

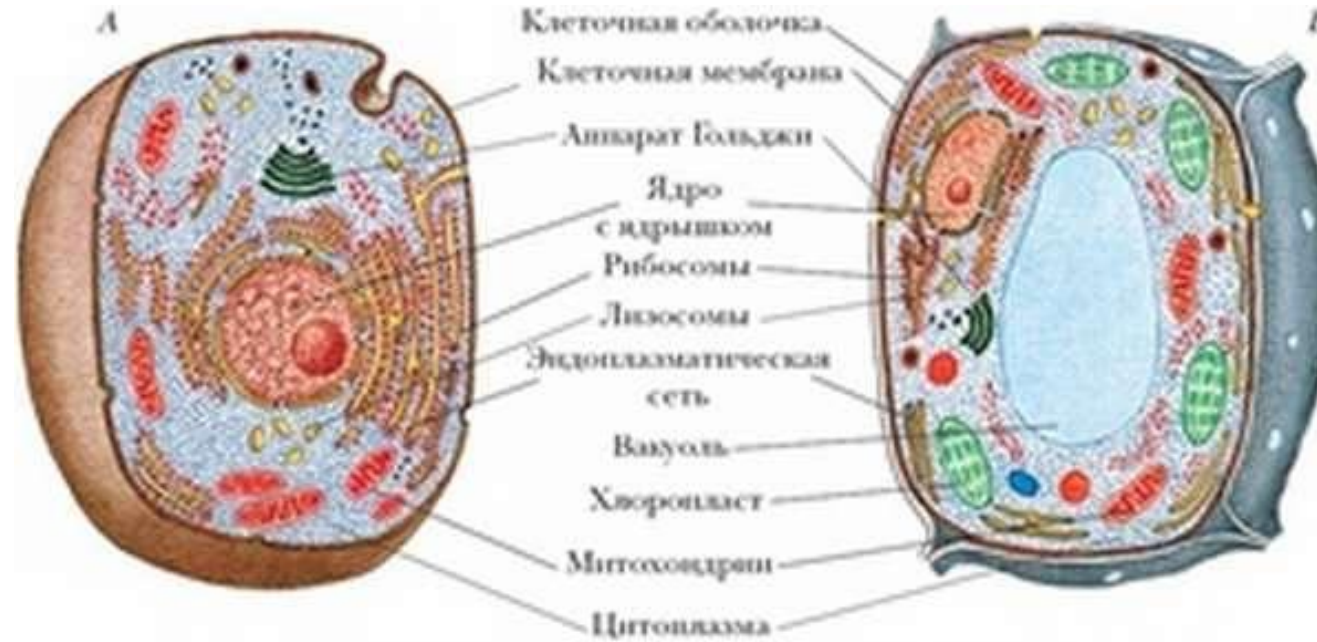
Оренбургский государственный медицинский университет
Кафедра Биологии
Дисциплина Биология

Лекция № 3.
Наследственный аппарат клетки.
Ядро. Цитоплазматическая
наследственность.

План:

- Значение ядра в жизни клетки
- Структурные компоненты ядра
- Строение ядерной оболочки
- Химический состав и структура хроматина. Понятие о эу- и гетерохроматине
- Этапы упаковки хроматина при образовании хромосом
- Строение хромосом. Типы метафазных хромосом. Правила хромосом.
- Понятие о кариотипе. Международные классификации хромосом человека.
- Цитоплазматическая наследственность

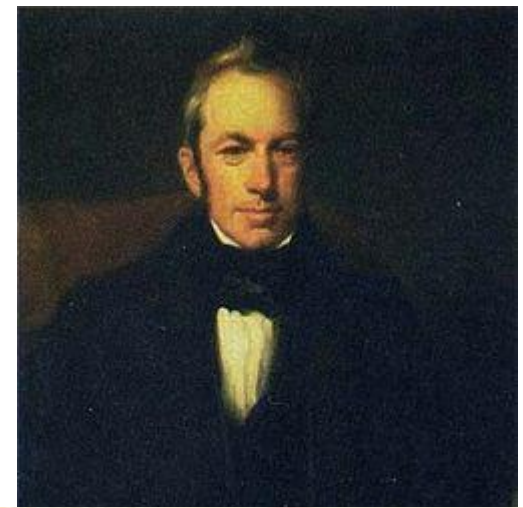
Основные структурные компоненты эукариотических клеток.



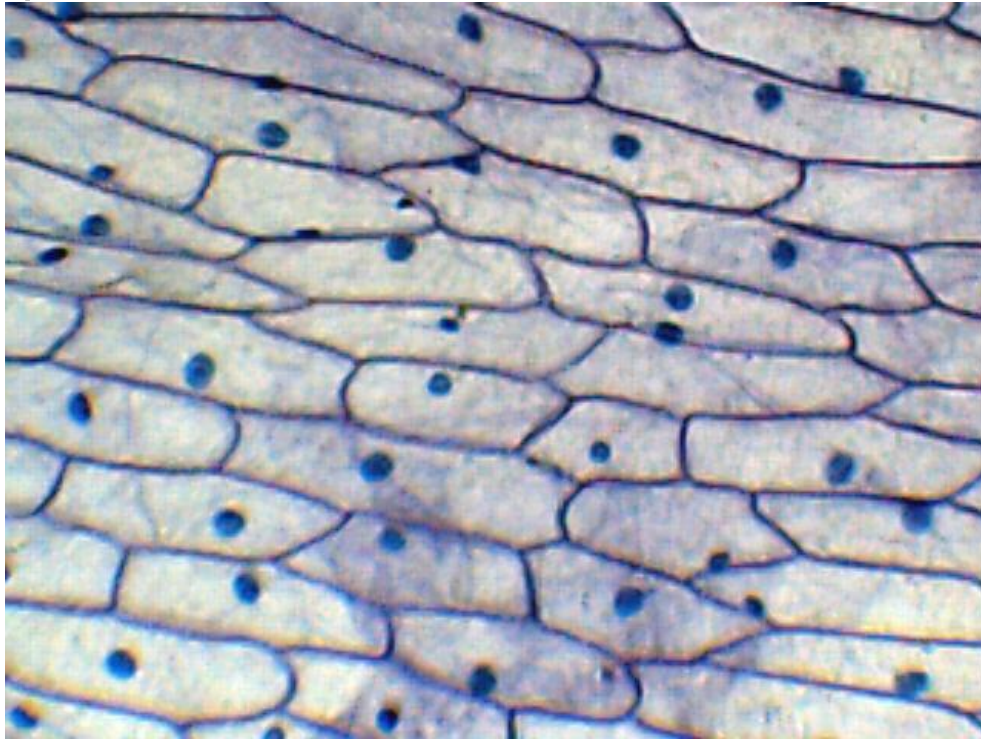
Строение животной (А) и растительной (Б) клеток

Ядро	Цитоплазма	Цитоплазматическая мембрана (Плазмолемма)
------	------------	---

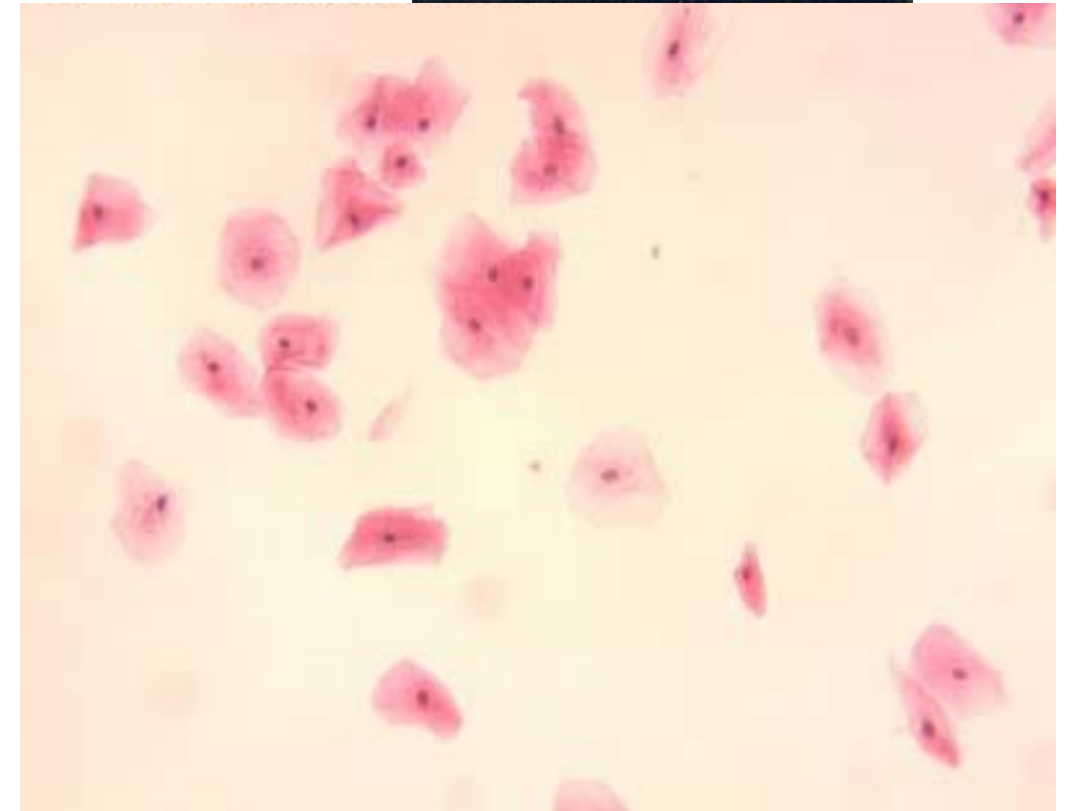
Ядро – один из основных структурных компонентов клетки. Открыто в 1831 г. английским ботаником *Робертом Брауном*. Он открыл его в клетках кожицы орхидных



Р. Браун

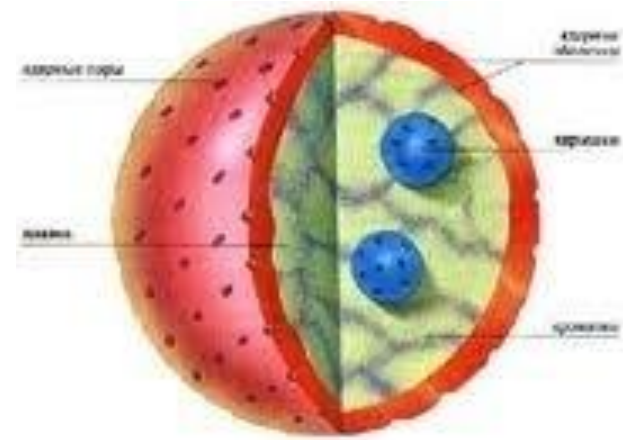
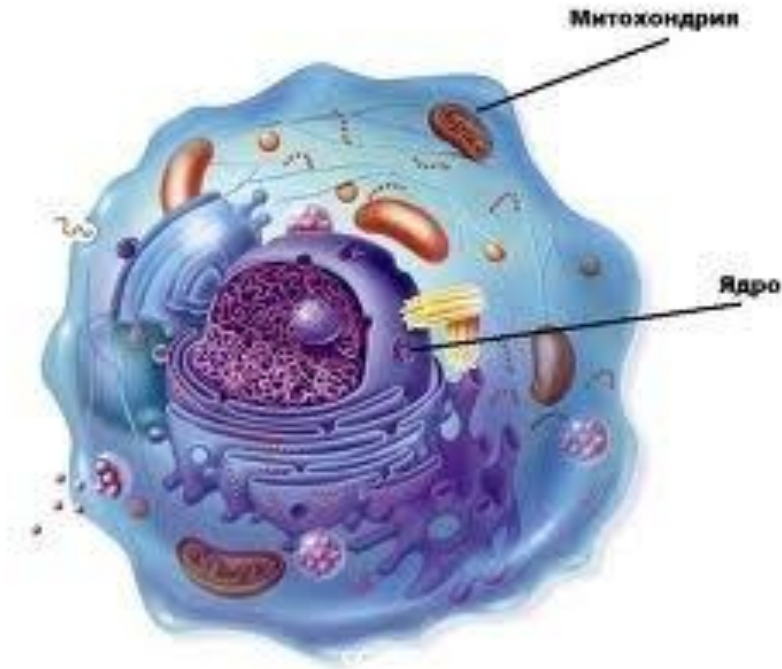


Клетки пленки чешуи лука



Клетки слизистой эпителия
щеки

Функции ядра



- **Хранение генетической информации** (*обеспечивается репарацией ДНК*)
- **Передача ген. информации** (*репликация ДНК и ее распределение при делении клетки*)
- **Реализация ген. информации** (*транскрипция РНК, образование рибосом*)

Каков механизм выполнения этих функций?

- **Хранение генетической информации** – заключается в поддержании в неизменном состоянии структуры ДНК. Это достигается за счет процессов репарации, репликации и рекомбинации (кроссинговер).
- **Передача генетической информации** – реализуется в ходе митоза и мейоза.
- **Реализация генетической информации** – осуществляется через синтез белков в ходе транскрипции и трансляции.

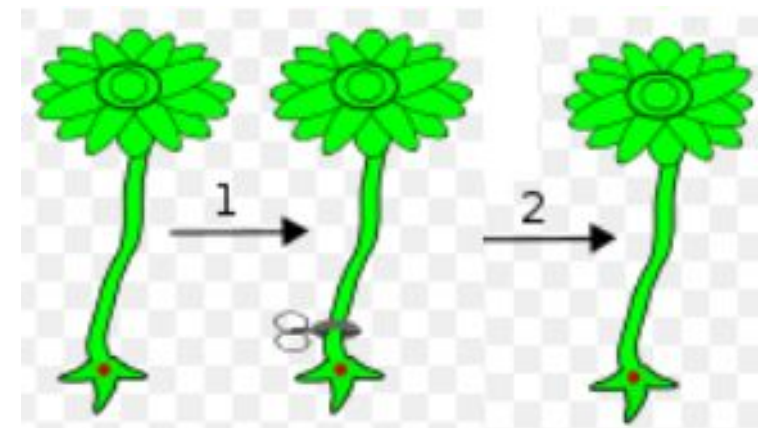
Таким образом, ядро представляет собой не только вместительное хранилище генетического материала, но и место, где активно этот материал функционирует и воспроизводится. Поэтому выпадение или нарушение любой из перечисленных функций будет губительно для клетки в целом, а также может быть отрицательным для организма.

Доказательства роли ядра в передаче наследственной информации

Опыты Геммерлинга

Объект опыта: одноклеточная водоросль (*Acetabularia*), имеющая форму гриба (шляпка, стебелек, корни). Ядро располагается в основании «стебелька».

Если перерезать ножку, то нижняя часть продолжает жить, регенерирует шляпку и полностью восстанавливается после операции. Верхняя же часть, лишённая ядра, живет в течение некоторого времени, но, в конце концов, погибает, не будучи в состоянии восстановить нижнюю часть. Следовательно, ядро необходимо для метаболических процессов, лежащих в основе регенерации и соответственно роста.

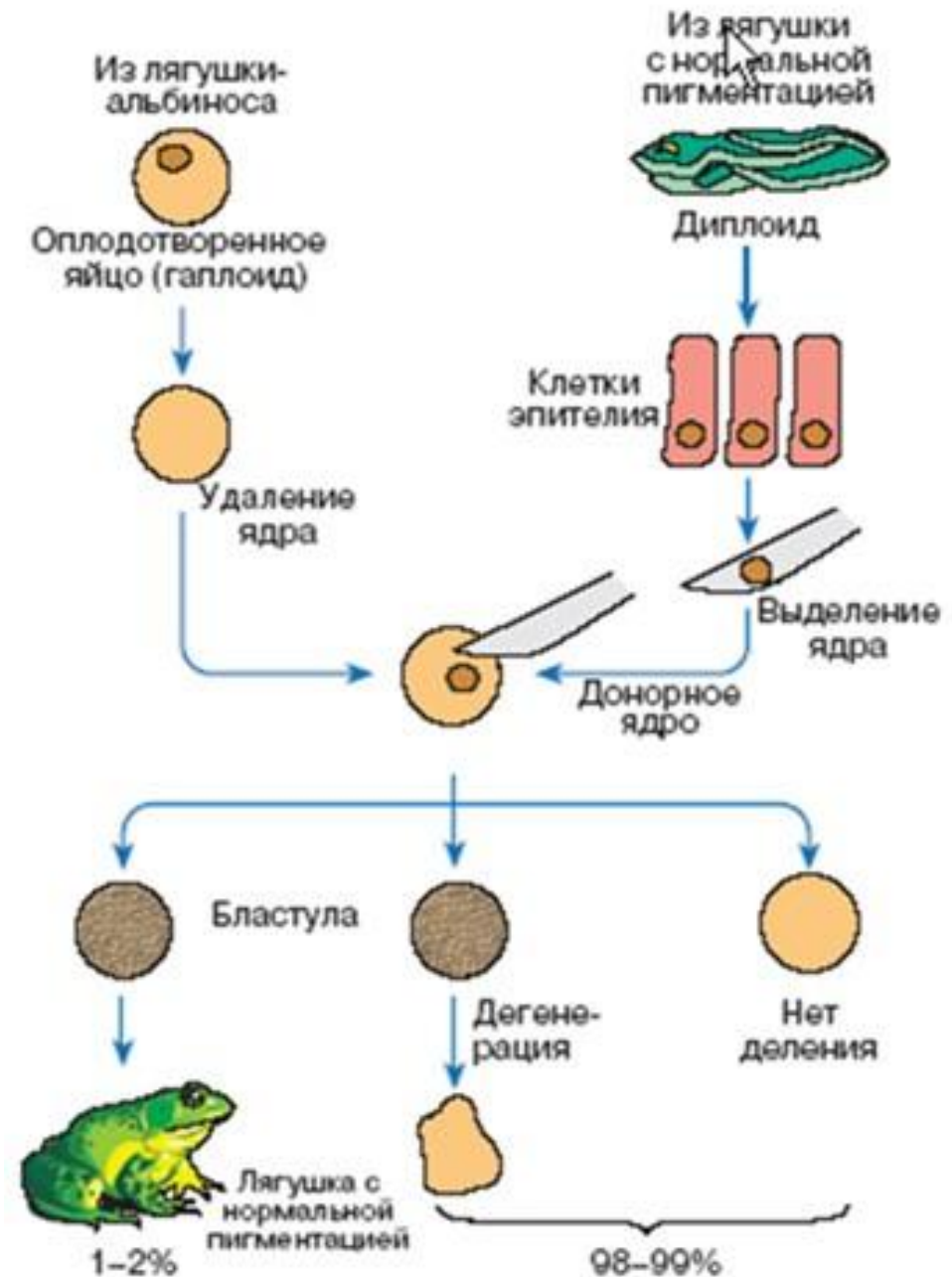


Опыты с яйцеклетками лягушек

Объект: два подвида лягушек.

У одного из них (1 подвида) из яйцеклетки удаляли собственное ядро и на его место вносили ядро 2 подвида. В результате из такой яйцеклетки развивались лягушки с признаками 2 подвида.

Таким образом, за хранение и передачу наследственной информации в клетке отвечает ядро.



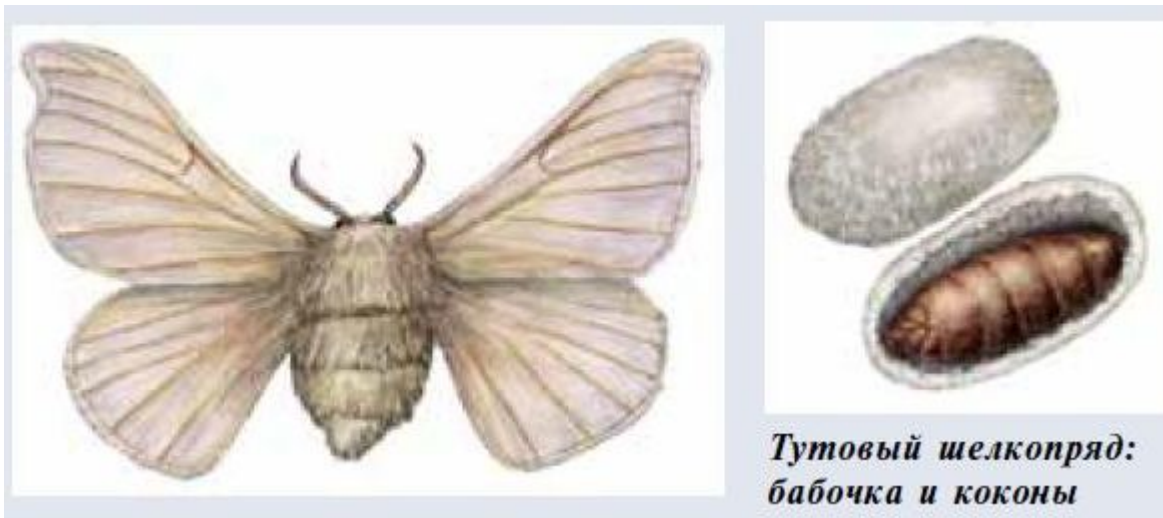
Опыты Астаурова с тутовым шелкопрядом

Объект: два подвида тутового шелкопряда. У одного подвида берут сперматозоиды, у другого яйцеклетку.

После разрушения ядра яйцеклетки, ее оплодотворяют сперматозоидами. Т.к. у шелкопряда имеет место полиспермия (несколько сперматозоидов могут оплодотворять яйцеклетку) в цитоплазме одного подвида формируется ядро с генетическим набором второго подвида. Из такой яйцеклетки развиваются только самцы того подвида, у которых брали сперматозоиды.



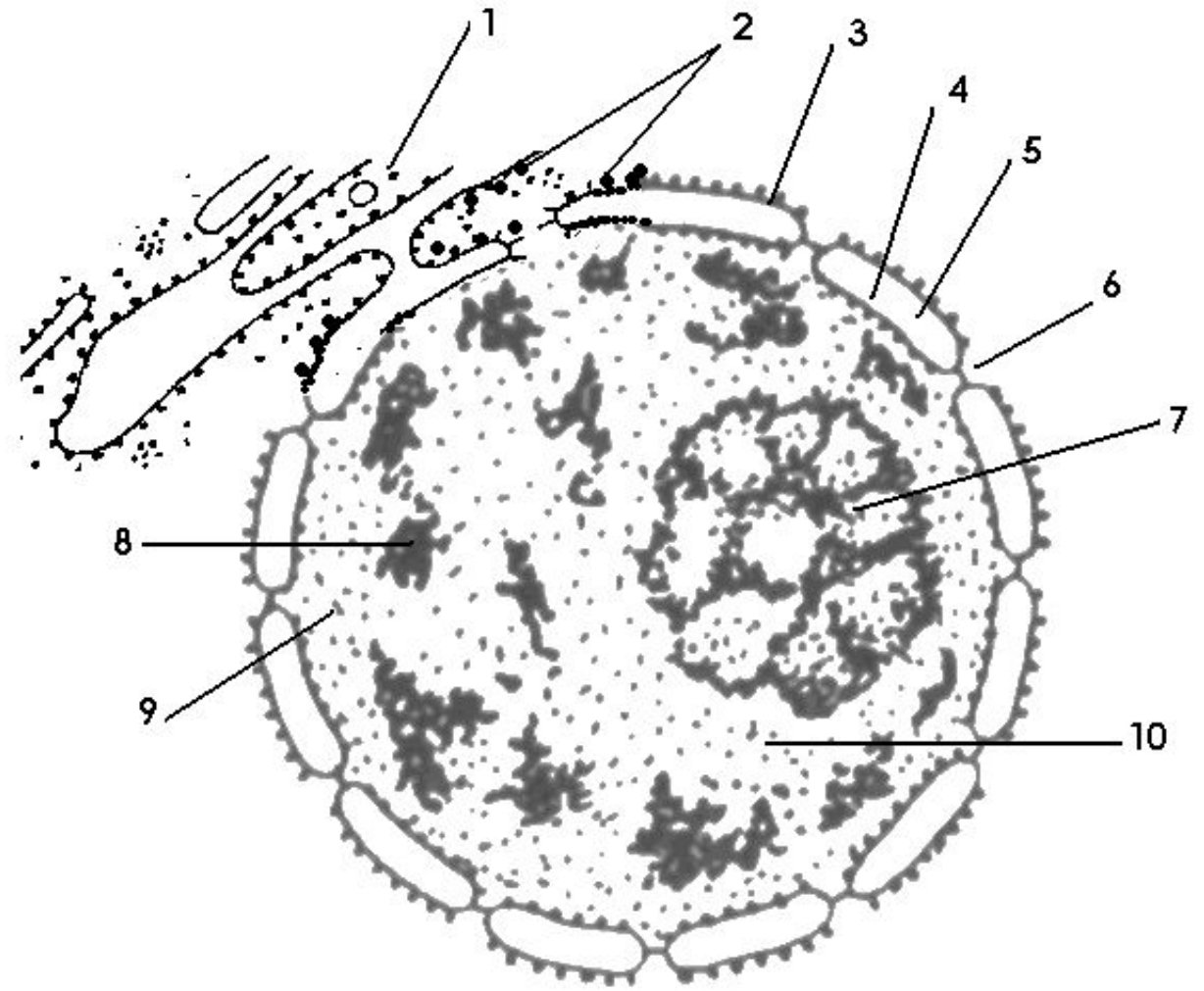
**Астауров
Борис
Львович**



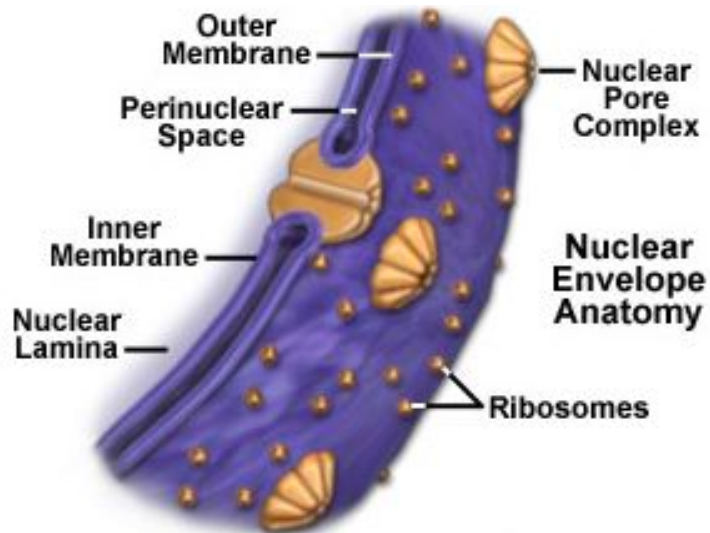
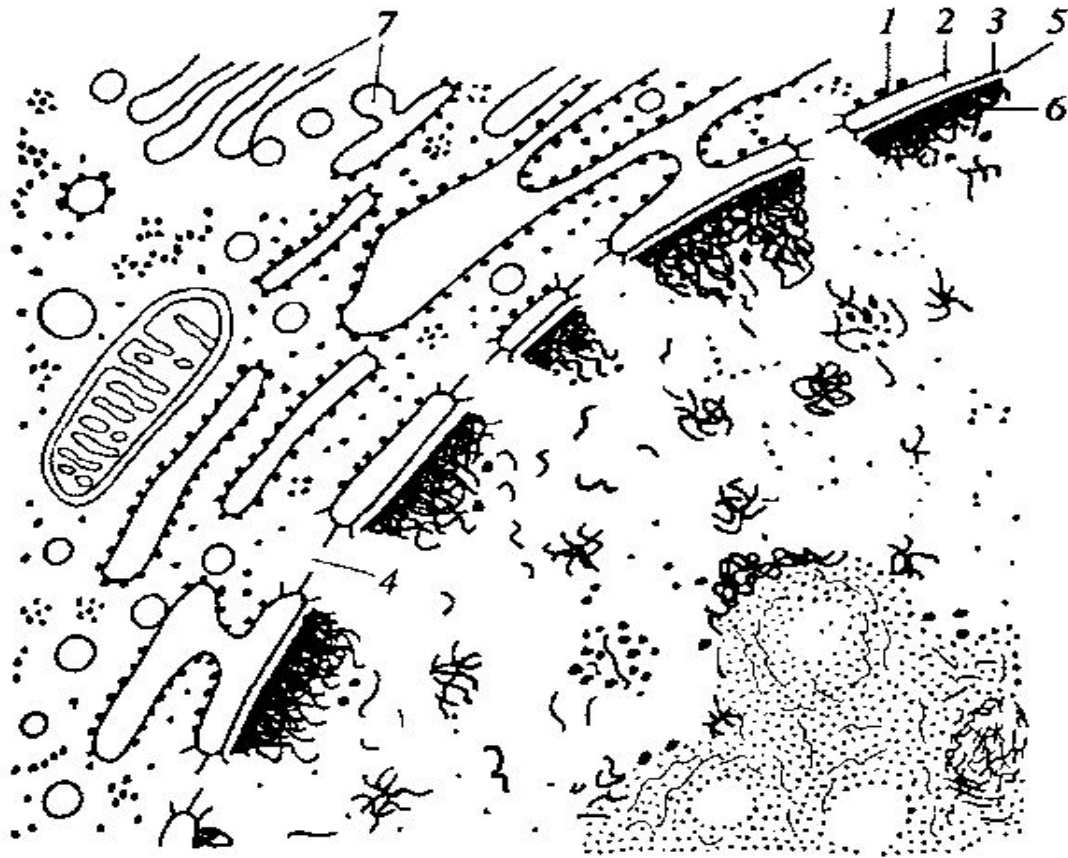
*Тутовый шелкопряд:
бабочка и коконы*

Строение ядра

- ядерной оболочки (кариолеммы),
- ядерного сока (или кариоплазмы)
- ядрышка и
- хроматина.



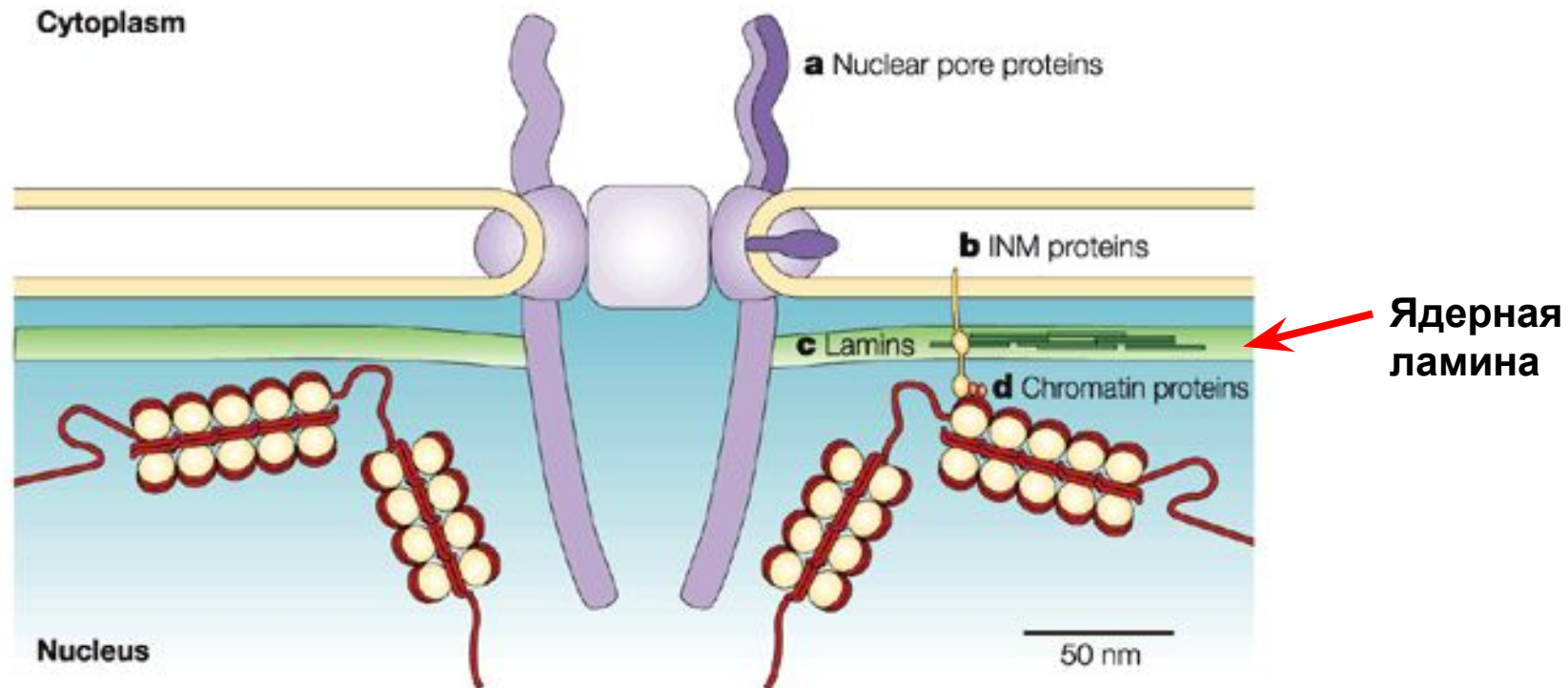
Строение ядерной оболочки



- Состоит из двух мембран – наружной и внутренней, между которыми имеется **перинуклеарное** пространство.
- Наружная ядерная мембрана переходит в ЭПС и может быть покрыта рибосомами.
- К внутренней мембране прилегает пластинка из промежуточных филаментов – **ядерная ламина**.
- К ней прикрепляются нити **хроматина**
- В ядерной оболочке имеются поры.
- **Ядерный сок (кариоплазма)** – гелеобразный коллоидный раствор.

Ядерная ламина

- Внутренняя мембрана связана с ядерной ламиной, которая состоит из трех типов белков А, В, и С. Именно с ней контактируют нити пристеночного хроматина.



Ядерная пора

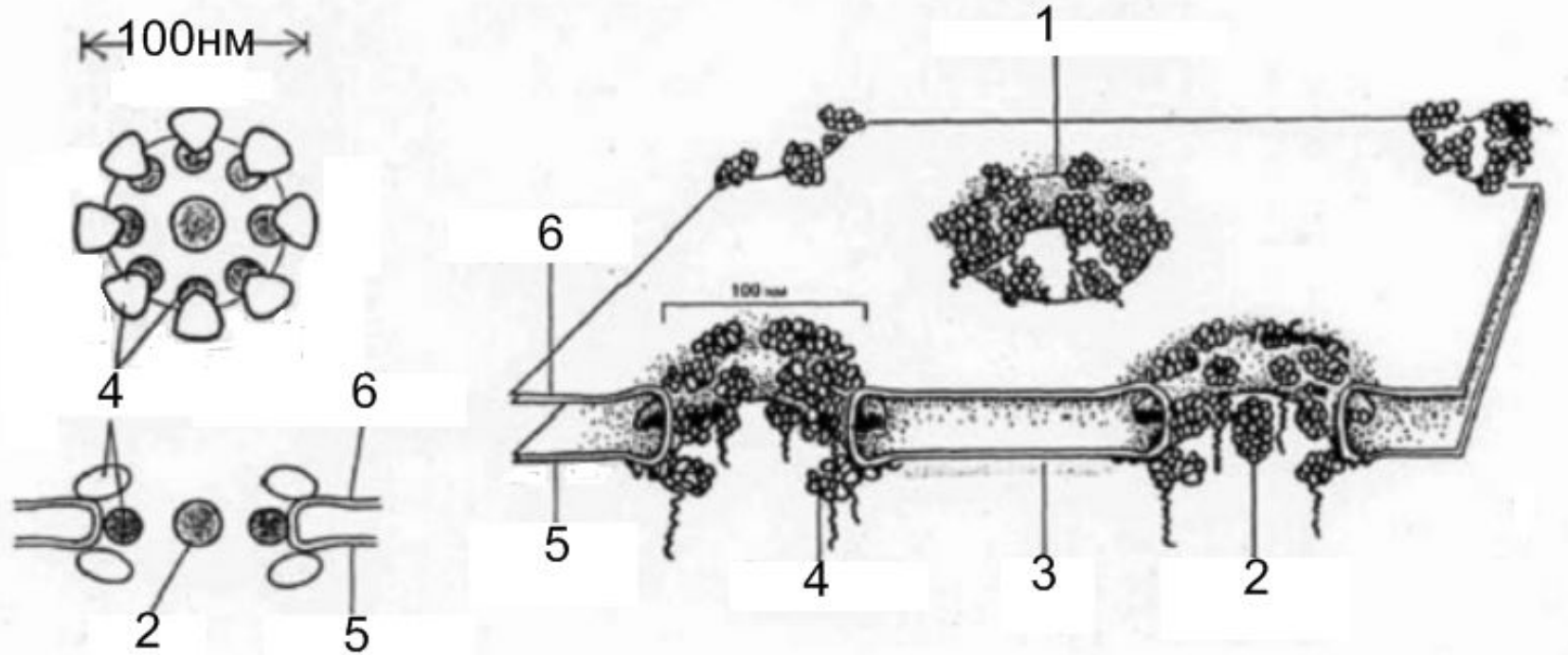


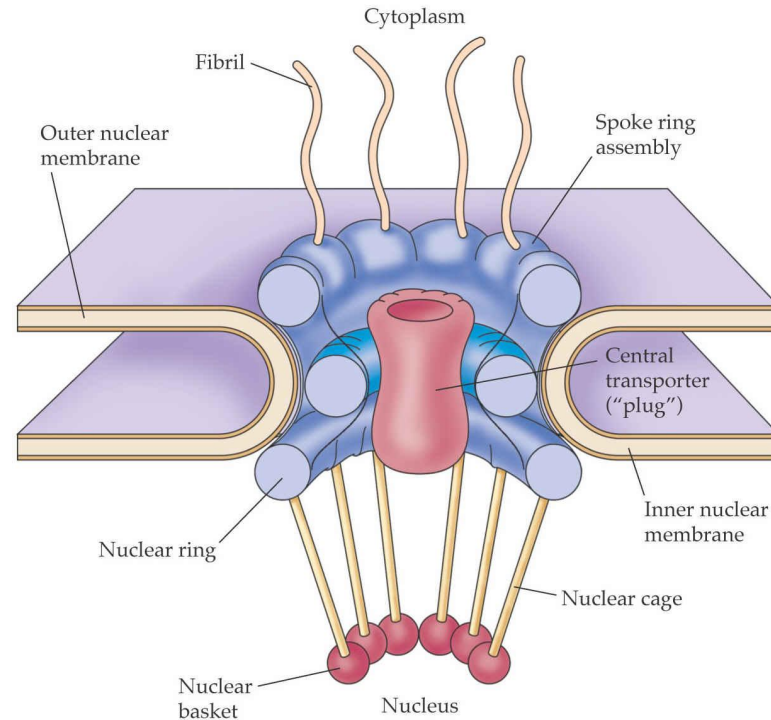
Рис. Общая схема строения ядерных пор (Окштейн, 2003)

1 – ядерный поровый комплекс; 2 – центральная глобула; 3 – ядерная ламина; 4 – глобулярные белки ядерной поры; 5 – внутренняя ядерная мембрана; 6 – внешняя ядерная мембрана.

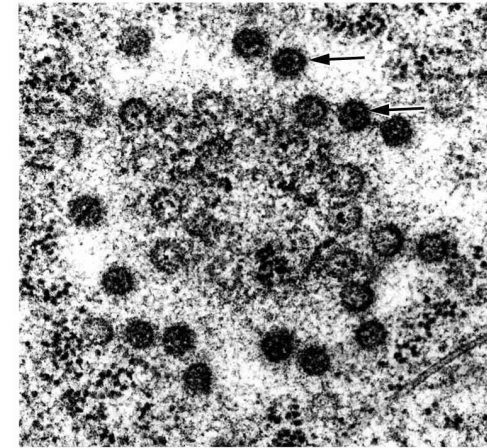
- Наиболее характерной структурой ядерной оболочки является ядерная пора. Поры в оболочке образуются за счет слияния двух ядерных мембран и имеют вид округлых сквозных отверстий, или перфораций, с диаметром около 100 нм.
- Число ядерных пор зависит от метаболической активности клеток: чем выше синтетические процессы в клетках, тем больше пор.

Строение ядерной поры

(A)



(B)



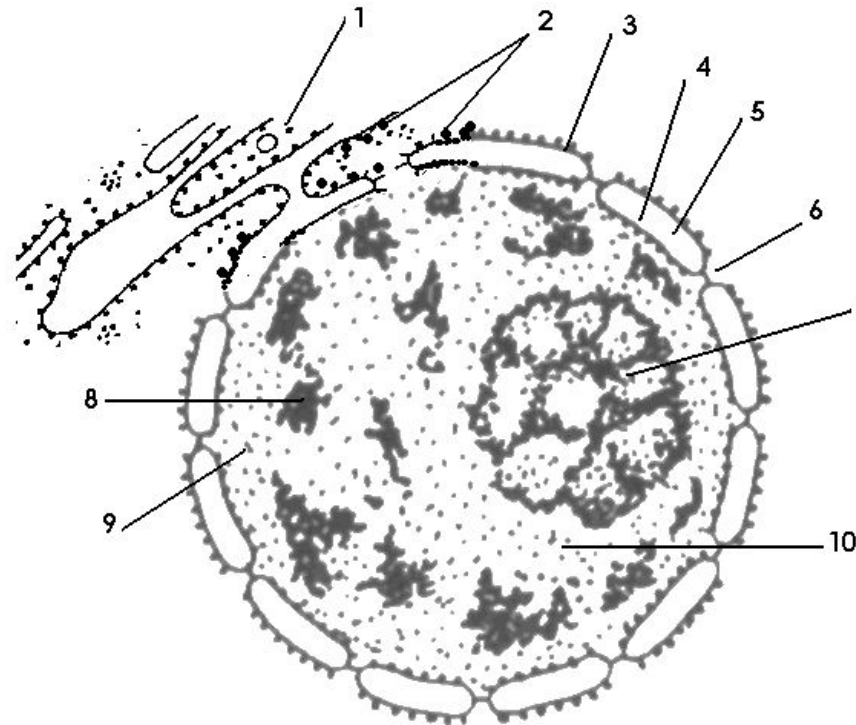
Электроннограмма
ядерной поры

Поровый комплекс образован 3 рядами (слоями) глобулярных белков, в каждом ряду их 8, в центре большая центральная глобула.

Таким образом, образуется воронка, в которой ряды соединяются между собой фибриллярными нитями. За счет этих нитей, при их сокращении, происходит увеличение или уменьшение поры. Глобулы белков – это ферменты и поэтому это ферментативная воронка, которая пропускает не все вещества. **Функция ядерной поры:** барьерная, регуляторная, транспортная, фиксирующая (для хроматина). В то же время ядерные поры осуществляют избирательный транспорт.

Ядерный сок

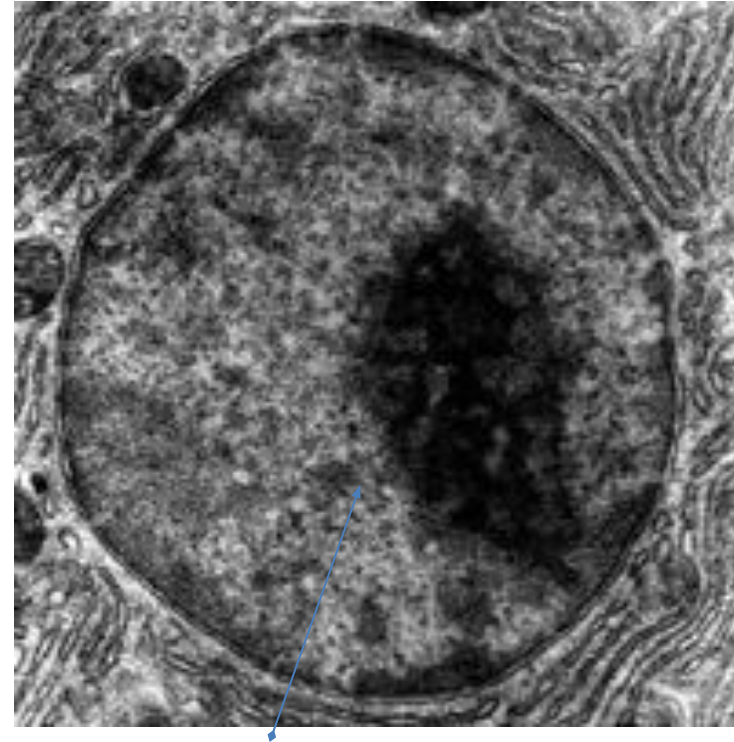
- Ядерный сок (кариоплазма) - внутренняя среда ядра, представляющая собой коллоидное (гелеобразное) вязкое вещество, в котором находятся структуры ядра, а также ферменты и нуклеотиды, необходимые для репликации, транскрипции. рН среды ядра – кислая.
- Функция ядерного сока: осуществление обмена веществ и структур с цитоплазмой



ЭНЫХ

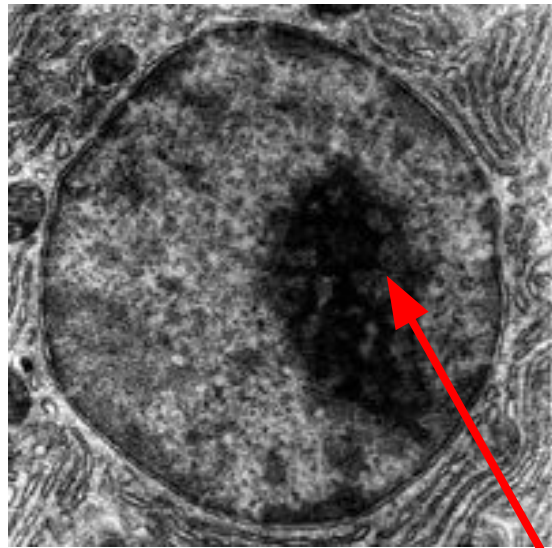
Ядрышко

- Впервые ядрышки были обнаружены Фонтанэ в 1774 г.
- **Ядрышки** – это мелкие, обычно шаровидные тельца, являющиеся *непостоянными* компонентами ядра - они исчезают в начале деления клетки (профаза) и восстанавливаются после его окончания (телофаза).



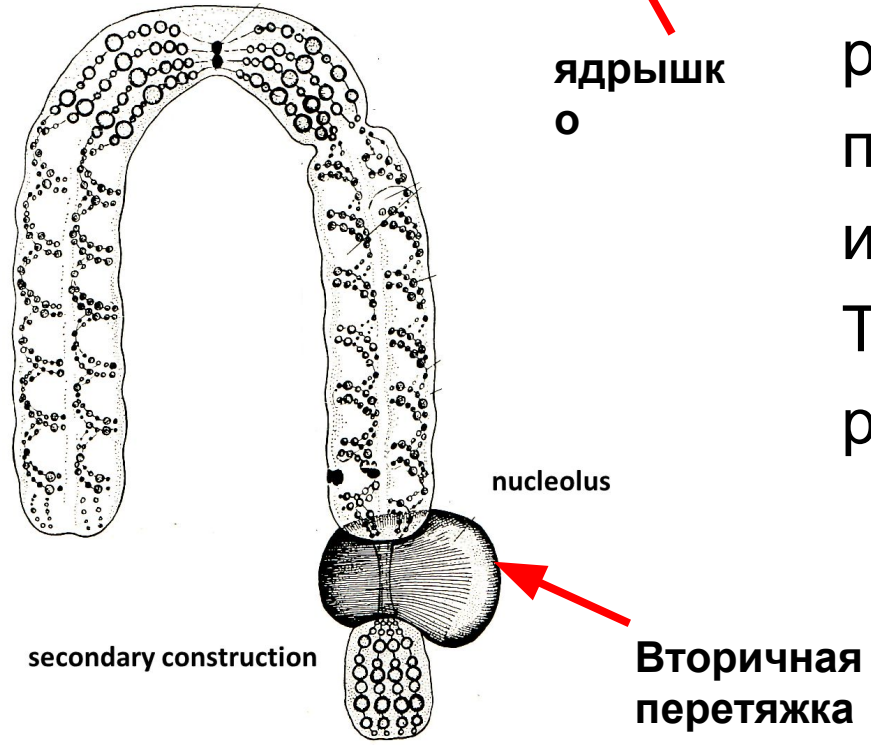
Ядрышко

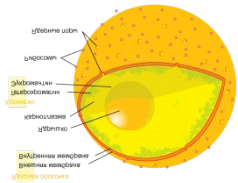
Строение ядрышка



Еще в 1930-х годах рядом исследователей (Мак Клинтон, Хейтц, С.Г. Навагин) было показано, что возникновение ядрышек связано с ядрышковыми организаторами, расположенными в области вторичных перетяжек спутничных хромосом (13, 14, 15, 21 и 22 пары).

Там локализованы гены, кодирующие синтез рибосомальных РНК.

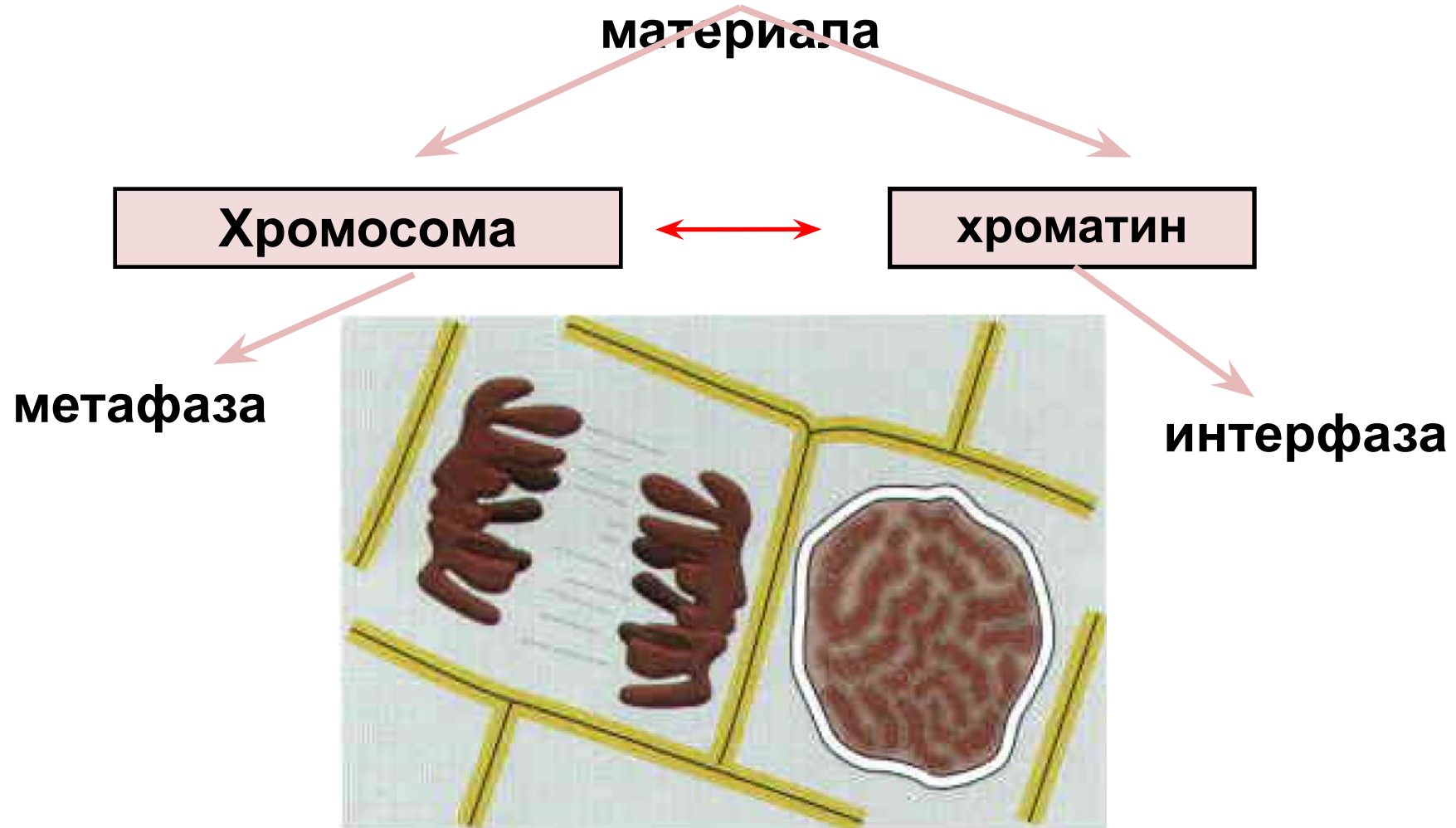




Химический состав ядрышка

- Основным компонентом ядрышка является белок: на его долю приходится до 70—80% от сухой массы. Такое большое содержание белка и определяет высокую плотность ядрышек. Кроме белка в составе ядрышка обнаружены нуклеиновые кислоты: РНК (5—14%) и ДНК (2-12%). В структуре ядрышка выделяют гранулярный и фибриллярный компоненты.
- Функция: синтез р-РНК, из которых на 80% состоят рибосомы.
- Число ядрышек может быть различным – 1-5 ядрышек на гаплоидный набор и до 10 на диплоидный набор, причем их количество не строго постоянно даже у одного и того же типа клеток. При новообразовании ядрышек они могут сливаться друг с другом в одну общую структуру, т.е. в пространстве интерфазного ядра отдельные ядрышковые организаторы разных хромосом могут объединяться. Так, в тканях человека могут встречаться клетки с одним ядрышком. Это значит, что они слились.

Хроматин - это одно из возможных структурно-функциональных состояний наследственного материала



Химический состав хроматина (хромосом)

- 40% - ДНК,
- 60% - белков:
 - ✓ 40% гистоновые белки (H1, H2a, H2b, H3, H4)
 - ✓ 20% - негистоновые белки
- Следы РНК

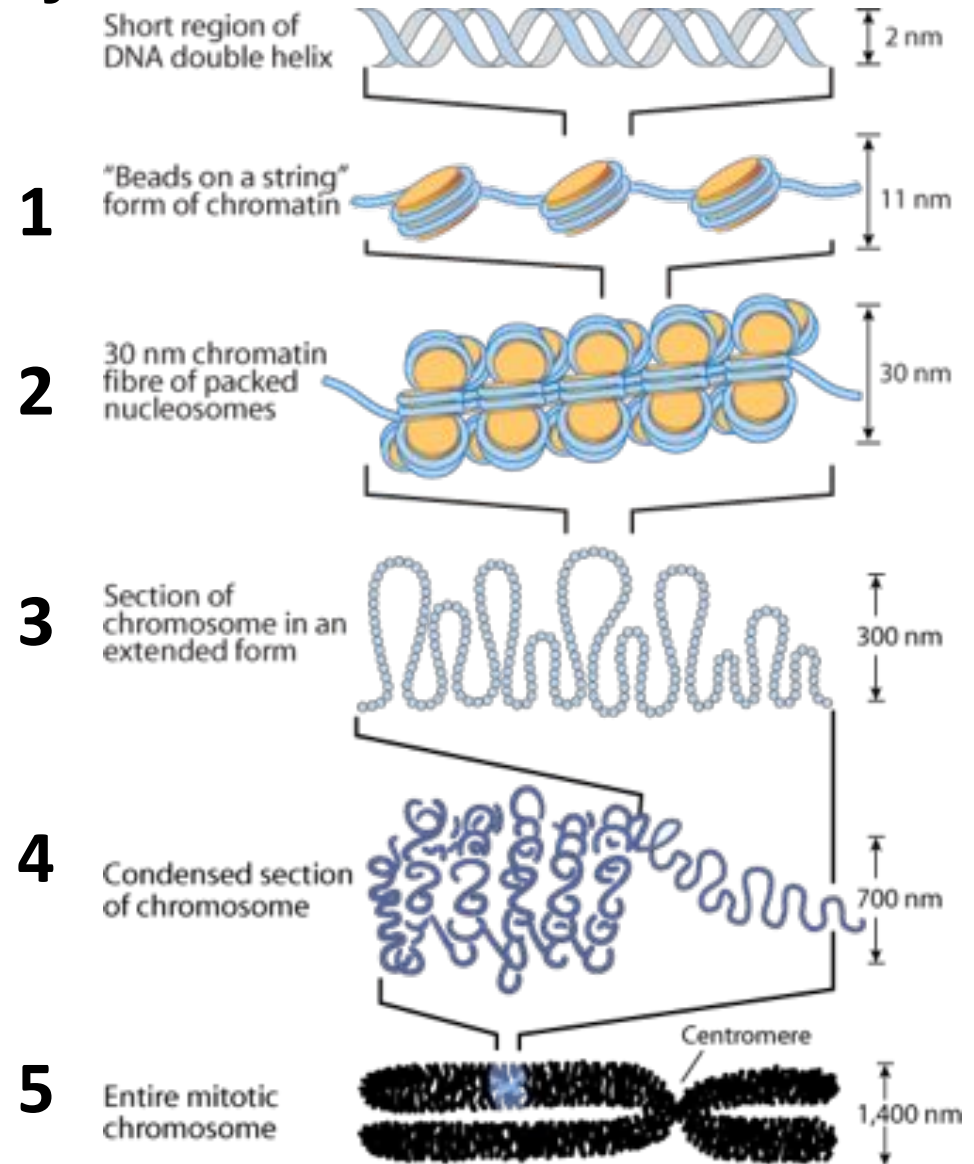
Компактизация, спирализация или укладка ДНК в хромосому происходит в результате апаковки

Структурно-функциональной единицей хромосом на молекулярном уровне является нуклеосома.



Уровни укладки ДНК в хромосому

1. Нуклеосомный
2. Хроматиновые фибриллы (соленоид) 30 nm (нуклеомерный)
3. Хроматиновые филаменты (Хроматиновые петли-домены) (хромомерный)
4. Суперспирализованные филаменты (минибенд) (хромонемный)
5. Хромосомный (Метафазная хромосома)



Первичный уровень - Нуклеосомный

Двуцепочечная ДНК накручивается вокруг гистоновых белков.

Нуклеосома - наименьшая единица хроматина и

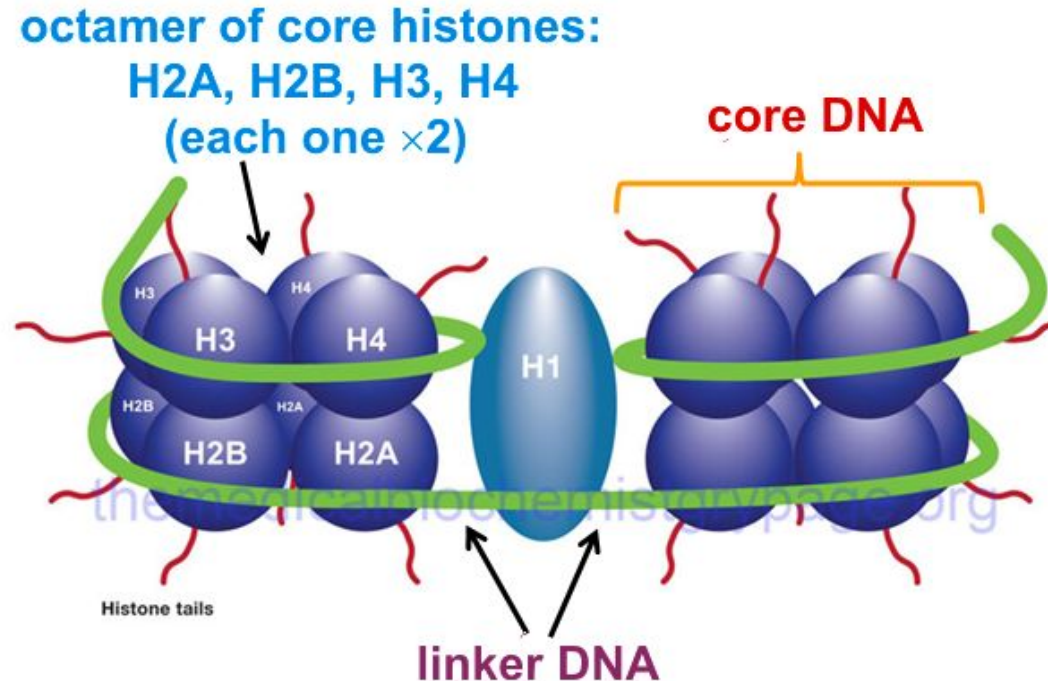
хромосомы

Нуклеосомный кор

Линкерный участок

Гистоновый октамер (H2A, H2B, H3, H4)

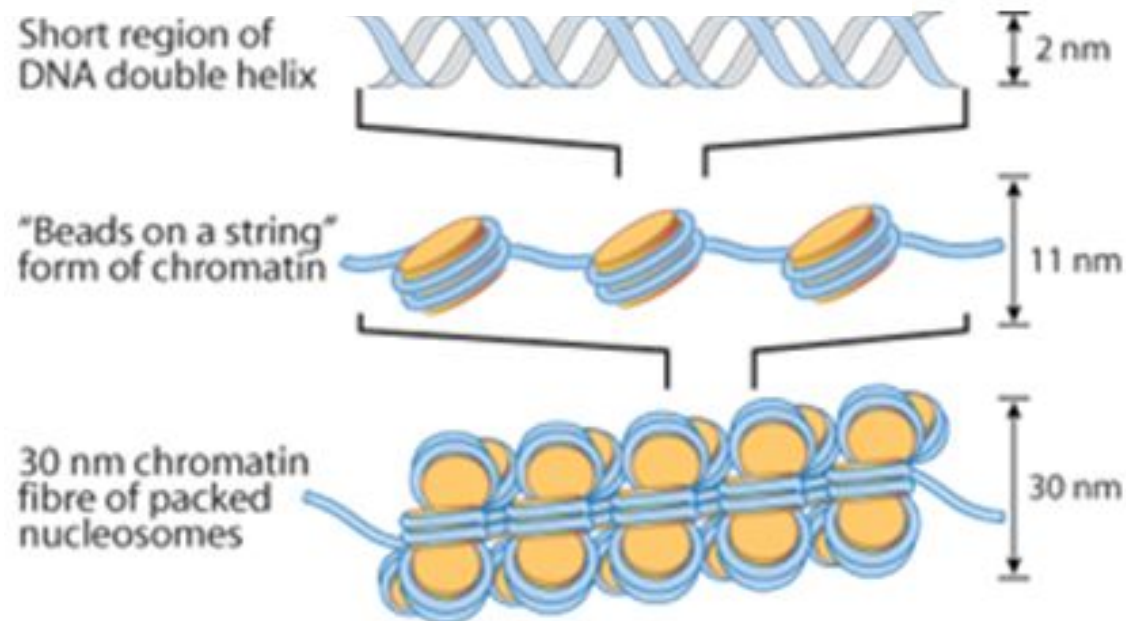
Гистон H1



Второй уровень – Нуклеомерный

Нуклесомный уровень дает формирование «цепочки из бусинок».

Далее 6 нуклесом сближаются и соединяются посредством гистонового белка H1



Хроматиновая фибрилла 30 nm

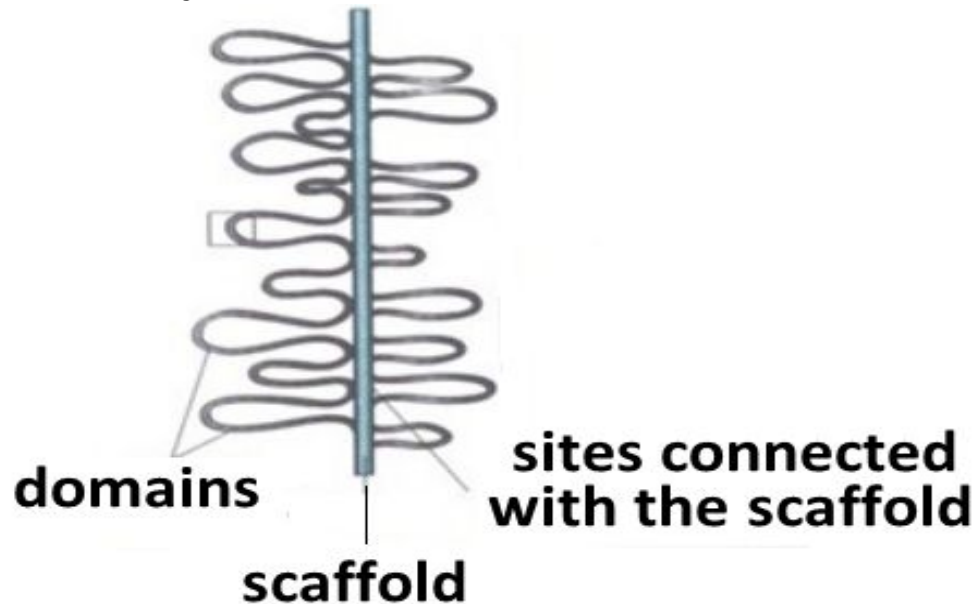
соленоидный хроматин

- Хроматиновая конформация из «бусинок» и «супер бусинок» дают структуру эухроматина
- Дальнейшая упаковка хроматина дает формирование гетерохроматина

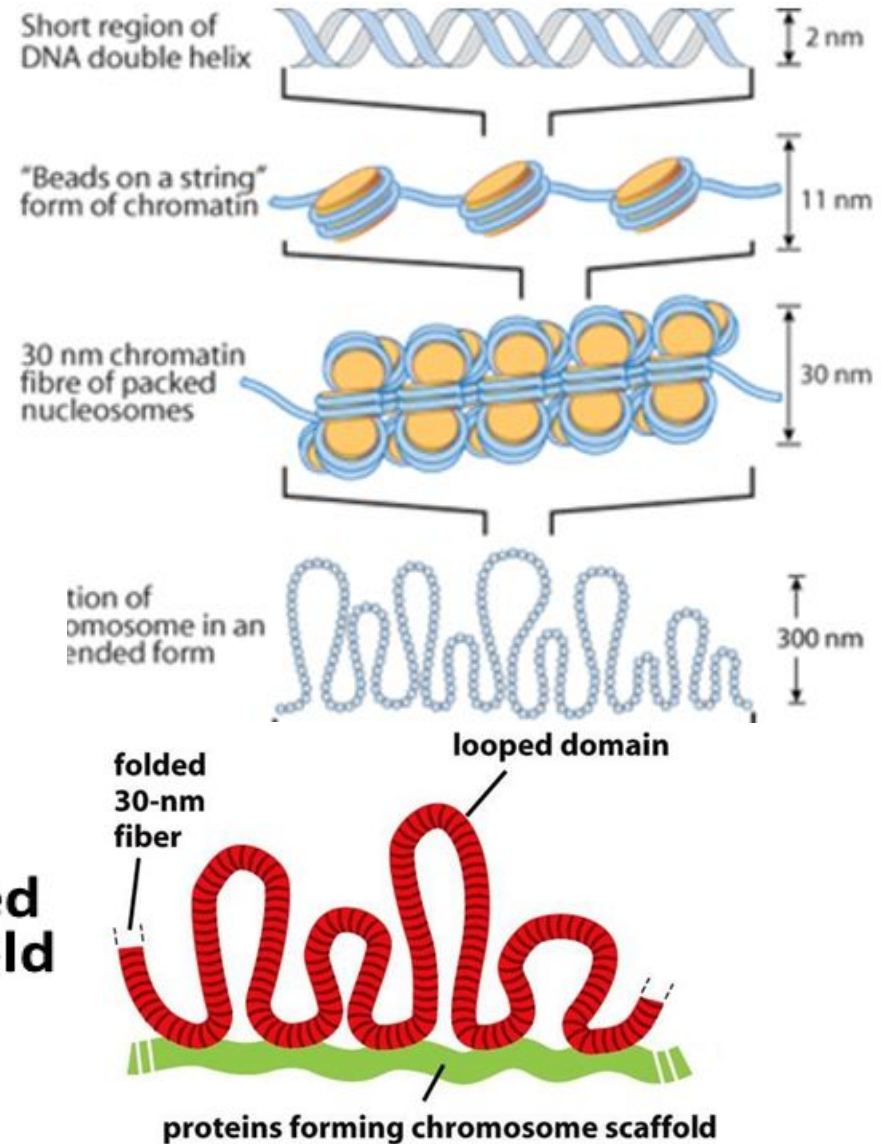
Третичный уровень – Хромомерный

Хроматиновые филаменты (Хроматиновые петли-

фибриллы) формируют петли-домены, которые фиксируются негистоновым белком (scaffold). Петли формируются в интерфазе деления.



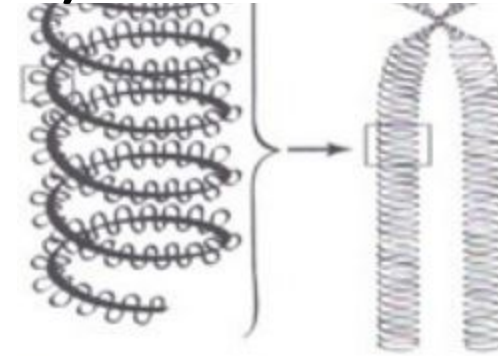
DNA contracts to 300 nm



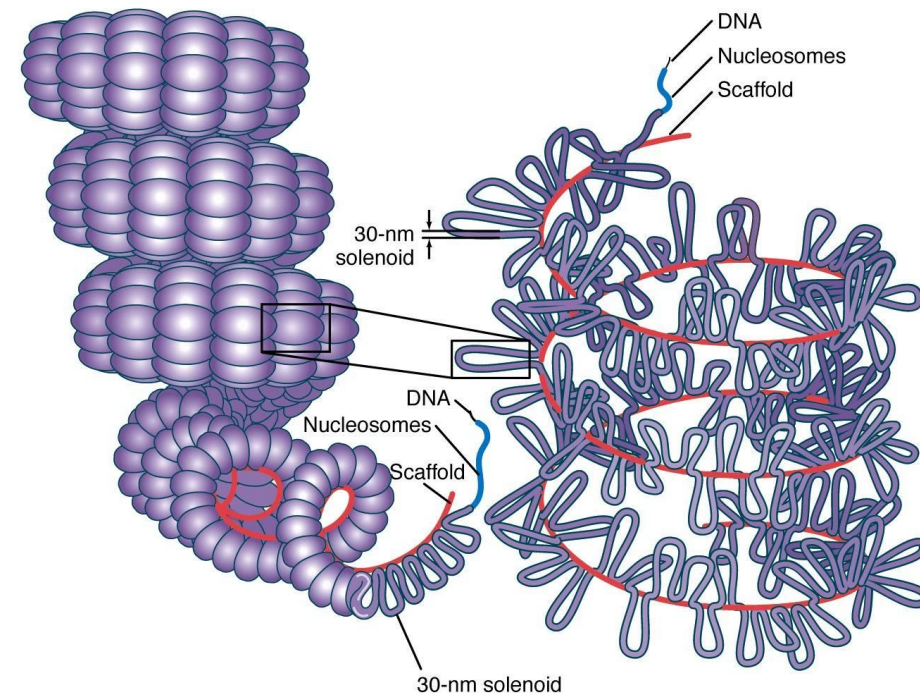
Четвертый и пятый уровень – Хромонемный и Хроматидный (хромосомный)

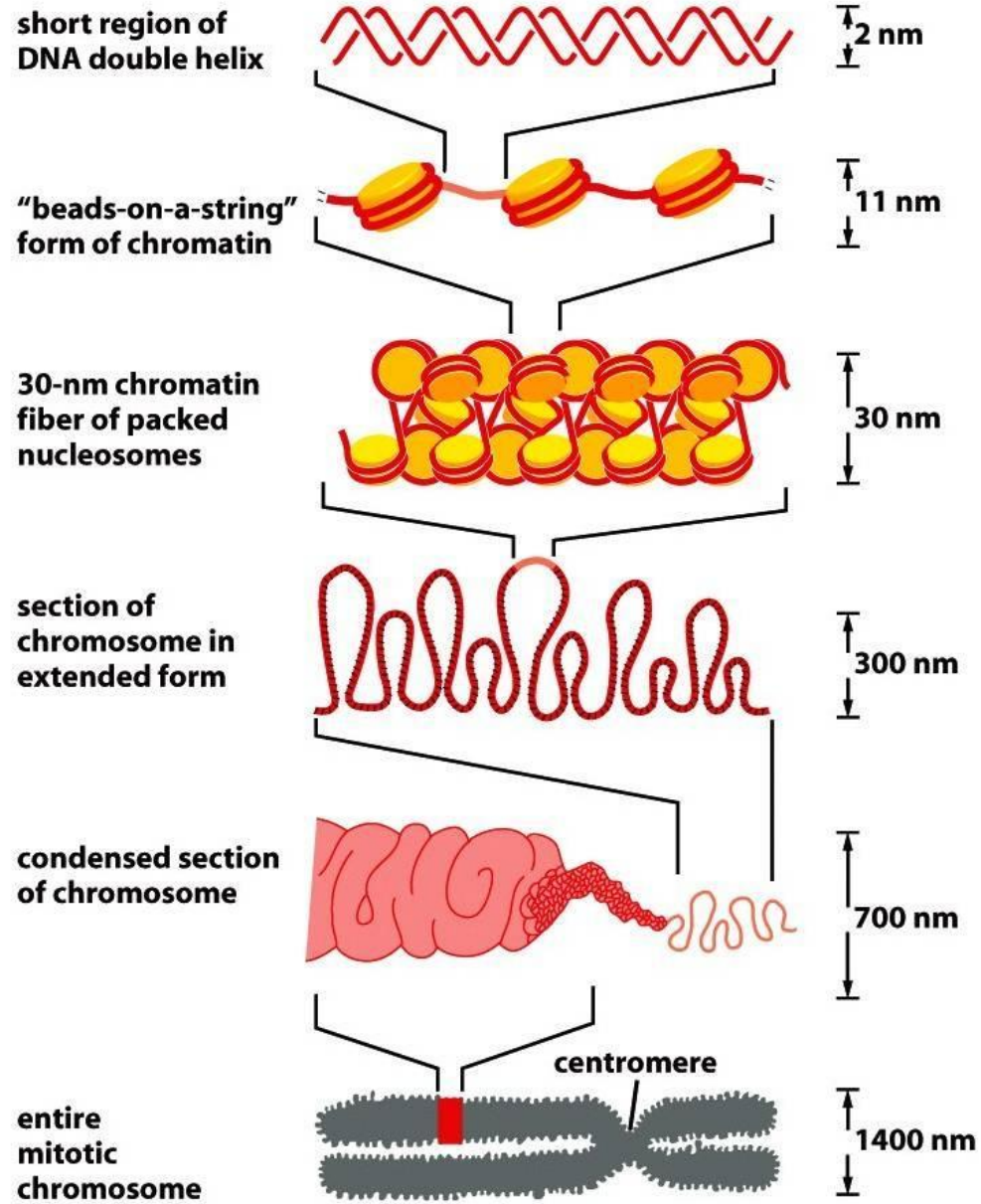
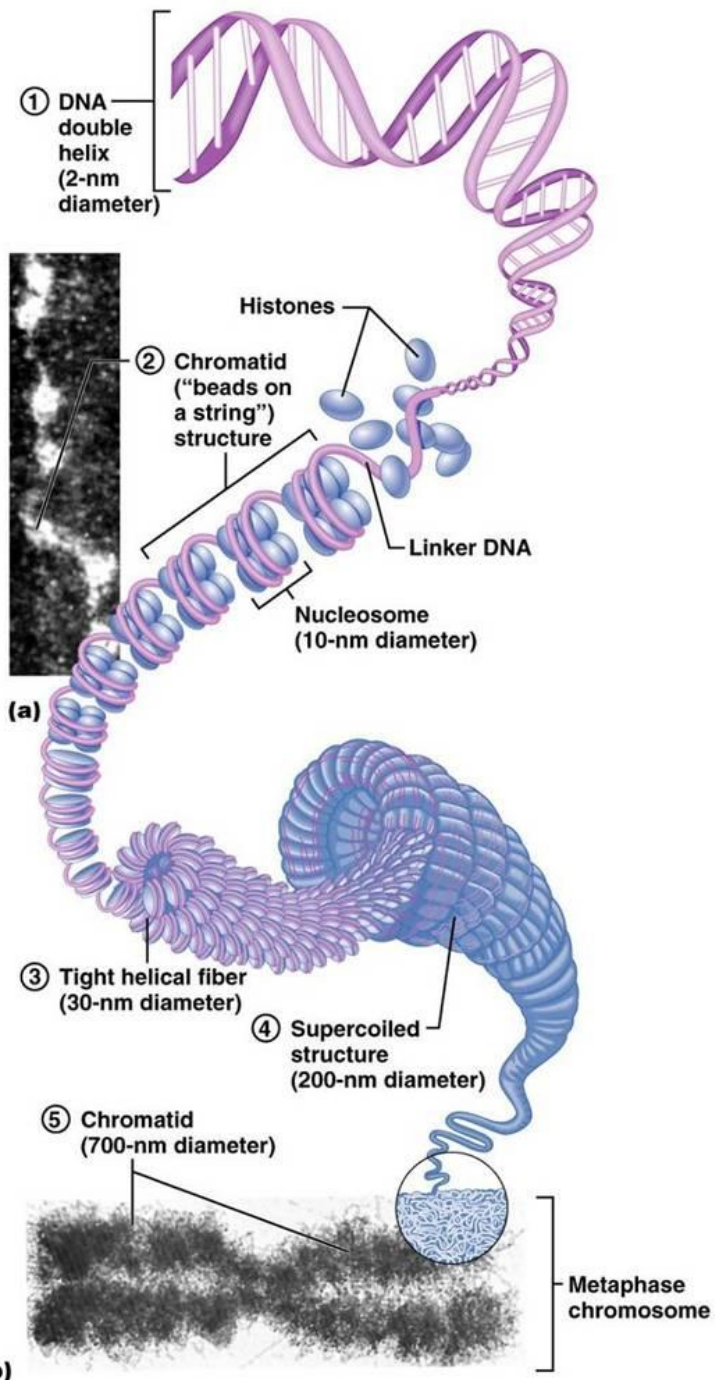
Суперспирализованные филаменты (минибенд) и хромосомный (метафазные хромосомы)

- Минибенд содержит *около 18 петель*
- ДНК укорачивается в 10.000 раз.
- Минибенды при дальнейшей компактизации дают формирование *полухроматид*, затем *хроматид*.
- *Две хроматиды* соединяясь формируют *метафазную хромосому*



Supercoiled filament (Minibend)





NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Классификация хроматина

Эухроматин –

- деспирализованный,
- активный,
- транскрибируемый,
- менее окрашенный.

Гетерохроматин –

- спирализованный,
- конденсированный,
- неактивный,
- нетранскрибируемый, более
- интенсивно окрашен.

Функции гетерохроматина

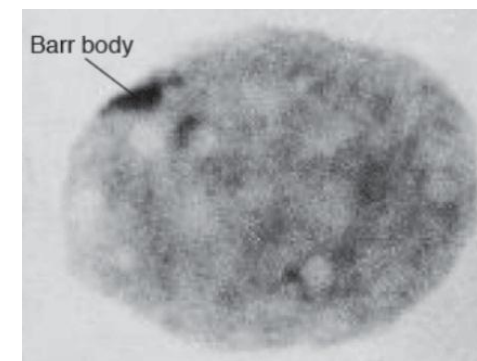
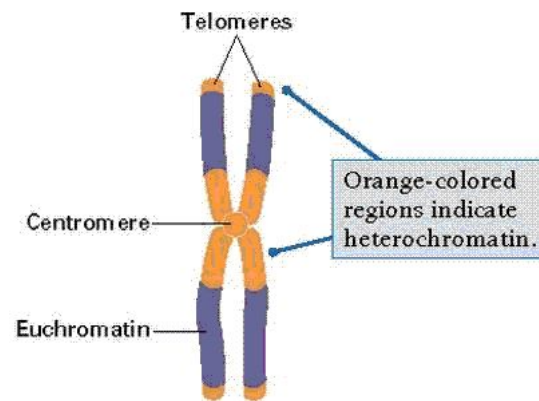
1. Регуляция активности генов
2. Сохранение структуры генов

Факультативный

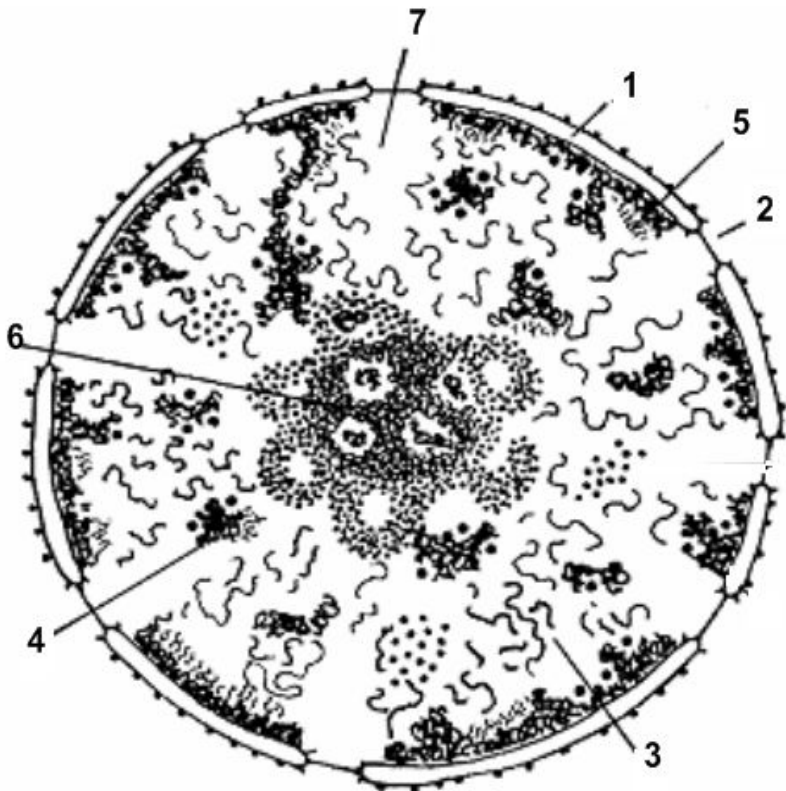
- Тельце Барра

Конститутивный

- Теломеры
- Центромеры



Классификация хроматина



По расположению в ядре:

- Пристеночный
- Диффузный

Рис. Схема строения клеточного ядра (из учебника Ченцова, 2004)

1 – ядерная оболочка (две мембраны – внутренняя и внешняя, и перинуклеарное пространство); 2 – ядерная пора; 3 – эухроматин; 4 – диффузный гетерохроматин; 5 – пристеночный гетерохроматин; 6 – ядрышко (гранулярный и фибриллярный компоненты, в центральных светлых зонах находится ДНК, кодирующая рРНК); 7 – кариоплазма, ядерный сок

Строение метафазной хромосомы

- Термин *хромосома* был предложен в 1888 г. немецким морфологом В. Вальдейером, который применил его для обозначения внутриядерных структур эукариотической клетки, хорошо окрашивающихся основными красителями (от греч. *хрома* – цвет, краска, *сома* – тело).

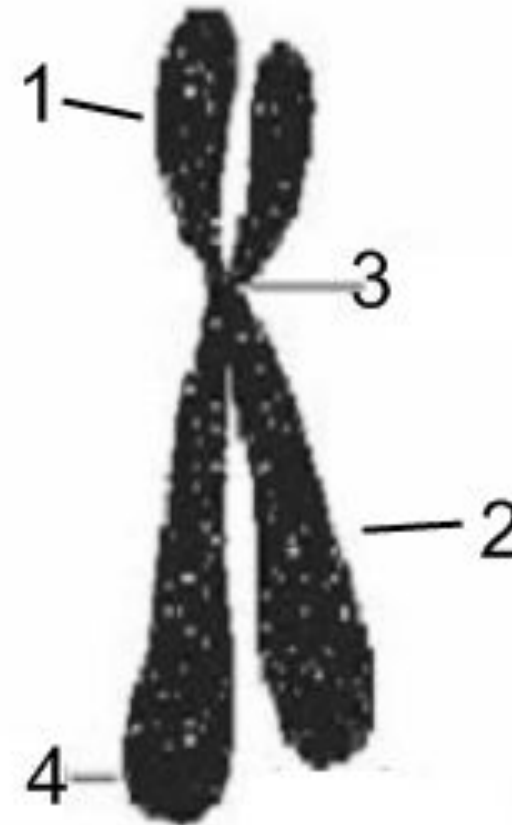


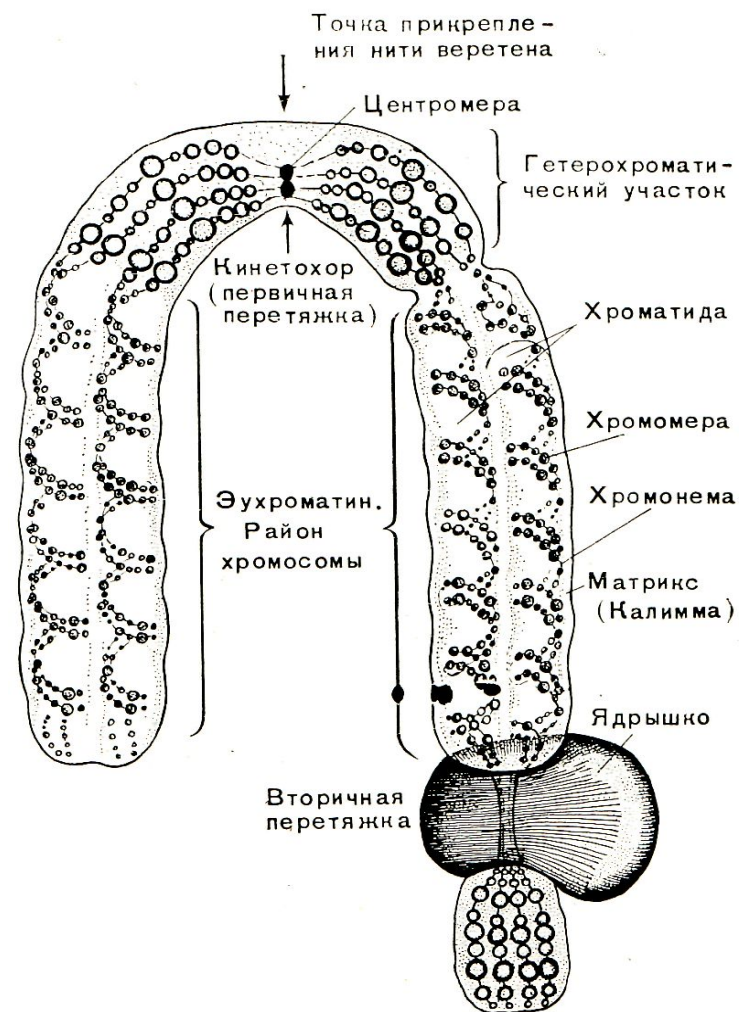
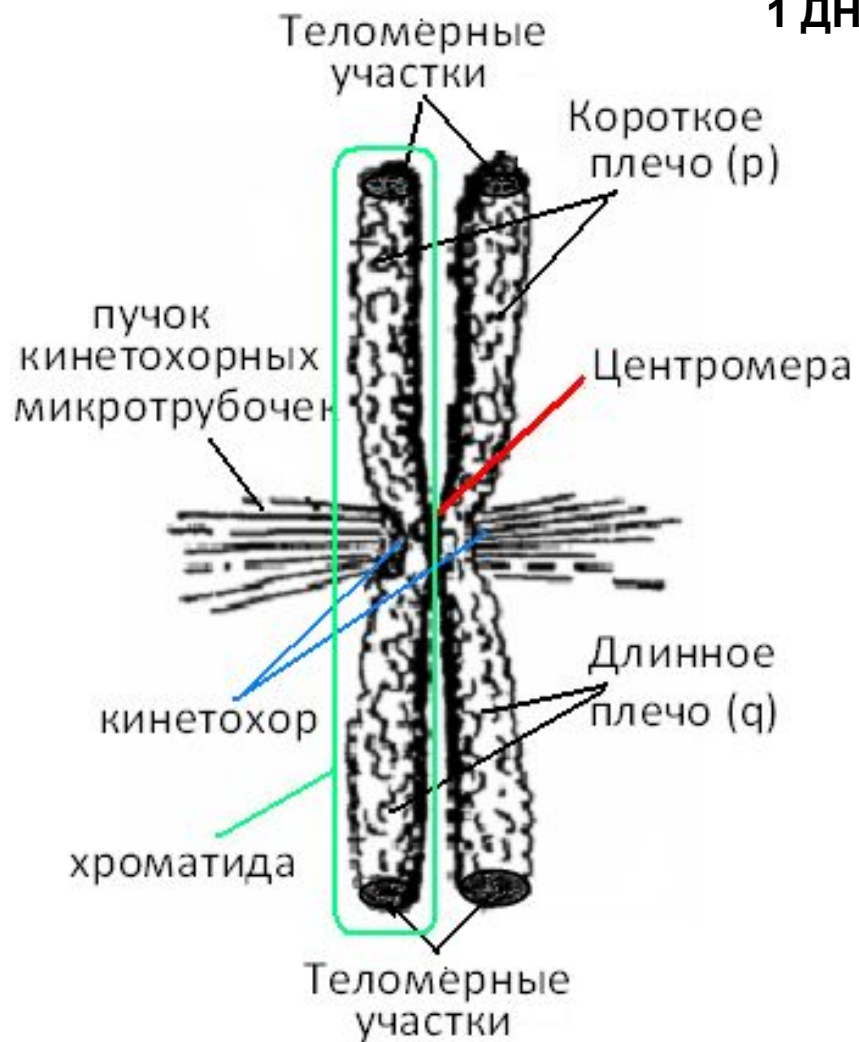
Рис. Метафазная хромосома

(<http://bio.fizteh.ru/student/files/biology/bolections/lection15.html/>)

1. Короткое плечо – p; 2. Длинное плечо – q; 3. Центромера; 4. Теломерные участки

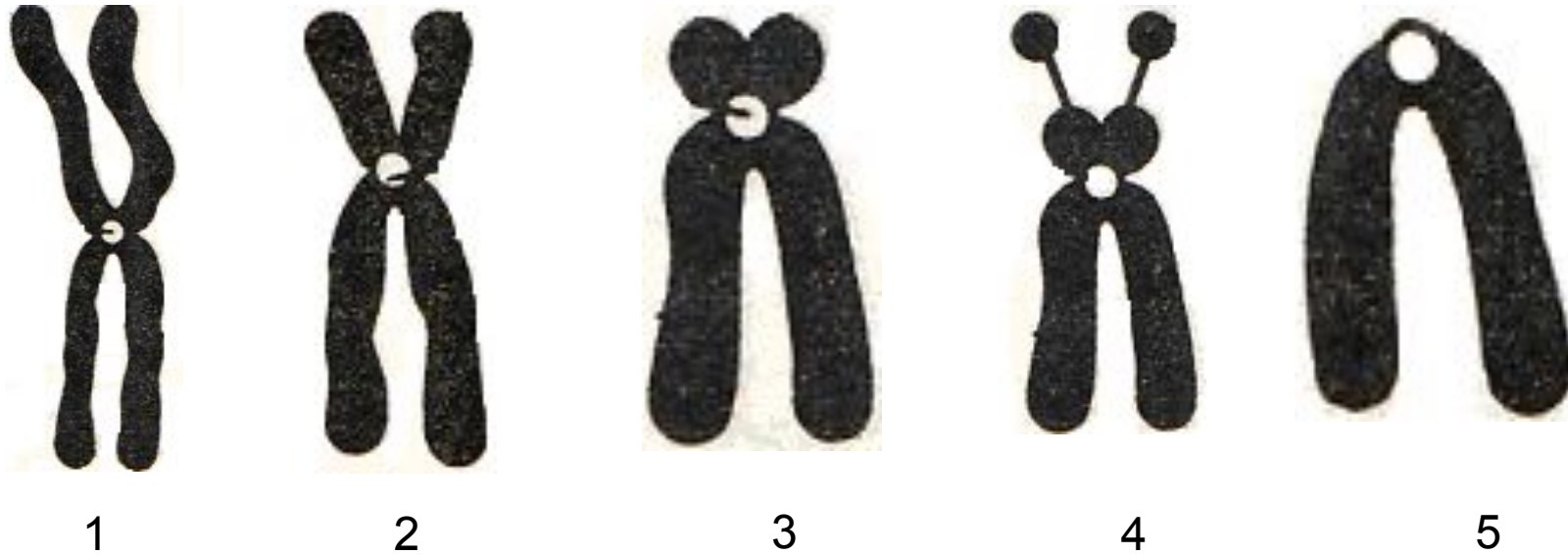
Строение метафазной хромосомы

1 ДНК = 1 хромосома.



Центромера делит хромосому на два плеча. Короткое плечо обозначается буквой – p , длинное – q . Концы хромосомы защищены теломерными участками. Благодаря теломерам, хромосомы не склеиваются между собой.

Морфологические типы хромосом.



1 – Метacentрические, 2 - Субметacentрические, 3 - Акроцентрические, 4 – Спутничные, 5 - Телоцентрические

Хромосомы с равными плечами называют *равноплечими* или *метacentрическими*; с плечами неодинаковой длины – *неравноплечими* – *субметacentрическими*; с одним коротким и вторым почти незаметным – *палочковидными* или *акроцентрическими*. В случае полного отсутствия одного плеча хромосомы называются *телоцентрическими*. Некоторые хромосомы имеют *вторичную перетяжку*, отделяющую спутник, и называются *спутничными*. Вторичные перетяжки называют *ядрышковыми организаторами*. В них в интерфазе происходит образование ядрышка.

**Прямые и косвенные доказательства
роли хромосом в передаче наследственной
информации:**

- **Прямые доказательства** роли ядра являются болезни, связанные с нарушением числа и структуры хромосом

Пример: с. Дауна (47, 21+), с. Патау (47, 13+), с. Шерешевского-Тернера (45, XO)

- **Косвенные (правила хромосом)**

1. **Правило постоянства числа хромосом.** Число хромосом и особенности их строения – видовой признак.
2. **Правило парности хромосом.** Число хромосом в соматических клетках всегда четное, это связано с тем, что хромосомы составляют пары.
3. **Правило индивидуальности хромосом.** Каждая пара хромосом характеризуется своими особенностями. Хромосомы, относящиеся к одной паре, одинаковые по величине, форме и расположению центромер называются гомологичными. Негомологичные хромосомы всегда имеют ряд отличий.
4. **Правило непрерывности хромосом.** Хромосомы способны к авторепродукции.

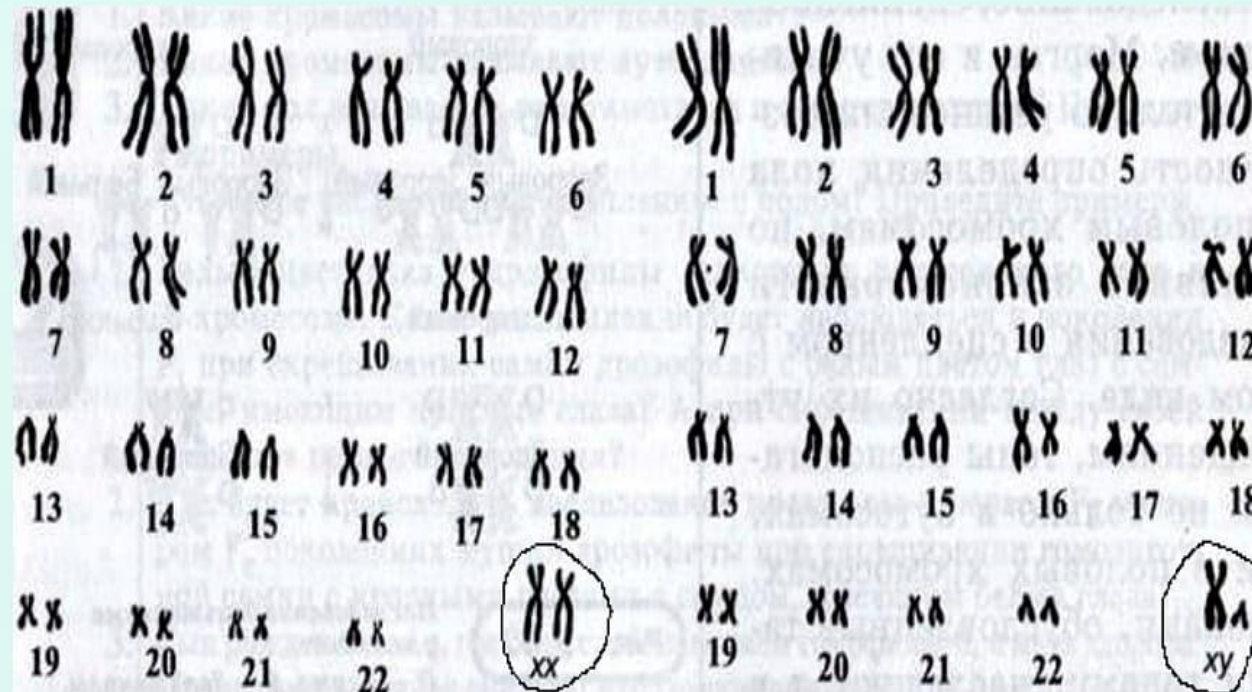
Кариотип — совокупность признаков (число, размеры, форма и т. д.) полного набора хромосом, присущая клеткам данного биологического вида (видовой кариотип), данного организма (индивидуальный кариотип) или линии (клона) клеток.

Термин был предложен в 1924 году русским цитологом Г.А. Левитским.

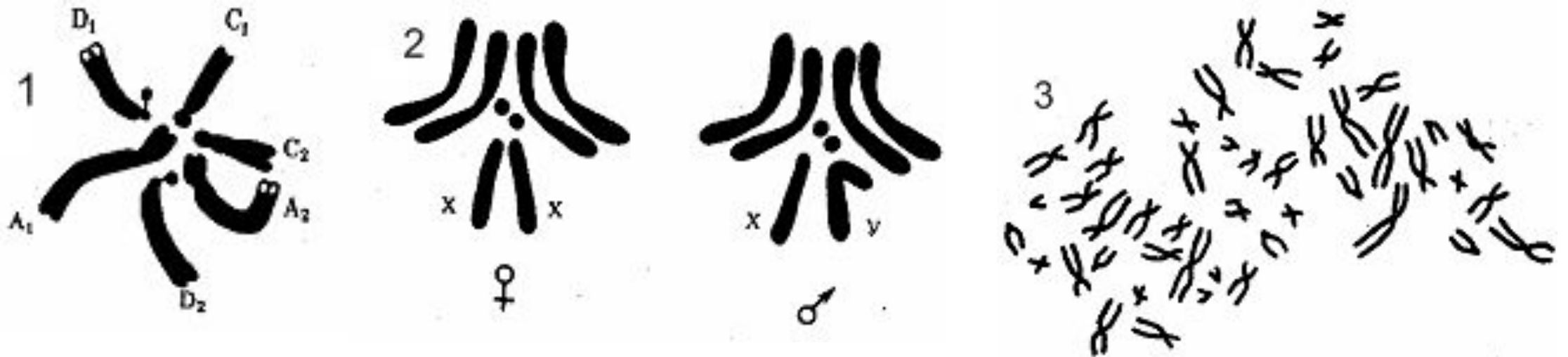
Кариотип

женщины

мужчины



Кариотип организмов.



*Рис. Кариотипы организмов различных видов (из учебника
Чебышева, 2005):*

1 – скерды, 2 – дрозофилы, 3 – человека

Хромосомы подразделяются на

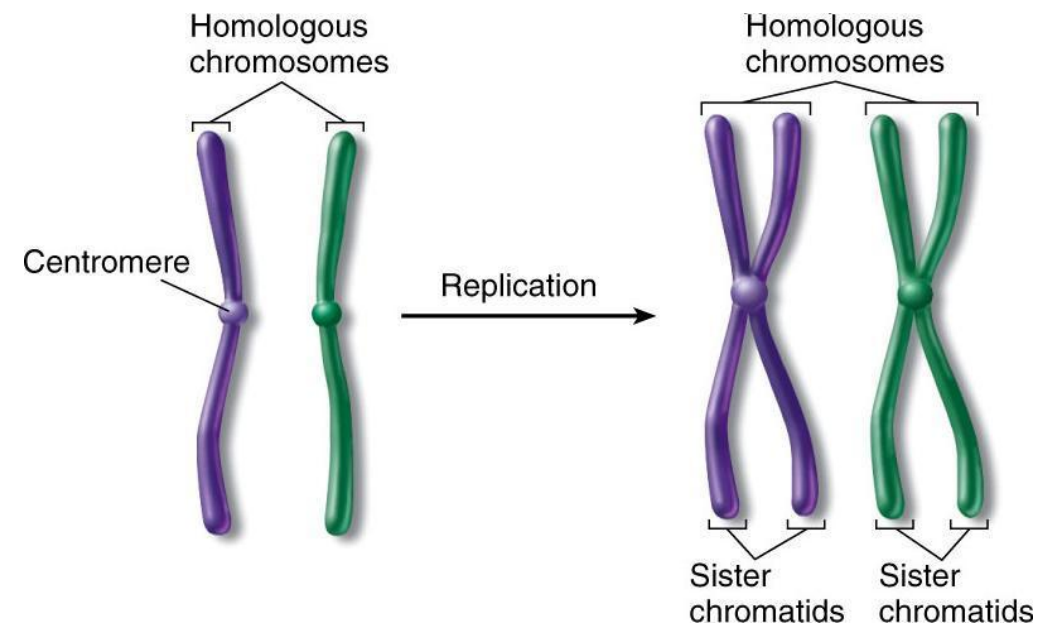
- аутосомы (одинаковые у обоих полов).
- и гетеросомы, или половые хромосомы (разные для мужских и женских особей).

Различают:

- гомологичные хромосомы.**

Хромосомы одной пары, одинаковы по размерам, форме, составу и порядку расположения генов, но различны по происхождению (одна унаследована от отцовского, другая — от материнского организма).

- негомологичные** - хромосомы из разных пар.



Кариотипирование – цитогенетический метод изучения хромосом

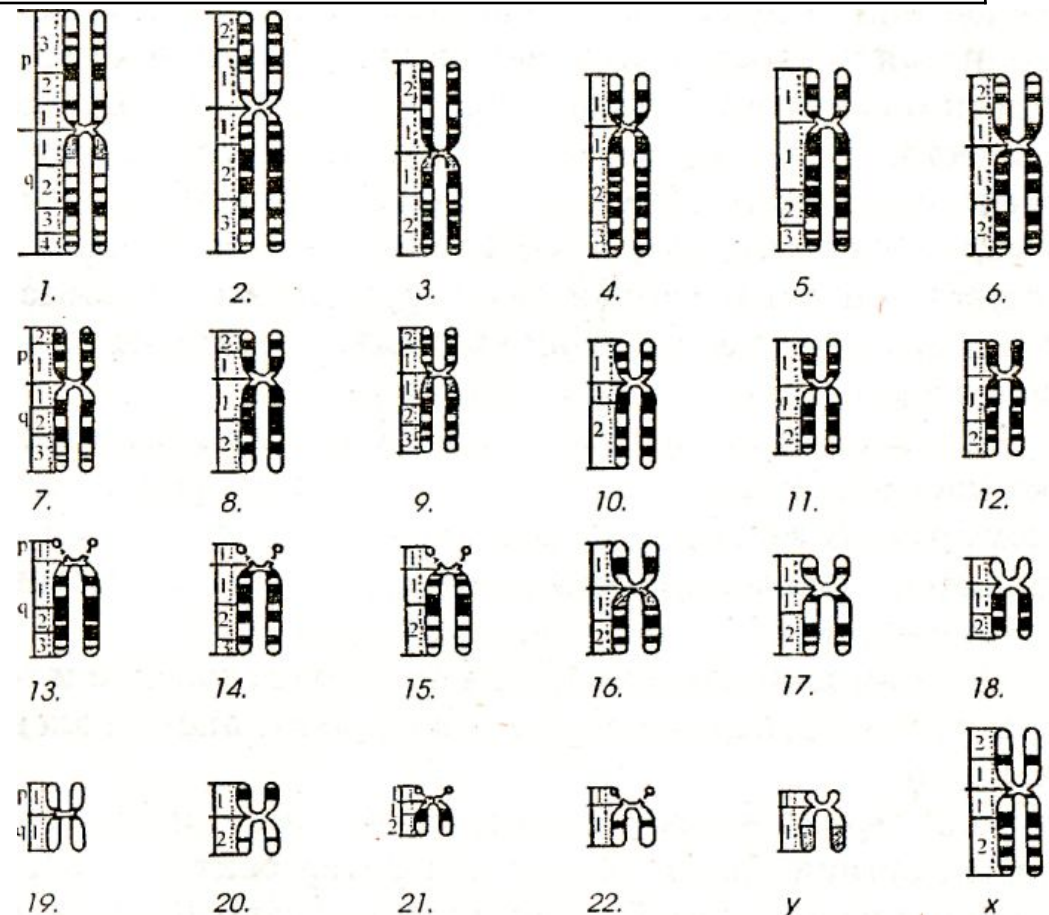
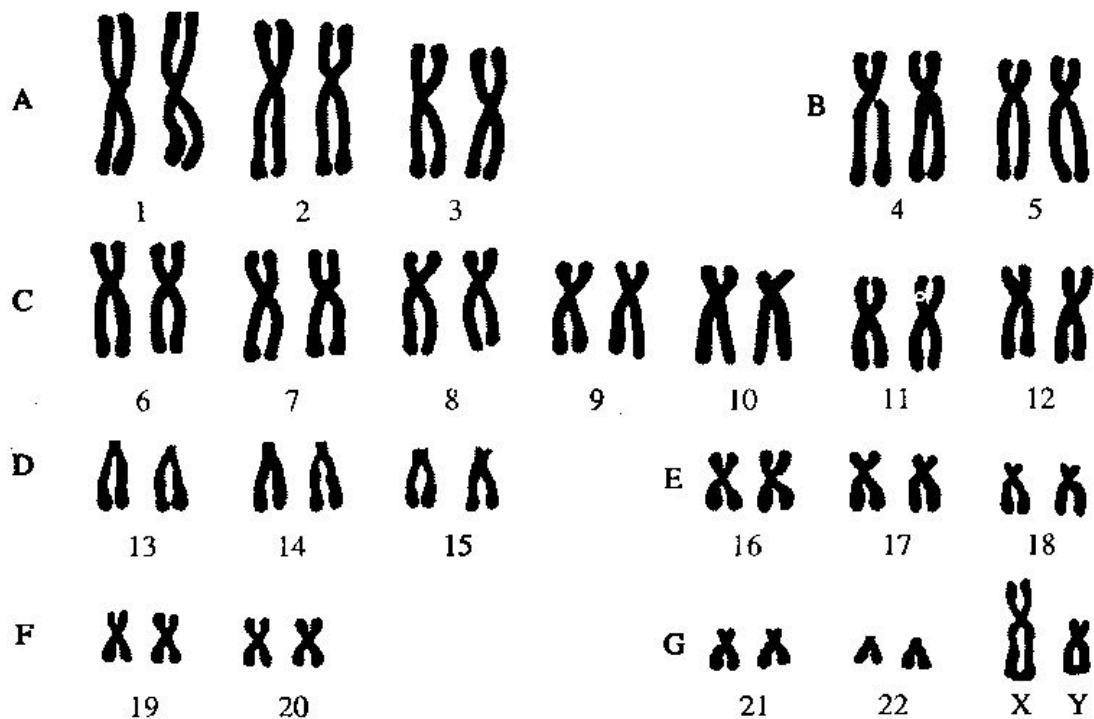
Для проведения данного исследования берут клетки, обладающие *высокой митотической активностью*: клетки костного мозга, ткань семенников, кусочки кожи, костный мозг, клетки хориона, клетки амниотической жидкости и др., но чаще всего используют *лимфоциты периферической крови*. Лимфоциты – это зрелые специализированные клетки. Для того, чтобы увидеть хромосомы в этих клетках, надо стимулировать их клеточное деление.

1.	Забор крови (1-2 мл).
1.	Посев на среду с фитогемаглютинином
1.	Культивирование 2-3 суток, температура 37 ⁰ С
1.	Добавление цитостатика (колхицин)
1.	Приготовление микропрепарата
1.	Изучение препарата с помощью микроскопа, нахождение метафазных пластинок.
1.	Анализ кариограммы.

Классификация хромосом

Денверская классификация, 1960 г.

Парижская классификация, 1971 г.



Хромосомы делят на группы (A,B,C,D,E,F,G), учитывая размеры и положение центромеры,

В основе лежат методы специальной дифференциальной окраски, выявляется характерный порядок чередования поперечных светлых и темных сегментов

***Диагностические возможности метода
кариотипирования:***

- выявление изменений числа (Денверская классификация) и структуры (Парижская) хромосом;
- определение кариотипа;
- определение заболеваний, вызванных геномными и хромосомными мутациями;
- определение пола.

	Число хромосом	Женский организм	Мужской организм
Соматическая клетка	<p>Диплоидный набор, $2n$,</p> <p>Всего 46 хромосом:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 44 – аутосомы • 2 - половые хромосомы 	<p>44А ХХ</p>	<p>44А ХУ</p>
Половые клетки	<p>Гаплоидный набор, n,</p> <p>Всего 23 хромосомы:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 22 – аутосомы • 1 - половая хромосома 	<p>22А, Х</p> <p>Один тип яйцеклеток</p>	<p>22А, Х 22А, У</p> <p>два типа сперматозоидов</p>

Нехромосомная наследственность

Наследственный материал клетки заключен не только в ядре, но также присутствует в цитоплазме.

У прокариот в виде небольших кольцевых фрагментов ДНК – *плазмид*.

Плазмиды – это внехромосомные генетические элементы, способные существовать и размножаться в клетке автономно от геномной ДНК. Они представляют собой кольцевые молекулы ДНК закрученные в суперспираль.

В эукариотических клетках внехромосомная ДНК представлена **генетическим аппаратом органелл – митохондрий и пластид** (митохондриальная и пластидная наследственность).

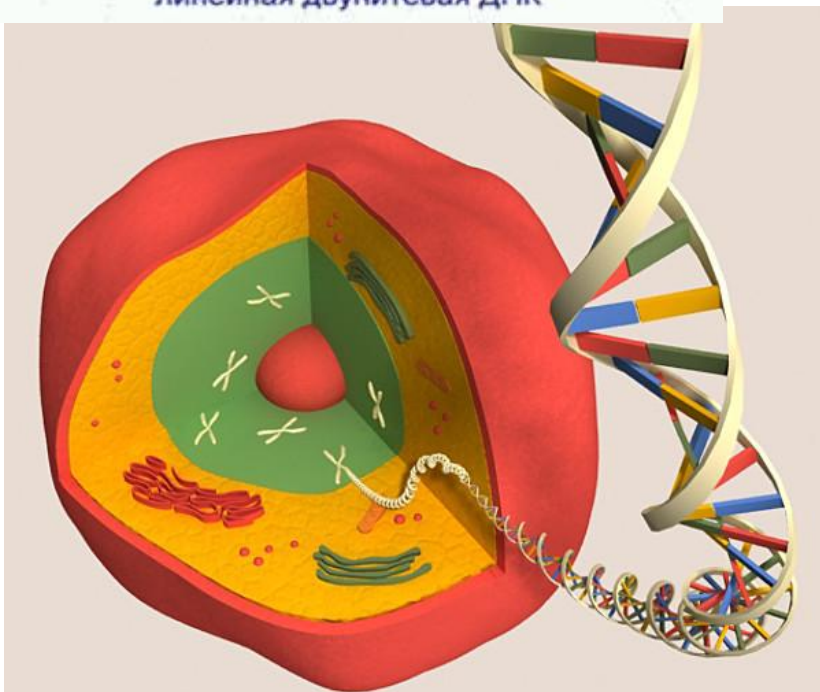
Внехромосомная ДНК составляет лишь небольшую часть наследственного материала эукариотической клетки. Например, мтДНК человека содержит 16569 п. н. и на её долю приходится 1-5% всей клеточной ДНК.

Совокупность генов, расположенных в цитоплазматических молекулах ДНК, называют *плазмоном*. Он определяет особый тип наследования признаков – цитоплазматическое наследование.

Вся масса ДНК

Ядро (98-99%)
Ядерный геном

Линейная ДНК,
связанная с белками

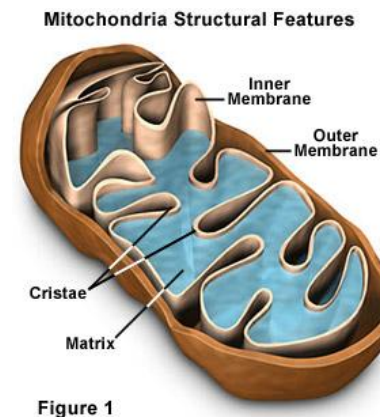
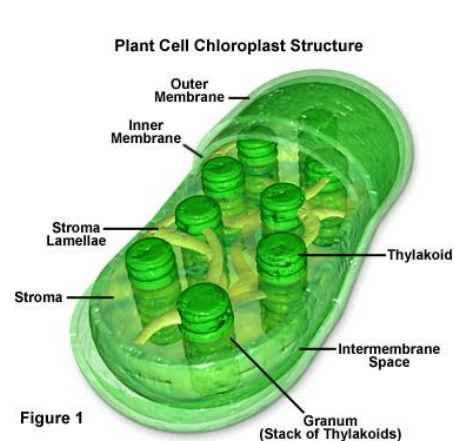


Цитоплазма (1-2%)
Плазмон

- Митохондриальная ДНК
 - Пластидная ДНК
- Плазмиды – небольшие кольцевые ДНК в цитоплазме



Кольцевая ДНК



Группы плазмид

- - **F-плазмиды** – отвечают за половой процесс
- **R-плазмиды** – обеспечивают устойчивость бактерий к антибиотикам
- **Tox-плазмиды** – факторы патогенности энтеробактерий (вызывают заболевание)
- **Со-плазмиды** – вызывают гибель бактерий близких видов (борьба за существование)
- **плазмиды биodeградации** – утилизация продуктов метаболизма.

Спасибо за внимание