

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 16

Ο Κυτταρικός Κύκλος

Μέρος I

ΓΕΝΙΚΑ

Ο **κυτταρικός πολλαπλασιασμός** είναι βασικό χαρακτηριστικό της **διδιωνίσης του είδους** και η ικανότητα **αυτο-αναπαραγωγής** αποτελεί θεμελιώδες κυτταρικό γνώρισμα

-Οι **οργανισμοί** διδιωνίζονται με **Κυτταρική Διαίρεση** και :

α. για ένα **μονοκύτταρο** οργανισμό απαιτείται **μόνο μία** διαίρεση, ενώ

β. για ένα **πολυκύτταρο** οργανισμό απαιτούνται **πολλοί κύκλοι διαιρέσεων**

- Μετά από κυτταρική διαίρεση προκύπτουν 2 πανομοιότυπα θυγατρικά κύτταρα

- Τα **θυγατρικά κύτταρα** αυξάνονται σε **μέγεθος** και **αριθμό** σχηματίζοντας ένα πληθυσμό

* Τα **βακτήρια** σχηματίζουν αποικίες **εκατομμυρίων κυττάρων** σε **λίγες ώρες**
(*πολλαπλασιάζονται κάθε ~20 min*)

** Τα **10^{14} ανθρώπινα κύτταρα** προκύπτουν από **επαναλαμβανόμενους κύκλους διαίρεσης** του **γονιμοποιημένου ωαρίου** σε μεγάλο χρονικό διάστημα

- Τα θυγατρικά κύτταρα για να έχουν πανομοιότυπο γονιδίωμα με τα μητρικά, πρέπει η Κυτταρική Διαίρεση να:

1. ρυθμίζεται αυστηρά

2. συντονίζεται με την κυτταρική αύξηση & την αντιγραφή του DNA

-Ο κυτταρικός κύκλος όλων των ευκαρυωτών ρυθμίζεται από:

α. **πρωτεϊνικές κινάσες**, **συντηρημένες** από τους ζυμομύκητες μέχρι τα θηλαστικά

β. **& αυξητικούς παράγοντες** στους ανώτερους ευκαρυώτες

-Η ελαττωματική ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου συνδέεται με τον **ανεξέλεγκτο** πολλαπλασιασμό **των καρκινικών κυττάρων**

Ο Κυτταρικός Κύκλος, ως ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ

Ο κυτταρικός κύκλος χαρακτηρίζεται από τις 4 συντονισμένες διεργασίες της:

- α. κυτταρικής αύξησης (σε μέγεθος)
- β. αντιγραφής του DNA
- γ. κατανομής των διπλασιασμένων χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα, &
- δ. κυτταρικής διαίρεσης

1. Στα βακτήρια η κυτταρική αύξηση & αντιγραφή DNA γίνονται στο μεγαλύτερο διάστημα του κυτταρικού κύκλου. Τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα, συνδεδεμένα με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, κατανέμονται μαζί της στα θυγατρικά κύτταρα

2. Στους ευκαρυώτες ο κυτταρικός κύκλος είναι πολύπλοκος:

- 2α. διακρίνεται σε τέσσερις συγκεκριμένες φάσεις
- 2β. η κυτταρική αύξηση είναι μία συνεχής διαδικασία
- 2γ. η σύνθεση DNA γίνεται σε μία μόνο φάση
- 2δ. η κατανομή των διπλασιασμένων χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα γίνεται με πολύπλοκο μηχανισμό πριν την κυτταρική διαίρεση
- 2ε. ελέγχεται από ένα συντηρημένο ρυθμιστικό μηχανισμό

Οι Φάσεις του Κυτταρικού Κύκλου - I

- Γενικά, το **ευκαρυωτικό κύτταρο** διαιρείται **κάθε 24 ώρες** και οι περίοδοι του κυτταρικού κύκλου είναι: η **μίτωση** και η **μεσόφαση**

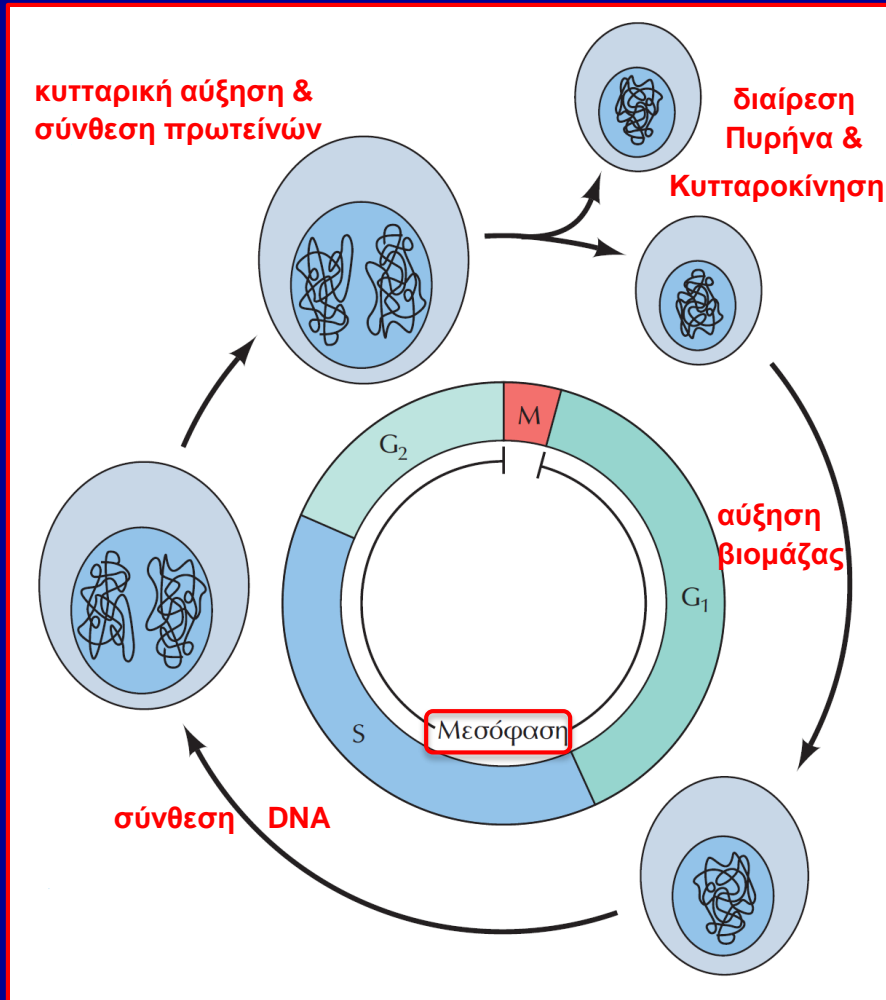
1. Η **Μίτωση** ή **πυρηνική διαίρεση** είναι ο **διαχωρισμός των θυγατρικών χρωμοσωμάτων** που οδηγεί σε **κυτταρική διαίρεση** ή **κυτταροκίνηση**
 2. Η **Μεσόφαση** είναι το **χρονικό μεσοδιάστημα μεταξύ δύο κυτταρικών διαιρέσεων**
- Η **μίτωση** & **κυτταροκίνηση** διαρκούν ~ **1 ώρα**, ενώ η **μεσόφαση** αποτελεί το **95%** της **συνολικής διάρκειας του κύκλου**

ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ της ΜΕΣΟΦΑΣΗΣ

1. τα χρωμοσώματα **αποσυμπυκνώνονται** (*από την προηγούμενη Μίτωση*)
2. διεξάγεται η **κυτταρική αύξηση** (σε όγκο)
3. γίνεται η **αντιγραφή του DNA**
4. το κύτταρο **προετοιμάζεται** για την επόμενη διαίρεση
5. τα διαιρούμενα κύτταρα **αυξάνουν** σε μέγεθος, **ίσο με το αρχικό**

Οι Φάσεις του Κυτταρικού Κύκλου - II

- ΟΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΔΙΑΙΡΕΙΤΑΙ ΣΕ 4 ΧΡΟΝΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ:



M: αντιστοιχεί στην μίτωση & κυτταροκίνηση



G₁: διάστημα μεταξύ μίτωσης & έναρξης αντιγραφής DNA (**S**)



S: διάστημα σύνθεσης/αντιγραφής του DNA



G₂: διάστημα προετοιμασίας για μίτωση

* Η κυτταρική αύξηση αρχίζει από το τέλος της M και συνεχίζει μέχρι το τέλος της G₂

Η ΧΡΟΝΙΚΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ

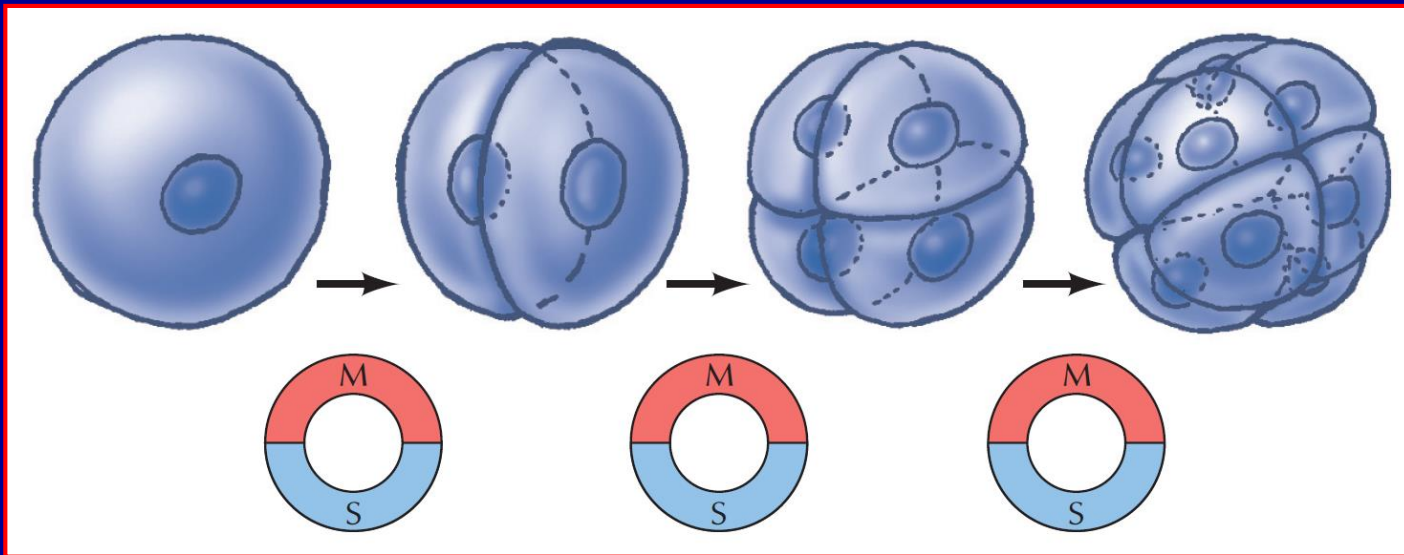
Η διάρκεια των φάσεων διαφέρει ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου:

1. Στο ανθρώπινο κύτταρο διάρκειας κύκλου 24 ωρών, οι φάσεις διαρκούν:

G1: 11 ώρες, S: 8 ώρες, G2: 4 ώρες & M: ~ 1 ώρα

2. Στο σακχαρομύκητα ο κύκλος διαρκεί: ~ 90 λεπτά

3. Στην εμβρυογένεση, μετά την γονιμοποίηση του ωαρίου ο κύκλος διαρκεί 30 λεπτά



3α. ο κύκλος έχει σύντομες εναλλασόμενες φάσεις M & S, χωρίς G1 & G2

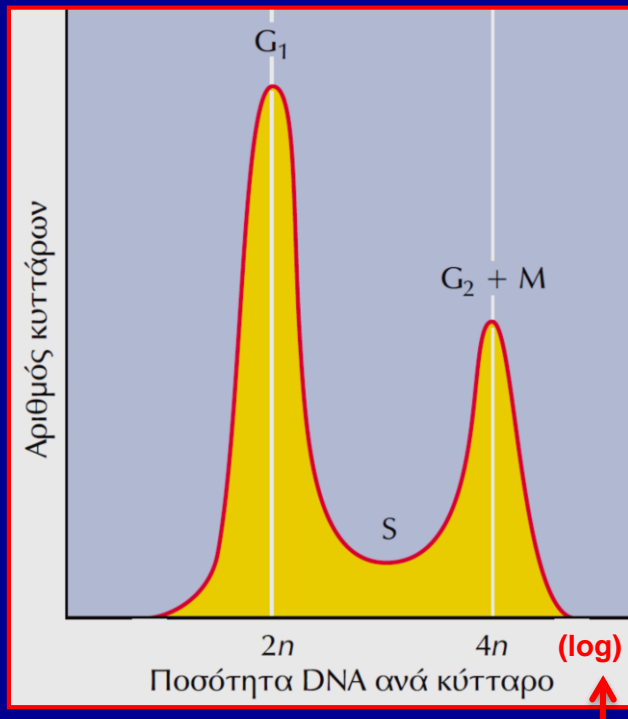
3β. παράγονται μικρά θυγατρικά κύτταρα, λόγω έλλειψης κυτταρικής αύξησης

4. τα νευρικά κύτταρα, στα ενήλικα θηλαστικά, παύουν να διαιρούνται

5. Τα κύτταρα της **επιδερμίδας** ή του **ήπατος** πολλαπλασιάζονται **κατά περίπτωση** για αντικατάσταση μετά από **τραύμα** ή **κυτταρικό θάνατο**

Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΦΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΥΚΛΟΥ: Βασικά εργαλεία

1. **Φωτονικό Μικροσκόπιο**: π.χ: παρατήρηση μιτωτικών κυττάρων-**στάδια** μίτωσης
2. **Βιοχημικά κριτήρια**: για τις φάσεις G1, S & G2/M (**έκφραση σηματοδοτικών πρωτεϊνών**)
3. **Μέτρηση της ποσότητας DNA** σε διαφορετικές φάσεις με **Κυτταρομετρία Ροής (FACS)**



Η ΤΕΧΝΙΚΗ

3α. Σήμανση DNA κυττάρων με φθοριόχρωμα



3β. Μέτρηση έντασης φθορισμού κάθε κυττάρου με **FACS**
(**FACS**: Fluorescence-Activated Cell Sorting)

- ποσότητα DNA, 2n: μη-διπλασιασμένα κύτταρα στη G1
- ποσότητα DNA, 4n: διπλασιασμένα κύτταρα στην G2/M

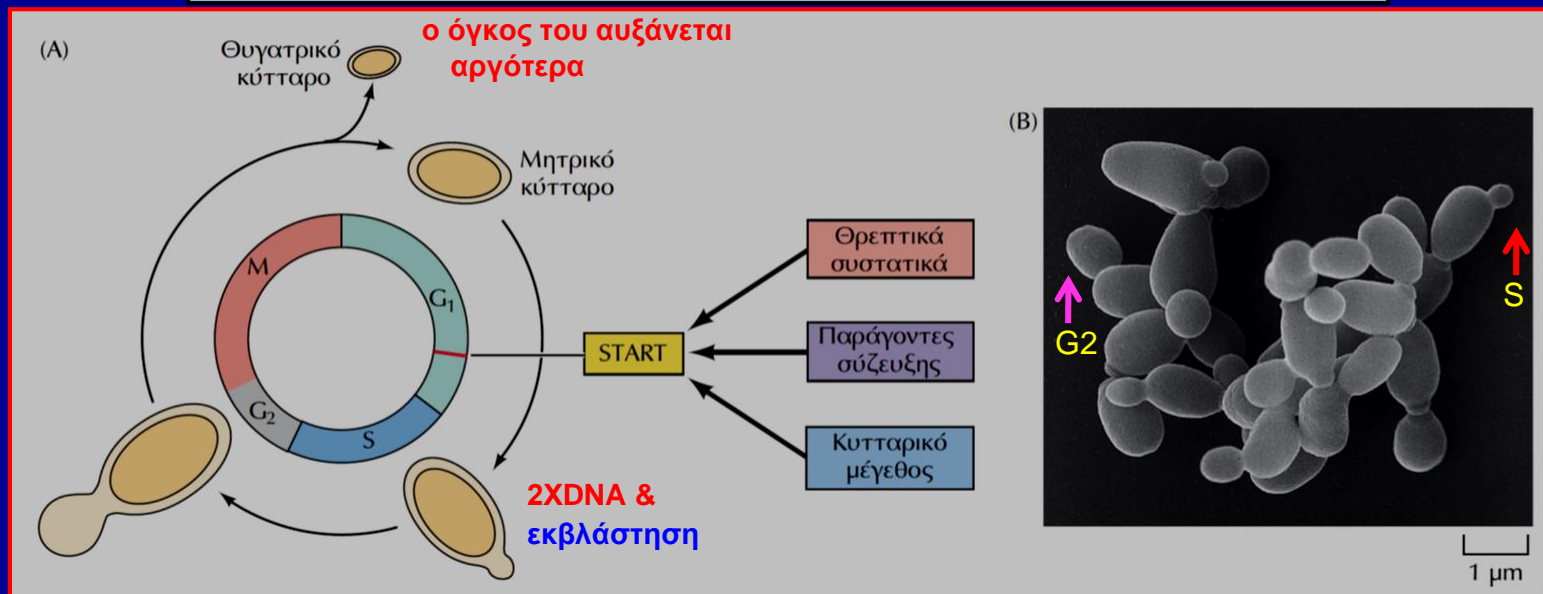
*Τα κύτταρα **στην S** έχουν ποσότητα DNA μεταξύ 2n και 4n

Η ΡΥΘΜΙΣΗ του Κυτταρικού Κύκλου: από **Κυτταρική Αύξηση** & **Εξωκυτταρικά σήματα**

-Ο κυτταρικός κύκλος ρυθμίζεται από **εξωτερικά** & **εσωτερικά** σήματα για τον **απαραίτητο συντονισμό** των διεργασιών της **κυτταρικής αύξησης**, **αντιγραφής DNA** & **μίτωσης**

-Η **ρύθμιση των φάσεων** γίνεται από **σημεία ελέγχου** του κυτταρικού κύκλου

1. Η ρύθμιση στο *Saccharomyces cerevisiae* με **εκβλάστηση**



-Ένα **κρίσιμο σημείο ελέγχου** είναι το **START** προς **στο τέλος της G₁**, (**απόφαση διπλ/σμού**)

-Η **διέλευση από το START** **επιτρέπει τις άλλες φάσεις**, αλλά **ελέγχεται από 3 παράγοντες**

-Οι **παράγοντες σύζευξης δρούν ανασταλτικά** (αντι πολλαπλασιασμού, τα κύτταρα **συζεύγνυνται**)

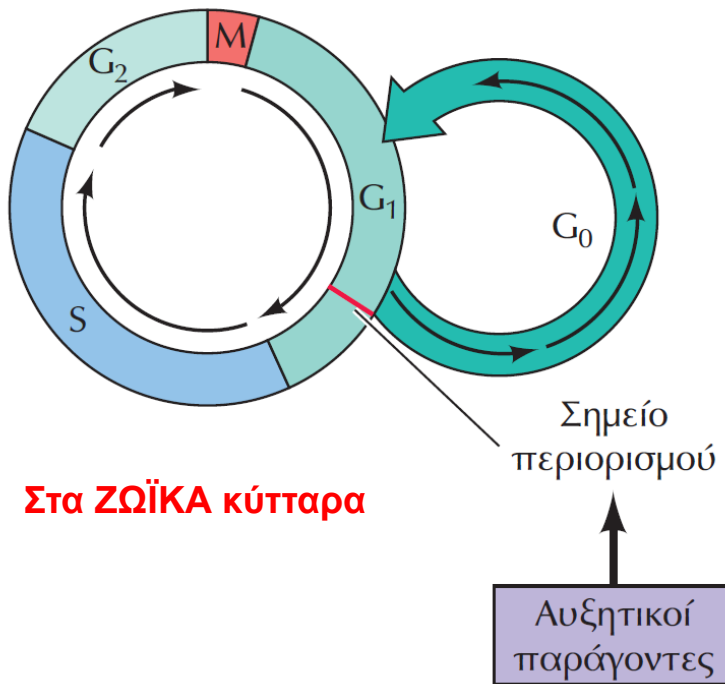
-Τα **θυγατρικά κύτταρα δεν πολλαπλασιάζονται: χωρίς τροφή** & **το απαραίτητο μέγεθος**

● -Τα **θυγατρικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται με εκβλάστηση**

2. Ο Πολλαπλασιασμός των ΖΩΪΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

-Ο κύκλος τους ρυθμίζεται προς στο τέλος της G₁, στο **ΣΗΜΕΙΟ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ**

-Σε αντίθεση με τους ζυμομύκητες, ο κύκλος ρυθμίζεται/επάγεται κυρίως από **εξωκυτταρικούς ΑΥΞΗΤΙΚΟΥΣ** παράγοντες και όχι από την διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών



1. Μετά την διέλευση του περιοριστικού σημείου:

1.α το κύτταρο «δεσμεύεται» να εισέλθει στην S φάση

1.β. δεν απαιτείται πλέον ο αυξητικός παράγοντας

2. Με μη διαθέσιμο αυξητικό παράγοντα:

2α. ο κύκλος σταματά στο σημείο περιορισμού

2β. η στάση αυτή ονομάζεται **φάση G₀**

2γ. τα κύτταρα G₀ είναι μεταβολικά ενεργά αλλά με μειωμένο ρυθμό

2δ. η G₀ μπορεί να διαρκέσει για πολύ χρόνο

ε. τα κύτταρα της G₀ πολλαπλασιάζονται μετά από διέγερση με αυξητικούς παράγοντες
π.χ: οι ινοβλάστες δέρματος πολλαπλασιάζονται από PDGF, για επούλωση τραύματος

*PDGF, Platelet-Derived Growth Factor: αναπτυξιακός παράγοντας από πήξη αιμοπεταλίων

3. Η ρύθμιση του πολλαπλασιασμού του *Schizosaccharomyces pombe*: με διχοτόμηση

-Αναπαράγεται με **διχοτόμηση στην G1** (όχι εκβλάστηση όπως στο *S. cerevisiae*)

-Αποτελεί παράδειγμα Ρύθμισης κυρίως στην G2 και όχι στην G1

-Σε αντίθεση με τον *S. cerevisiae*, ρυθμίζεται στο σημείο μετάβασης από G2 σε M

ΠΟΥ **ελέγχεται από:**

α. το **κυτταρικό μέγεθος** & β. τη **διαθεσιμότητα** θρεπτικών συστατικών



-Στα θηλαστικά ο έλεγχος στην G2 γίνεται στα ωκύτταρα που παραμένουν στην G2, μέχρι και δεκαετίες. Η μετάβασή των στη M γίνεται **μετά από ορμονική διέγερση**

ΣΥΝΟΛΙΚΑ: ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός ελέγχεται από **εξωκυτταρικά σήματα** από την **G1 στην S** & από το **μέγεθος** στην **G2/M** (*S. pombe*)

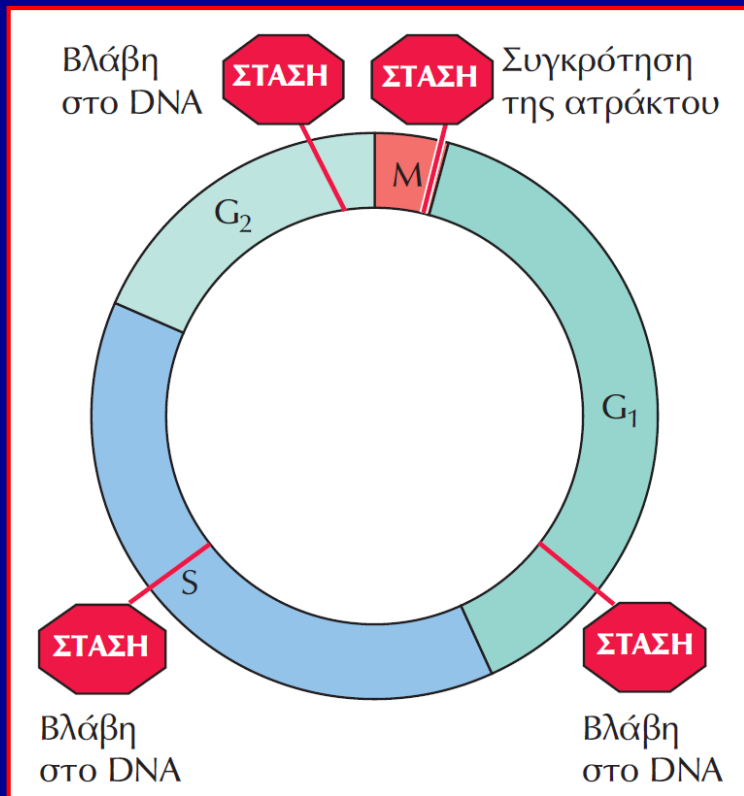
Τα ΣΗΜΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ του Κυτταρικού Κύκλου

- Τα στάδια του κύκλου: **πρέπει** να είναι **συντονισμένα** αλλά και **ολοκληρωμένα** πριν την Μίτωση
- Ο **συντονισμός** των φάσεων γίνεται από **δύο (2) σημεία ελέγχου** του κυτταρικού κύκλου που: **εμποδίζουν την είσοδο** στην επόμενη φάση, πριν την ολοκλήρωση της προηγούμενης

ΤΑ 2 ΣΗΜΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ είναι:

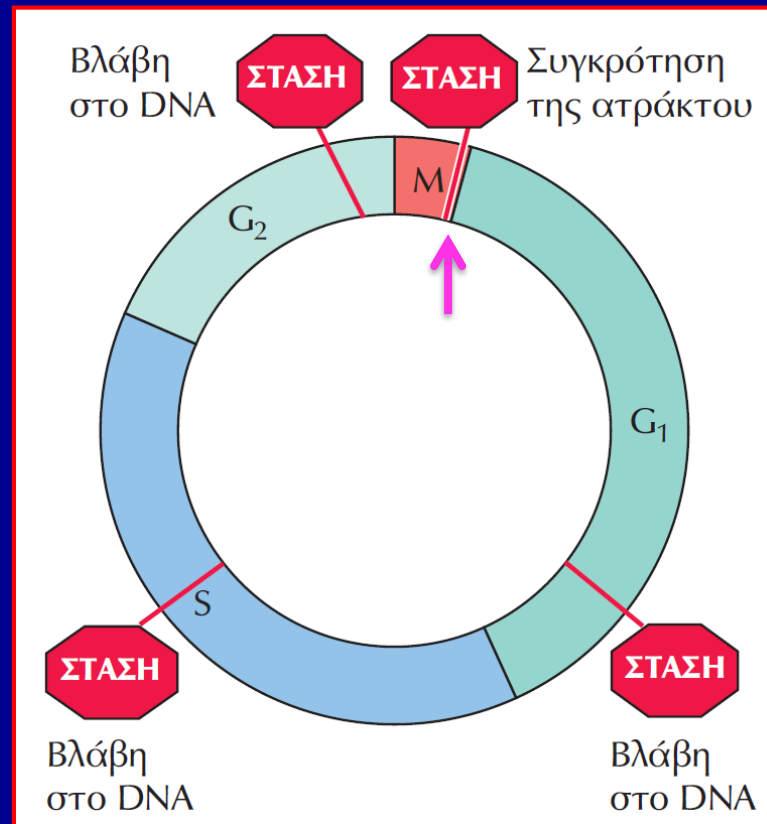
1. Τα σημεία ελέγχου βλαβών DNA:

- Είναι **αισθητήρες βλαβών DNA** ή **ατελούς αντιγραφής** που **καθυστερούν το κύκλο** για **επιδιορθώσεις**
 - α. στην **G1**: επιδιορθώσεις **οποιαδήποτε βλάβης DNA**
 - β. στην **S**: έλεγχος **ακεραιότητας & ποιότητας DNA** (π.χ: **αταίριαστες** νουκλεοτιδικές βάσεις)
 - γ. στην **G2**: όταν το DNA **δεν έχει πλήρως αντιγραφεί** ή **δεν είναι πλήρως επιδιορθωμένο**



2. Το σημείο συγκρότησης της ατράκτου:

- Συναντάται πριν το τέλος της M
- Ελέγχει τη στοίχιση όλων των χρωμοσωμάτων στην μιτωτική άτρακτο
- Η αποτυχία στοίχισης προκαλεί στάση της μίτωσης στην μετάφαση πριν το διαχωρισμό
- Εξασφαλίζει η διανομή μιας πλήρους σειράς χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα



ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΠΡΟΟΔΟΥ του Κυτταρικού Κύκλου

- Η γνώση μηχανισμών ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου προήλθε από μοντέλα όπως: ζυμομύκητες, αχινούς, βάτραχους & θηλαστικά

- Βρέθηκε ότι ο κυτταρικός κύκλος όλων των ευκαρυωτών ρυθμίζεται από μία συντηρημένη ομάδα ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΚΙΝΑΣΩΝ

Η ανακάλυψη των πρωτεϊνικών κινασών έγινε με τρεις πειραματικές προσεγγίσεις:

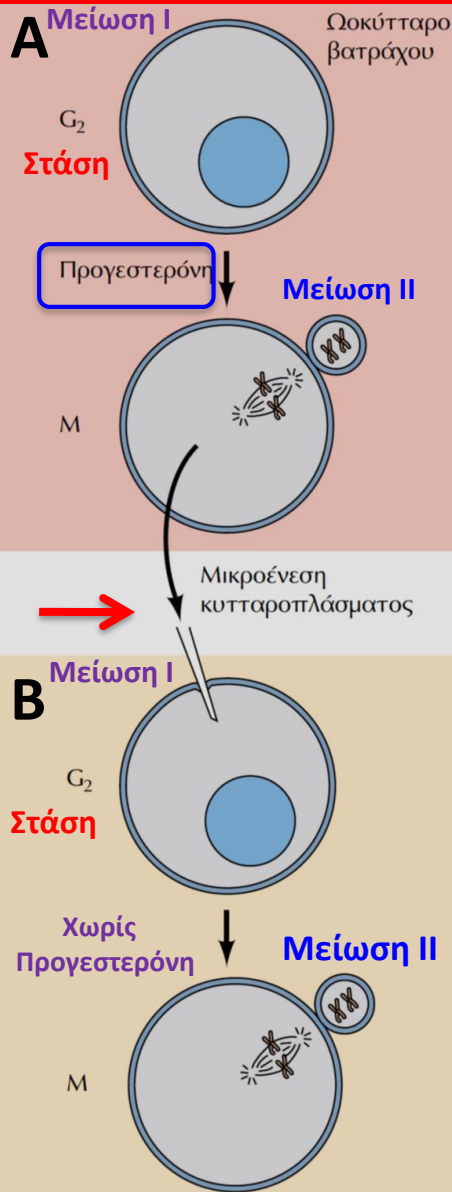
Η πρώτη προσέγγιση

A. Ήταν γνωστό ότι τα ωκύτταρα βατράχου παραμένουν στη G₂ & η δράση της προγεστερόνης, τα «ωθεί» στην φάση M της Μείωσης II

B. Η ένεση κυτταροπλάσματος από ορμονικά διεγερμένα ωκύτταρα σε ωκύτταρα G₂ προκαλεί την μετάβαση τους από G₂ στη φάση M

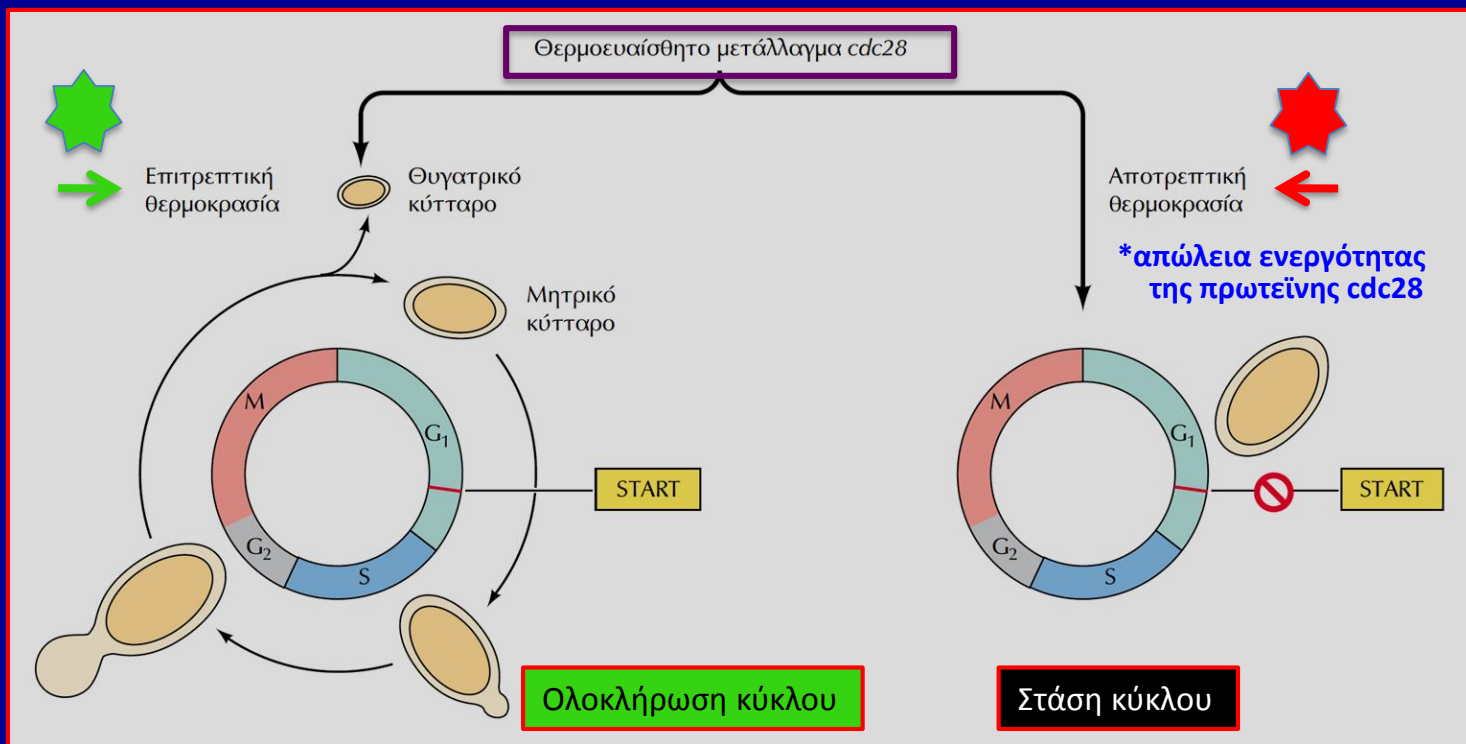
- Άρα, υπάρχει ένας κυτταροπλασματικός παράγοντας προώθησης ωρίμανσης του ωκυττάρου ή MPF (Maturation Promoting Factor)

- Η δράση του MPF βρέθηκε και σε σωματικά κύτταρα. Άρα είναι ένας γενικός ρυθμιστής της μετάβασης από G₂ προς M



Η δεύτερη προσέγγιση

- Η προσέγγιση αυτή έγινε στο **σακχαρομύκητα** *S. cerevisiae*
- Βρέθηκαν **θερμοευαίσθητα / μεταλλαγμένα στελέχη** με **ελαττωματική πρόοδο του κύκλου**
- Ονομάσθηκαν **μεταλλάγματα cdc** (cell division cycle mutants) της κυτταρικής διαίρεσης
- Η **ανάπτυξή τους σταματούσε** σε **συγκεκριμένα σημεία** του κυτταρικού κύκλου
- Στο **σημαντικό μετάλλαγμα cdc28**, ο κύκλος **σταματούσε στο σημείο ελέγχου START**



Το πείραμα υπέδειξε ότι η πρωτεΐνη *cdc28*, είναι **απαραίτητη για διέλευση** από το START

Μέρος II

ΣΗΜΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ βλαβών στο DNA & Ρύθμιση της Στάσης του κύκλου

-Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός ρυθμίζεται και από σήματα ελέγχου βλαβών του κυτταρικού κύκλου που συμβάλλουν στη διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος του κυττάρου

- Τα σήματα ελέγχου βλαβών στο DNA:

1. Προκαλούν στάση του κύκλου στις φάσεις G1, S & G2

2. Εξασφαλίζουν αρκετό χρόνο για επιδιόρθωση των βλαβών πριν συνεχισθεί η αντιγραφή & η κυτταρική διαίρεση

* Η μη επιδιόρθωση των βλαβών DNA οδηγεί σε ποικίλες μεταλλάξεις

-Η στάση του κύκλου προκαλείται από:

2 συγγενικές πρωτεϊνικές κινάσες τις: ATM & ATR που ενεργοποιούνται μετά από βλάβες στο DNA

*ATM (Ataxia-Telangiectasia) *ATR (Ataxia-Telangiectasia and Rad3 related)

- οι ATM & ATR ενεργοποιούν ένα σηματοδοτικό μονοπάτι που οδηγεί σε:

α. κυτταρική στάση & ενεργοποίηση μηχανισμών επιδιόρθωσης βλαβών DNA ή

β. σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο

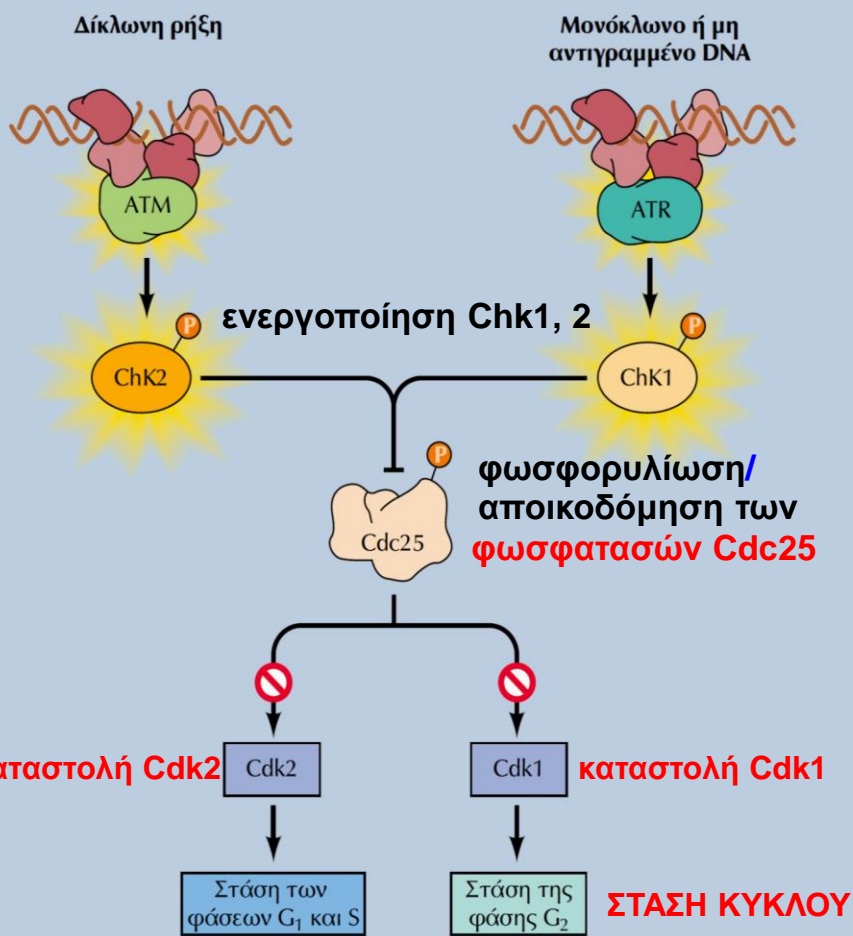
Οι ATM & ATR λειτουργούν στην ακεραιότητα του γονιδιώματος, ενώ οι μεταλλάξεις τους ευθύνονται:

1. για την ασθένεια της Αταξίας Τελαγγειεκτασίας (ανωμαλίες Νευρικού & Ανοσοποιητικού) &

2. ανιχνεύονται σε υψηλής συχνότητας καρκίνους (γονιδιωματική αστάθεια)

Ο Βασικός μηχανισμός Στάσης του κυτταρικού κύκλου από βλάβες DNA

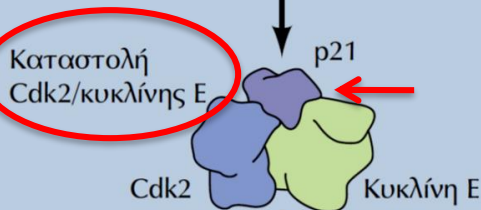
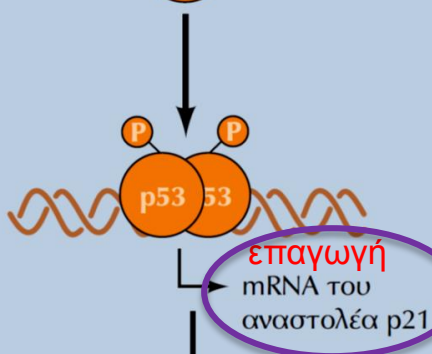
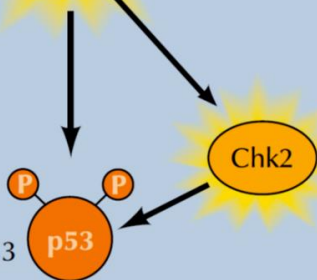
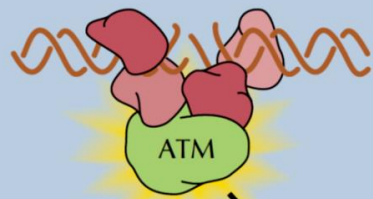
- Οι **ATM** & **ATR** είναι συστατικά πρωτεϊνικών συμπλόκων που αναγνωρίζουν:
 - α. βλάβες στο DNA & β. περιοχές που δεν έχει ολοκληρωθεί η αντιγραφή



1. Η ATM αναγνωρίζει δίκλωνες ρήξεις DNA
2. Η ATR αναγνωρίζει μονόκλωνες ή μη-πλήρως αντιγραμμένο DNA
3. Όταν ενεργοποιηθούν: φωσφορυλιώνουν & ενεργοποιούν τις KINΑΣΕΣ ΣΗΜΕΙΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ Chk2 & Chk1 (Chk, Checkpoint kinases)
4. Οι Chk2 & Chk1 επάγουν την στάση του κύκλου: φωσφορυλιώνοντας & αποικοδομώντας τις φωσφατάσες Cdc25, που είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των κινάσων Cdk1 & Cdk2 (*αφαιρούν κατασταλτικές φωσφορυλιώσεις των)
5. Μη-ενεργοποίηση (καταστολή) των Cdk2 & Cdk1 προκαλεί στάση του κύκλου στην G₁, S & G₂

ΣΥΝΟΛΙΚΑ: οι βλάβες DNA μέσω των ATM, ATR & Cdk2/Cdk1 σταματούν το κυτταρικό κύκλο

Ένας **ΑΛΛΟΣ** μηχανισμός στάσης του κυτταρικού κύκλου από βλάβες DNA & **p53**



Στάση της G₁

Η Στάση του κύκλου στην G₁ προκαλείται και από την πρωτεΐνη p53 που, στη μη-φωσφορυλιωμένη της μορφή αποικοδομείται γρήγορα

Μετά από δίκλωνη βλάβη DNA, η p53:

1. φωσφορυλιώνεται από την ATM και τη Chk2 (κινάση σημείου ελέγχου)
2. όταν φωσφορυλιωθεί σταθεροποιείται και αυξάνεται η συγκέντρωσή της, ως απόκριση σε βλάβες DNA
3. ως μεταγραφικός παράγοντας επάγει την έκφραση της πρωτεΐνης **του αναστολέα p21**, της οικογένειας Cip/Kip
4. η p21 αναστέλλει τα σύμπλοκα Cdk2/κυκλίνης E &
5. ο κυτταρικός κύκλος σταματά στην G₁

p53 & Καρκινογένεση

- Η μεταλλαγή του αποτρέπει στάση στη G₁ ακόμα & σε βλάβες DNA
- Οι βλάβες DNA μεταφέρονται σε θυγατρικά κύτταρα προκαλώντας αύξηση μεταλλαγών, γονιδιακή αστάθεια και ανάπτυξη Καρκίνου
- Είναι το πιο συχνά μεταλλαγμένο γονίδιο σε ανθρώπινους όγκους