

Лекция 8

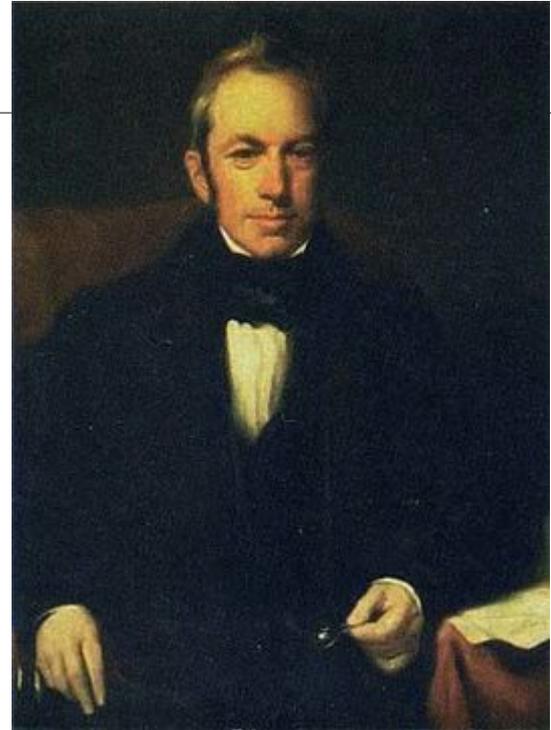
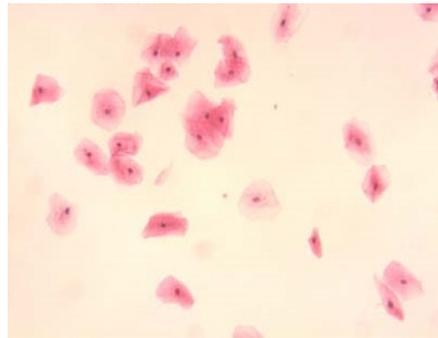
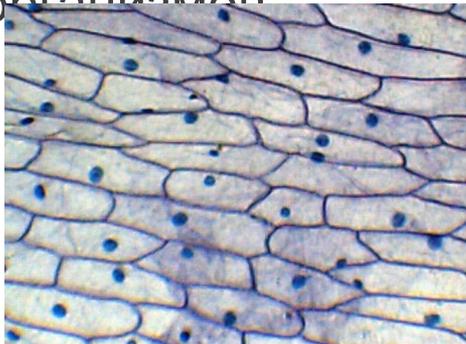
СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА. СТРОЕНИЕ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ. КОМПОНЕНТЫ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ. ЯДЕРНЫЕ ПОРЫ И ЯДЕРНЫЕ ЛАМИНЫ. РОЛЬ ЯДЕРНЫХ ПОР В ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ ОБМЕНЕ. РО КЛЕТКИ

Ядро

Термин «ядро» впервые был применен Робертом Брауном в 1833 г.

Он открыл его в клетках кожицы орхидных растений

Позднее такую же структуру описали во всех клетках высших организмов



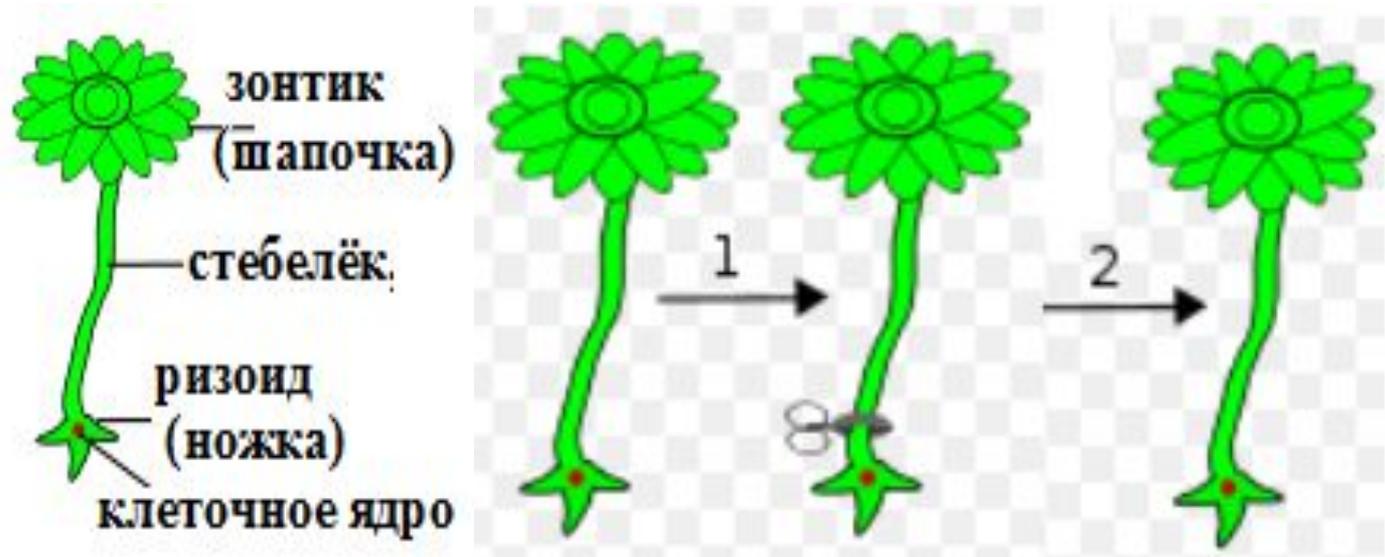
Роберт Броун (англ. Robert Brown, 1773—1858) — британский ботаник конца XVIII — первой половины XIX века, морфолог и систематик растений, первооткрыватель «броуновского движения».

Функции клеточного ядра

- 1. Сохранение генетической информации в неизменном виде:**
 - ХРАНЕНИЕ генетической информации в структуре ДНК.
 - РЕДУПЛИКАЦИЯ – синтез, удвоение молекулы ДНК перед делением ядра и клетки
 - РЕПАРАЦИЯ - восстановление поврежденной структуры молекулы ДНК с помощью специальных ферментов репарации.
- 2. Передача генетической информации** - реализуется в ходе митоза и мейоза.
- 3. Реализация генетической информации (синтез белка):**
 - ТРАНСКРИПЦИЯ- синтез всех типов РНК (иРНК, рРНК, тРНК)
 - ПРОЦЕССИНГ и СПЛАЙСИНГ иРНК- укорочение первичных транскриптов за счет вырезания интронов (некодирующих участков).
 - СБОРКА РИБОСОМ.

Доказательства роли ядра в передаче наследственной информации:

одноклеточная водоросль (*Acetabularia*), имеющая форму гриба (шляпка, стебелек, корни). Ядро располагается в основании «стебелька». Если перерезать ножку, то нижняя часть продолжает жить, регенерирует шляпку и полностью восстанавливается после операции. Верхняя же часть, лишенная ядра, живет в течение некоторого времени, но, в конце концов, погибает, не будучи в состоянии восстановить нижнюю часть. Следовательно, ядро необходимо для метаболических процессов, лежащих в основе регенерации и соответственно роста.



Опыты Астаурова с тутовым шелкопрядом

Объект: два подвида тутового шелкопряда. У одного подвида берут сперматозоиды, у другого яйцеклетку. После разрушения ядра яйцеклетки, ее оплодотворяют сперматозоидами. Т.к. у шелкопряда имеет место полиспермия (несколько сперматозоидов могут оплодотворить яйцеклетку) в цитоплазме одного подвида формируется ядро с генетическим набором второго подвида. Из такой яйцеклетки развиваются только самцы того подвида, у которых брали сперматозоиды.



**Астауров
Борис Львович**

Советский биолог,
академик АН СССР.
Родился: 27 октября 1904
г., Москва, Российская
империя
Умер: 21 июня 1974 г. (69
лет), Москва, РСФСР,
СССР



*Тутовый шелкопряд:
бабочка и коконы*

Прямые и косвенные доказательства функции ядра хромосом:

Прямыми доказательствами роли ядра являются наследственные болезни, связанные с нарушением числа и структуры хромосом

Косвенные:

Правило постоянства числа хромосом. Число хромосом и особенности их строения – видовой признак.

Правило парности хромосом. Число хромосом в соматических клетках всегда четное, это связано с тем, что хромосомы составляют пары.

Правило индивидуальности хромосом. Каждая пара хромосом характеризуется своими особенностями. Хромосомы, относящиеся к одной паре, одинаковые по величине, форме и расположению центромер называются гомологичными. Негомологичные хромосомы всегда имеют ряд отличий.

Правило непрерывности хромосом. Хромосомы способны к авторепродукции.

Строение ядра

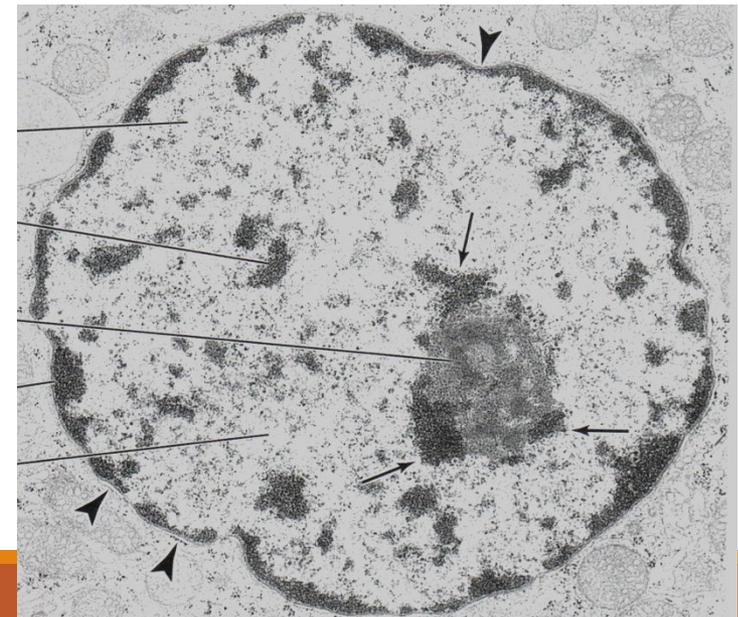
Ядро имеет вид округлой или удлинённой структуры.

В ядре различают:

- ❑ Ядерная оболочка (кариолема),
- ❑ Кариоплазма (ядерный сок), содержащий
- ❑ Ядерный матрикс
- ❑ Хроматин,
- ❑ Ядрышко,

Как правило, в клетке имеется одно ядро.

Однако известны многоядерные клетки: например, инфузории-туфельки имеют два ядра (макро- и микронуклеус), а в клетках других низших эукариот может содержаться несколько десятков и сотен

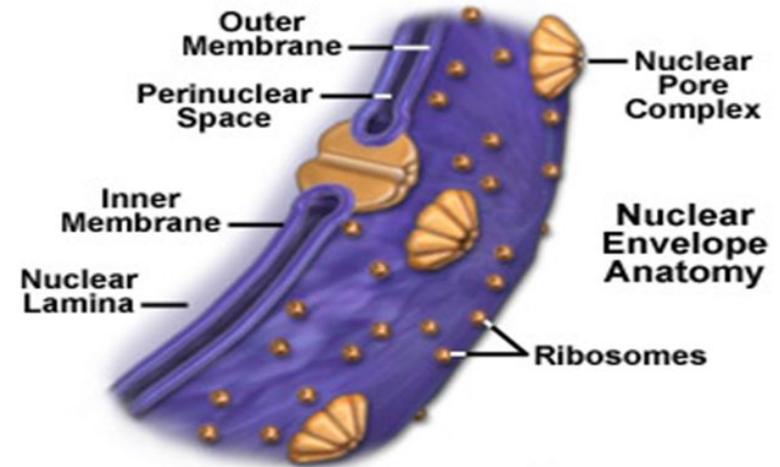
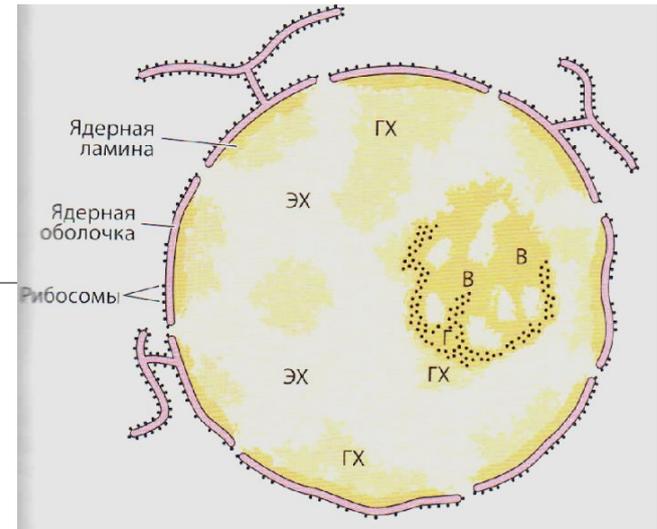


Ядерная оболочка

Ядерная оболочка состоит **из двух мембран**: внешней и внутренней, между которыми располагается **перинуклеарное пространство**.

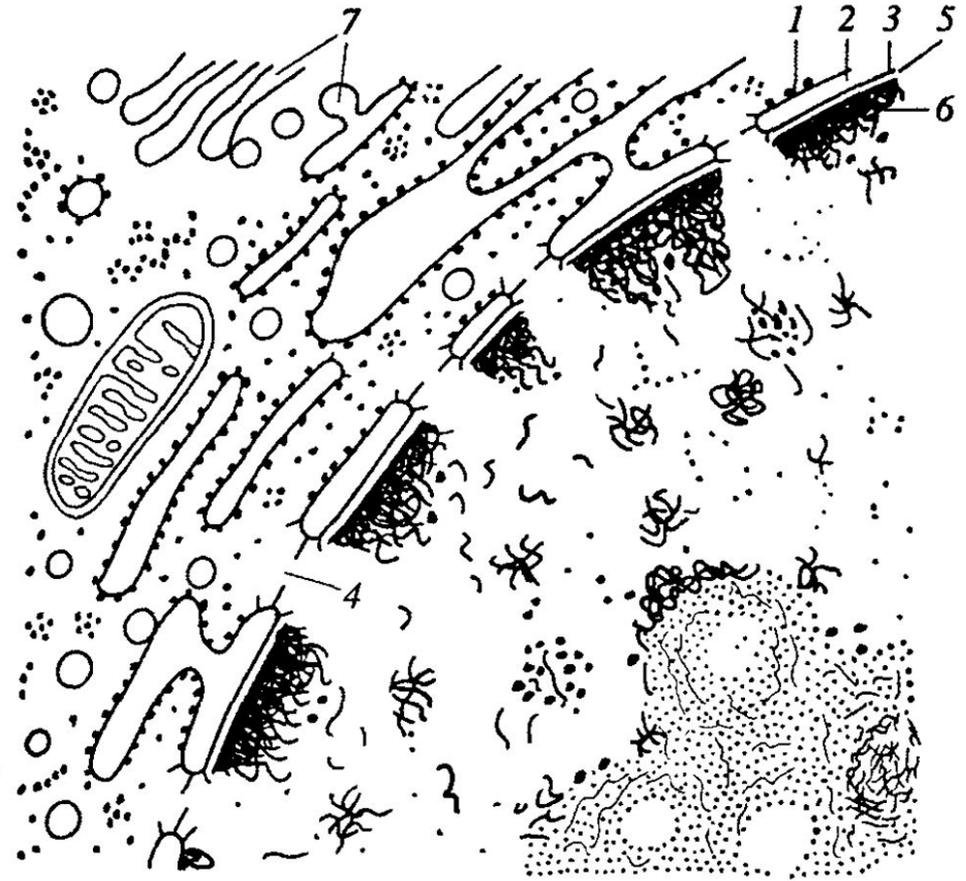
Наличие особых **ядерных пор**, отличающую ее от других двухмембранных структур клетки (митохондрии и пластиды)

Ядерные поры образуются за счет многочисленных зон слияния двух ядерных мембран и представляют собой как бы округлые, сквозные перфорации всей ядерной оболочки.



Функция ядерной оболочки:

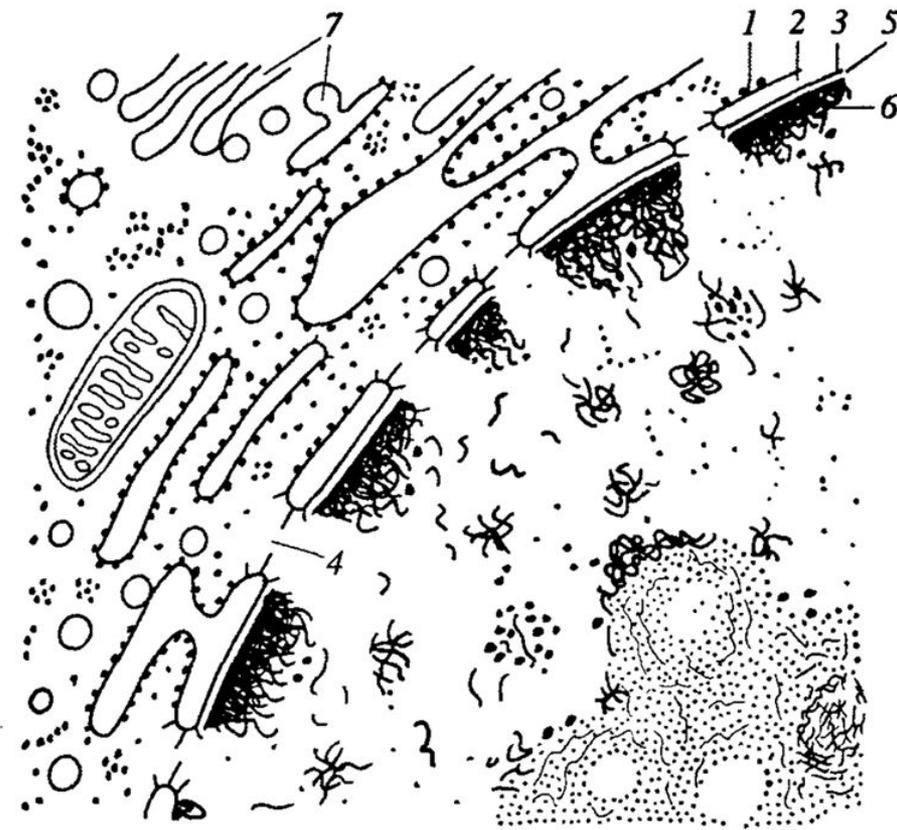
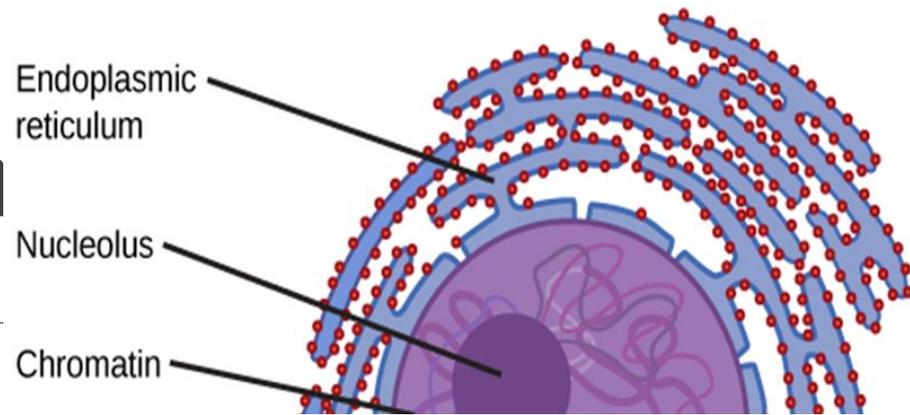
1. Защитная
2. Барьерная
3. Регуляторная
4. Транспортная
5. Фиксирующая



Ядерная оболочка

К наружной ядерной мембране прикреплены **полирибосомы**, что говорит о тесной связи с ЭПС.

С внутренней мембраной тесно связана **ядерная фиброзная пластинка** — **ядерная ламина**, которая придает прочность ядерной оболочке.



Ядерные поры

Поры представляют собой восьмиугольный поровый комплекс, состоящий более чем из 100 белков (нуклеопоринов).

Ядерный поровый комплекс (ЯПК) состоит из двух белковых колец – *цитоплазматическое кольцо и внутриядерное*.

От цитоплазматического кольца отходят фибриллярные выросты.

Со стороны внутриядерного кольца фибриллярные выросты образуют корзинкоподобную (ядерная «корзина») структуру, связанную с *терминальным кольцом*.

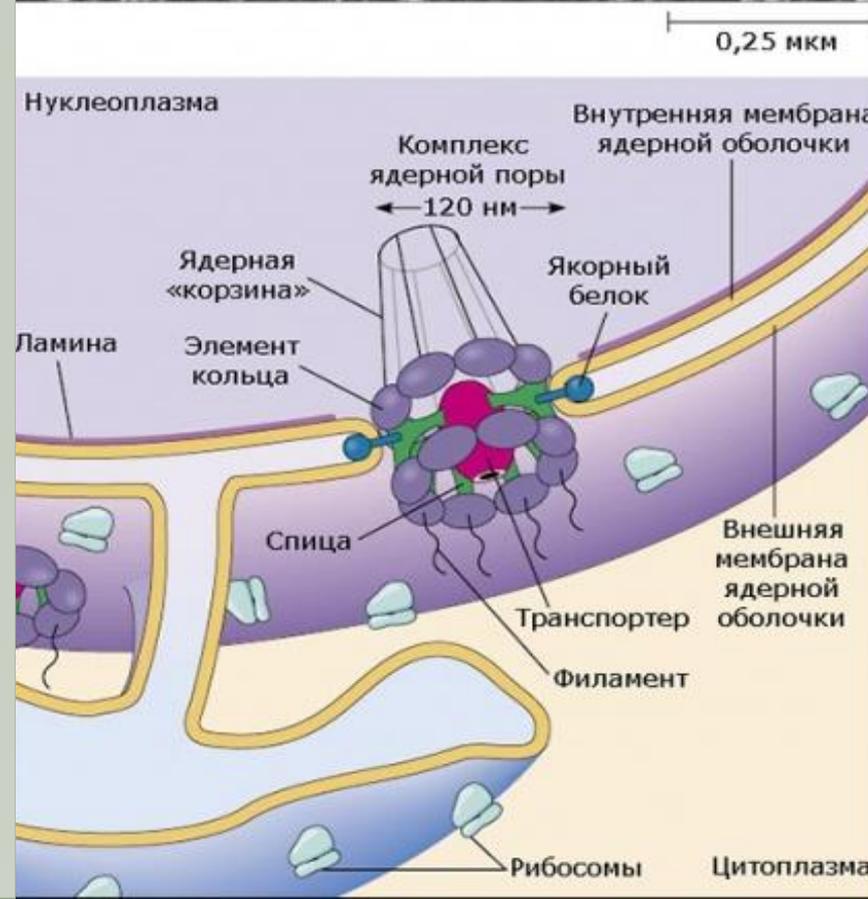
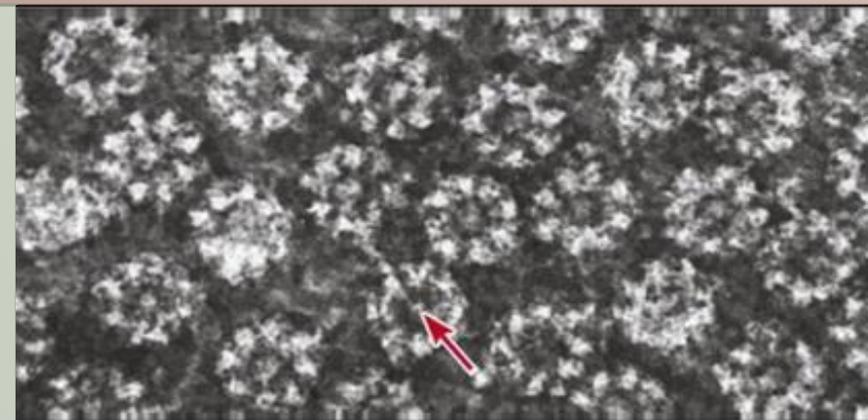
За счет этих фибриллярных нитей, при их сокращении, происходит увеличение или уменьшение поры.

В центре ЯПК располагается *центральная гранула* («пробка»).

Комплекс ядерных пор заякорен *спицами*.

ЯПК закрепляется интегральными белками – гликопротеидами, расположенных в стенках поры.

Число ядерных пор зависит от метаболической функции клетки – чем выше синтетические процессы, тем больше пор.



Ядерные поры

Благодаря порам, осуществляется обмен веществ между ядром и цитоплазмой.

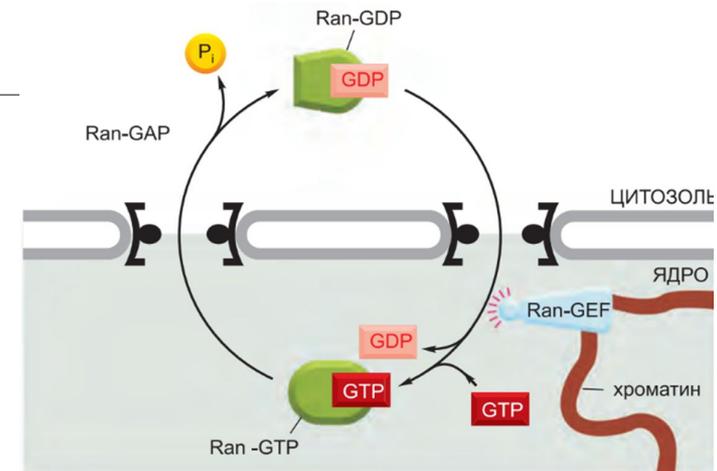
Молекулы до 9 нм свободно проходят через поры.

Более крупные молекулы транспортируются с помощью активного процесса, при этом используется энергия АТФ.

Весь процесс осуществляется в 2 этапа:

Белки, содержащие один или несколько сигналов ядерной локализации связываются с цитозольными белками, образуя комплекс, который прикрепляется к комплексу ядерной поры без затрат энергии.

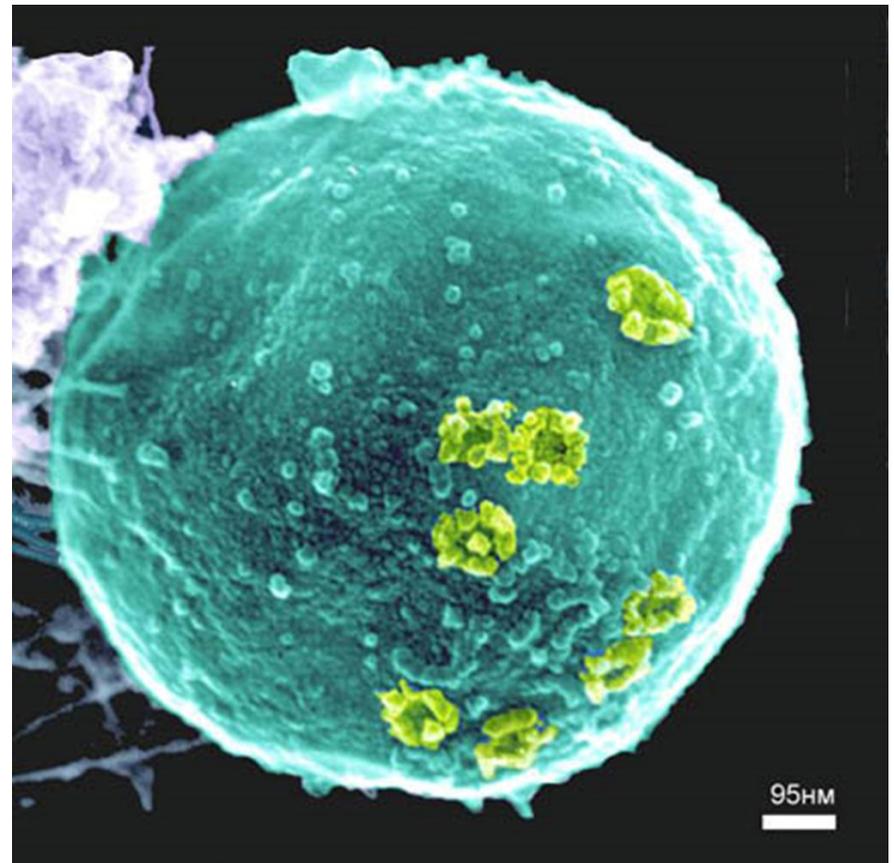
Белки с сигналом ядерной локализации переносятся в ядро с использованием энергии АТФ, цитозольный белок остается в цитоплазме. Энергия АТФ идет на открытие ядерной поры.



1. Ассоциация белка с экспортином и RAN-GTP
2. Попадание в цитоплазму
3. Возвращение RAN-GTP в ядро

Функция ядерной поры:

- Барьерная,
- Регуляторная,
- Транспортная,
- Фиксирующая (для хроматина).
- В то же время ядерные поры осуществляют избирательный транспорт.



Ядерный сок

Ядерный сок (кариоплазма) - внутренняя среда ядра, представляющая собой коллоидное (гелеобразное) вязкое вещество, в котором находятся структуры ядра, а также ферменты и нуклеотиды, необходимые для репликации, транскрипции.

Функция ядерного сока: *осуществление взаимосвязи ядерных структур и обмен с цитоплазмой клетки.*

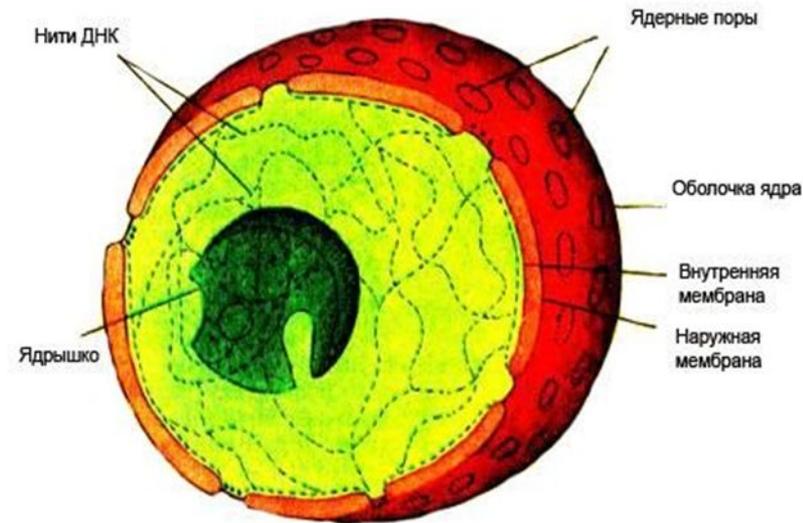
Ядерный матрикс

Ядерный матрикс заполняет пространство между хроматином и ядрышками.

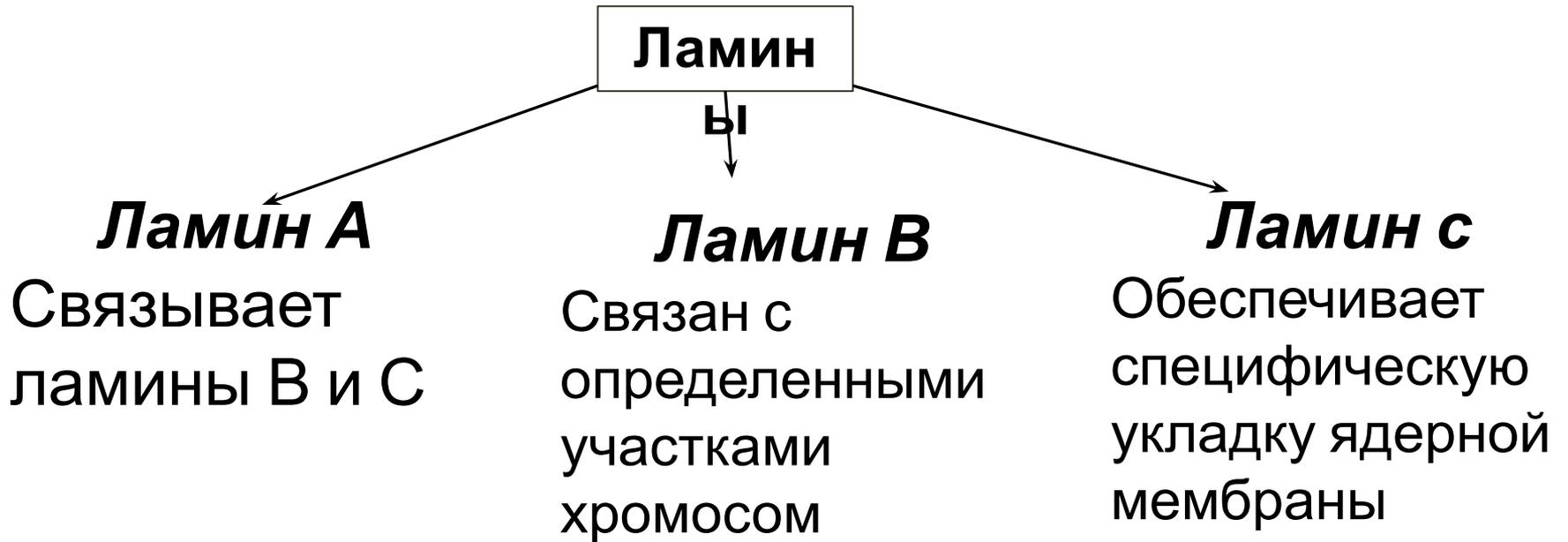
Он состоит из белков, метаболитов и ионов.

По своей морфологической композиции ядерный матрикс состоит из трех компонентов:

- **Ядерный скелет** – фибриллярная структура (входит ламина, внутренняя интерхроматиновая сеть, «остаточное» ядрышко).
- **Внутренняя интерхроматиновая сеть** – фиброзная сеть, располагающаяся между хроматином.
- **«Остаточное» ядрышко** – плотная структура, повторяющая по своей форме ядрышко, состоит из плотно уложенных фибрилл.



Ламина сформирована промежуточными филаментами. Она поддерживает ядерную мембрану и контактирует с хроматином и ядерными РНК.



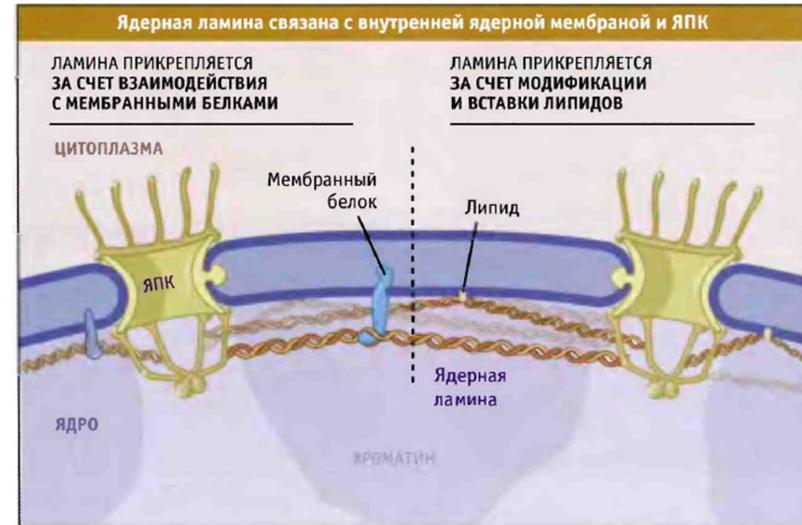
Итак, ламины представлены тремя белками (лаminy А, В, С).

Два из них, **лаminy А и С**, близки друг к другу иммунологически и по пептидному составу.

Ламин В от них отличается тем, что он представляет собой липопротеид и поэтому он более прочно связывается с ядерной мембраной.

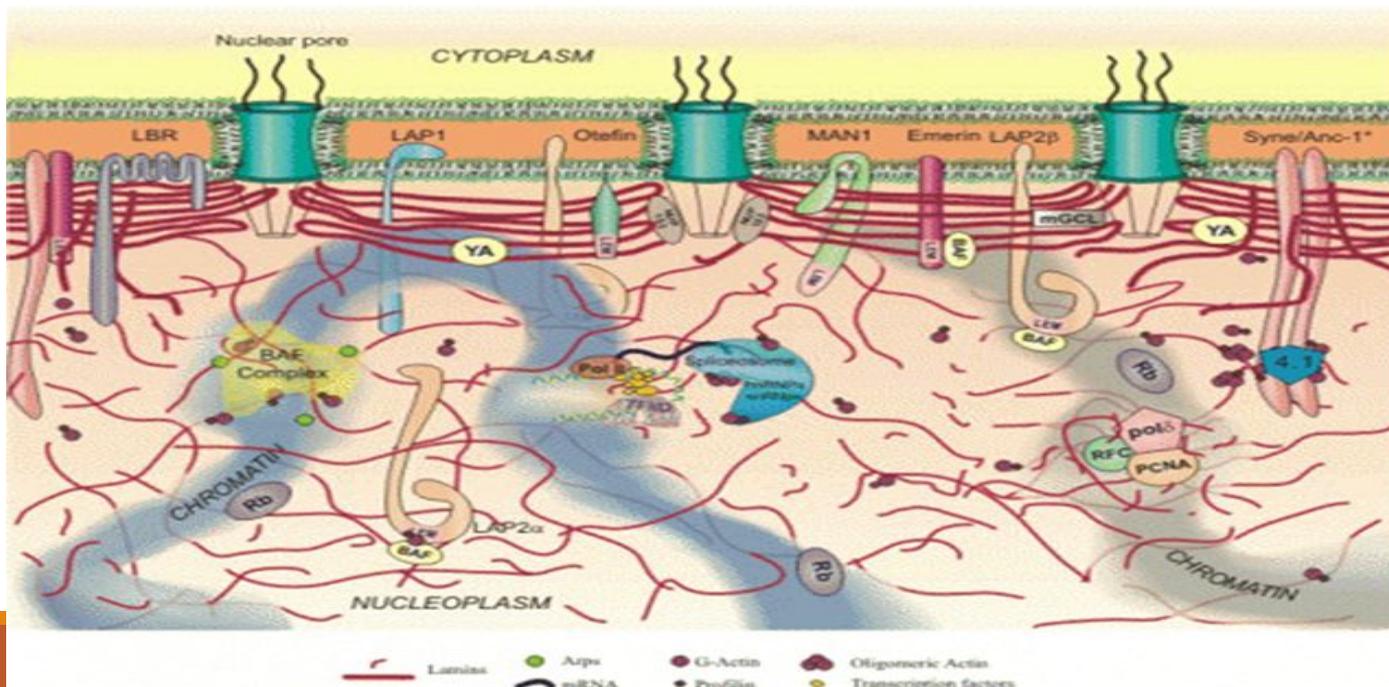
Ламин В остается в связи с мембранами даже во время митоза, тогда как ламины А и С освобождаются при разрушении фиброзного слоя и диффузно распределяются по клетке.

Ламинy при полимеризации не образуют нитчатых структур, а организуются в сети с ортогональным типом укладки молекул. Такие сплошные решетчатые участки, подстилают внутреннюю мембрану ядерной оболочки, могут разбираться при фосфорилировании ламинов, и вновь полимеризоваться при их дефосфорилировании, что обеспечивает динамичность как этого слоя, так и всей ядерной оболочки.



Функции ламины

- Поддерживает форму ядра.
- Участвует в формировании порового комплекса.
- Отвечает за упорядоченное расположение хроматина в интерфазном ядре (хромосомная территория).

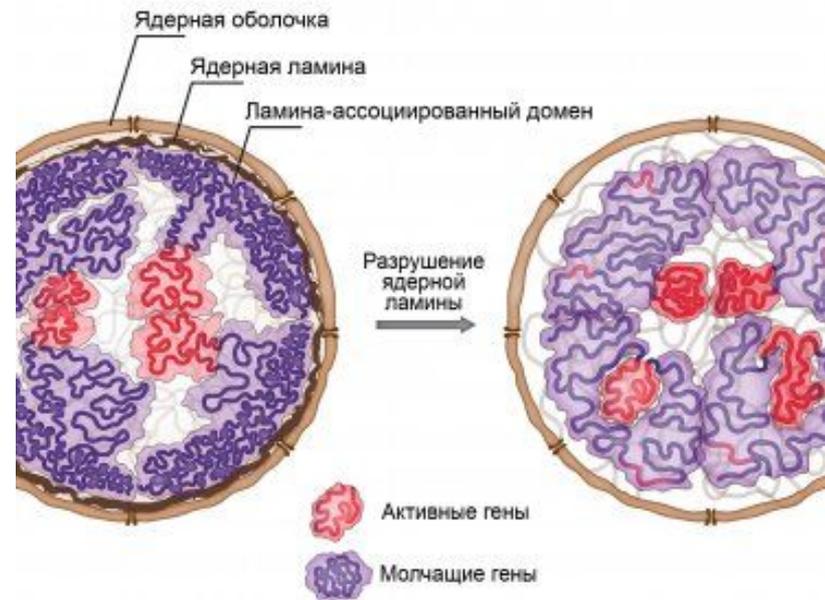


12 марта 2019 г., 21:02

Учёные лишили геном плодовой мушки каркаса и посмотрели, что с ним стало

Коллектив российских молекулярных биологов выяснил роль ядерной ламины — белковых нитей, выстилающих внутреннюю поверхность клеточного ядра, — в упаковке генома. Оказалось, что ядерная ламина играет **двойственную роль в построении архитектуры генома**: с одной стороны, она способствует увеличению плотности хроматина в «невысвобожденных» участках и уменьшает плотность укладки генома в центральных областях ядра.

Исследование российских учёных дополняет сложную картину организации пространственной организации генома в ядре и раскрывает роль ядерной ламины в ней. Работа проходила при поддержке Российского научного фонда (РНФ), Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) и Фонда развития Георгийевской физико-математической школы «БАЗИС». Его результаты опубликованы 12 марта в престижном научном журнале Nature Communications.



Диаметр клеточного ядра не превышает двух сотых долей миллиметра, а длина молекулы ДНК достигает почти двух метров. Чтобы молекула ДНК поместилась в столь компактной органелле и при этом была функциональной, ядерный геном с помощью специальных белков максимально компактно упакован. В такой конструкции ДНК выглядит как нить, намотанная на несколько неслучайно расположенных в пространстве катушек, роль которых выполняют гистоновые белки.

Чтобы ядерный геном был не только компактно упакован, но ещё и не перемещался хаотично внутри ядра, ДНК крепится к каркасу из белковых нитей, выстилающих внутреннюю поверхность ядра, — ядерной ламине. Участки ДНК, которыми молекула прикрепляется к ламине, называются ламина-ассоциированными доменами (ЛАД). В этих доменах располагаются не востребуемые клеткой гены или генные пустыни — некодирующие участки ДНК — для которых характерны специальным образом модифицированные гистоны. Модификации этих белков препятствуют считыванию ДНК в этих регионах генома.

«Хотя сегодня накоплен большой объём наблюдений о роли ядерной ламины в регуляции работы генетического аппарата клетки, до сих во многом открытым остаётся вопрос о том, какую именно роль играет ядерная ламина в репрессии генов, к ней прикреплённых, и в том, что ДНК в ЛАДах упакована гораздо плотнее, чем в среднем по геному», — рассказывает ведущий автор исследования, старший научный сотрудник кафедры молекулярной биологии биологического факультета МГУ Сергей Ульянов.

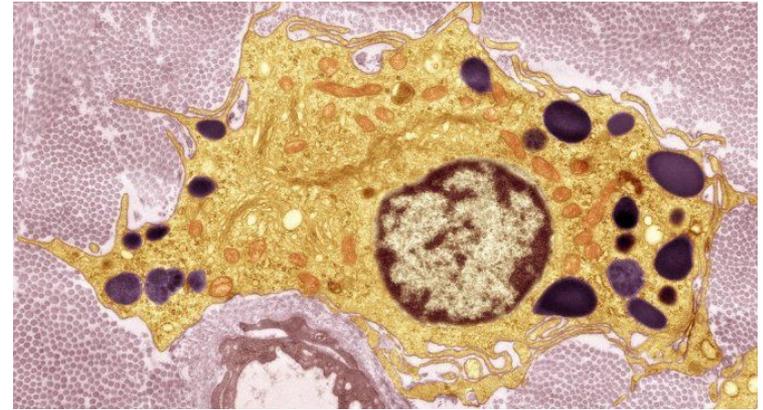
Для решения этой проблемы российские учёные использовали широкий арсенал современных методов молекулярной биологии и трёхмерной геномики – науки о том, как ДНК упакована в ядре клетки. Исследователи искусственно разрушили ядерную ламину в культуре клеток дрозофилы и проследили изменения, происходящие со структурой ядерного генома. Затем учёные объединили полученные данные и с помощью вычислительных мощностей суперкомпьютера «Ломоносов-2» создали пространственную модель поведения генома при разрушении ядерной ламины.

Исследователи выяснили, что в клетках с разрушенной ядерной ламиной ЛАДы перемещаются от оболочки ядра в сторону его центральных областей, где обычно содержатся активные регионы генома. Общая плотность ДНК в центральных областях при этом возрастает. Это явление сопровождается снижением уровня экспрессии генов в активных участках генома. При этом в ЛАДах происходит активация фоновой транскрипции, повышается содержание активаторных химических меток на гистонах, а сами ЛАДы при этом становятся более рыхлыми. Компьютерное моделирование показало, что само по себе прикрепление генома к ядерной ламине приводит к повышению плотности его укладки.

«Таким образом, выявлена двойственная роль ядерной ламины в пространственной организации генома: прикрепление к ней ЛАДов повышает плотность укладки внутри них и снижает плотность укладки генома в центральных областях ядра», — заключает Сергей Ульянов. Открытие российских учёных позволит приблизиться к пониманию механизмов ненормальной экспрессии генов в ламина-ассоциированных доменах и возникновения заболеваний, связанных с этим феноменом. К таким заболеваниям, например, относят некоторые мышечные дистрофии и прогерияю.

Иллюстрация: Схема пространственных изменений генома, происходящих при разрушении ядерной ламины // Источник: Сергей Ульянов, МГУ. Nature Communications

02-03-2017 16:52



Швейцарские ученые применили метод криоэлектронной томографии в изучении ядерных структур клетки.

Ламина ядра клетки - слой, подстилающий мембрану ядра и играющий важную роль в различных клеточных процессах: организация хромосом, активность генов, удвоение наследственного материала при делении клетки. Ученым из Биохимического института при университете Цюриха (Швейцария) удалось подробно исследовать строение ламины на молекулярном уровне. Об этом сообщает журнал Nature.

Фибриллярная сеть ламины имеет толщину около 14 нм и состоит из более или менее уплотненных зон. Остов состоит из тонких, уложенных в форме складок образований толщиной 3,5 нм и различной длины - филаментов ламины. Основными компонентами филаментов являются два белка – ламин А и ламин В. Они состоят из удлиненной цепи и шаровидных доменов. Отдельные мутации в гене, отвечающем за образование белков-ламинонов, ведут к тяжелым заболеваниям - преждевременному старению, мышечным дистрофиям, липодистрофиям, нейропатиям. Метод криоэлектронной томографии позволяет подробно исследовать структурные различия ядерной ламины у здоровых людей и пациентов с генными дефектами.

Прогерия Хатчинсона-Гилфорда - что мы знаем о ней

Детская прогерия

Как можно прочитать на этом сайте - возникающая у детей прогерия является результатом изменения LMNA гена, ответственного за шифрование ламина А.

Ламины — белки, принимающие участие в строительстве особого слоя оболочки вокруг клеточного ядра. Аналогичный синдром чаще бывает обнаружен в спорадических и сибсовых (кровосмесительных) браках, что и дало возможность выдвинуть гипотезу о возможности наследования по аутосомно-рецессивному типу.

В клетках кожного покрова больных можно заметить нарушение возмещения ДНК, с видоизменением клонирования фибробластов. Кроме того обнаружены атрофическое изменение эпидермиса, деградация подкожной клетчатки, изменения в дерме.

Несмотря на врожденный характер, детская прогерия начинает выражаться к третьему году жизни больного. Признаки, по которым определяется прогерия Хатчинсона-Гилфорда: резкое торможение роста, истощенное изменение дермы и подкожной клетчатки (в частности на руках, ногах и лице). Болезнь уменьшает средний срок жизни до 13-ти лет. Хотя зарегистрированы случаи, когда больные проживали до 27 и даже 45 лет (последний случай описан доктором Огихарой).



Прогерия у взрослых

У взрослых синдром прогерии протекает по тем же признакам чрезвычайно быстрого и преждевременного старения. Взрослая прогерия проходит по аутосомно-рецессивному типу наследования. При этом расстроены WRN ген, предусматривающий инициацию дислокации возмещения в ДНК, ответственной за метаболизм в соединительных тканях. Прогерия Хатчинсона-Гилфорда у взрослых предполагает склероз и гомогенизацию соединительных тканей, уплощение эпидермиса, атрофию подкожной клетчатки с наблюдением замещения клетчатки соединительнотканью волокнами. Полная картина прогерии выявляется при половом созревании, когда наблюдается замедление роста и симптомы гипогонадизма.

Обычно на третьем десятилетии жизни прогерия приводит к полной седине и выпадению волос, образованию катаракты, постепенному утончению кожи, инволюции подкожной клетчатки, отчего руки-ноги (особенно ноги) оказываются тонкими. Диагноз прогерия может быть поставлен только на основе клинической картины. Лечение, в силу почти абсолютной неизученности заболевания, имеет патогномический характер, и направлено, по большей части, на профилактику различных атеросклеротических осложнений. А также на уничтожение трофических язв, возбужденных сахарным диабетом. Подобное лечение осуществляют терапевт, эндокринолог или другой специалист, в зависимости от выражаемых признаков болезни.

Строение и функция хроматина: эу- и гетерохроматин. Хромосомный цикл. Морфология митотических хромосом. Кариотип вида. Уровни компактизации ДНК: функциональная роль гистоновых и негистоновых белков. Нуклеосомы, нуклеомеры, хромомеры, хромонемы, хроматиды

ЛЕКЦИЯ 9

Хроматин

Хроматин представляет собой хромосомы различной степени раскручивания.

Различают два типа хроматина:

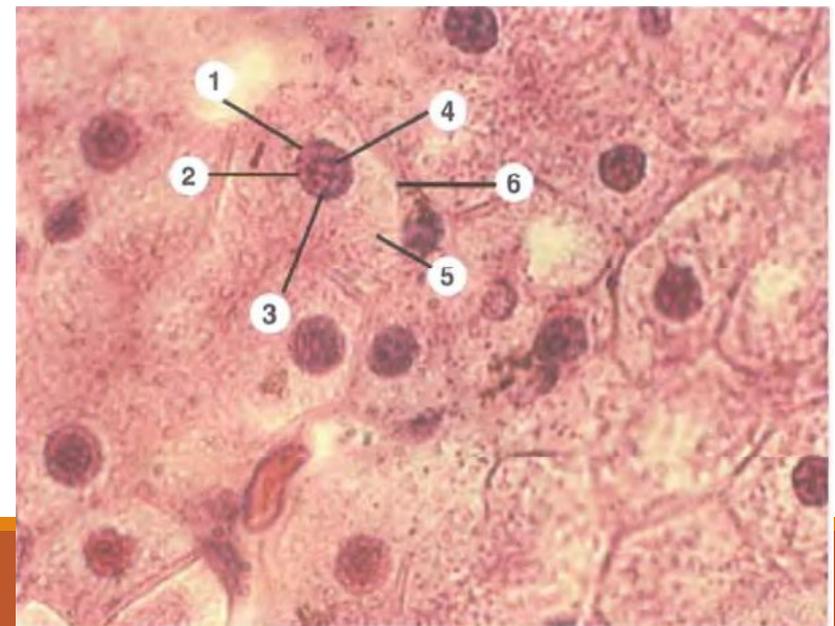
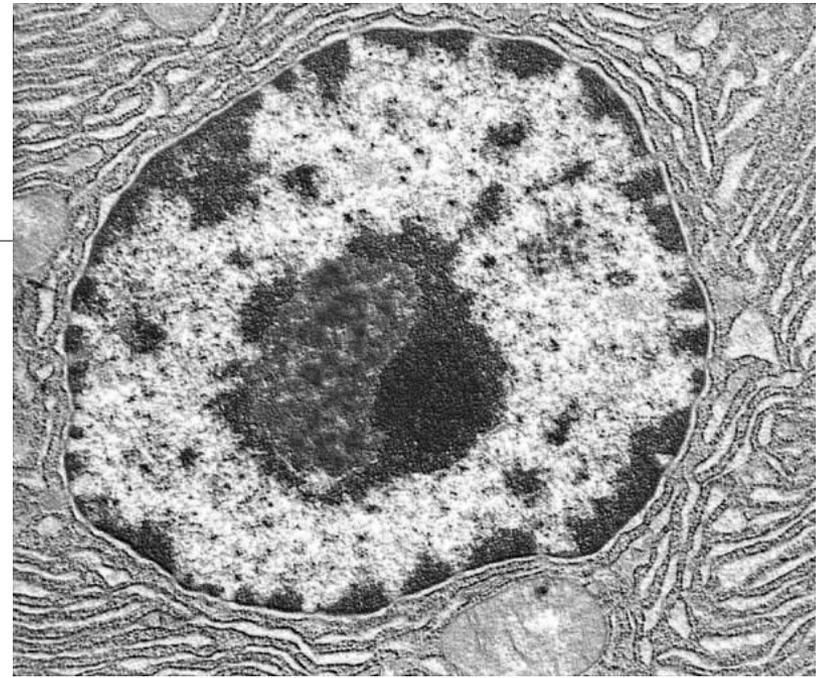
Гетерохроматин – обладает высокой электронной плотностью, под ЭМ имеет вид крупных гранул, под СвМ – вид базофильных глыбок.

Эухроматин – менее скрученные участки хромосом. Под ЭМ – мелкодисперсный материал, под СвМ – светлоокрашенные базофильные участки.

Максимально конденсирован хроматин во время митотического деления клеток, когда он обнаруживается в виде телец – хромосом.

Степень структуризации, конденсации хроматина в **интерфазных ядрах** может быть выражена в разной мере.

Чем больше в ядре доля конденсированного хроматина, тем меньше метаболическая активность ядра.



Гетерохроматин

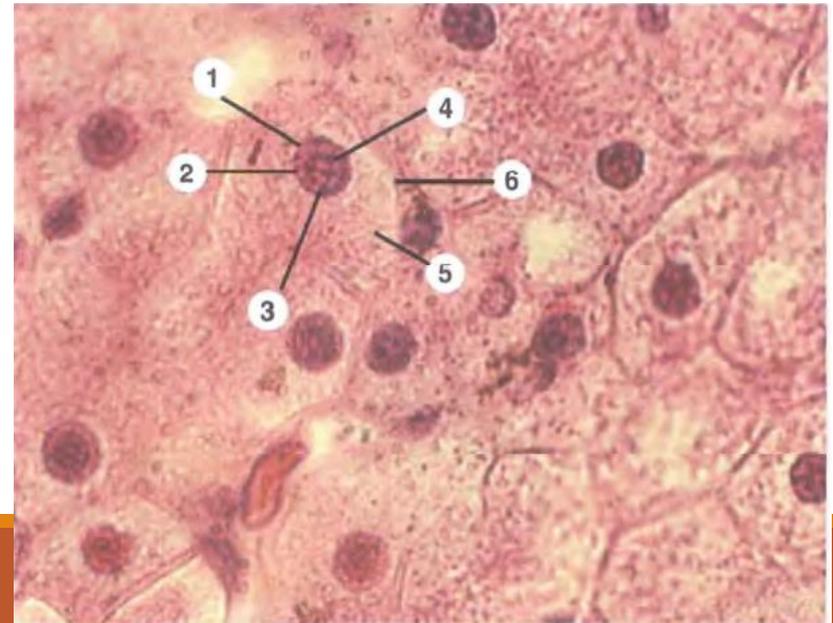
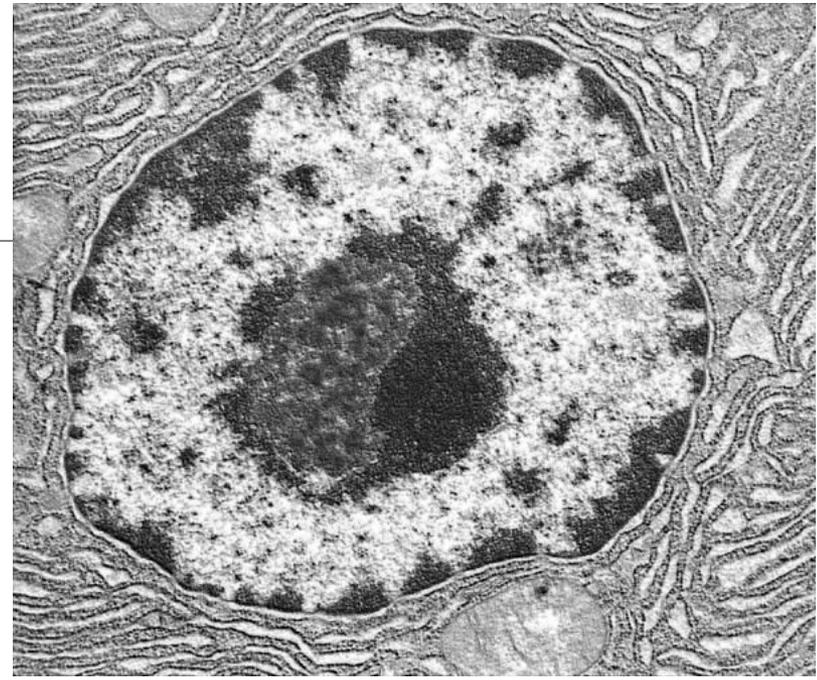
Конституционный (постоянный) гетерохроматин - постоянно конденсированные участки хромосом в интерфазных ядрах

Конститутивный гетерохроматин генетически не активен, он не транскрибируется, реплицируется он позже всего остального хроматина, в его состав входит особая (сателлитная) ДНК, обогащенная высокоповторяющимися последовательностями нуклеотидов.

Локализация: центромерные, теломерные и интеркалярные, или вставочные (расположен в области плечей хромосом) зонах митотических хромосом.

Доля конститутивного хроматина может быть неодинаковой у разных объектов. Так у млекопитающих на него приходится 10-15% всего генома, а у некоторых амфибий – даже до 60%.

Предполагается, что он несет ряд важных функций, связанных со спариванием гомологов в мейозе, со структуризацией интерфазного ядра, с некоторыми регуляторными функциями.



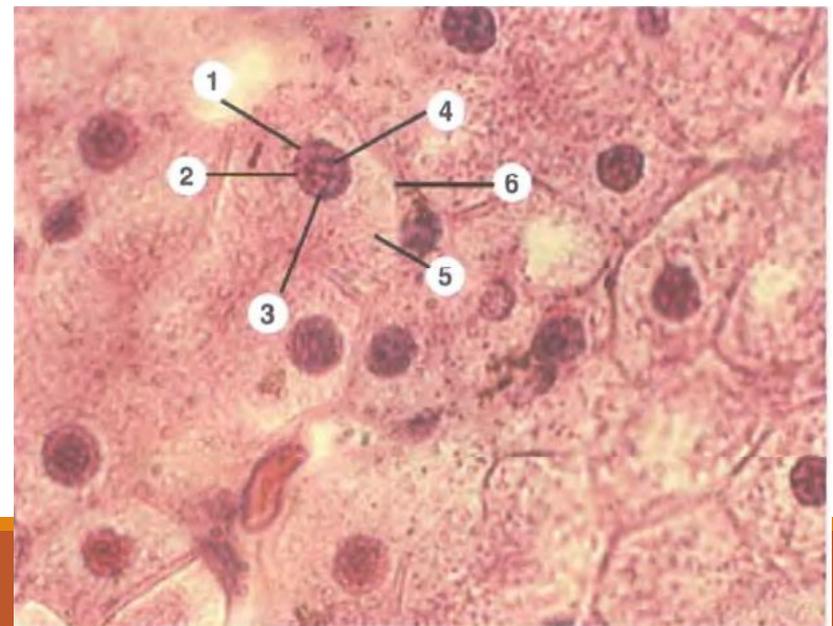
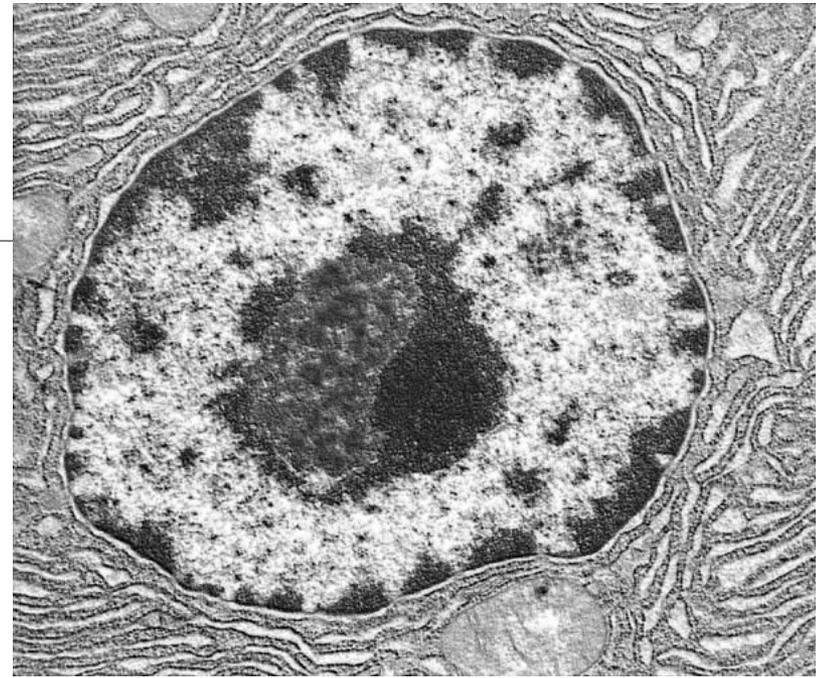
Гетерохроматин

Факультативный (непостоянный) гетерохроматин - может менять степень своей компактизации в зависимости от функциональной активности, он относится к эухроматину.

Т.е. - это эухроматические неактивные участки, которые находятся в конденсированном состоянии.

Примером является **X-хромосома** в организме человека. В клетках мужской особи X-хромосома деконденсирована, она активна, транскрибируется и морфологически не выявляется из-за своего рыхлого, диффузного состояния. В клетках женского организма, где присутствуют две X-хромосомы, одна из них находится в активном, диффузном состоянии, а вторая – в неактивном, конденсированном, она временно гетерохроматизована. В этом состоянии она может существовать в течение всей жизни организма.

В дифференцированных клетках всего лишь около 10% генов находится в активном состоянии, остальные гены инактивированы.



Хроматин – комплекс ДНК и белков (гистонов и негистонов)



Хромосомная теория наследственности

Гены лежат в хромосомах в линейном порядке

Каждый ген занимает определенное место – локус

Гены одной хромосомы образуют группу сцепления

Сцепление нарушается при кроссинговере

Частота кроссинговера зависит от расстояния между генами

Набор хромосом (кариотип) каждого биологического вида уникален

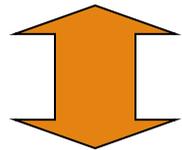
Томас Морган



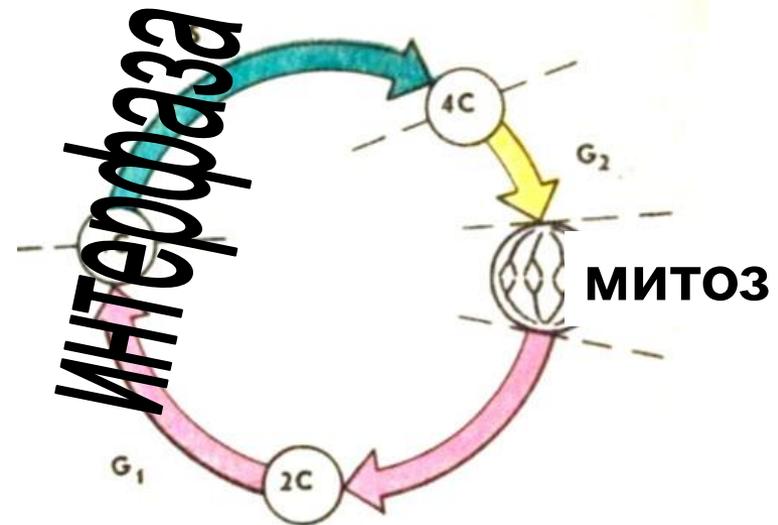
Томас Хант Морган ([англ. Thomas Hunt Morgan](#), [25 сентября 1866](#)), [Лексингтон](#) — [4 декабря 1945](#), [Пасадина](#)) — американский биолог, один из основоположников генетики, иностранный член-корреспондент [РАН](#) (1923) и иностранный почётный член [АН СССР](#), Лауреат [Нобелевской премии по физиологии и медицине 1933 года](#) «За открытия, связанные с ролью хромосом в наследственности».

Хромосомы к клетке в зависимости от фазы клеточного цикла бывают:

Интерфазные, активные



Митотические, неактивные



Хромосомный цикл

Половые клетки (сперматозоиды и ооциты) с одинарным набором хромосом называют **гаплоидными**.

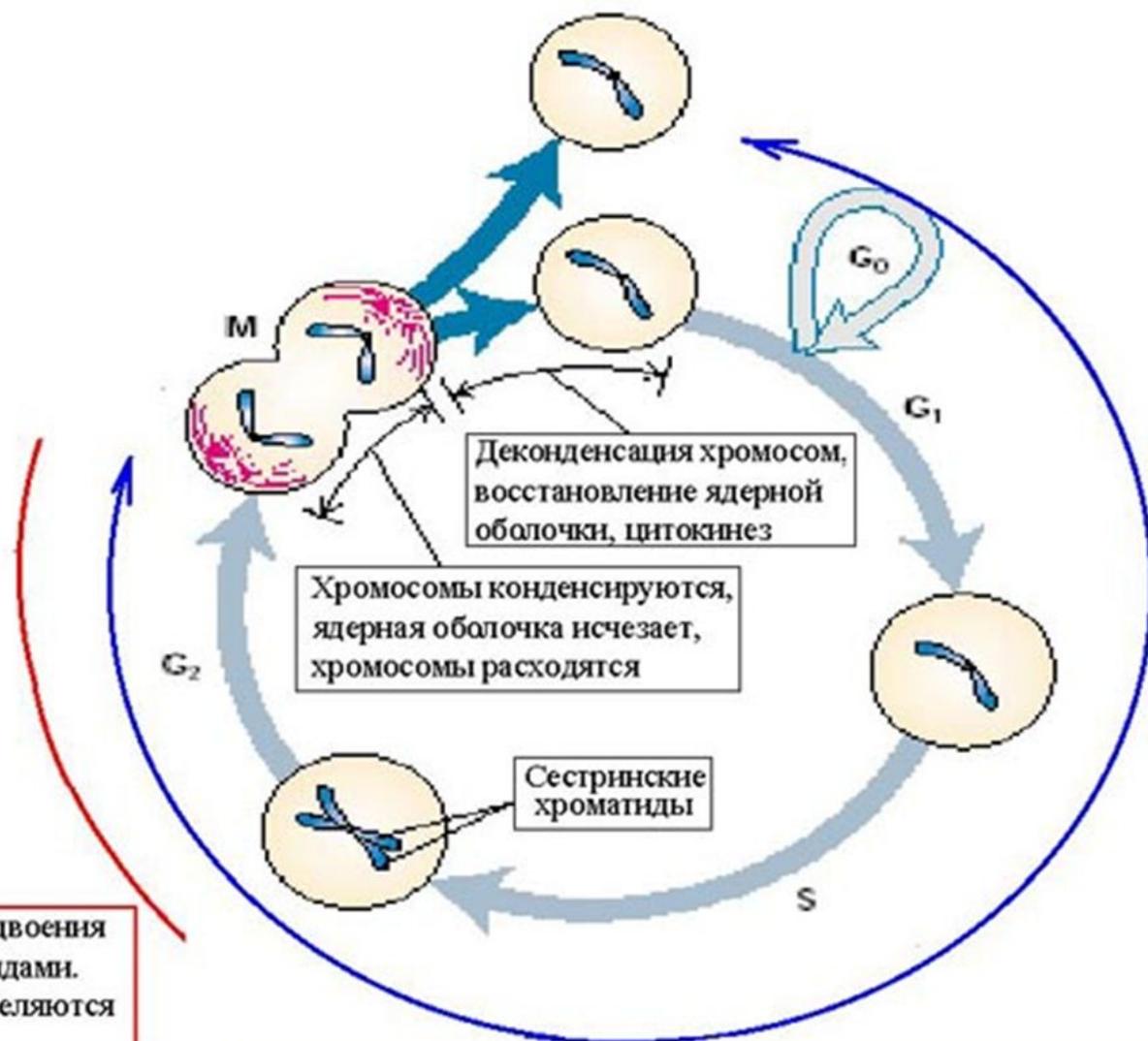
Плоидность (от греч. ploos –кратность) обозначают буквой n , так, клетки с $1n$ – гаплоидны, с $2n$ – диплоидны, с $3n$ – триплоидны и т.д.

Соответственно количество ДНК на клетку (c) зависит от ее плоидности: клетки с $2n$ числом хромосом содержат $2c$ количества ДНК.

При оплодотворении происходит слияние двух клеток, каждая из которых несет $1n$ набор хромосом, поэтому образуется исходная **диплоидная** ($2n, 2c$) клетка, зигота.

В дальнейшем в результате деления диплоидной зиготы и последующего деления диплоидных клеток разовьется организм, клетки которого, кроме половых, будут диплоидными.

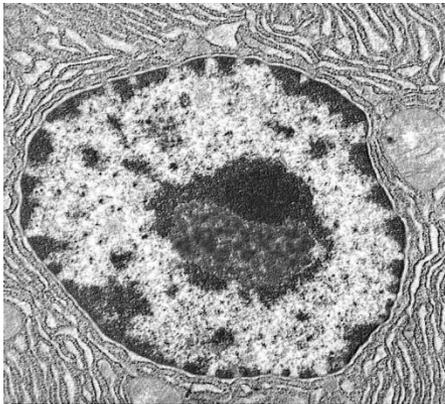
Фаза синтеза, редупликации ДНК, что должно приводить к появлению клеток с $4c$ количеством ДНК, у которых количество хромосом $4n$, т.е. в два раза больше, чем у исходной диплоидные клетки. И только после деления такой **тетраплоидной** ($4c$) клетки снова возникнут две исходные диплоидные клетки.



Хромосомы после удвоения называются хроматидами. Пары хроматид разделяются во время митоза

Фазы G₁, S, G₂ вместе называются интерфазой (состояние между делениями клетки)

Интерфазные хромосомы – слабо упакованы и готовы к использованию (репликации, транскрипции и др.)



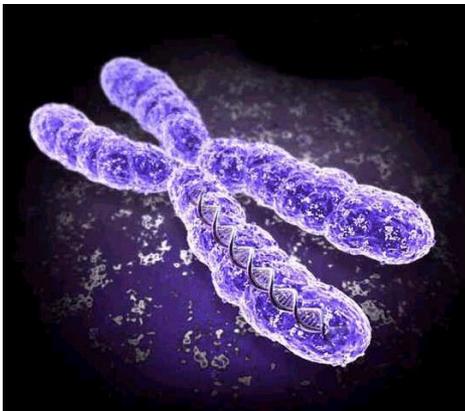
Вид интерфазного ядра под микроскопом. Хромосомы активна



Изучение митотических хромосом – **ЦИТОГЕНЕТИКА.**



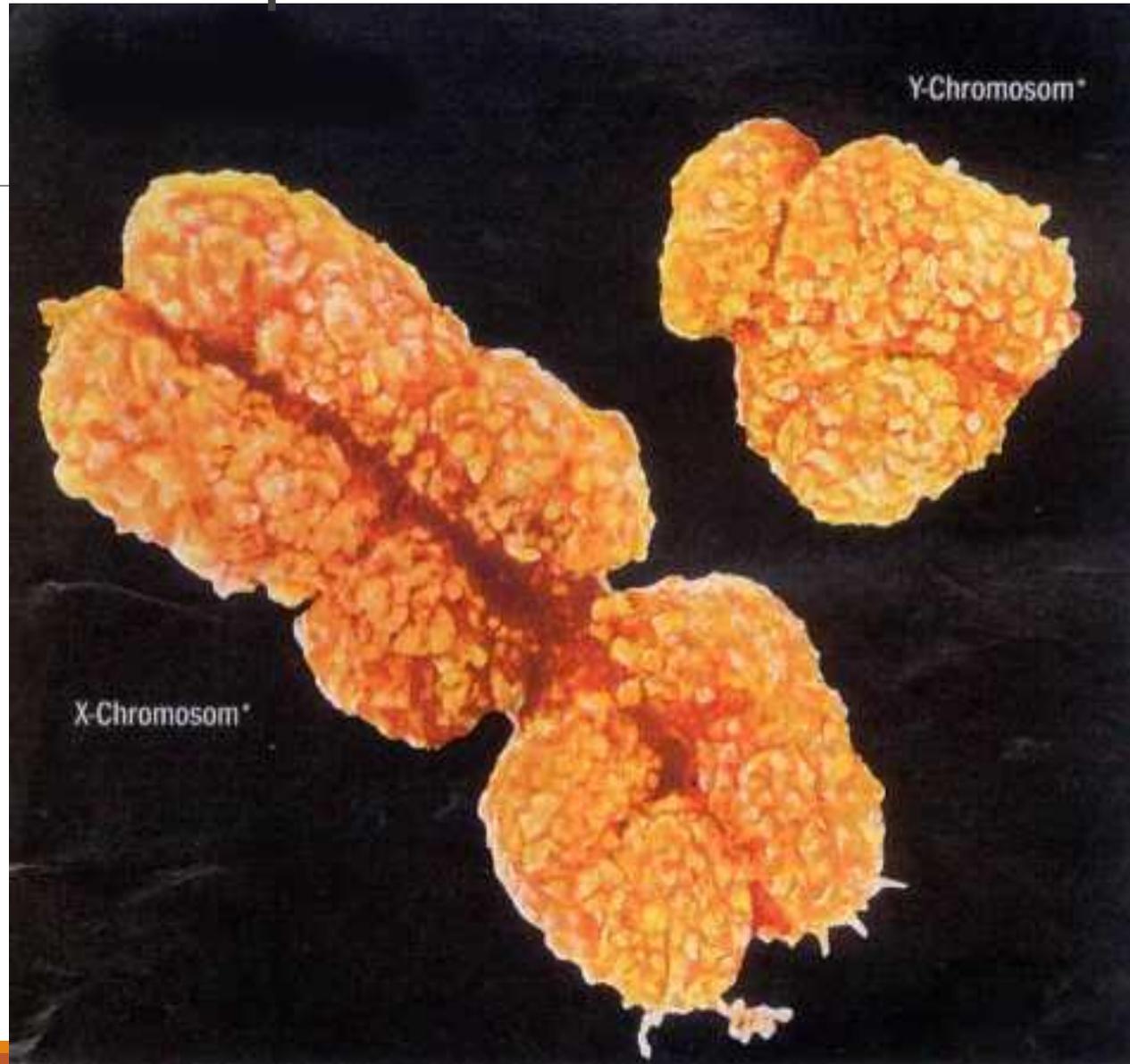
Митотические хромосомы – подобны упакованным для переезда вещам



Метафазная
хромосома видна
в микроскоп и
неактивна



Метафазные хромосомы



хромосом

Необходимо помнить, что метафазная хромосома – это хромосома в нерабочем состоянии, упакованная для деления.

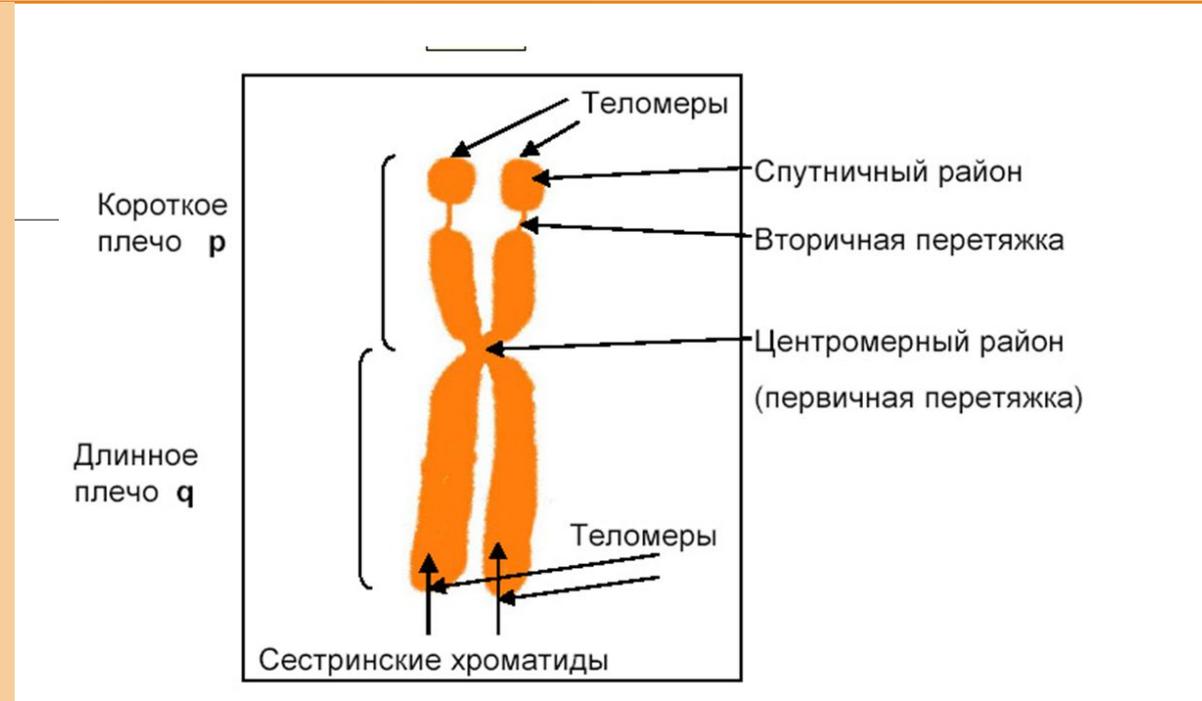
В рабочем состоянии, т. е. в интерфазе, хромосома представляет собой кисель, заваренный вокруг линейной молекулы ДНК, и ее не увидишь под микроскопом.

Метафазная хромосома – двойная. Две ее протяженные составляющие соответствуют двум линейным молекулам ДНК, образовавшимся при репликации. Они называются *сестринские хроматиды*.

Два хромосомных плеча, соединены в зоне центромеры. Эта зона называется **первичной перетяжкой**.

Оба плеча хромосомы оканчиваются **теломерами**.

Обычно каждая хромосома имеет только одну центромеру (моноцентрические хромосомы), но могут встречаться хромосомы дицентрические и полицентрические, т.е. обладающие множественными кинетохорами.



Некоторые хромосомы имеют **вторичную перетяжку**, которая расположена вблизи дистального конца хромосомы и отделяет маленький участок, **спутник**.

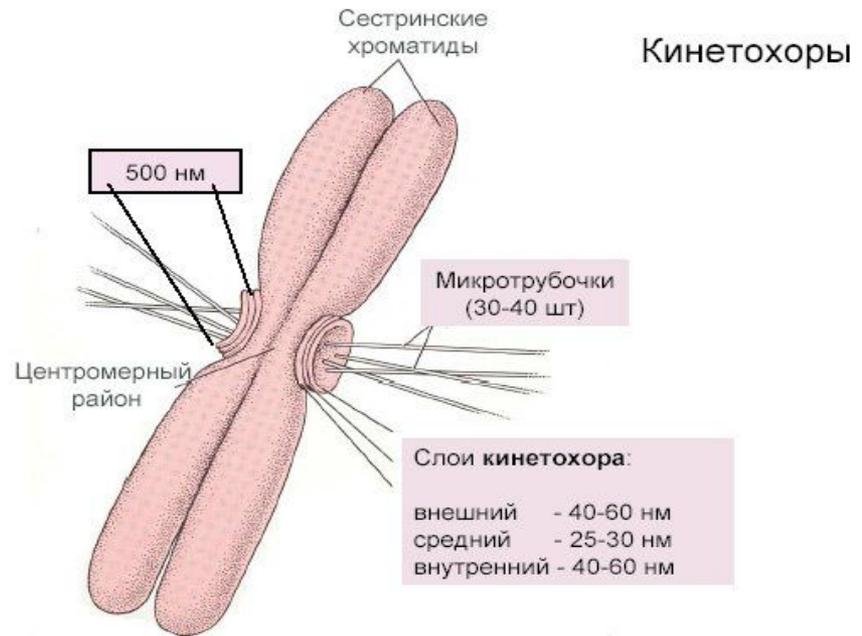
Вторичные перетяжки называют, кроме того, **ядрышковыми организаторами**, так как именно на этих участках хромосом в интерфазе происходит образование ядрышка. Здесь же локализована ДНК, ответственная за синтез рРНК.

В хромосомах человека ядрышковые организаторы расположены в коротких плечах вблизи центромер.

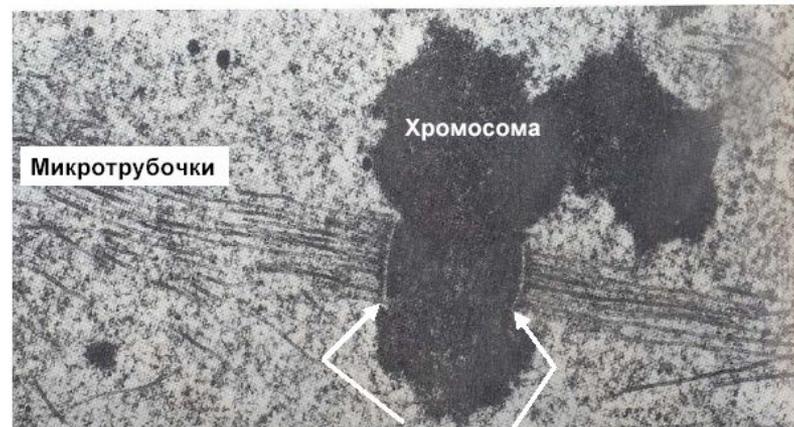
ХРОМОСОМ

В области первичной перетяжки (центромеры) расположен **кинетохор** - пластинчатая структура, имеющая форму диска и состоит из белков. К нему подходят пучки микротрубочек митотического веретена, идущие в направлении к центриолям. Эти пучки микротрубочек принимают участие в движении хромосом к полюсам клетки при митозе.

Обычно каждая хромосома имеет только одну центромеру (моноцентрические хромосомы), но могут встречаться хромосомы дицентрические и полицентрические, т.е. обладающие множественными кинетохорами.



Кинетохоры высших эукариот



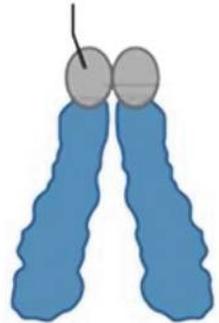
Кинетохоры

Типы хромосом

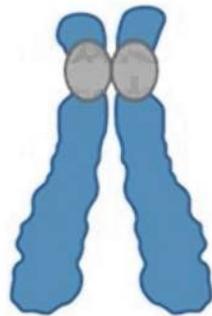
Хромосомы с равными или почти равными плечами называют **метацентрическими**, с плечами неодинаковой длины – **субметацентрическими**. Палочковидные хромосомы с очень коротким, почти незаметным вторым плечом – **акроцентрические**.

С. Г. Навашин выделял ещё и **телоцентрические хромосомы**, то есть хромосомы только с одним плечом. Однако по современным представлениям истинно телоцентрических хромосом не бывает. Второе плечо, пусть даже очень короткое и невидимое в обычный микроскоп, всегда присутствует.

Replicated centromere

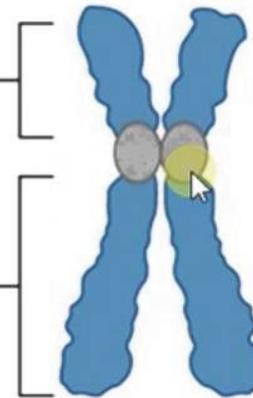


Telocentric

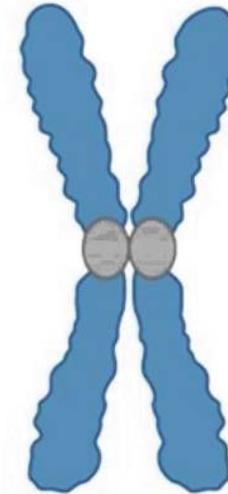


Acrocentric

p
short arm
 q
long arm



Submetacentric



Metacentric

Размеры и число хромосом

Размеры хромосом у разных организмов варьируют в широких пределах от 0,2 до 50 мкм.

Самые мелкие хромосомы обнаруживаются у некоторых простейших, грибов, водорослей, очень мелкие хромосомы – у льна и морского камыша; они настолько малы, что с трудом видны в световой микроскоп.

Наиболее длинные хромосомы обнаружены у некоторых прямокрылых насекомых, у амфибий и у лилейных.

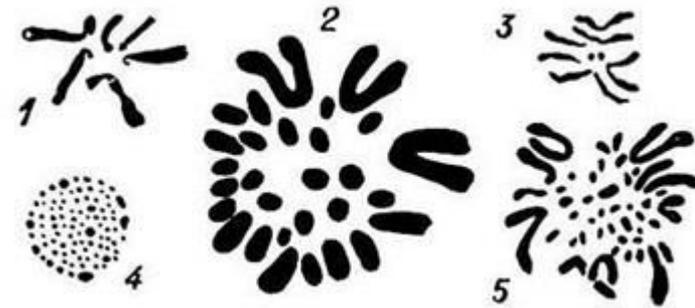
Длина хромосом человека находится в пределах 1,5-10 мкм.

Число хромосом у различных объектов также значительно колеблется, но характерно для каждого вида животных и растений.

У некоторых радиолярий число хромосом достигает 1000-1600.

Рекордсменом среди растений по числу хромосом (около 500) является папоротник ужовник, 308 хромосом у тутового дерева, у речного рака 196 хромосом.

Наименьшее количество хромосом (1 хромосома на гаплоидный набор) наблюдается у одной из рас аскариды, у сложнокветного *Haplorappus gracilis* всего 4 хромосомы (2 пары).



ВИДЫ ХРОМОСОМ: ГИГАНТСКИЕ ХРОМОСОМЫ

Видны в некоторых клетках на определенных стадиях клеточного цикла.

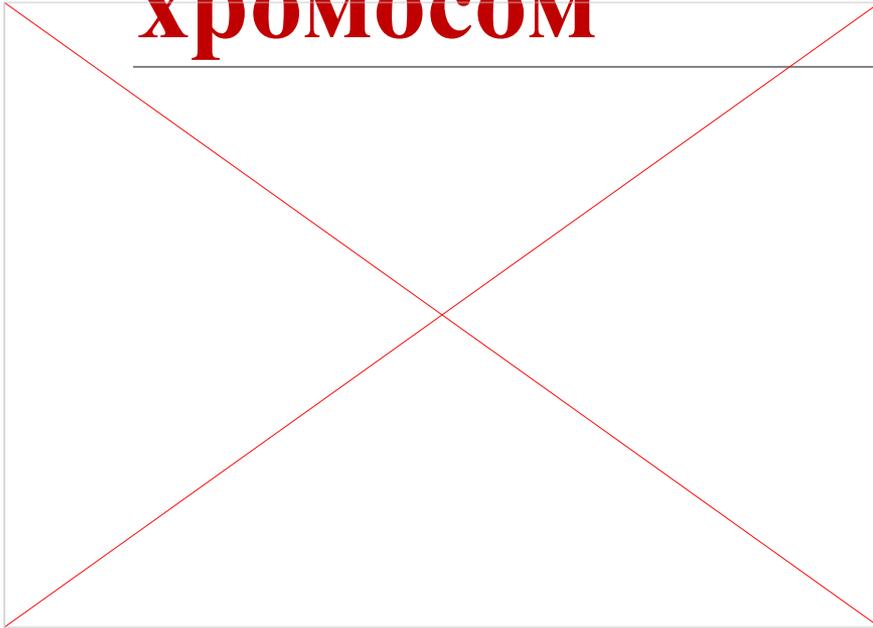
Например, в клетках некоторых тканей личинок двукрылых насекомых (**политенные хромосомы**) и в ооцитах различных позвоночных и беспозвоночных (**хромосомы типа ламповых щеток**).

Именно на препаратах гигантских хромосом удалось выявить признаки активности генов.

ВИДЫ ХРОМОСОМ: ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ

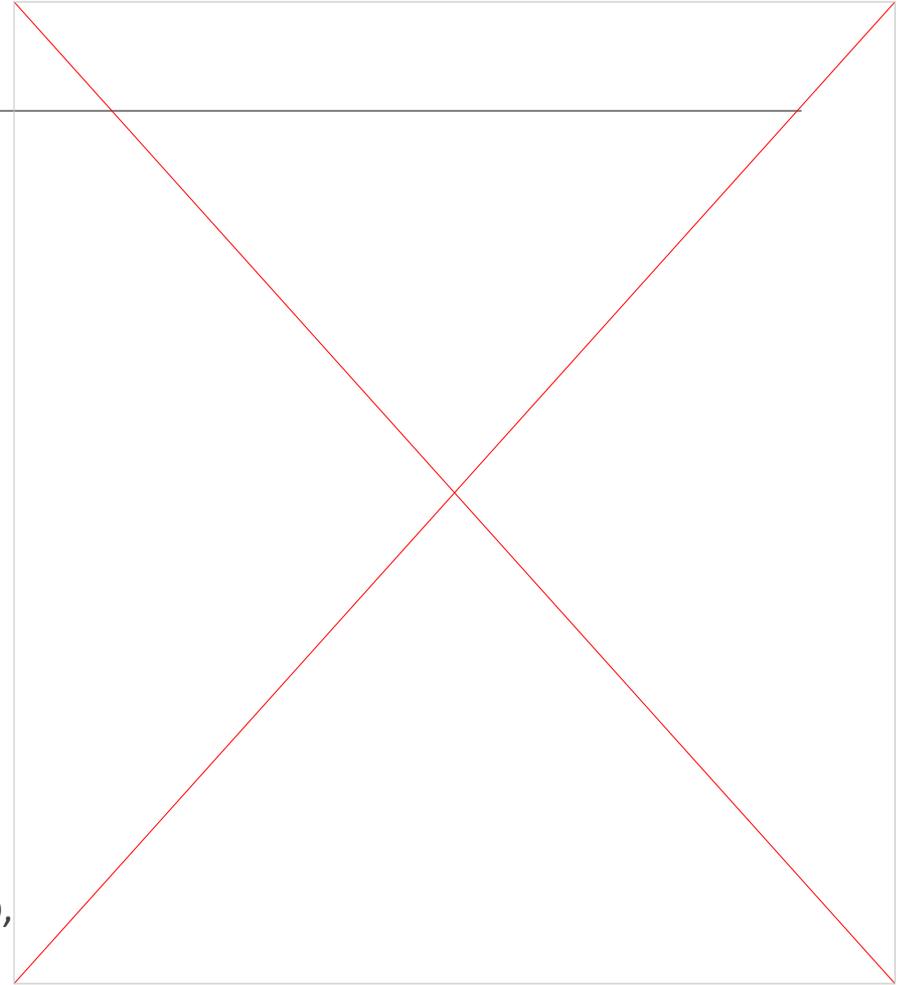
Впервые обнаружены Е.Г. Бальбиани в 1881г, однако их цитогенетическая роль была выявлена Костовым, Пайнтером, Гейтцем и Бауером. Содержатся в клетках слюнных желез, кишечника, трахей, жирового тела и мальпигиевых сосудов личинок двукрылых.

Схема строения политенных хромосом



a — нить интерфазной хромосомы; *б* — две нити после редупликации; *в* — восемь сближенных нитей в результате трехкратной редупликации хромосом;

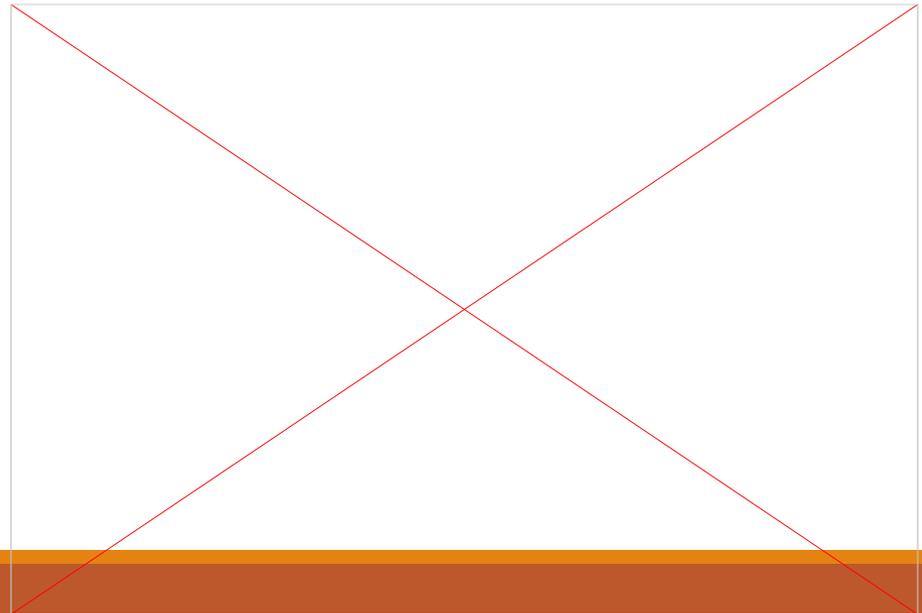
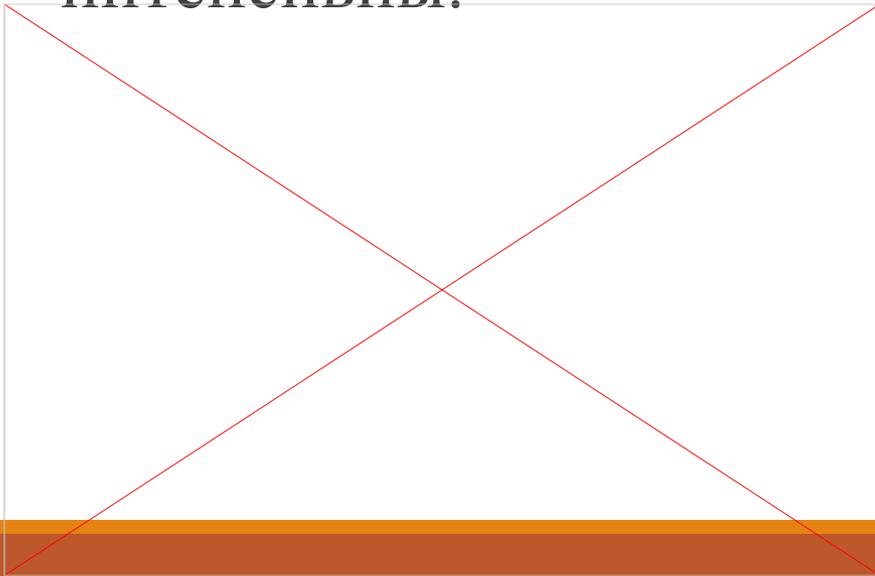
1 — диски; *2* — междисковые участки; *3* — пуф, образовавшийся за счет деконденсации хроматина диска



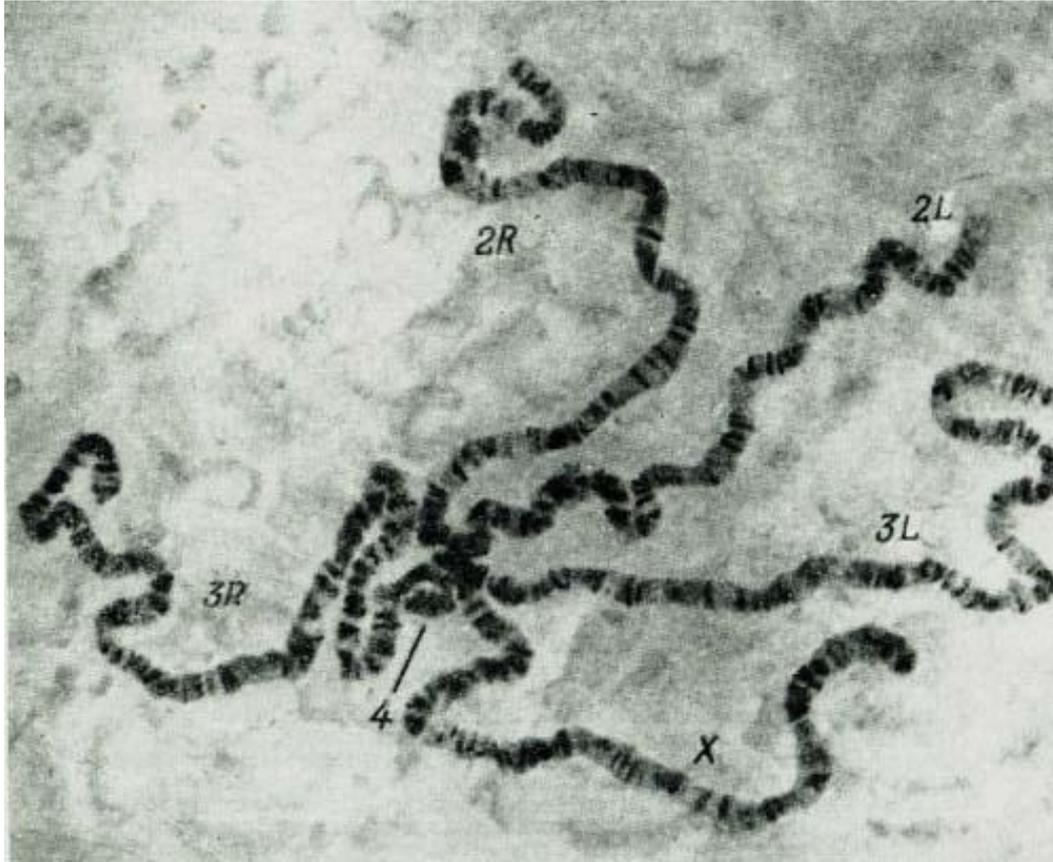
ХРОМОСОМЫ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

Обнаружены Рюккертом в 1892 году.

По длине превышают политенные хромосомы, наблюдаются в ооцитах на стадии первого деления мейоза, во время которой процессы синтеза, приводящие к образованию желтка, наиболее интенсивны.

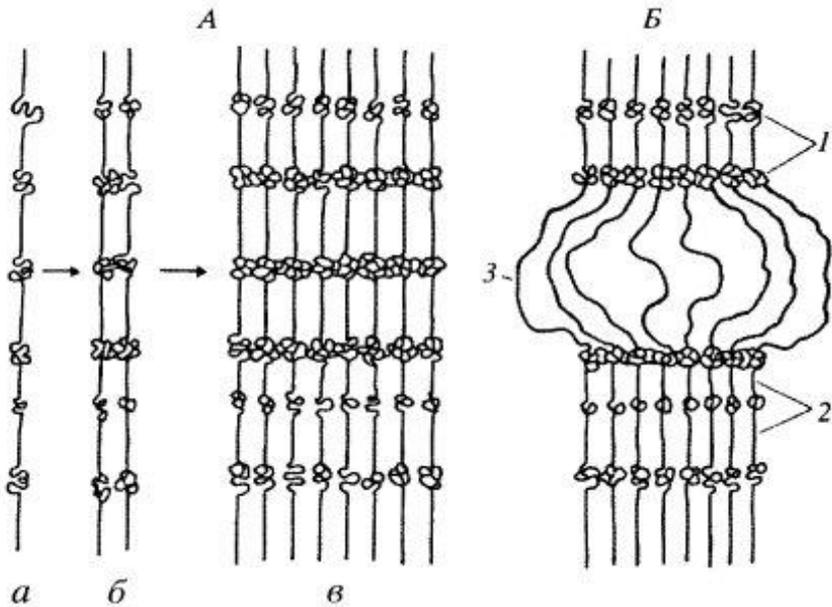


ВИДЫ ХРОМОСОМ: ПОЛИТЕННЫЕ ХРОМОСОМЫ



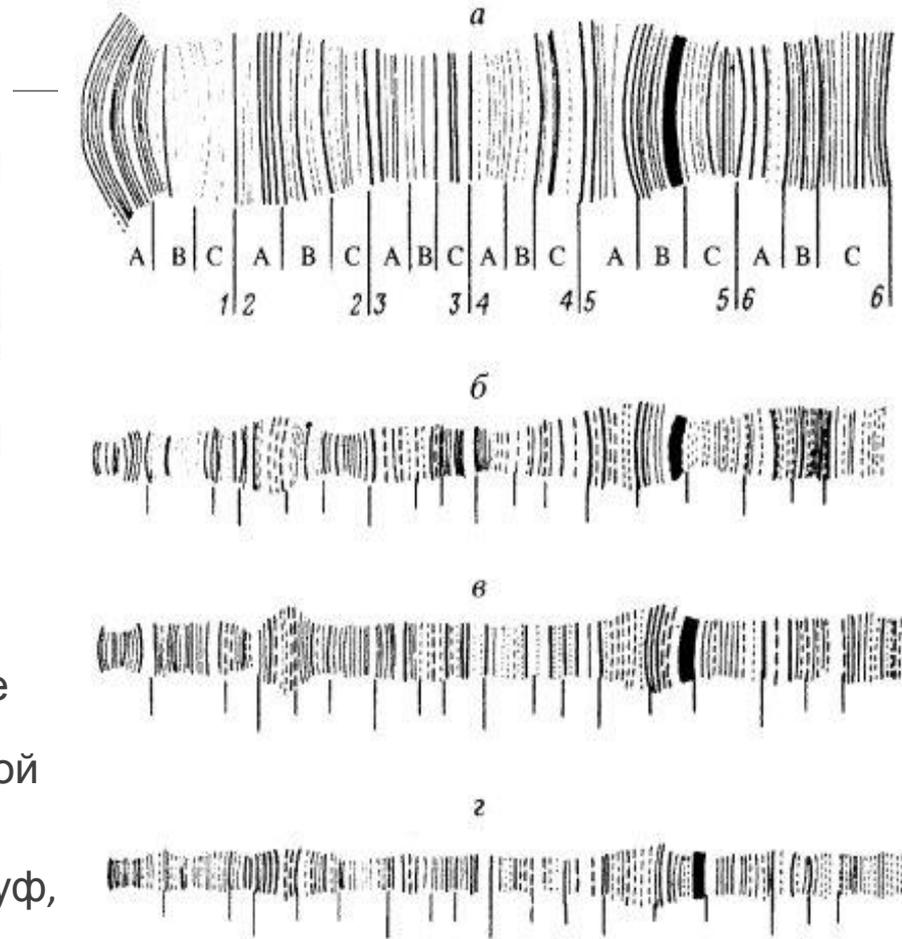
Впервые обнаружены Е.Г. Бальбиани в 1881г, однако их цитогенетическая роль была выявлена Костовым, Пайнтером, Гейтцем и Бауером. Содержатся в клетках слюнных желез, кишечника, трахей, жирового тела и мальпигиевых сосудов личинок двукрылых.

Схема строения политеменных хромосом



a — нить интерфазной хромосомы; *б* — две нити после редупликации; *в* — восемь сближенных нитей в результате трехкратной редупликации хромосом;

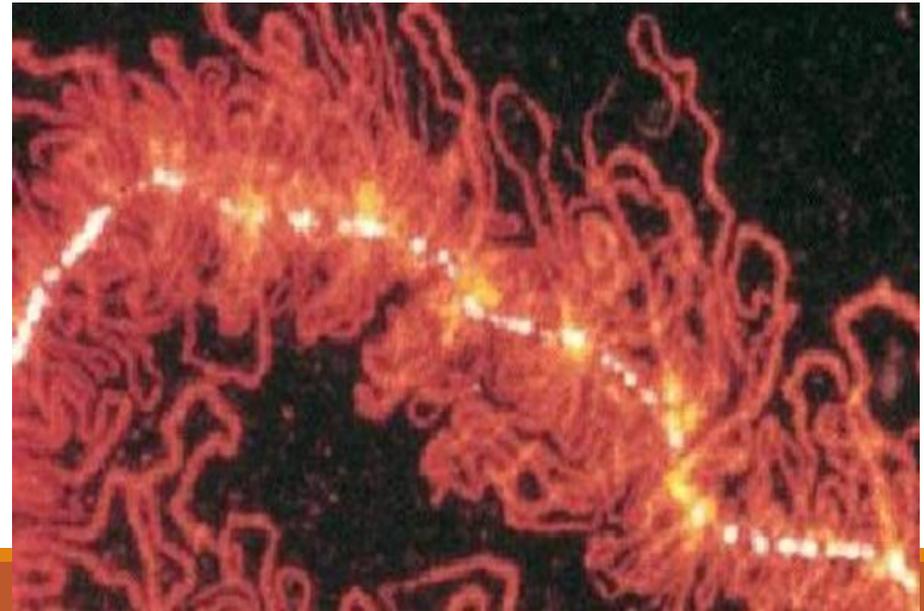
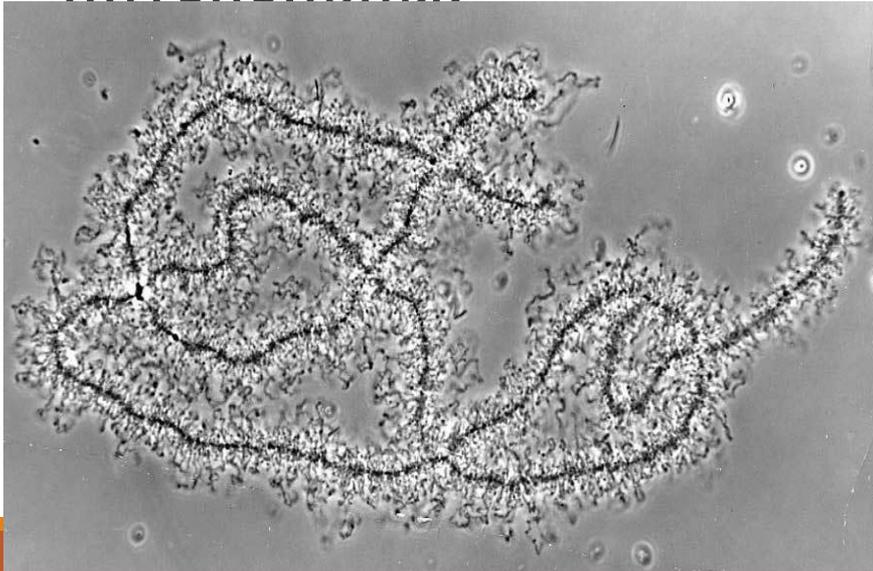
1 — диски; 2 — междисковые участки; 3 — пух, образовавшийся за счет деконденсации хроматина диска



ХРОМОСОМЫ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

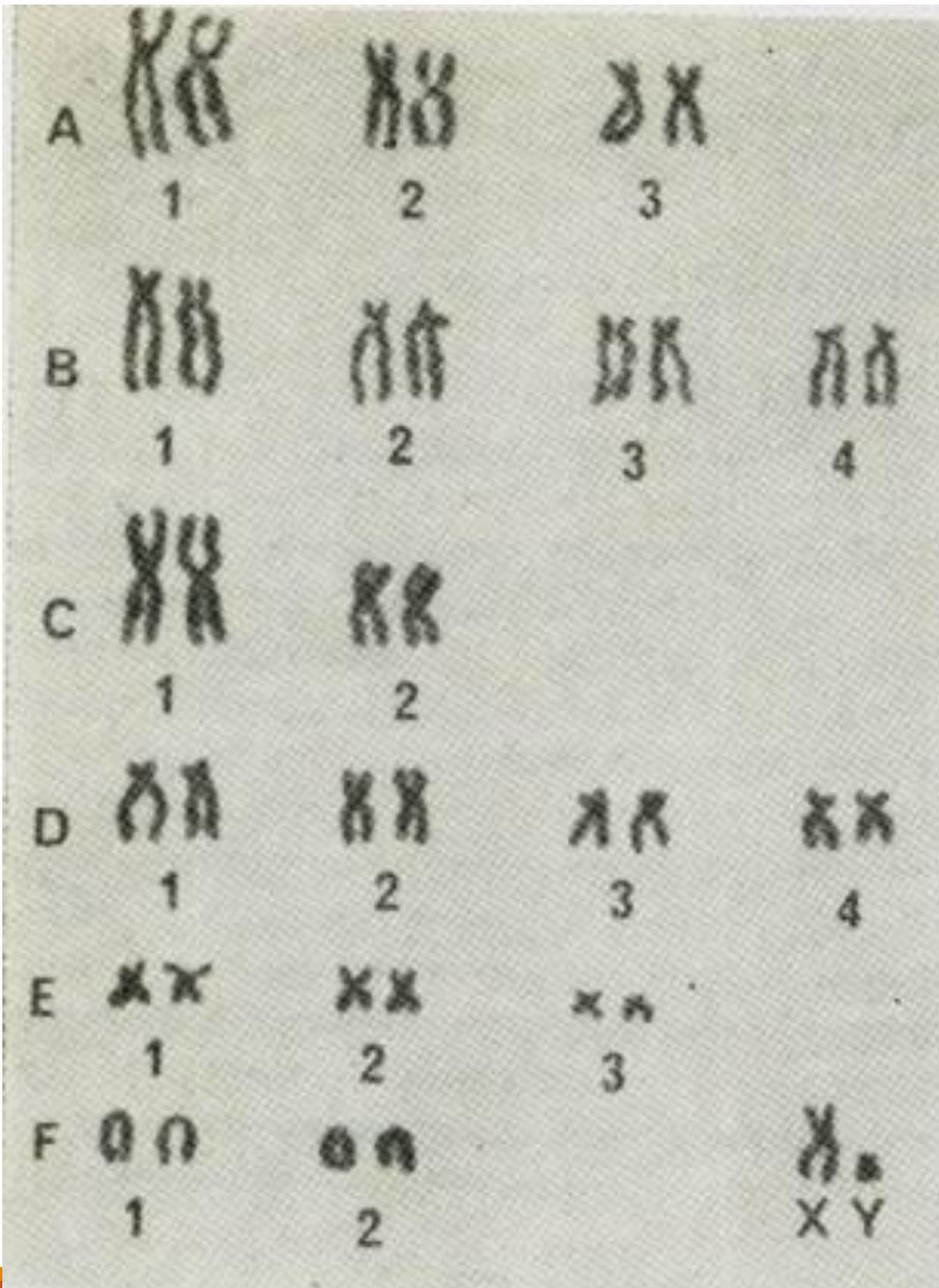
Обнаружены Рюккертом в 1892 году.

По длине превышают политенные хромосомы, наблюдаются в ооцитах на стадии первого деления мейоза, во время которой процессы синтеза, приводящие к образованию желтка, наиболее интенсивны.



КАРИОТИП

Это совокупность
числа, величины и
морфологии
митотических
хромосом



Кариотип домашней
кошки *Felis catus*
(Брайен С. и др.
Генетика кошки, 1993).

Белки хроматина

Белки в составе хроматина очень разнообразны, но их можно разделить на две группы: **гистоны** и **негистоновые белки**.

На долю гистонов приходится до 80% от всех белков хроматина.

Их взаимодействие с ДНК происходит за счет солевых или ионных связей и неспецифично в отношении состава или последовательностей нуклеотидов в молекуле ДНК.

Несмотря на преобладание в общем количестве, гистоны представлены небольшим разнообразием белков: эукариотические клетки содержат всего 5-7 типов молекул гистонов.

В отличие от гистонов, т.н. негистоновые белки большей частью специфически взаимодействуют с определенными последовательностями молекул ДНК, очень велико разнообразие типов белков, входящих в эту группу (несколько сот), велико разнообразие функций, которые они выполняют.

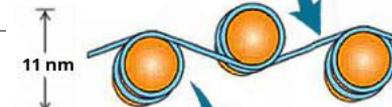
Уровни компактизации ДНК

- Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому.
- В диплоидных клетках человека содержится 46 хромосом, которые располагаются в ядре клетки.
- Общая длина ДНК всех хромосом клетки составляет 1,74 м, однако диаметр ядра, в которое упакованы хромосомы, в миллионы раз меньше.
- Такая компактная укладка ДНК в хромосомах и хромосом в ядре клетки обеспечивается разнообразными, гистоновыми и негистоновыми белками, взаимодействующими в определенной последовательности с ДНК (см выше).
- Компактизация ДНК в хромосомах позволяет уменьшить ее линейные размеры примерно в 10 000 раз - условно с 5 см до 5 мкм. Выделяют несколько уровней компактизации.

Структурная организация ДНК в хромосомах (уровни компактизации)



Участок двойной спирали ДНК



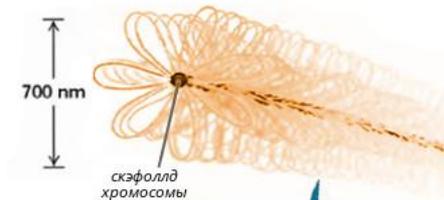
Нуклеосомный уровень
ДНК намотана на белковые "бусины" - белки - гистоны с образованием нуклеосомной нити.



Соленоидный уровень
Скручивание нуклеосомной нити с образованием хроматинового волокна - фибриллы. Компактная укладка "бусин" по типу соленоида или супербида.



Петлевой уровень
Упаковка хроматиновых фибрилл петлями. Петли фиксируются специальным белковым матриксом (скэффолд).



Доменный уровень
Образование петельных доменов, которые своим основанием прикрепляются к белковому матриксу в SAR (scaffold attachment regions) областях - фрагментах ДНК с высоким содержанием А/Т пар нуклеотидов.



Хромосомный уровень
последний (высший) уровень компактизации ДНК. Митотическая хромосома, состоящая из двух хроматид.

Уровни компактизации ДНК

Двойная спираль ДНК - отрицательно заряженная молекула диаметром 2 нм и длиной несколько см.

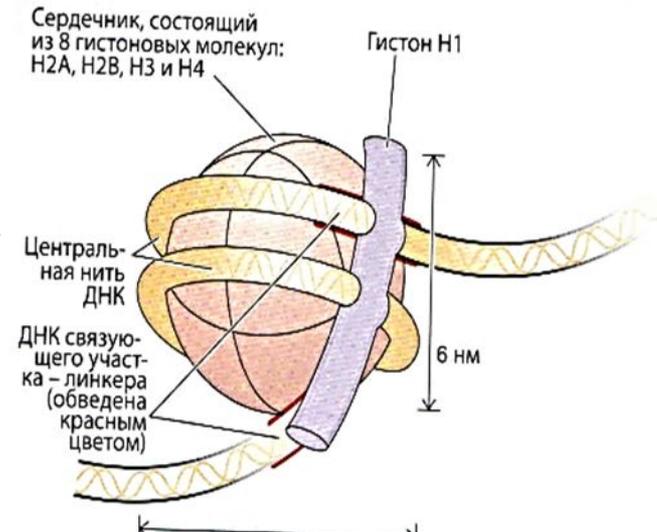
Нуклеосомный уровень - хроматин выглядит в электронном микроскопе как цепочка "бусин" – нуклеосом - "на нити".

Нуклеосома - это универсальная структурная единица, которая обнаруживается как в эухроматине, так и в гетерохроматине, в интерфазном ядре и метафазных хромосомах.

Нуклеосомный уровень компактизации обеспечивается специальными белками - гистонами.

Восемь положительно заряженных гистоновых доменов образуют кор (сердцевину) нуклеосомы на которую наматывается отрицательно заряженная молекула ДНК.

Это дает укорочение в 7 раз, при этом диаметр увеличивается с 2 до 11 нм.



Нуклеосома, состоит из сердечника, образованного 4-мя типами гистонов – H2A, H2B, H3, H4, вокруг которого намотаны 166 пар оснований ДНК.

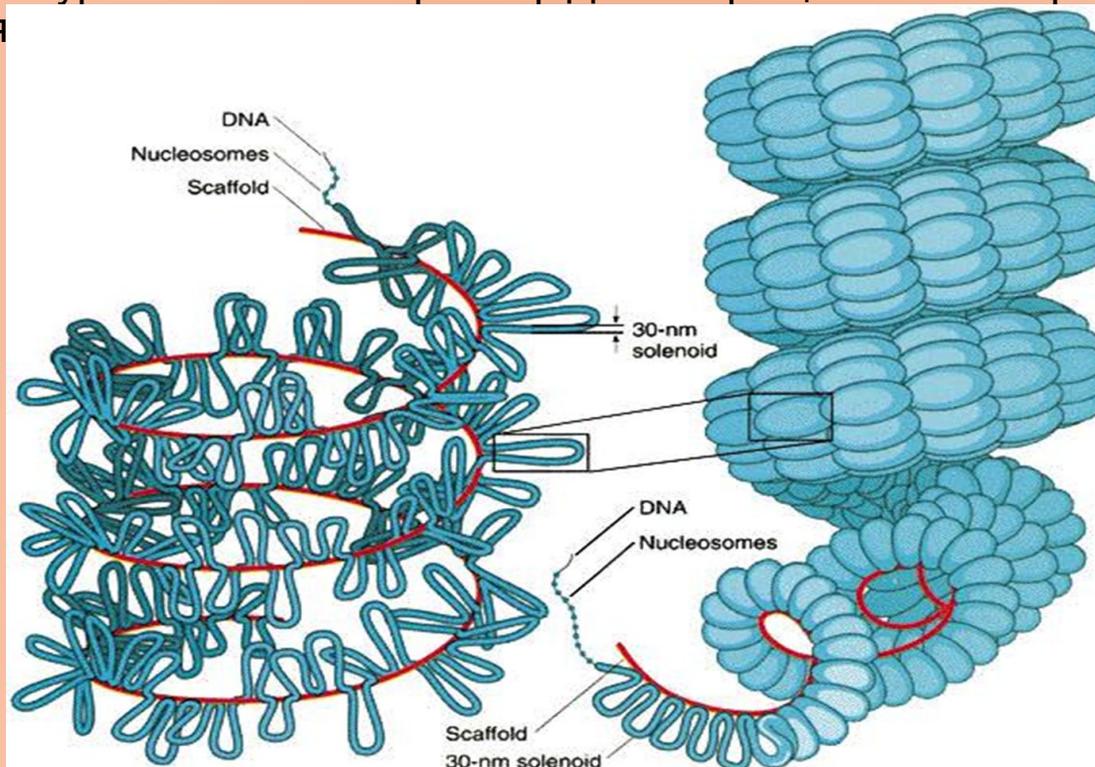
Дополнительный сегмент, состоящий из 48 пар оснований образует связующие звено – **линкер**, между соседними нуклеосомами, причем с этой ДНК связаны другие типы гистонов H5 и H1. Такая организация хромосом называется «бусы на нити». Негистоновые белки также ассоциированы с хроматином.

Уровни компактизации ДНК

Соленоидный уровень организации хромосом характеризуется скручиванием нуклеосомной нити и образованием из нее более толстых фибрилл 20-35 нм в диаметре - соленоидов или супербидов. Шаг соленоида равен 11 нм, на один виток приходится около 6-10 нуклеосом.

Соленоидная упаковка считается наиболее вероятной, чем супербидная, согласно которой фибрилла хроматина диаметром 20-35 нм представляет собой цепь гранул, или супербидов, каждая из которых состоит из восьми нуклеосом.

На соленоидном уровне линейный размер ДНК сокращается в 6-10 раз, диаметр увеличивается



Укладка типа «соленоида»

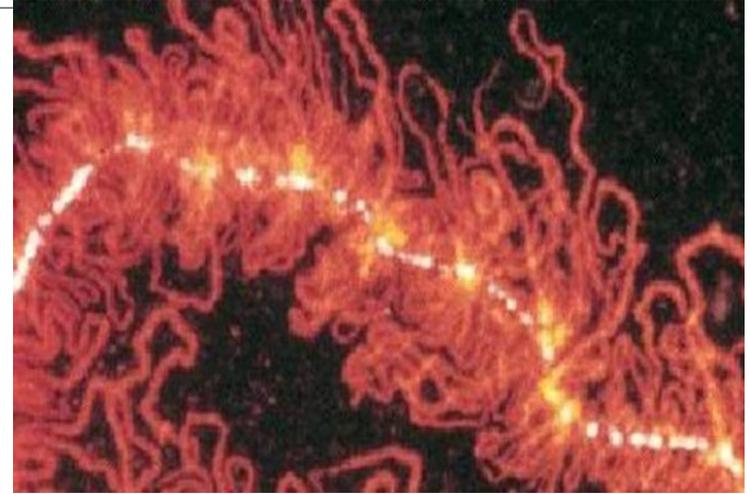
Уровни компактизации ДНК

Петлевой уровень обеспечивается негистоновыми сайт-специфическими ДНК-связывающими белками, которые распознают определенные последовательности ДНК и связываются с ними, образуя петли примерно по 30-300 тысяч пар оснований. Петля обеспечивает экспрессию генов, т.е. петля является не только структурным, но и функциональным образованием. Укорочение на этом уровне происходит в 20-30 раз. Диаметр увеличивается до 300 нм.

Петлеобразные структуры типа "ламповых щеток" в ооцитах земноводных можно видеть на цитологических препаратах.

Эти петли, видимо, суперспирализованы и представляют собой домены ДНК, соответствующие, вероятно, единицам транскрипции и репликации хроматина. Специфические белки фиксируют основания петель и, возможно, некоторые их внутренние участки.

Петлеобразная доменная организация способствует укладке хроматина в метафазных хромосомах в спиральные структуры более высоких порядков.



Уровни компактизации ДНК

Доменный уровень организации хромосом изучен недостаточно. На данном уровне отмечается образование петлевых доменов - структур из нитей (фибрилл) толщиной 25-30 нм, которые содержат 60% белка, 35% ДНК и 5% РНК, практически не видны во всех фазах клеточного цикла за исключением митоза и несколько беспорядочно распределены по клеточному ядру. Петлеобразные структуры типа "ламповых щеток" в ооцитах земноводных можно видеть на цитологических препаратах.

Петлевые домены своим основанием прикрепляются к внутриядерному белковому матриксу в так называемых встроенных местах прикрепления, часто обозначаемых как MAR/SAR-последовательности (MAR, от англ. matrix associated region; SAR, от англ. scaffold attachment regions) – фрагментах ДНК протяженностью в несколько сотен пар оснований, которые характеризуются высоким содержанием (>65%) А/Т пар нуклеотидов. Каждый домен, по-видимому, имеет одну точку начала репликации и функционирует как автономная сверхспиральная единица. Любой петельный домен содержит множество единиц транскрипции, функционирование которых, вероятно, координируется – весь домен находится либо в активном, либо в неактивном состоянии.

На доменном уровне в результате последовательной упаковки хроматина происходит уменьшение линейных размеров ДНК примерно в 200 раз (700 нм).

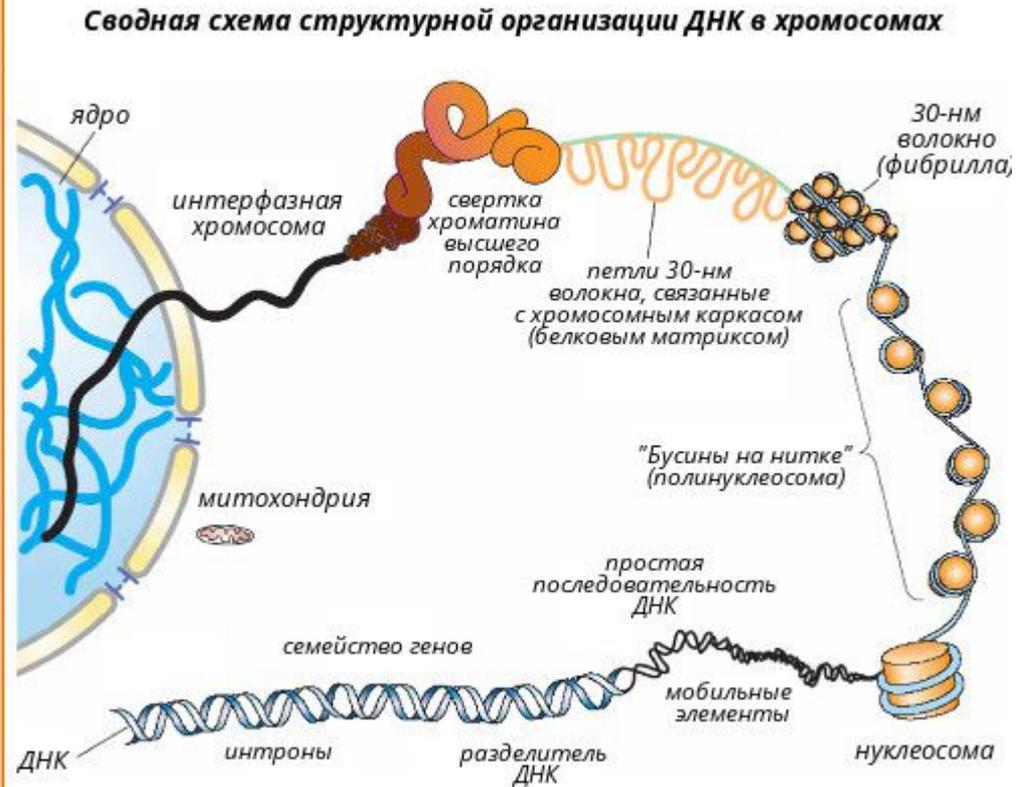


Доменный уровень

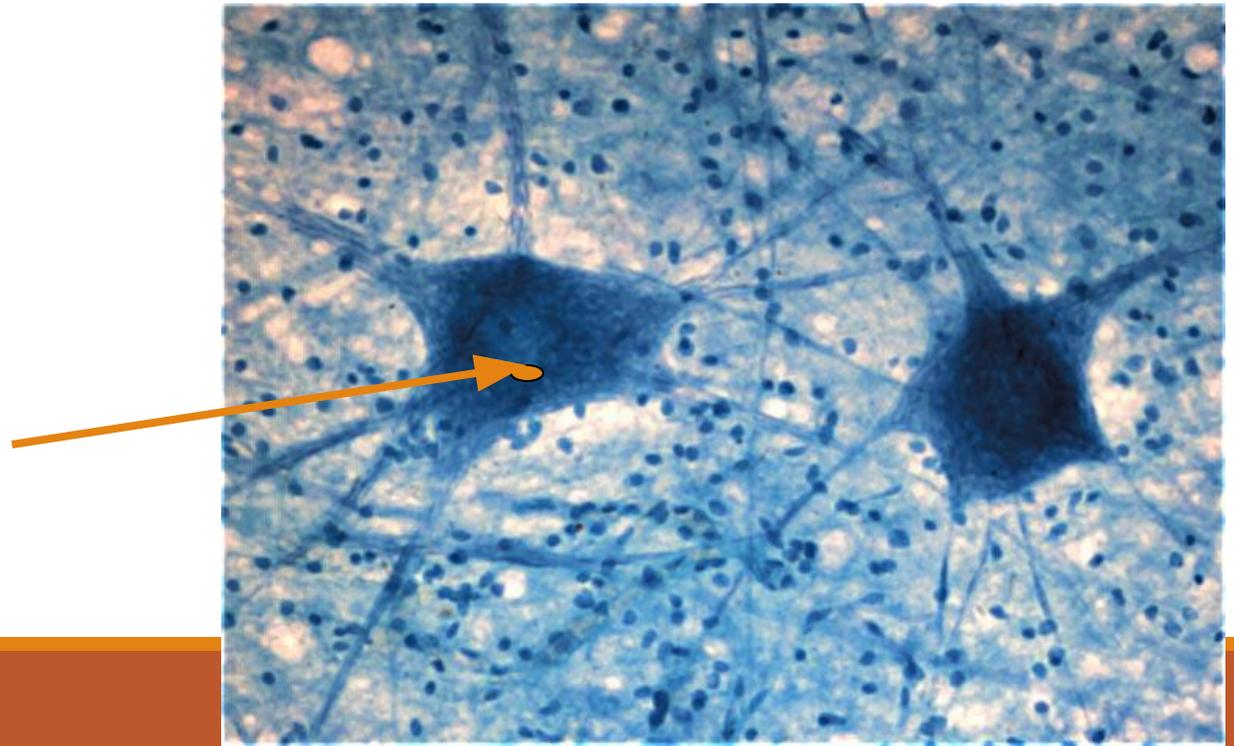
Образование петельных доменов, которые своим основанием прикрепляются к белковому матриксу в SAR (scaffold attachment regions) областях - фрагментах ДНК с высоким содержанием А/Т пар нуклеотидов.

Уровни компактизации ДНК

На хромосомном уровне происходит конденсация профазной хромосомы в метафазную с уплотнением петельных доменов вокруг осевого каркаса негистоновых белков. Эта суперспирализация сопровождается фосфорилированием в клетке всех молекул H1. В результате метафазную хромосому можно изобразить в виде плотно уложенных соленоидных петель, свернутых в тугую спираль. Типичная хромосома человека может содержать до 2600 петель. Толщина такой структуры достигает 1400 нм (две хроматиды), а молекула ДНК при этом укорачивается в 10^4 раз, т.е. с 5 см растянутой ДНК до 5 мкм.

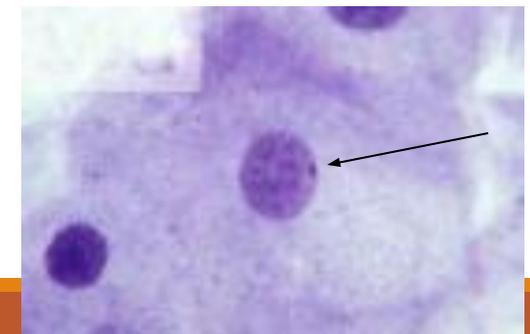
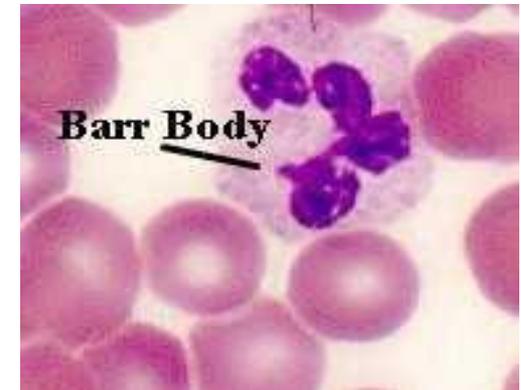
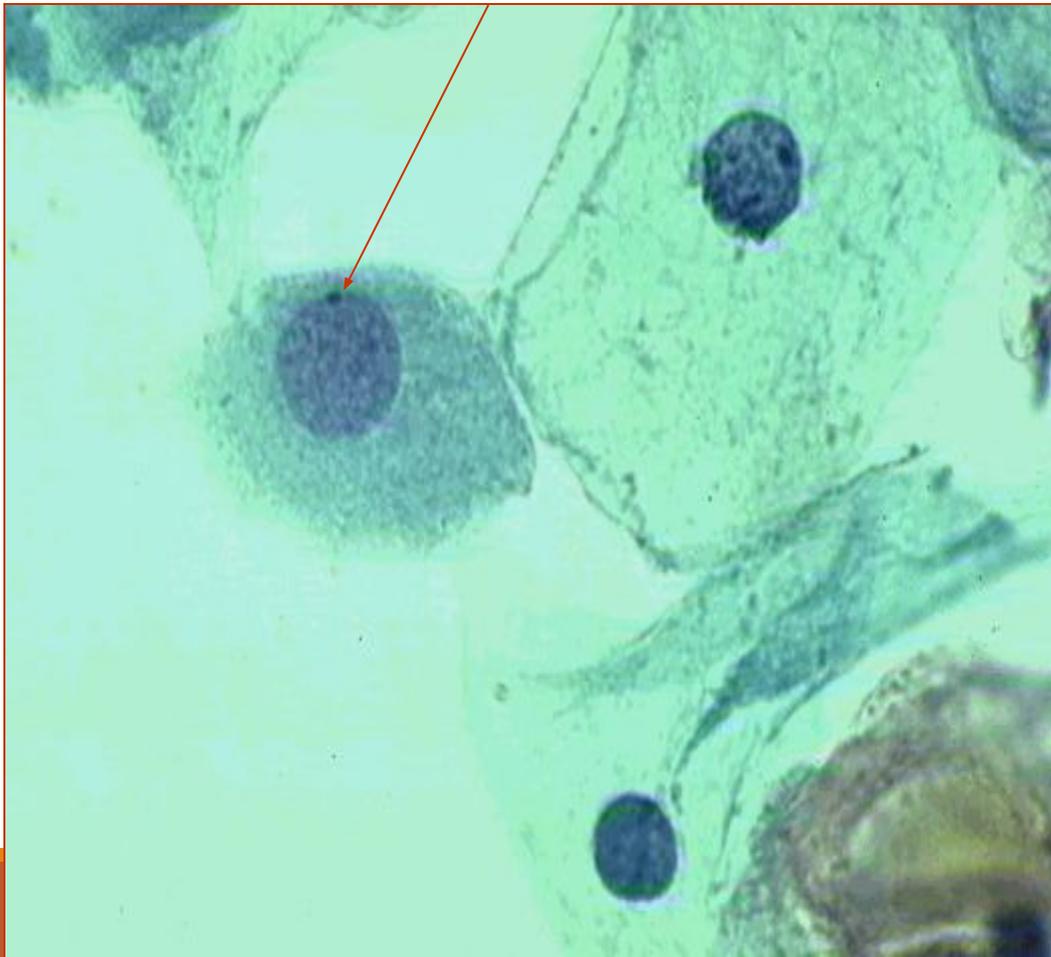
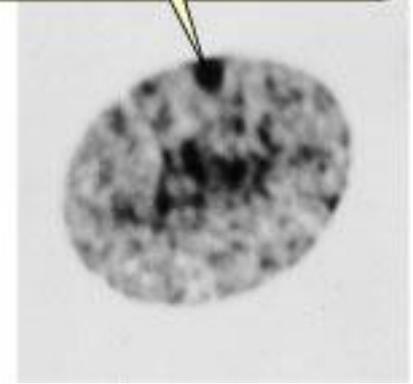


Канадский ученый Барр (1908 – 1995) и его студент Бертрам открыли в 1948 году в ядрах нервных клеток кошек структуру, названную **тельце Барра**, или X-половой хроматин



Тельце Барра – пример факультативного гетерохроматина, можно видеть в соматических клетках женского организма млекопитающих

The Barr body is the condensed, inactive member of a pair of X chromosomes in the cell. The other X is not condensed and is active in transcription.



Исследование полового хроматина – тельца Барра

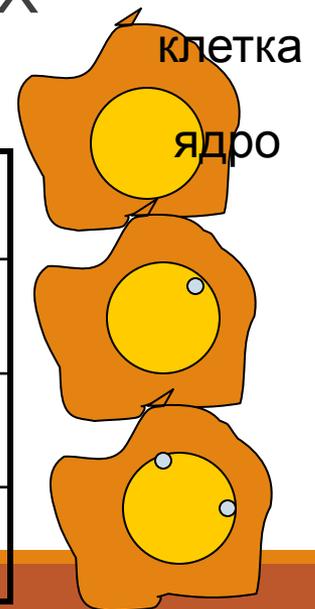
У пациента берется соскоб эпителия ротовой полости

Помещается на предметное стекло

Окрашивается

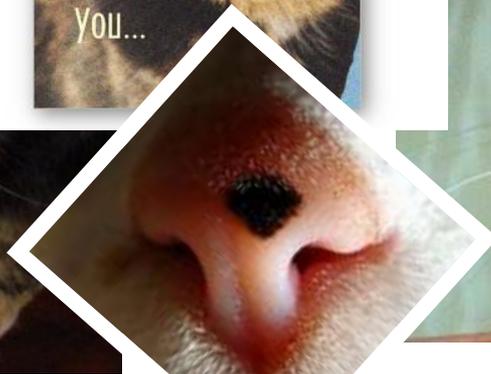
Рассматривается

Дешевый экспресс метод определения числа X хромосом:



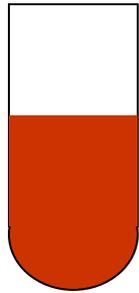
ХО или ХУ	Нет тельца Барра
ХХ или ХХУ	1
ХХХ или ХХХУ	2
И так далее	

Ген, отвечающий за инактивацию X-хромосомы, на ней же и лежит. Которая из X-хромосом будет инактивирована, по-видимому, процесс случайный.



У черепаховых кошек ген черной и желтой окраски лежит в X-хромосоме. Распределение пятен абсолютно непредсказуемо.

Этапы цитогенетического исследования



Кровь (или
другой
материал)

Отделение
лейкоцитов



Добавление стимулятора
митоза – **ФГА**
(фитогемагглютинина)

72
часа

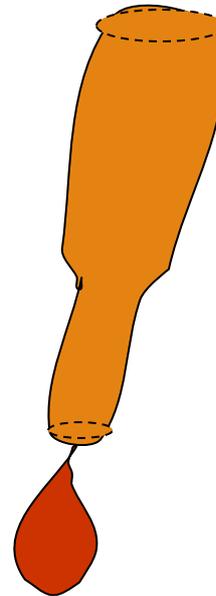


Добавление
колхицина –
блокатора
микротрубочек

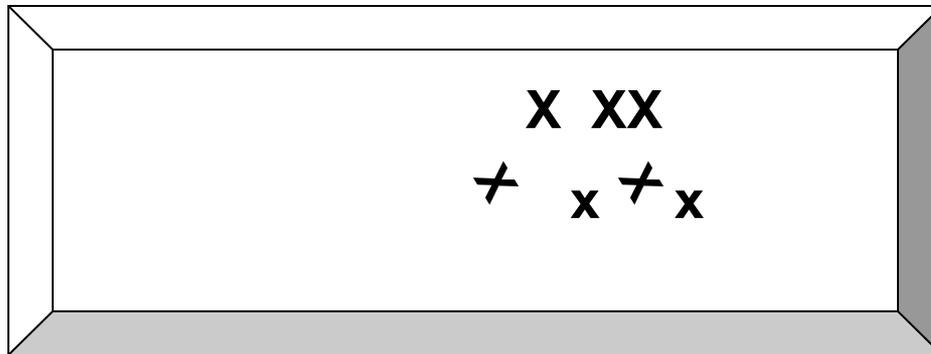


Деление лимфоцитов тормозится на стадии метафазы

Добавление **гипотонического раствора** – клетки разбухают



при раскапывании от удара о стекло хромосомы разлетаются в стороны – образуется метафазная пластинка



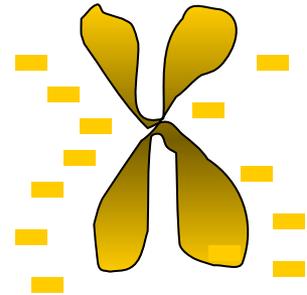
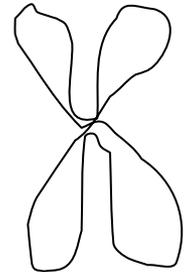
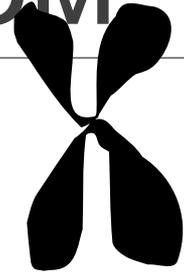
Затем препарат фиксируют и окрашивают

Виды окраски хромосом

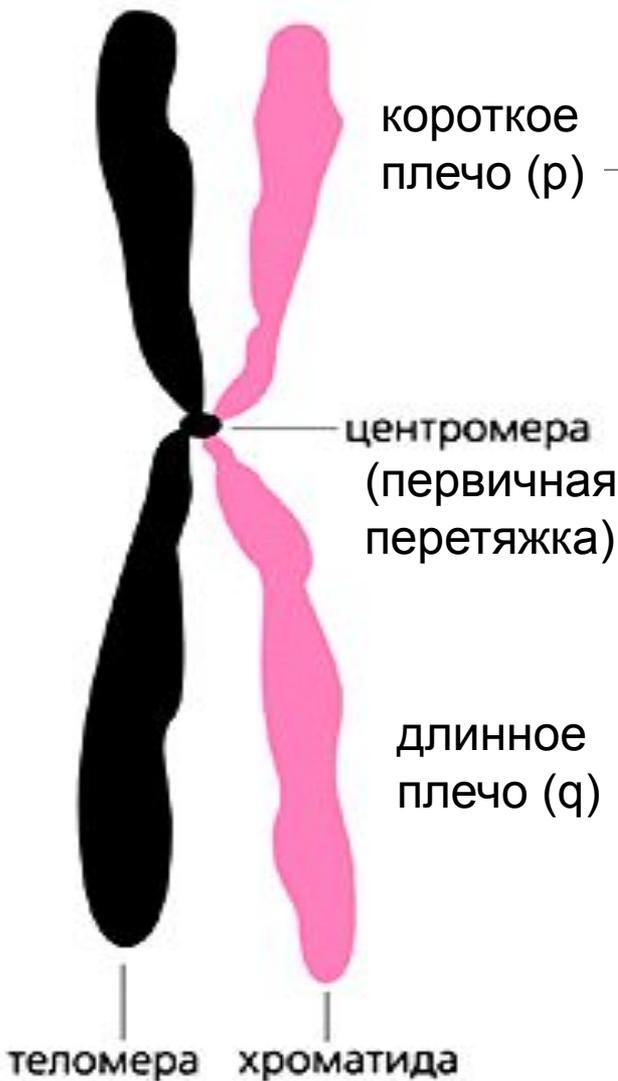
Рутинная, появилась в 50-х годах XX века. (Денверская классификация поделила все хромосомы человека на 7 групп по размеру и форме)

Дифференциальная, появилась в конце 60-х годов (G, R, Q и C методы). Парижская конференция закрепила за каждой хромосомой номер, ввела обозначения для мутаций.

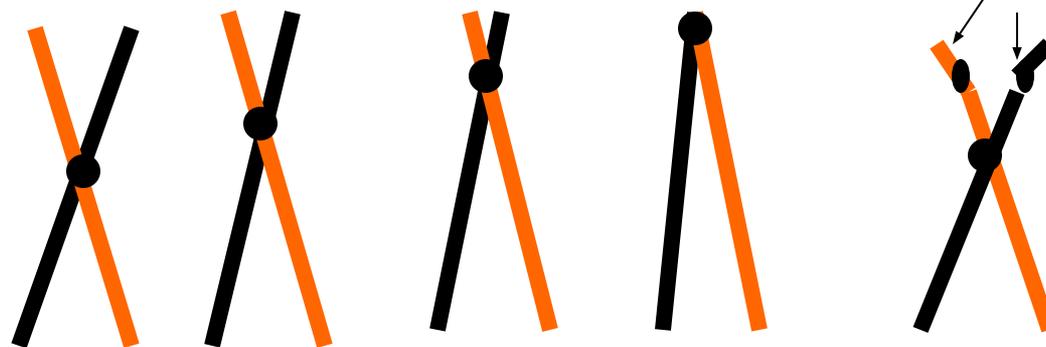
FISH - метод, был разработан в 90-х годах и дал еще больше возможностей для диагностики.



хромосома

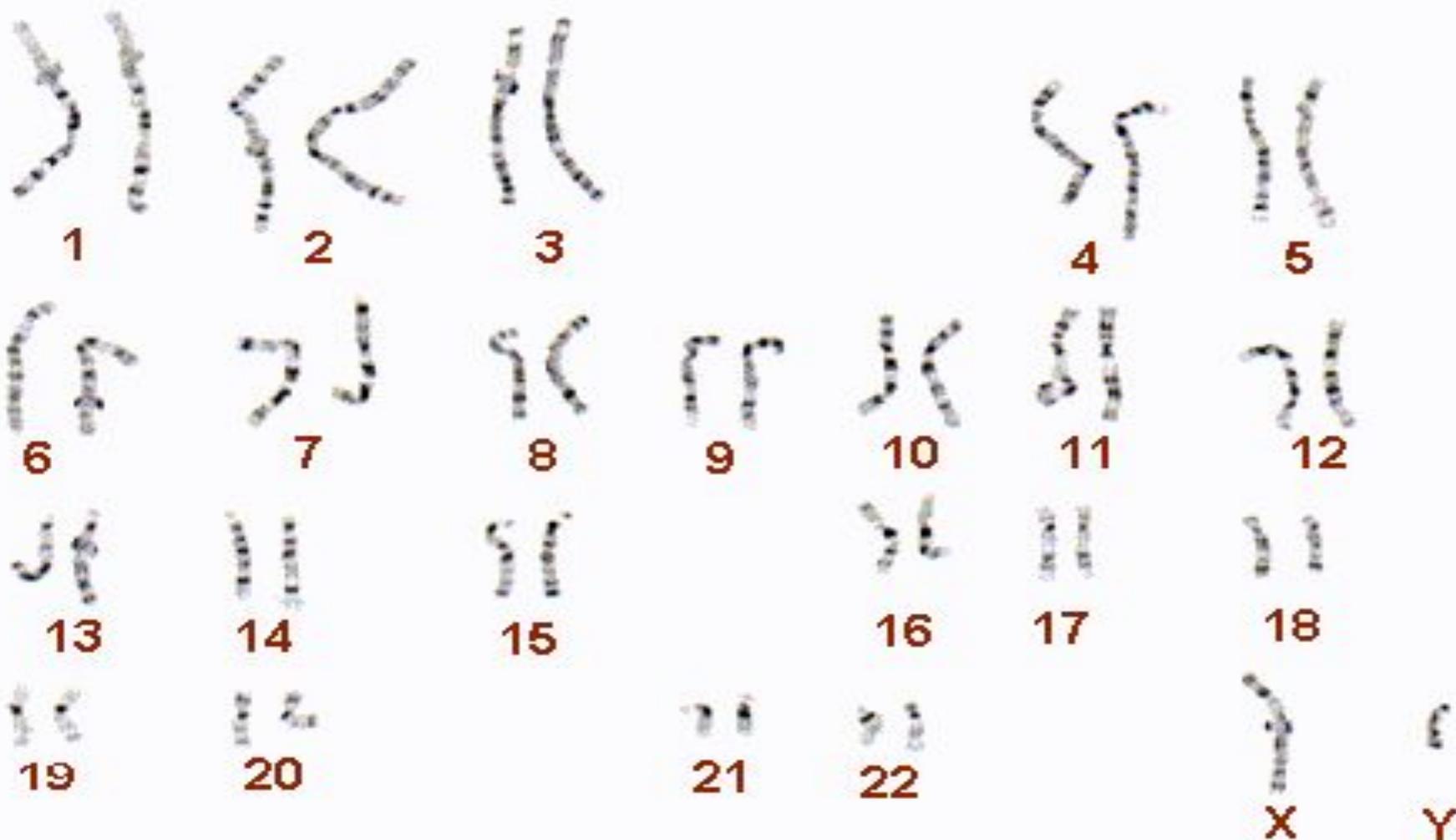


Виды метафазных хромосом согласно Денверской классификации

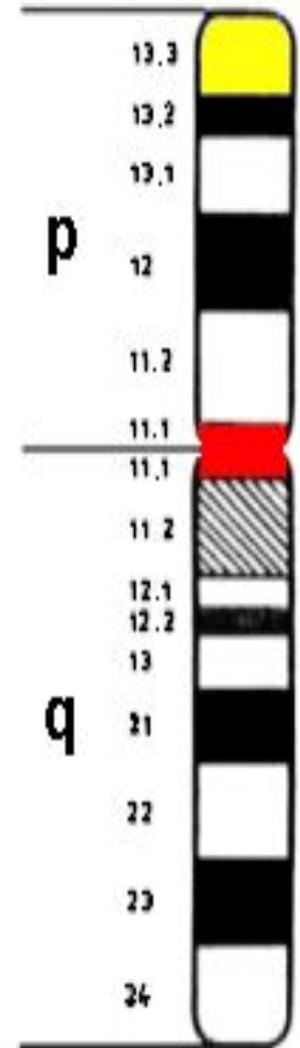
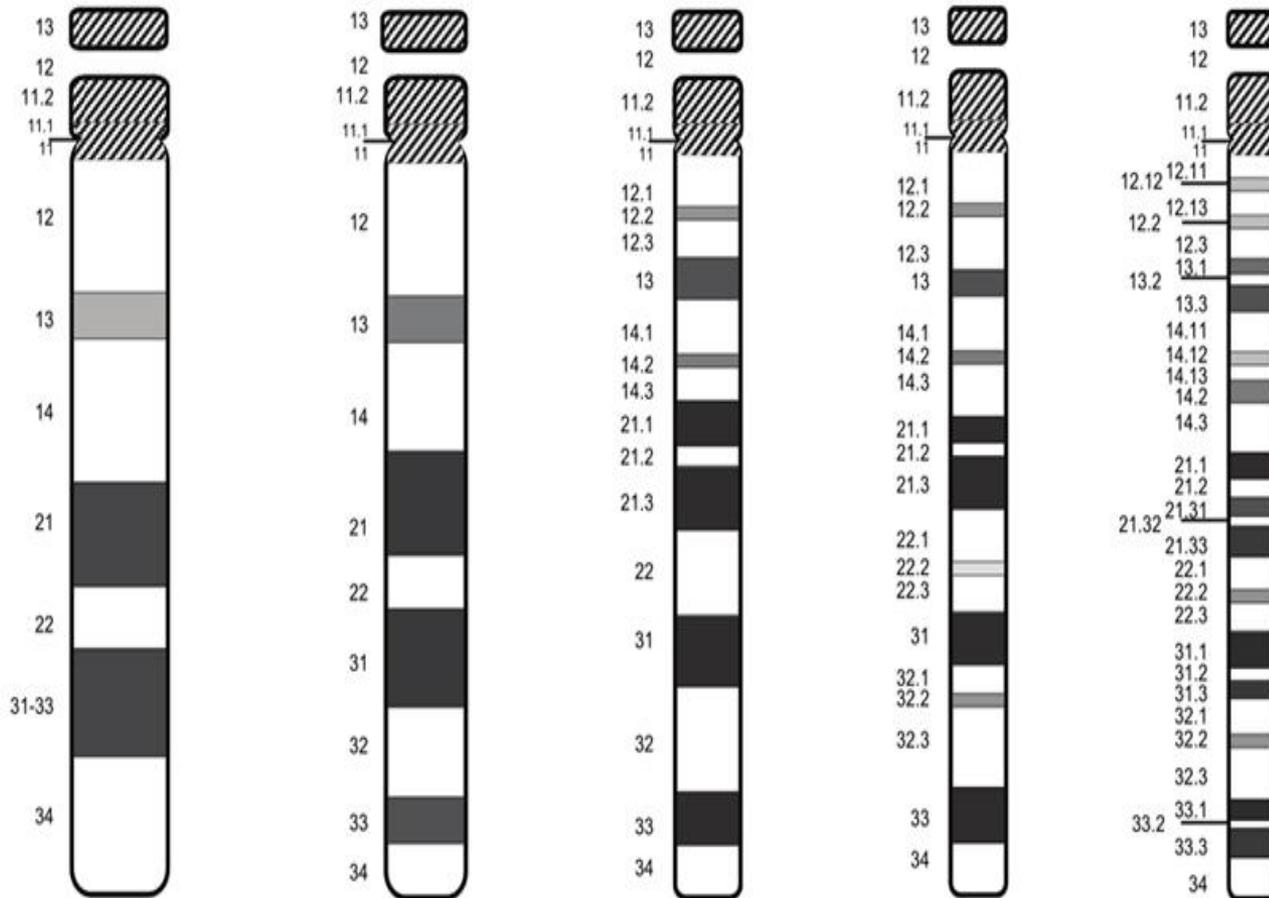


Метацентрическая, субметацентрическая, акроцентрическая, телоцентрическая, со спутником

Парижская классификация основана на дифференциальной окраске (чаще всего G-окраска)

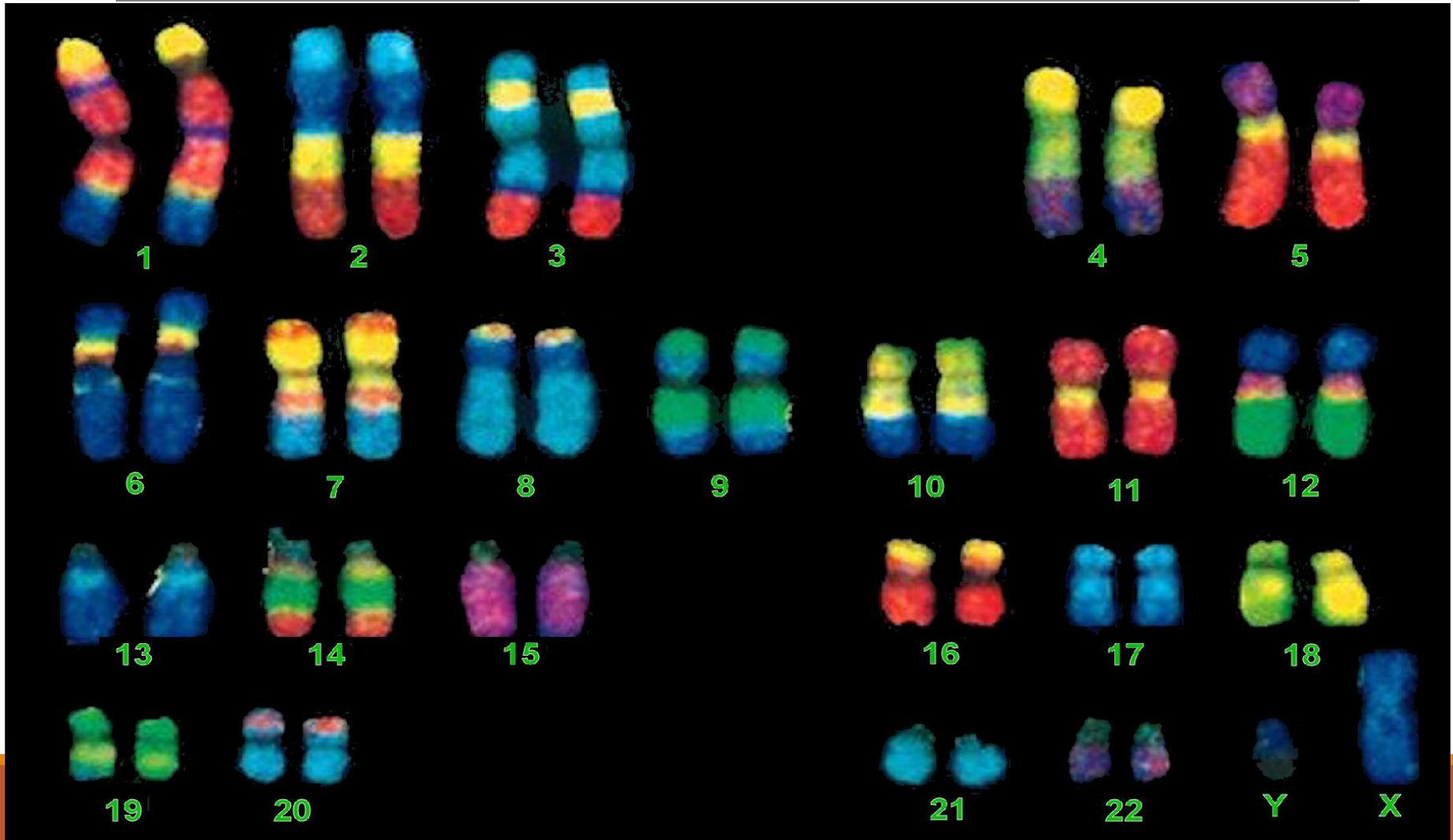


Плечи делят на районы (бенды) и суббенды



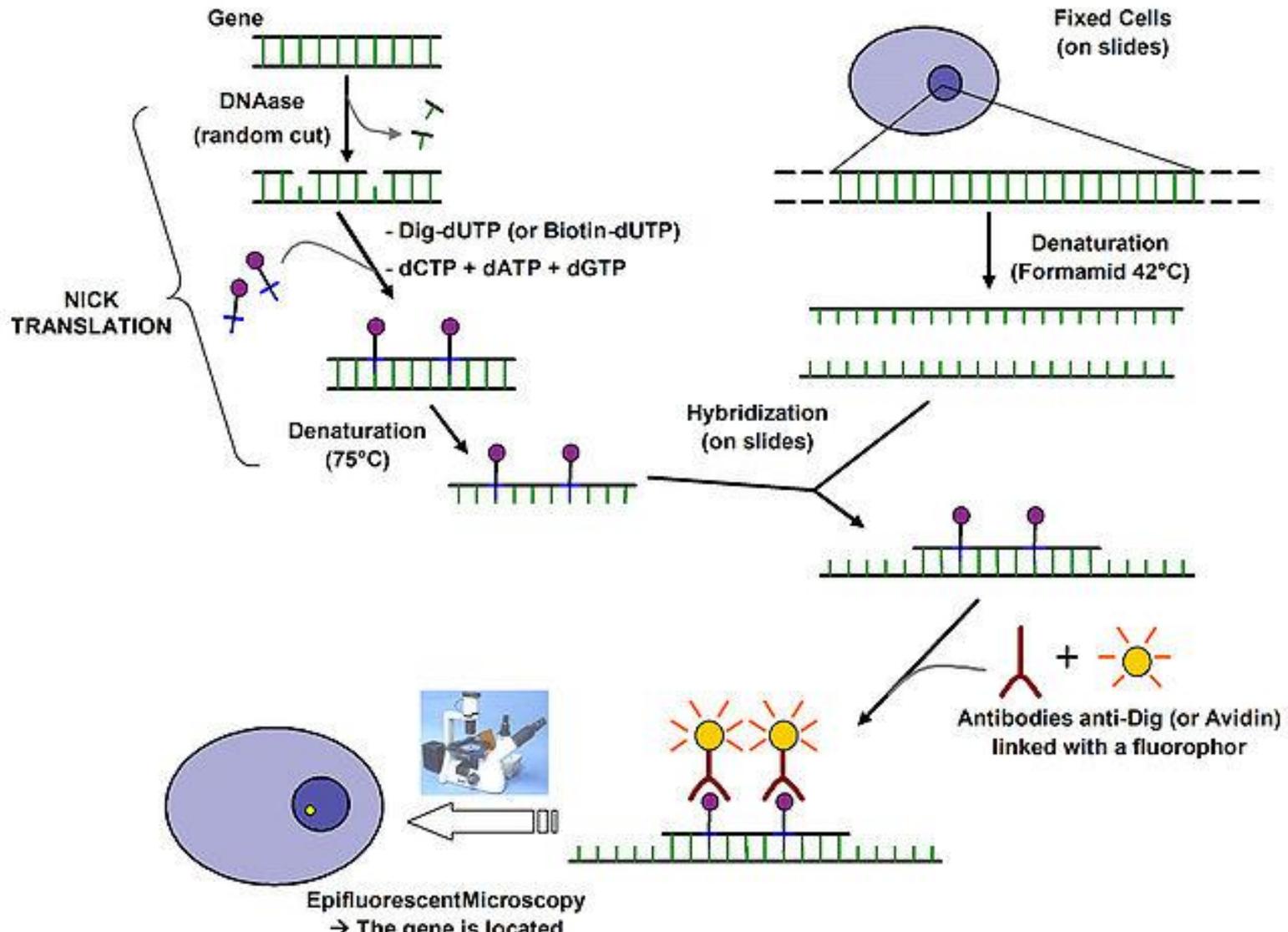
Chromosome 13 diagrams, ISCN 2009 - © Nicole Chia

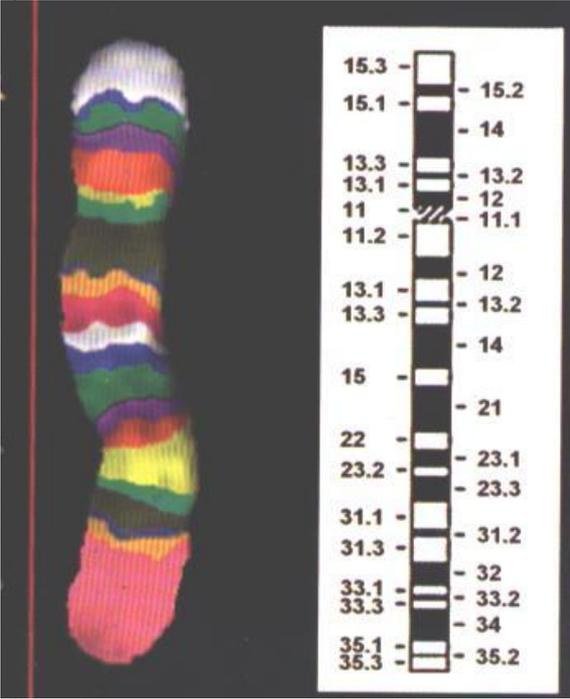
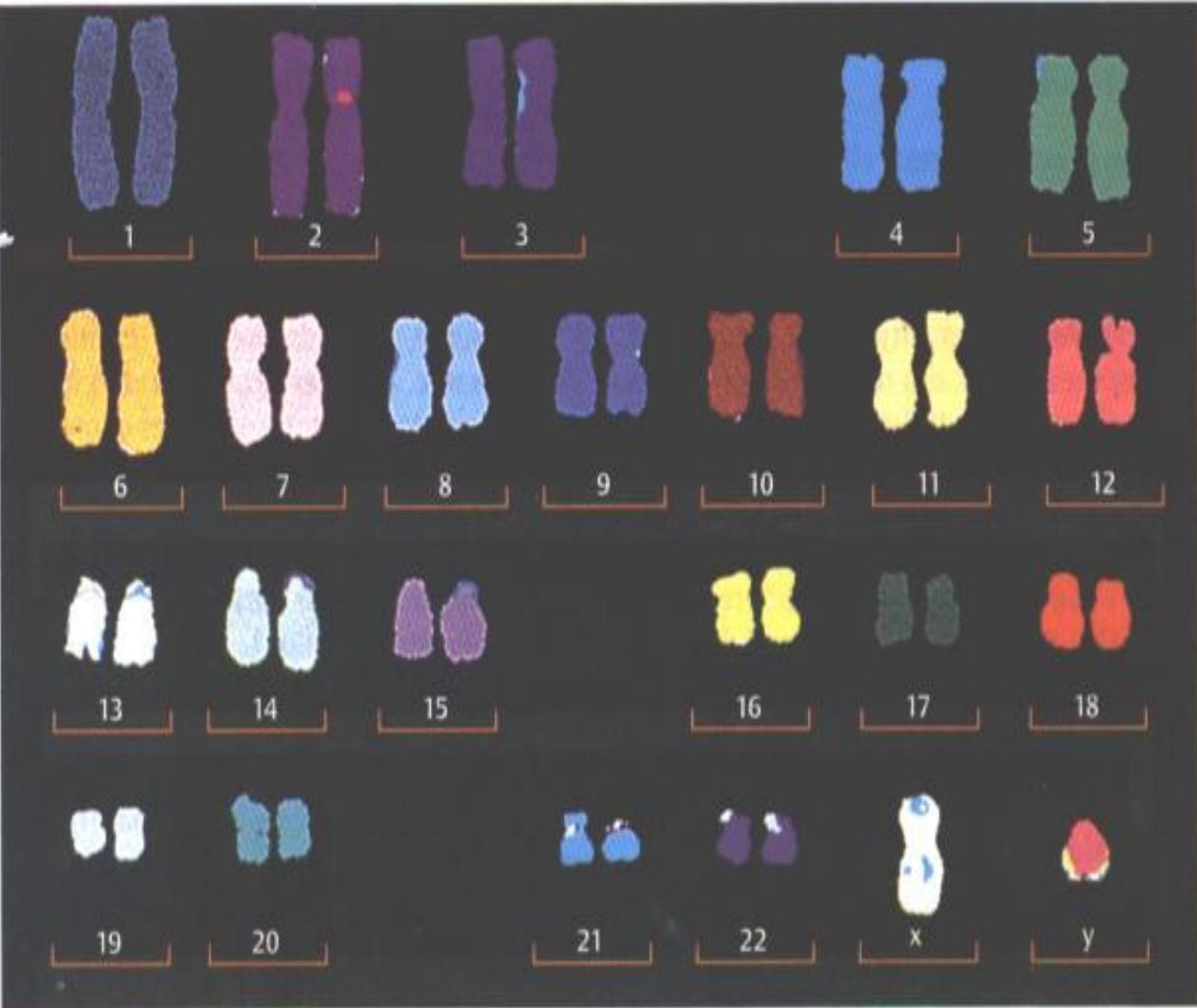
FISH -метод – Fluorescent in situ hybridization дал еще больше возможностей

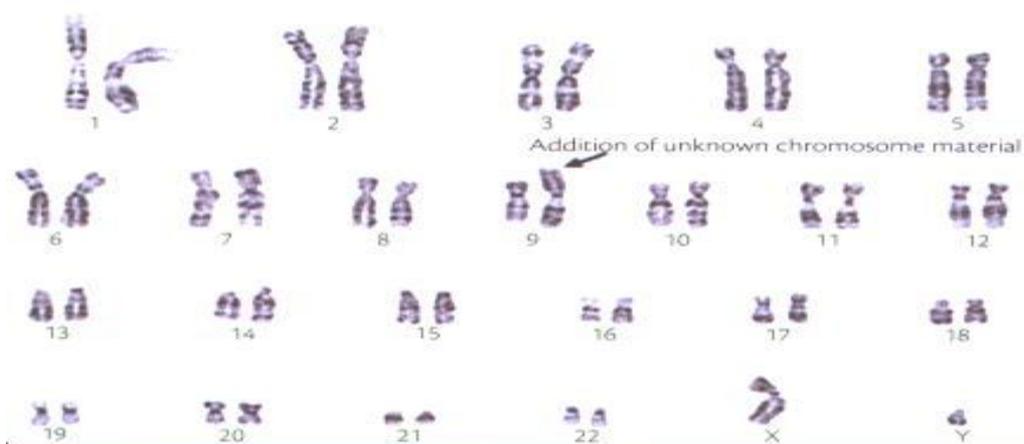


FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)

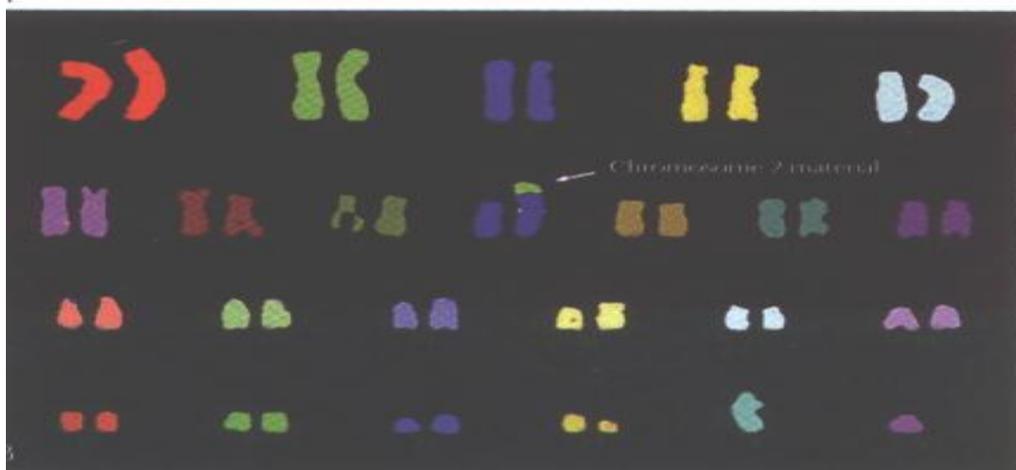
Не для зарисовки!







FISH-метод
позволяет
лучше
распознавать
хромосомные
перестройки,
чем
одноцветная
окраска



Исследование кариотипа (кариотипирование = цитогенетическое исследование позволяет диагностировать хромосомные и геномные мутации

Хромосомные мутации – изменение строения хромосом.

Геномные мутации – изменение числа хромосом

Хромосомные мутации



внутрихромосомные



межхромосомные

**ЧАСТО ЯВЛЯЮТСЯ РЕЗУЛЬТАТОМ
НАРУШЕНИЯ КРОССИНГОВЕРА –
ОБМЕНА УЧАСТКАМИ МЕЖДУ
ХРОМОСОМАМИ, ПРОИСХОДЯЩЕГО В
ПРОФАЗЕ 1 МЕЙОЗА**

Внутрихромосомные перестройки

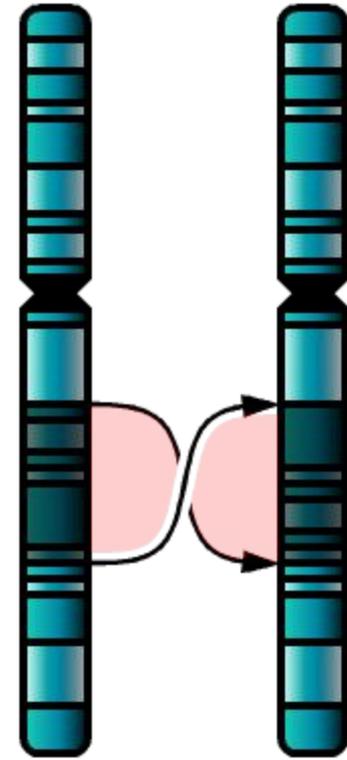
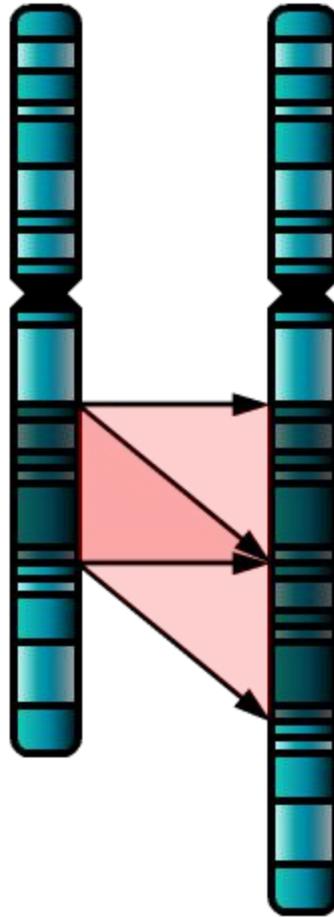
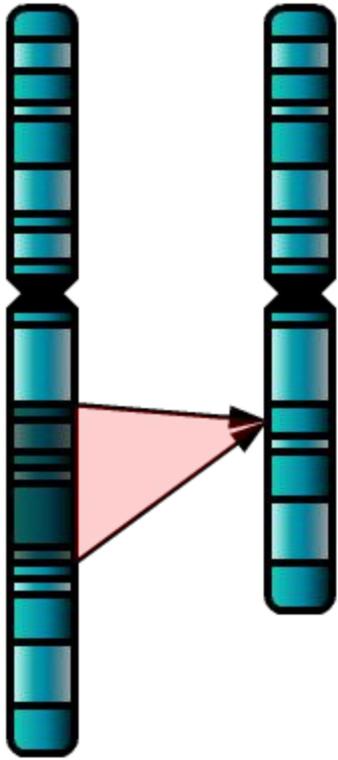
Делеция

Дупликация

Инверсия

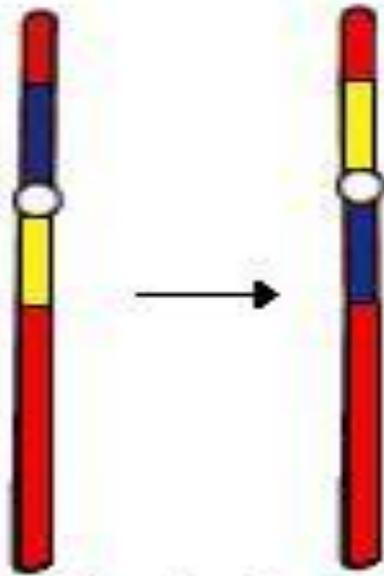
Кольцевая хромосомам

Изохромосома

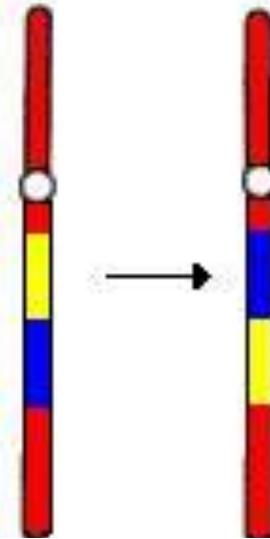


Делеция(del) Дупликация(dup) Инверсия(inv)

Варианты инверсий

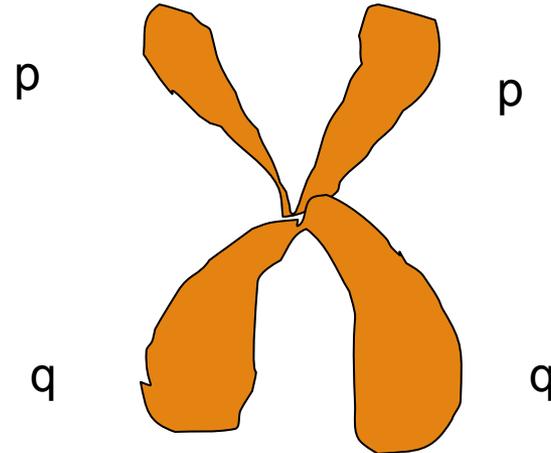
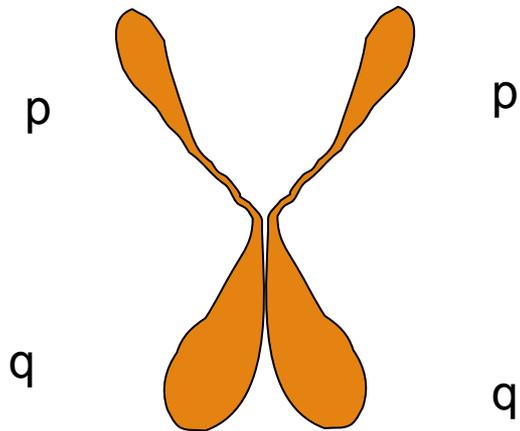


перицентрическая



парацентрическая

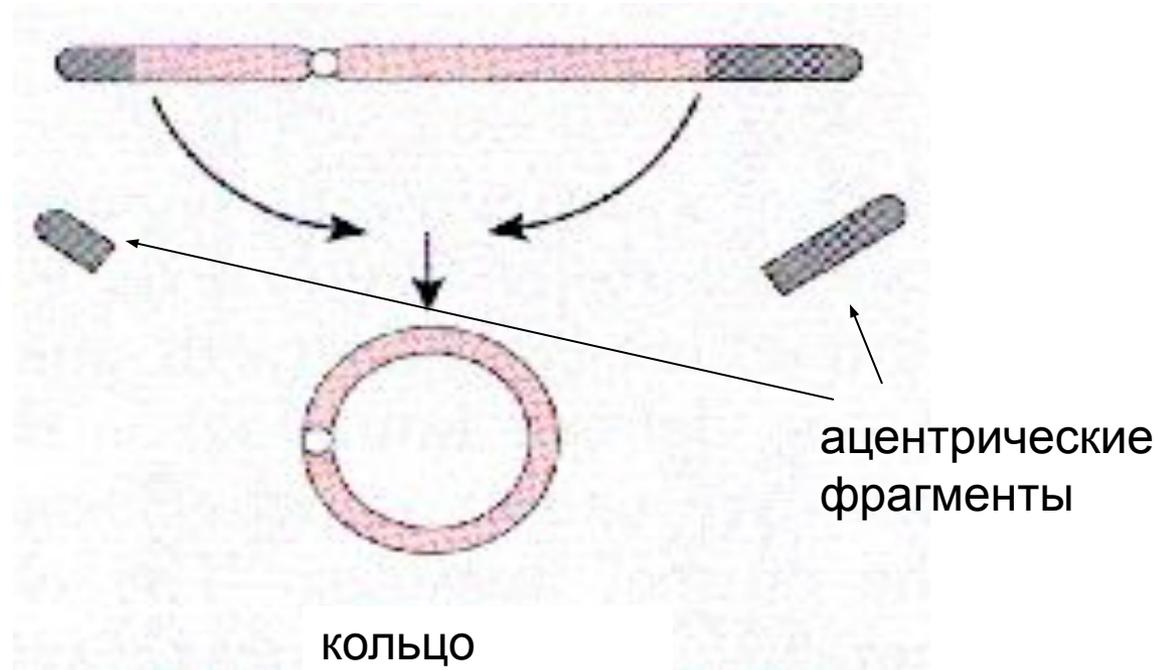
Возникновение **изохромосомы** (i) при неправильном разделении Хроматид



Нормальное расхождение в анафазе

Изохромосомы

Образование кольцевой хромосомы (r)



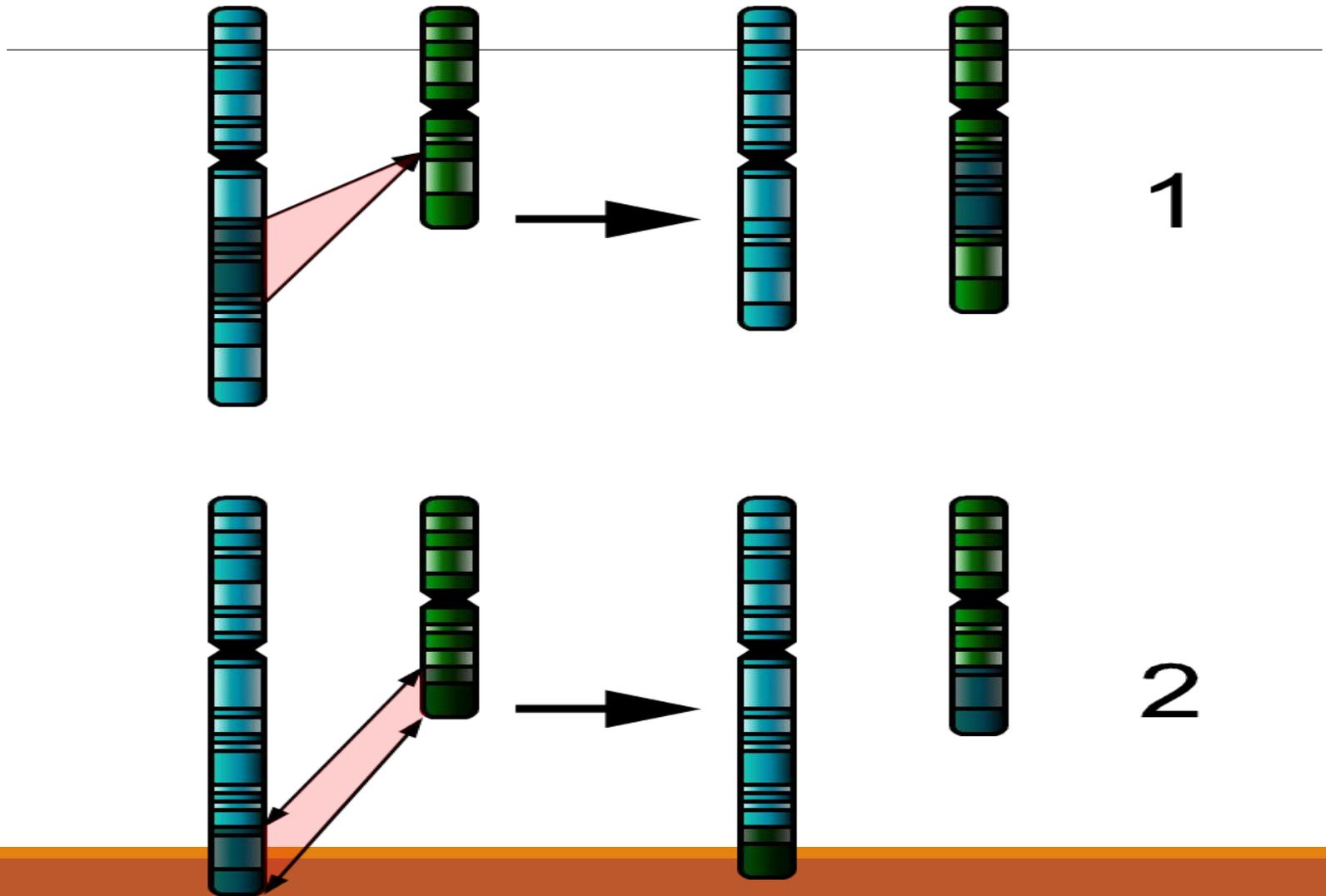
Межхромосомные перестройки - транслокации

Взаимные

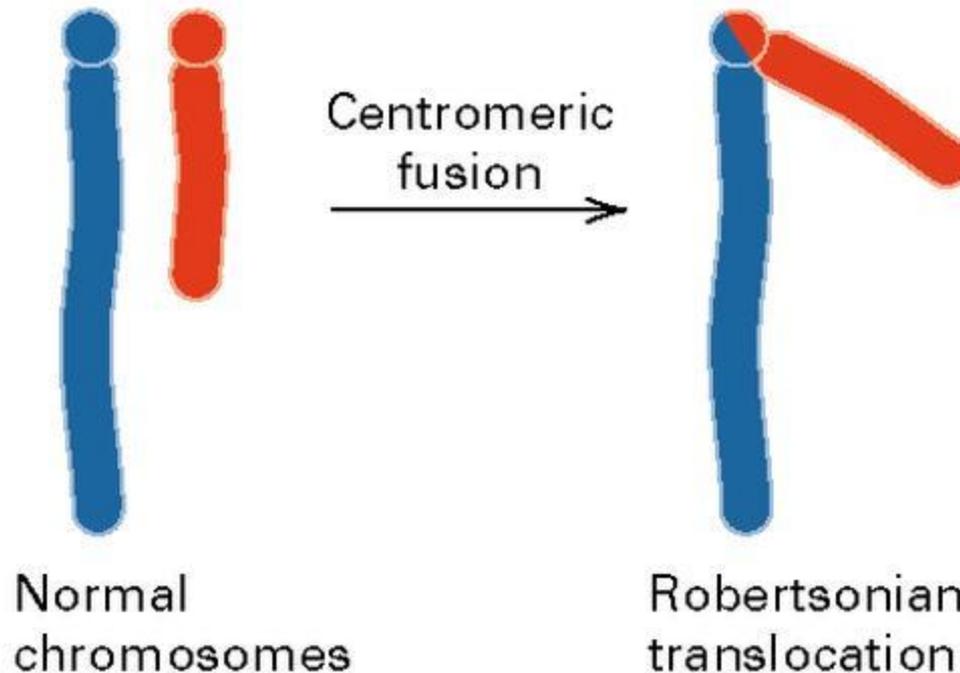
Невзаимные

Робертсоновские

Транслокация (t):1 – невзаимная (инсерция), 2 – взаимная (реципрокная)

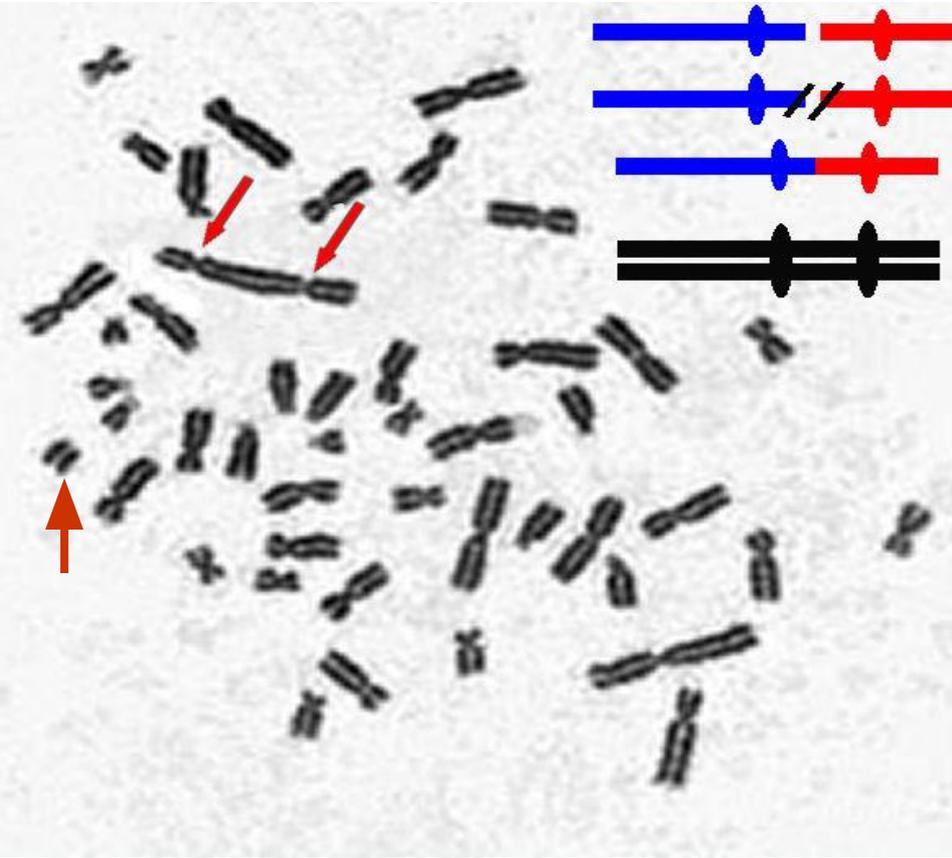
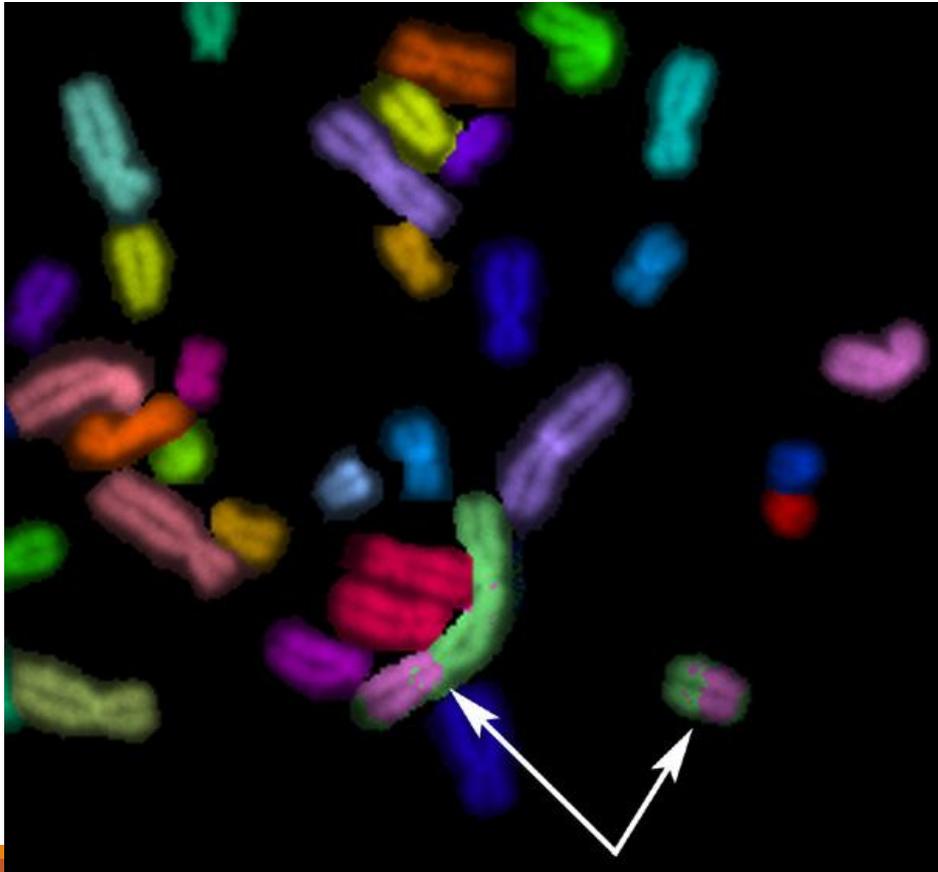


Робертсоновская транслокация (rob) (центрическое слияние)



Между разными
acrocentricами – у
человека 13,14,15,21,22

В результате транслокаций могут возникать **дицентрические** (dic) хромосомы и парные **ацентрические** фрагменты



Кроме того, хромосомные мутации бывают:

Спонтанные/индуцированные

Соматические /генеративные

Вредные/полезные/нейтральные

С клинической точки зрения хромосомные мутации удобнее делить на

Сбалансированные (нет потери
или добавления генов)

Например,

инверсия,

реципрокная транслокация

Несбалансированные (гены
теряются или добавляются)

Например,

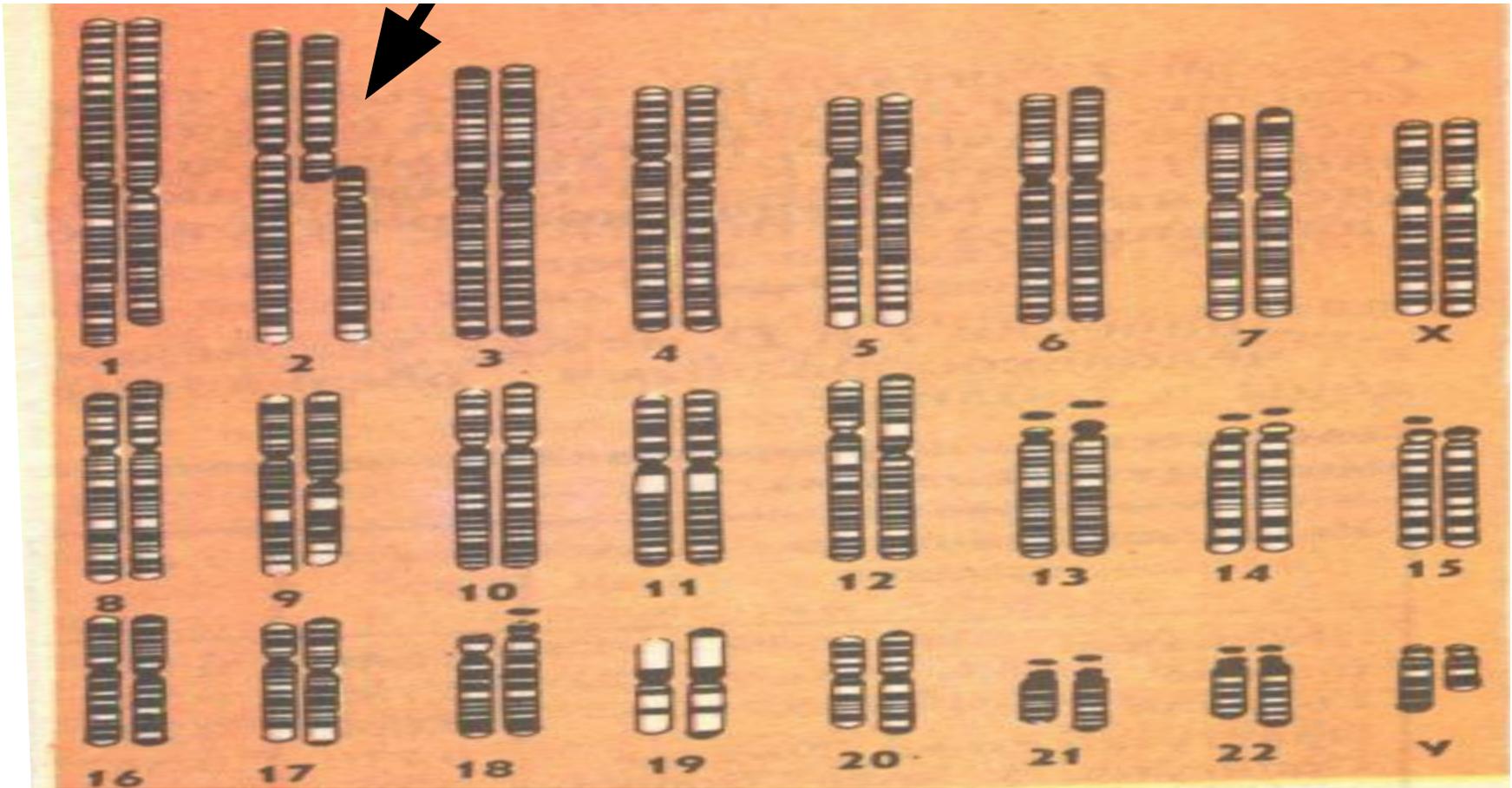
делеция

дупликация

Значение хромосомных мутаций

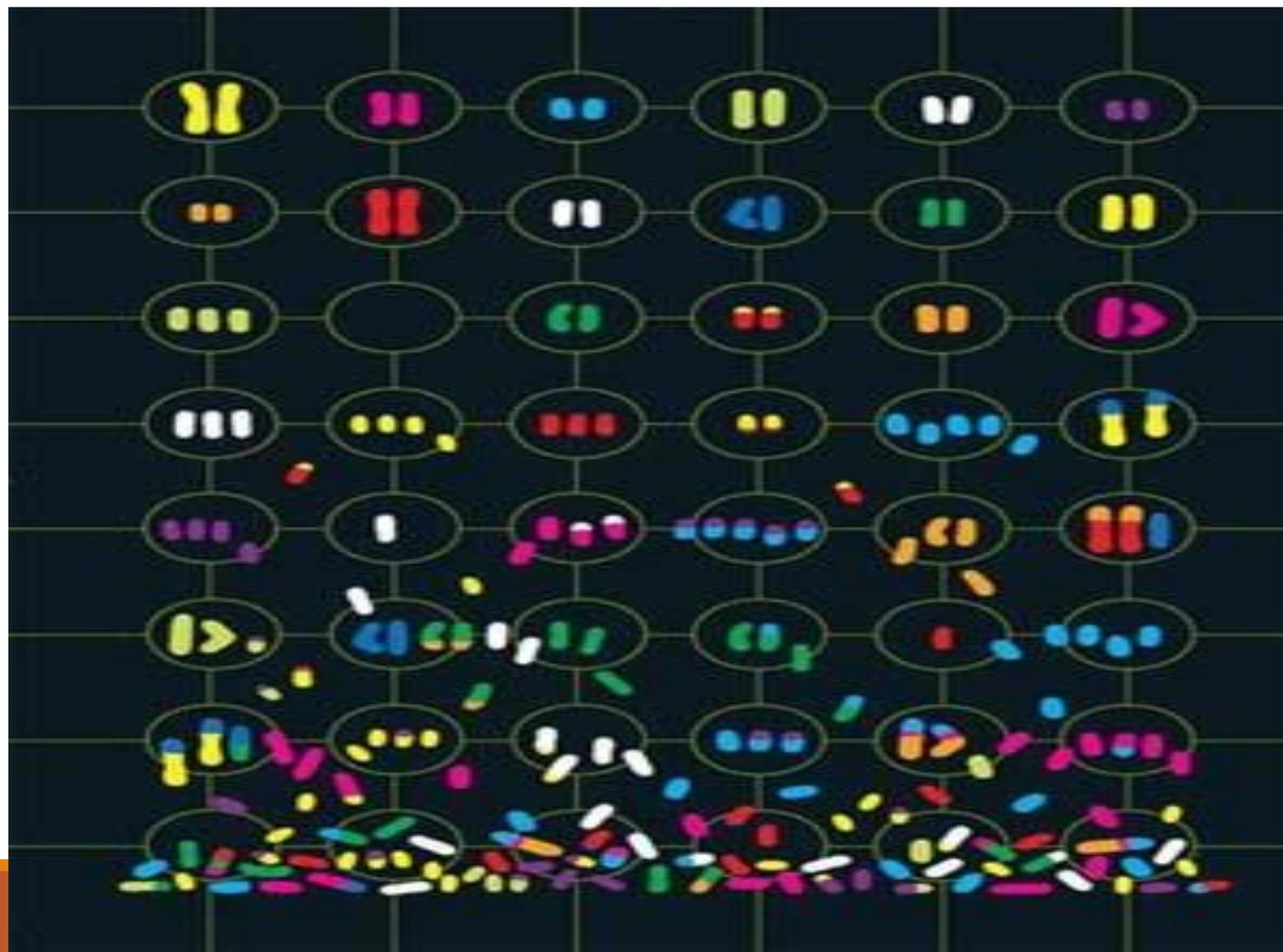
Материал для эволюции, способствует появлению новых видов

Патология у человека

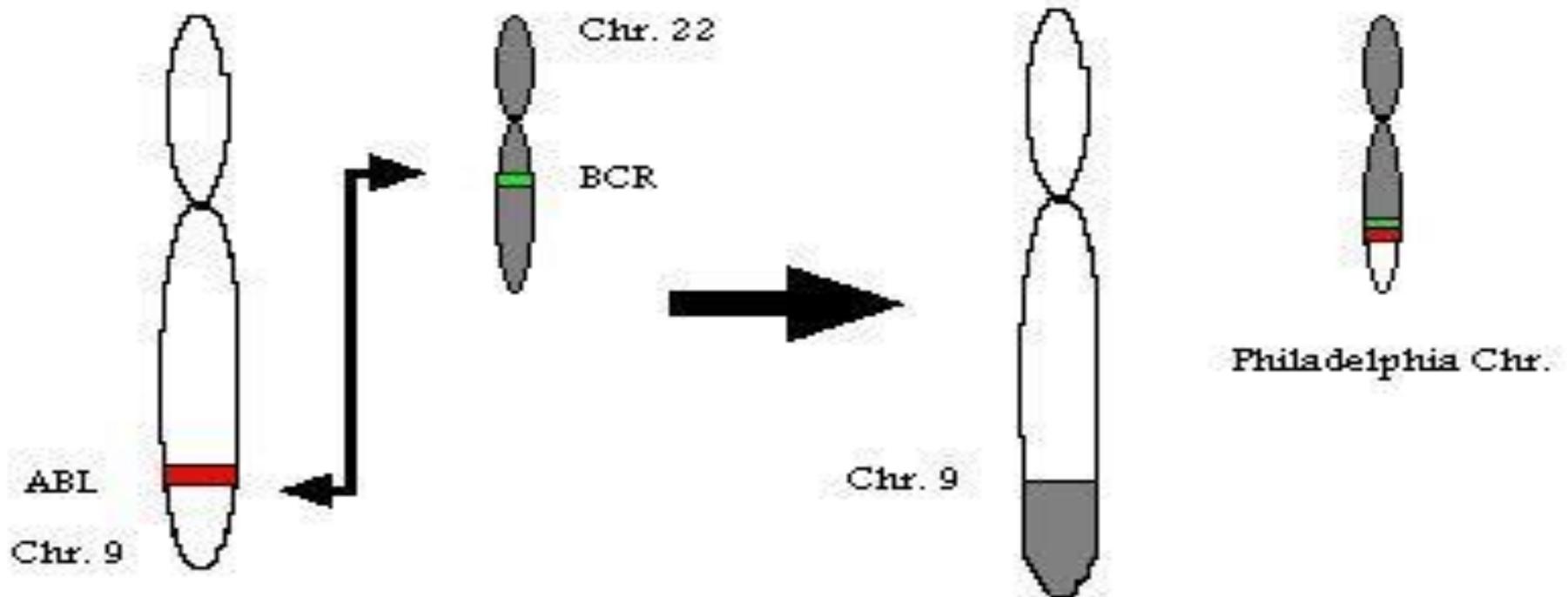


Сравнение хромосомных наборов человека (слева) и шимпанзе (справа). Видно, что наша хромосома 2 – результат Робертсоновской транслокации у нашего общего предка.

При лейкозах выявляются множественные хромосомные перестройки



Самый известный пример: **Филадельфийская хромосома – транслокация между 22 и 9**
хромосомами – пример соматической мутации
ведущей к развитию **хронического миелобластного лейкоза**
t(9;22)(q34.1;q11.2)



Различные случаи делеций



7 days

A. Deletion 5p--: Cri-du-chat syndrome



9 months



3 years



6 years

-- Синдром кошачьего крика

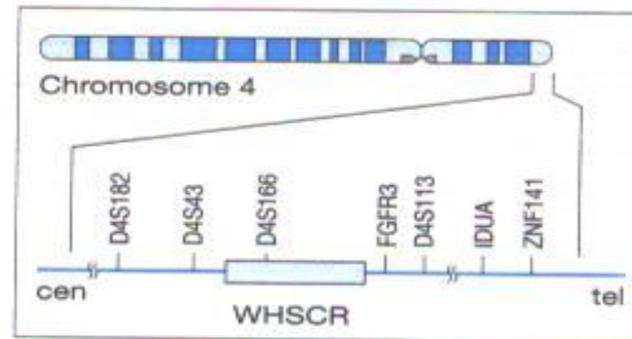


1. Age: 1 1/4 years



2. Age: 4 years

B. Deletion 4p--: Wolf-Hirschhorn syndrome



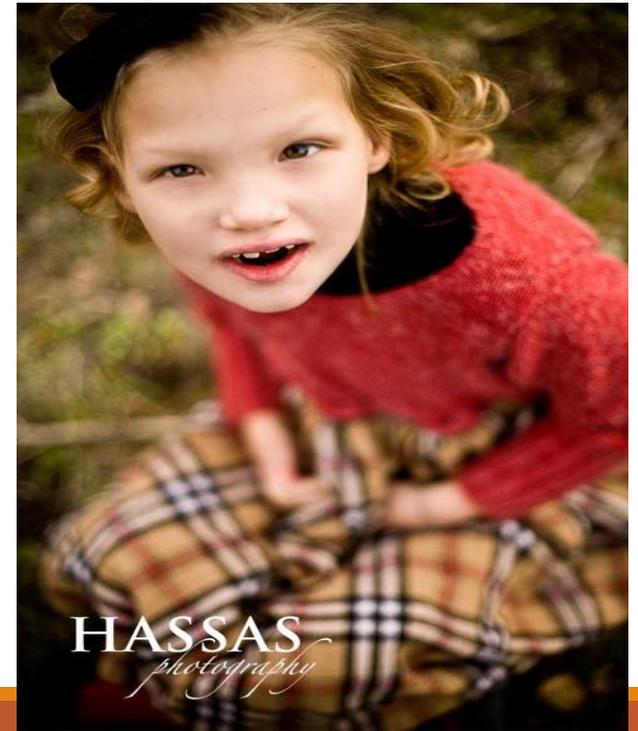
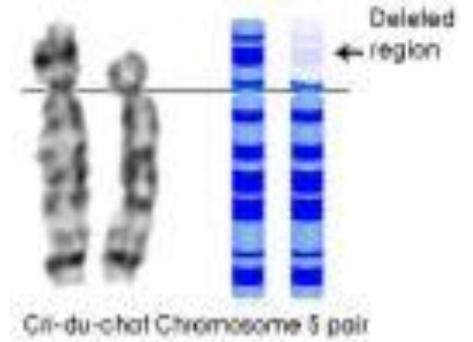
3. Scheme of physical map of 4p16

-- Синдром Вольфа-Хиршхорна





Делеция
короткого
плеча
хромосомы 5
– синдром
кошачьего
крика, cri du
chat



Хромосомные карты

Генетические – где лежит какой ген

Цитологические – по окраске

Физические – основаны на точном расстоянии в базах, кило-, мега- и гига базах

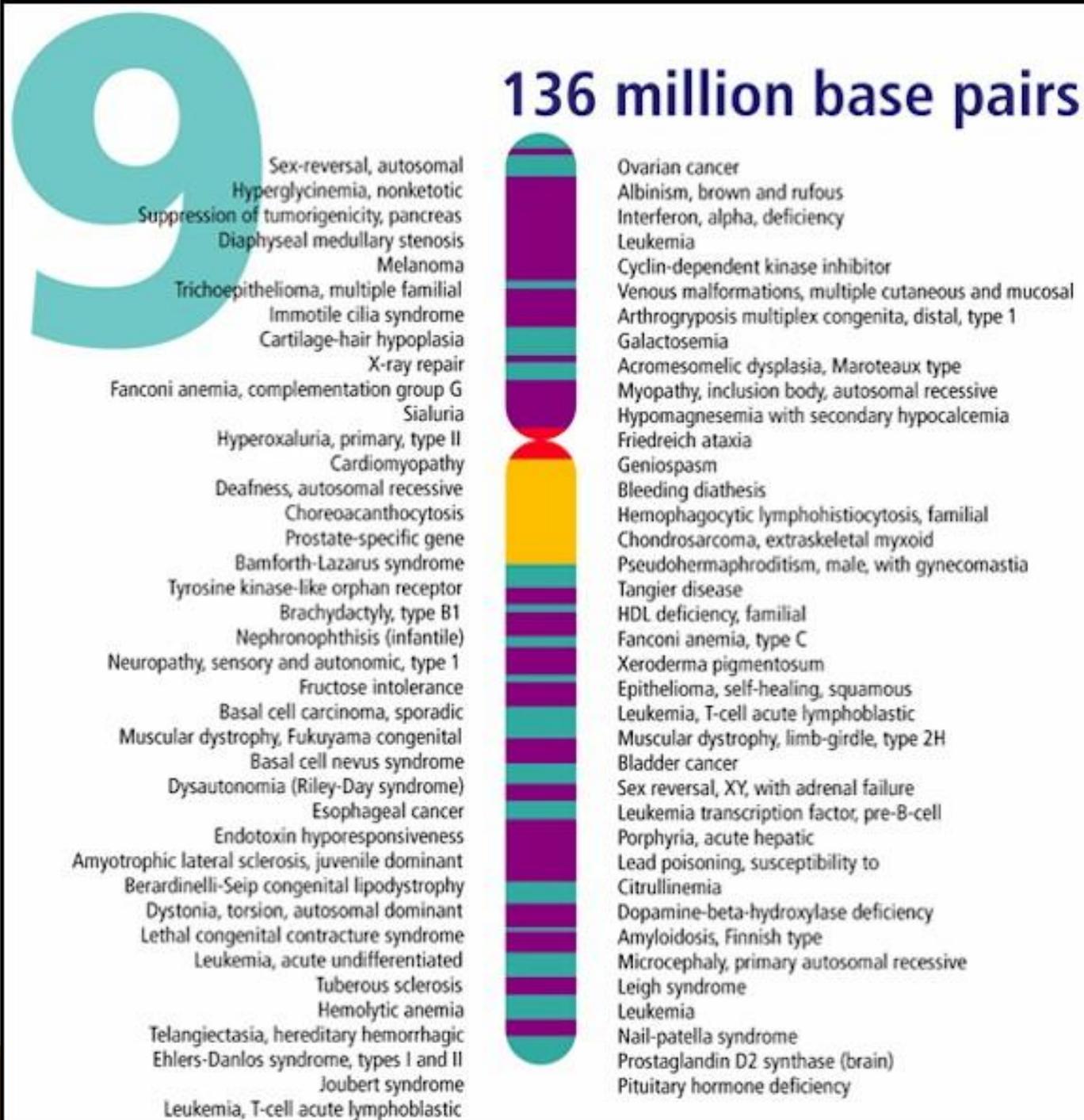
Рестрикционные – вид физической карты, на которой указаны расстояния между соседними сайтами расщепления ДНК определенной рестриктазой (разрезающим ферментом)

Карты часто бывают комбинированные

1 сМ (сентиморган = морганида) – единица расстояния между генами, при которой вероятность кроссинговера равна 1%, (соответствует примерно 1 мегабазе)

Гаплоидный геном человека составляет примерно 3 300 000 000 баз, т.е. 3300 сМ

Карта хромосомы 9



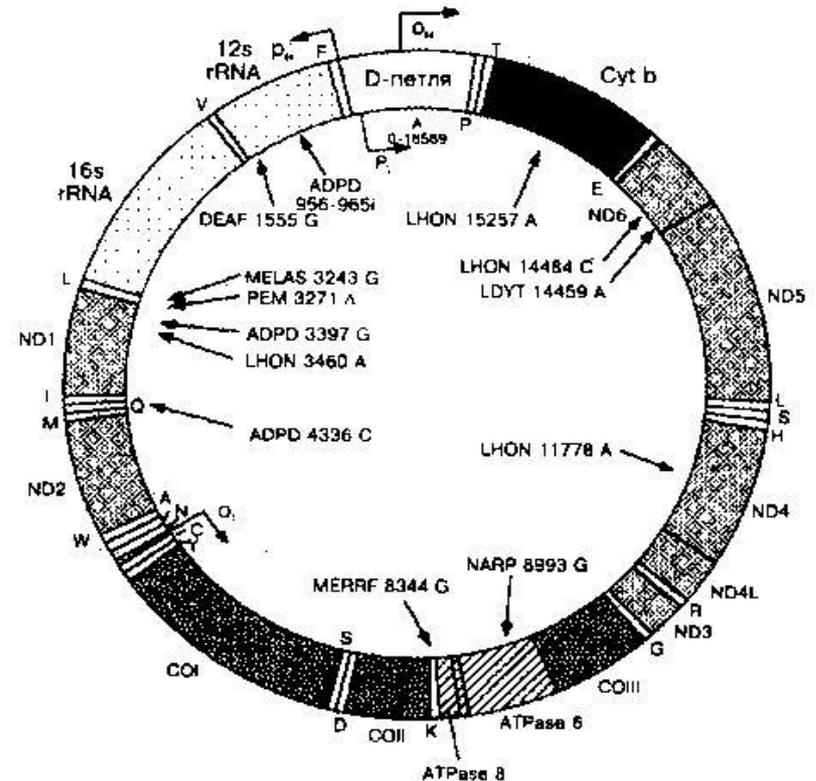
Карта хромосомы 21 и митохондриального генома

Хромосома 21



Эпилепсия, прогрессирующая миоклоническая

- 21q11.2 Миелопролиферативный синдром, транзиторный
- 21q22.3 Глухота, аутосомно-рецессивная 8
- 21q22.3 Синдром Дауна, критический регион



- ADPD - Болезнь Альцгеймера/болезнь Паркинсона
- DEAF - Нейросенсорная потеря слуха
- LHON - Наследственная нейроофтальмопатия Лебера
- LDYT - LHON- и дистония
- MELAS - Митохондриальная миопатия, энцефалопатия, молочнокислый ацидоз и приступы судорог
- MERRF - Миоклональная эпилепсия в сочетании с необычно красными мышечными волокнами
- NARP - Нейропатия, атаксия и пигментный ретинит
- PEM - Летальная прогрессирующая энцефаломиопатия

24-цветная FISH хромосом человека:

а - метафазная пластинка

(Рубцов Н. Б., Карамышева Т. В. Вестн. ВОГиС, 2000).

24-цветная FISH хромосом человека:

b - раскладка хромосом.

(Рубцов Н. Б., Карамышева Т. В. Вестн. ВОГиС, 2000).

ВСЕ ХРОМОСОМЫ

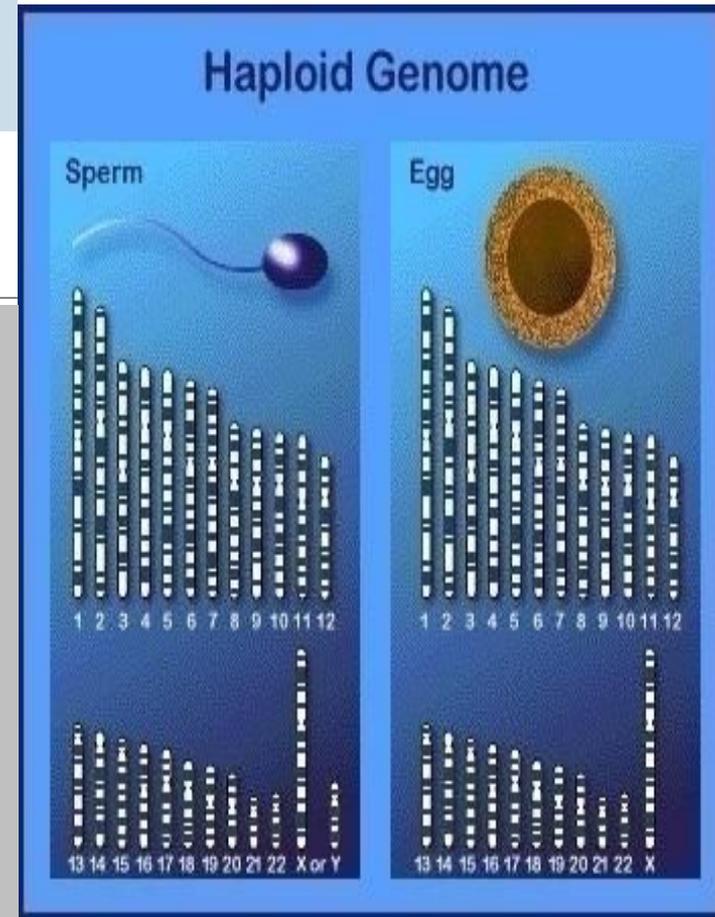
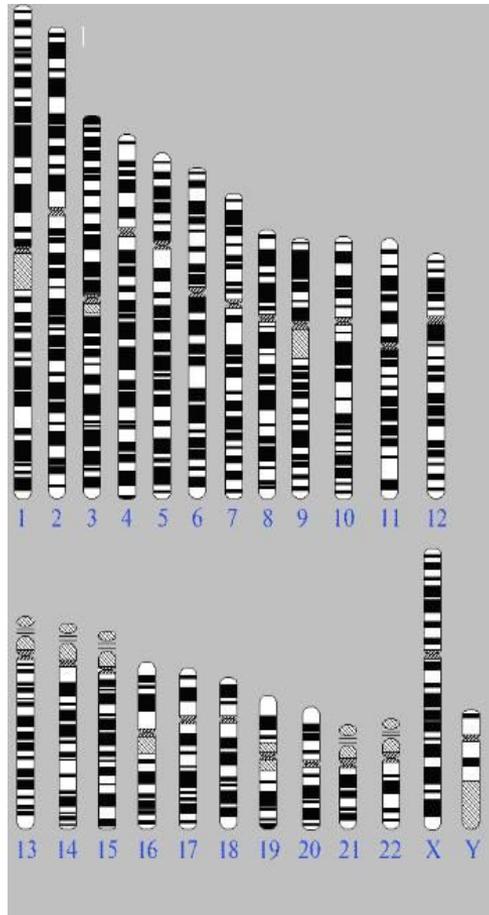


Идиограмма

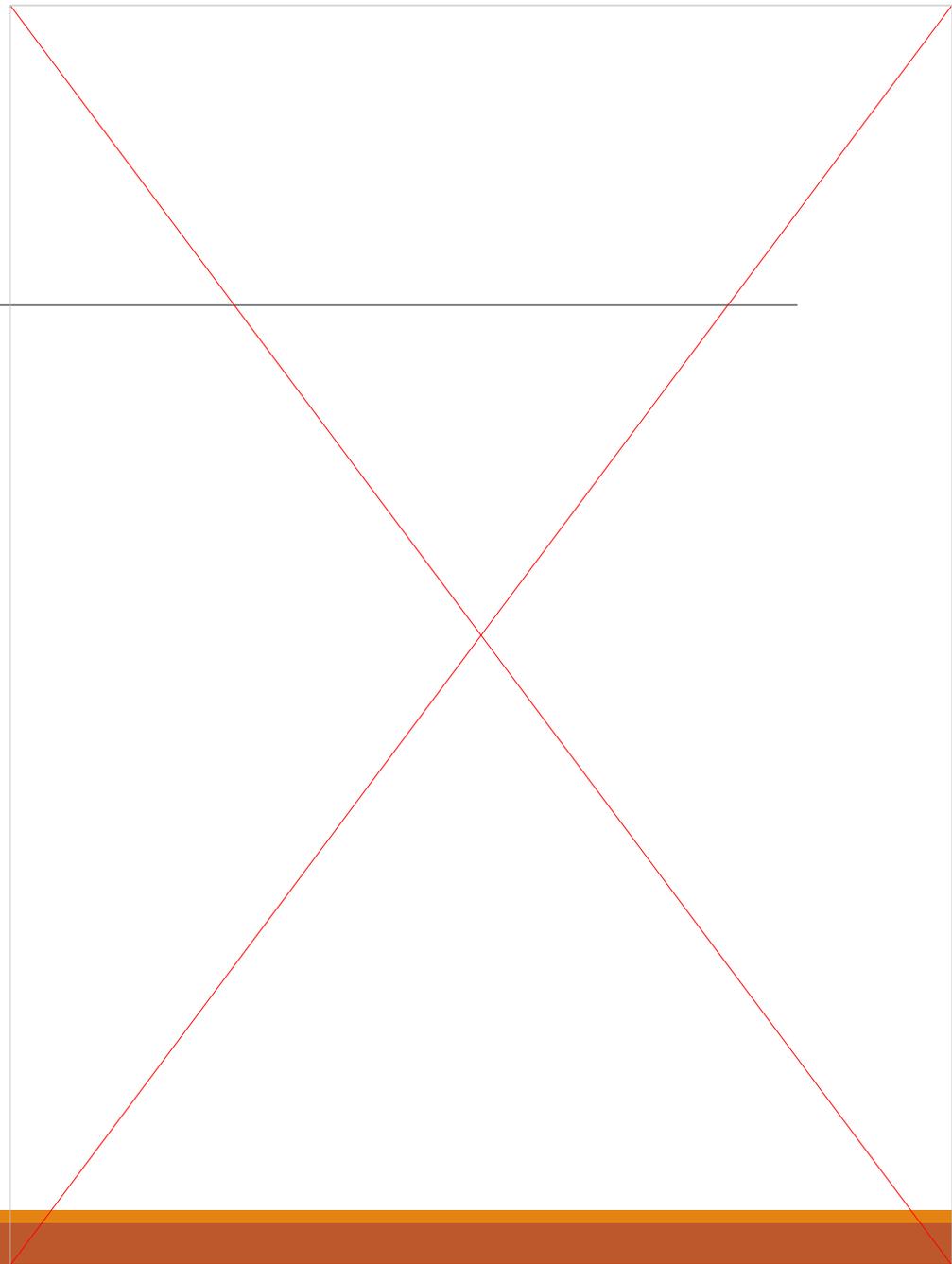
Идиограмма
схематическое
изображение гаплоидного
набора хромосом
организма, которые
располагают в ряд в
соответствии с их
размерами

На идиограмме
изображаются
морфологические
признаки хромосом,
участки эу - и
гетерохроматина.

Сравнительный анализ
идиограмм используется в
кариосистематике для
выявления и оценки
степени родства
различных групп



**В митотической
хромосоме
ДНК упакована
в 10000 раз**



Половой хроматин

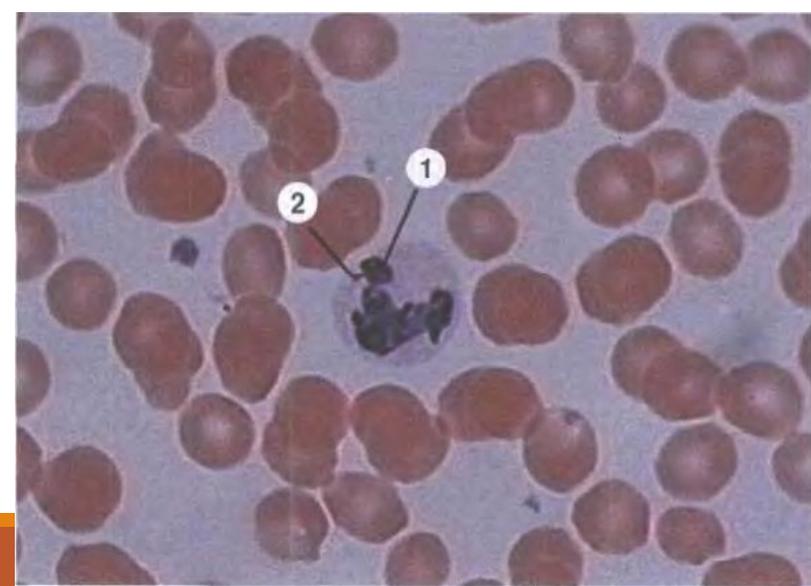
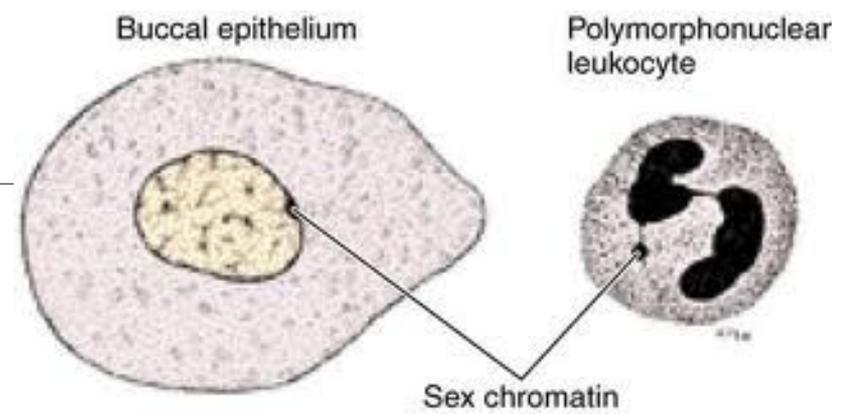
Исследования хроматина показали, что у самок имеются определенные скопления гетерохроматина, а у самцов таких скоплений нет. Обнаруженные глыбки хроматина представляют собой **половой хроматин**.

Одна из X хромосом самок остается плотно скрученной, при этом другая X хромосома раскручена и невидима. Считается, что половой хроматин генетически неактивен.

Тельца Барра

В эпителиальных клетках человека половой хроматин имеет вид мелкой гранулы прикрепленной к ядерной оболочке. Если взять соскоб со щеки по этим признакам можно определить пол человека.

Пол можно определить и по мазкам крови, где половой хроматин в ядре нейтрофильных лейкоцитов имеет вид добавочного сегмента в форме барабанной палочки.



Структура и функция ядрышек. Гранулярный и фибриллярный компоненты ядрышек.
Фибриллярные центры и ядрышковый организатор.
Структурные типы ядрышек: ретикулярный (нуклеолонемный, компактный, кольцевидный, сегрегированный). Число ядрышек в клетке.
Множественность рибосомальных генов.
Амплификация ядрышек.

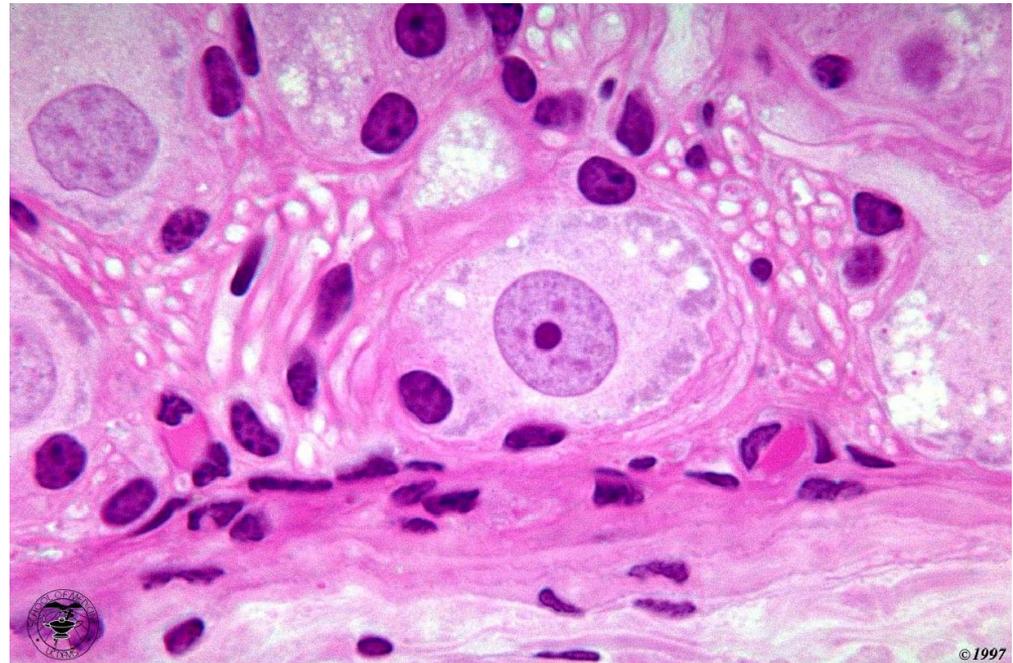
ЛЕКЦИЯ

Впервые ядрышки были описаны Фонтана в 1774 г. В живых клетках они выделяются на фоне диффузной организации хроматина из-за своей светопреломляемости.

Встречаются во всех эукариотических клетках.

В клеточном цикле ядрышко присутствует в течение всей интерфазы: в профазе по мере компактизации хромосом во время митоза оно постепенно исчезает, и отсутствует в мета- и анафазе, и вновь появляется в середине телофазы, чтобы сохраняться вплоть до следующего митоза, или до гибели клетки.

в 30-х годах рядом исследователей (МакКлинток, Хейтц, Навашин) было показано, что возникновение ядрышек связано топографически с определенными зонами на особых, ядрышкообразующих хромосомах. Эти зоны были названы **ядрышковыми организаторами**, а сами ядрышки представлялись как структурное выражение хромосомной активности



По данным цитохимических и биохимических исследований основным компонентом ядрышка является белок: на его долю приходится до 70-80% от сухого веса. Такое большое содержание белка и определяет высокую плотность ядрышек. Кроме белка в составе ядрышка обнаружены были нуклеиновые кислоты: РНК (5-14%) и ДНК (2-12%).

Встречаются во всех эукариотических клетках.

К таким исключениям относятся клетки дробящихся яиц, где ядрышки отсутствуют на ранних этапах эмбриогенеза, или клетки, закончившие развитие и необратимо специализировавшиеся как, например, некоторые клетки крови.

Число и размеры ядрышек в клетках непостоянны.

Локализация ядрышковых организаторов определяется довольно точно на митотических хромосомах с помощью окраски солями серебра, которые имеют специфическое сродство к некоторым ядрышковым белкам. Более точным является определение ядрышковых организаторов с помощью метода молекулярной гибридизации *in situ*.

Чаще всего в клетках количество ядрышек меньше, чем число ядрышковых организаторов. Это связано с тем, что при новообразовании ядрышек они могут сливаться друг с другом в одну общую структуру, т.е. могут объединяться в пространстве интерфазного ядра отдельные ядрышковые организаторы разных хромосом.

т.е. ядрышковые организаторы представляют собой полицистронные участки, содержащие множество одинаковых генов (полиизогенные участки). Следовательно, рибосомные гены собраны вместе в группы или кластеры.



Серебрение ядрышек

амплификации генов рРНК

амплификация рДНК, происходит в профазе I деления созревания, когда синтез хромосомной ДНК давно закончен. В этом случае количество амплифицированной рДНК (или генов рРНК) становится в 3000 раз больше того, что приходится на гаплоидное количество рДНК, и соответствует $1,5 \times 10^6$ генов рРНК. Эти сверхчисленные внехромосомные копии и образуют сотни дополнительных ядрышек в растущих ооцитах. В среднем же на одно дополнительное ядрышко приходится несколько сот или тысяч генов рРНК.

Биологический смысл появления сверхчисленных экстрахромосомных ядрышек при росте ооцитов совершенно понятен: для синтеза огромного количества запасных продуктов, которые будут использованы на ранних стадиях эмбриогенеза, необходимо соответственно огромное количество рибосом, которые могут быть в клетке синтезированы на дополнительных матрицах этих многочисленных амплифицированных ядрышек. После периода созревания ооцита при его двух последовательных делениях эти дополнительные ядрышки в состав митотических хромосом не входят, они отделяются от новых ядер и деградируют. Следовательно, амплификация рДНК в ооците представляет собой временное явление, не сказывающееся на постоянстве генома.

Структура ядрышка

Структурные типы ядрышек

Ядрышко

Ядрышко представляет собой сферическую структуру богатыю рРНК и белком.

При окраске гематоксилином и эозином ядрышко имеет базофильную окраску.

Ядрышко включает в себя:

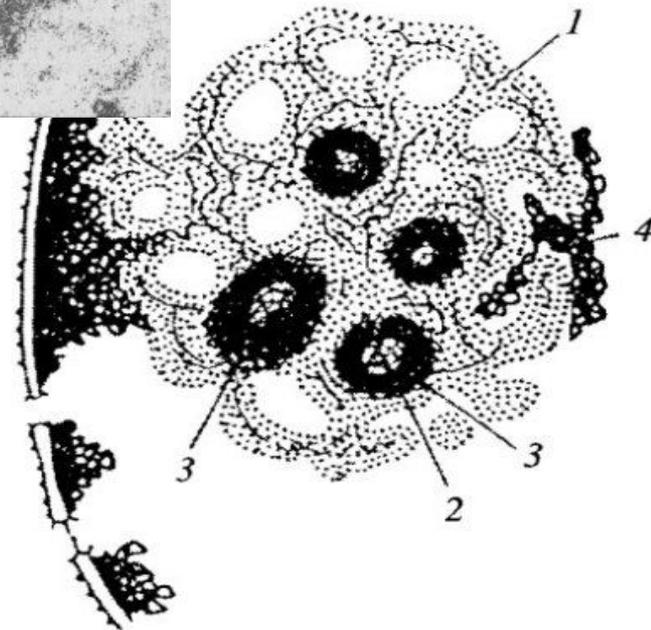
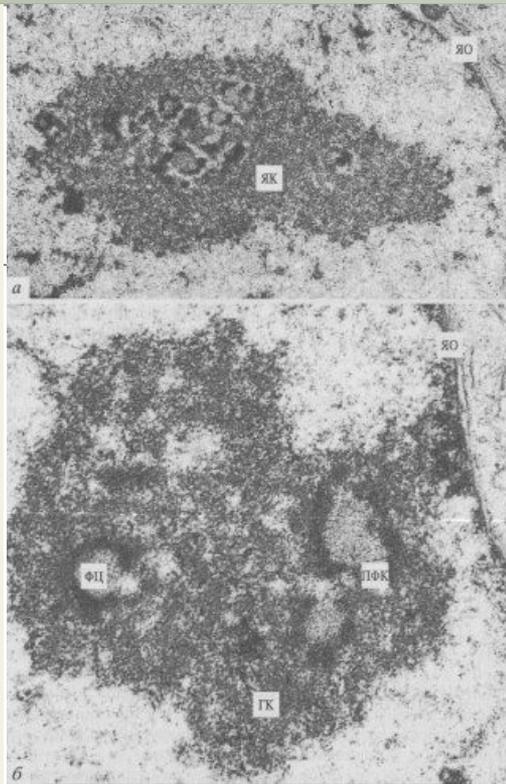
ДНК ядрышковых организаторов – бледноокрашенные участки, представляют собой последовательности оснований, которые кодируют рРНК. В геноме человека ядрышковые организаторы есть в 5 парах хромосом.

Волокнистая (фиброзная) часть ядрышка – плотноупакованные нити тесно связанные с ядрышковым организаторами – нити рибонуклеопротеинов диаметром от 5 до 10 нм. Состоит из первичных транскриптов генов рРНК.

Зернистая, или гранулярная часть – состоит из гранул диаметром от 15 до 20 нм – созревающие рибосомы. В ядрышке белки, синтезированные в цитоплазме, связываются с молекулами рРНК, образуя субъединицы рибосом затем мигрируют в цитоплазму.

С ядрышком тесно связан гетерохроматин, ассоциированный с ядрышком.

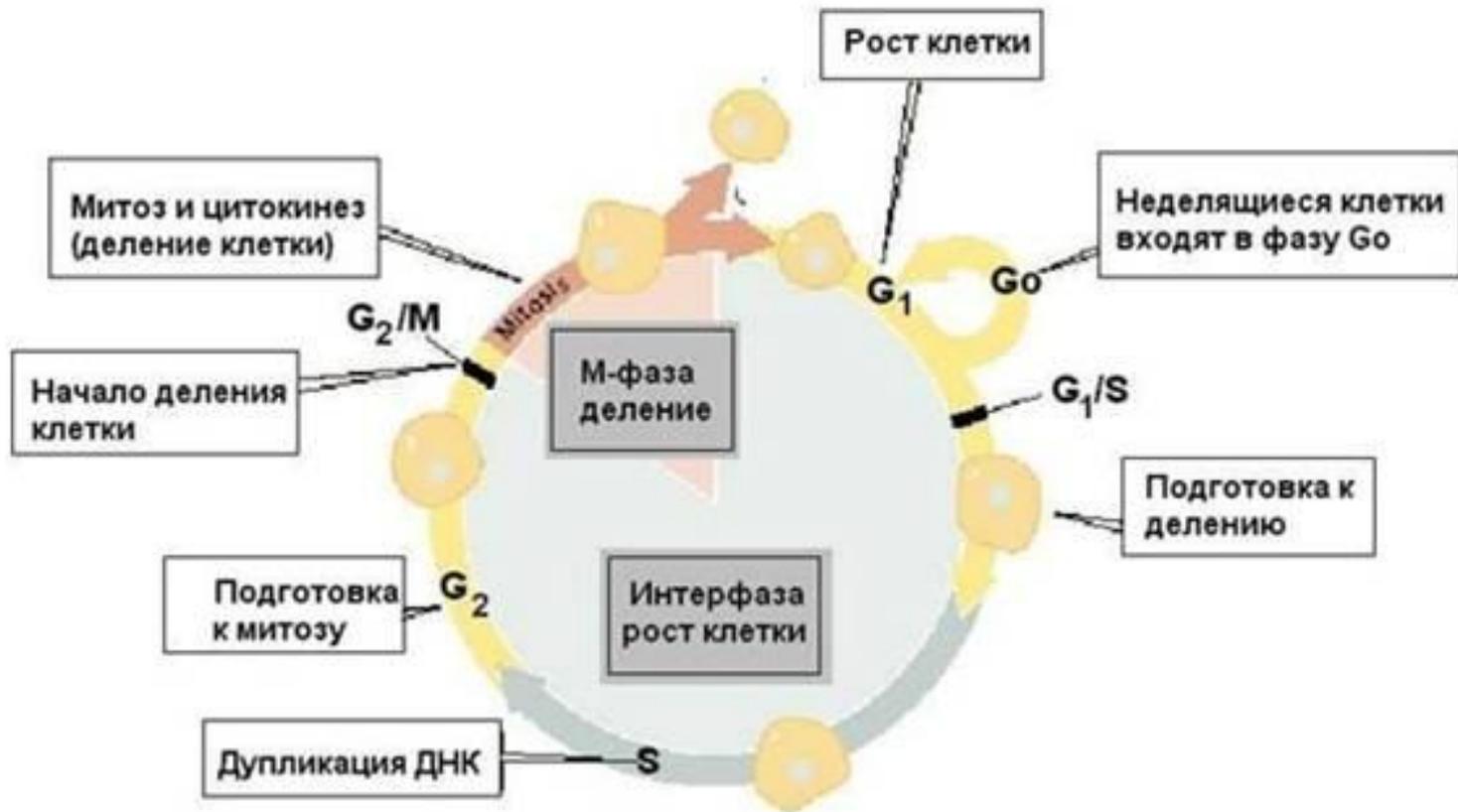
Синтез и модификация молекул рРНК происходит внутри ядра, а в ядрышке молекулы связываются с белками и организуются в малую и большую субъединицу.



Клеточный цикл, Митоз, Мейоз

Клеточный цикл

Клеточный цикл – это период жизнедеятельности клетки от конца одного деления до конца следующего. Клеточный цикл состоит из интерфазы и деления клетки (митоз).



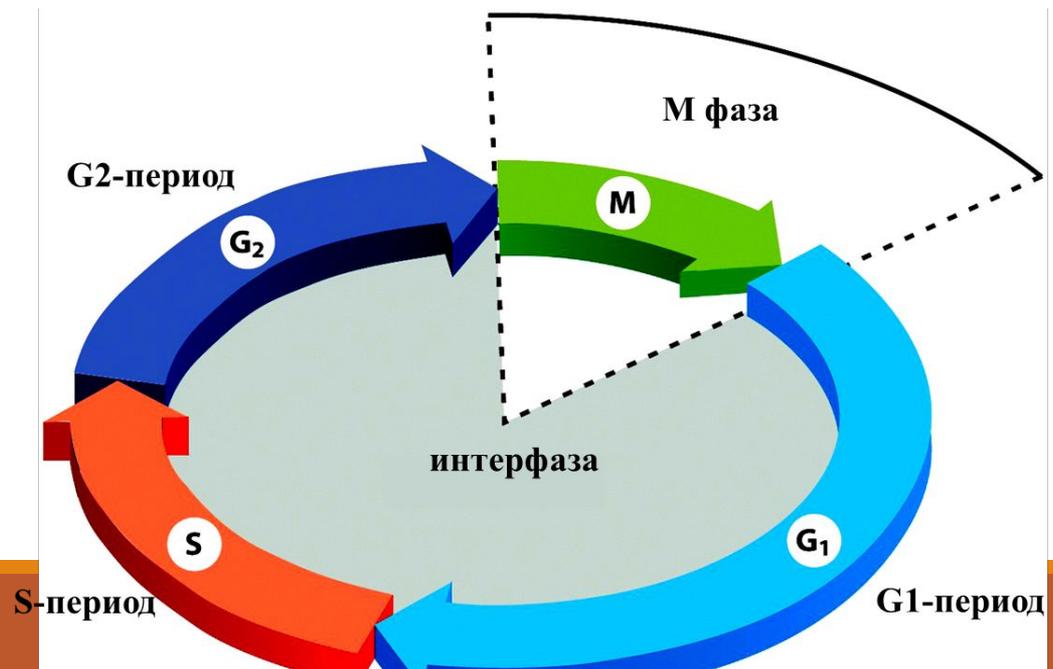
Клеточный цикл включает строго детерминированный ряд последовательных процессов, согласно позиции Hartwella, 1995. **Клетка должна между двумя последовательными делениями удвоить все свои компоненты и свою массу.** Таким образом клеточный цикл составляют два периода:

1) период клеточного роста, называемый "интерфаза",

- G1 фаза (от англ. *gap*, то есть интервал) – (пресинтетический)
- S фаза (от *synthesis*) – (синтетический)
- G2 фаза (от англ. *gap*, то есть интервал) – (постсинтетический)

2) период клеточного деления, называемый "фаза М" (от слова *mitosis*). В свою очередь, в каждом периоде выделяют несколько фаз.

- Профаза
- метафаза
- Анафаза
- Телофазу
- Цитокинез

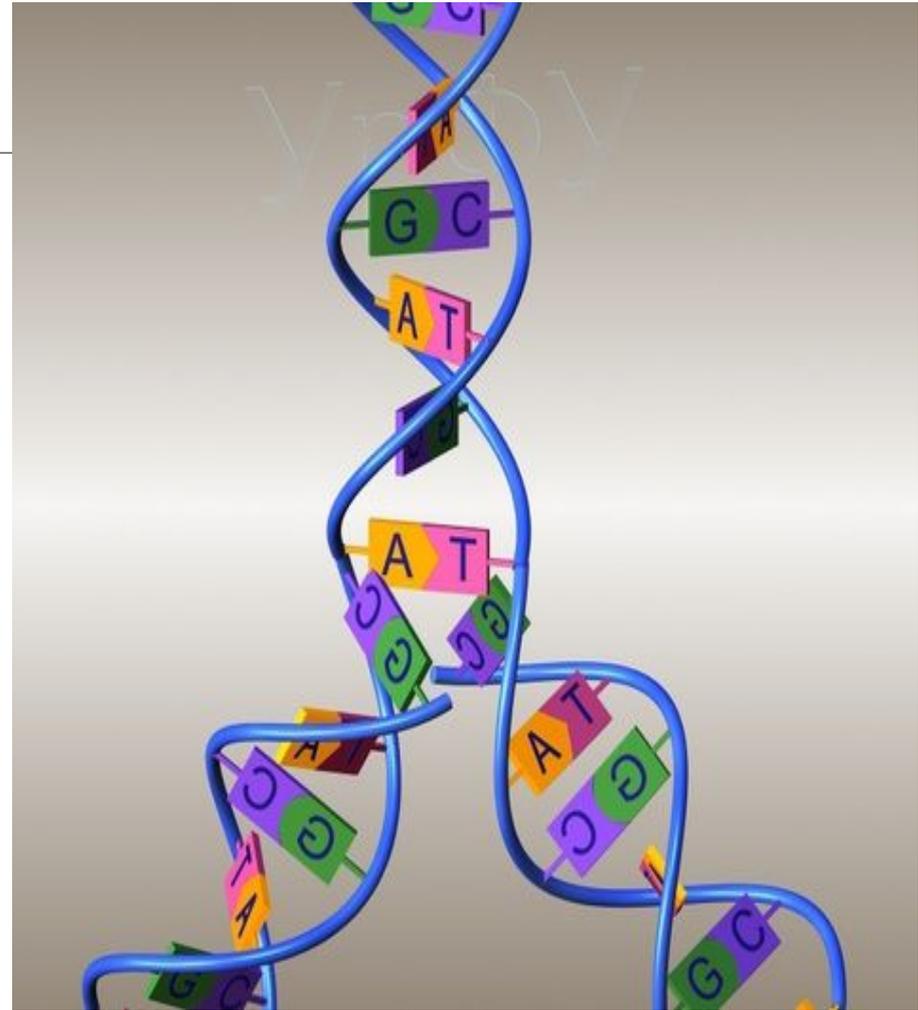


Интерфаза: период G_1 (пресинтетический)

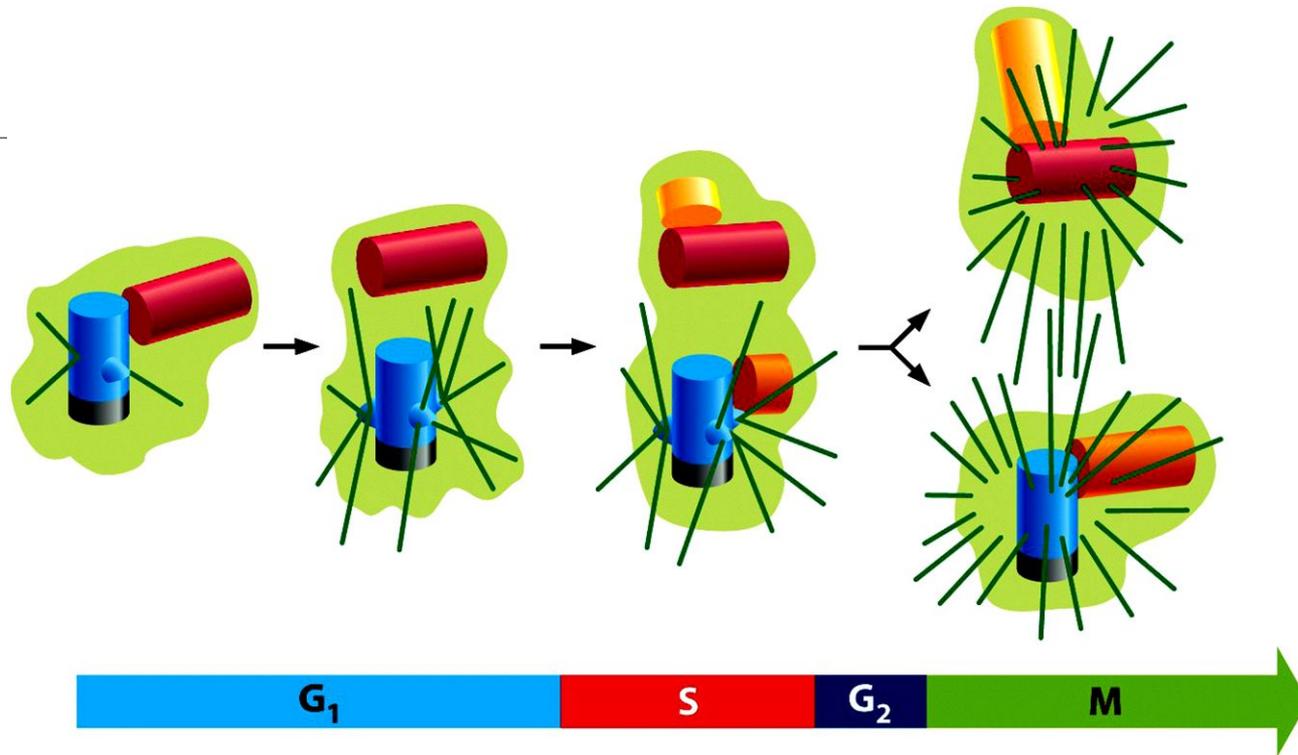
- Пресинтетический период G_1 наступает сразу после деления клетки. В этом периоде клетка имеет диплоидное содержание ДНК на одно ядро, т.е. в клетке содержится двойной набор хромосом. Генетический материал пребывает в виде слабо спирализованных цепей ДНК или хроматина. В пресинтетическом периоде генетический материал клетки не копирован и клетка только начинает подготовку к репликации ДНК.
- В периоде G_1 клетка начинает расти и увеличиваться в размерах за счет накопления клеточных белков. Также клетка синтезирует мРНК.
- Таким образом, клетка готовится к синтезу ДНК и последующему митозу.
- На развитие клетки в периоде G_1 и других фазах могут влиять факторы роста: температура, питательные вещества, пространство для роста. Нормальный синтез мРНК и белков происходит за счет достаточного количества аминокислот. А продуктивный рост клеток обеспечивает нормальная физиологическая температура тела.
- Клетка готова к переходу в следующую фазу после достижения ею определенных размеров и синтеза всех необходимых белков.
- **Продолжительность от 10 часов до нескольких суток**

Интерфаза: период S (синтез ДНК)

В периоде S происходит репликация (синтез или копирование) ДНК. Точность синтеза ДНК важна для предотвращения появления генетических аномалий, которые ведут к нарушению работы клетки или ее гибели. Поэтому регуляторные процессы периода S клеточного цикла очень консервативны. В течение периода S интенсивно синтезируются РНК и белки, которые связаны с ДНК. Они необходимы для строения новой хроматиды. Осуществляют синтез этих белков, свободные рибосомы, которые не связаны с эндоплазматической сетью. Репликация ДНК начинается в конкретных участках, которые называются *ori*. Синтез распространяется от точек *ori* в две стороны по нитям ДНК.



Продолжительность от 6 до 10 часов

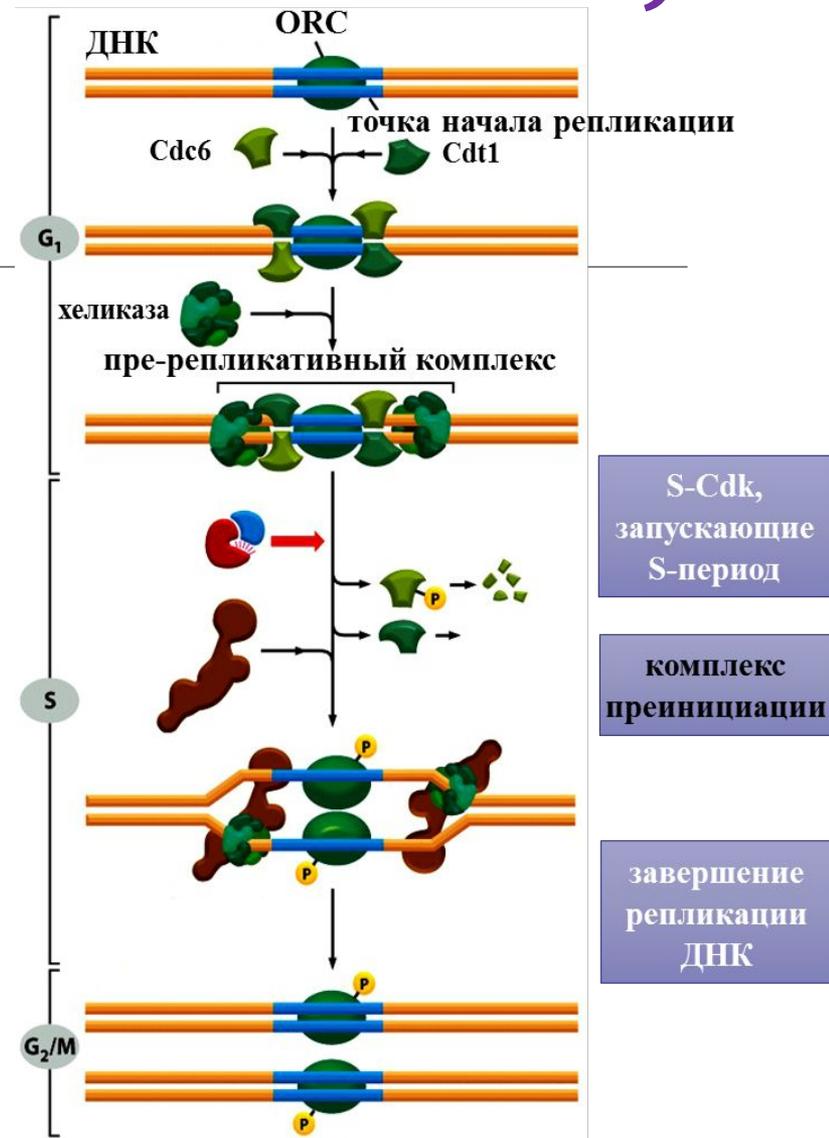


Кроме репликации ДНК, в периоде S также происходит удвоение центриолей клеточного центра. Материнская центриоль строит в клетке новую центриоль, дочернюю. Материнская центриоль задействована в сборке микротрубочек.

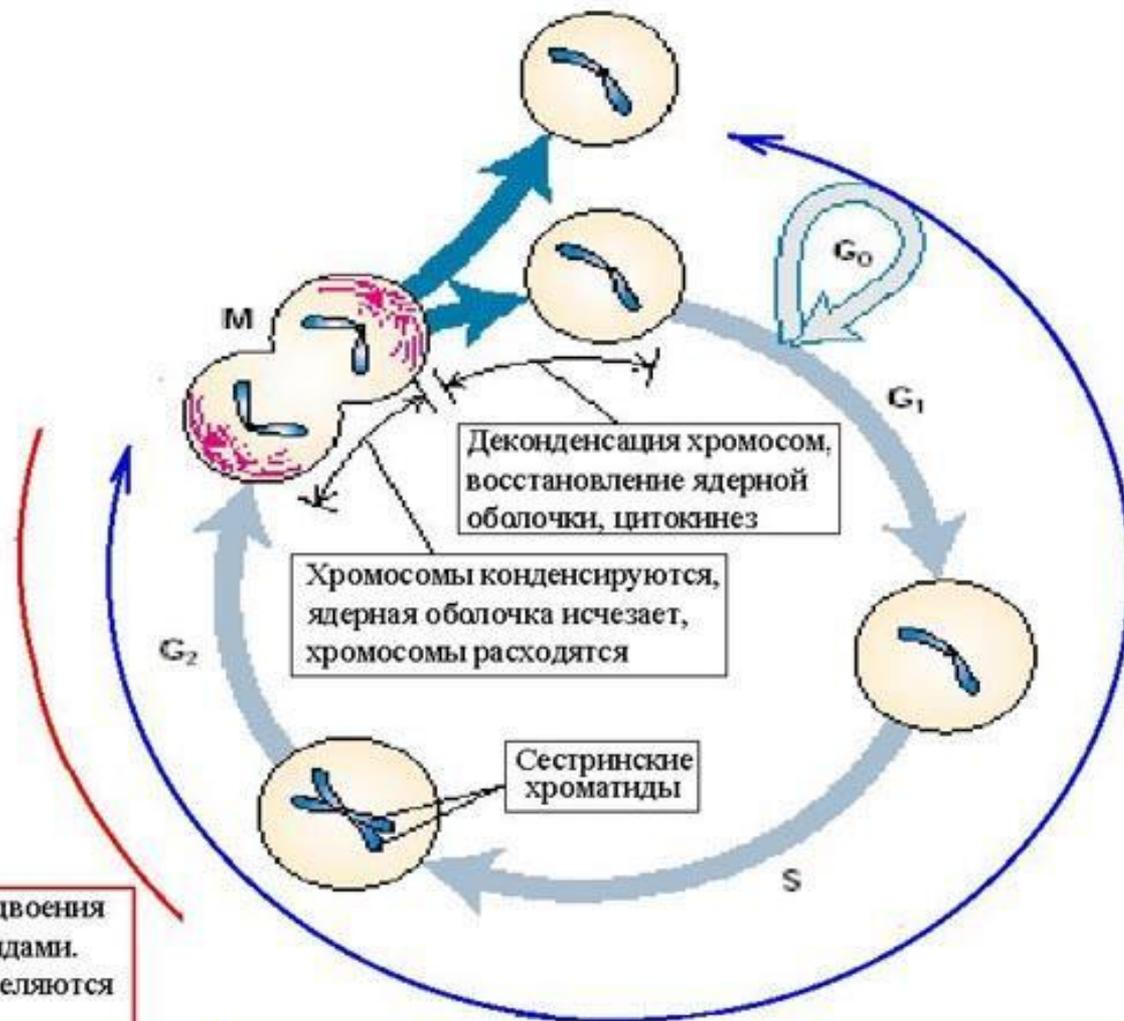
Интерфаза: период G_2 (постсинтетический)

Окончание стадии S является началом стадии G_2 .

Постсинтетический период – это финальная стадия интерфазы клеточного цикла. В этом периоде происходит интенсивное деление митохондрий и процессы биосинтеза, а также концентрация энергетических запасов. В периоде G_2 синтезируется иРНК, необходимая для прохождения митоза. Также синтезируется РНК рибосом, которые определяют деление клетки. Кроме того, в это же время синтезируются белки митотического веретена - тубулина. Синтез РНК резко снижается в конце периода G_2 и полностью прекращается во время митоза. Перед митозом в конце периода G_2 происходит окончательная проверка размеров клетки, полнота репликации и целостности ДНК.



Самый короткий период интерфазы: от 3 до 6 часов



Деконденсация хромосом, восстановление ядерной оболочки, цитокнез

Хромосомы конденсируются, ядерная оболочка исчезает, хромосомы расходятся

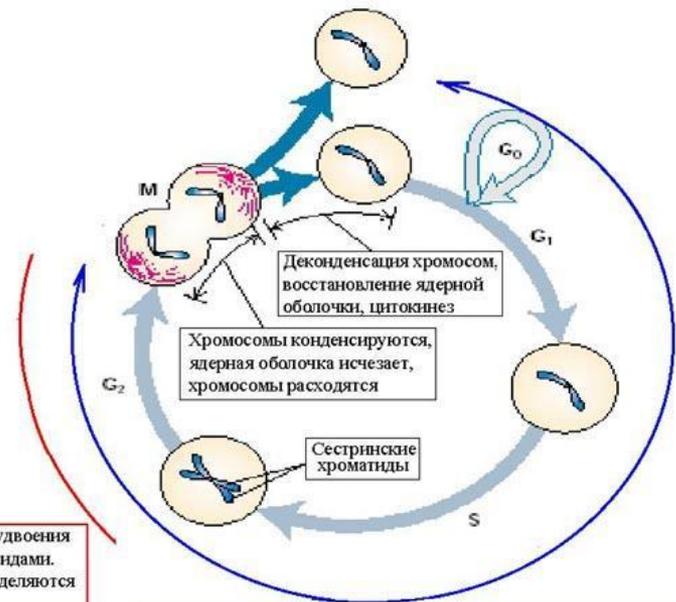
Сестринские хроматиды

Хромосомы после удвоения называются хроматидами. Пары хроматид разделяются во время митоза

Фазы G_1 , S , G_2 вместе называются интерфазой (состояние между делениями клетки)

Фаза репликации количества ДНК (S –фаза)

При подготовке к делению происходит удвоение молекул ДНК, на каждой хромосоме синтезируется ее копия. Пока эти хромосомы после удвоения не расходятся, каждая хромосома в этой паре называется хроматидой. После репликации ДНК конденсируется, хромосомы приобретают более компактную укладку, и в таком состоянии их можно увидеть в световом микроскопе.



Хромосомы после удвоения называются хроматидами. Пары хроматид разделяются во время митоза

Фазы G₁, S, G₂ вместе называются интерфазой (состояние между делениями клетки)

Постсинтетический период (G 2 фаза)

В этот период происходит активное накопление энергии и ферментов, необходимых для последующего деления ($2n4c$). После G2-фазы наступает не прямое деление клетки или митоз.

МИТОЗ

Митоз (от греч. mitos - нить) - деление ядра, следующее за репликацией хромосом, в результате чего дочерние ядра содержат то же число хромосом, что и родительские. Этот вид деления клеток был впервые описан немецким гистологом В. Флемингом в 1882 г., который наблюдал возникновение и описал поведение нитчатых структур в ядре в период деления. При митотическом делении ядро клетки претерпевает ряд строго упорядоченных последовательных изменений с образованием специфических нитчатых структур.

В митозе выделяют несколько фаз:

- профазу,
- метафазу,
- анафазу ,
- телофазу.

Профаза

В начале профазы многочисленные цитоплазматические микротрубочки, входящие в состав цитоскелета, распадаются; при этом образуется большой пул свободных молекул тубулина.

Эти молекулы вновь используются для построения главного компонента митотического аппарата - митотического веретена.

Каждая пара центриолей становится частью митотического центра, от которого лучами расходятся микротрубочки (фигура "звезда"). Вначале обе звезды лежат рядом около ядерной мембраны.

В поздней профазе пучки полюсных микротрубочек, взаимодействующие друг с другом (и видимые в световой микроскоп как полюсные нити), удлиняются и как будто расталкивают два митотических центра друг от друга вдоль наружной поверхности ядра (. Таким способом образуется биполярное митотическое веретено.

В этот период можно наблюдать двойную природу хромосом, т.к. каждая хромосома выглядит продольно удвоенной, состоит из двух хроматид (4c).

Эти половинки хромосом, называемые сестринскими хроматидами, удерживаются вместе одним общим участком – центромерой (2n). Начинается расхождение центриолей к полюсам и образование веретена деления (2n4c).



Метафаза

Эта стадия митоза часто продолжается длительное время. Все хромосомы располагаются таким образом, что их центромеры лежат в одной плоскости (метафазная пластинка). На этой стадии хромосомы имеют самую малую длину, поскольку в это время они наиболее сильно спирализованы и конденсированы.

Эта стадия наиболее пригодна для подсчета числа хромосом в клетке, изучения и описания их строения, определения размеров и т.д.

Каждая хромосома удерживается в метафазной пластинке парой кинетохоров и двумя пучками связанных с ними нитей, идущих к противоположным полюсам веретена. Метафаза резко оканчивается разделением двух кинетохоров каждой хромосомы ($2n4c$).

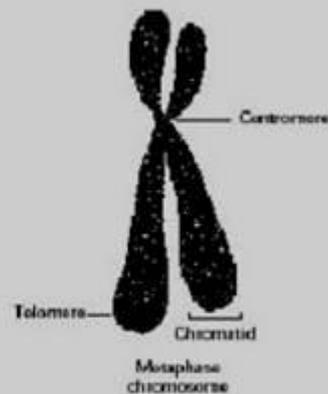


Митотические хромосомы

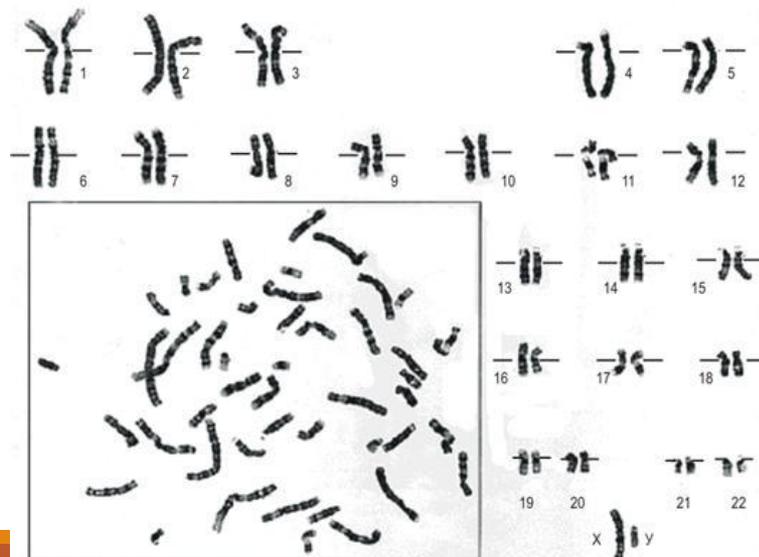


Митотическая
пластинка

G₁



Митотическая хромосома
состоит из двух хроматид



Анафаза

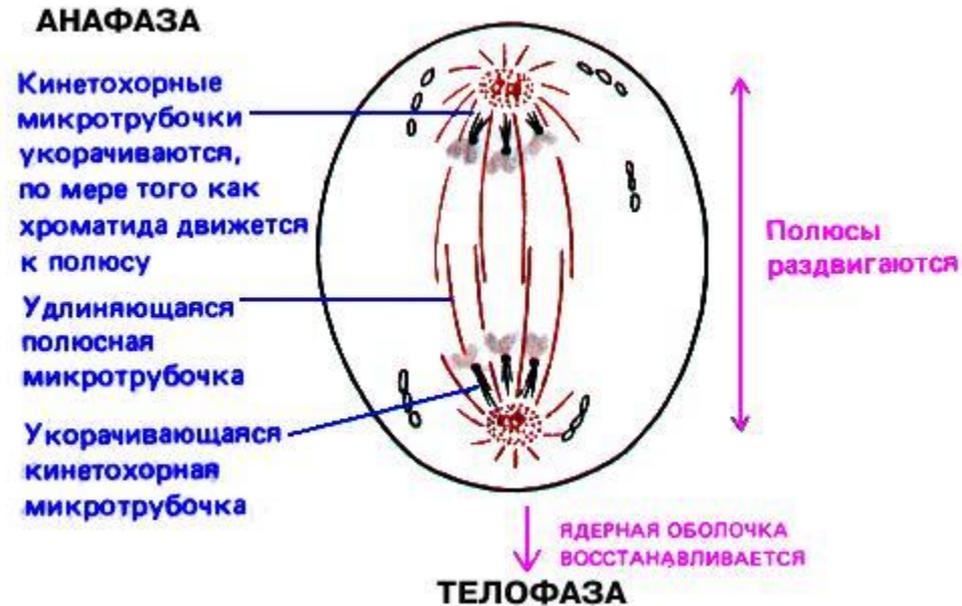
Продолжается обычно всего несколько минут. Анафаза начинается внезапным расщеплением каждой хромосомы, которое обусловлено разделением сестринских хроматид в точке их соединения в центромере. С этого момента сестринские хроматиды можно называть дочерними хромосомами, т.к. каждая из них имеет свою центромеру - п.

Это расщепление, разделяющее кинетохоры, не зависит от других событий митоза и происходит даже в хромосомах, не прикрепленных к митотическому веретену; оно позволяет полярным силам веретена, действующим на метафазную пластинку, начать перемещение каждой хроматиды к соответствующим полюсам веретена со скоростью порядка 1 мкм/мин.

Во время этого анафазного движения кинетохорные нити укорачиваются по мере того, как хромосомы приближаются к полюсам.

Примерно в это же время удлиняются нити митотического веретена и два полюса веретена расходятся еще дальше.

Этим обеспечивается согласованное и точное распределение хромосомного



Телофаза

В заключительной стадии митоза телофазе разделенные дочерние хроматиды подходят к полюсам, кинетохорные нити исчезают.

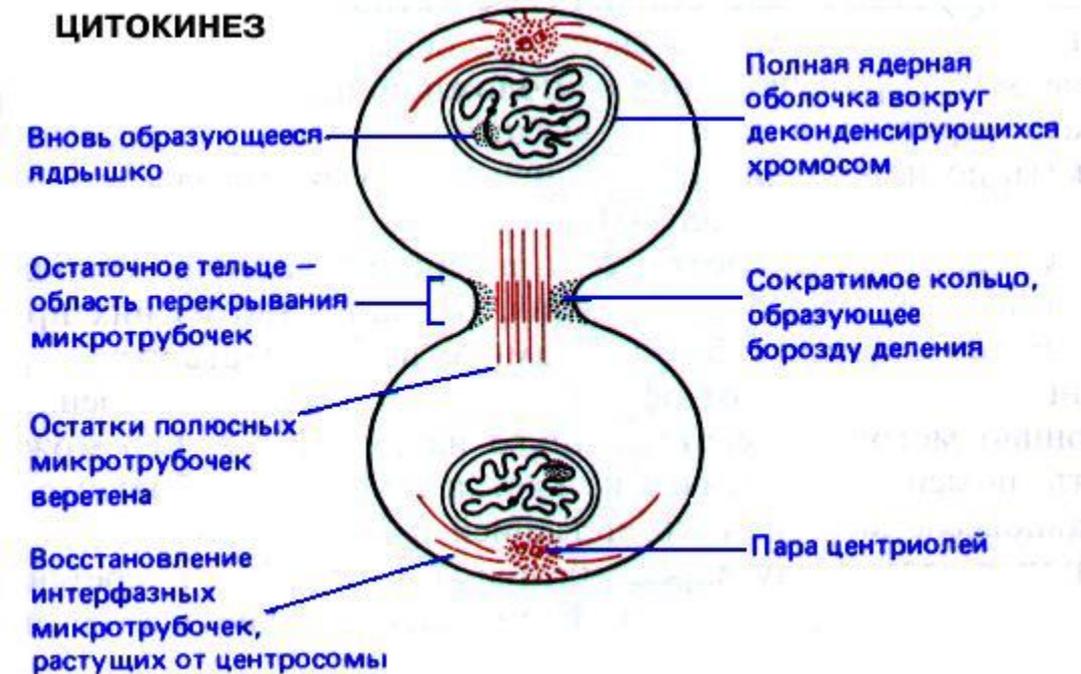
После удлинения полюсных нитей вокруг каждой группы дочерних хроматид образуется новая ядерная оболочка. Конденсированный хроматин начинает разрыхляться, появляются ядрышки, и митоз заканчивается:



Цитокинез

Процесс деления цитоплазмы – цитокинез, проходит под действием сократимого кольца и начинается обычно в поздней анафазе или телофазе.

Мембрана в средней части клетки (между двумя дочерними ядрами) начинает втягиваться внутрь в плоскости метафазной пластинки под прямым углом к длинной оси митотического веретена; образуется борозда деления, которая постепенно углубляется, пока не дойдет до узкого остатка веретена, расположенного между двумя дочерними ядрами. Этот мостик называется "остаточное тельце". Оно может существовать некоторое время, после чего сужается, а затем полностью разрушается, в результате чего образуются две



В животных клетках биосинтез вещества мембран непосредственно перед делением увеличивается. Новая мембрана, по-видимому, хранится на поверхности клетки в виде пузырей.

Таким образом, происходит симметричное разделение тела клетки с формированием двух независимых клеток ($2n2c$), каждая из которых вступает в период G1 интерфазы. И цикл повторяется снова.

Мейоз

При половом размножении растений и животных (в том числе и человека) преемственность между поколениями обеспечивается только через половые клетки – яйцеклетку и сперматозоид.

Если бы яйцеклетка и сперматозоид обладали полным набором генетических характеристик ($2n2c$), свойственных клеткам тела, то при слиянии образовывался организм с удвоенным набором ($4n4c$).

Например, в соматических клетках организма человека содержится 46 хромосом.

Если бы яйцеклетка и сперматозоид человека содержали по 46 хромосом, то при их слиянии образовалась бы зигота с 92 хромосомами. В следующем поколении проявились бы потомки со 184 хромосомами и т.д.

При первом делении мейоза каждая дочерняя клетка наследует две копии одного из двух гомологов и поэтому содержит диплоидное количество ДНК.

Образование гаплоидных ядер гамет происходит в результате второго деления мейоза, при котором хромосомы выстраиваются на экваторе нового веретена и без дальнейшей репликации ДНК сестринские хроматиды отделяются друг от друга, как при обычном митозе, образуя клетки с гаплоидным набором ДНК.

Таким образом, мейоз состоит из двух клеточных делений, следующих за единственной фазой удвоения хромосом, так что из каждой клетки, вступающей в мейоз, получаются в итоге четыре гаплоидные клетки.

В результате первого деления происходит уменьшение числа хромосом в ядре ровно в два раза. Именно поэтому первое деление мейоза иногда называется редукционным, т.е. уменьшающим. Второе деление мейоза в основных чертах повторяет митоз и носит название эквационного (уравнительного) деления. Мейоз состоит ряда последовательных фаз, в которых хромосомы претерпевают специфические изменения. Фазы, относящиеся к первому делению, обозначаются римской цифрой I, а относящиеся ко второму – цифрой II.

В каждом делении мейоза по аналогии с митозом различают профазу, метафазу, анафазу и телофазу. К первому делению относят изменения ядра от профазы I до телофазы I.

Профаза I

Эта фаза состоит из пяти основных стадий:

- Лептотены,
- Зиготены,
- Пахитены,
- Диплотены,
- Диакинез

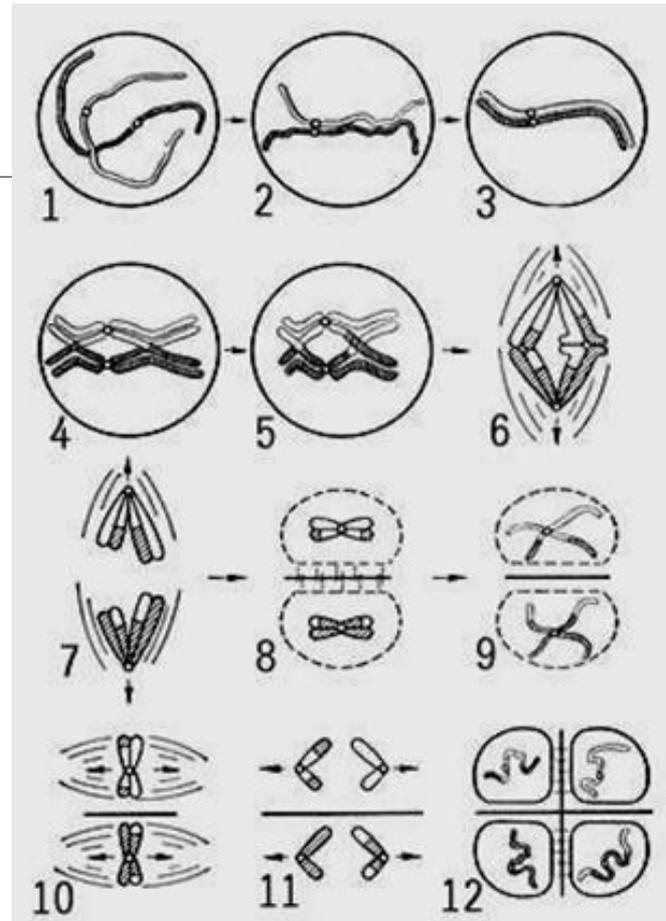


Схема мейоза: 1 — лептотена; 2 — зиготена; 3 — пахитена; 4 — диплотена; 5 — диакинез; 6 — метафаза I; 7 — анафаза I; 8 — телофаза I; 9 — интеркинез; 10 — метафаза II; 11 — анафаза II; 12 — телофаза II.

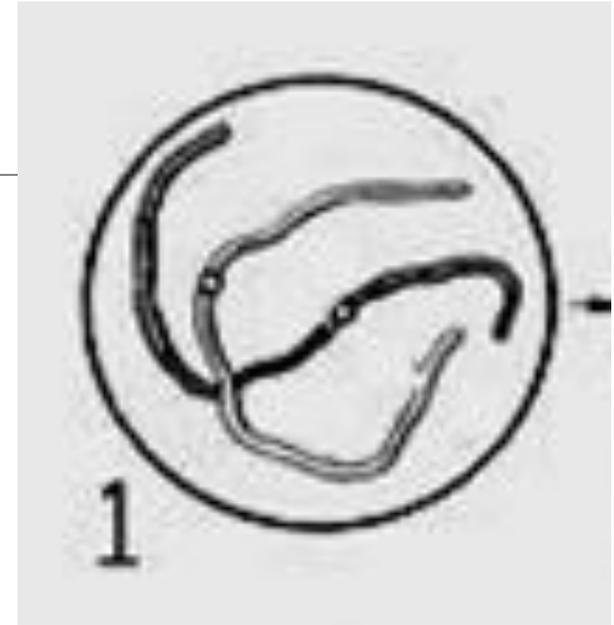
Лептотена

Каждая хромосома, изменив свою интерфазную конформацию, переходит в конденсированную форму, образуя длинное, тонкое волокно с белковой осевой нитью.

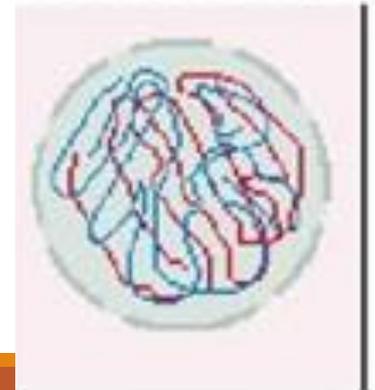
Каждая хромосома обоими концами прикреплена к ядерной мембране с помощью специализированной структуры, называемой прикрепительным диском.

Хотя каждая хромосома уже реплицировалась и состоит из двух сестринских хроматид, эти хроматиды очень тесно сближены, и поэтому каждая хромосома кажется одиночной (отдельные хроматиды не различимы вплоть до поздней профазы - до стадии диплотены или диакинеза).

Число видимых в световом микроскопе равно диплоидному числу хромосом. Двойственное строение хромосомных нитей (сестринские хроматиды) постепенно выявляется по мере усиления спирализации ($2n4c$).



Лептотена

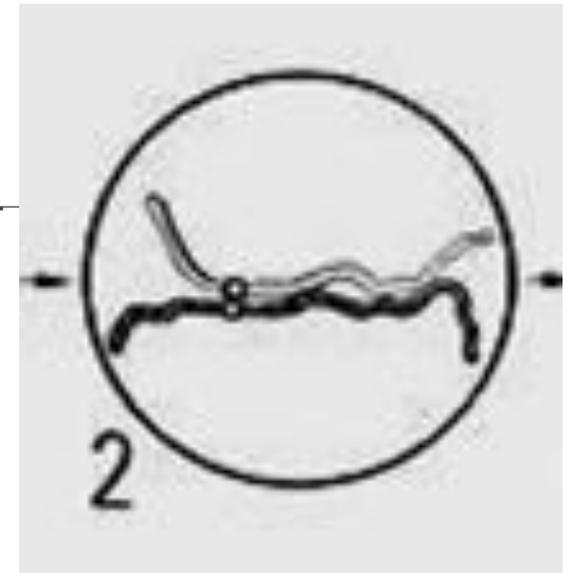


Зиготена

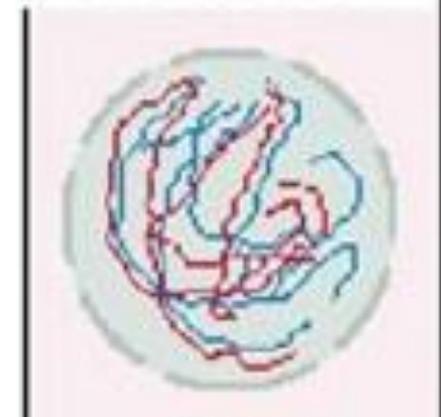
Зиготена - стадия спаривания хромосом. Моментом перехода лептотены в зиготену считают начало синапсиса - тесной конъюгации двух гомологов.

Перед конъюгацией хромосом белковые нити отделены друг от друга, затем они сближаются и, когда в одном или нескольких местах инициации синапсиса между хромосомами установится надлежащее расстояние, начинает формироваться синаптонемальный комплекс (часто с конца хромосомы). Хромосомам для спаривания нередко приходится преодолевать огромные расстояния внутри ядра, однако механизм этого движения неизвестен.

Конъюгация часто начинается с того, что гомологичные концы двух хромосом сближаются на ядерной мембране, а затем процесс соединения гомологов распространяется вдоль хромосом от обоих концов. В других случаях синапсис может начинаться во внутренних участках хромосом и продолжаться по направлению к их концам с тем же конечным результатом. Как полагают, каждый ген приходит в соприкосновение с гомологичным ему геном другой хромосомы. Когда гомологи конъюгируют, их белковые нити сближаются, образуя два боковых элемента длинного образования, напоминающего лестницу и называемого синаптонемальным комплексом. Каждую пару хромосом, образовавшуюся в I профазе мейоза, обычно называют бивалентом, но, поскольку каждая гомологичная хромосома пары состоит из двух тесно сближенных сестринских хроматид, для каждой пары больше подходит другое название – тетрада ($2n4c$).



Зиготена



Пахитена

Пахитена - стадия профазы мейоза, на которой спаривание гомологов завершено.

Хромосомы выглядят более толстыми, чем в лептотене и зиготене. Как только завершается синاپсис по всей длине хромосом, клетки вступают в стадию пахитены, на которой они могут оставаться несколько суток.

На этой стадии в продольной щели синаптомемального комплекса появляются крупные рекомбинационные узелки, которым приписывают важную роль в обмене участками между хромосомами.

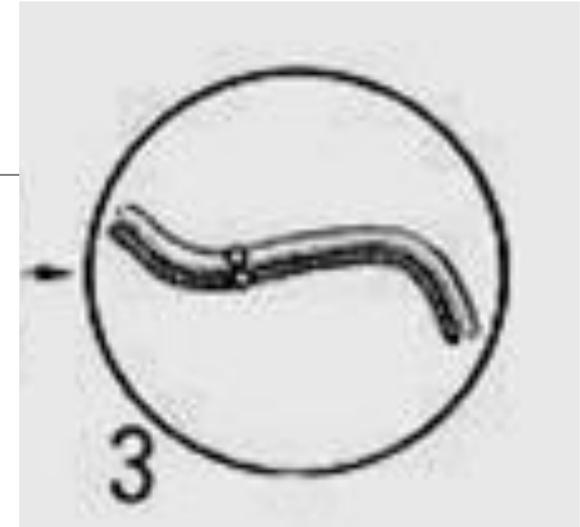
Такие обмены приводят к перекрестам между двумя несестринскими хроматидами: в обменах участвует по одной хроматиде из двух спаренных хромосом. В пахитене перекресты еще не видны, но позднее все они проявляются в виде хиазм ($2n4c$).

Синапсис завершается, когда синаптомемальные комплексы связывают попарно все гомологичные аутосомы. X- и Y- хромосомы конъюгируют не полностью. Происходит кроссинговер между хроматидами.

Кроссинговер это процесс, при котором гомологичные хромосомы обмениваются участками. У человека в каждой паре гомологичных хромосом кроссинговер происходит в среднем в 2 - 3 точках. Кроссинговер может произойти в любом участке хромосомы, даже в нескольких местах одной хромосомы. Чем дальше друг от друга расположены локусы в одной хромосоме, тем чаще между ними следует ожидать перекрест и обмен участками.

При кроссинговере происходит разрыв двойной спирали ДНК в одной материнской и одной отцовской хроматиде, а затем получившиеся отрезки воссоединяются "наперекрест" (процесс генетической рекомбинации).

Рекомбинация происходит в профазе первого деления мейоза, когда две сестринские хроматиды так тесно сближены друг с другом, что их невозможно увидеть в отдельности. Гораздо позже в этой растянутой профазе становятся ясно различимы две отдельные хроматиды каждой хромосомы. В это время видно, что они связаны своими центромерами и тесно сближены по всей длине. Два гомолога остаются связанными в тех точках, где произошел кроссинговер между отцовской и материнской хроматидами. В каждой такой точке, которую называют хиазмой, две из четырех хроматид перекрещиваются. Таким образом, это морфологический результат произошедшего кроссинговера, который сам по себе недоступен для наблюдения.



Пахитена

complexes



Диплотена

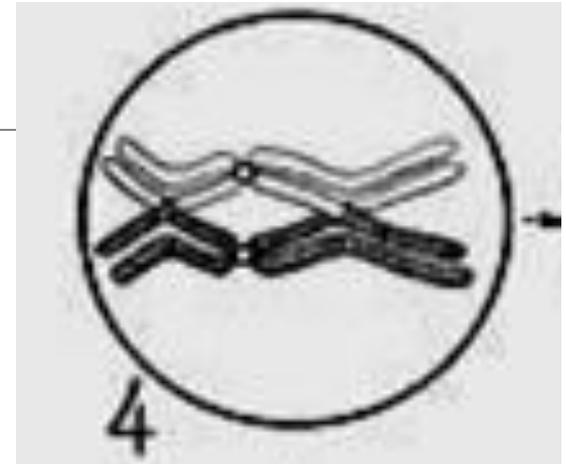
Диплотена - стадия мейоза после пахитены и перед диакинезом. Стадия расхождения хромосом. В диплотене гомологичные хромосомы начинают отталкиваться и остаются связанными только в местах хиазм.

Стадия диплотены в I профазе мейоза начинается с разделения конъюгировавших хромосом, начиная с области центромер. Синаптонемальный комплекс распадается, что позволяет двум гомологичным хромосомам бивалента несколько отодвинуться друг от друга.

Однако они все еще связаны одной или несколькими хиазмами, т.е. местами, где произошел кроссинговер.

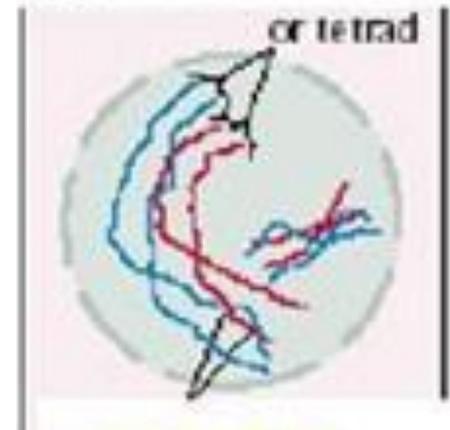
В ооцитах (развивающихся яйцеклетках) диплотена может растянуться на месяцы или годы, так как именно на этой стадии хромосомы конденсируются и синтезируют РНК, обеспечивая яйцеклетку резервными веществами.

В особых случаях диплотенные хромосомы становятся исключительно активными в отношении синтеза РНК, такие хромосомы типа ламповых щеток находят у амфибий и некоторых других организмов.



Диплотена

or tetrad

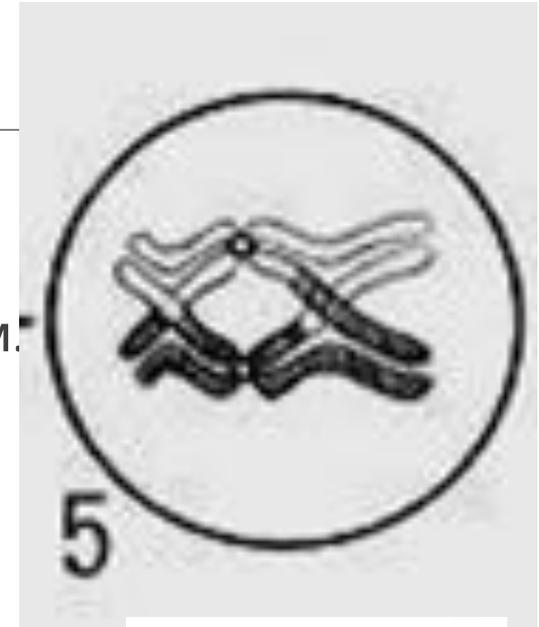


Диакинез

Диакинез - заключительная стадия профазы I. В диакинезе биваленты резко укороченные, утолщенные дочерние хроматиды каждой хромосомы мало заметны.

Хиазмы постепенно смещаются на конец хромосом.

Завершается профазы I разрушением ядерной оболочки, формированием ахроматинового веретена.



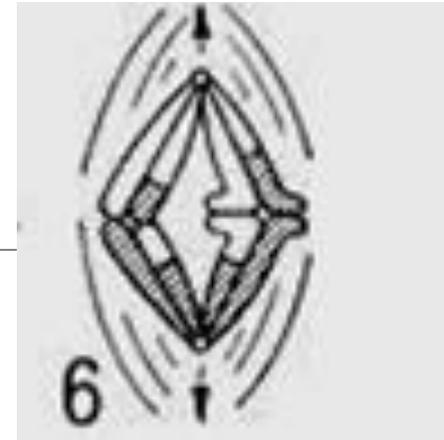
Диакинез





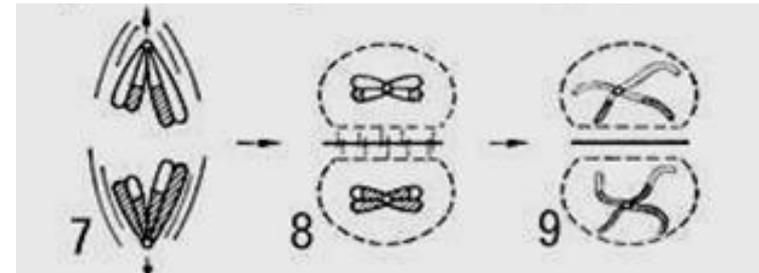
Кроссинговер - обмен частями между гомологичными хромосомами (отцовскими и материнскими) происходит в профазе I мейоза.

Метафаза I. Число бивалентов вдвое меньше от диплоидного набора хромосом. Биваленты значительно менее короткие, чем хромосомы в метафазе соматического митоза, и размещаются в экваториальной плоскости. Центромеры хромосом соединяются с нитями фигуры веретена. В эту фазу мейоза можно подсчитать количество хромосом.



Анафаза I. К противоположным полюсам веретена расходятся гомологичные хромосомы. Каждая из них состоит из двух дочерних хроматид, соединенных своими центромерами. В этом состоит существенное отличие от анафазы митоза.

Телофаза I. Начинается, когда анафазные хромосомы достигли полюсов клетки, на каждом из них находится гаплоидное число хромосом. Характеризуется появлением ядерной мембраны и восстановлением структур ядра. Получаются две дочерних клетки.



Интерфаза (интеркинез) между I и II делением мейоза бывает очень короткой. В отличие от обычной интерфазы здесь отсутствующая репродукция хромосом. Мейоз II происходит по типу обычного митоза.

Профаза II. Эта стадия непродолжительная, хромосомы хорошо заметные.

Метафаза II. Четко определенная двойная структура хромосом и значительную степень их спирализации.

Анафаза II. Происходит расхождения удвоенных центромер, вследствие чего дочерние хроматиды двигаются к разным полюсам.

Телофаза II. Завершается образованием четырех клеток с гаплоидным набором хромосом.

