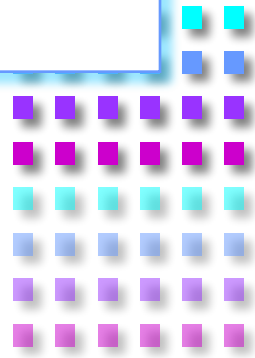


Ядро. Организация генетического материала у эукариот



Эукариотная ДНК

Расположена:

- В ядре
- В митохондриях



Ядерная ДНК

- Длинные линейные молекулы;
- В виде хроматина ↔ хромосом;
- Около 10% ДНК – кодирующая, остальная – некодирующая;
- Активность ядерных генов зависит от:
 - Онтогенетического периода;
 - Типа клетки

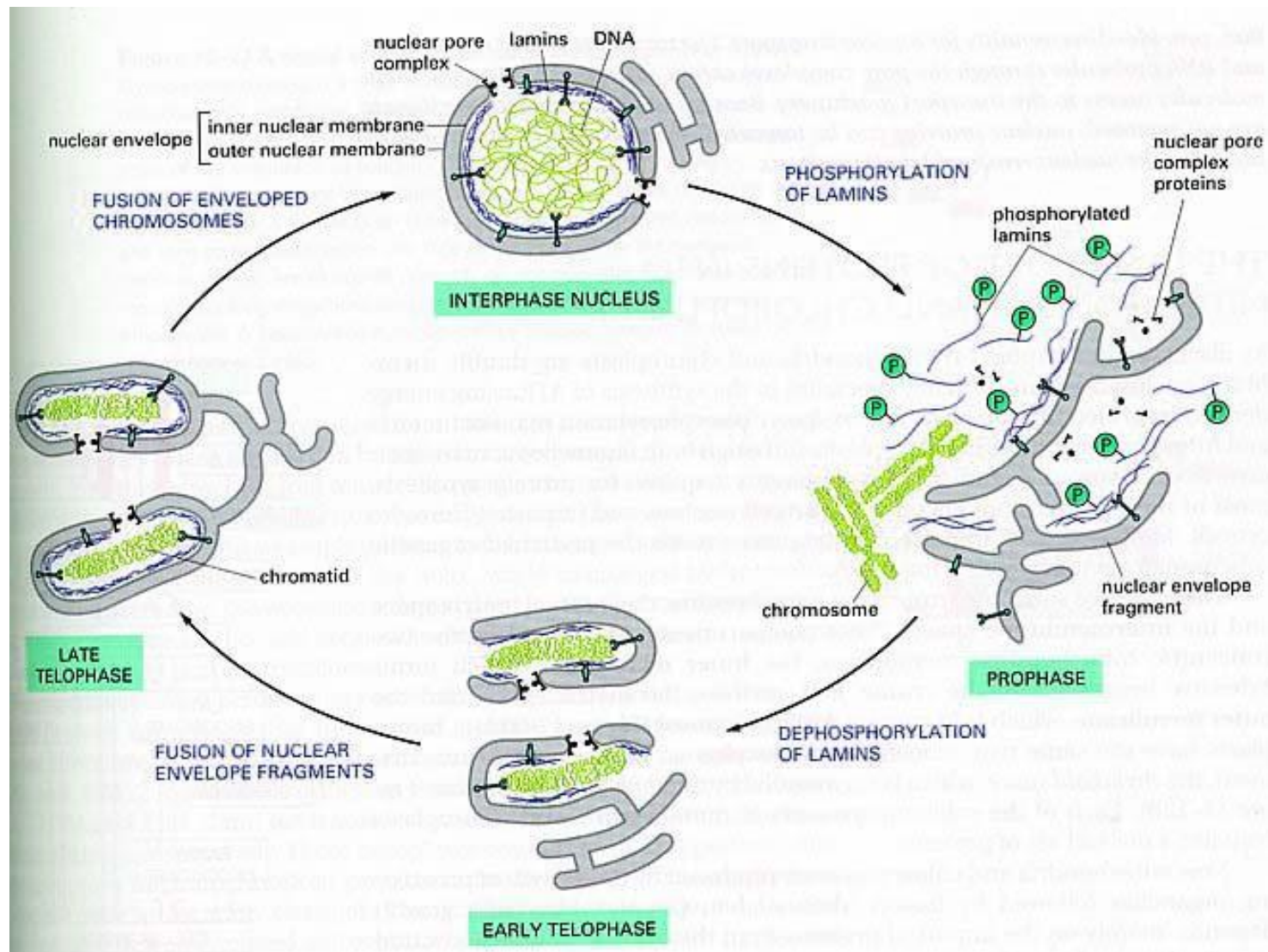


!!! Необходим механизм сохранения GI для оптимальной пространственной и временной активности

Митохондриальная ДНК

- Небольшие кольцевые молекулы
- Количество – от 2-х до 10 в одной митохондрии
- Количество мт-ДНК в клетке зависит от числа митохондрий в ней
- Содержит 99% кодирующих последовательностей
- Наследуется исключительно по материнской линии

Ядро на разных этапах клеточного цикла



Функции ядра

- 1) Хранение и функциональная упаковка ДНК:
Эухроматин – активная ГИ;
Гетерохроматин – неактивная ДНК.
- 2) Контроль жизнедеятельности клетки путем дифференциальной экспрессии генов:
Транскрипция и процессинг РНК.
- 3) Контроль клеточного деления и передачи ГИ от клетки – к клетке:
Репликация ДНК и митоз
- 4) Биогенез рибосом

Строение ядра

1) Ядерная оболочка:

- Внешняя ядерная мембрана
- Внутренняя ядерная мембрана
- Перинуклеарное пространство
- Поровый комплекс
- Ядерная ламина

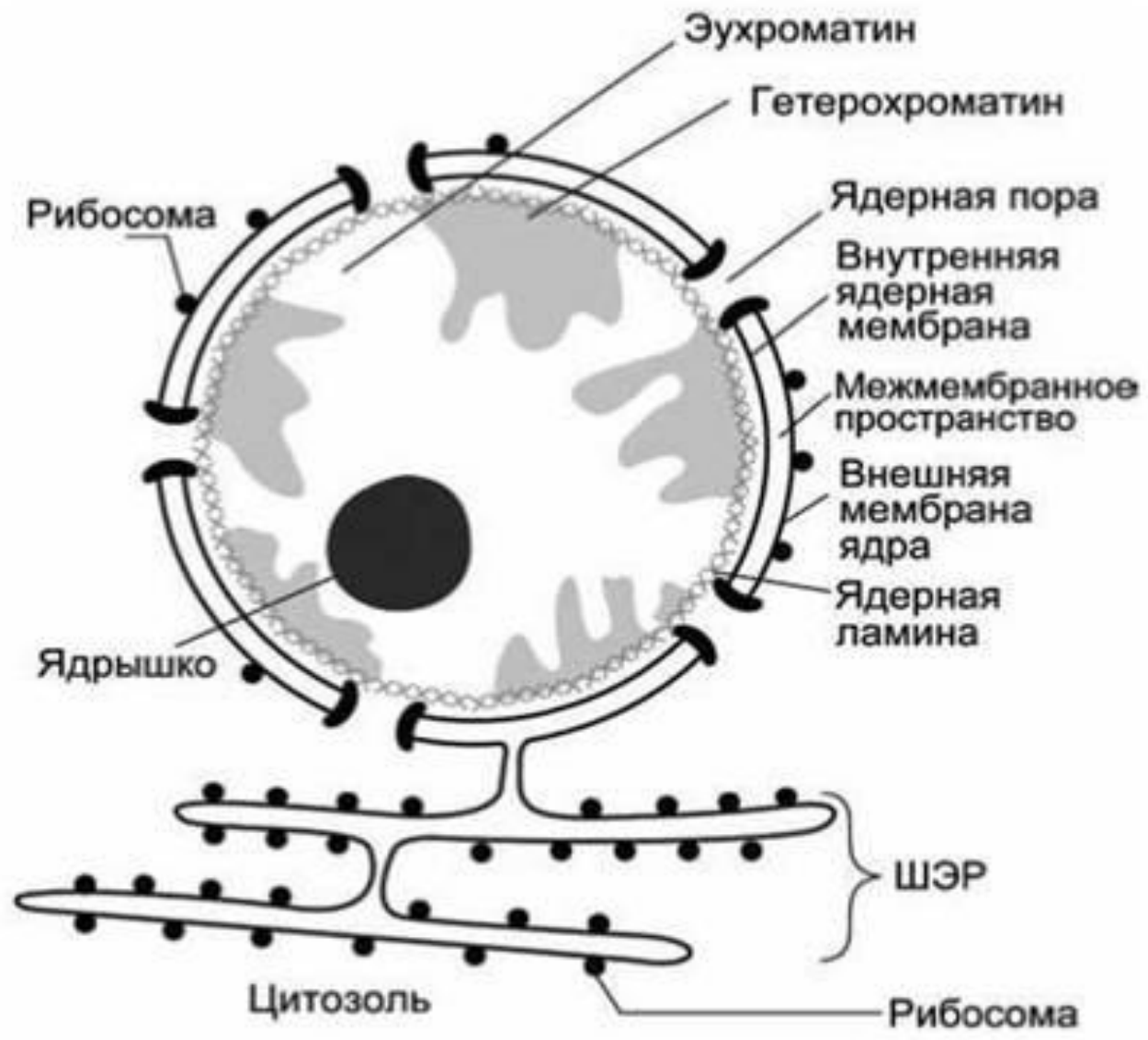
2) Кариоплазма

- Лабильная фаза
- Ядерный матрикс

3) Ядрышки

4) Хроматин

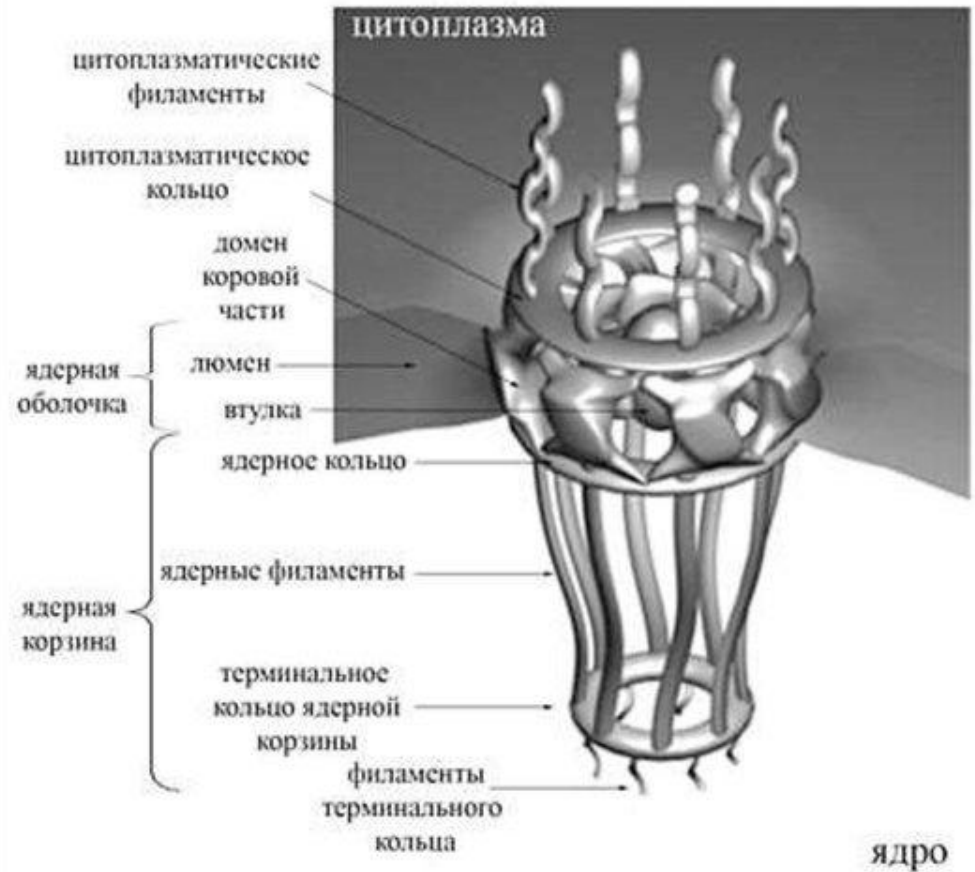
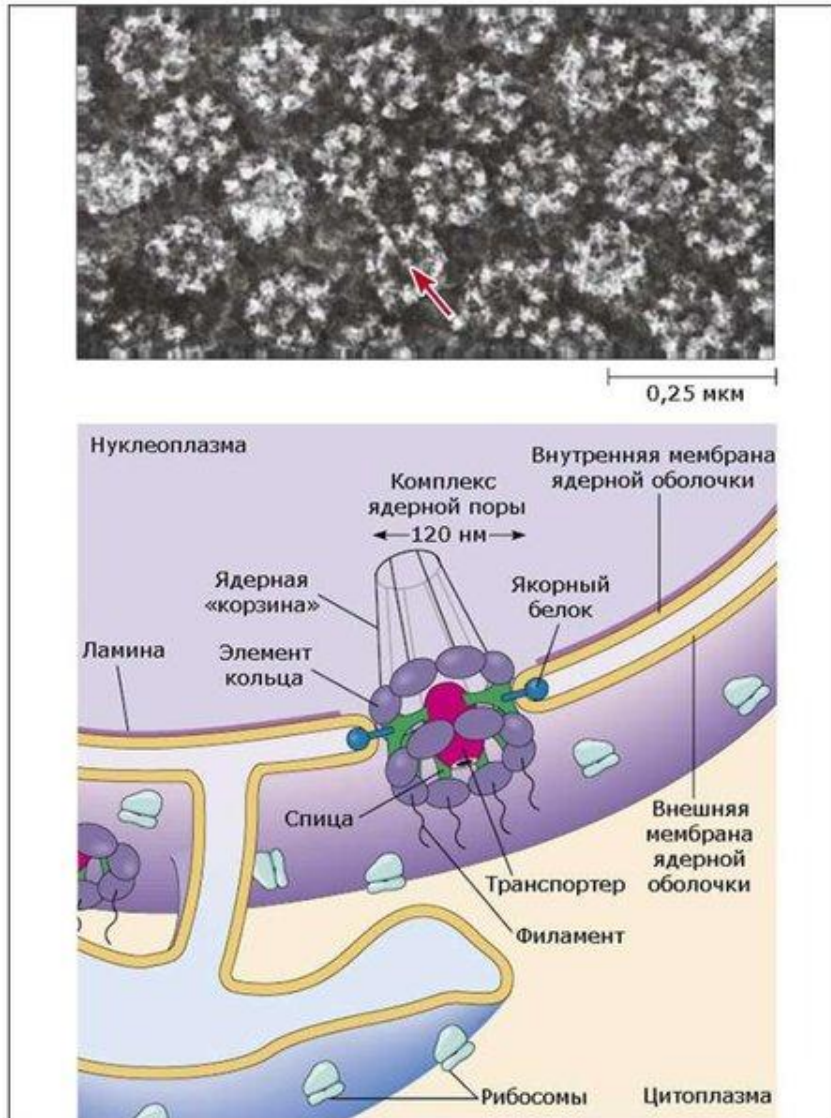
- Эухроматин
- Гетерохроматин



1. Ядерная оболочка

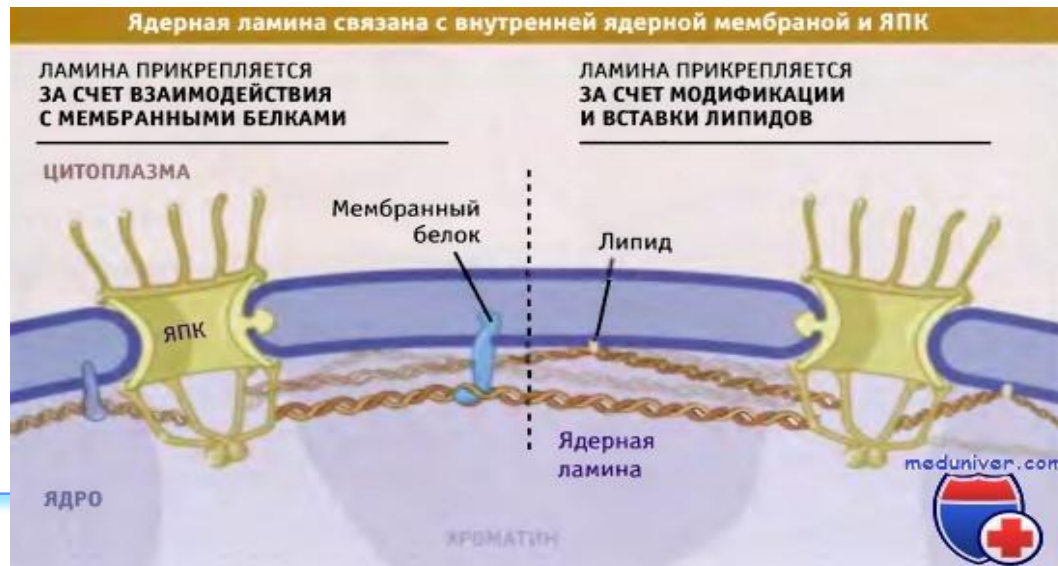
- Состоит из двух мембран липопротеиновой природы
- Внешняя мембрана продолжается в мембраны шЭПС, на ней могут быть рибосомы
- Поры образованы тремя слоями белков нуклеопоринов и работают по принципу диафрагмы фотоаппарата
- Количество пор неодинаково и зависит от возраста клетки, её активности и состояния.

Комплекс ядерной поры

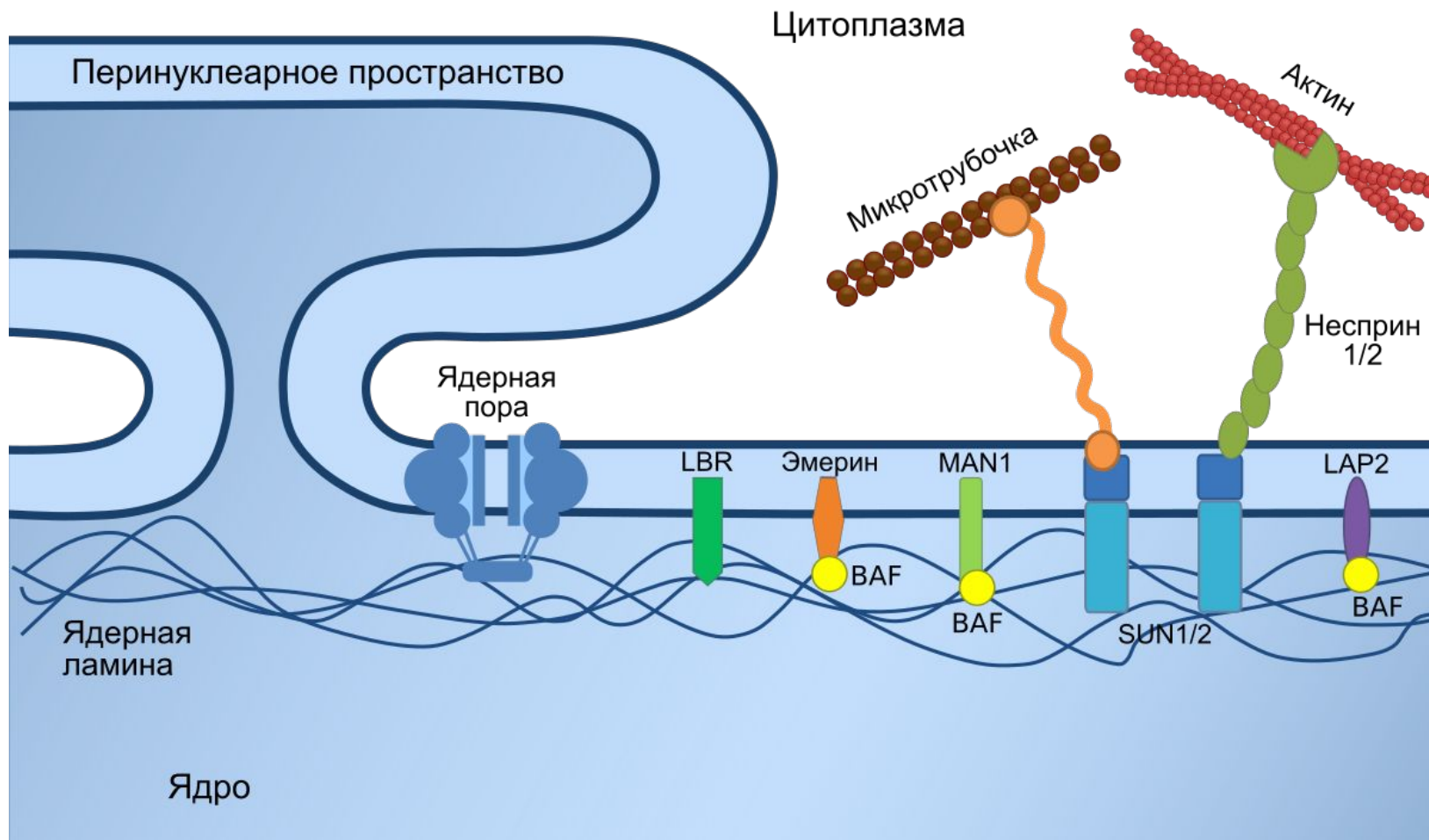


Ядерная ламина (1)

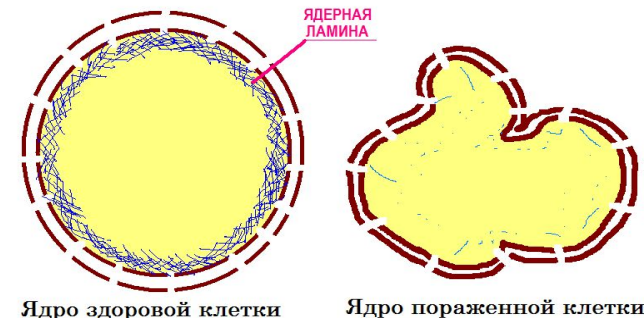
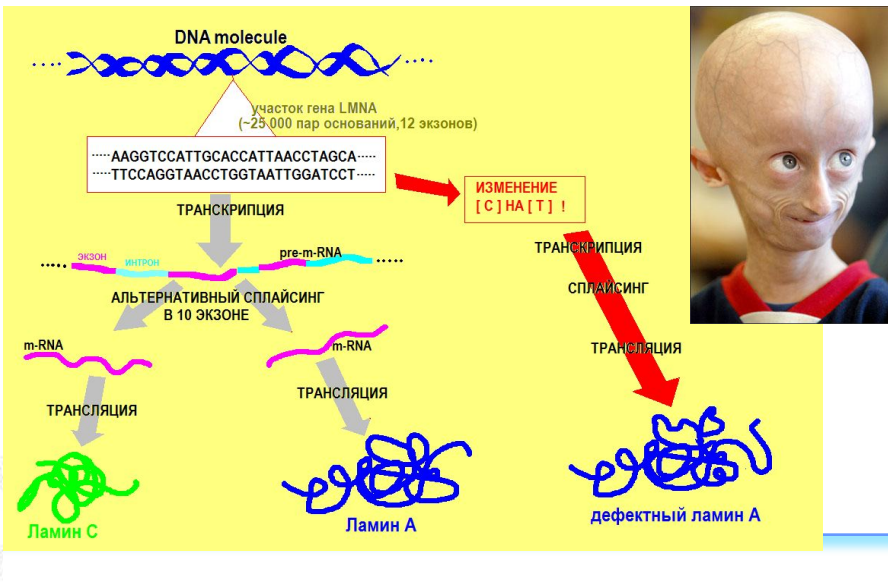
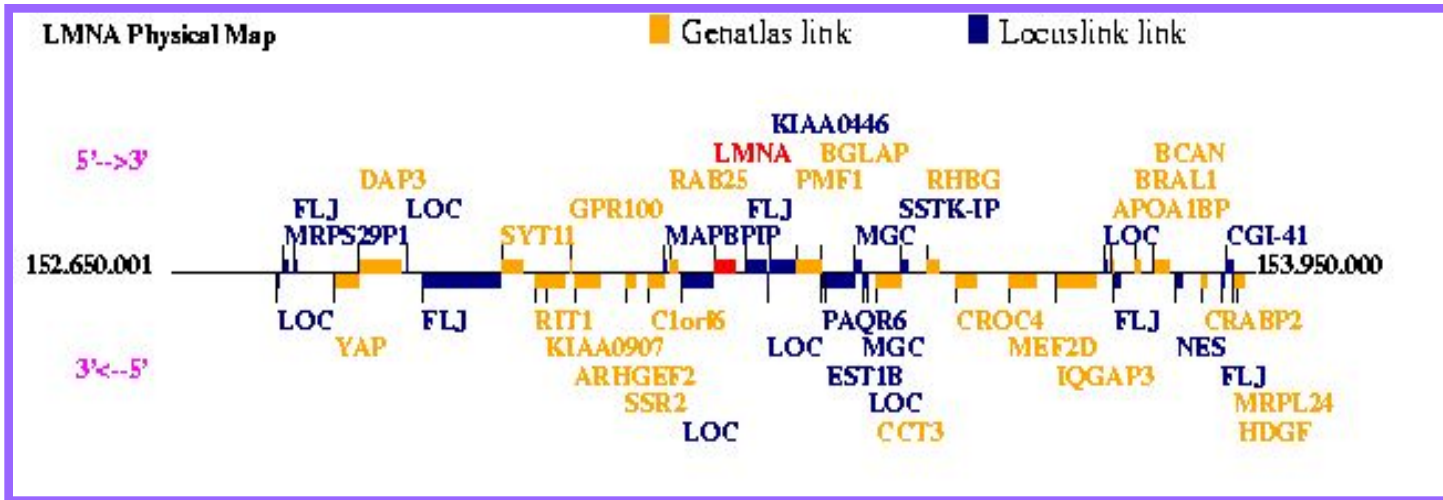
- Поддерживает целостность и форму ядра,
- Отвечает за дезинтеграцию и реорганизацию ядерной оболочки в процессе митоза,
- Отвечает за упорядоченное расположение хромосом в интерфазном ядре и фиксацию хроматиновых нитей в интерфазе,
- Участвует в образовании порового комплекса



Ядерная ламина (2)



LMNA - нормальный ген



Ядерная ламина, болезни и старение человека

- **Мутации гена ламина A/C (LMNA) у пациентов с дилатационной кардиомиопатией и их фенотипические проявления** - Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г., Курушко Т.В., Давыденко О.Г. [Евразийский кардиологический журнал @eurasian-cardiology-journal](#) Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г., Курушко Т.В., Давыденко О.Г. Евразийский кардиологический журнал @eurasian-cardiology-journal, [1, 2016 г.](#)
- Burke B, Stewart CL. Life at the edge: the nuclear envelope and human disease. Nat Rev Mol Cell Biol 2002; 3:575-585
- Mattout A, Dechat T, Adam S A, Goldman and Gruenbaum Y. Nuclear lamins, diseases and aging//Current Opinion in Cell Biology 2006,18:335-341
- Worman H., Ostlund C., Wang Y. Diseases of the nuclear envelope. Cold Spring Harb Perspect. Biol 2010; 2:760-776

2. Кариоплазма и ядерный матрикс

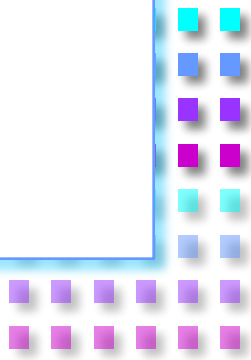
- внутреннее содержимое ядра,
- содержит жидкую фракцию и матрикс
- жидкая фракция ядра (вода, растворимые белки, нуклеотиды, мРНК, тРНК и др.)
- **Функции кариоплазмы:** 1) поддержание постоянства внутриядерной среды;
- 2) обеспечение условий для внутриядерных транспортов и перемещений;
- 3) обменные процессы с цитоплазмой

Ядерный матрикс

- Собственно матрикс (нерастворимые белки – негистоны, ферменты, нуклеоплазмины, матрины и др.)
- Внутриядерная сеть фибриллярных и гранулярных компонентов, участвующих в молекулярных процессах в ядре, а также в поддержании и расположении хромосом в ядре.



Функции ядерного матрикса

- Обеспечивает форму и внутреннюю организацию ядра
 - Пространственное распределение хроматина и его конденсация (упаковка)
 - Передвижение субчастиц рибосом
- 

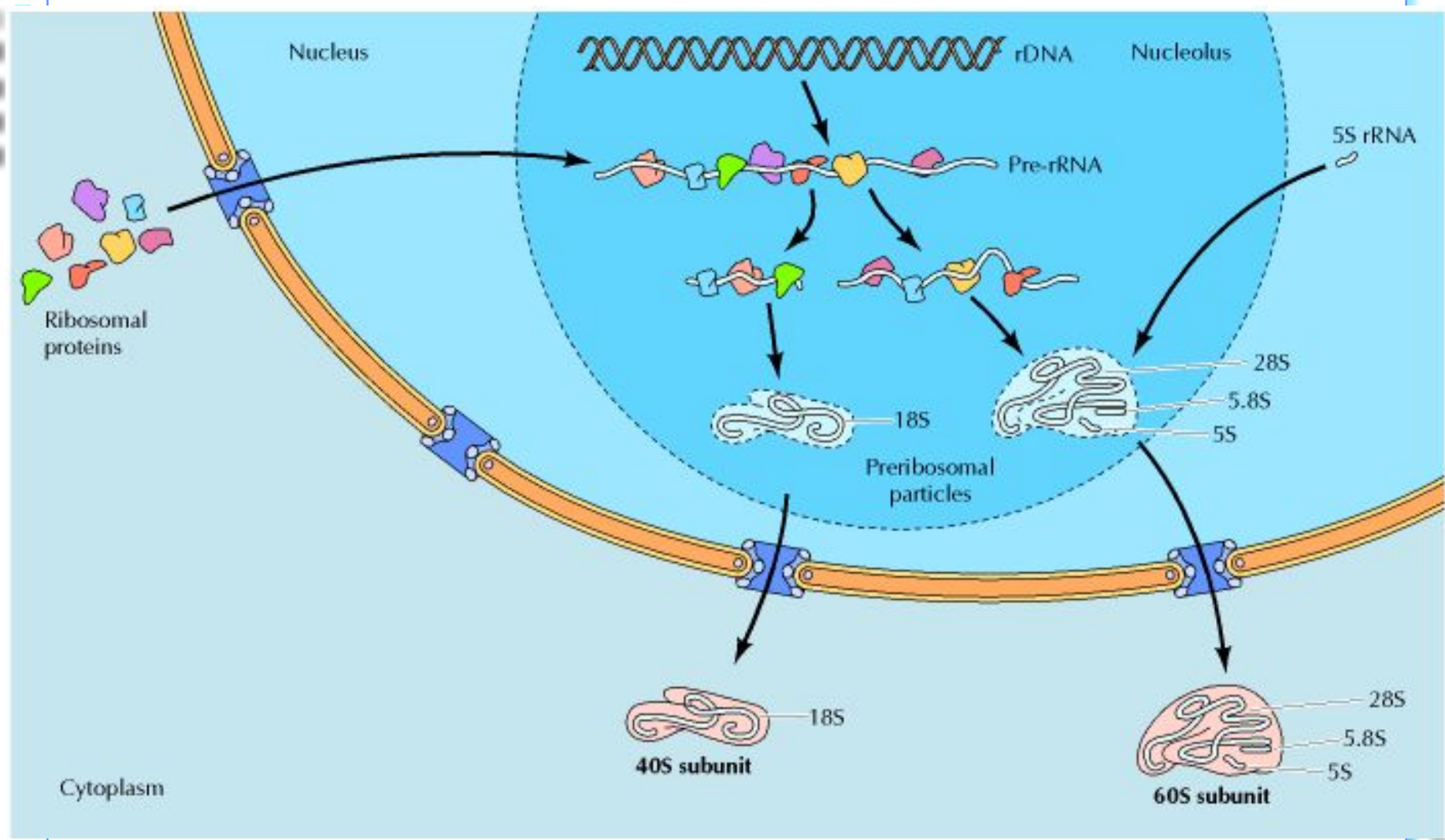
3. Ядрышко

- Ядрышковый организатор – фрагменты ДНК содержащие информацию о рРНК;
- рРНК: первичные транскрипты 45S; рРНК 5S, рРНК 5,8S, рРНК 18S, рРНК 28S;
- Рибосомные белки;
- Белки аппарата синтеза рРНК;
- RNP 40S и 60S.

Ядрышко –

область биогенеза рибосом:

- Транскрипция рибосомных генов и синтез про-рРНК (45S);
- Процессинг про-рРНК 45S с образованием 3-х фракций рРНК: 5,8S + 18S + 28S;
- Образование RNP:
 - рРНК 18 S + 33 рибосомных белков = 40S – малая рибосомная субчастица;
 - рРНК 28 S + рРНК 5,8 S + рРНК 5 S + 49 рибосомальных белков = 60S – большая рибосомная субчастица





Нобелевская премия в области химии 2009 года

- **«за изучение структуры и функций рибосом»**
- Venkatraman Ramakrishnan, MRC Laboratory of Molecular Biology , Cambridge, United Kingdom
- Thomas A. Steitz, Yale University
New Haven, CT, USA; Howard Hughes Medical Institute
- Ada E. Yonath, Weizmann Institute of Science
Rehovot, Israel

4. ХРОМАТИН $\xrightleftharpoons[\text{телофаза}]{\text{профаза}}$ ХРОМОСОМЫ

- Хроматин – это частично упакованный генетический материал в интерфазе;
- Хромосома – максимально упакованный генетический материал в митозе.
- Химический состав:
 - 30% ДНК + 40% гистоны + 25% негистоновые белки + 5% РНК



Хромосомная ДНК – содержит, передает и реализует ГИ;

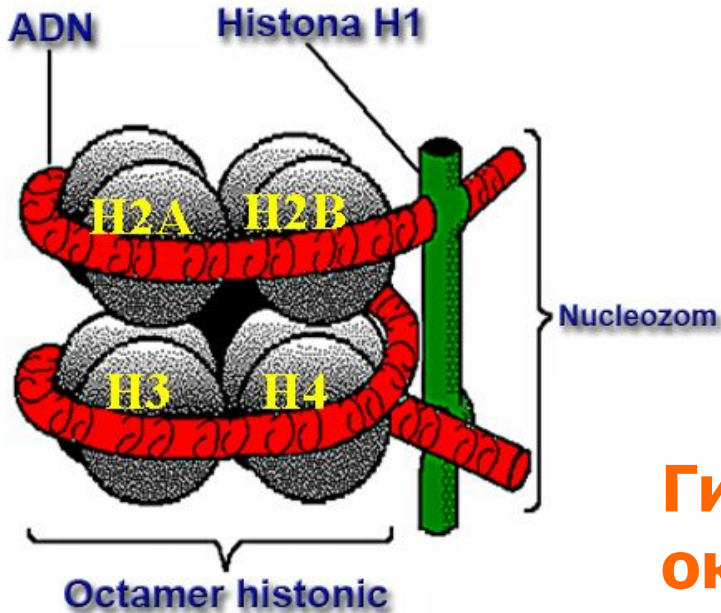
- Длинные, линейные молекулы;
 - Гетерогенные молекулы:
 - Кодирующие последовательности (гены):
 - Активные – транскрибируемые;
 - Неактивные – нетранскрибируемые.
 - Некодирующие последовательности:
 - Структурные – теломеры, центромеры, сателлиты;
 - Регуляторные
- 

Гистоновые белки:

- Глобулярные
- Богатые Liz и Arg;
- 5 классов: H1, H2A, H2B, H3, H4
- Функция:
 - Упаковка ДНК на нуклеосомном уровне
 - Неспецифичный контроль экспрессии генов

Тип гистонов	Характерные аминокислоты	К-во аминокислот	Конформация белка
H1	Liz	215	NH ₂ ————— ○ ————— COOH
H2A	Leu, Liz	129	NH ₂ ————— ○ ————— COOH
H2B	Ser, Pro, Liz	125	NH ₂ ————— ○ ————— COOH
H3	Arg, Cis	135	NH ₂ ————— ○ ————— COOH
H4	Arg, Liz	102	NH ₂ ————— ○ COOH

Гистоновые белки



**ДНК + гистоны =
нуклеосома**



а. Нуклеосомное ядро:

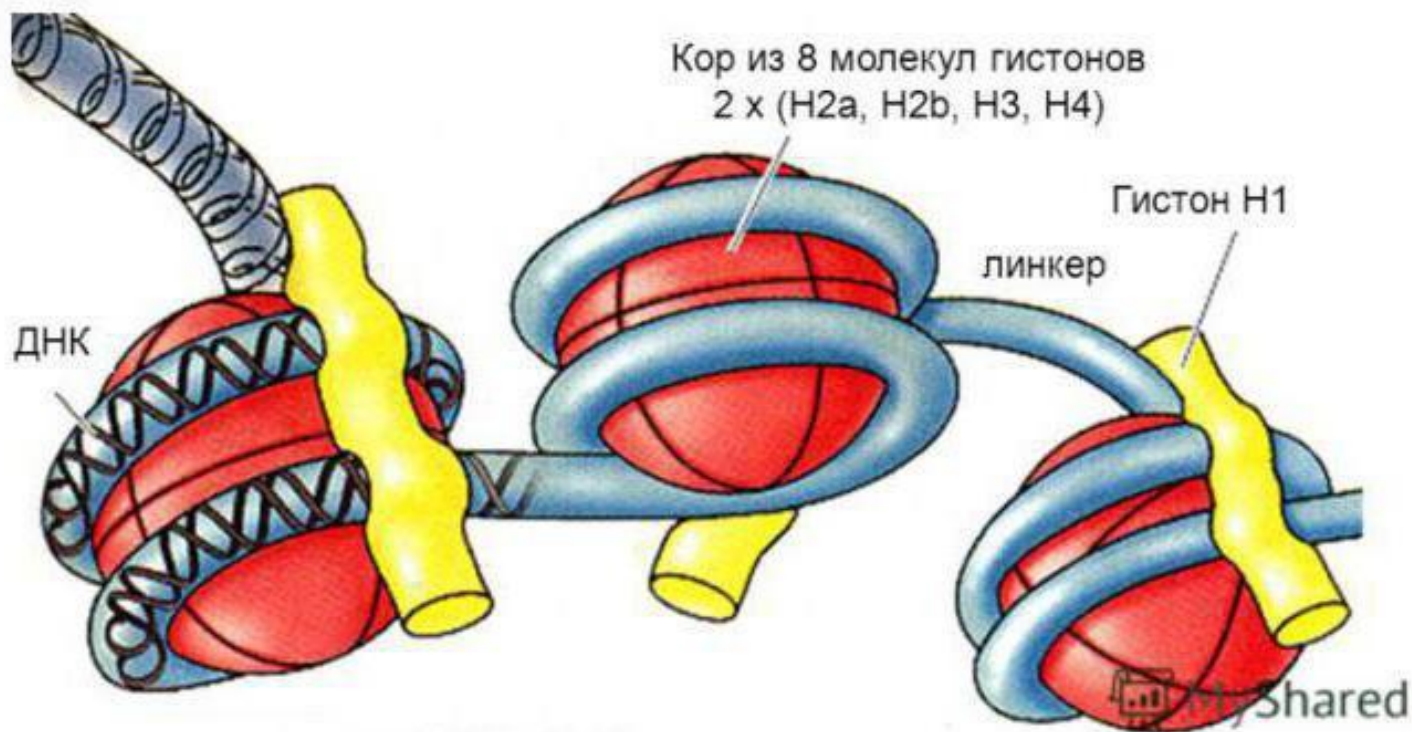
**ГИСТОНОВЫЙ
ОКТАМЕР**

$2H_2A$
$2H_2B$
$2H_3$
$2H_4$

б. 200 п.о. нуклеосомная ДНК

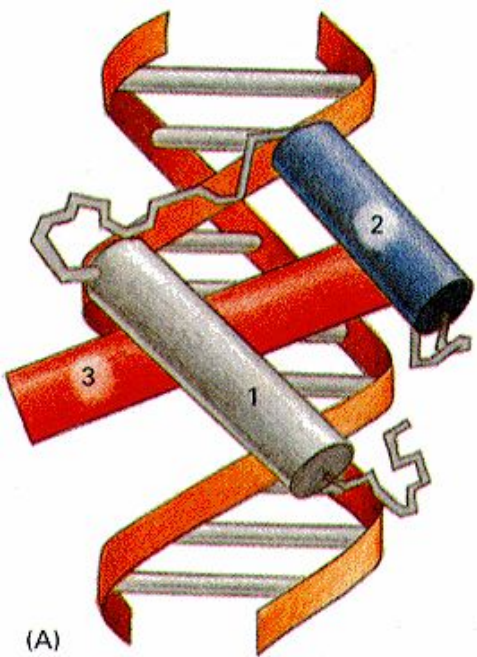
с. H1 – стабилизирует ДНК

Строение нуклеосомы

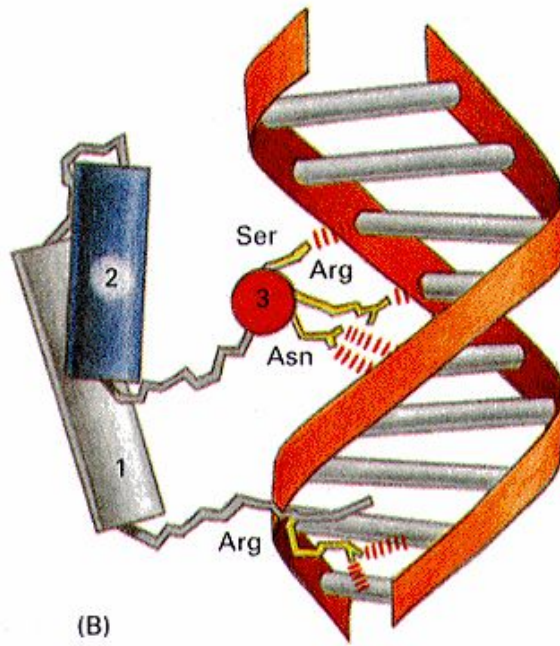


Негистоновые белки

- Крайне гетерогенные белки;
- Ядерные ферменты для:
 - репликации (праймаза, ДНК-пол., ДНК-лиг.);
 - репарации (эндонуклеазы, ДНК-пол);
 - транскрипции (РНК-пол., факторы транскр.);
 - процессинга РНК (рибозимы);
 - биогенеза рибосом (рибосомальные белки)
- Сайт-специфичные белки (SAP, zinc-finger);
- Белки хромосомной оси (scaffold)



(A)

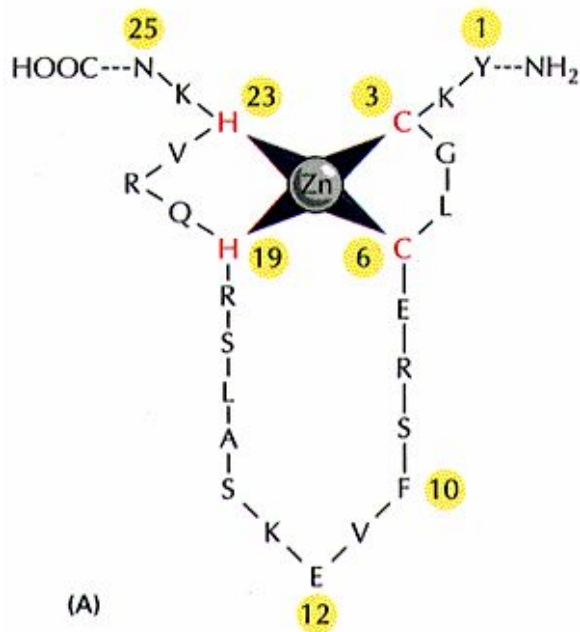


(B)

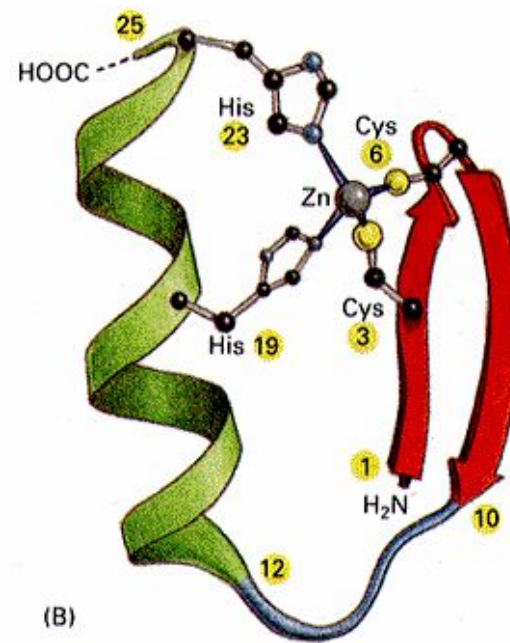
Helix-Turn-Helix

"спираль-поворот-спираль".

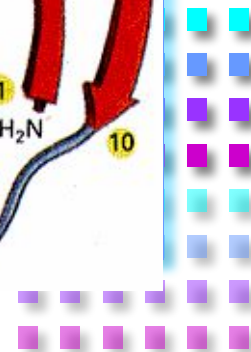
Zink finger
"цинковые пальцы".



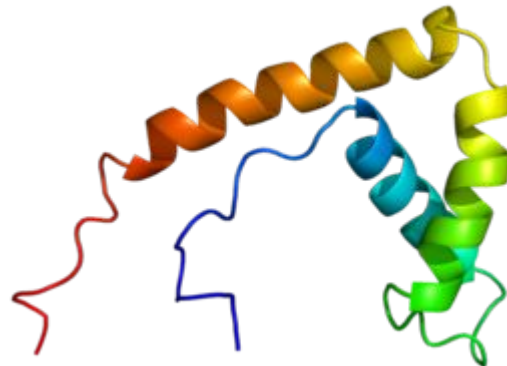
(A)



(B)

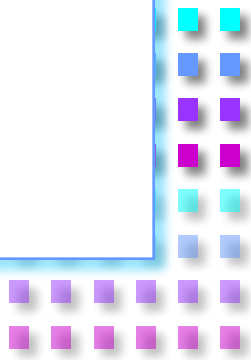


- К группе негистоновых регуляторных белков, которые постоянно ассоциированы с хроматином, относят белки высокой подвижности (**НМГ-белки**- от англ, *high mobility gel proteins*).
- Это небольшие белки с молекулярной массой менее 30 кД
- Они характеризуются высоким содержанием заряженных аминокислот.





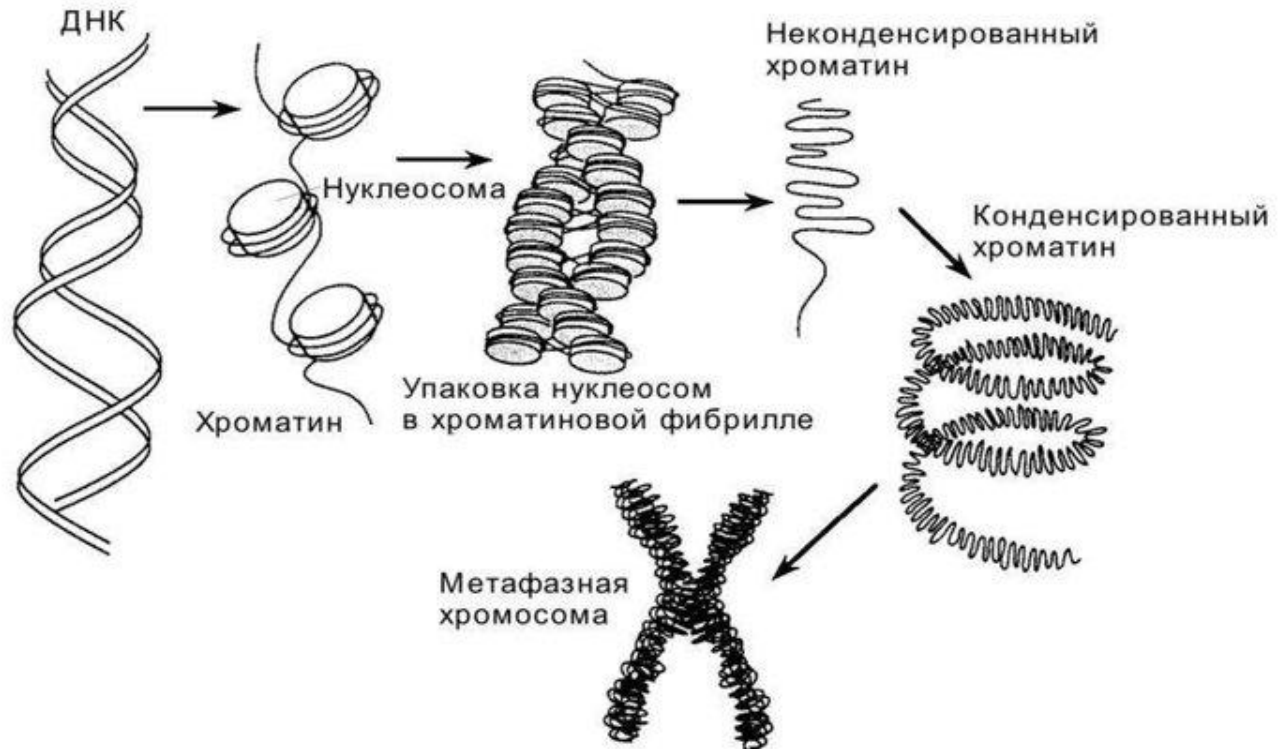
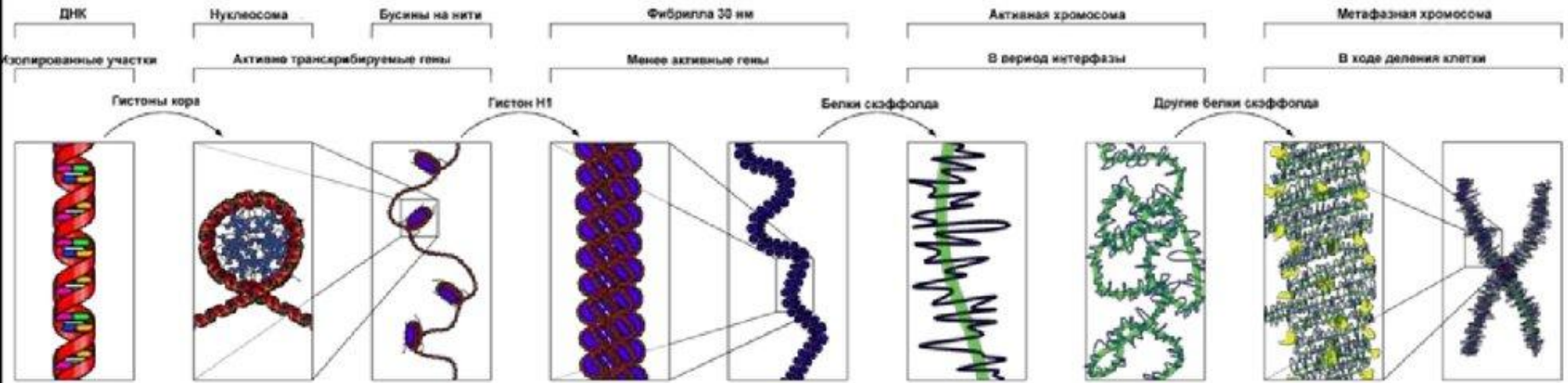
Хромосомная РНК

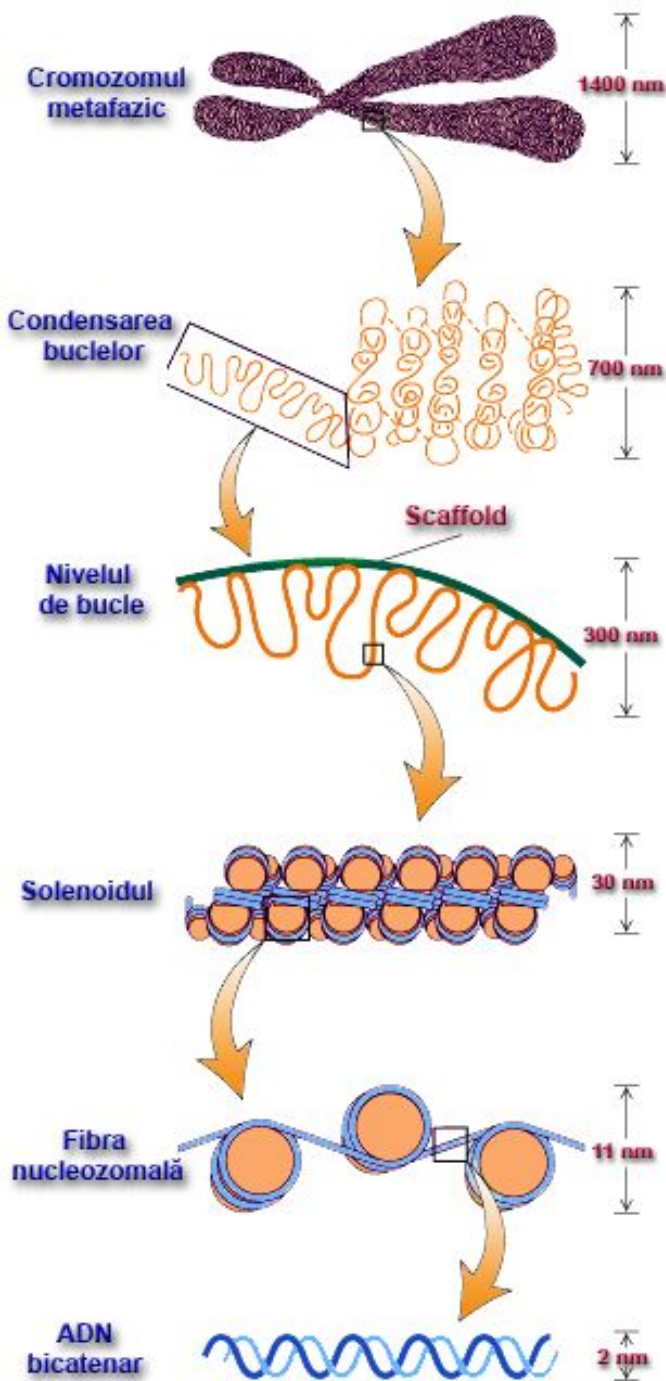
- Первичные транскрипты
 - микроРНК в составе ядерных ферментов
- 

Уровни упаковки ДНК

- I уровень – нуклеосомный = нити хроматина;
- II уровень – соленоид = нити хроматина;
- III уровень – петли
- IV уровень – метафазная хромосома

Уровни компактизации хроматина



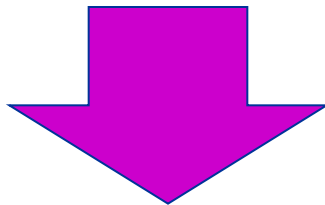


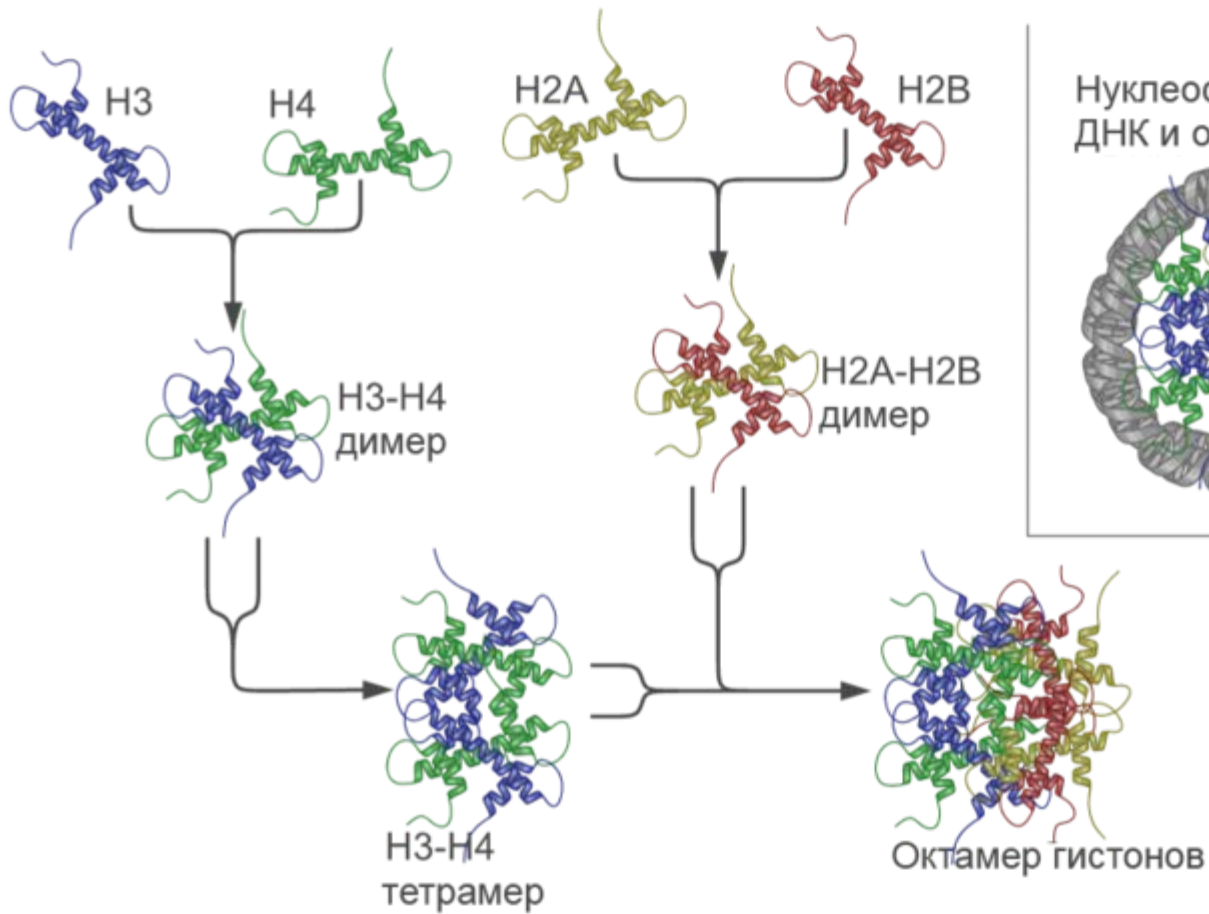
Уровни упаковки отличаются:

- Степенью конденсации ДНК;
- Толщиной хроматиновой нити;
- Механизмом образования;
- Уровнем транскрипционной активности;
- Периодом клеточного цикла.

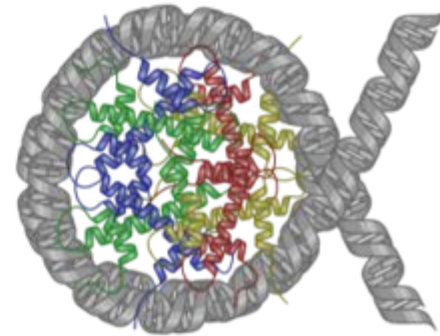
I уровень- нити хроматина:

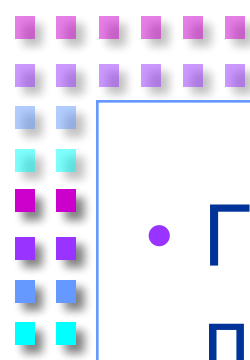
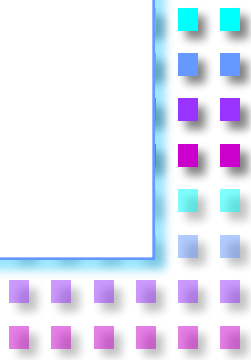
- Полинуклеосомная нить 11nm;
- Степень конденсации – x 6 раз;
- Механизм образования:
 - Взаимодействие ДНК⁻ с гистоновыми основными белками⁺
- Транскрипция - возможна.



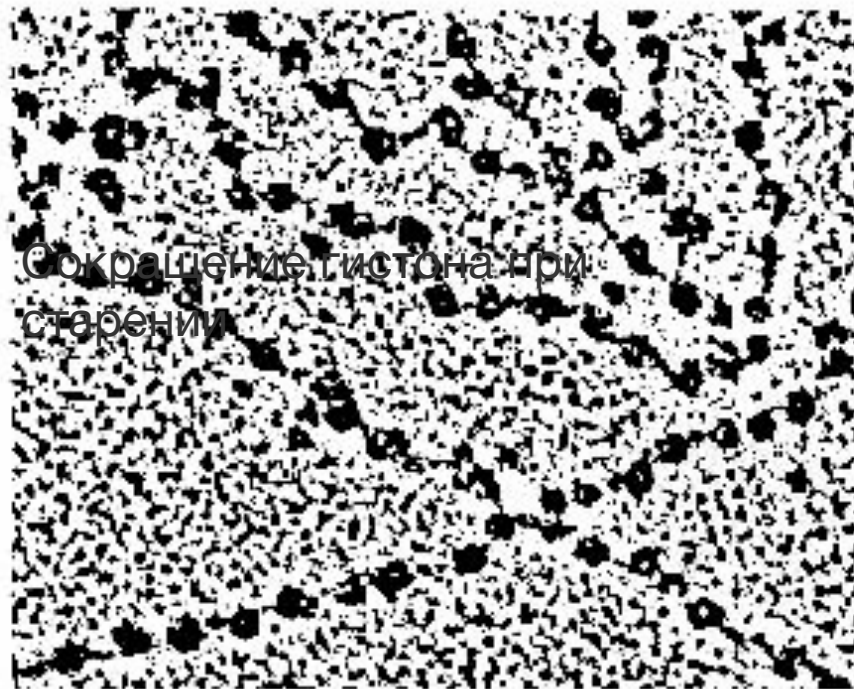


Нуклеосома: комплекс ДНК и октамера гистонов



- 
- Гистоны в октамере имеют подвижный N-концевой фрагмент («хвост») из 20 аминокислот, который выступает из нуклеосом и важен для поддержания структуры хроматина и контроля над генной экспрессией.
 - Детали механизма регуляции до конца не выяснены.
- 

I уровень- нити хроматина 10 nm



Сокращение гистона при старении

Некоторые модификации гистонов
(фосфорилирование Некоторые
модификации гистонов
(фосфорилирование и ацетилирование Н
екотрые модификации гистонов
(фосфорилирование и ацетилирование)
локализованы преимущественно на
участках хроматина с активными генами,


тогда
Zheng Y. et al. Histone H1
phosphorylation is associated with
transcription by RNA polymerases I and
II (англ.) // The Journal of Cell Biology. —
2010. — Vol. 189, Iss. 3. — P. 407.

как
Gerasimova A. et al. Predicting Cell
Types and Genetic Variations
Contributing to Disease by Combining
GWAS and Epigenetic Data (англ.) //
PLoS One. — 2013. — Vol. 8, Iss.
1. — P. e54359.

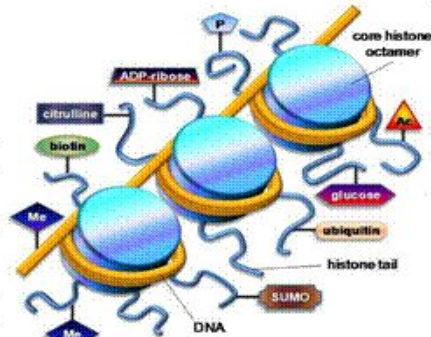
модификации гистонов
(фосфорилирование и ацетилирование)



Биологи нашли слабое место в ДНК человека и других животных

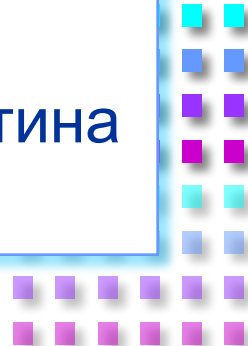
- Ученые Института биомедицинских исследований обнаружили, что белок гистон H1 является основным фактором защиты генома от нестабильности.
 - Мутации в гене гистона H1 могут приводить к гибели организма.
 - Сокращение синтеза гистона при старении
- 

Модификации гистонов



Аминокислота	Модификация
Лизин (K)	Метилирование (Me) Ацетилирование (Ac) Убиквитинирование (Ub) Сумоилирование (SUMO) Рибосомное фосфорилирование (RiP)
Аргинин (R)	Метилирование (Me)
Серин (S)	Фосфорилирование (P)
Тreonин (T)	
Цистеин (C)	

- **Метилирование H3 (Lys4)** – активная экспрессия гена
- **Метилирование H3 (Lys9)** – атенуация транскрипции
- **Ацетилирование** гистонов – расплетание хроматина, транскрипция
- **Дезацетилирование** гистонов – упаковка хроматина, инактивация транскрипции
- **Фосфорилирование H1** – сверхконденсация ДНК
- **Дефосфорилирование H1** – деконденсация хроматина



Пора переходить от слов к делу...

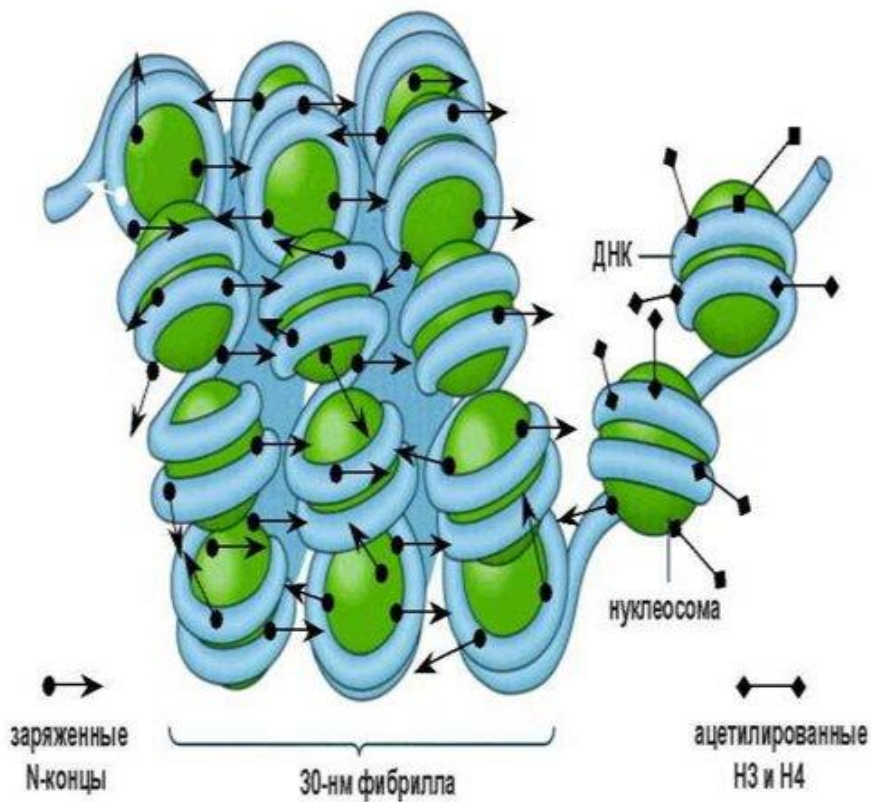
- Как повлиять на ацетилирование гистонов для защиты от стресса и старения, для борьбы с онкологическими заболеваниями?
- Каков точный механизм участия фосфорилирования гистонов в возникновении онкологических заболеваний и старении?
- Как можно повлиять на механизмы модификации гистонов с целью достижения терапевтического эффекта при лечении возрастассоциированных заболеваний?

II уровень – соленоид

- Нить хроматина 30 nm;
- Степень конденсации – x40 раз;
- Механизм образования:
 - Фосфорилирование H1 □
сверхспирализация полинуклеосомной нити – по 6 нуклеосом в витке;
- Блокирование транскрипции ДНК.

Соленоидная модель. Нуклеомерная модель.

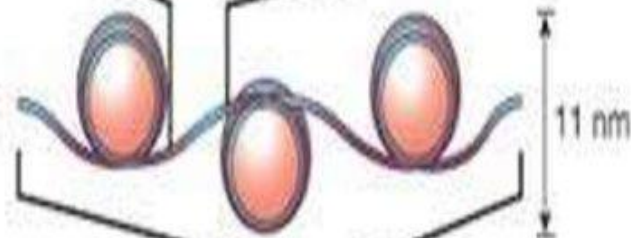
Второй уровень упаковки хроматина



Short region of
DNA double helix



"Beads on a string"
form of chromatin

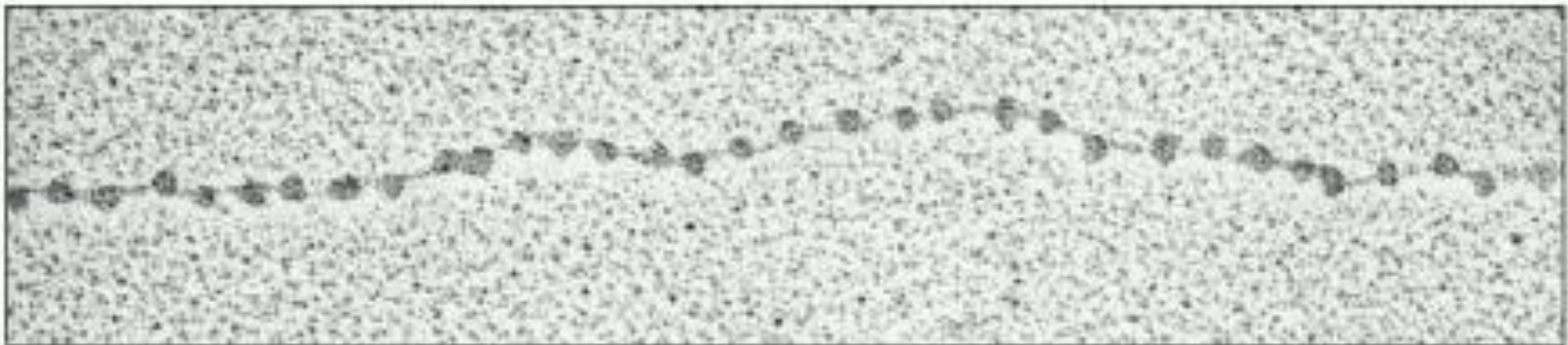
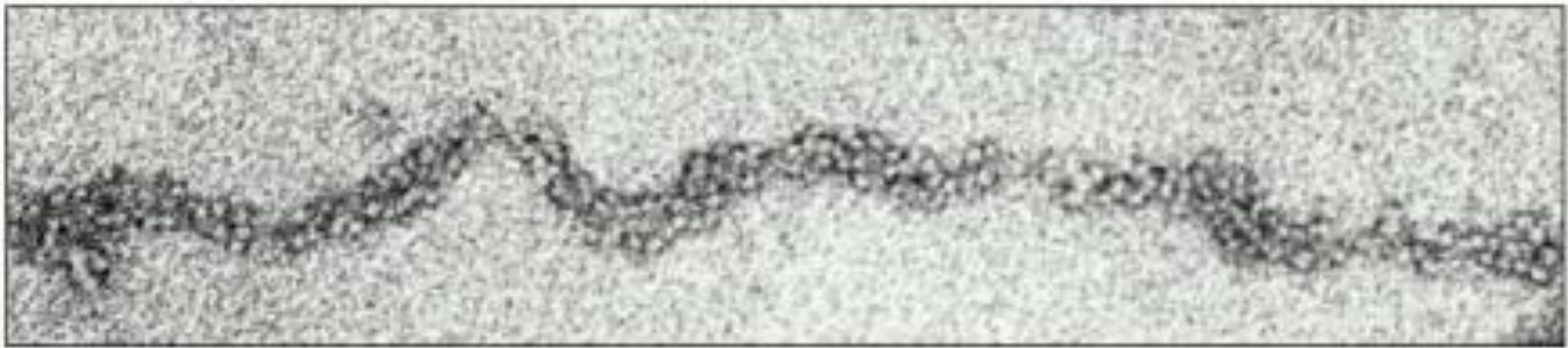


30-nm chromatin
fibre of packed
nucleosomes



Нить хроматина

Соленоид – 30 nm

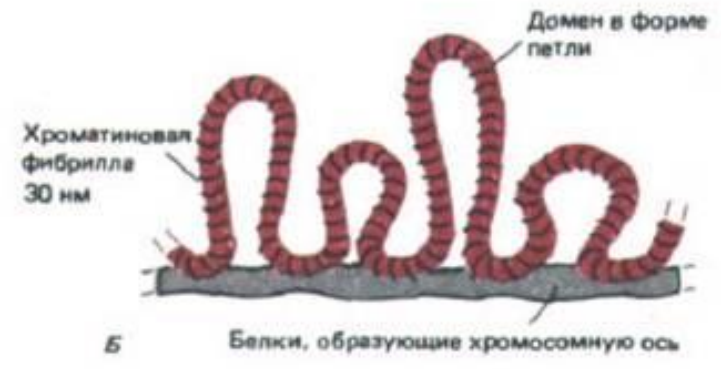
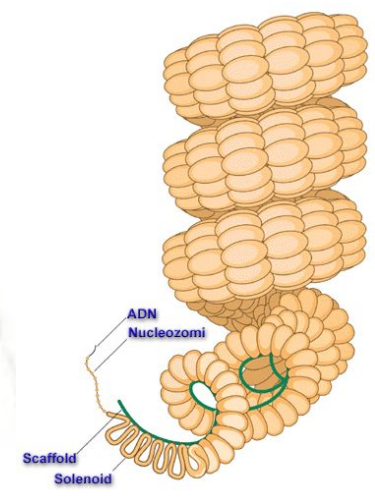
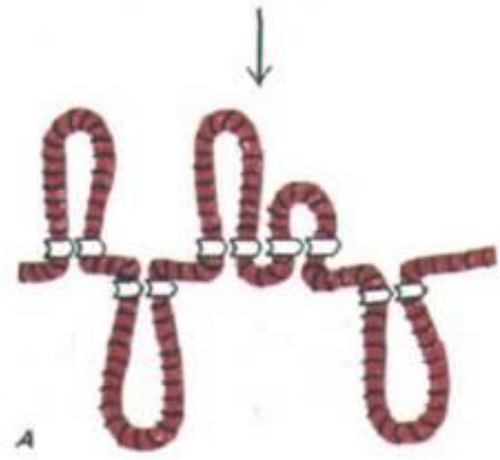
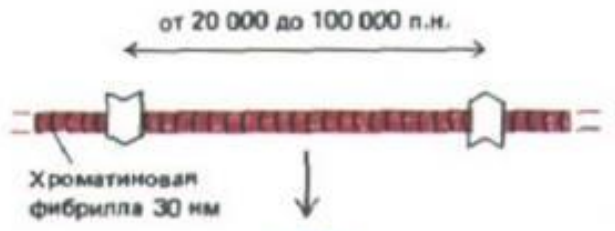



Нуклеосомная нить
– 10 nm

50 nm

III уровень- петли

- Петли большие и малые, диффузные или компактные, толщина – 300 nm;
- Степень конденсации – х600-1000;
- Механизм образования:
 - Прикрепление нити хроматина 30nm к белковой оси – scaffold;
 - Взаимодействие SAR – scaffold
- Транскрипция генов – заблокирована

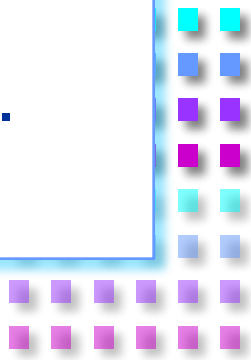




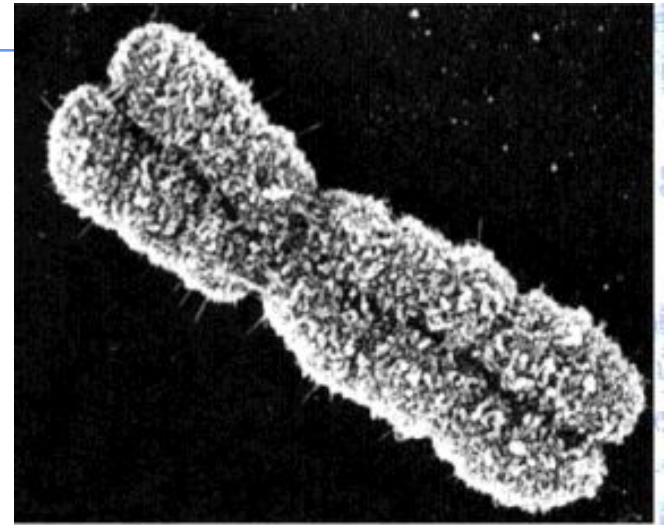
!!! SAR (MAR) - (Scaffold /Matrix Associated Region) – специфические сайты ДНК ответственные за присоединение к *scaffold* – хромосомной оси;

!!! SAP- (Scaffold /Matrix Associated Proteins) - сайт специфические белки взаимодействуют с:

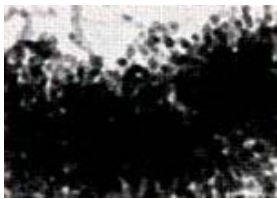
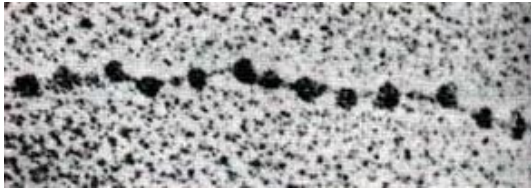
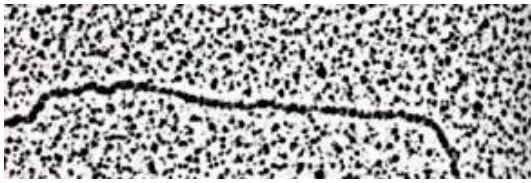
- нитями хроматина;
- обеспечивают III уровень упаковки
- ламинной *lamina fibrosa* с поверхности внутренней мембраны ядерной оболочки.



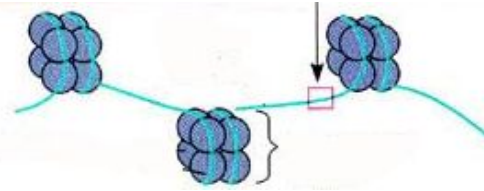
IV уровень – метафазная хромосома



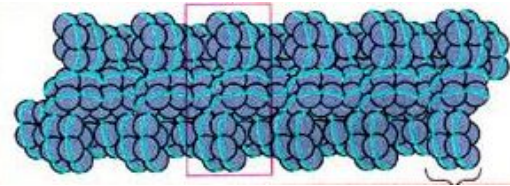
- Наивысший уровень упаковки ДНК – x10000 раз;
- Толщина хроматиды ~700nm;
- Механизм образования:
 - Фосфорилирование ламины --- диссоциация ядерной оболочки;
 - Полное фосфорилирование H1 – конденсация хроматина.
- Транскрипция заблокирована



2 nm



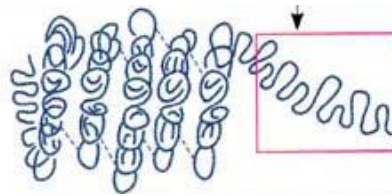
11 nm



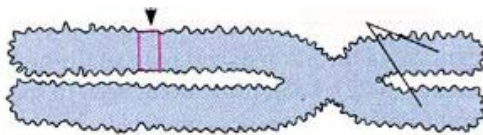
30 nm



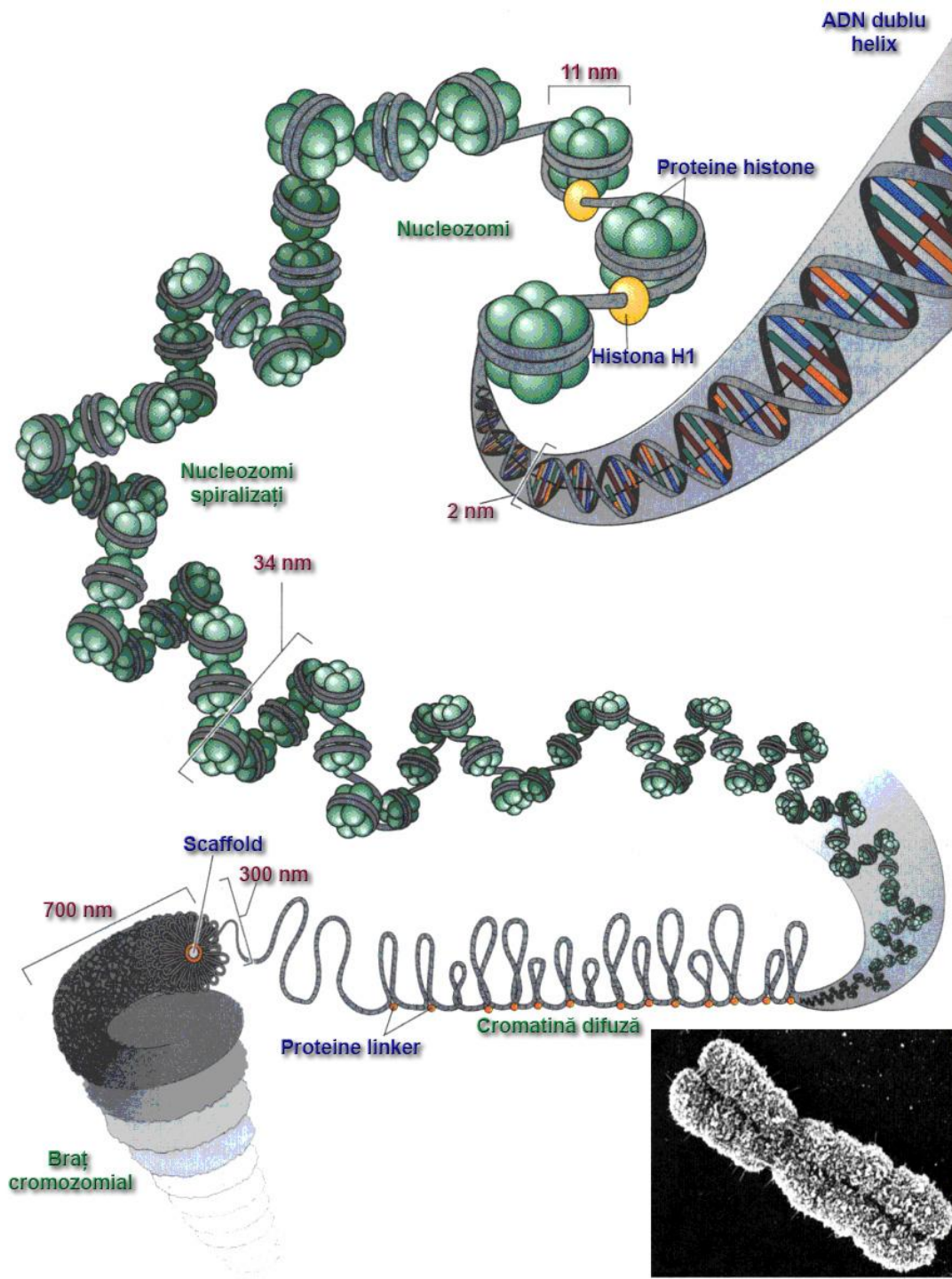
300 nm



700 nm



1400 nm



Период клеточного цикла и степень конденсации хроматина

- **Интерфаза:**

- Период G1;
- Период S;
- Период G2;

I уровень
II уровень
III уровень

- **МИТОЗ:**

- Профаза
- Метафаза
- Анафаза
- Телофаза

IV уровень

Функциональная

классификация хроматина:

- Эухроматин:
 - Активные фрагменты ДНК;
 - Содержит кодогенную ДНК.
- Гетерохроматин:
 - Неактивные фрагменты ДНК;
 - Содержит некодогенную ДНК;
 - Содержит кодогенную ДНК, но неактивную в данный момент;
 - Может быть конститутивным и факультативным.

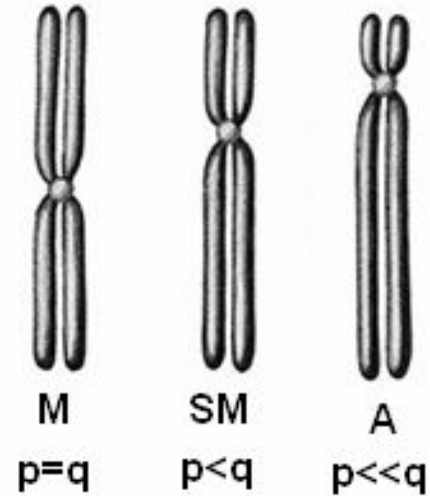
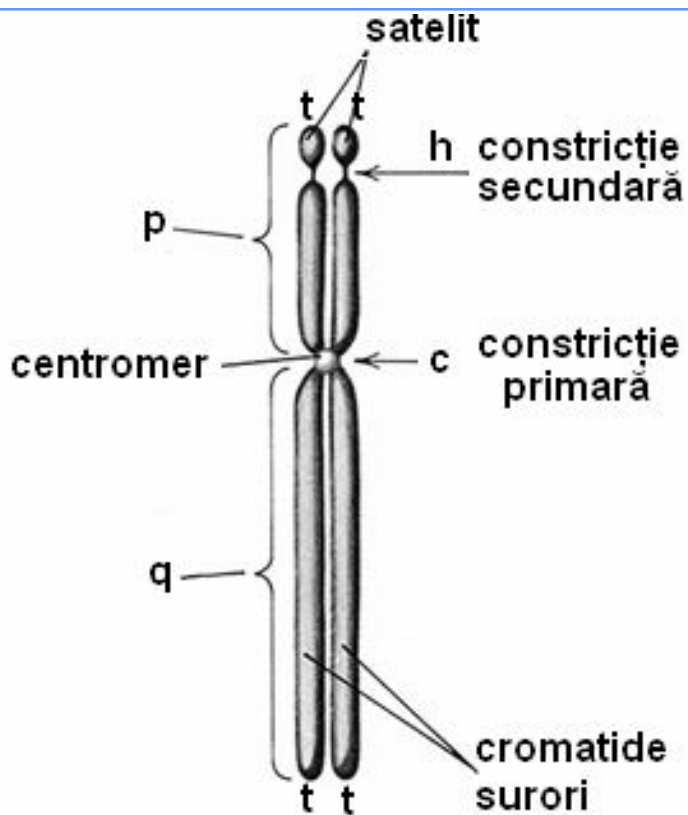
Гетерохроматин

• Конститутивный:

- Некодирующая, репетитивная ДНК;
- Центромеры, теломеры, сателлиты, спейсеры.

• Факультативный:

- Кодированная, неактивная ДНК;
- Может переходить в эухроматин;
- Может быть аутосомным или половым;
- Определяет:
 - Клеточную дифференциацию;
 - Половую дифференциацию;
 - Контроль онтогенеза

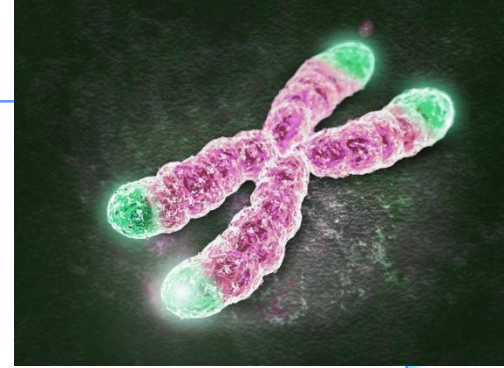


- Центромера = первичная перетяжка
- Теломера

Центромера

- Повторяющиеся последовательности, богатые A/T
- Конститутивный гетерохроматин
- H3 замещен CENP-A
- Связывает хроматиды до анафазы митоза (коэзин)
- Обеспечивает присоединение кинетохоров
- Обеспечивает взаимодействие с веретеном деления

Теломеры

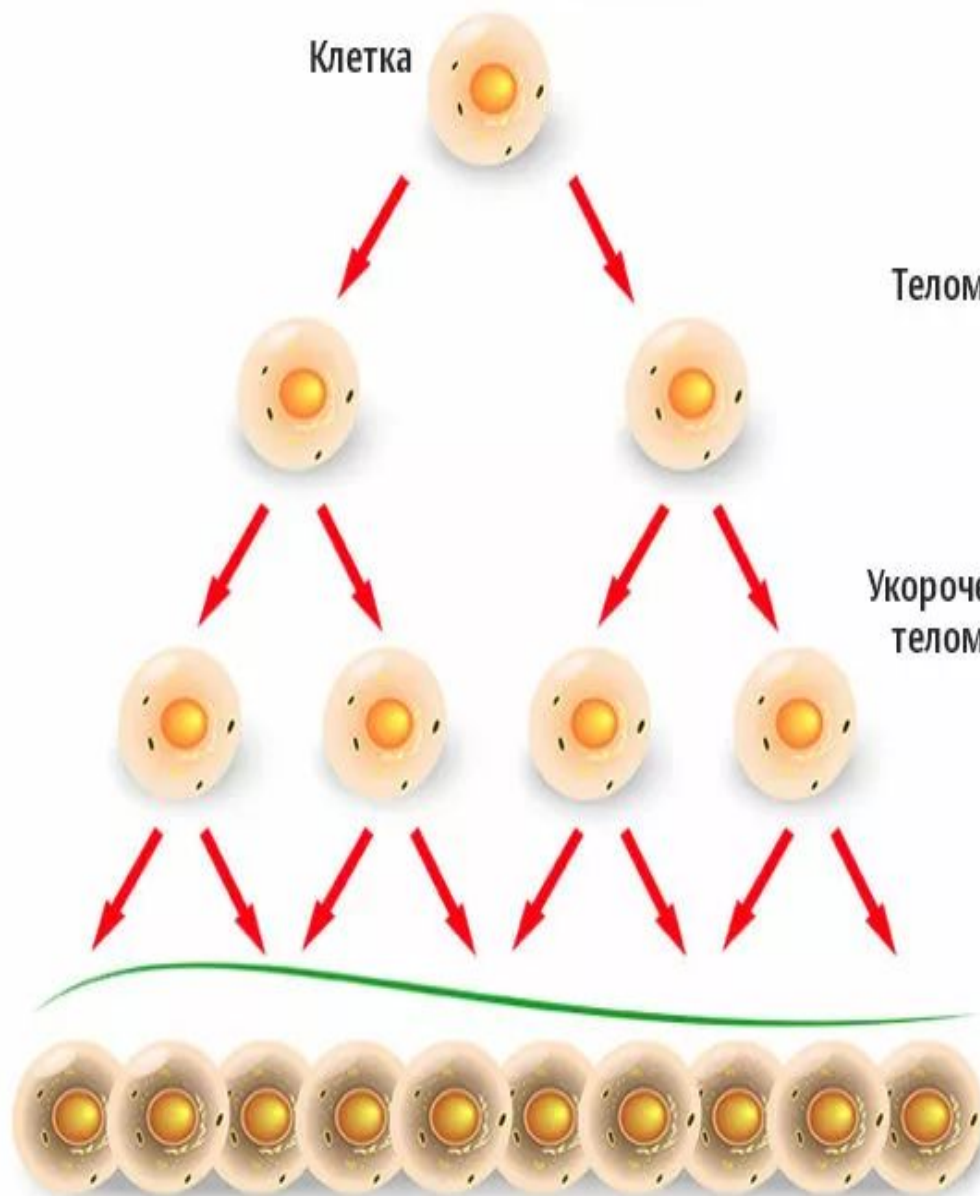


- Участки на концах хромосом, которые не несут генетической информации
- Каждая клетка человека имеет 92 теломеры
- Защищают хромосомы в процессе репликации от дегградации и укорачивания
- Обеспечивают целостность хромосом и препятствуют слипанию их концов
- Защищают клетки от мутаций, старения
- Обеспечивают стабильность генома

- В 1930 году Герман Меллер и Барбара Мак-Клинток пришли к заключению, что фрагментированные хромосомы склонны к слиянию между собой, при этом нормальные хромосомы поддерживают стабильность благодаря наличию особых концевых участков. Эти концевые участки Меллер назвал теломерами (от греческого “telos” — конец, “meros” — часть).
- В 1961 г. американский ученый, профессор анатомии Калифорнийского университета Леонард Хейфлик обнаружил, что клетки способны делиться лишь ограниченное количество раз. Так было выявлено что количество делений составляет 52 делений.

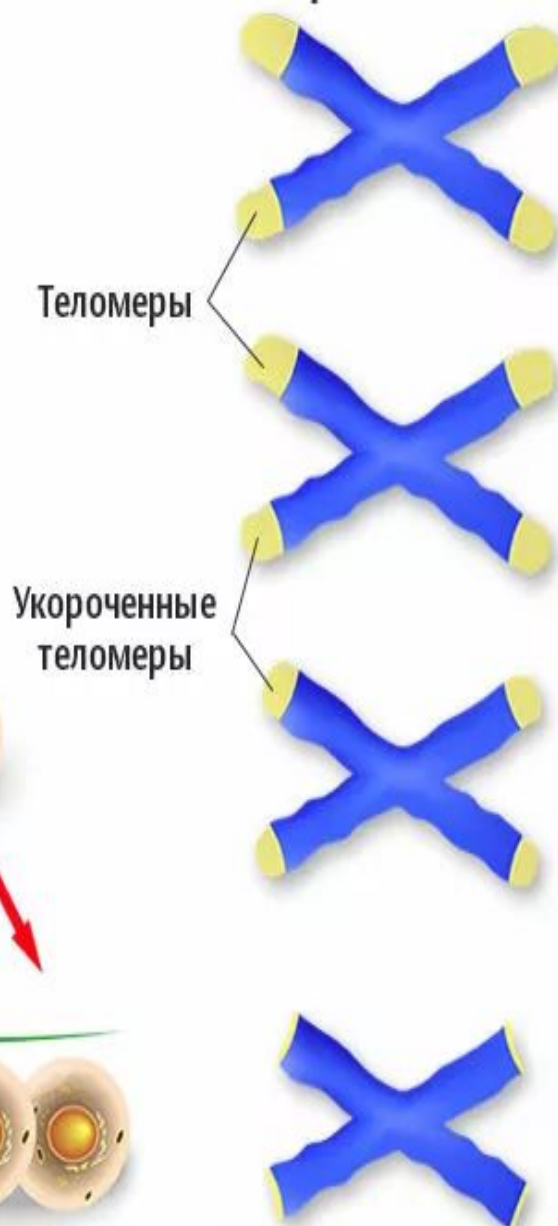
[https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/5\(23\).pdf](https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/5(23).pdf) (дата обращения: 03.10.2018)

Клеточное деление



Клетка

Хромосомы



Теломеры

Укороченные
теломеры

Состарившиеся клетки

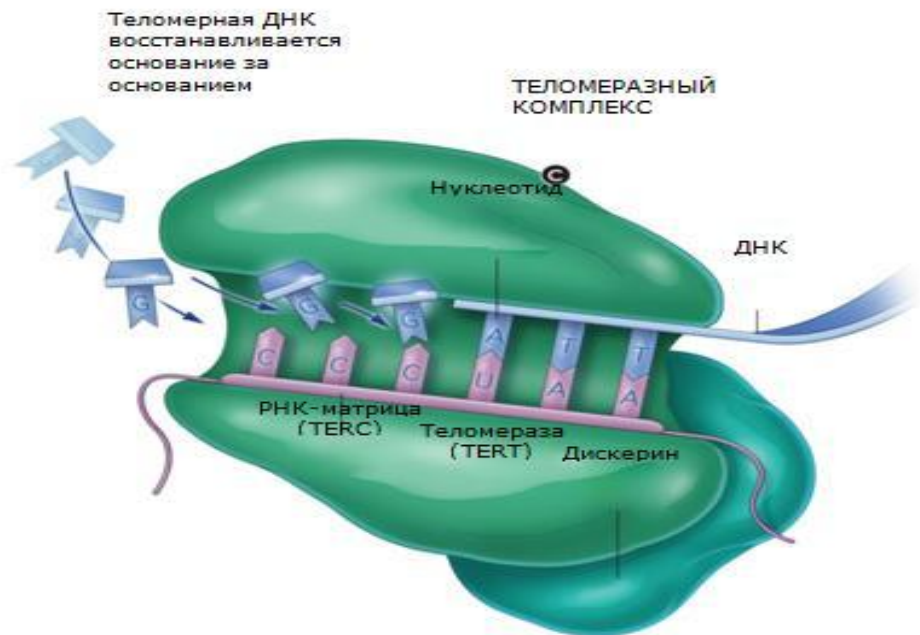
Теломеры укорочены,
клеточное деление останавливается

- В 1971г. Алексей Оловников предложил теорию, которая объясняла механизм работы такого «счетчика» (при матричном синтезе полинуклеотидов ДНК-полимераза не может полностью восстанавливаться).
- 1978год.Э. Блэкберн и Дж. Шостак продемонстрировали, что функция теломер заключается в защите целостности хромосом.
- 1990 год. К.Харли установил связь между сокращением длины теломер и клеточным старением.
- В 1994 году Билл Эндрюс и его команда клонировали первый ген теломеразы.

[https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/5\(23\).pdf](https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/5(23).pdf) (дата обращения: 03.10.2018)

Теломераза – удивительный фермент

- Способна достраивать короткие теломерные участки
- Состоит из РНК-матрицы и белкового компонента



The Nobel Prize in Medicine

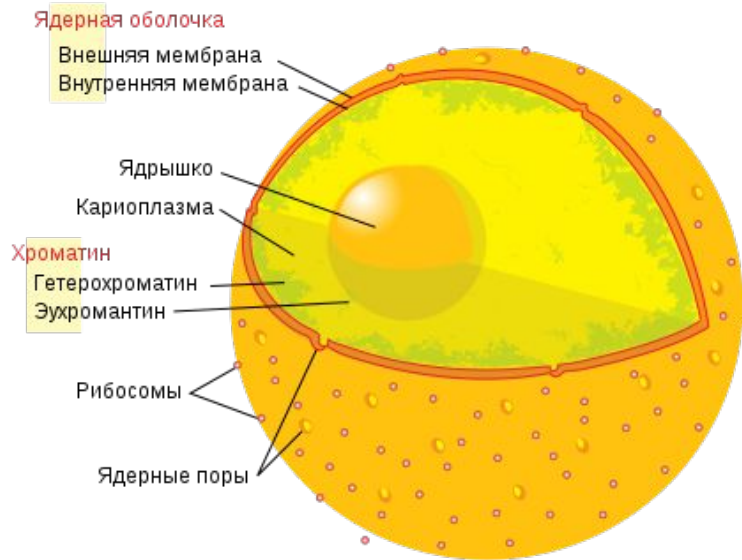
2009



- *"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"*
- **Elizabeth H. Blackburn**, University of California San Francisco, CA, USA
- **Carol W. Greider**, Johns Hopkins University School of Medicine , Baltimore, MD, USA
- **Jack W. Szostak**, Harvard Medical School; Massachusetts General Hospital , Boston, MA, USA; Howard Hughes Medical Institute

Функции теломер

- Обеспечивают целостность хромосом и препятствуют слипанию их концов
- Защищают концы хромосом от действия экзонуклеаз
- Защищают хромосомы в процессе репликации от деградаци и укорачивания
- Обеспечивают конъюгацию и правильную рекомбинацию хромосом
- Защищают клетки от мутаций, старения
- Обеспечивают стабильность генома



**Благодарю за внимание и
желаю успехов!**

