Молекулярная биология
Практическое занятие 1, часть 2.
Митоз.
Генетические механизмы процессов репродукции клеток

доктор биологических наук ,

профессор, заведующий кафедрой биологии с основами генетики и паразитологии КемГМУ, 2018 г.

Начева Любовь Васильевна

Передача наследственной информации обеспечивается делением клетки

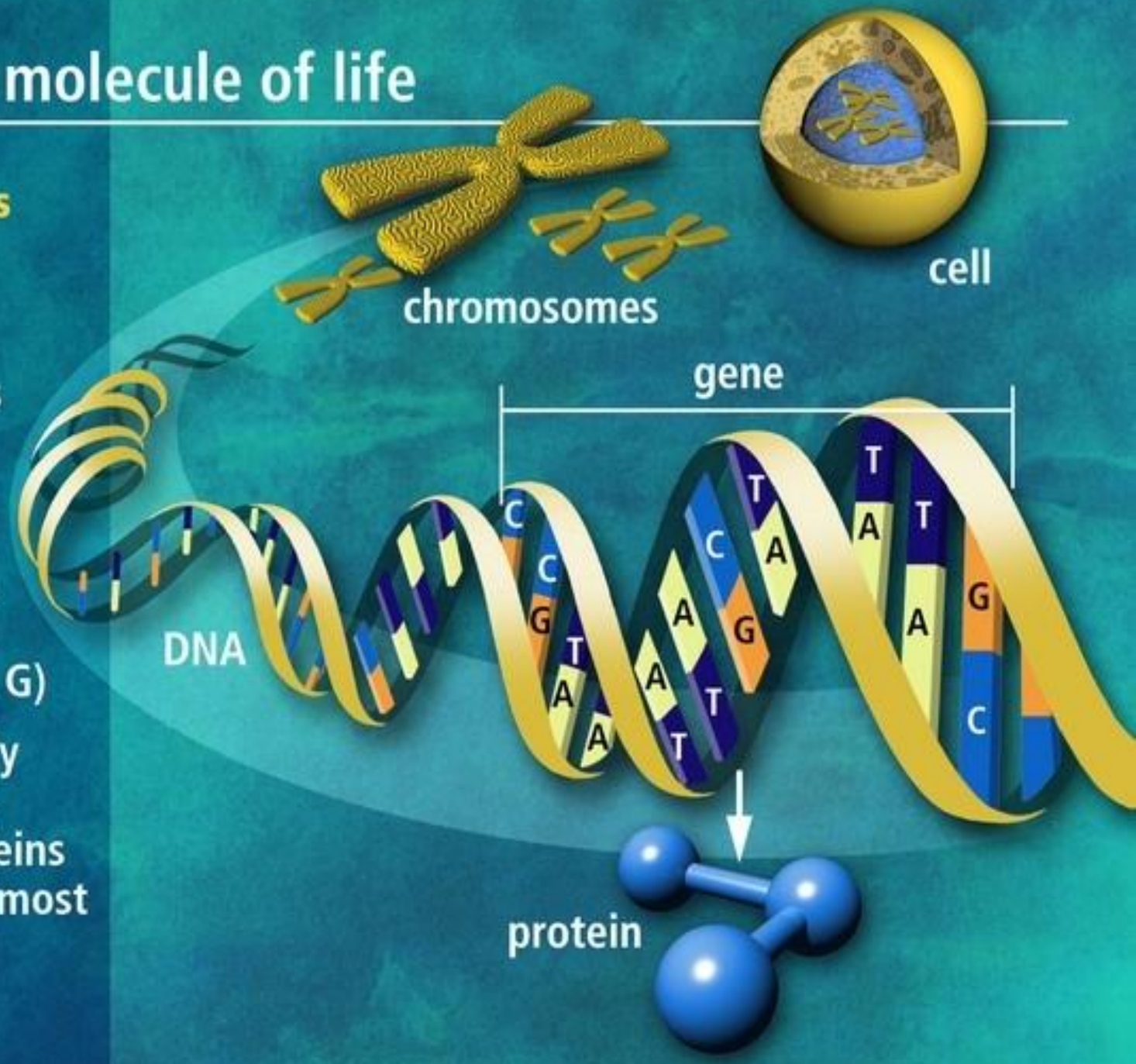
- Наследственная информация хранится:
- В ядре
- В митохондриях
- В клеточном центре
- Эти структуры содержат свою ДНК

DNA the molecule of life

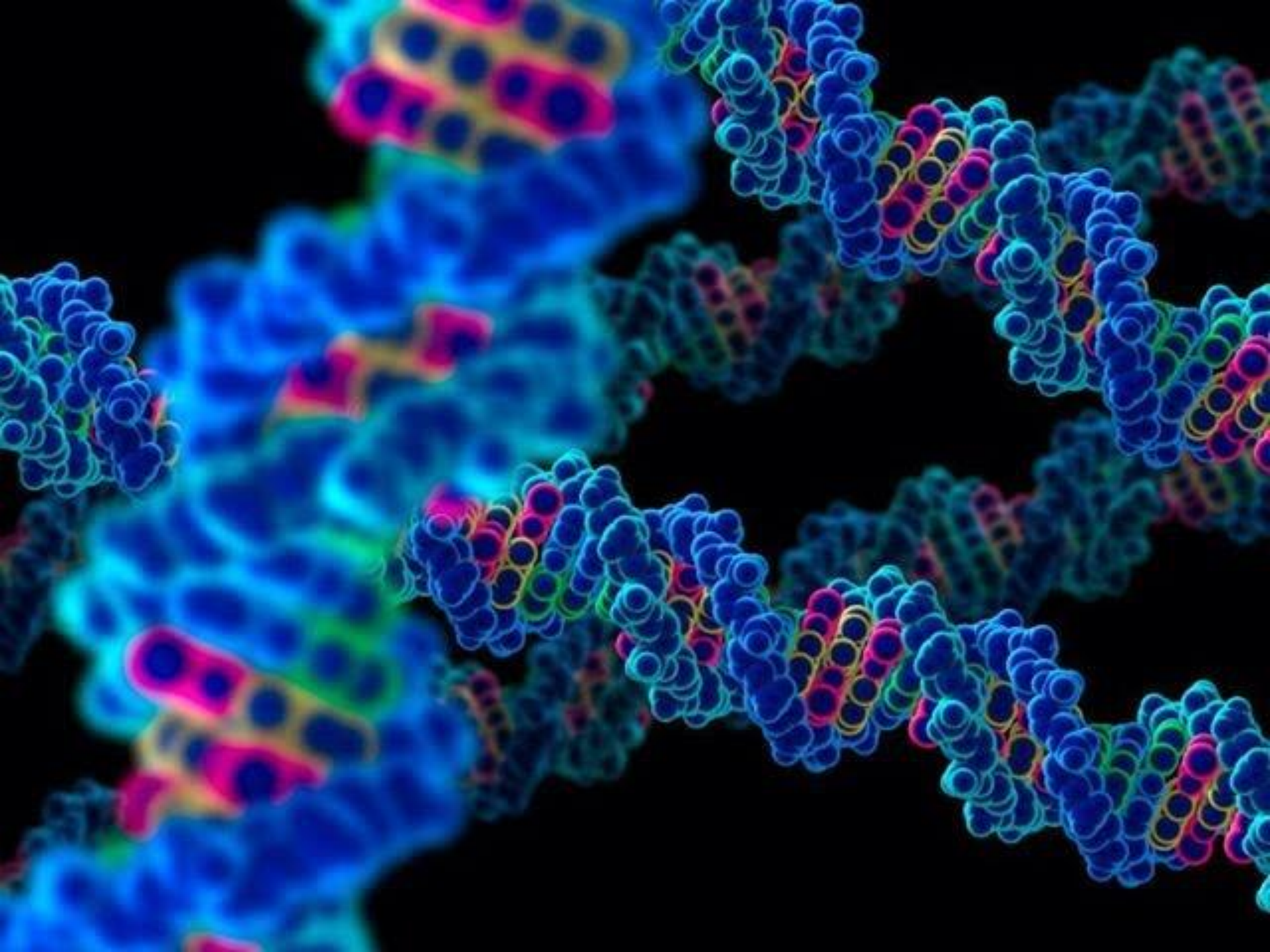
Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions



Y-GG 01-0085

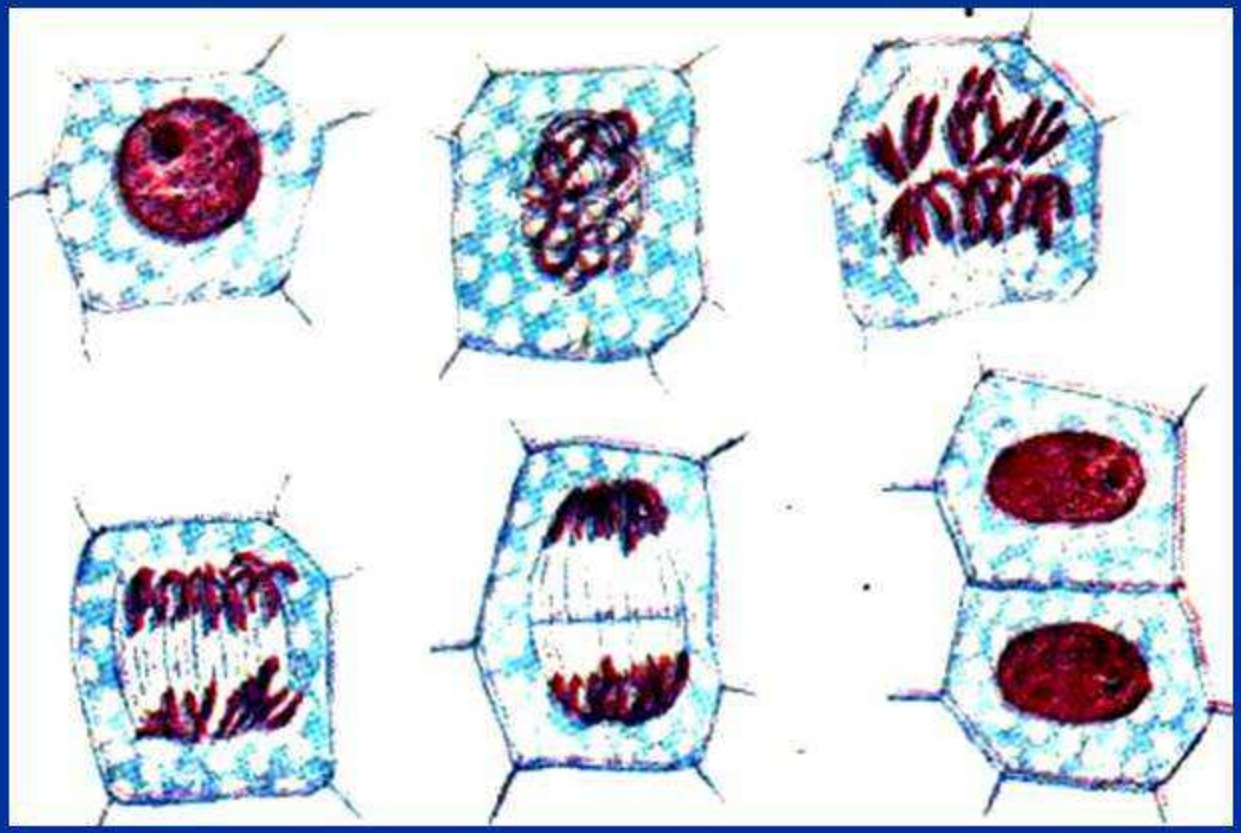


Деление клетки или её репродукция обеспечивает передачу генетической информации из поколения в поколение

Передача наследственных данных соматической клетки происходит за счёт деления митозом!

МИТОЗ, ИЛИ НЕПРЯМОЕ ДЕЛЕНИЕ

- **Митоз (лат. Mitos – нить) –такое деление клеточного ядра, при котором образуется два дочерних ядра с набором хромосом, идентичных родительской клетки.**
- ***Митоз = деление ядра + деление цитоплазмы***

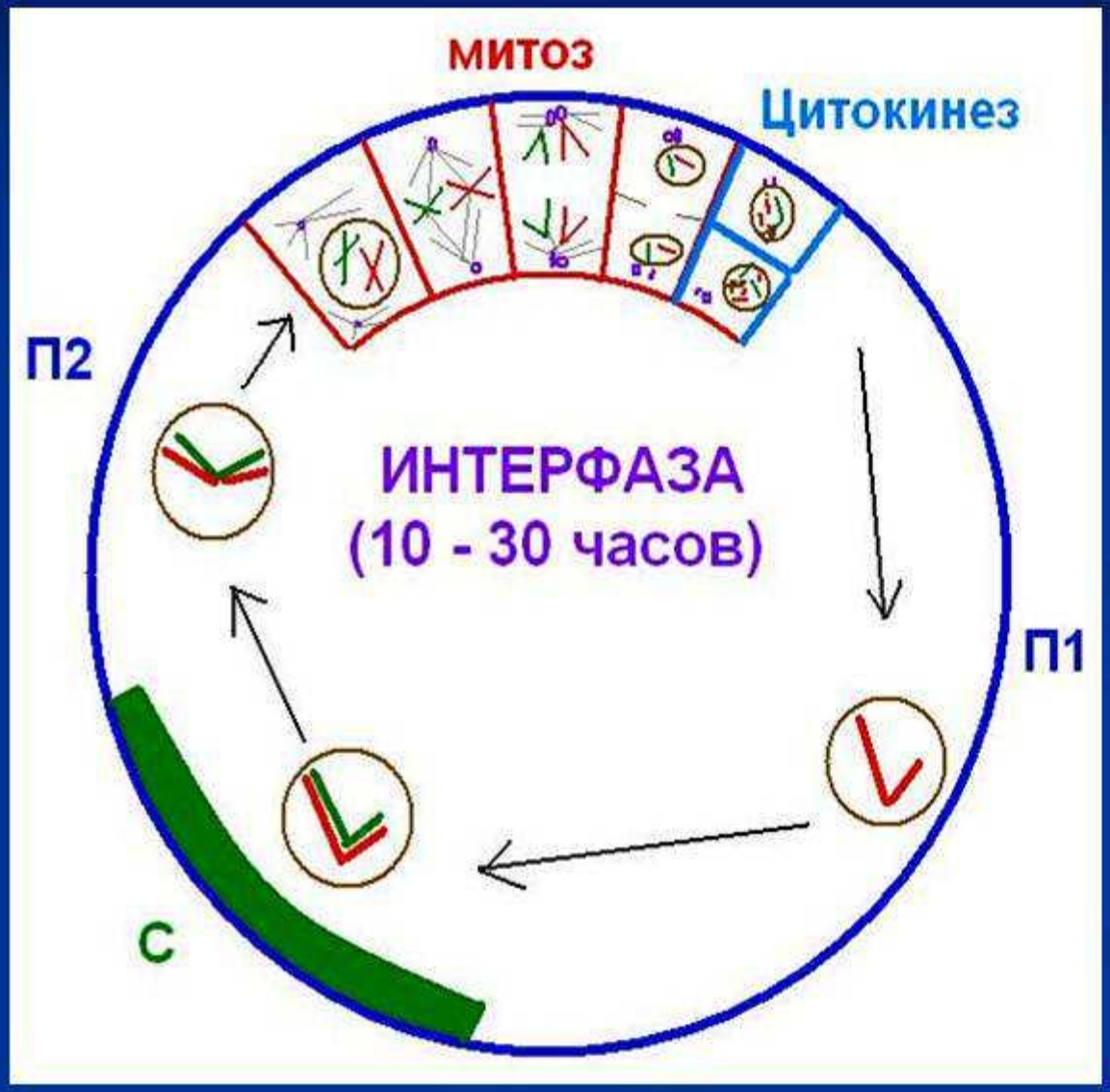


Впервые митоз у растений наблюдал И.Д. Чистяков в 1874 г., а детально процесс был описан нем. ботаником Э.Страсбургером (1877) и нем. зоологом В.Флемингом (1882)

Клеточный цикл

- ***Кле́точный цикл*** ***— период существования клетки от момента её образования путём деления материнской клетки до собственного деления или гибели.***
- ***Длительность клеточного цикла у разных клеток разная.***
- ***Клеточный цикл включает митотический цикл, но отличается от него старением и смертью клетки.***

Клеточный цикл



Период существования клетки от одного деления до другого называется *митотическим, или клеточным циклом.*

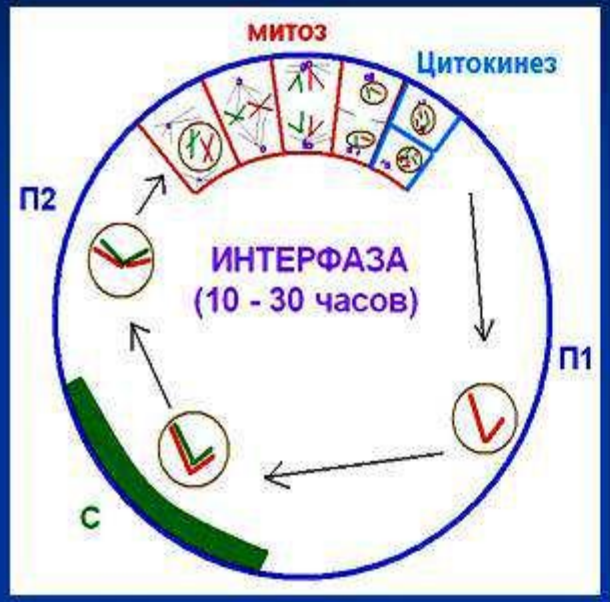
Клеточный цикл у растений продолжается от 10 до 30 часов. Деление ядра (митоз) занимает около 10% этого времени.

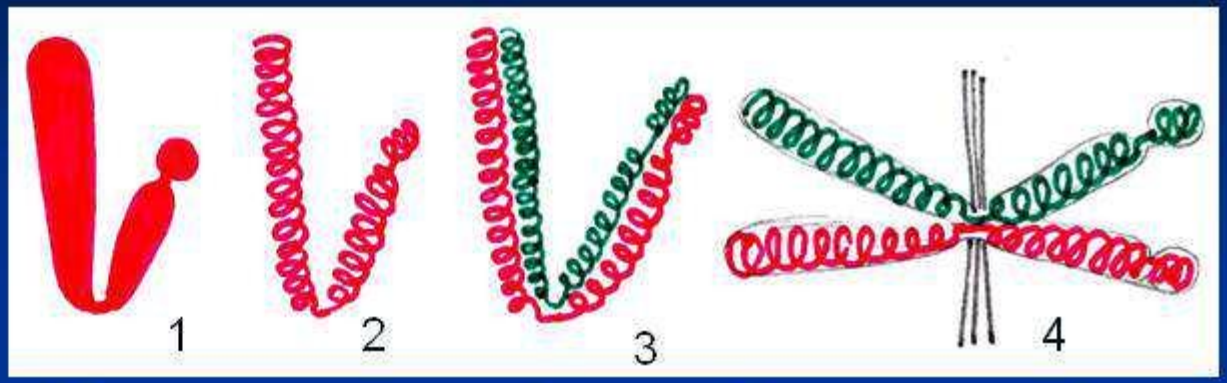
$П_1$ - пресинтетический период

С - синтетический период

$П_2$ - постсинтетический период

Строение хромосом в разные периоды клеточного цикла





1,2 – предсинтети-ческий период; 3 – синтетический и постсинтетический период; 4 – метафаза.

1. В предсинтетический период клетка *растет*: происходит синтез белка, РНК и увеличивается количество органических веществ.

2. В синтетический период происходит *репликация ДНК* (удвоение). С этого момента каждая хромосома состоит из двух *хроматид.*

3. В постсинтетический период идет интенсивный *синтез белка и АТФ,* необходимых для деления клетки.

Генетические механизмы митоза

- Клеточному делению предшествует интерфаза. Именно в этот период происходит репликация ДНК и удвоение центриолей;
- в клетке происходит подготовка к клеточному делению, сопровождающаяся синтезом АТФ, РНК и др., необходимых для

Профаза - Prophasa

К основным событиям профазы относят:

- конденсацию хромосом внутри ядра;
- образование веретена деления в цитоплазме клетки;
- распад ядрышка в профазе;
- уплотнение хромосом происходит за счёт многоуровневой спирализации

- изменения сопровождаются повышением активности ферментов - фосфорилаз модифицирующих гистоны, непосредственно участвующие в компоновке ДНК;
- резко снижается транскрипционная активность хроматина;
- инактивируются ядрышковые гены;
- большая часть ядрышковых белков диссоциирует.

Прометафаза

- В прометафазе наблюдается интенсивное, но беспорядочное перемещение хромосом.
- Сначала отдельные хромосомы стремительно дрейфуют к ближайшему полюсу митотического веретена со скоростью, достигающей 25 мкм/мин.
- Вблизи полюсов деления происходит взаимодействие вновь синтезированных плюс-концов микротрубочек веретена с кинетохорами хромосом, что приводит каждую хромосому в плоскость

Метафаза- Metaphasa

Хромосомы выстраиваются по экватору веретена деления:

- Четко, упорядочено, не мешая друг другу, как «на старте»,
- Каждая хромосома прикрепляется к веретену деления своей центромерой,
- В это время АТФ концентрируется у экватора,
- Разность потенциалов достигает максимума,

Теории расхождения хромосом к полюсам

- *1. Теория механическая*
- *2. Электрических зарядов*
- *3. Электромагнитного поля*
- *4. Энергетическая*
- *5. Изменения физико-химических свойств цитоплазмы и хромосом*
- *6. Ферментативной активности*
- *7. Активность ахроматинового веретена.*

Митоз в световом микроскопе. Окраска гематоксилин-эозин

Телофаза

- **В начале телофазы делящейся диплоидной животной клетки на каждом её полюсе сосредоточены: одна хромосомная пластинка (больше напоминающую «дугу»), в составе которой 2n хромосом, 2c ДНК, и одна диплосома (две центриоли).**
- **В ранней телофазе, на каждом полюсе происходит преобразование хромосомной пластинки в хромосомный клубок: 2 (| → *).**

В процессе телофазы

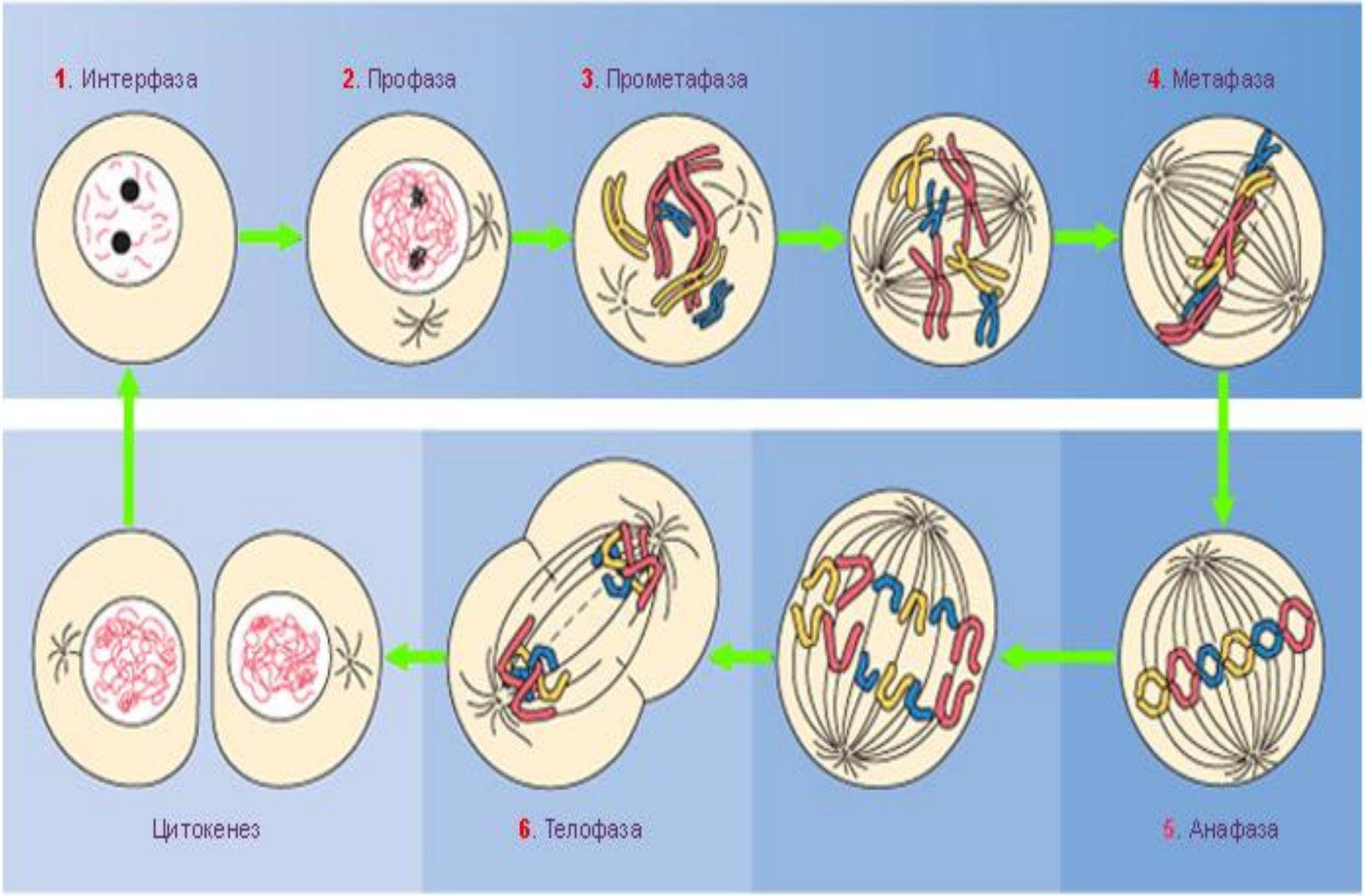
- ***В этом клубке боковые участки хромосом ориентированы на периферию и вокруг них начинается формирование новой ядерной оболочки из фонда микропузырьков, образовавшегося ещё в профазе. Затем к процессу самосборки кариолеммы подключаются центромерные и теломерные зоны хромосом. Происходит замыкание ядерной оболочки и в этот момент клетка становится двуядерной: 2{2n, 2c}.***

Конец телофазы

- *В каждом ядре телофазы формируется ядрышко, что свидетельствует о возобновлении работы цистронов р-РНК и образовании ядрышковых организаторов.*
- *Происходит быстрая деспирализация хромосом, сопровождающаяся активацией транскрипционной активности ДНК.*
- *Ядра вступают в ранний G1-период на фоне продолжающейся телофазы*

Цитокинез у инфузории

Митоз


1. Интерфаза
2. Профаза
3. Прометафаза
4. Метафаза
5. Анафаза
6. Телофаза
Цитокенез

Виды митоза

- **По степени деградации ядерной оболочки в процессе митоза выделяют три формы ортомитоза:**

А) *«Открытый митоз»,* который характеризуется полной фрагментаций ядерной оболочки.

Б) *«Полуоткрытый митоз»*, при котором ядерная оболочка фрагментируется только на полюсах, бисимметричное веретено **организаторы микротрубочек МВ находятся в цитоплазме, а само МВ – в ядре. Встречается у зеленых, бурых, красных водорослей, у некоторых низших грибов.**

В) *«Закрытый митоз»:* ядерная оболочка не изменяется, сохраняется, под ней образуется настоящее веретено. Характерн для деления

- **Различные типы митоза эукариот. По особенностям образования, строения и расположения МВ выделяют следующие формы митоза:**

а) *Плевромитоз* – наиболее простой тип митоза. Он характеризуется МВ, состоящим из двух независимых половин (полуверётен, связанных с хромосомами), совершающих самостоятельные передвижения.

б) Ортомитоз, для которого характерно наличие типичного, двуполюсного веретена, часть нитей которого идут от полюса к полюсу (непрерывные нити), а другие – к кинетохорам дочерних хромосом. Его организующими центрами могут быть центриоли, кинетохоры и другие микротрубочковые организаторы

Патология митоза

- Патология митоза развивается при нарушении нормального течения митотического деления и зачастую приводит к возникновению клеток с несбалансированными кариотипами, следовательно, ведёт к развитию мутаций и анеуплоидии.
- В результате развития отдельных форм патологии наблюдаются хромосомные аберрации.

- **Цитоскелет микротрубочек функционирует как важный каркас, который помогает организовать цитоплазму эукариотических клеток в интерфазе.**
- **Микротрубочки, которые исходят из радиальной картины от центросомы во время интерфазы в большинстве эукариотических клеток, обеспечивают следы моторов микротрубочек, несущих мембранные, РНК и белковые комплексы в направлении и от центра клетки.**
- **Микротрубочки играют важную роль в установлении полярности клеток, они выстраиваются в направлении миграции клеток**

В митозе

- Во время митоза микротрубочки реорганизуются для создания митотического веретена, который вместе с моторными белками выделяет хромосомы во время деления клеток (Sharp et al., 2000b). Ориентация митотического шпинделя, являющаяся важным процессом развития, тканевого морфогенеза и дифференциации стволовых клеток, также включает взаимодействие между астральными микротрубочками, двигателями и другими белками в клеточной коре (Lu et al., 1998)

- **Для начала анализа функции EB1 у *Drosophila* авторы впервые исследовали геном мух для генов, которые демонстрировали гомологию с EB1 (MAPRE1) человека (Su и Qi, 2001).**
- **Один ген (CG3265, называемый здесь *Drosophila* Dm EB1) демонстрирует более высокую степень идентичности последовательности по всей длине как для человеческого EB1 (52%), так и для *Saccharomyces cerevisiae* Bim1p (33%), что делает его наиболее вероятным ортологом.**
- **Этот ген кодирует предсказанный белок с подобной организацией домена с EB1 и Bim1p человека.**
- **Из этих результатов авторы заключили, что наши антитела специфически распознают *Drosophila* Dm EB1 и что обработка RNAi эффективна для устранения практически всего белка Dm EB1 из клеток S2.**

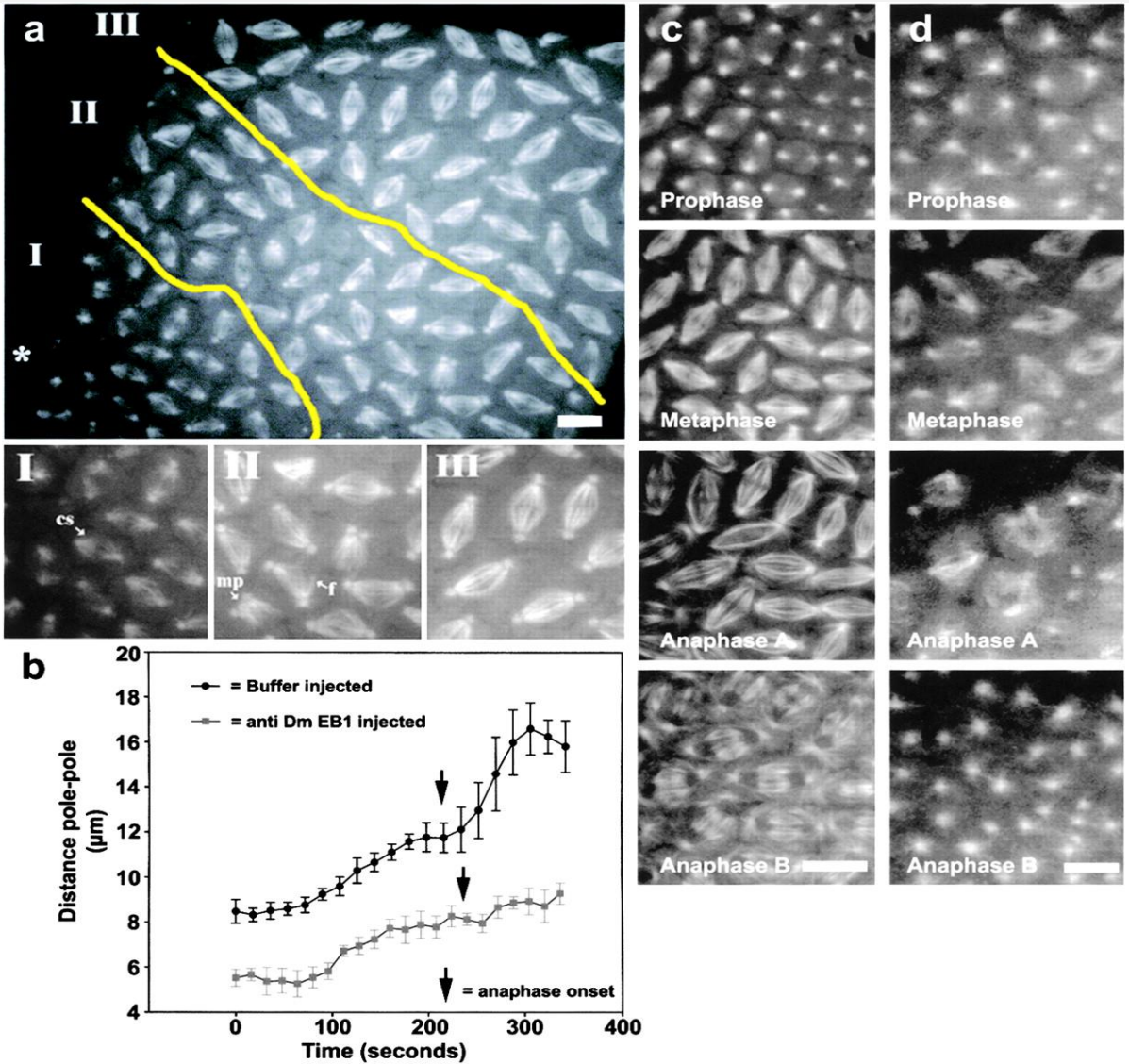
- **DmEB1 локализуется в плюсовых концах микротрубочек в клетках S2.**
- **Иммунолокализация Dm EB1 (зеленый), микротрубочки (красный) и ДНК (синий) в клетках Drosophila S2. (c)**
- **Иммунофлуоресцентная локализация Dm EB1 (зеленый), тубулин (красный) и ДНК (синий) у эмбрионов стадии Synthitial бластодермы дрозофилы во время анафазы (i) и телофазы (j). Dm EB1 показывает заметное накопление на полюсах шпинделя и на середине тела.**

Экспериментальные исследования установившие механизмы митоза

- **EB1 представляет собой эволюционно консервативный белок, который локализуется в плюсовых концах растущих микротрубочек.**
- **Было показано , что у дрожжей гомолог EB1 (*BIM1*) модулирует динамику микротрубочек и связывает микротрубочки с корой, но функции белков метазона EB1 остаются неизвестными.**
- **Используя новый препарат *Drosophila*S2, которая способствует прикреплению и распространению клеток, авторы визуализировали динамику одиночных микротрубочек в реальном времени и обнаружили, что истощение EB1 опосредуемым РНК ингибированием (RNAi) в межфазных клетках приводит к резкому увеличению нединамических микротрубочек (ни нарастанию, ни сокращению) но не изменяет общую организацию микротрубочек.**

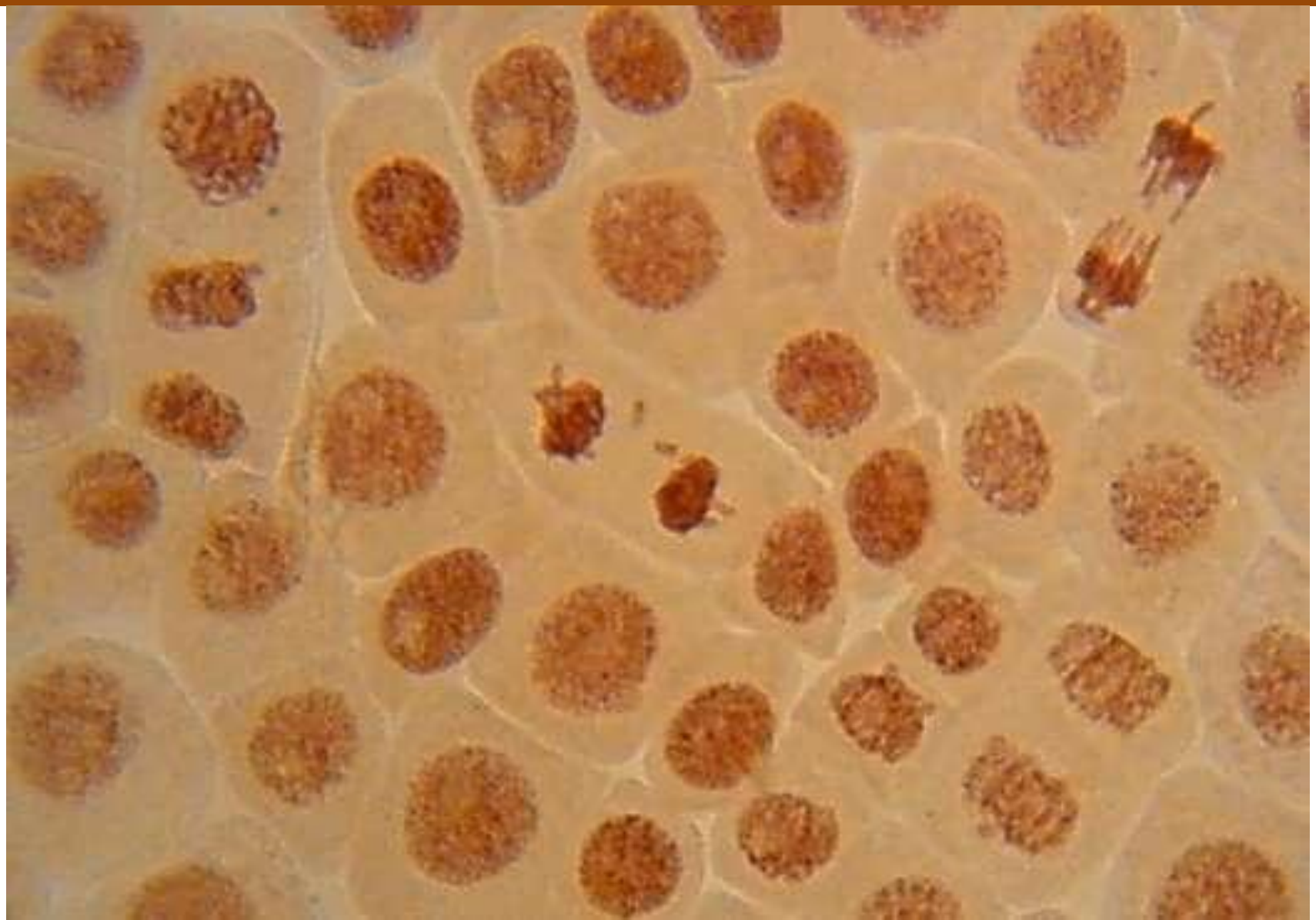
- Микроинъекция антител против Dm EB1 предотвращает нормальную сегрегацию хромосом во время митоза. (a)
- Ряд неподвижных изображений, иллюстрирующих правильную сегрегацию хромосом во время митоза цикла 13 в эмбрионе, введенном под контроль.
- Эмбрион экспрессирует GFP-тубулин для визуализации микротрубочек (красный) и инъецируется родамин-гистоновой (зеленой) картиной хромосом. (b)
- Панели неподвижных изображений, демонстрирующие неудачные движения хромосом и полюса в эмбрионе, приготовленные, как указано выше, и инъецированные поликлональными антителами, выращенными против Dm EB1.
- Изображения собирали из живых эмбрионов с

Микроинъекция антител Dm EB1 в синтетические эмбрионы препятствует удлинению митотического веретена.



- **Незавершённые митозы, прекращающиеся по причине дезорганизации или разрушения митотического аппарата, приводят к образованию полиплоидных клеток. Полиплоидия и формирование дву- и многоядерных клеток возникают в случае нарушений механизмов цитокинеза. При значительных последствиях**

Микрофотография сделана во время проведения эксперимента Allium test по изучению влияния активного излучения сотового телефона на клетки in vivo.



- В нормальных тканях патология встречается в незначительных количествах.
- Например: в эпидермисе мышей встречается около 0,3 % патологических митозов; в эпителии гортани и эпителии матки человека — около 2 %.
- Патологические митозы часто наблюдаются при канцерогенезе, при различных экстремальных воздействиях, при лучевой болезни или вирусной инфекции,- при раке и предраковых гиперплазиях.
- Частота патологических митозов также увеличивается с возрастом.

Условно различают патологию митоза функционального и органического типа

- К *функциональным нарушениям* относят, например, гипореактивность вступающих в митоз клеток — снижение реакции на физиологические регуляторы, определяющие интенсивность пролиферации нормальных клеток.

- ***Органические*** **нарушения возникают при <u>повреждении структур</u>, участвующих в митотическом делении (хромосомы, митотический аппарат, клеточная поверхность), а также при нарушении процессов, связанных с данными структурами (репликация ДНК, образование веретена деления, движение хромосом, цитокинез).**

Классификация и общая характеристика различных форм патологии митоза

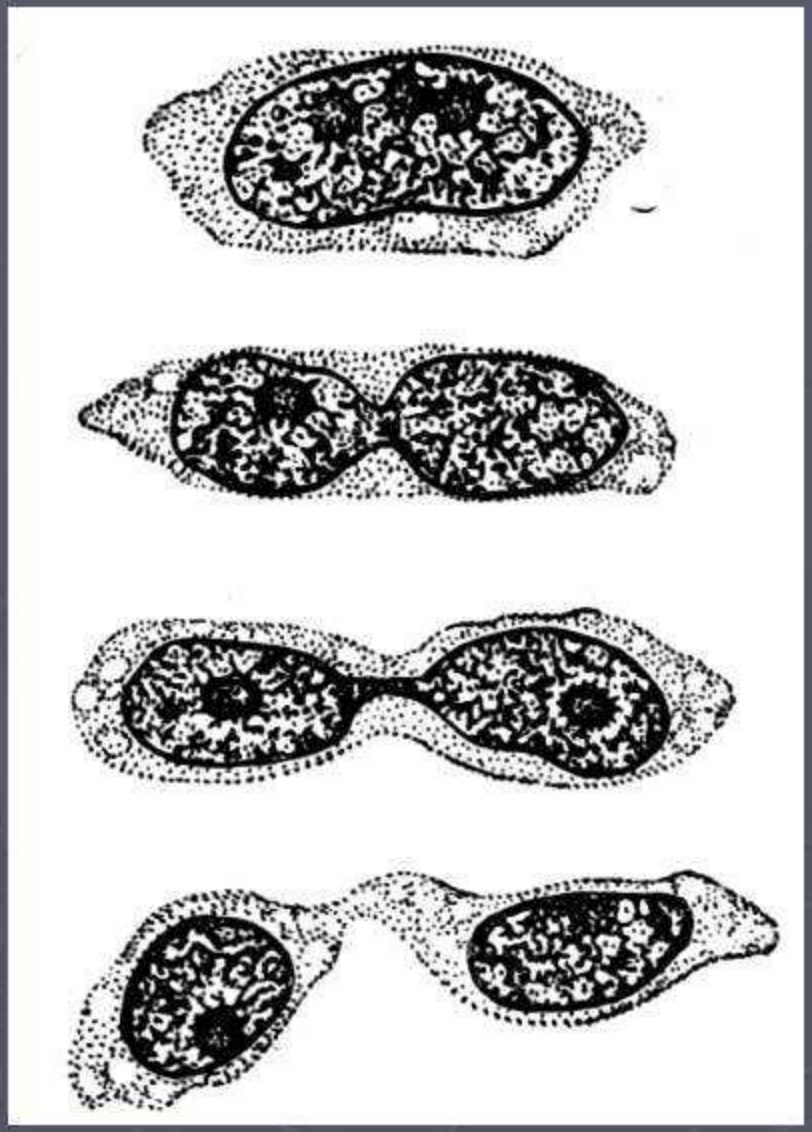
- **На основании морфологических признаков и цитохимических нарушений митотического процесса выделяют три основных группы патологии митоза:**
- **1 - *патология, связанная с повреждением хромосом;***
- ***2* - патология, связанная с повреждением митотического аппарата;**

I. Патология митоза, связанная с повреждением хромосом

- 1) *Задержка митоза в профазе* наблюдается при нарушениях репликации ДНК.
- 2) *Нарушение спирализации и деспирализации хромосом* прослеживается в результате действия на делящуюся клетку различными митотическими ядами. Например, воздействие колхицина приводит к гиперспирализации хромосом, которые приобретают укороченную и утолщенную форму.[
- 3) *Раннее (преждевременное) разделение хроматид в профазе* (в норме разделение хроматид происходит на рубеже перехода метафазы в анафазу). Обозначенная патология наблюдается, к примеру, при изменении осмотического давления в фибробластах кролика в культуре ткани или же при воздействии канцерогенов (бензопирена, метилхолантрена) на

- **С патологией митоза связано возникновение заболеваний - лучевая болезнь, вирусные инфекции.**
- ***Хромосомные заболевания, в результате потери или появления лишних хромосом в своем развитии, имеют неправильное распределение хромосом.***
- **Значительные изменения процесса митоза наблюдаются в опухолевых клетках.**
- ***Считают, что возникновение патологических митозов - одна из причин злокачественного перерождения***

АМИТОЗ или прямое деление



- Амитоз – это деление интерфазного ядра путем перетяжки без образования веретена деления.
- Распространенность в природе:

Норма

1. Амебы
2. Большое ядро инфузорий
3. Эндосперм
4. Клубень картофеля
5. Роговица глаза
6. Хрящевые и печеночные клетки

Патология

1. При воспалениях
2. Злокачественные новообразования

Значение:
экономичный (мало энергозатрат) процесс воспроизводства клеток

Спасибо за внимание!