

Дополнительные материалы

Регуляция клеточного цикла

По способности к делению все клетки взрослого организма подразделяются на три группы.

1. Клетки, которые постоянно делятся. Можно сказать, что они постоянно находятся в митотическом цикле. Примеры: клетки базального слоя многослойного эпителия, клетки эпителия кишечника, гемопоэтические клетки начальных стадий созревания, сперматогонии.

2. Клетки, которые обычно не делятся. Как правило, это дифференцированные клетки, выполняющие определённые функции. Однако они сохранили способность к делению при действии определённых стимулов. Чаще всего деление происходит при регенерации органа или ткани. Эти клетки находятся в периоде покоя (G_0). При действии некоторых стимулов клетки способны вернуться в период G_1 и продолжить движение по клеточному циклу. Примеры: клетки печени, эпителий почечных канальцев, гладкомышечные клетки.

3. Клетки, окончательно утратившие способность к делению. Эти клетки прошли дифференцировку, вышли из клеточного цикла и находятся в периоде покоя G_0 . Регенерация может происходить только по внутриклеточному типу. Примеры: клетки всех слоев эпидермиса, кроме базального, нервные клетки, клетки сердечной мышцы, волокна скелетных мышц.

Прохождение клеточного цикла регулируется различными внутриклеточными и межклеточными сигналами. Межклеточные сигналы мы рассматривать в данном материале не будем.

Внутриклеточные механизмы: 1) система циклин/циклин-зависимая протеинкиназа (ЦЗК) 2) активаторы и ингибиторы ЦЗК 3) белки, кодируемые протоонкогенами и онкосупрессорами (антионкогенами).

Правильность прохождения клеткой клеточного цикла проверяется в нескольких контрольных точках (сверочных точках, чекпойнтах).

В 2001 году Лиланд Хартуэл, Тим Хант и Пол Нерс получили нобелевскую премию за открытие генетических и молекулярных механизмов регуляции клеточного цикла.

Циклины – это белки, которые вырабатываются в клетке с разной интенсивностью. Разрушение циклинов также происходит с разной интенсивностью. Поэтому их содержание в цитоплазме значительно изменяется в различные фазы клеточного цикла (см. рисунок). Циклины не обладают ферментативной активностью. У циклинов есть гомологичный участок из 100 аминокислот (так называемый циклиновый бокс), который обеспечивает связывание с ЦЗК. Поэтому циклины способны образовывать комплекс с ЦЗК. Формирование комплекса необходимо для активации ЦЗК.

Циклин D отличается от других циклинов. Его концентрация постепенно и плавно повышается и снижается в течение всего клеточного цикла. Присутствие циклина D координирует рост клетки с биохимическими процессами, реализующимися при входе в новый клеточный цикл. Концентрация циклина E повышается в конце фазы G_1 , достигает максимума в начале фазы S и резко снижается. Уровень циклина A растет в течение фазы S, максимальный в время фазы G_2 и снижается в начале митоза. Содержание циклина B повышается во время фазы G_2 , достигает максимума во время митоза, а затем резко снижается.

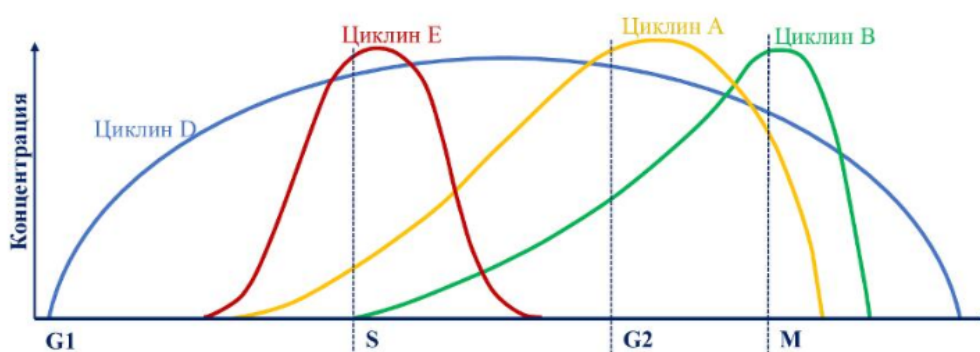
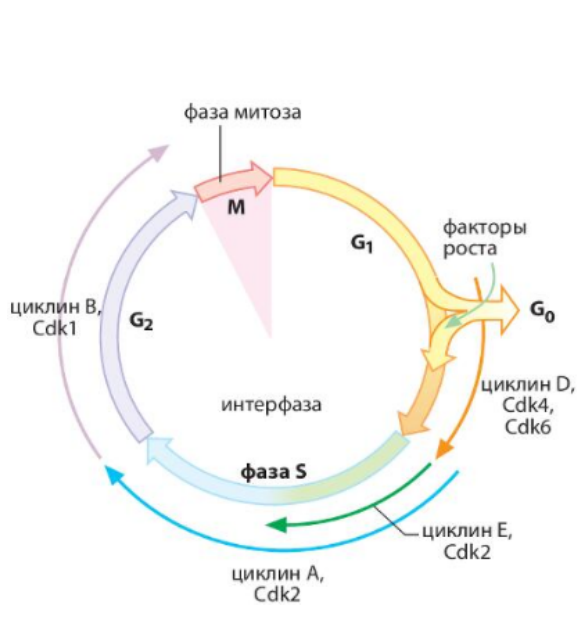


Рис. 11. Флуктуации относительной концентрации циклинов в течение клеточного цикла

ЦЗК были обнаружены при исследовании дрожжей. ЦЗК являются небольшими белками, в нативном состоянии неактивны. Концентрация ЦЗК постоянна в различные фазы клеточного цикла. Так как концентрация циклинов изменяется, именно уровень циклина регулирует активность ЦЗК. При формировании комплекса циклин/ЦЗК изменяется конформация фермента, что обеспечивает активацию активного центра (каталитического сайта). Активные ЦЗК (а точнее комплекс циклин/ЦЗК) обеспечивают фосфорилирование белков-мишеней (присоединение к белку фосфатной группы). В результате происходит активация (или инактивация) соответствующего белка.

Фаза клеточного цикла	Комплекс
G_1	Циклин D/ЦЗК 4 (или ЦЗК 6)
Переход от G_1 к S	Циклин E/ЦЗК 2
S	Циклин A/ЦЗК 2
G_2	Циклин B/ЦЗК 1 (этот комплекс также называют MPF).
Профаза и метафаза митоза	Циклин B/ЦЗК 1



Комплексы циклин D/ЦЗК 4 (ЦЗК 6) функционируют на начальной стадии постмитотического (G_1) периода и вызывают соответствующие внутриклеточные события (рост клетки, синтез белков для репликации).

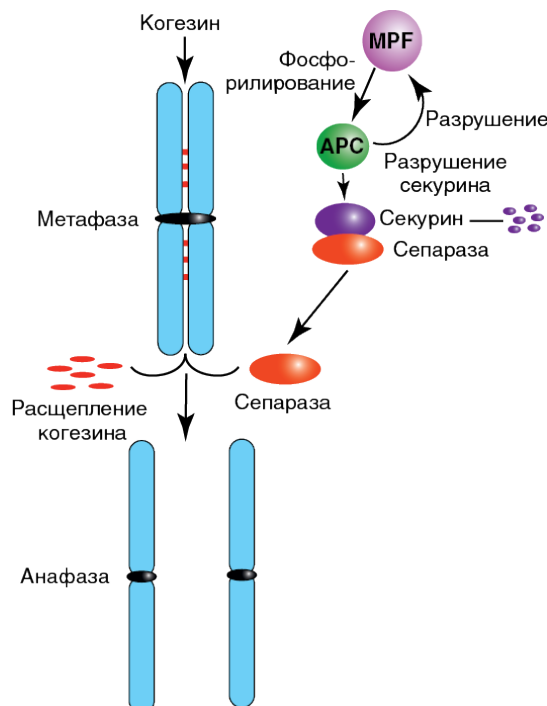
Комплекс циклин E/ЦЗК 2. Клетка синтезирует комплекс белков, которые формируют транскрипционный фактор E2F. E2F обеспечивает экспрессию генов, кодирующих его собственные белки, циклин E, циклин A и синтез ферментов, необходимых для синтеза ДНК (например - ДНК-полимеразы, рибонуклеотидредуктазы, дигидрофолатредуктазы). Также клетка синтезирует белок pRb. Белок pRb связывается с E2F. Связанный E2F не может влиять на экспрессию генов. **Комплекс циклин E/ЦЗК 2 обеспечивает фосфорилирование белка pRb.** Фосфорилированный pRb изменяет свою конформацию и теряет способность связываться с E2F. Свободный E2F проникает в ядро и обеспечивает экспрессию ряда указанных выше генов. Клетка в результате синтезирует E2F, циклин E, ферменты для синтеза ДНК и переходит к синтетической фазе.

Комплекс циклин A/ЦЗК 2, который действует в S фазу клеточного цикла, обеспечивает прохождение репликации (синтеза ДНК) таким образом, чтобы каждый фрагмент ДНК реплицировался 1 раз. На хромосомах эукариот существует много точек начала репликации, с каждой из которых комплекс ферментов репликации должен связаться только один раз. **Комплекс (циклин A/ЦЗК 2) обеспечивает фосфорилирование белков репликации.** Фосфорилирование активирует эти белки и репликативный комплекс начинает работать. При этом в фосфорилированном состоянии репликативный комплекс не может повторно связаться с точкой начала репликации.

Комплекс циклин B/ЦЗК 1. В профазе и метафазе митоза необходимо наличие высокой концентрации этого комплекса, в то время как в

телофазе решающее значение имеет его низкое содержание. **Действие комплекса циклин В/ЦЗК 1:** 1) Целостность ядерной оболочки поддерживается ядерной ламиной. Это тонкая сетевидной пластинки, которая образована из филаментов и выполняет роль опорной структуры. Комплекс фосфорилирует белки филаментов, их конформация изменяется и ламина разрушается. В результате ядерная оболочка распадается на мелкие пузырьки. 2) Комплекс фосфорилирует гистон Н1 и другие белки, поддерживающие структуру конденсированных хромосом. В результате эти белки становятся способными связываться с ДНК с образованием метафазных хромосом. Таким образом обеспечивается компактизация хромосом (или можно сказать - конденсация хроматина). 3) Комплекс циклин В/ЦЗК 1 также фосфорилирует белок тубулин. Изменяется конформация тубулина, что способствует его полимеризации с образованием микротрубочек.

В клетке имеется комплекс белков – APC. Для осуществления анафазы необходимо разрушение комплекса циклин В/ЦЗК 1. **В метафазе митоза комплекс фосфорилирует APC.** Фосфорилированный APC активируется и обеспечивает разрушение циклина В и комплекс циклин В/ЦЗК 1 быстро инактивируется. Сестринские хроматиды в хромосоме связаны с помощью комплекса белков – когезина. Для расхождения хроматид необходимо разрушение когезинов. Для разрушения когезинов необходим фермент *сепараза*. Сепараза до наступления анафазы связана с белком *секурином* и находится в неактивном состоянии. **Фосфорилированный APC обеспечивает расщепление секурина.** В результате разрушения секурина активируется сепараза, которая расщепляет когезин. Поэтому становится возможным расхождение сестринских хроматид (см. рисунок).



Контрольные точки (сверочные точки, чекпойнты)

В ходе клеточного цикла клетка контролирует собственное состояние. Для этого в цикле существует несколько сверочных точек, где проверяется прежде всего состояние генетического материала. В зависимости от результатов «проверки» выбирается один из вариантов дальнейших действий: 1) Повреждений не обнаружено - клетка переходит к следующей фазе цикла. 2) Обнаружено повреждение - включаются механизмы репарации ДНК (или другие процессы) для исправления обнаруженных дефектов. Если восстановление проходит успешно, клетка переходит к следующей фазе цикла. 3) Обнаружено повреждение, подключаются механизмы устранения дефектов. Если нарушения неисправимы, запускается механизма апоптоза (программируемой клеточной гибели).

Контрольная точка G₁-периода. Остановка цикла осуществляется в случае обнаружения разрывов в ДНК, неправильной сегрегации хромосом.

Контрольная точка S-периода. Остановка цикла осуществляется в случае недостатка нуклеотидов в клетке, наличия повреждений ДНК или незавершенной репликации.

Контрольная точка G₂-периода. Остановка цикла происходит в случае незавершенности репликации каких-либо участков хромосом либо повреждений ДНК.

Контрольная точка метафазы митоза. Остановка цикла осуществляется в случае неправильной сборки веретена деления и нарушений в прикреплении хромосом к нитям веретена деления.

В большинстве случаев центральную роль в остановке цикла играет белок p53 (смотри ниже - онкосупрессоры).

Протоонкогены – это гены, которые входят в нормальный геном и кодируют белки, стимулирующие прохождение клеткой клеточного цикла. При мутациях и изменении функций такие гены называют онкогенами. Рассмотрим несколько примеров.

ras — суперсемейство генов, кодирующих ras G-белки (это малые ГТФазы или гуанозинтрифосфатазы). Ras G-белок локализуется на внутренней стороне клеточной мембраны и участвует в передаче внешнего сигнала (стимулирующего пролиферацию клеток) от рецептора к ядру. В результате мутации ras G-белок остаётся активированным, что приводит к неуправляемому размножению клеток. Мутированный ras (онкоген) обнаруживается в 15% всех новообразований человека, включая 25% — рак лёгкого, 50% — рак толстой кишки, 90% — рак поджелудочной железы.

erbB2 — (erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2; расположение - 17q21.1) кодирует белок из семейства рецепторов эпидермального фактора роста. Этот белок тесно взаимодействует с другими рецепторами эпидермального фактора роста и стабилизирует их

связь с лигандами. В результате поддерживается прохождение клеткой клеточного цикла. Повышенная экспрессия гена *egr2*, встречается при разных онкологических заболеваниях, например при раке молочной железы и раке яичника.

Антионкогены (онкосупрессоры) кодируют белки, блокирующие клеточный цикл. Мутации генов онкосупрессоров неизбежно приводят к появлению бесконтрольно пролиферирующего клеточного клона.

Белок p53 — один из важнейших регуляторов клеточного цикла его часто называют «стражем генома». Он синтезируется в клетке постоянно, но в норме очень быстро разрушается. При наличии в клетке повреждений ДНК (или хромосом) белок p53 фосфорилируется. Фосфорилирование p53 делает белок устойчивым и p53 накапливается в ядре клетки. Активный (фосфорилированный) p53 служит транскрипционным фактором для гена белка p21. Происходит экспрессия гена p21, вырабатывается белок p21, который подавляет активность различных комплексов циклин/ЦЗК (можно сказать, что p21 является ингибитором ЦЗК). По этой причине происходит остановка цикла, в каком бы его периоде ни находилась клетка. Если хромосомы значительно повреждены и их исправление затягивается, активный белок p53 накапливается и обеспечивает экспрессию группы генов, запускающих апоптоз. Дефектная клетка распадается на фрагменты и фагоцитируется соседними клетками.

В случае мутации гена p53 и, как следствие, отсутствия сдерживающего фактора клетки с повреждённым геномом продолжают активно размножаться, что приводит к опухолевому росту. При мутациях гена p53 хотя бы на одной хромосоме риск онкологии в юношеском возрасте достигает 95%.

Семейство белков p21 включает в себя три белка: p21, p27 и p57. Эти белки связывают и ингибируют комплексы: циклин D/ЦЗК4, циклин E/ЦЗК 2 и циклин A/ЦЗК 2.

Белок p16 является ингибитором ЦЗК и препятствует взаимодействию ЦЗК 4/6 с циклином D.

Белок pRb. Впервые был обнаружен в клетках опухоли (ретинобластомы) и первоначально рассматривался как маркер этой опухоли. Его роль в регуляции клеточного цикла описана выше (смотри раздел об активности комплексов циклин/ЦЗК. Утрата белком pRb способности связываться с транскрипционным фактором E2F может играть роль в развитии опухолей.

Литература

Белоусова, Е. А. Репликация ДНК эукариот : учеб. пособие / Е. А. Белоусова, Г. М. Дымшиц. - Новосибирск : РИЦ НГУ, 2024. - 102 с. - ISBN 978-5-4437-1398-4. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL :

<https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785443713984.html> (дата обращения: 16.05.2025). - Режим доступа : по подписке.

Биология. Кн. 1. Молекулярная цитология : учебник : в 8 кн. / под ред. Р. Р. Исламова. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 200 с. - ISBN 978-5-9704-6753-4. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970467534.html> (дата обращения: 13.05.2025). - Режим доступа : по подписке.

Биология : учебник / М. М. Азова, О. Б. Гигани, О. О. Гигани [и др.] / под ред. М. М. Азовой. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 712 с. - ISBN 978-5-9704-7313-9, DOI: 10.33029/9704-7313-9-BIO-2023-1-712. - Электронная версия доступна на сайте ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970473139.html> (дата обращения: 13.05.2025). - Режим доступа: по подписке. - Текст: электронный.

Кассимерис, Л. Клетки по Льюину / Л. Кассимерис и др. ; пер. 2-го англ. изд. - 5-е изд. - Москва : Лаборатория знаний, 2022. - 1059 с. Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10". - ISBN 978-5-00101-961-9. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785001019619.html> (дата обращения: 14.05.2025). - Режим доступа : по подписке.

Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К. -Г. Рём; пер. с англ. Т. П. Мосоловой. - 9-е изд. - Москва : Лаборатория знаний, 2023. - 514 с. Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10". - ISBN 978-5-93208-650-6. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785932086506.html> (дата обращения: 15.05.2025). - Режим доступа : по подписке.

Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т. 1 : Основы биохимии, строение и катализ / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. - 5-е изд. , перераб. и доп. - Москва : Лаборатория знаний, 2022. - 746 с. Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10". (Лучший зарубежный учебник) - ISBN 978-5-93208-607-0. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785932086070.html> (дата обращения: 14.05.2025). - Режим доступа : по подписке.

Северин, Е. С. Биохимия : учебник / Под ред. Северина Е. С. - 5-е изд. , испр. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 768 с. - ISBN 978-5-9704-2395-0. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970423950.html> (дата обращения: 14.05.2025). - Режим доступа : по подписке.