

# **SEJTBIOLÓGIA**

biomérnök hallgatók számára

**Negyedik rész:**  
**A sejtciklus szabályozása**

**Novák Béla**  
docens

**Proofreading:**  
Sveiczter Ákos  
ösztöndíjas kutató

1994. november 3.

Copyright © 1994

BME, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék

## A sejtosztódási ciklus

A sejtek megduplázzák tömegüket és elosztódnak = **sejtciklus**.

Egysejtűeknél ez két új organizmust eredményez, többsejtűeknél pedig sok sejtosztódás kell egy új szervezet létrehozásához, utána pedig csak az elpusztult sejtek pótlására van szükség.

A sejtciklus általános jellegzetességei, amik mindig bekövetkeznek (**nukleáris ciklus**):

1. a DNS replikációja,
2. a replikált kromoszómák szegregációja (**mitózis = magosztódás**).

A legtöbb sejt megduplázza a tömegét és a citoplazmás organelleumait is (**citoplazmás ciklus**), de ez nem általános.

A nukleáris és a citoplazmás ciklus koordinálása az egyik központi probléma: a **sejtciklus kontrollrendszer** a felelős érte. Ennek komponensei több milliárd évvel ezelőtt alakultak ki, és konzerváltak maradtak az evolúció során.

## A mitózis fázisai

1. **Profázis:** a kromoszómák kondenzálódnak és a két leánykromatida csak a centroméránál tapad össze.
  2. **Prometafázis:** elején a magmembrán lebomlik; az interfázisos mikrotubulusok reorganizálódnak, és kialakul a **mitózis orsó**, ami a kinetokórnál kötődik a kromoszómákhoz.
  3. **Metafázis:** a kromoszómák a metafázisos síkra (metafázisos lemezre) állnak fel.
  4. **Anafázis:** a kromatidák szeparációja:  
A-fázis: kinetokór mikrotubulusok rövidülnek,  
B-fázis: poláris (centroszómákat összekötő) mikrotubulusok hosszabbodnak.
  5. **Telofázis:** a nukleáris membrán újra összeáll.
- A telofázist általában azonnal követi a sejtosztódás (citokinézis), de ez már egy külön sejtciklus-esemény. Gombáknál a sejtosztódás késleltetett: a

mitózis eredményeként egy kétmagvú sejt keletkezik, ami csak később osztódik el.

### **A sejtciklus általános stratégiája**

A sejtciklus hossza nagyon változó az egyes sejtípusokban. Az *ecetmuslica* embriók tartják a világcsúcsot 8 perces sejtciklussal, míg az emlős sejteké általában 24 óra hosszú.

A sejtciklust fázisokra osztjuk, melyek közül a **mitózis (magosztódás v. M-fázis)** a leglátványosabb:

- metafázisban a kromoszómák a mitózisos magorsóhoz (**spindle**) tapadnak,
- anafázisban pedig szegregálódnak.

A mitózis a 24 órás ciklusból mindössze 1 órát vesz igénybe. 2 mitózis között eltelt szakasz az **interfázis** (eseménytelennek tűnik a mikroszkóp alatt).

### **A nukleáris DNS az interfázis egy részén replikálódik: S-fázis**

A nukleáris DNS replikációja az interfázis egy tört része alatt történik: **S-fázis**. Az S- és M-fázisok között így szünetek (**gap**) vannak:

**G1-fázis:** a mitózistól az S-fázisig tart,

**G2-fázis:** az S-fázistól a mitózisig tart.

Ha ezek nem lennének, akkor a sejt nem tudná megduplázni a tömegét (ld. később). Ez a **standard sejtciklus**, de nem minden sejt követi ezt a szabályt.

A sejt G1-fázisban ellenőrzi a környezetét, és ha elég nagy lett, elkötelezi magát a ciklusra. G2-fázisban pedig azt ellenőrzi, hogy a DNS replikálódott-e, és megint azt is, hogy elég nagy-e.

Emlős sejteknél a legnagyobb variabilitás a G1 fázis hosszában van. A G1-ben még úgy is dönthetnek, hogy nem folytatják egy ideig a ciklust, és ún. G0-fázisba lépnek.

A legrövidebb eukarióta sejtciklusok (még a baktériumokénál is rövidebb) a korai embrionális ciklusok a megtermékenyítés után: az óriási pete felosztása nagyon sok kis sejtre rövid idő alatt. Ilyenkor nincs sejtnövekedés

2 sejtosztódás között, és nincsenek G1- és G2-fázisok sem. Csak S- és M-fázisok váltakoznak, és a ciklus 8-60 perc hosszú (fele S-, fele M-fázis).

Hogyan lehet megmondani, hogy a sejt melyik fázisban van?

1. az S-fázisban levőket jelölni lehet tríciummal jelzett timidinnel,
2. a mitózisban levőket látni lehet mikroszkóp alatt,
3. a G1- és G2-hosszát **fluorescence activated cell sorter**-rel lehet meghatározni: DNS-specifikus fluoreszcens festékekkel festett sejtek egyedi DNS-tartalmának automatikus mérése. G1-ben a DNS tartalom egyszeres, G2-ben kétszeres.

### **A diszkrét sejtciklus események háttérében folytonos növekedés áll**

A sejt fehérjetartalma többé kevésbé folyamatosan nő. Az egyedi proteinek vizsgálata azt mutatja, hogy ezek többsége folyamatosan nő. Az RNS is, de az leáll a mitózis alatt, amikor a kromoszómák kondenzálódnak. A DNS szintézise viszont nem folyamatos, hanem diszkrét esemény (l. előző rész).

Vannak azonban más diszkrét események is:

1. Centroszómák duplikációja: S- és G2-fázisokban duplázódnak; profázis alatt a sejtmag ellentétes oldalára vándorolnak.
2. Hisztonok szintézise az S-fázisban nagy, mert az új kromatin szerkezetekhez kellenek.

### **Egy központi kontrollrendszer indítja el a sejtciklus folyamatait**

A növekvő (szomatikus) sejtek és a nem-növekvő (embrionális) sejtek sejtciklusa fiziológiai szempontból alapvető eltéréseket mutat:

1. Növekvő sejteknél, ha a sejtciklus egy lépése nem játszódik le, akkor a következő sem képes lejátszódni (**dominó elv**),
2. Nem-növekvő sejteknél nincs ilyen kapcsolat, és ha pl. az S-fázist gátoljuk, attól a mitózis még bekövetkezik (**óramű**).

Csak nemrégiben sikerült megkülönböztetnünk egymástól a sejtciklus szabályozási rendszerét és azokat a gépezeteket, amik az egyes folyamatok lejátszódásához fontosak. Ezek alapján szabályozási szempontból a sejtciklus egy automata mosógéphez hasonlít: a mosási ciklus lépései a DNS-szintézishez és a magosztódáshoz hasonlíthatók. Mindkét esetben egy

központi szabályozó indítja az egyes folyamatokat meghatározott szekvenciában. Ez a szabályozó elvileg kétféleképpen működhet:

1. bizonyos időt ad az egyes folyamatoknak,
2. ellenőrzi, hogy az előző folyamat befejeződött-e, mielőtt a következőt indítja (**checkpoint = ellenőrzési pont** vagy **feedback kontroll**).

Vegyük észre, hogy ha a **checkpoint kontroll** gyenge, akkor az első típus szerint működik a gépezet.

A sejtciklus kontrollrendszer egy ciklikusan működő biokémiai gép, ami kölcsönhatásban álló fehérjékből áll, amik indukálják és koordinálják az ún. **downstream folyamatokat**. A sejtciklus gépezetet **fékek** lassítják, amik a downstream folyamatoktól feedback szignálok segítségével lassítják ill. megállítják a működést, ha egy folyamat nem játszódott le.

A környezeti feltételek is fékeken keresztül hatnak. A sejtciklusban 3 helyen van fontos **checkpoint**:

1. a G1-fázisban: ezt élesztőknél **start**-nak, míg emlős sejteknél **restrikciós pontnak** nevezzük;
2. a G2-fázisban: **G2/M kontroll pont**,
3. az M-fázisban: a metafázis-anafázis határán.

### **A sejtciklus kontroll rendszer egy protein-kináz alapú gépezet**

Legjobban a G2/M kontrollt ismerjük, de valószínű, hogy hasonló szabályozás van a G1-ben is.

A sejtciklus kontrollrendszer proteinek 2 családján alapul:

1. **ciklin dependens protein kinázok (Cdk)**: a downstream folyamatokat indukálják más fehérjék szerin és treonin oldalláncainak foszforilezésével.
2. **ciklinek**: aktiváló fehérjék, amik kötődnek a Cdk-khoz. 2 fő típusuk van:
  1. **mitózis ciklinek**,
  2. **G1 ciklinek**.

Élesztő sejtekben csak egyféle Cdk van, és ez működik a G1- és a G2-fázisú kontrollnál. Emlős sejtekben legalább kétféle Cdk van.

.  
. .  
.

## **Az MPF szerepe a korai embrionális sejtciklusokban**

A növekvő sejtek megduplázzák tömegüket a sejtciklus alatt, és ez időt vesz igénybe. A környezeti tényezőktől függ, hogy meddig tart a ciklus. Ezzel szemben a korai embrionális ciklusok alatt nincs sejtnövekedés, és nagyon rövidek. Nincsenek meg ezenkívül a normális **ellenőrzési pontok** sem: csak a legminimálisabb dolgok (DNS replikáció és kromoszóma szegregáció) következnek be.

### **A *Xenopus* oociták növekedését a peték gyors osztódása hozza egyensúlyba**

A *Xenopus leavis* petéje óriási méretű (kb. 1 mm átmérőjű), gömb alakú sejt. Tehát kb. 100.000-szer nagyobb, mint a testi sejtek, de csak egy nukleusz van benne. A citoplazma tartalék anyagokkal van feltöltve, amik az oocita érése során halmozódtak fel.

A spermiummal való fúziót megelőzően az oocita **meiózison** megy át: a normál érték felére csökkenti kromoszómái számát. Egy DNS szintézist tk. 2 mitózis és sejtosztódás követ, amik között nincs S-fázis. Az oocita növekedése során az első meiózisos osztódási ciklus G2-fázisában (profázis) reked meg. Az érett pete úgy keletkezik, hogy hormonális inger hatására a G2-gátlás megszűnik és az oocita meiózisba lép. A második meiózisos ciklus M-fázisában reked újra meg, és lemegy a petevezetéken és megtermékenyül.

A megtermékenyítés a sejtosztódások egy nagyon gyors sorozatát indítja el, aminek eredményeként az óriási pete növekedés nélkül "vágódik" egyre kisebb sejtekre. Eközben szinte csak a DNS szintetizálódik és csak nagyon kevés fehérje (de transzkripció pl. egyáltalán nincs).

Az első ciklus kicsit hosszabb (90 min), de az azt követő 11 ciklus szinkron módon, 30 perces időnként játszódik le (S-fázis = 15 min, M-fázis = 15 min). Ennek eredményeként  $2^{12} = 4096$  sejt keletkezik mintegy 7 óra alatt.

### **A mitózisba lépést egy citoplazmás regulátor (MPF) szabályozza**

2 alapvető kísérlet, amik a mitózisba lépés citoplazmás kontrollját bizonyították:

1. Ha az érett oocitából (pete), annak citoplazmájának egy részét a G2-fázisban álló, éretlen oocitába fecskendezték, akkor az M-fázist indukált benne, és az oocita végighaladt a meiózison és érett lett. A pete citoplazmájában lévő anyagot elnevezték **érést serkentő faktornak (maturation promoting factor = MPF)**.

2. A sejtciklus különböző fázisaiban lévő emlős sejtek fúziója: az interfázis bármelyik fázisából (G1, S vagy G2) származó sejteket fuzionáltattak M-fázisú sejtrel. Az interfázisú nukleusz minden esetben mitózisba lépett.

Később kiderült, hogy az érést serkentő faktor ugyanaz, mint ami az interfázisú sejtet mitózisba küldi, és az új név: **M-fázis serkentő faktor (MPF)**.

### **Az MPF aktivitás oszcillációja szabályozza a sejtciklust**

Az éretlen oocitába történő befecskendezés biológiai teszttel mérték az MPF aktivitást az embrionális ciklusok alatt:

1. alacsony az interfázisban,
2. magas a mitózis alatt.

Továbbá, minden eukariótában van ilyen MPF aktivitás, amit ha befecskendeznek éretlen oocitába, serkenti a meiózist. Az **MPF tehát univerzális az eukariótákban**.

Az MPF tisztítása során kiderült, hogy az egy szerin és treonin oldalláncokat foszforilező protein-kináz. 2 alegysége van: a Cdc2 és a ciklin-B.

Az MPF aktíválódásért egy citoplazmás óra felelős embriókban: ha eltávolítják a sejtmagot az embrióból, a felületi kontrakció és az MPF aktíválódás akkor is megfigyelhető a sejtmagmentes citoplazmában.

### **A ciklin akkumuláció és degradáció szabályozza az MPF aktíválódását és inaktíválódását**

Az embrióban nincs sejtnövekedés, de fehérjeszintézisre mégis szüksége van a mitózishoz. Ha a fehérjeszintézist gátolják, akkor az embrió interfázisban reked meg.

Tengeri sünnembriókban a fehérjeszintézist vizsgálva a legtöbb fehérje folyamatosan akkumulálódik, de egy csoport periodikus:

**ciklinek:** interfázisban akkumulálódnak, de a metafázis-anafázis határán degradálódnak.

Feltételezés: ha a ciklin kritikus értéket ér el, az MPF aktíválódik, és ha a ciklin degradálódik, akkor az MPF inaktíválódik.

*In vitro* sejtciklusok békapeték sejtmentes kivonataival. Ha minden mRNS-t degradálnak, akkor a sejtciklus megáll (mint fehérje szintézis gátlás esetén). Ha csak ciklin mRNS-t adnak ehhez, akkor az MPF aktíválódik, és az extrakt mitózisba lép (**ciklin elégséges a mitózishoz**).

Ha viszont az összes mRNS közül csak a ciklin mRNS-t eltüntették (degradálták), akkor is interfázisú gátlás volt (**ciklin szükséges a mitózishoz**).

### **A ciklin degradáció a mitózisból való kilépéshez kell**

Normálisan a ciklin-B a metafázis-anafázis határán degradálódik. Egy speciális szekvenciához ubiquitin kapcsolódik, és ez jelöli meg a ciklint a destrukcióra. Ha ezt a szekvenciát a ciklinből eltávolítják, és egy ilyen ciklinnel indukálnak mitózist, akkor a sejtmentes kivonat megreked az M-fázisban. A ciklin degradáció tehát szükséges az MPF inaktíválásához.

### **Az MPF autokatalitikusan képes stimulálni önmaga aktíválódását**

Az MPF az éretlen oocitákban előformában van jelen, amit a petékből származó, injektált, aktív MPF aktivál. Az MPF aktíválódás folyamata tehát autokatalitikus.

### **Az aktív MPF indukálja a mitózis folyamatait**

Az MPF következő a változásokat indukálja:

1. a kromoszómák kondenzálódnak,
2. a nukleáris membrán lebomlik,
3. a citoskeleton átrendeződik, és kialakul a magorsó.

Mindezeket protein-kináz aktivitásával váltja ki:

1. **Közvetlenül** foszforilezve egyes struktúrális fehérjéket.



Példák:

- a.) Az MPF közvetlenül foszforilezi a lamin molekulákat, amik a nukleáris laminát alkotják.
- b.) Az MPF ugyancsak közvetlenül foszforilezi a H1 hisztonokat is, ami feltehetően kiváltja a kromoszómák kondenzációját.
- c.) Az MPF foszforilezi a mikrotubulus asszociált fehérjéket is: interfázisban hosszú **citoplazmás** mikrotubulusok vannak. Mitózis során a centroszómából sokkal több és rövidebb mikrotubulus ered. Ezek alkotják a magorsót. Az MPF, ami asszociálódik a centroszómával, megváltoztatja a centroszóma és a mikrotubulusok kémiai szerkezetét is.

**2. Közvetve:** más protein kinázok aktiválásával.

A mitózisból való kilépéshez az MPF által foszforilezett helyeket defoszforilezni kell.

### **A sejtciklus kontrollrendszer egy DNS replikációt enged meg minden interfázisban**

A sejtciklus kontrollrendszer aktivál folyamatokat, amiknek idő kell a lejárásához. Hogyan biztosítódik az, hogy ezek a folyamatok lejátszódnak, mielőtt a kontrollrendszer a következőt iniciálja.

A DNS szintézisnek pl. elegendő időt kell adni, hogy teljesen végbemenjen. Ha ez nem következik be, akkor a sejt nem teljesen replikált kromoszómákkal lép mitózisba, ami letális. Általában egy “feedback szignál” képződik a nem-replikált DNS által, ami leállítja a kontrollrendszert.

A korai embrionális ciklusokban nincs ilyen feedback. Az egyes folyamatok ideje állandó, mert sok tartalék tápanyag van. Éppen ezért a kontrollrendszer megfelelő sebességgel halad, és bizonyos késésekkel aktiválja az egyes folyamatokat, anélkül, hogy ellenőrizné az előző befejezését (kamera beépített timerrel). Ha a replikációt gátolják, akkor katasztrófális mitózis lesz.

A nukleocitoplazmás arány túl alacsony, így a nem replikált DNS nem tud gátolni. Amikor azonban az első 12 ciklus után az embrió DNS tartalma az eredeti érték több mint 4000-szeresére nő, akkor a feedback kontroll már hat.

## **A re-replikáció gátlása biztosítja, hogy a DNS minden szegmense csak egyszer replikálódjon**

Nem ismerjük pontosan ma még ezt a mechanizmust, de tudjuk, hogy működik. S-fázisú sejt fúziója G2-fázisúval: a G2 fázisú sejtmagban a DNS szintézis nem iniciálódik. A G1-> S átmenet egy re-replikációs gátlást okoz.

### **A mitózis befejeztével a re-replikációs gátlás feloldódik**

A korai embrionális ciklusokban a re-replikáció gátlásának feloldása a nukleáris membrán lebomlását igényli.

Kísérlet:

1. Spermium DNS-t adnak az interfázisban fehérjeszintézis-gátlószerezrel megállított sejtmentes extraktnak.
2. Egy DNS replikáció játszódik csak le.
3. MPF-et adnak, a mitózis bekövetkezik, ami után megint egy replikáció jöhet.

Az MPF aktivitás iniciálja a mitózist és azt követően egy újabb DNS-szintézisre van engedélyt.

Összefoglalás:

A mitózisos ravaszmechanizmus meghatározott időnként serkenti a mitózist, és ekkor a DNS egy engedélyt kap egy újabb replikációra.

A re-replikációs gátlás alól vannak kivételes esetek is: *Drosophila* lárvában többszörös S-fázissal alakulnak ki a politén kromoszómák.

### **Az élesztők és a sejtcikluskontroll molekuláris genetikája**

Az élesztők egysejtű gombák, amik ideálisak az eukarióta sejtciklus vizsgálatára. Gyorsan szaporodnak, és a genom méret az emlősökének egy százaléka. Igen alkalmasak sejtciklus gének azonosítására, jellemzésére stb.

Két élesztő fajról lesz szó:

**sarjadzó élesztő** - *Saccharomyces cerevisiae*

**hasadó élesztő** - *Schizosaccharomyces pombe* (a pombe egy afrikai sör neve, amit a hasadó élesztővel készítenek).

## A sejtnövekedés miatt hosszú interfázisra van szükség

Az élesztők növekednek, mielőtt osztódnak. Fontos szabály: a sejtömeg megduplázódása hosszabb időt vesz igénybe, mint a DNS replikációja és a kromoszómák szegregációja. Emiatt G1 és G2 fázisok épülnek a ciklusba, amelyekben a sejtciklus hossza a sejtnövekedéshez kapcsolódik.

Az átlagos sejtméret fenntartása érdekében a sejtciklus hossza pontosan annyi kell legyen, mint a sejtömeg megduplázódási ideje. Ellenkező esetekben a sejtek kisebbek vagy nagyobbak lesznek.

Ezen koordináció érdekében **méretkontroll pontok** vannak a ciklusban: a szabályozó rendszer leáll, és vár, amíg a sejt el nem éri a kritikus méretet. Ilyen méret ellenőrzési pont van a G1-ben és a G2-ben is.

Jóllehet mindkét ellenőrzési pont működik minden sejtben, bizonyosakban az egyik jobban kifejezett, mint a másik: attól függően, hogy hol szigorúbb a méret ellenőrzés. Így a sarjadzó élesztőnek egy G1-fázisú **START** ellenőrzési pontja van. A hasadó élesztőben pedig a **mitózisos méretkontroll** a szigorúbb.

## Az élesztők alakjának változása a sejtciklus során

Mint minden gombában, az élesztőkben:

1. sem bomlik le a magmembrán a mitózis alatt,
2. intranukleáris **mitózisos magorsó (spindle)** képződik,
3. mitózis végén a sejtmag kettéosztódik.

A hasadó élesztő rúd alakú, és végeinek elongációjával növekszik. A mitózis után egy szeptum képződik a sejt közepén, és a sejt elosztódik. A sarjadzó élesztő a G1 végén egy sarjat kezd el növeszteni, aminek nagysága jelzi mennyire haladt előre a sejt a ciklusban.

## A sejtosztódási ciklus mutánsok

A sejtciklus blokkolható, ha a ciklus számára esszenciális génekben mutációt indukálunk. A mutáns megreked a ciklus azon pontján, ahol a génterméknek hatnia kellene. Ezt a pontot átmeneti pontnak nevezzük. A sejtciklus

specifikus pontjain megállt mutánsokat nagy számban izoláltak. A kérdéses mutált gének neve: **cdc (cell division cycle)** gének. A cdc mutánsok **kondicionálisak** (feltételes mutánsok) kell legyenek, mert ha a cdc fenotípus kifejeződik, akkor a sejt nem tud utódot létrehozni. A legtöbb kondicionális cdc mutáns **hőmérséklet érzékeny** mutáns: magasabb (**restriktív**) hőmérsékleten a géntermék funkciótelen, de alacsony (**permisszív**) hőmérsékleten normálisan működik. Permisszívről restriktív hőmérsékletre helyezést követően addig folytatják a ciklust, amíg el nem érik azt a pontot, ahol a mutáns géntermékre szükség van. Ekkor megállnak.

A hasadó élesztőnek az ún. **wee** mutánsai (skót nyelven kicsi) a vad típusú sejt méretének felénél osztódnak. Ezek olyan sejtciklus-mutánsok, melyek ciklusa nem blokkolt, hanem normális, csak a sejt méret kicsi.

### **Az MPF alegységei élesztőkben az állati sejtek MPF-jével homológok**

Az MPF protein kináz alegységének homológja hasadó élesztőben a **cdc2** génnel kódolt. A cdc2 gén terméke a hasadó élesztőben központi szerepet tölt be a sejtciklus szabályozásában:

1. ha hibás ( $cdc2^-$ ), akkor a sejtek nem lépnek mitózisba (cdc fenotípus),
2. egy ritka mutációja esetén pedig a sejtek a normális méret felénél (túl korán) lépnek mitózisba (wee fenotípusú cdc mutáns).

A *wee1*, *cdc25* és a *cdc13* olyan géneknek bizonyultak, amik a cdc2 génterméket szabályozzák.

A cdc2 gén terméke egy  $p34^{cdc2}$  protein-kináz, ami az MPF katalitikus alegysége. A cdc13 pedig a ciklin-B-vel homológ fehérjét kódol a hasadó élesztőben.

A cdc2 univerzális az eukariótákban: a humán cdc2 klónozásával bizonyították ezt.

### **Az MPF aktivitása foszforilációval és defoszforilációval szabályozott**

Az MPF aktivitása gátló és aktíváló foszforilezésekkel szabályozódik:

1. A tirozin-15 foszforilezése gátolja az MPF kináz aktivitását.
2. A treonin-161 foszforilezése pedig szükséges a protein-kináz aktivitáshoz.

A gátló foszforilezés domináns az aktiváló felett, azaz ha mindkét hely foszforilezett, akkor az MPF inaktív. Csak akkor aktív az MPF, ha a Thr-161 foszforilezett és a Tyr-15 defoszforilezett.

Kinázok és foszfatázok:

1. A tirozin-15 foszforilezéséért a Wee1 tirozin-kináz, defoszforilezéséért a Cdc25 tirozin foszfatáz felelős.
2. A treonin-161-et a Cdc2 aktiváló kináz (CAK) foszforilezi, a foszfatáz pedig nem tisztázott.

### **Az MPF aktiválódás pozitív visszacsatolása**

Az MPF hirtelen aktiválódik a G2/M fázis-határon, és ezt a következő mechanizmus magyarázza: az MPF-et aktiváló Cdc25 tirozin foszfatáz is egy foszforilációval szabályozott fehérje. A foszforilezett formája aktívabb, mint a nem foszforilezett. A foszforilezéséért felelős enzim pedig maga az MPF. Ez egy önerősítő (pozitív visszacsatolásos) kör. Ha több az MPF aktivitás, aktiválódik a Cdc25, ami még jobban aktiválja az MPF-et és így tovább.

### **A sejtciklust irányító központi gépezet molekuláris mechanizmusa**

A Cdc2 monomer nem foszforilezett inaktív állapotban van jelen. Ciklin kapcsolódásának hatására a Cdc2 foszforileződik az aktiváló és a gátló helyeken is. Az interfázisban a cyclin koncentráció egyre nő, de ez csak kis mértékű MPF aktiválódást eredményez, mert a tirozin foszforileződik. Mivel az MPF aktivitás alacsony, ezért a Cdc25 inaktív, és a tirozin csak lassan defoszforileződik. A ciklin koncentráció folyamatos növekedésével az egyensúlyi MPF koncentráció egyre nő, és ez aktiválja a Cdc25-öt. Amikor a ciklin egy bizonyos küszöbértéket ér el, akkor egy olyan kritikus MPF koncentráció lesz, ami bekapcsolja a pozitív visszacsatolásos kört, ami az MPF egyre gyorsuló aktiválódásához vezet. Amikor az MPF kritikus értéket ér el, a sejt mitózisba lép.

A mitózisból való kilépéshez az MPF inaktiválódására van szükség. A mitózisból való kilépés nem a mitózisba lépés megfordításaként jön létre. Az MPF aktivitás elvesztéséért a ciklin alegységek proteolitikus degradációja felelős. A ciklin alegységet ubiquitinezés (79 aminosavból álló kis peptid) jelöli meg a degradációra. A ciklint ubiquitinező enzimet az MPF aktiválja. Ez egy negatív feedback, mert az MPF elősegíti önmaga lebontását.

Így működik tehát az embriókban az M-fázist iniciáló mechanizmus. Az MPF inaktív és aktív alakja közti átmenet olyan, mint ahogy egy kapcsoló működik. Az MPF aktíválódása spontán, bizonyos időnként bekövetkezik, függetlenül attól, hogy az S-fázis befejeződött-e vagy sem. A kapcsoló szerkezet addig vár, amíg a ciklin a küszöbértékét el ne éri. Ha ez bekövetkezik, akkor az MPF aktíválódik a DNS replikáltsági állapotától függetlenül. Ez nem jelenti azt, hogy az embriókban nem működik feedback kontroll, csupán hatástalan, mert a nukleocitoplazmás arány nagyon alacsony.

### **Az ellenőrzési pontok molekuláris mechanizmusa**

A növekvő sejtek sejtciklusában a fenti mechanizmust a fékek hatásosan lassítják. A mitózist megelőzően

1. a nem replikált DNS-nek és
  2. a kis sejt méretnek
- van fékező hatása.

A sejt méret feltehetően a Wee1 tirozin-kinázon keresztül hat, és a Wee1 addig aktív, amíg a sejt bizonyos méretnél kisebb.

A nem replikált DNS pedig inaktívabb formában tartja a Cdc25-öt, és így a pozitív feedback-et ellensúlyozza. Ha a DNS szintézis befejeződött, akkor a Cdc25-öt inaktiváló foszfatáz aktivitása normális értékre áll vissza.