

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

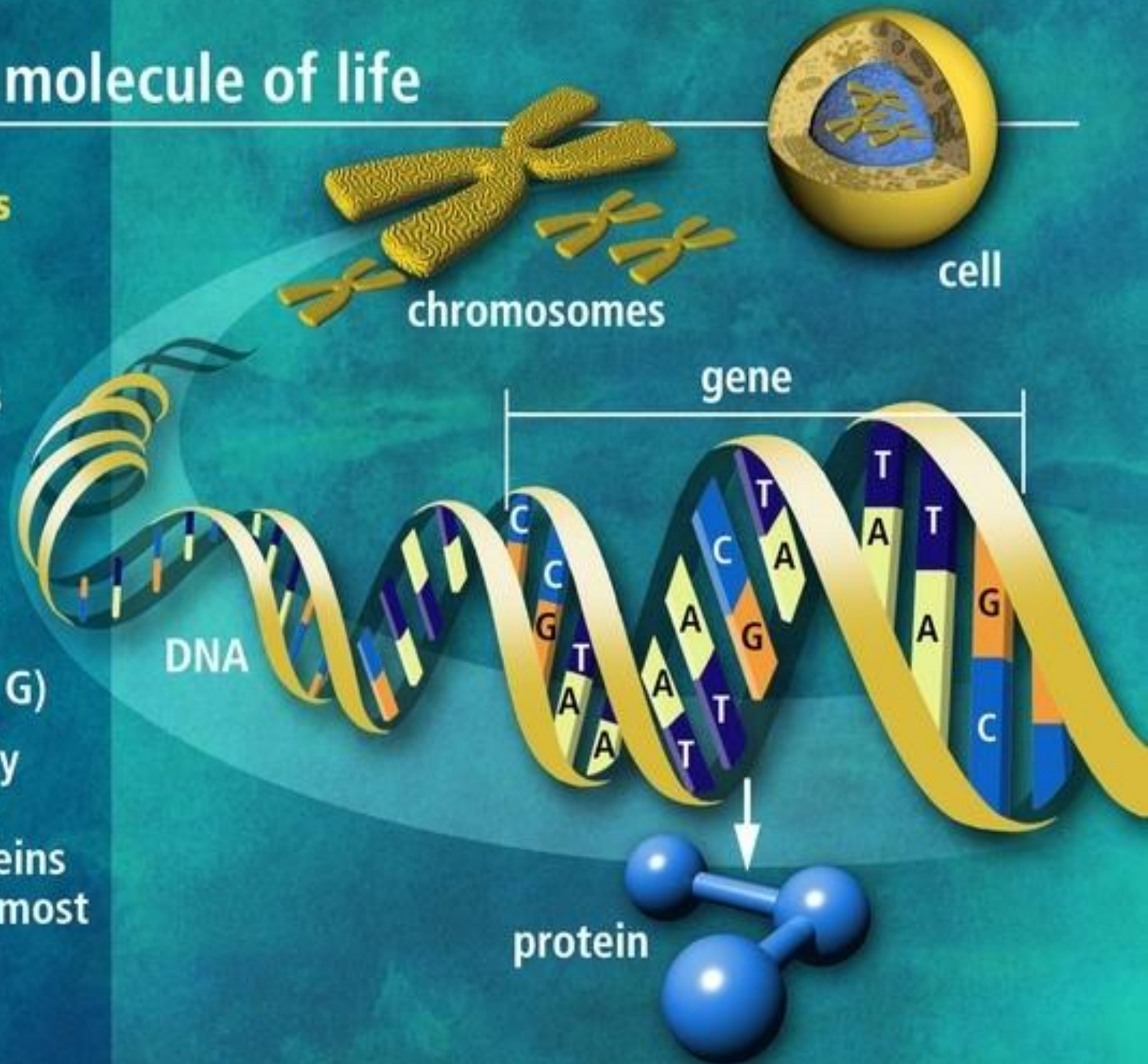
- Наследственная информация хранится:**
- В ядре**
- В митохондриях**
- В клеточном центре**
- Эти структуры содержат свою ДНК**

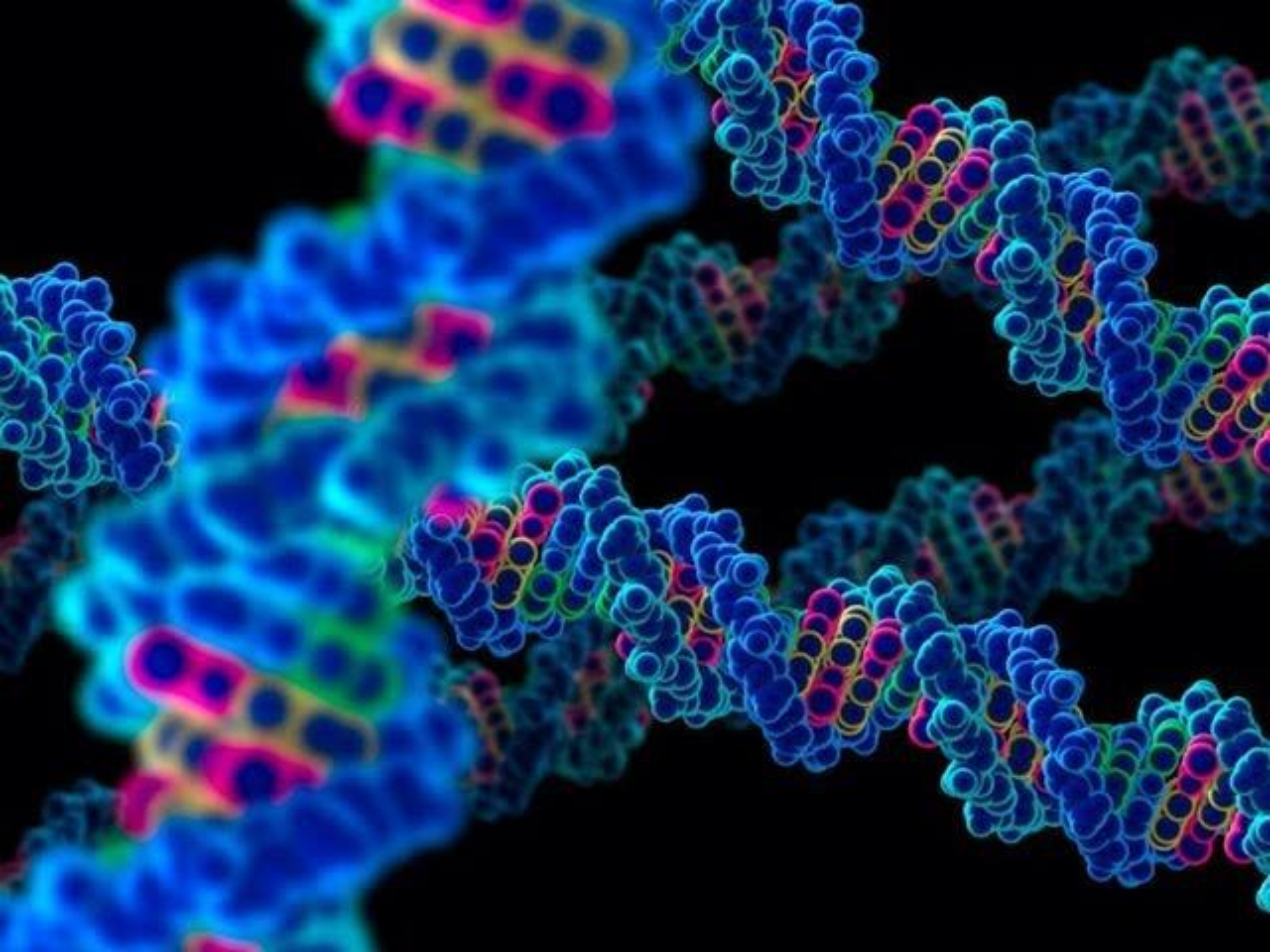
DNA the molecule of life

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



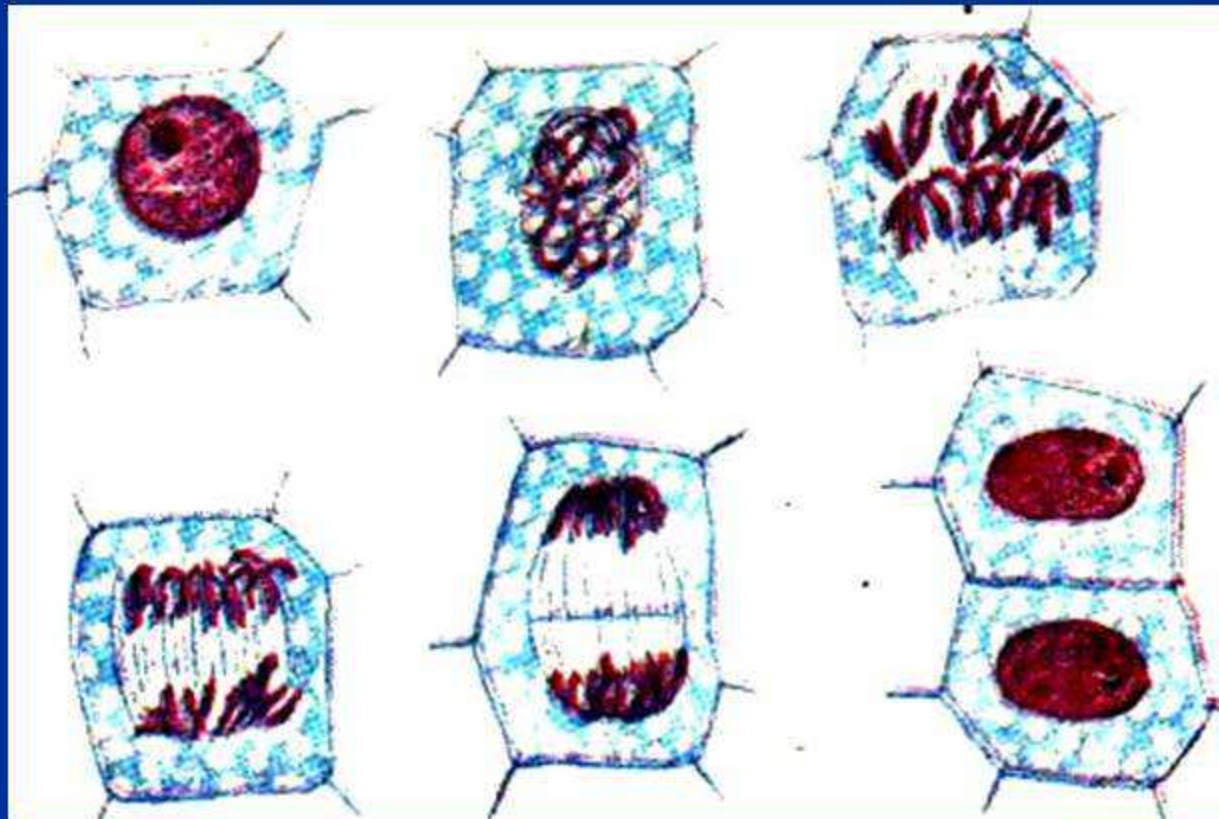


*Деление клетки или её репродукция
обеспечивает передачу
генетической информации из
поколения в поколение*

**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*

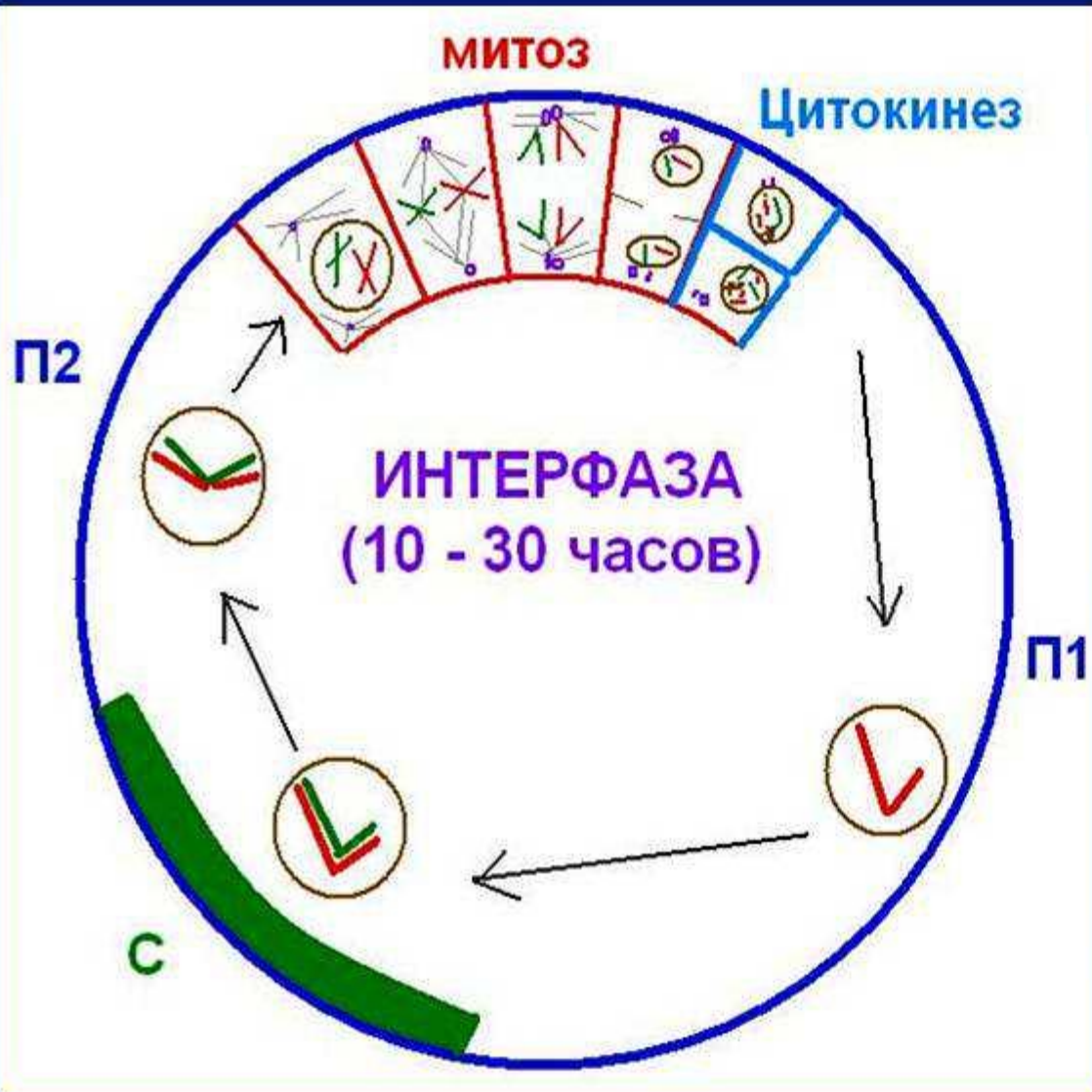


Впервые митоз у растений наблюдал И.Д. Чистяков в 1874 г., а детально процесс был описан нем. ботаником Э.Страсбургером (1877) и нем. зоологом В.Флемингом (1882)

Клеточный цикл

- **Клѐточный цикл** — период существования клетки от момента её образования путѐм 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.**

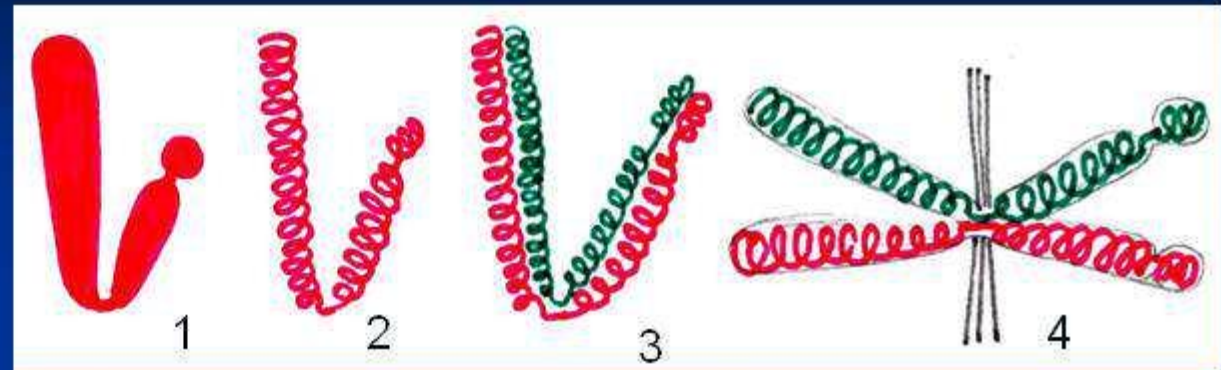
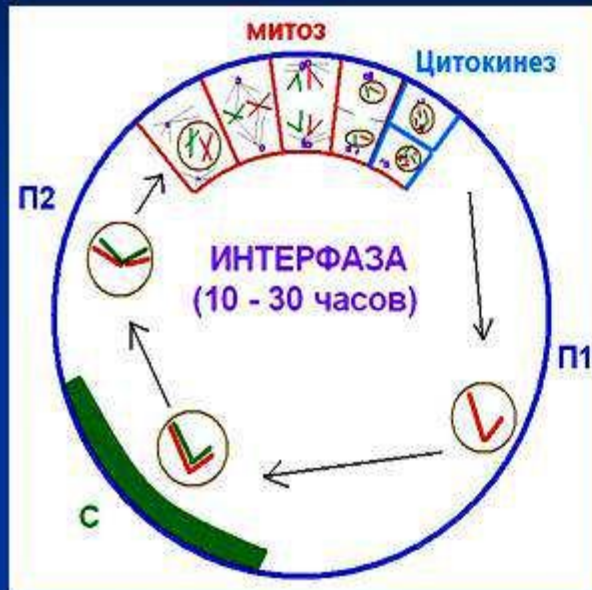
Клеточный цикл у растений продолжается от 10 до 30 часов. Деление ядра (митоз) занимает около 10% этого времени.

П₁ - пресинтетический период

С - синтетический период

П₂ - постсинтетический период

Строение хромосом в разные периоды клеточного цикла



1,2 – предсинтетический 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 - Prophase

К основным событиям профазы относятся:

- **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 - фосфоорилаз 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: $2 (| \rightarrow *)$.

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



Цитокенез

6. Телофаза

5. Анафаза

Виды митоза

- По степени деградации ядерной оболочки в процессе митоза выделяют три формы ортомитоза:
 - А) **«Открытый митоз»**, который характеризуется полной фрагментацией 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. Характерен для деления

- **Различные типы митоза эукариот. По особенностям образования, строения и расположения МВ выделяют следующие формы митоза:**
 - Плевромитоз*** – наиболее простой тип митоза. Он характеризуется МВ, состоящим из двух независимых половин (полуверетён, связанных с хромосомами), совершающих самостоятельные передвижения.
 - 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 centrosомы 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* Vim1p (33%), что делает его наиболее вероятным ортологом.
- Этот ген кодирует предсказанный белок с подобной организацией домена с EB1 и Vim1p 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.

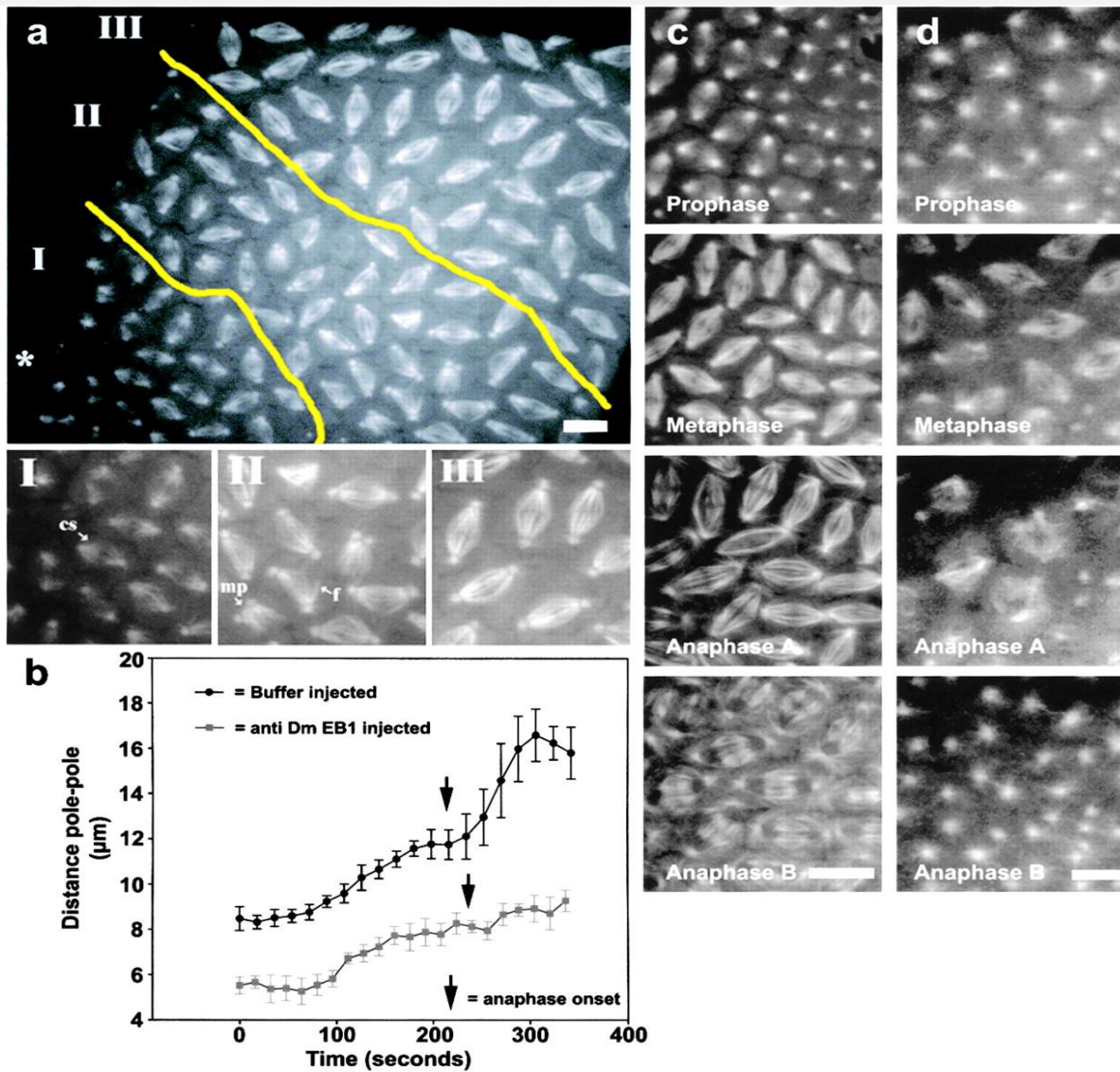
- **DmEB1 локализуется в плюсовых концах микротрубочек в клетках S2.**
- **Иммунолокализация Dm EB1 (зеленый), микротрубочки (красный) и ДНК (синий) в клетках Drosophila S2. (с)**
- **Иммунофлуоресцентная локализация Dm EB1 (зеленый), тубулин (красный) и ДНК (синий) у эмбрионов стадии Synthitial бластодермы дрософилы 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 (*VIM1*) модулирует динамику микротрубочек и связывает микротрубочки с корой, но функции белков метазона EB1 остаются неизвестными.
- Используя новый препарат *DrosophilaS2*, 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-гистоновою (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 повреждении структур, 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

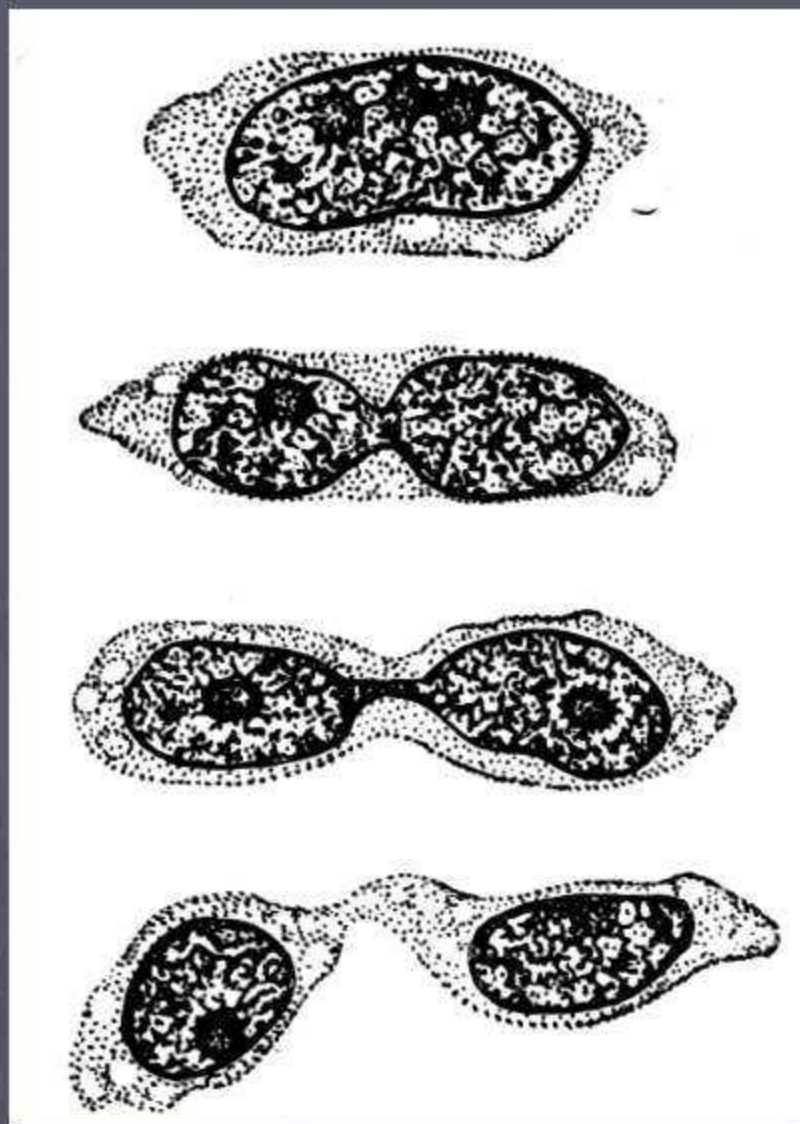
- На основании морфологических признаков и цитохимических нарушений митотического процесса выделяют три основных группы патологии митоза:
 - 1 - *патология, связанная с повреждением хромосом;*
 - 2 - **патология, связанная с повреждением митотического аппарата:**

1. 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**, **метилхлорантрацена**) 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!

