



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ II**

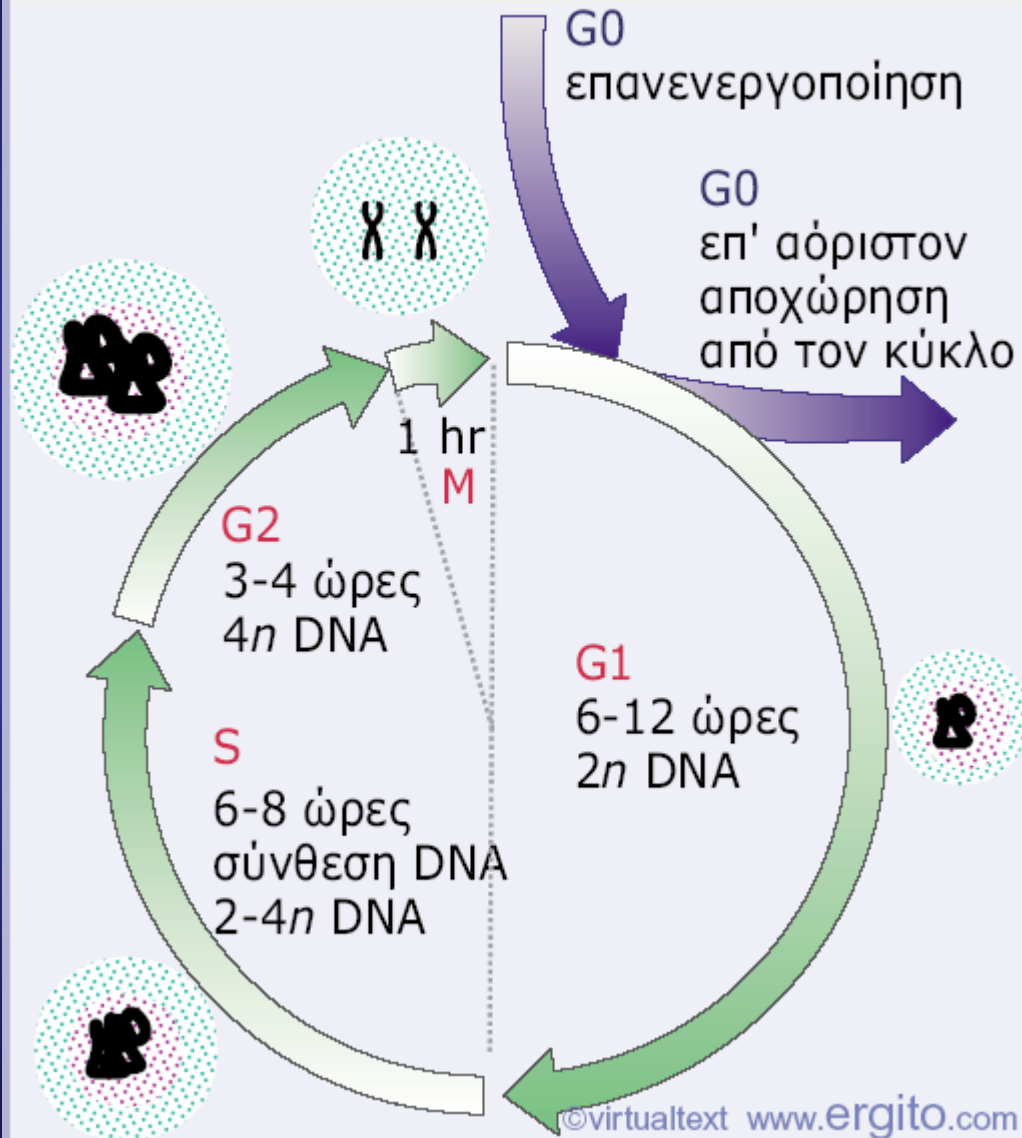
**Δρ. Α. ΓΑΛΑΝΗΣ**  
**agalanis@mbg.duth.gr**

## Κεφάλαιο 29

# Κυτταρικός κύκλος και ρύθμιση της αύξησης

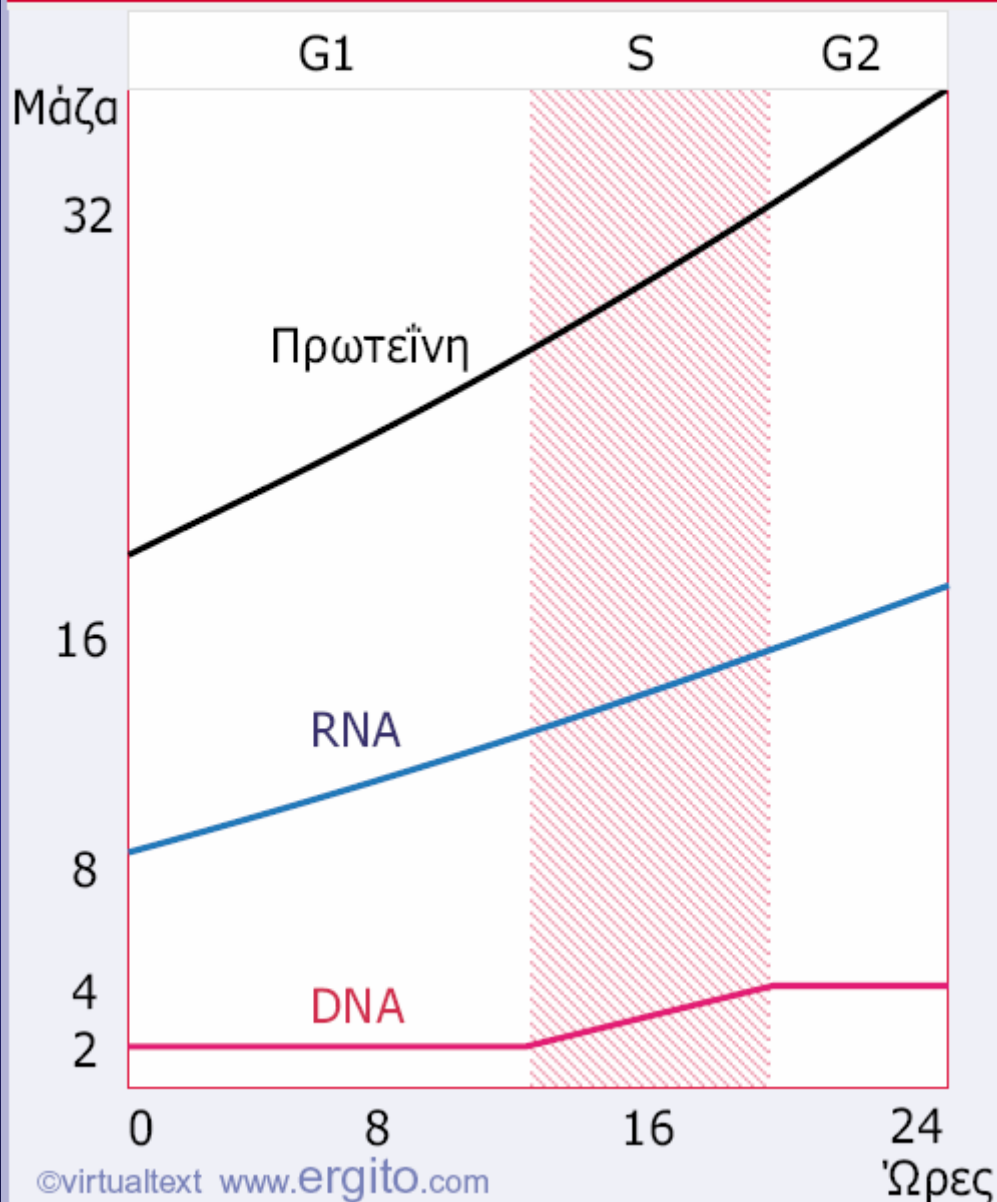
- 29.1 Εισαγωγή
- 29.2 Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου ρυθμίζεται από διακριτά σημεία ελέγχου
- 29.3 Σημεία ελέγχου υπάρχουν καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου
- 29.4 Οι επαγωγείς του κυτταρικού κύκλου ταυτοποιήθηκαν με πειράματα κυτταρικής σύντηξης
- 29.5 Η κινάση της φάσης M ρυθμίζει την είσοδο στη μίτωση
- 29.6 Η κινάση της φάσης M είναι ένα διμερές μιας καταλυτικής υπομονάδας και μιας κυκλίνης
- 29.7 Η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση των πρωτεϊνών ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο
- 29.8 Πολλοί ρυθμιστικοί παράγοντες του κυτταρικού κύκλου έχουν ταυτοποιηθεί με πειράματα γενετικής σάρωσης στη ζύμη
- 29.9 Η Cdc2 είναι ο κεντρικός ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου στους ζυμομύκητες
- 29.10 Η Cdc2 είναι η μοναδική καταλυτική υπομονάδα των ενεργοποιητών του κυτταρικού κύκλου στον *S. pombe*
- 29.11 Η CDC28 δρα τόσο στην ENAPΞΗ όσο και στη μίτωση στον *S. cerevisiae*
- 29.12 Η ενεργότητα της Cdc2 ελέγχεται από κινάσες και φωσφατάσες
- 29.13 Βλάβες στο DNA πυροδοτούν ένα σημείο ελέγχου
- 29.14 Ο κυτταρικός κύκλος των ζώων ελέγχεται από πολλαπλά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης
- 29.15 Η διαθεσιμότητα των κυκλινών και η φωσφορυλίωση των cdk ελέγχουν το σχηματισμό και την ενεργότητα των διμερών
- 29.16 Η πρωτεΐνη RB είναι ένα κύριο υπόστρωμα για τα σύμπλοκα cdk-κυκλίνης
- 29.17 Στις μεταπτώσεις G0/G1 και G1/S εμπλέκονται αναστολείς των cdk
- 29.18 Η αποικοδόμηση ορισμένων πρωτεϊνών παίζει σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στη μίτωση
- 29.19 Οι κοχεσίνες συγκρατούν μαζί τις αδελφές χρωματίδες
- 29.20 Η έξοδος από τη μίτωση ελέγχεται από τον εντοπισμό της Cdc14
- 29.21 Κατά τη μίτωση σχηματίζεται η άτρακτος
- 29.22 Η άτρακτος προσανατολίζεται από τα κεντροσωμάτια
- 29.23 Μια μονομερής πρωτεΐνη G ελέγχει τη συναρμολόγηση της ατράκτου
- 29.24 Τα θυγατρικά κύτταρα διαχωρίζονται μέσω της κυτταροκίνησης
- 29.25 Η απόπτωση είναι μια δυνατότητα πολλών ή όλων των κυττάρων
- 29.26 Ο υποδοχέας Fas πυροδοτεί ένα από τα μείζονα μονοπάτια της απόπτωσης
- 29.27 Ένα αποπτωτικό μονοπάτι λειτουργεί μέσω κασπασών
- 29.28 Η απόπτωση ενέχει αλλαγές στο μιτοχονδριακό φάκελο
- 29.29 Το κυτόχρωμα c ενεργοποιεί το επόμενο στάδιο της απόπτωσης
- 29.30 Υπάρχουν πολλά αποπτωτικά μονοπάτια
- 29.31 Περίληψη

## Ο κυτταρικός κύκλος περιλαμβάνει τις φάσεις G1, S, G2 και M



**Εικόνα 29.1** Περίληψη: η μεσόφαση διαιρείται στις περιόδους G1, S και G2. Ένας κυτταρικός κύκλος διαχωρίζεται από τον επόμενο με τη μίτωση (M). Τα κύτταρα μπορεί να αποσυρθούν από τον κυτταρικό κύκλο στην G0 ή να εισέλθουν ξανά σε αυτόν.

**Η αύξηση του κυττάρου είναι συνεχής,  
ενώ η αντιγραφή του DNA δεν είναι συνεχής**



**Εικόνα 29.2** Μέσα στο κύτταρο, το RNA και οι πρωτεΐνες συντίθενται διαρκώς, αλλά η σύνθεση του DNA συμβαίνει μόνο στη διακριτή περίοδο της φάσης S. Οι μονάδες της μάζας που παρουσιάζονται είναι αυθαίρετες.

Ο κυτταρικός κύκλος: Ο κύκλος πολλαπλασιασμού και διαίρεσης του κυττάρου.

Στον ενήλικο άνθρωπο τα μυϊκά και τα νευρικά κύτταρα δεν διαιρούνται καθόλου, τα ηπατοκύτταρα διαιρούνται μια φορά τον χρόνο και τα επιθηλιακά του βλεννογόνου του εντέρου πάνω από μια φορά την ημέρα.

### Τρία σημαντικά ερωτήματα

1. Με ποιόν τρόπο τα κύτταρα διπλασιάζουν το περιεχόμενό τους;
2. Πώς κατανέμουν τα διπλασιασμένα συστατικά τους και τα μοιράζουν στα δύο;
3. Πώς συντονίζουν όλες τις απαραίτητες δραστηριότητες για τις δύο προηγούμενες διεργασίες;

# Κεφάλαιο 13

## Το ρεπλικόνιο

- |       |  |       |  |
|-------|--|-------|--|
| 13.1  | Εισαγωγή   |       | DNA  |
| 13.2  | Τα ρεπλικόνια μπορεί να είναι γραμμικά ή κυκλικά   | 13.14 | Η αντιγραφή συνδέεται με τον κυτταρικό κύκλο   |
| 13.3  | Οι θέσεις έναρξης της αντιγραφής είναι δυνατό να χαρτογραφηθούν με αυτοραδιογραφία ή ηλεκτροφόρηση               | 13.15 | Το διάφραγμα διαιρεί ένα βακτήριο σε δύο απογόνους που ο καθένας περιέχει ένα χρωμόσωμα        |
| 13.4  | Το βακτηριακό γονιδίωμα είναι ένα ενιαίο κυκλικό ρεπλικόνιο  | 13.16 | Οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν τη διαίρεση ή το διαχωρισμό επηρεάζουν και το σχήμα του κυττάρου |
| 13.5  | Κάθε ευκαρυωτικό χρωμόσωμα φέρει πολλά ρεπλικόνια  | 13.17 | Η FtsZ είναι απαραίτητη για το σχηματισμό του διαφράγματος                                     |
| 13.6  | Θέσεις έναρξης της αντιγραφής μπορούν να απομονωθούν από τις ζύμες   | 13.18 | Τα γονίδια <i>mitM</i> ρυθμίζουν τη θέση του διαφράγματος                                      |
| 13.7  | Οι βρόχοι D περιλαμβάνουν τις μιτοχονδριακές θέσεις έναρξης της αντιγραφής                                       | 13.19 | Ο διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων ενδεχομένως απαιτεί ανασυνδυασμό ειδικής θέσης                  |
| 13.8  | Τα άκρα του γραμμικού DNA θέτουν ένα πρόβλημα για την αντιγραφή  | 13.20 | Ο διαχωρισμός σχετίζεται με το μοίρασμα των χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα                 |
| 13.9  | Οι τερματικές πρωτεΐνες καθιστούν δυνατή την έναρξη στα άκρα του DNA των ιών                                     | 13.21 | Τα πλασμίδια μονού αντιγράφου χρησιμοποιούν ένα μηχανισμό διαχωρισμού                          |
| 13.10 | Η αντιγραφή με το μηχανισμό του κυλιόμενου κύκλου οδηγεί στην παραγωγή πολυμερισμένων αντιγράφων του ρεπλικονίου | 13.22 | Η πλασμιδιακή ασυμβατότητα καθορίζεται από το ρεπλικόνιο                                       |
| 13.11 | Ο μηχανισμός του κυλιόμενου κύκλου χρησιμοποιείται για την αντιγραφή του γονιδιώματος των φάγων                  | 13.23 | Το σύστημα συμβατότητας ColE1 ελέγχεται από ένα ρυθμιστή RNA                                   |
| 13.12 | Το πλασμίδιο F μεταφέρεται μεταξύ βακτηρίων με σύζευξη   | 13.24 | Πώς επιτυγχάνεται η αντιγραφή και ο διαχωρισμός στα μιτοχόνδρια;                               |
| 13.13 | Κατά τη σύζευξη μεταφέρεται μονόκλωνο  | 13.25 | Περίληψη   |

# Κεφάλαιο 14

## Η αντιγραφή του DNA

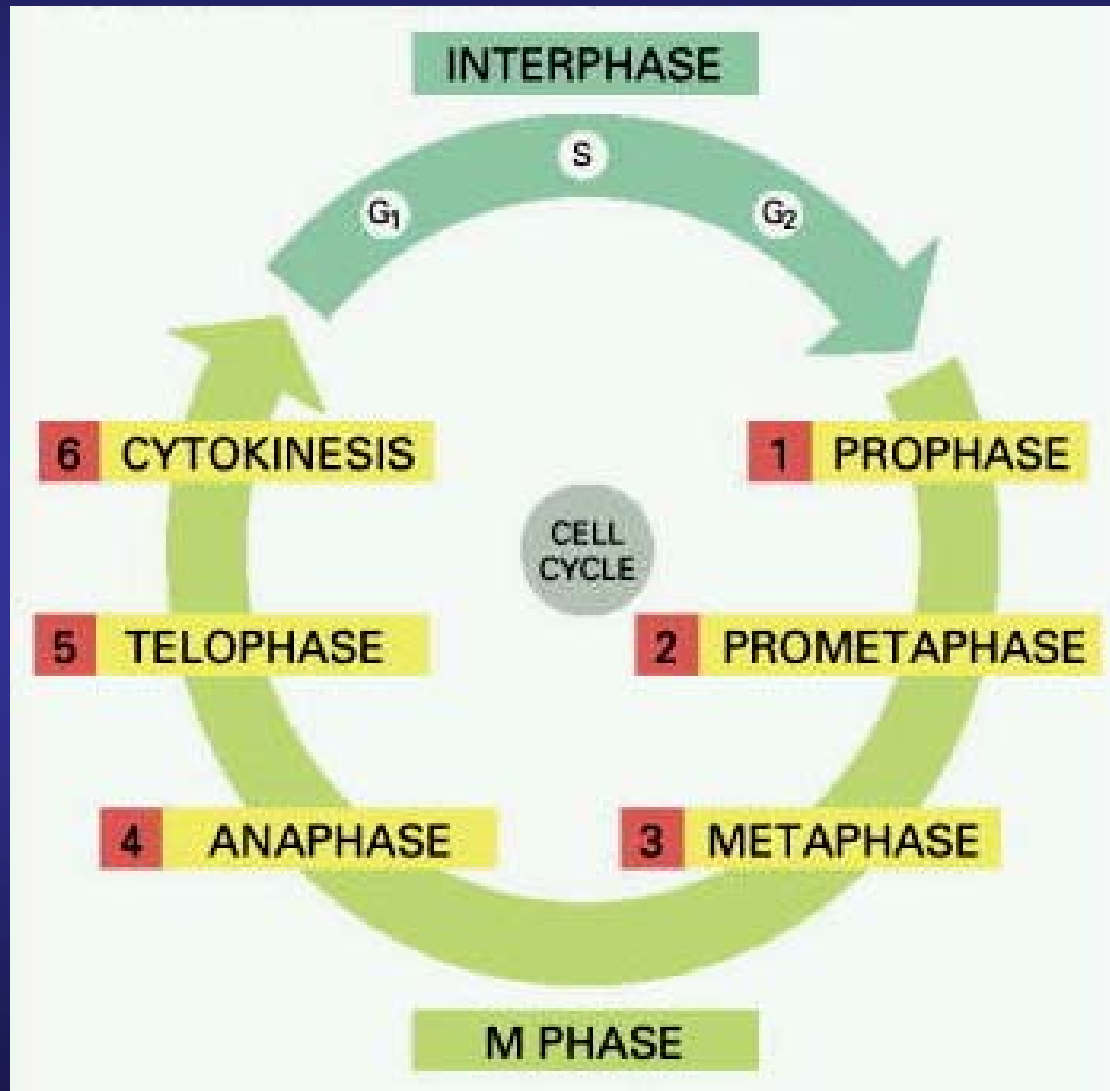
- 14.1 Εισαγωγή
- 14.2 Οι DNA πολυμεράσες είναι ένζυμα που συνδέτουν DNA
- 14.3 Οι DNA πολυμεράσες έχουν διάφορες νουκλεολυτικές ενεργότητες
- 14.4 Οι DNA πολυμεράσες ελέγχουν την πιστότητα της αντιγραφής
- 14.5 Οι DNA πολυμεράσες έχουν κοινή δομή
- 14.6 Η σύνδεση του DNA είναι ημισυνεχής
- 14.7 Το σύστημα-μοντέλο του φάγου φΧ δείχνει πώς δημιουργείται το μονόκλωνο DNA για την αντιγραφή
- 14.8 Για να ξεκινήσει η σύνδεση του DNA, απαιτείται εκκινήτης
- 14.9 Η σύνδεση του καθυστερημένου και του προπορευόμενου κλώνου γίνεται συντονισμένα
- 14.10 Το ολοένζυμο της DNA πολυμεράσης περιλαμβάνει τρία υπο-σύμπλοκα
- 14.11 Ο συνδετήρας ελέγχει τη σύνδεση του καταλυτικού πυρήνα του ενζύμου με το DNA
- 14.12 Η λιγάση συνδέει τα τμήματα Okazaki
- 14.13 Η έναρξη και η επιμήκυνση επιτελούνται από διαφορετικές ευκαρυωτικές DNA πολυμεράσες
- 14.14 Ο φάγος T4 διαθέτει τη δική του συσκευή αντιγραφής
- 14.15 Πώς δημιουργείται η αντιγραφική δικάλα στη θέση έναρξης;
- 14.16 Τα κοινά στοιχεία των μηχανισμών εκκίνησης της αντιγραφής στη θέση έναρξης
- 14.17 Το πριμόσωμα χρειάζεται για την επανεκκίνηση της αντιγραφής
- 14.18 Επηρεάζει η μεθυλίωση στη θέση έναρξης τη ρύθμιση της αντιγραφής;
- 14.19 Οι θέσεις έναρξης καθίστανται μη προσβάσιμες μετά την αντιγραφή
- 14.20 Η αδρανοποίηση του παράγοντα αδειοδότησης εμποδίζει την επαναντιγραφή
- 14.21 Ο παράγοντας αδειοδότησης αποτελείται από πρωτεΐνες MCM
- 14.22 Περίληψη

## Τρία σημαντικά ερωτήματα

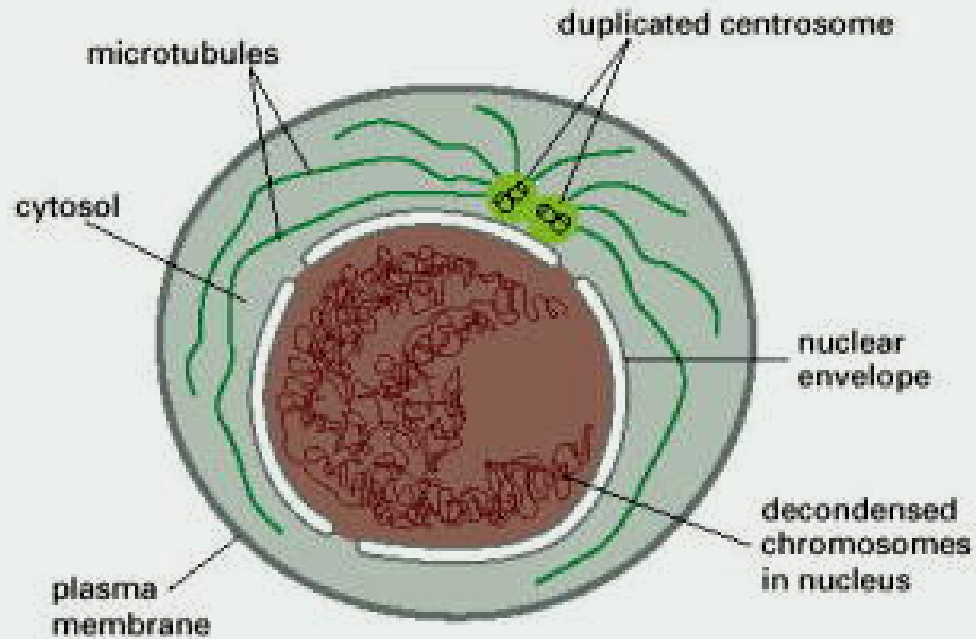
1. Με ποιόν τρόπο τα κύτταρα διπλασιάζουν το περιεχόμενό τους;
2. Πώς κατανέμουν τα διπλασιασμένα συστατικά τους και τα μοιράζουν στα δύο;
3. Πώς συντονίζουν όλες τις απαραίτητες δραστηριότητες για τις δύο προηγούμενες διεργασίες;



# Η κυτταρική διαίρεση και ο κυτταρικός κύκλος

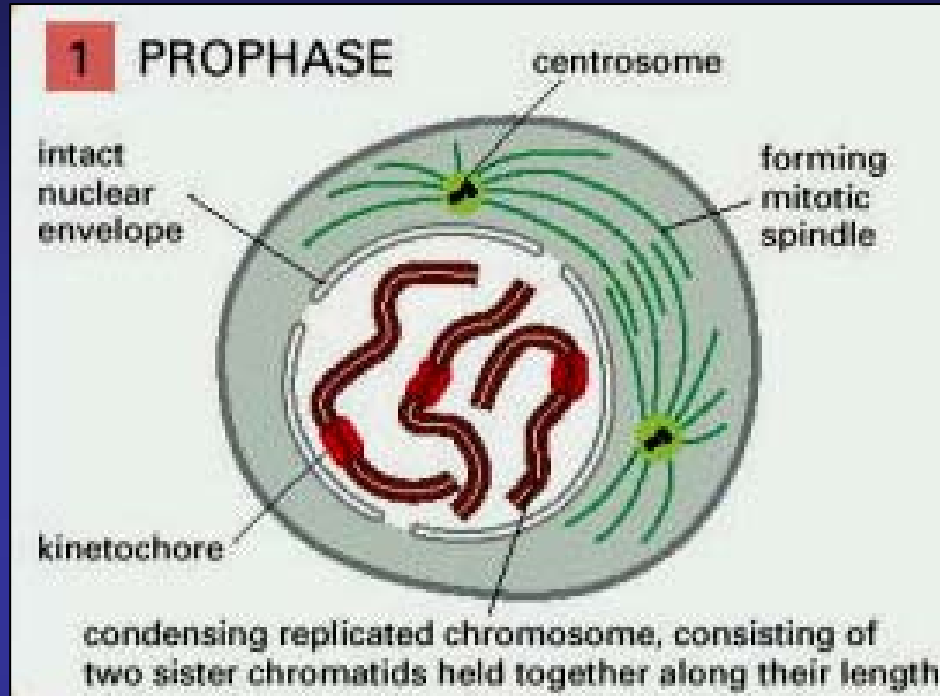


## INTERPHASE



During interphase, the cell increases in size. The DNA of the chromosomes is replicated, and the centrosome is duplicated.

Κατά τη μεσόφαση το κύτταρο αυξάνει σε μέγεθος. Το DNA των χρωμοσωμάτων αντιγράφεται και το κεντροσωμάτιο διπλασιάζεται.

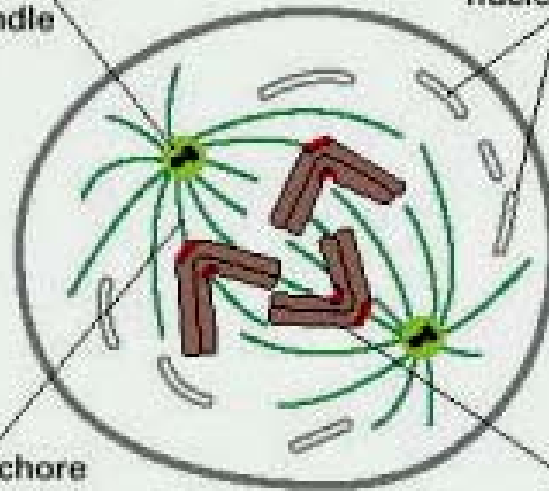


Κάθε διπλασιασμένο χρωμόσωμα που αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες συμπυκνώνεται. Έξω από τον πυρήνα, συναρμολογείται η μιτωτική άτρακτος ανάμεσα στα δύο κεντροσωμάτια που έχουν αντιγραφεί και απομακρυνθεί το ένα από το άλλο.

## 2 PROMETAPHASE

centrosome  
at spindle  
pole

fragments of  
nuclear envelope



kinetochore  
microtubule

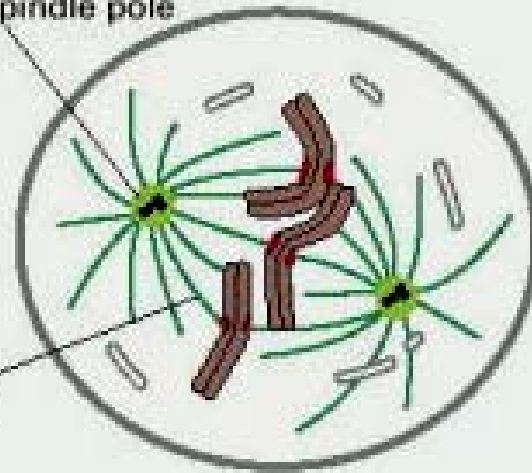
chromosome

Το πυρηνικό περίβλημα αποικοδομείται. Τα χρωμοσώματα μπορούν να προσδεθούν στους μικροσωληνίσκους της ατράκτου μέσω των κινητοχώρων τους και να μετακινηθούν.

### 3 METAPHASE

centrosome at spindle pole

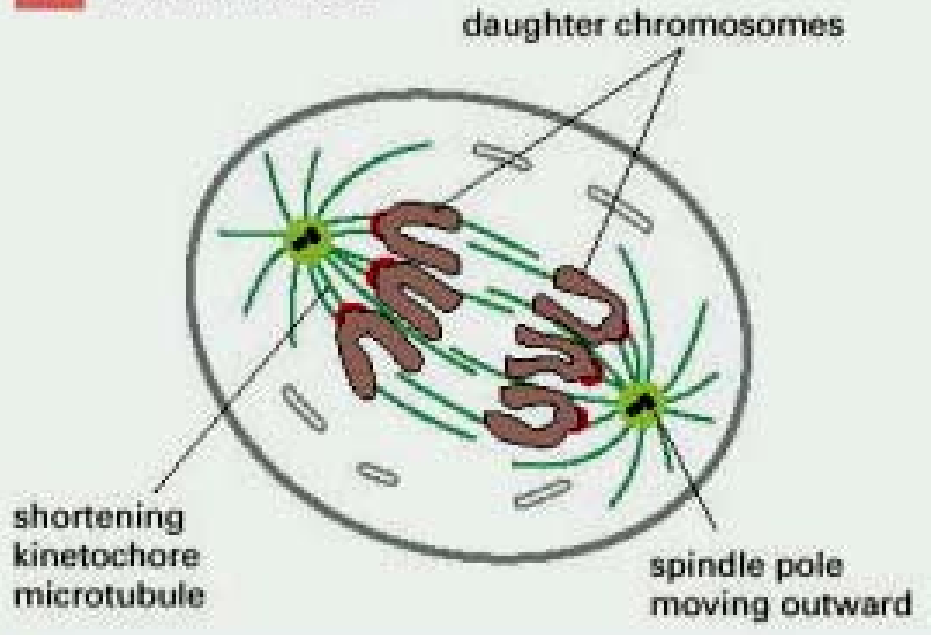
kinetochore  
microtubule



Τα χρωμοσώματα παρατάσσονται στον ισημερινό της ατράκτου, στο μέσον της απόστασης ανάμεσα στους πόλους της. Οι ζευγαρωμένοι μικροσωληνίσκοι των κινητοχώρων πάνω σε κάθε χρωμόσωμα συνάπτονται στους αντίθετους πόλους της ατράκτου.

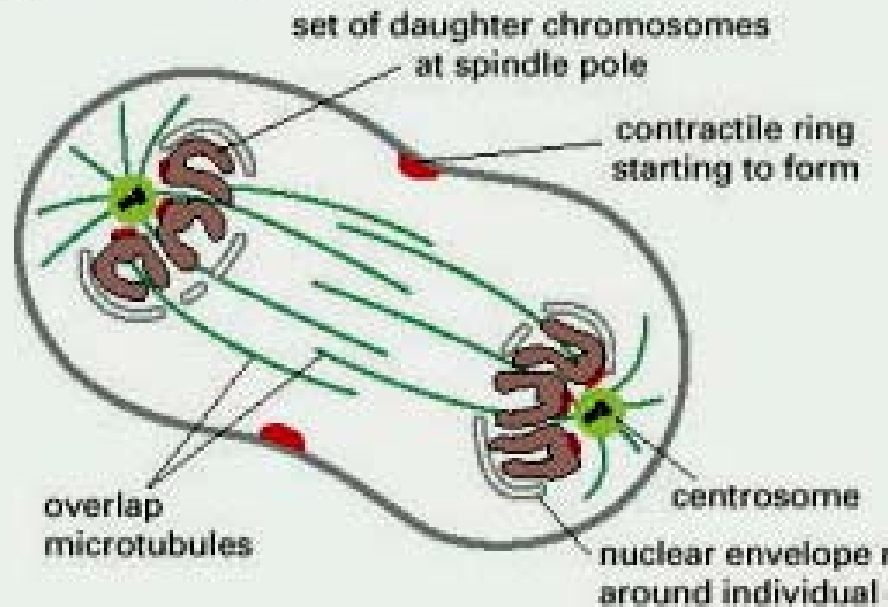
4

## ANAPHASE

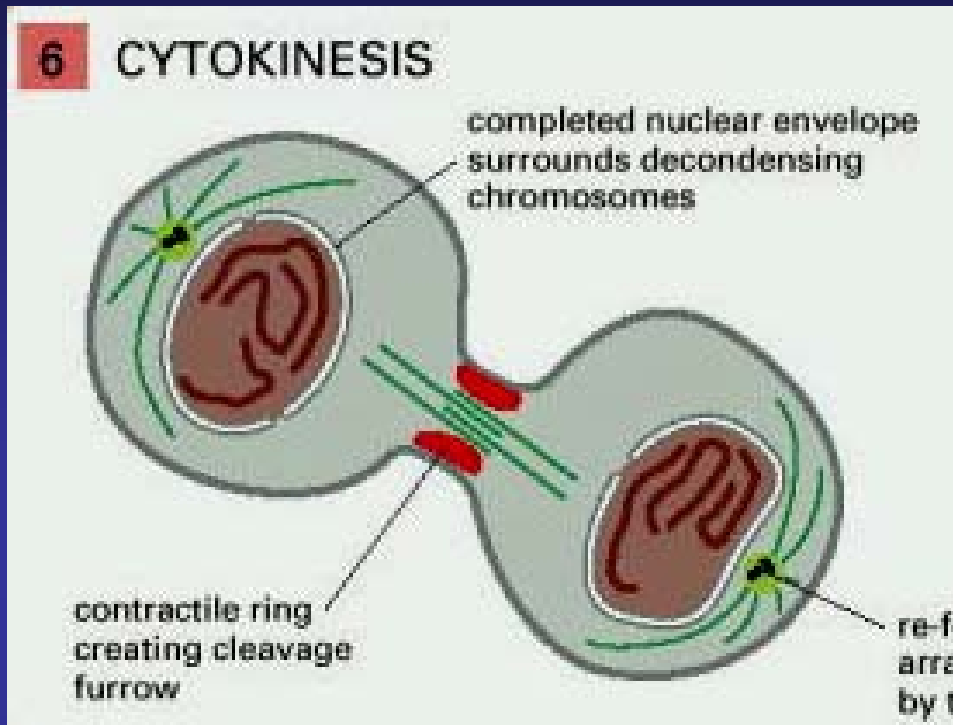


Οι ζευγαρωμένες χρωματίδες διαχωρίζονται συγχρονισμένα, έτσι ώστε να σχηματιστούν δύο θυγατρικά χρωμοσώματα. Κάθε χρωματίδη έλκεται αργά προς τον αντίστοιχο πόλο της ατράκτου. Οι μικροσωληνίσκοι των κινητοχώρων βραχύνονται και ταυτόχρονα οι πόλοι της ατράκτου απομακρύνονται ο ένας από τον άλλο. Οι δύο αυτές διεργασίες συμβάλλουν στο διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων.

## 5 TELOPHASE



Οι δυο ομάδες των θυγατρικών χρωμοσωμάτων φτάνουν στους πόλους της ατράκτου. Γύρω από την κάθε ομάδα ανασυναρμολογείται ένα νέο πυρηνικό περίβλημα και έτσι ολοκληρώνεται ο σχηματισμός των δύο πυρήνων και σηματοδοτείται το τέλος της μίτωσης. Η διαίρεση του κυτταροπλάσματος αρχίζει με τη συναρμολόγηση του συσταλτικού δακτυλίου.



Το κυτταρόπλασμα διαιρείται στα δύο από τον συσταλτικό δακτύλιο ακτίνης και μυοσίνης που περισφίγγει το κύτταρο για να δημιουργήσει δύο θυγατρικά κύτταρα, το καθένα με το δικό του πυρήνα.





time = 0 min



time = 79 min



time = 250 min



time = 279 min



time = 315 min

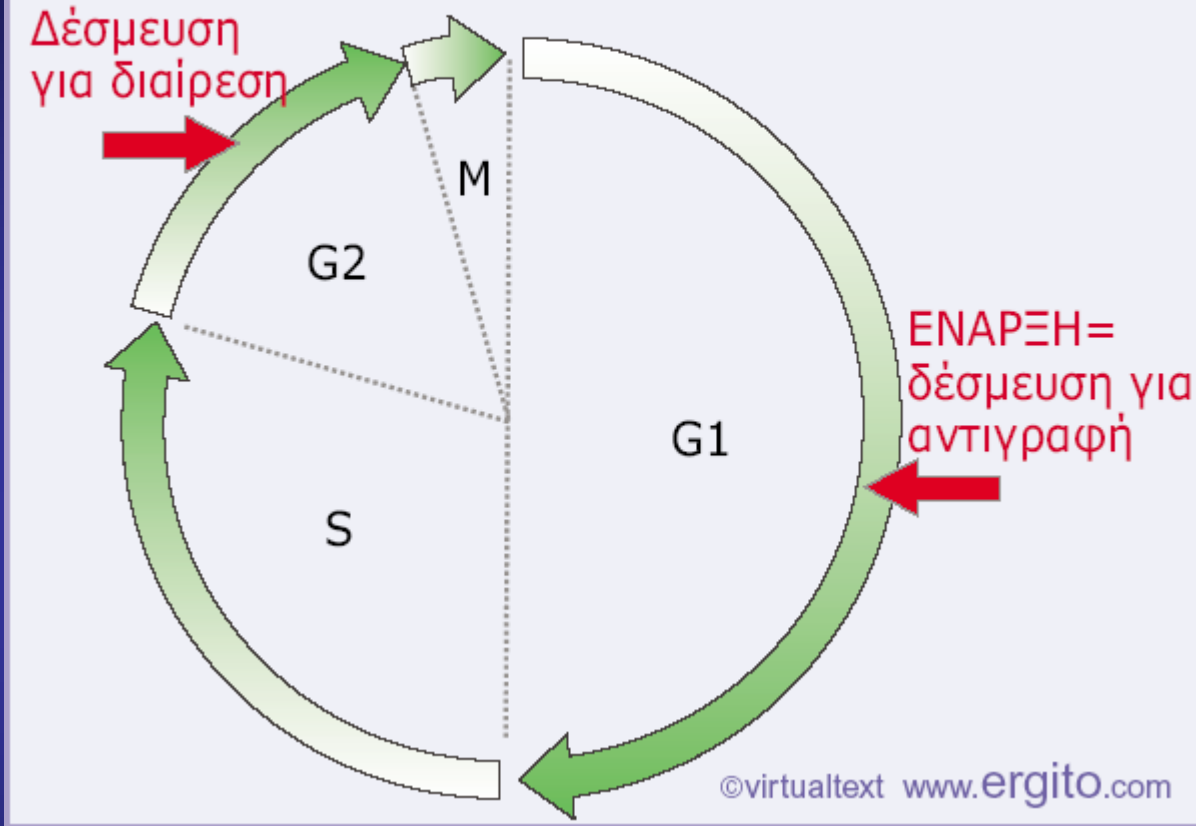


time = 362 min

## Τρία σημαντικά ερωτήματα

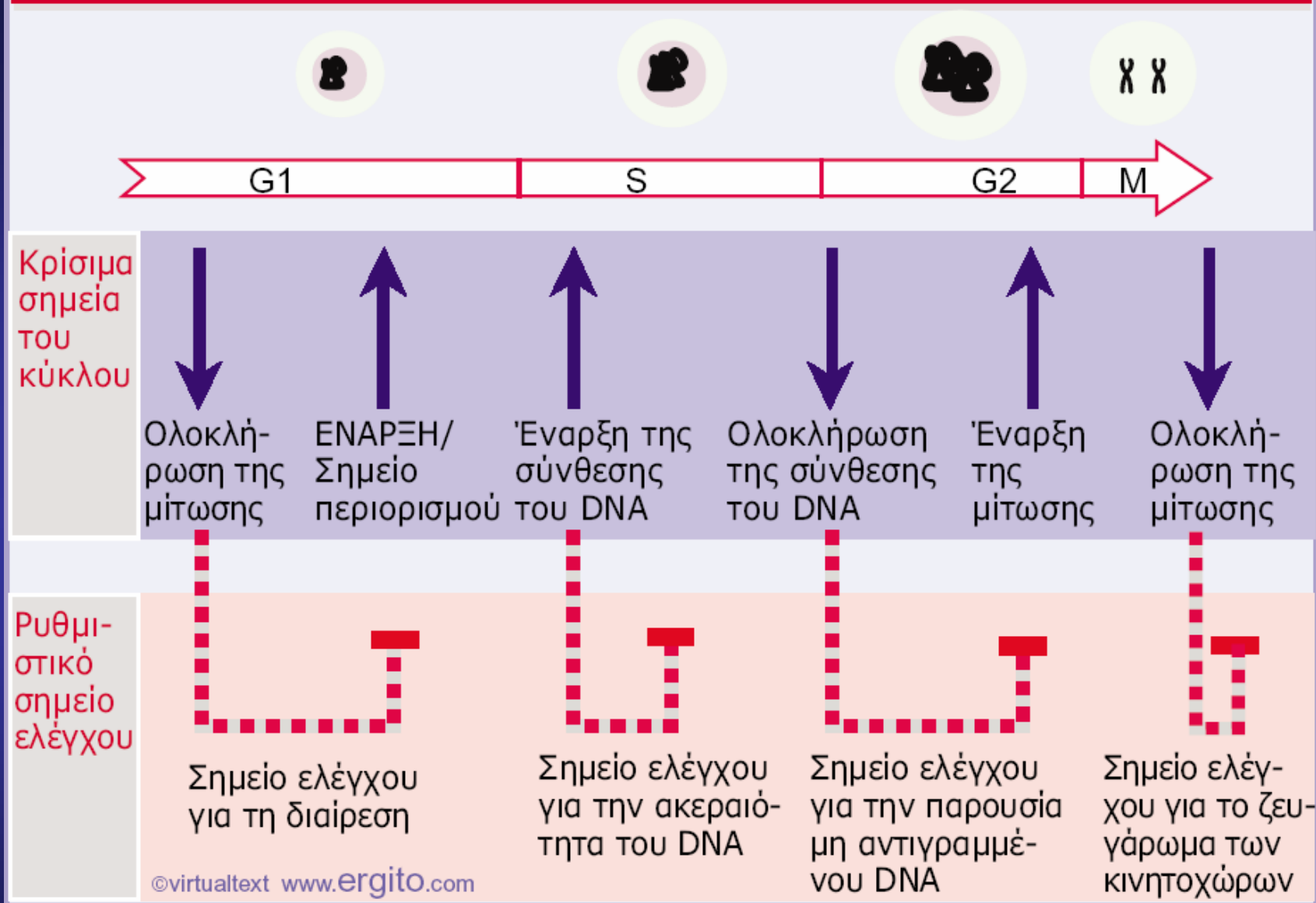
1. Με ποιόν τρόπο τα κύτταρα διπλασιάζουν το περιεχόμενό τους;
2. Πώς κατανέμουν τα διπλασιασμένα συστατικά τους και τα μοιράζουν στα δύο;
3. Πώς συντονίζουν όλες τις απαραίτητες δραστηριότητες για τις δύο προηγούμενες διεργασίες;

## Ένα κύτταρο δεσμεύεται να αντιγράψει το DNA του και να διαιρεθεί



**Εικόνα 29.3** Κατά τη φάση G1, το κύτταρο δεσμεύεται να προβεί σε αντιγραφή, ενώ κατά τη φάση G2 δεσμεύεται να προβεί σε διαίρεση.


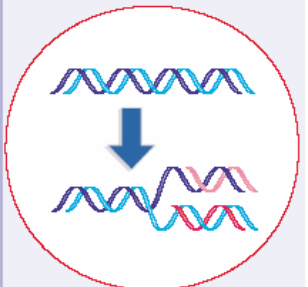
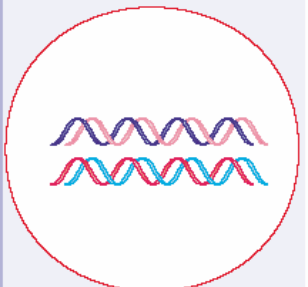
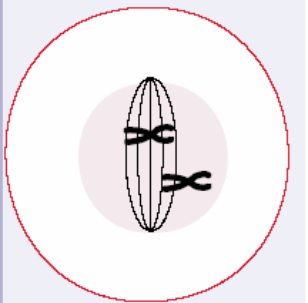
# Η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου βασίζεται στα σημεία ελέγχου



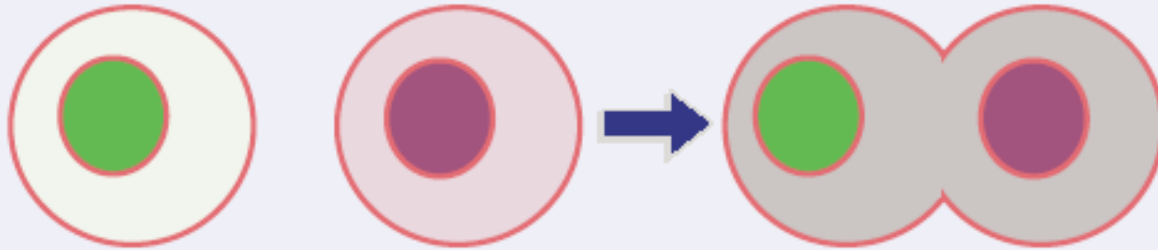
**Εικόνα 29.4** Η ικανότητα του κυττάρου να προχωρήσει στον κύκλο ρυθμίζεται από τα σημεία ελέγχου, στα οποία προσδιορίζεται κατά πόσο έχουν ολοκληρωθεί με επιτυχία τα προηγούμενα στάδια. Μια οριζόντια κόκκινη ράβδος επισημαίνει το στάδιο στο οποίο ένα σημείο ελέγχου εμποδίζει την πρόοδο του κύκλου.

**Ο κυτταρικός κύκλος  
έχει πολλά σημεία ελέγχου**

**Εικόνα 29.5** Τα σημεία ελέγχου μπορούν να διακόψουν τον κυτταρικό κύκλο σε πολλά σημεία, ως απόκριση σε ενδογενείς ή εξωγενείς συνθήκες.

	Στάση στη φάση	Αιτία
	G1	Βλάβη στο DNA
	S	Μη ολοκλήρωση της αντιγραφής
	G2	Βλάβη στο DNA
	Μίτωση	Μη προσδεδωμένος κινητοχώρος

## Τα ετεροκάρυα φέρουν δύο πυρήνες



Κύτταρο	Κύτταρο	Πυρήνας	Πυρήνας
Φάση S	× Φάση G1	Αντιγραφή	Αντιγραφή
Φάση S	× Φάση G2	Αντιγραφή	Αναμονή
Φάση M	× Μεσόφαση	Μίτωση	Μίτωση
Φάση G1	× Φάση G2	Μεσόφαση	Αναμονή

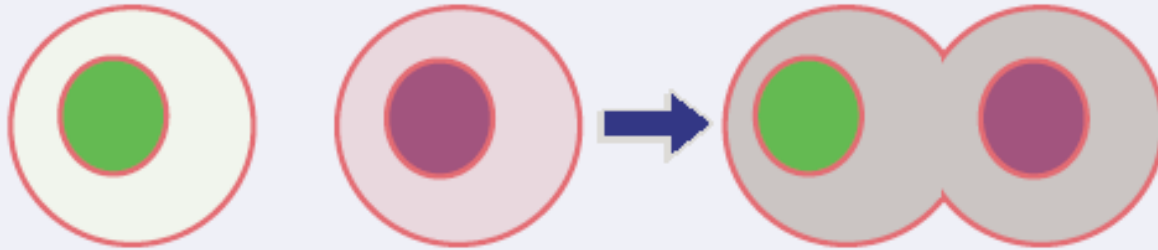
Ενεργοποιητής της S

Επαγωγέας της M

©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Εικόνα 29.6** Η συμπεριφορά των πυρήνων στα ετεροκάρυα, τα οποία δημιουργούνται με κυτταρικές συντήξεις, καθορίζεται από τη φάση του κυτταρικού κύκλου των κυττάρων που συγχωνεύθηκαν.

## Τα ετεροκάρυα φέρουν δύο πυρήνες



Κύτταρο	Κύτταρο	Πυρήνας	Πυρήνας
Φάση S	× Φάση G1	Αντιγραφή	Αντιγραφή
Φάση S	× Φάση G2	Αντιγραφή	Αναμονή
Φάση M	× Μεσόφαση	Μίτωση	Μίτωση
Φάση G1	× Φάση G2	Μεσόφαση	Αναμονή

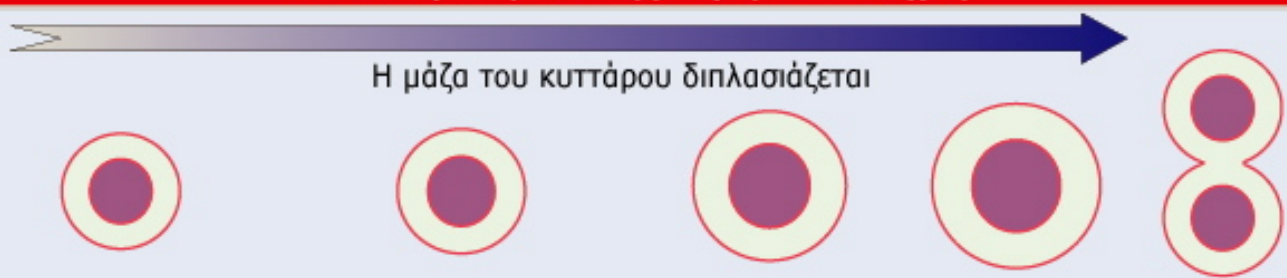
Ενεργοποιητής της S

Επαγωγέας της M

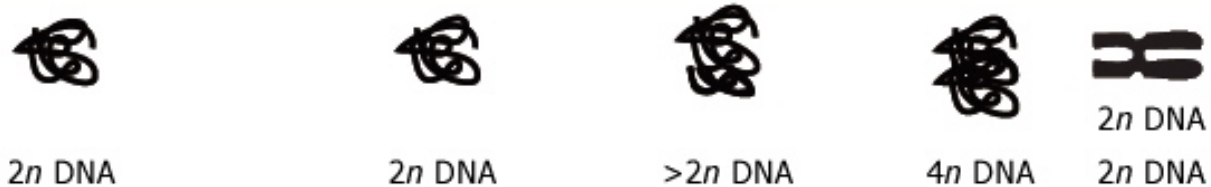
©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

Τόσο ο ενεργοποιητής της φάσης S, όσο και ο επαγωγέας της φάσης M εμφανίζονται μόνο παροδικά, εφόσον οι συντήξεις κυττάρων G1 και G2 δεν επάγουν αντιγραφή ή μίτωση σε κανέναν από τους δύο πυρήνες του ετεροκάρυου.

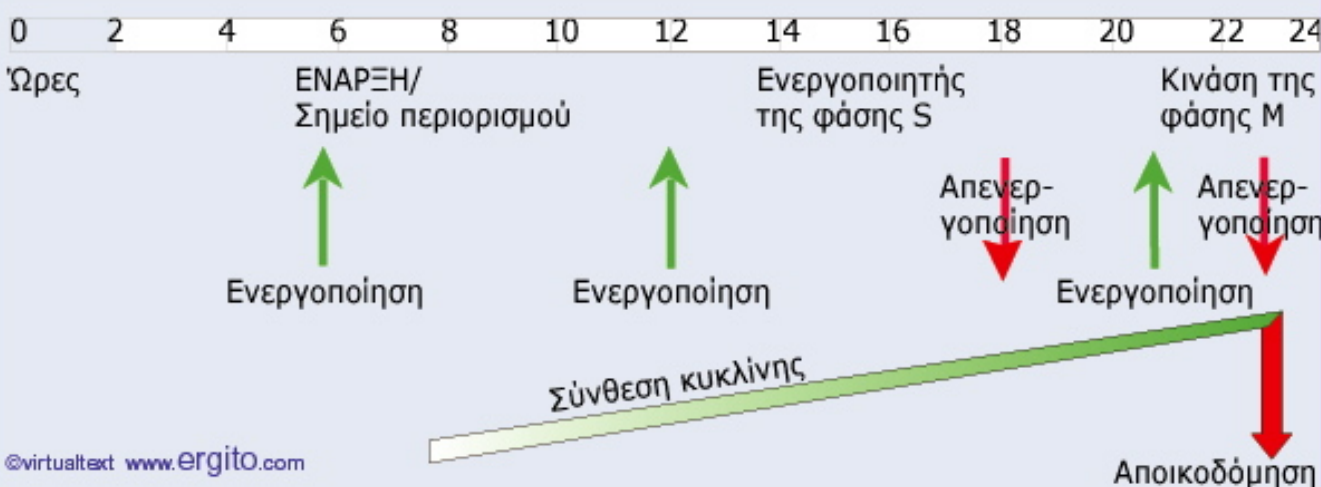
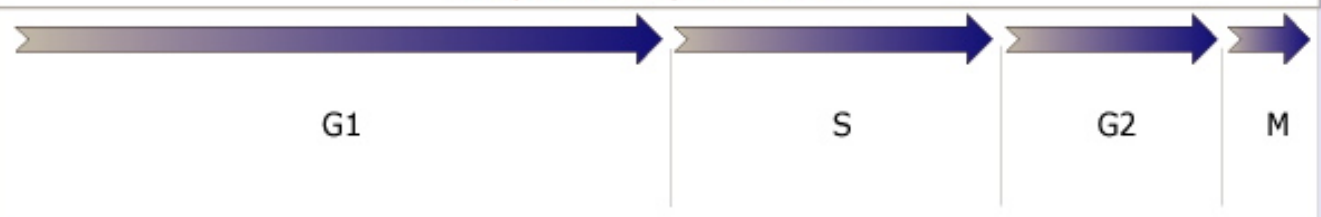
**Ο κυτταρικός κύκλος ρυθμίζεται συνεχώς**



**Κατάσταση της χρωματίνης και του DNA**



**Φάση του κυτταρικού κύκλου**



**Εικόνα 29.7** Οι φάσεις του κυτταρικού κύκλου ελέγχονται από διακριτά γεγονότα που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της G1, της φάσης S και της μίτωσης.



Ένα εντυπωσιακό γνώρισμα της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου είναι η ύπαρξη παρόμοιων ρυθμιστικών μορίων πιθανότατα σε όλα τα ευκαρυωτικά συστήματα. Μερικά από αυτά τα συστήματα έχουν κύκλους που επιφανειακά φαίνονται αρκετά διαφορετικοί από το φυσιολογικό κυτταρικό κύκλο ενός σωματικού κυττάρου. Έτσι, αν και η ανάπτυξη του ωαρίου του *Xenopus* χαρακτηρίζεται από πολύ γρήγορες διαιρέσεις, στις οποίες η φάση S εναλλάσσεται απευθείας με τη μίτωση, η είσοδος στη μίτωση ελέγχεται από την κινάση της φάσης M, τον ίδιο δηλαδή παράγοντα που ελέγχει τη μίτωση στα σωματικά κύτταρα. Οι ζυμομύκητες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί. Τα κύτταρα ορισμένων ειδών ζυμομυκήτων διαιρούνται με ασύμμετρη εκβλάστηση. Ωστόσο, τόσο ο έλεγχος της εισόδου στη φάση S όσο και η ρύθμιση της μίτωσης καθορίζονται από διαδικασίες παρόμοιες με εκείνες που χρησιμοποιούνται στο ωάριο του *Xenopus*. Ομόλογα γονίδια διαδραματίζουν συναφείς ρόλους σε οργανισμούς τόσο μακρινούς εξελικτικά όσο οι ζύμες, τα έντομα και τα θηλαστικά.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Το σημείο ΕΝΑΡΞΗΣ (START) στα κύτταρα των ζυμομυκήτων και το σημείο περιορισμού (restriction point) στα ζωικά κύτταρα ορίζουν κατά την G1 τη χρονική στιγμή όπου το κύτταρο δεσμεύεται να προβεί σε διαίρεση.
- ▶ Η ομαλή διαδοχή των φάσεων του κυτταρικού κύκλου πιστοποιείται σε σημεία ελέγχου (checkpoints), τα οποία παρεμποδίζουν τη μετάβαση στην επόμενη φάση του κύκλου, εάν δεν έχουν ολοκληρωθεί προηγούμενα απαραίτητα στάδια.
- ▶ Ο ενεργοποιητής της φάσης S είναι υπεύθυνος για την ικανότητα ενός πυρήνα σε φάση S να επάγει σε ένα ετεροκάρυο την έναρξη της αντιγραφής σε έναν πυρήνα G1.
- ▶ Ο επαγωγέας της φάσης M είναι υπεύθυνος για την ικανότητα ενός μιτωτικού κυττάρου να επάγει σε πειράματα κυτταρικής σύντηξης ψευδο-μίτωση σε ένα μεσοφασικό πυρήνα.
- ▶ Ο επαγωγέας της φάσης M δεν είναι άλλος από την ενεργοποιημένη κινάση της φάσης M, η οποία αποτελείται από μια καταλυτική υπομονάδα κινάσης και μια ρυθμιστική υπομονάδα κυκλίνης.

Στην ανώριμη μορφή του, το ωοκύτταρο (το προγονικό κύτταρο του μη γονιμοποιημένου ωαρίου) βρίσκεται σταματημένο στην πρώτη μειωτική διαίρεση. Η πλησιέστερη αντιστοιχία στο σωματικό κυτταρικό κύκλο είναι η G2. Όταν η ορμόνη προγεστερόνη άρει τη διακοπή, συμβαίνει ωορρηξία και το ωάριο συνεχίζει τη μείωση. Με την εναπόθεση του ωαρίου η μείωση διακόπτεται προς το τέλος του δεύτερου μειωτικού κύκλου, σε μια κατάσταση που αντιστοιχεί στη φάση M ενός σωματικού κυττάρου.

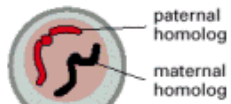


Ένα ώριμο ωάριο του  
βατράχου *Xenopus laevis*

MEIOTIC DIVISION I

MEIOTIC DIVISION II

MEIOSIS



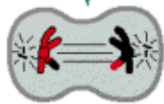
DNA REPLICATION



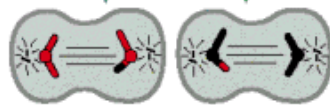
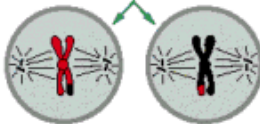
PAIRING OF DUPLICATED HOMOLOGOUS CHROMOSOMES



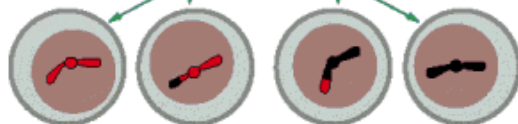
BIVALENTS LINE UP ON THE SPINDLE



CELL DIVISION I



CELL DIVISION II



gametes

MITOTIC CELL DIVISION



DNA REPLICATION



DUPLICATED CHROMOSOMES LINE UP INDIVIDUALLY ON THE SPINDLE

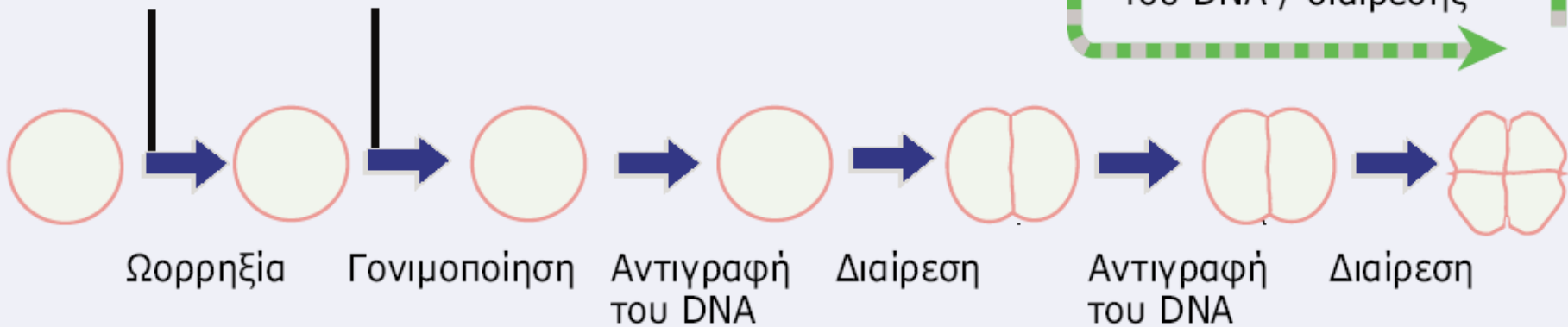


CELL DIVISION

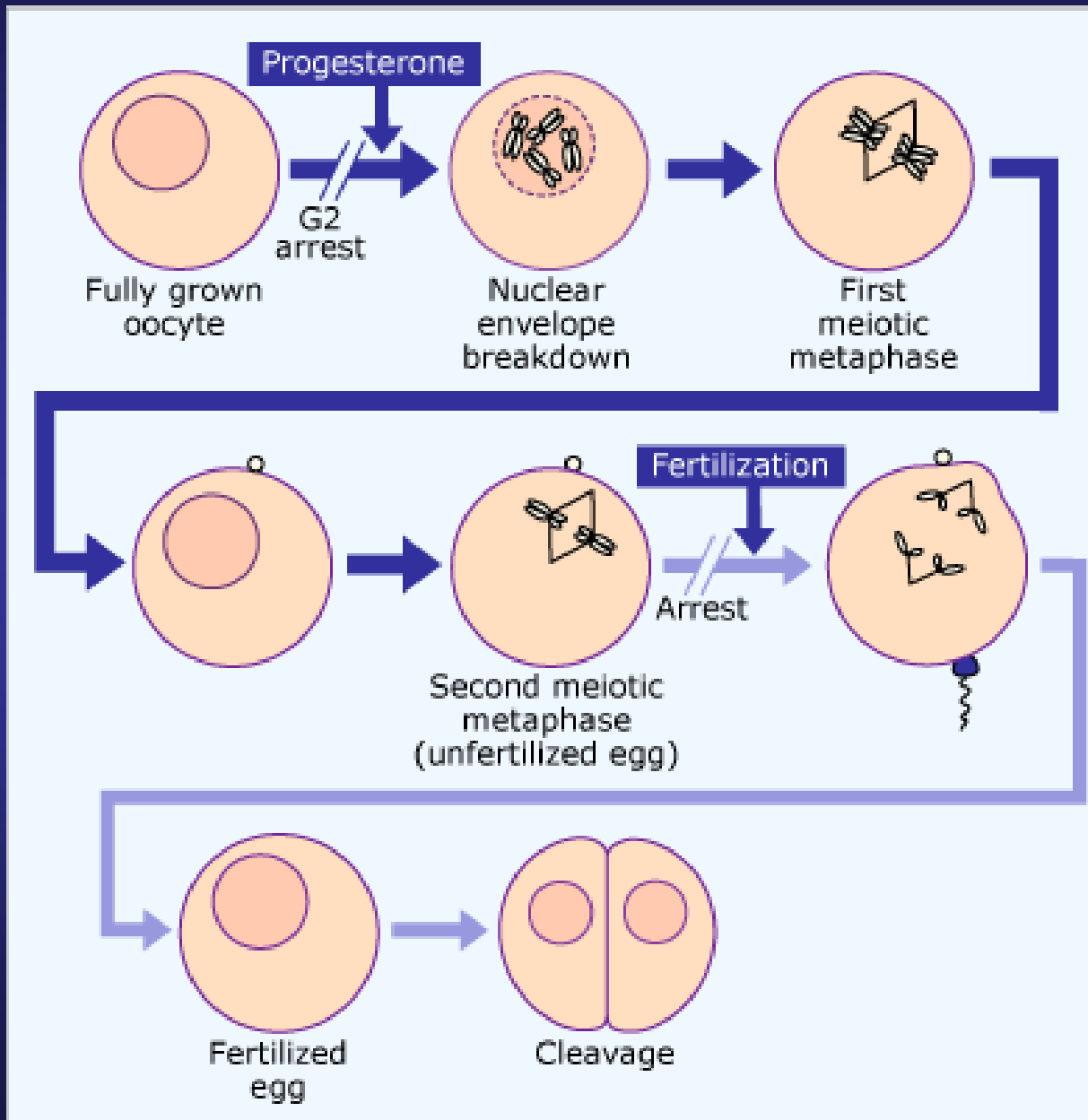


Σταματημένο  
ωοκύτταρο

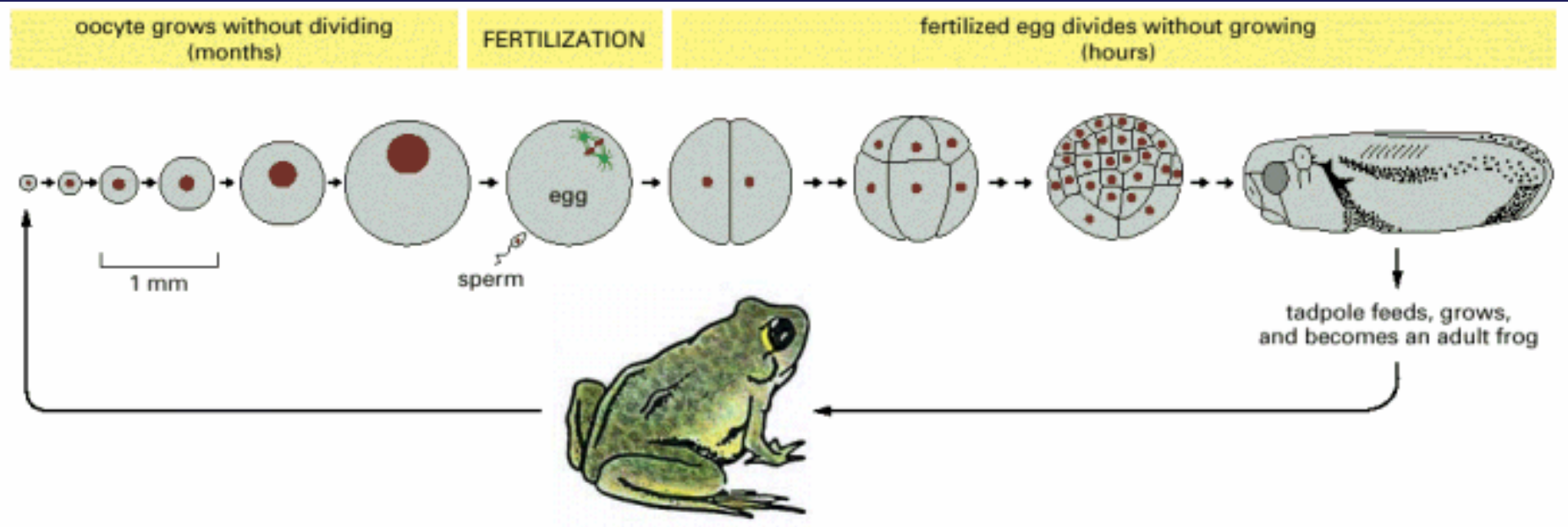
Σταματημένο  
ωάριο

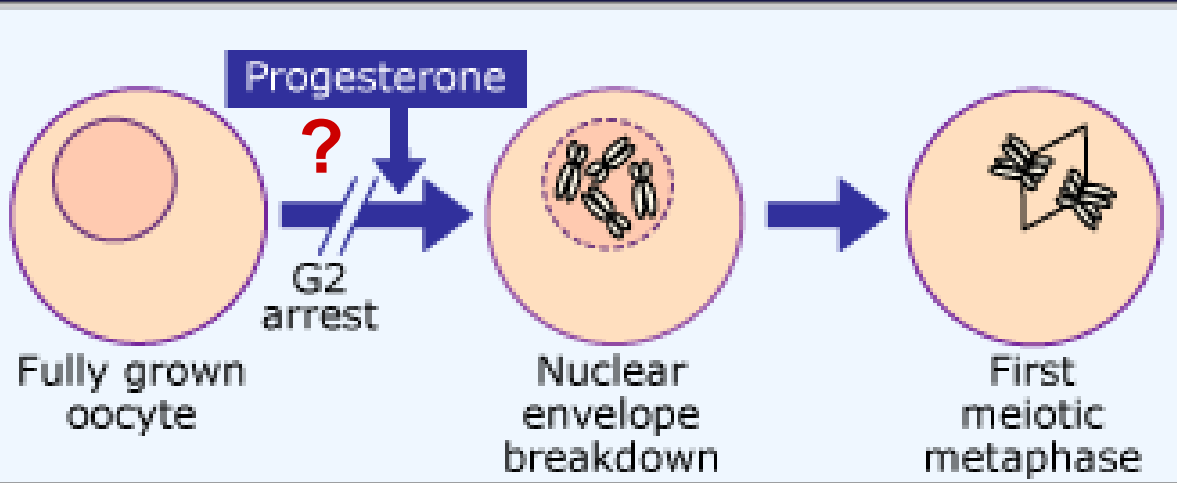


# Ωρίμανση του ωοκυττάρου, γονιμοποίηση του ωαρίου και το στάδιο της αυλάκωσης



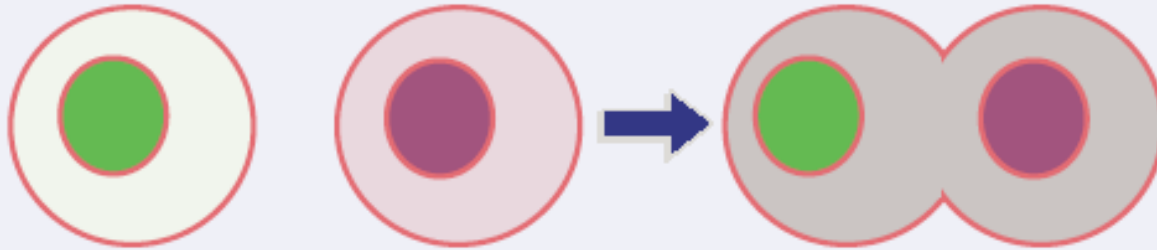
# Ωρίμανση του ωοκυττάρου, γονιμοποίηση του ωαρίου και το στάδιο της αυλάκωσης







## Τα ετεροκάρυα φέρουν δύο πυρήνες

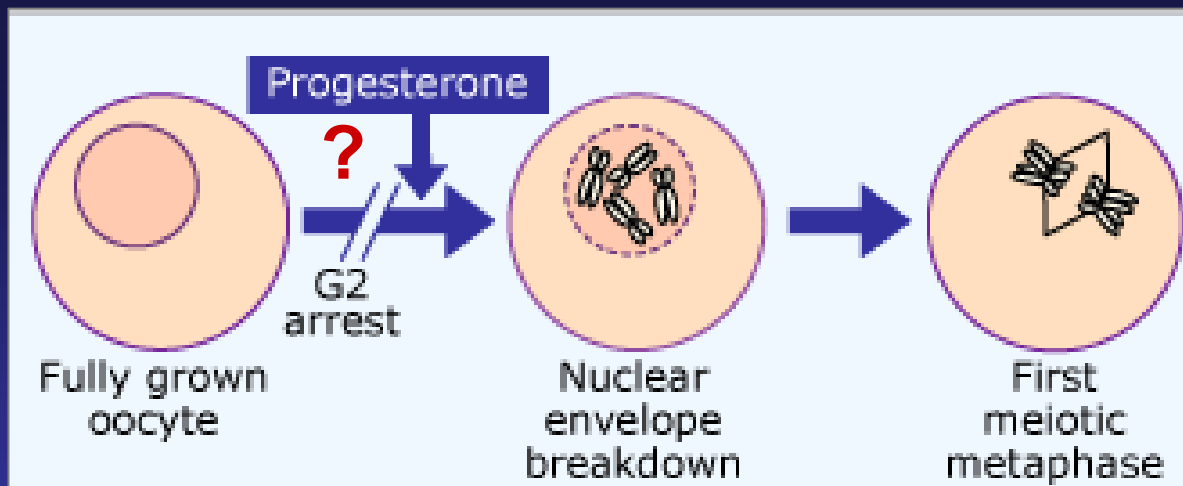


Κύτταρο	Κύτταρο	Πυρήνας	Πυρήνας
Φάση S	× Φάση G1	Αντιγραφή	Αντιγραφή
Φάση S	× Φάση G2	Αντιγραφή	Αναμονή
Φάση M	× Μεσόφαση	Μίτωση	Μίτωση
Φάση G1	× Φάση G2	Μεσόφαση	Αναμονή

Επαγωγέας της M

©virtualtext www.ergito.com

**Εικόνα 29.6** Η συμπεριφορά των πυρήνων στα ετεροκάρυα, τα οποία δημιουργούνται με κυτταρικές συντήξεις, καθορίζεται από τη φάση του κυτταρικού κύκλου των κυττάρων που συγχωνεύθηκαν.



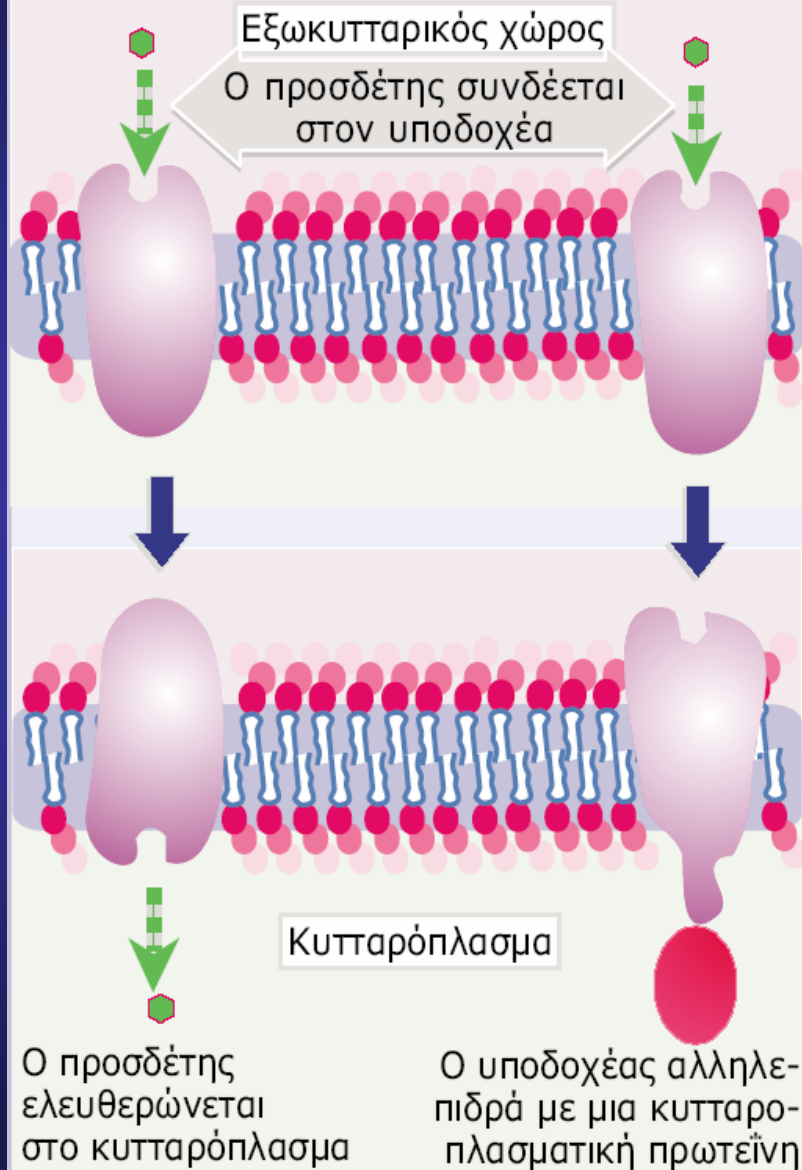
Για να βρεθεί πώς δρα η προγεστερόνη, η ορμόνη χορηγήθηκε αρχικά κατευθείαν σε σταματημένα ωοκύτταρα. Το αποτέλεσμα ήταν τα ωοκύτταρα να παραμείνουν σταματημένα.

Όταν όμως ίδιες ποσότητες της ορμόνης προστέθηκαν στο θρεπτικό μέσο τα κύτταρα άρχισαν να ωριμάζουν. Η ορμόνη δρούσε μόνο στην επιφάνεια των κυττάρων και δημιουργούσε ένα σήμα στο κυτταρόπλασμα το οποίο δρούσε στον πυρήνα και προκαλούσε την ωρίμανση.

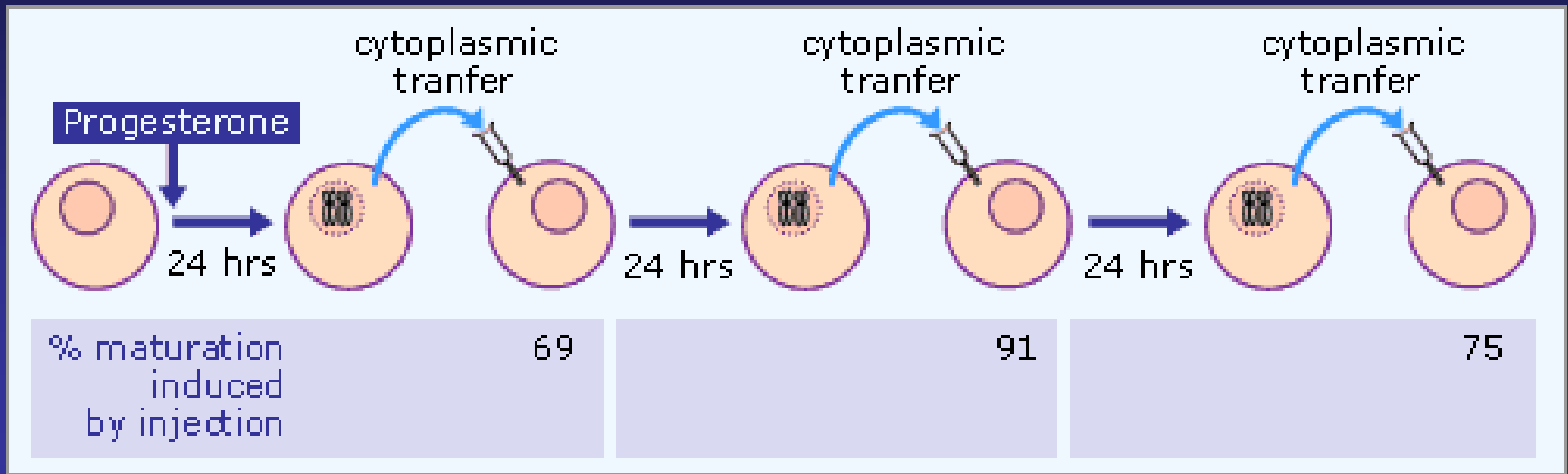
# Διαμέσου της μεμβράνης μεταφέρονται υλικά και σήματα

Εισαγωγή προσδέτη

Μεταγωγή σήματος



**Εικόνα 28.1** Ένα διακυτταρικό σήμα μπορεί να μεταδοθεί στο εσωτερικό ενός κυττάρου είτε με τη φυσική μεταφορά ενός προσδέτη είτε με μεταγωγή σήματος.



**Το κυτταρόπλασμα, από κύτταρα στα οποία είχε χορηγηθεί προγεστερόνη, απομονώθηκε και χορηγήθηκε σε νέα ωοκύτταρα. Αποτέλεσμα ήταν η ωρίμανση (είσοδος σε μείωση) των κυττάρων αυτών.**

# MPF

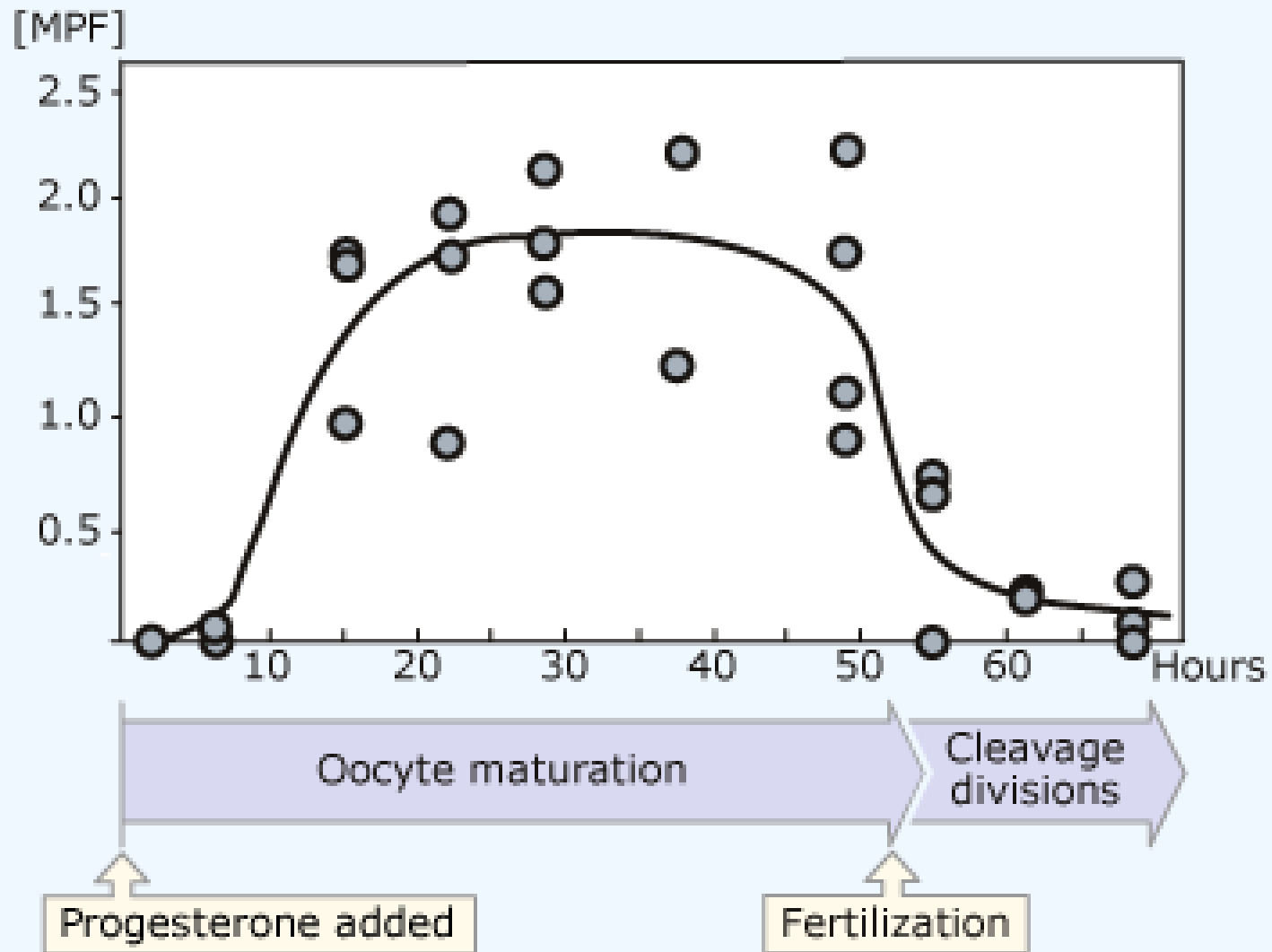
**Maturation Promoting Factor**  
(παράγοντας προώθησης της ωρίμανσης)

ή

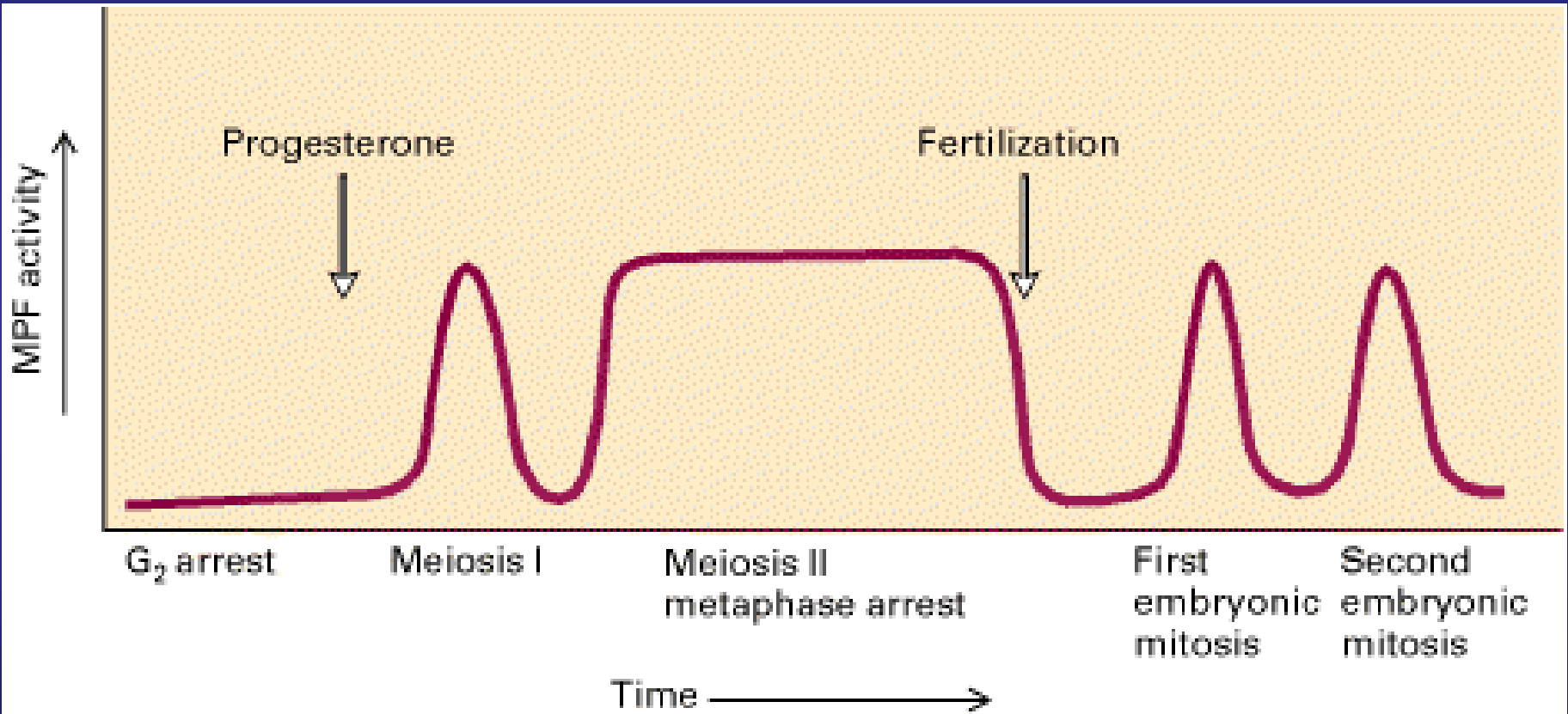
**M-phase Promoting Factor**  
(παράγοντας προώθησης της φάσης M)

(Masui *and* Markert, 1971)

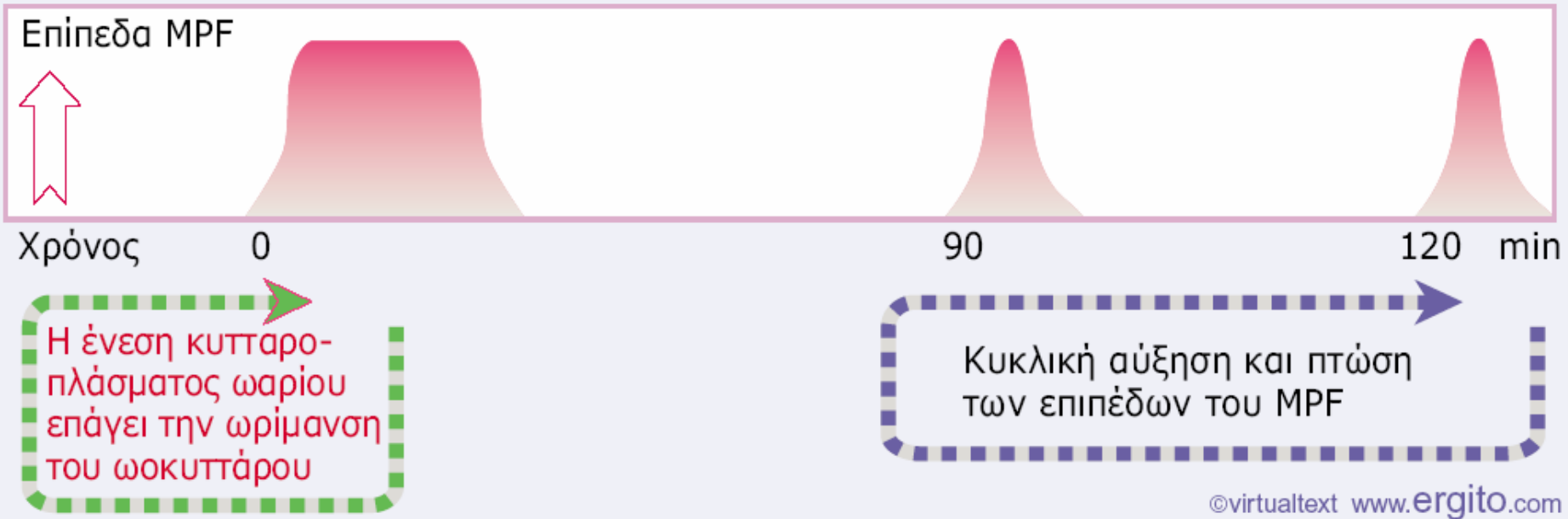
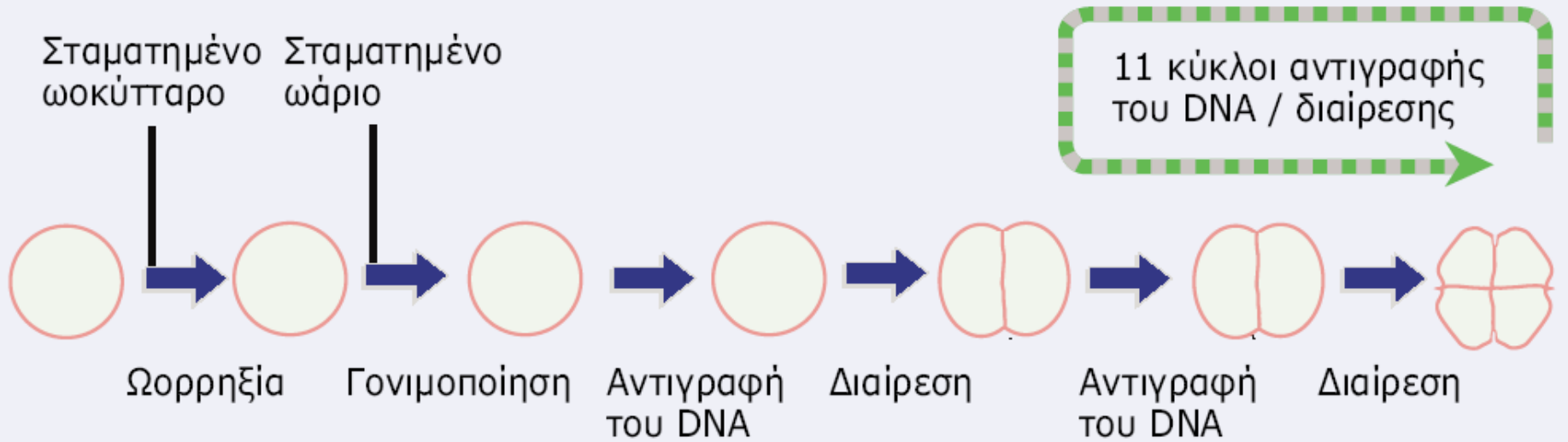
## Συγκέντρωση του MPF κατά την ωρίμανση των ωοκυττάρων



## Η διακύμανση της δραστηρότητας του MPF κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου σε έμβρυα *Xenopus*



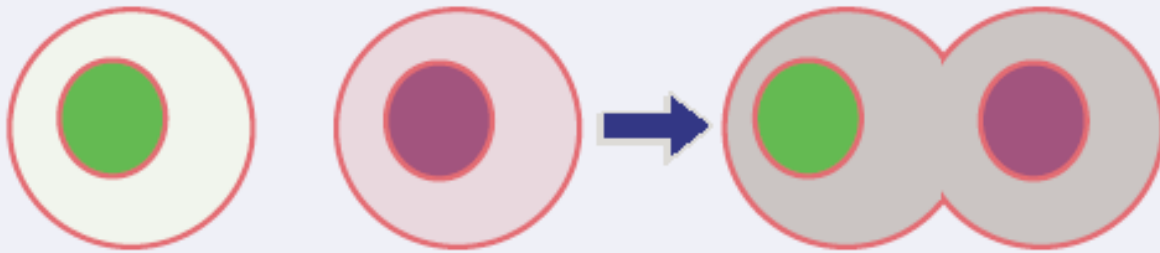
# Η αύξηση των επιπέδων του MPF επάγει την ωρίμανση των ωοκυττάρων



**Εικόνα 29.8** Ο MPF επάγει τη φάση M στην πρώιμη ανάπτυξη του *Xenopus*.



## Τα ετεροκάρυα φέρουν δύο πυρήνες



Κύτταρο	Κύτταρο	Πυρήνας	Πυρήνας
Φάση S	× Φάση G1	Αντιγραφή	Αντιγραφή
Φάση S	× Φάση G2	Αντιγραφή	Αναμονή
Φάση M	× Μεσόφαση	Μίτωση	Μίτωση
Φάση G1	× Φάση G2	Μεσόφαση	Αναμονή

Ενεργοποιητής της S

Επαγωγέας της M

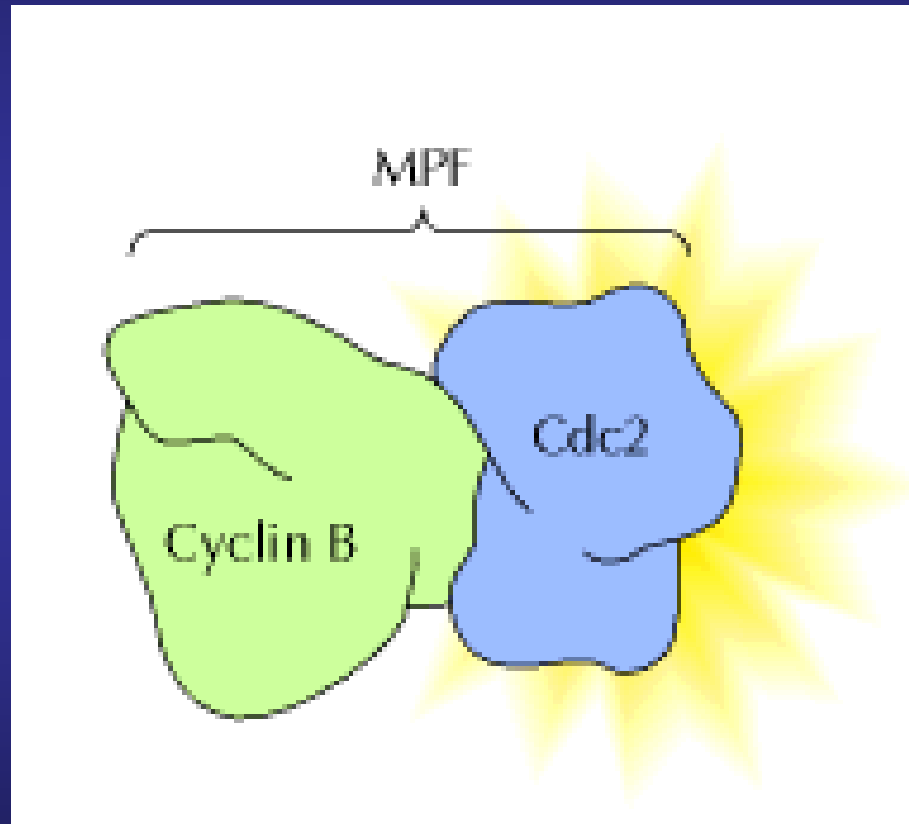
©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

Τόσο ο ενεργοποιητής της φάσης S, όσο και ο επαγωγέας της φάσης M εμφανίζονται μόνο παροδικά, εφόσον οι συντήξεις κυττάρων G1 και G2 δεν επάγουν αντιγραφή ή μίτωση σε κανέναν από τους δύο πυρήνες του ετεροκάρυου.

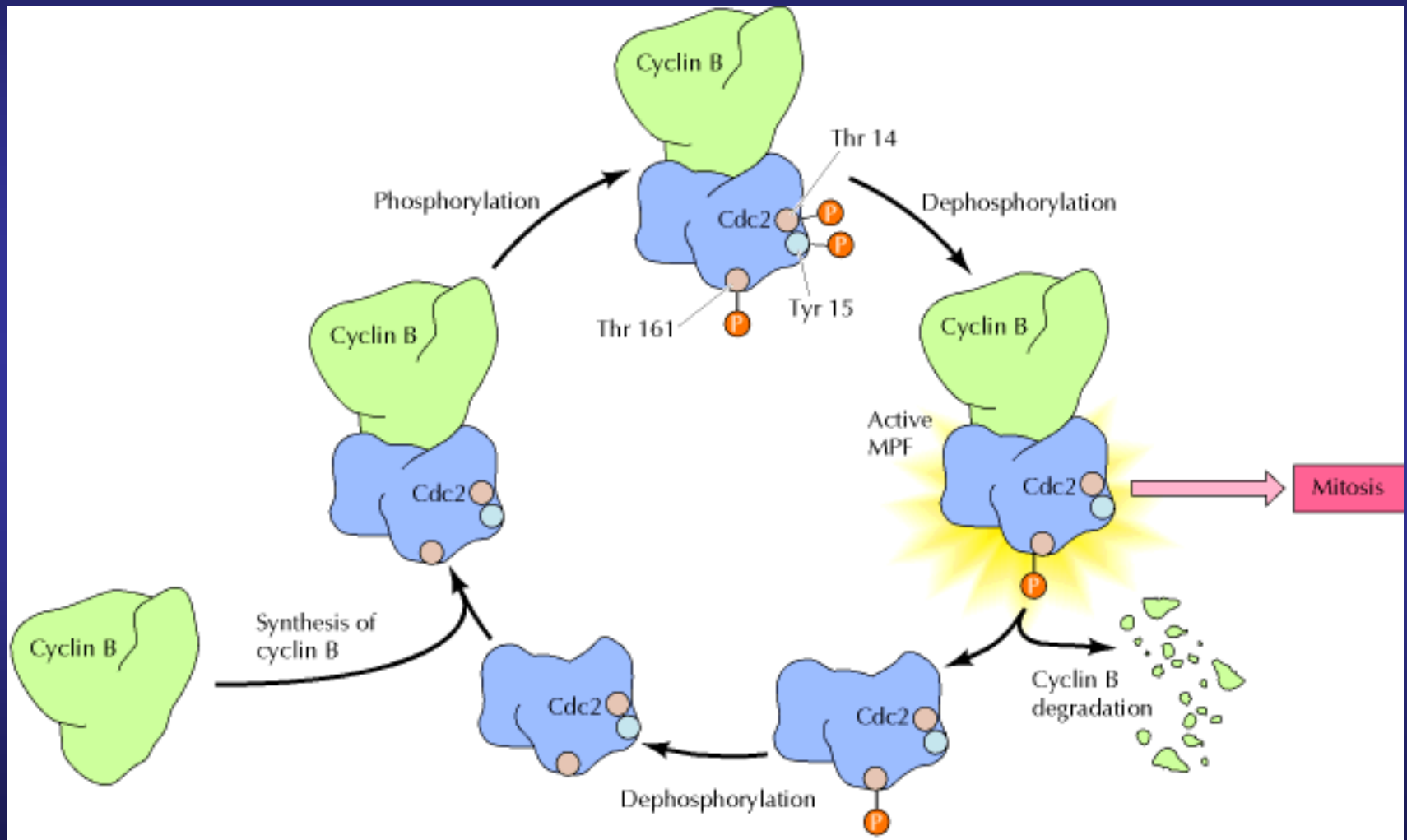
**Πώς η προγεστερόνη συνδέεται με την εμφάνιση του MPF στο κυτταρόπλασμα των ωοκυττάρων του βατράχου;**

**Maller, J. L. (1998). Recurring themes in oocyte maturation. Biol. Cell 90, 453-460**

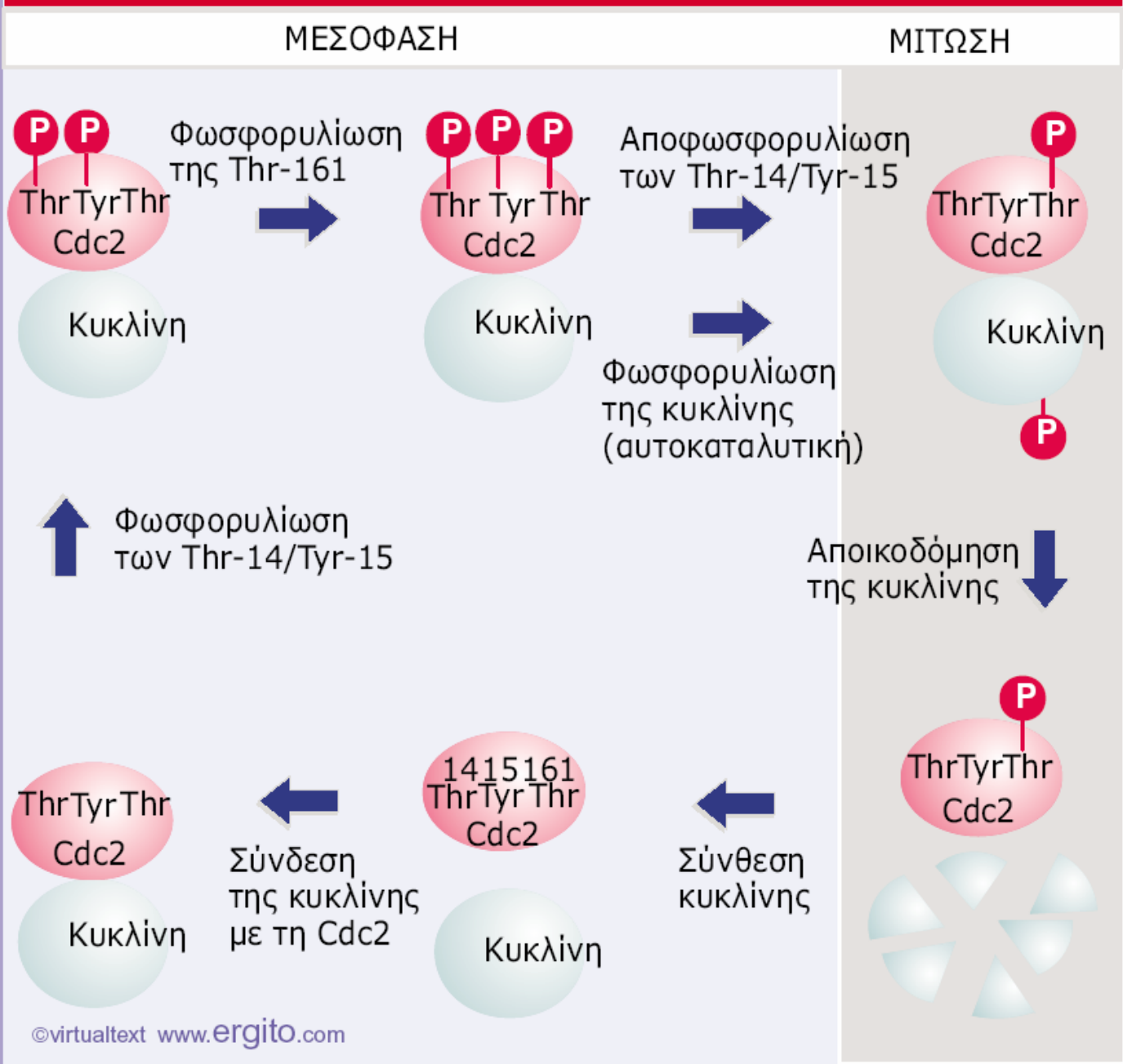
## Η δομή του MPF



# Η ρύθμιση του MPF



**Η κινάση MPF ρυθμίζεται μέσω φωσφορυλίωσης και αποικοδόμησης**



**Εικόνα 29.9** Η ενεργότητα της κινάσης της φάσης M ρυθμίζεται με φωσφορυλίωση, αποφωσφορυλίωση και πρωτεόλυση. Τα τρία φωσφορυλιωμένα αμινοξικά κατάλοιπα είναι η Thr-14, η Tyr-15 και η Thr-161. Τα δύο πρώτα βρίσκονται στη θέση δέσμευσης ATP.

**Δυο γενικά μοντέλα θα μπορούσαν να προταθούν για το ρόλο του MPF:**

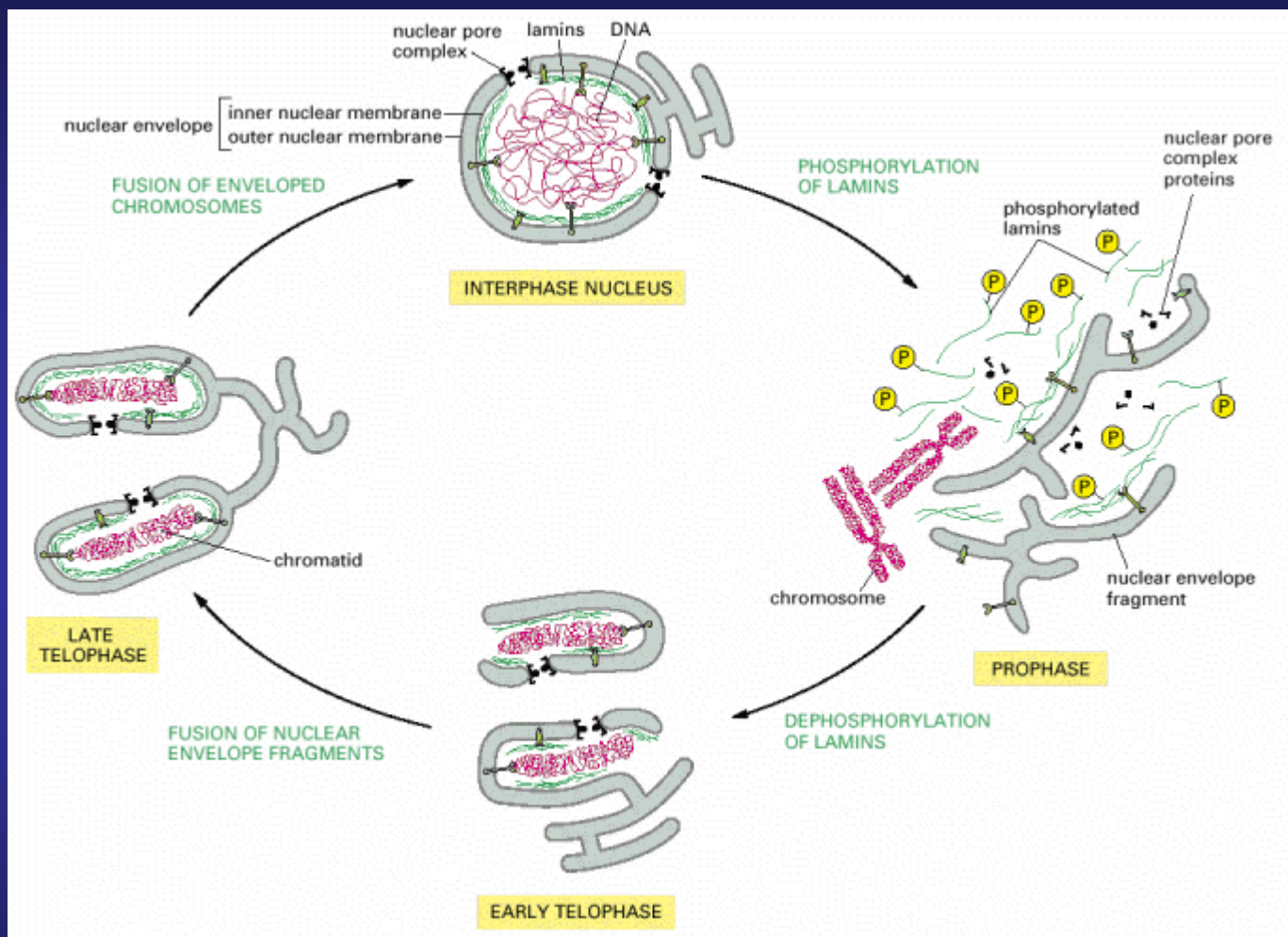
- 1. Μπορεί να είναι ένας «επιτελικός ρυθμιστής» που φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες στόχους οι οποίες με τη σειρά τους ρυθμίζουν άλλες απαραίτητες λειτουργίες – ένας κλασικός καταρράκτης.**
- 2. Εναλλακτικά μπορεί άμεσα να φωσφορυλιώνει τις πρωτεΐνες που απαιτούνται για την εκτέλεση ρυθμιστικών γεγονότων ή για την κυτταρική αναδιοργάνωση που λαμβάνει χώρα στον κυτταρικό κύκλο.**

**Υποστρώματα που φωσφορυλιώνονται από την MPF κινάση:**

- Η ιστόνη H1 (πιθανώς απαιτείται για τη συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων).**
- Η νουκλεολίνη (που ενδεχομένως συμμετέχει στη διακοπή της ριβοσωμικής σύνθεσης).**
- Οι λαμίνες (πιθανώς για την αποικοδόμηση του πυρηνικού φακέλου).**

**Η φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων χρειάζεται για την αναδιοργάνωση του κυττάρου σε μια μιτωτική άτρακτο, ενώ η αποφωσφορυλίωση των ίδιων υποστρωμάτων απαιτείται για την επιστροφή σε μια οργάνωση μεσόφασης.**

# Η αποδόμηση και ο ανασχηματισμός του πυρηνικού περιβλήματος κατά τη διάρκεια της μίτωσης



Η φωσφορυλίωση των λαμινών (πρωτεΐνες των ενδιάμεσων ινιδίων του πυρηνικού υμένα) κατά την πρόφαση πυροδοτεί την αποσυναρμολόγηση του πυρηνικού υμένα. Η αποφωσφορυλίωση τους κατά την τελόφαση αναστρέφει την όλη διεργασία.

## Σημαντικές έννοιες

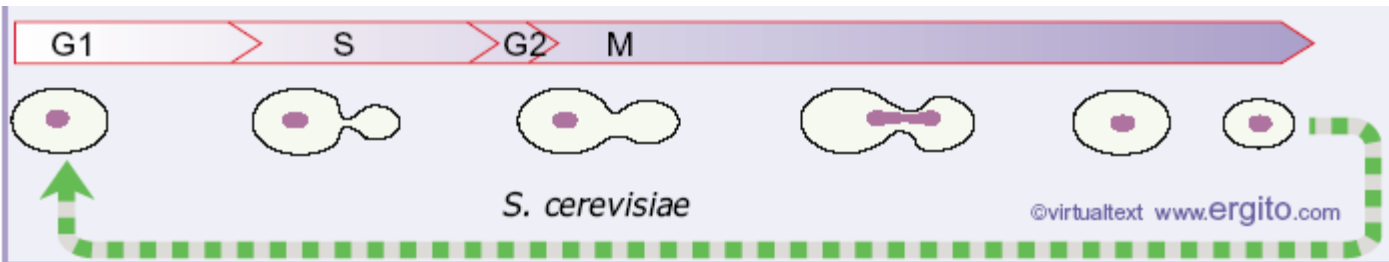
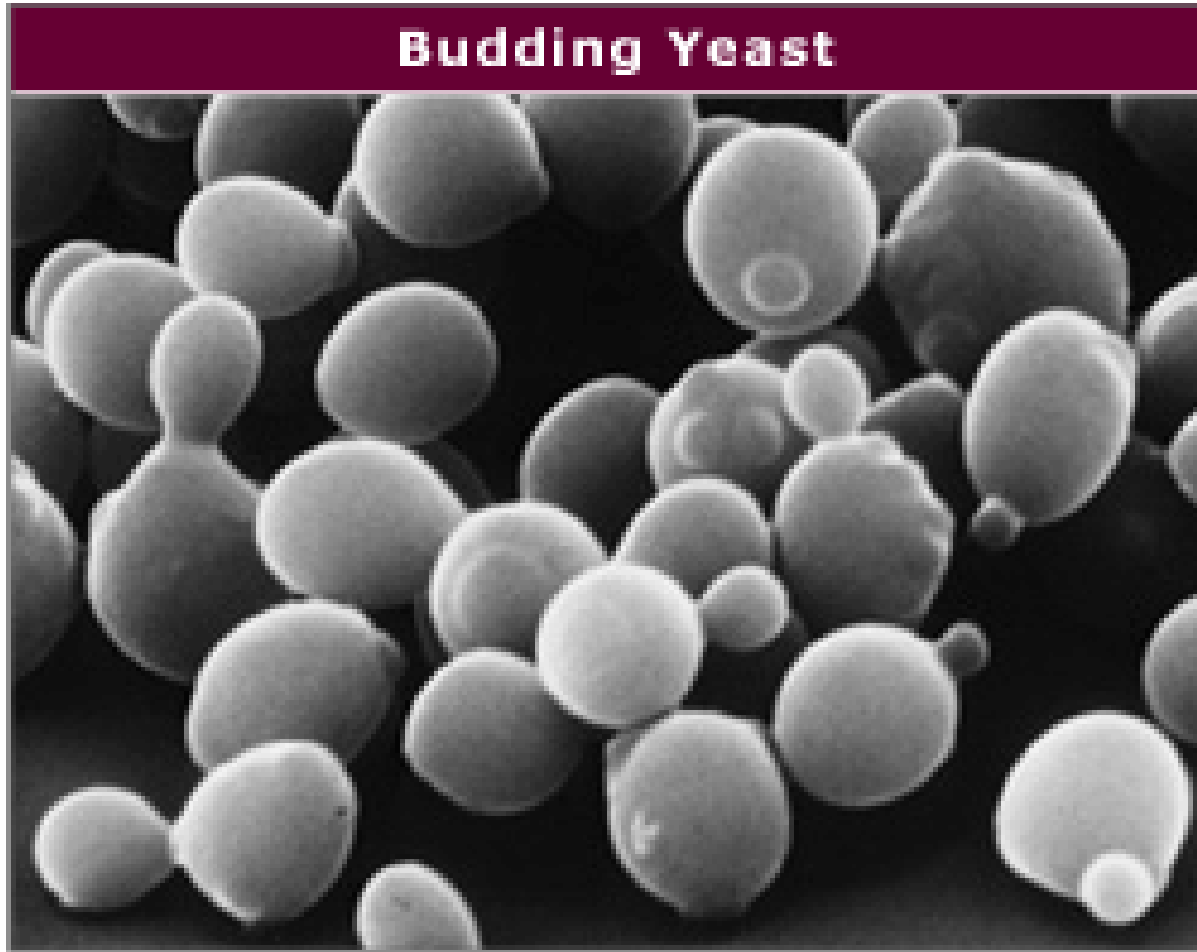
- ▶ Ο MPF ανακαλύφθηκε ως ένας παράγοντας που επάγει ωοκύτταρα σε φάση G2 να εισέλθουν σε μείωση.
- ▶ Ο ίδιος παράγοντας είναι υπεύθυνος για την είσοδο σε μίτωση των σωματικών κυττάρων.
- ▶ Τόσο ο παράγοντας ωρίμανσης των ωοκυττάρων όσο και ο παράγοντας προώθησης της φάσης M ταυτίζονται με την κινάση της φάσης M.
- ▶ Η πρωτεΐνη Cdc2 αποτελεί την καταλυτική υπομονάδα της κινάσης της φάσης M και φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες-στόχους σε κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης.
- ▶ Η ρυθμιστική υπομονάδα της κινάσης της φάσης M είναι είτε η κυκλίνη A είτε η κυκλίνη B.
- ▶ Η ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M πραγματοποιείται με ομοιοπολικές τροποποιήσεις της καταλυτικής υπομονάδας Cdc2.



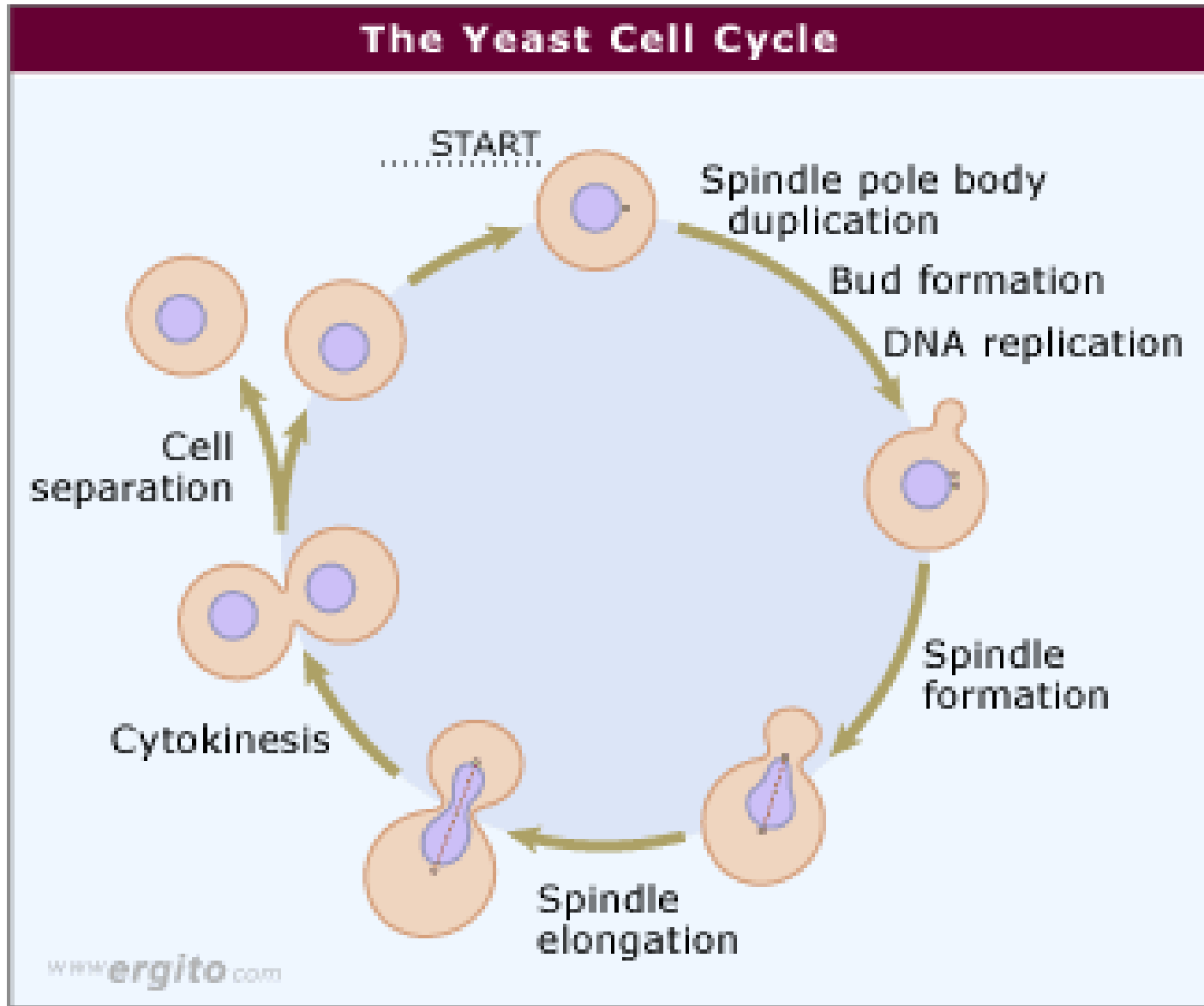
### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Η κινάση της φάσης M προάγει τη μίτωση φωσφορυλιώνοντας μια πληθώρα υποστρωμάτων.
- ▶ Η μίτωση τερματίζεται με την αποφωσφορυλίωση των υποστρωμάτων.
- ▶ Ένα από τα καλύτερα υποστρώματα για την κινάση της φάσης M, το οποίο συχνά χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί η ενεργότητά της, είναι η ιστόνη H1.

# Ο σακχαρομύκητας *Saccharomyces cerevisiae*

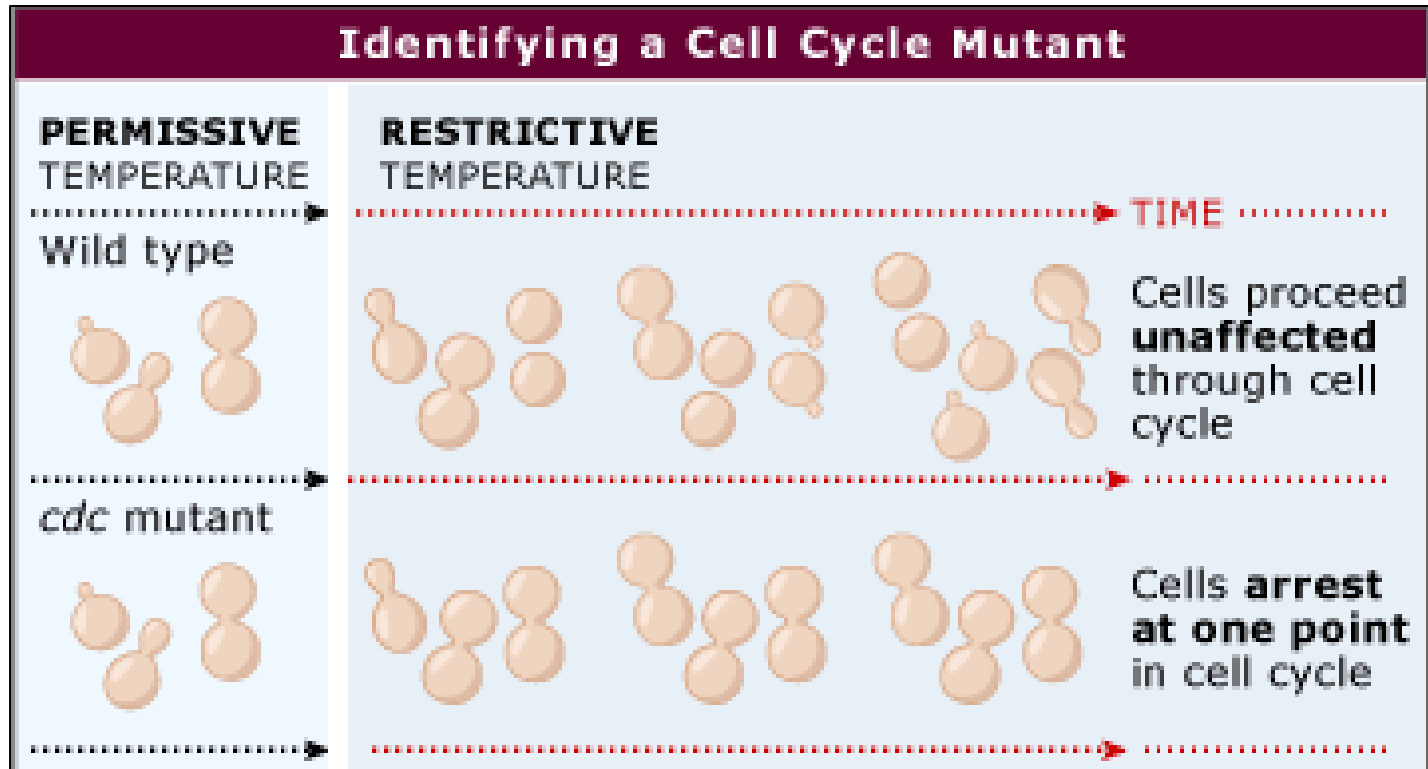


# Ο κυτταρικός κύκλος του *S.cerevisiae*



Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου είναι δυνατό να προσδιοριστεί από το μέγεθος του εκβλαστήματος

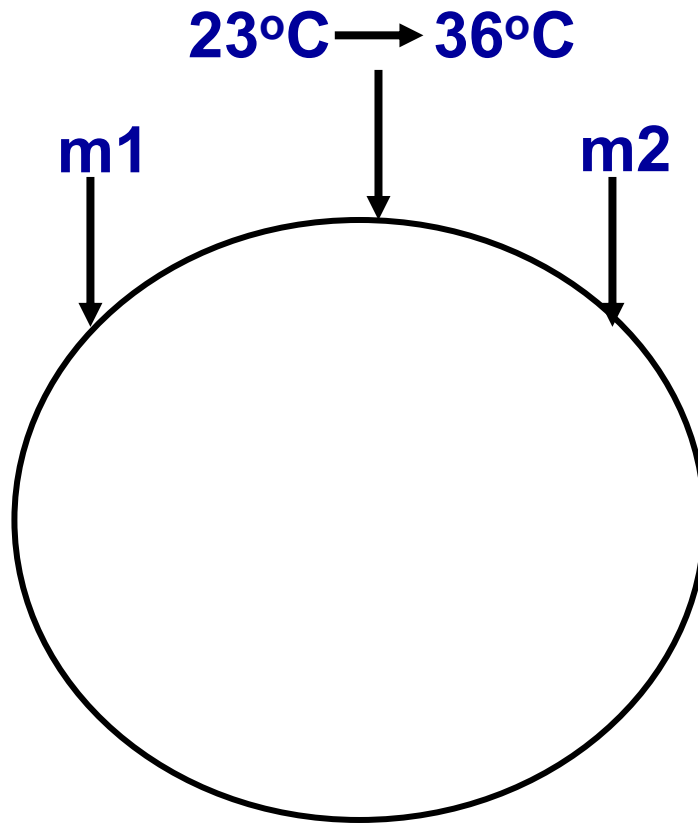
# Ανιχνεύοντας θερμοευαίσθητες μεταλλάξεις στον *S.cerevisiae*



**ts (temperature sensitive) mutants =  
θερμοευαίσθητα μεταλλαγμένα στελέχη**

**Cdc mutations (Cell Division Cycle) = μεταλλάξεις  
του κύκλου κυτταρικής διαίρεσης**

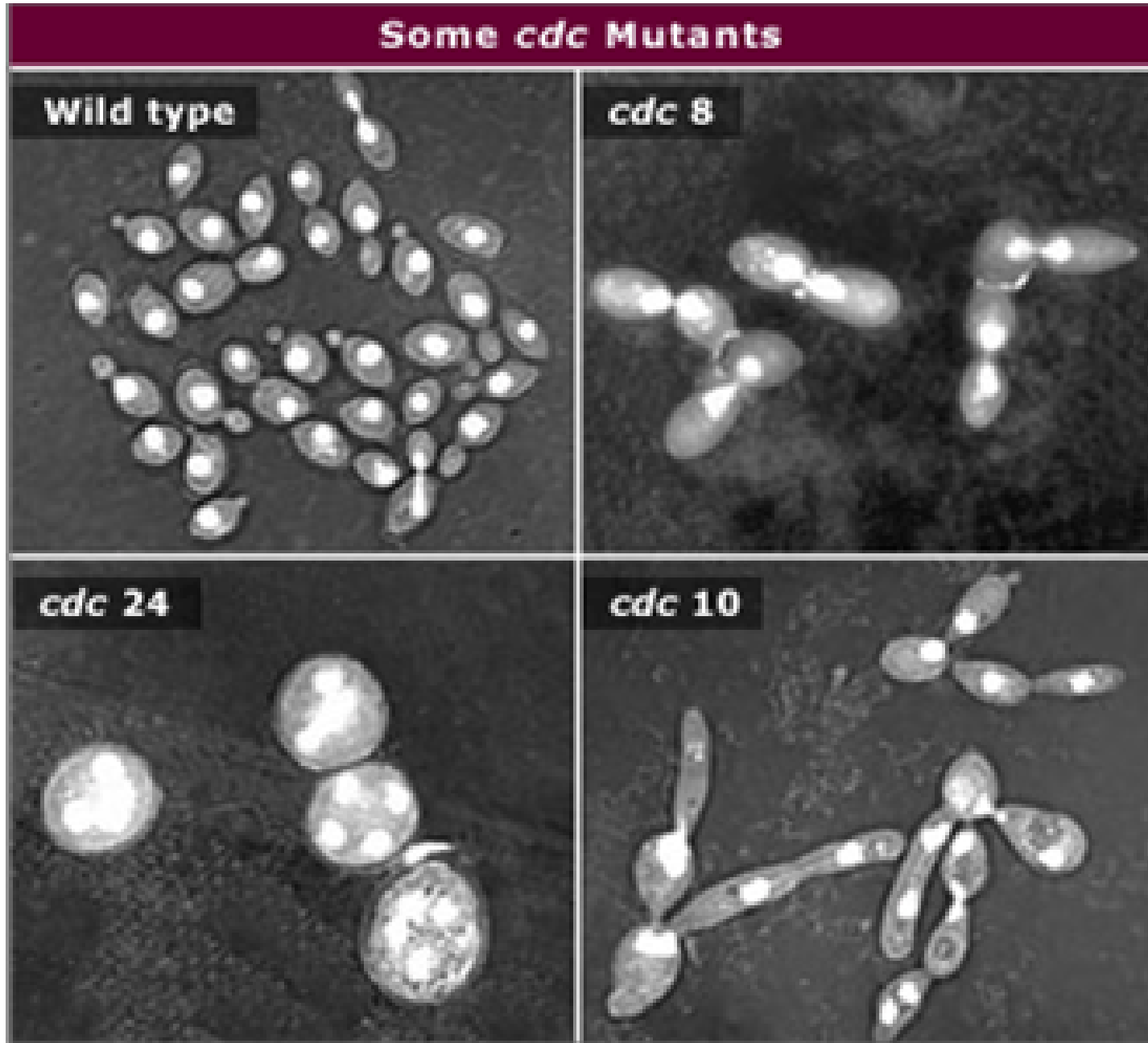
# Καθορισμός της χρονικής στιγμής που δρα μια μετάλλαξη κατά τον κυτταρικό κύκλο



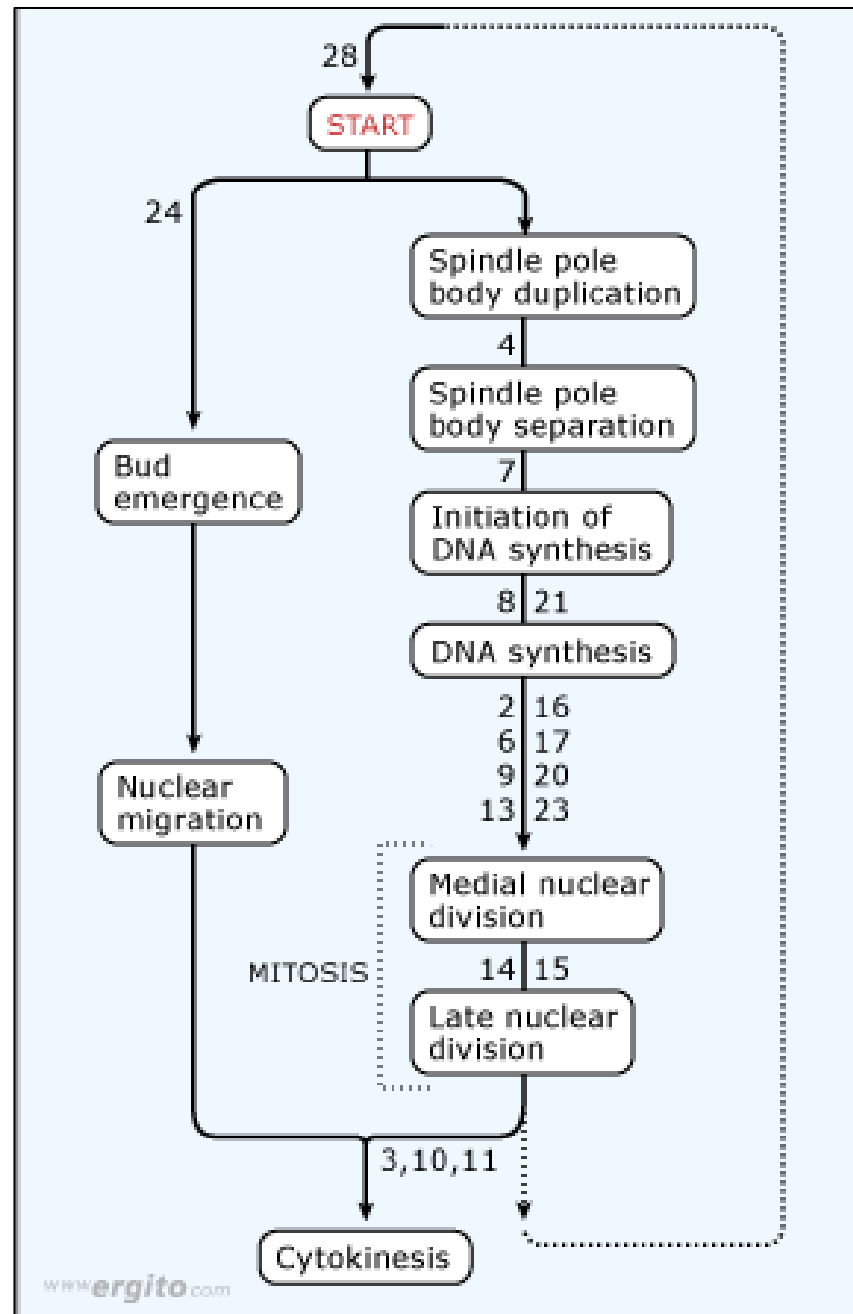
Η μετάλλαξη  $m1$  που προηγείται της αλλαγής θερμοκρασίας δεν θα εμφανιστεί = τα κύτταρα συνεχίζουν τον κυτταρικό κύκλο

Η μετάλλαξη  $m2$  που έπεται της αλλαγής θερμοκρασίας θα εμφανιστεί = τα κύτταρα σταματούν τον κυτταρικό κύκλο στο σημείο  $m2$  (execution point = σημείο εκτέλεσης)

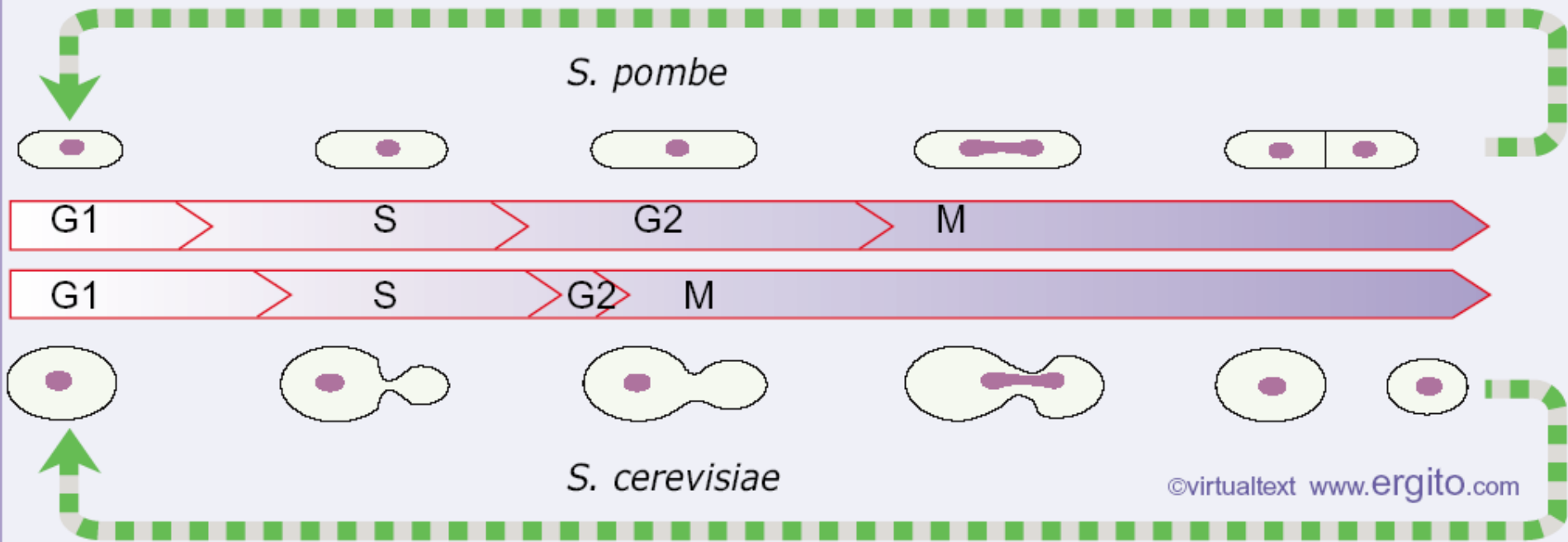
# Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *cdc* μεταλλαγμένων στελεχών



# *cdc* γονίδια που σχετίζονται με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου



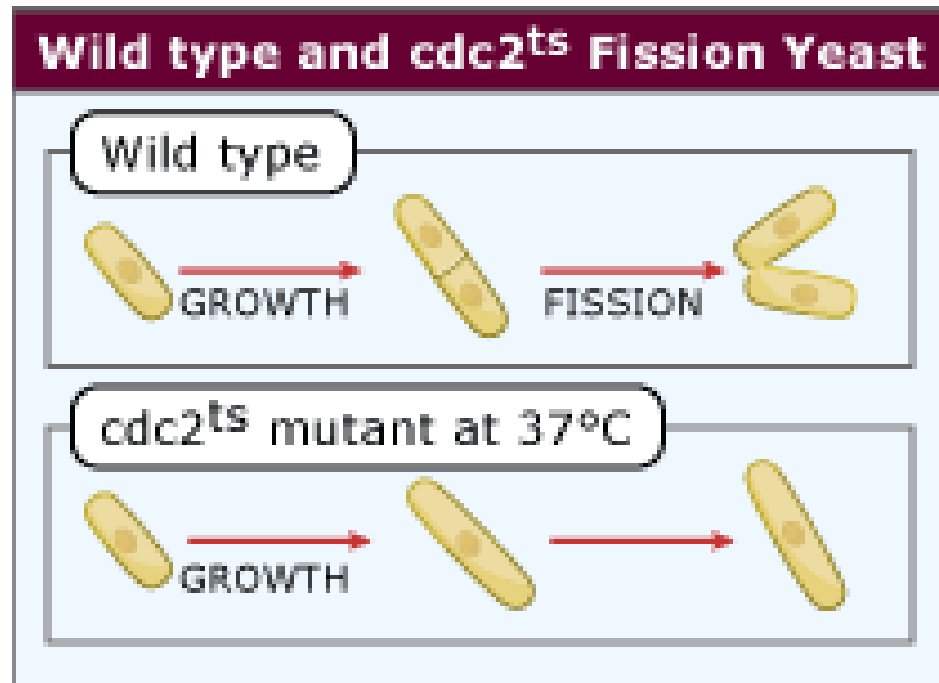
**Ο *S. pombe* διαιρείται στο μέσο ενώ, ο *S. cerevisiae* σχηματίζει ένα εκβλάστημα**



**Εικόνα 29.10** Κατά τη διάρκεια ενός συμβατικού κυτταρικού κύκλου, ο *S. pombe* επιμηκύνεται και έπειτα διαιρείται. Κατά τη διάρκεια ενός κύκλου στον οποίο η G2 είναι απύσασ ή πολύ σύντομη και η M καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος, ο *S. cerevisiae* εκβλαστάνει.



# Ανιχνεύοντας θερμοευαίσθητες μεταλλάξεις στον *S.pombe*



**ts (temperature sensitive) mutants =  
θερμοευαίσθητα μεταλλαγμένα στελέχη**

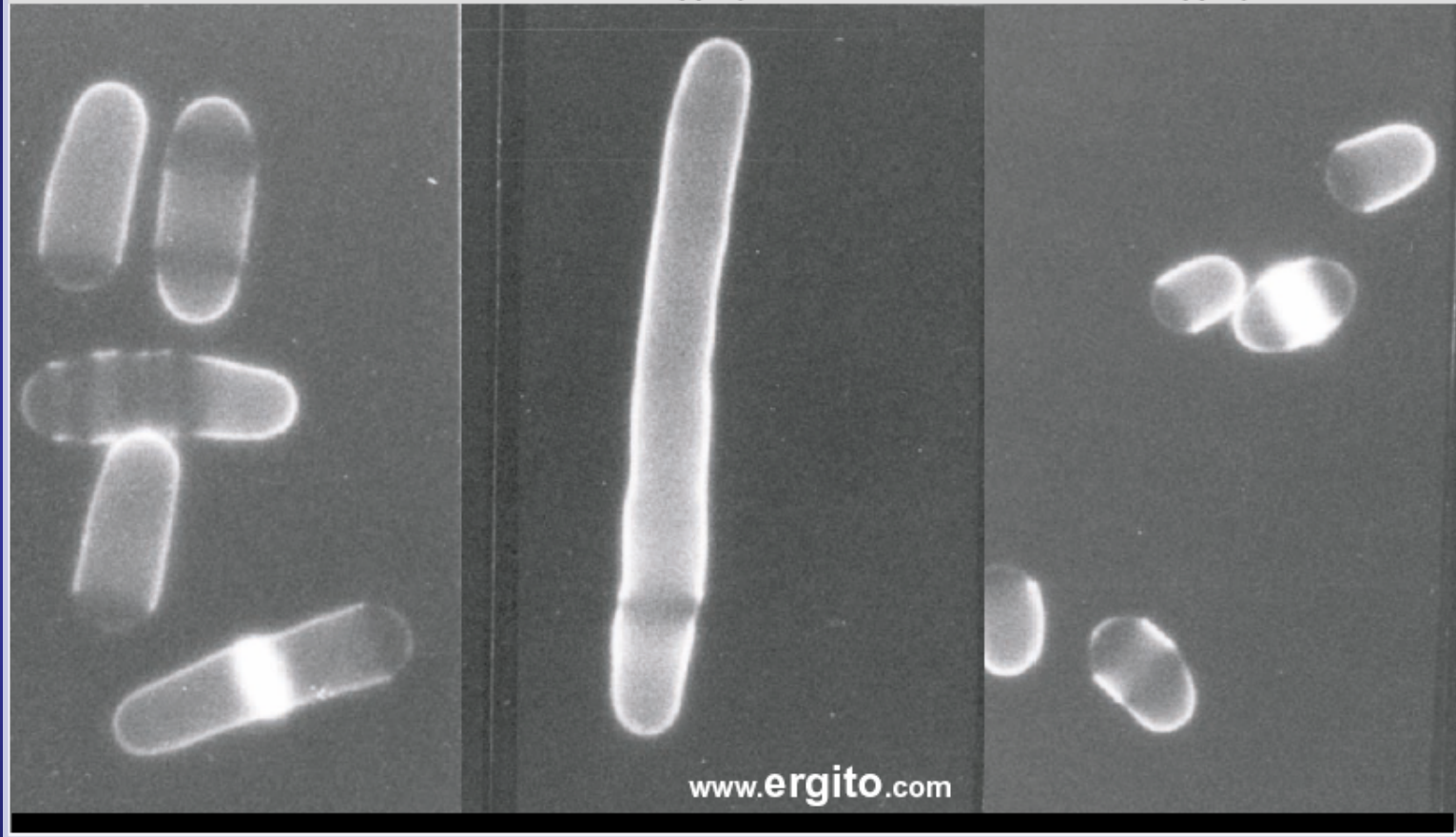
**Cdc mutations (Cell Division Cycle) = μεταλλάξεις  
του κύκλου κυτταρικής διαίρεσης**

**Μεταλλάξεις σε γονίδια του κυτταρικού κύκλου προκαλούν είτε αδυναμία διαίρεσης είτε επιτάχυνση του ρυθμού των διαιρέσεων**

Άγριος τύπος

Μεταλλαγμένο  
στελέχος *cdc25*

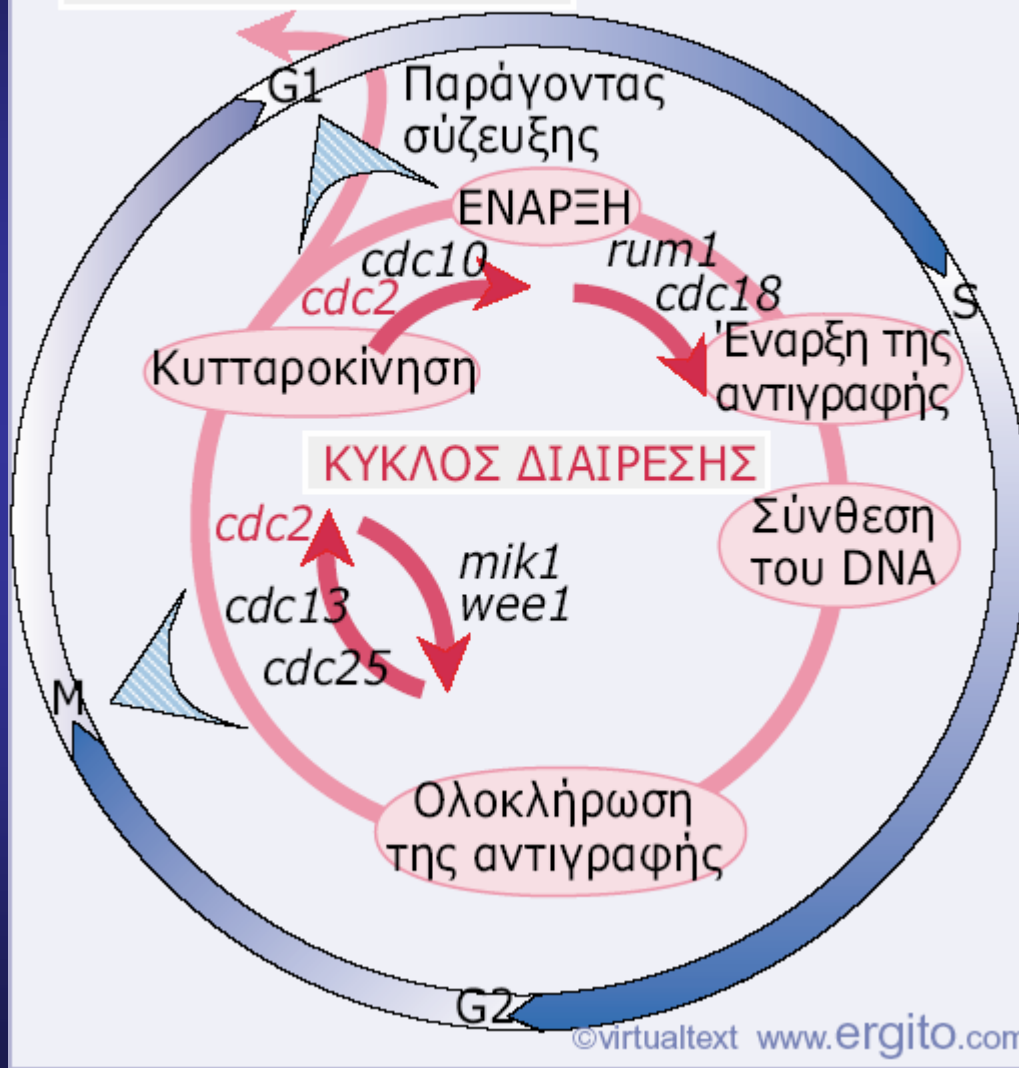
Μεταλλαγμένο  
στελέχος *wee1*



**Εικόνα 29.11** Τα κύτταρα του *S. pombe* έχουν υποβληθεί σε χρώση με calcofluor, το οποίο βάφει το κυτταρικό τοίχωμα (που περιβάλλει το κύτταρο της ζύμης) και το διάφραγμα (septum, που διαχωρίζει κεντρικά τα δύο θυγατρικά κύτταρα κατά την κυτταρική διαίρεση). Τα κύτταρα άγριου τύπου διπλασιάζουν το μήκος τους και έπειτα διαιρούνται στη μέση. Τα μεταλλαγμένα στελέχη *cdc* αποκτούν πολύ μεγαλύτερο μήκος, ενώ τα μεταλλαγμένα στελέχη *wee* διαιρούνται σε ένα πολύ μικρότερο μέγεθος. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Paul Nurse.

## Τα γονίδια *cdc* δρουν σε όλα τα στάδια του κυτταρικού κύκλου

### ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



**Εικόνα 29.13** Κατά τον κυτταρικό κύκλο του *S. pombe*, τα προϊόντα των γονιδίων *cdc* χρειάζονται για να προχωρήσουν συγκεκριμένα στάδια της διαδικασίας. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή μπορεί να καθυστερήσει από γονίδια που αποκρίνονται στο κυτταρικό μέγεθος (*wee1*). Τα κύτταρα μπορεί να αποκλίνουν προς το συζευκτικό μονοπάτι νωρίς στην G1.

## **Ιστορική αναδρομή 1**

**Masui, Y. and Markert, C. L. (1971). Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. J. Exp. Zool. 177, 129-145.**

**Wasserman, W. J. and Masui, Y. (1976). A cytoplasmic factor promoting oocyte maturation: its extraction and preliminary characterization. Science 191, 1266-1268.**

**Hartwell, L. H., Culotti, J., and Reid, B. (1970). Genetic control of the cell-division cycle in yeast. I. Detection of mutants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 66, 352-359.**

**Nurse, P. (1975). Genetic control of cell size at cell division in yeast. Nature 256, 547-551.**

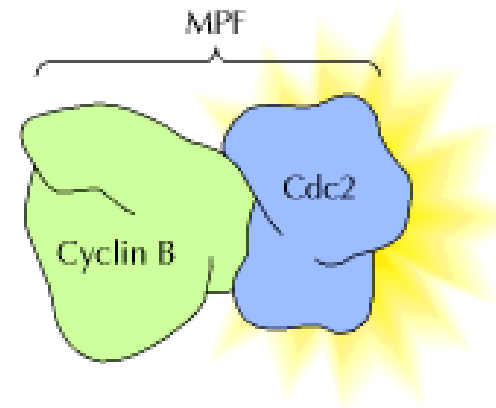
## Ιστορική αναδρομή 2

Reed, et al. (1985). Protein kinase activity associated with the product of the yeast cell division cycle gene CDC28. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 4055-4059.

Lee, M. G. and Nurse, P. (1987). Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene cdc2. Nature 327, 31-35.

Gautier, J., Norbury, C., Lohka, M., Nurse, P., and Maller, J. (1988). Purified maturation-promoting factor contains the product of a *Xenopus* homologue of the fission yeast cell cycle control gene cdc2<sup>+</sup>. Cell 54, 433-439.

Labbe, J. C., Picard, A., Peaucellier, G., Cavadore, J. C., Nurse, P., and Doree, M. (1989). Purification of MPF from starfish: identification as the H1 histone kinase p34<sup>cdc2</sup> and a possible mechanism for its periodic activation. Cell 57, 253-263.

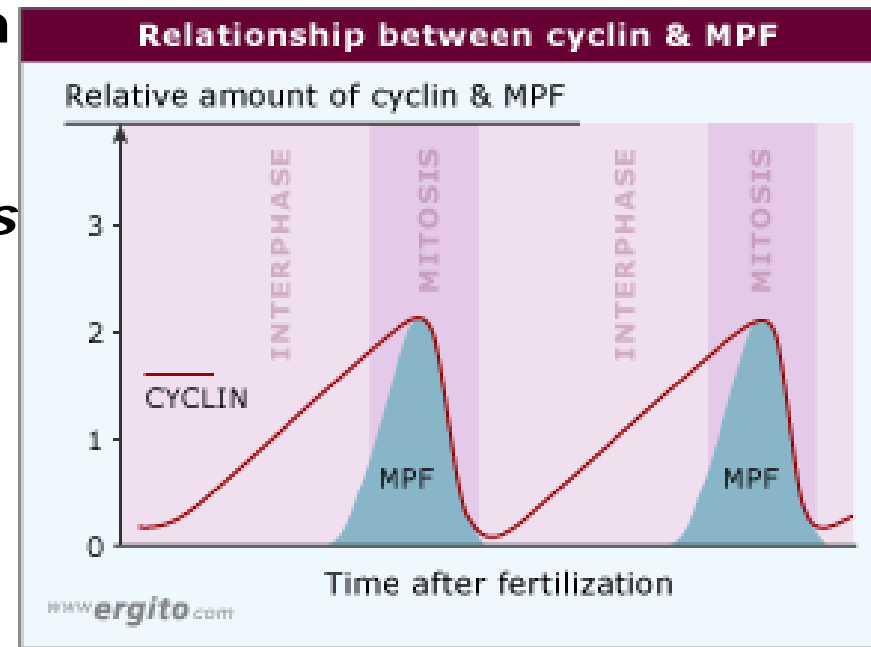


## Ιστορική αναδρομή 3

Swenson, et al. (1986). The clam embryo protein cyclin A induces entry into M phase and the resumption of meiosis in *Xenopus* oocytes. *Cell* 47, 861-870.

Pines, J., and Hunt, T. (1987). Molecular cloning and characterization of the mRNA for cyclin from sea urchin eggs. *EMBO J.* 6, 2987-2995.

Draetta, G., Brizuela, L., Potashkin, J., and Beach, D. (1987). Identification of p34 and p13, human homologs of the cell cycle regulators of fission yeast encoded by *cdc2<sup>+</sup>* and *suc1<sup>+</sup>*. *Cell* 50, 319-325.



Ένα εντυπωσιακό γνώρισμα της ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου είναι η ύπαρξη παρόμοιων ρυθμιστικών μορίων πιθανότατα σε όλα τα ευκαρυωτικά συστήματα. Μερικά από αυτά τα συστήματα έχουν κύκλους που επιφανειακά φαίνονται αρκετά διαφορετικοί από το φυσιολογικό κυτταρικό κύκλο ενός σωματικού κυττάρου. Έτσι, αν και η ανάπτυξη του ωαρίου του *Xenopus* χαρακτηρίζεται από πολύ γρήγορες διαιρέσεις, στις οποίες η φάση S εναλλάσσεται απευθείας με τη μίτωση, η είσοδος στη μίτωση ελέγχεται από την κινάση της φάσης M, τον ίδιο δηλαδή παράγοντα που ελέγχει τη μίτωση στα σωματικά κύτταρα. Οι ζυμομύκητες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί. Τα κύτταρα ορισμένων ειδών ζυμομυκήτων διαιρούνται με ασύμμετρη εκβλάστηση. Ωστόσο, τόσο ο έλεγχος της εισόδου στη φάση S όσο και η ρύθμιση της μίτωσης καθορίζονται από διαδικασίες παρόμοιες με εκείνες που χρησιμοποιούνται στο ωάριο του *Xenopus*. Ομόλογα γονίδια διαδραματίζουν συναφείς ρόλους σε οργανισμούς τόσο μακρινούς εξελικτικά όσο οι ζύμες, τα έντομα και τα θηλαστικά.

Το καθοριστικό βήμα για την κατανόηση της φύσης και της λειτουργίας της κινάσης της φάσης Μ πραγματοποιήθηκε με την παρατήρηση ότι η κινάση του *Xenopus* είναι η ομόλογη της Cdc2 του *S. pombe* και της CDC28 του *S. cerevisiae*. (Όταν πραγματοποιήθηκε αυτή η ανακάλυψη η πρωτεΐνη στον *Xenopus* λεγόταν p34, με αναφορά στο μέγεθος της, αλλά μετονομάστηκε σε Cdc2 από το όνομα του ομολόγου της στον *S. pombe*.)

Η ύπαρξη της καταλυτικής υπομονάδας Cdc2 σε οργανισμούς τόσο εξελικτικά απομακρυσμένους όσο οι ζυμομύκητες, ο βάτραχος και τα θηλαστικά αναδεικνύει τη Cdc2 ως σημείο κλειδί για τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου των ευκαρυωτικών κυττάρων. Η συντήρηση της λειτουργίας της Cdc2 κατά τη διάρκεια της εξέλιξης αποδεικνύεται από την ικανότητα του κλωνοποιημένου ανθρώπινου γονιδίου να αναπληρώνει την έλλειψη στα μεταλλαγμένα στελέχη *cdc2* του *S.pombe*. Αυτό ήταν το καθοριστικό πείραμα που ταυτοποίησε το *cdc2* ως τον καθολικό ρυθμιστή.



# HALL OF FAME



**Masui, Y.** and Markert, C. L. (1971). Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J. Exp. Zool.* 177, 129-145.



Pines, J., and **Hunt, T.** (1987). Molecular cloning and characterization of the mRNA for cyclin from sea urchin eggs. *EMBO J.* 6, 2987-2995.



**Hartwell, L. H.**, Culotti, J., and Reid, B. (1970). Genetic control of the cell-division cycle in yeast. I. Detection of mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 66, 352-359.



Lee, M. G. and **Nurse, P.** (1987). Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene *cdc2*. *Nature* 327, 31-35.

# Βιβλιογραφία

Nurse, P. (1990). Universal control mechanism regulating onset of M phase. *Nature* 344, 503-508.

Nasmyth, K. (2001). A prize for proliferation. *Cell* 107, 689-701.

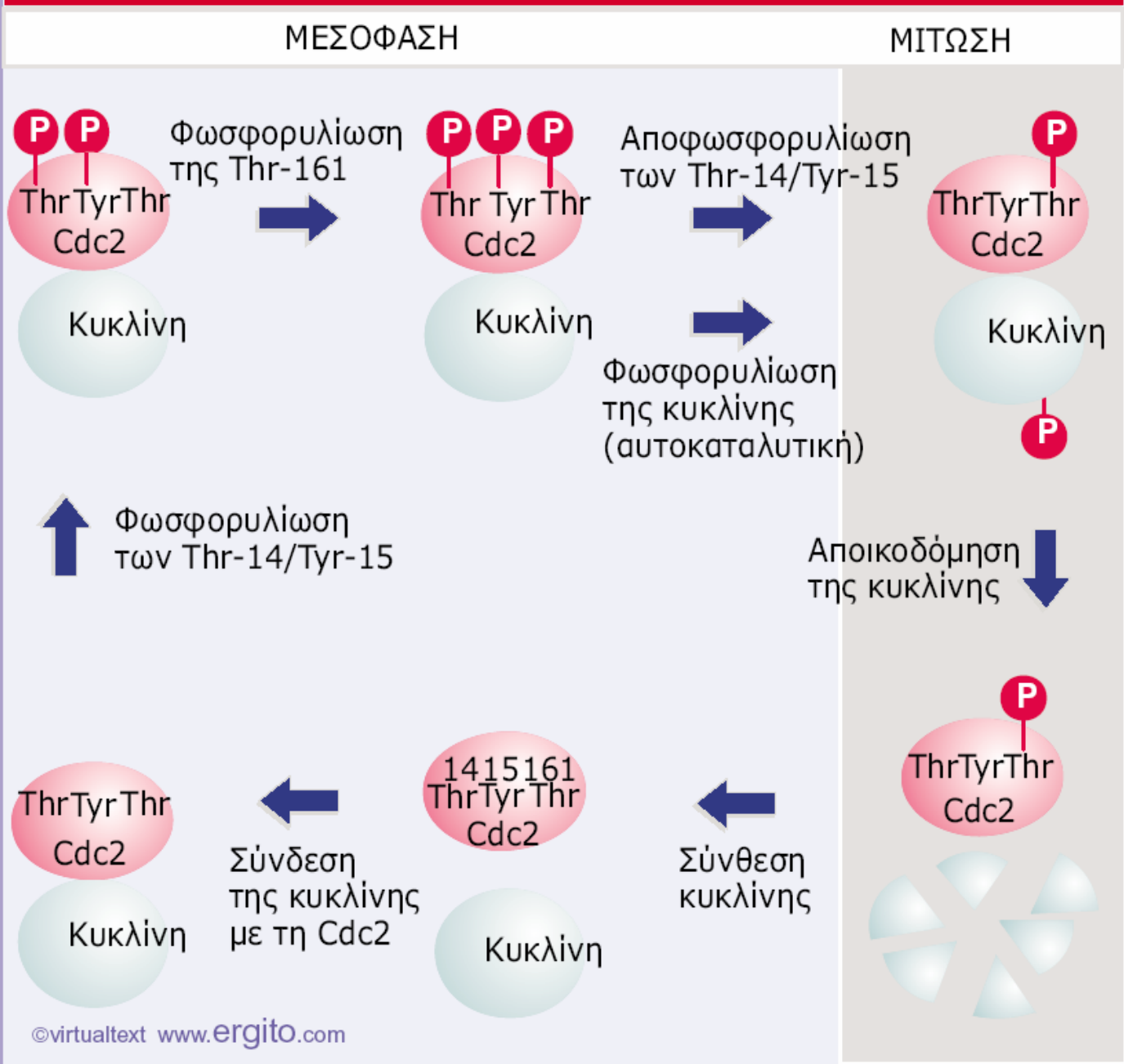
### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Η παρεμπόδιση του κυτταρικού κύκλου πιθανότατα οδηγεί σε θάνατο του κυττάρου. Κατ' επέκταση, μεταλλάξεις σε παράγοντες που απαιτούνται για τον κυτταρικό κύκλο μπορούν να απομονωθούν ως υπό συνθήκη θανατηφόρες (conditional lethal).
- ▶ Πειράματα γενετικής σάρωσης για υπό συνθήκη θανατηφόρες μεταλλάξεις οδήγησαν στην ταυτοποίηση 80 περίπου γονιδίων που ενέχονται στον κυτταρικό κύκλο στο ζυμομύκητα *S. cerevisiae* ή στον *S. pombe*.

### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι μεταλλάξεις *cdc* του *S. pombe* εμπίπτουν σε δύο κατηγορίες, οι οποίες σταματούν τον κυτταρικό κύκλο είτε στη μετάβαση G2/M είτε στην ΕΝΑΡΞΗ στην G1.
- ▶ Διαφορετικά αλληλόμορφα του γονιδίου *cdc2* οδηγούν σε σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου σε οποιοδήποτε από αυτά τα σημεία.
- ▶ Το ομόλογο γονίδιο του *cdc2* στον *S. cerevisiae* καλείται *CDC28*.
- ▶ Ομόλογα του *cdc2* ανευρίσκονται σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.
- ▶ Η ενεργοποιημένη μορφή της κινάσης της φάσης M είναι φωσφορυλιωμένη στην Thr-161. Η αδρανοποιημένη μορφή είναι φωσφορυλιωμένη στην Tyr-15 (και στα ζωικά κύτταρα και στην Thr-14).

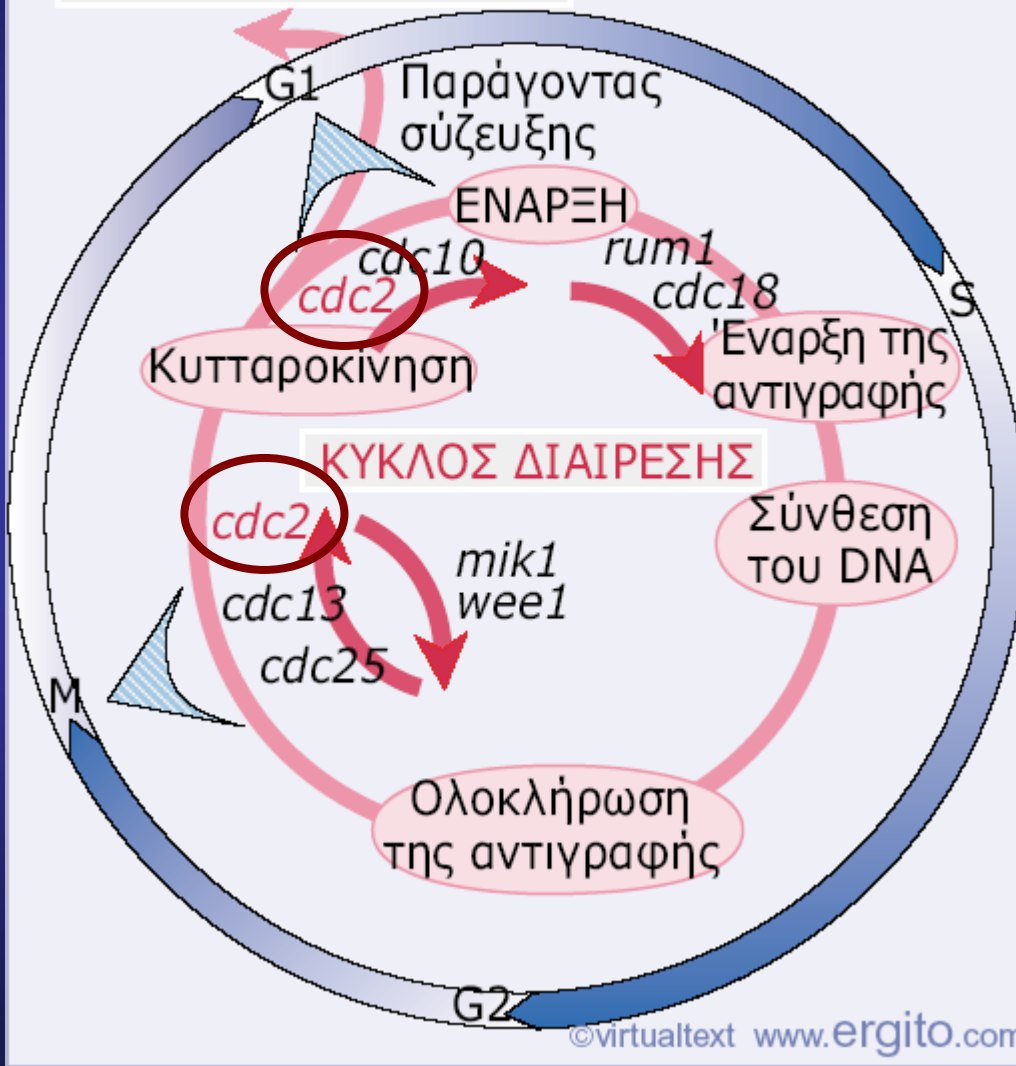
# Η κινάση MPF ρυθμίζεται μέσω φωσφορυλίωσης και αποικοδόμησης



**Εικόνα 29.9** Η ενεργότητα της κινάσης της φάσης M ρυθμίζεται με φωσφορυλίωση, αποφωσφορυλίωση και πρωτεόλυση. Τα τρία φωσφορυλιωμένα αμινοξικά κατάλοιπα είναι η Thr-14, η Tyr-15 και η Thr-161. Τα δύο πρώτα βρίσκονται στη θέση δέσμευσης ATP.

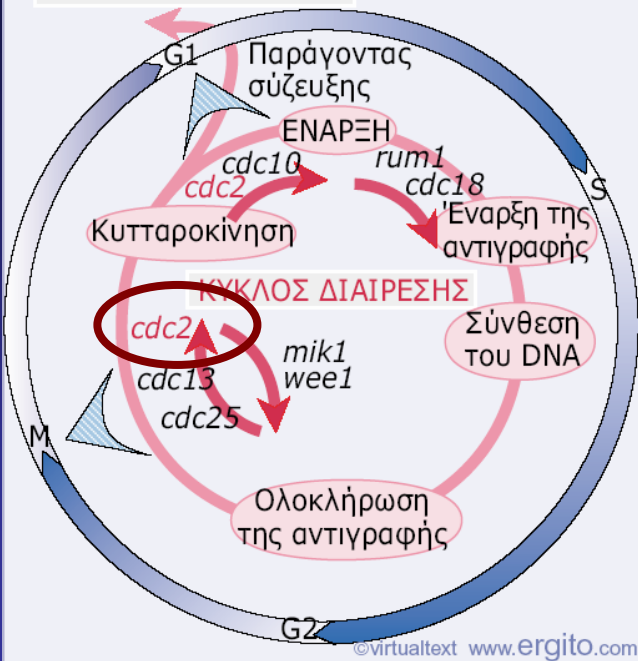
## Τα γονίδια *cdc* δρουν σε όλα τα στάδια του κυτταρικού κύκλου

### ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



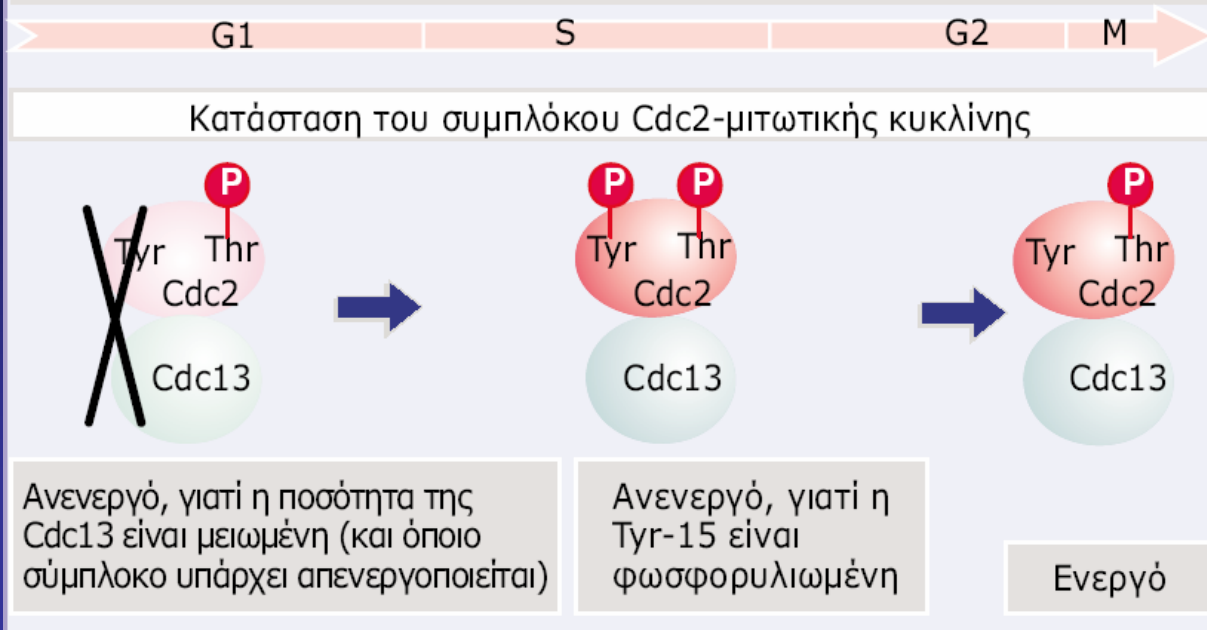
**Εικόνα 29.13** Κατά τον κυτταρικό κύκλο του *S. pombe*, τα προϊόντα των γονιδίων *cdc* χρειάζονται για να προχωρήσουν συγκεκριμένα στάδια της διαδικασίας. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή μπορεί να καθυστερήσει από γονίδια που αποκρίνονται στο κυτταρικό μέγεθος (*wee1*). Τα κύτταρα μπορεί να αποκλίνουν προς το συζευκτικό μονοπάτι νωρίς στην G1.

ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ

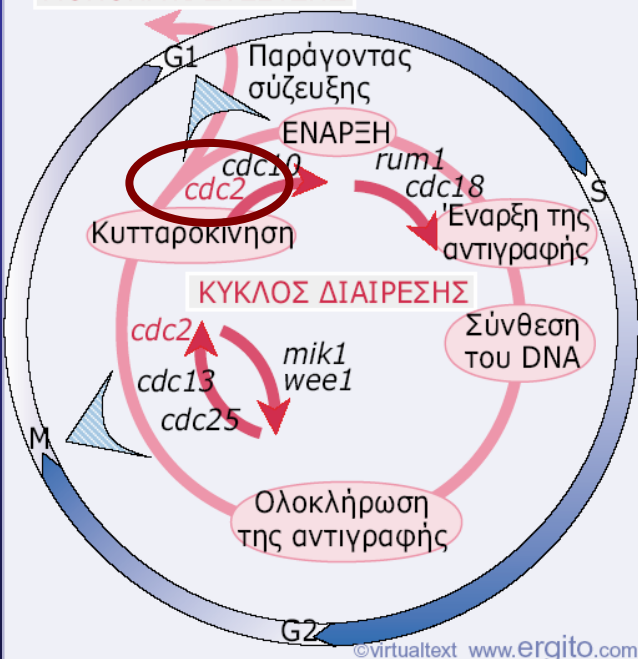


©virtualtext www.ergito.com

Σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο

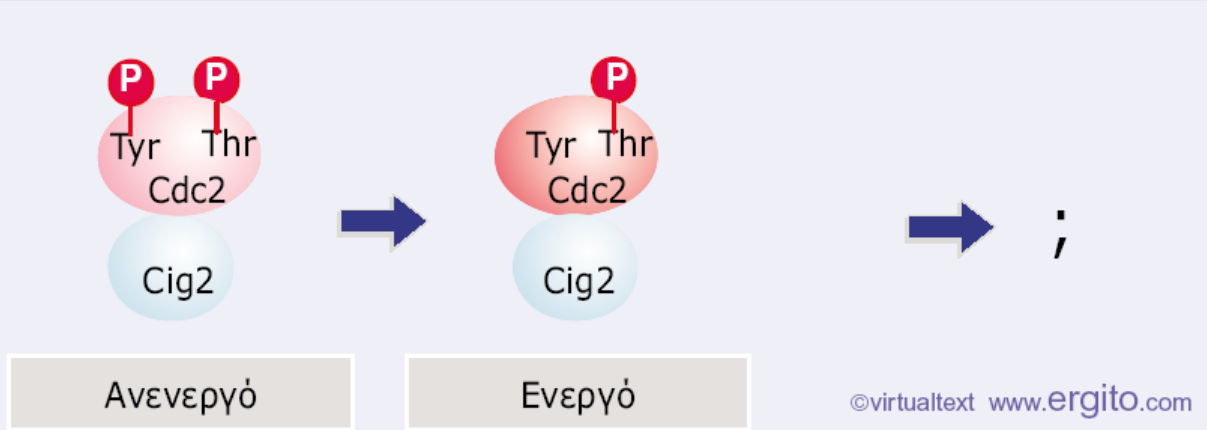


ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



©virtualtext www.ergito.com

Κατάσταση του συμπλόκου Cdc2-κυκλίνης G1



©virtualtext www.ergito.com

**Εικόνα 29.14** Στον *S. pombe*, το στάδιο του κυτταρικού κύκλου καθορίζεται από τις μορφές των συμπλόκων Cdc2-κυκλίνης που απαντώνται στο κύτταρο.

Η ύπαρξη εναλλακτικών διμερών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου αποτέλεσε τη βάση για την ταξινόμηση των κυκλινών, σύμφωνα με την περίοδο ενεργού διμερισμού τους με τη Cdc2, σε **κυκλίνες G1** (G1 cyclins) και σε **μιτωτικές κυκλίνες** (mitotic cyclins), οι οποίες είναι γνωστές και ως **κυκλίνες G2** (G2 cyclins). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι κυκλίνες που ταυτοποιήθηκαν με αυτόν τον τρόπο, δηλαδή από την ικανότητα διμερισμού τους με τη Cdc2 ή με μια πρωτεΐνη τύπου Cdc2, δε χαρακτηρίζονται κατ' ανάγκη από την ιδιότητα της κυκλικής αποικοδόμησης, σύμφωνα με τον αρχικό ορισμό των κυκλινών. Η κυκλική αποικοδόμηση είναι μια γενική ιδιότητα ειδική για τις μιτωτικές κυκλίνες των ζωικών κυττάρων.

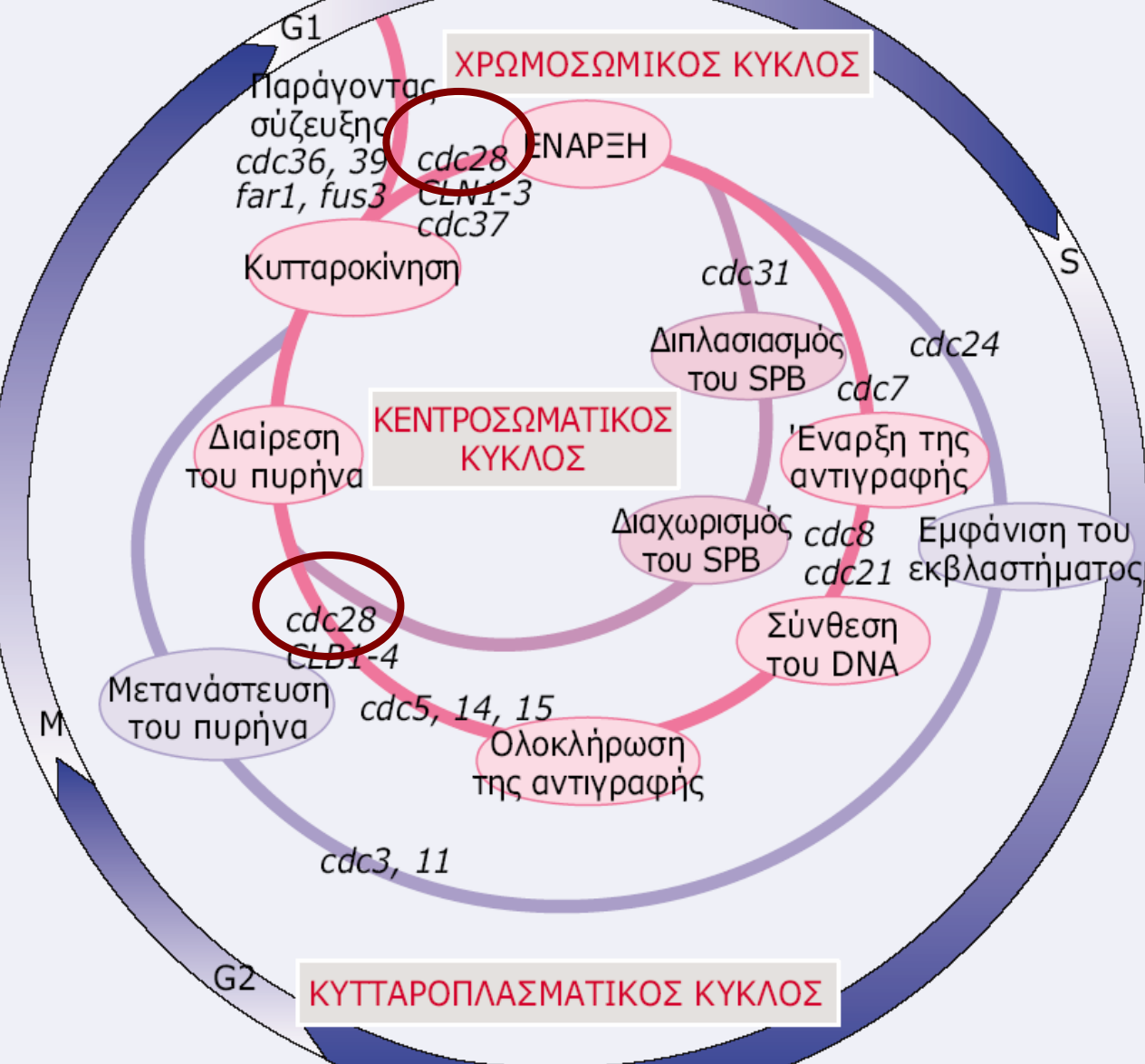


Το αρχικό μοντέλο για τη δράση της Cdc2 πρότεινε ότι ο διαθέσιμος τύπος του διμερούς Cdc2-κυκλίνης ρυθμιζόταν απλά με την αντικατάσταση μιας κυκλίνης από κάποια άλλη. Παρόλα αυτά σήμερα επικρατεί η άποψη ότι η μιτωτική μορφή και η μορφή G1 μπορεί να συνυπάρχουν στα κύτταρα του ζυμομύκητα, αλλά οι ενεργότητες τους να ρυθμίζονται διαφορετικά ανάλογα με το στάδιο του κυτταρικού κύκλου.

**Χρωμοσωμικός κύκλος + κεντροσωματικός κύκλος + κυτταροπλασματικός κύκλος = κυτταρικός κύκλος**

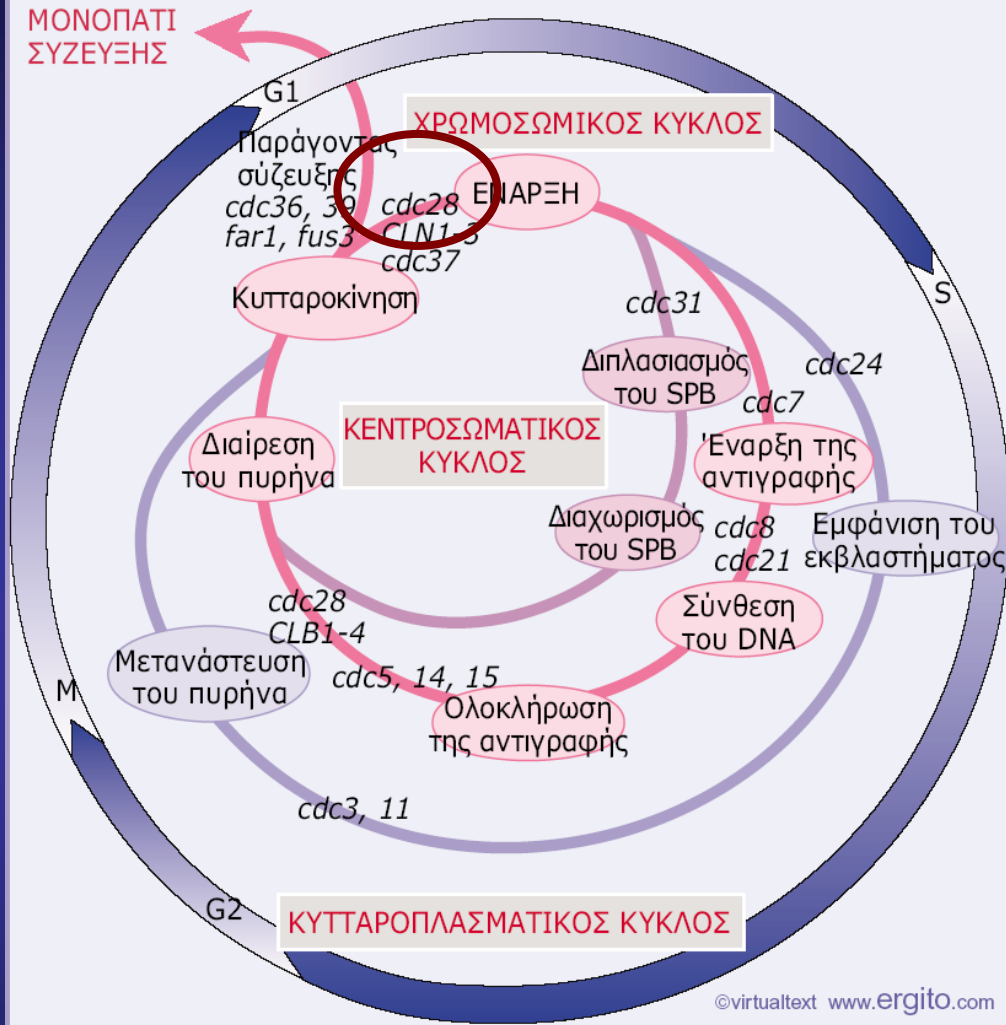
**Εικόνα 29.15** Ο κυτταρικός κύκλος στον *S. cerevisiae* αποτελείται από τρεις κύκλους που διαχωρίζονται μετά την ΕΝΑΡΞΗ και ενώνονται πριν την κυτταροκίνηση. Τα κύτταρα μπορούν να αποκλίνουν προς το συζευκτικό μονοπάτι νωρίς στην G1.

ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



**Χρωμοσωμικός κύκλος + κεντροσωματικός κύκλος +  
κυτταροπλασματικός κύκλος = κυτταρικός κύκλος**

ΜΟΝΟΠΑΤΙ  
ΣΥΖΕΥΞΗΣ



©virtualtext www.ergito.com

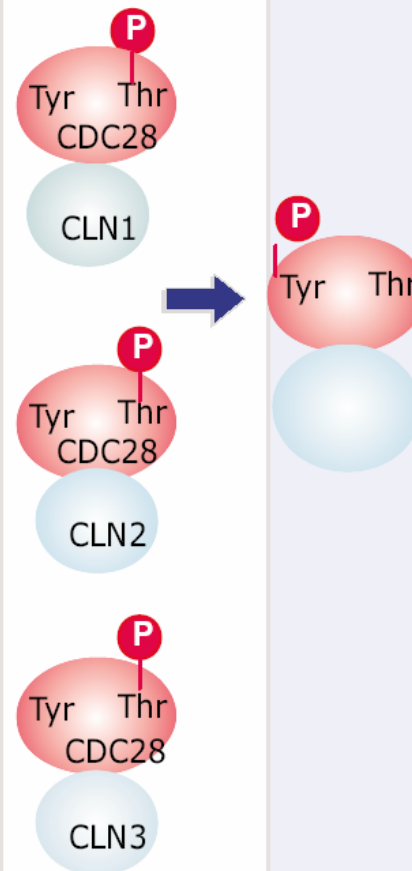
**Εικόνα 29.16** Στον *S. cerevisiae*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου ενέχει τη σύνδεση της CDC28 με πλεονάζουσες κυκλίνες τόσο στην ΕΝΑΡΞΗ όσο και στην G2/M.

**Η CDC28 προσδένεται σε πολλές κυκλίνες**

Η συσσώρευση των CLN ενεργοποιεί την ΕΝΑΡΞΗ

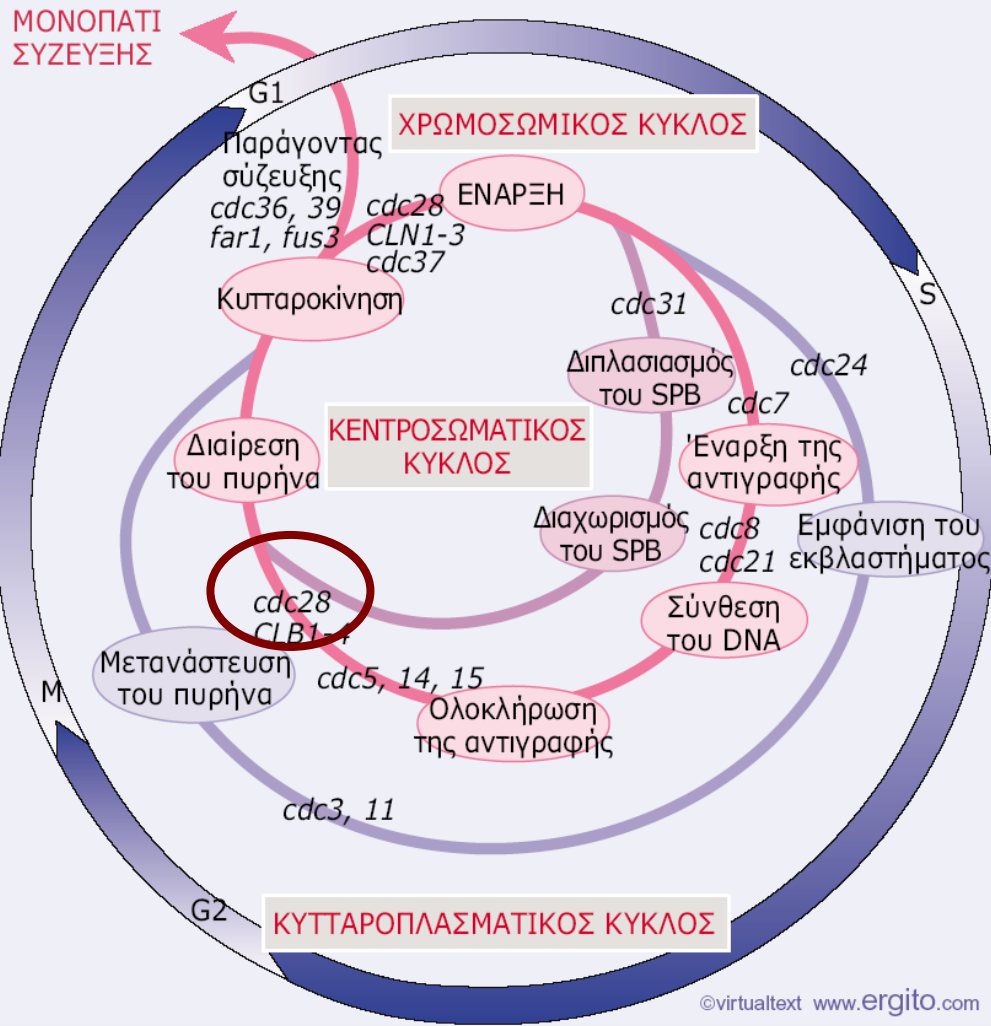


**ΕΝΑΡΞΗ:** χρειάζεται οποιοδήποτε από τρία σύμπλοκα



©virtualtext www.ergito.com

**Χρωμοσωμικός κύκλος + κεντροσωματικός κύκλος + κυτταροπλασματικός κύκλος = κυτταρικός κύκλος**



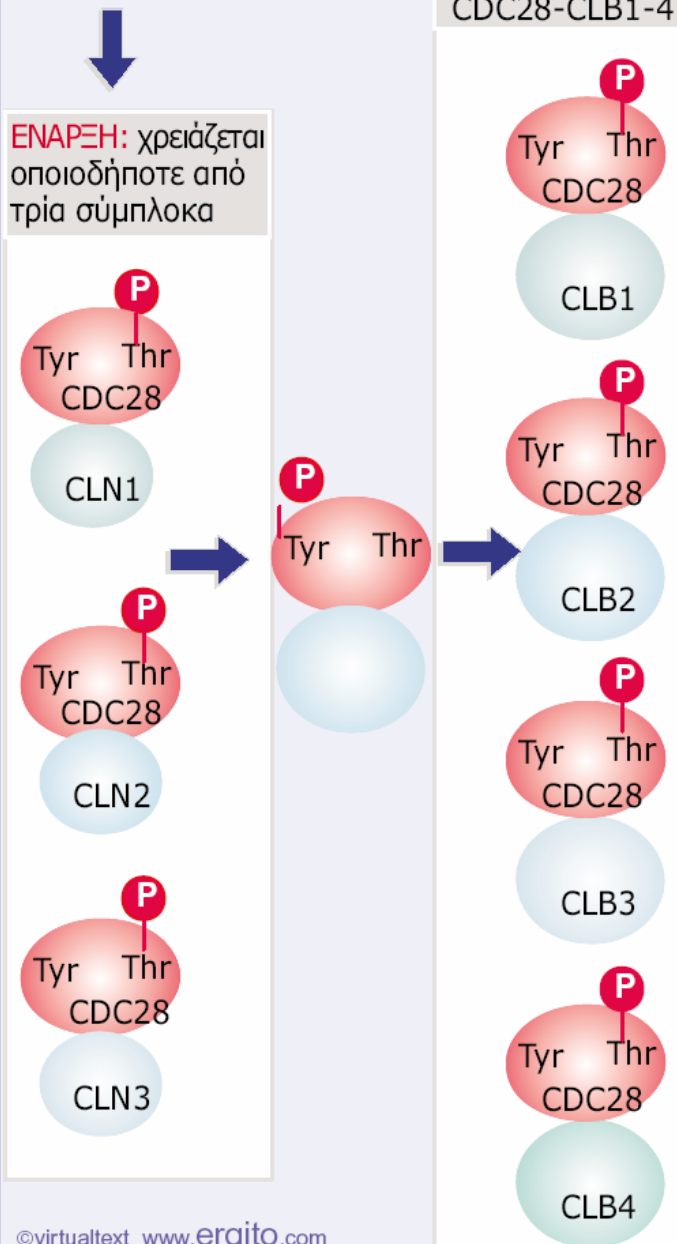
**Εικόνα 29.16** Στον *S. cerevisiae*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου ενέχει τη σύνδεση της CDC28 με πλεονάζουσες κυκλίνες τόσο στην ENAPΞΗ όσο και στην G2/M.

**Η CDC28 προσδένεται σε πολλές κυκλίνες**

Η συσσώρευση των CLN ενεργοποιεί την ENAPΞΗ

**Μίτωση:** χρειάζεται ενεργά τα σύμπλοκα CDC28-CLB1-4

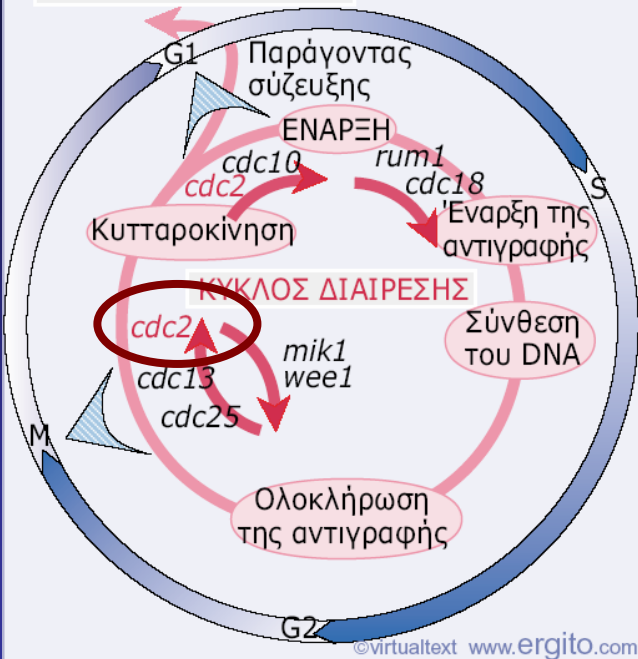
**ENAPΞΗ:** χρειάζεται οποιοδήποτε από τρία σύμπλοκα



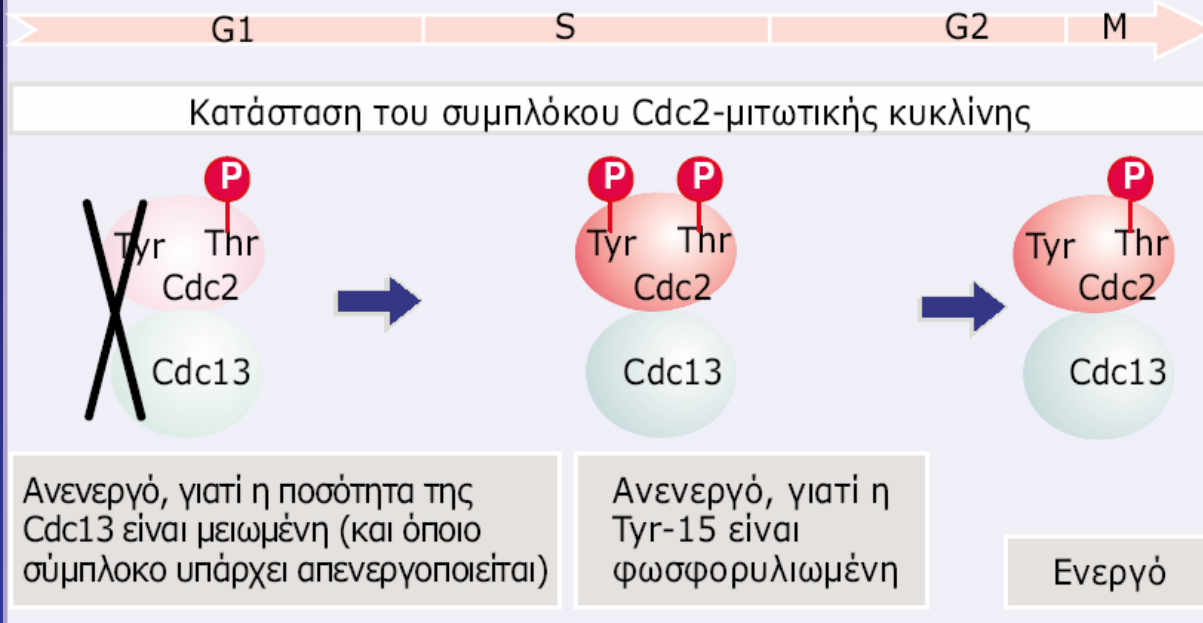
Η συσσώρευση των πρωτεϊνών CLN είναι το καθοριστικό βήμα για τον έλεγχο της μετάβασης G1/S. Αναστολή της σύνθεσης αυτών των πρωτεϊνών αναστέλλει τον κύκλο αποτρέποντας τη συσσώρευσή τους. Ο χρόνος ημιζωής της πρωτεΐνης CLN2 είναι ~15 λεπτά. Η συσσώρευσή της πάνω από ένα επίπεδο μπορεί να δίνει το έναυσμα για τη μετάβαση από την G1 στην S. Αυτή η αστάθεια αντιπροσωπεύει ένα διαφορετικό τύπο ελέγχου από εκείνον που παρουσιάζεται εξαιτίας της αιφνίδιας αποικοδόμησης των κυκλινών τύπου A και B. Επικρατούσες μεταλλάξεις που περικόπτουν την πρωτεΐνη αφαιρώντας το καρβοξυτελικό της τμήμα (το οποίο περιέχει αλληλουχίες-στόχους για την αποικοδόμηση της πρωτεΐνης) σταθεροποιούν την πρωτεΐνη, με συνέπεια τη σχεδόν πλήρη απουσία της φάσης G1 και τη συνέχιση του κύκλου απευθείας από τη φάση M στη φάση S. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται και από το προϊόν του *CLN3*.

Η πλεονάζουσα λειτουργία των γονιδίων *CLN* και *CLB* είναι ένα γνώρισμα που απαντάται και σε αρκετά άλλα στάδια του κυτταρικού κύκλου. Σε κάθε περίπτωση, το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό τέτοιων ομάδων γονιδίων είναι ότι η αφαίρεση ενός και μόνο γονιδίου οδηγεί σε βλάβες στον κυτταρικό κύκλο, αλλά η αφαίρεση δύο ή όλων των μελών της ομάδας είναι θανατηφόρος. Τα μέλη μιας ομάδας έχουν μάλλον επικαλυπτόμενες παρά πανομοιότυπες λειτουργίες. Αυτή η μορφή οργάνωσης καθιστά πρακτικά δύσκολη την ταυτοποίηση μεταλλάξεων στις αντίστοιχες λειτουργίες.

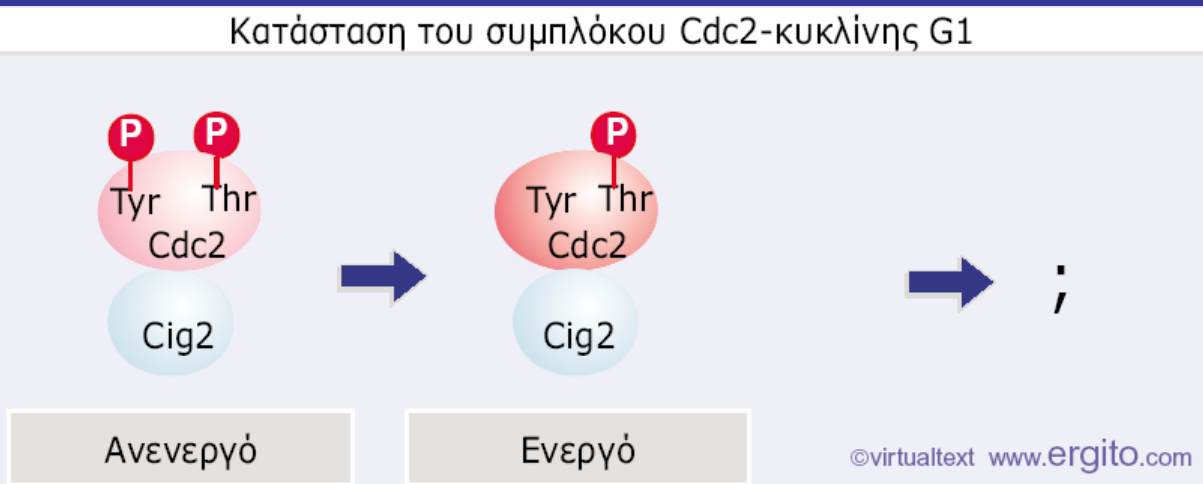
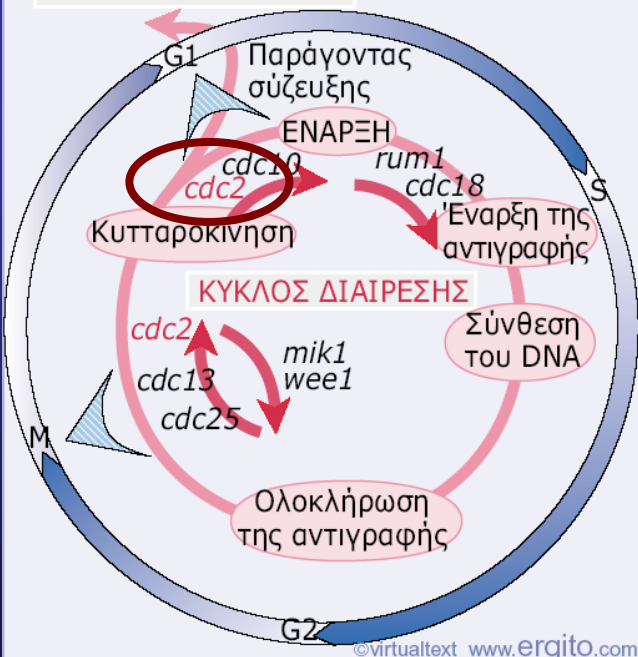
ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



Σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο



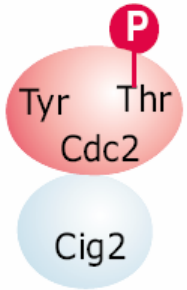
ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



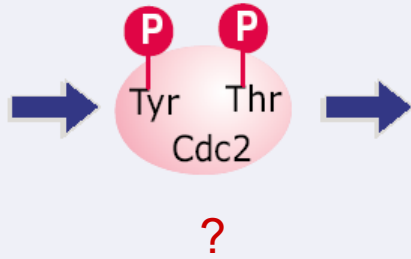
**Εικόνα 29.14** Στον *S. pombe*, το στάδιο του κυτταρικού κύκλου καθορίζεται από τις μορφές των συμπλόκων Cdc2-κυκλίνης που απαντώνται στο κύτταρο.

## ΕΝΑΡΞΗ

Χρειάζεται  
ενεργό το  
Cdc2-Cig2



Τι απενεργοποιεί  
το Cdc2-Cig2;



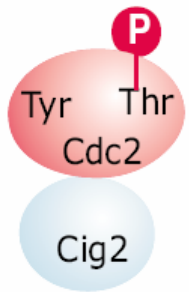
**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.



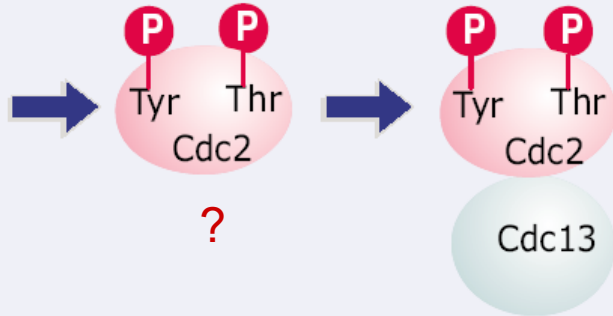
## Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25

### ΕΝΑΡΞΗ

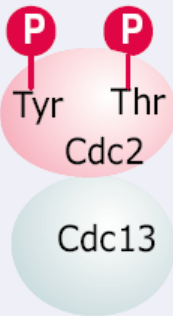
Χρειάζεται ενεργό το Cdc2-Cig2



Τι απενεργοποιεί το Cdc2-Cig2;



Αυξημ

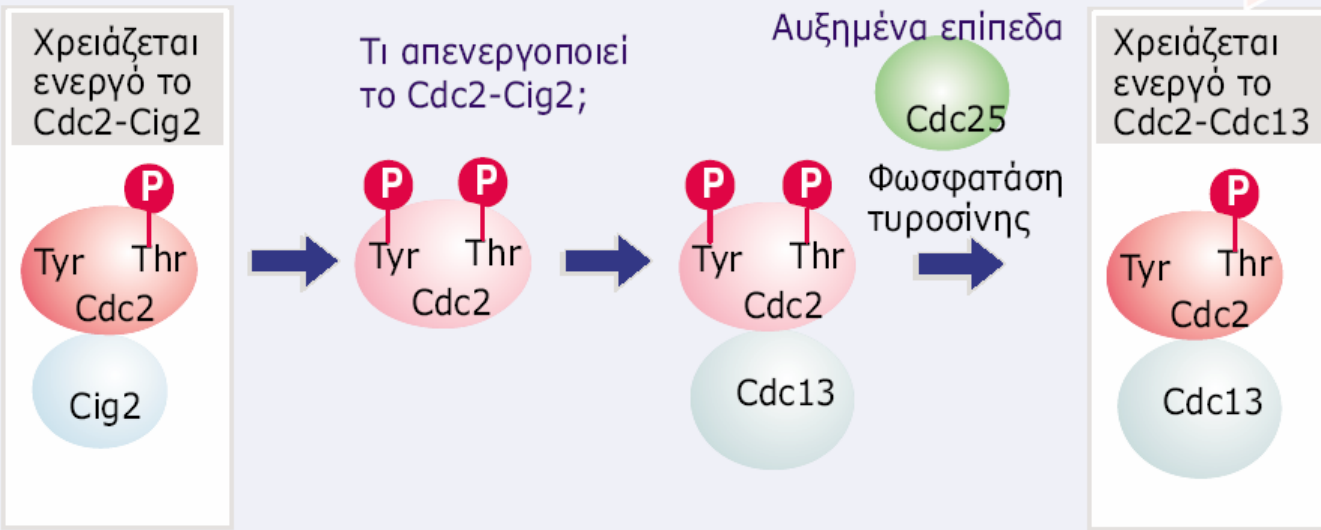


**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.

# Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25 και την κινάση Wee1

ΕΝΑΡΞΗ

Μίτωση

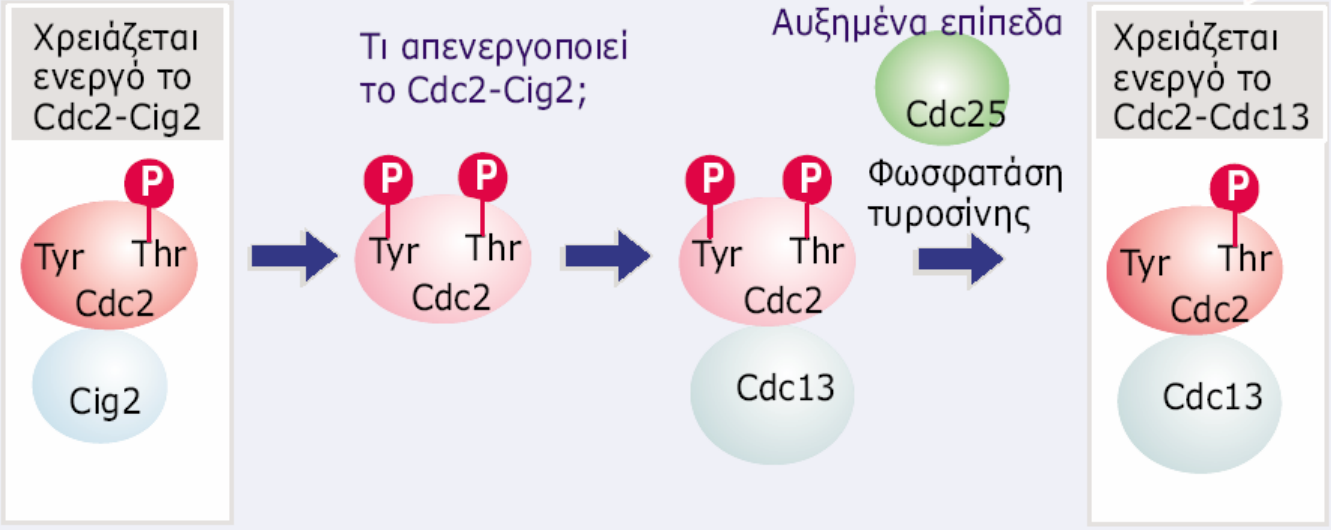


**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.

Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25 και την κινάση Wee1

ΕΝΑΡΞΗ

Μίτωση



Σημείο ελέγχου:  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή, δεν ενεργοποιείται η Cdc25



**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.

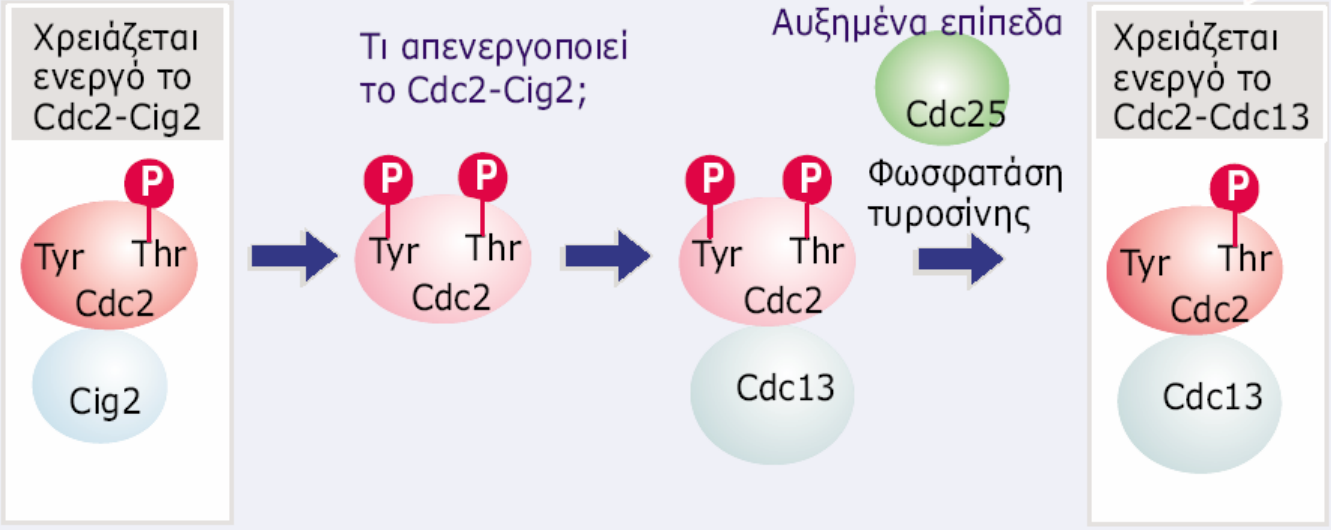


Genes VIII - Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2004

# Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25 και την κινάση Wee1

ΕΝΑΡΞΗ

Μίτωση



**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή, δεν ενεργοποιείται η Cdc25

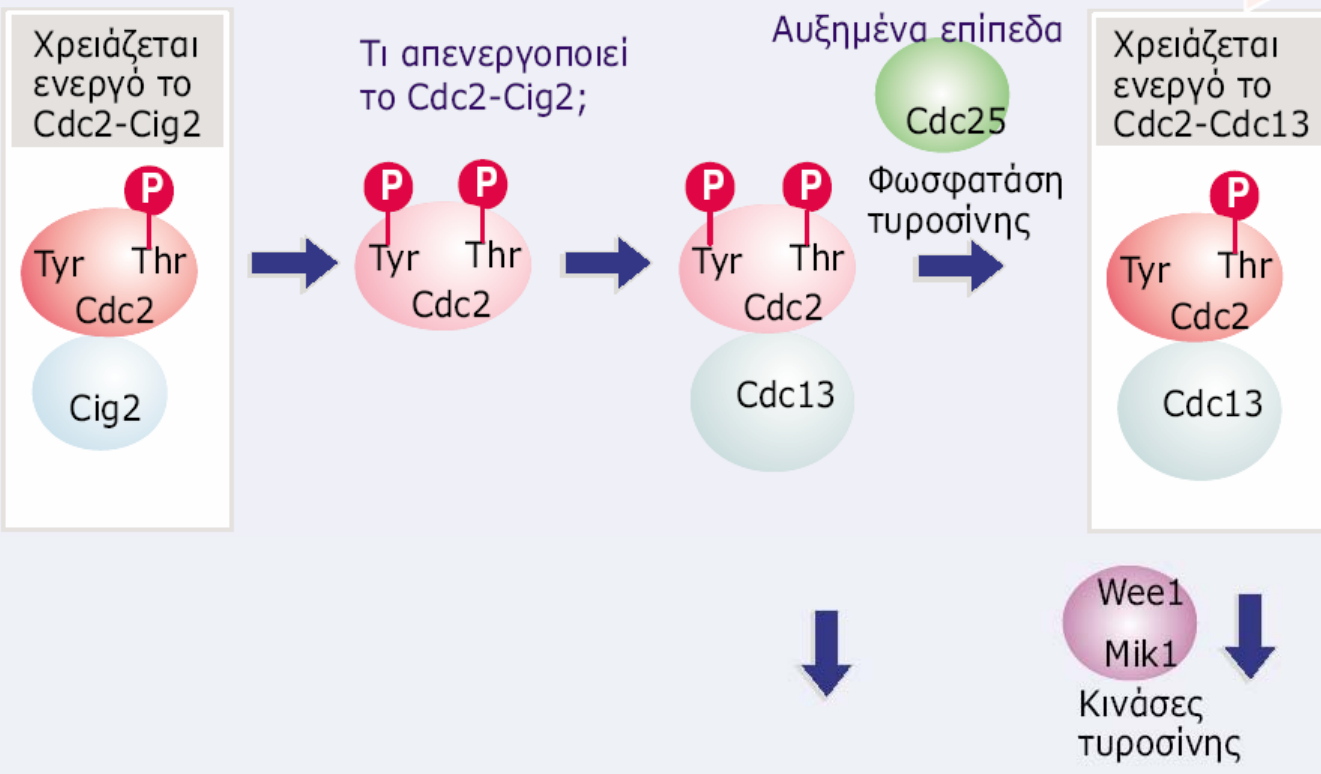


**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.

# Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25 και την κινάση Wee1

ΕΝΑΡΞΗ

Μίτωση



**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή, δεν ενεργοποιείται η Cdc25

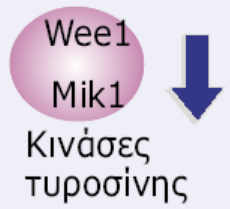
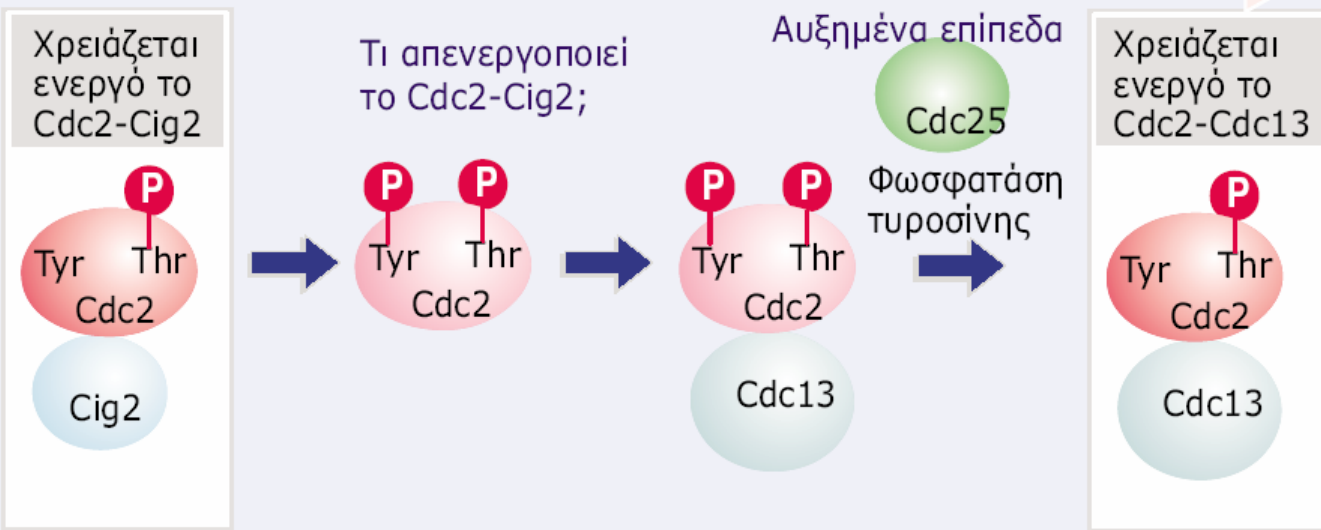


**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.

# Η Cdc2 ρυθμίζεται από τη φωσφατάση Cdc25 και την κινάση Wee1

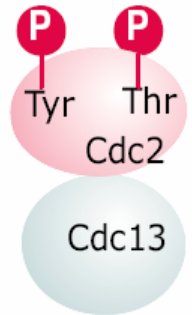
ΕΝΑΡΞΗ

Μίτωση

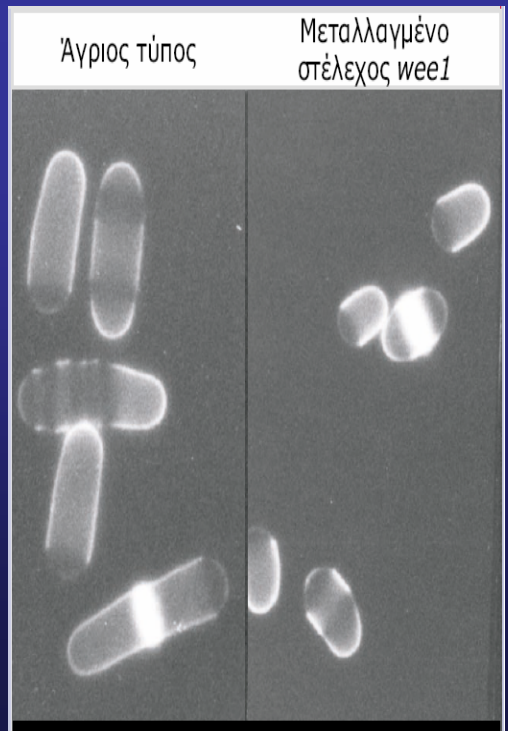


**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή, δεν ενεργοποιείται η Cdc25

**Σημείο ελέγχου:**  
Αν το κύτταρο είναι μικρό, απενεργοποιείται η Cdc2

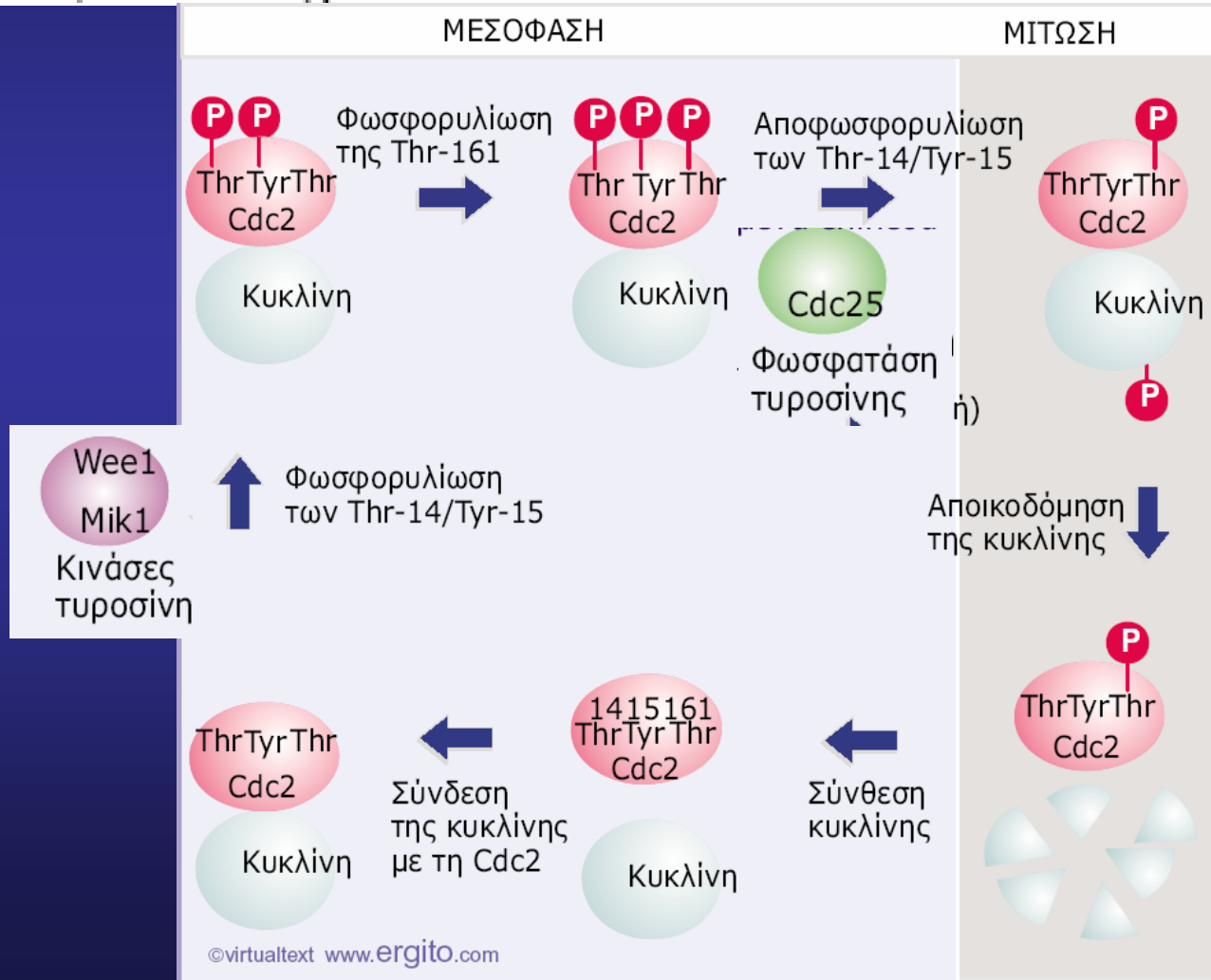


**Εικόνα 29.17** ΣΤΟΝ *S. pombe*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου περιλαμβάνει διαδοχικές φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της Cdc2. Τα σημεία ελέγχου λειτουργούν επηρεάζοντας την κατάσταση των καταλοίπων Tyr και Thr.



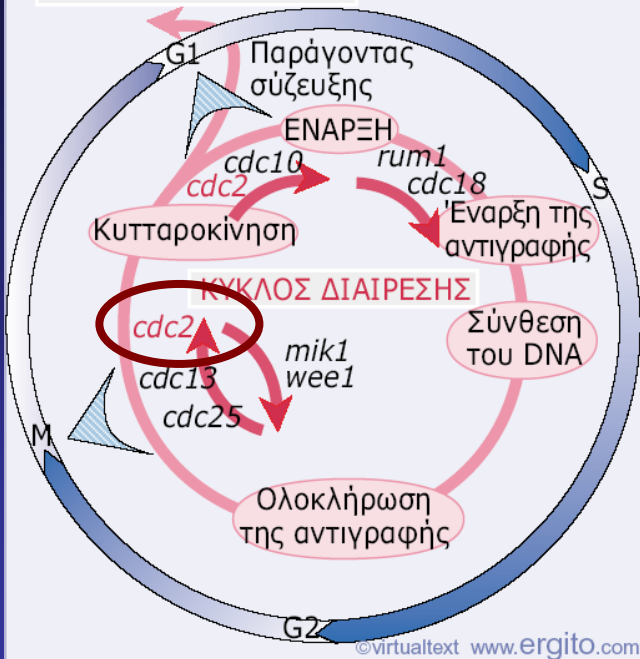
Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο κύκλος της κυτταρικής διαίρεσης συνδέεται με το μέγεθος του κυττάρου. Σε μη βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας, όπου το μέγεθος των κυττάρων αυξάνεται πιο αργά, η G1 γίνεται μεγαλύτερη, επειδή η ΕΝΑΡΞΗ δεν πραγματοποιείται έως ότου τα κύτταρα να αποκτήσουν ένα κρίσιμο μέγεθος. Αυτό αποτελεί έναν τρόπο προστασίας από την έναρξη ενός κύκλου κυτταρικής διαίρεσης πριν από την παραγωγή υλικού σε ποσότητα επαρκή και για τα δύο θυγατρικά κύτταρα. Τα μεταλλαγμένα στελέχη *cdc* τυπικά καθυστερούν την έναρξη της μίτωσης και καταλήγουν είτε σε αναβολή του κυτταρικού τους κύκλου, με αποτέλεσμα την αύξηση του μεγέθους χωρίς διαίρεση (όπως παρουσιάζεται για το *cdc25* στην Εικόνα 29.11), είτε σε διαίρεση σε μεγαλύτερο μέγεθος.

Η βασική αρχή που καθιερώθηκε απ' αυτή τη μελέτη είναι ότι η λειτουργία του ρυθμιστή-κλειδιού, της Cdc2, ελέγχεται από ενεργό-τητες κινάσης και φωσφατάσης, οι οποίες με τη σειρά τους αποκρίνονται σε άλλα σήματα. Η πρωτεΐνη Cdc2 είναι το μέσο με το οποίο όλα αυτά τα διαφορετικά σήματα τελικά ενοποιούνται στην απόφαση αν το κύτταρο θα συνεχίσει τον κύκλο.

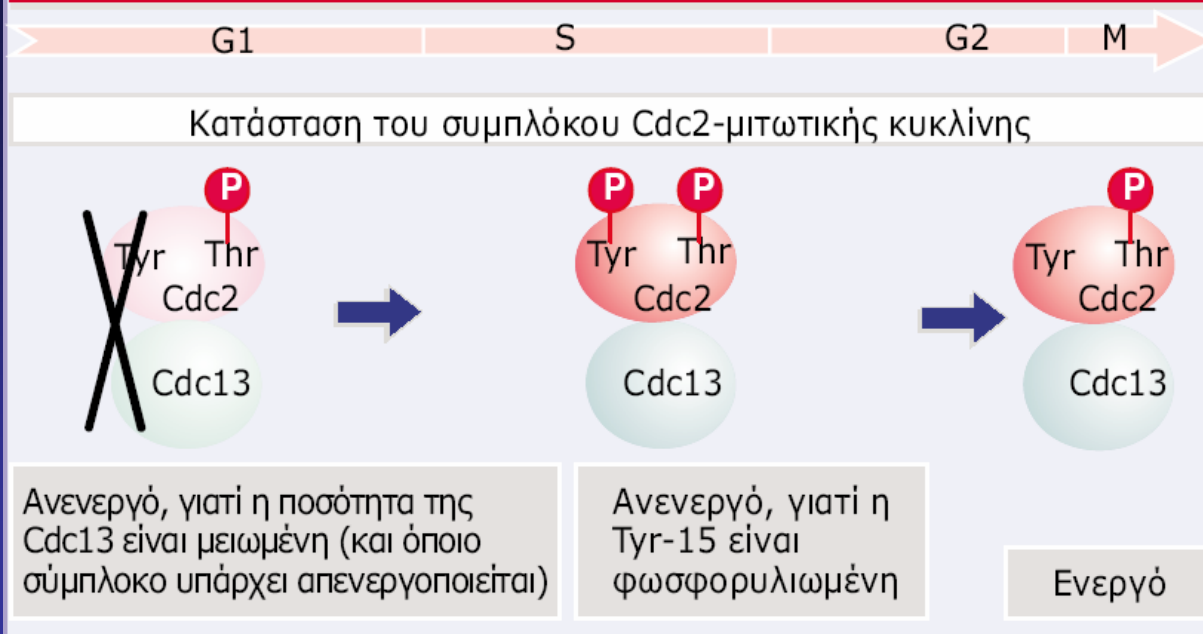




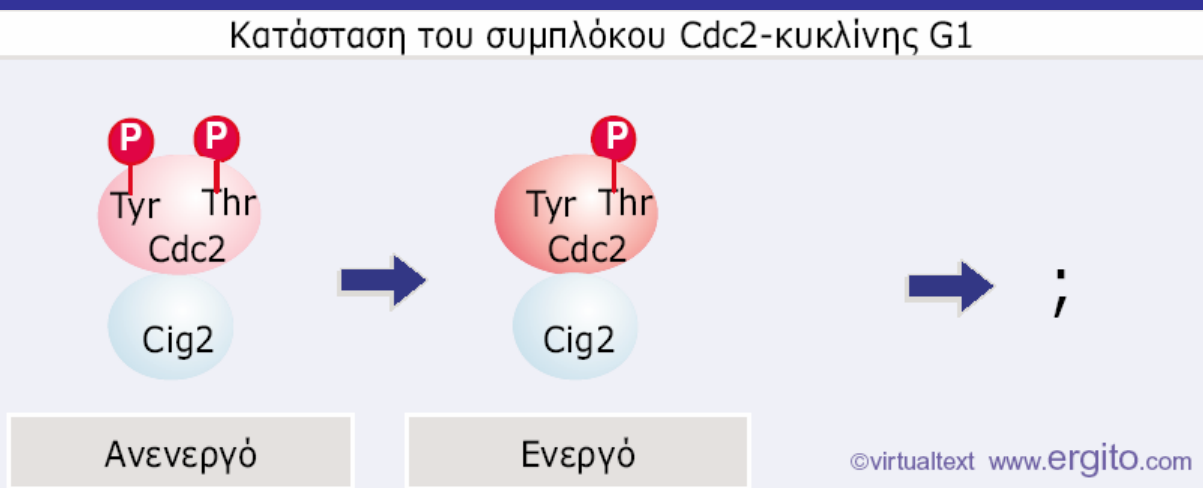
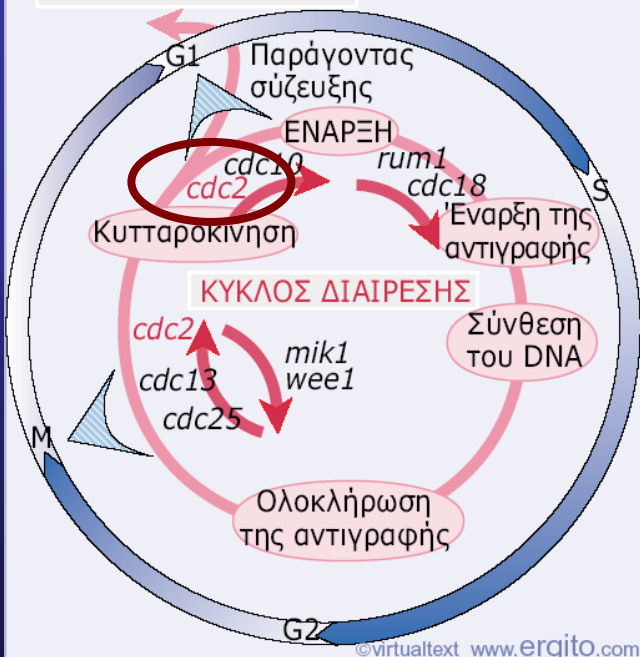
ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



Σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο



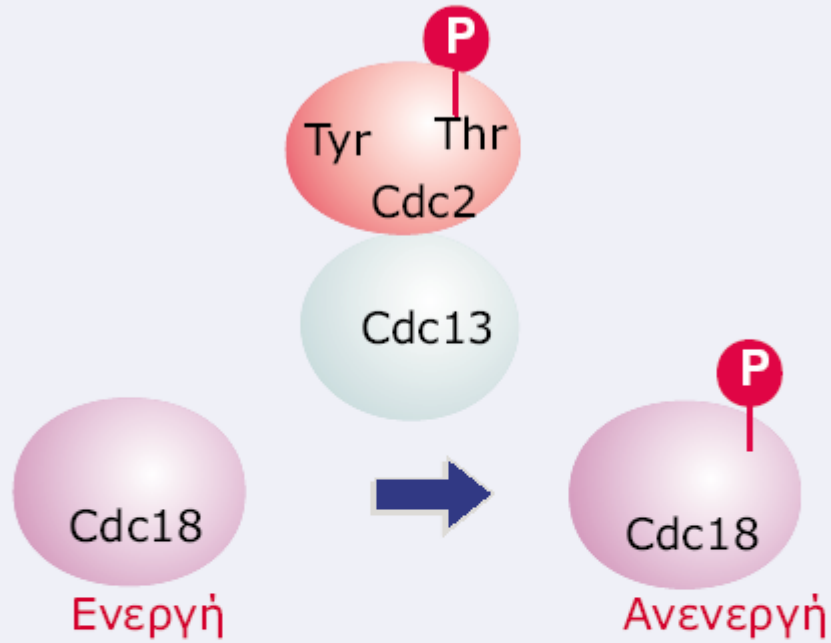
ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



**Εικόνα 29.14** Στον *S. pombe*, το στάδιο του κυτταρικού κύκλου καθορίζεται από τις μορφές των συμπλόκων Cdc2-κυκλίνης που απαντώνται στο κύτταρο.

# Η Cdc18 ρυθμίζει τη φάση S

## Κατάσταση της Cdc18



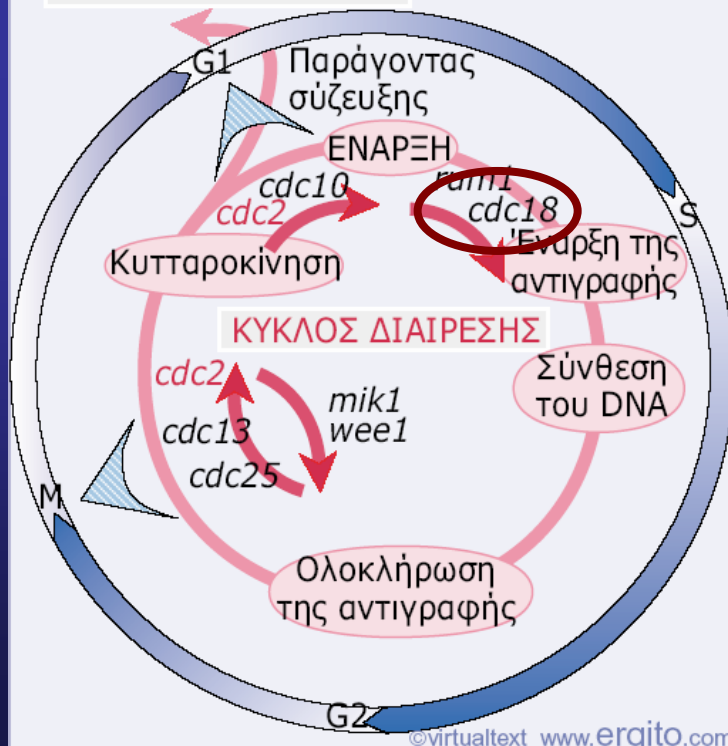
## Στάδιο του κυτταρικού κύκλου



**Εικόνα 29.18** Η Cdc18 απαιτείται για την έναρξη της φάσης S και είναι μέρος ενός σημείου ελέγχου που εξασφαλίζει τη σωστή εναλλαγή της φάσης S και της μίτωσης. Η ενεργή κινάση της φάσης M απενεργοποιεί τη Cdc18, δημιουργώντας μια αμοιβαία σχέση ανάμεσα στη μίτωση και στη φάση S.

## Τα γονίδια *cdc* δρουν σε όλα τα στάδια του κυτταρικού κύκλου

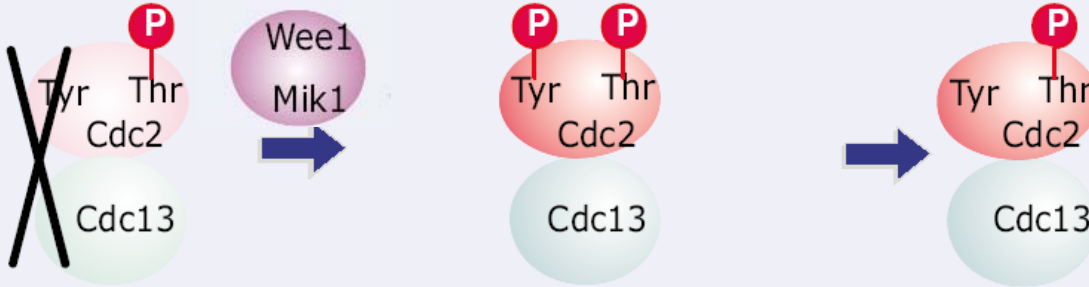
### ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



## Σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο

G1 S G2 M

Κατάσταση του συμπλόκου Cdc2-μιτωτικής κυκλίνης



Ανενεργό, γιατί η ποσότητα της Cdc13 είναι μειωμένη (και όποιο σύμπλοκο υπάρχει απενεργοποιείται)

Ανενεργό, γιατί η Tyr-15 είναι φωσφορυλιωμένη

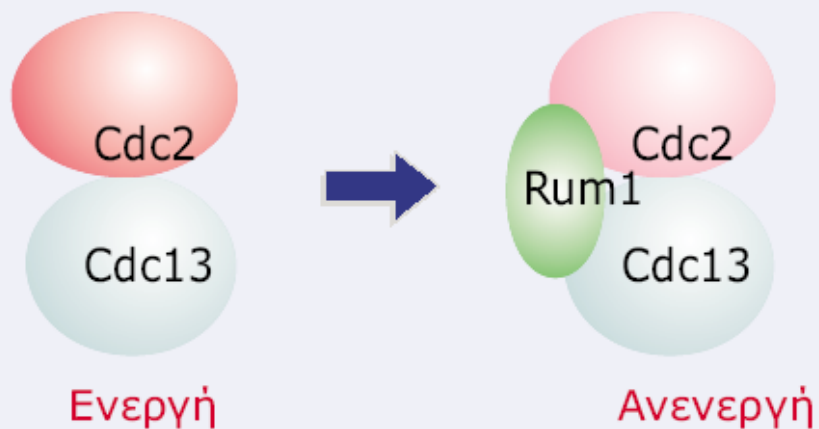
Ενεργό

## ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ

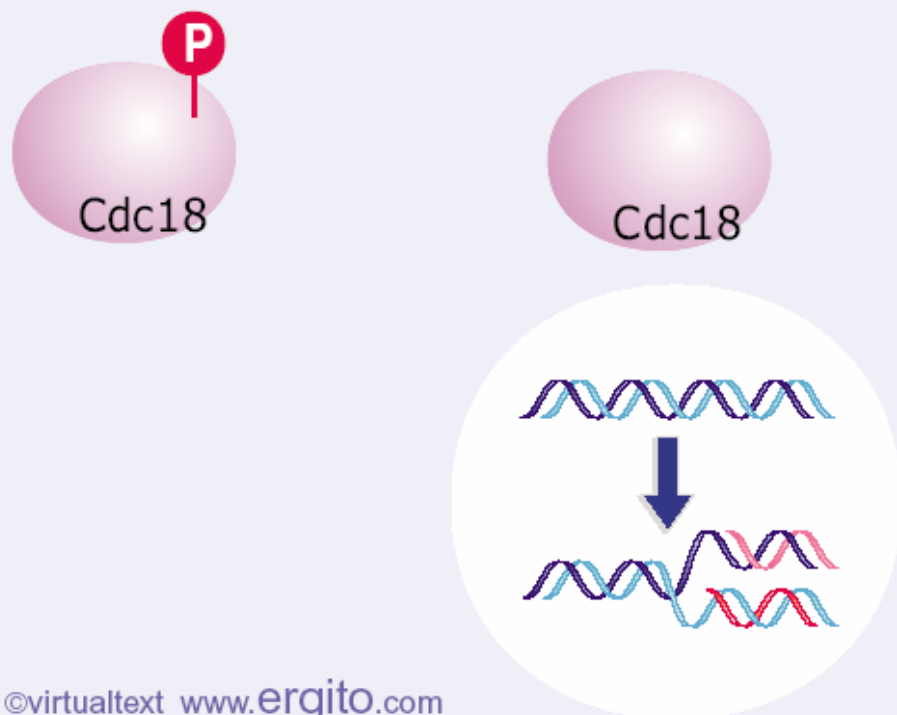


## Η rum1 χρειάζεται για τη φάση S

### Κατάσταση της κινάσης της φάσης M



### Κατάσταση της Cdc18



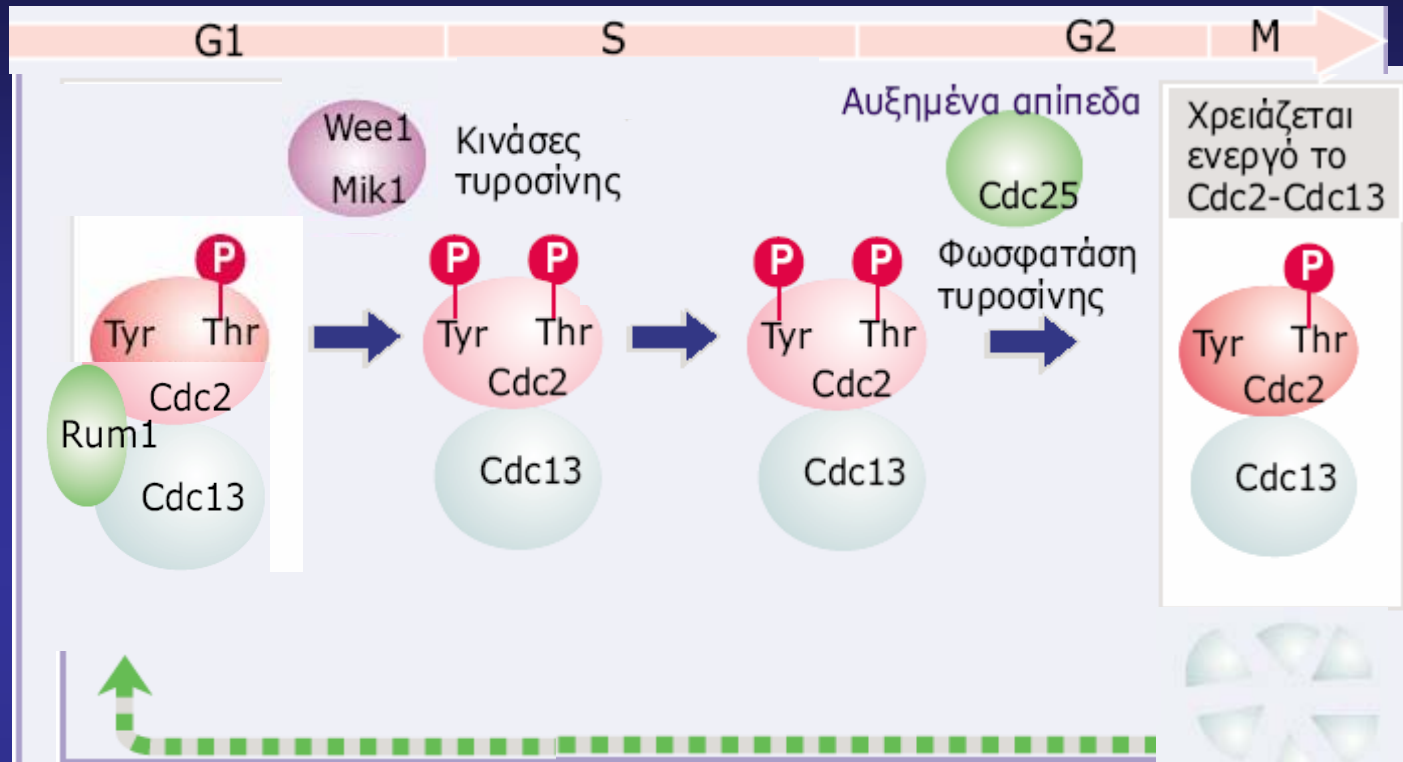
**Εικόνα 29.19** Η Rum1 απενεργοποιεί την κινάση της φάσης M, αποτρέποντάς τη να αναστείλει την έναρξη της φάσης S.

Η ενεργοποίηση της κινάσης της μορφής G1/S (Cdc2/cig2, στον *S. pombe*) είναι απαραίτητη για τη μετάβαση στη φάση S, αλλά εξίσου απαραίτητη είναι και η απενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M (Cdc2/Cdc13).

Στελέχη που δεν εκφράζουν *cdc13* αποτυγχάνουν να εισέλθουν στη μίτωση και επιπλέον διενεργούν πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής του DNA, γεγονός που υποδηλώνει ότι η κινάση της φάσης M συνήθως αναστέλλει τη φάση S.


Το γεγονός αυτό παρέχει ένα σημείο ελέγχου που διασφαλίζει την εναλλαγή μεταξύ της φάσης S και της μίτωσης. Η ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M κατά τη διάρκεια της G2 αποτρέπει τη διεξαγωγή επιπλέον κύκλων αντιγραφής του DNA πριν τη μίτωση ενώ η απενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M εμποδίζει να συμβεί και άλλη μίτωση προτού πραγματοποιηθεί η επόμενη φάση S.

# Η cdc2 ρυθμίζεται από την φωσφατάση cdc25 τη κινάση wee1 και το παράγοντα αναστολής rum1



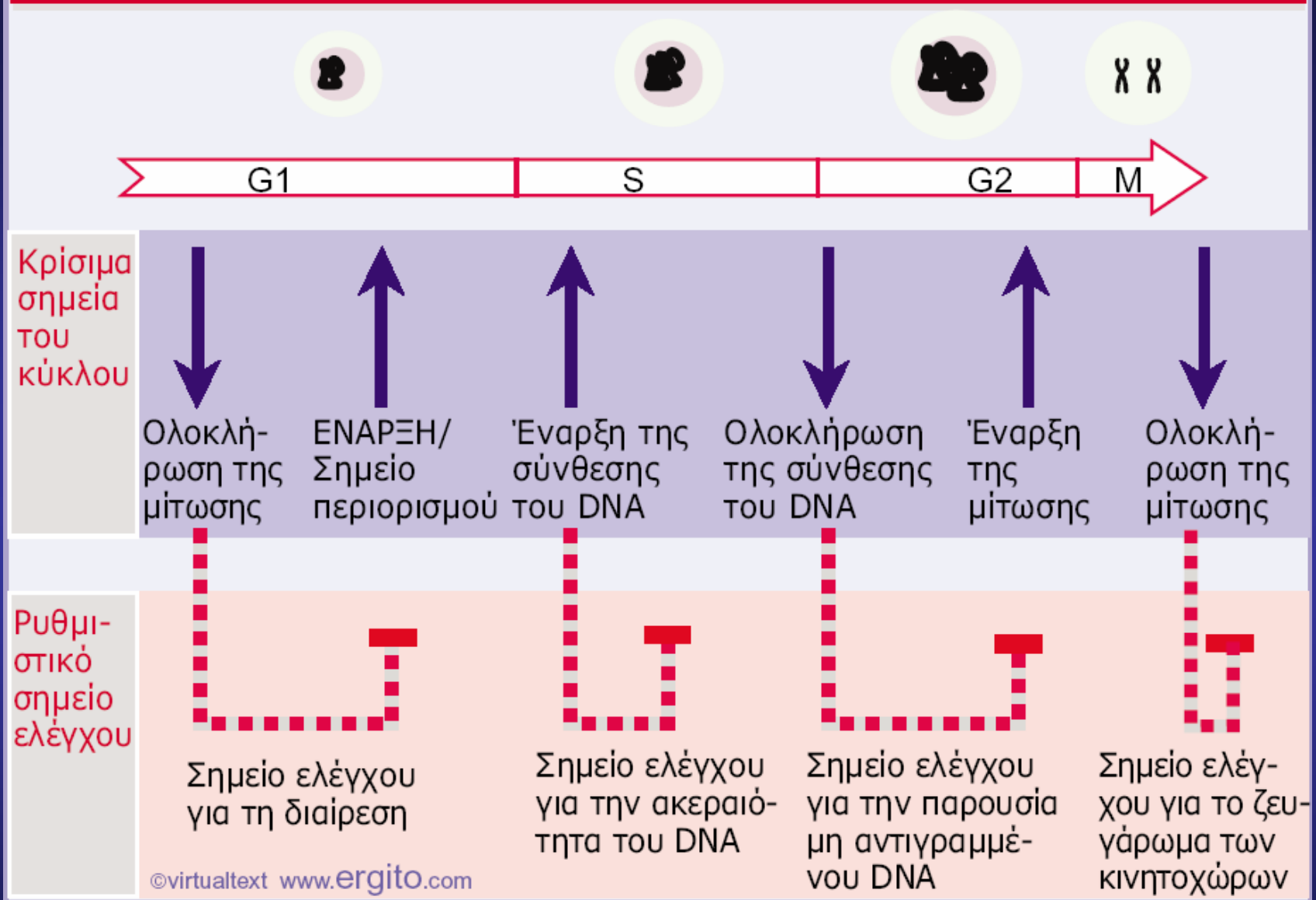
**Σημείο ελέγχου:**  
Αν το κύτταρο είναι μικρό απενεργοποιείται η Cdc2.

**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή δεν ενεργοποιείται η Cdc25



Έξοδος από τη μίτωση

# Η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου βασίζεται στα σημεία ελέγχου



**Εικόνα 29.4** Η ικανότητα του κυτάρου να προχωρήσει στον κύκλο ρυθμίζεται από τα σημεία ελέγχου, στα οποία προσδιορίζεται κατά πόσο έχουν ολοκληρωθεί με επιτυχία τα προηγούμενα στάδια. Μια οριζόντια κόκκινη ράβδος επισημαίνει το στάδιο στο οποίο ένα σημείο ελέγχου εμποδίζει την πρόοδο του κύκλου.

Μεταλλαγμένα στελέχη *cdc25* παρουσιάζουν αύξηση του μεγέθους χωρίς διαίρεση.

Μεταλλαγμένα στελέχη *wee1* παρουσιάζουν πρόοδο σε μίτωση σε μειωμένο μέγεθος.

Μεταλλαγμένα στελέχη που υπερεκφράζουν το *cdc25* έχουν τον ίδιο φαινότυπο με αυτά που στερούνται *wee1*.

Υπερέκφραση του *rum1* (όπως και του *cdc 18*) οδηγεί σε πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής και τα κύτταρα δεν καταφέρνουν να εισέλθουν στη μίτωση.

Απαλείφοντας τον *rum1*, τα κύτταρα εισέρχονται πρόωρα στη μίτωση.



Η βασική αρχή που καθιερώθηκε από αυτή τη μελέτη είναι ότι η λειτουργία του ρυθμιστή-κλειδιού, της Cdc2, ελέγχεται από ενεργοποιητές κινάσης και φωσφατάσης, οι οποίες με τη σειρά τους αποκρίνονται σε άλλα σήματα. Η πρωτεΐνη Cdc2 είναι το μέσο με το οποίο όλα αυτά τα διαφορετικά σήματα τελικά ενοποιούνται στην απόφαση αν το κύτταρο θα συνεχίσει τον κύκλο.

Το γενικό μοτίβο που προκύπτει από τα παραπάνω αποτελέσματα είναι το εξής: τα ρυθμιστικά κυκλώματα που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο διαθέτουν αλληλοσυνδεδεμένους κύκλους ανάδρασης οι οποίοι διασφαλίζουν τη σωστή πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Επίσης, προσδίδοντας διπτούς ρόλους σε ένα μόνο συστατικό, του οποίου η λειτουργία είναι απαραίτητη για να προωθήσει ένα γεγονός και να εμποδίσει ένα άλλο, δημιουργείται μια ενδογενής αλλαγή γεγονότων. Έτσι μια ενεργή κινάση της φάσης M προωθεί τη μίτωση ως θεμιτό γεγονός, ενώ παράλληλα εμποδίζει τη φάση S ως αθέμιτο γεγονός. Αυτό δημιουργεί ένα ενδογενές σημείο ελέγχου : ένα γεγονός δεν μπορεί να ξεκινήσει έως ότου να αντιστραφεί η κατάσταση του συστατικού που είναι υπεύθυνο για το προηγούμενο γεγονός.



**ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ II**

**Δρ. Α. ΓΑΛΑΝΗΣ**  
**agalanis@mbg.duth.gr**

## Κεφάλαιο 29

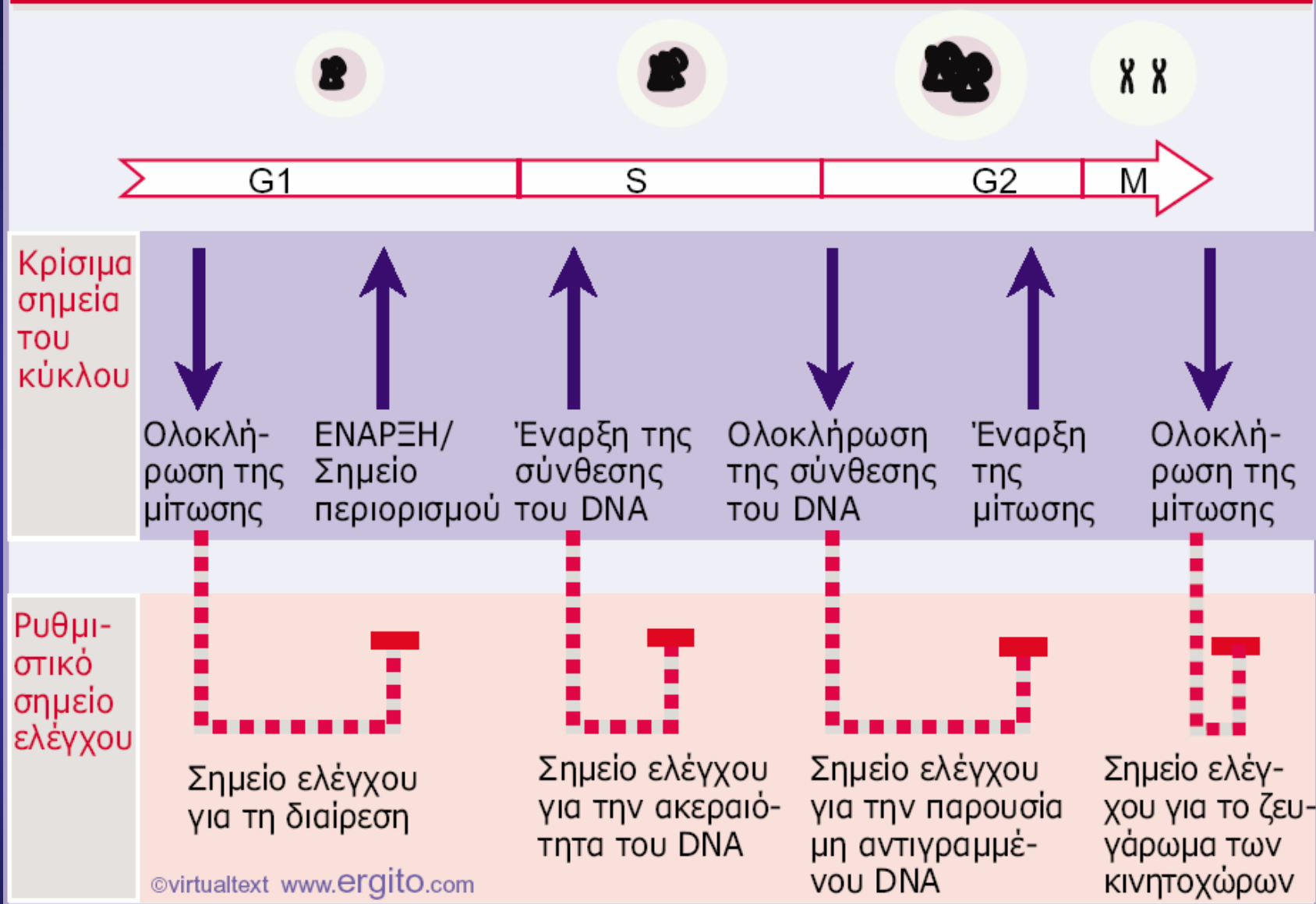
# Κυτταρικός κύκλος και ρύθμιση της αύξησης

- 29.1 Εισαγωγή
- 29.2 Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου ρυθμίζεται από διακριτά σημεία ελέγχου
- 29.3 Σημεία ελέγχου υπάρχουν καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου
- 29.4 Οι επαγωγείς του κυτταρικού κύκλου ταυτοποιήθηκαν με πειράματα κυτταρικής σύντηξης
- 29.5 Η κινάση της φάσης M ρυθμίζει την είσοδο στη μίτωση
- 29.6 Η κινάση της φάσης M είναι ένα διμερές μιας καταλυτικής υπομονάδας και μιας κυκλίνης
- 29.7 Η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση των πρωτεϊνών ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο
- 29.8 Πολλοί ρυθμιστικοί παράγοντες του κυτταρικού κύκλου έχουν ταυτοποιηθεί με πειράματα γενετικής σάρωσης στη ζύμη
- 29.9 Η Cdc2 είναι ο κεντρικός ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου στους ζυμομύκητες
- 29.10 Η Cdc2 είναι η μοναδική καταλυτική υπομονάδα των ενεργοποιητών του κυτταρικού κύκλου στον *S. pombe*
- 29.11 Η CDC28 δρα τόσο στην ENAPΞΗ όσο και στη μίτωση στον *S. cerevisiae*
- 29.12 Η ενεργότητα της Cdc2 ελέγχεται από κινάσες και φωσφατάσες
- 29.13 Βλάβες στο DNA πυροδοτούν ένα σημείο ελέγχου
- 29.14 Ο κυτταρικός κύκλος των ζώων ελέγχεται από πολλαπλά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης
- 29.15 Η διαθεσιμότητα των κυκλινών και η φωσφορυλίωση των cdk ελέγχουν το σχηματισμό και την ενεργότητα των διμερών
- 29.16 Η πρωτεΐνη RB είναι ένα κύριο υπόστρωμα για τα σύμπλοκα cdk-κυκλίνης
- 29.17 Στις μεταπτώσεις G0/G1 και G1/S εμπλέκονται αναστολείς των cdk
- 29.18 Η αποικοδόμηση ορισμένων πρωτεϊνών παίζει σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στη μίτωση
- 29.19 Οι κοχεσίνες συγκρατούν μαζί τις αδελφές χρωματίδες
- 29.20 Η έξοδος από τη μίτωση ελέγχεται από τον εντοπισμό της Cdc14
- 29.21 Κατά τη μίτωση σχηματίζεται η άτρακτος
- 29.22 Η άτρακτος προσανατολίζεται από τα κεντροσωμάτια
- 29.23 Μια μονομερής πρωτεΐνη G ελέγχει τη συναρμολόγηση της ατράκτου
- 29.24 Τα θυγατρικά κύτταρα διαχωρίζονται μέσω της κυτταροκίνησης
- 29.25 Η απόπτωση είναι μια δυνατότητα πολλών ή όλων των κυττάρων
- 29.26 Ο υποδοχέας Fas πυροδοτεί ένα από τα μείζονα μονοπάτια της απόπτωσης
- 29.27 Ένα αποπτωτικό μονοπάτι λειτουργεί μέσω κασπασών
- 29.28 Η απόπτωση ενέχει αλλαγές στο μιτοχονδριακό φάκελο
- 29.29 Το κυτόχρωμα c ενεργοποιεί το επόμενο στάδιο της απόπτωσης
- 29.30 Υπάρχουν πολλά αποπτωτικά μονοπάτια
- 29.31 Περίληψη

## Τρία σημαντικά ερωτήματα

1. Με ποιόν τρόπο τα κύτταρα διπλασιάζουν το περιεχόμενό τους;
2. Πώς κατανέμουν τα διπλασιασμένα συστατικά τους και τα μοιράζουν στα δύο;
3. Πώς συντονίζουν όλες τις απαραίτητες δραστηριότητες για τις δύο προηγούμενες διεργασίες;

# Η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου βασίζεται στα σημεία ελέγχου



**Εικόνα 29.4** Η ικανότητα του κυτάρου να προχωρήσει στον κύκλο ρυθμίζεται από τα σημεία ελέγχου, στα οποία προσδιορίζεται κατά πόσο έχουν ολοκληρωθεί με επιτυχία τα προηγούμενα στάδια. Μια οριζόντια κόκκινη ράβδος επισημαίνει το στάδιο στο οποίο ένα σημείο ελέγχου εμποδίζει την πρόοδο του κύκλου.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Η ομαλή διαδοχή των φάσεων του κυτταρικού κύκλου πιστοποιείται σε σημεία ελέγχου (checkpoints), τα οποία παρεμποδίζουν τη μετάβαση στην επόμενη φάση του κύκλου, εάν δεν έχουν ολοκληρωθεί προηγούμενα απαραίτητα στάδια.
- ▶ Ο ενεργοποιητής της φάσης S είναι υπεύθυνος για την ικανότητα ενός πυρήνα σε φάση S να επάγει σε ένα ετεροκάρυο την έναρξη της αντιγραφής σε έναν πυρήνα G1.
- ▶ Ο επαγωγέας της φάσης M είναι υπεύθυνος για την ικανότητα ενός μιτωτικού κυττάρου να επάγει σε πειράματα κυτταρικής σύντηξης ψευδο-μίτωση σε ένα μεσοφασικό πυρήνα.
- ▶ Ο επαγωγέας της φάσης M δεν είναι άλλος από την ενεργοποιημένη κινάση της φάσης M, η οποία αποτελείται από μια καταλυτική υπομονάδα κινάσης και μια ρυθμιστική υπομονάδα κυκλίνης.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Ο MPF ανακαλύφθηκε ως ένας παράγοντας που επάγει ωοκύτταρα σε φάση G2 να εισέλθουν σε μείωση.
- ▶ Ο ίδιος παράγοντας είναι υπεύθυνος για την είσοδο σε μίτωση των σωματικών κυττάρων.
- ▶ Τόσο ο παράγοντας ωρίμανσης των ωοκυττάρων όσο και ο παράγοντας προώθησης της φάσης M ταυτίζονται με την κινάση της φάσης M.
- ▶ Η πρωτεΐνη Cdc2 αποτελεί την καταλυτική υπομονάδα της κινάσης της φάσης M και φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες-στόχους σε κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης.
- ▶ Η ρυθμιστική υπομονάδα της κινάσης της φάσης M είναι είτε η κυκλίνη A είτε η κυκλίνη B.
- ▶ Η ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M πραγματοποιείται με ομοιοπολικές τροποποιήσεις της καταλυτικής υπομονάδας Cdc2.



## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Η κινάση της φάσης M προάγει τη μίτωση φωσφορυλιώνοντας μια πληθώρα υποστρωμάτων.
- ▶ Η μίτωση τερματίζεται με την αποφωσφορυλίωση των υποστρωμάτων.
- ▶ Ένα από τα καλύτερα υποστρώματα για την κινάση της φάσης M, το οποίο συχνά χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί η ενεργότητά της, είναι η ιστόνη H1.
- ▶ Η παρεμπόδιση του κυτταρικού κύκλου πιθανότατα οδηγεί σε θάνατο του κυττάρου. Κατ' επέκταση, μεταλλάξεις σε παράγοντες που απαιτούνται για τον κυτταρικό κύκλο μπορούν να απομονωθούν ως υπό συνθήκη θανατηφόρες (conditional lethal).
- ▶ Πειράματα γενετικής σάρωσης για υπό συνθήκη θανατηφόρες μεταλλάξεις οδήγησαν στην ταυτοποίηση 80 περίπου γονιδίων που ενέχονται στον κυτταρικό κύκλο στο ζυμομύκητα *S. cerevisiae* ή στον *S. pombe*.

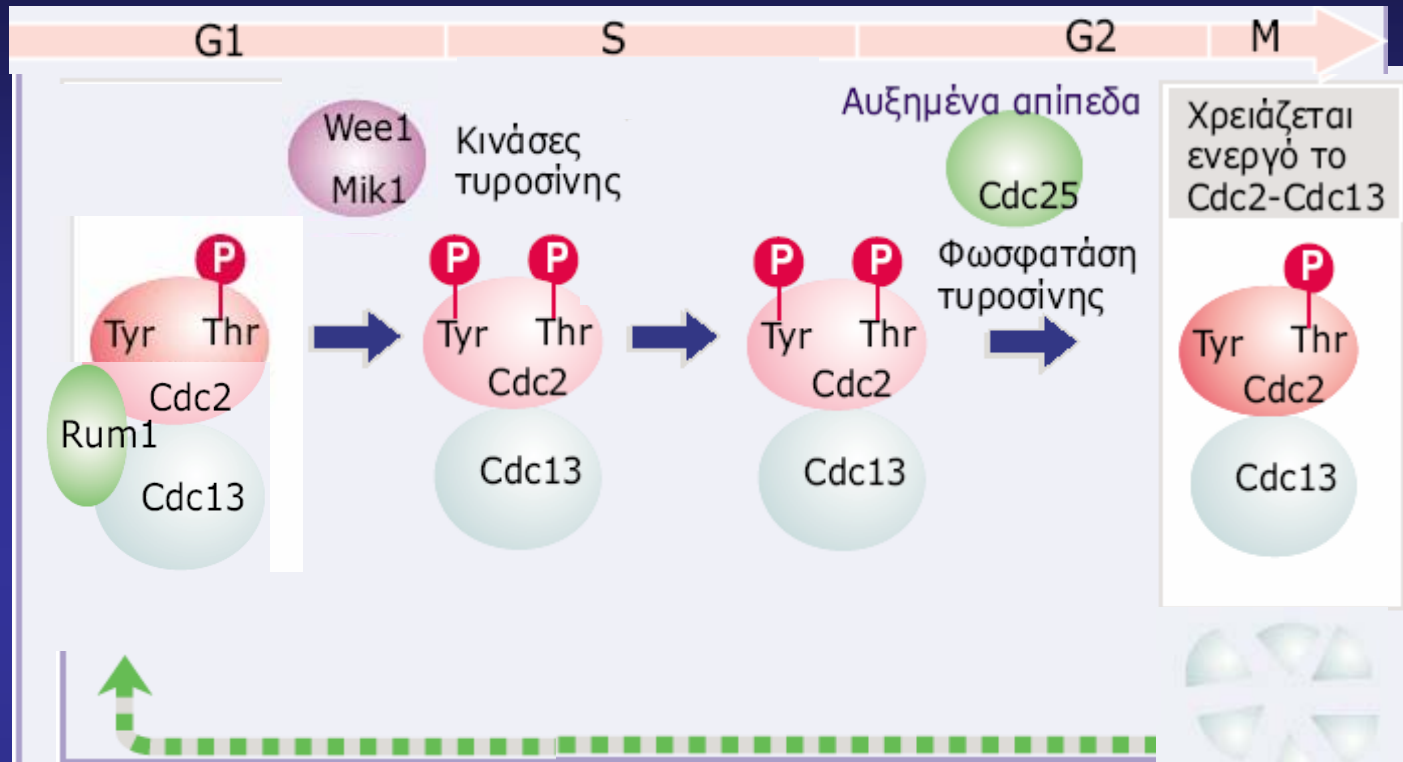
### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι μεταλλάξεις *cdc* του *S. pombe* εμπίπτουν σε δύο κατηγορίες, οι οποίες σταματούν τον κυτταρικό κύκλο είτε στη μετάβαση G2/M είτε στην ΕΝΑΡΞΗ στην G1.
- ▶ Διαφορετικά αλληλόμορφα του γονιδίου *cdc2* οδηγούν σε σταμάτημα του κυτταρικού κύκλου σε οποιοδήποτε από αυτά τα σημεία.
- ▶ Το ομόλογο γονίδιο του *cdc2* στον *S. cerevisiae* καλείται *CDC28*.
- ▶ Ομόλογα του *cdc2* ανευρίσκονται σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.
- ▶ Η ενεργοποιημένη μορφή της κινάσης της φάσης M είναι φωσφορυλιωμένη στην Thr-161. Η αδρανοποιημένη μορφή είναι φωσφορυλιωμένη στην Tyr-15 (και στα ζωικά κύτταρα και στην Thr-14).

## Σημαντικές έννοιες


- ▶ Κατά τη διάρκεια της μίτωσης, η Cdc2 απαντάται ως διμερές με μία από τις μιτωτικές κυκλίνες (A ή B).
- ▶ Κατά τη διάρκεια της G1, η Cdc2 σχηματίζει διμερές με μία κυκλίνη G1.
- ▶ Οι κυκλίνες G1 είναι μακρινά συγγενικές με τις μιτωτικές κυκλίνες, αλλά δε ρυθμίζονται με αποικοδόμηση.
- ▶ Το διμερές Cdc2-κυκλίνη G1 πρέπει να ενεργοποιηθεί, έτσι ώστε το κύτταρο να εισέλθει στη φάση S.
- ▶ Κατά τη μίτωση, η CDC28 σχηματίζει διμερή με καθεμία από 4 διαφορετικές κυκλίνες τύπου B.
- ▶ Η CDC28 σχηματίζει διμερή με μία από 3 διαφορετικές κυκλίνες G1, καθεμία από τις οποίες επαρκεί για την ενεργοποίηση της ΕΝΑΡΞΗΣ.
- ▶ Η Cdc25 είναι μια φωσφατάση που αφαιρεί την αδρανοποιητική φωσφορική ομάδα από την Tyr-15 της Cdc2, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M.
- ▶ Η Wee1 είναι μια κινάση που ανταγωνίζεται τη Cdc25 φωσφορυλιώνοντας την Tyr-15, όταν το μέγεθος του κυττάρου είναι μικρό.

# Η cdc2 ρυθμίζεται από την φωσφατάση cdc25 τη κινάση wee1 και το παράγοντα αναστολής rum1

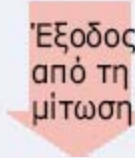


**Σημείο ελέγχου:**  
Αν το κύτταρο είναι μικρό απενεργοποιείται η Cdc2.

**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή δεν ενεργοποιείται η Cdc25



Έξοδος από τη μίτωση



Η ενεργοποίηση της κινάσης της μορφής G1/S (Cdc2/cig2, στον *S. pombe*) είναι απαραίτητη για τη μετάβαση στη φάση S, αλλά εξίσου απαραίτητη είναι και η απενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M (Cdc2/Cdc13).

Στελέχη που δεν εκφράζουν *cdc13* αποτυγχάνουν να εισέλθουν στη μίτωση και επιπλέον διενεργούν πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής του DNA, γεγονός που υποδηλώνει ότι η κινάση της φάσης M συνήθως αναστέλλει τη φάση S.

Το γεγονός αυτό παρέχει ένα σημείο ελέγχου που διασφαλίζει την εναλλαγή μεταξύ της φάσης S και της μίτωσης. Η ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M κατά τη διάρκεια της G2 αποτρέπει τη διεξαγωγή επιπλέον κύκλων αντιγραφής του DNA πριν τη μίτωση ενώ η απενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M εμποδίζει να συμβεί και άλλη μίτωση προτού πραγματοποιηθεί η επόμενη φάση S.

Μεταλλαγμένα στελέχη *cdc25* παρουσιάζουν αύξηση του μεγέθους χωρίς διαίρεση.

Μεταλλαγμένα στελέχη *wee1* παρουσιάζουν πρόοδο σε μίτωση σε μειωμένο μέγεθος.

Μεταλλαγμένα στελέχη που υπερεκφράζουν το *cdc25* έχουν τον ίδιο φαινότυπο με αυτά που στερούνται *wee1*.

Υπερέκφραση του *rum1* (όπως και του *cdc 18*) οδηγεί σε πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής και τα κύτταρα δεν καταφέρνουν να εισέλθουν στη μίτωση.

Απαλείφοντας τον *rum1*, τα κύτταρα εισέρχονται πρόωρα στη μίτωση.

Μεταλλαγμένα στελέχη *cdc25* παρουσιάζουν αύξηση του μεγέθους χωρίς διαίρεση.

Μεταλλαγμένα στελέχη *wee1* παρουσιάζουν πρόοδο σε μίτωση σε μειωμένο μέγεθος.

Μεταλλαγμένα στελέχη που υπερεκφράζουν το *cdc25* έχουν τον ίδιο φαινότυπο με αυτά που στερούνται *wee1*.

Υπερέκφραση του *rum1* (όπως και του *cdc 18*) οδηγεί σε πολλαπλούς κύκλους αντιγραφής και τα κύτταρα δεν καταφέρνουν να εισέλθουν στη μίτωση.


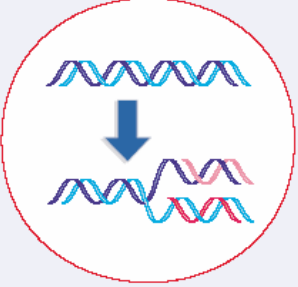
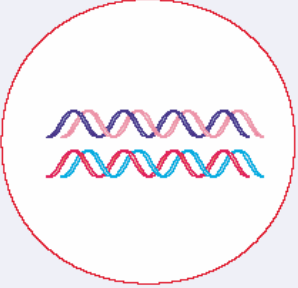
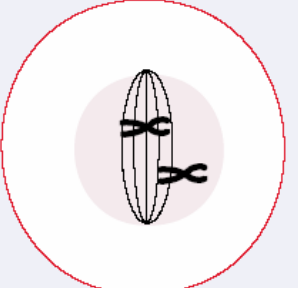
Απαλείφοντας τον *rum1*, τα κύτταρα εισέρχονται πρόωρα στη μίτωση.

Η βασική αρχή που καθιερώθηκε από αυτή τη μελέτη είναι ότι η λειτουργία του ρυθμιστή-κλειδιού, της Cdc2, ελέγχεται από ενεργοποιητές κινάσης και φωσφατάσης, οι οποίες με τη σειρά τους αποκρίνονται σε άλλα σήματα. Η πρωτεΐνη Cdc2 είναι το μέσο με το οποίο όλα αυτά τα διαφορετικά σήματα τελικά ενοποιούνται στην απόφαση αν το κύτταρο θα συνεχίσει τον κύκλο.



Το γενικό μοτίβο που προκύπτει από τα παραπάνω αποτελέσματα είναι το εξής: τα ρυθμιστικά κυκλώματα που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο διαθέτουν αλληλοσυνδεδεμένους κύκλους ανάδρασης οι οποίοι διασφαλίζουν τη σωστή πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Επίσης, προσδίδοντας διπτούς ρόλους σε ένα μόνο συστατικό, του οποίου η λειτουργία είναι απαραίτητη για να προωθήσει ένα γεγονός και να εμποδίσει ένα άλλο, δημιουργείται μια ενδογενής αλλαγή γεγονότων. Έτσι μια ενεργή κινάση της φάσης M προωθεί τη μίτωση ως θεμιτό γεγονός, ενώ παράλληλα εμποδίζει τη φάση S ως αθέμιτο γεγονός. Αυτό δημιουργεί ένα ενδογενές σημείο ελέγχου : ένα γεγονός δεν μπορεί να ξεκινήσει έως ότου να αντιστραφεί η κατάσταση του συστατικού που είναι υπεύθυνο για το προηγούμενο γεγονός.

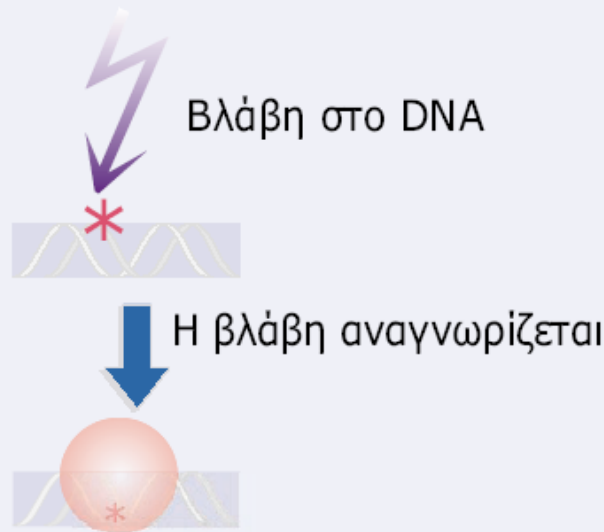
## Ο κυτταρικός κύκλος έχει πολλά σημεία ελέγχου

Στάση στη φάση	Αιτία
	G1 Βλάβη στο DNA
	S Μη ολοκλήρωση της αντιγραφής
	G2 Βλάβη στο DNA
	Μίτωση Μη προσδεμένος κινητοχώρος

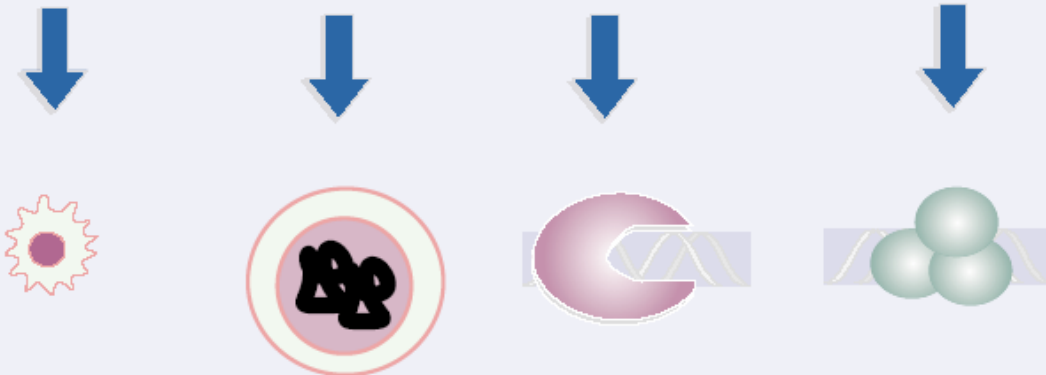
**Εικόνα 29.5** Τα σημεία ελέγχου μπορούν να διακόψουν τον κυτταρικό κύκλο σε πολλά σημεία, ως απόκριση σε ενδογενείς ή εξωγενείς συνθήκες.

# Οι βλάβες του DNA ενεργοποιούν διάφορα μονοπάτια

©virtualtext www.ergito.com



Σηματοδοτικά μονοπάτια



Απόπτωση  
(το κύτταρο πεθαίνει)

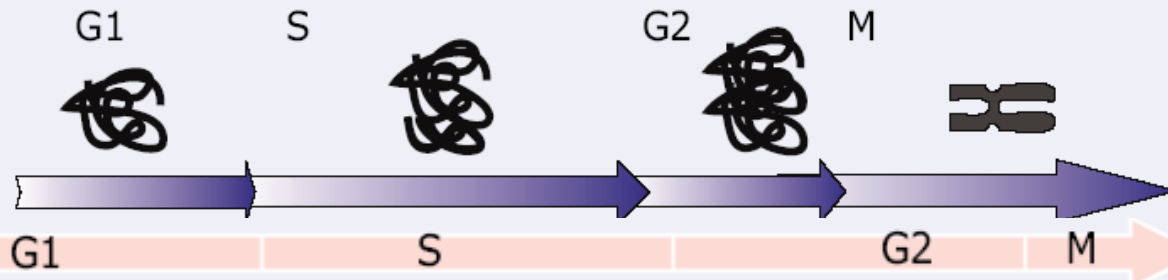
Σταματά ο κυτταρικός κύκλος

Μεταγράφονται ειδικά γονίδια

Επιδιορθώνεται η βλάβη

**Εικόνα 29.20** Βλάβη στο DNA πυροδοτεί ένα σύστημα απόκρισης το οποίο εμποδίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, μεταγράφει γονίδια απόκρισης και επισκευάζει τη βλάβη ή προκαλεί το θάνατο του κυττάρου.

# Σε όλο τον κυτταρικό κύκλο υπάρχουν σημεία ελέγχου



	G1	S	S	G2	M	M
<b>Ενεργοποίηση του σημείου ελέγχου</b>	Βλάβη του DNA	Παρεμπόδιση της αντιγραφής	Βλάβη του DNA	Βλάβη του DNA	Πρόοδος της μίτωσης	Πρόοδος της μίτωσης
<b>Γονίδια που χρειάζονται</b>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i>	<i>RFC5</i> <i>POL2</i> <i>DPB11</i> <i>DRC1</i>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i> <i>SGS1</i>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i>	<i>BUB1, 3</i> <i>MAD1, 2, 3</i>	<i>BUB2</i> <i>BFA1</i>
<b>Δράση του σημείου ελέγχου</b>	Σταμάτημα στην G1	Σταμάτημα στην S	Αργή αντιγραφή	Σταμάτημα στην G2	Σταμάτημα στην ανάφαση	Παρεμπόδιση της εξόδου από τη μίτωση

**Γονίδια-τελεστές**

*MEC1, TEL1*  
*MRE11, RAD50, XRS2*  
*RAD9*  
*RAD53*  
*DUN1*  
*RAD55*  
*PDS1*

Τα γονίδια με κόκκινο χρώμα έχουν ομόλογα στον άνθρωπο που σχετίζονται με κάποια ασθένεια

**Εικόνα 29.21** Σε κάθε στάδιο του κυτταρικού κύκλου στον *S. cerevisiae* δρουν σημεία ελέγχου. Όταν ανιχνεύεται βλάβη στο DNA, ο κύκλος διακόπτεται. Τα προϊόντα των *RAD17*, *RAD24* και *MEC3* συμμετέχουν στην ανίχνευση της βλάβης. Κατά τη διάρκεια της φάσης S υπάρχει ένα σημείο ελέγχου για την ολοκλήρωση της αντιγραφής. Κατά τη διάρκεια της μίτωσης υπάρχουν σημεία ελέγχου για την πρόοδο της μίτωσης, για παράδειγμα για το ζευγάρωμα των κινητοχώρων.

Το μονοπάτι ενός σημείου ελέγχου περιλαμβάνει τρεις ομάδες πρωτεϊνών:

- Οι *πρωτεΐνες-αισθητήρες* (*sensors*) αναγνωρίζουν το γεγονός που πυροδοτεί το μονοπάτι. Στην περίπτωση ενός σημείου ελέγχου που αποκρίνεται σε βλάβη του DNA, προσδένονται στην κατεστραμμένη δομή του DNA.
- Οι *πρωτεΐνες-μεταγωγείς* (*transducers*) ενεργοποιούνται από τις πρωτεΐνες-αισθητήρες. Συνήθως είναι κινάσες που ενισχύουν το σήμα φωσφορυλιώνοντας την επόμενη ομάδα πρωτεϊνών στο μονοπάτι.
- Οι *πρωτεΐνες-τελεστές* (*effectors*) ενεργοποιούνται από τις κινάσες μεταγωγής. Εκτελούν τις απαραίτητες λειτουργίες του συγκεκριμένου μονοπατιού. Συχνά περιλαμβάνουν κινάσες των οποίων οι στόχοι είναι οι τελικές πρωτεΐνες του μονοπατιού.

## Πρωτεΐνες που ενέχονται σε σημεία ελέγχου προσδένονται πάνω στο DNA

RAD17  
RAD24  
MEC3

Τμήμα πρωτεϊνικού συμπλόκου το οποίο προσδένεται σε περιοχές του DNA που φέρουν βλάβη



MEC1  
ή TEL1

Κινάσες-επαγωγείς που ενεργοποιούν τις επόμενες πρωτεΐνες του μονοπατιού



RAD53  
& Chk1

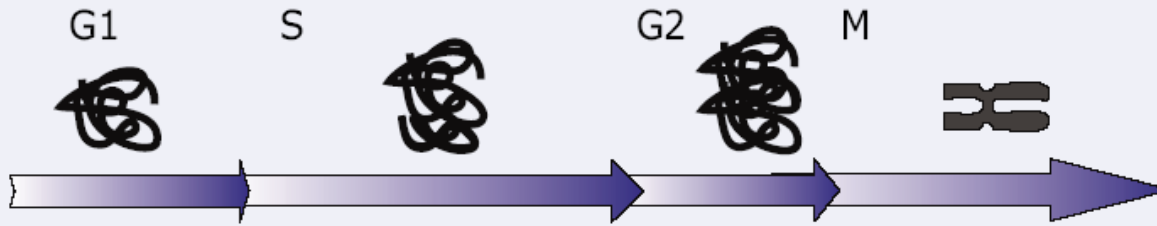
Κινάσες-τελεστές που ενεργοποιούν πρωτεΐνες απόκρισης στη βλάβη



©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Εικόνα 29.22** Ένα σύμπλοκο συναρμολογείται σε μια θέση όπου το DNA έχει υποστεί βλάβη. Το σύμπλοκο το οποίο περιέχει τις πρωτεΐνες που απαιτούνται για την ανίχνευση της βλάβης πυροδοτεί το σημείο ελέγχου και εκτελεί τα πρώιμα στάδια του επιτελεστικού μονοπατιού επιδιόρθωσης.

## Σε όλο τον κυτταρικό κύκλο υπάρχουν σημεία ελέγχου



<b>Ενεργοποίηση του σημείου ελέγχου</b>	Βλάβη του DNA	Παρεμπόδιση της αντιγραφής	Βλάβη του DNA	Βλάβη του DNA	Πρόοδος της μίτωσης	Πρόοδος της μίτωσης
<b>Γονίδια που χρειάζονται</b>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i>	<i>RFC5</i> <i>POL2</i> <i>DPB11</i> <i>DRC1</i>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i> <i>SGS1</i>	<i>RAD17</i> <i>RAD24</i> <i>MEC3</i>	<i>BUB1, 3</i> <i>MAD1, 2, 3</i>	<i>BUB2</i> <i>BFA1</i>
<b>Δράση του σημείου ελέγχου</b>	Σταμάτημα στην G1	Σταμάτημα στην S	Αργή αντιγραφή	Σταμάτημα στην G2	Σταμάτημα στην ανάφαση	Παρεμπόδιση της εξόδου από τη μίτωση

### Γονίδια-τελεστές

*MEC1*, *TEL1*  
*MRE11*, *RAD50*, *XRS2*  
*RAD9*  
*RAD53*  
*DUN1*  
*RAD55*  
*PDS1*

Τα γονίδια με κόκκινο χρώμα έχουν ομόλογα στον άνθρωπο που σχετίζονται με κάποια ασθένεια

**Εικόνα 29.21** Σε κάθε στάδιο του κυτταρικού κύκλου στον *S. cerevisiae* δρουν σημεία ελέγχου. Όταν ανιχνεύεται βλάβη στο DNA, ο κύκλος διακόπτεται. Τα προϊόντα των *RAD17*, *RAD24* και *MEC3* συμμετέχουν στην ανίχνευση της βλάβης. Κατά τη διάρκεια της φάσης S υπάρχει ένα σημείο ελέγχου για την ολοκλήρωση της αντιγραφής. Κατά τη διάρκεια της μίτωσης υπάρχουν σημεία ελέγχου για την πρόοδο της μίτωσης, για παράδειγμα για το ζευγάρωμα των κινητοχώρων.

Ένας από τους τελεστές του μονοπατιού απόκρισης στα κύτταρα των θηλαστικών είναι η πρωτεϊνική κινάση ATM (το ομόλογο του *TEL1* του ζυμομύκητα) και η οποία αποτελεί ένα θεμελιώδες συστατικό της απόκρισης εναντίον βλάβης του DNA. Η απώλεια λειτουργίας της ATM ευθύνεται για την ασθένεια του ανθρώπου, τη λαγγειεκτασική αταξία. Οι ασθενείς που προσβάλλονται από αυτή την ασθένεια, είναι εξαιρετικά ευαίσθητοι σε παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA.



## **Molecular pathology of ataxia telangiectasia.**

**Taylor AM, Byrd PJ.**

J Clin Pathol. 2005 Oct;58(10):1009-15.

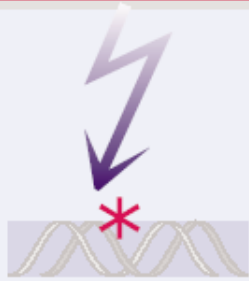
CR-UK Institute for Cancer Studies, University of Birmingham, Vincent Drive, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK. A.M.R.Taylor@bham.ac.uk

Ataxia telangiectasia (A-T) is one of a group of autosomal recessive cerebellar ataxias. Presentation is usually by the age of 2 years and ataxia of both upper and lower limbs develops, such that by early teenage most patients require a wheelchair for mobility. Speech and eye movement are also affected. Other important features are t(7;14) translocations, immunodeficiency, a high serum alpha fetoprotein concentration, growth retardation, telangiectasia-most noticeably on the bulbar conjunctiva-and a very high risk of developing a lymphoid tumour. Patients also show an increased sensitivity to ionising radiation. The classic form of A-T results from the presence of two truncating ATM mutations, leading to total loss of the ATM protein, a protein kinase. Importantly, A-T shows clinical heterogeneity, including milder forms where neurological progression may be slower or of later onset. In these cases there is a correlation between the preservation of neurological function, decreased radiosensitivity, and the degree of retained ATM protein kinase activity. Considerable scope remains for understanding the progress of the disorder in relation to the types of ATM mutation present.

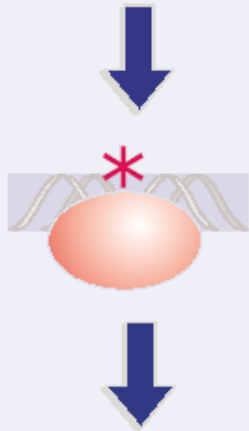
# Η ATM ενεργοποιεί το σημείο ελέγχου της G2 που ανταποκρίνεται σε βλάβες του DNA

©virtualtext www.ergito.com

Βλάβη στο DNA



Ενεργοποίηση της ATM

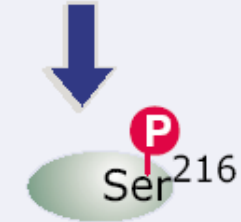


**Εικόνα 29.23** Μια βλάβη στο DNA πυροδοτεί το σημείο ελέγχου G2.

Ενεργοποίηση της Chk2



Φωσφορυλίωση της Cdc25



Η Cdc25-P προσδένεται στην 14-3-3σ



Η Cdc25 δεν μπορεί να αποφωσφορυλιώσει τη Cdc2



Κυκλίνη B1

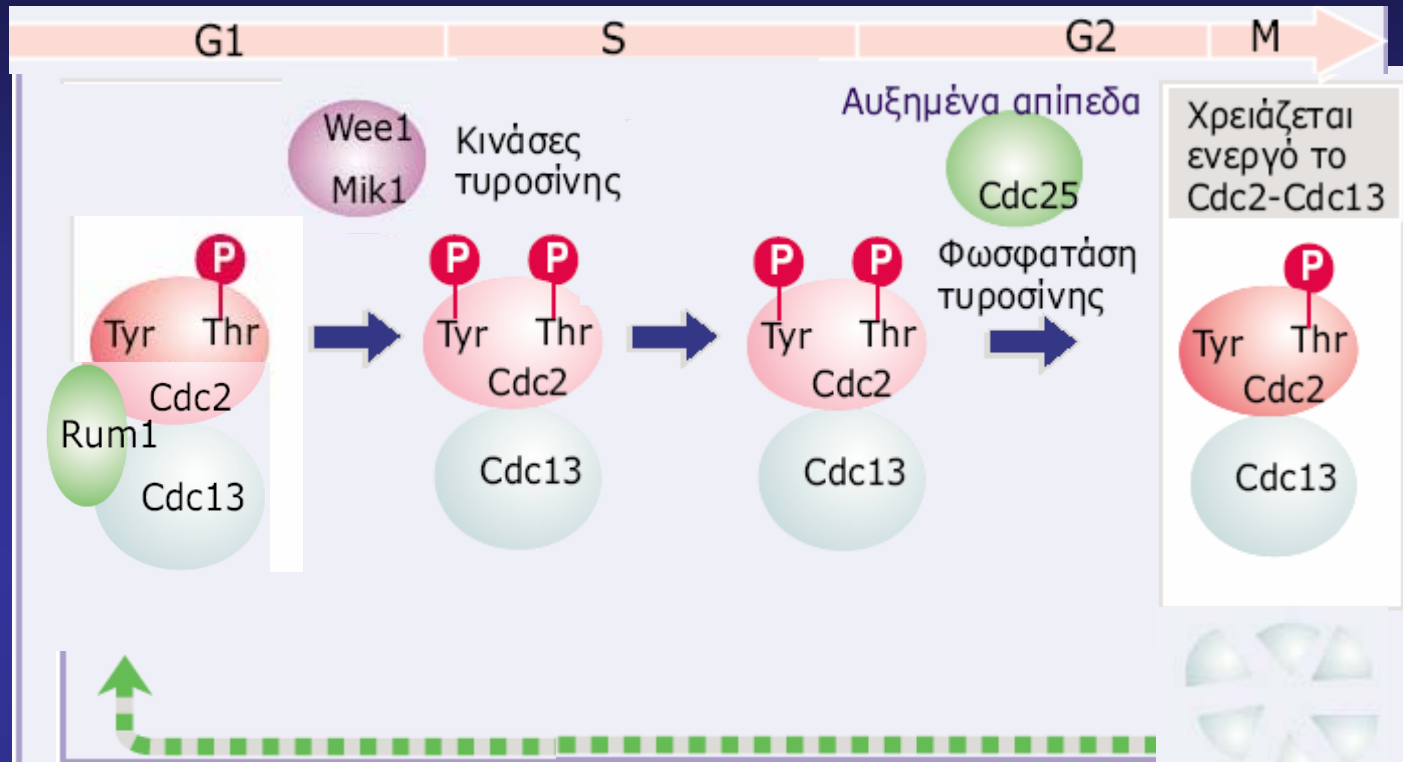
Ανενεργό



Κυκλίνη B1


Ενεργό

# Η cdc2 ρυθμίζεται από την φωσφατάση cdc25 τη κινάση wee1 και το παράγοντα αναστολής rum1

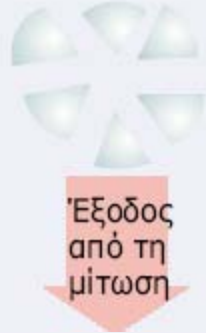


**Σημείο ελέγχου:**  
Αν το κύτταρο είναι μικρό απενεργοποιείται η Cdc2.

**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή δεν ενεργοποιείται η Cdc25

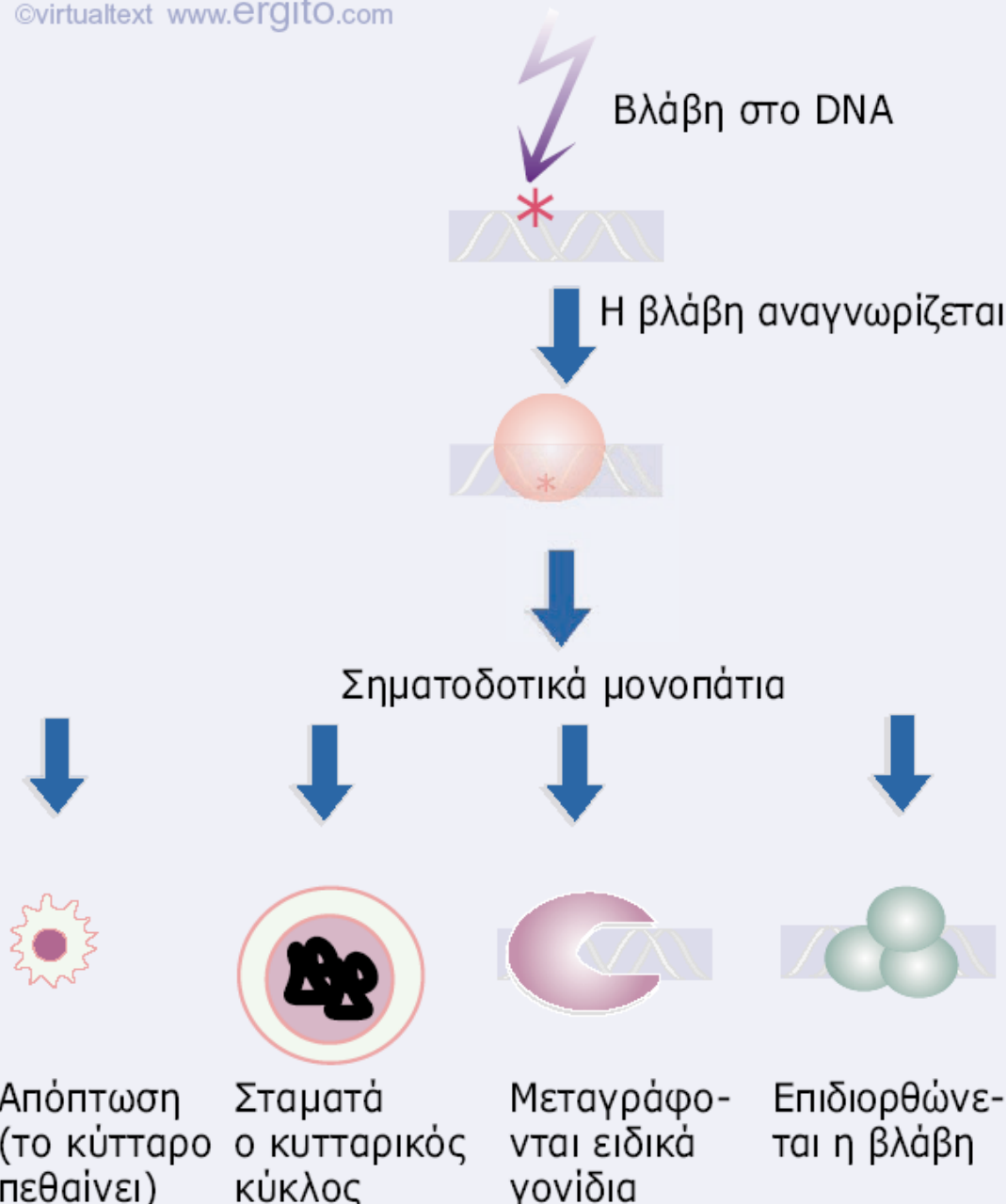


Έξοδος από τη μίτωση



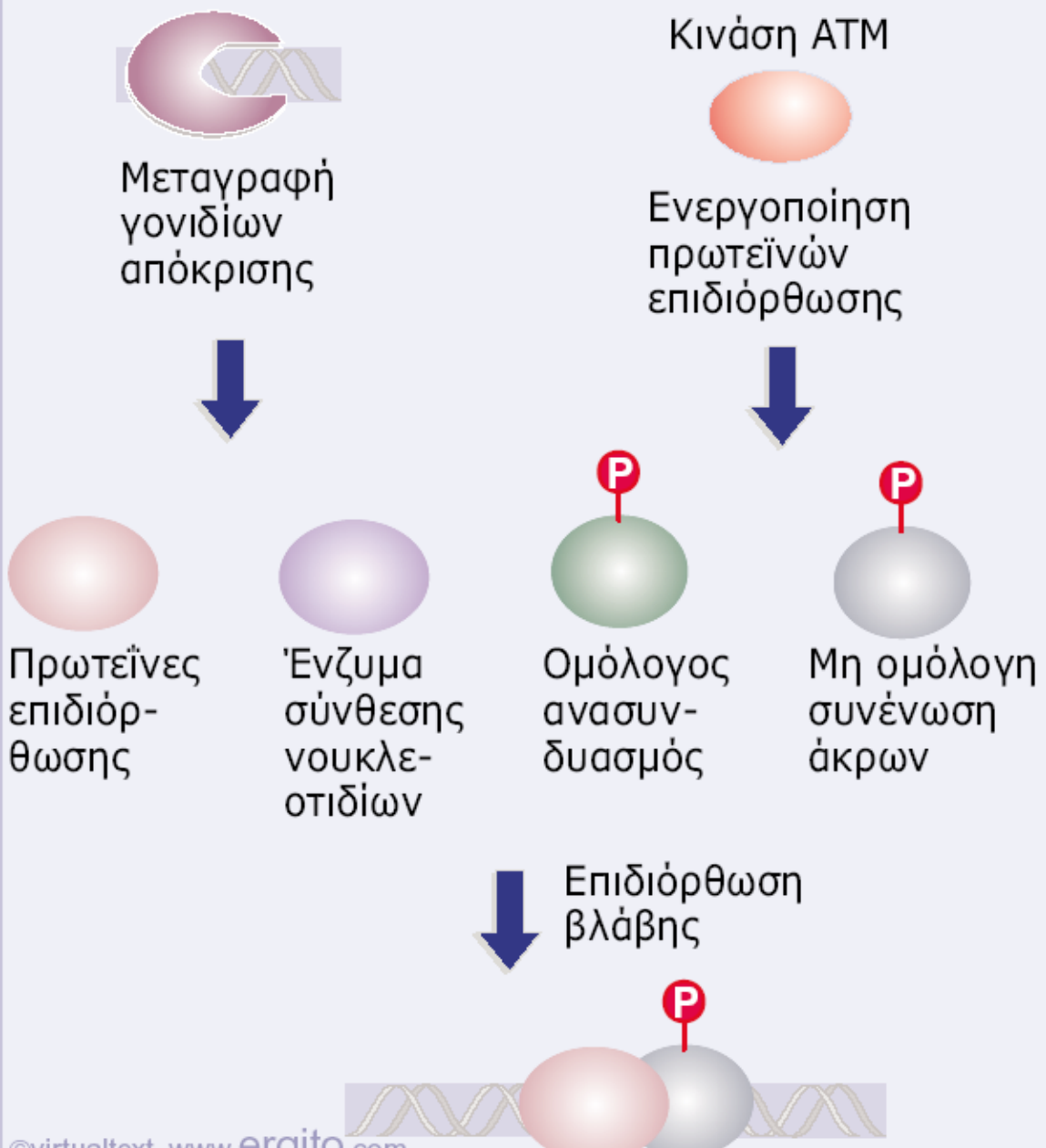
# Οι βλάβες του DNA ενεργοποιούν διάφορα μονοπάτια

©virtualtext www.ergito.com




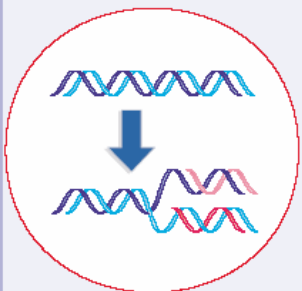
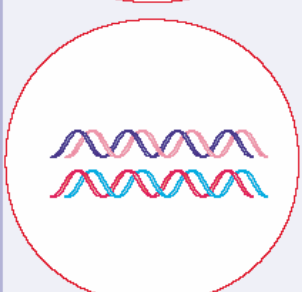
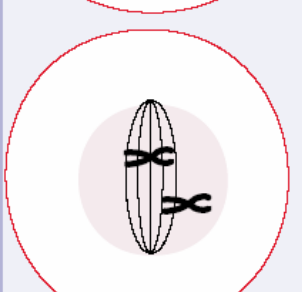
**Εικόνα 29.20** Βλάβη στο DNA πυροδοτεί ένα σύστημα απόκρισης το οποίο εμποδίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, μεταγράφει γονίδια απόκρισης και επισκευάζει τη βλάβη ή προκαλεί το θάνατο του κυττάρου.

**Για την επιδιόρθωση του DNA απαιτείται σύνθεση νέων και τροποποίηση υπάρχοντων πρωτεϊνών**



**Εικόνα 29.24** Οι πρωτεΐνες που απαιτούνται για την επιδιόρθωση του κατεστραμμένου DNA παρέχονται είτε μέσω της μεταγραφής γονιδίων απόκρισης για τη σύνθεση καινούριων πρωτεϊνών είτε μέσω φωσφορυλίωσης προϋπαρχόντων πρωτεϊνών.

**Ο κυτταρικός κύκλος  
έχει πολλά σημεία ελέγχου**

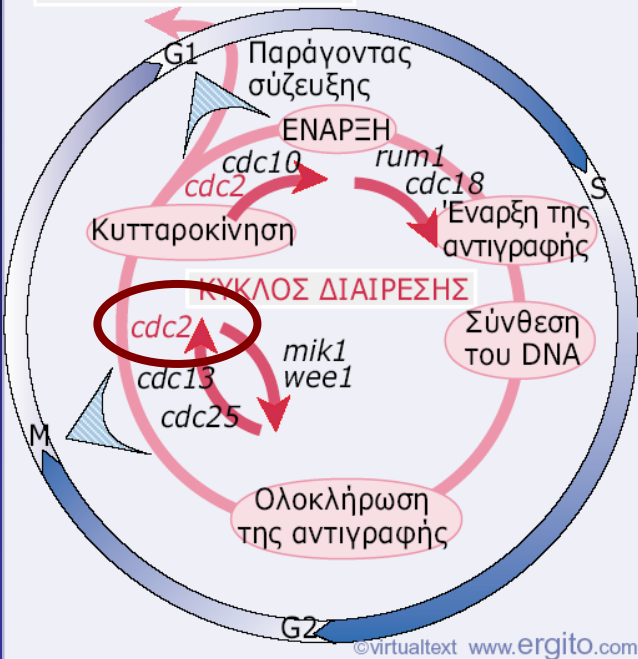
	Στάση στη φάση	Αιτία
	G1	Βλάβη στο DNA
	S	Μη ολοκλήρωση της αντιγραφής
	G2	Βλάβη στο DNA
	Μίτωση	Μη προσδεδωμένος κινητοχώρος

**Εικόνα 29.5** Τα σημεία ελέγχου μπορούν να διακόψουν τον κυτταρικό κύκλο σε πολλά σημεία, ως απόκριση σε ενδογενείς ή εξωγενείς συνθήκες.

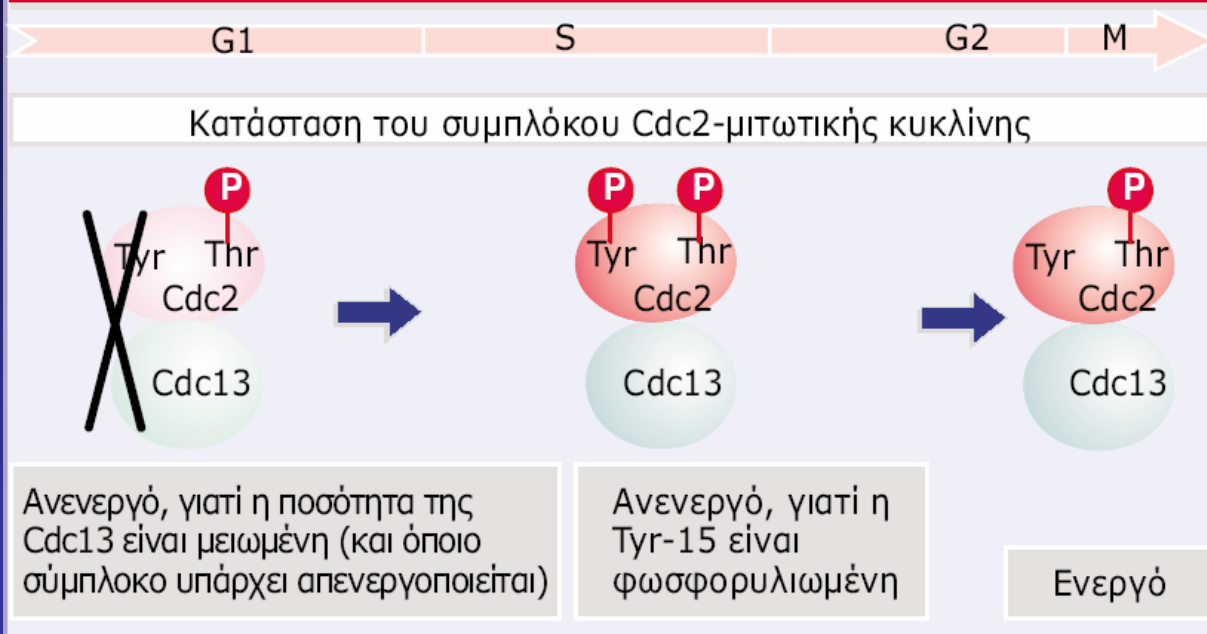
### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι βλάβες στο DNA πυροδοτούν ένα σημείο ελέγχου το οποίο εμποδίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου μέχρι την επιδιόρθωση της βλάβης.
- ▶ Η πρωτεϊνική κινάση ATM είναι καθοριστικό συστατικό αυτού του σημείου ελέγχου: φωσφορυλιώνει τη Chk2, η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει και ως εκ τούτου αδρανοποιεί τη Cdc25.
- ▶ Το μονοπάτι απόκρισης σε βλάβη στο DNA ενεργοποιεί επίσης γονίδια που κωδικοποιούν κάποιους παράγοντες επιδιόρθωσης ή προκαλεί απευθείας ενεργοποίηση των παραγόντων επιδιόρθωσης.

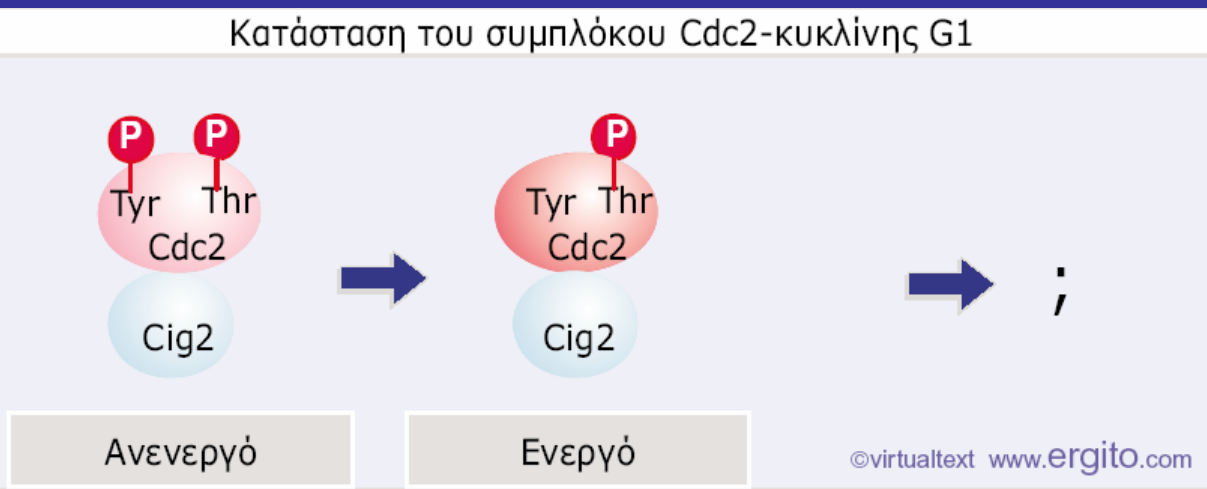
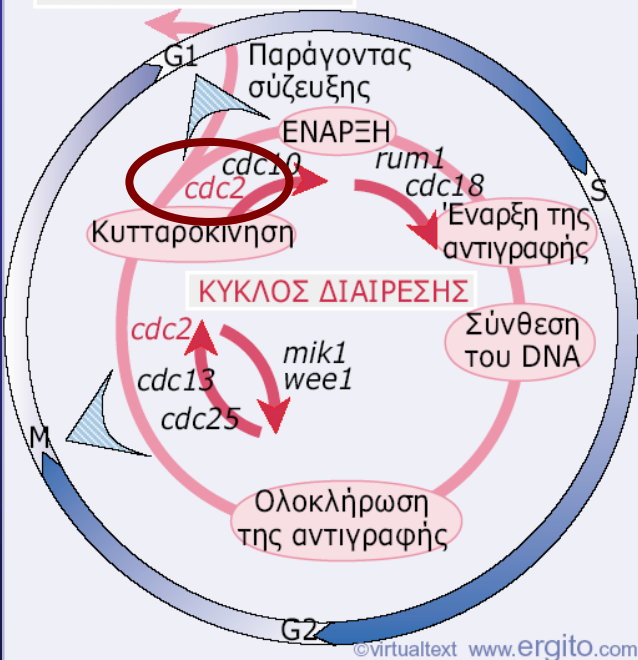
ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



Σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο



ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



**Εικόνα 29.14** Στον *S. pombe*, το στάδιο του κυτταρικού κύκλου καθορίζεται από τις μορφές των συμπλόκων Cdc2-κυκλίνης που απαντώνται στο κύτταρο.

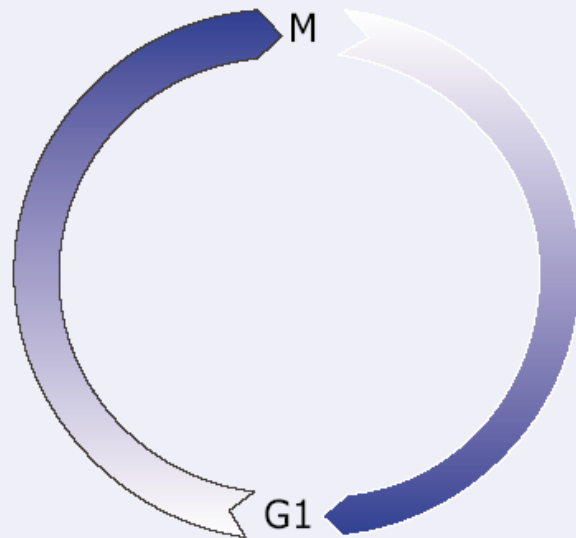


Η ικανότητα αναίρεσης των συνεπειών μιας μετάλλαξης για ένα συγκεκριμένο στέλεχος στο ζυμομύκητα έχει χρησιμοποιηθεί με μεγάλη επιτυχία για την ταυτοποίηση, στους ανώτερους ευκαρυώτες, γονιδίων που είναι ομόλογα με διάφορους ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου του ζυμομύκητα. Κατά την πειραματική αυτή διαδικασία πραγματοποιείται εισαγωγή ενός κλωνοποιημένου γονιδίου σε ένα μεταλλαγμένο στέλεχος του μύκητα και, ακολούθως, επιλογή των κυττάρων που αρχίζουν να αναπτύσσονται ξανά. Είναι αξιοσημείωτο πόσο πολύ συντηρημένος είναι ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου, ώστε κάτι τέτοιο να είναι εφικτό. Παρ' όλα αυτά, πρέπει να έχουμε υπόψη ότι η δοκιμασία αυτή δε βασίζεται σε αυστηρά κριτήρια επιλογής και μερικές φορές οδηγεί στην αναγνώριση ενός γονιδίου που έχει έμμεση μόνο σχέση με τη μεταλλαγμένη λειτουργία.

Lee, M. G. and Nurse, P. (1987). Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene *cdc2*. *Nature* 327, 31-35.

**Τόσο στην M όσο και στην G1 χρησιμοποιούνται σύμπλοκα κινάσης-κυκλίνης**

	Καταλυτική υπομονάδα	Ρυθμιστική υπομονάδα
<i>S. pombe</i>	Cdc2	Cdc13 (όμοια με την κυκλίνη B)
<i>S. cerevisiae</i>	CDC28	CLB1-4 (όμοιες με την κυκλίνη B)
Θηλαστικά/ βάτραχοι	Cdc2	κυκλίνες A, B1, B2

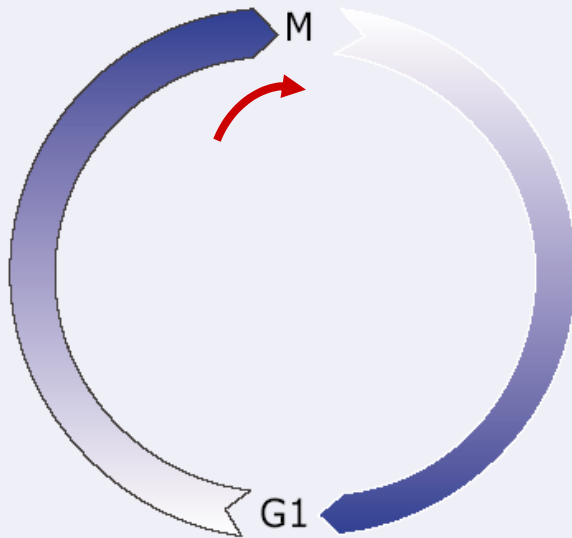


	Καταλυτική υπομονάδα	Ρυθμιστική υπομονάδα
<i>S. pombe</i>	Cdc2	Cig2 (Cig1)
<i>S. cerevisiae</i>	CDC28	CLN1-3
Θηλαστικά/ βάτραχοι	Cdk2, 4	κυκλίνες A, D1, D2, D3, E

**Εικόνα 29.25** Για την κατασκευή τόσο της κινάσης της φάσης M όσο και ενός ισοδύναμου της στην G1 χρησιμοποιούνται παρόμοια ή επικαλυπτόμενα συστατικά.

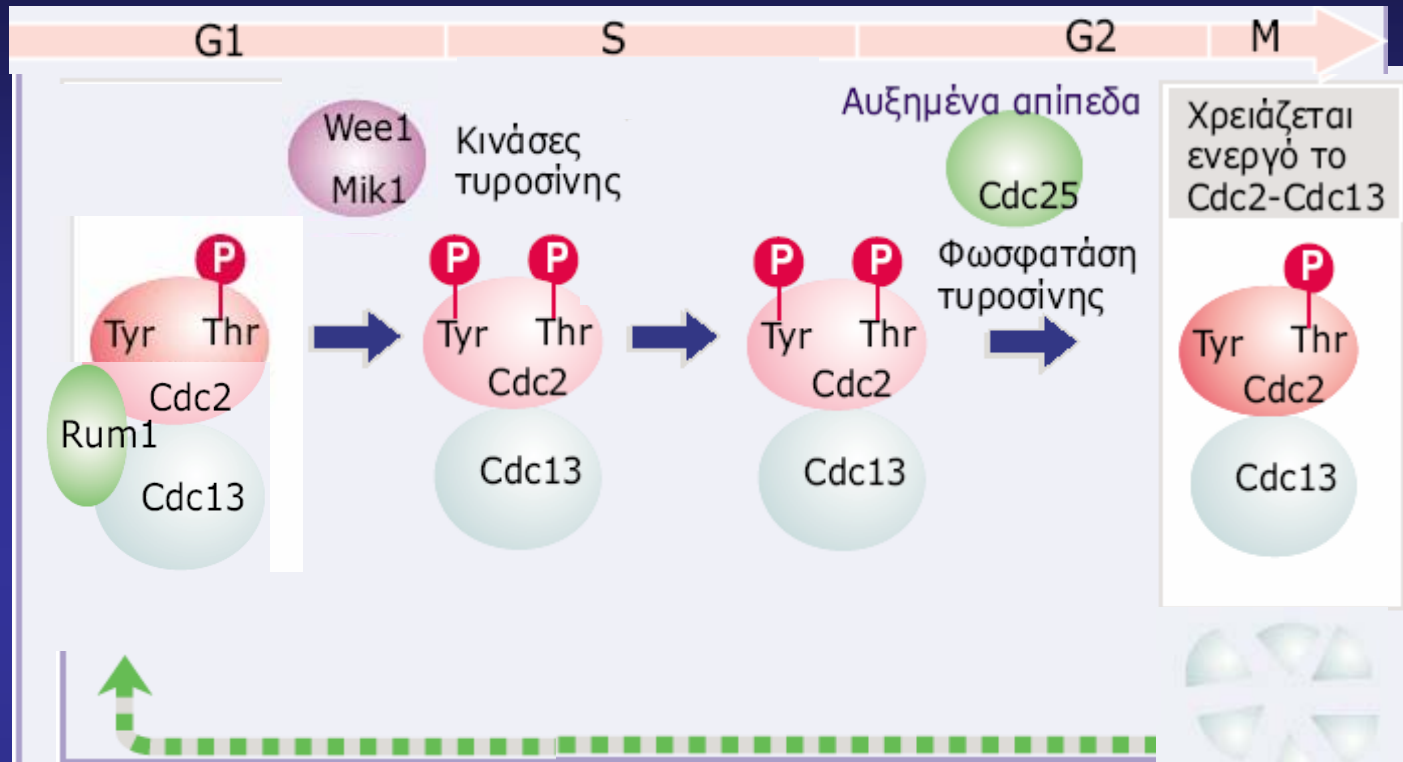
**Τόσο στην M όσο και στην G1 χρησιμοποιούνται σύμπλοκα κινάσης-κυκλίνης**

	Καταλυτική υπομονάδα	Ρυθμιστική υπομονάδα
<i>S. pombe</i>	Cdc2	Cdc13 (όμοια με την κυκλίνη B)
<i>S. cerevisiae</i>	CDC28	CLB1-4 (όμοιες με την κυκλίνη B)
Θηλαστικά/βάτραχοι	Cdc2	κυκλίνες A, B1, B2




**Εικόνα 29.25** Για την κατασκευή τόσο της κινάσης της φάσης M όσο και ενός ισοδύναμού της στην G1 χρησιμοποιούνται παρόμοια ή επικαλυπτόμενα συστατικά.

# Η cdc2 ρυθμίζεται από την φωσφατάση cdc25 τη κινάση wee1 και το παράγοντα αναστολής rum1



**Σημείο ελέγχου:**  
Αν το κύτταρο είναι μικρό απενεργοποιείται η Cdc2.

**Σημείο ελέγχου:**  
Αν δεν ολοκληρωθεί η αντιγραφή δεν ενεργοποιείται η Cdc25



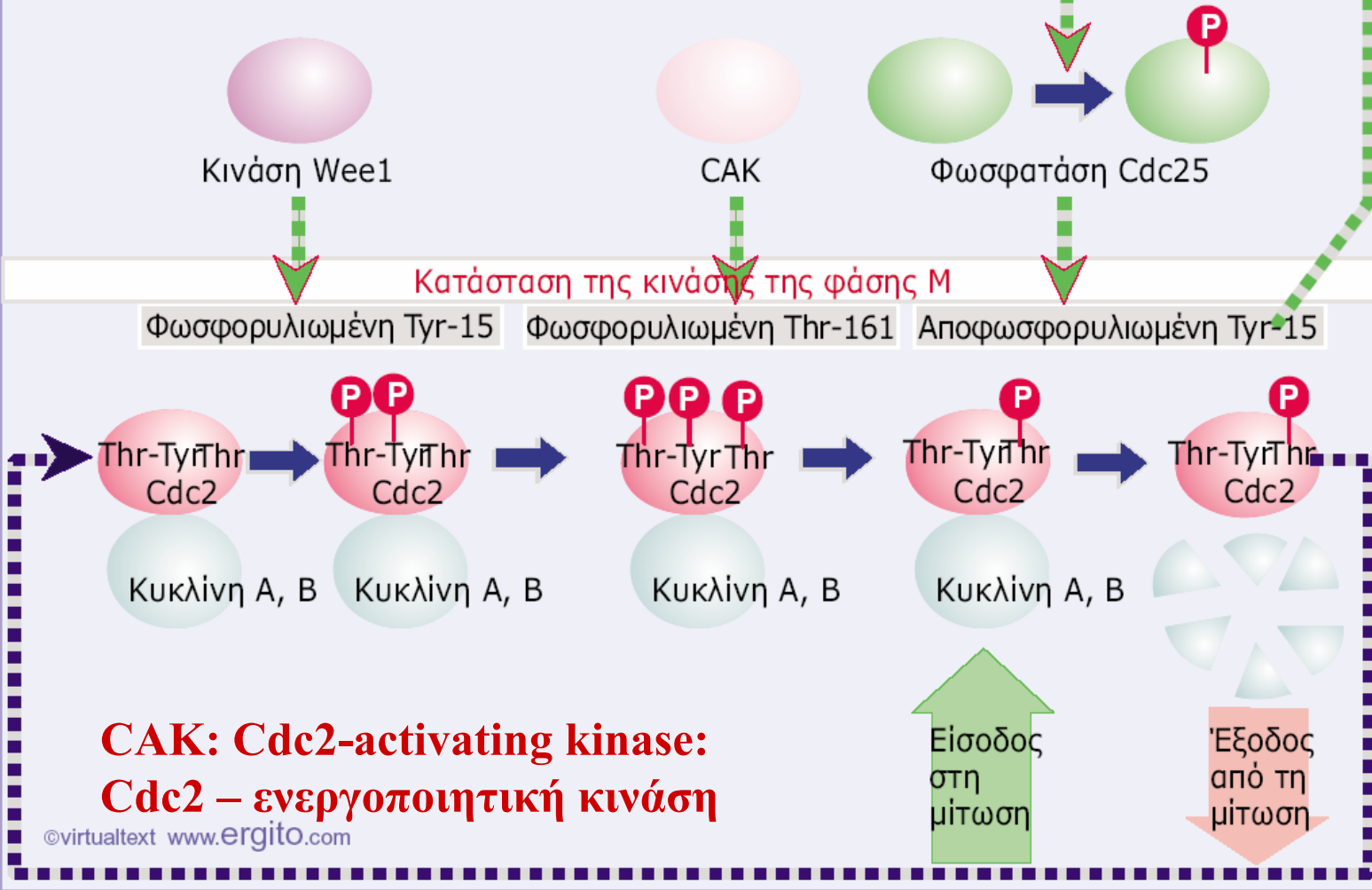
Έξοδος από τη μίτωση

# Κινάσες και φωσφατάσες συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου

Κινάσες και φωσφατάσες που δρουν στην κινάση της φάσης M

Η κινάση της φάσης M ενεργοποιεί τη Cdc25

Βρόχος θετικής ανάδρασης



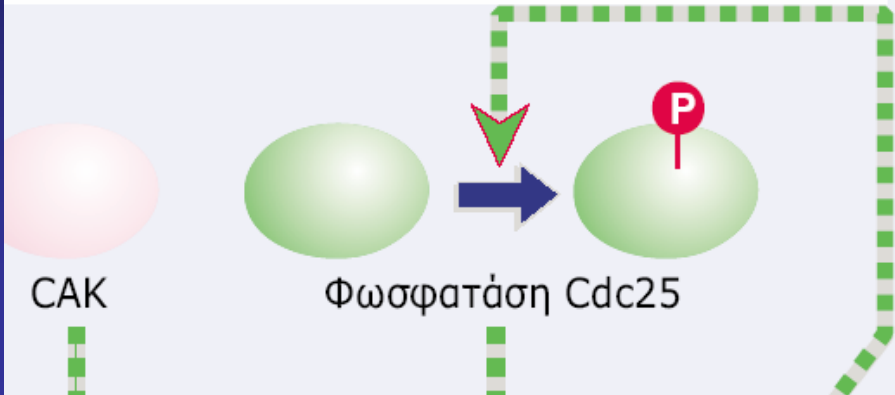
**CAK: Cdc2-activating kinase:**  
**Cdc2 – ενεργοποιητική κινάση**

©virtualtext www.ergito.com

**Εικόνα 29.26** Στα ζωικά κύτταρα, ο έλεγχος της μίτωσης απαιτεί φωσφορυλιώσεις και αποφωσφορυλιώσεις της κινάσης της φάσης M. Τα γεγονότα αυτά λαμβάνουν χώρα με τη βοήθεια ενζύμων τα οποία βρίσκονται κάτω από παρόμοιους ελέγχους ή αποκρίνονται στην κινάση της φάσης M.

+

Η κινάση της φάσης M ενεργοποιεί τη Cdc25

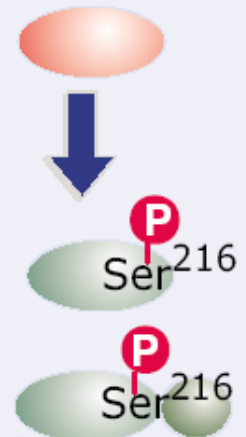


-

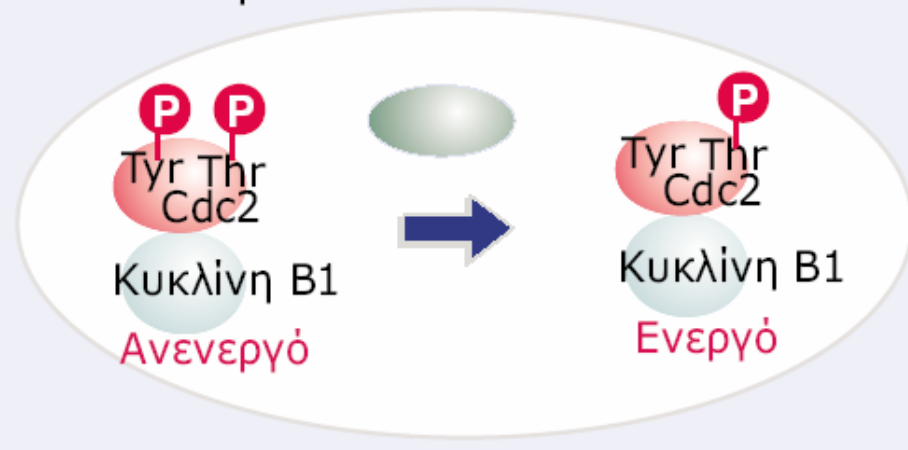
Ενεργοποίηση της Chk2

Φωσφορυλίωση της Cdc25

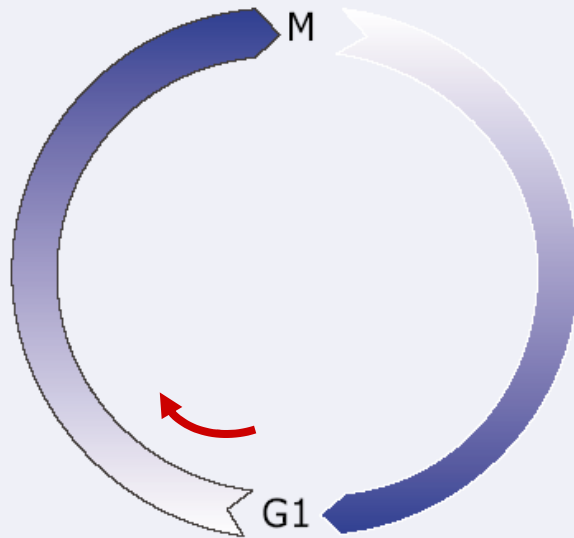
Η Cdc25-P προσδένεται στην 14-3-3σ



Η Cdc25 δεν μπορεί να αποφωσφορυλιώσει τη Cdc2



Τόσο στην M όσο και στην G1 χρησιμοποιούνται σύμπλοκα κινάσης-κυκλίνης



Καταλυτική  
υπομονάδα

Ρυθμιστική  
υπομονάδα

*S. pombe*

Cdc2

Cig2 (Cig1)

*S. cerevisiae*

CDC28

CLN1-3

Θηλαστικά/  
βάτραχοι

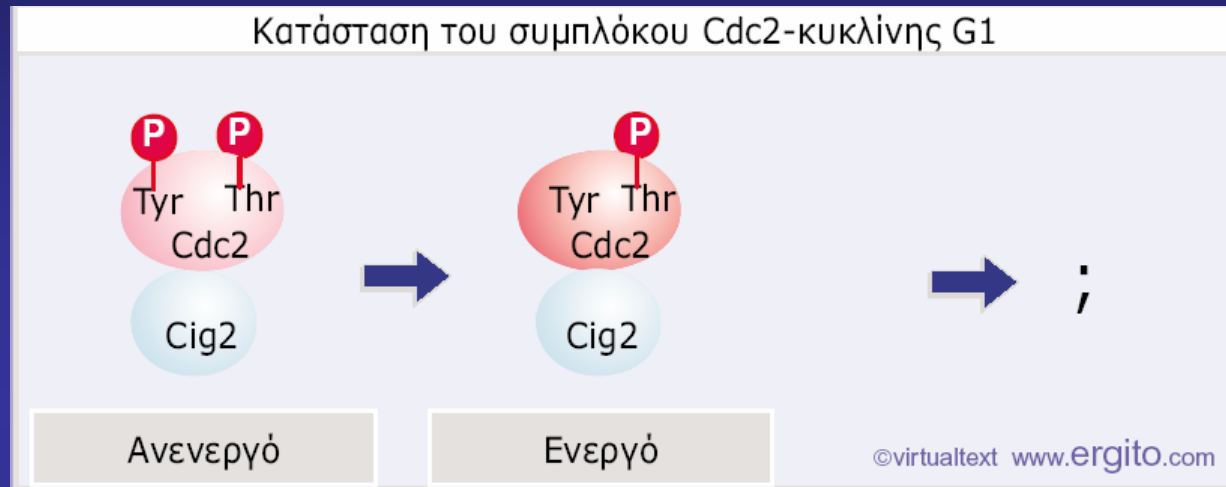
Cdk2, 4, 6

κυκλίνες A,  
D1, D2, D3, E

©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Εικόνα 29.25** Για την κατασκευή τόσο της κινάσης της φάσης M όσο και ενός ισοδύναμού της στην G1 χρησιμοποιούνται παρόμοια ή επικαλυπτόμενα συστατικά.

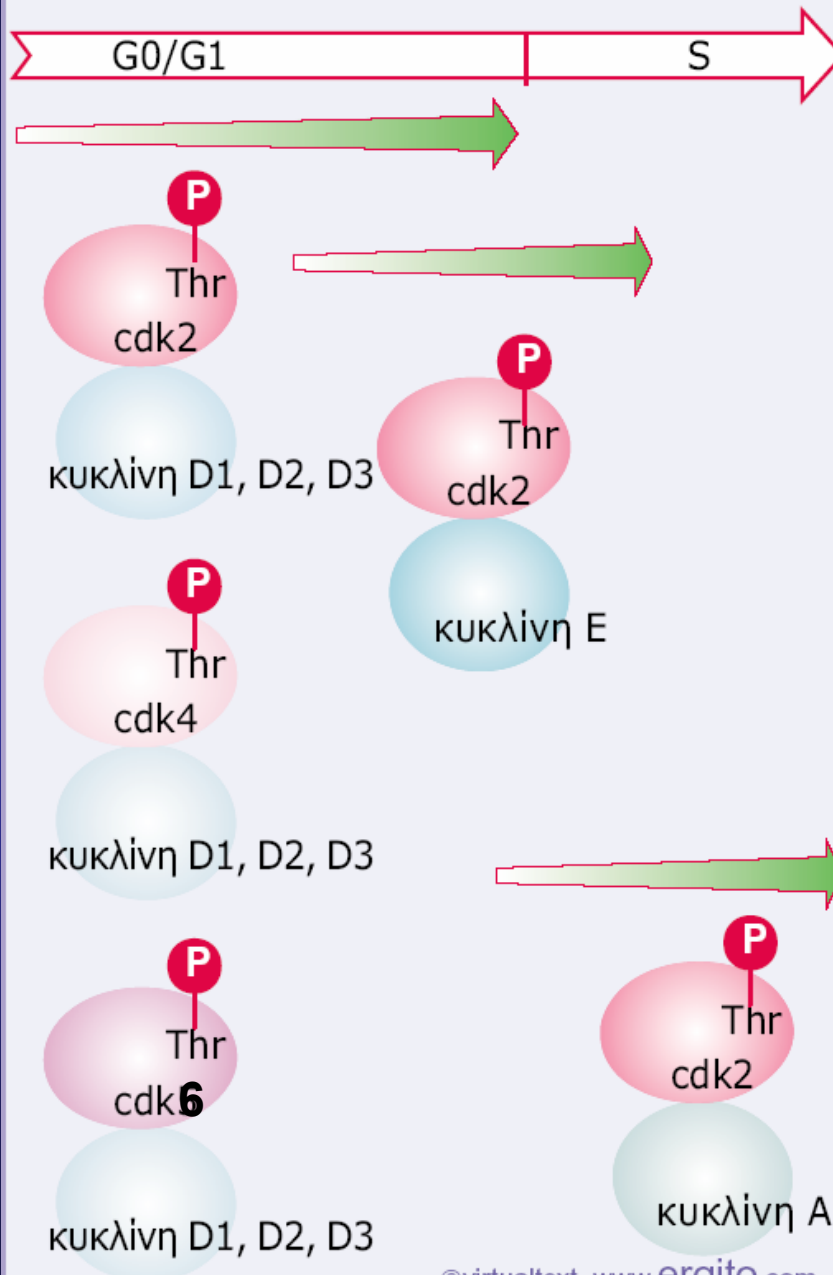
**Cdks : Cyclin dependent kinases**  
κυκλίνο – εξαρτώμενες κινάσες



**Εικόνα 29.14** Στον *S. pombe*, το στάδιο του κυτταρικού κύκλου καθορίζεται από τις μορφές των συμπλόκων Cdc2-κυκλίνης που απαντώνται στο κύτταρο.

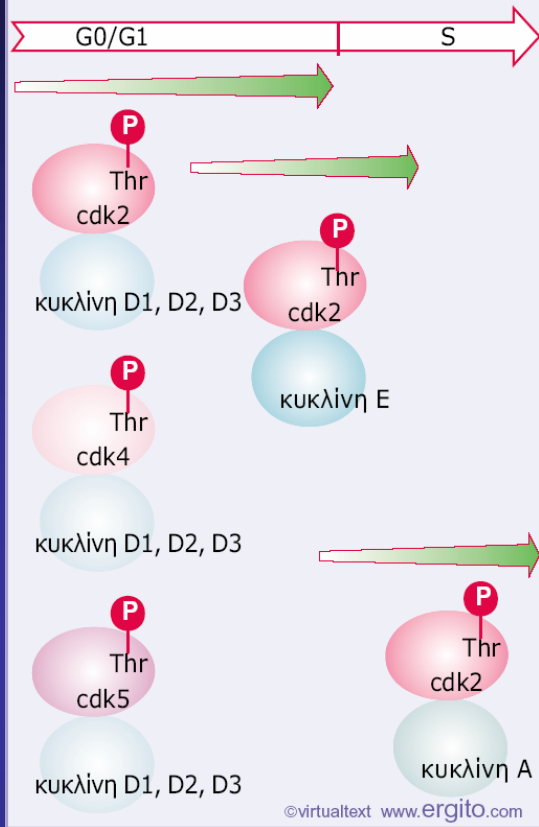


## Διάφορα σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης δρουν στη μεσόφαση



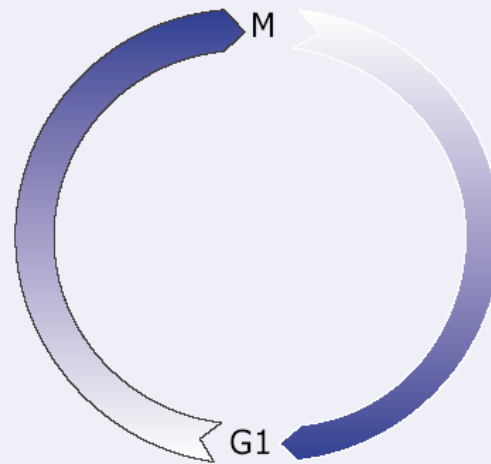
**Εικόνα 29.27** Αρκετά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης είναι ενεργά κατά τη διάρκεια της G1 και της φάσης S. Τα σκιασμένα βέλη δείχνουν τη διάρκεια της ενεργότητας.

### Διάφορα σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης δρουν στη μεσόφαση



### Τόσο στην M όσο και στην G1 χρησιμοποιούνται σύμπλοκα κινάσης-κυκλίνης

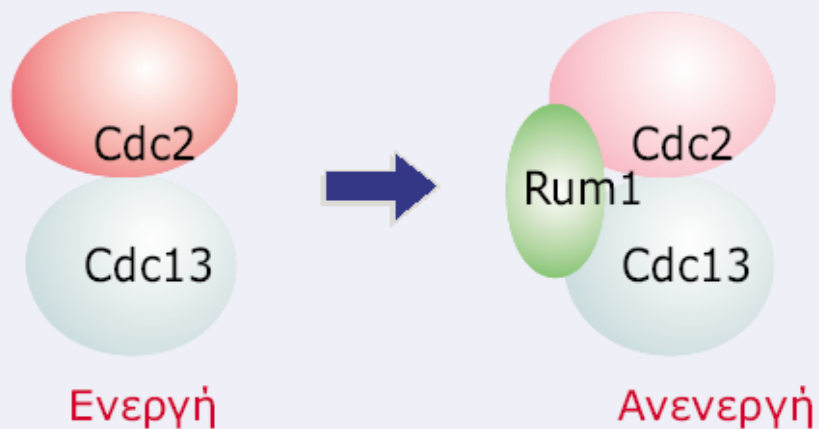
	Καταλυτική υπομονάδα	Ρυθμιστική υπομονάδα
<i>S. pombe</i>	Cdc2	Cdc13 (όμοια με την κυκλίνη B)
<i>S. cerevisiae</i>	CDC28	CLB1-4 (όμοιες με την κυκλίνη B)
Θηλαστικά/ βάτραχοι	Cdc2	κυκλίνες A, B1, B2



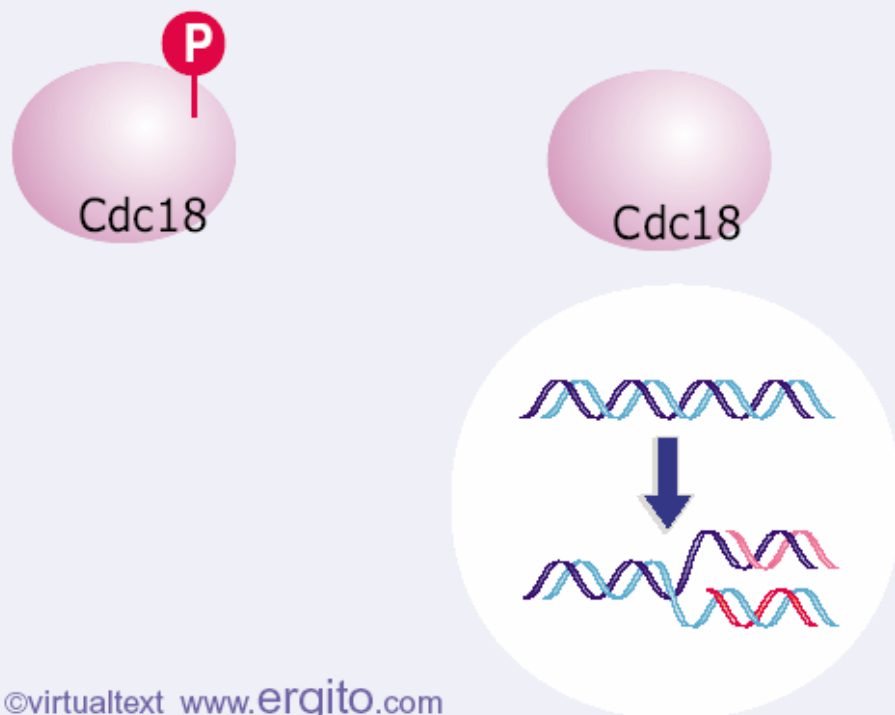
Η πρόοδος διαμέσου της φάσης S απαιτεί το σύμπλοκο cdk2-κυκλίνης A. Η κυκλίνη A πρέπει επίσης να συνδεθεί με τη Cdc2, ώστε να γίνει η είσοδος στη μίτωση. Η διττή εφαρμογή της κυκλίνης A στα ζωικά κύτταρα φαίνεται να είναι η μόνη περίπτωση στην οποία μια κυκλίνη χρησιμοποιείται τόσο για τη μετάπτωση G1/S όσο και για την G2/M.

## Η rum1 χρειάζεται για τη φάση S

### Κατάσταση της κινάσης της φάσης M

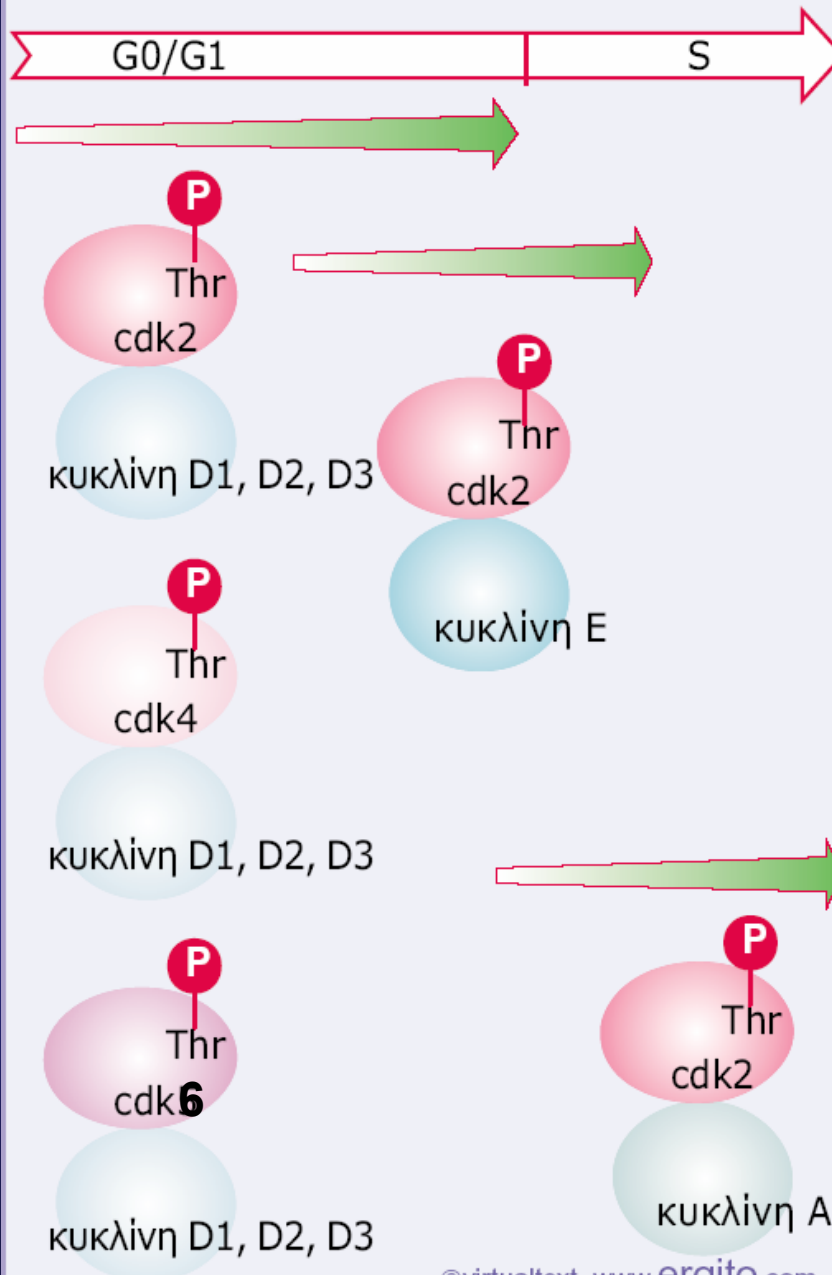


### Κατάσταση της Cdc18



**Εικόνα 29.19** Η Rum1 απενεργοποιεί την κινάση της φάσης M, αποτρέποντάς τη να αναστείλει την έναρξη της φάσης S.

## Διάφορα σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης δρουν στη μεσόφαση



**Εικόνα 29.27** Αρκετά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης είναι ενεργά κατά τη διάρκεια της G1 και της φάσης S. Τα σκιασμένα βέλη δείχνουν τη διάρκεια της ενεργότητας.

**Cdks : Cyclin dependent kinases**  
κυκλίνο – εξαρτώμενες κινάσες

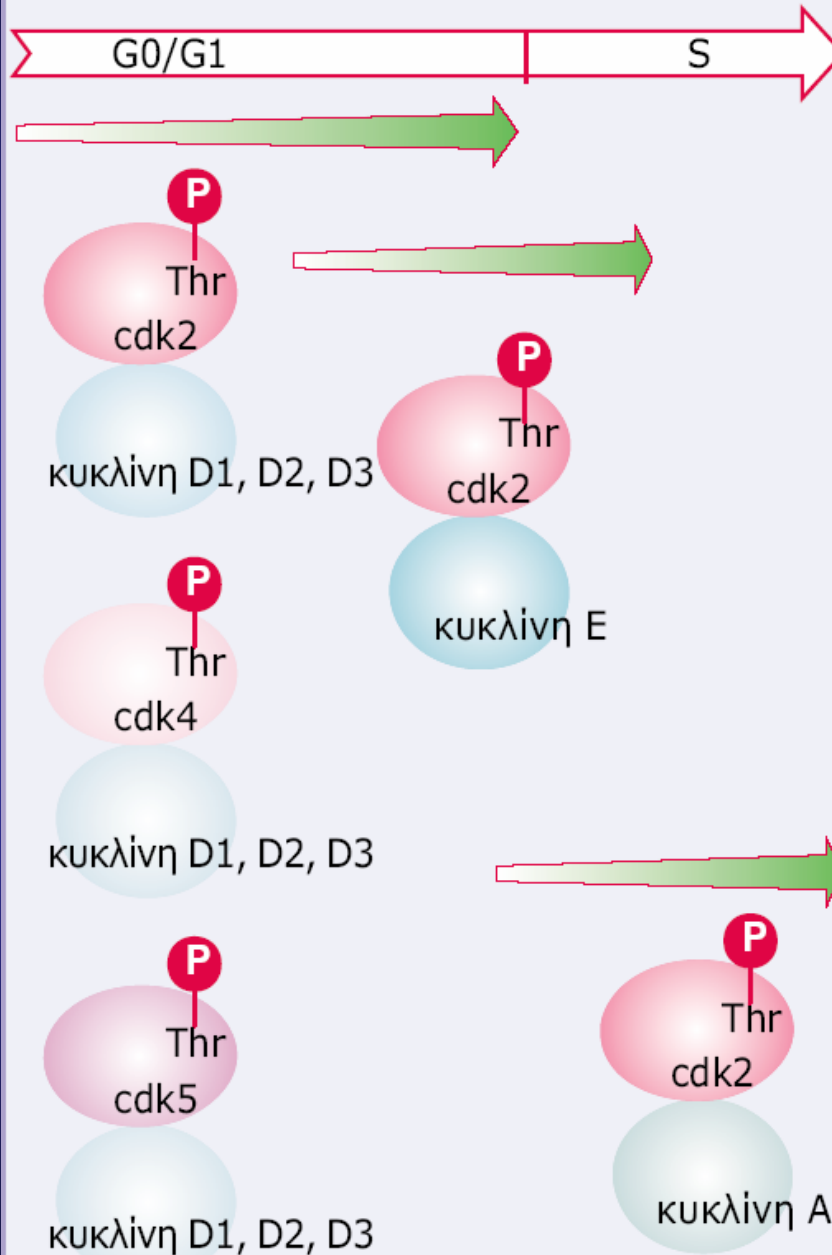
Δε γνωρίζουμε πώς τα σύμπλοκα αυτά πυροδοτούν το σημείο ελέγχου που αναστέλλει την ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M.

Τόσο η αρχή όσο και το τέλος της φάσης S είναι σημαντικά σημεία στον κυτταρικό κύκλο. Όπως ακριβώς ένα κύτταρο θα πρέπει να ξέρει πότε είναι έτοιμο να ξεκινήσει την αντιγραφή, έτσι θα πρέπει να έχει κάποιο μέσο αναγνώρισης της επιτυχούς ολοκλήρωσης της αντιγραφής. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί εξετάζοντας τη δομή του DNA.

Οι αναστολές της αντιγραφής του DNA μπορούν να εμποδίσουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου. Η επίδραση αυτή μπορεί να βασίζεται στην παρουσία συμπλόκων αντιγραφής στο DNA. Δε γνωρίζουμε πώς τα σύμπλοκα αυτά πυροδοτούν το σημείο ελέγχου που αναστέλλει την ενεργοποίηση της κινάσης της φάσης M.

Άλλοι έλεγχοι που διασφαλίζουν μια συστηματική πρόοδο διαμέσου του κυτταρικού κύκλου και οι οποίοι μπορούν να θεωρηθούν ως σημεία ελέγχου, περιλαμβάνουν την επιτήρηση της ολοκλήρωσης της αντιγραφής του DNA και τον έλεγχο του κυτταρικού μεγέθους.

## Διάφορα σύμπλοκα Cdc2-κυκλίνης δρουν στη μεσόφαση



**Εικόνα 29.27** Αρκετά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης είναι ενεργά κατά τη διάρκεια της G1 και της φάσης S. Τα σκιασμένα βέλη δείχνουν τη διάρκεια της ενεργότητας.

**Cdks : Cyclin dependent kinases**  
κυκλίνo – εξαρτώμενες κινάσες

**Δυο γενικά μοντέλα θα μπορούσαν να προταθούν για το ρόλο του MPF:**

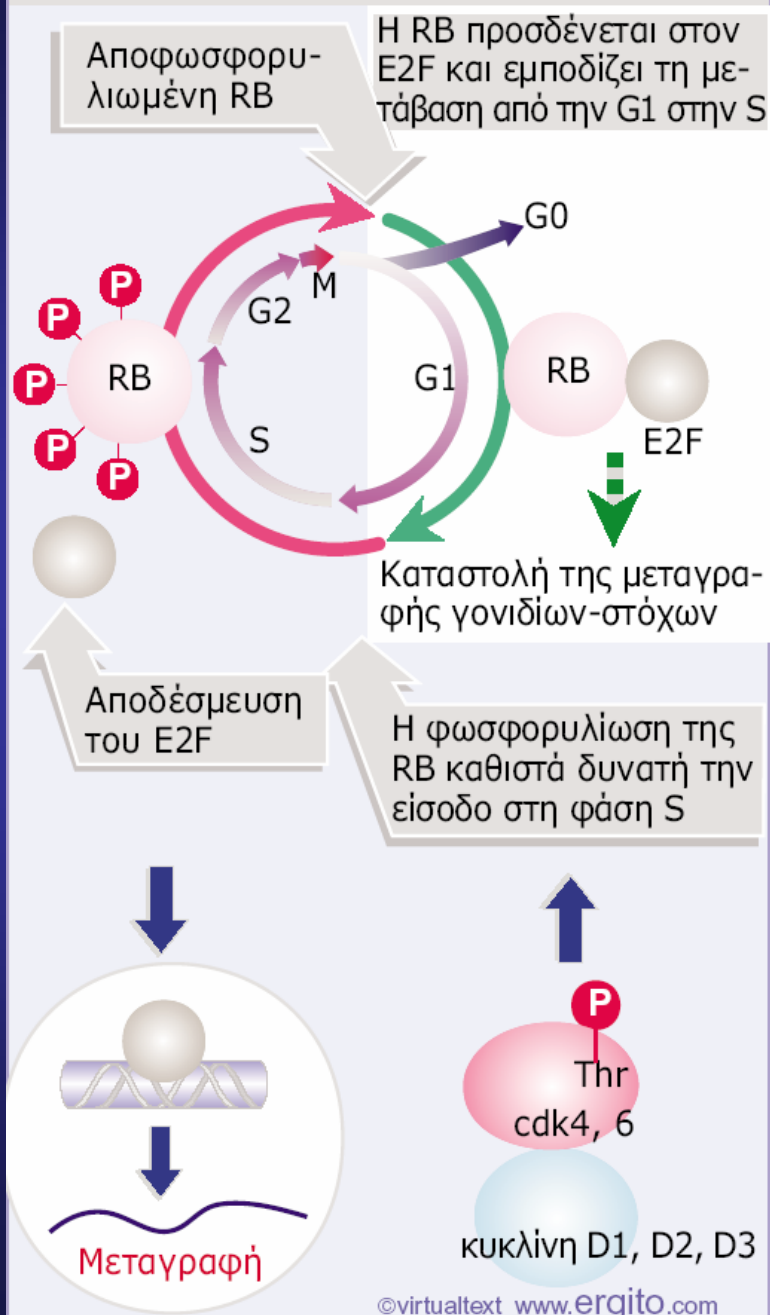
- 1. Μπορεί να είναι ένας «επιτελικός ρυθμιστής» που φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες στόχους οι οποίες με τη σειρά τους ρυθμίζουν άλλες απαραίτητες λειτουργίες – ένας κλασικός καταρράκτης.**
- 2. Εναλλακτικά μπορεί άμεσα να φωσφορυλιώνει τις πρωτεΐνες που απαιτούνται για την εκτέλεση ρυθμιστικών γεγονότων ή για την κυτταρική αναδιοργάνωση που λαμβάνει χώρα στον κυτταρικό κύκλο.**

**Υποστρώματα που φωσφορυλιώνονται από την MPF κινάση:**

- Η ιστόνη H1 (πιθανώς απαιτείται για τη συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων).**
- Η νουκλεολίνη (που ενδεχομένως συμμετέχει στη διακοπή της ριβοσωμικής σύνθεσης).**
- Οι λαμίνες (πιθανώς για την αποικοδόμηση του πυρηνικού φακέλου).**

**Η φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων χρειάζεται για την αναδιοργάνωση του κυττάρου σε μια μιτωτική άτρακτο, ενώ η αποφωσφορυλίωση των ίδιων υποστρωμάτων απαιτείται για την επιστροφή σε μια οργάνωση μεσόφασης.**

# Η φωσφορυλίωση της RB χρειάζεται για την είσοδο στη φάση S



**Εικόνα 29.28** Μια φραγή στον κυτταρικό κύκλο αίρεται όταν η RB φωσφορυλιώνεται από μια cdk-κυκλίνη.



Υπάρχει μια ιδιαίτερα στενή σχέση ανάμεσα στην RB και στην κυκλίνη D1. Η υπερέκφραση της D1 προκαλεί τα κύτταρα να εισέλθουν πρώιμα στη φάση S. Η αναστολή της έκφρασης της D1 διακόπτει τον κύκλο των κυττάρων πριν τη φάση S. Ο μοναδικός ρόλος της D1 θα μπορούσε να είναι η απενεργοποίηση της RB, έτσι ώστε να επιτραπεί στο κύτταρο να εισέλθει στη φάση S.

Υπάρχουν αρκετοί συγγενικοί μεταγραφικοί παράγοντες που ανήκουν στην οικογένεια E2F. Όλοι αυτοί οι παράγοντες έχουν ως κοινό γνώρισμα το ότι αναγνωρίζουν γονίδια που φέρουν την ίδια πρότυπη αλληλουχία. Η RB δεσμεύει τρεις από αυτούς τους παράγοντες. Δύο ακόμη πρωτεΐνες, οι p107 και p130, που είναι συγγενικές με την RB, συμπεριφέρονται με παρόμοιο τρόπο και δεσμεύουν τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας E2F. Επομένως η RB μαζί με την p107 μπορούν να ελέγξουν την ενεργότητα της ομάδας παραγόντων E2F.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι βλάβες στο DNA πυροδοτούν ένα σημείο ελέγχου το οποίο εμποδίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου μέχρι την επιδιόρθωση της βλάβης.
- ▶ Η πρωτεϊνική κινάση ATM είναι καθοριστικό συστατικό αυτού του σημείου ελέγχου: φωσφορυλιώνει τη Chk2, η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει και ως εκ τούτου αδρανοποιεί τη Cdc25.
- ▶ Το μονοπάτι απόκρισης σε βλάβη στο DNA ενεργοποιεί επίσης γονίδια που κωδικοποιούν κάποιους παράγοντες επιδιόρθωσης ή προκαλεί απευθείας ενεργοποίηση των παραγόντων επιδιόρθωσης.
- ▶ Πολλές διμερείς κινάσες με μια καταλυτική υπομονάδα παρόμοια με τη Cdc2 (και καλούμενη cdk) απαντώνται στα ζωικά κύτταρα.
- ▶ Οι cdk2 και cdk4 είναι καταλυτικές υπομονάδες που συνήθως προσδέονται σε κυκλίνες G1.
- ▶ Η πρωτεΐνη RB αποτελεί καίριο στόχο των συμπλόκων cdk-κυκλίνης G1: φωσφορυλίωση του RB απαιτείται για την έναρξη της φάσης S.

## CKIs : Cyclin Kinase Inhibitors Αναστολείς των διμερών cdk - κυκλίνης

Δύο οικογένειες :

Η οικογένεια INK4 είναι ειδική για τις cdk4 και cdk6, και έχει τέσσερα μέλη: τις p16<sup>INK4A</sup>, p15<sup>INK4B</sup>, p18<sup>INK4C</sup>, p19<sup>INK4D</sup>.

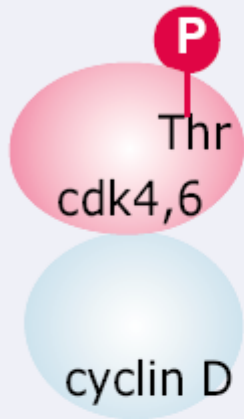
Η οικογένεια Kip αναστέλλει όλα τα ένζυμα cdk των φάσεων G1 και S και περιλαμβάνει τρία μέλη: τις p21<sup>Cip/WAF1</sup>, p27<sup>Kip1</sup>, p57<sup>Kip2</sup>.

# Η p16 παρεμποδίζει την είσοδο στη φάση S

**Εικόνα 29.29** Η p16 προσδένεται στις cdk4 και cdk6 και στα διμερή cdk4, 6-κυκλίνης. Αναστέλλοντας την ενεργότητα της cdk-κυκλίνης D, η p16 αποτρέπει τη φωσφορυλίωση της RB και διατηρεί αδρανοποιημένο τον E2F, ώστε να αδυνατεί να πυροδοτήσει την έναρξη της φάσης S.

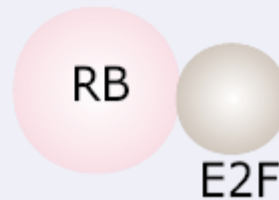
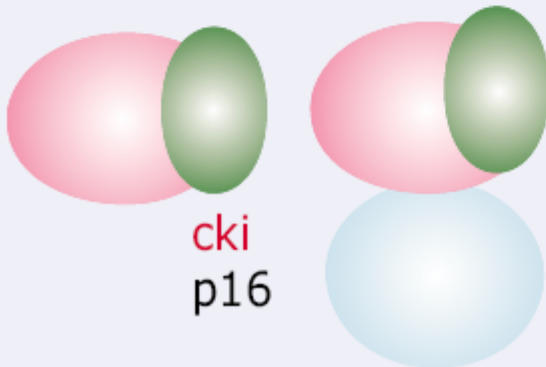
Κατάσταση του συμπλόκου cdk-κυκλίνης

Κατάσταση της RB

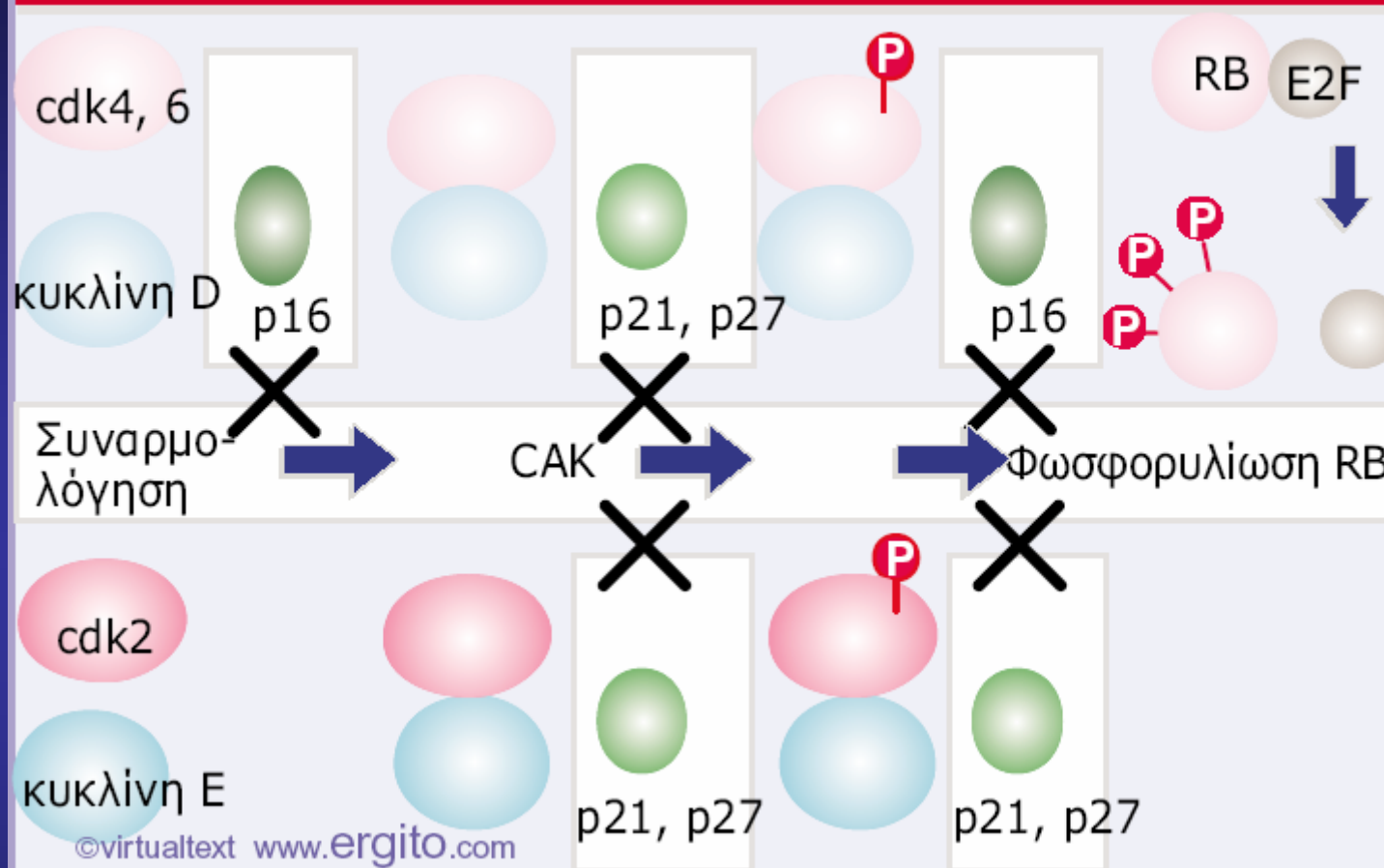


Κατασταλτικό  
σήμα ↓

Παρεμπόδιση  
φωσφορυλίωσης



## Υπάρχουν πολλοί καταστολείς του κυτταρικού κύκλου



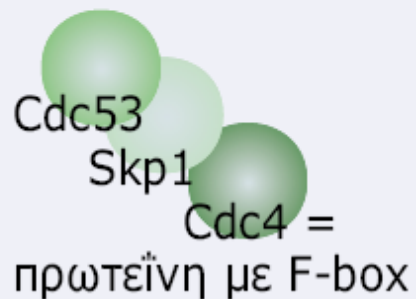
**Εικόνα 29.30** Οι p21 και p27 αναστέλλουν τη συναρμολόγηση και την ενεργότητα των cdk4, 6-κυκλίνης D και cdk2-κυκλίνης E από τη CAK. Επίσης, αναστέλλουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου ανεξάρτητα από την ενεργότητα της RB. Η p16 αναστέλλει τόσο τη συναρμολόγηση όσο και την ενεργότητα της cdk4-6-κυκλίνης D.

Η σημασία του μονοπατιού, από τις πρωτεΐνες CKI έως την RB, τονίζεται από το γεγονός ότι για κάθε στάδιό του έχουν ταυτοποιηθεί ογκοκαταστολείς, όπως οι πρωτεΐνες CKI, οι κυκλίνες D1, 2 και η RB. Το μονοπάτι αυτό καθιστά τις πρωτεΐνες CKI απαραίτητες για την καταστολή της ανεξέλεγκτης ανάπτυξης των κυττάρων. Όσον αφορά τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, αυτό το μονοπάτι είναι κεντρικής σημασίας. Ίσως είναι το μονοπάτι-κλειδί μέσω του οποίου επιτρέπεται στα κύτταρα να επιχειρήσουν έναν κύκλο διαίρεσης.

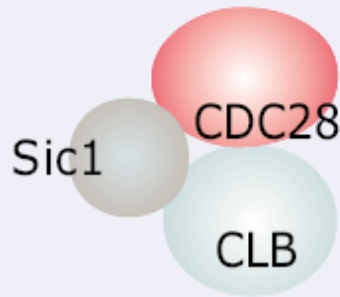
# Ένα σύστημα ουβικιτινίωσης αποικοδομεί τη Sic1

**Εικόνα 29.31**  
Το SCF είναι μια λιγάση E3 που στοχεύει τον αναστολέα Sic1.

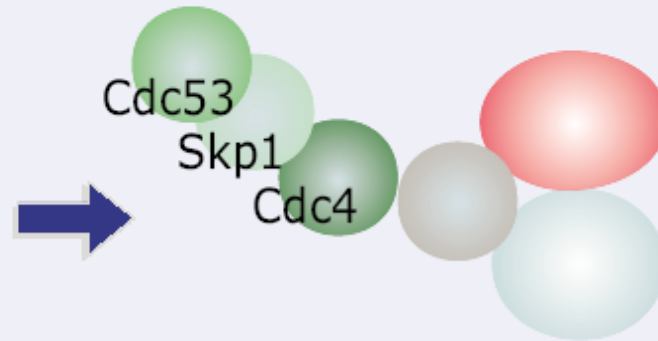
SCF = Λιγάση E3  
Η Cdc4 επιλέγει το στόχο



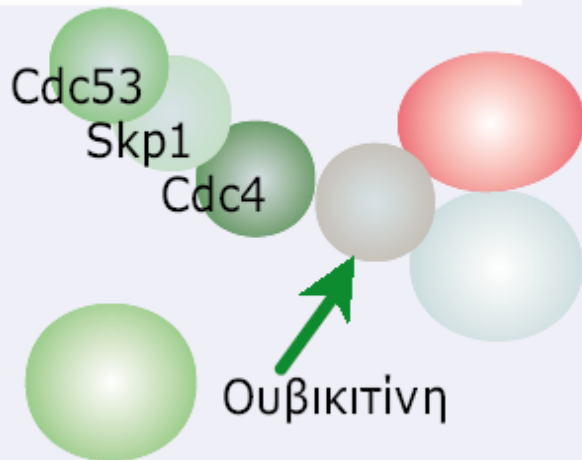
Η Sic1 διατηρεί την κινάση ανενεργή



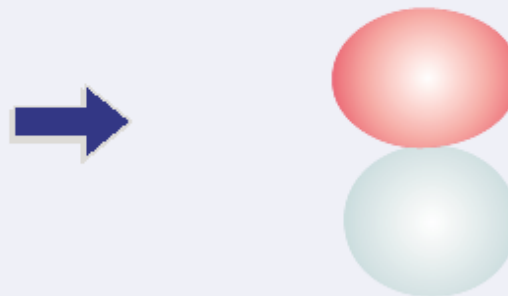
Το SCF αναγνωρίζει το στόχο (η Cdc4 προσδένεται στη Sic1)



Η λιγάση E2 προσθέτει ουβικιτίνες στη Sic1



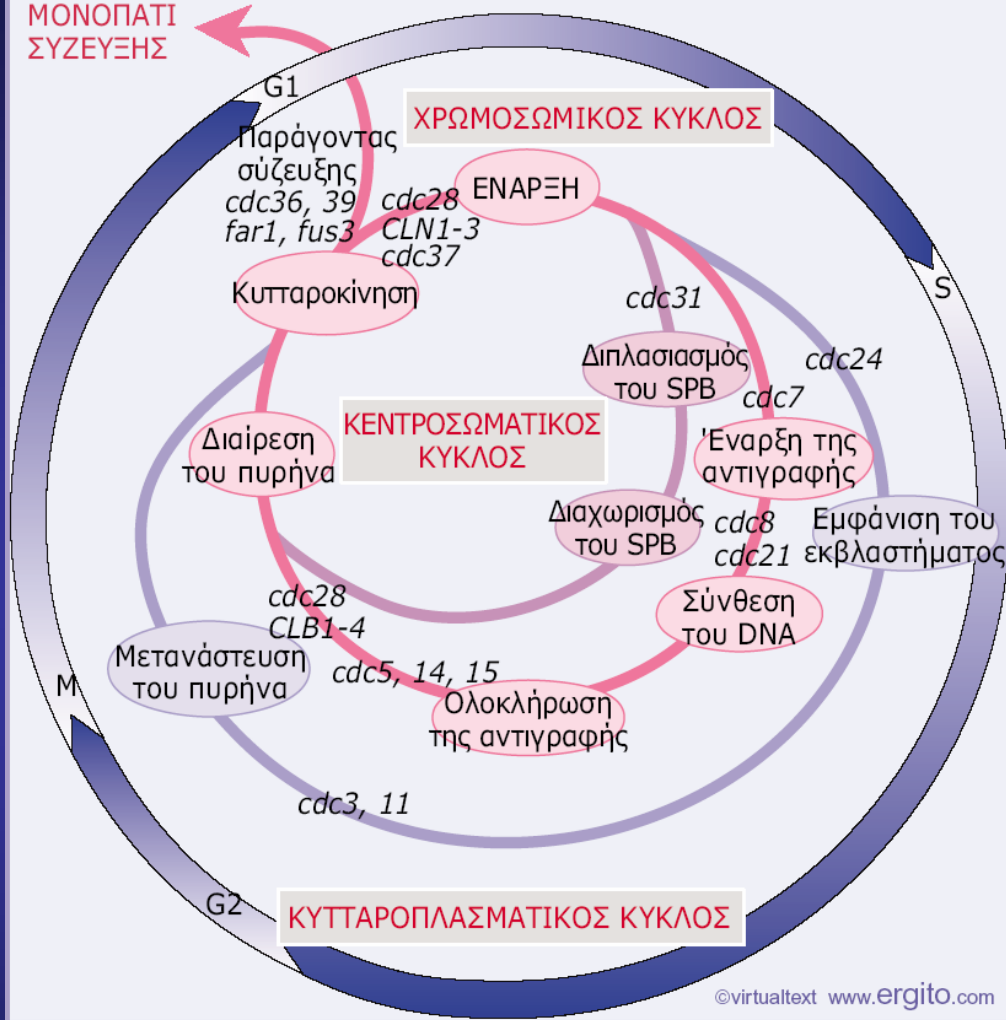
Αποικοδομείται η Sic1 και ελευθερώνεται η ενεργή κινάση



©virtualtext www.ergito.com

**Χρωμοσωμικός κύκλος + κεντροσωματικός κύκλος + κυτταροπλασματικός κύκλος = κυτταρικός κύκλος**

ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΣΥΖΕΥΞΗΣ



©virtualtext www.ergito.com

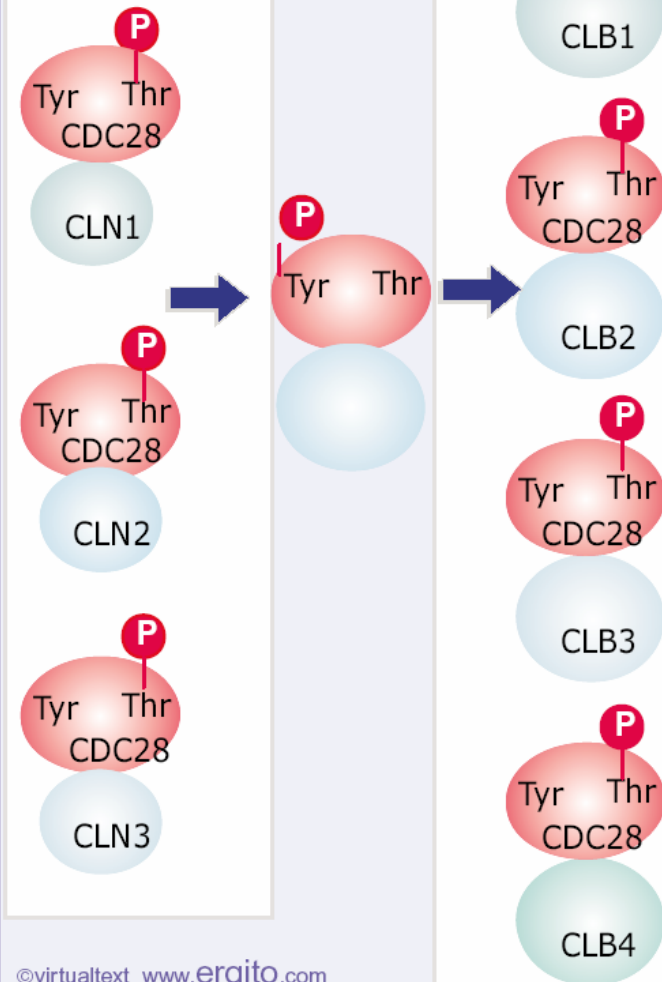
**Εικόνα 29.16** Στον *S. cerevisiae*, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου ενέχει τη σύνδεση της CDC28 με πλεονάζουσες κυκλίνες τόσο στην ENAPΞΗ όσο και στην G2/M.

**Η CDC28 προσδένεται σε πολλές κυκλίνες**

Η συσσώρευση των CLN ενεργοποιεί την ENAPΞΗ



ENAPΞΗ: χρειάζεται οποιοδήποτε από τρία σύμπλοκα



Μίτωση: χρειάζεται ενεργά τα σύμπλοκα CDC28-CLB1-4

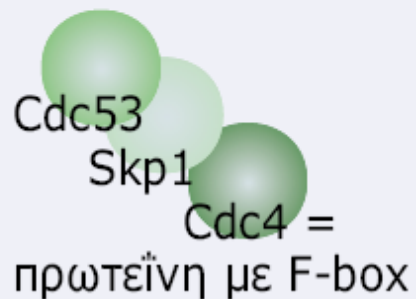
©virtualtext www.ergito.com



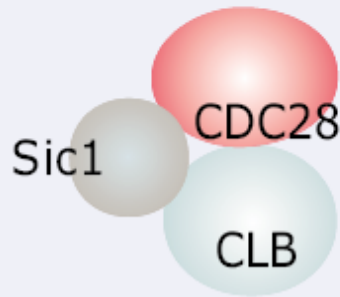
# Ένα σύστημα ουβικιτινίωσης αποικοδομεί τη Sic1

**Εικόνα 29.31**  
Το SCF είναι μια λιγάση E3 που στοχεύει τον αναστολέα Sic1.

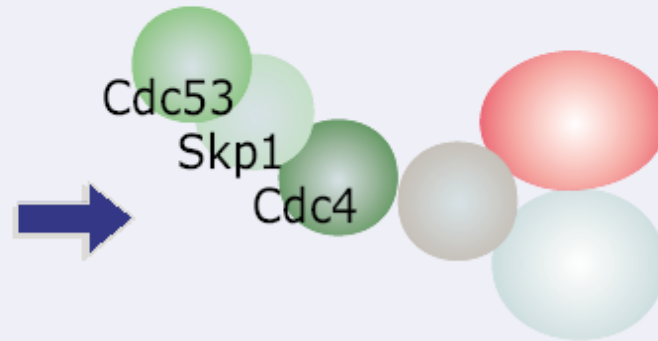
SCF = Λιγάση E3  
Η Cdc4 επιλέγει το στόχο



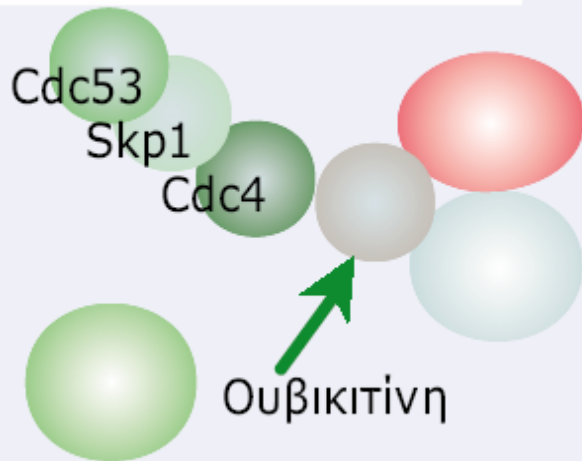
Η Sic1 διατηρεί την κινάση ανενεργή



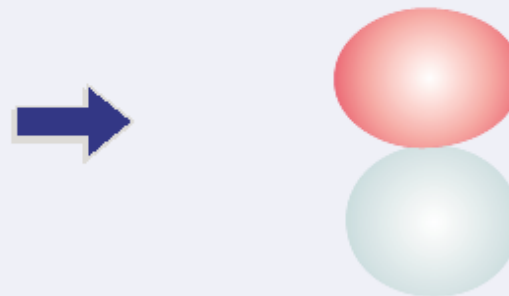
Το SCF αναγνωρίζει το στόχο (η Cdc4 προσδένεται στη Sic1)



Η λιγάση E2 προσθέτει ουβικιτίνες στη Sic1



Αποικοδομείται η Sic1 και ελευθερώνεται η ενεργή κινάση



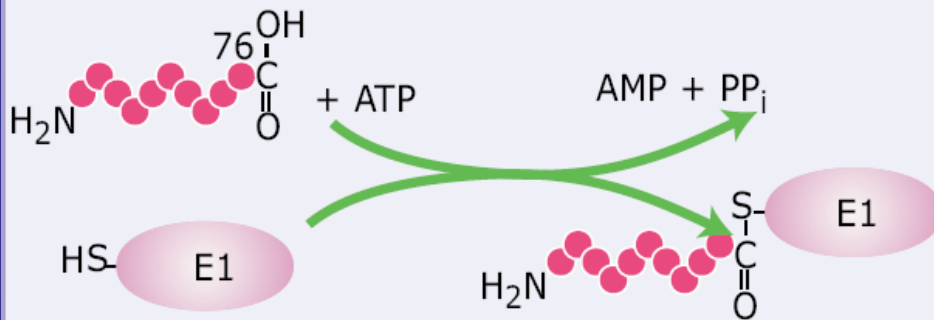
©virtualtext www.ergito.com

## Η ουβικιτινίωση ενέχει τη διαδοχική σύνδεση υπομονάδων ουβικιτίνης στην πρωτεΐνη-στόχο

Η ουβικιτίνη είναι ένα πολυπεπίδιο 76 αμινοξέων



Η C-τελική Gly συνδέεται με θειολεστερικό δεσμό με μια Cys του E1



Η ουβικιτίνη μεταφέρεται στο E2



Η λιγάση E3 μεταφέρει την ουβικιτίνη στην ε-NH<sub>2</sub> μιας Lys του υποστρώματος



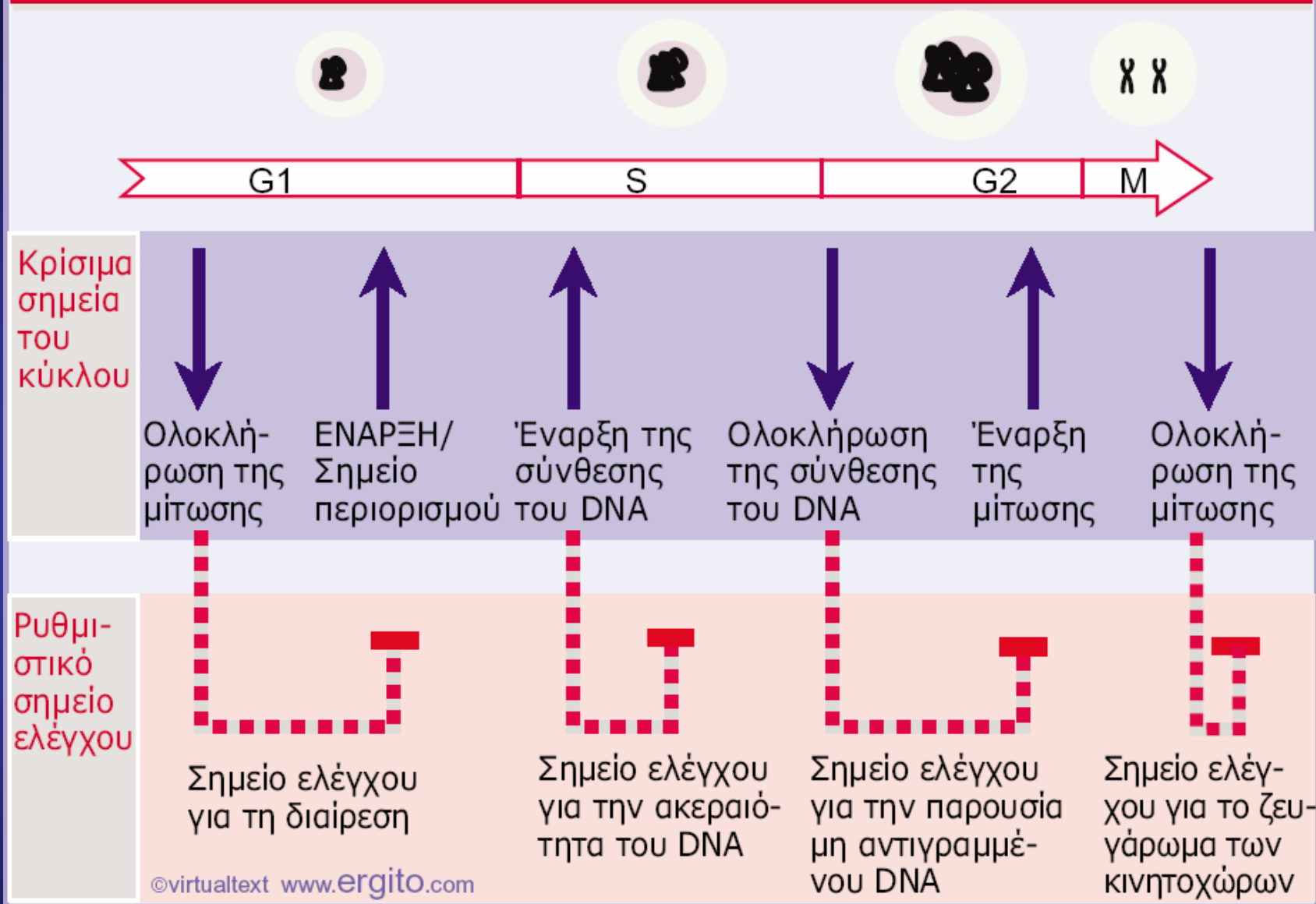
**Εικόνα 8.67** Ο κύκλος της ουβικιτίνης περιλαμβάνει τρεις ενεργότητες. Το ένζυμο E1 συνδέεται με την ουβικιτίνη. Το E3 προσδένεται στο πρωτεϊνικό υπόστρωμα. Το E2 μεταφέρει την ουβικιτίνη από το E1 στο υπόστρωμα. Οι επαναλήψεις του παραπάνω κύκλου δημιουργούν την πολυουβικιτίνη.

Υπάρχουν επιπλέον επίπεδα ελέγχου σ' αυτό το σύστημα. Προκειμένου τα υποστρώματα του SCF να αναγνωριστούν, θα πρέπει να φωσφορυλιωθούν. Οι κινάσες που εκτελούν τη φωσφορυλίωση είναι τα σύμπλοκα cdk-κυκλίνης που ενεργοποιούνται στο κατάλληλο στάδιο του κυτταρικού κύκλου. Η περίσσεια των συμπλόκων SCF ρυθμίζεται μέσω της αποικοδόμησης των υπομονάδων F-box. Η SCFCdc4 στοχεύει τη Cdc4, δημιουργώντας έτσι έναν αυτορυθμιζόμενο περιορισμό της ενεργότητάς της. Το αποτέλεσμα τέτοιων αναδράσεων είναι η διατήρηση ενός αποθέματος Cdc53-Skp1, το οποίο, όταν κρίνεται απαραίτητο, μπορεί να στρατολογηθεί από τις υπομονάδες F-box.

### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι πρωτεΐνες CKI είναι αναστολείς των διμερών cdk-κυκλίνης.
- ▶ Διαφορετικές πρωτεΐνες CKI εμφανίζουν εξειδίκευση για διαφορετικά σύμπλοκα cdk-κυκλίνης.
- ▶ Κατά τη μίτωση, οι κυκλίνες αποικοδομούνται σε δύο χρονικές στιγμές, η κυκλίνη A κατά τη μετάφαση και οι κυκλίνες B για τον τερματισμό της μίτωσης.
- ▶ Το σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης (Anaphase Promoting Complex, APC) είναι μία λιγάση E3 της ουβικιτίνης, η οποία στοχεύει συγκεκριμένα υποστρώματα για πρωτεόλυση.

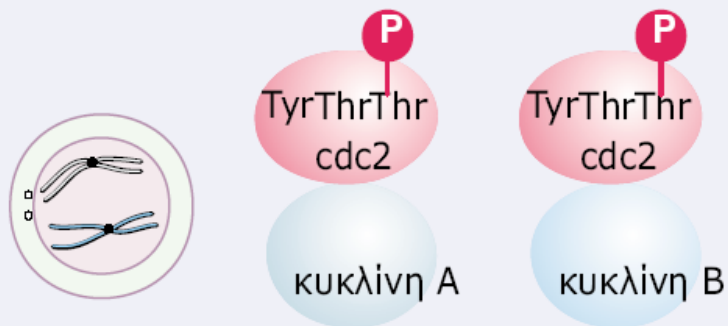
# Η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου βασίζεται στα σημεία ελέγχου



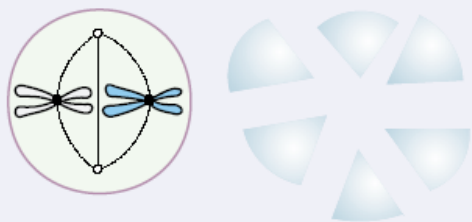
**Εικόνα 29.4** Η ικανότητα του κυτάρου να προχωρήσει στον κύκλο ρυθμίζεται από τα σημεία ελέγχου, στα οποία προσδιορίζεται κατά πόσο έχουν ολοκληρωθεί με επιτυχία τα προηγούμενα στάδια. Μια οριζόντια κόκκινη ράβδος επισημαίνει το στάδιο στο οποίο ένα σημείο ελέγχου εμποδίζει την πρόοδο του κύκλου.

## Οι κυκλίνες πρέπει να καταστραφούν κατά τη μίτωση

Πρόφαση Η κινάση της φάσης Μ ενεργοποιείται



Μετάφαση Αποικοδομείται η κυκλίνη Α

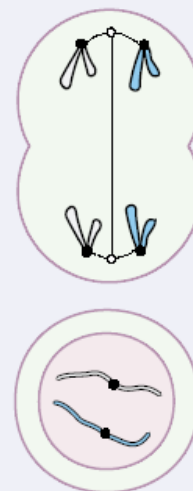


**Εικόνα 29.32** Η πρόοδος διαμέσου της μίτωσης απαιτεί την καταστροφή των κυκλινών και άλλων στόχων.

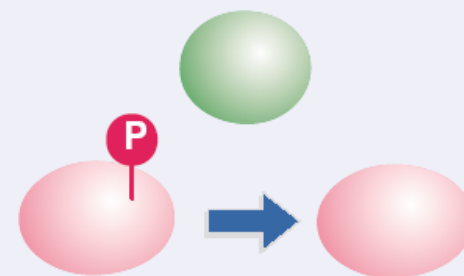
Ανάφαση Η Pds1p και η κυκλίνη Β αποικοδομούνται



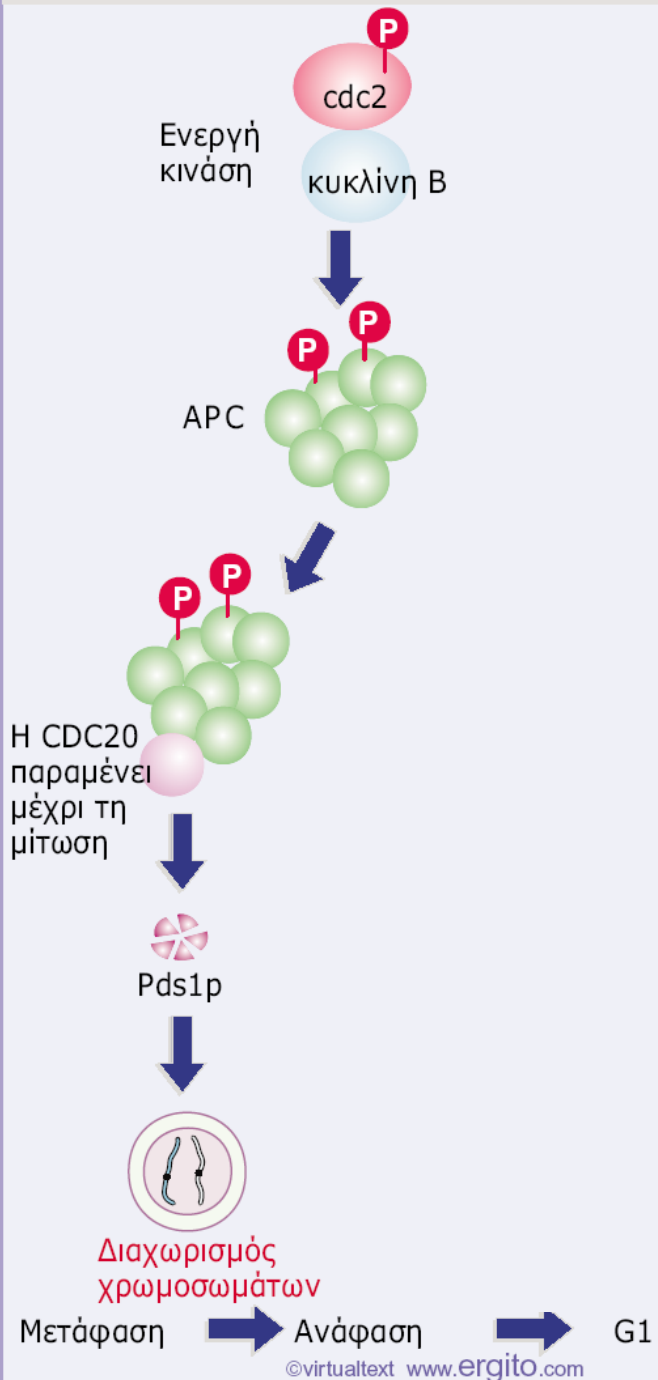
Τελόφαση / Κυτταροκίνηση



Φωσφατάσες απομακρύνουν τις φωσφορικές ομάδες που πρόσθεσε η κινάση της φάσης Μ



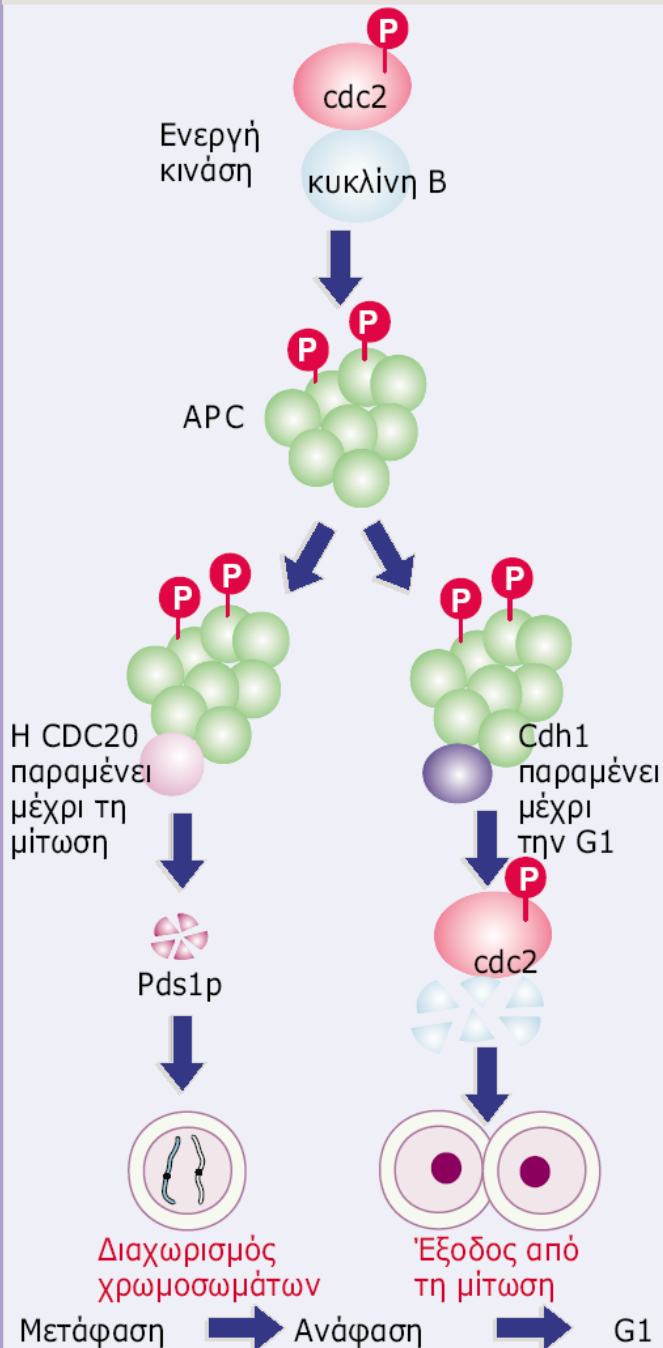
©virtualtext www.ergito.com



**Εικόνα 29.33** Δύο εκδοχές του APC χρειάζονται για τη δίοδο διαμέσου της ανάφασης.

## APC : Anaphase Promoting Complex Σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης

Σύμπλοκο 8 υπομονάδων  
Υπεύθυνο για την επιλογή υποστρωμάτων που αποικοδομούνται στην ανάφαση  
Λειτουργεί ως μια E3 λιγάση ουβικιτίνης



**Εικόνα 29.33** Δύο εκδοχές του APC χρειάζονται για τη δίοδο διαμέσου της ανάφασης.

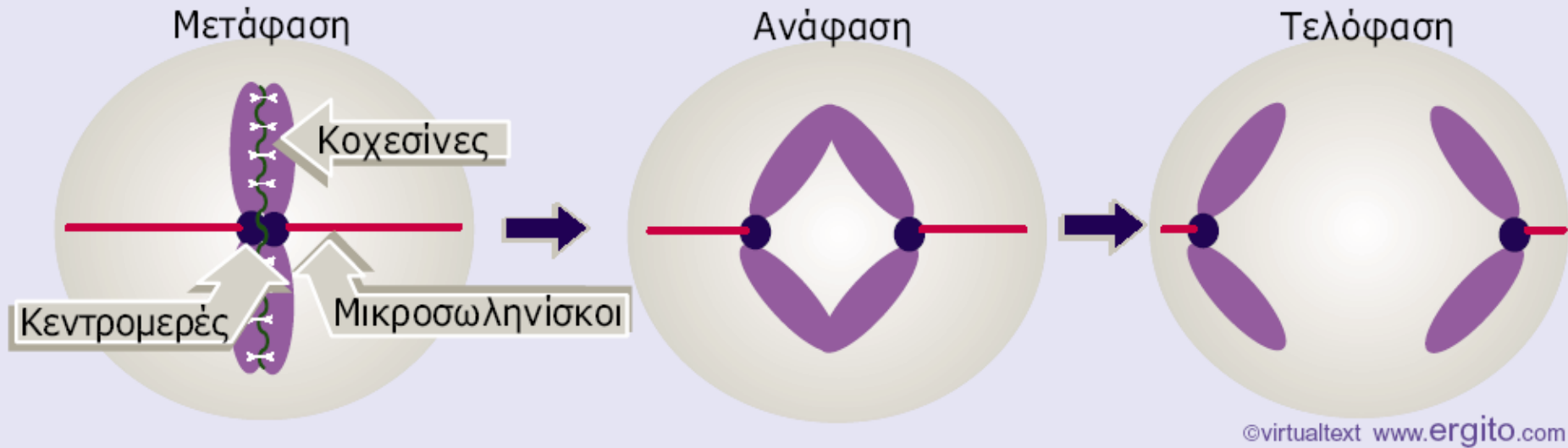
## APC : Anaphase Promoting Complex

### Σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης

Σύμπλοκο 8 υπομονάδων  
Υπεύθυνο για την επιλογή υποστρωμάτων που αποικοδομούνται στην ανάφαση  
Λειτουργεί ως μια E3 λιγάση ουβικιτίνης



## Οι μικροσωληνίσκοι κατά τη μίτωση έλκουν τα κεντρομερή προς αντίθετους πόλους

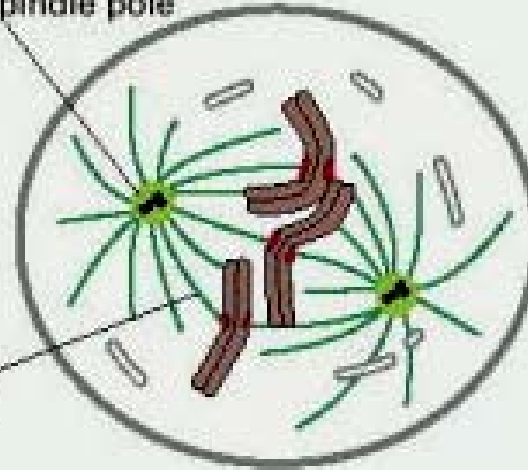


**Εικόνα 19.22** Τα χρωμοσώματα έλκονται στους πόλους μέσω των μικροσωληνίσκων που συνδέονται στα κεντρομερή. Οι συγκολλητικές πρωτεΐνες (κοχεσίνες) συγκρατούν τις αδελφές χρωματίδες μαζί έως την ανάφαση. Το κεντρομερές φαίνεται εδώ στο μέσο του χρωμοσώματος (μετακεντρικό), αλλά μπορεί να βρίσκεται οπουδήποτε κατά μήκος του χρωμοσώματος, ή κοντά στα άκρα (ακροκεντρικό), ή ακόμα και στο ίδιο το άκρο (τελοκεντρικό).

### 3 METAPHASE

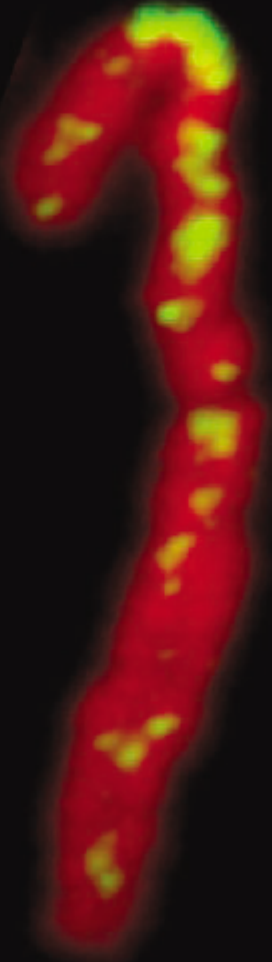
centrosome at spindle pole

kinetochore  
microtubule



Τα χρωμοσώματα παρατάσσονται στον ισημερινό της ατράκτου, στο μέσον της απόστασης ανάμεσα στους πόλους της. Οι ζευγαρωμένοι μικροσωληνίσκοι των κινητοχώρων πάνω σε κάθε χρωμόσωμα συνάπτονται στους αντίθετους πόλους της ατράκτου.

## Οι κοχεσίνες συνδέουν τις αδελφές χρωματίδες

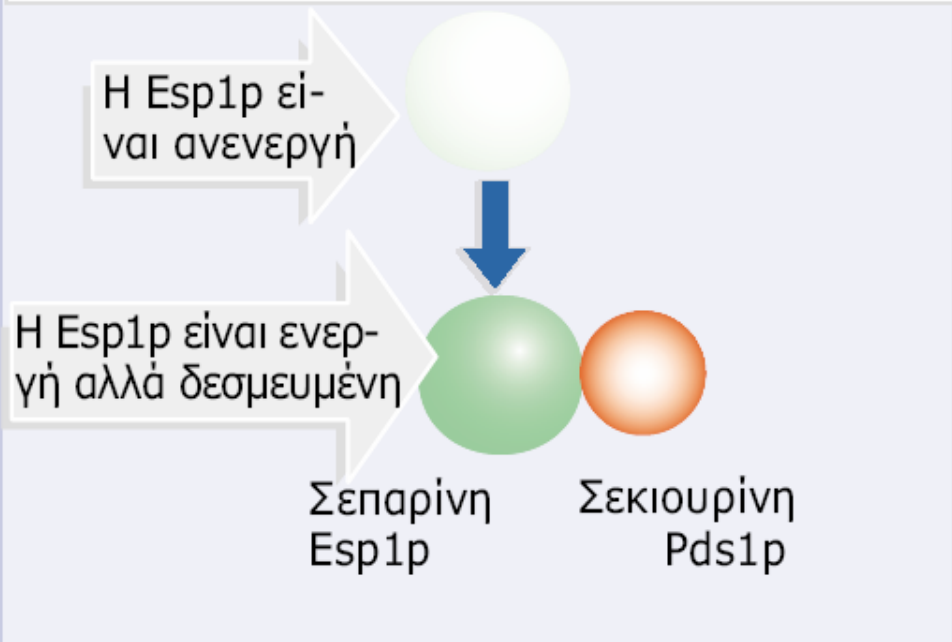


www.ergito.com

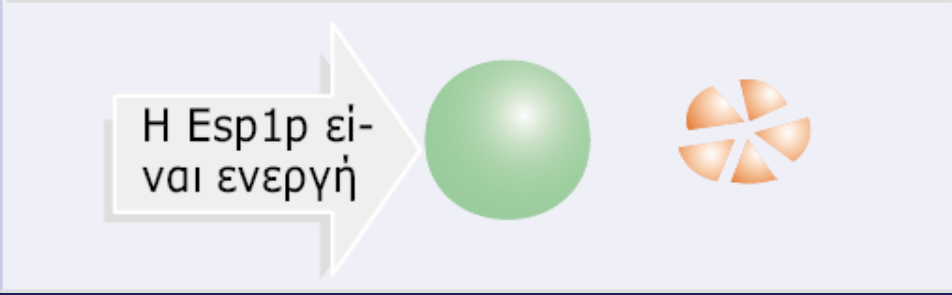
**Εικόνα 29.34** Οι κοχεσίνες εντοπίζονται σποραδικά κατά μήκος ενός ζευγαριού αδελφών χρωματίδων που παρουσιάζονται εδώ σε πρώιμο στάδιο της μίτωσης. Το DNA εμφανίζεται κόκκινο και οι κοχεσίνες κίτρινες. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά των Ana Losada και Tastuya Hirano.

# Η σεκιουρίνη δρα στη σεπαρίνη η οποία με τη σειρά της δρα στην κοχεσίνη

Η σεκιουρίνη ενεργοποιεί και δεσμεύει τη σεπαρίνη

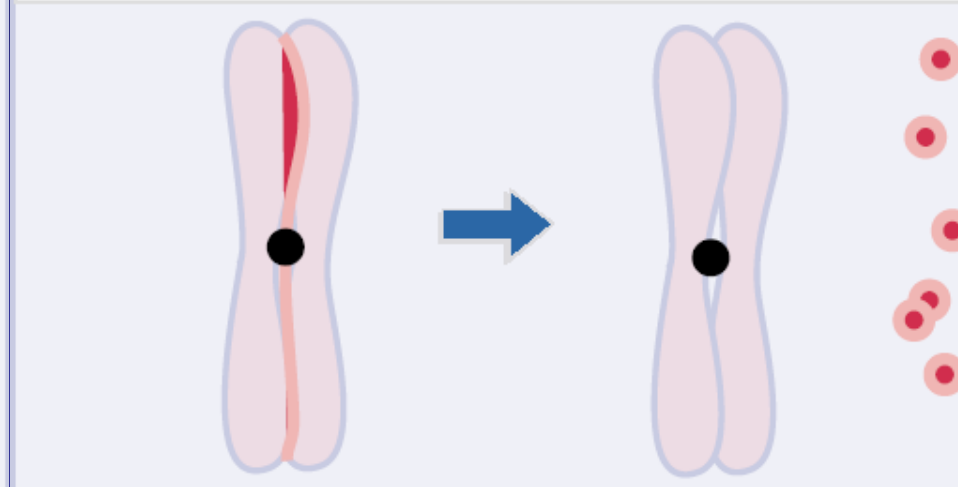


Η σεκιουρίνη αποικοδομείται από το APC

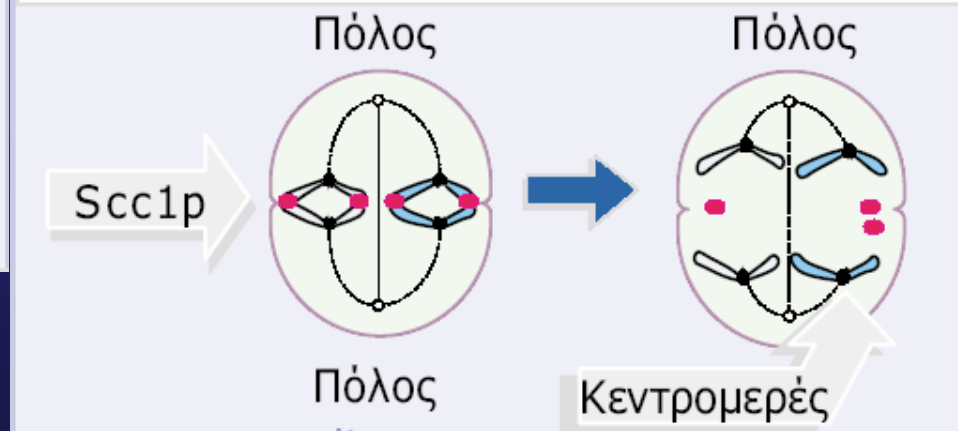


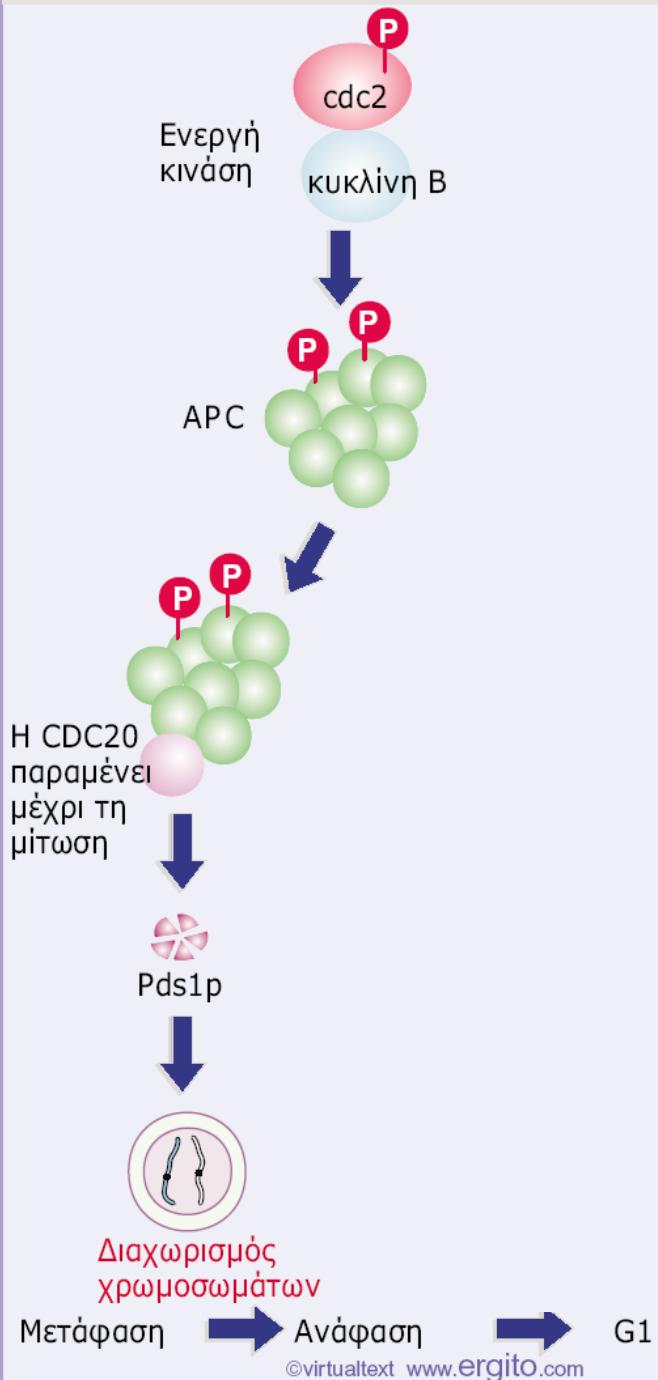
**Εικόνα 29.35** Η πρόοδος της ανάφασης απαιτεί την αποικοδόμηση της Pds1p από το APC, ώστε να επιτραπεί στην Esp1p να απομακρύνει την Scc1 από τις αδελφές χρωματίδες.

Η σεπαρίνη ελευθερώνει την κοχεσίνη από τις αδελφές χρωματίδες



Τα χρωμοσώματα διαχωρίζονται και μεταφέρονται στους πόλους

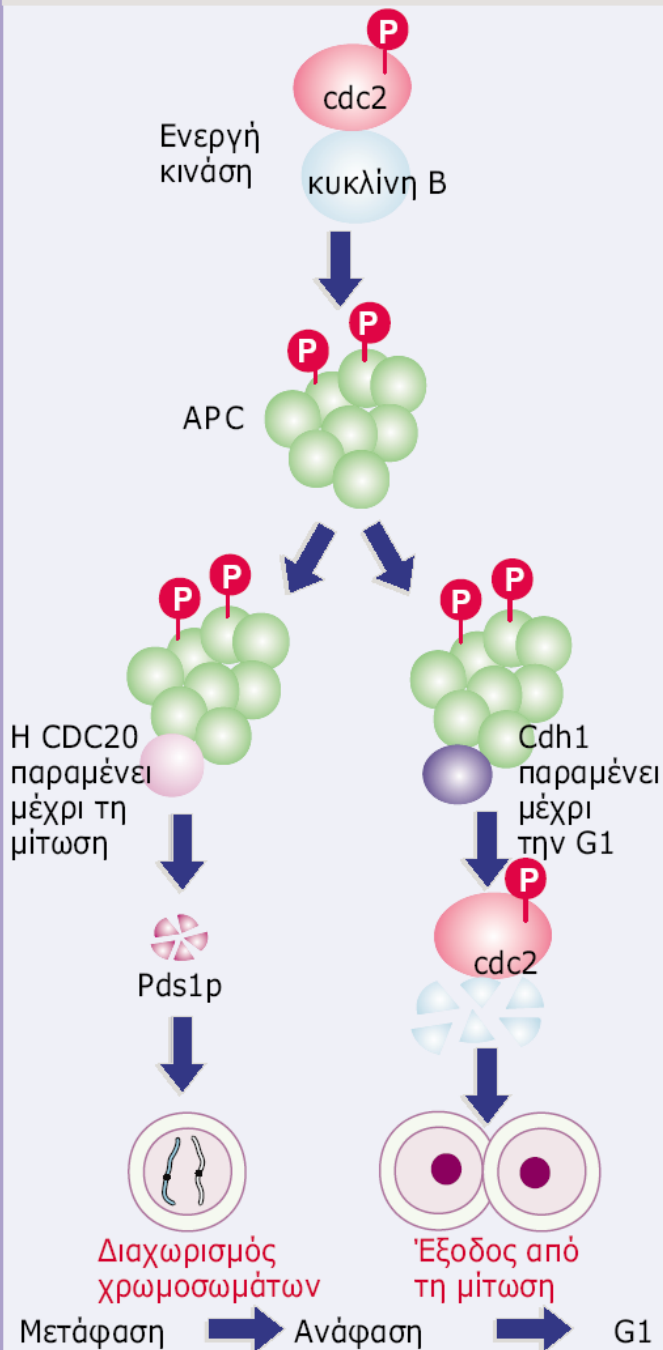




**Εικόνα 29.33** Δύο εκδοχές του APC χρειάζονται για τη δίοδο διαμέσου της ανάφασης.

## APC : Anaphase Promoting Complex Σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης

Σύμπλοκο 8 υπομονάδων  
Υπεύθυνο για την επιλογή υποστρωμάτων που αποικοδομούνται στην ανάφαση  
Λειτουργεί ως μια E3 λιγάση ουβικιτίνης



**Εικόνα 29.33** Δύο εκδοχές του APC χρειάζονται για τη δίοδο διαμέσου της ανάφασης.

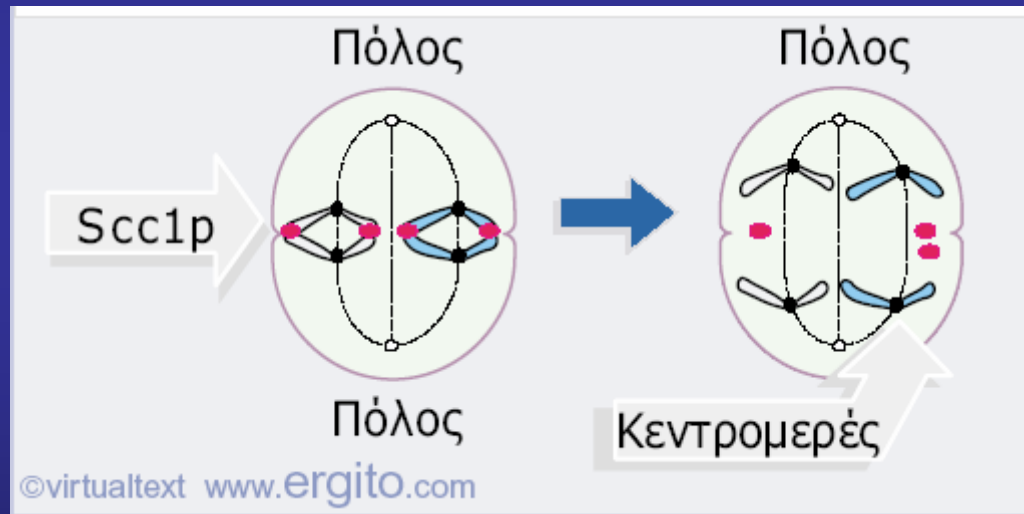
## APC : Anaphase Promoting Complex Σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης

Σύμπλοκο 8 υπομονάδων  
Υπεύθυνο για την επιλογή υποστρωμάτων που αποικοδομούνται στην ανάφαση  
Λειτουργεί ως μια E3 λιγάση ουβικιτίνης

Εάν η σεκιουρίνη απλώς απομόνωνε τη σεπαρίνη, θα περιμέναμε η απώλεια της σεκιουρίνης να προκαλούσε τον πρώιμο διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων. Συμβαίνει όμως το αντίθετο. Εάν το γονίδιο της σεκιουρίνης απενεργοποιηθεί, τότε τα χρωμοσώματα δυσκολεύονται να διαχωριστούν και η καθυστέρηση προκαλεί ανωμαλίες στο χρωμοσωμικό διαχωρισμό. Αυτό υποδηλώνει ότι η σεκιουρίνη διαδραματίζει δύο ρόλους. Υποθέτουμε ότι η σεπαρίνη βρίσκεται σε ανενεργή κατάσταση πριν προσδέσει τη σεκιουρίνη. Η σεκιουρίνη την ενεργοποιεί, αλλά τη συντηρεί στην απομόνωση. Όταν αποικοδομείται η σεκιουρίνη, η σεπαρίνη απελευθερώνεται στην ενεργή της κατάσταση. Εάν η σεκιουρίνη είναι απύσα ολοκληρωτικά, η σεπαρίνη δεν ενεργοποιείται ποτέ και έτσι δεν καταστρέφονται οι κοχεσίνες.


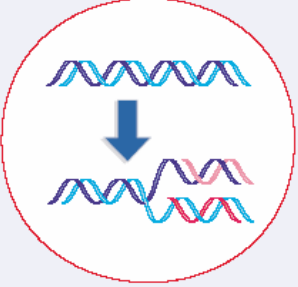
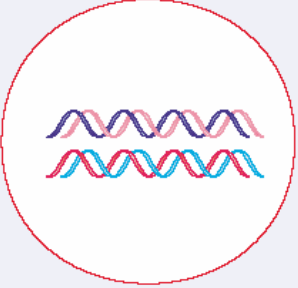
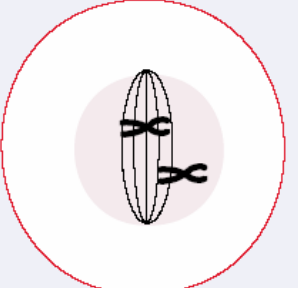
Το κεντρικό τμήμα του συμπλόκου των κοχρεσινών είναι ένα ετεροδιμερές πρωτεϊνών της οικογένειας SMC

**SMC : Structural Maintenance of Chromosome**  
δομική διατήρηση χρωμοσώματος





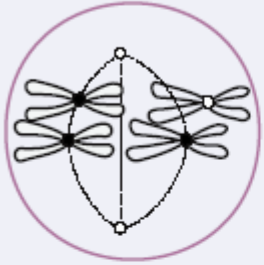
## Ο κυτταρικός κύκλος έχει πολλά σημεία ελέγχου

Στάση στη φάση	Αιτία
	G1 Βλάβη στο DNA
	S Μη ολοκλήρωση της αντιγραφής
	G2 Βλάβη στο DNA
	Μίτωση Μη προσδεμένος κινητοχώρος

**Εικόνα 29.5** Τα σημεία ελέγχου μπορούν να διακόψουν τον κυτταρικό κύκλο σε πολλά σημεία, ως απόκριση σε ενδογενείς ή εξωγενείς συνθήκες.

# Η κατάσταση του κινητοχώρου ρυθμίζει ένα σημείο ελέγχου

Ο ένας κινητοχώρος είναι ελεύθερος

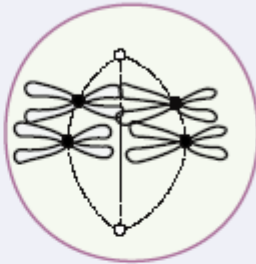


Mad2, 3



Η CDC20 δεν μπορεί να ενεργοποιήσει το APC

Όλοι οι κινητοχώροι είναι συνδεδεμένοι



Οι πρωτεΐνες Mad ελευθερώνονται



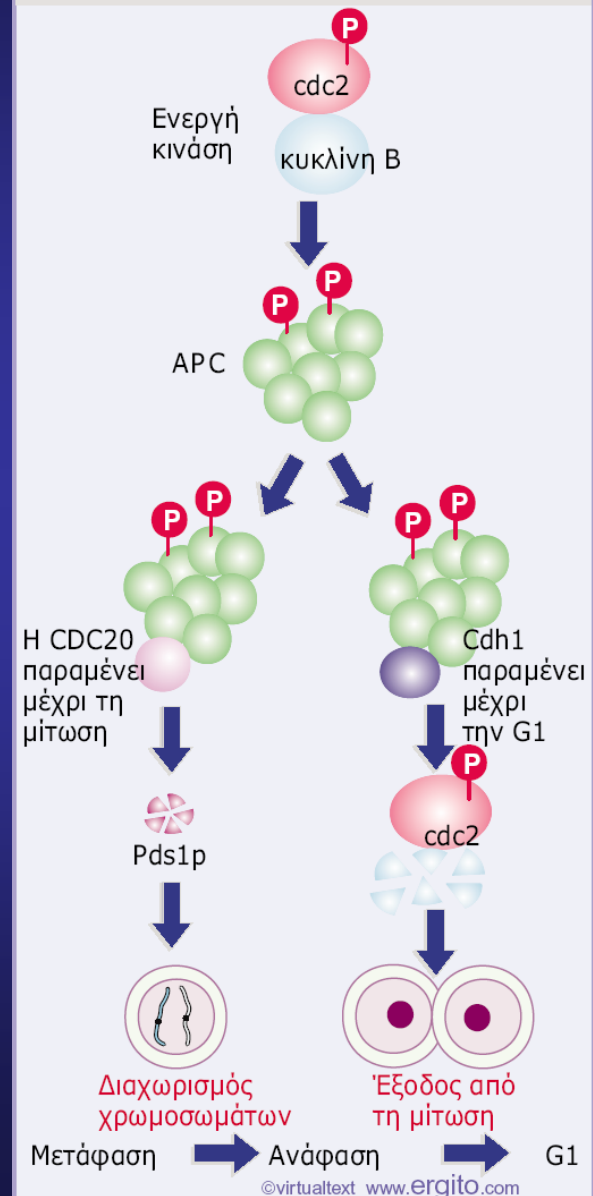
Το CDC20-APC είναι ενεργό

©virtualtext www.ergito.com

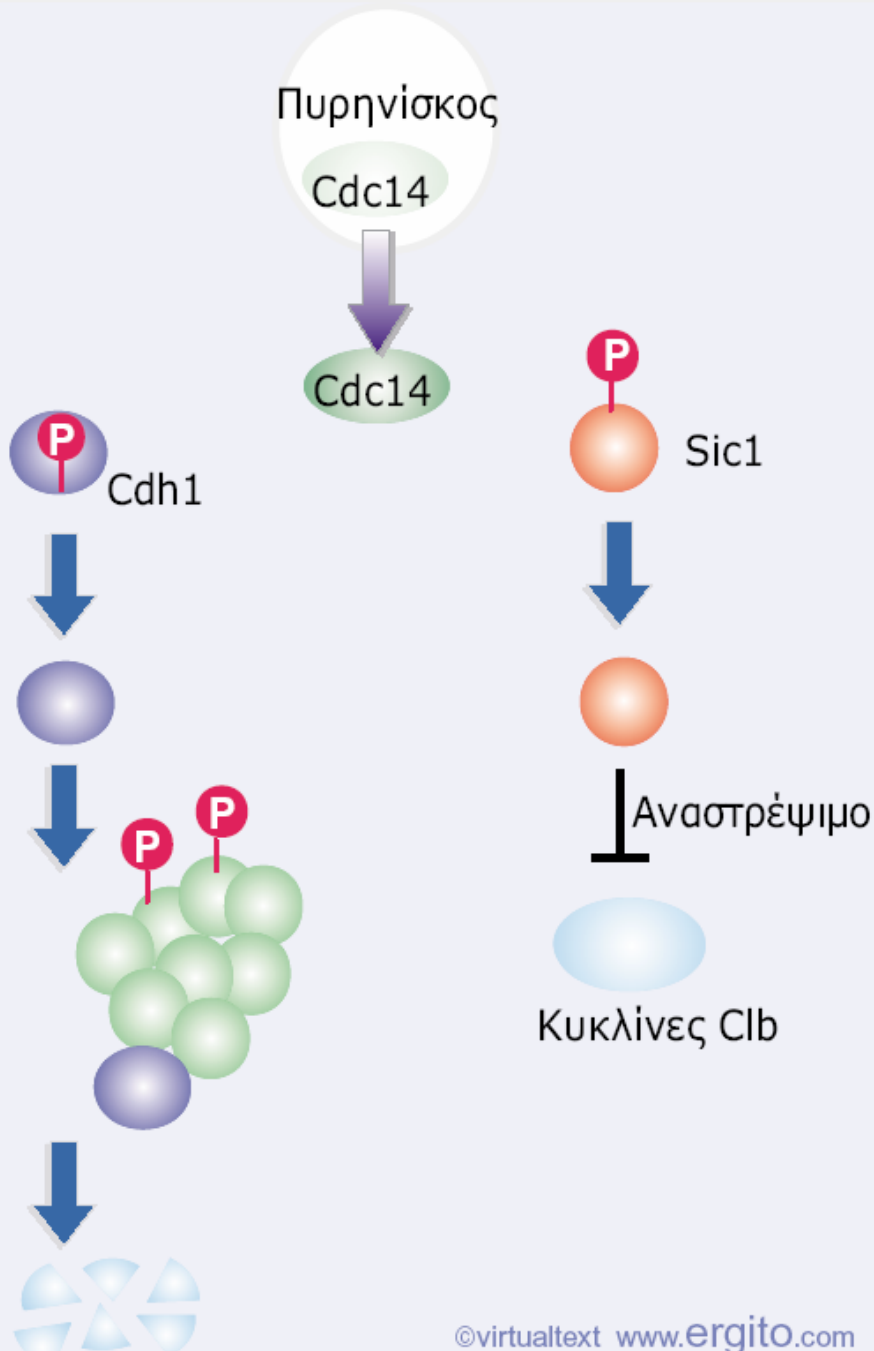
**Εικόνα 29.36** Ένας αζευγάρωτος κινητοχώρος προκαλεί την αναστολή της ενεργότητας της CDC20 από το μονοπάτι

Mad.

**Το APC ελέγχεται από τη CDC20 ή τη Cdh1**



## Η Cdc 14 είναι μια φωσφατάση



## Εικόνα 29.37 Η Cdc14

αποφωσφορυλιώνει τόσο τη Cdh1 όσο και τη Sic1. Η πρώτη δράση οδηγεί στην ενεργοποίηση του APC, το οποίο αποικοδομεί μιτωτικές κυκλίνες. Η δεύτερη δράση διευκολύνει τη Sic1 να απενεργοποιήσει αναστρέψιμα τις μιτωτικές κυκλίνες.

### Ένα σύστημα ουβικιτινίωσης αποικοδομεί τη Sic1

SCF = Λιγάση E3  
Η Cdc4 επιλέγει το στόχο

Η Sic1 διατηρεί την κινάση ανενεργή

Το SCF αναγνωρίζει το στόχο (η Cdc4 προσδέεται στη Sic1)

Cdc53  
Skp1  
Cdc4 = πρωτεΐνη με F-box

Sic1  
CDC28  
CLB

Cdc53  
Skp1  
Cdc4

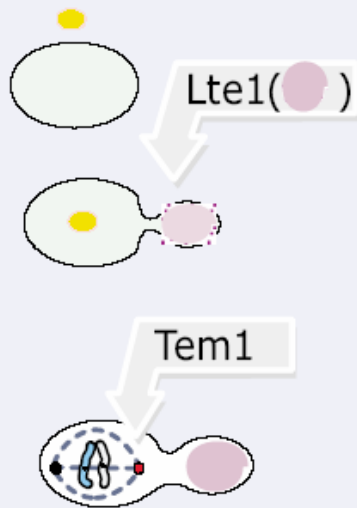
Η λιγάση E2 προσθέτει ουβικιτίνες στη Sic1

Αποικοδομείται η Sic1 και ελευθερώνεται η ενεργή κινάση

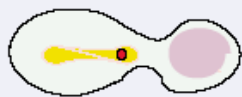
Cdc53  
Skp1  
Cdc4  
Ουβικιτίνη  
Cdc34 = Λιγάση E2

## Η μετακίνηση της TEM αποτελεί το έναυσμα για την έξοδο από τη μίτωση

Η Lte1 και η Tem1 εντοπίζονται σε διαφορετικές περιοχές



Το SPB μεταναστεύει με την Tem1 στο εκβλάστημα



Η Lte1 ενεργοποιεί την Tem1



Έξοδος από τη μίτωση



**Εικόνα 29.38** Η έξοδος από τη μίτωση πυροδοτείται όταν η Tem1, που εντοπίζεται σε ένα πολικό σωμάτιο της ατράκτου, μεταναστεύει στο εκβλάστημα όπου εντοπίζεται η Lte1.

### Σημαντικές έννοιες

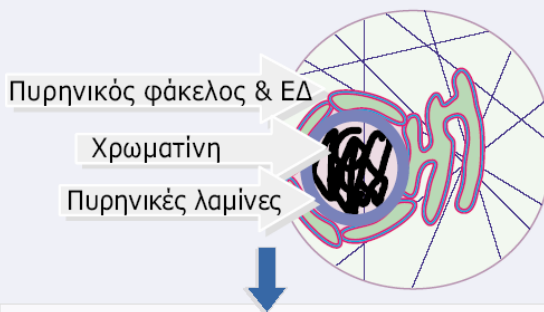
- ▶ Κατά τη φάση S, οι κοχεσίνες (cohesins) δεσμεύονται στη χρωματίνη και συγκρατούν μαζί τις αδελφές χρωματίδες.
- ▶ Η σεκιουρίνη (securin) είναι μια πρωτεΐνη που προσδένεται στην σεπαρίνη (separin) και την κρατάει σε μια ανενεργή μορφή.
- ▶ Η ανάφαση στο ζυμομύκητα πυροδοτείται όταν η πρωτεΐνη CDC20 ενεργοποιεί το σύμπλοκο APC για την αποικοδόμηση της σεκιουρίνης Pds1p.
- ▶ Η αποικοδόμηση της σεκιουρίνης ελευθερώνει τη σεπαρίνη (Esp1 στο ζυμομύκητα), η οποία είναι μια πρωτεάση που διάσπα την κοχεσίνη Scc1.
- ▶ Η διάσπαση της Scc1 απελευθερώνει τις αδελφές χρωματίδες.

### Σημαντικές έννοιες

- ▶ Κατά τη διάρκεια της μεσόφασης, η φωσφατάση Cdc14 συγκρατείται στον πυρηνίσκο.
- ▶ Στο ζυμομύκητα *S. cerevisiae*, όταν ένα πολικό σωματίο της ατράκτου μεταναστεύει στο εκβλάστημα, μεταφέρει την πρωτεΐνη Tem1.
- ▶ Η Tem1 είναι μια μονομερής πρωτεΐνη G, η οποία ενεργοποιείται από την υψηλή συγκέντρωση του παράγοντα ανταλλαγής GDP/GTP Lte1 στο εκβλάστημα.
- ▶ Η ενεργοποίηση του Tem1 προκαλεί την απελευθέρωση της φωσφατάσης Cdc14 από τον πυρηνίσκο.
- ▶ Η δράση της Cdc14 πυροδοτεί την έξοδο του κυττάρου από τη μίτωση.

**Κατά τη μίτωση, η δομή του κυττάρου αναδιοργανώνεται**

Το μεσοφασικό κύτταρο διαθέτει κυτταρόπλασμα και πυρήνα



Η κινάση της φάσης M φωσφορυλιώνει τις λαμίνες



Για άγνωστους λόγους η μεμβράνη αποσυντίθεται



Η κινάση της φάσης M φωσφορυλιώνει την H1



Κατά τη μίτωση σχηματίζεται η άτρακτος



**Εικόνα 29.39** Στις σημαντικές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στο κύτταρο κατά τη μίτωση, εμπλέκονται τα χρωμοσώματα, ο πυρηνικός φάκελος, ο πυρηνικός υμένας και οι μικροσωληνίσκοι.

## Ενότητες

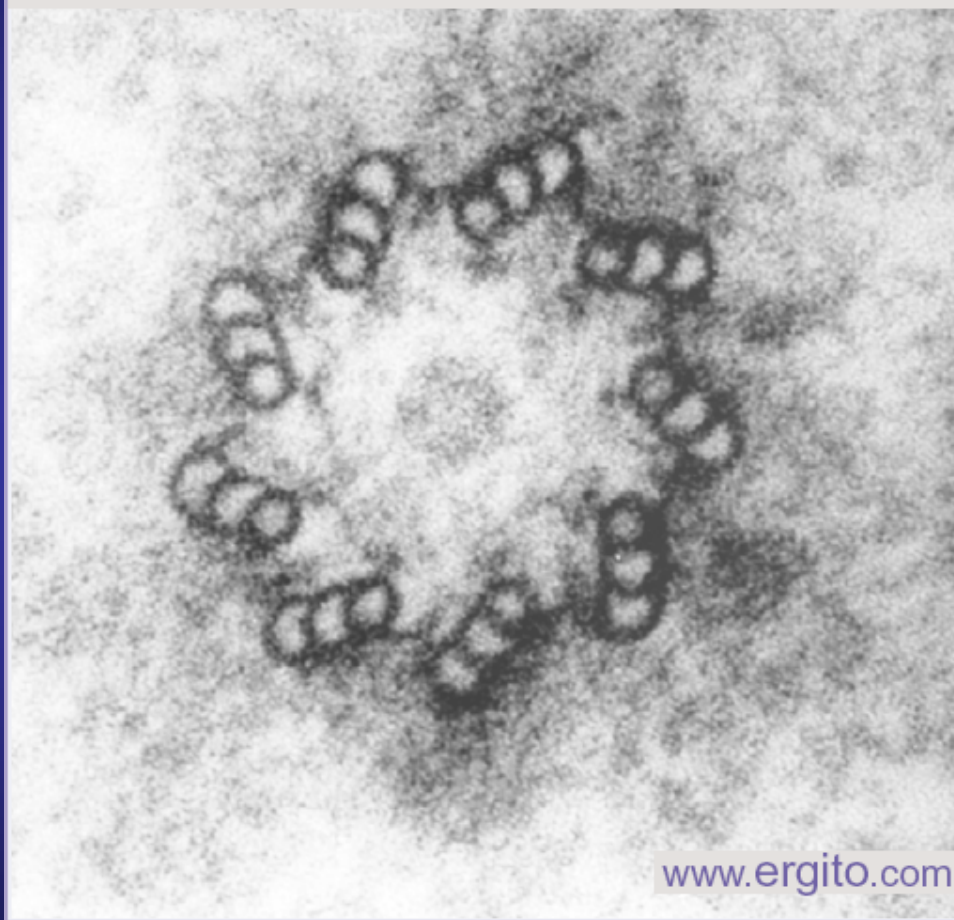
29.21

29.22

29.23

29.24

**Τα κεντριόλια δομούνται  
από μικροσωληνίσκους**

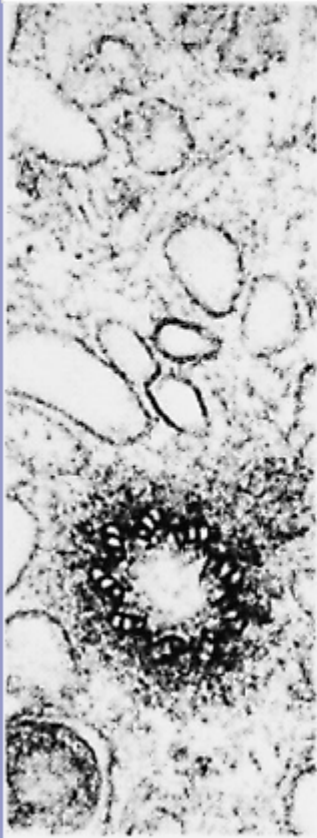


**Εικόνα 29.40** Το κεντριόλιο αποτελείται από εννιά τριάδες μικροσωληνίσκων, οι οποίες εμφανίζονται σε εγκάρσια διατομή ως το τοίχωμα ενός κοίλου κυλίνδρου. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του A. Ross.



## Τα κεντριόλια στην πορεία του κυτταρικού κύκλου διπλασιάζονται

Αρχή της G1



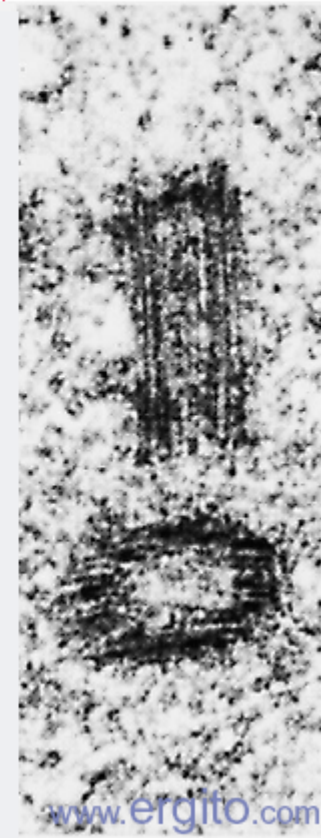
S



Πρόφαση



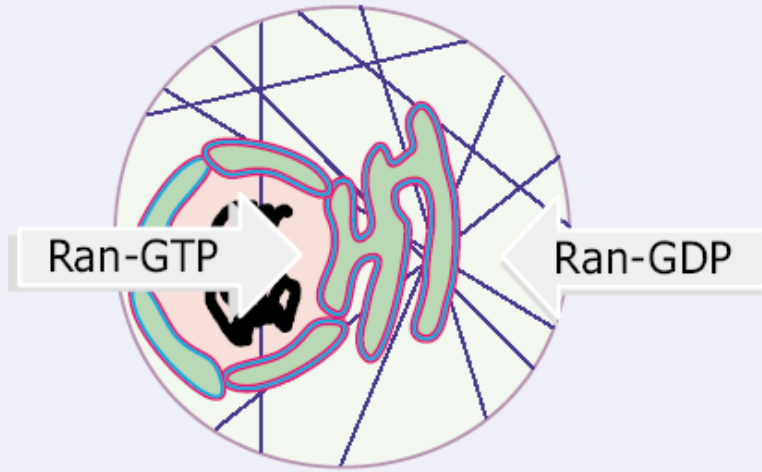
Μετάφαση



**Εικόνα 29.41** Ένα κεντριόλιο αναπαράγεται σχηματίζοντας σε έναν άξονα κάθετο προς το γονικό κεντριόλιο ένα προκεντριόλιο. Το προκεντριόλιο στη συνέχεια επιμηκύνεται σε ένα ώριμο κεντριόλιο. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά των J. B. Rattner και S. G. Phillips.

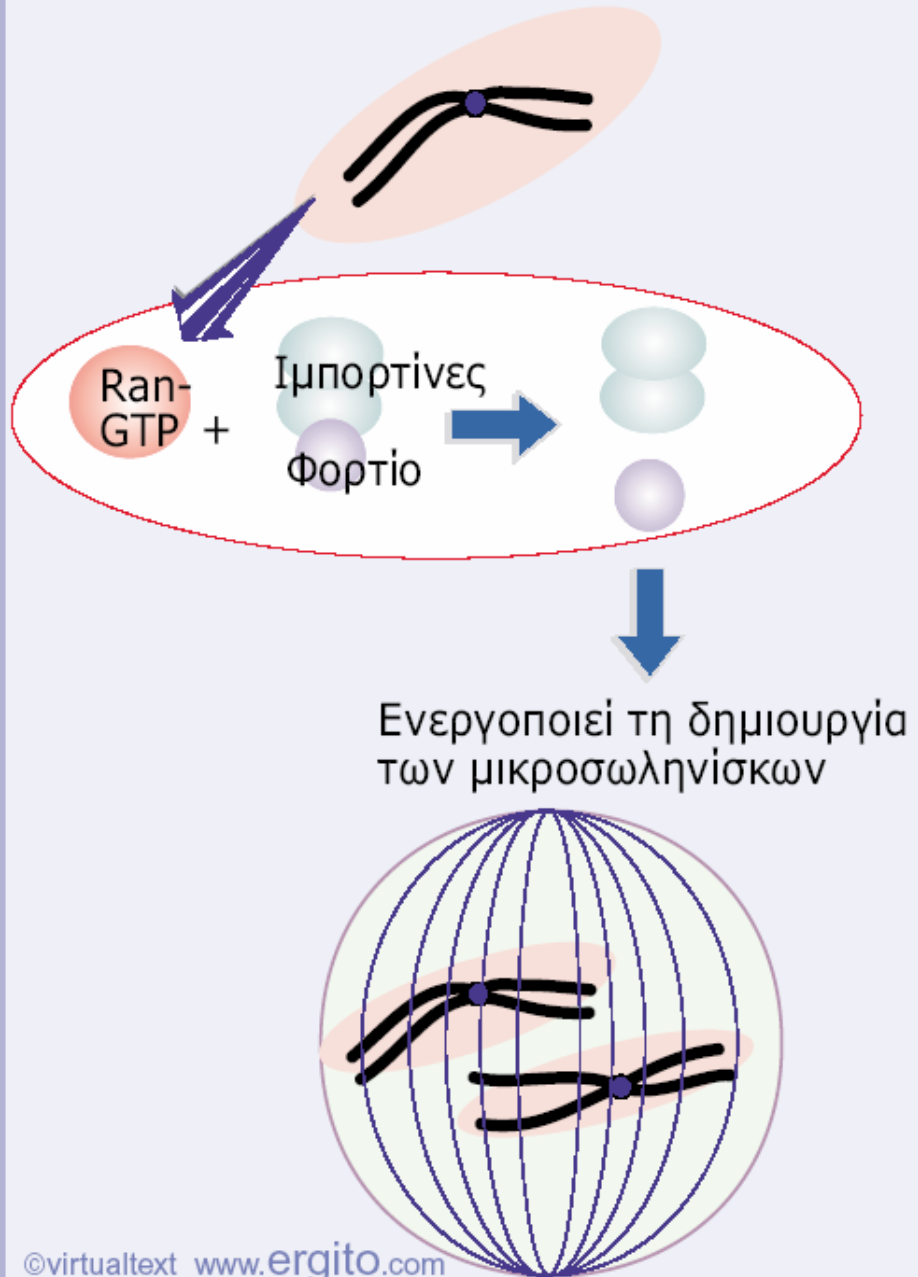
# Η Ran ελέγχει τη δημιουργία πυρήνων πολυμερισμού μικροσωληνίσκων

Η Ran-GTP είναι πυρηνική, ενώ η and Ran-GDP είναι κυτταροπλασματική



**Εικόνα 29.42** Η ενεργοποιητική πρωτεΐνη του Ran, RCC, εντοπίζεται στα χρωμοσώματα. Σε ένα μεσοφασικό κύτταρο, η Ran-GTP βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στον πυρήνα. Όταν αποικοδομείται ο πυρηνικός φάκελος, η RCC συντηρεί ένα υψηλό επίπεδο από Ran-GTP στην εγγύτητα των χρωμοσωμάτων. Αυτό έχει ως συνέπεια την αποδέσμευση των πρωτεϊνών που είναι προσδεμένες στα διμερή των ιμπορτινών. Αυτές οι πρωτεΐνες προκαλούν τη δημιουργία πυρήνων πολυμερισμού μικροσωληνίσκων.

Λόγω της RCC σχηματίζεται τοπικά στα χρωμοσώματα η Ran-GTP



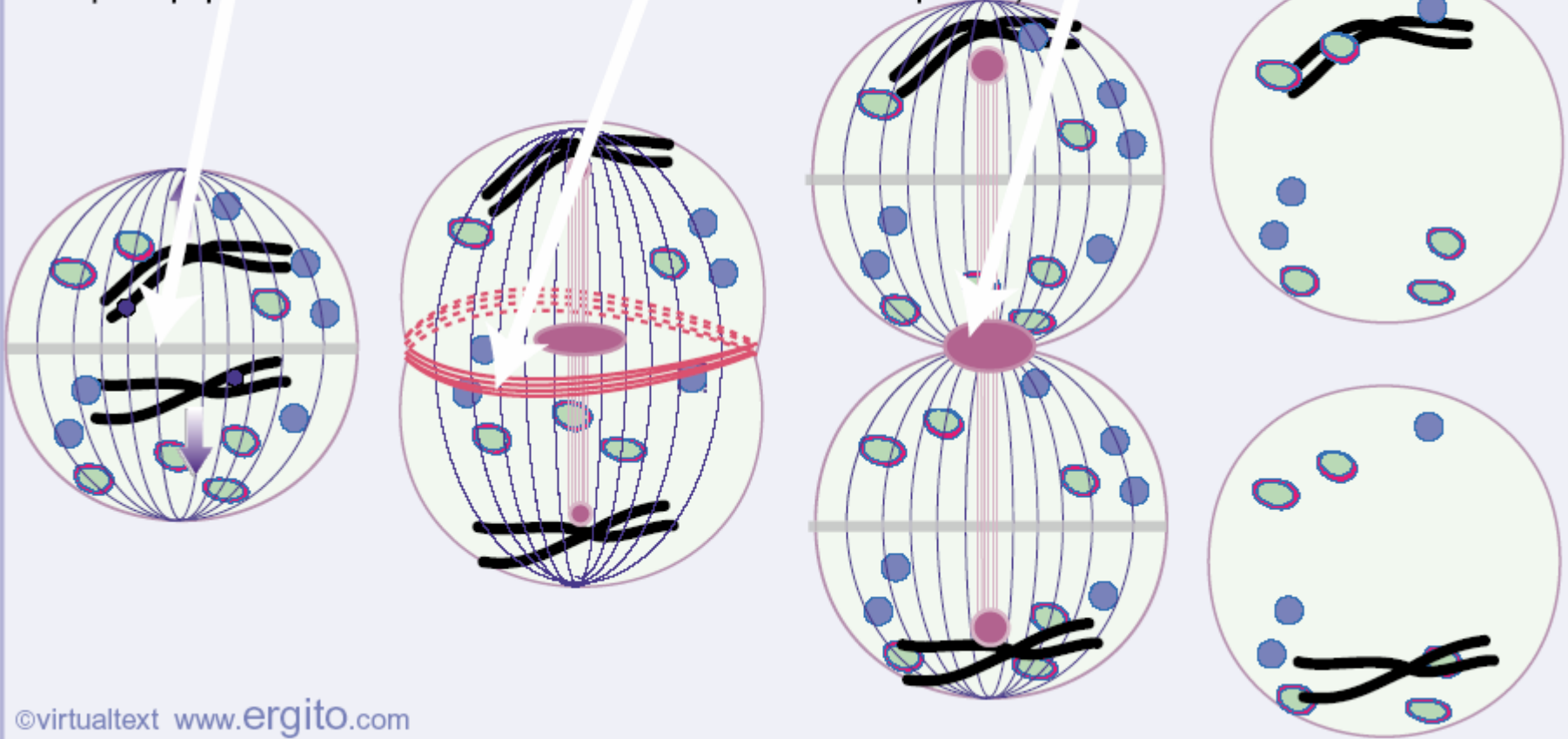
# Τα θυγατρικά κύτταρα διαχωρίζονται μετά τη μίτωση με την κυτταροκίνηση

Το επίπεδο της διαίρεσης είναι συγκεκριμένο

Σχηματισμός συσταλτικού δακτυλίου

Σχηματισμός ενδιάμεσου σώματος

Τα κύτταρα διαχωρίζονται



©virtualtext www.ergito.com

**Εικόνα 29.43** Η άτρακτος καθορίζει το επίπεδο διαχωρισμού των θυγατρικών κυττάρων όπου συναρμολογείται ο συσταλτικός δακτύλιος. Το ενδιάμεσο σώμα σχηματίζεται στο κέντρο και στη συνέχεια τα θυγατρικά κύτταρα διαχωρίζονται.

Τετάρτη, 06 Μαΐου 2009 / Ώρα: 10:00 (Διάρκεια: 3 Ώρες)  
Κυτταρικός κύκλος 3/3 Καρκίνος 1/3

Τρίτη, 12 Μαΐου 2009 / Ώρα: 14:00 (Διάρκεια: 2 Ώρες)  
Καρκίνος 2/3

Τετάρτη, 13 Μαΐου 2009 / Ώρα: 00:00  
Φοιτητικές Εκλογές

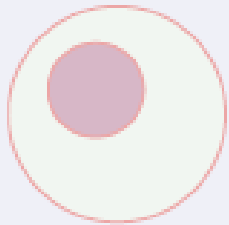
Τρίτη, 19 Μαΐου 2009 / Ώρα: 14:00 (Διάρκεια: 2 Ώρες)  
Καρκίνος 3/3

Τετάρτη, 20 Μαΐου 2009 / Ώρα: 10:00 (Διάρκεια: 3 Ώρες)  
Πρόοδος και Παρουσιάσεις Ομάδων 1-4  
Η πρόοδος θα καλύπτει τις ενότητες : Μεταγωγή Σημάτων και Κυτταρικός Κύκλος

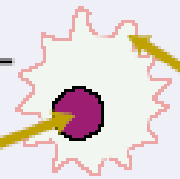
Τρίτη, 26 Μαΐου 2009 / Ώρα: 14:00 (Διάρκεια: 2 Ώρες)  
Παρουσιάσεις Ομάδων 5-9

Τετάρτη, 27 Μαΐου 2009 / Ώρα: 10:00 (Διάρκεια: 3 Ώρες)  
Παρουσιάσεις Ομάδων 10-15

## Η απόπτωση αλλάζει τη δομή του κυττάρου



Συμπυκνωμέ-  
νος πυρήνας



Κυτταροπλασματικά  
αποπτωτικά κυστίδια

©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Εικόνα 29.44** Όταν ένα κύτταρο διενεργεί απόπτωση, ο πυρήνας του γίνεται ετεροπυκνωτικός και στο κυτταρόπλασμα σχηματίζονται αποπτωτικά κυστίδια.

Απόπτωση = Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.

Η απόπτωση είναι σημαντική στην ανάπτυξη των ιστών, στην ανοσοποιητική άμυνα καθώς και στην εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων. Η λανθασμένη ενεργοποίηση της ενέχεται σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

Το κύτταρο γίνεται πιο συμπαγές.

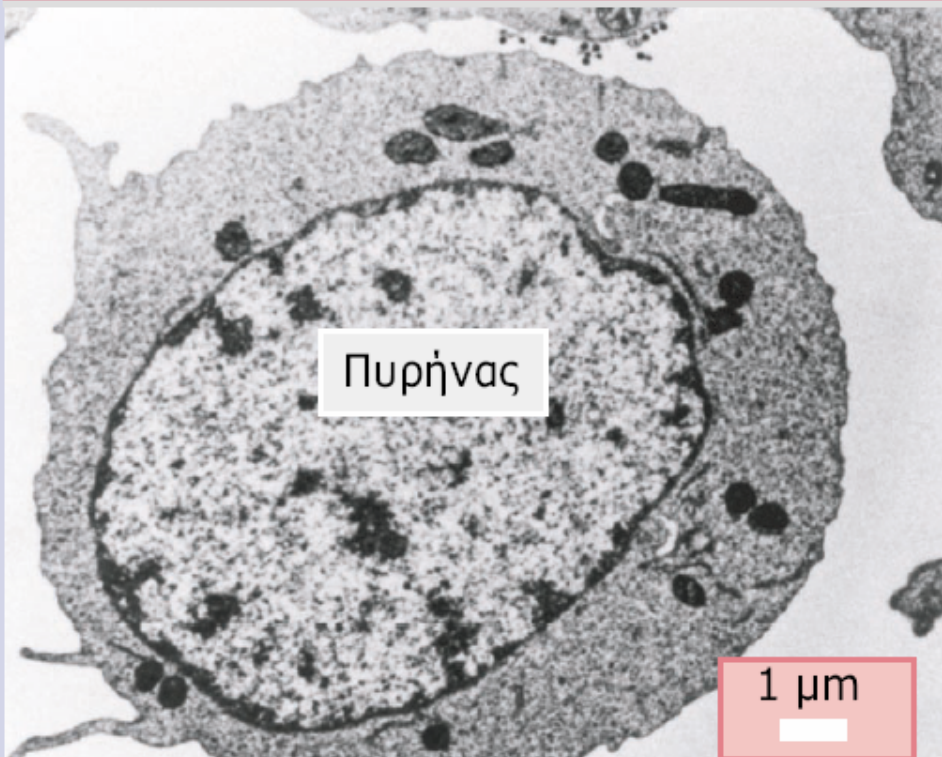
Ο πυρήνας αποσυντίθεται.

Δημιουργούνται αποπτωτικά κυστίδια.

Η χρωματίνη συμπυκνώνεται.

Το DNA κατακερματίζεται.

**Τα φυσιολογικά κύτταρα  
έχουν ευδιάκριτο πυρήνα**



Πυρήνας

1 μm

**Εικόνα 29.45** Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης, η κυτταρική δομή αλλάζει. Στο επάνω πλαίσιο φαίνεται ένα φυσιολογικό κύτταρο. Στο κάτω πλαίσιο παρουσιάζεται ένα κύτταρο σε απόπτωση. Οι φωτογραφίες είναι ευγενική προσφορά του Shigekazu Nagata.

**Κατά την απόπτωση,  
ο πυρήνας αποσυντίθεται**



Πυρηνικό θραύσμα

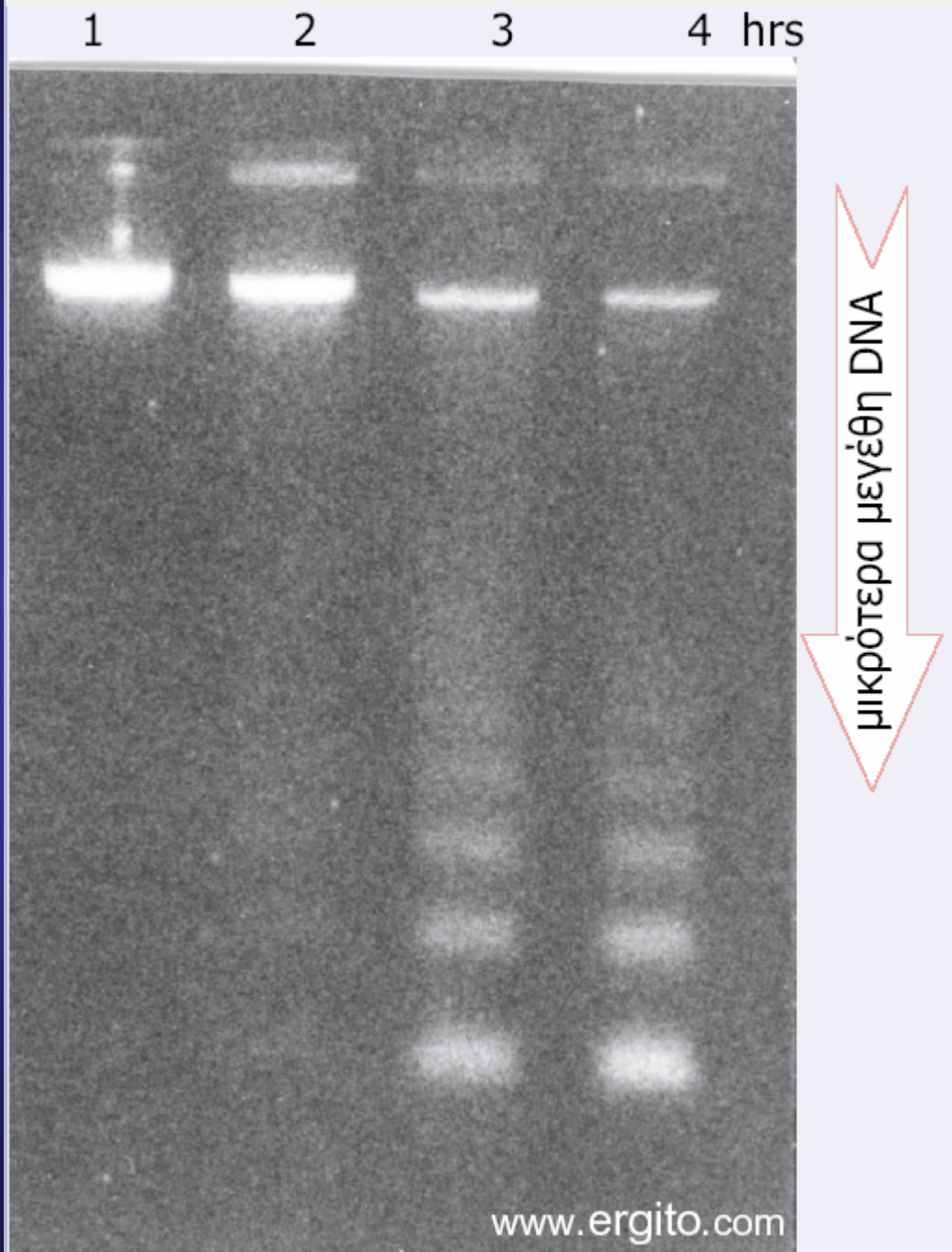
Πυρηνικό θραύσμα

1 μm

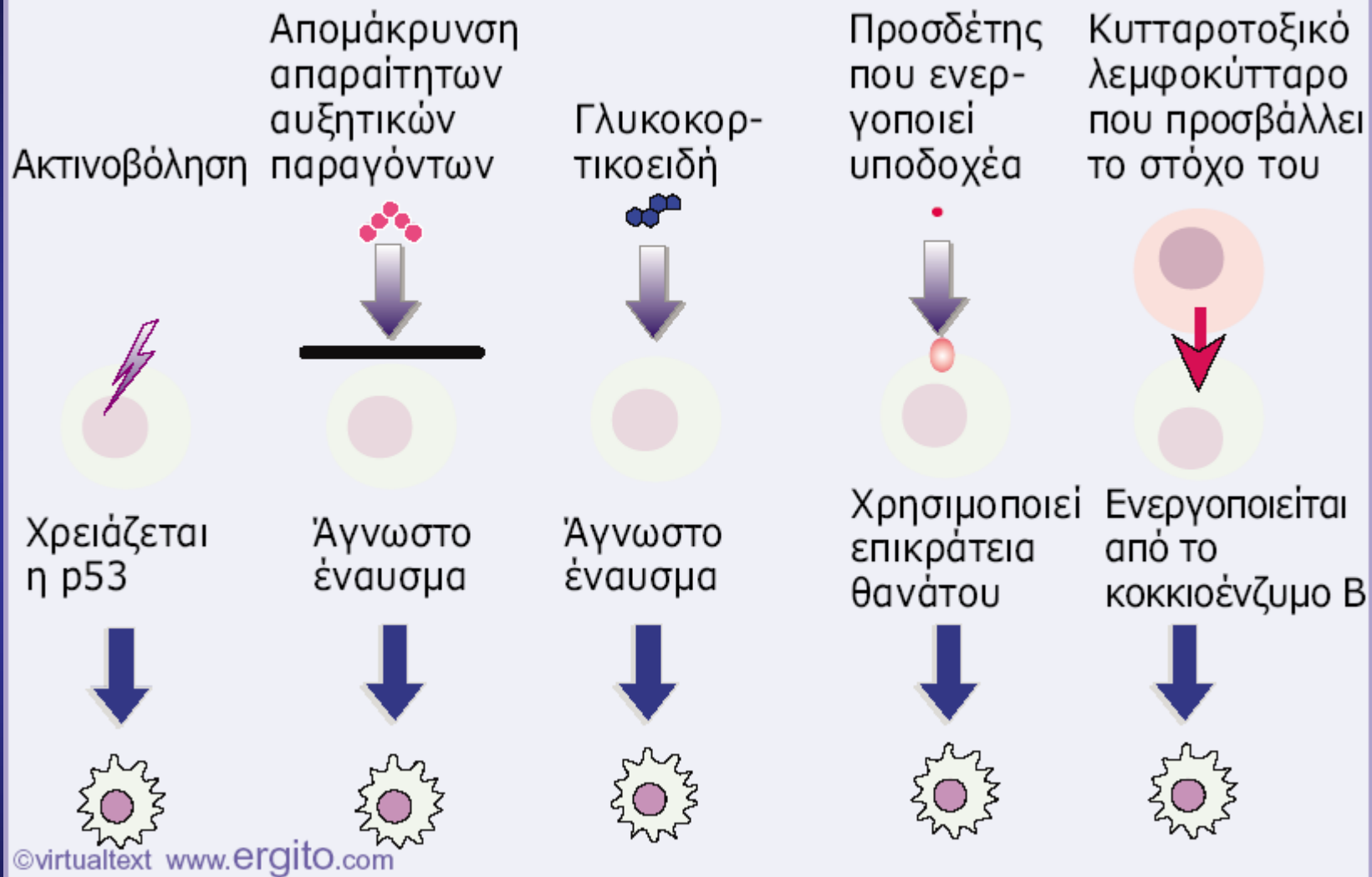
[www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Κατά την απόπτωση, το DNA αποικοδομείται**

**Εικόνα 29.46** Σε κύτταρα καλλιέργειας, ο κατακερματισμός του DNA λαμβάνει χώρα ~2 ώρες μετά την έναρξη της απόπτωσης. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Shigekazu Nagata.



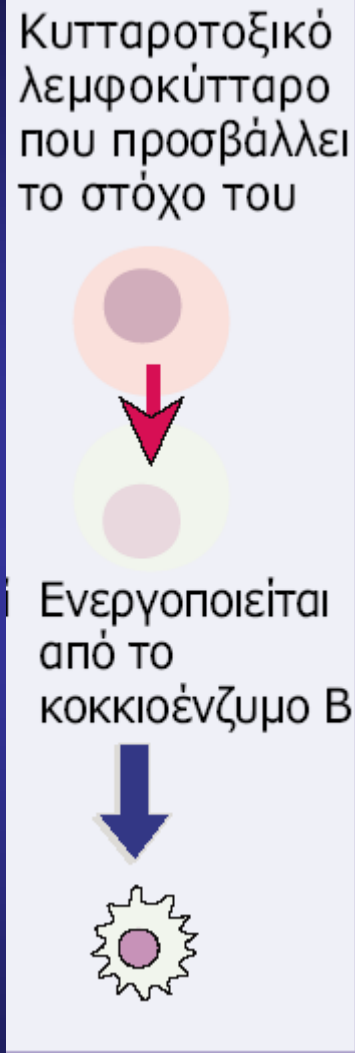
## Διάφορα μονοπάτια διεγείρουν τους μηχανισμούς της απόπτωσης



**Εικόνα 29.47** Η απόπτωση πυροδοτείται από μια ποικιλία μονοπατιών.



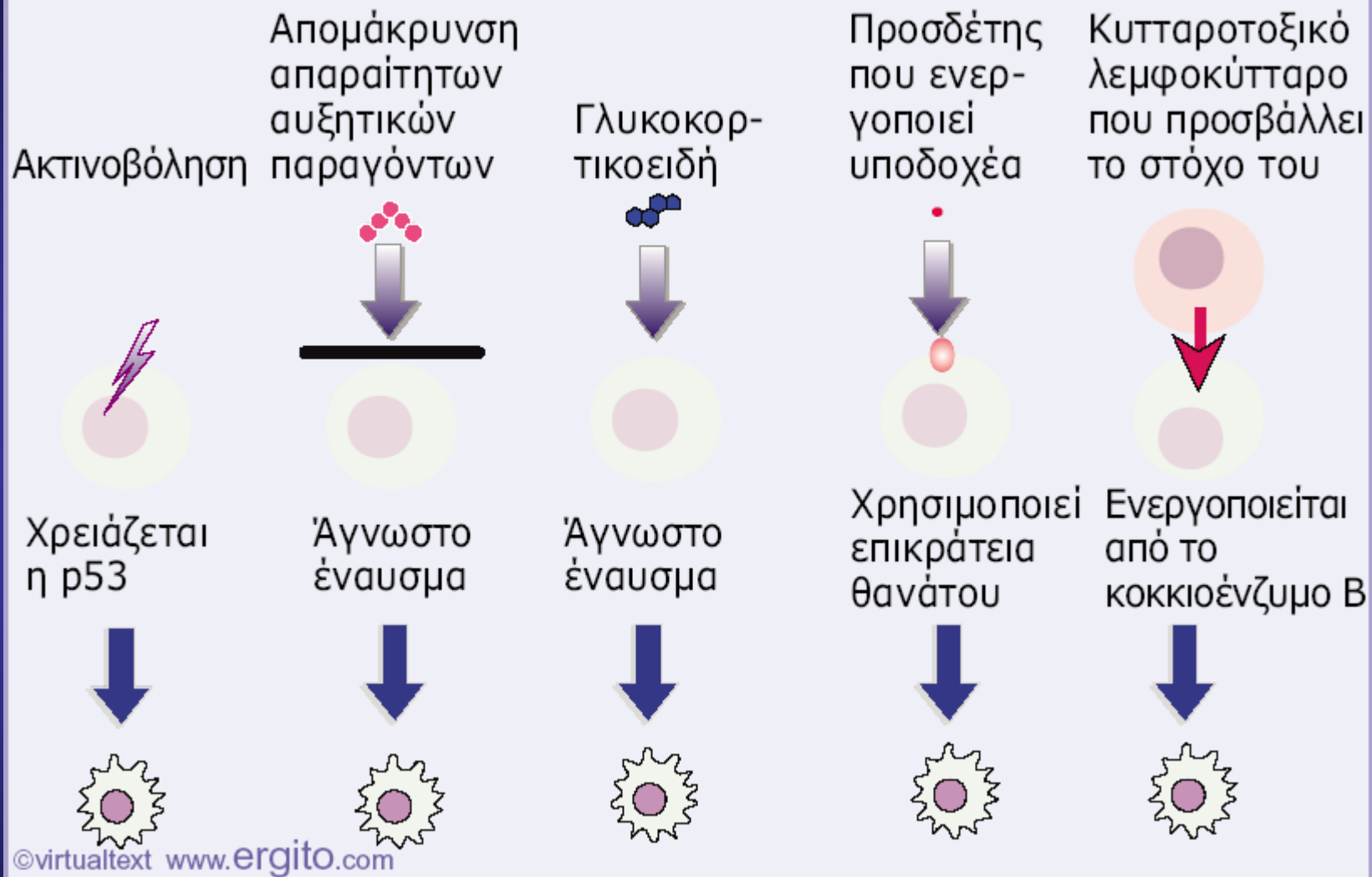
## Διάφορα μονοπάτια διεγείρουν τους μηχανισμούς της απόπτωσης



**Εικόνα 29.47** Η απόπτωση πυροδοτείται από μια ποικιλία μονοπατιών.

Ένα άλλο αποπτωτικό μονοπάτι πυροδοτείται από τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα, τα οποία σκοτώνουν τα κύτταρα-στόχους τους με μια διαδικασία που ενέχει την απελευθέρωση κοκκίων που περιέχουν πρωτεάσες σερίνης και άλλα συστατικά λύσης. Ένα τέτοιο συστατικό είναι η περφορίνη, η οποία μπορεί να δημιουργήσει οπές στη μεμβράνη του κυττάρου-στόχου και κάτω από ορισμένες συνθήκες μπορεί να σκοτώσει τα κύτταρα-στόχους. Οι πρωτεάσες σερίνης μέσα στα κοκκία ονομάζονται κοκκιοένζυμα (granzymes). Παρουσία περφορίνης, το κοκκιοένζυμο Β μπορεί να επάγει πολλά από τα χαρακτηριστικά της απόπτωσης, συμπεριλαμβανομένης της θραυσματοποίησης του DNA. Ενεργοποιεί μια κασπάση που ονομάζεται Ich-3, η οποία είναι απαραίτητη για την απόπτωση σε αυτό το μονοπάτι.

## Διάφορα μονοπάτια διεγείρουν τους μηχανισμούς της απόπτωσης

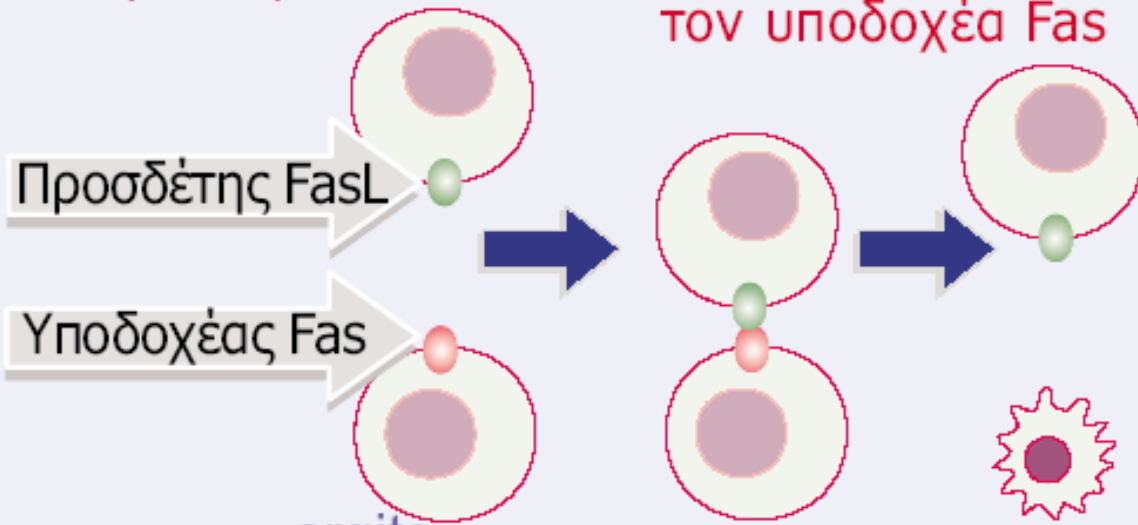


**Εικόνα 29.47** Η απόπτωση πυροδοτείται από μια ποικιλία μονοπατιών.

## Η Fas διεγείρει τους μηχανισμούς της απόπτωσης

Τα κύτταρα  
αλληλεπιδρούν

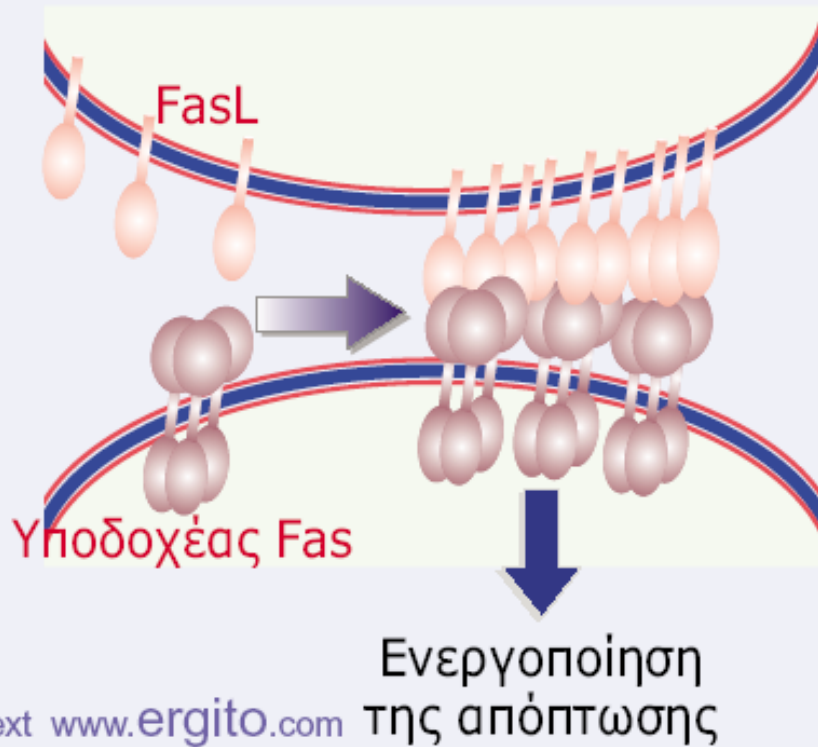
Απόπτωση των κυτ-  
τάρων που φέρουν  
τον υποδοχέα Fas



**Εικόνα 29.48** Τόσο ο υποδοχέας Fas όσο και ο προσδέτης του είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες. Ένα κύτταρο-στόχος που φέρει υποδοχέα Fas διενεργεί απόπτωση όταν αλληλεπιδρά με ένα κύτταρο που φέρει προσδέτη Fas.

Και οι δύο προσδέτες, τόσο ο FasL όσο και ο TNF, παράγονται αρχικά με τη μορφή πρωτεϊνών προσδεδεμένων σε μεμβράνη, αλλά μπορούν επίσης να αποκοπούν και να παραγάγουν διαλυτές πρωτεΐνες οι οποίες λειτουργούν ως διαχεόμενοι παράγοντες. Η διαλυτή μορφή του TNF παράγεται κυρίως από μακροφάγα και αποτελεί έναν πλειοτροπικό παράγοντα που σηματοδοτεί πολλές κυτταρικές αποκρίσεις, όπως η κυτταροτοξικότητα. Οι περισσότερες αποκρίσεις στη διαλυτή μορφή του TNF προκαλούνται μέσω αλληλεπίδρασης με έναν από τους υποδοχείς TNF, τον TNF-R1. Ο FasL διασπάται για να δημιουργήσει μια διαλυτή μορφή, αλλά η διαλυτή αυτή μορφή είναι πολύ λιγότερο ενεργή από τη μορφή που είναι προσδεδεμένη σε μεμβράνη και έτσι η αντίδραση πιθανότατα χρησιμοποιείται για την ελάττωση της ενεργότητας του κυττάρου που φέρει τον προσδέτη.

## Ενεργοποιημένα από τον προσδέτη τριμερή του υποδοχέα σχηματίζουν συσσωματώματα



**Εικόνα 29.49** Ο Fas σχηματίζει τριμερή που ενεργοποιούνται όταν η δέσμευση του FasL προκαλεί τη συσσωμάτωσή τους.

Ο Fas είναι συγγενικός με το TNF-α R1

TNF-α = Tumor necrosis factor-α (Νεκρωτικός παράγοντας όγκου-α)

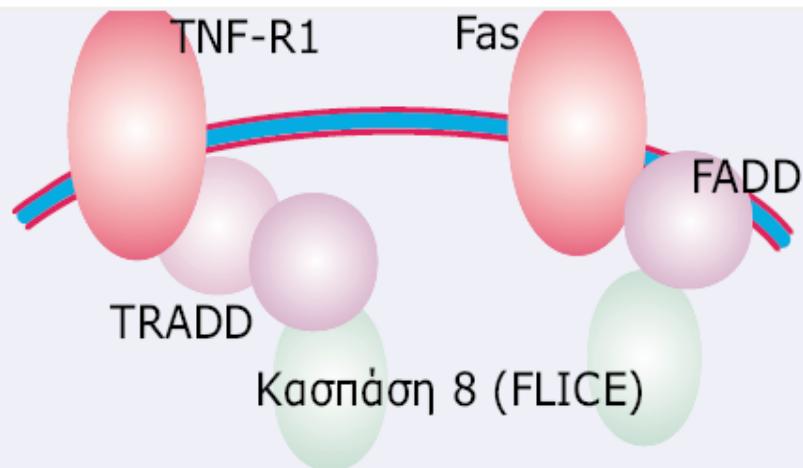
Death domain = Επικράτεια θανάτου

Ενδοκυτταρική περιοχή μήκους 80 α.α κοντά στο C-άκρο, 28% συντήρηση μεταξύ FasR και TNF-α R1.

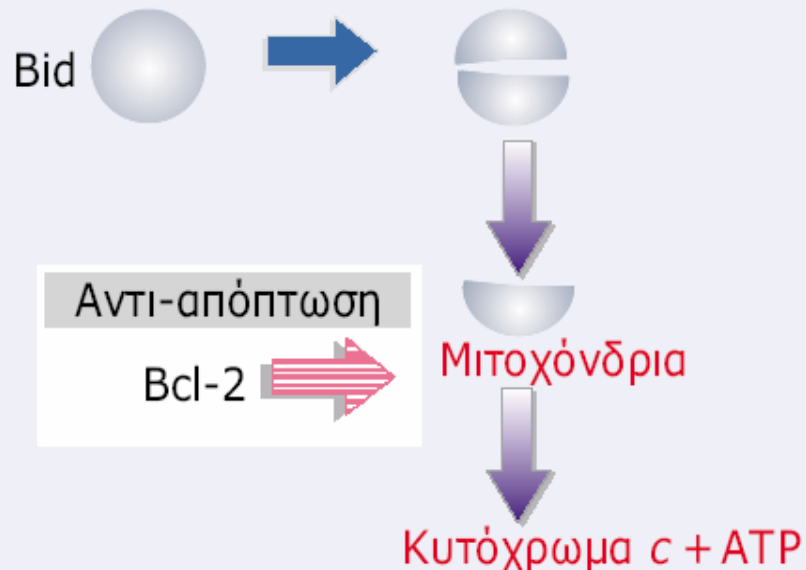
Μια λειτουργική δοκιμασία για παράγοντες που ενέχονται στο ενδοκυτταρικό μονοπάτι της απόπτωσης είναι να εξετάσουμε αν η υπερέκφρασή τους προκαλεί απόπτωση. Αυτό επιτυγχάνεται με τη διαμόλυνση κυττάρων με το γονίδιο που κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη (γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση της πρωτεΐνης). Με αυτή τη δοκιμασία προσδιορίστηκαν αρκετές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν ειδικά με τους υποδοχείς Fas και/ή TNF. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες φέρουν επικράτειες θανάτου και είναι πιθανό το σήμα να μεταδίδεται από τον υποδοχέα στο επόμενο συστατικό του μονοπατιού μέσω μιας ομοιομερούς αλληλεπίδρασης ανάμεσα σε δύο επικράτειες θανάτου.

## Στην απόπτωση συμμετέχουν διάφορες κασπάσες

### 1. Ο υποδοχέας ενεργοποιείται

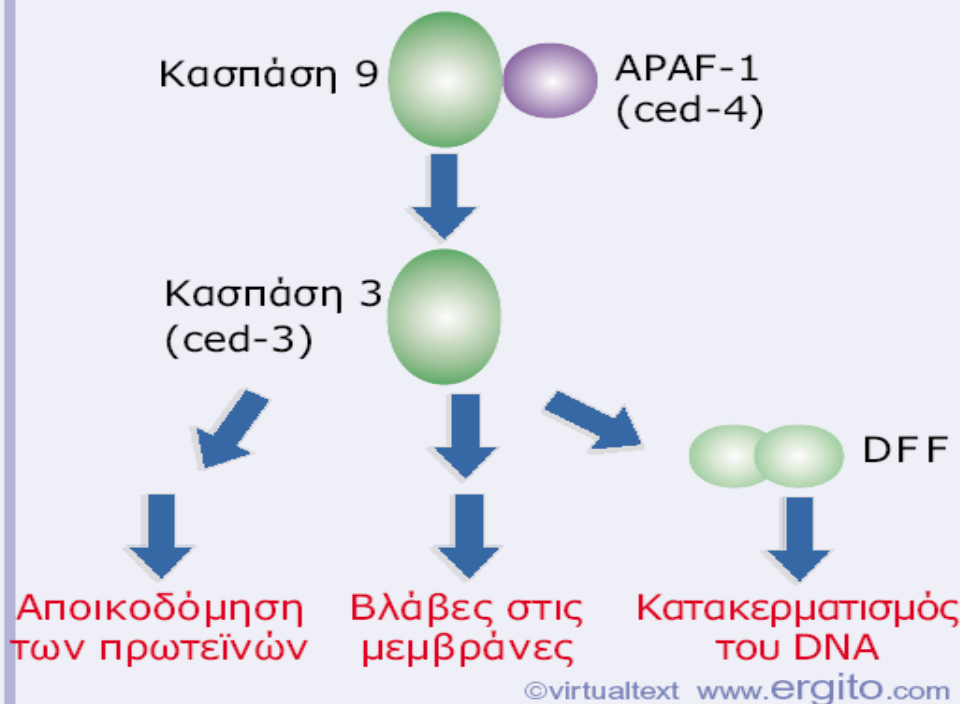


### 2. Ελευθερώνεται το κυτόχρωμα c



**Εικόνα 29.50** Η απόπτωση μπορεί να πυροδοτηθεί από ενεργοποιητικούς υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου. Οι πρωτεάσες κασπάσες ενεργοποιούνται σε δύο στάδια στο μονοπάτι. Η κασπάση 8 ενεργοποιείται από τον υποδοχέα. Η ενεργοποίησή της οδηγεί στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια. Η απόπτωση μπορεί να ανασταλεί σε αυτό το στάδιο από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα c ενεργοποιεί ένα μονοπάτι που ενέχει περισσότερες κασπάσες.

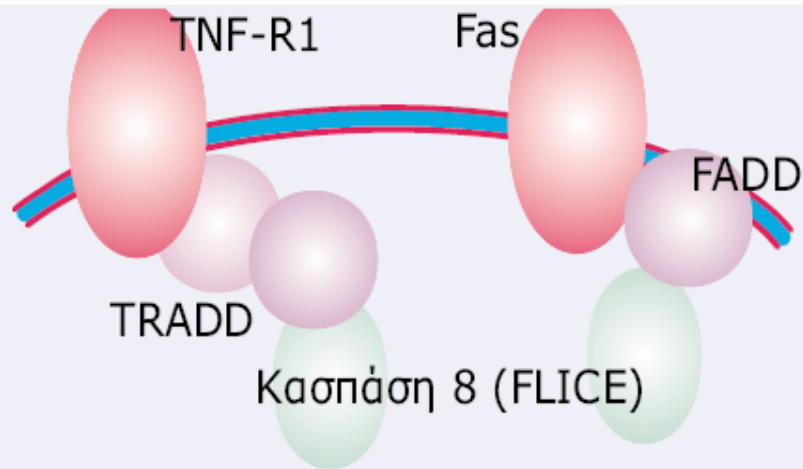
### 3. Ενεργοποιούνται οι κασπάσες





## Στην απόπτωση συμμετέχουν διάφορες κασπάσες

### 1. Ο υποδοχέας ενεργοποιείται



**Εικόνα 29.50** Η απόπτωση μπορεί να πυροδοτηθεί από ενεργοποιητικούς υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου. Οι πρωτεάσες κασπάσες ενεργοποιούνται σε δύο στάδια στο μονοπάτι. Η κασπάση 8 ενεργοποιείται από τον υποδοχέα. Η ενεργοποίησή της οδηγεί στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* από τα μιτοχόνδρια. Η απόπτωση μπορεί να ανασταλεί σε αυτό το στάδιο από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα *c* ενεργοποιεί ένα μονοπάτι που ενέχει περισσότερες κασπάσες.

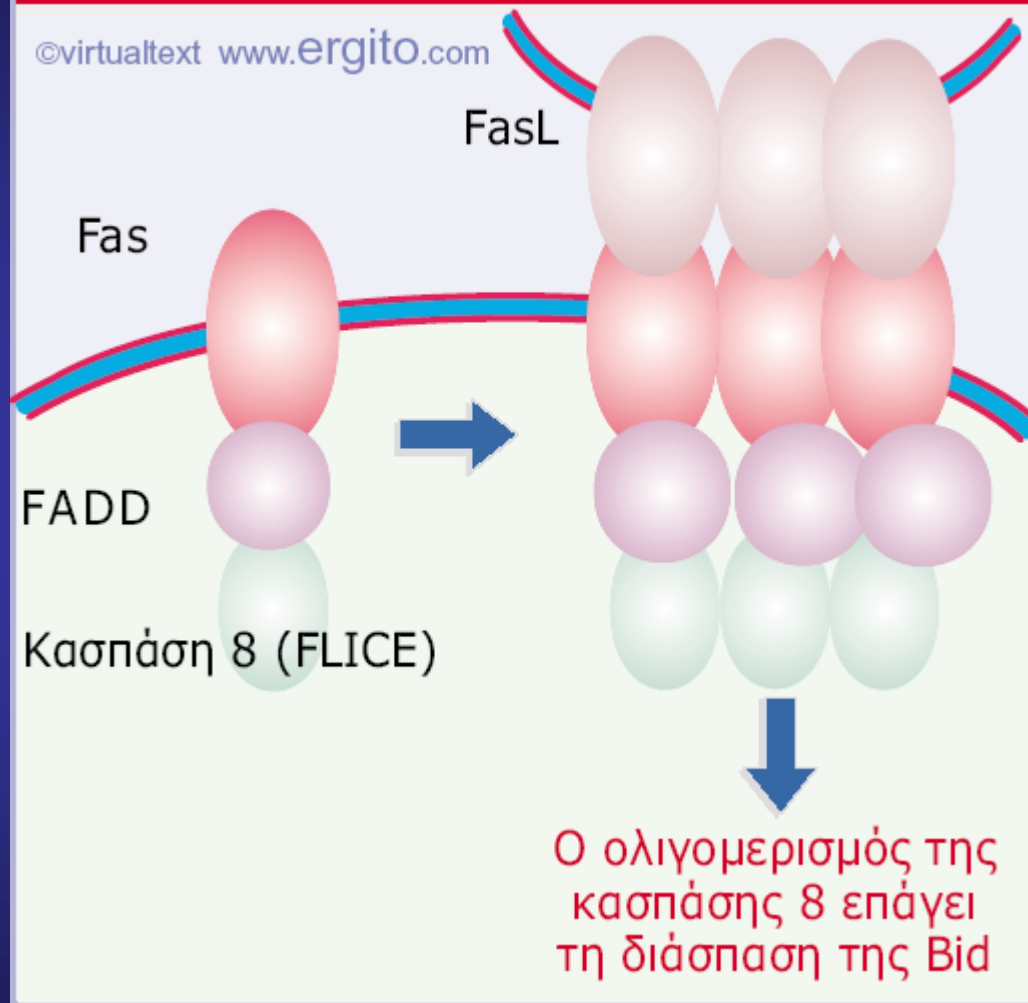
## Πρωτεΐνες συναρμογής

**FADD = Fas associated protein with death domain**

**TRADD = TNF- $\alpha$  R1 associated protein with death domain**

## Η FADD στρατολογεί την κασπάση 8

©virtualtext www.ergito.com



**Εικόνα 29.51** Οι υποδοχείς TNF-R1 και Fas δεσμεύουν τη FADD (άμεσα ή έμμεσα). Η FADD δεσμεύει την κασπάση 8. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα προκαλεί τον ολιγομερισμό της κασπάσης 8, γεγονός που την ενεργοποιεί.

## Κασπάσες

Πρωτεάσες κυστεΐνης που αποκόβουν τους στόχους τους στην καρβοξυτελική πλευρά καταλοίπων ασπαρτικού.

Η κασπάση 1 (ICE) αναγνωρίζει το τετραπεπτίδιο στόχο DEVD ενώ η κασπάση 3 το YVAD.

Κάθε κασπάση προέρχεται από ένα πρόοδρομο μόριο. Σε ώριμη μορφή είναι ένα τετραμερές της μορφής  $\alpha_2\beta_2$  με δύο πανομοιότυπες μεγάλες (17-22 kDa) και δύο μικρές υπομονάδες (10-12 kDa).

Υπάρχουν 14 κασπάσες στα θηλαστικά, που χωρίζονται σε δύο ομάδες ανάλογα με τη λειτουργία τους.

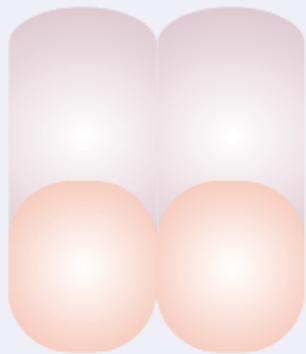
Οι κασπάσες 2,3,6,7,8,9,10 ενέχονται στην απόπτωση.

Οι κασπάσες 1,4,5,11,12,14 ενέχονται στη φλεγμονώδη απόκριση.

## Οι κασπάσες ενεργοποιούνται με διάσπαση

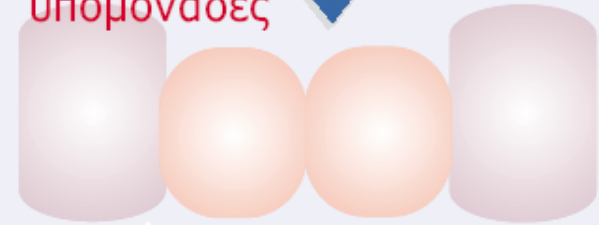


Η πρώτη τομή  
απελευθερώνει την  
πρόδρομη επικράτεια



**Εικόνα 29.52** Η ενεργοποίηση μιας κασπάσης απαιτεί διμερισμό και δύο τομές.

Η δεύτερη τομή  
απελευθερώνει τις  
υπομονάδες



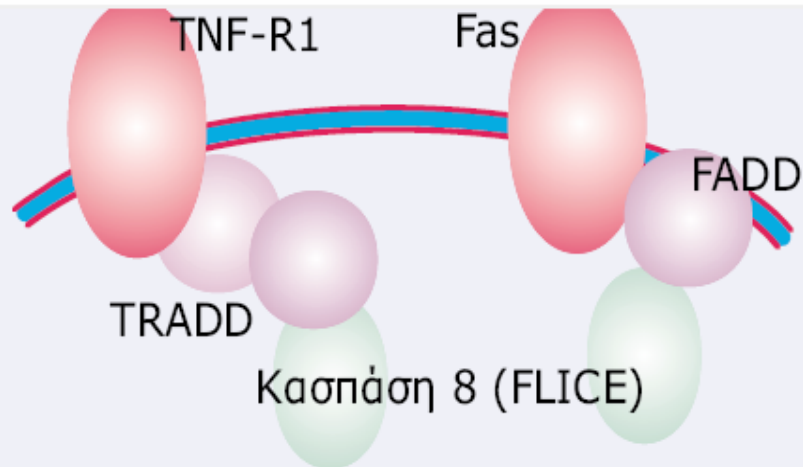
Ενεργό κέντρο

Ενεργό κέντρο

©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

## Στην απόπτωση συμμετέχουν διάφορες κασπάσες

### 1. Ο υποδοχέας ενεργοποιείται

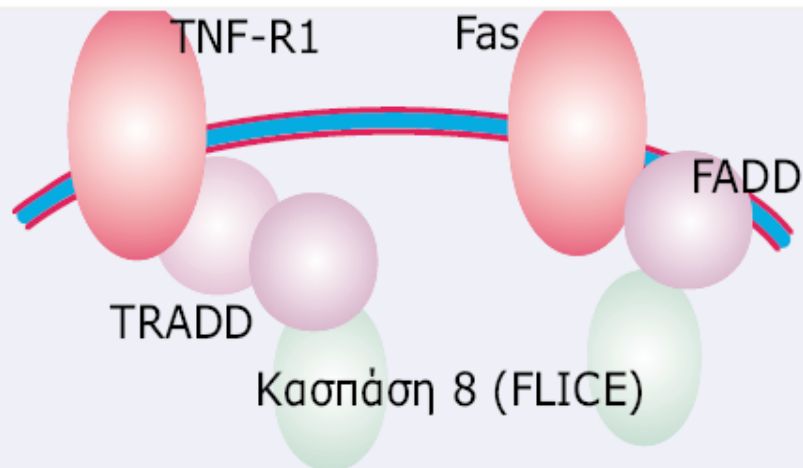


**Εικόνα 29.50** Η απόπτωση μπορεί να πυροδοτηθεί από ενεργοποιητικούς υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου. Οι πρωτεάσες κασπάσες ενεργοποιούνται σε δύο στάδια στο μονοπάτι. Η κασπάση 8 ενεργοποιείται από τον υποδοχέα. Η ενεργοποίησή της οδηγεί στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* από τα μιτοχόνδρια. Η απόπτωση μπορεί να ανασταλεί σε αυτό το στάδιο από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα *c* ενεργοποιεί ένα μονοπάτι που ενέχει περισσότερες κασπάσες.

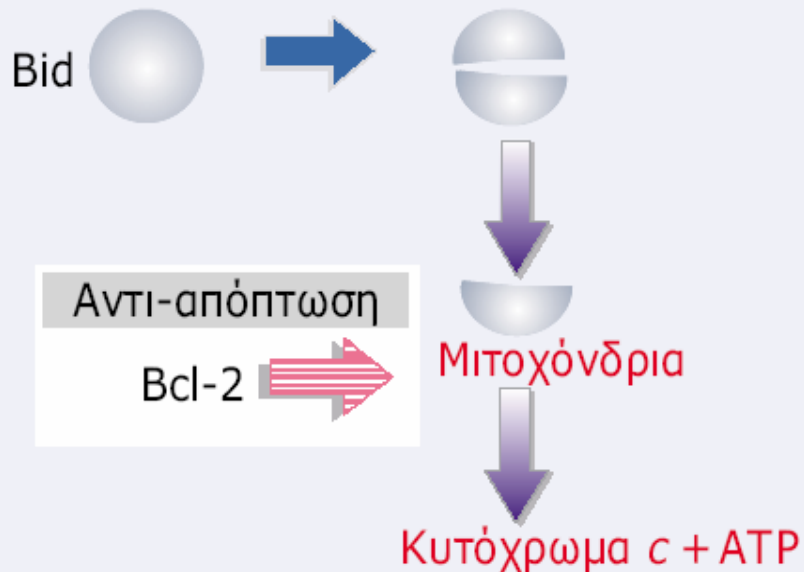
Στην έναρξη του μονοπατιού της απόπτωσης συμμετέχουν κασπάσες που φέρουν εκτενείς πρόδρομες επικράτειες. Ο διμερισμός προκαλεί μια αυτοκαταλυτική αποκοπή, η οποία ενεργοποιεί την κασπάση. Η πρόδρομη επικράτεια της κασπάσης 8 φέρει δύο επικράτειες θανάτου που είναι υπεύθυνες για τη σύνδεσή της με το σύμπλοκο του υποδοχέα. Η αποκοπή για τη δημιουργία της ενεργής μορφής λαμβάνει χώρα μόλις η προκασπάση 8 στρατολογείται στο σύμπλοκο του υποδοχέα.

## Στην απόπτωση συμμετέχουν διάφορες κασπάσες

### 1. Ο υποδοχέας ενεργοποιείται



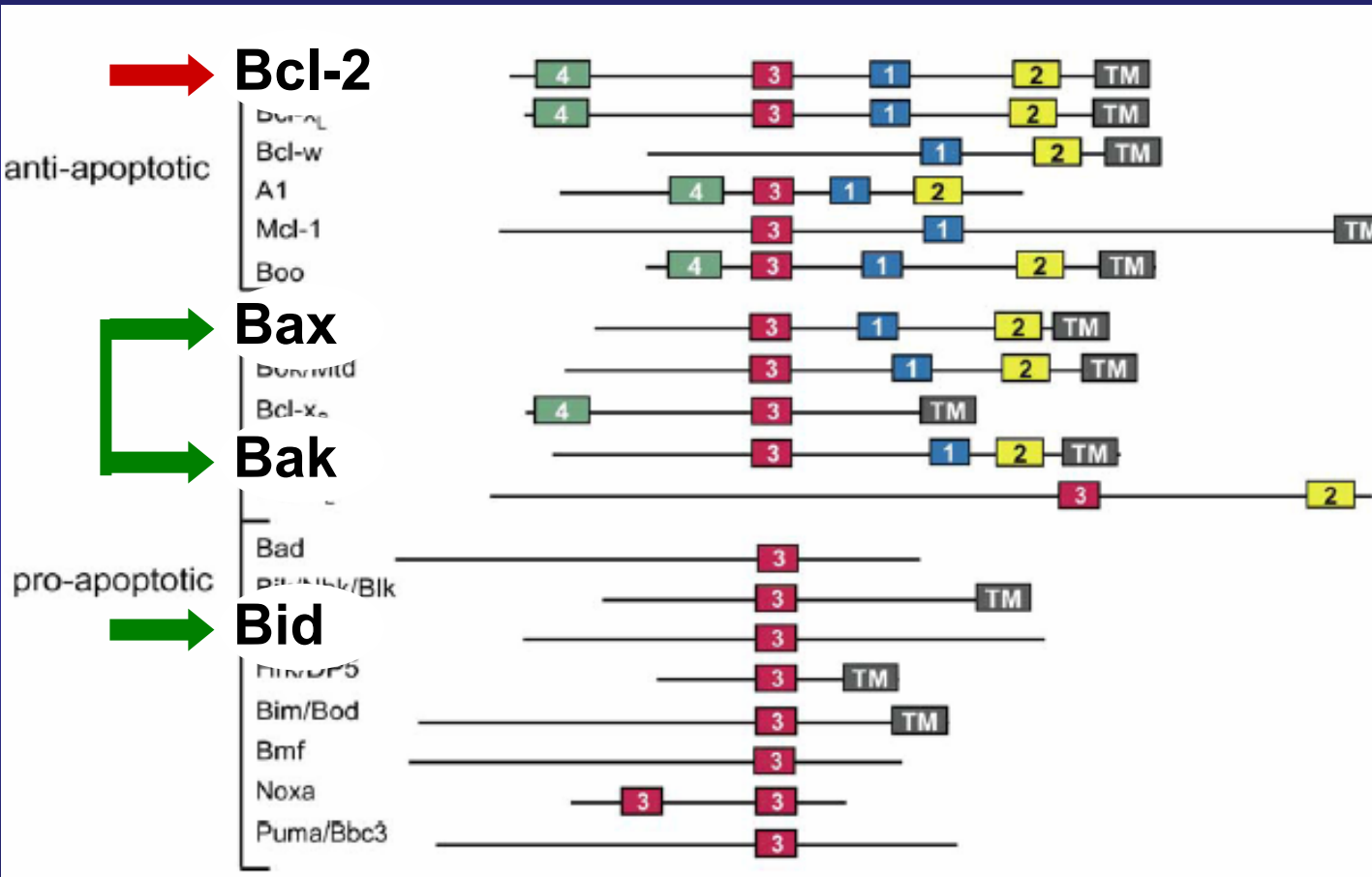
### 2. Ελευθερώνεται το κυτόχρωμα c



**Εικόνα 29.50** Η απόπτωση μπορεί να πυροδοτηθεί από ενεργοποιητικούς υποδοχείς της επιφάνειας του κυττάρου. Οι πρωτεάσες κασπάσες ενεργοποιούνται σε δύο στάδια στο μονοπάτι. Η κασπάση 8 ενεργοποιείται από τον υποδοχέα. Η ενεργοποίησή της οδηγεί στην απελευθέρωση του κυτόχρωματος c από τα μιτοχόνδρια. Η απόπτωση μπορεί να ανασταλεί σε αυτό το στάδιο από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα c ενεργοποιεί ένα μονοπάτι που ενέχει περισσότερες κασπάσες.

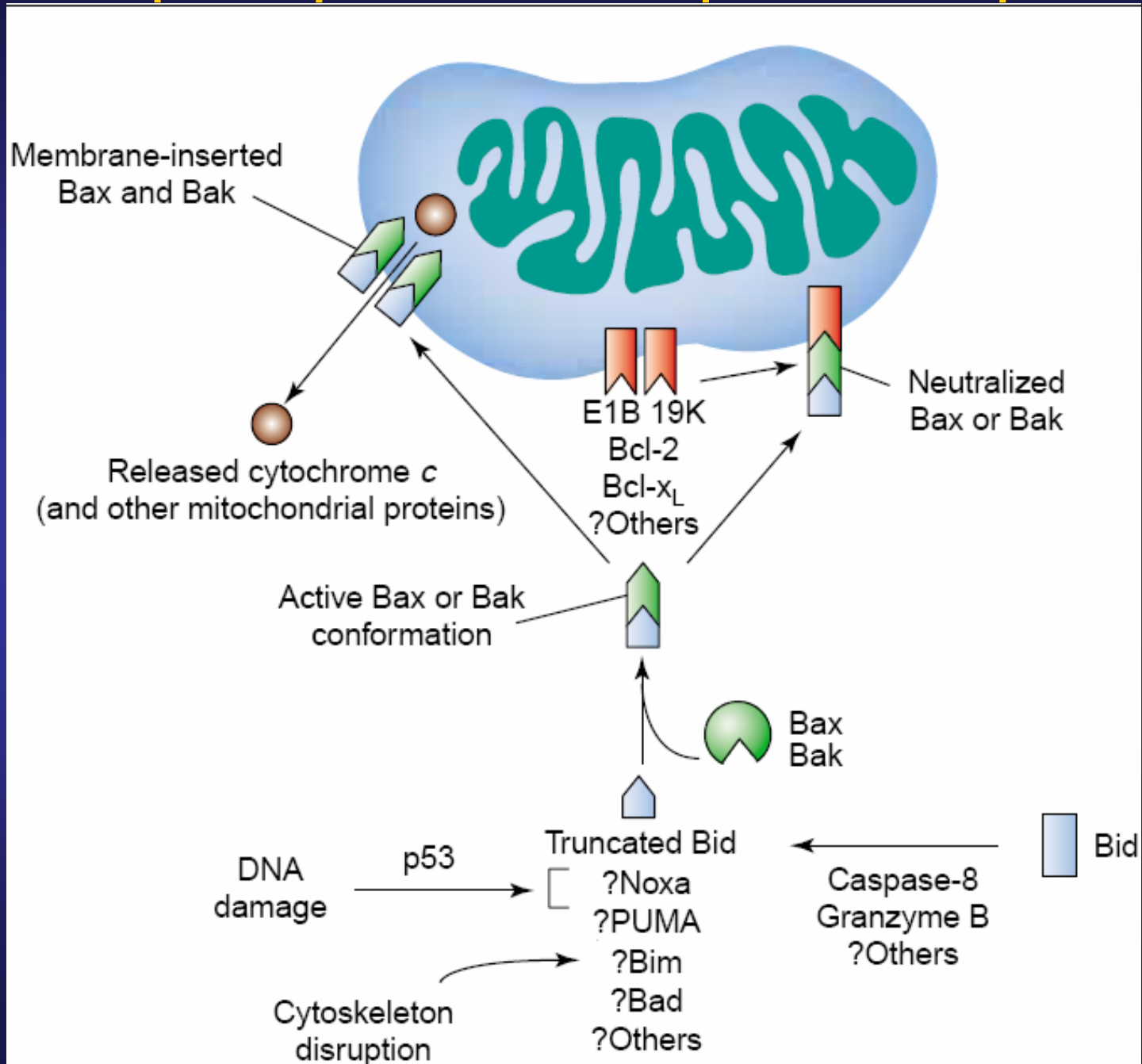
# Η Bcl-2 οικογένεια πρωτεϊνών

Ρυθμίζουν την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια. Σχηματίζουν ομοδιμερή και ετεροδιμερή.



Bcl-2 homology regions 1-4  
TM : transmembrane regions

# Ένα μοντέλο για τον ρόλο των Bcl-2 πρωτεϊνών στην απόπτωση



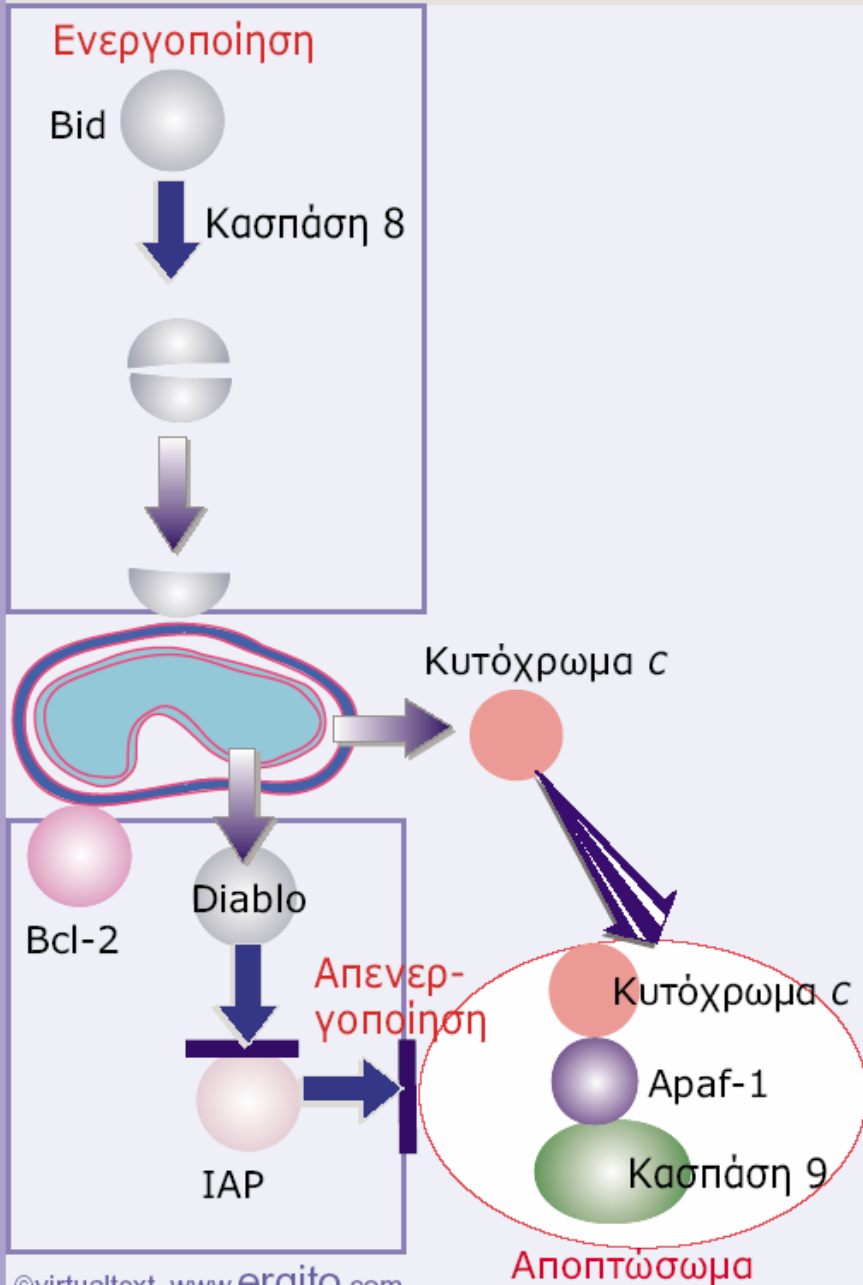


Το μιτοχόνδριο αποτελεί ένα κρίσιμο σημείο ελέγχου για την επαγωγή της απόπτωσης. Η απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c* έπεται των αλλαγών στη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Τα μέλη της οικογένειας Bcl2 δρουν στη μιτοχονδριακή μεμβράνη και, παρόλο που το είδος της δράσης τους δεν είναι γνωστό, ένα ενδεχόμενο είναι ότι σχηματίζουν διαύλους στη μεμβράνη. Η απόπτωση περιλαμβάνει τον εντοπισμό (ή ίσως την αυξημένη συγκέντρωση) των μελών της οικογένειας Bcl2 στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, συμπεριλαμβανομένων των Bid (που απαιτούνται για την απελευθέρωση του κυτοχρώματος *c*) και Bax (που πιθανότατα συμμετέχουν στις αλλαγές της μεμβρανικής διαπερατότητας).

## Αναπάντητα ερωτήματα

1. Ποια είναι η σειρά των γεγονότων που οδηγεί τις Bax/Bak στη κυτταρική μεμβράνη;
2. Τί οδηγεί τον ολιγομερισμό των Bax/Bak;
3. Πώς πραγματοποιείται η μεταφορά τους στη μιτοχονδριακή μεμβράνη;
4. Πως επιτυγχάνεται η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από το μιτοχόνδριο;

## Το μιτοχόνδριο ελευθερώνει στο κυτταρόπλασμα το κυτόχρωμα c



**Εικόνα 29.53** Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν έναν κεντρικό ρόλο στην απόπτωση απελευθερώνοντας το κυτόχρωμα c. Το φαινόμενο αυτό ενεργοποιείται από την Bid και απενεργοποιείται από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα c προσδένεται στην Araf-1 και στην προκασπάση 9, για να σχηματίσει το αποπτώσωμα. Η πρωτεολυτική ενεργότητα της κασπάσης 9 (και άλλων κασπασών) μπορεί να ανασταλεί από τις πρωτεΐνες IAP. Πρωτεΐνες που ανταγωνίζονται τις IAPs μπορεί να απελευθερωθούν από το μιτοχόνδριο.

Araf-1 = apoptotic protease activating factor-1

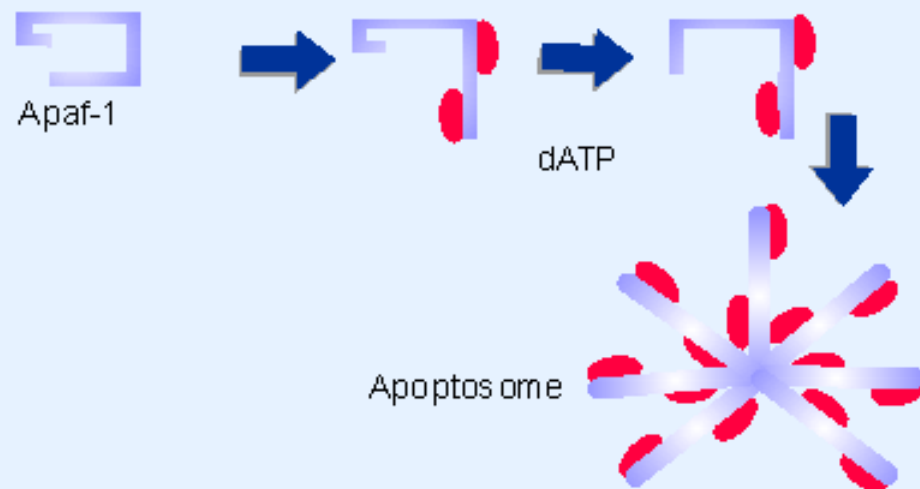
Κυτταροπλασματική πρωτεΐνη (Ικρίωμα)

Το κυτόχρωμα c προσδένει στο Araf-1 προκαλώντας μια αλλαγή στη στερεοδιαμόρφωση του, η οποία εκθέτει την περιοχή πρόσδεσης ATP. Η πρόσδεση του ATP καταλύει τον ολιγομερισμό του Araf-1/κυτοχρώματος c και δημιουργείται το αποπτώσωμα. Η προκασπάση 9 προσδένει στο αποπτώσωμα και ενεργοποιείται αυτοκαταλυτικά.

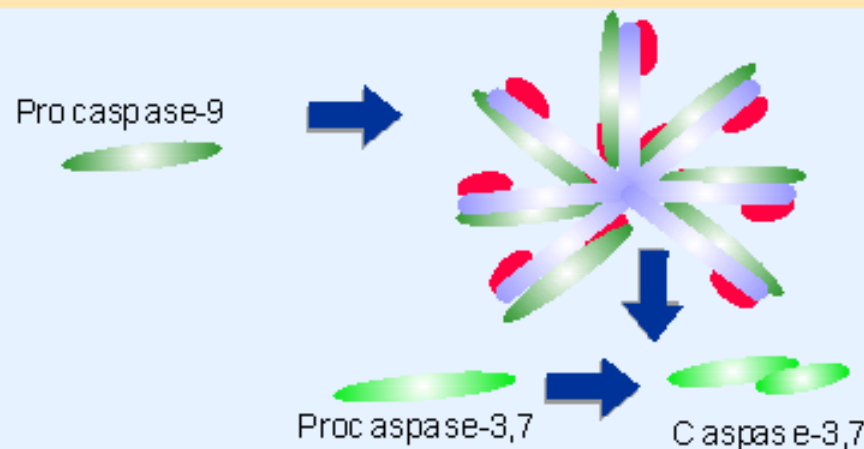
Apoptosis triggers release of cytochrome c



Cytochrome c + Apaf-1 + dATP form the apoptosome



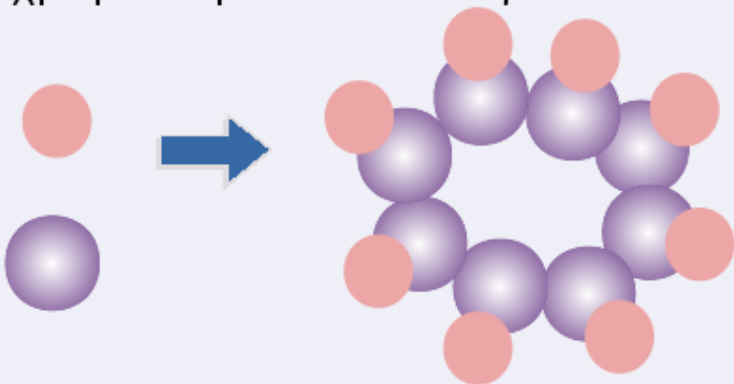
Procaspase-9 binds apoptosome which activates procaspase-3,7



Οι ιδιότητες ποντικών που στερούνται της Araf-1 ή της κασπάσης 9 αναδεικνύουν τη γενικευμένη σημασία των αποπτωτικών αυτών μονοπατιών. Η απουσία της κασπάσης 9 είναι θανατηφόρα, επειδή οι ποντικοί, ως αποτέλεσμα αποτυχίας της απόπτωσης, έχουν δυσμορφικό εγκέφαλο. Επίσης, η απόπτωση είναι μειωμένη στα θυμοκύτταρα (τα πρόδρομα ανοσοποιητικά κύτταρα των λεμφοκυττάρων). Η απουσία της Araf-1 έχει λιγότερο σοβαρές επιπτώσεις στην ανάπτυξη του εγκεφάλου των ποντικών, υποδηλώνοντας ότι υπάρχουν και εναλλακτικοί τρόποι ενεργοποίησης της κασπάσης 9. Και οι δύο τύποι μεταλλαγμένων ποντικών συνεχίζουν να πραγματοποιούν απόπτωση μέσω Fas, υποδεικνύοντας ότι ο Fas μπορεί να πυροδοτήσει την απόπτωση με εναλλακτικούς τρόπους.

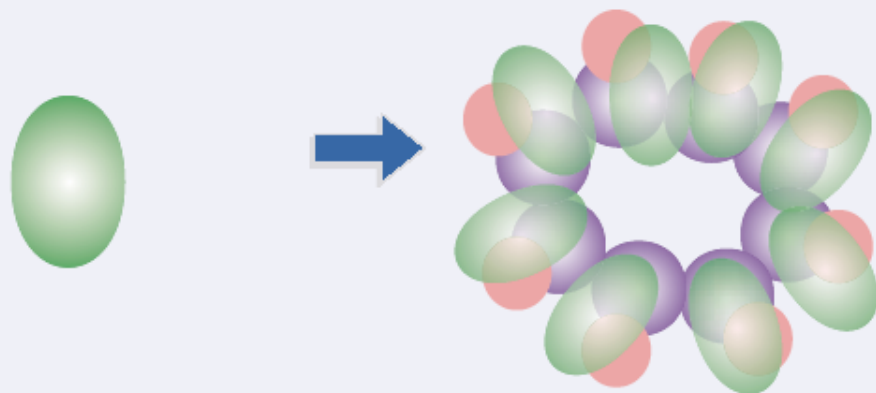
## Το αποπτώσωμα ενεργοποιεί την κασπάση 3

Το κυτόχρωμα c προσδένεται στην APAF-1



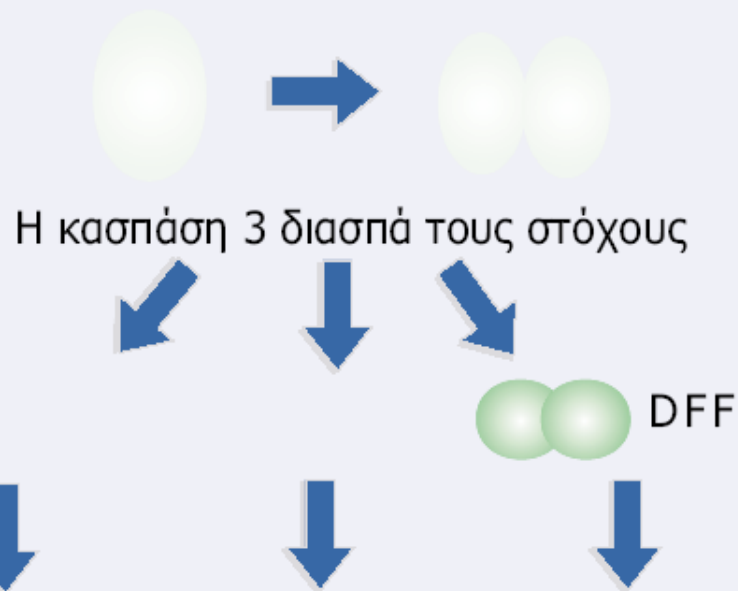
APAF-1  
(ced-4)

Το σύμπλοκο προσδένεται στην προκασπάση 9



**Εικόνα 29.54** Το κυτόχρωμα c επάγει την αλληλεπίδραση της Araf-1 με την κασπάση 9, γεγονός που οδηγεί σε ενεργοποίηση της κασπάσης 3, η οποία διασπά στόχους που προκαλούν την απόπτωση του κυττάρου.

Το αποπτώσωμα ενεργοποιεί την κασπάση 3

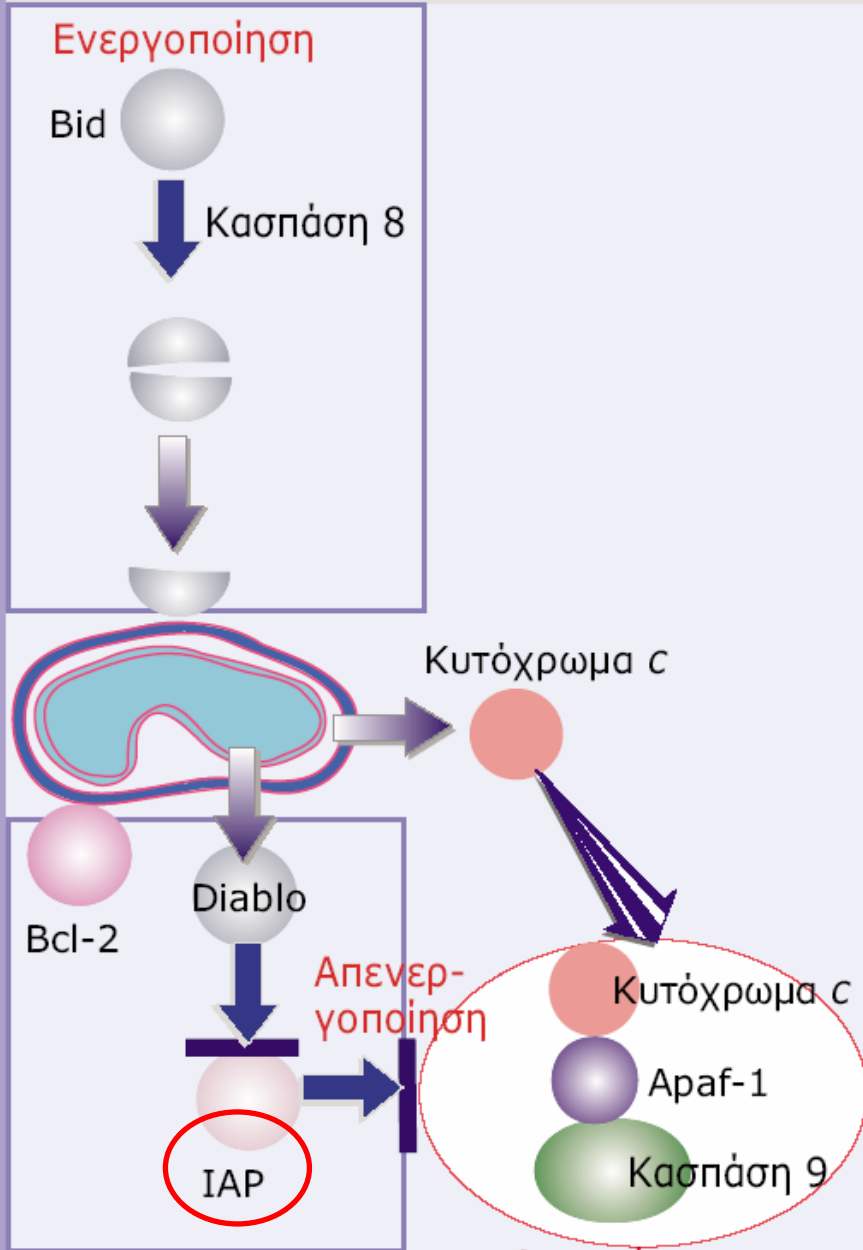


Αποικοδόμηση  
των πρωτεϊνών

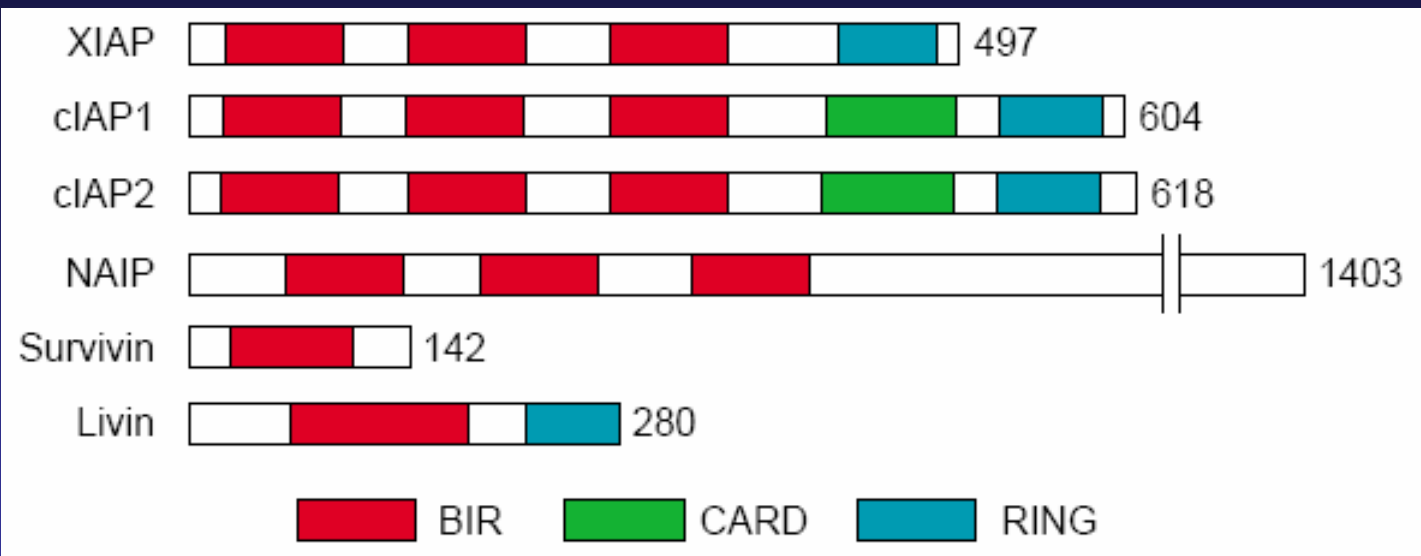
Βλάβες στις  
μεμβράνες

Κατακερματισμός  
του DNA

# Το μιτοχόνδριο ελευθερώνει στο κυτταρόπλασμα το κυτόχρωμα c



**Εικόνα 29.53** Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν έναν κεντρικό ρόλο στην απόπτωση απελευθερώνοντας το κυτόχρωμα c. Το φαινόμενο αυτό ενεργοποιείται από την Bid και απενεργοποιείται από την Bcl-2. Το κυτόχρωμα c προσδένεται στην Araf-1 και στην προκασπάση 9, για να σχηματίσει το αποπτώσωμα. Η πρωτεολυτική ενεργότητα της κασπάσης 9 (και άλλων κασπασών) μπορεί να ανασταλεί από τις πρωτεΐνες IAP. Πρωτεΐνες που ανταγωνίζονται τις IAPs μπορεί να απελευθερωθούν από το μιτοχόνδριο.



IAP = Inhibitor of Apoptosis

Αναστολείς της απόπτωσης που μπορούν να προσδεθούν σε προκασπάσες ή ενεργοποιημένες κασπάσες και να αναστείλουν την λειτουργία τους.

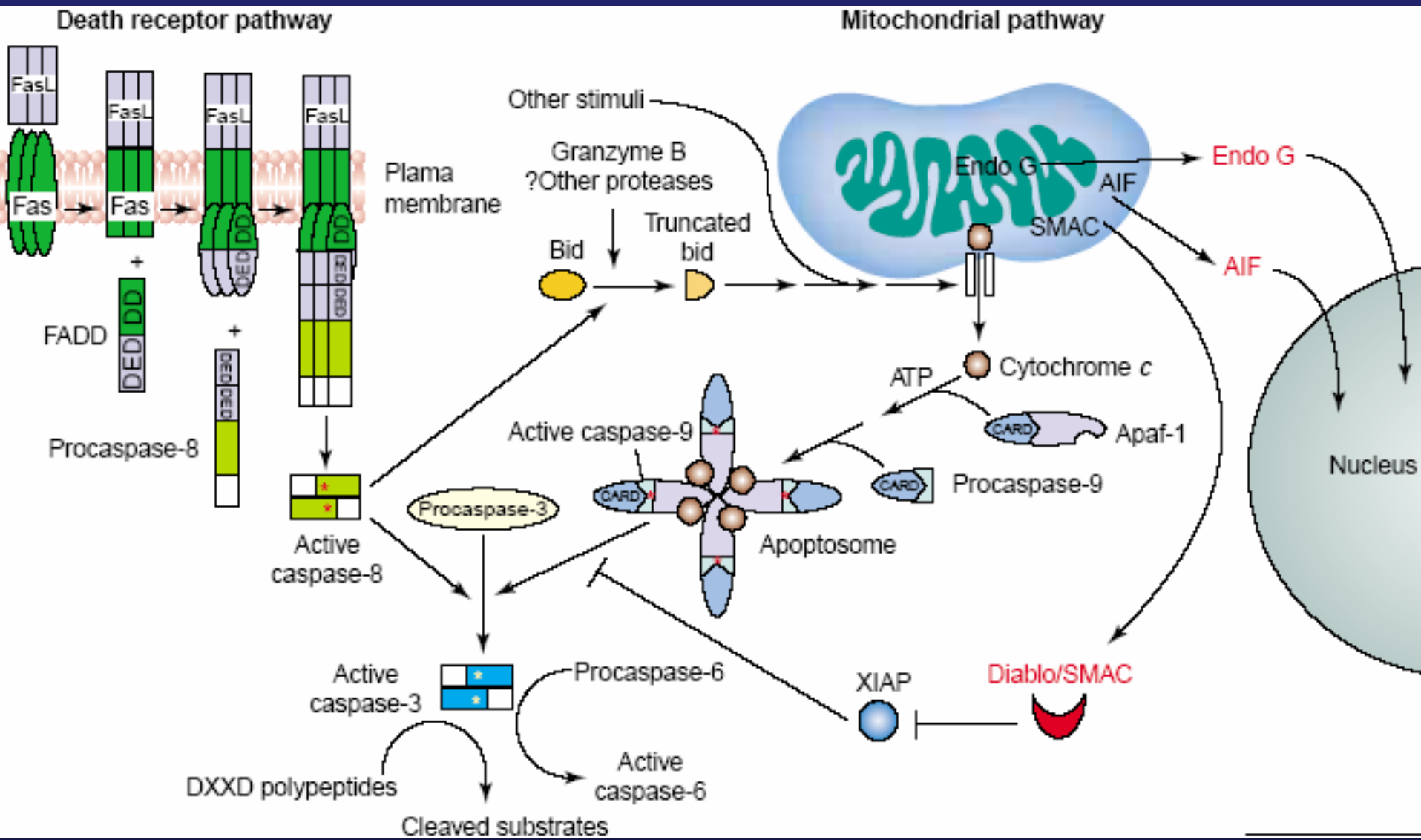
Diablo/Smac απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια την ίδια στιγμή με το κυτόχρωμα c και προσδένονται στα IAPs.

SMAC = second mitochondrial activator of caspases

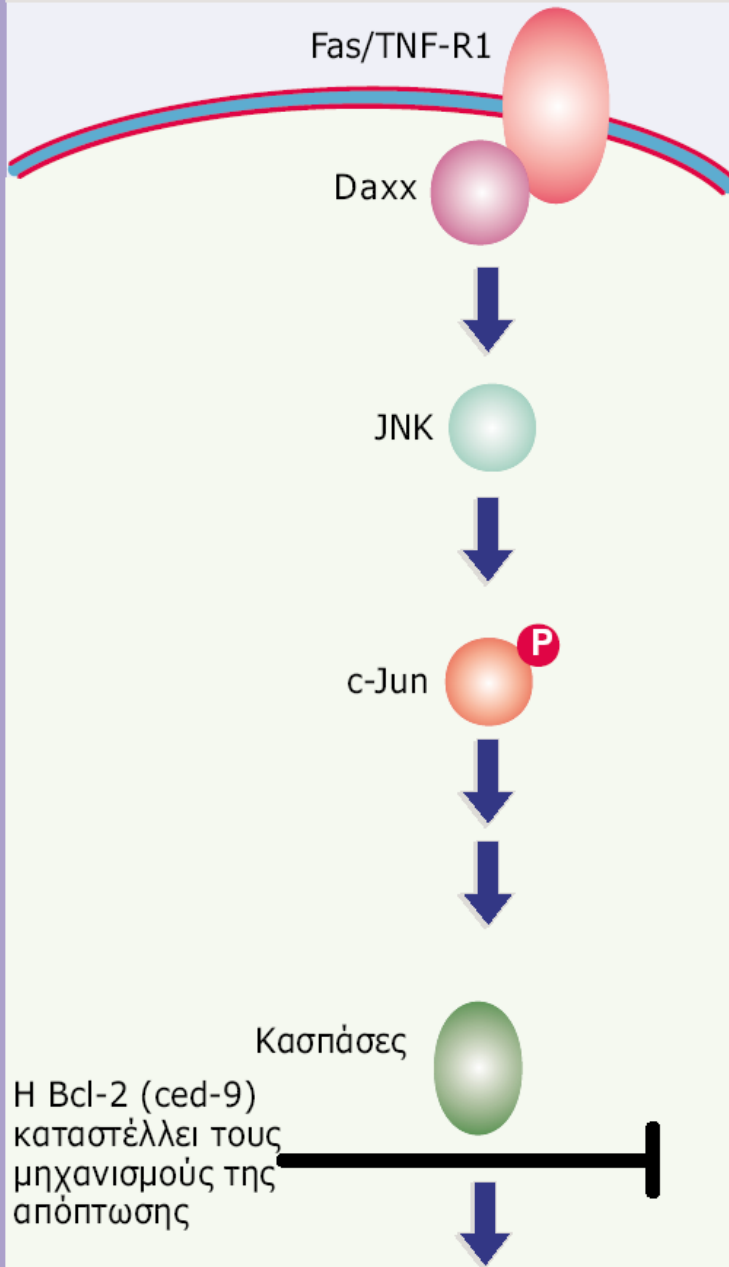
BIR = baculovirus inhibitor repeat



# Ένα μοντέλο για τα διαφορετικά μονοπάτια της απόπτωσης



**Ο υποδοχέας Fas μπορεί να χρησιμοποιήσει το μονοπάτι της JNK**



**Εικόνα 29.55** Ο Fas μπορεί να ενεργοποιήσει την απόπτωση μέσω ενός ενδιάμεσου μονοπατιού που εμπλέκει την πρωτεΐνη JNK.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Όλα τα κύτταρα περιέχουν τους μηχανισμούς που μπορεί να τα οδηγήσουν σε θάνατο με απόπτωση, μια διαδικασία η οποία απαιτεί από το θνήσκον κύτταρο σύνθεση RNA και πρωτεϊνών. Οι μηχανισμοί αυτοί όμως ενεργοποιούνται μόνο με τα κατάλληλα ερεθίσματα.
- ▶ Σε ένα κύτταρο-στόχο, ο υποδοχέας Fas ενεργοποιείται μέσω αλληλεπίδρασης με την πρωτεΐνη FasL, η οποία εντοπίζεται στην πλασματική μεμβράνη ενός ενεργοποιητικού κυττάρου.
- ▶ Ο υποδοχέας Fas μοιάζει με τον υποδοχέα του TNF και ο προσδέτης FasL μοιάζει με τον TNF.
- ▶ Ο Fas είναι ένα τριμερές, το οποίο, όταν αλληλεπιδράσει με τον FasL, δημιουργεί συσσωματώματα.
- ▶ Ο Fas φέρει μια κυτταροπλασματική επικράτεια, καλούμενη επικράτεια θανάτου (death domain), η οποία συμμετέχει σε αλληλεπιδράσεις με άλλες πρωτεΐνες.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Οι κασπάσες είναι πρωτεάσες που συμμετέχουν σε πολλαπλά στάδια του αποπτωτικού μονοπατιού.
- ▶ Οι κασπάσες συντίθενται ως ανενεργά προένζυμα (προκασπάσες) και ενεργοποιούνται με αυτο-διάσπαση για το σχηματισμό ενός ενεργού διμερούς.
- ▶ Ο σχηματισμός ενός συμπλόκου στον υποδοχέα Fas ή TNF ενεργοποιεί την κασπάση 8, η οποία ξεκινά ένα ενδοκυτταρικό αποπτωτικό μονοπάτι.
- ▶ Η κασπάση 8 διασπά την πρωτεΐνη Bid και απελευθερώνει μια επικράτεια η οποία μεταναστεύει στα μιτοχόνδρια.
- ▶ Η Bid ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών Bcl2 και δρα μαζί με άλλα μέλη της οικογένειας για να προκαλέσει την έκλυση κυτοχρώματος *c* από τα μιτοχόνδρια.
- ▶ Κάποια άλλα μέλη της οικογένειας, συμπεριλαμβανομένου και του Bcl2, παρεμποδίζουν την έκλυση κυτοχρώματος *c*.

## Σημαντικές έννοιες

- ▶ Το κυτόχρωμα *c* προκαλεί τη συσσωμάτωση της πρωτεΐνης Araf-1 με την προκασπάση 9 για το σχηματισμό του αποπτωσώματος (apoptosome), το οποίο ενεργοποιεί την κασπάση 9 με αυτοκατάλυση.
- ▶ Η κασπάση 9 τέμνει και ενεργοποιεί την κασπάση 3 και άλλες κασπάσες, για να πυροδοτήσει έτσι την εκτελεστική φάση της απόπτωσης, όταν κυτταρικές δομές καταστρέφονται.
- ▶ Ο υποδοχέας Fas ενεργοποιεί την απόπτωση τόσο μέσω του μονοπατιού των κασπασών όσο και μέσω της ενεργοποίησης της κινάσης JNK.

## Βιβλιογραφία

Programmed cell death : alive and well in the new millenium

S. Kaufmann and M. Hergartner

TRENDS in Cell Biology Vol. 11 No. 12 Dec 2001