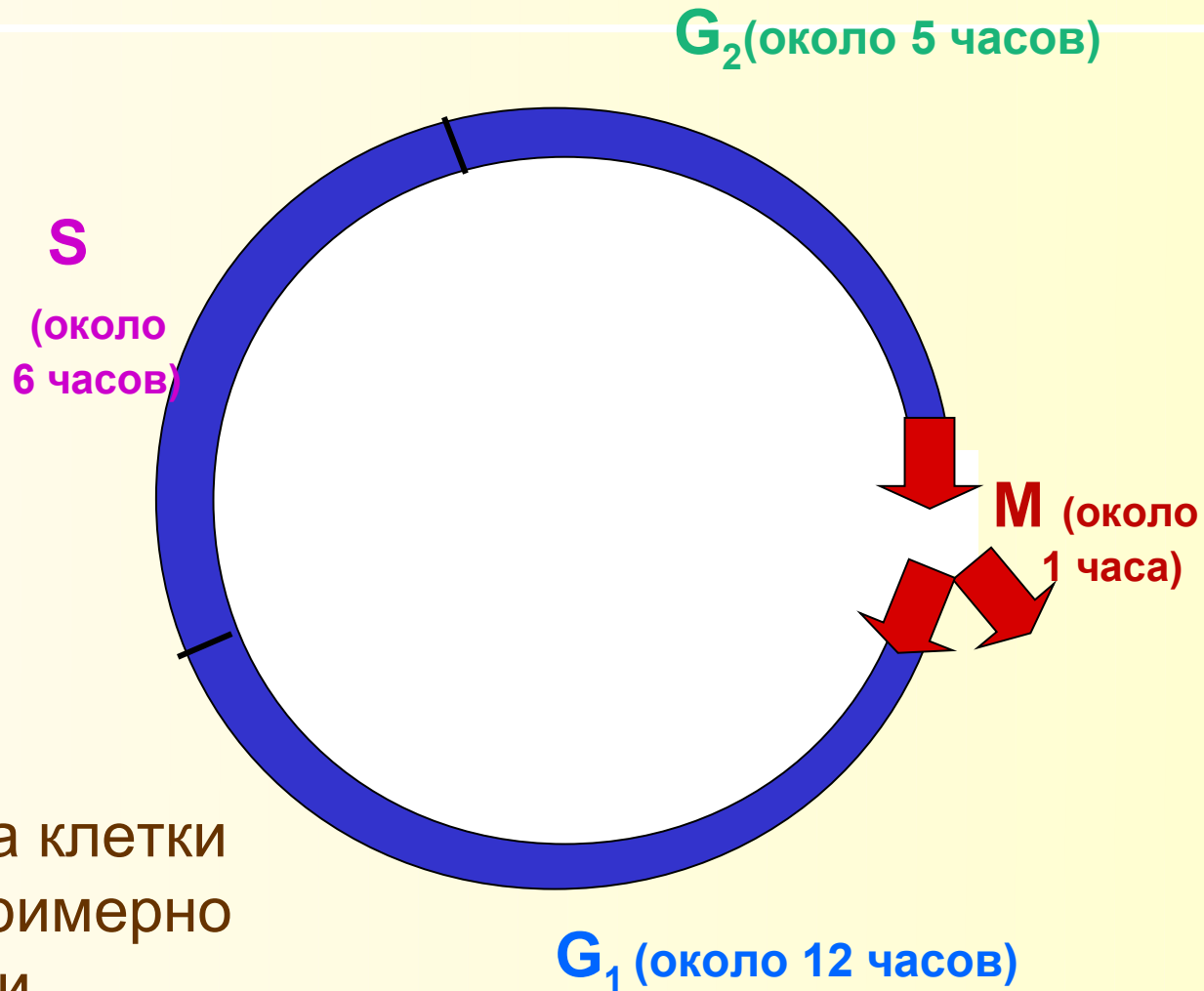


Клеточный цикл: жизнь клетки от начала одного деления до начала следующего



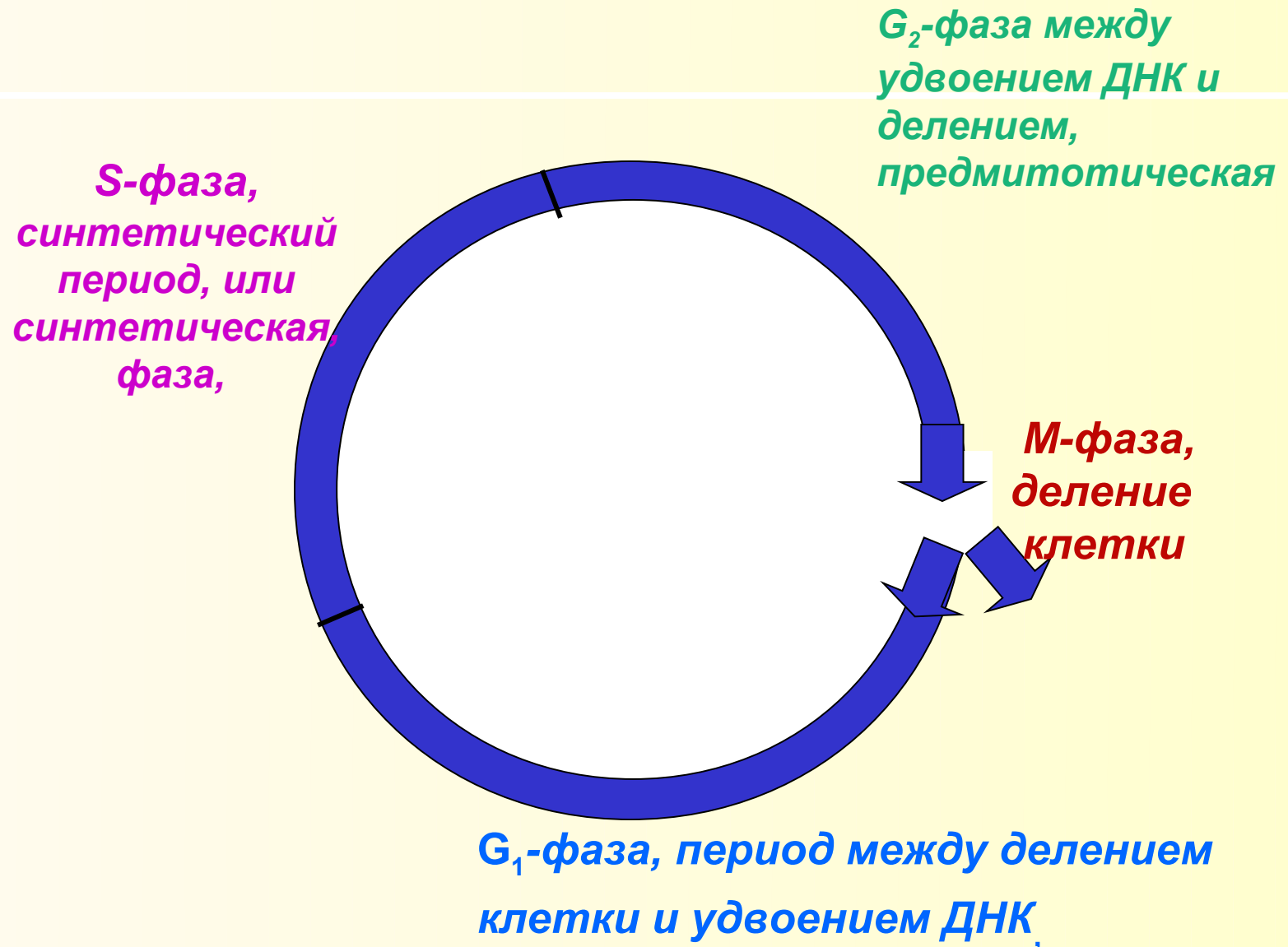
У человека клетки делятся примерно через сутки.

Клеточный цикл состоит из 4 периодов, или фаз.

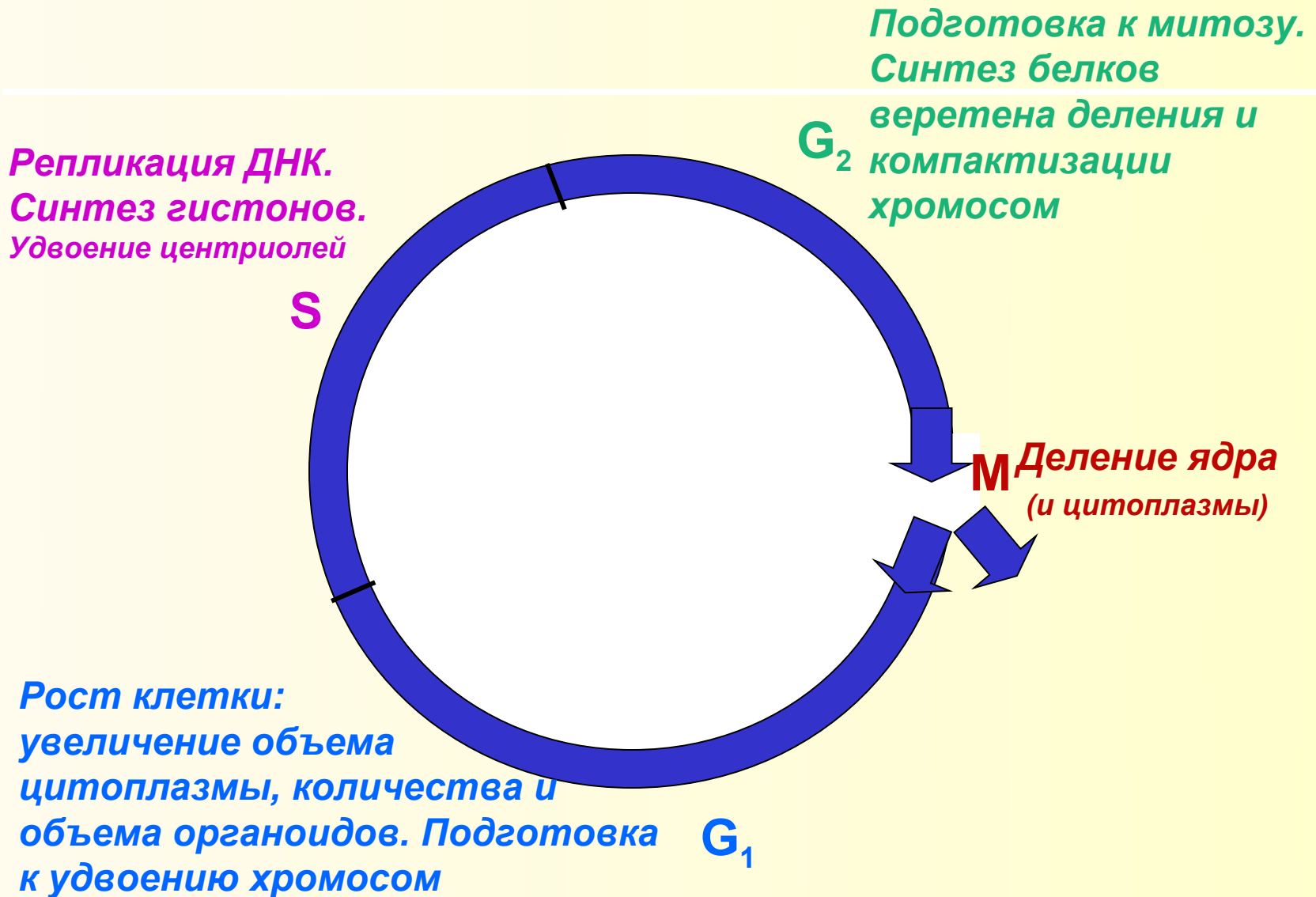
M- фаза, или период, – деление ядра и цитоплазмы

G₁- фаза, или период
S - фаза, или период
G₂- фаза, или период } интерфаза

Клеточный цикл состоит из 4 периодов, или фаз.



Что происходит с клеткой в разные периоды клеточного цикла?



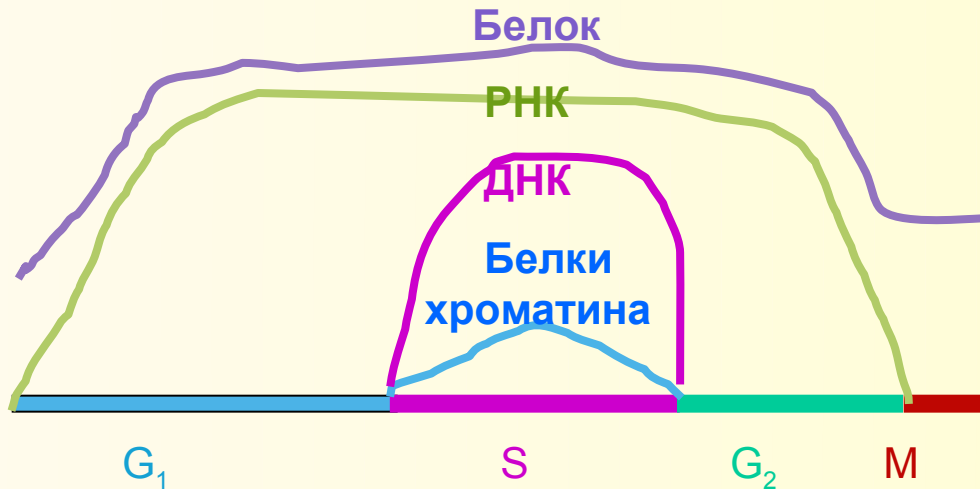
Репликация ДНК происходит только в S-фазе

Одновременно с ДНК синтезируются белки хроматина

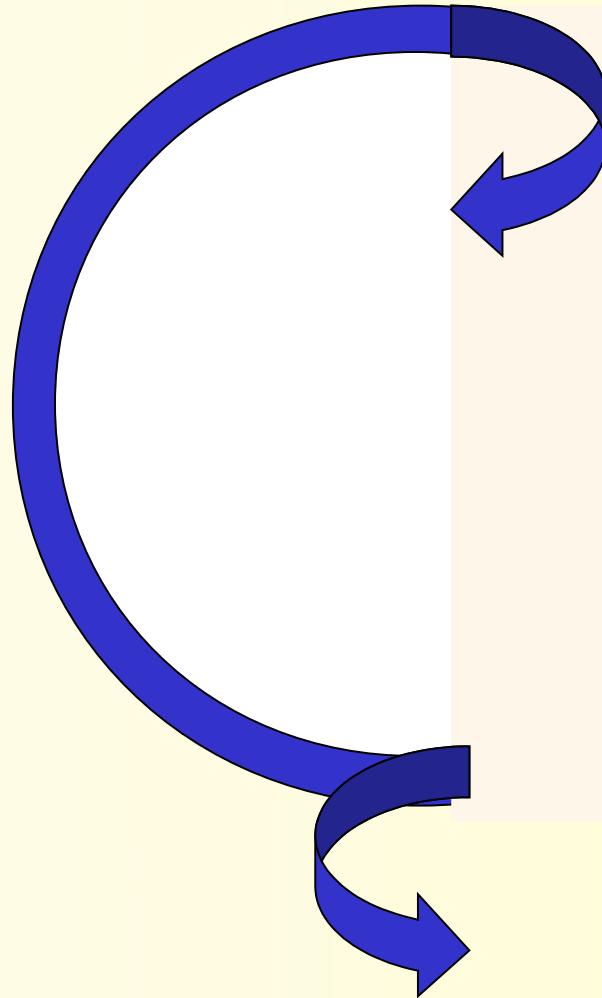
Синтез РНК идет всю интерфазу

Синтез других белков идет всю интерфазу и небольшое количество белка синтезируется в начале митоза

ИНТЕНСИВНОСТЬ СИНТЕЗА



Некоторые клетки перестают делиться и выходят из клеточного цикла. В них не синтезируется ДНК, они остаются диплоидными или тетраплоидными. Их тоже называют **интерфазными** клетками.



Такие клетки специализируются на выполнении каких-то других функций: одни становятся нервными, другие клетками печени и т.д.

В неделящихся интерфазных клетках нет репликации ДНК

Нет синтеза белков хроматина

Постоянно идет синтез РНК

Постоянно синтезируются необходимые клетке белки и белки на экспорт

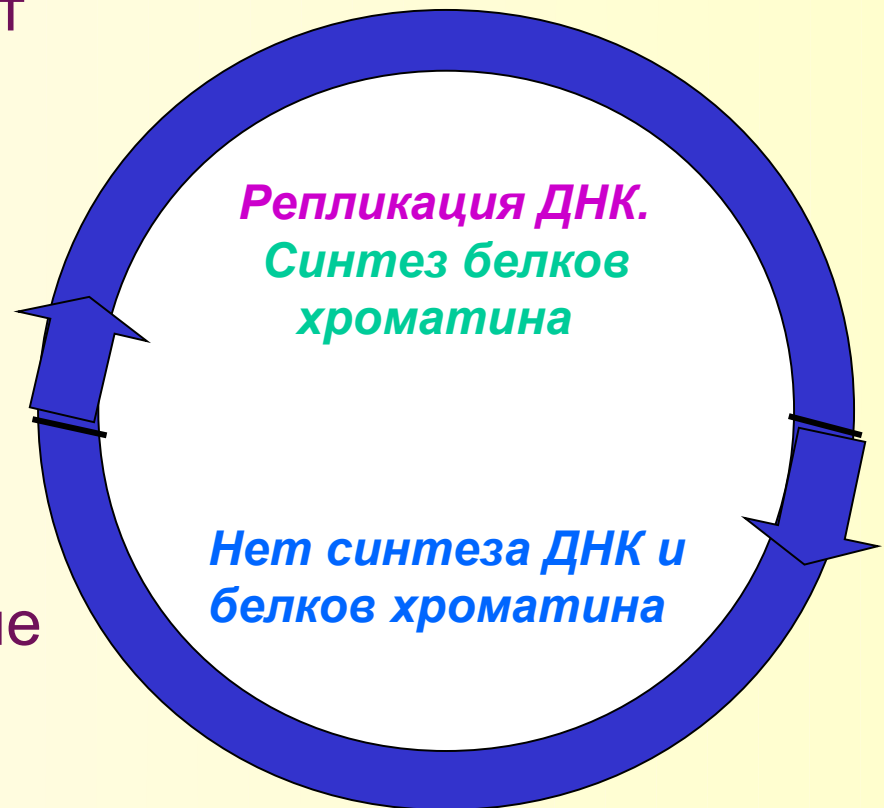
Некоторые клетки перестают делиться, но не прекращают удваивать хромосомы. Они становятся **полиплоидными**.

Они также начинают выполнять специализированные функции.

В них синтез ДНК и белков хроматина происходит через некоторые интервалы времени.

Синтез РНК и белков идет постоянно.

Это тоже интерфазные клетки.

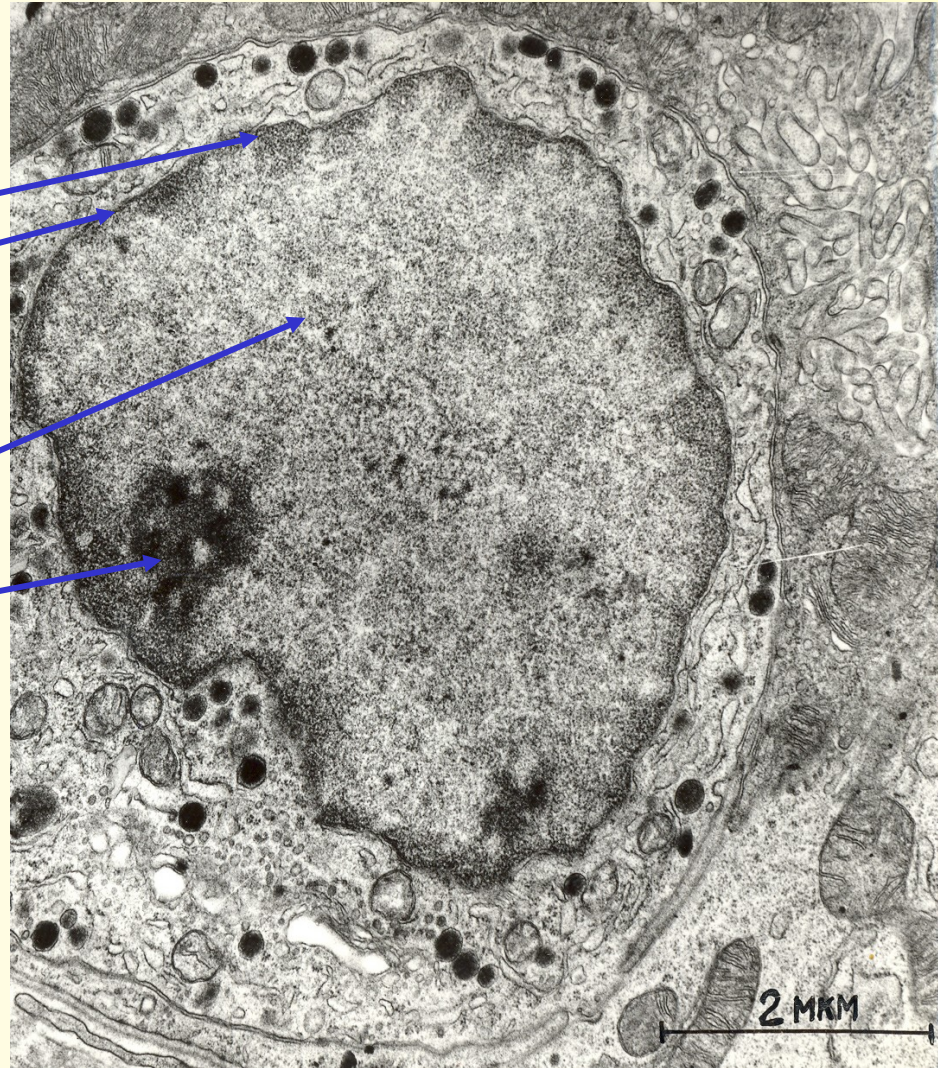


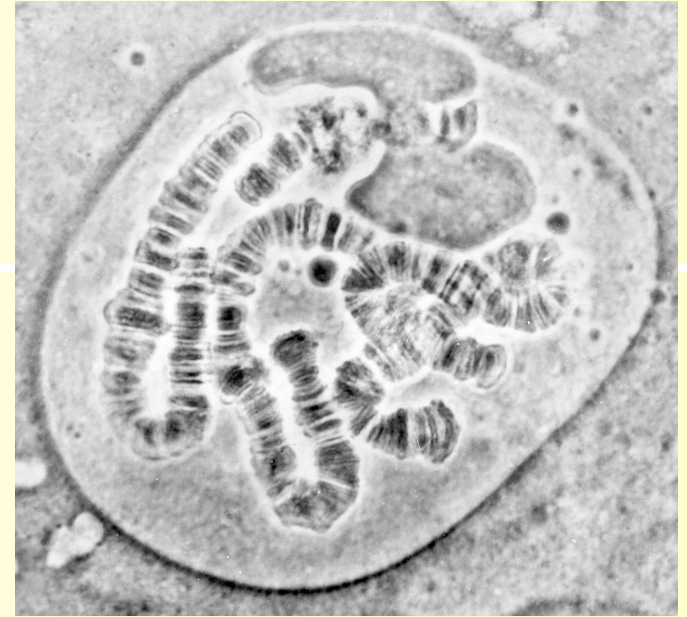
Так выглядит ядро интерфазной клетки

Хроматин
компактный

Хроматин
диффузный

Ядрышко

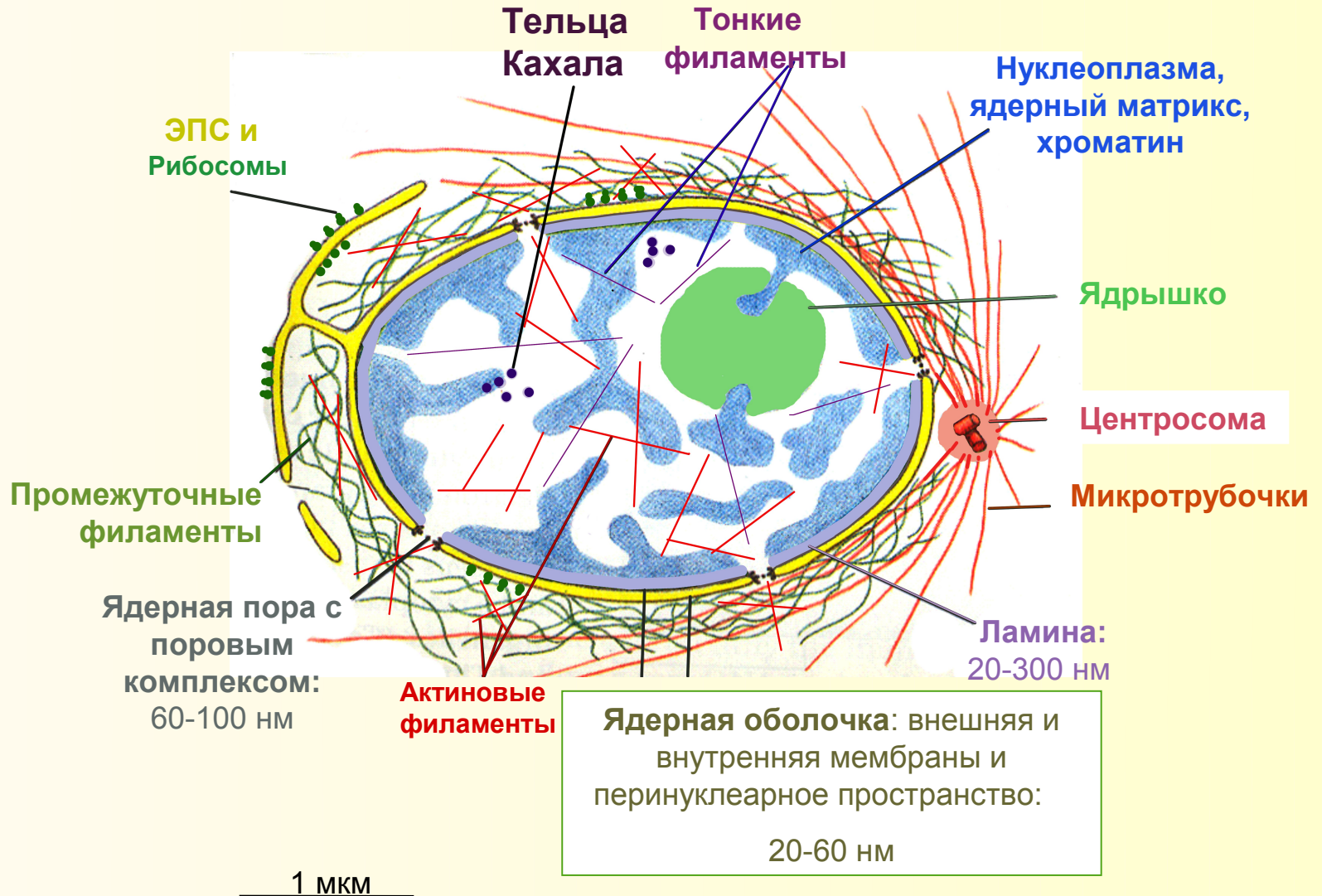




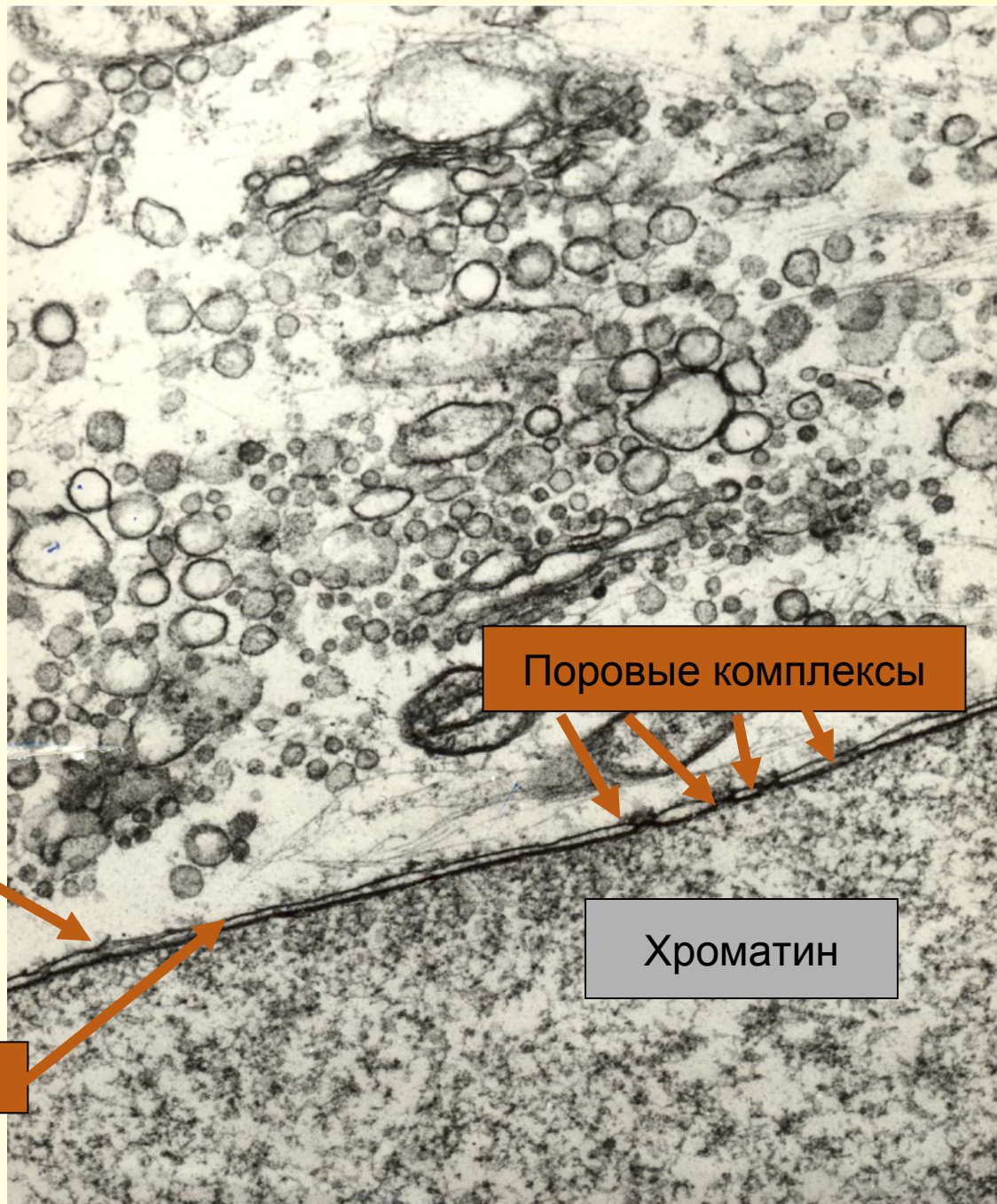
Это тоже ядра интерфазных клеток, но мы видим хромосомы.

Потому что это **полиплоидные** ядра, в которых тесно **сближены гомологичные хромосомы**, каждая из которых состоит из **нескольких тысяч сестринских хроматид**.

Строение интерфазного ядра



Фрагмент ядра и цитоплазмы



Ядерная оболочка

Лamina

Поровые комплексы

Хроматин

ЛАмина, плотная пластинка - сеть из белков промежуточных филаментов, ламинов, в интерфазном ядре

Мономер
ламина В

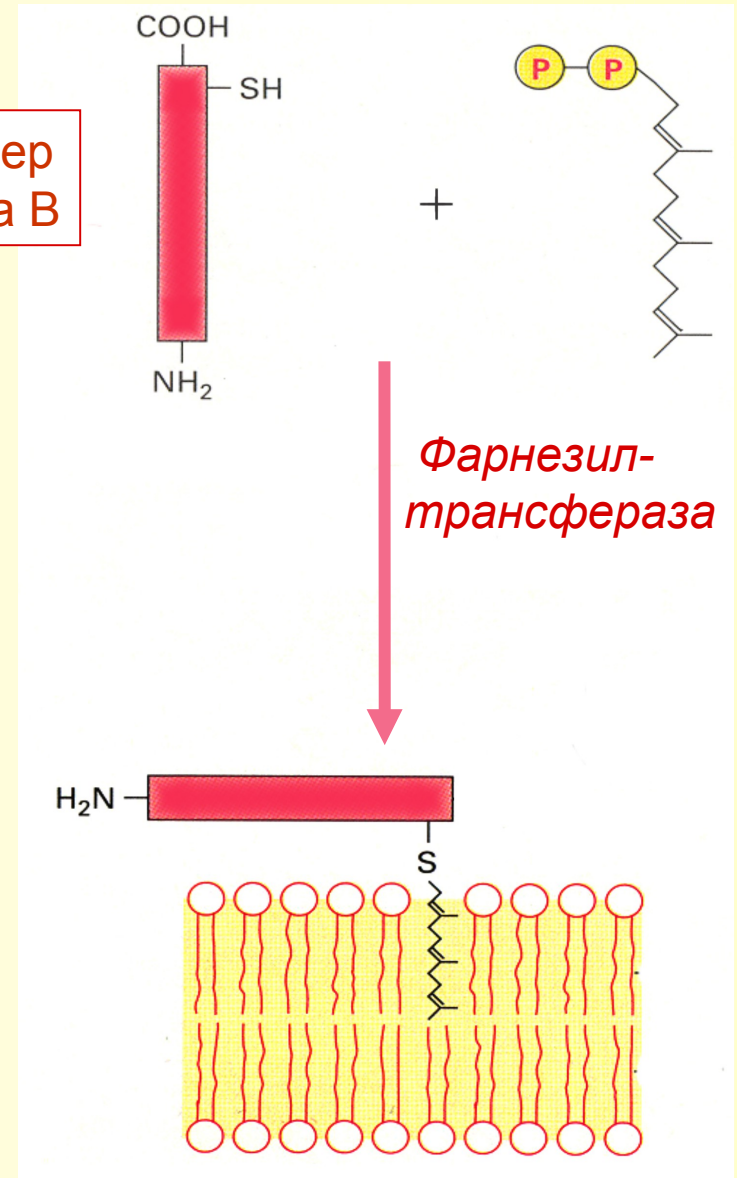
Ламины типа А связаны с хроматином

Ламины типа В связаны с внутренней мембраной

Заякоривание ламина В

**во внутренней мембране
ядерной оболочки
происходит за счет
фарнезилпирофосфата**

**Их соединение обеспечивает
фермент
фарнезилтрансфераза.**



К ламине крепятся:

- 1. Внутренняя мембрана ядерной оболочки**
- 2. Поровые комплексы**
- 3. Белки внутреннего ядерного матрикса**
- 4. Хроматин интерфазного ядра**

Ядерный матрикс

Ядерный матрикс:

белок - около 92%

РНК - около 1%

ДНК - около 0.1%

фосфолипиды - около 1%

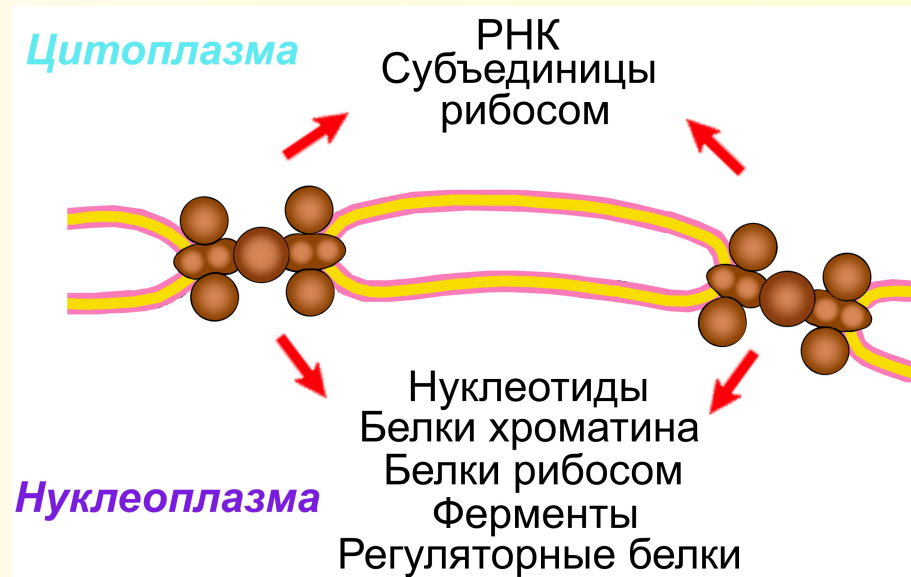
углеводы - около 5.5%

- Периферическая часть (ламина и поровые комплексы)
- Остаточная ядрышковая белковая сеть
- Гранулярно-фибрилярная белковая сеть, в т.ч. внутриядерные ламины

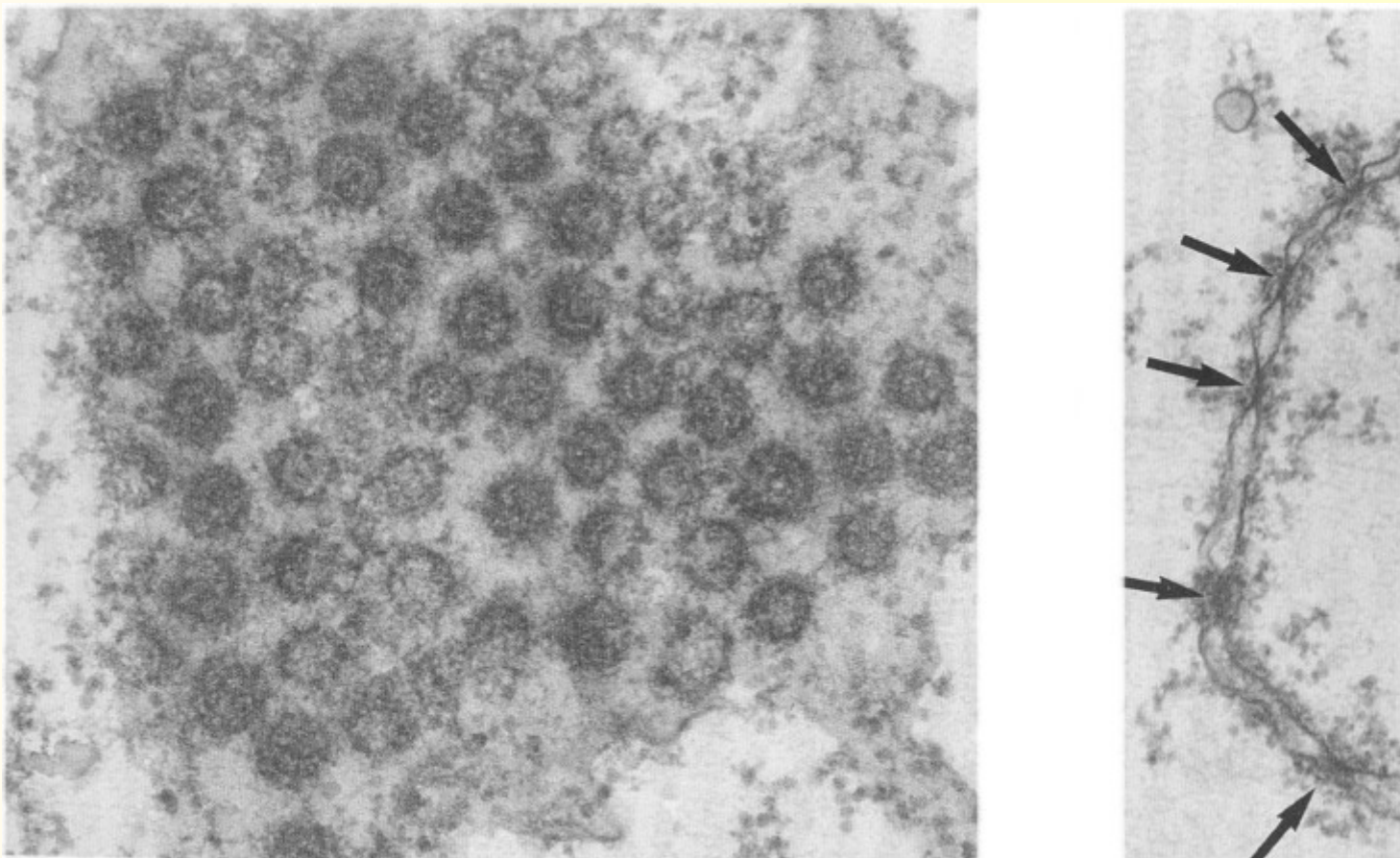
Транспорт веществ в ядро из цитоплазмы и из ядра в цитоплазму осуществляется через **поровый комплекс**

В ядерной оболочке типичной клетки млекопитающих содержится **3000-4000** поровых комплексов (в среднем **10-20** поровых комплексов на **1 мкм²**).

Через поровые комплексы осуществляется транспорт между нуклеоплазмой и цитоплазмой.



Поровый комплекс



0,2 мкм

Белки, образующие поровый комплекс называются
нуклеопорины.

Поровые комплексы у дрожжей содержат около 30 нуклеопоринов (x8),
у позвоночных – 50-100 нуклеопоринов (x8)

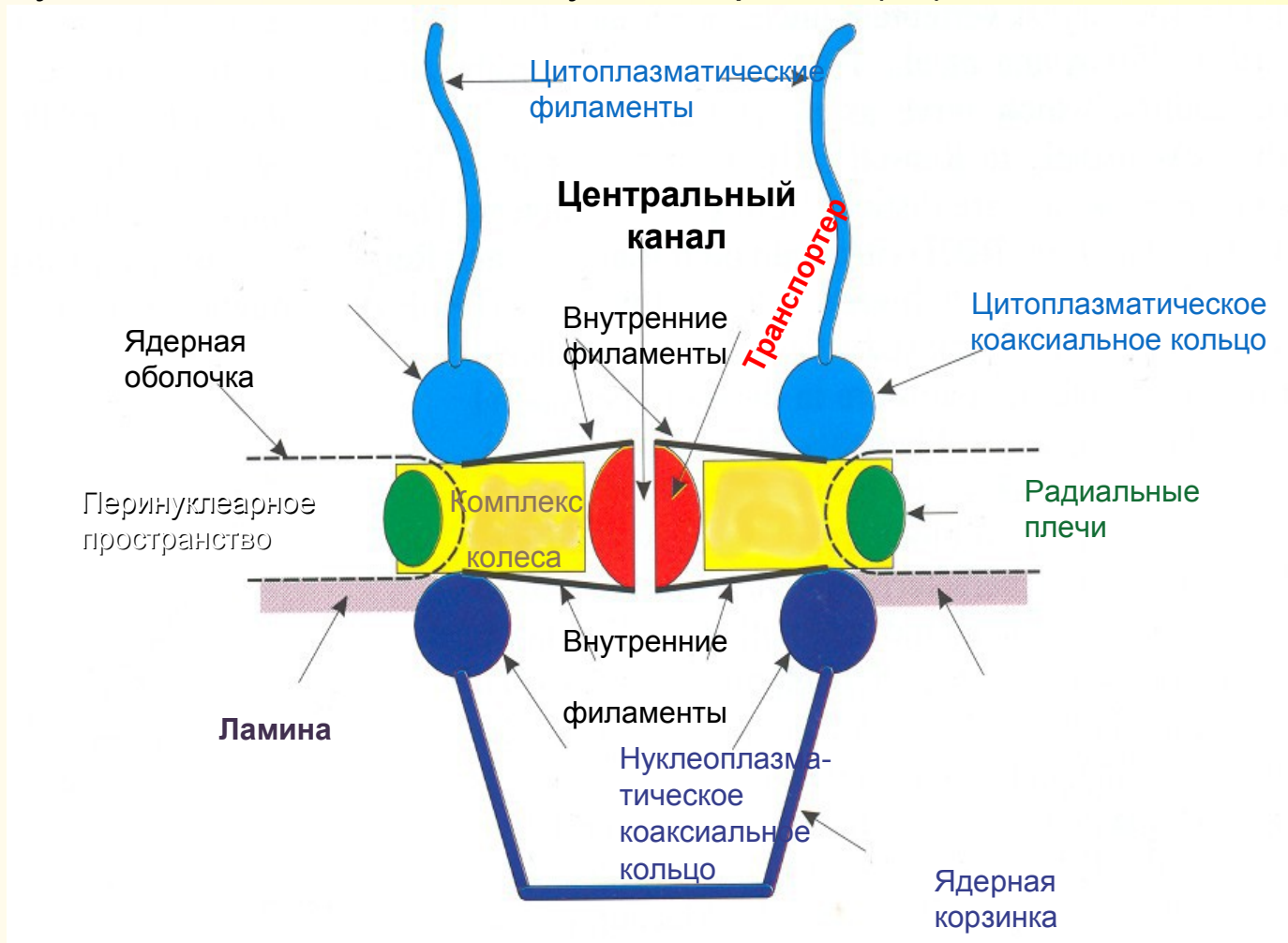


Схема порового комплекса

Транспорт через поровый комплекс обеспечивает взаимодействие **нуклеопоринов** с **кариоферинами** (**импортинами и экспортинами**), которые присоединяются к белку, имеющему **NSL** и **NTS**.

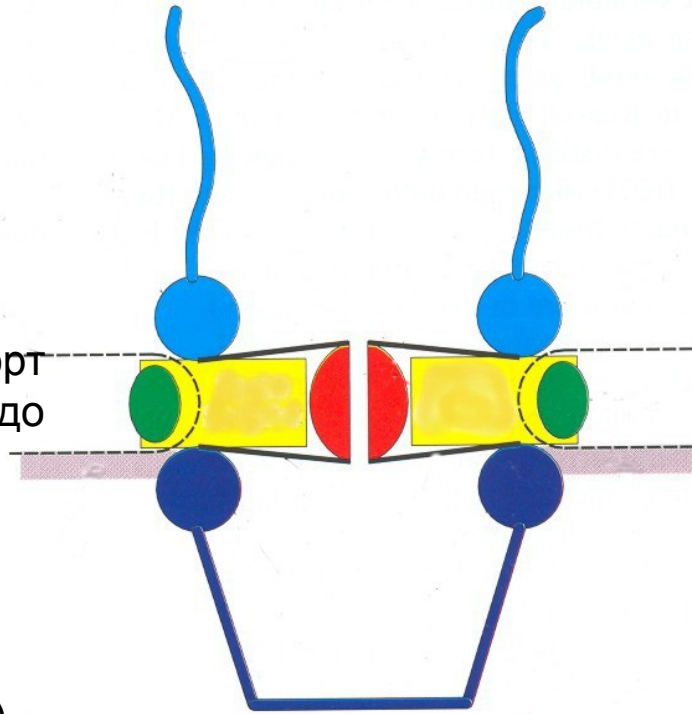


Про-Про-Лиз-Лиз-Лиз-Арг-Лиз-Вал

NLS (сигнал ядерной локализации)

Активный транспорт частиц размером до 26 нм, имеющих сигнал

NES (сигнал экспорта из ядра)

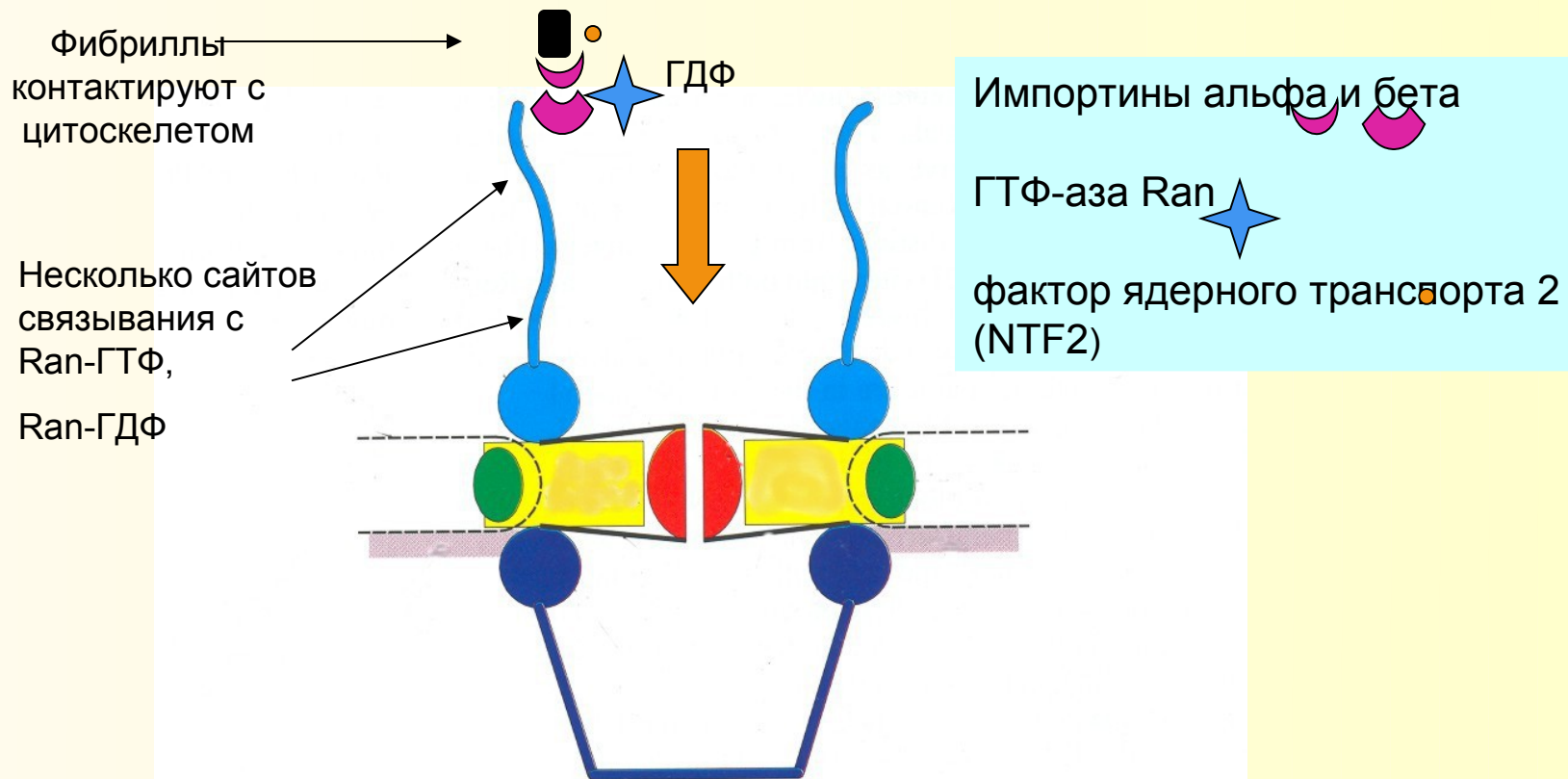


--Лей-Ала-Лей-Лиз-Лей-Ала-Гли-Лей-Асп-Лей-... (или Вал/Илей)

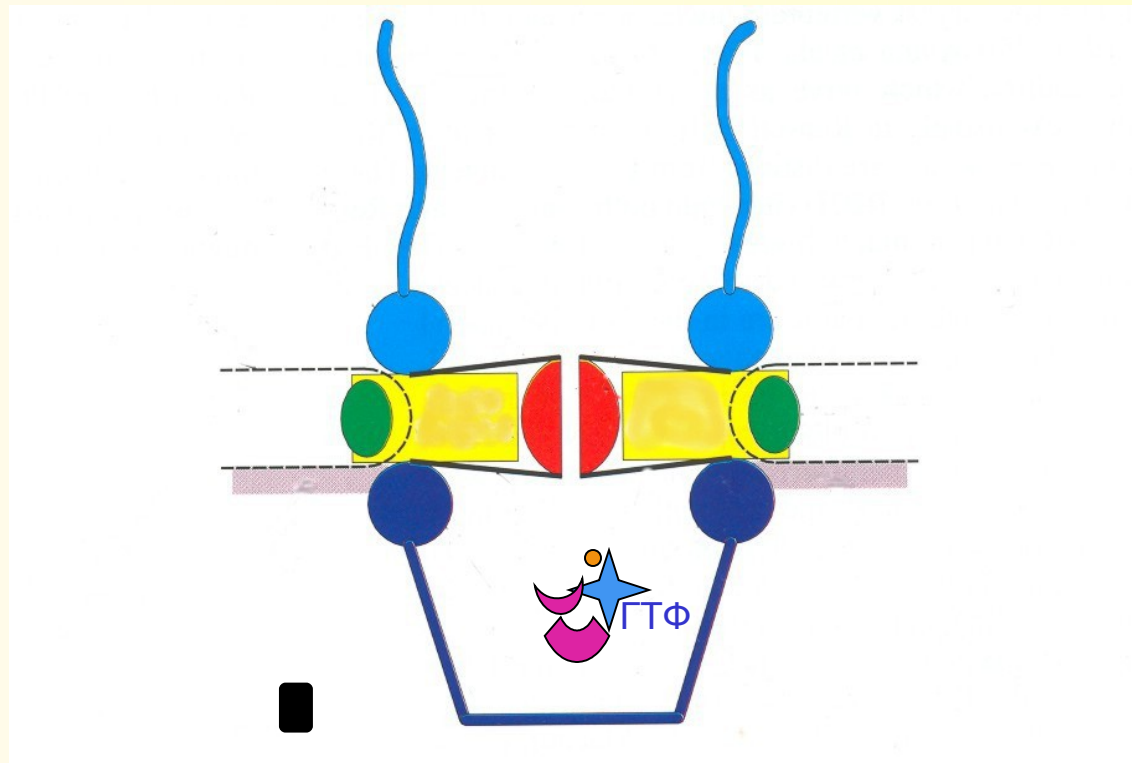
60-100 нм

Вначале к транспортируемому белку последовательно присоединяются импортин альфа, импортин бета, ГТФ-аза Ran, NTF2, затем весь этот комплекс белков проходит в ядро.

■ Груз - белок с NLS



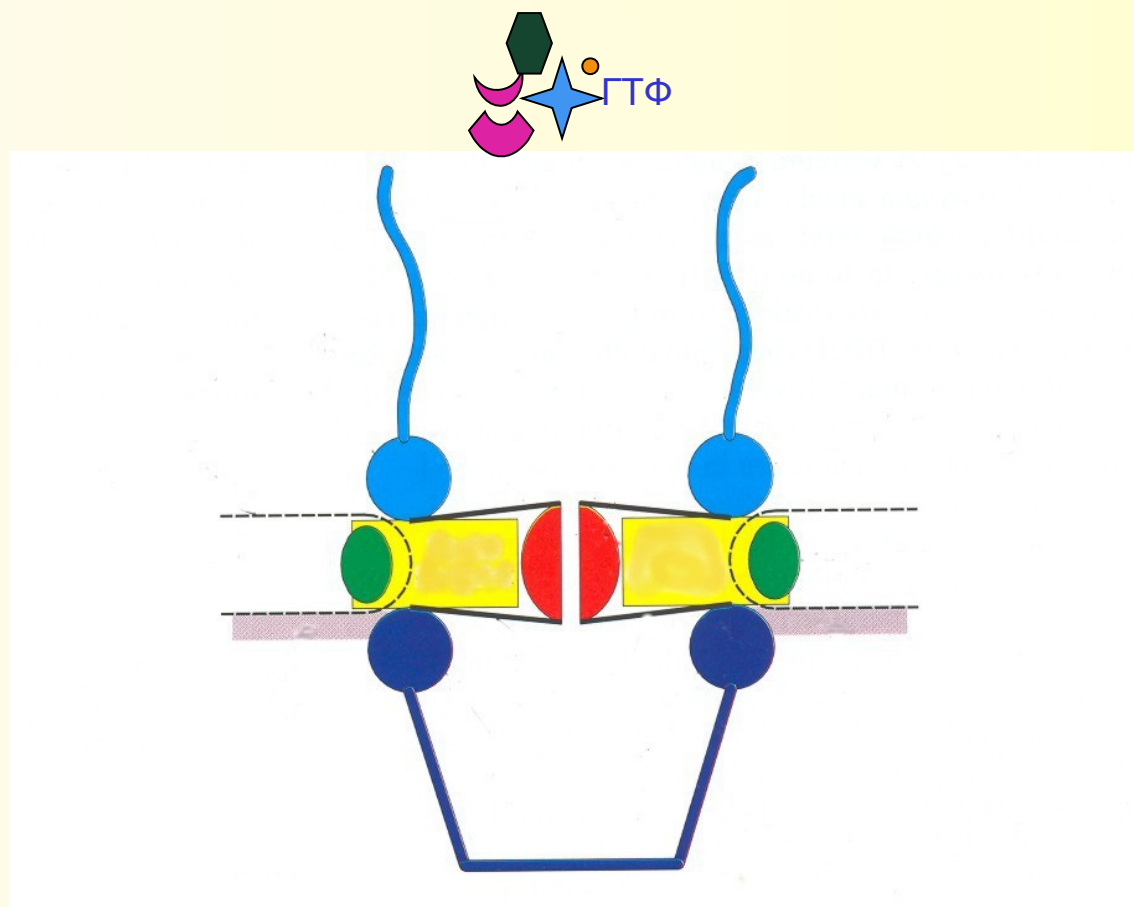
В ядре есть белок, который заменяет ГДФ на ГТФ в **Ran**. Это приводит к отсоединению транспортируемого белка. Он уходит. Его место занимает белок-экспортин. Он имеет сигнал экспорта из ядра и присоединен к транспортируемому материалу, который должен попасть в цитоплазму.



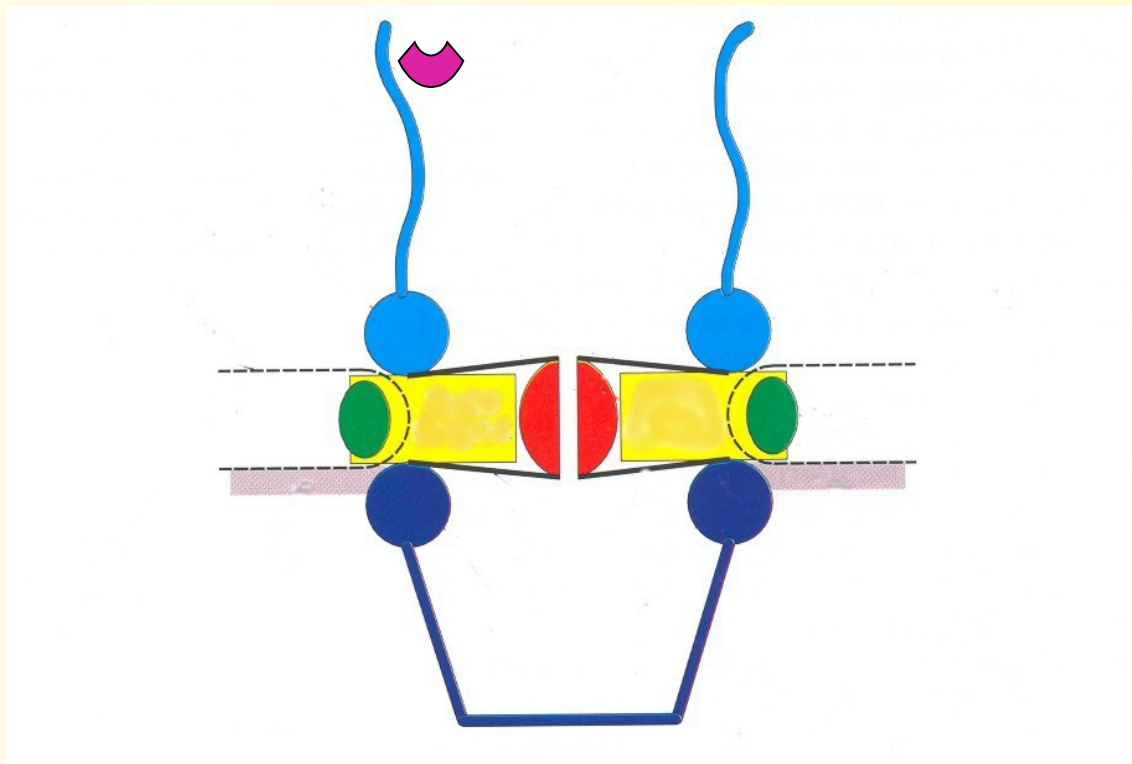
Грузовой белок
отсоединяется



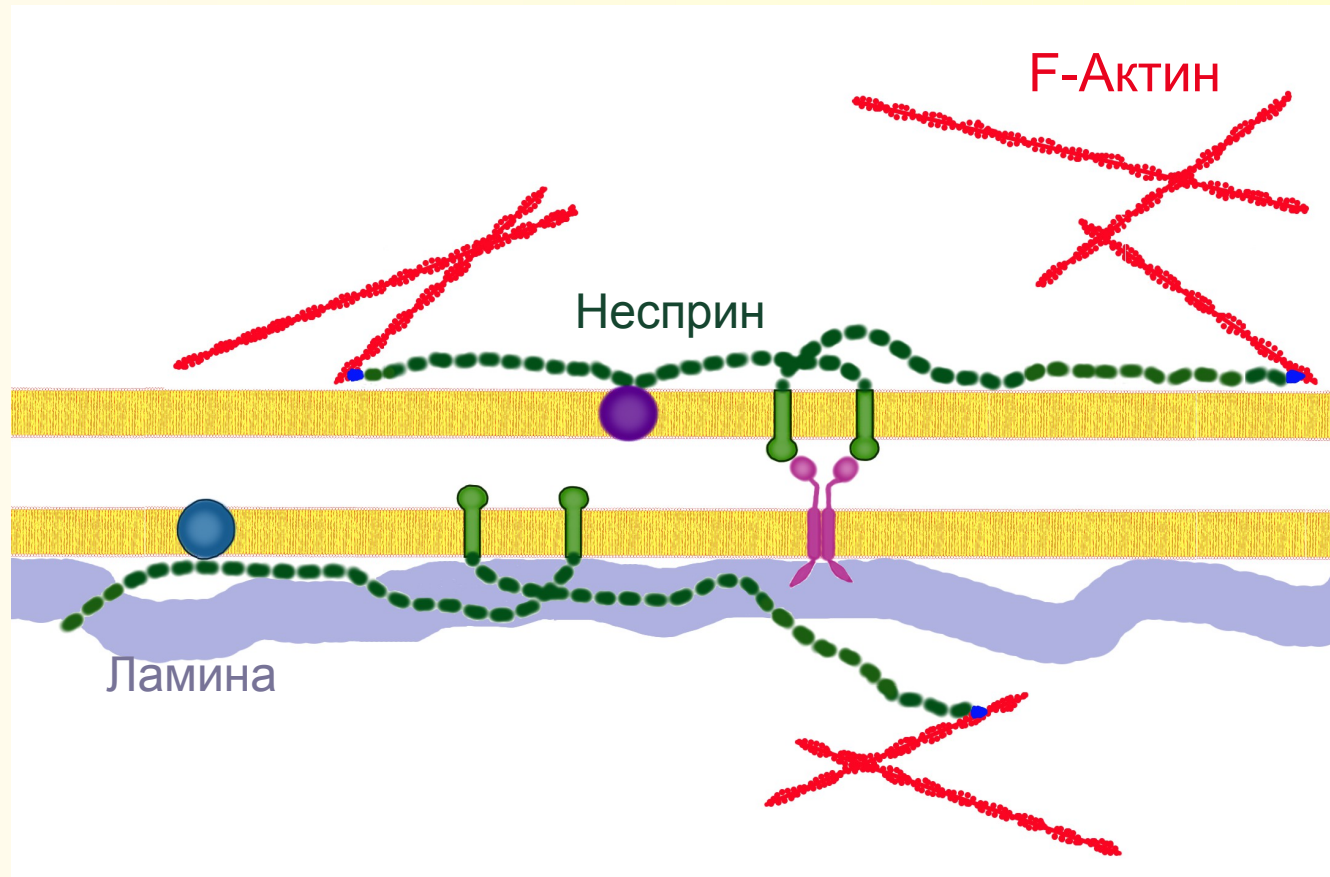
Весь комплекс белков импорта-экспорта выходит из ядра. Специальный белок в цитоплазме стимулирует ГТФ-азную активность Ran. Происходит гидролиз ГТФ в составе Ran.



Комплекс белков импорта-экспорта распадается.



Экспортируемый и импортируемый материал перемещается к поровому комплексу с помощью микрофиламентов



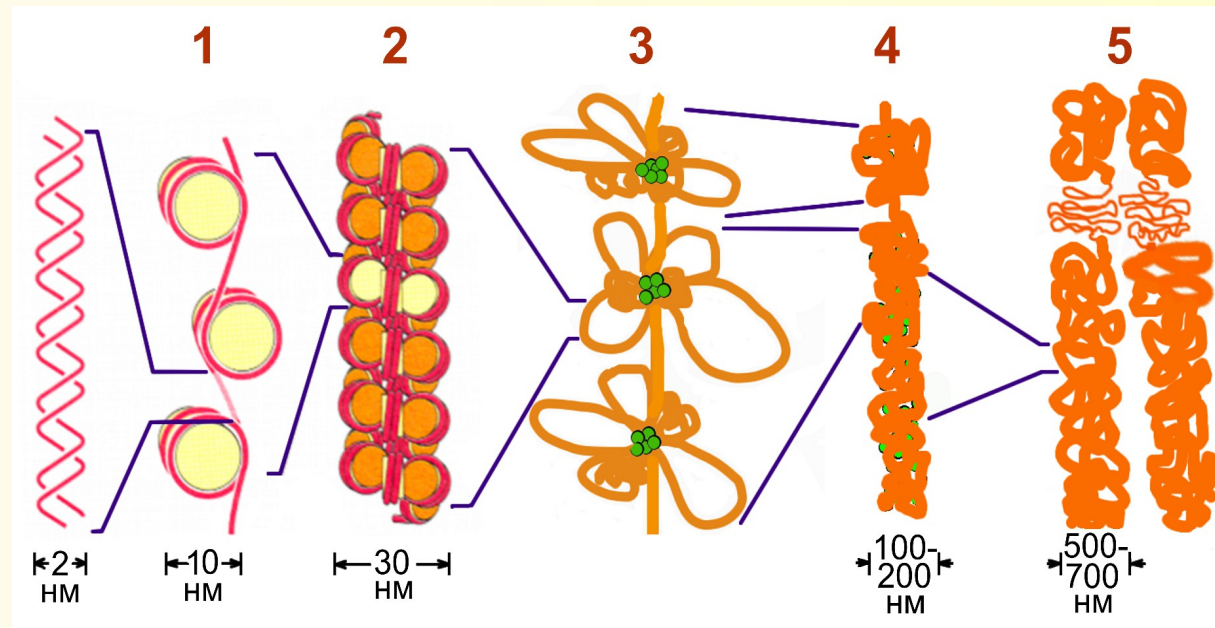
Хроматин – комплекс ДНК с белками

Соотношение ДНК:белок по массе в хроматине 1:1

Основная масса белков

– гистоны: H1, H2a, H2b, H3, H4

H2a, H2b, H3, H4 отвечают за первый уровень упаковки,
H1 – за второй, негистоновые белки за третий-пятый.



Хроматин — это комплекс ДНК с белками.

Хроматида — одна молекула ДНК и связанные с ней белки.

**Хромосома — самостоятельная структура,
содержащая ДНК и белки.**

Хромосома может состоять из одной хроматиды, из двух или из очень многих.

Хромосомы и хроматиды можно увидеть в световой микроскоп во время деления как отдельные структуры.

Хроматин в световой микроскоп виден как вещество,
заполняющее все пространство **интерфазного ядра**.

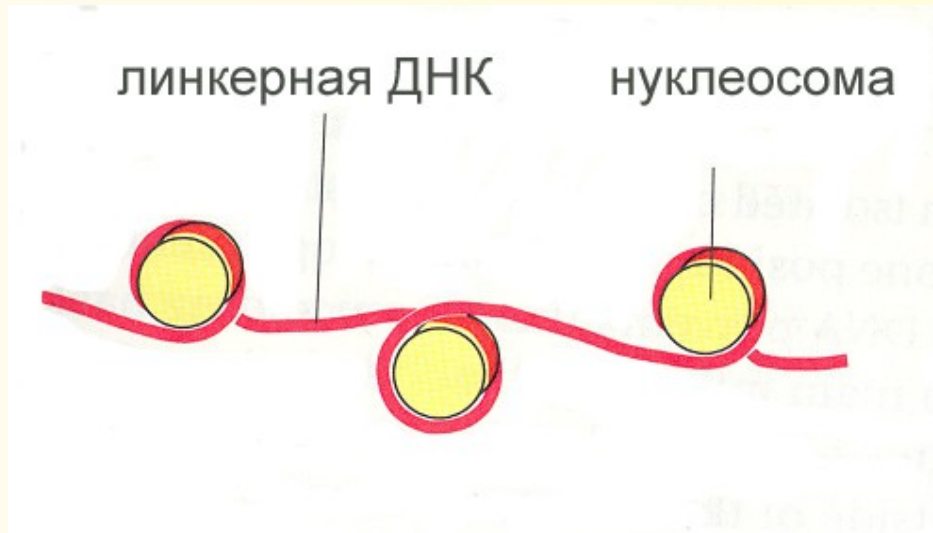
Хроматин. Уровни упаковки ДНК

ДНК

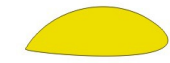


1. Нуклеосомный «бусины на нитке»

Белки-гистоны: Н2А, Н2В, Н3, Н4, по две молекулы каждого образуют белковую глобулу — **гистоновый кор**, или **коровую частицу**.



Коровая частица:



H2a + H2b

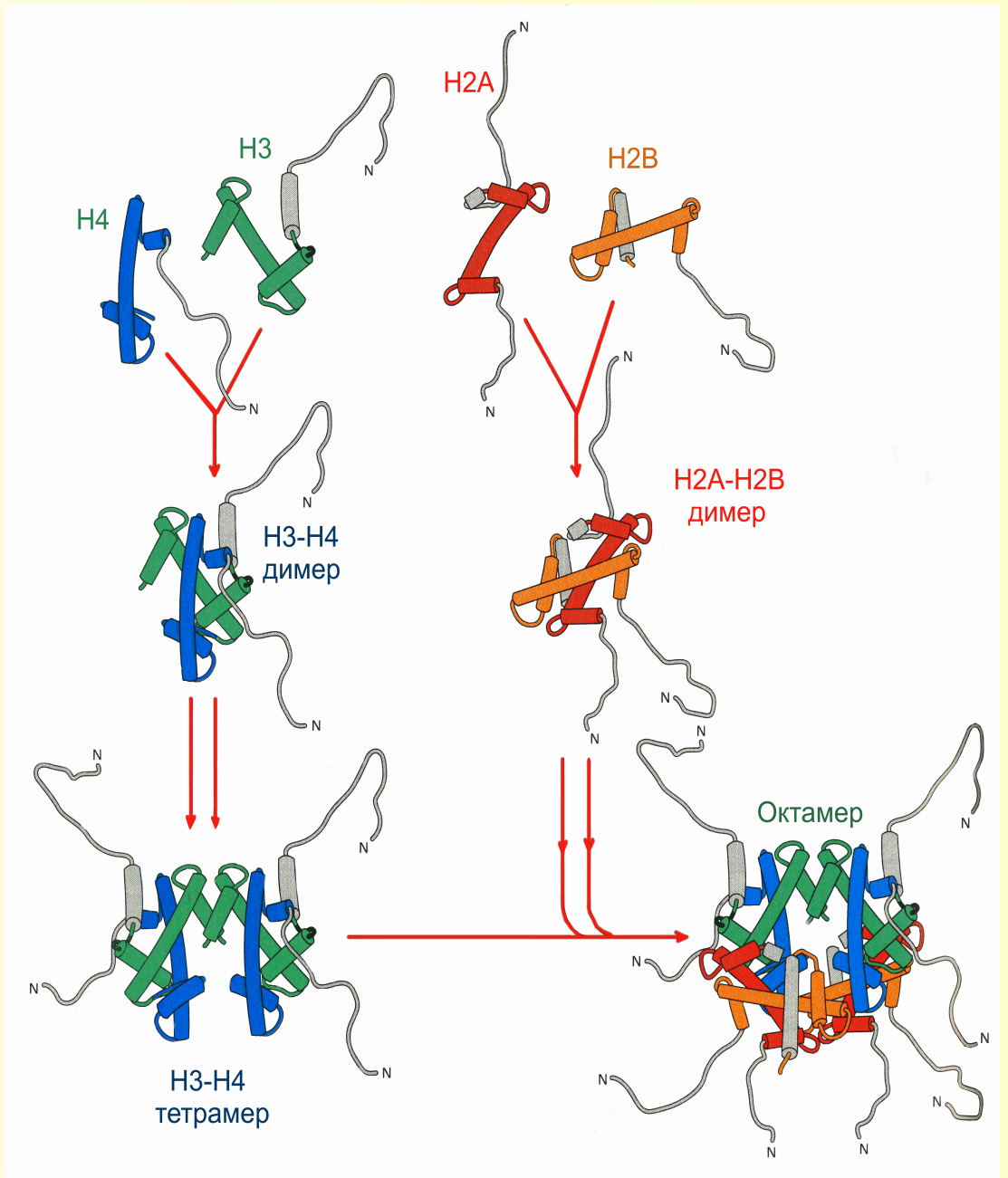


2 x (H3 + H4)

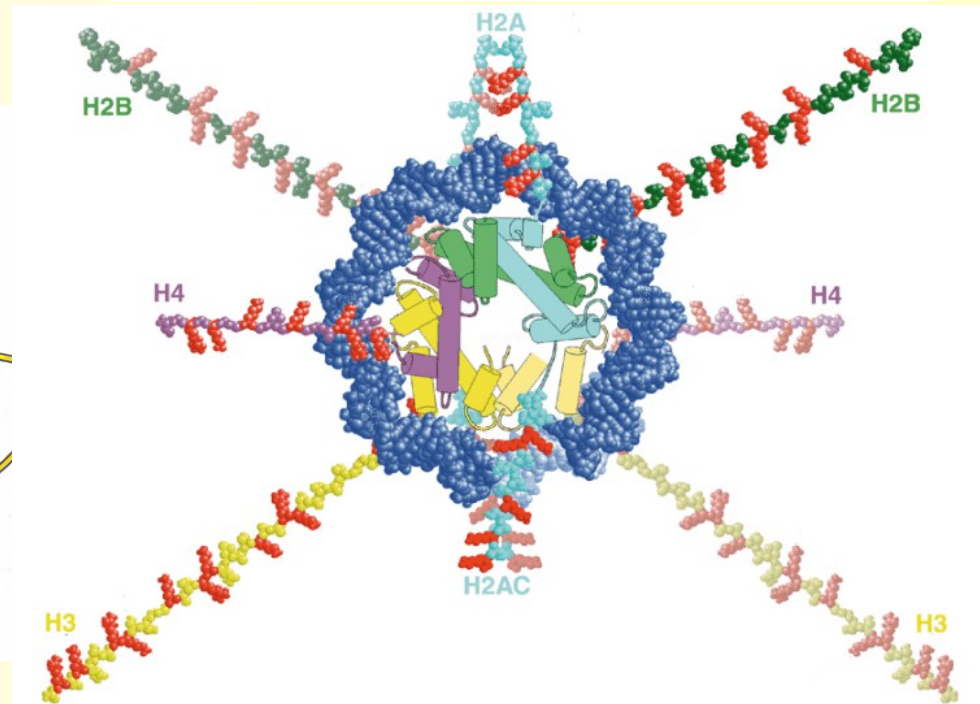
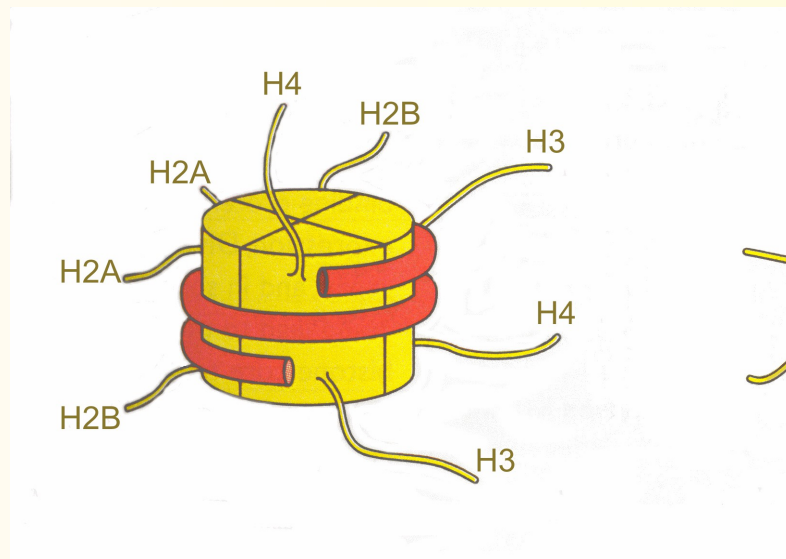
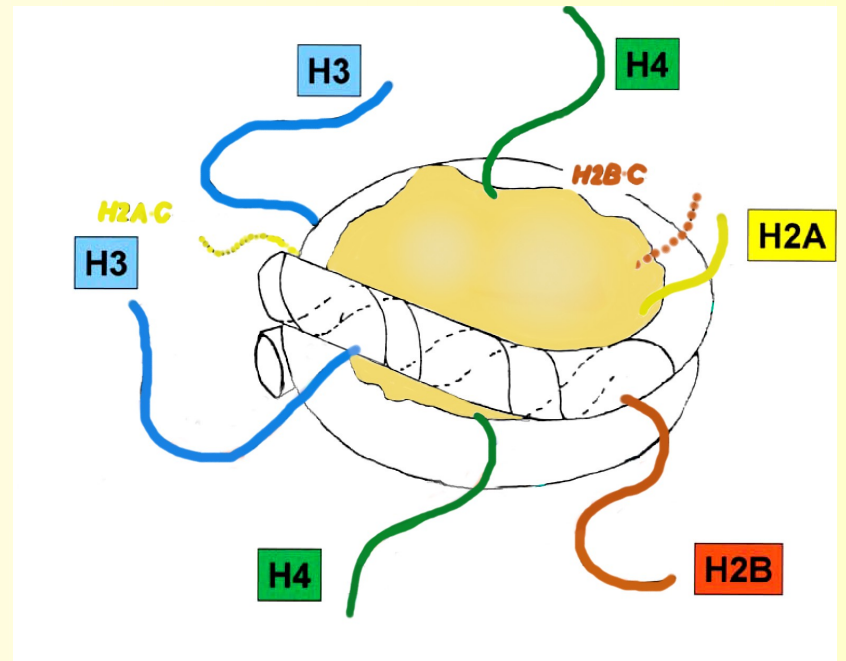


H2a + H2b

**Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4**



Из коровой частицы выступают длинные N-концы гистонов. Эти концы подвергаются различным модификациям, что является одним из механизмов регуляции транскрипции и репликации.



Два первых уровня упаковки зависят от белков-гистонов.

ДНК

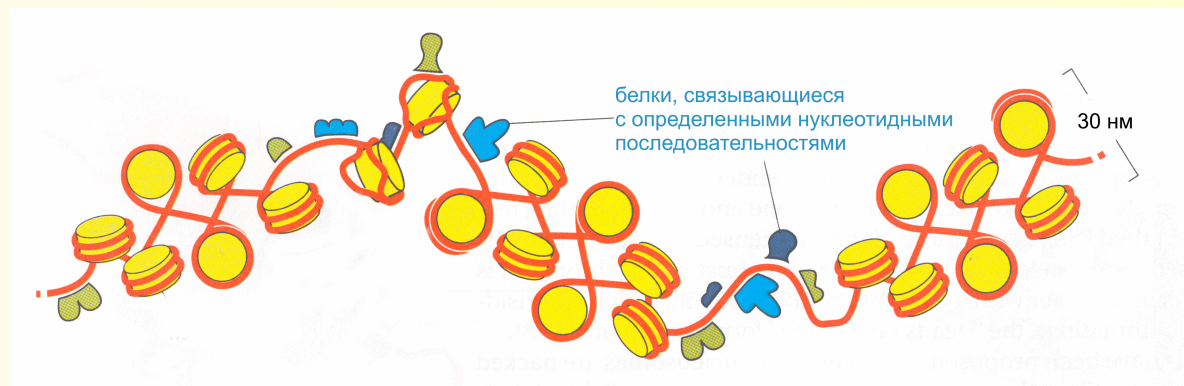


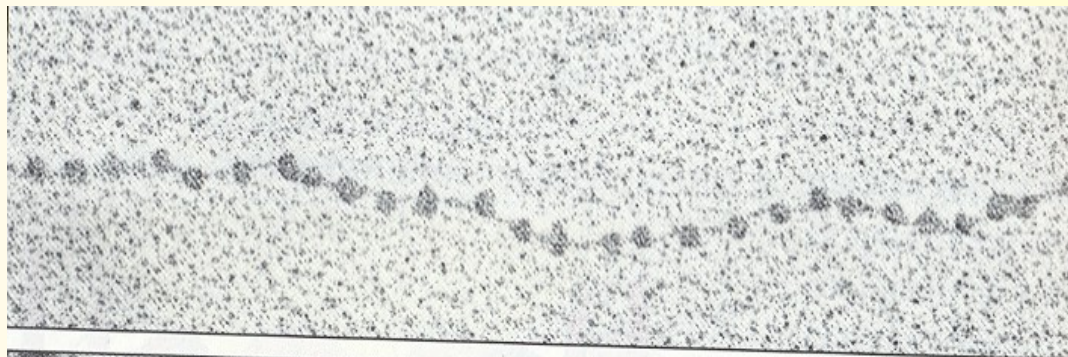
1. Нуклеосомный

Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4

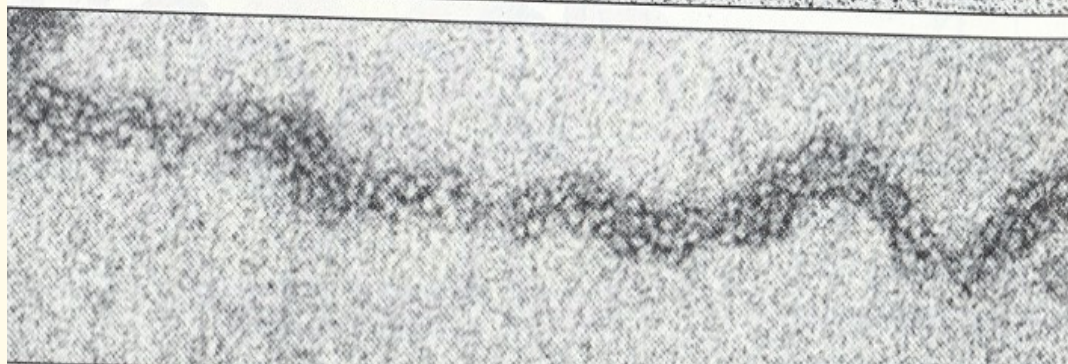
2. Хроматиновая фибрилла

Гистон H1





1 уровень

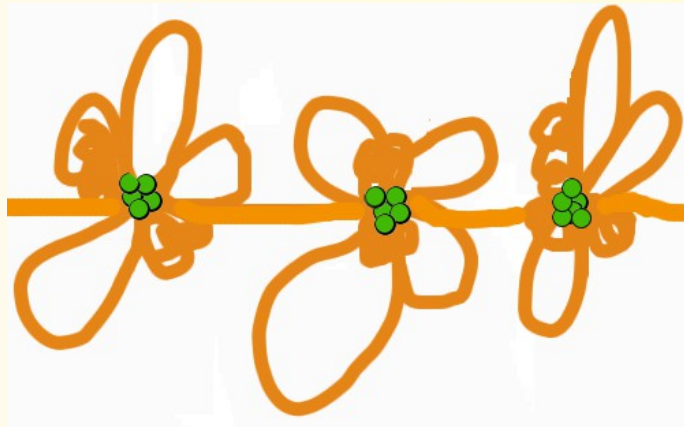
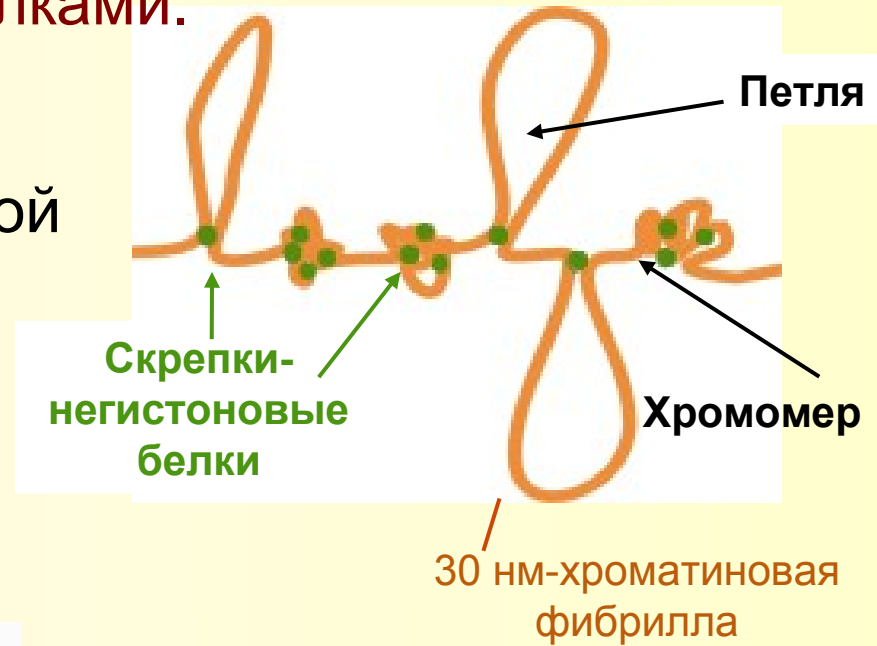


2 уровень

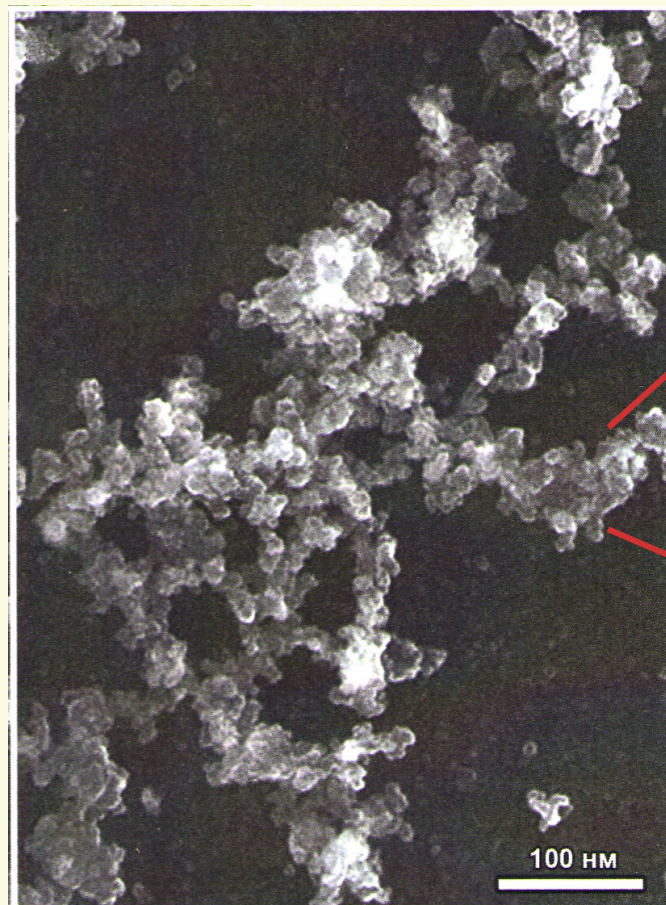
Третий уровень упаковки определяется негистоновыми белками.

3. Хромомерно-петлевой

Негистоновые белки



Изображение участка интерфазного ядра в сканирующем микроскопе.



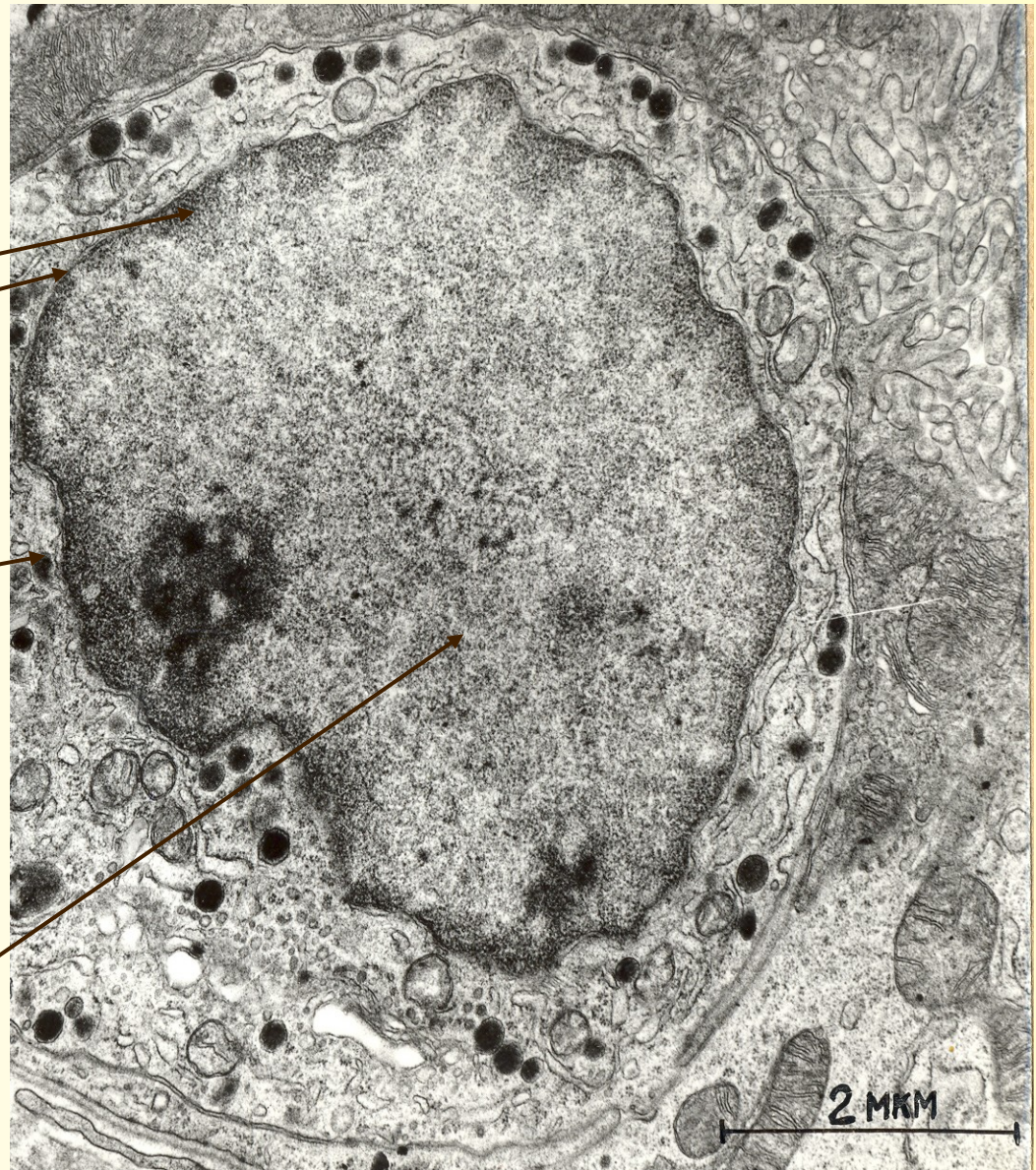
30 нм фибриллы
хроматина

Из работы: К.Н. Морозова, А.А. Струнов, Е.В.Киселева, 2011

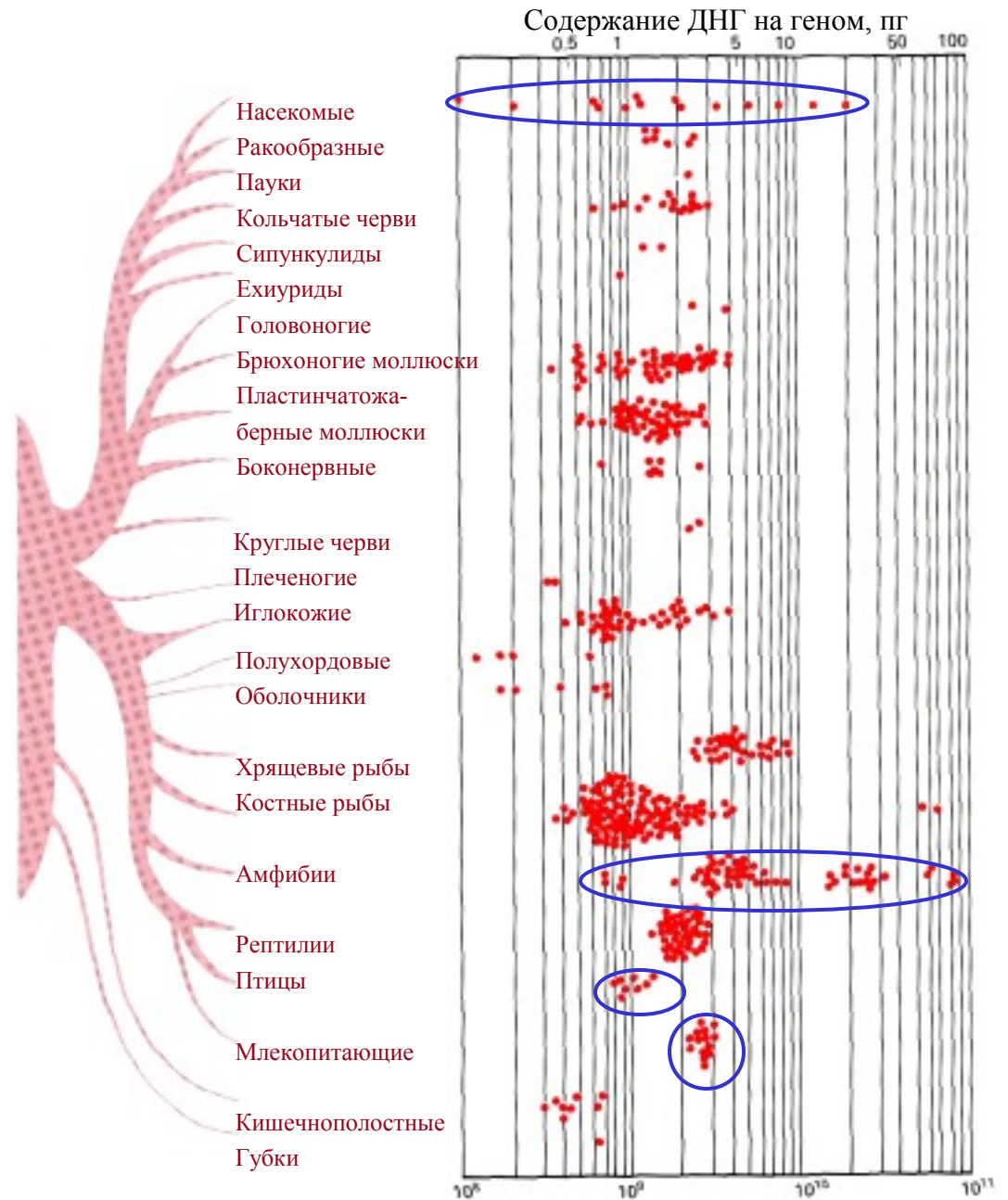
Хроматин
компактный

Ядрышко

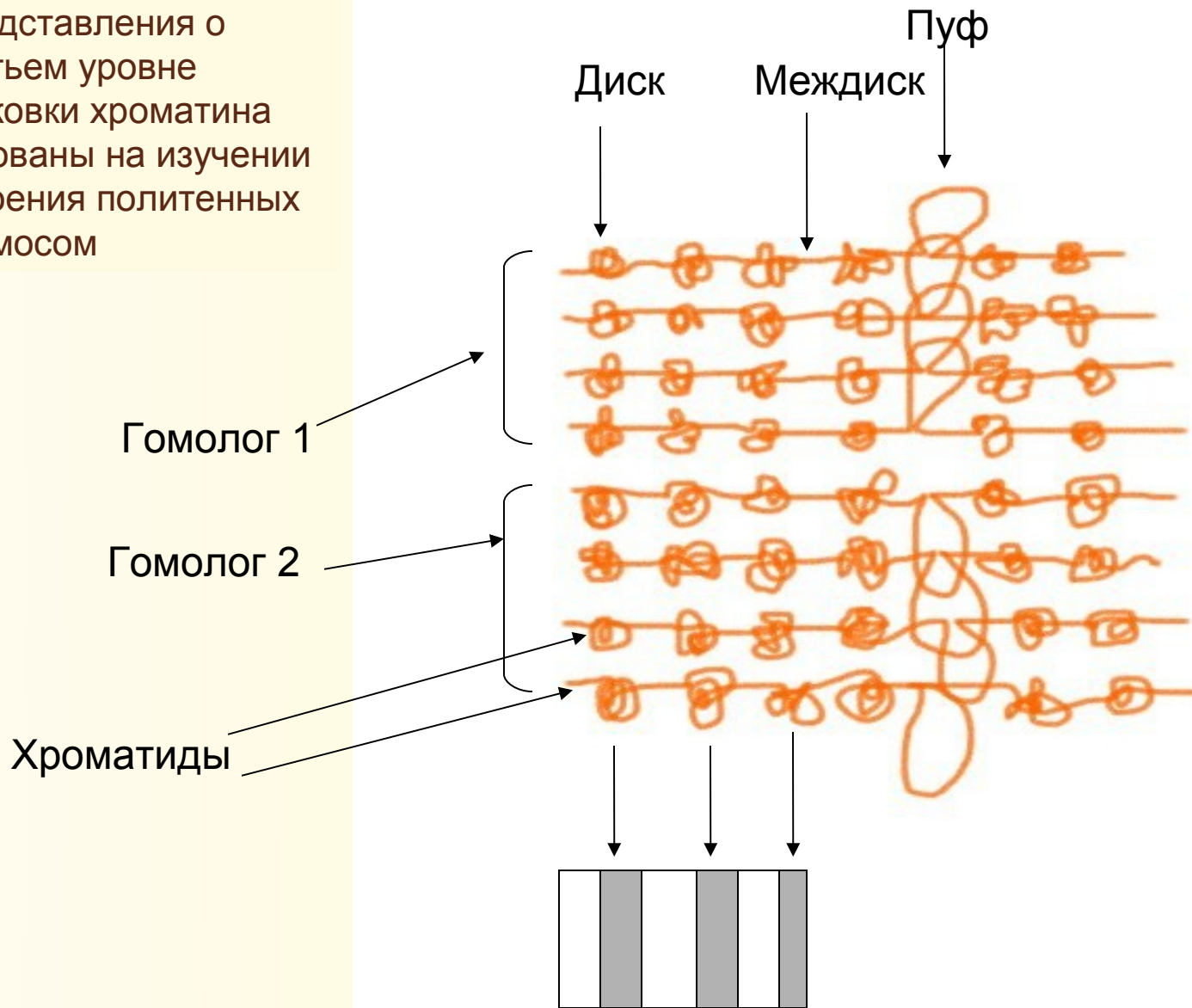
В интерфазном
ядре мы видим
крупные и мелкие
точки — это
хромомеры.



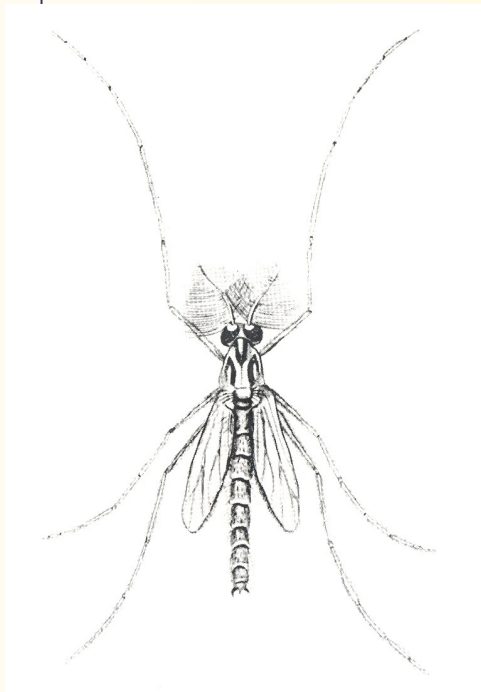
Содержание ДНК в гаплоидном наборе, пг (с)



Представления о третьем уровне упаковки хроматина основаны на изучении строения политенных хромосом



Политенные
хромосомы
Chironomus'a

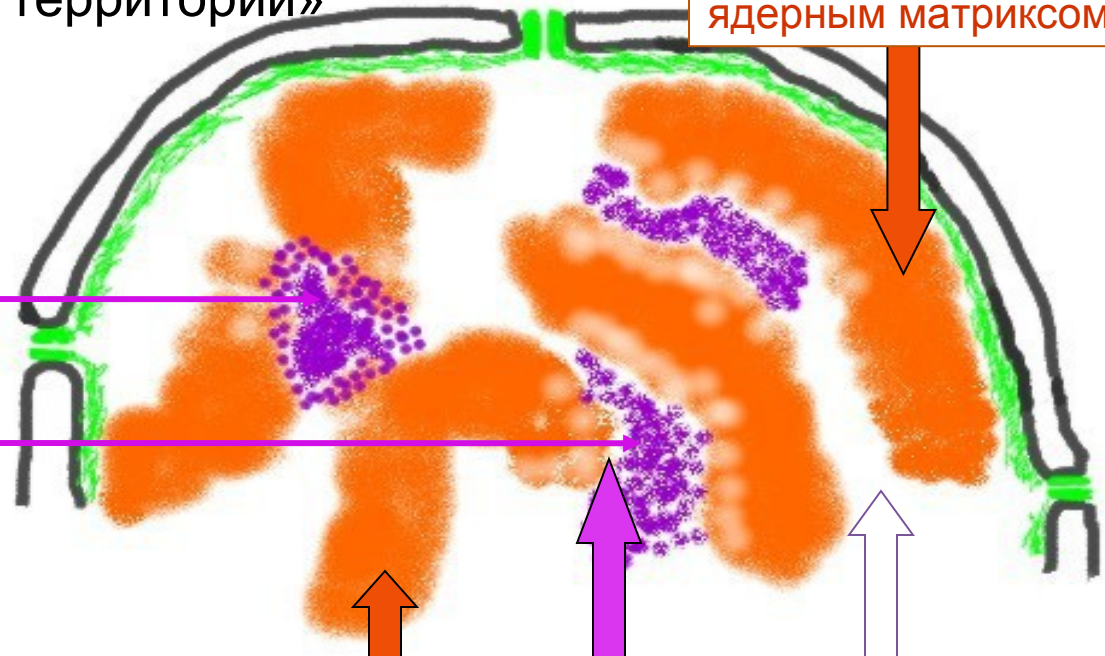


Хроматин каждой хромосомы в интерфазном ядре располагается компактно, образуя «хромосомные территории»

Неактивный хроматин:
внутри территории,
компактный,
связан с ламинной или
ядерным матриксом

Ядрышко

Район
транскрипции

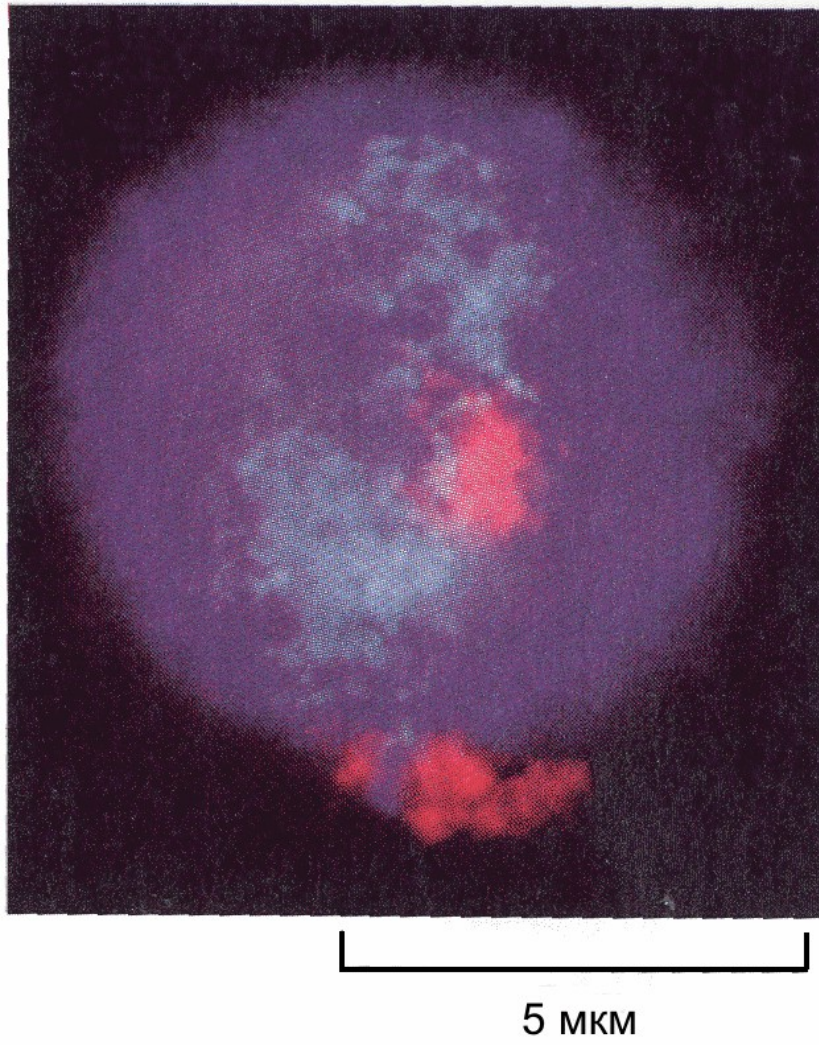


**Внутрихромосомная
территория**

**Межхромосомная
область**

Активный хроматин:
на границе территорий,
менее компактен,
доступен для транскрипции

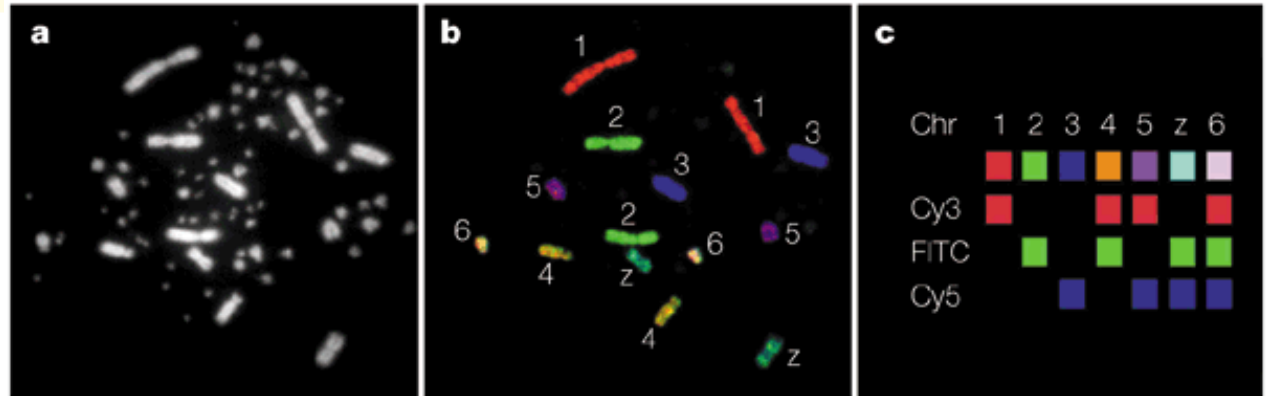
Гомологичные хромосомы лежат рядом в интерфазном ядре только у двукрылых насекомых, у других видов обычно далеко друг от друга



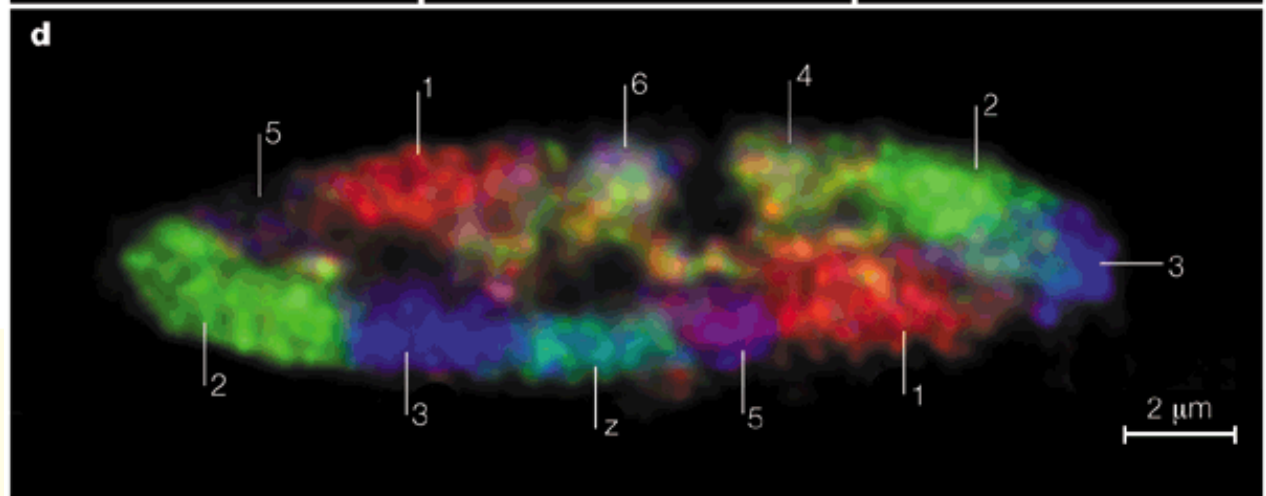
Расположение хромосом **восемнадцатой** и **девятнадцатой** пар в интерфазном ядре лимфоцита человека

Расположение хромосом в интерфазном ядре

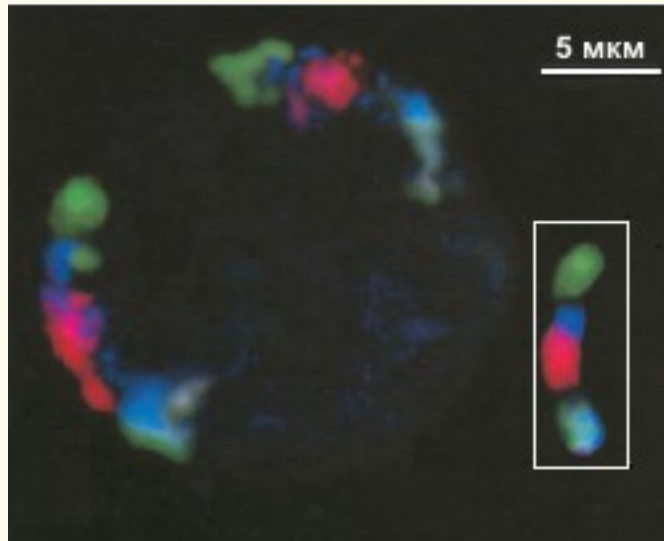
Метафазные хромосомы
цыпленка



Расположение хромосом 1-6 и Z в ядре фибробласта.



В интерфазном ядре хроматин немного более рыхлый, чем во время деления, но объем, который он занимает увеличен не значительно.



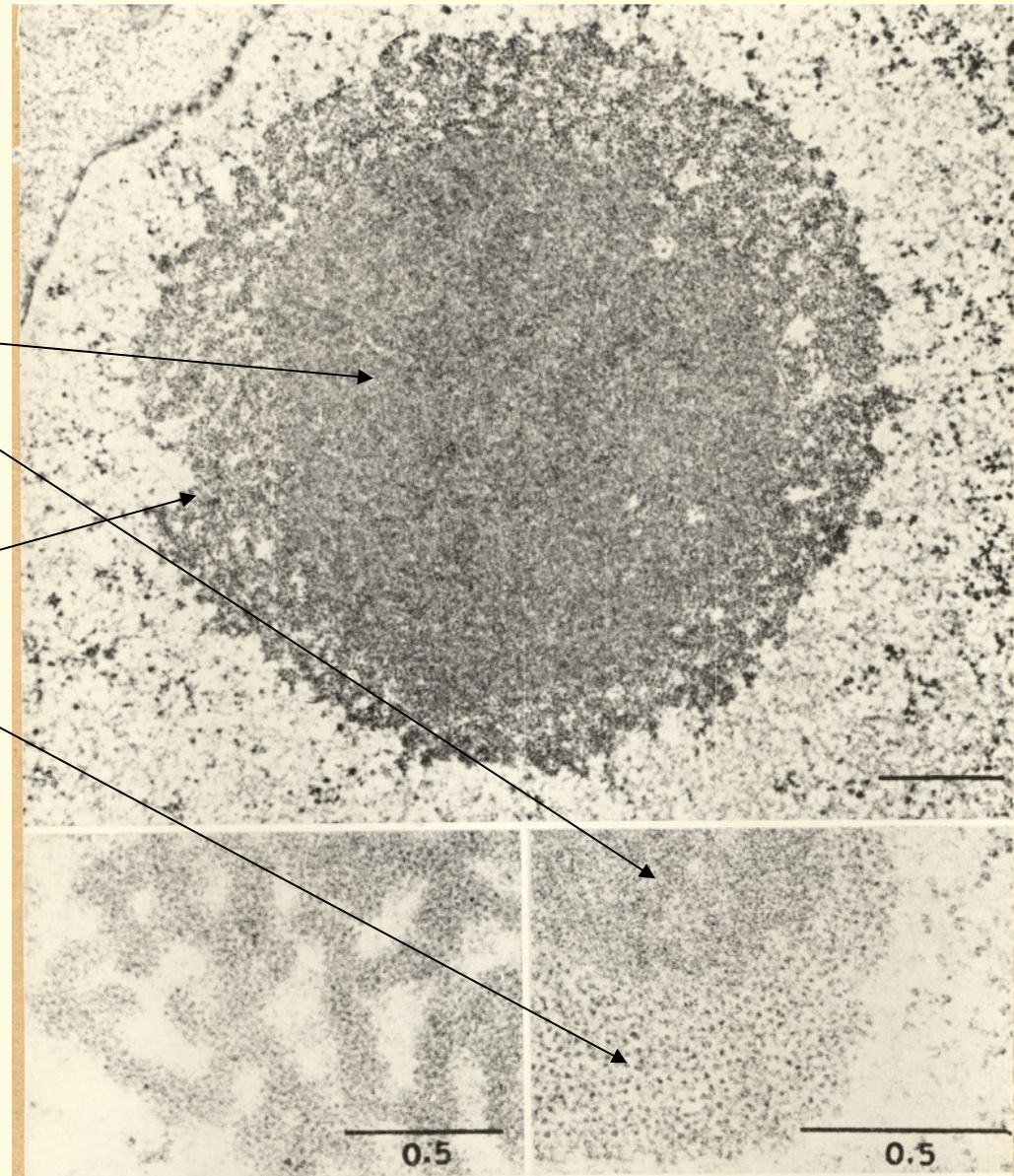
Расположение хромосом 5-й пары в ядре лимфоцита человека и метафазная хромосома 5 при том же увеличении

Транскрипционная активность ядра

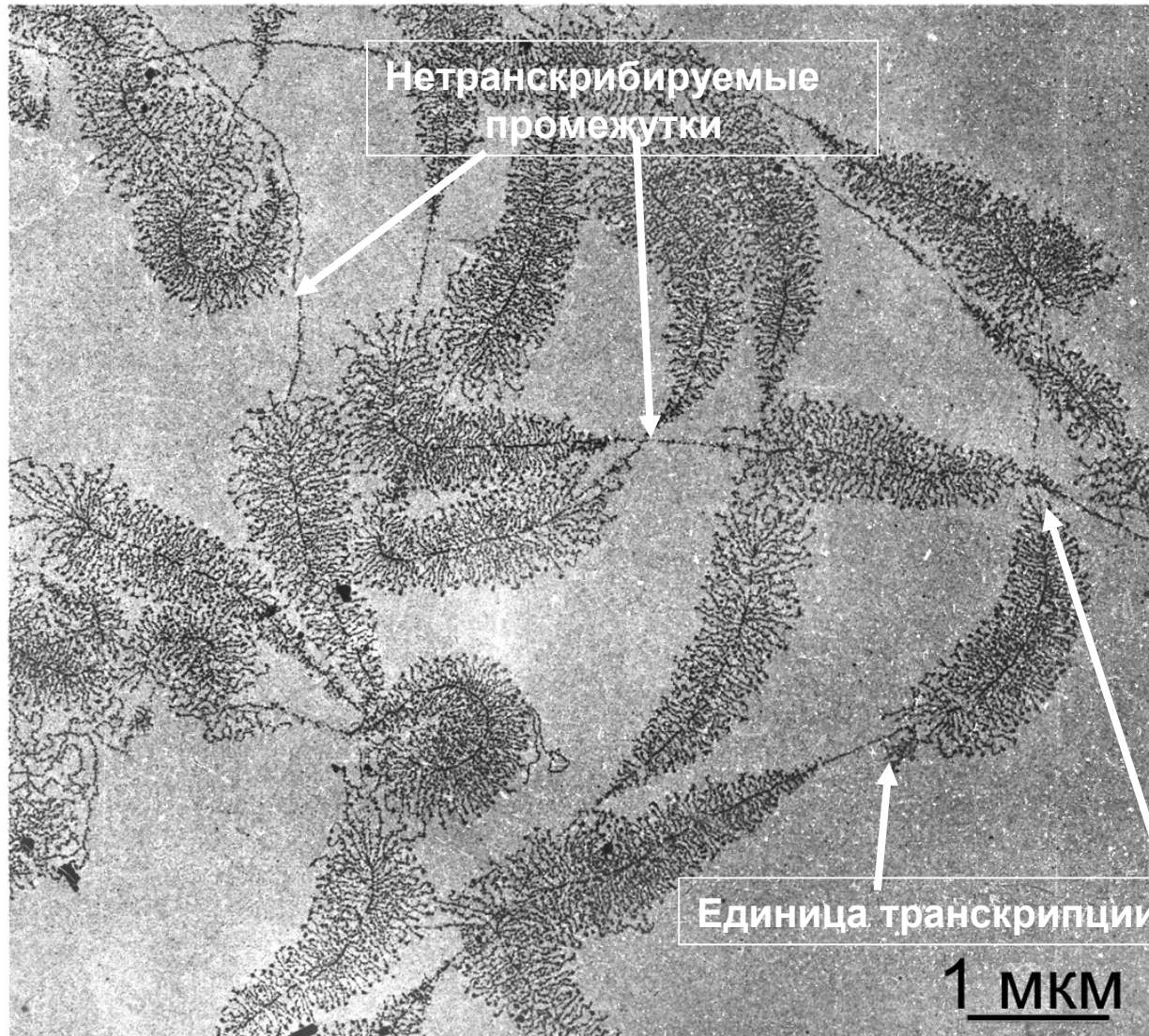
Ядрышко

Фибриллярная часть

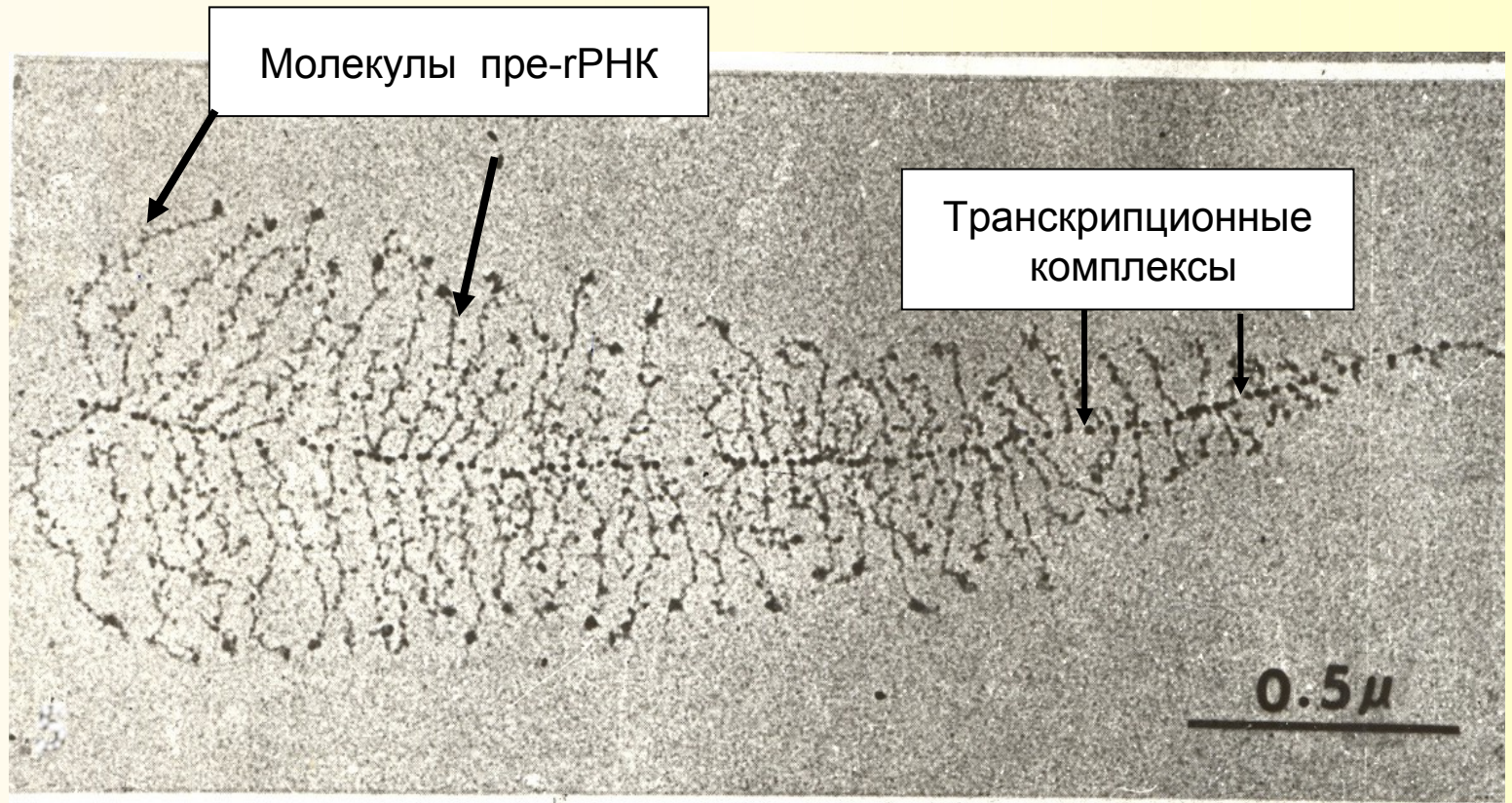
Гранулярная часть



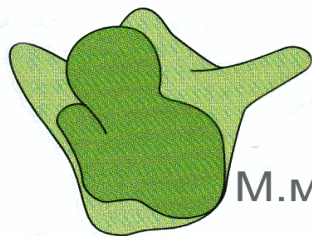
Метод распластывания позволяет увидеть тонкое строение фибриллярной части ядрышка



Единица транскрипции в ядрышковом организаторе



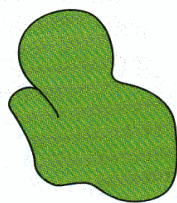
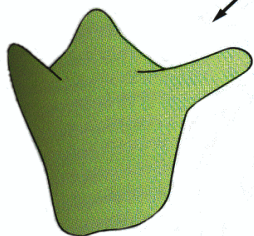
Прокариотическая рибосома 70S



М.м. 2 500 000

50S

30S



М.м. 1 600 000

5S рРНК

23S рРНК

120 н.

2 900 н.

34 полипептида

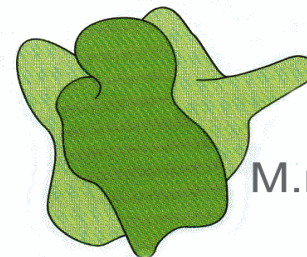
М.м. 900 000

16S рРНК

1 540 н.

21 полипептид

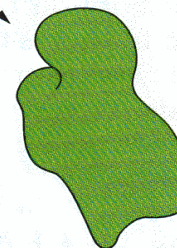
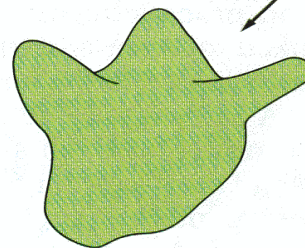
Эукариотическая рибосома 80S



М.м. 4 200 000

60S

40S



М.м. 2 800 000

5S рРНК

28S рРНК

120 н.

4 700 н.

49 полипептидов

5,8S рРНК

160 н.

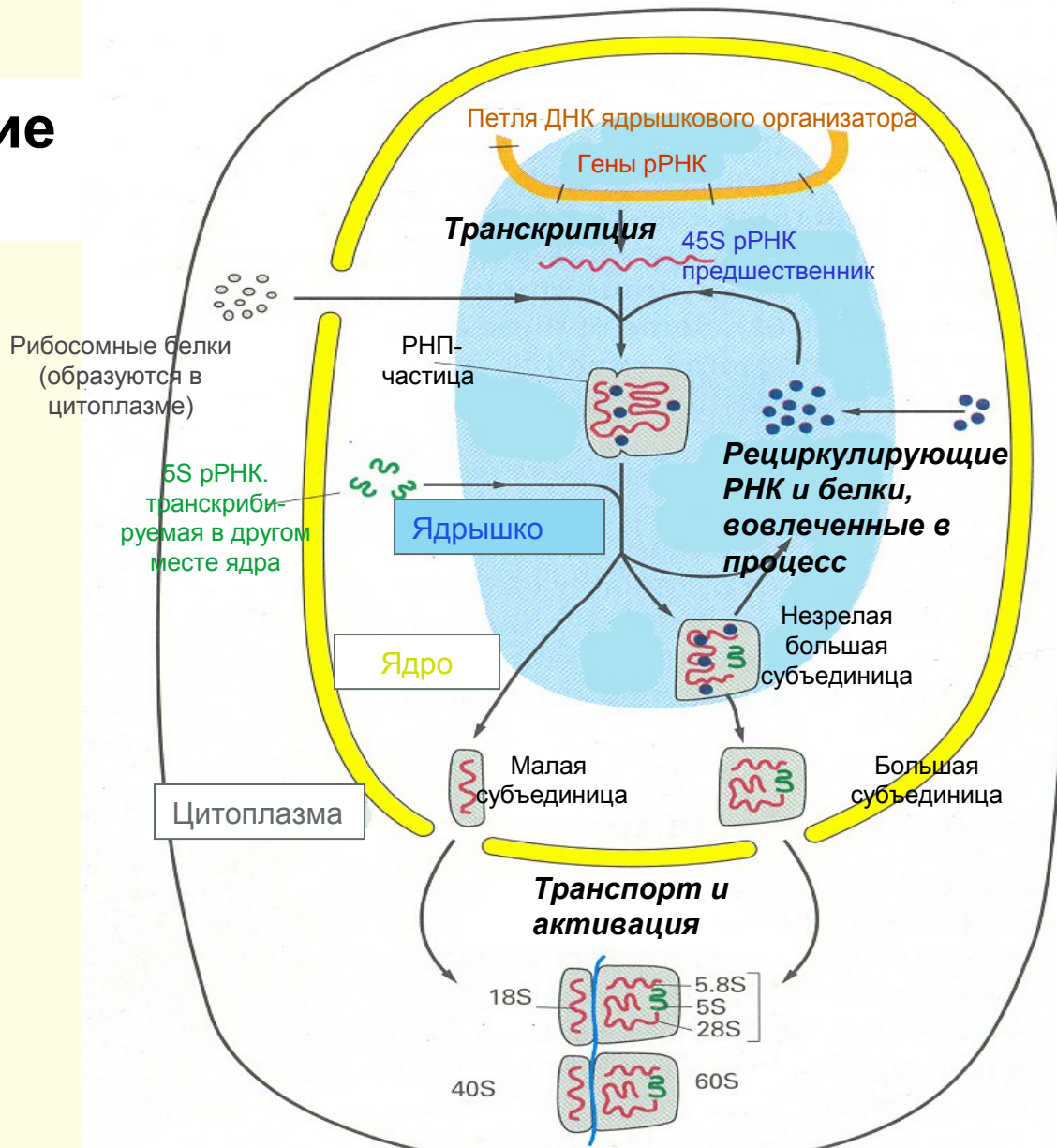
М.м. 1 400 000

18S рРНК

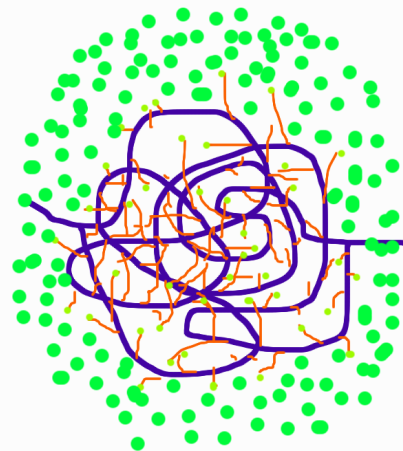
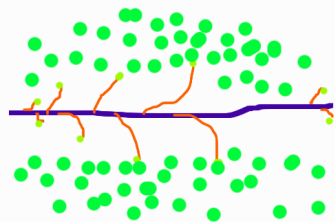
1 900 н.

33 полипептида

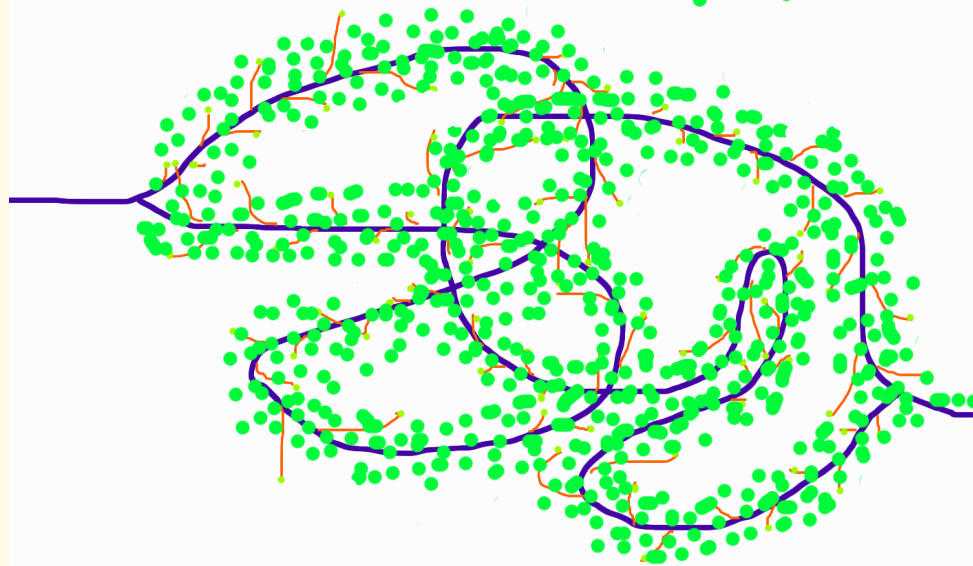
Образование рибосом



РНК
ДНК
РНП



«Кора-
сердцевина»

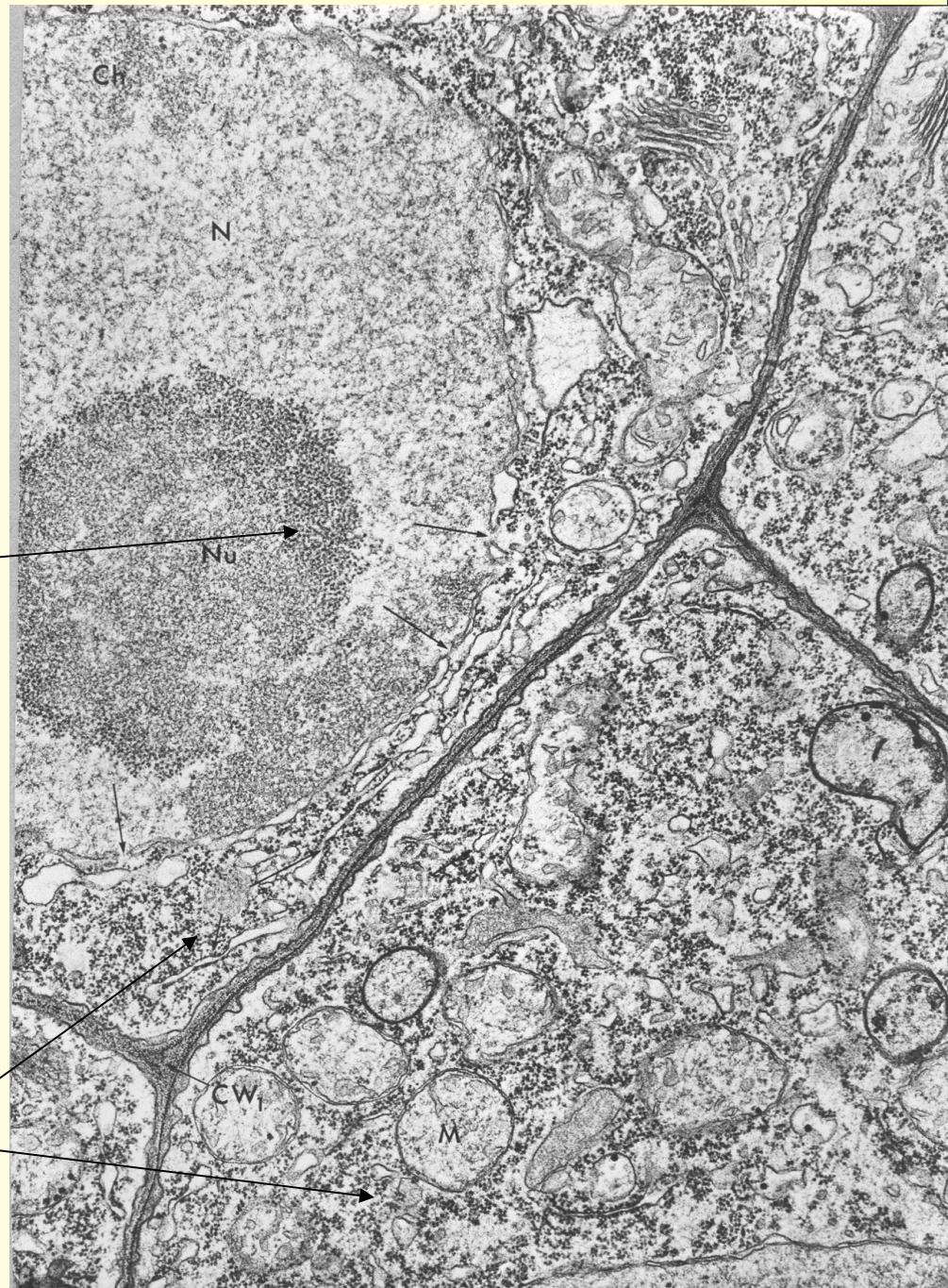


Нуклеоло-
немное
ядрышко

Организация
ядрышка по типу
«сердцевина-кора»

Незрелые
субъединицы
рибосом

Функционирующие
рибосомы



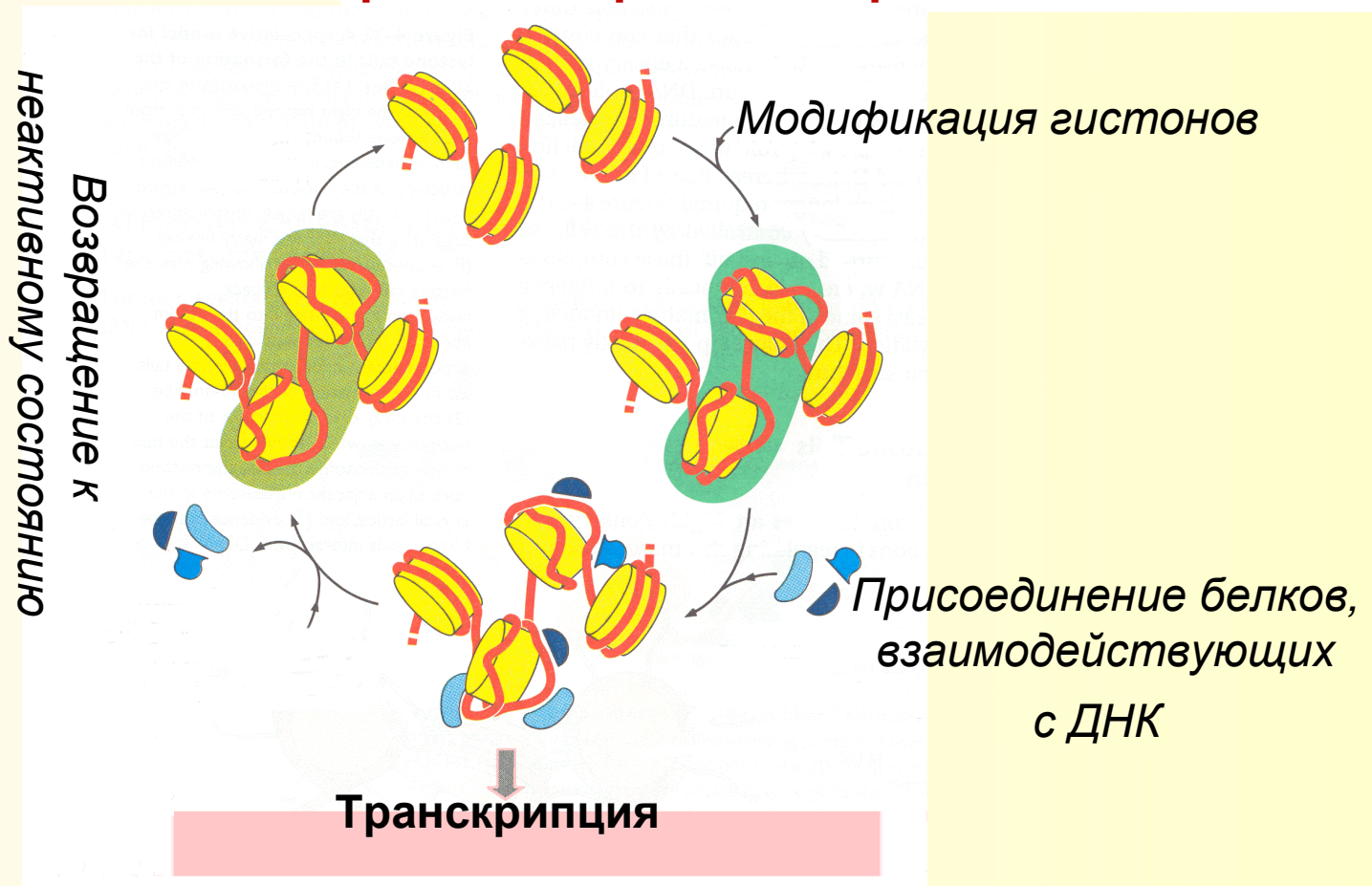
Хроматин во время транскрипции

Упаковка хроматина разрушается:

-хромомер превращается в петлю

-удаляется гистон H1

-гистоновая глобула разрушается или частично разъединяется, это называется **ремоделирование хроматина**



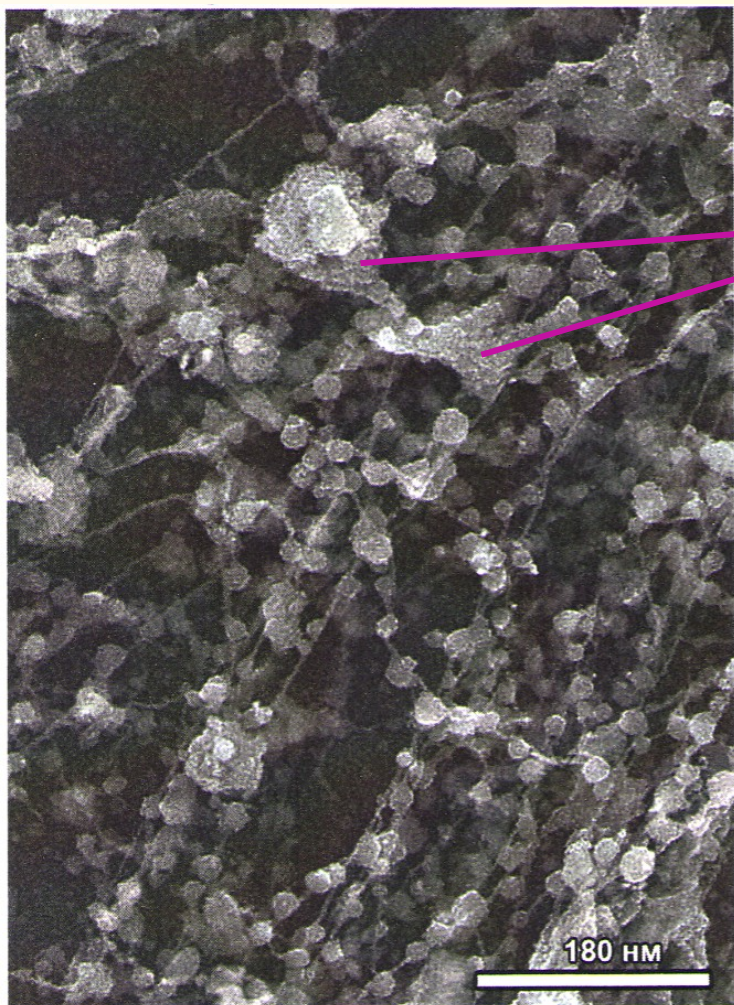
Изменения хроматина во время транскрипции

Упаковка хроматина разрушается:
-хромомер превращается в петлю
-удаляется гистон H1
-гистоновый октамер разрушается или частично разъединяется

Посттранскрипционные изменения РНК на примере иРНК

1. Кэпирование - пришивание к 5'-концу 7-метилгуанозинтрифосфата + специального кэпирующего белка
2. Наматывание синтезированной иРНК на информиферы - белковые глобулы, состоящие из белков-информатинов
3. Присоединение к 3'-концу синтезированной РНК 100-200 остатков адениловой кислоты с помощью поли-А-полимеразы (полиаденилирование). **Пришивание специальных, в том числе и транспортирующих белков**
4. Созревание РНК - превращение гРНК в иРНК - **вырезание интронов, сшивание экзонов (сплайсинг)**. Вырезание осуществляется с помощью малых ядерных РНК в составе РНП-комплекса-**сплайсеосомы**

Хроматин во время транскрипции

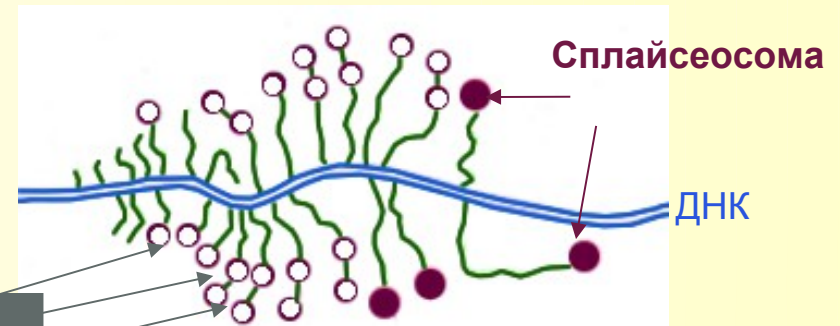
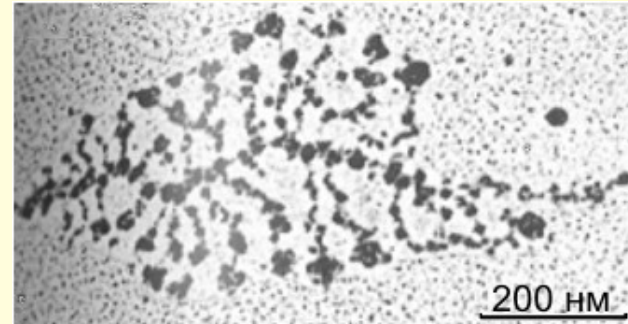


Гранулы РНП

Из работы: К.Н. Морозова, А.А. Струнов, Е.В.Киселева, 2011

Малые ядерные РНК U1-U7 существуют в ядре в виде нуклеопротеидов: **snRNP's**;

snRNP's вместе с другими белками и **информоферами** образуют **сплайсеосому**, которая организует сплайсинг и обеспечивает внутриядерный транспорт иРНК



Информоферы
глобулы: 20 нм, 30S
30-40 белков-
информатинов

Структуры интерфазного ядра:

Ядрышки - место синтеза и созревания рРНК (18-, 28- и 5,8S), сборки субъединиц рибосом.

Место сборки теломеразы.

Место синтеза и процессинга тРНК и 7S РНК SRP.

...?

Информомеры и сплайсосомы

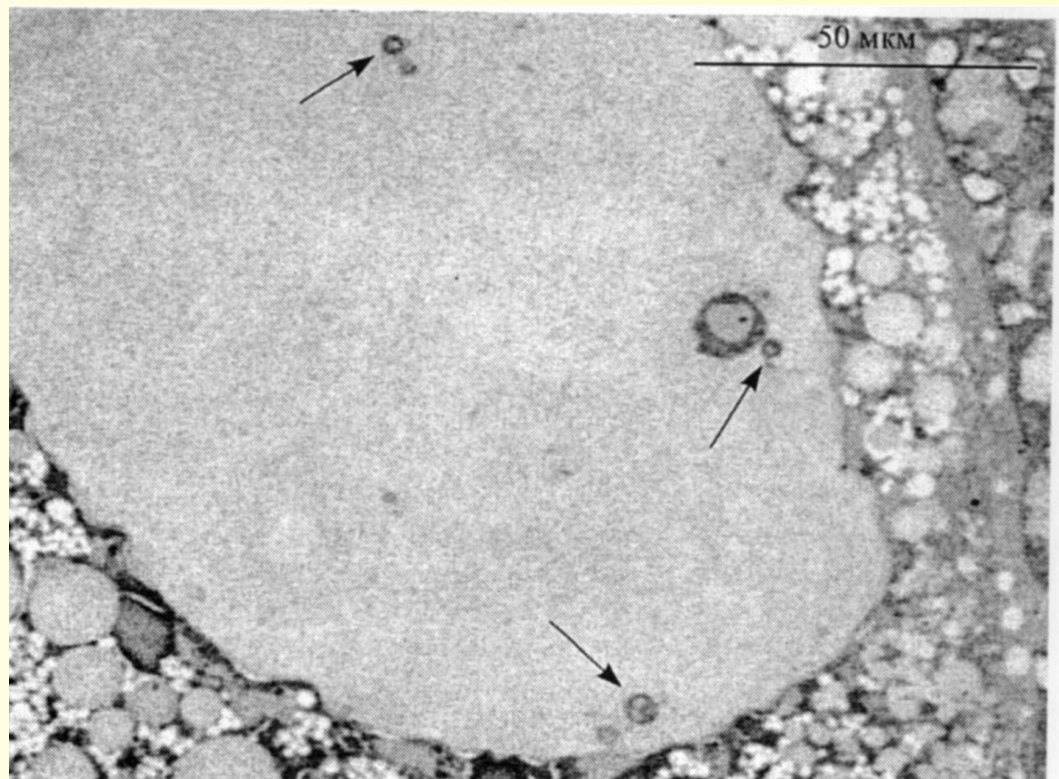
Спеклы — хранение факторов сплайсинга.

Тельца Кахала - биогенез малых ядерных и ядрышковых РНП (snRNP и snoRNP).

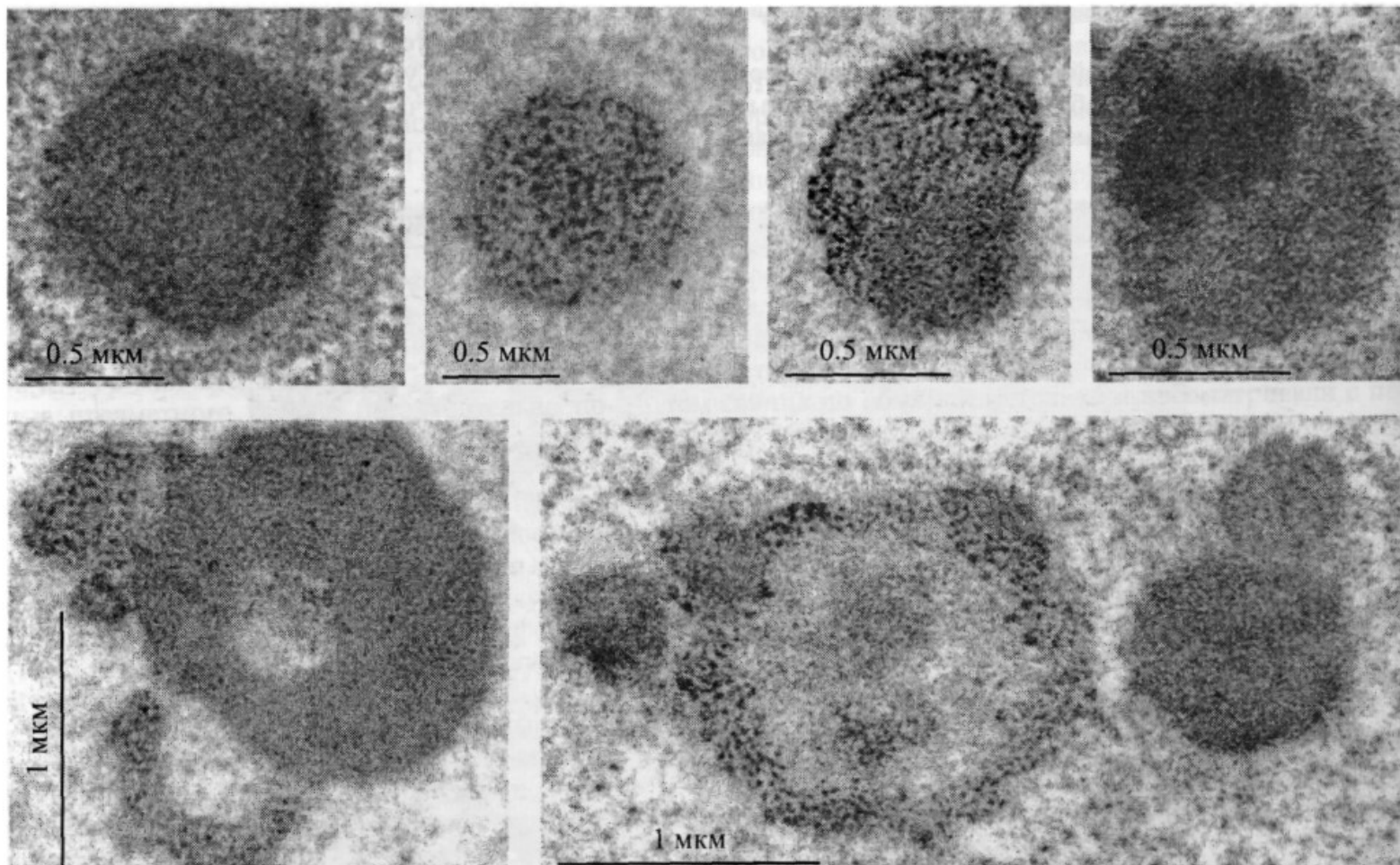
Тельца Джемми (GEM), возможно, те же функции.

Тельца РМЛ (ПроМиелоцитарный Лейкоз) — репликация и транскрипция вирусных геномов в зараженных клетках.

Тельца Кахала



Тельца Кахала



Тельца Кахала

Содержат:- малые ядерные РНК U1, U2, U4, U5, U6

- белки, необходимые для процессинга пре-РНК)
- все три РНК-полимеразы
- факторы транскрипции, процессинга и сплайсинга

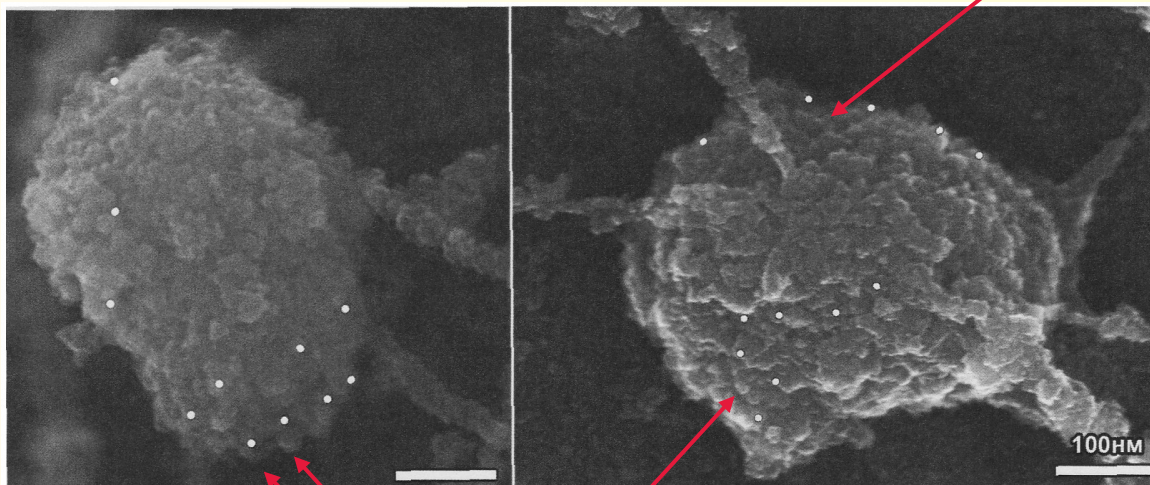
В тельцах Кахала происходит предварительная сборка всех участников транскрипции, процессинга и сплайсинга в течение нескольких часов

Уже из телец Кахала они расходятся к месту назначения

Пол1-транскрипсосомы - в ядрышко

Пол2-транскрипсосомы - в район транскрипции пре-иРНК

Пол3-транскрипсосомы - к генам-мишеням Пол3



Иммуногистохимическое выявление белков
сплайсинга в тельцах Кахала