

Лекция 3

План лекции

- Структура ядра эукариотической клетки
- Функции ядра
- Репликация ДНК

Ядро

1. Ядерная оболочка
2. Нуклеоплазма
3. Хроматин
4. Ядрышки
5. Ядерный матрикс

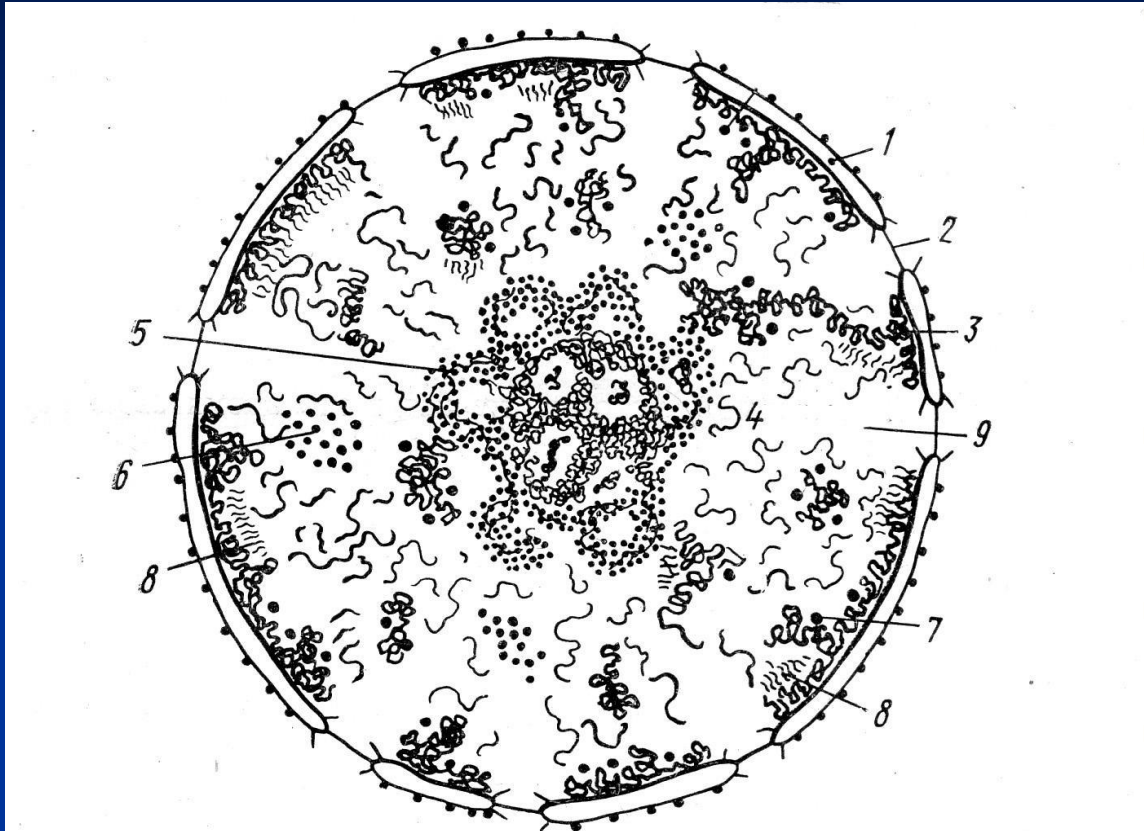
- Большинство клеток содержат одно ядро, но существуют **многоядерные** (зрелые клетки мышц) и **безъядерные клетки** (например, зрелые эритроциты, тромбоциты, клетки хрусталика глаза).
- **Форма и вид ядра** клетки являются факторами позволяющими отличать разные типы клеток между собой.

- Ядро защищает ДНК и участвует в сложных процессах регуляции.
- Размеры ядра зависят от количества содержащегося в нем ДНК.

Функции ядра

- **Хранение генетической информации** (репликация, репарация)
- **Реализация генетической информации** (транскрипция, трансляция)

Ядро



1 – ядерная оболочка

2- ядерная пора

3 – конденсированный
хроматин

4 – диффузный
хроматин

5 – ядрышко

6 – хроматиновые
гранулы (РНП)

8 – перихроматиновые
фибриллы

9 – кариоплазма (ядерный
сок).

Ядерная оболочка

- Ядерная оболочка представляет собой двойную мембрану, окружающую ядро.
- Между ядерными мембранами – **перинуклеарное пространство.**
- В ядерной оболочке находятся поры (мелкие, крупные, открытые, закрытые).
- Через поры транспорт веществ из ядерного матрикса в цитоплазматический матрикс.

- Ядерная оболочка выполняет сложную барьерно-рецепторную, а также транспортную и каркасную функцию.
- Число ядерных пор зависит от метаболической активности клеток: чем выше синтетические процессы в клетках, тем больше пор на единицу поверхности клеточного ядра.
-

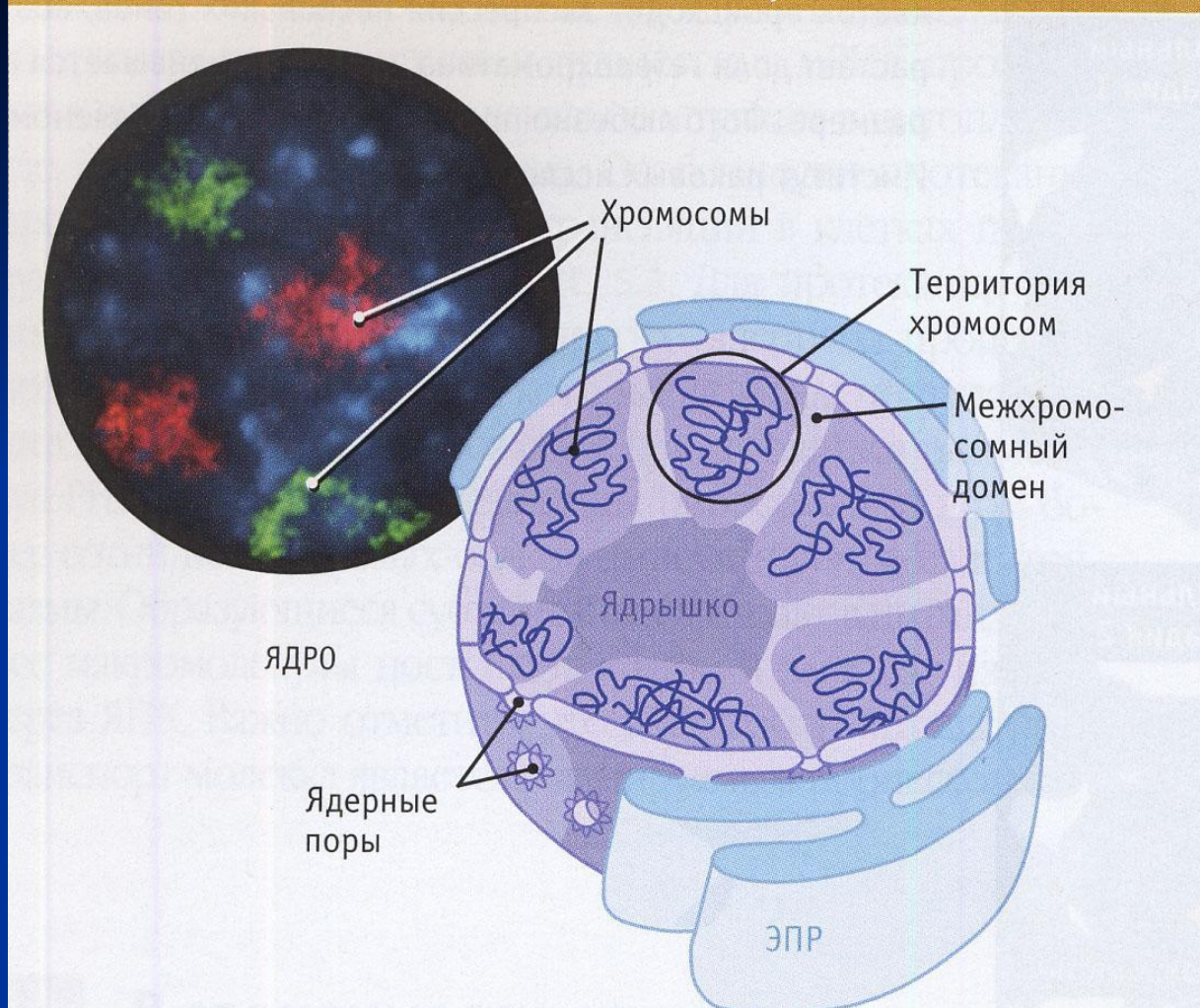
- **Хроматин** - сложный нуклеопротеидный комплекс, из которого и состоят эукариотические хромосомы.

- В состав ядер эукариот входят несколько физически не связанных хромосом, каждая из которых содержит одну линейную гигантскую молекулу ДНК.

Главными компонентами хроматина являются **ДНК и белки**, среди которых основную массу составляют **гистоны и негистоновые белки**.

- В среднем в хроматине около 40% приходится на ДНК и около 60 % на белки, среди которых специфические ядерные белки-гистоны.
- В неделящихся (**интерфазных**) ядрах хроматин может равномерно заполнять объем ядра, находясь в **деконденсированном состоянии**. Этот диффузный хроматин (**эухроматин**) генетически активен.
- Существуют постоянные участки конденсированного хроматина (**гетерохроматина**)

В ядре находятся области хромосом



Отдельные хромосомы занимают в ядре определенные области, которые называются территориями хромосом. С разрешения Company of Biologists Ltd из: Spector, D. L. *J. Cell Sci.* 2001. 114: 2891–2893. Фотография любезно предоставлена Томасом Рейдом

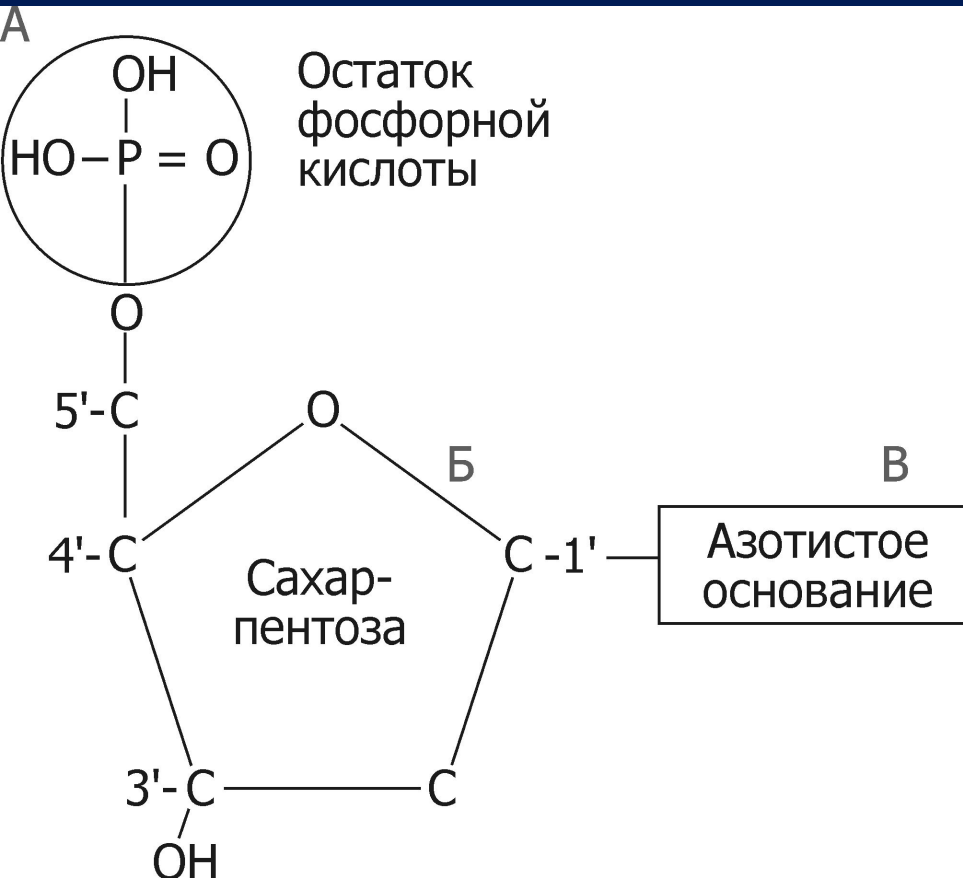
Нуклеиновые кислоты

- Высокополимерные макромолекулярные соединения.
- Основная структурная единица нуклеиновых кислот – **нуклеотид**.

ДНК –полимер, состоящий из
мономеров

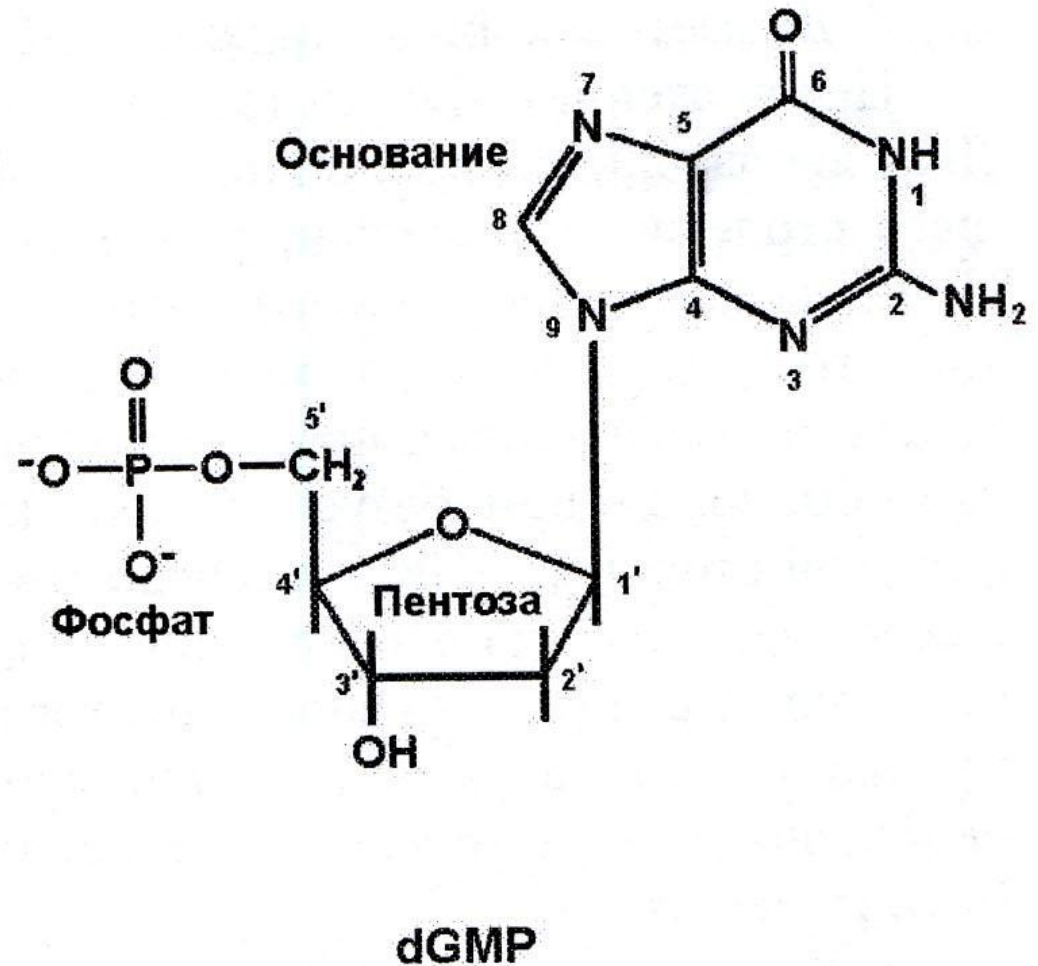
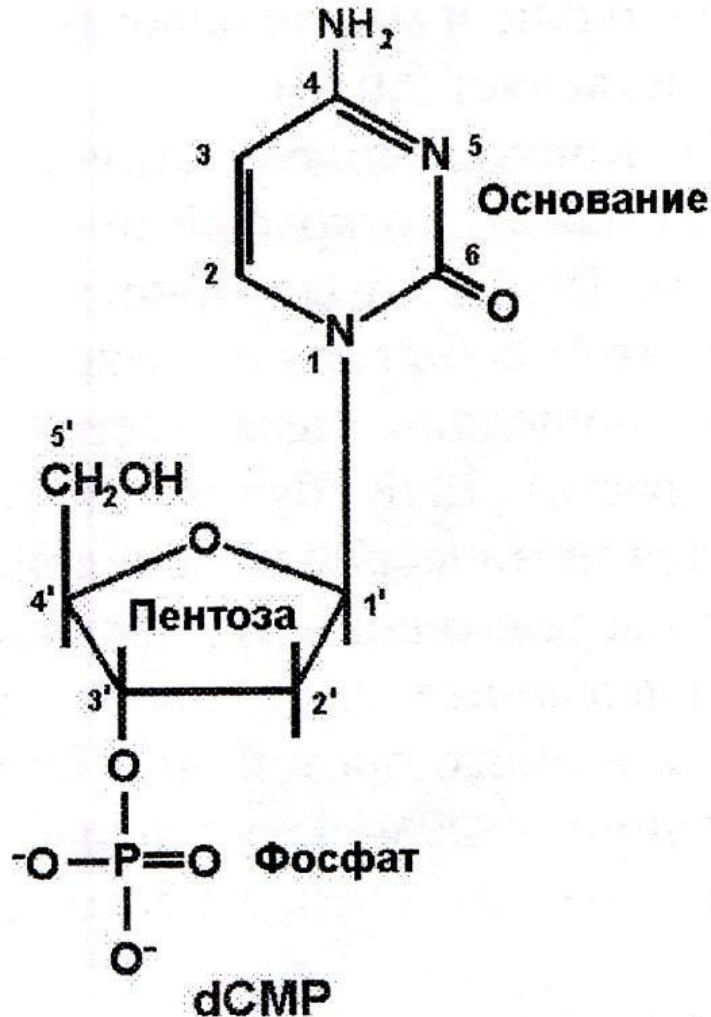
мономер - нуклеотид

НУКЛЕОТИД



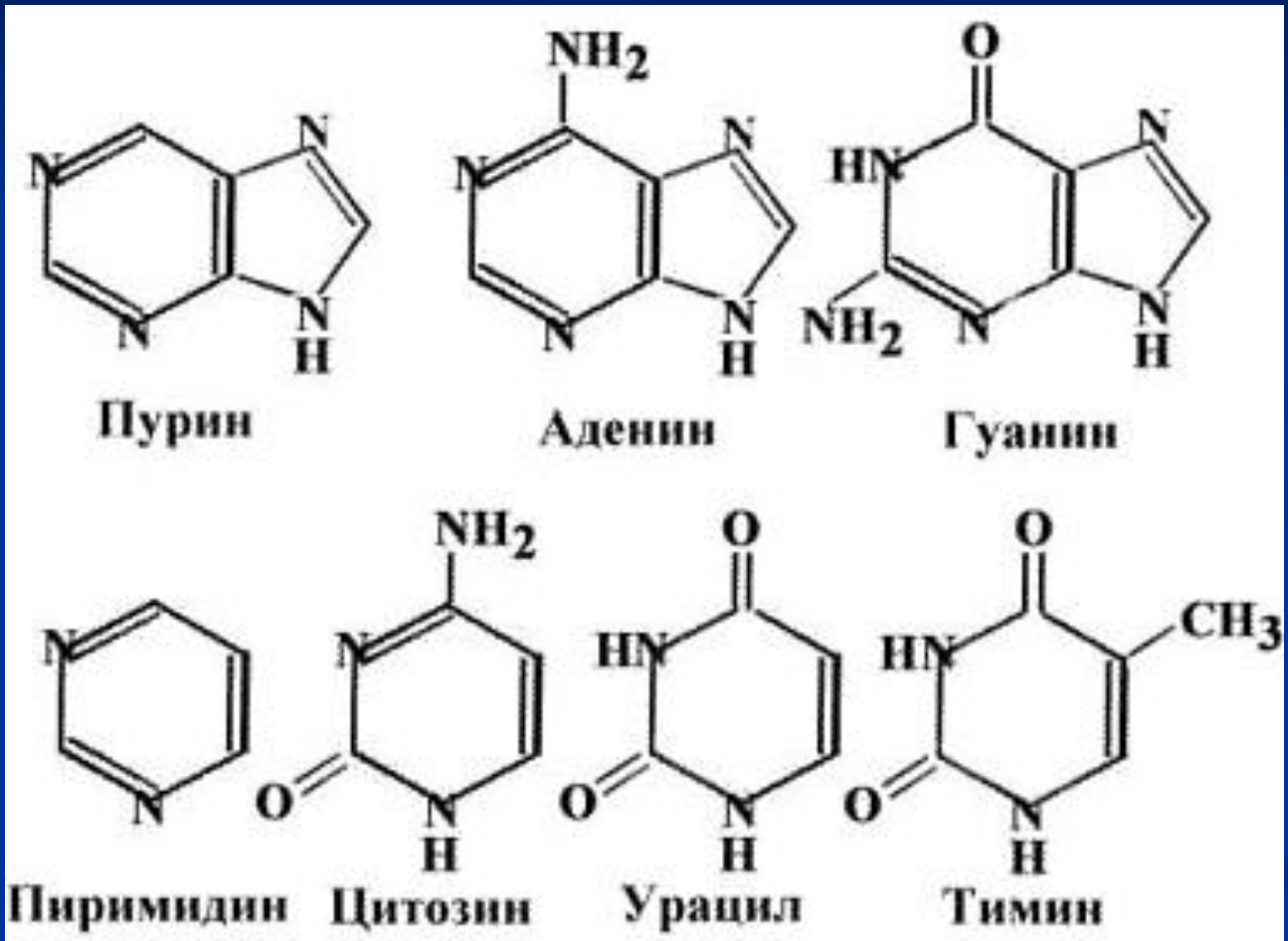
- Каждый нуклеотид состоит из трех химически различных частей, соединенных ковалентными связями. Пятиуглеродное сахарное кольцо, пуриновое или пиримидиновое азотистое основание, фосфатная группа.

Дезоксирибонуклеотиды – строительные блоки ДНК



- Аденин и гуанин – **пурины**
- Цитозин, тимин – **пиримидины.**
- Плоские азотсодержащие гетероциклические молекулы обладающие основными свойствами.

Азотистые основания



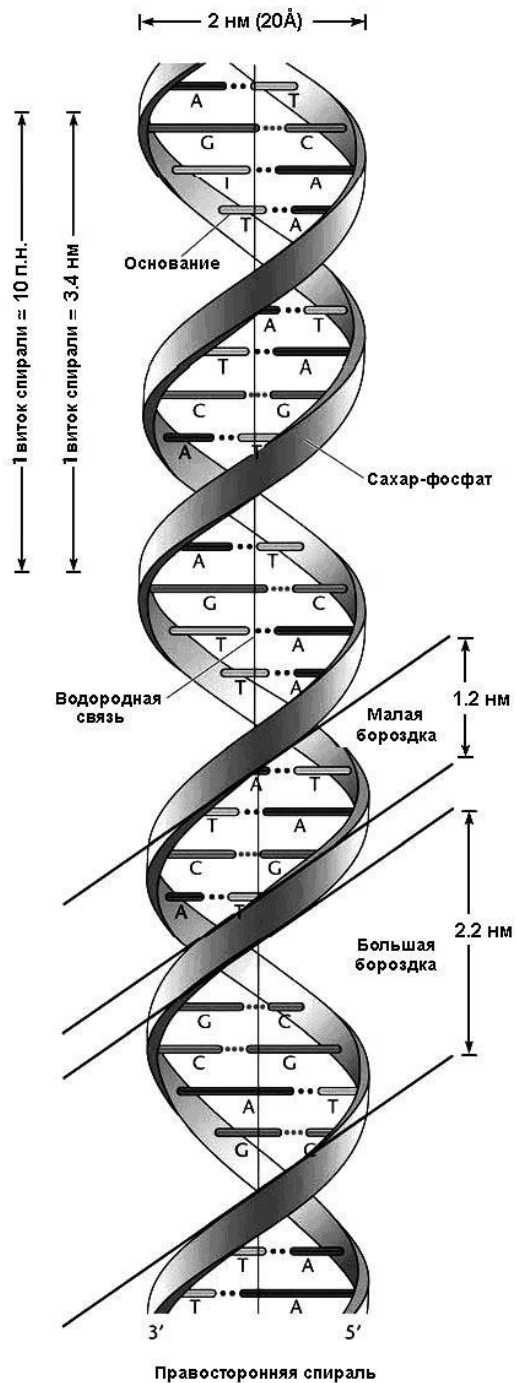
Сахар + азотистое основание = нуклеозид

■ Нуклеотиды соединены в полинуклеотидную цепь остов которой состоит из перемежающихся остатков сахара и фосфата.

Через фосфатную группу, атом в 5'-положении одного пентозного кольца соединен с атомом в 3'-положении следующего пентозного кольца.

ДНК

- Имеет структуры:
- первичную
- вторичную
- третичную



С химической точки зрения ДНК – это полинуклеотидная цепь, состоящая из дезоксирибонуклеотидов

Первичная структура ДНК

заключается в том, что ДНК состоит из **нуклеотидных цепей**, у которых скелетную основу составляют чередующиеся **сахарные и фосфатные группы**, объединенные ковалентными 3'-, 5'-фосфодиэфирными скелетными связями, а **боковые группы** представлены тем или иным **основанием** (одним из четырех) и присоединяются одна к другой молекулой сахара.

Для состава ДНК характерны закономерности известные как правила А. Чаргаффа

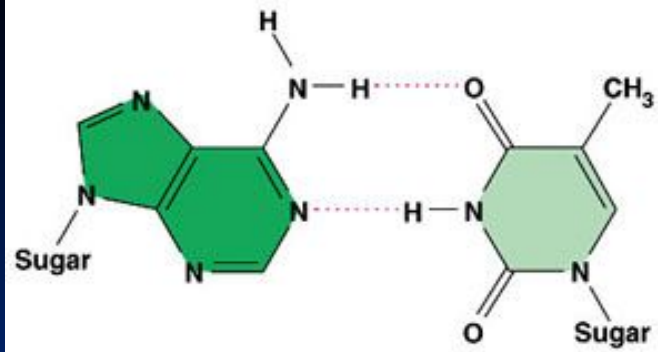
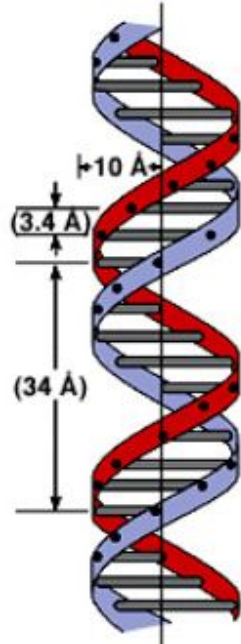
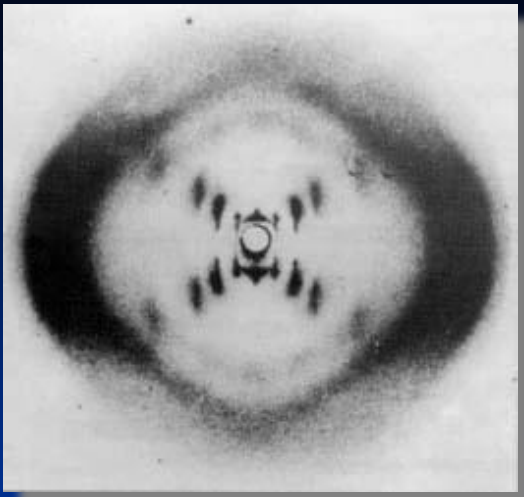
1. Сумма нуклеотидов, содержащих пуриновые азотистые основания, равна сумме нуклеотидов, содержащих пиримидиновые азотистые основания.
- Содержание аденина равно содержанию тимина, а гуанина — цитозину:

Вторичная структура ДНК

- Молекула ДНК построена из двух скрученных направо спиралевидных полинуклеотидных цепей, причем каждый виток спирали соответствует 10 азотистым основаниям или расстоянию в 3,4 нм

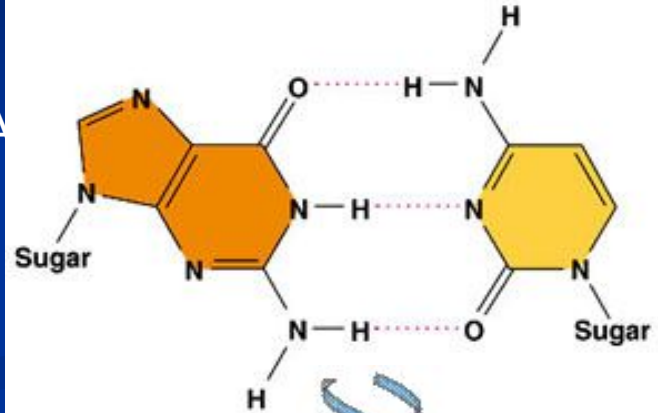
- Обе цепи объединены в результате закручивания одной цепи вокруг другой по общей оси. Цепи **антипаралельны**. $3' \rightarrow 5'$ для одной цепи и $5' \rightarrow 3'$ для другой.
- 3. **Сахарофосфатные группы** располагаются на внешней стороне двойной спирали, тогда как **основания** находятся внутри спирали под прямым углом и вдоль ее оси

Таким образом, ДНК представляет собой скрученную в правостороннем направлении двойную спираль, в которой пары азотистых оснований А—Т и Г—Ц в **комплементарных** полинуклеотидных цепях подобны перекладинам в лестнице, а сахарофосфатные цепи являются каркасом этой лестницы.



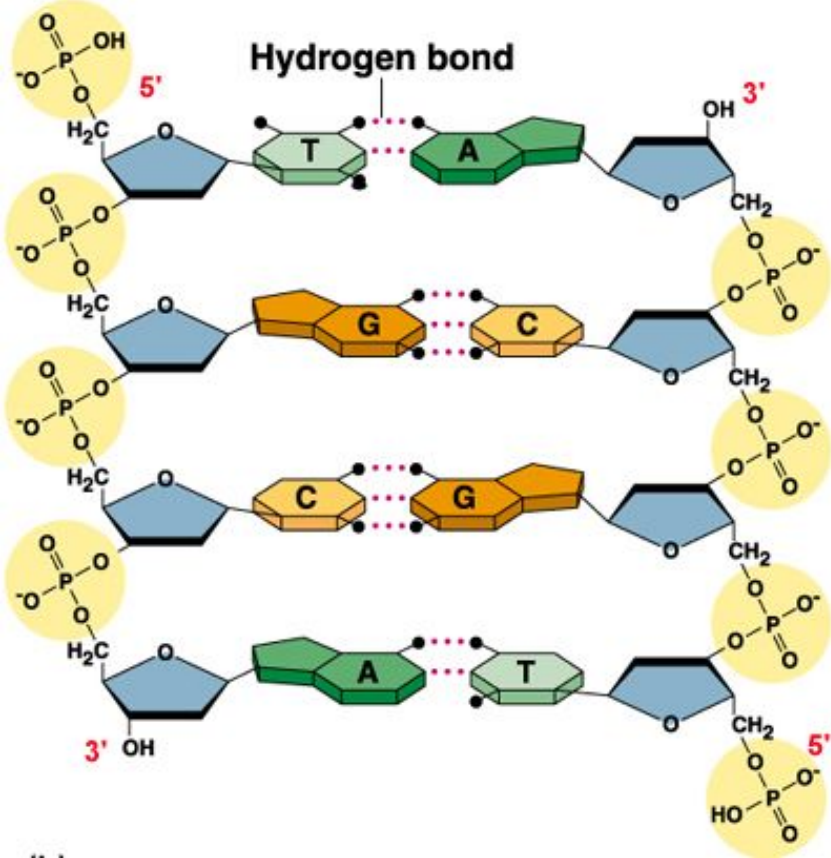
Adenine (A)

Thymine (T)

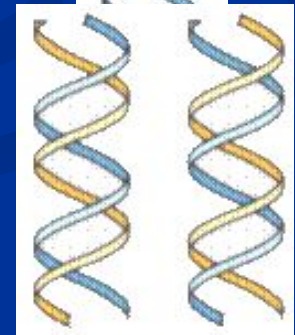


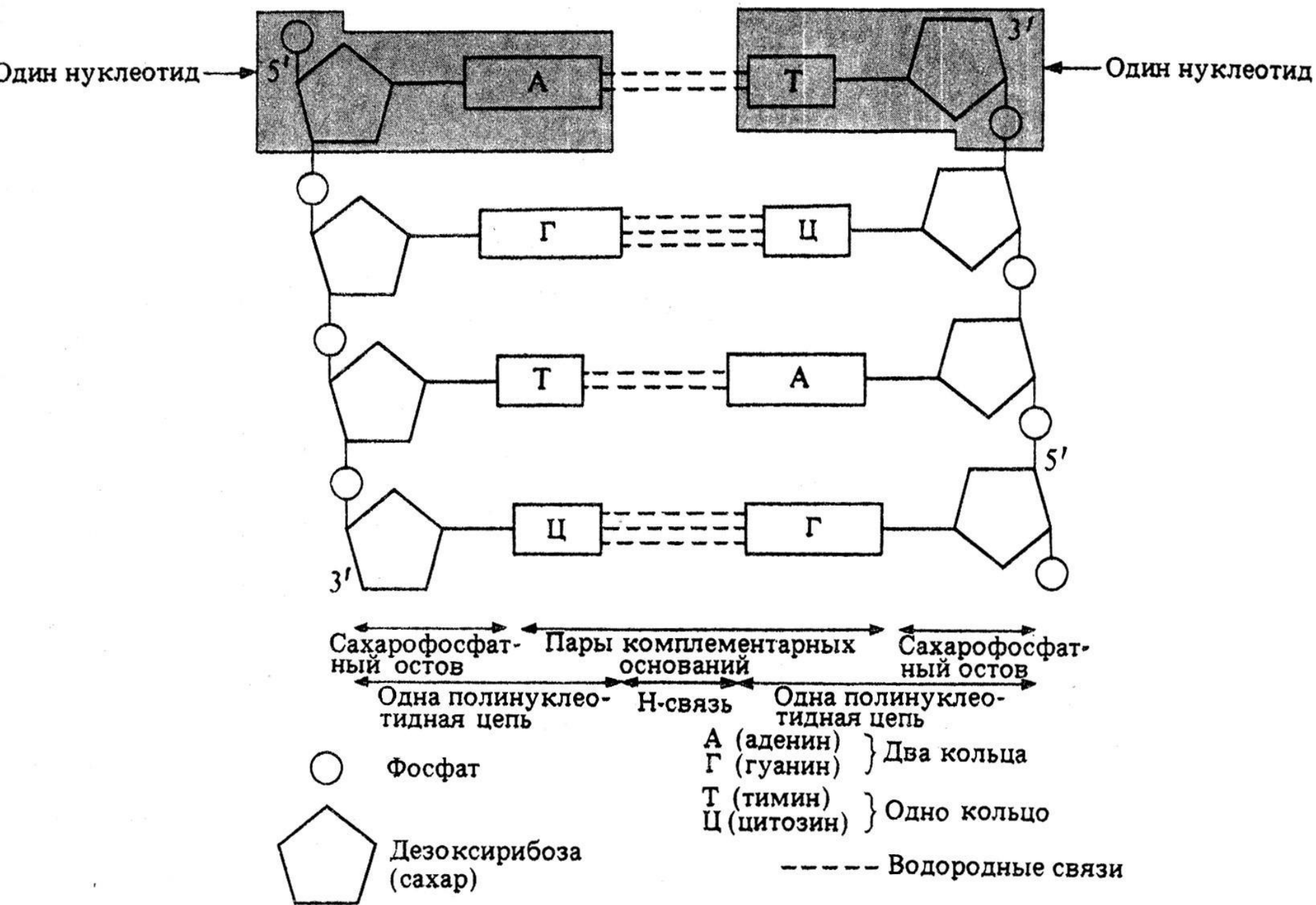
Guanine (G)

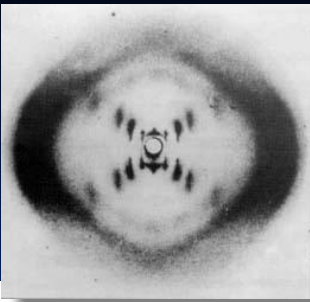
Cytosine (C)



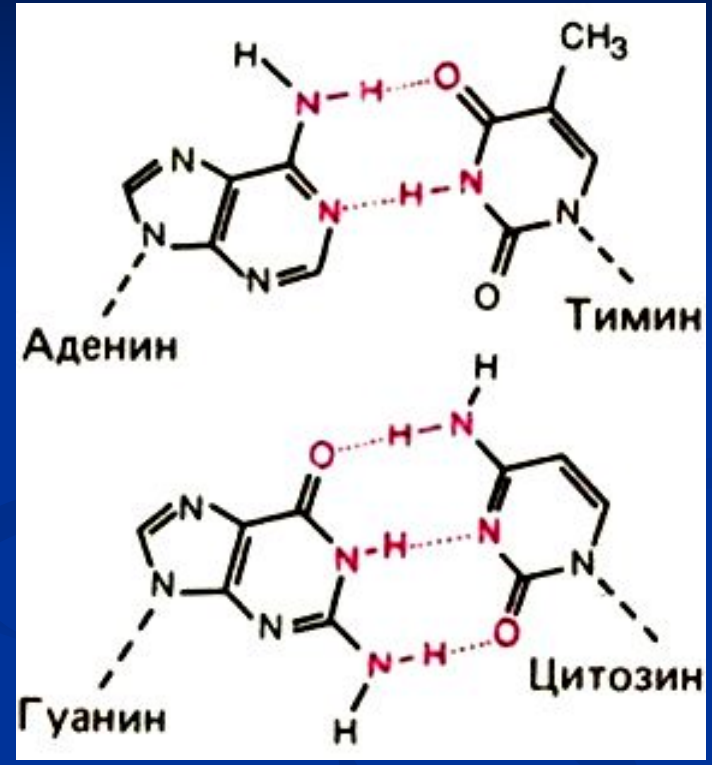
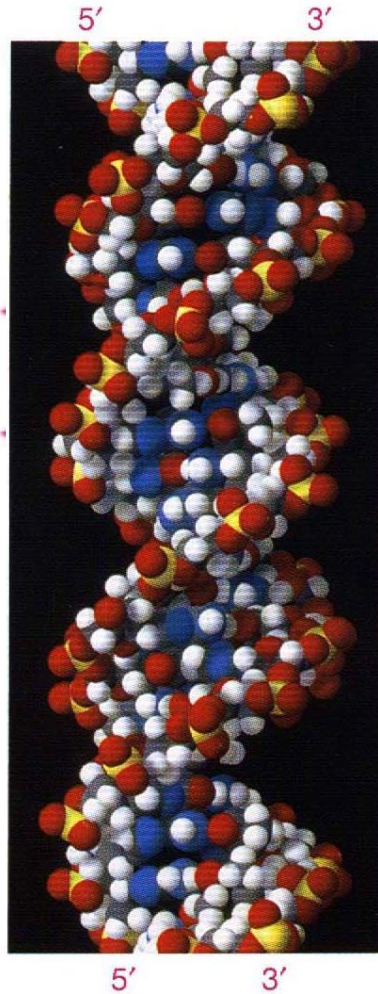
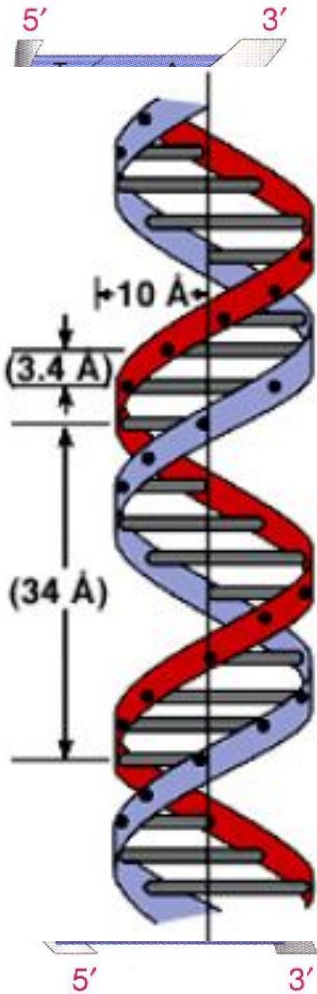
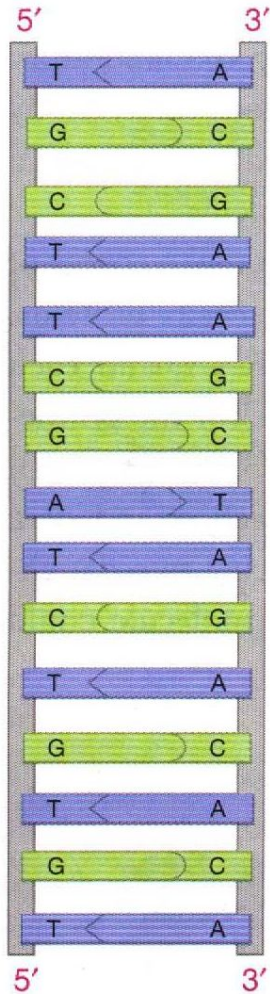
Г)



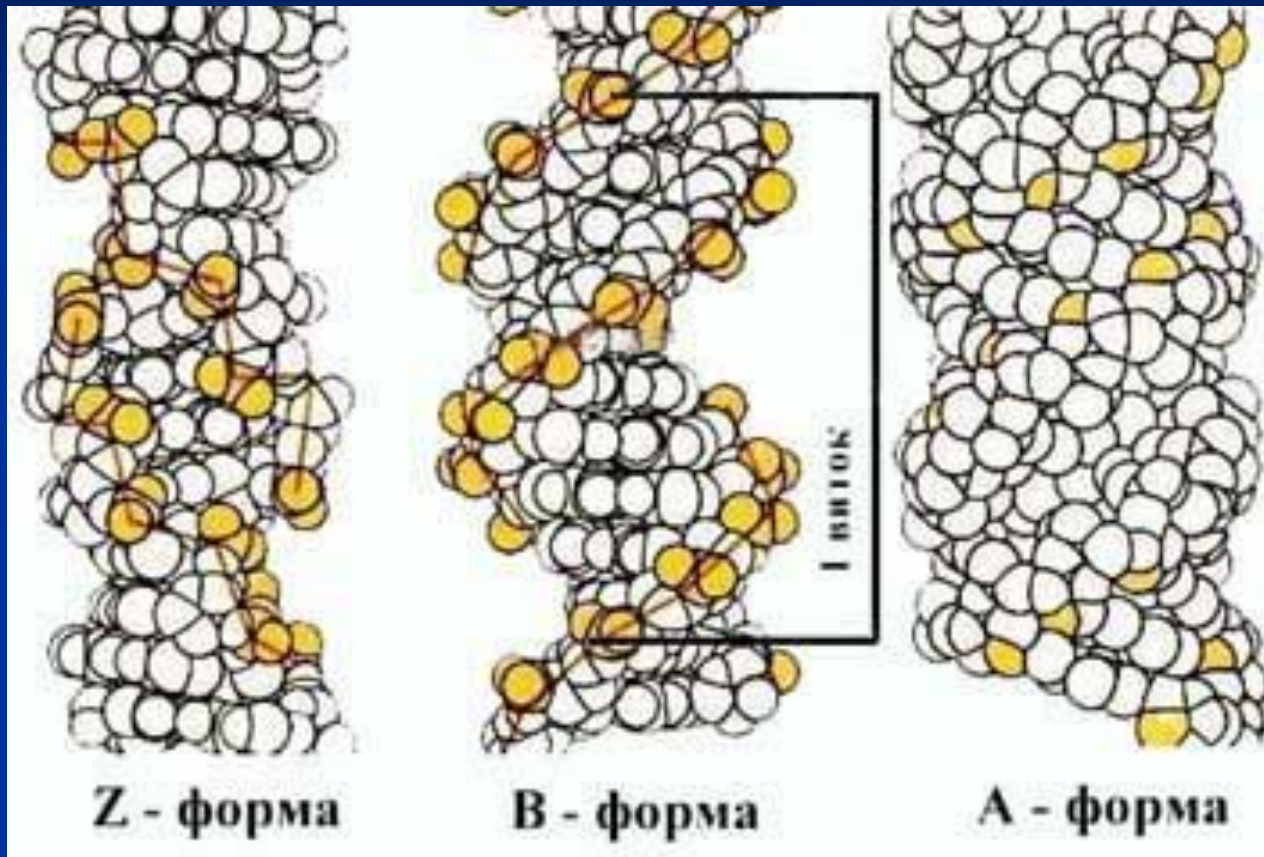


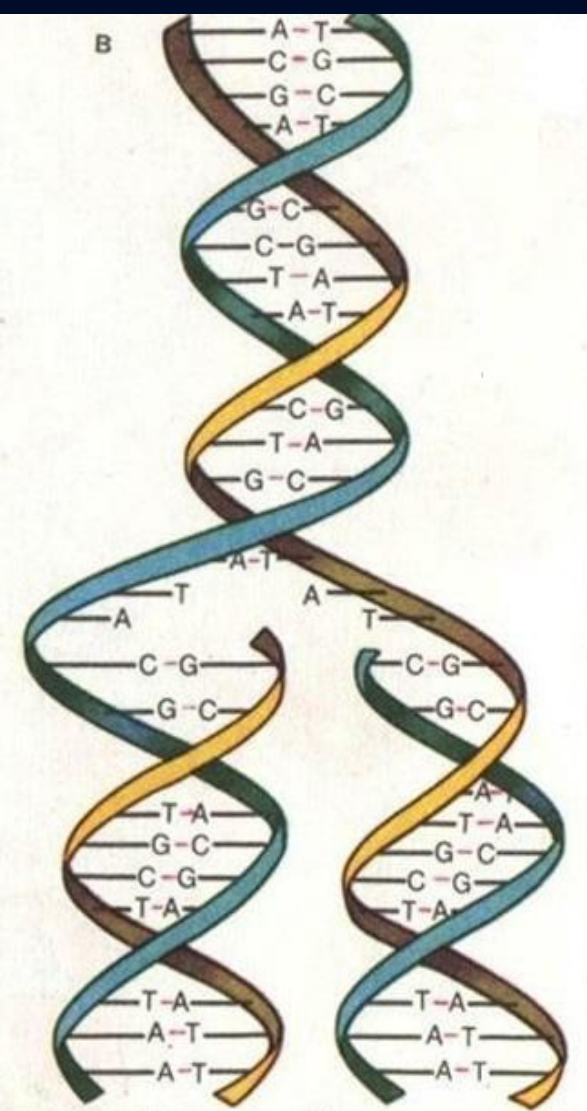
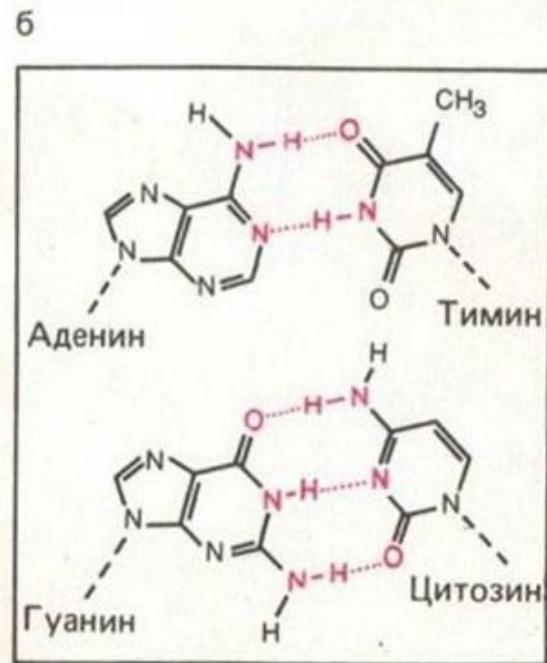
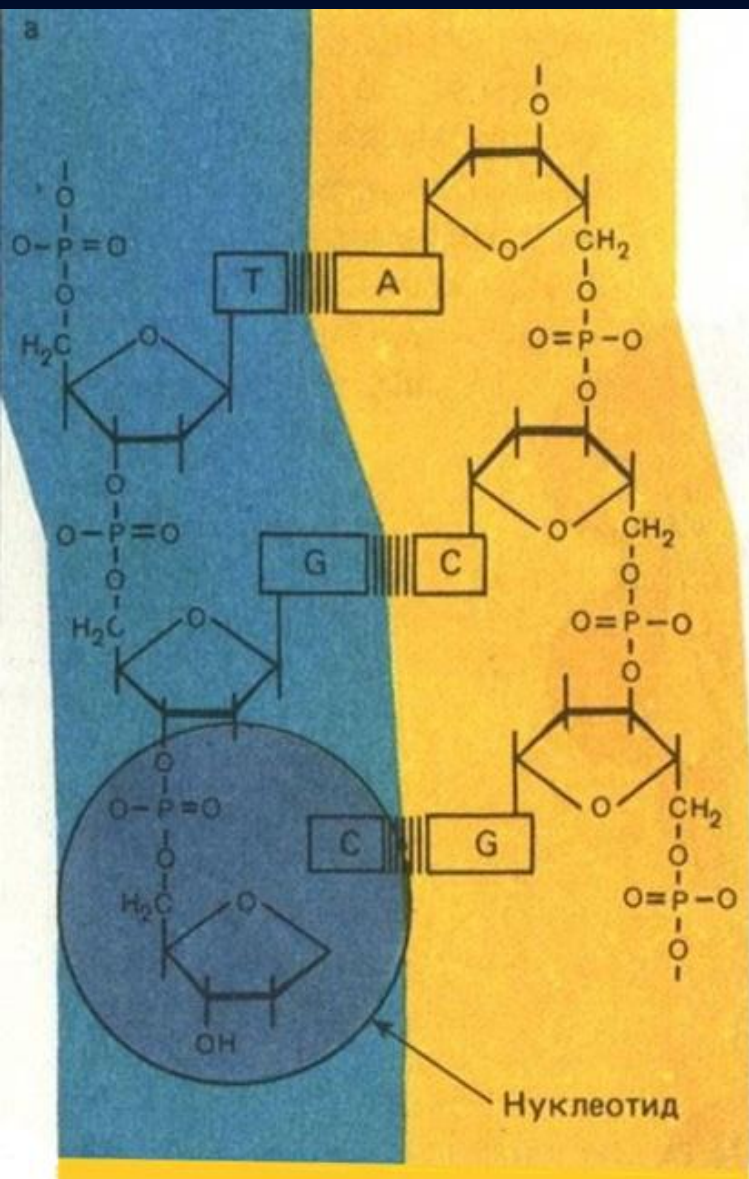


Комплементарность азотистых оснований



ФОРМЫ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК





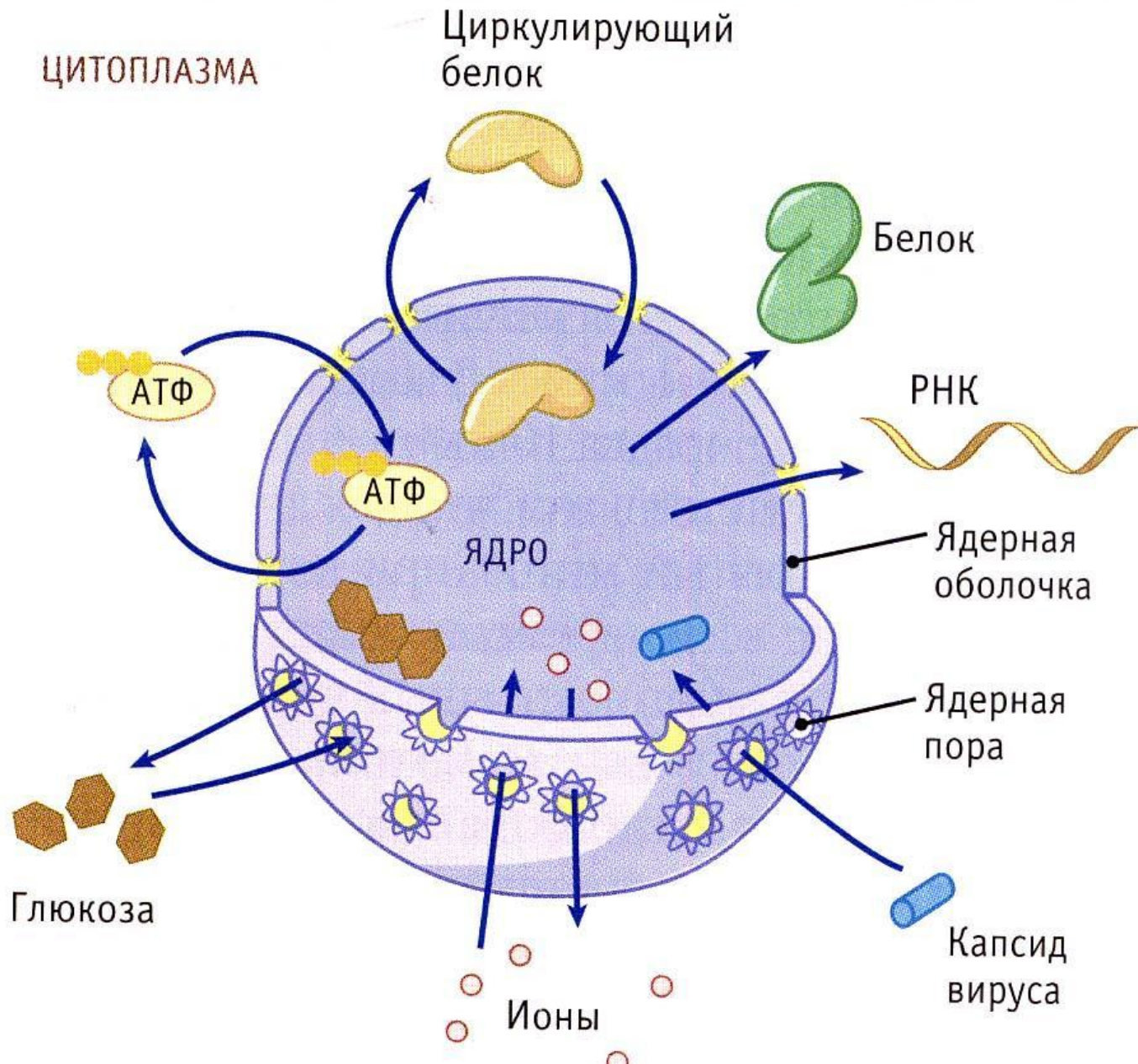
Исходная цепь ДНК Новая цепь ДНК Новая цепь ДНК Исходная цепь ДНК

ДНК ЭУКАРИОТ СОДЕРЖИТ

- **Часто повторяющиеся** последовательности нуклеотидов (сателлитная ДНК)
- **Умеренно повторяющиеся** последовательности, кодируют РНК, гистоны и т.д.
- **Уникальные последовательности** несущие информацию о белках

- **Нуклеоплазма** включает кариоплазму – сложный коллоидный раствор (в воде растворены белки, углеводы и т.д.).
- В кариоплазме протекают многие процессы, связанные как с ядерным метаболизмом, так и с внутриядерным транспортом белков и РНК.

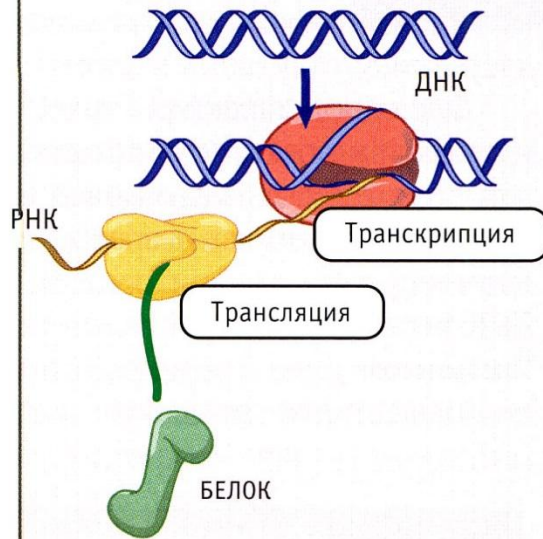
Транспорт молекул через ЯПК



Транскрипция и трансляция в клетках прокариот и эукариот

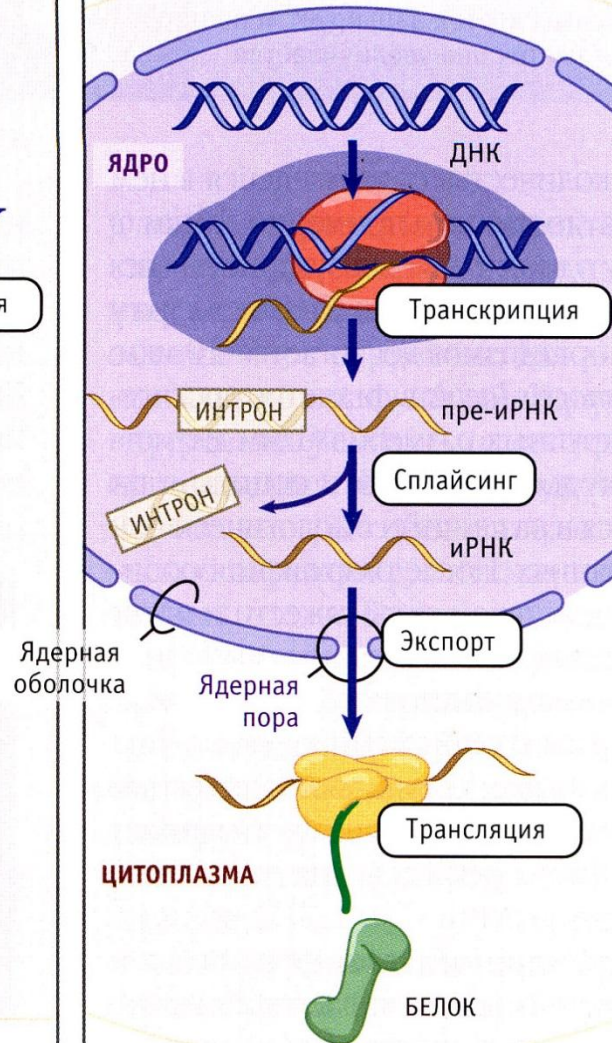
ПРОКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Сопряжение
Транскрипция/Трансляция



ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Разобщение
Транскрипция/Трансляция

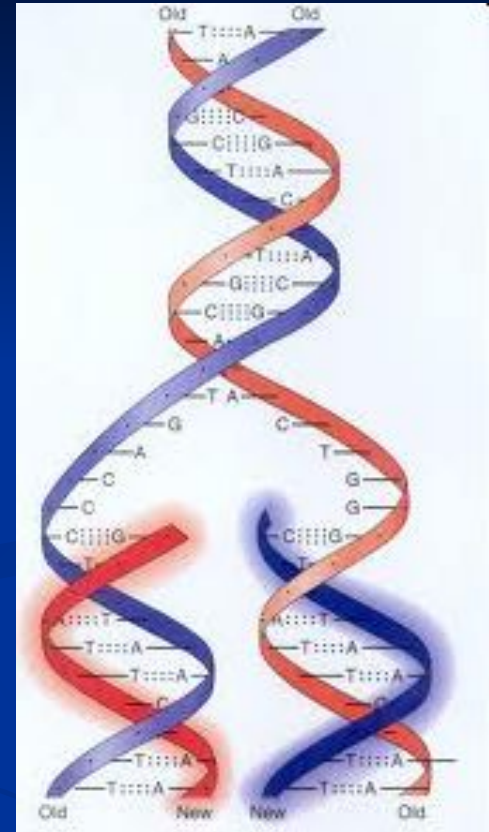


Хроматин

- ДНК + белки = ДНП (дезоксирибонуклеопротеид)
- 46 линейных молекул ДНК
- Белки хроматина – гистоны и негистоновые белки
- Эухроматин – активно транскрибируемый в интерфазе.
- Гетерохроматин – конденсированный (неактивный) хроматин

Репликация ДНК

- Сложный многоступенчатый процесс, происходящий при участии большого количества ферментов.
- Происходит в S-период интерфазы.



Упаковка ДНК в ядре

- Для выполнения основных функций ДНК в ядре должна иметь четкую пространственную организацию.

- Ведущая роль в упорядочивании организации принадлежит ядерным белкам.



Гистоны – белки характерные только для хроматина.

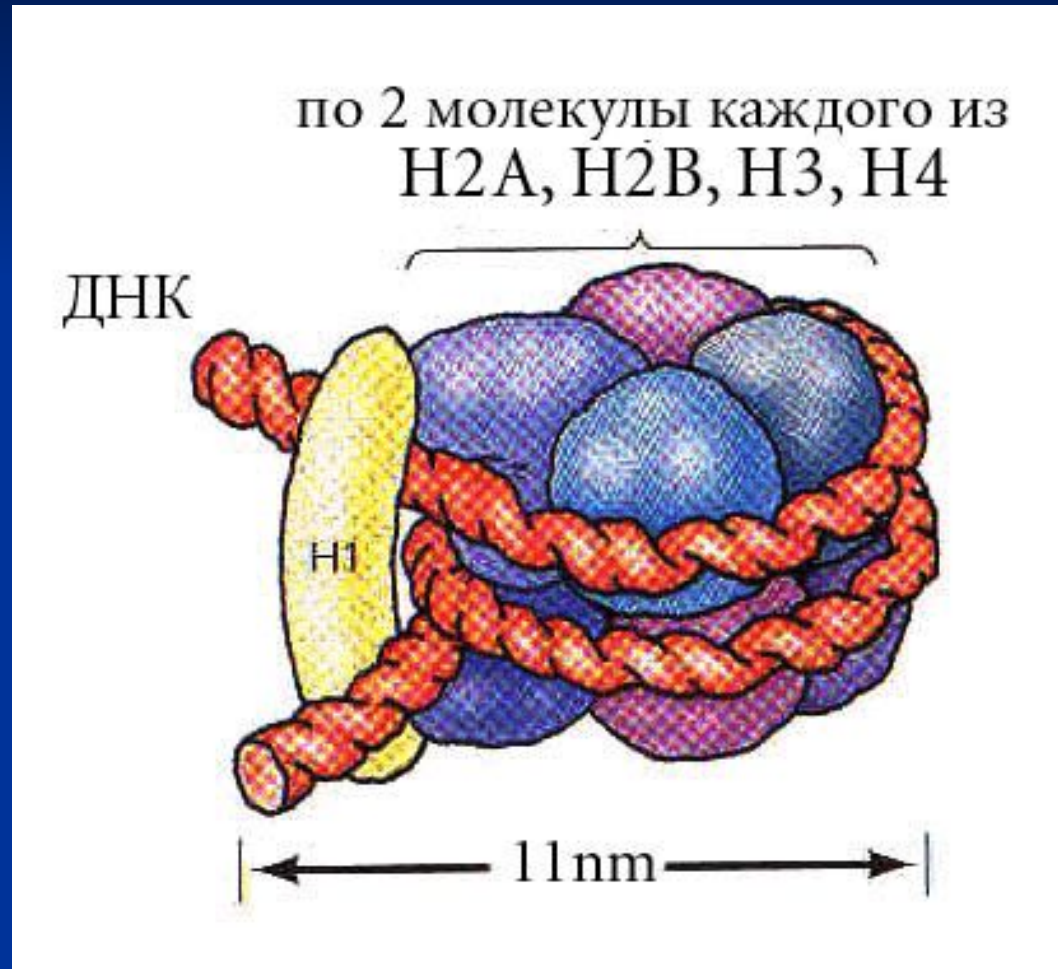
Это основные или щелочные белки.

Гистоны выполняют регуляторную и структурную роль.

Первый уровень компактизации ДНК - нуклеосомный

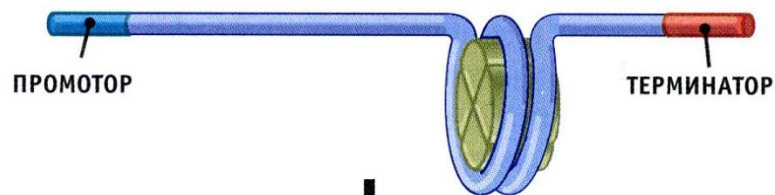


- Непосредственно с октамером контактирует 145 п.н. и 20-30-40 п.н. между нуклеосомными корами.
- Нуклеосомный уровень упаковки свойственен всей эукариотической ДНК, он дает укорочение в 7 раз. Диаметр увеличивается с 20 Å до 110 Å.

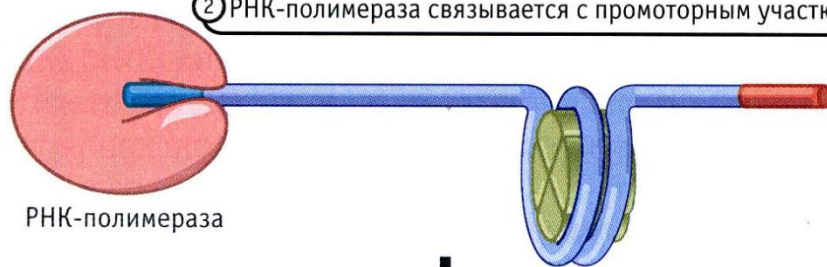


При транскрипции октамер гистонов смещается

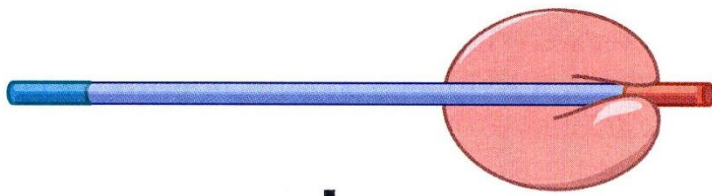
① Нуклеосома собирается на определенном участке ДНК



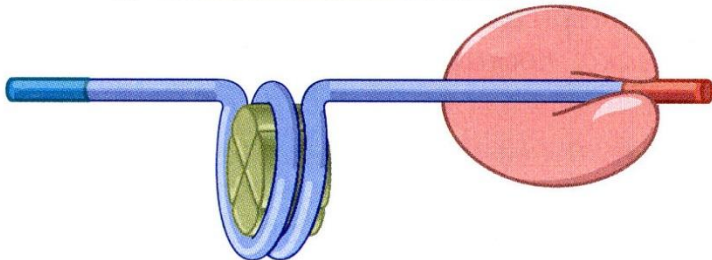
② РНК-полимераза связывается с промоторным участком

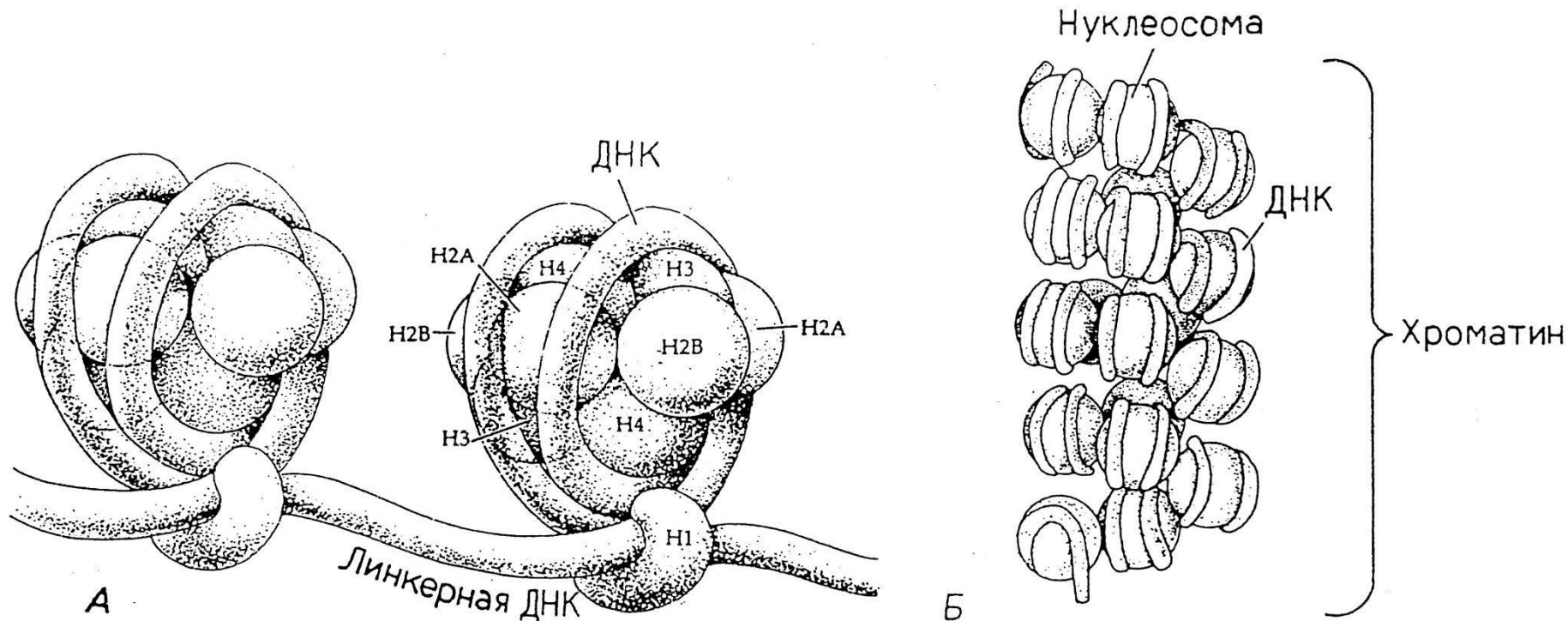


③ Транскрипция ДНК РНК-полимеразой до терминаторного участка



④ Нуклеосома находится на новом месте





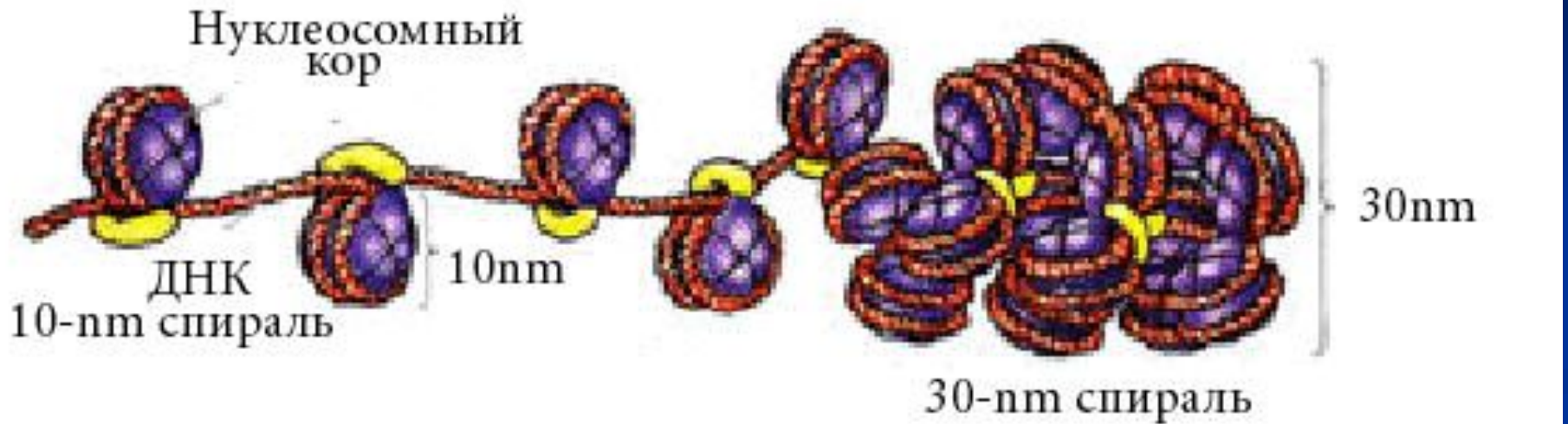
- А) Две нуклеосомы соединенные линкерной ДНК.
- Б) Модель укладки нуклеосом в компактную структуру хроматина.

Второй уровень компактизации

—

30 нм фибрилла

Соленоидный уровень упаковки обеспечивается Н1 гистоном.



- Н1 взаимодействует с октамерами, сближает их, и еще на него наматывается ДНК.
- Происходит сокращение линейного размера ДНК в 6-10 раз. Диаметр увеличивается до 300Å.
- Этот уровень компактизации, как и первый, не зависит от первичной структуры ДНК.

уровни упаковки ДНК в хроматине

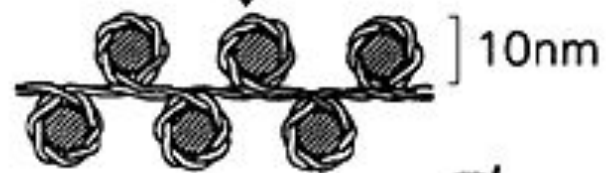
компактизация

двухспиральная ДНК



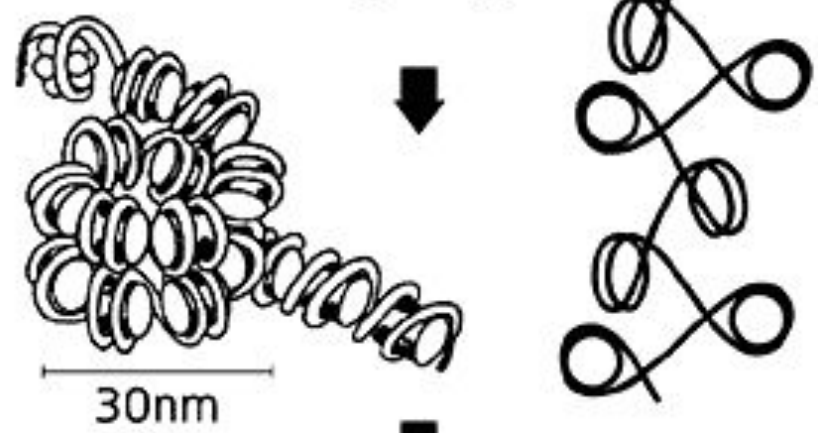
1X

нуклеосомная нить



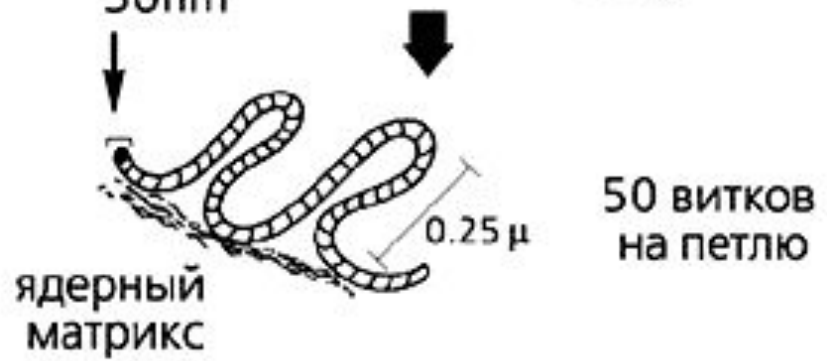
6-7X

30nm фибрилла



40X

петли ДНК



700X

Все остальные уровни
компактизации связаны с
негистоновыми белками.

Третий уровень
структурной организации
хроматина -
петлевые домены ДНК

Петельно-доменный уровень компактизации хроматина



- Обеспечивается негистоновыми белками.
- Они узнают определенные последовательности ДНК и связываются с ними и друг другом, образуя петли по 20-80 тыс. п.н.

Двойная
спираль ДНК
2 нм

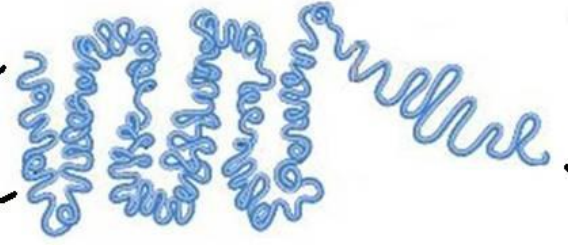
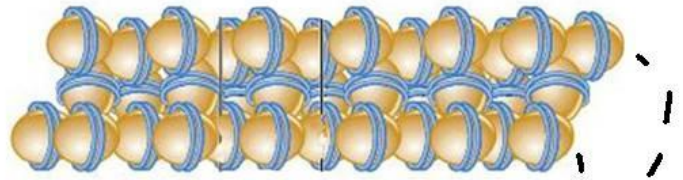
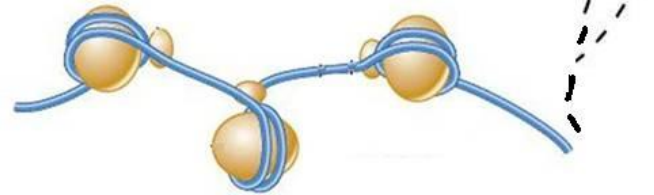
Нуклеосомная
нить 11 нм

Хроматиновая
нить 30 нм

Scaffold

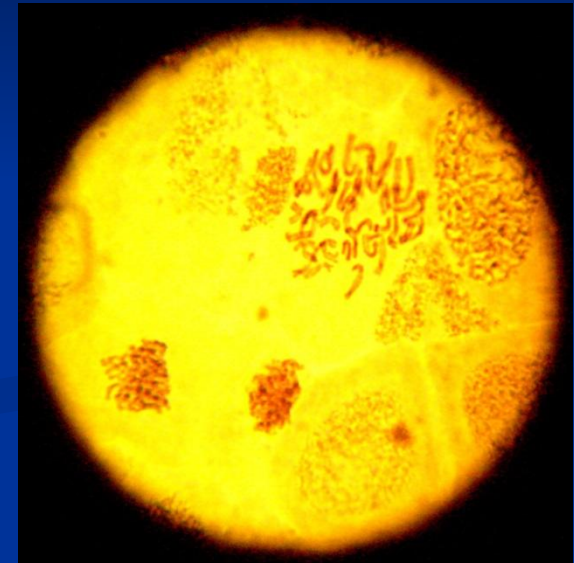
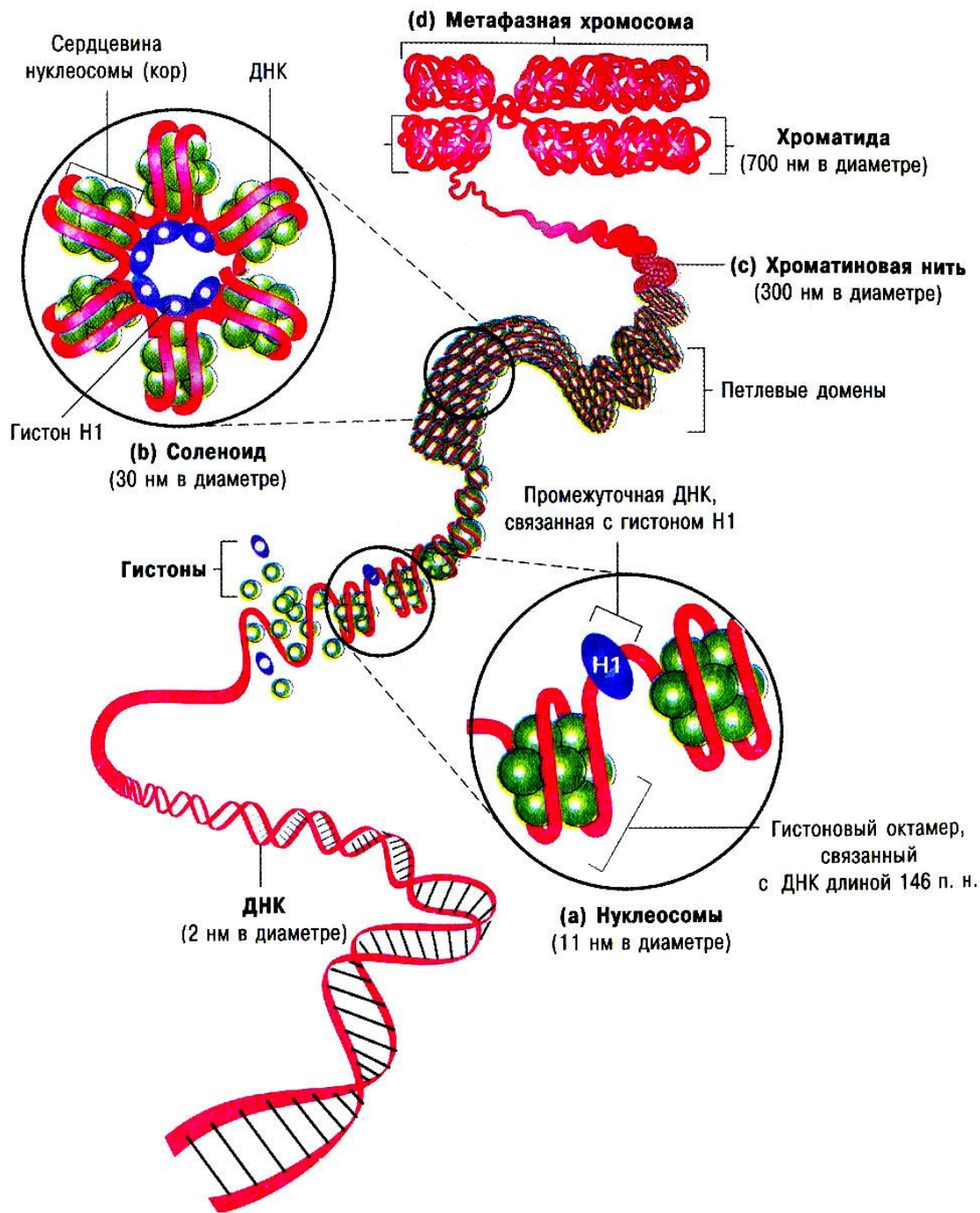
Хроматиновые
петли 300 нм

Хроматида
700 нм



Метафазная хромосома





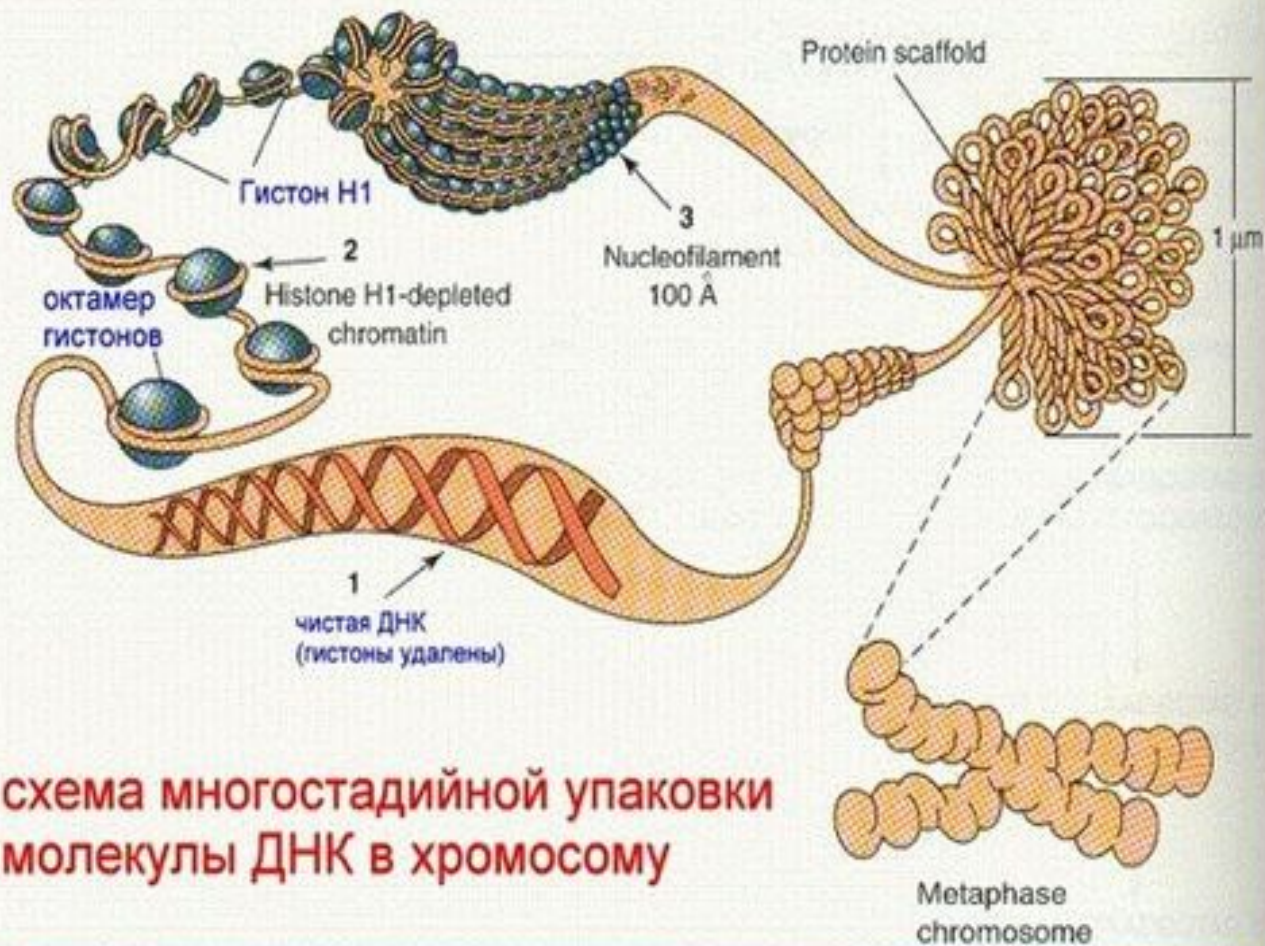
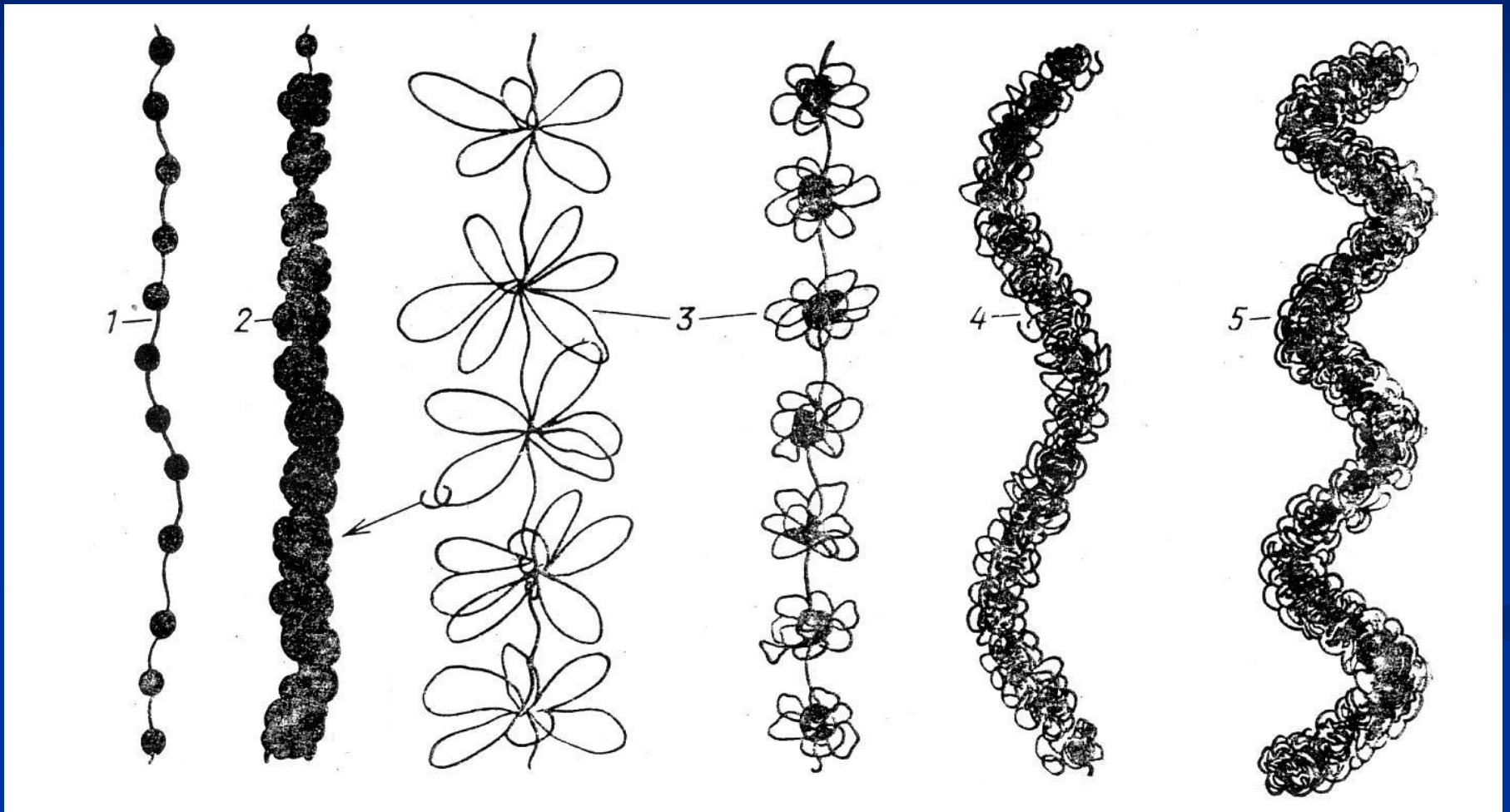
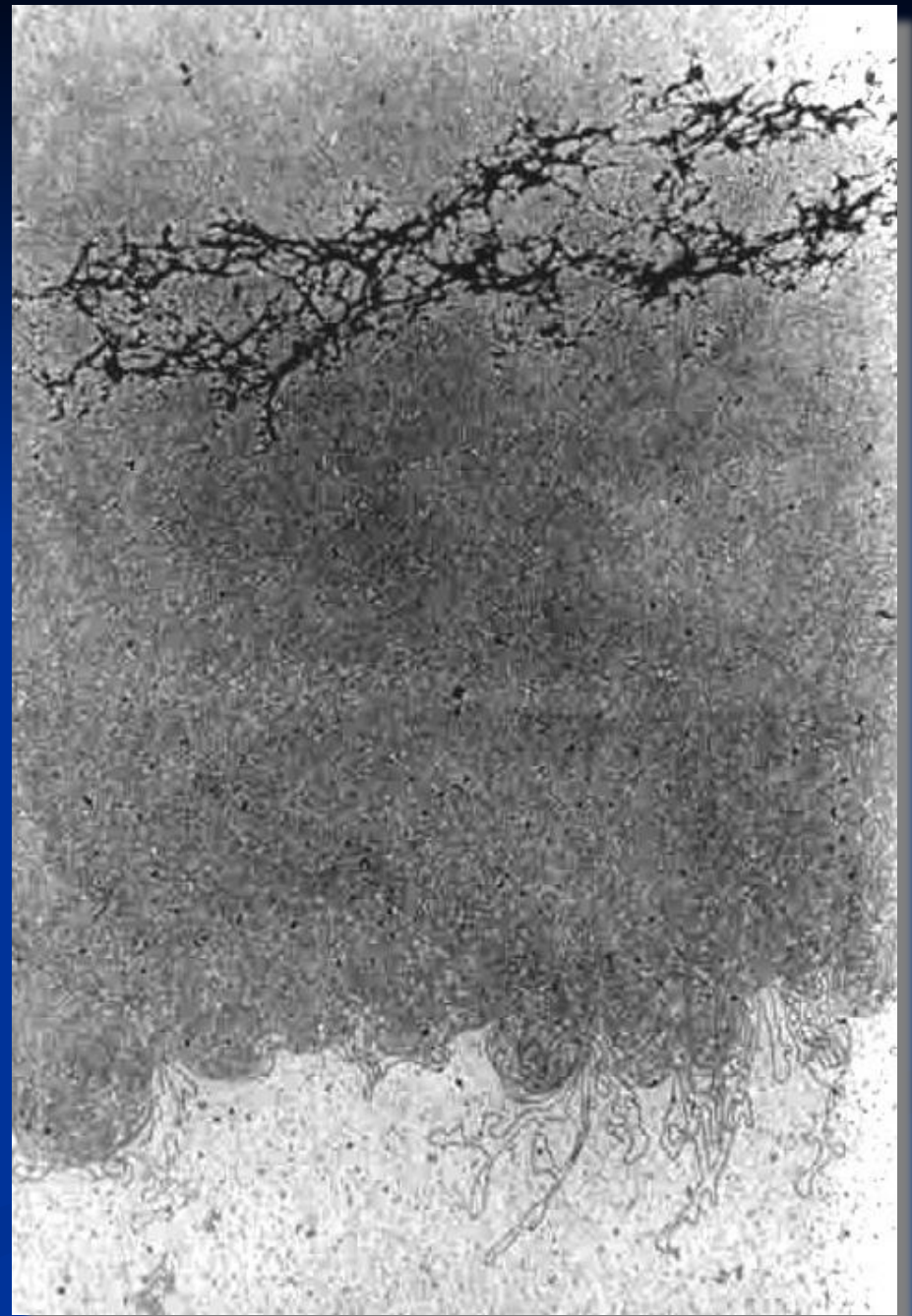
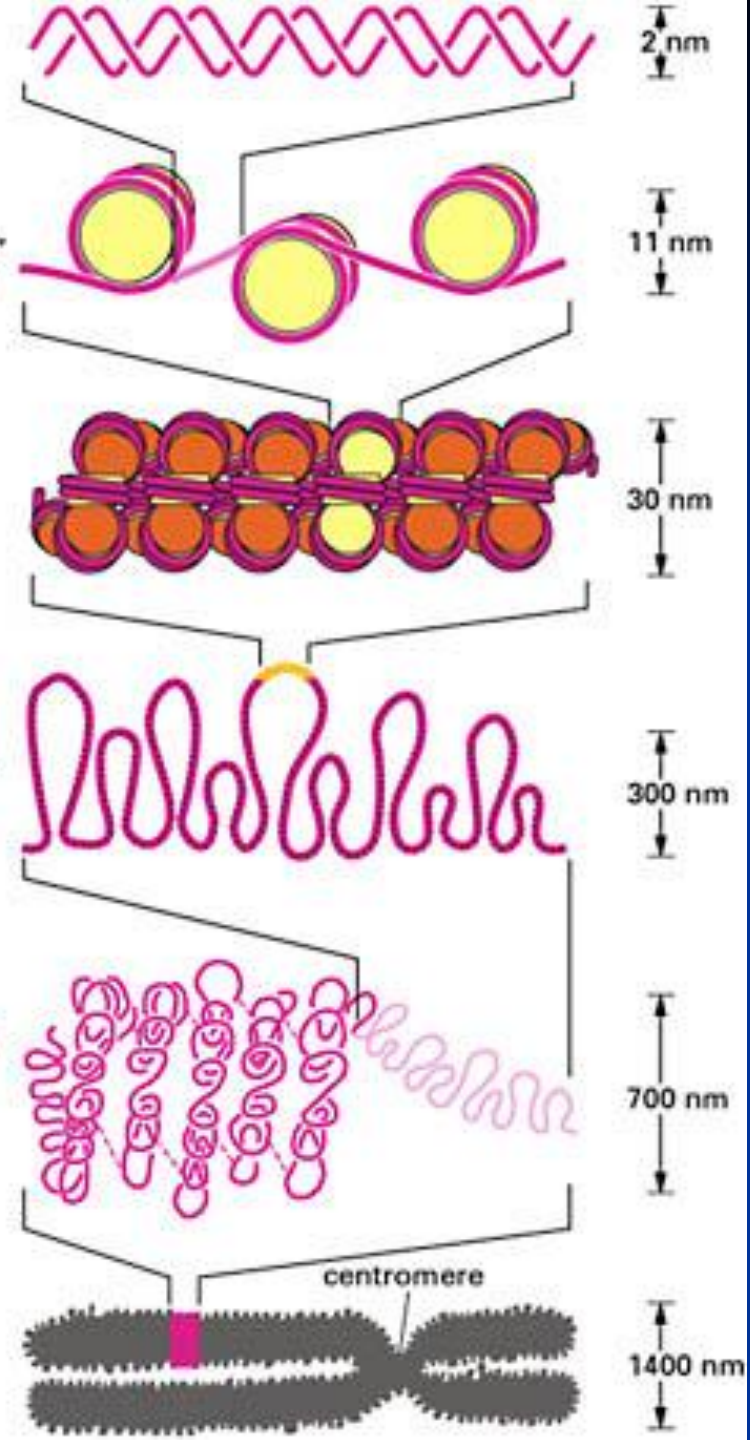


схема многостадийной упаковки молекулы ДНК в хромосому

Схема различных уровней компактизации хроматина.





Упорядоченная организация хромосомы в трехмерном пространстве ядра необходима:

1. Для разделения хромосом в митозе.
2. Для упорядочения процессов репликации и транскрипции.

Четвертый уровень упаковки
хроматина – **хромонемный**



Метафазная хромосома

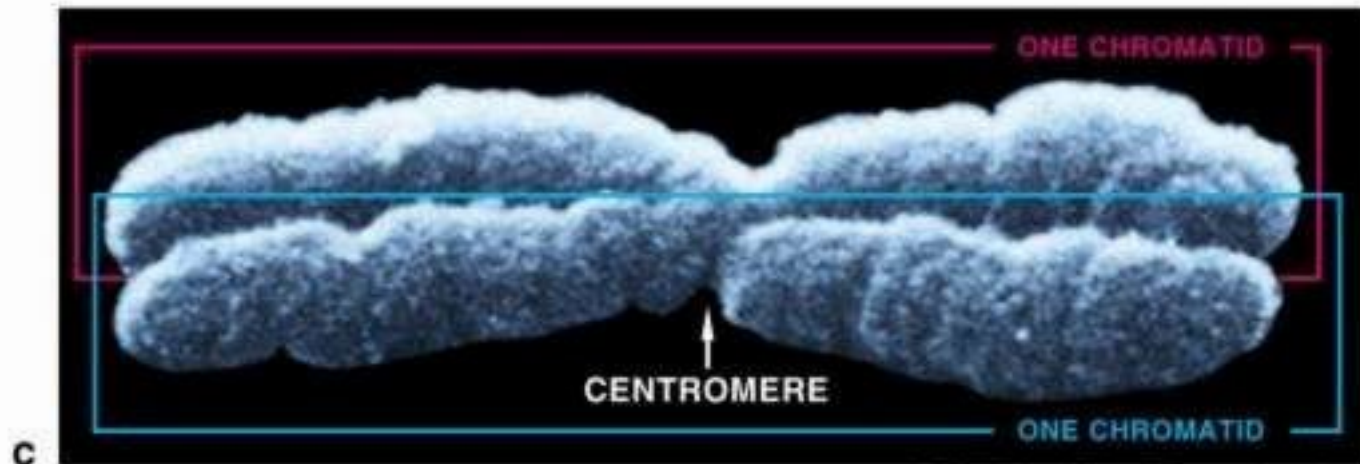
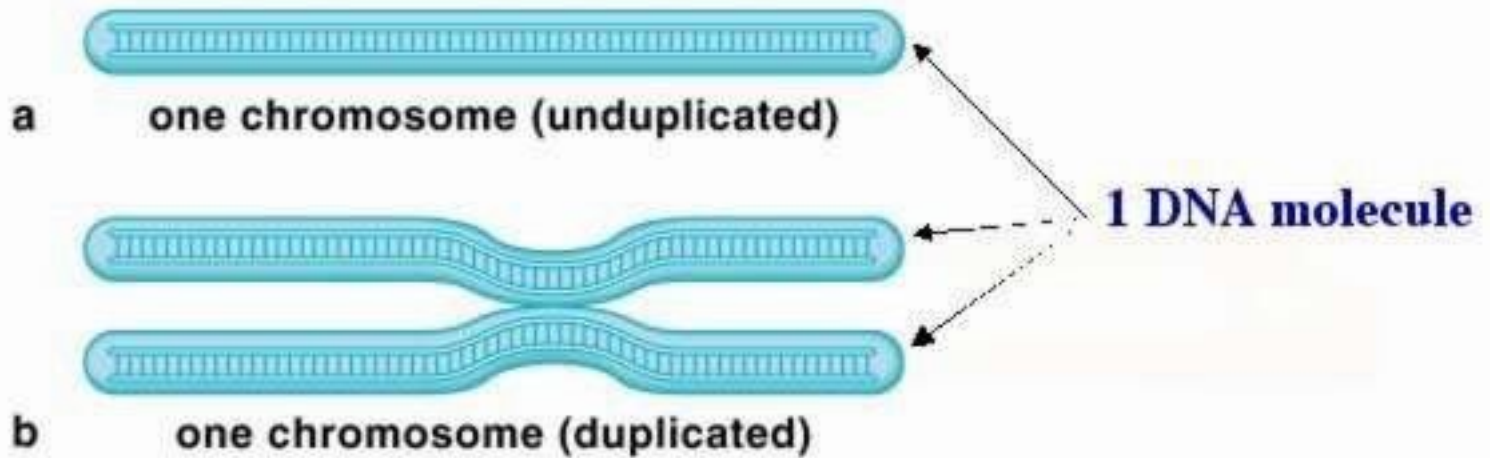
- Метафазная хромосома. ДНК уже удвоена.

Хромосома состоит из двух хроматид.

Каждая из них содержит одну молекулу ДНК.



Chromosomes are made of DNA molecules



Ядрышки

- обязательный компонент ядра, обнаруживаются в интерфазных ядрах и представляют собой мелкие тельца, шаровидной формы
- Синтез рРНК + белки = РНП
рибонуклеопротеид рибосомы



Функции ядра

- **Хранение генетической информации** (репликация, репарация)
- **Реализация генетической информации** (транскрипция, трансляция)

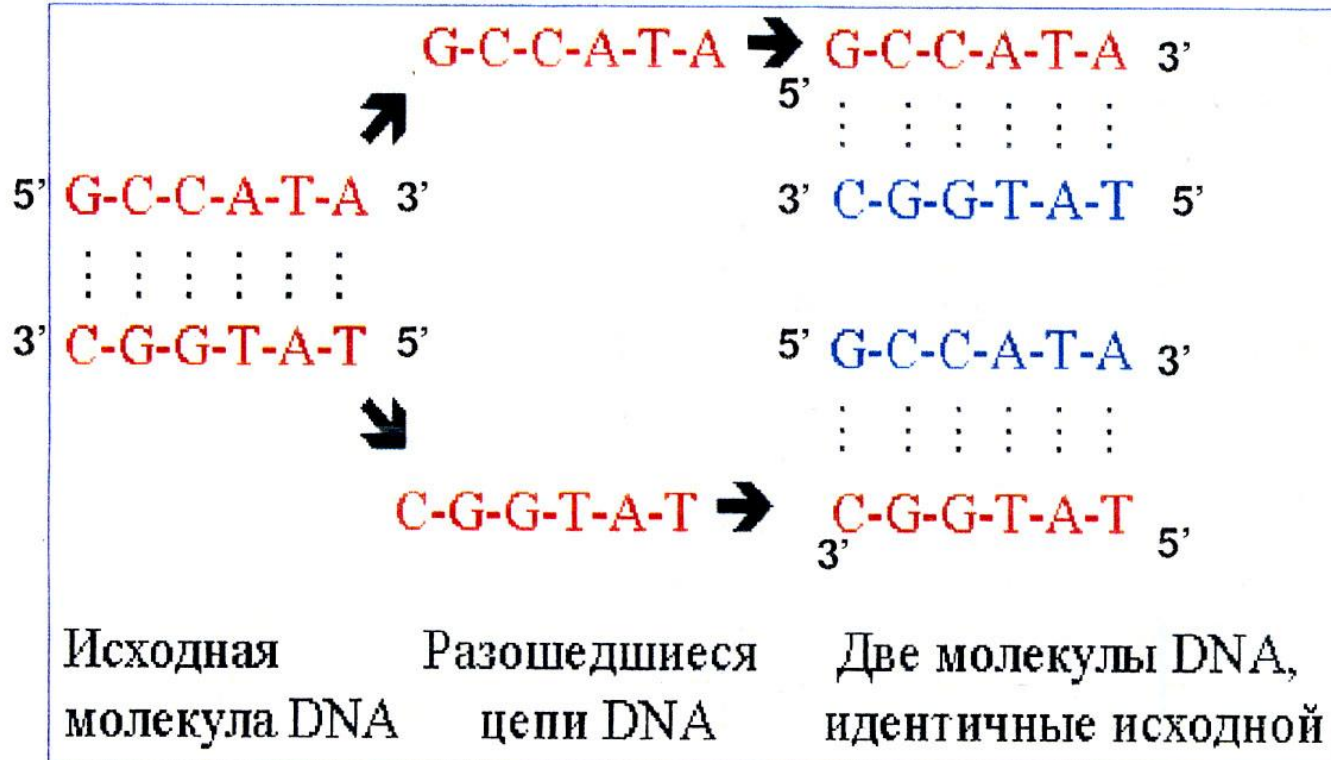
Репликация ДНК

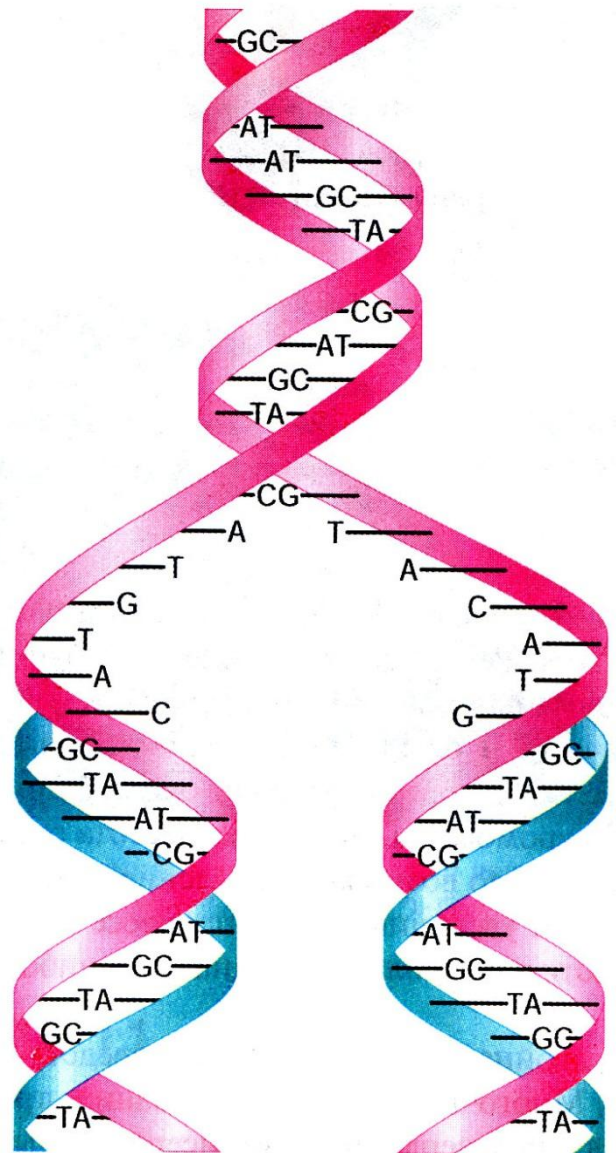
- Сложный многоступенчатый процесс, происходящий при участии большого количества ферментов.
- Происходит в S-период интерфазы.

- **Репликативная вилка** – это точка в которой разделяются цепи материнской ДНК.
- В отдельно взятый момент в ДНК расплетен только маленький участок.

Принципы репликации ДНК

1. Комплементарность
2. Антипараллельность
3. Полуконсервативность





Новая цепь Старая цепь Старая цепь Новая цепь

Общая модель полуконсервативной репликации ДНК. Вновь синтезированные цепи выделены синим.

Репликация ДНК - процесс образования идентичных копий ДНК, осуществляемый комплексом ферментов и структурных белков

Репликация ДНК лежит в основе:

- воспроизведения генетической информации при размножении живых организмов
- передачи наследственных свойств из поколения в поколение
- развития многоклеточного организма из зиготы.

Общие принципы репликации ДНК применимы, с небольшими модификациями, ко всем организмам.

Различные ферменты и типы ферментативной активности, вовлеченные в биосинтез ДНК

Название фермента (белка)	Функция
Хеликаза	Функция раскручивания двойной спирали
SSB-белок	Белок, связывающийся с одноцепочечной ДНК
Топоизомераза	Удаление супервитков спирали
ДНК-полимераза	Рост цепи ДНК за счет поликонденсации дезоксирибонуклеозид трифосфатов
Праймаза	Синтез РНК-затравки (праймера)
5' → 3' эндонуклеаза	Удаление РНК-затравки, репарация
3' → 5' эндонуклеаза	Исправление ошибок репликации
ДНК-лигаза одноцепочечного разрыва	Соединение 3'-ОН и 5'-PO ₄ концов
Эндонуклеаза	Репарация
Гликозилаза	Репарация

Общие свойства ДНК-полимераз

- Не способны расплетать ДНК-дуплекс – нуждаются в однонитевой **матрице**.
- Могут только удлинять предсуществующую нить ДНК или РНК, но не способны инициировать синтез - потребность в **затравке** (праймере).
- **Однонаправленность** (униполярность) синтеза: синтез каждой дочерней цепи ДНК происходит всегда в направлении **5'→3'**: нуклеотид добавляется к 3'-ОН концу растущей цепи.
- Однонитевая матрица считывается в направлении **3'→5'**.

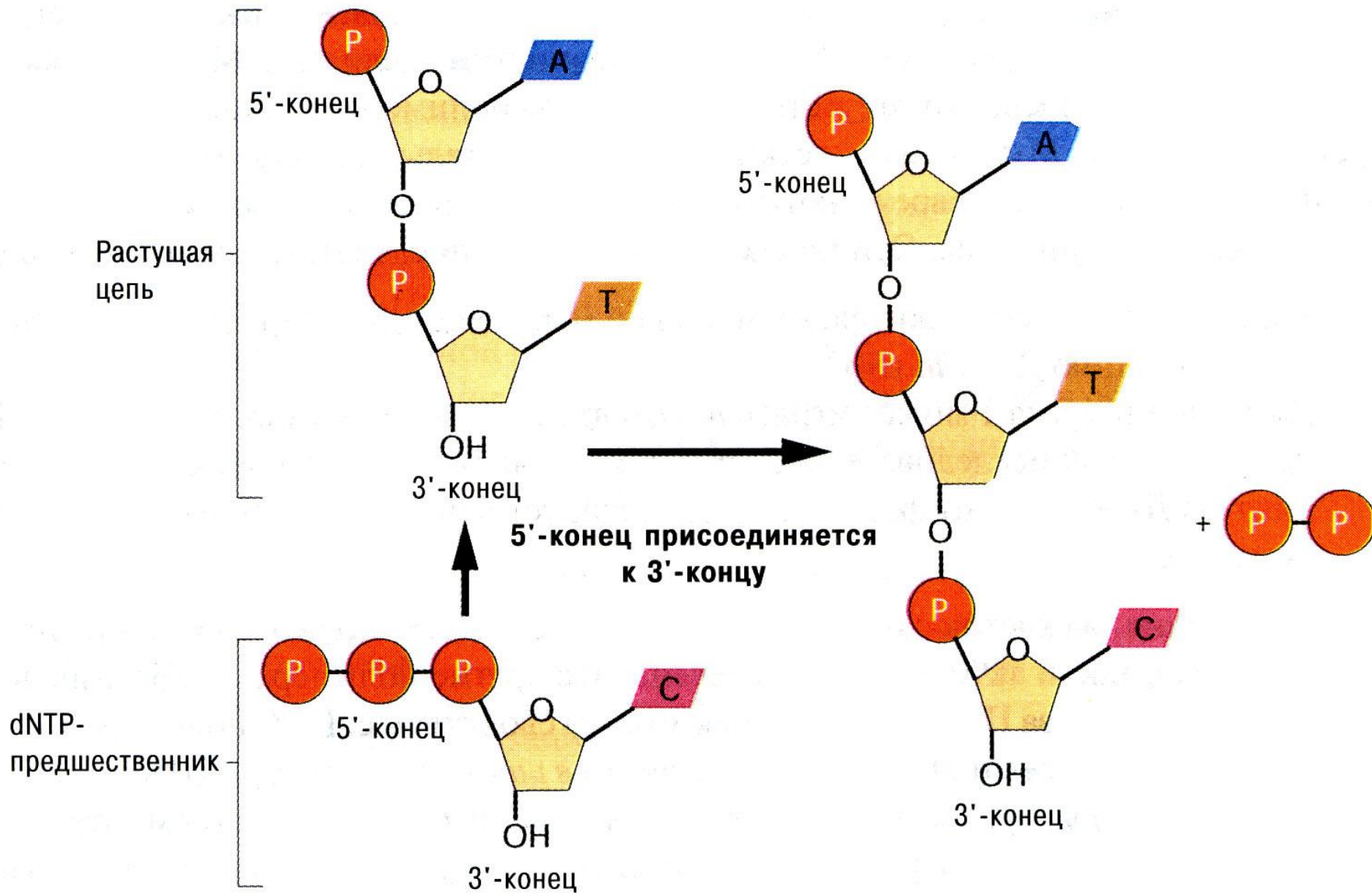
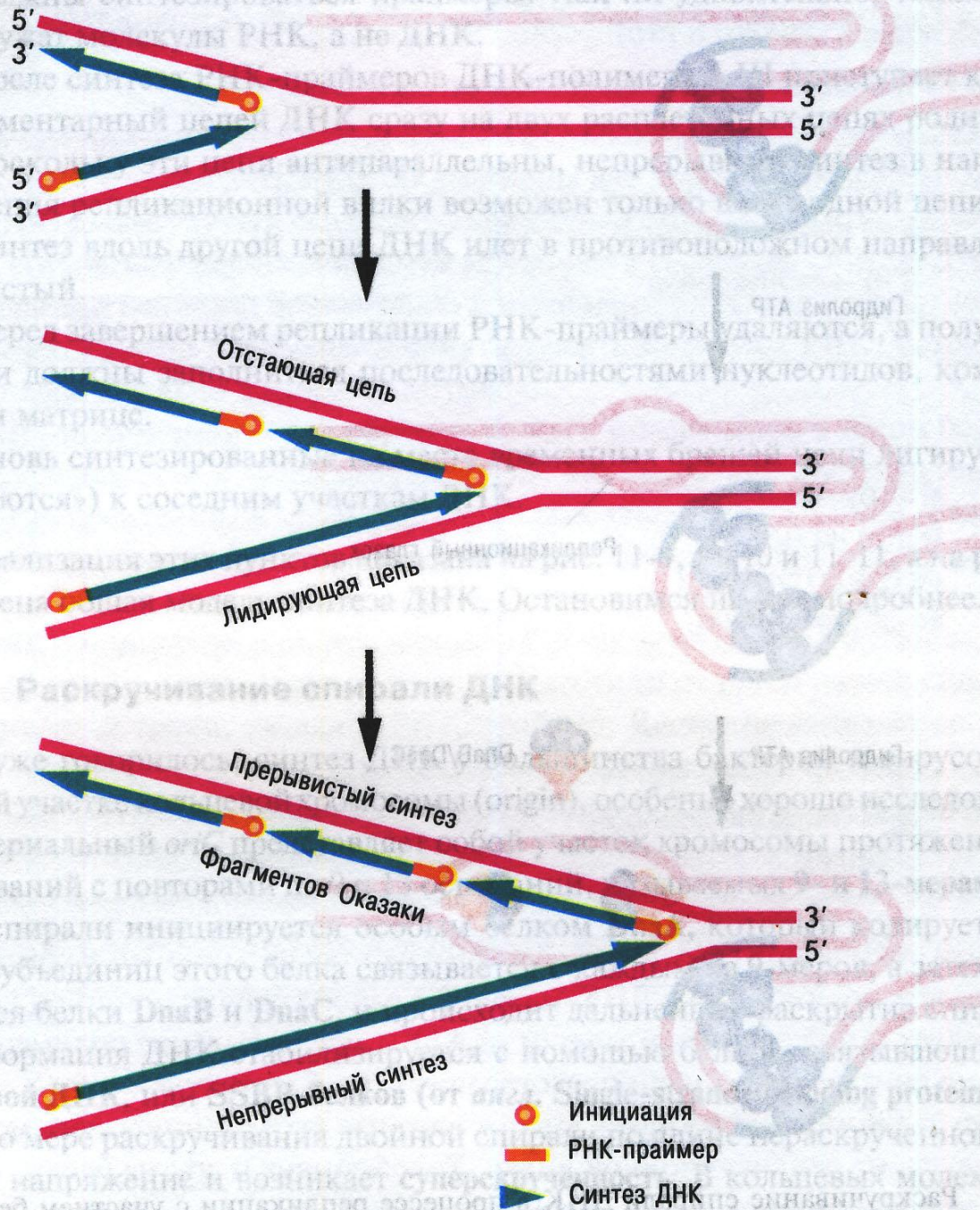


Рис. 11-8. Синтез ДНК в направлении от 5'- к 3'-концу.

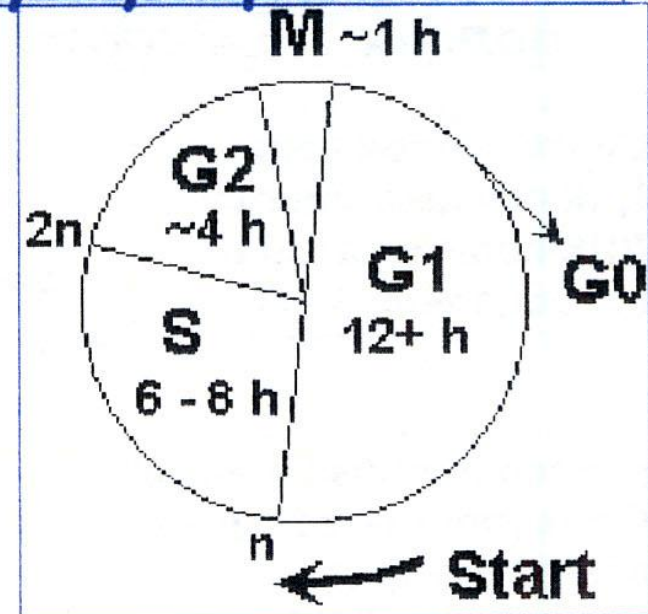
Репликационная вилка





Согласованность репликации и клеточного деления у эукариот

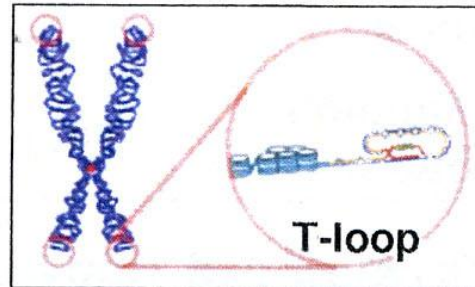
- Каждый репликон должен реплицироваться один – и только один - раз за клеточный цикл.
- Группы репликонов эукариот (т.н. **репликационные единицы**, содержащие 20-80 репликонов) иницируются и проходят репликацию упорядоченно, примерно в течение 1 час.
- Удвоение генома (репликация всей ДНК) происходит в S-фазе цикла, а разделение пополам – в митозе (M-фазе).



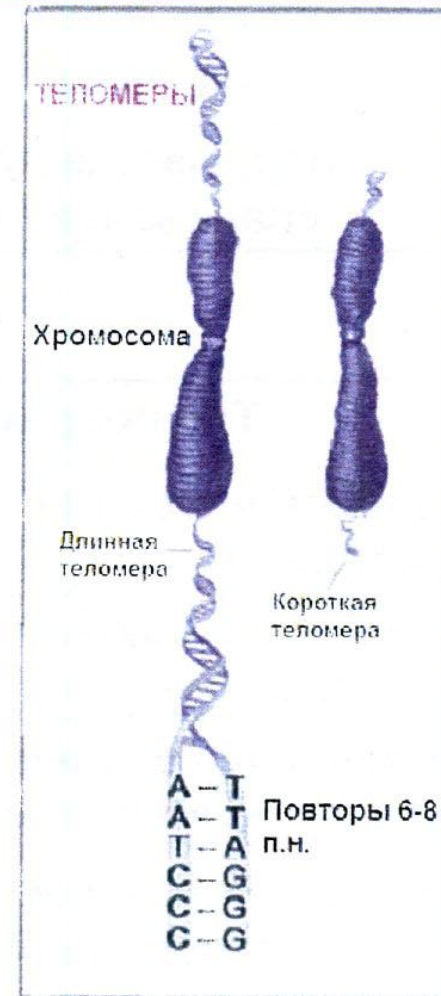
Контроль репликации ядерной ДНК

- Позитивный: переход G1/S;
- Негативный: переход - G2/M.

Проблема репликации теломер - концов эукариотических хромосом



- Репликация конца запаздывающей цепи не может пройти полностью: после удаления РНК-затравки ни одна ДНК-полимераза **не сможет восстановить ее 5'-конец**. В хромосоме остаются выступающие 3'-концы.
- В каждом цикле деления **теломеры клетки укорачиваются**. Этот феномен носит название концевой недорепликации и является одним из важнейших факторов биологического старения.
- Теломеры имеют особое строение: они содержат простые некодирующие **G-богатые повторяющиеся последовательности** из 6-8 п.о. с выступающим 3'-концом, способные сворачиваться с образованием петли (T-loop).



Репарация, или исправление повреждений в ДНК

- Репарация генетических повреждений - способность живых организмов восстанавливать повреждения, возникшие в ДНК уже после ее синтеза.
- От того, как клетки справляются с повреждениями, зависят такие кардинальные процессы, как появление наследственных болезней и раковых опухолей, старение.
- Ферментативные системы репарации по сложности приближаются к репликационному ферментативному аппарату.
- Системы репарации и репликации имеют много общих компонентов.
- Ферменты репарации исправляют ошибки, возникшие при репликации в уже синтезированной ДНК (первичный и редактирующий отбор допускают примерно 1 ошибку на 10^9 включенных в ДНК нуклеотидов).
- Ферменты репарации исправляют также ошибки, не зависящие от репликации.

Репарация повреждений одной цепи ДНК

Прямая реактивация повреждений

Эксцизионная репарация (excision – отсекание, вырезание):

- Вырезание основания (base excision repair)
- Вырезание нуклеотидов (nucleotide excision repair) (в случае повреждений, заметно нарушающих вторичную структуру).

При увеличении количества повреждений в ДНК блокируется деление клеток и происходит индукция дополнительных репаративных ресурсов клетки.

Индукцируемая репарация с исправлением ошибок:

- Например, индукция SOS–системы при УФ-облучении

Индукцируемая репарация с мутагенным эффектом.

- Именно она определяет мутагенный эффект УФ-облучения и химического мутагенеза: мутагенез – активный процесс.

Общие принципы репарации:

- Чем серьезнее повреждение, тем большее количество ресурсов клетки привлекается на исправление ошибки;
- Принцип «меньшего из зол»: репарация ценой жертв, например, с мутагенным эффектом