

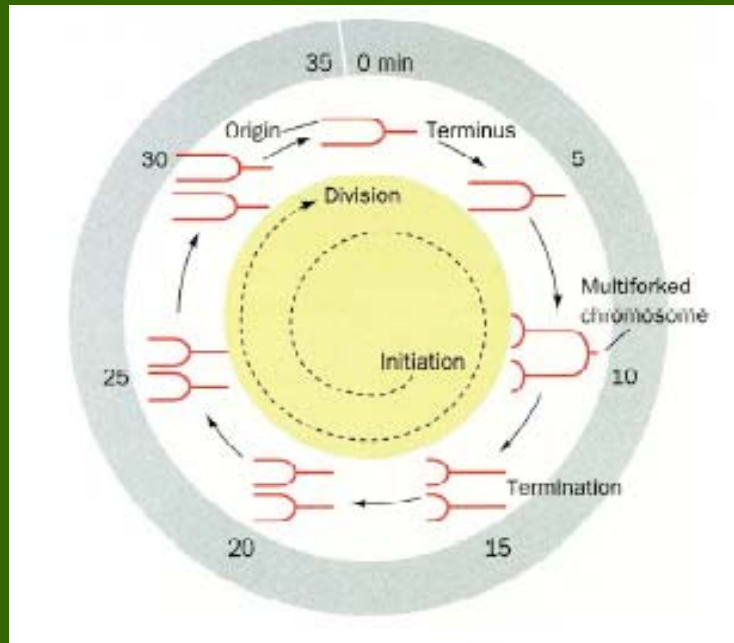
Buněčný cyklus

Replikace DNA a dělení buňky

Regulace buněčného dělení

- buněčný cyklus:
 - buněčné dělení
 - buněčný růst
- kontrola kvality „potomstva“ (dceřinných buněk)
 - brání přenosu nekompletně zreplikovaných genomů - body kontroly „checkpoints“

Buněčný cyklus *E. coli*

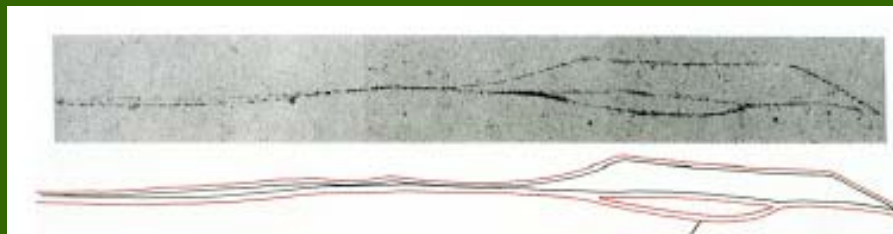


syntéza DNA (replikace genomu)

40 min

rozdělení buňky

20 minut od dokončení replikace



„generační doba“ i méně než 60 min (40+20)

Buněčný cyklus

probíhá v krocích

zajištěn specializovanými protein kinázami, fosfatázami, proteázami

modely *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Drosophila*

buněčné mechanismy cyklu dělení u eukaryot vysoce konzervovány:

protein kinázy

enzymy DNA replikace

cytoskeletárních struktury (mitóza - pohyb chromozomů)

mechanismy degradace proteinů (ubiquitin-dependentní pathway)

Buněčné dělení

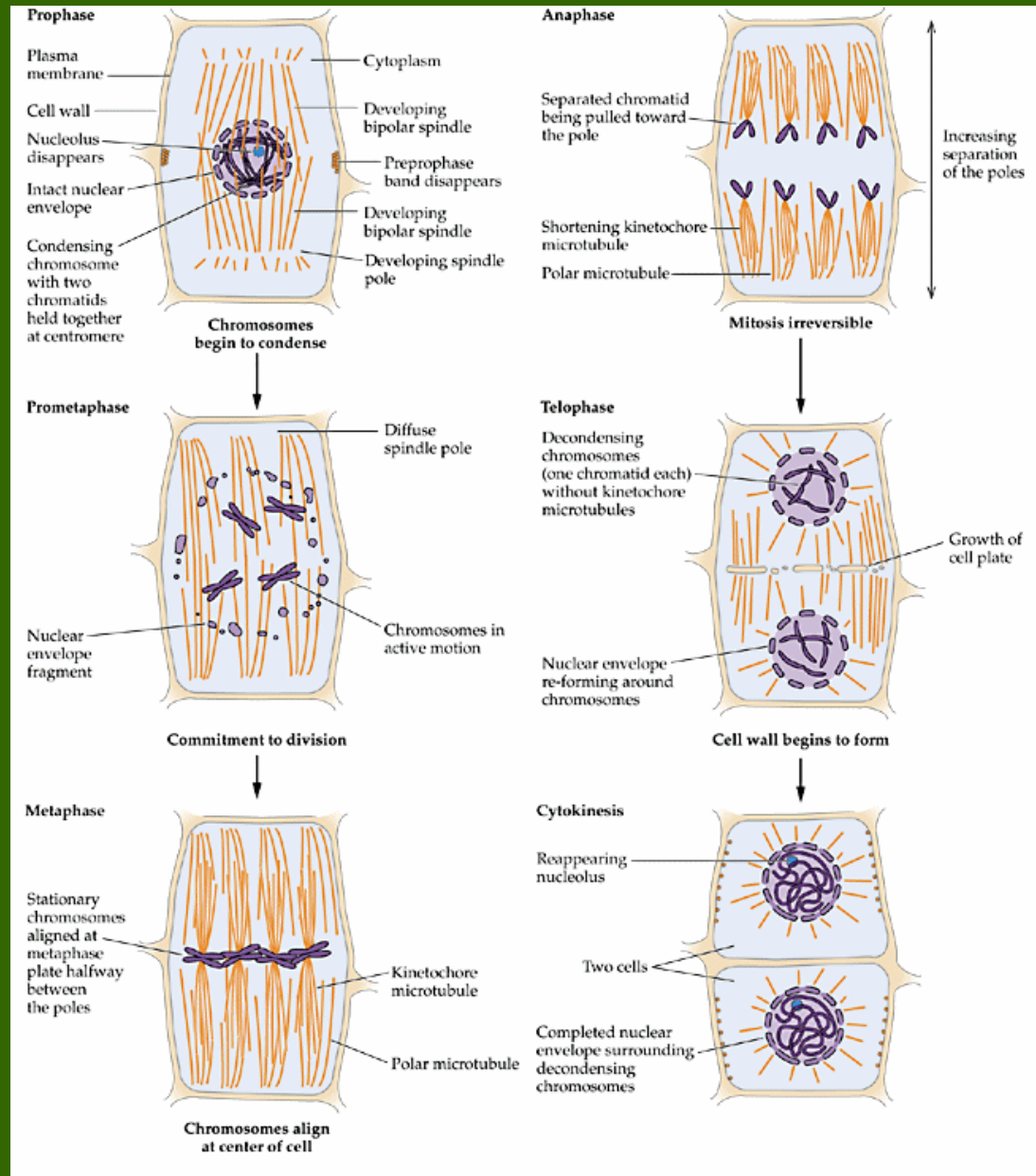
specifika u rostlin:

buněčná stěna - tvorba buněčné přepážky/přehrádky (ne kontraktálního kroužku) při dělení

replikace 3 genomů (jaderný, organelární)

opakovaná tvorba nových orgánů, náhrada odumřelých či poškozených orgánů (kontrolovaná buněčná proliferace)

Mitóza



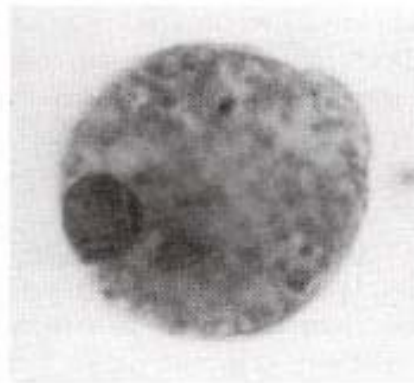
Fúze protoplastů v odlišných fázích buněčného cyklu

(B)

Wheat cell in M phase



Rice cell in interphase



Wheat-rice fusion cell



Rice chromosomes

Wheat chromosomes

Figure 11.6

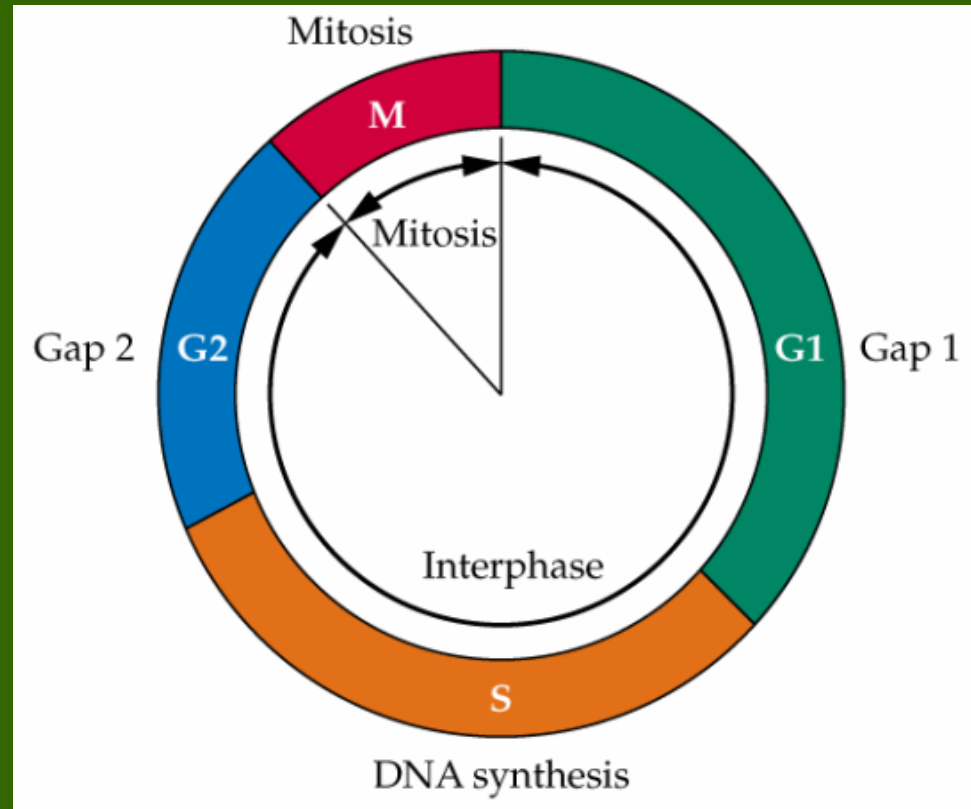
(A) Comprehensive fusion experiments conducted with animal cells revealed that diffusible factors regulated cell division progress, whereas nondiffusible factors associated with chromosomes determined whether the chromosomes were competent to respond to the diffusible factors. (B) Cell fusions of plant cells at different stages of the cell cycle. Plant cell protoplasts, generated by removing the cell walls by enzymatic digestion, can be fused together. To readily distinguish the origin of chromosomes in the fused protoplasts,

investigators can use cells from different species with distinct chromosome morphologies. In this experiment, mitotic wheat protoplasts (condensed chromosomes, left panel) were fused with rice protoplasts in interphase (chromosomes are not condensed and therefore not visible, middle panel). After fusion, the rice chromosomes rapidly condensed and became visible (right panel). This suggests that the mitotic wheat cells contain diffusible factors sufficient to initiate chromosome condensation in interphase cells.

Buněčný cyklus

8

interfáze x mitóza



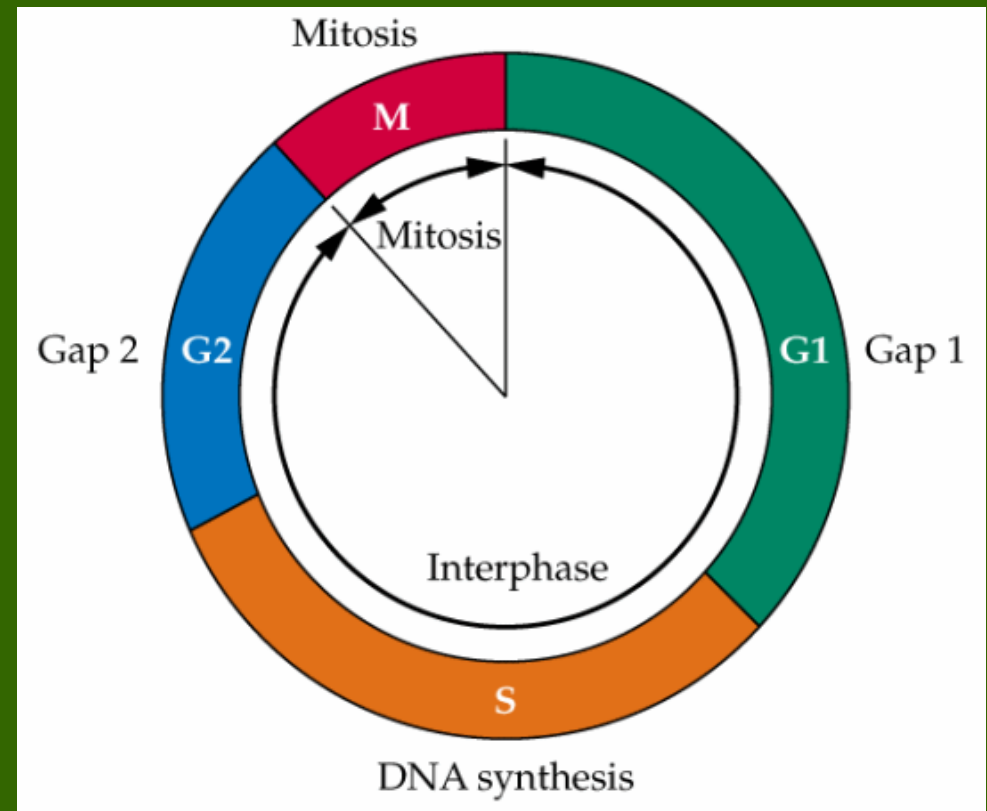
Kontrola replikace DNA

velmi striktní

iniciace DNA

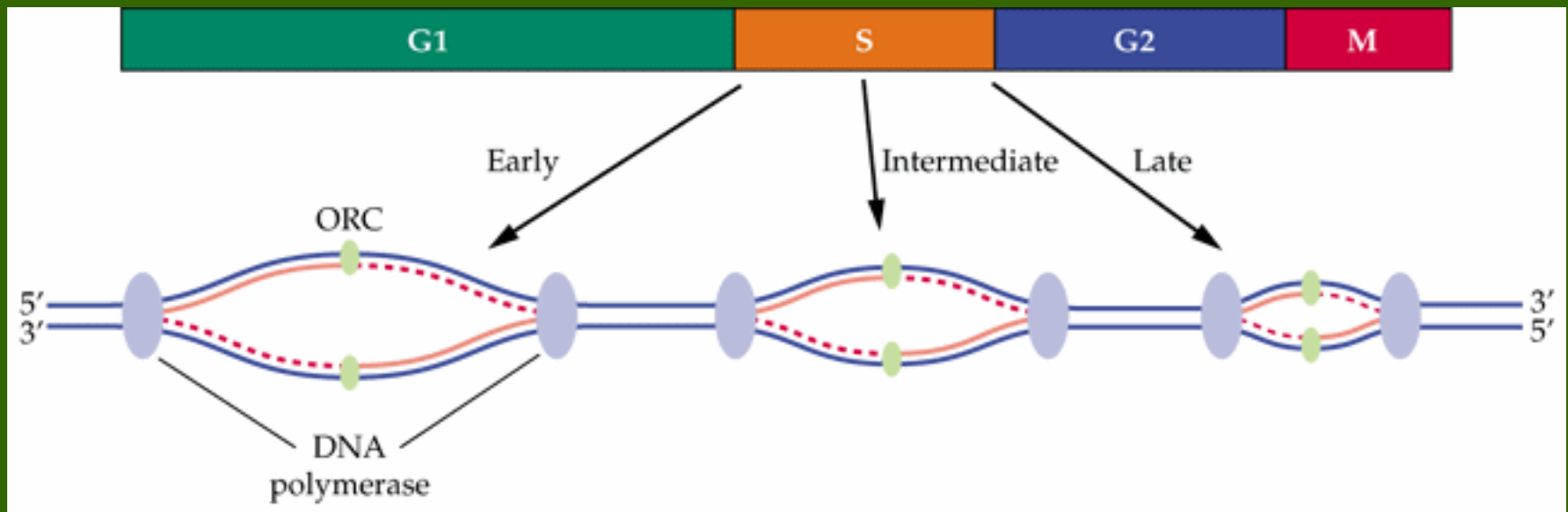
syntézy inhibována
v G2, M a G1

syntéza z počátků
replikace (2D á 66
kb, 1D á 47 kb)



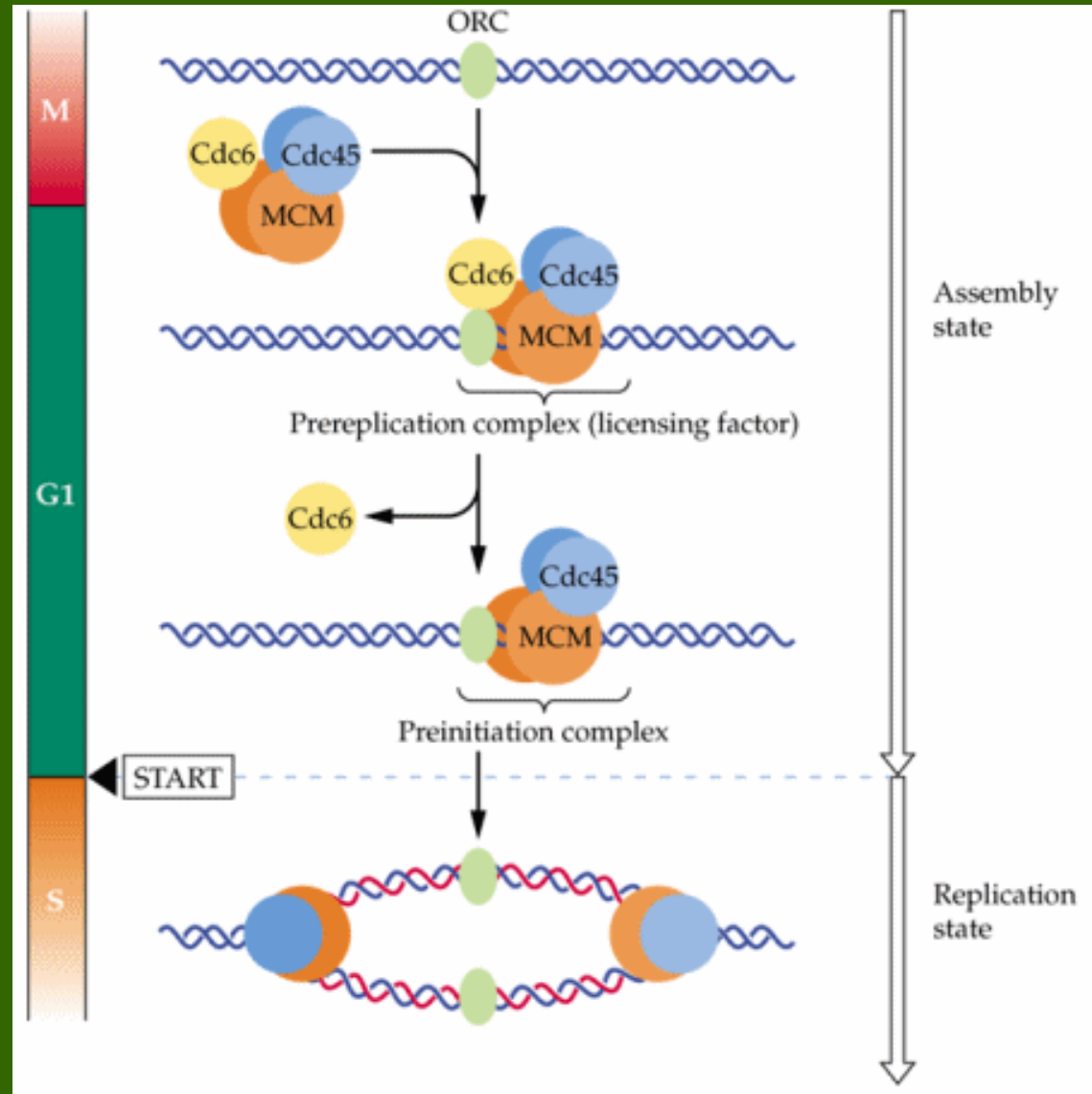
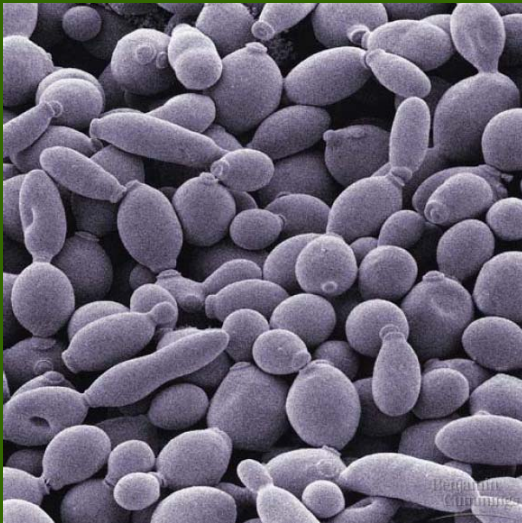
replikační počátky

- v průběhu BC vazba ORC (origin recognition complex) (Orc proteiny)
- ORC proteiny interagují s dalšími proteiny
 - Cdc (cell division control)
 - MCM (iniciace replikace - pouze jednou v průběhu cyklu - „licencing factor“)
 - DNA polymerázy



Iniciace replikace

pivovarská kvasinka



Gen *PROLIFERA*

Arabidopsis, produktem Mcm7, mutace letální

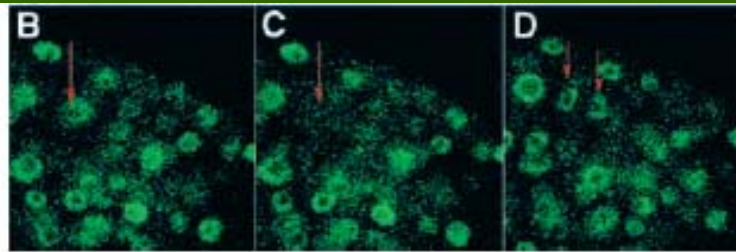


Fig. 3. *PROLIFERA* is localized in the nucleus during the G₁ phase of the cell cycle. (A) Whole mount of root tip from *prl/+* plant stained with X-Gluc, showing GUS localized in the nucleus of individual files of cells. (B-D) Accumulation of PRL::GFP fusion in root tip nuclei. The time between images in B and C is 4 minutes. The time between the images in C and D is 28 minutes. The arrow in B marks a cell that has PRL::GFP localized to the nucleus. Localization is then lost (C), and returns in daughter nuclei (D) following mitosis.

Springer et al. (2000) *Development* 127; 1815.

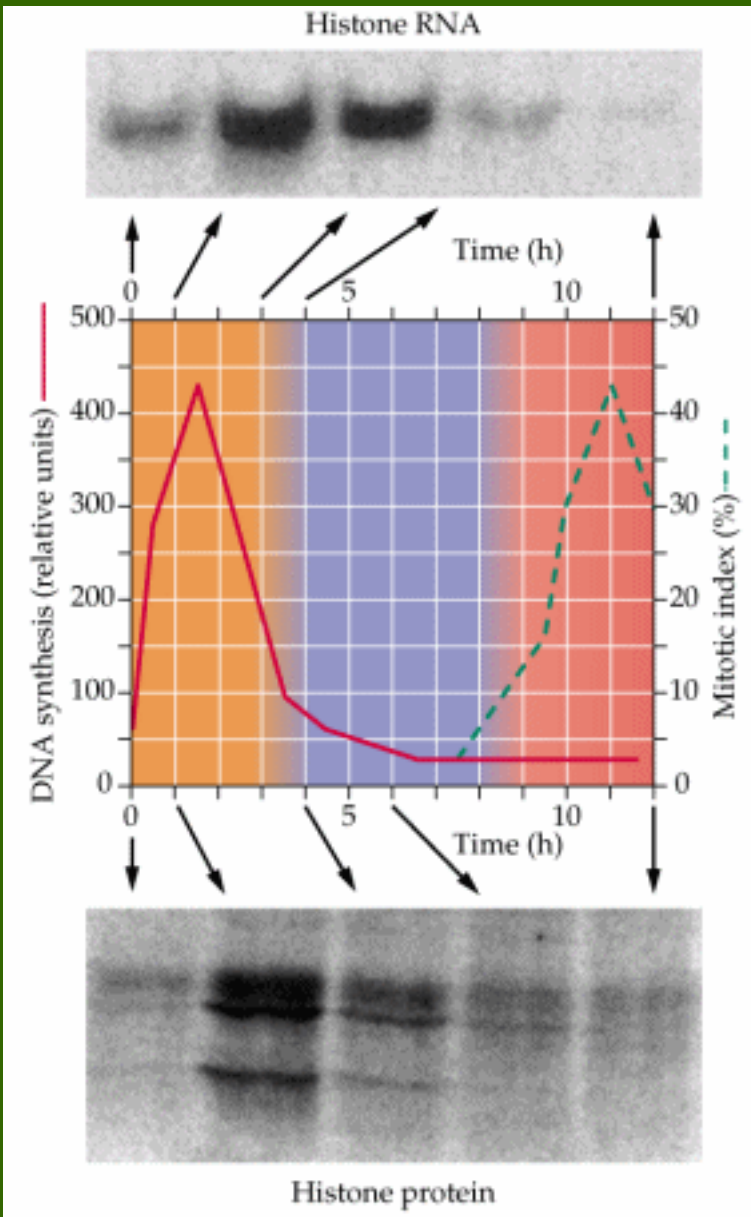
Další proteiny replikace

navození vhodných podmínek replikace

např. dráha syntézy dNTPs - substráty DNA syntézy - stimulována těsně před začátkem S fáze

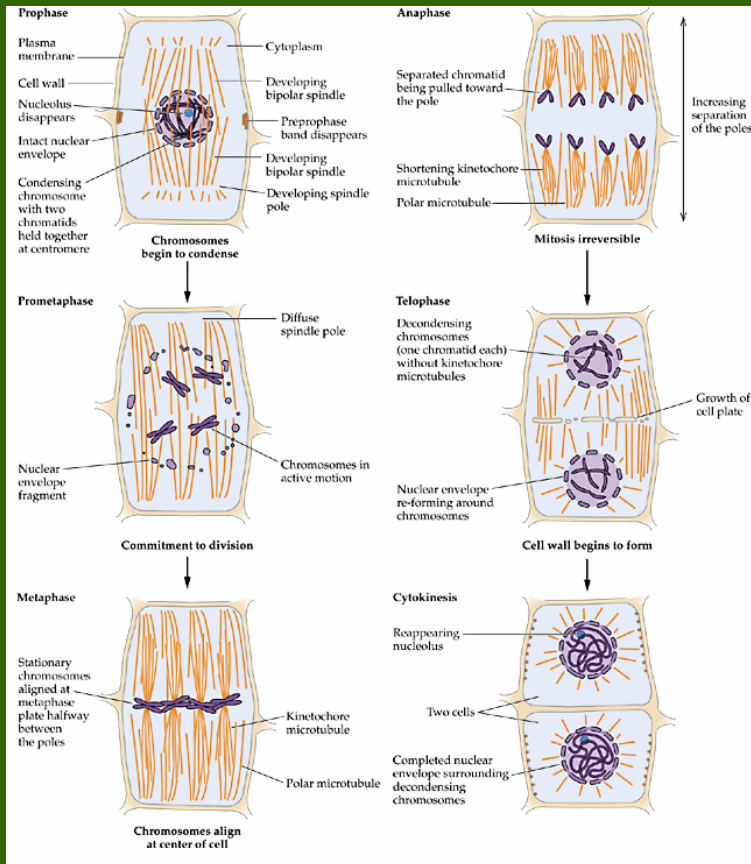
v časně S fázi silně stimulována syntéza histonů (chromatin)

Syntéza histonů v S fázi



APC (anaphase-promoting complex)

15



-destrukce specifických proteinů

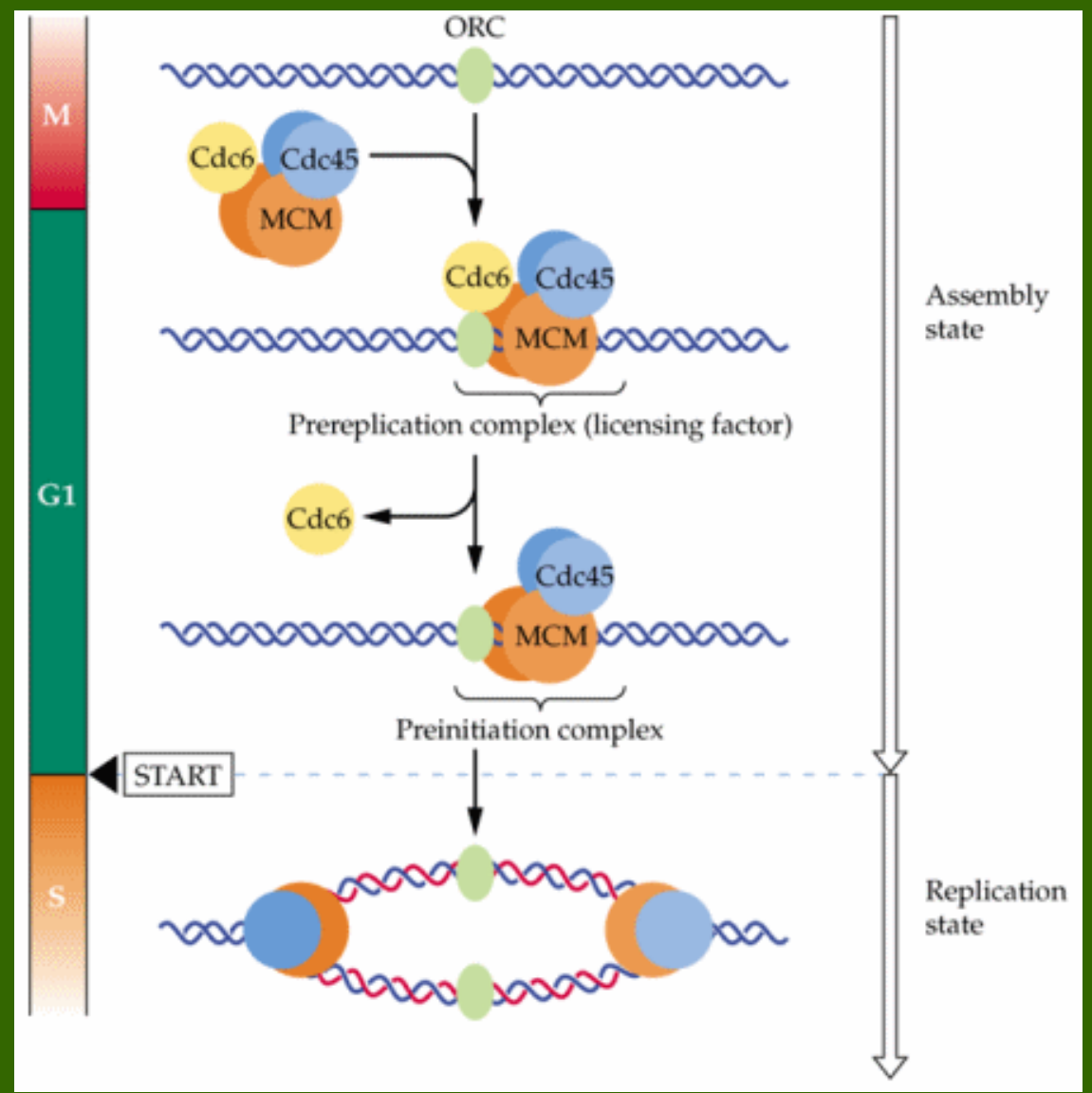
-degradace mitotických cyklinů (konec metafáze)

Konec M fáze - nástup G1

pivovarská kvasinka

Cdc6 vazba na ORC komplex

- pouze v absenci aktivity mitotické kinázy



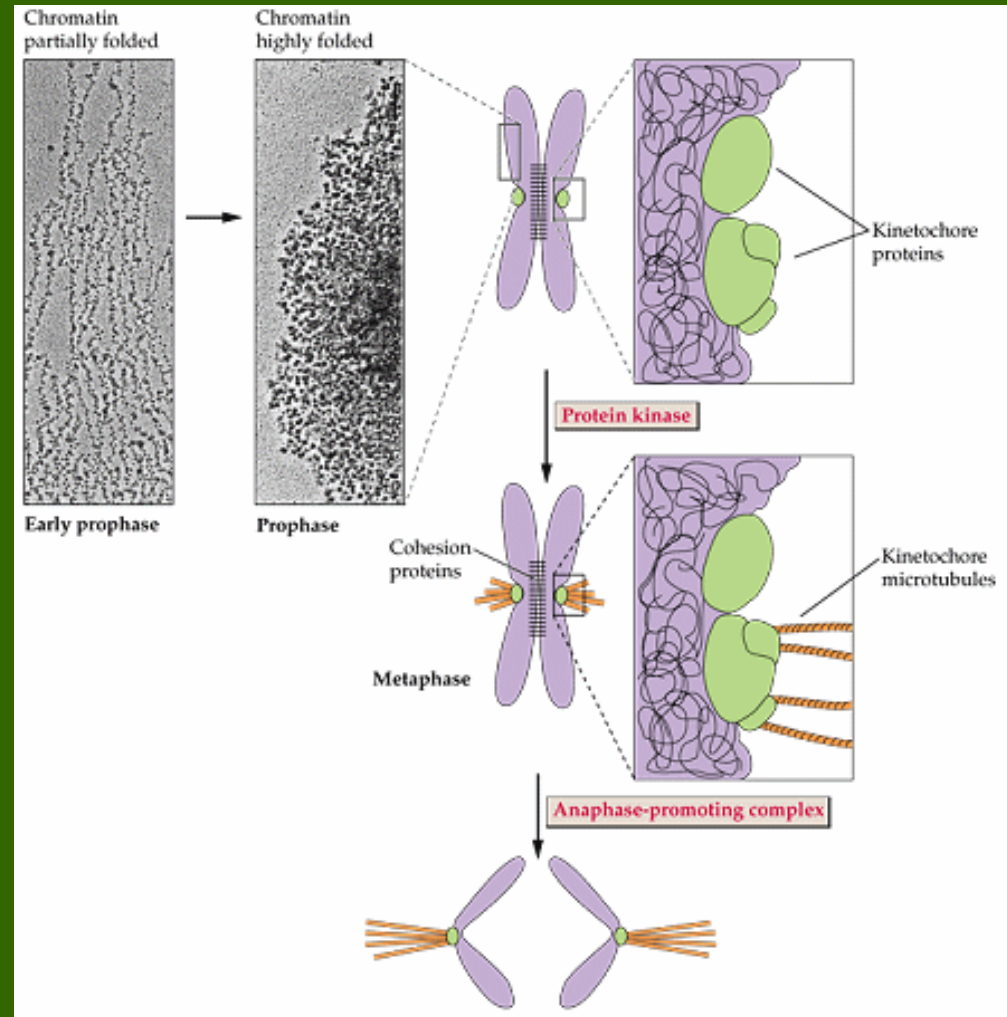
iniciace mitózy v S fázi

úplná kondenzace chromozomu v profázi

kinetochory -proteinové komplexy vázané na centromery, vazebná místa pro mikrotubuly dělicího vřeténka,

APC (anaphase-promoting complex) označí inhibitor mitózy (Pds1p) pro proteolýzu

destrukce kohezních proteinů, které vážou sesterské chromatidy

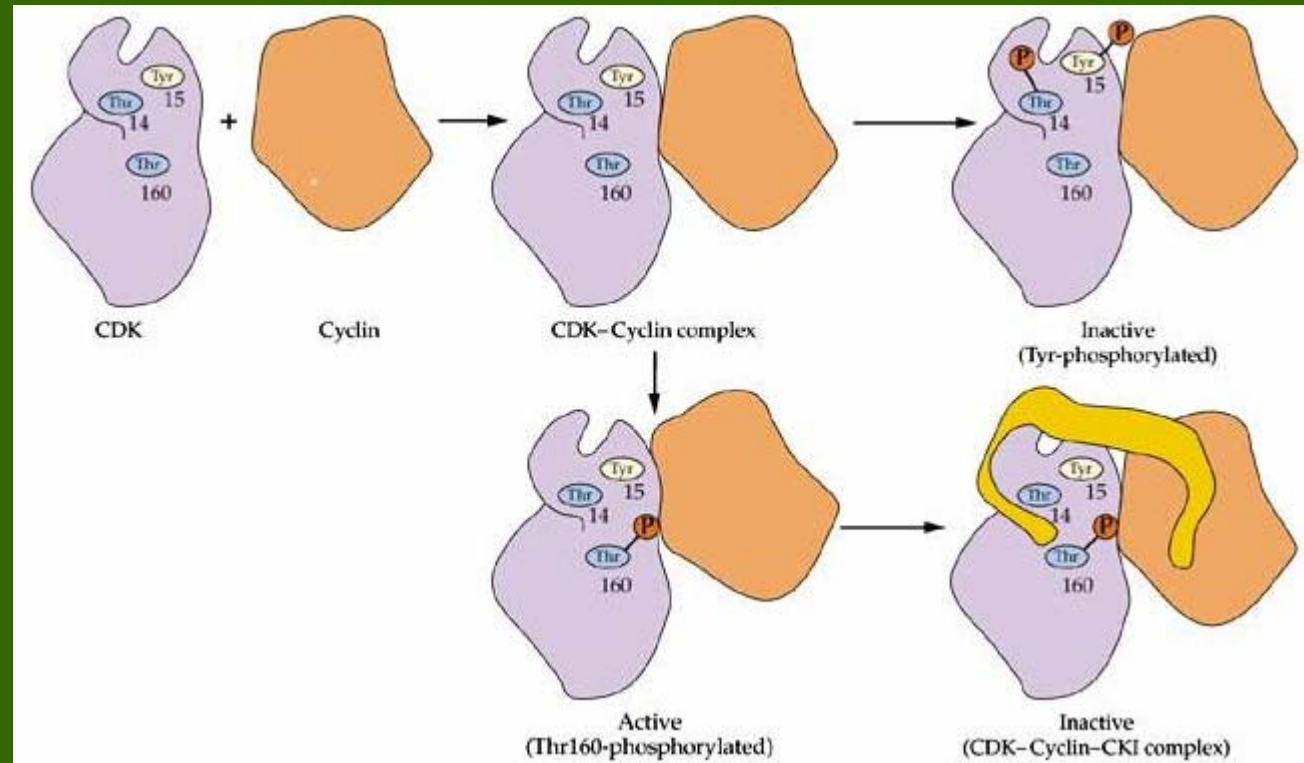


Kontrola BC

změнами aktivity CDKs (cyclin-dependent kinases)

CDKs:
aktivace
katalytické
podjednotky
asociací s
cyklinem

CDK komplexy:



Cykliny

nezbytné pro
aktivitu CDK

udávají specifitu
komplexu cyklin-
CDK

určují subcelulární
lokalizaci CDK

malá skupina
proteinů, které se
objevují a mizí
během BC

Cykliny

1. mitotické

B-type/M.....přechod G2 do M

A-type/S.....S fáze

„cyclin box“

„mitotic destruction box“

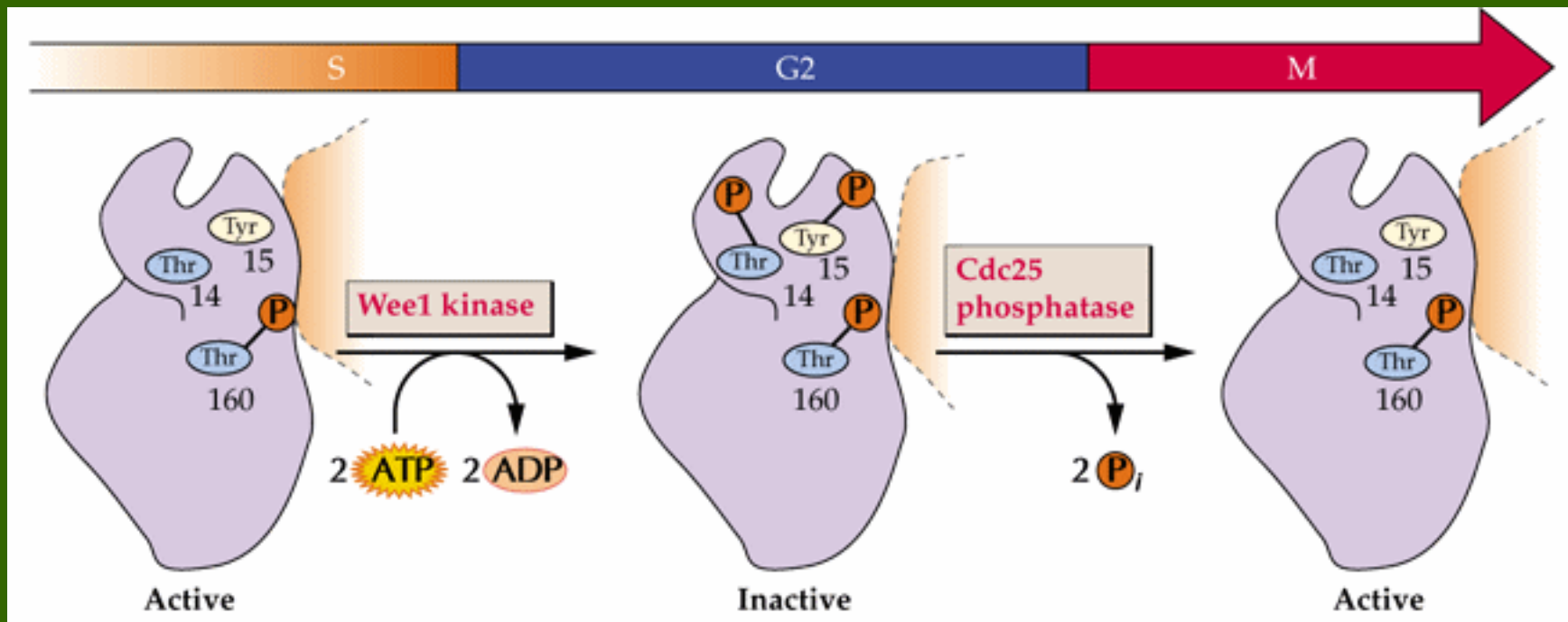
2. G1 cykliny

(D-type a E-type)

převážně všechny D-type
- v G1, degradace na
začátku S fáze
(některé v malém
množství v průběhu
celého cyklu)

Kontrola CDK aktivity

kinázy, fosfatázy, specifické inhibitory - příklad od kvasinek



fosforylace CDK inhibuje protein kinázovou aktivitu enzymu

Kontrola CDK aktivity

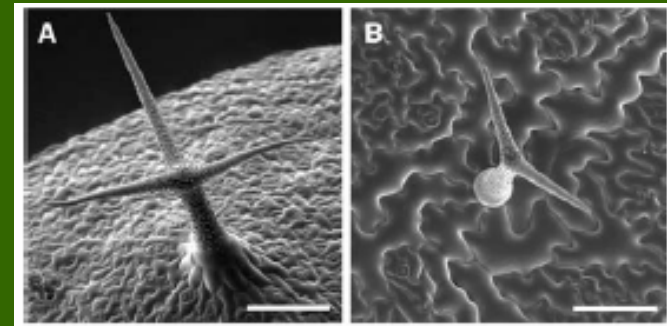
CKI: inhibitory CDK

asociace s aktivovaným CDK-cyklin komplexem brání komplexu ve fosforylaci jeho substrátu

Arabidopsis - gen *ICK1*

kóduje CKI, indukce ABA, asi zprostředkuje „cell cycle arrest“

v trichomech působí závisle na koncentraci: ve vysokých konc. blokuje přechod G1-S, v nízkých konc. blokuje G2-M



(A) and (B) Scanning electron micrographs of mature *Arabidopsis* trichomes and their neighboring cells.

(A) Typical wild-type trichome with three branches surrounded by rectangular trichome-neighboring cells, which are polarized toward the trichome.

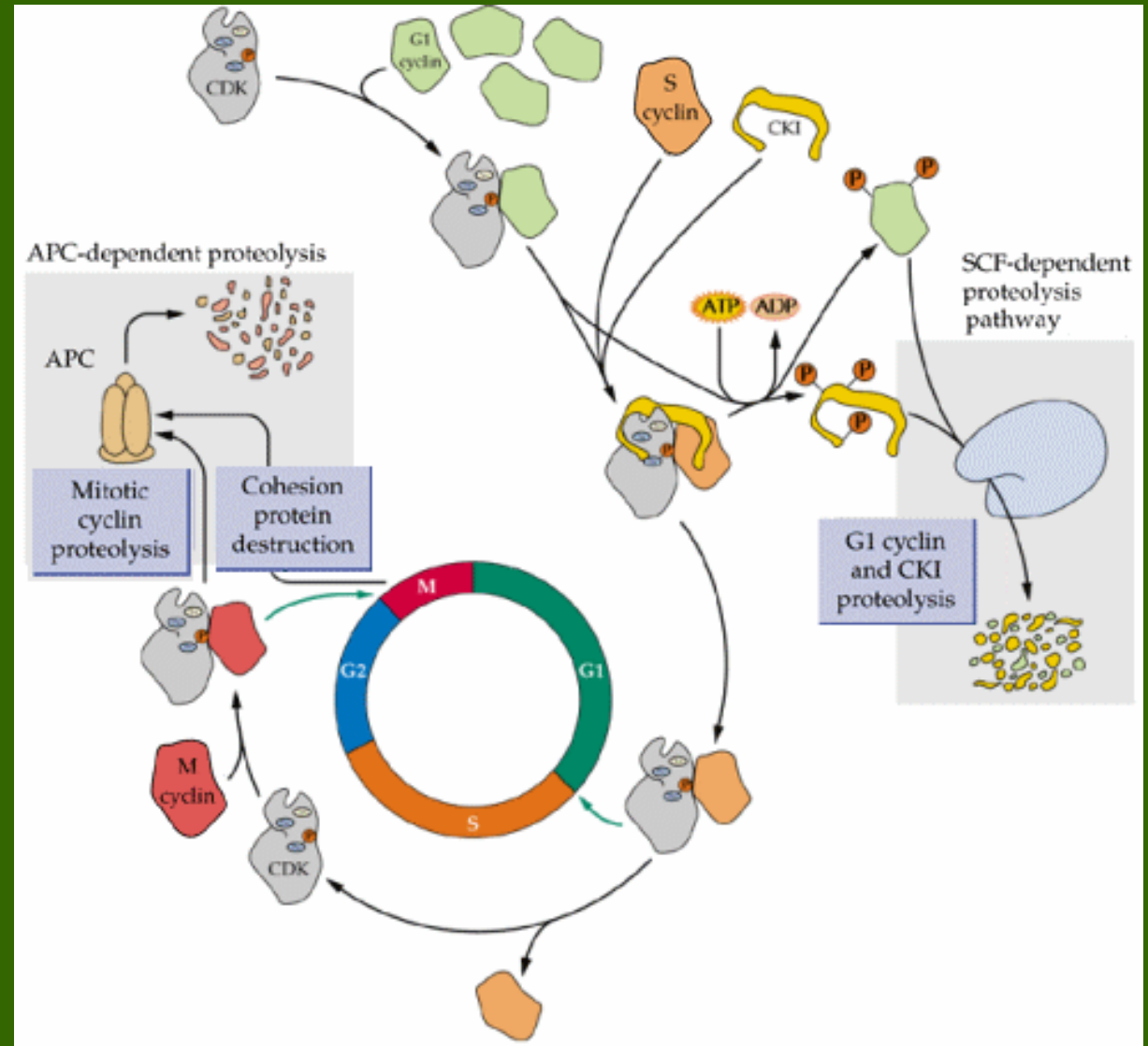
(B) Trichomes in *ProGL2:ICK1/KRP1¹⁰⁸* are smaller and develop fewer branches, whereas trichome-neighboring cells are lobed and greatly enlarged but are still oriented toward the trichome.

Weinl et al. (2005) *Plant Cell* 17: 1704

Proteolýza a BC

proteolýza CKI
(transice G1-S)

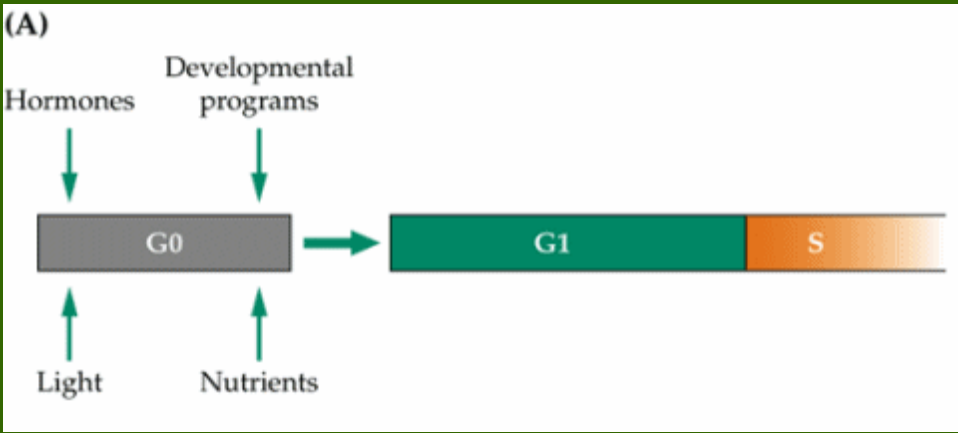
degradace kohezních
proteinů (metafáze-
anafáze)



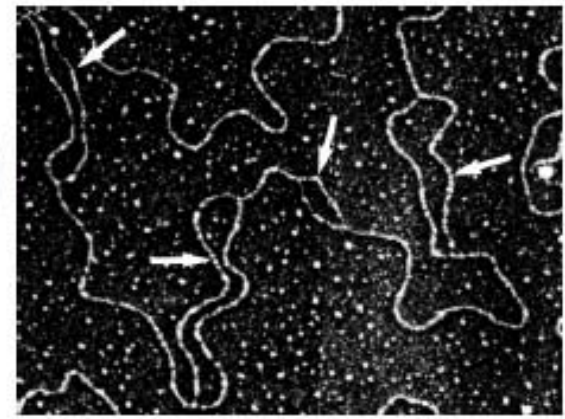
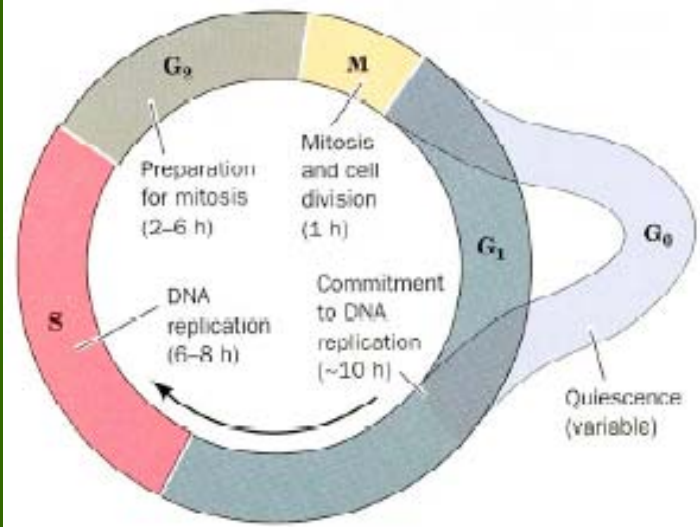


u rostlin

fáze G0



Klidové
(quiescent)
buňky,
neproliferují
bez signálu



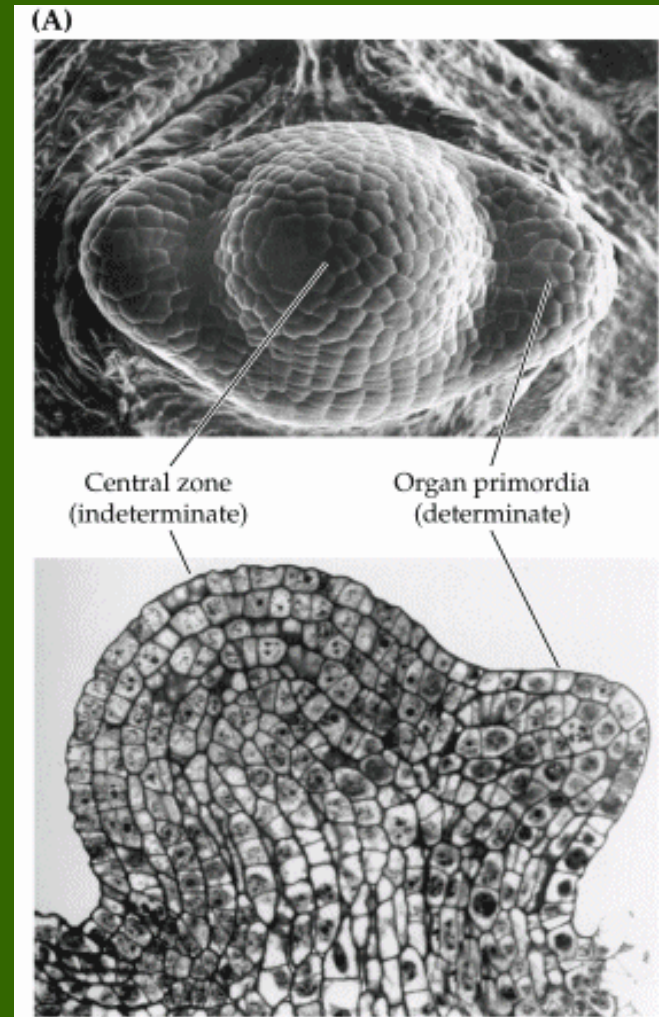
Eukaryotic DNA Replication:
The limited time for DNA replication (6-8 hours) combined to the increased size of the genomes (>10⁷ base pairs) explain the requirement for multiple replication origins

organizace meristémů (SAM)

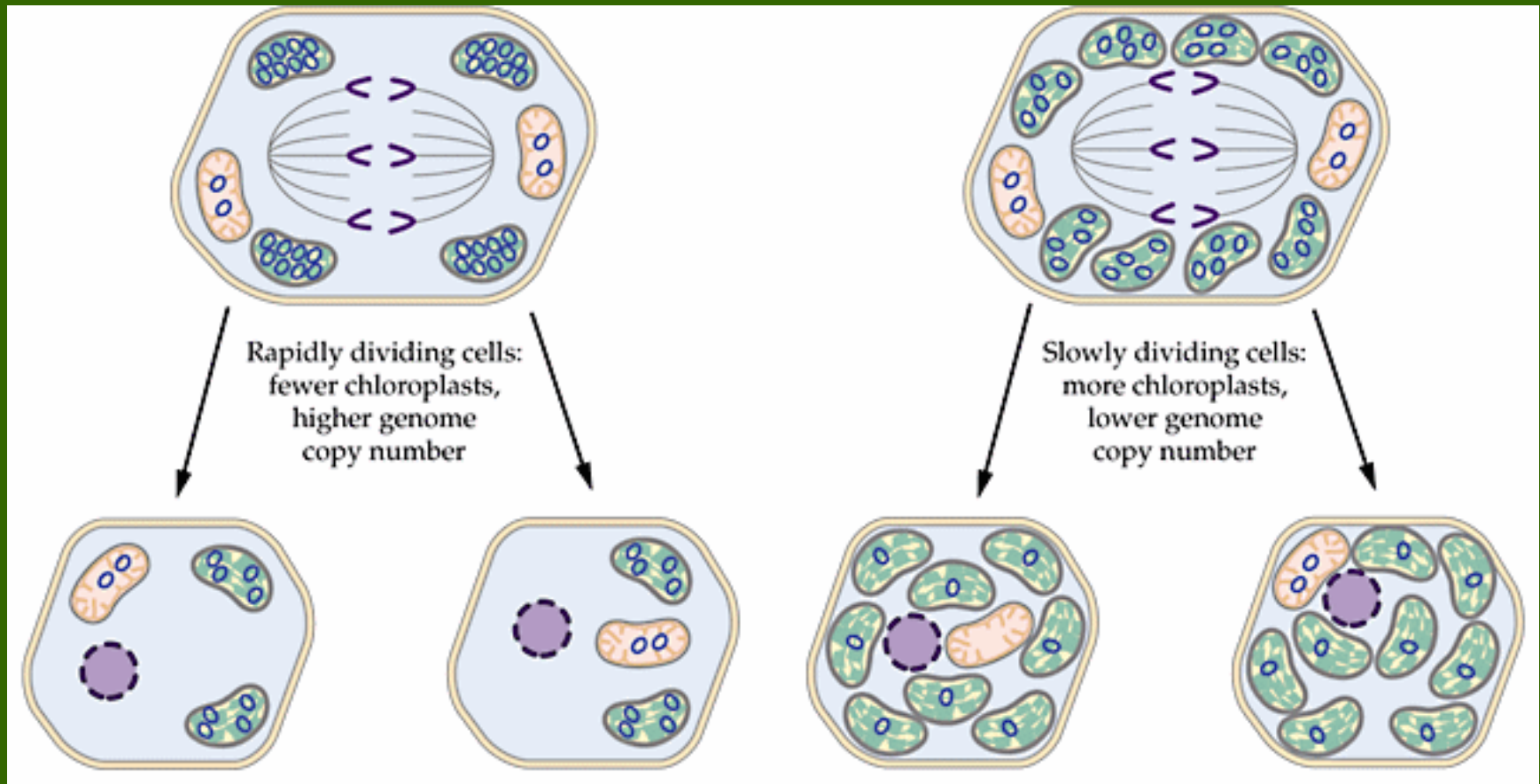
26

Geny pro správnou funkci
meristémů

- zajistí vytvoření a udržení nediferencované centrální zóny (znovuobnovení meristému)
- řídí diferenciaci v orgánových primordiích
- lokalizují buněčné dělení v orgánových primordiích



Zachování tří genomů



Arabidopsis

regulace BC
rostlinnými
hormony a
dalšími
regulátory

