

Apoptóza Onkogeny

Srbová Martina

Buněčný cyklus

A. Buněčný cyklus

M-fáze

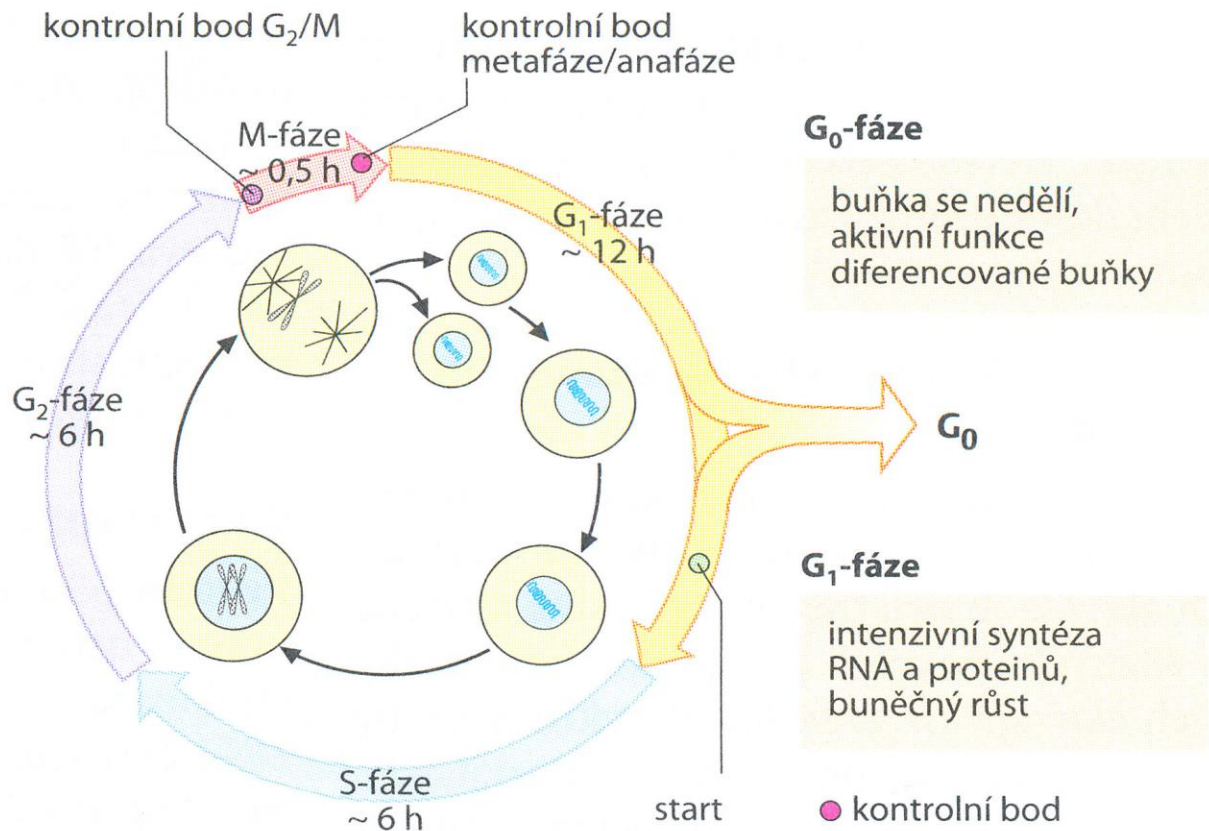
mitóza (dělení jádra),
cytokineze (dělení
cytoplazmy)

G₂-fáze

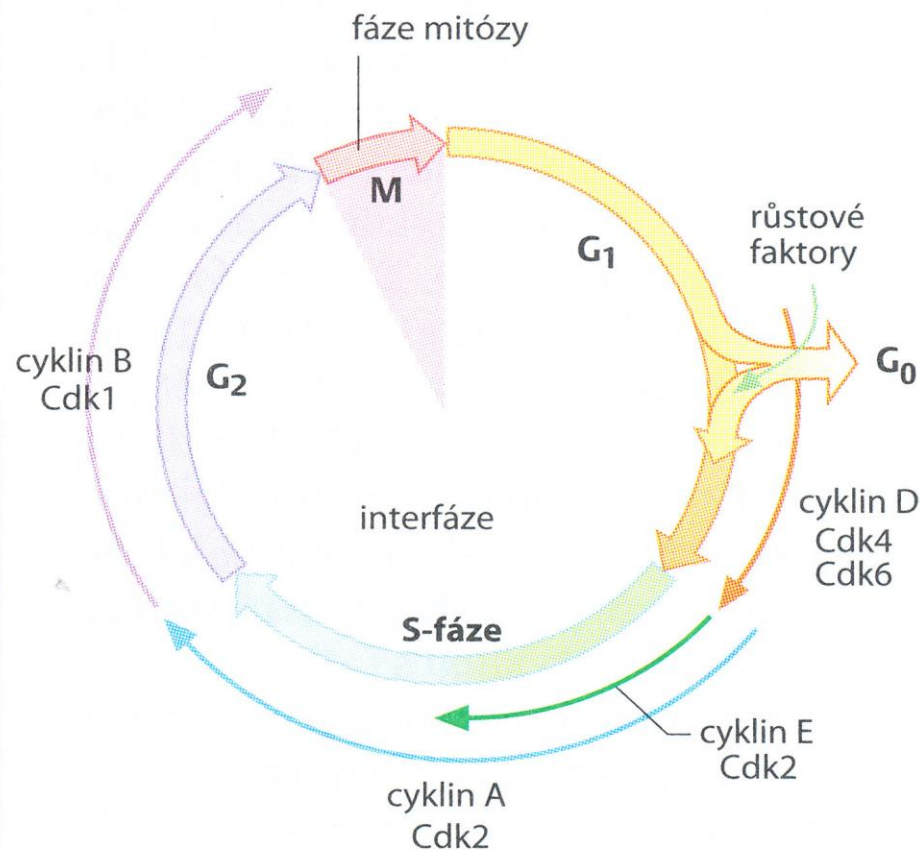
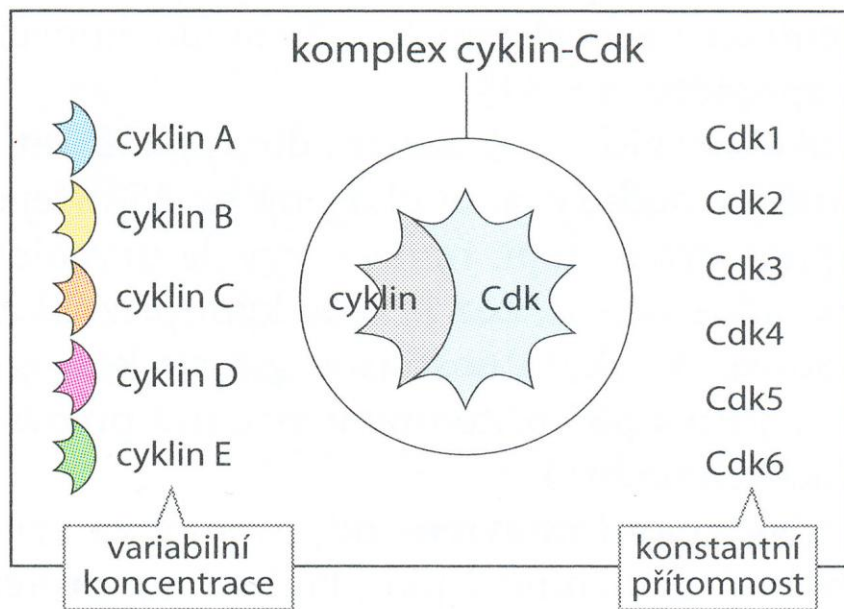
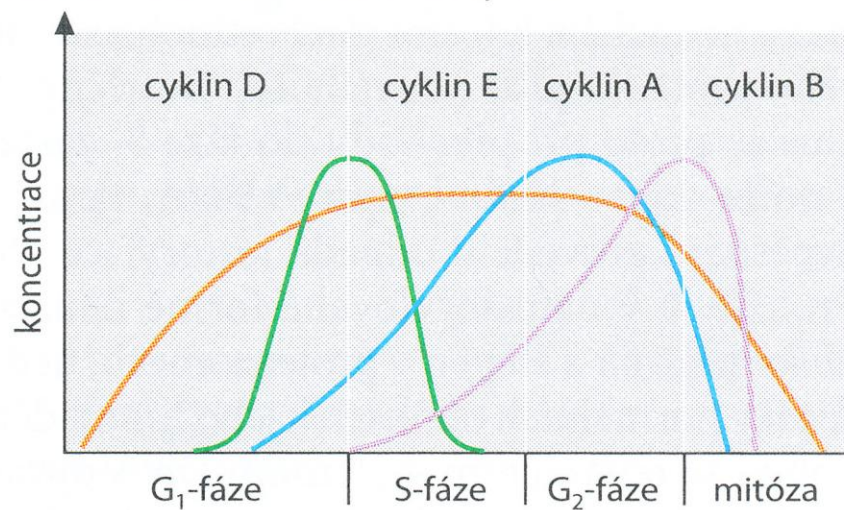
příprava na dělení buňky,
syntéza tubulinu

S-fáze

replikace DNA,
syntéza histonů,
vytvoření centrozomu,
zdvojení chromozomů,
snížení syntézy RNA
a proteinů

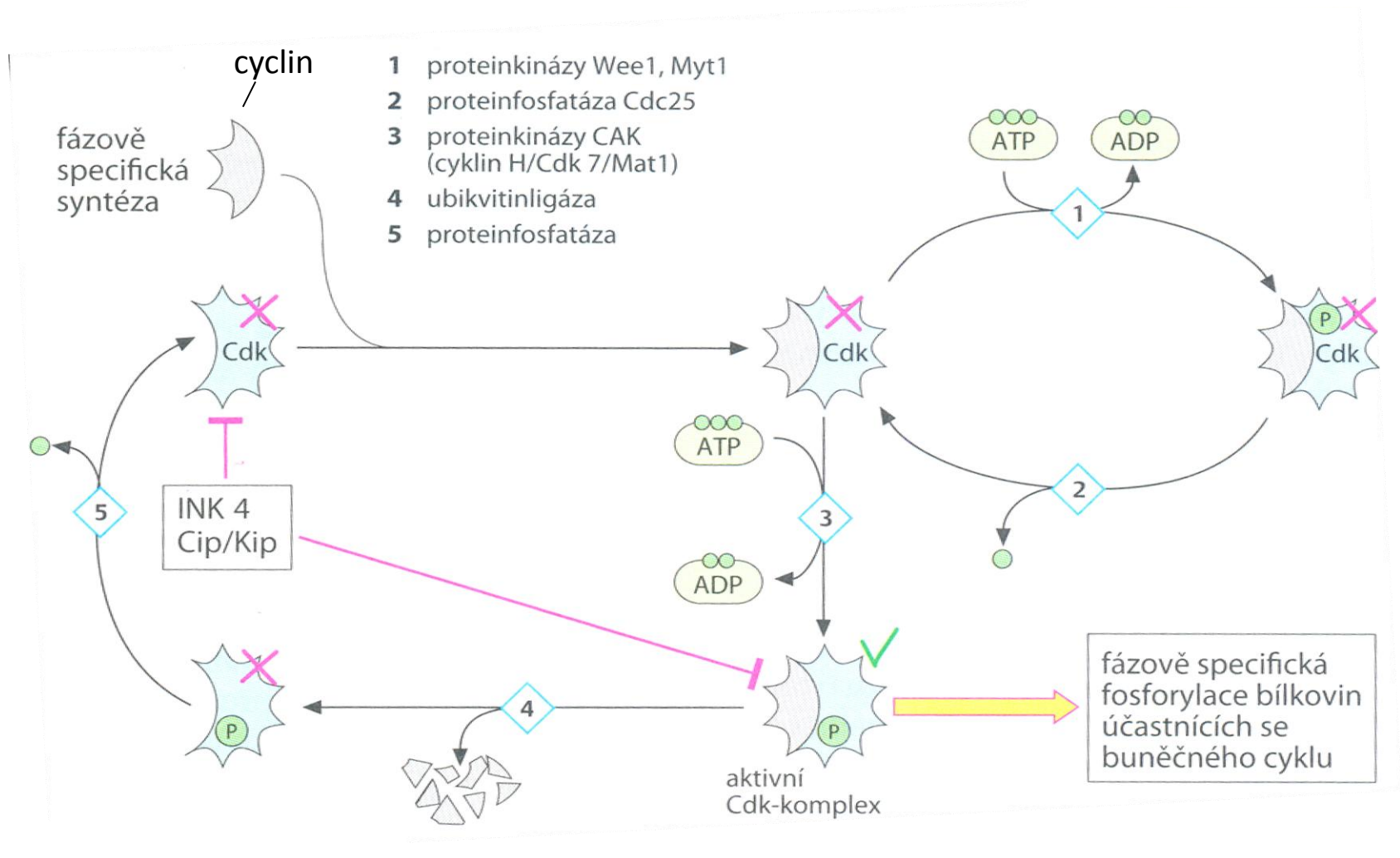


B. Kontrola buněčného cyklu



Regulace buněčného cyklu

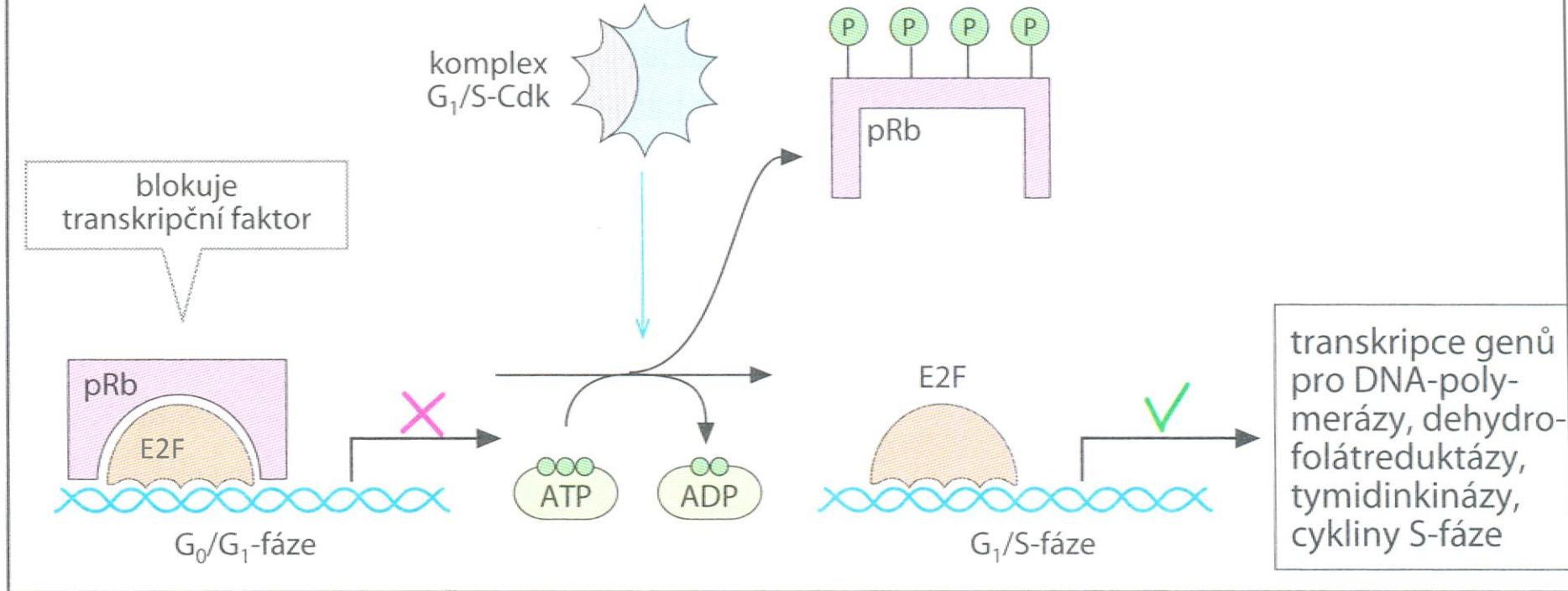
1. Cyklin-dependentní kináza (Cdk)



Regulace buněčného cyklu

2. Retinoblastomový protein (pRb)

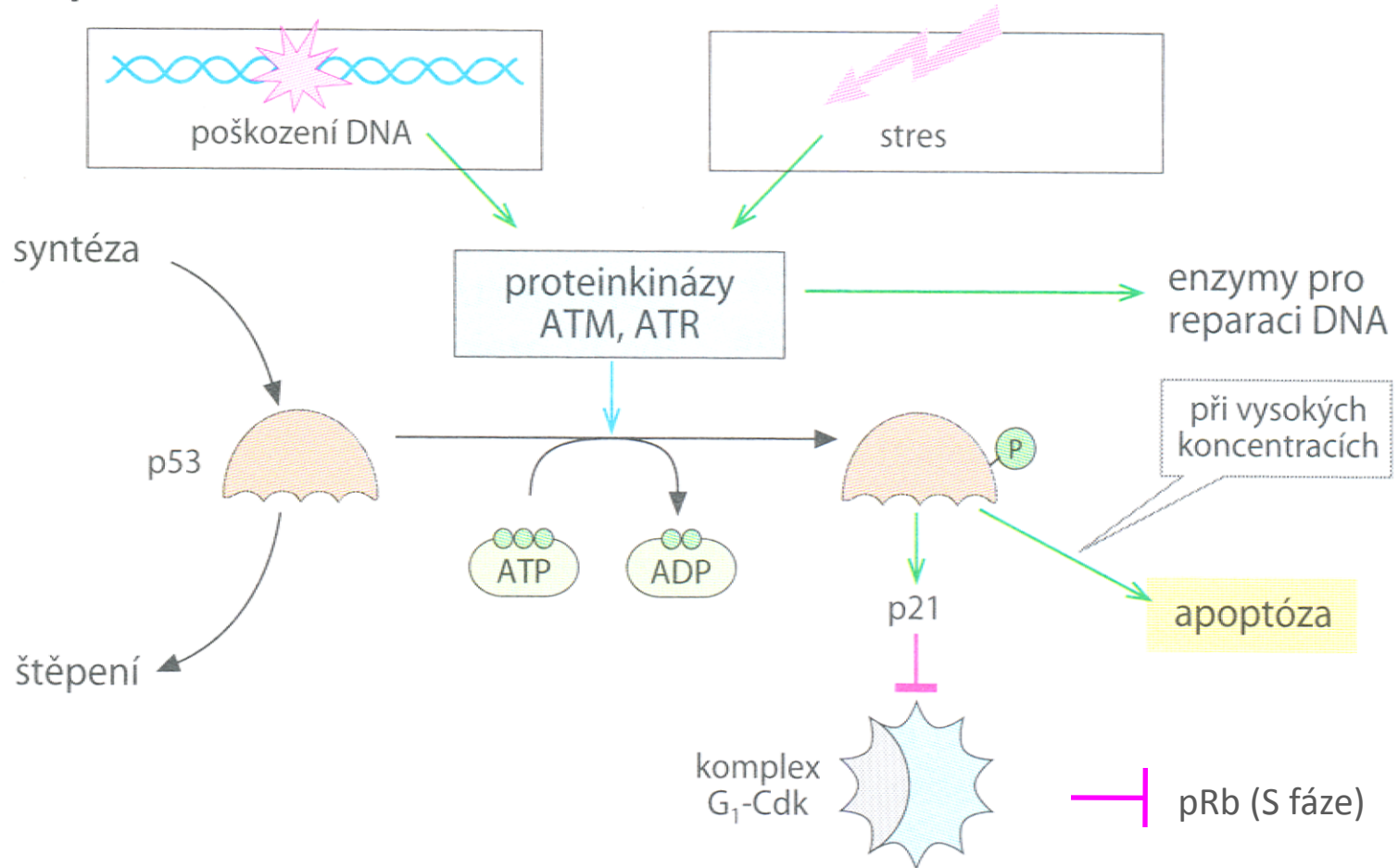
B. Retinoblastomový protein



Regulace buněčného cyklu

3. Protein p53, strážce genomu

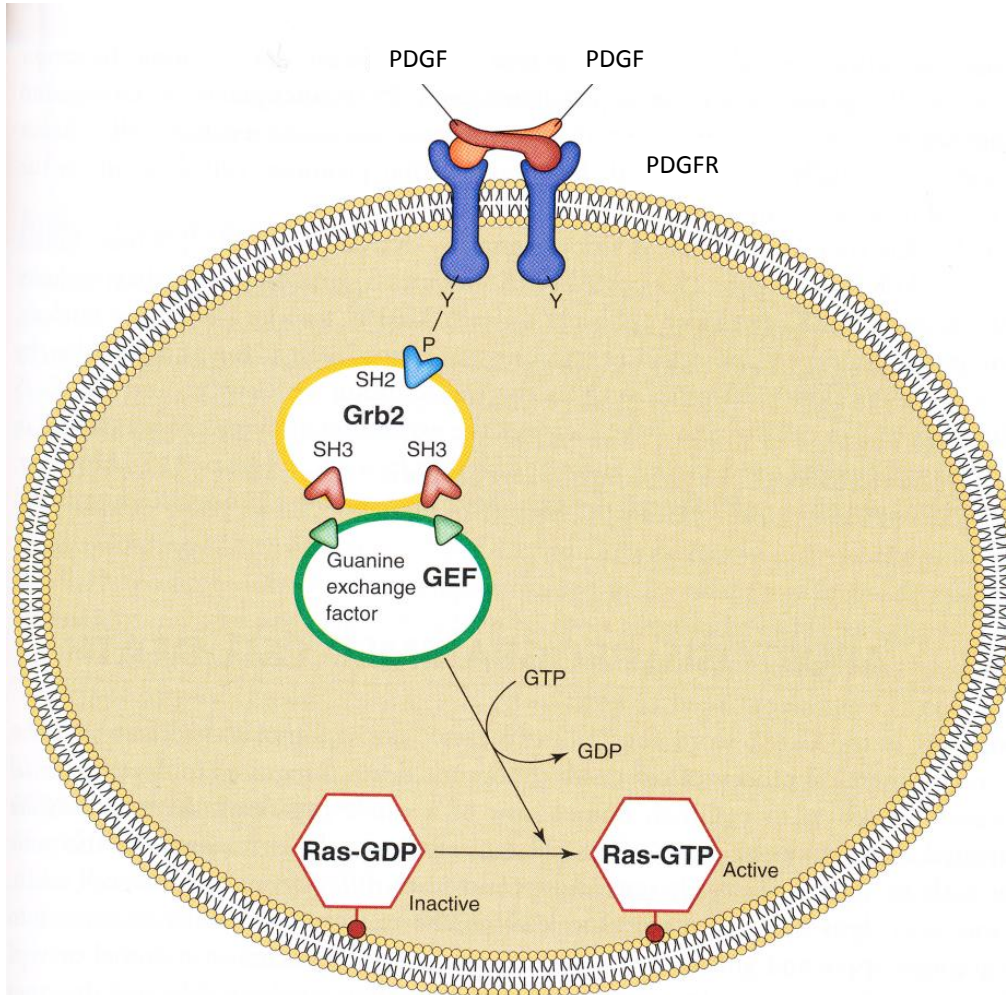
C. Protein p53



U 50% nádorových onemocnění dochází k mutaci nebo ztrátě p53 genů

Regulace buněčného cyklu

4. Růstové faktory (growth factors, GF)



SH2 domain in Grb2

SH3 domain in Grb2

Proline rich domain in GEF

Fatty acyl group in Ras for attachment to membrane

Y – tyrosin residues

↑ konc. GF → dělení buněk

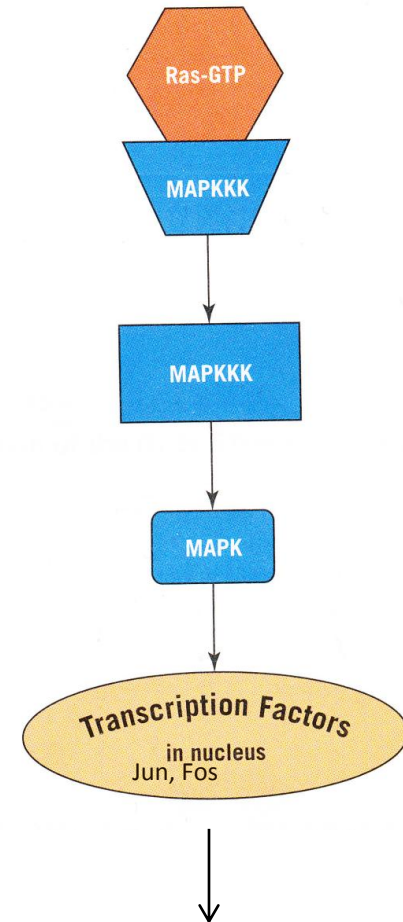
GF receptor – tyrosin kinasová doména

PDGF aktivuje Ras

Ras-GTP aktivuje kinasovou kaskádu

Ras inaktivuje sám sebe

Mutace Ras genu – 30% nádorových onemocnění

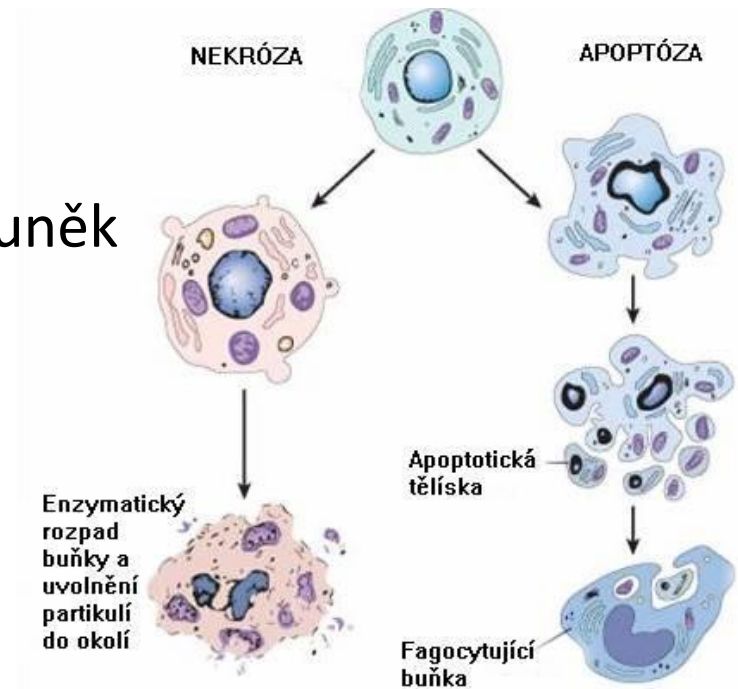


Buněčná proliferace

Apoptóza

Apoptóza

- Programovaná buněčná smrt
- Nezbytný faktor pro vývoj organismu
- Eliminace potenciálně nebezpečných buněk
- degradace cytoskeletu
- smrštění buněčného jádra
- kondenzace chromatinu
- odškrcení váčků - apoptická tělíska
- Nevyvolává zánětlivou odpověď

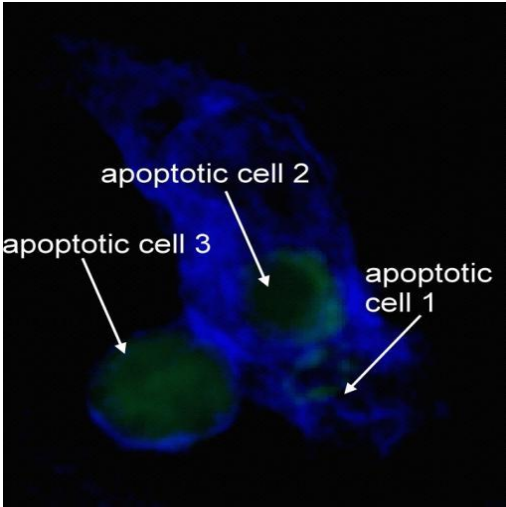


Blebbing (pučení) membrány

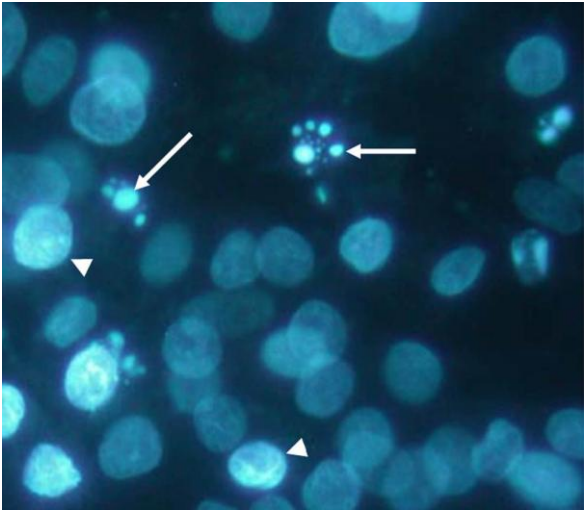


Source:
<http://sciencepark.mdanderson.org/fcores/flow/files/apoptosis.html>
<http://www.theitunurse.com/post/4603844767>

Fagocytóza

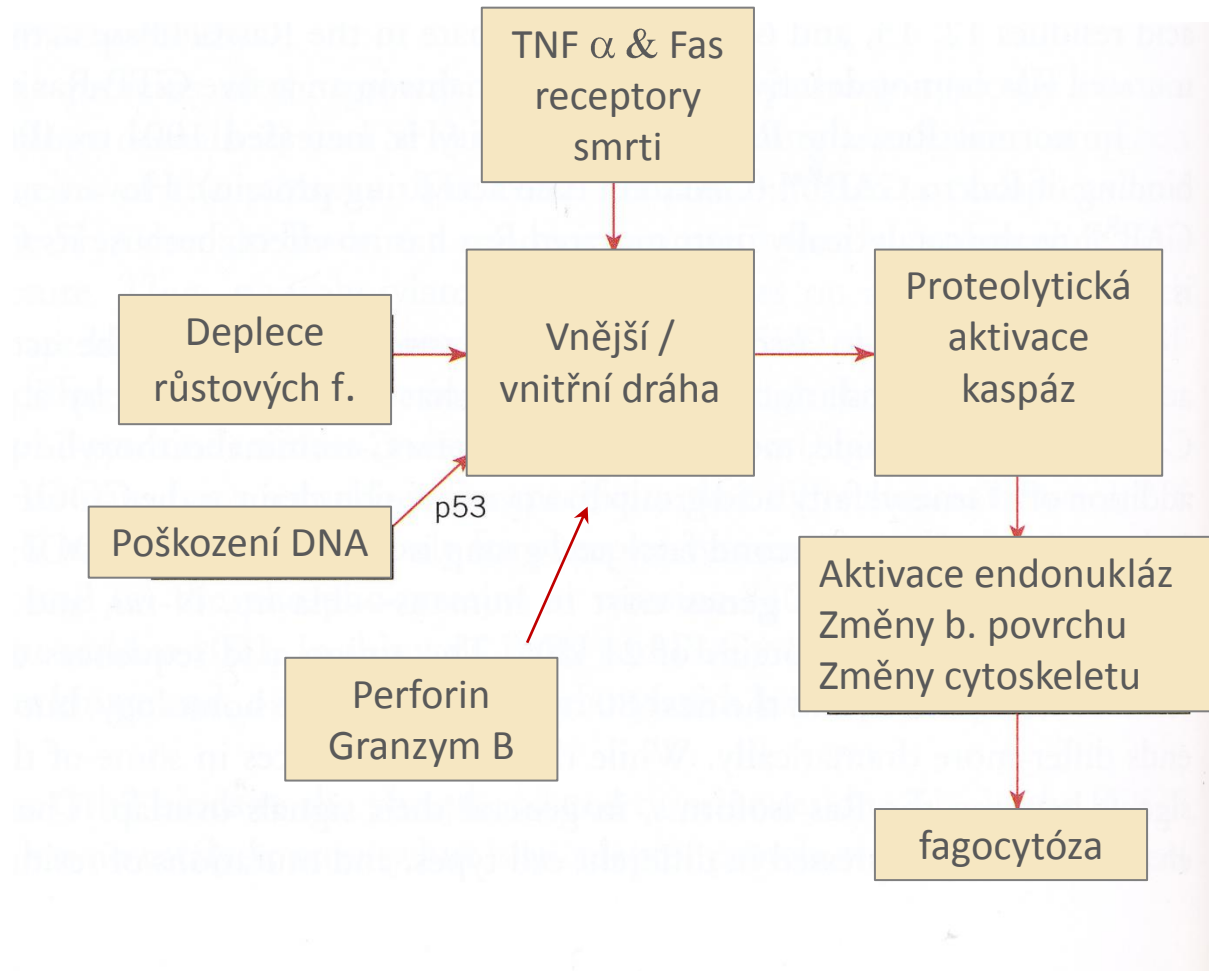


Apoptotická tělíčka



Source:
<http://arthritis-research.com/content/10/4/R86/figure/F2?highres=y>
<http://rcmm.med.unideb.hu/research-groups/apoptosis-signaling/>

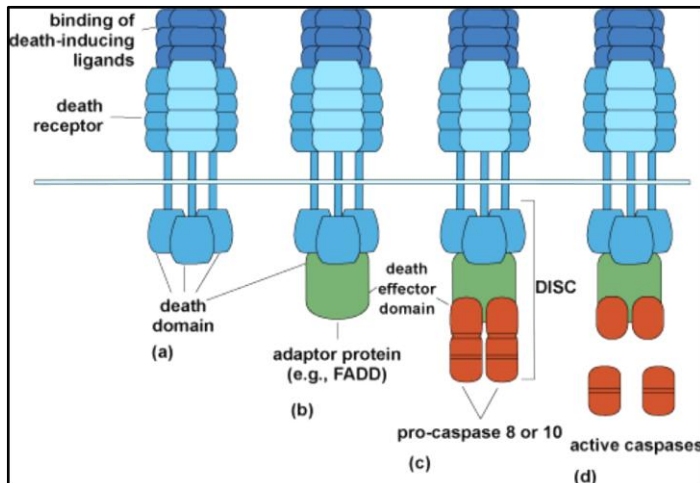
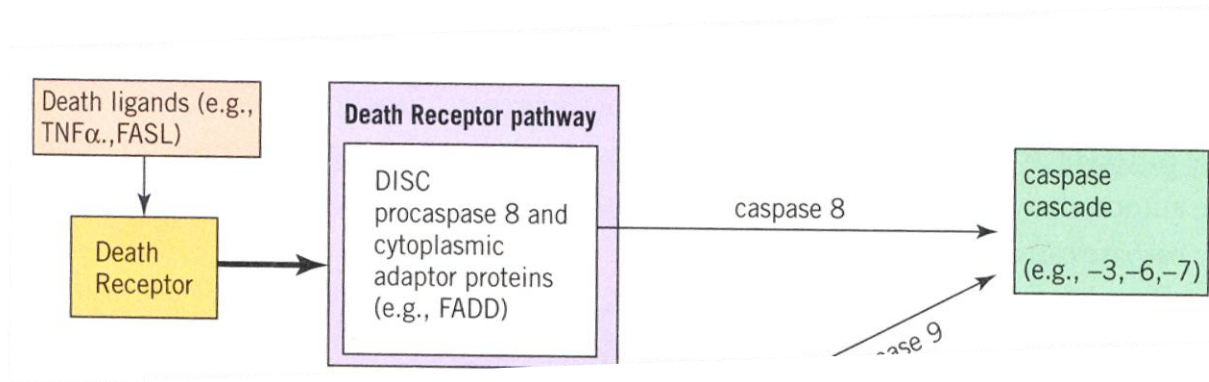
Apoptóza



Caspase – cystein-containing aspartate proteinases

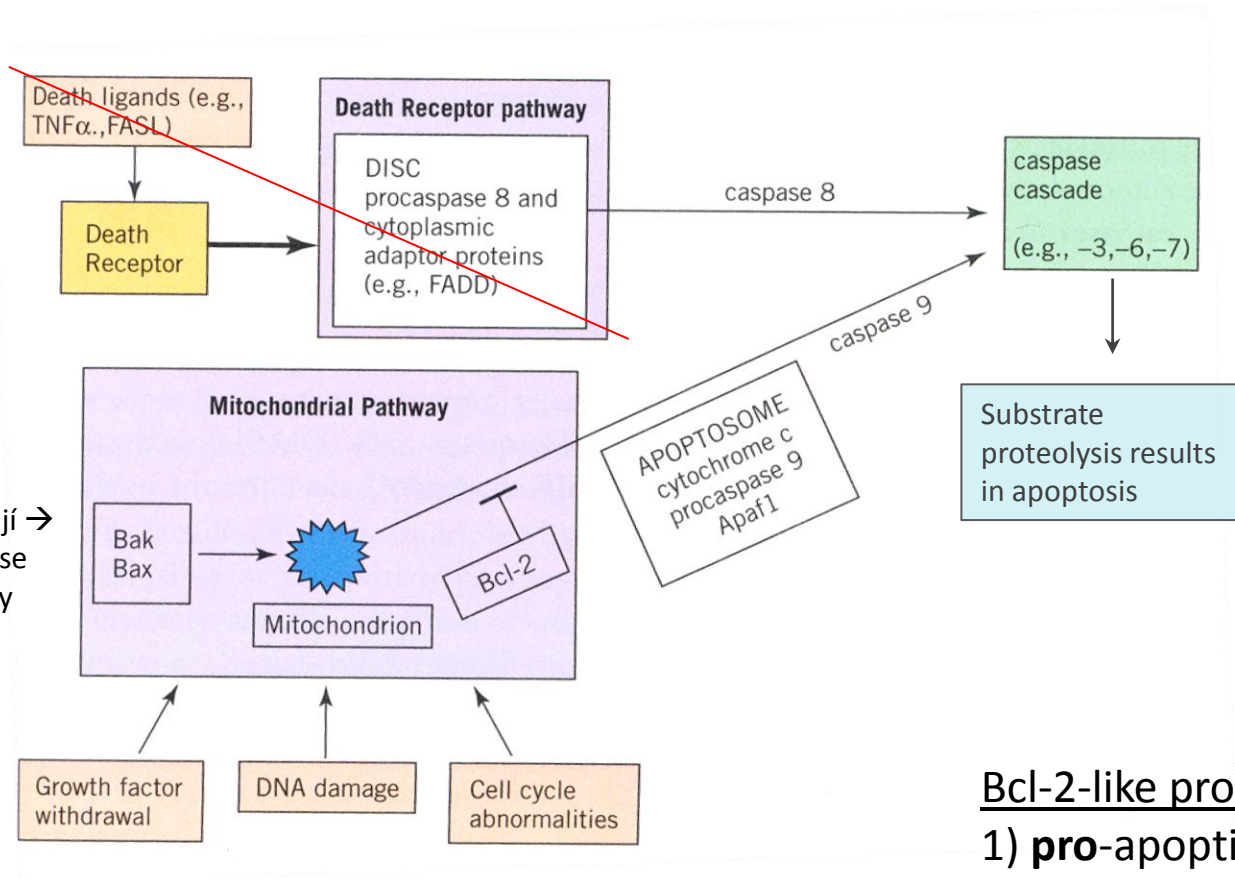
Dráha receptorů smrti

(vnější dráha)



DISC – death inducing signaling complex

Mitochondriální dráha (vnitřní dráha)

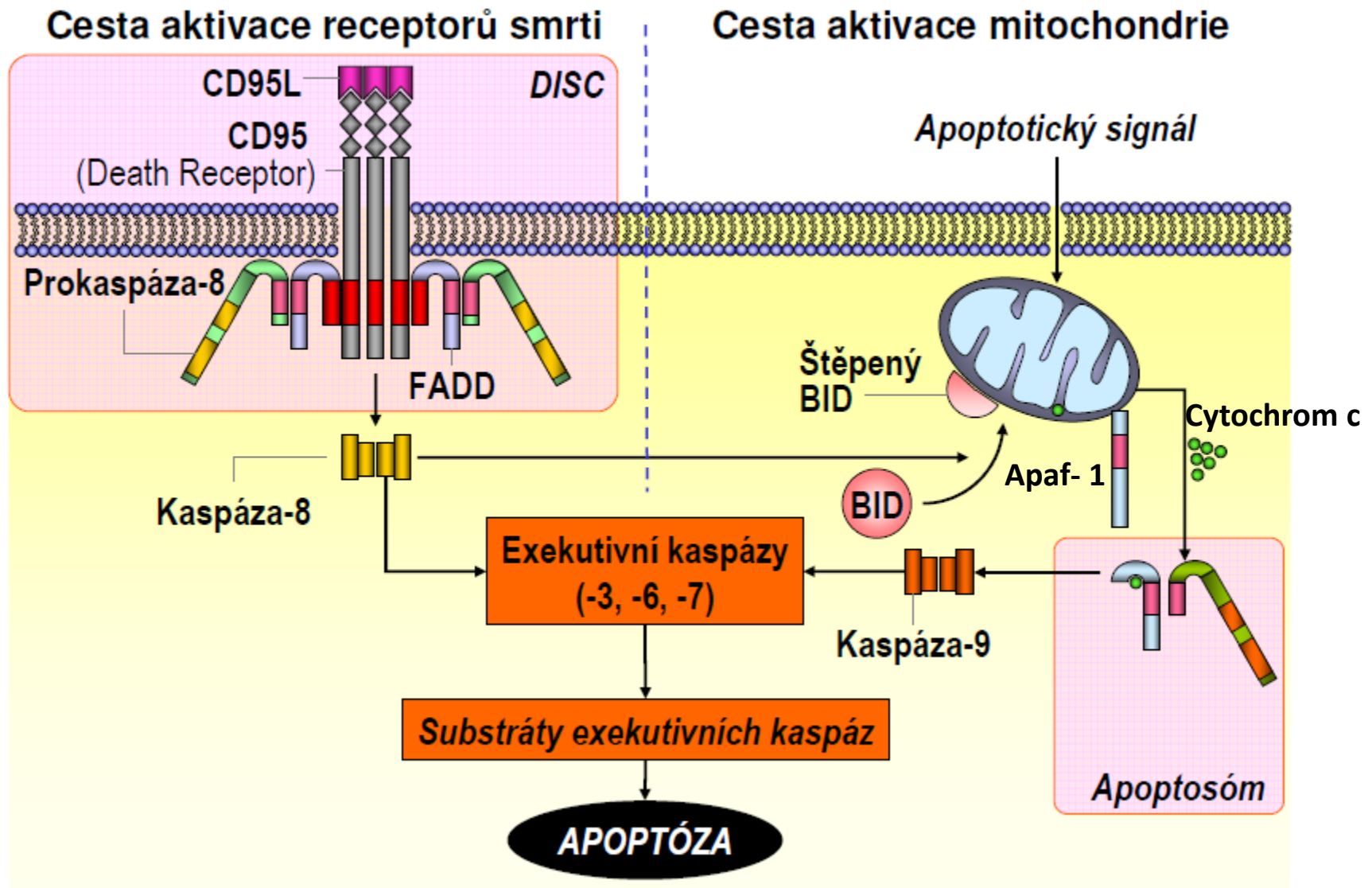


Bak a Bax oligomerizují → póry → cytochrome c se dostává do cytoplasmy

Bcl-2-like proteins:

- 1) **pro**-apoptotic BAX, BAK, BID
- 2) **anti**-apoptotic Bcl-2, Bcl-X_L

Propojení vnitřní a vnější dráhy



Kaspázy

Caspase – cystein-containing aspartate proteinases

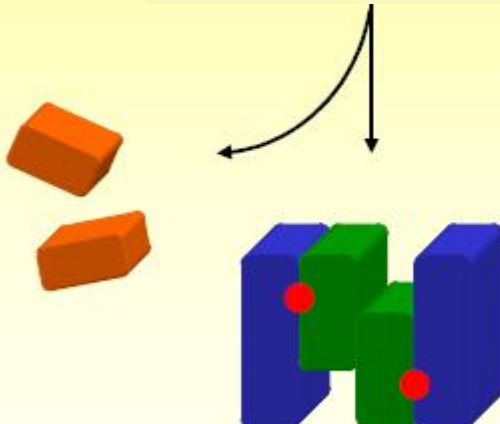
Iničiační kaspázy 2,8,9

Exekutivní kaspázy 3,6,7

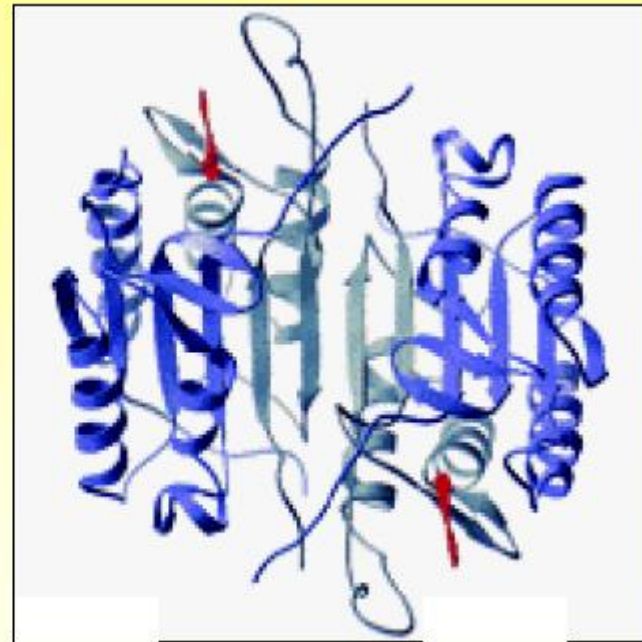
Kaspázy vytvářeny z neaktivních prokaspáz



Prokaspáza 8



Kaspáza 8



Aktivní kaspáza

Kaspázy

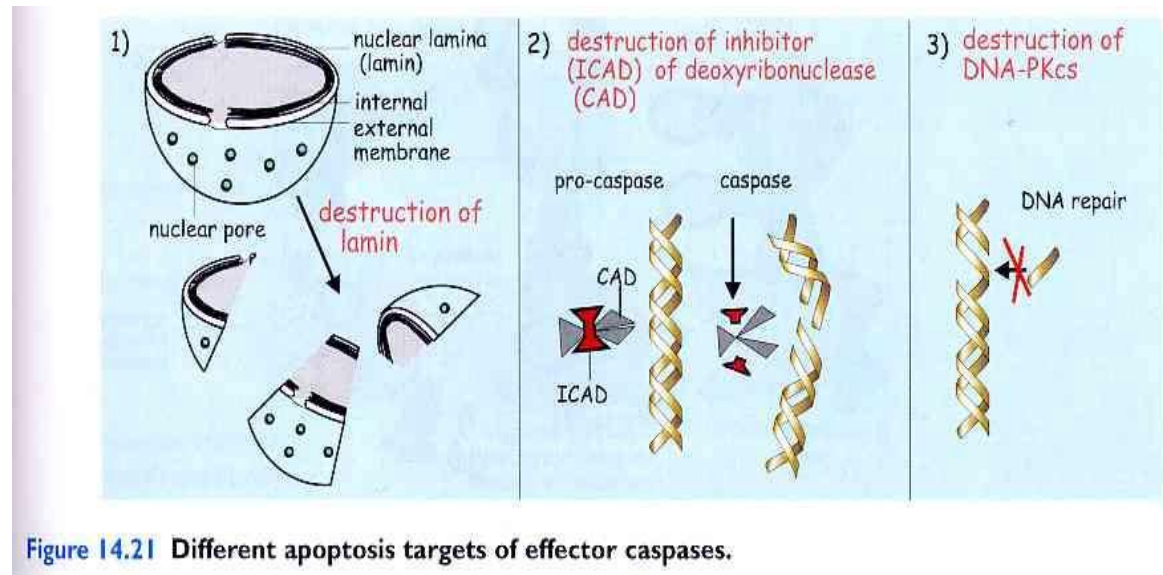
Cílové molekuly:

Laminy

Poly-ADP-ribosa-polymerasa (PARP)

DNA- dependentní proteinkinasa

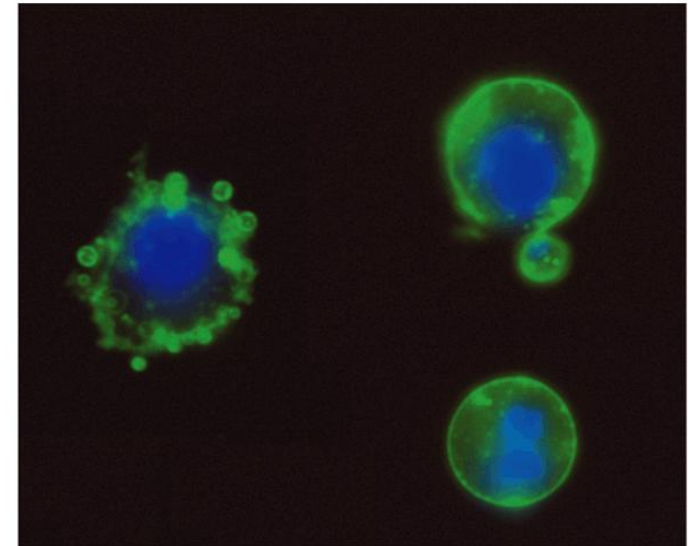
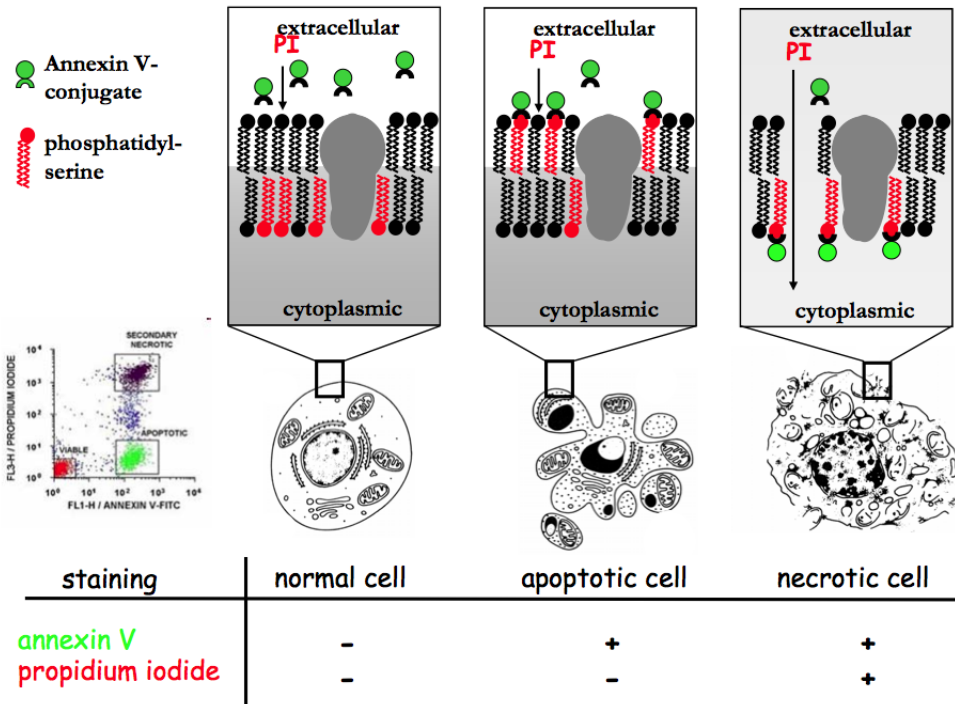
Aktin



Průkaz apoptózy

Expozice fosfatidylserinu – annexin V

Annexin V staining: phosphatidylserine exposure



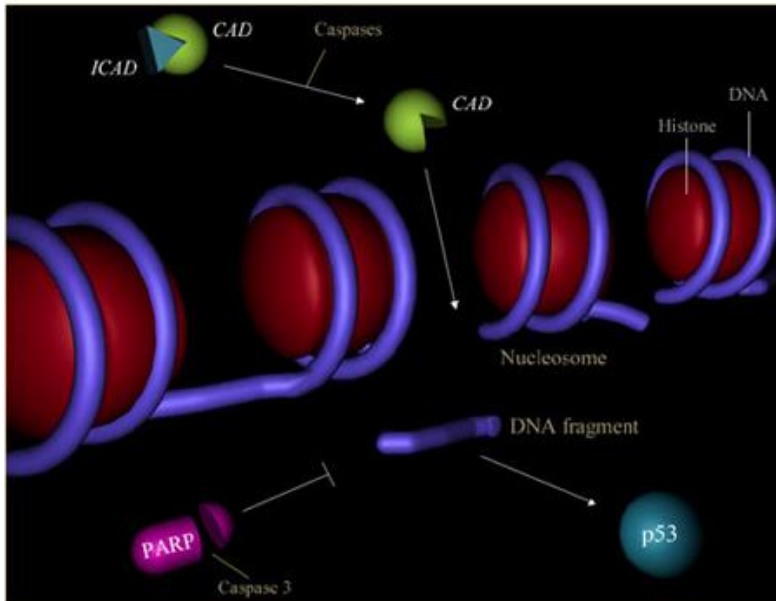
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

http://www.nature.com/nrm/journal/v2/n8/fig_tab/nrm0801_627a_F2.html

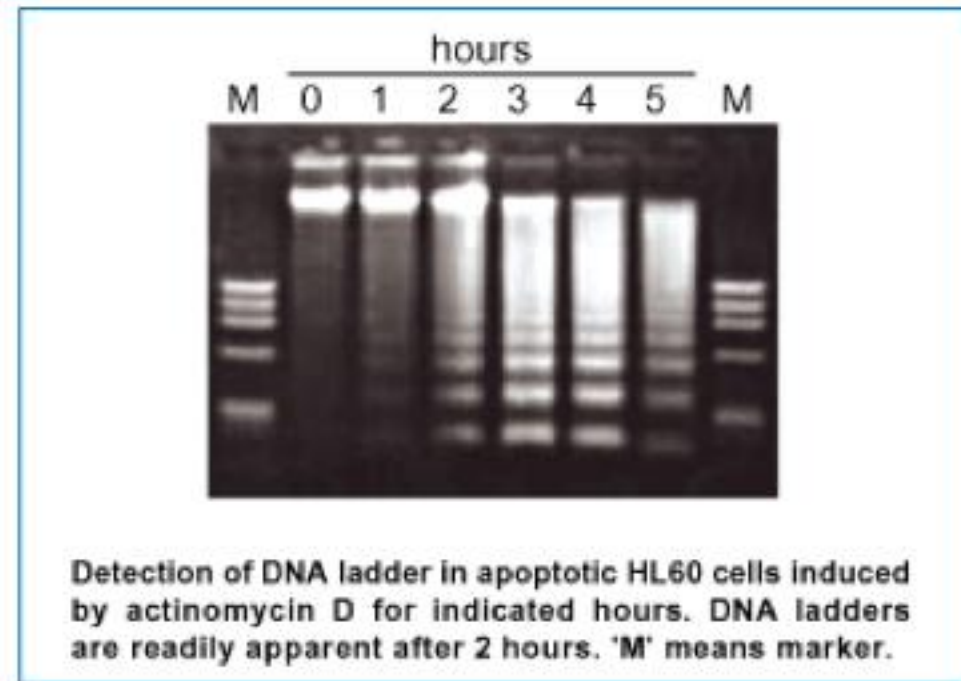
<http://clip.lf2.cuni.cz/file/8.pdf>

Průkaz apoptózy

Fragmentce DNA – DNA ladder



<http://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/macrophage/english/eng-02.html>



http://www.itsbio.co.kr/main/goods_view.php?category2=60&no=129

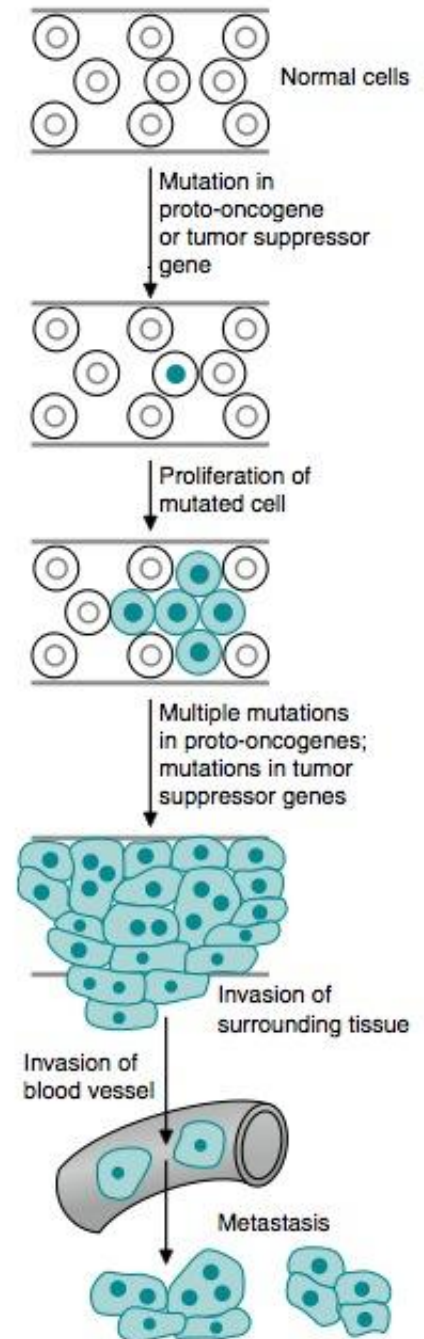
Onkogeny

Rozvoj nádorového onemocnění

- Nádorové buňky–nekontrolovaná buněčná proliferace a rezistence k apoptóze
- Nádorové buňky neodpovídají na signály, které řídí růst normálních buněk
- Důsledek mutace genů, které regulují proliferaci, diferenciaci a přežívání buněk

Onkogeny a tumorsupresorové geny

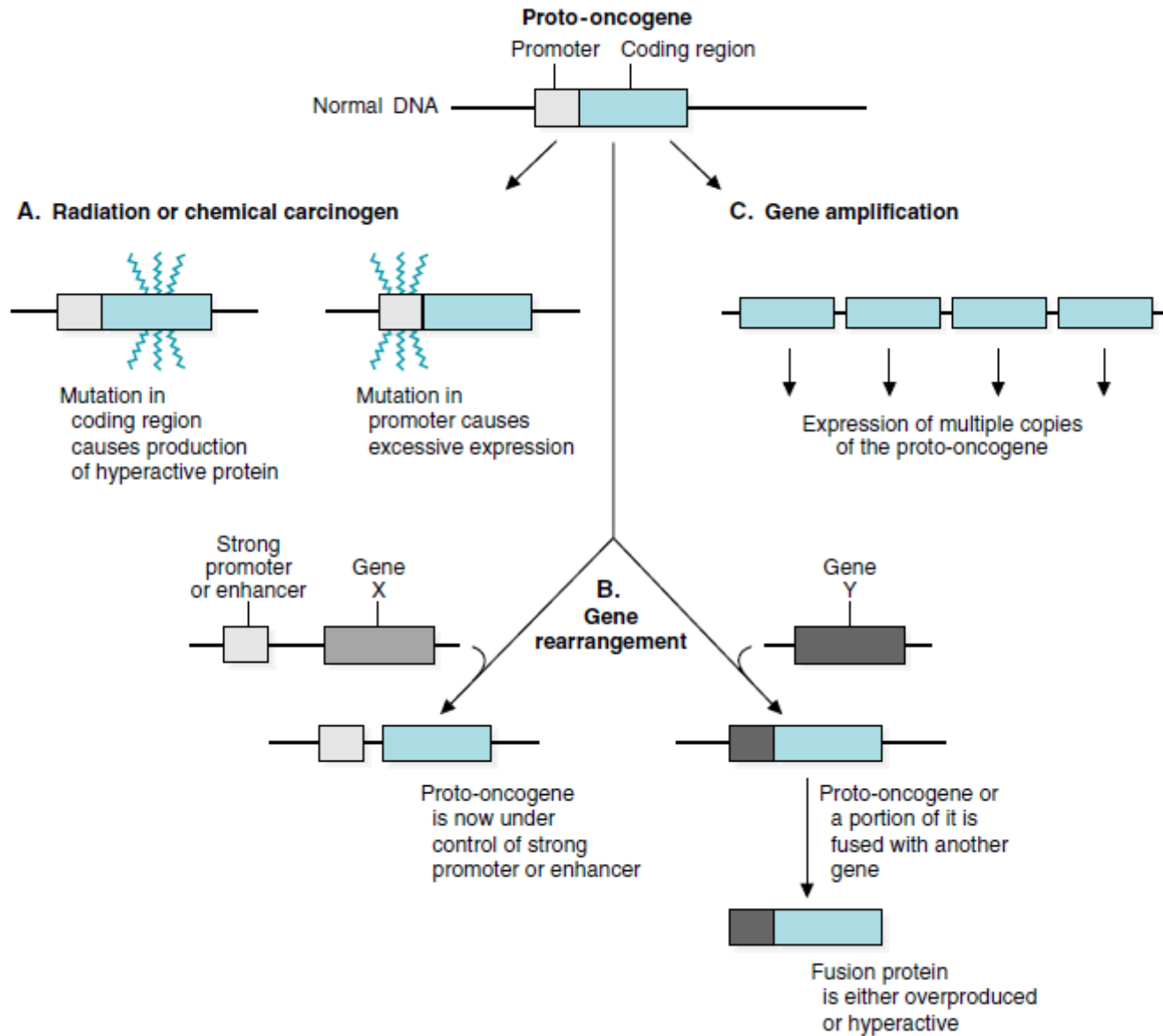
- Michael Bishop a Harold Varmus 1989 Nobelova cena za medicínu



ONKOGENY

- **Proto-onkogeny** – geny kódující proteiny, které podporují buněčné dělení nebo podporují rezistenci vůči apoptóze
- Jejich aktivující mutace nebo nadměrná exprese má za následek jejich zvýšenou aktivitu → neregulované buněčné dělení nebo rezistence vůči apoptóze
- Mutace proto-onkogenů → **onkogeny**
- Stačí, aby byla změněna pouze jedna alela proto-onkogenu, aby došlo k pro-proliferativnímu nebo anti-apoptickému efektu v buňce

Mutace přeměňující proto-onkogeny na onkogeny



Proto-onkogeny

Aktivátory buněčného dělení

- Růstové faktory (PDGF)
- Receptory růstových faktorů (PDGFR)
- Kinasy and kofaktory kinas (Cyklins, Cdk, MAPKs)
- Transkripční faktory (Myc, Jun, Fos, E2F)
- Signál přenášející proteiny (Ras)

Aktivátory apoptické rezistence

- Regulátory apoptózy (Bcl-2, Bcl-X_L, Mdm2)

Tumorsupresorové geny

- produkty tumorsupresorových genů potlačují dělení buněk nebo podporují apoptózu
- Ztráta aktivity tumorsupresorových genů přispívá k rozvoji nádorového onemocnění
- Obě alely tumorsupresorových genů musí být inaktivovány nebo ztraceny, aby došlo k eliminaci jejich tumorsupresorové aktivity
- Retinoblastoma (rb) a p53 geny
- BRCA1, BRCA2

Shrnutí

- Apoptóza chrání organismus před negativními účinky mutace, tím že odstraní buňky s nenávratně poškozenou DNA a zabrání tak jejich proliferaci
- Poškození apoptózy zabrání odstranění nadbytečných či poškozených buněk a přispívá tak k rozvoji nádorového onemocnění
- Abnormality v regulaci proliferace, které jsou dány **aktivující mutací proto-onkogenů**, vedou k transformaci normálních buněk na maligní.
- Nicméně mutace vedoucí ke **ztrátě funkce tumorsupresorových genů**, musí rovněž nastat, aby došlo k transformaci normální buňky na nádorovou.

Literatura:

- Devlin, T. M. Textbook of biochemistry: with clinical correlations. 6th edition. Wiley-Liss, 2006.
- Marks' Basic Medical Biochemistry, A Clinical Approach, third edition, 2009 (M. Lieberman, A.D. Marks)
- Color Atlas of Biochemistry, second edition, 2005 (J. Koolman and K.H. Roehm)
- Patobiochemie buňky, J. Masopust 2003