

Ядро – основной компонент эукариотических клеток.

Термин «ядро» впервые применил англ. ботаник Роберт **Браун**. Обнаружив шаровидное образование в кожице орхидных клеток в 1831г. (1833) для обозначения шаровидных постоянных структур в клетках растений. Позднее такую же структуру описали во всех клетках высших организмов.

Любая эукариотическая клетка (за исключением высокоспециализированные клетки, утратившие способность делиться и недолго живущие - **зрелых эритроцитов** млекопитающих и зрелых члеников ситовидных трубок флоэмы), содержат ядра.

Как правило, клетка содержит только одно ядро. Однако, ряд клеток - это клетки печени, некоторые нейронах, кардиомиоциты имеют два ядра, (у некоторых простейших (инфузории) – ядра разного размера - макро - и микронуклеосы). Многоядерными напр. являются поперечно-полосатые мышечные волокна (симпласт).

При рассмотрении клеток под микроскопом, ядра сразу бросаются в глаза, так как из всех клеточных структур они самые крупные.

Наиболее крупным ядром обладает яйцеклетка. Ее **ядерно-цитоплазматическое** соотношение (соотношение объема ядро к объему цитоплазмы) сдвинуто в сторону цитоплазмы, а у сперматозоидов – наоборот.

Форма ядер эукариотических клеток очень разнообразна, но, как правило, они повторяют форму клетки - сферические овальные, удлинённые, сегментированные, кольцевидные.

Расположение ядра

- в животных клетках – как правило, центральное. Исключением являются клетки тонкого кишечника, желез внутренней секреции и пищеварительных желез человека.
- В молодой растительной клетке ядро, также может занимать центральное положение (т.к. вакуоль еще мелкая), а в «старых» - расположено на периферии.

Опыты по доказательству роли ядра в передаче наследственной информации.

Опыты Геммерлинга	Объект опыта: одноклеточная водоросль, 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.

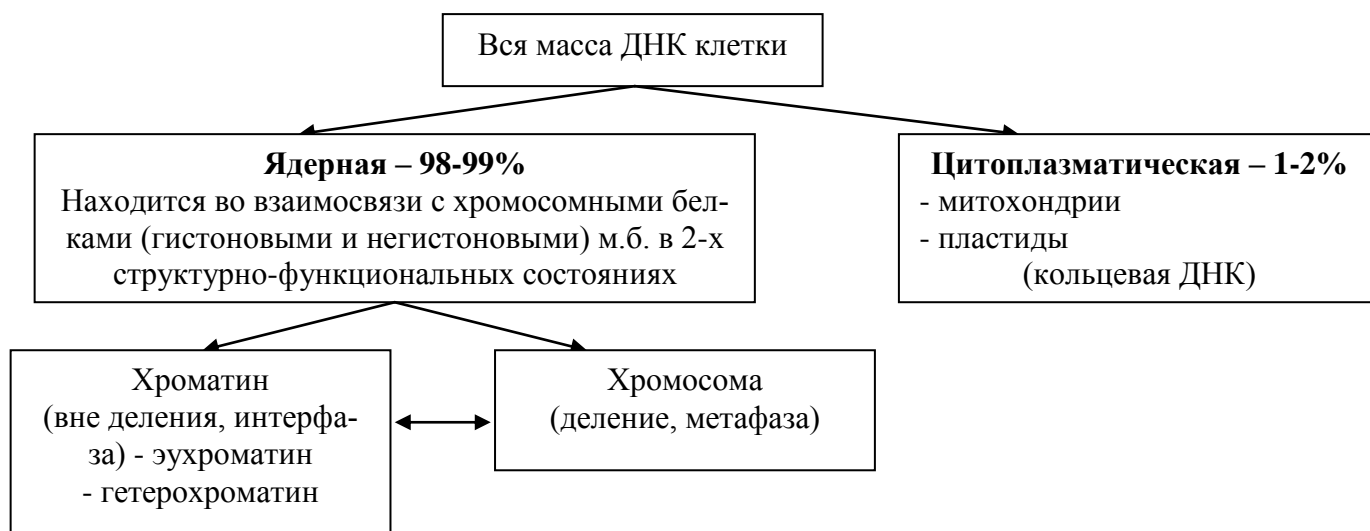
Прямыми доказательствами роли ядра являются наследственные болезни, связанные с нарушением числа и структуры хромосом.

Косвенными доказательствами этой функции являются правила хромосом:

- Правило постоянства числа хромосом. Число хромосом и особенности их строения – являются видовым признаком.
- Правило парности хромосом. Число хромосом в соматических клетках всегда четное, это связано с тем, что хромосомы составляют пары.
- 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.
- Правило непрерывности хромосом. Хромосомы способны к авторепродукции.

Функции ядра:

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



Клеточное ядро - состоит из

1. **ядерной оболочки** (кариолемы),
2. **хроматина**,
3. **ядрышка и**
4. **ядерного сока** (или кариоплазмы).

Такое строение характерно практически для всех неделящихся клеток эукариот.



- 1 – шероховатая ЭПС,
- 2 – рибосомы,
- 3 – наружная ядерная мембрана,
- 4 – внутренняя ядерная мембрана,
- 5 – перинуклеарное пространство,
- 6 – ядерная пора,
- 7 – ядрышко,
- 8 – гетерохроматин,
- 9 – эухроматин,
- 10 – ядерный сок.

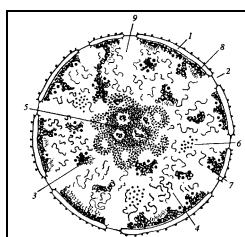
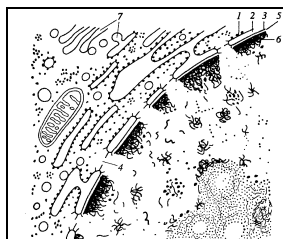


Схема строения клеточного ядра

- 1. ядерная оболочка (две мембраны — внутренняя и внешняя, и перинуклеарное пространство);
- 2. ядерная пора;
- 3. конденсированный хроматин;
- 4. диффузный хроматин;
- 5. ядрышко (гранулярный и фибриллярный компоненты, в центральных светлых зонах находится рДНК);
- 6. интерхроматиновые гранулы (РНП);
- 7. перихроматиновые гранулы (РНП);
- 8. перихроматановые фибриллы (РНП);
- 9. кариоплазма, ядерный сок



Участок периферии ядра

- 1. внешняя мембрана ядерной оболочки;
- 2. перинуклеарное пространство;
- 3. внутренняя мембрана ядерной оболочки;
- 4. ядерные поры;
- 5. ламины;
- 6. хроматин;
- 7. мембраны цитоплазмы

Ядерная оболочка (кариолема)

Ядерная оболочка отделяет содержимое ядра от цитоплазмы.

Состоит из двух ядерных мембран – наружной и внутренней, а между ними перинуклеарное пространство.

К внутренней мембране присоединяется участки хроматина (ДНК).

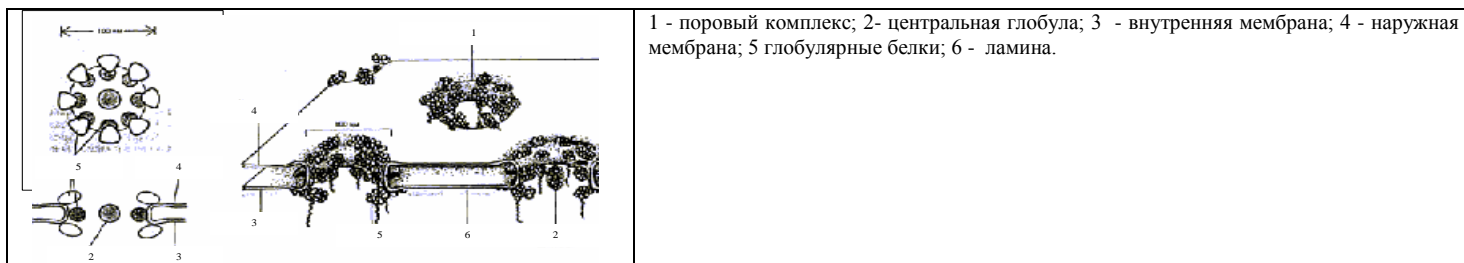
Внешняя мембрана переходит в каналы эндоплазматической сети, на которой обычно располагаются рибосомы.

В ядерной оболочке имеются **поры** – это особые белковые комплексы, через которые осуществляется транспорт из ядра в цитоплазму и обратно.

Наиболее характерной структурой ядерной оболочки является **ядерная пора**. Пору в оболочке образуются за счет слияния двух ядерных мембран и имеет вид округлых сквозных отверстий, или перфораций, с диаметром около 100 нм.

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

Число ядерных пор зависит от метаболической активности клеток: чем выше синтетические процессы в клетках, тем больше пор.



Функция ядерной оболочки:

1. защитная
2. барьерная
3. регуляторная
4. транспортная
5. фиксирующая

Хроматин

Хроматин – это одно из возможных структурно-функциональных состояний наследственного материала, т.е. ДНК. В таком состоянии наследственный материал находится на протяжении всего периода жизни клетки, за исключением периода деления клетки. В период деления (метафаза) ДНК приобретает вид хромосом.

Следовательно, **хроматин** является структурой, выполняющей генетическую функцию клетки. В хроматиновой ДНК заложена практически вся генетическая информация (98-99% всей ДНК клетки).

Химический состав:

- ДНК – 40%,
- РНК – следы,
- белки: гистоновые – 40% и негистоновые – 20%.

Хроматин – это вещество кислой природы, которое способно воспринимать щелочные красители, что определяется наличием в его составе - ДНК в комплексе с белками.

Выделяют 2 вида хроматина:

- **Эухроматин** - деспирализованный, активный, транскрибируемый, менее окрашенный.
- **Гетерохроматин** - спирализованный, конденсированный, неактивный, нетранскрибируемый, более интенсивно окрашен.

Функция: это на 98-99% наследственный материал клетки.

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.

Функция ядерного сока: осуществление взаимосвязи ядерных структур и обмен с цитоплазмой клетки.

Ядрышки

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

Впервые ядрышки были обнаружены Фонтана в 1774 г.

Еще в 1930-х годах рядом исследователей (МакКлинток, 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). В области вторичных перетяжек локализованы гены, кодирующие синтез рибосомальных РНК.

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.

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 ядрышек: синтез субчастиц рибосом (образование готовой работающей рибосомы происходит в цитоплазме во время трансляции).

Упаковка ДНК в хромосому

ДНК в клетке не может находиться в «чистом» состоянии, она всегда связана с белками.

Выделяют два основных структурно-функциональных состояния генетического материала (ДНК): хроматин и хромосома.

Для укладки ДНК в хромосому необходимо:

- 40% - ДНК,
- 40% гистоновых белков (H1, H2а, H2в, H3, H4)
- и 20% - негистоновых белков.

Функция белков – упаковка нитей ДНК.

Уровни укладки:

1. Нуклеосомный
2. Нуклеомерный
3. Хромомерный
4. Хромонемный
5. Хромосомный

За счет этих уровней ДНК утолщается и укорачивается. 1 ДНК – это 1 хромосома.

Структурно-функциональной единицей хромосом (хроматина) является – нуклеосома.

Нуклеосомный уровень

В состав **нуклеосомы** входят **8 гистоновые белки**: 2 - H2A; 2 – H2B; 2 – H3; 2 – H4, образующие **октамер**.

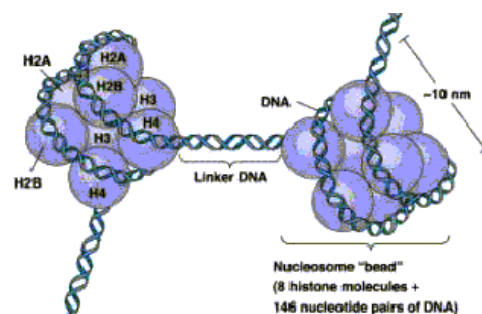
Молекула ДНК (140-146 нуклеотидных пар) делает 1,75 оборота вокруг октамера.

Далее идет **линкерный участок** ДНК, содержит около 60 пар нуклеотидов.

Линкерный участок содержит гистоновый белок H1, который еще ближе подтягивает нуклеосомы друг к другу на следующем этапе укладки.

Т.о. в состав нуклеосомы входит около 200 нуклеотидных пар.

В результате этого образуется структура напоминающая бусы – нуклеосомная нить. В результате этого уровня ДНК укорачивается в 7 раз относительно первоначальной длины и утолщается.



Нуклеомерный уровень

8 нуклеосом сворачиваются в «клубочки»-«супербусинку», образуя одну нуклеомеру. Цепочка нуклеомер имеет вид хроматиновой (нуклеомерной) фибриллы. ДНК еще больше утолщается и укорачивается. В результате ДНК укорачивается в 42 раза относительно первоначальной или в 6 раз относительно 1 уровня.

Хромомерный уровень

Хроматиновая фибрилла сворачивается в петли – домены («бантики»). Для «скрепления» доменов используются негистоновые белки. Вся эта структура называется – хромомерная нить.

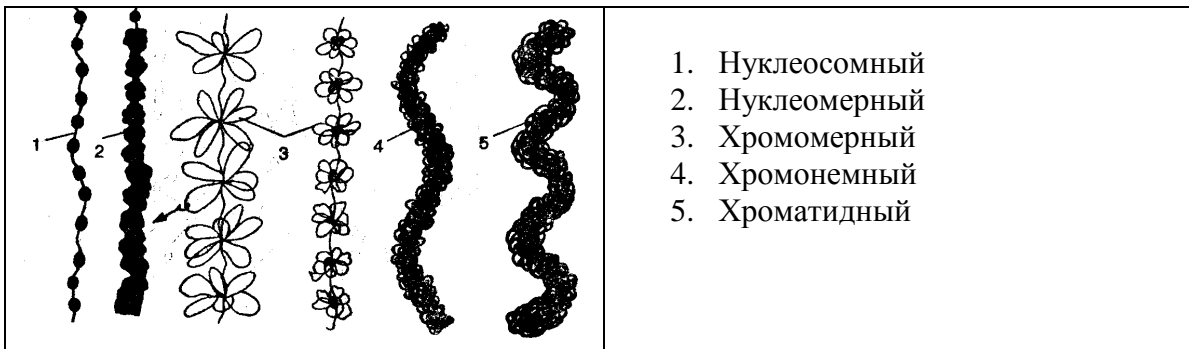
Хромонемный уровень

Хромомерная нить укладывается в параллельные тяжи, образуя хромонемы. Данный уровень дает укорочение ДНК в 1600 раз относительно ее первоначальной длины.

Полухроматидный (хромосомный) уровень

Хромонемы укладываются в полухроматиды. 2 полухроматиды объединяясь дают хроматиду, а 2 хроматиды входят в состав хромосомы.

Данную структуру можно четко обнаружить в клетке **на стадии метафазы** деления – метафазная пластинка, поэтому хромосомы такого вида наз. Метафазные хромосомы.

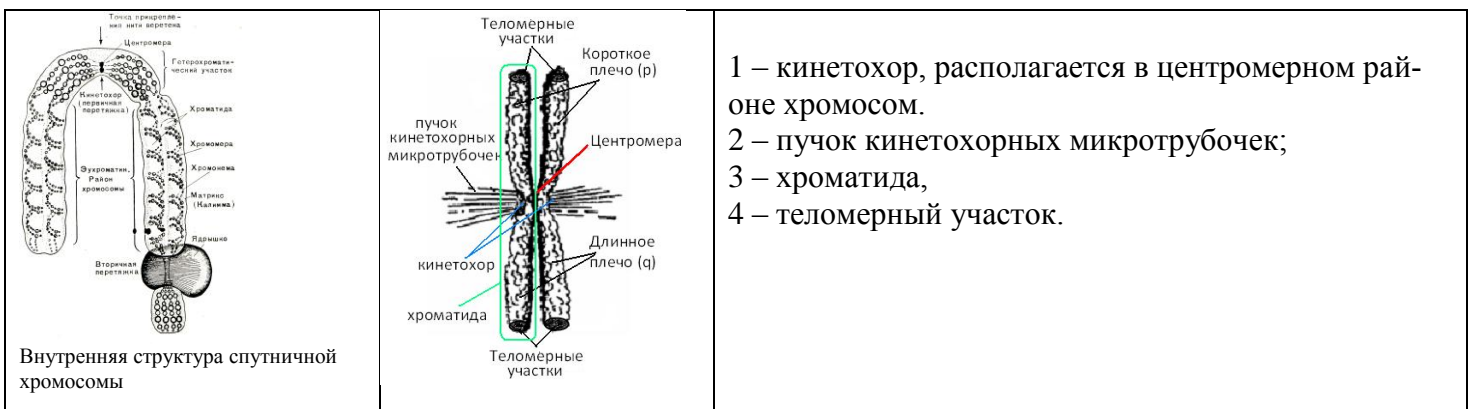


Строение метафазных хромосом

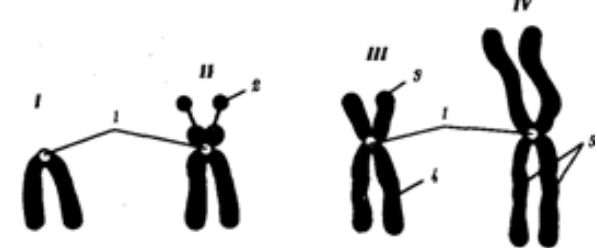
Хромосомы всех эукариотических клеток построены по одному плану.

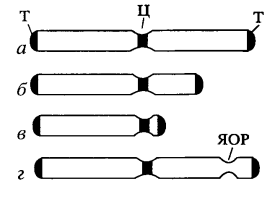
Они включают в себя три основных компонента:

- **короткое плечо**
- **длинное плечо**
- **центромеру**
- **теломерные участки.**
- Некоторые хромосомы (13, 14, 15, 21 и 22 - спутничные) на коротком плече имеют **вторичную перетяжку**, отделяющую участок хромосомы - «спутник».



Формы хромосом по длине плеч хромосомы:

<p>I — Телоцентрические – второе плечо отсутствует, II — акроцентрическими - палочковидные хромосомы с очень коротким, почти незаметным вторым плечом. III — субметацентрическими - плечи неодинаковой длины, IV — метацентрическими - хромосомы с равными или почти равными плечами,</p>	 <p>1 — центромера, 2 — спутник, 3 — короткое плечо, 4 — длинное плечо, 5 — хроматиды</p>
--	---

	<p>Схема морфологии а - метацентрических, б - субметацентрических, в - акроцентрических (телоцентрических) г - спутничные (ядрышковых)</p> <p>Структуры Т - теломеры; Ц - центромеры (первичные перетяжки); ЯОР — ядрышковый организатор (вторичная перетяжка)</p>
--	---

В области первичной перетяжки (центромеры) расположен **кинетохор** — пластинчатая структура, имеющая форму диска. К нему подходят пучки **кинетохорных микротрубочек** митотического веретена деления, идущие в направлении к центриолям. Эти пучки микротрубочек принимают участие в движении хромосом к полюсам клетки при митозе.

Некоторые хромосомы (13, 14, 15, 21, 22) имеют **вторичную перетяжку**. Последняя обычно отделяет маленький участок — **спутник**. Вторичные перетяжки называют еще **ядрышковыми организаторами**, так как именно на этих участках хромосом в интерфазе происходит образование ядрышка. Здесь же локализована ДНК, ответственная за синтез рРНК. В хромосомах человека ядрышковые организаторы расположены в коротких плечах вблизи центромер.

Плечи хромосом оканчиваются конечными участками — **теломерами**. Теломерные концы хромосом предотвращают соединение («слипание») одной хромосомы с другими хромосомами или их фрагментами.

Размеры хромосом у разных организмов варьируют в широких пределах.

Кариотип. Хромосомный набор соматических клеток.

Число хромосом у различных объектов также значительно колеблется, но характерно для каждого вида животных и растений.

У собак – 78 хромосом, шимпанзе – 48, человек – 46, свинья – 40, кошка – 38, мушка – 8.

У некоторых радиолярий число хромосом достигает 1000—1600. Рекордсменом среди растений по числу хромосом (около 500) является папоротник уховник, 308 хромосом у тутового дерева, у речного рака 196 хромосом. Наименьшее количество хромосом (2 хромосомы на гаплоидный набор) наблюдается у одной из рас аскариды, у сложногоцветного *Naploappus gracilis* всего 4 хромосомы (2 пары).

Совокупность числа, величины и морфологии хромосом данного вида называется кариотипом данного вида. !

Кариотип — это как бы лицо вида. Совокупность признаков хромосомного набора.

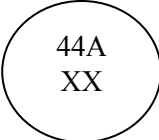
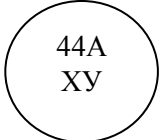

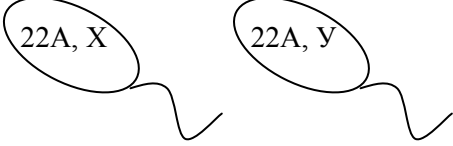
В кариотипе хромосомы подразделяются на

- **аутосомы** (одинаковые у обоих полов).

- и **гетеросомы**, или **половые хромосомы** (разные для мужских и женских особей).
Кариотип человека содержит 46 хромосом: 22 пары аутосом и две половые хромосомы (у женщин XX и XY у мужчин).
В соматических клетках организмов содержится диплоидный (2n) или двойной набор хромосом; в половых гаплоидный или одинарный (n).

В хромосомном наборе соматических клеток различают:

- гомологичные** – хромосомы одной пары. Они 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.

	Число хромосом	Женский организм	Мужской организм
Соматическая клетка	Диплоидный набор, 2n, Всего 46 хромосом: 44 – аутосомы 2 - половые хромосомы		
Половые клетки	Гаплоидный набор, n, Всего 23 хромосом: 22 – аутосомы 1 - половая хромосома	 Один тип яйце-клеток	 два типа сперматозоидов

Для изучения хромосом человека используют цитогенетический метод – кариотипирование.

Методика:

Для проведения данного исследования могут использоваться **любые ядродержащие клетки с диплоидным набором хромосом**.

Наиболее удобно: кусочки кожи, костный мозг, эмбриональная ткань, клетки хориона, клетки амниотической жидкости и **чаще всего лимфоциты периферической крови**.

Для этого берут 1-2 мл венозной крови (или 2-3 мл крови из пальца) и помещают на питательную среду, которая содержит фитогемагглютинин (митоген – белок бобовых растений), который способствует активации митоза.

Все это помещают в термостат и культивируют при температуре 37⁰С в течение 2-3 суток.

Затем (за 2-3 часа до окончания культивирования) добавляют **колхицин (цитостатик) – разрушающий микротрубочки веретена деления**. В результате этого деление большей часть клеток остановилось на стадии метафазы, а это стадия «метафазной пластинки» хромосом, когда они имеют максимально спирализованный вид и выстроены в области экватора.

Пипеткой отбирают культуру лимфоцитов и помещают ее на предметное стекло.

Добавляют **гипотонический раствор** хлорида кальция, что приводит к разрыву клеток (цитоллиз) и хромосомы оказываются вне клетки на предметном стекле.

Затем их фиксируют уксусной кислотой, хромосомы расправляются.

Теперь их окрашивают, фотографируют, вырезают и составляют кариотип.

Окрашивать можно по разному: по Романовскому дает Денверскую классификацию, а по Гимзе дает Парижскую.

Денверская классификация (1960)	Парижская классификация (1971)
Размер хромосом;	Размер хромосом;
Морфология хромосом;	Морфология хромосом;
Положение центромеры.	Положение центромеры.
	Дифференцированное окрашивание с выявлением участков гетеро- и эухроматина.

Денверская (1960)

Группа А. Хромосомы 1-3	Самые крупные. Хромосома 1 (11 мк) имеет почти медианную центромеру. Хромосома 2 (10.8 мк) почти равна первой, имеет субмедианную центромеру. Хромосома 3 (8.3 мк) короче первой и второй. Положение центромеры медианное.
Группа В. Хромосомы 4-5 (7.7 мк).	Крупные хромосомы с субacroцентрически расположенными центромерами. Не отличаются друг от друга.
Группа С. Хромосомы 6-12.	Субметацентрические хромосомы. Хромосомы 6,7 (7.2-6.8 мк). Седьмая хромосома более метацентрична, чем девятая (5.9 мк), из хромосом 10,11,12 (5.7-5.8 мк) – 12 наиболее субметацентрична, 11-ая иногда самая короткая.
Группа D. Хромосомы 13-15 (4.2 мк).	Акроцентрические хромосомы между собой не различаются.
Группа E. Хромосомы 16-18.	Хромосома 16 (3.6 мк) – короткая с субмедианным расположением центромеры. Хромосома 17 (3.5 мк). Хромосома 18 (3.8 мк) – самая короткая, положение центромеры субacroцентрическое.
Группа F. Хромосомы 19,20 (2.9 мк).	Короткие, с почти медианным расположением центромеры не отличаются друг от друга.
Группа G. Хромосомы 21,22.	Хромосома 21 (2.3 мк), 22 (2.8 мк) – акроцентрические.
X – хромосома (7.2 – 6.8 мк). Очень похожа на хромосому группы С.	
Y – хромосома (2.3 мк). Акроцентрическая короткая хромосома: сходна с хромосомами 21 и 22. Отличается сближенными хроматинами длинного плеча.	

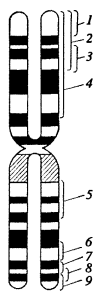
Парижская (1971)

На хромосоме при специальном окрашивании обнаруживаются поперечные светящиеся полосы («бэнды») (Q-полосы, Q-окраска), расположение которых характерно для каждой хромосомы. Избирательное окрашивание связано с локализацией так называемого гетерохроматина.

Такая дифференциальная окраска позволила детально изучить строение хромосом человека. При обычных методах окраски весь набор из 46 хромосом человека принято подразделять по их размерам на семь групп (А, В, С, D, E, F, G). Если при этом легко отличить крупные (1-я, 2-я) хромосомы от мелких (19-я, 20-я), метацентрические от акроцентрических (13-я), то внутри групп трудно различить одну хромосому от другой. Так, в группе С 6-я и 7-я хромосомы схожи между собой так же, как и с X-хромосомой.

Дифференциальное окрашивание позволяет четко отличить хромосомы одной группы друг от друга. Этот прием цитологического анализа в сочетании с генетическими наблюдениями уже в настоящее время позволил начать составлять хромосомные карты человека, т.е. находить места расположения генов на определенных участках хромосом.

Генетическая карта хромосомы 1 человека



Отдельные гены локализованы в определенных сегментах хромосомы: 1 — гены группы крови Сцианна, группы крови Do, ген фосфопируватгидратазы; 2 - гены фосфоглюконат-дегидрогеназы, эритроцитарной группы крови резус (Rh), 4 — гены уридин-монофосфаткиназы, эллиптоцитоза 1, а-амилазы слюны, а-амилазы панкреатической, группы крови Даффи и др.; 5 — глюкозо-1 -фосфатуридилтрансферазы, катаракты; 6 — ген пептидазы С; 7-гены 5S РНК

Диагностические возможности метода:

1. выявление изменений числа (Денверская классификация) и структуры (Парижская) хромосом
2. определение кариотипа
3. определение заболеваний, вызванных геномными и хромосомными мутациями
4. определение пола.

Карта X-хромосомы

