

# Regulace buněčného cyklu

## seminář

Kateřina Vopěnková

[vopenkova@med.muni.cz](mailto:vopenkova@med.muni.cz)

# **Buněčné dělení**

Co je účelem buněčného cyklu?

Jsou tyto buňky identické i svou morfologií a funkcí?

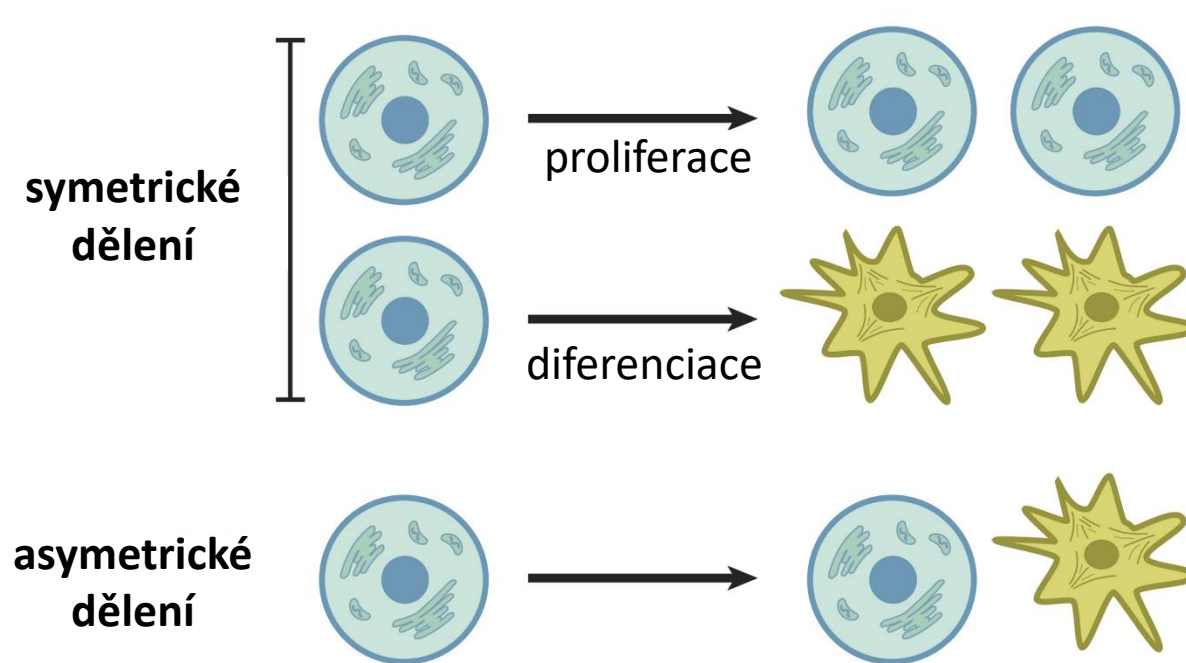
Kdy se buňky dělí?

# Co je účelem buněčného cyklu?

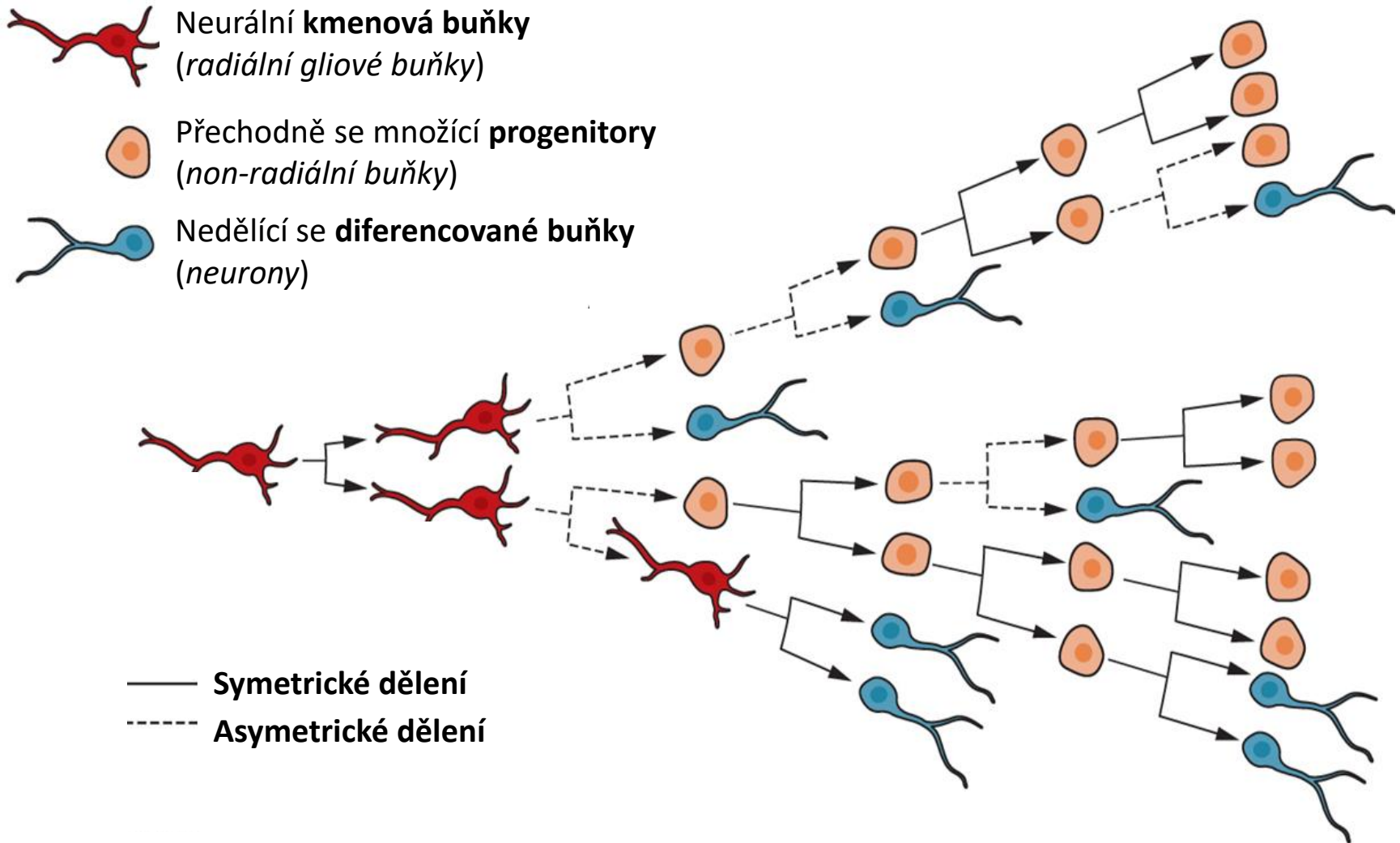
- vytvořit dvě **geneticky identické** dceřiné buňky

Jsou tyto buňky identické i svou morfologií a funkcí?

- ne nutně



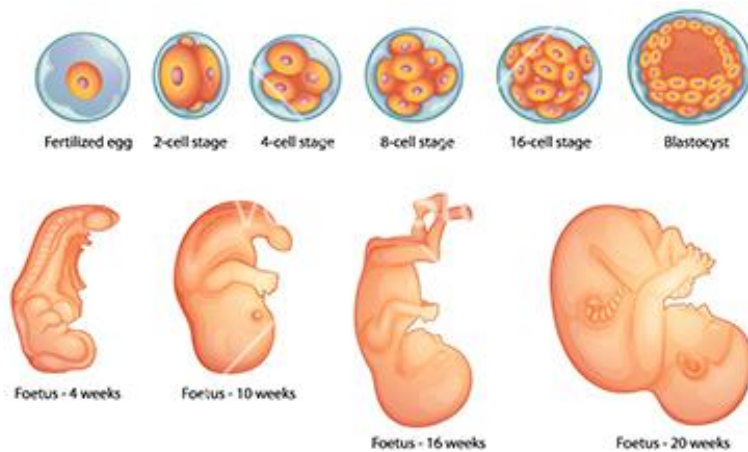
# Symetrické a asymetrické dělení buněk



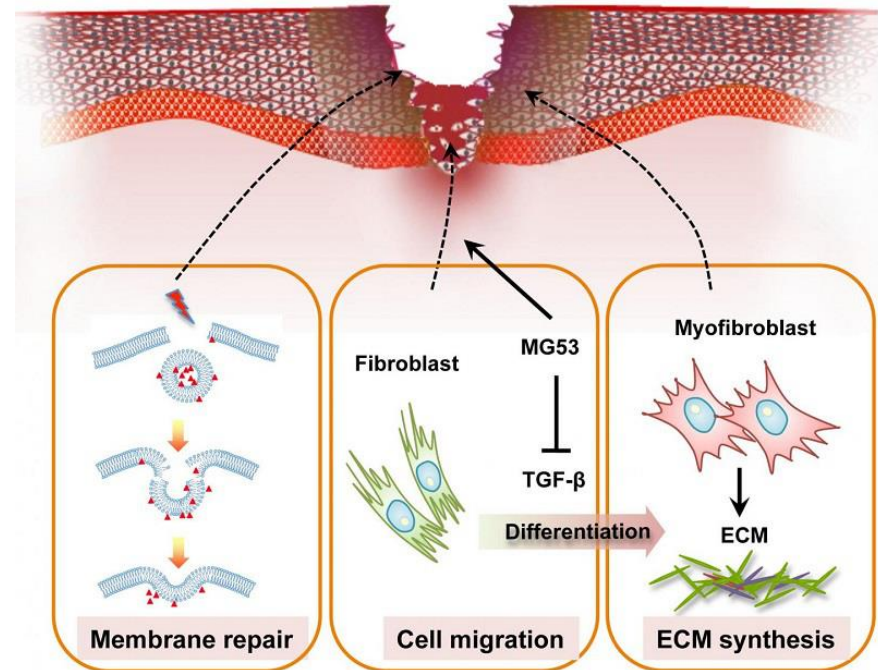
Symetrické nebo asymetrické dělení závisí na vnějších **signálech**, koncentraci **morfogenů**, obsahu **molekul mRNA** v cytoplazmě dceřiných buněk, atd.

# Kdy se buňky dělí?

- když svými receptory zachytí signál k dělení – za účelem **růstu** nebo **regenerace tkáně**



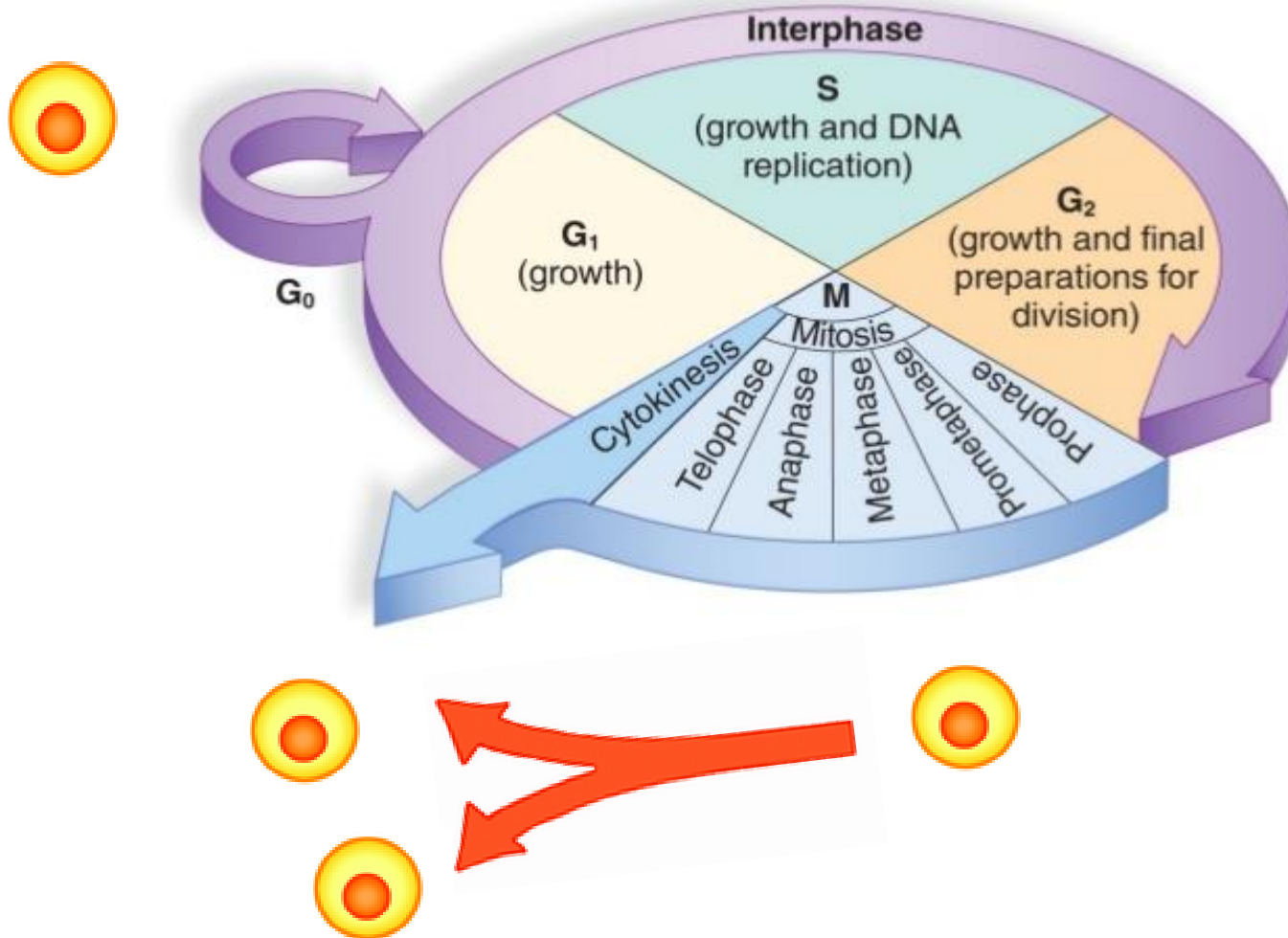
aby mohl mnohobuněčný organismus **organizovaně růst**



aby byla regulována **regenerace** – nahrazení poškozených a opotřebovaných buněk

# Buněčný cyklus

Copyright © McGraw-Hill Education. Permission required for reproduction or display.



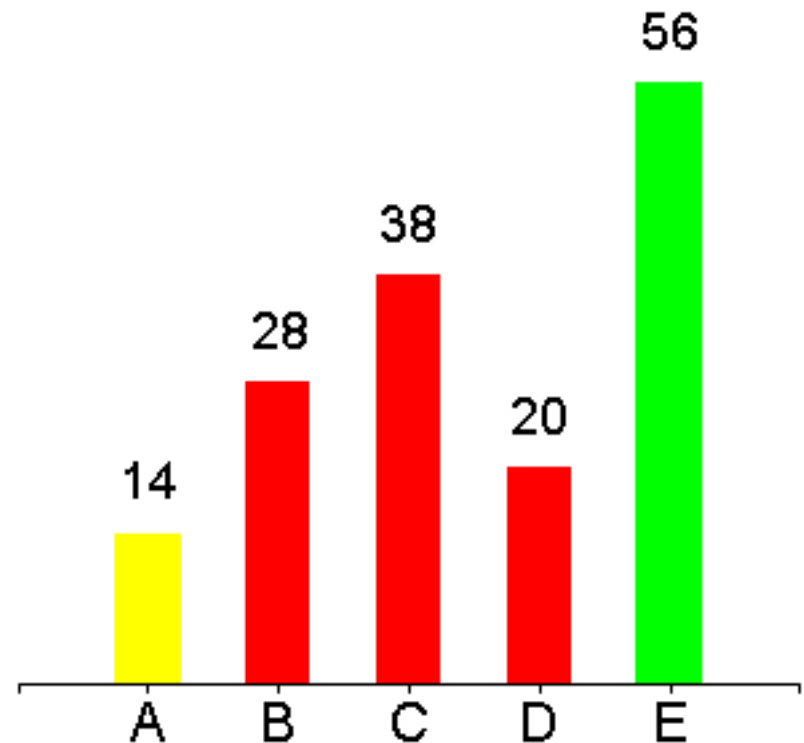
## Co platí o buněčném cyklu?

- A. Buněčný cyklus je spouštěn signály pocházejícími zevnitř buňky
- B. Většina buněk v našem těle je v G1- nebo G2- fázi buněčného cyklu
- C. V G0-fázi je metabolická aktivita buněk velmi omezená
- D. Buňka, která opustila buněčný cyklus a nepřijme žádné signály pro dělení, je odstraněna apoptózou
- E. Většina buněk v našem těle je v G0-fázi buněčného cyklu

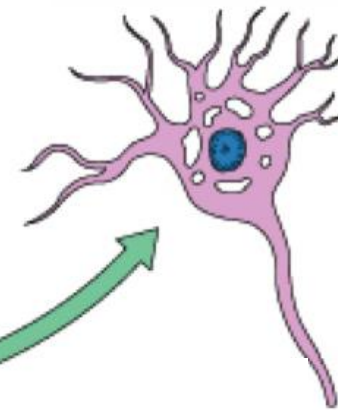
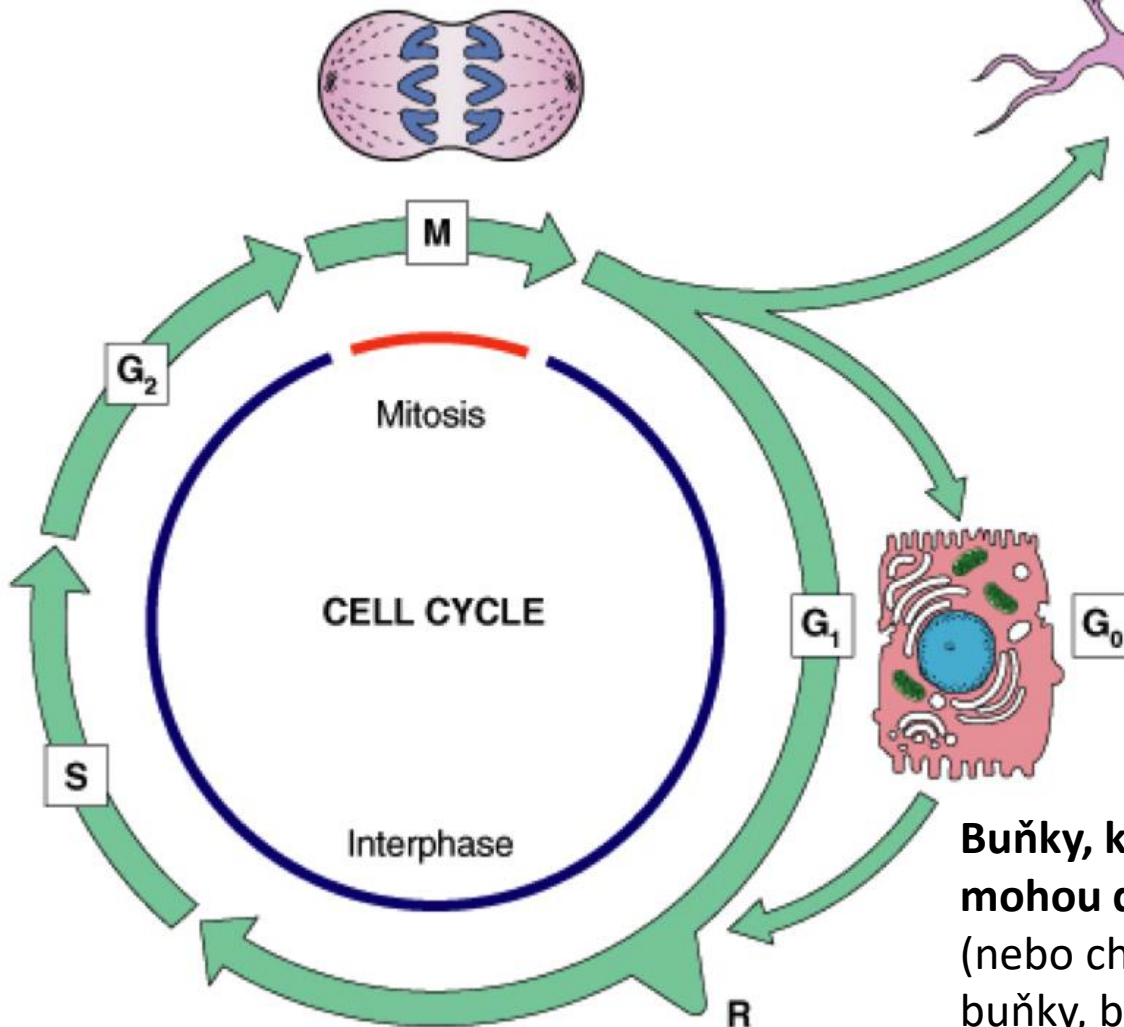


## Co platí o buněčném cyklu?

- A. Buněčný cyklus je spouštěn signály pocházejícími zevnitř buňky
- B. Většina buněk v našem těle je v G1- nebo G2- fázi buněčného cyklu
- C. V G0-fázi je metabolická aktivita buněk velmi omezená
- D. Buňka, která opustila buněčný cyklus a nepřijme žádné signály pro dělení, je odstraněna apoptózou
- ✓ E. Většina buněk v našem těle je v G0-fázi buněčného cyklu



**Neustále se dělicí buňky** – dospělé (tkáňově specifické) kmenové buňky a progenitorové buňky tkání, které potřebují neustálou regeneraci (pokožka, dýchací epitel, střevní epitel, atd.)

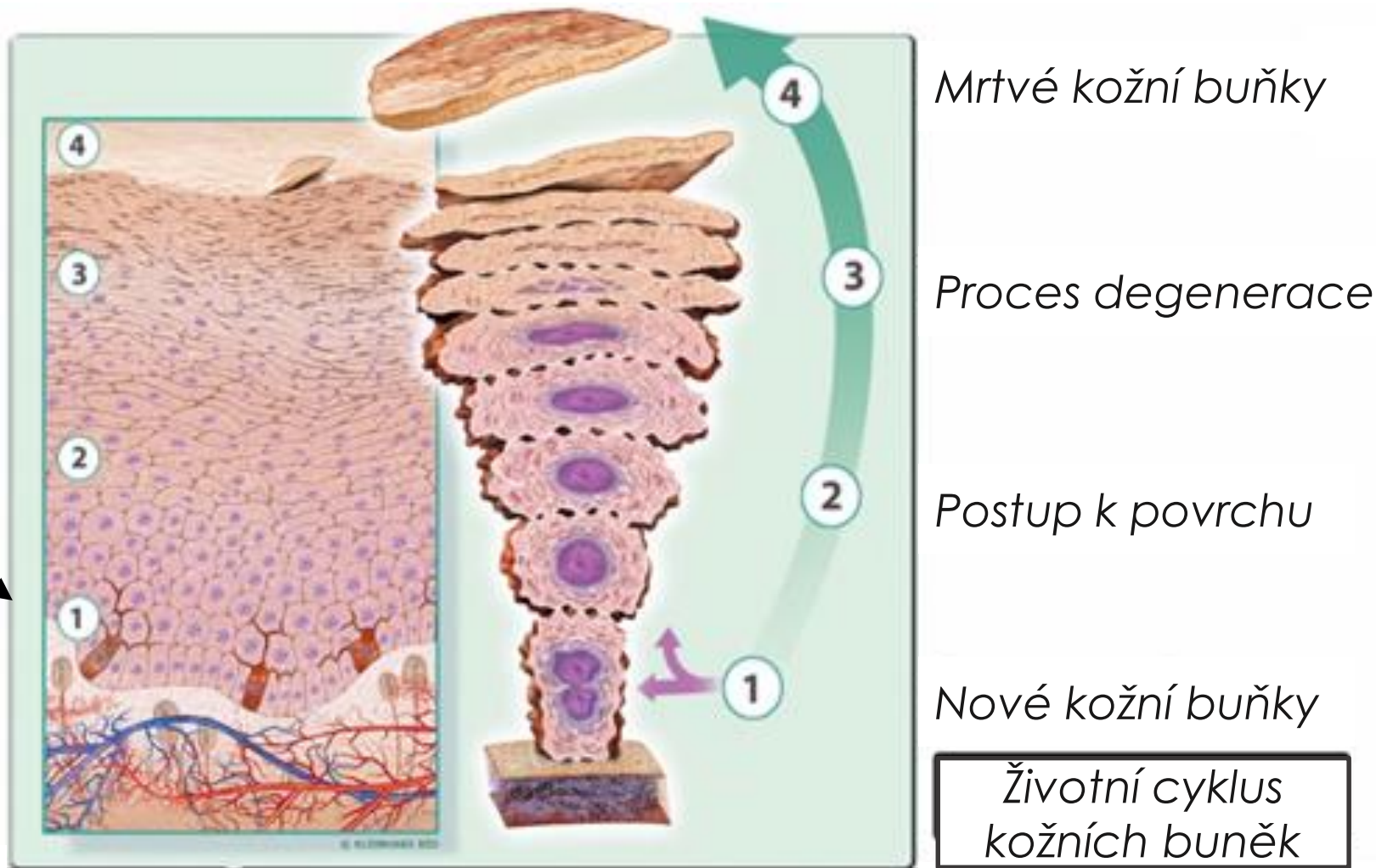


**Buňky, které se už v těle dospělého člověka nedělí** – neurony, kardiomyocyty (senescence buněk)

**Buňky, které se za určitých podmínek mohou dělit** – například po zranění (nebo chirurgickém zákroku) – jaterní buňky, buňky hladké svaloviny, atd.

# Dělení kožních buněk pro nahrazení odumřelých buněk

Neustále se dělicí buňky pokožky – svrchní vrstva kůže má ochrannou funkci, musí být neustále **obnovována** z dospělých (tkáňově specifických) **kmenových buněk a progenitorů** umístěných v nižších vrstvách tkáně



# Dělení buněk v našem těle je přísně regulováno

- pouze buňky některých tkání se mohou dělit neustále – **buněčný cyklus je spouštěn signalizací** (většinou růstovými faktory a jejich navazujícími signálními drahami)
- v ostatních buněčných typech není pro funkci tkání potřeba; někdy je to pro správnou funkci tkáně přímo nežádoucí – **buněčný cyklus je inhibován** (TGF- $\beta$ )

Jak je buněčný cyklus regulován?

Co **spouští** vstup buňky do buněčného cyklu a podporuje průchod buněčným cyklem?

Co **zabraňuje** vstupu buňky do buněčného cyklu a zastavuje průchod buněčným cyklem?

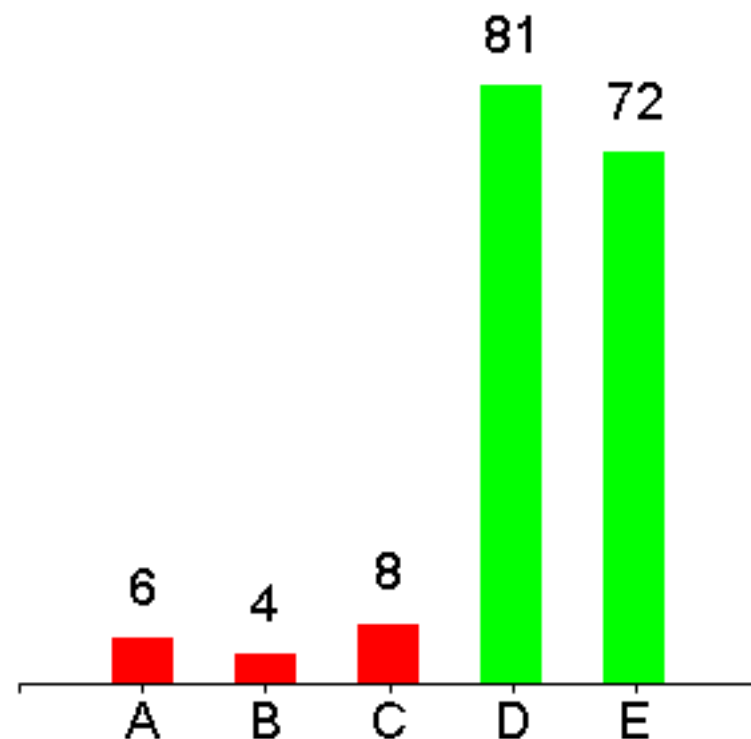
# **Inhibice buněčného cyklu**

Které molekuly inhibují průchod buňky buněčným cyklem?

- A. většina růstových faktorů
- B. cykliny
- C. cyklin-dependentní kinázy (CDK)
- D. inhibitory CDK
- E. protein p53

Které molekuly inhibují průchod buňky buněčným cyklem?

- A. většina růstových faktorů
- B. cykliny
- C. cyklin-dependentní kinázy (CDK)
- ✓ D. inhibitory CDK
- ✓ E. protein p53



# Nádorové supresory

Regulátory buněčného cyklu, které **potlačují buněčné dělení**

Zabraňují dělení buněk, které by se dělit neměly:

- buňky, které nedostaly **signál** k dělení (signalizace **proteinu RB** v bodě restrikce – první kontrolní bod buněčného cyklu)
- buňky, které nemají dost **energie a zdrojů** k dokončení dělení (signalizace **proteinu RB** v bodě restrikce)
- buňky s **poškozenou** nebo nesprávně replikovanou **DNA** (signalizace proteinu **p53** → aktivace transkripce genů pro inhibitory cyklin-dependentních kináz (**inhibitory CDK**), například pro p21)
- buňky vystavené dalším typům **stresu** (nedostatek kyslíku, kritické zkrácení telomer, atd.) → aktivace transkripce genů pro **inhibitory CDK**, například p21, p16 a další

→ zabránění buněčnému dělení  
nebo zástava buněčného cyklu





# Jak může dojít k deaktivaci proteinů kódovaných nádorovými supresory?

- A. gen pro nádorový supresor získá mutaci vnášející předčasný stop kodon
- B. gen pro nádorový supresor se začne exprimovat s vyšší intenzitou
- C. gen pro nádorový supresor získá mutaci způsobující posun čtecího rámce ovlivňující velkou část proteinu
- D. gen pro nádorový supresor se zmnoží do několika kopií
- E. jsou inhibovány svými negativními regulátory, které jsou nadměrně aktivní
- F. signální dráhy, které spouštějí jejich expresi, se stanou nadměrně aktivními nebo nezávislými na vnějším signálu

# Jak může dojít k deaktivaci proteinů kódovaných nádorovými supresory?

✓ A. gen pro nádorový supresor získá mutaci vnášející předčasný stop kodon

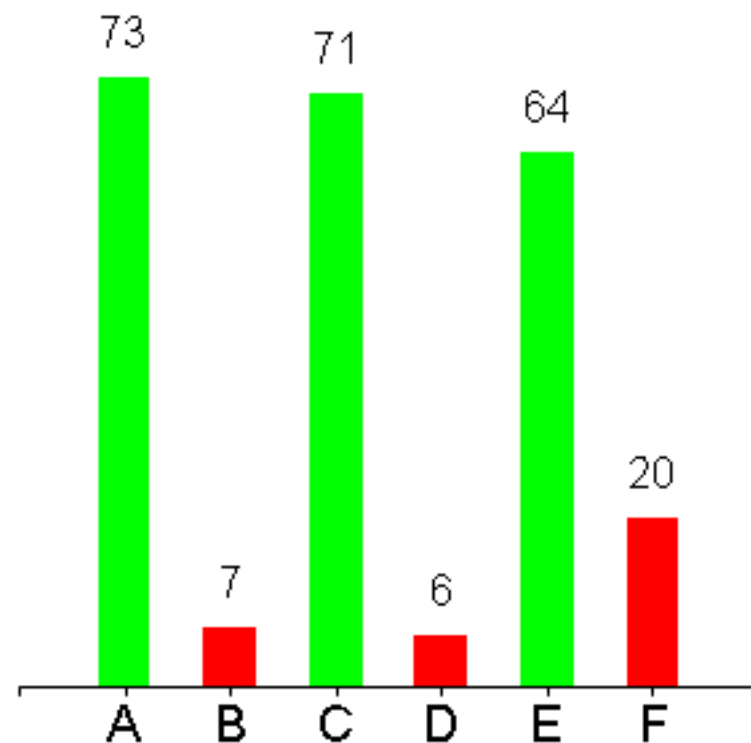
B. gen pro nádorový supresor se začne exprimovat s vyšší intenzitou

✓ C. gen pro nádorový supresor získá mutaci způsobující posun čtecího rámce ovlivňující velkou část proteinu

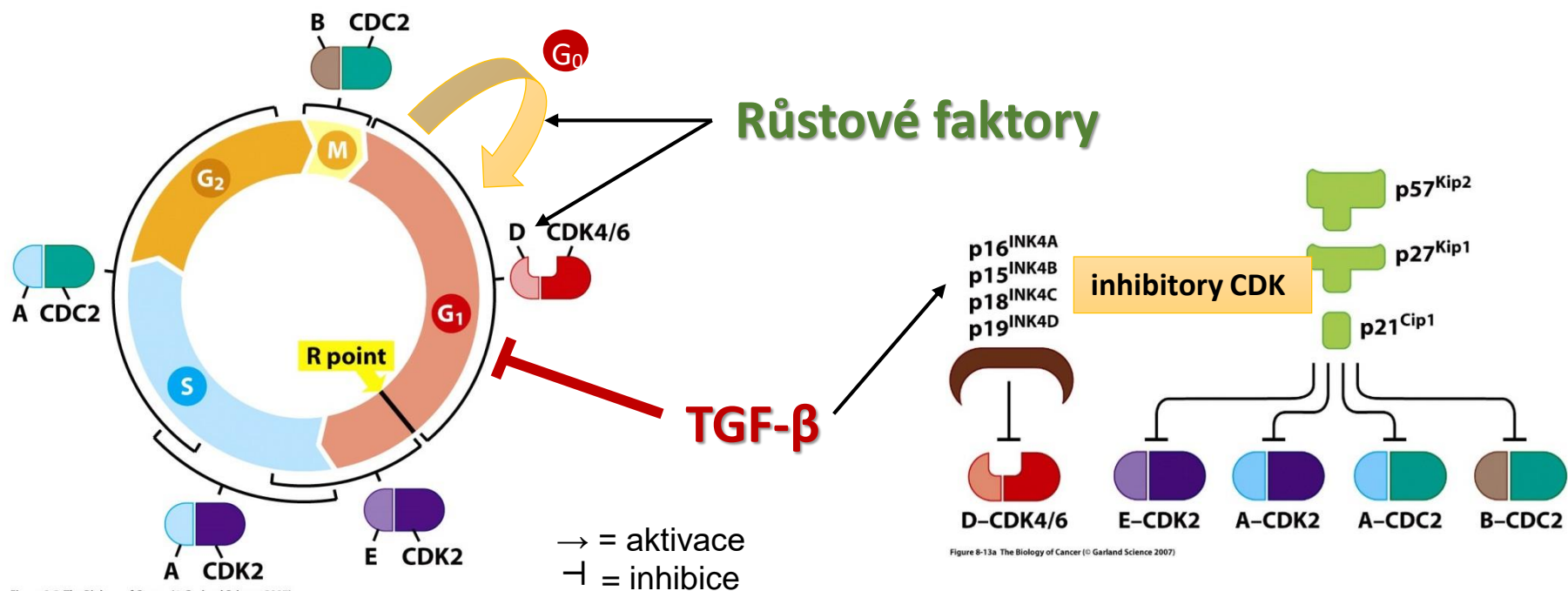
D. gen pro nádorový supresor se zmnoží do několika kopií

✓ E. jsou inhibovány svými negativními regulátory, které jsou nadměrně aktivní

F. signální dráhy, které spouštějí jejich expresi, se stanou nadměrně aktivními nebo nezávislými na vnějším signálu

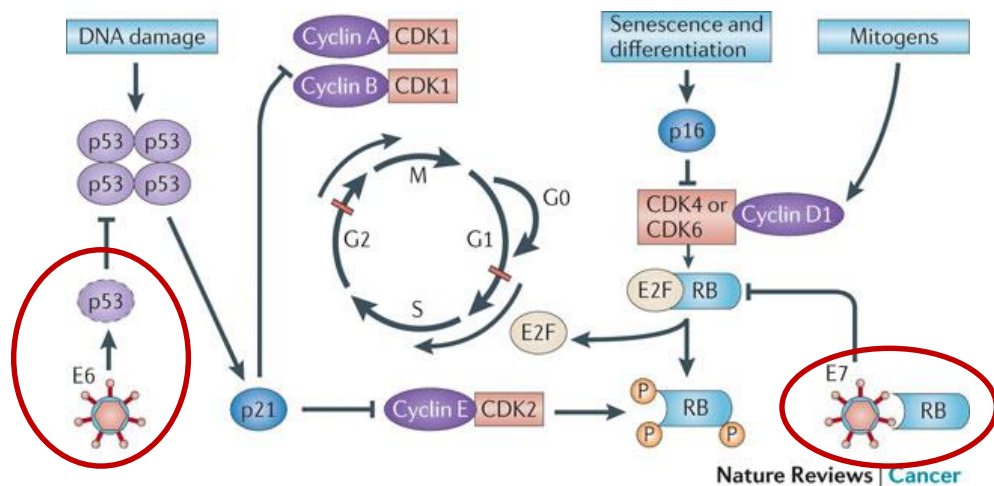


# Inaktivace nádorových supresorů narušenou signalizací



inaktivace nádorových supresorů narušenou kontrolou buněčného cyklu (snížená aktivita TGF-β, inaktivní nebo mutované regulátory důležité pro aktivaci nádorových supresorů, příliš aktivní nebo nadměrně produkované jejich přirozené inhibitory, atd.)

inaktivace nádorových supresorů virovými proteiny

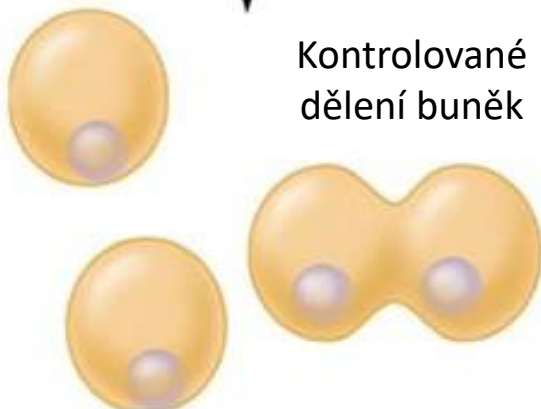


# Deaktivace nádorového supresoru a nadměrné dělení buněk

Gen pro nádorový supresor



Normální protein  
inhibující  
buněčný  
cyklus

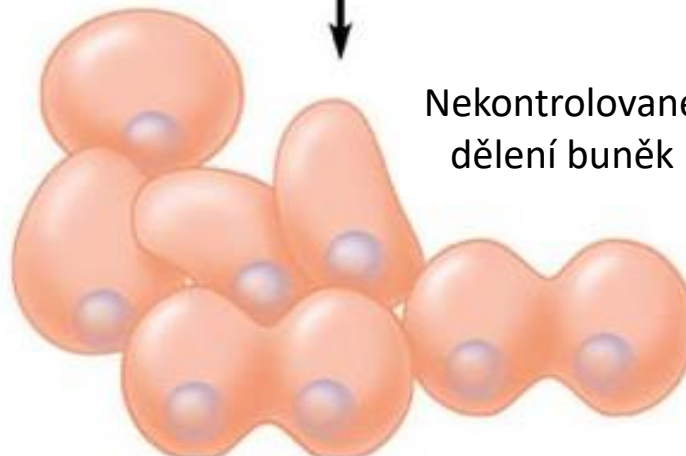


Kontrolované  
dělení buněk

Mutovaný gen pro nádorový supresor



Nefunkční  
protein

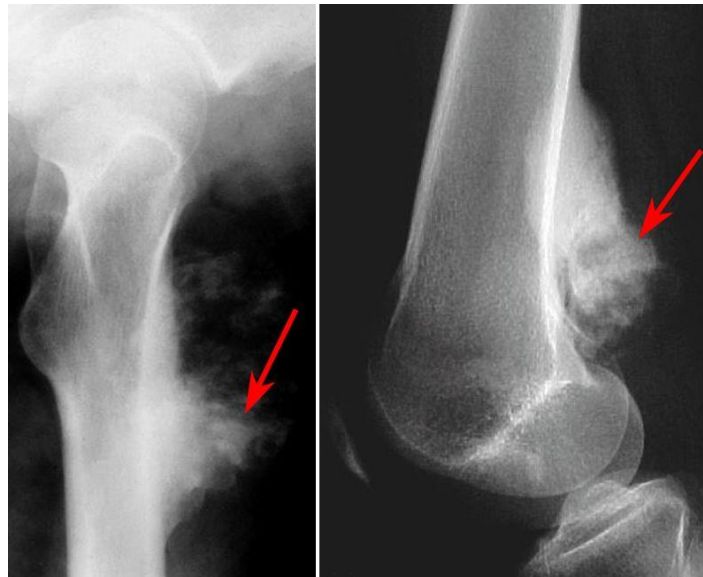


Nekontrolované  
dělení buněk

# Nádorová onemocnění, která mohou být asociována s inaktivací nádorových supresorů



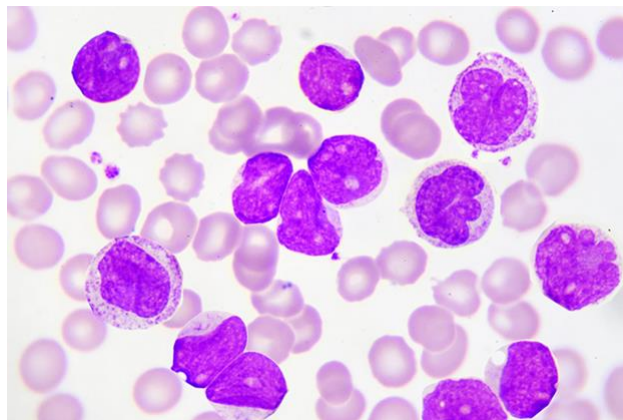
melanom – nádor kůže



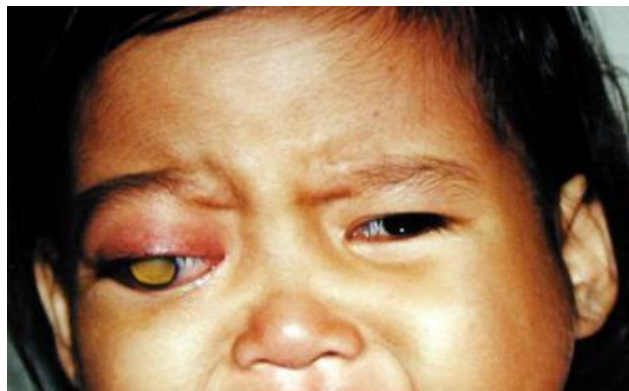
osteosarkom – nádor kostní tkáně



sarkomy – nádory měkkých tkání



leukemie – nadměrná produkce bílých krvinek



retinoblastom – nádor sítnice oka



...a mnoho dalších



Máme **dvě kopie** téměř každého genu  
– v případě **nádorových supresorů** musí být  
**deaktivovány obě kopie**, aby došlo k rozvoji nádoru  
(inaktivace nebo ztráta veškerého proteinu)



# **Stimulace buněčného cyklu**

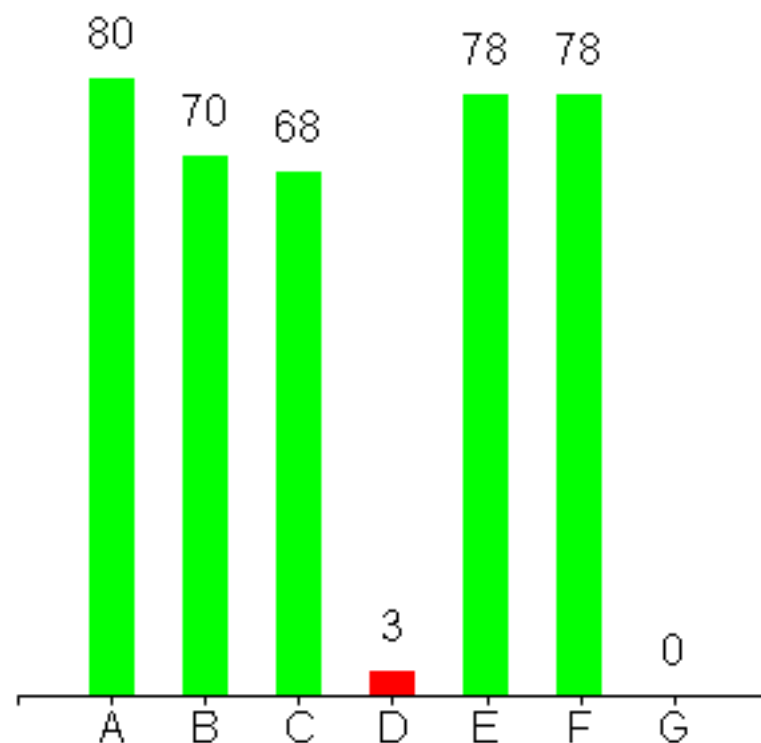
Které molekuly stimulují průchod buněčným cyklem nebo mu napomáhají?

- A. většina růstových faktorů
- B. receptory růstových faktorů
- C. protein Ras
- D. protein p53
- E. cykliny
- F. cyklin-dependentní kinázy (CDK)
- G. inhibitory CDK



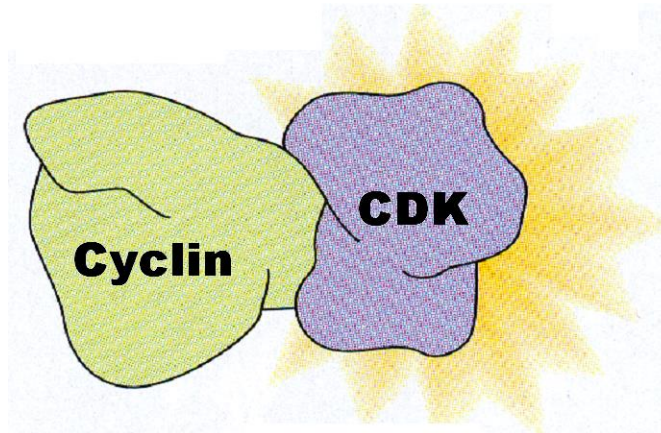
Které molekuly stimulují průchod buněčným cyklem nebo mu napomáhají?

- ✓ A. většina růstových faktorů
- ✓ B. receptory růstových faktorů
- ✓ C. protein Ras
- D. protein p53
- ✓ E. cykliny
- ✓ F. cyklin-dependentní kinázy (CDK)
- G. inhibitory CDK



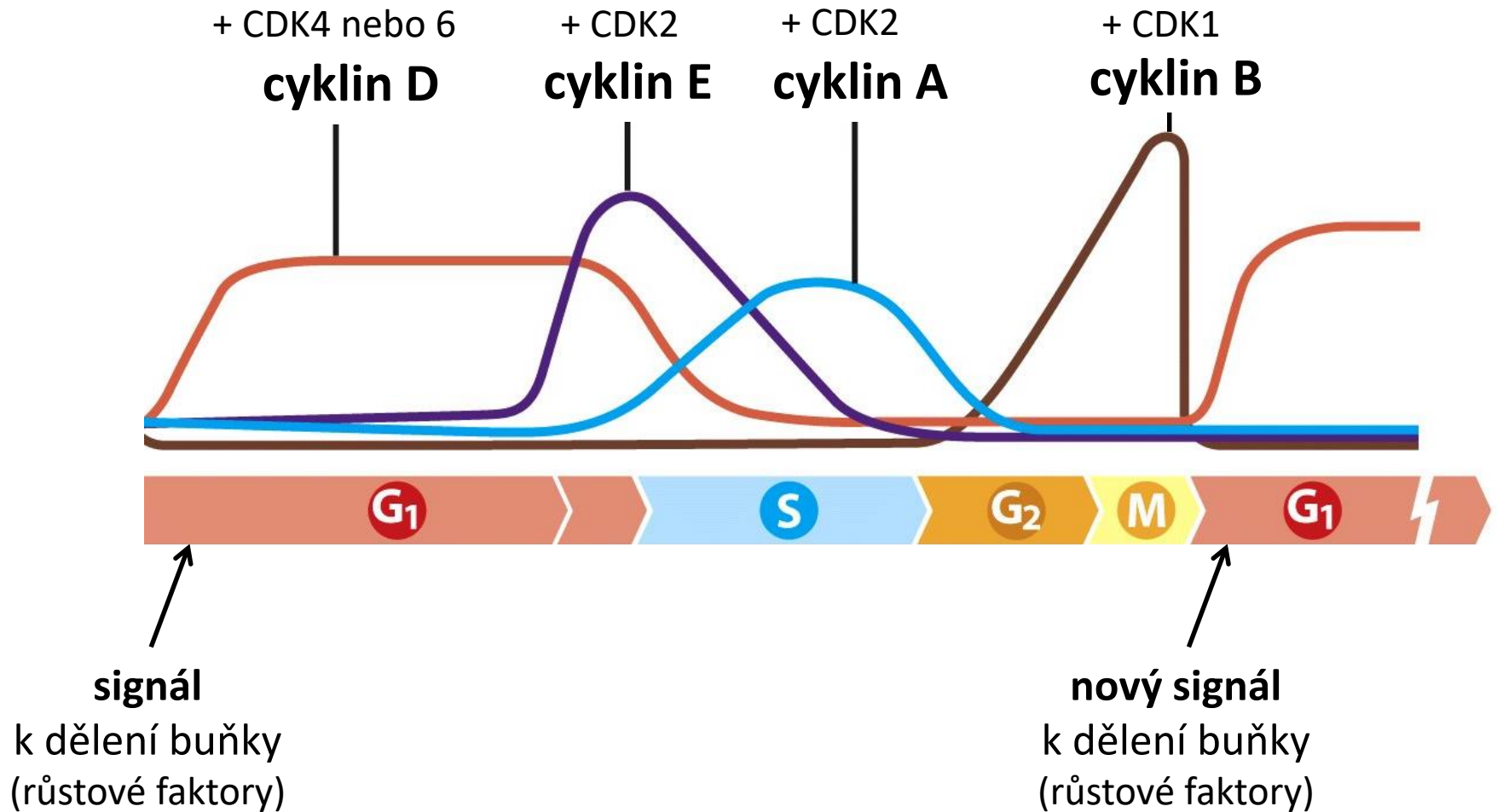
# Cykliny a cyklin-dependentní kinázy (CDK)

- proteiny důležité pro regulaci buněčného cyklu



- **cykliny** – aktivují každý své specifické kinázy (CDK)
  - v průběhu různých fází buněčného cyklu jsou přítomné různé typy cyklinů (nejprve se vytvoří, pak jsou zase odbourány v proteazomu díky ubikvitinaci)
- **cyklin-dependentní kinázy** – enzymy schopné **fosforylovat** (a tím **aktivovat**) **transkripční faktory** a další molekuly – to umožňuje transkripci genů pro **proteiny** potřebné k průběhu následující fáze buněčného cyklu (včetně dalšího cyklinu) – umožňují tedy průchod buňky buněčným cyklem
  - CDK jsou v buňce přítomné stále, čekají jen na aktivaci

**Růstové faktory jsou potřeba pro vstup do buněčného cyklu, pak už je buněčný cyklus řízen pouze zevnitř buňky – pomocí cyklinů a cyklin-dependentních kináz (CDK)**



# Cykliny a cyklin-dependentní kinázy (CDK)

**Cyklin D** řídí díky aktivaci své CDK vstup buňky do buněčného cyklu (opuštění klidové fáze G<sub>0</sub> a zahájení G<sub>1</sub>-fáze) – dochází k integraci signálů z vnějšku a zevnitř buňky (Byl navázán růstový faktor a spuštěna mitogenní signalizace? Má buňka dostatek energie a stavebních látek pro dokončení dělení? atd.) – pokud je to tak, mitogenní signalizace kromě jiného spustí tvorbu cyklinu D, ten aktivuje svou CDK (CDK4, v některých tkáních CDK6) a v buňce dojde ke spuštění transkripce genů (a tvorbě proteinů) nutných pro vstup do procesu dělení – například strukturních proteinů (v G<sub>1</sub>-fázi buňka roste) a cyklinu E (obecně cyklinu aktivujícího vstup do další fáze buněčného cyklu)

**Cyklin E** pak díky aktivaci své CDK řídí přechod z G<sub>1</sub>- do S-fáze, připravuje buňku na replikaci DNA, a spouští také expresi cyklinu A

**Cyklin A** díky aktivaci své CDK spustí například tvorbu/aktivaci proteinů potřebných pro replikaci DNA, a spouští expresi cyklinu B

**Cyklin B** díky aktivaci své CDK, která fosforyluje mnoho proteinů, řídí vstup do M-fáze (do mitózy)

# Proto-onkogeny

Regulátory buněčného cyklu, které **stimulují buněčné dělení**

Jsou nezbytné k umožnění buněčného dělení:

- **růstové faktory, receptory růstových faktorů, Ras proteiny, MAP-kinázy** (protein kinázy aktivované mitogeny, mitogen-activated protein kinases) a **transkripční faktory**, které jsou součástí **mitogenní signalizace** – zahájení G1-fáze – signalizace růstových faktorů spustí expresi „startovního“ cyklinu (cyklin D)
- **cykliny a cyklin-dependentní kinázy** tvoří komplexy, které v průběhu jednotlivých fází buněčného cyklu fosforylují další proteiny a umožňují tak postup buňky z jedné fáze cyklu do druhé

→ nezbytné regulátory, které se ale mohou stát **onkogeny, pokud jsou deregulované**



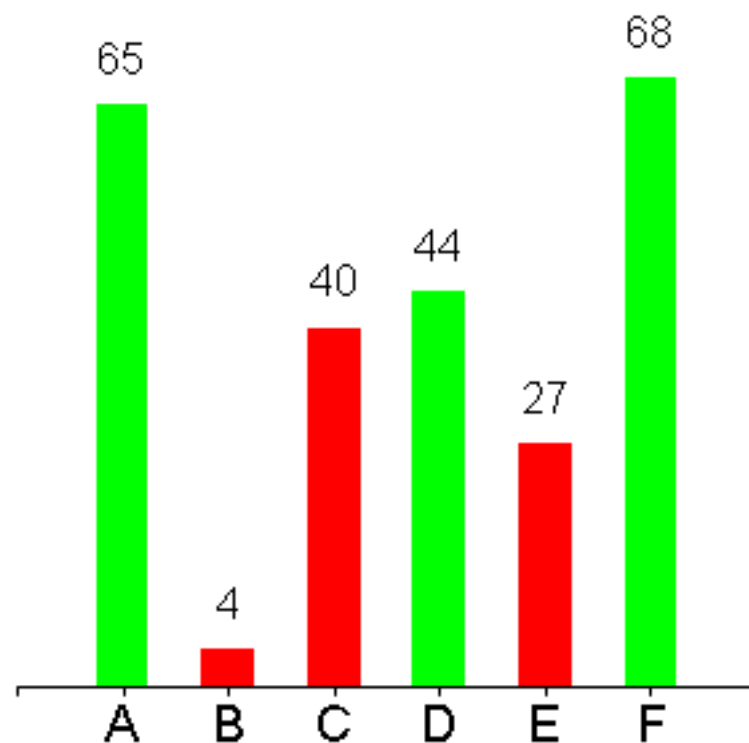
proto-onkogen s normální funkcí/onkogen při deregulaci

## Jak se může proto-onkogen stát onkogenem?

- A. gen se začne exprimovat s vyšší intenzitou
- B. je inhibovaný dalšími regulátory, které jsou nadměrně aktivní
- C. gen získá mutaci způsobující posun čtecího rámce ovlivňující velkou část proteinu
- D. gen se zmnoží do několika kopií
- E. gen získá mutaci vnášející předčasný stop kodon
- F. signální dráha, která spouští jeho expresi, se stane nadměrně aktivní nebo nezávislá na vnějším signálu

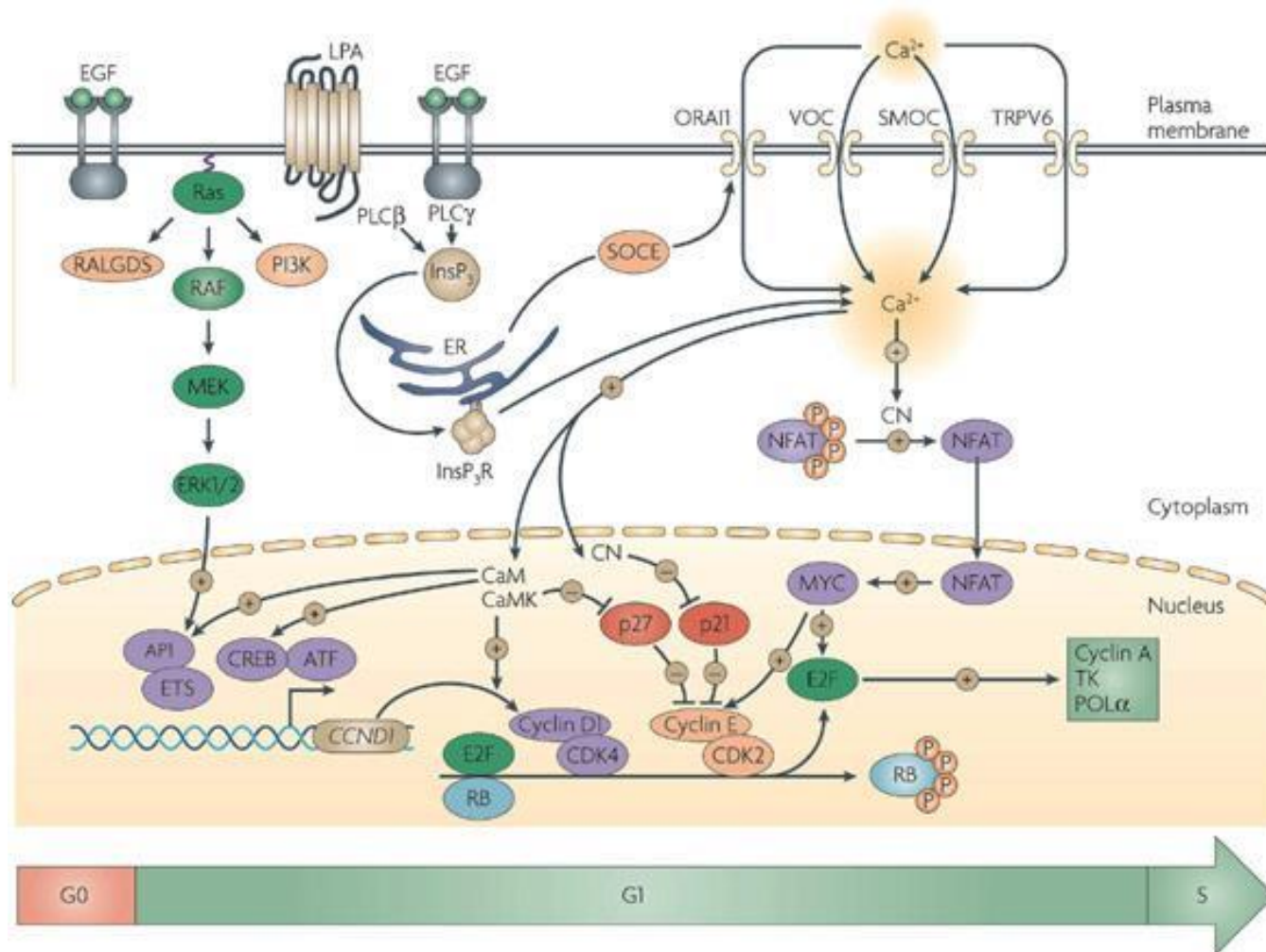
# Jak se může proto-onkogen stát onkogenem?

- ✓ A. gen se začne exprimovat s vyšší intenzitou
- B. je inhibovaný dalšími regulátory, které jsou nadměrně aktivní
- C. gen získá mutaci způsobující posun čtecího rámce ovlivňující velkou část proteinu
- ✓ D. gen se zmnoží do několika kopií
- E. gen získá mutaci vnášející předčasný stop kodon
- ✓ F. signální dráha, která spouští jeho expresi, se stane nadměrně aktivní nebo nezávislá na vnějším signálu



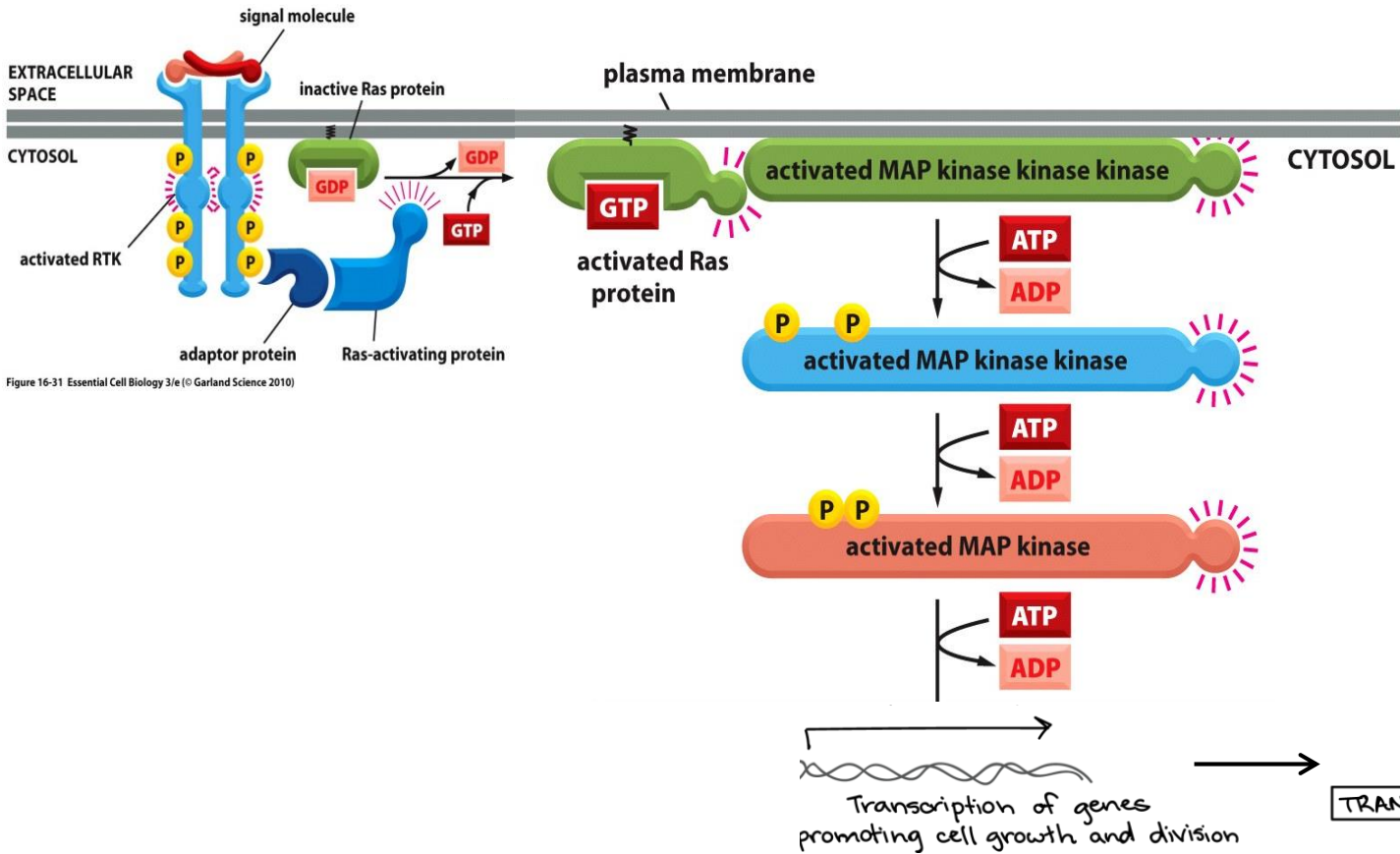
# Proto-onkogeny – součásti mitogenní signalizace a pozitivní regulátory buněčného cyklu

- růstové faktory a jejich receptory, Ras proteiny, MAP-kinázy, transkripční faktory mitogenní signalizace, cykliny a cyklin-dependentní kinázy





# Aktivace proto-onkogenů nadměrnou aktivací nebo nadprodukcí



zvýšená intenzita buněčného dělení, která může dát vznik malignímu nádoru

Máme **dvě kopie** téměř každého genu  
– v případě **proto-onkogenů** stačí k deregulaci  
buněčného dělení **jedna kopie** exprimovaná v  
**nadměrném** množství nebo nadměrně aktivní,  
a už to může přispět k rozvoji nádoru

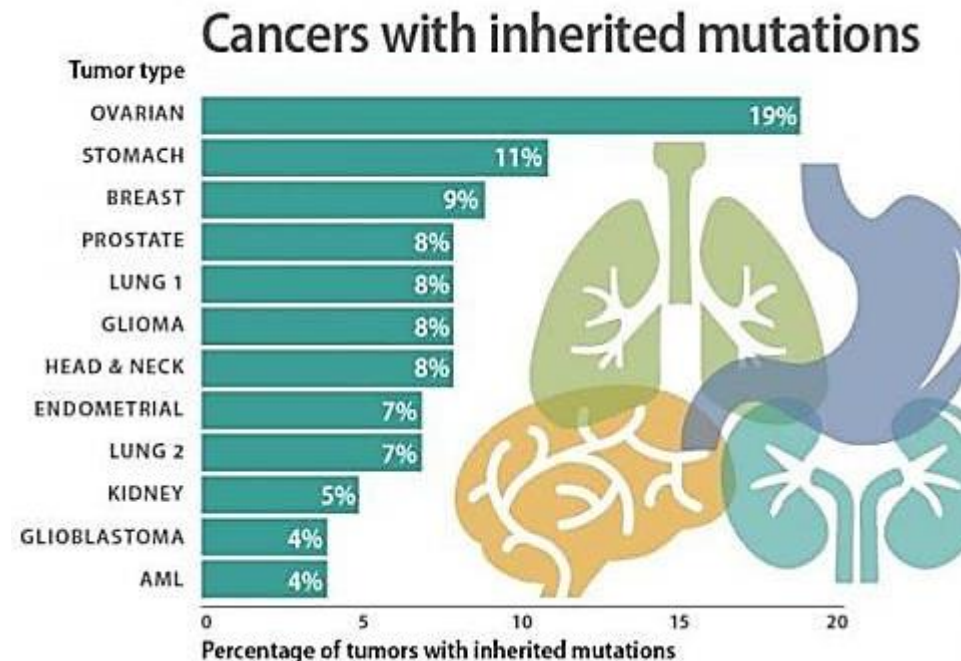
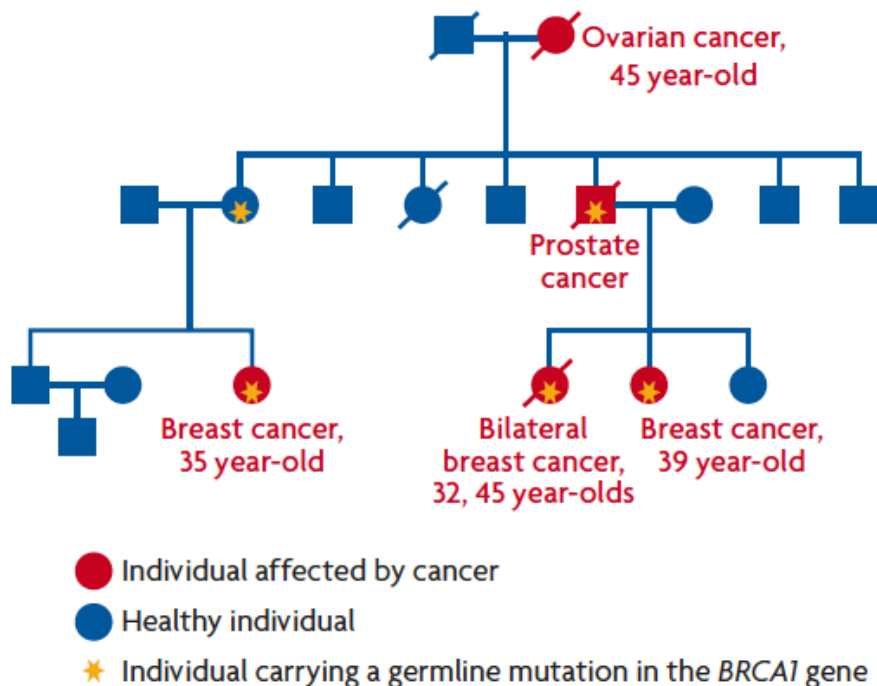


Buňka nemá na výběr a zahájí dělení – protein kódovaný onkogenem spustil mitogenní signalizaci (zatímco zdravý protein, kódovaný proto-onkogenem, čeká na vnější signál k dělení) – onkogen vždy „zvítězí“ nad proto-onkogenem

nemutovaný receptor čeká na signál, zatímco **nadměrně aktivní receptor spouští buněčné dělení** neustále, jeden buněčný cyklus za druhým

Rakovinné (aktivující) **mutace proto-onkogenů** se **obvykle nedědí** – způsobily by tvorbu nádoru už u vznikajícího embrya (namísto regulovaného vývoje embrya a diferenciaci buněk), což by znemožnilo přežití embrya

Většina **dědičných nádorů** je důsledkem zdědění jedné mutované kopie **nádorového supresoru**



# **Klinický případ**

Žena (58 let), relativně štíhlá, ve výborném zdravotním stavu, si během sprchování nahmatala malou bulku blízko podpaží. Co navrhuje vyšetřit?

Žena (58 let), relativně štíhlá, ve výborném zdravotním stavu, si během sprchování nahmatala malou bulku blízko podpaží. Co navrhuje vyšetřit?

- Ultrazvukové vyšetření potvrzené magnetickou rezonancí (MRI) ukázaly **nádor prsu a metastázy v několika mízních uzlinách**
- Kombinace pozitronové emisní tomografie (PET) a počítačové tomografie (CT) neodhalily žádné metastázy v kostech, plicích ani játrech
- Z biopsie prsní tkáně byla provedena cytologie a molekulární vyšetření nádorových buněk fluorescenčním značením – to odhalilo **nadměrnou expresi receptoru růstového faktoru EGFR** (také Her2/Neu nebo receptorová tyrozin-kináza Erb-B2)

nadměrná exprese receptoru EGFR zvyšuje pravděpodobnost **dimerizace** i bez přítomnosti signálu (EGF – epidermálního růstového faktoru)



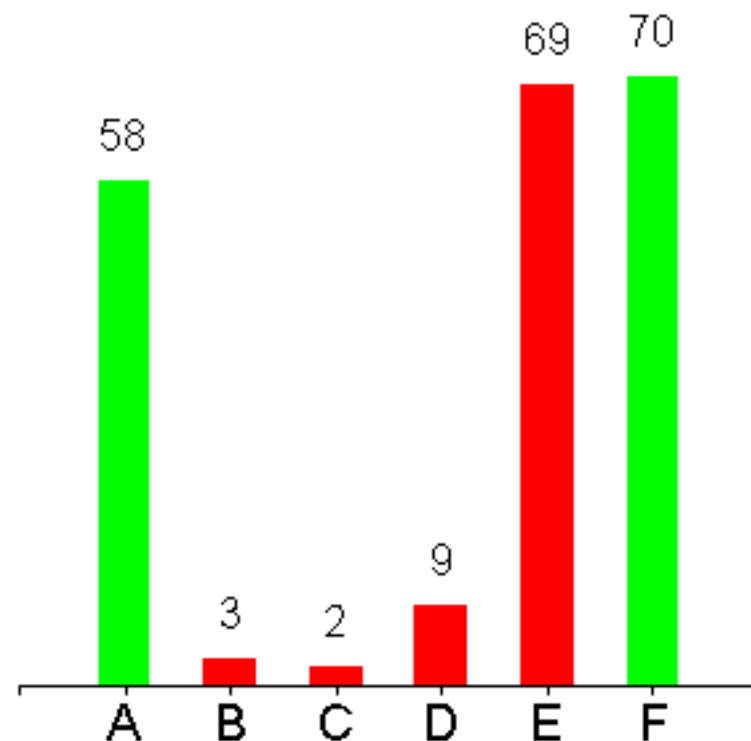
## Jak můžete tuto pacientku léčit?

- A. chirurgickým odstraněním nádoru
- B. podáváním zvýšených dávek cyklinů
- C. aktivací onkogenů podáváním stimulačních signálů
- D. inhibicí nádorových supresorů pomocí nízkomolekulárních inhibitorů
- E. podáváním inhibitorů růstového faktoru (inhibitory EGF)
- F. podáváním protilátek, které se vážou na nadměrně produkováný receptor (EGFR), a zabrání tvorbě dimerů



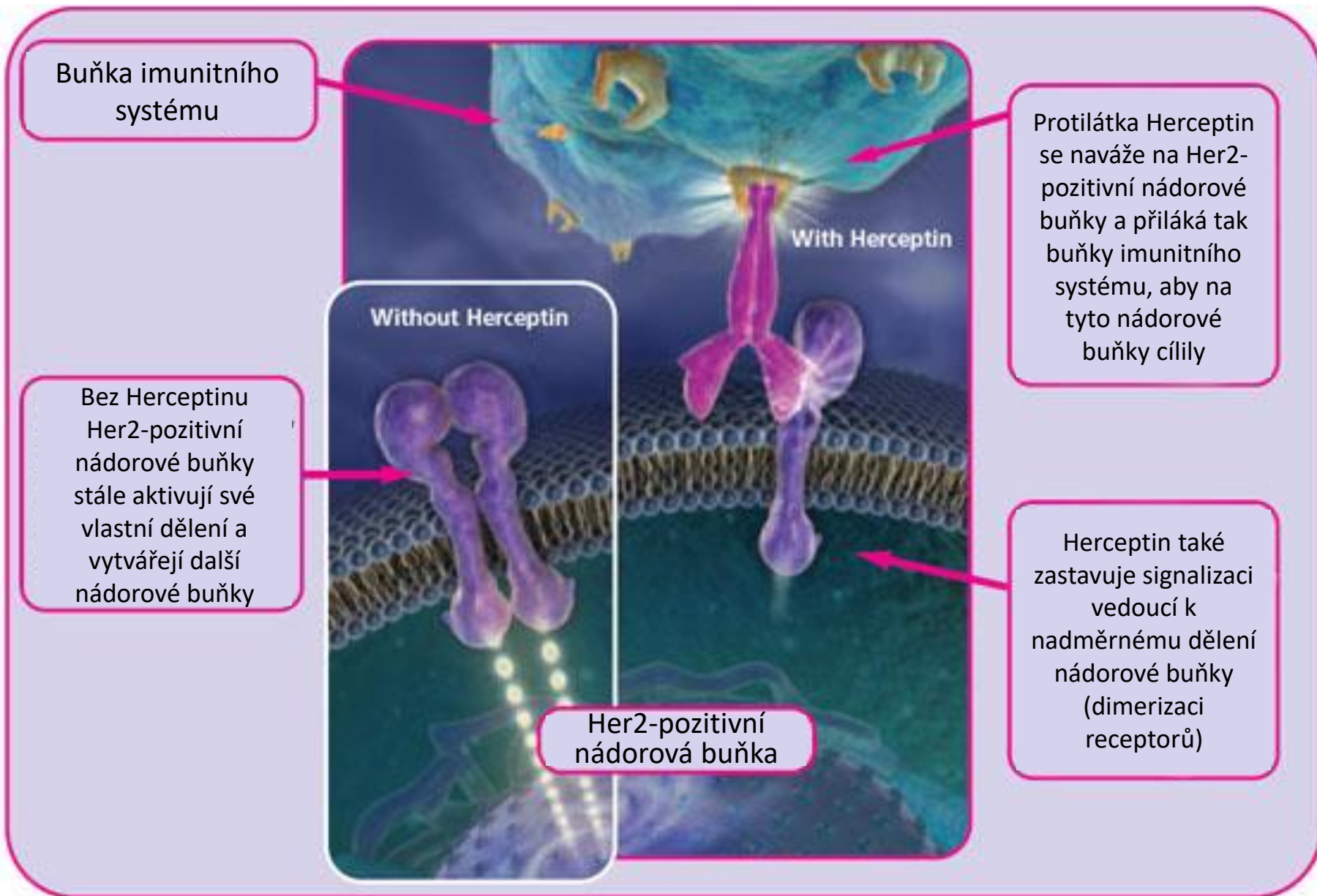
## Jak můžete tuto pacientku léčit?

- ✓ A. chirurgickým odstraněním nádoru
- B. podáváním zvýšených dávek cyklinů
- C. aktivací onkogenů podáváním stimulačních signálů
- D. inhibicí nádorových supresorů pomocí nízkomolekulárních inhibitorů
- E. podáváním inhibitorů růstového faktoru (inhibitory EGF)
- ✓ F. podáváním protilátek, které se vážou na nadměrně produkováný receptor (EGFR), a zabrání tvorbě dimerů

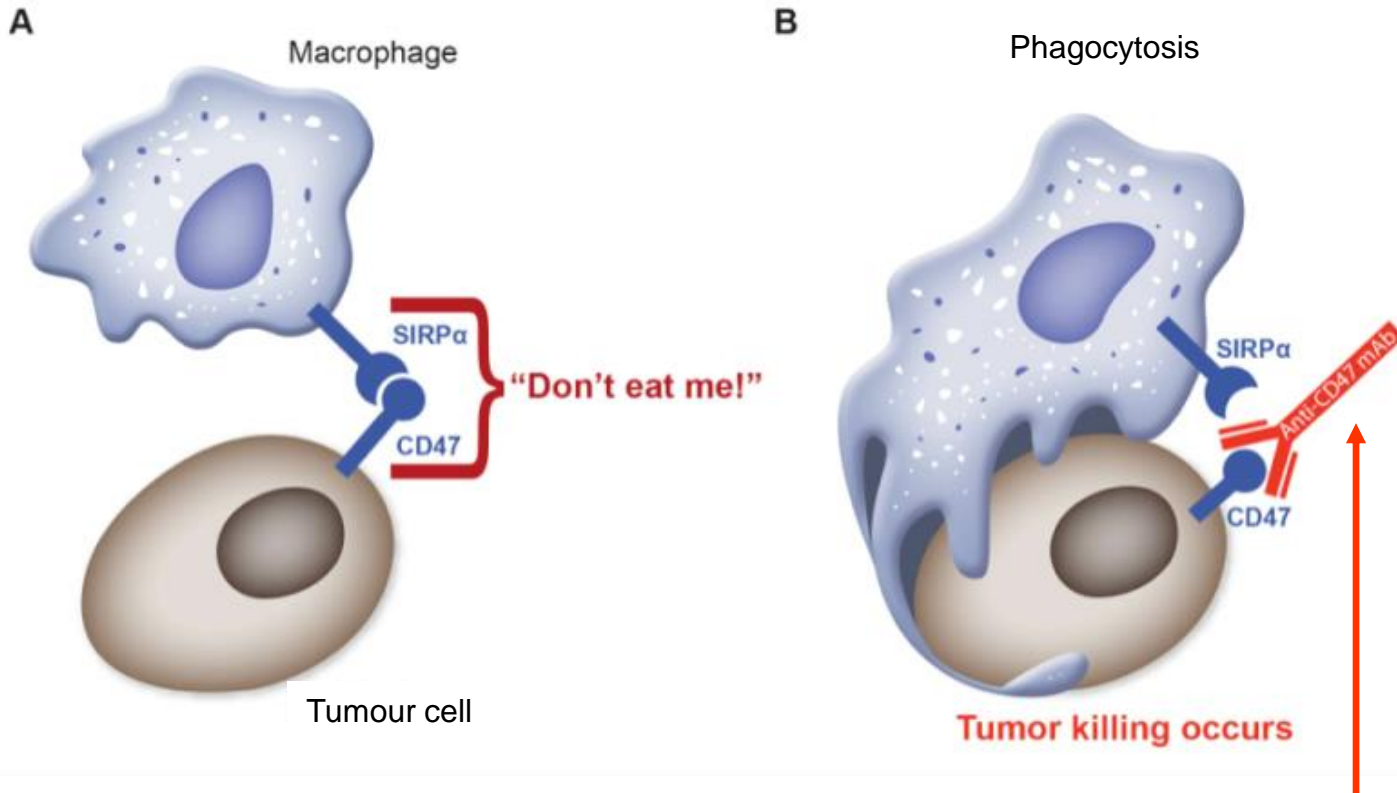




# Monoklonální protilátky (produkované jedním klonem B-lymfocytů) zabrání tvorbě dimerů nadměrně tvořeného receptoru, a přilákají imunitní buňky



Čím víc rozumíme signalizaci a jejímu narušení v nádorové buňce, a čím lépe známe mutace u konkrétního pacienta, tím lépe můžeme nakombinovat a zacílit léčbu



Například kombinace Herceptinu s **inhibitory** nebo **monoklonálními protilátkami** proti **CD47** – i po podávání Herceptinu se může stát, že antigeny CD47 na povrchu nádorové buňky vysílají signál **blokujiící fagocytózu nádorových buněk makrofágy** (a u mnoha nádorů je zvýšená hladina CD47 v důsledku narušení signalizace) – blokování CD47 v kombinaci s Herceptinem může výrazně pomoci

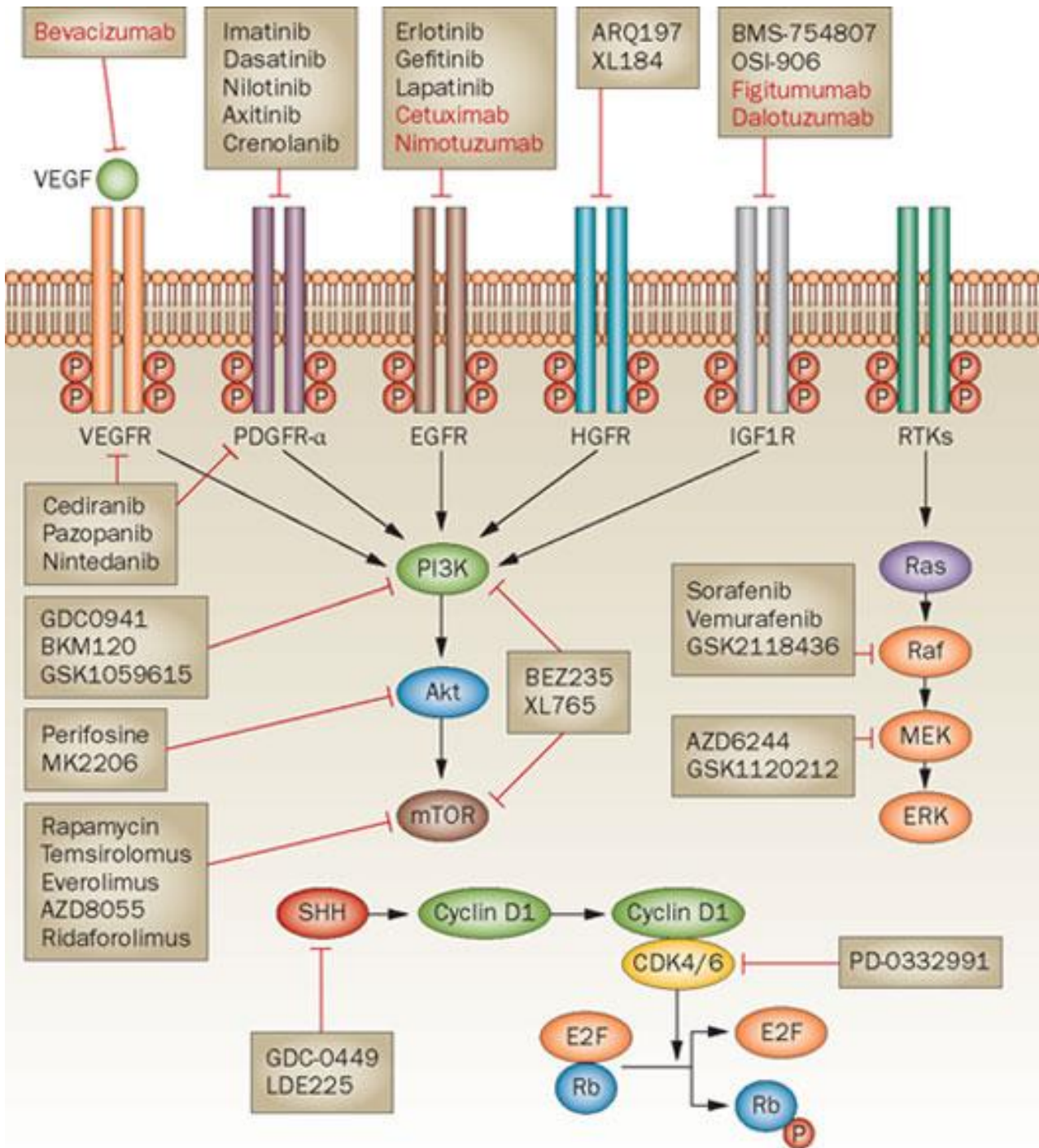
# **Protinádorová léčba**

# Je nutné specificky cílit na tu část signalizace, která způsobila nadměrné dělení nádorových buněk u konkrétního pacienta

Ke **specifickému** zacílení na narušené signální dráhy se používají různé malé molekuly nebo protilátky s proteinovým základem:

- nízkomolekulární **inhibitory** nadměrně aktivních **receptorů růstových faktorů**, nebo **monoklonální protilátky** zabraňující jejich dimerizaci, pokud jsou produkovány ve zvýšené míře
- **inhibitory** dalších **signálních molekul mitogenních signálních drah** – inhibitory Ras proteinů, inhibitory MAP-kináz (kináz Raf, MEK, nebo Erk); inhibitory fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K), inhibitory transkripčních faktorů aktivovaných mitogenní signalizací
- syntetické **inhibitory cyklin-dependentních kináz**
- atd.

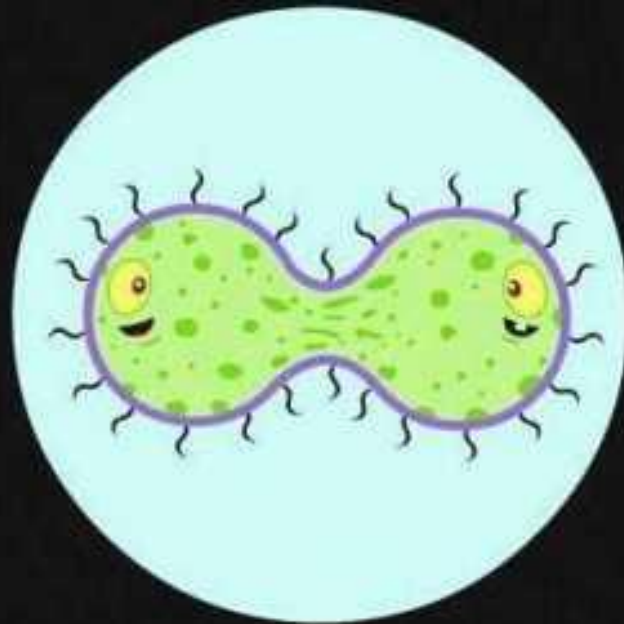
názvy různých monoklonálních protilátek (slova) a nízkomolekulárních inhibitorů (písmena a čísla)



receptory

aktivované druhé posly (přenašeče signálu)

cykliny a CDK



**BIOLOGY - THE ONLY SCIENCE  
WHERE MULTIPLICATION AND  
DIVISION MEAN THE SAME THING**