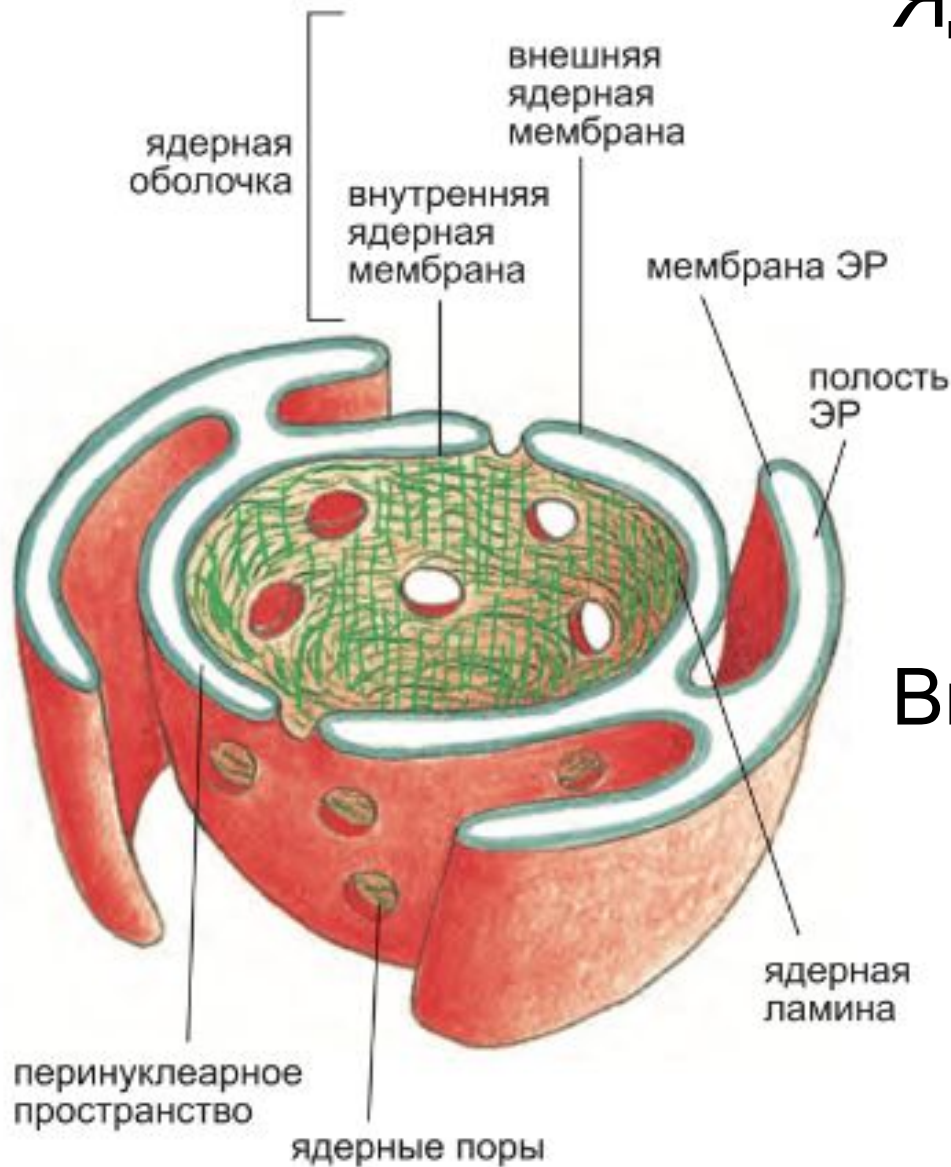


**Ядро: строение и работа.  
Молекулярные  
процессы в ядре.**

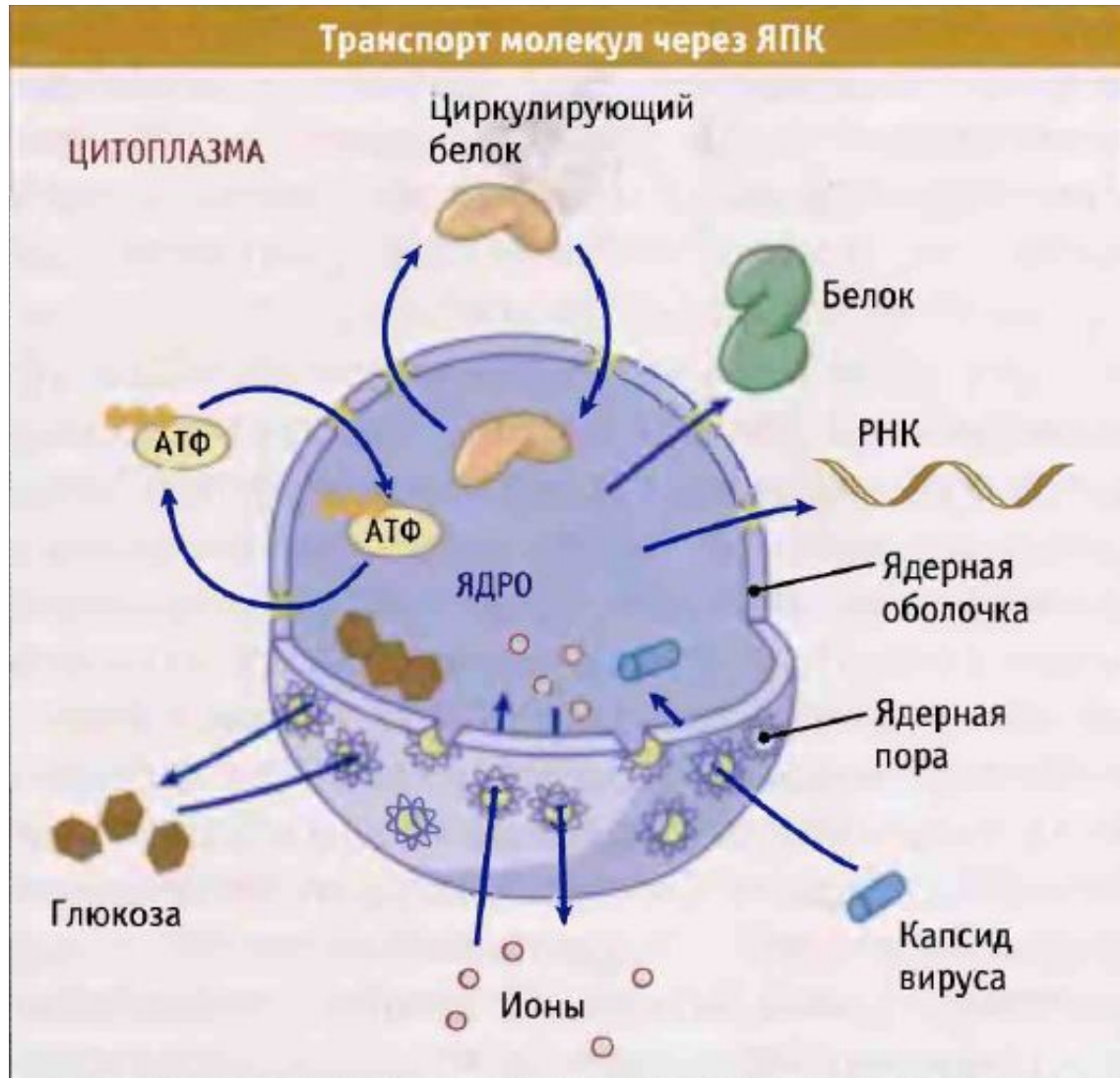
# Строение ядра



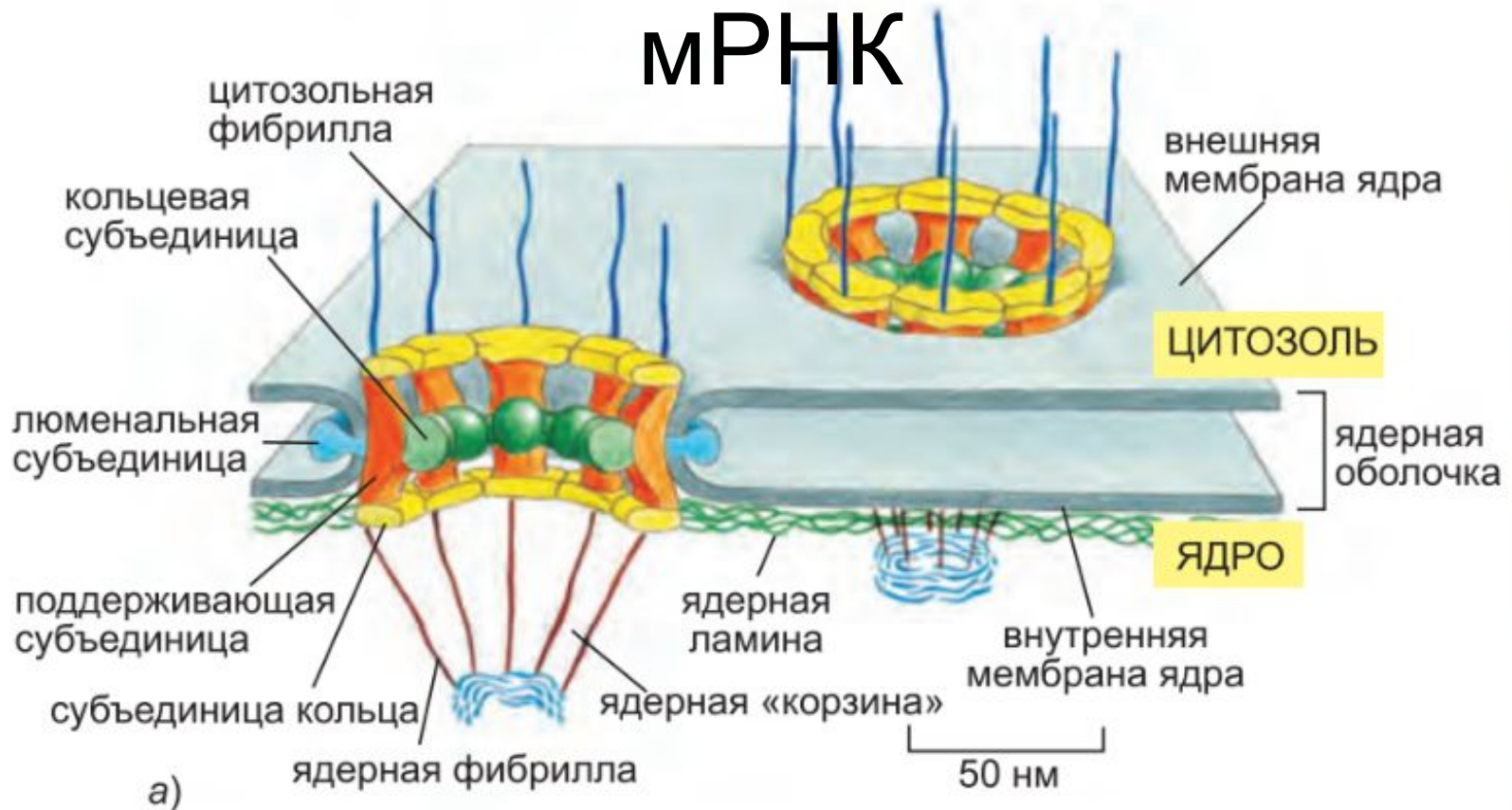
Ядро окружено двумя мембранами, соединенными с мембраной ЭПР и пронизанными порами. Под внутренней мембраной лежит ядерная ламина.

Внутренняя и внешняя мембрана несут разный набор белков.

# Транспорт из и в ядро

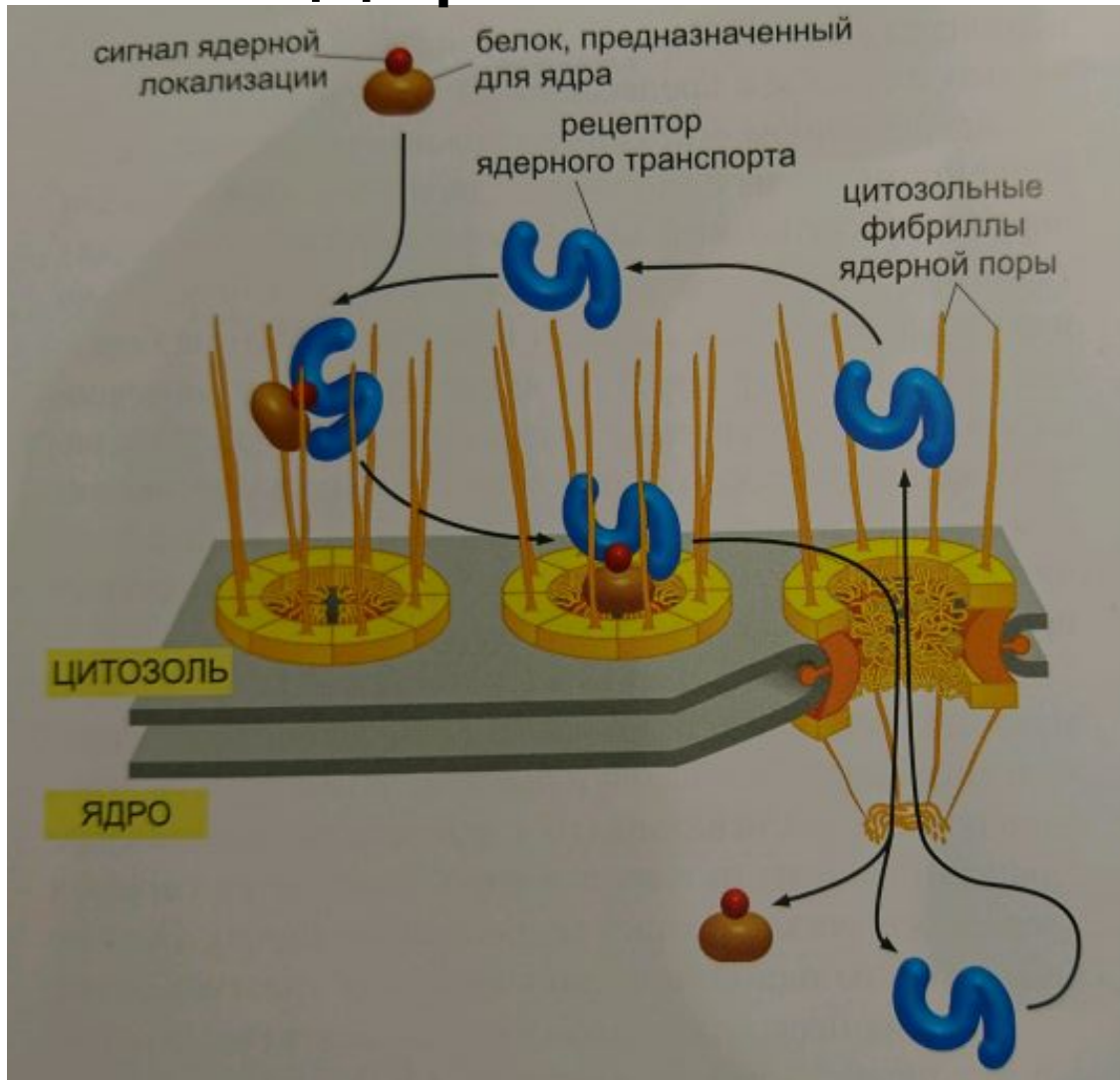


# Ядерные поры контролируют качество в синтезе и процессинге мРНК



Ядерные поры состоят примерно из 30 разных белков. В них есть водный канал, через который свободно проходит вода и растворенные в ней небольшие молекулы. Через поры в цитозоль выходят молекулы РНК, закончившие процессинг и субъединицы рибосом.

# Белки, идущие в ядро имеют особые «ключи» - последовательности ядерной локализации NLS

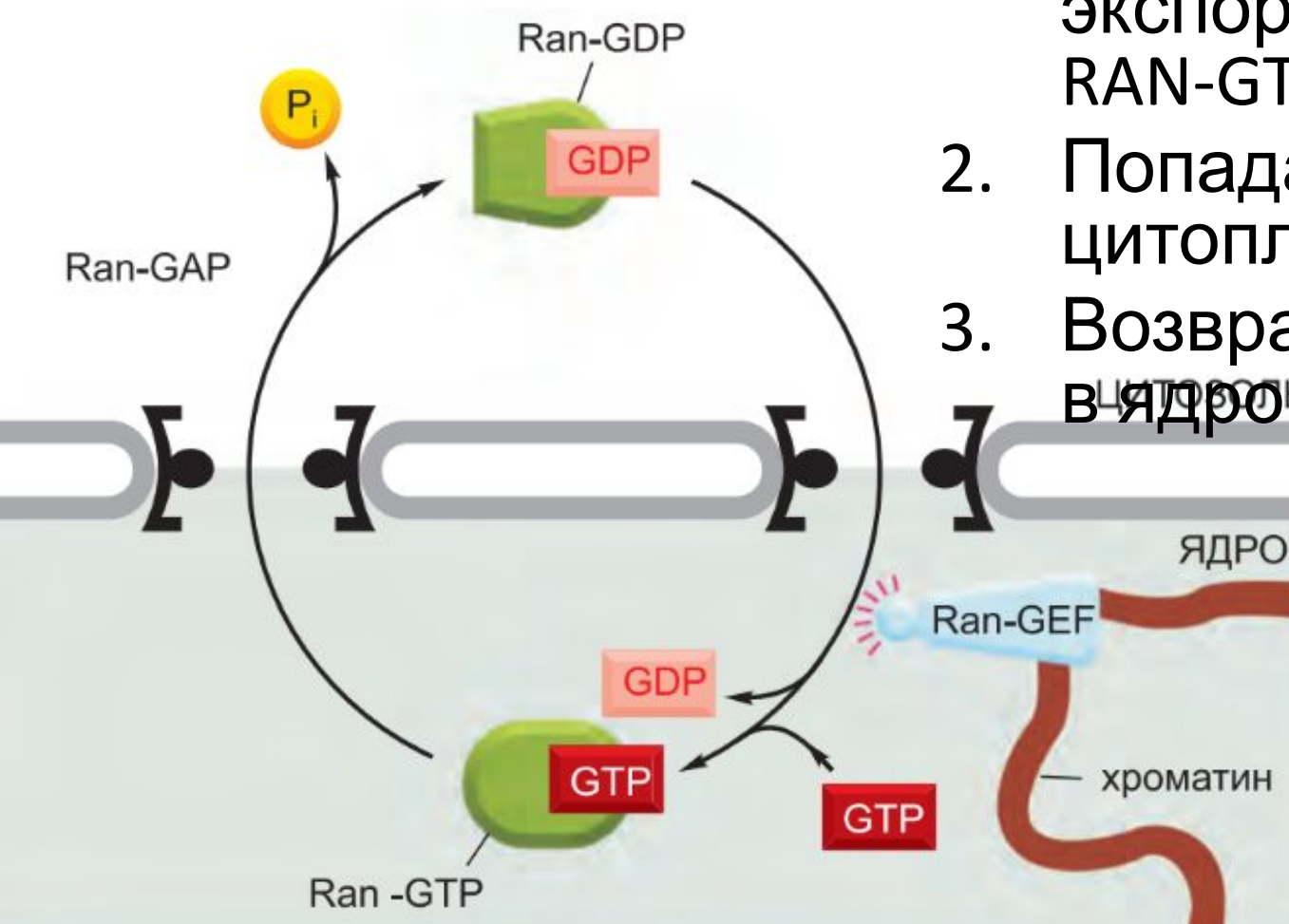


# Этапы импорта:

1. Связывание NLS с гетеродимером рецептора в цитоплазме
2. Закрепление на филламентах порового комплекса
3. Связывание с белком RAN (ГТФ-аза)
4. Прохождение через ядерный поровый комплекс
5. Возвращение элементов порового комплекса и транспортных белков в цитоплазму

# Экспорт из белка в цитоплазму идет за счет прикрепления «ключа»-последовательности - NES

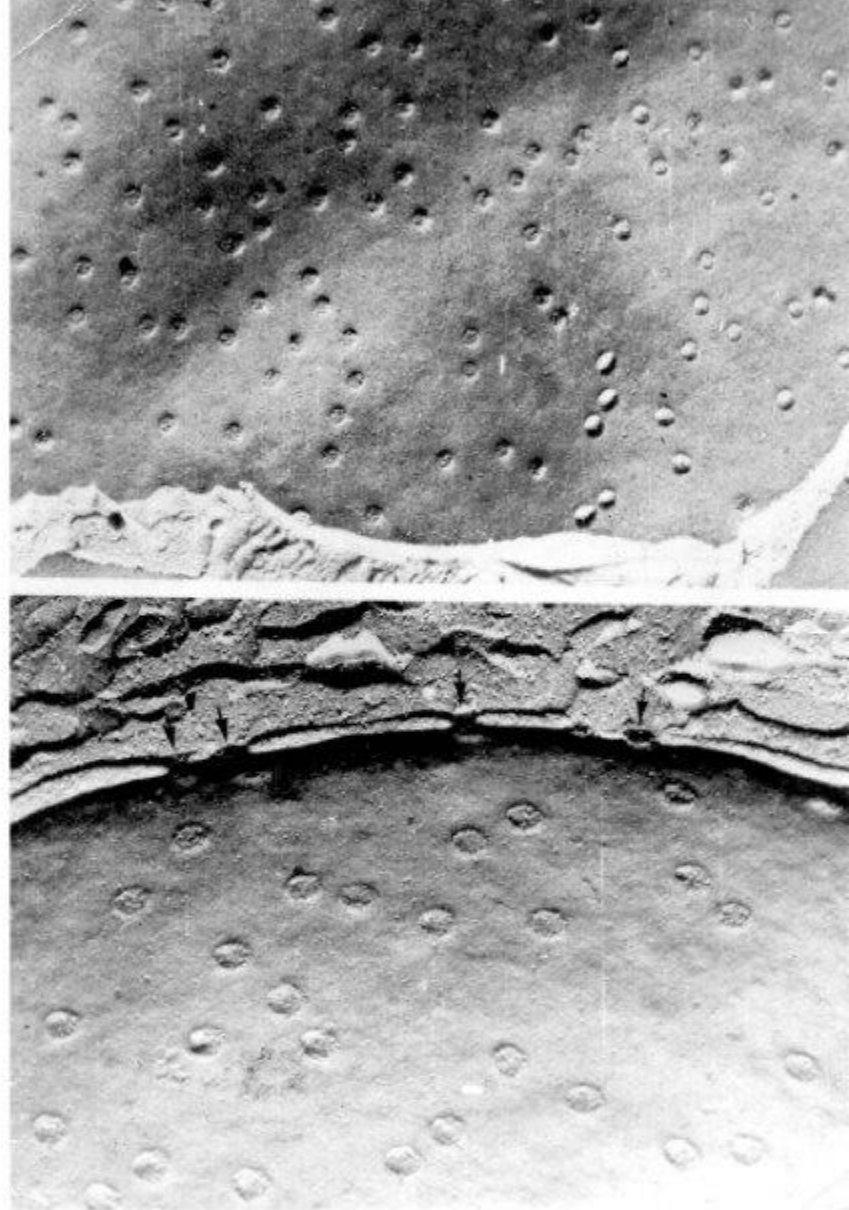
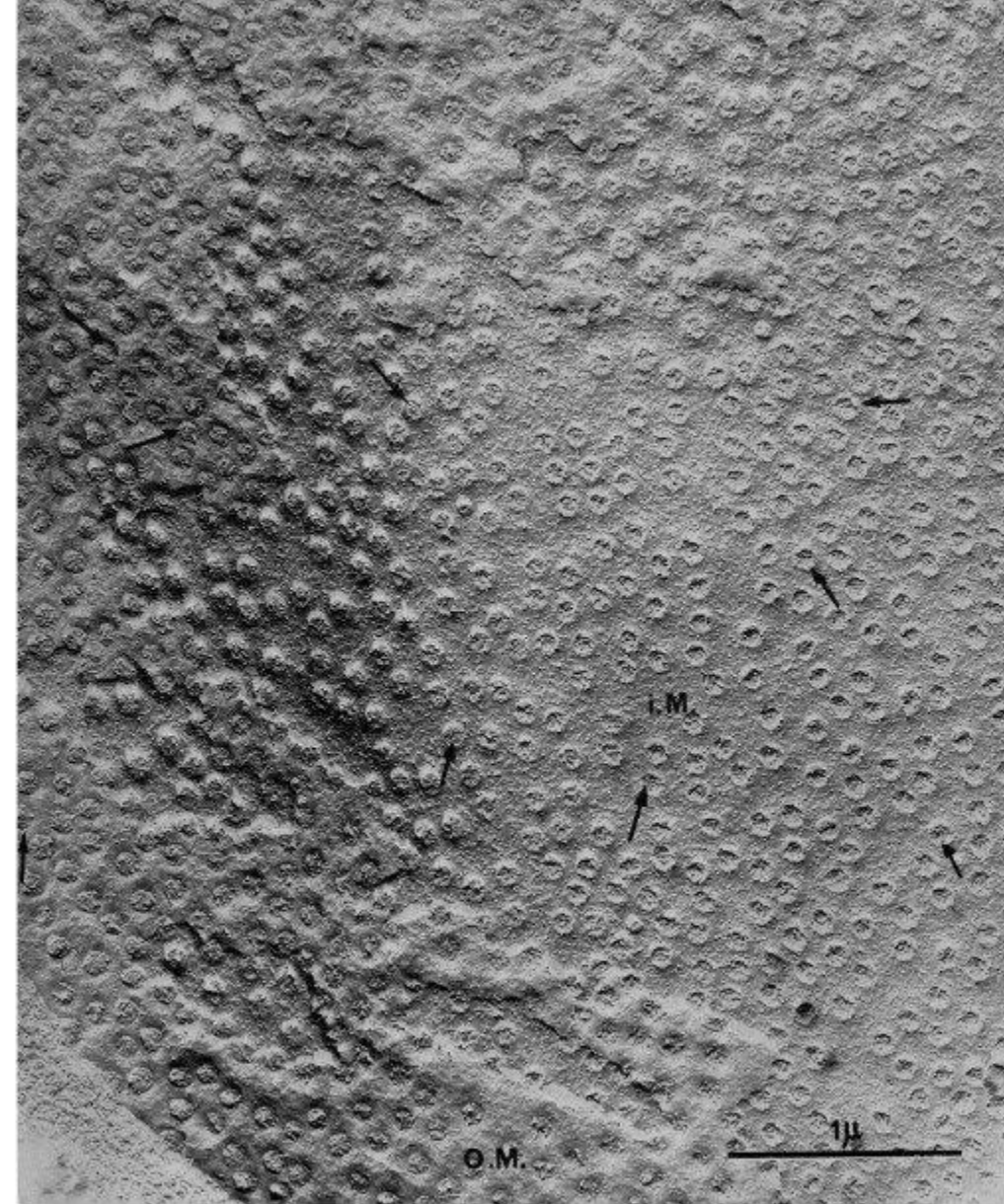
1. Ассоциация белка с экспортином и RAN-GTP
2. Попадание в цитоплазму
3. Возвращение RAN-GTP в ядро



**Ядерные поры**

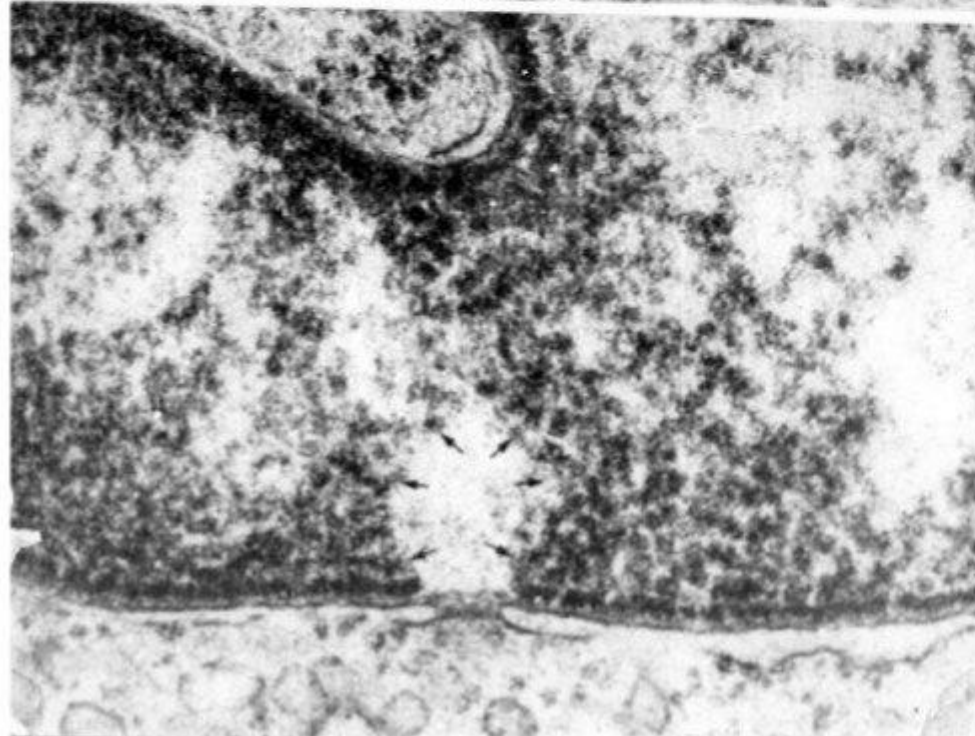
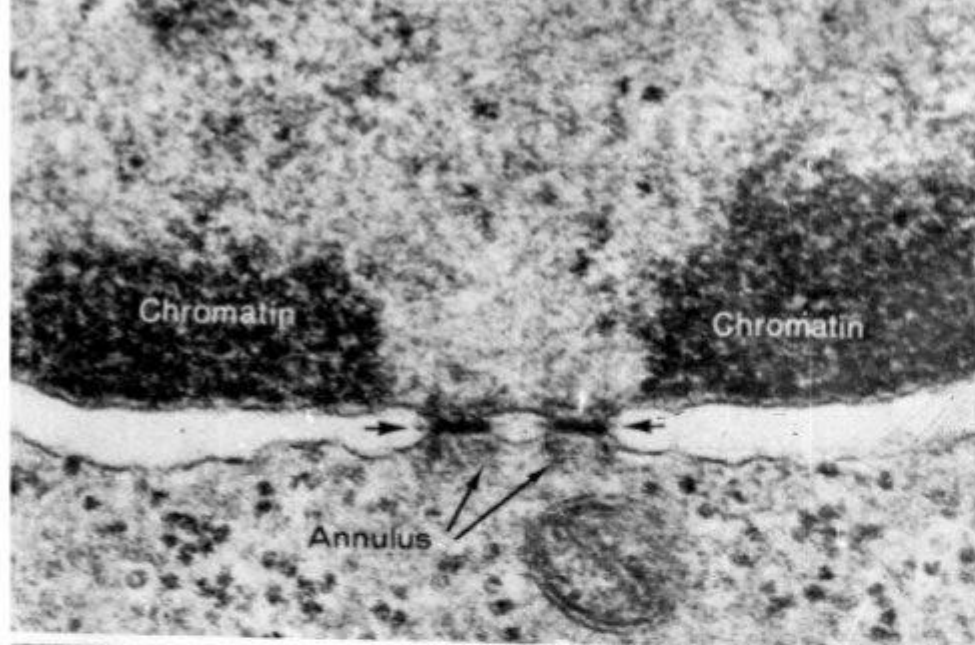






Ядерные поры.

Метод замораживания- скалывания.



Ядерные поры.  
Поперечный срез.

Вид со стороны ядра



Корзины

Вид со стороны цитоплазмы



Фибриллы

100 нм

# Под внутренней мембраной лежит ламина

Лamina сформирована промежуточными филаментами. Она поддерживает ядерную мембрану и контактирует с хроматином и ядерными РНК.

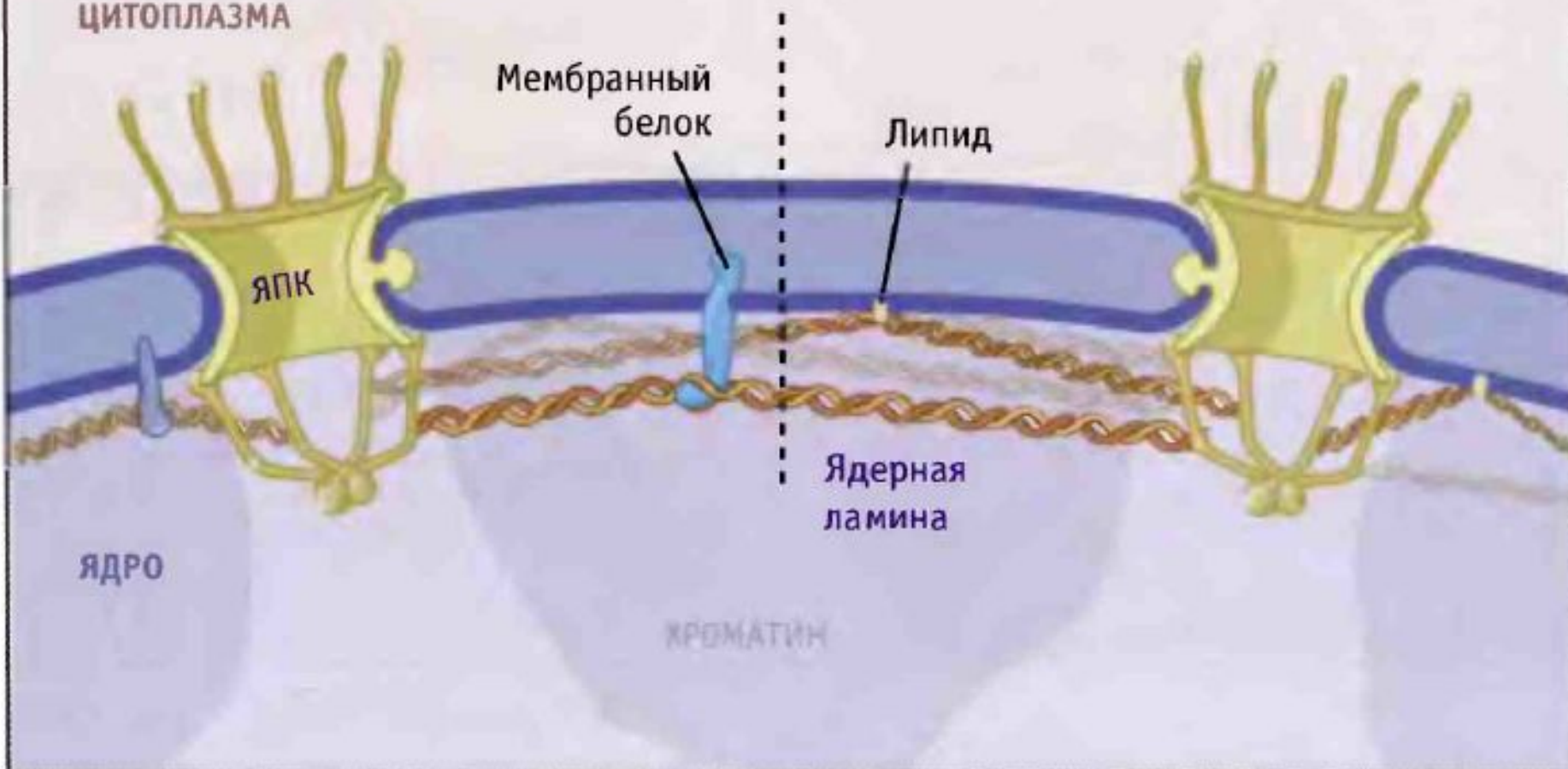


## Ядерная ламина связана с внутренней ядерной мембраной и ЯПК

ЛАМИНА ПРИКРЕПЛЯЕТСЯ  
ЗА СЧЕТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
С МЕМБРАННЫМИ БЕЛКАМИ

ЛАМИНА ПРИКРЕПЛЯЕТСЯ  
ЗА СЧЕТ МОДИФИКАЦИИ  
И ВСТАВКИ ЛИПИДОВ

ЦИТОПЛАЗМА



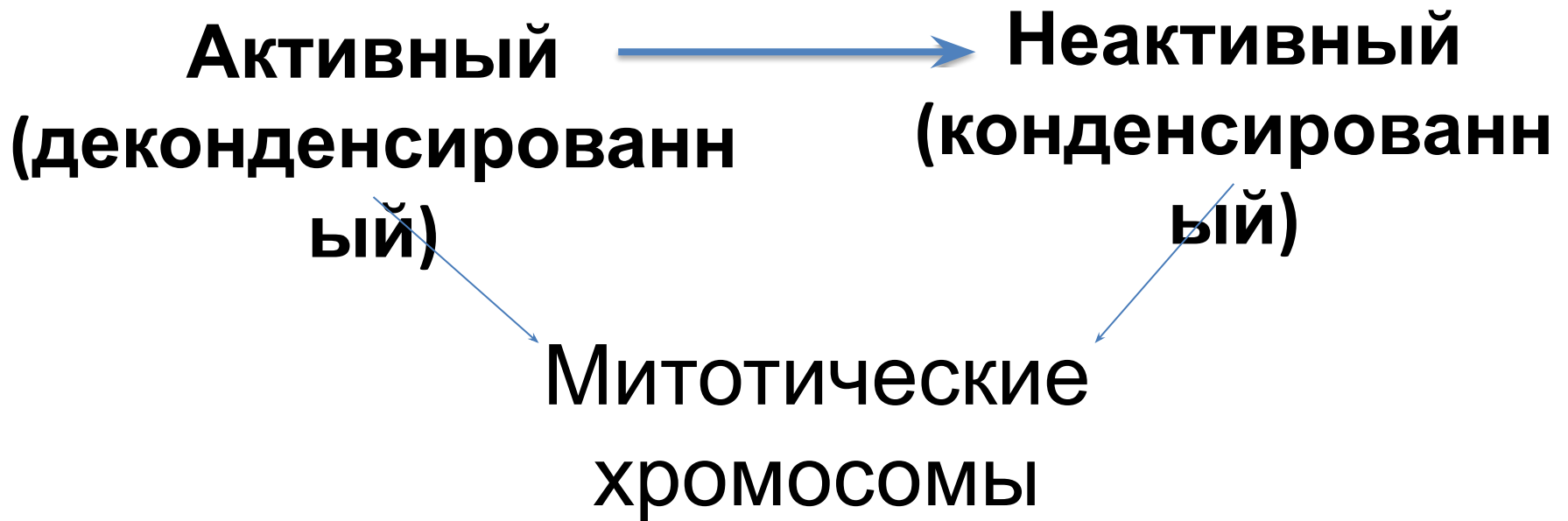
ЯДРО

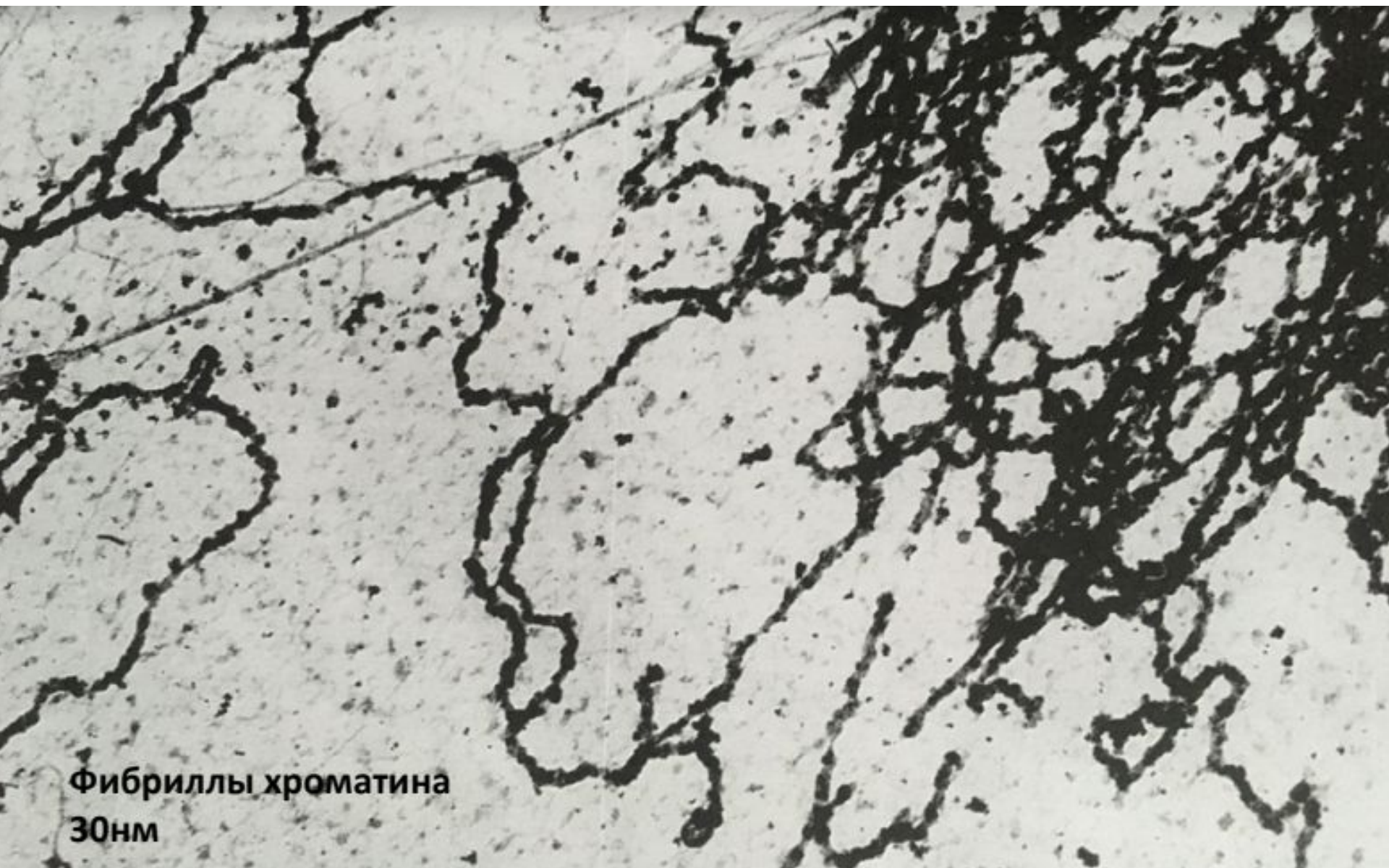
ХРОМАТИН

# Внутренний состав ядра:

- Хроматин
- Ядрышко
- Ядерный белковый матрикс
- Кариоплазма

**Хроматин** - вещество хромосом,  
представляющее собой  
комплекс ДНК, РНК и белков.



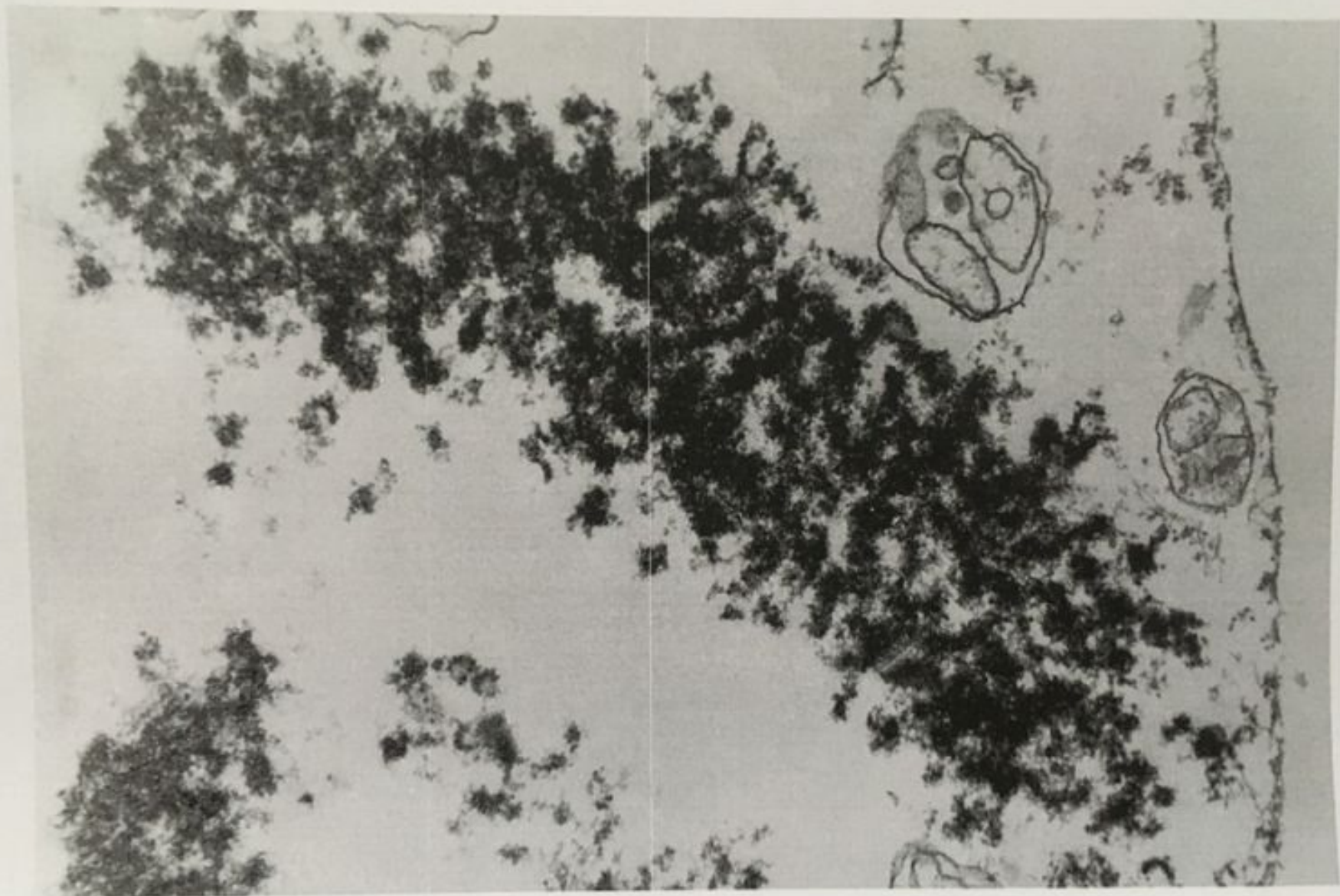


Фибриллы хроматина  
30nm



# Элементы хромонемы в анафазных хромосомах





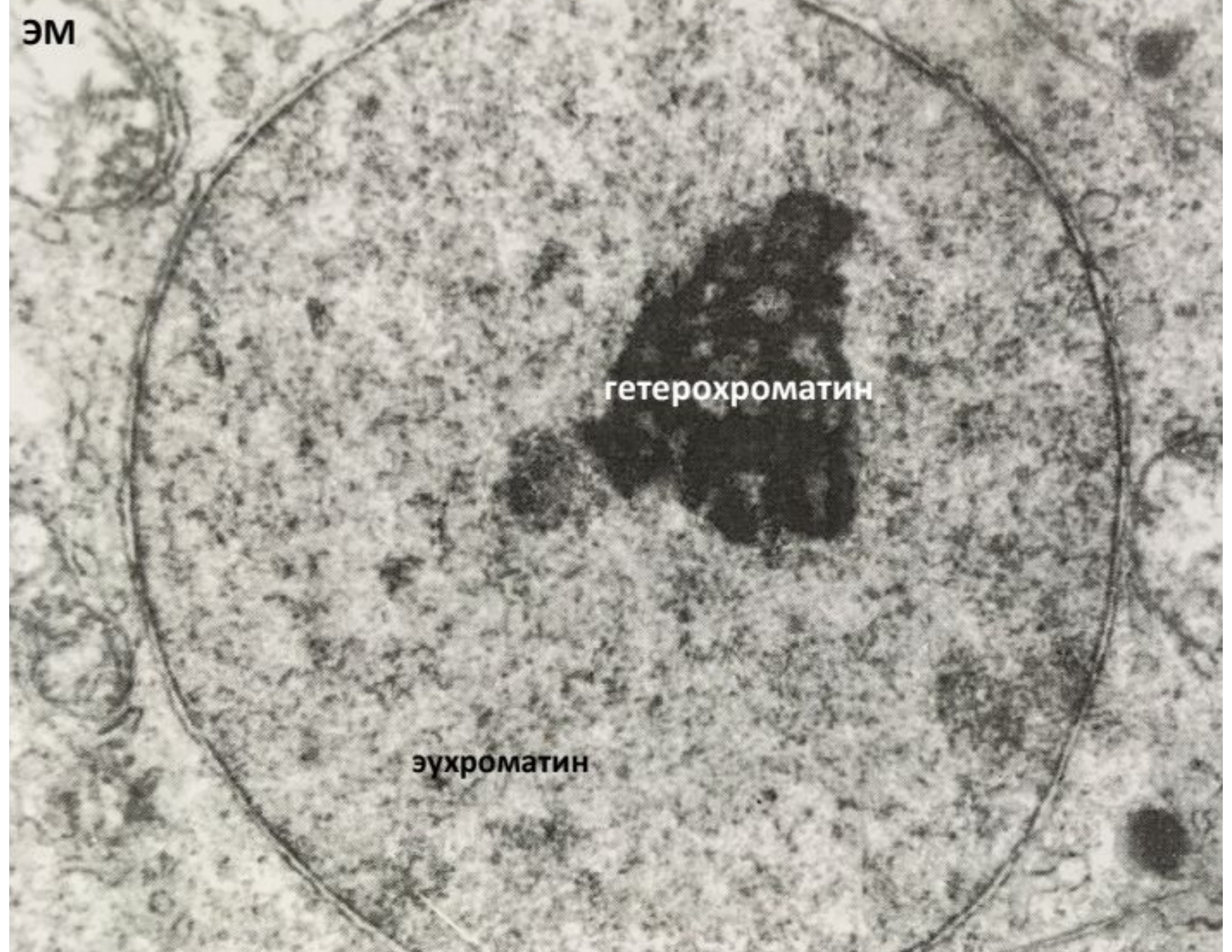
Элементы хромонемы в деконденсированных хромосомах

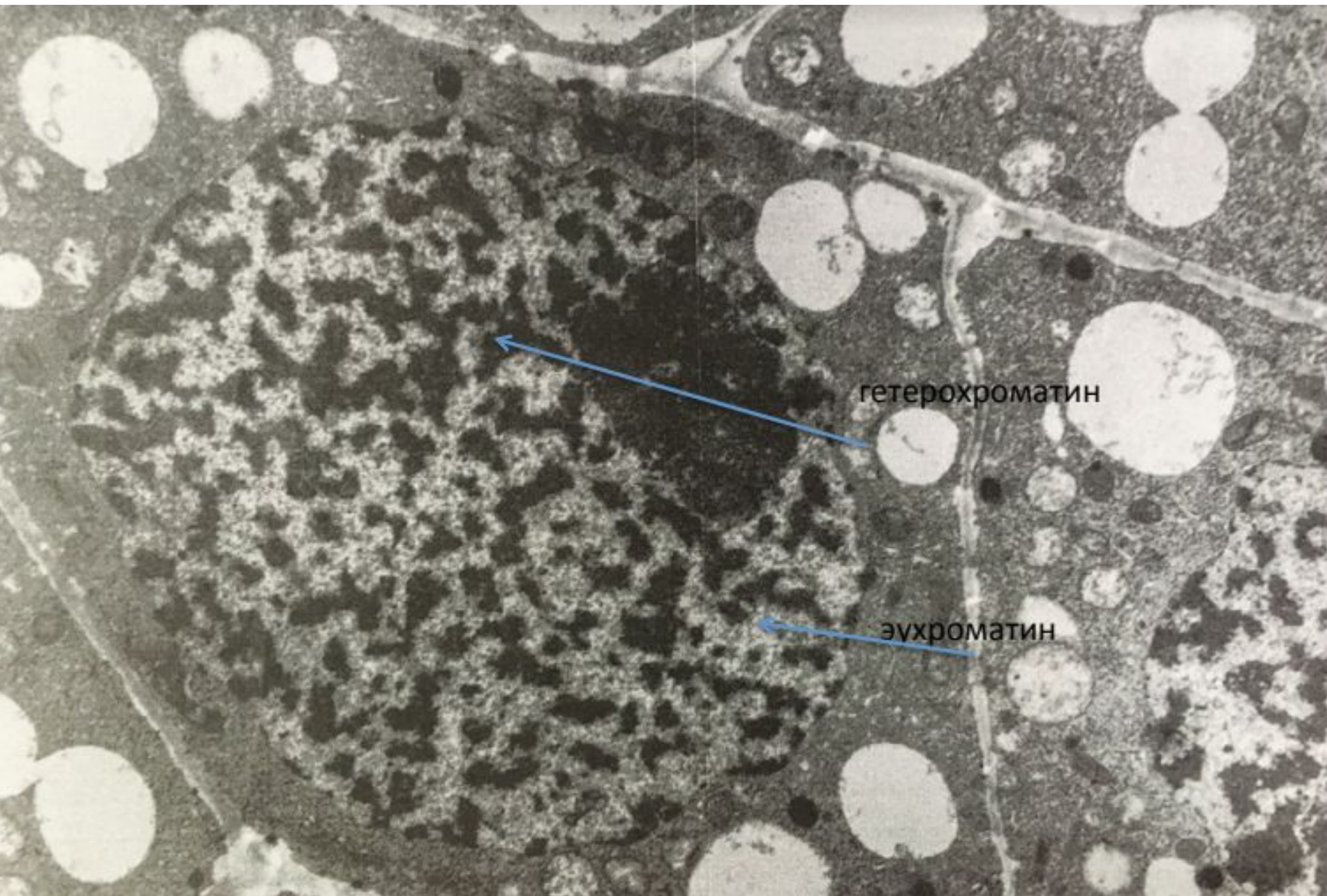
Свойства	Эухроматин		Гетерохроматин
	<b>Активные</b>	<b>Неактивный (факульт. Гетерохроматин)</b>	
<b>Структура</b>	Диффузный	Конденсированный	Конденсированный
<b>Синтез РНК</b>	+	-	-
<b>Синтез ДНК</b>	+	+	+
<b>Локализация</b>	Плечи хромосом	Плечи хромосом	Центромера, теломеры
<b>Тип нуклеотидной последовательности</b>	Уникальные, умеренные повторы	Уникальные, умеренные повторы	Высокоповторяющиеся, сателлитная ДНК

ЭМ

гетерохроматин

эухроматин



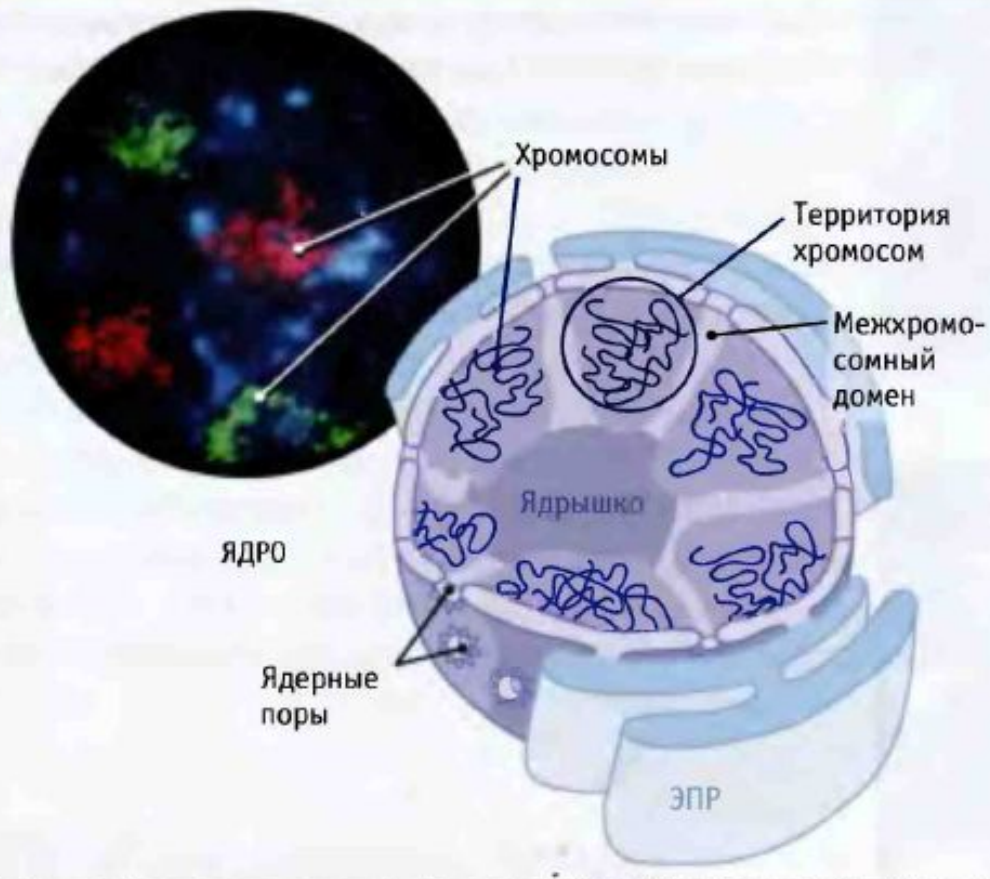


гетерохроматин

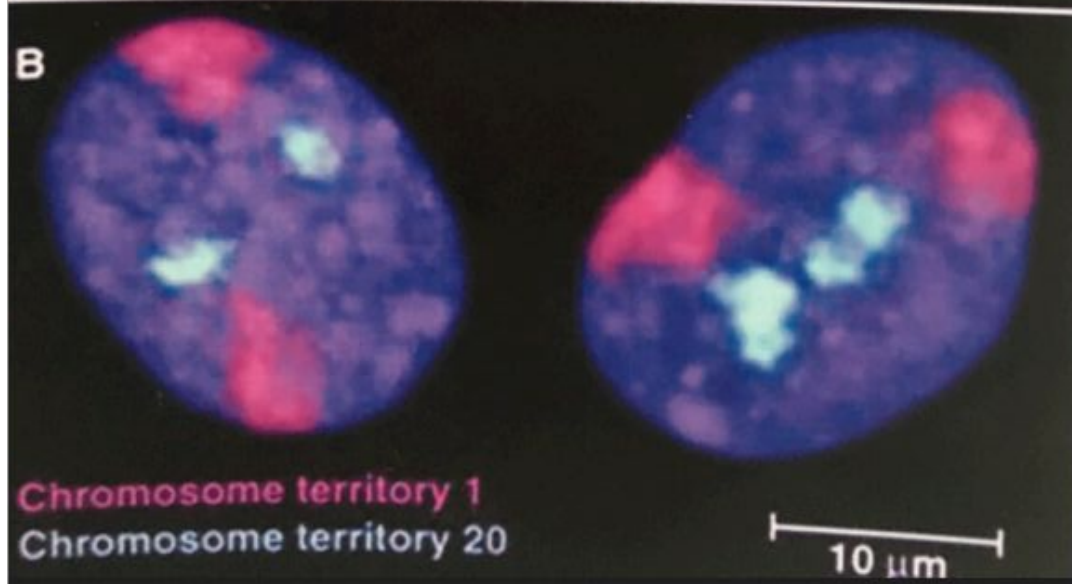
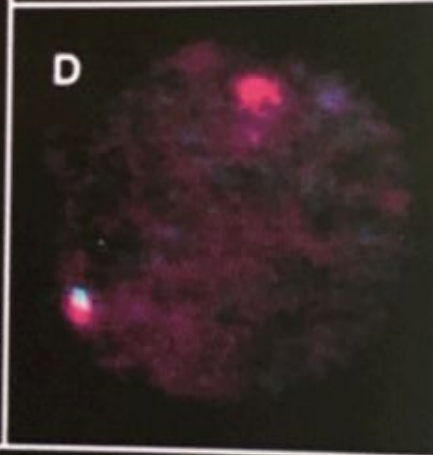
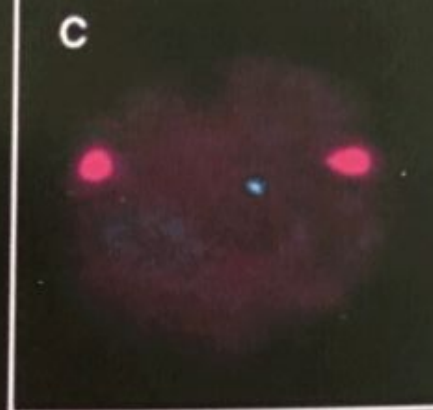
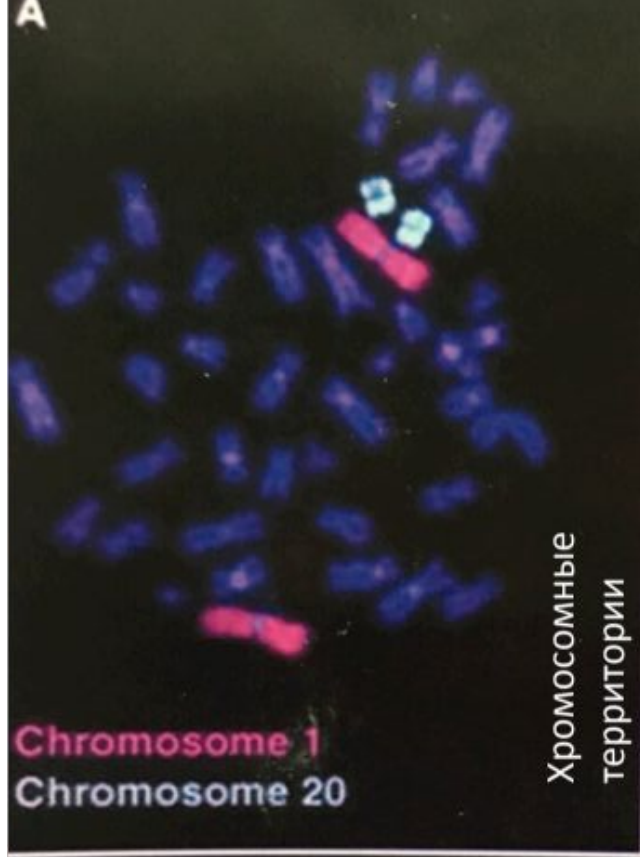
эухроматин

# Хромосомы в ядре находятся на своих местах – хромосомных территориях

В ядре находятся области хромосом



Хроматин не заполняет все ядро. Существуют области его преимущественной локализации – хромосомные домены, разделенные межхромосомные домены.



# Химический состав хроматина

- 39% ДНК
- У уникальными последовательностями (1)
- С умеренно-повторяющимися последовательностями (2-100)
- С высоко повторяющимися последовательностями (100-1000000)
- Сателлитная ДНК

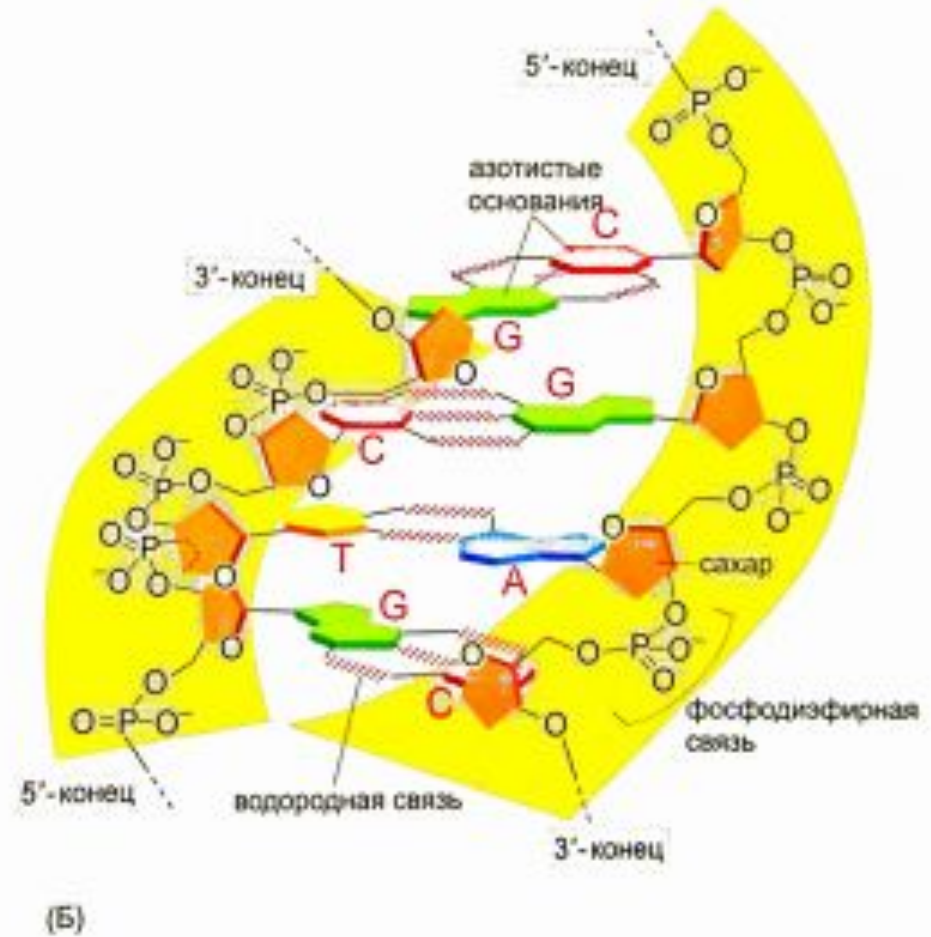
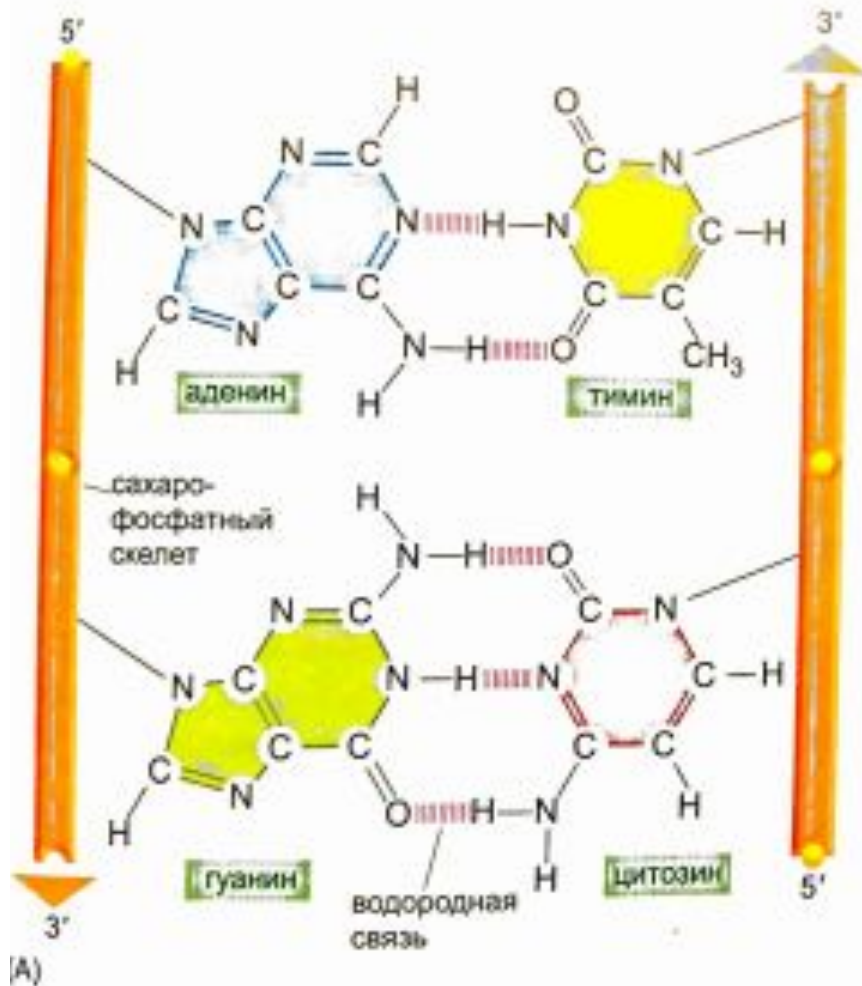


- 1% РНК
  - иРНК (код. Белки)
  - рРНК (субъединицы рибосом, катализ синтеза белка)
  - тРНК (переносят АК)
  - мяРНК (сплайсин пре-РНК)
  - мякРНК (модификация рРНК)
  - микроРНК (регулирует экспрессию блокировкой трансляцию отдельных мРНК)
  - Интерферирующие РНК (управляют деградацией отдельных мРНК и образованием компактных хроматиновых структур)

- 60% - БЕЛКИ

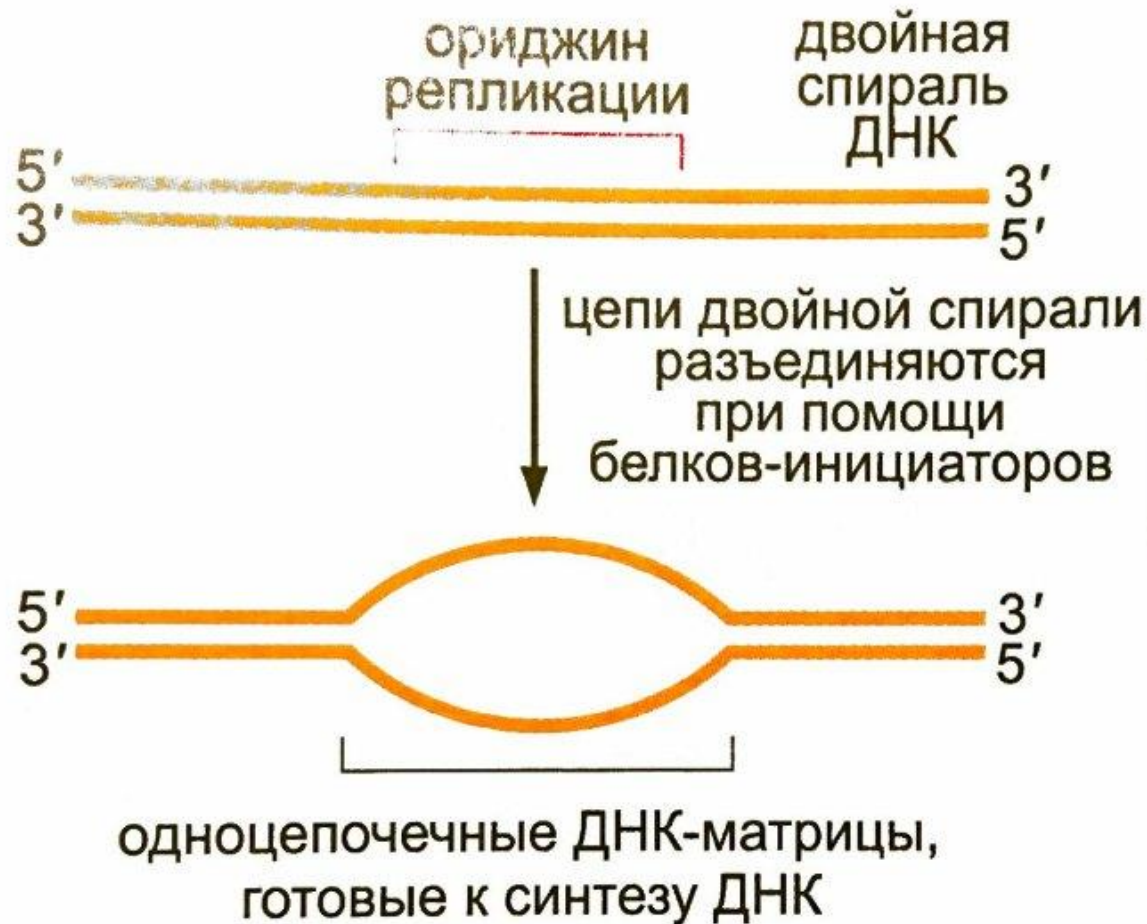
- Основные белки – гистоны: H1, H5 (в эритроцитах рептилий и птиц), H2a, H2b (обогащены лизином), H3, H4 (обогащены аргинином)
- Негистоновые белки (более 450) – ферменты, полимеразы, модификаторы ДНК и гистонов)
- HMG (*high-mobility group*)
- MAR

# Двойная спираль ДНК

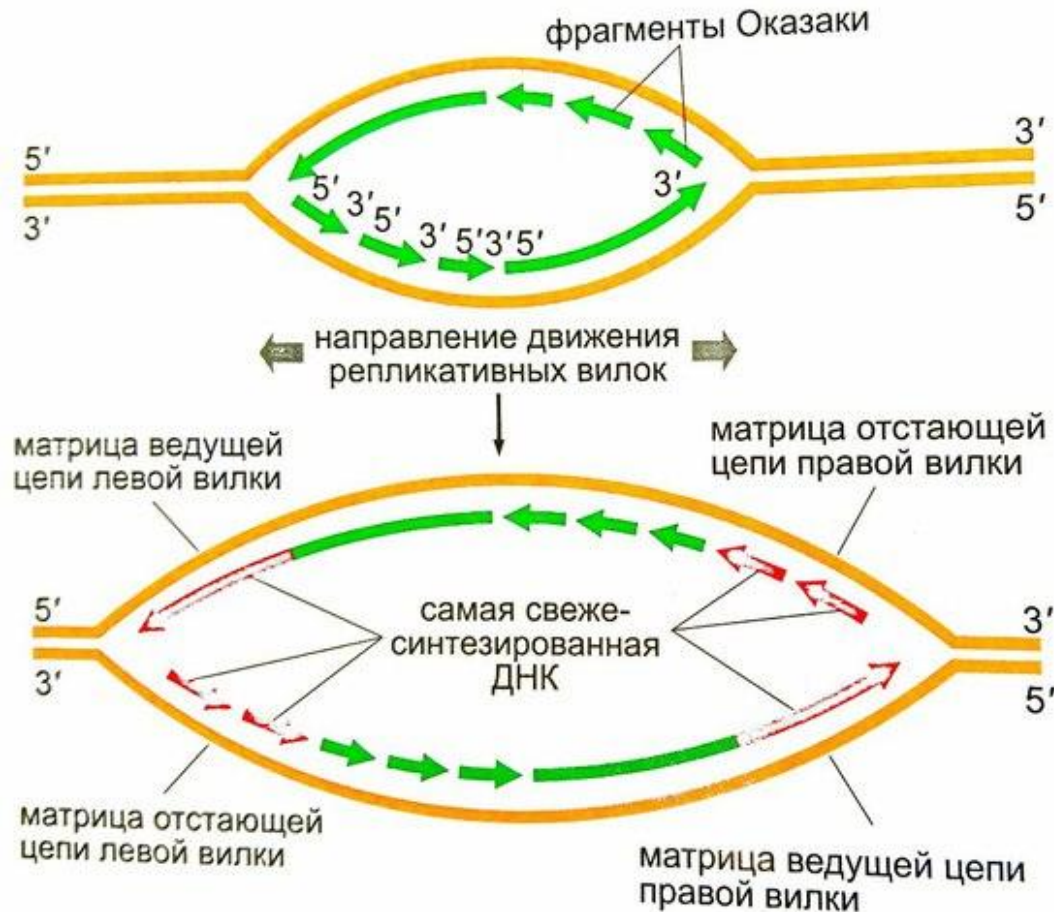


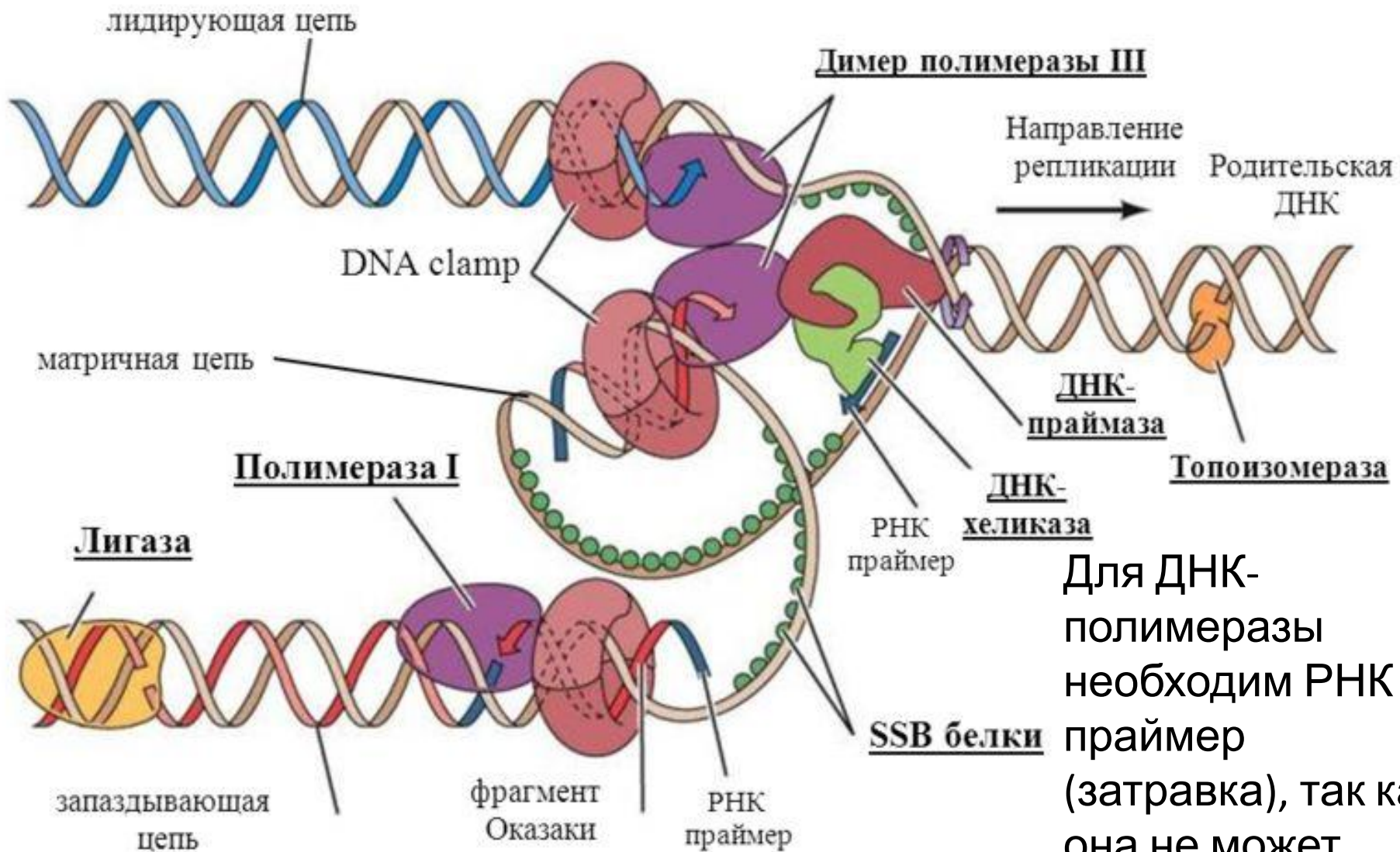
# Репликация ДНК

- Происходит перед митотическим и первым мейотическим делением.
- Синтез начинается в местах с определенными последовательностями - ориджинах



- В процессе репликации формируется репликативная вилка. Они образуются по обе стороны ориджина.
- Главную роль в репликации выполняет ДНК-полимераза, добавляющая нуклеотиды к 3' концу (идет от 5' к 3')
- Одна цепь синтезируется полностью – лидирующая, другая фрагментарно – отстающая – Фрагменты Оказаки





Для ДНК-полимеразы необходим РНК праймер (затравка), так как она не может синтезировать ДНК с нуля.

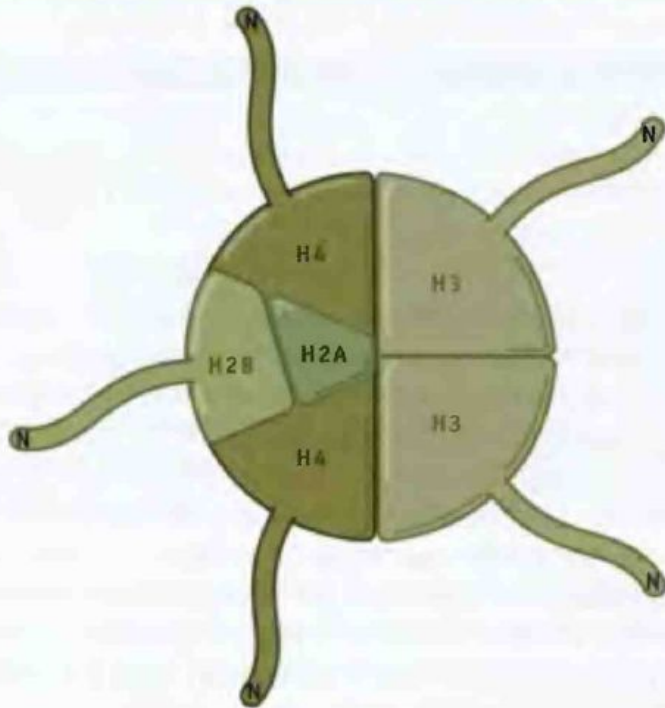
- Хеликаза – разворачивает цепь ДНК
- SSB- белки удерживают цепь, чтобы она не сворачивалась с другой
- Скользящий зажим прикрепляет ДНК полимеразу к матричной цепи

# ДНК в хромосомах

## конденсирована

- Гистоны отвечают за образование нуклеосом

Расположение гистоновых «хвостов» точно не известно



В составе нуклеосомы находится 200 пн ДНК и коровые гистоны



200 пн ДНК = 130 кДа  
Длина = 67 нм

КОРОВЫЕ ГИСТОНЫ



H2A × 2 = 28 кДа



H2B × 2 = 28 кДа



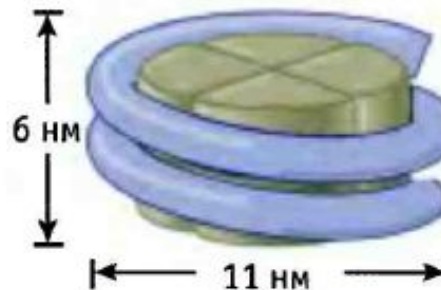
H3 × 2 = 30 кДа



H4 × 2 = 22 кДа

Тотальный белок = 108 кДа

НУКЛЕОСОМА

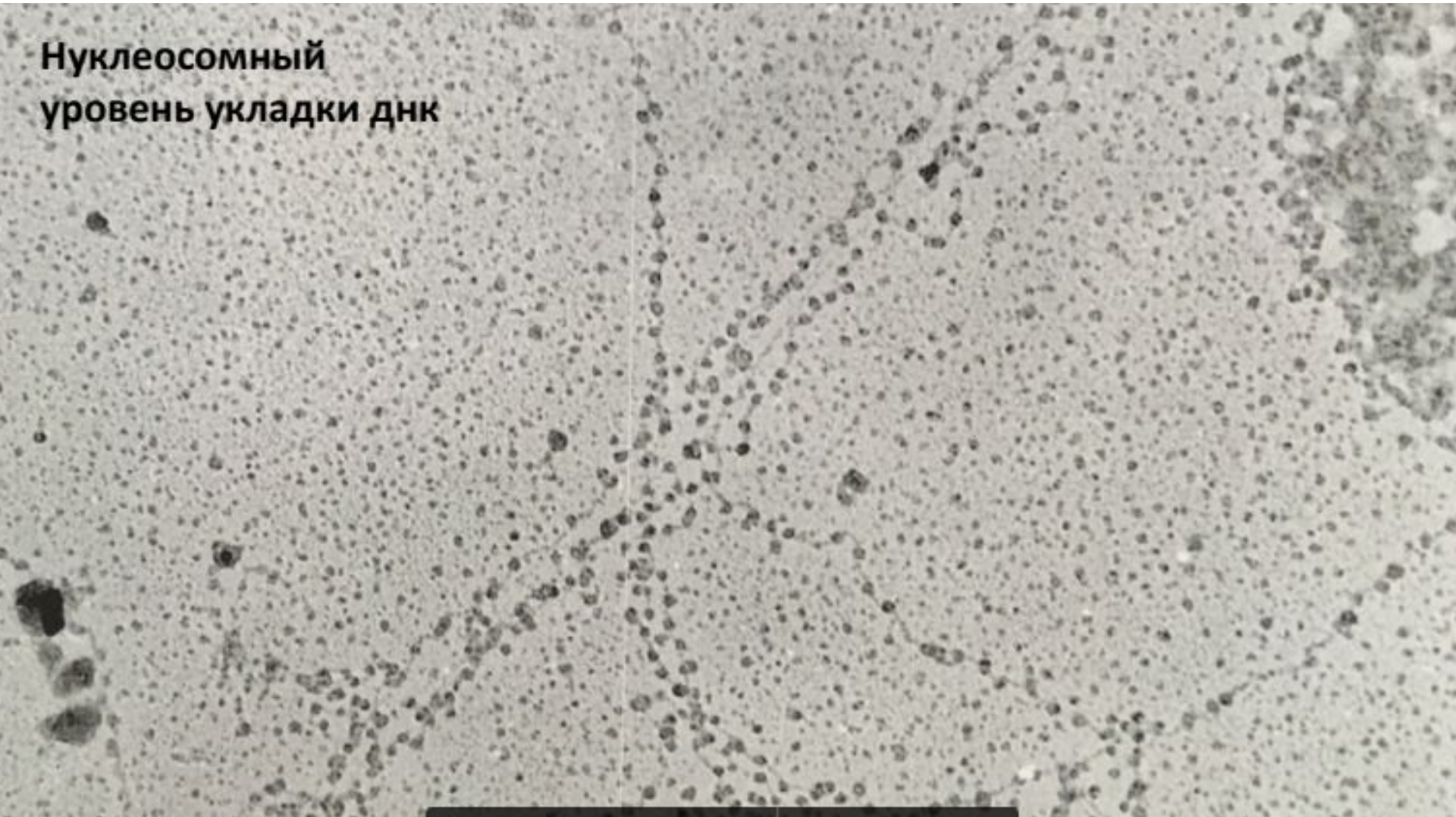


H1 = 24 кДа

**ВСЕГО**

= 262 кДа

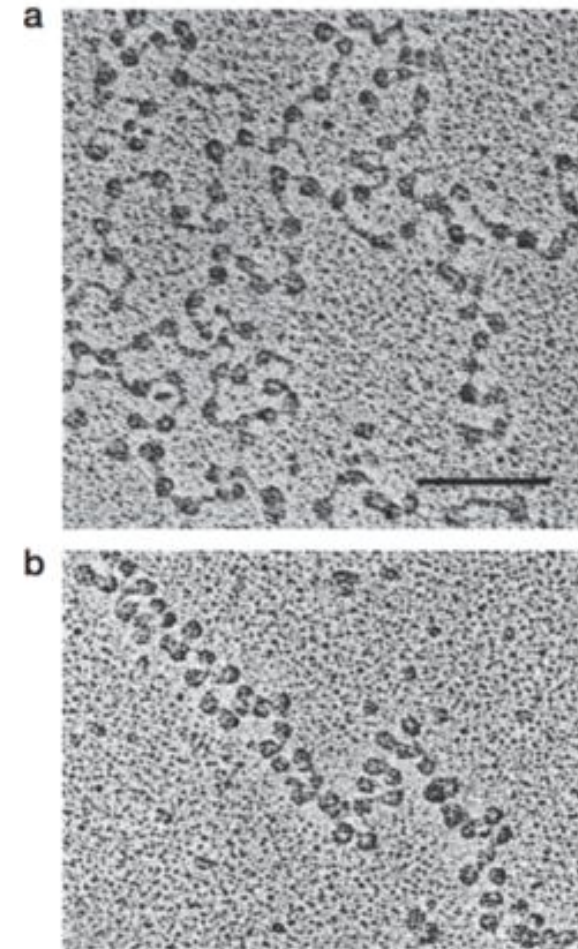
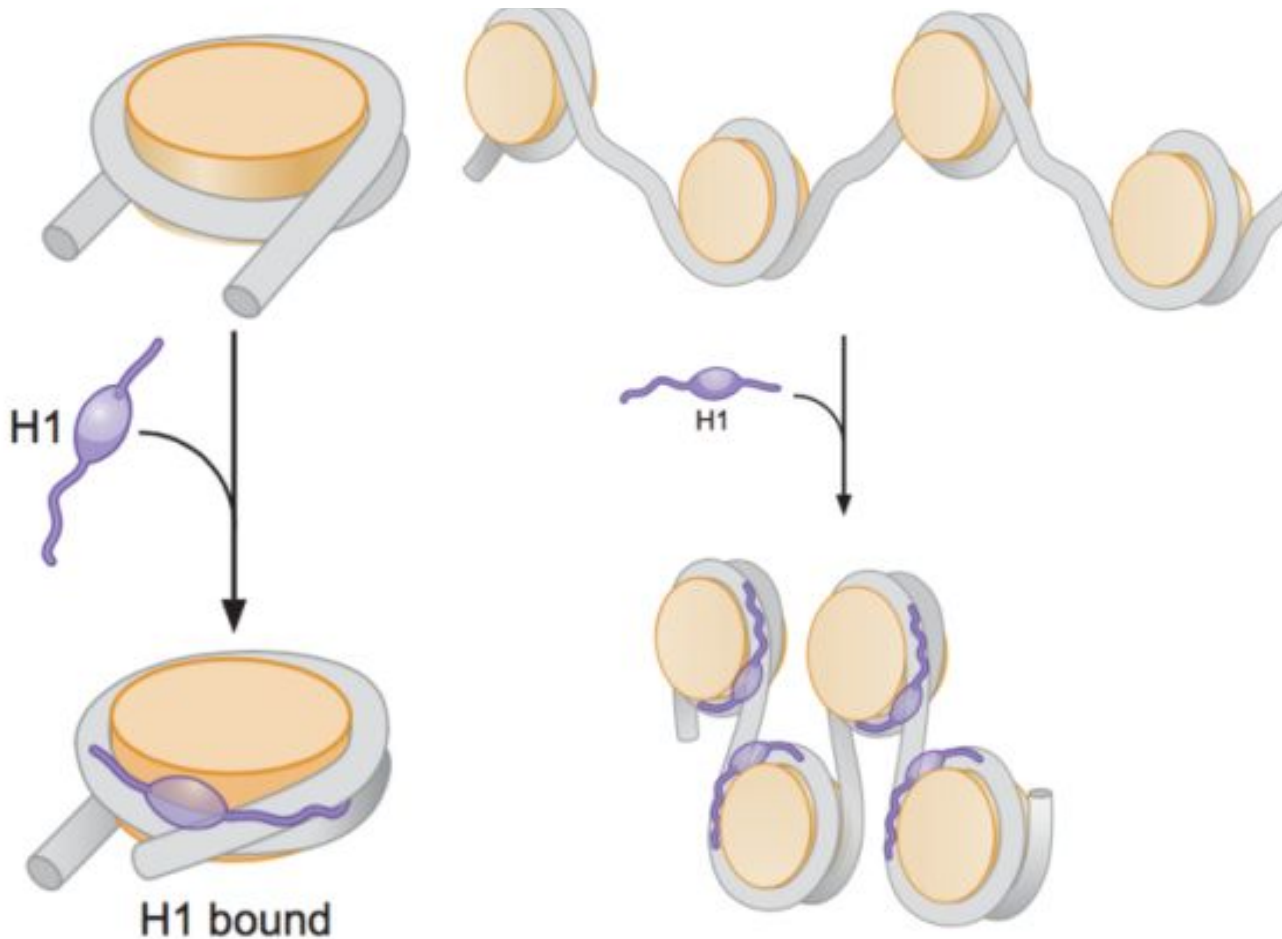
Нуклеосомный  
уровень укладки днк



Изначально нуклеосомная нить имеет диаметр в 10 нм, затем может сворачиваться в фибриллу в 30 нм.



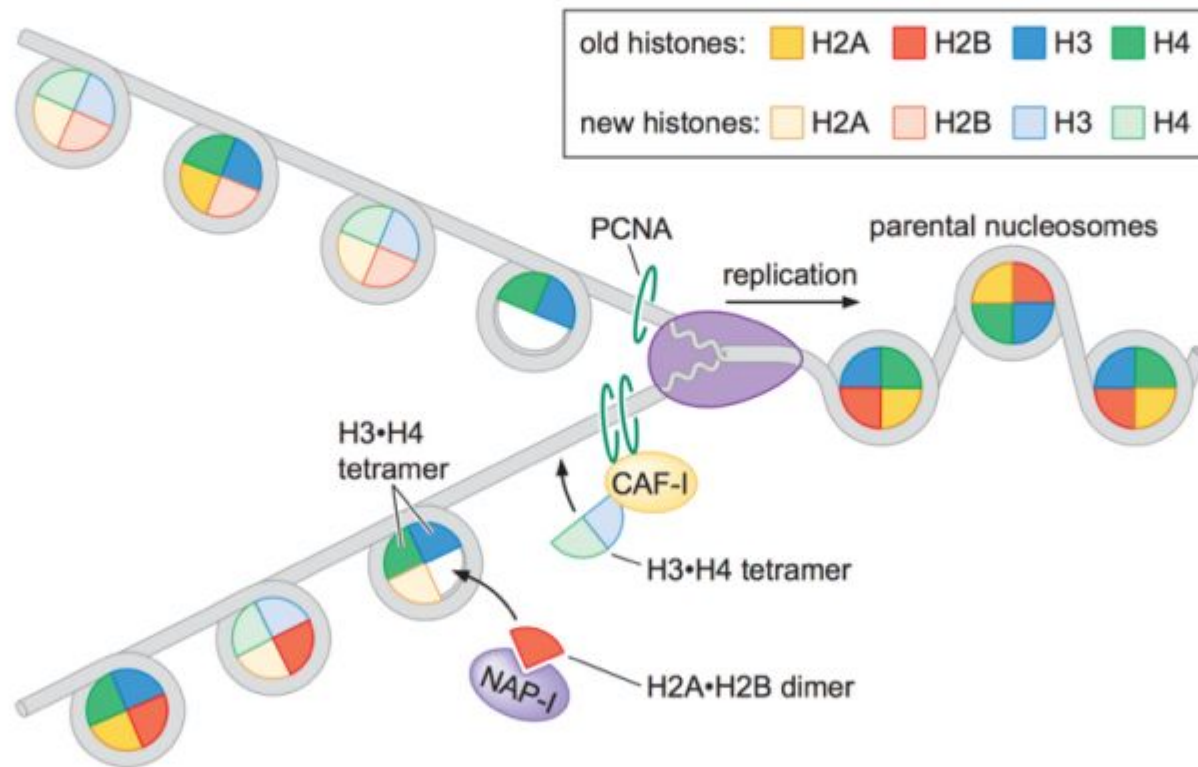
Гистон H1 садиться поверх ДНК и закрепляет ее на октомере, превращая нуклеосомную нить в фибриллу (30 нм)



# Куда деваются нуклеосомы во время

транскрипции и репликации?

- I. Нуклесосмы распадаются на две полунуклиосомы перед рапликативной вилкой
- II. Отщепляются димеры H2a и H2b

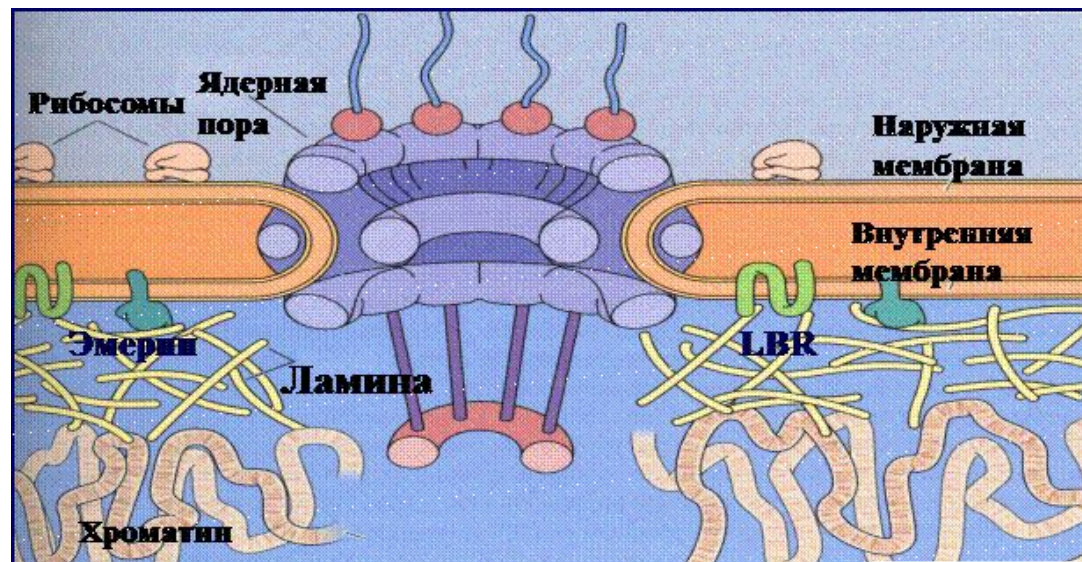


# В конденсации хроматина также участвуют негистоновые белки

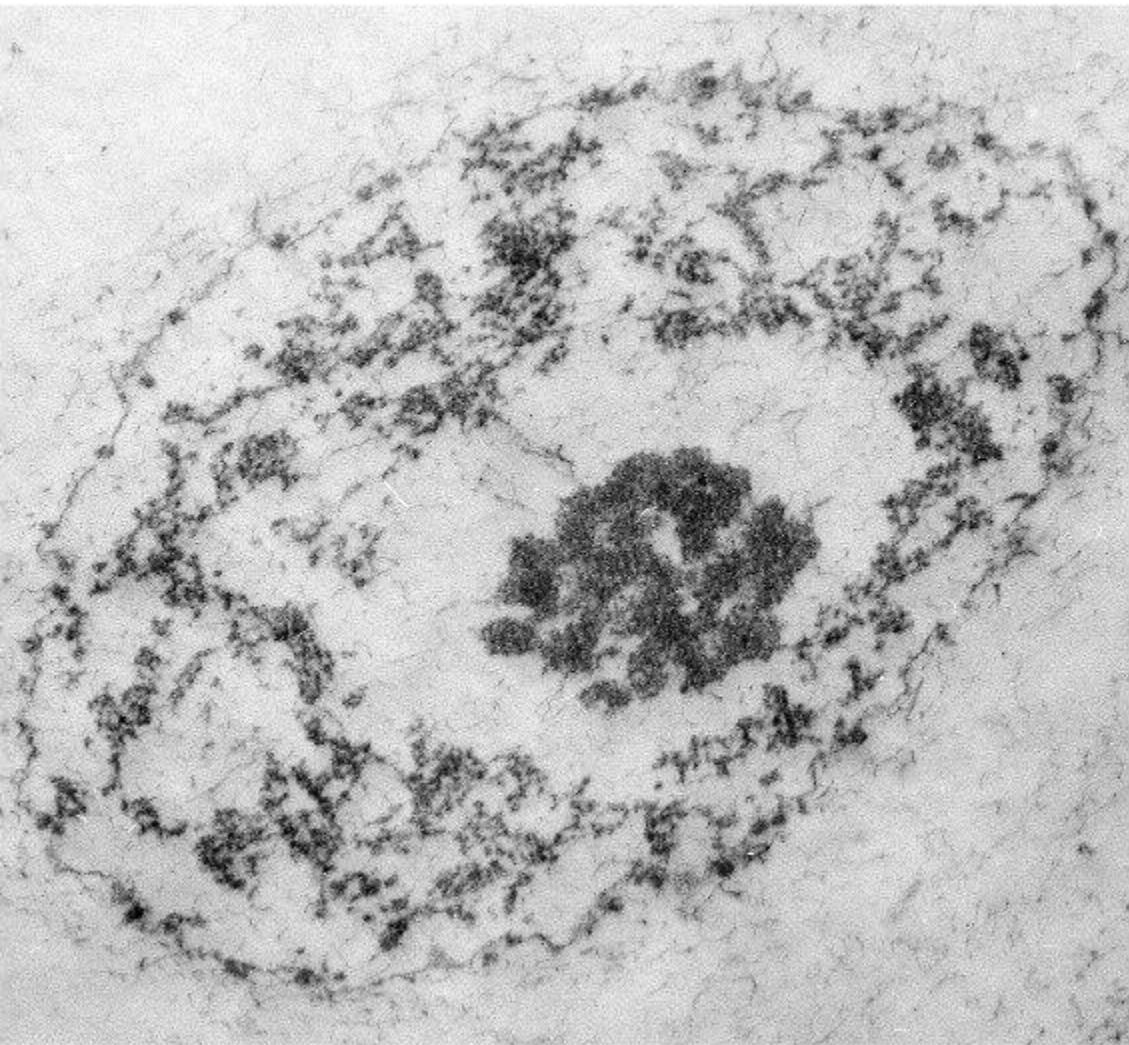
- Фибриллы связываются в петли за счет негистоновых белков: MAR (matrix attachment regions) и SAR (scaffold attachment regions)

Негистоновые белки интерфазных ядер образуют внутри ядра **ядерный белковый матрикс**. Он представлен ламиной – периферическим фибриллярным слоем, подстилающим ядерную оболочку. Кроме того, матрикс образует внутриядерную сеть, к которой крепятся фибриллы хроматина.

Он состоит из: периферического белкового сетчатого (фиброзного) слоя — ламины (nuclear lamina, fibrous lamina), внутренней, или интерхроматиновой, сети (остов) и «остаточного» ядрышка.

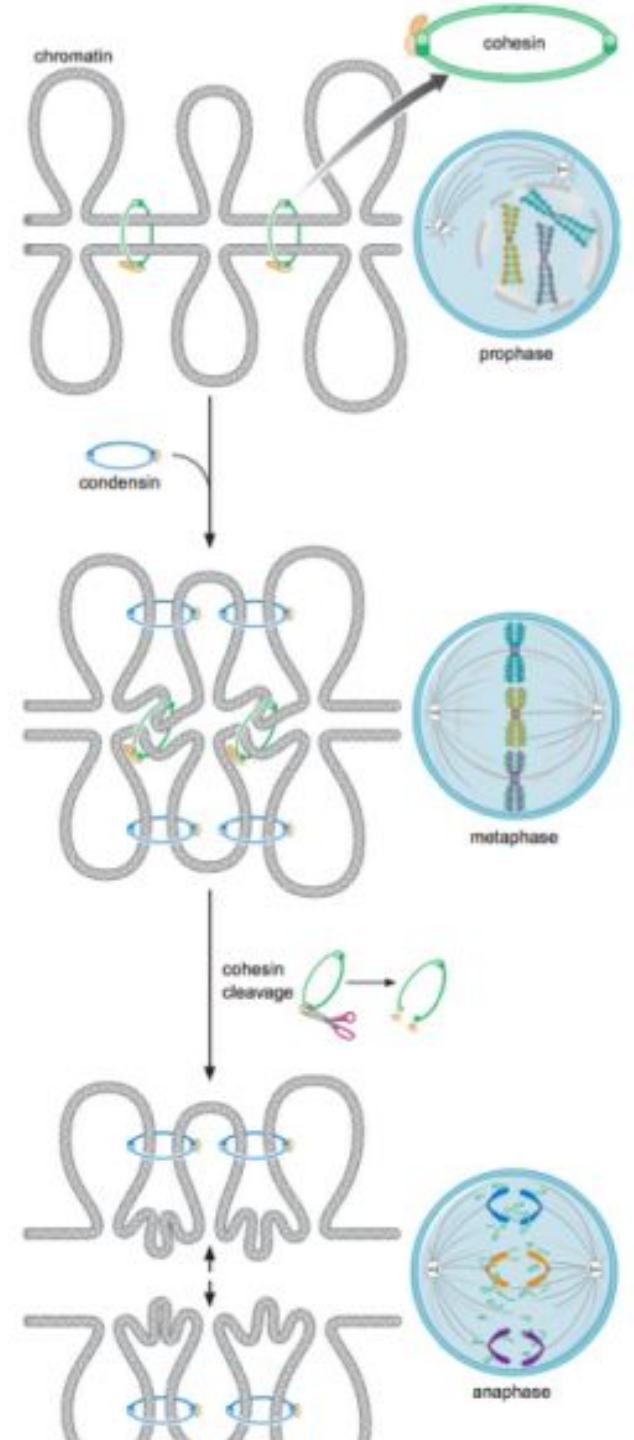
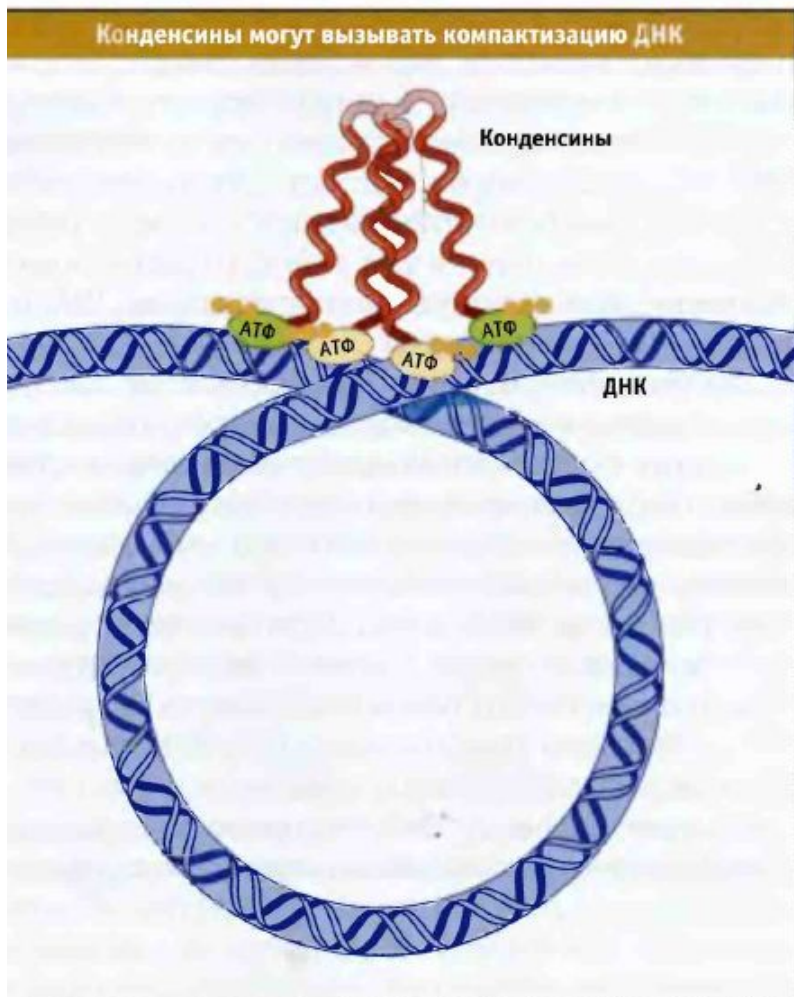


- **Внутриядерный остов**, морфологически выявляется только после экстракции хроматина. Он представлен рыхлой фиброзной сетью, располагающейся между участками хроматина, часто в состав этой губчатой сети входят различные гранулы РНП-природы.
- **«Остаточное» ядрышко** — плотная структура, повторяющая по своей форме ядрышко, также состоит из плотно уложенных фибрилл.
- Морфологическая выраженность этих трех компонентов ядерного матрикса, так же как и количество во фракциях, зависит от целого ряда условий обработки ядер. Лучше всего элементы матрикса выявляются после выделения ядер в относительно высоких (5 мМ) концентрациях двухвалентных катионов.

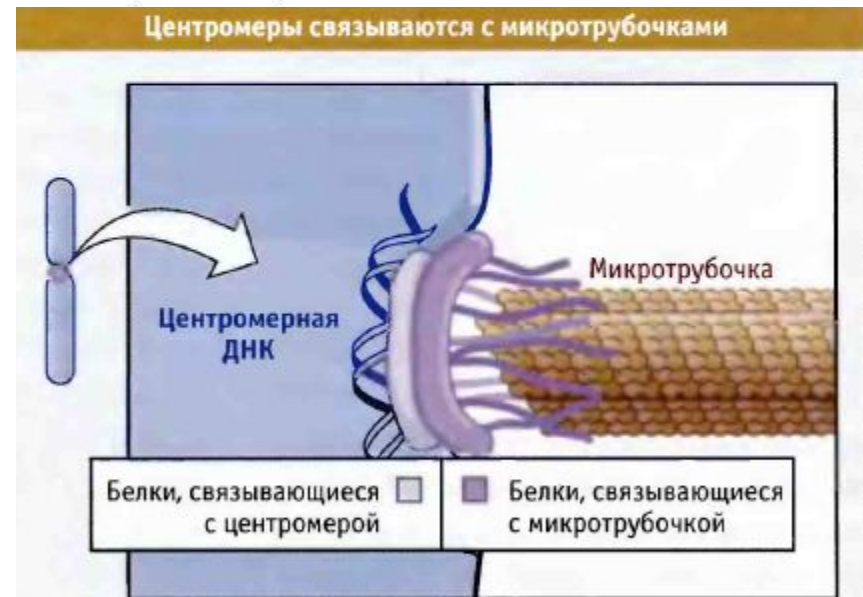
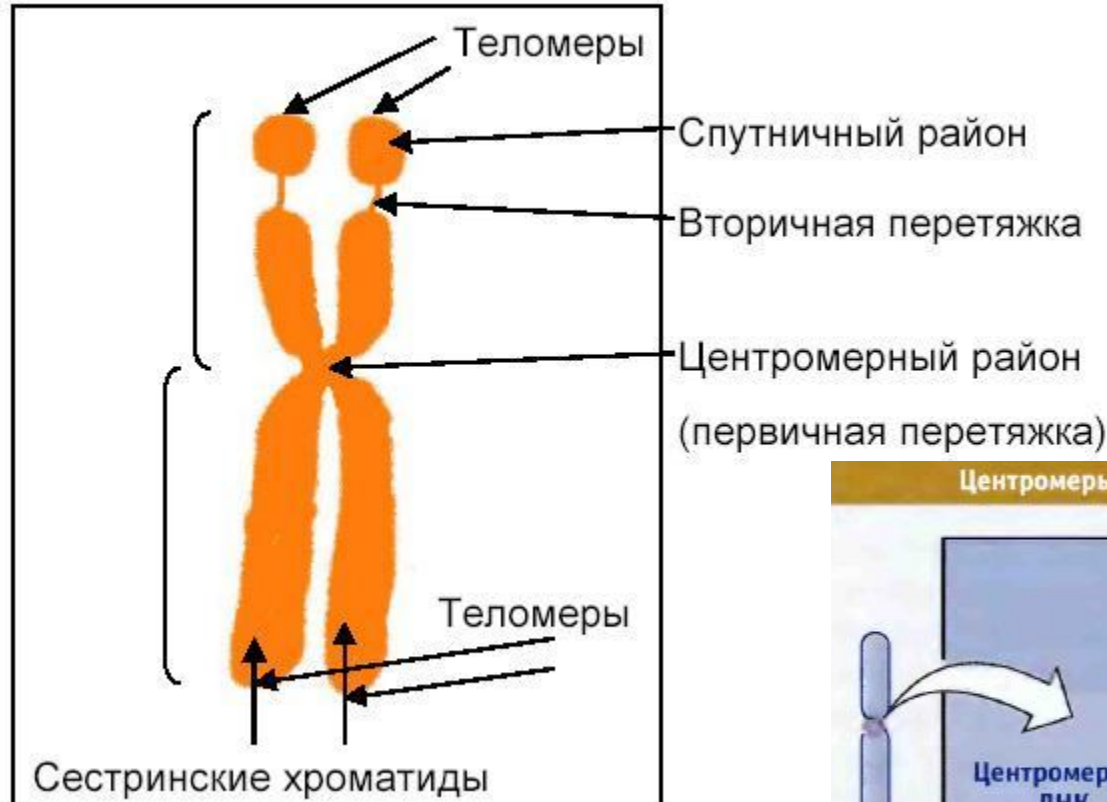


Ядерный  
белковый матрикс

В конденсации хроматина и связывании дочерних хроматид участвуют конденсины и когезины



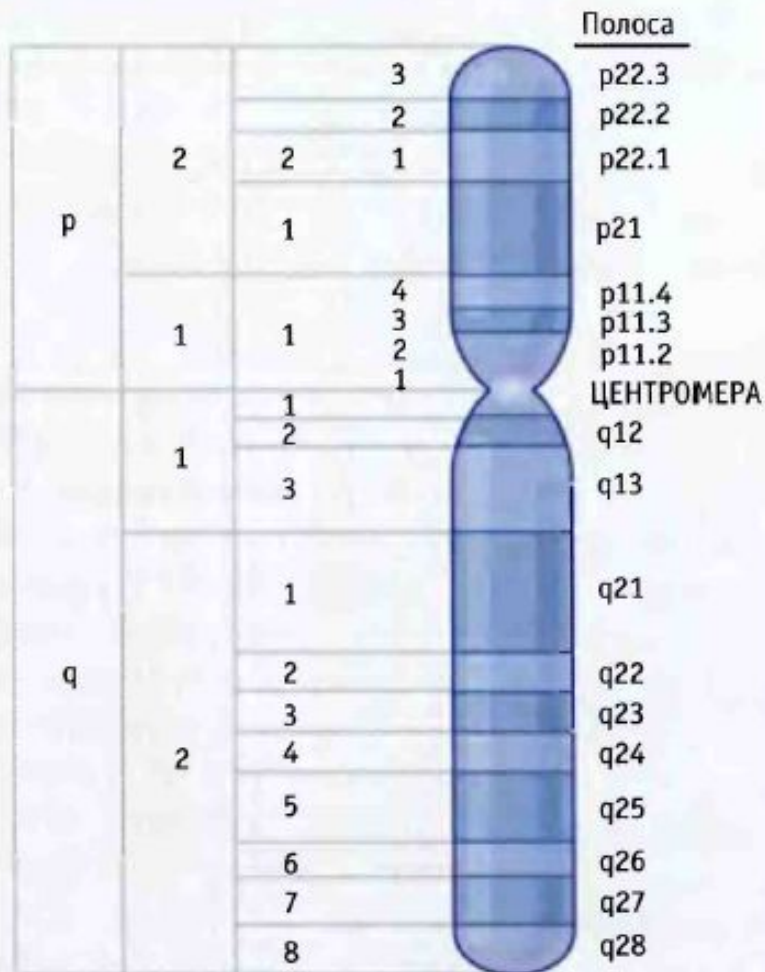
# Хромосомы можно увидеть лишь в их конденсированном состоянии перед началом митоза





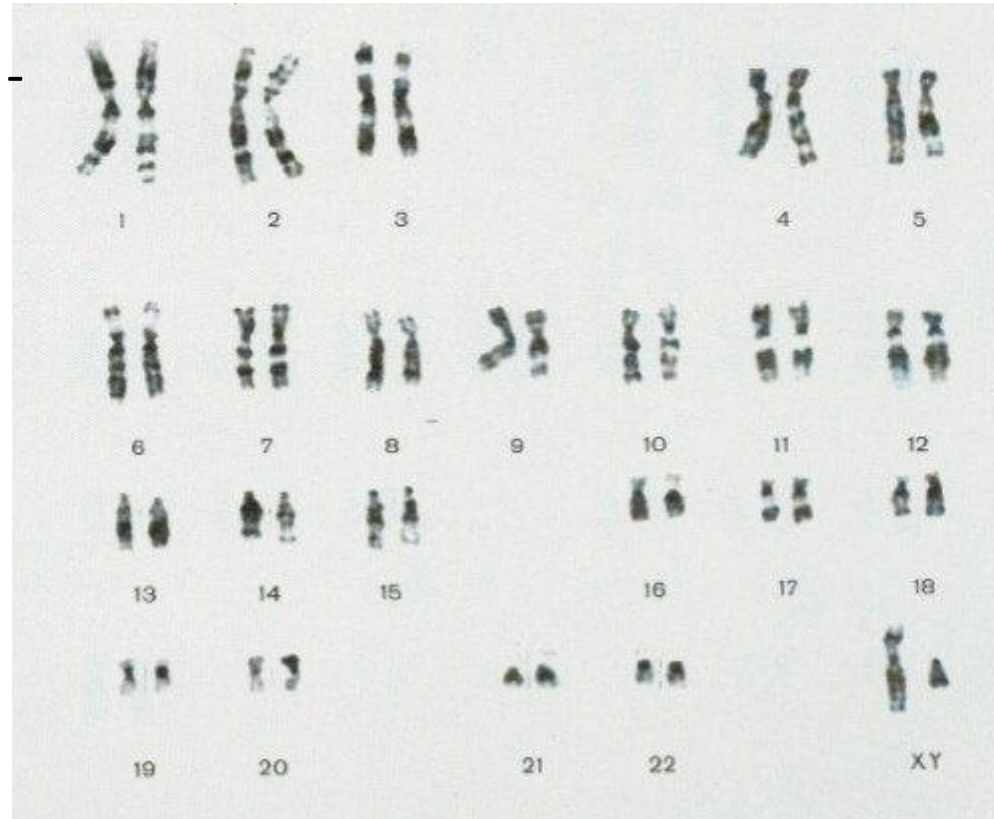
# Хромосомы неоднородны и обладают характерной полосатостью

На X-хромосоме присутствует много G-полос



- Между G-полосами содержится меньше ГЦ-пар

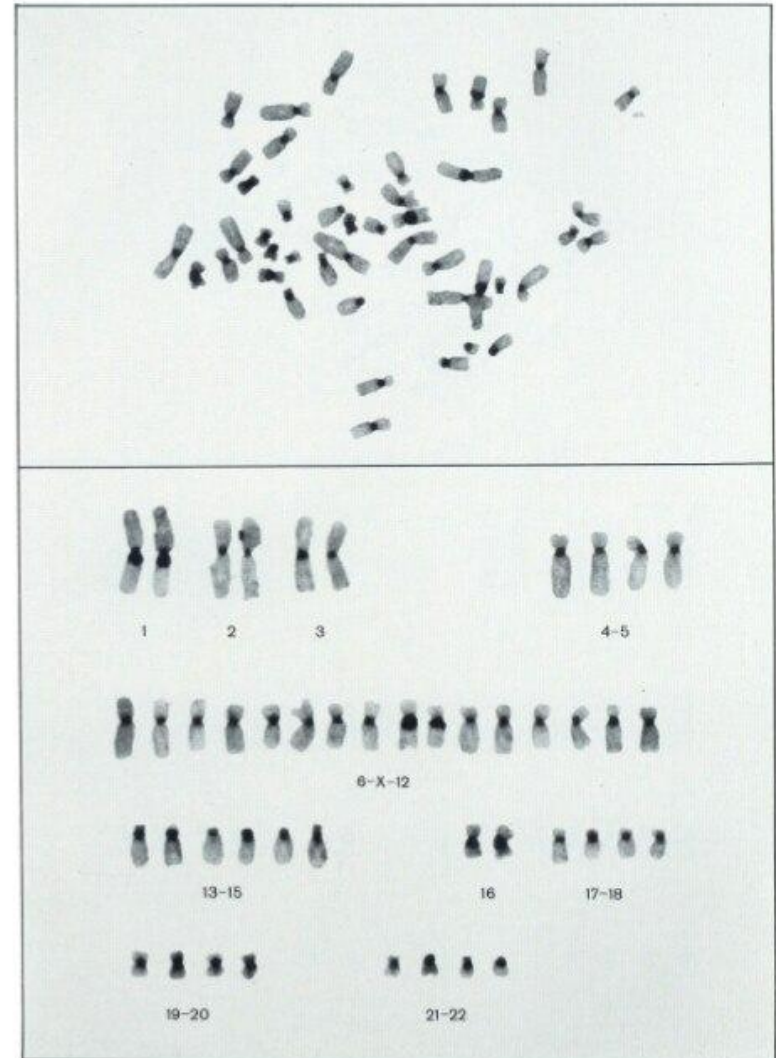
Существует особый способ окрашивания (**G-окрашивание**): хромосомы окрашивают красителем Гимзы. Под световым микроскопом на хромосомах видны светлые и темные полосы - G-сегменты. Хотя расположение Q-сегментов соответствует расположению G-сегментов, G-окрашивание оказалось более чувствительным и заняло место Q-окрашивания в качестве стандартного метода цитогенетического анализа. G-окрашивание дает наилучшие результаты при выявлении небольших aberrаций и маркерных хромосом (сегментированных иначе, чем нормальные гомологичные

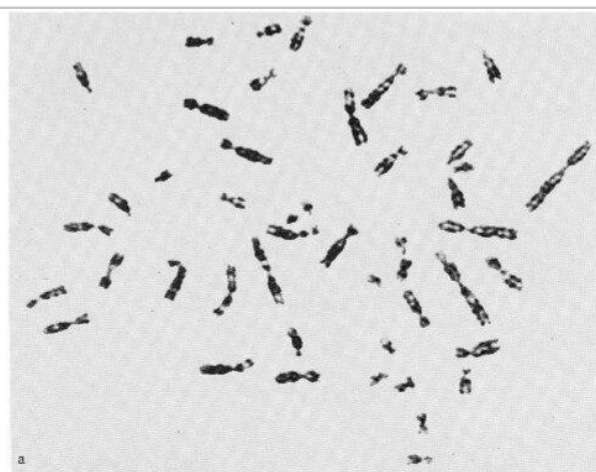


# Существует определенная **C-окраска**

## центромер

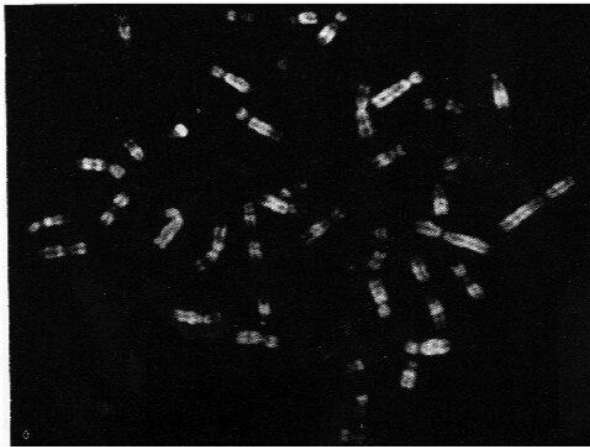
Дифференциальная C-окраска хромосом (с использованием гидрата окиси натрия; пластинка и раскладка)





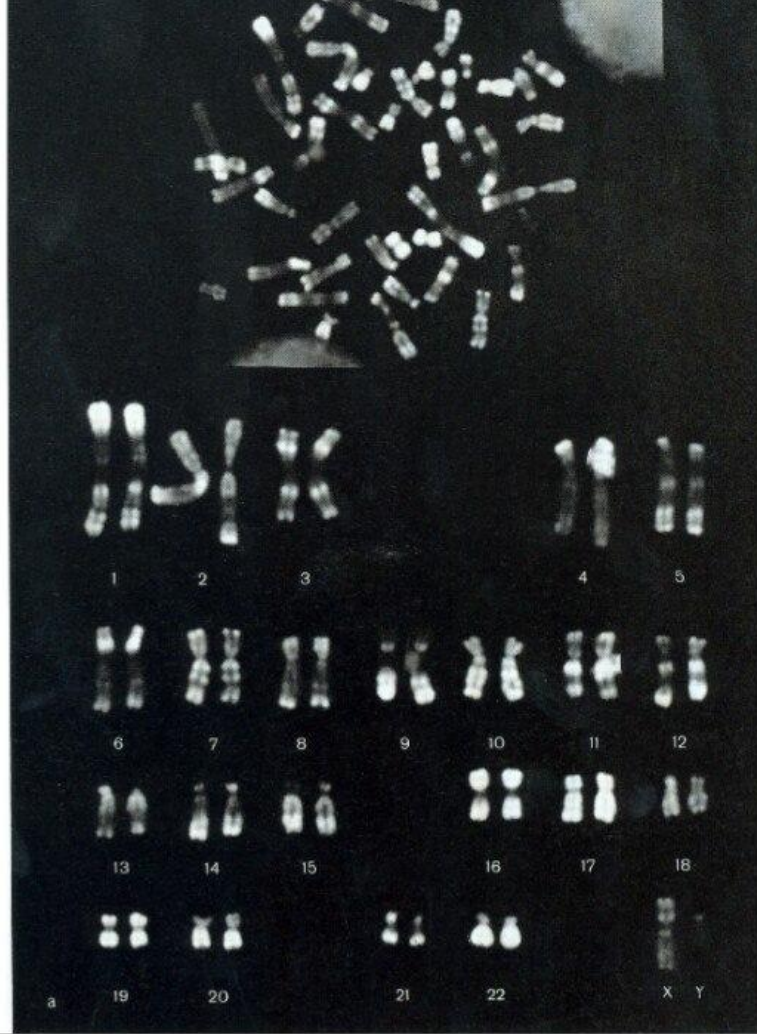
Последовательная окраска  
одной метафазной  
пластинки

G- окраска



Q- окраска

Q-окрашивание. Окраска акрихин-ипритом. Под люминесцентным микроскопом на хромосомах видны участки с неодинаковой интенсивностью флюоресценции - Q-сегменты. Подходит для Y хромосомы, используется для определения пола. Темным окрашивается гетерохроматин, светлым -



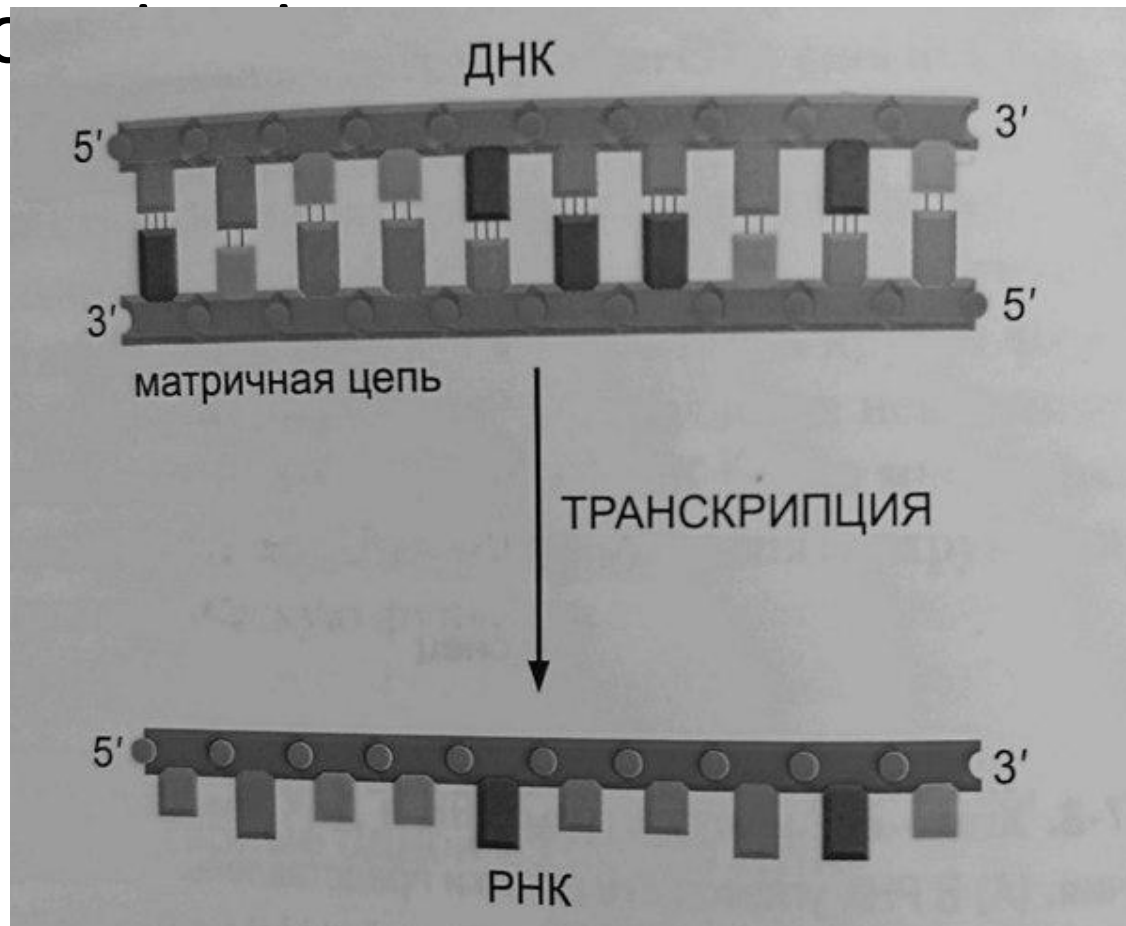
Дифференциальная  
окраска хромосом  
акридиновым оранжевым  
(с использованием  
термической обработки;  
пластинка и раскладка)

R- окраска

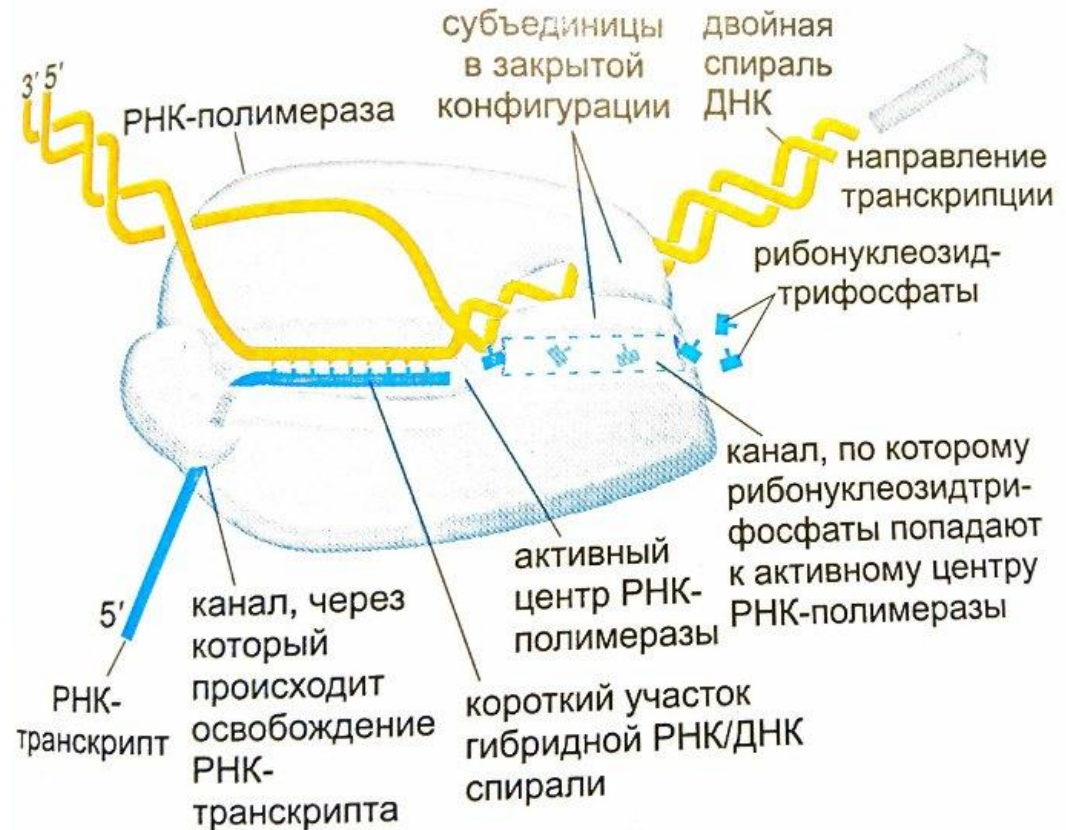
R-окрашивание дает картину, противоположную G-окрашиванию. Обычно используют краситель Гимзы или флюоресцентный краситель акридиновый оранжевый. Этим методом выявляют различия в окрашивании гомологичных G- или Q-негативных участков сестринских хроматид или гомологичных хромосом

# Экспрессия генов происходит за счет синтеза РНК (транскрипции)

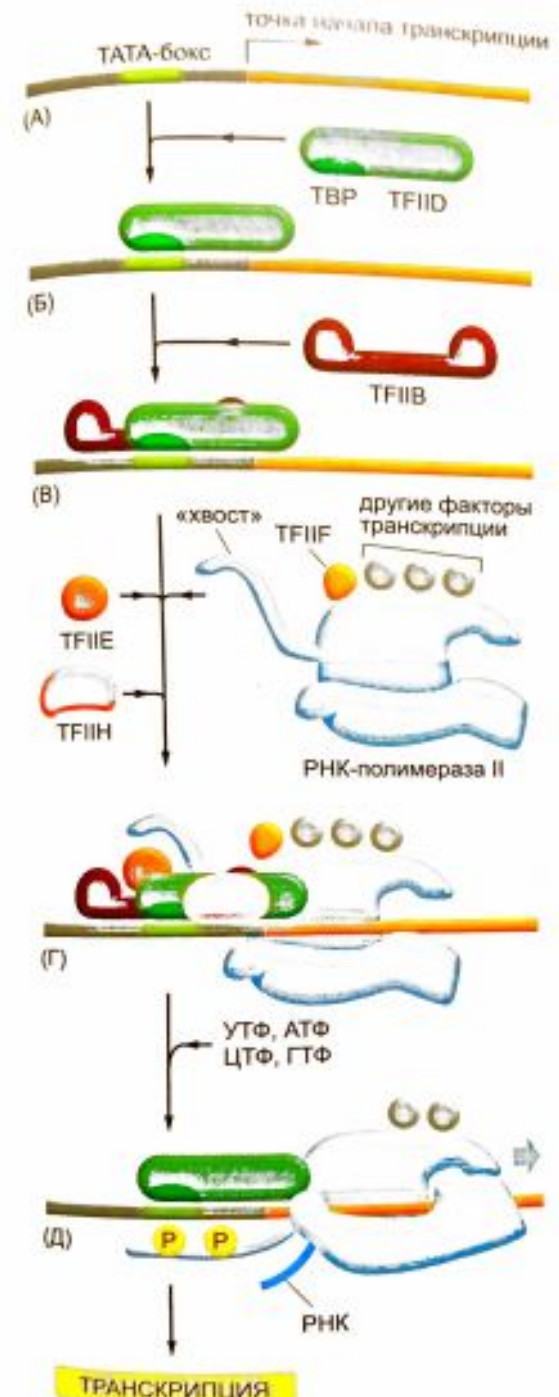
- Синтез РНК идет с одной цепи ДНК за счет фермента РНК-полимеразы, которая движется с



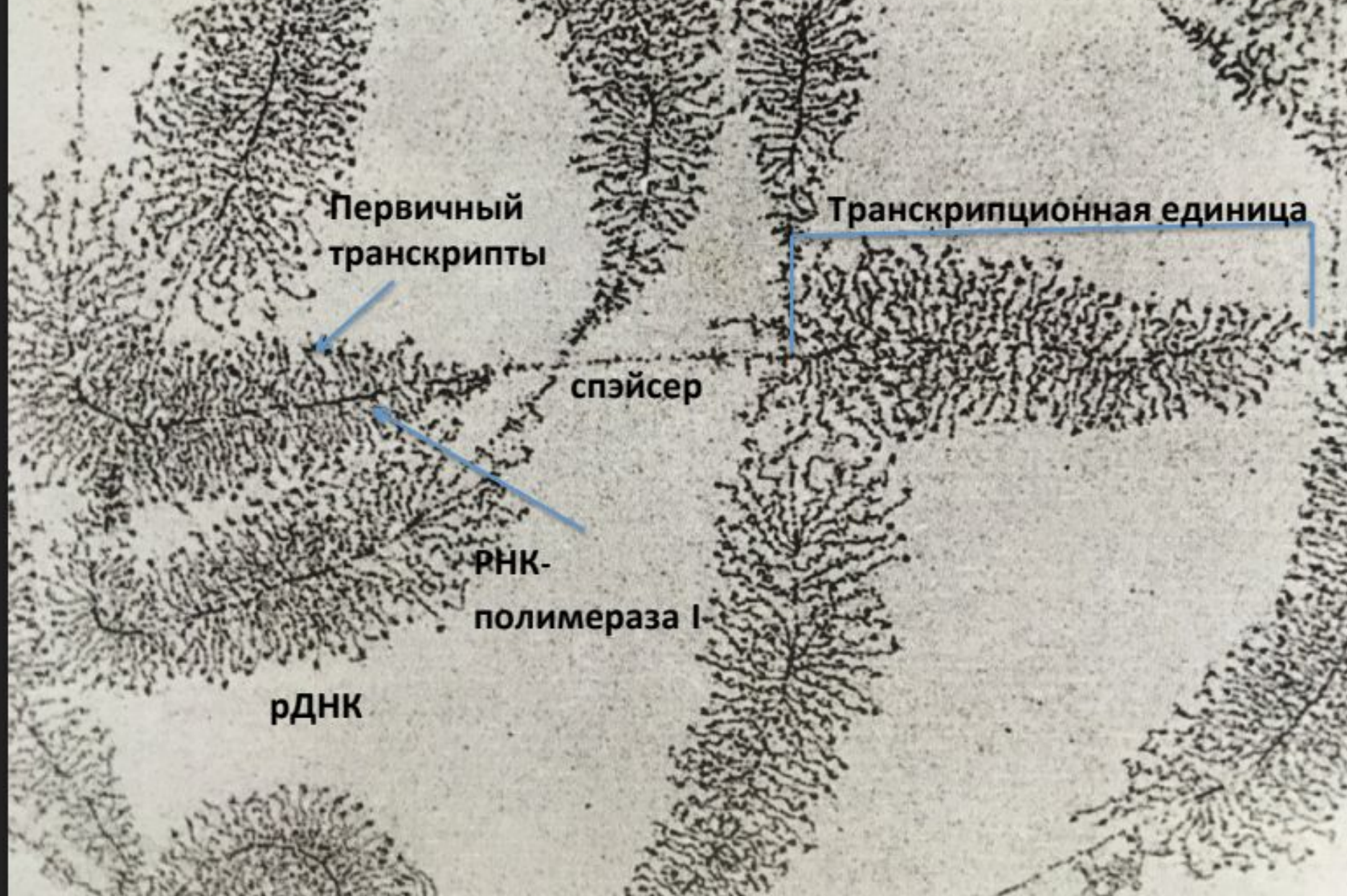
- РНК-полимераза опознает сигнальные участки начала и конца транскрипции.
- Для начала работы полимераза требуются факторы транскрипции.



- Процесс сборки РНК-полимеразы II начинается со связывания универсального фактора транскрипции TFIID с ДНК (TATA-последовательность).
- Происходят конформационные изменения и РНК-полимераза садится на ДНК.
- Для запуска работы полимеразы она должна освободиться от факторов транскрипции.







- Так синтезируется пре-РНК, которая потом проходит сплайсинг и процессинг, но это происходит не в хроматине

# Созревание продуктов транскрипции для разных РНК протекает по разному

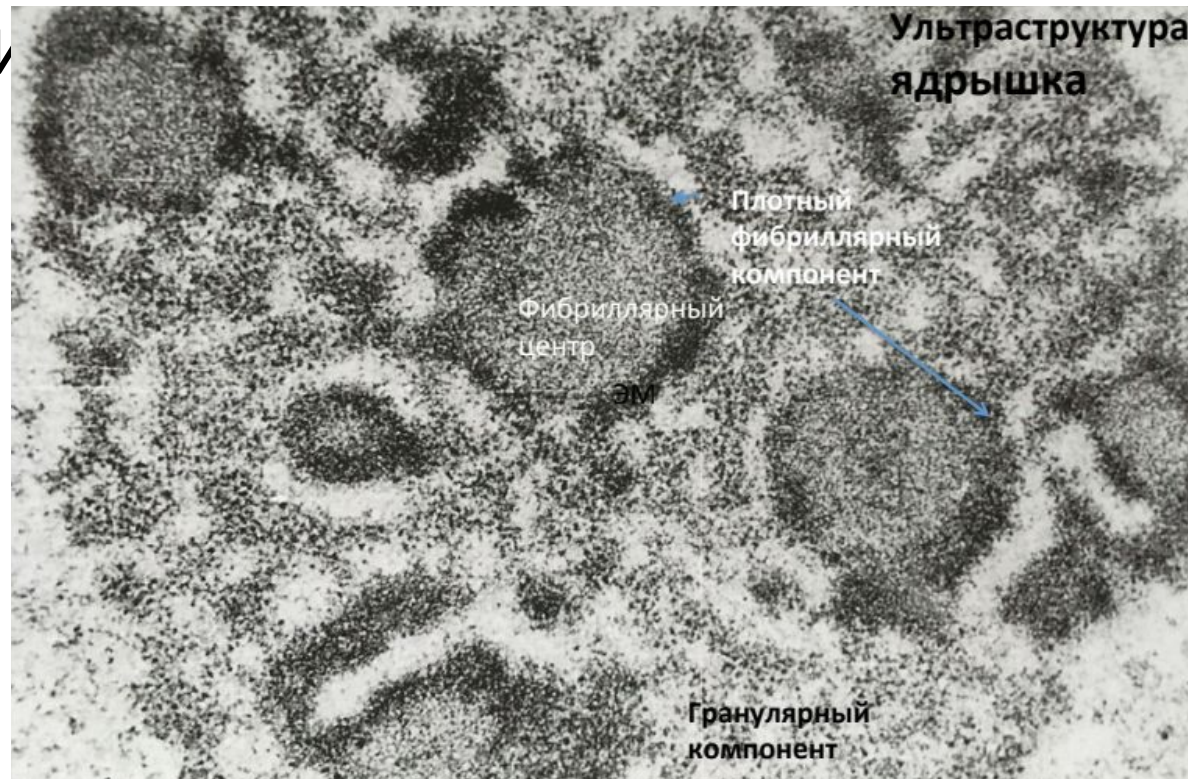
- мРНК
  - Кэпирование – присоединение 5'-концу КЭП (3 этапа: фосфатаза удаляет фосфат с 5'-конца, гуанилтрансфераза – присоединяет GТМ через 5'-5'-связь, метилтрансфераза – присоединяет метильную группу)
  - Полиаденилирование – присоединение полиА-хвоста к 3'-концу
  - Сплайсинг – удаление экзонов и сшивание интронов
  - Редактирование РНК
  - Метилирование

- тРНК
  - Удаление 5'-лидерной НК последовательности
  - Удаление 3'-концевой последовательности
  - Добавление ССА последовательности на 3'-конец
  - Вырезание интронов
  - Модификация отдельных нуклеотидов

# ОСОБЫЙ КОМПОНЕНТ ядра -

## Ядрышко

- Представляет собой комплекс белков и рибонуклеопротеидов, формирующийся вокруг участков ДНК, которые содержат гены рРНК — ядрышковых организаторов. Основная функция ядрышка — сборка рибосомных субъединиц



# Типы ядрышек

РЕТИКУЛЯРНЫ

Е

Почти нет  
фибрилярного  
центра

КОМПАКТНЫЕ

Больше  
выражен  
фибрилярный  
центр

КОЛЬЦЕВИДНЫ  
Й

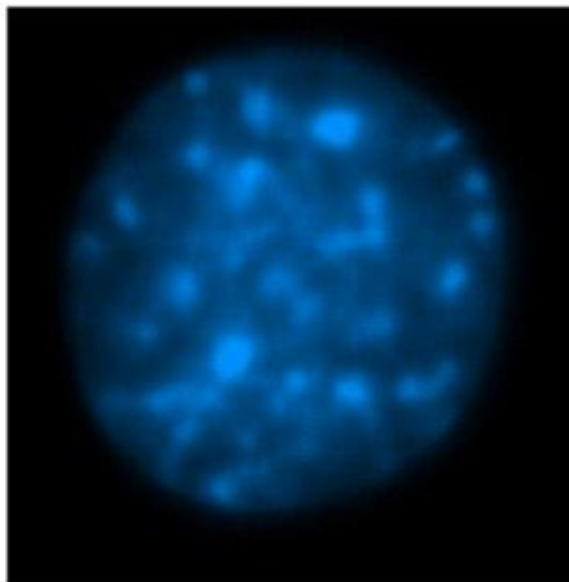
Меньше уровень  
транскрипции

СЕГРЕГИРОВАНН  
ЫЙ

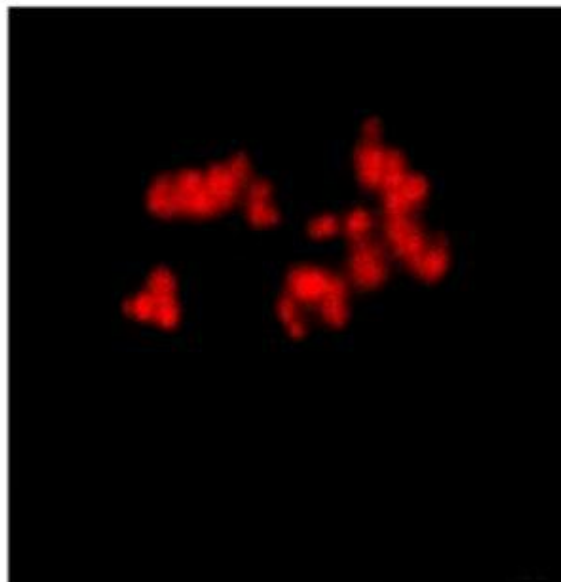
Блокировка  
транскрипции

# Ядрышко

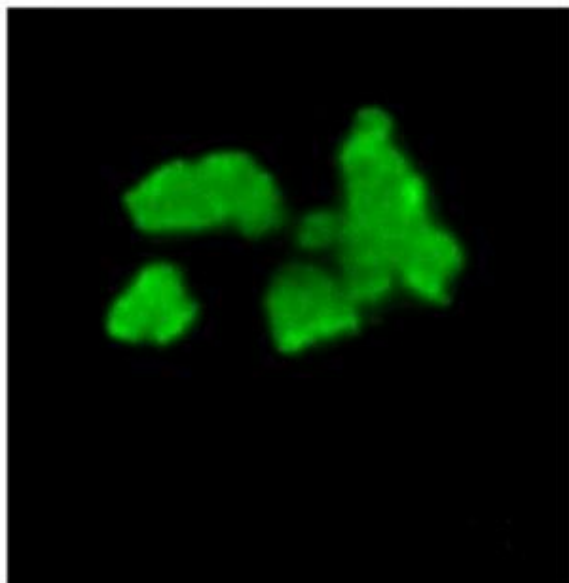
DAPI



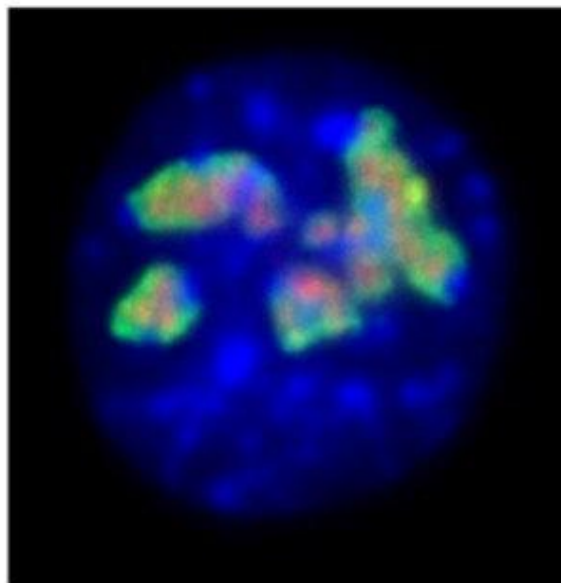
фибрилларин



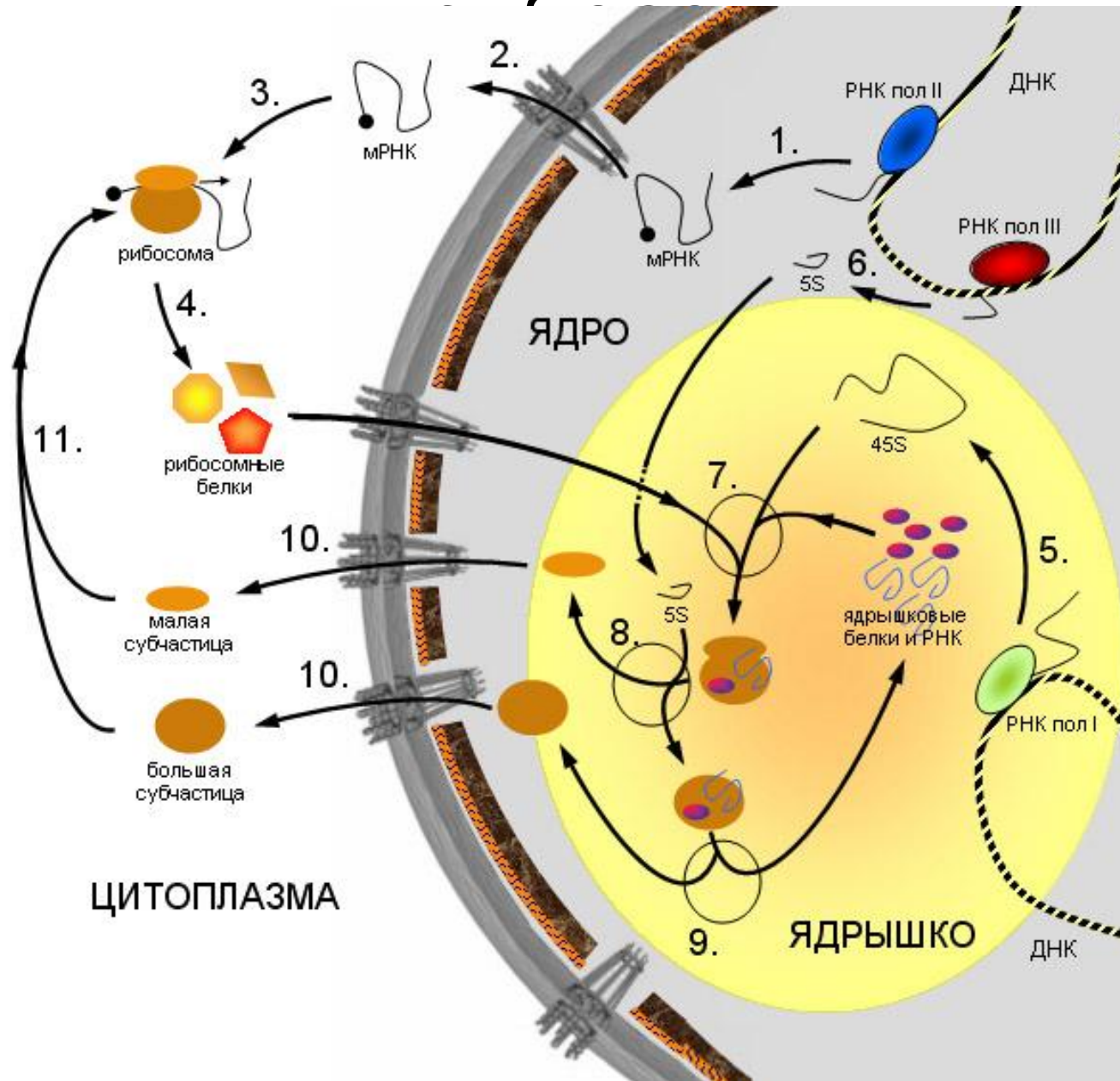
B-23



Совмещение  
изображений



# I лавная ф-ия ядрышка – сборка

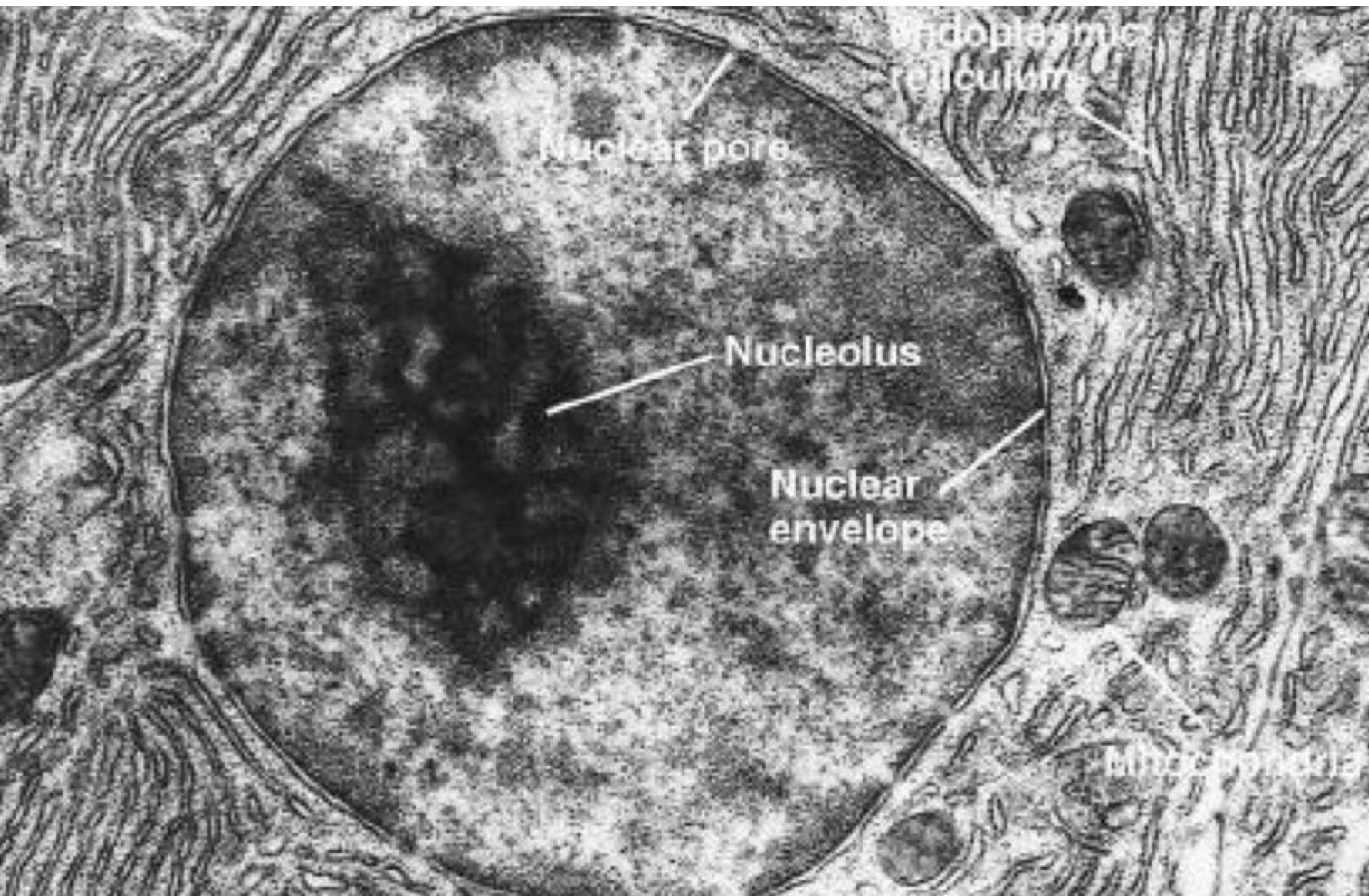


# Помимо этого ядрышко выполняет ф-ии:

- Процессин мяРНК, мякРНК, тРНК
- Накопление вирусных белков
- Формирование интерферерирующей РНК у растений
- Сенсор клеточного стресса
- Стабилизация некоторых иРНК



- Ядрышки развиваются из **ядрошковых организаторов** – особых участках на хромосоме, отделенную вторичной перетяжкой.
- Количество ядрышек и ядрошковых организаторов может не совпадать.
- Окрашивается нитратами серебра.
- У человека ЯО расположены в 13,14,15,21 и 22 хромосомах.



Endoplasmic  
reticulum

Nuclear pore

Nucleolus

Nuclear  
envelope