

Fyziológia živočíšnej bunky

Iveta Herichová

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie
Prírodovedecká fakulta
Univerzita Komenského Bratislava

1

Bunkový cyklus

prednáška

2

POZOR – bunkový cyklus nie je mitóza, mitóza je časťou bunkového cyklu

- v bunkovom cykle prebiehajú dva hlavné procesy: vytváranie komponentov rastúcej bunky a rozdeľovanie komponentov do dcérskych buniek

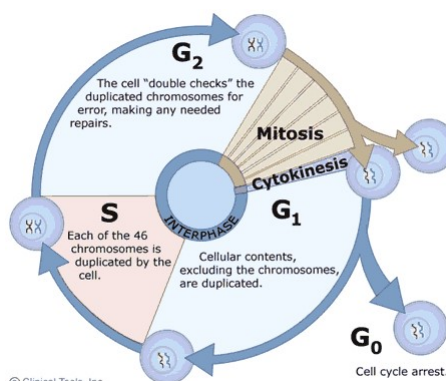
- keďže sa jedná o cyklus, môžeme si vybrať odkiaľ začneme

- replikácia DNA – S-fáza

- G₂ fáza

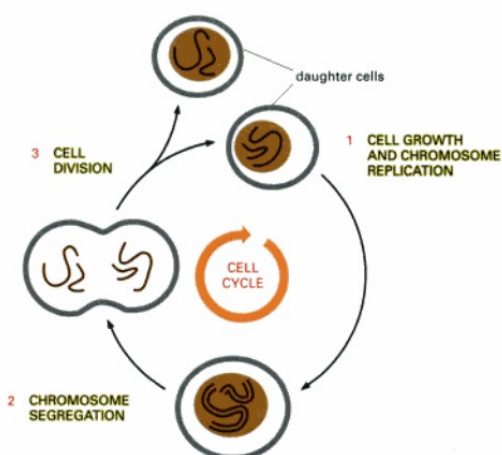
- mitóza a cytokinéza – M fáza

- G₁ fáza



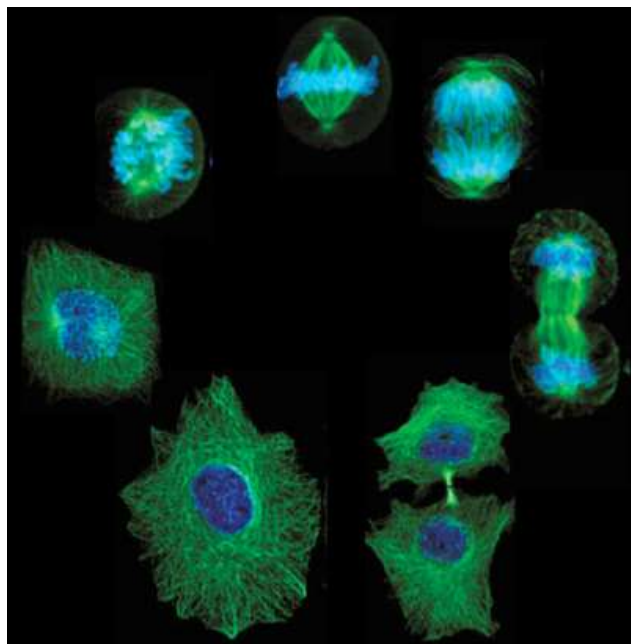
3

Figure 18-1 Cells reproduce by duplicating their contents and dividing in two, a process called the cell cycle.
The division of a hypothetical eucaryotic cell with two chromosomes is shown to illustrate how two genetically identical daughter cells are produced in each cycle. Each of the daughter cells will often divide again by going through additional cell cycles.



4

Čo rozumiete
pod pojmom
diferenciácia?
link



5

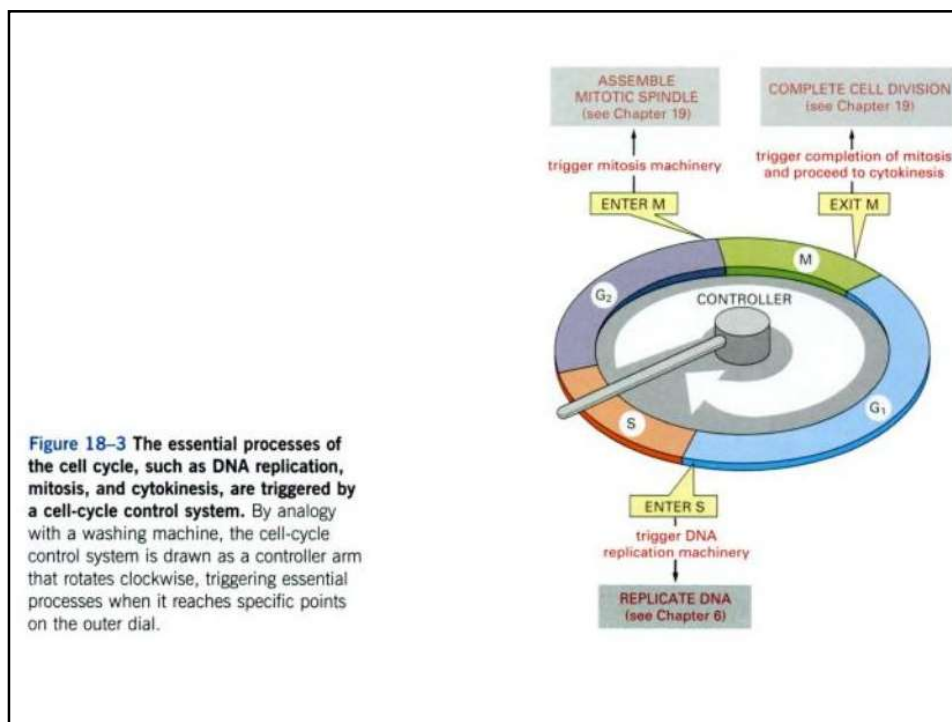
- systém regulácie bunkového cyklu musí v správnom čase aktivovať enzýmy a iné proteíny nevyhnutné na začatie každého kroku a po ukončení procesu musia byť zase deaktivované
- každý krok musí byť korektne ukončený skôr ako začne nasledujúci krok
napr. nová replikácia DNA nesmie začať skôr ako prejde mitózou a dorastie do správnej veľkosti
- regulačný systém musí brať do úvahy vonkajšie podmienky
- u mnohobunkových organizmov musí regulačný systém reagovať na signály od ostatných buniek napr. stimuly k deleniu ak je potrebný väčší počet buniek; ak funguje nesprávne môže dôjsť k vzniku rakoviny
- počet buniek môže byť regulovaný programovanou bunkovou smrťou

6

Systém regulácie bunkového cyklu

- bunkový cyklus má viacero kritických miest, kde sa výnimočne efektívne uplatňujú regulačné mechanizmy
- ak dôjde k porušeniu priebehu niektorého kroku ostatné kroky sú oddialené alebo pozastavené
- kontrolné body:
 - kontrolný bod v G₁ fáze: kontroluje dosiahnutie potrebnej veľkosti bunky (tento krok je závislý na prísune živín a iných faktoroch extracelulárneho prostredia), ostane zablokováný ak okolité podmienky nie sú vhodné na proliferáciu
 - kontrolný bod v G₂ fáze: tiež kontroluje veľkosť bunky, kontroluje kompletnú replikáciu DNA

7



8

- systém regulácie bunkového cyklu je založený na cyklicky aktivovaných proteínkinázach
- tieto proteíny iniciujú alebo regulujú replikáciu DNA, mitózu a cytokinézu
- najbežnejším spôsobom ako môže bunka meniť aktivitu proteínu je fosforylácia alebo defosforylácia
- proteínkinázy sú prítomné počas celého bunkového cyklu, ale aktivované sú len v určitej dobe a potom sú rýchlo deaktivované
- špecifické proteínkinázy sú aktivované v špecifických fázach cyklu
- zapínanie a vypínanie proteínkináz zabezpečujú iné proteíny – cyklíny
- cyklíny nemajú samé nemajú žiadnu enzýmovú aktivitu, ale ich väzbou na proteínkinázy sa tieto môžu aktivovať
- kinázy systému regulácie bunkového cyklu sa preto nazývajú cyklin-dependentné proteínkinázy resp. Cdk
- na rozdiel od Cdk sa koncentrácia cyklínov počas bunkového cyklu mení

9

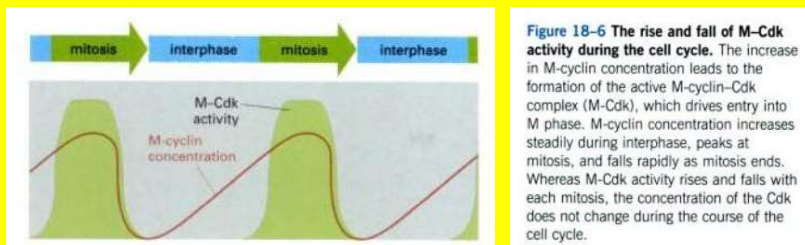
Konkrétny príklad:

- MPF je komplex cyklin-Cdk, ktorý reguluje vstup do M-fázy
- objavený bol pri štúdiu žabích vajíčok
- vajíčko žaby *Xenopus* má v priemere 1mm
- po oplodnení začína embryonálny vývin s mnohými rýchlymi deleniami
- tieto cykly sú najmä opakovaním S a M fáz s krátkymi alebo žiadnymi G fázami medzi nimi
- neprebíha transkripcia, mRNA podobne ako väčšina proteínov potrebných na bunkové procesy bola uložená do oocyty
- tieto včasné štádia sa nazývajú ryhovanie, nedochádza k rastu buniek a všetky bunky sa delia synchronne
- ak vezmeme žabie vajíčka v istom štádiu je možné pripraviť z nich extrakt charakteristický pre toto bunkové štádium
- je možné študovať vplyv extraktu na bunkový cyklus
- len v istom štádiu bolo možné pripraviť extrakt, ktorý indukoval vstup do M fázy

Čo sa deje v S fáze bunkového cyklu? [link](#)

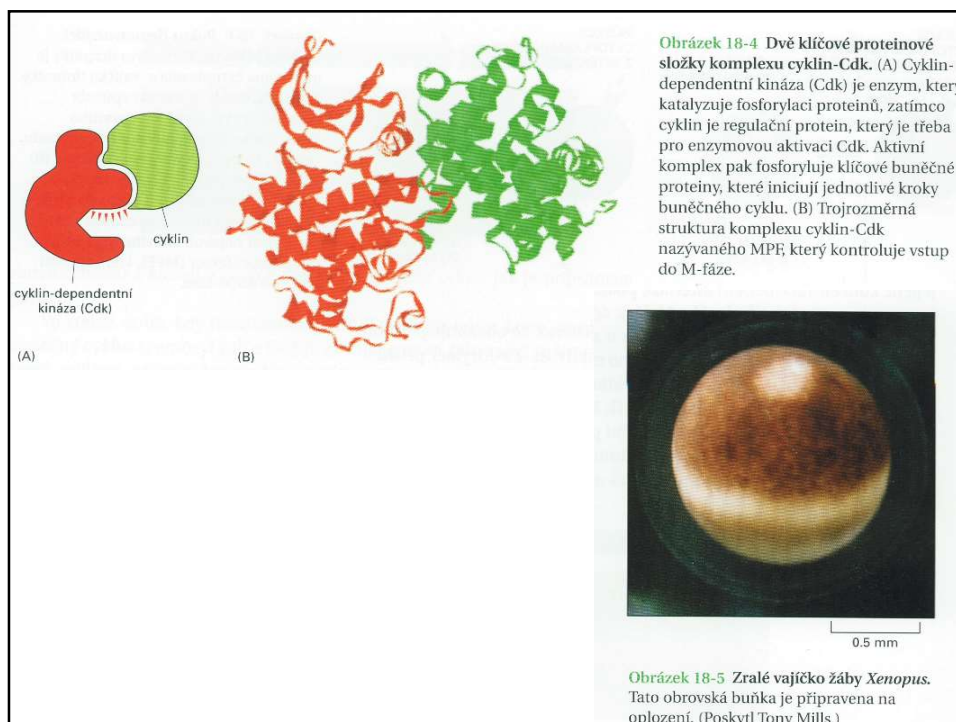
10

- takto bol objavený M-phase-promoting factor MPF
- aktivita MPF výrazne osciluje v priebehu bunkového cyklu

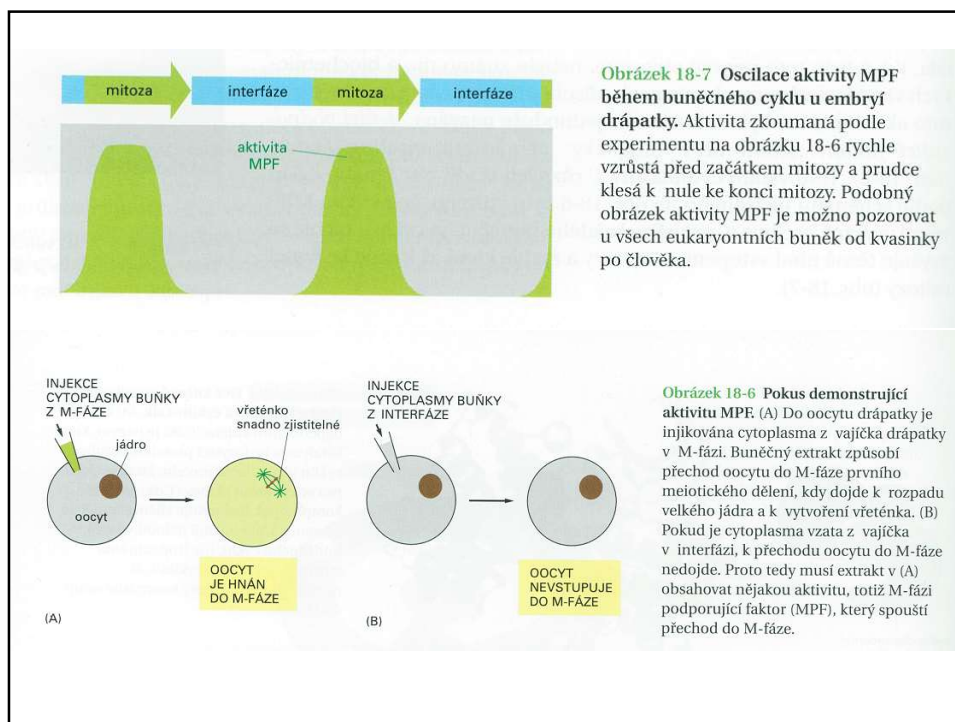


- keď sa podarilo MPF podarilo vyizolovať zistilo sa, že obsahuje vlastne jedinú proteínkináza
 - fosforyláciu príslušných proteínov spôsobuje táto kináza kondenzáciu chromozómov, rozpad jadrového obalu a reorganizáciu mikrotubulov pri tvorbe deliaceho vretienka
- napr. rozpad jadrovej membrány je spôsobený rozložením jadrovej laminy, ktorý nastane po fosforylácii proteínov laminy, kináza fosforyláciou ovplyvňuje aj proteíny asociované s mikrotubulmi, ktoré potom menia svoje vlastnosti

11



12

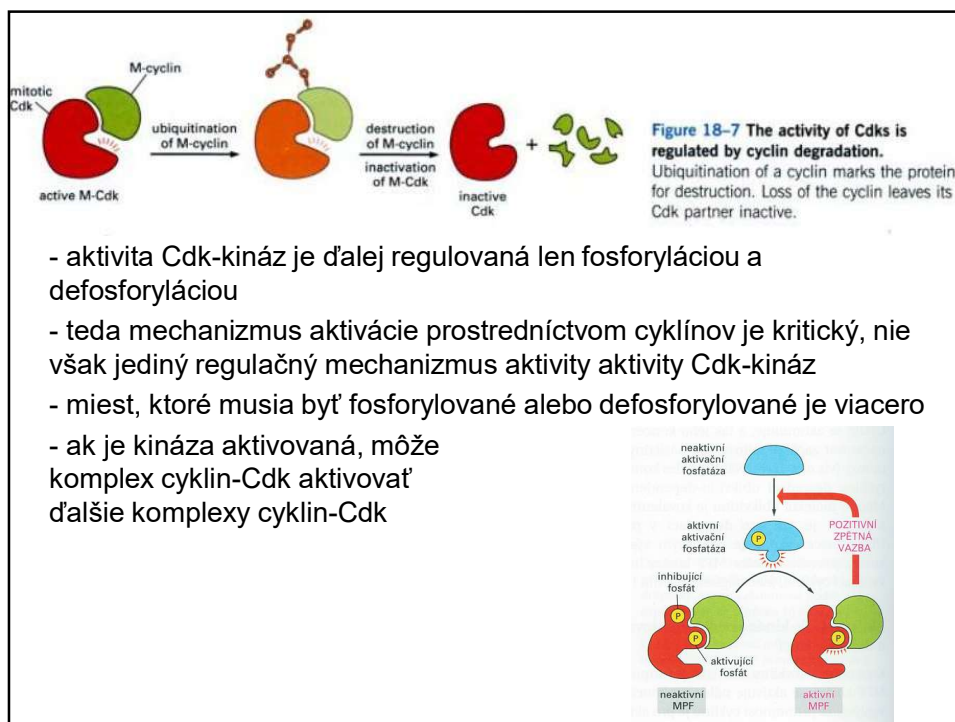


13

- MPF kináza může fungovat, len keď je na ňu naviazaný špecifický cyklín
- predpokladá sa, že okrem umožnenia aktivácie cyklín aj napomáha nájsť proteíny, ktoré majú byť fosforylované
- cyklíny boli pôvodne identifikované ako proteíny, ktorých koncentrácia behom interfázy postupne rastie a potom výrazne klesá po prechode bunky do M fázy – toto sa opakuje každý bunkový cyklus
- funkcia bola neznáma, keďže cyklín sám nemá aktivitu
- prelom nastal, keď sa zistilo, že cyklín je súčasťou MPF a je nevyhnutný na aktiváciu MPF kinázy
- náhly pokles koncentrácie cyklínu je spôsobený jeho degradáciou ubikvitín-dependentným proteolytickým systémom
- mnoho molekúl ubikvitínu je kovalentne naviazaných na cyklín a tak ho označí na degradáciu v proteozómoch
- ubikvitinácia cyklínu je nepriamo výsledkom aktivácie samotnej MPF-kinázy, pretože táto s istým oneskorením iniciuje ubikvitináciu cyklínu a následne tlmí svoju vlastnú aktivitu

[proteozóm](#)

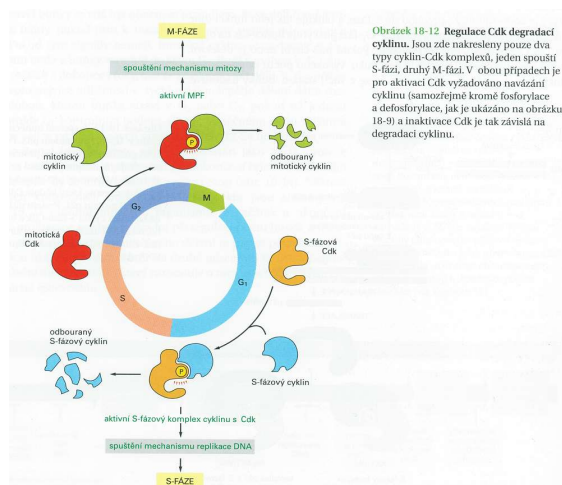
14



15

- existuje mnoho viacero cyklínov a Cdk, ktoré sa podieľajú na riadení bunkového cyklu
- špecifické komplexy cyklin-Cdk spúšťajú konkrétne kroky bunkového cyklu
- každý regulačný bod má svoje vlastné cyklíny a Cdk

- druhová aj fázová špecificita



16

SYSTÉM REGULÁCIE bunkového cyklu

U eukaryotických buniek sa vyvinula komplexná sieť regulačných proteínov, ktoré riadia priebeh bunkového cyklu.

Táto sieť musí reagovať na veľkosť bunky, replikáciu genómu a extracelulárne signály.

Cyklíny - existujú štyri typy:

1. G1-Cyklíny napomáhajú priechodu bunky cez resktrikčný bod v neskorej G1 fáze.
2. G1/S-cyklíny sa viažu na CDK na konci G1 a smerujú tak bunku do S fázy.
3. S-cyklíny sa viažu na CDK počas S fázy a sú potrebné na začatie replikácie DNA.
4. M-Cyklíny napomáhajú mitotickým dejom.

Každý cyklín sa hromadí len v určitom štádiu bunkového cyklu a aktivuje príslušného CDK partnera

17

Názvy jednotlivých Cdk a cyklinov u stavovcov

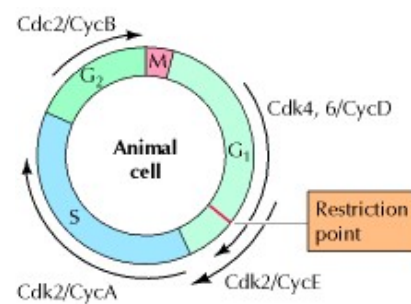
- CYKLIN-CDK	CYKLIN	CDK PARTNER
- G1-Cdk	cyklin D	Cdk4, Cdk6
- G1/S-Cdk	cyklin E	Cdk2
- S-Cdk	cyklin A	Cdk2, Cdk1
- M-Cdk	cyklin B	Cdk1 (Cdc2)

18

Rodiny cyclínov a cyclín-dependentných kináz

- U živočíšnych buniek je prechod cez G1 kontrolný bod kontrolovaný komplexami Cdk4 a Cdk6 s D- typom cyclínov. Cdk2/cyclin E komplexy neskôr v G1 fáze podmieňujú neskôr prechod z G1 do S fázy.

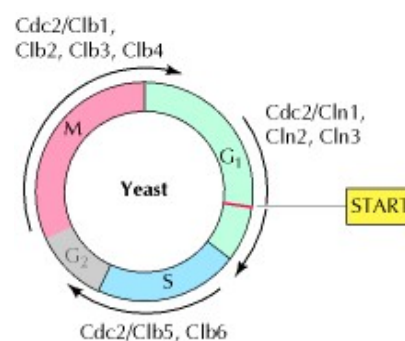
Cdc2/cyclin B complex reguluje prechod z G2 do M fázy.



19

Rodiny cyclínov a cyclín-dependentných kináz

- U kvasiniek je prechod cez „START“ bod kontrolovaný Cdc2 spolu s G1 cyclínmi (Cln1, Cln2 a Cln3). Complexy Cdc2 molekúl s istým typom B cyclínov (Clb molekuly) potom regulujú prechod cez S fázu a vstup do mitózy.



20

- Kontrolné body

Na začiatku G1 fázy (**cyklin D, Cdk4, Cdk6**); na konci G1 fázy (**cyklin E, Cdk2**) po G1- kontrolnom bode bunka podstupuje replikáciu DNA, aj keď sú odstránené extracelulárnej signály stimulujúce rast a delenie. Nahromadenie G1-cyklinov na konci G1 fázy spúšťa transkripciu génov pre G1/S-cyklíny, ktoré začínajú deje vedúce k replikácii DNA. G1-CDK aktivita začína fosforyláciu Rb-proteínu (**retinoblastoma proteín**), inhibítora progresie bunkového cyklu. Fosforylácia inaktivuje Rb-proteín, čo umožní regulačnému proteínu E2F aktivovať expresiu génov S fázy.

Regulácia G1 progresie a iniciácia S fázy je často narušená u nádorových buniek, čo vedie k neobmedzenému bunkovému rastu a proliferácii. Strata alebo mutácie Rb-proteínu je často spájaná s nadmernou proliferáciou a nádorovým ochorením.

21



- retinoblastóm je najčastejší intraokulárny nádor u detí
- zhubný nádor sietnice
- je často prítomný pri narodení a je takmer úplne obmedzený na skoré detstvo
- pri včasnej diagnostike je dobre liečiteľný s 5-ročným prežívaním 90-100%
- Zrenička nie je sfarbená do čierna ale vyzerá biela alebo červená.
- Postihnuté oko môže škúliť, buď smerom k uchu alebo nosu.
- Slabý alebo porušený zrak.
- Červené boľavé oko.
- Zväčšená zrenica.
- Zmena sfarbenia dúhovky.

Dryja, T.P., Friend, S., Weinberg, R.A., 1986. Genetic sequences that predispose to retinoblastoma and osteosarcoma. Symp. Fundam. Cancer Res. 39, 115-119.
 Friend, S.H., Bernards, R., Rogelj, S., Weinberg, R.A., Rapaport, J.M., Albert, D.M., Dryja, T.P., 1986. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. Nature 323, 643-646.

22

Nature
Volume 323, Issue 6089, 1986, Pages 643-646

A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma

Friend, S.H., Bernards, R., Rogelj, S., et al. 

Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA 02142, United States

Abstract

The genomes of various tumor cells contain mutant oncogenes that act dominantly, in that their effects can be observed when they are introduced into non-malignant cells. There is evidence for another class of oncogenes, in which tumor-predisposing mutations are recessive to wild-type alleles. **Retinoblastoma** is a prototype biological model for the study of such recessive oncogenes. This malignant tumour, which arises in the eyes of children, can be explained as the result of two distinct genetic changes, each causing loss of function of one of the two homologous copies at a single genetic locus, Rb, assigned to the q14 band of **human** chromosome 13. Mutations affecting this locus may be inherited from a parent, may arise during gametogenesis or may occur somatically. Those who inherit a mutant allele at this locus have a high incidence of non-ocular, second tumours, almost half of which are osteosarcomas believed to be caused by the same mutation. Here we describe the isolation of a complementary **DNA segment** that detects a chromosomal **segment** having the **properties** of the **gene** at this locus. The **gene** is expressed in many tumour types, but no RNA transcript has been found in retinoblastomas and osteosarcomas. The cDNA fragment detects a locus spanning at least 70 kilobases (kb) in **human** chromosome band 13q14, all or part of which is frequently deleted in retinoblastomas and osteosarcomas.

Cited by since 1996

This article has been cited **879** times in (Showing the 2 most recent)

Shibata, T.
Cancer genomics and pathology: All Tc
(2012) *Pathology International*

Vuosku, J., Suorsa, M., Ruottinen, M.
Polyamine metabolism during exponer
transition in Scots pine embryonic c
(2012) *Tree Physiology*

[View details of all 879 citations](#)

Inform me when this document is cited i

 Set alert |  Set feed

Other citing sources

Web: **217** times
Patents: **148** times

Related documents

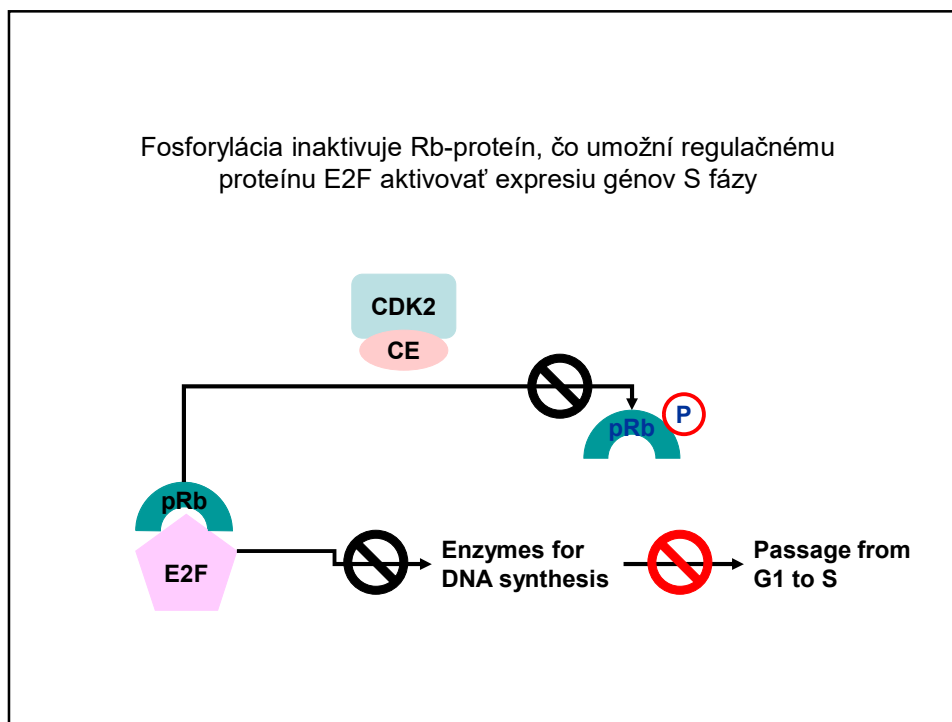
Find more related documents in Scopus

 Authors |  Keywords

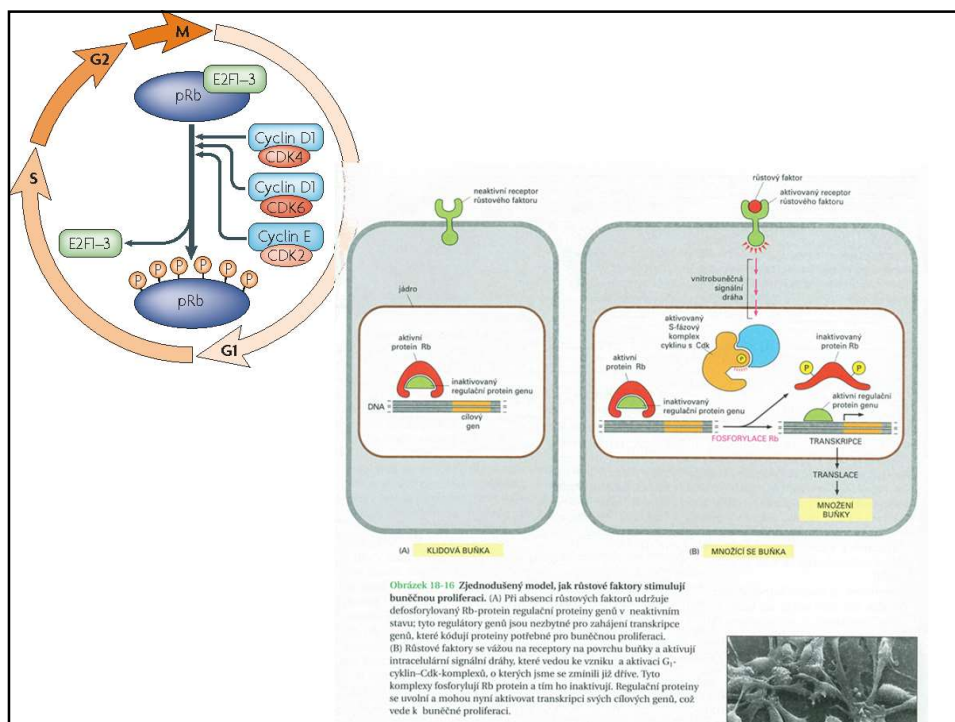
 More By These Authors

Čo znamená skratka cdk? [Link](#)

23



24



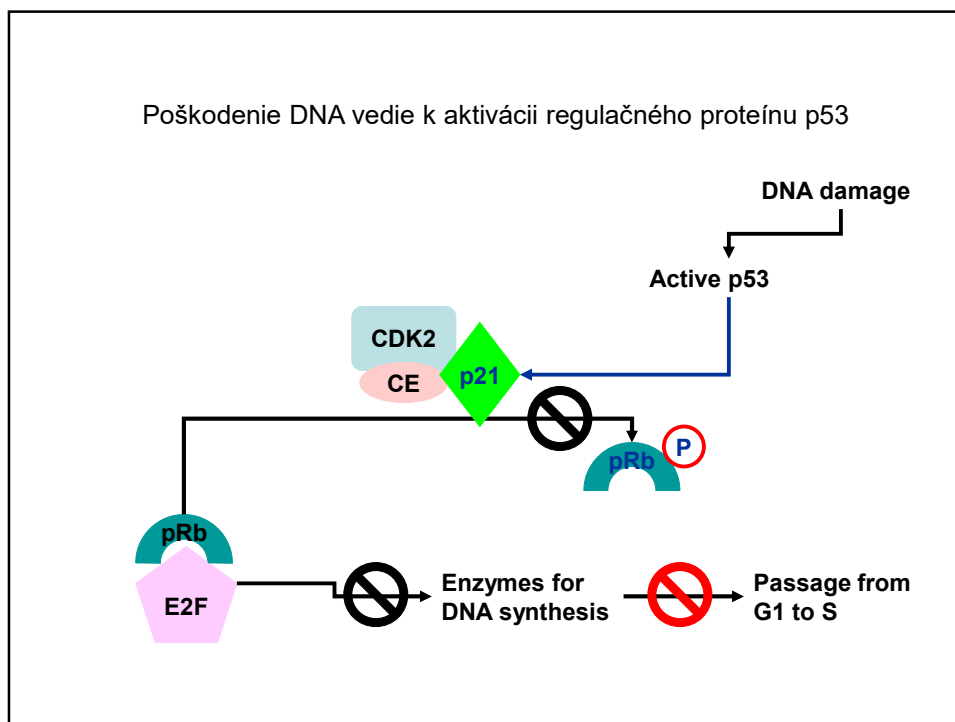
25

- bunkový cyklus môže byť v G1-fáze zastavený Cdk-inhibičnými proteínmi
- ak je poškodená DNA zabraňuje sa tak replikácii poškodenej DNA
- zatiaľ nie dokonale objasneným spôsobom poškodená DNA indukuje zvýšenie koncentrácie aj aktivity regulačného proteínu p53
- aktivovaný p53 stimuluje transkripciu génu kódujúceho Cdk-inhibičný proteín p21
- vedie to k zvýšeniu koncentrácie p21, ktorý sa naviaže na komplex cyklínu S-fázy s Cdk, ktorý je zodpovedný za prechod do S-fázy a zablokuje ho
- zastavenie bunkového cyklu v G1 fáze poskytuje bunke čas na opravu DNA pred replikáciou
- ak p53 chýba alebo je defektný, replikácia poškodenej DNA vedie ku vzniku vysokého počtu mutácií a potenciálne k nádorovým bunkám

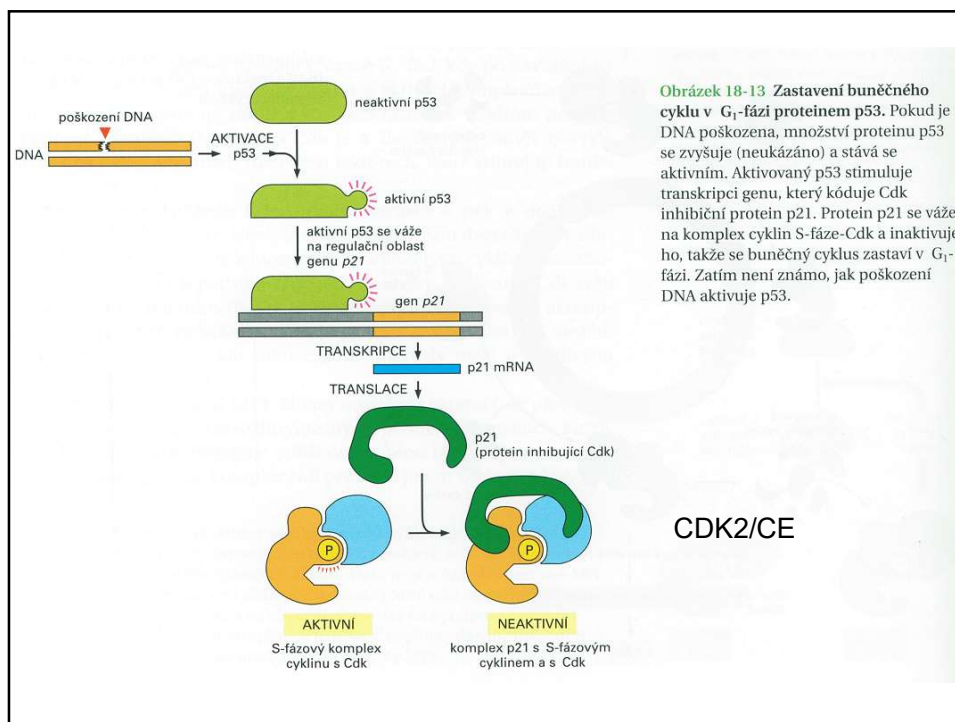
Ktorý cyklín je aktívny počas S fázy? [Link](#)

26

Poškodenie DNA vedie k aktivácii regulačného proteínu p53



27



28

2) G2-kontrolný bod (DNA replikačný kontrolný bod) zaisťuje, že bunka nevstúpi do mitózy kým nebude genóm zreplikovaný. Prebiehajúca syntéza DNA blokuje aktiváciu M-CDK.

29

G1 a G2-kontrolné body slúžia aj ako kontrolné body pri poškodení DNA (DNA damage checkpoint).

Bunkový cyklus je zastavený pri poškodení DNA v neskorej G1 fáze (zabraňuje vstup do S fázy) a v neskorej G2 fáze (zabraňuje vstup do mitózy).

Zastavenie v týchto kontrolných bodoch poskytuje bunke čas na opravu poškodenej DNA.

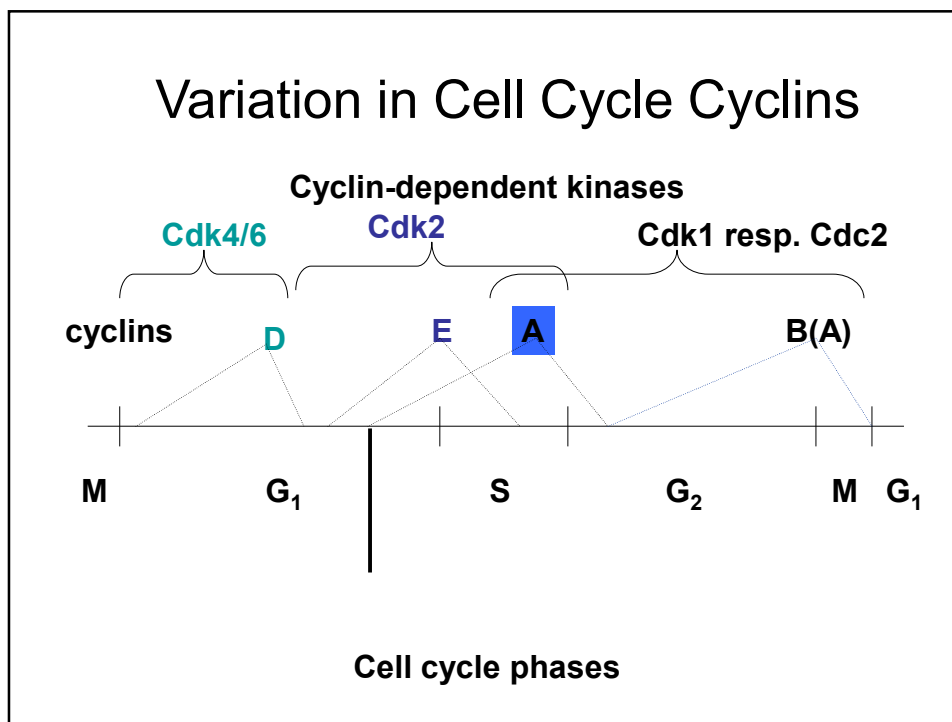
30

3) Metafázny kontrolný bod (*spindle-attachment checkpoint*) zaisťuje, že pred vlastným začatím separácie sesterských chromatíd v anafáze, budú všetky chromozómy správne pripojené k mitotickému vretienku.

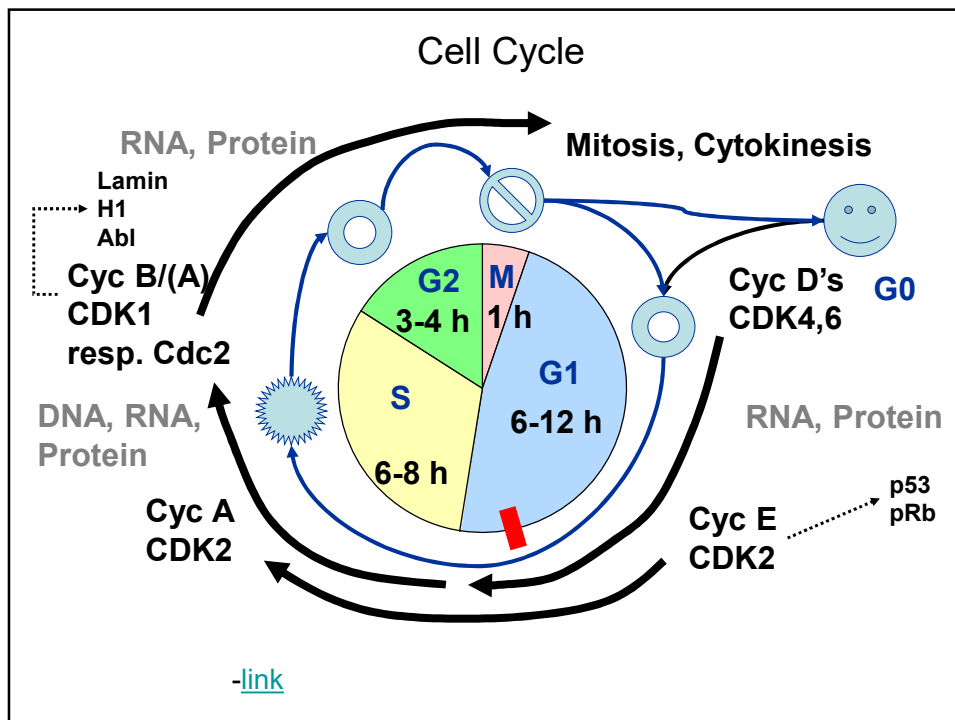
Kontrolný mechanizmus odhaľuje nepripojené kinetochory a blokuje anafázu. Keď sú všetky chromozómy pripevnené k vretienku M-CDK aktivuje APC (anaphase-promoting complex). APC je ubiquitin ligáza, ktorá kontroluje deštrukciu niektorých mitotických regulačných proteínov.

Jedným z týchto regulačných proteínov je securin, ktorý inhibuje aktivitu separázy. Keď je securin degradovaný, separáza štiepi kohezinový komplex, ktorý drží pohromade sesterské chromatidy a tie sa potom môžu oddeliť k pólom vretienka.

31



32



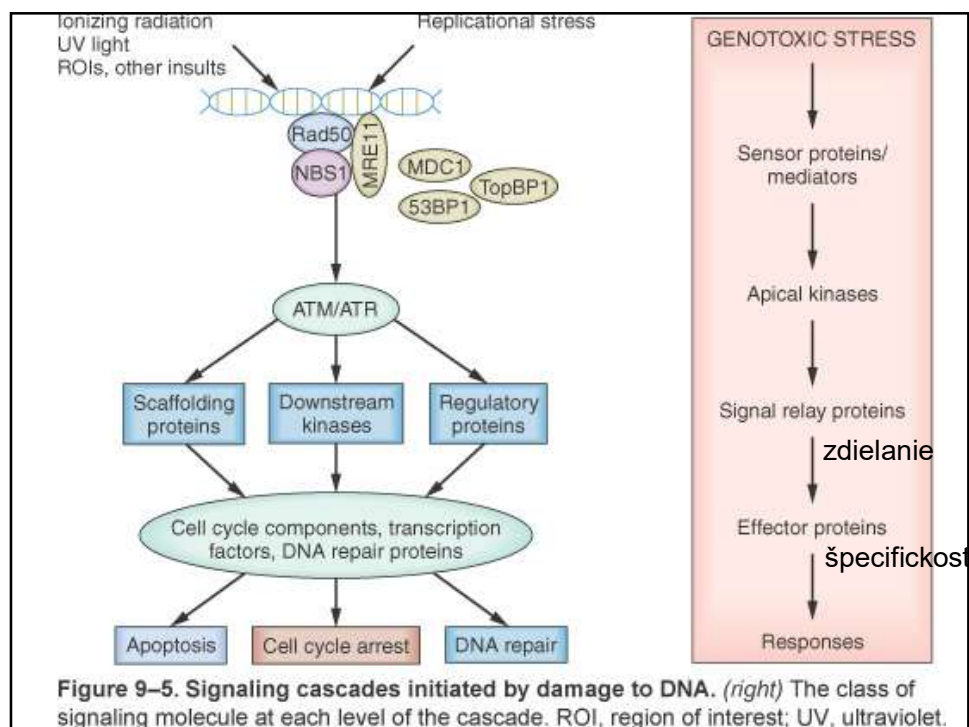
33

Detektory poškodenia DNA
DNA damage checkpoints

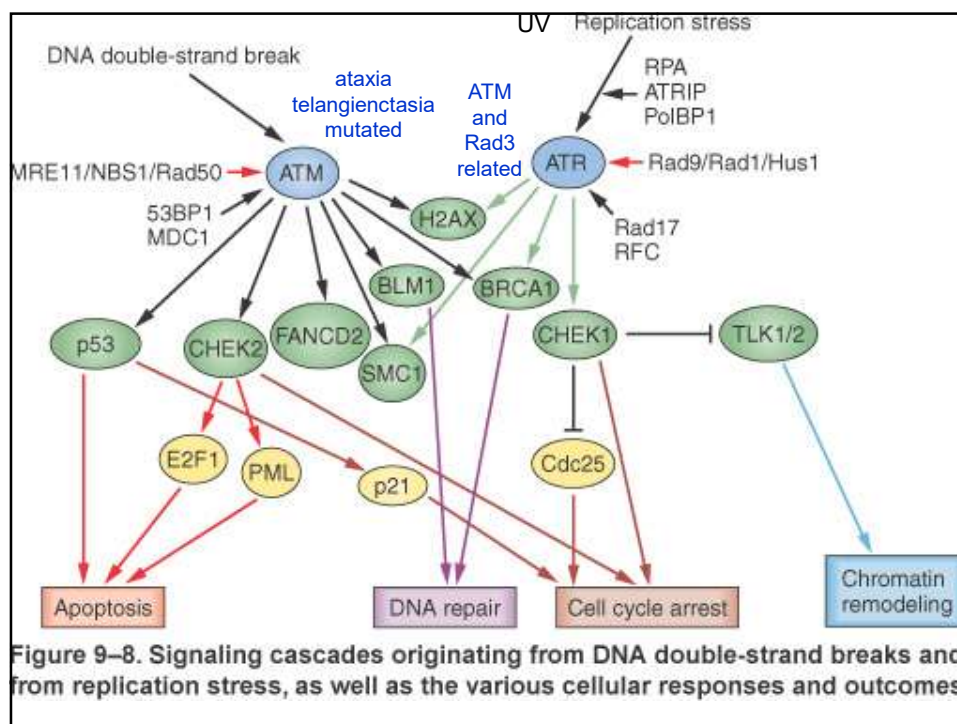
34

- detektory poškodenia DNA sú koncovým bodom komplexnej signalizačnej dráhy pozostávajúcej z troch hlavných komponentov:
 - 1 senzor poškodenia DNA
 - 2 prenášač signálu
 - 3 efektor
- genetické a biochemické štúdie u kvasiniek a v súčasnosti aj u ľudských buniek identifikovali viaceré proteíny zahrnuté v procese
- v ich funkciách je značný prekryv
- ATM je detektor aj signálna molekula
- viaceré triedy proteínov kontrolného bodu, kam patria napr. 53BP1 a MDC1 sú umiestnené medzi detektorom a signálnym transducerom
- G1/S, S a G2/M kontrolné body často využívajú rovnaké signálne molekuly, aj keď ich dôležitosť sa môže meniť a môžu byť dôležité viac v jednom, či inom kontrolnom bode

35



36



37

- pozastavenie bunkového cyklu si vyžaduje, aby na poškodenú DNA prisadol senzor ako ATM – *ataxia telangiectasia mutated* – je to enzým, ktorý fosforyluje signálne molekuly na serínovom alebo treonínovom zvyšku a tým posúva informáciu o poškodenej DNA ďalej

- ATM mutácia nie je letálna, ale spôsobuje zriedkavé ochorenie *ataxia telangiectasia* A-T typické cerebelárnou degeneráciou, imunodeficienciou, genómovou instabilitou (genetická instabilita – u jedinca je vysoká frekvencia mutácií), rádiosenzitivitou a predispozíciou pre nádorové ochorenia.

Aké faktory spôsobujú aktiváciu ATM? link 4

38

- ATM je 350 kDa oligomerický proteín, ktorý vykazuje vysokú homológiu s fosfatidylinozitol 3-kinázami, ale nedokáže fosforylovať lipidy
- ale môže fosforylovať proteíny
- ATM sa zväčša viaže na voľné DNA konce na mieste DNA zlomu oboch vlákien. Po aktivácii ionizačným žiarením sa ATM aktivuje autofosforyláciou a fosforyluje ďalšie proteíny vrátane Chk2, p53, NBS1, BRCA1 na serínoch a treonínoch, ktoré sa nachádzajú pred glutamínom – motív SQ alebo TQ. Susedné úseky tiež musia mať istú sekvenciu.
- Na zlom DNA prisadne komplex proteínov Mre11, RAD50 a NBS1, ktorý sa u človeka volá MRN komplex a navedie ATM
- ATM reaguje s NBS1 a fosforyluje histón. Fosforylácia vytvorí väzobné miesto pre BRCTdoménu (**BRCA1 C Terminus (BRCT) domain**)
- BRCA1 je súčasťou komplexu, ktorý opravuje DNA.

39

- Ďalším senzorom poškodenia DNA je fosfatidylinozitol 3-kináza ATR (ATM and Rad3 related)
- Je to 303 kDa veľký proteín, ktorý sa C-koncom podobá ostatným kinázam z rodiny PI3K.
- Delécia ATR je u myší letálna, u človeka je čiastočná strata aktivity ATR spojená so Seckelovým syndrómom, ktorý je autozómovo recesívne ochorenie s podobnými príznakmi ako A-T.
- ATR je proteín kináza, ktorá fosforyluje proteíny na serínových a treonínových zvyškoch a môže fosforylovať takmer všetky proteíny ako ATM. ATR je aktivovaná viac ultrafialovým (UV) žiarením ako radiáciou.
- Z citlivosti ATR na UV svetlo sa usudzuje, že je asi špecifická na zlomy, ktoré UV tvorí
- ATR naopak sa veľmi neviaže na dvojláknové zlomy ATM

Ako sa aktivuje ATM? [link 5](#)

40

Journal of Human Genetics

Article | Open Access | Published: 08 March 2019

Verification and rectification of cell type-specific splicing of a Seckel syndrome-associated ATR mutation using iPS cell model

Jose Ichisima, Naoya M. Suzuki, Bumpel Samata, Tomonari Awaya, Jun Takahashi, Masatoshi Hagiwara, Tatsutoshi Nakahata & Megumu K. Saito

Journal of Human Genetics **64**, 445–458 (2019) | Download Citation

1255 Accesses | 3 Altmetric | Metrics

Abstract

Seckel syndrome (SS) is a rare spectrum of congenital severe microcephaly and dwarfism. One SS-causative gene is Ataxia Telangiectasia and Rad3-Related Protein (ATR), and ATR (c.2101 A>G) mutation causes skipping of exon 9, resulting in a hypomorphic ATR defect. This mutation is considered the cause of an impaired response to DNA replication stress, the main function of ATR, contributing to the pathogenesis of microcephaly. However, the precise behavior and impact of this splicing defect in human neural progenitor cells (NPCs) is unclear. To address this, we established

[Aký je rozdiel medzi ATM a ATR?](#)

[link 6](#)

41

What is Seckel Syndrome?

Seckel syndrome is a rare **genetic** condition of dwarfism (spomalený rast) that involves intrauterine growth retardation (smaller size at birth), microcephaly (abnormally small head), mental handicap, short build, large eyes, narrow jaw, deformed hips, bent fifth finger, and birdlike features (receding forehead and chin with beaked nose). The **syndrome** is observed equally in males and females. This condition is also known as bird-headed dwarfism, nanocephaly, microcephalic primordial dwarfism.

Causes of Seckel Syndrome

Seckel syndrome is a rare **genetic condition** that is inherited in an autosomal recessive manner. This means that the chance of both the copies of the gene to get affected is rare. When one of the copies is affected, the individual is a carrier. Some of the **genes** that are mutated and cause Seckel syndrome are *CEP152* (SCKL5), *NINI* (SCKL7), *CEP63* (SCKL6), *RBBP8* (SCKL2), *ATRIP* (SCKL8), and **ATR** (SCKL1). These genes are involved in maintaining genomic stability. Seckel syndrome also **causes**

42

- **Intrauterine** growth retardation resulting in low birth weight
- Short stature due to **postnatal** growth retardation
- Defects in **dentition** – crowding of teeth, defects in enamel development (hypoplasia)
- Large eyes, sloped eyelids, eyes are crossed
- Bird-like features (sloping forehead, beaked nose, unusually small jaw [micrognathia])
- Ears with no ear lobes
- Structural defects: boky, forearm, elbow bone defects and dislocation.
- In some cases, 11 pairs of ribs instead of the usual 12
- Structural defects in the spine
- piaty prst ohnutý do strany (clinodactyly)
- chodilo otočené dovnútra (clubfoot)
- Excess body hair (hirsutism)

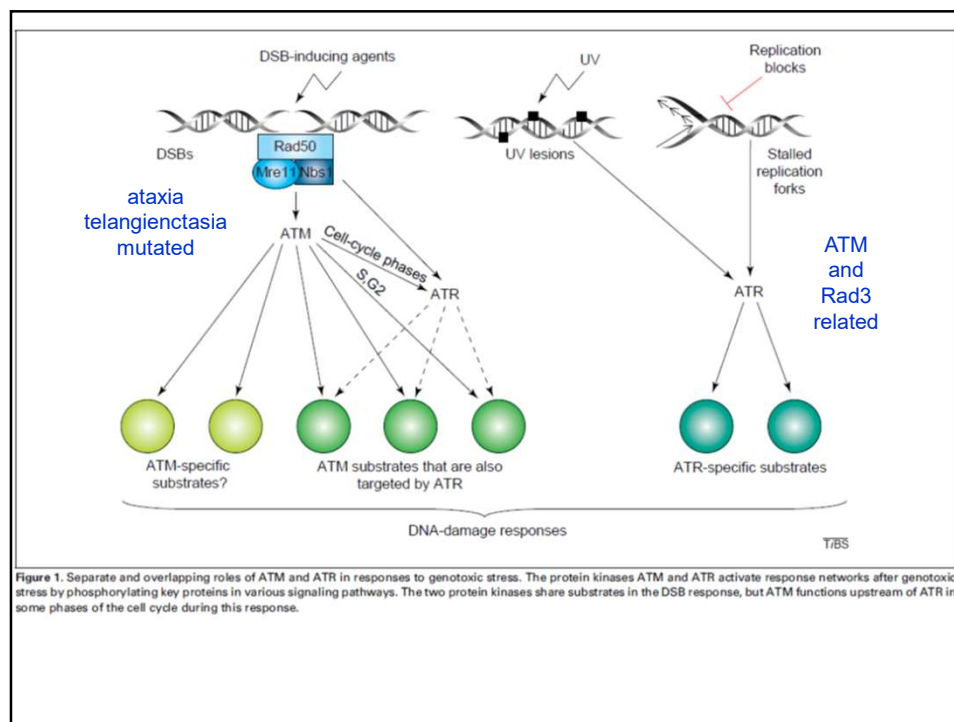


Treatment for Seckel Syndrome

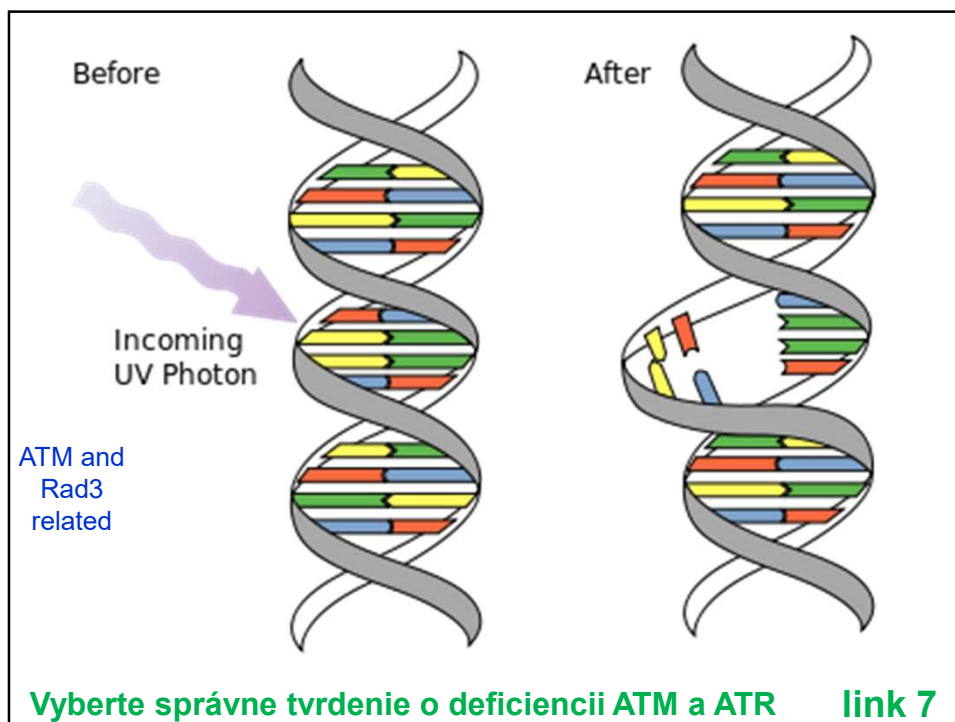
The disorders observed in Seckel syndrome range from structural deformities to blood disorders. Hematological problems such as leukemia and **anemia** can be treated with appropriate medication and therapy.

Mentally challenged individuals along with their **families** need to be given appropriate social support and counseling services.

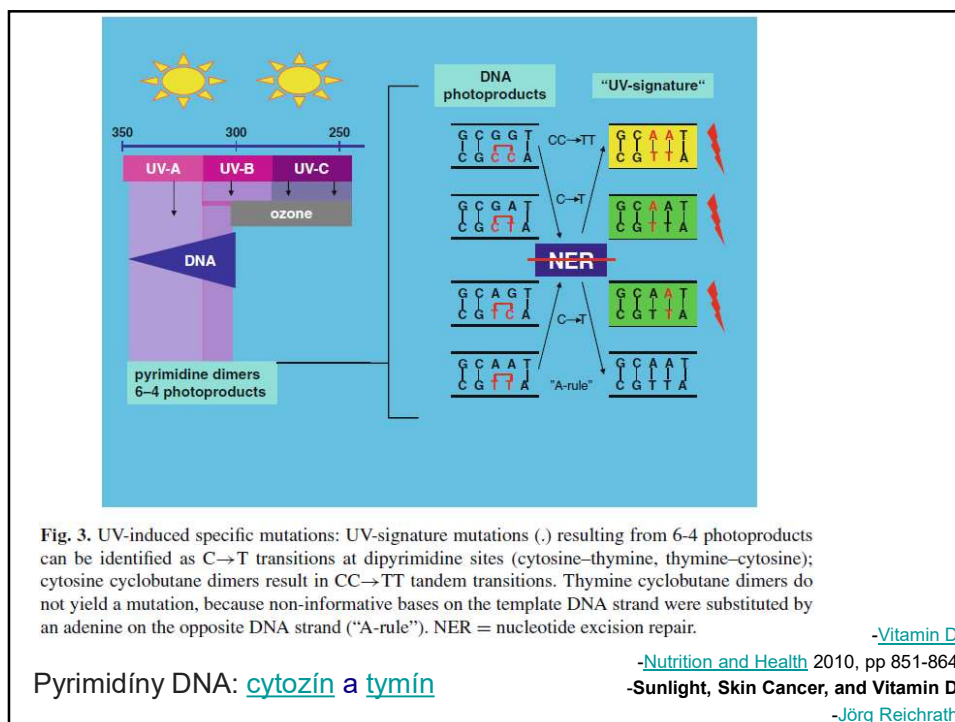
43



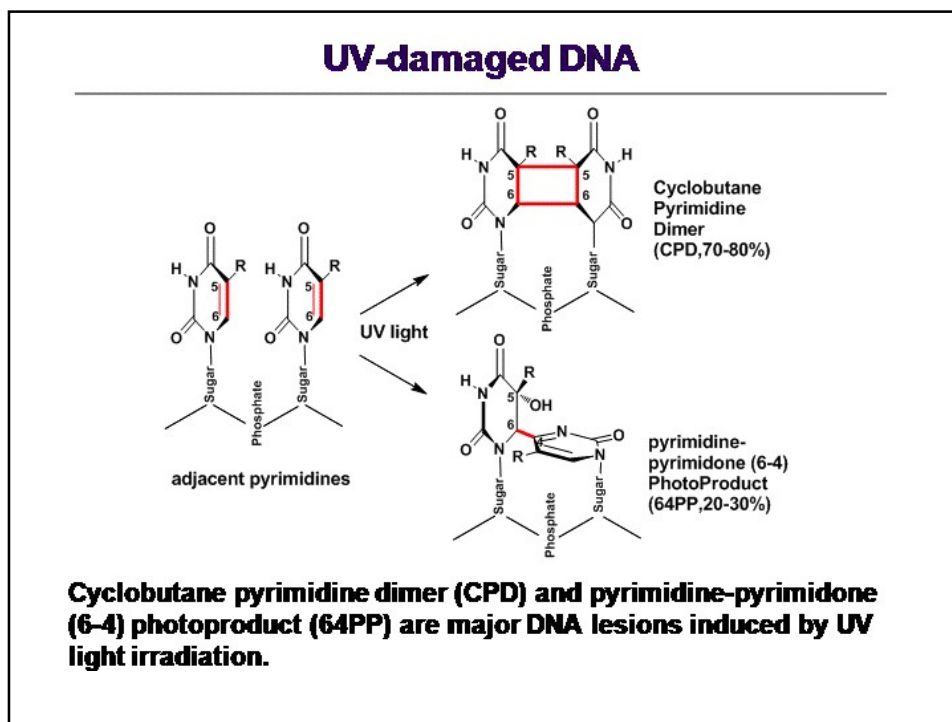
44



45



46



47

Replikačný stres DNA je definovaný ako nedostatočná replikácia DNA ktorá spôsobuje, že replikačná vidlička sa posúva pomaly alebo je pozastavená.

Nucleic Acids Research, 2007, Vol. 35, No. 22 7547

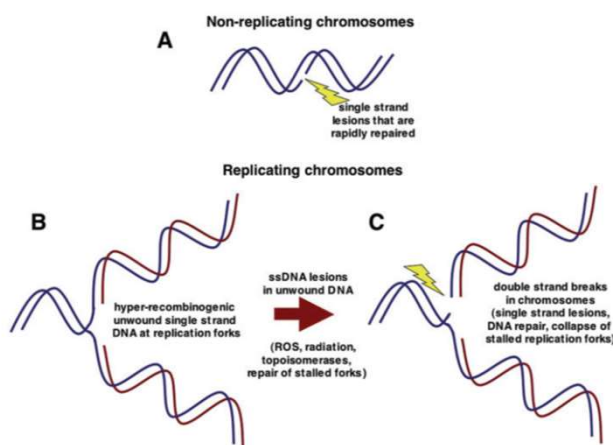
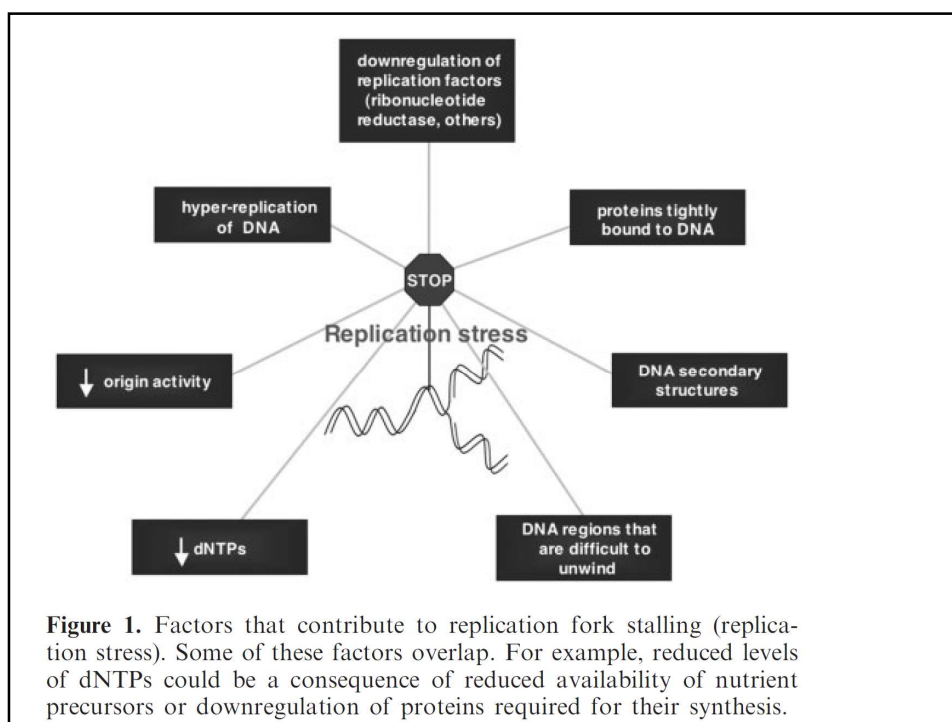


Figure 2. The unique structure of replicating DNA contributes to genome instability at replication forks, which is enhanced by replication fork stalling. (A) When non-replicating DNA molecules suffer single-strand lesions, the integrity of these molecules is maintained by hydrogen bond base pairing on either side of the lesions until they are repaired. (B) Replicating DNA molecules contain single-strand DNA at replication forks after unwinding of double-strand template DNA has occurred in preparation for template-directed DNA synthesis. This single-strand DNA is highly recombinogenic. (C) Single-strand DNA at replication forks is susceptible to single-strand lesions that effectively produce double-strand breaks. Double-strand breaks also occur at stalled replication forks in association with attempts to repair the stalled forks and/or due to replication fork collapse in the absence of checkpoint functions.

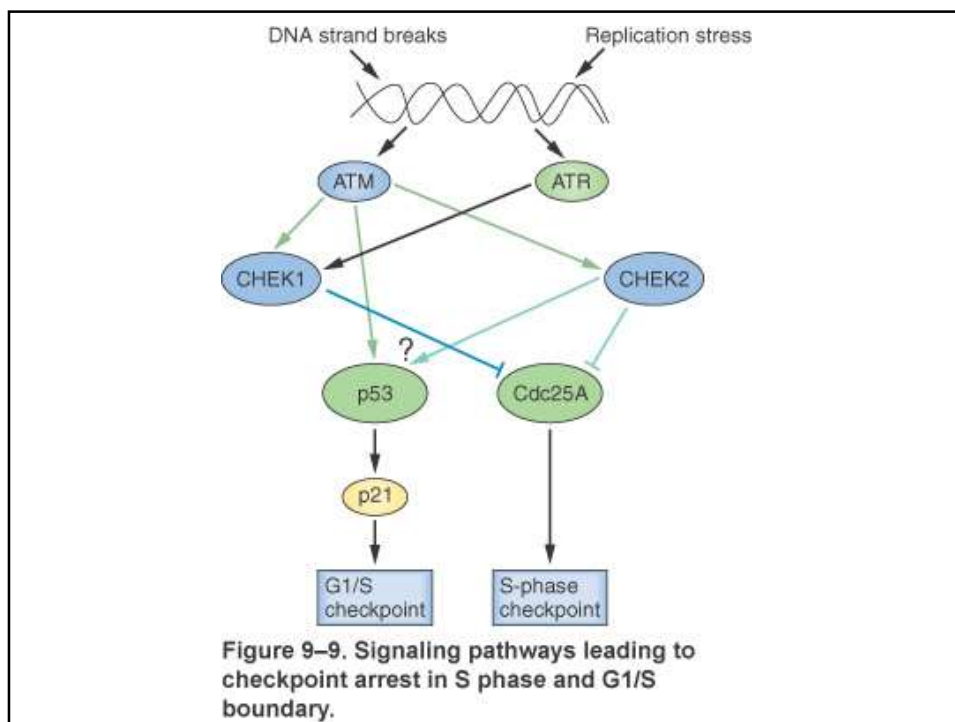
48



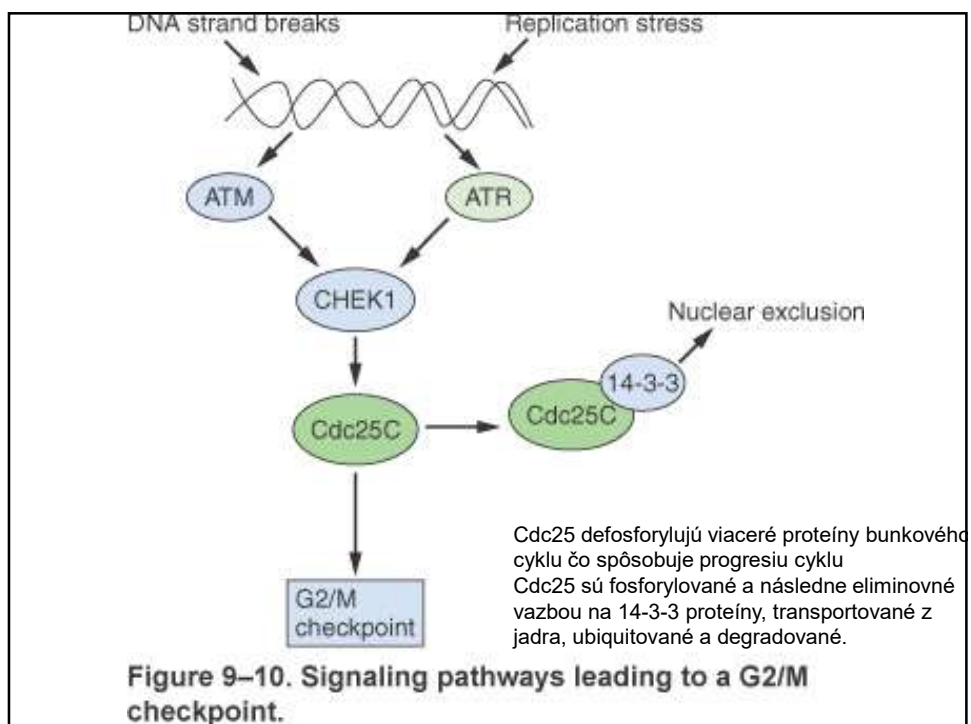
49

- signálne molekuly CHEK1 a CHEK2 – fosforylujú cieľové molekuly
- u človeka sú najmenej tieto dve
- slúžia ako transducer a súvisia s checkpointami
- sú to serín trenonín kinázy s istou homológiu, ktoré sú mierne substrátovo špecifické
- u cicavcov ATM prenáša signál cez CHEK2 a UV signál je zase sprostredkovaný cez ATR a CHEK1.
- existuje to prekryv, ale len čiastočný, chek1 knockout je letálny, ale chek2 nie u myši
- zistilo sa, že mutácie chek2 u človeka zvyšujú riziko nádoru prsníka
- hlavné efektorové proteíny sú p53 a Cdc25 fosfatáza
- **Cdc25 defosforyluje viaceré cyklín dependentné kinázy bunkového cyklu čo spôsobuje progresiu cyklu**
- Cdc25 je fosforylovaný a následne eliminovaný väzbou na 14-3-3 proteíny, transportovaný z jadra, ubiquitovaný a degradovaný.
- po DNA poškodení Cdc25 nie je prítomný čo spôsobí pozastavenie bunkového cyklu
- p53 ovplyvňuje G1/S prostredníctvom p21 a inhibíciou cdk2
- hypofosforylovaná cdc25c napomáha prechodu z G2 do M fázy defosforylácou cdk1.

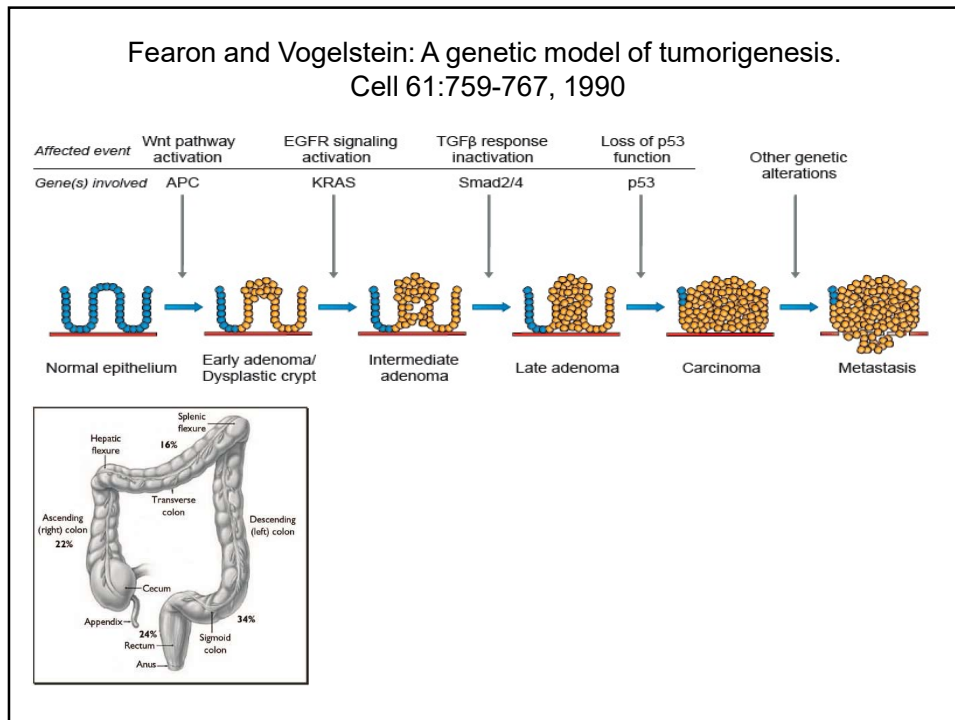
50



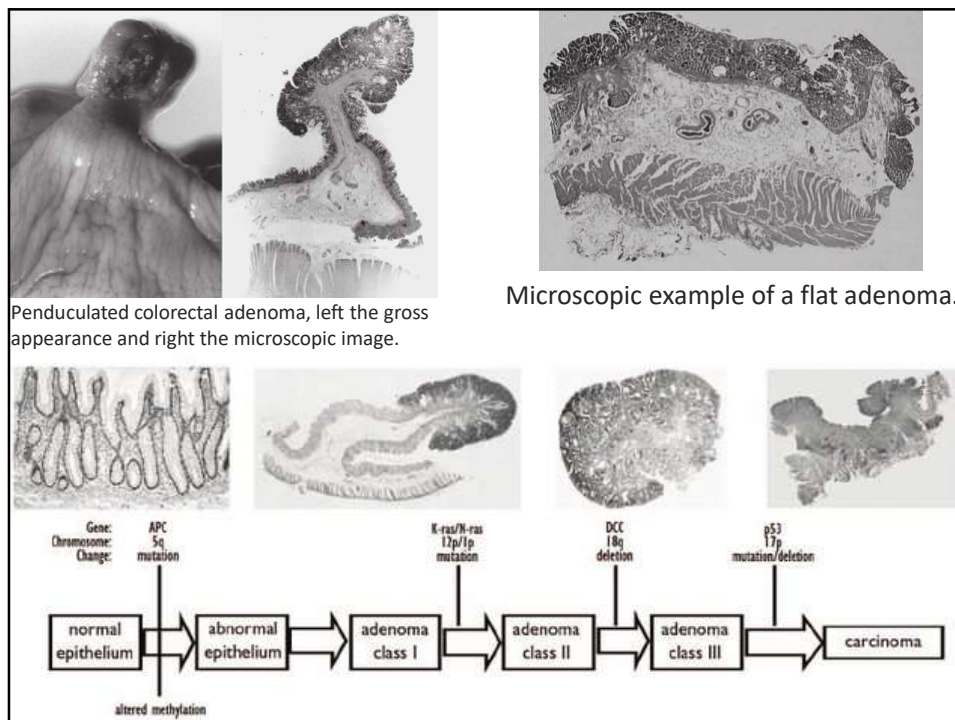
51



52



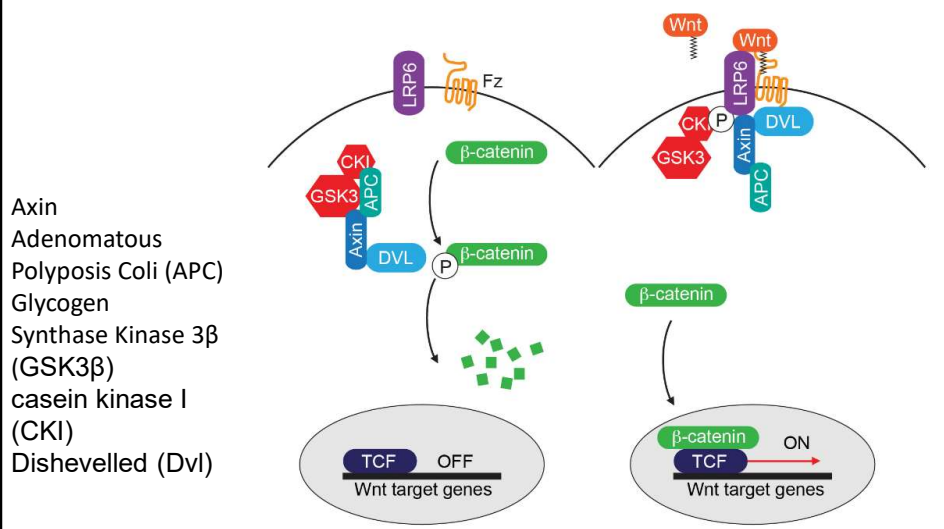
53



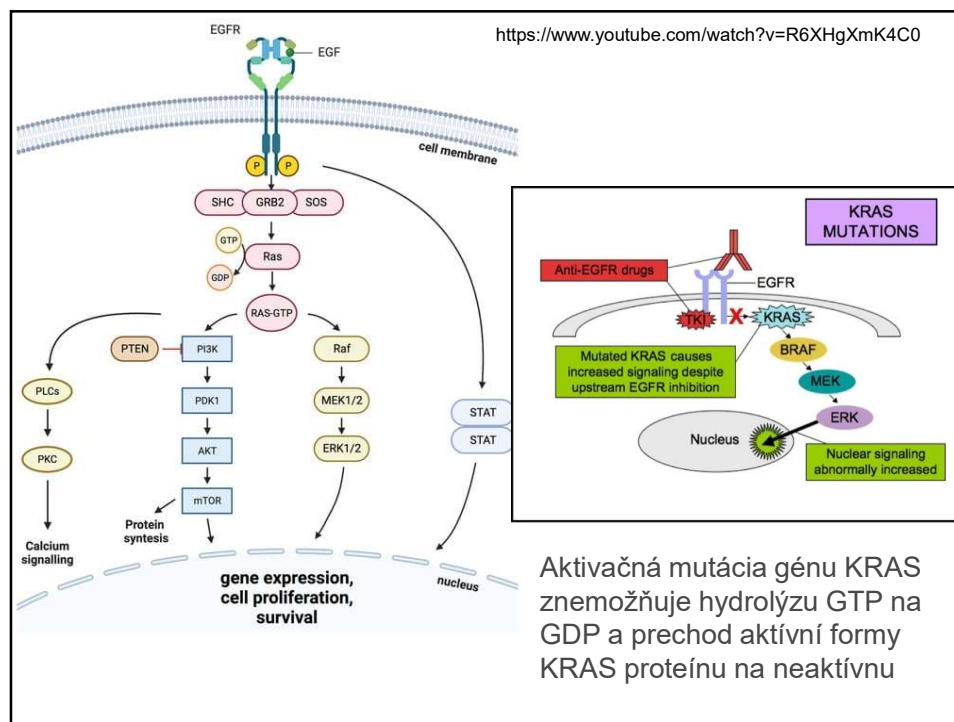
54

- Wnt signalizácia - faktor skorej ontogenézy, ale dôležitý aj v nádorových ochoreniach
- Wnt rodina – glykoproteíny pôsobiace cez Wnt/beta cateninovú dráhu

<https://www.youtube.com/watch?v=YuVkrTOYOIQ>

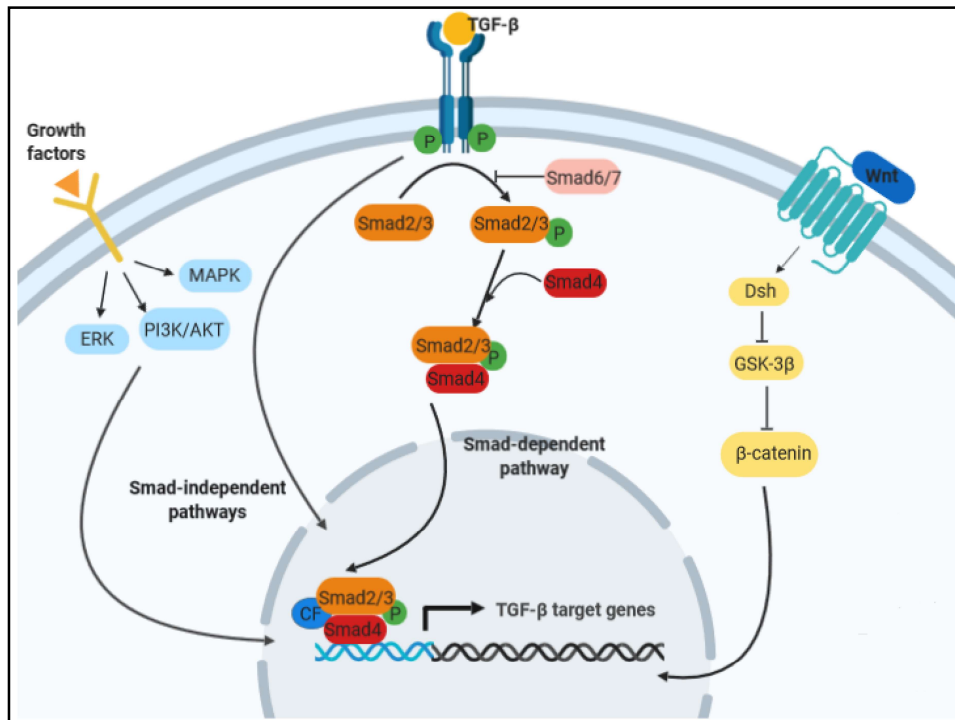


55



Aktivačná mutácia génu KRAS znemožňuje hydrolýzu GTP na GDP a prechod aktívnej formy KRAS proteínu na neaktívnu

56



57

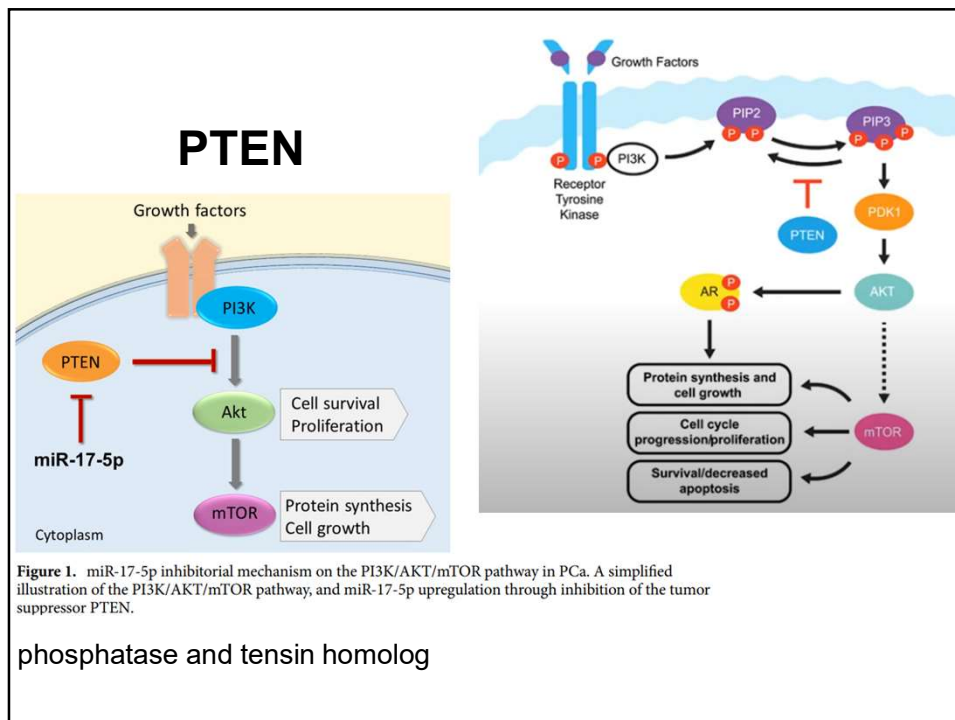
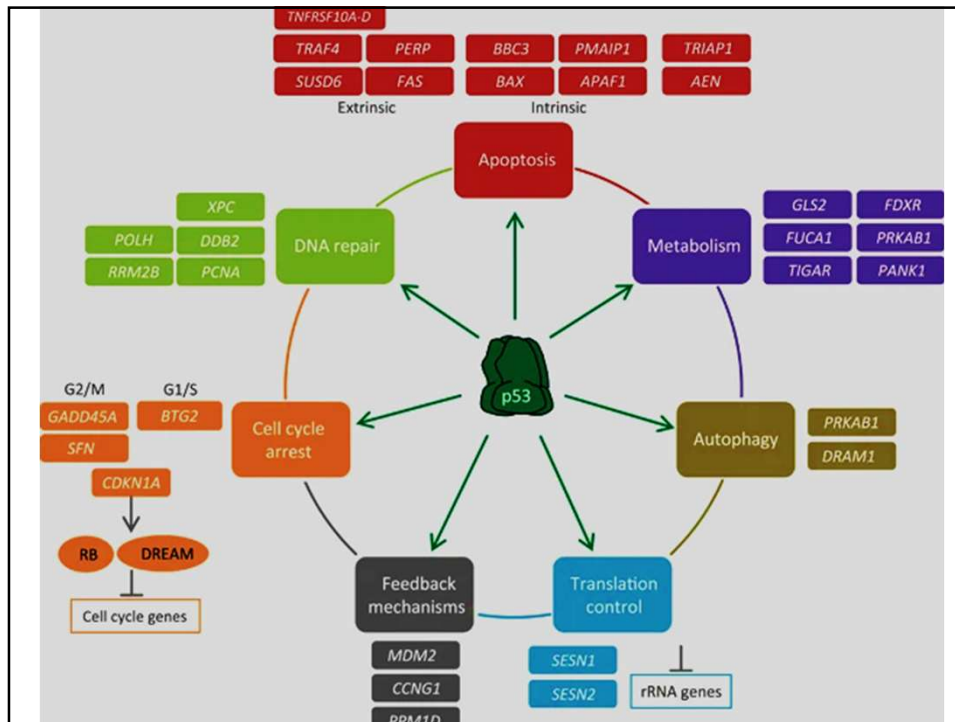


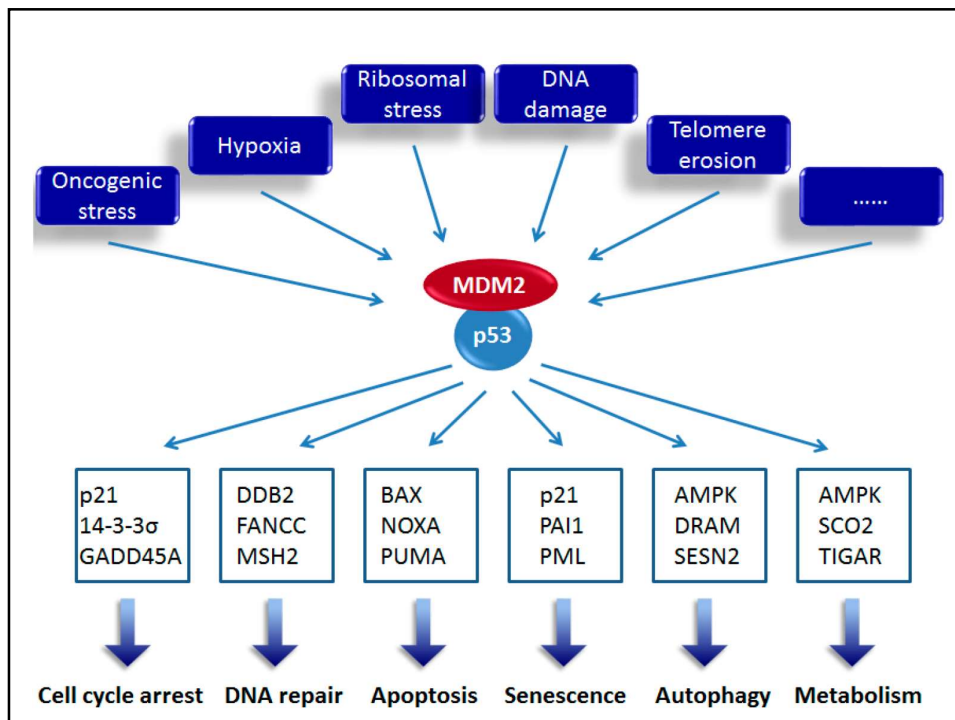
Figure 1. miR-17-5p inhibitory mechanism on the PI3K/AKT/mTOR pathway in PCa. A simplified illustration of the PI3K/AKT/mTOR pathway, and miR-17-5p upregulation through inhibition of the tumor suppressor PTEN.

phosphatase and tensin homolog

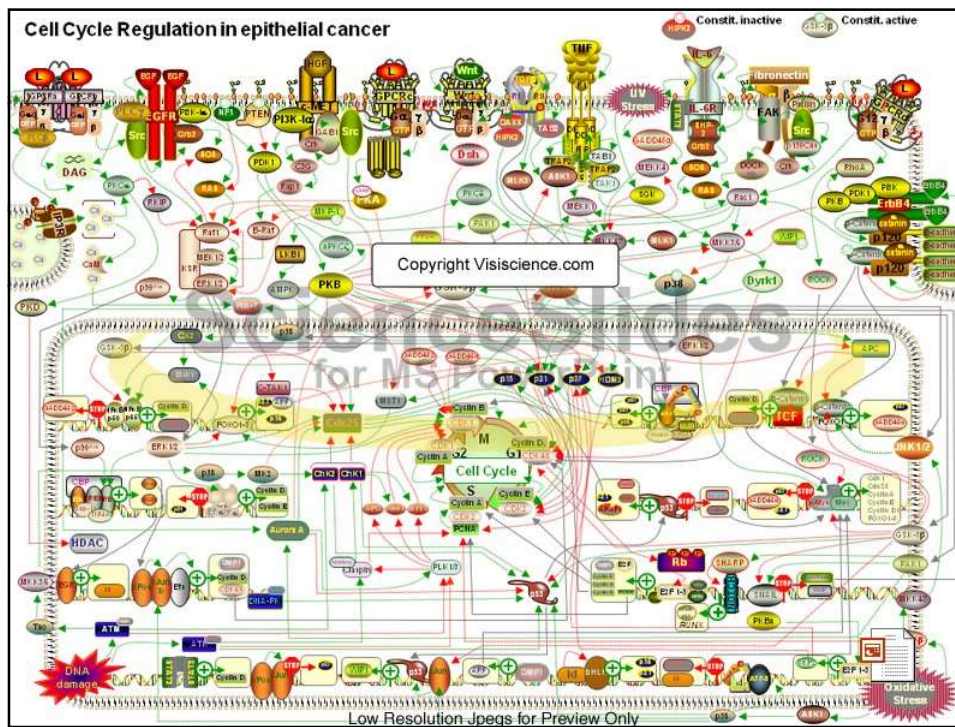
58



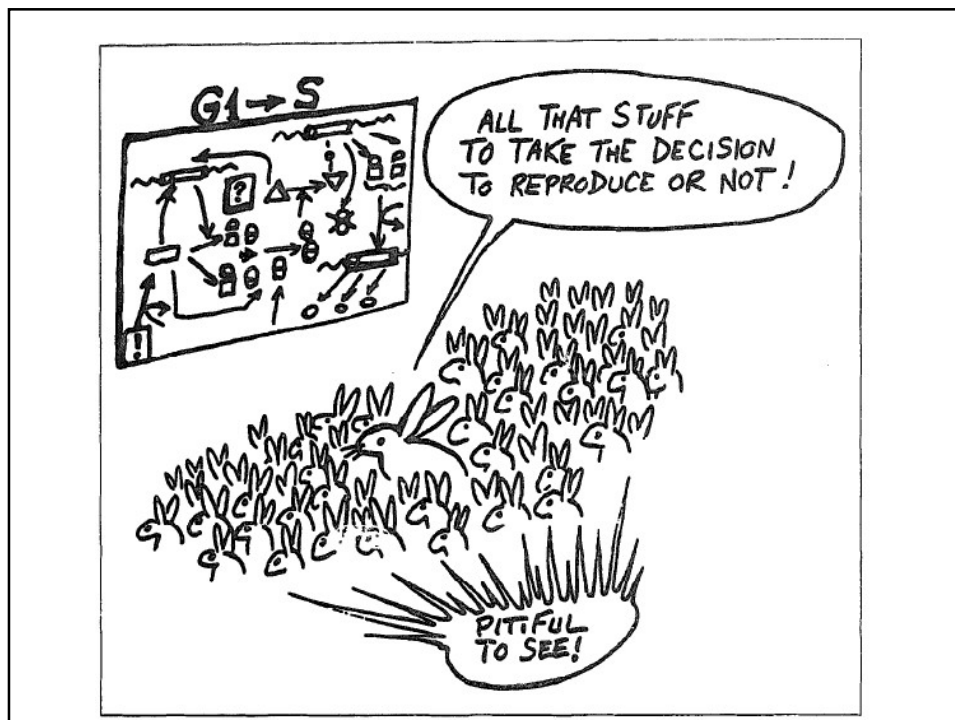
59



60



61



62

- bunky môžu odbúrať regulačný systém a uniknúť z bunkového cyklu
- napr. nervové a svalové bunky vstupujú do modifikovanej G1 fázy nazývanej G0 fáza, kde je systém regulácie bunkového cyklu čiastočne odbúraný takže vymizne mnoho cyklín-dependentných kináz a cyklínov
- niektoré bunkové typy, napr. pečenné bunky sa delia raz za niekoľko mesiacov, epiteliálne bunky sa delia oveľa častejšie
- u cicavcov sa bunky delia väčšinou len vtedy ak sú stimulované od ostatných buniek
- ak tieto signály chýbajú zastavujú sa v G1 kontrolnom bode a vstupujú do stavu G0
- tento čas určuje väčšinou dĺžku bunkového cyklu, ak bunka prejde bodom G1 väčšinou zvyšok cyklu dobehne do 24 hodín
- G1 kontrolný bod sa niekedy označuje ako Start

63

- regulácia počtu buniek u mnohobunkových organizmov
- aj keď sú cicavčie vajíčka medzidruhovo rovnako veľké, postnatálne sa množstvo buniek v tele odlišuje
- bunková proliferácia ako aj prežívanie buniek je regulovaná vonkajšími signálmi
- extracelulárne signály (rôzne rastové faktory) stimulujú bunkovú proliferáciu a vedú k aktivácii komplexov G1-cyclin-Cdk

64

- stimulačné signály, ktoré prekonávajú brzdy bunkovej proliferácie sú väčšinou proteínové rastové faktory
- viažu sa na membránové receptory a aktivujú vnútrobunkové signálne dráhy, ktoré stimulujú bunkový rast a delenie
- testovanie na bunkových kultúrach
- rastový faktor krvných doštičiek PDGF platelet-derived growth factor, rastový faktor uvoľňujúci sa z doštičiek pri poranení stimulujúci proliferáciu tkaniva
- hepatocytárny rastový faktor, po resekcii pečene
- kombinácie potrebných rastových faktorov pri inkubácii buniek je rôzny
- živočíšne bunky majú vnútorne limitovaný počet delení, ktorými môžu prejsť
- napr. fibroblasty ľudského plodu sa môžu deliť cca 80 krát
 - fibroblasty od 40 ročného človeka o polovicu menej
- tento jav sa nazýva bunkové starnutie
- je to druhovo špecifické

65

BUNKOVÁ SMŤ

- je ireverzibilné poškodenie bunky vedúce k jej zániku. V súčasnej dobe rozoznávame dva základné typy bunkovej smrti, ktoré sa líšia:
 - morfológicky
 - patogenézou
 - majú odlišné príčiny a dôsledky
- **apoptóza** - je novo rozpoznané forma individuálnej bunkovej smrti
- **nekróza** – jej existencia a morfológia sú známe od počiatkov patológie ako forma najťažších regresívnych bunkových zmien

66

Apoptóza - je osobitná forma bunkovej smrti postihujúca izolovanú/né bunky

- pri tejto regresívnej zmene bunky ide o aktívny proces, pri ktorom sa spotrebováva energia
- ide o riadený proces – „bunková samovražda“ – „programovaná bunková smrť“
- apoptóza je spojená s aktiváciou génov a proteosyntézou, celý proces riadi niekoľko rôznych proteínov funkčne naviazaných na apoptózu
- Bcl-2 rodina obsahuje pro aj antiapoptické proteíny - [BCL-2 is localized to the outer membrane of mitochondria, where it plays an important role in promoting cellular survival and inhibiting the actions of pro-apoptotic proteins. The pro-apoptotic proteins in the BCL-2 family, including Bax and Bak, normally act on the mitochondrial membrane to promote permeabilization and release of cytochrome C and ROS](#)
- p53 normálne apoptózu stimuluje, ale mutovaná forma podporuje prežívanie buniek
- zmutovaný p53 sa dokázal vo viacerých typoch malígnych nádorov

67

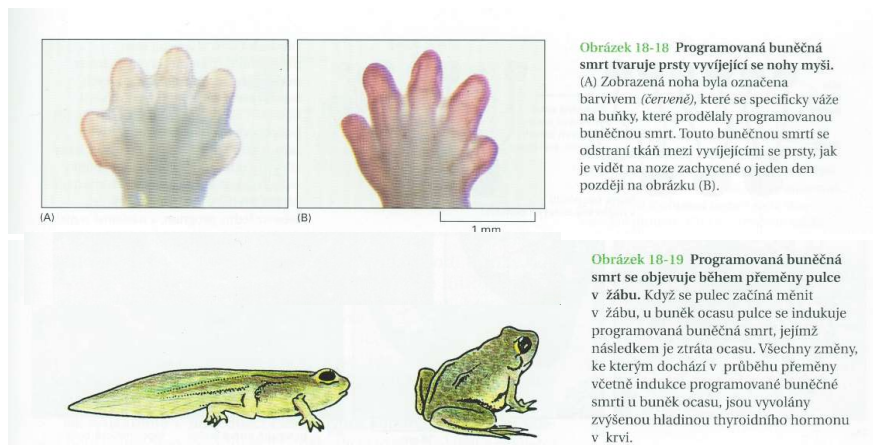
Význam a výskyt apoptózy:

- apoptózou zanikajú bunky pri rôznych fyziologických a patologických procesoch, zúčastňuje sa kontroly bunkovej populácie v zdravých tkanivách, i v nádoroch, pri odstraňovaní nechcených buniek
- fyziologická apoptóza:
 - v embryogenéze:
 - pri redukcii buniek a programovanej bunkovej deštrukcii
 - pri normálnej bunkovej a tkanivovej obnove - napr. enterocyty
 - pri atrofii-hormonálne stimulovanej - napr. atrofia mliečnej žľazy v menopauze, zánik buniek endometria pri menštruácii, atrofia prostaty pri znížení hormonálnej stimulácie
- patologická apoptóza:
 - apoptóza sa vyskytuje v bunkách reagujúcich na rôzne patologické stimuly, napr.:
 - bunky napadnuté vírusmi
 - pri spontánnej regresii nádorových buniek, regresia buniek po chemoterapii

68

Apoptóza – programovaná bunková smrť

- dôležité pri vývoji



Obrázek 18-18 Programovaná buněčná smrt tvaruje prsty vyvíjející se nohy myši.
(A) Zobrazená noha byla označena barvivem (červeně), které se specificky váže na buňky, které prodělaly programovanou buněčnou smrt. Touto buněčnou smrtí se odstraní tkáň mezi vyvíjejícími se prsty, jak je vidět na noze zachycené o jeden den později na obrázku (B).

Obrázek 18-19 Programovaná buněčná smrt se objevuje během přeměny pulce v žábu. Když se pulec začíná měnit v žábu, u buněk ocasu pulce se indukuje programovaná buněčná smrt, jejímž následkem je ztráta ocasu. Všechny změny, ke kterým dochází v průběhu přeměny včetně indukce programované buněčné smrti u buněk ocasu, jsou vyvolány zvýšenou hladinou thyroïdního hormonu v krvi.

69

Nekróza (z gréckeho Νεκρός = mŕtvy)

- je intravitálne odumretie tkaniva.
- na rozdiel od apoptózy, pri ktorej dochádza k zániku izolovanej bunky a chýbajú zápalové a autolytické sekundárne zmeny v tkanive okolo nekrotických buniek, u nekrózy sú práve reaktívne zmeny typické.
- nekróza je definovaná ako morfológické zmeny v tkanive nasledujúce po a spôsobené zánikom buniek v živom tkanive alebo orgáne
- tieto morfológické zmeny sú dôsledkom progresívnej degradácie tkaniva činnosťou katalytických enzýmov uvoľnených z nekrotických buniek - autolýzou
- a enzýmami z reaktívnych zápalových buniek, leukocytov a makrofágov - heterolýza

70

Morfologické zmeny - nekróza

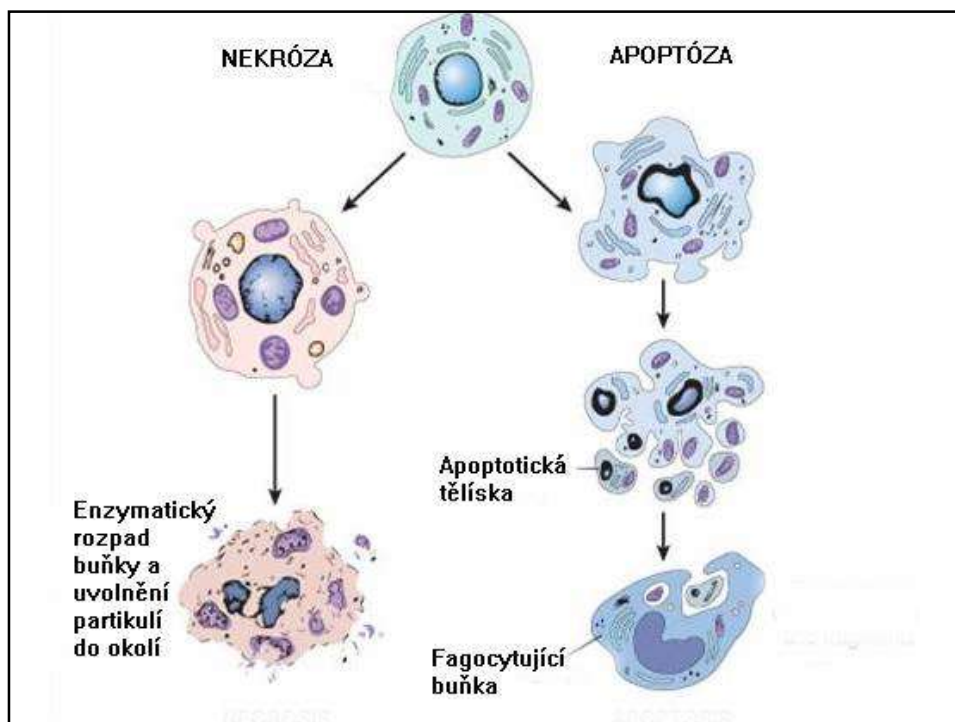
- vyvíjajú sa postupne
- mikroskopicky sú zmeny pri nekróze podobné posmrtnnej autolýze
- Jadro - v jadre dochádza k pyknóze = kondenzácia chromatinu
- Cytoplazma - v plazme dochádza k eozinofíliu, resp. k strate prirodzenej bazofilie (poklesom proteosyntézy), navyše denaturované intracelulárne proteíny majú vyššiu afinitu k eozínu
- Príčiny nekrózy:
 - mechanické - trauma, vibrácie, mikrotraumy
 - termické - účinok vysokých a nízkych teplôt
 - žiarenia - rtg, rádioaktívne
 - infekčné - vírusové, bakteriálne
 - hypoxie/anoxie
 - nekróza pankreasu účinkom patologickej aktivácie pankreatických enzýmov

71

Porovnanie

- nekróza - bunky umierajúce na akútne poškodenie obyčajne zväčšujú svoj objem, prasknú a ich obsah sa vyleje do okolia, môže to viesť k zápalu
- apoptóza - bunky umierajú bez poškodenia susedov
 - bunka sa zmenšuje a kondenzuje
 - odbúra sa cytoskelet, rozpadne sa jadrový obal, jadrová DNA je fragmentovaná na malé úseky, bunkový povrch indukuje rýchlu fagocytózu
 - princíp je založený na proteázovom štiepení ako odpoveď na signály vyvolávajúce bunkovú smrť

72



73

Human lymphoma cells treated with camptothecin for four hours and stained using the APO-BrdU TUNEL Assay Kit.

Cells containing DNA strand nicks characteristic of **apoptosis** are detected by TUNEL and fluoresce **green**, while **necrotic cells** are stained with **red** - fluorescent propidium iodide.

Human lymphoma cells treated with camptothecin for four hours and stained using the APO-BrdU TUNEL Assay Kit (Cat. no. A23210). Cells containing DNA strand nicks characteristic of apoptosis are detected by TUNEL and fluoresce green, while necrotic cells are stained with red-fluorescent propidium iodide.

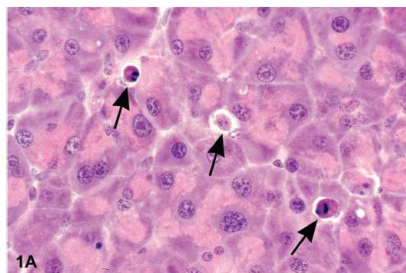
[link 6 z](#)

Ordering Information

A23210	APO-BrdU™ TUNEL Assay Kit - with Alexa Fluor® 488 Anti-BrdU - 60 assays	1 kit	1 018,00 EUR
--------	---	-------	--------------

74

A) exokrinný
pankreas, šípky
ukazujú na
apoptické bunky



B) myokard 14
týždňového potkana
apoptické bunky

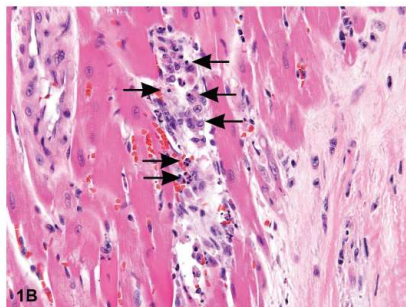
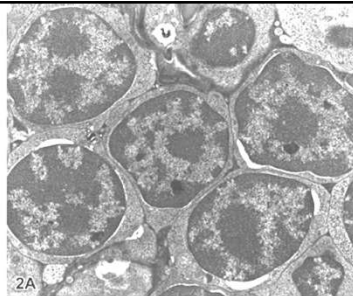


FIGURE 1.—Figure 1A is a photomicrograph of a section of exocrine pancreas from a B6C3F1 mouse. The arrows indicate apoptotic cells that are shrunken with condensed cytoplasm. The nuclei are pyknotic and fragmented. Note the lack of inflammation. Figure 1B is an image of myocardium from a 14-week-old rat treated with epinephrine (25 mg/kg) and caffeine (50 mg/kg). Within the interstitial space there are apoptotic cells with condensed cytoplasm, condensed and hyperchromatic chromatin and fragmented nuclei (long arrows). Admixed with the apoptotic bodies are macrophages, some with engulfed apoptotic bodies (arrowheads) (Howden et al., 2004, by permission of the American Journal of Physiology). Figure 1C is a photomicrograph of normal thymus tissue from a control Sprague-Dawley rat for comparison. Figure 1D illustrates sheets of apoptotic cells in the thymus from a rat that was treated with dexamethasone to induce lymphocyte apoptosis. Under physiological conditions, apoptosis typically affects single cells or small clusters of cells. However, the degree of apoptosis in this treated rat is more severe due to the amount of dexamethasone administered (1 mg/kg bodyweight) and the time posttreatment (12 hours). The majority of lymphocytes are apoptotic although there are a few interspersed cells that are morphologically normal and most likely represent lymphoblasts or macrophages. The apoptotic lymphocytes are small and deeply basophilic with pyknotic and often fragmented nuclei. Macrophages are present with engulfed cytoplasmic apoptotic bodies (arrows). H&E.

75

zdravý týmus



apoptické bunky v
týmuse,
kondenzovaný a
periférny chromatín,
skorá fáza
apoptózy, arrow
head - apoptické
teliesko

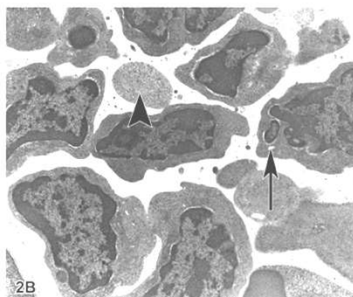


FIGURE 2. Figure 2A is a transmission electron micrograph (TEM) of the normal thymus tissue depicted in Figure 1B. The lymphocytes are closely packed, have large nuclei, and scant cytoplasm. Figure 2B is a TEM of apoptotic thymic lymphocytes in an early phase of apoptosis with condensed and peripheralized chromatin. The cytoplasm is beginning to condense, and the cell surface is irregular. The arrow indicates a fragmented section of nucleus, and the arrowhead (a) likely indicates an apoptotic body that seems to contain predominantly cytoplasm without organelles or nuclear material. Figure 2b illustrates an apoptotic lymphocyte in the process of 'beading' or extrusion of membrane-bound cytoplasm containing organelles (arrow). Once the beading has occurred, this extruded fragment will be an 'apoptotic body'. These apoptotic bodies are membrane-bound and thus do not release cytoplasmic contents into the environment. Macrophages or other adjacent healthy cells subsequently engulf the apoptotic bodies. For the same reason, apoptosis does not create an inflammatory reaction. Figure 2D is a TEM of a section of thymus with lymphocytes in various stages of apoptosis. The large cell in the center of the photomicrograph is a macrophage with engulfed intracytoplasmic apoptotic bodies. This macrophage is also called a 'tingible body macrophage'. The arrowhead indicates a lymphocyte in an advanced stage of apoptosis with nuclear fragmentation.

**Vyberte
správne
tvrdenie
o p53**
link 8

76

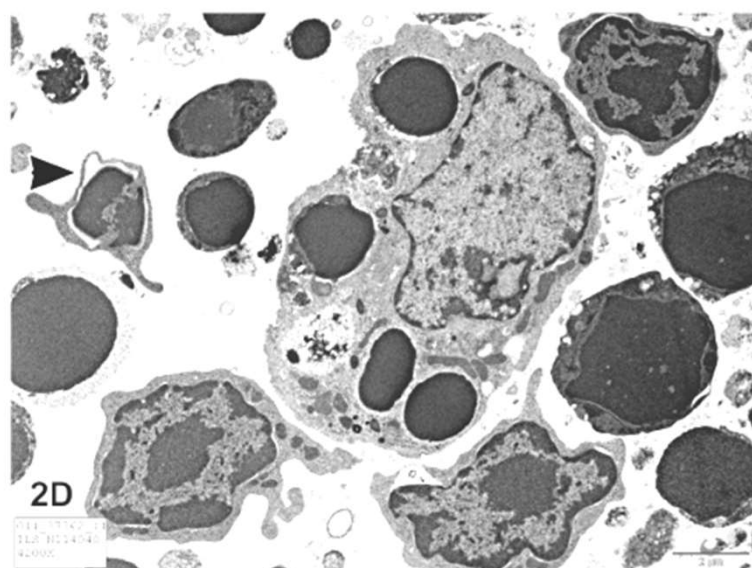


FIGURE 2.—(Continued)

makrofág s apoptickými telieskami

77

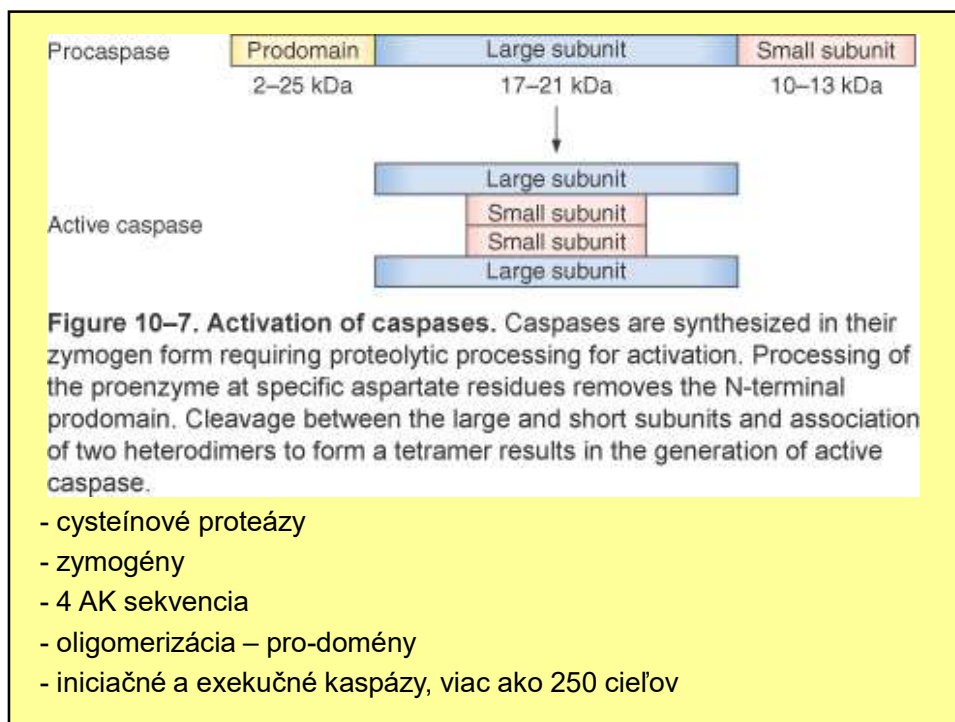
Kaspázy

Výsledkom prevahty stimulačných (proapoptózových) signálov nad inhibičnými (protiapoptózovými) signálmi je aktivácia génov z lokusov naprogramovanej bunkovej smrti, čo má za následok aktiváciu kaspázovej kaskády (kaspázy – súbor proteolytických enzýmov hydrolyzujúcich proteíny pri jednotkách kyseliny asparágovej), endonukleáz (degradujú molekulu DNA na nefunkčné fragmenty), poškodenie mitochondrií, bunkového povrchu a cytoskeletu s následným rozpadom bunky na apoptózové telieska.

**Vyberte správne tvrdenie
o fotoproduktoch**

link 9

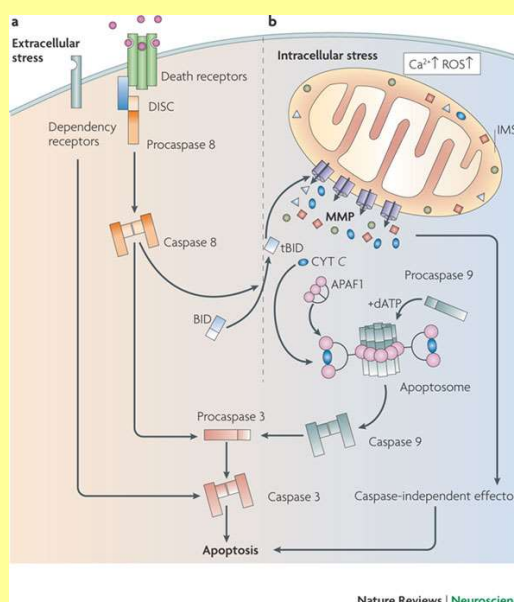
78



79

- vonkajšia dráha – death-receptor
 - mediated pathway
- tkanivová homeostáza a imunitný systém
- vnútorná dráha – mitochondriálna dráha
- odpoveď na vonkajšie podnety ako nedostatok trofických faktorov a výrazné DNA poškodenie

link 10

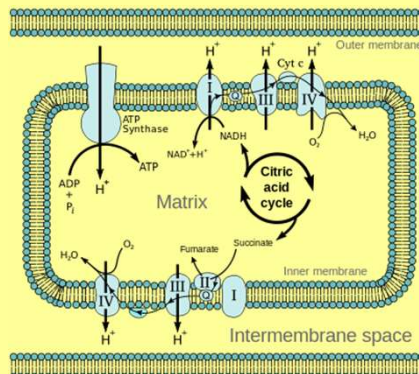


80

- vonkajšia dráha
- na vonkajšiu membránu sa naviaže receptorový ligand – death receptor
- viacero typov:
- low-affinity NGF receptor - p75NGF
- tumor necrosis factor 1 TNF-R1
- Fas ligand receptor
- tieto receptory majú rovnakú doménu 80 AK na cytozolovej strane = death domain
- väzba ligandu aktivuje receptor, ten interaguje s **adaptorovým proteínom** (AP)
- (napr. Fas receptor s Fas-associated protein with death domain FADD)
- prostredníctvom AP mobilizuje molekuly prokaspázy-8 do blízkosti, čím sa môžu aktivovať, komplex – death-inducing signaling complex DISC

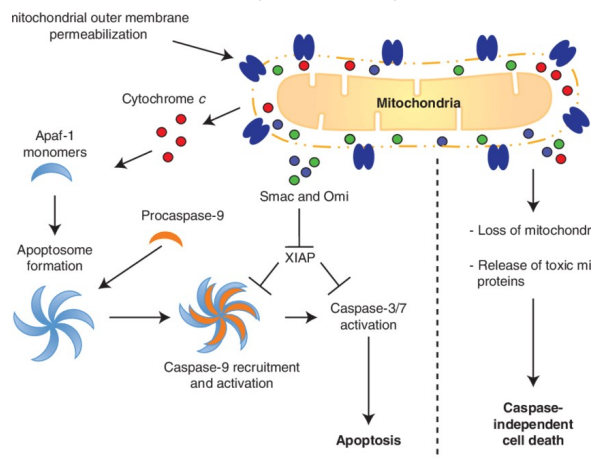
81

- vnútorná (mitochondriálna) dráha začína
- permeabilizáciou vonkajšej membrány mitochondrie v dôsledku poškodenia DNA, toxínmi, ROS a i. – dôsledok je vyplavenie cytochrómu c
- cytochróm c – súčasť dýchacieho reťazca na vnútornej strane mitochondrií
- póry vytvárajú Bcl-2 podobné proapoptické proteíny Bax a Bad
- anti-apoptické proteíny Bcl-2 a Bcl-xL zabráňujú úniku cytochrómu c väzbou na Bax a Bad



82

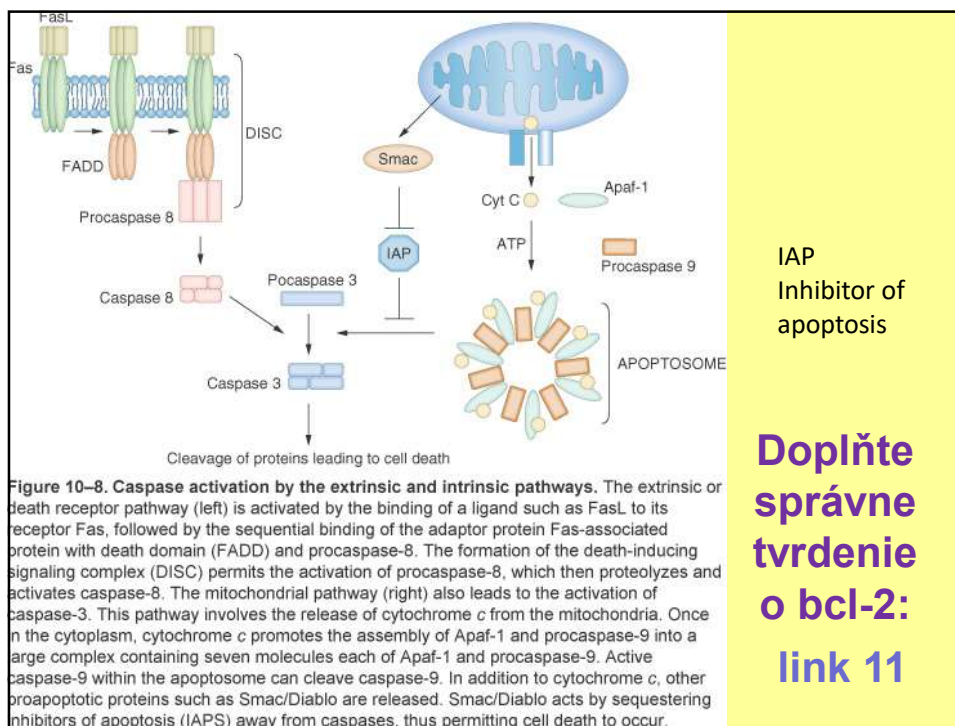
- po otvorení pórov dôjde k úniku ďalších apoptogénnych molekúl a otvoreniu veľkých iónových kanálov vo vnútornej aj vonkajšej membráne mitochondrií
- vznikne iónová nerovnováha a prúdenie vody vedúce k nabobtnaniu mitochondrií a prasknutiu vnútornej membrány mitochondrie



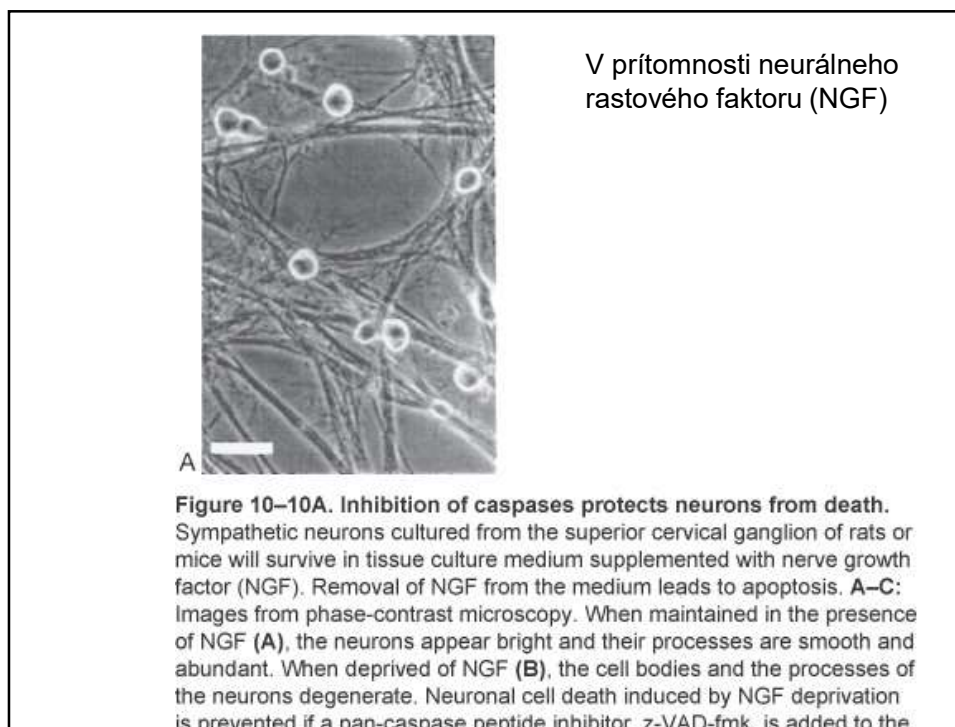
83

- v cytoplazme sa cytochróm c viaže na Apaf-1, čo uľahčuje väzbu ATP s Apaf-1, čo mení jeho konformáciu a oligomerizuje
- k oligomerizovanému Apaf-1 sa viaže prokaspáza 9
- komplex sa nazýva apoptozóm
- tým, že je prokaspáza 9 agregovaná sa autoaktivuje, následne aktivuje kaspázu 3, 6 a/alebo 7
- SMAC cez IAP (antiAP proteíny zastavujúce apoptózu inhibíciou aktivovaných kaspáz) iniciuje spustenie kaspázovej kaskády
- teórie ako sa vyleje cytochróm c z mitochondrií
 1. po pôsobení stimulu sa otvorí permeability transition pore (PTP) v membráne, dostáva sa dnu voda, rozruší sa vonkajšia membrána a cytochróm c sa vyplaví
 2. v membráne je proteín z rodiny Bcl-2, možno asociovaný s ďalšími molekulami, vytvorí pór
 3. edoplazmatické retikulum – keď sa v podmienkach chronického stresu naakumulujú nesprávne poskladané proteíny, zvýši sa výdaj Ca^{2+} , ktorý je vychytávaný mitochondriami, čo stimuluje výdaj cytochrómu c z mitochondrií

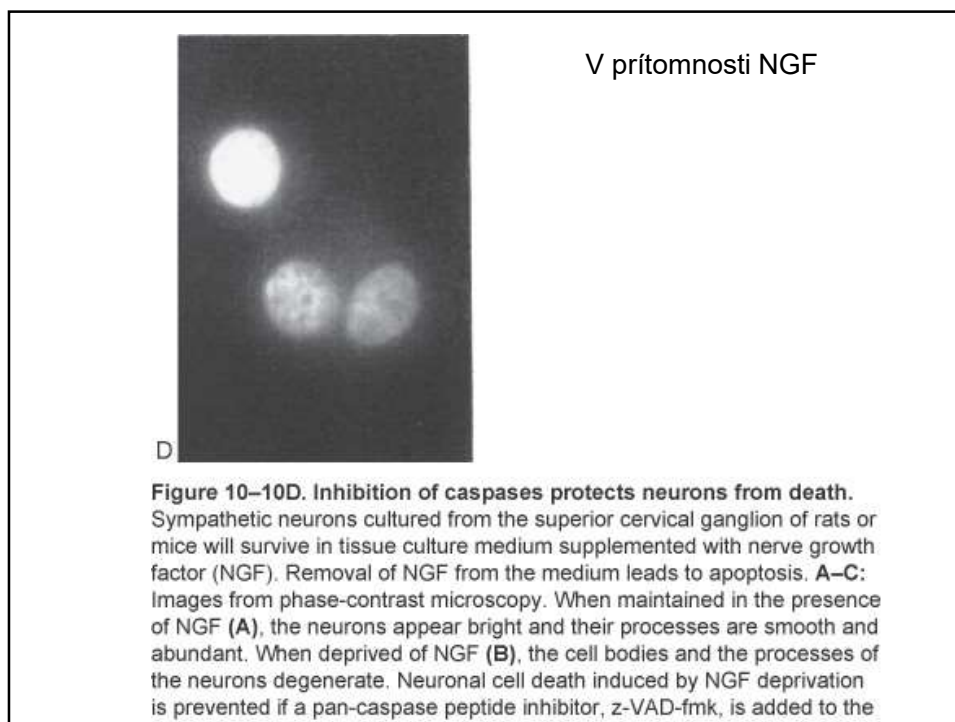
84



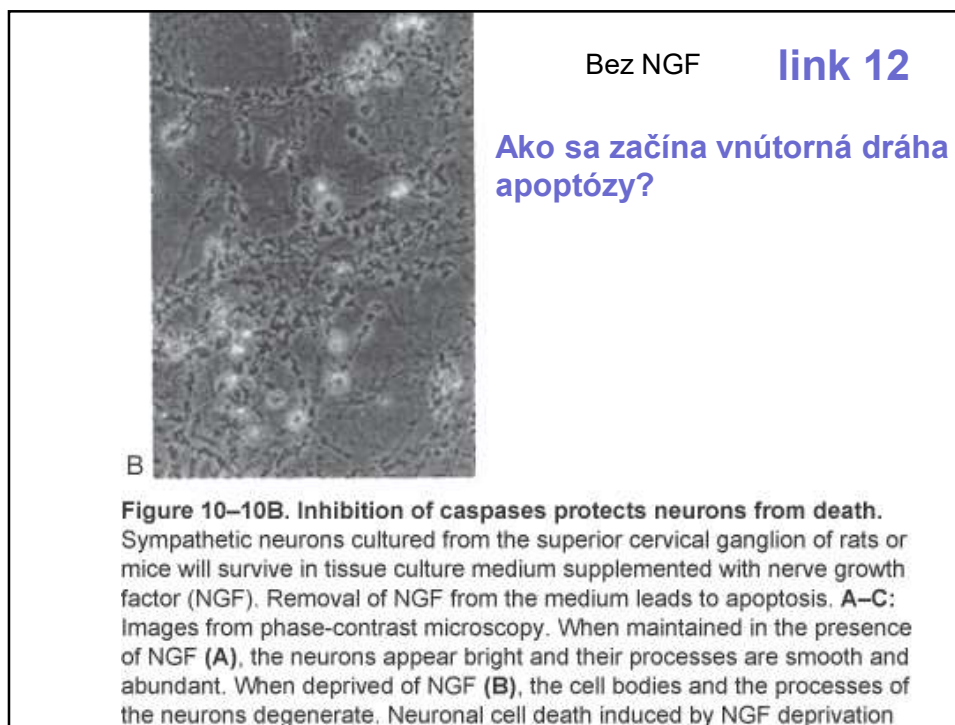
85



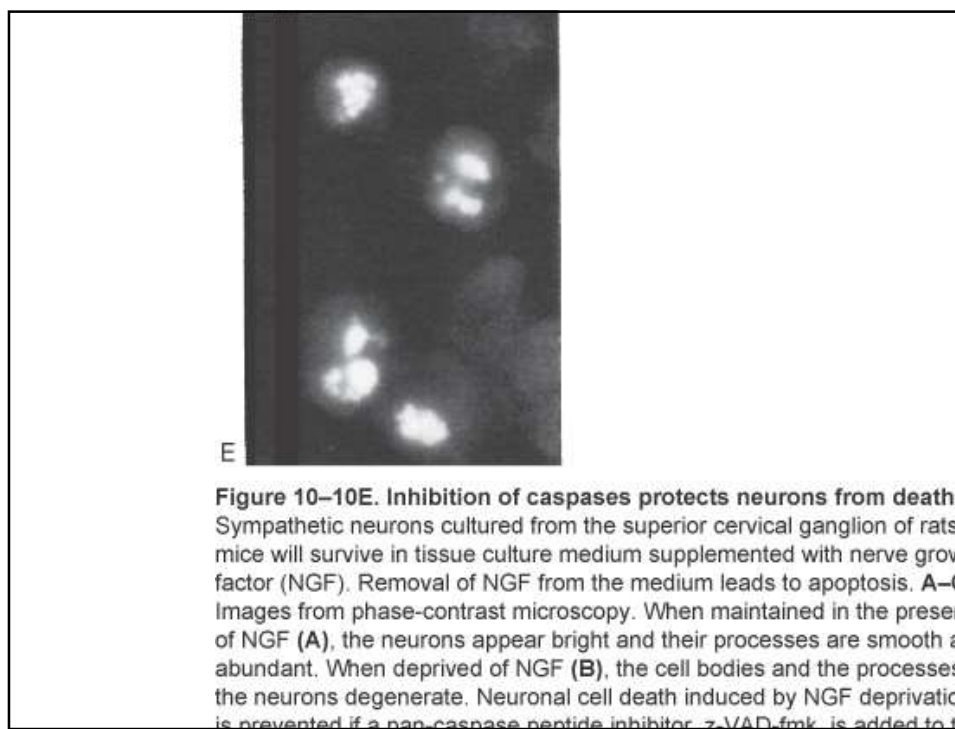
86



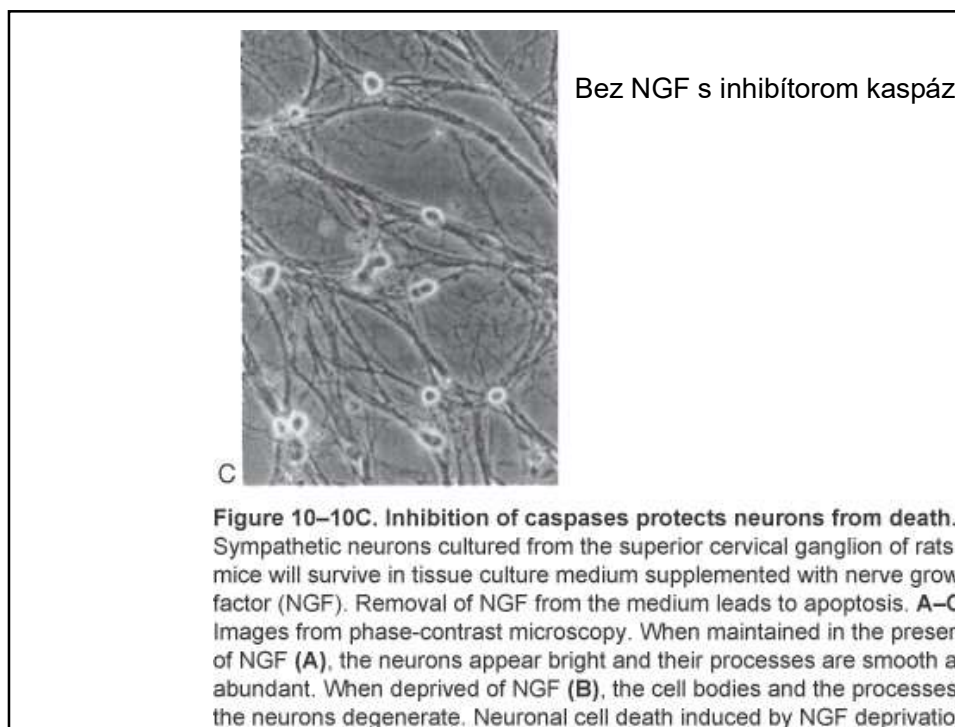
87



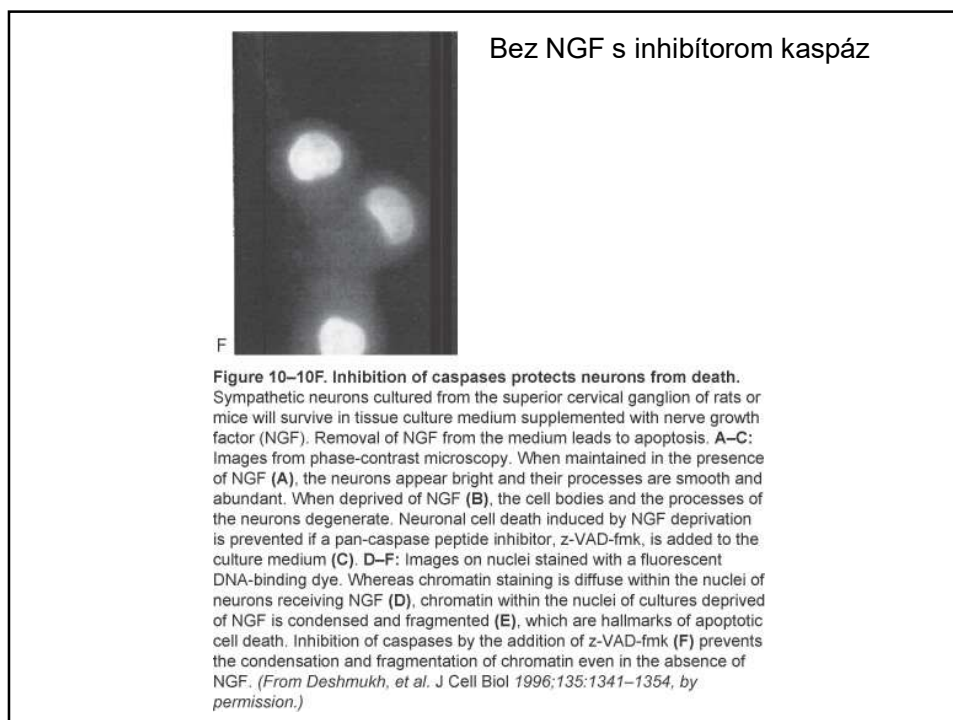
88



89



90

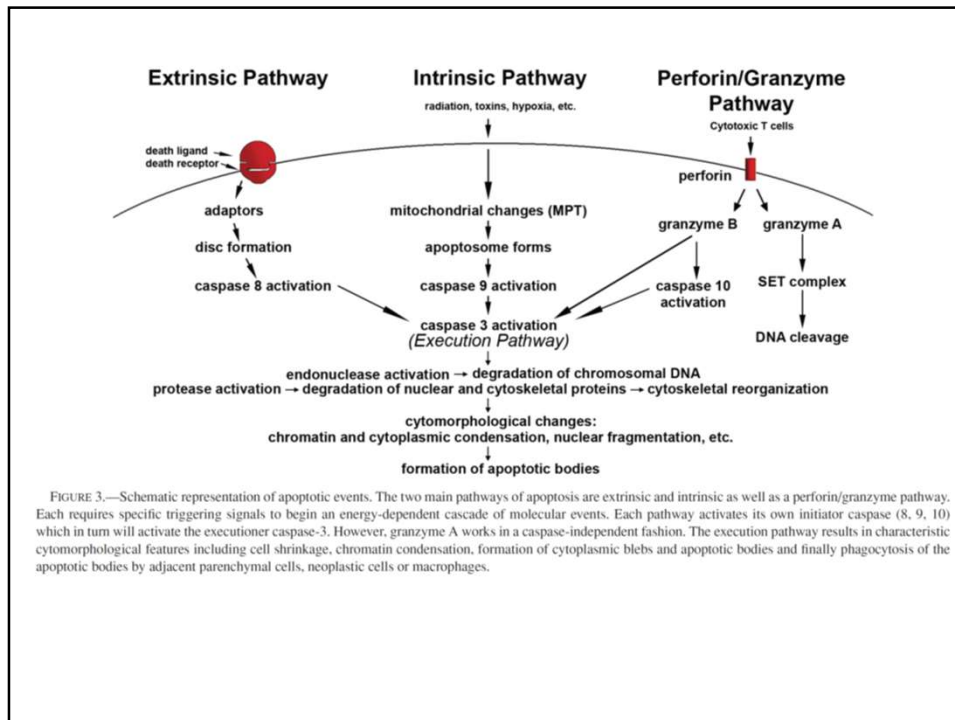


91

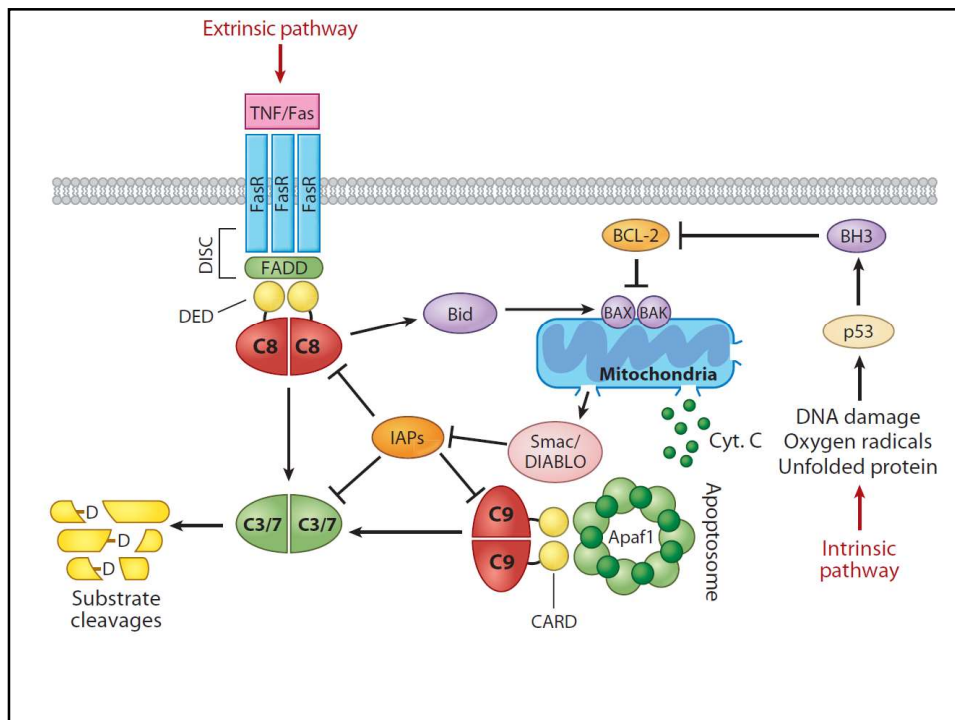
- Perforin/granzyme dráha v imunitnom systéme
- Cytotoxické T-lymfocyty sú schopné zlikvidovať bunku (infikovanú vírusom a nádorovú) pomocou sekrécie látky perforín, ktorý vytvorí pór a následne ním lymfocyt vylúči cytoplazmatické granuly.
- granzyme A a B
- Granzyme B štiepi proteíny a aktivuje prokaspázu 10, môže mobilizovať mitochondriálnu dráhu a aktivovať kaspázu 3 – priamo sa aktivuje apoptóza
- Granzyme A aktivuje dráhy nezávisle od kaspáz, aktivuje DNA štiepenie

Ako sa začína vonkajšia dráha apoptózy? link 13

92



93

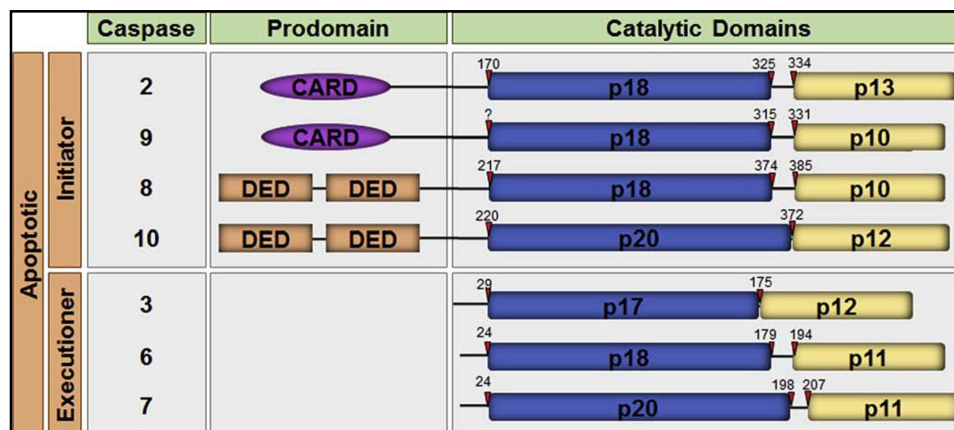


94

- poznáme 14 ľudských izoforiem kaspáz:

1. Kaspázy podieľajúce sa na zápalovej reakcii a nie na aktivácii exekučných kaspáz -1, -11, -12 a -14.
2. Iniciačné kaspázy apoptickej kaskády.
 - kaspázy obsahujúce buď doménu na vytvorenie DISC (8, 10) alebo na sprostredkovanie interakcií kaspáz s adaptorovými molekulami ako Apaf1 (kaspázy- 2 a -9).
3. Efektorové (výkonné) kaspázy apoptotickej kaskády (kaspázy-3, -6 a -7) aktivované iniciačnými kaspázami, ktoré štiepia rôzne bunkové substráty.

95



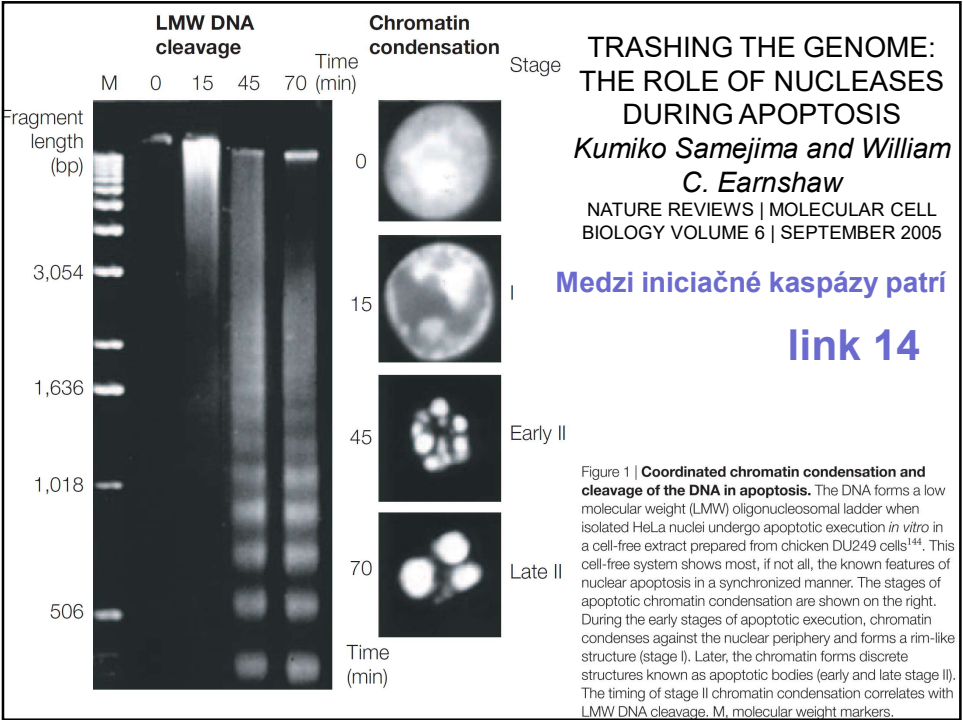
The caspases are divided into the initiator caspases and the executioner caspases. Each caspase comprises a prodomain and a large and small catalytic subunit. Initiator caspases have long prodomains containing the protein:protein interaction motifs, caspase recruitment domain (CARD) or death effector domain (DED), as indicated. The cleavage sites for each caspase are depicted with red arrows.

96

Table 1 Properties of human caspases ^a					
Caspase	Alternative names	Prodomain(s)	Functions	Approximate number of protein substrates	Mouse homolog
1	ICE	CARD	Inflammation	50–100	Caspase-1
2	ICH-1, NEDD-2	CARD	ER stress-induced apoptosis	<10	Caspase-2
3	Apopain, CPP32, Yama	—	Apoptosis and differentiation	>300	Caspase-3
4	ICH-2, TX, ICE(rel)-II	CARD	Inflammation; possibly ER stress-induced apoptosis	<10	Caspase-11
5	ICH-3, TY, ICE(rel)-III	CARD	Inflammation	1	Caspase-11
6	Mch-2	—	Apoptosis and differentiation	50–100	Caspase-6
7	ICE-LAP3, Mch-3, CMH-1	—	Apoptosis and differentiation	50–100	Caspase-7
8	MACH, FLICE, Mch-5	DED DED	Extrinsic pathway apoptosis and differentiation	50–100	Caspase-8
9	ICE-LAP6, Mch-6, APAF-3	CARD	Intrinsic pathway apoptosis and differentiation	<10	Caspase-9
10	Mch-4, FLICE2	DED DED	Extrinsic pathway apoptosis and differentiation	<10	—
12	—	CARD	Possibly inflammation; truncated and nonfunctional in most humans	1	Caspase-12
14	—	—	Cornification	1	Caspase-14

^aCARD, caspase-recruitment domain; DED, death effector domain; ER, endoplasmic reticulum.

97



<i>Apoptóza</i>	<i>Nekróza</i>
■ Děj fyziologický i patologický ■ Aktivní proces vyžadující energii ■ Geneticky řízený proces ■ Síla působící noxy menší ■ Nástup je pomalý (hodiny) ■ Odstranění apoptotických buněk je rychlé a diskrétní ■ Nevývolává zánětlivou reakci okolí ■ Smušťování buňky ■ Kondenzace a hrudkování chromatinu jádra ■ Pouze přechodná dezintegrace mitochondriální membrány ■ Fragmentace DNA ■ Vznik tzv. apoptotických tělísek, která jsou pohlcena fagocyty ■ pH buňky – acidifikace ■ Aktivace kaspáz	■ Děj vždy patologický ■ Děj indukovaný ■ Je výsledkem neschopnosti buňky udržet svou strukturálně-funkční integritu ■ Síla působící noxy větší (vždy intenzivní podnět) ■ Nástup je rychlý (minuty, sekundy) ■ Odstranění nekrotických buněk je pomalé ■ Vyvolává zánětlivou reakci okolí ■ Zvětšení objemu buňky ■ Aktivace enzymů vedoucí k poruše buněčných membrán ■ Trvalá ztráta integrity mitochondrií ■ Rozklad organel a chromatinu DNA ■ Narušení okolní mezibuněčné hmoty a zánětlivá reakce okolí ■ pH buňky se nemění ■ Bez aktivace kaspáz

99

Teloméry a telomeráza.

-Teloméry sú opakujúce sa sekvencie dvojzávitnicovej DNA umiestnené na koncoch chromozómov.

-Väčšia dĺžka teloméry je spojená s imortalizovanými bunkovými líniami, tak je to napríklad u nádorových buniek alebo aj u embryonálnych kmeňových buniek. Ako sa bunky delia a diferencujú v priebehu celého života organizmu, alebo počas existencie bunkových líní, teloméry sa postupne skracujú a strácajú schopnosť udržať sa vo svojej pôvodnej dĺžke.

-Telomeráza je enzým, ktorý predlžuje teloméry pridaním sekvencie DNA.

-Telomeráza sa viaže na konce teloméry a pomocou matrice z RNA sa pripojí nový reťazec DNA. Telomerázy pridávajú niekoľko opakujúcich sa sekvencií DNA, potom iné enzýmy, DNA polymerázy, dokončujú druhé vlákno DNA na koncoch chromozómov.

-Vysoká aktivita telomerázy bola detekovaná v embryonálnych kmeňových bunkách a v nádorových bunkách, zatiaľ čo malá alebo žiadna aktivita telomerázy je prítomná vo väčšine vyspelých, diferencovaných typov buniek.

-Funkcia telomér a telomerázy sú dôležité pri delení buniek, normálny vývoj a starnutie.

100

Teloméra
– funkcia a syntéza

1. Tajomná teloméra
Teloméry sa objavujú, aby chránili chromozómy pred poškodením. Ale ako?
Teloméra – z grécky: koniec (konci) a časť (časť)

2. Funkcia teloméry objavená: Telomérická DNA chráni chromozómy.
Chromozómy s telomérmi
Účel: chráni chromozómy
Kvasinková bunka
Minichromozómy bez telomér boli zavedené do kvasinkových buniek. Neboli chránené a boli poškodené.
Telomérická DNA bola získaná z Tetrahymeny, spojená s minichromozómami a zavedená do kvasinkových buniek. Minichromozómy s telomérickou DNA boli chránené pred poškodením a zostali neporušené.

3. Syntéza telomér objavená: Telomerasa vytvára telomérickú DNA.
DNA
Teloméra
Telomerasa
Protein
RNA
Telomerasa funguje na konci chromozómu. Je to enzým, ktorý pozostáva z proteínu a RNA sekvencie. RNA slúži ako šablóna na syntézu telomér DNA.
Bez prítomnosti telomerasy, sa chromozóm skracuje pri každom delení bunky. Nakoniec je telomérická DNA narušená a chromozóm poškodený.
Telomerasa udržiava teloméry na koncoch DNA vlákna. To umožňuje, aby bol celý chromozóm kopirovaný do jeho úplného konca pri každom delení bunky.

Zdroj: © The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2009. Illustration: Aronka Wolf

Replikácia DNA začína pripojením krátkeho RNA primeru, ktorý na začiatku poskytne prvú voľnú -OH skupinu. Po skončení replikácie sa táto molekula RNA uvoľní – vznikne úsek s jedným vláknom DNA – skrátenie teloméry

101

- [Telomerase function to prevent chromosome shortening YouTube.mp4](#)

- [Telomere Replication.mp4](#)

TELOMERES
Embryonic Stem Cells
Adult Stem Cells
Chromosome
Telomere long
Telomere short
Telomerase active
Telomerase inactive or absent
Telomere is a repeating DNA sequence
A-T
A-T
C-G
C-G

EXTENDING THE LENGTH OF A TELOMERE
Before
Short end of DNA
Telomerase
RNA template
New DNA
DNA polymerase
After

102

Predstavujeme laureátov



Elizabeth H. Blackburnová (60) má austrálske i americké občianstvo. Narodila sa v Hobarte na Tasmanii. Vysokoškolské štúdium absolvovala na University of Melbourne. Titul PhD. získala v roku 1975 na University of Cambridge. Pôsobila na Yale University, New Haven, USA, na fakulte University of California, Berkeley a od roku 1990 je profesorkou biológie a fyziológie na University of California, San Francisco. Medzi jej najvýznamnejšie ocenenia patria Lasker Award, Dr. A. H. Heineken Prize for Medicine, Paul Ehrlich and Ludwig Darmstaedter Prize. V roku 2007 ju magazín Time zaradil medzi 100 najplynnejších ľudí na svete.



Carol W. Greiderová (48) je Američanka. Narodila sa v San Diegu, Kalifornia, USA. Vysokoškolské štúdium absolvovala na University of California, Santa Barbara. Titul PhD. získala v roku 1987 na University of California, Berkeley. Je bývalou študentkou Elizabeth H. Blackburnovej. Od roku 1997 je profesorkou a riaditeľkou katedry molekulárnej biológie a genetiky na John Hopkins School of Medicine. Medzi jej najvýznamnejšie ocenenia patria Lasker Award, Louisa Gross Horwitz Prize, Paul Ehrlich and Ludwig Darmstaedter Prize.



Jack W. Szostak (56) je Američan. Narodil sa v Londýne, vysokoškolské štúdium absolvoval na McGill University Montreal, Quebec. Titul PhD. získal na Cornell University, Ithaca, New York. Pôsobí ako profesor genetiky na Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital a spolupracuje s Howard Huges Medical Institute. Medzi jeho najvýznamnejšie medicínske ocenenia patria Lasker Award, Dr. A. H. Heineken Prize for Biochemistry a Biophysics, United States National Academy of Sciences Award in Molecular Biology.



Medzi exekučné kaspázy patrí

Nobelova cena 2009 - medicína
traja Američania - Elizabeth H. Blackburnová, Carol W. Greiderová a Jack W. Szostak.

- ako teloméry a enzým telomeráza chránia genetickú informáciu v chromozómoch“
 - ako sa chromozómy môžu úplne prekopírovať v priebehu delenia buniek a ako sú chromozómy chránené pred degradáciou
 - teloméry a telomeráza.
- „Koncové čiapočky“, nazvané teloméry, chránia chromozómy pri delení bunky.

[link 15](#)

103

Už v tridsiatych rokoch 20. storočia Hermann Muller (Nobelova cena 1946) a Barbara McClintocková (Nobelova cena 1983) sledovali, že štruktúry na koncoch chromozómov, teloméry, zabraňujú chromozómom, aby sa navzájom nadväzovali. Domnievali sa, že teloméry by mohli mať ochrannú funkciu, ale záhadou zostalo, ako fungujú.

Teloméra na konci chromozómu sa zúčastňuje na starnutí. Pri delení buniek sa teloméry mierne skracujú a tým bunky starnú. Keď sa skráti na minimálnu úroveň, ďalšie delenie nie je možné. Vedci uvažovali o tom, či by tento proces mohol byť príčinou starnutia nielen jednotlivých buniek, ale aj organizmu ako celku. Ukázalo sa však, že proces starnutia je komplexnejší a závisí od mnohých ďalších faktorov.

Čo je funkciou telomér?

[link 16](#)

104

Ďakujem za pozornosť

link 17