

# 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

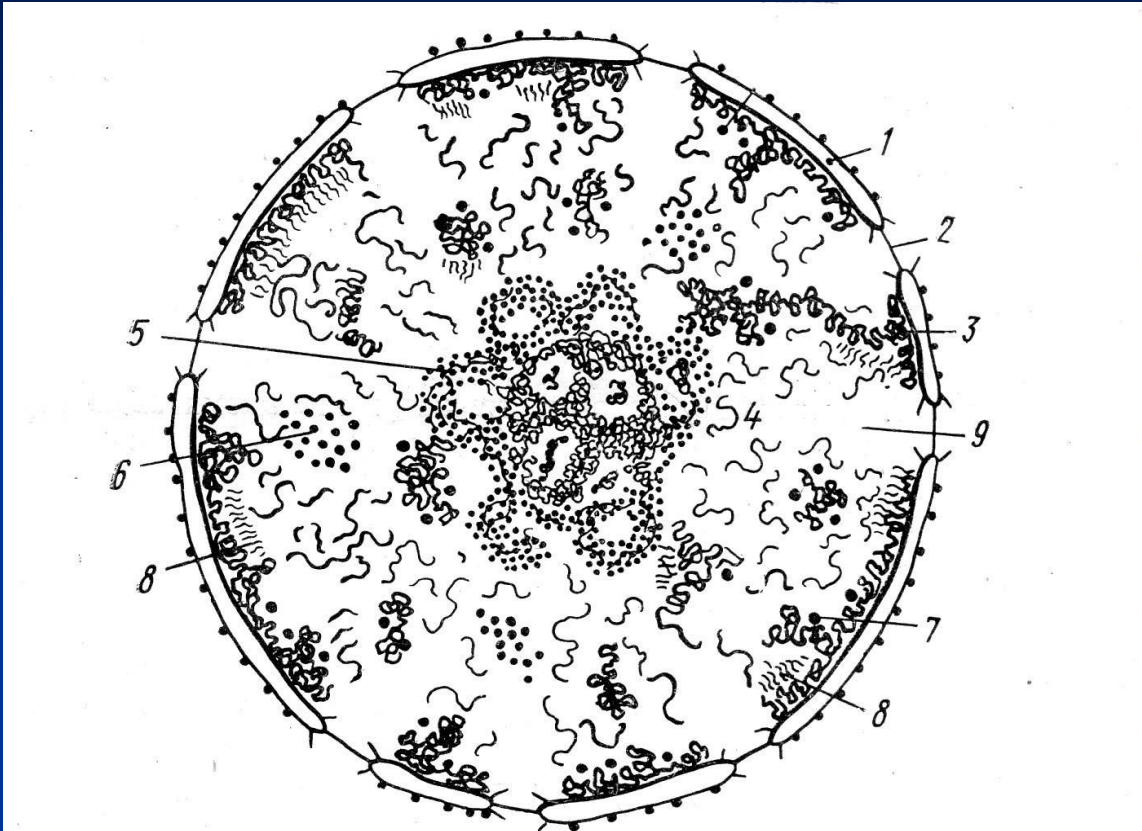
- Большинство клеток содержат одно ядро, но существуют **многоядерные** (зрелые клетки мышц) и **безъядерные клетки** (например, зрелые эритроциты, тромбоциты, клетки хрусталика глаза).
- **Форма и вид ядра** клетки являются факторами позволяющими отличать разные типы клеток между собой.

- 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.
-

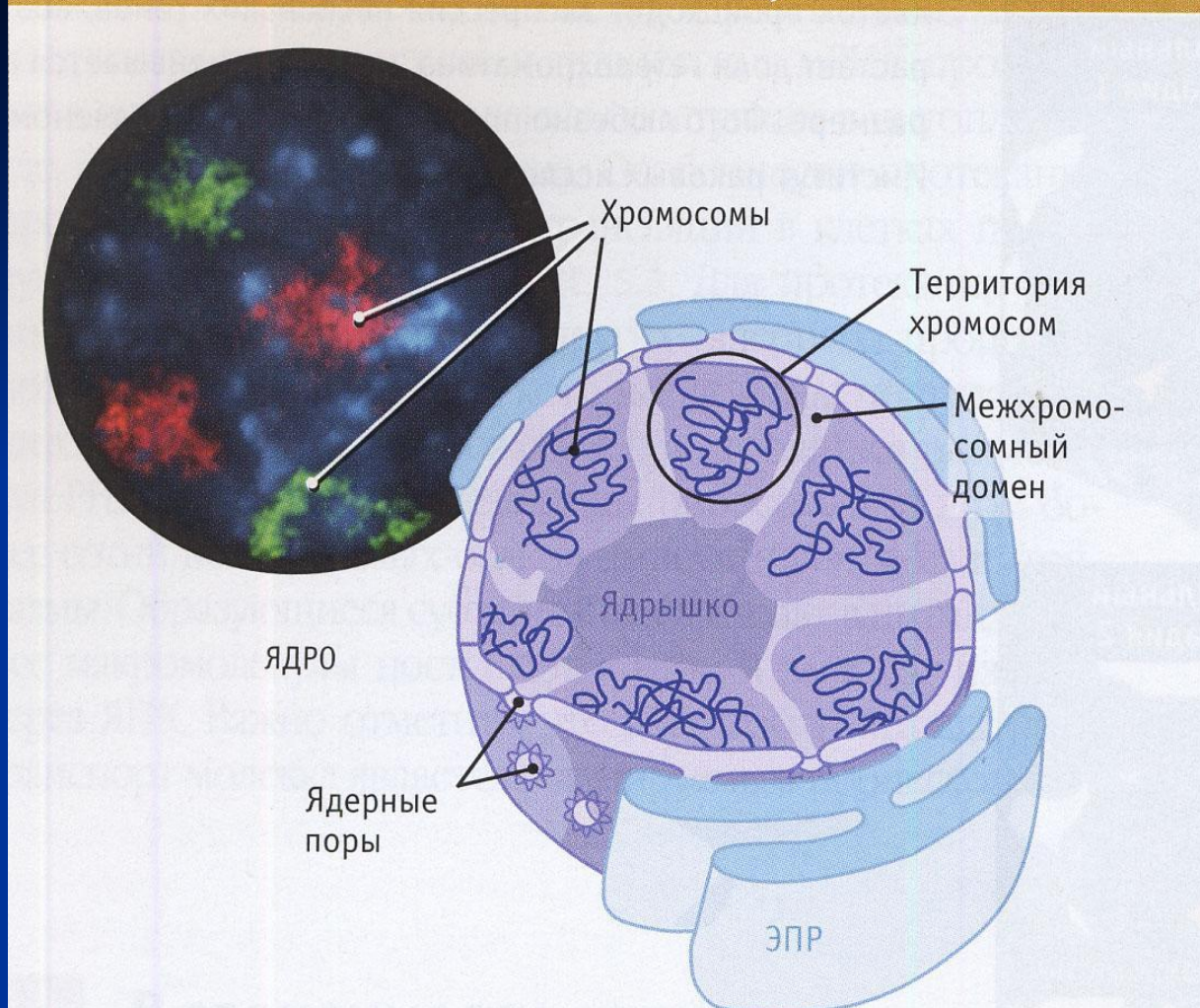
- **Хроматин** - сложный нуклеопротеидный комплекс, из которого и состоят эукариотические хромосомы.

- 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

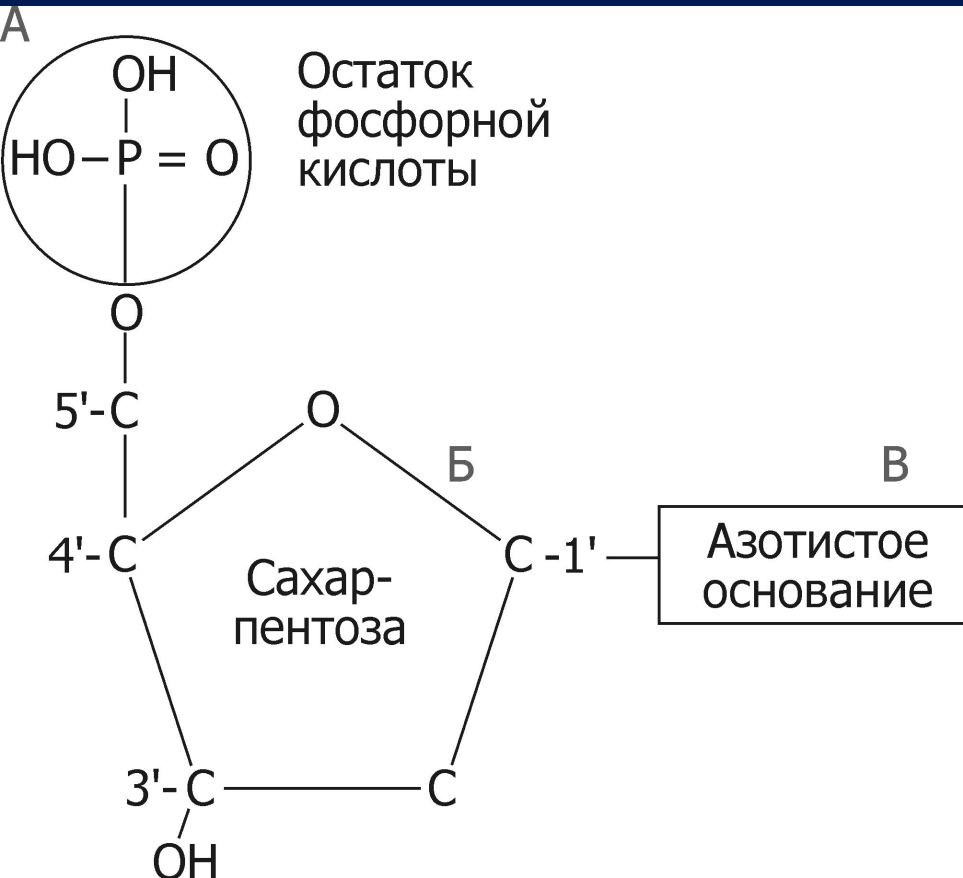
# Нуклеиновые кислоты

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

ДНК –полимер, состоящий из  
мономеров

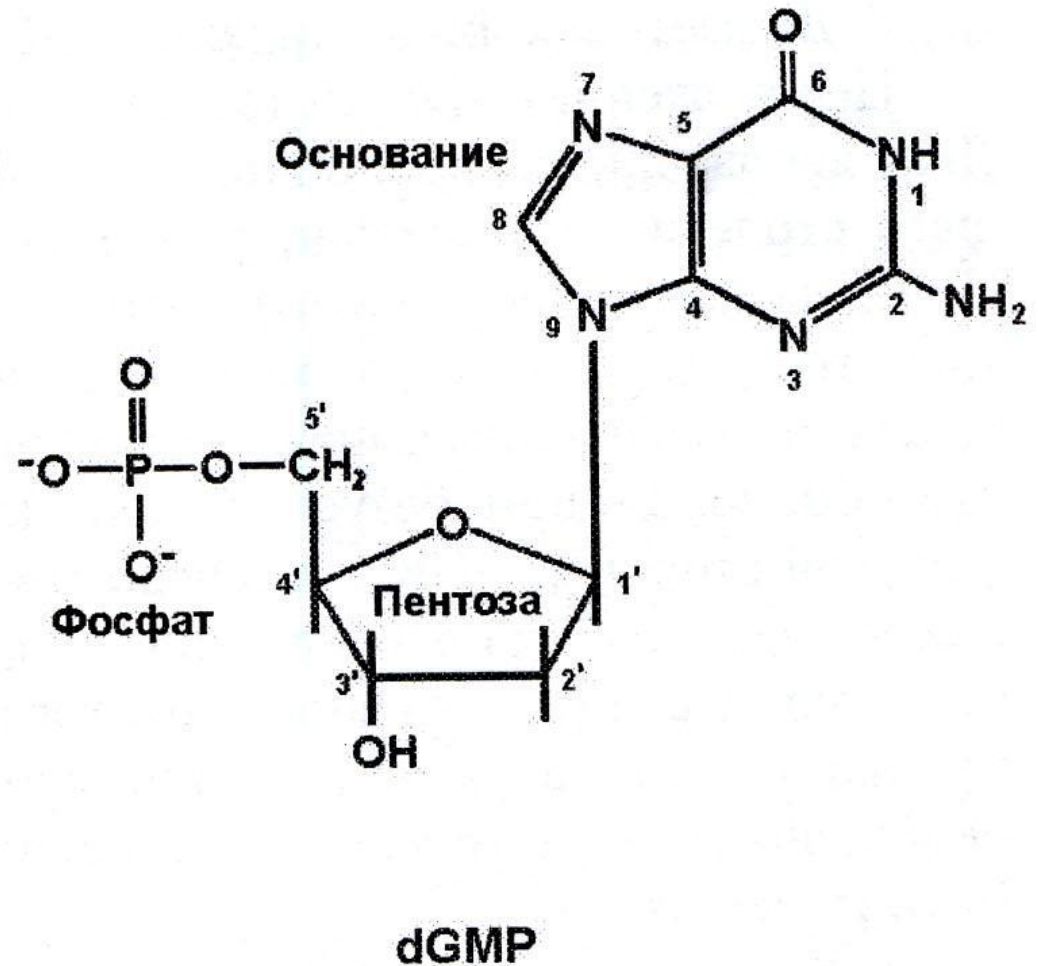
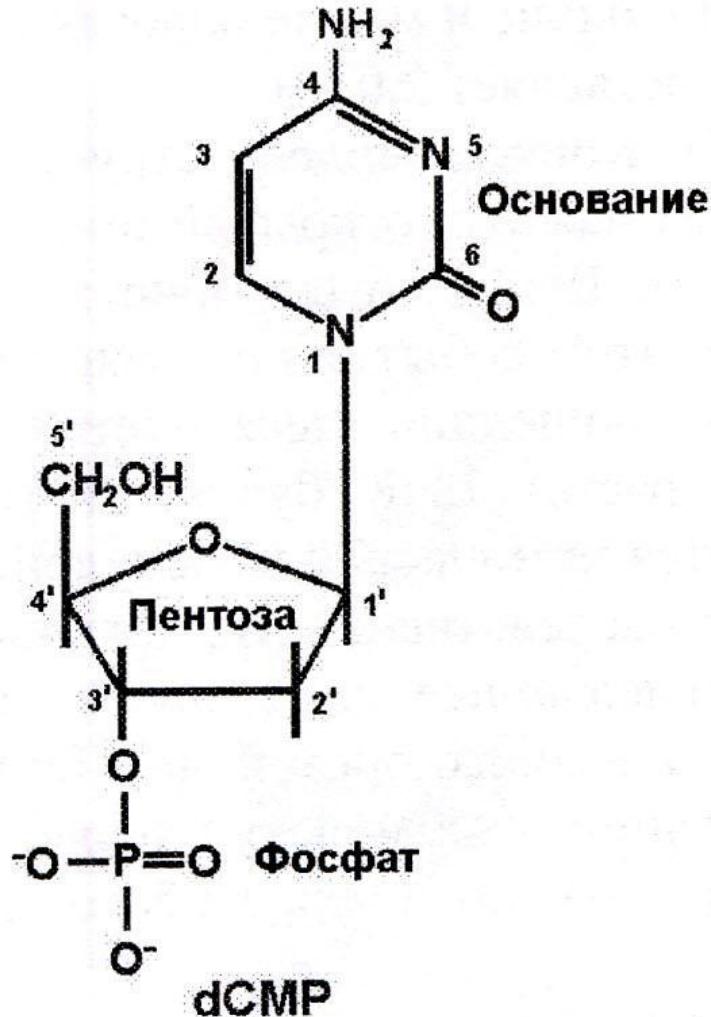
мономер - нуклеотид

# НУКЛЕОТИД



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

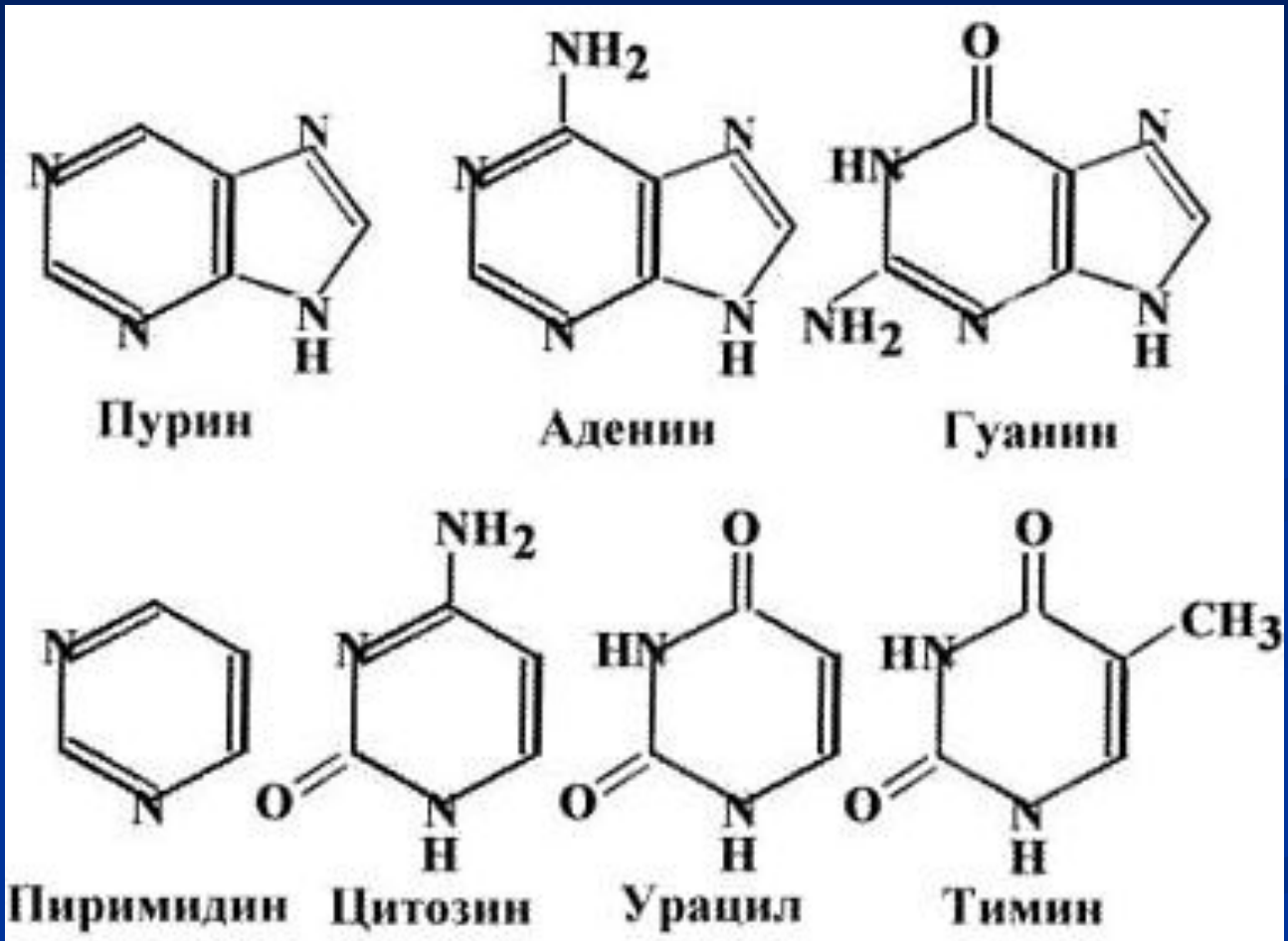
# Дезоксирибонуклеотиды – строительные блоки ДНК





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

# Азотистые основания



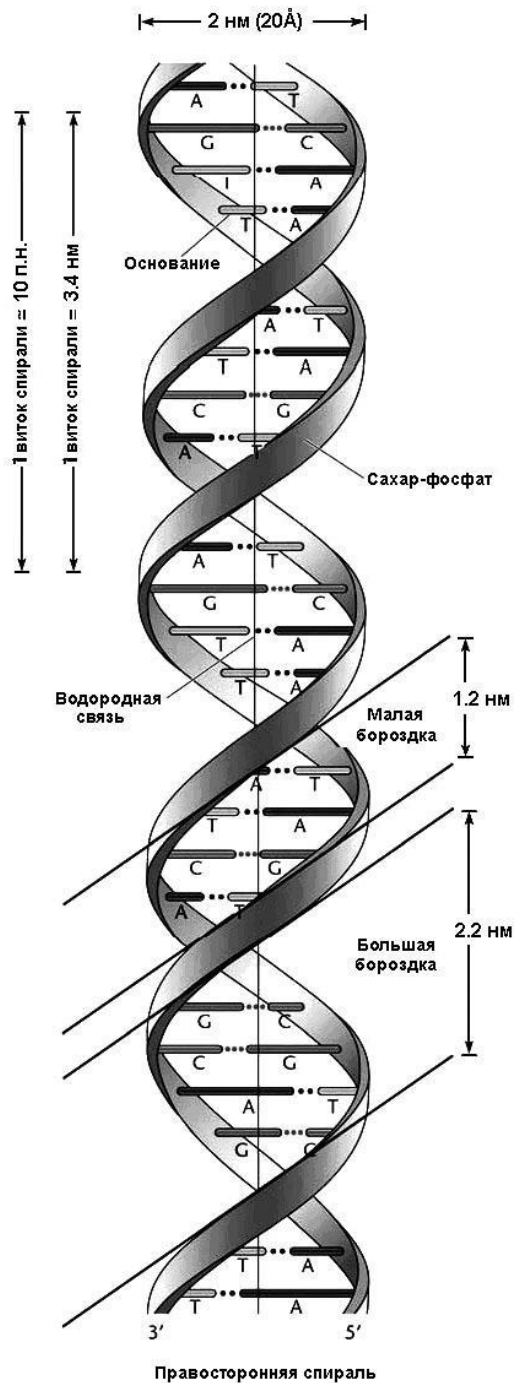
**Сахар + азотистое основание = нуклеозид**

■ **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:

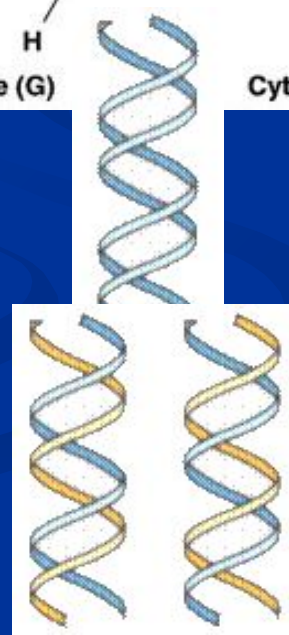
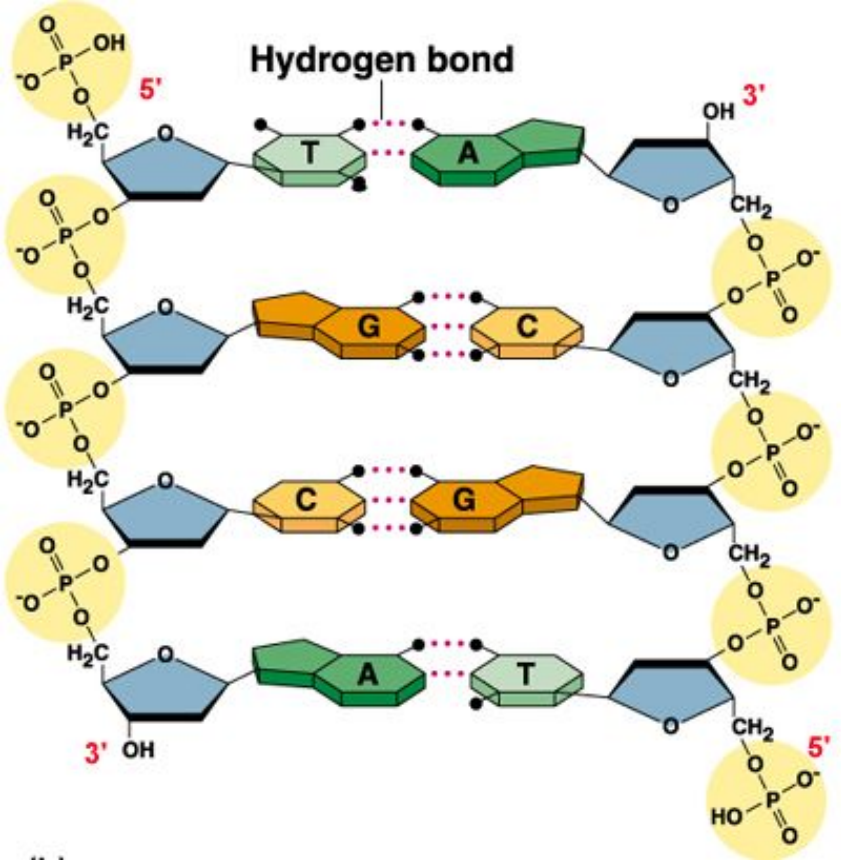
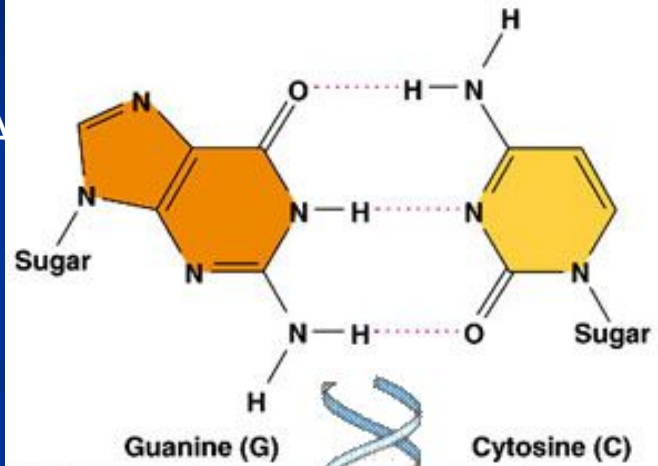
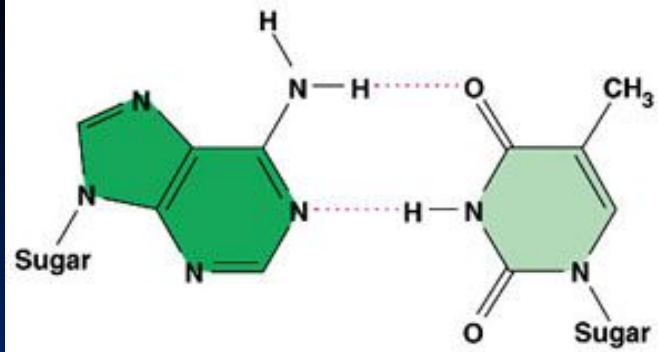
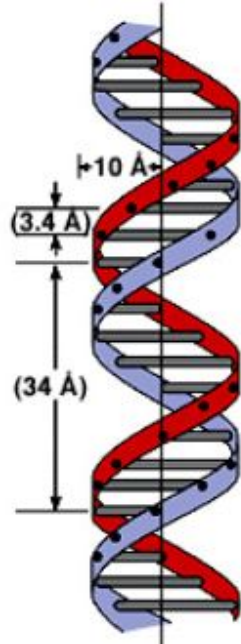
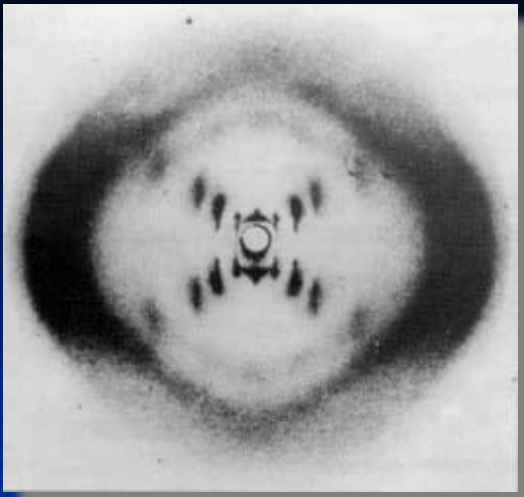
# Вторичная структура ДНК

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

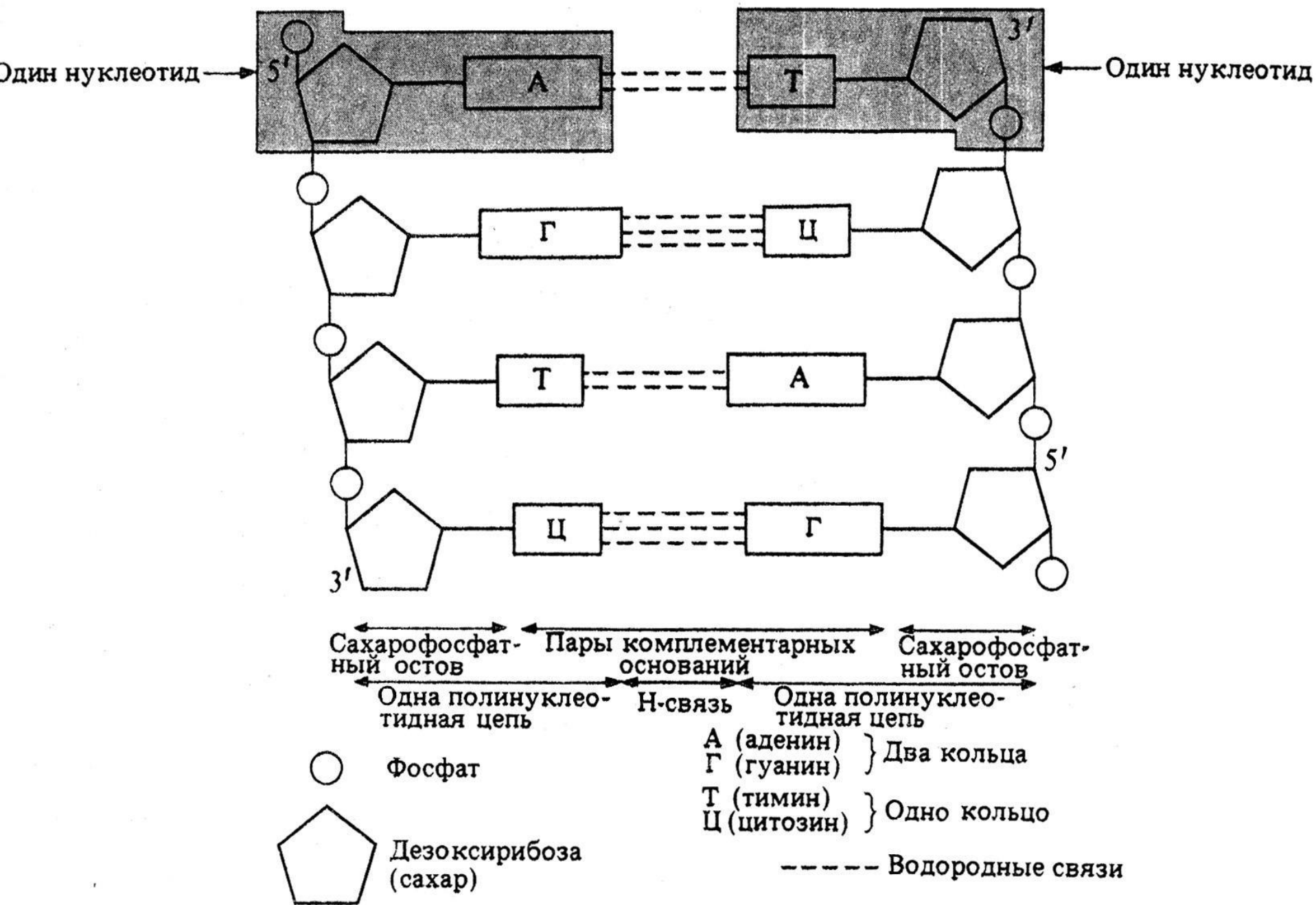


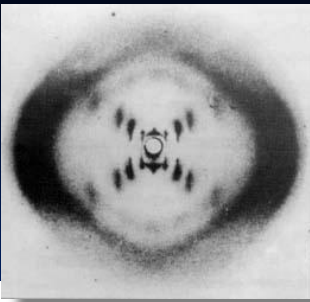
- Обе цепи объединены в результате закручивания одной цепи вокруг другой по общей оси. Цепи **антипаралельны**.  $3' \rightarrow 5'$  для одной цепи и  $5' \rightarrow 3'$  для другой.
- 3. **Сахарофосфатные группы** располагаются на внешней стороне двойной спирали, тогда как **основания** находятся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

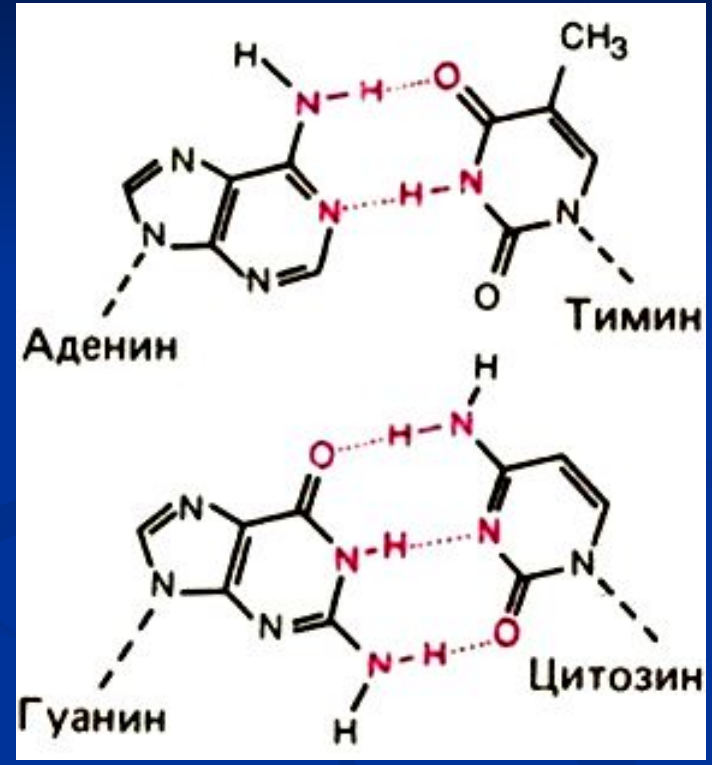
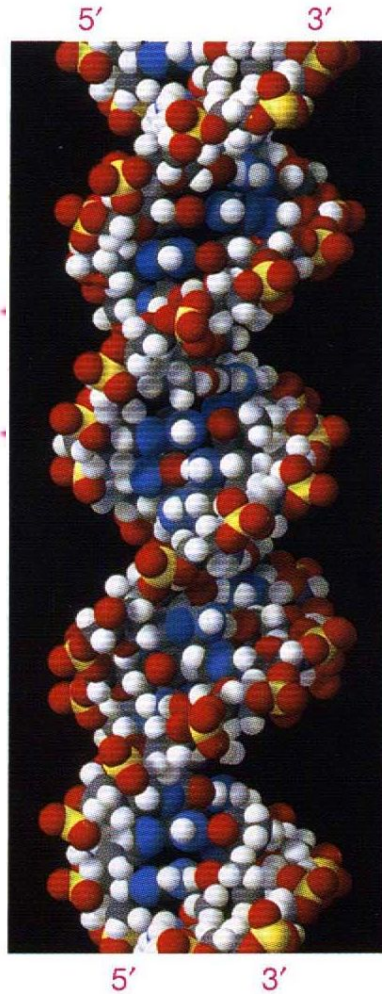
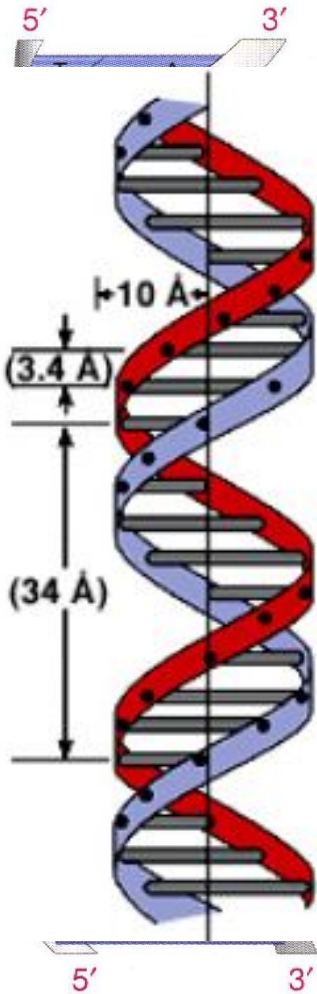
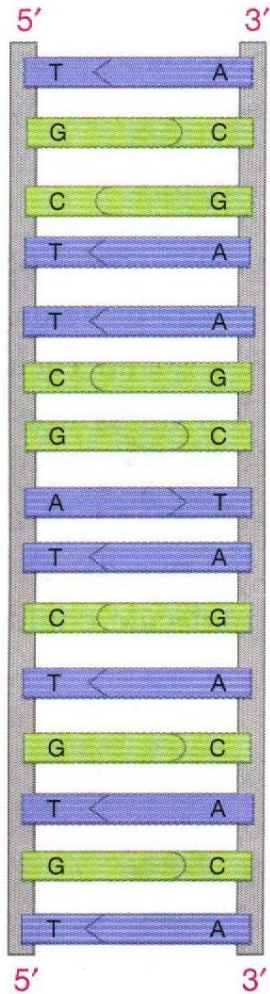


Г)

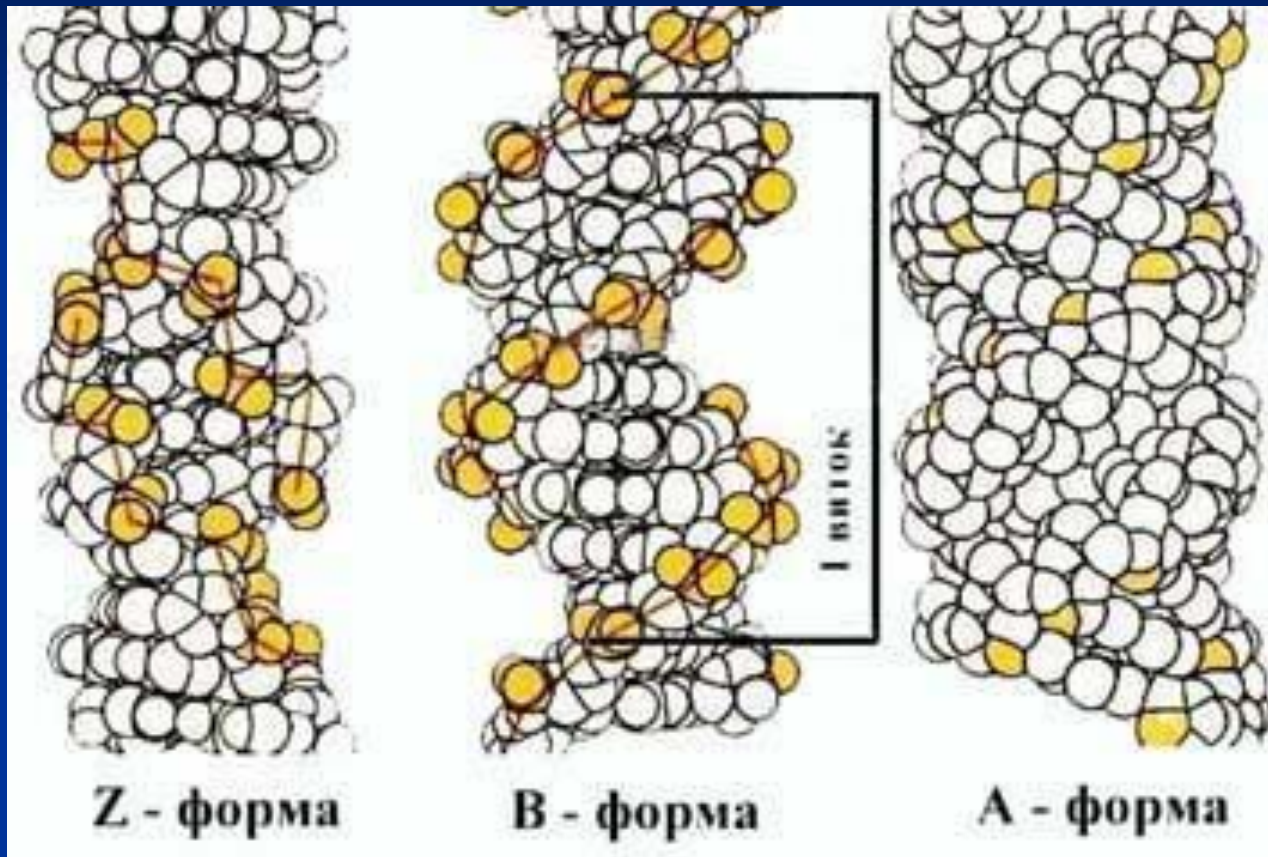


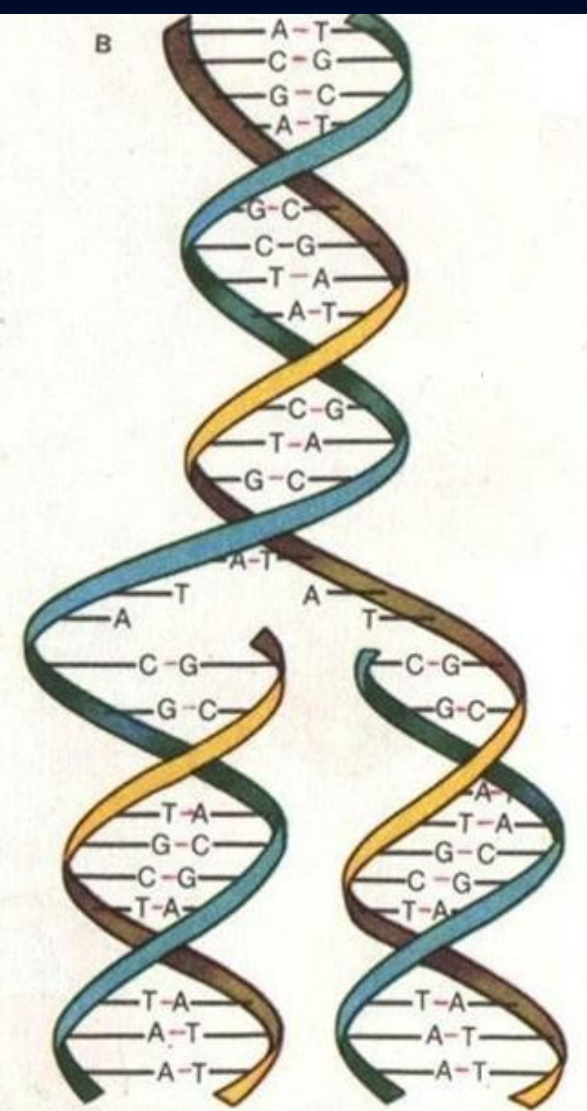
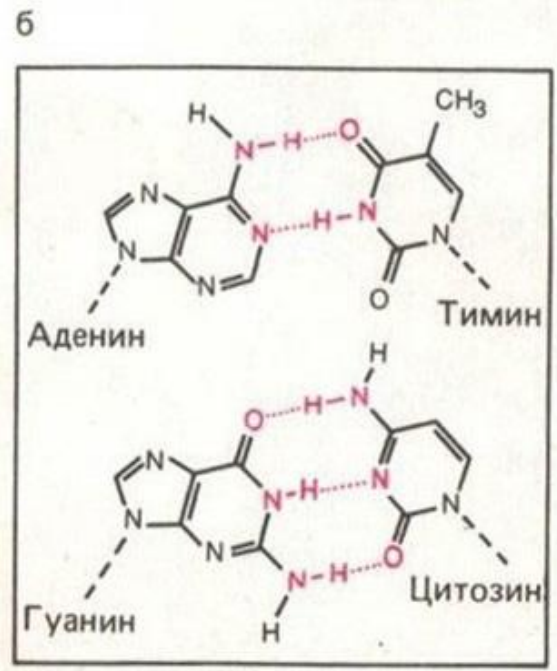
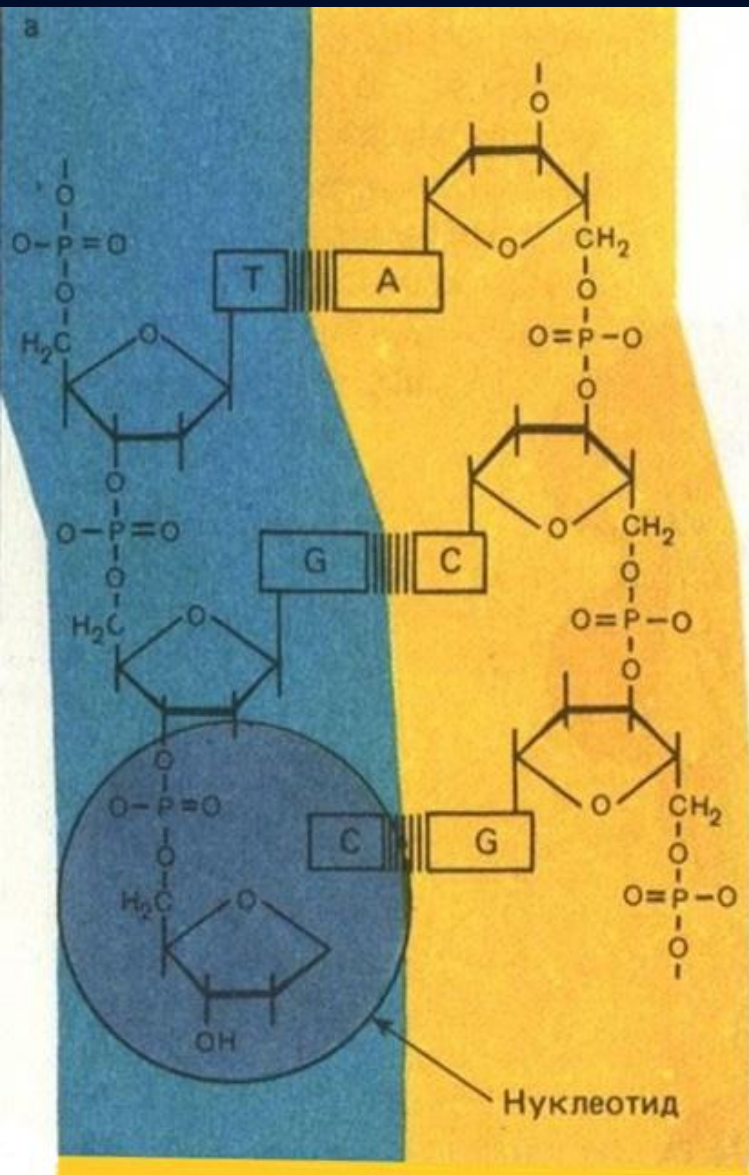


# Комплементарность азотистых оснований



# Формы двойной спирали ДНК





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

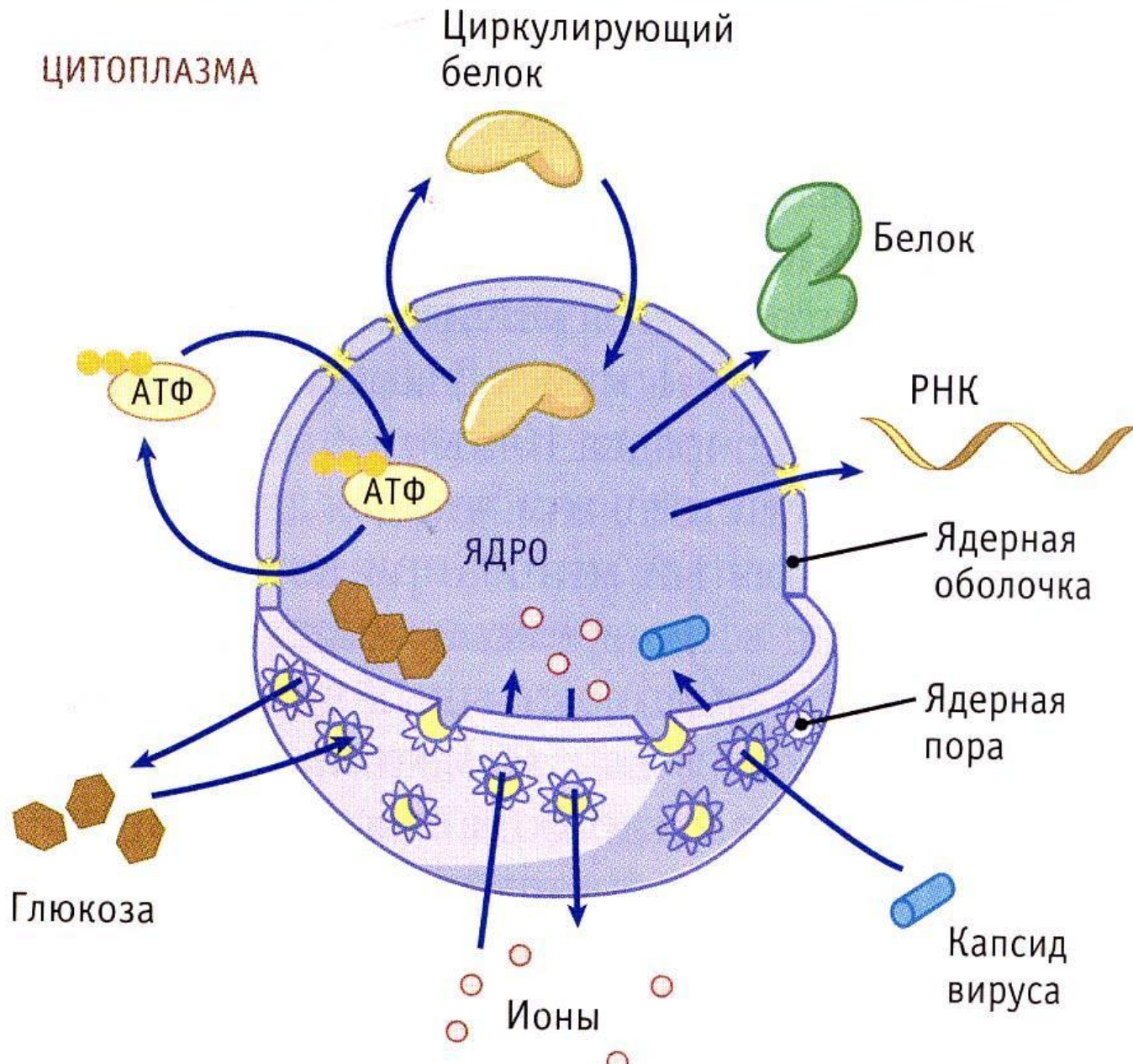
# ДНК ЭУКАРИОТ СОДЕРЖИТ

- **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.

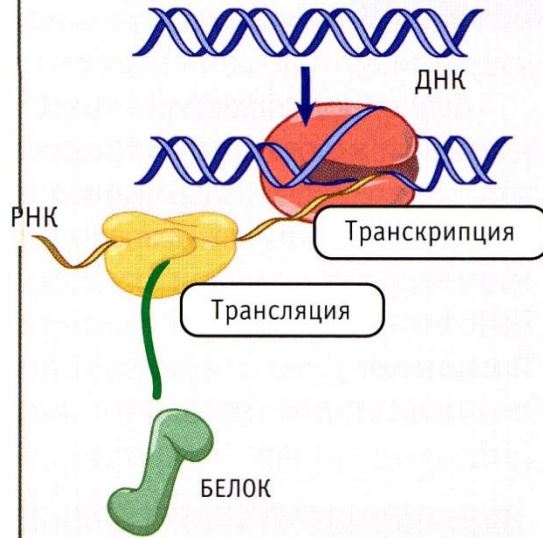
# Транспорт молекул через ЯПК



# Транскрипция и трансляция в клетках прокариот и эукариот

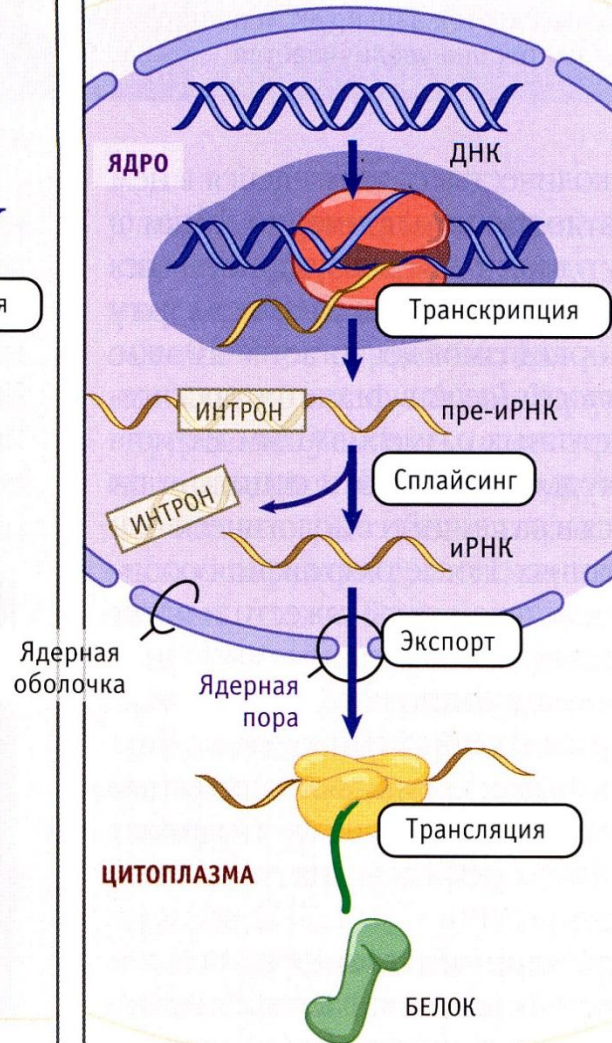
## ПРОКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Сопряжение  
Транскрипция/Трансляция



## ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Разобщение  
Транскрипция/Трансляция

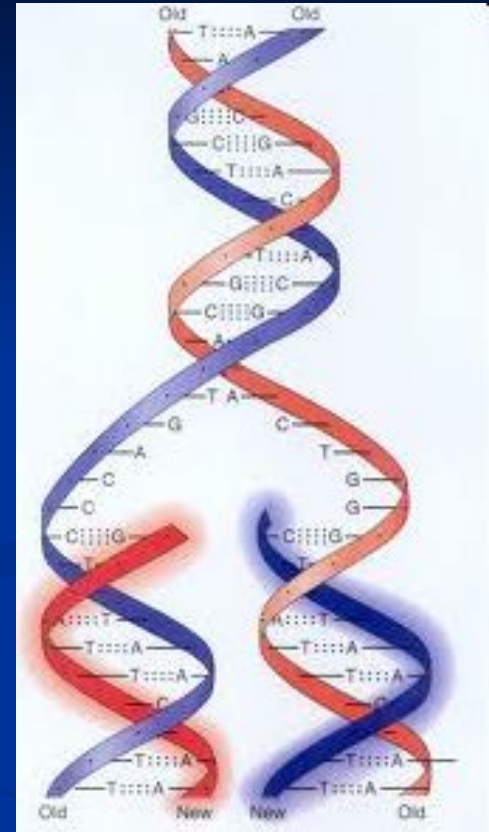


# Хроматин

- 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.

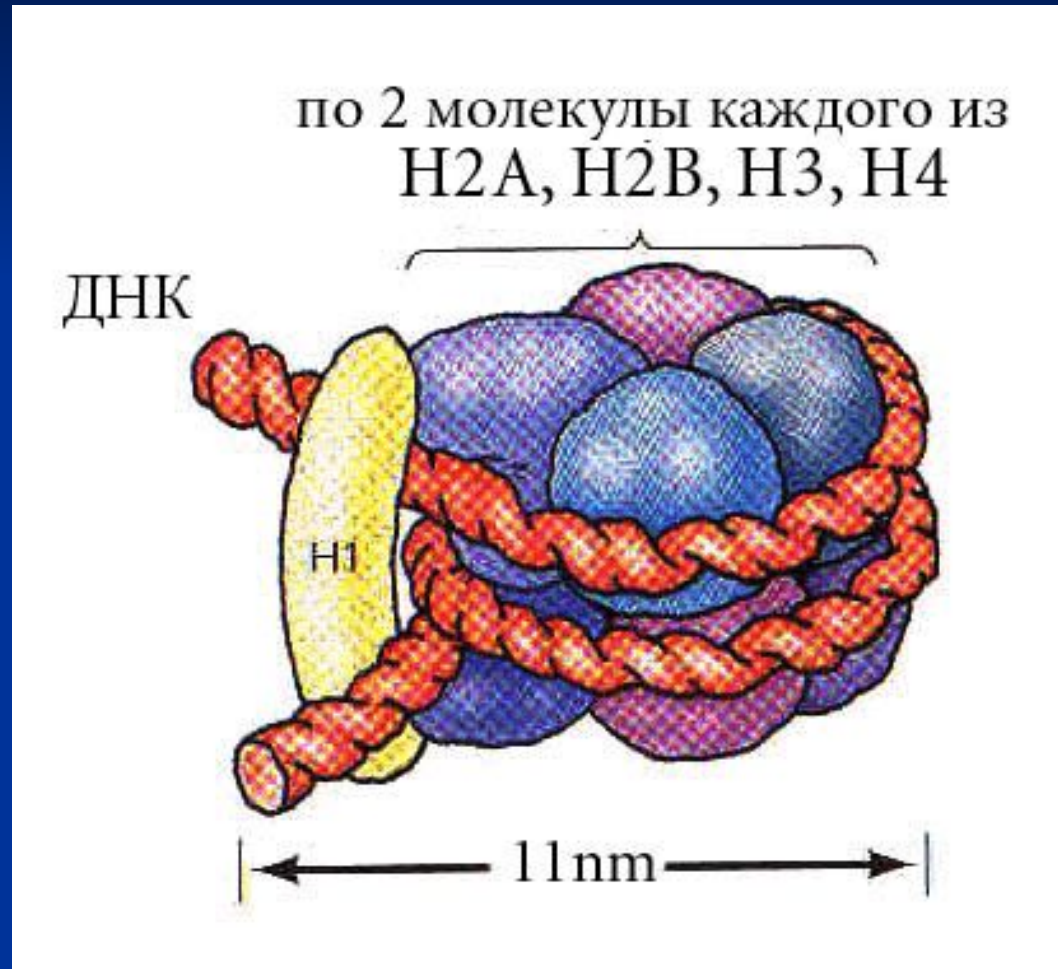
Гистоны выполняют регуляторную и структурную роль.



# Первый уровень компактизации ДНК - нуклеосомный

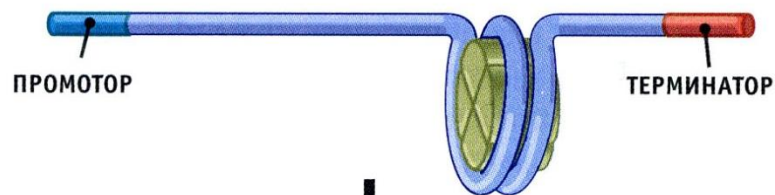


- Непосредственно с октамером контактирует 145 п.н. и 20-30-40 п.н. между нуклеосомными корами.
- Нуклеосомный уровень упаковки свойственен всей эукариотической ДНК, он дает укорочение в 7 раз. Диаметр увеличивается с 20 Å до 110 Å.

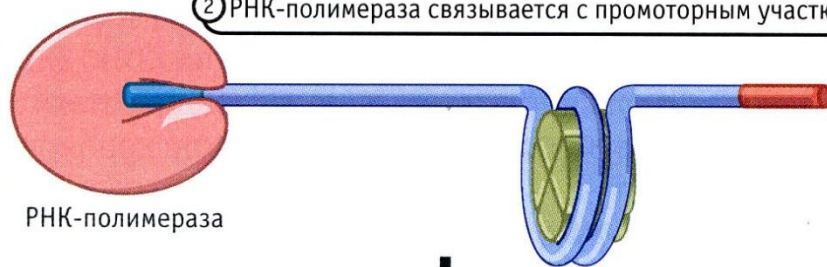


# При транскрипции октамер гистонов смещается

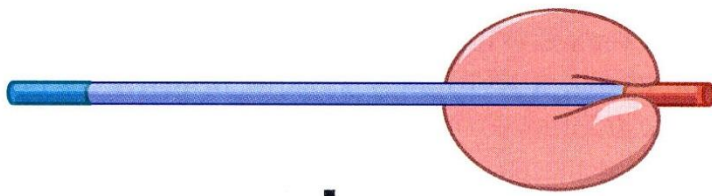
① Нуклеосома собирается на определенном участке ДНК



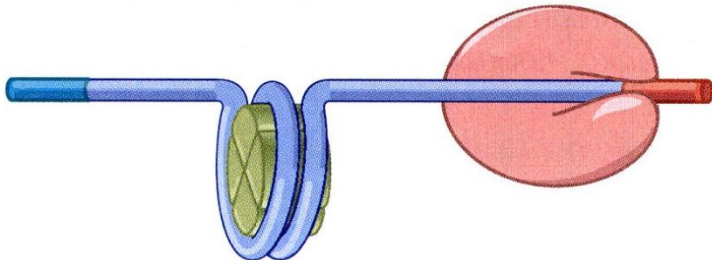
② РНК-полимераза связывается с промоторным участком

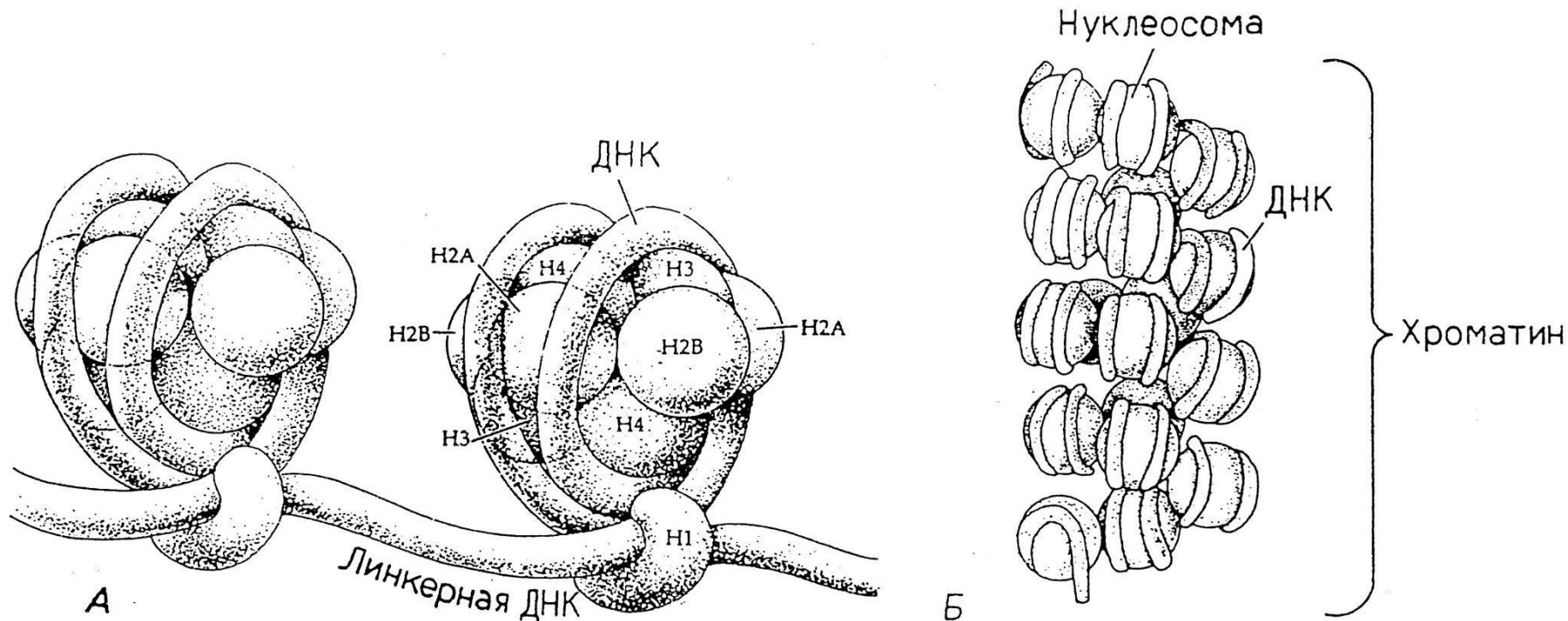


③ Транскрипция ДНК РНК-полимеразой до терминаторного участка



④ Нуклеосома находится на новом месте





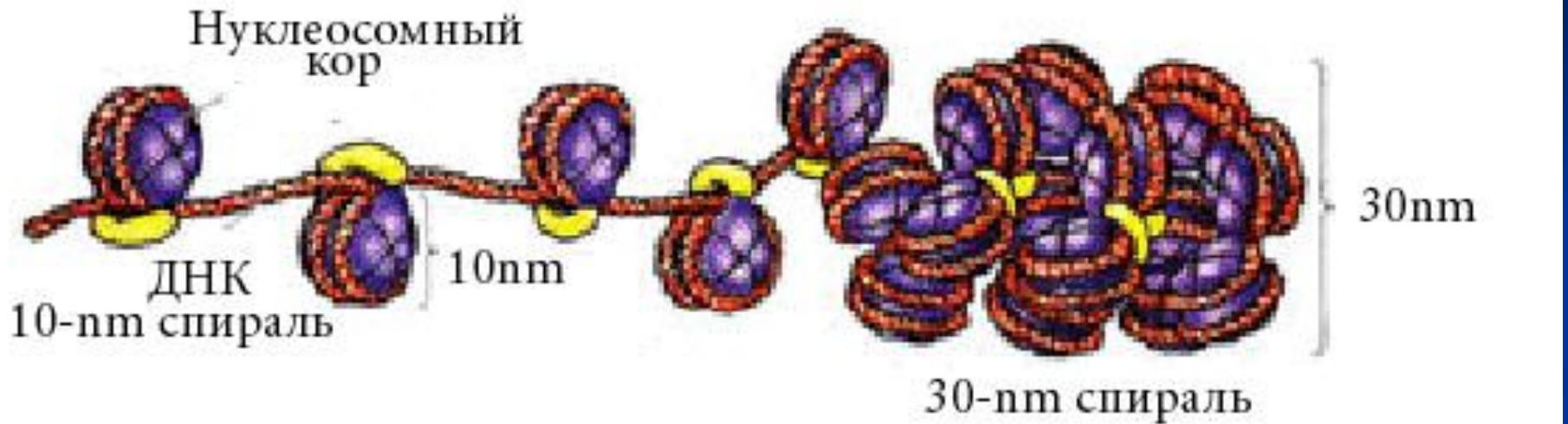
- А) Две нуклеосомы соединенные линкерной ДНК.
- Б) Модель укладки нуклеосом в компактную структуру хроматина.

Второй уровень компактизации

—

30 нм фибрилла

# Соленоидный уровень упаковки обеспечивается Н1 гистоном.

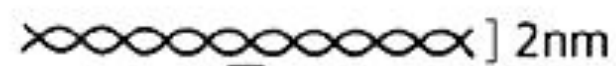


- Н1 взаимодействует с октамерами, сближает их, и еще на него наматывается ДНК.
- Происходит сокращение линейного размера ДНК в 6-10 раз. Диаметр увеличивается до 300Å.
- Этот уровень компактизации, как и первый, не зависит от первичной структуры ДНК.

уровни упаковки ДНК в хроматине

компактизация

двухспиральная ДНК



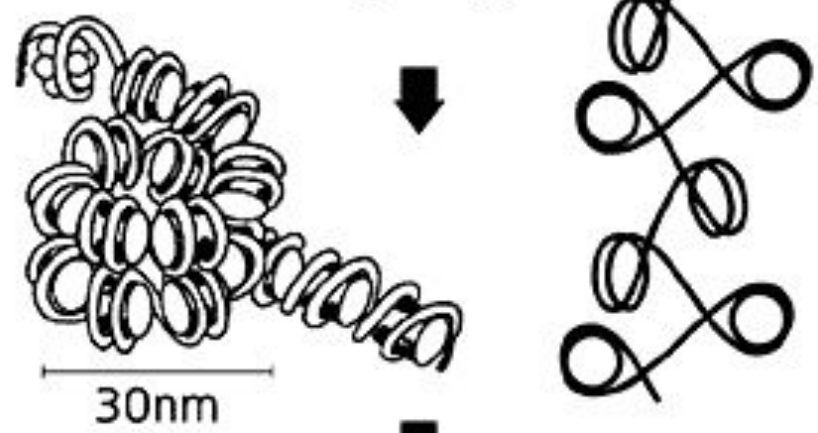
1X

нуклеосомная нить



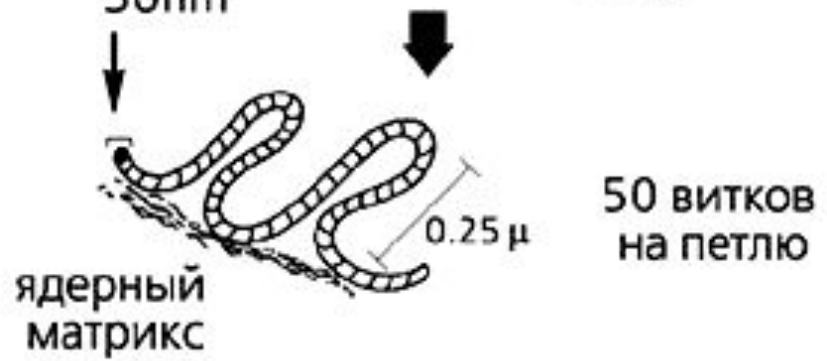
6-7X

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

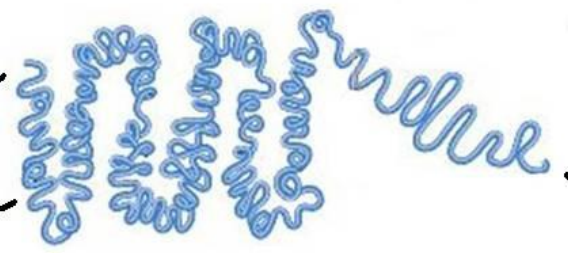
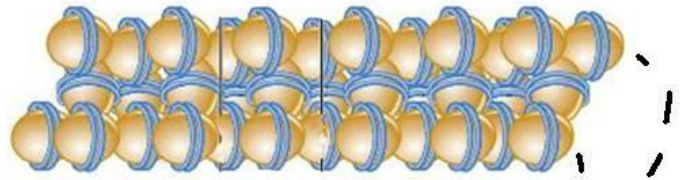
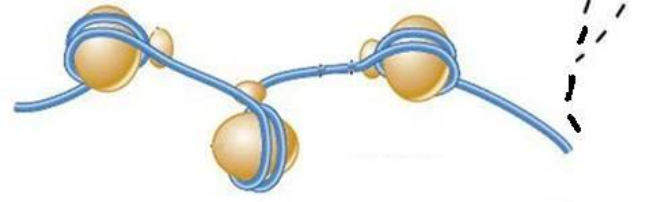
Нуклеосомная  
нить 11 нм

Хроматиновая  
нить 30 нм

Scaffold

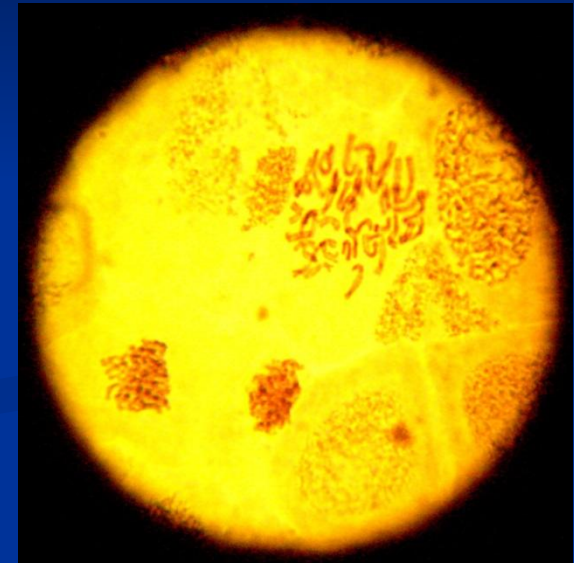
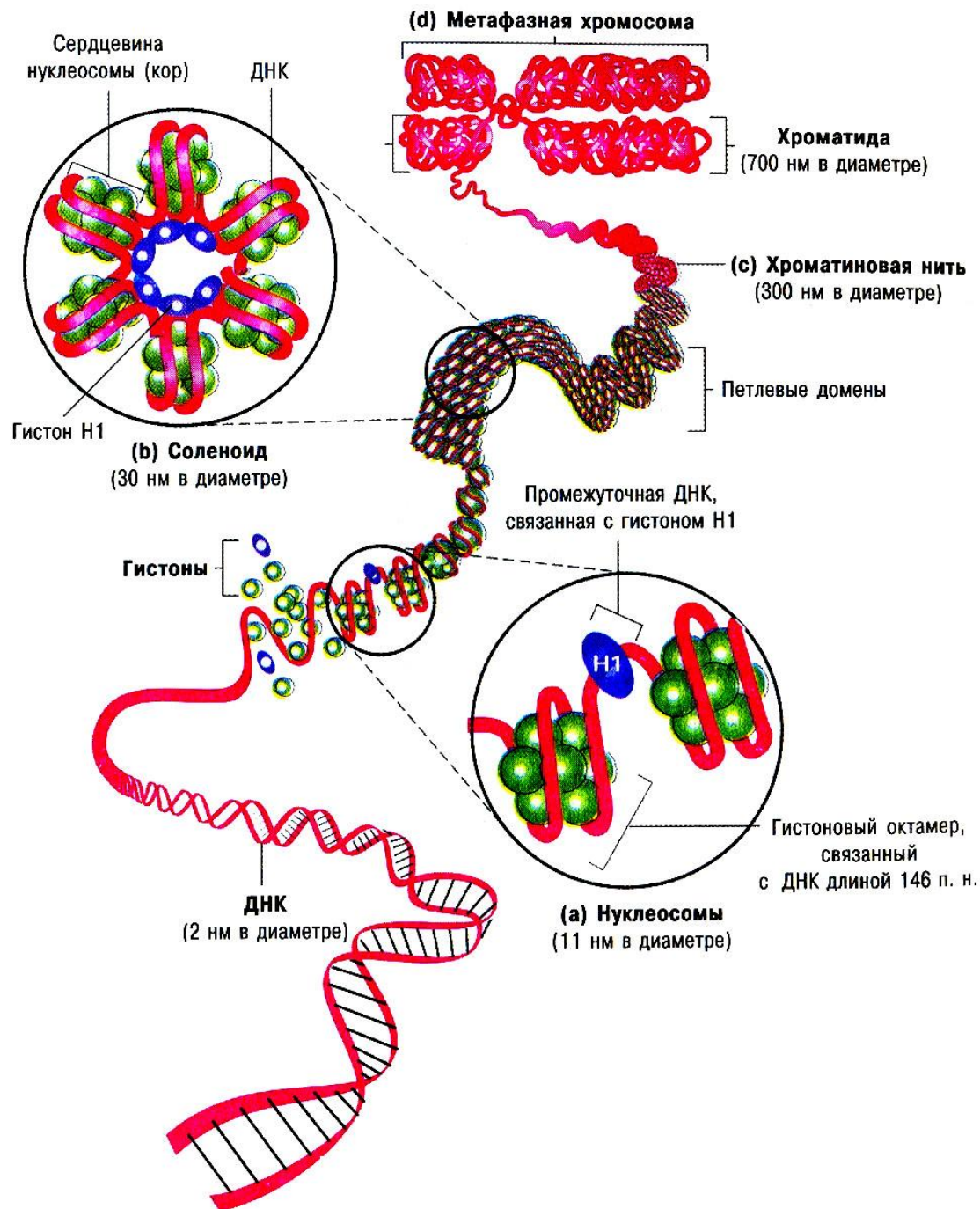
Хроматиновые  
петли 300 нм

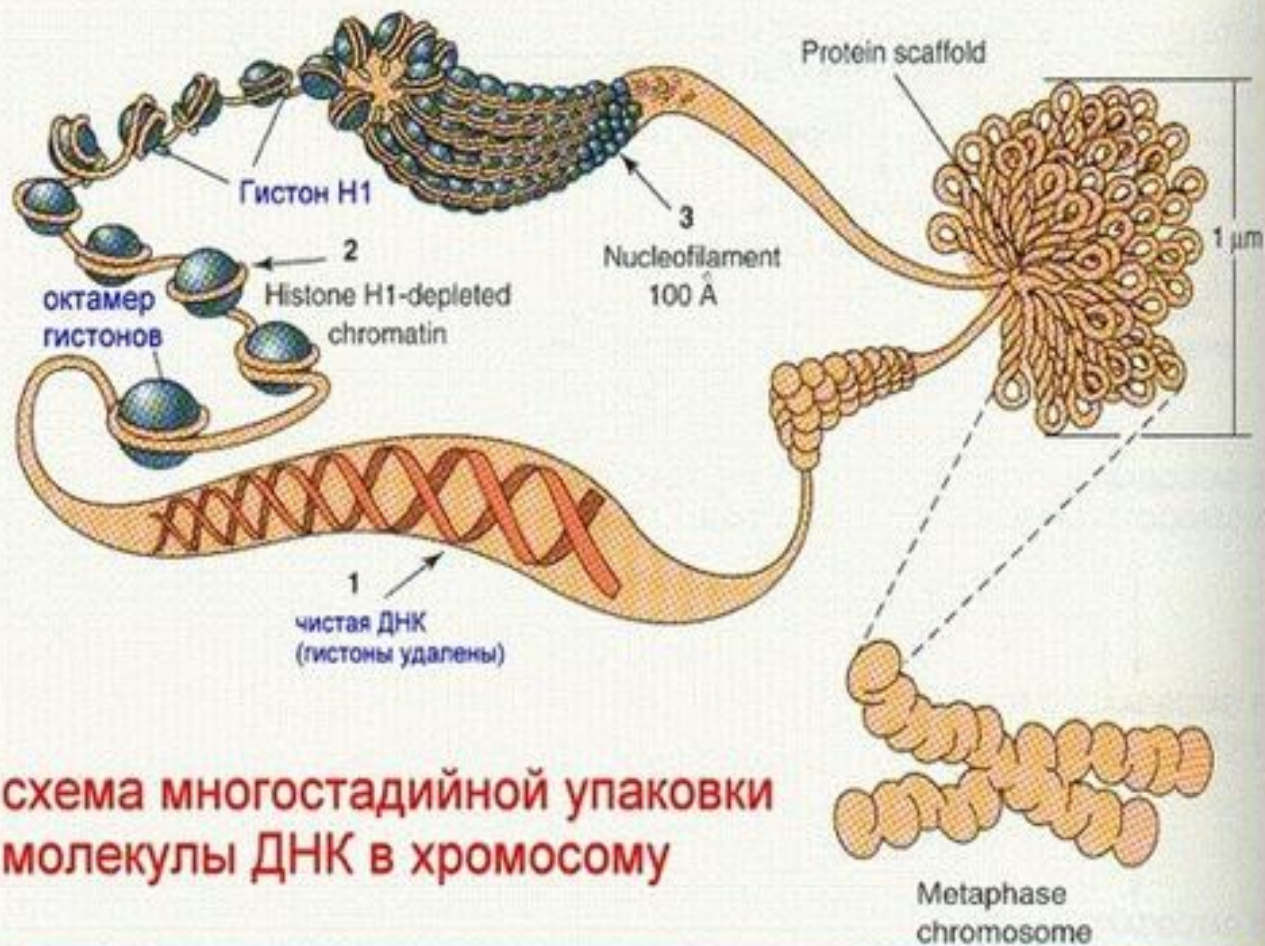
Хроматида  
700 нм



Метафазная хромосома

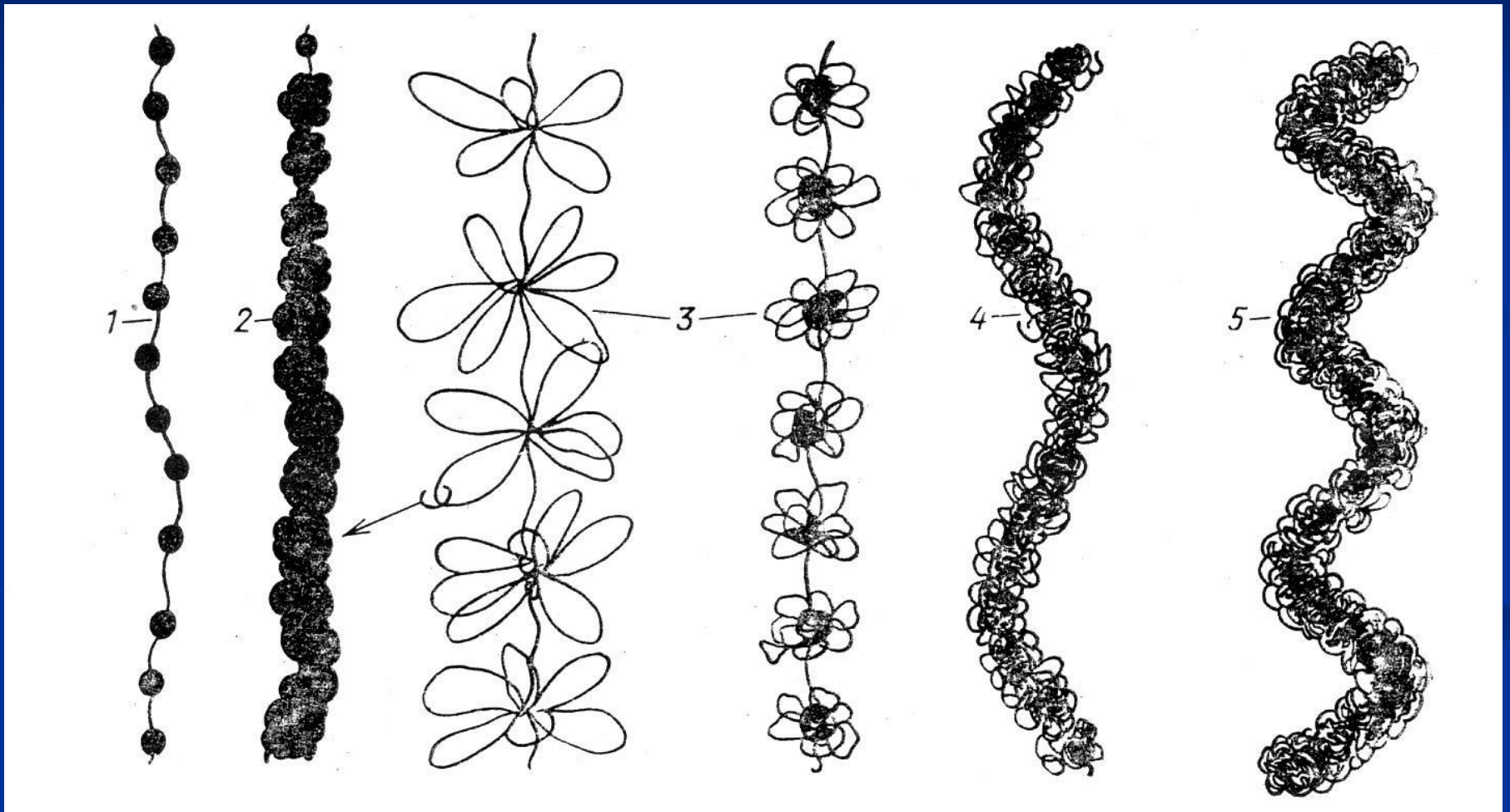


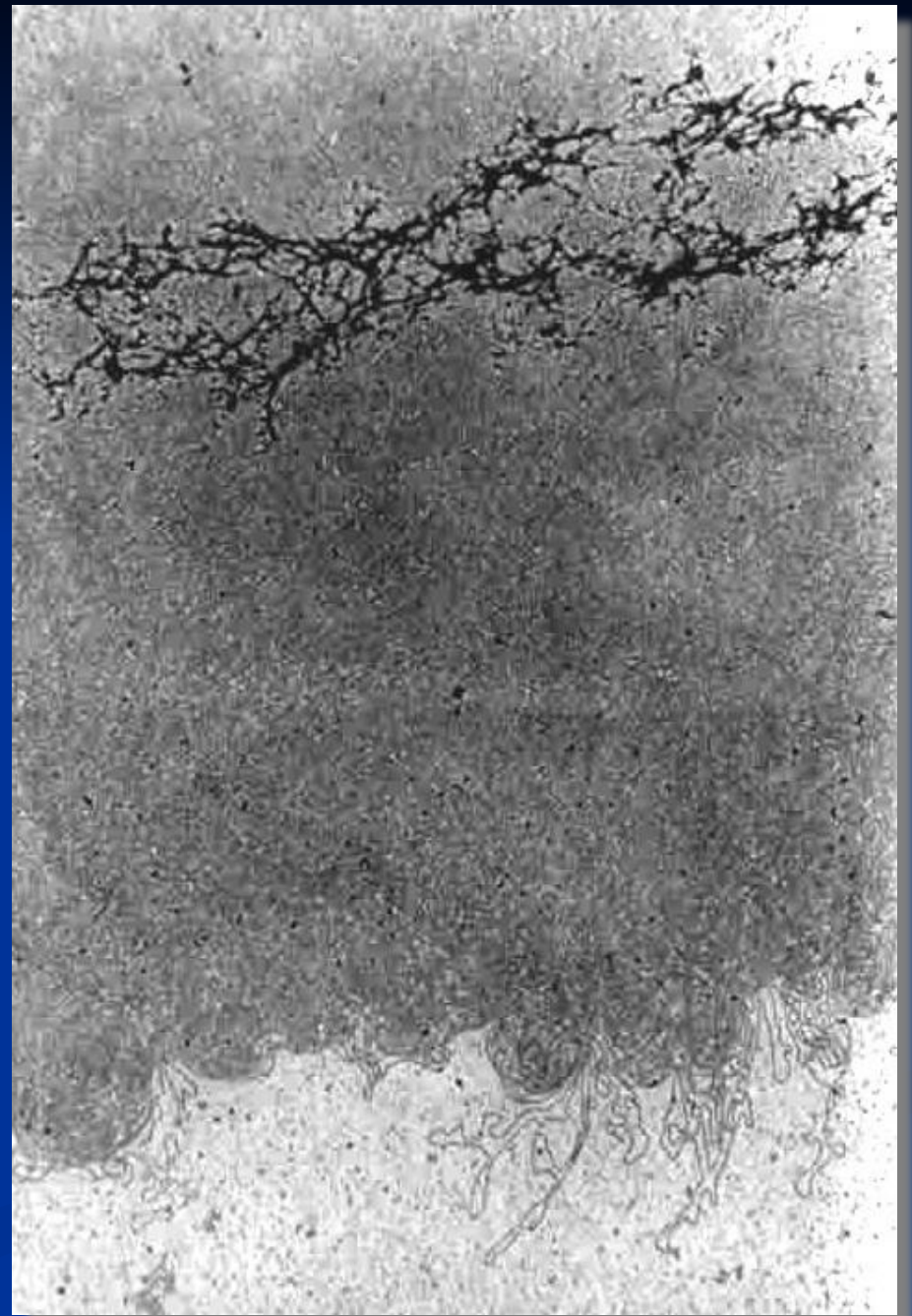
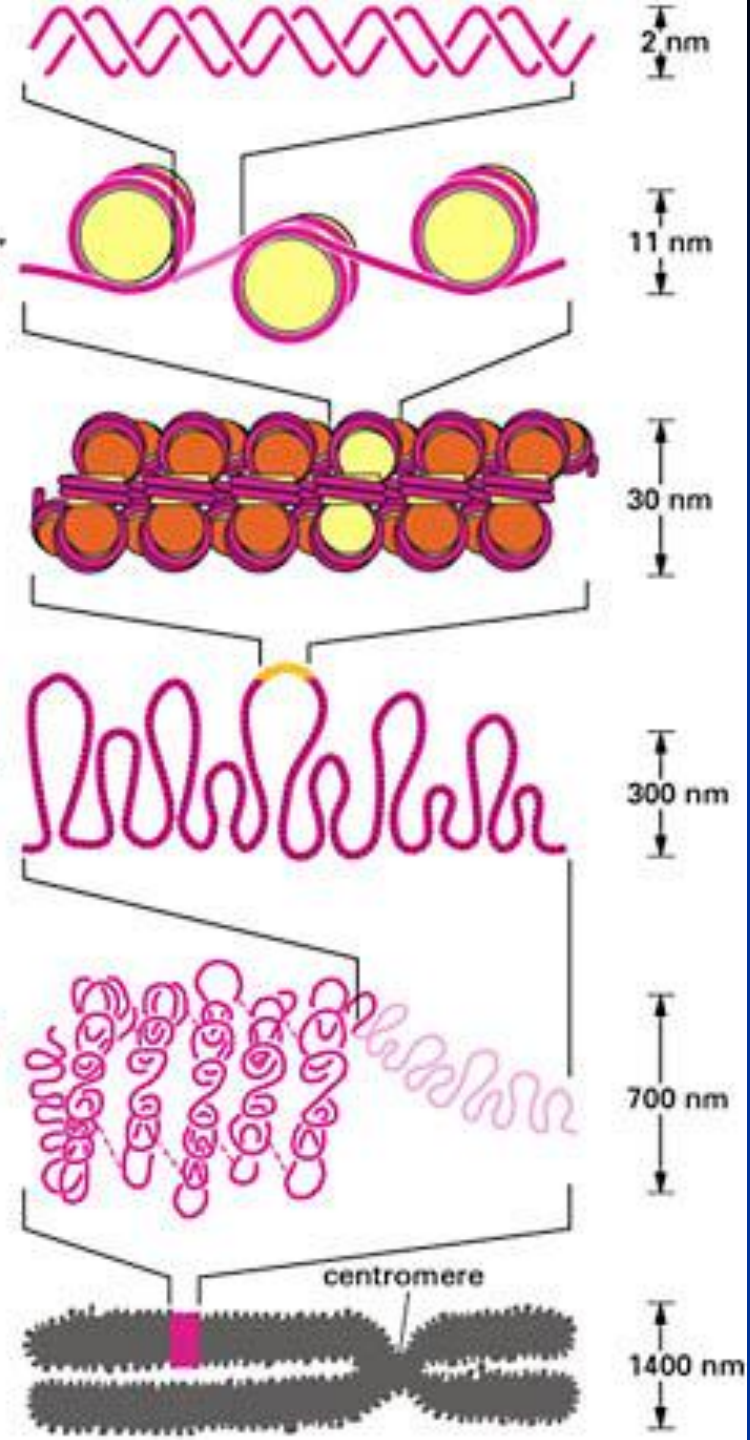




**схема многостадийной упаковки молекулы ДНК в хромосому**

# 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

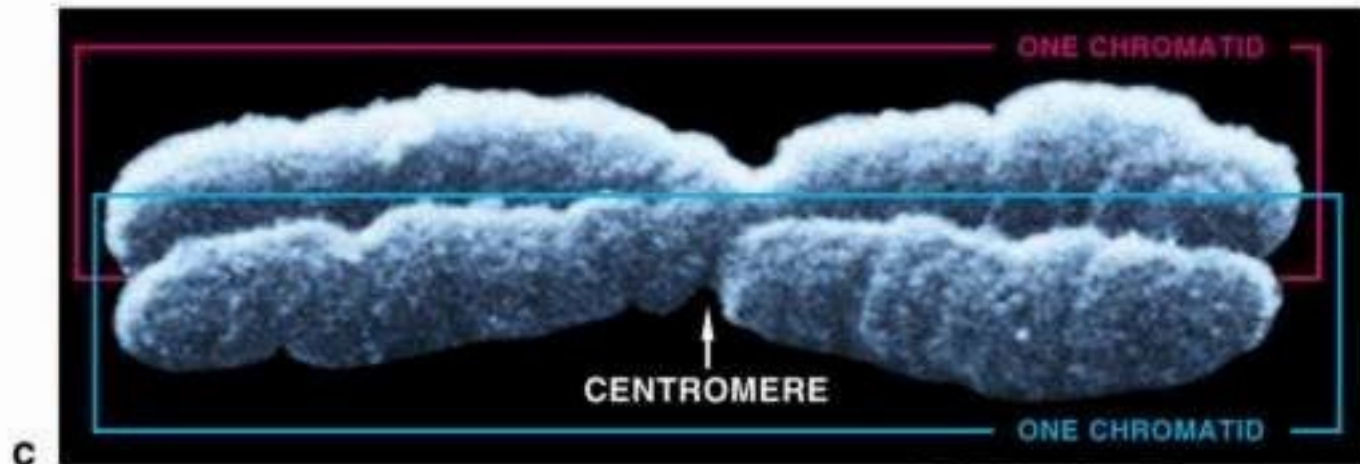
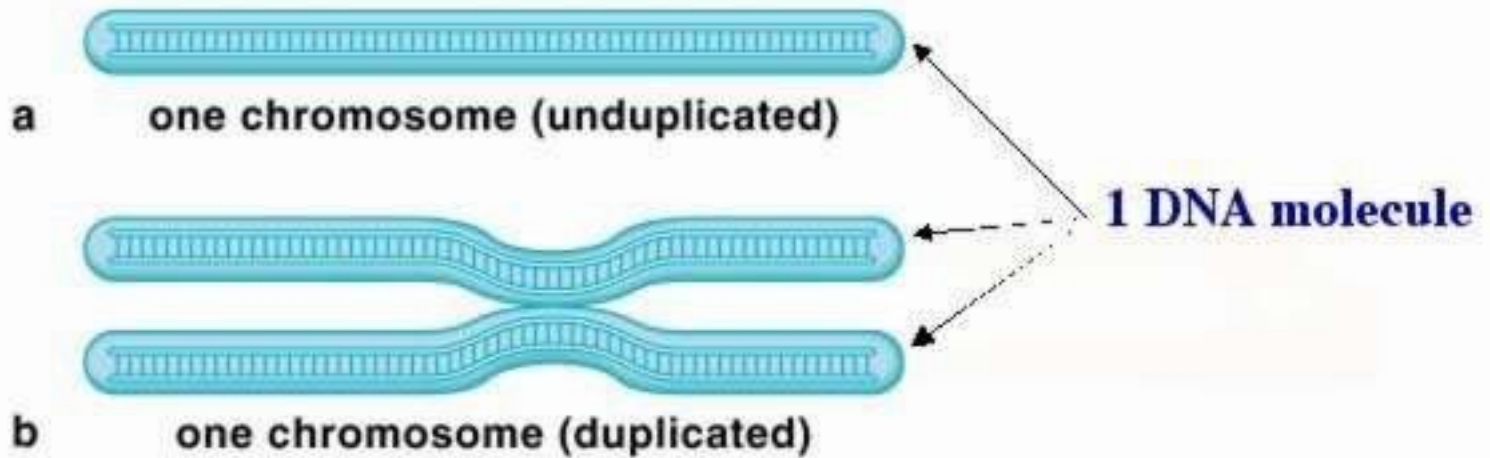
- Метафазная хромосома. ДНК уже удвоена.

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)

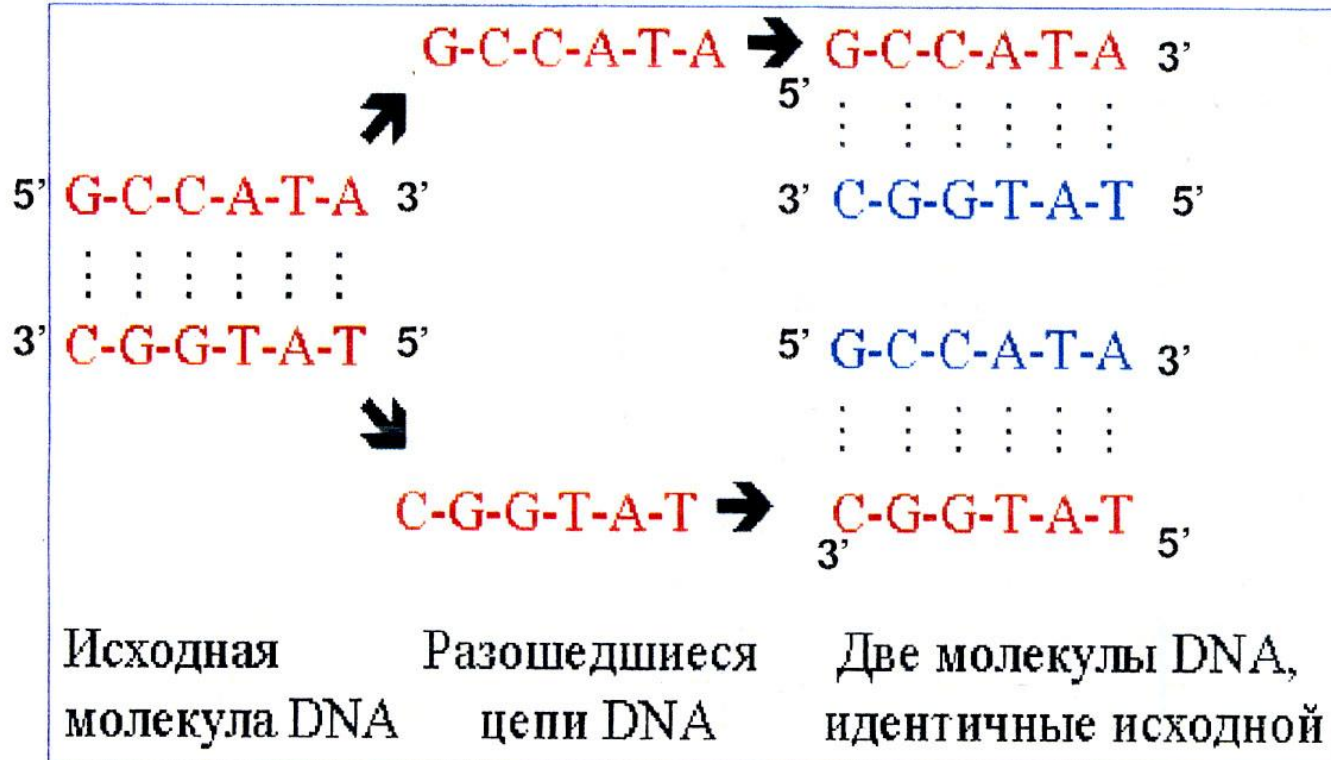
# Репликация ДНК

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

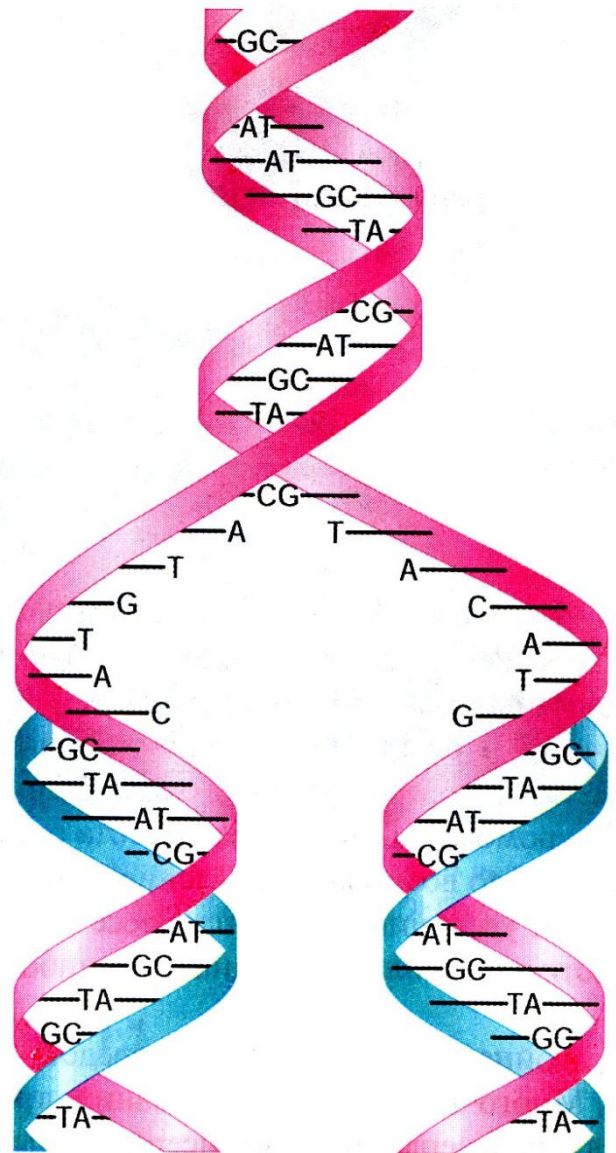
- **Репликативная вилка** – это точка в которой разделяются цепи материнской ДНК.
- В отдельно взятый момент в ДНК расплетен только маленький участок.

## 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 <sub>4</sub> 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'**.

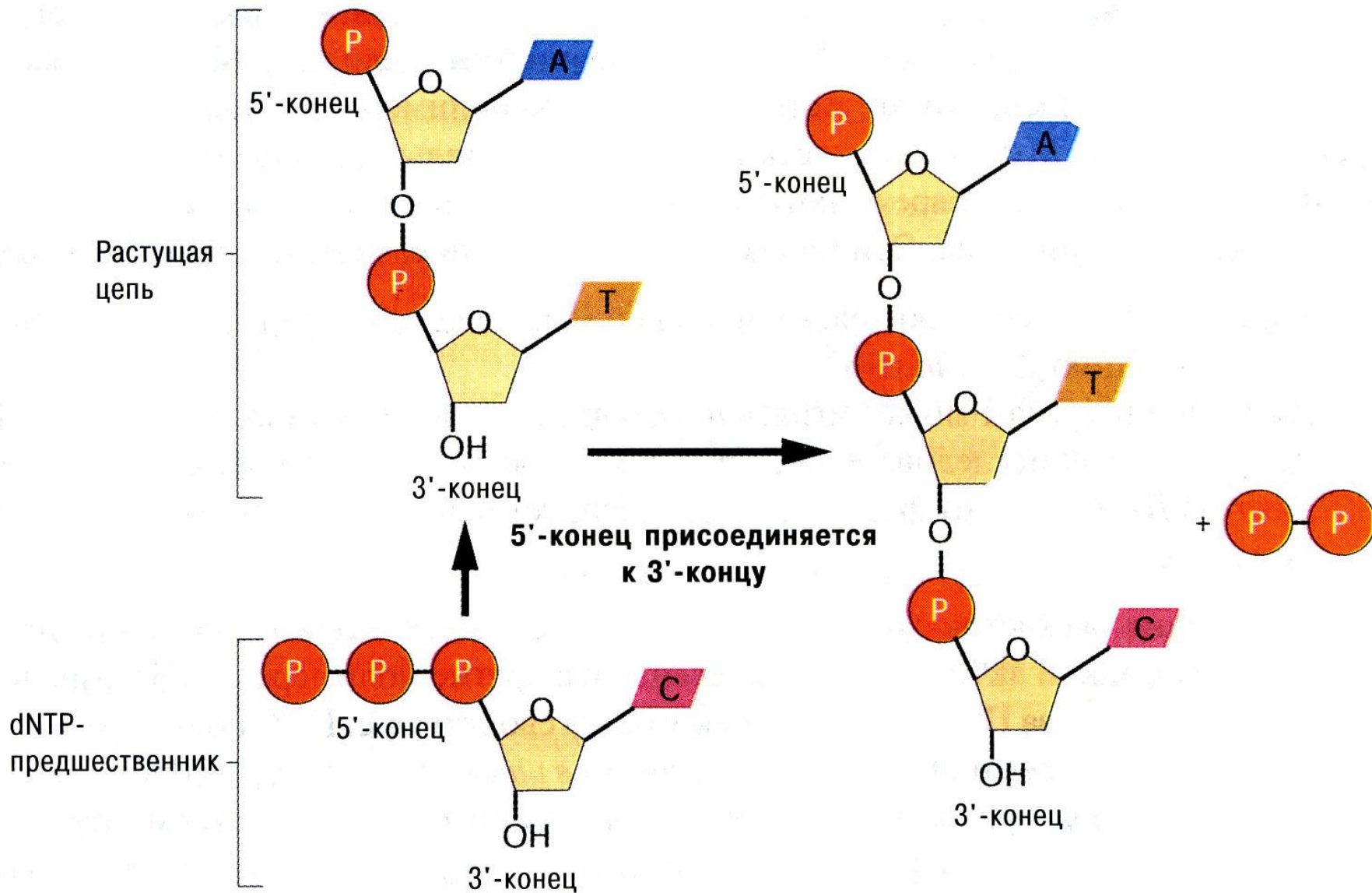


Рис. 11-8. Синтез ДНК в направлении от 5'- к 3'-концу.

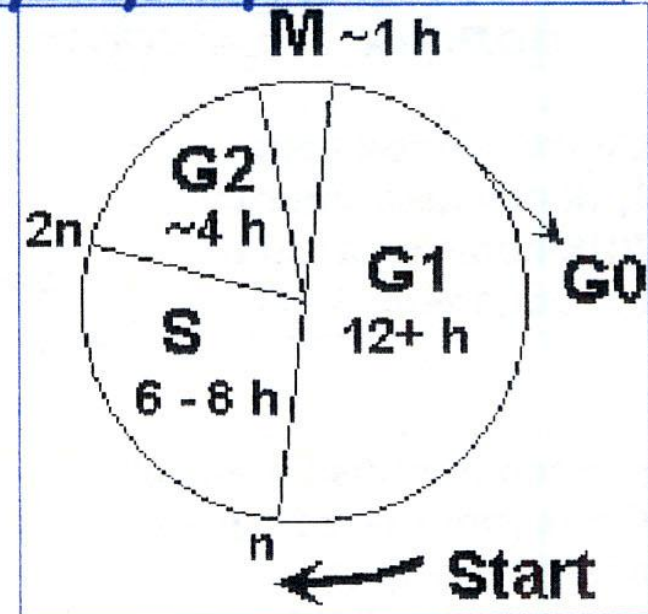
# Репликационная вилка





## 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).

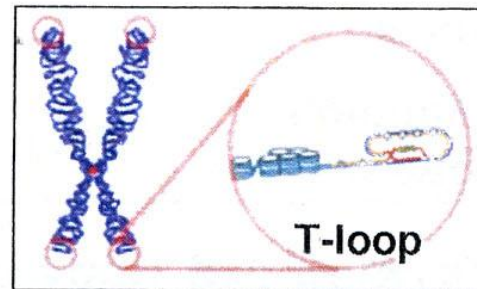


### Контроль репликации ядерной ДНК

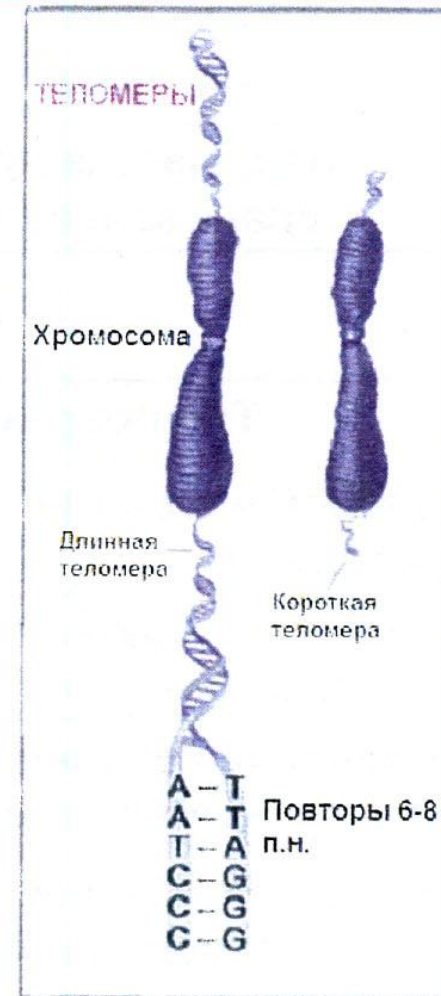
- Позитивный: переход G1/S;
- Негативный: переход - G2/M.



## 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