

Микроскоп

Введение

- Живая природа подчиняется иерархической организации. Иерархический принцип организации позволяет выделить в живой природе отдельные уровни, что удобно с точки зрения изучения жизни как сложного природного явления:

Размеры объекта	Объект изучения	Уровень	Уровень организации
0,1 мм (100мкм) и более	Организм, органы	Организменный, органнй	Анатомический
100—10 мкм	Ткани	Тканевый	Гистологический (светооптический)
20—0,2 мкм (200 нм)	Клетки (эукариотические и прокариотические)	Клеточный	Цитологический
200—1 нм	Клеточные компоненты	Субклеточный	Ультраструктурный (электронно-микроскопический)
Менее 1 нм	Молекулы	Макромолекулярный	Физико-химический

- Глаз челс

друга не менее чем на 0,00 мм.

друг от

- Микроскоп - (от греческого mikros - малый и skopeo - смотрю), оптический прибор для получения увеличенного изображения мелких объектов и их деталей, не видимых невооруженным глазом.
- С помощью микроскопа можно получить информацию о форме клеток, их размерах, оптической плотности, площади, классифицировать их тип и т.д.
- Полученные с помощью микроскопа результаты необходимы при постановке точного диагноза, при контроле над ходом лечения. С использованием микроскопа происходит разработка и внедрение новых препаратов, делаются научные открытия.

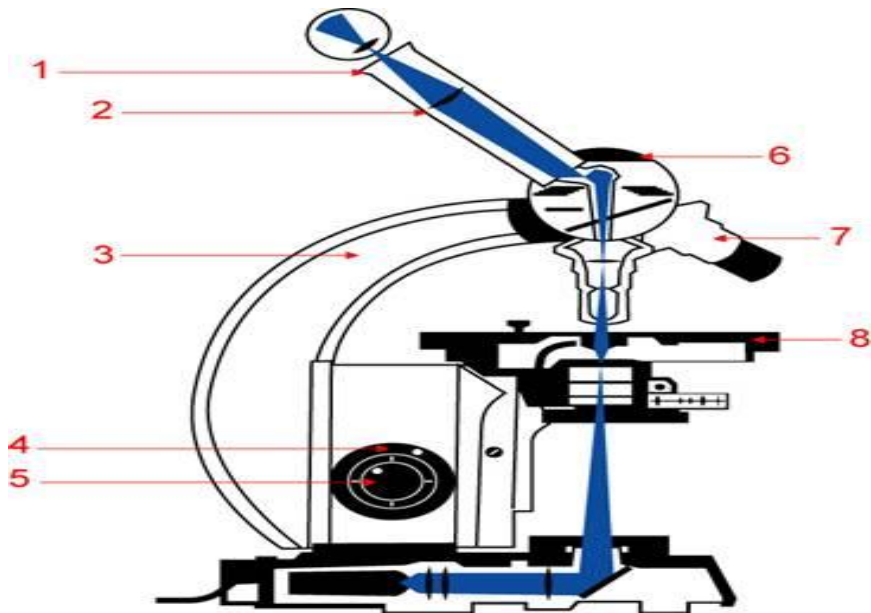
Методы микроскопии



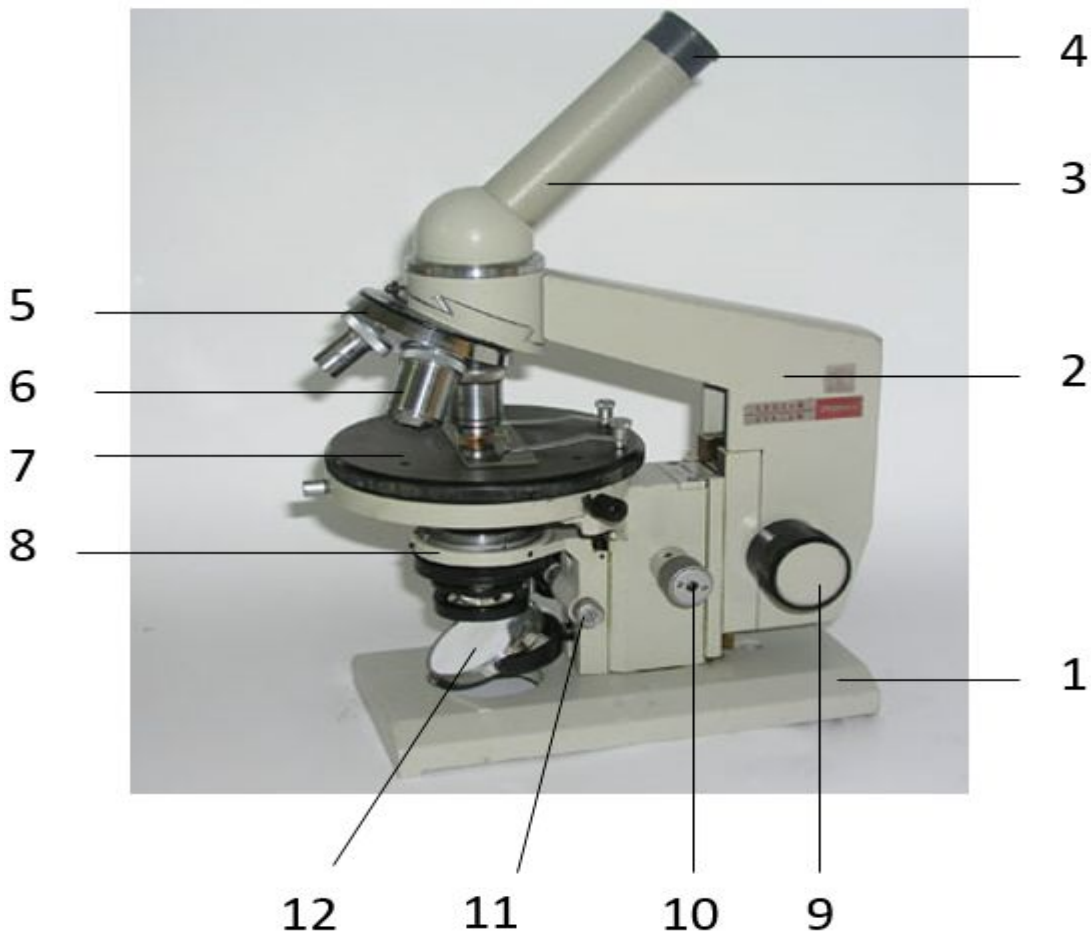
Световая микроскопия. Устройство светового микроскопа

- Изучение препарата осуществляется в проходящем свете с помощью светового микроскопа.
- Источник света естественный или искусственный (различные лампы). Свет собирается в конденсор и далее направляется через препарат в объектив. Окуляр дополнительно увеличивает это изображение.
- Качество изображения (четкость) определяется разрешающей способностью микроскопа, т.е. минимальным (разрешающим) расстоянием, на котором оптика микроскопа позволяет различить отдельно две близко расположенные точки. Эта величина пропорциональна длине световой волны и для обычного светового микроскопа равна приблизительно 0,2 мкм. **Чем меньше разрешающее расстояние, тем выше разрешающая способность микроскопа и тем более мелкие объекты можно исследовать.**
- Увеличение микроскопа – это соотношение между истинными размерами исследуемого объекта и размерами его изображения, получаемого с помощью микроскопа. Ориентировочно оно оценивается как произведение увеличений объектива и окуляра и может достигать 2000-2500 раз.

- Основными частями светового микроскопа являются объектив и окуляр, заключенные в цилиндрический корпус – тубус. Большинство моделей, предназначенных для биологических исследований, имеют в комплекте три объектива с разными фокусными расстояниями и поворотный механизм, предназначенный для их быстрой смены – револьверная головка. Тубус располагается на верхней части массивного штатива, включающего тубусодержатель. Чуть ниже объектива (или турели с несколькими объективами) находится предметный столик, на который устанавливаются предметные стекла с исследуемыми образцами. Резкость регулируется с помощью винта грубой (макромитрический) и точной (микромитрический) настройки, который позволяет изменять положение предметного столика относительно объектива.



- 1. Окуляр**
- 2. Тубус**
- 3. Держатель**
- 4. Винт грубой фокусировки**
- 5. Винт точной (микрометренной) фокусировки**
- 6. Револьверная головка**
- 7. Объектив**
- 8. Предметный столик**



1. Основание микроскопа
2. Тубусодержатель
3. Тубус
4. Окуляр (чаще $\times 10$)
5. Револьвер микроскопа
6. Объективы
 - ▶ а) сухие: $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$
 - ▶ б) иммерсионные $\times 60$, $\times 90$
7. Предметный столик
8. Конденсор
9. Макрометрический винт
10. Микрометрический винт
11. Винт конденсора
12. Зеркало

Характеристики оптического микроскопа

- К основным характеристикам микроскопа относятся увеличение и разрешающая способность.
- Общее увеличение, которое дает микроскоп, определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра. Однако увеличение не характеризует качества изображения, оно может быть четким и нечетким. Четкость получаемого изображения характеризуется разрешающей способностью микроскопа, т.е. той наименьшей величиной объектов или их деталей, которые можно увидеть с помощью этого прибора.
- Общее увеличение Γ микроскопа при визуальном наблюдении определяется по формуле:

$$\Gamma = \beta_{об} \times \beta_{ок}$$

где: $\beta_{об}$ - увеличение объектива (маркируется на объективе); $\beta_{ок}$ - увеличение окуляра (маркируется на окуляре).

- Диаметр поля, наблюдаемого в объекте, $Доб$ мм, определяется по формуле:
 $Доб = Док \times \beta_{об}$, $Док$ - диаметр окулярного поля зрения (маркируется на окуляре)

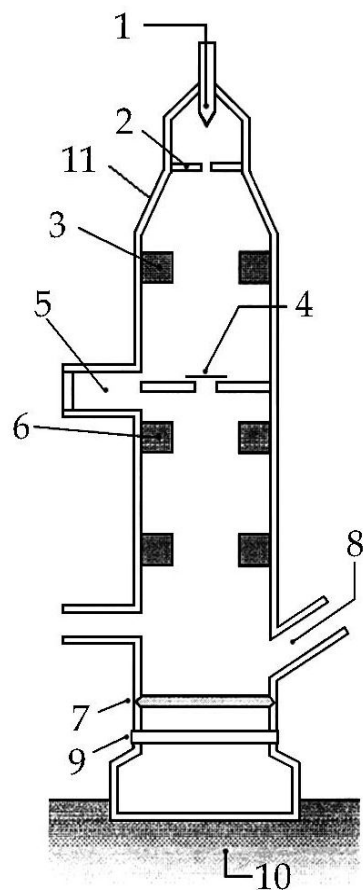
Электронная микроскопия.

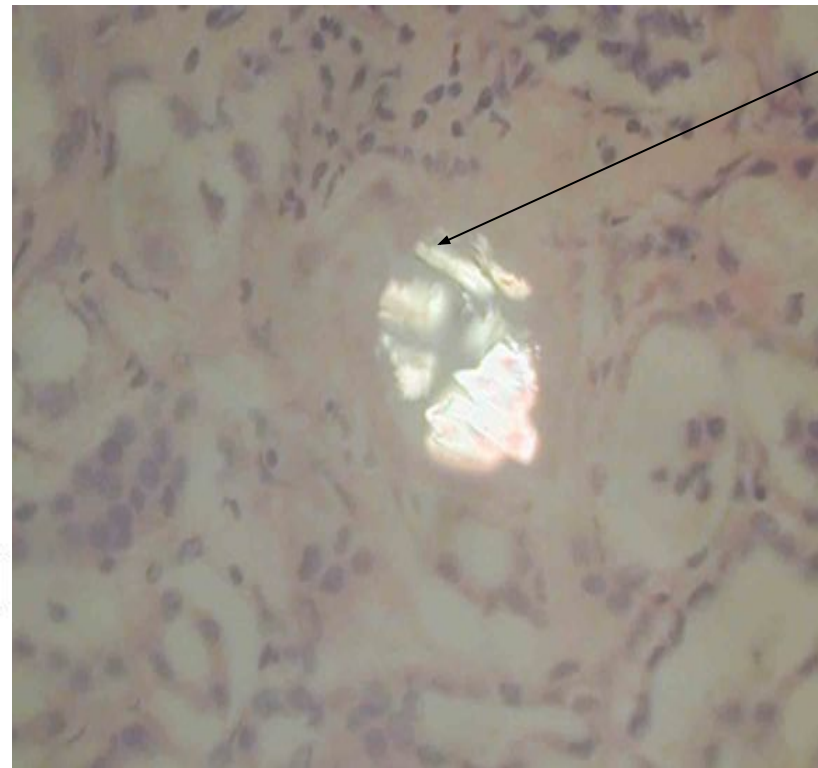
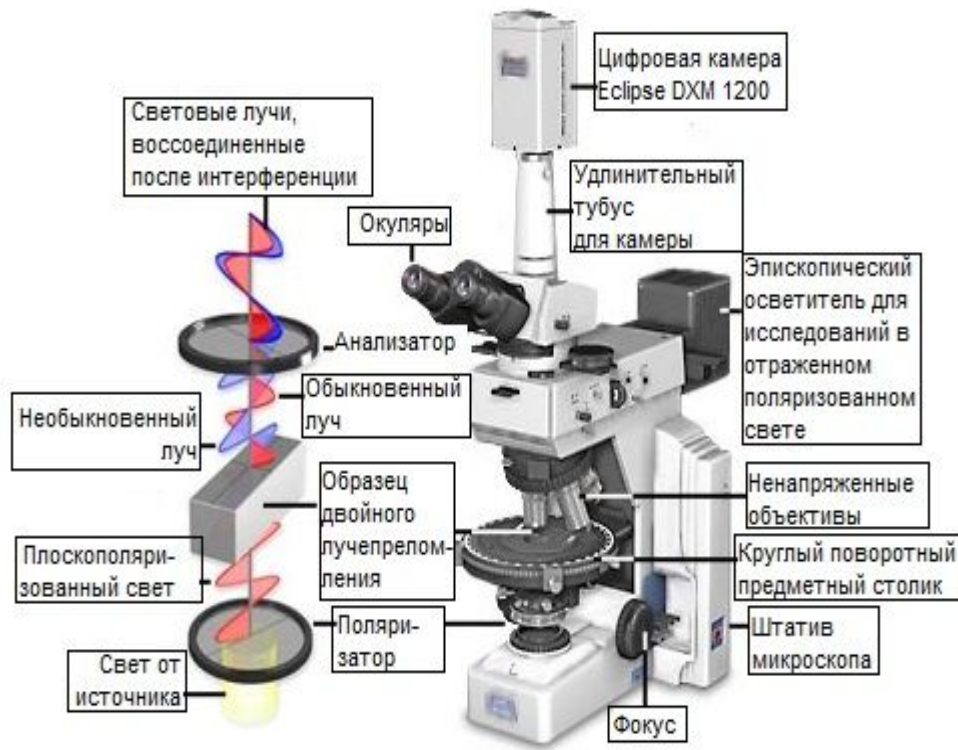
Устройство электронного микроскопа

- Электронный микроскоп — прибор, позволяющий получать изображение объектов с максимальным увеличением до 10^6 раз. Это стало возможно благодаря использованию вместо светового потока пучка электронов, длина волны которого во много раз короче длины волны фотонов видимого света.
- Разрешающая способность электронного микроскопа в $1000 \div 10000$ раз превосходит разрешение светового микроскопа и для лучших современных приборов может составлять менее $0,1 \text{ нм}$ (10^{-10} м).
- Существуют две основные разновидности электронной микроскопии: трансмиссионная (просвечивающая, разрешения порядка $0,1 \text{ нм}$, увеличение до $1,5 \cdot 10^6$ раз) и сканирующая (растровая, работает в широком диапазоне увеличений приблизительно от $\times 10$ до $\times 1\,000\,000$).

- Электронный микроскоп состоит из электронной пушки (устройства для получения пучка электронов) и системы электромагнитных линз, размещенных в колонне микроскопа в условиях вакуума.

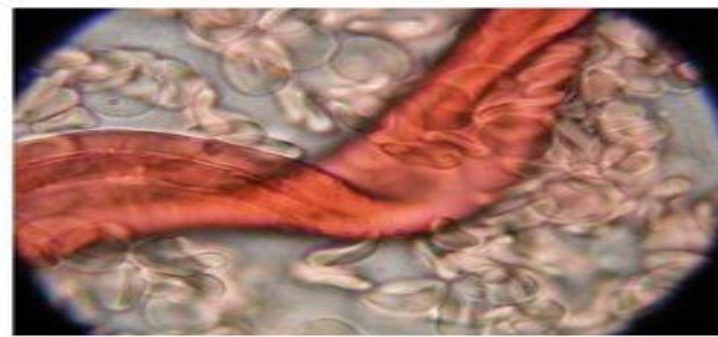
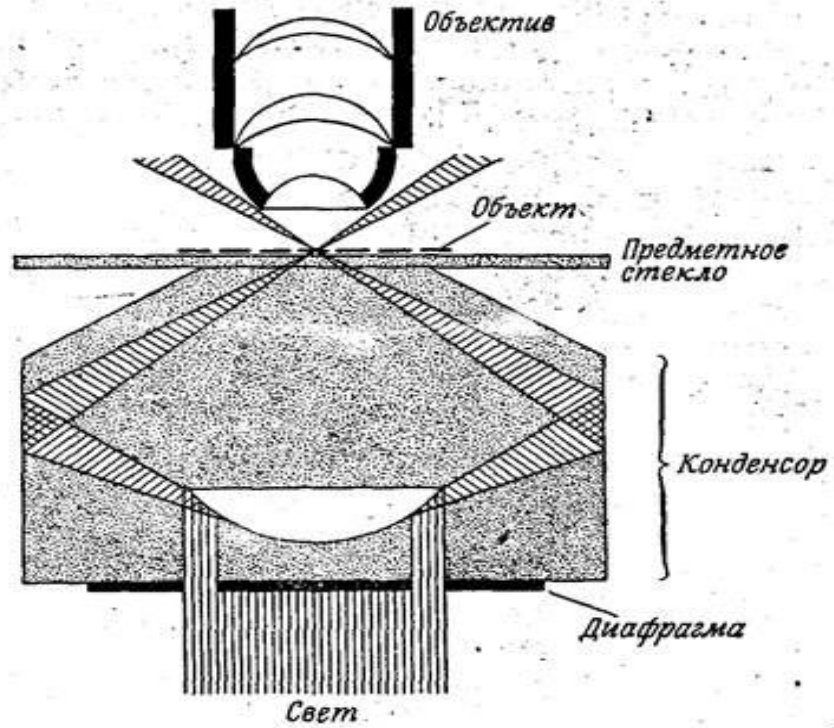
1 — катод; 2 — анод;
 3 — конденсор;
 4 — образец;
 5 — шлюзовая камера для установки образца;
 6 — объектив;
 7 — флюоресцентный экран;
 8 — смотровая камера;
 9 — фотографическая пластина;
 10 — бетонное основание;
 11 — колонна



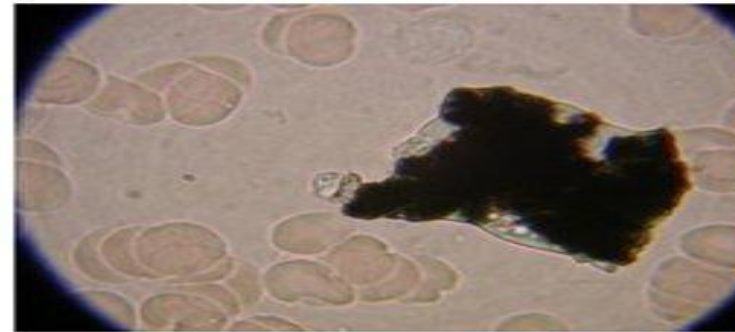


Кристаллы оксалатов.
Увеличение x100.

- При поляризационной микроскопии на объект исследования направляется поляризованный пучок света. Это обеспечивает особый фильтр – поляризатор. Такой свет направляется на объект исследования. Второй фильтр – анализатор расположен между объективом и окуляром и позволяет регистрировать угол отклонения плоскости поляризации света. Такая микроскопия позволяет регистрировать пространственное расположение молекул в объективе или кристаллические структуры.

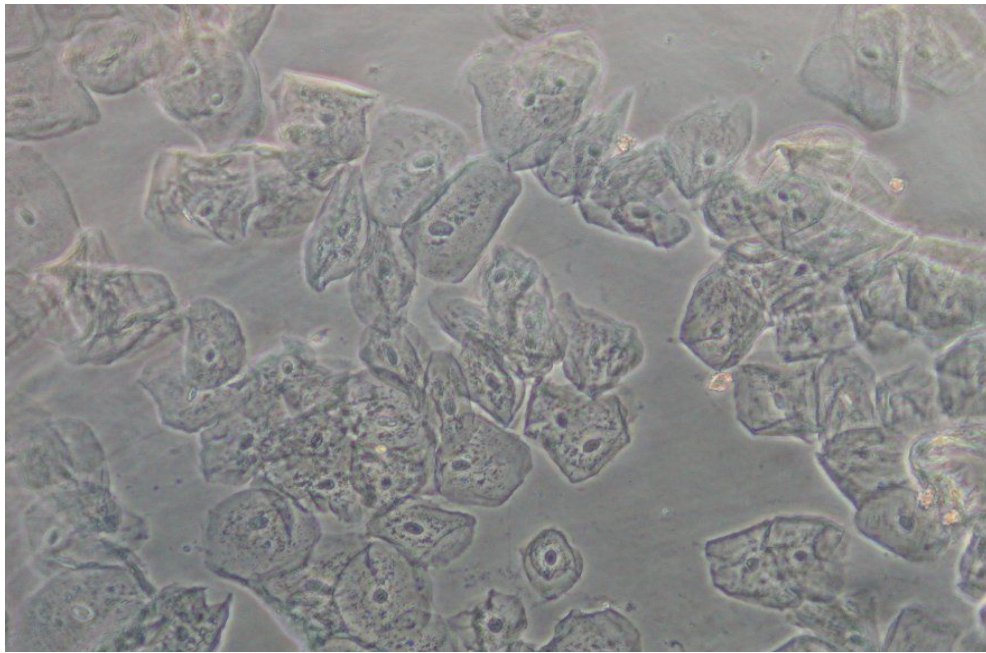


Холестериновое дерево



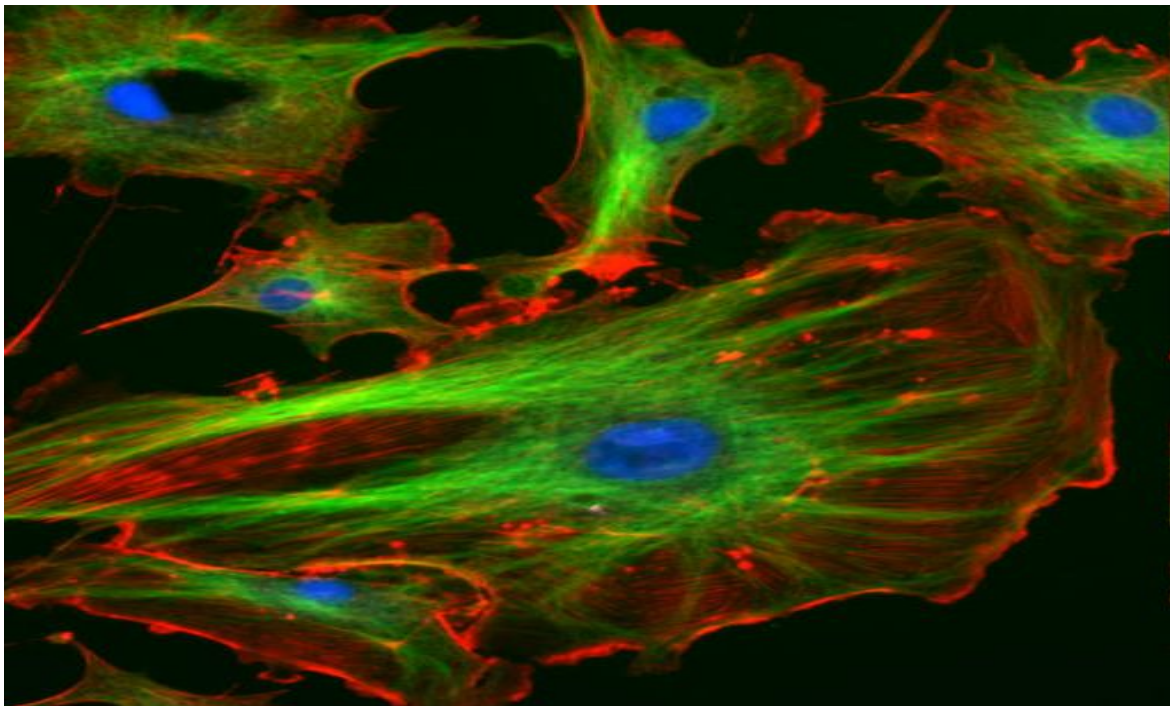
Кристалл ортофосфорной кислоты

Темнопольной микроскопии. Основана на использовании специального конденсора, освещающего препарат «косыми» лучами, не попадающими в объектив. При наличии объекта в поле зрения свет отражается от него и направляется в объектив. Метод часто используется для изучения живых неокрашенных клеток.



Эпителий слизистой оболочки
полости рта
фазовый контраст. объектив
20X ахромат. Окуляр 10X

- Метод фазово-контрастной микроскопии служит для получения контрастных изображений прозрачных и бесцветных объектов. Даже при очень малых различиях в показателях преломления разных элементов препарата световая волна, проходящая через них, претерпевает разные изменения по фазе. Эти фазовые изменения, не воспринимаемые глазом, преобразуются с помощью специального оптического устройства в изменения амплитуды световой волны, т. е. в изменения яркости, которые уже различимы глазом. Иными словами, в получаемом видимом изображении распределение яркостей (амплитуд) воспроизводит фазовый рельеф. Получаемое таким образом изображение называется фазово-контрастным.



Цитоскелет эукариот.

Эндотелиальные клетки быка.

Иммуноцитохимический
метод окрашивания.

Увеличение x40.

Актиновые микрофиламенты
окрашены в красный,
микротрубочки в зеленый,
ядра клеток в голубой цвет.

- В флуоресцентной микроскопии используется принцип свечения объекта исследования при освещении его ультрафиолетовыми лучами. Источником света служат специальные лампы. Существует аутофлюоресценция – собственная или первичная флюоресценция. Например, свечение эластических волокон в стенке артерий. Вторичная флюоресценция возникает после обработки препаратов специальными красителями – флюорохромами (акридин оранжевый, родамин, флюоресцин и др.). Если флюоресцентные красители связать со специфическими антителами – можно будет выявить их антигены. Этот метод получил название иммуноцитохимического.

Правила работы с микроскопом

1. Установите микроскоп слева, штативом к себе;
2. Поставьте в рабочее положение объектив малого увеличения. Для этого с помощью револьвера поставьте объектив малого увеличения над предметным столиком (поворачиваем револьвер до щелчка);
3. Осветите поле зрения: глядя в *окуляр* левым глазом, поверните зеркало в сторону источника света до равномерного освещения поля зрения. После этого микроскоп не перемещайте!;
4. Положите постоянный препарат на предметный столик покровным стеклом вверх. Поместите его над центром отверстия предметного столика;
5. С помощью макрометрического винта опустите тубус так, чтобы расстояние между нижней линзой объектива и покровным стеклом препарата не превышало 0,5 см. Затем, глядя в окуляр, посредством макровинта поднимите тубус до появления четкого изображения;
6. Поставьте объект или часть его в центр поля зрения. Для этого, глядя в окуляр, передвигайте препарат с помощью винтов- препаратоводителей;
7. Переведите в рабочее положение объектив большого увеличения. Это осуществляют поворотом револьверной системы до щелчка. Если изображение предмета есть, но оно мутное и расплывчатое, то настраивайте на резкость посредством микровинта. Если изображение объекта отсутствует, то поверните макровинт чуть-чуть на себя до появления четкого изображения;
8. Вращая микровинт, рассмотрите объект. Зарисуйте его в альбом;

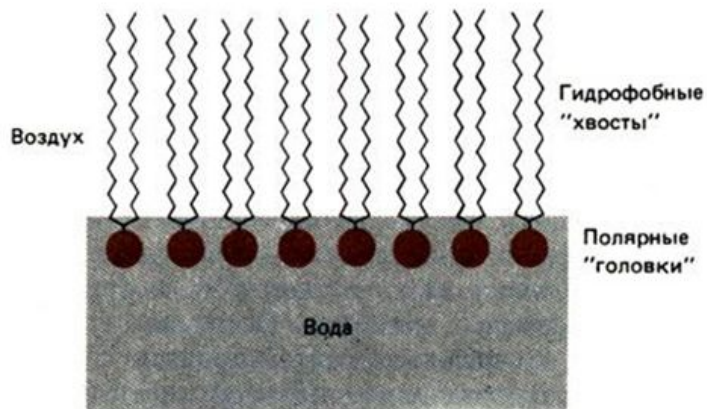
9

Поверхностный аппарат клетки

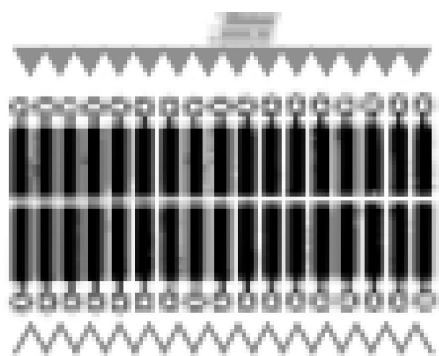
Определение клетки, ее компоненты

- Клетка - целостная элементарная система, способная к самовоспроизведению и саморегуляции метаболических процессов. Эукариотическая клетка состоит из 3-х частей: поверхностного аппарата, цитоплазмы и ядра.

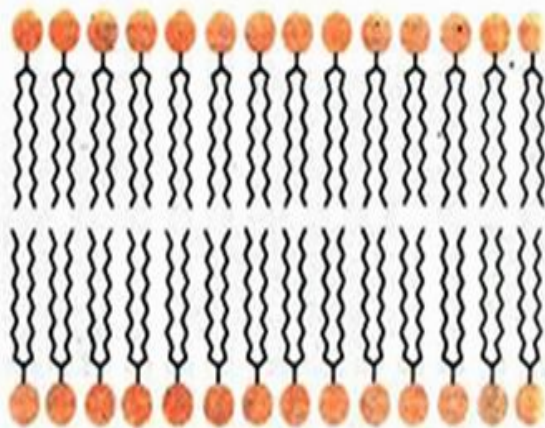
Модели мембран



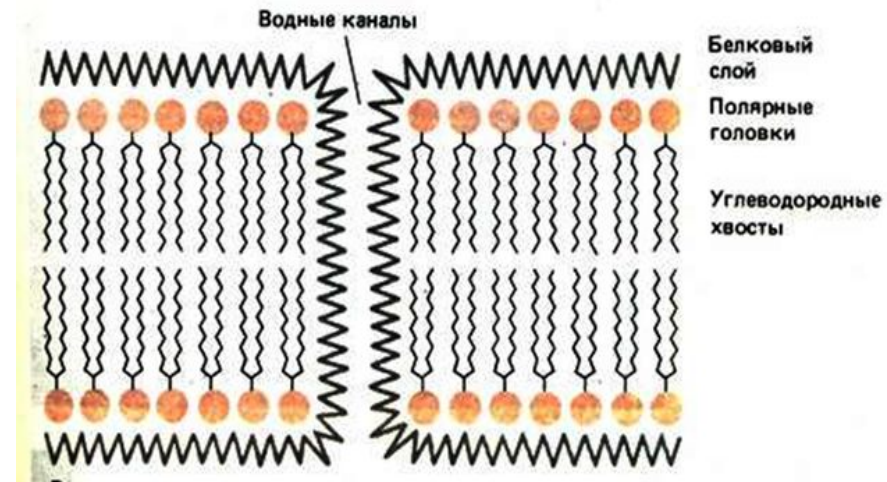
Липидный
слой (Овертон,
1902)



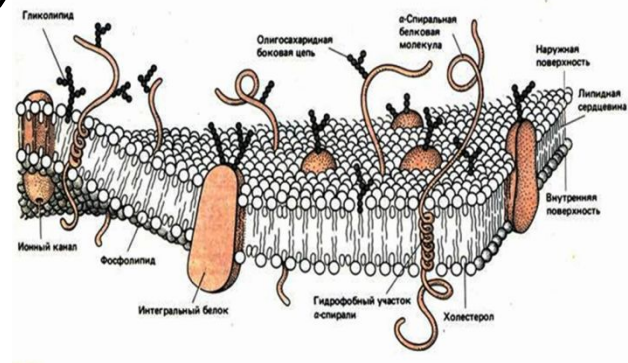
J.D. Robertson (1964)



Билипидный
слой
(Грендель, 1925)

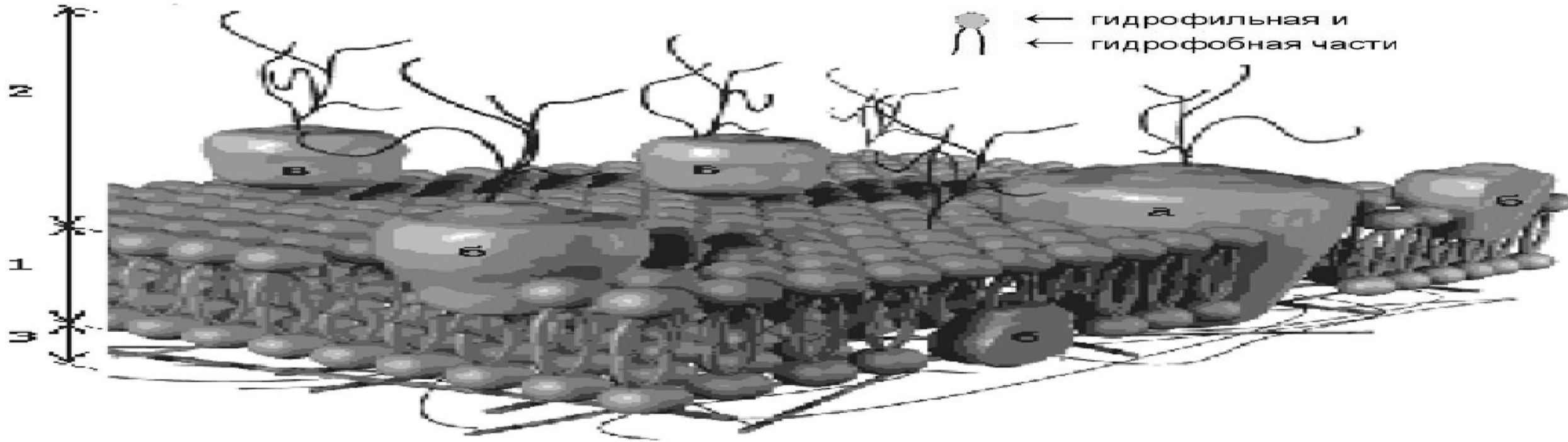


«Бутербродная» модель
(Даниэли и Девсон, 1935)



Жидкостно-мозаичная модель (Сингер и Никольсон,
1972)

Поверхностный аппарат клетки



1 - плазмалемма; 2 - надмембранный комплекс;

Плазмалемма образована:
белками (~ 60%)
липидами (~ 40%)

- фосфолипиды, гликолипиды,
стеролы

белки: интегральные (а),
полуинтегральные (б),
периферические (в)

выполнен гликолипидами
и гликопептидами

функция. №1 – рецепция

- в **животной** клетке – гликокаликс

- в **растительной** клетке гликокаликс + клеточная стенка

- **грибы**, насекомые – хитин

3 - субмембранный комплекс.

скопление микротрубочек
и микрофиламентов
цитоскелета под плазмалеммой.

- Плазматическая мембрана образована белками (-60%) и липидами (-40%).
- В состав липидов входят гликолипиды, стеролы, но наиболее распространены фосфолипиды. Фосфолипиды состоят из гидрофильной головки (глицерин) и гидрофобного хвоста (жирные кислоты); данная полярность липидов и позволяет образовывать в водной среде билипидный слой.
- По расположению в плазмалемме выделяют три вида белков: интегральные, полуинтегральные, периферические. "Белки как айсберги плавают в липидном море" по одиночке, но чаще сцепленными группами. Белки могут выпо
- Надмембранный комплекс, выполнен гликолипидами и гликопептидами, в животной клетке представлен гликокаликсом, в растительной - клеточной стенкой.
- Субмембранный слой образуется путем скопления микротрубочек и микрофиламентов цитоскелета под плазмалеммой.
- **Функции поверхностного аппарата клетки: барьерная (защитная, пограничная), обменно-транспортная, рецепторная,**

Свойства плазматической мембраны

1. Способность к самосборке. После разрушающих воздействий мембрана способна восстановить свою структуру, т.к. молекулы липидов на основе своих физико-химических свойств собираются в биполярный слой, в который затем встраиваются молекулы белков.
2. Текучесть. Мембрана не является жесткой структурой, большая часть входящих в её состав белков и липидов может перемещаться в плоскости мембраны, они постоянно флюктуируют за счет вращательных и колебательных движений. Это определяет большую скорость протекания химических реакций на мембране. Степень жидкости мембраны зависит от жирнокислотного состава липидов и присутствия холестерина. Ненасыщенные жирные кислоты увеличивают текучесть мембраны. Холестерол и длинноцепочечные жирные кислоты ограничивают подвижность липидов и повышают жесткость мембраны.
3. Полупроницаемость. Мембраны живых клеток пропускают, помимо воды, лишь определённые молекулы и ионы растворённых веществ. Это обеспечивает поддержание ионного и молекулярного состава клетки.
4. Мембрана не имеет свободных концов. Она всегда замыкается в пузырьки.
5. Асимметричность. Состав наружного и внутреннего слоев как белков, так и липидов различен.
6. Полярность. Внешняя сторона мембраны несёт положительный заряд, а внутренняя – отрицательный.
7. Увеличение поверхности мембраны происходит путем встраивания в нее везикул.
8. Мембрана обеспечивает разделение заряженных частиц и поддержание разности потенциалов.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЕМБРАНЫ

ЛИПИДЫ

БЕЛКИ

УГЛЕВОДЫ

От 4:1 до 1:4

1. глицерофосфолипиды
2. сфингофосфолипиды
3. стероиды

Обеспечивают, в основном, структурную, барьерную функции, а также «поддерживают» белки в необходимой для функционирования конформации

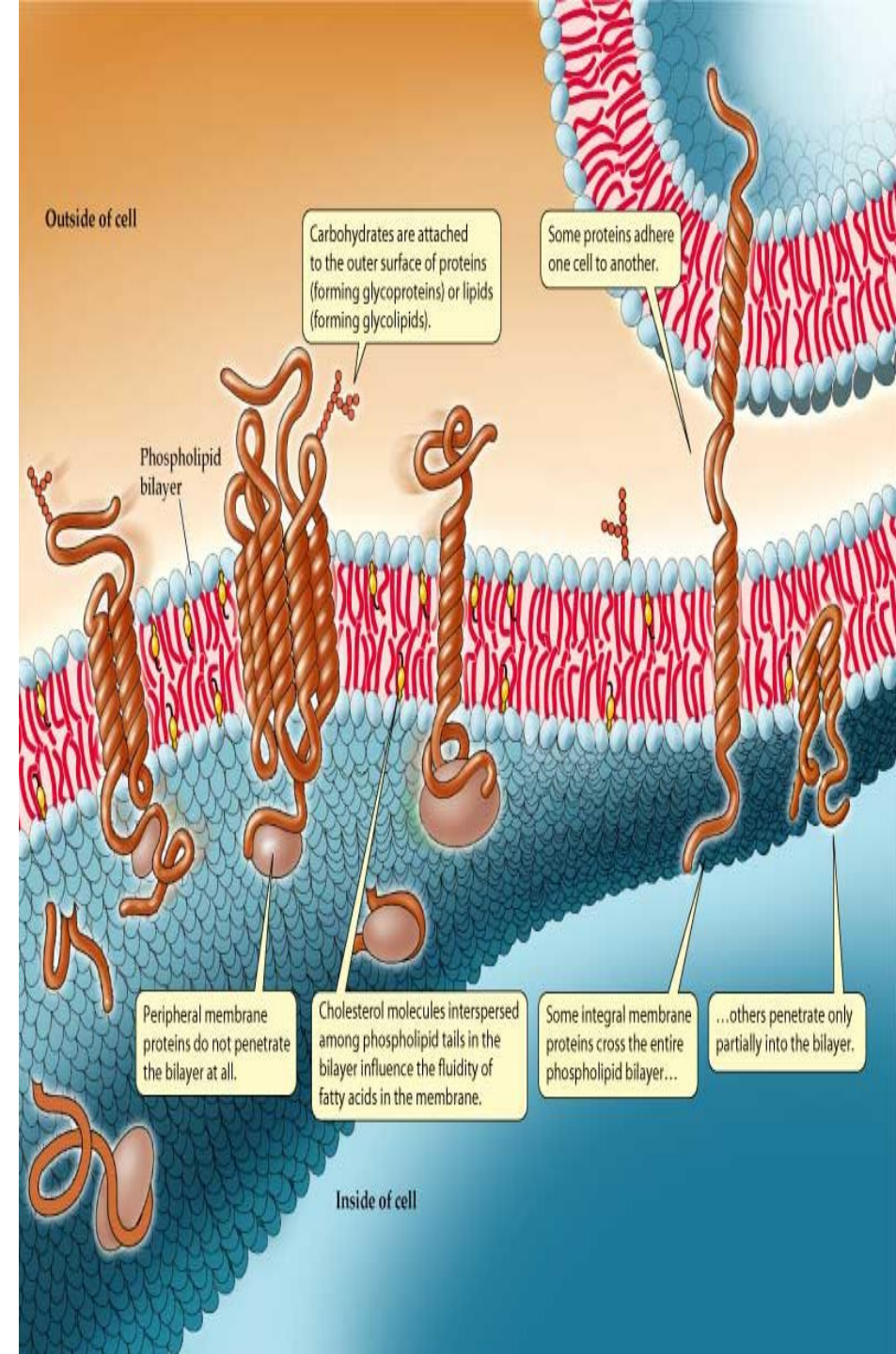
В комплексе с белками (гликопротеины или протеогликаны) и липидами (гликолипиды) **СНАРУЖИ!**

Обеспечивают химическую полярность мембраны, участвуют в информационной функции мембраны

Определяют функциональную активность мембраны

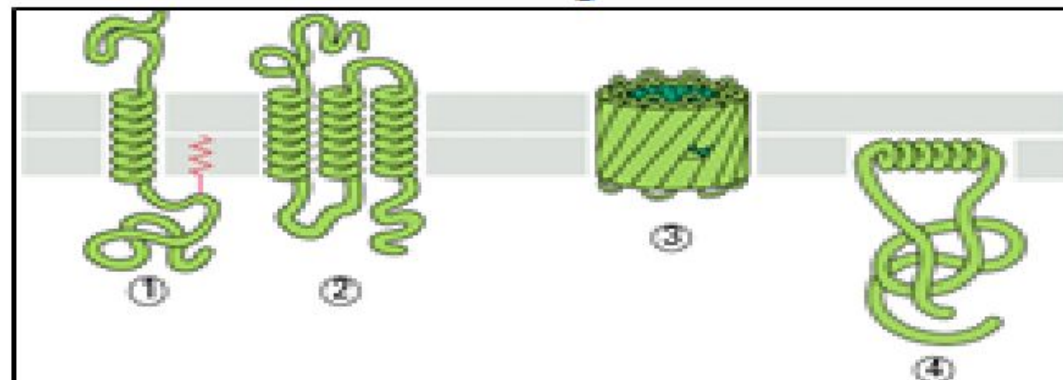
Белки

- Полуинтегральные (белки адгезии, рецепторы);
- Интегральные (поры, ионные каналы, переносчики, насосы, рецепторы)
- Периферические (рецепторы, белки адгезии, цитоскелет, система вторичных посредников, ферменты).

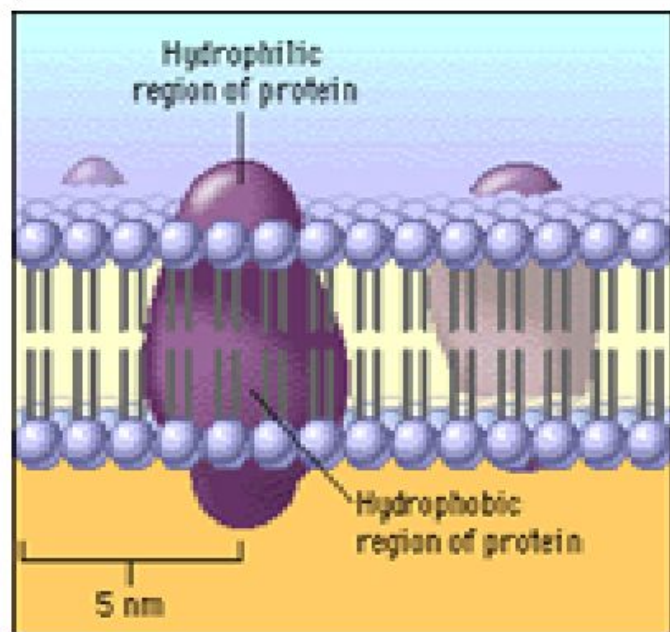
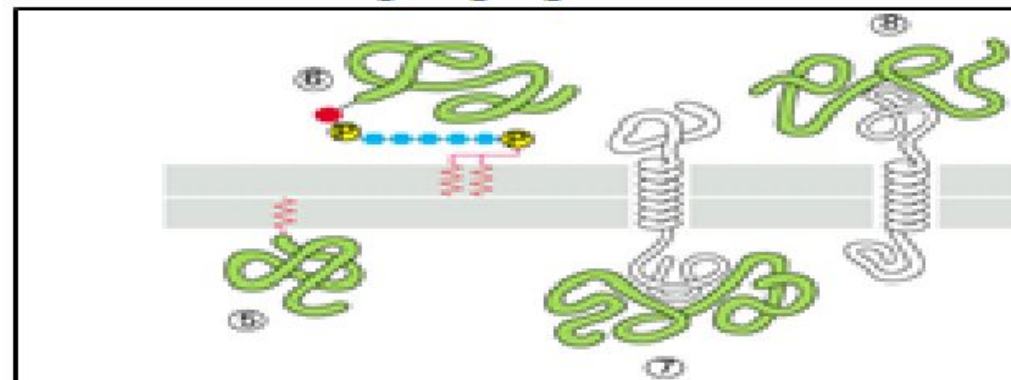


МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ

интегральные



периферические

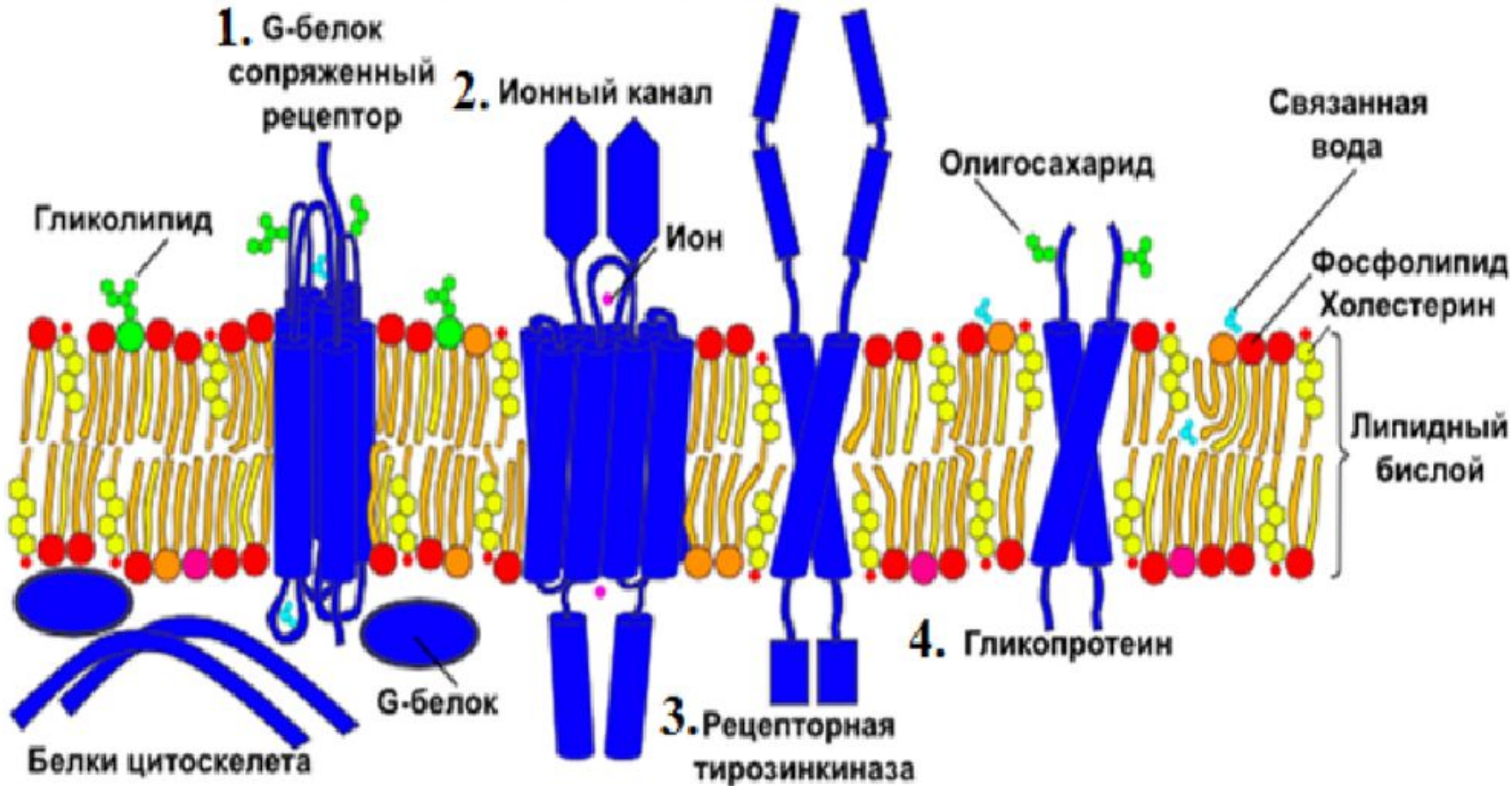


Интегральные белки прочно удерживаются в мембране с помощью гидрофобных взаимодействий. Их молекулы амфифильны. Гидрофобная часть этих белков находится в зоне гидрофобных хвостиков фосфолипидов, а гидрофильная – контактирует с жидкими средами (цитоплазмой и межклеточной жидкостью).

Периферические белки менее прочно удерживаются в мембране с помощью ионных связей.

Функциональная классификация мембранных белков

Внеклеточное пространство



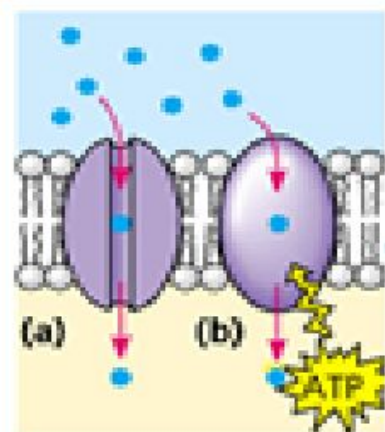
-Белки рецепторы (1);

-Транспортные белки (2);

-Белки ферменты (3);

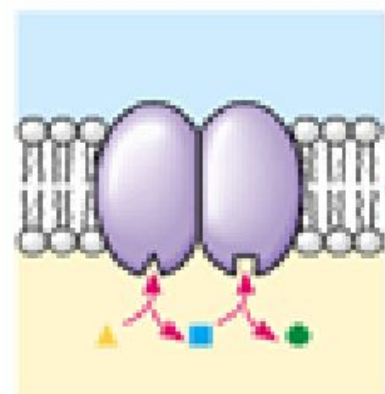
-Белки маркеры (4).

Цитоплазма



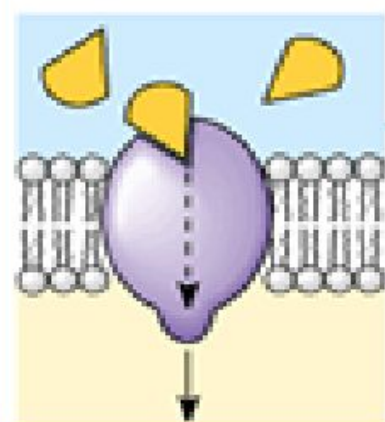
ТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ

а) пассивный
транспорт;
b) активный
транспорт



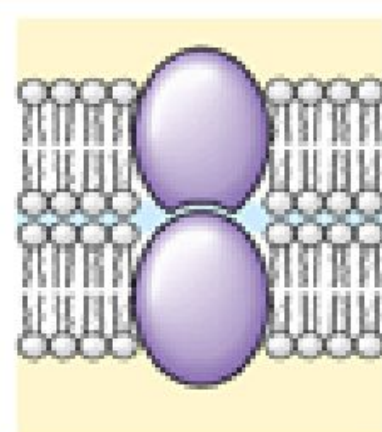
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ФУНКЦИЯ

обеспечение
биохимических
реакций



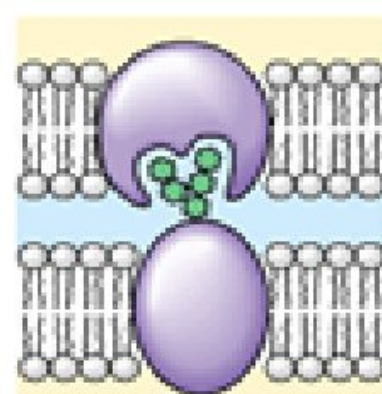
СИГНАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ

обмен информацией
между клетками



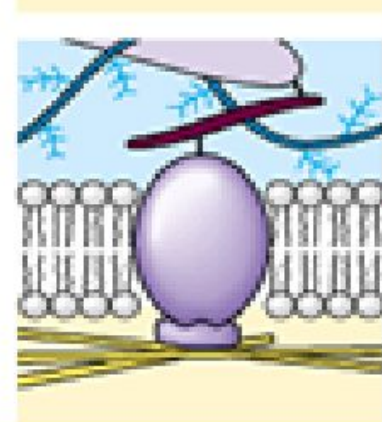
ФУНКЦИЯ АДГЕЗИИ

создание
многоклеточных
организмов



АНТИГЕННАЯ ФУНКЦИЯ

идентификация
клеток для
обеспечения
иммунитета



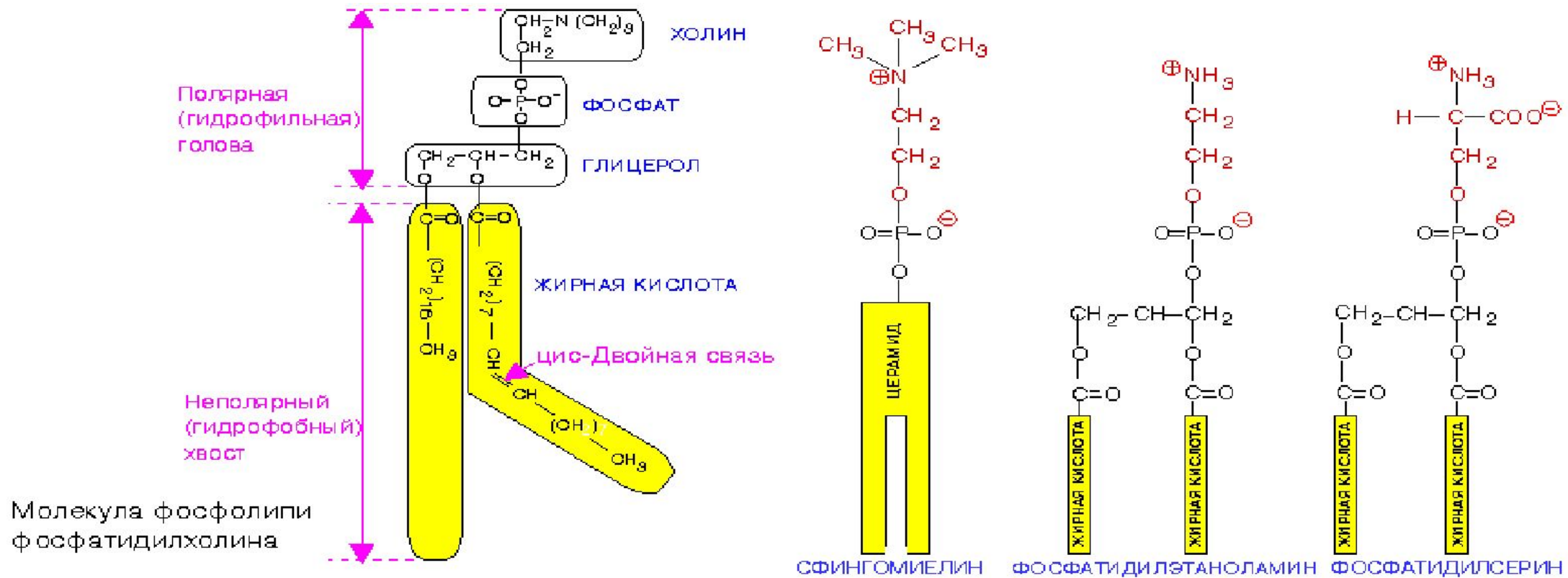
СТРУКТУРНО- МЕХАНИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ

соединение
цитоскелета с
внеклеточным
матриксом

Липиды мембраны

- Большинство липидов в мембранах млекопитающих представлены фосфолипидами, гликофинголипидами и холестеролом.
- Фосфолипиды в составе мембран подразделяются на две группы: глицерофосфолипиды и сфингомиелины. Глицерофосфолипиды – представляют собой сложные эфиры трёхатомного спирта глицерола, двух остатков жирных кислот и фосфорилированного аминоспирта. Сфингофосфолипиды (сфингомиелины) являются производными аминоспирта сфингозина. Соединение сфингозина и жирной кислоты получило название церамид.
- Гликолипиды также являются производными церамида, содержащими один или несколько остатков моносахаридов.
- Холестерол – одноатомный циклический спирт. Это один из главных компонентов плазматической мембраны клеток млекопитающих, в меньшем количестве может присутствовать также в митохондриях, мембранах комплекса Гольджи, ядерных мембранах. Особенно много его в нервной ткани.

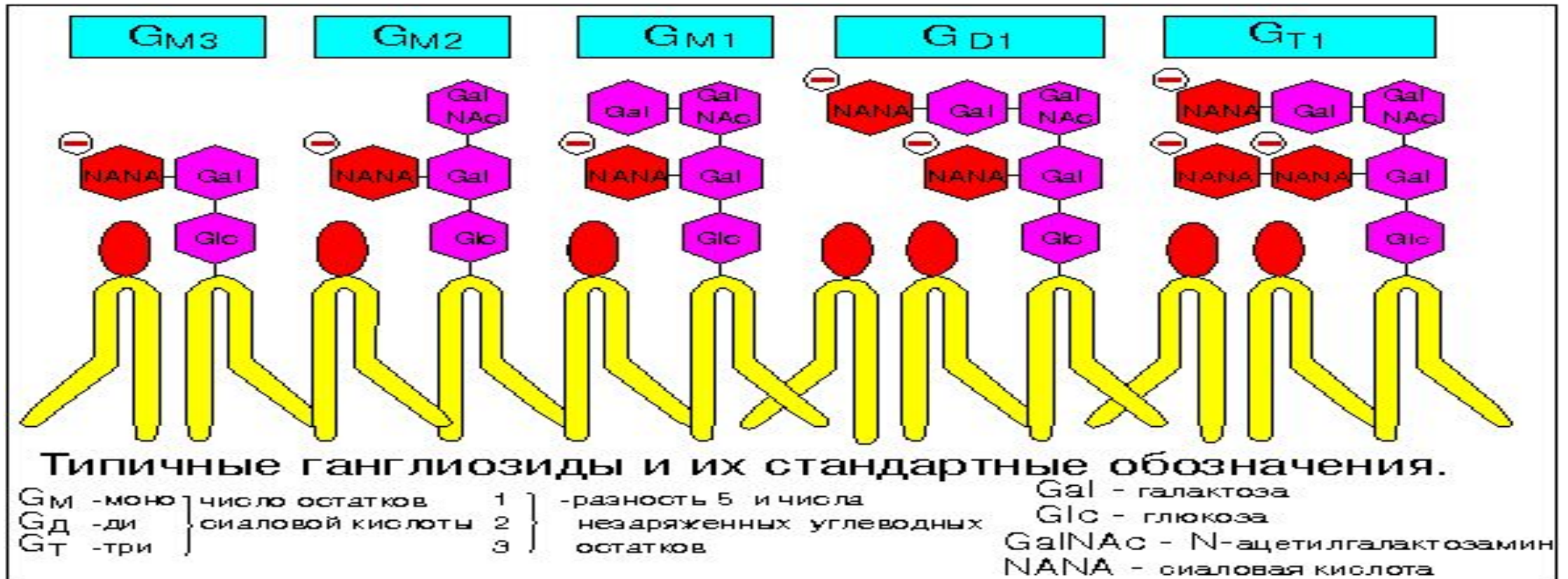
Фосфолипиды



Формулы главных фосфолипидов, содержащихся в мембранах эритроцитов человека.

Фосфолипиды являются неотъемлемым компонентом всех клеточных мембран. Между плазмой и эритроцитами постоянно происходит обмен фосфатидилхолином и сфингомиелином. Оба эти фосфолипида присутствуют в плазме в качестве составных компонентов липопротеинов, где они играют ключевую роль, поддерживая в растворимом состоянии неполярные липиды, такие как триглицериды и эфиры холестерина. Это свойство отражает амфипатический характер молекул фосфолипидов - неполярные цепи жирных кислот способны взаимодействовать с липидным окружением, а полярные головы - с водным окружением.

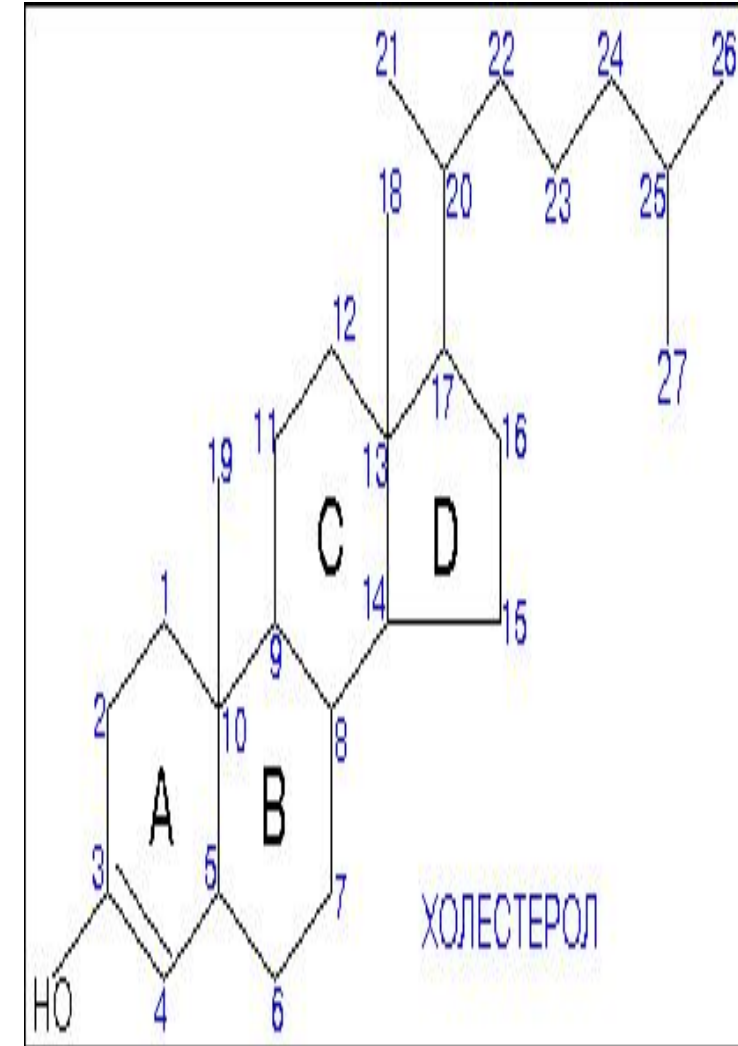
Гликолипиды



Гликолипиды составляют 5% липидных молекул наружного монослоя и сильно различаются у разных видов и даже в разных тканях одного вида. Структура их в целом аналогична структуре фосфолипидов, образованных из глицерола. О возможных функциях гликолипидов существуют лишь догадки. Например, ганглиозид GM1 действует как поверхностный рецептор для бактериального токсина, вызывающего изнурительный понос при холере.

Холестерин

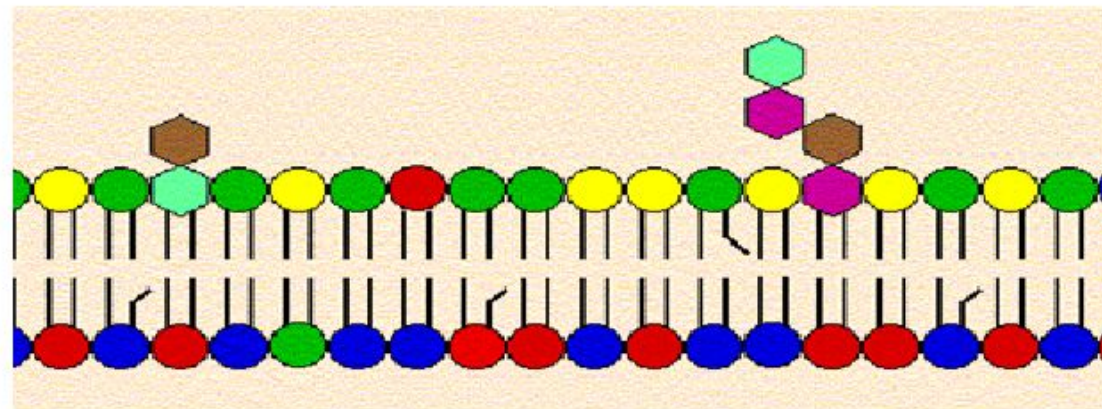
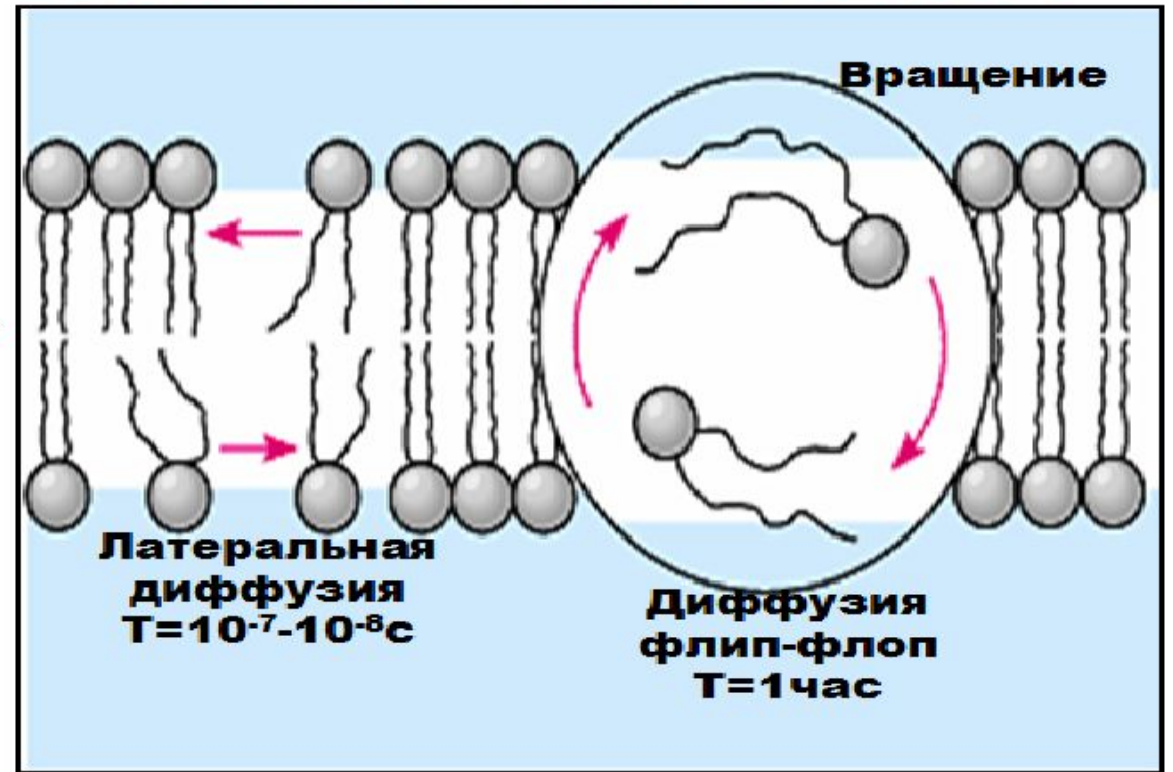
- Холестерин - это стерин, содержащий стероидное ядро из четырех колец и гидроксильную группу. Холестерин содержится в составе липопротеинов, либо в свободной форме, либо в виде эфиров с длинноцепочечными жирными кислотами. Плазматические мембраны эукариот содержат довольно большое количество холестерина - приблизительно одну молекулу на каждую молекулу фосфолипида. Помимо регулирования текучести холестерин увеличивает механическую прочность бислоя. Холестерин предотвращает слипание и кристаллизацию углеводородных цепей, ингибирует фазовые переходы, связанные с изменением температуры и таким образом предотвращается резкое уменьшение текучести мембран, которое в противном случае имело бы место при низкой температуре.



ПОДВИЖНОСТЬ ФОСФОЛИПИДНЫХ МОЛЕКУЛ

4 вида движений липидов:

1. колебательное
2. вращательное
3. латеральная диффузия – перемещение липидов в пределах одного монослоя
4. флип-флоп – «перескок» липидов из одного монослоя в другой

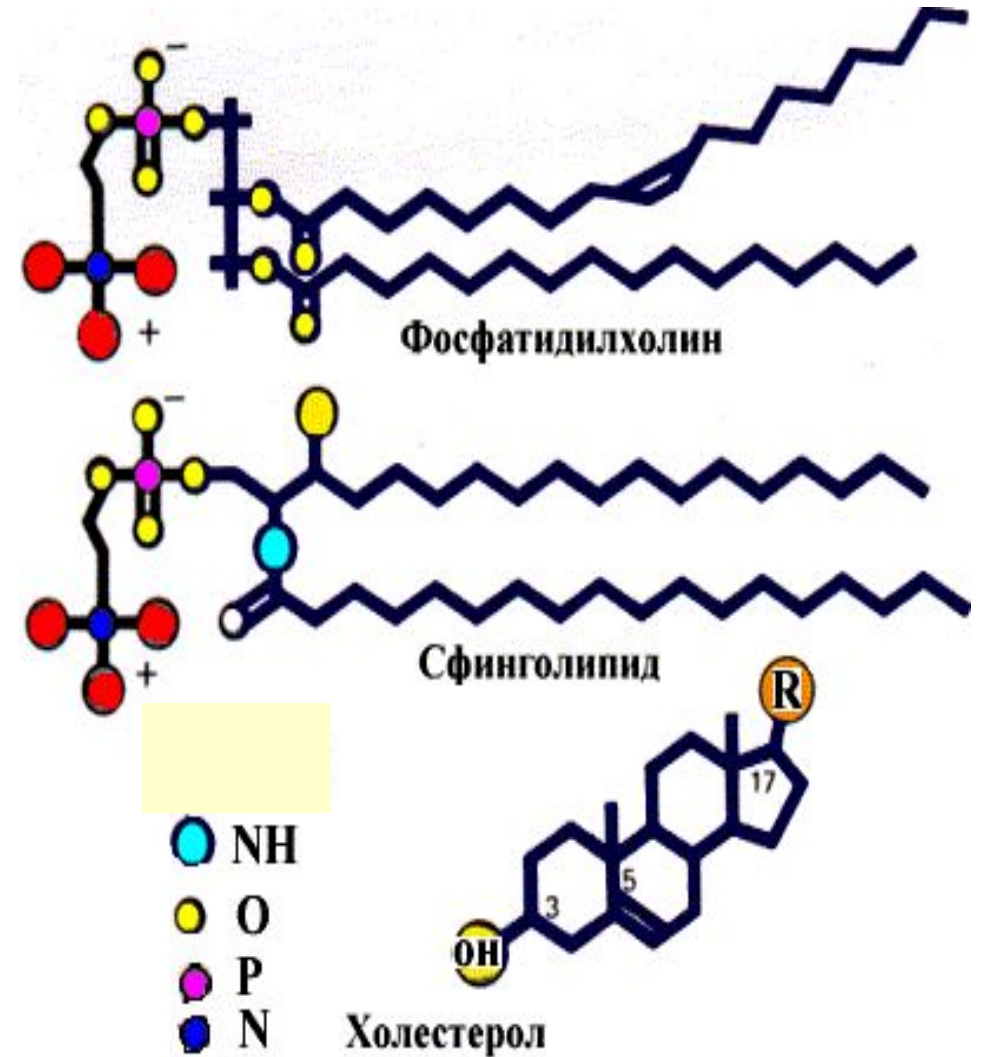


Флип-флоп происходит относительно редко. Следствием этого является химическая полярность мембраны – различный химический состав внутреннего и наружного монослоев мембраны.

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

Зависимость свойств мембраны от химического состава называется **лиотропным полиморфизмом**.

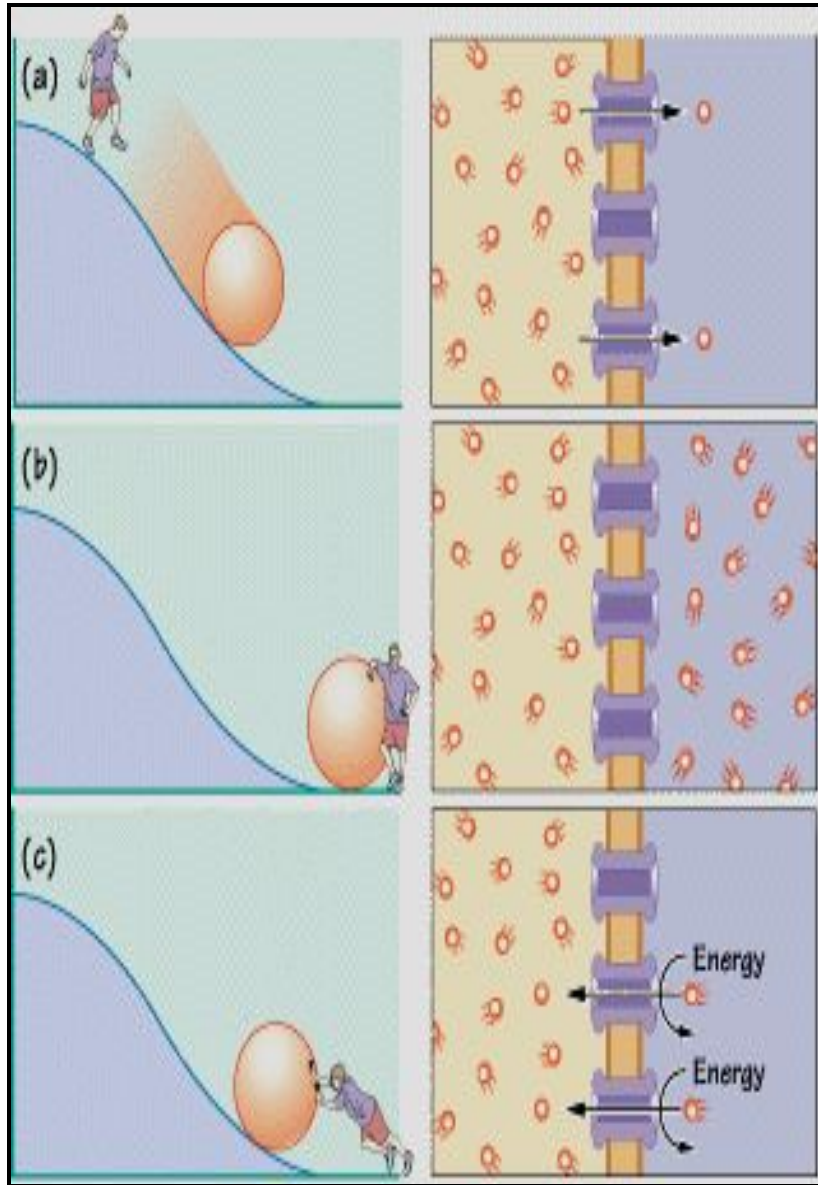
1. Ненасыщенные жирные кислоты способствуют жидкому состоянию мембраны, т.к. в местах двойных связей образуются изгибы цепи.
2. Насыщенные жирные кислоты способствуют густому состоянию мембраны
3. Чем однороднее состав мембраны, тем она более густая
4. Холестерол может:
 - А) Уплотнять мембраны, встраиваясь между хвостиками фосфолипидов и ограничивая их подвижность;
 - Б) Разжижать мембраны, уменьшая однородность липидного состава.



ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ В МЕМБРАНАХ

ПАССИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Происходит по градиентам концентрации, электрического потенциала или давления без затраты энергии АТФ. Приводит к исчезновению градиентов.



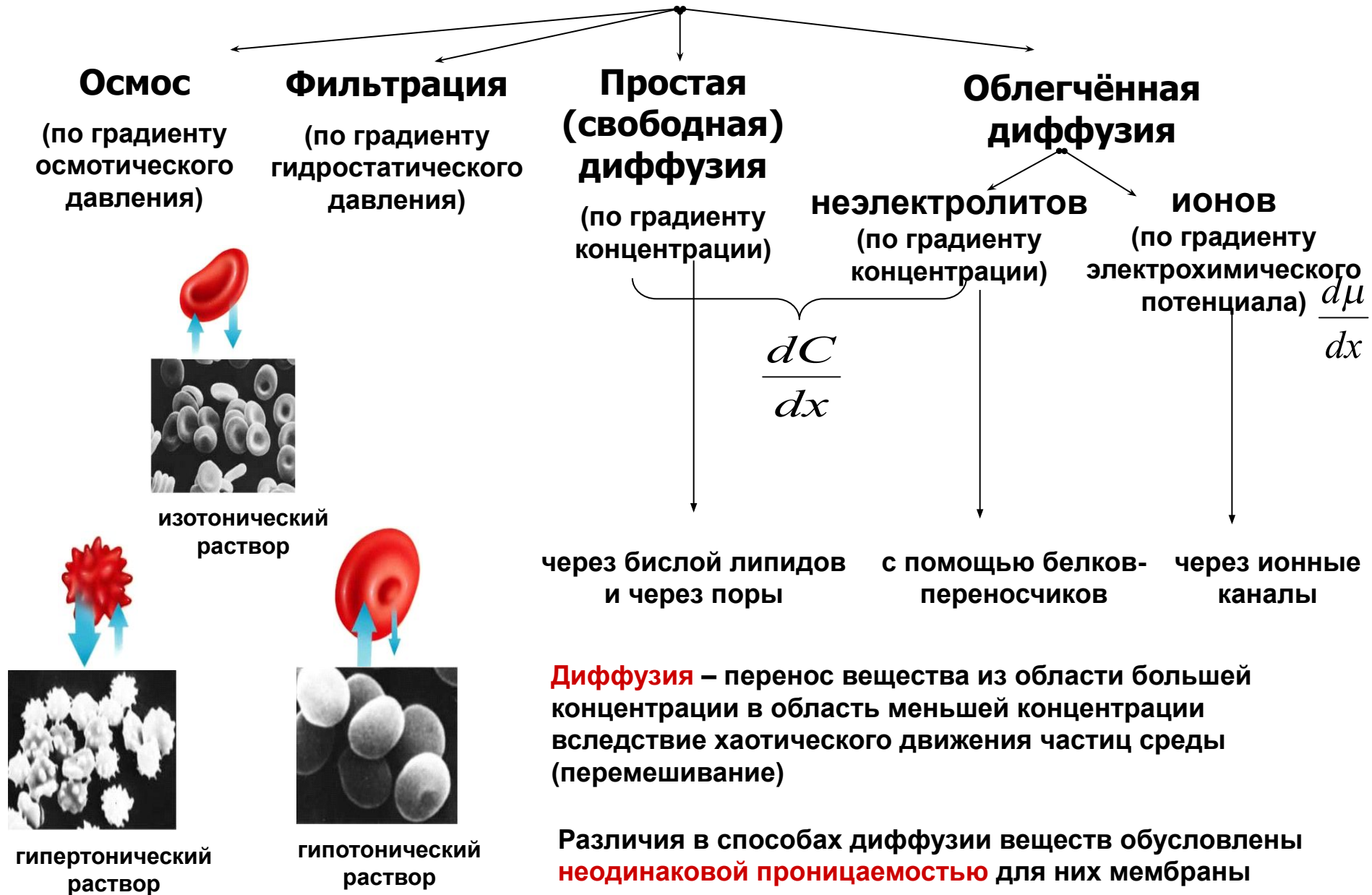
АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Происходит за счёт энергии АТФ против градиентов концентрации или электрохимического потенциала. Приводит к увеличению градиентов.

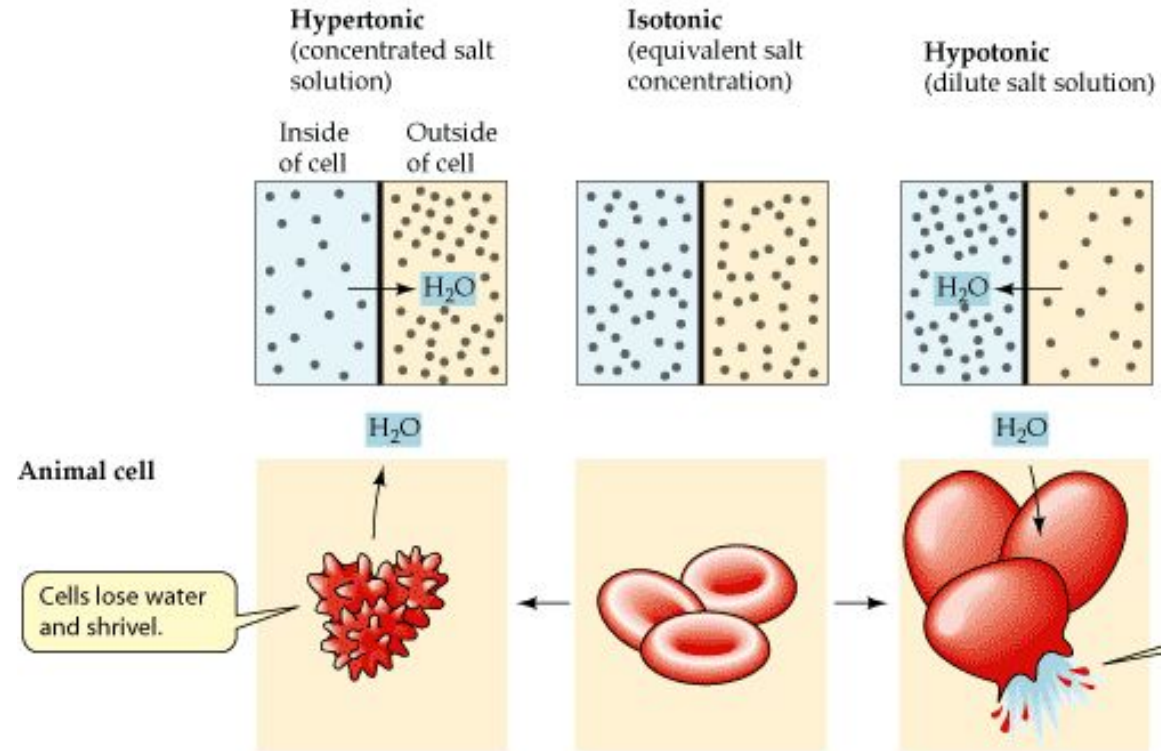
Виды транспорта



ПАССИВНЫЙ ТРАНСПОРТ



Осмоз и электроосмос

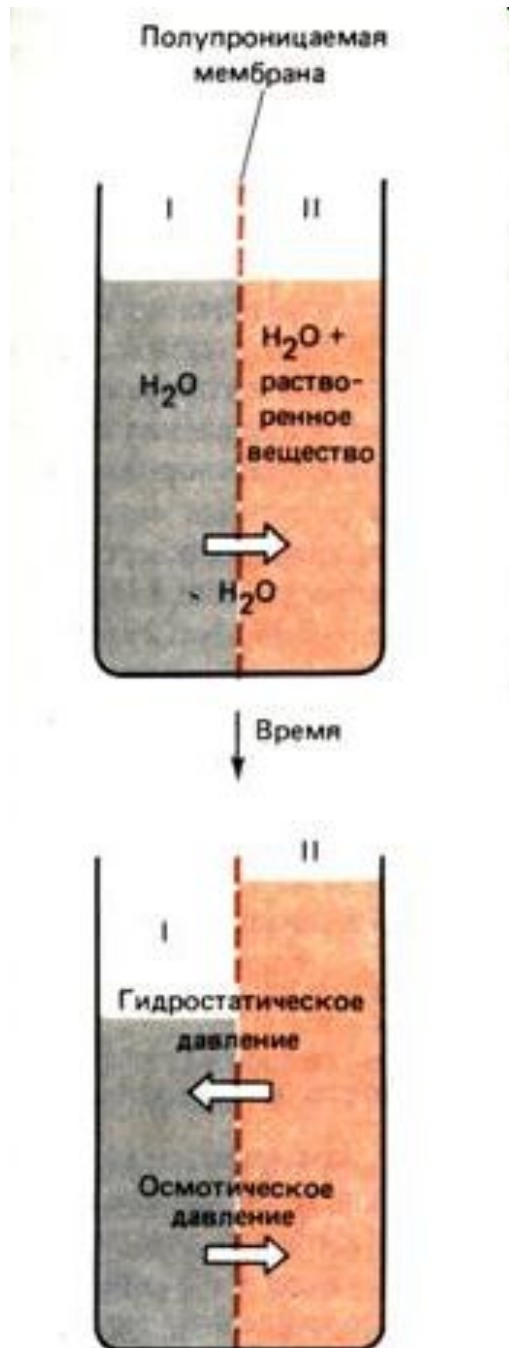


Это движение растворителя из раствора с меньшей концентрацией в раствор с большей концентрацией.

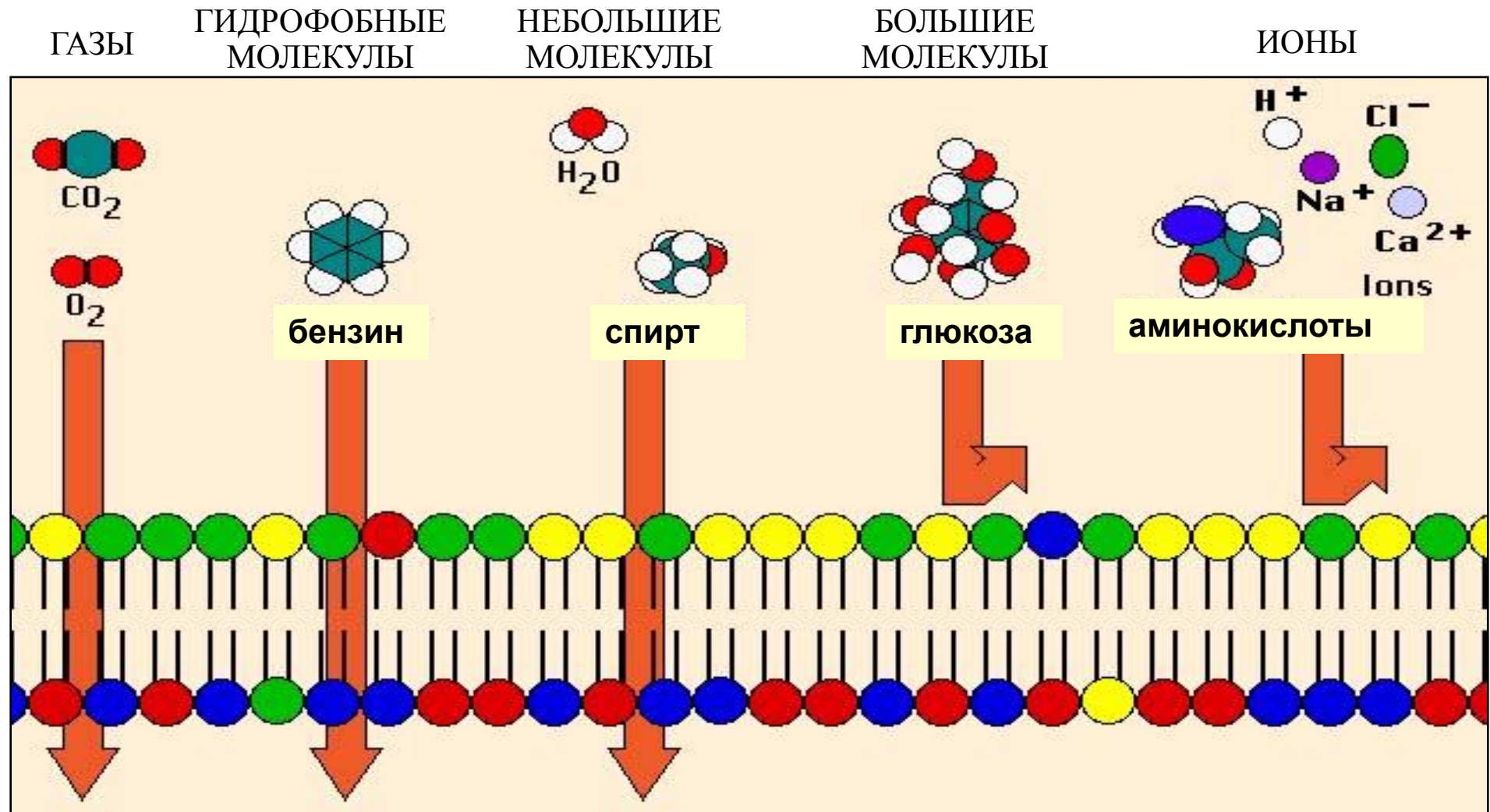
В случае электроосмоса движущей силой является электрохимический градиент.

Фильтрация

Это движение растворителя под действием гидростатического давления



ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ

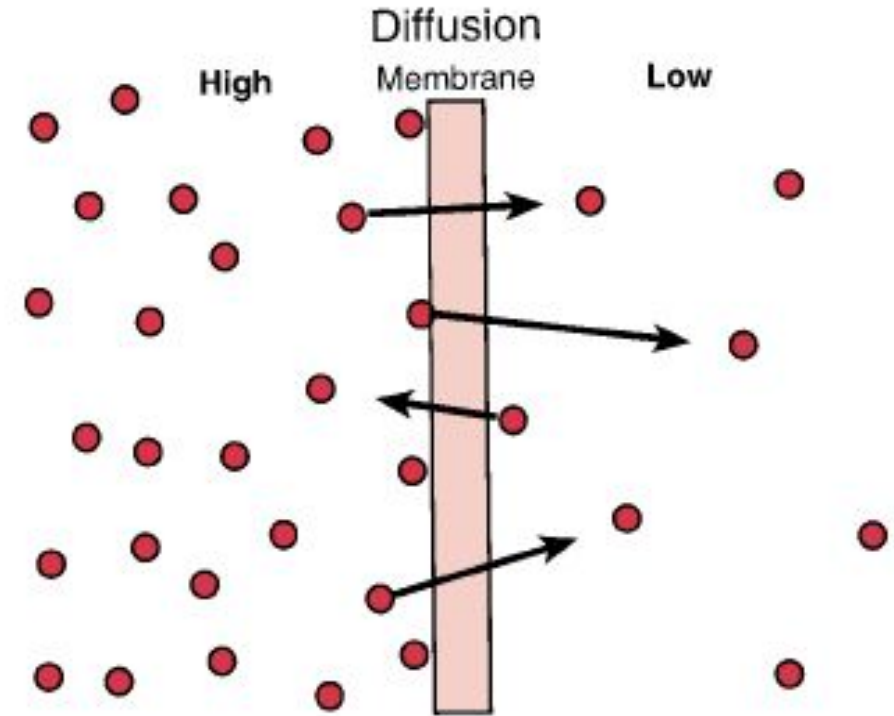


**Свободная
диффузия**

**Облегчённая
диффузия**

Простая диффузия

- Линейно зависит от градиента концентрации вещества;
- Характеризуется ненасыщаемостью.



Простая диффузия осуществляется через:

- Мембрану (для незаряженных жирорастворимых) веществ;
- Поры;
- Кинки.

Простая диффузия идет через кинки

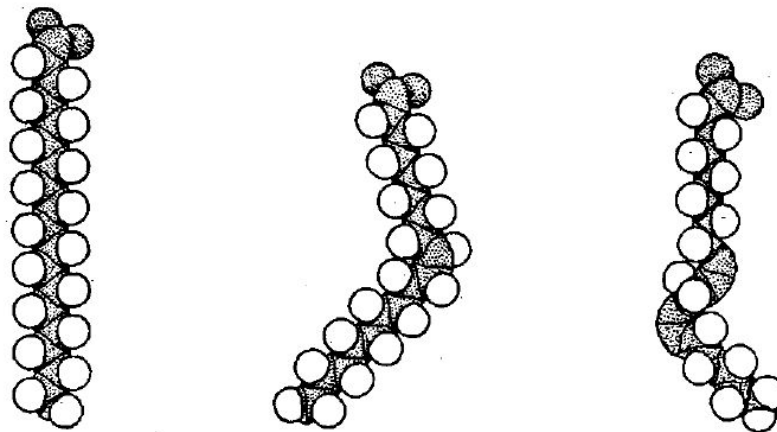


Рис. 13. Пространственная конфигурация жирных кислот

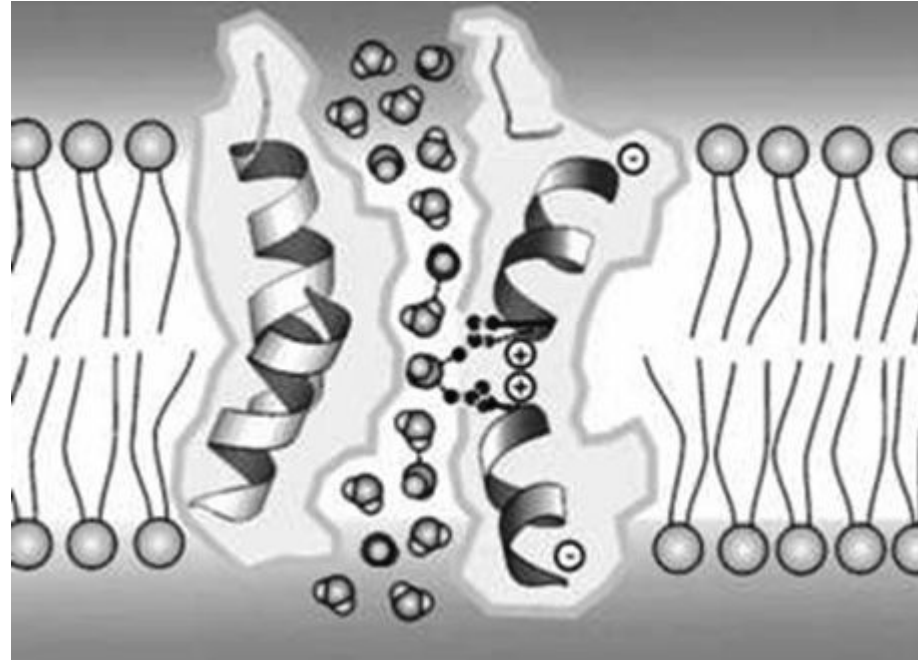
1 – насыщенная углеводородная цепь, 2 – ненасыщенная цепь в *цис*-конформации, 3 – насыщенная цепь в *гош*-конформации.

При повышении температуры тепловая подвижность жирнокислотных цепей приводит к спонтанному возникновению изгибов. Если изгибы, соответствующие *гош*-конформации, появляются на близлежащих участках жирнокислотной цепи, эта область может принимать вид петли или полости (кинк). Кинки могут «скользить» вдоль цепи, обеспечивая перемещение их содержимого.

Простая диффузия через поры

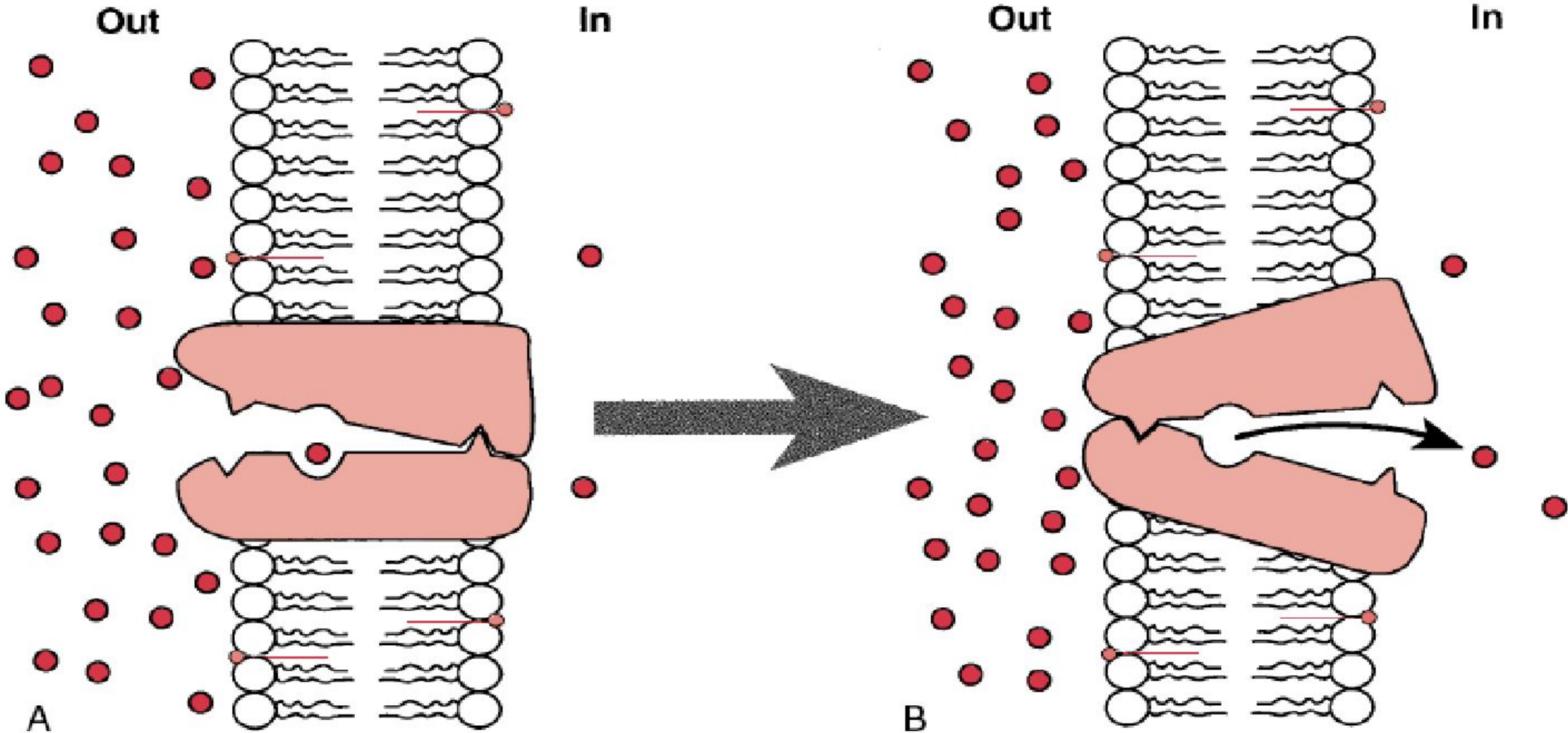
Канал поры всегда открыт, поэтому химическое вещество проходит через мембрану по градиенту его концентрации.

Диаметр поры менее 1 нм, через который могут диффундировать малые молекулы.



Поры формируются разными белками: порины, аквапорины, перфорины, коннексоны.

Переносчики (транспортёры) специфичны: каждый конкретный переносчик переносит через липидный бислой, как правило одно вещество.

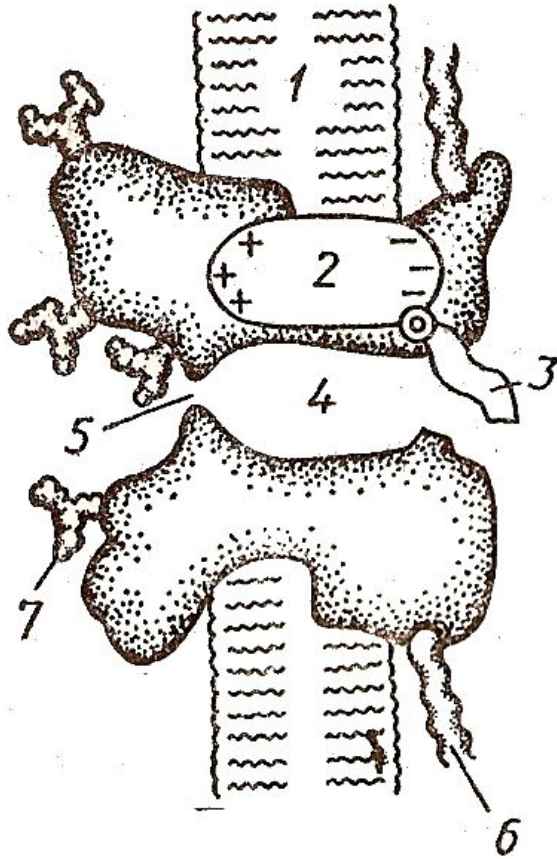


ЭЛЕКТРОДИФФУЗИЯ

Осуществляется через **ионные каналы** – поры (4) в мембране (1), заполненные водой и выстланные интегральным белком.

Механизмы специфичности каналов:

1. Размер «фильтра» - самого узкого участка канала (5)
2. Заряд гидрофильных групп белка, обращённых в просвет канала (должен быть противоположным заряду иона)



Специфичность означает: 1 вид канала – 1 вид иона

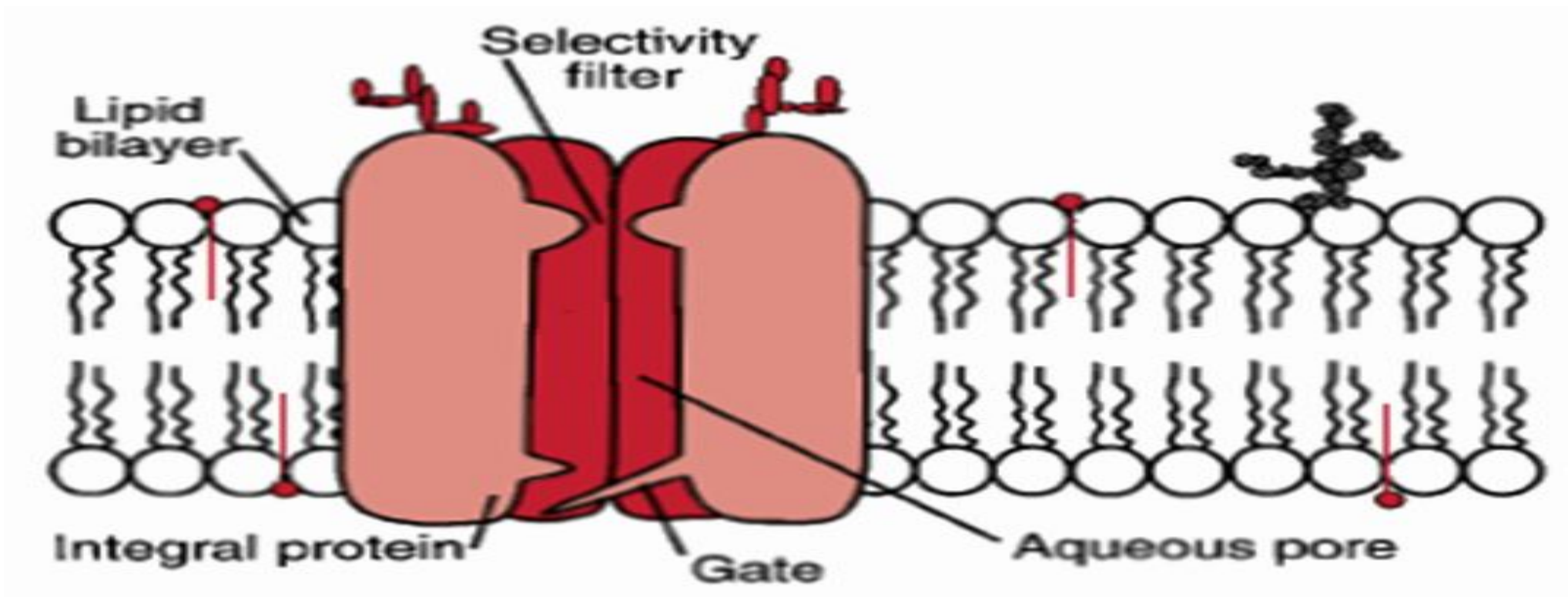
В мембранах есть *калиевые, хлорные, натриевые, кальциевые каналы.*

У каналов есть ворота (3), которые определяют открытое или закрытое состояния канала.

У натриевых каналов двое ворот – активационные и инактивационные, поэтому ещё есть инактивированное состояние

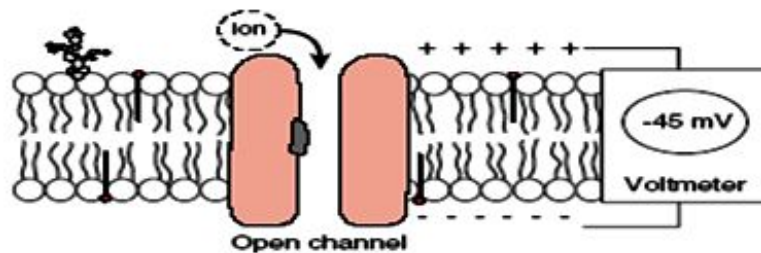
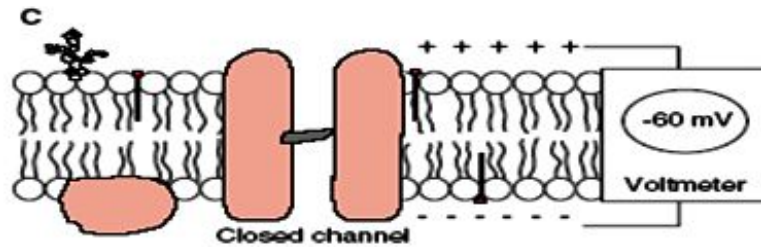
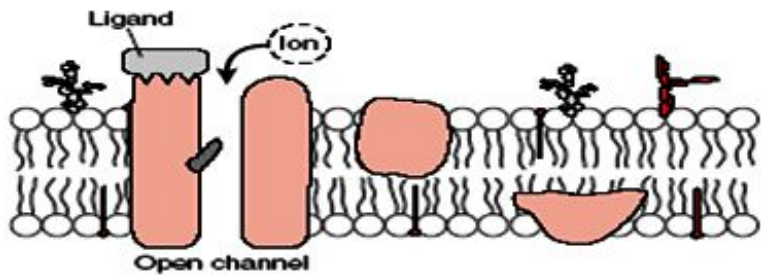
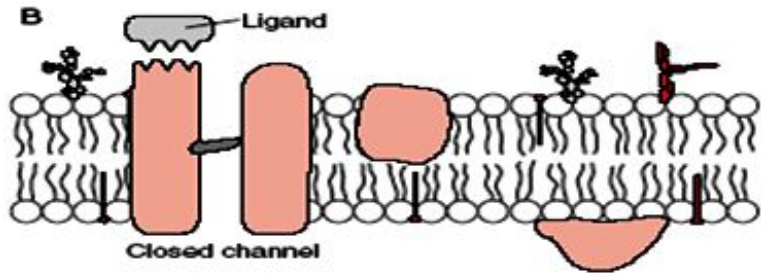
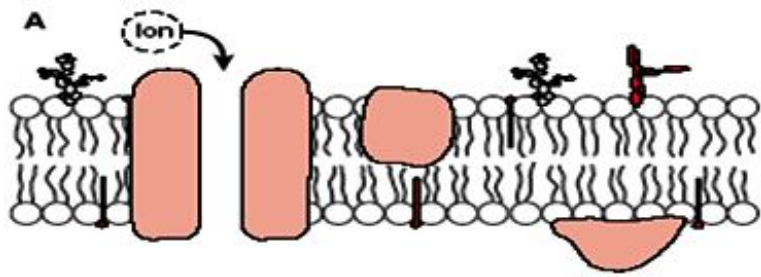
Ионные каналы

Состоят из связанных между собой белковых субъединиц, формирующих в мембране гидрофильную селективную пору



Свойства ионных каналов

- Специфичность
- Проводимость
- Наличие сенсора
- Наличие воротной системы



Четыре вида каналов:

А - ионселективный канал (открытый)

В – хемочувствительный канал

С – потенциал-зависимый канал

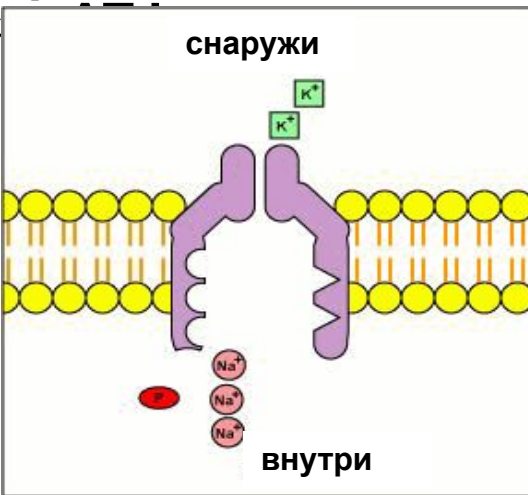
Д – механо-зависимый канал

АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ

Первично-активный транспорт

ИОНОВ

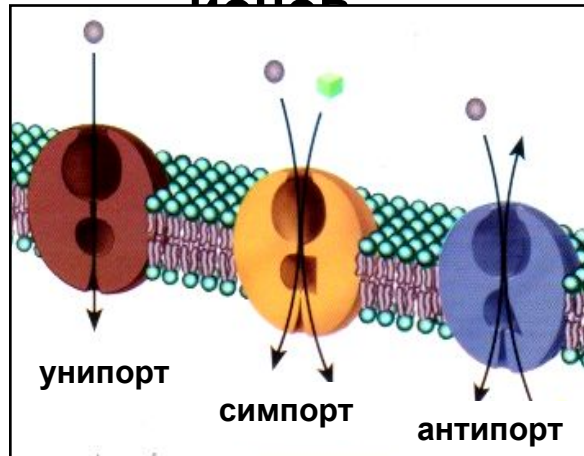
ИОННЫЕ НАСОСЫ переносят вещества против их градиентов за счёт энергии гидролиза ATP .



Кальциевый насос, водородная помпа, йодный насос и др.

Вторично-активный транспорт ионов

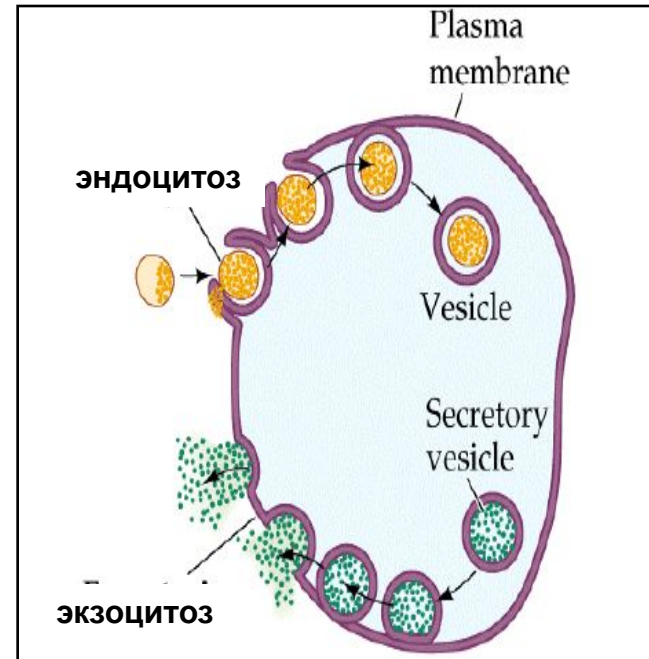
ПЕРЕНОСЧИКИ транспортируют вещества против их градиентов за счёт градиентов других ионов.



Натрий-кальциевый обменник, натрий-водородный обменник, перенос сахаров, аминокислот, нуклеотидов в кишечник, мозг.

Эндоцитоз

транспорт макрочастиц внутрь клетки (эндоцитоз) или наружу (экзоцитоз)



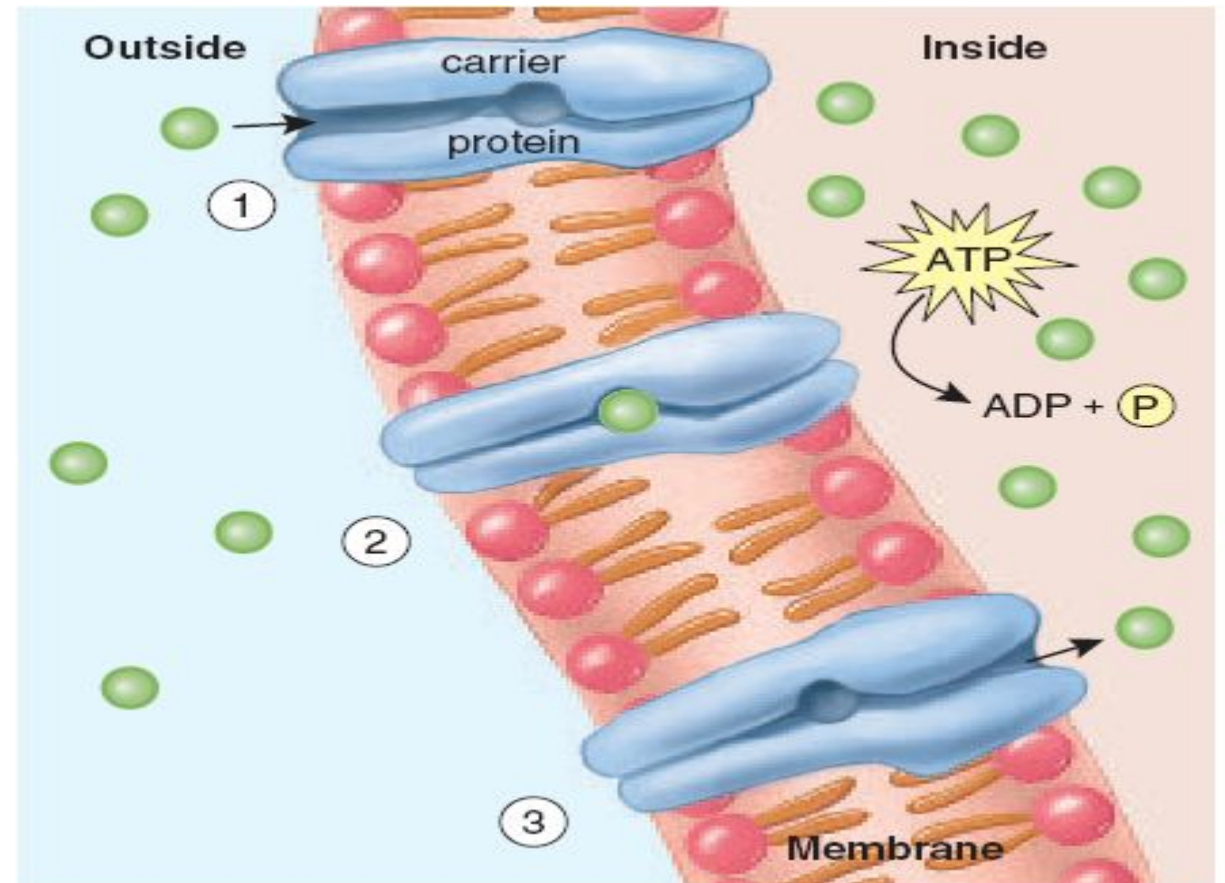
Например, транспорт медиаторов в мозге

Активный транспорт

1. Осуществляется против электрохимического градиента
2. Система в высшей степени специфична
3. Необходимы источники энергии в виде АТФ или др.
4. Некоторые насосы обменивают один вид ионов на другой
5. Некоторые насосы выполняют электрическую работу (перенос заряда)
6. Избирательно подавляются блокаторами
7. Гидролиз АТФ для транспорта происходит ферментами, встроенными в мембрану

Первичный активный транспорт (насосы, АТФ-азы)

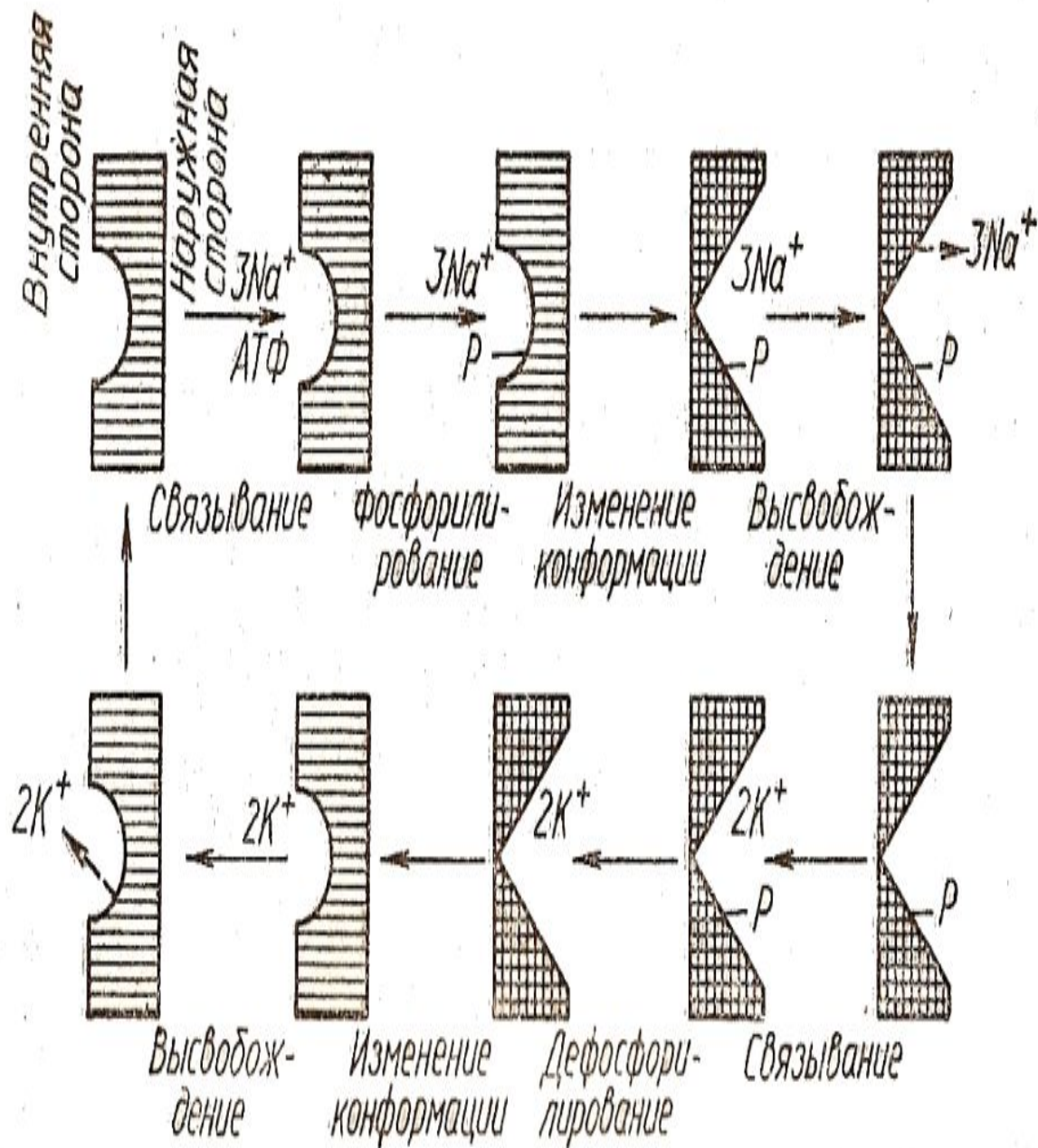
Обеспечивает перенос веществ против градиента их концентрации с затратой энергии АТФ



Натрий-калий насос-интегральный белок мембраны, способный расщеплять АТФ. Можно ингибировать **убаином**.

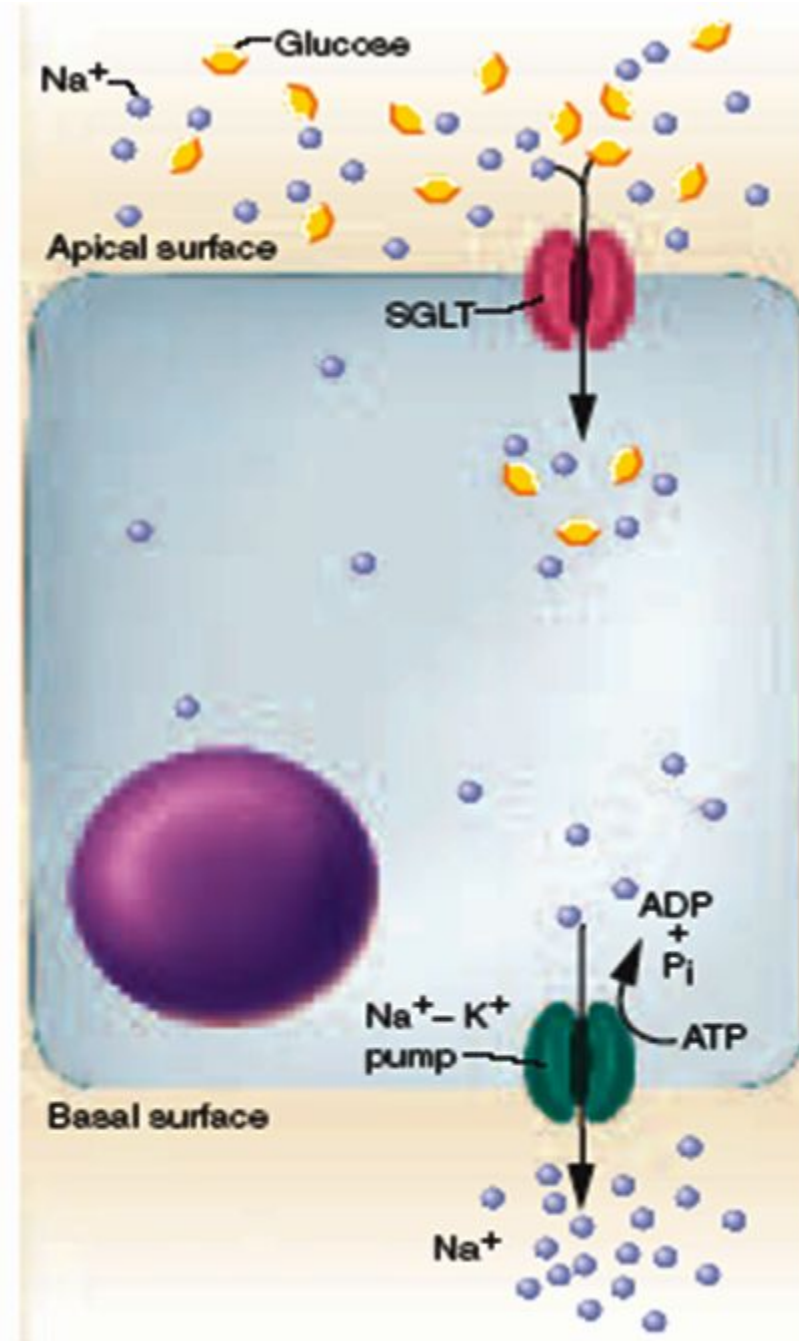
Натрий-калий-магний-зависимая АТФаза

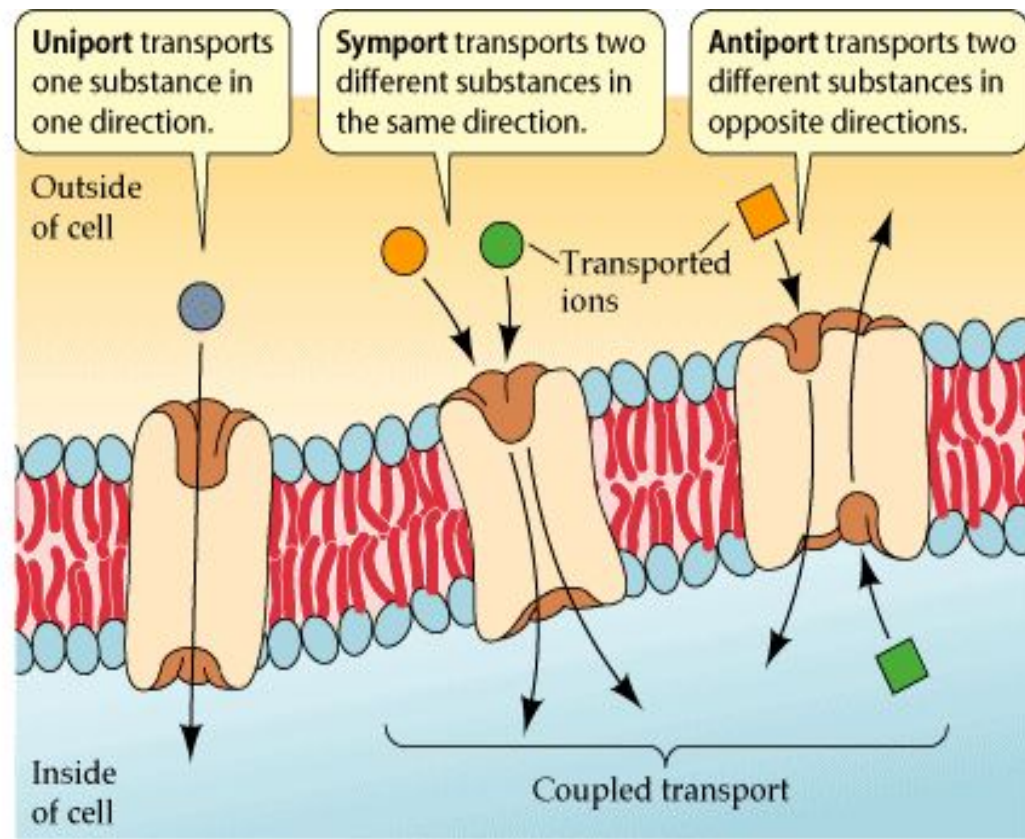
Выкачивает из клетки 3 иона натрия, закачивает в клетку 2 иона калия.



Вторичный активный транспорт

В качестве источника энергии использует химический или электрохимический градиент какого-либо вещества

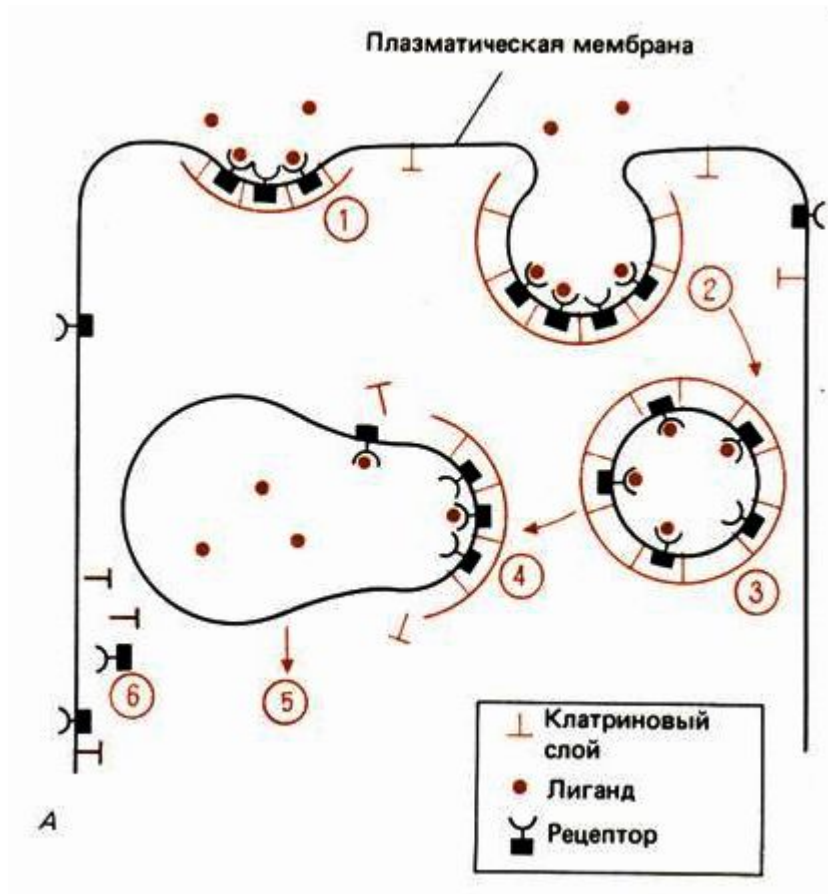




Различают:

- однонаправленный (унипорт),
- сочетанный (симпорт) и
- разнонаправленный (антипорт) транспорт.

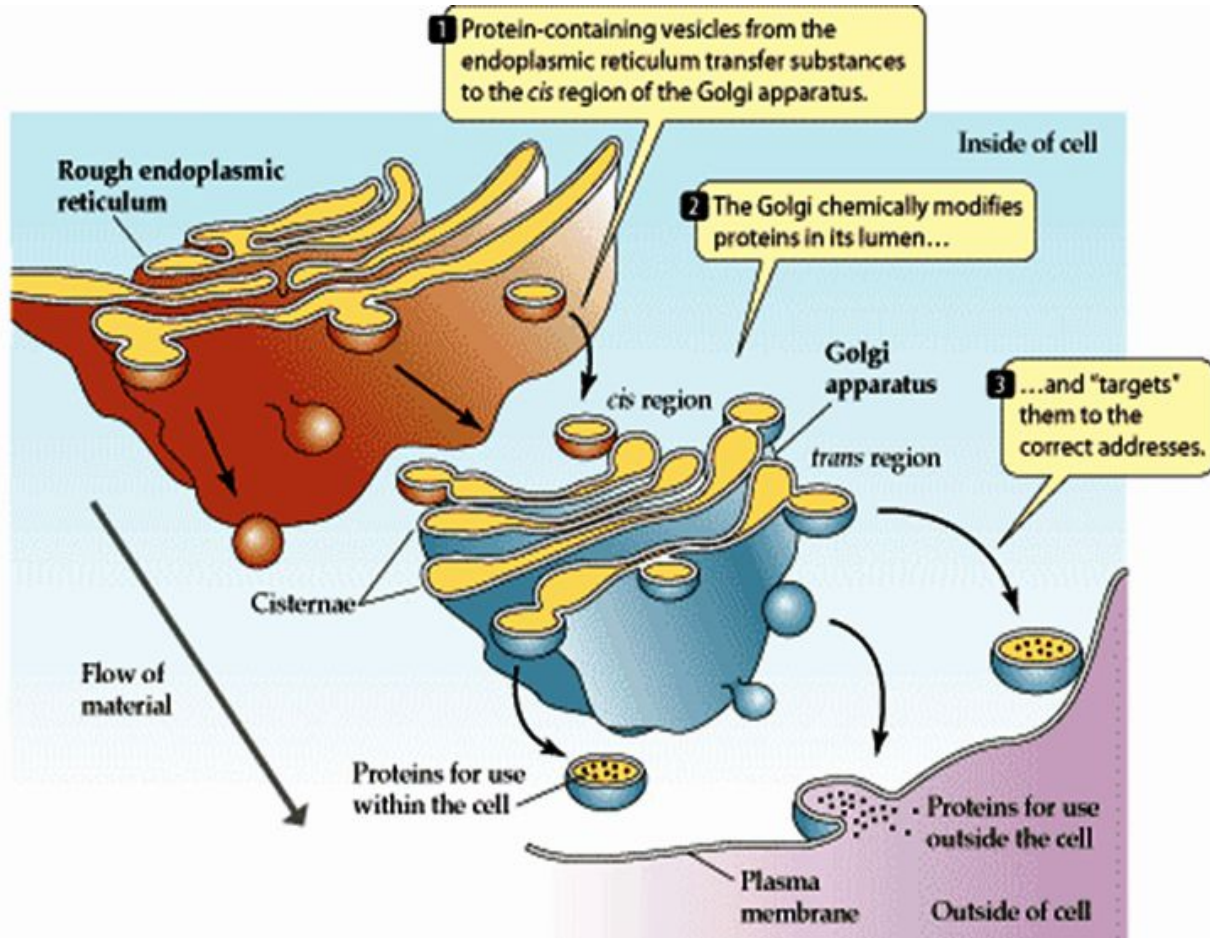
Эндоцитоз



1. Молекулы лиганда связываются молекулами рецептора, расположенными в окаймленных ямках (1);
2. Ямки образуются при связывании молекул клатрина с поверхностной мембраной.
3. Происходит инвагинация окаймленной ямки (2)

4. Образуется окаймленная везикула (3),
5. Везикула сливается с эндосомой(4).
6. Вакуоль и ее содержимое претерпевают превращения (5),
7. Клатрин и молекулы рецептора возвращаются в плазматическую мембрану до повторного использования (6)

Экзоцитоз



1. В ЭПР синтезируется предшественник секрета;
2. От ЭПР везикула с веществом транспортируется к аппарату Гольджи;

3. В аппарате Гольджи из предшественника образуется конечный секрет;
4. Везикула с секретом доставляется к плазматической мембране;
5. Мембрана везикулы сливается с плазматической мембраной и вещество высвобождается во внеклеточную среду

Рецепторная функция.
Постоянные
межклеточные контакты.
Цитоскелет

Этапы проведения сигнала

- 1) Прием сигнала (рецепция)
- 2) Обработка и передача сигнала
(системы сигнальных путей /
вторичных мессенджеров)
- 3) Ответ клетки

СТИМУЛЫ

(информация, приходящая к клетке)

1) Высокоаффинные лиганды (связываются с рецептором высокоаффинно и высокоселективно)

2) Малоспецифичные химические соединения (например, вызывающие денатурацию белков или повреждение ДНК)

3) Физические стимулы (ионизирующее облучение (IR – гамма или рентгеновское облучение), ультрафиолет (UV), изменение температуры (heat shock/cold shock), гипер- или гипоосмолярность, электрический импульс, тряска)

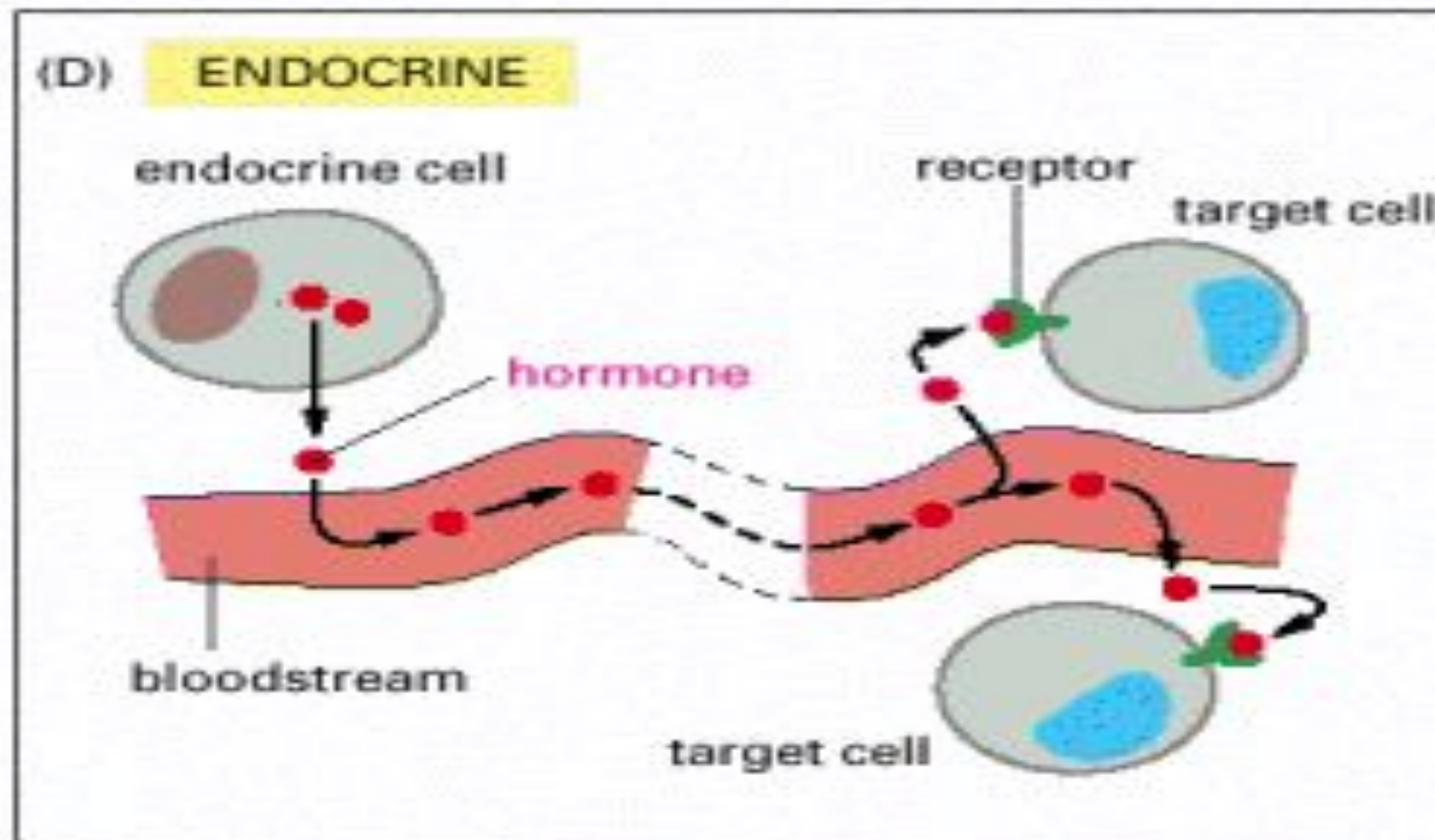
Ответы клетки

1. Влияние на пролиферацию (стимуляция деления клеток / блок клеточного цикла);
2. Влияние на апоптоз (стимуляция апоптоза / стимуляция выживания (супрессия апоптоза))
3. Влияние на адгезию, миграцию и структуры актинового цитоскелета;
4. Дифференцировка;
5. Специализированные быстрые ответы (сокращение, секреция, проведение электрического импульса и т.д.)

Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

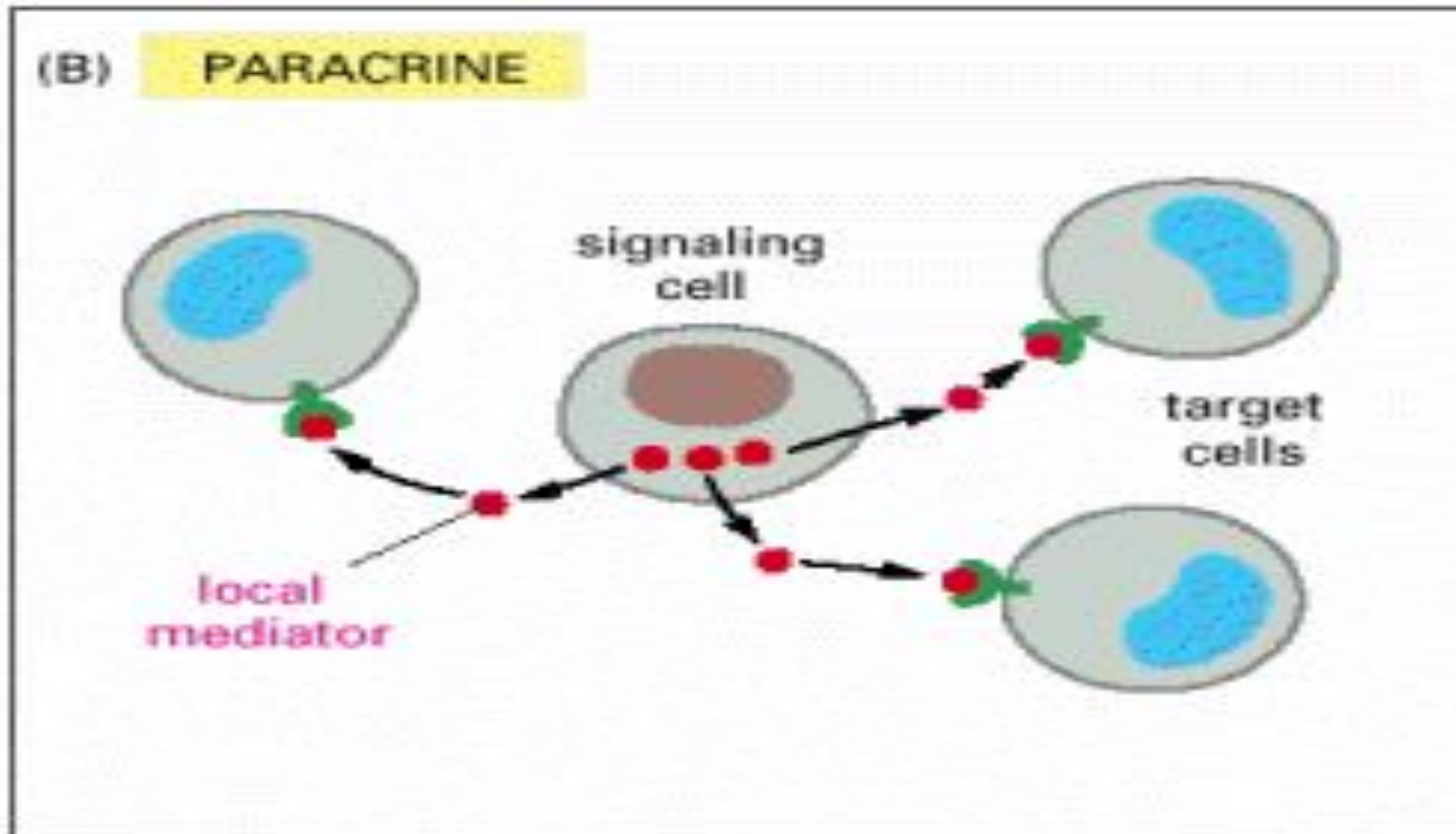
1) Эндокринная секреция (в кровотоки; все гормоны, многие цитокины, ростовые факторы)



Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

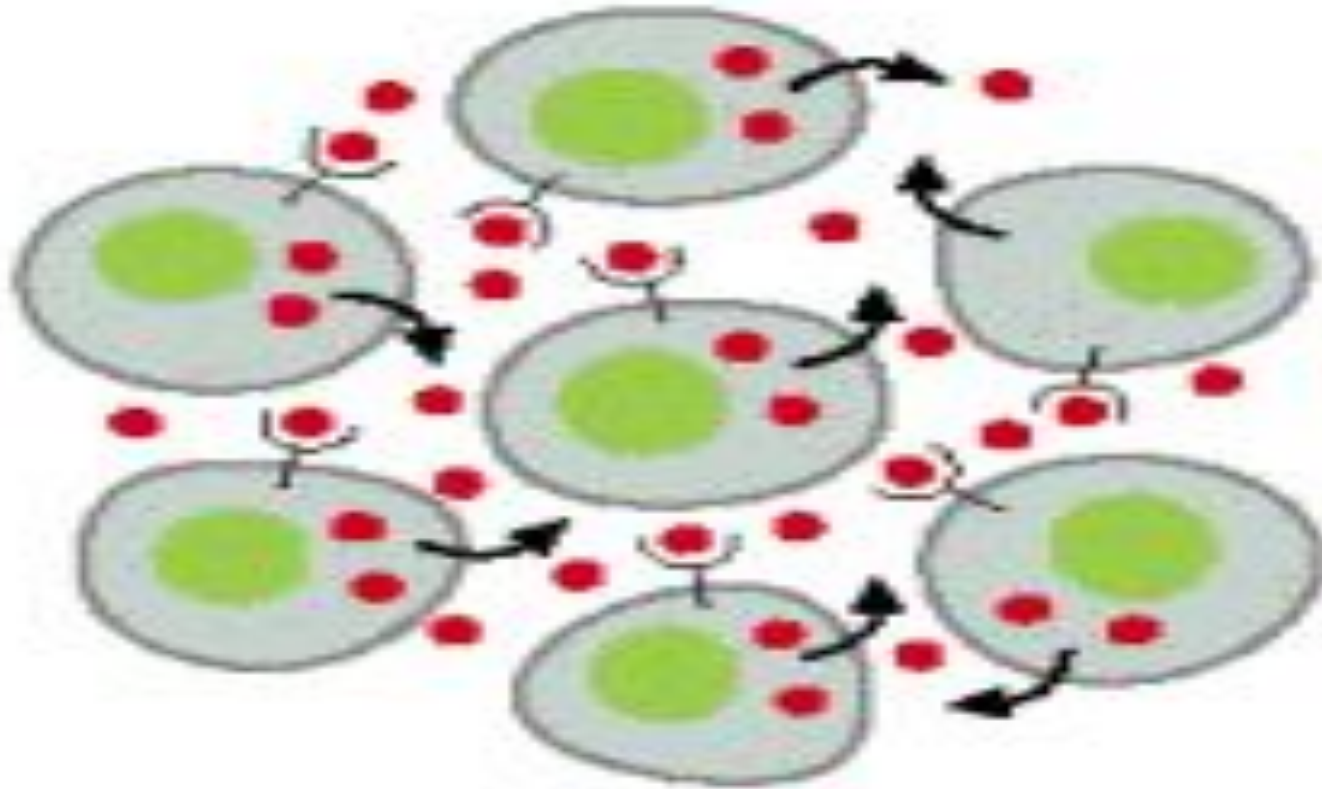
2) Паракринная секреция (лиганды локального действия; простагландины, лейкотриены, многие хемокины)



Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

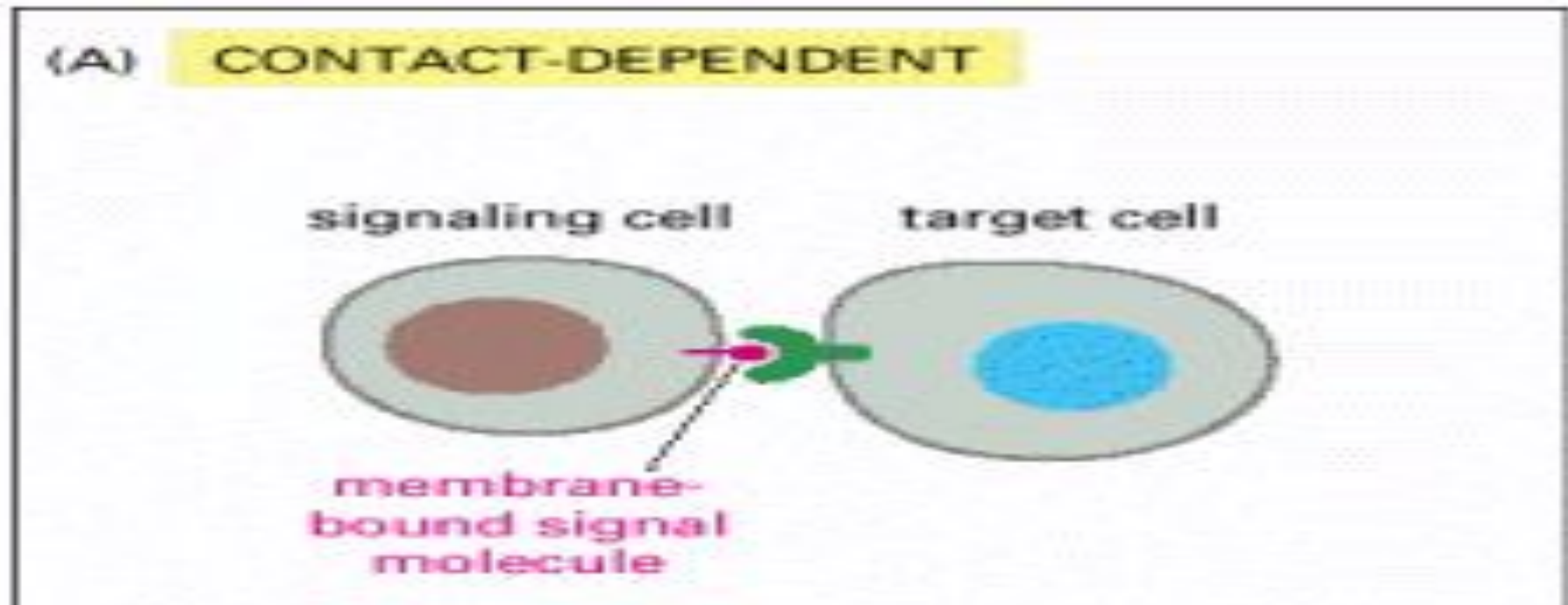
3) Аутокринная секреция (действие на ту же клетку или на близлежащие клетки того же типа)



Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

4) Юкстакринная, или зависящая от контактов секреция (juxtacrine; лиганды на поверхности клеток, рецепция при непосредственном взаимодействии клеток; лиганды антигенраспознающих рецепторов, кадгеринов, рецепторных тирозинфосфатаз, Notch)



Типы секреции

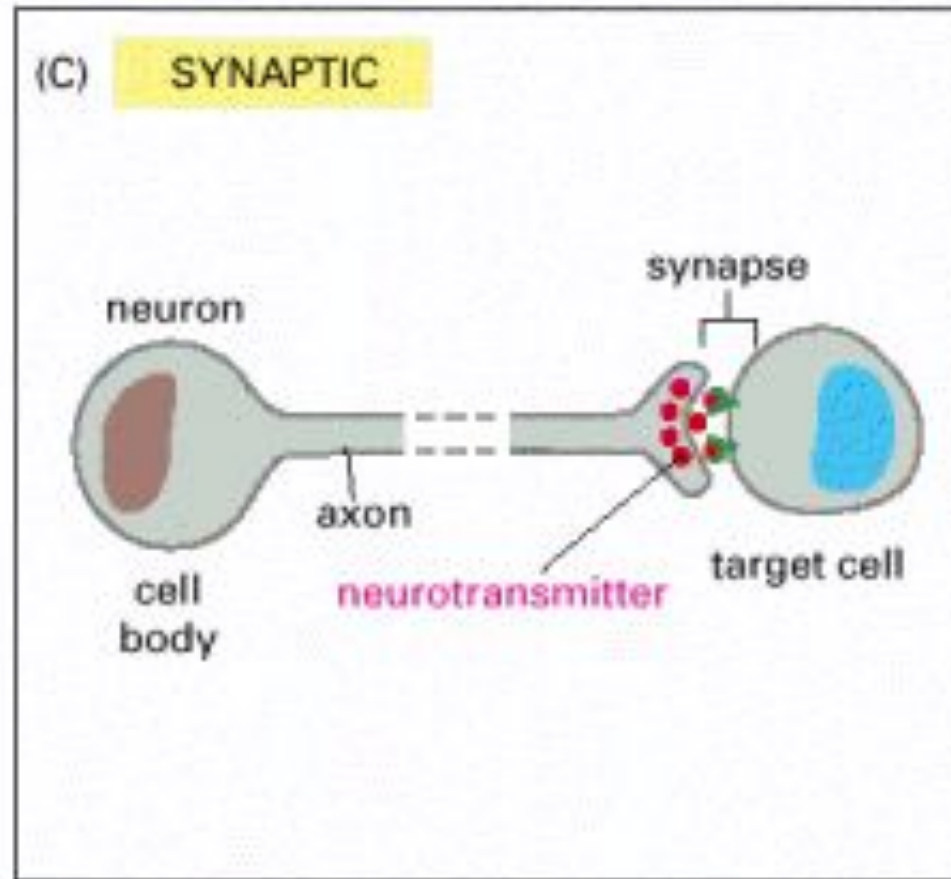
(классификация лигандов по дальности действия)

**5) Секреция компонентов внеклеточного матрикса
(нерастворимые лиганды рецептируются контактами
клетка-матрикс; лиганды интегринов)**

Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

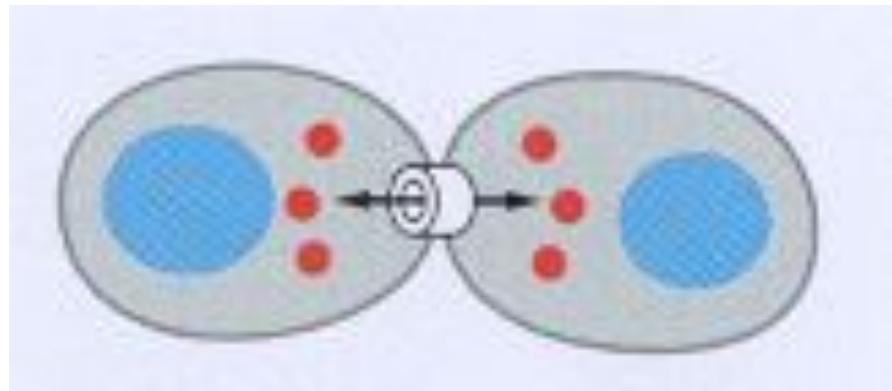
б) Синаптическая (секреция нейромедиаторов в химический синапс; биогенные амины, аминокислоты)



Типы секреции

(классификация лигандов по дальности действия)

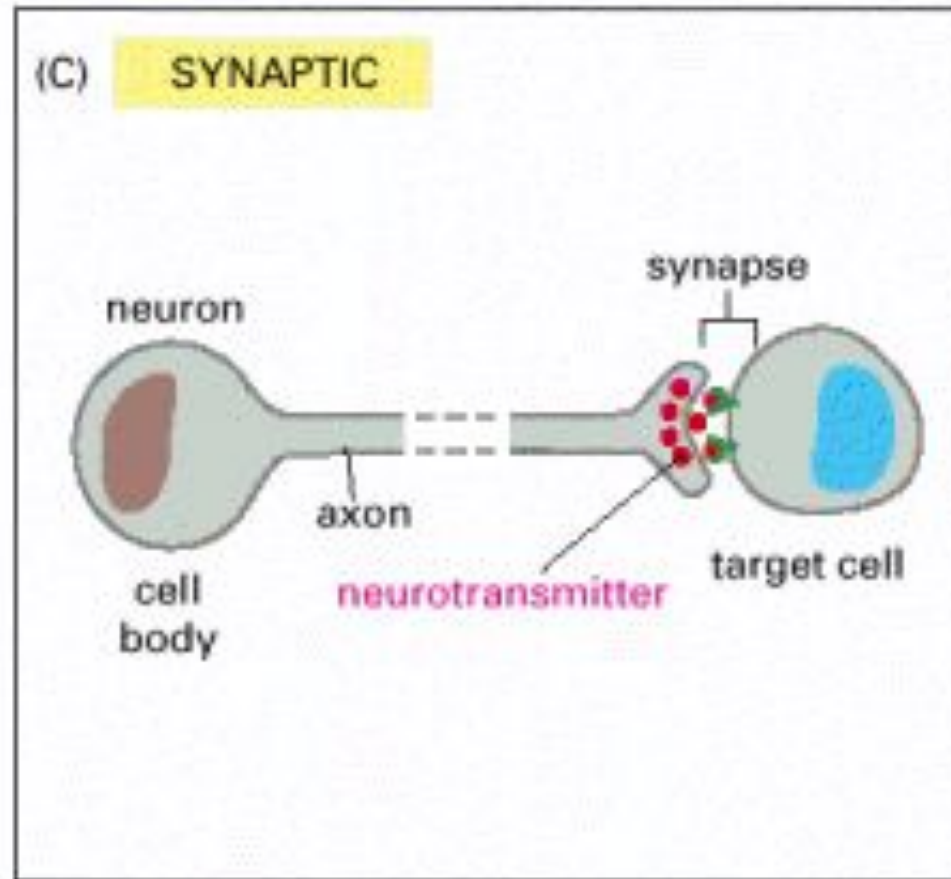
7) Секреция через щелевые контакты (gap junctions; обмен внутриклеточными сигнальными молекулами)



Типы секреции

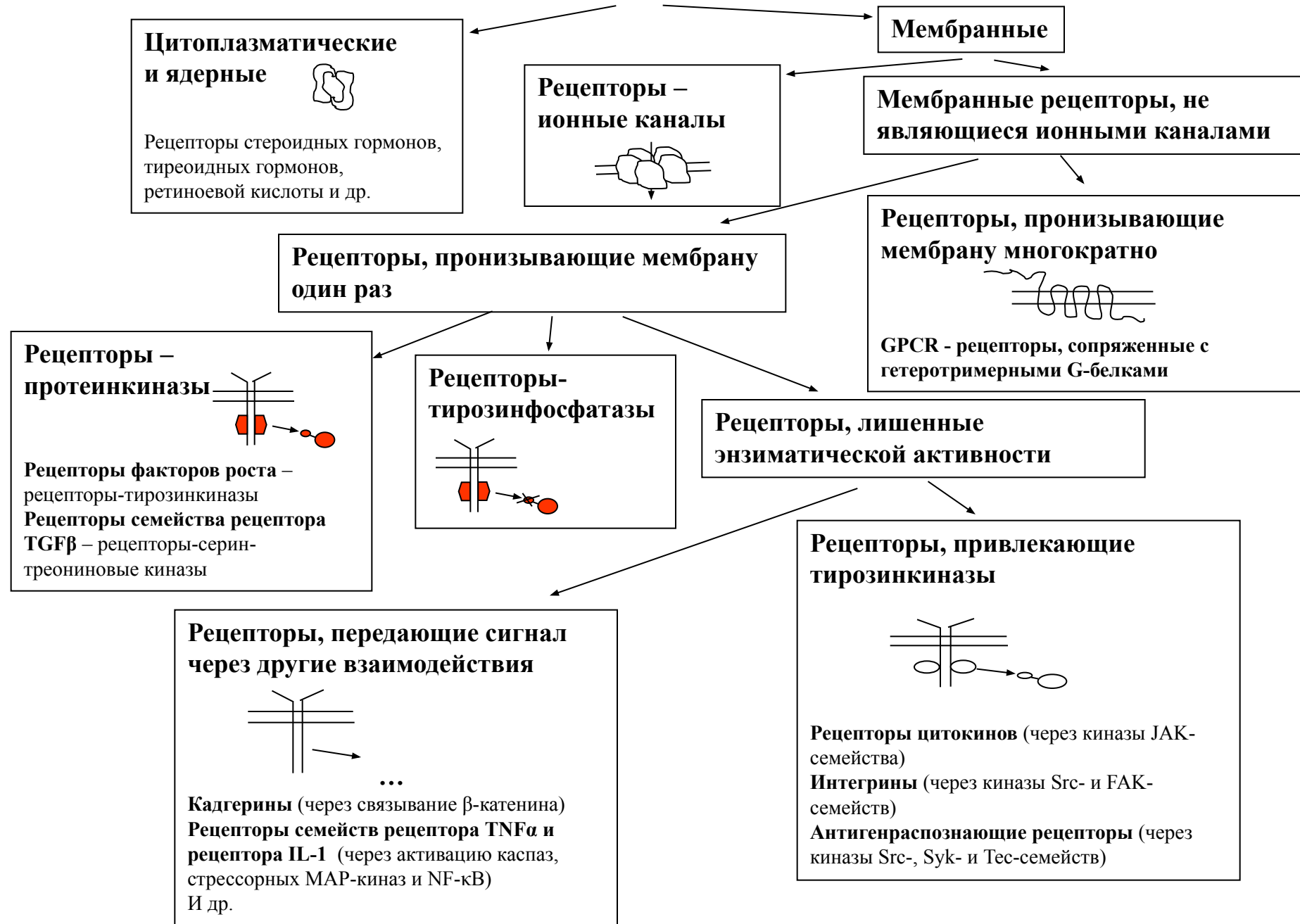
(классификация лигандов по дальности действия)

б) Синаптическая (секреция нейромедиаторов в химический синапс; биогенные амины, аминокислоты)

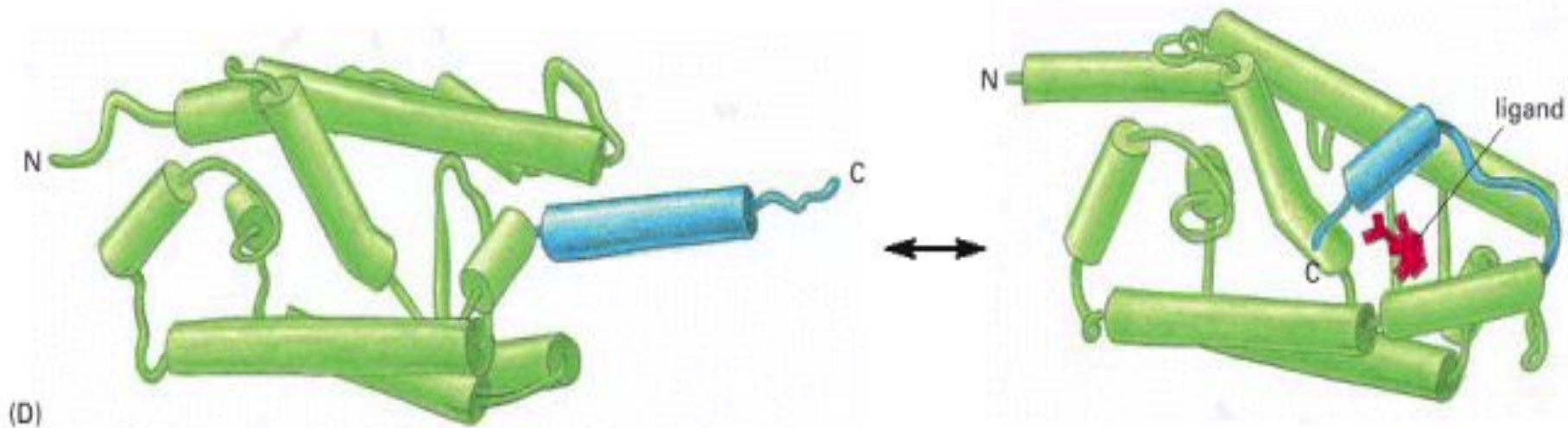
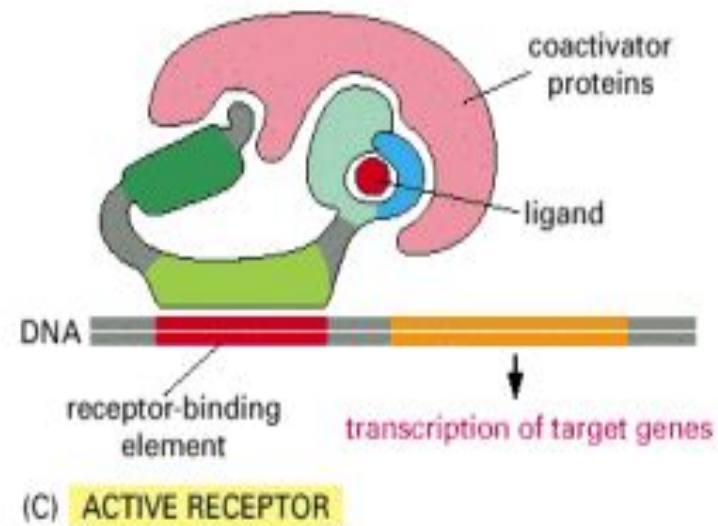
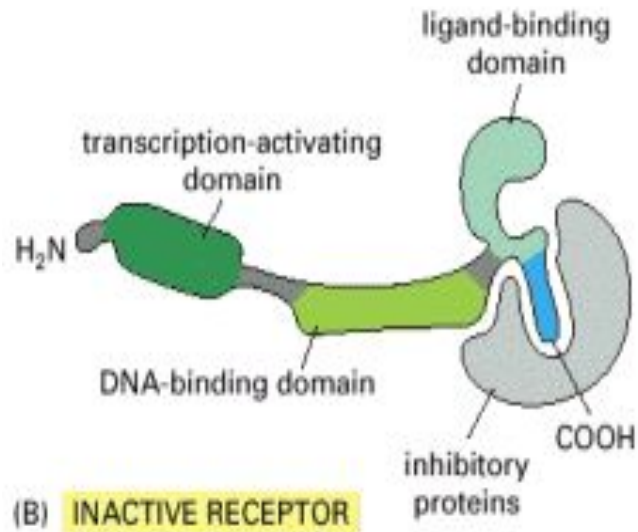


- Клетки могут взаимодействовать друг с другом по средствам:
 1. На расстоянии через секрецию определенных веществ;
 2. Через сигнальные молекулы на их поверхности при непосредственном контакте;
 3. Через щелевые контакты-обмен малыми молекулами.

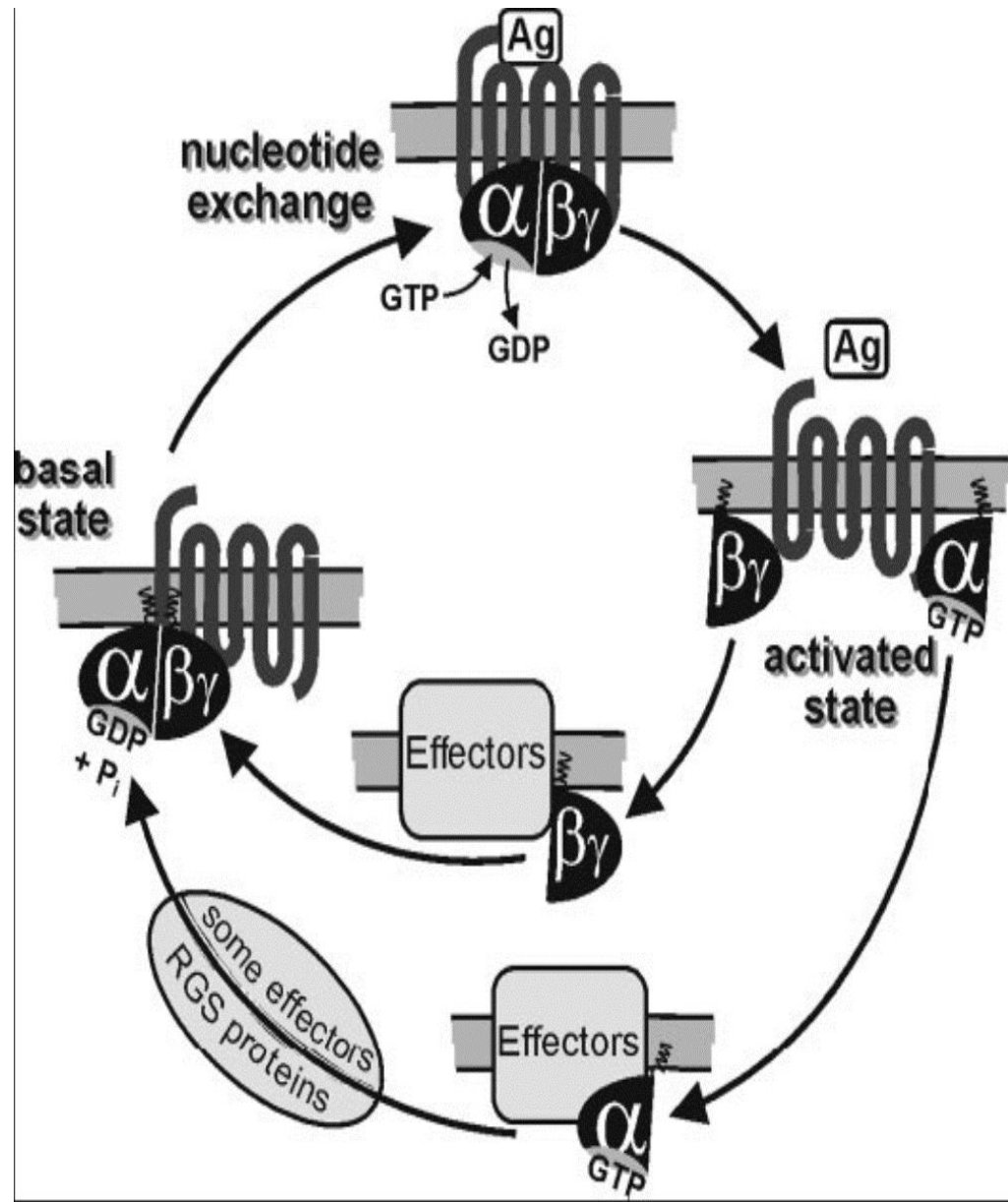
Рецепторы



Внутриклеточные рецепторы



Цикл работы рецептора связанного с G-белком



Субъединица альфа умеет расщеплять ГТФ. В активированном состоянии взаимодействует с эффекторными молекулами.

Субъединицы бетта и гамма также взаимодействуют с эффекторами после ухода субъединица альфа.

Инактивация за счет RGS-белков.

Мембранно-внутриклеточный механизм Вторичные посредники

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат;

цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат;

ИФ₃ - инозитол-3-фосфат;

ДАГ - диацилглицерол;

Ca⁺⁺

Образуются в реакциях, катализируемых мембраносвязанными ферментами соответственно: аденилатциклазой, гуанилатциклазой, фосфолипазой С (флС).

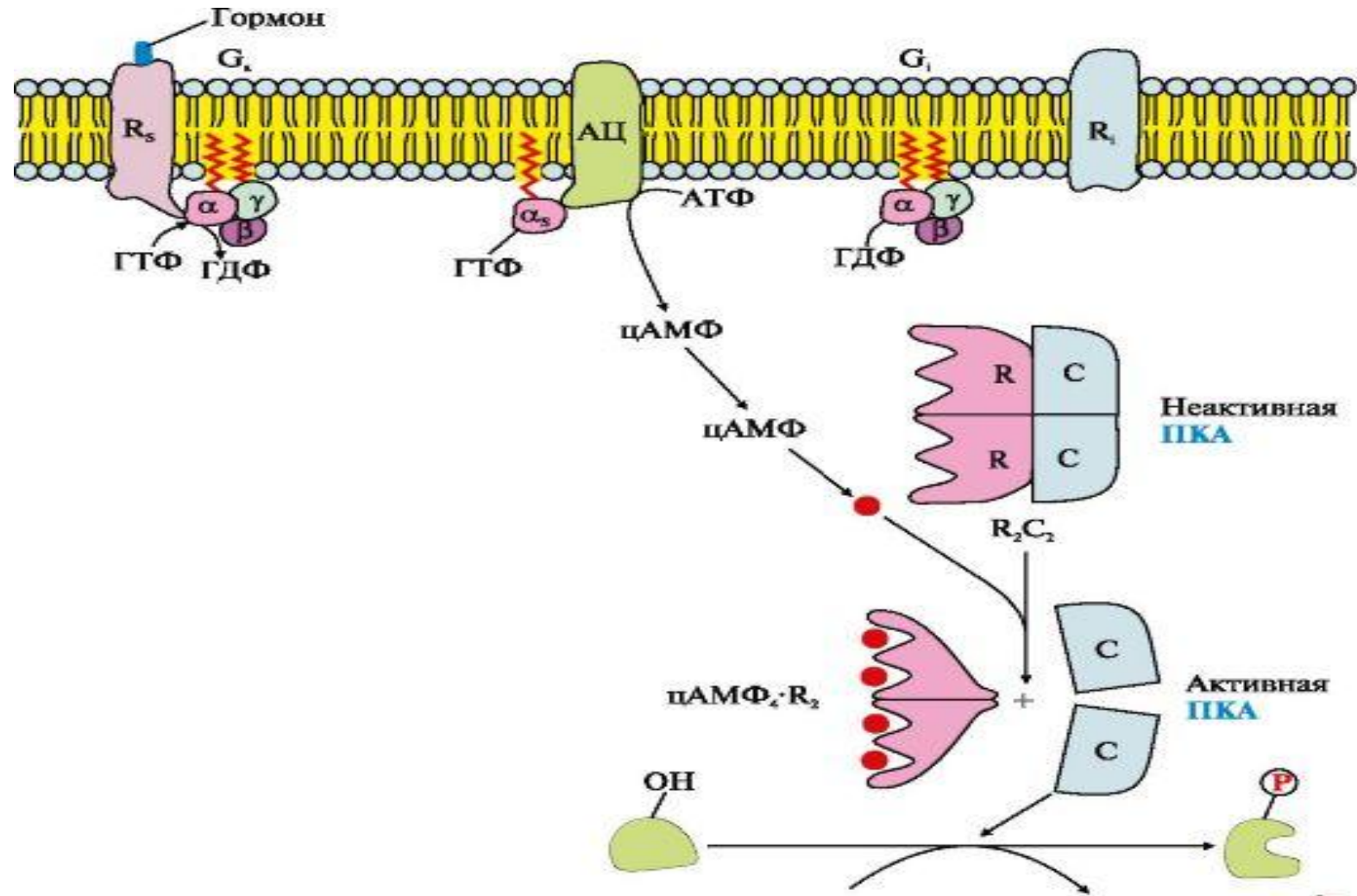
Вариант 1. (с участием аденилатциклазной системы)

Вторичный посредник - цАМФ;

Мембранно-связанный фермент - аденилатциклаза

1. Гормон связывается с мембранным рецептором, образуется комплекс при изменении конформации белка-рецептора;
2. Увеличивается сродство к G –белку;
3. Изменение конформации G-белка, сопряженного с рецептором;
4. Активация аденилатциклазы субъединицами G-белка;
5. Образование в клетке из АТФ цАМФ (вторичный посредник) ;
6. цАМФ активирует в цитозоле протеинкиназу А за счет диссоциации протомеров
7. Протеинкиназы фосфорилируют регуляторные ферменты метаболических путей в следствии чего меняется активность ферментов.
8. Меняется скорость метаболических путей.

Передача гормонального сигнала в клетку через аденилатциклазную систему



- Прекращение влияния цАМФ на процесс активации протеинкиназы А и, следовательно, фосфорилирования белков происходит под действием **фосфодиэстеразы** –разрушает цАМФ.
- активирован фосфодиэстеразу – **инсулин**
- Препараты, ингибирующие фосфодиэстеразу – кофеин, теофиллин усиливают эффект гормонов, которые действуют через цАМФ

Вариант 2. (с участием инозитолфосфатной системы)

- Вторичные посредники- инозитол-3-фосфат (ИФ3), ДАГ
- Образуются путем гидролиза фосфолипида клеточной мембраны - фосфотидилинозитолбисфосфата (ФИФ2).
- Гидролиз катализирует мембрано-связанный фермент-*фосфолипаза С*

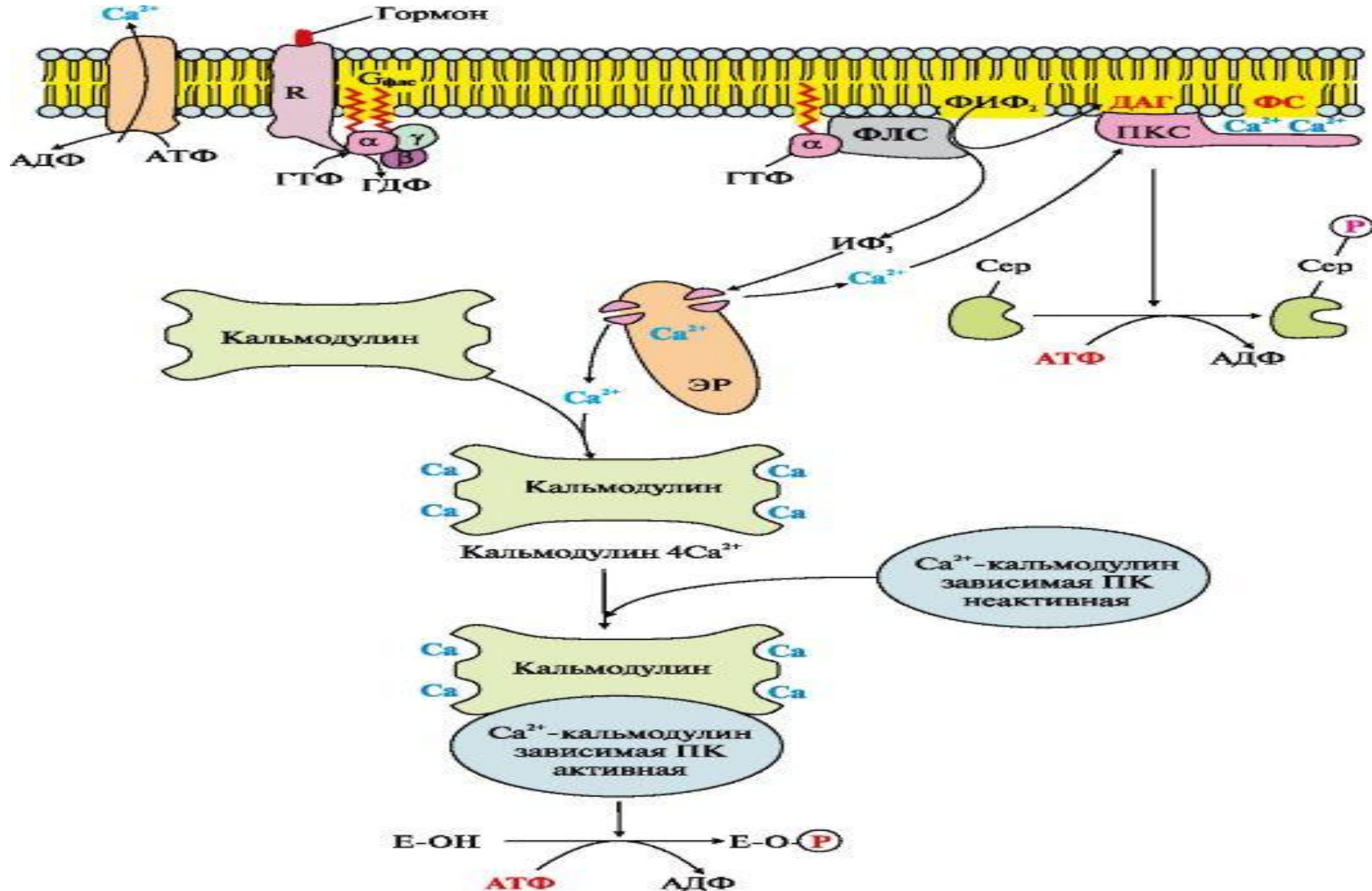
Основные этапы передачи гормонального сигнала

1. Связывание гормона с рецептором → меняется конформация рецептора.
2. Изменение конформации соответствующего G-белка, сопряженного с рецептором.
3. Активация мембранного фермента фосфолипазы C субъединицами G-белка;
4. Образование в цитозоле двух вторичных посредников путем гидролиза ФИФ₂ - DAG и ИФ₃ Сигнал раздваивается:

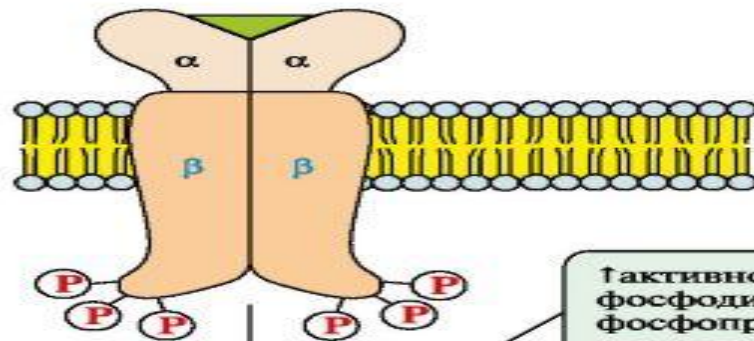
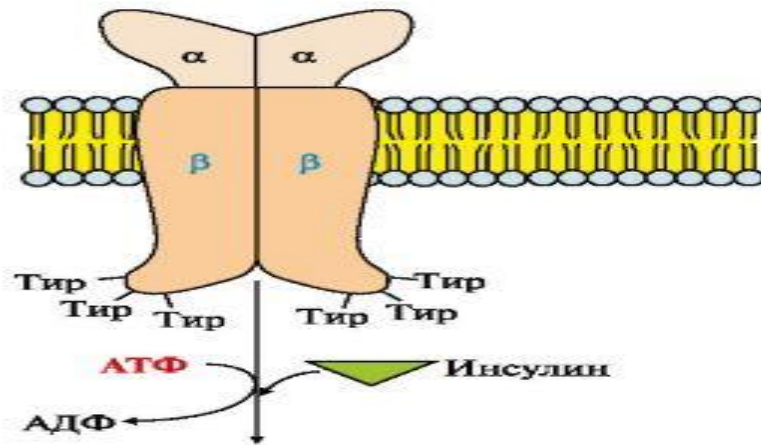
А. DAG активирует в цитозоле протеинкиназу C, которая катализирует фосфорилирование регуляторного фермента и меняется активность фермента

Б. ИФ₃ в клетке связывается с Ca⁺⁺ каналами ЭР, каналы открываются, и Ca⁺⁺ поступает в цитозоль, связывается с белком- кальмодулином и этот комплекс активирует Ca⁺⁺ - **кальмодулинзависимую протеинкиназу** которая фосфорилирует ферменты и меняется их активность

Передача сигнала в клетку через инозитолфосфатную систему



Вариант 3. (с участием рецепторов с тирозинкиназной активностью)



Фосфорилированный по тирозину белок

↑ активность:
фосфодиэстеразы
фосфопротеинфосфатазы
тирозиновой протеинфосфатазы

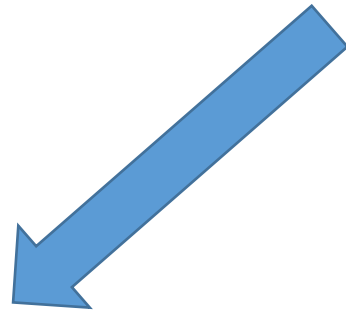
стимулирует встраивание
ГЛЮТ-4 в плазматическую
мембрану клеток мышц
и жировой ткани

вызывает репрессию синтеза
и деградацию определенных
ферментов, индуцирует синтез
ферментов анаболических
процессов

Рецептор- фермент-
протеинкиназа.

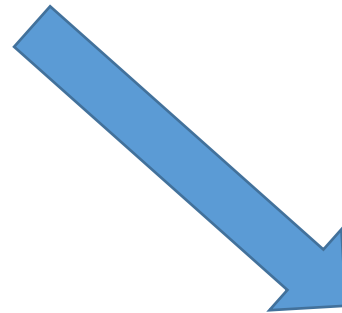
Субъединицы фермента в присутствии гормона сами фосфорилируются по тирозиновым остаткам, и далее способны фосфорилировать другие белки, в том числе регуляторные ферменты

Клеточные контакты



Клетка – клетка

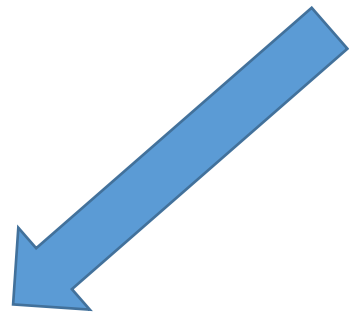
- 1) Контакты простого типа:
 - а) адгезионные
 - б) интердигитация (пальцевые соединения)
- 2) контакты сцепляющего типа – десмосомы и адгезивные пояски;
- 3) контакты запирающего вида – плотное соединение
- 4) Коммуникационные контакты
 - а) нексусы
 - б) синапсы



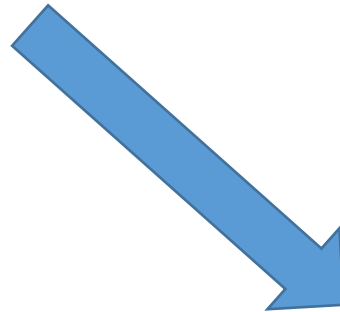
Клетка – матрикс

- 1) Полудесмосомы;
- 2) Фокальные контакты

Архитектурные типы тканей



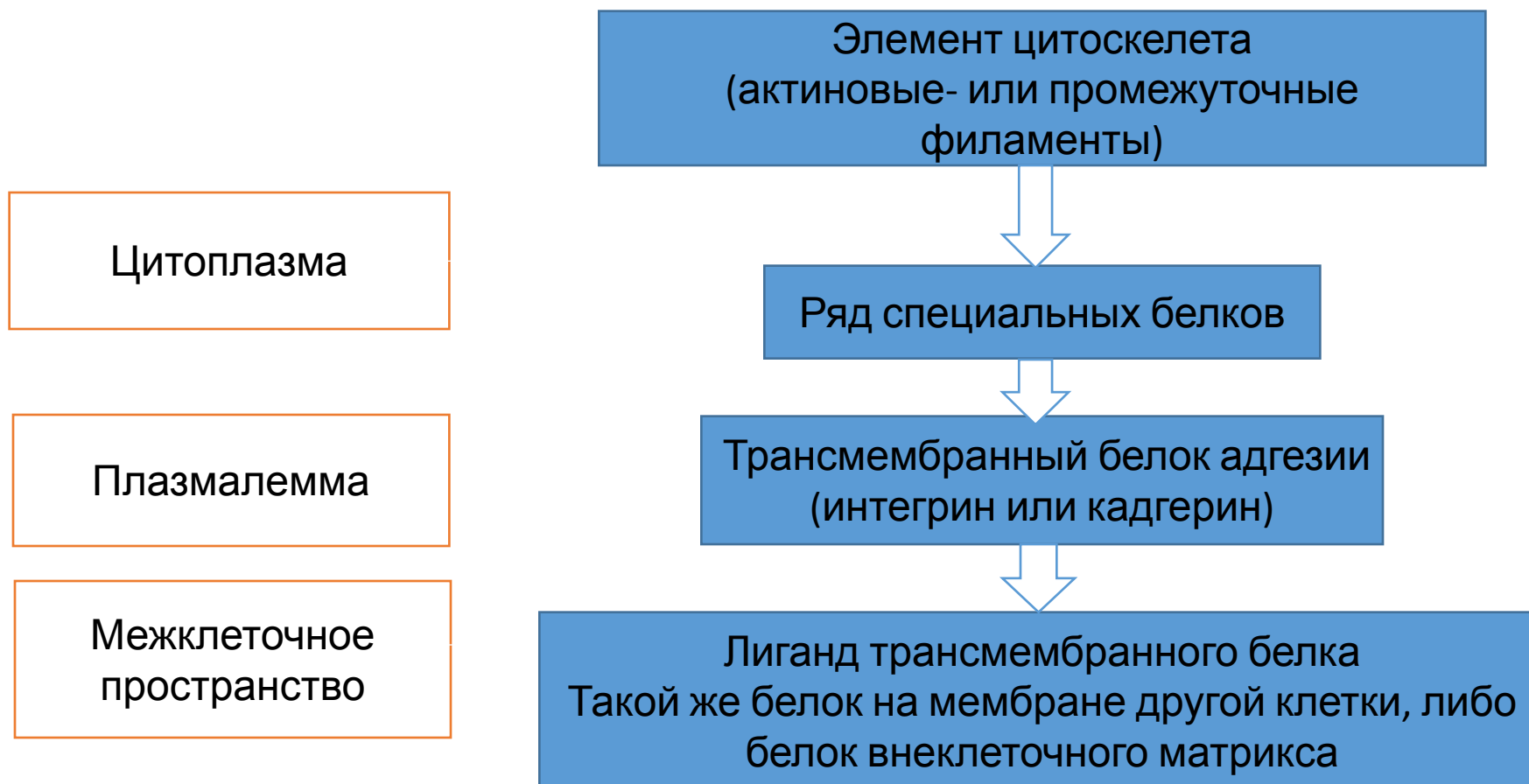
Эпителиальные
Много клеток – мало
межклеточного
вещества
Межклеточные
контакты



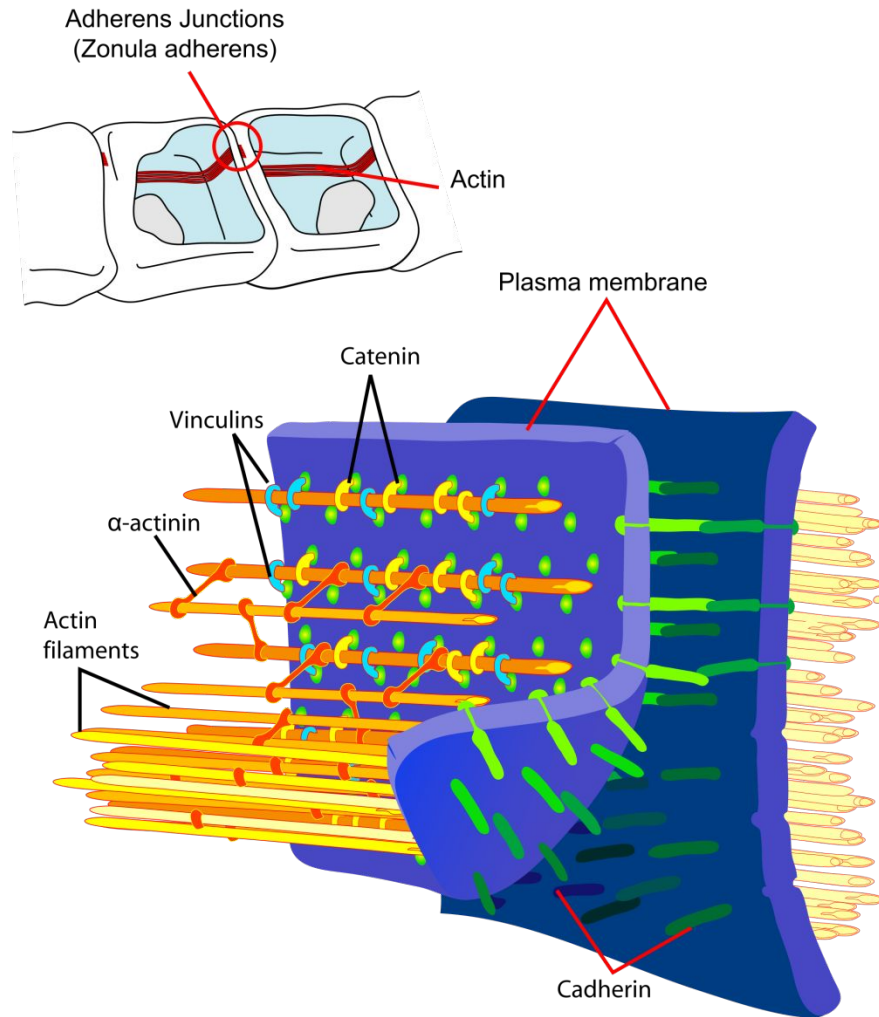
Соединительные
Много межклеточного
вещества – мало клеток
Контакты клеток с
матриксом

Общая схема строения клеточных контактов

Межклеточные контакты образуются по следующей схеме:



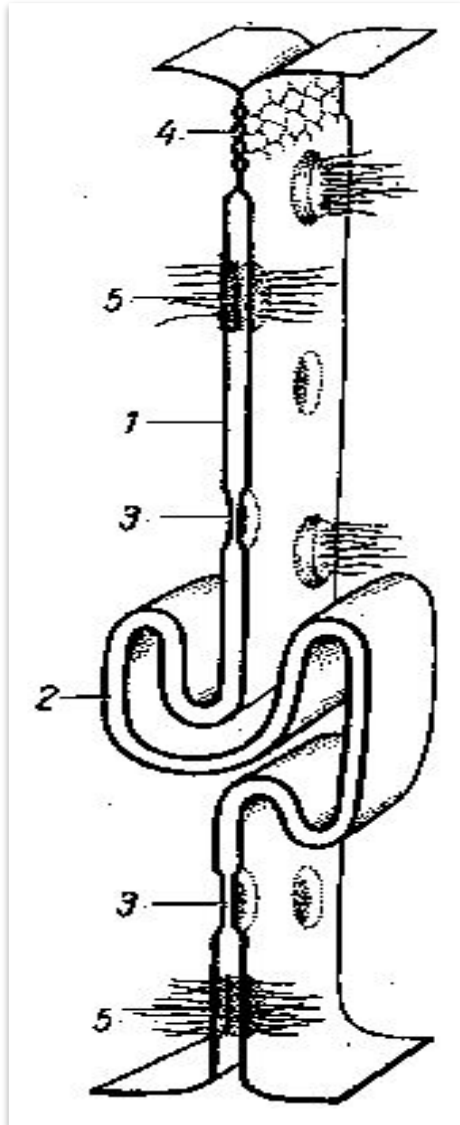
Адгезионные соединения



Это простое сближение плазмолемм соседних клеток на расстоянии 15-20 нм без образования специальных структур. При этом плазмолеммы взаимодействуют друг с другом с помощью специфических адгезивных гликопротеидов – *кадгеринов*, *интегринов* и др. **Адгезионные контакты** представляют собой точки прикрепления актиновых филаментов.

Контакты простого типа

Интердигитация



Интердигитация (пальцевидное соединение) (№ 2 на рисунке) представляет собой контакт, при котором плазмолемма двух клеток, сопровождая друг друга, инвагинирует в цитоплазму сначала одной, а затем – соседней клетки.

За счет интердигитаций увеличивается прочность соединения клеток и площадь их контакта.

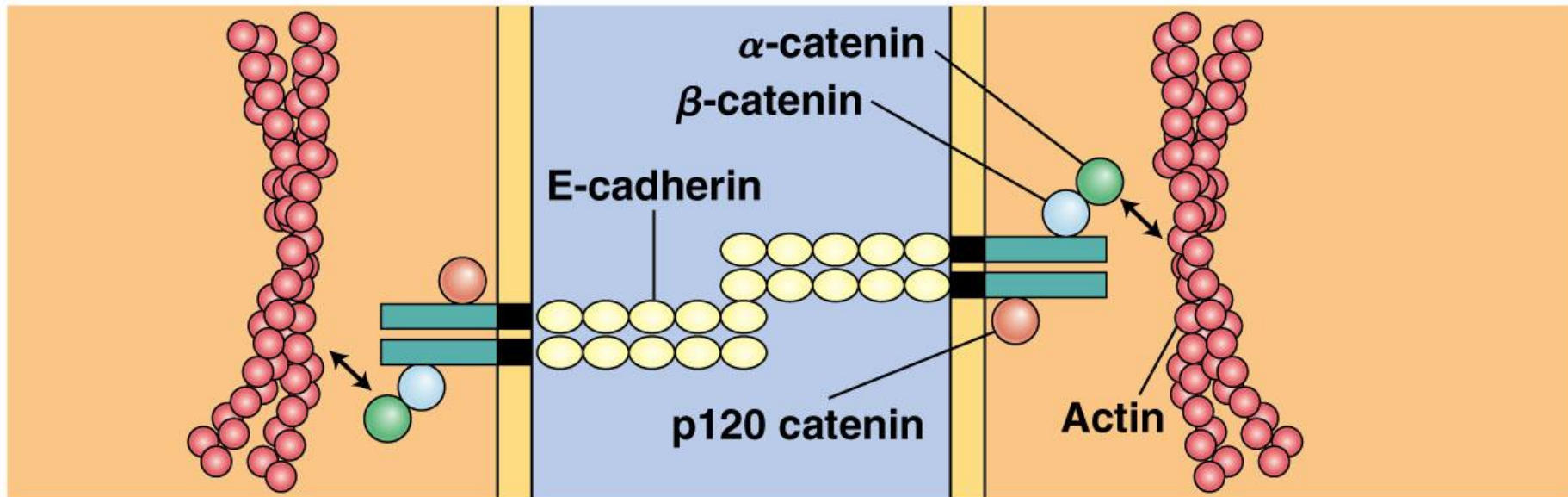
Контакты простого типа

Встречаются в эпителиальных тканях, здесь они образуют вокруг каждой клетки поясok (зона прилипания);

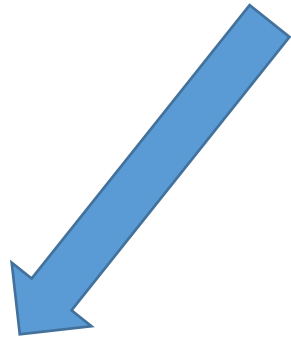
В нервной и соединительной тканях присутствуют в форме точечных сообщений клеток;

В сердечной мышце обеспечивают косвенное сообщение сократительного аппарата кардиомиоцитов;

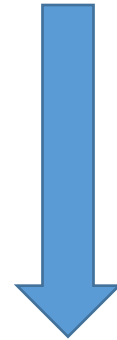
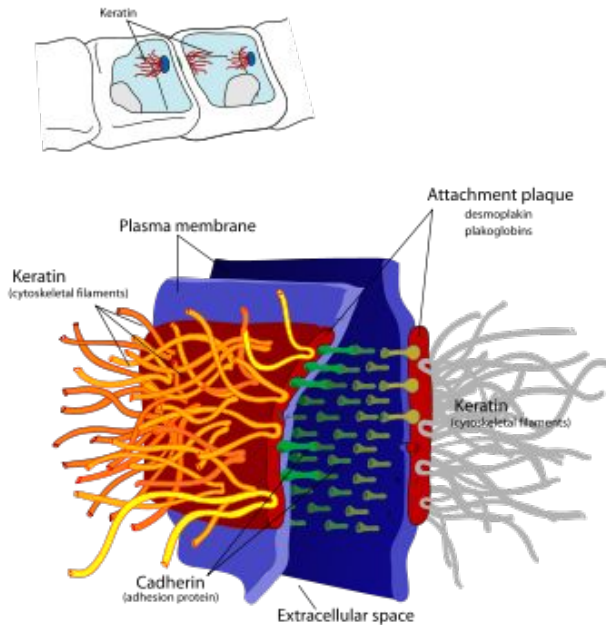
Вместе с десмосомами адгезивные контакты образуют вставные диски между клетками миокарда.



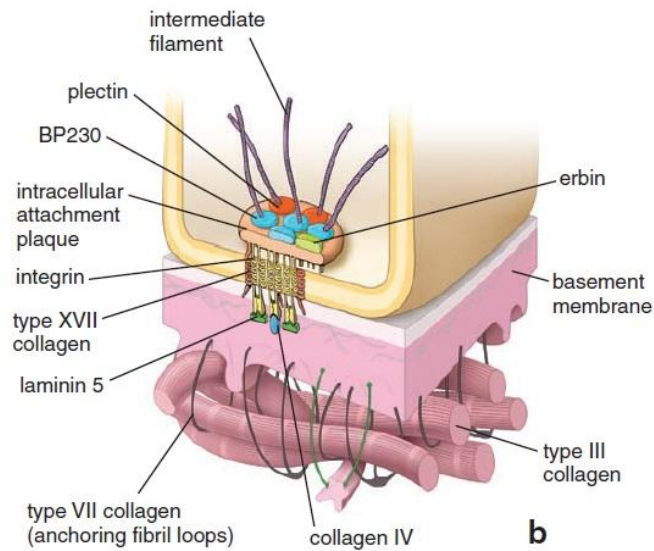
Контакты сцепляющего типа



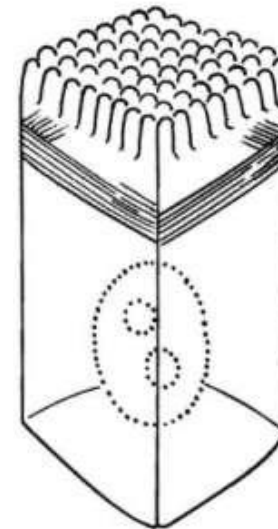
Десмосомы



Полудесмосомы



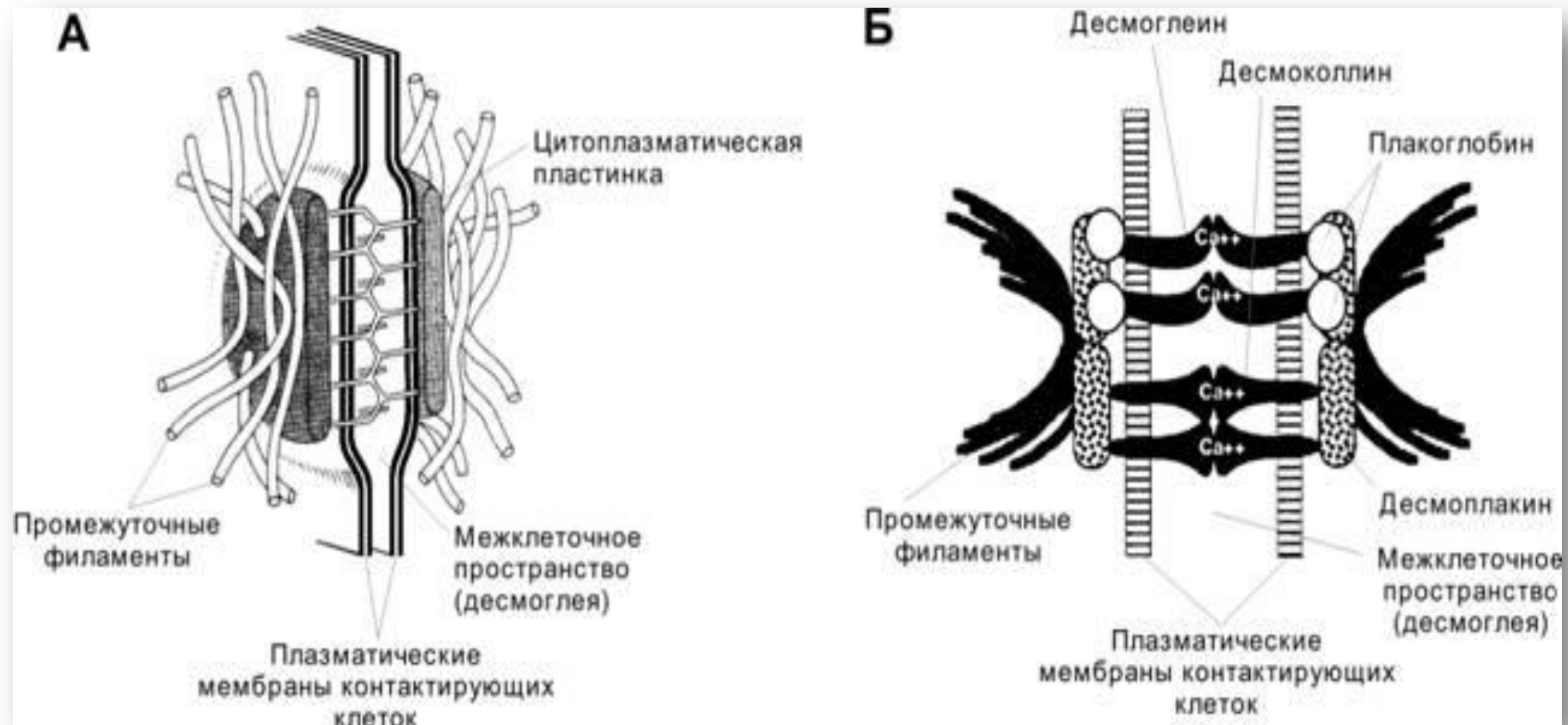
Поясок сцепления



Контакты сцепляющего типа

Десмосома

Десмосома представляет собой небольшое округлое образование, содержащее специфические *внутри-* и *межклеточные* элементы.

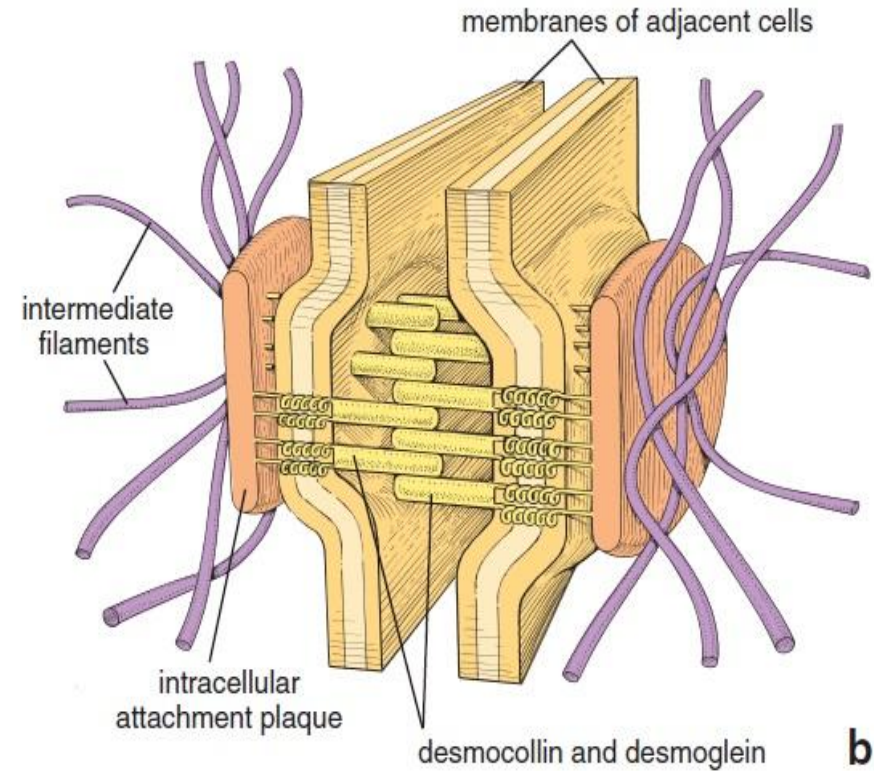


Десмосома

В области десмосомы плазмолеммы обеих клеток с внутренней стороны утолщены – за счёт белков **десмоплакинов**, образующих дополнительный слой.

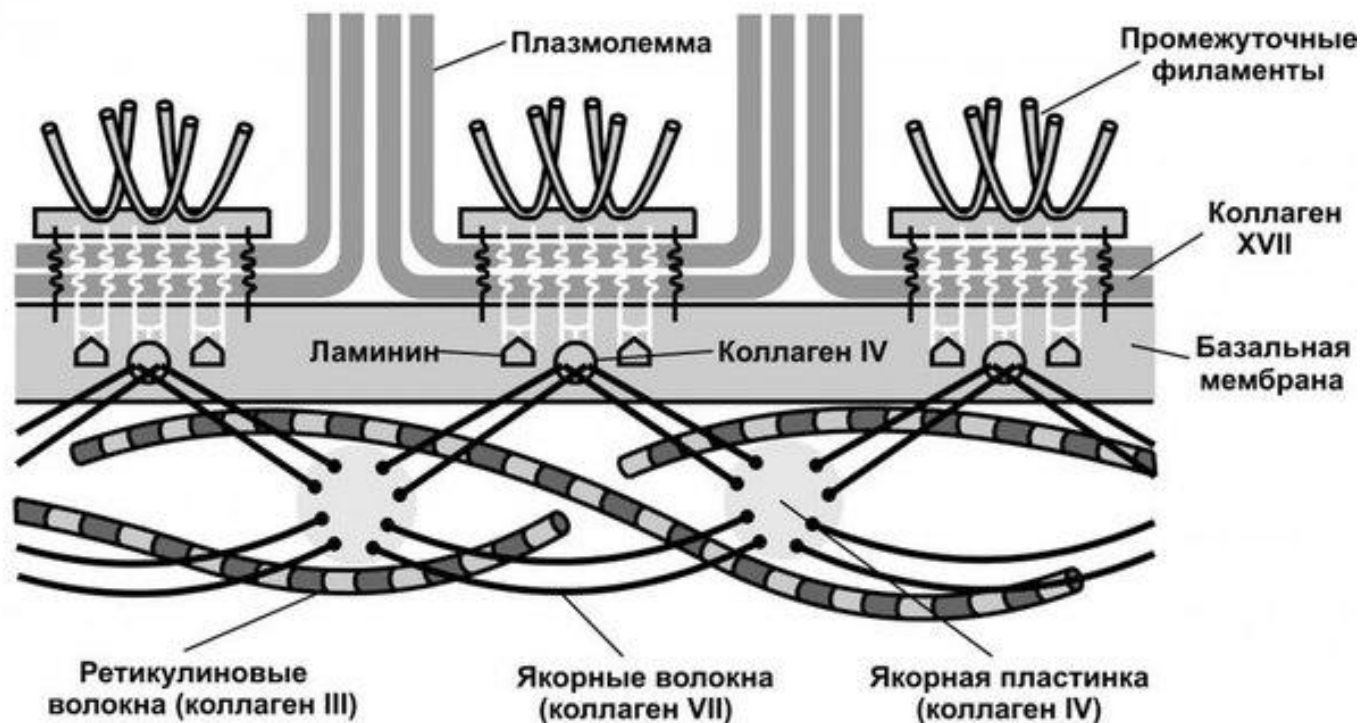
От этого слоя в цитоплазму клетки отходит пучок *промежуточных филаментов*.

В области десмосомы пространство между плазмолеммами контактирующих клеток несколько *расширено* и заполнено утолщенным гликокаликсом, который пронизан кадгеринами– **десмоглеином и десмоколлин**ом.

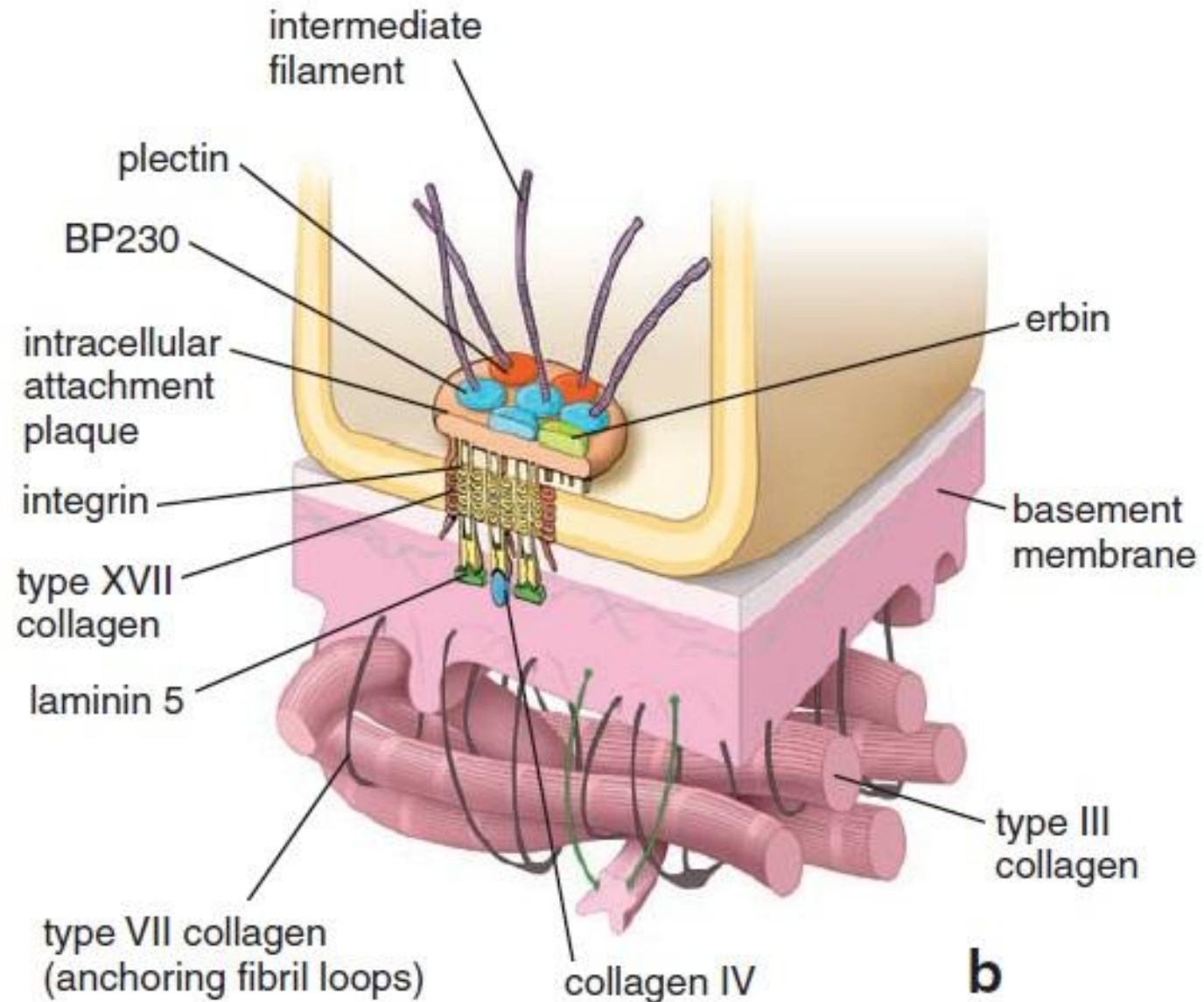


Полудесмосома

Полудесмосома обеспечивает контакт клеток с базальной мембраной. По структуре гемидесмосомы напоминают десмосомы и тоже содержат промежуточные филаменты, однако образованы другими белками. Основные трансмембранные белки – интегрины и коллаген XVII. С промежуточными филаментами они соединяются при участии дистонина и плектина. Основным белком межклеточного матрикса, к которому клетки присоединяются с помощью гемидесмосом – ламинин.

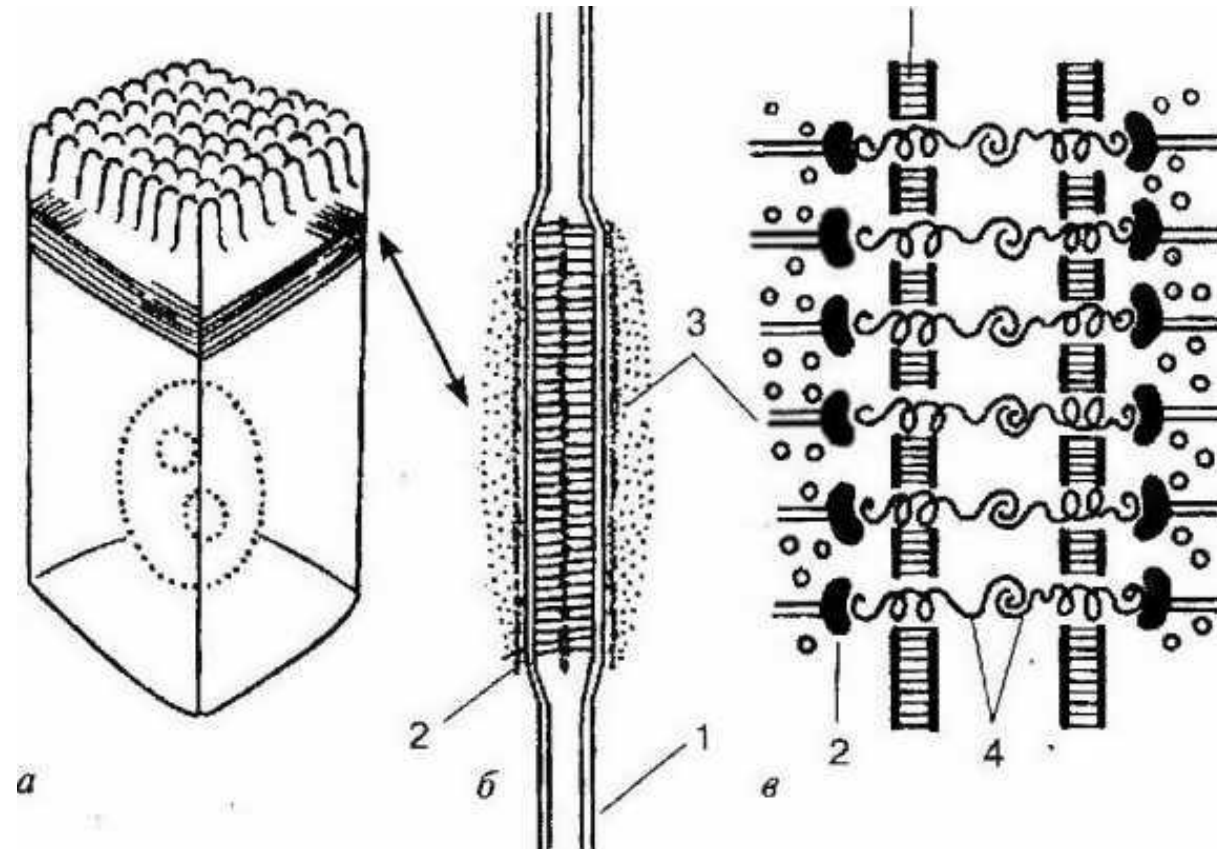


Полудесмосома



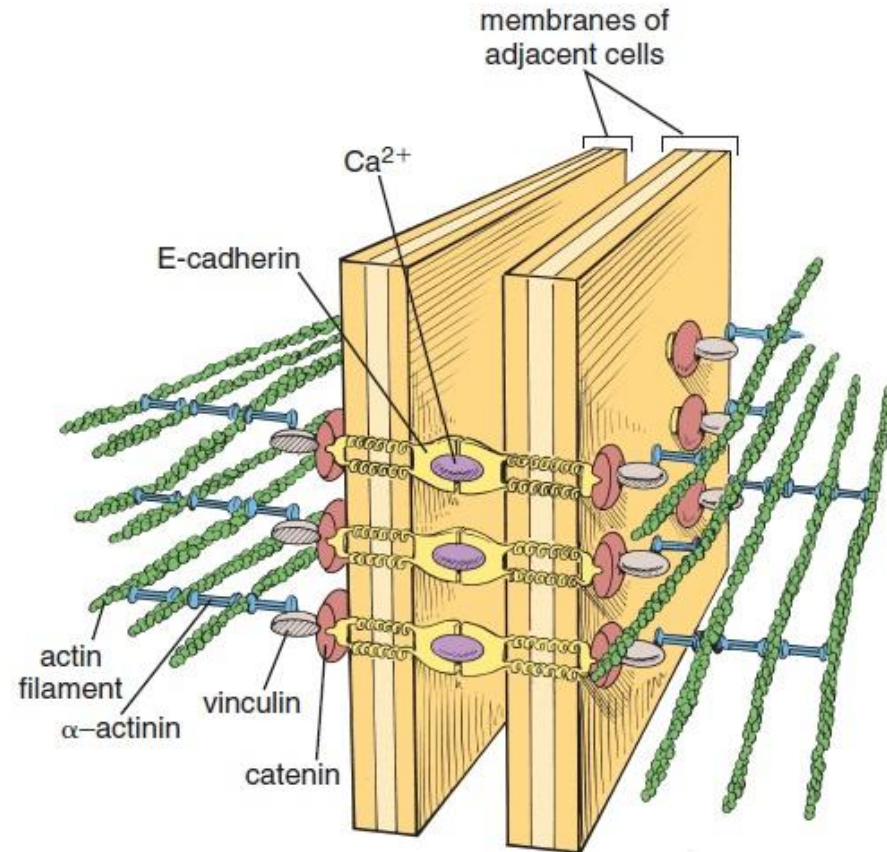
Поясок сцепления

Адгезивный поясок, (поясок сцепления, поясная десмосома) (*zonula adherens*), – парное образование в виде лент, каждая из которых опоясывает апикальные части соседних клеток и обеспечивает в этой области их прилипание друг к другу.



Белки поясков сцепления

1. Утолщение плазмолеммы со стороны цитоплазмы образовано **винкулином**;
2. Нити, отходящие в цитоплазму образованы **актином**;
3. Сцепляющим белком выступает Е-кадгерин.



Сравнительная таблица контактов сцепляющего типа

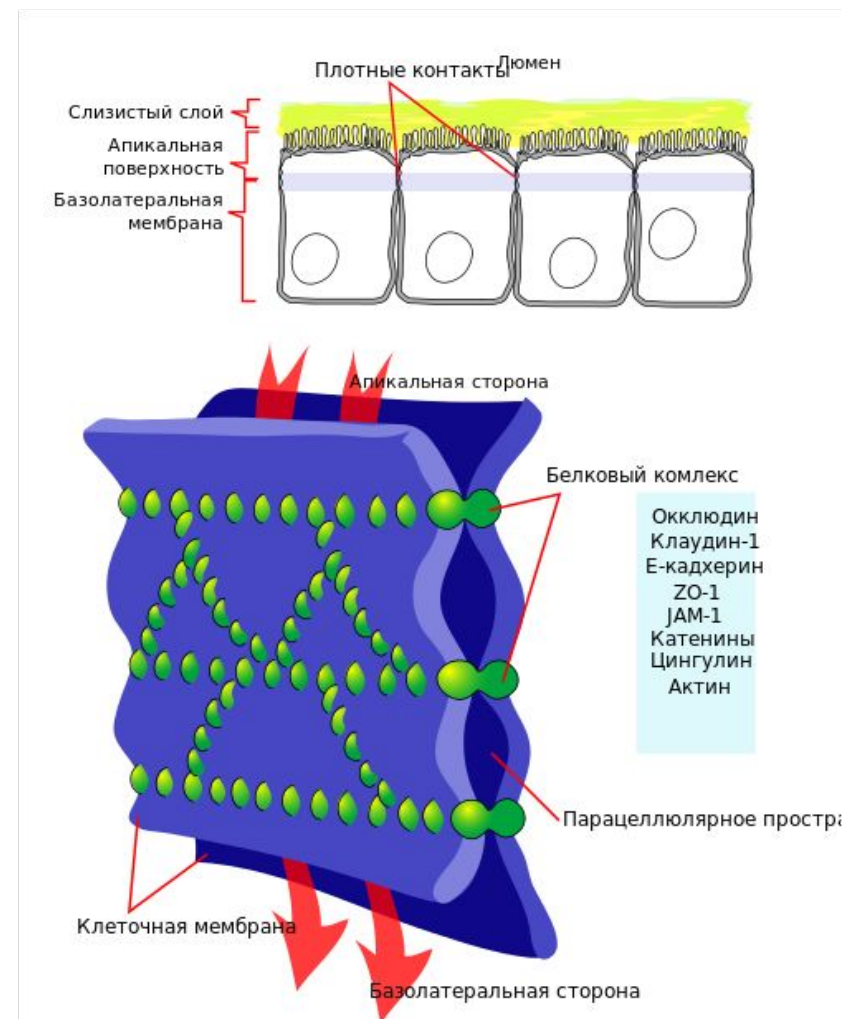
Тип контакта	Соединение	Утолщения со стороны цитоплазмы	Сцепляющий белок, тип сцепления	Нити, отходящие в цитоплазму
Десмосома	Клетка-клетка	Десмоплакин	Кадгерин, гомофильные	Промежуточные филаменты
Полудесмосома	Клетка-межклеточный матрикс	Дистонин и плектин	Интегрин, гетерофильное с ламинином	Промежуточные филаменты
Пояски сцепления	Клетка-клетка	Винкулин	Кадгерин, гомофильное	Актин

Плотный контакт

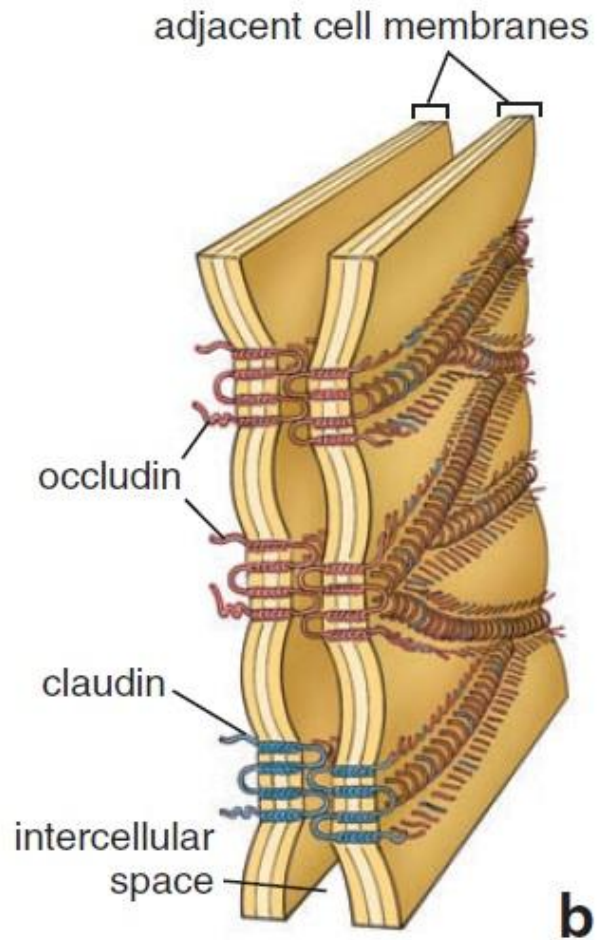
Плазмолеммы клеток прилегают друг к другу *вплотную*, сцепляясь с помощью специальных белков.

Тем самым обеспечивается надёжное отграничение двух сред, находящихся по разные стороны от пласта клеток.

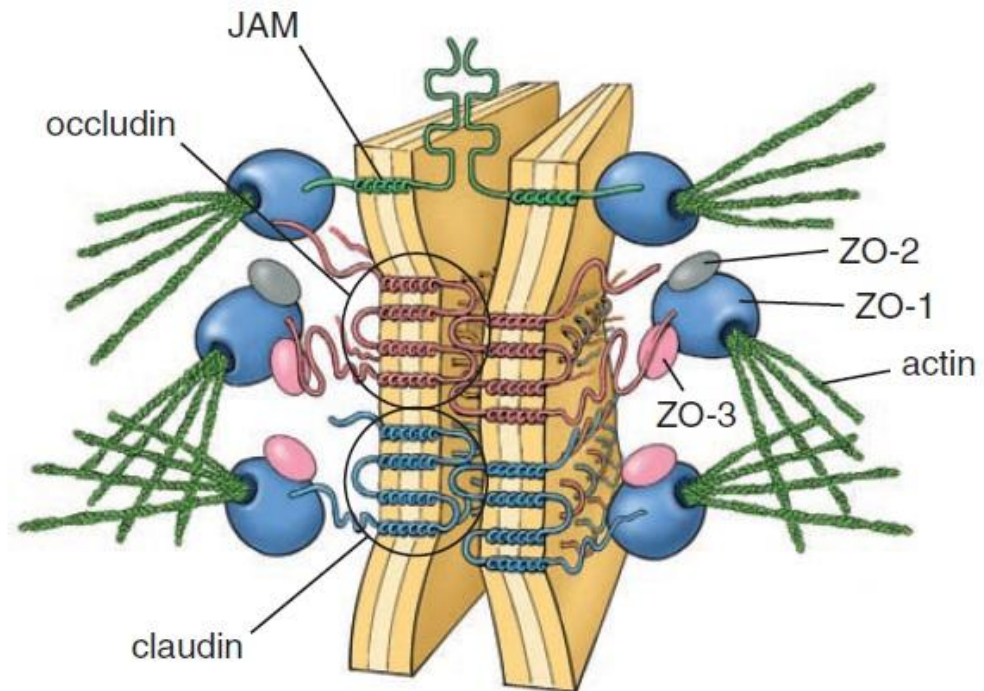
Распространены в эпителиальных тканях, где составляют наиболее апикальную часть клеток (лат. *zonula occludens*).



Белки плотного контакта



Основными белками плотных контактов являются клаудины и окклюдины. Через ряд специальных белков к ним крепится актин.



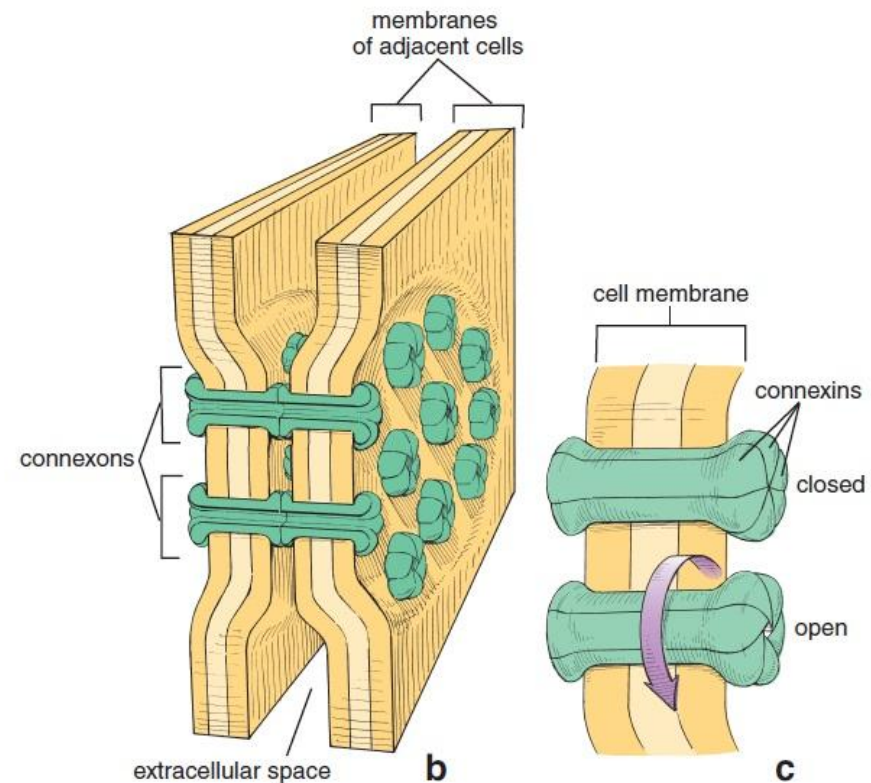
Контакты коммуникационного типа

Щелевидные соединения (нексусы, электрические синапсы, эфапсы)

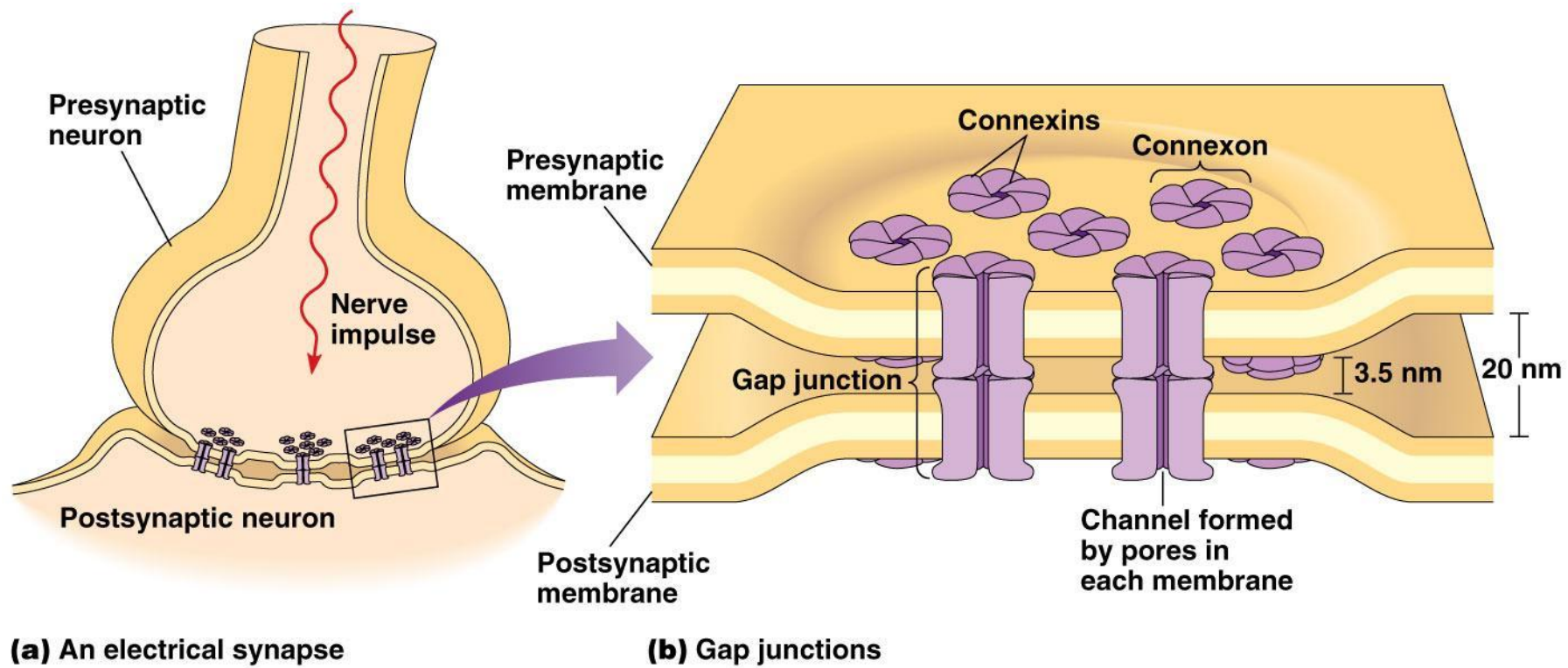
Нексус имеет форму круга диаметром 0,5-0,3 мкм.

Плазмолеммы контактирующих клеток сближены и пронизаны многочисленными каналами, которые связывают цитоплазмы клеток.

Каждый канал состоит из двух половин – **коннексонов**. Коннексоны пронизывают мембрану лишь одной клетки и выступают в межклеточную щель, где стыкуется со вторым коннексоном.

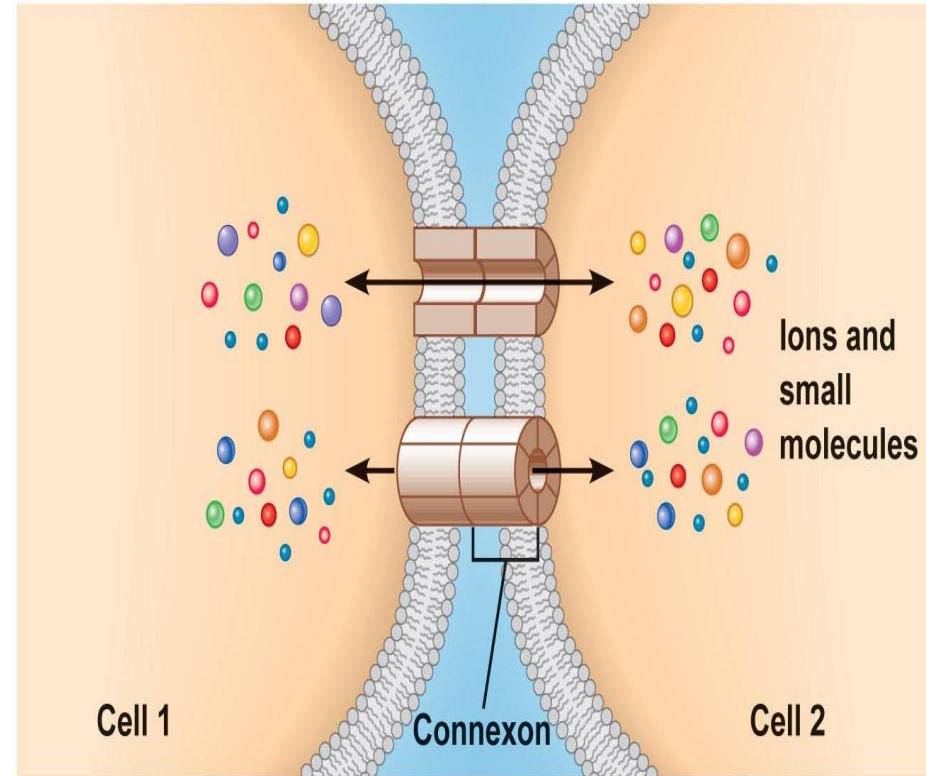


Строение эфалпса (Gap junction)



Транспорт веществ через нексусы

- Между контактирующими клетками существует *электрическая и метаболическая связи*.
- Через каналы коннексонов могут диффундировать неорганические ионы и низкомолекулярные органические соединения – сахара, аминокислоты, промежуточные продукты метаболизма.
- Ионы Ca^{2+} меняют конфигурацию коннексонов – так, что просвет каналов закрывается.



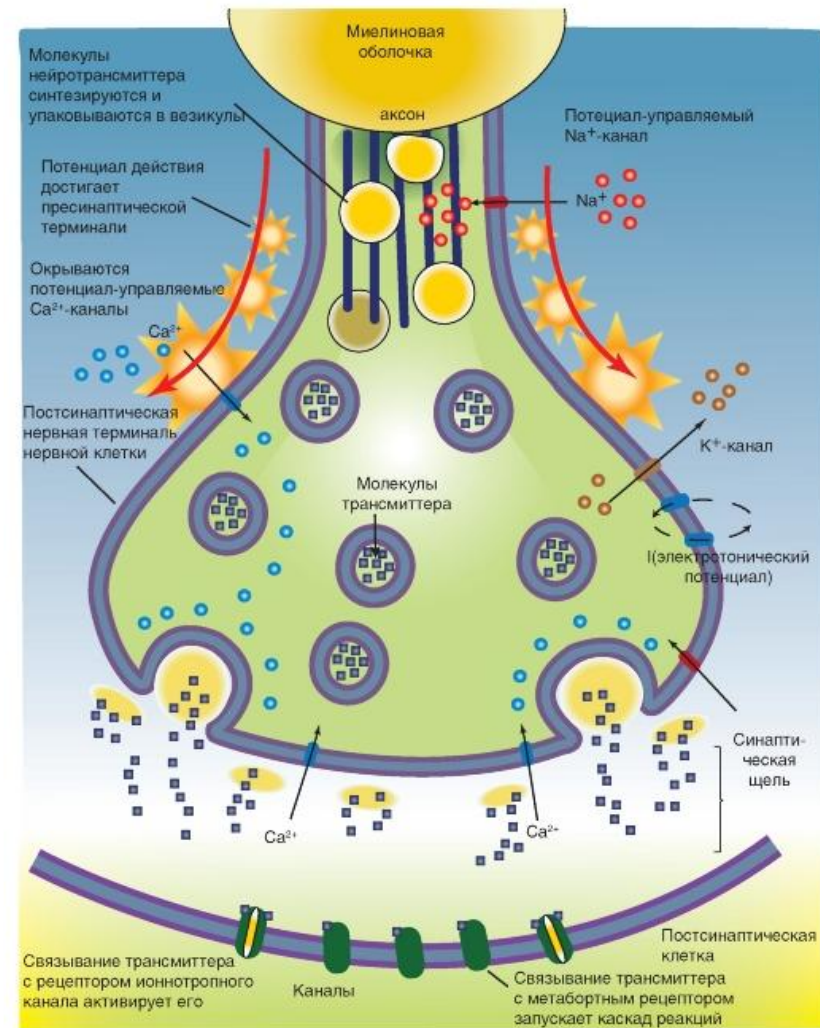
(a) Direct communication through gap junctions

Синапсы

Синапсы служат для передачи сигнала от одних возбудимых клеток к другим. В синапсе различают:

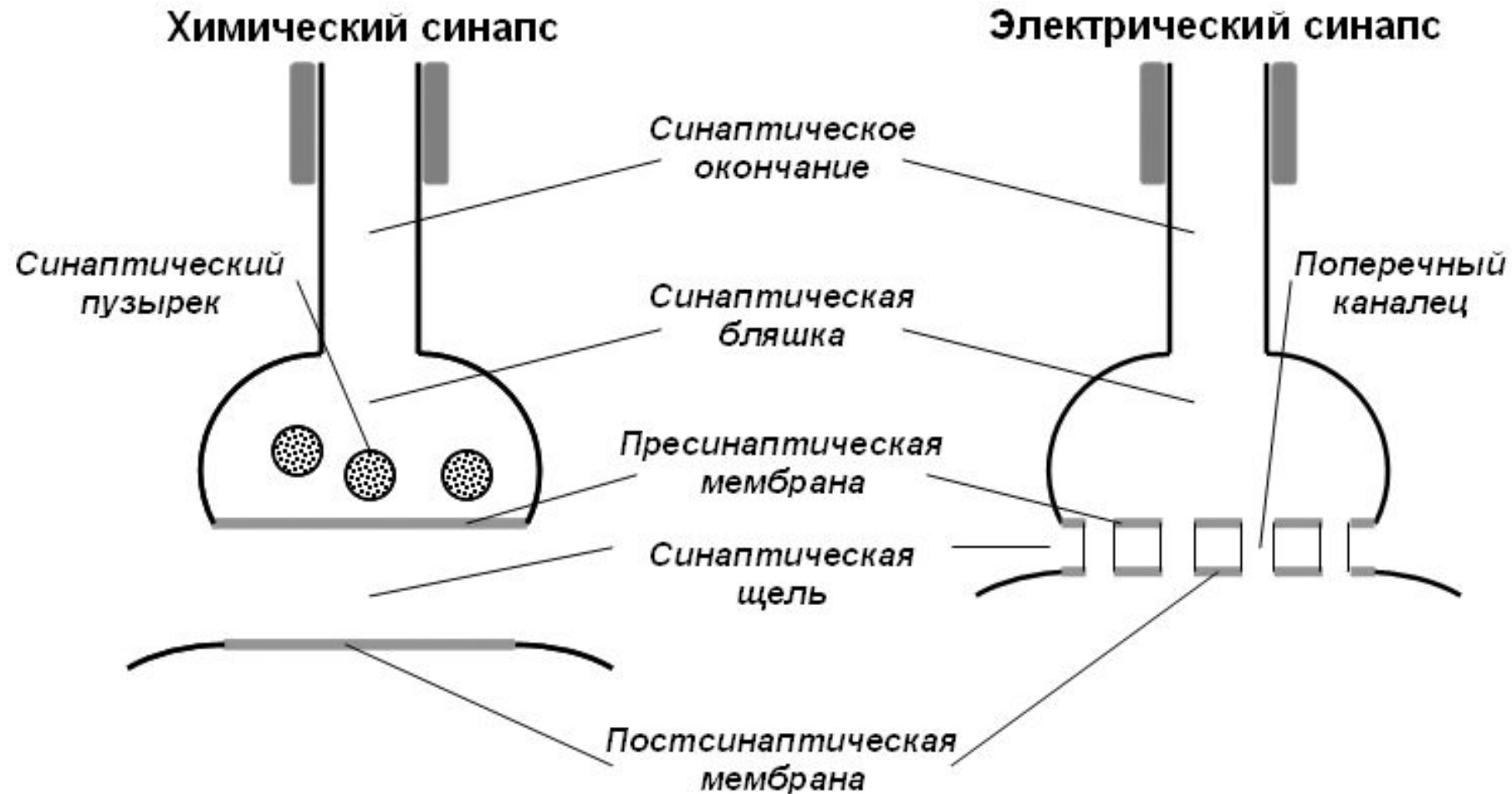
- 1) пресинаптическую мембрану (ПреМ), принадлежащую одной клетке;
- 2) синаптическую щель;
- 3) постсинаптическую мембрану (ПоМ) – часть плазмолеммы другой клетки.

Обычно сигнал передается химическим веществом – *медиатором*: последний диффундирует от ПреМ и воздействует на специфические рецепторы в ПоМ.



Коммуникационные соединения

Встречаются в возбудимых тканях (нервная и мышечная)

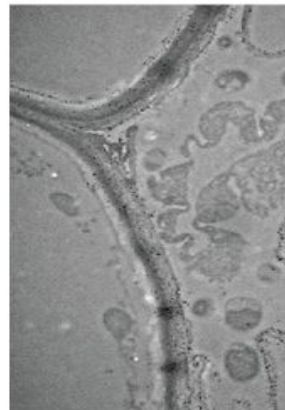
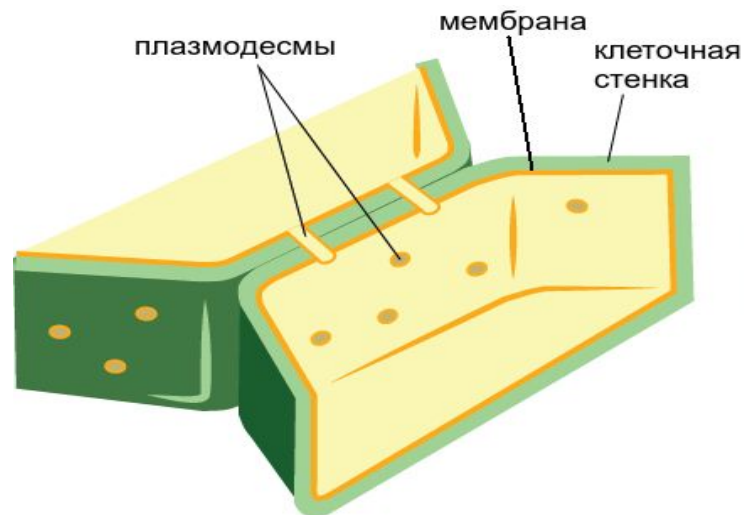


Коммуникационные соединения

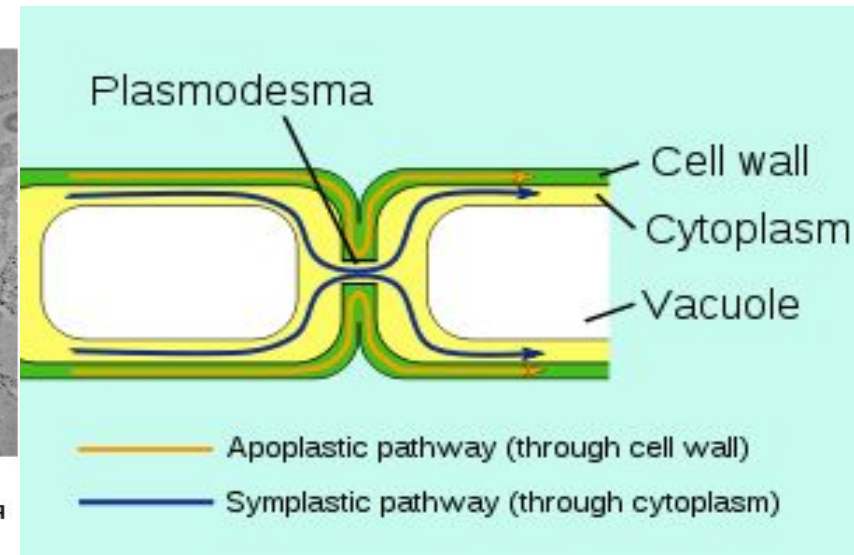
Тип	Синаптическая щель	Проведение сигнала	Синаптическая задержка	Скорость импульса	Точность передачи сигнала	Возбуждение /торможение	Способность к морфофизиологическим изменениям
Хим.	Широкая (20-50 нм)	Строго от ПреМ к ПоМ	+	Ниже	Выше	+/+	+
Эфасис	Узкая (5 нм)	В любом направлении	-	Выше	Ниже	+/-	-

Плазмодесмы

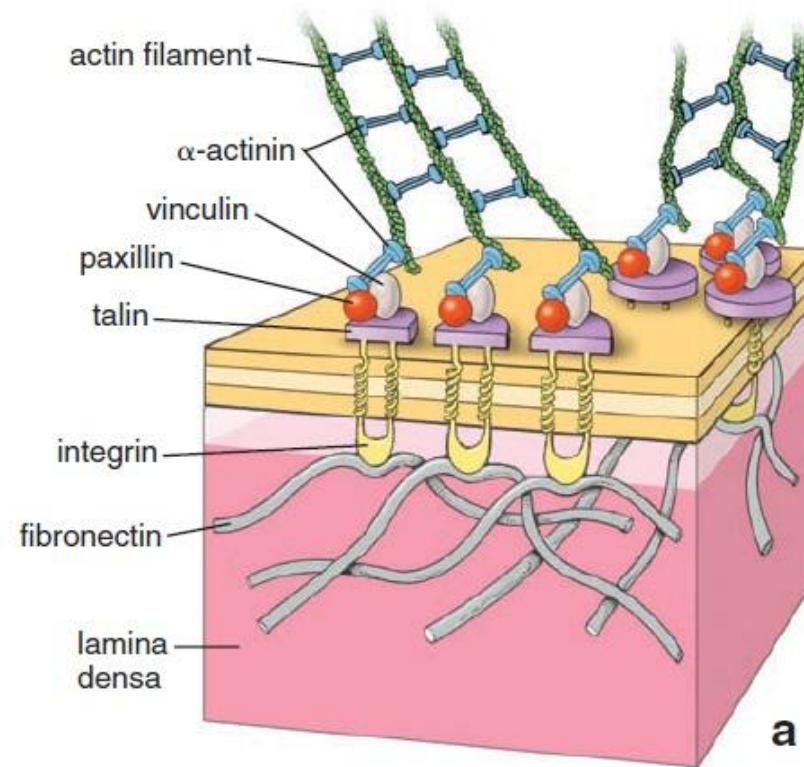
- Представляют собой цитоплазматические мостики, соединяющие соседние клетки растений.
- Плазмодесмы проходят через каналцы поровых полей первичной клеточной стенки, полость каналцев выстлана плазмалеммой.
- В отличие от десмосом животных, плазмодесмы растений образуют прямые цитоплазматические межклеточные контакты, обеспечивающие межклеточный транспорт ионов и метаболитов.
- Совокупность клеток, объединённых плазмодесмами, образуют симпласт.



электронная микрофотография клеточной стенки



- Фокальные контакты представляют собой контакты между клетками и внеклеточным матриксом.
- Трансмембранными белками адгезии фокальных контактов являются различные интегрины.
- С внутренней стороны плазмалеммы к интегринам прикреплены актиновые филаменты с помощью промежуточных белков.
- Внеклеточным лигандом выступают белки внеклеточного матрикса.
- Встречаются в соединительной ткани



Ультраструктурная основа механических свойств живых клеток

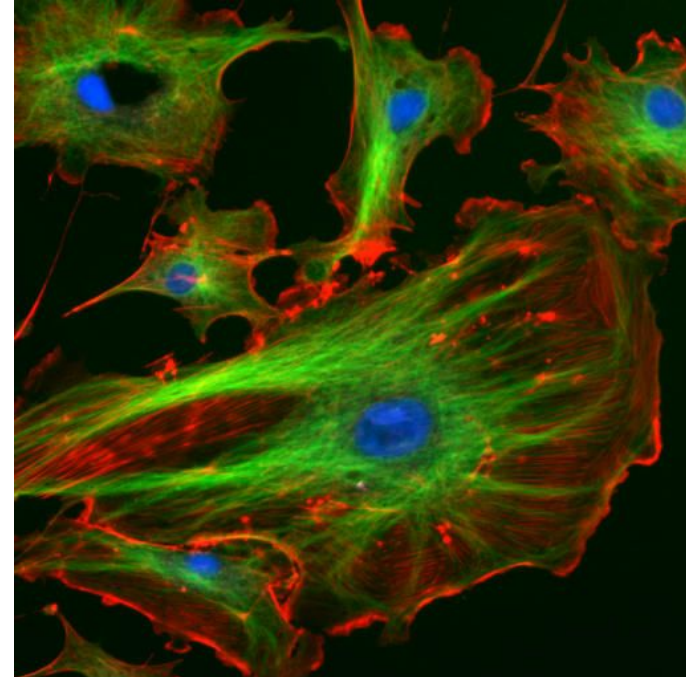
Цитоскелет – ультраструктурная основа механических свойств живых клеток. Включает в себя белковые образования 3х типов:

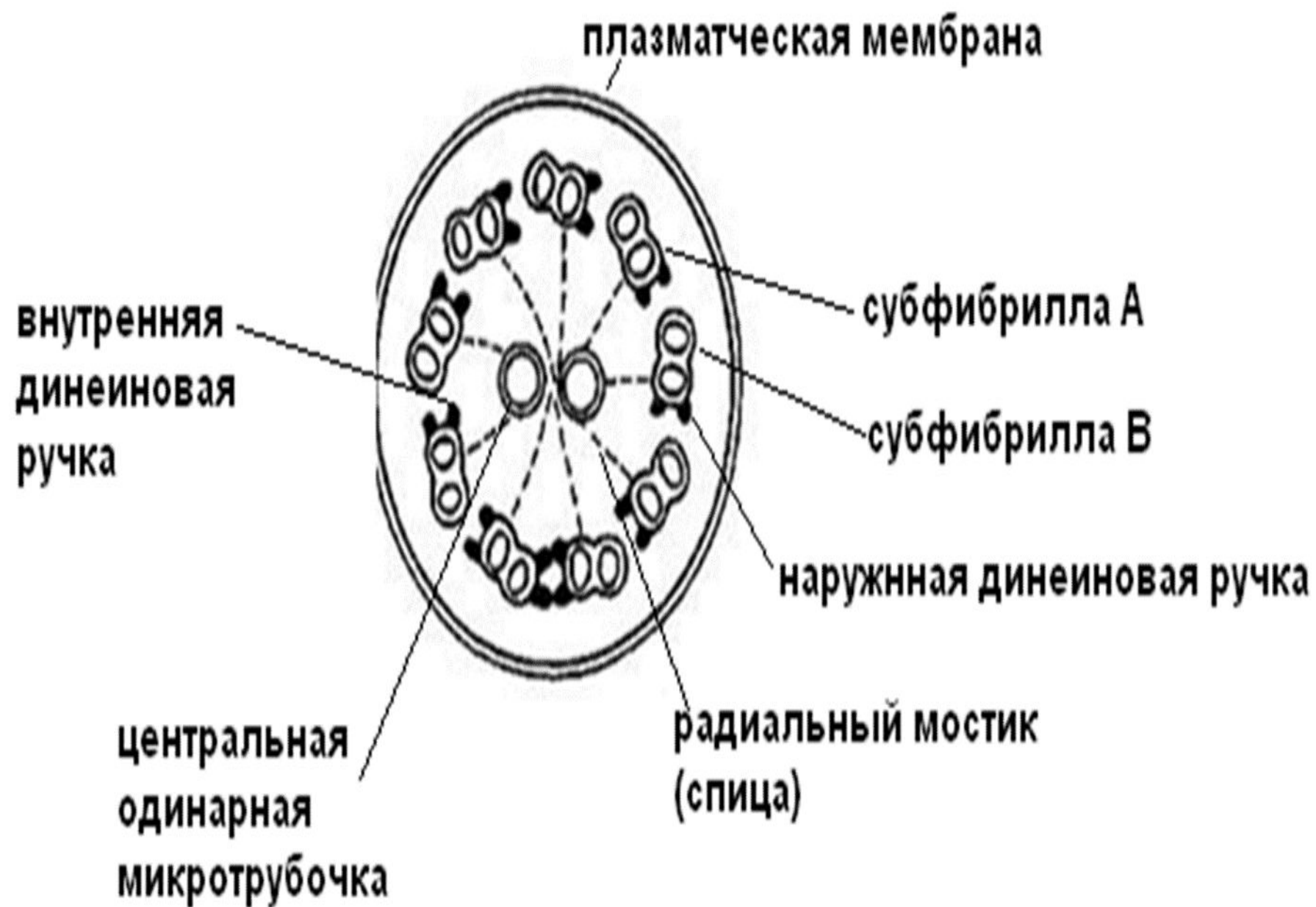
1. **промежуточные филаменты** (в разных тканях имеют разную молекулярную природу)
2. **микрофиламенты** – образованы актином
3. **микротрубочки** – образованы тубулином

Промежуточные филаменты

- в эпителиоцитах – из десмина,
- в клетках соединительной ткани – из виментина
- в нейронах – из нейрофиламентов

диаметр промежуточных филаментов = 8-10 нм
функция – обеспечение прочности цитоскелета



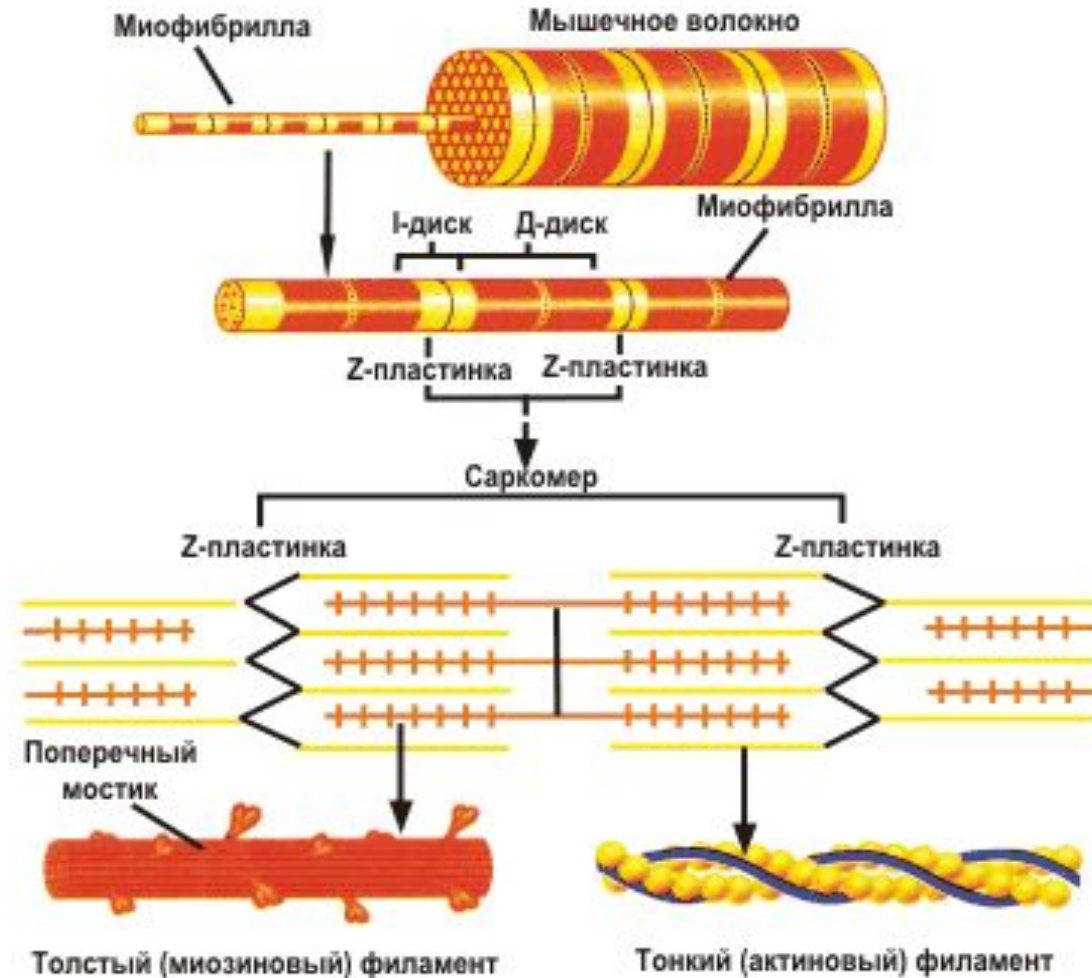


Саркомер – элементарная надмолекулярная сократительная единица мышечного волокна. Соседние саркомеры соединяются друг с другом белком десмином и образуют актин-десминовую ячеистую сеть.

Границы соседних саркомеров в миофибриллах совпадают, что придает мышечной ткани поперечную исчерченность при микроскопическом исследовании.

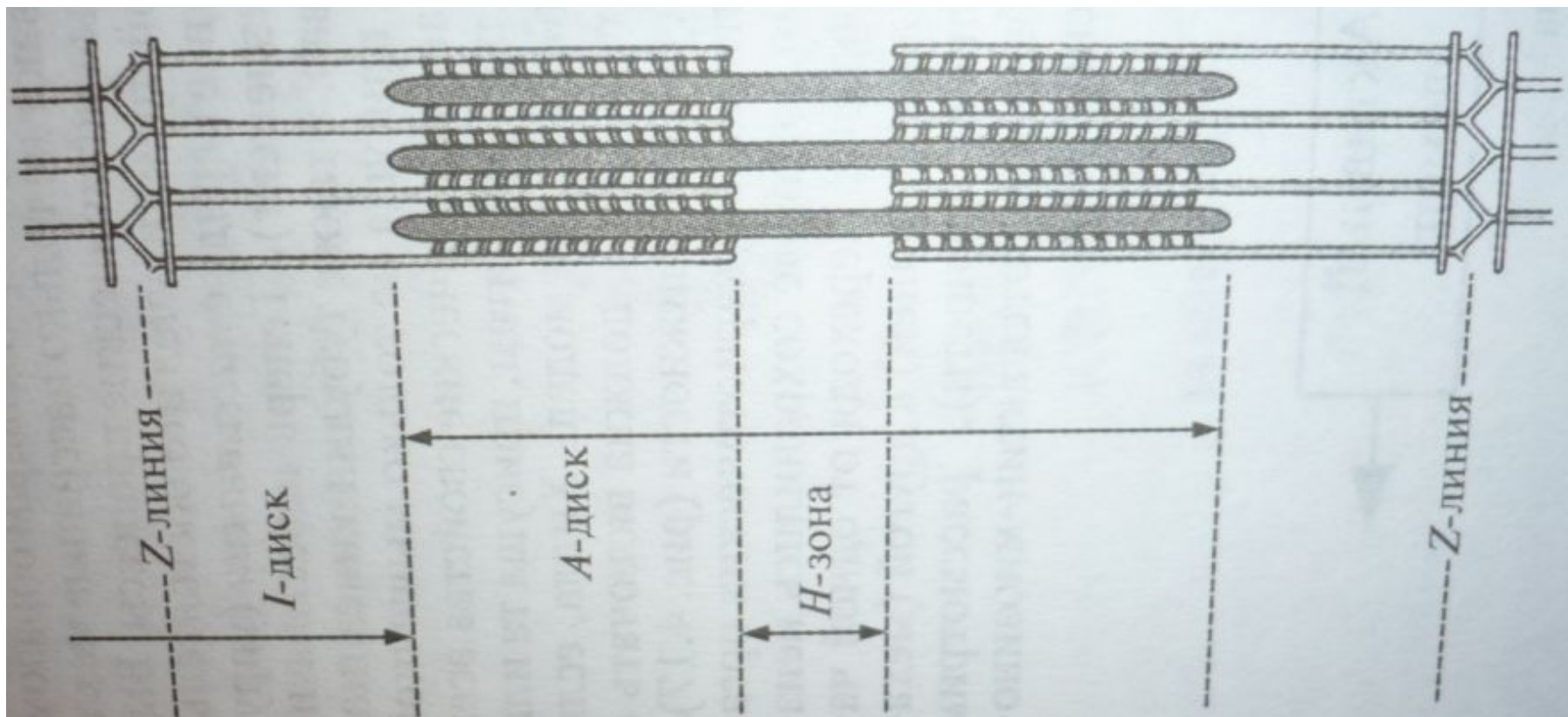
Происходит чередование светлых (изотропных, **I- диск**) и темных (анизотропных, **A-диск**) полос.

Затемнение в центре I-диска обусловлено контактами между соседними саркомерами. Эта темная полоса толщиной 80-160 нм называется **Z-линией (Z- пластиной)**.



Саркомер состоит из тонких (актиновых) и толстых (миозиновых) филаментов, которые называют **протофибриллами**. В 1 миофибрилле содержится 2500 протофибрилл.

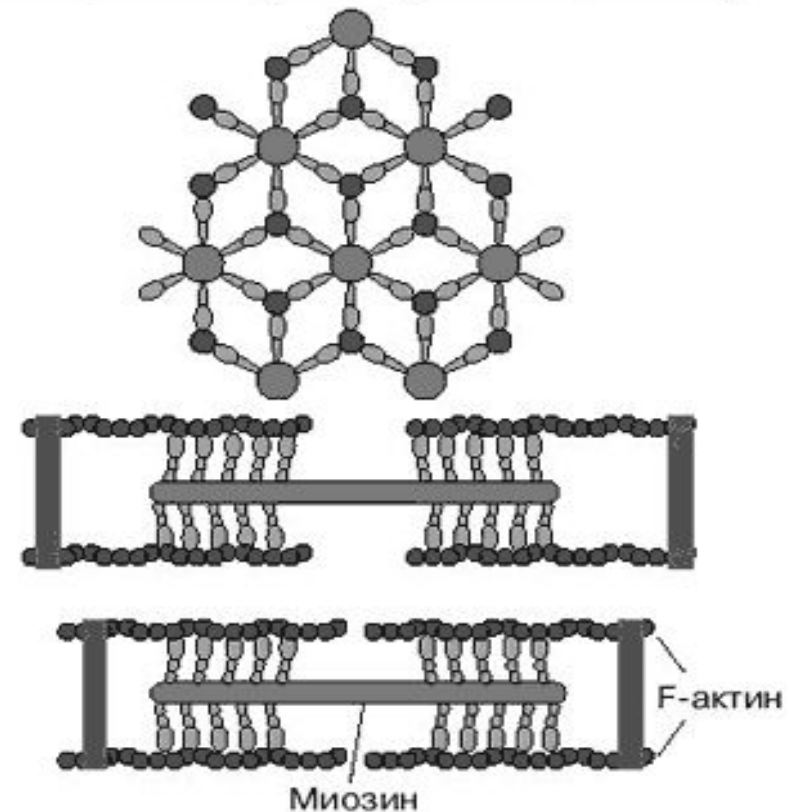
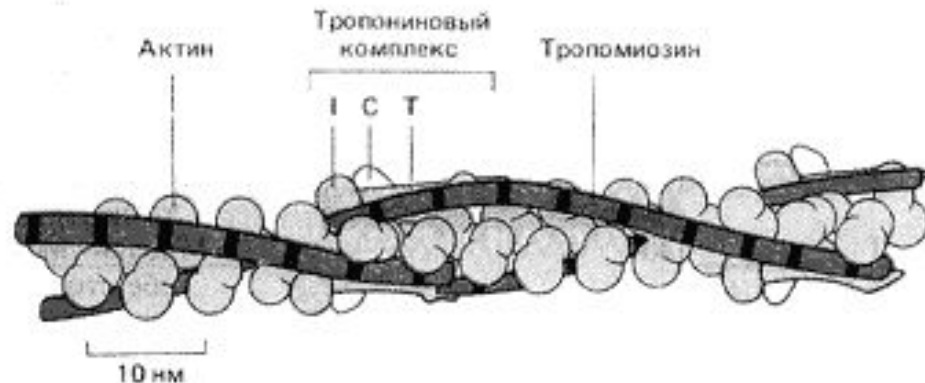
I-диск соответствует участку, где расположены только актиновые нити, а в A-диске происходит перекрывание актиновых и миозиновых филаментов. В центре A-диска есть светлый участок – H-зона, в которой присутствуют только миозиновые нити.



На поперечном срезе саркомера нити актина и миозина образуют гексагональную структуру, в которой каждая миозиновая протофибрилла взаимодействует с 6 актиновыми. Взаимодействие между актином и миозином осуществляется за счет «поперечных мостиков» - образованных головками миозиновых молекул.

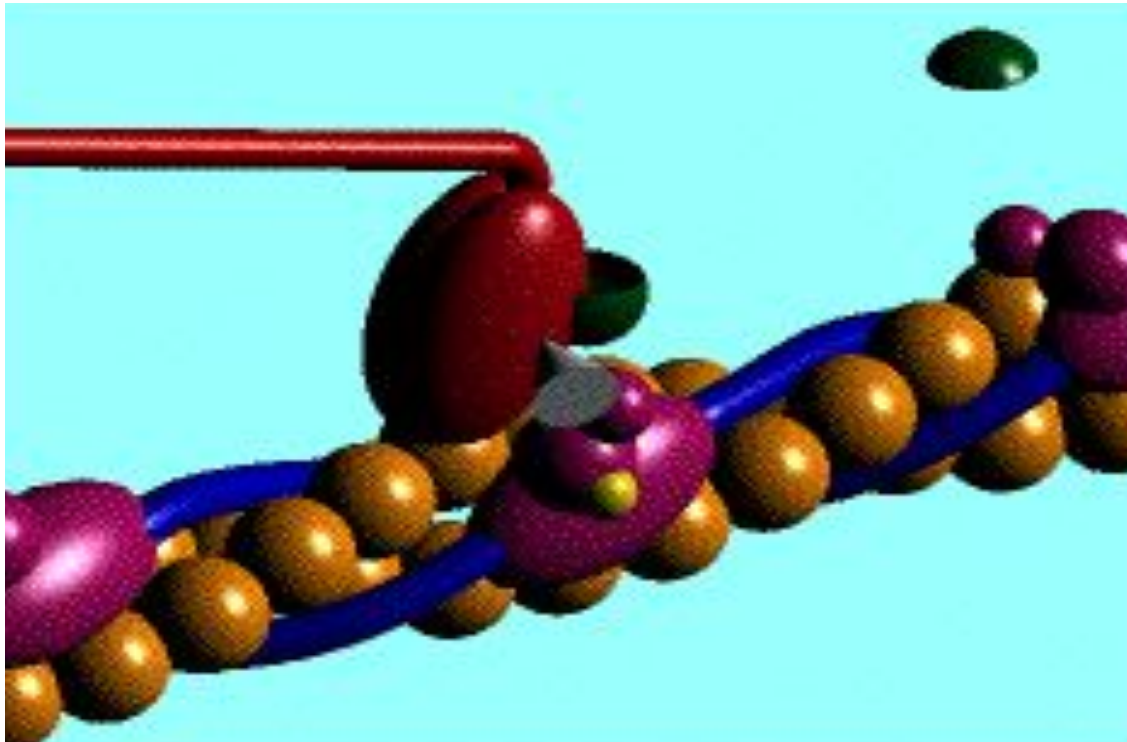
Для того, чтобы произошло сокращение, головка миозиновой нити должна провзаимодействовать с активным центром молекулы актина.

В расслабленной мышце активный центр актина закрыт молекулой **тропомиозина**. Тропомиозин состоит из 2х субъединиц - 34 и 36 к Да, образующих нити.



Молекула тропомиозина занимает спиральный желобок между 2-я нитями F- актина, где расположены активные центры, с которыми должны провзаимодействовать миозиновые головки для сокращения мышцы.

Тропонин – белок, связывающийся с актиновым филаментом и тропомиозиновой нитью. Имеет 3 субъединицы с общей молекулярной массой 76 кДа, одна из которых связывает 4 иона Ca^{2+} . после связывания Ca^{2+} тропонин воздействует на тропомиозин и тот освобождает активный центр актина для взаимодействия с головкой миозина.

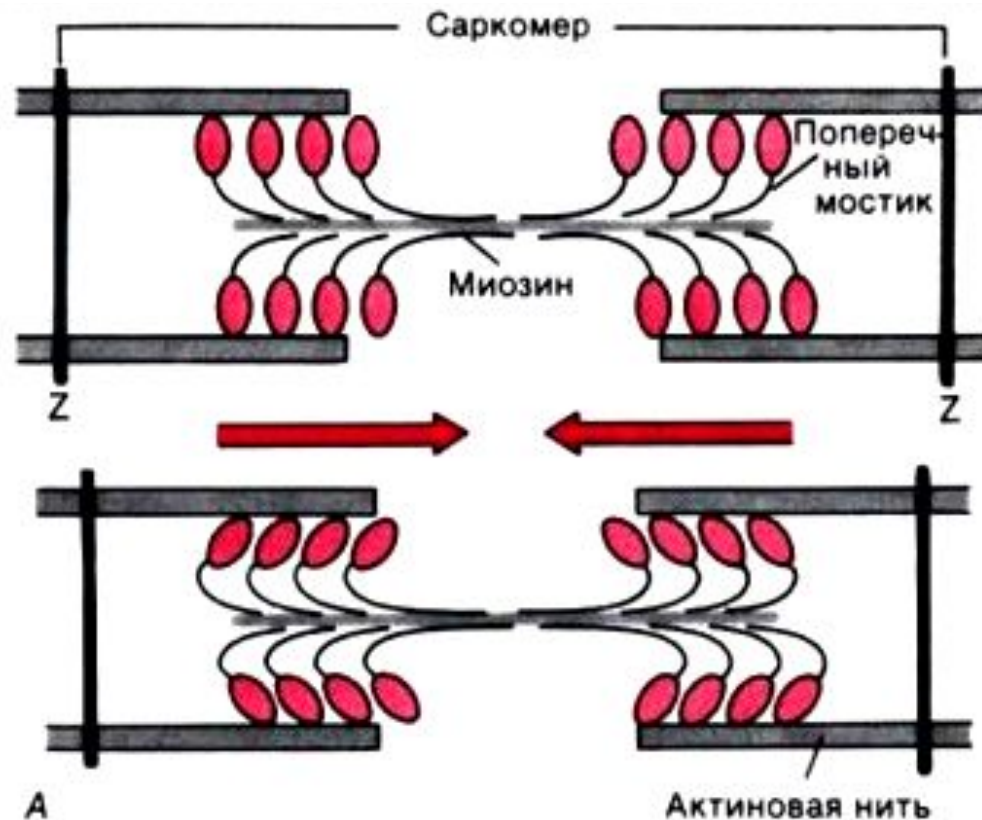


Механизм мышечного сокращения

После разблокирования активного центра актина с помощью ионов Ca^{2+} миозиновые головки взаимодействуют с F-актином. Головка прикрепляется к актиновой нити и наклоняется, совершая гребковое движение. При взаимодействии с актином миозиновые головки гидролизуют АТФ.

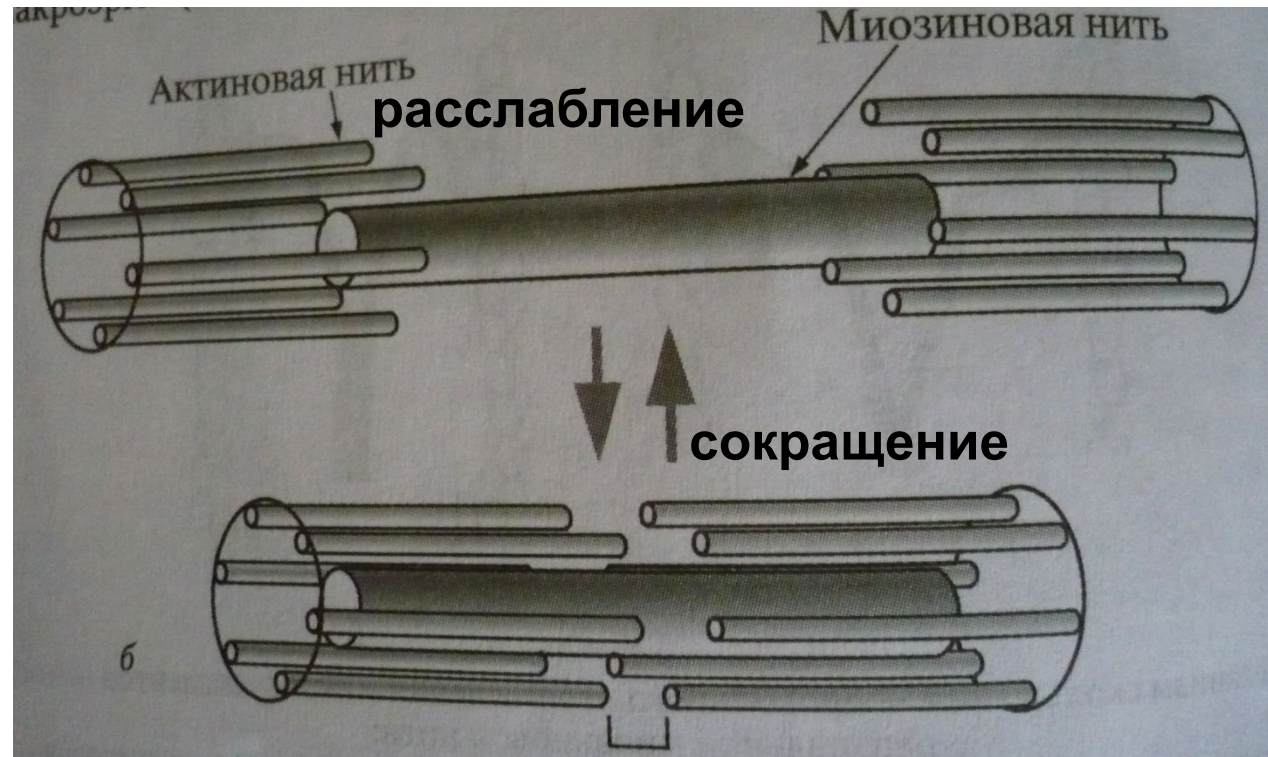
В конце гребка к миозиновой головке присоединяется новая молекула АТФ, что позволяет миозиновой головке вернуться в исходное состояние и быть готовой к новому гребковому движению.

При «гребке» актиновая нить смещается вдоль миозиновой и происходит сокращение длины саркомера. Каждый саркомер сокращается пропорционально сокращению всей мышцы.



Максимальная сила сокращения пропорциональна мышцы пропорциональна взаимного перекрытия актиновых и миозиновых нитей. При уменьшении длины саркомера укорачивается только I-диск, а длина A-диска не изменяется. Для максимального сокращения саркомера миозиновые мостики должны совершить примерно 50 гребков. При сокращении 20% энергии, полученной при гидролизе АТФ, переходит в механическую работу и 80% - в тепло.

Субстраты клеточного дыхания и кислород поступают в мышцы из крови. При тренировке выносливости необходимо хорошее кровоснабжение мышц, при тренировке силы – необходимо увеличение числа миозиновых мостиков.

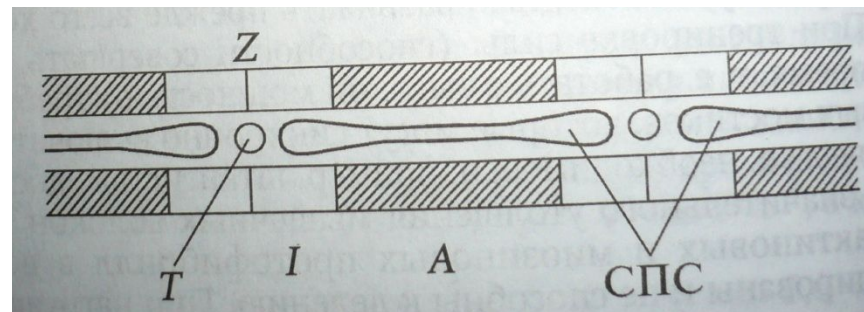
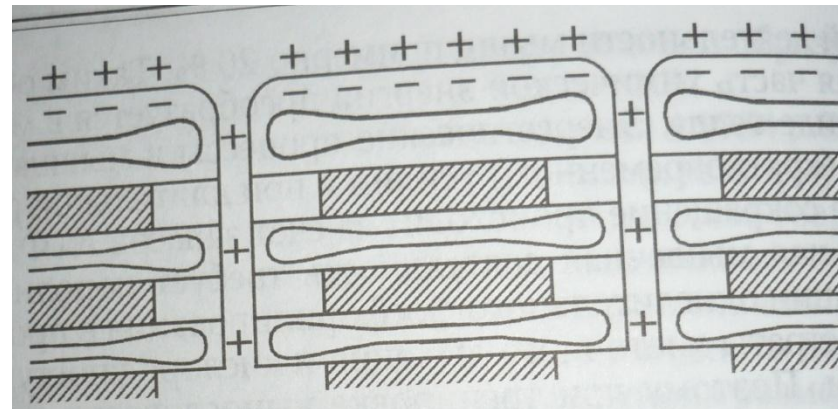


При повышении физической нагрузки происходит гипертрофия миоцитов, т.к. это дифференцированные клетки, не способные к делению.

Для сокращения ионы кальция должны поступить к миофибриллам из саркоплазматической сети (СПС), т.к. концентрация ионов кальция в покое составляет 10^{-7} моль, а для сокращения необходима концентрация 5×10^{-6} моль. СПС занимает 10% объема мышечного волокна и является депо кальция (концентрация кальция в СПС равна 10^{-2} моль).

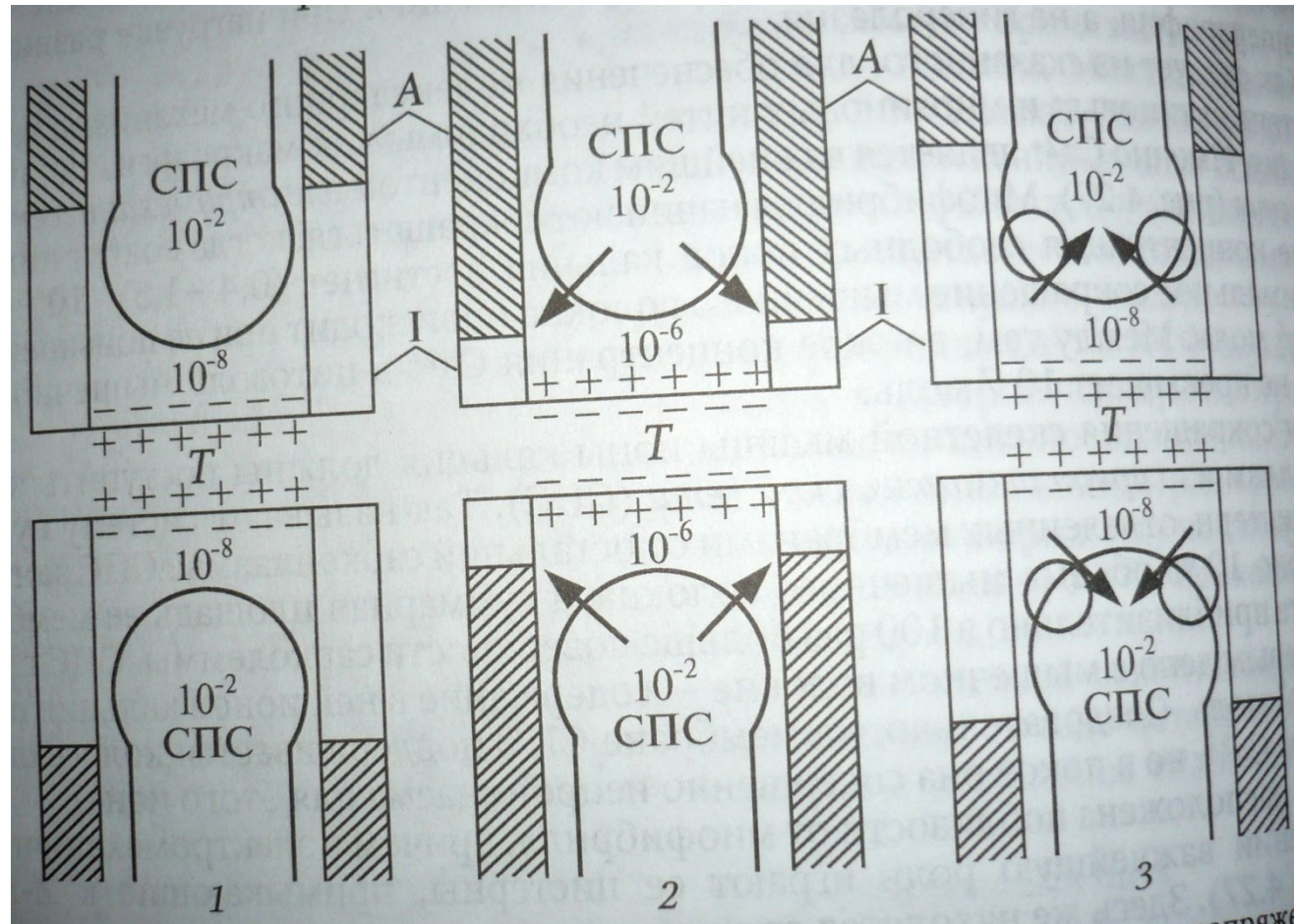
СПС расположена вблизи Z-дисков. Здесь же находятся выпячивания сарколеммы, имеющие форму трубочек (Т).

СПС +Т образуют **Т-систему**, реализующую **электромеханическое сопряжение и мышечное сокращение**. Трубочки необходимы для передачи потенциала действия от концевых мотонейронов, который открывает кальциевые потенциалзависимые L-каналы.



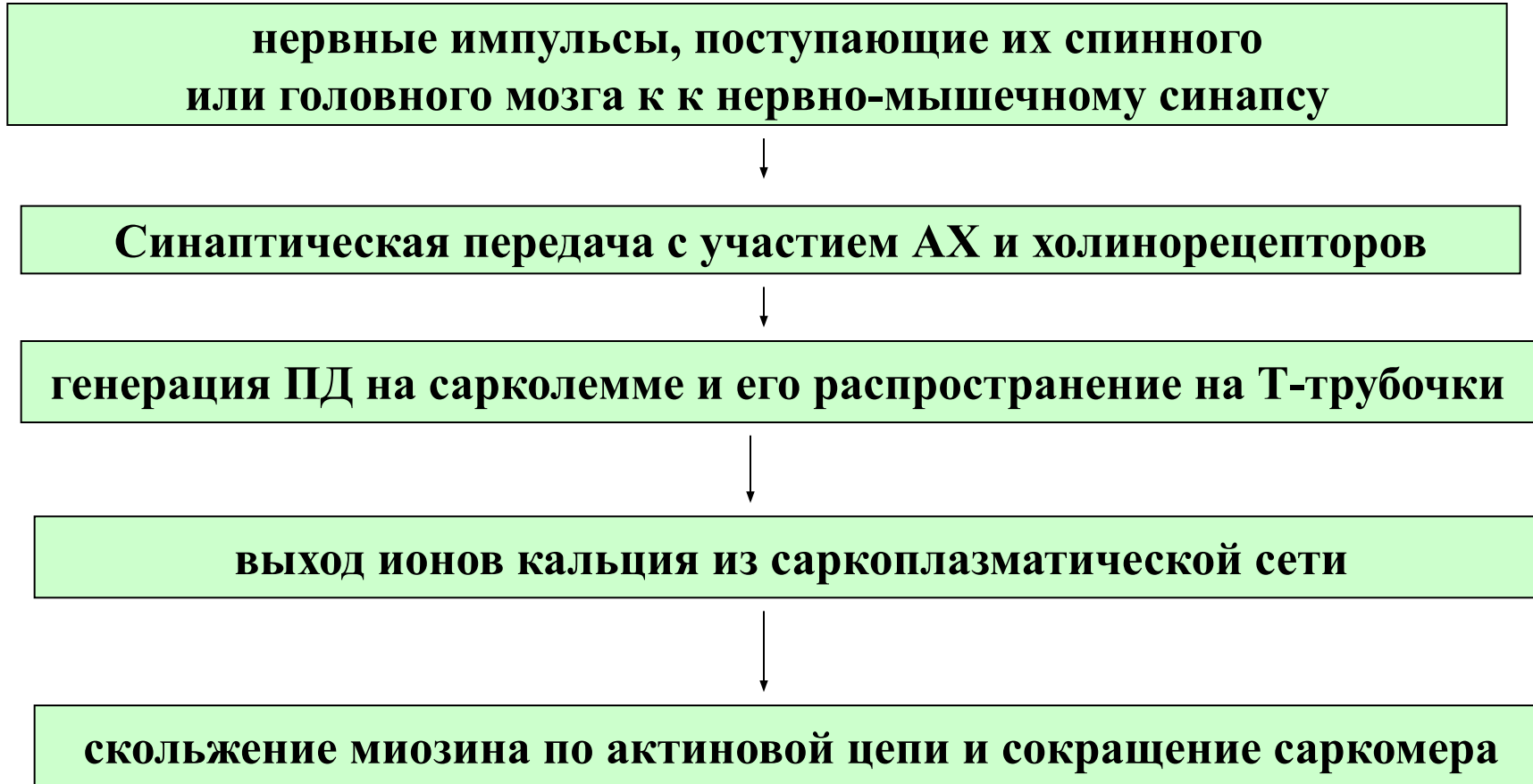
При распространении потенциала действия по сарколемме происходит деполяризация трубочек, что приводит к открытию кальциевых каналов, которые выходят из цистерн саркоплазматической сети и достигают миофибрилл. Затем ионные каналы закрываются, доступ ионов кальция к миофибриллам прекращается и происходит расслабление мышцы.

Обратный транспорт ионов кальция в цистерны происходит «против градиента» с участием системы активного транспорта – кальцевой помпы, содержащей Са-активируемую АТФ-азу.



1 – мышца в покое, 2 – сокращение, 3 - расслабление

Схема нервно-мышечного сокращения



Метаболический аппарат клетки

- Метаболизм – это совокупность химических реакций, протекающих в живых клетках и обеспечивающих организм веществами и энергией для его жизнедеятельности, роста, размножения. Включает анаболизм и катаболизм.
- Анаболический процесс (анаболизм) - физиолого-биохимические процессы, направленные на усвоение клеткой пищевых веществ. В ходе анаболизма создается тело клетки. При этом химически чуждые соединения превращаются в соединения специфические для того или иного вида или особи.
- Катаболический процесс (катаболизм)-процесс метаболического распада (деградации) сложных веществ на более простые или окисления какого-либо вещества, обычно протекающий с освобождением энергии в виде тепла и в виде молекулы АТФ, универсального источника энергии всех биохимических процессов.

Структуры клетки участвующие в метаболизме

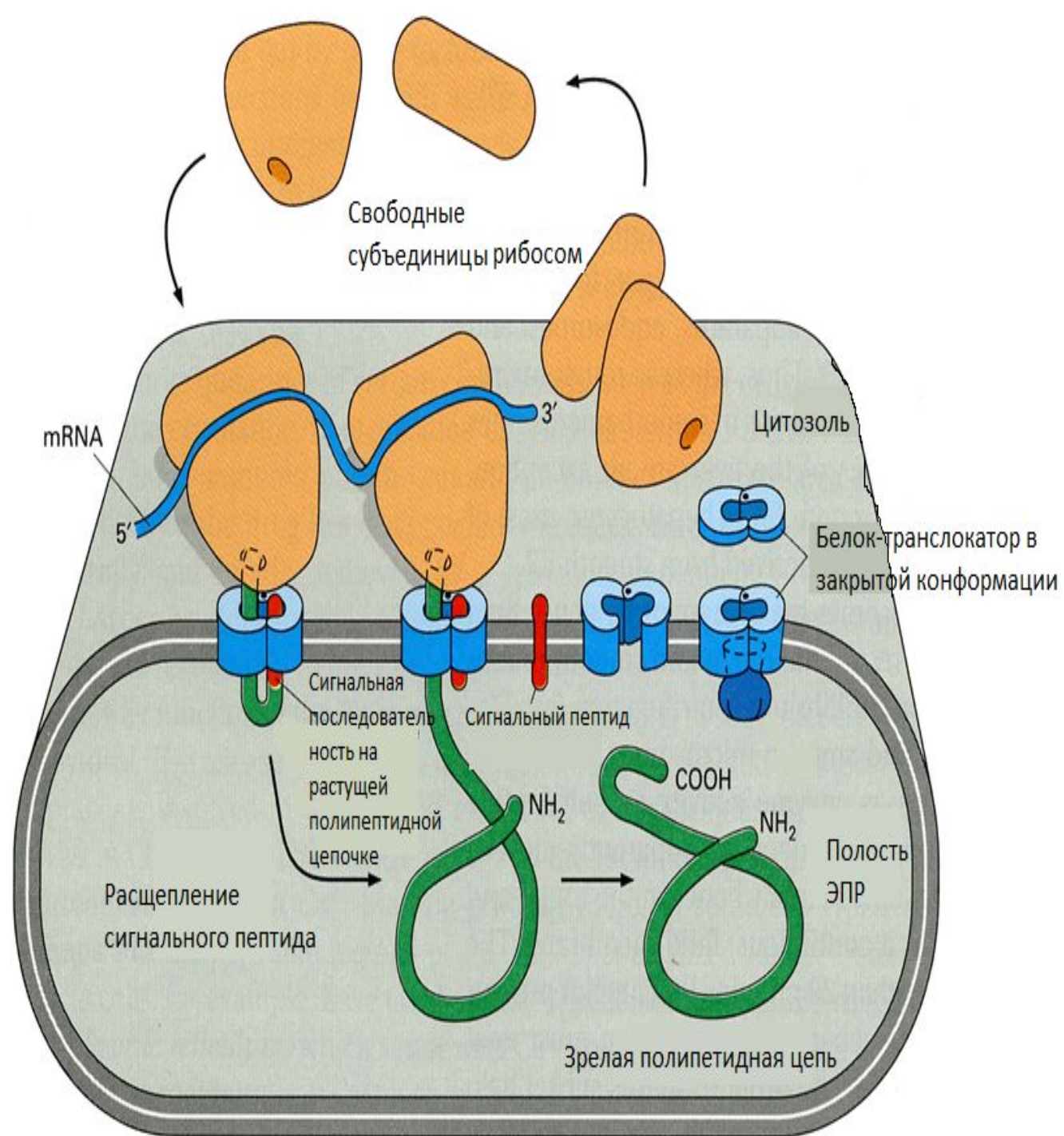
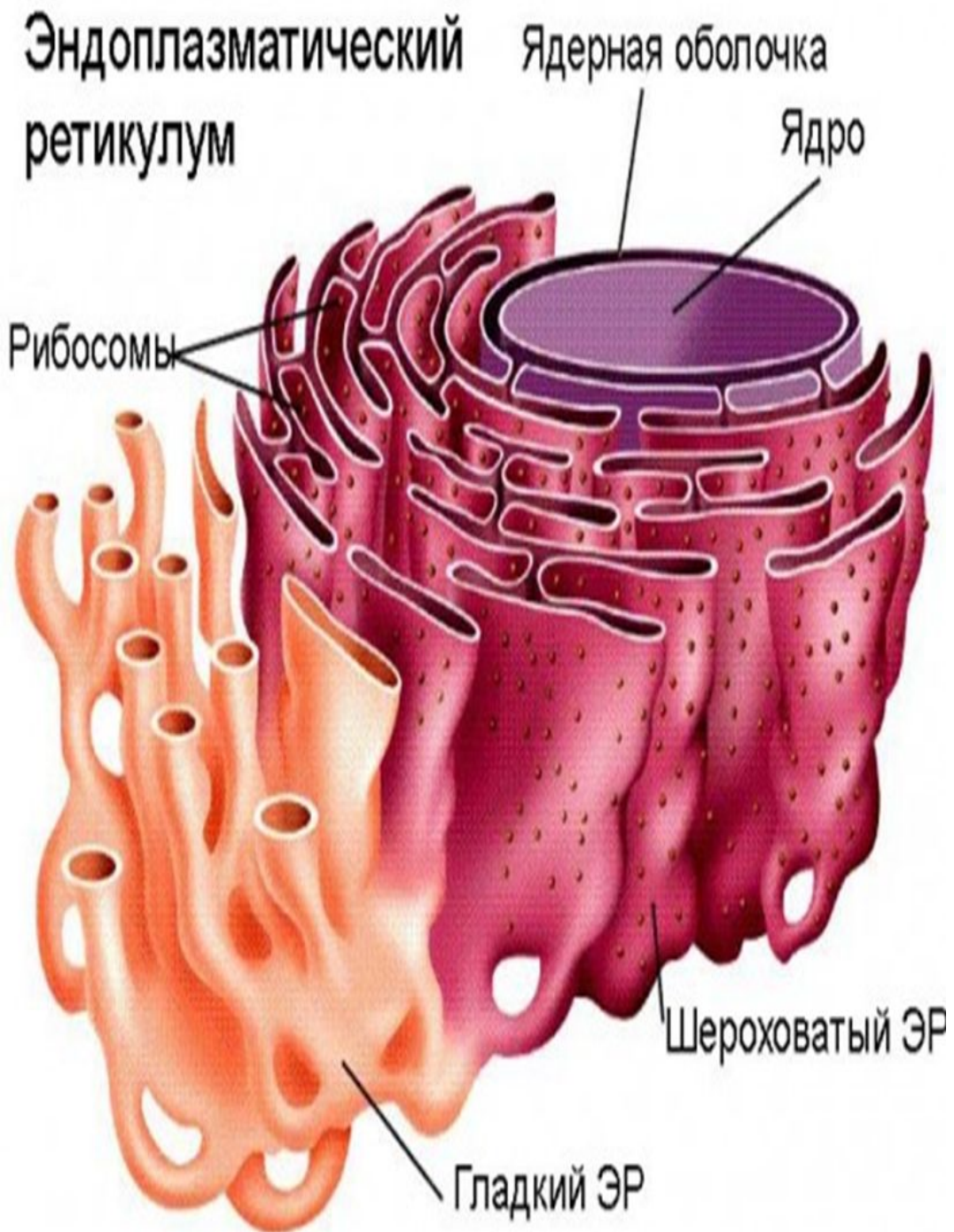
- Органоиды, участвующие в анаболизме:
 1. ШЭПС
 2. ГлЭПС
 3. Аппарат Гольджи
 4. Рибосомы
 5. Хлоропласты (у растений)
- Катаболизм осуществляется в:
 1. Лизосомах (подготовительный этап)
 2. В цитоплазме (гликолиз)
 3. В митохондриях (аэробный этап)

Схема обмена веществ



Эндоплазматический ретикулум

- Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) - это замкнутая система мембранных трубочек внутри клетки, образующих сложную переплетающуюся сеть. Замкнутая мембрана занимает порядка 10% объема клетки.
- Выделяют 2 типа ЭПР-шероховатый и гладкий.
 - Шероховатый ЭПР представляет собой систему плоских цистерн. На их мембране со стороны цитозоля расположены рибосомы, объединенные в полисомы. Гранулярный ЭПР переходит в ядерную оболочку.
 - Гладкий ЭПР состоит из мембранных трубочек, канальцев и вакуолей.
 - Две формы ЭПР постоянно переходят одна в другую, образуя область со сниженным количеством рибосом-переходный участок. Именно здесь отделяются транспортные пузырьки.



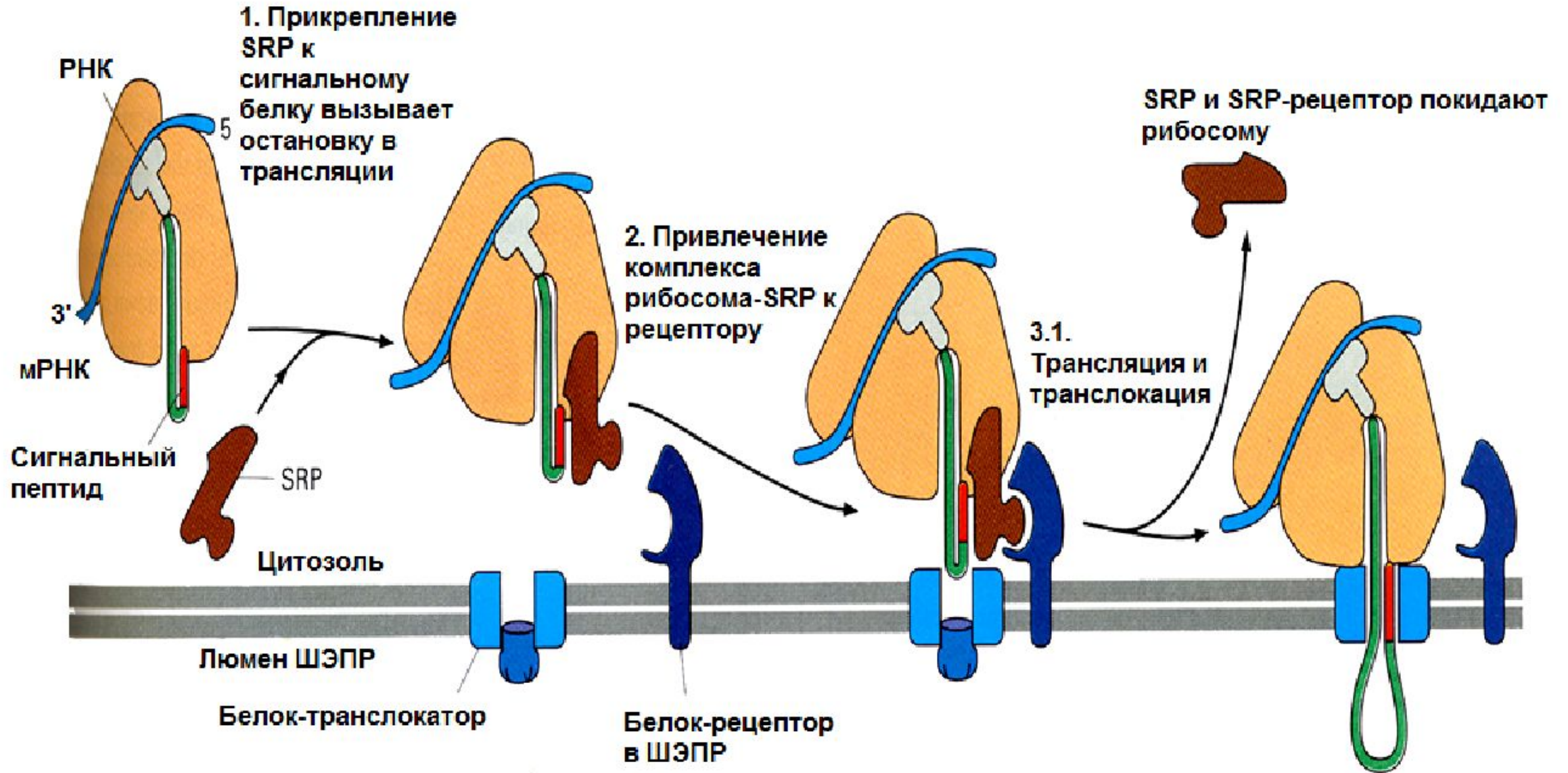
Шероховатый ЭПС

- На рибосомах ШЭПС синтезируются следующие группы белков:
 1. Белки предназначенные для секреции-выведение через аппарат Гольджи;
 2. Белки внутренней фазы ЭПР, аппарата Гольджи и лизосом;
 3. Мембранные белки для ЭПР, аппарата Гольджи, лизосом, ядерной оболочки и плазмолеммы.
- Растворимые белки первых двух групп целиком поступают в цистерны ЭПР, которые обеспечивают их обособление от цитозоля.
- Мембранные белки после синтеза остаются в мембране ЭПР.

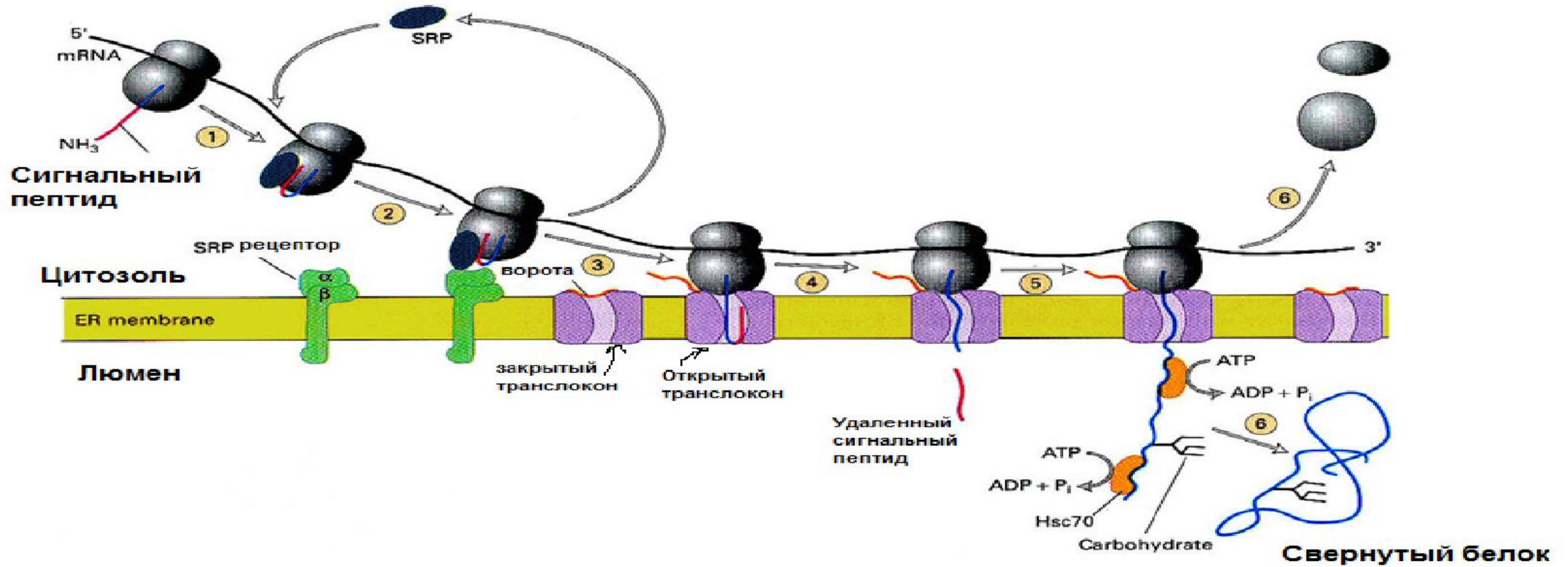
Сборка белка. Этап прикрепления к ШЭПР

- Сборка любого белка начинается на рибосомах в цитозоле. В ЭПР поступают только те белки, у которых первым синтезируется специфический гидрофобный сигнальный пептид. С этим сигнальным пептидом в последствии связывается особая, сигнал-распознающая частица (SRP). При этом происходит временная блокировка синтеза.
- После этого, SRP-частица приводит рибосому к ЭПР и прикрепляется своей большой субъединицей к белку-рецептору, который участвует в образовании канала. Затем, частица покидает рибосому и синтез продолжается.

Связывание SRP с SRP-рецептором.



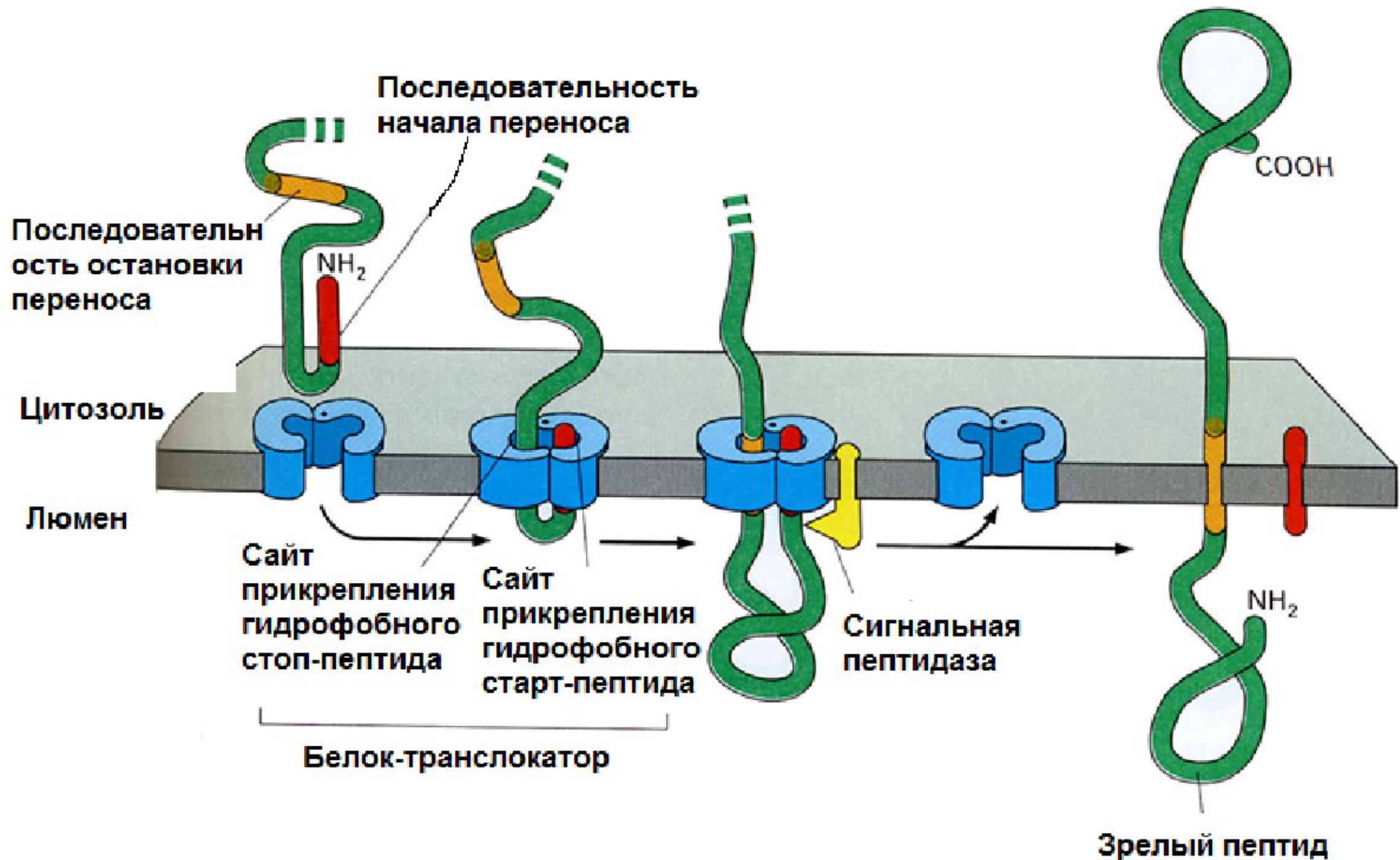
Синтез растворимых белков в ЭПР

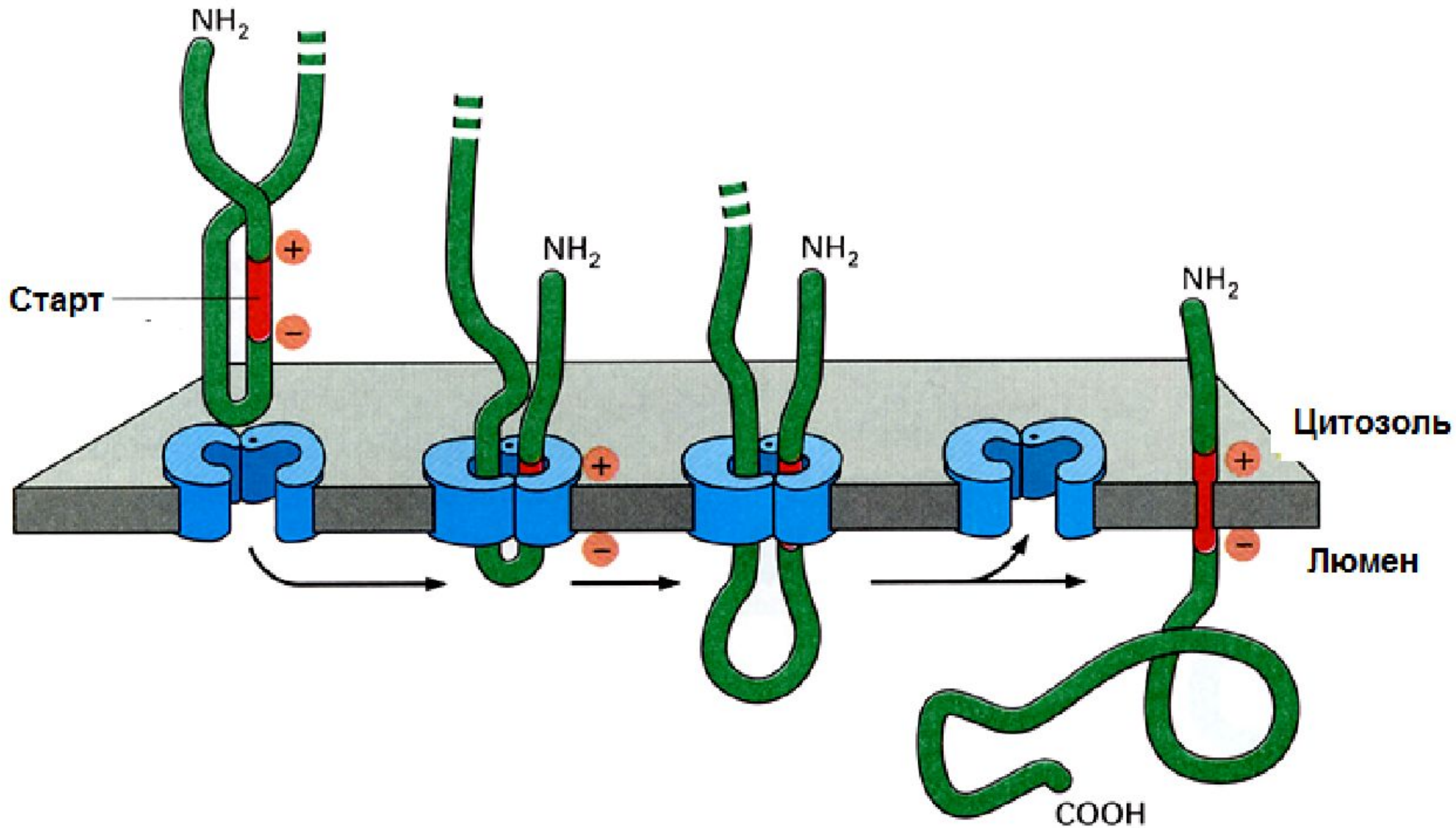


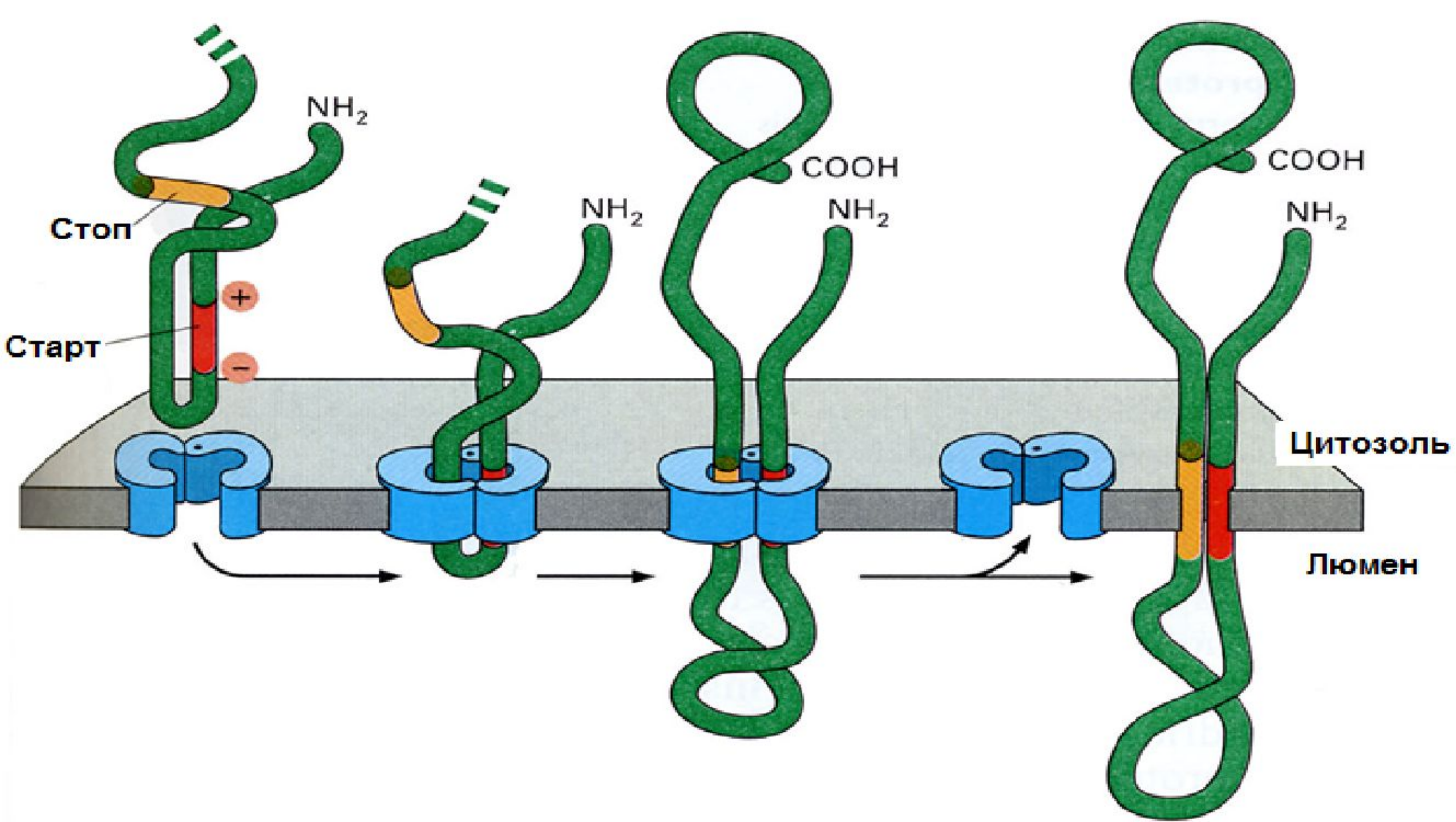
- Полипептидная цепь (ППЦ) растет в полость канала. Гидрофобный сигнальный пептид (SS – signal sequence) служит сигналом начала переноса и остается погруженным в мембрану все то время, пока остальная часть молекулы белка протискивается через нее в виде большой петли. Когда через мембрану проходит С-конец ППЦ, белок остается связанным с мембраной только при помощи SS. Если SS подвергается действию сигнальной пептидазы, которая связана с мембраной ЭПР, то белок высвобождается в полость ЭПР.

Синтез мембранных белков

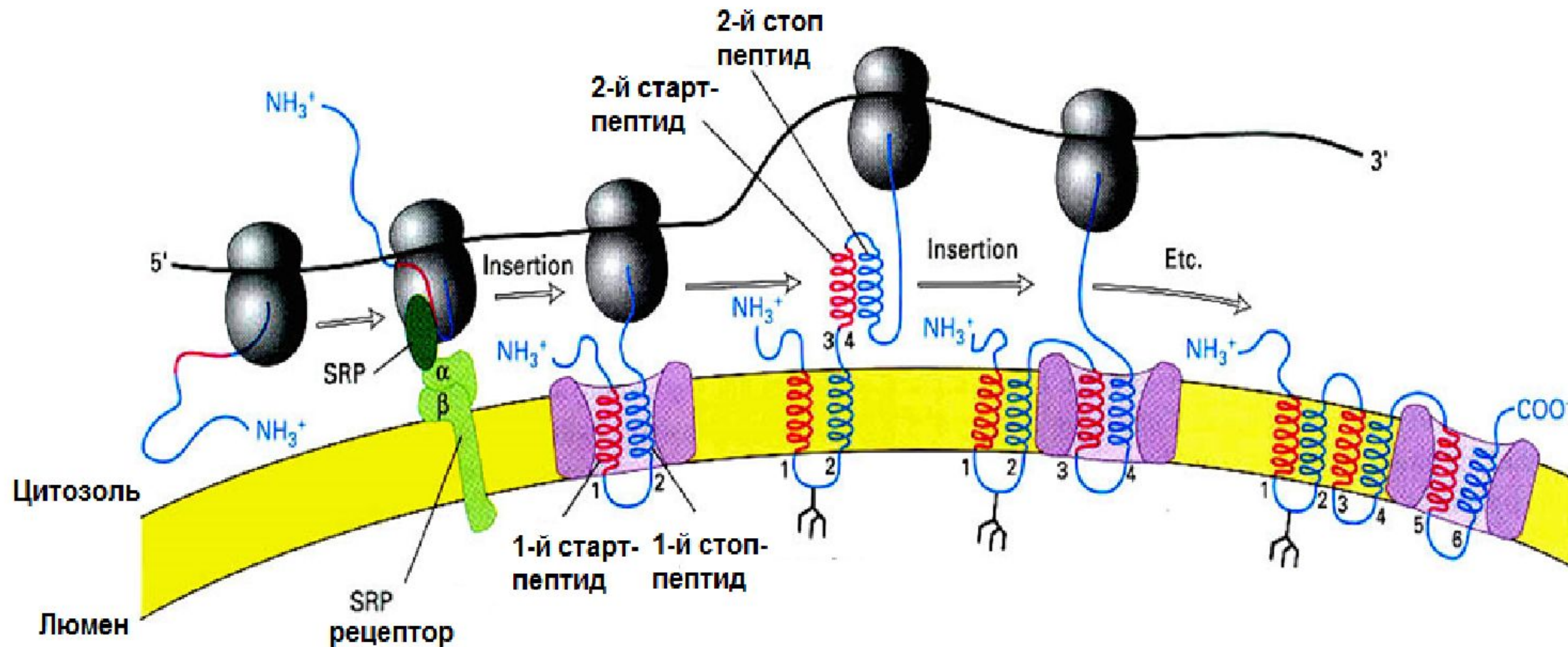
- В синтезируемой ППЦ существует так называемая стоп-последовательность (STS – stop transport signal). Белок в области STS остается связанным в мембране, в результате С-конец обращен в цитоплазму, а N-конец и основная часть ППЦ – в люмен ЭПР. В результате, по окончании трансляции, образуется интегральный белок типа I.
- Сигнальный пептид (SS) не обязательно должен отделиться от ППЦ. Само по себе присутствие сигнальной последовательности еще не достаточно для работы сигнальной пептидазы. SS не содержит участка для связывания с сигнальной пептидазой. В результате такая SS закрепляется в мембране; при этом N-конец обращен в цитоплазму, а С-конец и основная часть ППЦ – в люмен ЭПР.
- ППЦ имеет USP. По ходу роста ППЦ появляется STS. Белок выходит из канала, рибосома вынуждена сойти. В результате N- и С-концы направлены в цитоплазму, а основная часть цепи расположена в люмене ЭПР.







Образование политопных (то есть закрепленных в мембране несколько раз) белков. Процесс формирования ППЦ начинается как показано на предыдущем слайде. Отличие состоит в том, что политопные белки имеют несколько STS. Сигнальная последовательность также не отщепляется

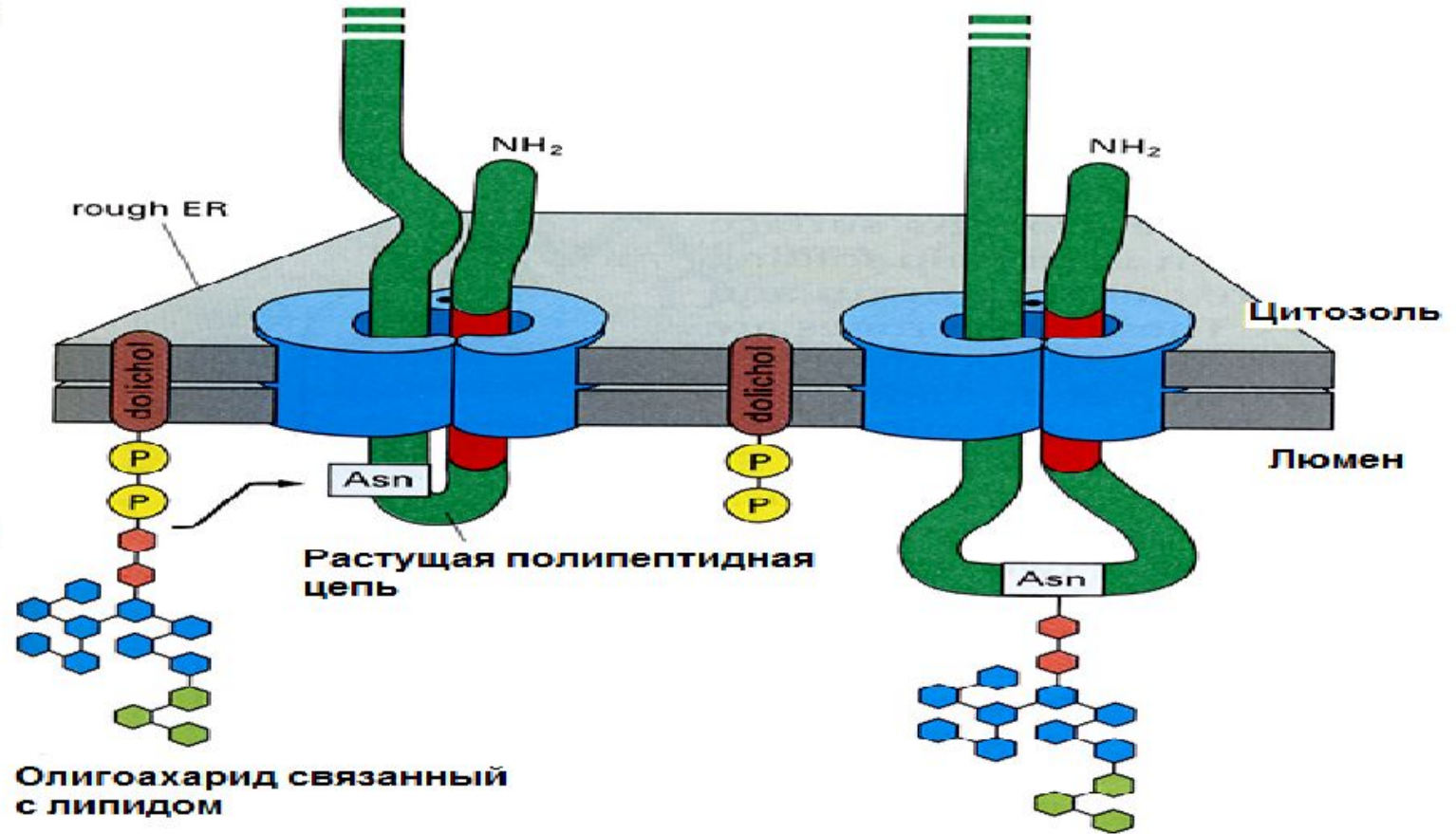
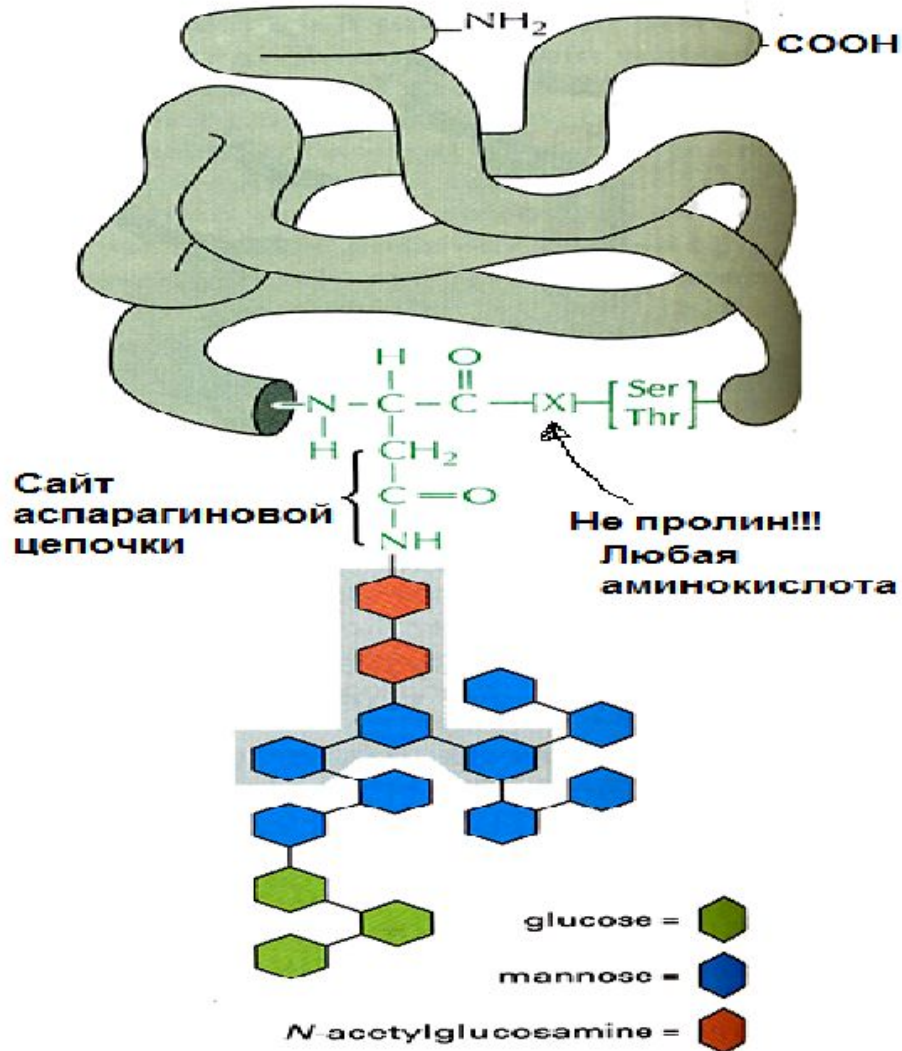


Другие функции ШЭПР

1. Большинство белков синтезированных в ШЭПР-гликопротеиды. По мере роста белковой цепи она соединяется с олигосахаридами (реакция гликозилирования). Затем происходит изменение присоединенных олигосахаридов- отщепление 3-х остатков глюкозы и 1-ого остатка монозы.
2. Правильное сворачивание белка, образование дисульфидных связей.
3. Сборка липопротеиновых мембран. Синтез фосфолипидов.

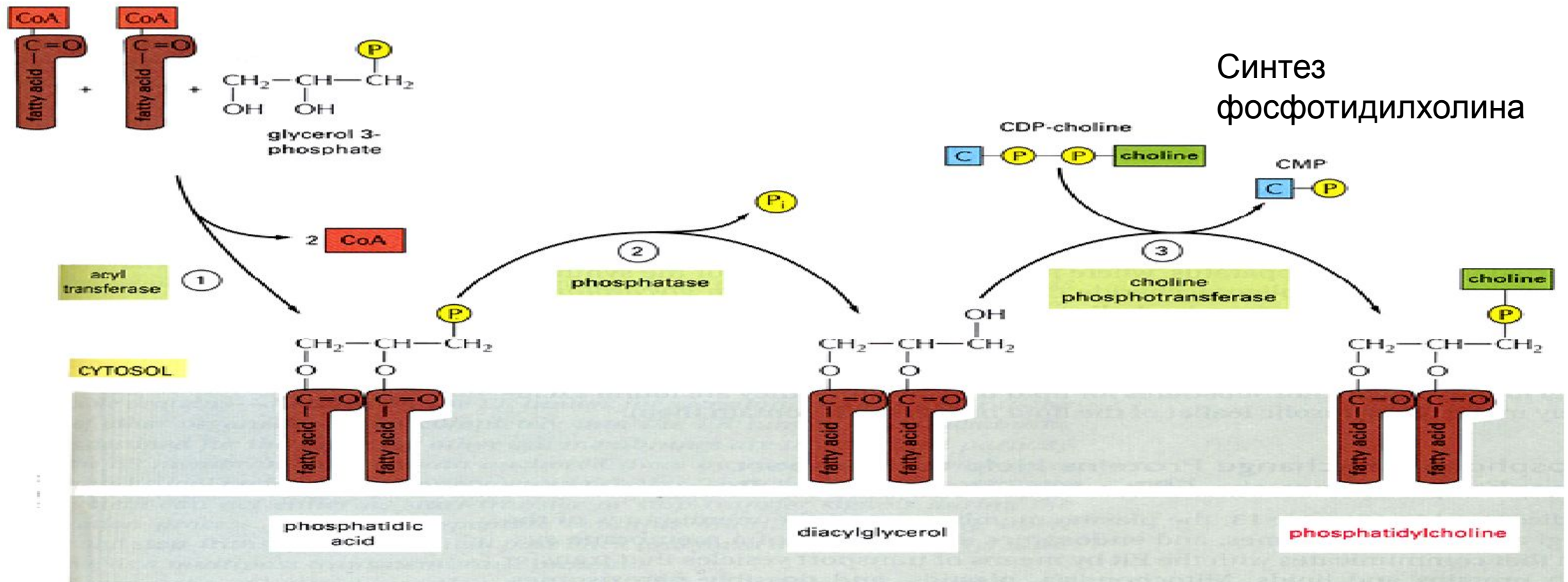
Гликозилирование

Почти тотчас после того, как ППЦ попадает в просвет ЭПР, она гликозилируется по доступным остаткам аспарагина. Олигосахарид переносится к аспарагину как целая единица. Эту реакцию катализирует



Синтез липидов

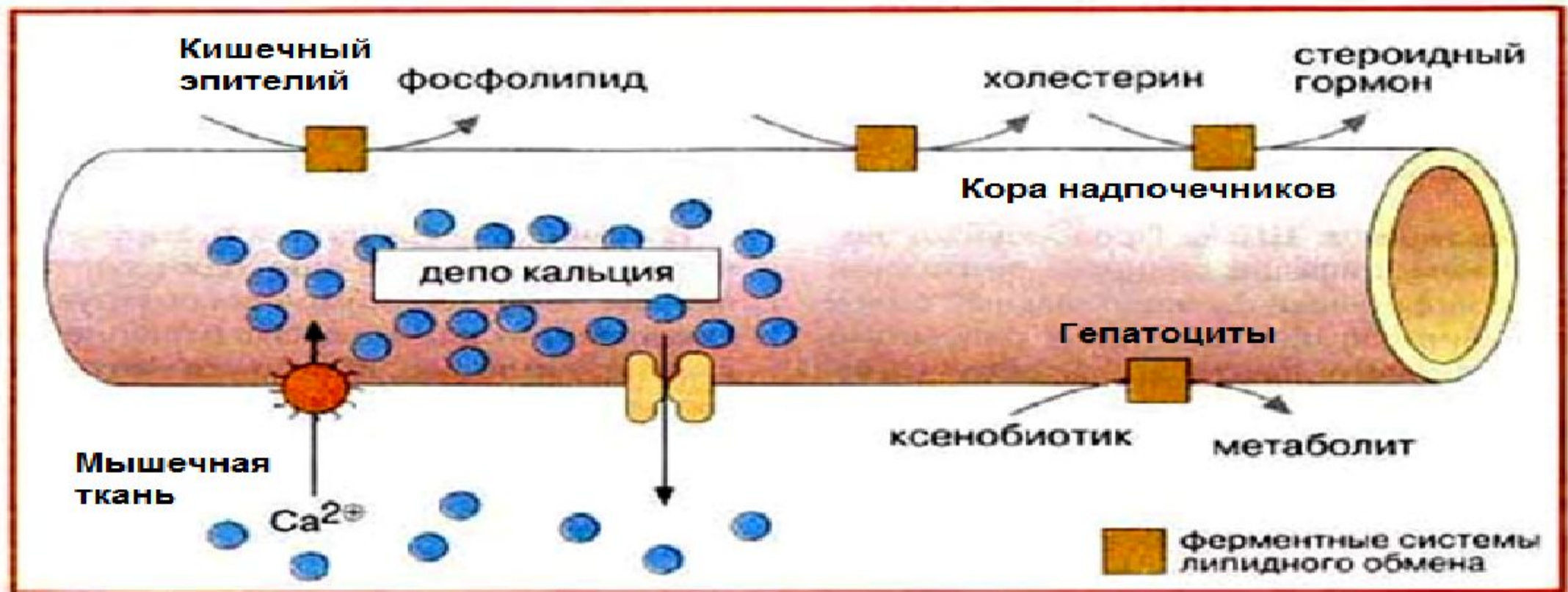
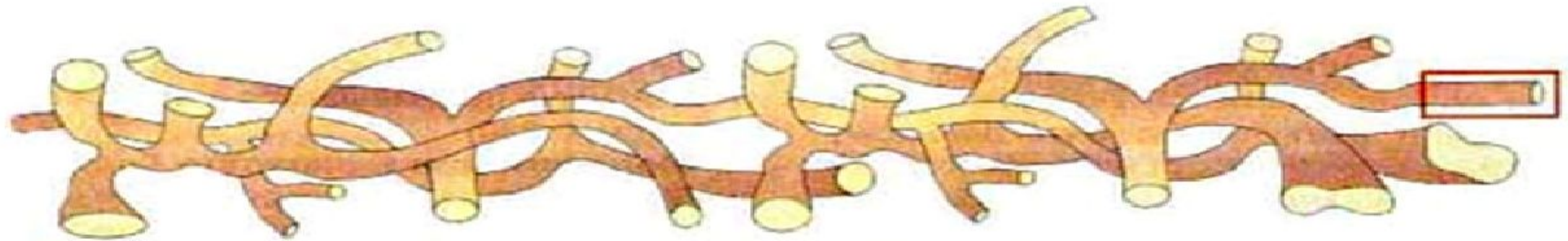
- Синтез фосфолипидов протекает на цитоплазматической стороне мембраны ЭПР. Каждый фермент этого синтеза является интегральным белком ЭПР, активный центр которого обращен к цитозолю. В цитозоле есть все соединения, необходимые для сборки фосфолипидов.



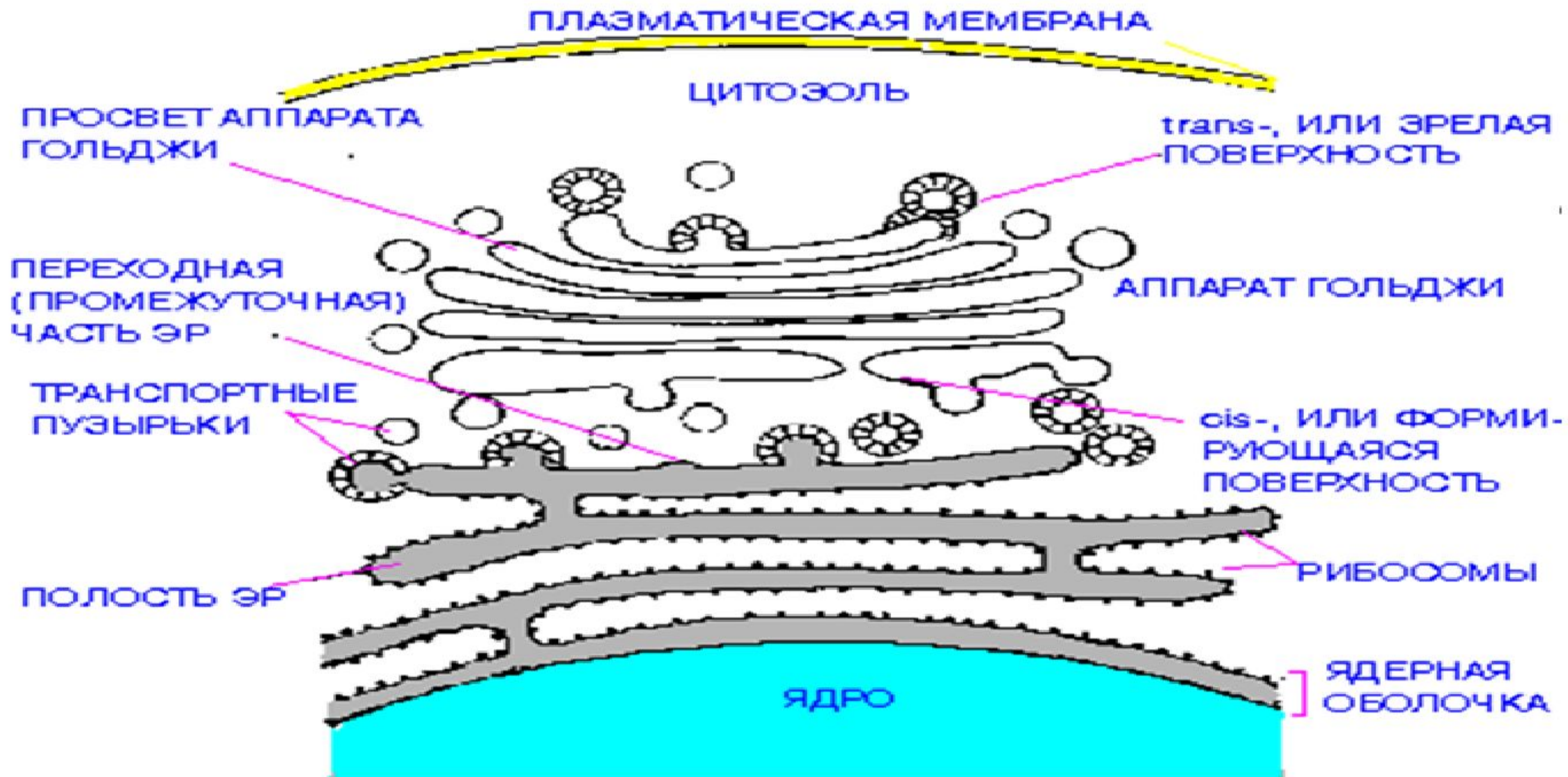
Гладкий ЭПР

- Очень лабилен и способен к перестройкам в зависимости от внешних условий. Например, при детоксикации ксенобиотиков происходит разрастание ГлЭПР. После того как все молекулы ксенобиотика дезактивированы, избыток ГлЭПР ликвидируется аутофагическим путем.
- Функциями ГлЭПР являются синтез липидов, синтез гликогена, а так же специальные функции варьирующиеся в зависимости от разновидности клетки.

Функции ГлЭПР



Связь ЭПР с другими компартментами



Аппарат Гольджи

- Аппарат Гольджи- интегрирующая часть метаболической системы эукариотической клетки. В нем происходит обособление секретирuемых продуктов, идут процессы синтеза и модификации веществ с последующей их сортировкой. Он (АГ) осуществляет процессы секреции и снабжает гидролазами лизосомы.

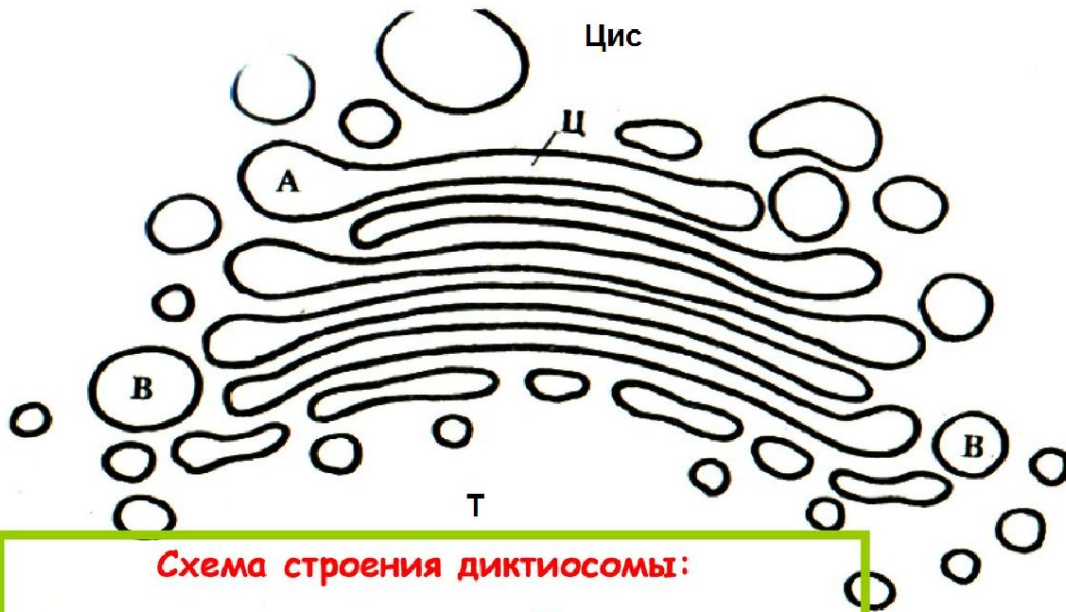
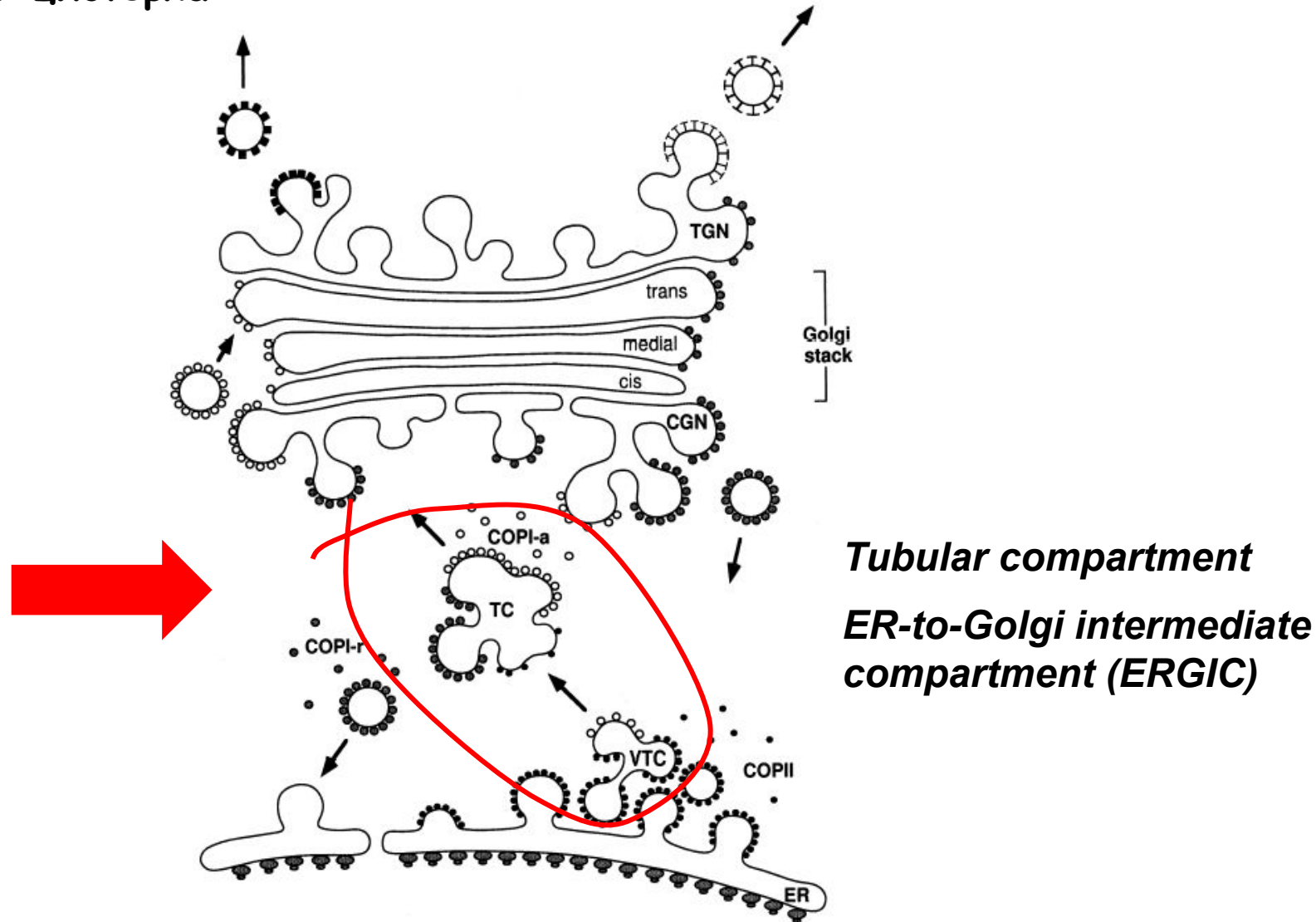


Схема строения диктиосомы:

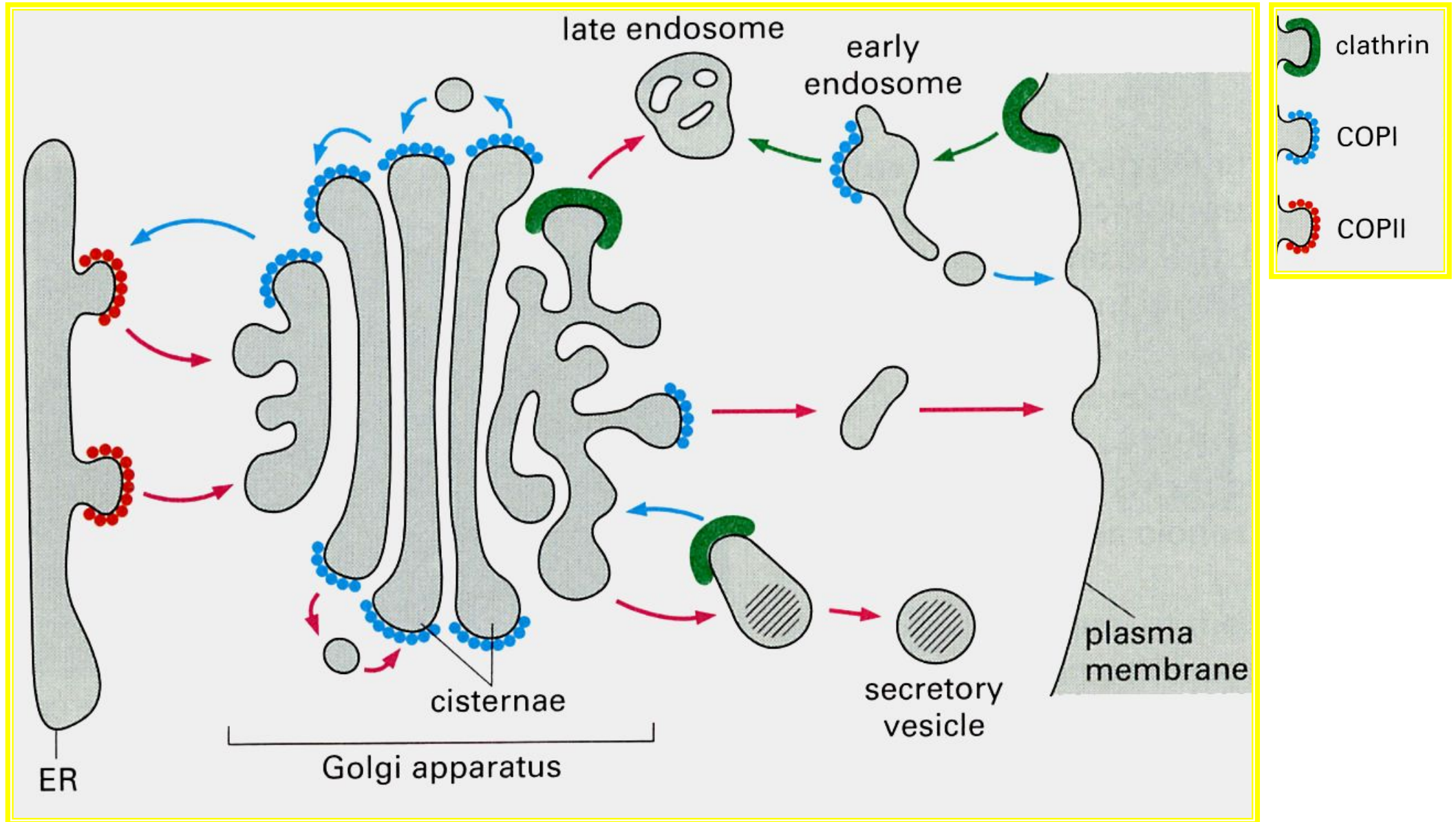
Т-Транс-полюс , Цис-цис-полюс
, В - вакуоли, Ц - плоские мембранные цистерны, А - ампулярные расширения цистерн

Основу АГ составляет диктиосома, которая включает стопку уплощенных цистерн, транспортные мембранные пузырьки, вакуоли и трубчатые структуры. АГ обычно поляризован, что проявляется наличием цис- полюса (формирующаяся сторона) , промежуточной части и транс-полюса (зрелая сторона). Цистерны на цис-полюсе образуют цис-компаратмент. Они, как правило, уплощенные и выпуклой поверхностью примыкают к ЭПР. На транс-полюсе цистерны образуют транс-компаратмент. Эти цистерны расширены и заполнены секретом. К последней плоской цистерне транс-полюса примыкает транс-сеть аппарата Гольджи из трубчатых элементов и массы вакуолей.

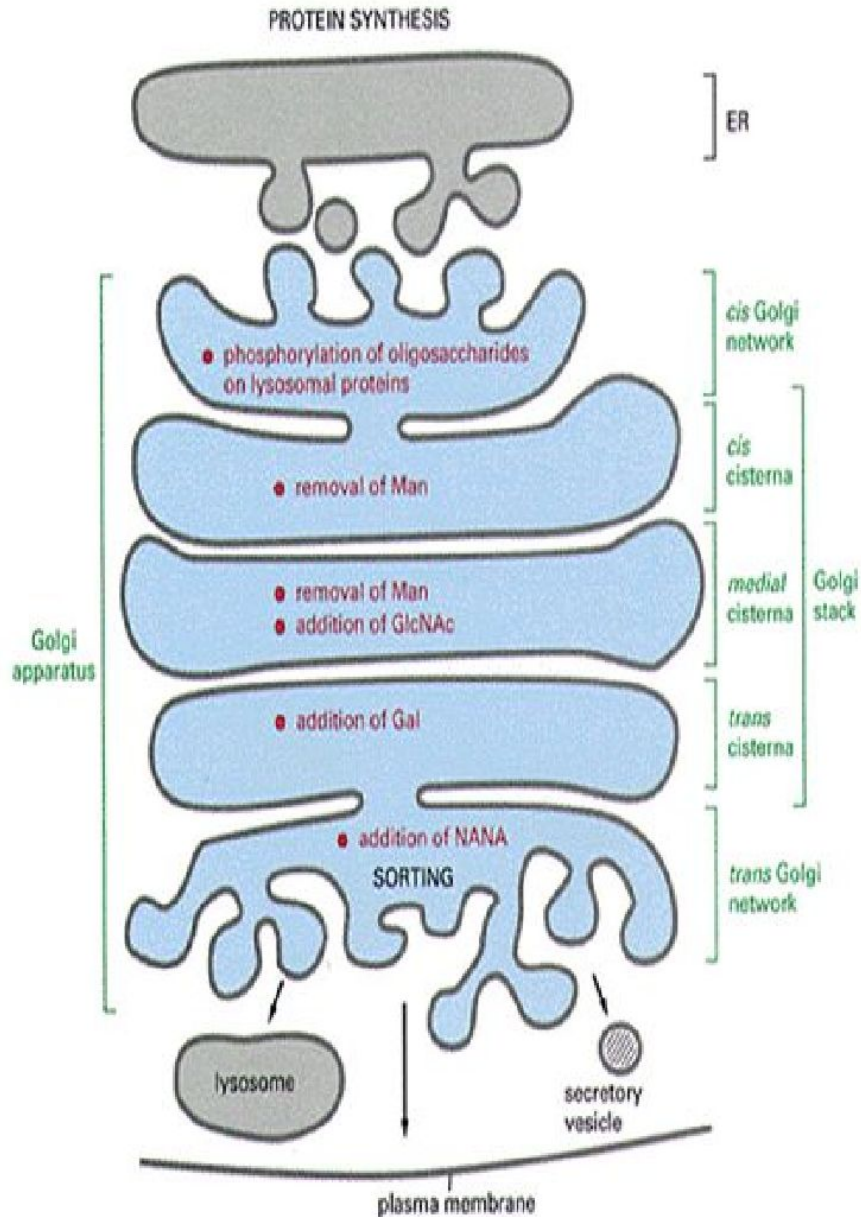
Везикулы из ЭТР не сразу направляются к транс-цистерне, а сливаясь друг с другом, образуют кластеры тубул и везикул, называемых промежуточным компартментом (ERGIC). На его основе возникает новая цис-цистерна



МОДЕЛЬ ТРАНСПОРТА БЕЛКОВ.



Синтез и модификация веществ

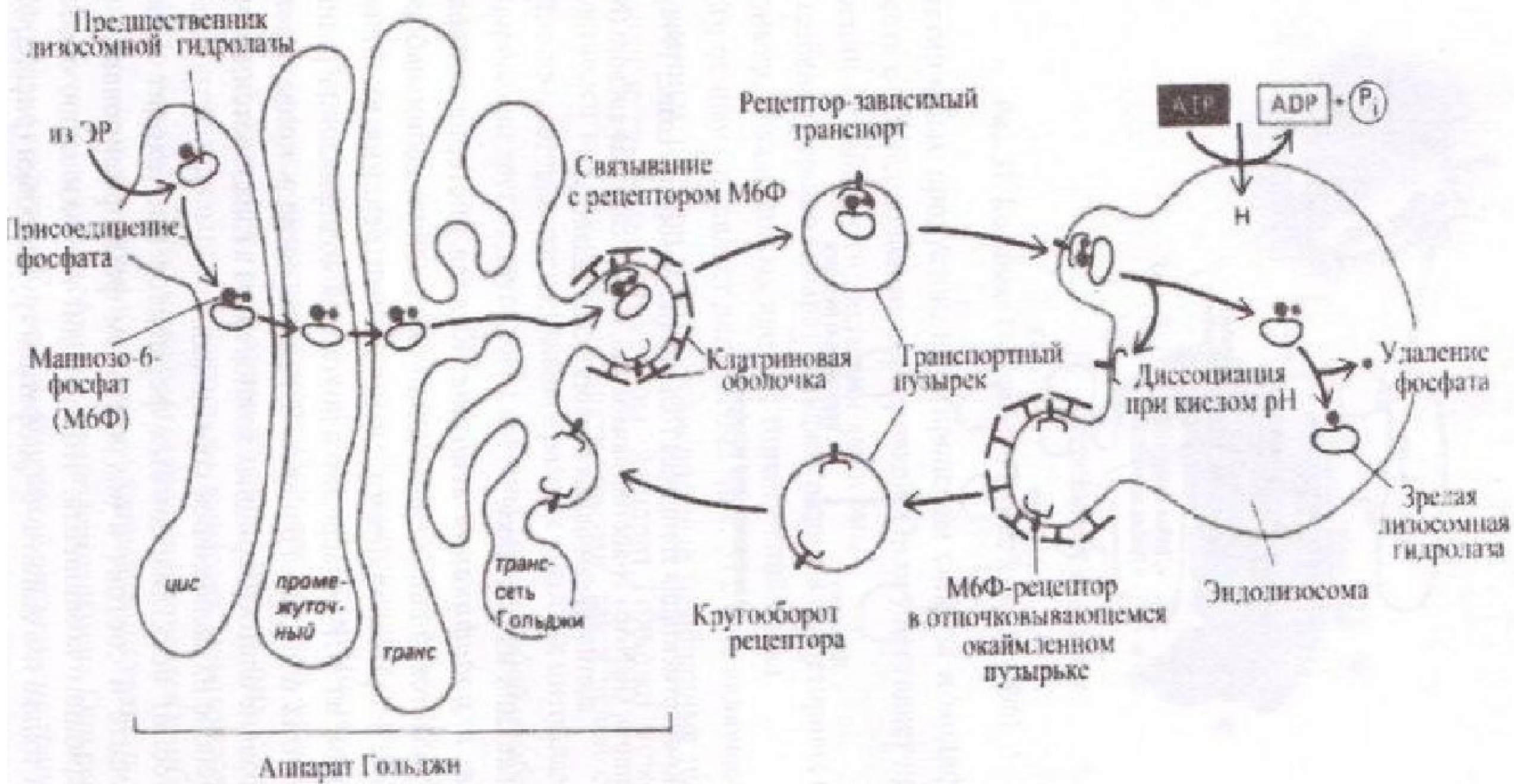


- Каждая цистерна аппарата Гольджи имеет свой набор ферментов.

1. Доработка гликопротеинов;
 - a. Создание лизосомальных ферментов-фосфолирование олигосахаридного компонента (результат-маноза-6-фосфат, является меткой гидролаз);
 - b. Белок-секрет. Удаление нескольких моносахоридных остатков и наращивание олигосахаридных цепей.
2. Синтез полисахаридов (пектин) и протеогликанов (мукопротеины);
3. Протеолиз-активация белков/синтез коротких полипептидов;
4. Синтез сфингомиелина и мембранных гликопротеинов.

Сортировка

- Сортировка белков происходит в транс-сети аппарата Гольджи. Результатом является разделение белков и направление в места назначения. Отбор гидролаз и последующая доставка в лизосомы обеспечены их соединением с рецептором в мембране транс-сети АГ. Рецепторы «узнают» и связывают маннозо-6-фосфатные метки лизосомных ферментов. В результате гидролазы отделяются от остальных белков и собираются в окаймленные транспортные пузырьки, которые отделяются от АГ, теряют свою кайму после чего сливаются с эндолизосомами или с лизосомами. Маннозо-6-фосфатные рецепторы возвращаются обратно в АГ в составе мембранных пузырьков, отрывающихся от эндолизосом.
- Предназначенные для секреции или для плазмалеммы белки в результате сортировки попадают в другие транспортные потоки.



Секреция

- Вещества выводятся из клетки одним из двух путей: в результате конструктивной (нерегулируемой) секреции (постоянная, например, путь мембранных белков через АГ) либо благодаря регулируемой (Факультативная, не постоянная, пример- путь внутриклеточных и секреторных белков) секреции.

1. При конструктивной секреции, которая характерна для всех клеток, от АГ непрерывным потоком отделяются транспортные пузырьки, доставляющие секрет к плазмалемме. Таким образом доставляются к поверхности элементы гликокаликса, а также гликопротеины, протеогликаны, входящие в состав основного вещества соединительной ткани.
2. Механизм регулируемой секреции характерен для секреторных клеток. В этом случае белки избирательно упаковываются и отделяются от АГ в составе секреторных пузырьков. Секрет высвобождается из клетки только после сигнала (например, воздействия гормона или нейромедиатора).



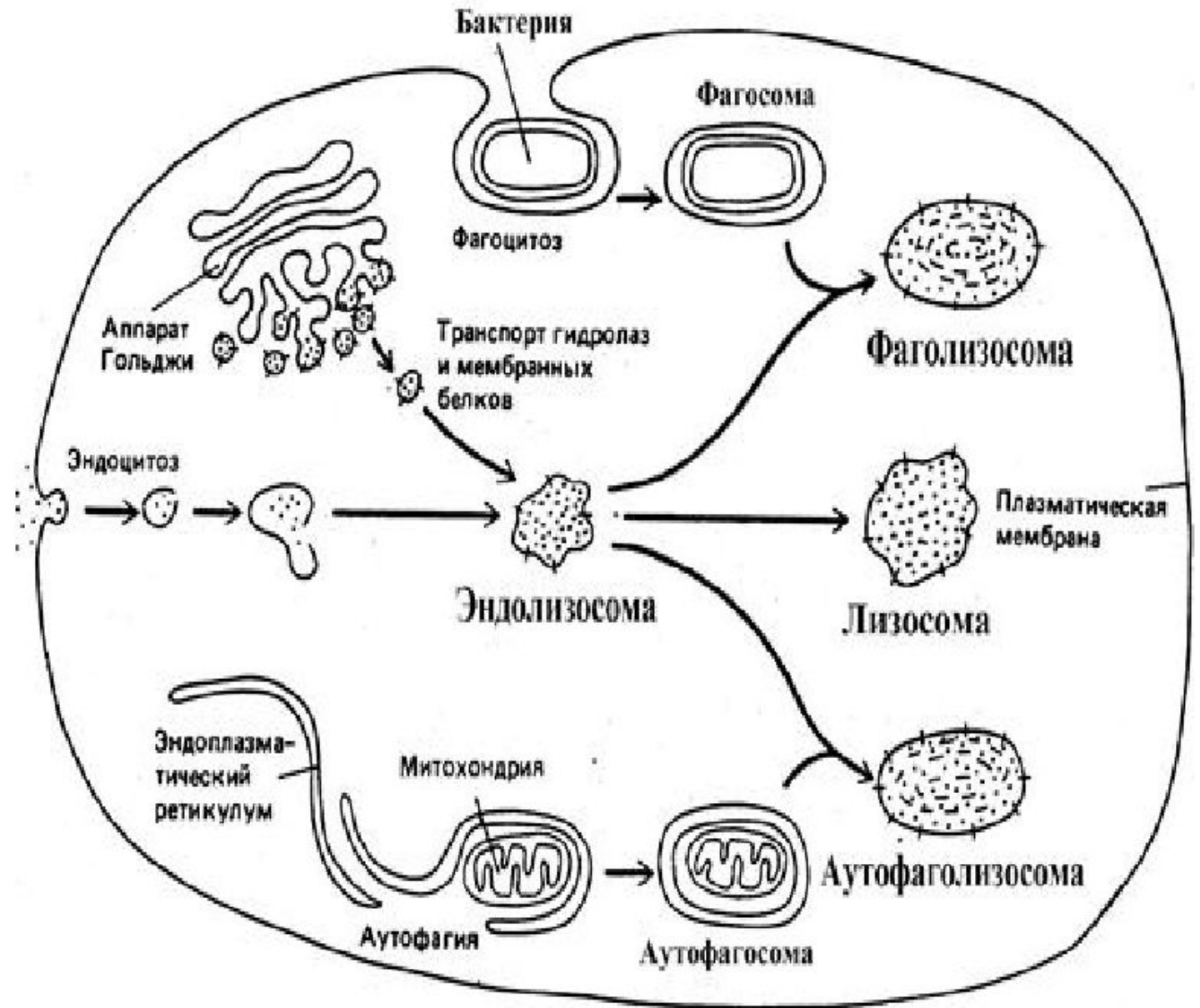
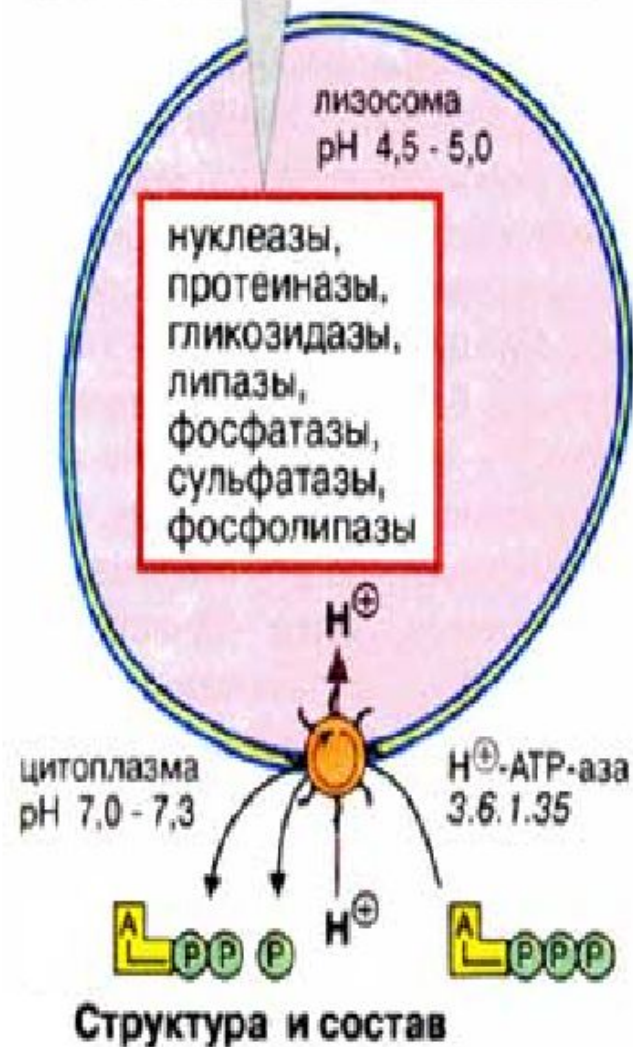
Функции обобщенно

1. Транспорт - через АГ проходят две группы белков: белки, предназначенные на экспорт из клетки, и лизосомные ферменты.
2. Сортировка для транспорта: сортировка для дальнейшего транспорта к органеллам, ПМ, эндосомам, секреторным пузырькам происходит в транс-комплексе Гольджи;
3. Секреция - секреция продуктов, синтезируемых в клетке. Гликозилирование белков и липидов: гликозидазы удаляют остатки сахаров - дегликозилирование, гликозилтрансферазы прикрепляют сахара обратно на главную углеводную цепь – гликозилирование;
4. Синтез полисахаридов - многие полисахариды образуются в АГ в том числе пектин и гемицеллюлоза, образующие клеточные стенки растений и большинство гликозаминогликанов образующих межклеточный матрикс у животных
5. Сульфатирование - большинство сахаров, добавляемых к белковой сердцевине протеогликана, сульфатируются;
6. Добавление маннозо-6-фосфата: М-6-Р добавляется как направляющий сигнал к ферментам, предназначенным для лизосом;

Лизосомы

- Лизосомы представляют собой гетерогенную (разнородную) группу цитоплазматических вакуолеподобных структур размером 1-3 мкм, отличительной особенностью которых является наличие в них кислой среды и большого количества различных гидролаз - ферментов способных расщеплять основные типы макромолекул. Присутствие в лизосомах гидролаз определяет их основную функцию в клетке - расщепление макромолекул и более крупных образований как поступающих в клетку из внеклеточного пространства так и имеющих внутриклеточное происхождение. Известны три возможных пути образования лизосом в клетке. В каждом случае образуются морфологически различные образования, расщепляющие материал из различных источников.

около 40 различных гидролаз с оптимумом рН в кислой области



- В первом случае расщепляемый материал - белки, полинуклеотиды или полисахариды - попадает в клетку путем эндоцитоза. В ходе этого процесса молекулы, имеющие достаточно крупные размеры и неспособные проникать через мембраны, постепенно окружаются небольшим участком плазмалеммы, который сначала впячивается (инвагинируется), а затем отщепляется вовнутрь клетки, образуя пузырек, содержащий захваченный клеткой материал. Пузырьки образующиеся в результате эндоцитоза получили название эндосомы. По мере движения эндосомы от клеточной мембраны во внутрь клетки она многократно взаимодействует с транспортными пузырьками доставляющими от транс-поверхности аппарата Гольджи гидролитические ферменты и мембранные белки, превращаясь в эндолизосому. Процесс образования и трансформации эндосомы длится около 15 мин и сопровождается закислением внутренней среды, благодаря закачиванию ионов H^+ из цитозоля во внутрь эндосомы АТФ-зависимым протонным насосом, функционирующим подобно АТФ -азе внутренней мембраны митохондрий.

- Второй путь формирования лизосом называется аутофагией. В процессе аутофагии происходит разрушение отработанных частей самой клетки. Известно, например, что в клетках печени среднее время жизни одной митохондрии составляет около 10 дней, после чего она должна быть утилизирована в лизосомах. Так же путем аутофагии из клеток печени удаляется избыток гладкого ЭР, после прекращения поступления и выведения из организма ксенобиотиков - индукторов. Процесс аутофагии, по-видимому, начинается с окружения (1) органеллы мембранами, поставляемыми из ЭР, в результате чего образуется аутофагосома. Затем, полагают, что аутофагосома сливается (2) с эндолизосомой, образуя аутофаголизосому, в которой и происходит процесс деградации фрагмента ЭР или другой органеллы.

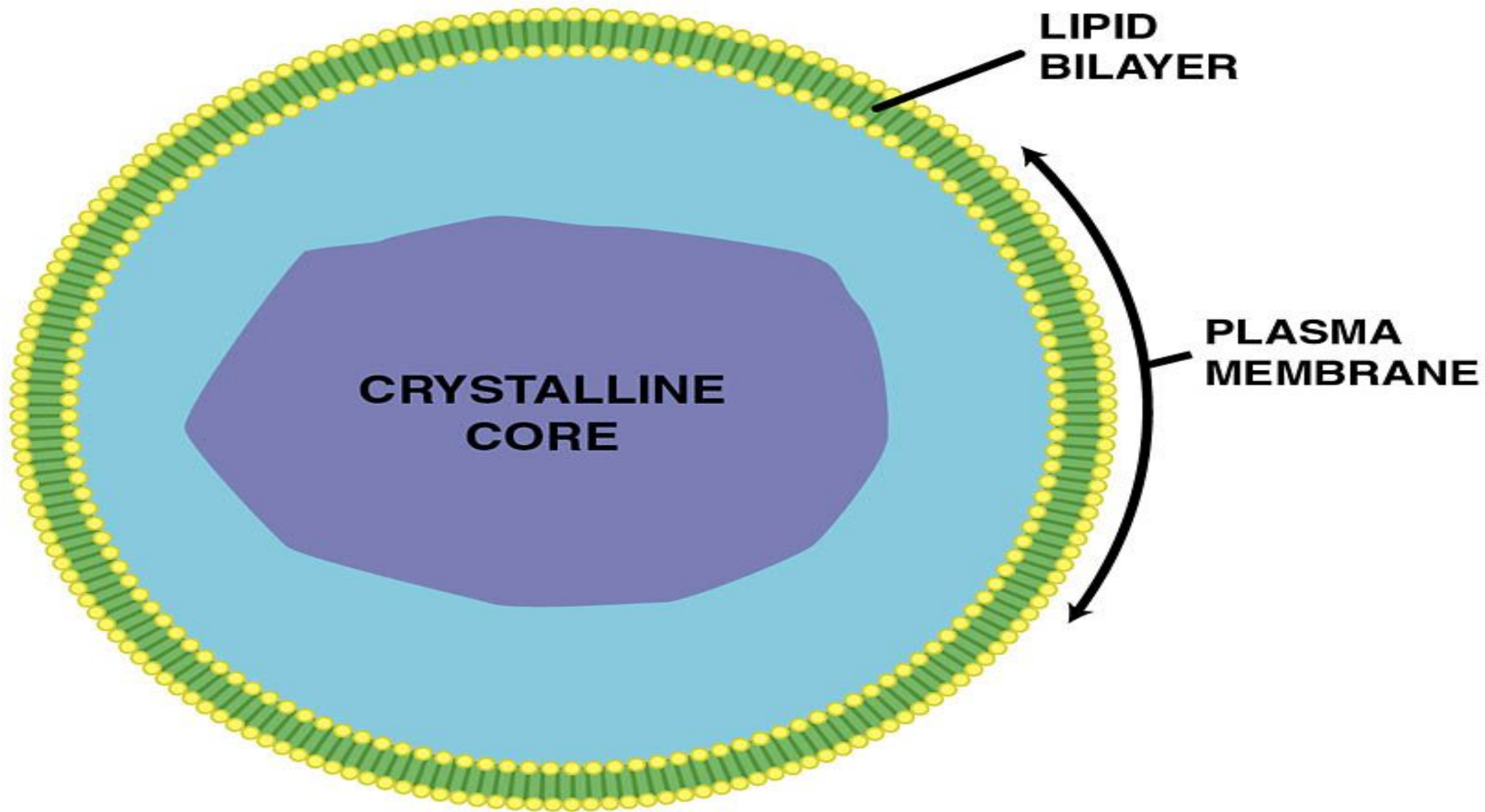


- Третий путь формирования лизосом имеется только у клеток, специализированных для фагоцитоза больших частиц и микроорганизмов. Такие клетки-фагоциты, а к ним относятся клетки крови - нейтрофилы и моноциты, могут поглощать из внеклеточного пространства крупные объекты, образуя фагосомы. Далее фагосома превращается в фаголизосому тем же путем, что и аутофагосома, т.е. сливаясь с эндолизосомой.

- Эндосомы, аутофагосомы и фагосомы часто называют общим термином - прелизосомы, а эндолизосомы, аутофаголизосомы и фаголизосомы термином лизосомы. В зрелых лизосомах происходит деградация поглощенного материала до отдельных молекул, например аминокислот, которые поступают в цитозоль и вовлекаются в последующие биохимические превращения. Фрагменты собственной плазматической мембраны не подвергаются воздействию гидролаз и возвращается обратно в плазмалемму с помощью транспортных пузырьков, еще до окончательного формирования лизосомы. Неперевариваемые продукты остаются и накапливаются в лизосомах, которые теряют гидролитические ферменты и превращаются в остаточные тельца. С возрастом, в клетках человека и животных увеличивается количество остаточных телец, содержащих большое количество липофусцина или пигмента старения. Липофусцин представляет собой биополимеры различной природы, неподдающиеся дальнейшему расщеплению поскольку химические связи между отдельными мономерами образовались не в нормальных биохимических реакциях, а в результате спонтанных окислительных процессов, главным образом свободнорадикальных. Различные заболевания, воздействие радиации и других негативных факторов внешней среды ускоряют процесс накопления пигмента старения.

Пероксисомы

- Мембранные пузырьки с однородным или гранулярным матриксом. В центре-сердцевина (нуклеоид) из кристаллических структур, образованных фибриллами или трубочками. Во фракции пероксисом обнаруживается до 15 ферментов, связанных с метаболизмом перекиси водорода (H_2O_2). Это окислительные ферменты, при работе которых образуется перекись водорода, и каталаза, приводящая к утилизации токсичной для клеток H_2O_2 . Таким образом, пероксисомы защищают клетку от действия перекиси водорода.



- Пероксисомы обнаружены во всех эукариотических клетках. Они являются главным центром утилизации кислорода (наряду с митохондрией). Кислород используется ими для окислительных реакций, не сопровождающихся накоплением энергии в виде АТФ. Образующаяся перекись водорода используется для окисления субстратов, а ее излишки разрушаются с образованием воды. Число пероксисом варьирует в клетках разных типов.
- Особенно важное значение они имеют в растительных клетках. В прорастающих семенах имеется разновидность пероксисом-глиоксисомы. Они обеспечивают превращение жирных кислот запасенных липидов в сахара в ходе реакций глиоксилатного цикла. Другой тип пероксисом в клетках листьев катализирует окисление побочных продуктов фотосинтеза.
- Пероксисомы способны к саморепродукции. Новые образуются в результате роста и деления предшествующих. Белки поступают в пероксисому из цитозоля. Липиды переносятся в их мембраны от места синтеза через цитозоль. Доставка липидов обеспечивается специальными транспортными белками-переносчиками.

Митохондрии

- Митохондрии, как органеллы синтеза АТФ характерны для всех эукариотических клеток как автотрофных (фотосинтезирующие растения), так и гетеротрофных (животные, грибы) организмов. Их основная функция связана с окислением органических соединений и использованием освобождающейся при распаде этих соединений энергии, при синтезе молекул АТФ. Митохондрии - энергетические станции клетки.
- Митохондрии были описаны еще в конце XIXв. Они хорошо различимы в световом микроскопе. Типичные митохондрии представляют собой цилиндр диаметром 0,5 мкм и длиной до 1 мкм. У разных организмов длина митохондрий колеблется в значительных пределах — от 7 до 10 мкм.

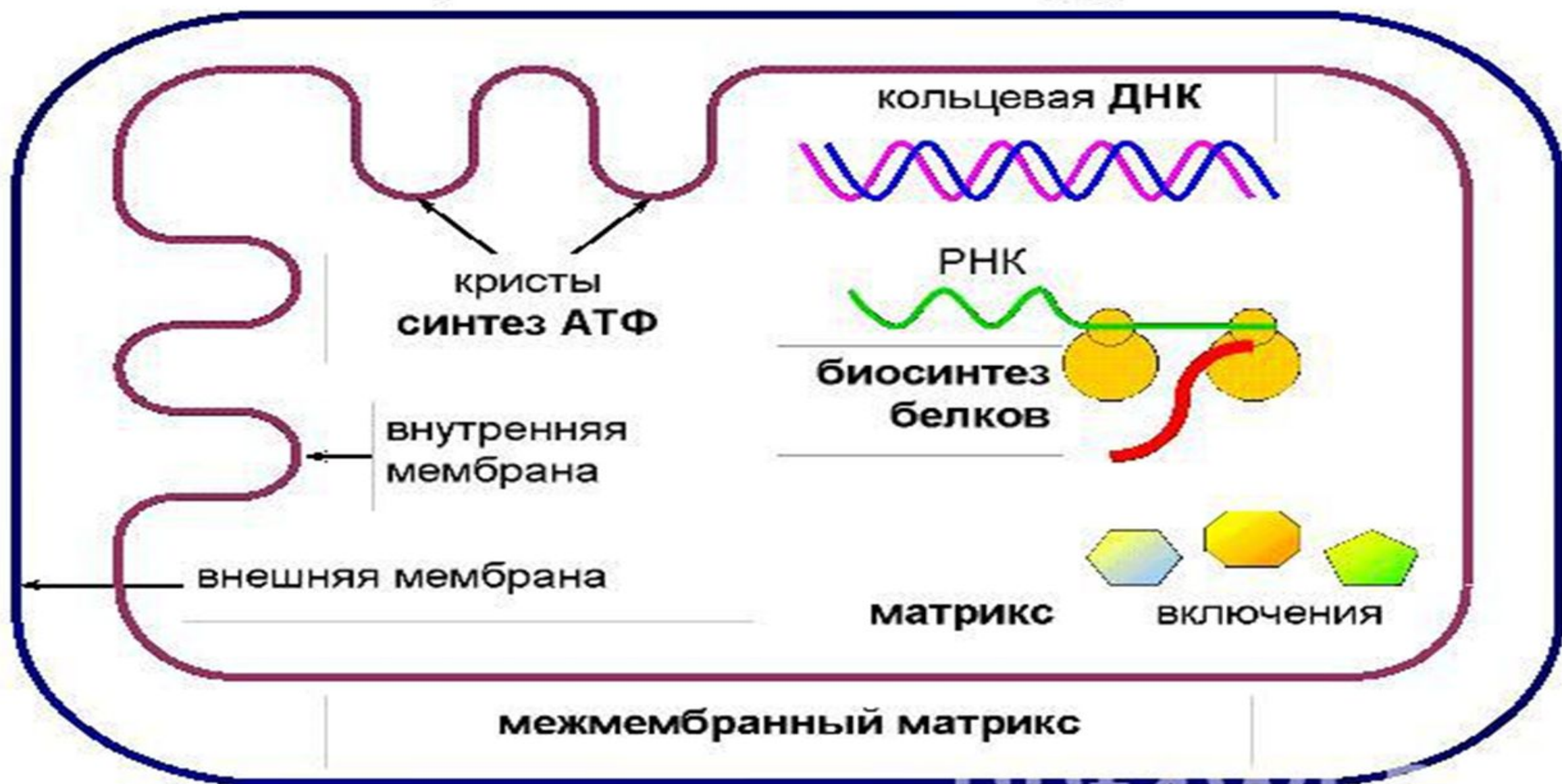
Локализация

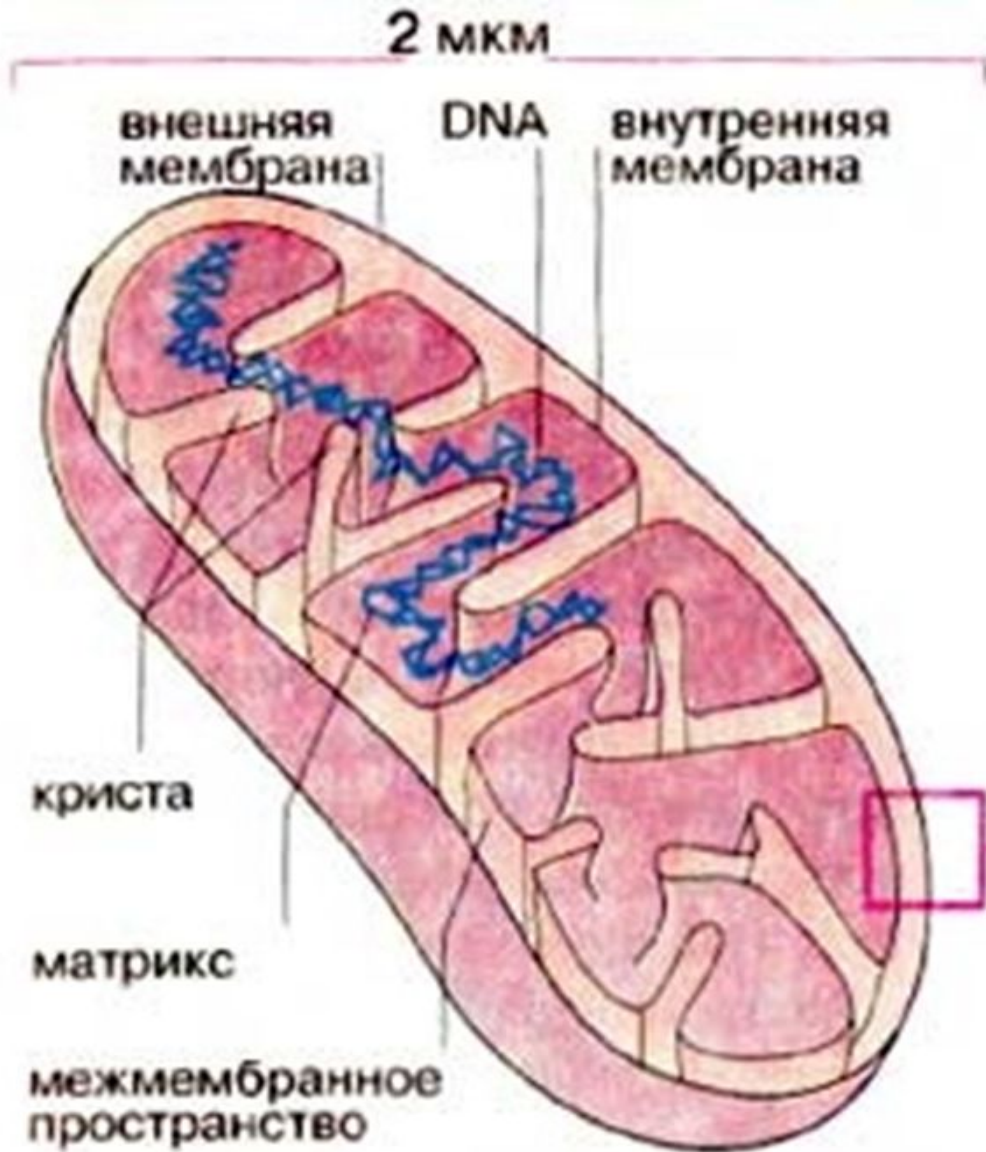
- Митохондрии скапливаются в энергозависимых участках клетки. В скелетных мышцах они располагаются между микрофибриллами, у простейших снабженных ресничками, они лежат в основании ресничек под плазматической мембраной. В нервных клетках они находятся около синапсов, где происходит передача нервных импульсов.

Строение

- Имеющиеся методы позволяют выделить из митохондрий все четыре компонента: наружную мембрану, содержимое межмембранного пространства, внутреннюю мембрану и матрикс.
- Две мембраны- внешняя и внутренняя - отделяют их от цитоплазмы и образуют большие внутренние компарменты, в которых происходят реакции окислительного фосфорилирования. В результате этих процессов энергия реакций окисления преобразуется в энергию, заключенную в молекулах аденозинтрифосфата (АТФ). При этом митохондрии исключительно эффективно используют сахара и жирные кислоты.

Строение митохондрии





А. Структура митохондрий

Наружная мембрана.

- В состав наружной мембраны входит много молекул белка *порина*. Особенность его заключается в том, что в липидном бислое он образует широкие гидрофильные каналы. В силу чего, наружная мембрана напоминает сито, она пронизана многочисленными порами, через которые в межмембранное пространство могут проникать все молекулы массой до 10000Да. Включая небольшие белки.
- В состав этой мембраны входят также ферменты, участвующие в синтезе митохондриальных липидов.
- Состоит из липидов на более чем 80%.

Межмембранное пространство

Состав вещества межмембранного пространства близок к цитозолю.

Одним из белков, содержащихся в межмембранном пространстве, является цитохром с — один из компонентов дыхательной цепи митохондрий.



Внутренняя мембрана

- Внутренняя мембрана ограничивает основное рабочее пространство митохондрии. Она высокоспецифична, содержит большое количество фосфолипида кардиолипина и практически непроницаема для ионов. В состав мембраны входят белки трех главных типов.
- 1-белки, катализирующие окислительные реакции в дыхательной цепи.
- 2-ферментные комплексы АТФ-синтетазы, играющие ключевую роль в образовании АТФ.
- 3- специфические транспортные белки, регулирующие перенос метаболитов в матрикс и вывод из него.

Матрикс

- Матрикс содержит высококонцентрированную смесь сотен различных ферментов, необходимых для окисления пирувата, жирных кислот и ферментов цикла Кребса. 67% всего белка митохондрии приходится на матрикс.
- В матриксе митохондрий содержится собственная ДНК, отличающаяся от ядерной ДНК той же клетки.

Генетический аппарат

- Кольцевая молекула ДНК. Редко-линейная;
- Может синтезировать белок как с митохондриального иРНК, так и ядерного;
- Белок-синтезирующая система находится в зависимости от ядерного аппарата клетки. Факторы трансляции и репликации, РНК-полимераза и т.д. закодированы в ядре;
- ДНК митохондрий подвержены частым повреждениям из-за постоянных процессов окисления побочным продуктом которых являются активные формы кислорода.

Функции

1. Синтез АТФ;
2. Специфический синтез-стероидные гормоны, некоторые липиды;
3. Накопление ионов, особенно Ca^{2+} ;
4. Накопление продуктов экскреции в отработавших митохондриях;
5. Накопление токсичных веществ;
6. Накопление питательных веществ (ооциты).

Этапы энергетического обмена:

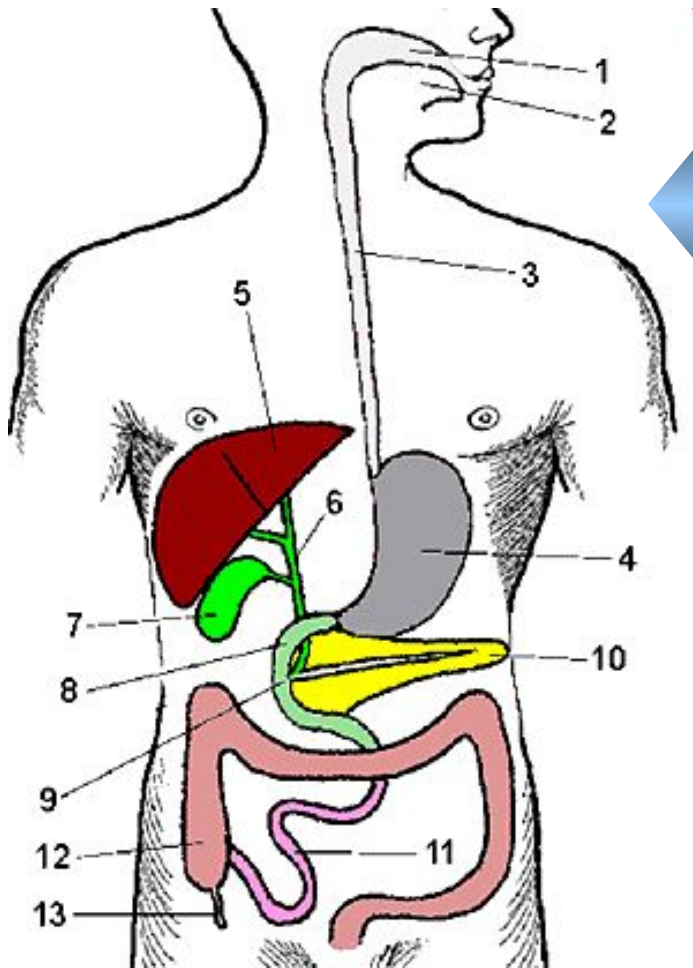
1. Подготовительный
2. Гликолиз
(бескислородное окисление)
3. Дыхание
(кислородное окисление)

Первый этап
Подготовительный

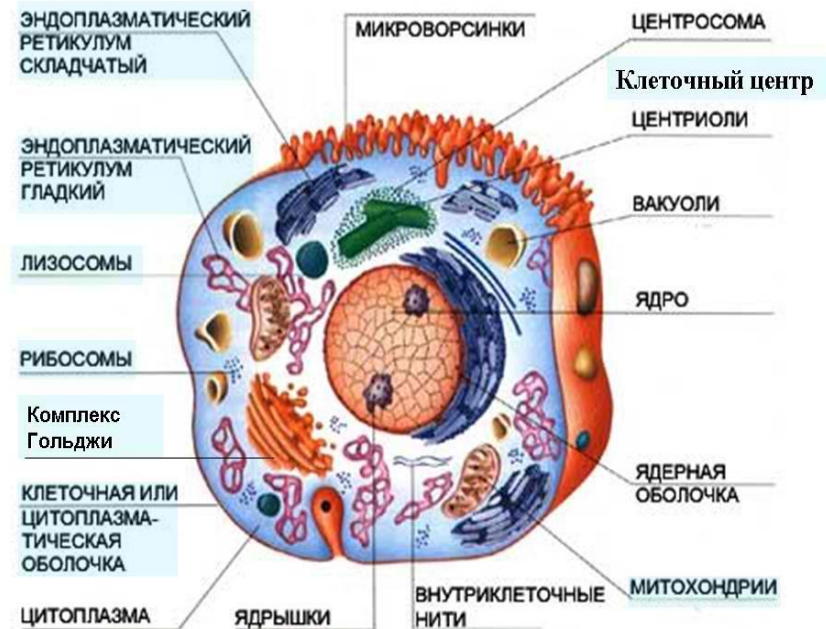


**ферментативное расщепление
сложных органических веществ
до простых**

Где происходит:



- Пищеварительная система
- Лизосомы в клетках



Субстрат

- Углеводы = глюкоза + E (1г = 17,6 кДж)
- Липиды = глицерин + жирные кислоты + E (1г = 38,9 кДж)
- Белки = аминокислоты + E (1г = 17,6 кДж)
- Нуклеиновые кислоты = нуклеотиды + E

Результат этапа

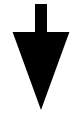
- Энергия не запасается, а выделяется только в тепловой форме

Второй этап

Бескислородное окисление

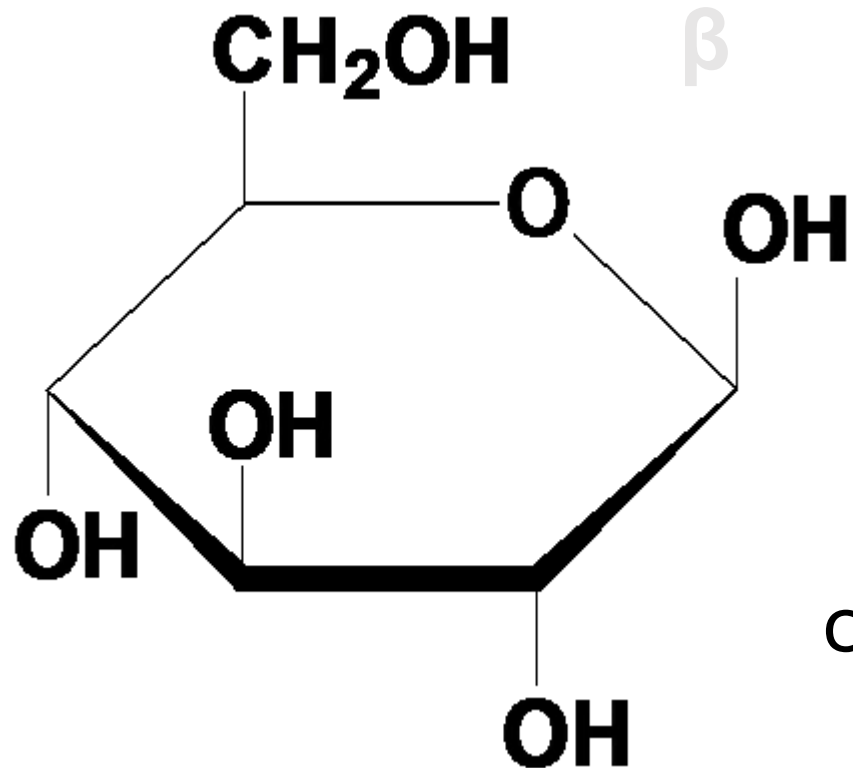
- Гликолиз
 - неполное расщепление
 - анаэробное дыхание
 - брожение

Полисахариды



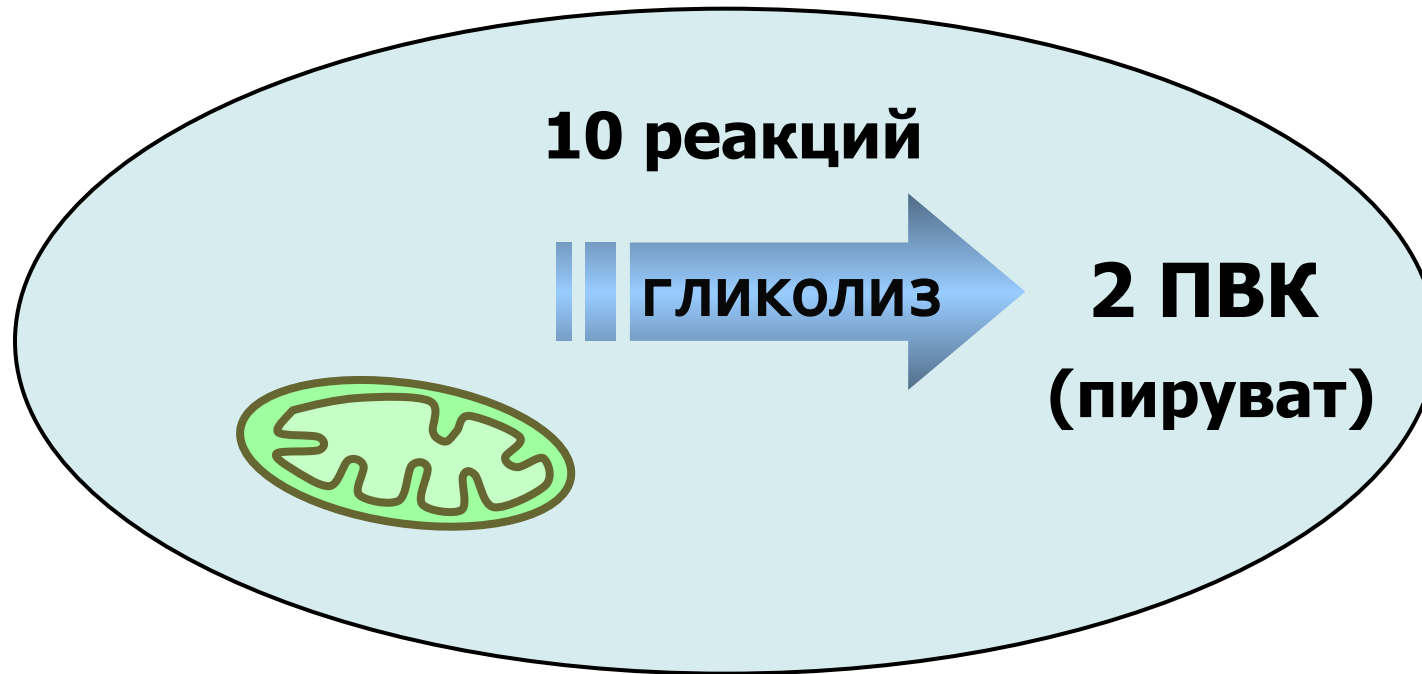
Глюкоза –

центральная молекула клеточного дыхания



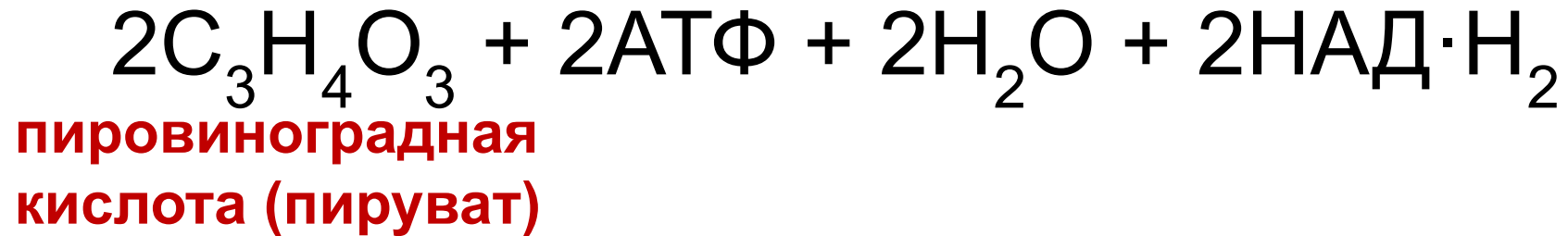
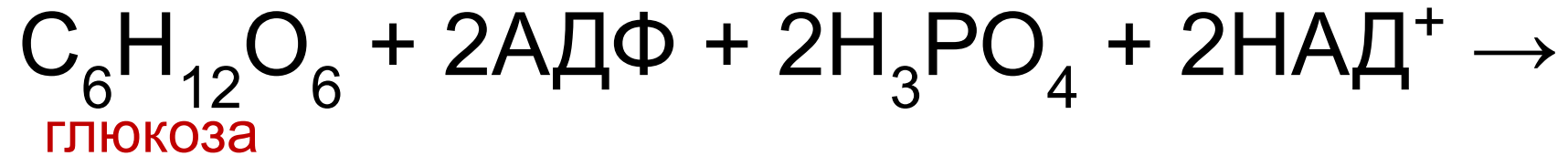
с нее начинается путь к
АТФ

Где происходит:



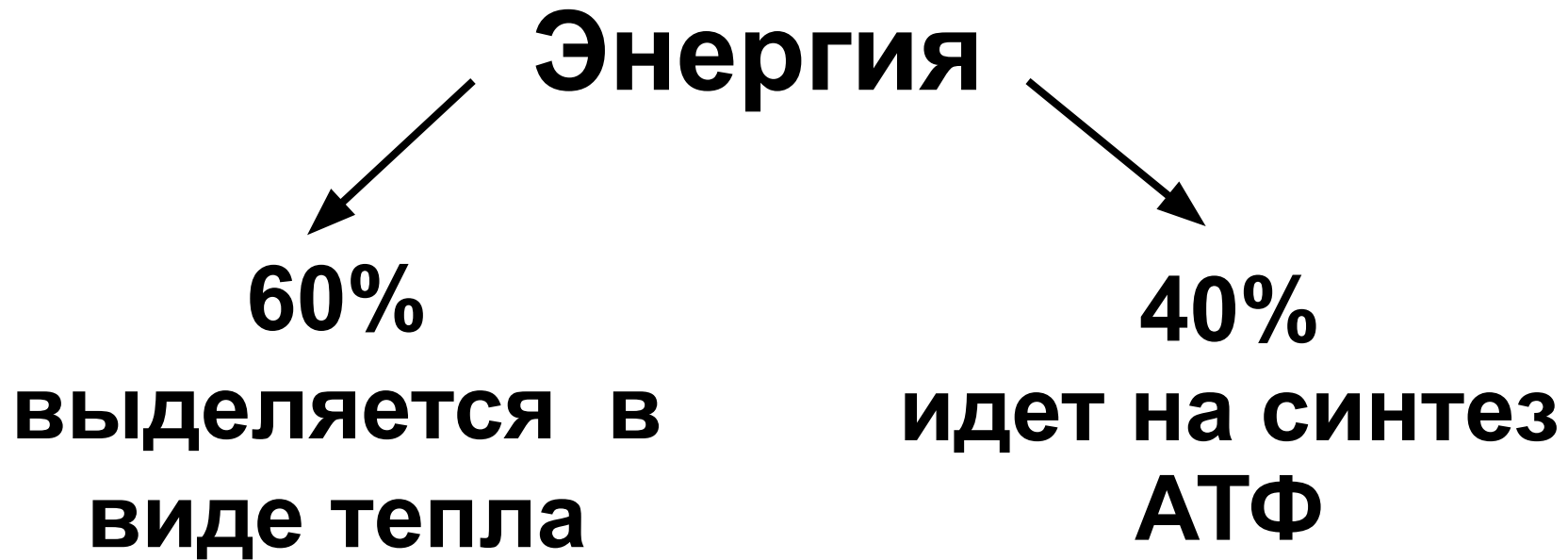
Клетка (под действием ферментов
клеточных мембран)

Субстрат

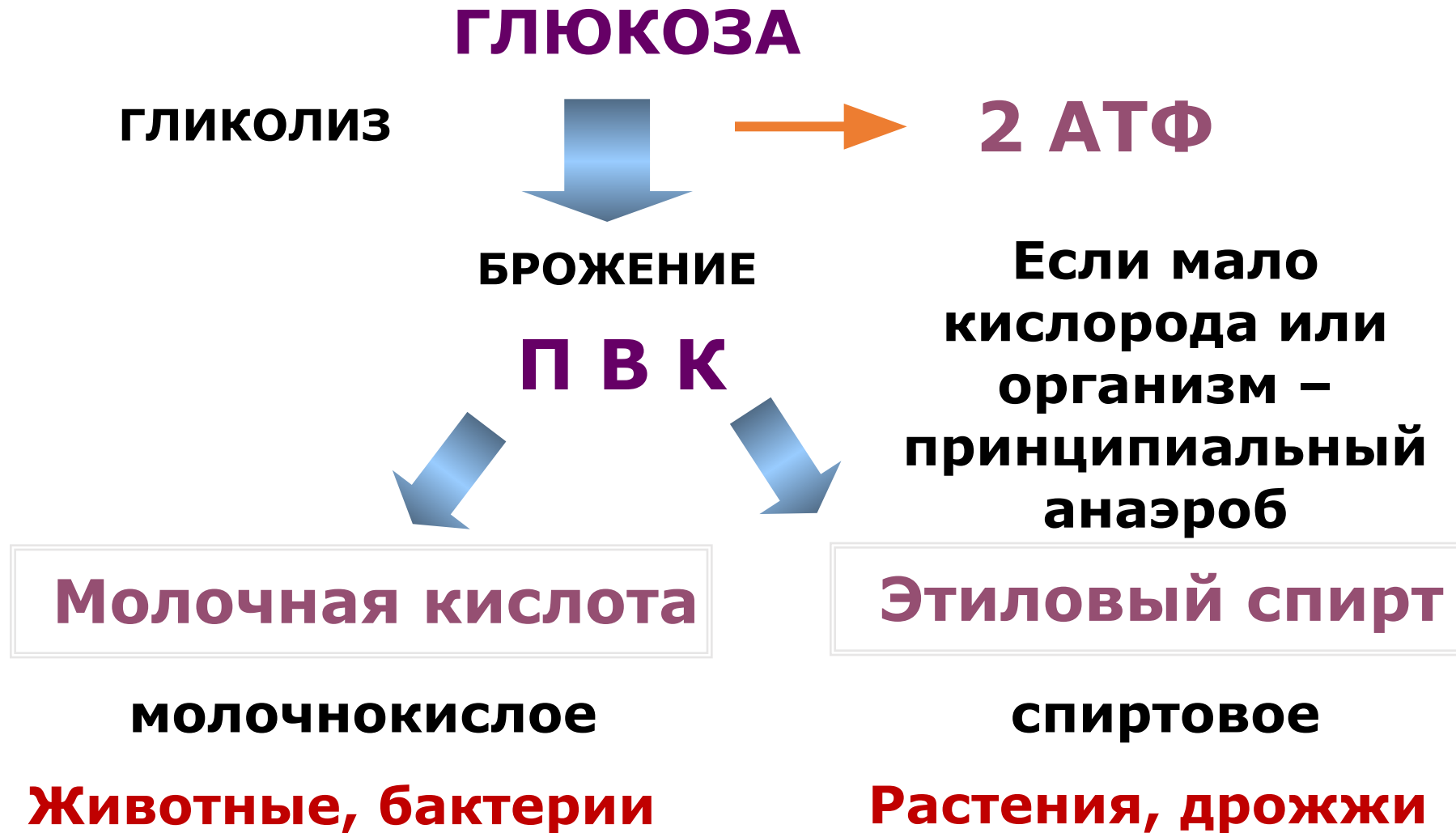


Результат этапа:

из одной молекулы глюкозы высвобождается 200 кДж, из которых 120 кДж рассеивается в виде тепла, а 80 кДж запасается в связях АТФ.



Брожение – анаэробное дыхание



Выводы:

Синтез АТФ в процессе гликолиза не нуждается в мембранах. Он идёт даже в пробирке, если имеются все необходимые субстраты и ферменты

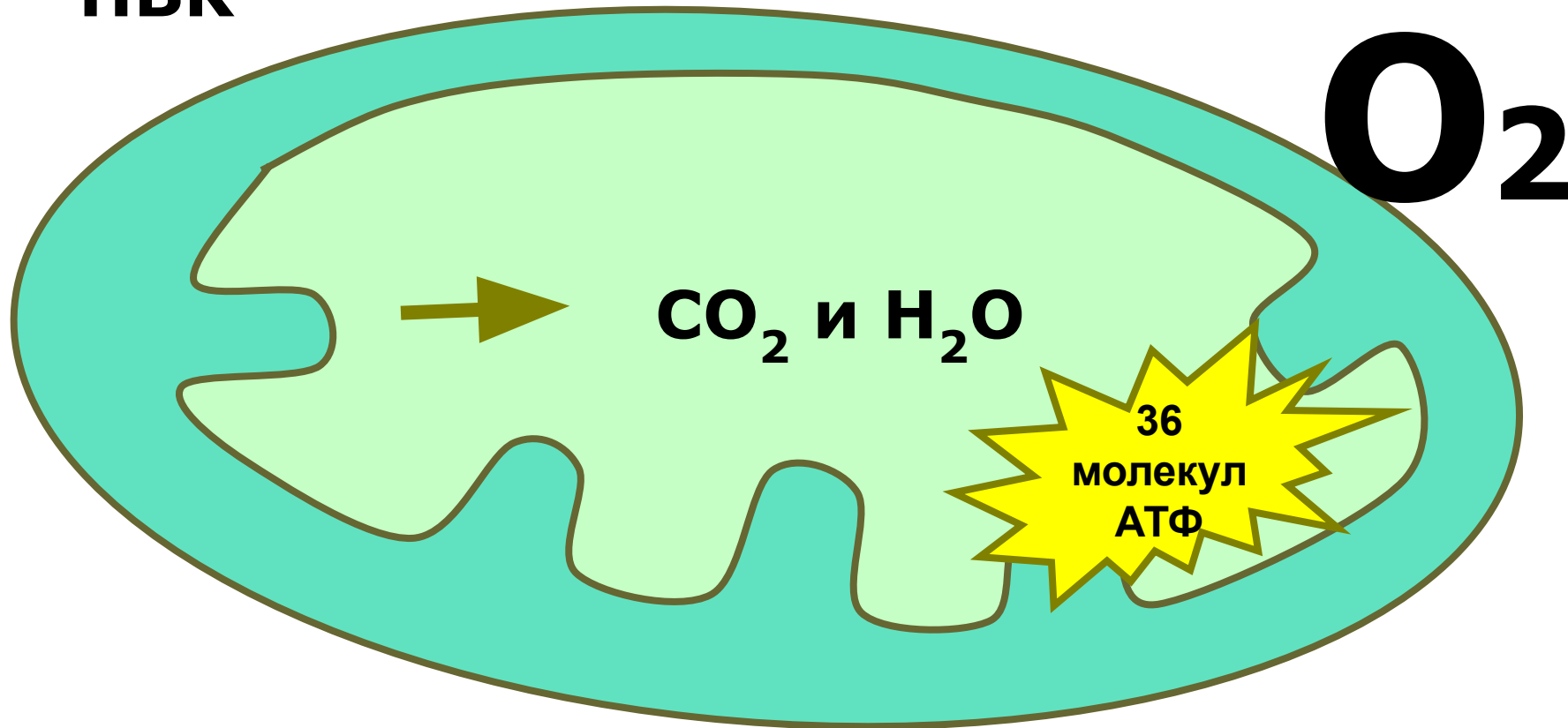
Третий этап Кислородное расщепление:



полное расщепление пировиноградной
кислоты, происходит при обязательном
присутствии кислорода

Где происходит:

ПВК



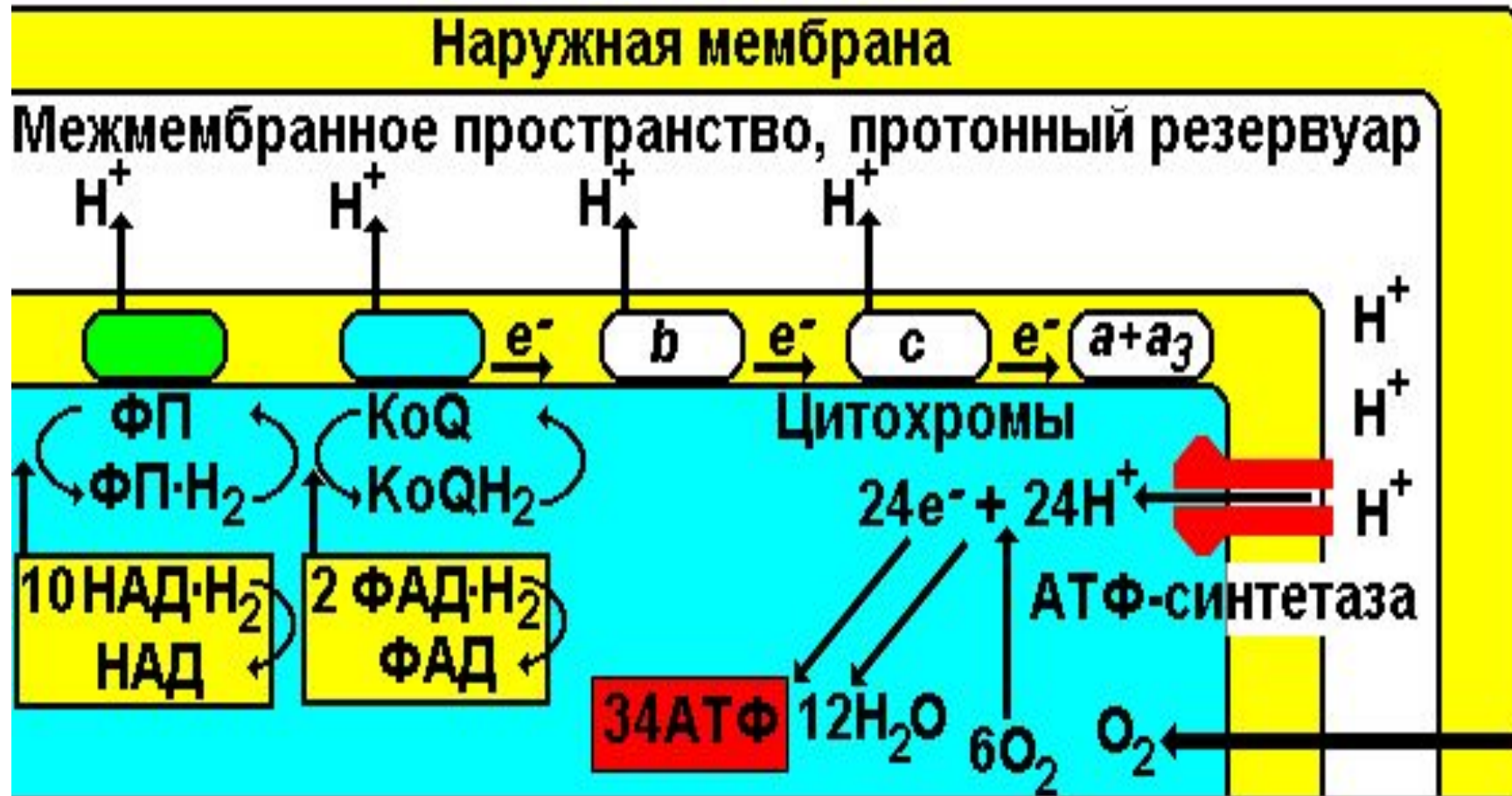
Митохондрия: под действием ферментов митохондриальных мембран (необходимое условие – целостность мембран)

Стадии аэробного дыхания:

- 1) Окислительное декарбоксилирование
- 2) Цикл Кребса
- 3) Электронтранспортная цепь
(окислительное фосфорилирование)



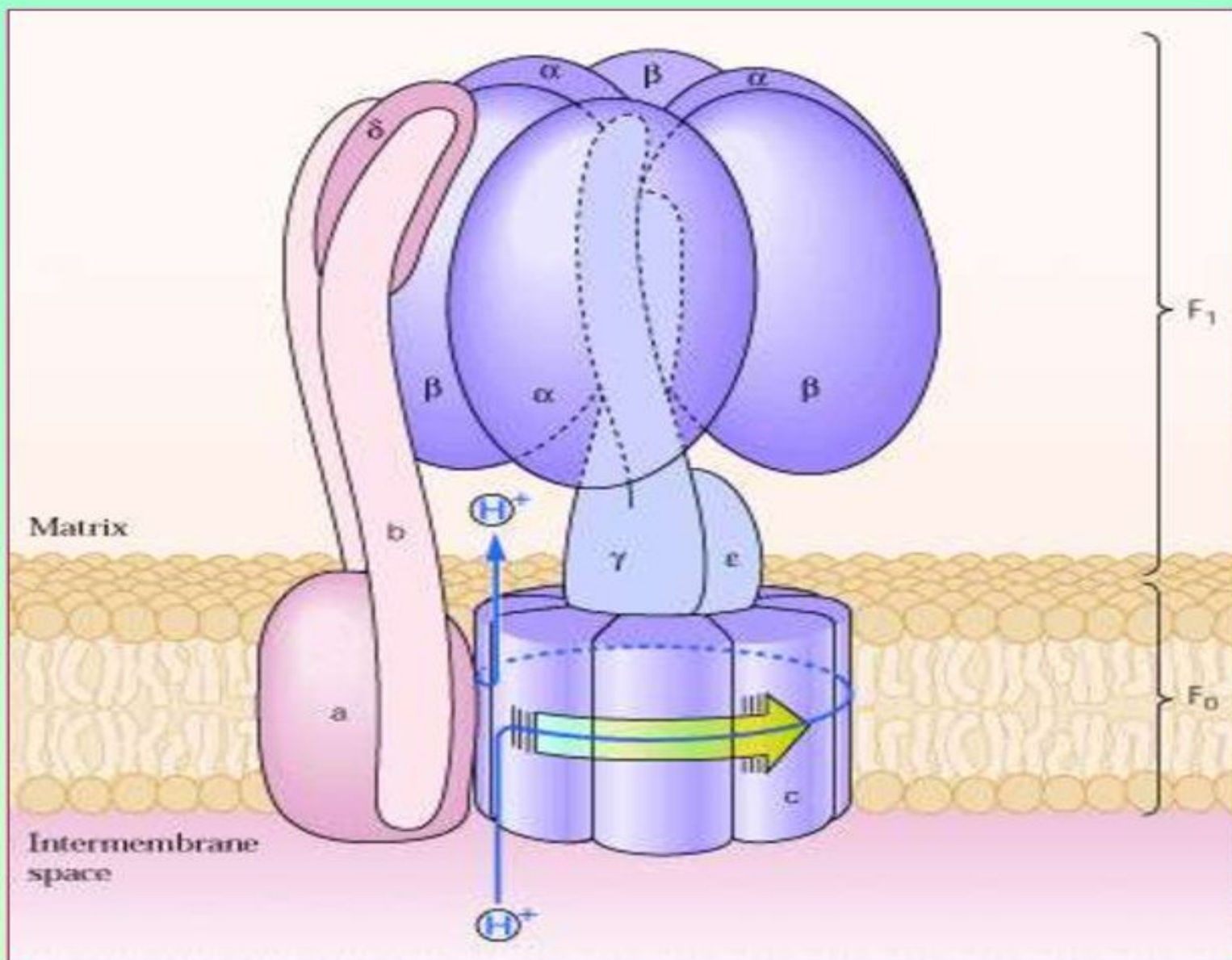
Электронтранспортная цепь



АТФ-ситаза

1. Принимает электроны от цитохрома с и передает их на кислород с образованием воды.
2. Переносит 2 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.
 - одна группа формирует субъединицу F_0 – ее функция каналобразующая, по ней протоны водорода устремляются в матрикс.
 - другая группа образует субъединицу F_1 – ее функция каталитическая, именно она, используя энергию протонов, синтезирует АТФ.
 - Упрощенно считают, что для синтеза 1 молекулы АТФ необходимо прохождение приблизительно 3-х протонов H^+ .

АТФ-синтаза: «вальсирующий» комплекс



Структура:

Две субъединицы: F_0 и F_1

F_1 : $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$

α - 59, β - 56, γ - 36

δ - 17.5, ϵ - 13,5kDa

F_0 : a (I), 15kDa,

b (II), 12.5kDa

c (III), 8kDa

a:b:c – 1:2:(6-15)

α , β , ϵ субъединицы F_1
и субъединица a (I) F_0
кодируются в
МИТОХОНДРИАЛЬНОМ ГЕНОМЕ.

- Некоторые химические вещества (протонофоры) могут переносить протоны или другие ионы (ионофоры) из межмембранного пространства через мембрану в матрикс, минуя протонные каналы АТФ-синтазы. В результате этого исчезает электрохимический потенциал и прекращается синтез АТФ. Это явление называют разобщением дыхания и фосфорилирования. В результате разобщения количество АТФ снижается, а АДФ увеличивается. В этом случае скорость окисления NADH и FADH₂ возрастает, возрастает и количество поглощённого кислорода, но энергия выделяется в виде теплоты, и коэффициент P/O резко снижается. Как правило, разобщители - липофильные вещества, легко проходящие через липидный слой мембраны. Одно из таких веществ - 2,4-динитрофенол, легко переходящий из ионизированной формы в неионизированную, присоединяя протон в межмембранном пространстве и перенося его в матрикс.
- Примерами разобщителей могут быть также некоторые лекарства, например дикумарол - антикоагулянт или метаболиты, которые образуются в организме, билирубин - продукт катаболизма гемоглобина, тироксин - гормон щитовидной железы. Все эти вещества проявляют разобщающее действие только при их высокой концентрации.

Результат этапа:

2600 кДж - на 2 моля



45%

Рассеивается
в виде тепла

55%

Сберегается
в виде АТФ

Выводы:

Для осуществления кислородного процесса необходимо наличие неповреждённых митохондриальных мембран

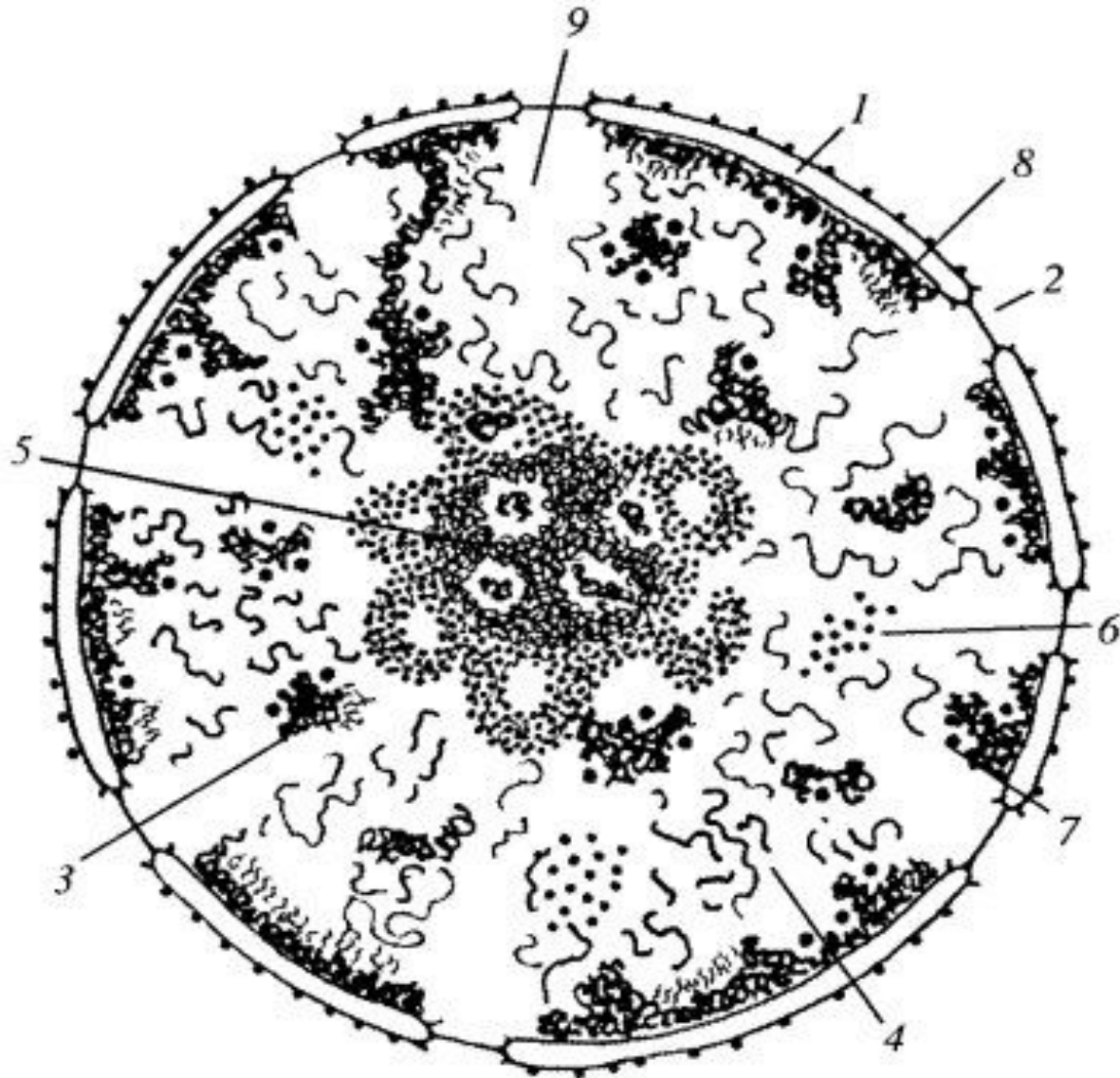
Выводы:

**Расщепление в клетке
1 молекулы глюкозы до CO_2
и H_2O обеспечивает синтез
38 молекул АТФ**

Ядерный аппарат

Состав ядерного аппарата:

1. Поверхностный аппарат ядра;
2. Ядерный матрикс;
3. Кариоплазма;
4. Хроматин;
5. Ядрышко.



- 1 — ядерная оболочка (две мембраны - внутренняя и внешняя, и перинуклеарное пространство);
- 2 — ядерная пора;
- 3 — конденсированный хроматин;
- 4 — диффузный хроматин;
- 5 — ядрышко (гранулярный и фибриллярный компоненты, в центральных светлых зонах находится рДНК);
- 6 — интерхроматиновые гранулы (РНП);
- 7 — перихроматиновые гранулы (РНП);
- 8 — перихроматиновые фибриллы (РНП);
- 9 — кариоплазма, ядерный сок

Поверхностный аппарат

1. Ядерная оболочка с порами:
 - a. Разделена на внешнюю и внутреннюю ядерные оболочки. Пространство между ними называется перинуклеарным.
 - b. Наружная мембрана переходит во внутреннюю в области пор.
 - c. Наружная мембрана непосредственно переходит в мембраны ЭПР.
 - d. Аппарат Гольджи может принимать участие в формировании ядерной оболочки.

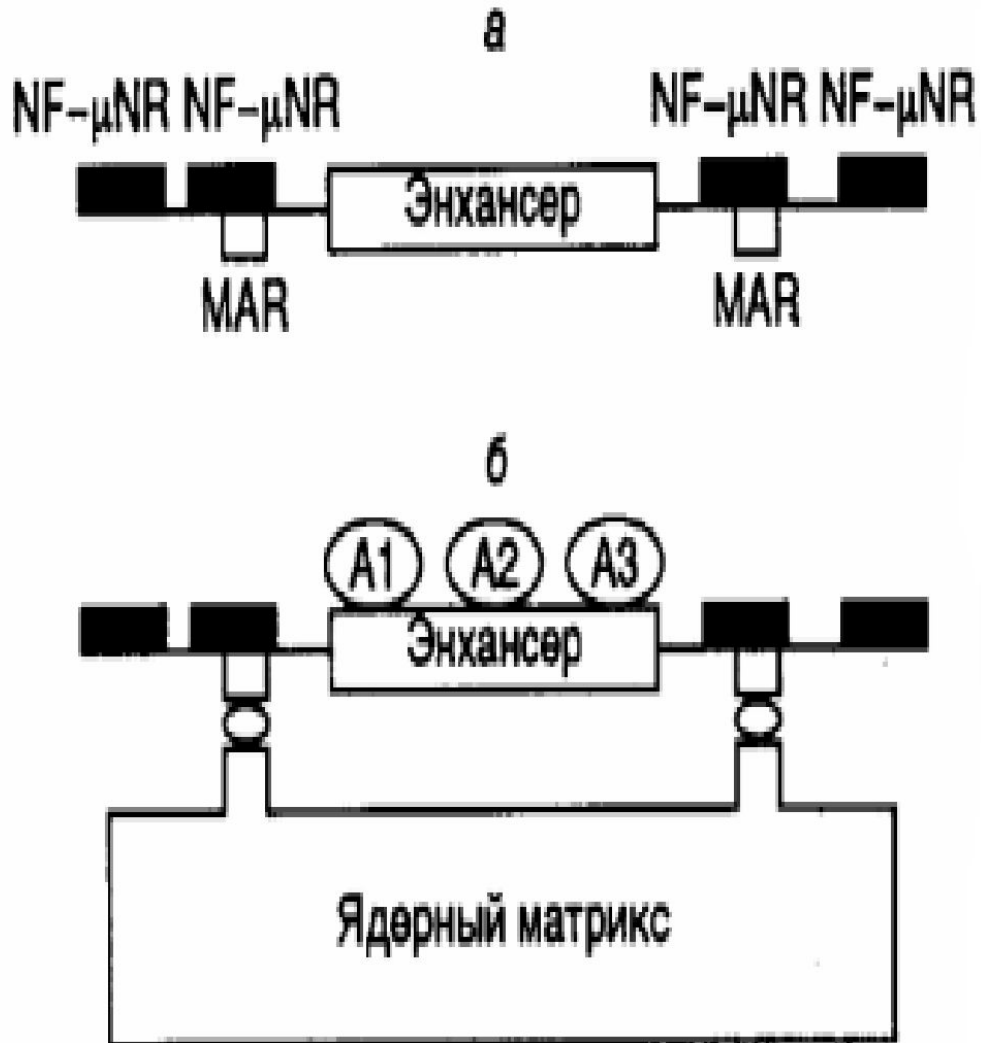
2. Ламина - жесткая фибриллярная белковая сеть, образованная белками-ламинидами (промежуточными филаментами), подстилает ядерную мембрану, поддерживая ее. Связана с интегральными белками слоем, состоящим из переплетенных промежуточных филаментов, образующих кариоскелет. К ламине прикреплены нити хромосомной ДНК. Белки поровых комплексов структурно связаны с белками ядерной ламины, которая участвует в их организации. Таким образом, ламина играет очень важную роль в поддержании формы ядра, упорядоченной укладке хроматина, структурной организации поровых комплексов.

- РНК должны попасть из ядра в цитоплазму. Для этого нужно преодолеть ядерную мембрану. Мембрана пронизана большим количеством пор. У млекопитающих от 3000 до 5000 таких пор.
- Цитоплазматическая часть. Содержатся вытянутые цитоплазматические фибриллы. Со стороны ядра ядерные фибриллы. Они более длинные. Ядерные фибриллы собраны кольцом, образуют подобие сетки. Фибриллы являются первыми, кто встречает молекулы, которые нужно перенести.
- Центральная часть. Образована кольцами: Ядерное, Цитоплазматическое, Центральное. Центральный канал образован нуклеопоринами, которые различаются по свойствам и функциям т.е. структурные и содержащие большое количество гидрофобных аминокислот, которые способствуют взаимодействию с белками, которые транспортируются.

Функции поверхностного аппарата

1. Отграничение ядра от цитоплазмы. В результате этого происходит разделение транскрипции и трансляции-возможен процессинг. Так же, такое отграничение обеспечивает защиту ДНК от механического воздействия цитоплазматического цито скелета.
2. Избирательный транспорт веществ через пору:
 - a. Вода-пассивно через центральный канал в поре.
 - b. Крупные белковые молекулы-активно, если имеют сигнальную последовательность в своем составе. Сигнальная последовательность может не удаляться из ядра-использование для повторного переноса белка при митозе.
 - c. Субъединицы рибосом и РНК-активно через пору. Высокомолекулярные соединения через мембрану.

Ядерный матрикс



- Ядерный матрикс-это скелет ядра. Белки связывают определенные последовательности ДНК, образуя основание петель хроматина. Благодаря точкам прикрепления хроматина, матрикс участвует в образовании хромосом, определяет локализацию генов, регулирует транскрипцию и репликацию ДНК. С ядерным матриксом связан актин.

Ядрышко

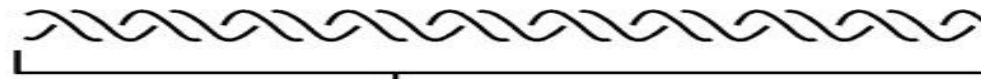
- Ядрышко – высокоорганизованная шаровидная структура ядра. Содержит большие петли ДНК, выступающие из хромосом, при этом каждая петля содержит кластер генов рРНК (клетки человека содержат около 200 таких генов, распределенных в виде кластеров по пяти хромосомам). Каждый кластер – это район ядрышкового организатора. Белки для постройки рибосом приходят из цитоплазмы. Морфологически в ядрышке различают 2 основные зоны:
 1. Фибриллярный центр содержит ДНК из области ядрышкового организатора, здесь происходит транскрипция генов рРНК.
 2. Гранулярный компонент – частицы предшественников субъединиц рибосом, которые затем переносятся специфическими белками от ядрышка к оболочке ядра и далее к цитоплазме.
- Гранулярный+Фибриллярный компоненты образуют тяжинуклеонема.

Хроматин

- Хроматин: основными компонентами являются ДНК, гистоны и негистоновые белки (ДНП). Соотношение ДНК и белка составляет $\sim 1:1,3$, а основная масса белков хроматина представлена гистонами.
- Различают 2 вида хроматина:
- Гетерохроматин (интенсивно окрашенные гранулы)
 - а. Конститутивный-всегда спирализован;
 - б. Факультативный-может транскрибироваться. Не активен, лишь, в некоторых клетках.
- Эухроматин (светлые мелкозернистые участки).

Уровни упаковки хроматина

Двойная спираль
ДНК



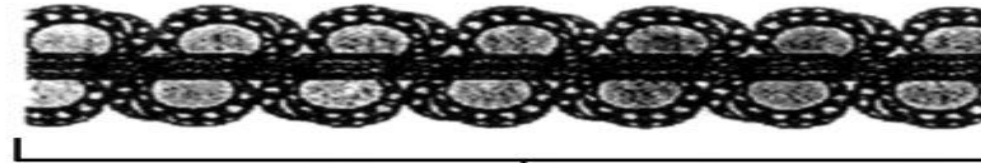
2 нм

Нуклеосомный
уровень



11 нм

Уровень
фибрилл



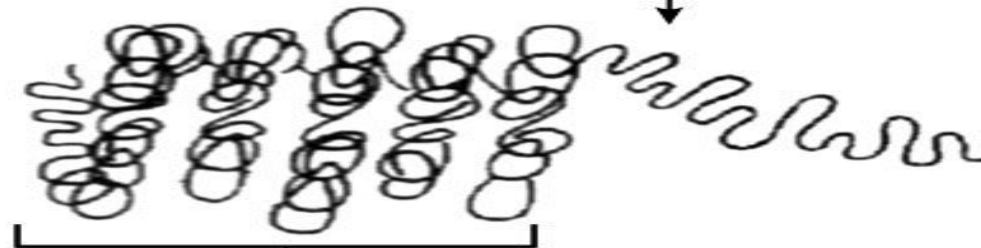
30 нм

Уровень
петельных
доменов



300 нм

Хромонемный
уровень



700 нм

Метафазная
хромосома



1400 нм

Урони упаковки хроматина

1. Нуклеосомный уровень-8 молекул гистонов закручивают фрагмент 140 пар оснований. Линкерный участок-60 пар оснований.
2. Фибриллярный уровень. 40-к кратная компактизация. Одна фибрилла имеет диаметр 30 нм. Образуется за счет гистонов H1. Относительно способа упаковки 2 гипотезы:
 - a. Солеродный тип укладки-нить плотно упакована в спираль. 6-7 нуклеосом в витке.
 - b. Нуклиомерный. 8-10 нуклиосом объединены в нуклиомеру.
3. Петельная структура. Образуется при помощи взаимодействия ДНП и белков ядерного матрикса. Так же 2 гипотезы:
 - a. Белки матрикса формируют непрерывный тяж к которому крепится ДНП;
 - b. Белки матрикса формируют множество отдельных центров, к которым крепятся петли ДНП длиной 30-90 тыс. пар нуклеотидов. Образуются розетки.
4. Хромонема-укладка петель в области хромомерных участков.
5. Хроматида-спиральная или петлеобразная укладка хромонемы.

ДНК (2 нм)



1. Хроматин
в форме
нуклеосом
(10–11 нм)



2. Хроматиновая
фибрилла
(30 нм)



Нуклеомерный
тип укладки

3. Петельная
структура
(30–100 нм)



Белки образуют
непрерывный тяж,
к которому крепятся
петли ДНК



Белки образуют отдельные
центры, к которым
крепятся петли ДНК

4. Хромонема
(300–350 нм)

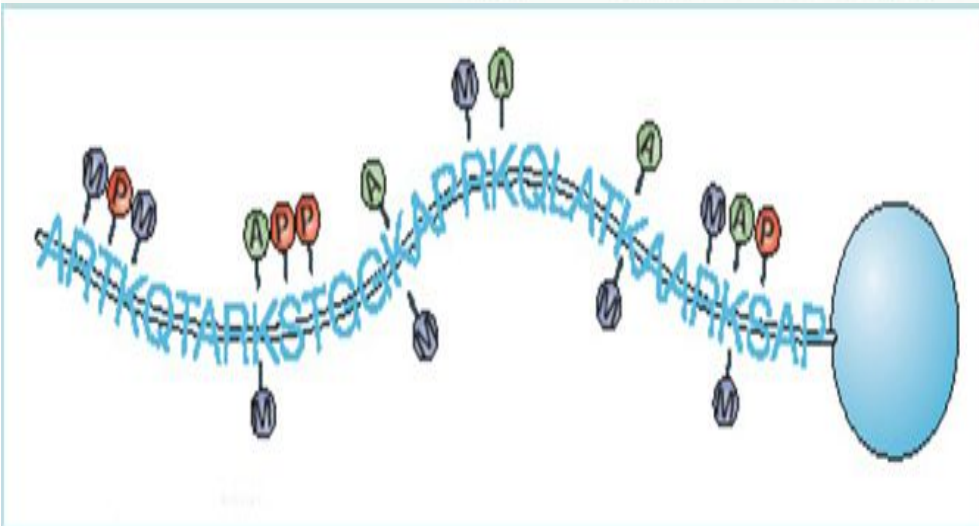
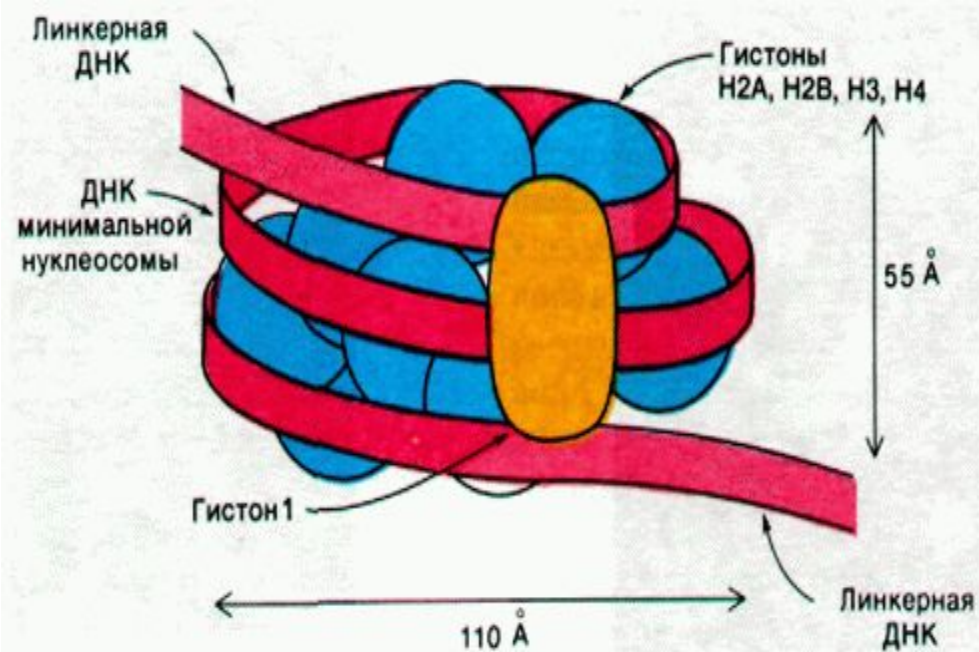


5. Хроматида
(700 нм)



6. Хромосома
(1400 нм)



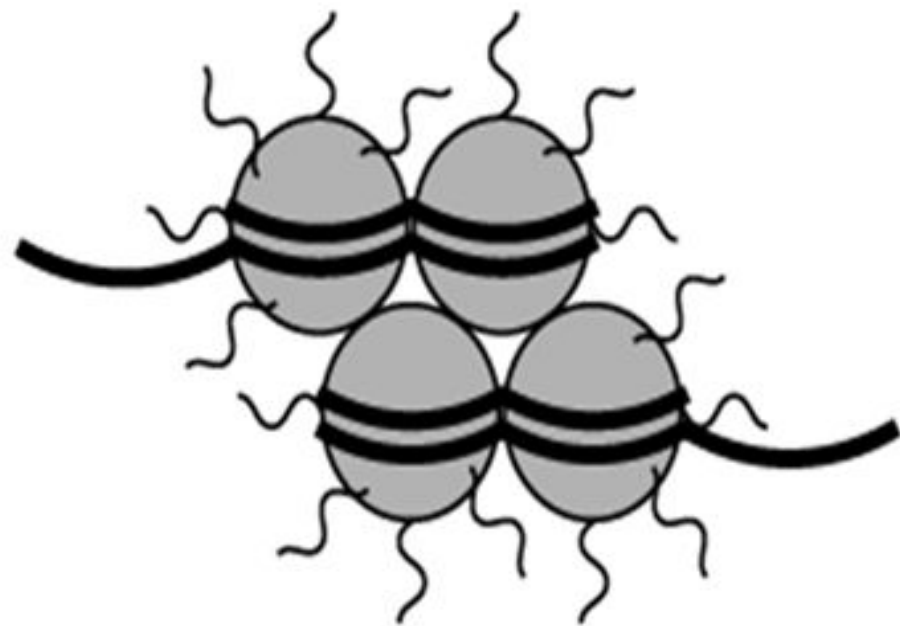


- ацетилирование
- метилирование
- фосфорилирование

- Аминокислотные остатки гистонов могут подвергаться пост-трансляционным модификациям:

1. Ацетилирование по определённым остаткам лизина.
2. — Метилирование определённых остатков лизина и аргинина;
3. — Фосфорилирование определенных остатков серина и треонина;
4. Убиквитинилирование определённых остатков лизина.

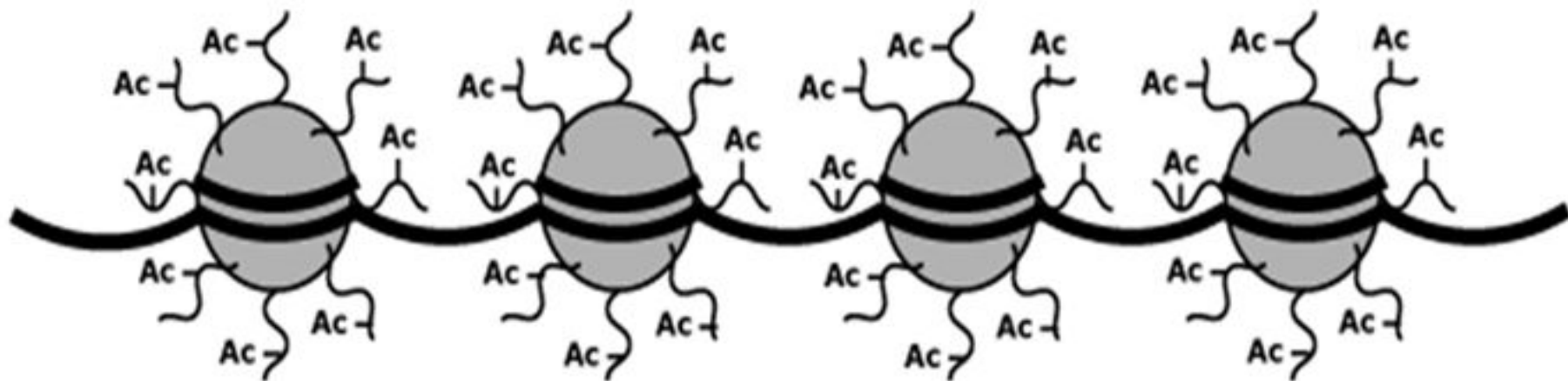
Модификации аминокислотных остатков гистоновых белков происходят, в основном, в N-терминальных участках.



Histone Acetylation

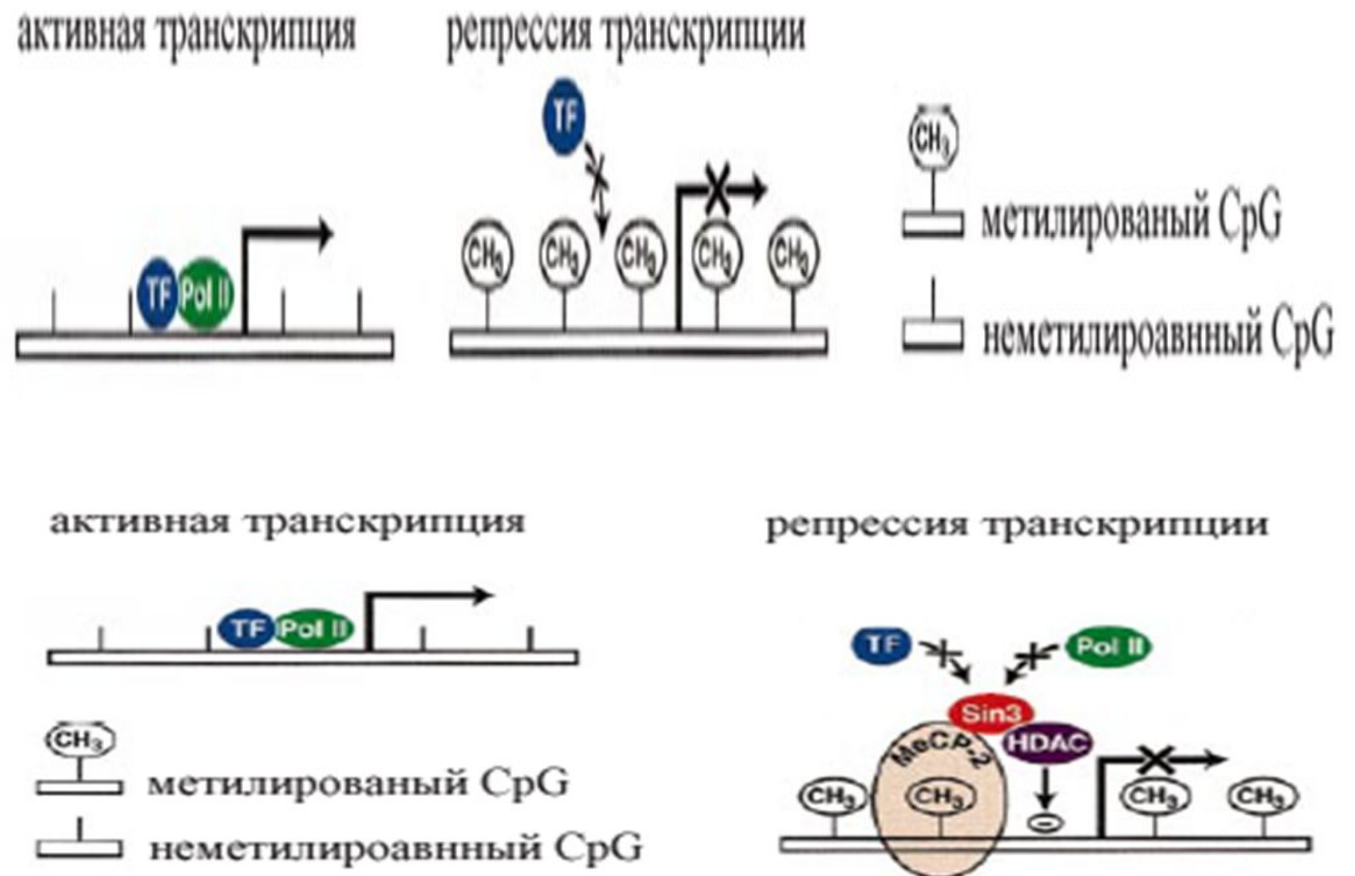
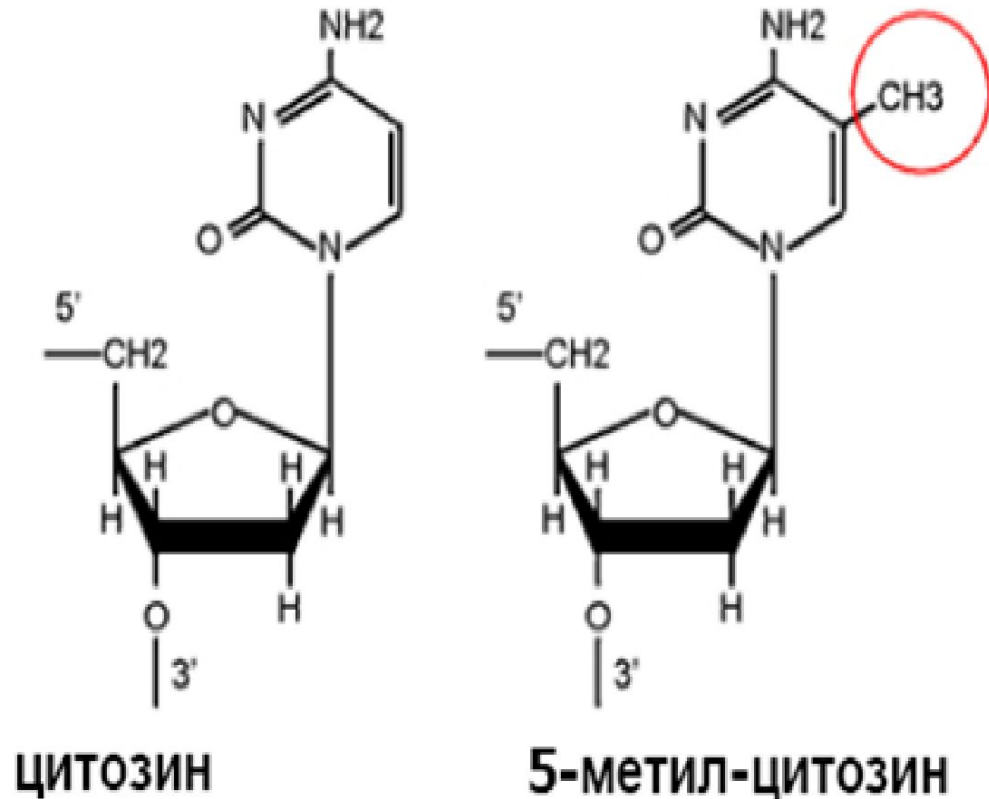


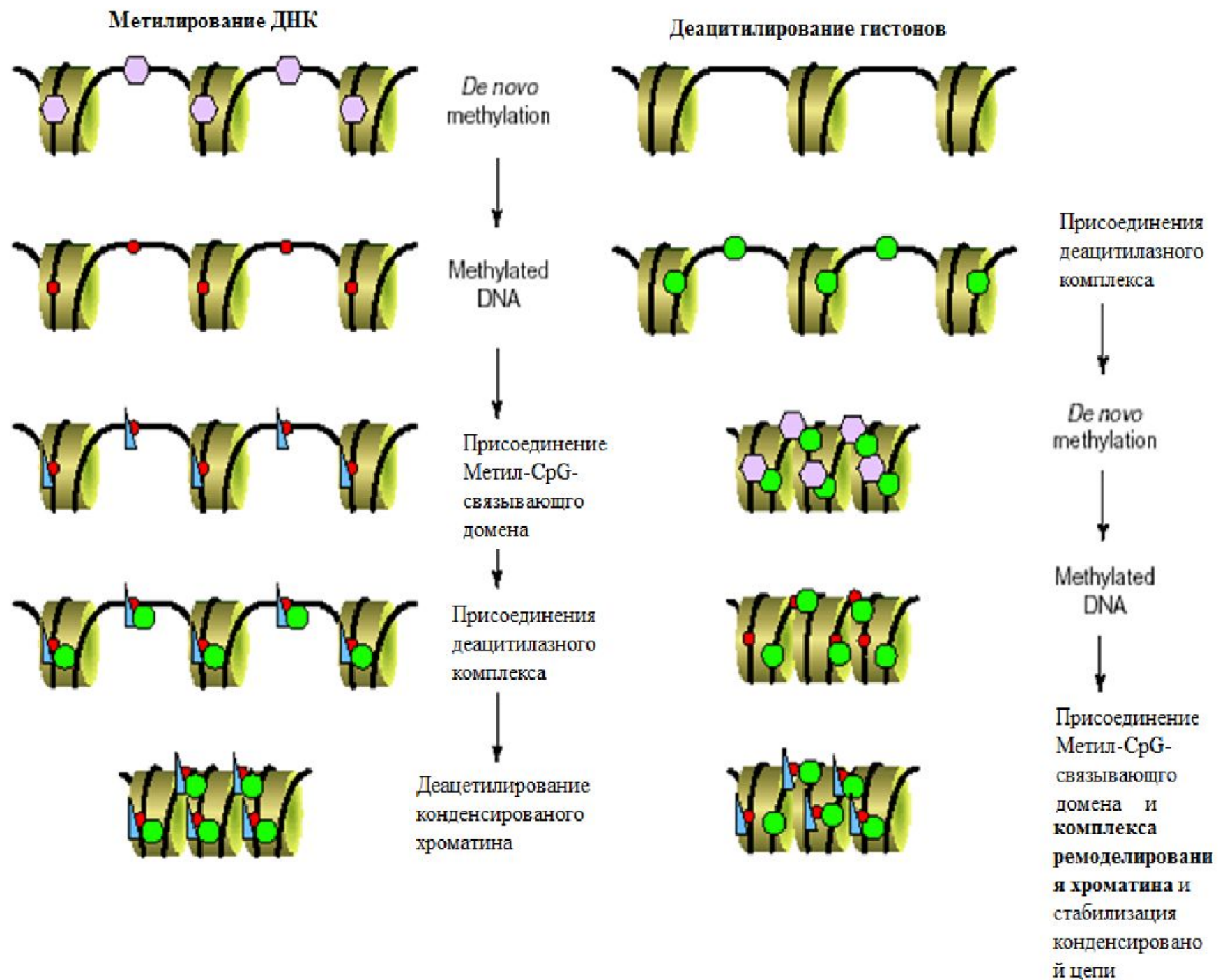
Histone Deacetylation



Метилирование ДНК

Метилирование ДНК — это модификация молекулы ДНК без изменения самой нуклеотидной последовательности ДНК, что можно рассматривать как часть эпигенетической составляющей генома. Метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида в позиции С5 цитозинового кольца. Метилирование ДНК считается, в основном, присущим эукариотам. У человека метилировано около 1 % геномной ДНК.





Что происходит?

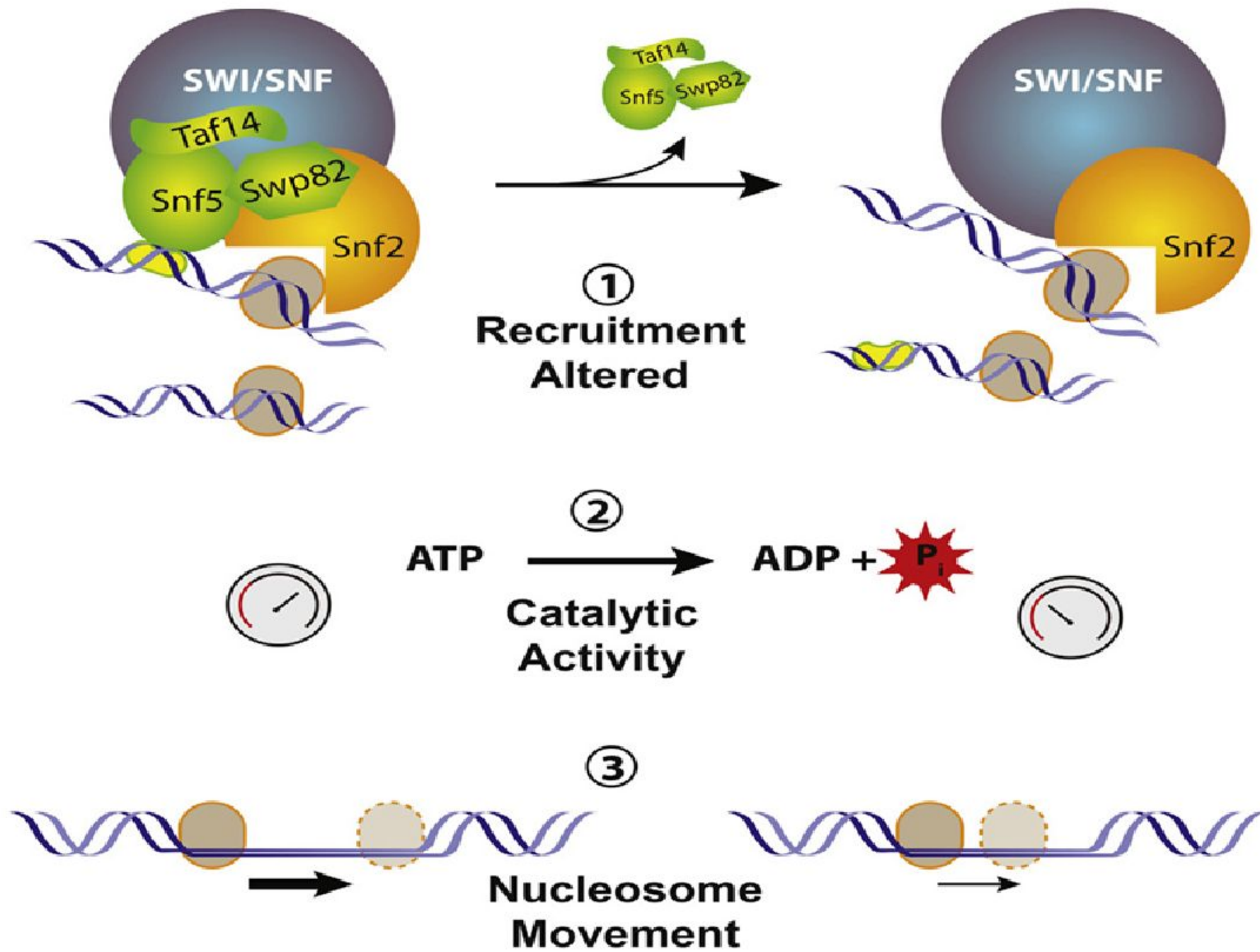
1. Метильные группы нарушают ДНК-белковые взаимодействия, выступая в большую бороздку ДНК и препятствуя связыванию специфических транскрипционных факторов;
 2. Метилированные районы ДНК специфически связывают транскрипционные репрессоры;
 3. Метилирование ДНК влияет на структуру хроматина.
- В результате осуществляется контроль процессов:
 1. Транскрипции;
 2. Репликации;
 3. Рекомбинации;
 4. Репарации;
 5. Транспозиции генов;
 6. Инактивации X-хромосомы.

Архитектурные белки высокомобильной группы (HMG)

- Были названы так потому, что обладают высокой электрофоретической мобильностью в полиакриламидном геле (электрофорез).
- HMG-белки способны изменять конформацию ДНК, вызывая скручивание, выпрямление, разматывание цепи или формирование петель.
- HMG 14/17. Коровые частицы нуклеосом содержат на своей поверхности две молекулы HMG 14/17, которые соединяют между собой цепи ДНК двух соседних витков. HMG-белки этой группы могут замещать гистон H1 в активно транскрибируемых генах.
- HMG 1/2 - способствуют сборке нуклеосом *in vitro*, однако физиологическое значение этого факта остается непонятным.
- HMG I/Y преимущественно взаимодействуют с АТ-богатыми участками ДНК, что характерно и для гистона H1. Предполагается, что эти белки конкурируют с гистоном H1 *in vivo* за промоторы и области начала репликации ДНК. Являются вспомогательными факторами для факторов

Хроматин-перестраивающие КОМПЛЕКСЫ

- В середине 90-х годов стало известно, что хроматин содержит комплексы, перестраивающие нуклеосомы и использующие энергию АТФ. Эти комплексы разрывают связи между ДНК и гистонами, благодаря чему ДНК становится доступной для других белков, а гистоновый октамер «скользит» вдоль цепи ДНК или даже переносится на другую цепь. Таким образом, хроматин-перестраивающие комплексы придают хроматину «плавающую» структуру, не меняя общую степень упаковки ДНК.
- Хроматин-перестраивающие комплексы состоят из множества субъединиц, организованных в комплекс SWI/SNF (~11 субъединиц) и комплекс RSC.
- Предполагаемый механизм действия этих комплексов заключается во внесении локальных изгибов в цепь ДНК, благодаря созданию «волн», которые постепенно разрывают связи между ДНК и гистонами. В результате нуклеосомный кор «соскальзывает» с нужного участка ДНК, приоткрывая его для белков-ферментов.



Функция белков хроматина

1. Определяют уровень компактизации ДНК;
2. Влияют на уровень транскрипции;
3. Осуществляют процесс транскрипции.

Функции ядра

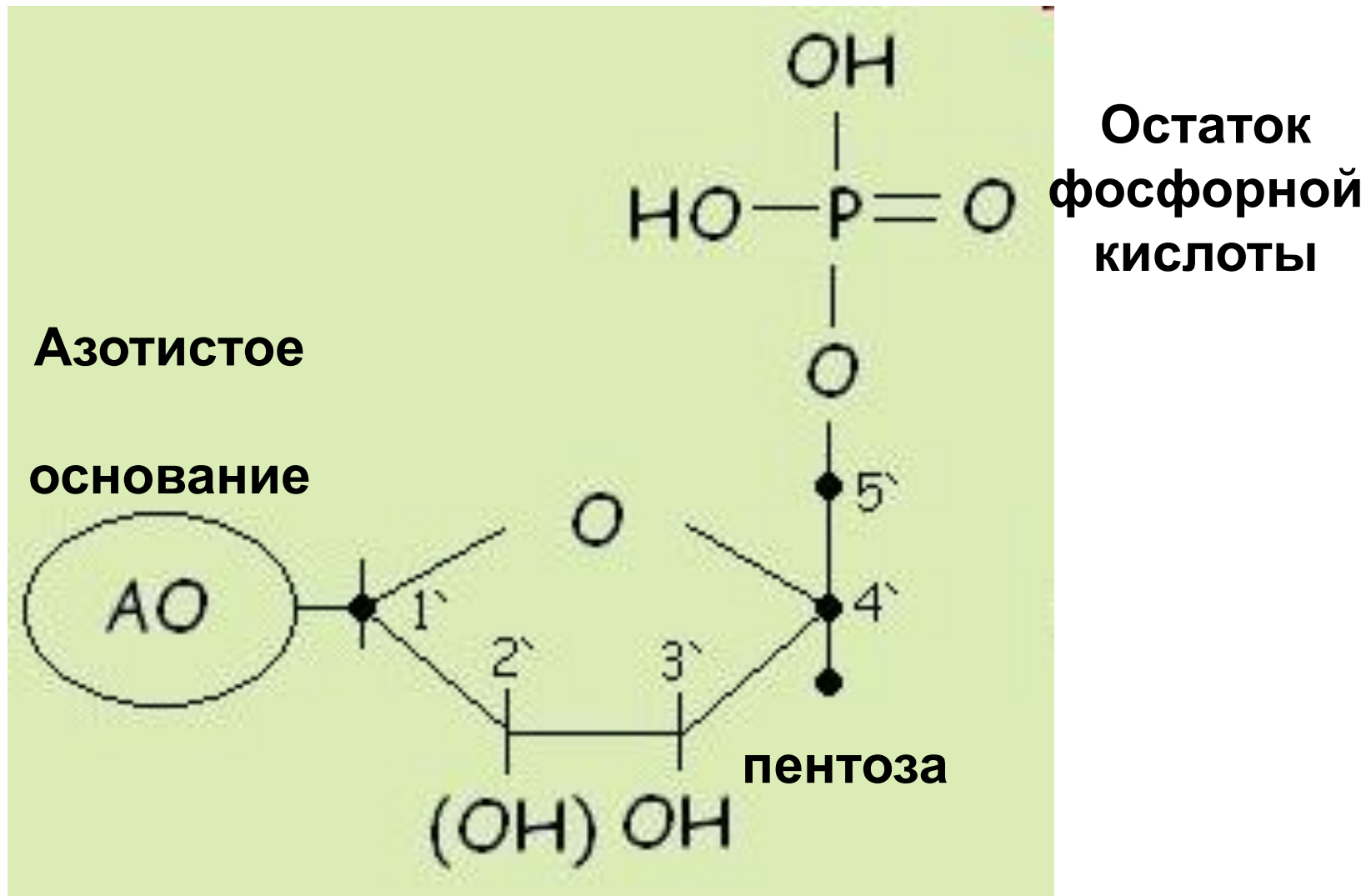
1. Хранение и передача генетической информации.
2. Реализация генетической информации.

Основы молекулярной биологии клетки

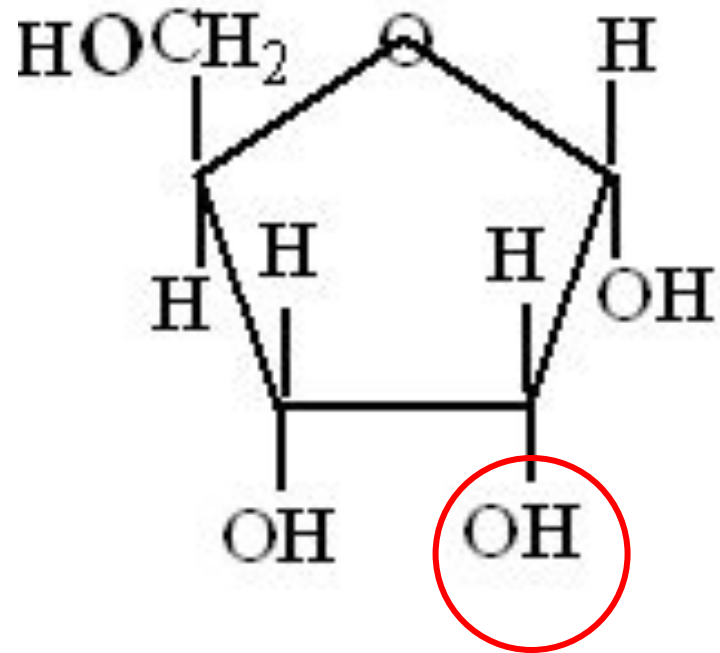
Что такое молекулярная биология?

- Жизнь — способ существования биополимеров, из которых основными являются белки и нуклеиновые кислоты.
- Молекулярная биология исследует основные свойства и проявления жизни на молекулярном уровне. Выясняет, каким образом и в какой мере рост и развитие организмов, хранение и передача наследственной информации, превращение энергии в живых клетках и другие явления обусловлены структурой и свойствами биологически важных макромолекул (главным образом белков и нуклеиновых кислот).
- Отличительная черта молекулярной биологии — изучение явлений жизни на неживых объектах или таких объектах, которым присущи самые примитивные проявления жизни.

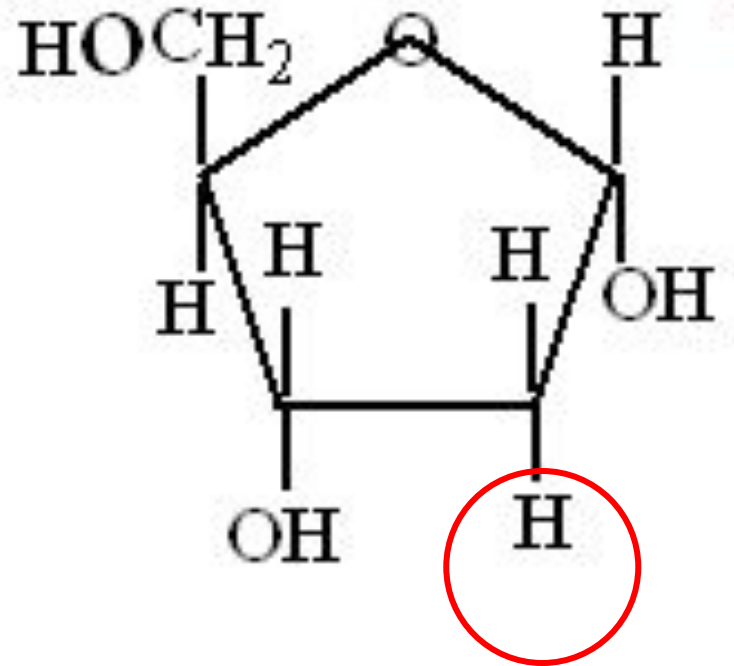
НУКЛЕОТИД



Рибоза

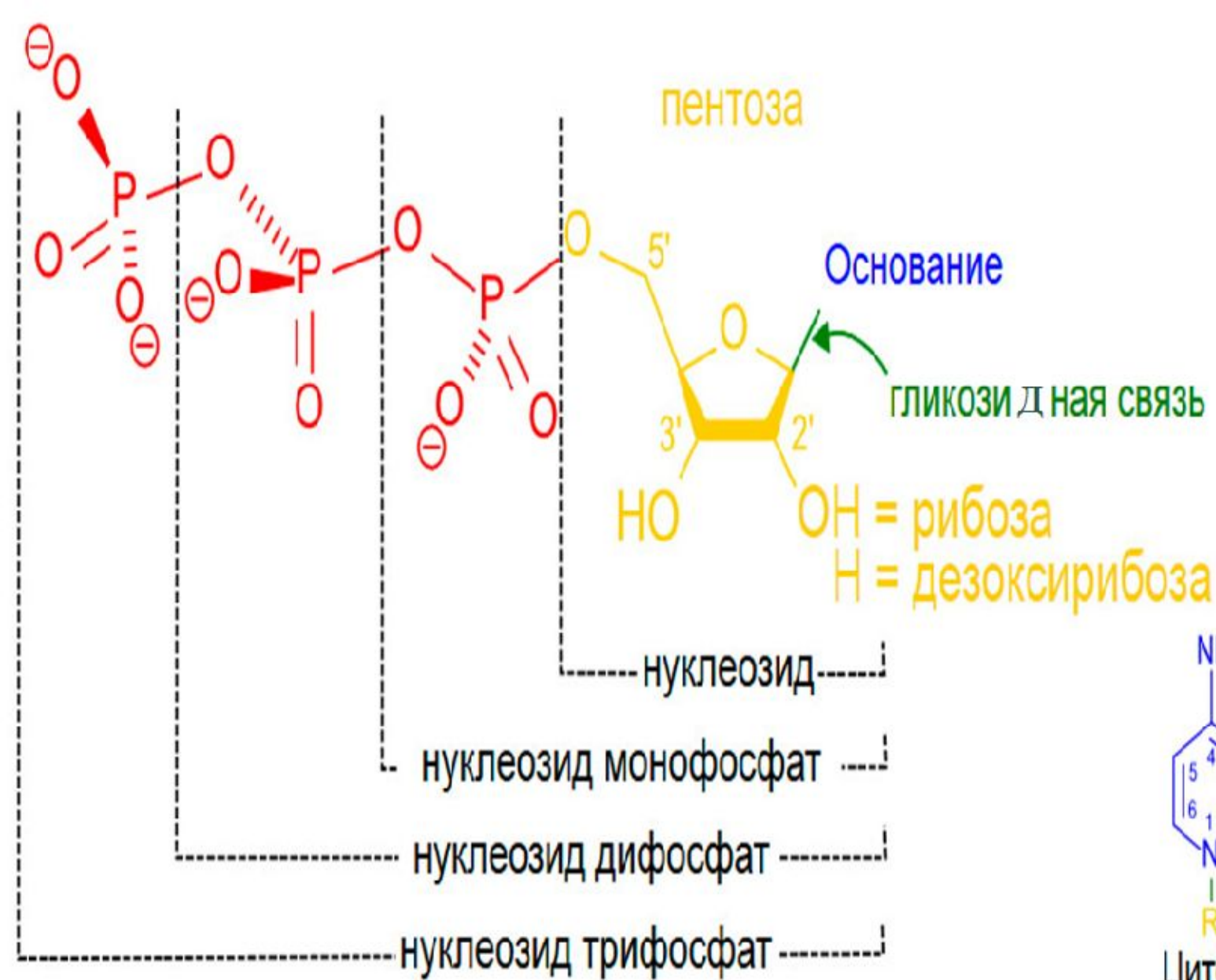


Дезоксирибоза



Нуклеиновые кислоты

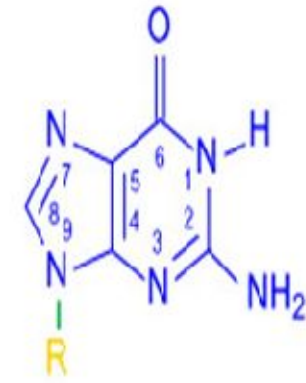
- Нуклеиновые кислоты выполняют генетическую функцию (ДНК) и участвуют в реализации генетической информации (РНК).
- Молекулы ДНК и РНК сходны по строению. Это полинуклеотиды (нуклеотид–мономер), отличающиеся по углеводу (рибоза и дезоксирибоза) и одному из четырех азотистых оснований (Т-ДНК; У-РНК).
- ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, а РНК — из одной.



Пурины

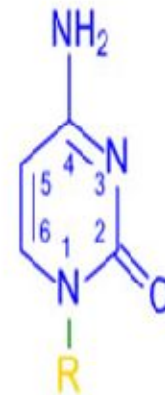


Аденин

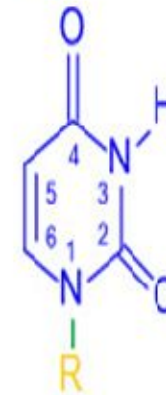


Гуанин

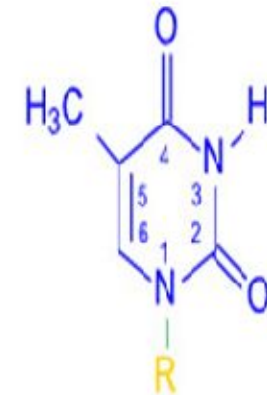
Пиримидины



Цитозин



Урацил



Тимин

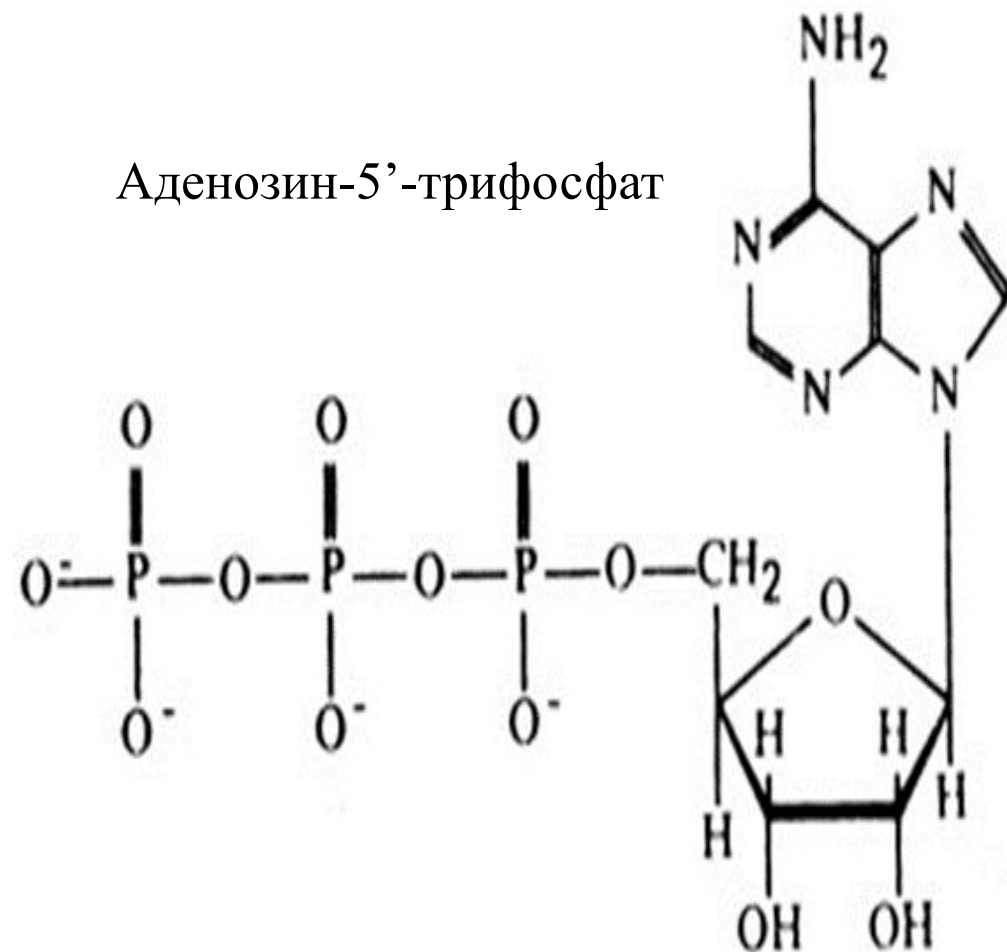
СВЯЗИ В НУКЛЕОТИДАХ

- Гликозидная связь— это тип ковалентной связи, которая соединяет молекулу сахара с другой молекулой. Гликозидная связь образуется между полуацетальной группой сахара и гидроксильной группой органического соединения, например, спирта. В нуклеозидах и нуклеотидах N-гликозидная связь - это связь между 1-м углеродным атомом сахара - пентозы и атомом N1 пиримидина (1.52 Å) или N9(1.46 Å) пурина. N-гликозидная связь имеет бета- конфигурацию.
- Фосфодиэфирная связь — высокоэнергетическая совокупность ковалентных связей, образуемая атомом фосфора в фосфатной группе и двумя молекулами посредством двух эфирных связей.

Производные нуклеотидов

- Нуклеотиды, помимо того, что являются мономерами ДНК и РНК, участвуют в большом количестве других важных функций:
 1. Служат источником энергии в реакциях по переносу фосфатных групп-АТФ;
 2. Являются простетической группировкой ферментов-NAD⁺, NADP⁺, FAD, coA;
 3. Контролируют ряд ферментативных процессов посредством аллостерических влияний на соответствующие ферменты;
 4. Являются предшественниками в биосинтетических процессах.

Аденозин-5'-трифосфат

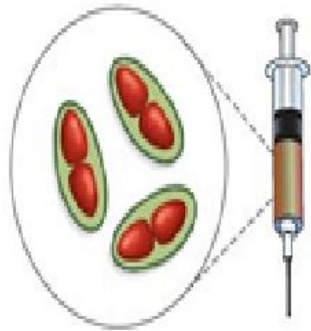


Эксперимент Гриффита на пневмококках

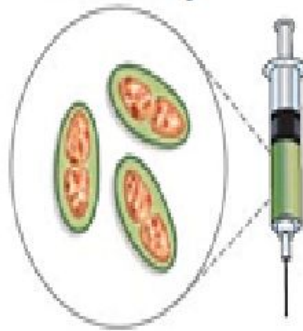
II-R штамм



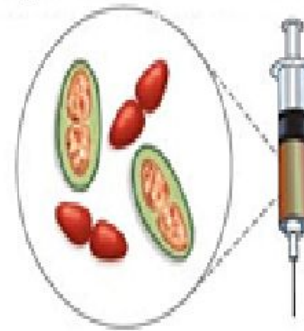
III-S штамм



Клетки III-S штамма, убитые нагревом



II-R штамм + убитые нагревом III-S бактерии



Мыши выжили



Мыши погибли



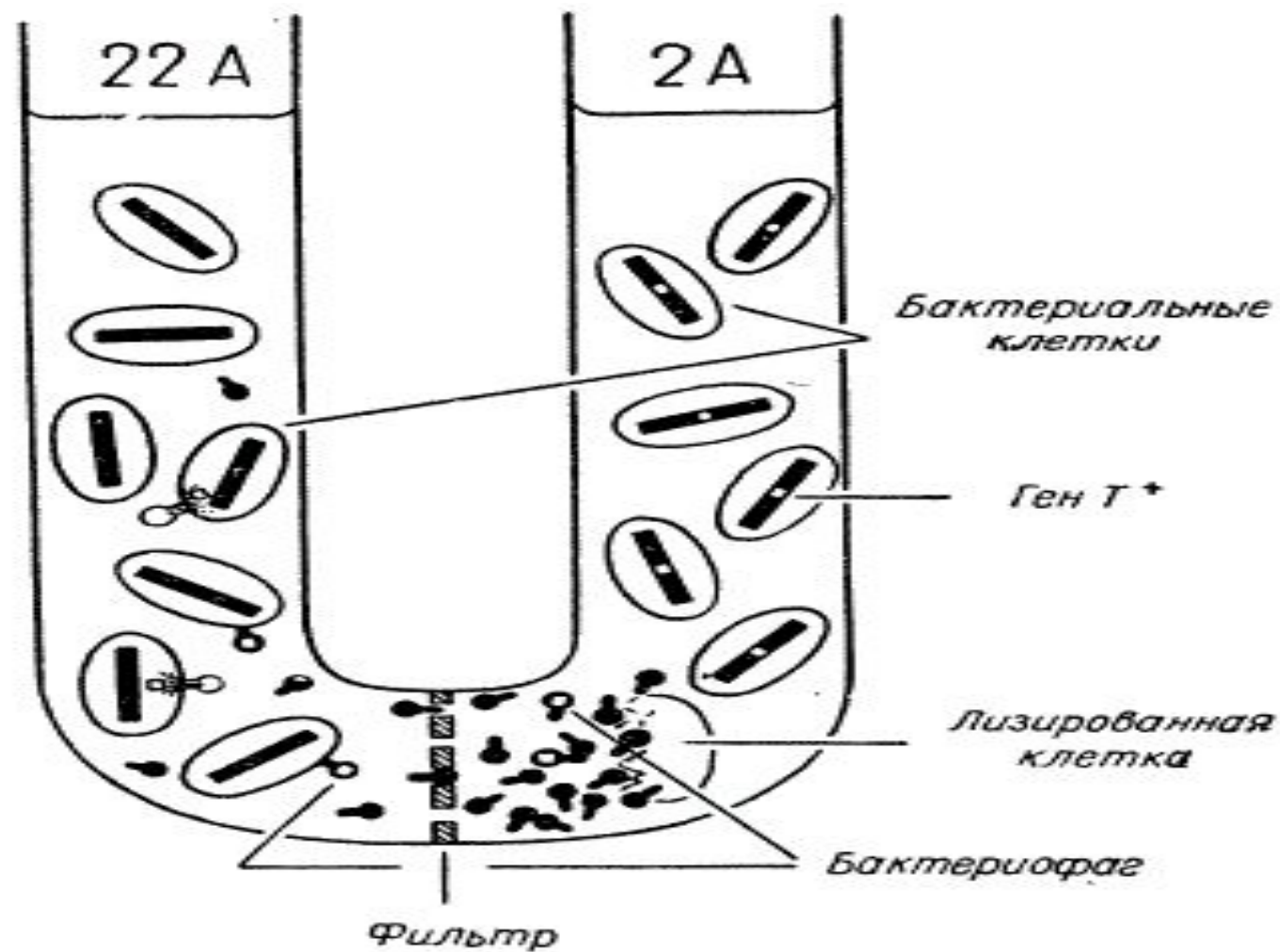
Мыши выжили



Вирулентный S штамм

Мыши погибли

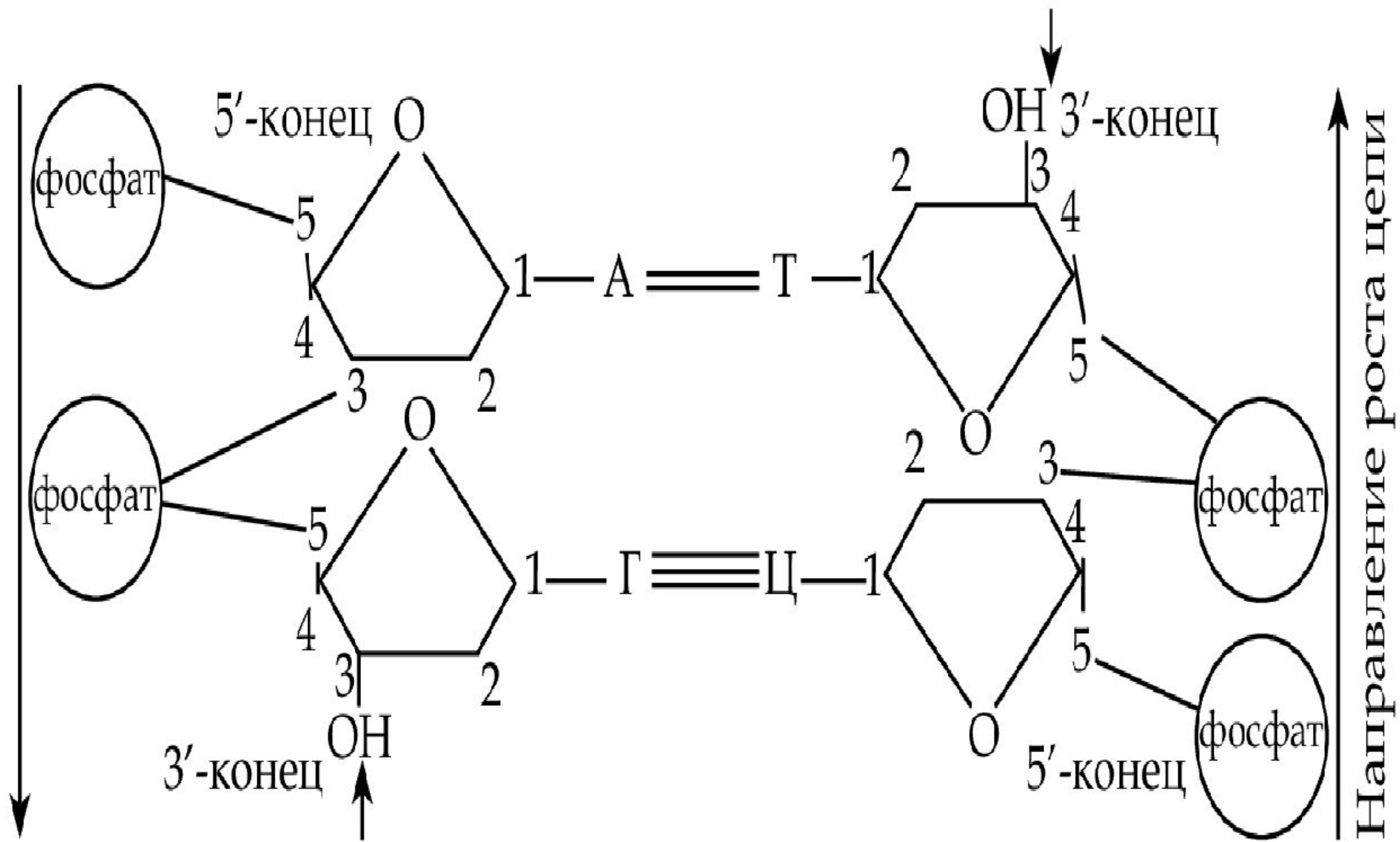
Трансдукция



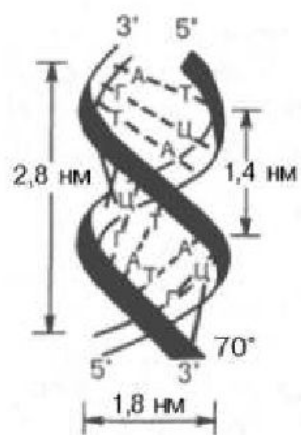
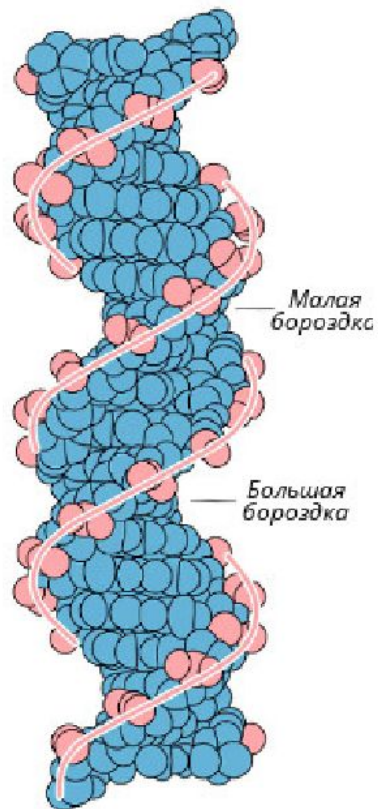
22A — штамм бактерий, не способный синтезировать триптофан (T⁻); 2A — штамм бактерий, способный синтезировать триптофан (T⁺).

Строение ДНК

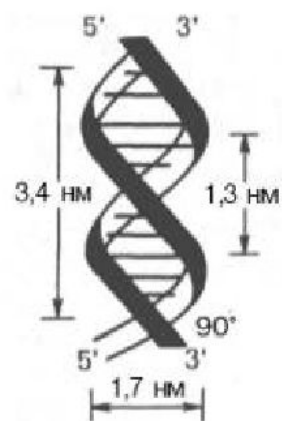
- Нуклеотиды одной цепи соединяются связями, возникающими между остатком фосфорной кислоты и углеводом через фосфат, причем углерод в положении 5 последующего нуклеотида соединяется с углеродом в положении 3 предыдущего.
- Фермент ДНК-полимераза присоединяет нуклеотиды только в одном направлении, а именно: 2-й — к 1-му, 3-й — ко 2-му. Таким образом, удлинение (рост) цепи идет всегда в одном направлении от 5' → 3', начало цепи обозначается как 5'-конец, а окончание — 3'-конец (**5'-pApGpC...-3'**)
.
- В молекуле ДНК цепи антипараллельны, нуклеотиды противоположных цепей связаны между собой по правилу комплементарности (А–Т; Г–Ц).



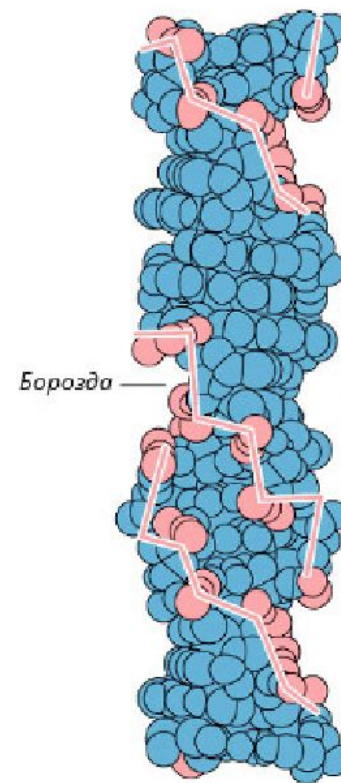
Двойная спираль ДНК



А-форма



В-форма



Z-форма ДНК

Комплементарность и правила Чаргаффа

- Комплементарность - это принцип взаимного соответствия парных нуклеотидов или способность нуклеотидов объединяться попарно
- Согласно правилам Эдвина Чаргаффа :
 1. Молярная доля пуринов равна молярной доле пиримидинов- $A+G=C+T$;
 2. Количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина $A+C=G+T$;
 3. Количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина равно количеству цитозина- $A = T$ и $G = C$;
 4. Существенным для характеристики вида (таксономическое значение) оказался так называемый коэффициент специфичности, отражающий отношение.

$$\frac{G + C}{A + T}$$

Функции ДНК

Молекула ДНК выполняет следующие функции:

- а) хранение генетической информации (информация зашифрована в структуре ДНК);
- б) передача генетической информации (первый этап биосинтеза белка – транскрипция);
- в) самовоспроизведение (репликация);
- г) восстановление своей структуры после повреждения (репарация).

РНК

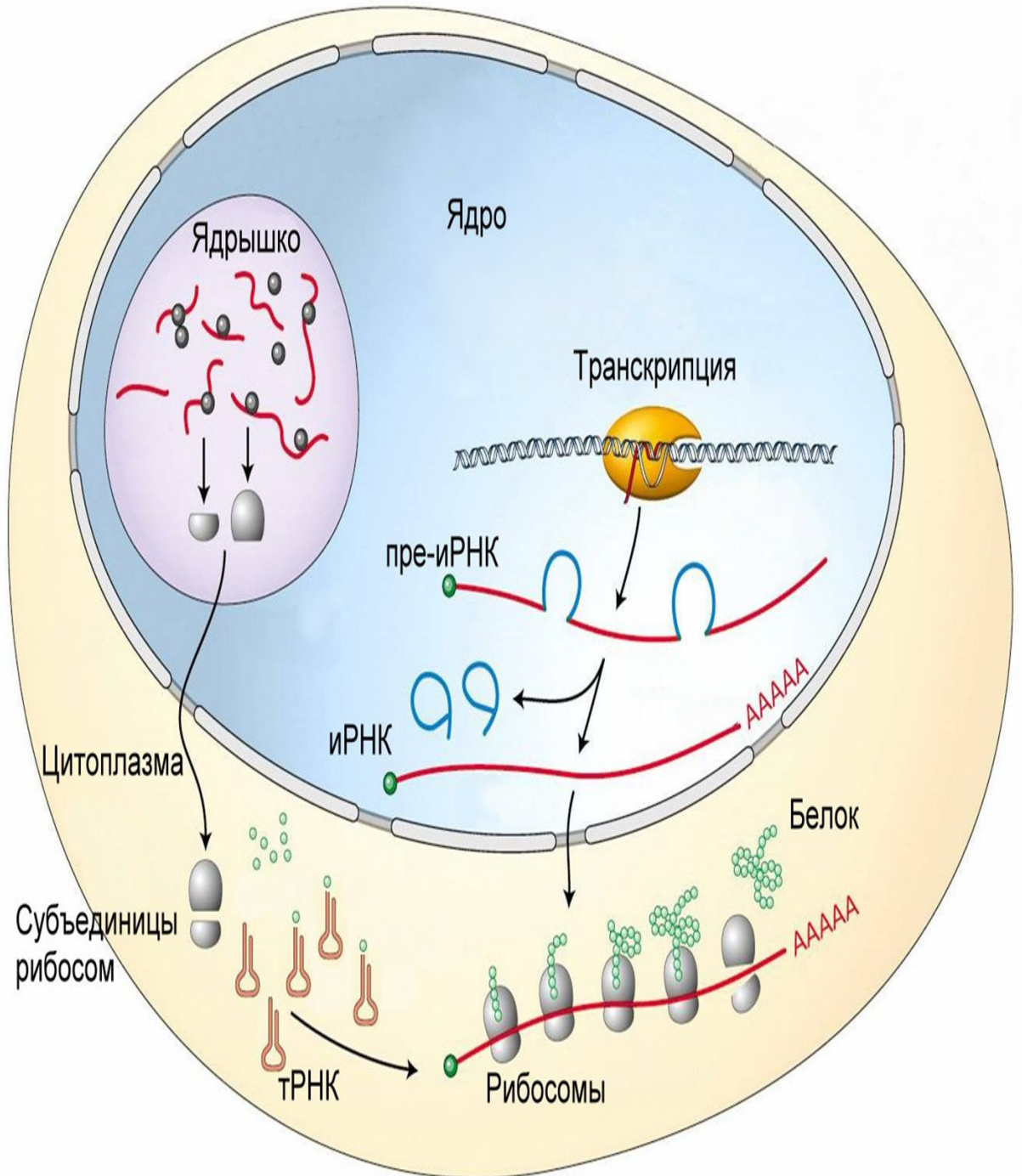
- Молекула РНК представляет собой неразветвленный полинуклеотид, который может иметь первичную структуру – последовательность нуклеотидов, вторичную – образование петель за счет спаривания комплементарных нуклеотидов, или третичную структуру – образование компактной структуры за счет взаимодействия спирализованных участков вторичной структуры.
- Водородные связи в молекуле РНК являются внутренними, а не межцепочечными соединениями комплементарных нуклеотидов.
- Цепи РНК значительно короче цепей ДНК.
- Информация о структуре молекулы РНК заложена в молекулах ДНК. Синтез молекул РНК происходит на матрице ДНК с участием ферментов РНК-полимераз и называется транскрипцией.
- Если содержание ДНК в клетке относительно постоянно, то содержание РНК сильно колеблется. Наибольшее количество РНК в клетках наблюдается во время синтеза белка.

Виды РНК

▶ Существует три основных класса рибонуклеиновых кислот:

1. Информационные (матричные) РНК — иРНК (5%);
2. транспортные РНК — тРНК (10%);
3. рибосомальные РНК — рРНК (85%).

▶ Все виды РНК обеспечивают биосинтез белка.



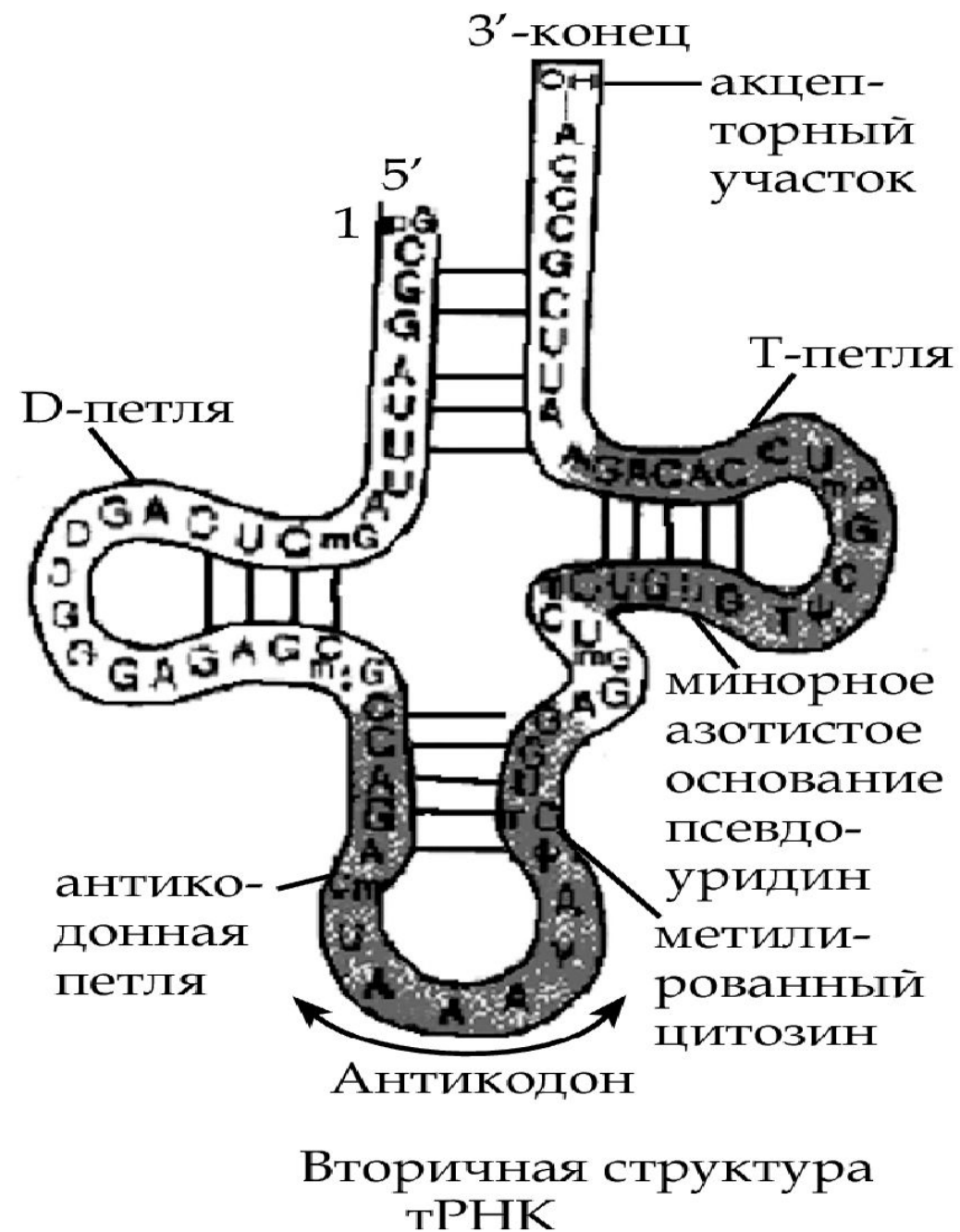
Информационная РНК.

- Наиболее разнообразный по размерам и стабильности класс. Все они являются переносчиками генетической информации из ядра в цитоплазму. Они служат матрицей для синтеза молекулы белка, т.к. определяют аминокислотную последовательность первичной структуры белковой молекулы. Размеры – в зависимости от размеров белка – до 30 000 нуклеотидов.
- На долю иРНК приходится до 5% от общего содержания РНК в клетке.

тРНК

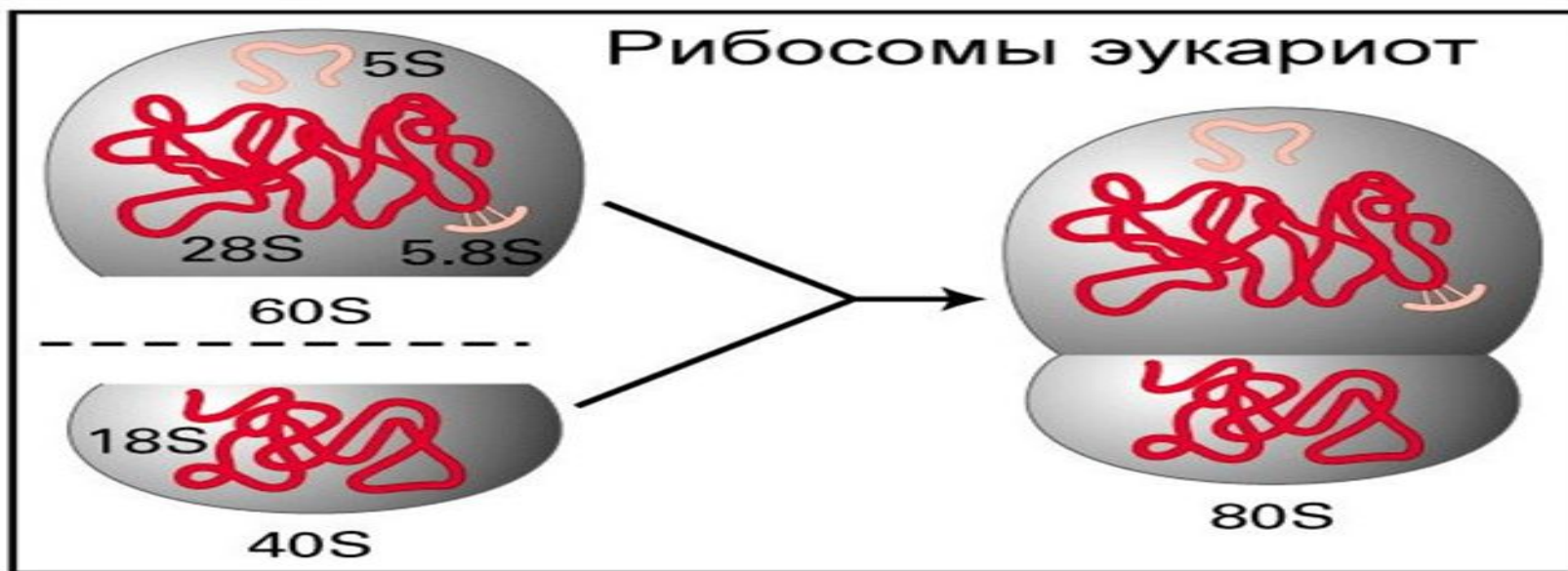
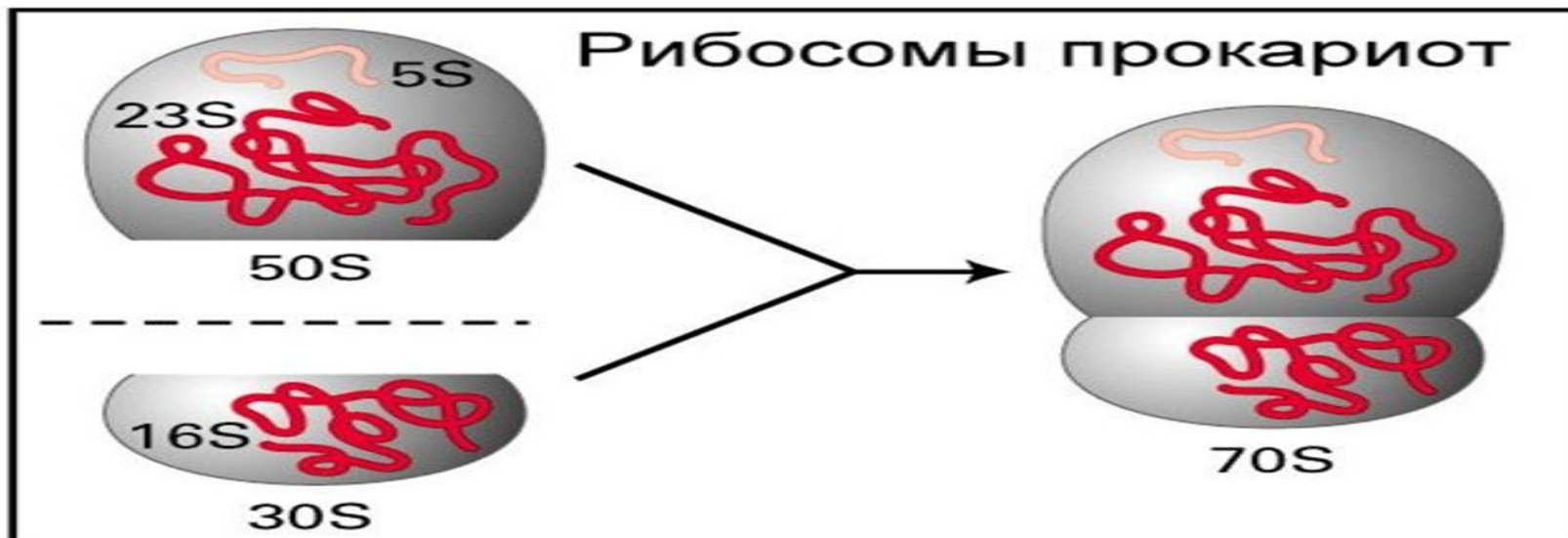
- Молекулы тРНК— сравнительно короткие молекулы, состоящие из 71–94 нуклеотидов.
- тРНК приходится до 10% от общего содержания РНК в клетке.
- Функции: они доставляют аминокислоты к месту синтеза белка, в рибосомы;
- В клетке содержится более 30 видов тРНК. Каждый вид тРНК имеет характерную только для него последовательность нуклеотидов.

- ▶ В состав тРНК входят несколько необычных азотистых оснований (минорных): инозин (Y), псевдоуридин (Ψ), дигидроуридин (D); часто встречаются метилированные обычные азотистые основания.
- ▶ Внутримолекулярные комплементарные связи приводят к образованию конфигурации молекулы «клеверный лист». Сдвоенные участки — ветви (стебли), а одноцепочечные участки — петли.
- ▶ Таким образом, формируются 4 ветви и 3 петли. Ветви: акцепторная, D (включает основание D), антикодонная, T (включает псевдоуридин). Петли: D, T и антикодонная.



Рибосомы

- В состав субъединиц рибосом входят разнообразные рРНК, различающиеся по константе седиментации (единица Сведберга — S). Так, в состав малой субъединицы у прокариот входит рРНК 16S, а у эукариот — рРНК 18S, а в состав большой субъединицы у прокариот входят рРНК 5S и 23S, а у эукариот 5S, 5,8S и 28S. Кроме того, в состав рибосом входят разнообразные белки (у прокариот — более 50 уникальных молекул, у эукариот — более 70).
- На долю рибосомальной РНК (рРНК) приходится 80-85% от общего содержания РНК в клетке, состоят из 3 000 – 5 000 нуклеотидов.
- Набор рРНК и белков определяет константу седиментации (S) малой и большой субъединиц рибосом (у прокариот 30S и 50S, у эукариот 40S и 60S) и общую константу седиментации (S) рибосом (у прокариот 70S, у эукариот 80S).



Репликация

- Самовоспроизведение ДНК (процесс, приводящий к удвоению молекул ДНК), называется репликацией.
- Репликация необходима перед делением клетки, чтобы каждая дочерняя клетка обладала таким же объемом информации, как и материнская. Репликация — реакция матричного синтеза, матрицей является материнская ДНК, процесс протекает по правилу комплементарности, поэтому дочерние молекулы идентичны материнской. В каждой новой молекуле одна цепь — старая (материнская), которая служила матрицей, а вторая — вновь синтезированная, дочерняя (полуконсервативный способ).
- Таким образом, биологическое значение репликации ДНК — структурная и функциональная преемственность клеток (сохранение специфичности клеток) при воспроизведении себе подобных.

- Участок молекулы ДНК, на котором идет репликация, называется репликон. У прокариот репликон один, а у эукариот на одной молекуле ДНК может быть несколько репликонов. В области репликона цепи разъединены; участки, ограничивающие репликон— репликативные вилки.
- Процесс репликации идет по-разному на противоположных цепях, а также вправо и влево от точки инициации на одной цепи. Это определяется несколькими моментами:
 1. Направление разъединения цепей одно для обеих цепей.
 2. Цепи ДНК антипараллельны.
 3. Разъединение цепей идет в обе стороны от точки инициации (середины репликона).
 4. Фермент ДНК-полимераза работает только в одном направлении, соединяя нуклеотиды от 5-го положения последующего нуклеотида к 3-му предыдущего.
- Иногда в клетке проходит многократная репликация ДНК без последующего деления клетки и возникают «многонитчатые» гигантские хромосомы, содержащие сотни и тысячи молекул ДНК. Такие хромосомы называются политенными. Биологический смысл политении — резкое увеличение количества определенных генов и, как следствие, резкая интенсификация синтеза определенного белка.

- **Начинается процесс с разрыва водородных связей между азотистыми основаниями ДНК на участке, включающем около 300 пар нуклеотидов - это место называется точка инициации.** Так как разъединение цепей ДНК от точки инициации идет вправо и влево одновременно, цепи ДНК антипараллельны, а фермент ДНК-полимераза может работать только в одном направлении, то синтез дочерних цепей идет по-разному на разных участках одного репликаона. **Одна цепь - лидирующая, синтезируется непрерывно, а вторая - отстающая, синтезируется фрагментарно.**
- На цепи 3'-5' рядом с точкой инициации есть особая последовательность нуклеотидов - сайт инициации, на котором синтезируется небольшая молекула РНК (РНК-затравка). У РНК-затравки свободен 3' - конец, к которому присоединяется первый нуклеотид ДНК, к нему второй и т. д. В результате синтезируется лидирующая дочерняя цепь. На противоположной, антипараллельной цепи (5' - 3') сайта инициации нет и проходит время, пока в результате разрыва водородных связей обнаружится такой сайт;
- РНК-затравка синтезируется и от неё в сторону противоположную направлению разъединения ДНК синтезируется небольшой фрагмент дочерней цепи. После разъединения следующего участка молекулы ДНК, следующая молекула РНК-затравка находит свой сайт и синтезируется новый фрагмент дочерней цепи ДНК в направлении 5' -3' и т.д. Таким образом, эта цепь синтезируется небольшими фрагментами (фрагменты Оказаки) и отстаёт во времени.

- На другой половине репликона, где разъединение цепей ДНК идёт в другую сторону, также, в одном направлении дочерняя цепь синтезируется непрерывно, в другом - фрагментарно. Затем рестриктазы вырезают РНК-затравки (одну - из лидирующей цепи и от каждого фрагмента Оказаки на отстающей цепи), ДНК-полимераза достраивает молекулу ДНК на местах вырезанных РНК-затравок, а лигазы соединяют фрагменты в непрерывную цепь. В каждой новой молекуле ДНК одна цепь старая (материнская), а вторая - новая (дочерняя). Такой способ репликации называется полуконсервативным.

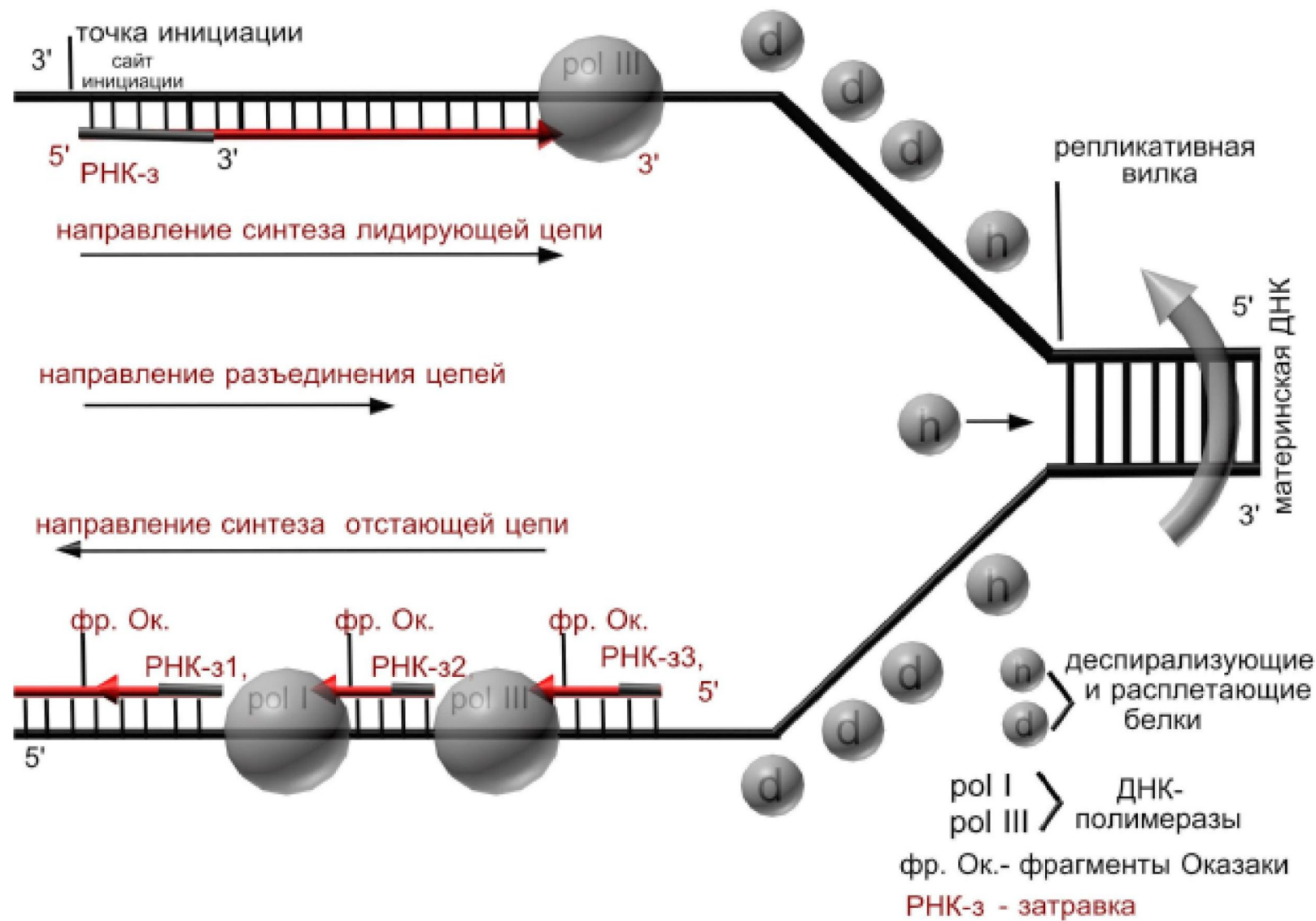


Схема репликации ДНК (половина репликона).

Повреждения ДНК

- Спонтанные повреждения ДНК:
 1. Ошибки репликации (появление некомplementарных пар нуклеотидов);
 2. Апуринизация (отщепление азотистых оснований из нуклеотида);
 3. Дезаминирование (отщепление аминогруппы).
- Индуцированные повреждения ДНК:
 1. Димеризация (сшивание соседних пиримидиновых оснований с образованием димера);
 2. Разрывы в ДНК: однонитевые и двунитевые;
 3. Поперечные сшивки между нитями ДНК.

Фоторепарация

1. Нормальная молекула ДНК



Облучение УФ-светом



2. Мутантная молекула ДНК – образование пиримидиновых димеров



Действие видимого света



3. Синтез фермента фотолиазы



4. Расщепление димеров пиримидиновых оснований



5. Восстановление нормальной структуры ДНК

Тиминный димер



↓
Фототиаза присоединяется
к району димера

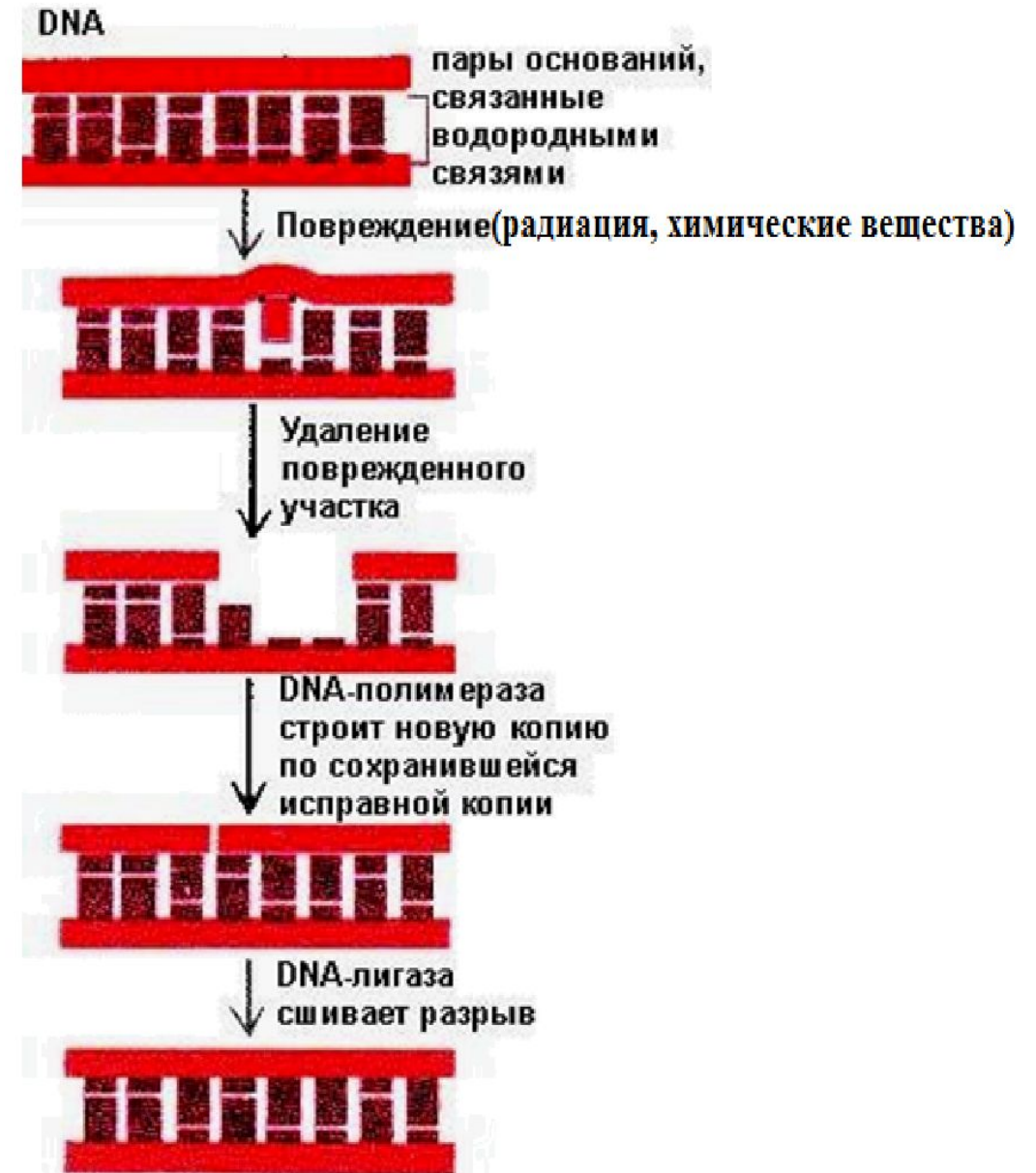


↓
Поглощение фотона позволяет
фототиазе расщепить димер



Эксцизионная репарация

- 1. Узнавание повреждения ДНК эндонуклеазой;
- 2. Инцизия (надрезание) цепи ДНК ферментом по обе стороны от повреждения;
- 3. Эксцизия (вырезание и удаление) повреждения при помощи геликазы;
- 4. Ресинтез: ДНК-Полимераза застраивает брешь
- 5. Лигаза соединяет концы ДНК;



Пострепликативная репарация ДНК

- Пострепликативная репарация осуществляется в тех случаях, когда повреждение доживает до фазы репликации (слишком много повреждений, или повреждение возникло непосредственно перед репликацией) или имеет такую природу, которая делает невозможным его исправление с помощью эксцизионной репарации (например, сшивка цепей ДНК).
- Эта система играет особенно важную роль у эукариот, обеспечивая возможность копирования даже с поврежденной матрицы (хотя и с увеличенным количеством ошибок). Одна из разновидностей этого типа репарации ДНК - рекомбинационная репарация.

