ГОУ ВПО Новосибирский государственный педагогический университет

Институт естественных и социально-экономических наук

Кафедра зоологии и МОБ

Контрольная работа

по цитологии

на тему:

**«Клеточный цикл»**

Выполнила: студентка 1 курса

Судакова М.С.

Проверил: Веселов А.А.

Новосибирск 2008

**Содержание**

Введение

1. Клеточный цикл: периоды
2. Клеточный цикл: фазы
3. Циклины и циклин-зависимые киназы
4. Циклины: общие сведения
5. Деление эукариотической клетки: начало
6. Фаза S клеточного цикла: синтез ДНК
7. Митоз
8. Фаза G0 клеточного цикла
9. Клеточный цикл: ингибиторы
10. Клеточный цикл: регуляция перехода от G1- к S-фазе и регуляция перехода от G2 к фазе M

Заключение

Библиографический список

**Введение**

Природа клеточного цикла прояснилась в результате изучения мутантных клеток, растущих и делящихся при низких температурах (34 градуса С для клеток млекопитающих, 23 градуса С для клеток дрожжей). У таких температурочувствительных мутантов обычно имеется один измененный белок, который функционирует только при низкой температуре. И у большинства таких мутантов рост нарушается вскоре после повышения температуры. Однако некоторые мутанты перестают расти лишь тогда, когда клетка достигает определенной стадии цикла, например, начала синтеза ДНК, деления ядра или цитокинеза. Мутанты по клеточному циклу лучше всего изучены у пекарских дрожжей (Saccharomyces cerevisiae: у них выделены мутанты по более чем 35 различным генам цикла клеточного деления (cell division cycle, cdc). На этих мутантах исследовали взаимосвязь между функциями определенных белков и клеточным циклом.

Согласно определения свободной энциклопедии 2008 года, клеточный цикл – это согласованная однонаправленная последовательность событий, в ходе которой клетка последовательно проходит его разные периоды без их пропуска или возврата к предыдущим стадиям. Клеточный цикл заканчивается делением исходной клетки на две дочерние клетки.

Целью данного реферативного исследования является раскрытие принципов клеточного цикла, особенностей и его значение.

### Клеточный цикл, периоды

Клеточный цикл включает строго детерминированный ряд последовательных процессов, согласно позиции Hartwellа, 1995. Клетка должна между двумя последовательными делениями удвоить все свои компоненты и свою массу. Таким образом клеточный цикл составляют два периода:

1) период клеточного роста, называемый " интерфаза ", и

2) период клеточного деления, называемый " фаза М " (от слова mitosis). В свою очередь, в каждом периоде выделяют несколько фаз (рис.3).

Обычно интерфаза занимает не меньше 90% времени всего клеточного цикла. Например, у быстро делящихся клеток высших эукариот последовательные деления происходят один раз в 16-24 часа, и каждая фаза М длится 1-2 часа. Большая часть компонентов клетки синтезируется на протяжении всей интерфазы, это затрудняет выделение в ней отдельных стадий по мнению Pardee, 1989. В интерфазе выделяют фазу G1, фазу S и фазу G2. Период интерфазы, когда происходит репликация ДНК клеточного ядра, был назван " фаза S " (от слова synthesis). Период между фазой М и началом фазы S обозначен как фаза G1 (от слова gap - промежуток), а период между концом фазы S и последующей фазой М - как фаза G2. Период клеточного деления (фаза М) включает две стадии: митоз (деление клеточного ядра) и цитокинез (деление цитоплазмы). В свою очередь, митоз делится на пять стадий (рис.3), In vivo эти шесть стадий образуют динамическую последовательность. Описание клеточного деления базируется на данных световой микроскопии в сочетании с микрокиносъемкой и на результатах световой и электронной микроскопии фиксированных и окрашенных клеток.

Повторяющаяся совокупность событий, обеспечивающих деление эукариотических клеток, получила название клеточного цикла. Продолжительность клеточного цикла зависит от типа делящихся клеток. Некоторые клетки, например, нейроны человека, после достижения стадии терминальной дифференцировки прекращают свое деление вообще. Клетки легких, почек или печени во взрослом организме начинают делиться лишь в ответ на повреждение соответствующих органов. Клетки эпителия кишечника делятся на протяжении всей жизни человека. Даже у быстро пролиферирующих клеток подготовка к делению занимает около 24 ч. Клеточный цикл разделяют на стадии: Митоз - М-фаза, деление клеточного ядра. G1 -фаза период перед синтезом ДНК. S-фаза - период синтеза (репликации ДНК). G2-фаза - период между синтезом ДНК и митозом. Интерфаза - период, включающий в себя G1 -, S- и G2-фазы. Цитокинез - деление цитоплазмы. Точка рестрикции, R-point - время в клеточном цикле, когда продвижение клетки к делению становится необратимым. G0 фаза - состояние клеток, достигших монослоя или лишенных фактора роста в ранней G1 фазе.

Делению клетки (митозу или мейозу) предшествует удвоение хромосом, которое происходит в периоде S клеточного цикла (рис.1). Период обозначают первой буквой слова synthesis - синтез ДНК. С момента окончания периода S до завершения метафазы ядро содержит в четыре раза больше ДНК, чем ядро сперматозоида или яйцеклетки, а каждая хромосома состоит из двух идентичных сестринских хроматид. Во время митоза хромосомы конденсируются и в конце профазы или начале метафазы становятся различимыми при оптической микроскопии. Для цитогенетического анализа обычно используют препараты именно метафазных хромосом.

В начале анафазы центромеры гомологичных хромосом разъединяются, и хроматиды расходятся к противоположным полюсам митотического веретена. После того как к полюсам отойдут полные наборы хроматид (с этого момента их называют хромосомами), вокруг каждого из них образуется ядерная оболочка, формируя ядра двух дочерних клеток (разрушение ядерной оболочки материнской клетки произошло в конце профазы). Дочерние клетки вступают в период G1, и только при подготовке к следующему делению они переходят в период S и в них происходит репликация ДНК.

Клетки со специализированными функциями, длительное время не вступающие в митоз или вообще утратившие способность к делению, находятся в состоянии, называемом периодом G0. Большинство клеток в организме диплоидные - то есть имеют два гаплоидных набора хромосом (гаплоидный набор - это число хромосом в гаметах, у человека он составляет 23 хромосомы, а диплоидный набор хромосом - 46). В гонадах предшественники половых клеток сначала претерпевают ряд митотических делений, а затем вступают в мейоз - процесс образования гамет, состоящий из двух последовательных делений. В мейозе гомологичные хромосомы спариваются (отцовская 1-я хромосома с материнской 1-й хромосомой и т. д.), после чего в ходе так называемого кроссинговера происходит рекомбинация, то есть обмен участками между отцовской и материнской хромосомами. В результате качественно изменяется генетический состав каждой из хромосом.

В первом делении мейоза расходятся гомологичные хромосомы (а не сестринские хроматиды, как в митозе), вследствие чего образуются клетки с гаплоидным набором хромосом, каждая из которых содержит по 22 удвоенные аутосомы и одной удвоенной половой хромосоме. Между первым и вторым делениями мейоза нет периода S (рис.2, справа), а в дочерние клетки во втором делении расходятся сестринские хроматиды. В итоге образуются клетки с гаплоидным набором хромосом, в которых вдвое меньше ДНК, чем в диплоидных соматических клетках в периоде G1, и в 4 раза меньше - чем в соматических клетках по окончании периода S.

При оплодотворении число хромосом и содержание ДНК у зиготы становится таким же, как в соматической клетке в периоде G1. Период S в зиготе открывает путь к регулярному делению, характерному для соматических клеток.

### Клеточный цикл: фазы

Клеточный цикл эукариот разделяют на четыре фазы. В стадии непосредственного деления клеток (митоза) конденсированные метафазные хромосомы поровну распределяются между дочерними клетками (M-фаза клеточного цикла - mitosis). Митоз был первой идентифицированной фазой клеточного цикла, а все остальные события, происходящие в клетке между двумя митозами, были названы интерфазой. Развитие исследований на молекулярном уровне позволило выделить в интерфазе стадию синтеза ДНК, получившую название S-фазы (synthesis). Эти две ключевые стадии клеточного цикла не переходят непосредственно одна в другую. После окончания митоза до начала синтеза ДНК имеет место G1-фаза клеточного цикла (gap), кажущаяся пауза в активности клетки, во время которой внутриклеточные синтетические процессы подготавливают репликацию генетического материала.

Второй перерыв в видимой активности (фаза G2) наблюдается после окончания синтеза ДНК перед началом митоза. В фазе G2 клетка осуществляет контроль за точностью произошедшей редупликации ДНК и исправляет обнаруженные сбои. В ряде случаев выделяют пятую фазу клеточного цикла (G0), когда после завершения деления клетка не вступает в следующий клеточный цикл и длительное время остается в состоянии покоя. Из этого состояния она может быть выведена внешними стимулирующими (митогенными) воздействиями. Фазы клеточного цикла не имеют четких временных и функциональных границ, однако при переходе от одной фазы к другой происходит упорядоченное переключение синтетических процессов, позволяющее на молекулярном уровне дифференцировать эти внутриклеточные события.

### Циклины и циклин-зависимые киназы

Клетки вступают в клеточный цикл и осуществляют синтез ДНК в ответ на внешние митогенные стимулы. Лимфокины (например, интерлейкины), цитокины (в частности интерфероны) и полипептидные факторы роста, взаимодействуя со своими рецепторами на поверхности клеток, индуцируют каскад реакций фосфорилирования внутриклеточных белков, сопровождающихся передачей сигнала от поверхности клеток к ядру и индукцией транскрипции соответствующих генов. Одними из первых активируются гены, кодирующие белки циклины, получившие свое название от того, что их внутриклеточная концентрация периодически изменяется по мере прохождения клеток через клеточный цикл, достигая максимума на его определенных стадиях. Циклины являются специфическими активаторами семейства циклин-зависимых протеинкиназ (CDK) (CDK - cyclin-dependent kinases) - ключевых участников индукции транскрипции генов, контролирующих клеточный цикл. Активация индивидуальной CDK происходит после ее взаимодействия со специфическим циклином, и образование этого комплекса становится возможным после достижения циклином критической концентрации. В ответ на уменьшение внутриклеточной концентрации конкретного циклина происходит обратимая инактивация соответствующей CDK. Некоторые CDK активируются более чем одним циклином. В этом случае группа циклинов, как бы передавая протеинкиназы друг другу, поддерживает их в активированном состоянии длительное время. Такие волны активации CDK возникают на протяжении G1- и S- фаз клеточного цикла.

### Циклины: общие сведения

Каждый тип циклинов, обозначенных от A до H, имеет гомологичный участок (150 аминокислотных остатков, называемый " циклиновый бокс " (Hunt T., 1991). Этот участок отвечает за связывание с CDK (Kobayashi H. et al., 1992; Lees E.M., Harlow E., 1993).В семействе циклинов (циклин A - циклин J) известны 14 белков. Некоторые члены семейства составляют подсемейства. Например, подсемейство циклинов D-типа состоит из трех членов: D1, D2 и D3.Циклины делят на два подсемейства: G1-циклины (C, D и E) и митотические циклины (A и B). Циклины относятся к быстро обменивающимся белкам с коротким временем полужизни, которое составляет у циклинов D-типа 15-20 мин. Это обеспечивает динамизм их комплексов с циклинзависимыми киназами. За внутриклеточную деградацию циклинов отвечает N-концевая последовательность аминокислотных остатков, названная боксом деструкции (destruction box). При прохождении клеток через клеточный цикл вслед за активацией отдельных CDK по мере необходимости происходит их инактивация. В последнем случае имеет место протеолитическая деградация циклина, находящегося в комплексе с CDK, которая начинающается с бокса деструкции.

Сами по себе циклины не могут полностью активировать соответствующие CDK. Для завершения процесса активации должно произойти специфическое фосфорилирование и дефосфорилирование определенных остатков аминокислот в полипептидных цепях этих протеинкиназ. Большую часть таких реакций осуществляет киназа, активирующая CDK (CAK - CDK activating kinase), которая представляет собой комплекс CDK7 с циклином H.

Таким образом, CDK становятся способными выполнять свои функции в клеточном цикле лишь после их взаимодействия с соответствующими циклинами и осуществления посттрансляционных модификаций под действием CAK и других аналогичных белков-регуляторов клеточного цикла.

### Деление эукариотической клетки: начало

В ответ на митогенный стимул клетка, находящаяся в фазе G0 или ранней G1, начинает свое прохождение через клеточный цикл. В результате индукции экспрессии генов циклинов D и E, которые обычно объединяют в группу циклинов G1, происходит увеличение их внутриклеточной концентрации. Циклины D1, D2 и D3 образуют комплекс с киназами CDK4 и CDK6. В отличие от циклина D1 два последних циклина, кроме того, объединяются с CDK2. Функциональные различия между этими тремя циклинами неизвестны, однако имеющиеся данные указывают на достижение ими критических концентраций при разных стадиях развития фазы G1. Эти различия специфичны в отношении типа пролиферирующих клеток.

Активация CDK2/4/6 приводит к фосфорилированию белка RB (продукта гена ретинобластомы pRb) и ассоциированных с ним белков p107 и p130. В начале фазы G1 белок pRb фосфорилирован слабо, что позволяет ему находиться в комплексе с фактором транскрипции E2F, играющим ключевую роль в индукции синтеза ДНК, и блокировать его активность. Полностью фосфорилированная форма pRb освобождает E2F из комплекса, что приводит к активации транскрипции генов, контролирующих репликацию ДНК.

Концентрация D-циклинов возрастает на протяжении фазы G1 клеточного цикла и достигает максимума значений непосредственно перед началом S-фазы, после чего начинает уменьшаться. Однако в это время pRb еще фосфорилирован не полностью, и фактор E2F остается в комплексе в неактивном состоянии. Фосфорилирование pRb завершается под действием CDK2, активированной циклином E. Внутриклеточная концентрация последнего становится максимальной в момент перехода клеточного цикла от фазы G1 к S-фазе. Таким образом, комплекс циклин E-CDK2 как бы принимает эстафету от комплексов циклина D с CDK4 и CDK6 и завершает фосфорилирование pRb, сопровождающееся освобождением активного фактора транскрипции E2F. В результате начинается синтез ДНК, то есть клетка вступает в S-фазу клеточного цикла.

### S фаза клеточного цикла: синтез ДНК

Период интерфазы, когда происходит репликация ДНК клеточного ядра, был назван "фаза S ". Делению клетки (митозу или мейозу) предшествует удвоение хромосом, которое происходит в периоде S клеточного цикла (рис.4). Период обозначают первой буквой слова synthesis - синтез ДНК. После вступления клетки в S-фазу происходит быстрая деградация циклина E и активация CDK2 циклином A. Циклин E начинает синтезироваться в конце фазы G1 и его взаимодействие с CDK2 является необходимым условием для вступления клетки в S-фазу и продолжения синтеза ДНК. Этот комплекс активирует синтез ДНК через фосфорилирование белков в областях начала репликации. Сигналом к завершению S-фазы и переходу клетки к фазе G2 является активация циклином A другой киназы CDK1 с одновременным прекращением активации CDK2. Задержка между окончанием синтеза ДНК и началом митоза (фаза G2) используется клеткой для контроля полноты и точности произошедшей репликации хромосом. Последовательность событий в этот период точно не известна. При стимуляции факторами роста клеток млекопитающих, находящихся в состоянии пролиферативного покоя, циклины D -типа появляются раньше, чем циклин E. мРНК и белок циклина D1 впервые появляются через 6-8 часов, после чего уровень D1 остается повышенным до конца клеточного цикла (Matsushime H. et al., 1991; Won K.A. et al., 1992).

Когда из среды убирают ростовые факторы, уровень циклинов D-типа стремительно падает, так как D-циклины и их РНК нестабильны. Циклин D1 ассоциируется с CDK4 непосредственно перед началом синтеза ДНК. Уровень содержания комплекса достигает пика в ранней S-фазе, прежде чем снизиться в поздней S и в G2-фазе (Matsushime H. et al., 1992). По-видимому, циклины D2 и D3 действуют в G1-периоде несколько позже, чем циклин D1. Гиперэкспрессия циклинов D-типа (пятикратная по отношению к нормальной) при снижении потребности клеток в факторах роста и укорочении G1-фазы (Quelle D.E. et al., 1993) приводит к уменьшению размеров клетки. Циклин E необходим клеткам для вступления в S-фазу. Он связывается преимущественно с CDK2, хотя может образовывать комплекс и с CDK1 (Koff A. et al, 1991; Dulic V., et al., 1992). Уровень мРНК и белка циклина E, а также активность комплекса циклин-E-CDK2 достигают максимума при переходе G1-S и резко снижаются, когда клетки проходят среднюю и позднюю S-фазы (Dulic V. et al., 1992). При микроинъекции антител к циклину E в клетки млекопитающих в них происходит подавление синтеза ДНК. При гиперэкспрессии циклина E клетки быстрее проходят G1-фазу и вступают в S, и таким клеткам требуется меньшее количество факторов роста (Ohtsubo M., Roberts J.M., 1993).

### Митоз: инициация

Сигнал к началу деления клетки (митоза) исходит от фактора MPF (M phase promoting factor), стимулирующего M-фазу клеточного цикла. MPF представляет собой комплекс киназы CDK1 с активирующими ее циклинами A или B. Видимо, комплекс CDK1-циклин A играет более важную роль в завершении S- фазы и подготовке клетки к делению, тогда как комплекс CDK1- циклин B преимущественно осуществляет контроль последовательности. Циклины B1 и B2 присутствуют в очень малых концентрациях в фазе G1. Их концентрация начинает увеличиваться в конце S- и на протяжении G2-фаз, достигая своего максимума во время митоза, что приводит к замещению ими циклина A в комплексе с CDK1. Однако этого оказывается недостаточным для полной активации протеинкиназы. Функциональная компетентность CDK1 достигается после серии ее фосфорилирований и дефосфорилирований по специфическим остаткам аминокислот. Такой контроль необходим для предотвращения вступления клеток в митоз до полного завершения синтеза ДНК.

Деление клетки начинается только после того, как CDK1, находящаяся в комплексе с циклином B, фосфорилируется по остаткам Thr-14 и Tyr-16 протеинкиназой WEE1, а также по остатку Thr-161 протеинкиназой CAK и затем дефосфорилируется по остаткам Thr-14 и Tyr-15 фосфатазой CDC25. Активированная таким образом CDK1 фосфорилирует в ядре структурные белки, в том числе нуклеолин, ядерные ламины и виментин. После этого ядро начинает проходить через цитологически хорошо различимые стадии митоза.

Первая стадия митоза - профаза - начинается после того, как CDK1 полностью фосфорилируется, за ней следуют метафаза, анафаза и телофаза, завершающиеся делением клетки - цитокинезом. Следствием этих процессов является правильное распределение реплицированных хромосом, ядерных и цитоплазматических белков, а также других высокомолекулярных и низкомолекулярных соединений в дочерние клетки. После завершения цитокинеза происходит разрушение циклина B, сопровождаемое инактивацией CDK1, что приводит к вступлению клетки в фазу G1 или G0 клеточного цикла.

### Фаза G0 клеточного цикла

Клетки некоторых типов на определенных стадиях дифференцировки могут прекращать свое деление, полностью сохраняя свою жизнеспособность. Такое состояние клеток получило название фазы G0. Клетки, достигшие состояния терминальной дифференцировки, уже не могут выйти из этой фазы. В то же время клетки, для которых характерна чрезвычайно низкая способность к делению, например, гепатоциты, могут снова вступать в клеточный цикл после удаления части печени.

Переход клеток в состояние покоя становится возможным благодаря функционированию высокоспецифических ингибиторов клеточного цикла. При участии этих белков клетки могут прекращать пролиферацию в неблагоприятных условиях окружающей среды, при повреждении ДНК или появлении грубых ошибок ее репликации. Такие паузы используются клетками для репарации возникших повреждений. При некоторых внешних условиях клеточный цикл может приостановится в точках рестрикции (Hartwell L., 1995). В этих точках клетки становятся коммитированными к вступлению в S-фазу и/или в митоз. Клетки позвоночных в стандартной культуральной среде, лишенной сыворотки, в большинстве случаев не вступают в S-фазу, хотя среда содержит все необходимые питательные вещества.

При достижении сомкнутого монослоя клетки, способные к контактному торможению, выходят из клеточного цикла даже в присутствии сыворотки крови. Клетки, которые вышли из митотического цикла на неопределенное время, сохраняя жизнеспособность и пролиферативный потенциал, называют покоящимися клетками (Епифанова О.И. и др., 1983). Это называется переходом в состояние пролиферативного покоя или в G0-фазу.

В 90-х гг. не прекращались дискуссии, можно ли состояние пролиферативного покоя определить как фазу, принципиально отличную от G1. По-видимому это действительно так. В ядрах клеток, находящихся в пролиферативном покое, также как и в клетках, находящихся в G1-фазе, как правило содержится неудвоенное количество ДНК. Однако между клетками в этих двух состояниях имеются существенные различия. Известно, что продолжительность G1-фазы у делящихся клеток значительно короче, чем время перехода G0-S. В многочисленных работах по слиянию покоящихся и пролиферирующих клеток и по микроинъекции мРНК показано, что клетки в G0-фазе содержат ингибиторы пролиферации, препятствующие вступлению в S-фазу.

Эти факты предполагают, что клетка должна осуществлять специальную программу для выхода из G0. Необходимо отметить также, что в покоящихся клетках не экспрессируются CDK2 и CDK4, а также циклины D - и E-типов. Их синтез индуцируется только факторами роста (Lodish H. et al., 1995). В постоянно циклирующих клетках уровень D- и E-циклинов остается высоким на протяжении всего цикла, и продолжительность G1-периода по сравнению с пререпликативным периодом уменьшается.

Таким образом, в клетках, находящихся в G0-фазе, отсутствуют белки, разрешающие проход через точки рестрикции и позволяющие вступать в S-фазу. Для перехода покоящихся клеток в S-фазу факторы роста должны индуцировать в них синтез этих белков (Lodish H. et al., 1995). Ген E7 HPV "высокого риска": влияние на клеточный цикл.

### Клеточный цикл: ингибиторы

В клеточном цикле имеются две основные стадии (точки перехода, контрольные точки R - restriction points), на которых могут быть реализованы негативные регуляторные воздействия, останавливающие продвижение клеток через клеточный цикл. Одна из этих стадий контролирует переход клетки к синтезу ДНК, а другая - начало митоза. Имеются и другие регулируемые этапы клеточного цикла. Переход клеток от одной фазы клеточного цикла к другой контролируется на уровне активации CDK их циклинами с участием ингибиторов циклинзависимых киназ CKI. По мере необходимости эти ингибиторы могут активироваться и блокировать взаимодействие CDK со своими циклинами, а следовательно, и клеточный цикл как таковой. После изменения внешних или внутренних условий клетка может продолжить пролиферацию или вступить на путь апоптоза.

Имеется две группы CKI: белки семейств p21 и INK4 (inhibitor of CDK4), члены которых внутри семейств обладают похожими структурными свойствами. Семейство ингибиторов p21 включает в себя три белка: p21, p27 и p57. Поскольку эти белки были описаны независимо несколькими группами, до сих пор используются их альтернативные названия. Так, белок p21 известен также под именами WAF1 (wild-type p53 activated fragment 1), CIP1 (CDK2 interacting protein 1), SDI1 (senescent derived inhibitor 1) и mda-6 (melanoma differentiation associated gene). Синонимами p27 и p57 являются соответственно KIP1 (kinase inhibiting proteins 1) и KIP2 (kinase inhibiting proteins 2). Все эти белки обладают широкой специфичностью действия и могут ингибировать различные CDK. В отличие от этого группа ингибиторов INK4 более специфична. В нее входят четыре белка: p15INK4B, p16INK4A, p18INK4C и p19INK4D. Ингибиторы семейства INK4 функционируют во время фазы G1 клеточного цикла, подавляя активность киназы CDK4, однако второй белковый продукт гена INK4A - p19ARF, взаимодействует с регуляторным фактором MDM2 белка p53 и инактивирует фактор. Это сопровождается увеличением стабильности белка p53 и остановкой клеточного цикла.

### Клеточный цикл: регуляция перехода от G1- к S-фазе

До начала клеточного цикла белок p27, находясь в высокой концентрации, предотвращает активацию протеинкиназ CDK4 или CDK6 циклинами D1, D2 или D3. В таких условиях клетка остается в фазе G0 или ранней фазе G1 до получения митогенного стимула. После адекватной стимуляции происходит уменьшение концентрации ингибитора p27 на фоне возрастания внутриклеточного содержания циклинов D. Это сопровождается активацией CDK и, в конечном счете, фосфорилированием белка pRb, освобождением связанного с ним фактора транскрипции E2F и активацией транскрипции соответствующих генов.

На этих ранних стадиях фазы G1 клеточного цикла концентрация белка p27 все еще остается довольно высокой. Поэтому после прекращения митогенной стимуляции клеток содержание этого белка быстро восстанавливается до критического уровня и дальнейшее прохождение клеток через клеточный цикл блокируется на соответствующем этапе G1. Эта обратимость возможна до тех пор, пока фаза G1 в своем развитии не достигает определенной стадии, называемой точкой перехода, после прохождения которой клетка становится коммитированной к делению, и удаление факторов роста из окружающей среды не сопровождается ингибированием клеточного цикла. Хотя с этого момента клетки становятся независимыми от внешних сигналов к делению, они сохраняют способность к самоконтролю клеточного цикла.

Ингибиторы CDK семейства INK4 (p15, p16, p18 и p19) специфически взаимодействуют с киназами CDK4 и CDK6. Белки p15 и p16 идентифицированы как супрессоры опухолевого роста, и их синтез регулируется белком pRb. Все четыре белка блокируют активацию CDK4 и CDK6, либо ослабляя их взаимодействие с циклинами, либо вытесняя их из комплекса. Хотя оба белка p16 и p27 обладают способностью ингибировать активность CDK4 и CDK6, первый имеет большее сродство к этим протеинкиназам. Если концентрация p16 повышается до уровня, при котором он полностью подавляет активность киназ CDK4/6, белок p27 становится основным ингибитором киназы CDK2.

На ранних стадиях клеточного цикла здоровые клетки могут распознавать повреждения ДНК и реагировать на них задержкой прохождения клеточного цикла в фазе G1 до репарации повреждений. Например, в ответ на повреждения ДНК, вызванные ультрафиолетовым светом или ионизирующей радиацией, белок p53 индуцирует транскрипцию гена белка p21. Повышение его внутриклеточной концентрации блокирует активацию CDK2 циклинами E или A. Это останавливает клетки в поздней фазе G1 или ранней S-фазе клеточного цикла. В это время клетка сама определяет свою дальнейшую судьбу - если повреждения не могут быть устранены, она вступает в апоптоз.

Существуют две разнонаправленные системы регуляции G1/S - перехода: положительная и отрицательная (O`Connor D.J., Lam E., ea., 1995). Система положительно регулирующая вход в S-фазу, включает гетеродимер E2F-1/DP-1 и активирующие его циклин-киназные комплексы. Другая система тормозит вход в S-фазу. Она представлена опухолевыми супрессорами р53 и pRB, которые подавляют активность гетеродимеров E2F-1/DP-1. Нормальная пролиферация клеток зависит от точного баланса между этими системами. Соотношение между этими системами может изменяться, приводя к изменению скорости пролиферации клеток.

Ответ клетки на повреждения ДНК может наступить перед началом митоза. Тогда белок p53 индуцирует синтез ингибитора p21, который предотвращает активацию киназы CDK1 циклином B и задерживает дальнейшее развитие клеточного цикла. Прохождение клетки через митоз жестко контролируется - последующие стадии не начинаются без полного завершения предыдущих. Некоторые из ингибиторов были идентифицированы у дрожжей, но их гомологи у животных пока остаются неизвестными. Например, описаны белки дрожжей BUB1 (budding uninhibited by benomyl) и MAD2 (mitotic arrest deficient), которые контролируют присоединение конденсированных хромосом к митотическому веретену в метафазе митоза. До завершения правильной сборки этих комплексов белок MAD2 образует комплекс с протеинкиназой CDC20 и инактивирует ее. CDC20 после активации фосфорилирует белки и в результате блокирует те их функции, которые препятствуют расхождению каждой из двух гомологичных хроматид во время цитокинеза.

### Сверочная (контрольная) точка рестрикции в G2-фазе

Повреждения ДНК и другие нарушения вызывают остановку клеток не только в G1- и S-, но и в G2-фазе клеточного цикла. При этом выявляются повреждения, пропущенные при прохождении предыдущих сверочных точек либо полученные на последующих стадиях клеточного цикла. Кроме того, в G2-фазе детектируется полнота репликации ДНК и клетки, в которых ДНК недореплицирована, не входят в митоз [ Taylor, ea 1999 ].

**Заключение**

Данное реферативное исследование посвящалось рассмотрению особенностей клеточного цикла. Цель работы достигнута. Работа выполнена полностью.

В заключение подведем итоги:

1. Клеточный цикл – согласованная однонаправленная последовательность событий, в ходе которой клетка последовательно проходит его разные периоды без их пропуска или возврата к предыдущим стадиям. Клеточный цикл заканчивается делением исходной клетки на две дочерние клетки.
2. Длительность клеточного цикла у разных клеток варьирует. У быстро размножающихся клеток взрослых организмов таких как кроветворные или базальные клетки эпидермиса и тонкой кишки могут входить в клеточный цикл каждые 12-36 ч. Короткие клеточные циклы около 30 мин наблюдаются при быстром дроблении яиц иглокожих и земноводных. В экспериментальных условиях короткий клеточный цикл 20ч имеют многие линии клеточных культур. У большинства клеток длительность периода между митозами составляет примерно 10-24 ч.
3. Клеточный цикл эукариот состоит из интерфазы, во время которой идет синтез ДНК и белков и осуществляется подготовка к делению клетки и собственно само деление клетки, митоз. Интерфаза состоит из нескольких периодов: G1-фазы начального роста, во время которой идет синтез мРНК, белков, других клеточных компонентов, S-фазы (синтетической фазы), во время которой идет удвоение молекул ДНК и G2-фазы во время которой идет подготовка к митозу. У дифференцировавшихся клеток, которые более не делятся в жизненном цикле может отсутствовать G1 фаза. Такие клетки находятся в фазе покоя G0.
4. Закономерная последовательность смены периодов клеточного цикла осуществляется при взаимодействии таких белков, как циклин-зависимые киназы и циклины. Клетки, находящиеся в G0 фазе могут вступать в клеточный цикл при действии на них гормонов роста. Разные факторы роста, такие как тромбоцитарный, эпидермальный, фактор роста нервов связываясь со своими рецепторами запускают внутриклеточный сигнальный каскад, приводящий в итоге к транскрипции генов циклинов и циклин-зависимых киназ.
5. Для определения завершения каждой фазы клеточного цикла необходимо наличие в нем контрольных точек. Если клетка «проходит» контрольную точку то она продолжается «двигаться» по клеточному циклу. Если же какие-либо обстоятельства, например повреждение ДНК, мешают клетке пройти через контрольную точку, которую можно сравнить со своего рода контрольным пунктом, то клетка останавливается и другой фазы клеточного цикла не наступает по крайней мере до тех пор, пока не будут устранены препятствия, не позволявшие клетке пройти через контрольный пункт. Существует как минимум четыре контрольных точки клеточного цикла: точка в G1 где проверяется интактность ДНК, перед вхождением в S-фазу, сверочная точка в S-фазе, в которой проверяется правильность репликации ДНК, сверочная точка в G2, в которой проверяются повреждения, пропущенные при прохождении предыдущих сверочных точек, либо полученные на последующих стадиях клеточного цикла. В G2 фазе детектируется полнота репликации ДНК и клетки, в которых ДНК недореплицирована не входят в митоз. В контрольной точке сборки веретена деления проверяется, все ли кинетохоры прикреплены к микротрубочкам.

**Библиографический список**

1. Информация на сайте www.humbio.ru предназначена исключительно для образовательных и научных целей. М., 2008.
2. Статья Кель О., Кель А.: Межгенные взаимоотношения в регуляции клеточного цикла. Молекулярная биология 31, 1997, стр 650- 668.
3. Кольман Я., Рем К., Вирт Ю., (2000). ‘Наглядная биохимия’, М., 2000.
4. Ченцов Ю.С., (2004). ‘Введение в клеточную биологию’. М.: ИКЦ «Академкнига».
5. Копнин Б.П., ‘Механизмы действия онкогенов и опухолевых супрессоров’. М. 2004.
6. Википедия. Словарь свободной энциклопедии. М. 2008.