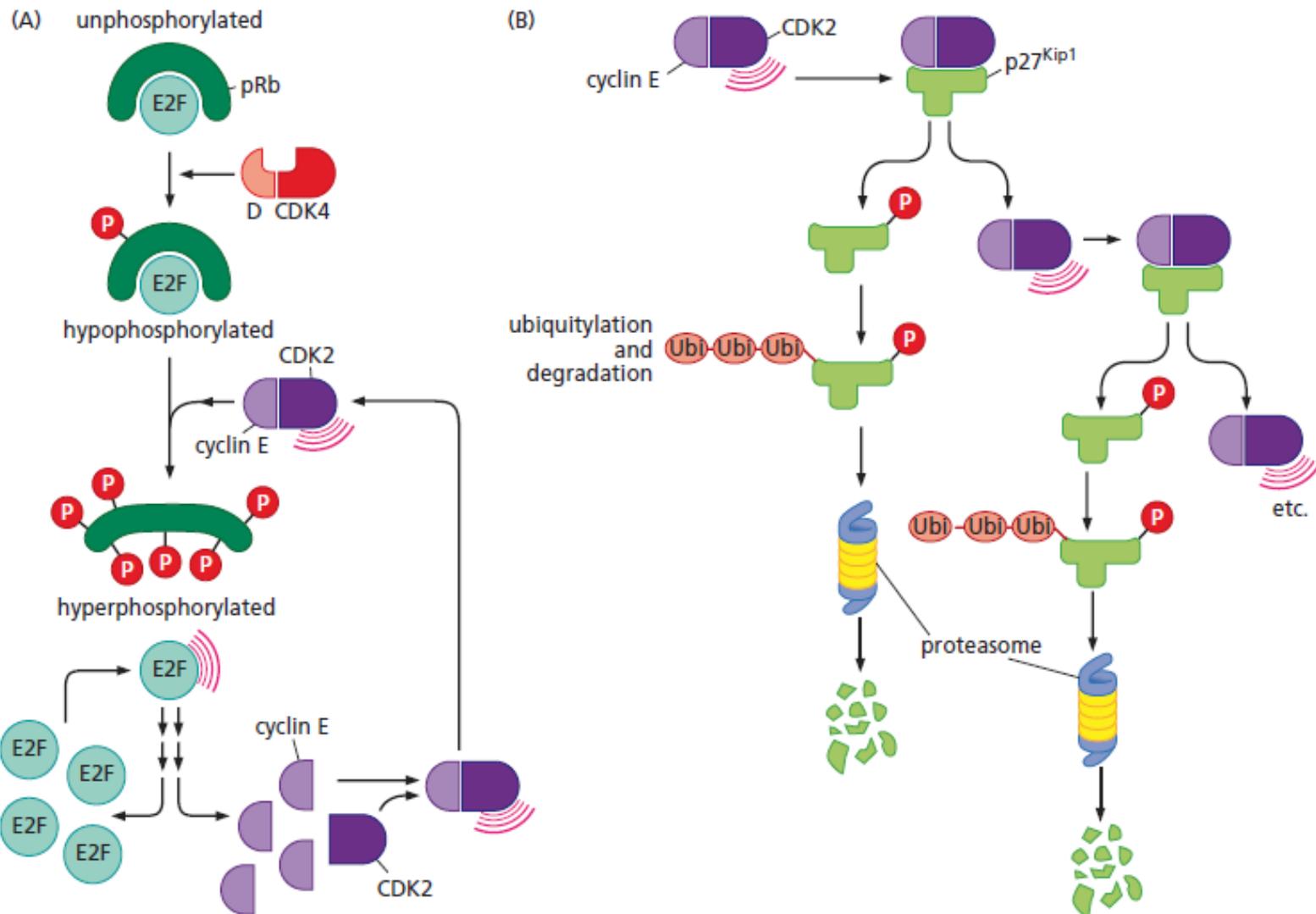
- pRB (также p107, p130) ингибируют ТФ группы E2F связывая их активационные домены, а также привлекая транскрипционные репрессоры в область посадки этих ТФ на регуляторные последовательности;
- Гиперфосфорилирование pRB в «точке рестрикции» высвобождает E2F (1, 2, 3), которые остаются активными до окончания фазы G₁, а затем подвергаются деградации, при этом активируется экспрессия транскрипционных репрессоров E2F7/8.

Регуляция активности E2F



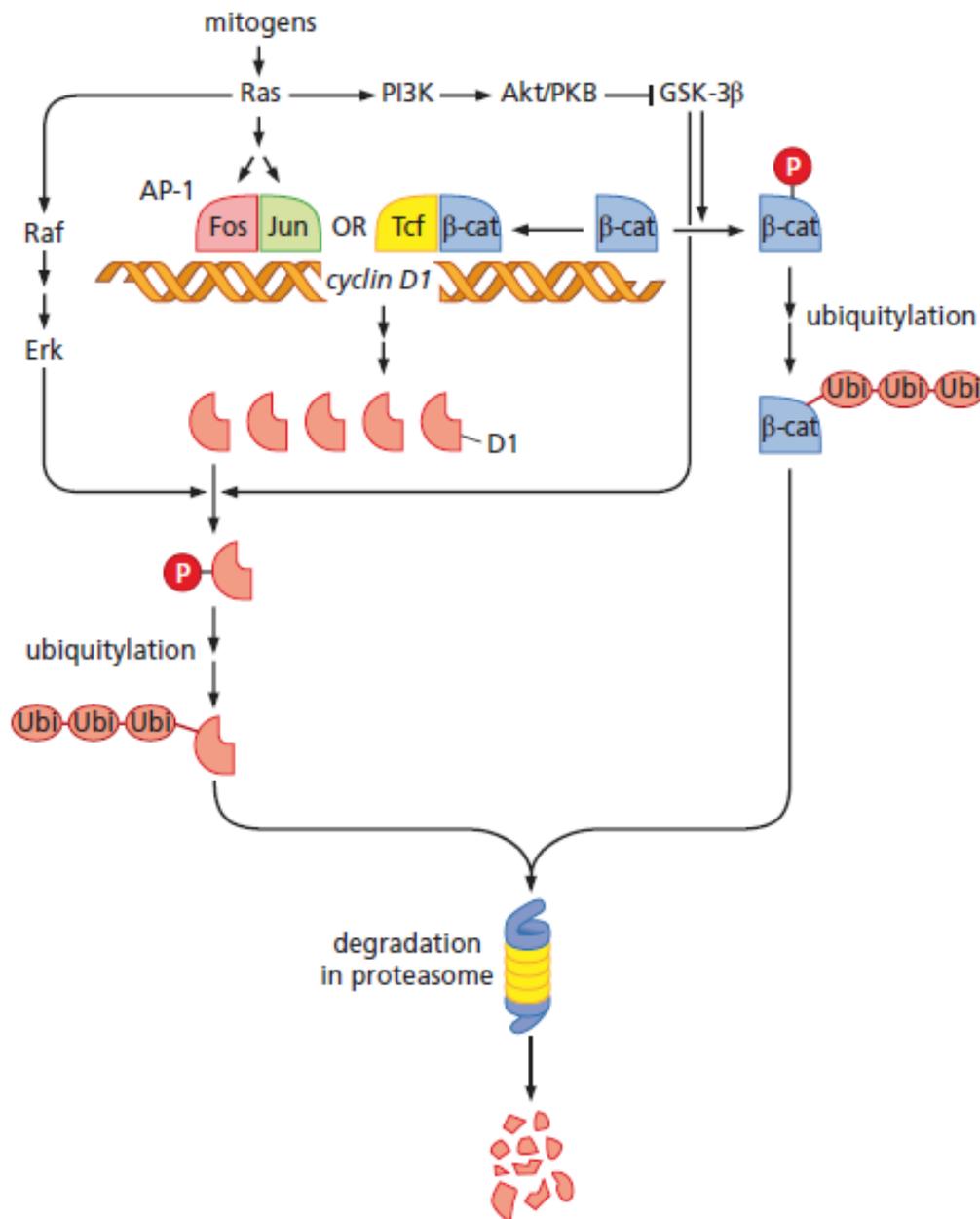
- Транскрипционные факторы группы E2F (1-6) функционируют в составе гетеродимеров с субъединицами DP1/2;
- pRB(p107, p130) связываясь с E2F привлекают в регуляторную область HDAC, которые, деацетилируя гистоны, блокируют продвижение РНК-полимеразы вдоль хроматина;
- В отсутствии pRB(p107, p130) E2F привлекает гистоновые ацетилазы, которые переводят хроматин в подходящую для транскрипции конформацию.

Необратимость клеточного цикла



- Петли положительной обратной связи обеспечивают каскадный эффект при продвижении по клеточному циклу, а также его необратимость.

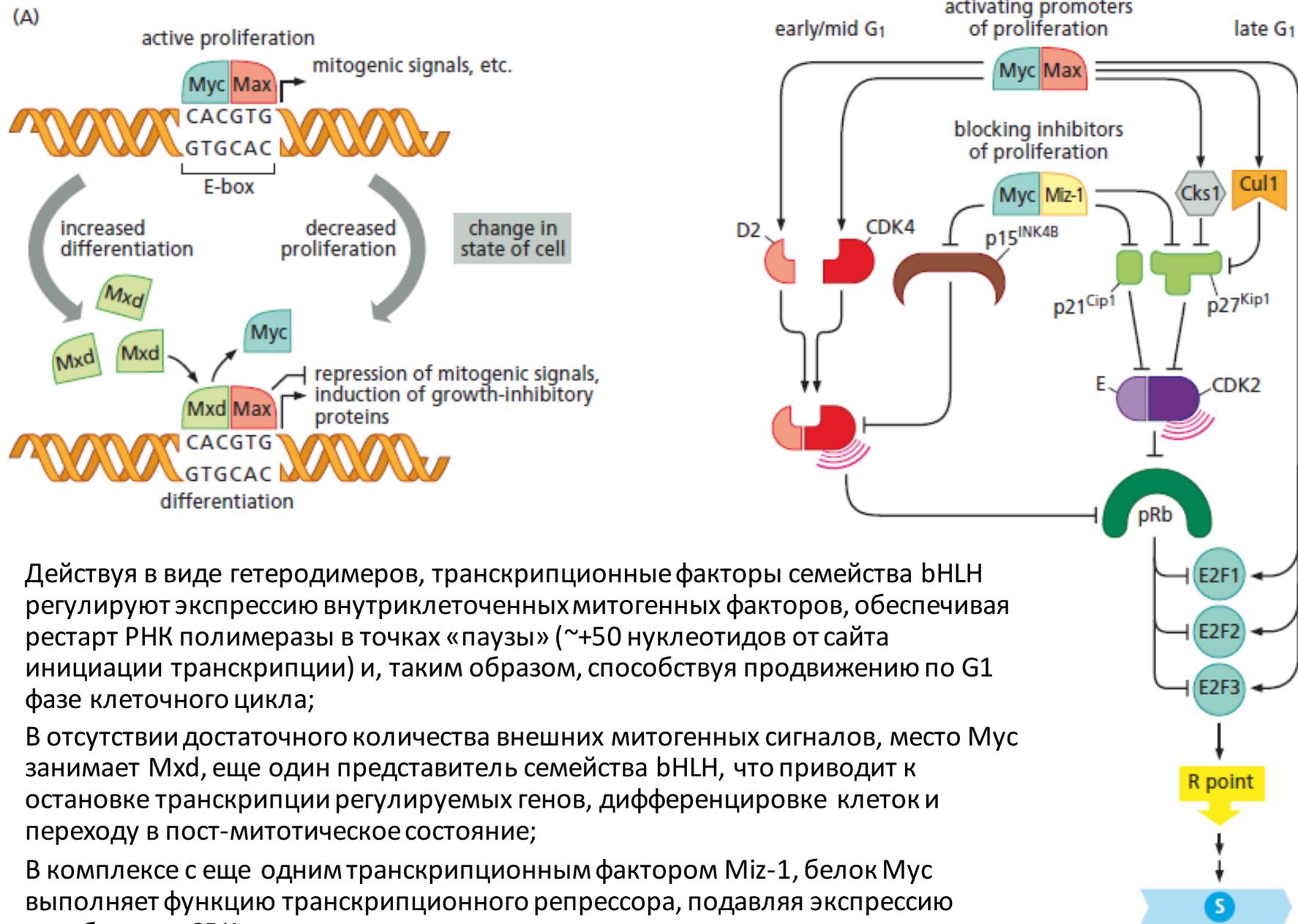
Обеспечение баланса



Активация сигнального каскада Ras/Raf/MAPK под воздействием митогенных факторов приводит к запуску экспрессии циклина D1 и, одновременно, к его **деградации**, обеспечивая таким образом оптимальный баланс:

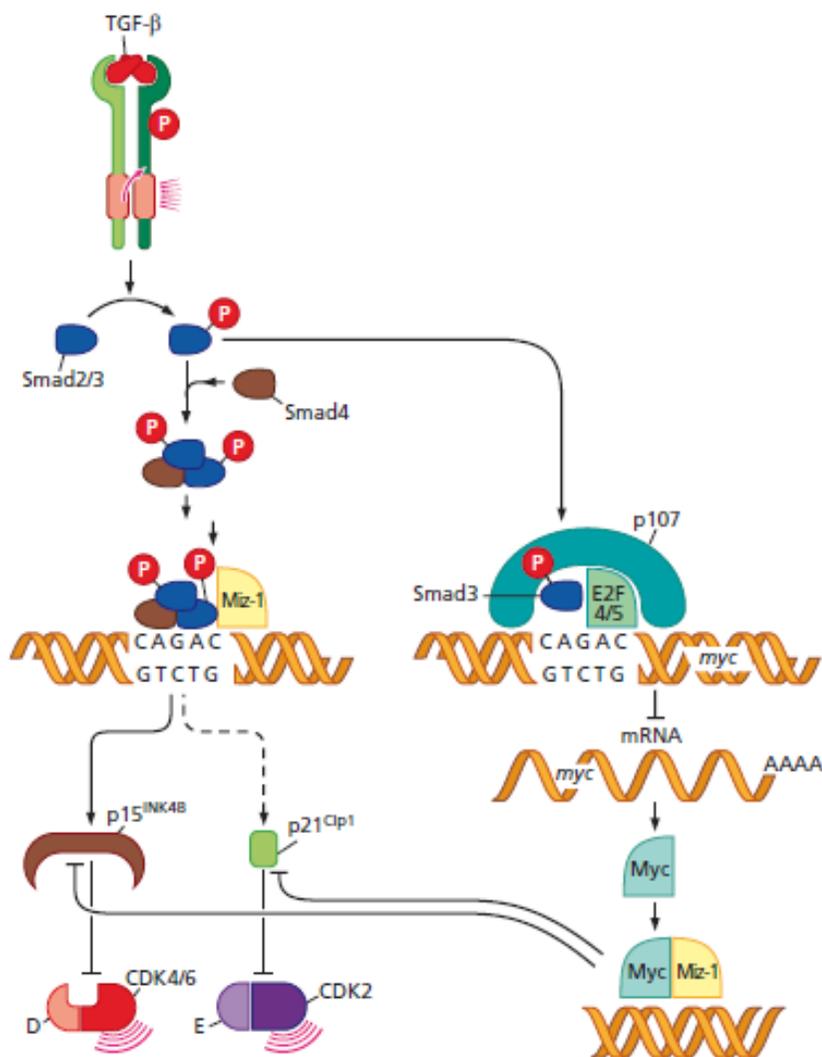
- Транскрипционный фактор AP-1 (FOS/Jun) активирует транскрипцию гена циклина D1;
- Передача сигнала по ветке Ras/PI3K/Akt_PKB ингибирует киназу GSK-3b, которая отвечает за фосфорилирование и деградацию b-cat (транскрипционный фактор, участвующий в запуске транскрипции циклина D1) а также самого циклина D1;
- Передача сигнала по ветке Ras/Raf/MEK активирует киназу Erk, которая, фосфорилируя циклин D1, обеспечивает его деградацию

Семейство транскрипционных факторов bHLH



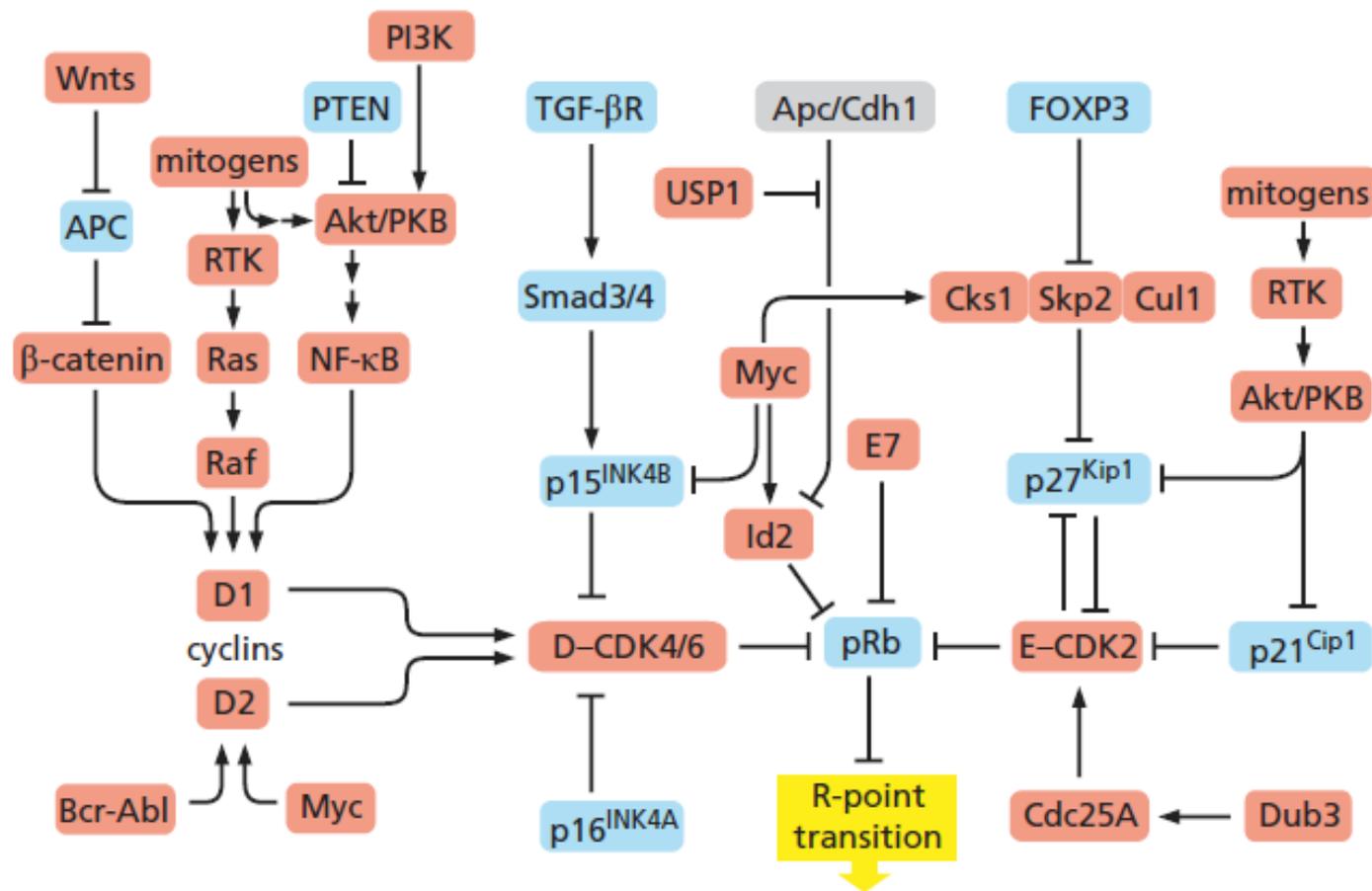
- Действуя в виде гетеродимеров, транскрипционные факторы семейства bHLH регулируют экспрессию внутриклеточных митогенных факторов, обеспечивая рестарт РНК полимеразы в точках «паузы» (~+50 нуклеотидов от сайта инициации транскрипции) и, таким образом, способствуя продвижению по G1 фазе клеточного цикла;
- В отсутствии достаточного количества внешних митогенных сигналов, место Мус занимает Mxd, еще один представитель семейства bHLH, что приводит к остановке транскрипции регулируемых генов, дифференцировке клеток и переходу в пост-митотическое состояние;
- В комплексе с еще одним транскрипционным фактором Miz-1, белок Мус выполняет функцию транскрипционного репрессора, подавляя экспрессию ингибиторов CDK.

TGF- β блокирует пролиферацию в нормальных клетках



- Рецептор Tgf- β (обладает киназной активностью), фосфорилирует транскрипционные факторы семейства Smad (2/3);
- Фосфорилированные Smad2/3 вместе со Smad4 перемещаются в ядро, где образуют комплекс с транскрипционным фактором Miz-1 и запускают транскрипцию ингибиторов CDK;
- С другой стороны, Мус в комплексе с Miz-1 подавляет транскрипцию ингибиторов CDK;
- Tgf- β подавляет экспрессию Мус благодаря формированию репрессорного комплекса фосфорилированного Smad3/E2F4_5/p107 и, таким образом, блокирует про-пролиферативный эффект Мус (тормозит продвижение клетки по G1 фазе клеточного цикла).

pRb – страж «точки рестрикции»



Элементы схемы:

- пролиферативные
- антипролиферативные

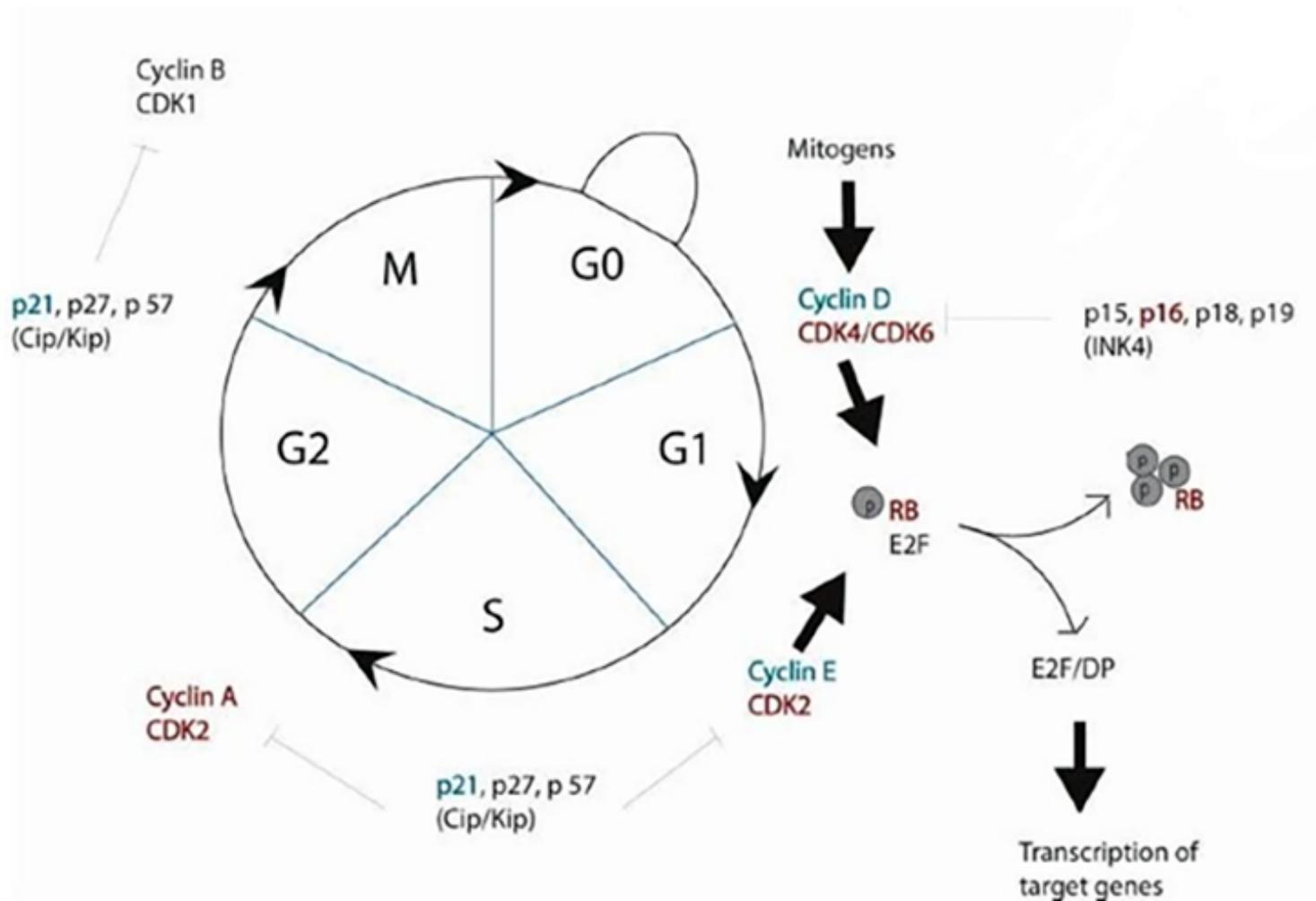


Схема клеточного цикла и регуляторных молекул

Признаки злокачественной трансформации



Использованные и рекомендуемые ссылки

<https://biomolecula.ru/articles/tsikliny-i-ikh-pomoshchniki-regulatory-kletochnogo-tsikla>

<https://cellandbioscience.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13578-023-00988-7>

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)30643-8/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)30643-8/fulltext)

<https://biomolecula.ru/articles/apoptoz-ili-put-samuraia>

<https://biomolecula.ru/articles/zaraznyi-rak-pravilo-ili-iskliuchenie>

<https://biomolecula.ru/articles/zhizn-spustia-24-000-let-v-vechnoi-merzlote-vozmozhna>