

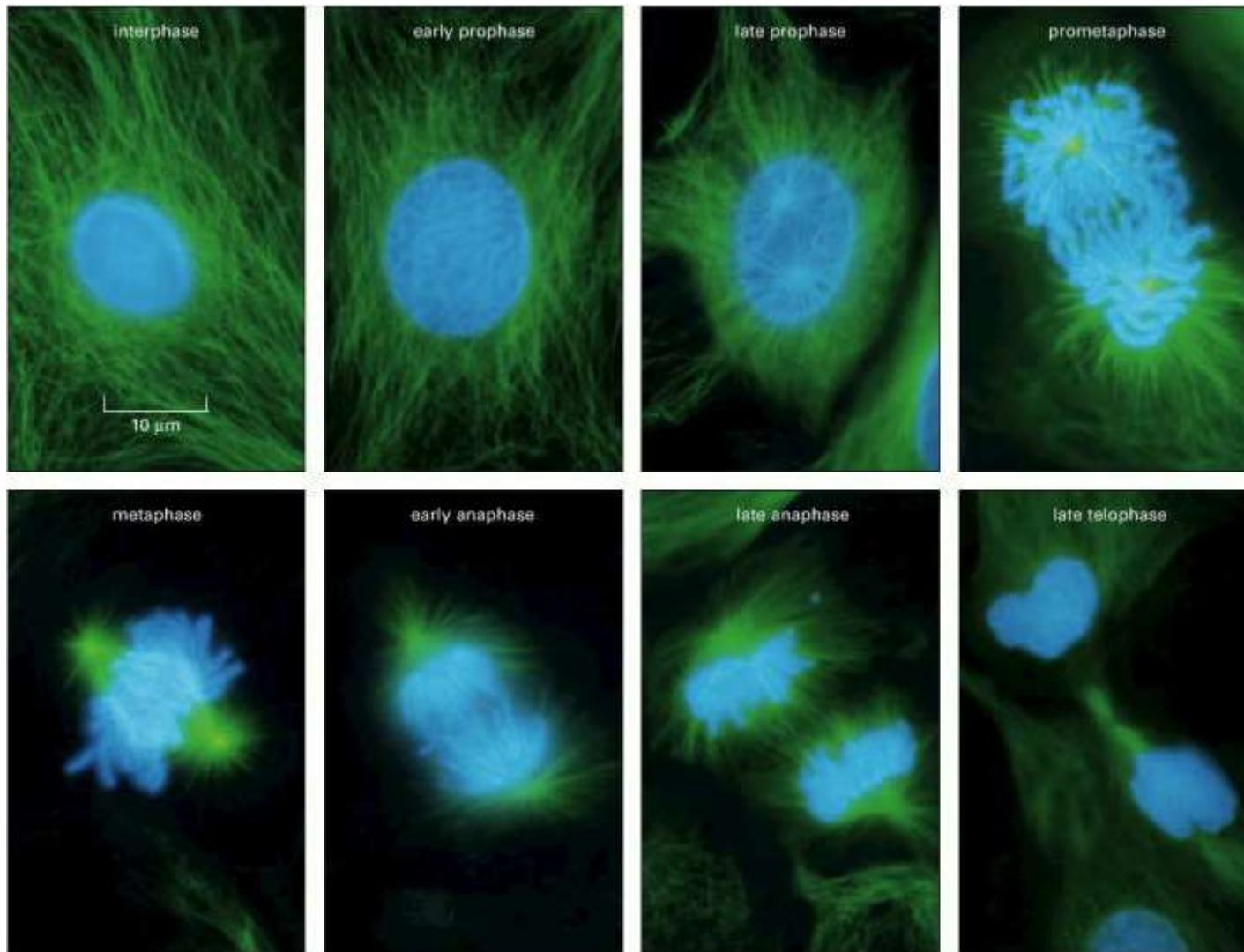
Genetické aspekty mitózy a meiózy, regulace, poruchy

24. a 25. 2. 2020
František Liška

prezentace k přednášce je dostupná na <https://el.lf1.cuni.cz/mito-meio/>
K přihlášení použijte jméno+heslo jako na SIS/CAS
podněty, připomínky, dotazy, zvukový záznam ke sdílení aj. na frantisek.liska@lf1.cuni.cz



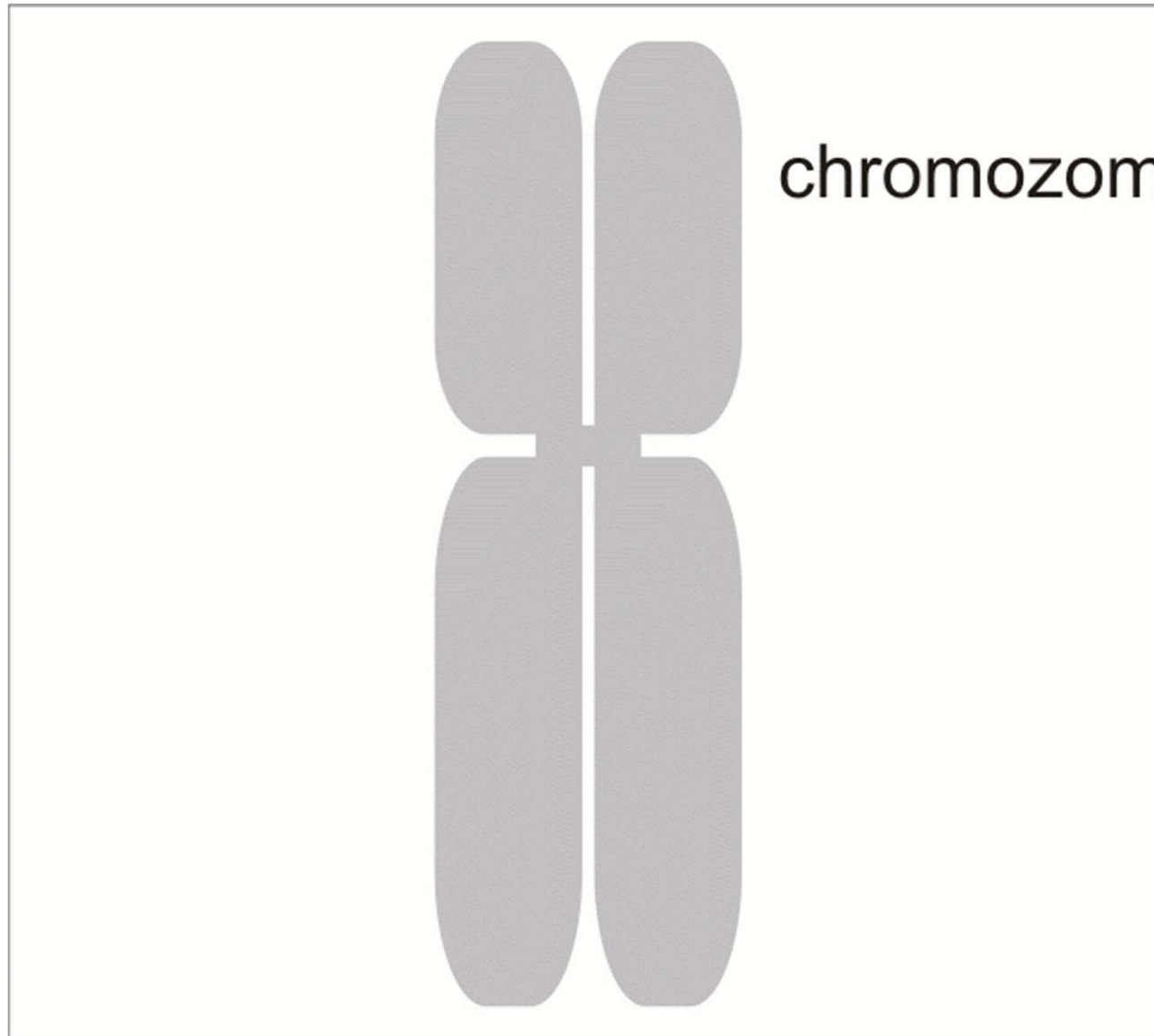
Mitóza – přehled stadií



Alberts et al.: Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing

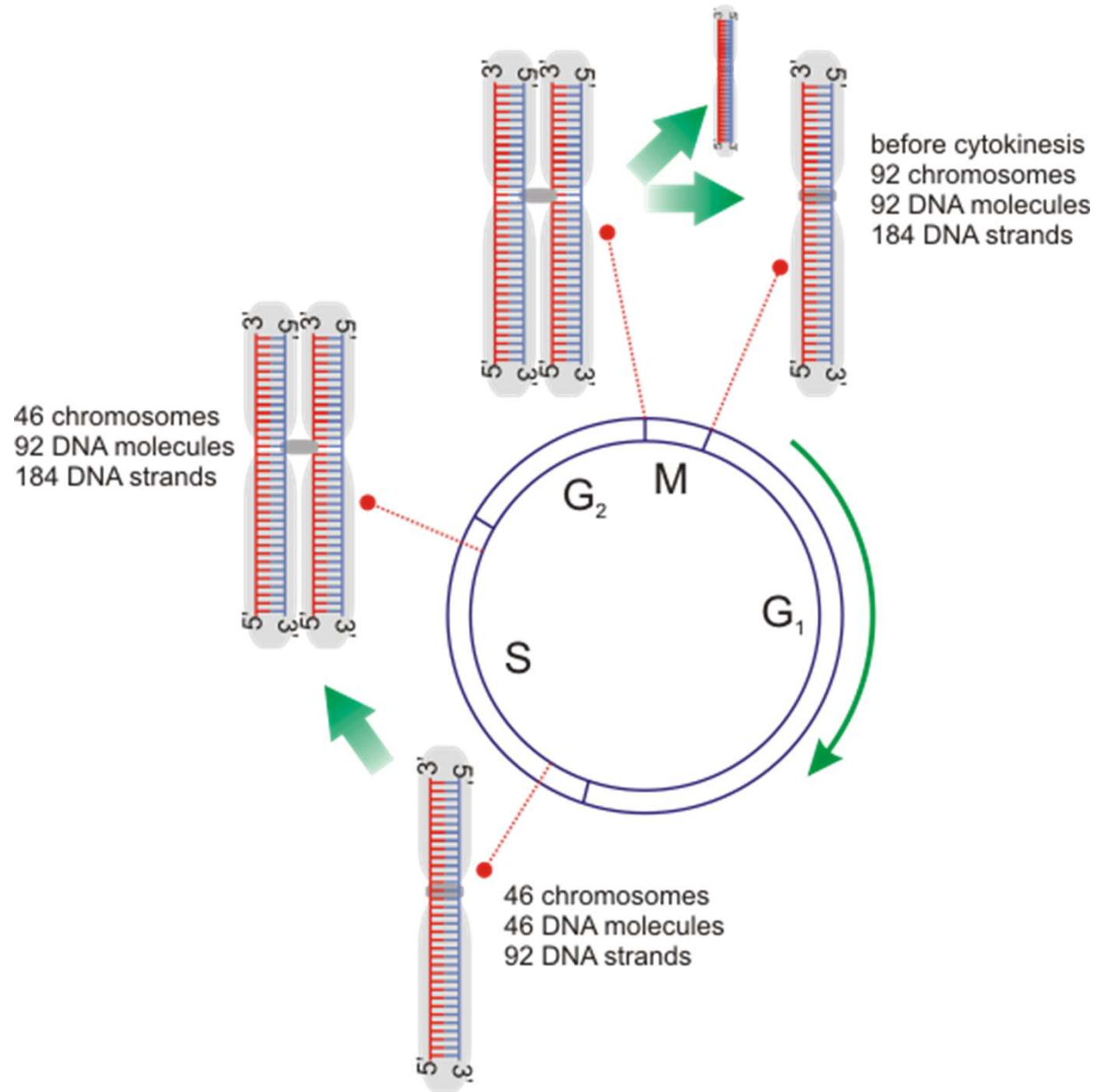
© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Funkční jednotka DNA - chromozom:



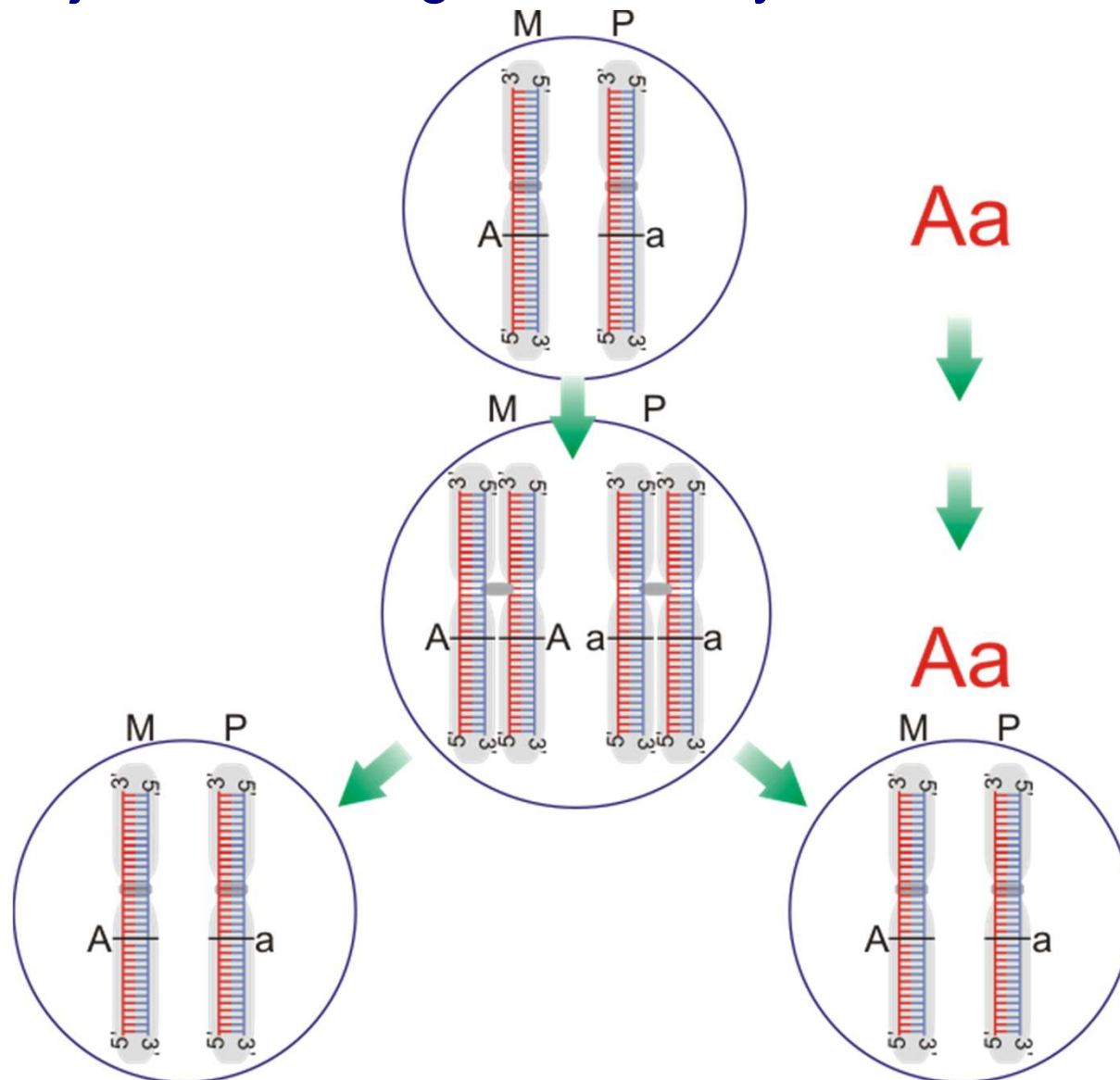
animace dostupná na: http://biol.lf1.cuni.cz/prednasky/chromosome_cz.gif

Co se děje s DNA během buněčného cyklu:

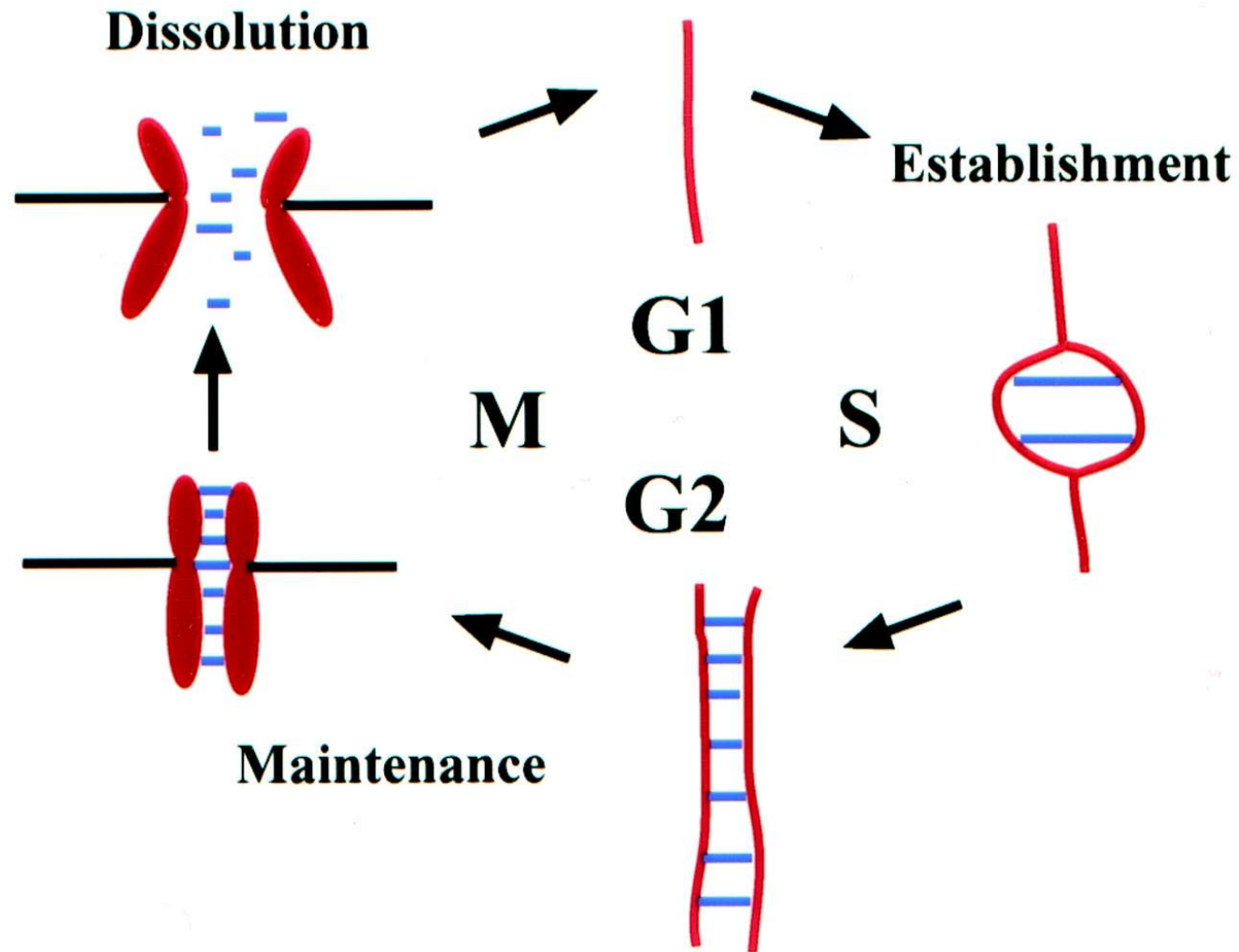


Homologní chromozomy jsou nezávislé

– to zajišťuje identickou genetickou výbavu u dceřiných buněk

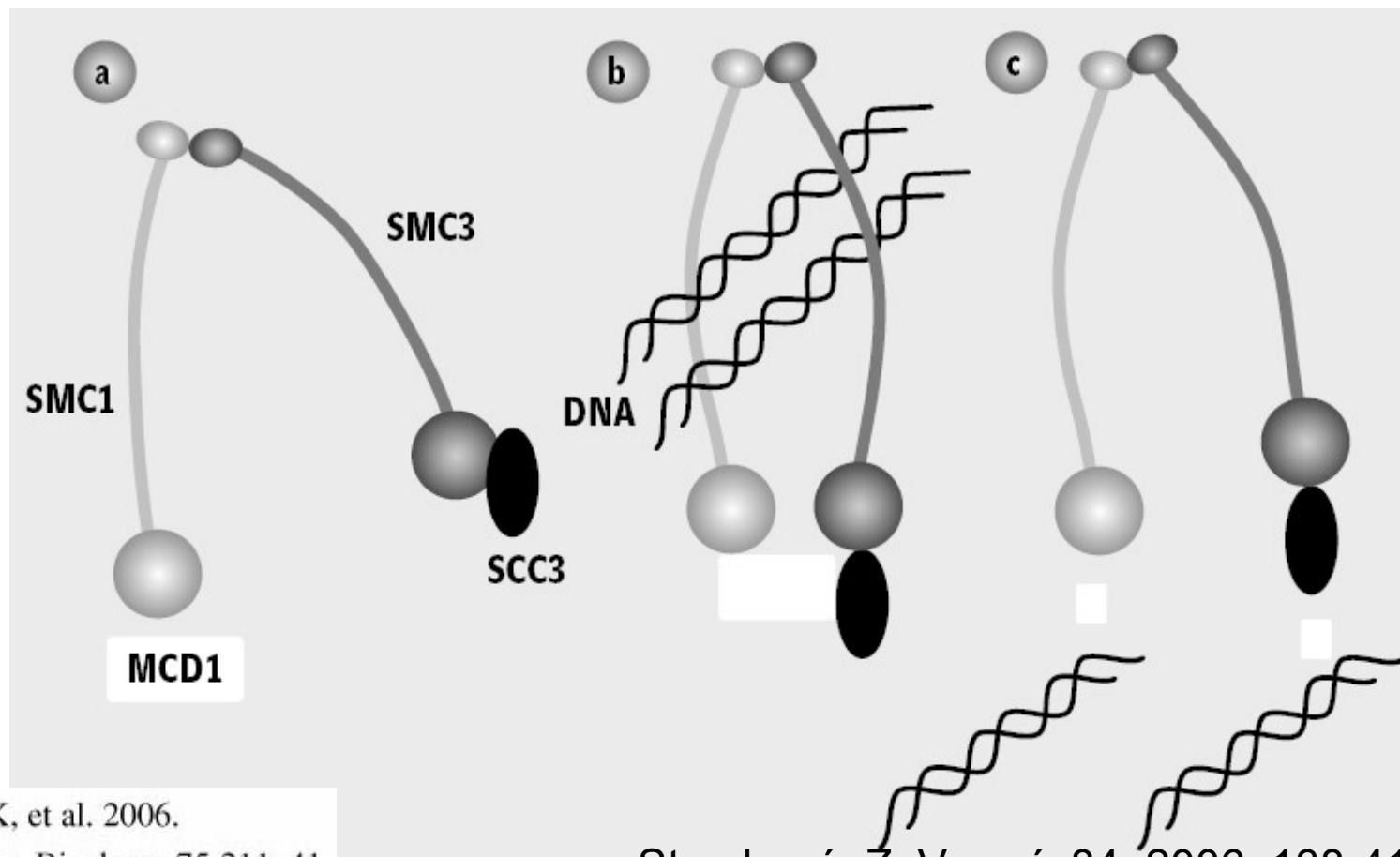
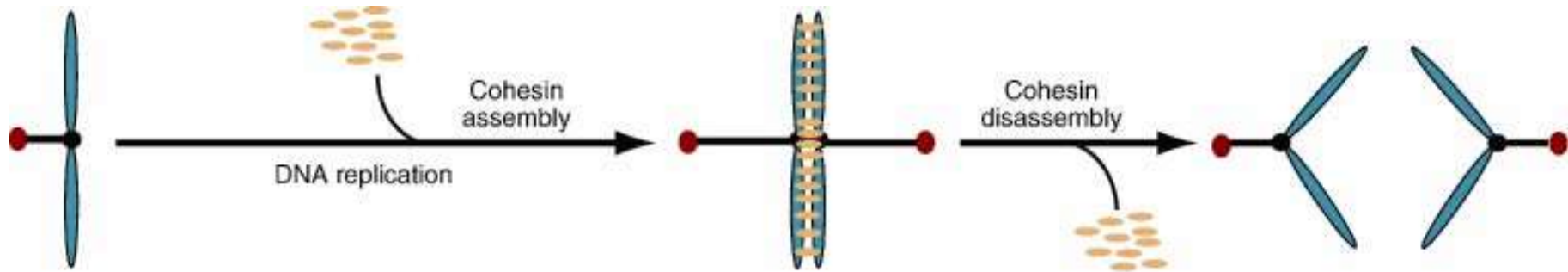


Koheze sesterských chromatid v průběhu buněčného cyklu



Dena R. Carson, and Michael F. Christman PNAS
2001;98:8270-8275

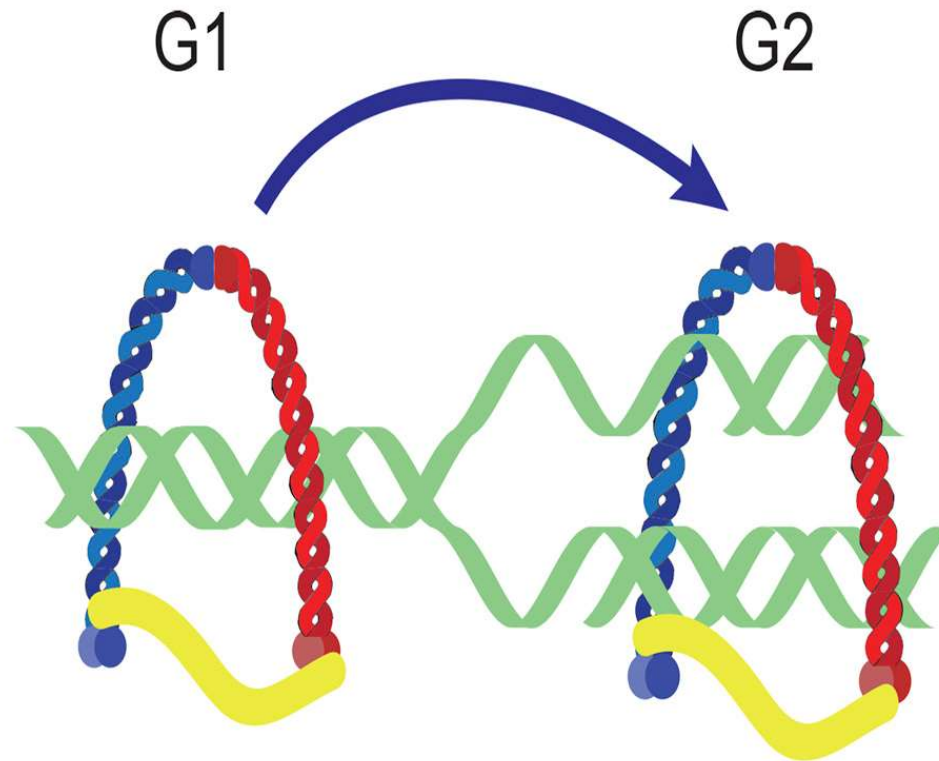
Koheze sesterských chromatid – “spojením k rozdělení”



AR Ghosh SK, et al. 2006. Annu. Rev. Biochem. 75:211-41

Storchová, Z, Vesmír 84, 2006, 138-41

Koheze sesterských chromatid – “spojením k rozdělení”

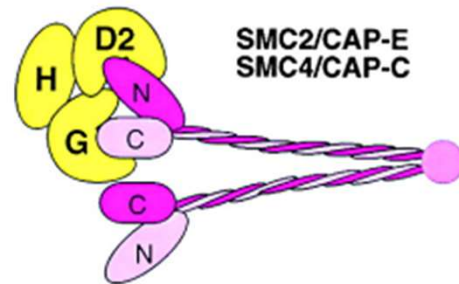


Cohesin loaded in G1 can remain in place during DNA replication

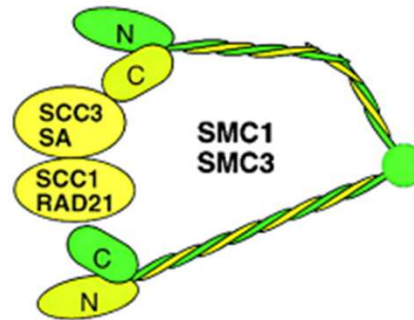
Kondenziny a koheziny

A

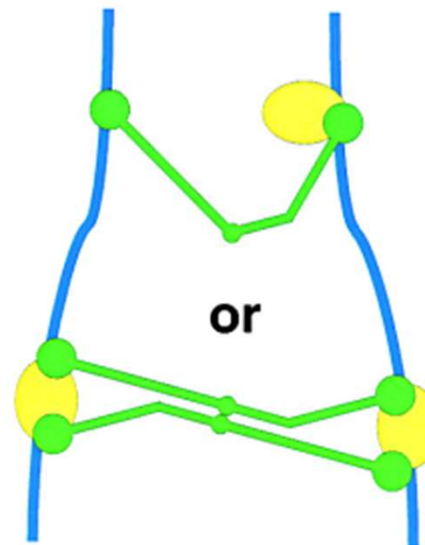
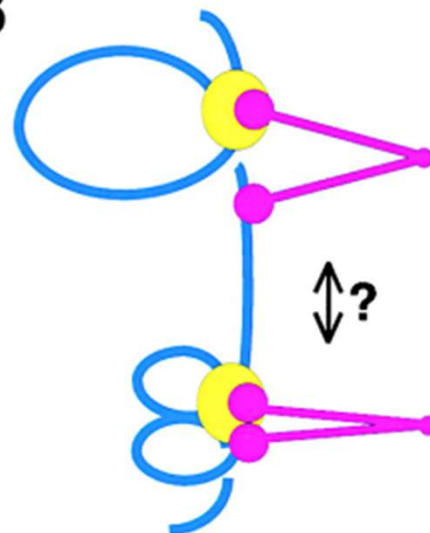
condensin



cohesin

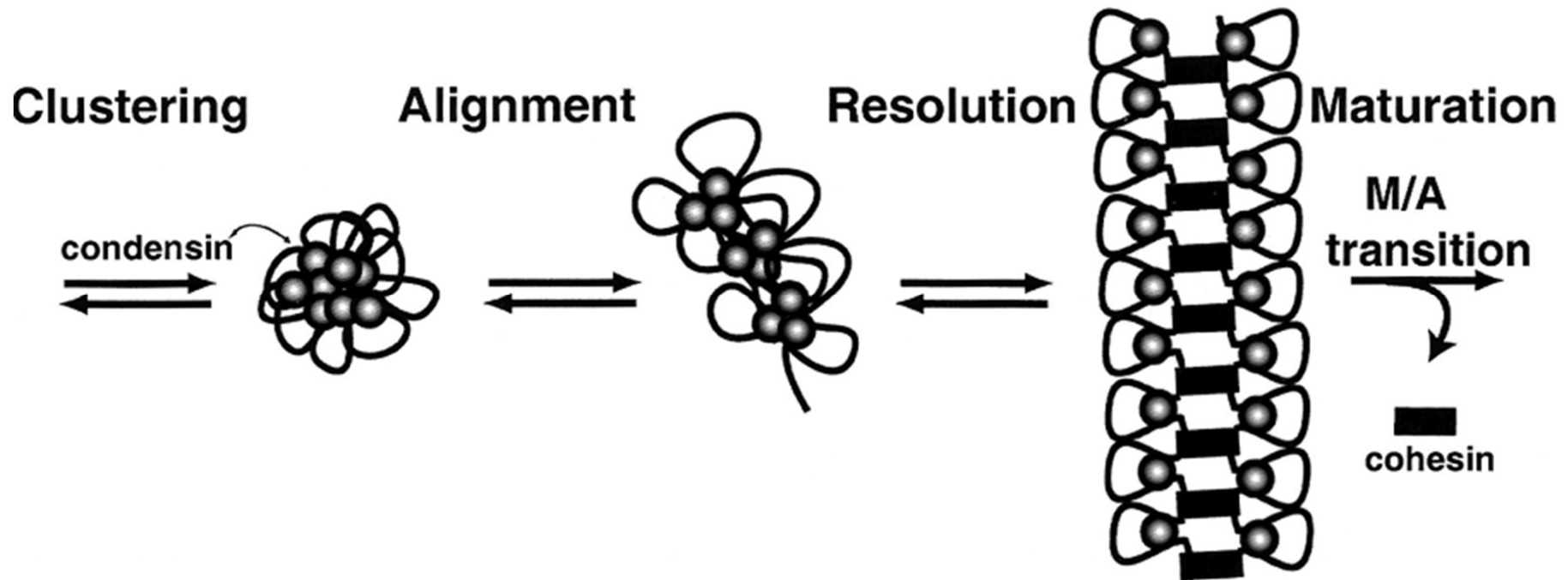


B



Profáze: kondenzace chromozomů – kondenziny

(od S fáze už je koheze sesterských chromatid – koheziny)



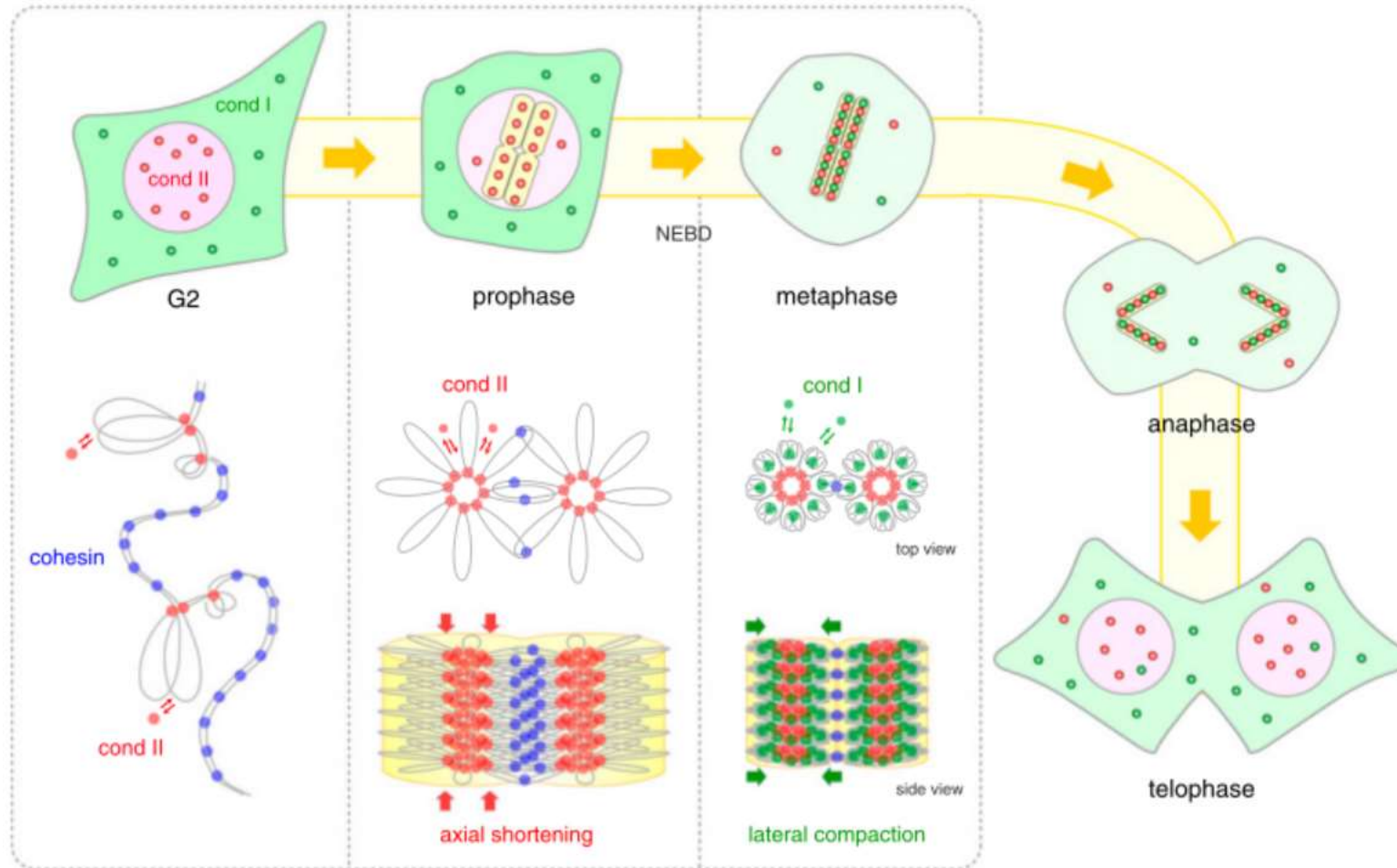
Sesterské chromatidy zůstávají spojeny po replikaci (fáze S)
Kondenzace chromozomů se zvyšuje v profázi

Brigitte D. Lavoie et al. Genes Dev. 2004; 18: 76-87

Cold Spring Harbor Laboratory Press

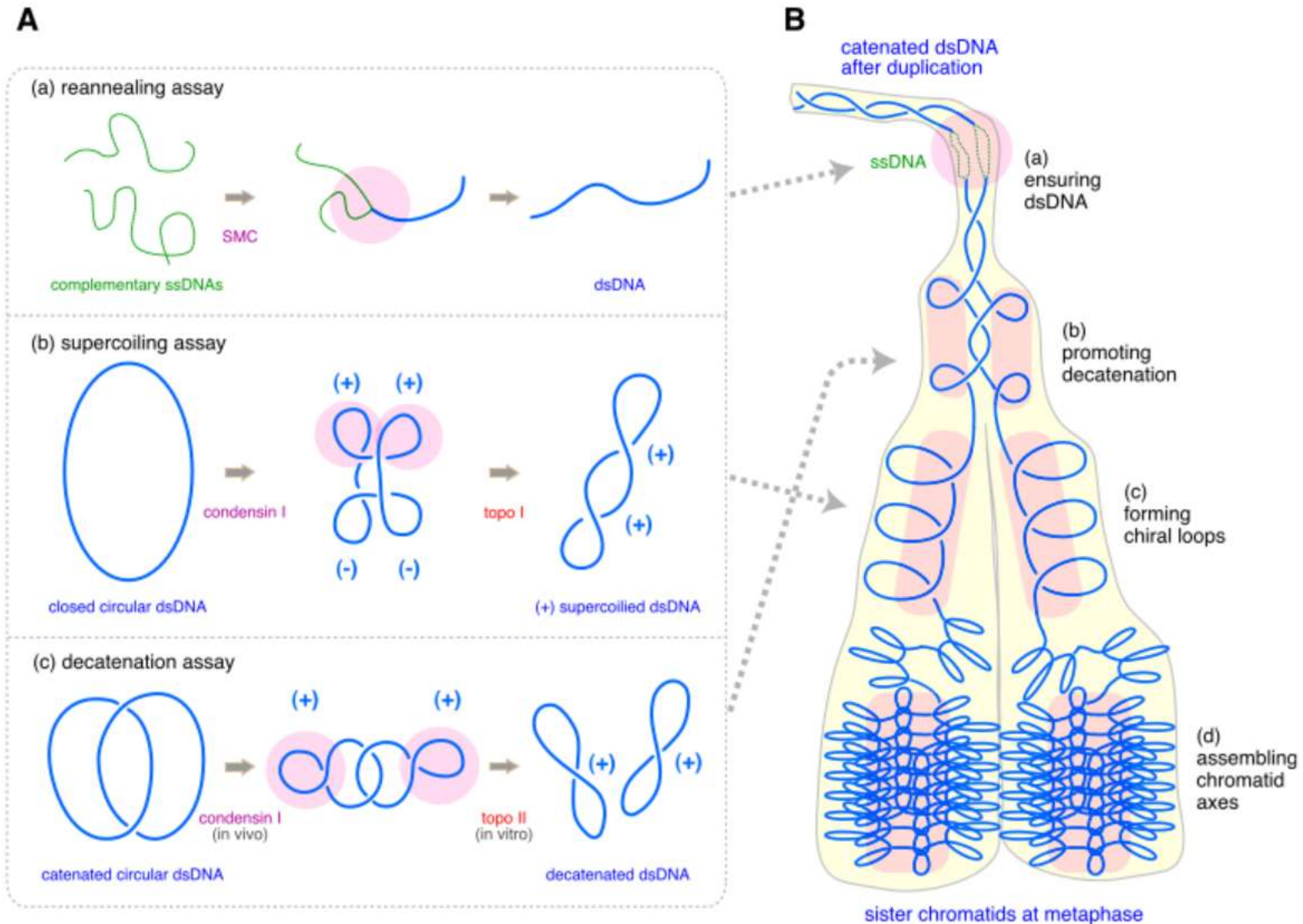


Profáze: kondenzace chromozomů – kondenziny



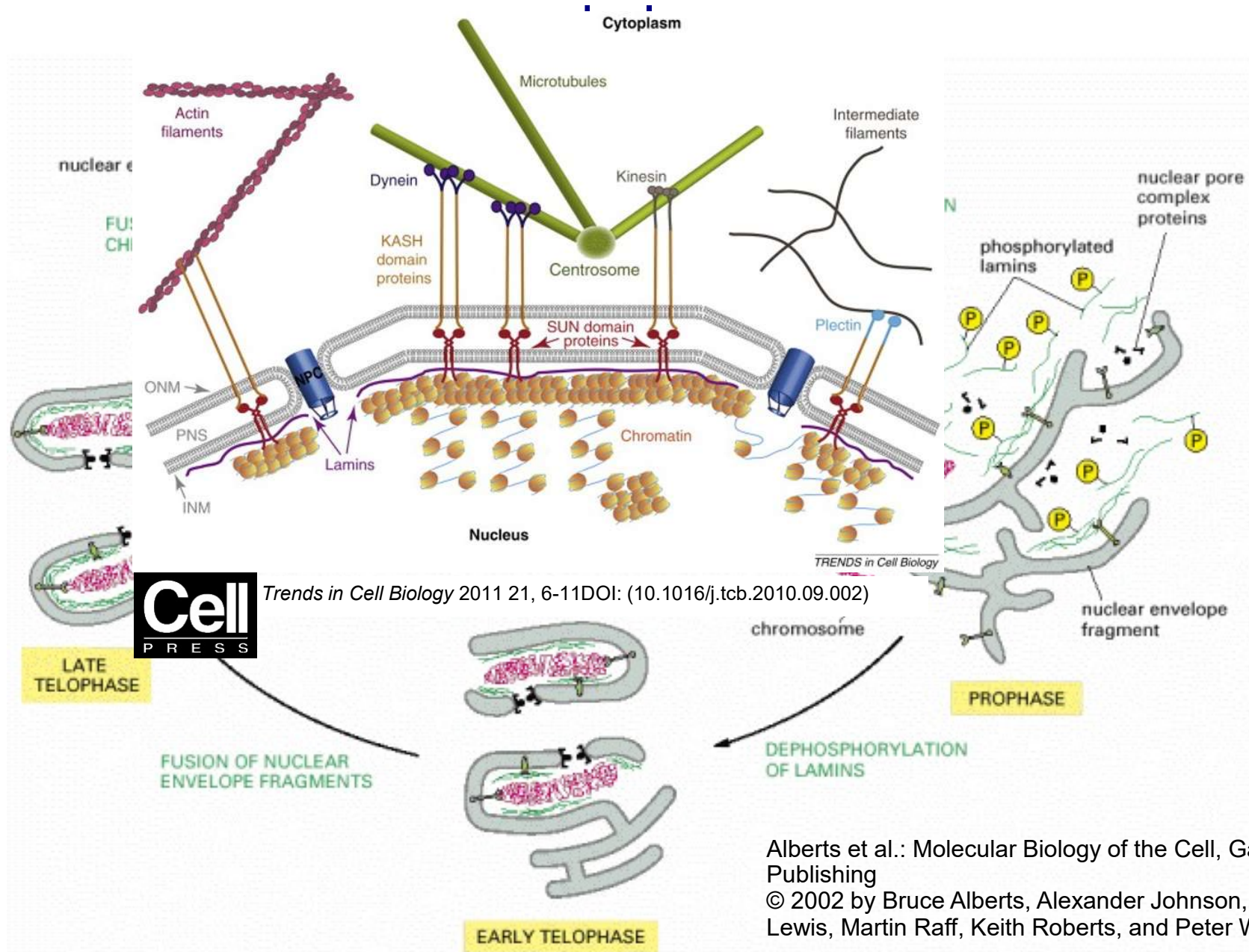
Hirano T. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions. *Genes Dev.* 2012;26(15):1659–1678. doi:10.1101/gad.194746.112

Profáze: kondenzace chromozomů – kondenziny

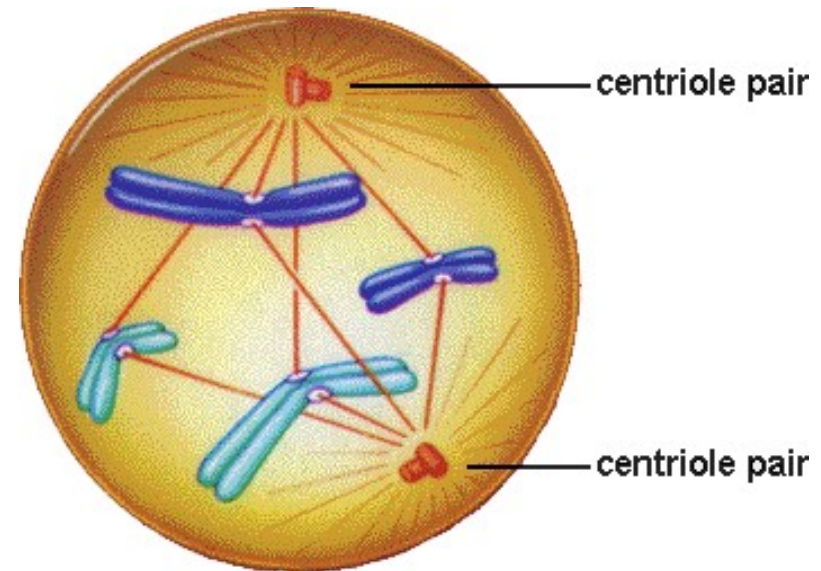
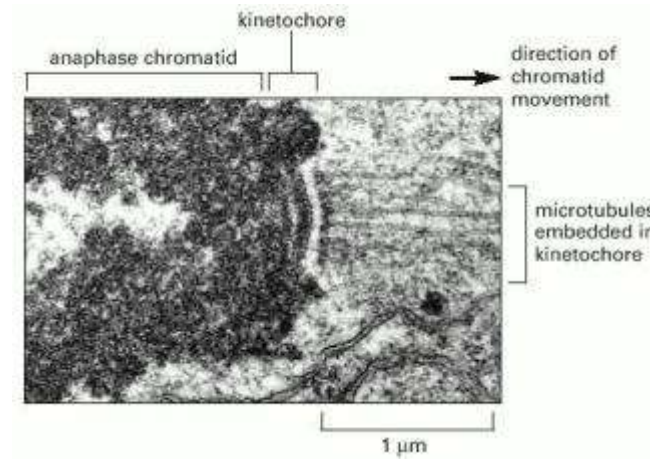
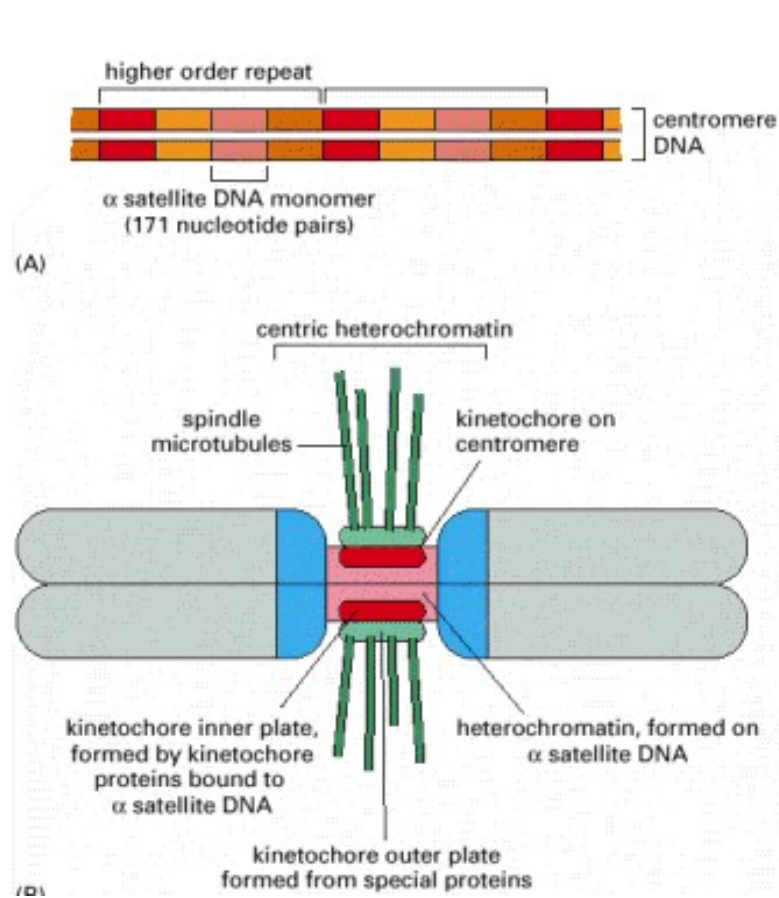


Hirano T. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions. *Genes Dev.* 2012;26(15):1659–1678. doi:10.1101/gad.194746.112

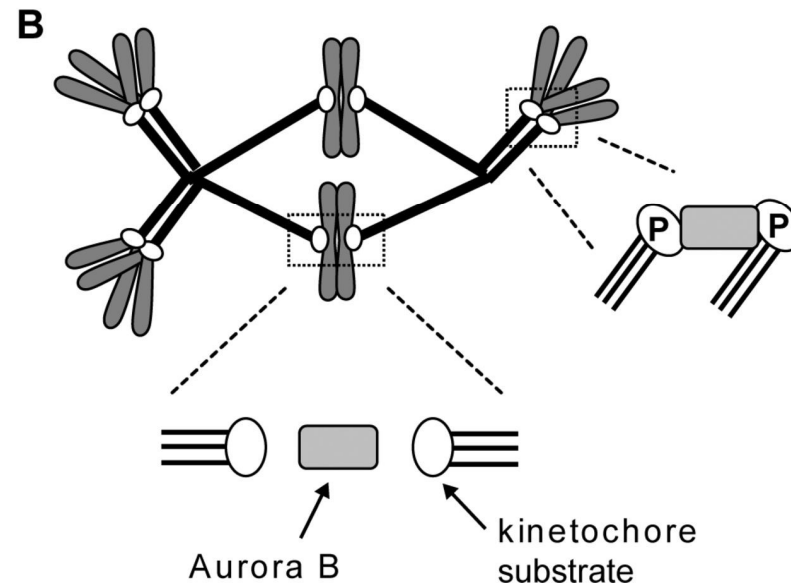
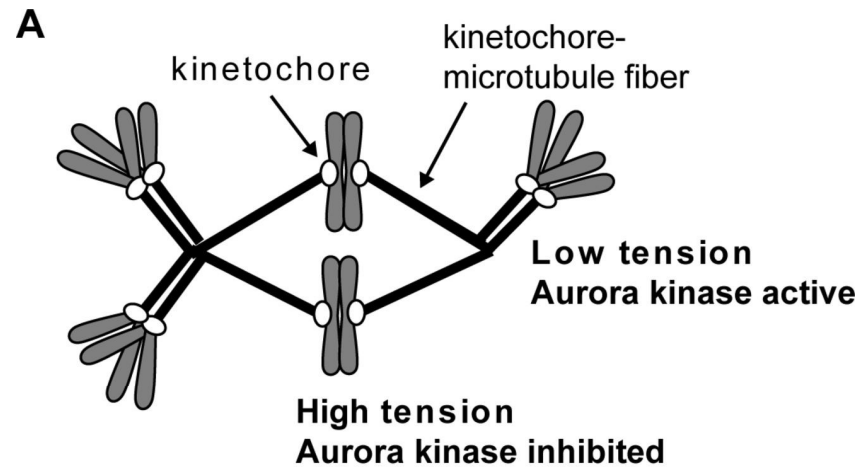
Profáze/prometafáze: disociace a recyklace jaderného



Prometafáze: Centromera, kinetochora, připojení k dělicímu vřeténku



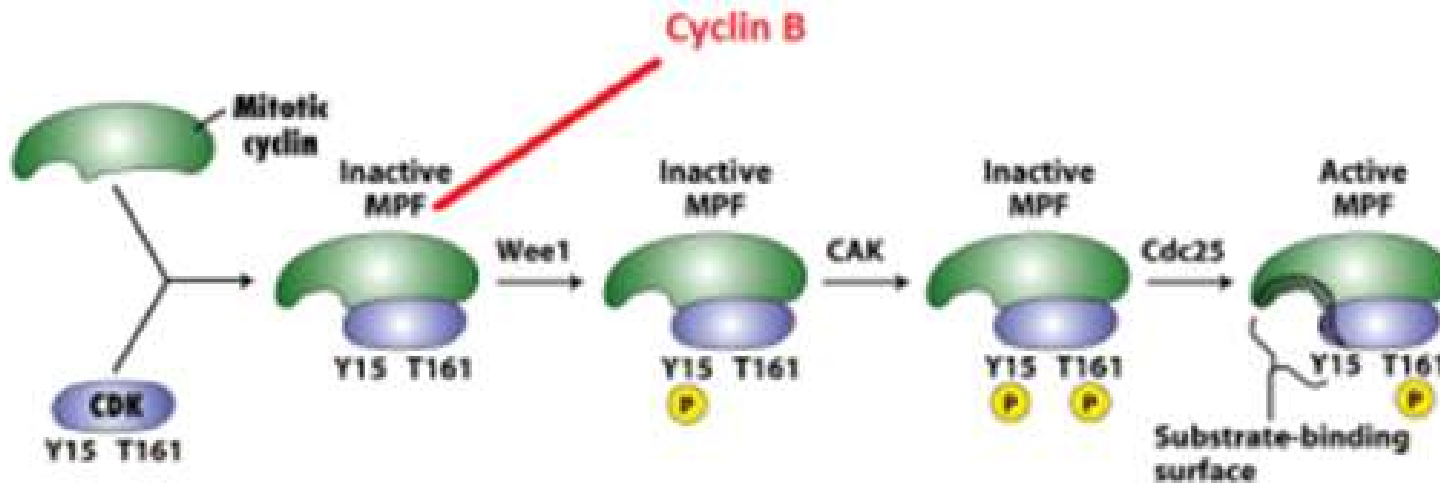
Prometafáze: správné připojení chromozomů



Dan Liu, and Michael A. Lampson *Biochem. Soc. Trans.* 2009;37:976-980

Regulace mitózy I

Hlavní regulační kinázy:
POLO, **CDK1**, Aurora A, Aurora B

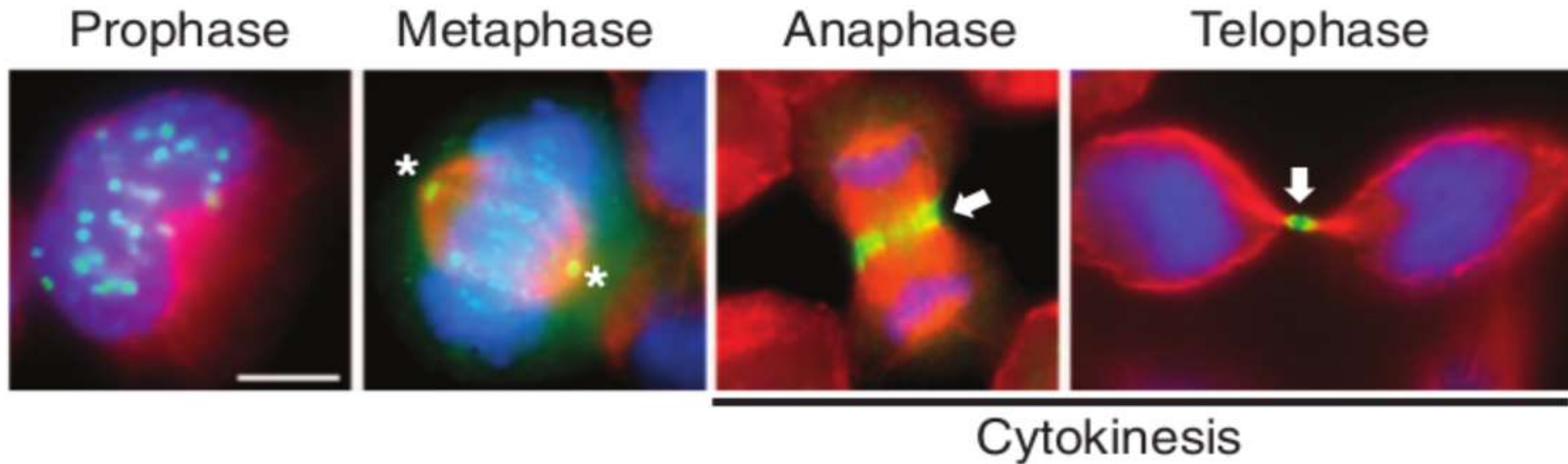


CDK1+cyklin B = mitosis promoting factor. MPF fosforyluje např.:

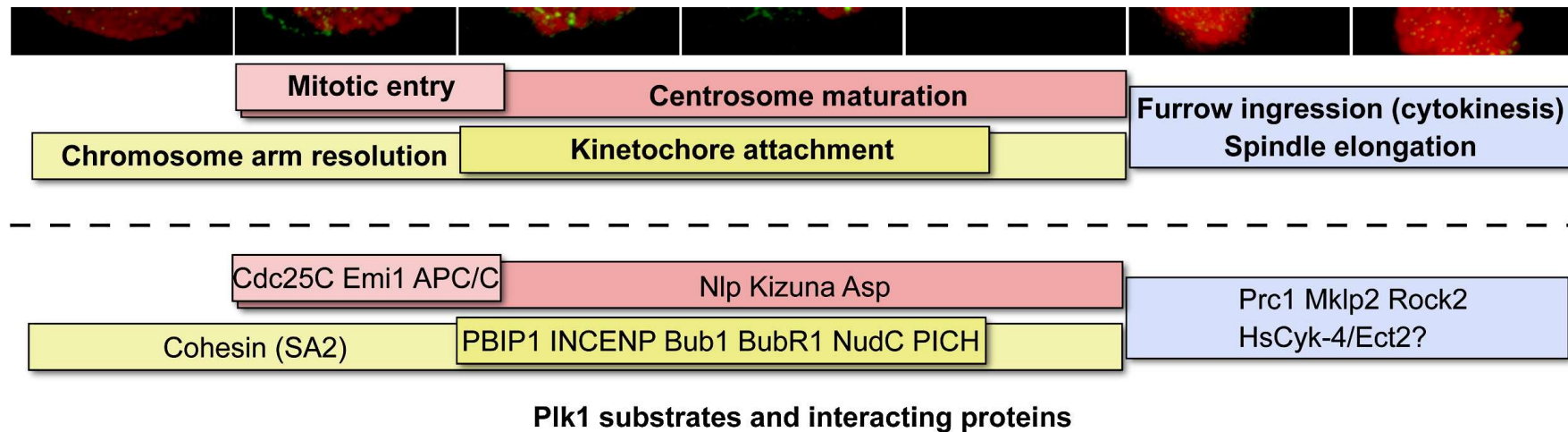
- kondensiny
- různé proteiny asociované s mikrotubuly (dělicí vřeténko)
- laminy
- histony H1 a H3
- Golgi matrix (fragmentace)
- myosin (inhibice cytokineze)
- APC

Cyklin B je polyubiquitinován APC – degradace

Regulace mitózy II – kináza POLO

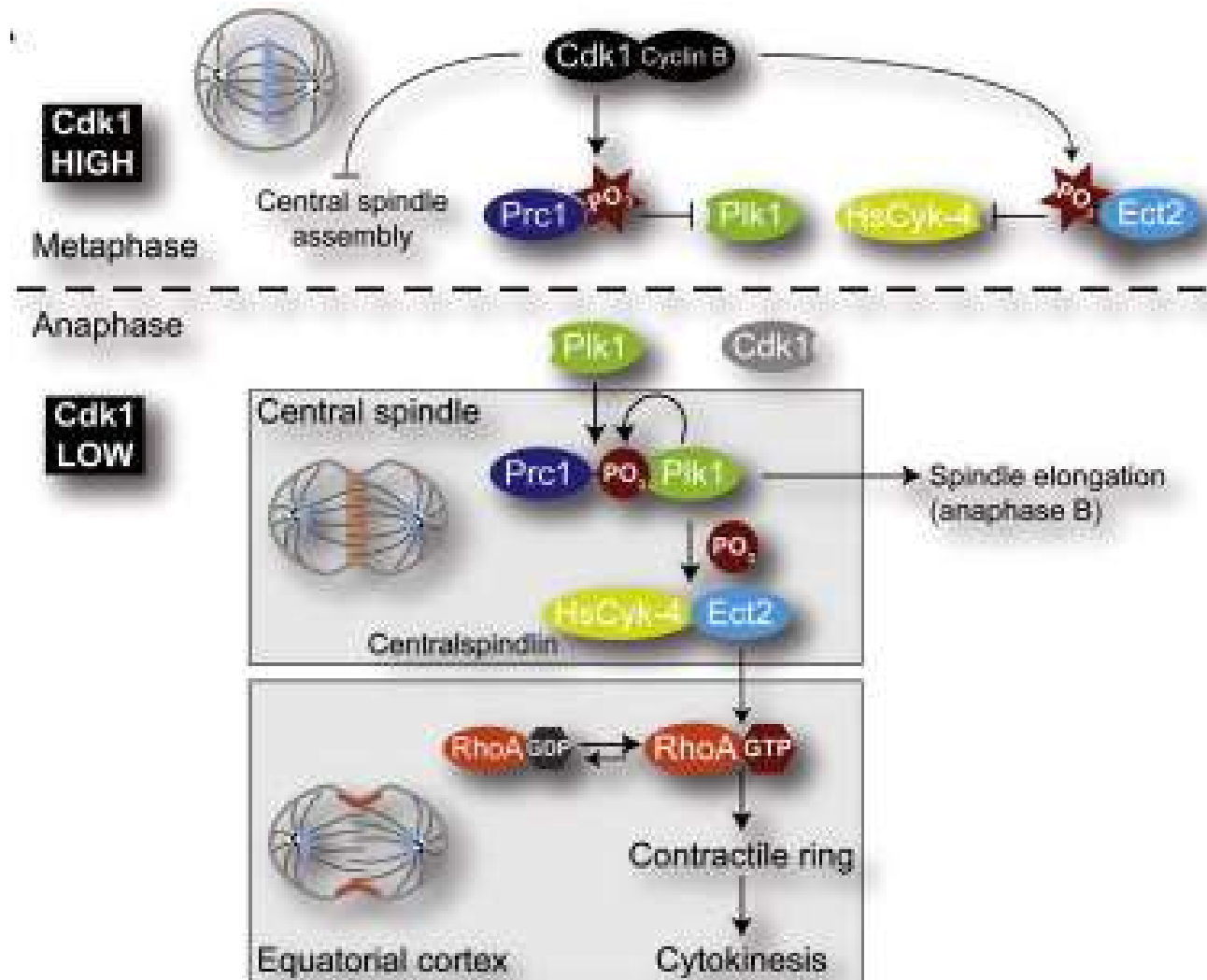


V Archambault et al. Understanding the Polo Kinase machine Oncogene (2015), 1–9

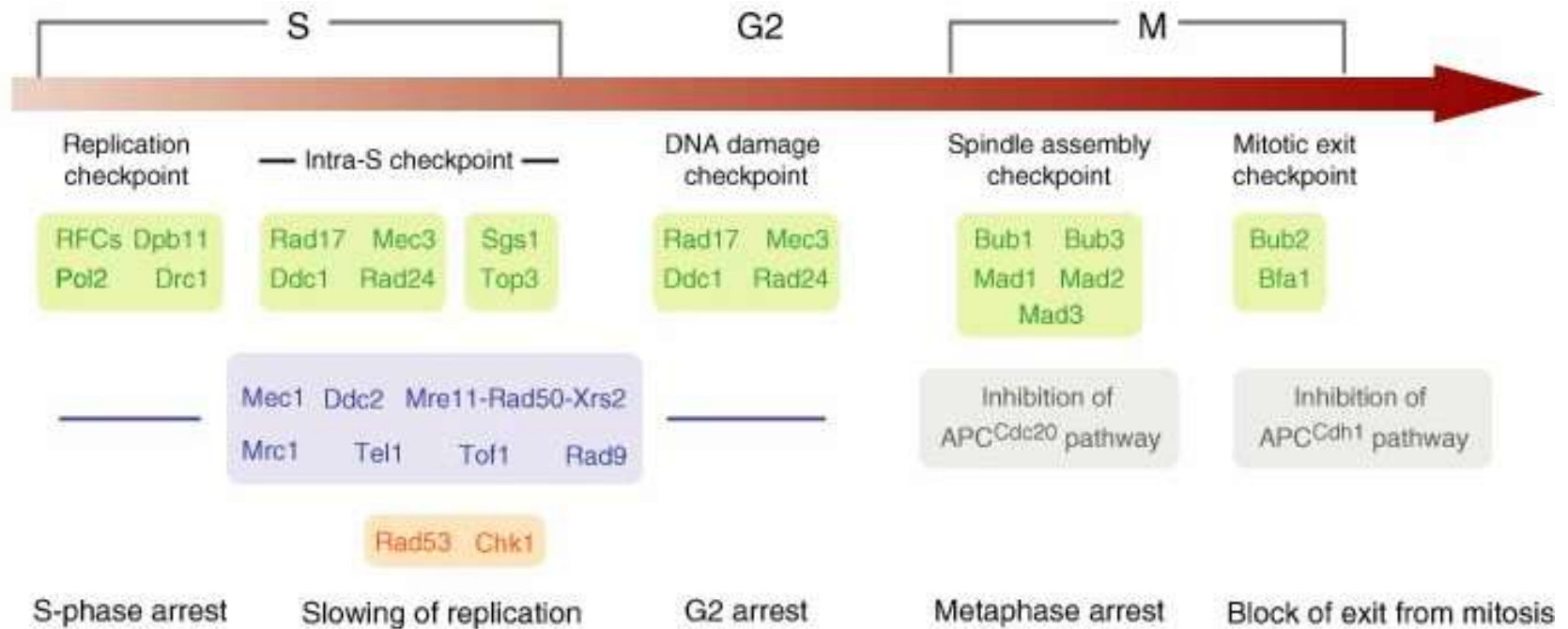


Petronczki et al. Polo on the Rise—from Mitotic Entry to Cytokinesis with Plk1 Dev Cell 4(5),2008,646-659

Regulace mitózy II – kináza POLO př. cytokineze

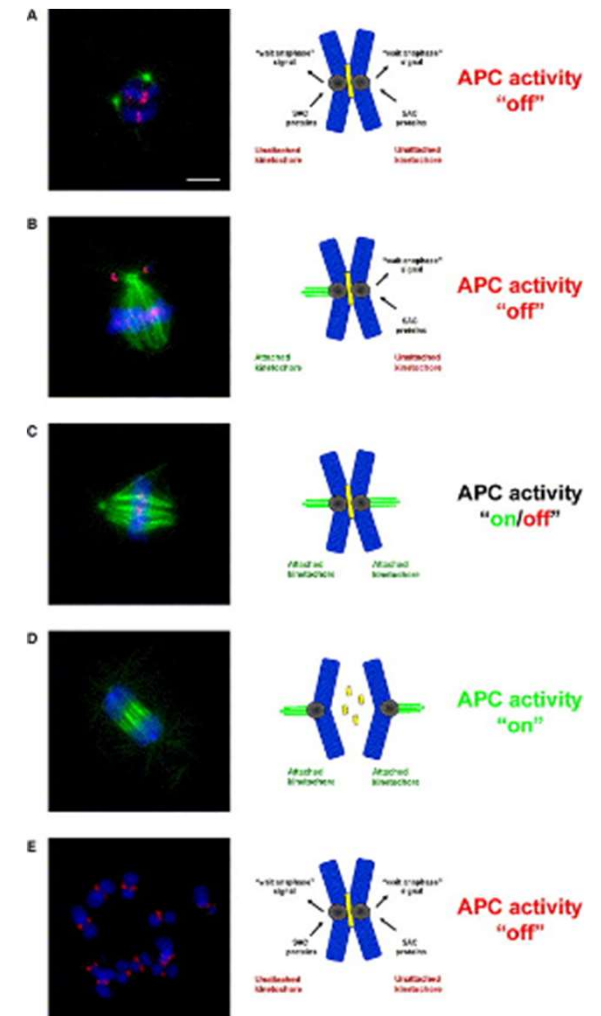
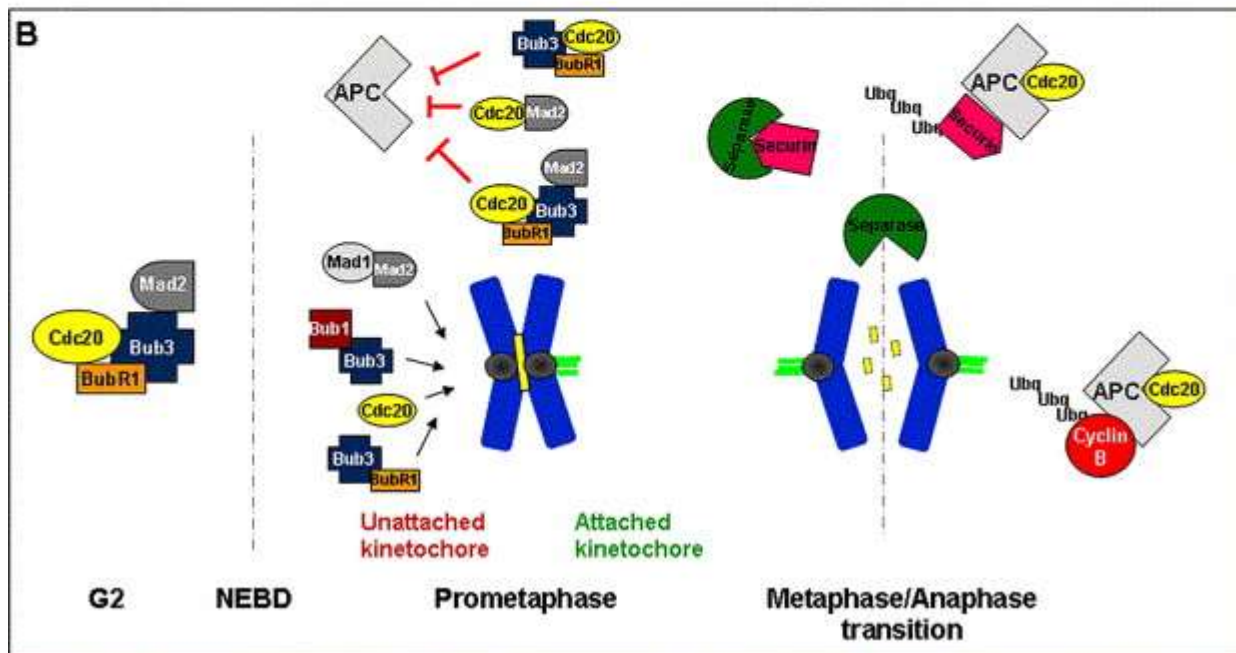
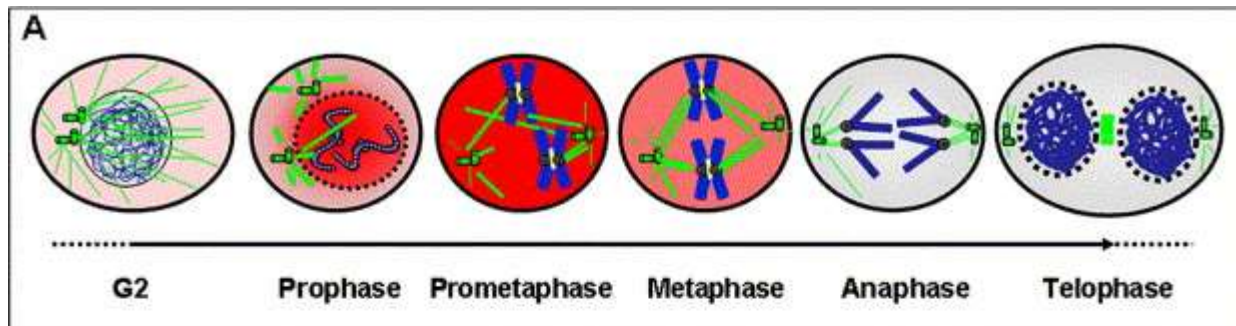


Kontrolní body buněčného cyklu situace u *Sacharomyces cerevisiae*



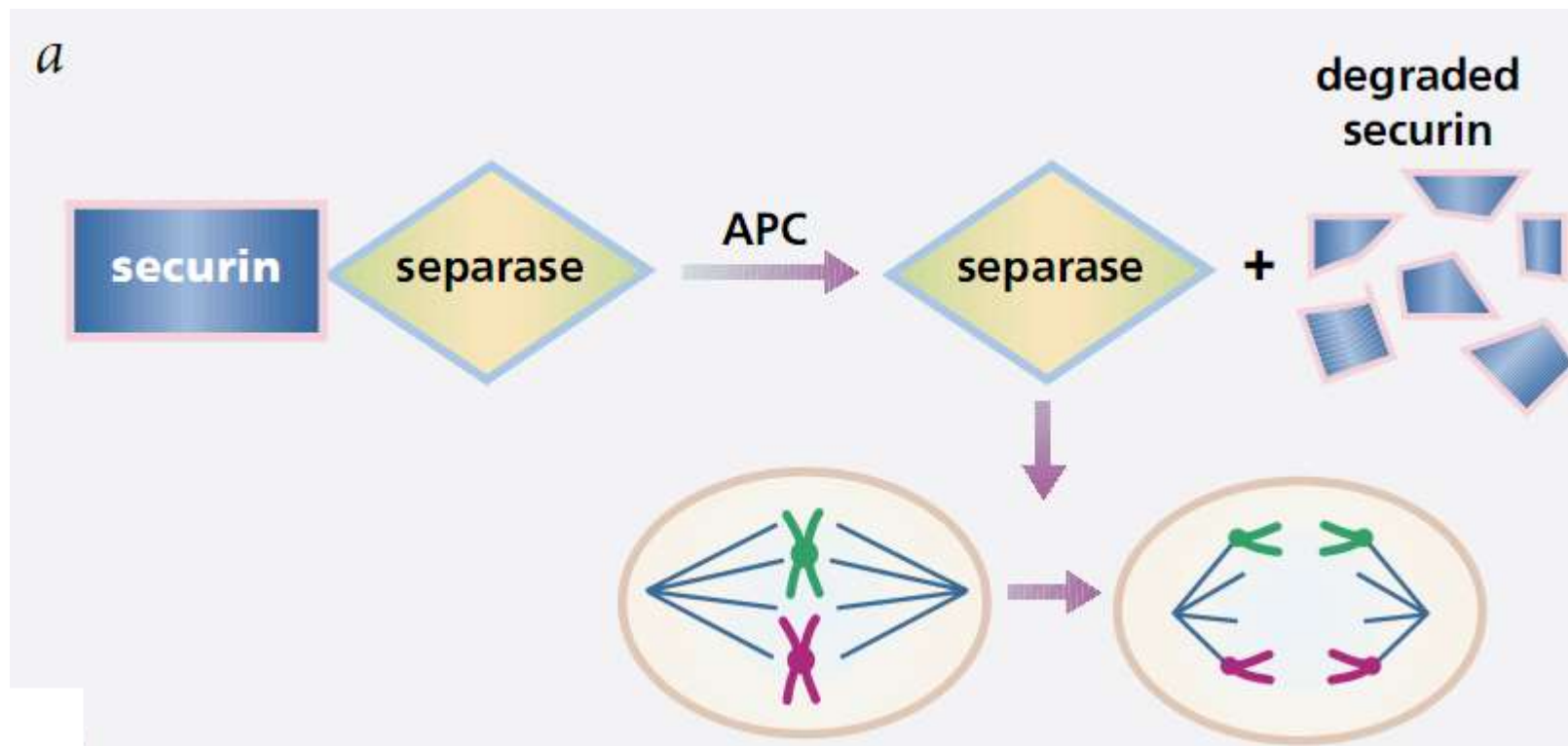
AR Ghosh SK, et al. 2006.
Annu. Rev. Biochem. 75:211–41

Metafáze: Spindle assembly checkpoint



Malmanche, N., Maia, A., and Sunkel, C.E. 2006. The spindle assembly checkpoint: Preventing chromosome mis-segregation during mitosis and meiosis. *FEBS Letters* **580**: 2888-2895.

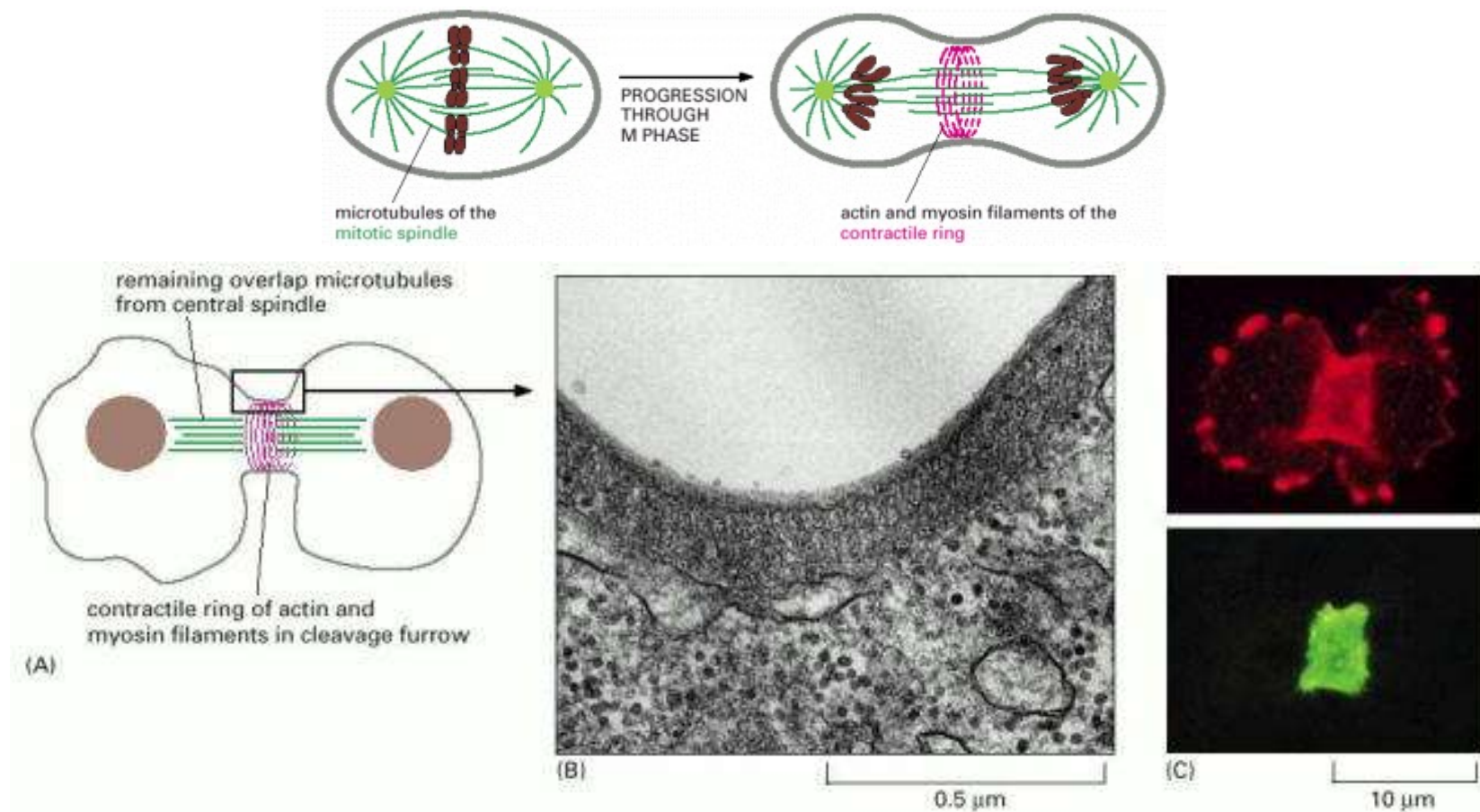
Separáza štěpí kohesin při přechodu z metafáze do anafáze



Anil K. Rustgi, Nat Genet 32, 122-3

Securin in the cell cycle. Securin inhibits separase, a cysteine protease, until anaphase initiation. The APC (anaphase-promoting complex), a cell-cycle regulated ubiquitin ligase, modulates securin degradation. Separase mediates sister chromatid separation during mitosis.

Cytokineze – aktin, myosin, tubulin

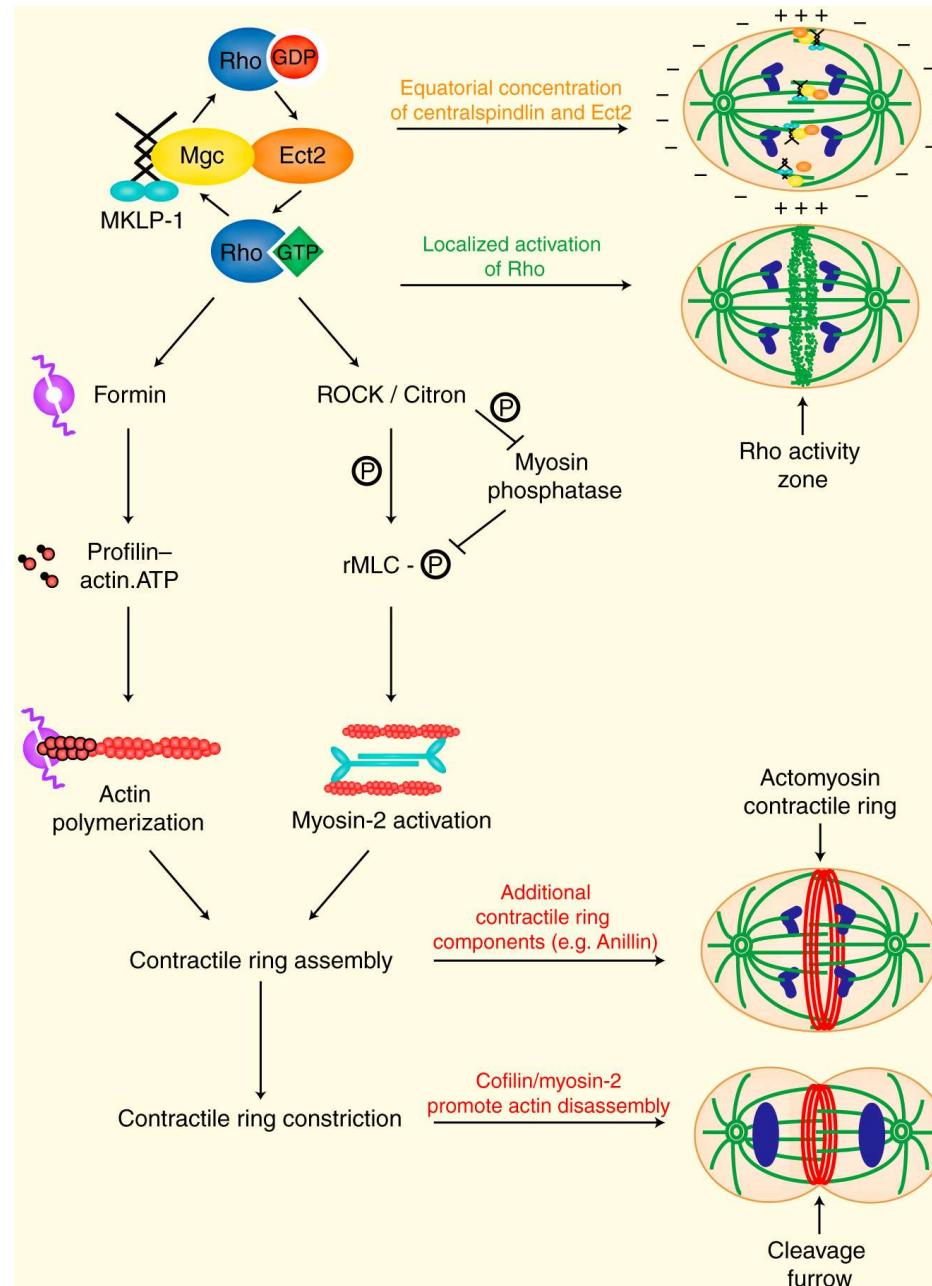


The contractile ring. (A) A drawing of the cleavage furrow in a dividing cell. (B) An electron micrograph of the ingrowing edge of a cleavage furrow of a dividing animal cell. (C) Fluorescence micrographs of a dividing slime mold amoeba stained for actin (red) and myosin II (green). Whereas all of the visible myosin II has redistributed to the contractile ring, only some of the actin has done so; the rest remains in the cortex of the nascent daughter cells. (B, from H.W. Beams and R.G. Kessel, *Am. Sci.* 64:279–290, 1976; C, courtesy of Yoshio Fukui.)

Alberts et al.: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing

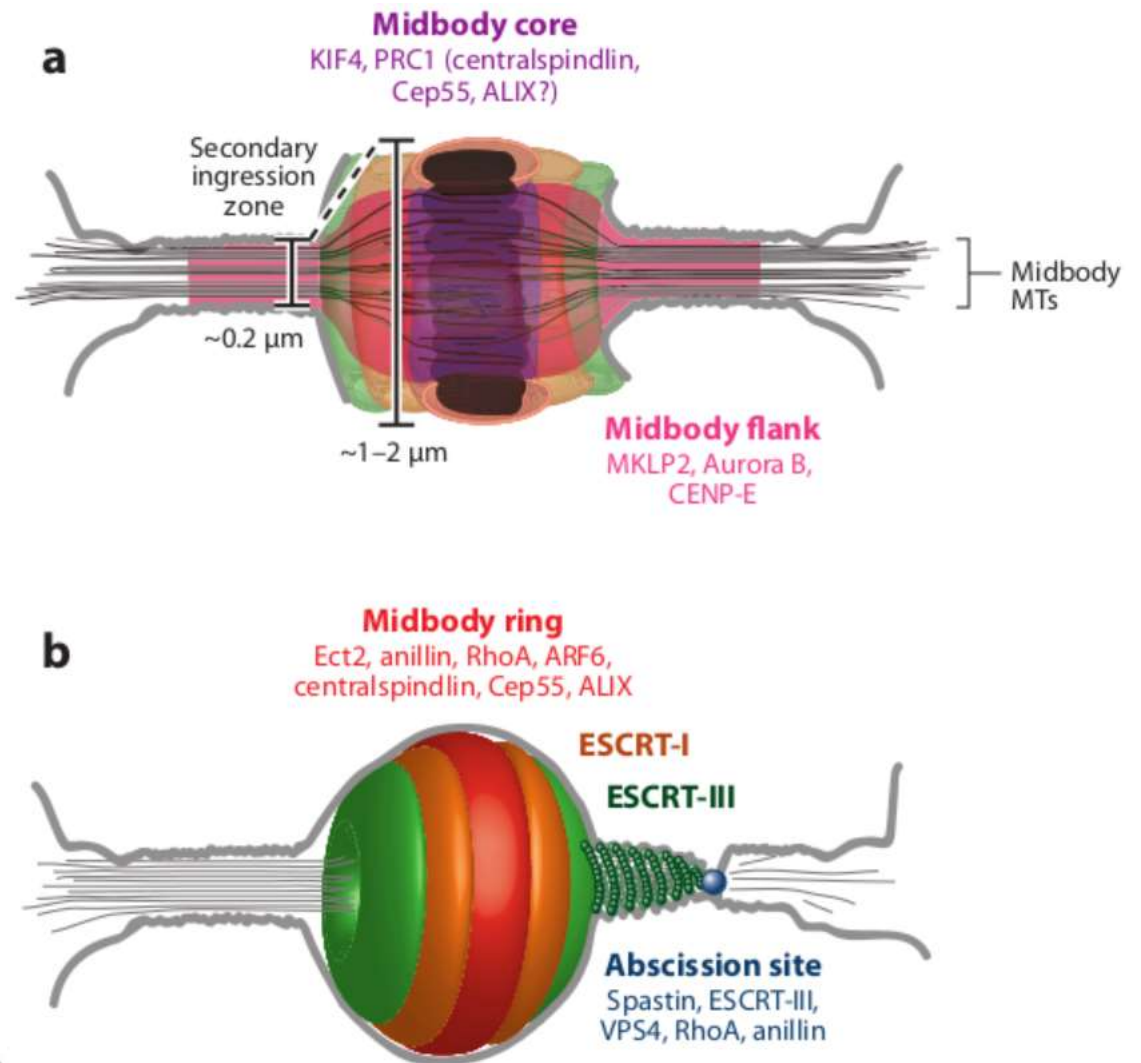
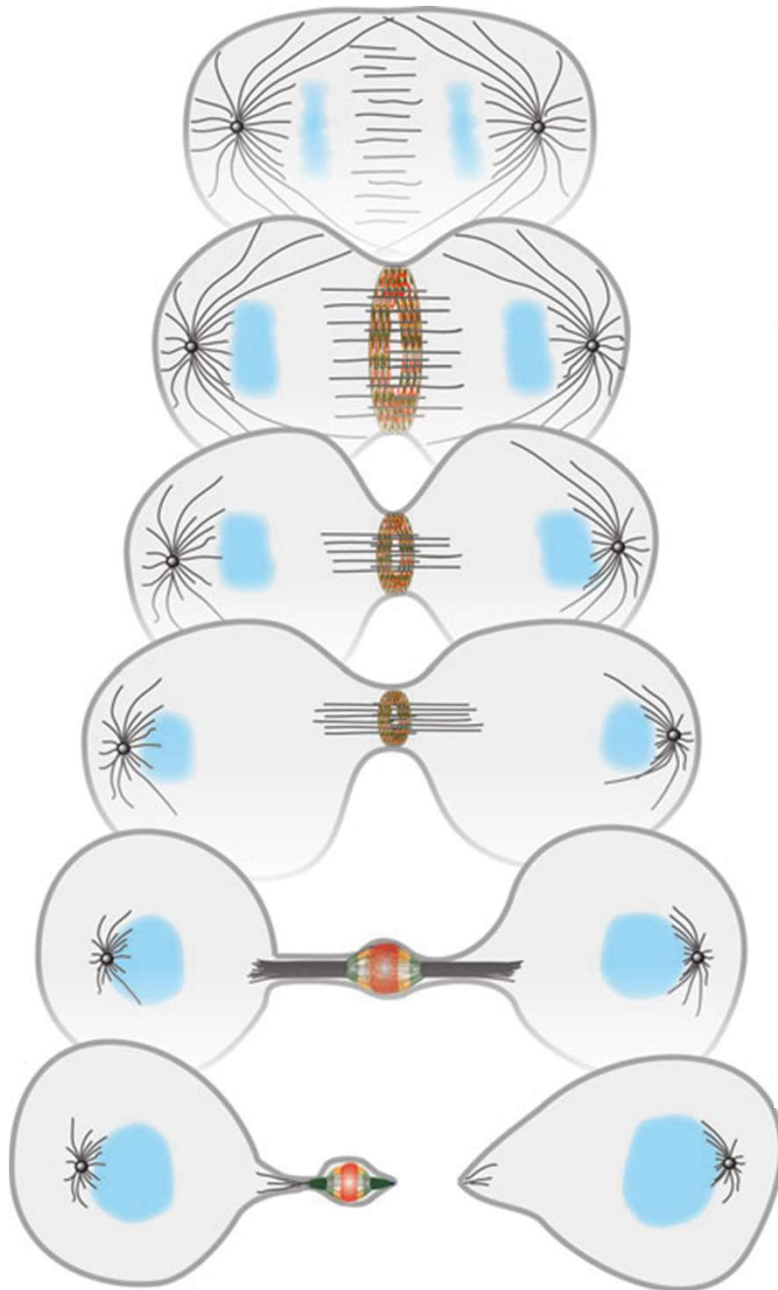
© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Cytokineze – kontraktlní prstenec



Miller AL. The contractile ring. *Curr Biol.* 2011;21(24):R976–R978. doi:10.1016/j.cub.2011.10.044

Cytokineze – oddělení membrán



Green, R. A., Paluch, E., & Oegema, K. (2012). *Cytokinesis in Animal Cells. Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28(1), 29–58. doi:10.1146/annurev-cellbio-101011-155718

Poruchy mitózy

pokud nejsou letální, mohou způsobit **polyploidii** nebo **aneuploidii**

důsledky:

a) **nádory** – většina nádorových buněk je aneuploidní, většinou ale není možné říct, zdali aneuploidie přímo způsobila vznik nádoru (nádorová transformace buňky) nebo podněcuje progresi nádoru, nebo je jen náhodným důsledkem genetické nestability nádorových buněk

b) **mosaicizmus** (v časném embryonálním vývoji) např. 46 XX /47, XX +21

mechanizmy vzniku aneuploidie:

a) porucha připojení chromozomu k dělicímu vřeténku

b) selhání cytokineze

c) multipolární mitóza

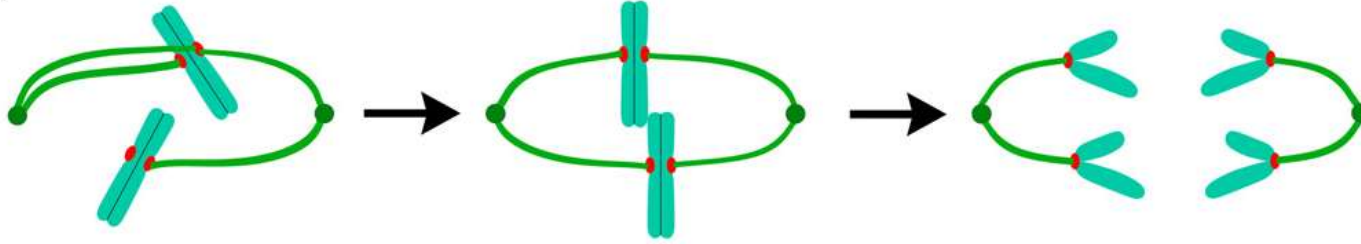
mechanizmy vzniku polyploidie

d) porucha synchronizace S fáze/mitóza (centrozomy, viz c)

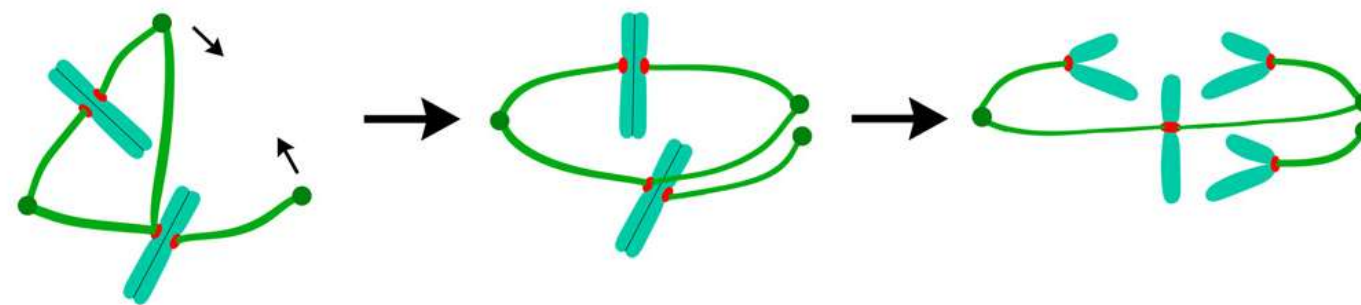
etiologie – genetická I faktory prostředí

Poruchy mitózy vedoucí k aneuploidiím

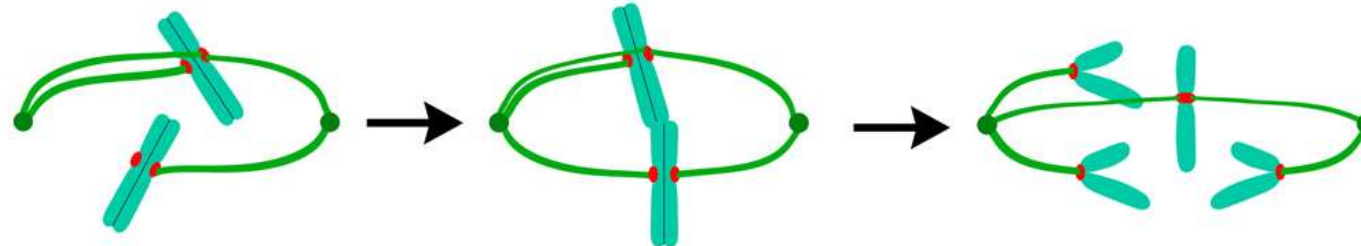
(a) normal mitosis



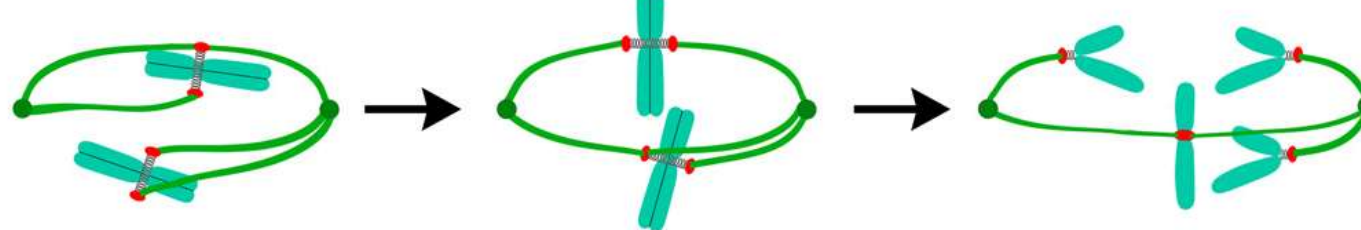
(b) multiple centrosomes



(c) reduced error correction

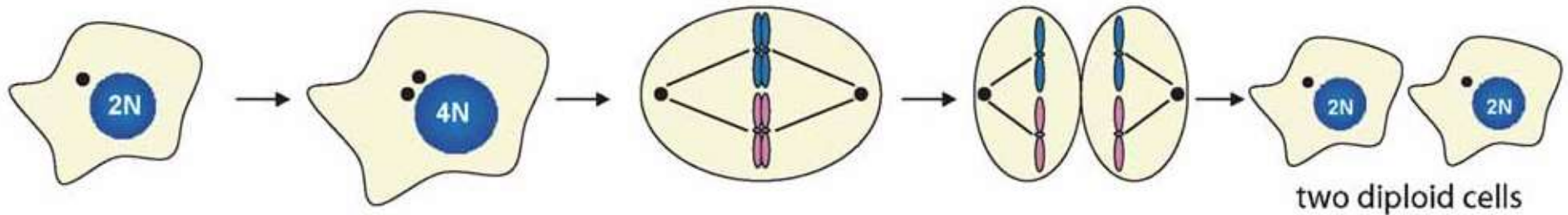


(d) reduced centromere cohesion

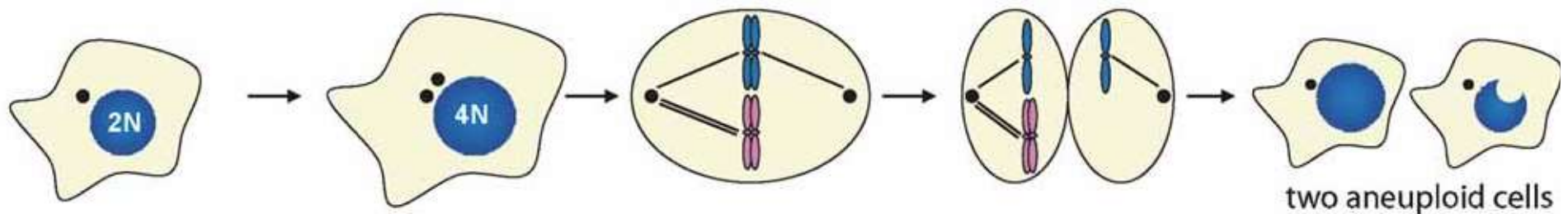


Poruchy mitózy vedoucí k aneuploidiím

normal division



i) improper attachment of chromosomes to mitotic spindles

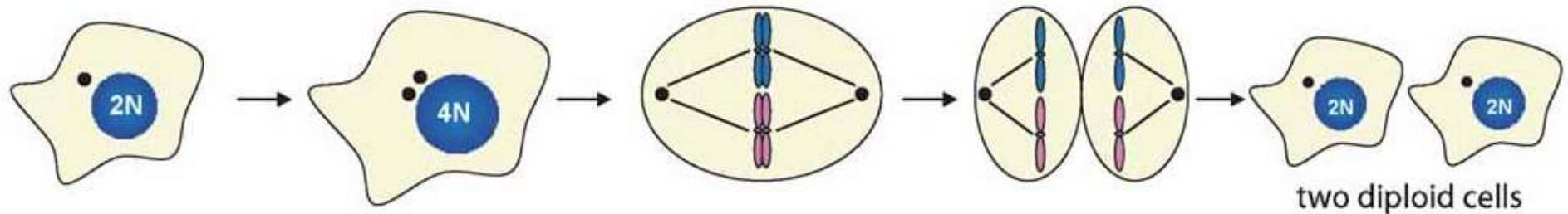


Mitotická nondisjunkce je selháním “spindle assembly checkpoint”.

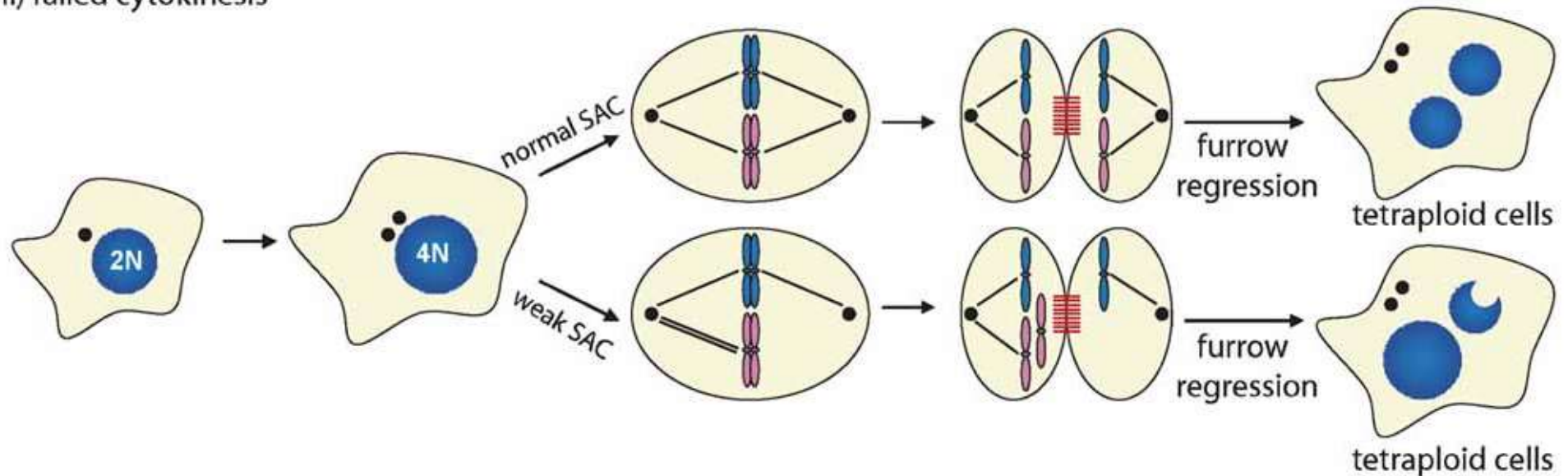
- a) mutace v genech SAC – zřídka u nádorových buněk (tyto mutace většinou vedou k „zestárnutí“ buňky)
- b) látky ovlivňující mikrotubuly (vinblastin, kolchicin, taxol, nocodazol, etc.)
- c) viry – HPV (E6 a E7 inaktivují SAC), HTLV1 (Tax inaktivuje Mad1)

Poruchy mitózy – selhání cytokineze

normal division



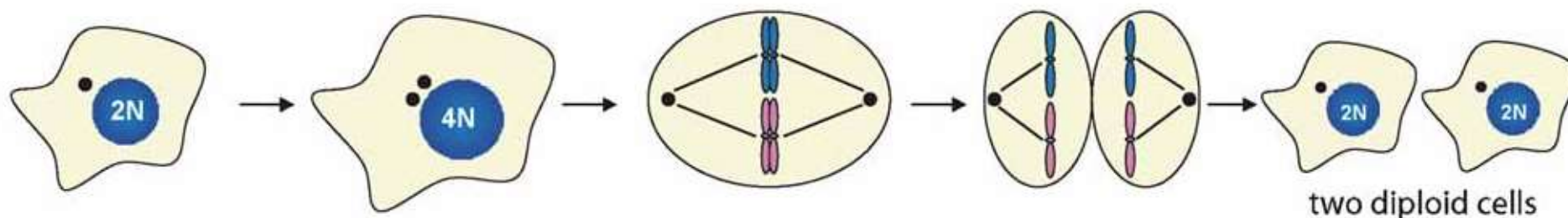
ii) failed cytokinesis



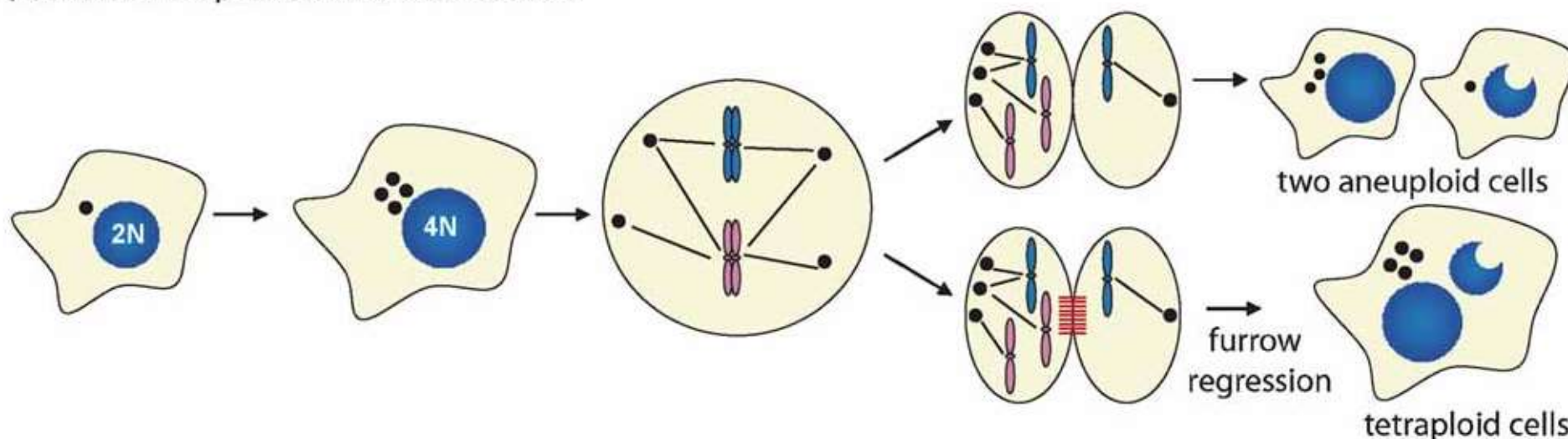
Potomstvo vzniklých tetraploidních buněk je nestabilní, dochází k druhotné ztrátě chromozomů, výsledkem je hyperdiploidní stav

Poruchy mitózy – příliš duplikací centrozomu

normal division



iii) abnormal amplification of centrosomes



Multipolární mitóza. Synchronizace replikace DNA a duplikace centrozomu vyžaduje celou řadu proteinů jak z jádra, tak z centrozomu (a zejména těch, které mohou “pendlovat”). Př. BRCA2, p53.

Meióza

- Buněčné dělení nezbytné pro pohlavní rozmnožování
- Porucha meiózy vede k abnormálnímu karyotypu gamety → zygoty → všech buněk celého těla

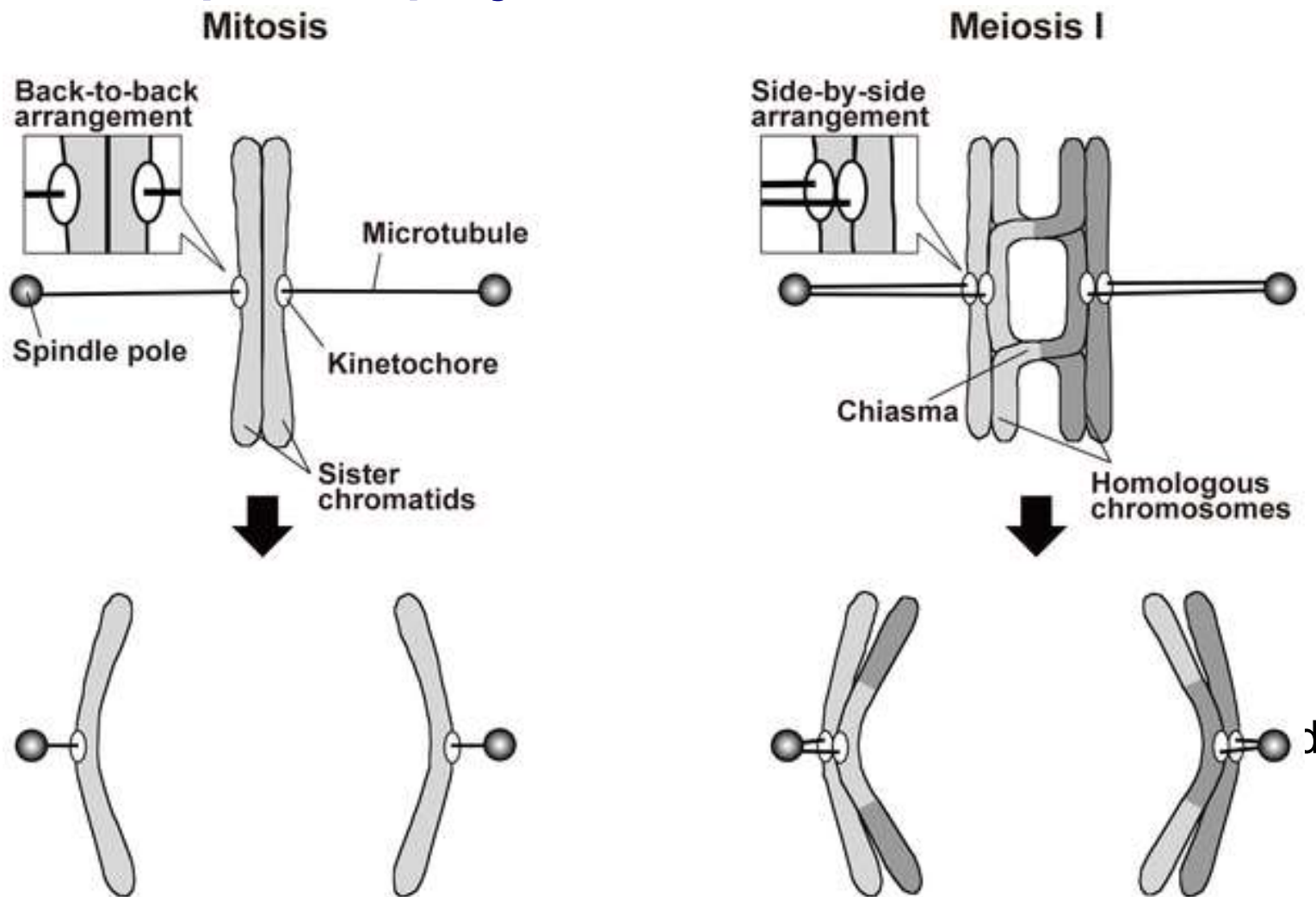
Reprodukční cyklus

- **meióza** – redukční dělení – vytváří **haploidní gamety** (jedna kopie každého chromozomu ... také jedna kopie každého genu)
- během oplození, dvě gamety splývají, vzniká znovu **diploidní zygota**

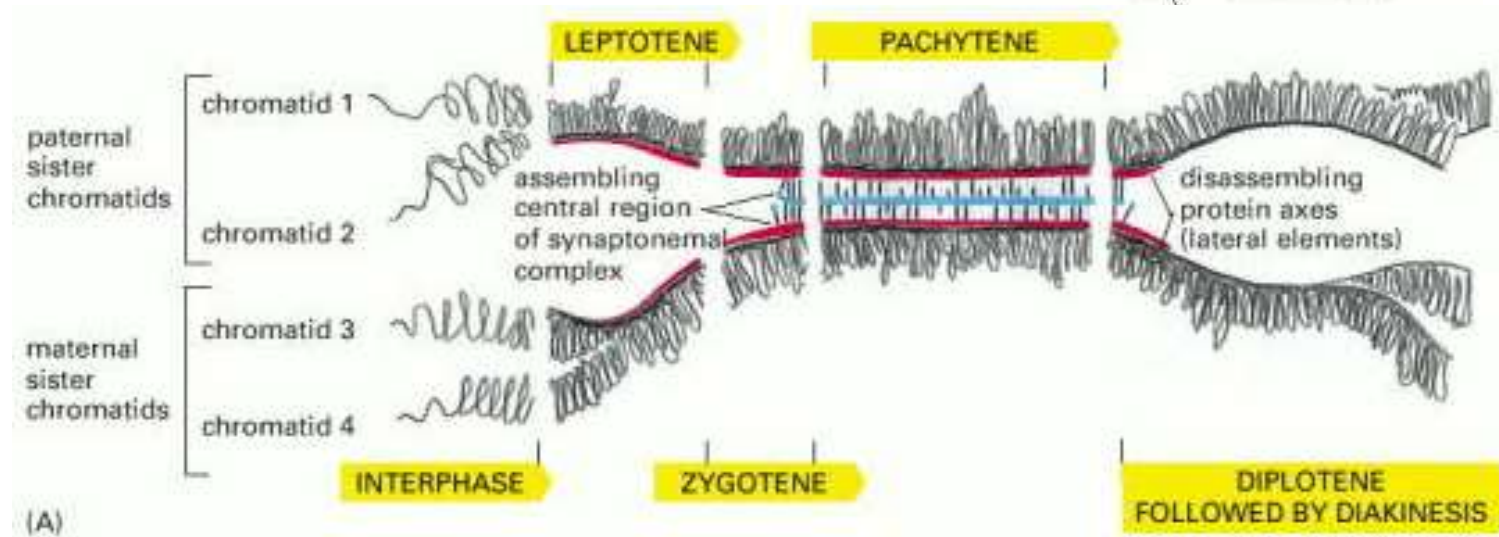
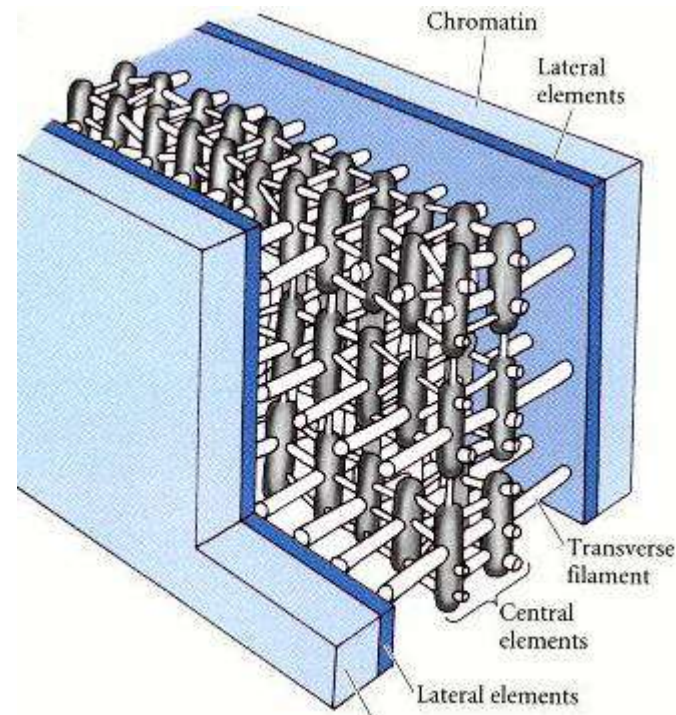
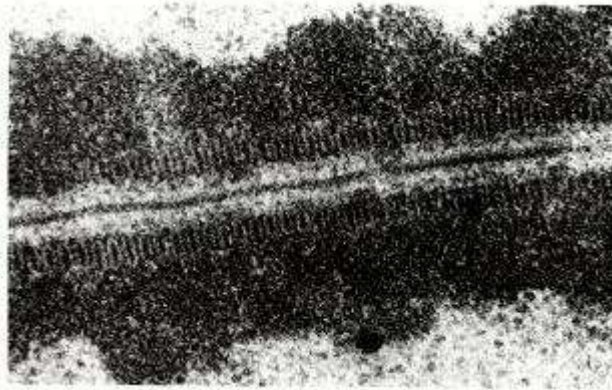
Časování redukce chromozomů - jak by postupoval inženýr

- redukce chromozomů bez replikace (S fáze) by bylo nejjednodušší. Ale nikdo to tak nedělá (protože by bylo nutno přebudovat buněčný cyklus?).
- redukce po replikaci – dobře zapadá do buněčného cyklu, ale protože je každé molekuly DNA 4 kopie, je nutné postoupit **dvě po sobě následující dělení**.
Přebudování buněčného cyklu (vynechání S-fáze před druhým dělením) se stejně nevyhneme, ale alespoň lze při druhém dělení použít recyklované komponenty z prvního dělení.
- nejprve se dělí homologní chromozomy (obtížnější část), potom sesterské chromatidy

Jak zajistit správnou segregaci homologních chromozomů v **meióze I**: opět „spojením k rozdělení“

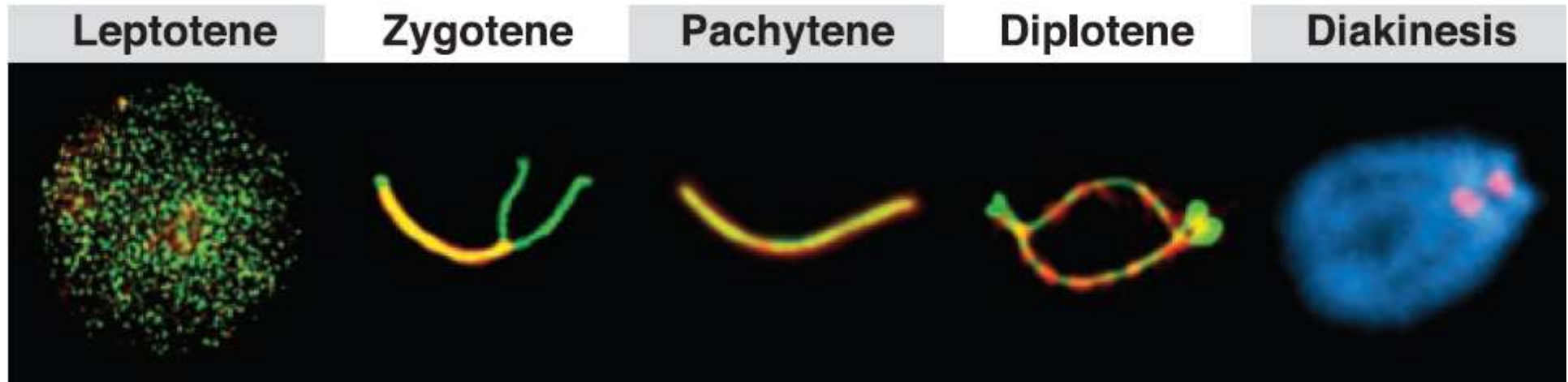


Profáze I: Synaptonemální komplex



Alberts et al.: Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing
 © 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff,
 Keith Roberts, and Peter Walter.

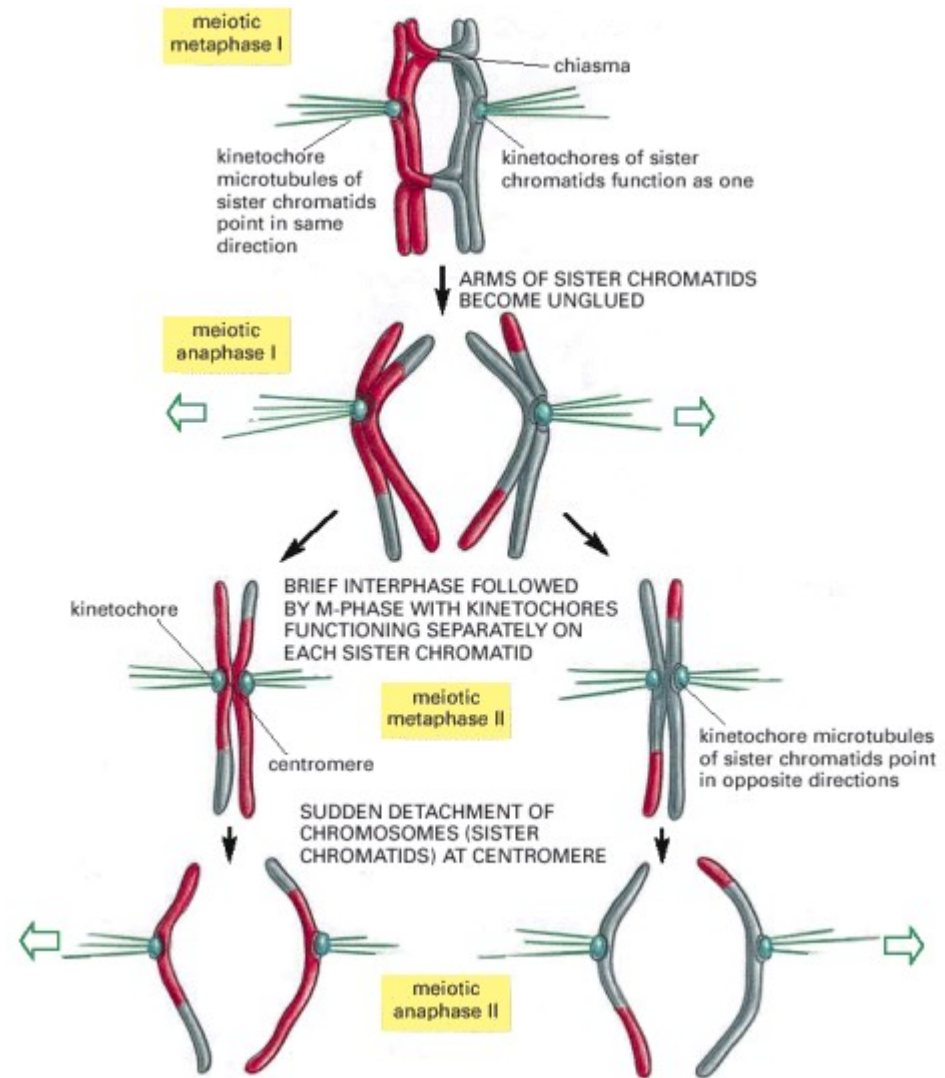
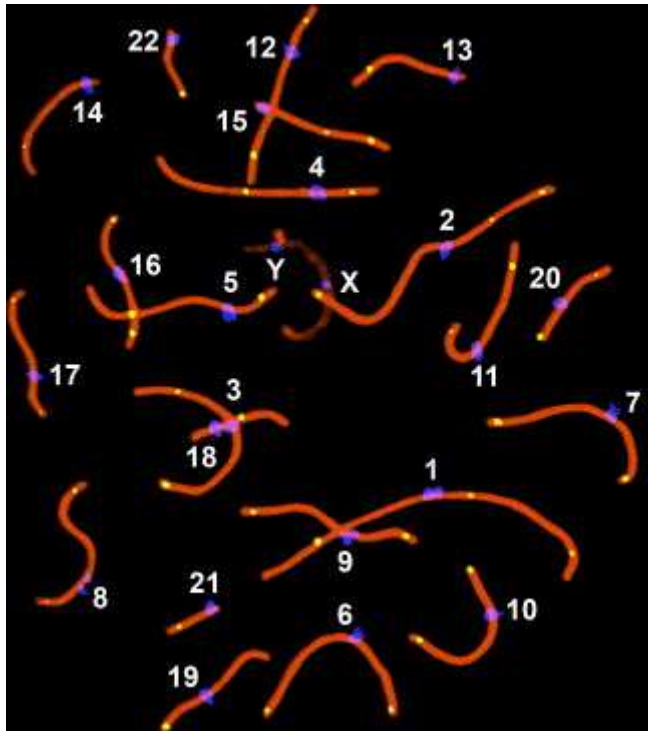
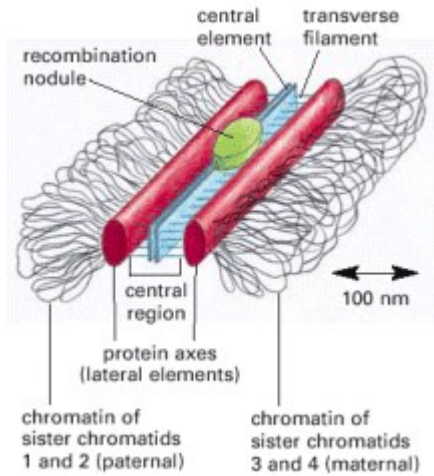
Profáze I je komplikovaná díky párování chromozomů a crossing-overu



Mikrofotografie (imunofluorescence) profáze MI: presynapse (**leptotén**), částečná synapse (**zygotén**), plná synapse (**pachytén**), desynapse (**diplotén**), a “konfigurace bivalentu” (**diakineze** až metafáze I). Složky synaptonemálního komplexu jsou znázorněny na prvních 4 panelech (**SCP1**, červeně; **SCP3**, zeleně); **chromatin** (modře) a kinetochory (červeně) jsou znázorněny jen na posledním snímku kondenzovaného páru chromozomů.

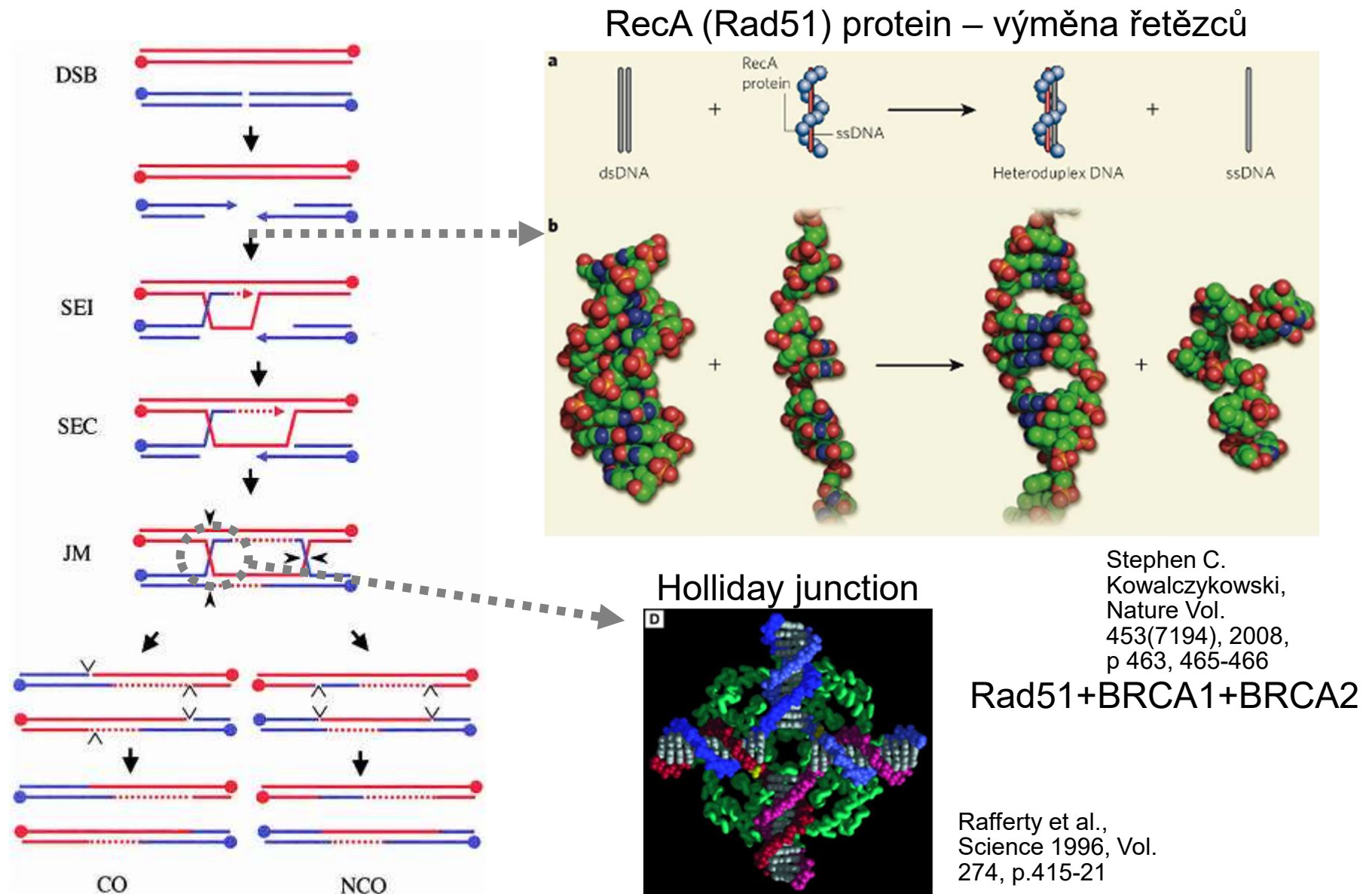
Hunt and Hassold, SCIENCE 296 21 JUNE 2002, 2181-3

Pachytén I: crossing over a rekombinace



Martin, R.H. 2006. Meiotic chromosome abnormalities in human spermatogenesis. *Reproductive Toxicology* **22**: 142-147.

Crossing over a rekombinace - mechanismus



Nancy M. Hollingsworth and Steven J. Brill, Genes Dev. 2004 Vol 18: 117-125 <http://www.youtube.com/watch?v=gQFKdA3VgEg>

další viz přednáška o genové vazbě

Metafáze I – konec: segregace of chromozomů

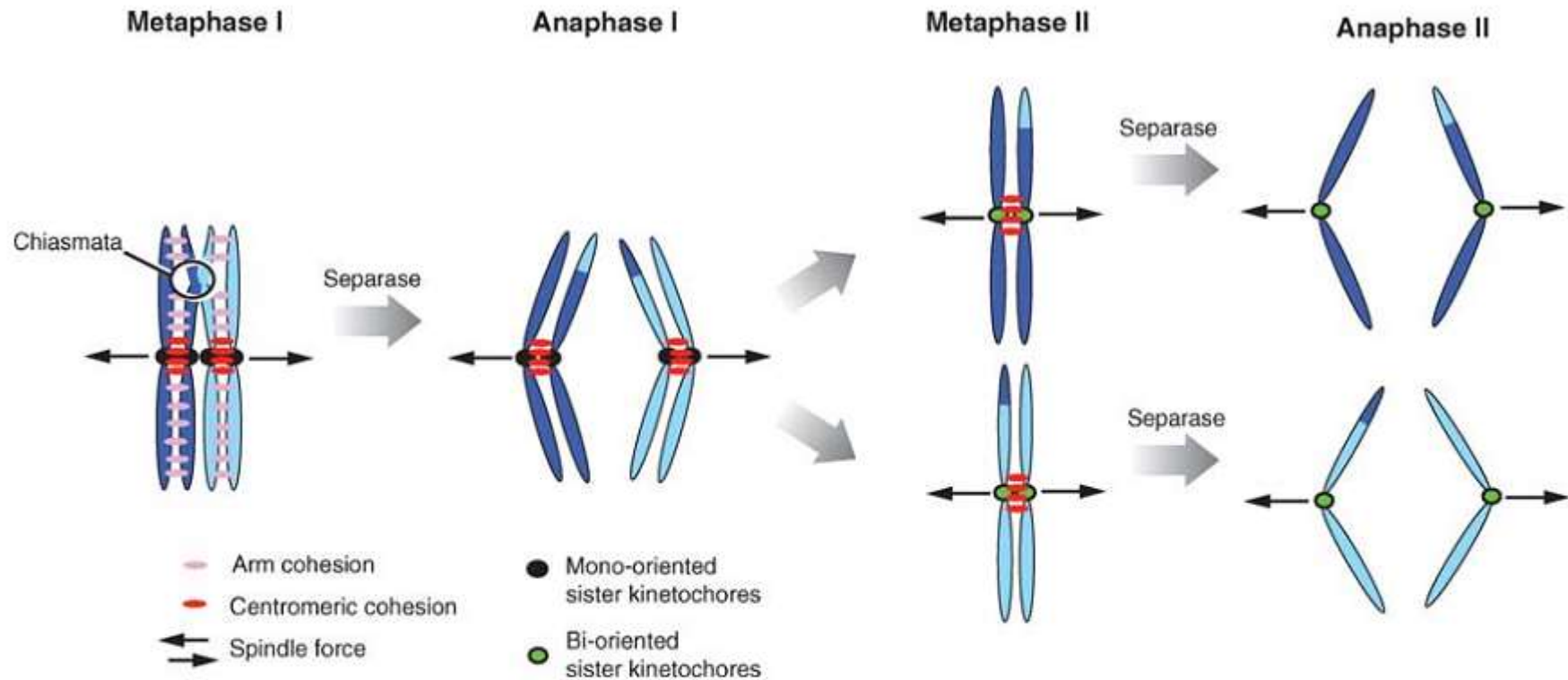


Figure 7

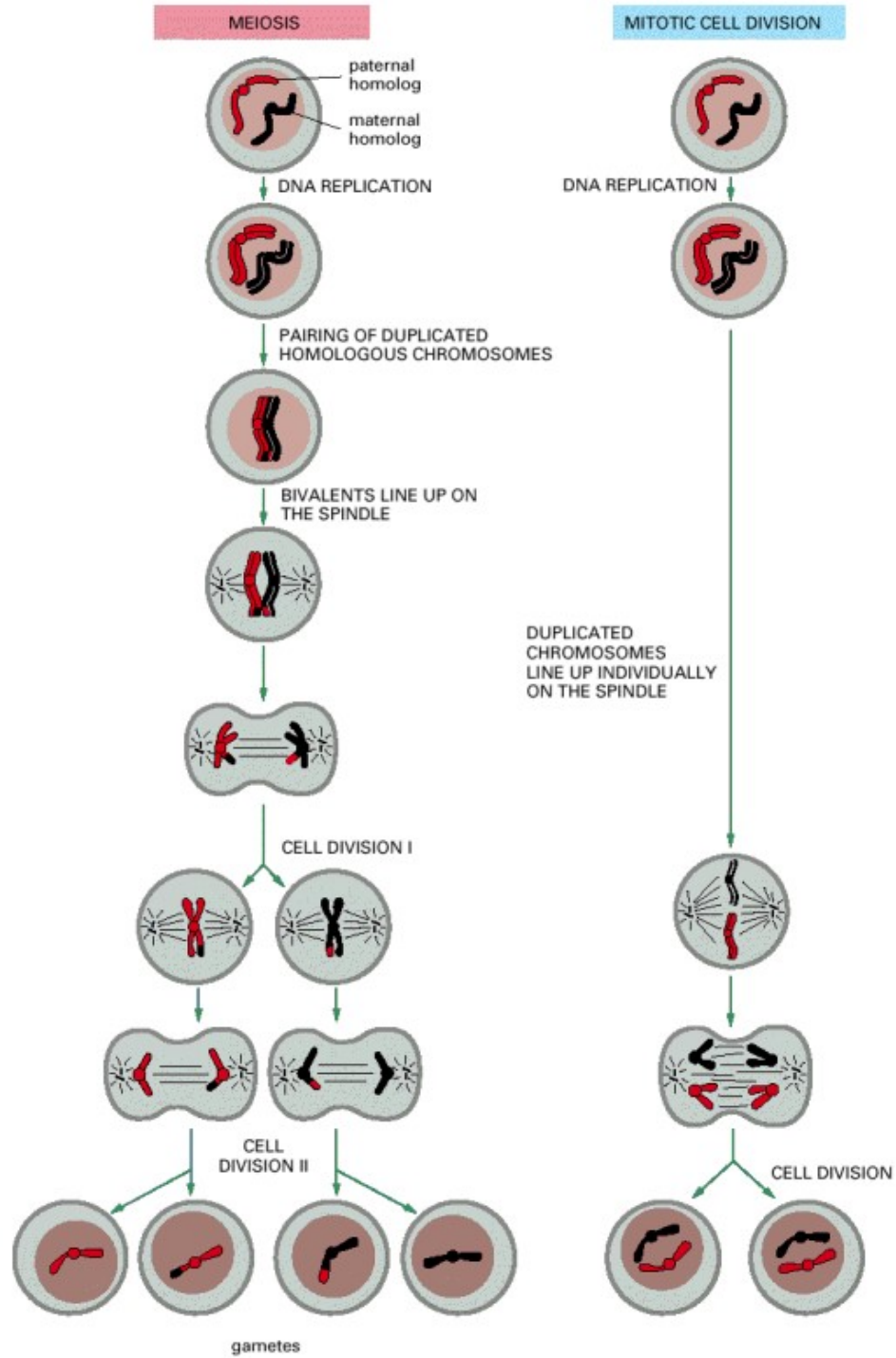
Chromosome pairing and unpairing in meiosis. During meiosis I, sisters become paired by cohesin, and DNA exchange between homologues takes place. Unlike in mitosis, sister kinetochores attach to the spindle in monopolar fashion; attachment of the homologue kinetochores is bipolar. Following resolution of crossovers and cohesin disassembly along the arms (but not at centromeres), the homologues segregate. During meiosis II, sister kinetochores bi-orient on the spindle, and cohesin removal at the centromeres triggers their segregation.

Rozdíly mezi mitózou a meiózou

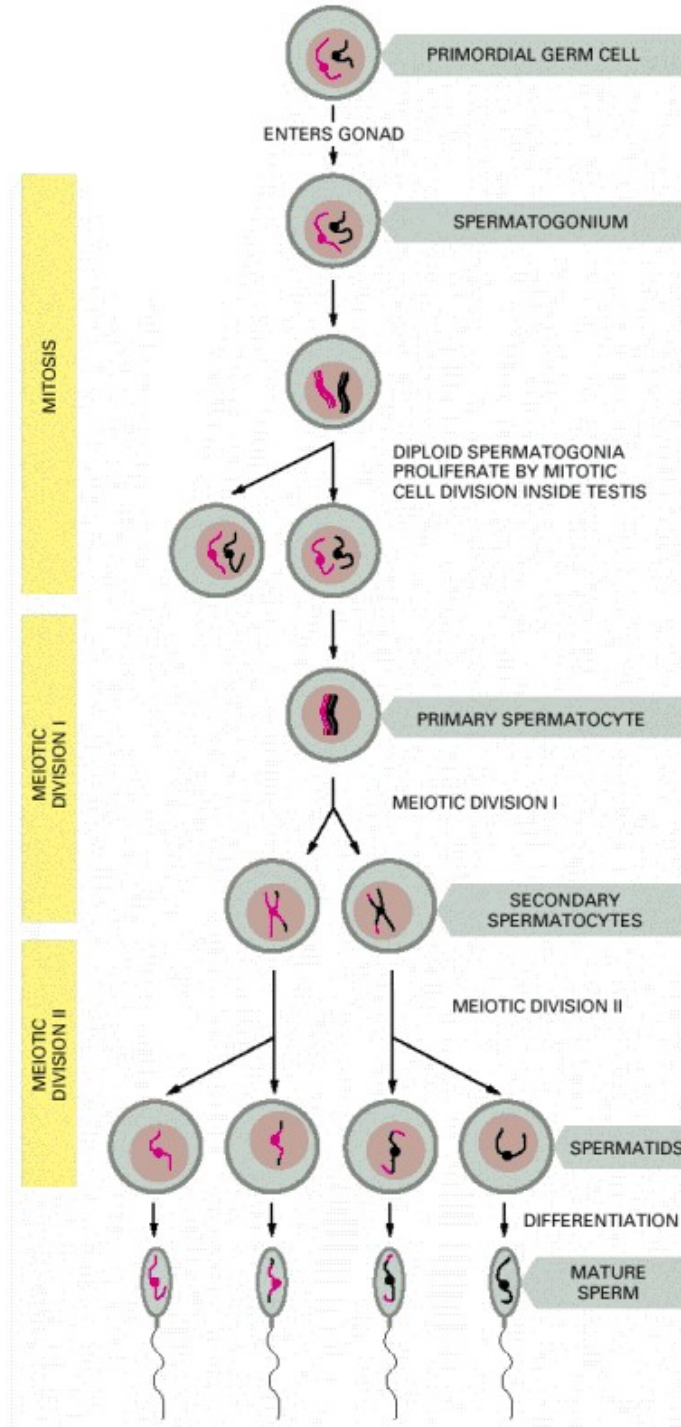
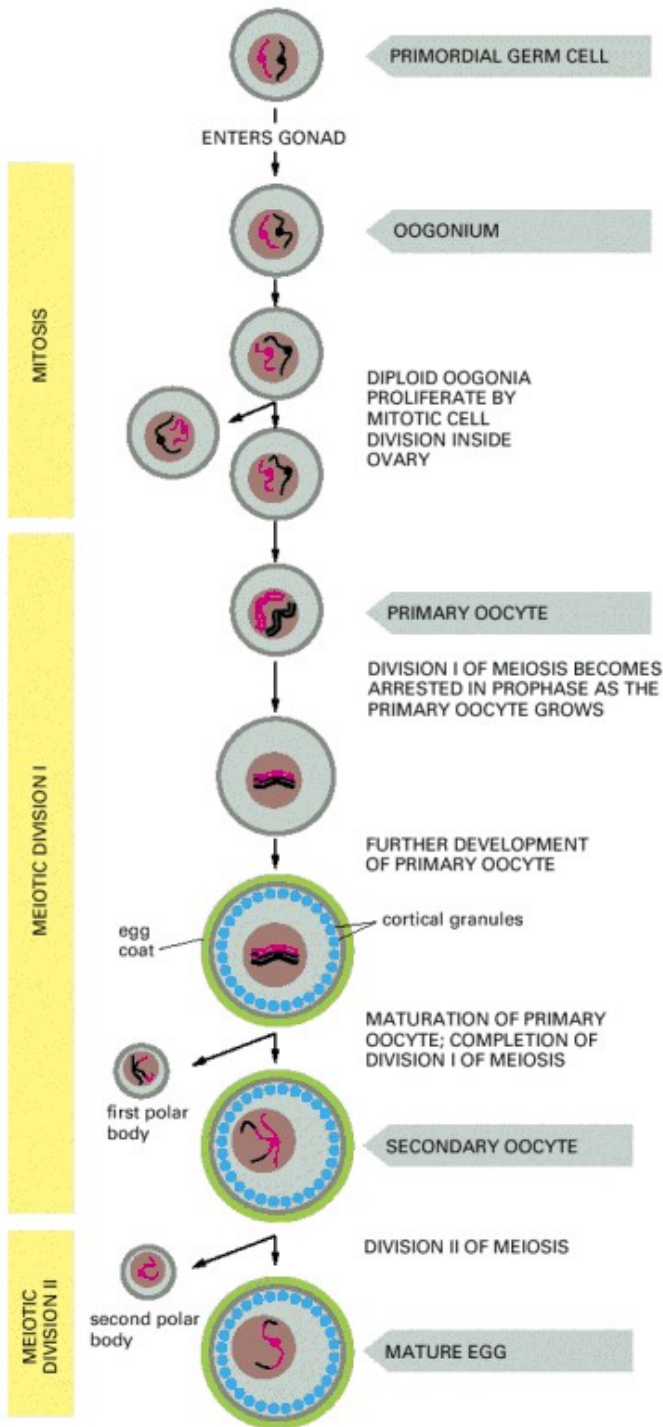
	mitóza	meióza
kde se děje co je výsledkem	všechny tkáně diploidní somatická b.	varlata a ovaria haploidní spermie n. vajíčko
replikace DNA profáze	1 na 1 dělení krátká (30 min)	1 na 2 dělení dlouhá až roky * diktyotén
párování chromozomů rekombinace	ne jako reparace zlomů, není nutná	ano, v „MI“ nejméně 1 na bivalent je nezbytná
výsledek rekombinace	genová konverze	crossing-over, výměna částí chromatid
genetika dceřiných buněk	identické	extrémní množství možných rozdílů

MEIOTIC DIVISION I

MEIOTIC DIVISION II

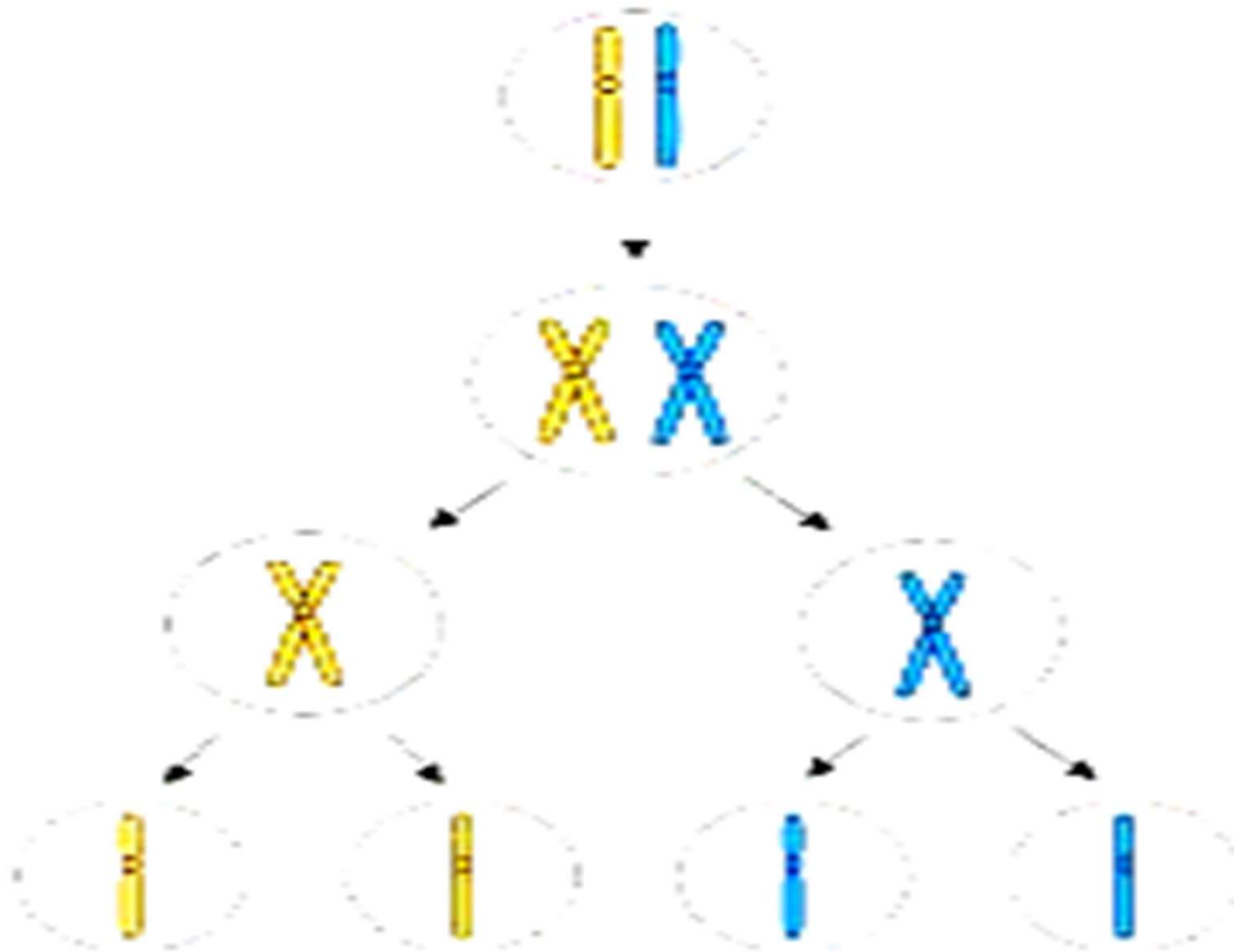


Alberts et al.: Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing
© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff,
Keith Roberts, and Peter Walter.

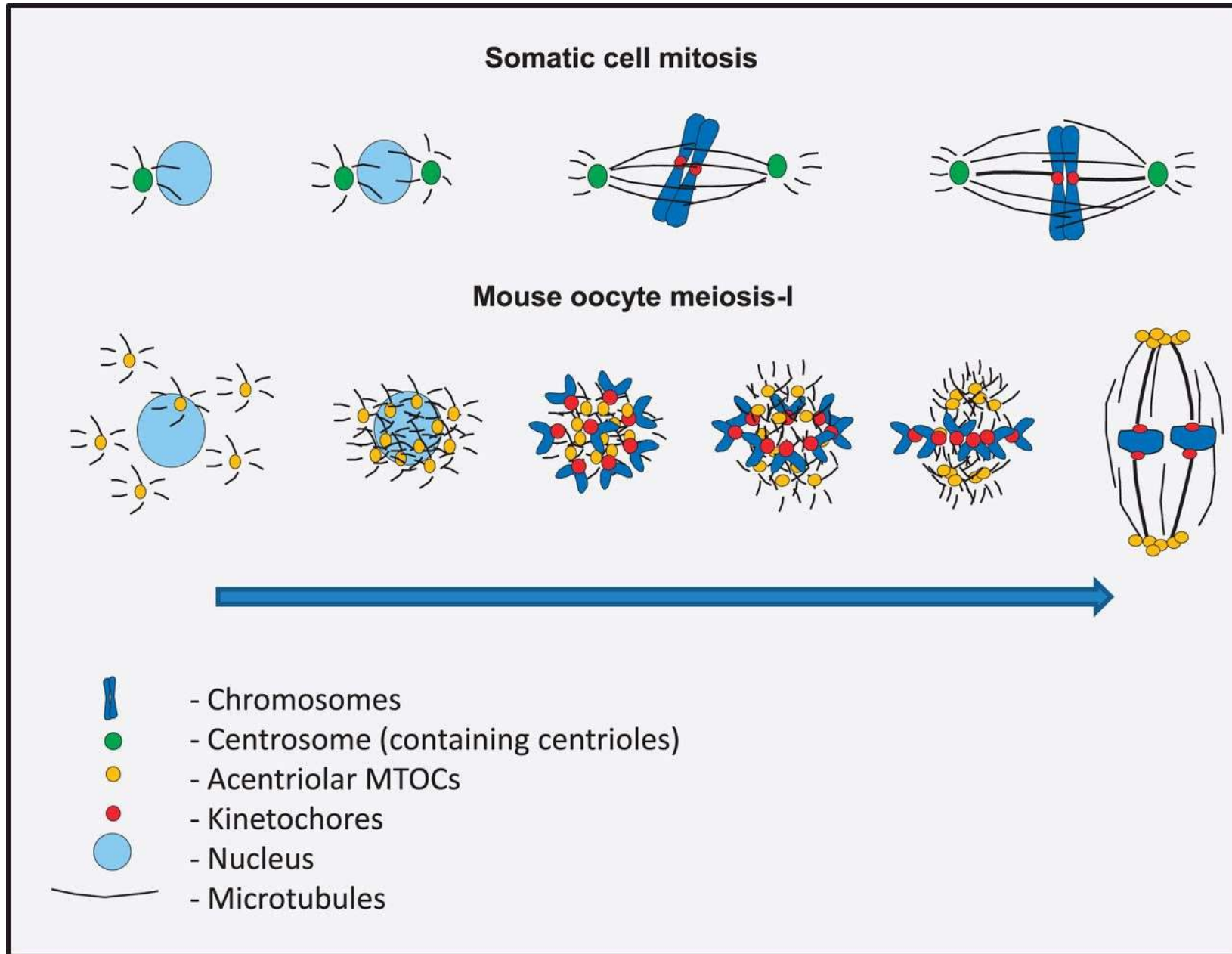


Alberts et al.: Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing
 © 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff,
 Keith Roberts, and Peter Walter.

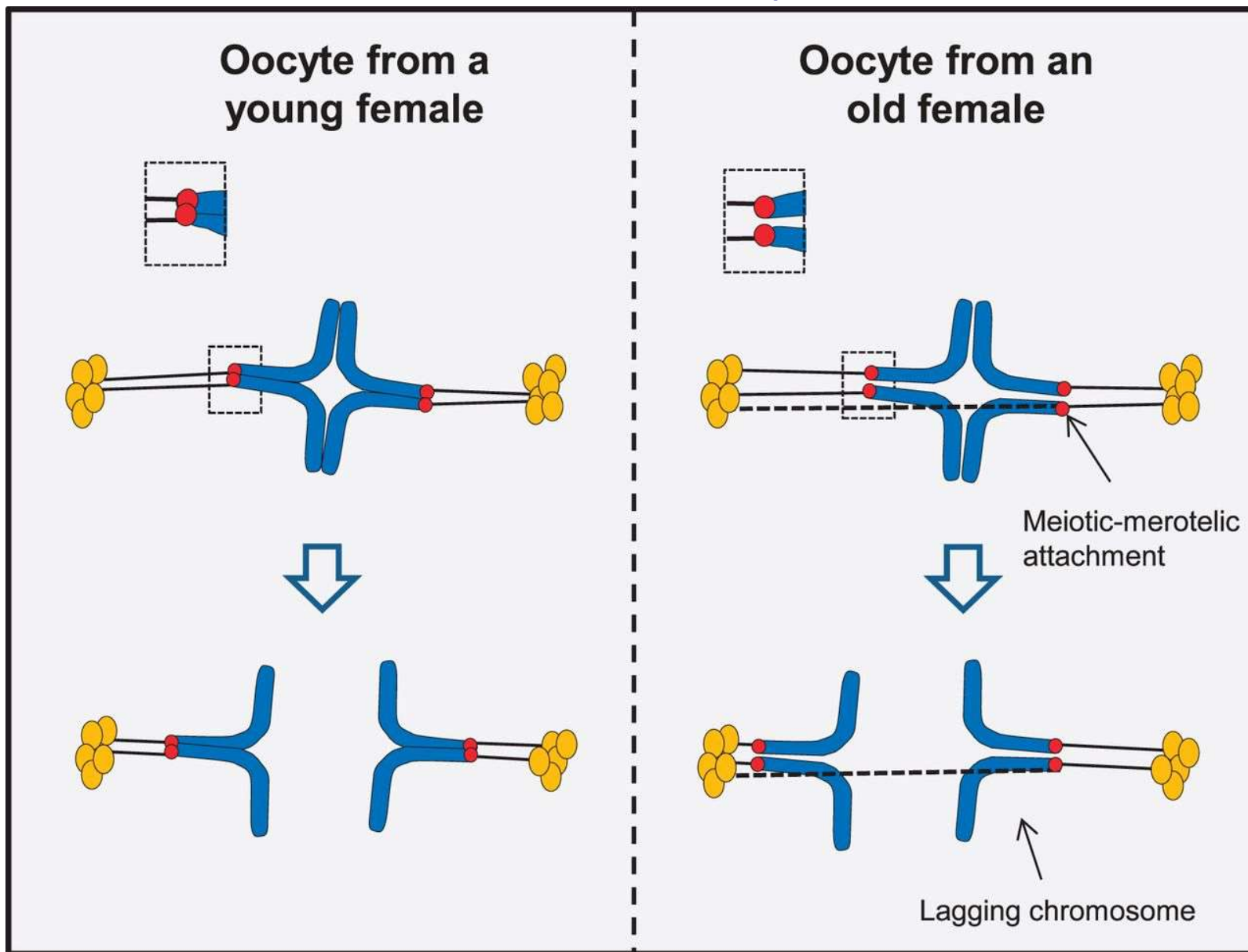
Poruchy meiózy (úvod): normální segregace chromozomů v meióze



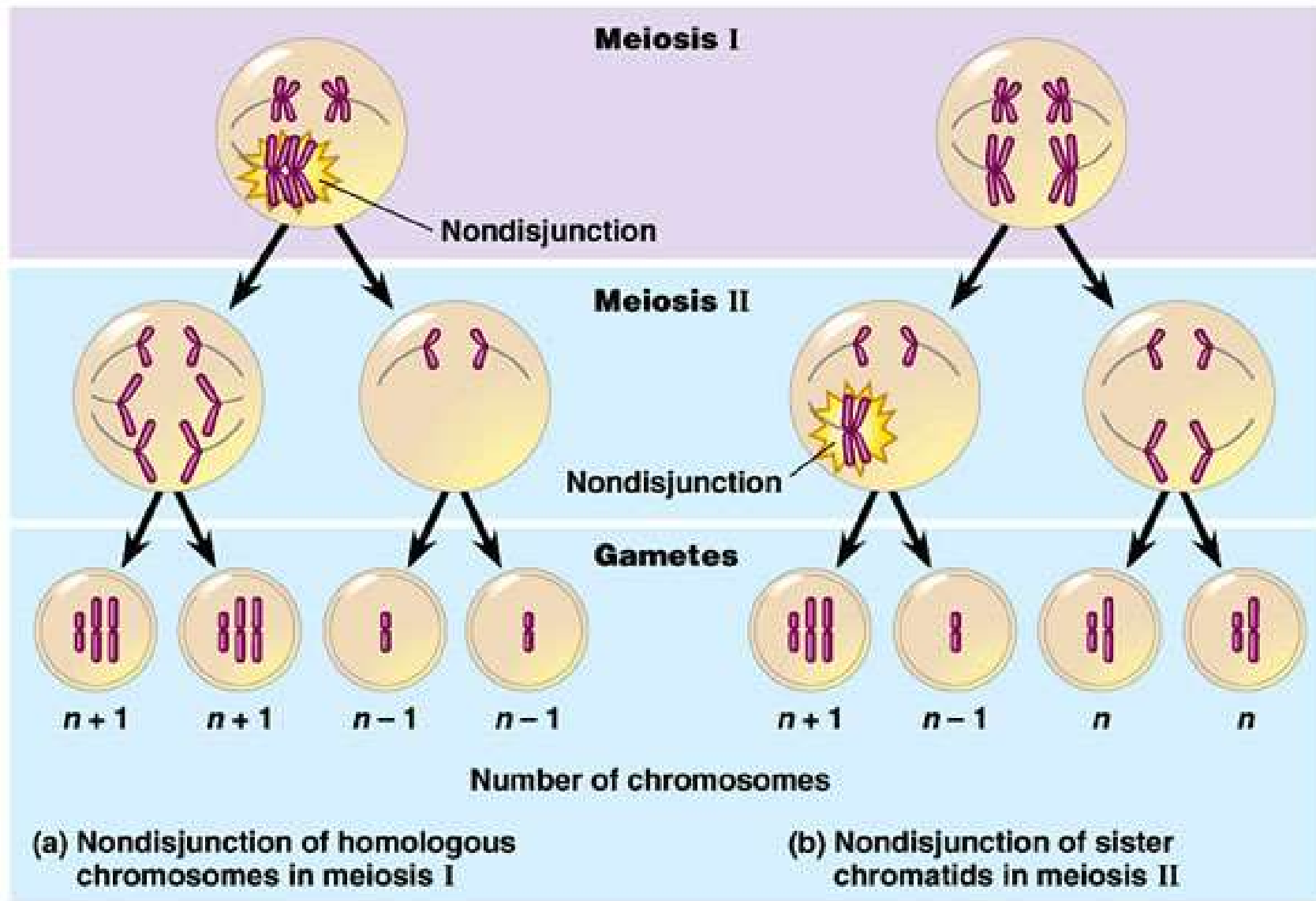
Meióza oocyty – bez centriol(ů)



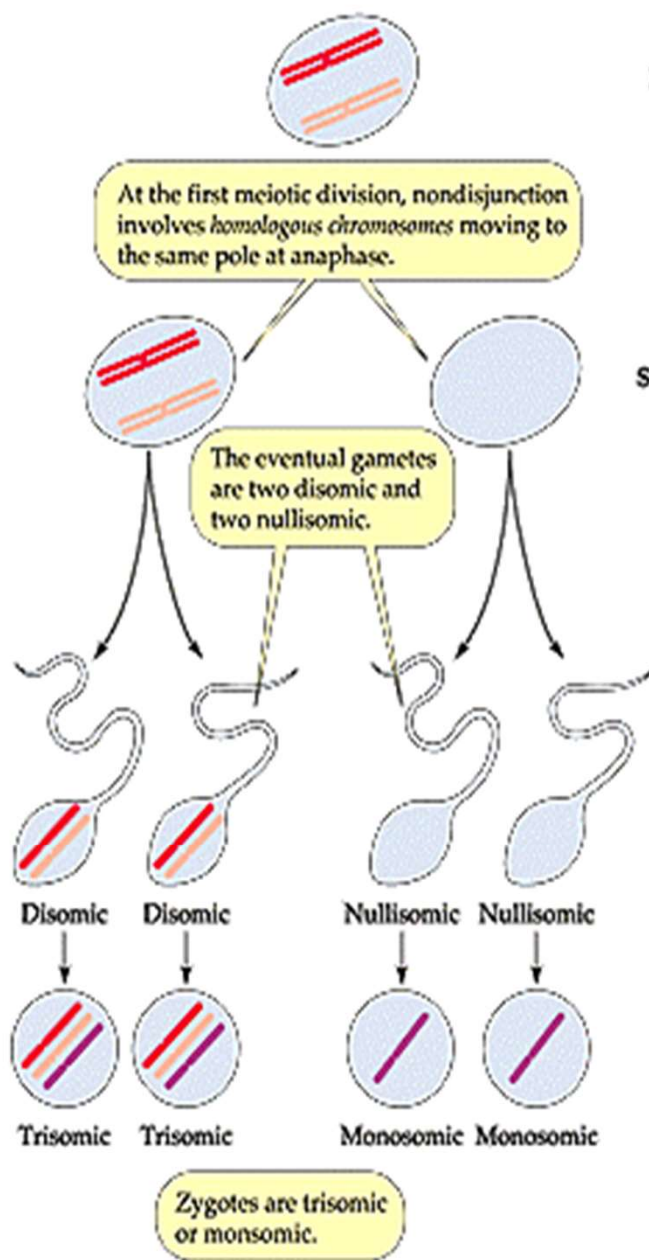
Poruchy meiózy: špatná segregace: opožďující se chromozomy



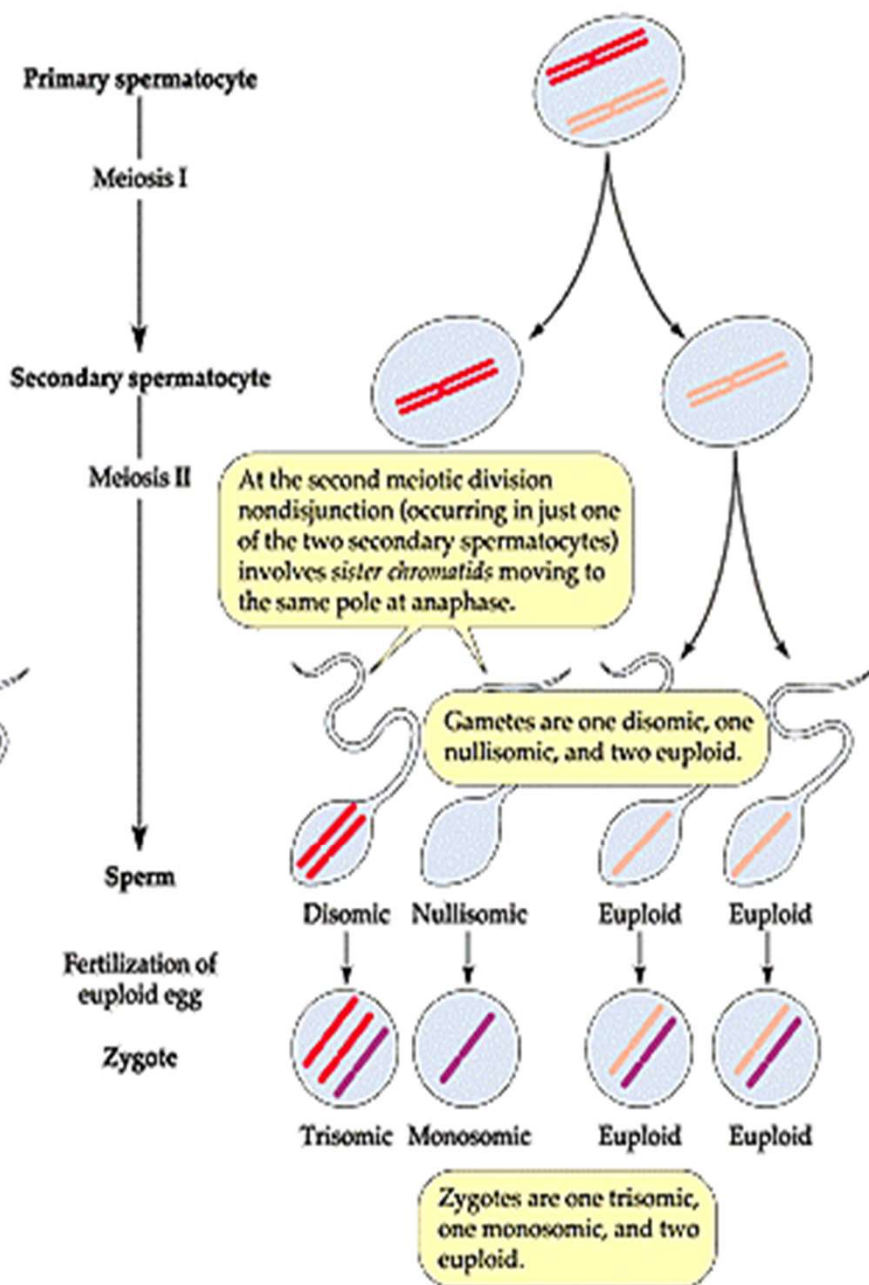
Porucha segregace chromozomů v meióze - nondisjunkce



(A) First division nondisjunction



(B) Second division nondisjunction



Etiologie nondisjunkce

- ve většině případů zůstává konečná příčina vzniku nondisjunkce neznámá (idiopatická). Aneuploidní gamety jsou detekovatelné u zdravých jedinců (cca 10%, vajíčka I spermie)
- Existují však známé rizikové faktory:
 - maternální nondisjunkce** (absence nebo slabý “spindle assembly checkpoint” u vajíček)
 - věk matky** (Downův syndrom): snížená frekvence rekombinace (**absence chiazmatu**),
teorie zkracujících se telomer
 - obecné rizikové faktory – 1) prostředí
radio- a chemoterapie, kouření, alkohol apod.
(obviněny, ale nepotvrzeny)
 - obecné rizikové faktory – 1) genetické
např. mutace proteinů syn. komplexu (myši)
homocystein a MTHFR 677C->T
 - IVF u neplodných párů (preimplantační arrayCGH)

Uniparentální dizomie

- počet chromozomů je normální (např. 46, XX) ale pár homologů pochází jen od jednoho rodiče

následky:

- 1) ztráta exprese **imprintovaného genu** (např. PWS, AS).
- 2) u izodizomie riziko homozygoty pro **AR onemocnění** (u CF jsou to 2% pacientů)

mechanizmy

- 1) vzácně komplementace (nullizomická + dizomická gameta)
- 2) “únik z trizomie” (trisomy rescue)
- 3) “únik z monozomie” pomocí mitotické nondisjunkce

Poděkování

Číslo výzvy:	02_16_015
Název projektu:	Zvýšení kvality vzdělávání na UK a jeho relevance pro potřeby trhu práce
Číslo projektu:	CZ.02.2.69/0.0/0.0/16_015/0002362
Příjemce:	Univerzita Karlova
Řídící orgán:	Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

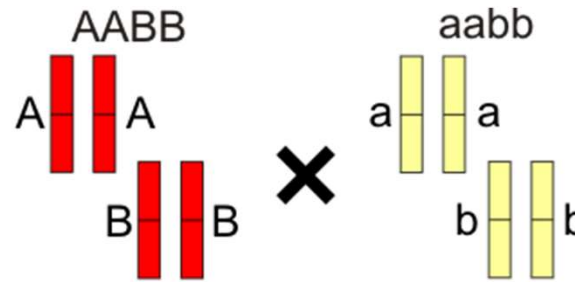


EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání

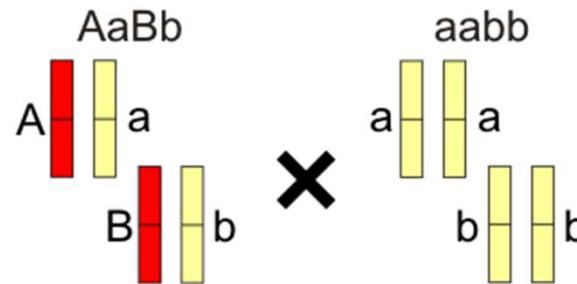


Meióza a Mendelovy zákony

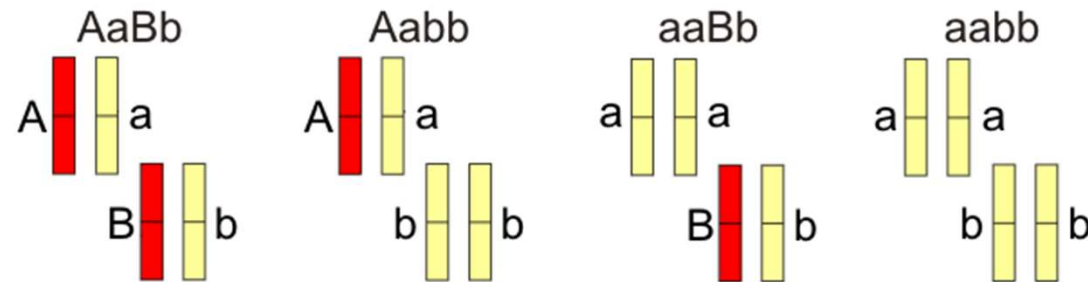
parental



F₁ x P



backcross



phenotype

AB Ab aB ab

odds

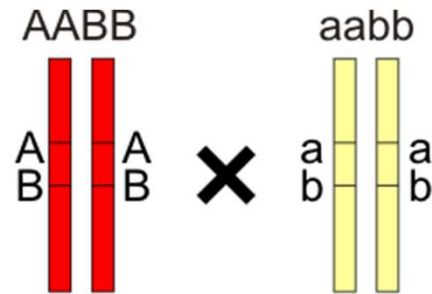
1 1 1 1

frequency

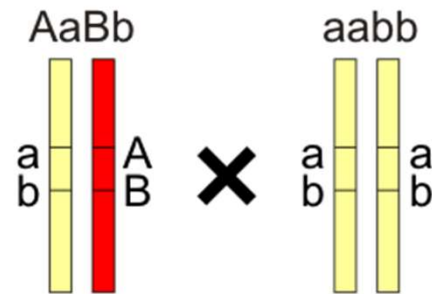
25% 25% 25% 25%

Meiόza a vazba

parental



F₁ x P



backcross



phenotype

AB

ab

odds

1

1

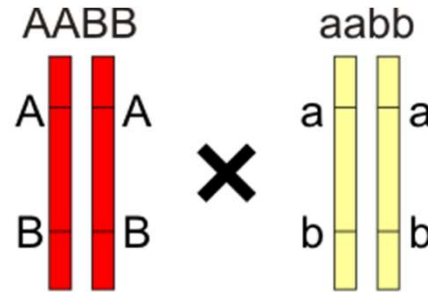
frequency

50%

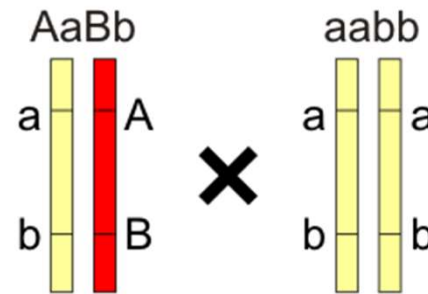
50%

Meióza, crossing over a vazba

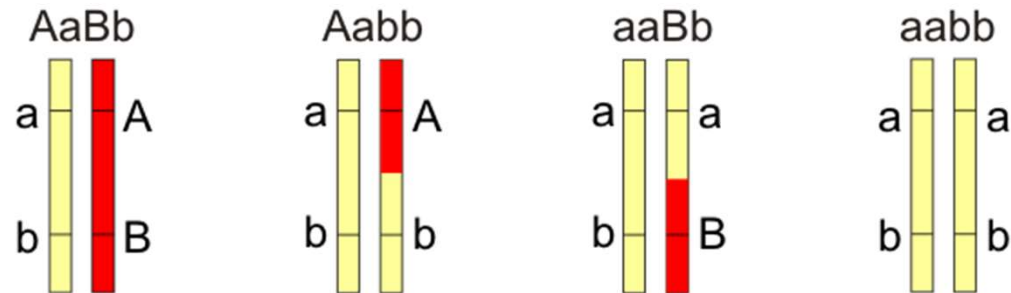
parental



F₁ x P



backcross



phenotype

AB Ab aB ab

odds

>1 1 1 >1

frequency

(25%;50%) <25% <25% (25%;50%)

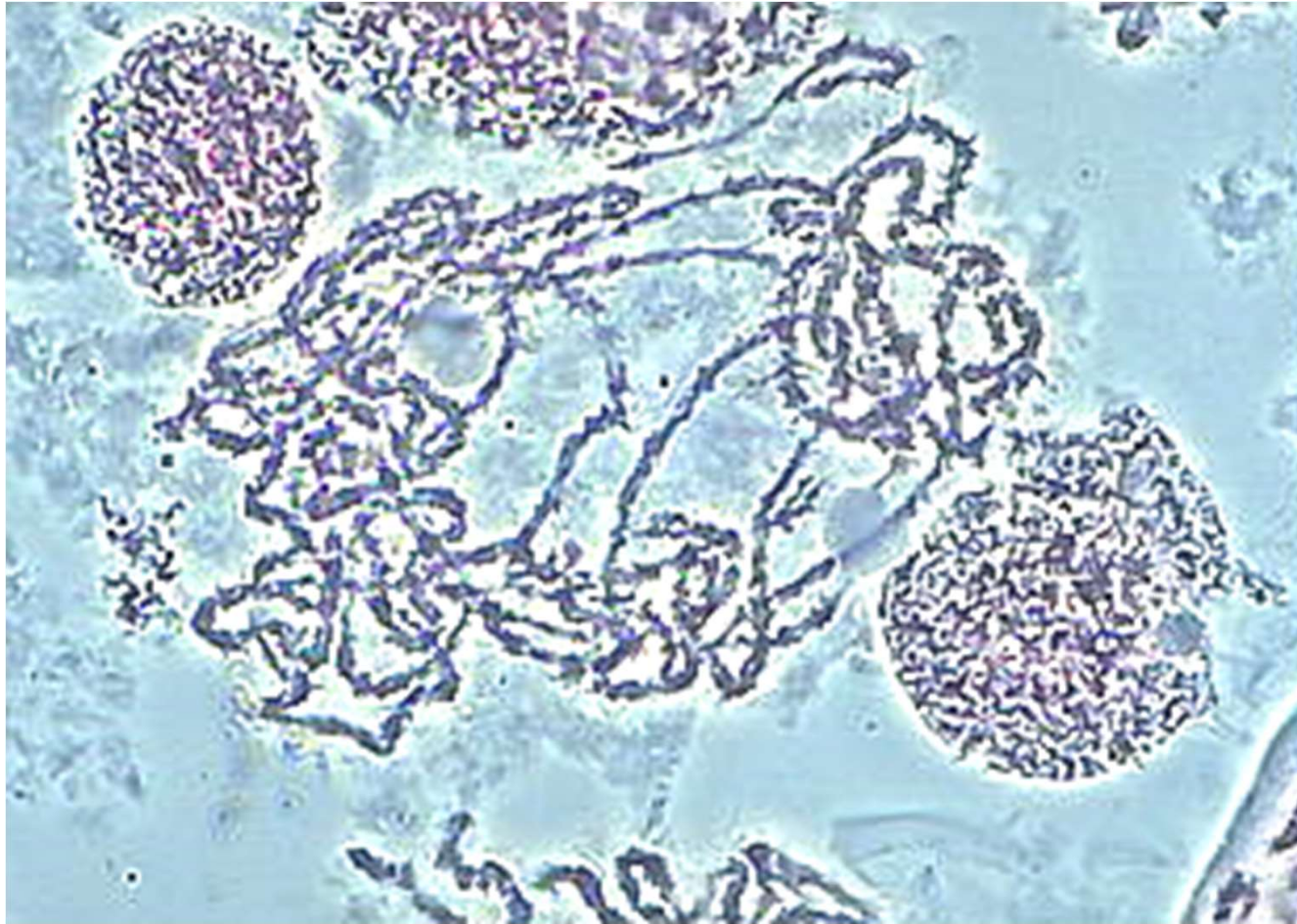
Něco k přínosům pohlavního rozmnožování

- promíchávání genů (alel) zvyšuje celkovou genetickou variabilitu populace, což může být výhodou při měnících se podmínkách prostředí

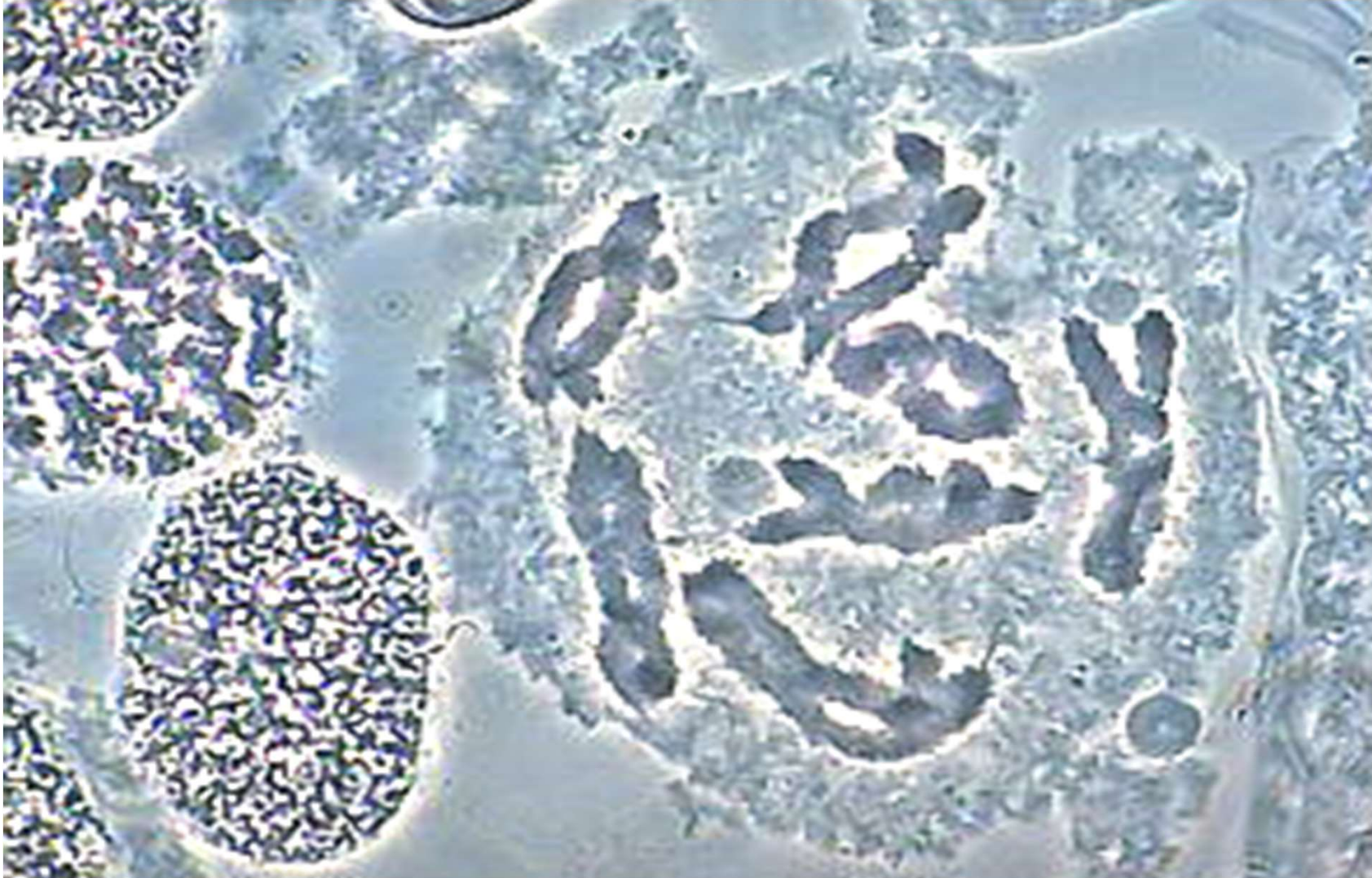
=> Kolik je té variability?

- **nezávislá segregace homologních chromozomů dává 2^{23} (8 miliónů) potenciálních gamet na jedince, 2^{46} ($7 \cdot 10^{12}$) druhů potomků pro pár**
- crossing over zvyšuje tuto variabilitu ještě více, neboť místo rekombinace je skoro spojitá proměnná
- !!! jediným zdrojem veškeré variability (nových alel i genů) jsou mutace. Pohlavní rozmnožování může vytvořit pouze nové kombinace stávajících alel (genů). Je tak ideálním vektorem pro šíření nových mutací v populaci a kombinaci nezávisle vzniklých mutací (ty by jinak zůstaly jen v jedné linii potomků)

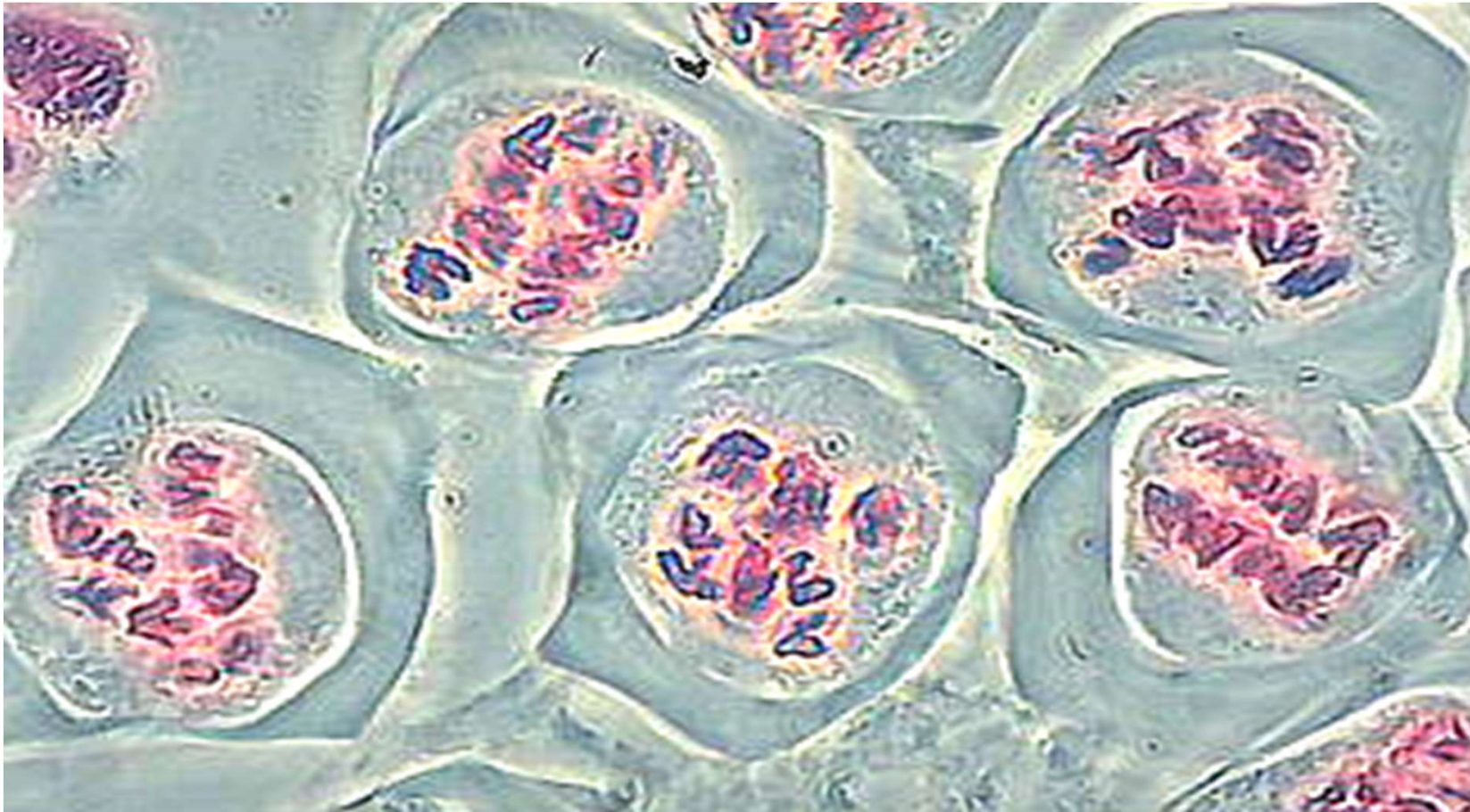
Preparáty z praktik: Pachytén I, $2n=14$



Diplotén



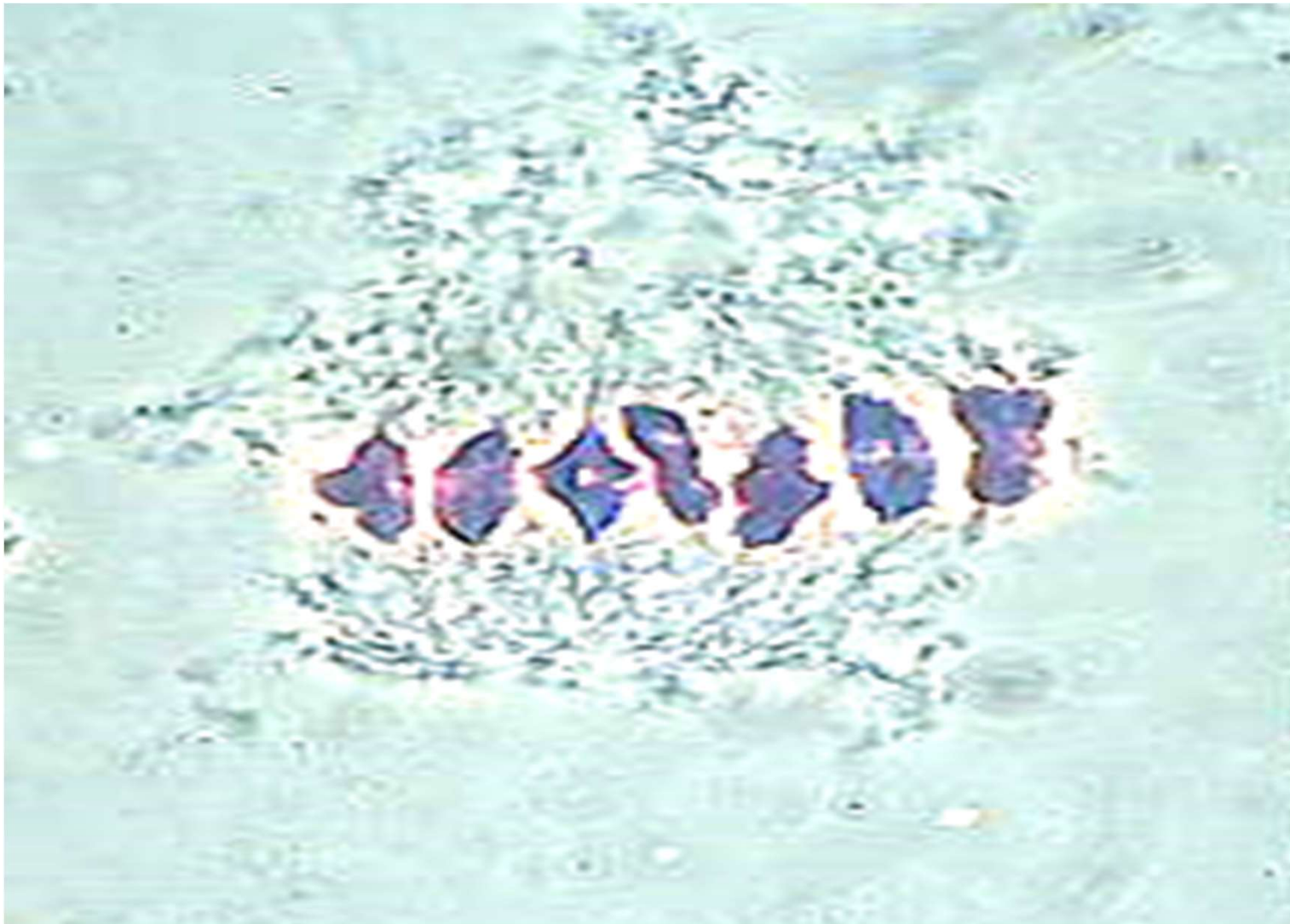
Diakineze



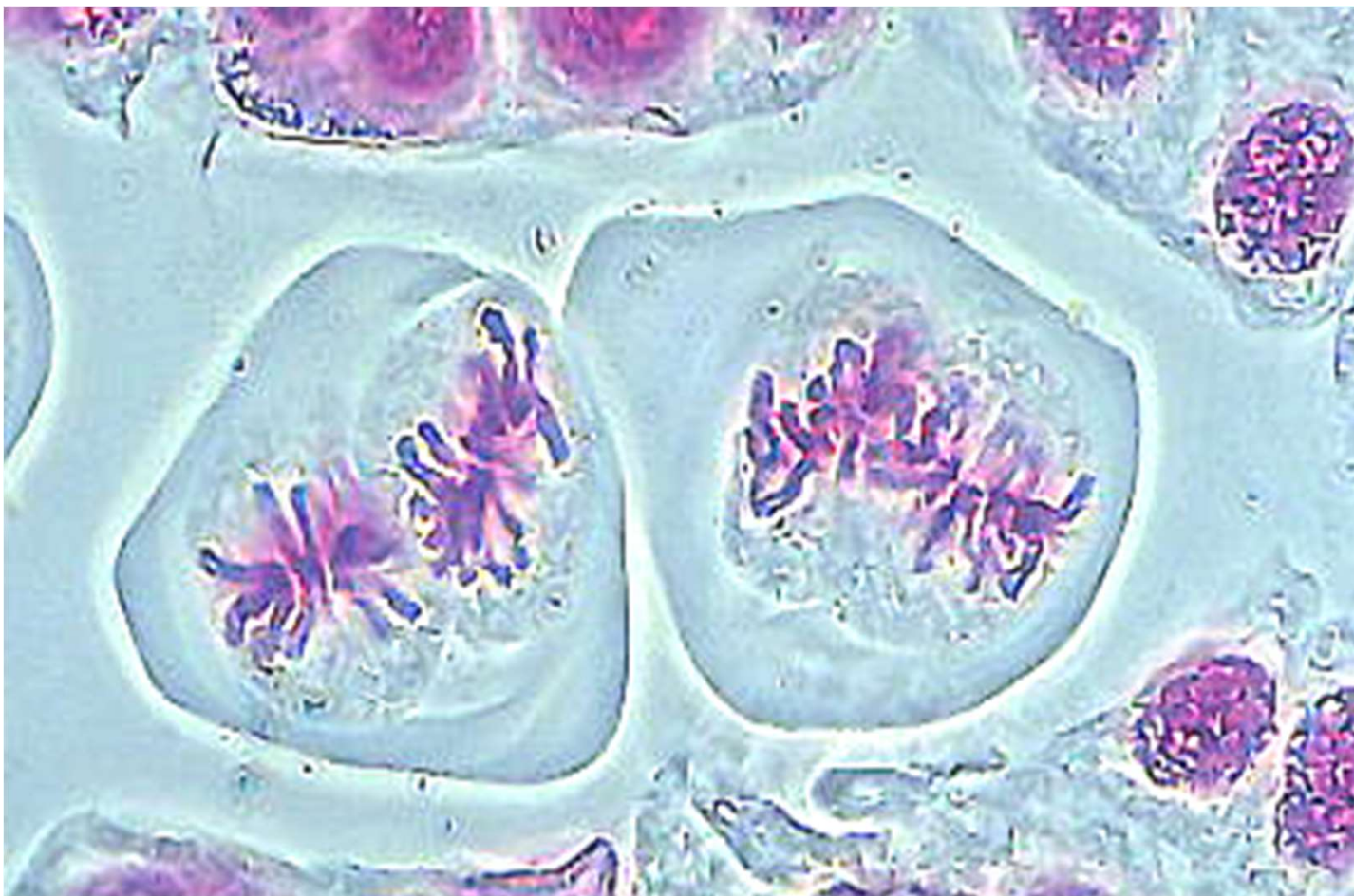
Diakineze u člověka



Metafáze I (7 bivalentů)



Metafáze II



Anafáze II

