

HÜCRE SIKLUSU VE KONTROL NOKTALARI

2. BÖLÜM

Melike NALBANT¹

GİRİŞ

Hücre bölünmesi bir denge halinde seyrederek. İlk olarak proliferatif özelliği olmayan hücreler ilk olarak G₀ fazından hücrenin bölünme aşamasına hazırlık yapan G₁ fazına geçer. Bu süreç hücre kaybı olmaksızın, hem transkripsiyonel hem de translasyonel programların devam ettiği süreçtir [1]. Bu dönemde dış faktörlerin özellikle büyüme faktörlerinin yokluğunda, hücre bölünmesi duraklayacaktır [2]. Büyümenin devamı için kontrol noktalarından geçtikten sonra siklus devam eder [2]. Hücre daha sonra sentez fazına geçer. DNA sentez aşamasına girer, kromozomlar kopyalanır. Bunu G₂ ve daha sonra mitoz fazı izler.

Hücre döngüsünün devamlılığı ve yapısal değişiklikler için anahtar moleküller son derece önemlidir. Bu değişikliklerin büyük bir kısmı protein fosforilasyonu ve defosforilasyon ile modüle edilir, ancak SUMOylation, asetilasyon veya ubikitine bağlı protein bozunması gibi diğer moleküler süreçler, düzenli hücre döngüsü ilerlemesi için çok önemlidir.

SİKLİN BAĞIMLI KİNAZLAR VE DÜZENLEYİCİLERİ

Siklin bağımlı kinazlar (CDK) siklin adı verilen ileri düzeyde korunmuş Ser/Thr kinazların alt grubunu oluşturmaktadır [3, 4]. İlk tanımlanan CDK, CDK1 (cdc2) nin klonlanması sonucu meydana gelmiştir. Daha sonraki çalışmalarda da diğer CDK tanımlanmaya başlamıştır. Örneğin

CDK4 ve CDK6 hücre döngüsü girişini düzenlerken CDK2 G₁'den S fazına geçiş ve S fazında önemli rollere sahiptir. CDK1 ise G₂ ve mitoz (M) fazında önemli rollere sahiptir. Tanımlanmış 15 ek CDK olsada çoğunun işlevsel rolleri henüz net değildir [3, 4].

Hücre döngüsünde yer alan bu kinazlar çok sayıda düzenleyici mekanizmalar tarafından kontrol edilir. CDK kinaz içinde bulunan PSTAIRE sarmalına bağlanan siklin alt birimi ile ilişkilidir [5]. Siklin bağlanması ile kalıntıların yeniden düzenlenmesi ile aktivasyon sağlanır [5]. Böylece siklin/CDK kompleksi oluşur. Siklinleri N- terminal sekanslarında oldukça farklılık gösterirler. Bununla birlikte CDK bağlanma ve aktivasyonu için gerekli olan 100 aminoasitlik bir sekansı paylaşmaktadır. Buna siklin kutusu da denir [3].

İnsan genomu 25'ten fazla siklin benzeri protein kodlamış olsada temelde dört farklı alt sınıfı hücre döngüsünde rol oynamaktadır. Bunlar siklin A-, B-, D-, E-siklinleridir [6].

Siklin/CDK komplekslerin aktivasyonu için en önemli olan olaylardan biri posttranslasyonel düzenlemedir. İlk düzenleme treonin kalıntısının fosforilasyonudur (CDK'deki Thr 160). Bu fosforilasyonu katalizleyen CDK-aktive edici kinazdır (CAK)[7]. Memelilerde fosforilasyon siklin bağlanması ile aktive olur ve en az 2 tane CAK olduğu bilinmektedir. En önemli CAK, CDK7, siklin H ve Mat1'den oluşan trimoleküler komplekstir. Bu kompleks RNA polimeaz II fonksiyonunun

¹ Uzm. Dr., Bursa Şehir Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, drmelike@gmail.com ORCID iD: 0000-0002-1896-986x

rıkları en yaygın ve en zararlı olan hasarlardandır. DNA hasar yanıtı (DDR) bileşenleri ile fosfoinositid-3 ilişkili kinaz ailesinin iki üyesidir.

DNA hasarı yanıtının (DDR) merkezi bileşenlerinin komponentleri olarak ATM ve ATR fosfoinositid 3-kinazla ilişkili kinaz ailesinin iki üyesidir. ATM ve ATR kendi aralarında cross-talk ile etkileşim halinde olsada DDR kompleksinin rolü ve yanıtı hasarın türüne ve döngünün aşamasına bağlı olarak değişir [39].

Çift sarmallı DNA kırıklar, çok işlevli Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) kompleksi tarafından tanınır [39] Bu kompleks sayesinde kırılmayı modifiye etmek ve onarmak için ATM devreye girer. İlk olarak fosforilasyon ile hasarlı uçları bir arada tutmaya yardımcı olan proteinleri oluşturur. Döngünün durdurulmasında Chk2 Cdc 25 ailesinin üç üyesini fosforile ederek etki eder. İkinci olarak Chk 2 fosforilat p53'ü kullanır. Bu sayede hücre döngüsü durdurulması ve transkripsiyonel aktivasyon ile apoptozisi indükler. P53 için önemli bir noktada diğer stres sinyalleri aracılığı ile de etkileştirilmesidir[40].

Intra – S Faz Kontrol Noktası

S fazında olan bu kontrol noktasında DNA'nın kopyalanmasının zararlı sonuçlarını önlemektir. S fazında anında yanıt verilmesi gerekmektedir. Hasarın replikasyon ilişkili olup olmamasına göre hücre hasarı algılandıktan sonra ATM ve ATR devreye girer. DNA hasarına yanıt olarak, ATR kinaz aktive edilir ve daha sonra ATM dahil olmak üzere hem onarım hem de kontrol noktası aktivasyonuna aracılık eden çeşitli kompleksleri devreye girer [41].

G2 Kontrol Noktası

G1 / S ve intra – S fazı kontrol noktaları, hücreleri uygunsuz replikasyondan korurken, G2 kontrol noktası, mitoz sırasında DNA lezyonlarının iki yavru hücreye geçişini önlemek için gereklidir [39]. Benzer şekilde, ATR / Chk1 ve ATM / Chk2 yolları, Cdc25 geriye çekilmesi ile birlikte çıkarılması yoluyla G2 ve mitotik Cdk komplekslerinin aracılığıyla hücre döngüsünü durdururlar. Ubikitin ligazları da bu süreçte rol almaktadır. SCF-βTrCP, Cdc25, Claspin ve Wee1 seviyelerini düzenlerken, APC / C-Cdh1, kontrol noktası geri kazanımı

için gerekli bir kinaz olan Plk1'in ortadan kaldırılması için kritik öneme sahiptir [42].

Mitoz İplikçik Kontrol Noktası

Mitoz sırasında kromozomların uygun şekilde bölünmesini sağlamak son derece önemlidir. Bu süreç aslında SAC oluşturan bir sinyalleşme ağı tarafından kontrol edilir. İnsanlarda "mitotik tutuklama eksikliği" (MAD) ve "benzimidazol tarafından engellenmemiş tomurcuklanma" (BUB) mutantlarında Mad1, Mad2, BubR1, Bub1 ve Bub3 olarak adlandırılan bu kontrol noktasının temel bileşenleri tanımlanmıştır. Kontrol noktasının diğer bileşenleri biyo-oryantasyon olmadığında Cdc20 aktivatörünün APC / C'ye bağlanmasını önler [43].

KAYNAKLAR

1. Solaki, M. and J.C. Ewald, *Fueling the cycle: CDKs in carbon and energy metabolism*. *Frontiers in cell and developmental biology*, 2018. **6**: p. 93.
2. Malumbres, M. and M. Barbacid, *To cycle or not to cycle: a critical decision in cancer*. *Nature Reviews Cancer*, 2001. **1**(3): p. 222-231.
3. Malumbres, M. and M. Barbacid, *Mammalian cyclin-dependent kinases*. *Trends in biochemical sciences*, 2005. **30**(11): p. 630-641.
4. Malumbres, M., *Cyclin-dependent kinases*. *Genome biology*, 2014. **15**(6): p. 1-10.
5. Pavletich, N.P., *Mechanisms of cyclin-dependent kinase regulation: structures of Cdk, their cyclin activators, and Cip and INK4 inhibitors*. *Journal of molecular biology*, 1999. **287**(5): p. 821-828.
6. Kellogg, D.R., *Wee1-dependent mechanisms required for coordination of cell growth and cell division*. *Journal of cell science*, 2003. **116**(24): p. 4883-4890.
7. Lolli, G. and L.N. Johnson, *CAK—cyclin-dependent activating kinase: a key kinase in cell cycle control and a target for drugs?* *Cell cycle*, 2005. **4**(4): p. 565-570.
8. Fisher, R.P., *Secrets of a double agent: CDK7 in cell-cycle control and transcription*. *Journal of cell science*, 2005. **118**(22): p. 5171-5180.
9. Boutros, R., V. Lobjois, and B. Ducommun, *CDC25 phosphatases in cancer cells: key players? Good targets?* *Nature Reviews Cancer*, 2007. **7**(7): p. 495-507.
10. Sherr, C.J. and J.M. Roberts, *CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression*. *Genes & development*, 1999. **13**(12): p. 1501-1512.
11. Chu, I., et al., *p27 phosphorylation by Src regulates inhibition of cyclin E-Cdk2*. *Cell*, 2007. **128**(2): p. 281-294.
12. Besson, A., S.F. Dowdy, and J.M. Roberts, *CDK inhibitors: cell cycle regulators and beyond*. *Developmental cell*, 2008. **14**(2): p. 159-169.
13. Van Den Heuvel, S. and N.J. Dyson, *Conserved functions of the pRB and E2F families*. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2008. **9**(9): p. 713-724.

14. Chong, J.-L., et al., *E2f1–3 switch from activators in progenitor cells to repressors in differentiating cells*. *Nature*, 2009. **462**(7275): p. 930-934.
15. Silverman, J.S., J.R. Skaar, and M. Pagano, *SCF ubiquitin ligases in the maintenance of genome stability*. *Trends in biochemical sciences*, 2012. **37**(2): p. 66-73.
16. Lens, S.M., E.E. Voest, and R.H. Medema, *Shared and separate functions of polo-like kinases and aurora kinases in cancer*. *Nature Reviews Cancer*, 2010. **10**(12): p. 825-841.
17. Malumbres, M., *Physiological relevance of cell cycle kinases*. *Physiological reviews*, 2011.
18. de Cárcer, G., G. Manning, and M. Malumbres, *From Plk1 to Plk5: functional evolution of polo-like kinases*. *Cell cycle*, 2011. **10**(14): p. 2255-2262.
19. Fernández-Miranda, G., et al., *Genetic disruption of aurora B uncovers an essential role for aurora C during early mammalian development*. *Development*, 2011. **138**(13): p. 2661-2672.
20. Petronczki, M., P. Lénárt, and J.-M. Peters, *Polo on the rise—from mitotic entry to cytokinesis with Plk1*. *Developmental cell*, 2008. **14**(5): p. 646-659.
21. Fry, A.M., et al., *Cell cycle regulation by the NEK family of protein kinases*. *Journal of cell science*, 2012. **125**(19): p. 4423-4433.
22. Moutinho-Santos, T. and H. Maiato, *Plk1 puts a (Has) pin on the mitotic histone code*. *EMBO reports*, 2014. **15**(3): p. 203-204.
23. Foley, E.A. and T.M. Kapoor, *Microtubule attachment and spindle assembly checkpoint signalling at the kinetochore*. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2013. **14**(1): p. 25-37.
24. Wu, J.Q., et al., *PP1-mediated dephosphorylation of phosphoproteins at mitotic exit is controlled by inhibitor-1 and PP1 phosphorylation*. *Nature cell biology*, 2009. **11**(5): p. 644-651.
25. Takahashi, Y., J.B. Rayman, and B.D. Dynlacht, *Analysis of promoter binding by the E2F and pRB families in vivo: distinct E2F proteins mediate activation and repression*. *Genes & development*, 2000. **14**(7): p. 804-816.
26. Tigan, A., et al., *CDK6—a review of the past and a glimpse into the future: from cell-cycle control to transcriptional regulation*. *Oncogene*, 2016. **35**(24): p. 3083-3091.
27. Clurman, B.E., et al., *Turnover of cyclin E by the ubiquitin-proteasome pathway is regulated by cdk2 binding and cyclin phosphorylation*. *Genes & development*, 1996. **10**(16): p. 1979-1990.
28. Nougarede, R., et al., *Hierarchy of S-phase-promoting factors: yeast Dbf4-Cdc7 kinase requires prior S-phase cyclin-dependent kinase activation*. *Molecular and cellular biology*, 2000. **20**(11): p. 3795-3806.
29. Losada, A., *Cohesin in cancer: chromosome segregation and beyond*. *Nature Reviews Cancer*, 2014. **14**(6): p. 389-393.
30. Hirano, T., *Condensin-based chromosome organization from bacteria to vertebrates*. *Cell*, 2016. **164**(5): p. 847-857.
31. Gavet, O. and J. Pines, *Activation of cyclin B1-Cdk1 synchronizes events in the nucleus and the cytoplasm at mitosis*. *Journal of Cell Biology*, 2010. **189**(2): p. 247-259.
32. Lindqvist, A., V. Rodríguez-Bravo, and R.H. Medema, *The decision to enter mitosis: feedback and redundancy in the mitotic entry network*. *Journal of Cell Biology*, 2009. **185**(2): p. 193-202.
33. Álvarez-Fernández, M., et al., *Greatwall is essential to prevent mitotic collapse after nuclear envelope breakdown in mammals*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013. **110**(43): p. 17374-17379.
34. Etemad, B. and G.J. Kops, *Attachment issues: kinetochore transformations and spindle checkpoint silencing*. *Current Opinion in Cell Biology*, 2016. **39**: p. 101-108.
35. Sacristan, C. and G.J. Kops, *Joined at the hip: kinetochores, microtubules, and spindle assembly checkpoint signalling*. *Trends in cell biology*, 2015. **25**(1): p. 21-28.
36. Schöckel, L., et al., *Cleavage of cohesin rings coordinates the separation of centrioles and chromatids*. *Nature cell biology*, 2011. **13**(8): p. 966-972.
37. D'Avino, P.P. and L. Capalbo, *Regulation of midbody formation and function by mitotic kinases*. in *Seminars in cell & developmental biology*. 2016. Elsevier.
38. Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*. 1989;246:629–634.
39. Bartek J, Lukas J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. *Curr Opin Cell Biol*. 2007;19:238–245.
40. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:594–604.
41. Muñoz S, Méndez J. DNA replication stress: from molecular mechanisms to human disease. *Chromosoma*. 2016;doi:10.1007/s00412-016-0573-x.
42. Bassermann F, Pagano M. Dissecting the role of ubiquitylation in the DNA damage response checkpoint in G2. *Cell Death Differ*. 2010;17:78–85.
43. Sacristan C, Kops GJ. Joined at the hip: kinetochores, microtubules, and spindle assembly checkpoint signalling. *Trends Cell Biol*. 2015;25:21–28.