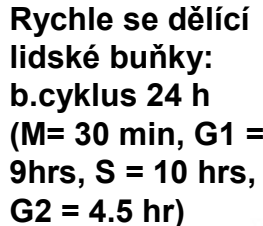


BUŇEČNÝ CYKLUS A JEHO KONTROLA

Rozpad jaderného obalu



REPLIKACE

**Vertebrata a
diploidní kvasinky
2 sady chromosomů = 2n
x haploidní kvasinky 1n**

X Kvasinky (některé) a houby se nerozpadá jederný obal

Studium b.cyklu -
savčí buňky (např. fúze buněk z různých fází b.cyklu)
kvasinky (S.cerevisiae, S.pombe) - MUTANTY BUNĚČNÉHO CYKLU -
cdc mutanty (cell division cycle), termosensitivní

REGULACE BUNĚČNÉHO CYKLU

Heterodimerní protein kinasy

- regulační podjednotky „**CYKLINY**“ - oscilují v rámci buněčného cyklu
- katalytické podjednotky **Cdk** = „**Cycline dependent kinase**“, kinázová aktivita pouze po asociaci s cyklinem
- Každá Cdk asociuje s různými cykliny - určuje, které substráty budou fosforylovány Cdk-cyklin komplexem

3 třídy Cdk-cyklin komplexů regulují průchod buněčným cyklem: G1, S-fáze a mitotický Cdk komplex.

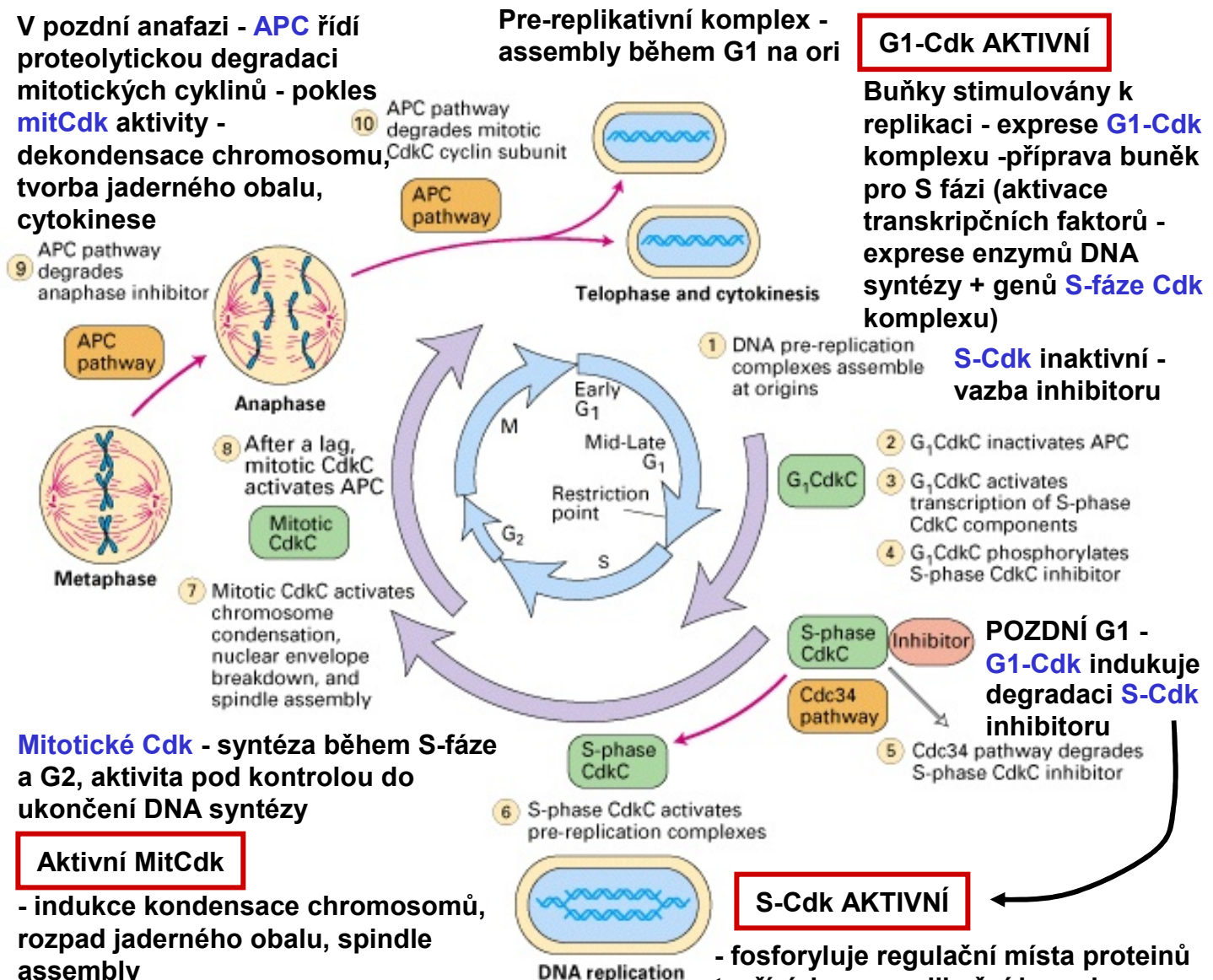
V pozdní anafazi - **APC** řídí proteolytickou degradaci mitotických cyklinů - pokles **mitCdk** aktivity - dekonstrukce chromosomu, tvorba jaderného obalu, cytokinese

Pre-replikativní komplex - assembly během G1 na ori

G1-Cdk AKTIVNÍ

Buňky stimulovány k replikaci - exprese **G1-Cdk** komplexu - příprava buněk pro S fázi (aktivace transkripčních faktorů - exprese enzymů DNA syntézy + genů **S-fáze Cdk** komplexu)

S-Cdk inaktivní - vazba inhibitoru



Mitotické Cdk - syntéza během S-fáze a G2, aktivita pod kontrolou do ukončení DNA syntézy

Aktivní MitCdk

- indukce kondensace chromosomů, rozpad jaderného obalu, spindle assembly
- po asociaci všech chromosomů s mikrotubuly spindle, mitCdk aktivace **ANAPHASE PROMOTING COMPLEX (APC)** - Ubi-proteolysa inhibitorů anafáze (vede k inaktivaci komplexu držících chromatidy pohromadě v metafazi) - segregace chromatid

G1 dalšího cyklu - fosfatázy defosforylují proteiny pre-replikativního komplexu - reassembly v místech ori, G1-Cdk fosforyluje a inaktivuje APC

Kontrola - primárně G1-Cdk - extracelulární růstové faktory - **MITOGENY** - indukce syntézy G1-Cdk - průchod bodem startu (restriction point) G1 fáze

S-Cdk AKTIVNÍ

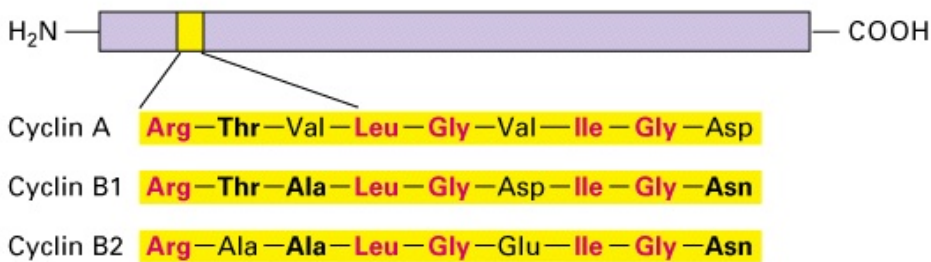
- fosforyluje regulační místa proteinů tvořících pre-replikační komplex
 - aktivuje iniciaci replikace
 - zabrání re-asembly nových pre RC
 - uvolnění z ori
- tj. **REPLIKACE 1x ZA B.CYKLUS**

DEGRADACE MITOTICKÉHO CYKLINU

MPF = mitose promoting factor = mitotCdk (cyklin typu B + Cdk)

- savčí buňky - 3 cykliny typu B (mitot Cykliny) - na N konci „destruction box“

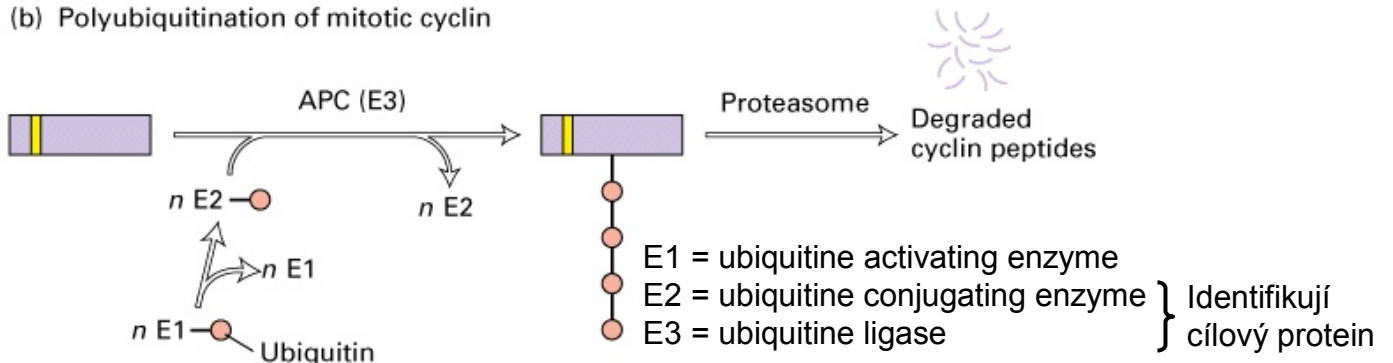
(a) Mitotic cyclin destruction box



Degradace cyklinu - v pozdní anafázi (chromatidy odděleny na pólech)

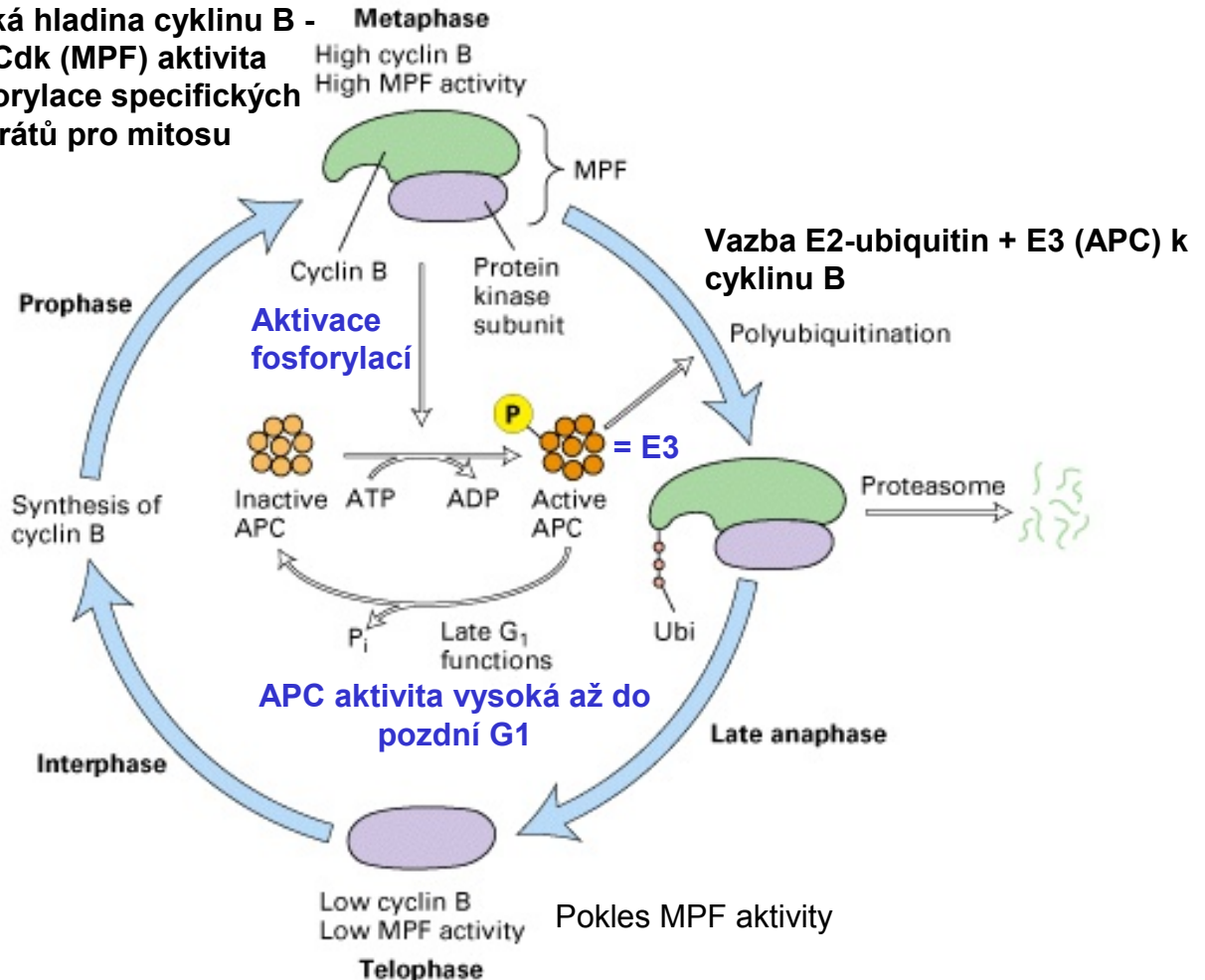
- modifikace ubiquitinem -
- 3 enzymy

(b) Polyubiquitination of mitotic cyclin



REGULACE - ANAPHASE PROMOTING COMPLEX (APC):

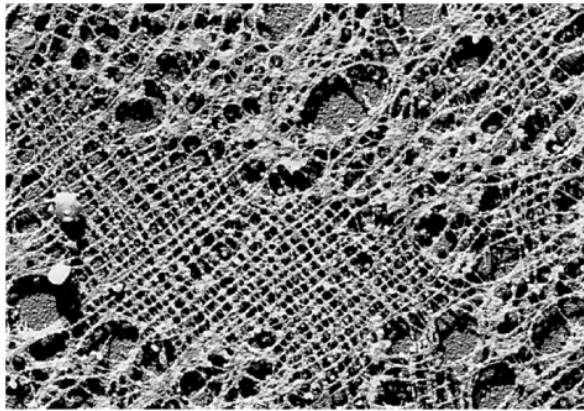
Vysoká hladina cyklinu B - mitotCdk (MPF) aktivita
- fosforylace specifických substrátů pro mitosu



MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY REGULUJÍCÍ PRUCHOD MITOSOU

fosforylace jaderných laminů pomocí MPF - rozpad jaderného obalu

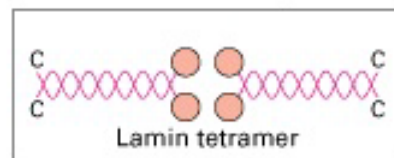
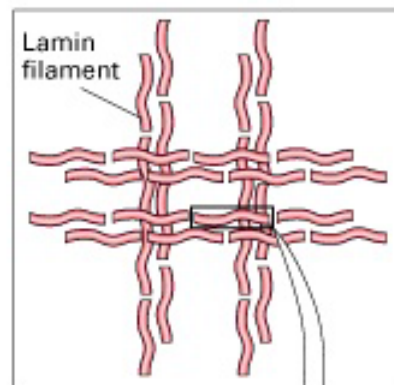
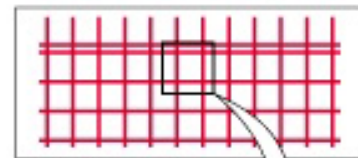
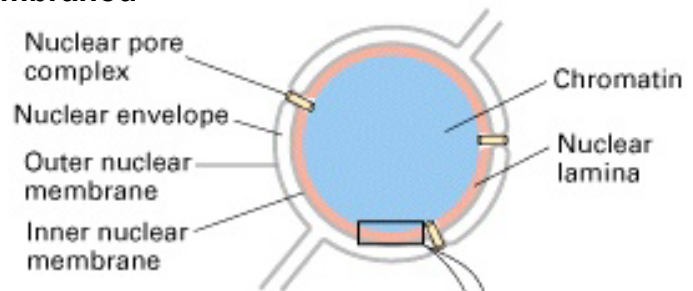
Jaderná lamina - pod vnitřní jadernou membránou



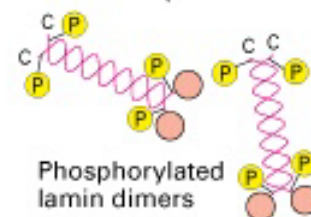
1 μm

3 jaderné laminy: A, B, C (savčí buňky) patří mezi intermediální filamenta

Lamin A identický s Laminem C, lamin A navíc 133 AA na C-konci, lamin B - posttranskripčně modifikován - isoprenylova skupina na C-konci - kotví laminu k membráně



MPF

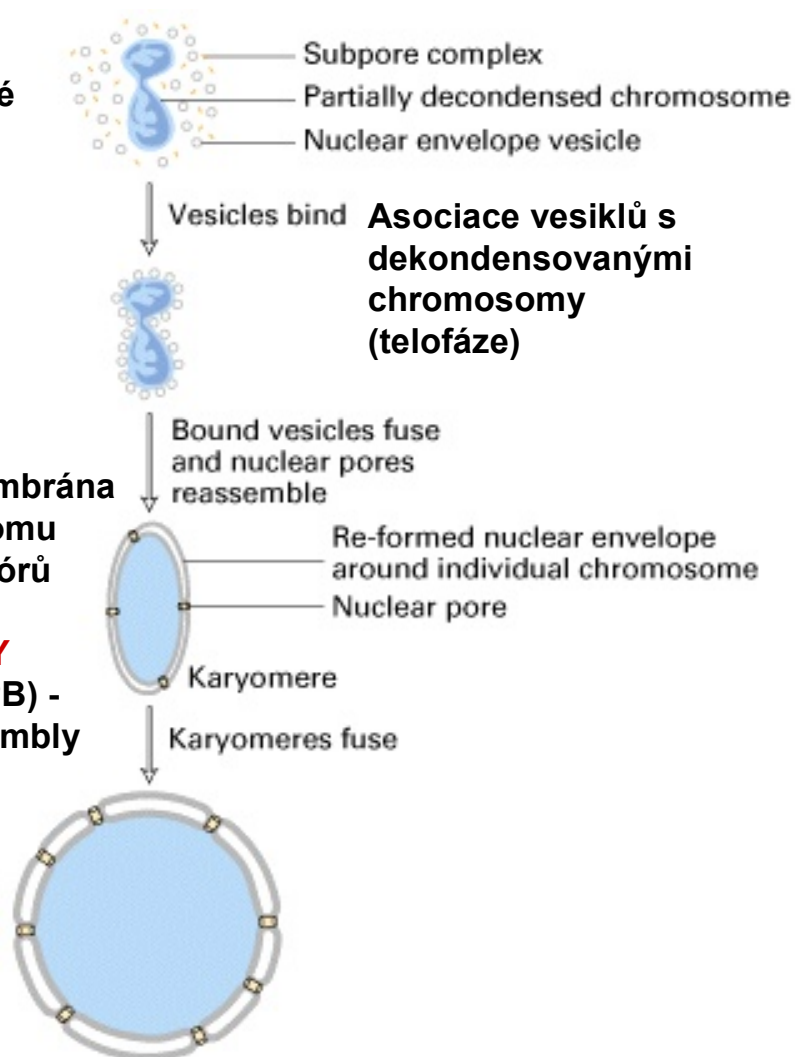


- tvoří dimery (α -helix, ocásek, globulární hlava)
- polymerace head-head, tail-tail

Časná mitosa - **MPF** - fosforylace Ser na všech třech laminech - rozpad laminy

- lamin A a C - volně, lamin B - zůstává asociován s vnitřní jadernou membránou
- rozpad jaderného obalu na vesikly

- Defosforylace laminů - repolymerizace a organizace jaderné laminy (telofáze)
- specifické fosfatázy - po inaktivaci MPF



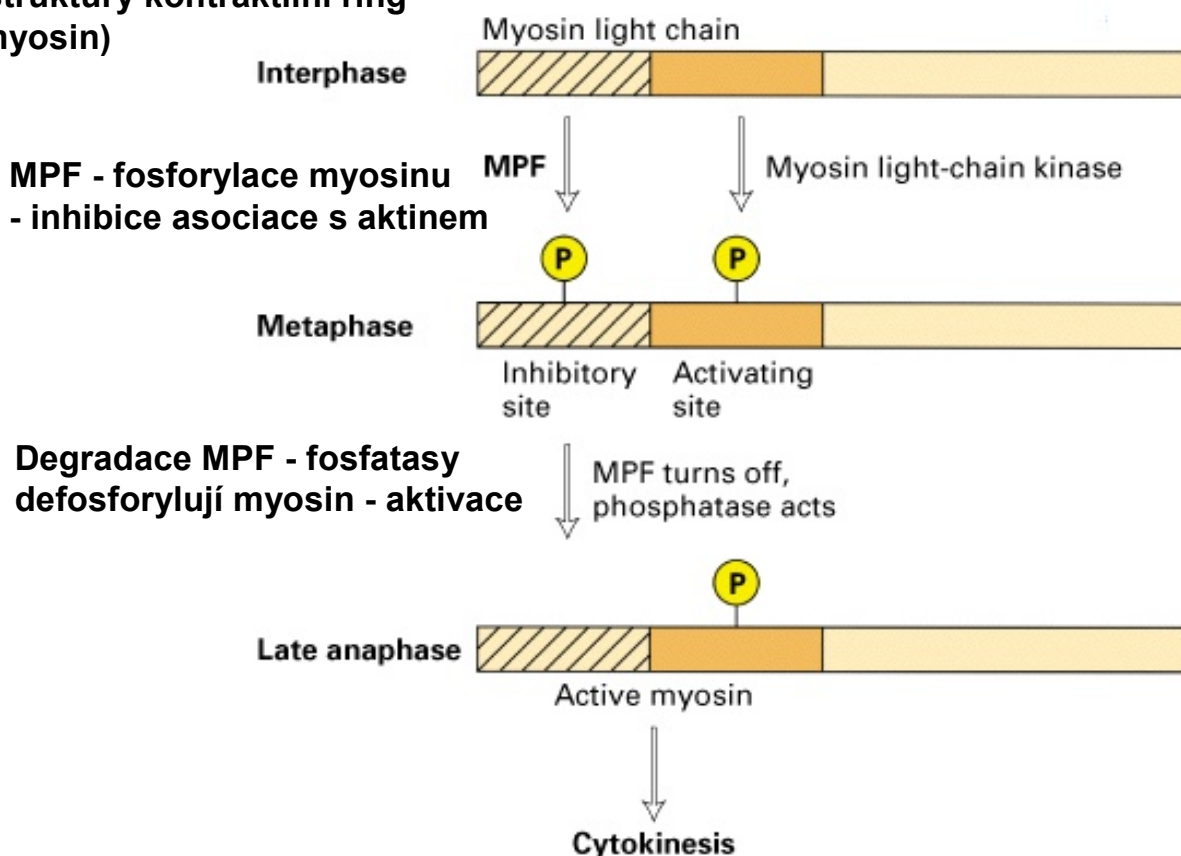
Asociace vesikul s dekonzensovanými chromosomy (telofáze)

Fuse vesikul - dvojité membrány kolem každého chromosomu

- reassembly jaderných pórů (role laminu)
- minijádra - **KARYOMERY**
- fuse (vazba na každý SPB) - tvorba dvou jader, reassembly laminu (lamin B)

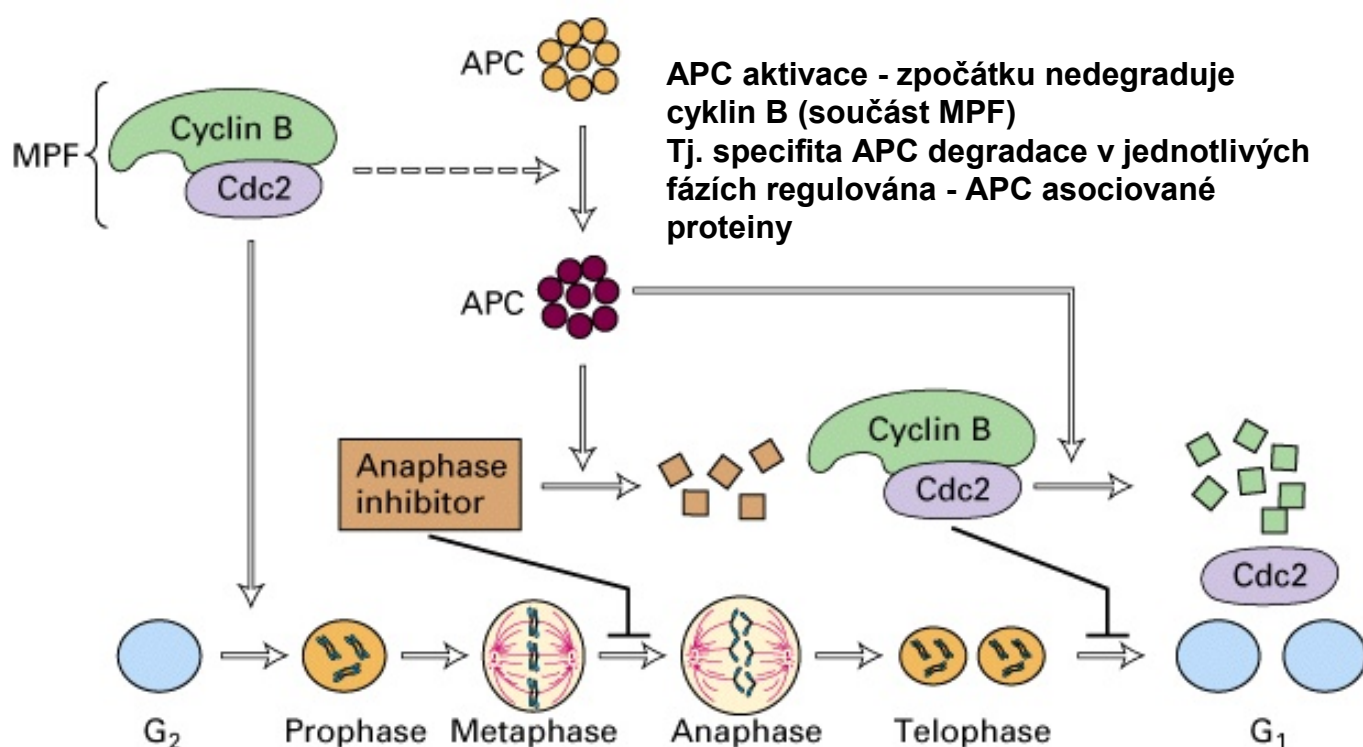
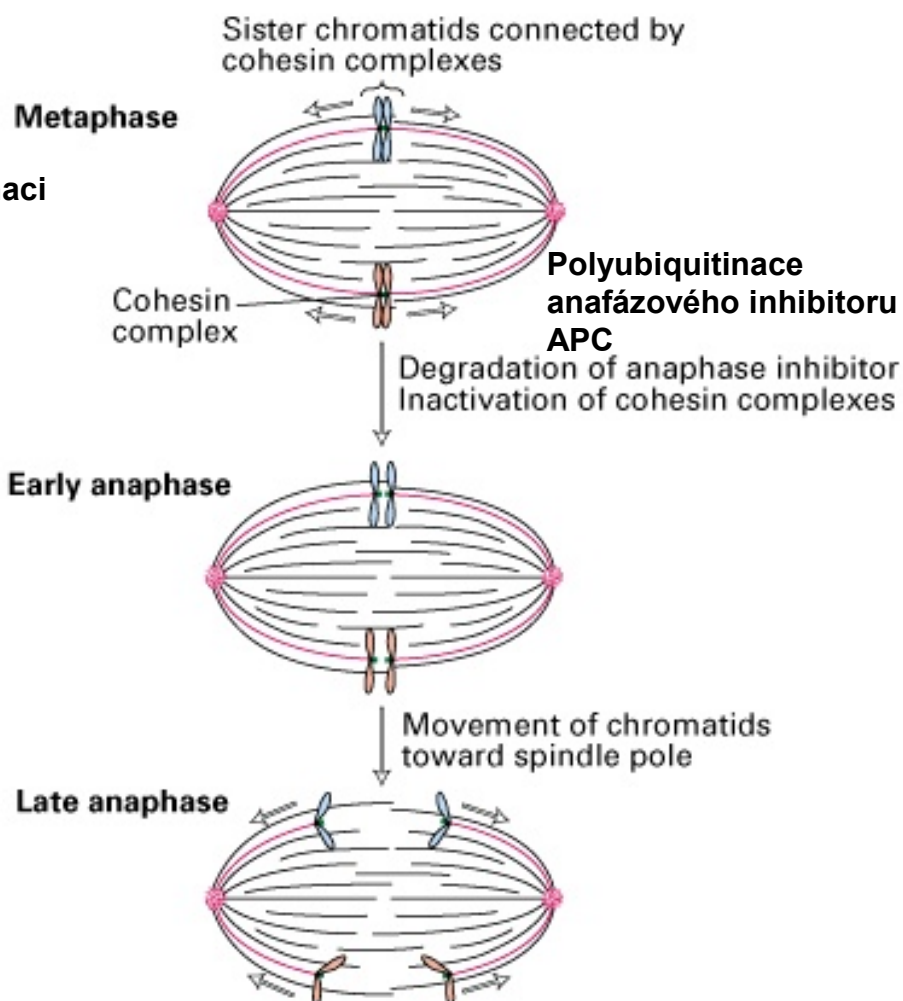
CYTOKINESE -

- tvorba struktury kontraktlní ring (aktin, myosin)



Anaphase promoting complex kontroluje vazbu a uvolnění chromatid

Sesterské chromatidy spojeny komplexem **kohezinu** - funkce regulována proteinem „**anafázový inhibitor**“ - cíl pro APC-řízenou polyubiquitinaci v rané anafazi



CELL CYCLE CHECK-POINTS

Kontrola „postupu“ buňky buněčným cyklem - správné dokončení předchozí fáze (např. vazba chromosomů na mikrotubuly dělicího vřeténka)

4 klíčové **KONTROLNÍ BODY (CHECK-POINTS)**

Není správně vytvořen mitotický spindle - zabrání aktivaci APC polyubiquitinačního systému - není degradace anafázového inhibitoru atd.

? Regulace, (kvasinky - BUB geny, protein kinasy)

