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

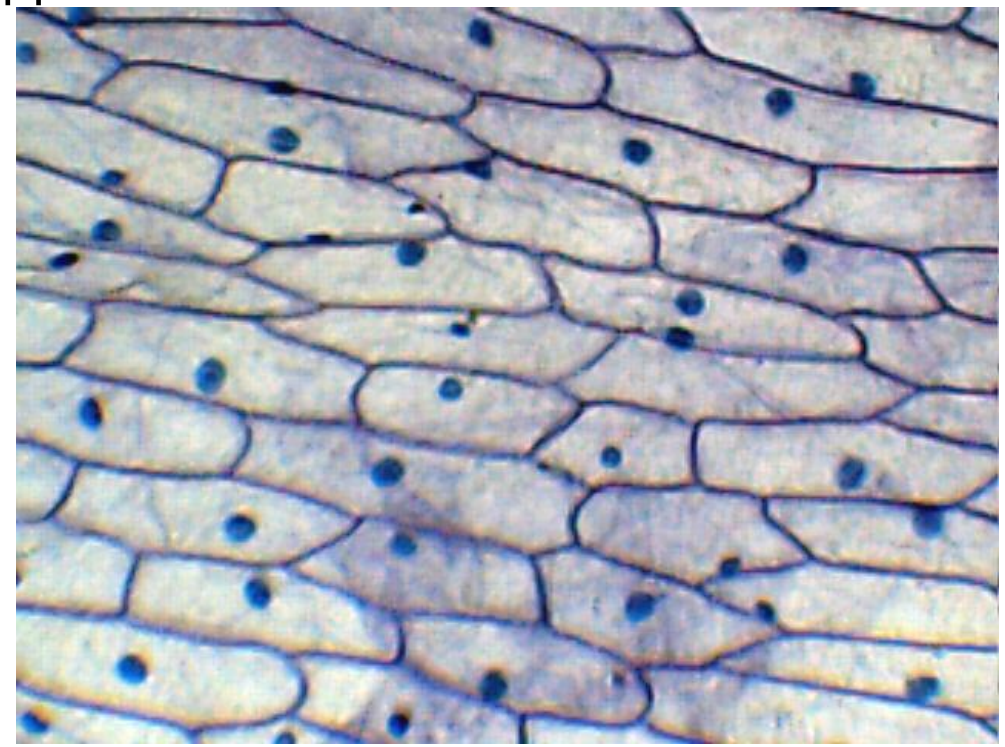
Основные структурные компоненты эукариотических клеток.

Строение животной (А) и растительной (Б) клеток

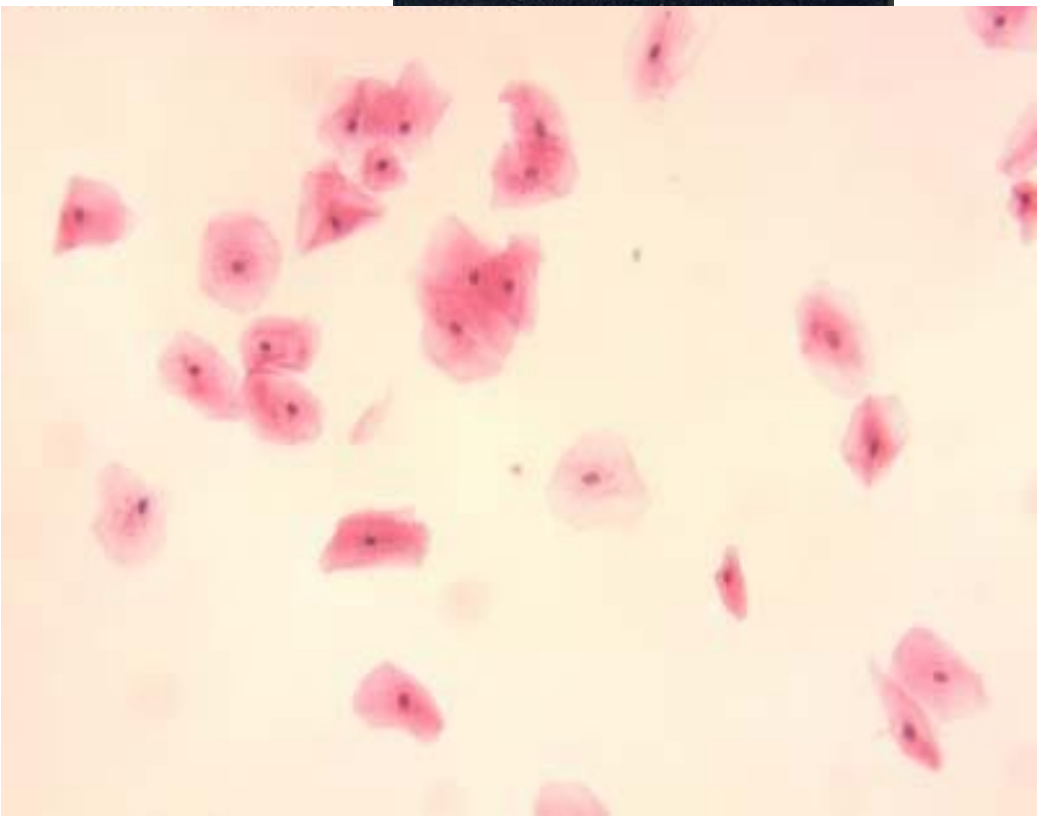
Ядро	**Цитоплазма**	**Цитоплазматическая мембрана (Плазмолемма)**

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

Р. Браун

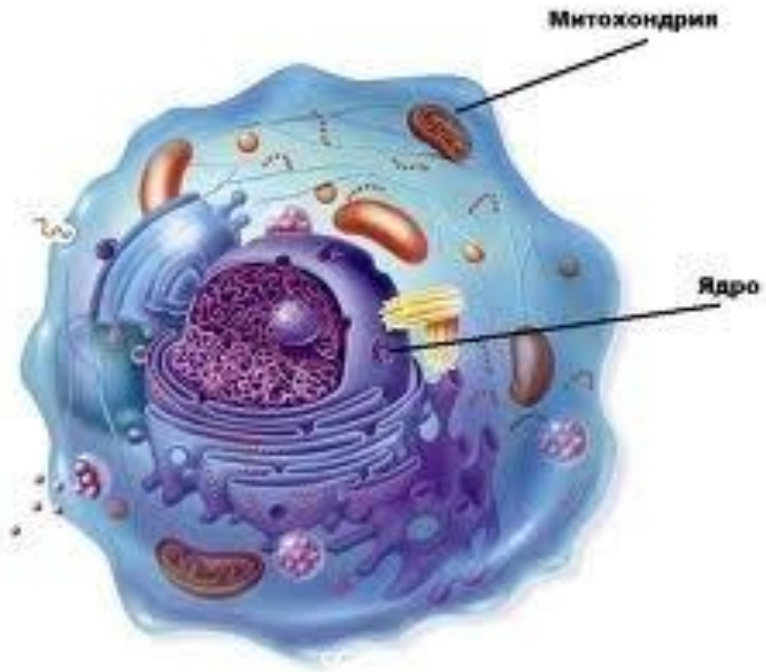


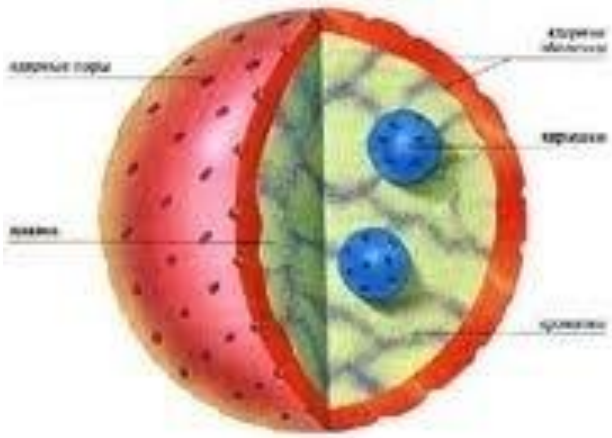
Клетки пленки чешуи лука



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.

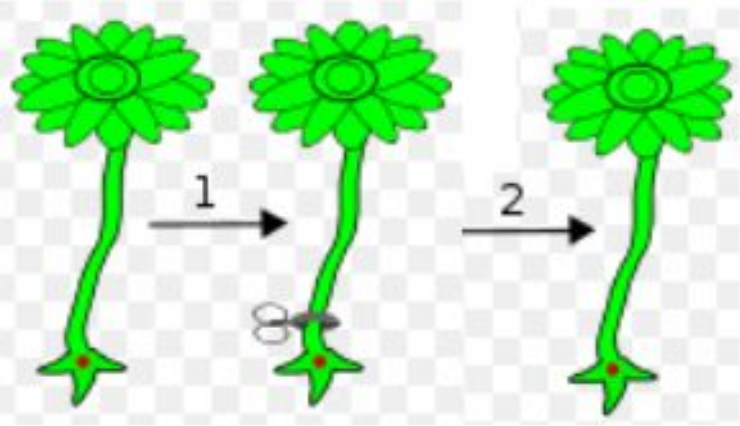
Таким образом, ядро представляет собой не только вместилище генетического материала, но и место, где активно этот материал функционирует и воспроизводится. Поэтому выпадение или нарушение любой из перечисленных функций будет гибельно для клетки в целом, а также может быть отрицательным для организма.

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».

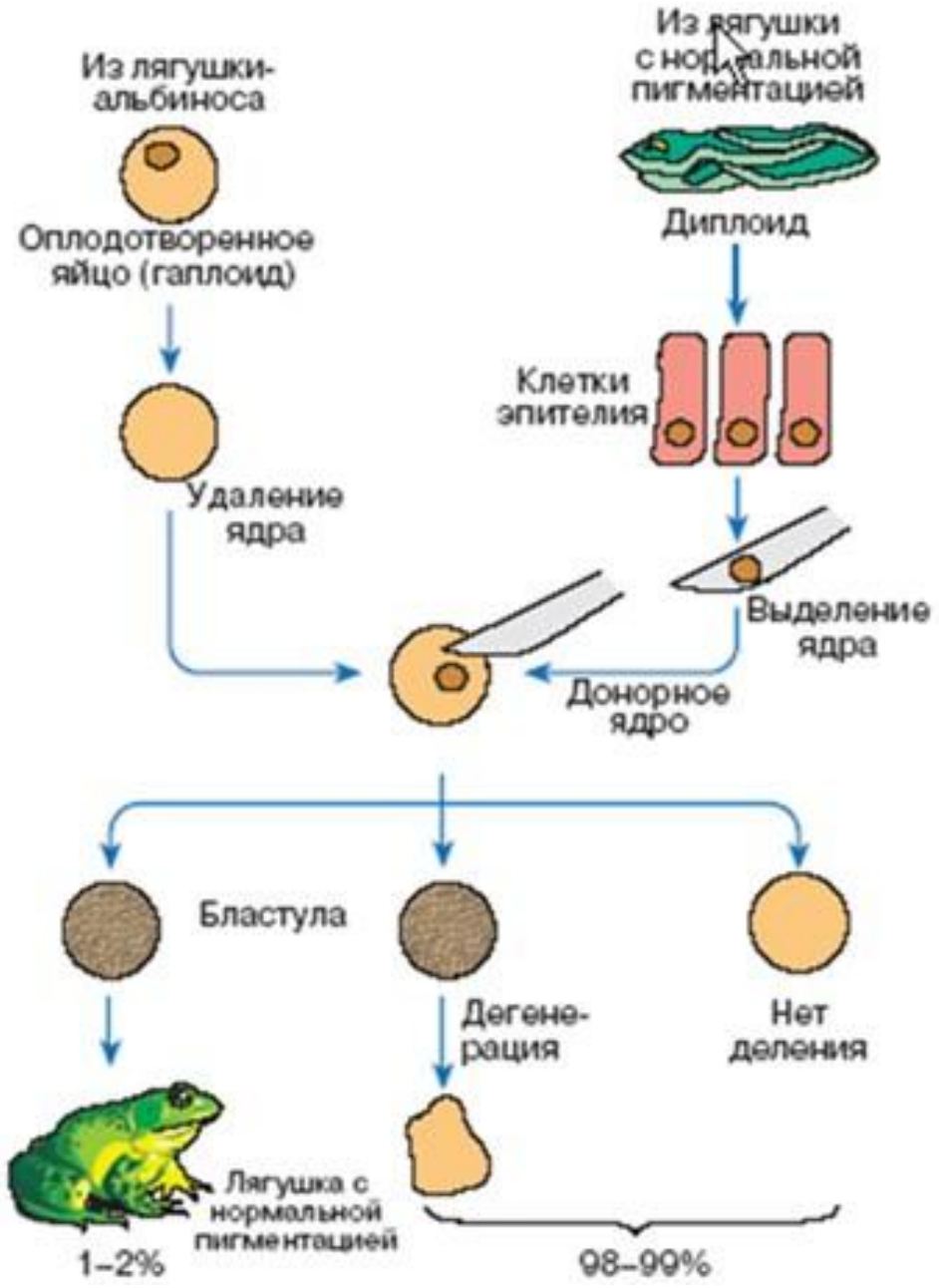
Если перерезать ножку, то нижняя часть продолжает жить, регенерирует шляпку и полностью восстанавливается после операции. Верхняя же часть, лишенная ядра, живет в течение некоторого времени, но, в конце концов, погибает, не будучи в состоянии восстановить нижнюю часть. Следовательно, ядро необходимо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



Опыты с яйцеклетками лягушек

Объект: два подвида лягушек.

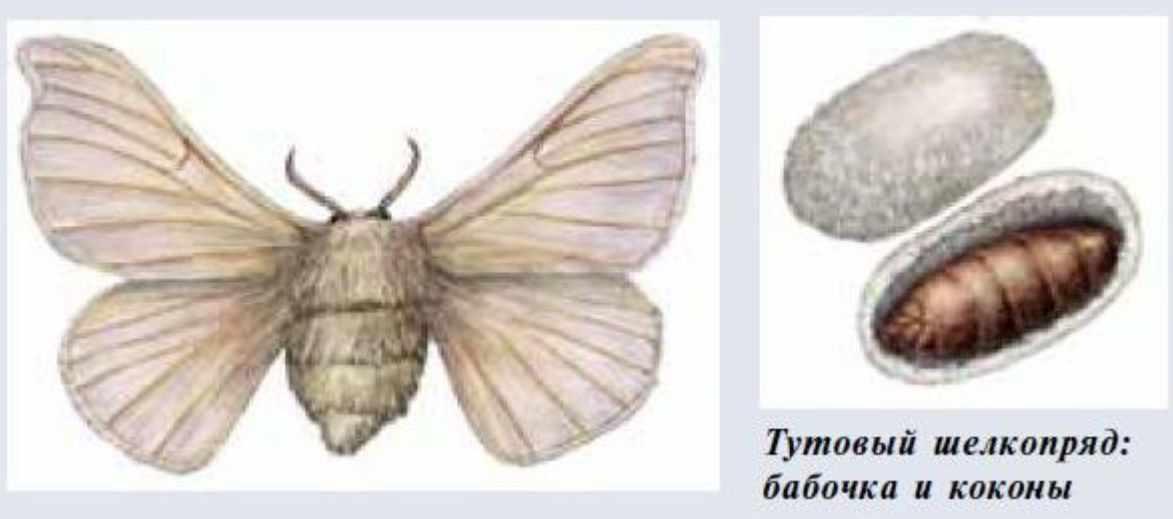
У одного из них (1 подвид) из яйцеклетки удаляли собственное ядро и на его место вносили ядро 2 подвида. В результате из такой яйцеклетки развивались лягушки с признаками 2 подвида.
Таким образом, за хранение и передачу наследственной информации в клетке отвечает ядро.



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.

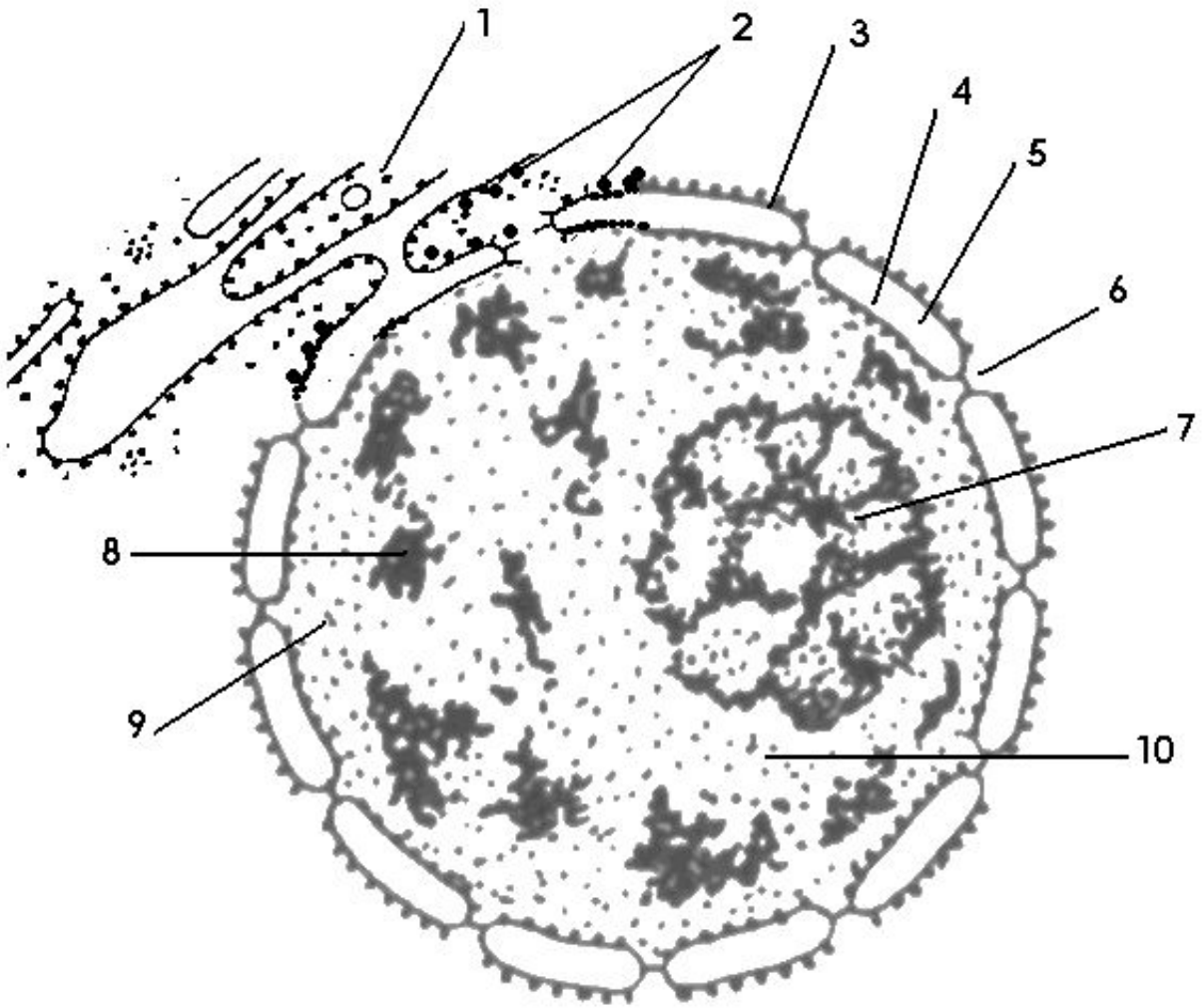
Астауров Борис Львович

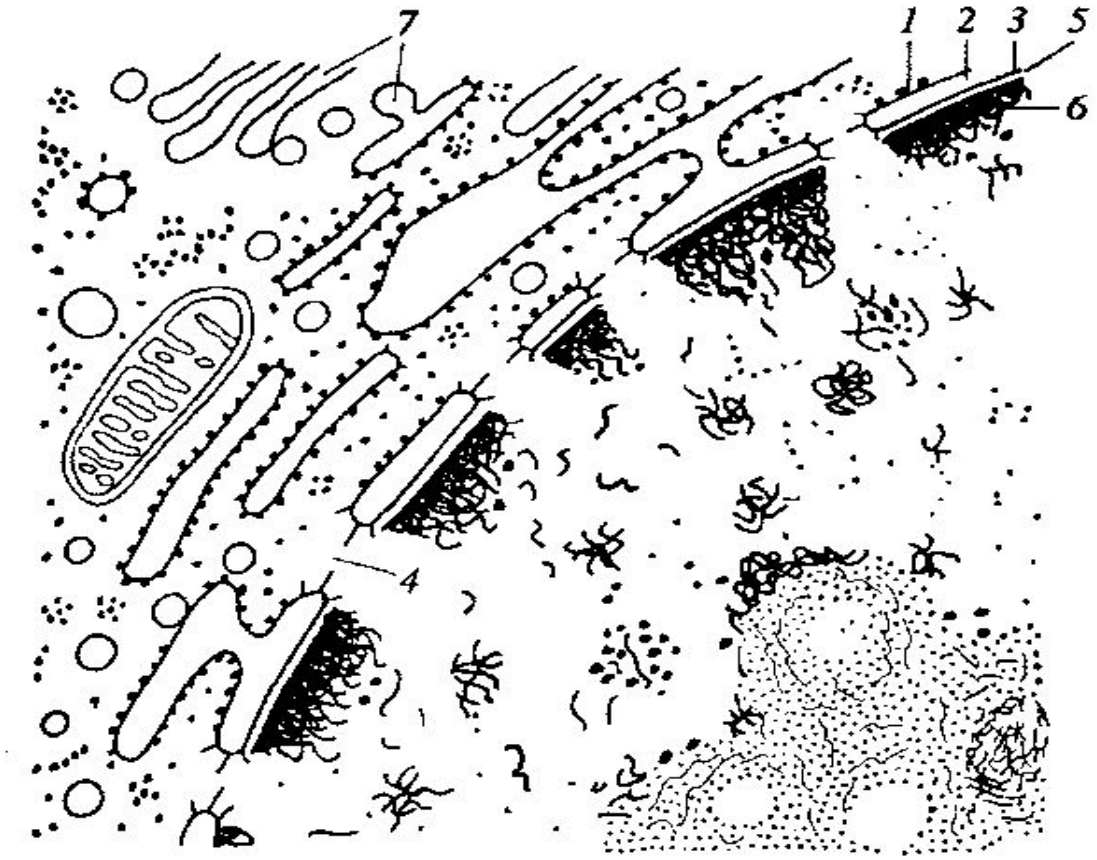


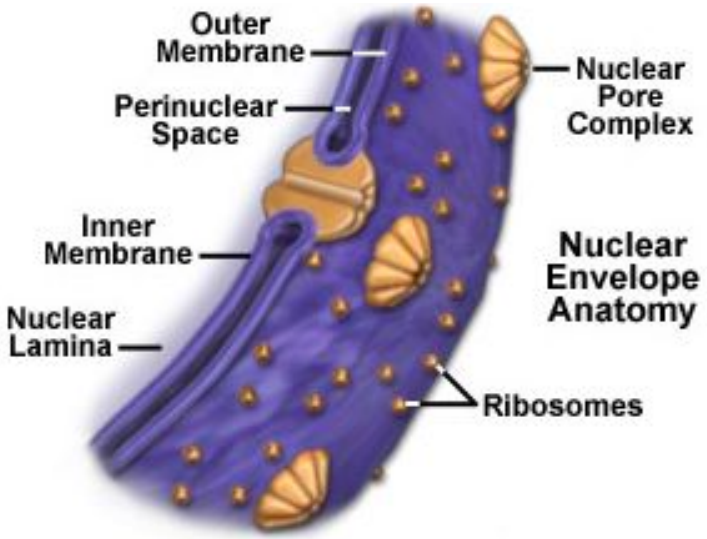
Тутовый шелкопряд: бабочка и коконы

Строение ядра

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





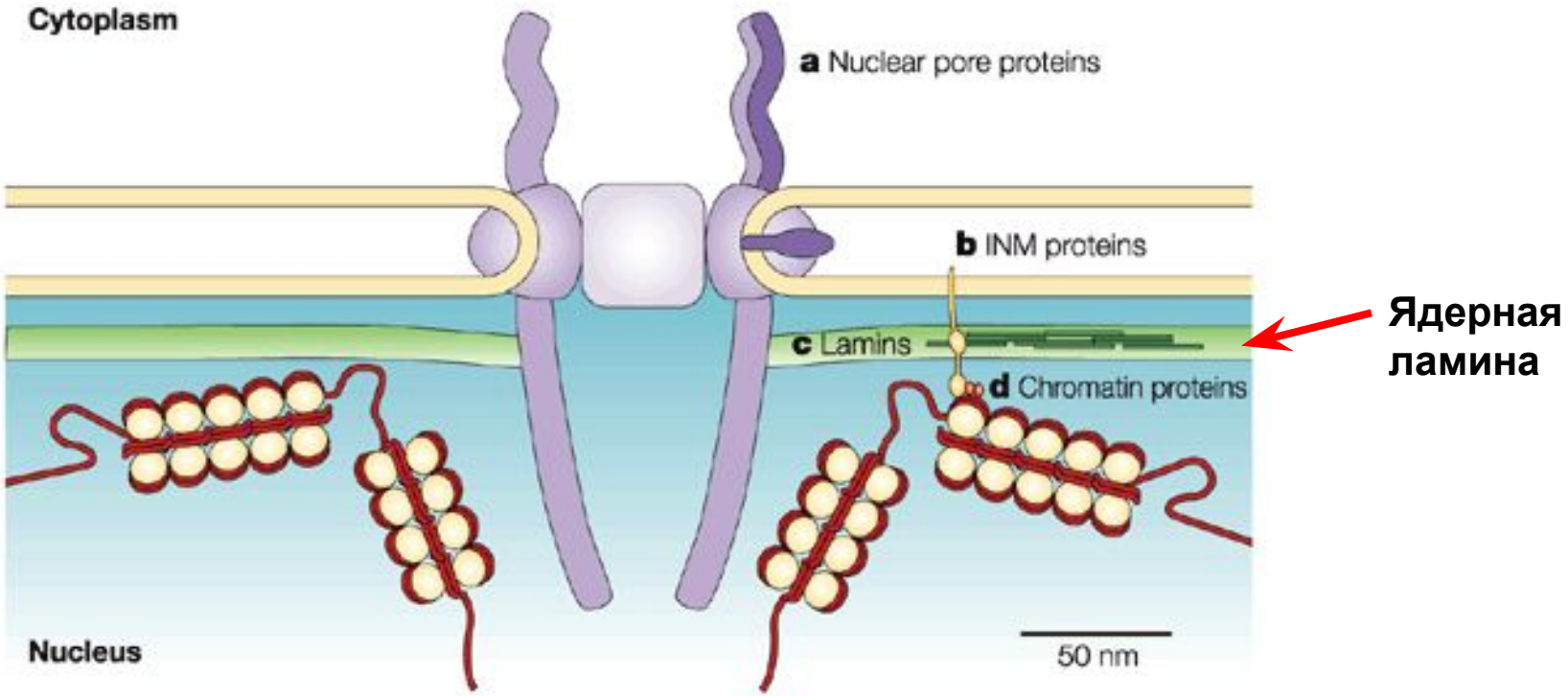


Строение ядерной оболочки

- 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 **A**, **B**, и **C**. Именно с ней контактируют нити пристеночного хроматина.



Ядерная пора

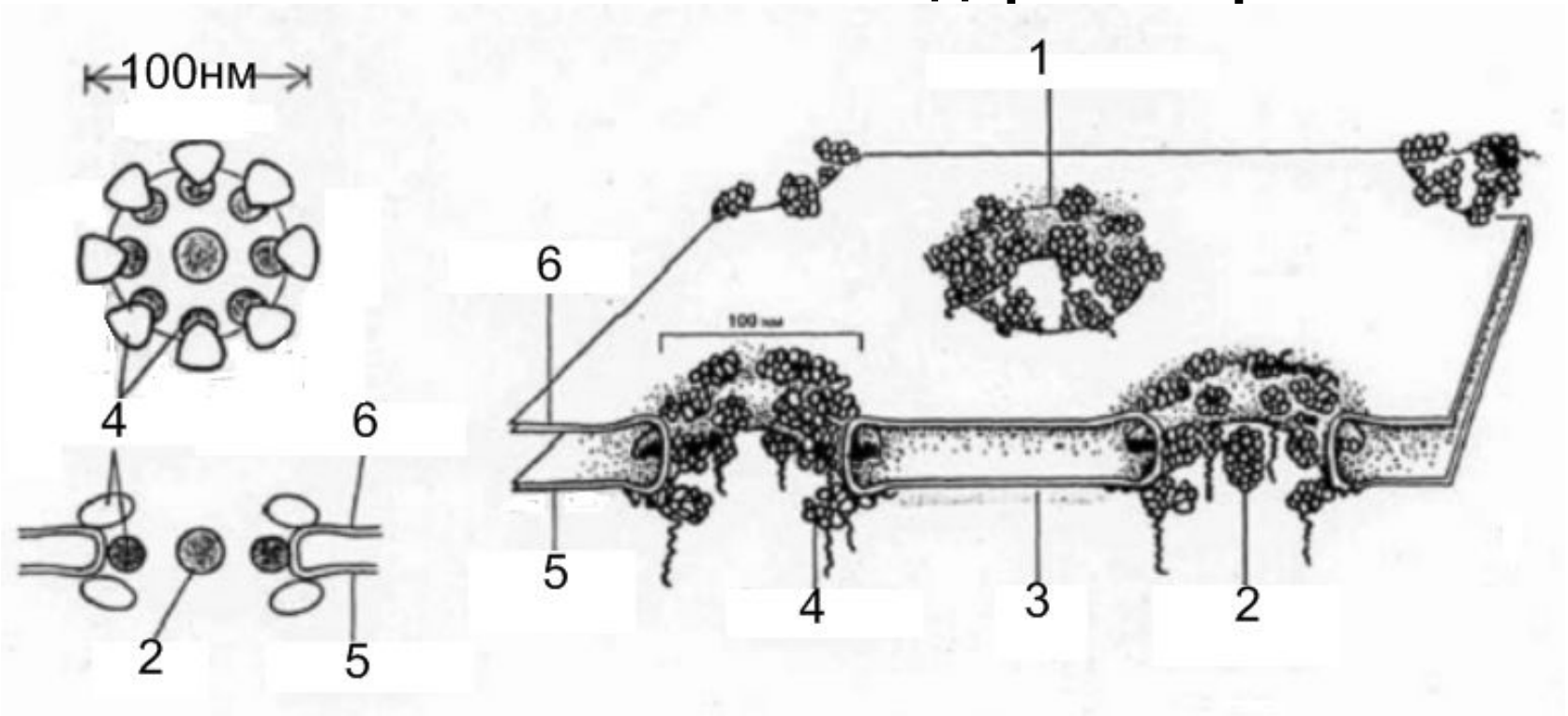
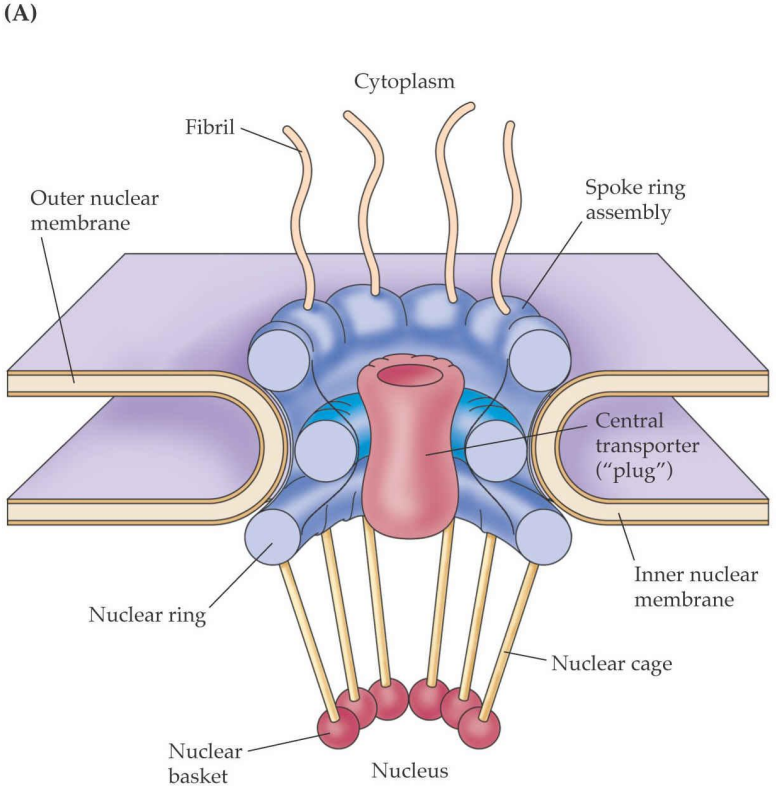


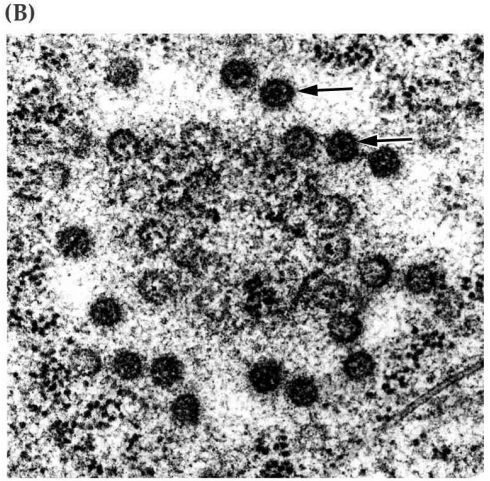
Рис. Общая схема строения ядерных пор (Окштейн, 2003)
1 – ядерный поровый комплекс; 2 – центральная глобула; 3 – ядерная ламина; 4 – глобулярные белки ядерной поры; 5 – внутренняя ядерная мембрана; 6 – внешняя ядерная мембрана.

- 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

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





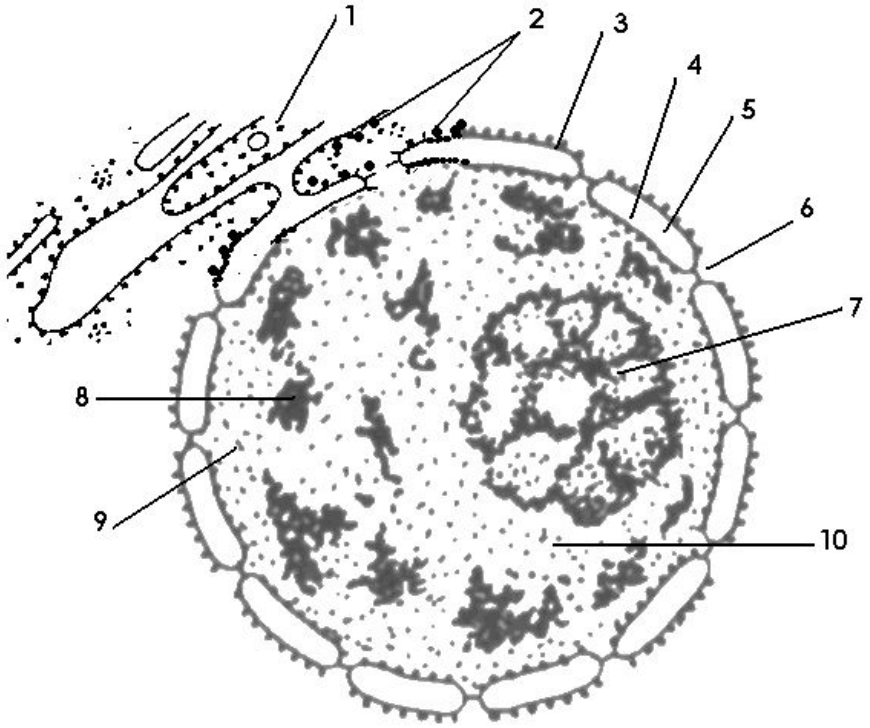
Электронограмма ядерной поры

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. pH среды ядра – кислая.

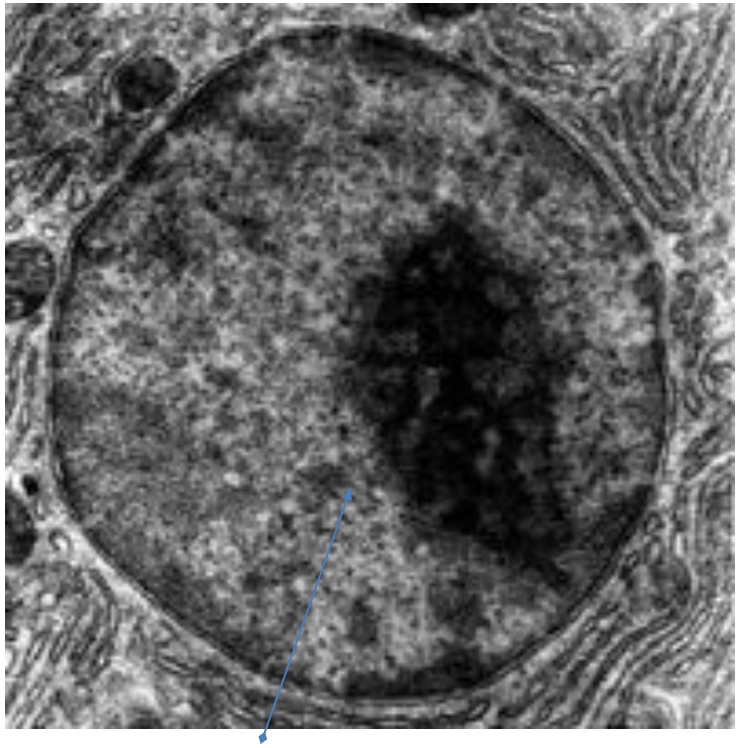
- Функция ядерного сока: осуш оных структур и обмен с цитоплазмо



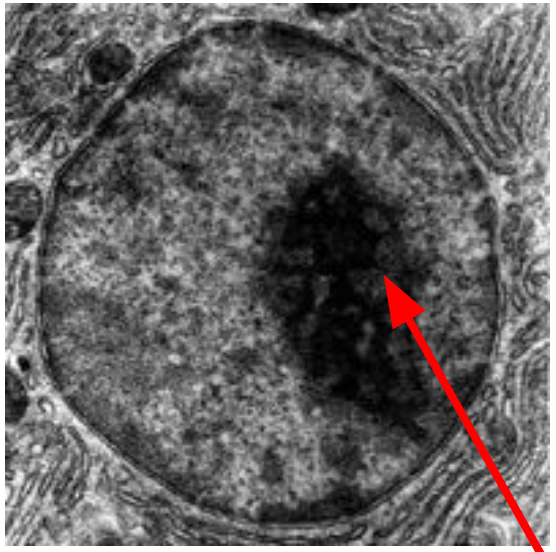
Ядрышко

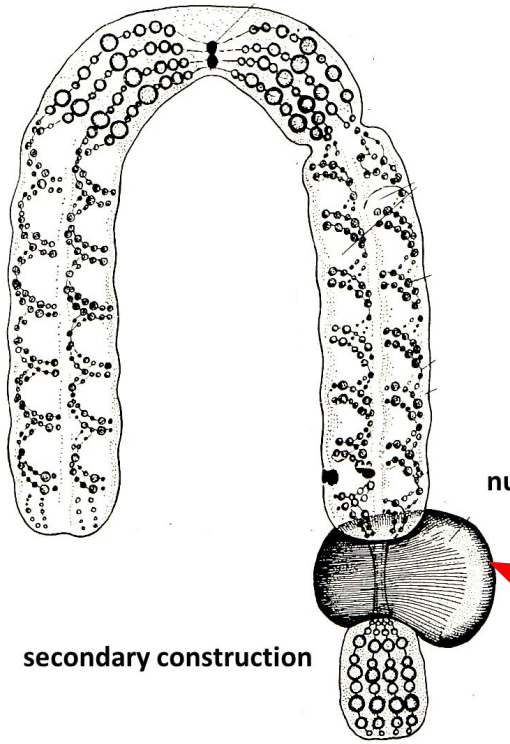
- Впервые ядрышки были обнаружены Фонтанэ в 1774 г.

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



Ядрышко

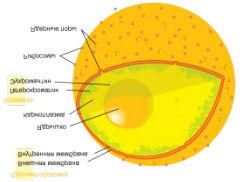




Строение ядрышка

Еще в 1930-х годах рядом исследователей (Мак Клинток, Хейтц, С.Г. Навашин) 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.

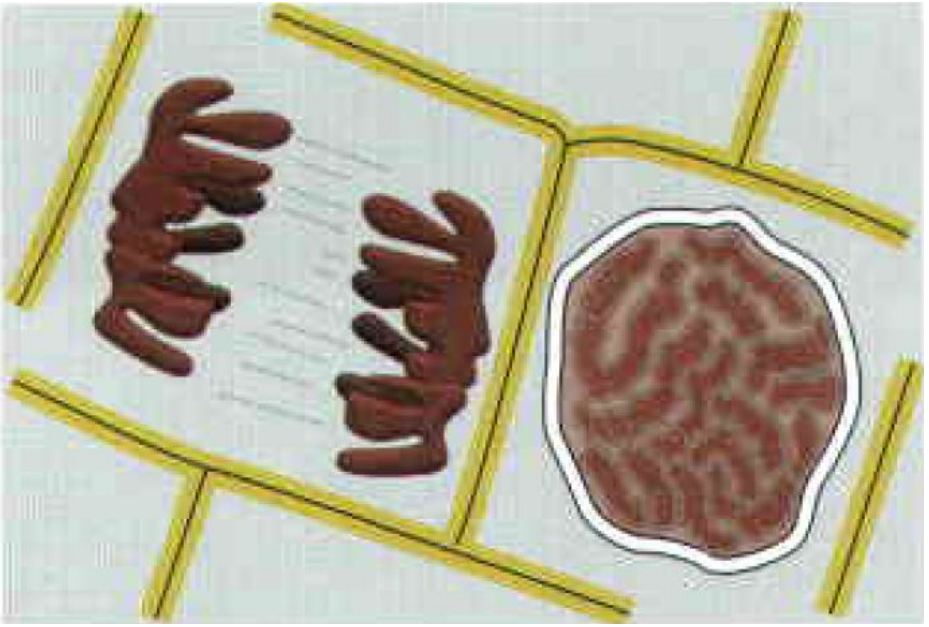
- Функция: синтез р-РНК, из которых на 80% состоят рибосомы.

- 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

Хромосома ⟷ **хроматин**

метафаза



интерфаза

Химический состав хроматина (хромосом)

- **40% - ДНК,**

- **60% - белков:**

✔ 40% гистоновые белки (H1, H2a, H2в, H3, H4)

✔ 20% - негистоновые белки

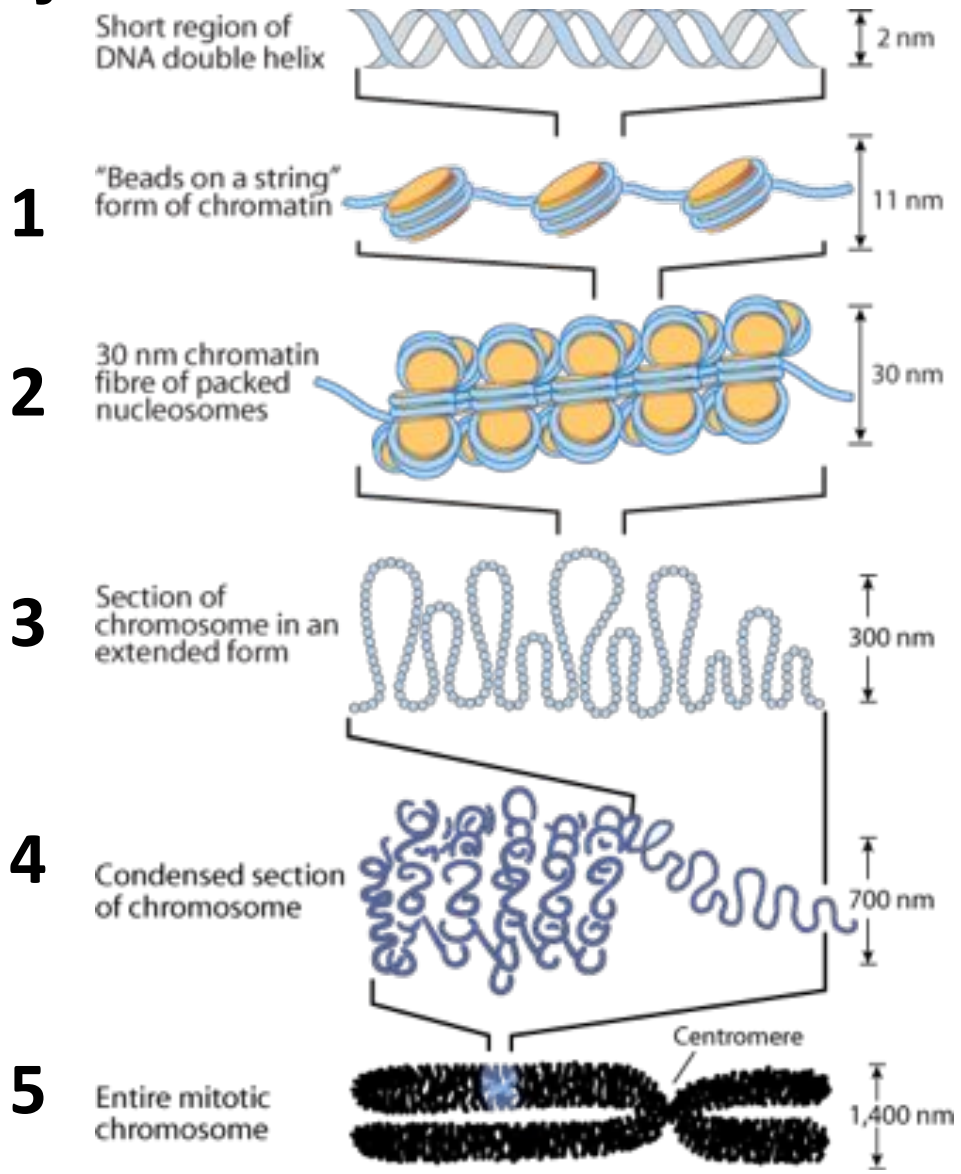
- **Следы РНК**

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 хромасома)



Первичный уровень - Нуклеосомный

Двуцепочечная ДНК накручивается вокруг гистоновых белков.

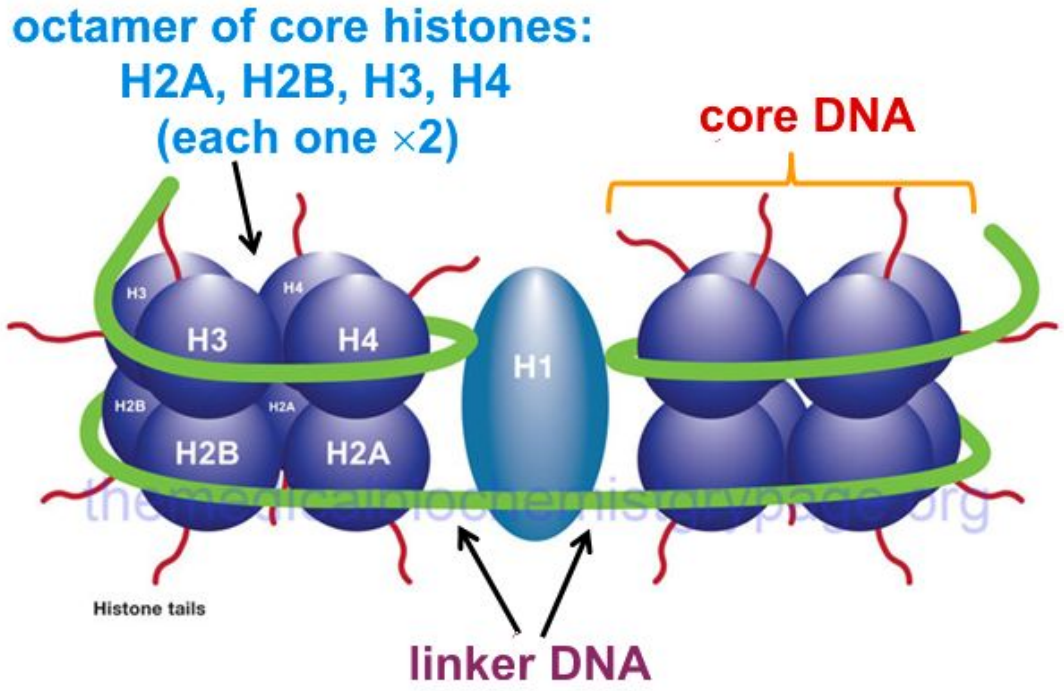
Нуклеосома - наименьшая единица хроматина и хромосомы

Нуклеосомный кор

Гистоновый октамер (H2A, H2B, H3, H4)

Линкерный участок

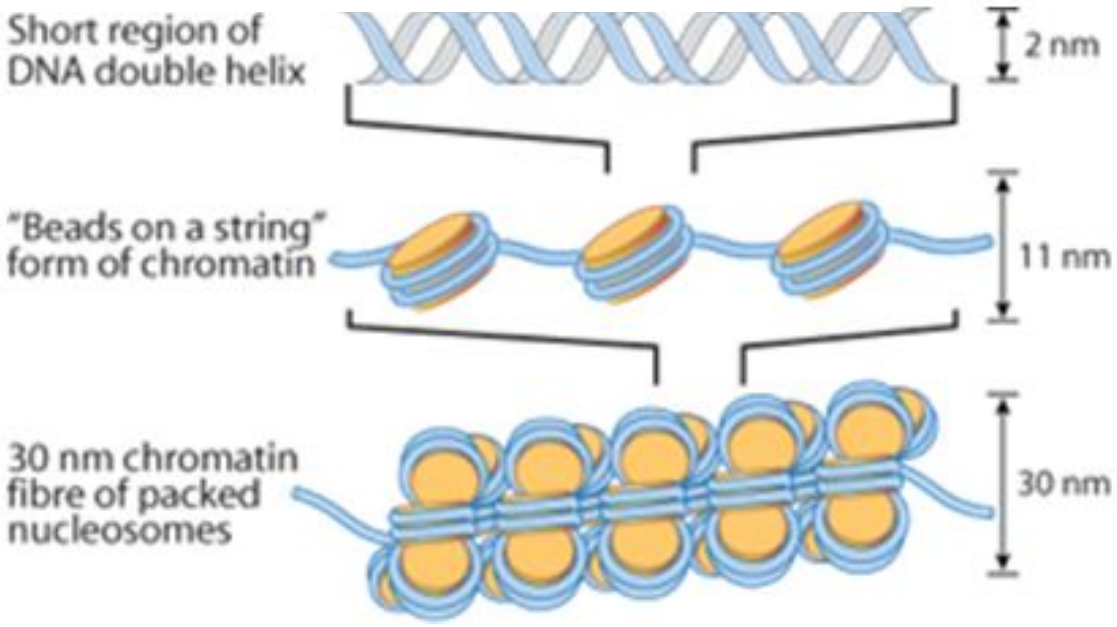
Гистон H1



Второй уровень – Нуклеомерный

Нуклесомный уровень дает формирование «*цепочки из бусинок*».

Далее *6 нуклеосом* сближаются и соединяются посредством гистонового белка Н1



Хроматиновая фибрилла 30 nm
соленоидный хроматин

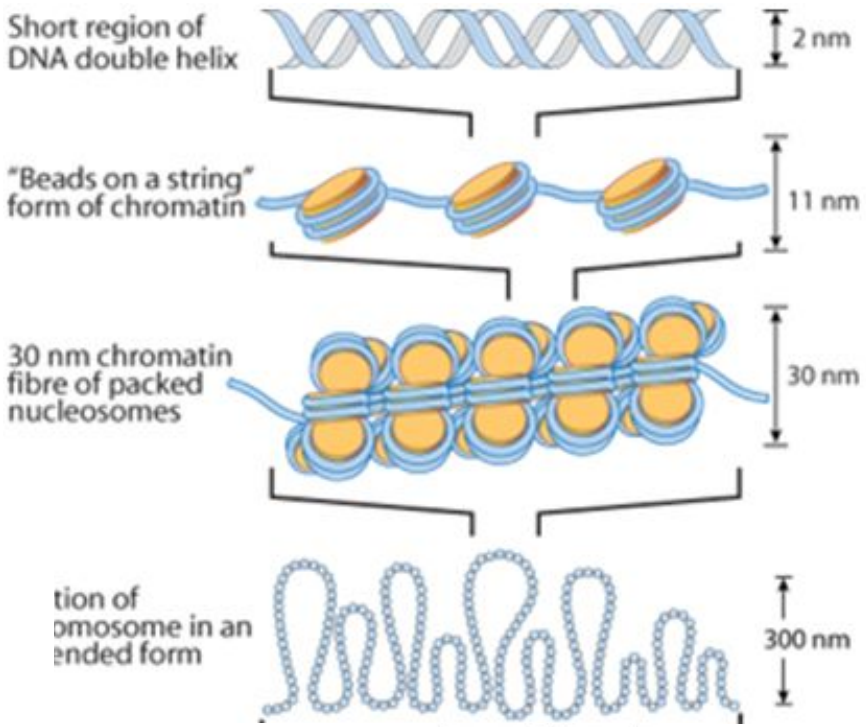
- Хроматиновая конформация из «бусинок» и «супер бусинок» дают структуру эухроматина
- Дальнейшая упаковка хроматина дает формирование гетерохроматина

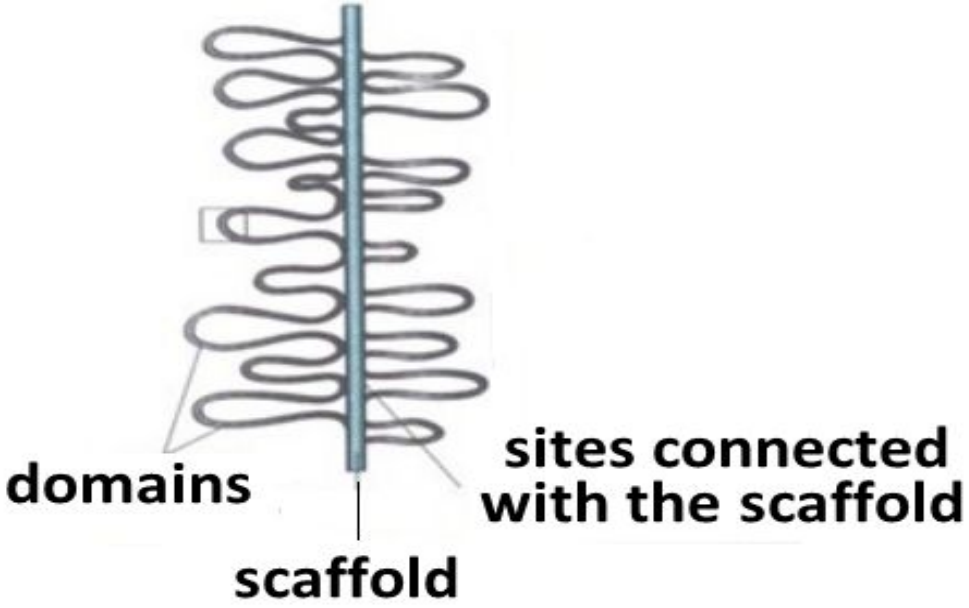
Третичный уровень – Хромомерный

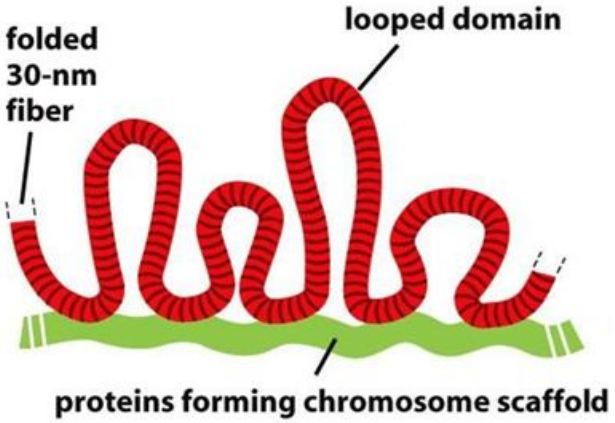
Хроматиновые филаменты (Хроматиновые петли-домены)

Фибриллы формируют петли-домены, которые фиксируются негистоновым белком (scaffold).

Петли формируются в интерфазе деления.





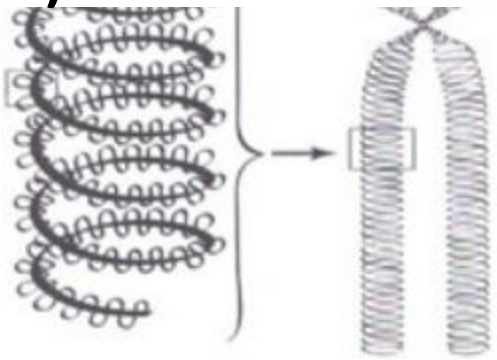


DNA contracts to 300 nm

Четвертый и пятый уровень – Хромонемный и Хроматидный (хромосомный)

Суперспирализованные филаменты (минибенд) и хромосомный (метафазные хромосомы)

- Минибенд содержит *около 18 петель*

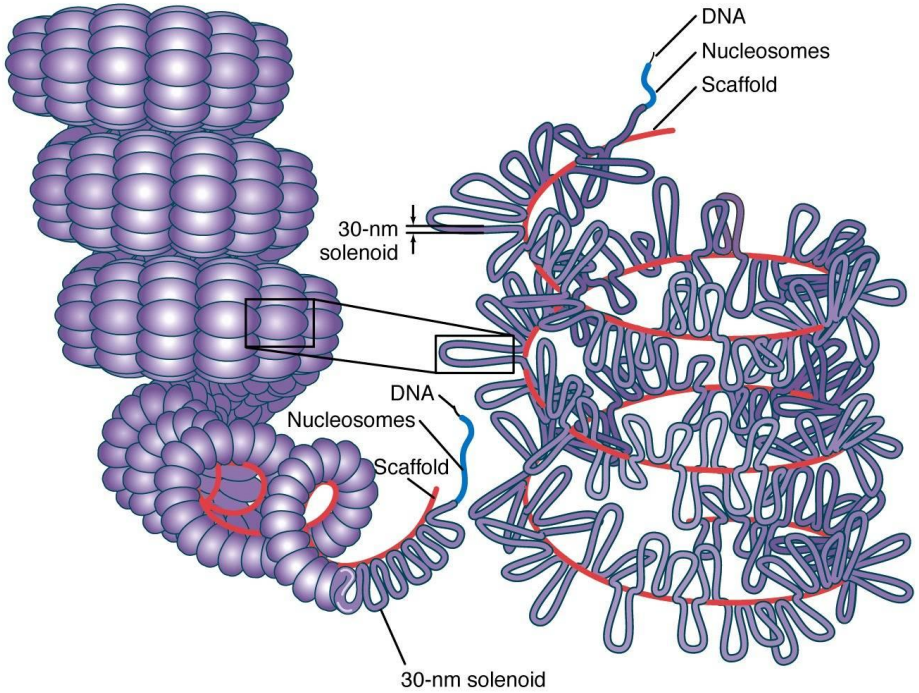


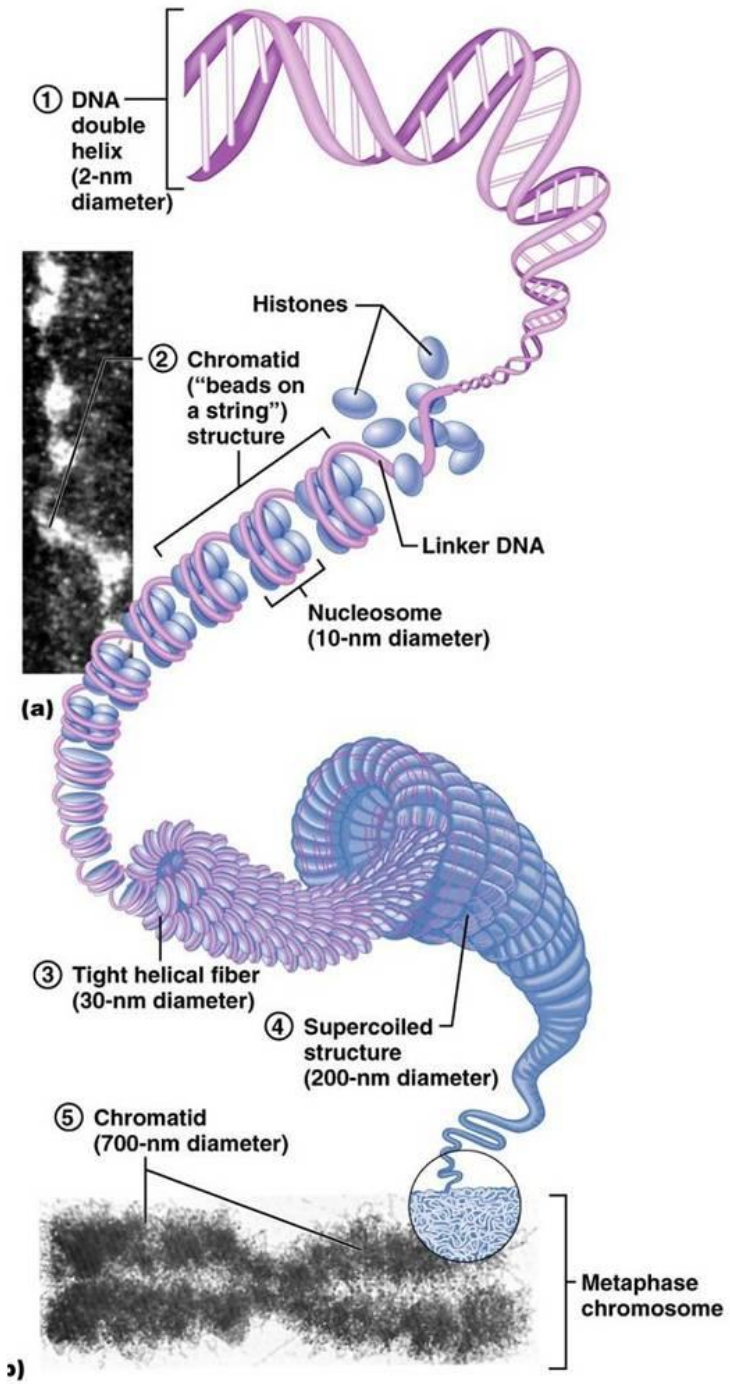
Supercoiled filament (Minibend)

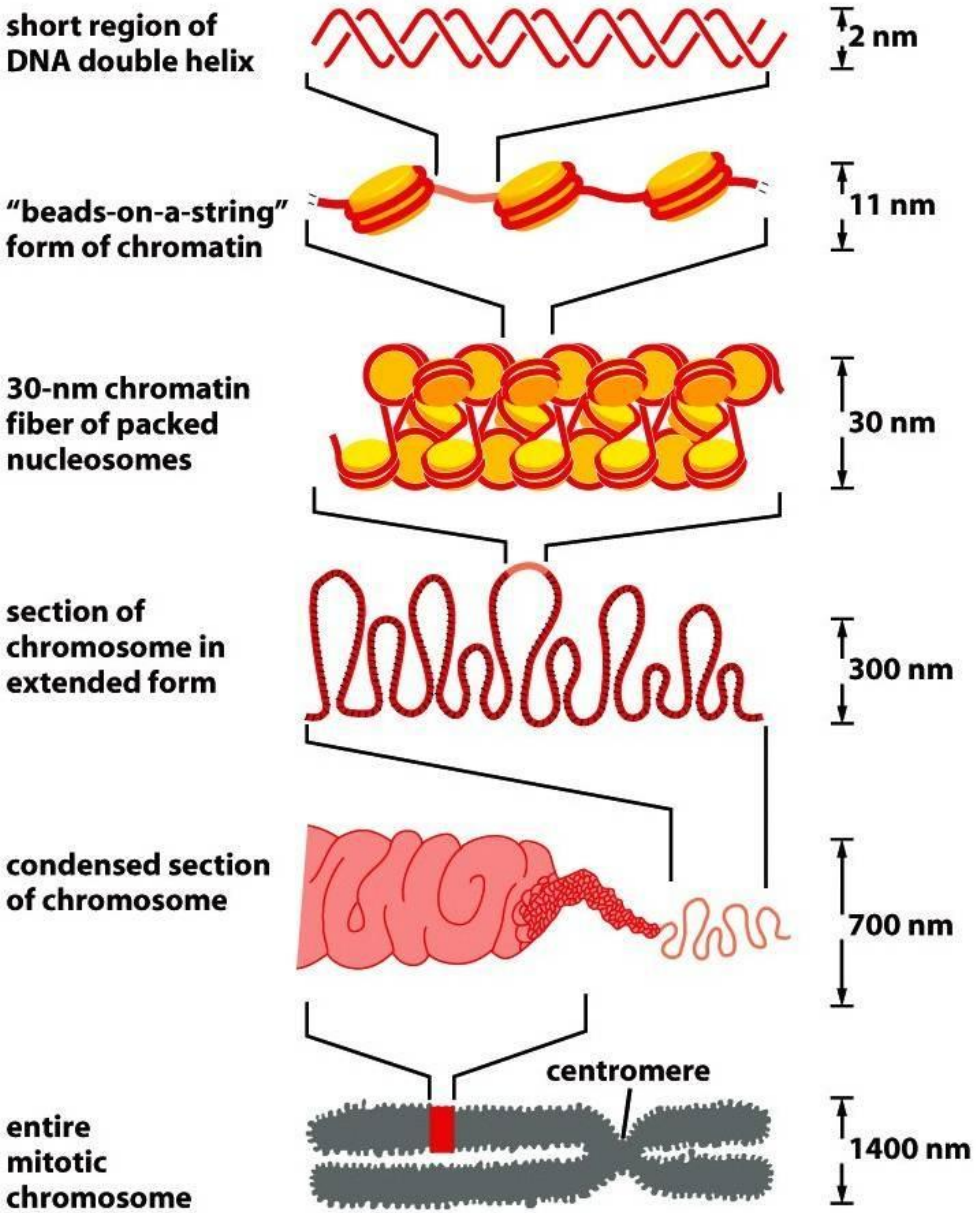
- ДНК укорачивается в 10.000 раз.

- Минибенды при дальнейшей компактизации дают формирование *полухроматид*, затем *хроматид*.

- *Две хроматиды* соединяясь формируют метафазную *хромосому*







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,

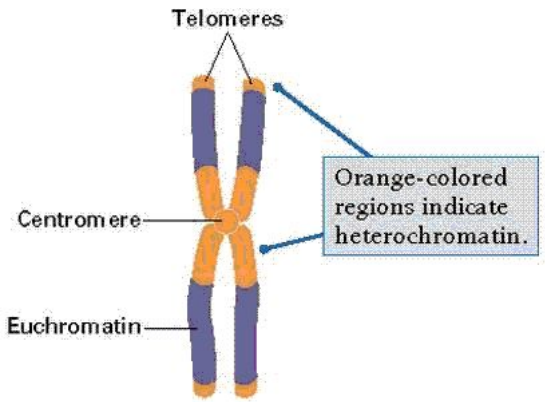
•неактиывный,

•нетранскрибируемый, более

•интенсивно окрашен.

Функции гетерохроматина

1. Регуляция активности генов
2. Сохранение структуры генов

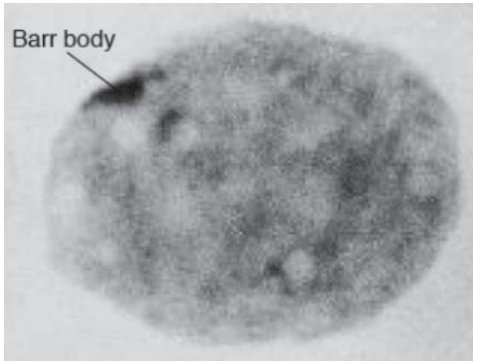


Конститутивный

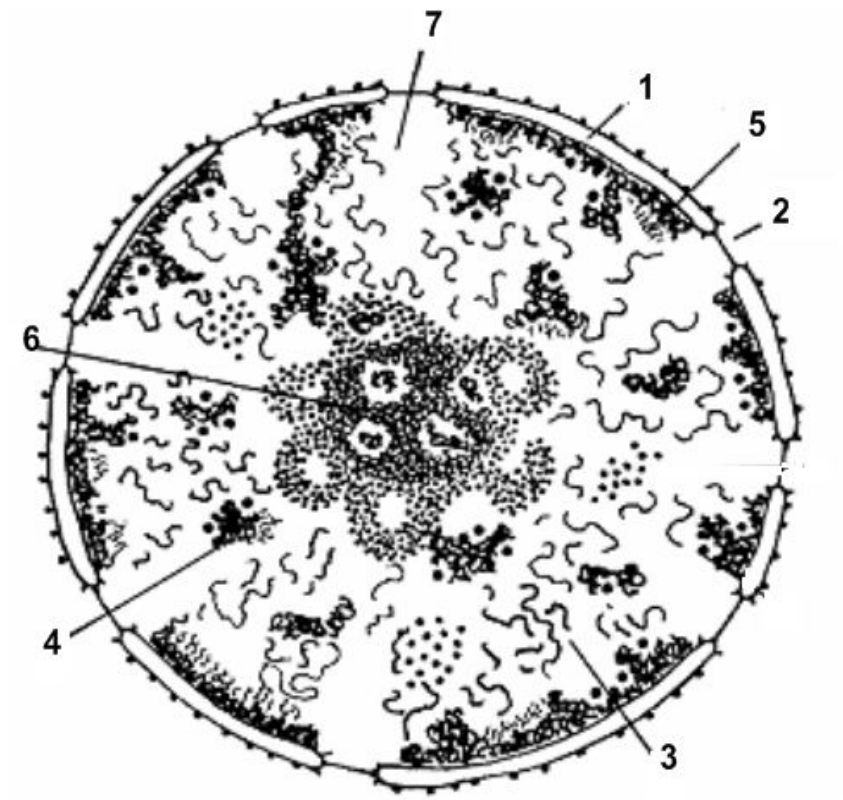
-Теломеры
-Центромеры

Факультативный

- Тельце Барра



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 – проистеночный 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).

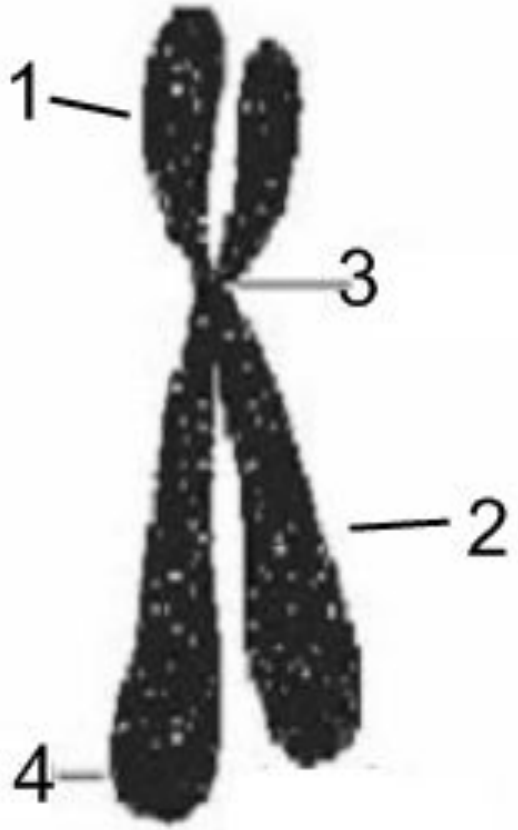
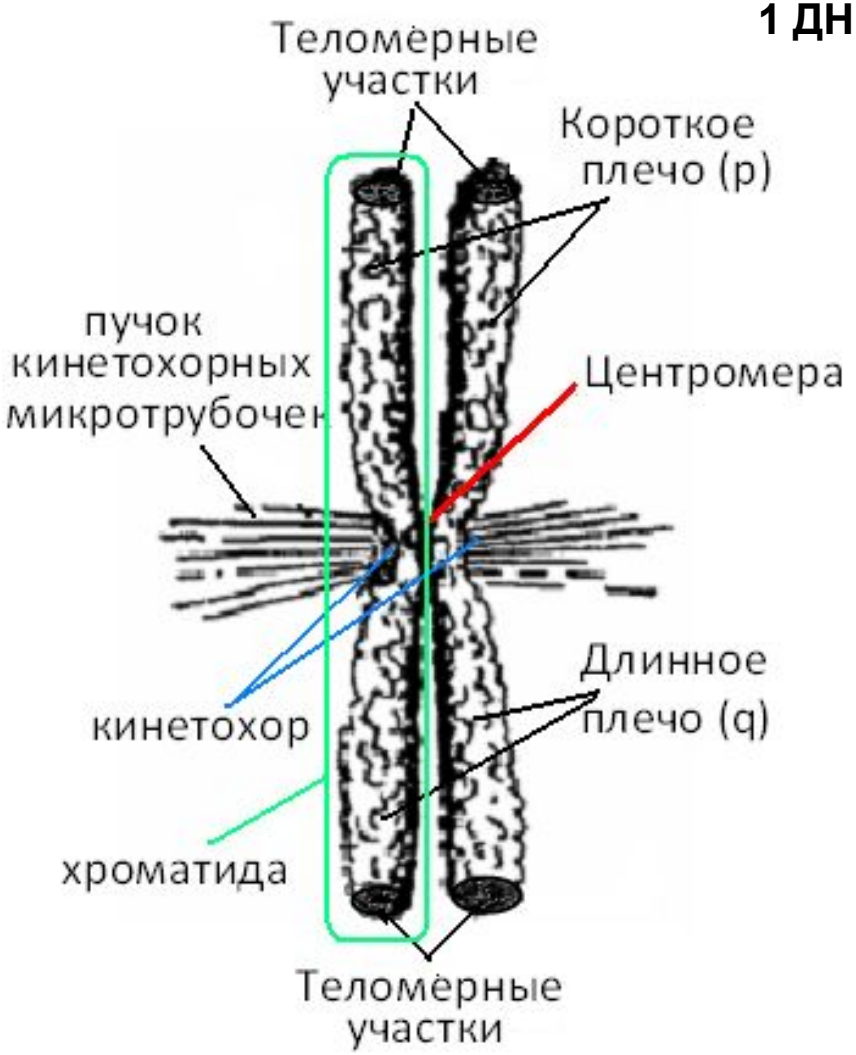
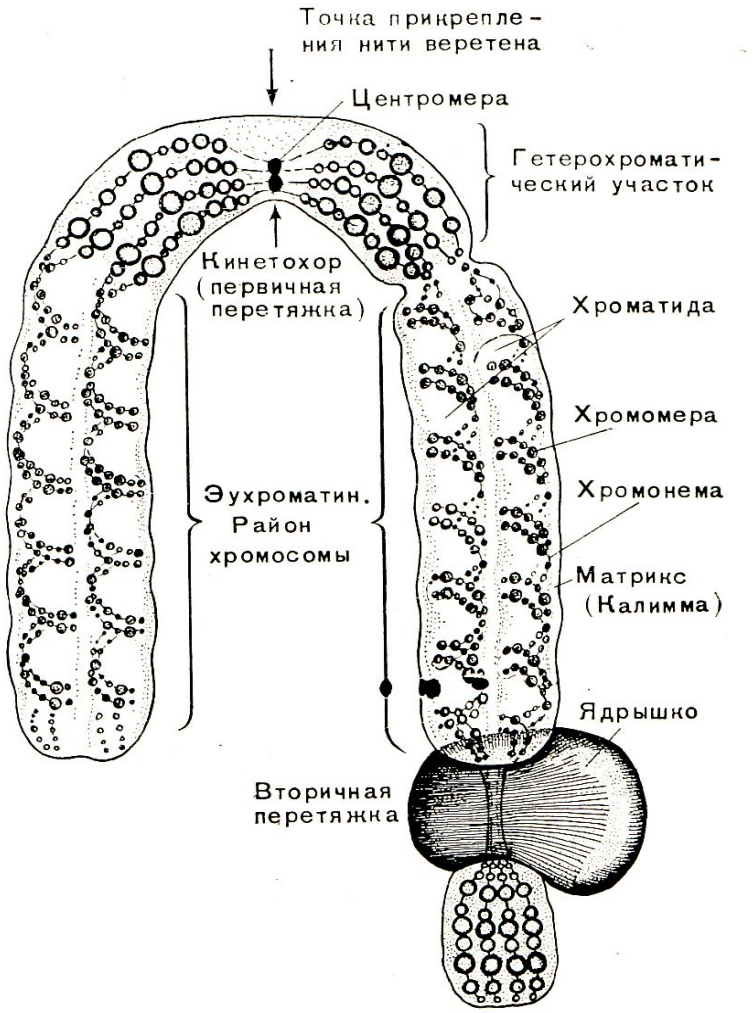


Рис. Метафазная хромосома (http://bio.fizteh.ru/student/files/biology/biolections/lection15.html/)
1. Короткое плечо – p; 2. Длинное плечо – q; 3. Центромера; 4. Теломерные участки

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 2 3 4 5

1 – Метацентрические, 2 - Субметацентрические, 3 - Акроцентрические , 4 – Спутничные, 5 - Телоцентрические

Хромосомы с равными плечами называют *равноплечими или метацентрическими;* с плечами неодинаковой длины – *неравноплечими – субметацентрическими*; 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:

- ***Прямыми доказательствами*** роли ядра являются болезни, связанные с нарушением числа и структуры хромосом

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

- ***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 организмов.

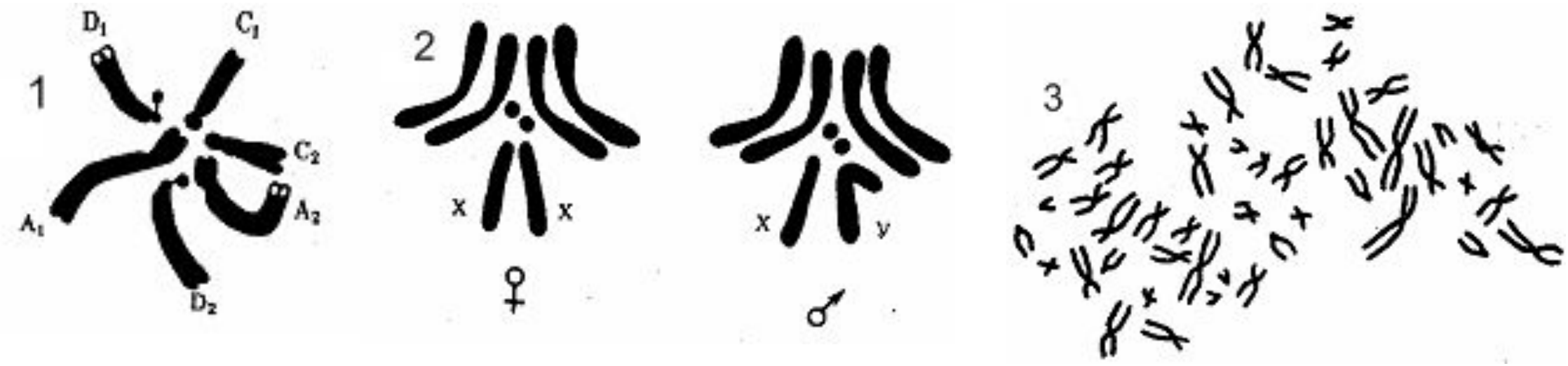


Рис. Кариотипы организмов различных видов (из учебника Чебышева, 2005):

1 – скерды, 2 – дрозофилы, 3 – человека

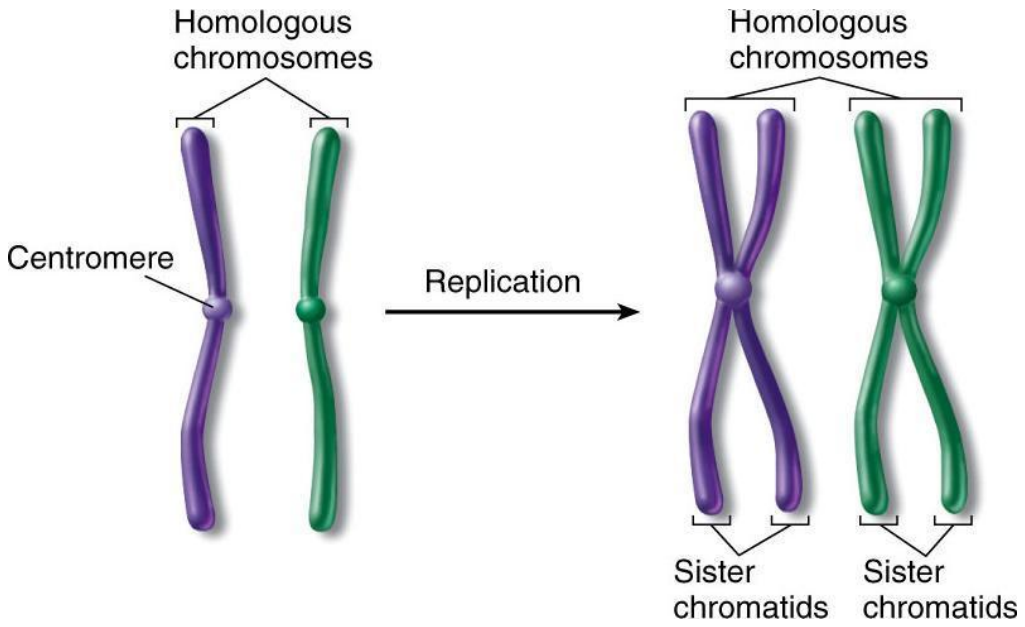
Хромосомы подразделяются на

- **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.

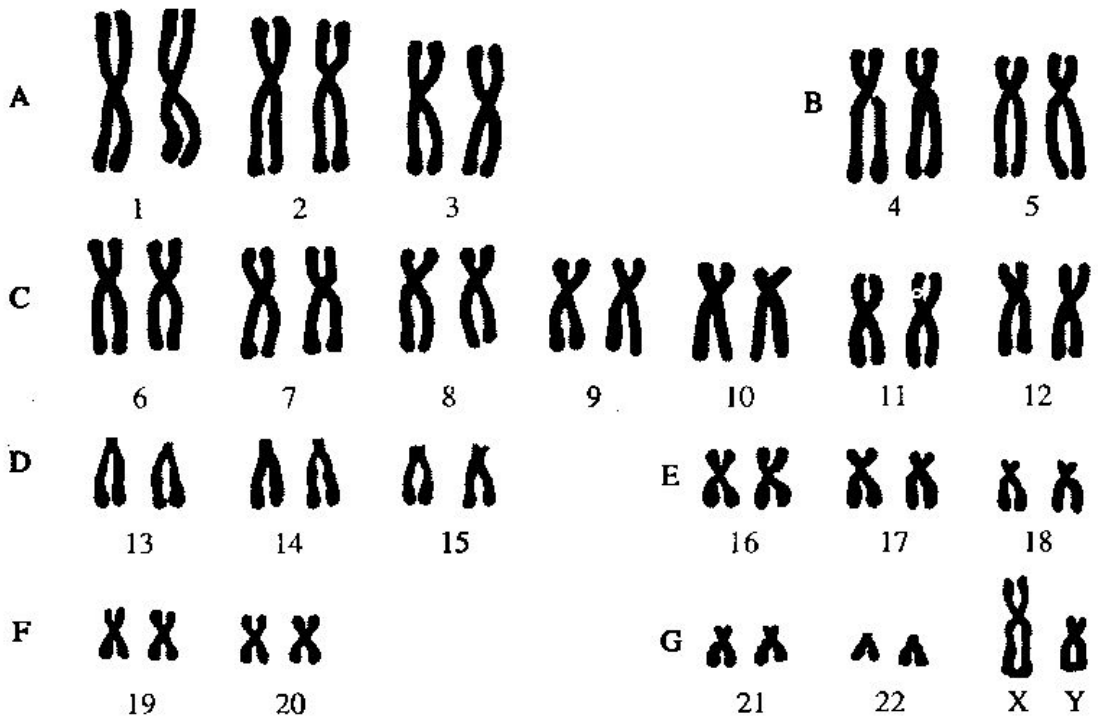
Кариотипирование – цитогенетический метод изучения хромосом

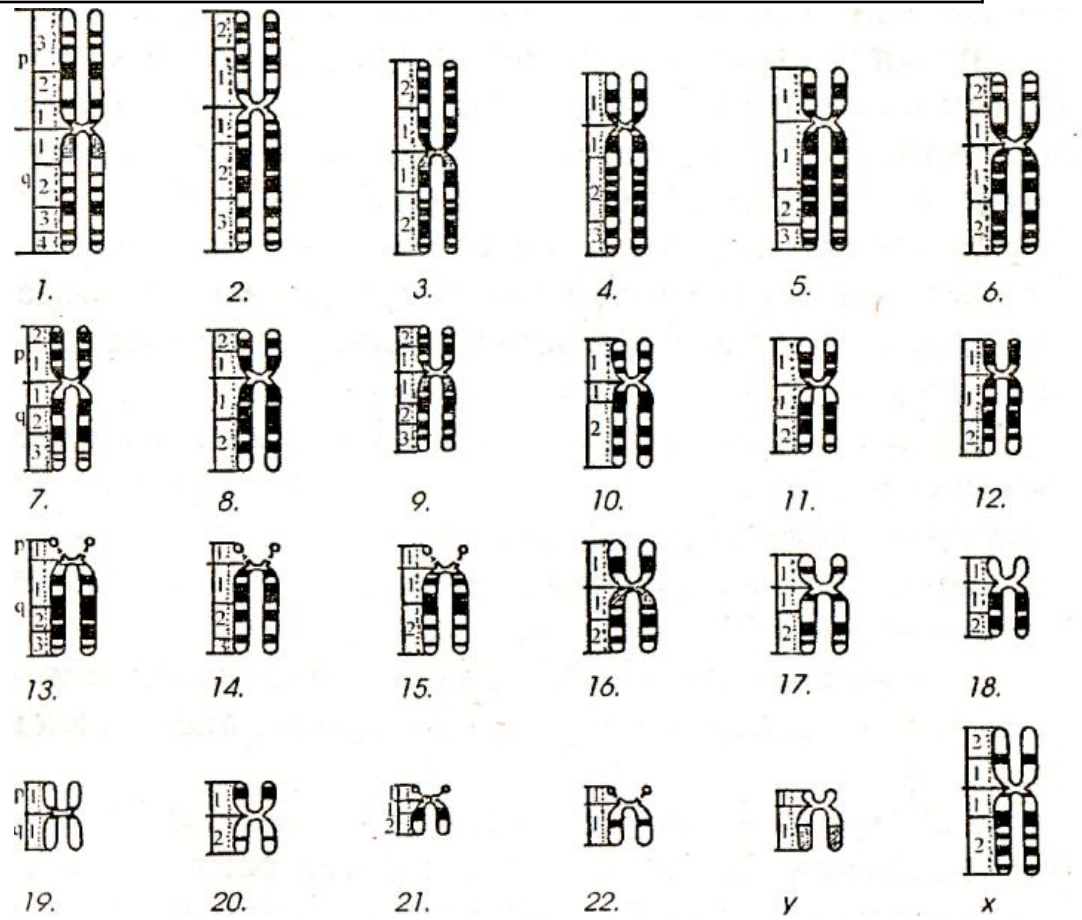
Для проведения данного исследования берут клетки, обладающие *высокой митотической активностью*: клетки костного мозга, ткань семенников, кусочки кожи, костный мозг, клетки хориона, клетки амниотической жидкости и др., но чаще всего используют *лимфоциты периферической крови*. Лимфоциты – это зрелые 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** 37^0C
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	Диплоидный набор, **2n**, Всего 46 хромосом: •44 – аутосомы •2 - половые хромосомы	**44А** **XX**	**44А** **XУ**
Половые клетки	Гаплоидный набор, **n**, Всего 23 хромосомы: •22 – аутосомы •1 - половая хромосома	**22А, X** **Один тип яйцеклеток**	**22А, X** **22А, У** **два типа сперматозоидов**

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 колцевые молекулы ДНК закрученные в суперспираль.

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

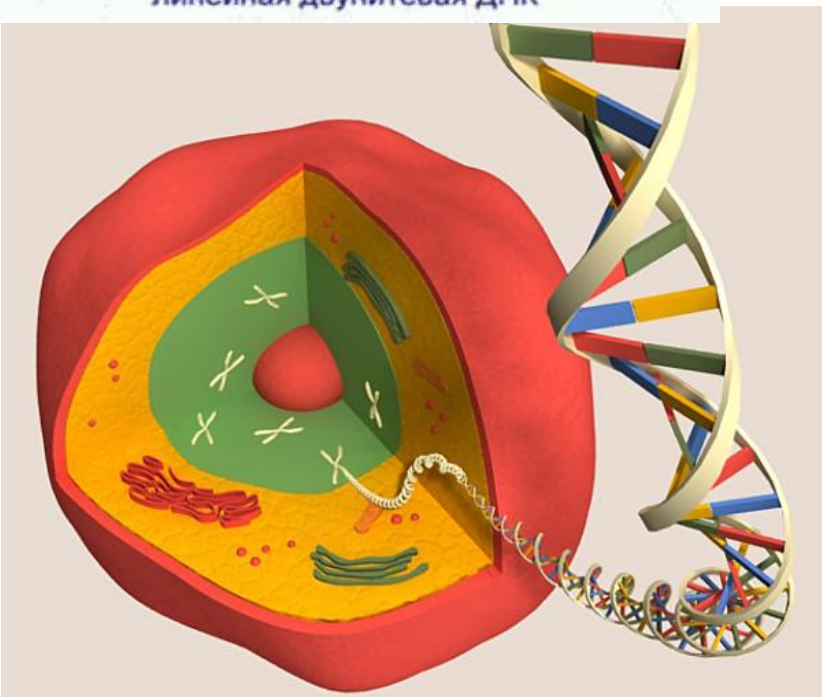
Внехромосомная ДНК составляет лишь небольшую часть наследственного материала эукариотической клетки. Например, мтДНК человека содержит 16569 п. н. и на её долю приходится 1-5% всей клеточной ДНК.

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

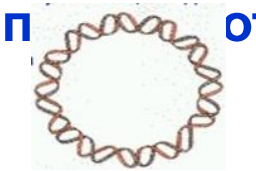
Линейная ДНК,
связанная с белками



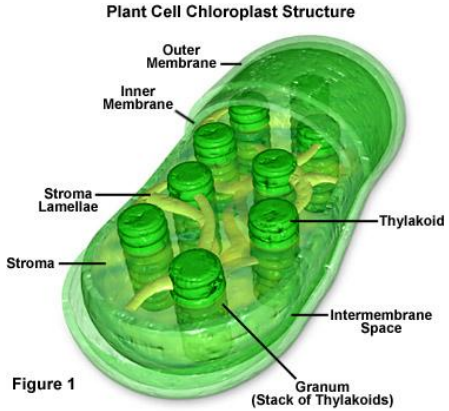
Цитоплазма (1-2%)
Плазмон

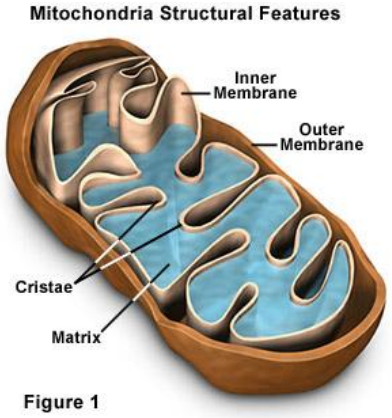
- **Митохондриальная ДНК**
- **Пластидная ДНК**

- **Плазмиды – небольшие кольцевые ДНК в цитоплазме п от**



Кольцевая ДНК





Группы плазмид

- - **F-плазмиды** – отвечают за половой процесс

  - **R-плазмиды** – обеспечивают устойчивость бактерий к антибиотикам

  - **Tox-плазмиды** – факторы патогенности энтеробактерий (вызывают заболевание)

  - **Co-плазмиды** – вызывают гибель бактерий близких видов (борьба за существование)

  - **плазмиды биодеградации –** утилизация продуктов метаболизма.

Спасибо за внимание