

Hoofdstuk 7 Cellulaire reactiewegen die chemische energie vastleggen 304

I. Energie en electronen van glucose.....304

I.1 Cellen vangen vrije energie terwijl glucose wordt gemetaboliseerd 305

I.2 Redox reacties transfereren electronen en energie 306

I.3 Het coenzym NAD⁺ is een centrale carrier van electronen in redox reacties
..... 307

II. Een overzicht: vrijstelling van energie van glucose308

III. Glycolyse: van glucose naar pyruvaat308

III.1 De energie-investerende reacties van de glycolyse hebben ATP nodig 308

III.2 De energie-oogstende reacties van de glycolyse brengen NADH + H⁺ en
ATP op 309

IV. Pyruvaatoxidatie311

V. De citroenzuurcyclus311

VI. De ademhalingsketen: electronen, protonen, en ATP productie313

VI.1 De ademhalingsketen transporteert electronen en stelt energie vrij 315

VI.2 Protondiffusie is gekoppeld aan ATP synthese 316

VII. Fermentatie: ATP halen uit glucose zonder zuurstof321

VII.1 Sommige fermenterende cellen produceren melkzuur, andere alcohol ... 322

VIII. Energie opbrengsten bij aeroob en anaeroob glucose metabolisme.....323

IX. De onderlinge verbanden tussen de metabole reactiewegen...324

IX.1 Catabolisme en anabolisme bestaan uit omzettingen van koolstofketens . 324

IX.2 Catabolisme en anabolisme zijn geïntegreerd 325

X. De regulatie van de energie.....326

Hoofdstuk 8 Fotosynthese: Energie uit de zon 339

I. Identificatie van het fotosynthetisch begin- en eindproduct.....340

II. De twee reactiewegen van fotosynthese: een overzicht.....341

III. De interacties van licht en pigmenten342

III.1 Licht bezit zowel deeltjes- als golfeigenschappen..... 342

III.2 De absorptie van een foton zorgt voor een excitatie toestand van een
pigment 343

III.3 Geabsorbeerde golflengtes correleren met de biologische activiteit 343

III.4 Fotosynthese gebruikt energie geabsorbeerd door verschillende pigmenten
..... 344

III.5 Licht absorptie zorgt voor fotochemische verandering	344
III.6 Geëxciteerd chlorofyl (Chl*) in het reactiecentrum ageert als een reducerende agens voor het elektronen transport	345

**IV. De lichtreacties: electronentransport, reducties en
fotofosforylatie346**

IV.1 Niet-cyclisch electronen transport produceert ATP en NADPH + H+	347
IV.2 Cyclisch electronentransport produceert ATP maar geen NADPH	350
IV.3 Chemiosmose is de bron van ATP geproduceerd tijdens de fotofosforylatie	351
IV.4 De Calvin-Benson cyclus: de synthese van carbohydraten uit CO2	352
IV.5 De stappen van de Calvin-Benson cyclus werden ontrafeld door isotopen labeling experimenten	352
IV.6 De Calvin-Benson cyclus bestaat uit drie processen	353

V. De fotorespiratie en de gevolgen355

V.1 Rubisco catalyseert de reactie van ribulose 1,5 bifosfaat (RuBP) met zowel CO2 als met O2	356
V.2 C3 planten en fotorespiratie	358
V.3 C4 planten kunnen fotorespiratie omzeilen	358
V.4 CAM planten gebruiken ook PEP carboxylase.....	360

VI. Metabole reactiewegen in planten361

**Hoofdstuk 9 Chromosomen, de celcyclus en celdeling
..... 360**

I. Systemen van cel reproductie361

I.1 Prokaryoten delen door fissie	361
I.2 Eukaryote cellen delen door mitose of meiose.....	363

II. De interfase en de controle van de celdeling364

II.1 De fasen van de celcyclus	364
II.2 Cyclines en andere eiwitten signaleren de gebeurtenissen in de celcyclus.	365
II.3 Rol van p53 in de controle van de celcyclus bij DNA schade	367
II.4 Groeifactoren kunnen cellen aanzetten tot deling	368

III. De eukaryote chromosomen.....369

III.1 De structuur van chromosomen	369
III.2 Histonen, de DNA interagerende eiwitten	370

**IV. Mitose: de verdeling van exacte kopijen van de genetische
informatie370**

IV.1 De centrosomen bepalen het vlak van de celdeling.....	370
IV.2 Chromatiden worden zichtbaar en de spoelfiguur vormt zich tijdens de profase	371
IV.3 De beweging van de chromosomen is een sterk georganiseerd proces	372
IV.4 Nuclei vormen zich opnieuw gedurende de telofase	373

V. Cytokinese: de scheiding van het cytoplasma.....	374
VI. De geslachtelijke en ongeslachtelijke voortplanting.....	374
VI.1 De voortplanting door mitose resulteert in genetische constantheid.....	374
VI.2 De voortplanting door meiose resulteert in genetische diversiteit.....	375
VI.3 Het aantal, de vorm en de grootte van de metafase chromosomen vormen het karyotype	376
VII. Meiose: twee opeenvolgende nucleaire delingen	377
VII.1 De eerste meiotische deling reduceert het aantal chromosomen.....	377
VII.2 De tweede meiotische deling zorgt voor een scheiding van de chromatiden	379
VII.3 Meiose leidt tot genetische diversiteit	379
VII.4 Meiose tijdens de vorming van voortplantingscellen bij de mens	380
VIII. Fouten tijdens de meiose	381
VIII.1 Aneuploidie geeft aanleiding tot genetische abnormaliteiten.....	381
VIII.2 Polyploidieën hebben problemen bij de celdeling	382
IX. Celdood	383
Hoofdstuk 10 Genetica: Mendel en daarna	398
I. De fundamenteën van de genetica.....	398
I.1 Plantentelers toonden aan dat beide ouders in gelijke mate bijdragen in de overerving.....	398
I.2 Mendel introduceerde nieuwe methoden over overerving	399
II. Mendels experimenten en de wetten van de overerving.....	400
II.1 Mendel ontwierp een grondig doordacht onderzoeksplan	400
II.2 Mendels experiment 1 onderzocht een monohybride kruising	401
II.3 Mendels wiskundige benadering.....	402
II.4 Mendel en enkele begrippen uit de moderne genetica	403
II.5 De eerste wet van Mendel: de wet van de segregatie van allelen	404
II.6 Mendel verifieerde zijn hypothese door het uitvoeren van test kruisingen.	405
II.7 De tweede wet van Mendel: allelen van verschillende genen sorteren onafhankelijk van elkaar	405
II.8 Punnett vierkanten en kansberekeningen	407
II.9 De wetten van Mendel kunnen vastgesteld worden in menselijke stambomen	410
III. Allelen en hun interacties	411
III.1 Nieuwe allelen ontstaan door mutaties	412
III.2 Vele genen hebben multiple allelen in de populatie en vertonen dominantiereksen.....	412
III.3 Dominantie is niet altijd compleet	413
III.4 In codominantie komen beide allelen tot uitdrukking	414
III.5 Sommige allelen hebben meervoudige fenotypische effecten.....	415

IV. Geninteracties.....	415
IV.1 Sommige genen veranderen het effect van andere genen.....	415
IV.2 De kracht van de hybriden («hybrid vigour» of «heterosis») is het resultaat van nieuwe combinaties en interacties	418
IV.3 De omgeving beïnvloedt de activiteit van genen.....	419
IV.4 De meeste fenotypes zijn complex en worden bepaald door een combinatie van meerdere genen en omgevingsfactoren	420
IV.5 Fenotype en omgevingsfactoren	421
V. Genen en chromosomen	422
V.1 Genen op hetzelfde chromosoom zijn verbonden.....	423
V.2 Genen kunnen uitgewisseld worden tussen chromatiden	424
V.3 Genetici maken genetische kaarten van chromosomen	424
VI. Geslachtsbepaling en geslachtsverbonden overerving.	425
VI.1 Het geslacht wordt op verschillende manieren bepaald in de verschillende species	425
VI.2 De X en Y chromosomen hebben verschillende functies.....	426
VI.3 De rol van het Y chromosoom in andere species	428
VI.4 Geslachtsgekoppelde genen vertonen speciale manieren van overerving.....	428
VI.5 Mensen vertonen vele geslachtsgebonden kenmerken	429
VII. Niet-nucleaire overerving	430
Hoofdstuk 11 DNA en zijn rol in de overerving	444
I. DNA: het genetisch materiaal.....	444
I.1 DNA van één type van bacteriën transformeert genetisch een ander type ...	444
I.2 Het transformerend principe is DNA.....	445
I.3 Experimenten met virale replicatie bevestigen dat het genetisch materiaal uit DNA bestond.....	446
II. De structuur van DNA	447
II.1 X-straal kristallografie leverde de sleutels tot de DNA structuur	447
II.2 De chemische samenstelling van DNA was gekend	447
II.3 Watson en Crick beschrijven de dubbelhelix	448
II.4 Vier basiskennmerken definiëren de structuur van DNA	449
II.5 De antiparallelle dubbelhelix structuur van DNA is essentieel voor zijn functie.....	450
III. Het bepalen van het mechanisme van de DNA replicatie.....	450
III.1 Drie theoretisch mogelijke manieren van DNA replicatie.....	450
III.2 Meselson en Stahl toonden aan dat de DNA replicatie semiconservatief verloopt.....	451
IV. Het moleculaire mechanisme van de DNA replicatie	452
IV.1 DNA wordt door het replicatiecomplex getrokken	453
IV.2 Kleine, circulaire DNA's repliceren van één enkele oorsprong van replicatie (ORI)	453

IV.3 Grote, lineaire DNA's hebben vele oorsprongen van replicatie (ORI's) ..	454
IV.4 DNA polymerasen hebben een starter ("primer") nodig	454
IV.5 Cellen bevatten een aantal verschillende DNA polymerasen.....	454
IV.6 De achterblijvende streng wordt gesynthetiseerd door Okazaki fragmenten	455
IV.7 Telomeren worden niet volledig gerepliceerd	456
IV.8 De replicatie van telomere sequenties door telomerasen.....	456
V. DNA proeflezing en herstel.....	457
V.1 Het proeflezing herstelmechanisme zorgt ervoor dat de DNA replicatie accuraat geschiedt.....	458
V.2 Mismatch herstel- mechanismen corrigeren de fouten in de basenparing ..	458
V.3 Uitknip herstel- mechanismen zorgen voor herstel van de chemische schade	458
VI. Praktische toepassingen van de DNA replicatie	459
VI.1 De polymerase ketting reactie (PCR) maakt talrijke kopieën van DNA ...	459
VI.2 De nucleotide sequentie van DNA kan bepaald worden	460
Hoofdstuk 12 Van DNA tot eiwit: van genotype tot fenotype	473
I. Eén gen, één polypeptide	473
I.1 De experimenten van Beadle en Tatum met Neurospora legden het verband tussen genotype en fenotype, en introduceerden het concept één gen, één enzyme.....	473
I.2 Archibald Garrod legde reeds het verband tussen genotype en een biochemische reactieweg.....	475
I.3 Aanpassing van het concept: één gen, één enzyme	475
II. DNA, RNA en de informatiestroom	475
II.1 RNA verschilt van DNA	476
II.2 De unidirectionele informatiestroom	476
De boodschapper hypothese en transcriptie.....	476
De adaptor hypothese en translatie	477
II.3 RNA virussen vertonen variaties op het centrale dogma	477
III. Transcriptie: DNA-afhankelijke RNA synthese	478
III.1 Initiatie van transcriptie heeft promoter en RNA polymerase nodig	479
III.2 Het RNA polymerase verlengt het transcript.....	480
III.3 De transcriptie stop en verdere verwerking van RNA.....	480
IV. De genetische code.....	481
IV.1 De eigenschappen van de genetische code	481
IV.2 Moleculaire biologen ontrafelden de genetische code door gebruik te maken van artificiële boodschappers	482
IV.3 De genetische code is redundant en ondubbelzinnig.....	483
IV.4 tRNA's herkennen meerdere codons door de wobble interactie t.h.v positie 3 van het codon.....	483

IV.5 De genetische code is (zo goed als) universeel	484
V. De voorbereiding tot translatie: het verbinden van RNA's, aminozuren en ribosomen.....	485
V.1 Transfer RNA's dragen specifieke aminozuren en binden op specifieke codons.....	485
V.2 Aminoacyl tRNA synthetasen verbinden de juiste tRNA's en aminozuren	486
V.3 Het ribosoom is de werktafel voor translatie	487
VI. Translatie: de RNA-afhankelijke polypeptide synthese.....	489
VI.1 Translatie begint met een initiatie complex	489
VI.2 De polypeptide keten wordt verlengd aan de N terminus.....	491
VI.3 De elongatie zet zich door en de polypeptide keten groeit.....	491
VI.4 Een vrijstelling factor (release factor) termineert de translatie	492
VII. De regulatie van translatie.....	492
VII.1 Sommige antibiotica en bacteriële toxines werken door inhibitie van translatie	492
VII.2 De vorming van polysomen verhoogt de snelheid van eiwitsynthese.....	493
VIII. Enkele posttranslationale aspecten van de eiwit synthese ...	493
VIII.1 Chemische signalen in de eiwitten sturen hen naar hun cellulaire bestemmingen (eukaryoten!).....	494
VIII.2 Vele eiwitten worden gemodificeerd na translatie.....	496
IX. Mutaties: overerfbare veranderingen in genen	497
IX.1 Puntmutaties zijn veranderingen in één enkele nucleotide.....	498
IX.2 Chromosomale mutaties zijn uitvoerige veranderingen in het genetisch materiaal	500
IX.3 Mutaties kunnen spontaan gebeuren of geïnduceerd.....	501
IX.4 Spontane mutaties	502
IX.5 Mutaties door mutagenen	503
IX.6 Rol van mutaties	504
IX.7 Mutaties zijn het ruwe materiaal voor de evolutie.....	504
Hoofdstuk 13 Het ontstaan van leven op aarde.....	516
I. Wanneer is het leven op Aarde ontstaan?	517
I.1 Schattingen van de leeftijd van de Aarde bepalen de benedengrens voor het ontstaan van leven op Aarde	518
I.2 Fossielen en vergelijking met moderne organismen suggereert dat leven op de vroege Aarde is geëvolueerd snel nadat de omstandigheden gunstig waren	524
I.3 Samenvatting	525
II. Hoe is het leven begonnen hier op Aarde?.....	525
II.1 Talrijke moleculen die nodig zijn voor leven kunnen worden gevormd op chemische of fysische wijze.....	526

II.2 Chemische reacties kunnen evolueren tot de productie van complexe moleculen en van primitief metabolisme	534
II.3 ZelfrePLICatie is noodzakelijk voor evolutie.....	540
II.4 Compartmentalisatie faciliteert zelforganisatie en versnelt evolutie	544
II.5 Het linken van genotype (informatie) en fenotype (functie).....	548
II.6 Het ontstaan van de genetische code.....	557
II.7 DNA vervangt RNA als belangrijkste informatiedragende molecule.....	562
III. De laatste universele gemeenschappelijke voorloper (“LUCA”) en de boom van het leven (“tree of life”).....	569
III.1 Het bestaan van universele homologieën argumenteren voor het bestaan van LUCA	569
III.2 Het LUCA concept uitgedaagd door horizontale gentransfer?.....	574
III.3 Het huidige leven is een gevolg van unieke gebeurtenissen of singulariteiten	577
IV. En waar zitten de virussen in deze “Boom van het Leven”? ..	578
V. Samenvatting.....	582
Hoofdstuk 14 De evolutie en de diversiteit van leven op aarde	584
I. Belangrijke gebeurtenissen in de geschiedenis van het leven op aarde	584
I.1 Leven ontstond uit niet-leven door een chemische evolutie.....	586
I.2 Belangrijke gebeurtenissen, processen en mijlpalen tijdens de biologische evolutie	588
I.3 De evolutie van leven: uniciteit, diversiteit, complexiteit – opmerkingen...	598
I.4 De niveaus van de organisatie van het leven	604
I.5 De evolutionaire boom van het leven	605

Hoofdstuk 9

Chromosomen, de celcyclus en celdeling

*In 1951 werd de 31-jarige Henrietta Lacks in het John Hopkins Hospital opgenomen voor de behandeling van een kwaadaardige tumor in de baarmoederhals. Alhoewel zij een paar maanden later stierf, leven haar cellen op dit moment nog verder. Wetenschappers vonden dat met de juiste voedingsstoffen bepaalde kankercellen onbeperkt kunnen delen in weefselkweekflessen. De cellen van **Henrietta Lacks** worden “HeLa” cellen genoemd. en er wordt geschat dat in alle laboratoria samen ongeveer 70 ton HeLa cellen in cultuur worden gehouden ofwel 7×10^{17} cellen (1 g cellen komt overeen met ongeveer 10^9 cellen). De HeLa cellen werden de experimentele “proefbuis” cellen voor de moleculaire celbiologie. Over de voorbije 10-tallen jaren werden tienduizenden wetenschappelijke artikels geproduceerd op basis van informatie verkregen uit experimenten met Henrietta’s cellen. Maar zijn dergelijke cellen wel een goed model voor de menselijke biologie?*

In zeker opzicht vormen zij een goed model. De meeste multicellulaire organismen ontstaan uit één enkele cel: de bevruchte eicel. Deze cel reproduceert zichzelf om twee cellen te vormen, die op hun beurt delen en vier cellen worden, enzovoort tot alle cellen van een nieuw organisme zijn gevormd. Het is wel duidelijk dat een organisme niet zomaar een massa cellen is, zoals een cultuur van HeLa cellen. De cellen vormen ook gespecialiseerde weefsels en organen, die elk een specifieke functie vervullen.

*In normale weefsels wordt de reproductie van cellen gecompenseerd door verlies van cellen door celdood. Door studies van een kleine rondworm (Nematode), *Caenorhabditis elegans*, weten wij dat celdood een gevolg is van een genetisch programma. In een volwassen *C. elegans* worden exact 1090 cellen geproduceerd uit de bevruchte eicel. Van deze 1090 cellen sterven er exact 131 cellen af op een welbepaalde plaats en op een welbepaald ogenblik. Wanneer deze cellen niet op de juiste plaats en op het juiste ogenblik afsterven dan krijgen wij een misvormde worm. Ook bij de ontwikkeling van de hersenen sterven een deel van de neuronen af; gebeurt dit niet dan krijgen de muizen hersen hyperplasia ofwel teveel hersencellen.*

De wijze waarop een cel in ons lichaam afsterft is geprogrammeerd door genetische instructies, maar de plaats en het tijdstip worden bepaald door de omgeving van de cel. Celdood sculpteert het organisme gedurende de embryogenese en de homeostase. Wij blijven zoals we zijn doordat er een preciese balans bestaat tussen de cellen die verdwijnen door celdood en deze die bijkomen door celdeling. Beide fenomenen zijn in evenwicht tijdens condities van homeostase (toestand van evenwicht en stabiel intern milieu van een organisme). Het is het evenwicht tussen celdeling en celdood die maakt dat in een volwassen organisme de organen (ogen, vingers, oren, enz.) dezelfde grootte behouden. Celdeling wordt gecompenseerd door celdood, en omgekeerd. Veel celdood stimuleert grotere celdeling en omgekeerd. Recente studies hebben uitgewezen dat vele kankercellen, zoals de HeLa cellen, het vermogen om dood te gaan hebben “verloren” of “onderdrukken”. Dergelijke kankercellen hebben mutaties in bepaalde genen verworven die celdeling en overleving bevorderen en celdood onderdrukken.

In dit hoofdstuk zullen wij kort beschrijven hoe prokaryote cellen twee nieuwe organismen voortbrengen uit een oorspronkelijk ééncellig organisme. Vervolgens zullen wij twee types van cel- en kerndeling beschrijven in eukaryote cellen – mitose en

*meiose, en zullen wij deze delingswijzen in verband brengen met asexuele en sexuele voortplanting. Tenslotte, om de discussie over celproliferatie door deling wat te compenseren zullen wij twee belangrijk types van celdood beschrijven, nl. apoptose en necrose. Voor de ontdekking van het genetische programma van apoptose in *C. elegans* werd in 2002 de Nobelprijs voor de Geneeskunde uitgereikt aan Sidney Brenner, John Sulston en Bob Horvitz.*

I. Systemen van cel reproductie

Eencellige organismen gebruiken celdeling om zichzelf te reproduceren, terwijl multicellulaire organismen celdeling vaak ook gebruiken voor groei en herstel van weefsels (Figuur 9.1). Voor gelijk welke cel gelden vier voorwaarden opdat een cel zou delen:

- Er moet een **signaal tot reproductie** komen. Dit signaal komt van binnen (intracellulair) of van buiten de cel (extracellulair) en initieert de eerste stappen van celdeling.
- **Replicatie** van DNA (genetisch materiaal) en ander vitale cellulaire componenten moeten op dusdanige wijze gebeuren zodat elk van de twee nieuwgevormde cellen identiek is en beschikt over de volledige set aan cellulaire functies.
- De cel moet het gerepliceerde DNA exact verdelen over de twee nieuwe cellen door een proces van **segregatie**.
- Nieuw materiaal moet worden toegevoegd aan de celmembraan (of aan de celwand in geval van bacteriën of plant cellen) om de twee nieuwe cellen fysisch te kunnen scheiden. Dit proces noemt de **cytokinese**.

Deze vier gebeurtenissen gebeuren op verschillende manieren in prokaryoten en eukaryoten.

I.1 Prokaryoten delen door fessie

In prokaryoten resulteert celdeling in de reproductie van een volledig ééncellig organisme. De cellen groeien in grootte, repliceren hun DNA, en delen dan essentieel in twee nieuwe cellen, een proces dat **fessie** wordt genoemd.

REPRODUCTIEVE SIGNALLEN. De snelheid van reproductie in vele prokaryoten is een antwoord op omgevingsomstandigheden. De bacterie *Escherichia coli*, een species dat algemeen wordt gebruikt in genetische studies, is essentieel een continue “celdelingsmachine”. Een typische celdeling bij 37°C neemt 40 minuten in beslag. Maar wanneer er overvloedige bronnen van koolwaterstoffen en zouten aanwezig zijn loopt de snelheid van celdeling bij bacteriën op tot 20 minuten. Een andere bacterie, *Bacillus subtilis*, stopt celdeling wanneer de voedselvoorraden beperkend zijn, en herneemt celdeling wanneer de omstandigheden verbeteren. Deze observaties suggereren dat externe factoren, zoals beschikbaarheid van componenten in de omgeving worden “waargenomen” en de initiatie van de celdeling in prokaryoten controleren.

Dat de deling van bacteriën moet worden gecontroleerd door externe omstandigheden wordt duidelijk met een eenvoudige rekensom. *E. coli*-cellen delen zich bijvoorbeeld elke 20 minuten als er voldoende voedsel is. Dat betekent na één uur 8 (= 2x2x2) cellen, na twee uur 64 (8x2x2x2) cellen en na drie uur 512 cellen. Als er voldoende voedselbronnen en plaats is om dit groeitempo vol te houden, is het totale gewicht aan

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

bacteriën na 13 uur één kilogram en na 76 uur is het gewicht vergelijkbaar met de totale massa van het waarneembare heelal. Dat is uiteraard onmogelijk. Lang voordat deze situatie wordt bereikt zal de bacterie op rantsoen worden gezet.

REPLICATIE VAN DNA. Een **chromosoom** is een DNA molecule die de genetische informatie bevat. Wanneer een cel deelt moeten alle chromosomen gerepliceerd worden en elk van de twee resulterende kopieën moet zijn weg vinden naar de twee nieuwe cellen.

De meeste prokaryoten hebben slechts één chromosoom, één enkele lange DNA molecule waarop eiwitten zijn gebonden. In de bacterie *E. coli* is het DNA een continue molecule, wat een *circulair chromosoom* wordt genoemd. Als het bacterieel DNA zou worden geschikt als een cirkel zou deze een omtrek hebben van 1,6 mm of 1600 µm (of een cirkel met diameter van ongeveer 0,5 mm of 500 µm). Het is duidelijk voor een bacterie met dimensies van 1-4 µm diameter enige “condensatie” van het “circulaire” chromosoom nodig is om te kunnen passen in de 500-voudig kleinere dimensie van de bacterie. Deze compactie van DNA komt o.a. tot stand door positief geladen eiwitten (basische eiwitten) die binden op de negatief geladen (zure) ruggegraat van DNA bestaande uit suiker-fosfodiëster verbindingen (zie Hoofdstuk 4 en 11). Circulaire (continue) chromosomen zijn een eigenschap van vele (maar niet alle!) prokaryoten, van bepaalde virussen, maar ook van de organellen die van prokaryote oorsprong zijn (mitochondriën, chloroplasten).

Twee gebieden op het chromosoom zijn zeer belangrijk voor de cellulaire reproductie:

- De plaats waar de replicatie van de DNA cirkel start: de oorsprong (ori) van replicatie, ook **ori** genoemd.
- De plaats waar de replicatie eindigt: het einde (terminus) van de replicatie, of kortweg **ter** genoemd.

Het proces van chromosoom replicatie gebeurt terwijl het DNA wordt getrokken door een complex van eiwitten betrokken bij de replicatie (*replicosoome*). Deze eiwitten omvatten o.a. het enzyme **DNA-afhankelijk DNA polymerase** (zie Hoofdstuk 11). Gedurende het proces van DNA replicatie, groeit de cel en zorgt de cel voor een mechanisme dat betrokken is bij de gelijkmatige scheiding van het DNA over de twee nieuwgevormde dochtercellen.

SEGREGATIE VAN HET DNA. Het proces van DNA replicatie stuurt de segregatie van de gerepliceerde DNA moleculen actief naar de twee nieuwe cellen. Het eerste gebied dat gerepliceerd moet worden is de *ori* (oorsprong van replicatie = **origin** of replication). Dit gebied is vastgehecht aan de plasmamembraan. De twee resulterende *ori* gebieden segregeren terwijl de nieuwe chromosomen zich vormen. De bacterie groeit terwijl er zich nieuw plasmamembraan vormt tussen beide *ori*'s.

CYTOKINESIS. De scheiding van de cellen, of cytokinesis, begint in het geval van *E. coli* 20 minuten nadat de chromosoom replicatie is beëindigd. De eerste gebeurtenis in de cytokinesis is de vorming van een instulping op de plaats waar de toekomstige cellen zullen scheiden, die zich verder over het oppervlak insnoert als een nauwer wordende ring. Vezels die gelijk zijn op het eukaryote tubuline (die de microtubules vormen) vormen de belangrijkste componenten van deze ring. Terwijl de membraan insnoert, wordt nieuw materiaal voor de celwand gesynthetiseerd, wat finaal resulteert in de scheiding van de twee cellen (Figuur 9.2).

I.2 Eukaryote cellen delen door mitose of meiose

Complexe eukaryoten, zoals mens en bloeiende planten, ontstaan uit één cel, de bevruchte eicel of zygote. Deze cel is afgeleid van een fusie tussen twee geslachtelijke cellen, de **gameten** genoemd, afkomstig van twee ouderlijke organismen. Deze gameten, spermacel - afkomstig van de mannelijke ouder - en eicel - afkomstig van de vrouwelijke ouder -, bevatten het genetisch materiaal afkomstig van elk ouderlijk organisme. Dit betekent dat de bevruchte eicel een set chromosomen bevat van de mannelijke ouder en een set van de vrouwelijke ouder.

De vorming van een multicellulair organisme uit een bevruchte eicel wordt de *ontwikkeling* genoemd. Het houdt zowel cellulaire vermenig-vuldiging in als cellulaire specialisatie, of *differentiatie* genoemd. Een menselijk volwassen lichaam bevat ongeveer 60 biljoen* (6×10^{13}) cellen met heel verschillende en gespecialiseerde functies. [*Let op bij getallen in Amerikaanse tekstboeken: 10^9 , in het Amerikaans is “billion”; in Europa “miljard”; 10^{12} , in het Amerikaans is “trillion”, in Europa “biljoen”]. Het menselijk lichaam telt ongeveer **260 verschillende celtypes**, die alle worden gevormd door een specifiek differentiatieprogramma. Hoe deze cellulaire differentiatie aanleiding geeft tot een organisme wordt behandeld in de cursus Ontwikkelingsbiologie in Bachelor 3. Op dit ogenblik focuseren wij ons enkel op de vermenigvuldiging van cellen.

De reproductie van cellen in eukaryoten wordt net zoals in de prokaryoten ingezet door (1) extra- of intracellulaire signalen, gevolgd door (2) DNA replicatie, (3) segregatie en (4) cytokineses. Maar zoals je kan verwachten verloopt dit in eukaryoten heel wat complexer.

(1) Ten eerste, in tegenstelling tot de prokaryoten, delen eukaryote cellen niet constant wanneer de omgevingsomstandigheden gunstig zijn. Het is integendeel zo dat eukaryote cellen die deel uitmaken van een organisme en een terminale differentiatie hebben ondergaan (specialisatie) vaak niet meer delen (denk aan de keratinocyten van de huid, de neuronale cellen van de hersenen, de lenscellen van het oog, spiercellen, rode bloedcellen, enz.). Een organisme op volwassen leeftijd heeft ook een vaststaande grootte. Dit impliceert dat de signalen voor celdeling niet volledig afhangen van de onmiddellijke omgeving van één cel, maar afhankelijk is van de noden van het gehele organisme.

(2) Ten tweede, in tegenstelling tot het meestal enkelvoudige prokaryote chromosoom (sommige bacteriën bezitten ook meerdere chromosomen), bezitten eukaryote organismen gewoonlijk heel veel chromosomen (de mens heeft er 46). Dit impliceert dat de processen van DNA replicatie en segregatie heel wat ingewikkelder zullen verlopen.

(3) Ten derde, eukaryote cellen hebben een afgescheiden nucleus, die uiteraard ook moet gedeeld worden in twee nieuwe nuclei. Dit betekent dat in eukaryoten, het proces van cytokineses verschillend is van de loutere verdeling van het genetisch materiaal.

(4) Tenslotte is de cytokineses verschillend tussen plantencellen (die een celwand hebben) en dierlijke cellen (die geen celwand hebben).

Het belangrijkste verschil tussen de vermenigvuldiging van prokaryote en eukaryote cellen is dat in eukaryoten de **nieuwgevormde chromosomen** met elkaar geassocieerde blijven als **zuster chromatiden** en een nieuw mechanisme, **mitose**, wordt gebruikt om de chromatiden te scheiden over de twee nieuw gevormde nuclei.

De typische vermenigvuldiging van een eukaryote cel bestaat uit drie stappen:

- De **replicatie van het DNA** in de nucleus

- De verpakking en segregatie van het gerepliceerde DNA in de twee nieuwe nucleï (**nucleaire deling**)
- De deling van het cytoplasma (**cytokineses**).

Een tweede mechanisme van nucleaire deling, **meiose**, gebeurt in de **geslachtelijke kiemcellen** die de gameten vormen die bijdragen tot de reproductie van een organisme. Terwijl de twee producten van mitose genetisch identiek zijn aan de cel waaruit zij afkomstig zijn (beschikken over hetzelfde DNA), zijn de producten van de meiose dit niet. Zoals wij later zullen zien genereert meiose *genetische diversiteit* door het herschikken van het genetisch materiaal wat resulteert in nieuwe combinaties van genen. Dit proces speelt een cruciale rol in de *sexuele* levenscycli en draagt in sterke mate bij tot de variatie waarop de natuurlijke selectie inspeelt.

Wat bepaalt nu of een cel zal delen? Hoe leidt het proces van mitose tot identieke nakomelingen, en hoe leidt het proces van meiose tot diversiteit? Waarom hebben wij in het ene geval identieke copijen nodig en in het andere geval diversiteit? Waarom reproduceren de meeste eukaryote organismen zich op sexuele wijze? In de volgende bladzijden gaan wij dieper in op de details van de interfase (dit is de fase tussen twee celdelingen), op de mitose en de meiose, alsook op de gevolgen op de erfelijkheid, de ontwikkeling en de evolutie.

II. De interfase en de controle van de celdeling

II.1 De fasen van de celcyclus

Een cel leeft, oefent haar gespecialiseerde functies tot ze opnieuw deelt of sterft. De cel kan een gameet zijn die leeft tot het fusioneert met een andere gameet. In sommige celtypes zoals rode bloedcellen, spiercellen (fusioneren tot multi-nucleaire cellen of syncytia), en zenuwcellen gaat differentiatie gepaard met verlies van de capaciteit om te delen. Andere cellen zoals schorscellen in de stam van planten, delen zelden, terwijl andere cellen, zoals cellen in een ontwikkelend embryo of darmepitheel cellen gespecialiseerd zijn in zeer korte delingstijden. Deze cellen vertonen een snelle verdubbeling bv. een verdubbelingstijd van 14 u behoort tot de snelst delende cellen in ons organisme nl. de darmepitheelcellen.

Tussen twee delingen door – dat is voor de meeste cellen het grootste deel van hun leven – vertoeven de eukaryote cellen zich in een toestand van **interfase**. De meeste celtypes doorlopen een **celcyclus** met twee fasen: **mitose** en **interfase**. In deze sectie beschrijven wij de gebeurtenissen die voorkomen tijdens de interfase, in het bijzonder deze die leiden tot de beslissing om de mitotische fase binnen te treden.

Een bepaalde cel doorloopt één ronde van de celcyclus om daarna twee cellen te worden. Wanneer de celcyclus meerdere keren wordt doorlopen is er een constante bron van nieuwe cellen. Maar zelfs in weefsels met sneldelende cellen (beenmerg-cellen, darmepitheelcellen), vertoeft de cel voor het grootste deel van haar tijd in de interfase. Onderzoek van gelijk welke verzameling van delende cellen, zoals de worteltop of een sneetje lever, toont aan dat de meeste cellen zich voor het grootste deel van de tijd in de interfase; slechts een klein percentage van de cellen bevinden zich op een bepaald moment in mitose.

De interfase bestaat uit drie fasen: G1, S en G2. Het nucleair DNA replicateert tijdens de S fase (S staat voor synthese). De periode tussen het einde van de mitose en de aanvang van de S fase wordt **G1** fase genoemd, of Gap1. De andere breuk (“gap”) bevindt zich tussen de S fase en het begin van de mitose, waar nucleaire en cytoplasmatische deling

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

plaatsgrijpen en twee nieuwe cellen worden gevormd (cytokineses). Mitose en cytokineses worden benoemd als de **M fase** van de celcyclus (Figuur 9.3).

Het proces van de DNA replicatie (zie Hoofdstuk 11) is compleet op het einde van de S fase. Ieder chromosoom is nu omgezet naar twee chromatiden die nog samengehouden worden en wachten op segregatie door mitose (scheiden van chromatiden van één chromosoom) of meiose (scheiden van homologe chromosomen paren) naar de twee nieuwe cellen.

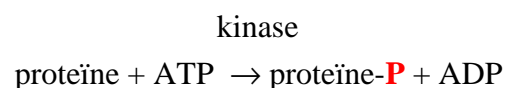
Alhoewel de replicatie van DNA tijdens de S fase een zeer belangrijke gebeurtenis is in de celdeling, grijpen tijdens de “gap” fasen die de S fase voorafgaan (G1) en volgen (G2) ook belangrijke celcyclus processen plaats. De lengte van de G1 fase kan sterk variëren naargelang het celtype. Sneldelende embryonale cellen zoals de blastomeren in de vroege embryo-genese slaan de G1 fase over, terwijl andere cellen gedurende weken of zelfs jaren in de G1 fase blijven “hangen”. In vele gevallen gaan dergelijke cellen over tot een fase van rust, de **G0 fase** genoemd. Speciale interne of externe signalen zijn dan nodig om een cel aan te zetten uit de G0 fase te treden en de celcyclus verder te zetten.

De cel in de G1 fase wordt biochemisch gekenmerkt door het treffen van voorbereidingen voor de S fase. In de G1 fase is elk chromosoom aanwezig als een enkelvoudige, niet gerepliceerde structuur. In de G1/S overgangsfase wordt het engagement genomen om de volgende fase van de celcyclus binnen te treden.

Gedurende de G2 fase neemt de cel de voorbereidingen voor de mitose – bv. door het synthetiseren van de componenten van de mitotische spoelfiguur in twee tegenover elkaar liggende centrosomen of MTOC (microtubuli organiserende centra). De mitotische spoelfiguur bestaat uit microtubuli (zie cursus Celbiologie) die zich vasthechten op de chromatiden en deze naar de tegenoverstaande uiteinden van de delende cel begeleiden (zie Hoofdstuk 4). Aangezien de chromosomen reeds werden gerepliceerd tijdens de S-fase, bestaat elk chromosoom nu uit twee identieke zusterchromatiden. In feite bezit de cel op dat moment 4 kopieën van de chromosomen en is dus tijdelijk tetraploid.

II.2 Cyclines en andere eiwitten signaleren de gebeurtenissen in de celcyclus

Hoe worden de gepaste beslissingen genomen om de S of M binnen te treden genomen? Deze transitie – van G1 naar S en van G2 naar M – hangen af van de activering van een bepaald eiwit, het zgn. **cycline-afhankelijke kinase** of **Cdk**. Herinner u dat een *kinase* een enzyme is dat de transfer catalyseert van een fosfaat van ATP naar een andere molecule (eiwit, nucleïnezuur, suiker, vetzuur). Deze transfer van γ -fosfaat van ATP naar een proteïne wordt *fosforylatie* genoemd:



Wat doet een dergelijke **fosforylatie** met het eiwit? Herinner u van Hoofdstuk 3 dat bij eiwitten polaire of hydrofiele zijketens relatief meer aan de buitenkant gelegen zijn door hun neiging om met de polaire water moleculen te reageren en alzo een “watermantel” rond een eiwit aan te leggen. De apolaire, hydrofobe zijketens zijn relatief meer naar binnen gelegen en worden uit het polaire water geduwd en reageren met elkaar door

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

hydrofobe interacties en Van der Waals krachten. Afwisseling van hydrofiele en hydrofobe gebieden, samen met secundaire structuren zoals α -helices en β -strengen, geven een eiwit een bepaalde drie-dimensionele structuur. Fosfaatgroepen zijn negatief geladen, waardoor de zijketen van een aminozuur dat een fosfaatgroep draagt (enkel S/Ser, T/Thr, Y/Tyr – polaire, niet geladen, hydrofiele aminozuren worden gefosforyleerd) een negatieve lading krijgt. Op deze wijze beïnvloeden veranderingen in de fosforylatie de vorm en het functioneren van een eiwit. Fosforylatie leidt meestal tot activering van een enzyme, maar in principe kan het ook leiden tot inactivering. Er bestaan **Ser/Thr kinasen** en **Tyr kinasen**, die respectievelijk een Ser/Thr of een Tyr fosforyleren. De specificiteit van welk eiwit op welk Ser, Thr of Tyr wordt gefosforyleerd wordt bepaald door bijkomende herkenningsequenties (“docking domein”) op het doelwiteiwit waarop het kinase zal “docken” of aanmeren. De fosfaatgroep wordt verwijderd door **fosfatasen**. Door het katalyseren van welbepaalde doelwiteiwitten, spelen Cycline-afhankelijke kinasen (Cdk’s) een belangrijke rol bij het initiëren van de verschillende fasen van de celcyclus.

De ontdekking dat Cdk’s celdeling induceren is een mooi voorbeeld hoe onderzoek van totaal verschillende organismen (gist, zeeëgels) en verschillende celtypes uiteindelijk eenzelfde mechanisme blootlegden:

- Een groep wetenschappers bestudeerde hoe immature zeeëgel eieren werden gestimuleerd om te delen en mature eieren te vormen. Zij zuiverden een eiwit *maturatie promoverende factor* (MPF) uit rijpende eicellen dat in staat was onrijpe eicellen tot deling aan te porren (G1/S transitie).
- Andere wetenschappers bestudeerden de celcyclus in gist, een eencellig organisme, en vonden een stam die geblokkeerd was in de G1/S overgangsfase omdat het een bepaald Cdk mistte. Dit gist Cdk bleek achteraf heel sterk te gelijken op de zeeëgel maturatie promoverende factor.

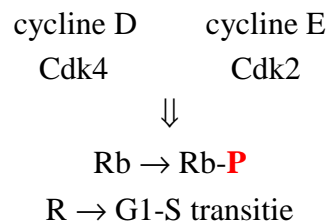
Vlug daarna werd gevonden dat analoge Cdk’s de G1/S overgang controleerden in vele andere organismen, inclusief de mens. Maar Cdk’s zijn niet actief op zichzelf. Ook zij worden op hun beurt geregeld. Zoals hun naam “cycline-afhankelijke kinasen” zegt, is hun werking afhankelijk van de binding van een ander eiwit, **cycline** genaamd. De binding van een cycline op een allosterische plaats van een regulator eenheid – een voorbeeld van een allosterische regulatie – verandert de vorm van het kinase (katalytische eenheid) waardoor de actieve plaats wordt blootgesteld. Dit principe van allosterische regulatie van enzymes hebben we reeds besproken in Hoofdstuk 6 (zie Figuur 6.19). Het **cycline-Cdk complex** fungeert als een eiwit kinase en triggert de overgang van de G1 naar de S fase. Vervolgens wordt het cycline afgebroken en wordt het Cdk opnieuw inactief.

Er zijn verschillende combinaties van cyclines en Cdk’s mogelijk die op verschillende fasen van de celcyclus werken (Figuur 9.4):

- **Cycline D – Cdk4** complex werkt gedurende het midden van de G1 fase. Dit is een zogenaamde *restrictiepunt* (R), een cruciaal beslissingspunt dat eens gepasseerd de volledige celcyclus laat doorlopen.
- **Cycline E – Cdk2** complex werkt ook in het midden van de G1 fase.
- **Cycline A – Cdk2** complex werkt gedurende de S-fase, en stimuleert ook de DNA replicatie.
- **Cycline B – Cdk1** complex werkt ter hoogte van de G2-M overgang, en initieert het begin van de mitose.

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

De sleutelmolecule die het restrictie-punt (R) van de celcyclus controleert is het eiwit *Rb* (retinoblastoma eiwit, genoemd naar een zeldzame vorm van oogkanker bij kinderen te wijten aan een mutatie in het *rb* gen). Het Rb eiwit is een **inhibitor** die de voortgang van de celcyclus blokkeert in de G1 fase. Wanneer het Rb eiwit wordt gefosforyleerd door een kinase, dan wordt het inactief (een voorbeeld van negatieve regulatie door fosforylatie!). Hierdoor blokkeert het **Rb-P** niet langer het **restrictiepunt (R)**, waardoor de cel de celcyclus verderzet van G1 naar S. De enzymen die de Rb fosforyleren zijn Cdk4 en Cdk2. Dit impliceert dat voor een cel om het restrictiepunt te passeren cycline D en cycline E nodig zijn voor de activering van Cdk4 en Cdk2, die op hun beurt het Rb fosforyleren waardoor het restrictiepunt wordt geïnactiveerd.

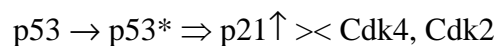


De cycline – Cdk complexen worden **controlepunten** (*checkpoints*) genoemd. Dit zijn punten waarbij beslissingen worden genomen over het al of niet verdergaan van de celcyclus.

II.3 Rol van p53 in de controle van de celcyclus bij DNA schade

Wat kunnen nu situaties zijn om niet verder te gaan met de celcyclus? Als bv. DNA tijdens de G1 fase is beschadigd door bestraling, chemotherapie, radiotherapie, UVB bestraling, enkelstrengige breuken door snelle deling, dan is het beter voor de cel niet te delen omdat anders de veranderingen zouden kunnen aanleiding geven tot nakomelingen met mutaties (zie Hoofdstuk 12). In de kern bevindt zich een **sensor** voor DNA breuken die zal communiceren met de celcyclus, nl. via de activering van een transcriptiefactor **p53** (“p” staat voor proteïne en “53” voor het moleculair gewicht van ongeveer 53 kDa). Geactiveerd p53* is een transcriptie-factor die zorgt voor de overschrijving van het gen dat codeert voor de aanmaak van het eiwit **p21**. Het p21 eiwit bindt op beide G1 Cdk's (Cdk4 en Cdk2), waardoor hun activering door de cyclines wordt geblokkeerd. De celcyclus wordt dus stopgezet (**G1 stop** of **G1 “arrest”**) en de schade aan het DNA wordt hersteld door bepaalde enzymen die DNA breuken herkennen en herstellen.

DNA schade



\Rightarrow Rb is actief (restrictiepunt) en geen G1/S transitie (= G1 stop)

Het is zelfs zo dat de p53 transcriptiefactor niet alleen het p21 gen induceert, maar ook genen activeert die coderen voor **DNA herstel enzymen** induceert.

Het p21 eiwit heeft een hoge turnover en wordt snel afgebroken. Wanneer het DNA is hersteld (waardoor geen activering meer optreedt van p53), vormen zich opnieuw cycline D-cdk4 en cycline-cdk2 complexen, het Rb eiwit wordt gefosforyleerd en de celcyclus kan verdergaan (G1/S transitie) (zie H9 presentatie).

Vele **kankers** (maar niet alle) zijn het resultaat van ongebreidelde celgroei. Het is dus niet verwonderlijk dat de cycline – Cdk controlepunten in kankercellen vaak gewijzigd zijn door mutaties in de genen die coderen voor deze eiwitten. Zo vertonen sommige snelgroeïende borstkankers hoge niveau's van cycline D, dat leidt tot overstimulering van Cdk4 en versnelde celcyclus progressie. Bij snelle deling van cellen treden er ook vaak vormen van DNA schade op (o.a. enkelstrengige breuken), maar bevindt de cel zich ook in een stress toestand, die wordt “gevoeld” door het p53 eiwit. Activering van p53* zet een rem op de ongebreidelde groei, en blokkeert de cel in de G1 fase van de celcyclus zoals hierboven beschreven. Het is dan ook niet verwonderlijk dat meer dan 50% van de menselijke carcinoma's (de meest voorkomende kankers van epheliale oorsprong) mutaties opbouwen in het p53 gen, waardoor het p53 genproduct zijn vermogen verliest op te treden als transcriptiefactor. Daardoor is het niet meer in staat de celcyclus te blokkeren en zullen de kankercellen niettegenstaande DNA schade en stress de celcyclus sneller doorlopen. Daarom zegt men dat p53 een **tumorsuppressor** is. Verlies van functie mutaties (“loss of function” of LOF mutaties) van een tumorsuppressor dragen bij tot de vorming van kanker (“carcinogenese”).

Naast de inductie van inhibitoren van de celcyclus (p21), de inductie van DNA herstel enzymen, activeert de transcriptiefactor p53* ook genen die leiden tot **apoptosis**, een vorm van celdood (zie later dit Hoofdstuk). Dit lijkt ook logisch want als de transcriptiefactor p53* blijvend wordt geactiveerd, betekent dit dat de DNA schade onoverkomelijk is, dat DNA herstel blijkbaar faalt en dat de cel beter wordt geëlimineerd door een proces van apoptosis. Dit is een bijkomende reden waarom een groot deel van de kankercellen p53 functie uitschakelen nl. om te kunnen “overleven” onder situaties van cellulaire stress en DNA schade. Men zoekt nu bepaalde strategieën (gentherapie of farmacologische producten) om de p53 functie te herstellen in kankercellen. Bij de gentherapie probeert men een goed exemplaar van het p53 gen binnen te brengen in kankercellen. Bij de farmacologische benadering probeert men dit door kleine organische moleculen te laten binden op p53 waardoor de conformatie (structuur = functie, zie Hoofdstuk 3) dusdanig wijzigt zodat mutant minder actief p53mut opnieuw kan geactiveerd worden tot p53mut*. Dergelijke therapie gebaseerd op activering van p53 wordt gecombineerd met “klassieke” chemo- of radiotherapie. Deze combinatietherapie tussen p53 activering en klassieke chemo- of radiotherapie die leidt tot DNA beschadiging, leidt tot groeistop en apoptosis van kankercellen.

II.4 Groeifactoren kunnen cellen aanzetten tot deling

De cycline – Cdk complexen vormen een interne controle op de voortgang van de celcyclus. De celcyclus van cellen in weefsels en organen in het organisme verloopt onregelmatig en wordt gecontroleerd door externe signalen zoals **groeifactoren** en hormonen.

Als je bv. snijdt en bloeding optreedt, dan verzamelen zich o.a. gespecialiseerde celfragmenten, de bloedplaatjes (de zgn. trombocyten gevormd door het uit elkaar vallen van megakaryocyten), ter hoogte van de wonde, die bijdragen tot de bloedstolling. De bloedplaatjes stellen ook een eiwit vrij, *platelet-derived growth factor* (PDGF), dat diffundeert naar de naburige bindweefselcellen en daar hun groei stimuleert, wat leidt tot wondheling.

Andere groeifactoren zijn de *interleukines*, die onder andere door bepaalde witte bloedcellen (vnl. De T-helper cellen) worden aangemaakt en de groei van zichzelf en andere witte bloedcellen stimuleert (T-cellen, B-cellen, granulocyten, monoccyten). Deze interleukines zijn essentieel voor de regulatie van ons afweersysteem.

Interleukines worden ook aangemaakt door andere celtypes, zoals epitheelcellen die meestal de eerste cellen zijn die in contact komen met vreemde stoffen. *Erythropoïetine*, kortweg Epo, wordt aangemaakt door de niercellen en stimuleert de deling van de beenmergcellen en voorlopers van de rode bloedcellen.

Talrijke hormonen en groeifactoren regelen de groei van gespecialiseerde celtypes. Wij zullen later nog de fysiologische rol van deze **groeifactoren** bespreken (cursus Fysiologie, cursus Celbiologie en histologie), maar zij werken essentieel op dezelfde manier. Zij binden via gespecialiseerde **receptoren** op het oppervlak van de doelwitcellen. Deze binding zet een cascade in gang van intracellulaire gebeurtenissen, de zgn. **intracellulaire signaaltransductie**. Deze signaaltransductie leidt tot de **activering van bepaalde transcriptie-factoren** die o.a. leiden tot inductie van genen betrokken in de regulatie van de celcyclus o.a. door de inductie van **cycline** eiwitten.

groeifactor → receptor → intracellulaire signaaltransductie → activering van
transcriptiefactoren (b.v. door kinasen) → inductie van cyclines → voortgang in de
celcyclus

Kankercellen vertonen vaak ongebreidelde deling door het feit dat zij hun eigen groeifactoren aanmaken (autocriene groeifactoren), of omdat zij niet langer groeifactoren nodig hebben omdat bepaalde genetische veranderingen in de kankercel ertoe leiden dat de intracellulaire signaaltransductiewegen of transcriptiefactoren continu worden gestimuleerd, zelfs in afwezigheid van groeifactor (zie H9 presentatie).

III. De eukaryote chromosomen

III.1 De structuur van chromosomen

De meeste humane cellen met uitzondering van de gameten bevatten twee volledige sets van genetische informatie, één van de vader en één van de moeder. Zoals in de prokaryoten bestaat deze genetische informatie uit DNA moleculen. Maar in tegenstelling tot de prokaryoten, bezitten mensen en andere eukaryoten meer dan één chromosoom. Gedurende de interfase bevinden deze chromosomen zich in membraan-omgeven organel, de nucleus. De chromosomen tijdens de interfase bevinden zich in een relatief ontwonden toestand, terwijl bij het begin van de celdeling condensatie zal optreden met de vorming van duidelijk te onderscheiden chromosomen.

De basiseenheid van de eukaryotische chromosoom is een gigantische, dubbelstrengige DNA molecule waarop talrijke eiwitten zijn gebonden waardoor een dichts materiaal wordt gevormd, **chromatine** genoemd (Figuur 9.5). Vóór de S-fase bestaat elk chromosoom uit één dubbelstrengige DNA molecule. Maar nadat de DNA molecule gedurende de S-fase werd gerepliceerd, worden de twee resulterende dubbelstrengige DNA moleculen over de bijna volledige lengte bij elkaar gehouden door een eiwit, **cohesine** genaamd. Zij blijven op deze manier tesamen tot de mitose. Tijdens de mitose worden de meeste cohesine moleculen verwijderd behalve in het gebied dat het **centromeer** wordt genoemd waar de chromatiden worden samengehouden (zie Figuur 9.9). Een tweede groep van eiwitten, de **condensines**, binden de DNA molecule tijdens de mitose en maken het meer compact.

III.2 Histonen, de DNA interagerende eiwitten

Het genoom in een typische diploïde humane cel heeft een totale lengte van 2 m (som van een haploïde set chromosomen). Daar tegenover staat dat de nucleus slechts een diameter heeft van 5 µm, hetzij 400.000 keren kleiner dan de dimensie van een gestrekte DNA molecule. Dit impliceert dat niettegenstaande het feit dat DNA tijdens de interfase zich in een “ontwonden” toestand bevindt, het nog steeds ongelooflijk compact is. Deze compactheid wordt verkregen door bepaalde eiwitten die met het chromosomaal DNA geassocieerd zijn (Figuur 9.6).

Chromosomen bevatten grote hoeveelheden van het eiwit, **histonen**. Er zijn vijf klassen van histonen. Zij hebben alle bij normale cellulaire pH een positieve lading te wijten aan het hoge aandeel van basische aminozuren zoals lysine (K) en arginine (R). Deze positieve ladingen zorgen voor een electrostatische binding met de negatief geladen ruggesgraat van DNA die bestaat uit negatief geladen fosfaatgroepen. Deze interacties alsook de interacties tussen de histonen onderling vormen parelachtige eenheden, de **nucleosomen**. Elk nucleosoom bestaat uit de volgende componenten:

- Acht histon moleculen, twee van elke van de vier histon klassen (H2a, H2b, H3, H4), die verenigd zijn in een kern of spoel.
- 146 basenparen van DNA, die 1,65 keer gewonden zijn rond de histon complexen.
- Histon H1, de overblijvende histon klasse die geen deel uitmaakt van de kern of spoel, zorgt voor het vastklemmen van het histon complex op het DNA en voor de vorming van een solenoïde superstructuur die het DNA verder helpt condenseren.

Gedurende de interfase bestaat het chromosoom uit een dubbelstrengige DNA molecule gewikkeld rond een groot aantal nucleosomen, zoals parels op een snoer. Tussen de nucleosomen bevindt zich een wisselende hoeveelheid van internucleosomaal linker-DNA. Aangezien dit DNA geëxposeerd is in de nucleaire omgeving, is het bereikbaar voor eiwitten betrokken in replicatie, regulatie van genexpressie door transcriptie (transcriptiefactoren, zie Hoofdstuk 12).

Gedurende de mitose en de meiose, wordt het chromatine meer en meer opgewonden en gecondenseerd door de opeenstapeling en opwinding van de nucleosomen, waardoor chromosomen microscopie worden na kleuring met Feulgen kleurstof.

IV. Mitose: de verdeling van exacte kopijen van de genetische informatie

Tijdens de mitose ontstaat uit één nucleus twee nucleï die genetisch identiek zijn aan de ouderlijke nucleus. Het proces van mitose garandeert de accurate verdeling van de talrijke chromosomen van de ouderlijke eukaryote cel naar de dochter nucleï. In realiteit is de mitose een continu proces waarbij elke gebeurtenis geleidelijk overloopt in de volgende. Voor de gemakkelijheid van de discussie wordt de **mitose**, de M-fase van de celcyclus, ingedeeld in een reeks van vijf, microscopisch te onderscheiden gebeurtenissen: **profase**, **prometafase**, **metafase**, **anafase** en **telofase**.

IV.1 De centrosomen bepalen het vlak van de celdeling

Eens het engagement tot celdeling is genomen, stapt de cel de S-fase binnen en het DNA wordt gerepliceerd. Op dat moment wordt in het cytoplasma een organel, het **centrosoom** (“centraal lichaam”), ontdebeld met vorming van een paar centrosomen. In vele organismen bestaat elk centrosoom uit een paar **centriolen**, twee holle buizen

elk bestaande uit 9 microtubuli. De centriolen staan orthogonaal op elkaar (zie cursus Celbiologie en Hoofdstuk 4).

Tijdens de G₂/M overgang gaan de twee centrosomen uit elkaar en bewegen naar de tegenovergestelde polen van de nucleaire envelop. De oriëntatie van de twee centrosomen bepaalt het vlak van de celdeling en op deze wijze de ruimtelijke verhouding van de twee nieuwe cellen ten opzichte van de ouderlijke cel. Deze ruimtelijke positionering tussen delende cellen is misschien niet zo belangrijk voor vrijlevende cellen zoals gisten, maar de oriëntatie van de celdeling is wel belangrijk voor cellen die deel uitmaken van een weefsel of orgaan.

Het materiaal rond de centriolen initieert de vorming van een spoelfiguur bestaande uit microtubuli, die ordelijke segregatie van de chromosomen tijdens de celdeling. Plantencellen hebben geen centrosomen, maar microtubuli organiserende centra (MTOC) aan elk einde van de cel vervullen eenzelfde rol.

IV.2 Chromatiden worden zichtbaar en de spoelfiguur vormt zich tijdens de profase

Gedurende de **interfase** (veruit grootste deel van de celcyclus!) zijn enkel de nucleaire envelop, de nucleoli en een nauwelijks te onderscheiden kluwen van chromatine zichtbaar onder de lichtmicroscop. Het uitzicht van de nucleus verandert wanneer de cel het begin van de mitose binnentreedt, de **profase**. Het grootste deel van de cohesine dat de twee kopijen van het dubbelstrengig DNA bij elkaar houdt, wordt nu vernietigd en de chromatiden (= gedupliceerde chromosomen) worden zichtbaar. Ter hoogte van het centromeer blijft nog steeds cohesine geassocieerd (zie Figuur 9.9). In de late profase ontstaan ter hoogte van het centromere gebied van elke chromatide gespecialiseerde drielaagige structuren, de **kinetochoren** genoemd (zie Figuur 9.8). Deze structuren maken contact met de microtubuli en zijn belangrijk voor de beweging van de chromosomen.

Beide centrosomen fungeren als een *mitotisch centrum*, of een *pool*, waarnaar de chromosomen zullen bewegen. Er vormen zich microtubules tussen elke pool en de chromosomen, die de **spoelfiguur** vormen. Deze spoelfiguur fungeert als een structuur waaraan de chromosomen vasthechten en is ook een soort geraamte die de twee polen uit elkaar houdt. De volledige spoelfiguur is in feite opgebouwd uit twee halve “spoelen”. Elke polaire microtubule loopt van één pool naar het midden van de spoelfiguur, waar contact gemaakt wordt met de polaire microtubuli van de tegenovergestelde halve spoel (Figuur 9.7). De polaire microtubuli zijn aanvankelijk onstabiel, worden continu gevormd vanuit het mitotisch centrum (- zijde van microtubuli, zie H4) en vallen weer uit elkaar aan het + einde van de microtubuli, tot wanneer zij contact maken met de polaire microtubulen van de tegenoverstaande spoel, waardoor stabilisering optreedt.

Er zijn twee types van microtubules in de spoelfiguur:

- *Polaire microtubules* hebben grote hoeveelheden microtubuli rond de centriolen. Tubuline subeenheden kunnen aggregaten tot de vorming van lange vezels die zich uitstrekken naar de equatoriale plaat.
- *Kinetochore microtubules* hechten zich vast op de kinetochoren ter hoogte van de chromosomen.

De twee zusterchromatiden in elk paar chromosomen hechten zich via hun kinetochoor vast op de microtubules van de tegenoverstaande halve spoel-figuren. Dit garandeert dat tijdens de mitose elke zusterchromatide van elk chromosoom uiteindelijk naar

tegenovergestelde polen zal bewegen. De beweging van zusterchromatiden naar tegenovergestelde polen is het centrale kenmerk en de voltooiing van de mitose. Wanneer de zusterchromatiden van elkaar zijn losgekomen ter hoogte van de centromeren worden zij chromosomen genoemd.

IV.3 De beweging van de chromosomen is een sterk georganiseerd proces

De volgende drie fasen van de mitose – prometafase, metafase en anafase – zijn de fasen waarin de chromosomen feitelijk bewegen (zie Figuur 9.8). Gedurende deze fasen worden de twee zusterchromatiden, die door de centromeren worden samengehouden, effectief gescheiden, en de zusterchromatiden bewegen weg van elkaar naar de tegenovergestelde polen.

PROMETAFASE. De **prometafase** is gekenmerkt door het verdwijnen van de nucleaire envelop. Het materiaal van de envelop blijft in het cytoplasma, en wordt gerecycled wanneer de dochterkernen zich opnieuw vormen. In de prometafase, vangen de chromosomen de beweging naar de polen aan, maar deze beweging wordt tegengewerkt door twee factoren:

- Een afstotende kracht vanuit de polen duwt de chromosomen naar het middenvlak van de cel, de **equatoriale plaat** (metafase plaat) van de cel.
- De twee chromatiden worden ter hoogte van de centromeer nog tesamen gehouden door cohesine.

Dus gedurende de prometafase lijkt het alsof de chromosomen wat doelloos heen en weer bewegen tussen de polen en het midden van de spoelfiguur. Het resultaat van dit heen en weer bewegen is dat centromeren zich in toenemende mate schikken in het vlak van de equatoriale plaat.

METAFASE. De cel bevindt zich in de **metafase** als de centromeren toekomen in het vlak van de equatoriale plaat. De metafase is het beste ogenblik om de grootte en vorm van de chromosomen te beoordelen omdat zij dan maximaal gecondenseerd zijn (zie hierboven). De metafase cellen worden gebruikt om chromosomale afwijkingen van kankercellen vast te stellen. Elke zusterchromatide is nu via de kinetochore microtubules duidelijk verbonden met één van de polen. Kinetochoor is een eiwit complex geassocieerd met de centromeren van chromosomen. Op het einde van de metafase scheiden alle zusterchromatiden zich tergelijktijd.

Deze scheiding gebeurt omdat de cohesine die de zusterchromatiden ter hoogte van het centromeer samenhouden door een specifiek protease wordt verknijpt, het **separase**. Tot op dit ogenblik is het separase wel aanwezig maar wordt inactief gehouden door binding met een inhibitor, **securine** genaamd. Wanneer de chromatiden met de spoelfiguur verbonden zijn, wordt het securine gehydrolyseerd door een ander protease, waardoor het separase de afbraak van cohesine kan catalyseren (Figuur 9.9).

Op deze manier wordt het schikken van de chromosomen in de equatoriale plaat verbonden met de scheiding van de zusterchromatiden. Dit proces fungeert als een *spoelfiguur controlepunt* waarbij “gevoeld” worden of er niet bepaalde kinetochoren zijn die niet met de spoelfiguur zijn verbonden. Als dat zo zou zijn dan blijft de afbraak van het securine uit, en blijven de zuster-chromatiden bij elkaar (zie H9 presentatie).

ANAFASE. De volledige scheiding van de zusterchromatiden markeert het begin van de **anafase**, waarbij de chromatiden naar de tegenovergestelde einden van de spoelfiguur bewegen. Elke zusterchromatide staat nu op zichzelf en wordt vanaf dit ogenblik benoemd als **dochterchromosoom**.

Wat deze sterk georganiseerde en massieve beweging van genetisch materiaal voortdrijft is nog niet goed gekend. Twee processen lijken de dochterchromosomen in de richting van de polen te drijven. Ten eerste zijn er ter hoogte van de kinetochoren eiwitten die fungeren als “moleculaire motoren”. Deze eiwitten, *cytoplasmatische dyneïnes* genoemd, hydrolyseren ATP tot ADP en fosfaat (P_i), waarbij vrije energie wordt vrijgesteld die de chromosomen langs de microtubuli (zie cursus Celbiologie) voortstuwen naar de polen (Hoofdstuk 4) (dyneïnes bewegen van + \rightarrow - van de microtubuli. Deze motoreiwitten staan in voor 75% van de bewegingskracht. Ten tweede, verkorten de kinetochore microtubuli vanuit de polen, waardoor de chromosomen als naar de polen worden getrokken. Deze verkorting staat in voor resterende 25% van de beweging.

Gedurende de anafase worden de polen van de spoelfiguur verder uit elkaar geduwd, wat zorgt voor een verdubbeling van de afstand (nodig voor cytokinese). De afstand tussen de polen neemt toe omdat de overlappende polaire microtubules in de centriolen zich beginnen uit te strekken in tegenovergestelde richtingen doordat zij ten opzichte van elkaar glijden (zoals een accordeontrap). Dit is zeer analoog aan het glijden van de microtubules in de cilia en flagellen (zie Figuur 4.25a). Dit uit elkaar bewegen van de polen van de spoelfiguur draagt ook bij tot een verdere scheiding van de dochterchromosomen.

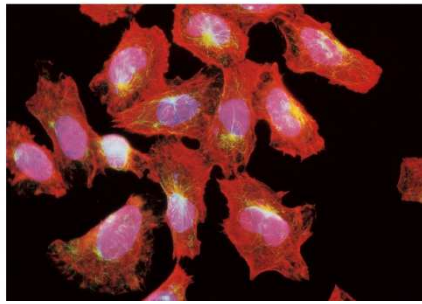
De beweging van de chromosomen gebeurt zeer traag, zelfs in cellulaire termen gesproken, nl. aan een snelheid van 1 μm per minuut. Daardoor duurt de trip van de chromosomen naar de polen ongeveer 10 tot 60 min naargelang de grootte van de cel. Dit is zeer traag: 1 μm per minuut of 60 μm per uur of 1440 μm per dag of ongeveer 50 cm per jaar, niet bepaald een race snelheid! Deze trage scheiding is waarschijnlijk nodig voor de accurate segregatie van de chromosomen.

IV.4 Nuclei vormen zich opnieuw gedurende de telofase

Wanneer de chromosomen stoppen met bewegen op het einde van de anafase, treedt de cel in de **telofase** van de mitose. Twee stellen van chromosomen (daarvoor benoemd als dochterchromosomen), samengesteld uit identieke DNA copijen die dezelfde erfelijke instructies bevatten, bevinden zich nu aan de tegenovergestelde uiteinden van de spoelfiguur. De spoelfiguur wordt nu afgebroken. De chromosomen beginnen te ontwinden tot een diffuus kluwen van chromatine dat typisch is voor de interfase. De nucleaire envelop en nucleoli, die werden afgebroken tijdens de profase, voegen zich weer samen en vormen opnieuw hun respectievelijke structuren. Wanneer deze en andere processen vervolledigd zijn is de telofase en ook de mitose afgelopen. Elk van de dochterkernen treedt een nieuwe interfase in.

Het proces van mitose is er één van een accurate schoonheid. Het resultaat is twee nuclei die identiek zijn aan elkaar en aan de parentale nucleus wat betreft de chromosomale opmaak, en dus de genetische samenstelling. De volgende stap is de afzondering van de twee verse nuclei in twee afzonderlijk cellen, een proces van scheiding van het cytoplasma of **cytokinese** genaamd.

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling



HeLa cellen: Meer nieuwe dan dode cellen.

Deze tumorcellen groeien en reproduceren als een niet-gespecialiseerde massa op het oppervlak van een vaste drager. Ze worden reeds in het laboratorium gekweekt sinds 1951. Ze vormen de bron van veel data betreffende de reproductie van humane cellen.

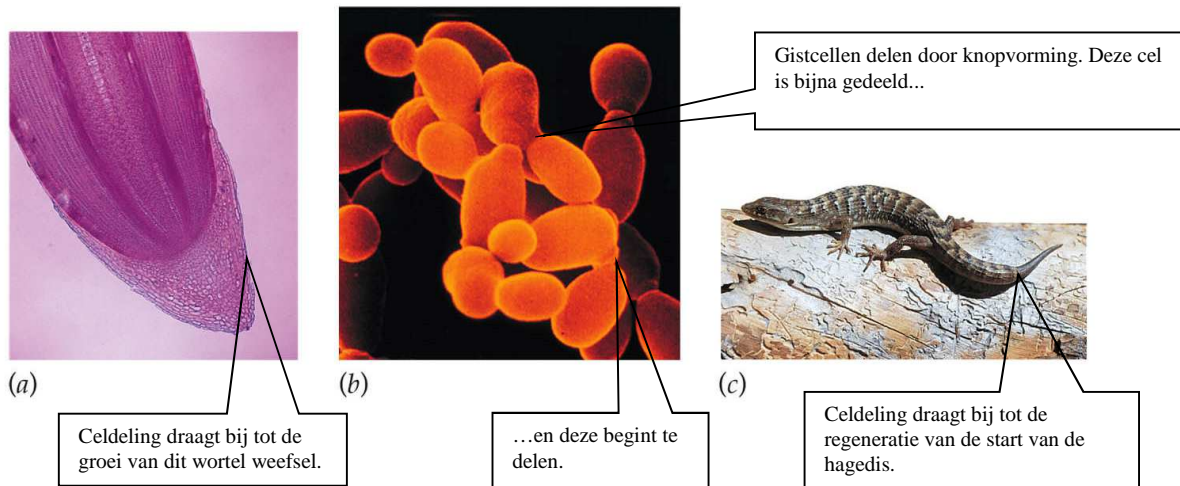


Fig. 9.1. Belangrijke gevolgen van celdeling.

Celdeling is de basis voor (a) groei, (b) reproductie, en (c) regeneratie.

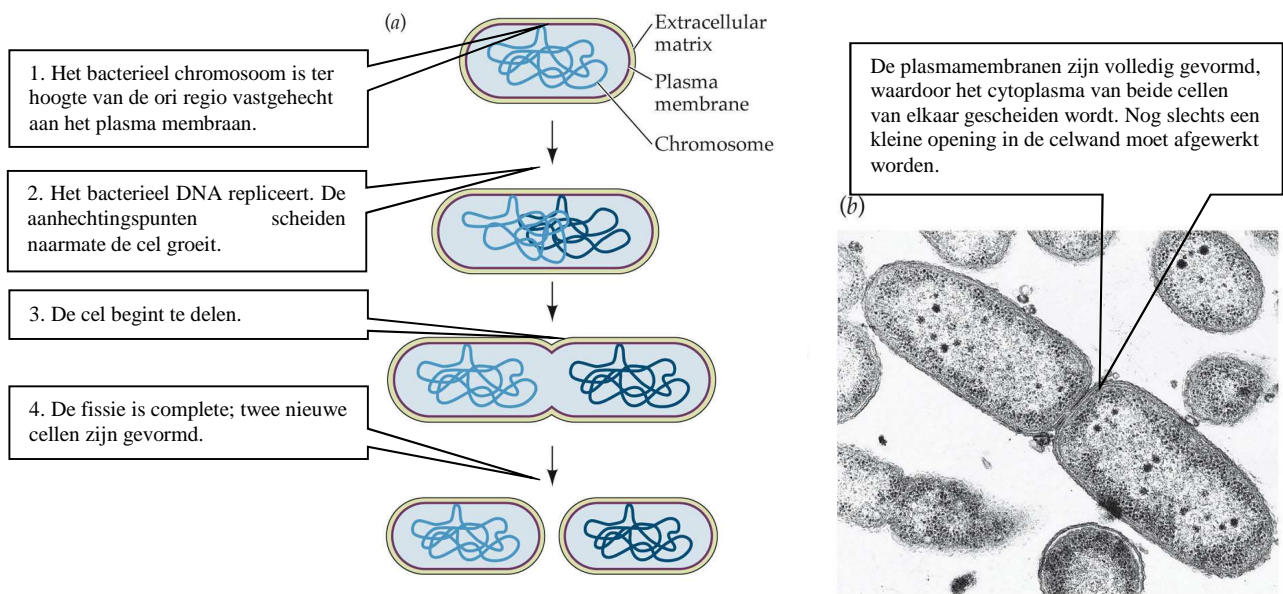


Fig. 9.2. Prokaryote celdeling.

(a) De verschillende stappen in celdeling bij prokaryoten

(b) Deze twee cellen van de bacterie *Pseudomonas aeruginosa* vertonen bijna volledige fissie. Elke cel bevat een compleet chromosoom, zichtbaar als het nucleoïde in het centrum van de cel.

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

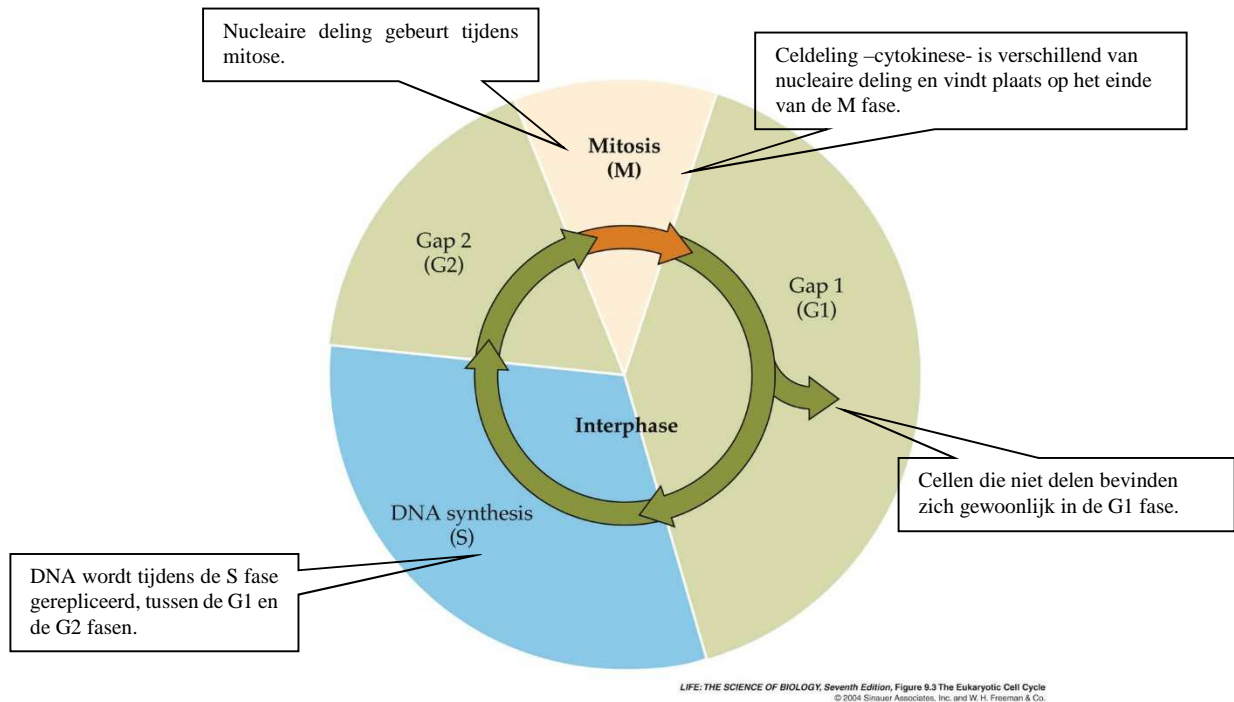


Fig. 9.3. De eukaryote celcyclus.

De celcyclus bestaat uit een mitotische (M) fase, waarbinnen eerst nucleaire deling (mitose) en daarna celdeling (cytokinese) plaatsvinden. De M fase wordt gevolgd door een lange periode van groei, gekend als de interfase. De interfase heeft drie subfasen (G1, S en G2) in cellen die delen.

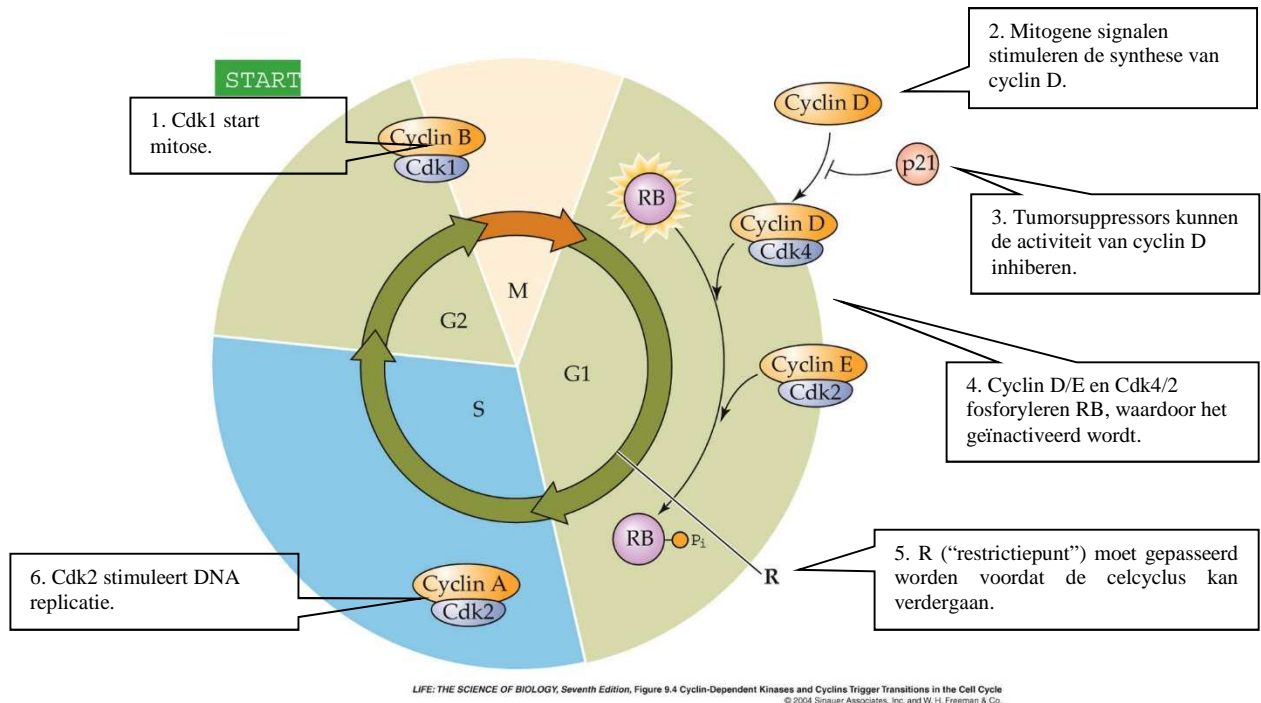
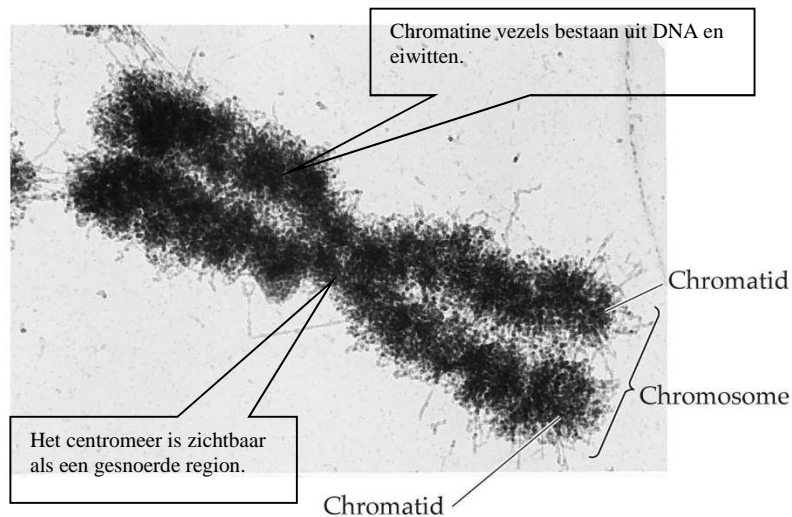


Fig. 9.4. Cycline-afhankelijke kinasen en cyclines initiëren transitie in de celcyclus.

Er zijn vier cycline-Cdk controlepunten tijdens een typische celcyclus in mensen.

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling



LIFE: THE SCIENCE OF BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 9.5 Chromosomes, Chromatids, and Chromatin
© 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

Fig. 9.5. Chromosomen, chromatiden en chromatine.

Een humaan chromosoom in een cel die zich voorbereidt om te delen.

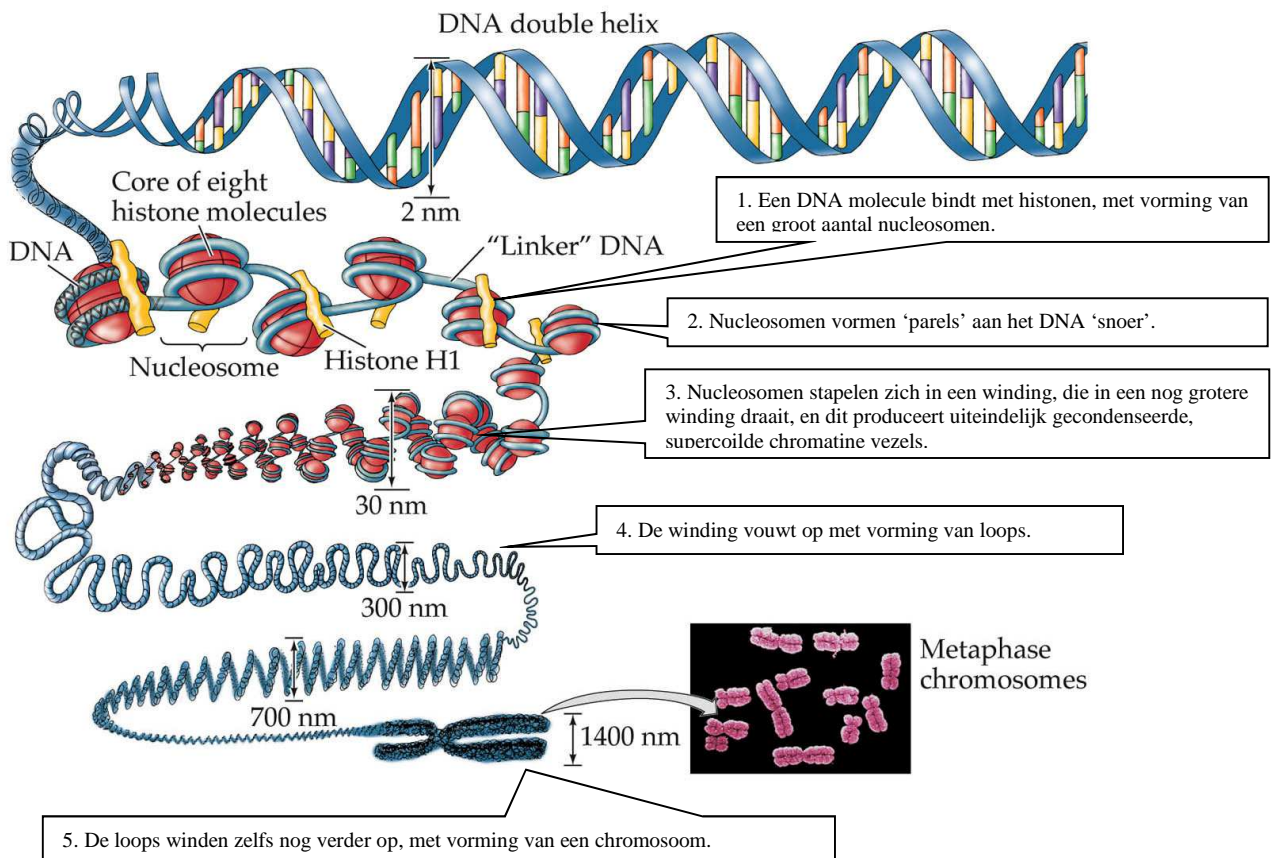


Fig. 9.6. DNA zit verpakt in een mitotisch chromosoom.

Het nucleosoom, gevormd door DNA en histonen, is de essentiële bouwsteen in deze sterk gestapelde structuur.

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

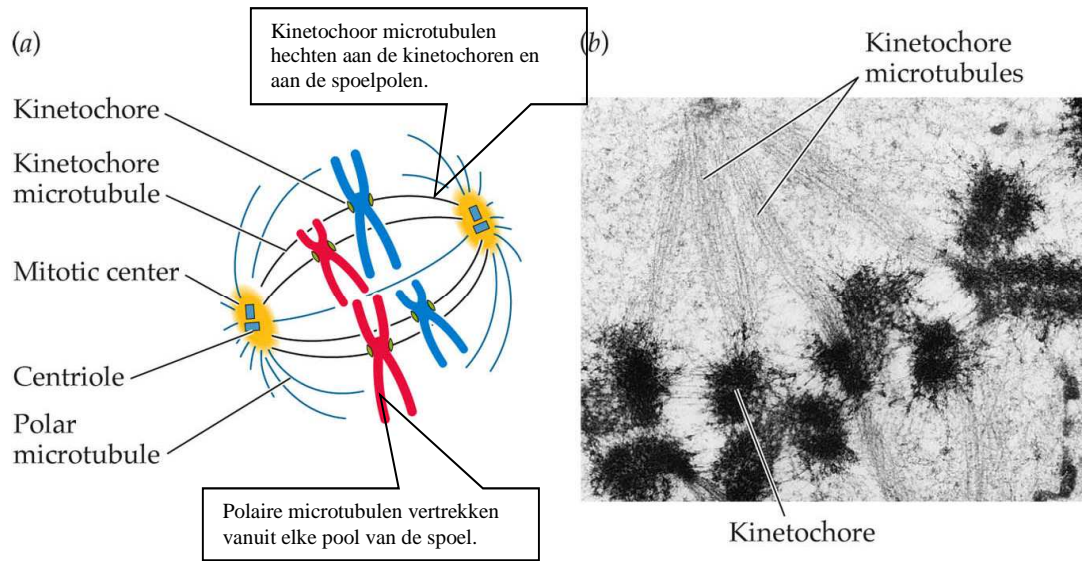
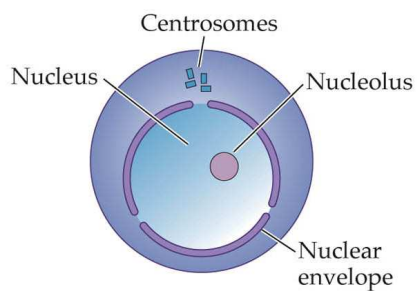


Fig. 9.7. De mitotische spoel bestaat uit microtubules.

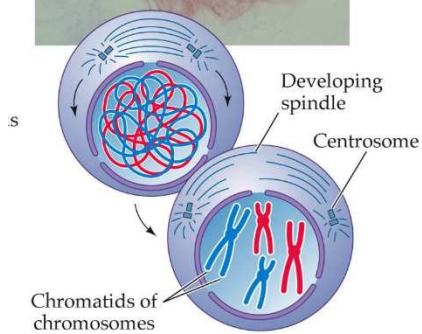
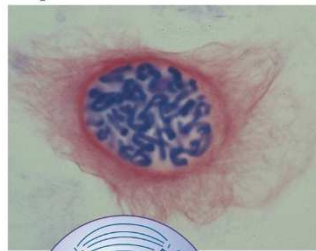
- (a) Schematische voorstelling van de spoelfiguur in een cel in de metafase.
 (b) Een electronenmicroscopische opname van het stadium beschreven in (a)

Interphase



1. Tijdens de S fase van de interfase replicateert de kern zijn DNA en centrosomen.

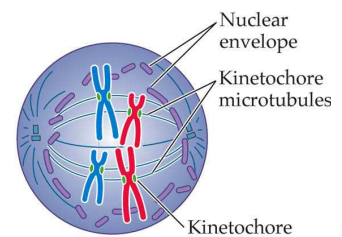
Prophase



LIFE: THE SCIENCE OF BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 9.8 Mitosis (Part 1)
 © 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

2. Het chromatine windt zich steeds compacter op en condenseert uiteindelijk in zichtbare chromosomen. De chromosomen bestaan uit identieke, gepaarde zusterchromatiden.

Prometaphase



3. De nucleaire envelope breekt open. Kinetochore microtubules verschijnen en verbinden de kinetochoren met de microtubule

Hoofdstuk 9: Chromosomen, de celcyclus en celdeling

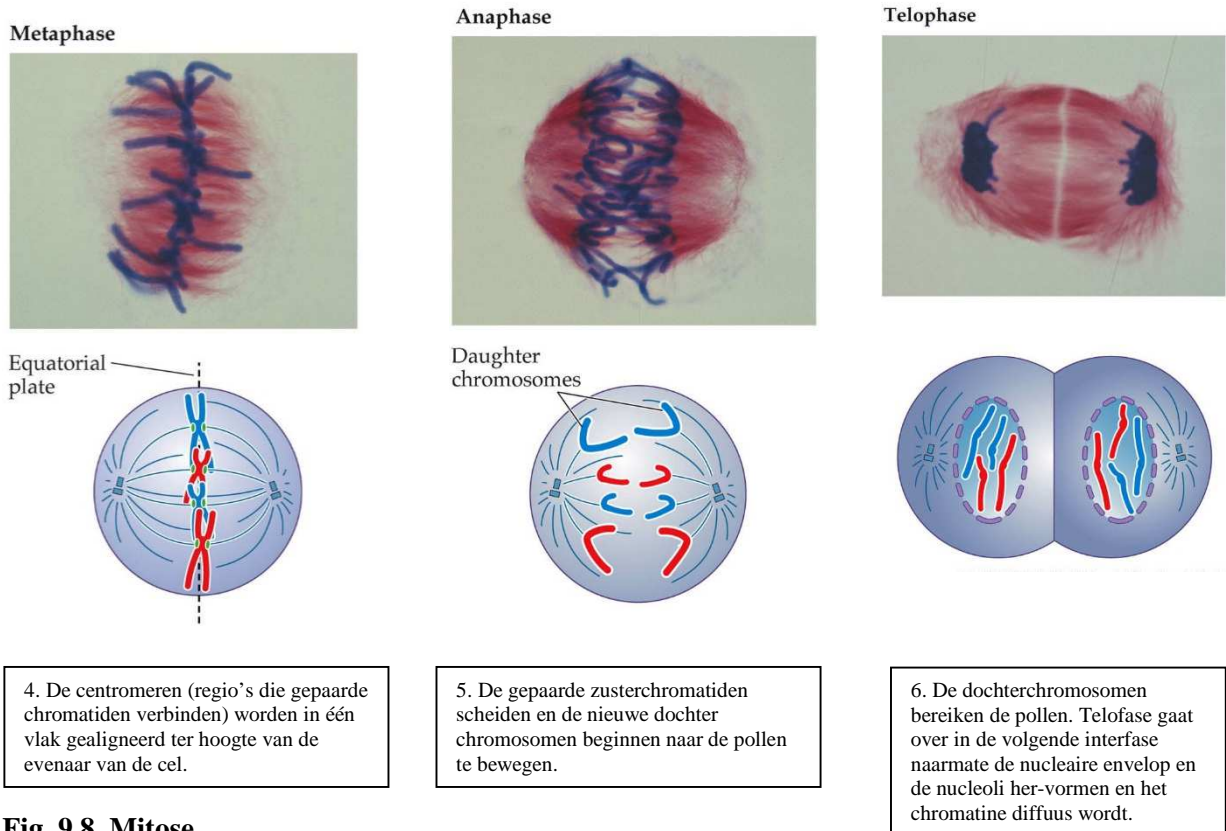


Fig. 9.8. Mitose.

Mitose resulteert in twee nieuwe kernen die genetisch identisch zijn aan elkaar en aan de kern waaruit ze ontstaan zijn. De foto's tonen planten kernen, die geen centriolen hebben. De tekeningen stellen de corresponderende fases voor in dierlijke cellen en introduceren een aantal structuren die niet in planten gevonden worden. In de foto's kleurt de rode kleurstof de microtubules (en dus de spoel); de blauwe kleurstof kleurt chromosomen. In de schema's zijn de chromosomen zodanig voorgesteld dat het lot van de individuele chromatiden benadrukt kan worden.

