

## ZATIKETA ZELULARRA (II)

### FENOMENO FISIOLGIKOAK

Mitosiaren urrats desberdinak betetzeko behar den denbora aldakorra da, organismo eta zelula-moten arauera: gehienetan, zenbait minutu eta ordu batzuren artekoa.

	Profasea	Metafasea	Anafasea	Telofasea	Iraupena (Denera)
Drosophila-ren arraultza segmentazioan	4 mn	30 s	1 mn	50 s	60 mn 20 s
Oilaskoaren Fibroblastoa	45 mn	6 mn	2 mn	10 mn	13 mn
Arratoiaren gibelaren zelula	4 h	10 mn	30 mn	30 mn	5 h 10 mn

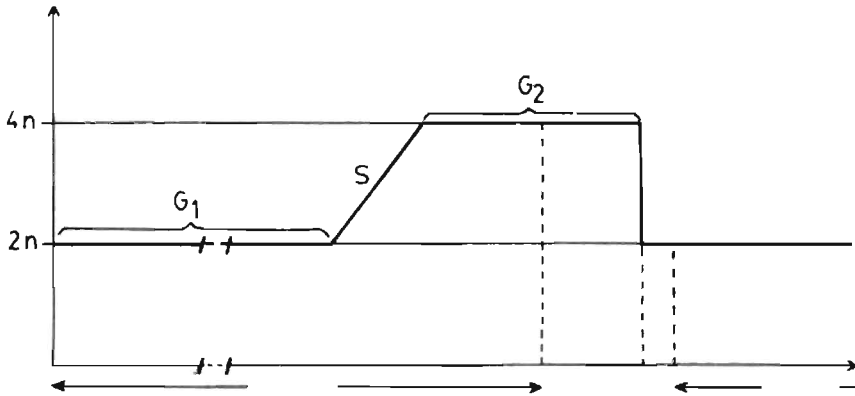
Mitosian zehar, zelularen aktibitate metabolikoek indarra galtzen dute, batez ere arnasketa eta proteinen sintesiak. Aktibitate zelularren abiadura-galtze hau erabat konpara liteke zelulatik nukleoa ateratzen dugunean atzetan denarekin. Metabolismoaren aldetik, zatikatzen ari den zelula nukleogabeko zelula batekin konpara liteke. Kromatina bilduz kromosomak eratan diren epe honetan, zitoplasmak ez du informazio gehiago hartzen, RNA-ren sintesia geratua baitago.

### DNA-ren bikoizketaren momentua:

Ikusi dugunez, profasearen hasieran, kromosomak azaltzen direnean, hauek jadanik destolestaturik daude; horrela atzeman daiteke zentromero

bakoitzak bi kromatida lotzen dituela. Honek adierazten digunez, material kromosomikoaren bikoizketa mitosiaren fenomeno morfologikoak hasi aurretik egina dago.

Nukleo interfasekoetan "in situ" egindako azterketa espektrofotometrikoak eta baita metodo autorradiografikoak ere zera adierazten du, zatiketaren aurreko interfasean zehar, DNA-ren sintesi bat gertatzen dela, eta beraz lagunduz histonen beste sintesi bat. Zatiketa-erritmo bizitzko zeluletan sintesi hau interfasearen hasieran bertan egiten da; zatiketa-erritmo motelezkoetan, epe interfasekoaren azken herenean kokatzen da. DNA-ren bikoizketa eta histonen sintesia gertatzen direneko epeari S fasea deritzo. Fase honek interfasea bitan zatitzen du: bata sintesiaren aurretik dagoen fasea da, nukleo diploidekoa eta  $G_1$  fasea izenekoa; bestea, sintesiaren hurrengoa, nukleo tetraploidekoa,  $G_2$  fase deritzana. (G, ingelesetik gap = tartea) (Ikus 1. irudia).



### I. IRUDIA:

Interfasean zehar, DNA-kopuruaren aldaketak nukleoan. Interfasearen garai luzeenean, DNA-ren kopurua kromosomen erreserba diploidearekin bat egina dago:  $G_1$  Fasea da; aurreago DNA sintetizatzen da: S Fasea da, DNA-ren kopurua bikoiztu egiten da nukleoan. Une honetan, nukleo interfasekoak kromosomen eduki tetraploide bati dagokion DNA kopurua du:  $G_2$  Fasea da. Zatiketa gertatzen denean, kromosomen banaketak, bi seme-zelularen nukleoan DNA kopurua egoera diploidera jaisten du.

### Zatiketa-ardatza eta aparatu mitotikoa:

Zatiketan zehar, hialoplasma eta nukleoplasmak, batera, zatiketaren ardatza osatzen duten zenbait egitura fibrotsu ekoizten dute. Ultraegituraren mailan jadanik ikusia dugu, egitura fibrotsu hauek mikrotubuluz osatzen direla eta hauen ardatzean finkatzea bi seme-zelulengan kromosomen banatze

berdin-berdina posible egingo duten mugimendu zelularrez lagundua dagoela. Mikroskopia optikoa, zatiketaren ardatzaren eraketa fibrotsua ondo ikusketan zelulak finkatu egin behar dira. Halaz ere, ardatzaren zuntzetan ez da inongo koloratzailerik finkatzen, ardatz akromatiko izena hortik datorkiolarik.

Ardatz mitotikoa osatzen duten egitura fibrotsuak isolatzea posible da. Mazia eta Dan-ek (1952) itsas trikuaren arraultzak metafasean, segmentazioaren lehen zatiketan, erabiliz lortu zuten hori. Zelula alkohol etiliko hotz eta gero eragile tentsioaktibo (digitonina) batekin tratatuz gero zera ikus daiteke, zelulen mintz plasmatikoa desagertu egiten dela eta hialoplasma giroan sakabanatu, bere zati fibrotsuak ezezik. Tratamendu hauen ondoren, zatiketa-ardatza, asteraren zuntzez inguratutako diplosomak eta plaka ekuatorialean jarritako kromosomak besterik ez da geratzen. Modu honetan isolatutako egitura multzoa, aparatu mitotikoa da.

Aparatu mitotiko isolatuen azterketa kimikoak batipat 68.000-ko pisu molekularra duen proteina batez osatzen dela adierazten du. Proteina hau oso ugaria da zelulan, zatiketaren unean, arraultzaren proteinen % 12a suposatzen duelarik. -SH taldeak dituen proteina bat da.

Mikroskopia elektronikoarekin begiratzuz, aparatu mitotiko isolatuak mikrotubuluz bakarrik eratuta ikusten dira. Mikrotubuluak dira, beraz, proteina sulfuratuz osatutakoak. Aparatu mitotikoak, zubi disulfuroak hausten dituzten gaietz trataturik, ardatzaren zuntzak disolbagarritu egiten dira; hau dela eta, mikrotubuluak proteina sulfuratuen polimeroz eratuta daudela suposatzen da, molekula proteikoak muturretatik disulfuro zubia lotuta egongo lirartekeelarik.

Metodo immunologikoez, proteina sulfuratua mitosis baino lehendik zeluletan badagoela frogatzen da. Proteina hau interfasean zehar sintetizatu da eta, dirudienez, ardatzaren eraketa aurretik sortutako unitate proteikoen polimerizazioari dagokio. Mikrotubuluen elaborazioa bi epetan gertatzen da, dudarik gabe: proteinaren polimerizazioa lehenik eta, gero, polimeroen elkarreza eraikuntza konplexuago egiteko.

Polimerizazio honen mekanismoa ez da oraindik ezagutzen; uste denez, -SH erroa duten gaiak beharko lirarteke, glutationa adibidez (zisteina daukan tripeptidoa). -SH taldeak, zelularen baitan gehiegi direnean, polimerizazioa ezin da modu egokian egin: merkaptoetanola ( $\text{SHCH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$ ) daukan giro batean jartzen badira arraultzak, ardatza ez da eratuko. Zentriolo eta zentromeroak dute, dudarik gabe, polimerizazioaren zentru abiarazlearen rola, mikrotubuluak hauen mailan eraikitzen direlarik.

Mikrotubulu proteikoen papera, kromosomen igoaldi polarrean, ez da oraindik ezaguna. Dakigunez zera da, mugimendu hauetan zentromeroen eta zuntz kromosomikoen arteko loturak baduela zer-ikusirik; mikroirradiazioaren bidez kromosoma baten zentromeroaren aldea hausten badugu, honek ez du poloetaranzko igo-bidea egingo. Oraingo ez dago baieztatzerik mikrotubu-

luak aparatu kizkurtzaile bat direnik: agian, aparatu mitotikoa isolatzerakoan galtzen diretekeen sistema kizkurtzaileen arteko loturaguneak izan litezke. Posible da, gainera igoaldi polarraren unean parte hartzea, kromosomak poloetarantz bultzatuz. Horrela edo hala, kromosomen mugimenduak, zatiketean zehar, gainontzeko mugimendu zelularrak gogoratzen dizkigu eta, ziur aski, prozedura berdintsua jarraitzen dute. Anafasearen hasieran zelula bat glizerinaz tatatuz gero, mugimendu zelular horiekin zerikusirik duten proteinak ez dira desnaturalizatzen: ATP erantsiz, kromosomen poloetaranzko igo-kuntza atzematen da (Hoffmann-Berling, 1956). Hitz bitan, kontutan hartu behar da mikrotubuluaren presentzia mugimendu zelularrei lotzen zaiela gehienetan. Mitosiaren kasuan egitura hauek hauskorak dira eta telofasean zehar desagertzen dira, dudarik gabe polimero proteikoaren despolimerizazioagatik; despolimerizazio hau ez da inoiz erabatekoa eta zelula interfasekoetan, bukatutako mitosiaren haztarna bezala, mikrotubulu sakabanatuak aurki daitezke.

### Zitodieresia:

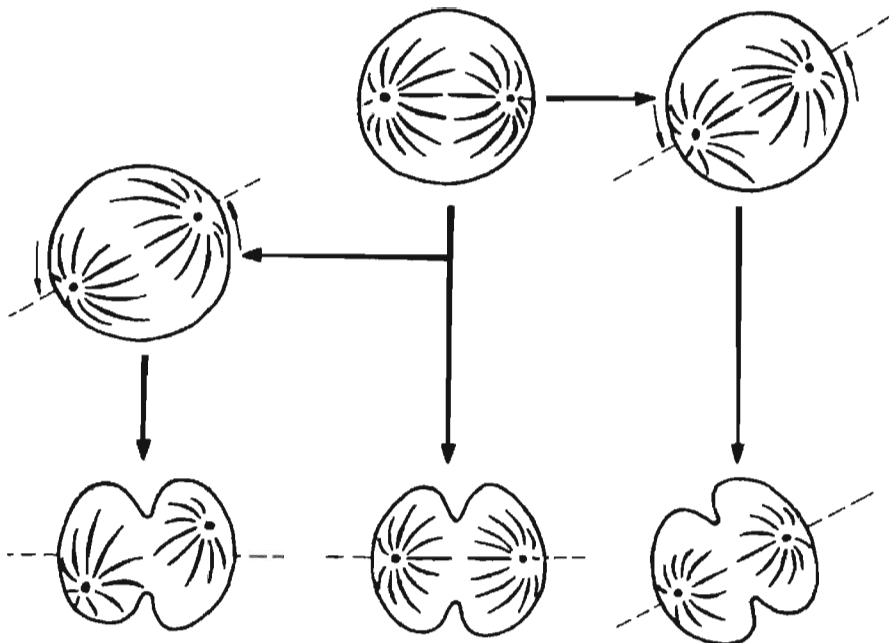
Animale-zelulak soilik hartuko ditugu kontutan. Ikusia dugu, bi seme-zelulak itopen edo zatiketa-ildo bat eratuz banatzen direla. Itopen honen erateak, azalera zelularren % 30-ko gehitzea dakar; hau da, inguru ekuatorialean mintz plasmatikoa sintetizatzen da.

Itopena eta mintzaren sintesia kaolinezko izpitxoaren mugimendua begiratu jarrai litezke; adibidez, segmentazio-fasean dagoen itsas trikuaren arraultze baten azalera, zatiketa-hildoaren erateak inguru ekuatorialean egongo lirartekeen proteina kizkurtzaileekin harreman estuak izango lituzke. Hain zuzen ere, telofasearen hasieran ATP-a erantsen badiogu aurretik glizerinaz tratatutako zelula bat dagoen medioari, zatiketa-ildoaz azaltzen dela froga dezakegu.

Zatiketa muga batera iristen denean, itopenaren kokatzea eta zatiketa-ardatzaren lekua, mugara iritsi aurretik, berdinak dira. Langosten neuroblastoeekin egindako esperimenduek harreman hau garbi adierazten dute (kawamura, 1960) (Ikus II. irudia). Mikrorratzen bidez metafasean dagoen arraultzaren barruan zatiketa-ardatza jiratu egiten da eta, ikus daitekeenez, itopena ardatzaren posizio berriari dagokion plano ekuatorialean agertzen da.

Bigarren esperimentu batetan, ardatza jira arazten dugu anafasearen hasieran. Oraingoan frogatzen dena zera da, zatiketa-hildoaren plano eta jiratutako ardatzaren ardatza ez direla perpendikularrak, eta lehenengoa bigarrenaren plano ekuatorial jiragabeari dagokiola.

Horrela, zatiketaren etapa batetaraino, ardatzaren posizioak ematen du itopena sortzen duten proteina kizkurtzaileen parada. Etapa hau iraganda, proteina kizkurtzaileak jarrita daudela, ez da aldaketarik nabaritzen eta itopena azaltzen den plano ez da jadanik aldakorra.



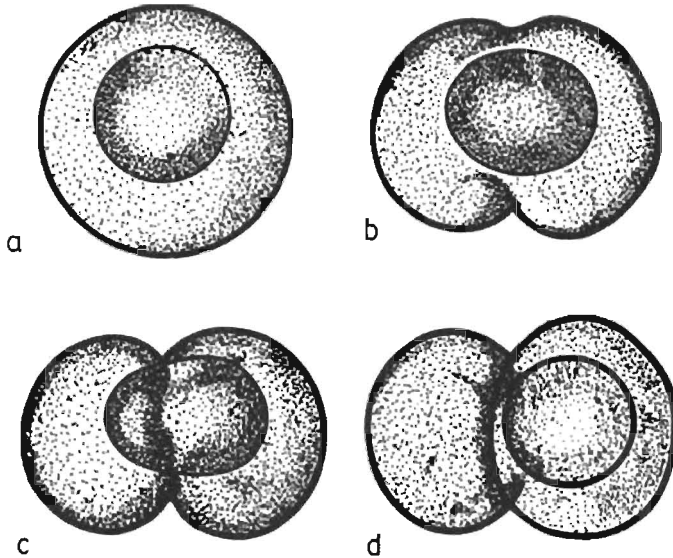
## II. IRUDIA:

Ardatzaren eta zatiketa-hildoaren egoera. Metafasean dagoen neuroblasto batetan ardatza jira-arazten badugu, zatiketa-hildoak haren ardatz berriarekiko elkartutik eratzen da. Ardatza anafasearen hasieran jira-arazten badugu, zatiketa-hildoak ardatzaren norantza axial zaharrari elkartutik eratuko da.

Etapa baten ondoren, ardatzaren parte ez hartzea honako esperientziaren bidez frogatzen da: itsas trikuaren arraultze baten barruan, anafasearen hasieran itsas ur edo olio itoti bat injektatzen da; injekzio honek ardatza puskatzen du, baina ez du ez zatiketa-ardatzaren formazioa ez zitodieresia galerazten (Hiramoto, 1965) (Ikus III. Irudia).

## MITOSIAREN INHIBITZAILEAK

Mitosiak bi eratako fenomenoak ditu: DNA-ren bikoizketa eta material kromosomikoaren banaketa bi seme-zelularen artean. Prozesu hauen bila-kaera normala galerazten duen eragile fisiko eta kimikorik franko badago: hauek dira mitosiaren inhibitzaileak. Hauetako zenbaitek, DNA-ren sintesiarren inhibitzaileek, DNA honen bikoizketa eragozten du; beste batzuk, ardatzaren inhibitzaileek, material kromosomikoaren banaketaren egitura zuzendarrien gain eragiten dute.



### III. IRUDIA:

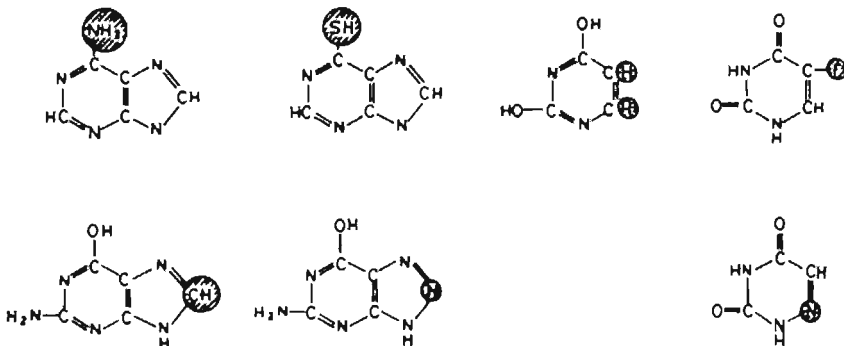
Zatiketa-ardatz gabeko zitodieresia. Zatitzen ari den itsas trikuaren arraultze honetan, parafina olio itoti bat injektatu da anafasearen hasieran (a). Olio itoti honek, arraultzearen erdialdean jarri delarik, zatiketaren ardatza desegin du. Halaz ere, zatiketa-hildoa eratzen da (b eta c) eta arraultza erdibitu egiten da (d), erdi batek olio itotia daukalarik. Mikroskopia optikoaz egindako begirapena; X 350 (Y. Hiramoto-ren argazkian 1965).

### DNA-ren sintesiaren inhibitzaileak:

DNA-ren sintesia bai eragile kimikoek bai fisikoek inhibi dezakete. Adibide batzuk eman ditzagun.

DNA-ren sintesia blokea dezaketen saretxo fisikoen artean X izpiak aipa ditzakegu. DNA-ren bikoizketa inhibitzeko behar den irradiazio-dosia (röntgen-etan emana) aldakorra da zelula-moten arauera; esan ohi da, hauen erradiosentikortasuna desberdina dela. DNA-ren sintesia inhibitzen duten eragile kimikoak arrunt talde kimiko desberdinekoak izaten dira. Aipatzekotan, aminopterina, mostaza gasa (lehenbizikoz, gerlarako gas bezala erabilia) eta base puriko edo pirimidinikoen analogoak, 6-merkaptopurina, 5-fluorouraziloa, 4 azauraziloa eta 5 bromouraziloa bezala, aipatuko ditugu. Azken substantzia hauek base normalen antzeko melekula dute, erradikal batetan bakarrik bereizten direlarik. Eragile kimiko hauek DNA-ren bikoizketa nahasten dute bai base inhibitzaileen sintesiaren gain, bai DNA sintetizatua- ren egituraren gain, eraginez base normalak dagokion base analogoez aldatuz.

Sarritan, eragile hauek ekoizitako efektu morfologikoak X izpiek egiten dituztenen berdinak dira; honegatik deritze eragile erradiomimetikoak.



#### IV. IRUDIA:

Zenbait base puriko eta pirimidinikoren formulak. Baita zenbait substantzia analogorenak ere.

#### Ardatzaren inhibitzaileak:

Badago, baita ere, ardatzaren gain eragiten duen eragile fisiko eta kimikorik. Erradiazioek, esate baterako, zentromero eta zuntz kromosomikoaren arteko loturak apur ditzakete, horrela kromosomen igokuntza polarra galerazten delarik. Zenbait eragile kimikok ardatzaren zuntzen eratzea eragozten du; beste zenbaitek, berriz, zuntz hauek osatzen dituzten proteinak despolimerizatzen dute. Aipa ditzagun koltxizina (koetxiko-tik ateratako alkaloidea), binkaleukoblastina (binkaperbinkatik ateratako alkaloidea) eta merkaptoetanola.

Zatiketaren hasieran, zelula bat koltxizina tratatzen denean, mitosiaren fenomeno morfologikoak metafaseraino besterik ez dira joango bide normaletik, zatiketaren ardatza ez baita erutzen. Kromosoma seme bi talderen banaketa ez da gertatzen eta zentromero batez loturik geratzen dira. Haatik, zelula egoera interfasiako batetara itzul daiteke, tetraploidea bihurtuko litzatekeelarik. Binkaleukoblastinaz ondorio berdintsuak lortzen dira. Dirudienez substantzia hauek ardatzaren proteinen polimerizazioa galerazten dute.

Merkaptoetanolak, metafasearen aurretik ematen denean, ardatzaren eraketa galerazten du: bere -SH taldeak disulfuro zubiak egiten ditu ardatzaren proteinarekin, proteina honen molekulek ezin dutelarik hauen arteko loturirik sortu. Metafasearen garaian eragin arazten badugu, merkaptoetanolaren efektuak guztiz desberdinak dira. Kasu honetan, ardatzaren birrefringentzia desagertuko da, eragile-kimiko hau kendu arte gehiago ez azalduz. Pen-

tsatzen dena zera da, merkaptoetanolak ardatzaren proteinak elkarri lotuta mantentzen dituzten tentsioak atzerakorki lasaituko lituzkeela, horrela polimeroak gogortasuna galduz distendituko liratekeelarik.

Ikusitako eragile inhibitzaile guzti hauen garrantzia begian bistan dago. Alde batetik zelula poliploideak lortzea permititzen du (koltxizina), eta beste aldetik posible da, epe laburrerako bada ere, zelula kantzerosen ugalketa galeraztea.

*JOSEBA JAUREGI*