Лекция № 3

Размножение на клеточном уровне. Деление клеток

Профессор
Смирнов Сергей Николаевич

План лекции.

1. Организация клетки во времени. Клеточный цикл. Изменения клетки и их структуры во время митотического (клеточного) цикла (интерфазы и митоза).
2. Способы деления клетки.
3. Рост клетки. Факторы роста. Митотическая активность ткани. Нарушения митоза. соматические мутации.
4. Мейоз, его биологическое значение.
5. Жизнь клетки вне организма. Клонирование клеток.

1. **Организация клетки во времени. Клеточный цикл.**

В процессе жизнедеятельности клетка делится, дифференцируется, выполняет определенные функции, а затем гибнет. Все эти процессы организованы во времени и в пространстве.

Митотический цикл - это комплекс взаимосвязанных и детерминированных хронологических процессов, происходящих в клетке в период подготовки ее к делению и в период деления.

Митотический цикл разделяется на интерфазу и митоз. Во время интерфазы клетка имеет типичное строение. Присутствует клеточная оболочка, цитоплазма, ядро, имеющее типичное интерфазное строение.

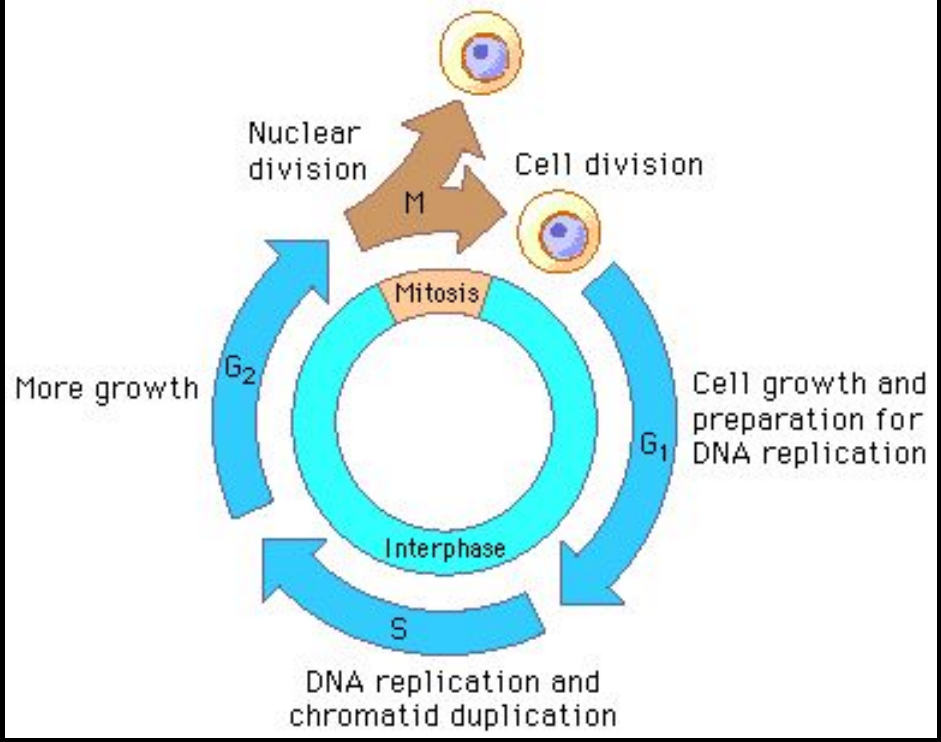
Интерфаза имеет G1-период (пресинтетический или постмитотический), S-период (синтетический) и G2-период (пресинтетический или постмитотический).

В G1-периоде происходят интенсивные синтетические процессы РНК, белков и некоторых других органических веществ. Генетическая характеристика клетки 2n2c, где n – число хромосом в гаплоидном наборе, c – количество наследственного материала (ДНК) в гаплоидном наборе.

Отличительная особенность S-периода - синтез ДНК. Генетическая характеристика клетки после завершения S-периода 2n4c.

В G2-периоде происходит накопление энергии, клетка готовится к митозу. Генетическая характеристика клетки 2n4c.

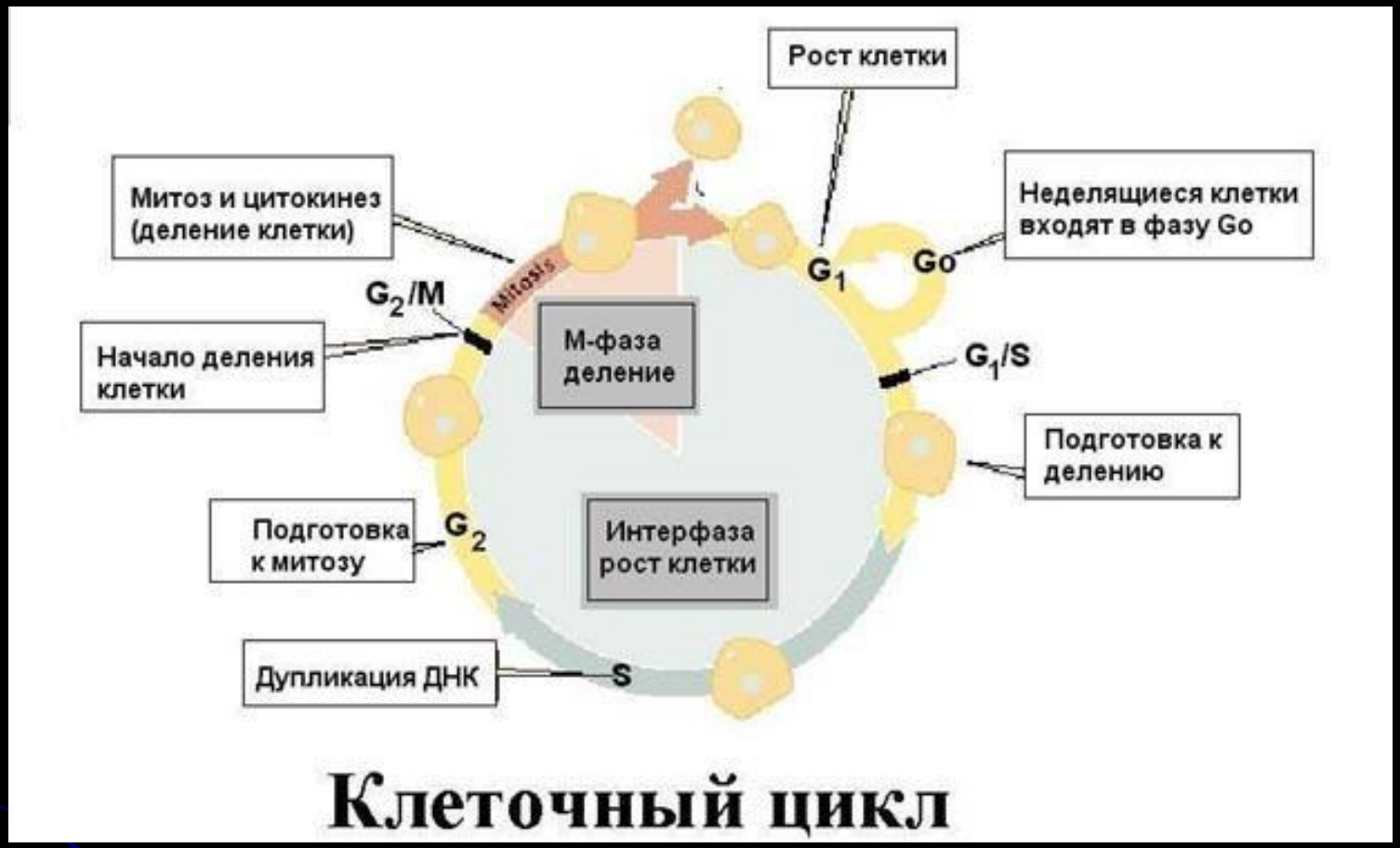
После завершения G2-периода наступает митоз, который состоит из четырех фаз, каждая из которых имеет собственные морфологические и физиологические признаки.



У взрослых млекопитающих и человека длительность фаз митотического цикла в разных тканях неодинакова. Митотический цикл может длиться до нескольких суток. Митоз обычно происходит в 0,5-4 часа. Фаза синтеза ДНК обычно длится не более суток. Продолжительность G1-периоде особенно вариабельна (от нескольких часов до нескольких суток). G2-период длится недолго (несколько часов).

На G1 и G2 стадиях митотического цикла клетки могут выходить из него в резервные популяции (в фазу покоя). Различают G0- и G2-покоящиеся популяции. В первую входят клетки, перешедшие в G1-периоде, во вторую - клетки, покинувшие митотический цикл G2-периоде. Иногда периоды покоя - G0 и G2 обозначают соответственно периодами R1 и R2.

Клетки резервных популяций вступают на путь дифференцировки и выполняют специализированные функции. Некоторые клетки при необходимости могут вернуться в митотический цикл.

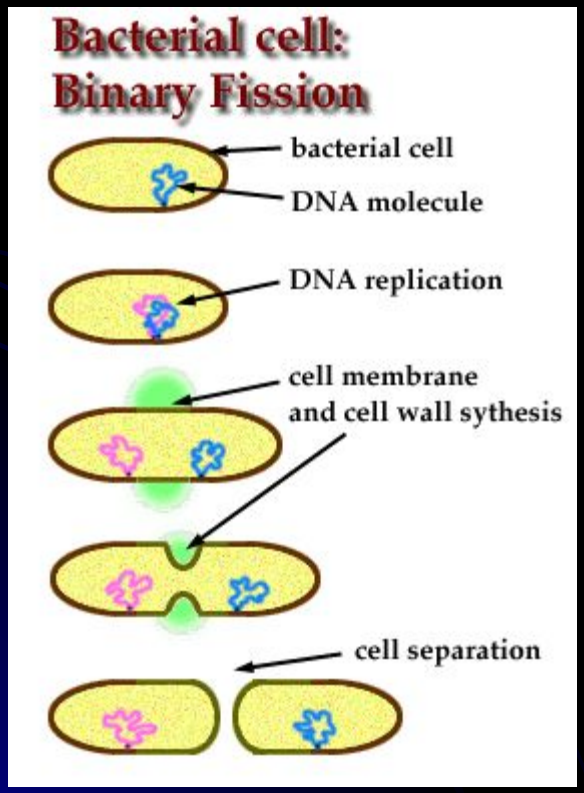


Клеточный цикл (жизненный цикл) – совокупность процессов, происходящих в клетке от одного деления до другого (включая деление клетки), или до гибели клетки.

2. Способы деления клетки.

Клеточное размножение - это процесс увеличения числа клеток.

Виды клеточного деления: у прокариот - бинарное деление, у эукариот – амитоз, митоз и мейоз.



Бинарное деление. Перед бинарным делением молекула ДНК бактерии удваивается. Деление происходит без образования веретена деления путем формирования перетяжки. Вокруг каждой из двух дочерних клеток образуется клеточная стенка.

Амитоз (прямое деление клетки), происходит в соматических клетках эукариот.

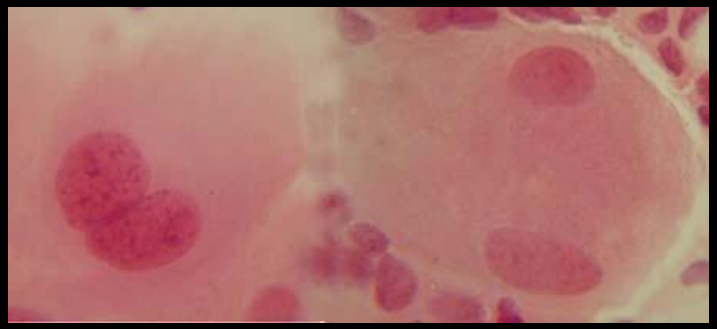
Впервые описан Р. Ремаком в 1841г., термин предложен В. Флеммингом в 1882г.

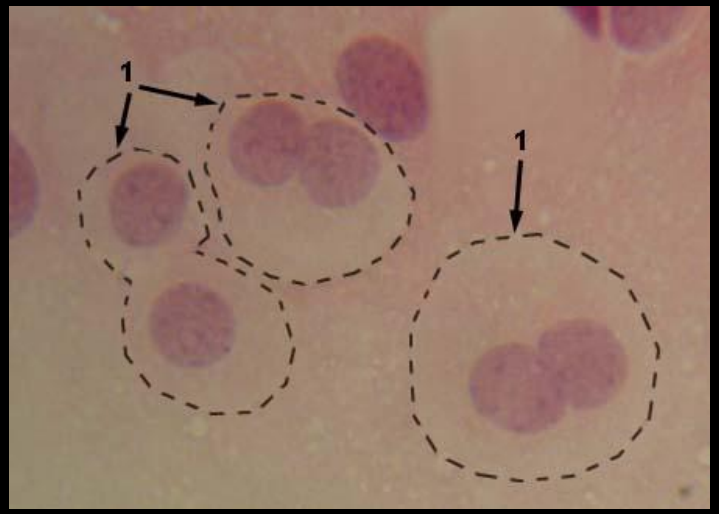
Происходит прямое деление интерфазного ядра путём перетяжки без образования хромосом, вне митотического цикла. Амитоз может сопровождаться делением клетки, а также ограничиваться делением ядра без разделения цитоплазмы, что ведёт к образованию дву- и многоядерных клеток.

Амитоз встречается в различных тканях: в специализированных и в обречённых на гибель клетках, особенно в клетках зародышевых оболочек, в стареющих или в патологически измененных клетках. Клетка, прошедшая амитоз, не способна вступить в митотический цикл.

Классификация амитоза.

Реактивный амитоз наступает в ответ на необычное раздражение.
Генеретивный амитоз - это амитоз после удвоения ДНК.
Дегенеретивный амитоз - это амитоз без предшествующег удвоения ДНК.





Амитоз. Окраска гематоксилином-эозином.

В настоящее время некоторые исследователи отрицают существование амитоза как вида деления клеток.

Митоз - непрямое деление соматических клеток, в результате которого образуются две клетки с диплоидным набором хромосом.

Митоз проходит в четыре фазы: профаза, метафаза, анафаза и телофаза. Собственно митоз, или кариокинез занимает первые три фазы. Четвертая фаза включает разделение цитоплазмы - цитокинез.

Биологический смысл митоза состоит в равномерном распределении наследственного материала между дочерними клетками и в увеличении числа клеток.

Равномерное распределение наследственного материала осуществляется благодаря двум механизмам: спиралазации хромосом под действием гистоновых белков и движению хромосом под действием нитей ахроматинового веретена деления. Основным компонентом этих нитей является сократительный белок тубулин.

Классификация видов митоза:

1) Нормальный митоз

1. Завершенный

2. Незавершенный

- эндомитоз
- политения

2) Патологический митоз

Классификация митоза по морфологическим особенностям.

1) Открытый митоз (ядерная оболочка разрушается, веретено деления прямое, поскольку продукты деления клеточного центра располагаются на противоположных полюсах ядра).

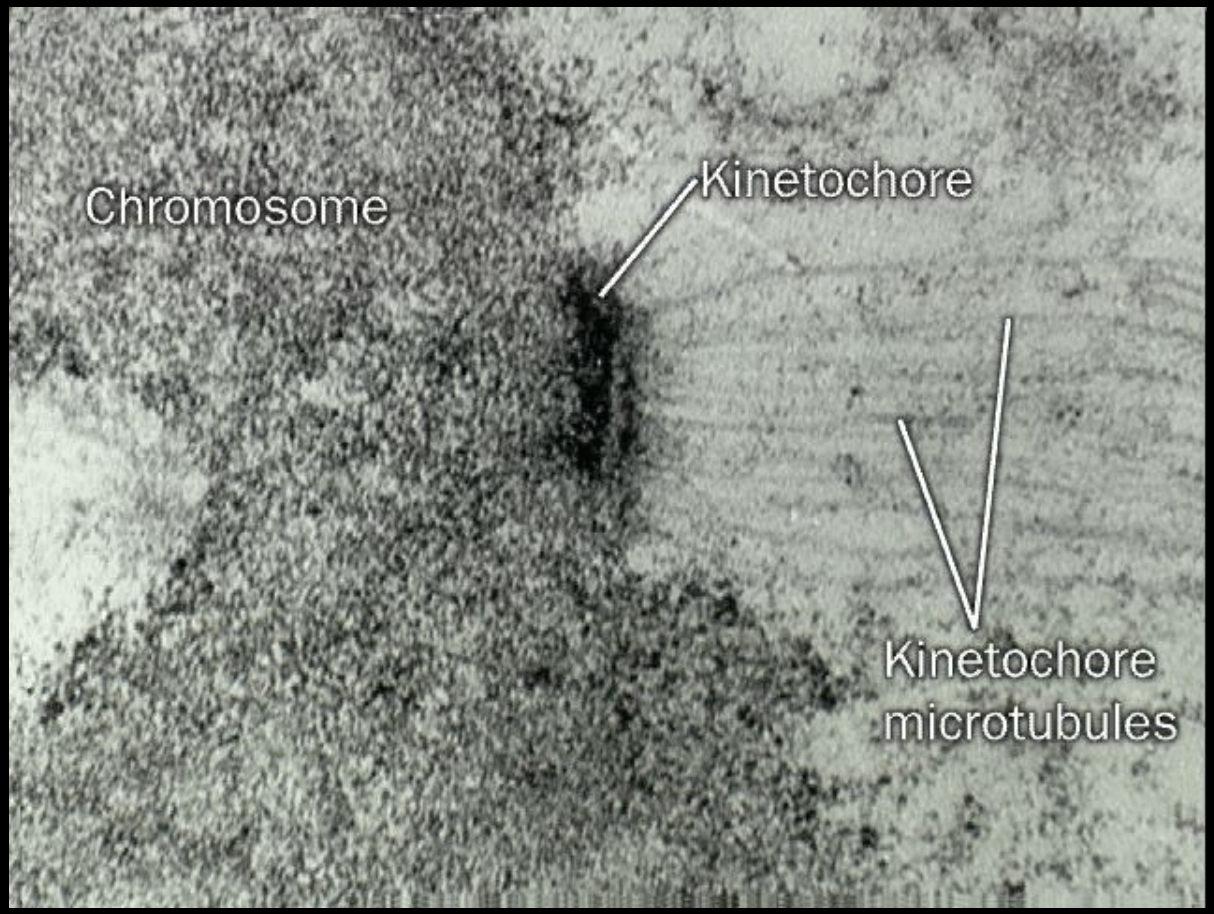
2) Плевромитоз (продукты деления клеточного центра в анафазе не достигают противоположных сторон ядра, микротрубочки веретена деления располагаются под углом, напоминая букву V).

3) Закрытый митоз (митоз происходит без разрушения ядерной оболочки).

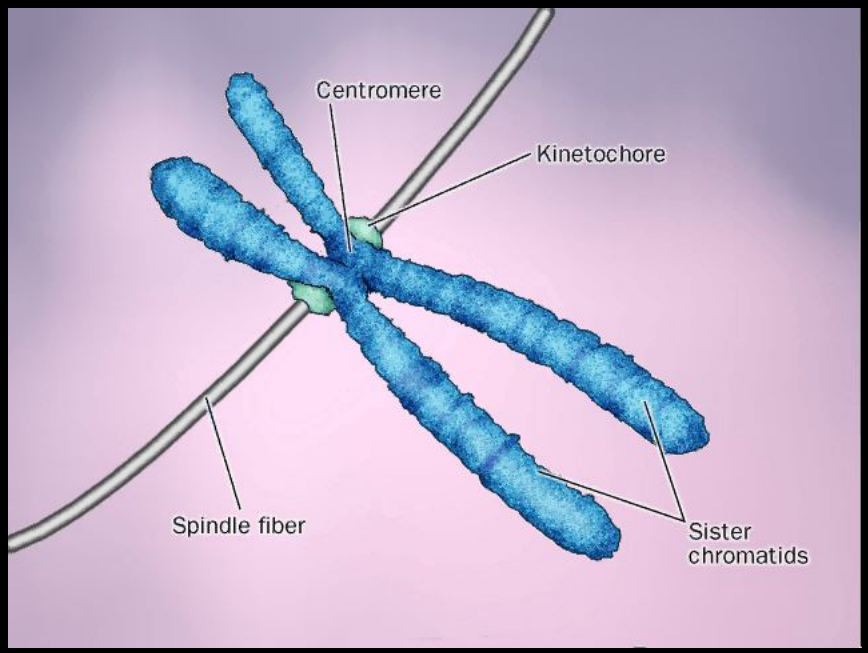
Завершенный митоз проходит в четыре фазы и заканчивается формированием двух диплоидных дочерних клеток.

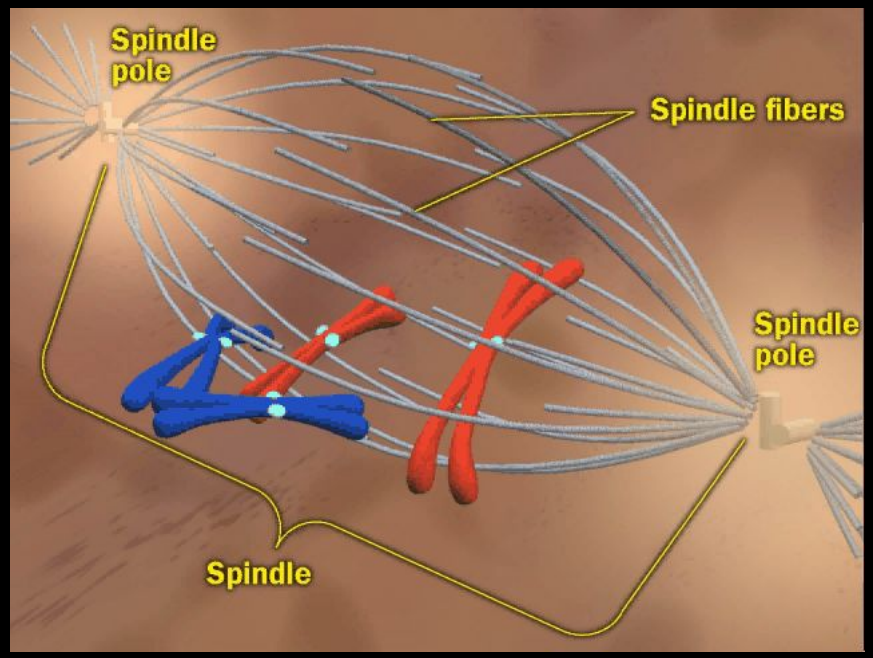
Профаза. Размеры ядра увеличиваются. Происходит конденсация хромосом. Формируется клеточный центр. Центриоли отходят к противоположным полюсам клетки. Между ними образуются нити ахроматинового веретена деления. Генетическая характеристика клетки на стадии профазы 2n4c.

Поздняя профаза (прометафаза) начинается с декомплексации ядерной оболочки. Ядрышки исчезают. Хромосомы (центромеры) вступают в контакт с микротрубочками веретена деления.



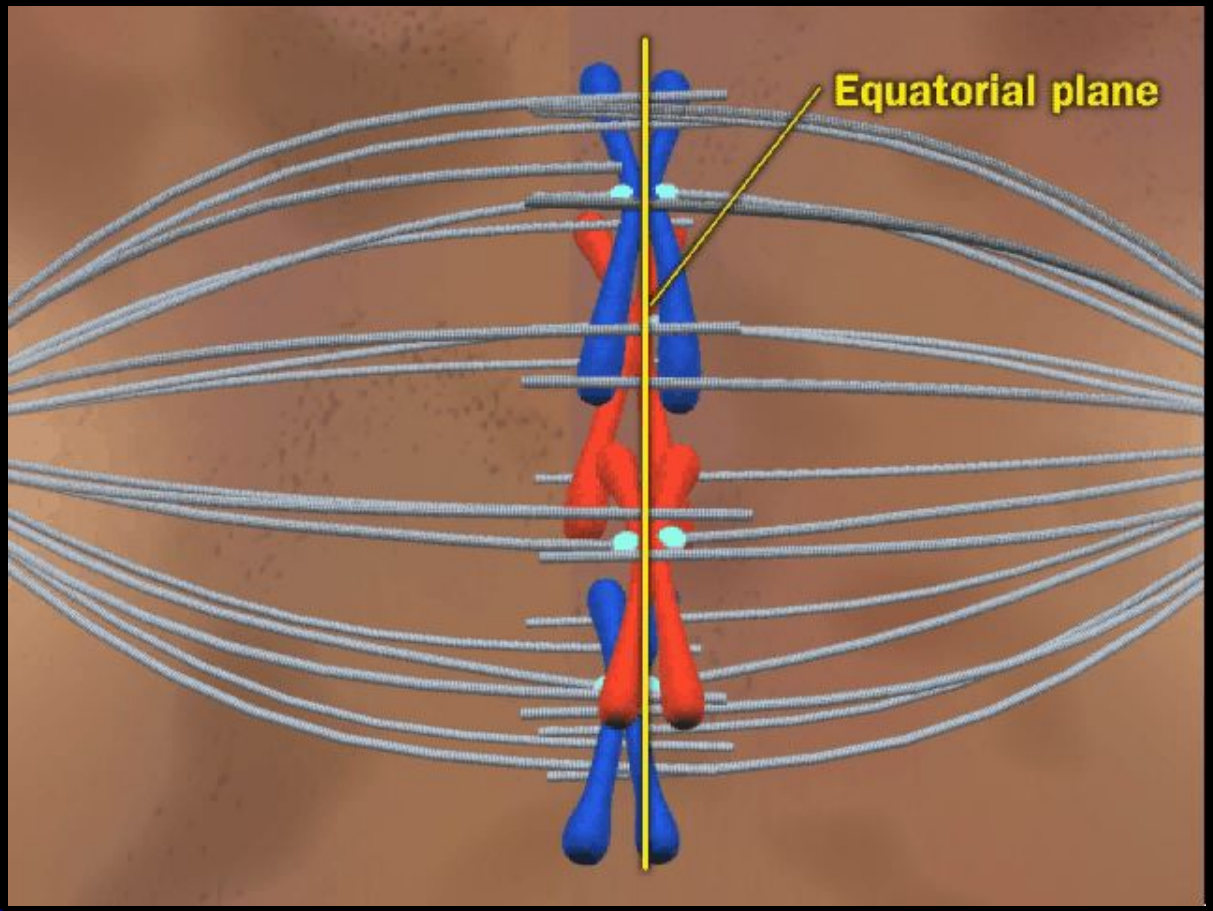
Прикрепление нитей веретена деления к кинетохору в области перетяжки хромосом. Электронограмма.



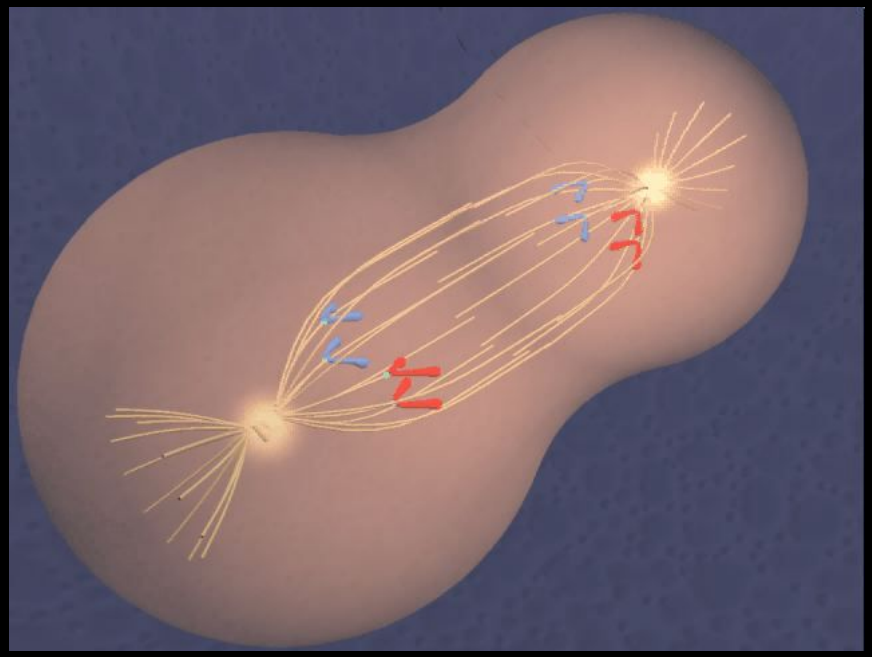


- Прикрепление нитей веретена деления к кинетохору в области перетяжки хромосом. Схема.

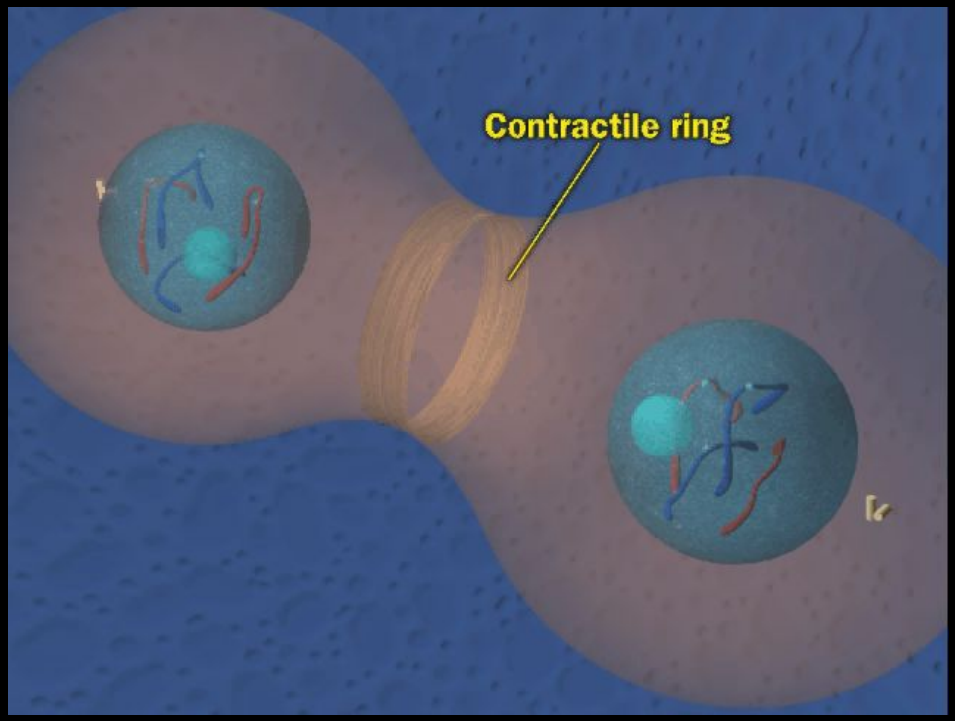
Поздняя профаза. Центриоли. Веретено деления. Хромосомы. Схема.



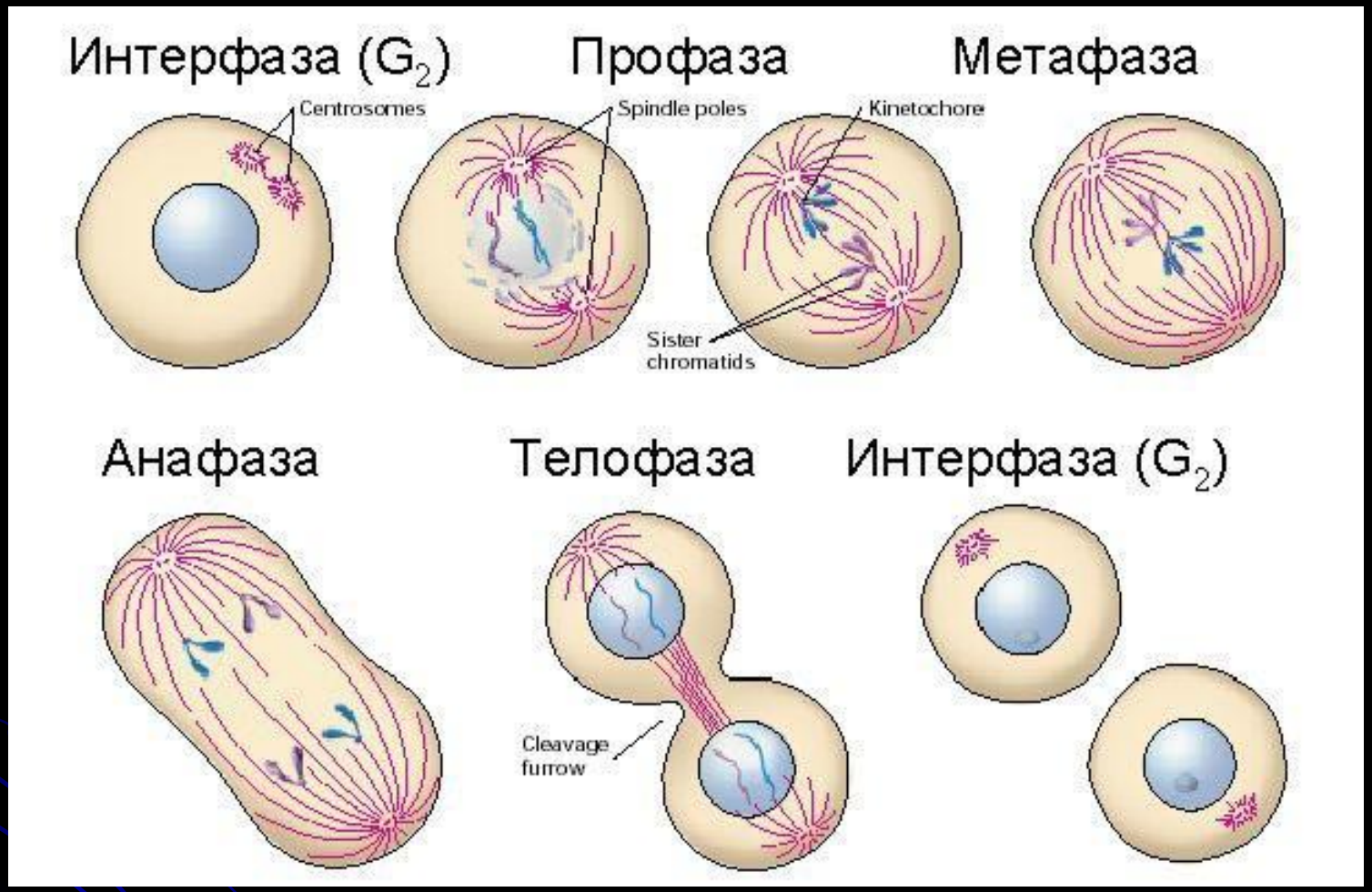
Метафаза. Хромосомы располагаются на «экваторе» (на равном расстоянии от «полюсов» ядра) в одной плоскости, образуя метафазную пластинку. Генетическая характеристика клетки на стадии метафазы 2n4c.



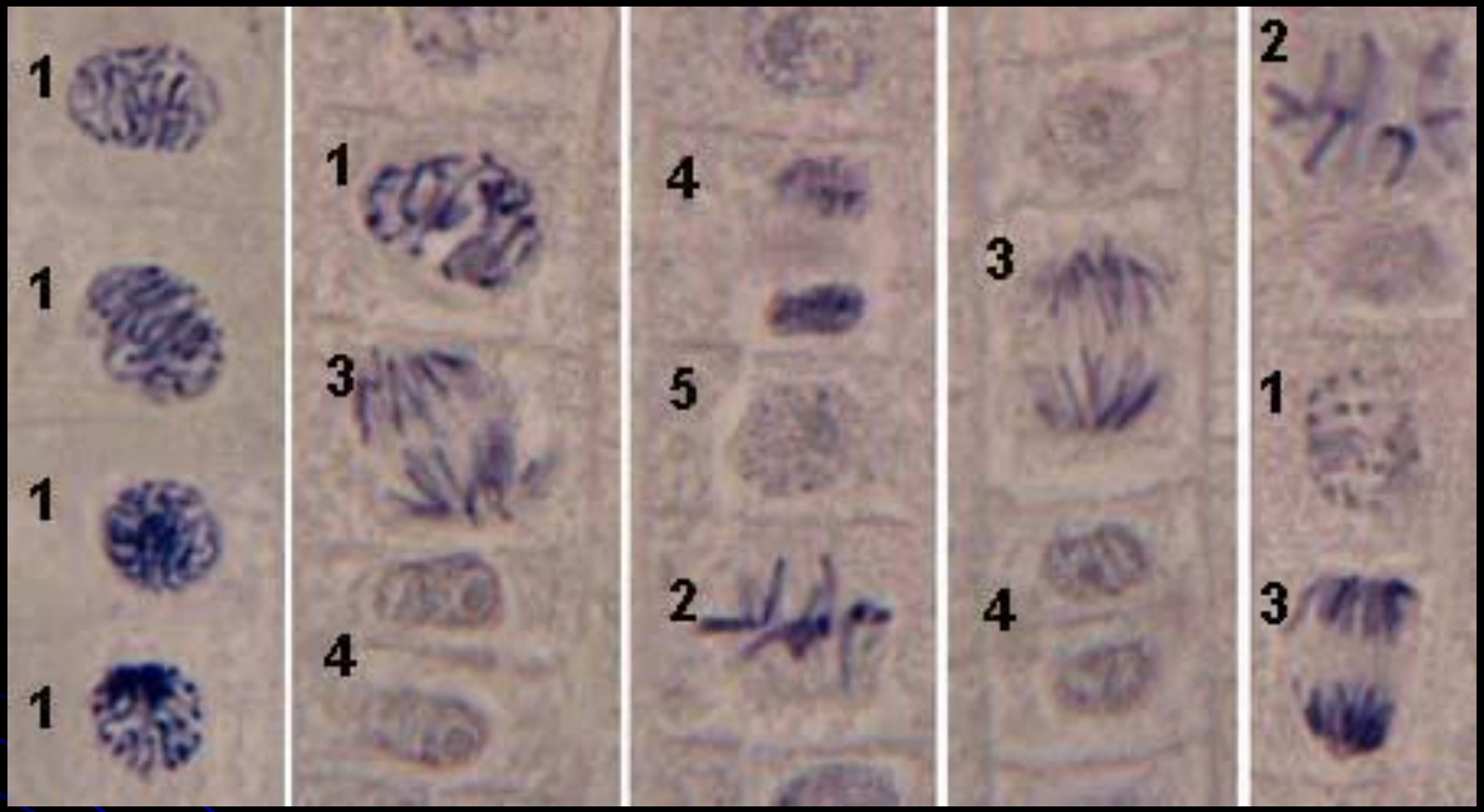
Анафаза. Происходит деление центромера, который объединял хроматиды. Центромеры расходятся и хроматиды отделяются друг от друга. С этого момента сестринские хроматиды называются сестринскими хромосомами и начинают расходиться к полюсам клетки. Генетическая характеристика клетки 2n4c. К каждому полюсу направляется 2n2c генетического материала.



Телофаза. Хромосомы располагаются у полюсов клетки. Появляется ядерная оболочка. Хромосомы деспирализуются, образуются ядрышки. Исчезает веретено деления. Идет образование двух дочерних клеток путем перетяжки. Получившиеся дочерние клетки генетически идентичны друг другу и материнской клетке. Генетическая характеристика клетки 2n2c.


Интерфаза (G_2)
Профаза
Метафаза
Centrosomes
Spindle poles
Kinetochore
Sister chromatids
Анафаза
Телофаза
Интерфаза (G_2)
Cleavage furrow

Митоз. Схема.



Митоз в клетках животных. Микрофото.
1 – профаза; 2 – метафаза; 3 – анафаза; 4 – телофаза; 5 – интерфаза (клетка не находится в митозе).

Политения - это незавершенный митоз, при котором из материнской клетки образуется единственная клетка, содержащая диплоидный набор хромосом, каждая из которых имеет двойной набор наследственного материала (политенные хромосомы).

Эндомитоз - это незавершенный митоз, при котором из материнской клетки образуется единственная клетка, содержащая удвоенный (тетраплоидный) набор хромосом.

Нарушения митоза (патологический митоз).

Патологический митоз (аномальный, атипический) - общее название форм митоза, при которых наблюдаются какие-либо отклонения от нормального процесса деления.

Формы патологического митоза.

Абортивный митоз - патологический митоз, в ходе которого хромосомы преждевременно деспирализуются.

Колхициновый митоз (К-митоз) - патологический митоз, характеризующийся остановкой в прометафазе вследствие дезорганизации митотического аппарата. Возникает при патологических процессах или в результате воздействия некоторых ядов (например колхицина).

Многополюсный митоз (мультиполярный, полицентрический) - патологический митоз, характеризующийся образованием нескольких полюсов и веретен деления, неравномерным распределением хромосом между дочерними клетками; обусловлен аномалией репродукции центриолей.

Моноцентрический митоз (однополюсный) - патологический митоз, обусловленный нарушением разделения центриолей с образованием только одного полюса, в результате чего хромосомы не расходятся, а формируют одно полиплоидное ядро.

Асинхронный митоз - патологический митоз, при котором разные ядра в многоядерной клетке начинают делиться неодновременно.

Результатом нарушения митоза являются некоторые формы соматических мутаций, связанные с изменением числа хромосом (геномные мутации). Эти мутации приводят к тому, что в части соматических клеток организма возникает измененный набор хромосом.

Размеры клеток одноклеточных и многоклеточных организмов ограничены. Поэтому рост организма, рост его отдельных органов осуществляется не столько за счет увеличения размеров клеток, увеличения количества межклеточного вещества, но и за счет увеличения количества клеток. Это увеличение достигается за счет митоза. В разных тканях клетки делятся с разной частотой и с разной скоростью, имеют разную митотическую активность.

Митотическая активность ткани – это соотношения количества митозов в определенной ткани к общему количеству клеток ткани. Большой митотической активностью отличаются эпителиальные ткани, малую митотической активность имеет нервная ткань млекопитающих.

Митотическая активность тканей не остается постоянной. Она изменяется во времени. Изменения митотической активности осуществляются благодаря действию регуляторных факторов на уровни клетки, ткани, организма.

Регуляция клеточного цикла.

Закономерная последовательность смены периодов клеточного цикла осуществляется при взаимодействии таких белков, как циклин-зависимые киназы и циклины. Клетки, находящиеся в G0 фазе могут вступать в клеточный цикл при действии на них гормонов роста.

Разные факторы роста, такие как тромбоцитарный, эпидермальный, фактор роста нервов связываясь со своими рецепторами запускают внутриклеточный сигнальный каскад, приводящий к транскрипции генов циклинов и циклин-зависимых киназ.

Контрольные точки клеточного цикла.

Для определения завершения каждой фазы клеточного цикла необходимо наличие в нем контрольных точек. Если клетка «проходит» контрольную точку то она продолжается «двигаться» по клеточному циклу.

Если обстоятельства, например повреждение ДНК, мешают клетке пройти через контрольную точку, то клетка останавливается и другой фазы клеточного цикла не наступает, пока не будут устранены препятствия, не позволявшие клетке пройти через контрольный пункт.

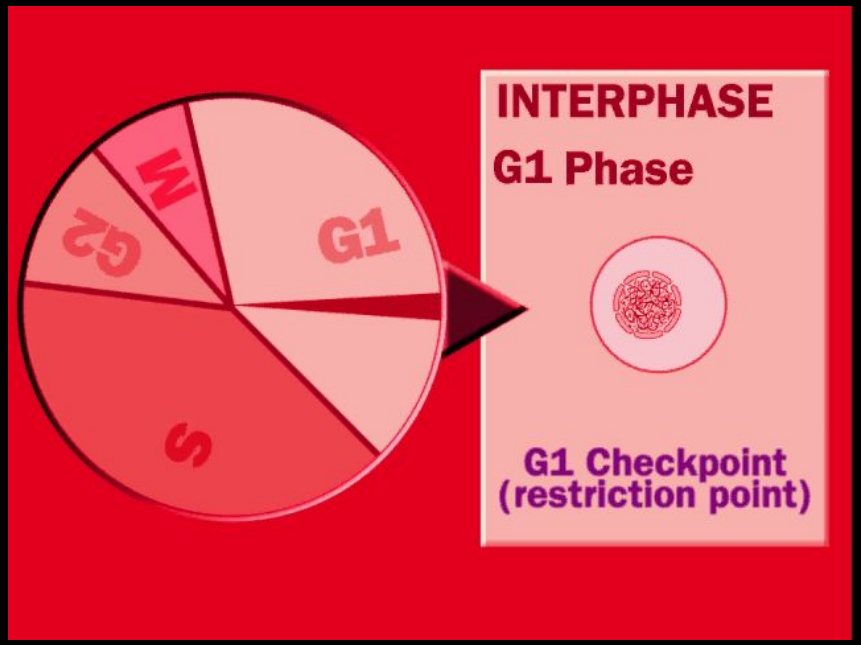
Существует как минимум четыре контрольных точки клеточного цикла:

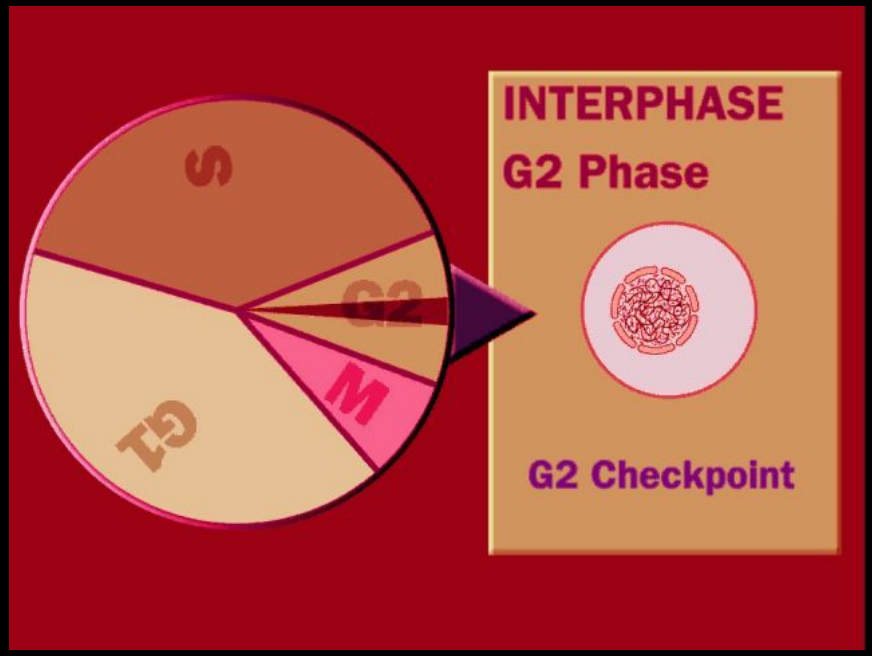
точка в G1 где проверяется интактность ДНК, перед вхождением в S-фазу,

сверочная точка в S-фазе, в которой проверяется правильность репликации ДНК,

сверочная точка в G2, в которой проверяются повреждения, пропущенные при прохождении предыдущих сверочных точек, либо полученные на последующих стадиях клеточного цикла. В G2 фазе детектируется полнота репликации ДНК и клетки, в которых ДНК недореплицирована, не входят в митоз.

сверочная точка в митозе. В контрольной точке сборки веретена деления проверяется, все ли кинетохоры прикреплены к микротрубочкам.





Пункт принятия решения в G1-фазе

Пункт принятия решения в G2-фазе

Регуляция клеточного деления осуществляется определенными группами генов. Известно, что переход клетки из G1-периода в фазу синтеза ДНК контролируется генами p53 и sdi1, в то время как переход из G2-фазы в митоз зависит от генов p53, p34cdc2.

Работа (экспрессия) данных генов зависит от влияния факторов регуляторных систем, принадлежащим к различным уровням организации многоклеточного организма.

Приведем примеры регуляторных факторов.

Внутриклеточные ядерные и цитоплазматические факторы.

Ядерные факторы.

Ядерный фактор NF-kappaB1. Недостаток вызывает блок митотического цикла в G1-фазе.

Факторы транскрипции семейства E2F. Изменяют экспрессию группы генов, управляющих переходом клетки из G1-фазы в S-период.

Цитоплазматические факторы.

Активатор S-фазы (запускает синтез ДНК).

MPF - стимулирующий митоз фактор (вызывает спирализацию хромосом).

ДНК-зависимый задерживающий митоз фактор (подавляет процессы, ведущие к выработке MPF).
Циклические нуклеотиды.

Межклеточные факторы тканевого и межтканевого уровня.

α-фетопротеин, простагландины, эритропоэтин, глиальные факторы роста, трансформирующий фактор роста, фактор роста тромбоцитов, фактор роста фибробластов, эпидермальный фактор роста, тканеспецифические ингибиторы клеточной пролиферации (кейлоны).

К регуляторным системам организменного уровня относят иммунную, эндокринную и нервную системы.

Известно, что лимфоидная ткань иммунной системы принимает участие в активизации пролиферации клеток нелимфоидного происхождения в условиях недостаточности массы тех или иных органов.

В качестве регуляторных агентов эндокринной системы выступают гормоны, в том числе инсулин, тиреодные, половые гормоны, гормоны гипофиза, надпочечников.

Влияние нервной системы состоит не в запуске или остановке работы клетки, а осуществляет тонкую приспособительную регуляцию клеточного деления.

Регуляторные эффекты факторов зависят от многих обстоятельств.

В регуляции клеточного деления (пролиферации) постоянно взаимодействуют различные позитивные и негативные факторы.

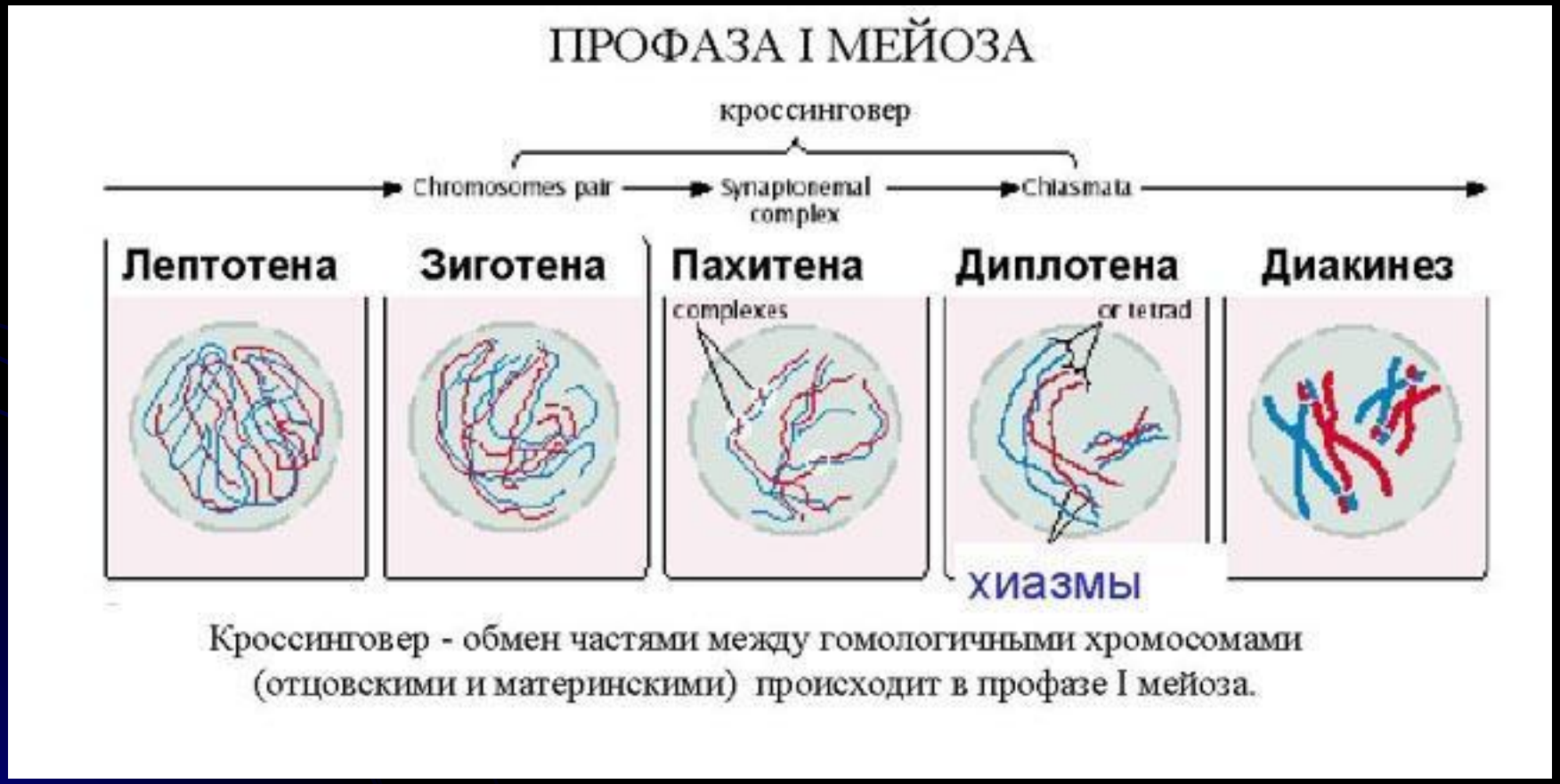
Контролирующие механизмы могут кооперироваться в хорошо сбалансированную систему.

4. Мейоз, его биологическое значение.

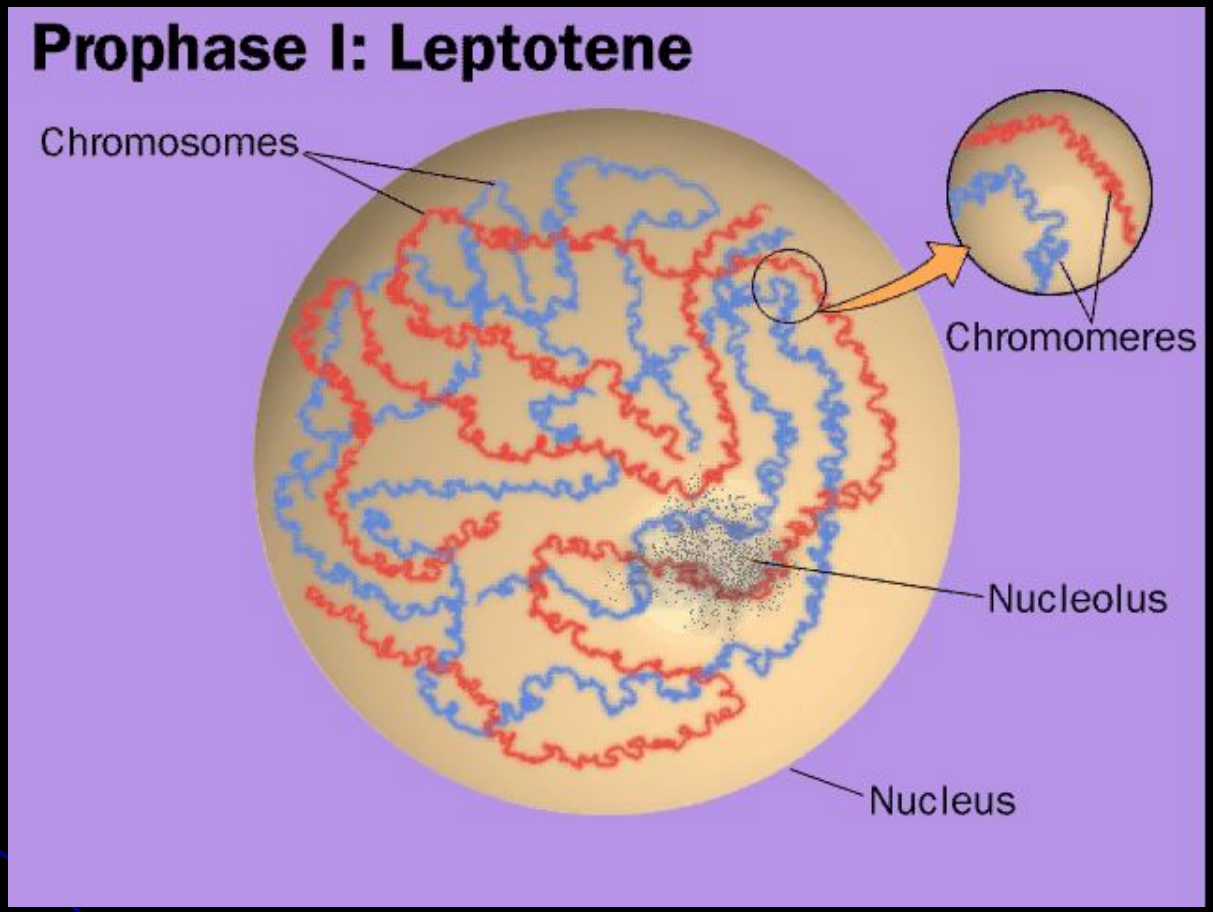
Мейоз - это непрямое, редукционное, сопровождающееся перекомбинацией наследственного материала (кроссинговером), деление предшественников половых клеток, в результате которого образуется четыре клетки с гаплоидным набором хромосом.

Мейоз происходит при гаметогенезе. Он протекает в два деления. Первое деление называют редукционным, второе - эквационным. Между этими делениями присутствует короткая интерфаза, в которой нет синтеза ДНК. Каждое деление имеет профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

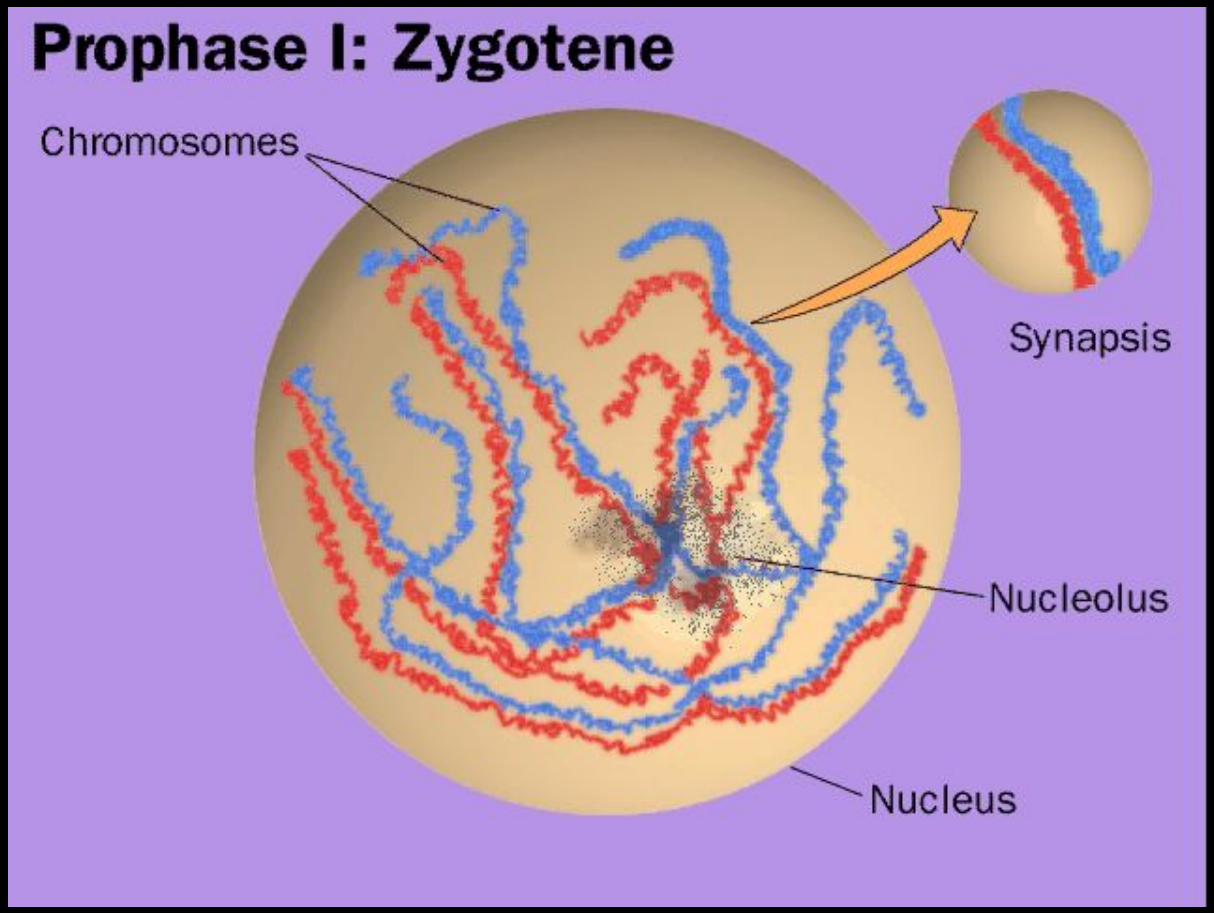
Профаза I — профаза первого деления очень сложная и состоит из 5 стадий.



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



Лептотена или лептонема - конденсация хромосом.



Зиготена или зигонема - конъюгация (соединение, синапсис) гомологичных хромосом с образованием структур, состоящих из двух соединённых хромосом, называемых тетрадами или бивалентами. В зиготене осуществляется дополнительный синтез ДНК (Z-ДНК).

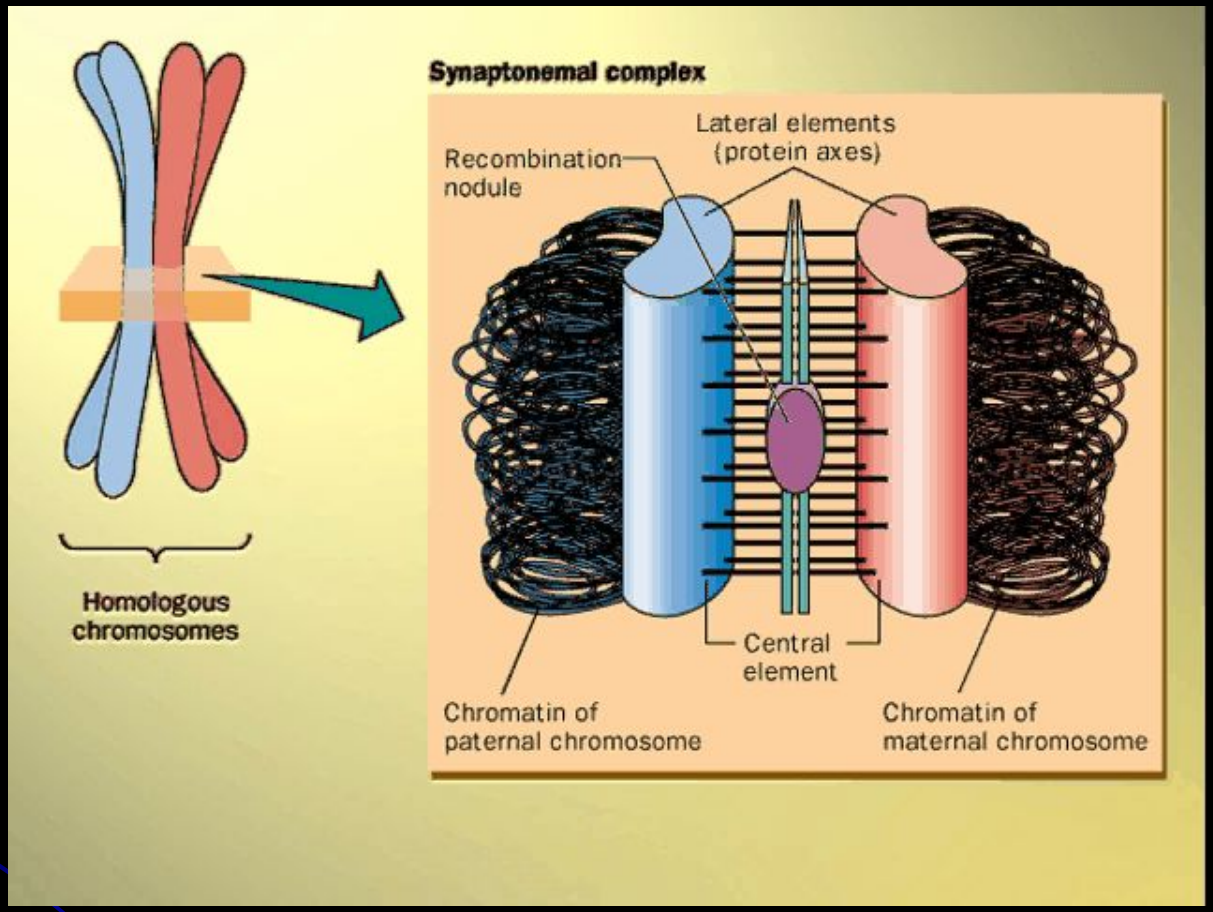
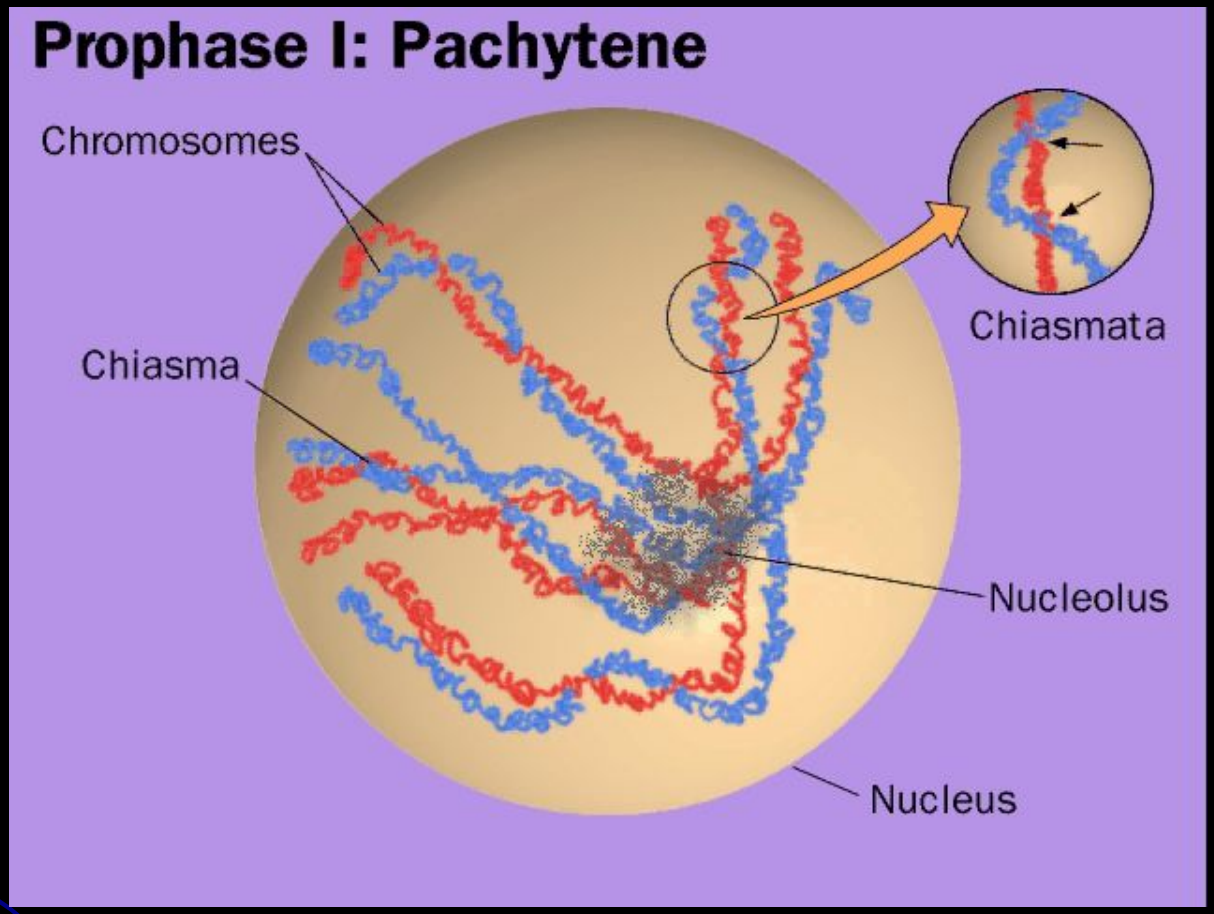


Схема образования тетрад (бивалент).



Пахитена или пахинема - кроссинговер, обмен участками между гомологичными хромосомами; гомологичные хромосомы остаются соединенными между собой.

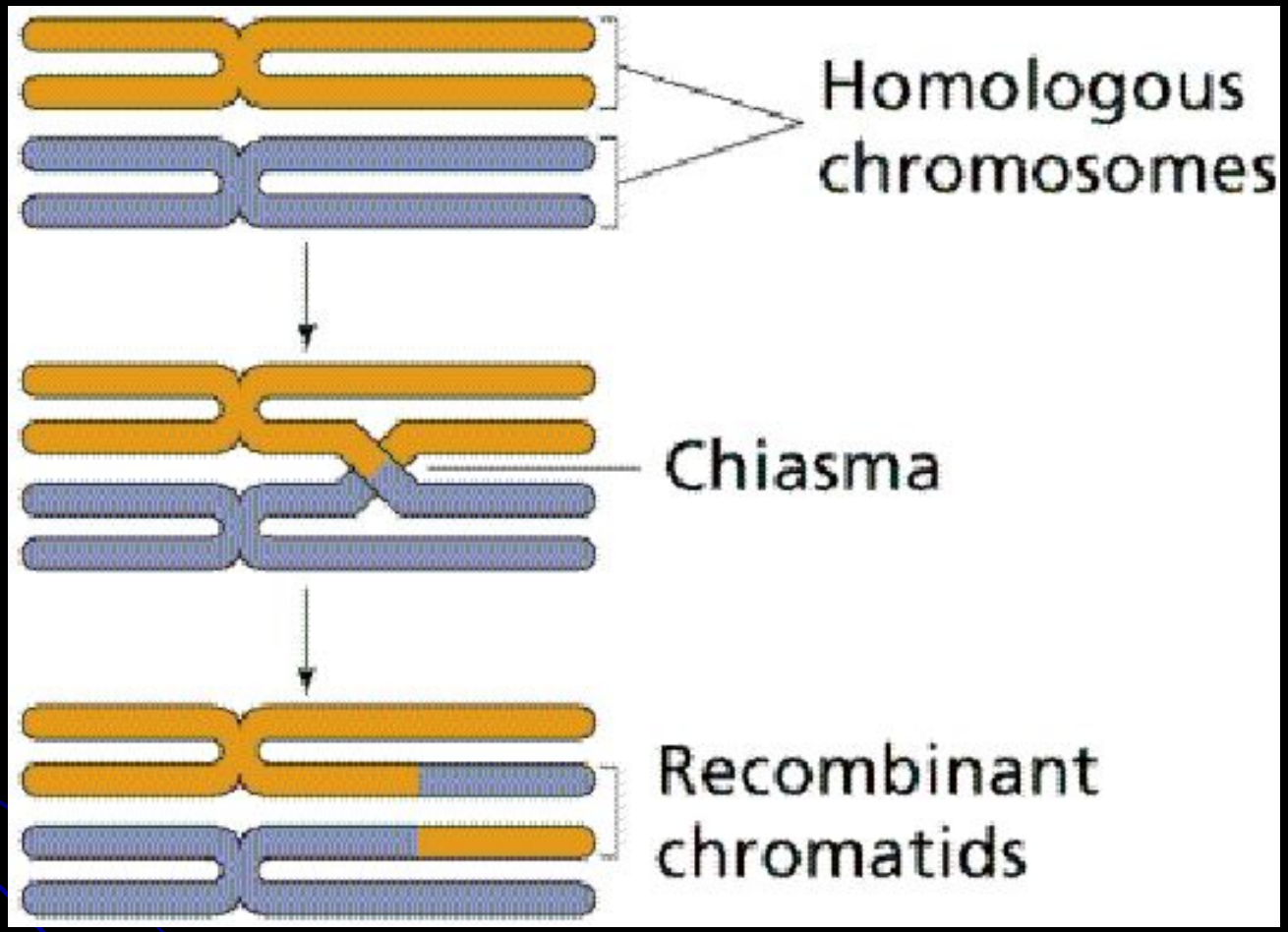
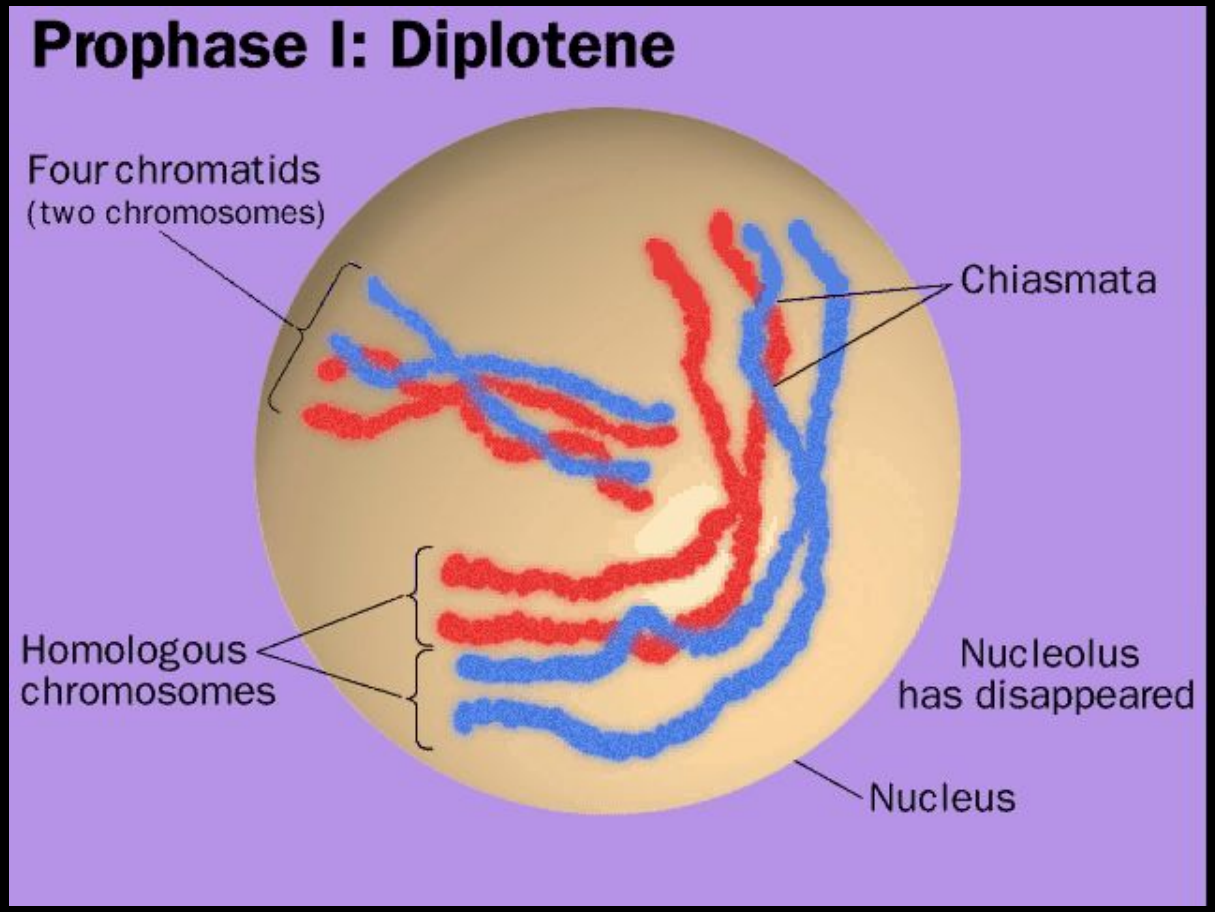
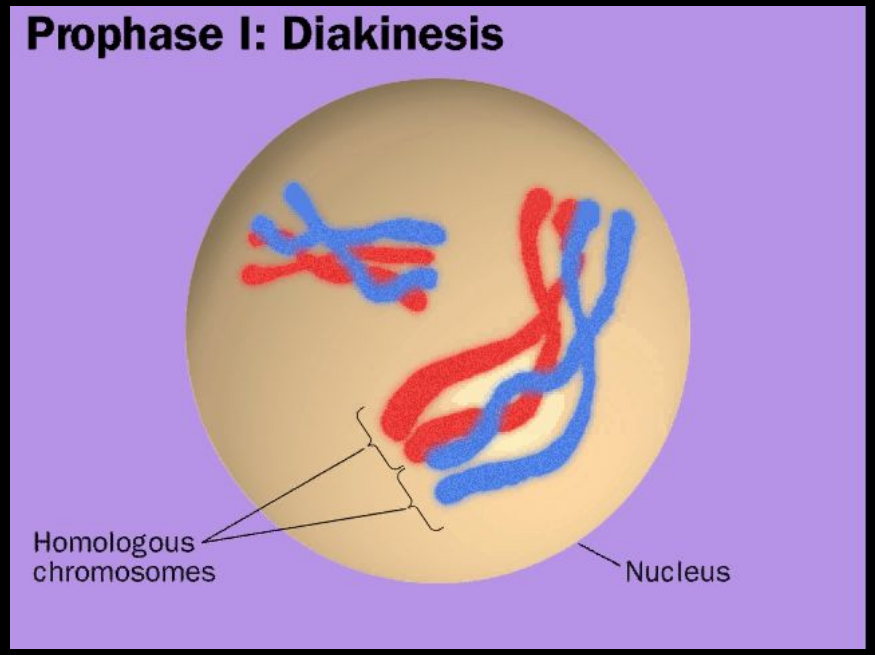


Схема кроссинговера.

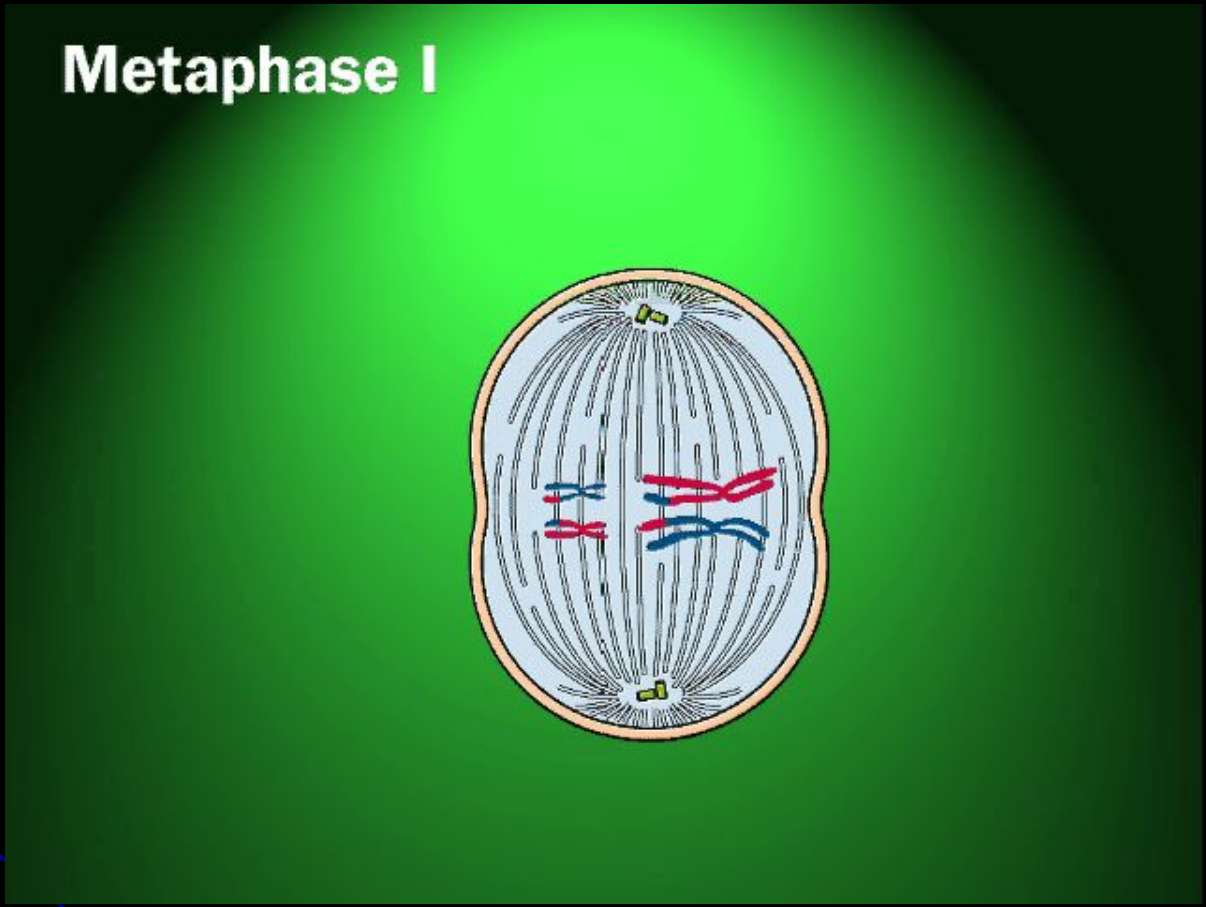


Диплотена или диплонема - происходит частичная деконденсация хромосом, происходят процессы транскрипции (образование РНК), трансляции (синтез белка); гомологичные хромосомы остаются соединёнными между собой.

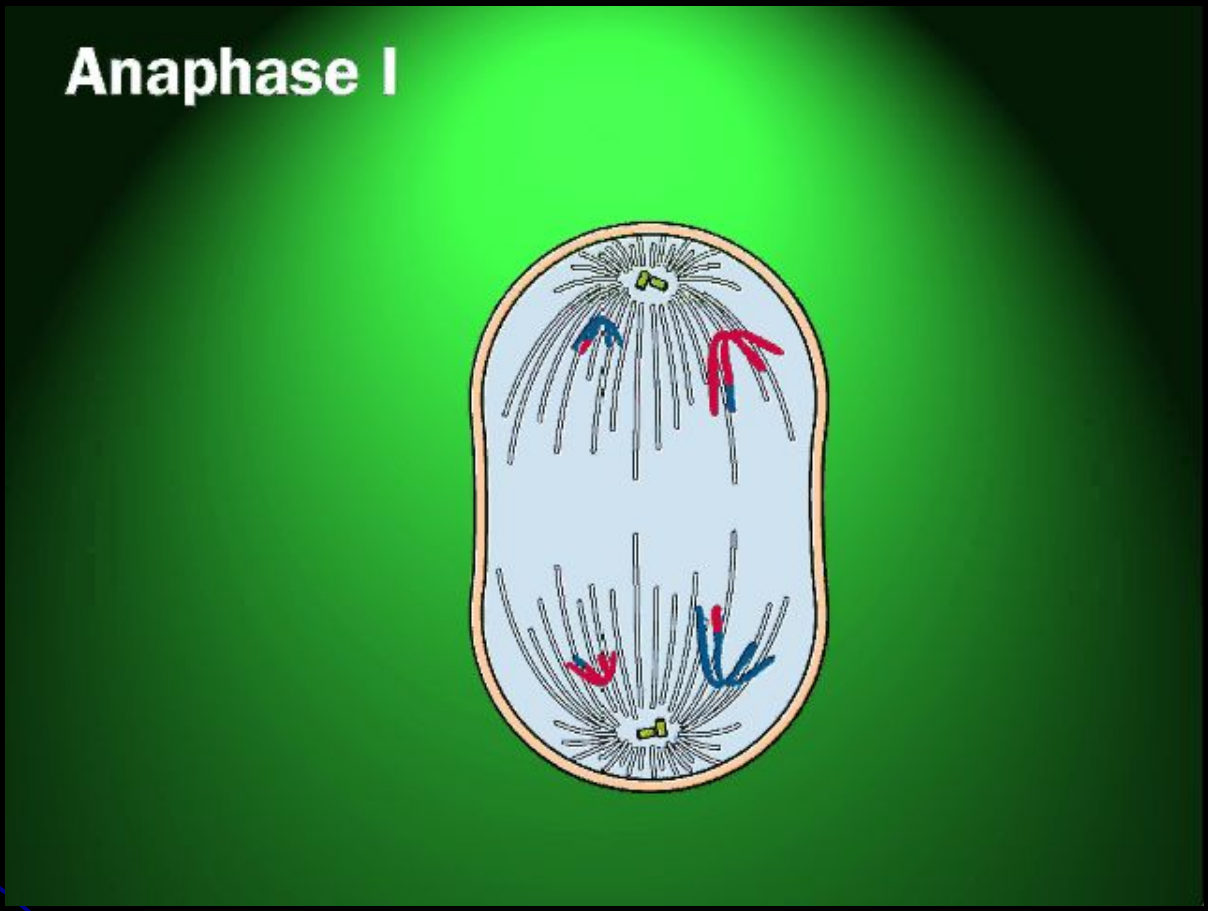


Диакинез - ДНК снова максимально конденсируется, синтетические процессы прекращаются, растворяется ядерная оболочка; центриоли расходятся к полюсам; гомологичные хромосомы остаются соединёнными между собой.

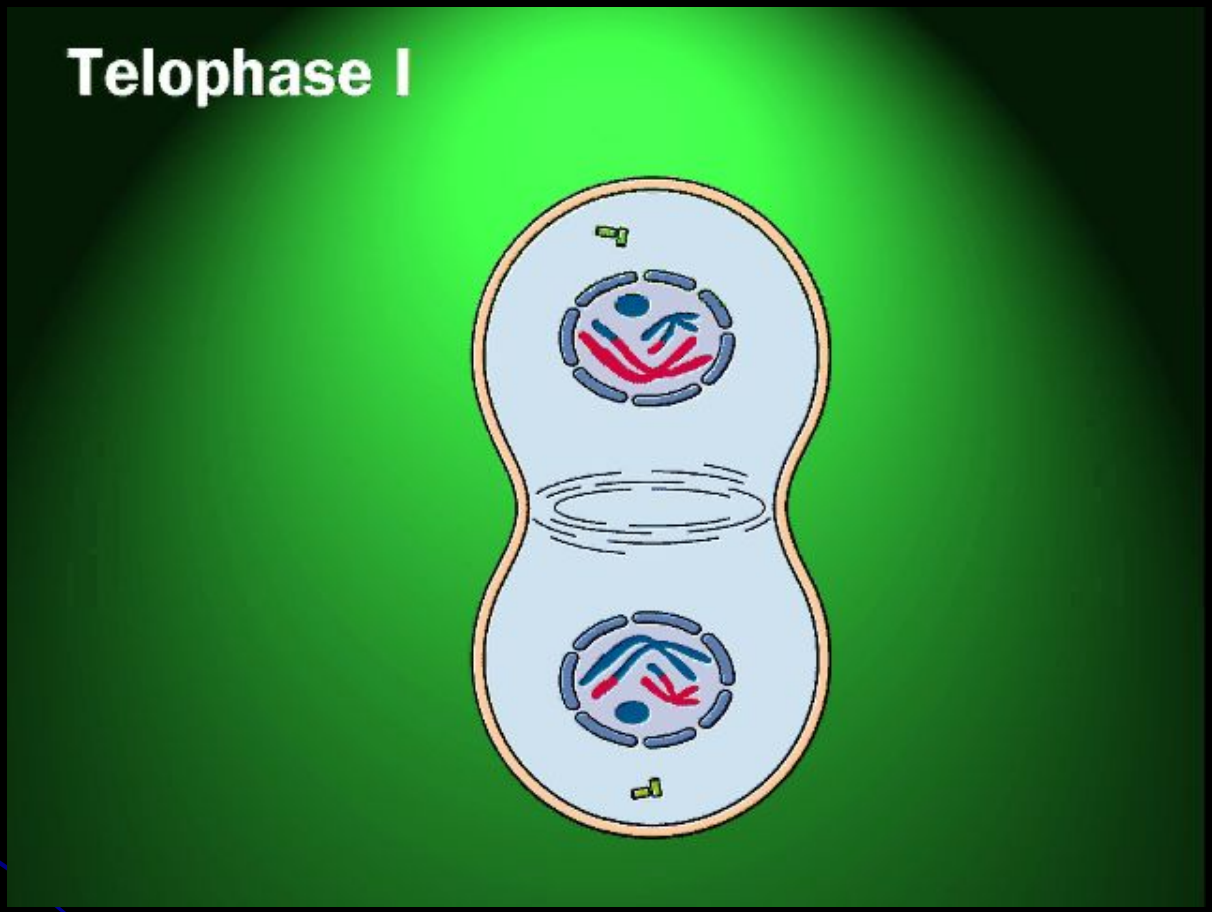
При овогенезе (созревание яйцеклеток) дополнительно присутствует диктиотена (стадия ламповых щеток).



Метафаза I - биваленты выстраиваются вдоль экватора клетки.



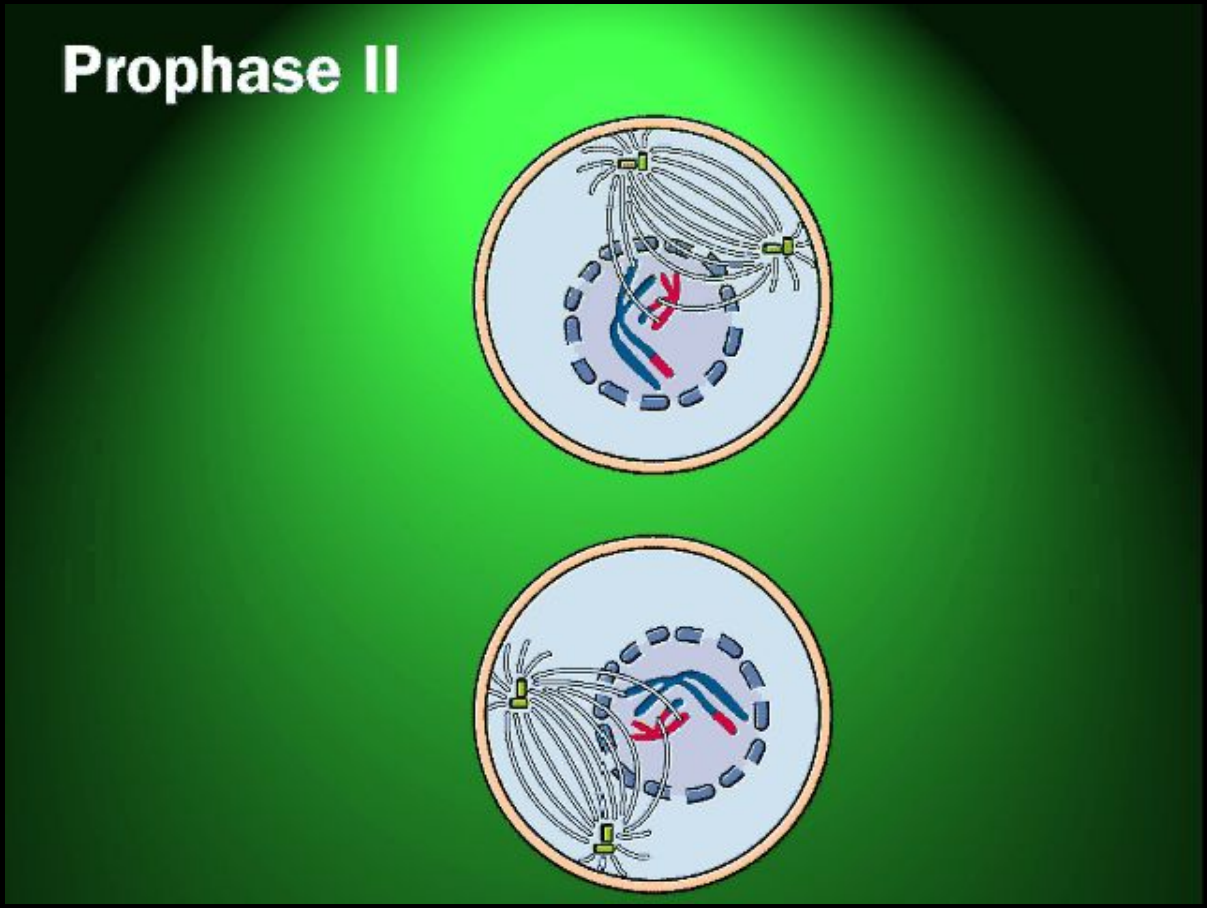
Анафаза I - биваленты делятся и хромосомы расходятся к полюсам. К полюсам расходятся целые хромосомы, состоящие из двух хроматид каждая, а не отдельные хроматиды, как в митозе.



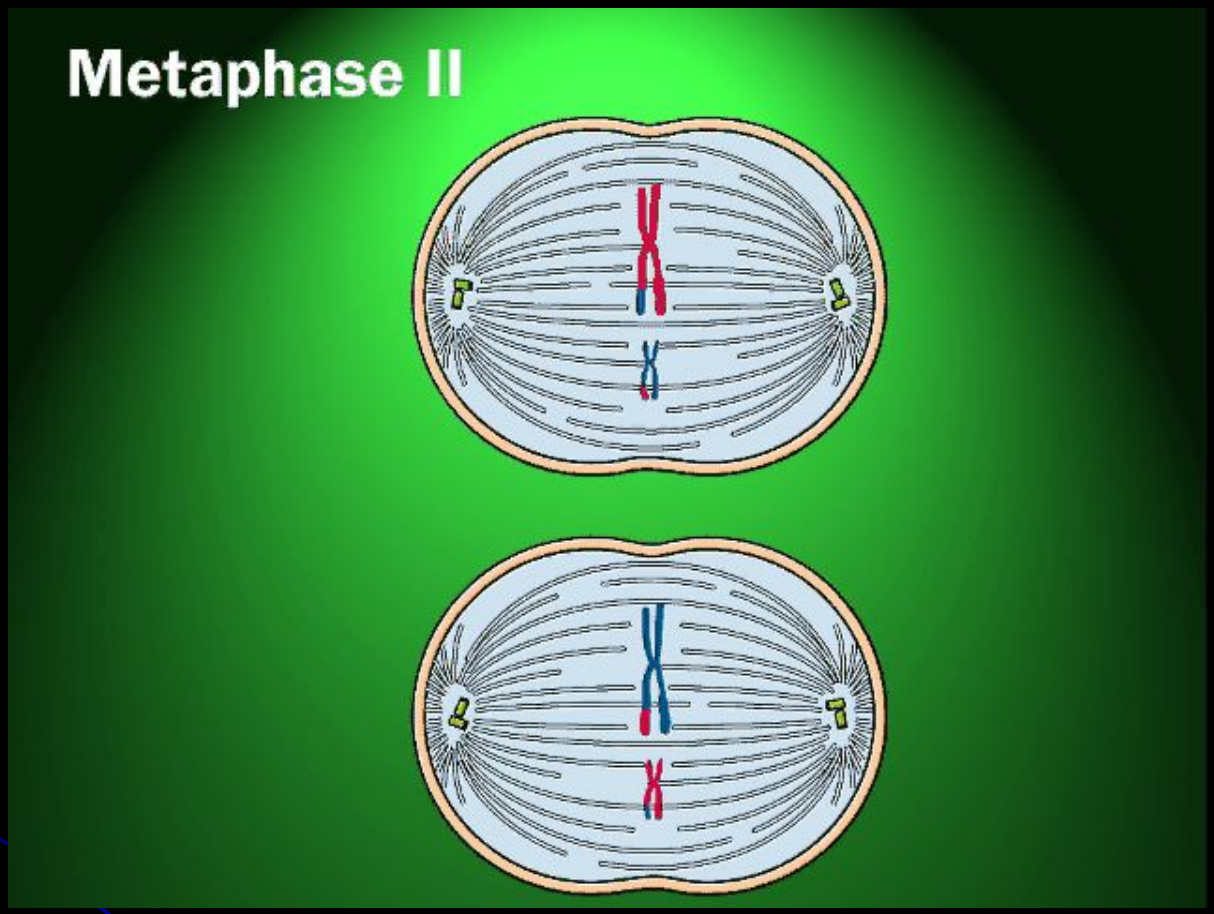
Телофаза I — хромосомы деспирализуются и появляется ядерная оболочка. Клетка делится надвое.

После первого деления мейоза генетическая характеристика клетки выглядит так: 1n2c. То есть количество хромосом уменьшается вдвое, но каждая хромосома содержит две хроматиды (двойной набор наследственного материала).

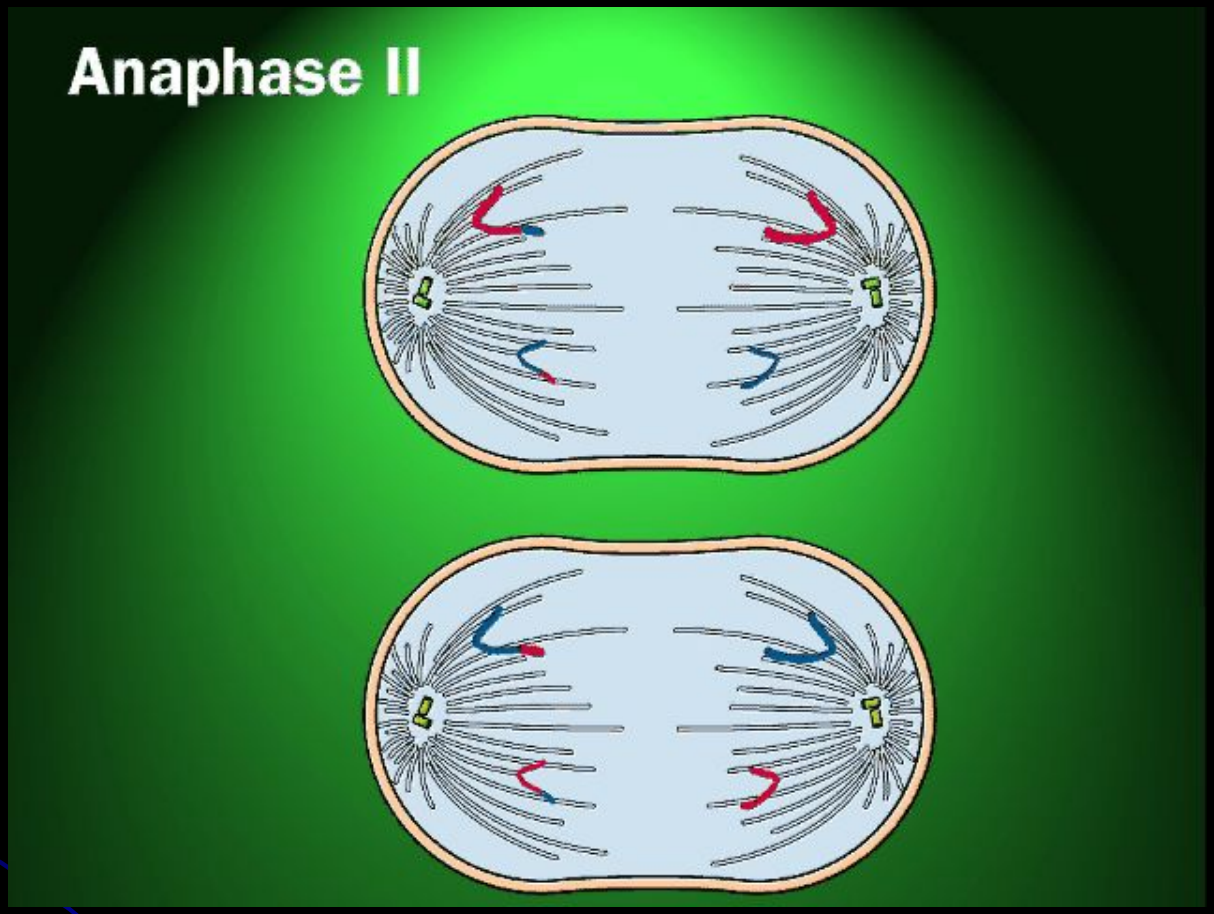
Второе деление мейоза следует непосредственно за первым, без выраженной интерфазы: S-период отсутствует, поскольку перед вторым делением не происходит репликации ДНК.



Профаза II — происходит конденсация хромосом, клеточный центр делится, и центриоли расходятся к полюсам, образуется веретено деления, декомплексуется ядерная оболочка.



Метафаза II - хромосомы (состоящие из двух хроматид каждая) располагаются на «экваторе» клетки.



Анафаза II - хромосомы разделяются и хроматиды расходятся к полюсам.

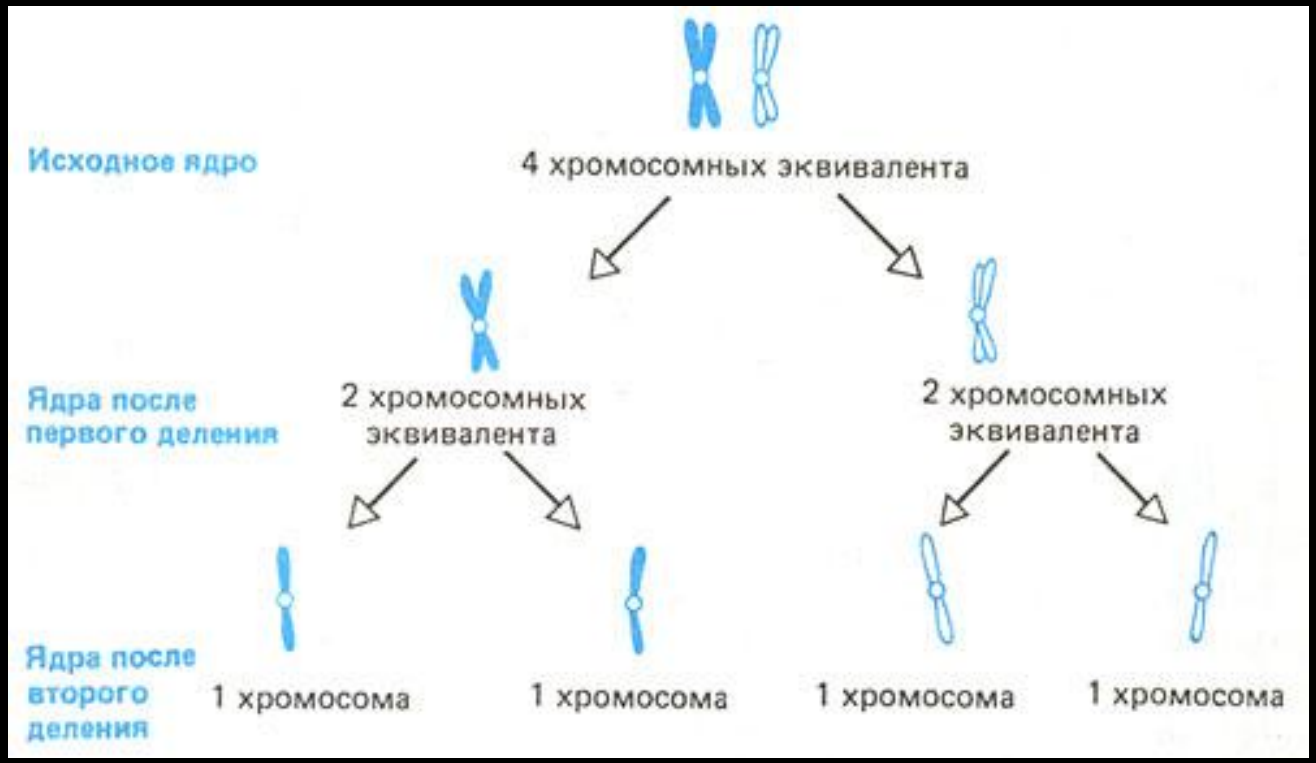
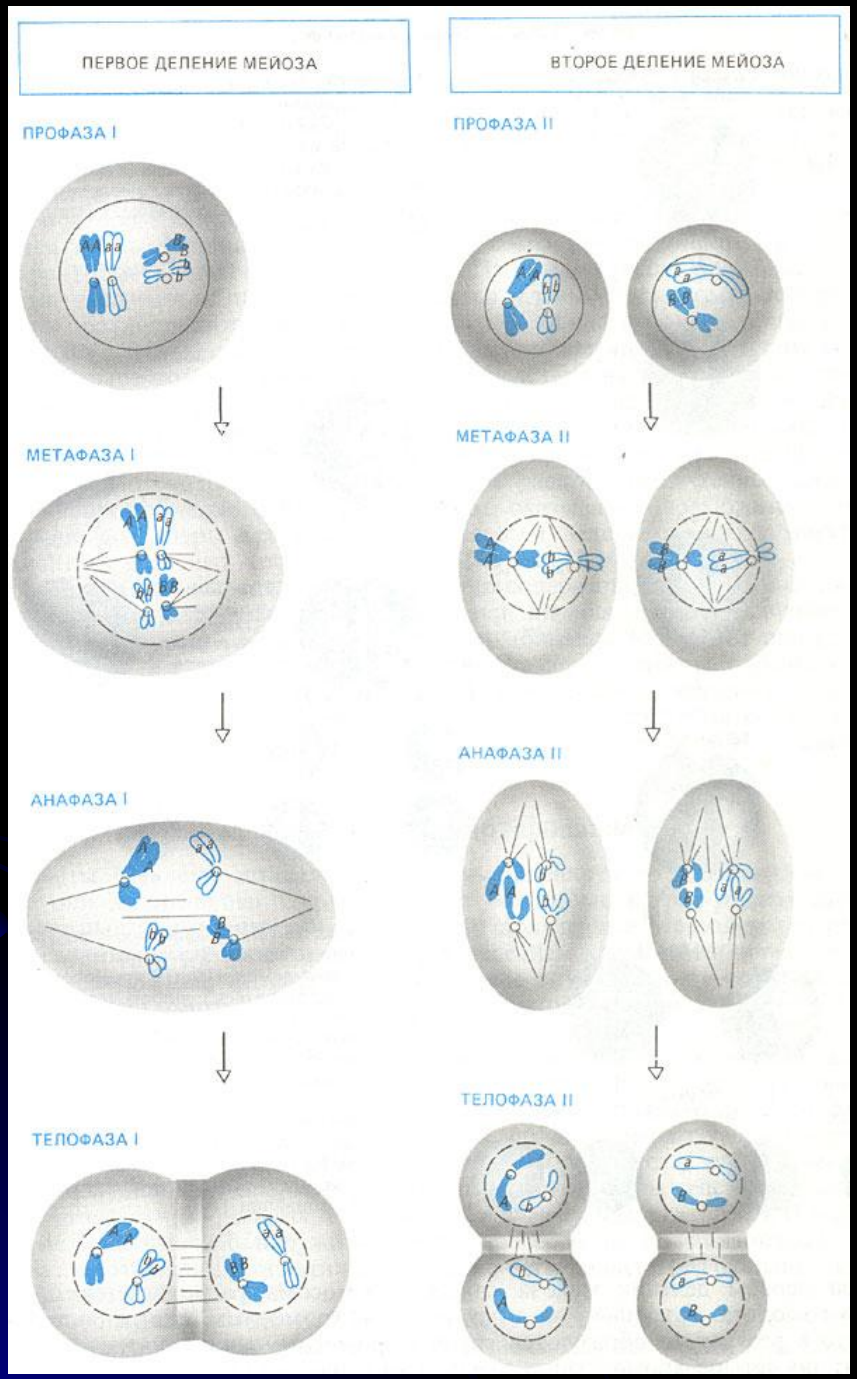
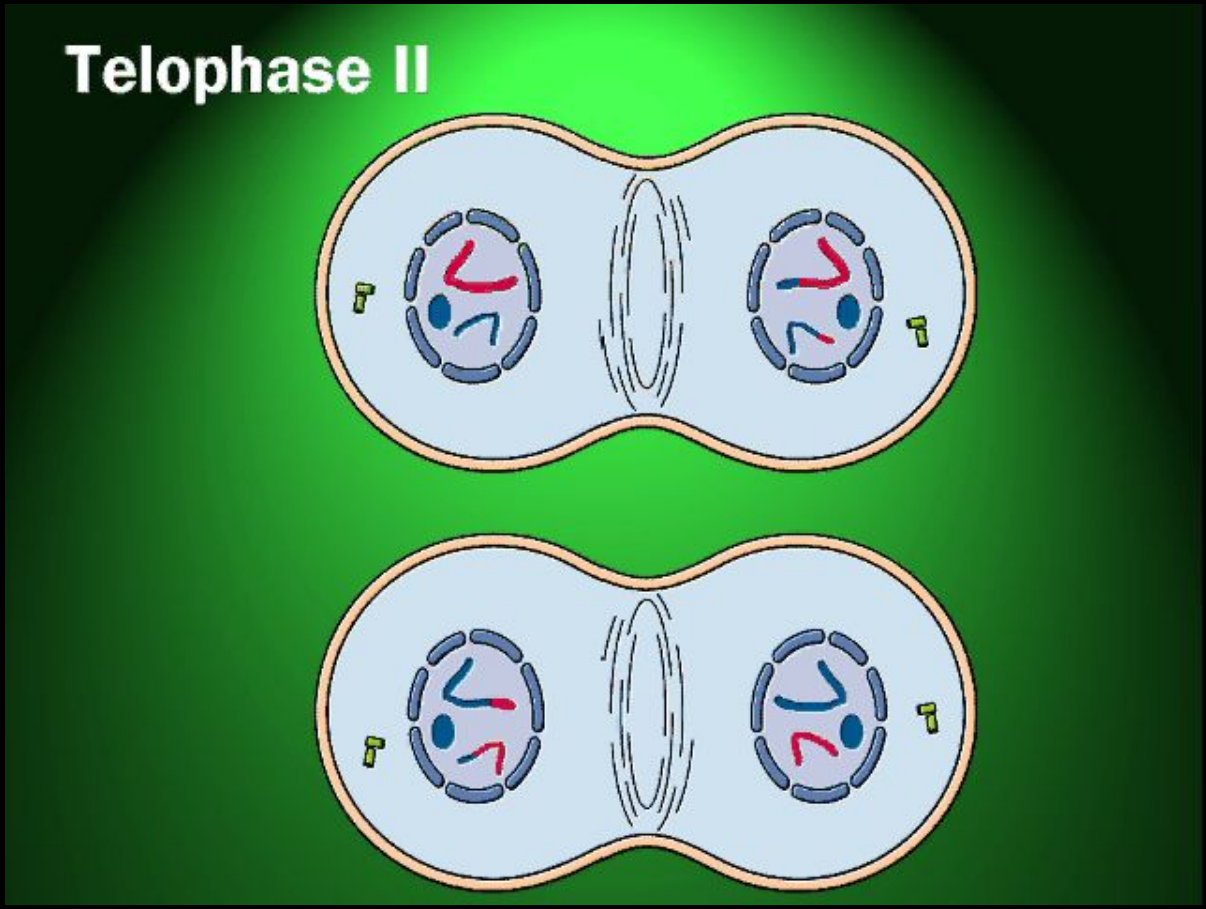


Схема разделения хромосомного материала между клетками. Кроссинговер в схеме не отражен.

В результате мейоза из одной диплоидной клетки образуется четыре гаплоидных клетки. Генетическая характеристика каждой из клеток, которые возникают в результате мейоза 1n1c.



Биологическое значение мейоза заключается в редукции (уменьшению вдвое) числа хромосом и количества генетического материала в клетках (половые клетки имеют генетическую характеристику 1n1c), а также в обеспечении перекомбинации генетического материала.



Телофаза II - хромосомы деспирализуются и появляется ядерная оболочка. Клетка делится надвое.

Сравнение митоза и мейоза.

5. Жизнь клетки вне организма. Клонирование клеток.

Вне организма без создания специальных условий клетки многоклеточных организмов гибнут.

Однако, если соответствующие условия созданы, то клетки вне организма могут существовать.

Процесс поддержания существования клеток вне организма называют культивированием клеток.

В 1885 году Вильгельм Ру впервые, извлек часть костного мозга из куриного эмбриона и держал его в теплом физиологическом растворе в течение нескольких дней.

Росс Гранвилл Харрисон в 1907 −1910 годах, создал методологию культивирования тканей.

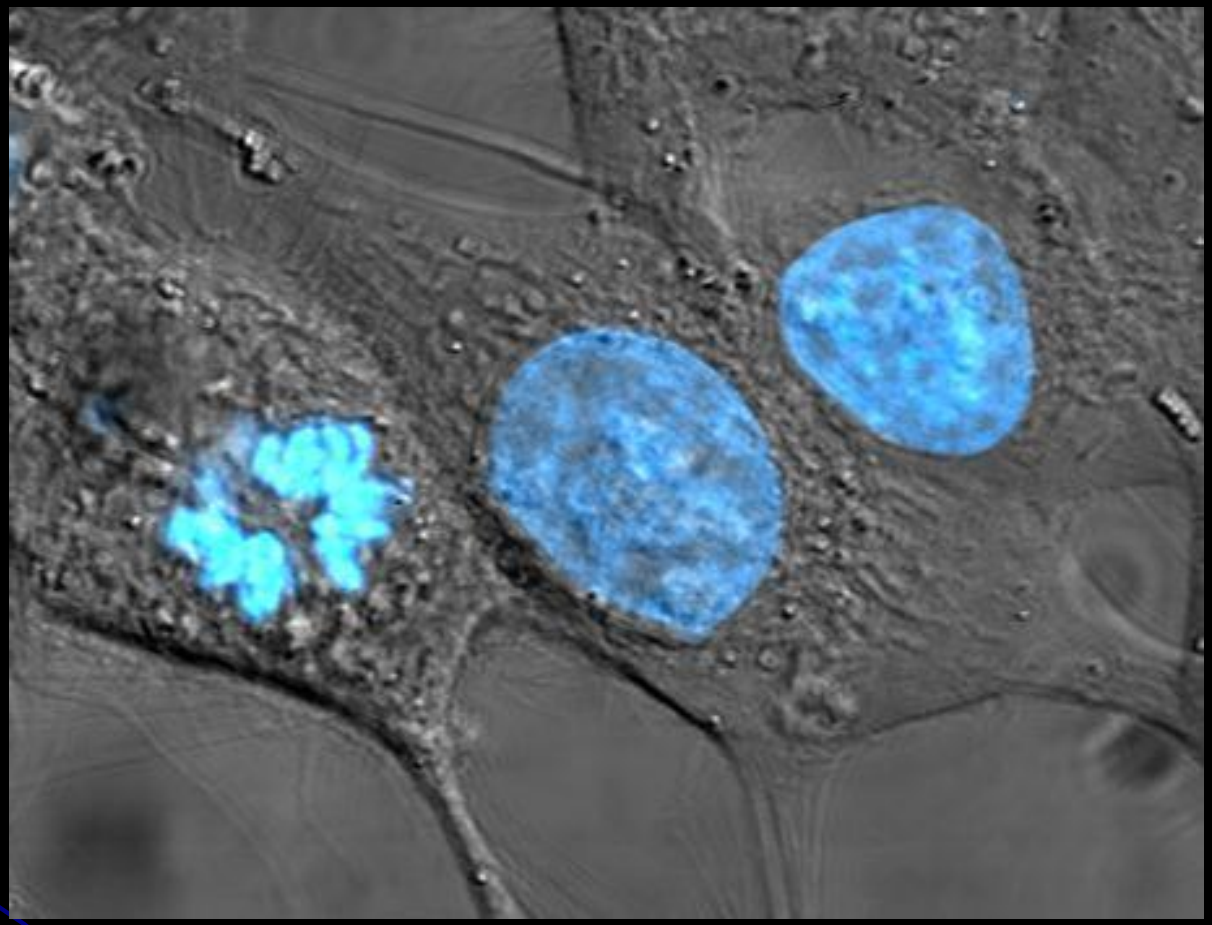
Клетки выращивают в специальных питательных средах, при постоянной температуре, а для клеток млекопитающих обычно необходима также специальная газовая среда, поддерживаемая в инкубаторе клеточных культур.

Как правило, регулируется концентрация в воздухе углекислого газа и паров воды, но иногда также кислорода.

Питательные среды для разных культур клеток различаются по составу, pH, концентрации глюкозы, составу факторов роста и другим характеристикам.

Факторы роста, используемые в питательных средах, чаще всего добавляют вместе с сывороткой крови.

Клетки можно выращивать в суспензии (во взвешенном состоянии), либо в адгезивном (прикрепленном к поверхности) состоянии.



Культура клеток HeLa окрашена по Хойсту. Ядра окрашены в синий цвет.

Клонирование - метод получения нескольких генетически идентичных объектов путем беспологого размножения.

Клонирование клеток приводит к образованию клеточных линий. Клеточная линия – это совокупность генетически однородных клеток.

В настоящее время развивается терапевтическое клонирование.

В терапевтическом клонировании используется пересадка ядер соматических клеток в яйцеклетку (ооцит), из которой было удалено ядро. После многих митотических делений такой клетки в условиях культивирования вне организма образуется бластоциста (ранняя стадия эмбриона состоящая приблизительно из 100 клеток) с ДНК почти идентичным первичному организму.

Цель данной процедуры — получение стволовых клеток, генетически совместимых с донорским организмом. Например, из ДНК больного болезнью Паркинсона можно получить эмбриональные стволовые клетки, которые можно использовать для его лечения, при этом они не будут отторгаться иммунной системой больного.

Благодарю за внимание!