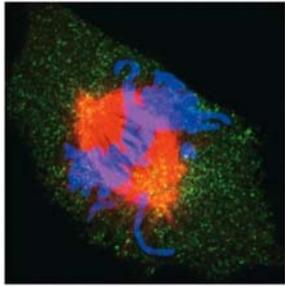


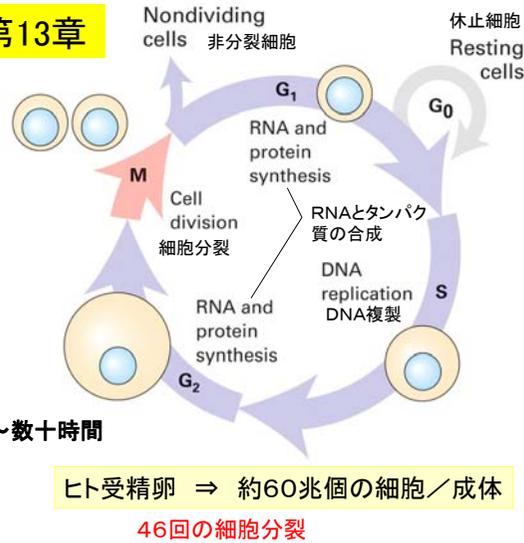
第9回 細胞周期とそれを調節するしくみ



哺乳動物細胞の増殖

- M期: 1時間程度
- G1期: 細胞で大きく変化 0~数十時間
- S期: 6~8時間程度
- G2期: 1~3時間程度

第13章



細胞分裂

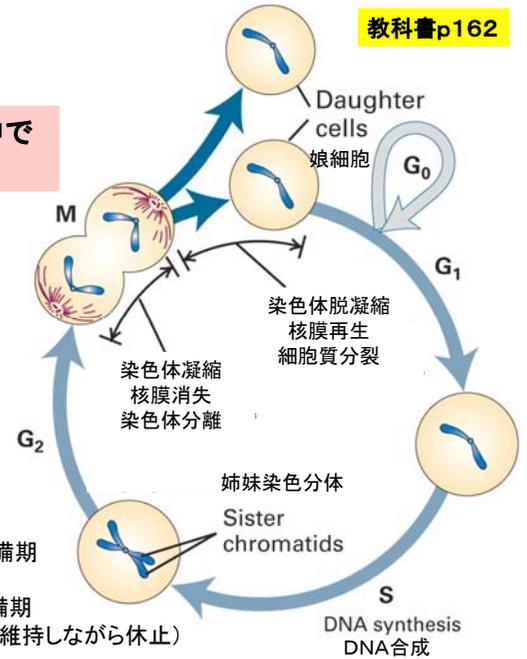
教科書p162

細胞構成成分は親細胞中で複製され、娘細胞に分配。

細胞分裂:
染色体の凝縮・整列・分配

細胞周期:
染色体など構成成分を2倍化後に2個の細胞に分配する過程の繰り返し

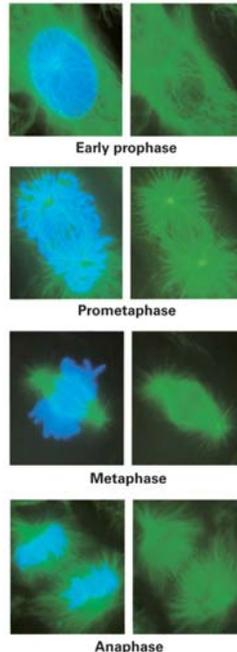
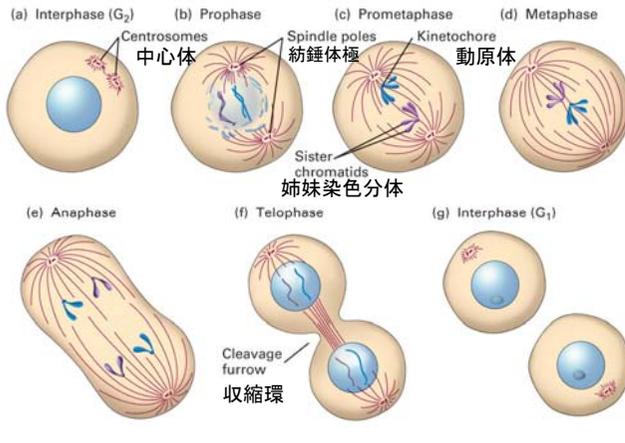
- M(mitosis)期: 細胞分裂期
- G1(gap1)期: DNA合成の準備期
- S期(synthesis): DNA複製期
- G2(gap2)期: 細胞分裂の準備期
- G0期: 増殖休止期(増殖能力維持しながら休止)



M期(有糸分裂期)

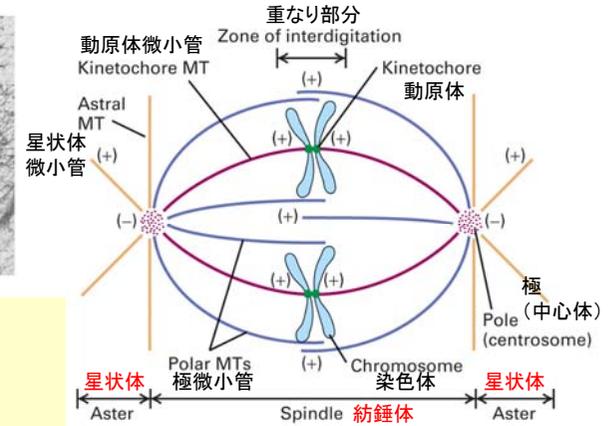
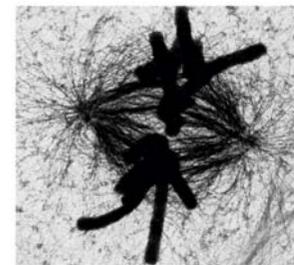
教科書p162~163

- 前期: 染色体凝集、セントロメアに動原体結合、中心体が紡錘極形成、紡錘体形成
- 中前期: 核膜分散、染色体(動原体で)紡錘体微小管に接着
- 中期: 染色体、紡錘体赤道面に整列
- 後期: 姉妹染色分体が分離し、2組の娘染色体形成。
- 終期: 染色体が紡錘体極に分かれる。収縮環が形成され、細胞膜にくびれ。
- 細胞分裂期: 収縮環が分裂溝形成、核膜形成、細胞質分裂。



哺乳動物細胞の分裂装置

教科書p164

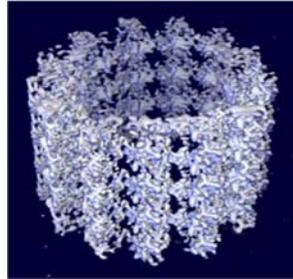


分裂装置の特徴

- 微小管の(-)端は、極(中心体)に位置。
- 星状体微小管は細胞表層に向いている。
- 動原体微小管は、染色体に連結。
- 極微小管は、分裂装置中央へ伸長し、(+)端を重ね合わせている。

復習！ 微小管 (Microtubule)

教科書p140~141



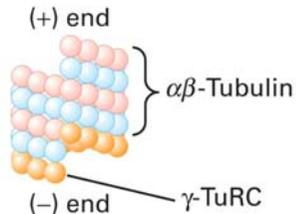
α-チューブリン (α-tubulin) と β-チューブリン (β-tubulin) からなる二量体サブユニットが13個重合して一周することにより管状構造の微小管を形成

α-チューブリン: いつもGTPとのみ結合

β-チューブリン: GTPとGDP両方に結合能あり、GTP分解酵素の機能あり

β-チューブリンが末端に存在する側が (+) 端その反対が (-) 端

重合・脱重合は両端から可能だが、重合の割合は (+) 端のほうが大きい。GTP結合チューブリンが (+) 端から安定的に重合。GTPが加水分解されたチューブリンが (-) 端から脱重合されていく。



動原体 (Kinetochore)

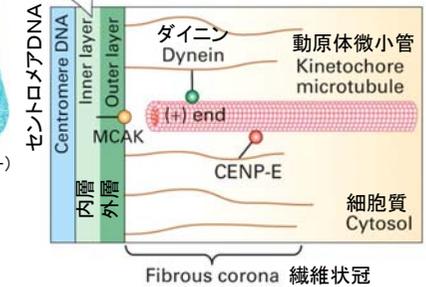
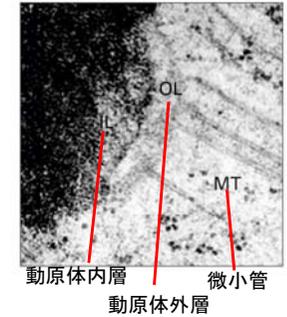
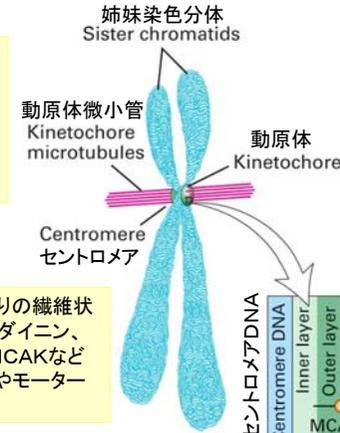
動原体は、セントロメアと結合する蛋白複合体で染色体を捕捉して、その移動を助ける。

教科書p224

外層と微小管末端のまわりの繊維状冠は、CLIP170、細胞質ダイニン、キネシンのCENP-EとMCAKなどの微小管結合タンパク質やモータータンパク質を含んでいる。

ダイニンは (+) ⇒ (-) に移動、ほとんどのキネシンは (-) ⇒ (+)

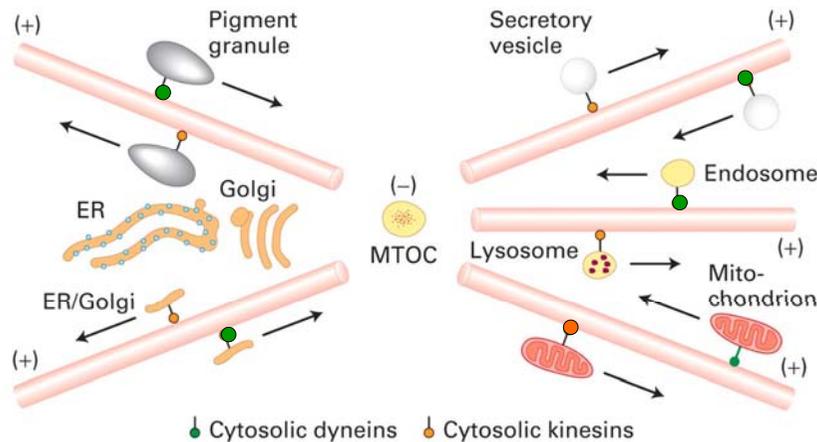
微小管結合タンパク質 (CLIP170など) と微小管モータータンパク質 (分裂キネシンMCAKや細胞質ダイニンなど) は、協力して微小管末端に動原体を付着させる。



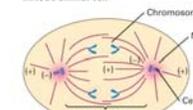
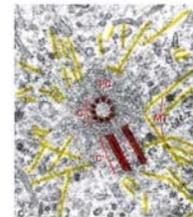
モータータンパク質、キネシンとダイニン

ほとんどのキネシンは、微小管の (-) 端 ⇒ (+) 端へ輸送
ダイニンは、微小管の (+) 端 ⇒ (-) 端へ輸送

教科書p207



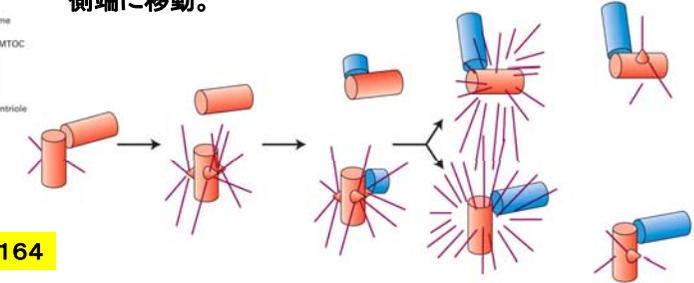
中心体の複製と細胞周期



親の中心小体対 (赤) が分離後、それぞれから娘中心小体 (青) が芽生え伸長 (S期後半、サイクリン・CDK2必要)。

G2期までに娘中心小体の伸長は完了するが、2対は中心体複合体として留まる。

M期初期に中心体は分かれ、各中心体は細胞の反対側端に移動。



教科書p141, 164



前期の中心体移動

分裂中期での中心体の配置と分離は、極微小管や星状体微小管の伸長といくつかのモータータンパク質の作用に依存

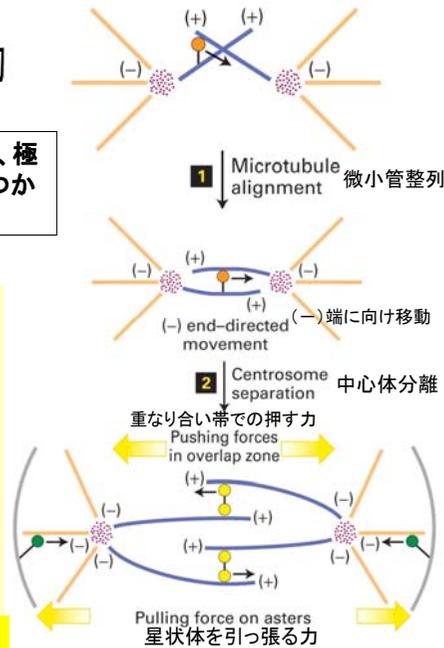
前期で反対極から無差別に成長した極微小管は、(-)端に向かうモータータンパク質(オレンジ)の補助で整列①

整列後、両極性キネシンBimCなどの(+)端に向かう分裂キネシン(黄)が両極を引き離す力を発生。

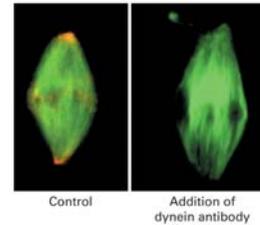
表層に局在する細胞質ダイニン(緑)によってもたらされる、(-)端に向かう力が星状体を外側に引っ張る。

後期にも同様の力が発生。

教科書p164

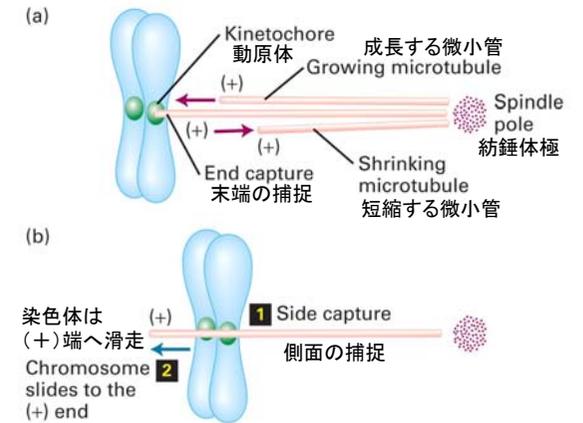


紡錘体形成にはモータータンパク質と動的微小管が必要



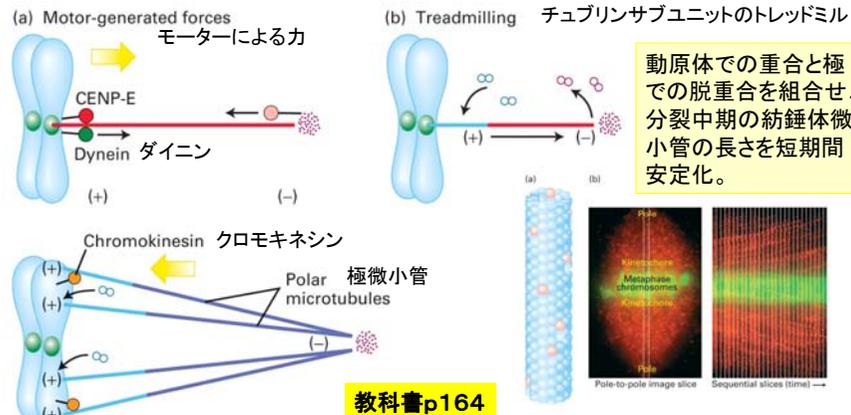
細胞質ダイニンは紡錘体極の形成と安定に関与

教科書p164



前期後半に紡錘体微小管は(+)端で伸長・短縮繰り返し染色体を捕捉。微小管の側面に接すると、動原体結合の(+)端方向モータータンパク質(MCAKなど)が染色体を(+)端まで動かし、微小管を安定化。

中期に染色体を赤道板で安定化させる機構



教科書p164

(-)端に向かうモーターの細胞質ダイニン(緑)は動原体で、(+)端方向モーター(赤)は紡錘体極で、ともに染色体を極方向に引っ張る。娘染色分体上の非動原体(+)端方向モーターのクロモキネシンは、極微小管に反対方向の力で染色体を遠ざけるように押す。運動を仲介しないキネシンCENP-Eは動原体を動原体微小管に繋ぎとめる。

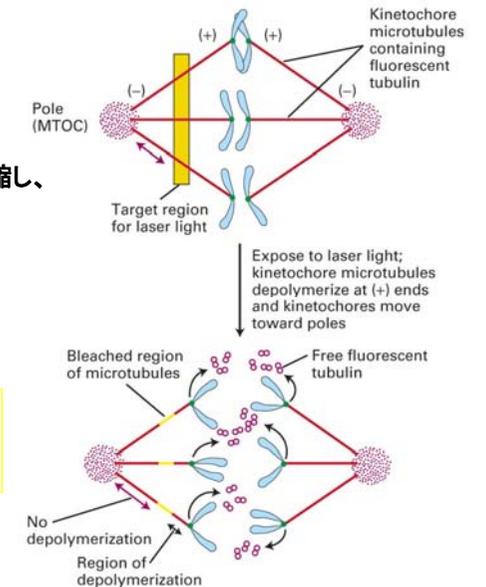
後期: 染色体は分離、紡錘体は伸長

後期 A

動原体微小管の(+)端が短縮し、染色体は極に向け移動

教科書p164

後期Aでは、微小管が極ではなく動原体の直ぐそばの(+)端で脱重合。



後期:染色体は分離、紡錘体は伸長

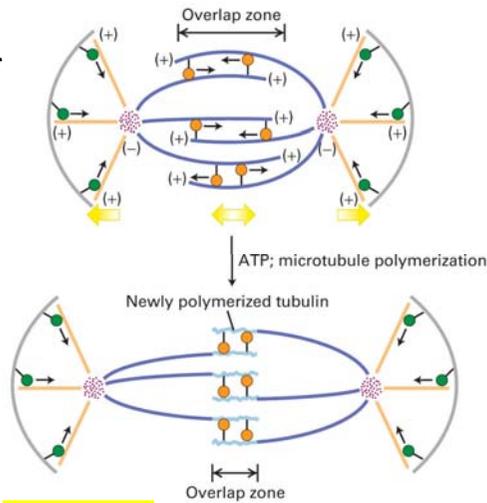
後期B:

両極が更に離れ、付着染色体を娘細胞となる場所へ

紡錘体キネシン(オレンジ)が重複部分で反対方向からの極微小管と結合し、(+)端に'歩行'。

(-)端方向モータータンパク質の細胞質ダイニン(緑)が星状体微小管に沿って歩行し、極を外側に引っ張る。

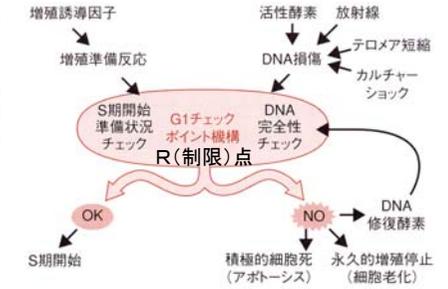
同時に、極微小管の(+)端にチューブリンサブユニットが加えられ、紡錘体は伸長する。



教科書p164

G1期

教科書p163~165



- 形態的・生化学的に特徴乏しい
- 細胞の増殖制御・・・細胞増殖か否かを決定(細胞周期で最も重要な時期)
 - R点(制限点:restriction point) G1期後期に存在
 - 外界の要因により・・・増殖因子この時期だけ必要
G₀期、減数分裂、分化、老化、アポトーシス
 - 通過すると、不可逆的にS期に入る

S期

教科書p165~166

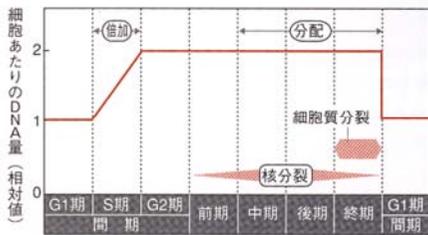


図5-3 細胞周期とDNA量の変化

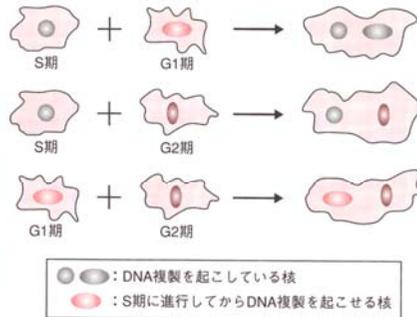


図13-4 細胞周期制御因子の存在を示した細胞融合実験

- DNA複製の時期
 - DNA量2倍に
- 真核生物ではDNA複製開始点が1本のDNA上に多数存在(一斉に開始するわけではないがその時間差の機構は未だ不明)
- DNA複製を一細胞周期に1度だけ起こす機構
 - 使用された複製開始点は同じS期で2度働かない

G2期

教科書p166

- M期へ進行するための準備期間
- 複製の完了、複製エラー、DNA障害のチェック
- G2期のDNA含量をもって増殖停止している細胞存在
 - G2期から安定増殖停止機構 ⇔ G₀期

G₀期

- 多くの増殖していない細胞(DNA含量2倍体)
 - 細胞接着が密、増殖因子除去された状態
 - 細胞周期から外れた状態
- 増殖誘導するとG1期より長い時間の後にS期に進行
- 老化細胞や終末分化細胞もこの範疇

細胞周期調節機構:サイクリン/cdk複合体

細胞周期エンジンが各細胞周期の進行を実行

- CDK(cyclin dependent kinase:タンパク質リン酸化酵素)活性が上昇することでG1⇒S、G2⇒M
- サイクリン/cdkが蓄積・活性化

各サイクリンは、細胞周期の各特定段階で合成・分解

- サイクリンの種類が各段階で異なる
- サイクリンの分解が次のステップに進む条件

細胞周期不可逆的進行する理由

- CDK: 細胞周期の特定段階で分解されるものとされないもの存在
- サイクリンとCDK結合⇒活性化
- 標的タンパク質のセリン残基・スレオニン残基をリン酸化

教科書p166~167

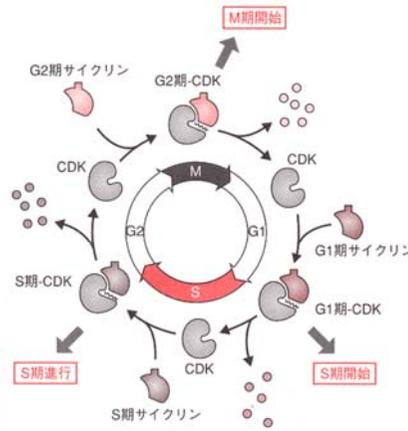


図13-5 サイクリン/CDKによる細胞周期の調節

サイクリン依存性キナーゼ(cdk)による細胞周期制御

教科書p168

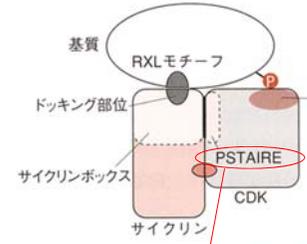


図5-5 サイクリンによる基質の識別

サイクリンと結合するための共通アミノ酸配列

サイクリンは働いたら直ぐに分解されるのが特徴

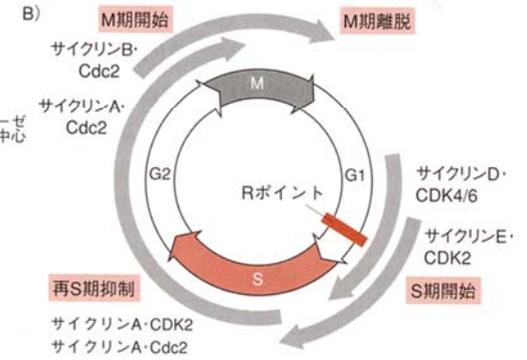
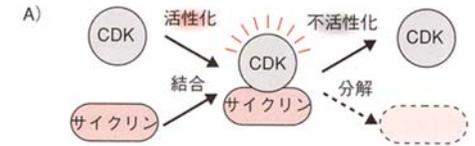


図5-4 サイクリン依存性キナーゼによる細胞周期制御

Cdc2: 別名 cdk1

様々なサイクリンとCDKが細胞周期を制御

教科書p168

表5-1 サイクリンとCDKの種類と特徴

サイクリン	CDK	機能、特徴
サイクリンA	CDK2, Cdc2*	細胞周期 (S期~M期): S期開始 (DNA複製, 中心体複製), 再S期抑制 (E2F転写抑制, DNA複製開始抑制), M期開始, 生殖細胞で発現
サイクリンB	Cdc2*	細胞周期 (M期): M期開始 (MPF), ゴルジ体/ER局在
サイクリンC	CDK8	転写: Pol II/CTDキナーゼ (TF II B結合)
サイクリンD	CDK4, CDK6	細胞周期 (G1期): 増殖刺激で誘導, Rb/E2F解離
サイクリンE	CDK2, (CDK3)	細胞周期 (G1期~S期): S期開始 (DNA複製開始, 中心体複製), Rb/E2F活性化
サイクリンF	-	細胞周期 (S期~G2期): F-boxタンパク質
サイクリンG	(CDK5)	p53で誘導, CAKキナーゼと結合
サイクリンH	CDK7	細胞周期: CAK, 転写: Pol II/CTDキナーゼ (TF II HB結合)
サイクリンI	-	サイクリンG類似
サイクリンJ	(CDK2)	初期胚 (ハエ卵割)
サイクリンK	CDK6	ウイルス, サイクリンD類似
	CDK9	転写: CTDキナーゼ
サイクリンM	CDK2	ウイルス, サイクリンD類似
サイクリンT	CDK9	転写: (転写因子TAT結合) サイクリンC類似
サイクリンV	CDK6	ウイルス, サイクリンD類似

サイクリンA, B, D, E, Gにはそれぞれサブタイプがある。ほかに、CDK5の活性化サブユニットとして働くサイクリン様タンパク質Nck5 (p35) がある。分裂酵母で6種類、出芽酵母で22種類の記載がある。* = CDK1

CDK活性の調節

どのCDKもサイクリンと結合してタンパク質セリン/スレオニンキナーゼ活性有する。

- 合成されたサイクリンとの結合
- リン酸化による活性化
- ATP結合部位のリン酸化による活性抑制と脱リン酸化による活性化
- CKI(cyclin-dependent kinase inhibitor: CDK阻害因子)の結合による抑制
 - Rbタンパク質
 - p53タンパク質 など
- タンパク質の分解には、タンパク質のユビキチン化とそれに伴うプロテアソームによる分解

教科書p168

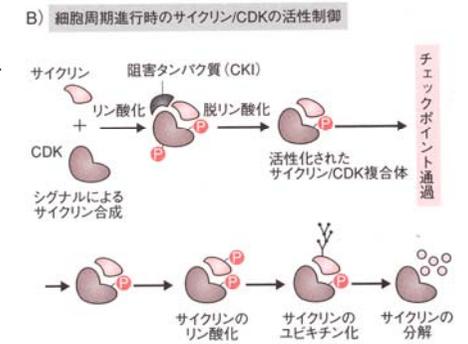
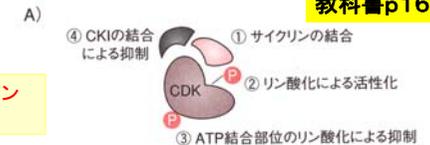
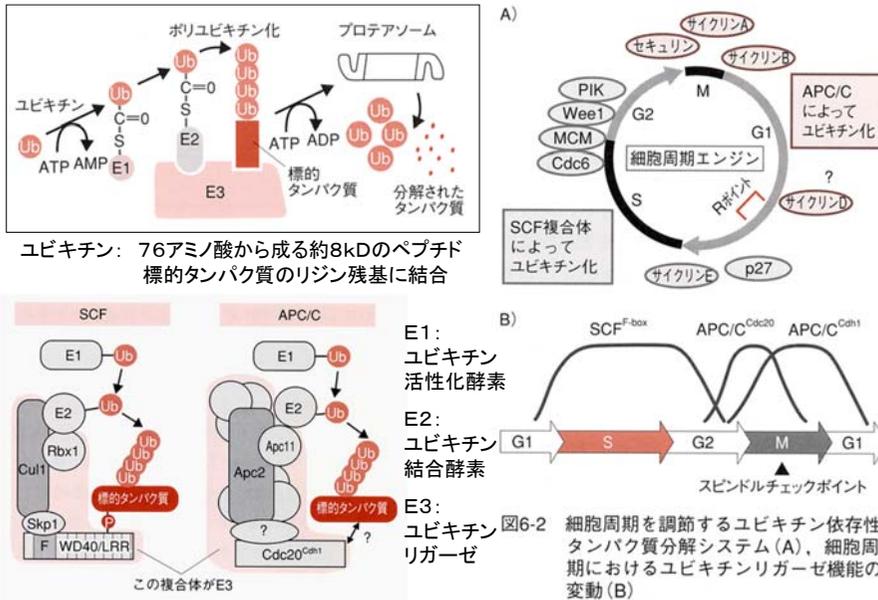


図13-6 CDK活性の制御のメカニズム

A) CDKの活性化を制御する4つの因子。B) サイクリン/CDK複合体の形成と不活性化

タンパク質のユビキチン化

教科書p168



細胞増殖の制御

教科書p166~167

細胞増殖の条件

- 増殖抑制因子(負の増殖(抑制)シグナル)の除去

• CKI

- サイクリン・CDK複合体、あるいはCDK自身に結合して、複合体のもつタンパク質リン酸化酵素活性を阻害するタンパク質因子(cyclin-dependent kinase inhibitor)

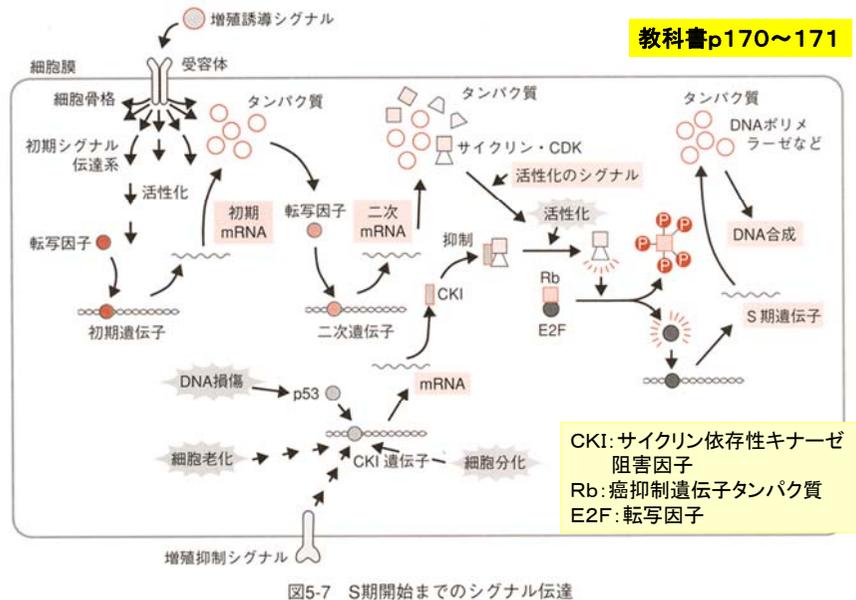
• Rb

- 網膜芽細胞腫(retinoblastoma)の原因遺伝子として発見された、癌抑制遺伝子の産物で、S期進入抑制因子

- 増殖因子(正の増殖(誘導)シグナル)の存在

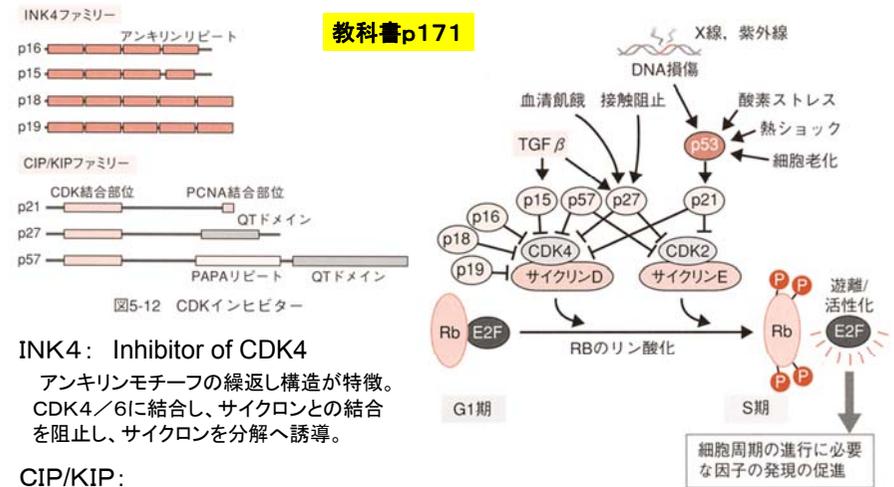
細胞増殖開始の制御

教科書p170~171



CKI(サイクリン依存性キナーゼ阻害因子)

教科書p171



INK4: Inhibitor of CDK4

アンキリンモチーフの繰返し構造が特徴。CDK4/6に結合し、サイクリンとの結合を阻止し、サイクリンを分解へ誘導。

CIP/KIP:

構造的にCDK結合ドメインを共通に持つ。サイクリンD・CDK4/6にもサイクリンE・CDK2にも結合し、サイクリン・CDK活性抑制

癌抑制遺伝子タンパク質Rbのリン酸化とS期転写因子の活性化

教科書p166~167

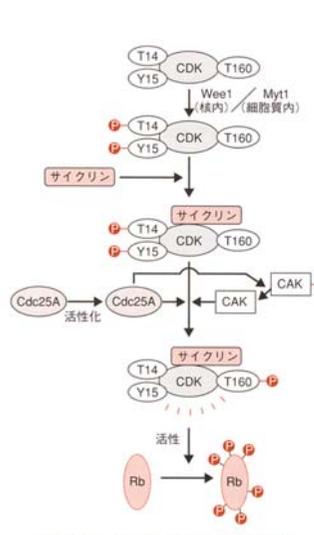


図5-9 CDKの活性化によるRbのリン酸化

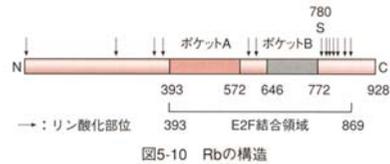


図5-10 Rbの構造

Rb: 細胞がS期に進まないよう抑制しているタンパク質 (増殖抑制タンパク質)

E2F: 転写活性化因子

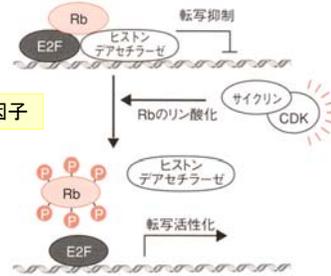


図5-11 Rbによる転写活性制御

S期における複製開始ライセンスと endoreduplicationの禁止

教科書p170

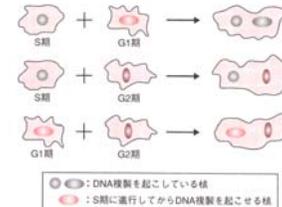


図13-4 細胞周期抑制因子の存在を示した細胞融合実験

複製開始の許可を与えるライセンス必要

複製開始複合体の前駆体preRCがライセンス本体(ライセンスファクター)

複製開始するとMCMやcdc6が遊離。細胞質からの新たな供給には核膜崩壊(M期)必要

1度複製を開始した複製開始点は、M期を経ないと次の複製開始が出来ない。(endoreduplicationの禁止機構)

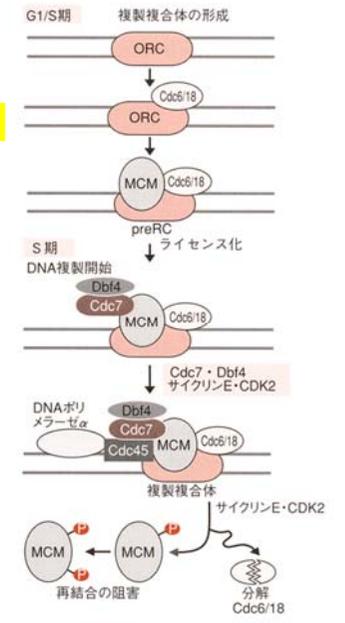
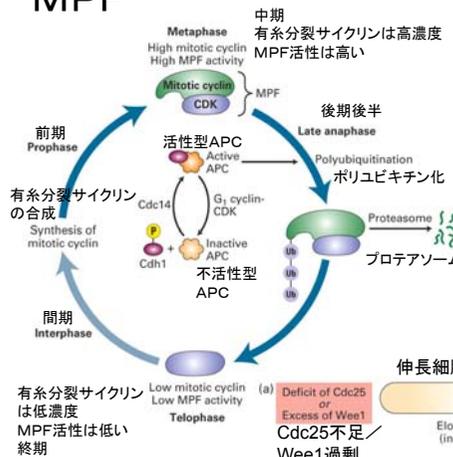


図5-14 複製開始のライセンスと複製開始反応

MPF M-phase (maturation) promoting factor

M期の細胞とG1期の細胞融合させると、G1期の細胞でもクロマチンの凝集(PCC Premature chromosome condensation)が起こる。M期の性質が優性

教科書p167



Wee1がG2/M期境界でユビキチン化され分解されることが、M期の開始に必須

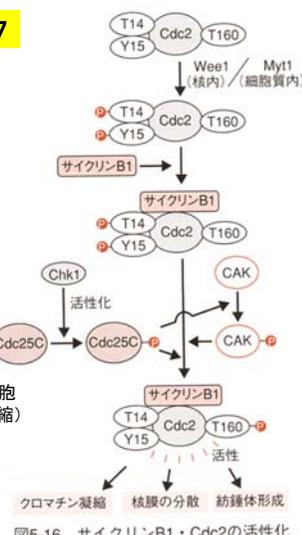
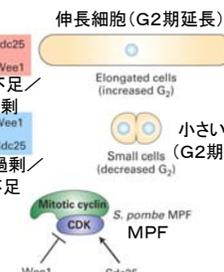
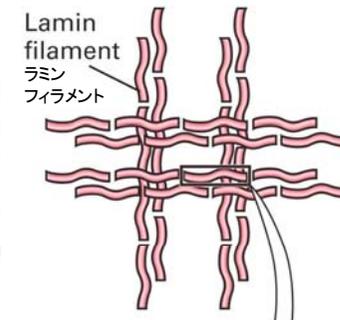
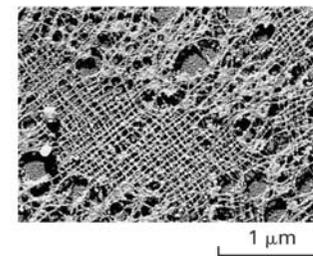
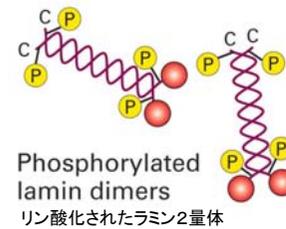


図5-16 サイクリンB1・Cdc2の活性化

MPFによる核ラミナの脱重合



核膜内側に隣接して存在するラミン中間径フィラメントの網目構造がMPFにより、脱重合される。MPFは3種類の核ラミンの特定セリン残基をリン酸化⇒ラミン中間径フィラメントは脱重合



Phosphorylated lamin dimers
リン酸化されたラミン2量体

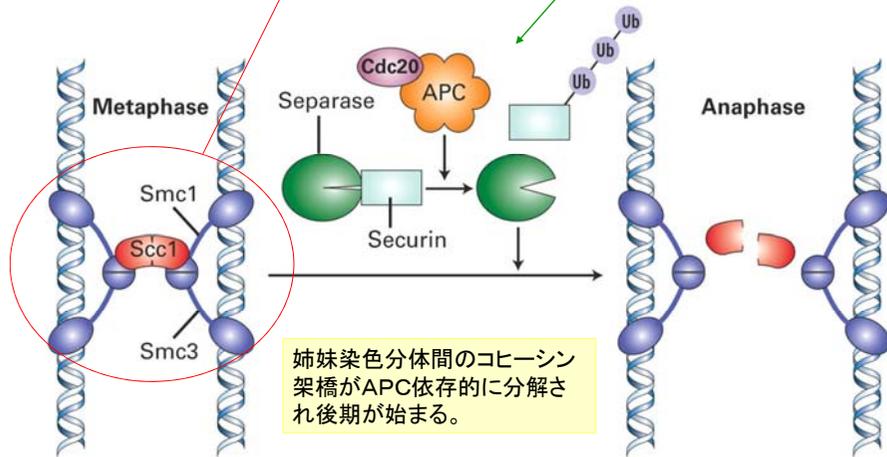
Lamin tetramer
ラミン4量体

後期開始制御機構モデル

教科書p164

複合タンパク質コヒーシン (Cohesin) が姉妹染色分体に沿って多数の点で両者を結合

APC/cdc20がセクリンをポリユビキチン化し、プロテアソームで分解する。するとセパラゼが活性化し、Scc1を切断

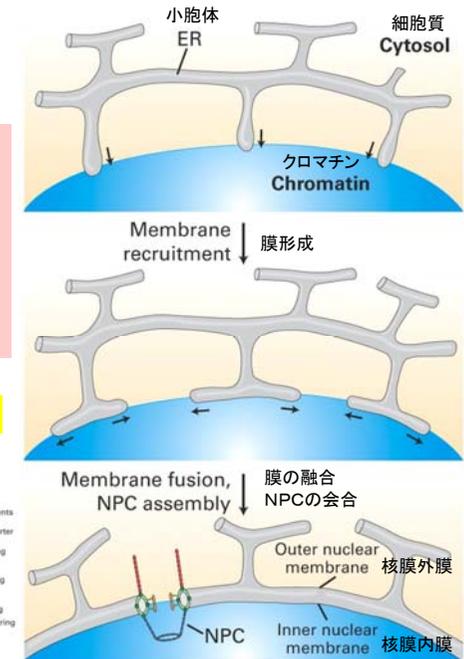
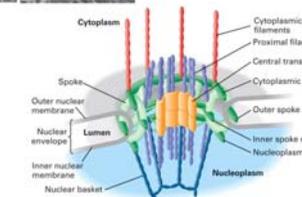
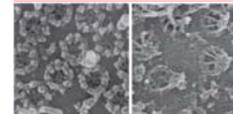


姉妹染色分体間のコヒーシン架橋がAPC依存的に分解され後期が始まる。

終期における核膜再構築モデル

小胞体の延長部分が脱凝縮した染色体に結合
互いが融合して染色体の周りに二重膜を形成
核孔複合体 (NPC: Nuclear pore complex) が再会合して核膜孔形成
ミニ核のカリオマ (Karyomere) 形成
紡錘体極の全てのカロメアの核膜が融合し、核形成

教科書p164



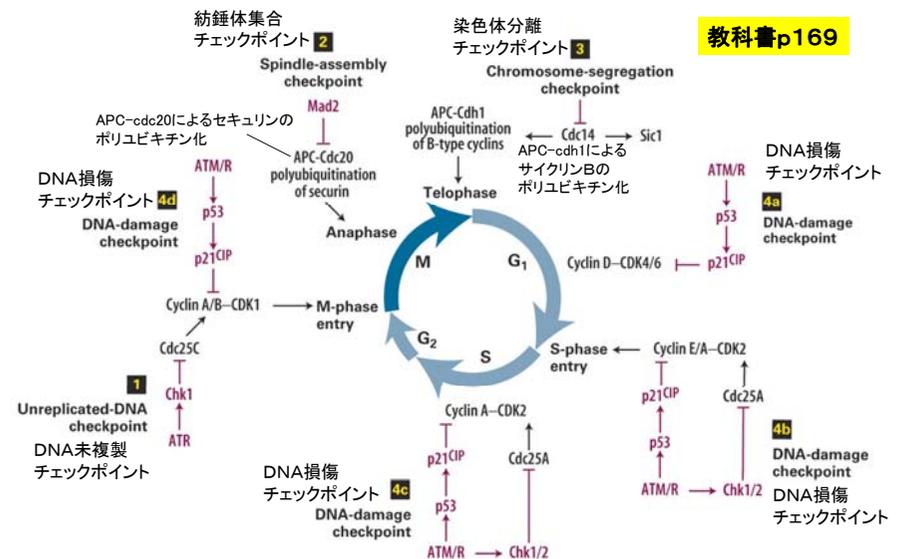
細胞周期のチェックポイント

教科書p169

- 細胞増殖
 - 遺伝情報(ゲノム)の正確な複製と分配が重要
- 必要条件を保証する機構
 - 紡錘体集合チェックポイント (M期後期)
 - Mad2活性化⇒cdc20(分裂後期開始因子)活性阻害
 - 染色体分離チェックポイント (M期終期)
 - 正常分配⇒Cdc14作用⇒M期サイクリン/CDK活性阻害⇒終期・G1期へ
 - DNA損傷チェックポイント (G1期、S期進入時、S期、M期進入時)
 - p53タンパク質活性化⇒p21 (CKIの一種)⇒サイクリン/CDK抑制⇒DNA修復⇒修復完了後p53不活性化
 - DNA未複製チェックポイント (M期進入時)
 - 未複製DNA⇒ATR(キナーゼ)複製フォークに結合⇒Chk1活性化⇒Cdc25フォスファターゼ活性化阻害⇒G2期サイクリン/CDK活性化阻害⇒M期進行阻害

細胞周期のチェックポイント

教科書p169



P53によるDNA損傷修復機構

教科書p164~165

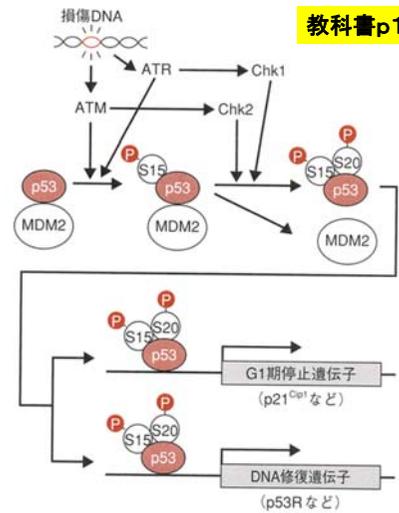


図6-11 p53の活性化によるG1期停止とDNA修復促進

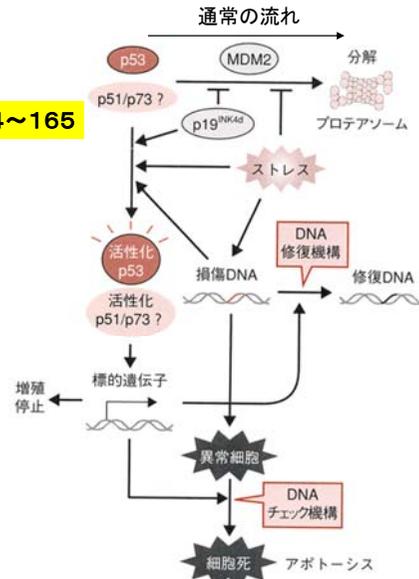
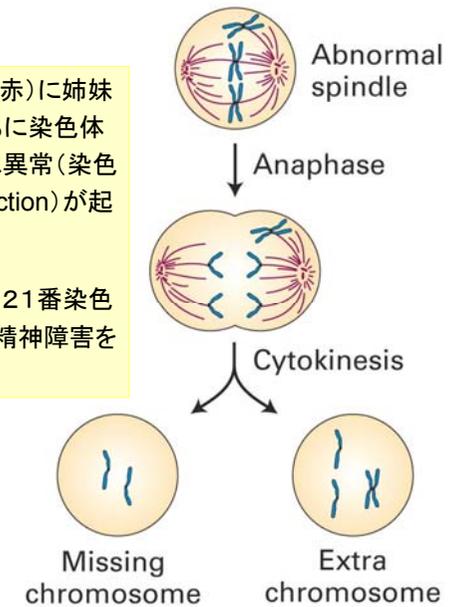


図6-10 p53の機能

染色体不分離

相対する紡錘体極から出る微小管(赤)に姉妹染色体の動原体が結合しないうちに染色体の分離が始まると、染色体の分配に異常(染色体不分離: chromosome nondisjunction)が起こる。

減数分裂で染色体不分離が起こり、21番染色体がトリソミーになると、発生異常と精神障害をまねくダウン症に。



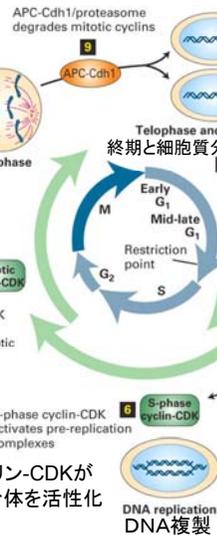
細胞周期調節機構

⑧ APC-cdc20/プロテアソームがセクリン分解

⑨ APC-cdh1/プロテアソームが有糸分裂サイクリンを分解

⑦ 有糸分裂サイクリン-CDKが有糸分裂初期過程を活性化

⑥ S期サイクリン-CDKが複製前複合体を活性化



- ① DNA複製前複合体が複製起点に集合
- ② G1サイクリン-CDKがCdh1を不活性化
- ③ G1サイクリン-CDKがS期サイクリン-CDK構成要素の発現を活性化
- ④ G1サイクリン-CDKがS期阻害因子をリン酸化

- ① DNA pre-replication complexes assemble at origins
- ② G₁ cyclin-CDK inactivates Cdh1
- ③ G₁ cyclin-CDK activates expression of S-phase cyclin CDK components
- ④ G₁ cyclin-CDK phosphorylates S-phase inhibitor

- ⑤ SCF/プロテアソームにより、リン酸化されたS期サイクリン-CDK阻害因子が分解

SCF/proteasome degrades phosphorylated S-phase cyclin-CDK inhibitor

復習問題

1. 細胞周期が一方向に不可逆的に進行するのを確実にしているのは何か。その分子機構を簡単に説明しなさい。
2. S期の細胞と融合したとき、準備が整わないうちにDNA複製が始まってしまうのは、G1期細胞、G2期細胞のどちらか。その理由としてどのようなことが考えられるかについても答えよ。
3. CDK活性が以下のタンパク質によってどのように制御されるか述べよ。①サイクリン、②p21。