

Předmět:
KBB/BB1P; KBB/BUBIO

Buněčné dělení a jeho kontrola

Cíl přednášky: seznámit posluchače se základy buněčného dělení a kontroly buněčného cyklu

Klíčová slova: buněčný cyklus, mitóza, cytokineze, meióza, apoptóza

Obrázky v následující prezentaci jsou převzaty z níže uvedené knihy výlučně k výukovým účelům.

The illustrations in following lecture are taken from Alberts et al. *Molecular Biology of the Cell*, 5th Edition (Garland Science 2008) only and exclusively for the educational purposes.

Alberts • Johnson • Lewis • Raff • Roberts •
Walter
Molecular Biology of the Cell
Fifth Edition

Copyright © Garland Science 2008

Virchowova doktrína

- tam, kde vzniká buňka, tam předtím musela nějaká buňka existovat, stejně jako živočichové mohou vznikat jen z živočichů a rostliny pouze z rostlin
- všechny živé organismy od bakterií po savce vznikly díky opakovanému buněčnému **dělení** a **růstu**, nepřetržitě pokračujícím více než 3 miliardy let
- u bakterií vzniká buněčným dělením celá nová bakterie, u mnohobuněčných organismů umožňuje buněčné dělení vývin organismu z jednobuněčného zárodku do dospělé podoby, ale i u dospělých mnohobuněčných organismů se některé buňky dělí – např. u lidí buňky střevního epitelu (jednou za 12 hodin) nebo jaterní buňky (jednou za rok)

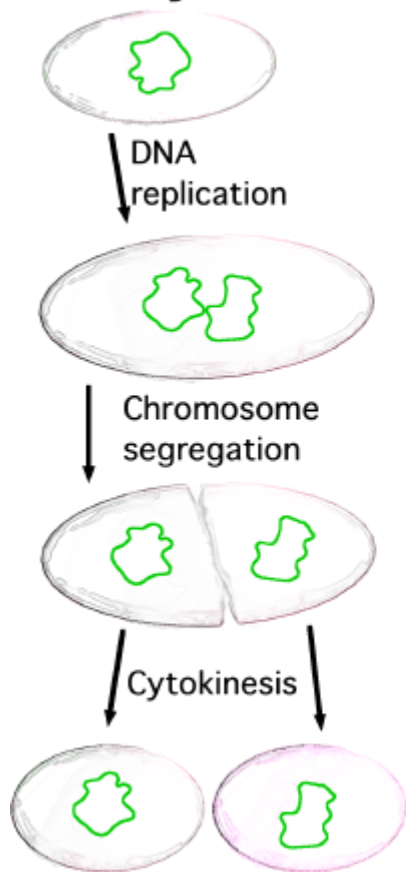
Buněčný cyklus

- základní úkol buněčného cyklu je **zkopírování genetické informace** buňky a její **přenesení na další generaci** buněk
- čili **DNA** v každém chromozomu musí být věrně **zreplikována** a zreplikované **chromozomy** musí být **přesně rozděleny** mezi dceřiné buňky
- nejjednodušší a nejrychlejší je buněčné dělení u bakterií, např. u *Escherichia coli* (obsahuje jediný chromozom, po replikaci dva), jejíž buněčný cyklus může trvat i pouhých 20 minut: buňka roste, oba chromozomy se od sebe vzdalují a v příhodný čas se nová plazmatická membrána dostane mezi ně a vytvoří dvě nové buňky

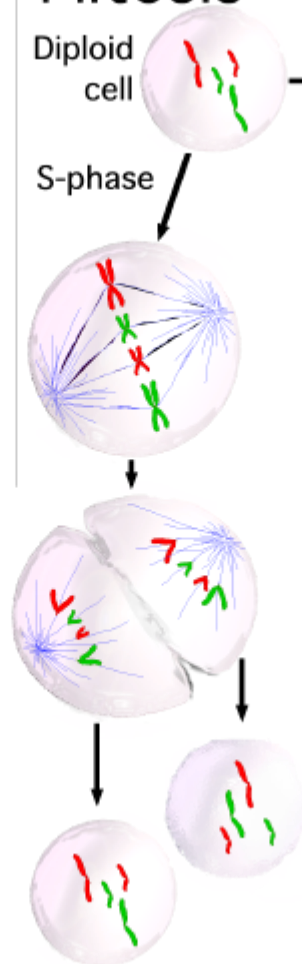
Tři typy buněčného dělení

- právě popsané dělení bakterií se nazývá **binární dělení**
- typická eukaryotní buňka se dělí **mitózou**, kdy z diploidní buňky vzniká diploidní buňka. Nejprve dojde k replikaci chromozomů, potom k dělení jader (**mitóza, karyokineze**) a nakonec k dělení cytoplazmy a vzniku dvou buněk (**cytokineze**)
- typický eukaryotní buněčný cyklus se skládá z **interfáze (G_1 -fáze, S-fáze, G_2 -fáze)**, kdy se buňka nedělí, a ze samotného **dělení (M-fáze)**
- při vzniku pohlavních buněk dochází k tzv. **meióze**, kdy z diploidní buňky vzniká buňka haploidní během dvou po sobě následujících buněčných dělení

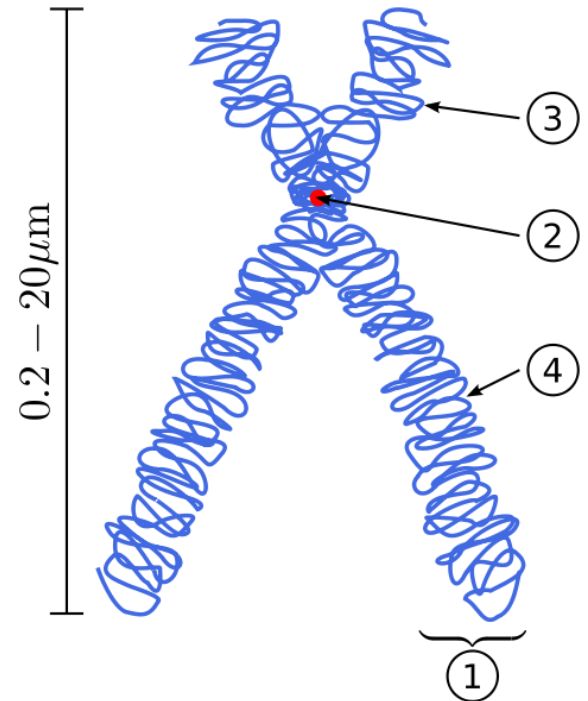
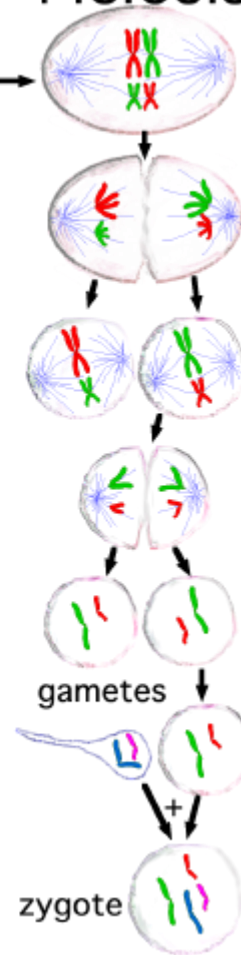
Binary fission



Mitosis



Meiosis

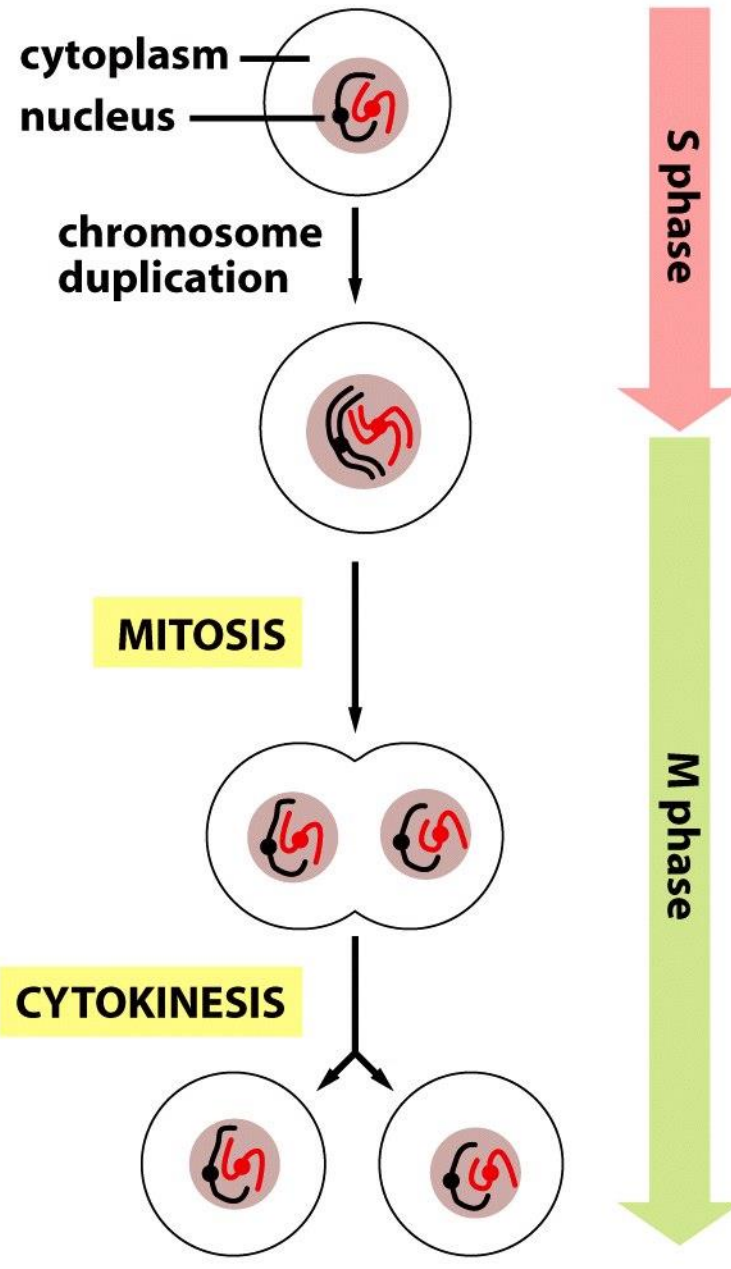


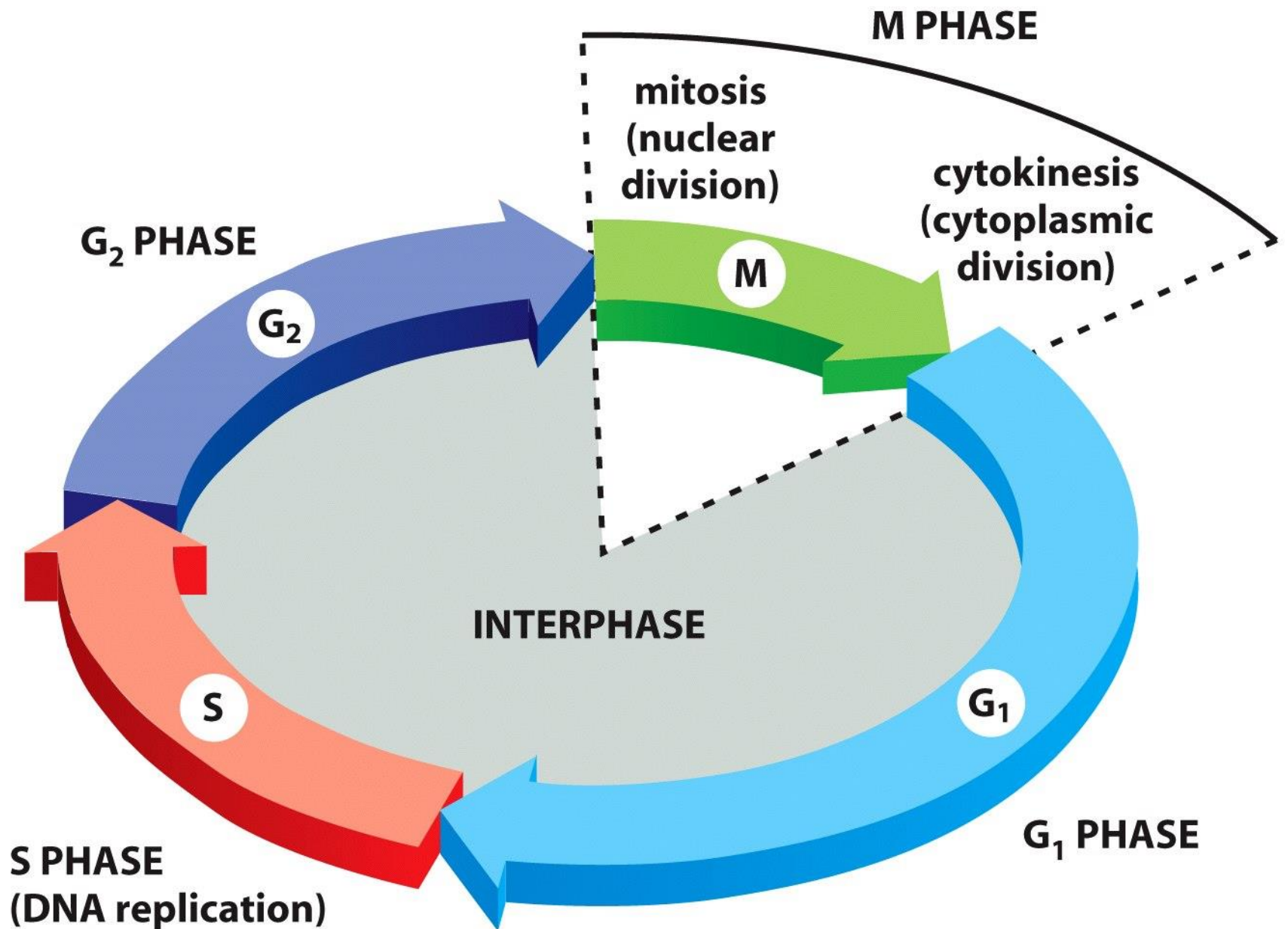
- 1 – chromatida
- 2 – centromera
- 3 – krátké rameno
- 4 – dlouhé rameno

Wikipedie

Fáze typického buněčného cyklu

- u typické savčí buňky trvá celá **M-fáze** asi **jednu hodinu** (což je malá část celé délky cyklu) – známkou přechodu buňky do M-fáze je **kondenzace chromosomů**
- mezi dvěma M-fázemi je interfáze. Během **S-fáze** (**S = syntéza**) buňka replikuje jadernou DNA, během **G₁-fáze** (**G = gap = mezera**) a **G₂-fáze**, mezi nimiž se nachází S-fáze, buňka roste a duplikuje své cytoplazmatické organely
- kdyby interfáze trvala kratší dobu, buňka by neměla příležitost zdvojnásobit svou hmotnost a s každým dělením by se buňky zmenšovaly (k tomu dochází někdy hned po oplození vajíčka, kdy z velkého vajíčka vzniká velmi rychle mnoho malých buněk)

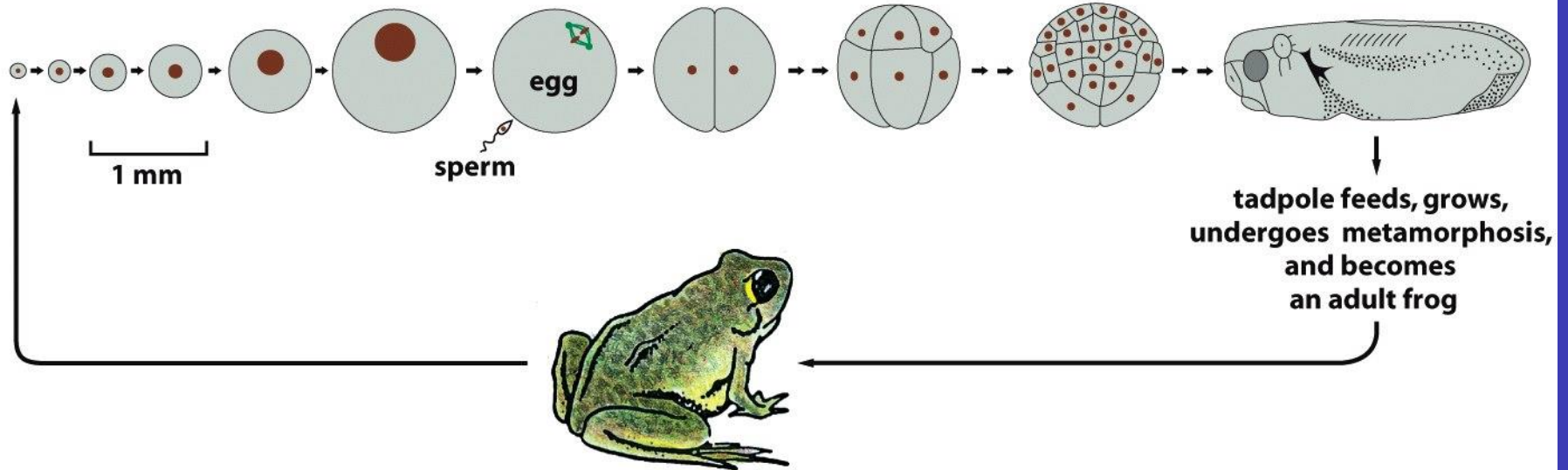




**oocyte grows without dividing
(months)**

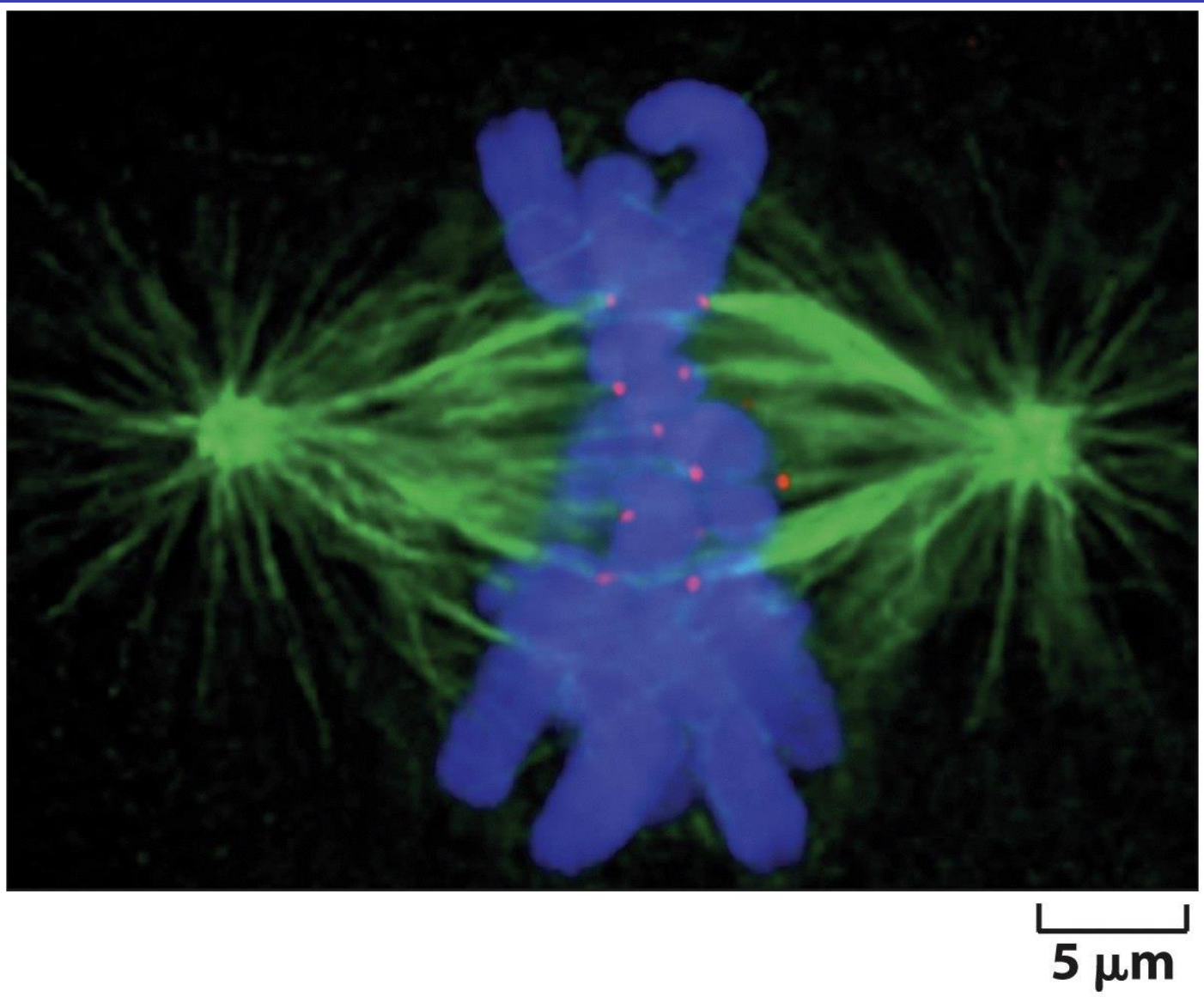
FERTILIZATION

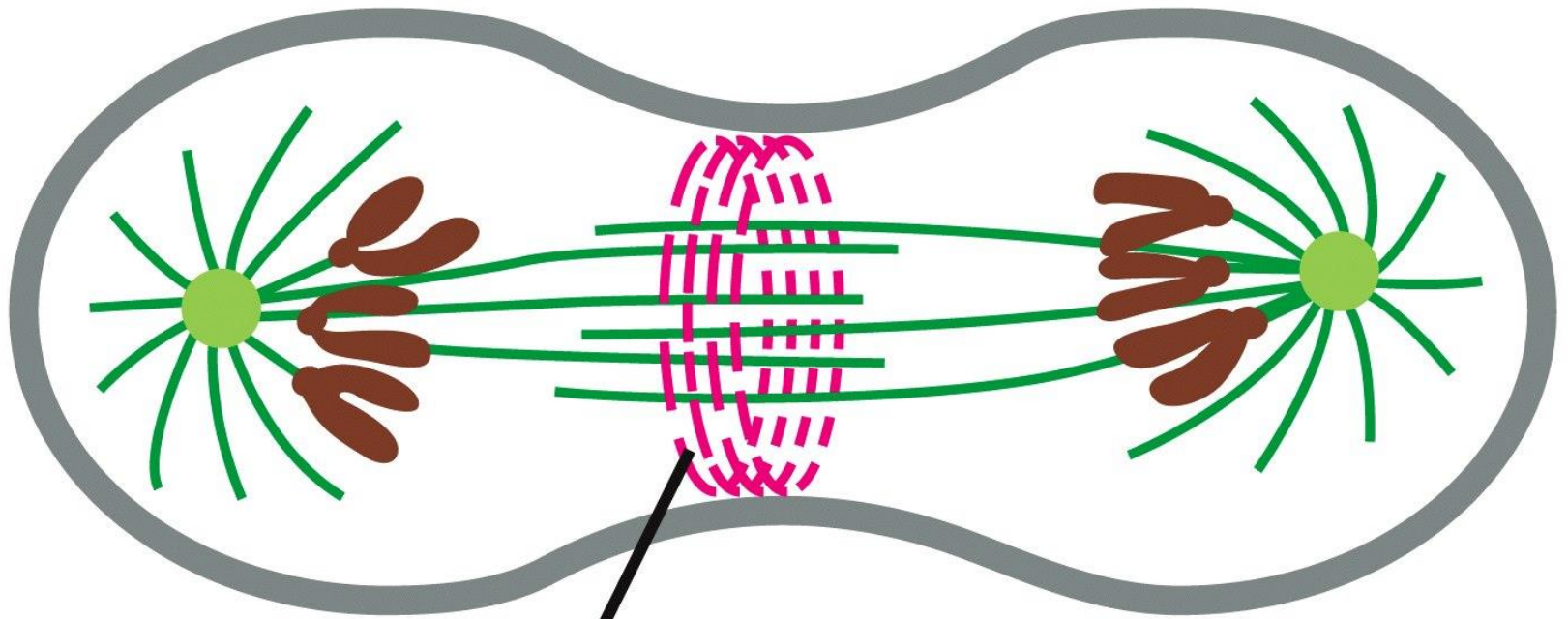
**fertilized egg divides without growing
(hours)**



Úloha cytoskeletu v mitóze

- aby vznikly dvě geneticky identické dceřiné buňky, musí buňka od sebe **naprosto přesně oddělit zreplikované chromozomy** a do každého dceřiného jádra umístit právě jednu kopii každého chromosomu
- za správné rozdělení chromozomů je zodpovědné tzv. **mitotické vřeténko**, které je tvořeno převážně mikrotubuly a které se začíná tvořit už v pozdní G2-fázi a především v profáze (vřeténko lze najít u rostlin, živočichů i kvasinek)
- v M-fázi u živočišných buněk vzniká ještě **kontraktilní prstenec** skládající se z aktinových a myosinových vláken, který táhne plasmatickou membránu dovnitř, až se buňka rozdělí





**actin and myosin filaments of the
contractile ring**

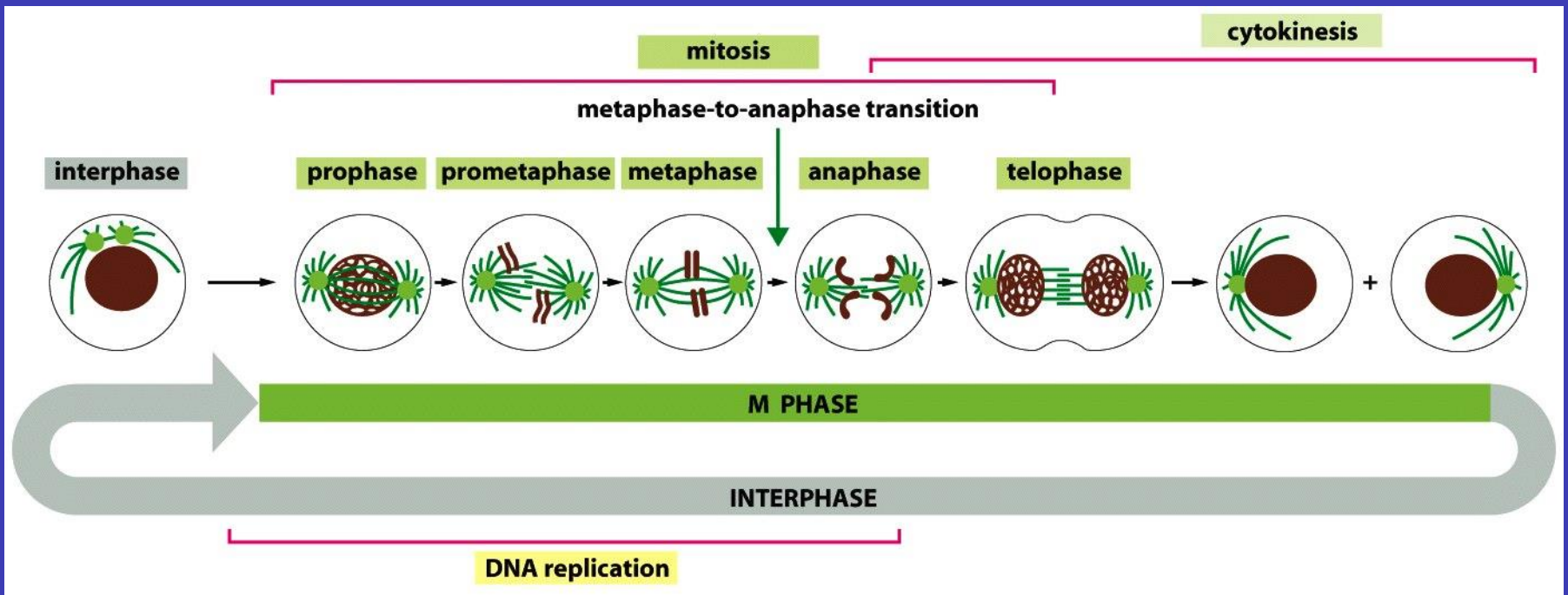
Některé organely se v mitóze dělí

- dceřiné buňky kromě DNA **potřebují zdědit také organely**, aby mohly po rozdělení normálně žít a fungovat
- **mitochondrií** a **chloroplastů** je v buňce obvykle **hodně**, během buněčného cyklu se jejich **počet zdvojnásobí** a **rozdělí** do obou dceřiných buněk
- v případě ostatních organel, jako je **Golgiho aparát** nebo **endoplazmatické retikulum**, dojde během mitózy k **rozpadu na menší fragmenty**, které přecházejí do dceřiných buněk. Fragmentace organel zvyšuje šanci, že budou rovnoměrně rozmístěny po celé dělící se buňce a **přejdou** rovnoměrně **do buněk dceřiných**, kde se **složí** a **dosyntetizují** do plně vyvinutých organel

Fáze mitózy

- před začátkem mitózy je každý **chromozom zreplikován** a je tvořen **2 identickými (sesterskými) chromatidami**
- na začátku mitózy, v **profázi**, dochází ke kondenzaci chromozomů a ke vzniku mitotického vřeténka
- dále v **prometafázi** se rozpadá jaderný obal, což umožňuje navázání chromozomů na vřeténko
- v **metafázi** se všechny chromozomy shromáždí v centru mitotického vřeténka (v ekvatoriální rovině)
- během **anafáze** se obě sesterské chromatidy od sebe oddělují a jsou taženy (mitotickým vřeténkem) k opačným pólům buňky

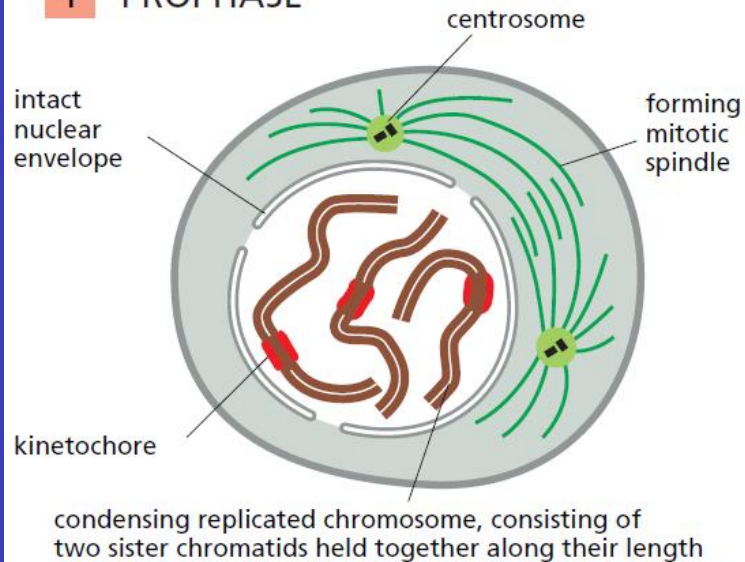
- a nakonec, v **telofázi** se vytváří jaderný obal kolem obou novovznikajících jader



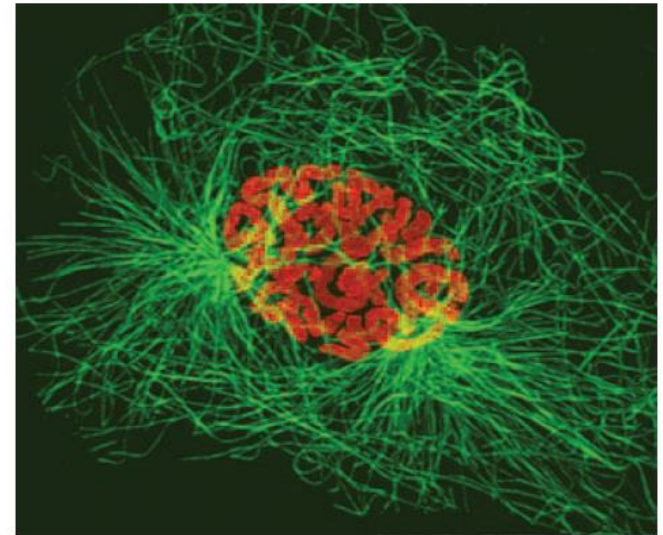
Profáze

- ke konci S-fáze buňka **duplikuje** svůj **centrozom** a u jednoho pólu jádra můžeme najít posléze dva centrozomy
- na začátku profáze se **centrozomy** od sebe **oddělují k opačným pólům buňky**. Každý centrosom organizuje svůj vlastní svazek mikrotubulů – oba svazky pak spolu interagují a tvoří **mitotické vřeténko**
- mikrotubuly ve vřeténku jsou tzv. **polární mikrotubuly** a centrozomy vytvářejí **póly vřeténka**
- **zvyšuje** se dynamická **nestabilita mikrotubulů** – změny mezi polymerací a depolymerací jsou přibližně 20x větší než u interfázních mikrotubulů

1 PROPHASE

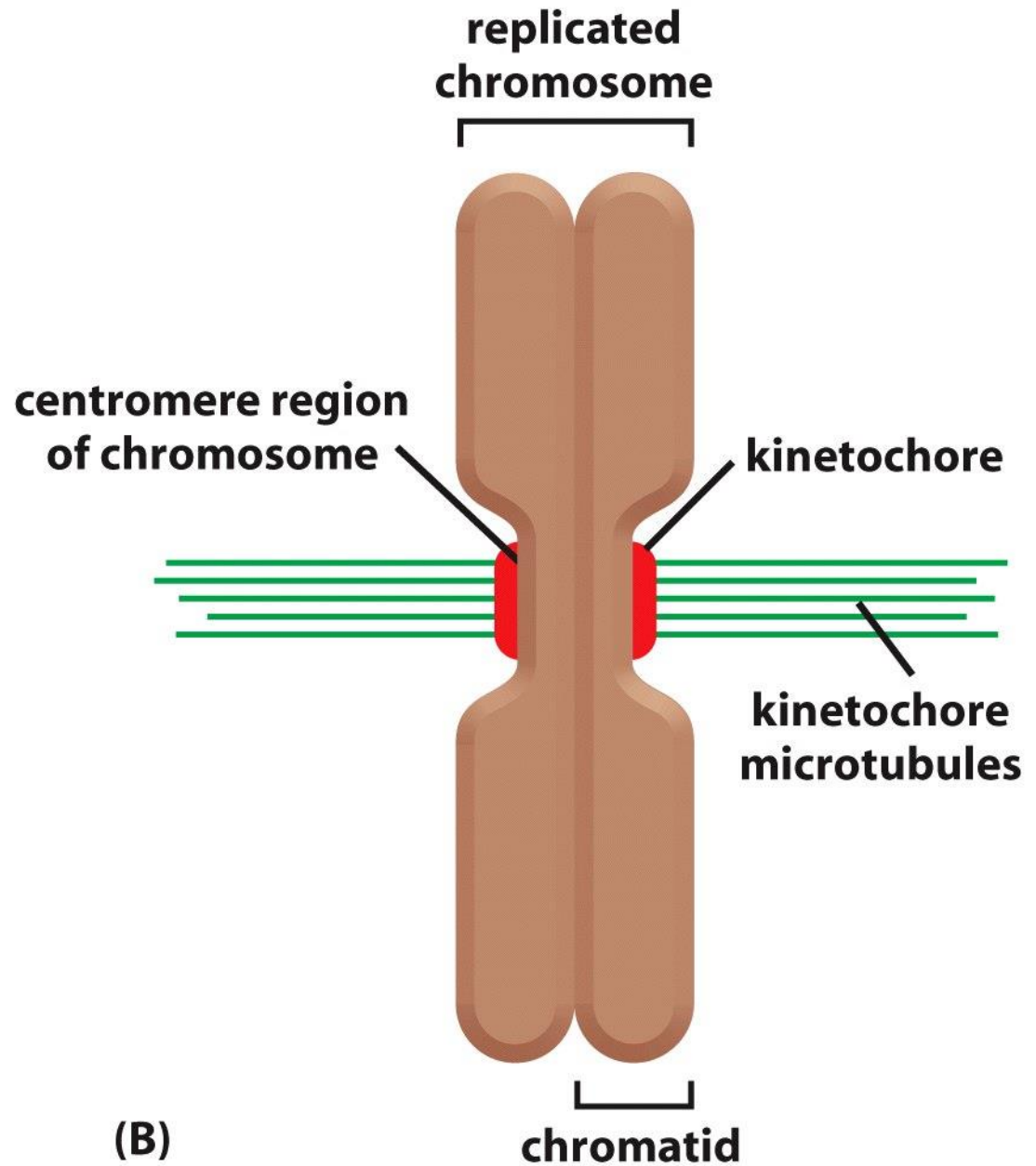
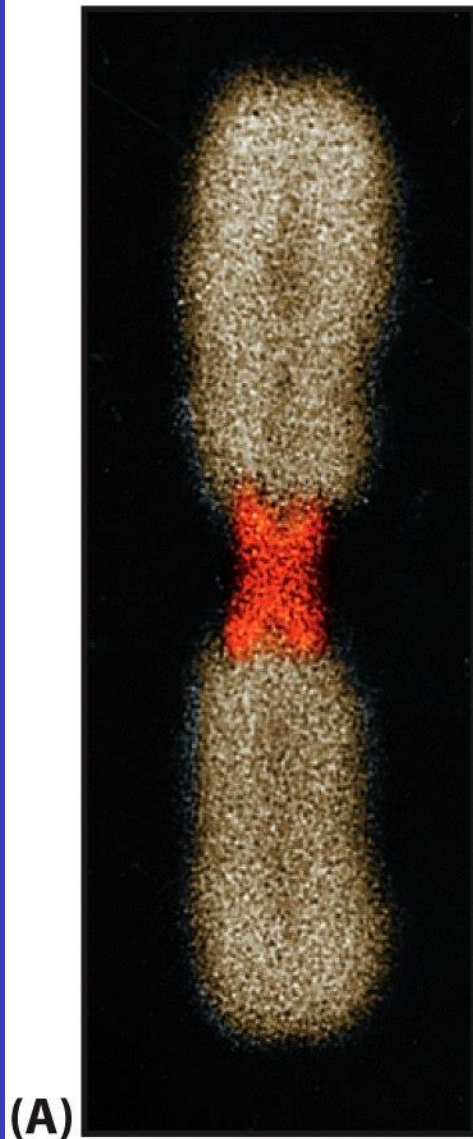


At **prophase**, the replicated chromosomes, each consisting of two closely associated sister chromatids, condense. Outside the nucleus, the mitotic spindle assembles between the two centrosomes, which have replicated and moved apart. For simplicity, only three chromosomes are shown. In diploid cells, there would be two copies of each chromosome present. In the photomicrograph, chromosomes are stained *orange* and microtubules are *green*.

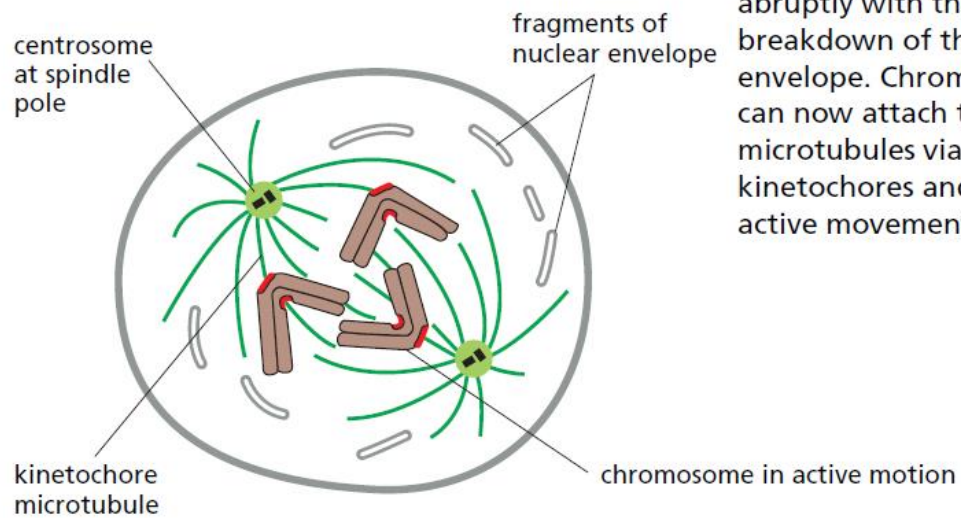


Prometafáze

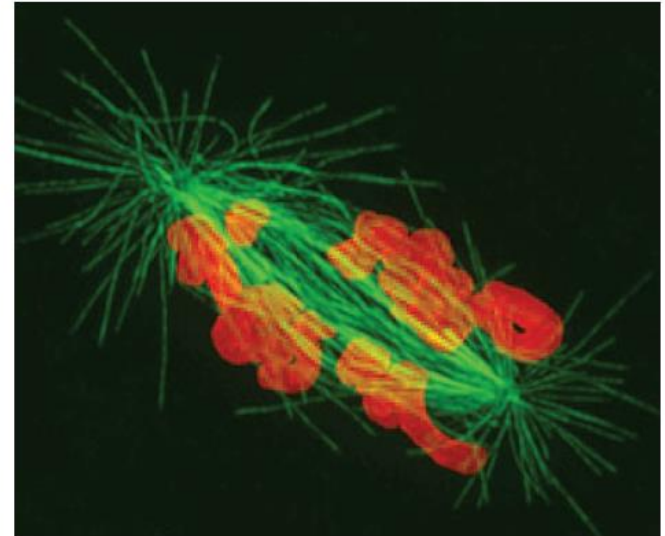
- prometafáze začíná v okamžiku **rozpadu jaderného obalu** na malé membránové váčky. Tento proces je spouštěn rozpadem sítě, tvořené středními filamenty pod jadernou membránou, tzv. **jaderné laminy**
- chromozomy jsou nyní otevřeny mikrotubulům z vřeténka, a ty se na ně vážou pomocí proteinových komplexů, zvaných **kinetochory**, které jsou umístěny v zaškrbené části sesterských chromatid, označované jako **centromera**
- mikrotubuly, navázané v oblasti centromery na chromatidy z opačných stran od obou pólů vřeténka, se nazývají **kinetochorové mikrotubuly**



2 PROMETAPHASE



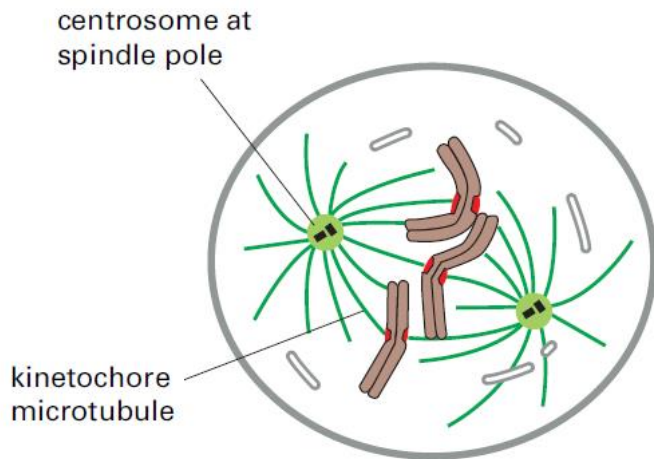
Prometaphase starts abruptly with the breakdown of the nuclear envelope. Chromosomes can now attach to spindle microtubules via their kinetochores and undergo active movement.



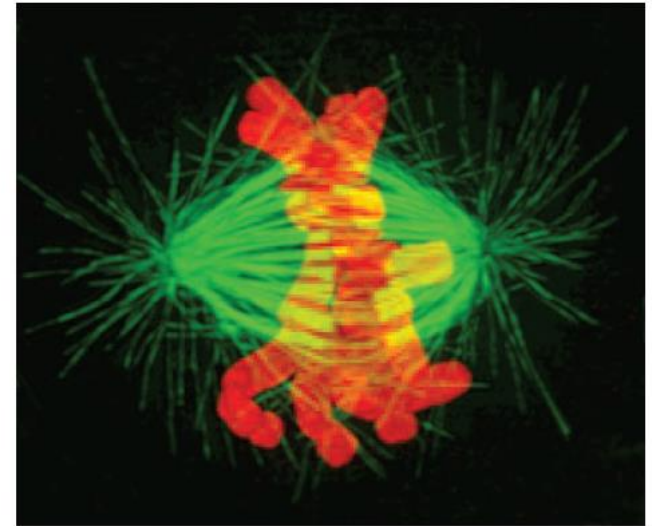
Metafáze

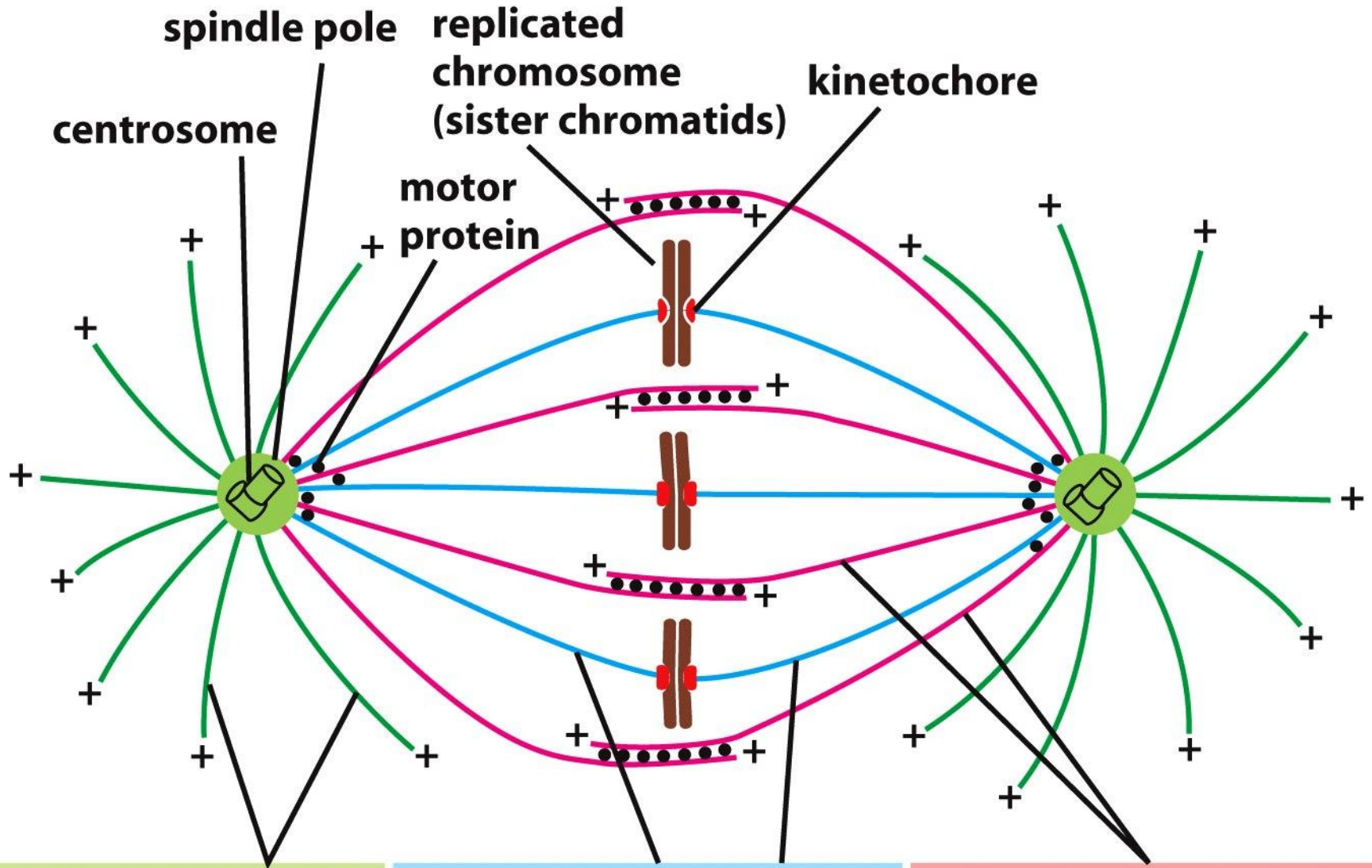
- během metafáze se chromozomy uspořádají v poloviční vzdálenosti mezi oběma póly vřeténka v tzv. **ekvatoriální rovině** a vytvoří tak **metafázovou destičku**

3 METAPHASE



At **metaphase**, the chromosomes are aligned at the equator of the spindle, midway between the spindle poles. The kinetochore microtubules attach sister chromatids to opposite poles of the spindle.





astral microtubules

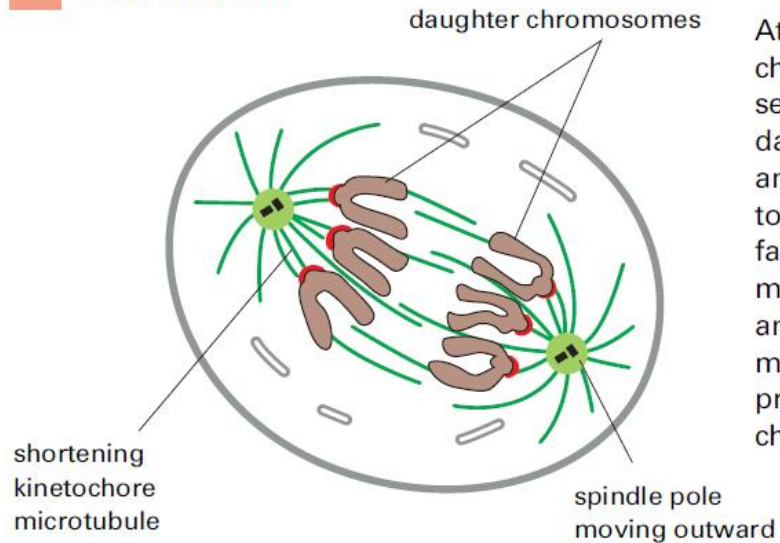
kinetochore microtubules

interpolar microtubules

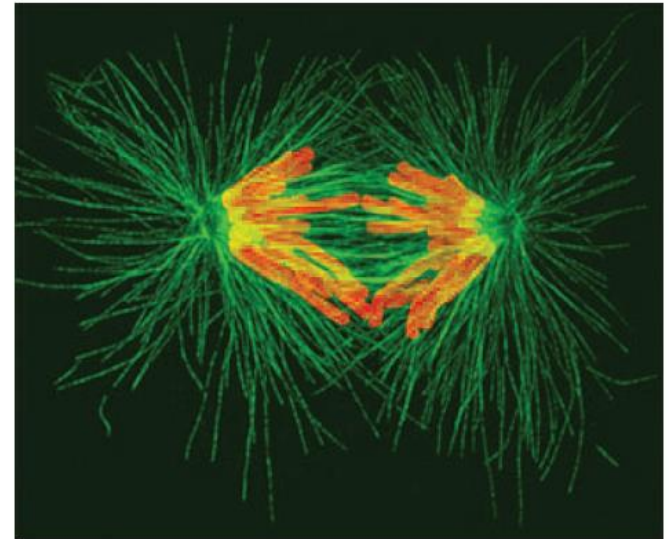
Anafáze

- v anafázi je **spojení mezi sesterskými chromatidami přerušeno** proteolytickými enzymy, což umožňuje každé osamocené chromatidě (tzv. **dceřiný chromozom**) putovat k tomu pólu vřeténka, k němuž je připojena – **segregace chromozomů**
- to je umožněno dvěma současně probíhajícími procesy:
 - 1. anafází A** – proces, při kterém se kinetochorové mikrotubuly zkracují depolymerizací
 - 2. anafází B** – samotné póly vřeténka se pohybují od sebe
- segregace tak rozděluje chromozomy do **dvou identických sad** na opačných pólech vřeténka

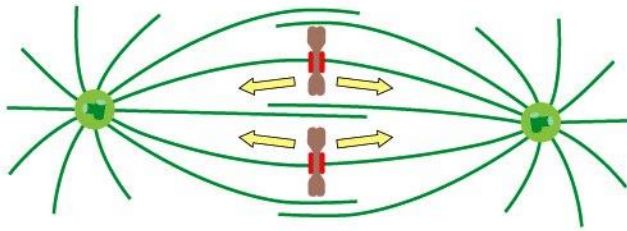
4 ANAPHASE



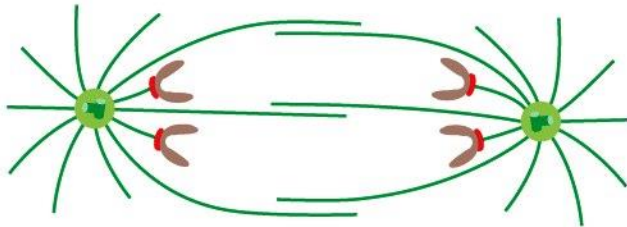
At **anaphase**, the sister chromatids synchronously separate to form two daughter chromosomes, and each is pulled slowly toward the spindle pole it faces. The kinetochore microtubules get shorter, and the spindle poles also move apart; both processes contribute to chromosome segregation.



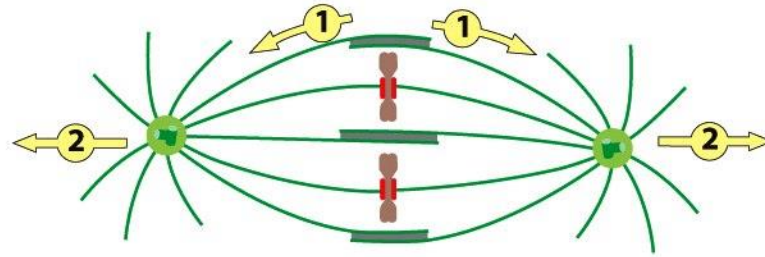
ANAPHASE A



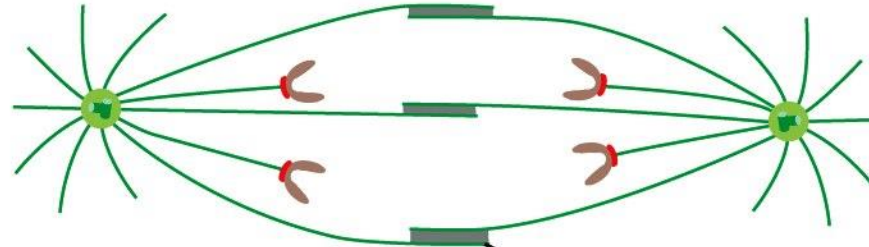
shortening of kinetochore microtubules; movement of daughter chromosomes to poles; forces generated mainly at kinetochores



ANAPHASE B



(1) a sliding force is generated between interpolar microtubules from opposite poles to push the poles apart; the interpolar microtubules also elongate;
(2) a pulling force acts directly on the poles to move them apart

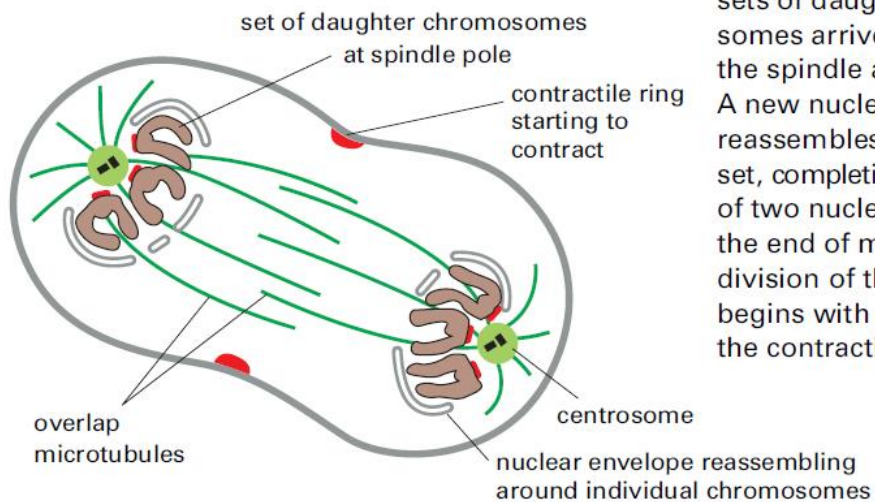


microtubule growth at plus end of polar microtubules

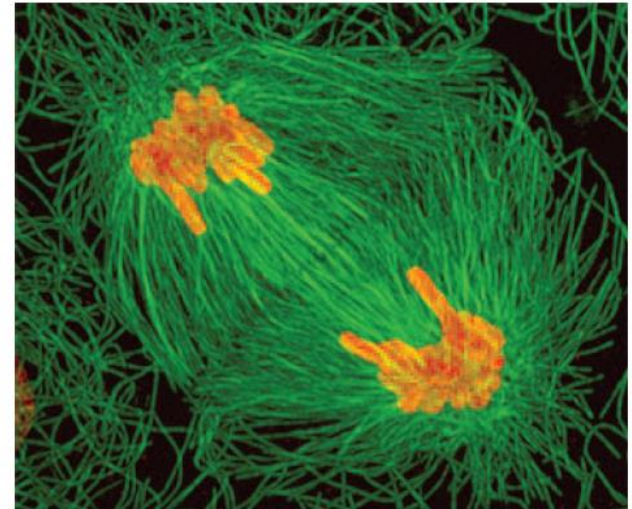
Telofáze

- po vytvoření dvou stejných skupin chromozomů na opačných pólech vřeténka se kolem nich **vytvoří** opět **jaderná membrána** – proces charakterizující telofázi
- jaderná membrána vzniká shlukováním a následnou **fúzí membránového materiálu**, dochází k tvorbě jaderné laminy a k vytvoření jaderných pórů
- jakmile je obnoven jaderný obal, **mitotické chromozomy dekondenzují**, díky čemu může být obnovena transkripce genů – bylo vytvořeno nové jádro a mitóza je dokončena

5 TELOPHASE

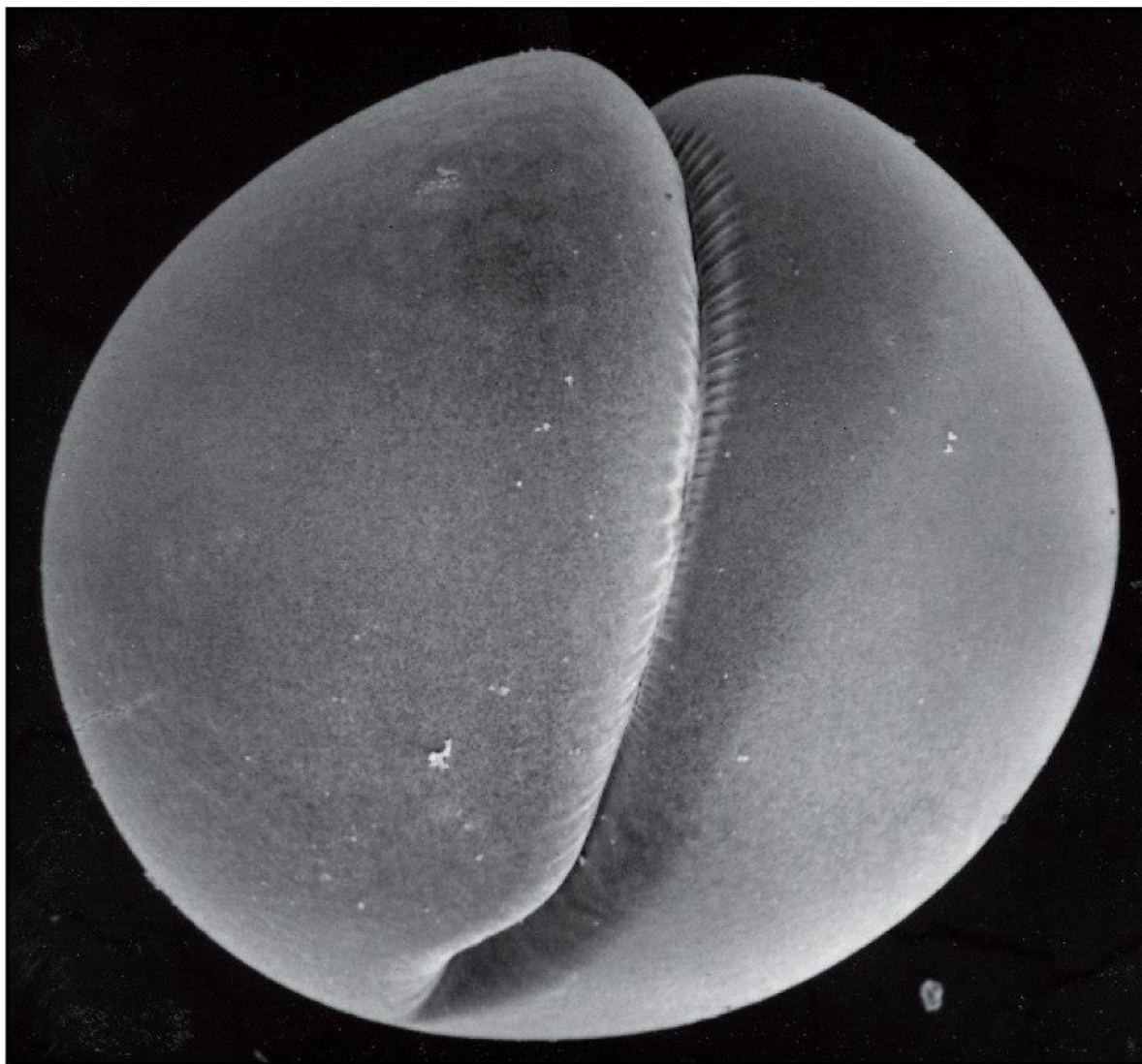


During **telophase**, the two sets of daughter chromosomes arrive at the poles of the spindle and decondense. A new nuclear envelope reassembles around each set, completing the formation of two nuclei and marking the end of mitosis. The division of the cytoplasm begins with contraction of the contractile ring.



Cytokineze

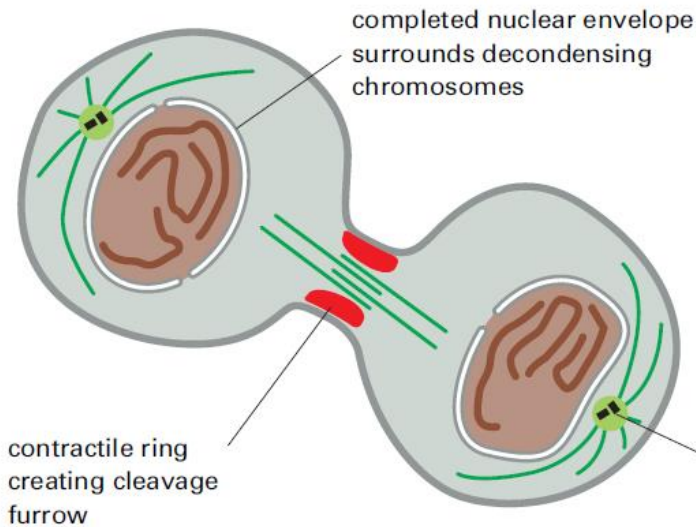
- jednou z prvních známek cytokineze u živočišných buněk je sraštění membrány a **vytvoření rýhy** během anafáze. Vytváří se žlábek **kolmý k podélné ose mitotického vřeténka**, což zajišťuje, aby obě **nová jádra** byla **na opačné straně** žlábku
- je-li, jako obvykle, mitotické vřeténko umístěno přesně uprostřed dělící se buňky, obě dceřiné buňky jsou stejně velké. Někdy je však vřeténko umístěno asymetricky, vznikají tak buňky lišící se velikostí a často také molekulami které obsahují (obvykle se pak vyvíjejí v různé buněčné typy)



200 μm

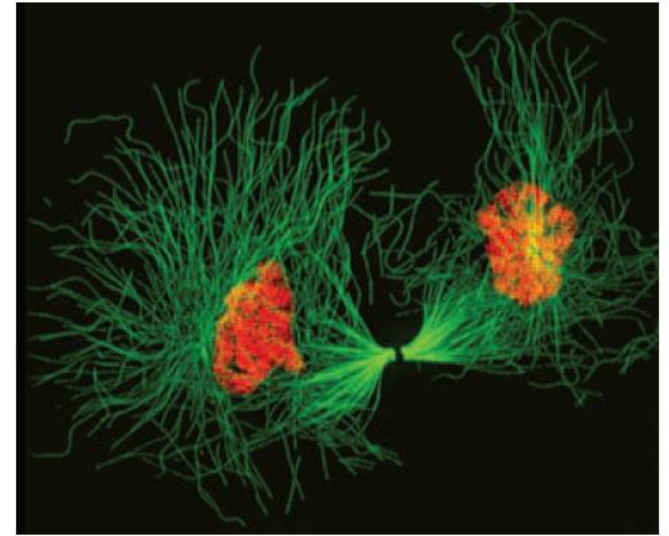
- u živočišné buňky probíhá cytokineze pomocí **kontraktilního prstence** a za velkých změn tvaru dělí se buňky. Novovznikající buňky jsou postupně odškrcovány **od okraje ke středu – centripetální dělení**

6 CYTOKINESIS



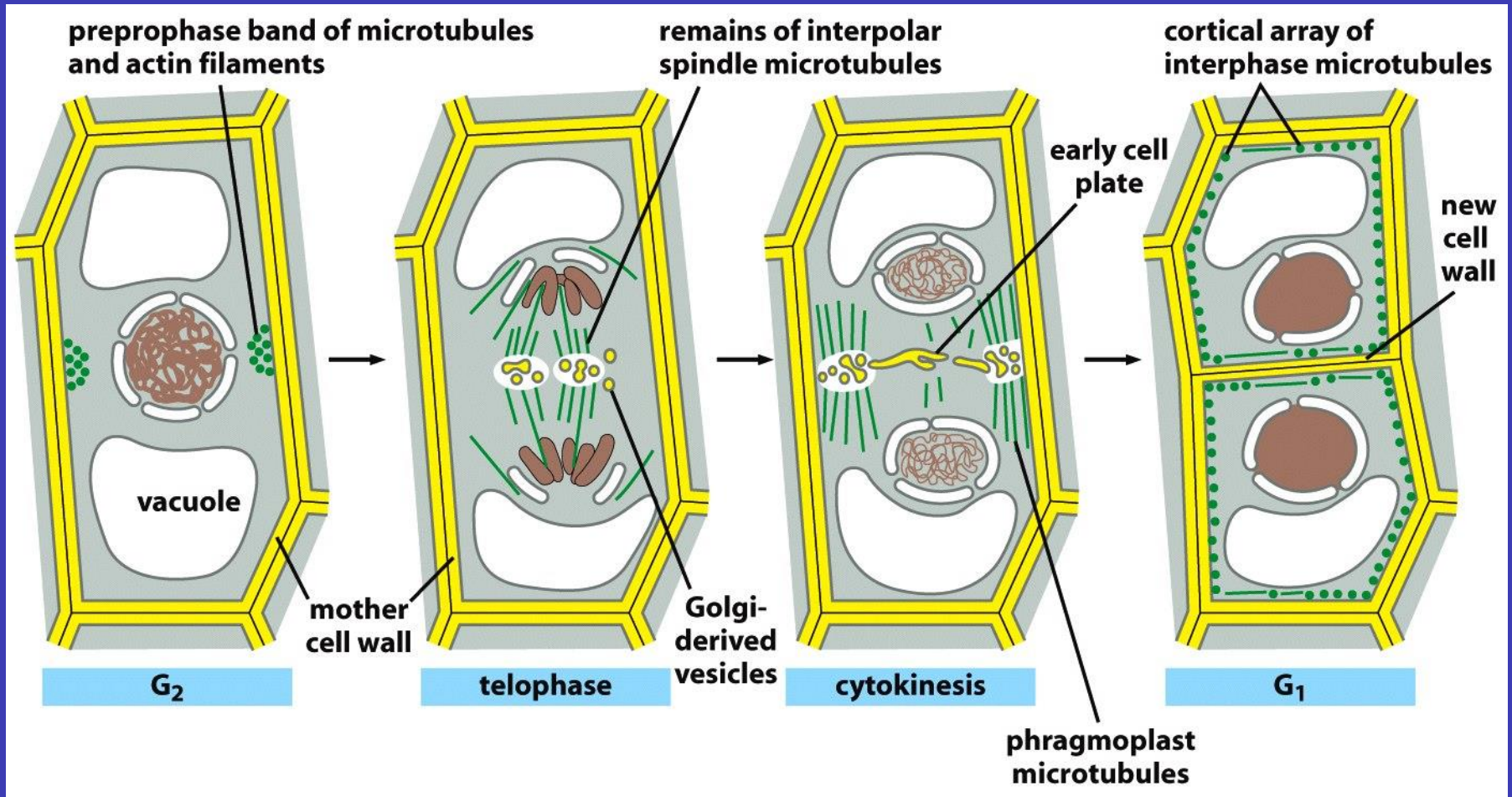
During **cytokinesis**, the cytoplasm is divided in two by a contractile ring of actin and myosin filaments, which pinches the cell in two to create two daughters, each with one nucleus.

re-formation of interphase array of microtubules nucleated by the centrosome



(Micrographs courtesy of Julie Canman and Ted Salmon.)

- u rostlin je tomu zcela jinak, zásadní problém který řeší dělící se rostlinná buňka je **syntéza nové buněčné stěny**
- nová buněčná stěna se začíná vytvářet **v cytoplazmě mezi oběma sadami segregovaných chromozomů** na začátku telofáze v oblasti označované **fragmoplast**
- rostoucí buněčná stěna je **obklopena membránou** a s tím jak roste, rozděluje cytoplazmu buňky na dvě části
- novovznikající přepážka roste směrem **od středu buňky k jejím okrajům**, dokud se nespojí s původní buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou, a nerozdělí tak buňku na dvě – **centrifugální dělení**



Meioza

- buňky našeho těla jsou **diploidní**, tj. obsahují **dvě sady chromozomů** – jednu od matky, druhou od otce. Obě verze jednoho chromozomu nejsou ovšem identické (není identický genom matky a otce), nýbrž jen podobné a proto je označujeme jako **homologní**
- spermie a vajíčka jsou ovšem **haploidní** (mají jenom **jednu sadu chromozomů**) a vznikají buněčným dělením, při němž se snižuje počet chromosomů přesně na polovinu, tzv. **meiózou**
- během meiózy dochází ke **dvěma buněčným dělením**, z nichž to první je spojené s **párováním a křížením se homologních chromozomů** (variace genetické informace)

První meiotické dělení

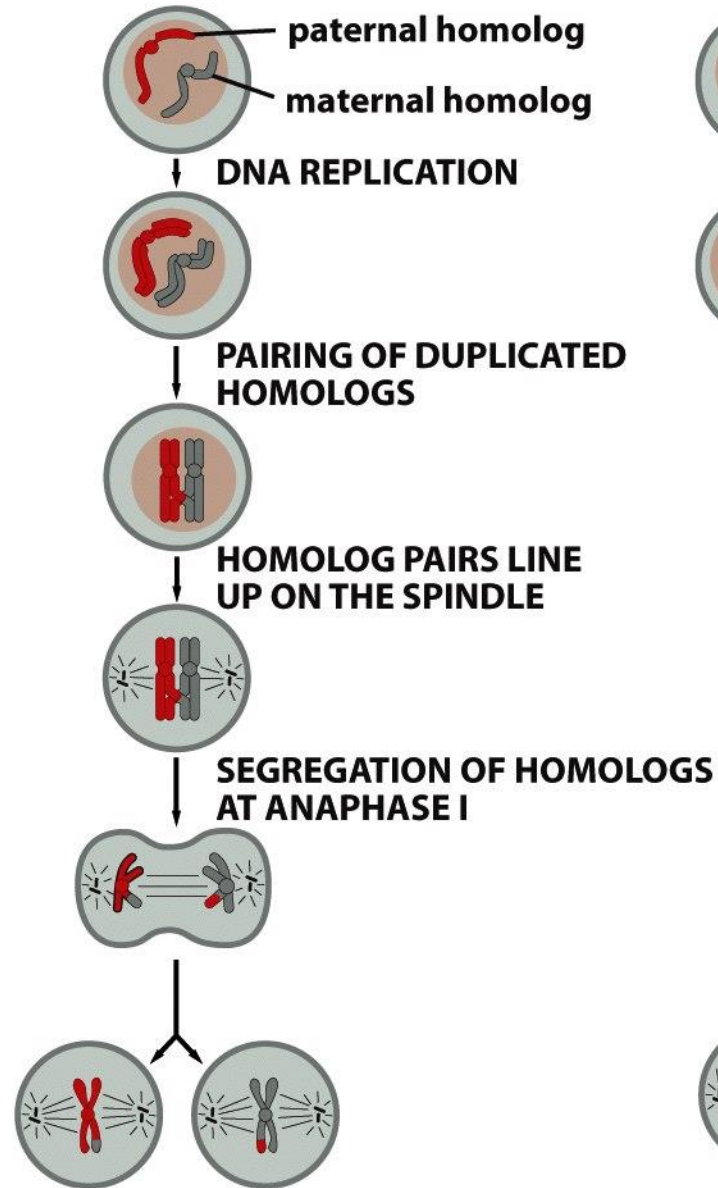
- dojde k **replikaci chromozomů** za vzniku **sesterských chromatid**. Před rozpadem jaderného obalu a před uspořádáním chromozomů do metafázní destičky se každý zreplikovaný chromozom **páruje se svým homologem** za vzniku struktury, nazývané **bivalent**, která obsahuje **čtyři chromatidy** – tato první profáze meiózy může **trvat řadu let**
- v bivalentu dochází k tzv. **crossing-overu** čili překřížení a k **výměně částí DNA mezi homologními chromozomy**
- zbytek prvního meiotického dělení probíhá stejně jako normální mitotické dělení. Výsledkem jsou dvě buňky, ale DNA každé pochází pouze **z jednoho ze dvou homologních chromozomů** (až na kousky vyměněné při křížení)

MEIOTIC S PHASE

MEIOSIS I

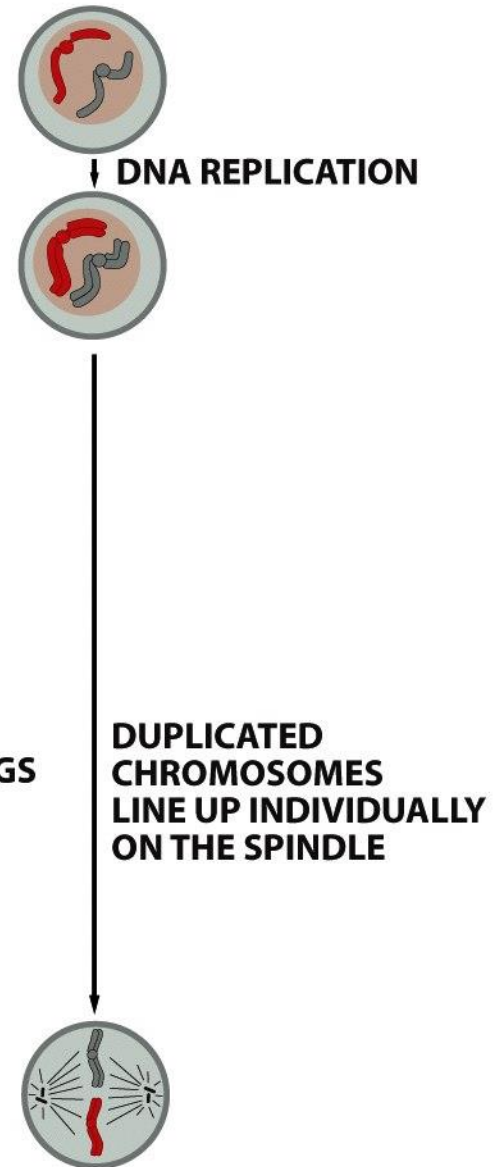
(A)

MEIOSIS



(B)

MITOSIS



**replicated
paternal
chromosome 1**

**replicated
maternal
chromosome 1**

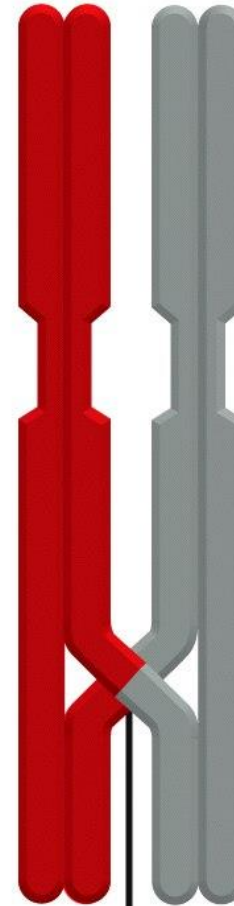


centromere

**sister
chromatids**

(A)

bivalent



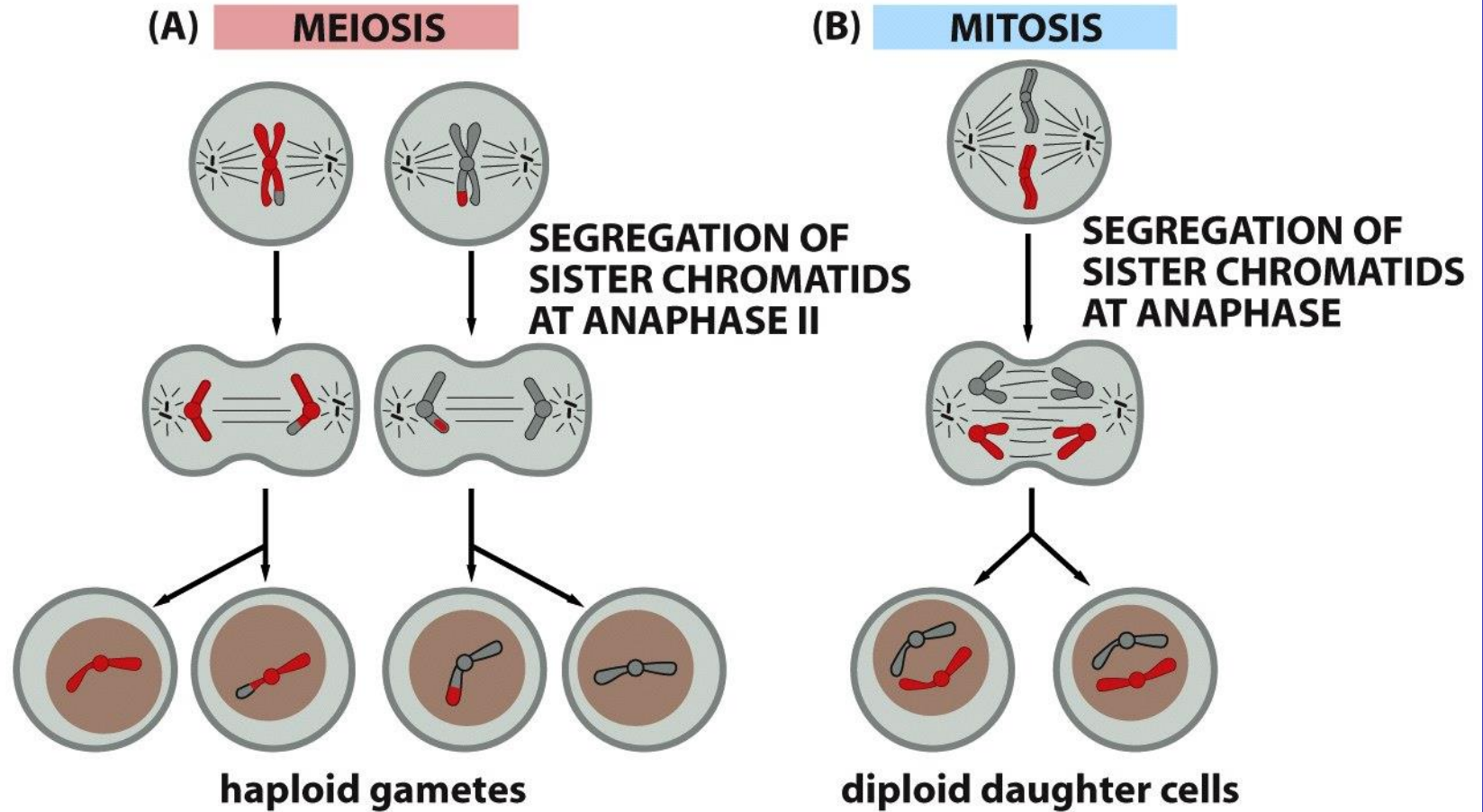
(B)

chiasma

Druhé meiotické dělení

- zde **nedochází k replikaci DNA ani k delší interfázi**
- vzniká vřeténko, chromozomy se uspořádají v jeho ekvatoriální rovině, sesterské chromatidy se rozejdou jako při běžné mitóze a vznikají dvě haploidní buňky (z každé **původní diploidní buňky** tedy vznikají **4 haploidní buňky**)
- někdy se během meiózy nepodaří oddělit od sebe homology, tento jev se nazývá **nondisjunkce** – v tomto případě některé haploidní buňky postrádají chromozom, který v jiných naopak přebývá. Takové gamety dávají vznik abnormálním embryím, z nichž většina umírá (některé ale přesto přežívají, např. **Downův syndrom** je způsoben přítomností nadbytečné kopie chromosomu 21)

MEIOSIS II



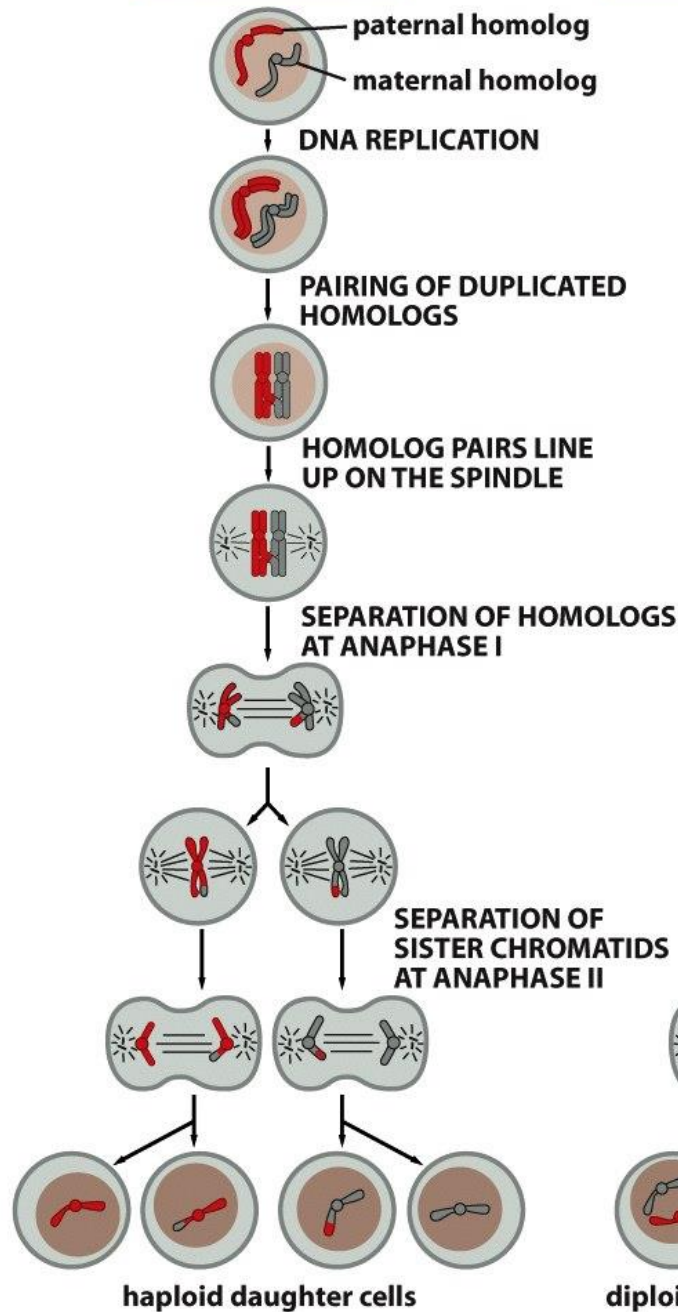
MEIOTIC S PHASE

MEIOSIS I

MEIOSIS II

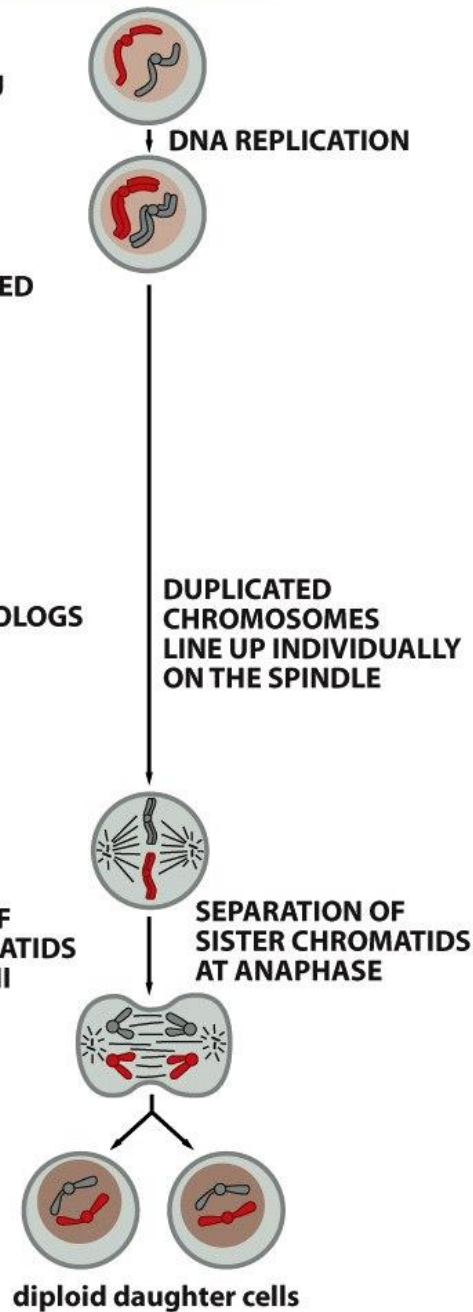
(A)

MEIOSIS



(B)

MITOSIS



Kontrola buněčného cyklu

- regulační systém buněčného cyklu nesmí připustit, aby **cyklus přešel do další fáze bez řádného dokončení té předchozí** (např. nejprve se musí DNA replikovat, a až potom se může jádro dělit na dvě, nebo na to aby mohla proběhnout cytokineze musí jí předcházet rozdělení jader), čehož dosahuje pomocí tzv. **kontrolních bodů** (*checkpoints*)
- je to např. kontrolní body pro buněčnou velikost **v G_1 -fázi** (cyklus „čeká“ než buňka doroste) nebo **v G_2 -fázi** (umožňuje buňce zastavit cyklus před vstupem do mitózy)
- za regulaci buněčného cyklu v buňce odpovídají tzv. **cykliny**, které dokáží aktivovat tzv. **cyklin-dependentní proteinkinázy (Cdk)**, které následně fosforylují jiné proteiny

Is all DNA replicated?

Is environment favorable?

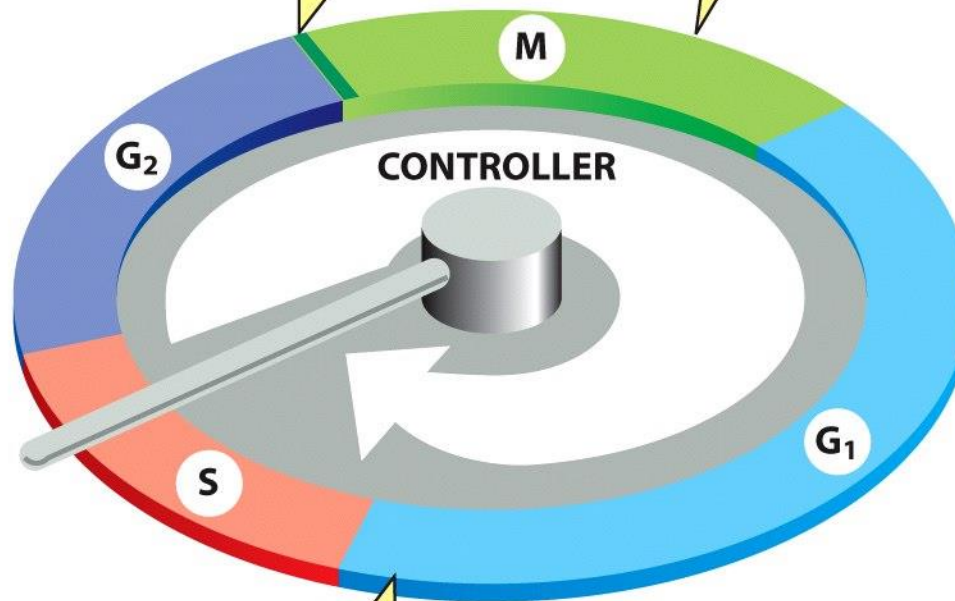
G₂/M CHECKPOINT

ENTER MITOSIS

Are all chromosomes
attached to the spindle?

**METAPHASE-TO-ANAPHASE
TRANSITION**

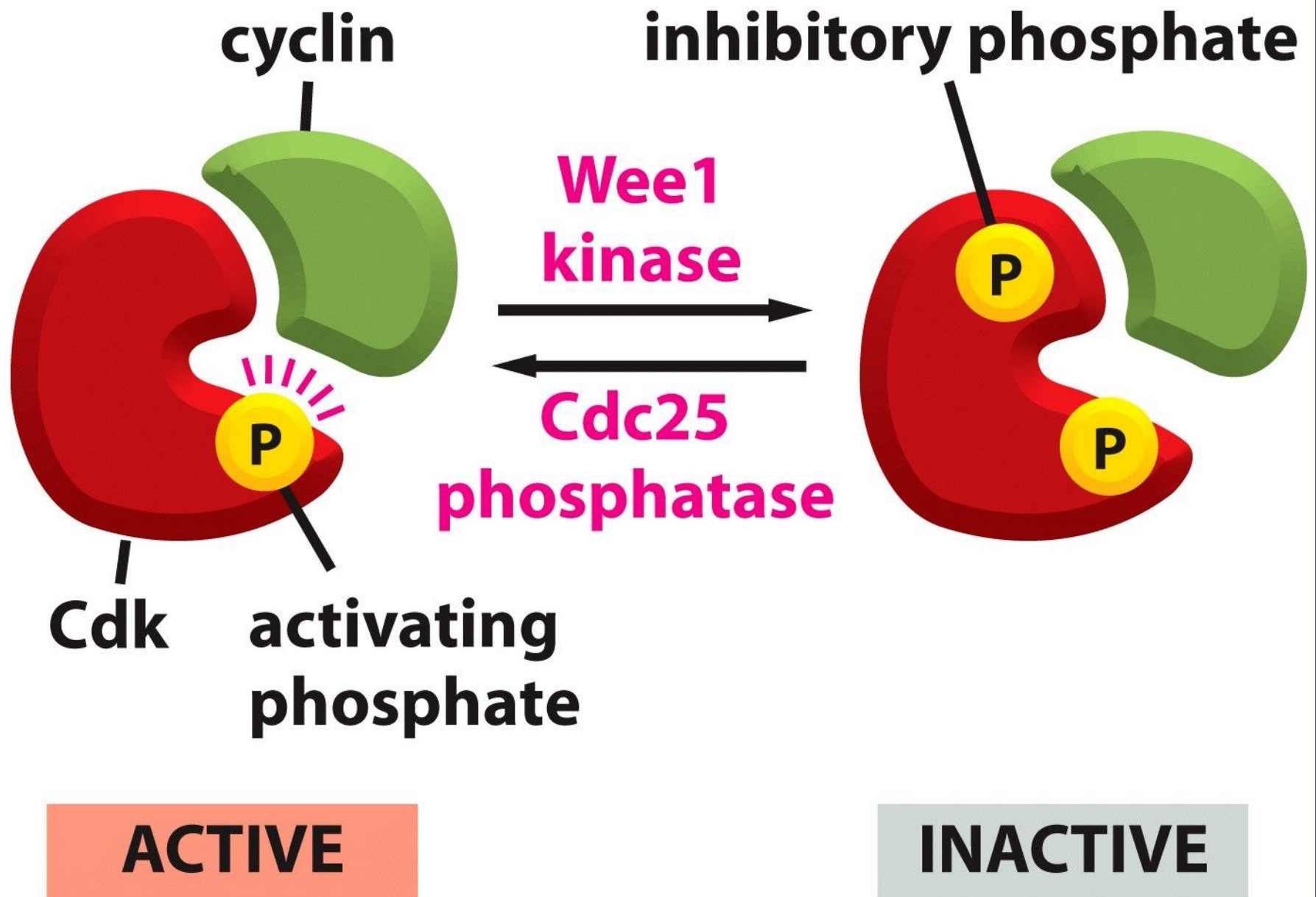
TRIGGER ANAPHASE AND
PROCEED TO CYTOKINESIS



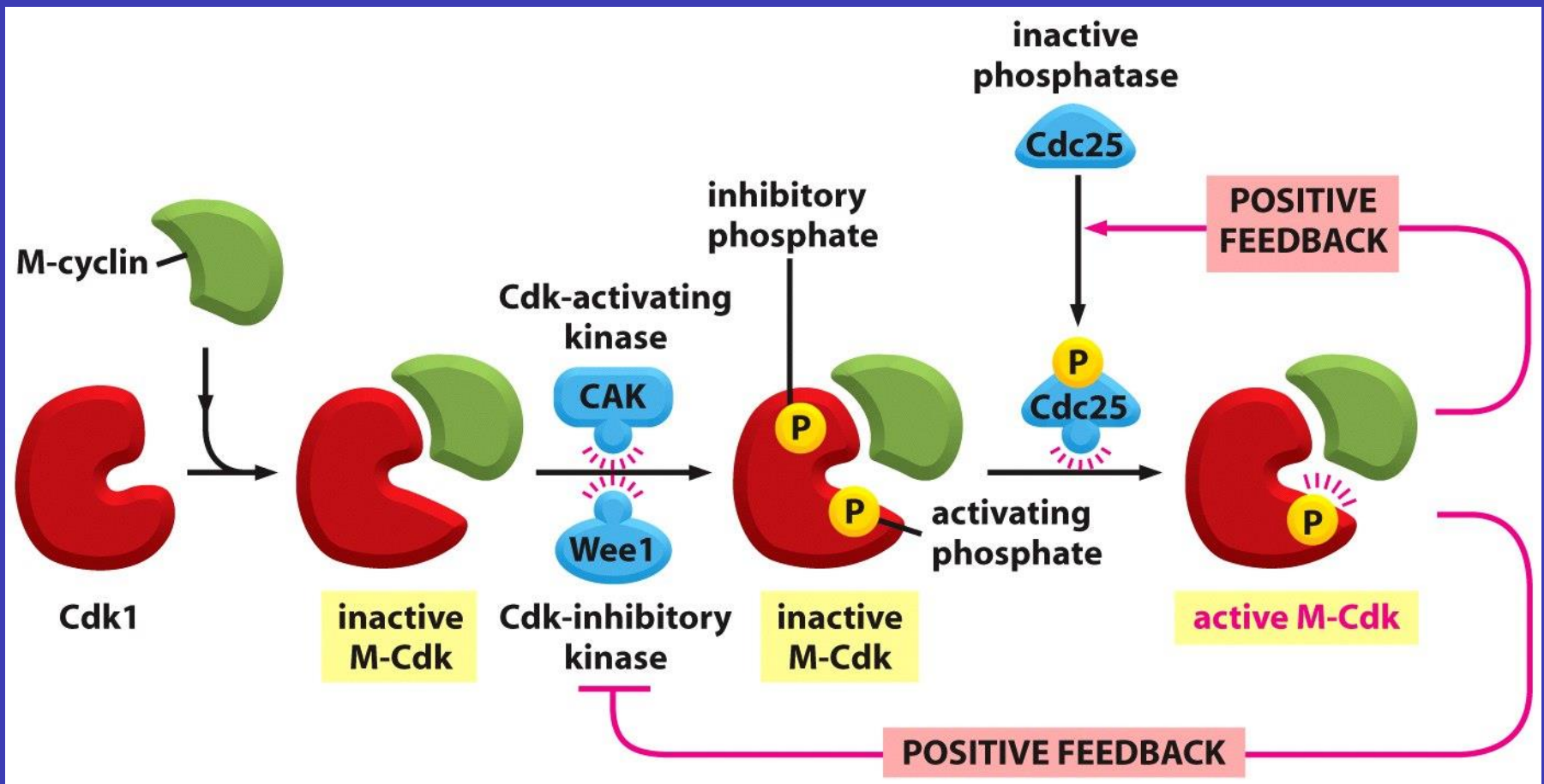
ENTER CELL CYCLE AND PROCEED TO S PHASE

START CHECKPOINT

Is environment favorable?



- aktivita cyklin-dependentních proteinkináz je **regulována akumulací a degradací cyklinu** a také jejich **fosforylací a defosforylací**



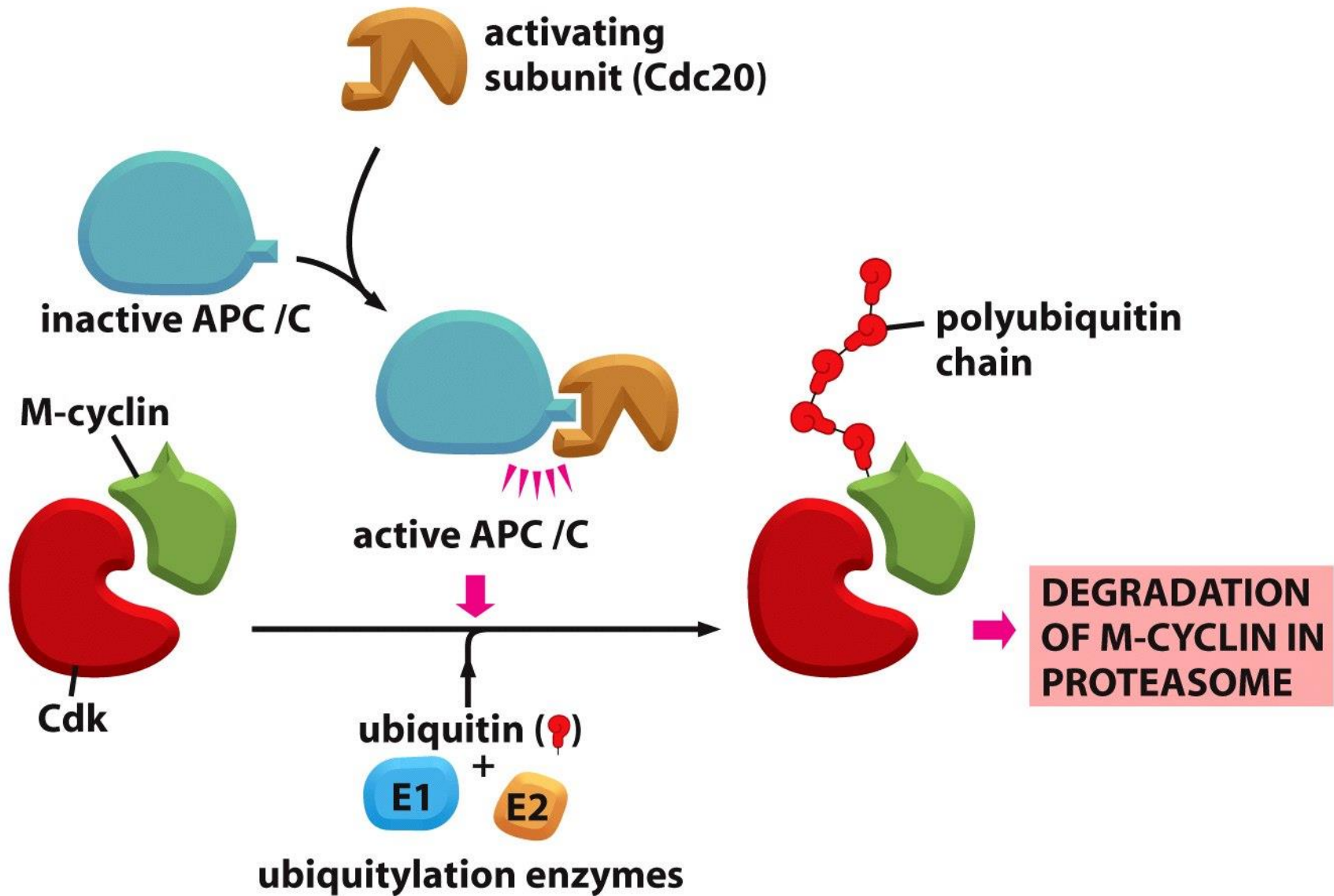
Cykliny a Cdk

- nárůst koncentrace **G₁-cyklinů** v G₁-fázi vede k aktivaci jejich **Cdk** a připravuje buňku k replikaci (vstup do S-fáze)
- **A-cykliny** spolu s **Cdk2** vytvářejí **S-fázi-podporující faktor (SPF)**, který vstupuje do jádra a připravuje replikaci DNA
- jakmile replikace probíhá, S-fázové cykliny jsou degradovány a narůstá (během G₂-fáze) koncentrace mitotických cyklinů
- **B-cykliny** spolu s **Cdk1** vytvářejí **M-fázi-podporující faktor (MPF)** a iniciují tak **vstup buňky do mitózy**, což vede ke kondenzaci chromozomů, utvoření mitotického vřeténka a rozpadu jaderné membrány

Regulace vstupu do anafáze

- **MPF** následně aktivuje tzv. **anafázi-podporující komplex (APC/C)**, který má dvě základní funkce vycházející z toho, že jde o **E3 ubikvitin ligázu**
- a) posílá pomocí ubikvitinační mašinerie tzv. securin do proteazomu. **Degradace securinu** v proteazomu umožňuje **aktivaci** enzymu **separáza**, který následně zabezpečuje **oddělení sesterských chromatid** a tím umožňuje jejich rozchod a přesun k pólům vřeténka
- b) opět pomocí ubikvitinační mašinerie posílá **B-cykliny** na **degradaci** do proteazomu

control of proteolysis by APC /C



G_0 -fáze

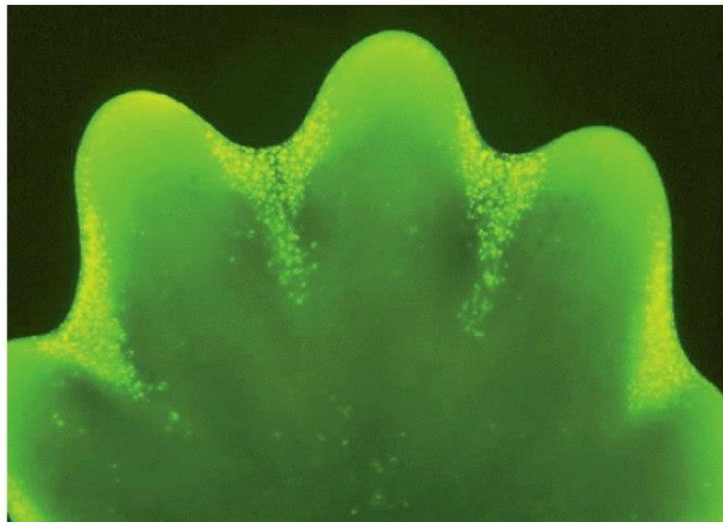
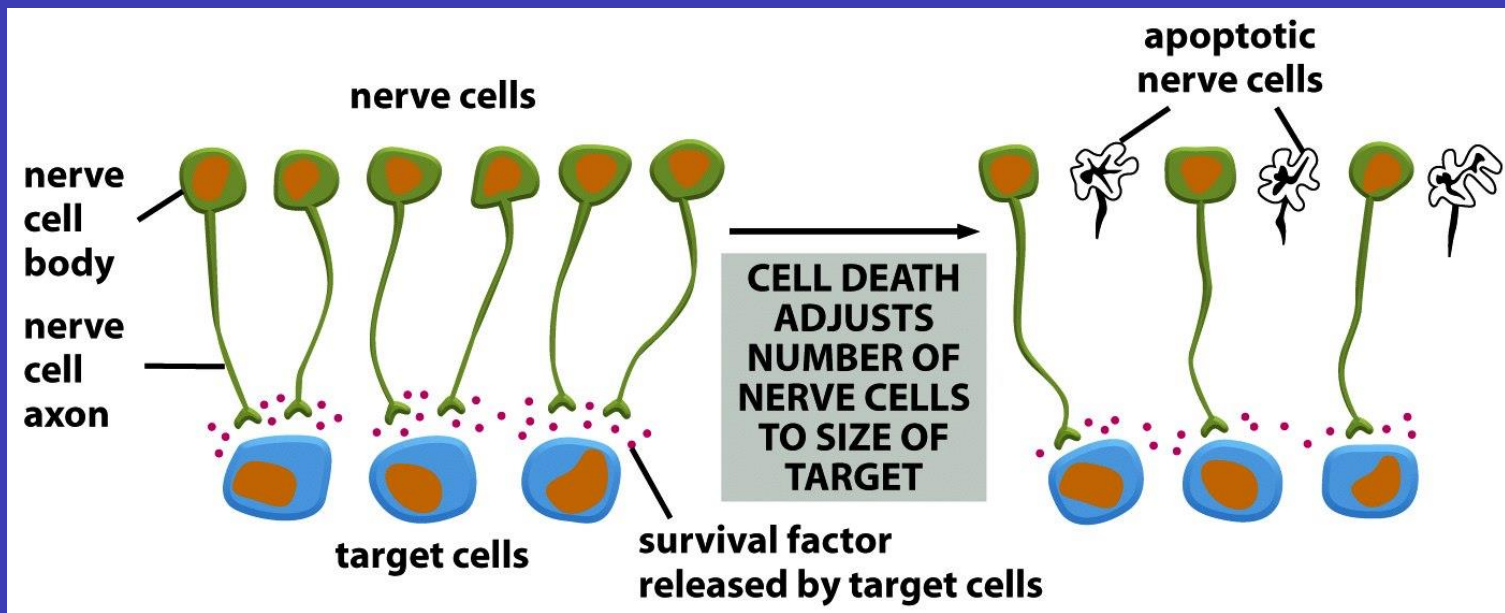
- v lidském těle se většina nervových buněk a buněk kosterního svalstva po celou dobu svého života **nedělí** – vstupují do tzv. **G_0 -fáze**, ve které **cykliny** a **Cdk** jsou z velké části **odbourány** a **nepřítomny**
- pro savčí buňky platí, že se **dělí pouze tehdy, jsou-li k tomu stimulovány signály od jiných buněk**. Bez těchto signálů se buněčný cyklus zastaví v **G_1 -kontrolním bodu** a buňky vstupují do **G_0 -fáze**, ve které mohou setrvávat roky, než se začnou opět dělit
- pokud buňka projde **G_1 -kontrolním bodem**, musí již **cyklus dokončit a nemůže se vrátit do G_0 -fáze**

Růstové faktory

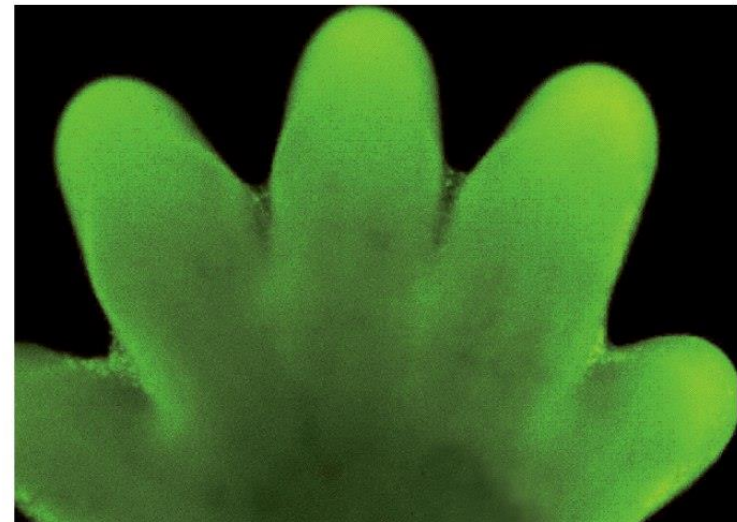
- mezi **extracelulární signály** stimulující množení buněk (**proliferaci**) prostřednictvím aktivace komplexu G_1 -cyklin-Cdk patří **růstové faktory**. Ty se vážou na receptory na povrchu buňky a aktivují tak intracelulární signální dráhy vedoucí ke **vstupu buňky do buněčného cyklu**
- lidské buňky však mohou procházet **jen konečným počtem dělení**, t.z. nejsou nesmrtelné a postupně stárnou
- živočišné buňky potřebují **neustále přijímat signály** od okolních buněk nejen proto aby se množily, ale dokonce i **pro své prožití**. V případě úplné izolace od takových signálů, buňky umírají pomocí sebevražedného programu, jemuž se říká **programovaná buněčná smrt (apoptóza)**

Apoptóza, nekróza

- ve vyvíjejícím se nervovém systému obratlovců víc než polovina buněk umře hned po svém vzniku. V kostní dřeni a ve střevě umírají apoptózou miliardy buněk každou hodinu – **apoptóza (programovaná buněčná smrt)** tak souvisí s **nadprodukcí neuronů a regulací jejich počtu** v závislosti od počtu buněk vyžadujících inervaci, ale také s **odumíráním nepotřebných a opotřebovaných tkání** nebo s **tvarováním organismu** (vývoj mezer mezi prsty na končetinách)
- během apoptózy se buňka zmenšuje, jaderný obal se rozkládá, jaderná DNA je fragmentována a je odbouráván cytoskelet. Mění se také povrch buněk, který dává signál okolním buňkám nebo makrofágům k okamžité **fagocytóze**



(A)



(B)

1 mm

- na rozdíl od uspořádaného procesu jakým je apoptóza, která neohrožuje buňky v okolí, při **nekróze (smrt buněk následkem akutního poranění)** buňky praskají, jejich obsah se **vylije do okolí**, co může vést k **zánětlivé reakci**
- jestliže v důsledku mutací dojde k **narušení regulace buněčného dělení**, buňka získává schopnost proliferovat bez normálních omezení. Potomstvo této buňky mutace zdědí, co vede k **nekonečnému dělení** buněk (vznik **nádoru**)
- za normálních okolností by buňka **měla podstoupit programovanou buněčnou smrt**. Pokud se jí podaří tomuto mechanismu vyhnout a pokud se zvládne oddělit od původní tkáně a putovat po těle, aniž by to v ní vyvolalo apoptózu, **vzniká maligní nádorové bujení** spojené s tvorbou **metastáz**, čili onkologické onemocnění (**rakovina**)



(A)

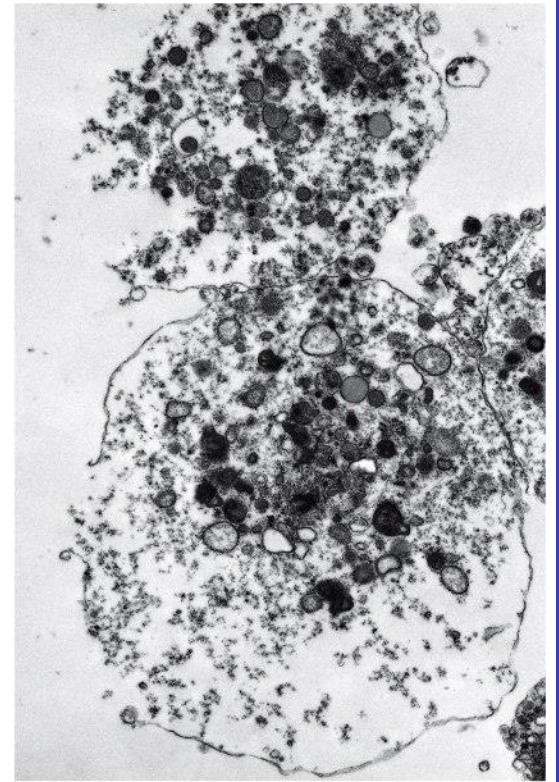
10 μm



(B)

engulfed dead
cell

phagocytic
cell



(C)