

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»
ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Кафедра биологии

ОДОБРЕНО
Учебно-методическим советом
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России

Протокол № 1/2022
«25» января 2022 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор Института медицинского
образования
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России
Е.В. Пармон
«25» января 2022 г.

Калинина О.В., Бутылин П.А., Приходько С.С., Докшин П.М.

БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

учебно-методическое пособие для обучающихся
по дисциплине «Биология клетки»
по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры)
профиль: «Клеточная и молекулярная биология»

Санкт-Петербург
2022

УДК 576.3
ББК 28.050.7

Калинина О.В., Бутылин П.А., Приходько С.С., Докшин П.М., Михайлова В.В., Сухов И.Б. Биология клетки: учебно-методическое пособие / О.В. Калинина, П.А. Бутылин, С.С. Приходько, П.М. Докшин, Н.В. Михайлова, И.Б. Сухов. – СПб.: Изд-во ... 2022. – 40 с.

Авторы:

Калинина О.В. – декан факультета биомедицинских наук ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, д.б.н.;

Бутылин П.А. – доцент кафедры биологии ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.б.н.;

Приходько С.С. – ассистент кафедры биологии ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России;

Докшин П.М. – ассистент кафедры биологии ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России;

Михайлова В.В. – заведующий кафедрой математики и естественнонаучных дисциплин ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.х.н., доцент;

Сухов И.Б. – доцент кафедры математики и естественнонаучных дисциплин ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.б.н.

Рецензенты:

Виноходов Д.О. – заведующий кафедрой молекулярной биотехнологии СПбГТИ (ТУ), д.б.н., доцент;

Власова О.Л. – директор Высшей школы биомедицинских систем и технологий СПбПУ, д.ф.-м.н., доцент.

Данное учебно-методическое пособие было разработано с учетом включения в учебный процесс не только фундаментальных знаний, но также результатов научных прорывных исследований и инновационных технологий в области молекулярной и клеточной биологии, молекулярной генетики и генной инженерии.

Цель учебно-методического пособия состоит в формировании у обучающихся системных фундаментальных знаний, умений и навыков по биологическим, биохимическим и биофизическим закономерностям, протекающим в эукариотической клетке, представляющих наибольший интерес для практического здравоохранения, формированию у них естественнонаучного мировоззрения и логики биологического мышления, необходимых для научно-исследовательской деятельности.

Пособие предназначено для обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры) в целях реализации программы дисциплины «Биология клетки».

Обсуждено на заседании кафедры биологии
Института медицинского образования
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Блок 1. Клетка как структурная, функциональная и генетическая единица.....	9
Практическое занятие №1. Регуляция экспрессии генов.....	9
Практическое занятие №2. Структурная и функциональная геномика.....	14
Блок 2. Клеточные мембранны. Строение и функции органелл. Везикулярный транспорт	21
Практическое занятие №3. Биосинтез мембран. Везикулярный транспорт. Внеклеточные везикулы.....	21
Практическое занятие №4. Пути синтеза, процессинга и экспорта белка в клетке. Эндоцитоз и экзоцитоз. Лизосомы, аутофагия.....	24
Практическое занятие №5. Пострансляционные модификации белков. Биохимические основы детоксикации экзогенных и эндогенных токсичных соединений.....	28
Блок 3. Цитоскелет и структурные белки, внутриклеточный транспорт, сигналинг и адгезия.....	32
Практическое занятие №6. Структурные белки и цитоскелет клетки.....	32
Практическое занятие №7. Межклеточные взаимодействия.....	35
Блок 4. Клеточный цикл, митоз, апоптоз.....	37
Практическое занятие №8. Регуляция клеточного цикла	37

ВВЕДЕНИЕ

Цель дисциплины состоит в формировании у обучающихся системных фундаментальных знаний, умений и навыков по биологическим и биофизическим закономерностям, протекающим в эукариотической клетке, представляющих наибольший фундаментальный и практический интерес, что способствует подготовке обучающихся к системному восприятию углубленных модулей и формированию у них естественнонаучного мировоззрения и логики биологического мышления, необходимых для последующей научно-исследовательской деятельности.

Задачи дисциплины:

- формирование у обучающихся представлений об основных закономерностях развития жизни и механизмах, обеспечивающих её поддержание на клеточном уровне организации;
- освоение обучающимися представлений о закономерностях взаимодействия компонентов эукариотической клетки в процессе жизнедеятельности;
- формирование у обучающихся знаний о структурно-функциональной организации эукариотической клетки, основных физико-химических процессах, молекулярных механизмах, протекающих в эукариотической клетке;
- формирование у обучающихся знаний о современных фундаментальных и прикладных исследованиях, реализуемых при изучении процессов, протекающих в эукариотической клетке;
- развитие у обучающихся навыков участвовать в обсуждении вопросов и дискуссии по темам дисциплины;
- формирование у обучающихся методологических и методических основ биологического мышления и естественнонаучного мировоззрения;
- формирование у обучающихся навыков работы с научной литературой;
- ознакомление обучающихся с принципами организации работы в научной лаборатории, с устройством морфологической лаборатории, с мероприятиями по охране труда и технике безопасности;
- формирование у обучающихся навыков общения в коллективе.

Программа состоит из четырех блоков.

Блока 1. Клетка как структурная, функциональная и генетическая единица

Продолжительность изучения – 26 часов

Лекции – 2 часа

Семинары – 4 часа

Практические занятия – 4 часа

Самостоятельная работа – 16 часов

Цель блока 1:

- изучить современные концепции клеточного строения; роль мембранных структур в жизнедеятельности клетки; морфологию ядра; структуру гена эукариот, механизм репликации и репарации, уровни экспрессии генов;
- сформировать новые теоретические знания об ультраструктурном строении клеточного ядра, ядрышка, ядерной оболочки и ламине; структурной организации хромосом; об основных положениях центральной догмы молекулярной биологии; о процессах, участвующих в реализации генетической информации и механизмах, обеспечивающих целостность генетической информации;
- сформировать навыки работы с научной литературой и общения в научных дебатах;
- данный блок вносит вклад в формирование следующих компетенций: УК-1, УК-6, ОПК-2, ПК-3.

Блока 2. Клеточные мембранны. Строение и функции органелл.

Везикулярный транспорт

Продолжительность изучения – 36 часов

Лекции – 4 часа

Практические занятия – 12 часов

Самостоятельная работа – 20 часов

Цель блока 2:

- изучить современные концепции строения и функционирования клеточных мембран; эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи; лизосомы; общие принципы внутриклеточной сигнализации; разновидности рецепторов, межклеточные взаимодействия, организацию процесса синтеза белка и транспорта веществ внутри клетки;
- сформировать новые теоретические знания об ультраструктурном строении и функциях мембранных органелл клетки; о ключевых участниках регуляции транскрипции, сплайсинга, процессинга и экспорта белка; о процессах, связывающих плазмолемму с другими отделами клетки, участвующих в формировании электрического потенциала на клеточной мембране; об активном и пассивном транспорте; о процессах, участвующих в детоксикации экзогенных и эндогенных соединений;
- сформировать навыки работы с научной литературой;
- данный блок вносит вклад в формирование следующих компетенций: УК-1, ОПК-2.

Блока 3. Цитоскелет и структурные белки, внутриклеточный транспорт, сигналинг и адгезия

Продолжительность изучения – 26 часов

Лекции – 4 часа

Семинары – 2 часа

Практические занятия – 4 часа

Самостоятельная работа – 16 часов

Цель блока 3:

- изучить строение и динамические процессы цитоскелета клетки; внутриклеточный транспорт, биомеханические процессы в жгутиках и ресничках;

- сформировать новые теоретические знания об ультраструктурном строении и функционировании цитоскелета клетки, о роли цитоскелета в обеспечении внутриклеточного транспорта и биомеханических процессов;

- сформировать навыки работы с научной литературой и общения в научных дебатах;

- данный блок вносит вклад в формирование следующих компетенций: УК-1, УК-6, ОПК-2, ПК-3.

Блока 4. Клеточный цикл, митоз, апоптоз

Продолжительность изучения – 20 часов

Лекции – 2 часа

Практические занятия – 4 часа

Самостоятельная работа – 14 часов

Цель блока 1:

- изучить теории происхождения, строение и функции митохондрий; электрон-транспортную сеть, механизмы клеточной гибели (апоптоз и некроз); способы образования и роль АТФ в клетке, реакции анаболизма и катаболизма;

- сформировать новые теоретические знания об ультраструктурном строении митохондрий и функциональных процессах, протекающих в митохондриях; основах клеточного метаболизма; механизмах клеточной гибели;

- сформировать навыки работы с научной литературой и общения в научных дебатах;

- данный блок вносит вклад в формирование следующих компетенций: УК-1, УК-6, ОПК-2, ПК-3.

Требования к результатам освоения дисциплины:

Компетенция	Индикатор	Показатели достижения освоения компетенции
УК-1. Способен осуществлять критический анализ проблемных ситуаций на основе системного подхода, вырабатывать стратегию действий	УК-1.2. Формулирует цели и рассматривает различные варианты решения проблемной ситуации	Знает: основы учения о клетке, структурно-функциональную организацию клетки, физико-химические, молекулярные процессы, протекающие в клетке, современные направления в изучении клеточной биологии Умеет: пользоваться различными биологическими терминами, участвовать в обсуждении отдельных тем дисциплины «Биология Клетки»
	УК-1.3. Оценивает практические последствия	Знает: строение и биологическую роль нуклеиновых кислот в хранении и реализации генетической информации, структурно-

	реализации действий по разрешению проблемной ситуации	функциональную организацию клетки, физико-химические, молекулярные процессы, протекающие в клетке Умеет: обосновывать последствия развития биологического процесса по заданной теме
УК-6. Способен определять и реализовывать приоритеты собственной деятельности и способы ее совершенствования на основе самооценки	УК-6.2. Оценивает свои ресурсы и их пределы (личностные, ситуативные, временные), оптимально их использует для успешного выполнения порученного задания	Знает: биологическую сущность процессов, происходящих в эукариотической клетке, современные направления в изучении клеточной биологии Умеет: к заданному сроку анализировать и систематизировать специализированную научную литературу по заданной теме, использовать медико-биологические термины в обсуждении отдельных тем дисциплины «Биология Клетки»
ОПК-2. Способен творчески использовать в профессиональной деятельности знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность программ магистратуры	ОПК-2.1. Применяет фундаментальные и прикладные знания в сфере профессиональной деятельности для постановки и решения новых задач	Знает: актуальные проблемы и тенденции развития научной области, посвященной изучению клеточной и молекулярной биологии клетки Умеет: применять полученные знания о процессах, протекающих в различных компартментах клетки при решении профессиональных задач
ПК-3. Способен планировать и реализовывать профессиональные мероприятия в соответствии с профилем программы магистратуры	ПК-3.3. Принимает участие в научных дискуссиях и представляет результаты, полученные в исследованиях	Знает: строение и биологическую роль нуклеиновых кислот в хранении и реализации генетической информации, структурно-функциональную организацию клетки, физико-химические, молекулярные процессы, протекающие в клетке, современные направления развития научной области, посвященной изучению биологии клетки Умеет: представлять результаты опубликованных научных исследований, отстаивать научные взгляды в научных дискуссиях

Место проведения занятий и оснащение: учебные аудитории, мультимедийные презентации, интерактивная доска, методические материалы.

Межпредметные и внутрипредметные связи: Для изучения данной учебной дисциплины необходимы знания, умения и навыки, формируемые предшествующими дисциплинами: в частности, математики, биологии, химии, физики.

Основная литература:

1. Биология Т. 2.: учебник/под ред. В. Н. Ярыгина. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970453087.html>
2. Биология. Т. 1.: учебник/под ред. Ярыгина В.Н. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970453070.html>
3. Гистология, эмбриология, цитология: учебник/Данилов Р.К., Боровая Т.Г. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970453612.html>
4. Клетки по Льюину/Л. Кассимерис [и др.] - М.: Лаборатория знаний, 2018. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785001015871.html>
5. Краткий курс цитологии (клеточной биологии): Учебное пособие/Л.Г. Гарстукова, С.Л. Кузнецов. — М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2019. - Текст: электронный//URL: <https://www.medlib.ru/library/library/books/32246>
6. Цитология и общая гистология: атлас/Банин В.В., Павлов А.В., Яцковский А.Н. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/06-COS-2411.htm>

Дополнительная литература:

1. Биология: медицинская биология, генетика и паразитология: учебник для вузов/А.П. Пехов. - 3-е изд., стереотип. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970430729.html>
2. Биология. В 3 т. Том 1/Д. Тейлор, Н. Грин, У. Старт; под ред. Р. Сопера; пер. 3-го англ. изд. - 7-е изд. (эл.). - М.: БИНОМ, 2015. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785996326693.html>
3. Медицинская биология и общая генетика: учебник/Р.Г. Заяц, В.Э. Бутвиловский, В.В. Давыдов, И.В. Рачковская - Минск: Выш. шк., 2017. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9789850628862.html>
4. Цитология. Функциональная ультраструктура клетки. Атлас/Банин В.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970438916.html>

БЛОК 1. КЛЕТКА КАК СТРУКТУРНАЯ, ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЕДИНИЦА

Практическое занятие № 1 Регуляция экспрессии генов

Цель: изучить классы РНК, работу лактозного оперона, транскрипционные факторы, репрессоры и активаторы транскрипции, уровни регуляции экспрессии генов эукариот и прокариот, роль некодирующих siРНК (малые интерферирующие РНК) в регуляции транскрипции.

Мотивация: занятие формирует представления о механизмах регуляции экспрессии генов у эукариот и прокариот, эпигенетической регуляции, уровнях регуляции экспрессии генов.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос: структурная организация про- и эукариотической клетки, компоненты ядерной оболочки и ламины, ядрышко, ядрышковые организаторы, роль мембранных структур в жизнедеятельности клетки.
2. Доклады обучающихся на заданные темы.
3. Изучение организации оперона и принципов регуляции экспрессии у прокариот.
4. Изучение роли регуляторных белков и различных классов РНК в регуляции экспрессии генов у эукариот.
5. Рассмотрение механизмов эпигенетической регуляции.
6. Обсуждение отличий между структурной и функциональной организацией генома эукариот и прокариот.

Основные понятия

Ген – участок молекулы ДНК, являющийся структурной и функциональной единицей наследственной информации, кодирующий белок или РНК. В структуру гена эукариот входят экзоны (кодирующие участки), интроны (некодирующие участки), регуляторные нетранскрибуемые области.

Экспрессия гена – процесс, в ходе которого информация, закодированная в гене, преобразуется в конечный продукт (белок или РНК).

Транскрипция – создание комплементарной цепи РНК на матрице ДНК.

Сплайсинг – процесс удаления инtronов из пре-мРНК, который проходит при участии малых ядерных РНК (мяРНК) в составе мультимерного комплекса сплайсосомы.

Трансляция – процесс преобразования информации из мРНК в белок.

Промотор – регуляторный нетранскрибуемый участок гена, специфическая нуклеотидная последовательность которого является маркерной для сборки универсальных факторов транскрипции и связывания РНК-полимеразы, в результате чего запускается транскрипция гена.

Основные транскрипционные факторы эукариотической клетки – универсальные вспомогательные белки (всего 5 универсальных факторов транскрипции, в целом 27 субъединиц), которые пошагово собираются на промоторе и запускают начало транскрипции (работу РНК-полимеразы II).

Сигма-фактор (фактор σ) бактериальной клетки – вспомогательная субъединица (единственный транскрипционный фактор прокариот), входящая в состав хорофермента РНК-полимеразы (кор-фермент РНК-полимеразы + фактор σ), обеспечивает опознавание и прочную связь с промотором, в результате чего запускается транскрипция гена у бактерий.

Регуляторные белки (активатор, репрессор, супрессор) – разнообразные по структуре белки, которые связываются со специфическими последовательностями ДНК, и включают или выключают работу гена или генов. В регуляции экспрессии генов эукариот участвует гораздо больше регуляторных белков, чем у прокариот. Бактериальный ген находится под контролем одного или нескольких регуляторных белков, эукариотический ген – под контролем множества разнообразных регуляторных белков.

Регуляторные последовательности (энхансер, сайленсер) – специфические последовательности ДНК, с которыми связываются регуляторные белки.

Белки-активаторы эукариот индуцируют сборку РНК-полимеразы и универсальных транскрипционных факторов на сайте инициации транскрипции.

Белки-репрессоры эукариот, как правило, не блокируют напрямую сайт инициации транскрипции и не блокируют напрямую доступ РНК-полимеразы к ДНК, с помощью комплексных механизмов подавляют транскрипцию генов.

Энхансер – участок ДНК, связывание с которым регуляторного белка-активатора приводит к стимуляции транскрипции. Энхансер может быть удалён от гена и расположен как левее, так и правее сайта инициации транскрипции, но при активации физически сближается с промотором.

Сайленсер – противоположный по действию энхансеру участок ДНК, способствующий репрессии транскрипции гена.

Эпигенетические изменения – изменение экспрессии гена или фенотипического признака, в том числе наследуемое, происходящее без изменения нуклеотидной последовательности ДНК.

Эпигенетические модификации – модификация коровых гистонов (ацетилирование, метилирование и др.) и метилирование цитозиновых оснований ДНК (CpG), в результате чего изменяется экспрессия гена за счёт узнавания белковыми комплексами, регулирующими доступ РНК полимеразы к промоторным областям гена.

Метилирование ДНК – модификация ДНК, при которой под действием ферментов-метилтрансфераз происходит ковалентное присоединение метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида. Метилирование промоторных областей генов приводит к инактивации транскрипции гена.

Микро РНК (siRNA) – особый класс ядерных РНК, связывающихся с комплементарными последовательностями в составе мРНК, что приводит к их деградации. Также участвуют в процессе эпигенетической регуляции.

Регуляция экспрессии генов осуществляется на разных этапах процесса преобразования закодированной информации в конечный функциональный продукт: в процессе транскрипции, на уровне процессинга РНК, при транспорте зрелых мРНК из ядра в цитозоль, в процессе трансляции, в период деградации мРНК, в период активности белка (активации, инактивации, деградации, локализации). Регуляция экспрессии у эукариот отличается от таковой прокариот, не только из-за сложной упаковки ДНК, но также из-за одновременного поступления в клетку множества сигналов и наличия огромного количества разнообразных регуляторных белков, которые в сумме, даже действуя на удаленном расстоянии от гена, влияют на активацию транскрипции промотора одного гена.

Медиатор – белковый комплекс из 24 субъединиц у эукариот, являющийся посредником между регуляторными белками и РНК-полимеразой. **Важно**, что медиатор и универсальные факторы транскрипции одинаковы для всех генов, кодирующих белки, т.е. транскрибуемых РНК-полимеразой II, тогда как регуляторные белки и регуляторные последовательности ДНК гено-специфичны.

Строение лактозного оперона *E. coli*

Оперон – функциональная единица организации транскрипции у прокариот. Состоит из набора генов, которые транскрибируются с одного промотора, подверженного положительной и/или отрицательной регуляции за счет наличия оператора.

Оператор – регуляторная короткая последовательность ДНК, примыкающая к промотору, с которой связывается регуляторный белок-репрессор или активатор транскрипции генов.

Репрессор транскрипции у прокариот – ДНК-связывающий белок, который ингибирует транскрипцию гена, препятствуя связыванию РНК-полимеразы с промотором.

Активатор транскрипции у прокариот – ДНК-связывающий белок, который связывается с коротким (соседним с местом посадки РНК-полимеразы) участком ДНК и индуцирует транскрипцию.

Лактозный оперон – набор генов, отвечающий за процесс усвоения лактозы, имеет полицистронную структуру (емную). В состав *Lac*-оперона входят 3 структурных гена (*z*, *y*, *a*), кодирующие ферменты (β -галактозидазу, галактопермезазу и трансацетилазу), которые катализируют разные этапы процесса утилизации лактозы. Лактозный оперон подвержен двойному контролю (отрицательному и положительному) – транскрипция зависит одновременно от концентрации глюкозы и лактозы в среде. Только одновременное выполнение двух условий (наличие лактозы и отсутствие

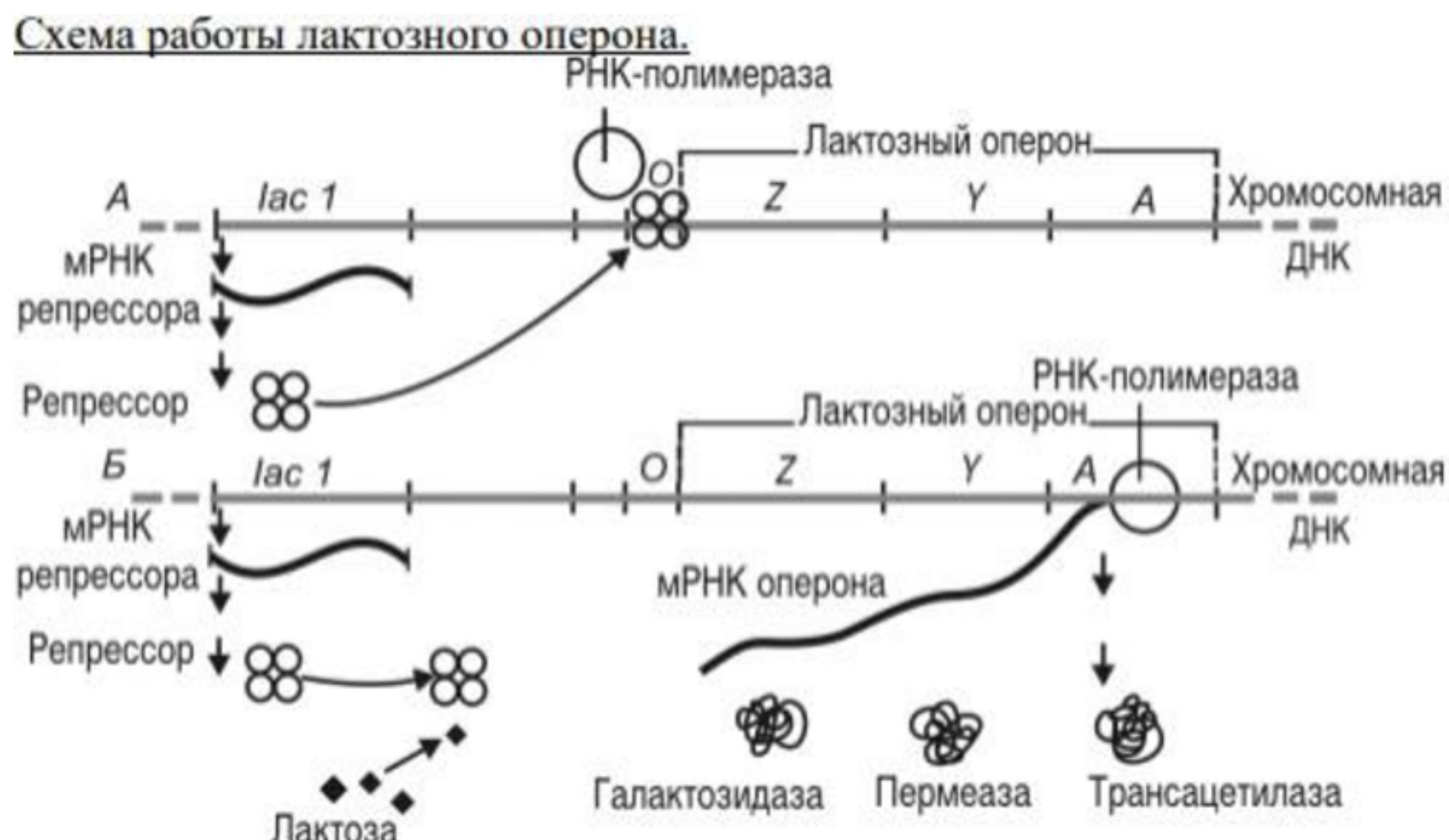
глюкозы в среде) обеспечивает снятие блокировки белка-репрессора и присоединение белка-активатора.

Первое условие (негативная регуляция): увеличение концентрации лактозы в клетке приводит к увеличению концентрации аллолактозы (изомер лактозы), которая, связываясь с белком-репрессором, меняет его конформацию, что приводит к отсоединению белка-репрессора от оператора.

Второе условие (позитивная регуляция): падение концентрации глюкозы в клетке приводит к увеличению концентрации циклической АМР, который связывается с CAP-белком (белок-активатор катаболизма), обеспечивая его конформационные изменения и связывание со специфическим участком ДНК (участок связывания CAP-белка), расположенным перед промотором. Комплекс cAMP и CAP-белок увеличивают сродство РНК-полимеразы и обеспечивают активацию транскрипции.

Lac-оперон имеет три оператора, одновременное взаимодействие с двумя операторами белка-репрессора обеспечивает большую блокировку транскрипции. Экспрессия *Lac*-оперон полностью не выключается. В клетке всегда присутствует фоновая концентрация фермента β -галактозидазы, который необходим для превращения аллолактозы из лактозы в процессе снятия блокировки белка-репрессора.

Впервые общая схема работы лактозного оперона *E. coli* предложена в 1961 году французскими учёными Ф. Жакобом и Ж. Моно (Нобелевская премия – 1965 год) (рис. 1).



Из: 'Генетика и селекция. Теория. Задания. Ответы'; Шишкинская, Н.А.; Изд-во: Лицей, 2005 г.; ISBN: 5-8053-0474-0

Рис. 1. Схема работы лактозного оперона.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Внутриклеточная организация прокариотических клеток. Структурные компоненты и их особенности.
2. Сравнительная характеристика прокариотических и эукариотических типов клеток.
3. Основные клеточные компартменты. Роль мембранных структур в жизнедеятельности клетки.
4. Назовите уровни регуляции экспрессии генов у эукариот.
5. В чем функциональное отличие транскрипционных факторов и белков-регуляторов транскрипции?
6. Верно ли, что для активации транскрипции гена в эукариотической клетке достаточно двух регуляторных белков? Ответ поясните.
7. Какие типы РНК полимераз вы знаете? Каковы их функции?
8. Назовите отличия в строении прокариотического и эукариотического гена.
9. Опишите особенности регуляции экспрессии *Lac*-оперона.
10. Приведите пример конститutивного эухроматина и гетерохроматина.
11. Перечислите уровни упаковки хроматина.
12. Как компактизация хроматина связана с уровнем экспрессии генов?
13. Поясните что такое позиционный эффект (эффект положения гена).
Какова его роль в уровне экспрессии гена.
14. Какие примеры эпигенетической регуляции вы можете привести?

Задание для самоподготовки:

1. Доменная классификация клеточных форм жизни (по К. Вёзе). Нарисовать схему филогенетического древа клеточных форм жизни и кратко рассказать об особенностях 3 доменов (согласно морфологическим, экологическим и генетическим данным).
2. Основные положения клеточной теории.
3. Вклад Роберта Гука, Антони ван Левенгугка, Теодора Шванна, Маттиаса Шлейдена, Роберта Ремака Карла Бэра и Эрнста Августа Руска в изучение биологии клетки.
4. Верно ли, что горизонтальный перенос генов более распространён среди одноклеточных организмов, чем у многоклеточных?
5. Какие гены у всех живых организмов (прокариот и эукариот) независимо от доменной принадлежности характеризуются высокой видовой консервативностью? Что изучают на основе анализа консервативных видоспецифичных генов?
6. Какие особенности регуляции транскрипции генов рибосомной РНК?
7. Каким образом наследуется паттерн метилирования ДНК?
8. Опишите особенности регуляции триптофанового оперона.
9. Основные отличия в строение животной и растительной клетки.

Практическое занятие № 2

Структурная и функциональная геномика

Цель: изучить историю и современное состояние расшифровки генома человека, механизмы устранения ошибок репликации и репарации.

Мотивация: сформировать представление об ошибках функционирования систем репликации и репарации ДНК, об их вкладе в возникновении мутаций, о проектах «Геном человека» и «Single cell project».

Наименование вида занятия: семинар-дебаты.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос по теме практического занятия № 1.
2. Изучение молекулярных механизмов возникновения мутаций в ДНК (ошибки репликации, ошибки репарации).
3. Рассмотрение механизмов репарации ДНК (репарация вырезанием оснований, эксцизионная репарация, гомологичная и негомологичная рекомбинация), их вклада при коррекции различных мутаций.
4. Рассмотрение классификации мутагенов, спонтанного и индуцированного мутагенеза, факторов канцерогенеза, особенностей раковых клеток. Обсуждение связи мутагенеза с процессами репарации.
5. Дебаты по докладам на заданные темы.
6. Знакомство с основными этапами проектов «Геном человека» и «Single cell project» и обсуждение их значения для современной медицины.
7. Дебаты на тему: «Тёмная материя в геноме человека: что, где, зачем?»

Основные понятия

Репликация – процесс удвоения двухцепочечной молекулы ДНК «репликационной машиной» (реплисомой) по принципу комплементарности, в результате которого образуются две идентичные двухцепочечные молекулы ДНК. Механизм репликации отличается чрезвычайно высокой точностью воспроизведения нуклеотидной последовательности ДНК, возникает не более 1 ошибки на каждые 10^9 скопированных нуклеотидов. Точность достигается, в том числе, за счёт наличия у ДНК-полимеразы корректирующей 3'-5' эхонуклеазной активности, функция которой проверить в ходе репликации и исправить ошибочно спаренные нуклеотиды.

Несмотря на высокую точность воспроизведения, процесс репликации приводит к образованию ошибок ДНК, таких как неправильно спаренные основания; однонитевые разрывы, возникающие при остановке реплисомы.

Огромное количество случайных повреждений ДНК в клетке не связаны с репликацией, а возникают под действием внутренних и/или внешних факторов. Так, например, каждый день в ДНК клетки человека происходит спонтанная потеря пуринов/пиrimидинов и образуются апуриновые/апирамидиновые

сайты (AP-сайты), число которых увеличивается под воздействием ультрафиолетового излучения и рентгеновских лучей. Под действием токсических радикалов, постоянно генерируемых в процессах метаболизма, образуется 8-оксигуанин (азотистое основание), что приводит к ошибке спаривания и замене G на T или C на A.

Мутация – стойкое (наследуемое) изменение генома, возникшее спонтанно или под действием внешних/внутренних факторов. **Мутагенез** – процесс образования мутаций.

Репарация – совокупность различных процессов, устраняющих изменения в молекулах ДНК, предотвращая накоплений мутаций.

Механизмы репарации разнообразны и основаны на наличии в молекуле ДНК двух комплементарных цепей, несоответствие последовательности нуклеотидов в одной из которых обнаруживается специфическими ферментами. Репарация является процессом, с помощью которого поддерживается целостность генетической информации в клетке. В клеточном цикле предусмотрены «контрольные точки», длительность которых может увеличиваться, давая возможность клетке завершить весь процесс репарации ДНК.

Типы репарации: репарация вырезанием оснований, репарация вырезанием нуклеотидов, прямая химическая репарация, репарация двухцепочечных разрывов по механизму негомологичной рекомбинации, репарация двухцепочечных разрывов по механизму гомологичной рекомбинации.

Эксцизионная репарация – процесс, в котором поврежденный участок вырезается, а затем образовавшиеся бреши заполняются новым материалом (**репарация вырезанием оснований и репарация вырезанием нуклеотидов**).

Этапы эксцизионной репарации:

1. Распознавание повреждения.
2. Удаление поврежденного основания и сахарофосфата или участка нуклеотидов.
3. Восстановление нуклеотида или последовательности нуклеотидов на основе неповреждённой цепи ДНК и лигирование.

Репарация вырезанием оснований (base excision repair, BER) – набор ферментов (ДНК-гликозилаз), узнающих определенный тип модифицированного основания и выщепляющих повреждённое основание. Репарация происходит с участием AP-эндонуклеаз, ДНК-полимеразы I и ДНК-лигазы.

Например, таким способом удаляются дезаминированные С и А, алкилированные или окисленные основания, происходит репарация AP-сайтов. При репарации дезаминированного цитозина (цитозин в результате химической реакции превратился в урацил и остался спаренным с гуанином) урацил-ДНК-гликозилаза удаляет дезаминированный цитозин, оставшийся в цепи сахарофосфат высщепляет AP-эндонуклеаза с фосфодиэстеразой, в результате этих двух реакций образуется одноцепочечный разрыв, в который ДНК-

полимераза вставляет новый неповрежденный цитозин (нуклеотид), ДНК-лигаза сшивает концы.

Репарация вырезанием нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER) – это исправление повреждения, связанное с изменением в структуре двойной спирали ДНК по комплементарной цепи ДНК. Например, ковалентные связи, образованные в основаниях ДНК под действием УФ-облучения (пириимидиновые димеры Т-Т, Т-С, С-С), образованные под действием канцерогенных соединений. При репарации пириимидиновых димеров эксцизионная нуклеаза вырезает неправильно спаренные нуклеотиды вместе с соседними корректно-спаренными нуклеотидами, образуя одноцепочечную брешь в 12-30 нуклеотидов, на основе комплементарной цепи ДНК-полимераза осуществляет синтез второй цепи на всем протяжении бреши, ДНК-лигаза сшивает концы.

В клетке часть процессов репарации вырезанием нуклеотидов связана с активным процессом транскрипции, так как РНК-полимераза способна остановиться в месте повреждения ДНК и «позвать» (мобилизовать) участников репарации к месту повреждения. В этом случае в процессе репарации участвуют белковые комплексы репарации, сопряженные с транскрипцией.

При **репарации ошибочно спаренных оснований (mismatch repair, MMR)** активные составляющие системы репарации у прокариот (*E.coli*) кодируются генами *mutH*, *mutS* и *mutL*, у эукариот генами гомологами гена *mutS* (Mut-2, Mut-3, Mut 6) и гена *mutL* (MLH1, PMS2). Данная система репарации активируется наличием ошибочно спаренных оснований на только что синтезированных цепях ДНК. Репарация сопровождается узнаванием локализации ошибочно спаренного основания (идентификацией дочерней цепи), удалением участка ДНК в дочерней цепи, с последующим восстановлением по материнской цепи. У эукариот **mismatch repair** система также исправляет петли (инсерции или делеции), образующиеся при проскальзывании репликации на коротких повторяющихся участках (например, TGT) микросателлитных областях ДНК.

Прямая химическая репарация — путь устранения **особо мутагенных повреждений** в ДНК (коррекция и оснований, и нуклеотидов), при котором происходит прямое обращение тех химических реакций, индуцированных химическими или физическими агентами, результатом которых стало данное повреждение. Например, О₆-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза перемещает метильную группу с азотистого основания на один из собственных остатков цистеина, таким образом, восстанавливая азотистое основание, после чего сам фермент разрушается. При этом типе репарации сахарофосфатный остов ДНК не подвергается изменениям.

Репарация двухцепочечных разрывов по механизму негомологичной рекомбинации (non-homologous end joining, NHEJ) – способ репарации двунитевых разрывов без участия гомологичной последовательности ДНК, в процессе которого происходит лигирование (сшивка) разорванных цепей. Как правило, приводит к появлению изменений в последовательности ДНК, может приводить к хромосомным перестройкам. К образованию двухцепочечных

разрывов в молекуле ДНК могут приводить ионизирующее излучение, ошибки репликации, продукты метаболизма.

Репарация двухцепочечных разрывов по механизму гомологичной рекомбинации – репарация одно- и двунитевых разрывов ДНК, при которой имеет место генетический обмен между парой гомологичных последовательностей ДНК. Чаще всего происходит при репарации вновь синтезированной ДНК при остановке репликативной вилки, когда сестринские хроматиды еще не разошлись, а также в процессе рекомбинации.

Гомологичная рекомбинация активируется при образовании тиминовых димеров (Т—Т) в дочерних цепях, не удаленных в ходе репликативной репарации или образованных под воздействием рентгеновских лучей. Многие участники системы репарации двухцепочечных разрывов по механизму гомологичной рекомбинации кодируются у эукариот генами семейства RAD, у прокариот аналогом является ген *recA*.

Гомологичная рекомбинация также используется при устраниении одноцепочечных разрывов в случае остановки репликативной вилки, дополнительно нивелируя блок репликативной вилки из-за одноцепочечного разрыва.

Как высокий, так и низкий уровень репарации по механизму гомологичной рекомбинации может приводить к канцерогенезу. Высокий уровень гомологичной рекомбинации в процессе репарации приводит к потере гетерозиготности, а низкий – к накоплению мутаций.

Специфические репарационные системы бактерий

Фотореактивация ДНК – вид прямой репарации, при котором бактериальные клетки reparируют повреждения ДНК, полученные в результате облучения УФ за счёт активности фермента фотолиазы.

SOS-репарация – система индуцируемых ферментов репарации, которая включается, если в наследственном материале клетки возникает слишком много повреждений и часть из них не ликвидируется. При этом индуцируемые ферменты репарации заполняют бреши, восстанавливая целостность синтезируемых полинуклеотидных цепей без точного соблюдения принципа комплементарности.

Дефекты систем репарации человека (примеры)

Мутации в генах системы репарации ошибочно спаренных оснований (**mismatch repair, MMR**, гены *Mut-2, Mut-3, Mut 6, MLH1, PMS2*) приводят к развитию наследственной формы неполипозного колоректального рака, увеличенному риску развития рака кожи, яичников, желудка.

Мутации в генах системы репарации вырезания нуклеотидов (**nucleotide excision repair, NER**) связаны с увеличением мутаций, индуцированных УФ излучением (например, пириимиевые димеры), которые вызывают редкое

наследственное аутосомно-рецессивное заболевание пигментная ксеродерма (рак кожи).

Мутации в гене **Brcal**, продукт которого выполняет вспомогательную функцию в репарации двухцепочечных разрывов по механизму гомологичной рекомбинации, связываясь и доставляя к месту повреждения белок Rad51 (ключевой участник системы репарации), приводят к развитию рака молочной железы, яичников, предстательной железы.

Мутации в гене **WRN**, кодирующем АТФ-зависимую хеликазу, участвующую в распознавании ДНК-повреждений при репарации вырезания нуклеотидов (**nucleotide excision repair, NER**), приводят к развитию у взрослых синдрома Вернера (нестабильность генома, преждевременное старение, предрасположенность к злокачественным новообразованиям).

Мутации гена **FANCC**, продукт которого участвует в репарации межцепочечных поперечных сшивок ДНК, вызывают редкое наследственное заболевание анемию Фанкони (всего 22 гена ассоциировано с данным заболеванием), увеличивают риск развития рака молочной железы.

Мутагены являются факторами, которые вносят изменения в ДНК и вызывают мутации. К ним можно отнести различные химические вещества, а также разные виды излучения. Например, ультрафиолет, содержащийся в солнечных лучах; ионизирующее излучение, такое как γ -лучи и α -частицы, возникающие при радиоактивном распаде.

Канцерогенез – процесс развития злокачественной трансформации в клетке. Непосредственно связан с возникновением мутаций в онкогенах и опухолевых супрессорах. Высокий уровень ошибок репликации, репарации и рекомбинации обуславливают генетическую нестабильность, характерную для опухолевых клеток.

Онкоген – это мутантная форма нормального гена (протоонкогена), участвующего в контроле роста и деления клетки. Продукт изменённого гена способен действовать доминантно и трансформировать обычную клетку в опухолевую.

Онкогенный вирус – вирус, способствующий превращению клетки в опухолевую. Как правило, вирусный онкогенез требует накопления дополнительных мутаций, поэтому между первичной вирусной инфекцией и клиническим проявлением опухоли проходит очень значительное время (в случае вирус-ассоциированных опухолей человека, десятки лет).

Ген-супрессор опухоли (опухолевый супрессор) – ген, препятствующий возникновению опухолей. Мутации в генах-супрессорах, приводящие к потери функции конечного продукта, благоприятствуют развитию рака. Например, белок ретинобластомы (Rb), опухолевый супрессор, участвует в регуляции клеточного деления, связываясь и ингибируя действие белков семейства E2F, в результате чего происходит блокировка репликации ДНК и клеточного деления. Мутации в гене Rb приводят к развитию ретинобластомы, а также часто встречаются во многих других опухолях.

Геном человека – совокупность наследственного материала, содержащаяся в ДНК, заключённого в клетке человека. Геном человека

представлен ядерной (22 аутосомы и две половые хромосомы) и митохондриальной ДНК. В целом геном человека состоит примерно из 3,1 млрд пар оснований, из которых только около 2% транскрибируются.

Проект «Геном Человека» – международный исследовательский проект под руководством Джеймса Уотсона, начавшийся в 1990 г. и продлившийся 15 лет, координируемый U.S. Department of Energy и National Institutes of Health, USA. Его цель – определить полную последовательность нуклеотидов в геноме человека, идентифицировать все гены, создать генетические и физические карты генома человека, создать биоинформационную базу данных, оценить этические, правовые и социальные аспекты.

Основной объём работ был выполнен в университетах и исследовательских центрах США, Канады и Великобритании. В 1998 году к реализации проекта подключилась частная фирма Celera Genomics под руководством американского учёного Крэйга Вентера (Craig Venter), применившая метод «слепого дробовика», что позволило значительно увеличить скорость реализации проекта. Первый «черновой» вариант генома был представлен в 2000 году одновременно академическим консорциумом и фирмой Celera. Полные варианты были анонсированы в 2003 году. В результате было определено 99% генома с точностью 99,99%.

Фрэнсис Коллинз, один из руководителей проекта, назвал результат проекта открытием «языка Бога». В результате реализации проекта «Геном Человека» были получены последовательности большинства генов, выявлено количество генов (20000-25000, в 2010 году идентифицировано около 22300 генов), определён состав некодирующих областей генома.

Развитие технологий прочтения генома позволило параллельно получить геномные последовательности модельных биологических организмов: *E. coli*, *S. Cerevisiae*, *C. elegans*, *D. melanogaster*, а также драфтовые геномы мыши и крысы.

Реализация проекта «Геном Человека» подняла множество этических и общественных вопросов, которые решались по мере реализации проекта. Ещё в 1996 году в США был принят закон, запрещающий дискrimинацию по генетическому признаку. До сих пор в США функционирует Программа «Этические, правовые и социальные последствия» (ELSI), которая занимается этическими вопросами, связанными с исследованиями генома человека.

Важным решением был обнародованный в марте 2000 года указ президента Б. Клинтона о выведении последовательности ДНК из-под действия патентного законодательства. Благодаря этому решению информация о первичной последовательности генов может быть использована при разработке новых терапевтических средств и в научных исследованиях.

Проект «Single Cell Project», одной из главных целей является изучение связи между геномом, молекулярными механизмами регуляции экспрессии генов, генетическими регуляторными сетями и фенотипом индивидуальной клетки в норме и патологии.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Каковы механизмы репарации ошибок репликации?
2. Причины возникновения ошибок в ДНК.
3. Какие механизмы репарации приводят к образованию хромосомных мутаций?
4. Какие механизмы репарации приводят к образованию генных мутаций?
5. Насколько мутации и канцерогенез тождественны?
6. Типы мутагенов (перечислить не менее трёх примеров из каждой категории).
7. В чём отличия понятий таких как «канцерогены» и «мутагены»?
8. В чём отличия репликации у прокариот и эукариот?
9. Каким образом происходит репликация концов линейных хромосом (теломерных участков)?
10. Геном человека расшифрован. Почему продолжаются геномные исследования?
11. Какие масштабные проекты продолжают исследования генома человека?
12. Особенности строение центромерного и теломерного районов. Их функции.
13. Отличия кодирующей и некодирующей частей генома.

Задание для самоподготовки:

1. Особенности раковых клеток.
2. В клетках какой ткани произошла мутация, если известно, что она передалась потомству?
3. Может ли единственная мутация привести к раку?
4. Раскройте понятие «протоонкоген» и приведите ряд примеров.
5. Назовите один из главных белков-супрессоров опухоли. Опишите механизм его действия.
6. Какие системы обеспечивают сохранность генетического материала в процессе наследования?
7. Поясните, почему только плейотропностью не удается объяснить то, как онкогены приводят к раку.
8. Если в результате мутации активируется protoonkogen, кодирующий ростовой фактор, и protoonkogen, кодирующий сигнальный белок, расположенный в каскаде после рецептора этого ростового фактора, будет ли эта клетка в два раза вероятнее давать опухоль, по сравнению с клеткой, содержащей лишь одну из этих мутаций? Ответ поясните.
9. Какие предпосылки послужили для начала проекта по определению последовательности генома человека.
10. Каков вклад частных и государственных исследовательских коллективов в реализацию проекта

БЛОК 2. КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ ОРГАНЕЛЛ. ВЕЗИКУЛЯРНЫЙ ТРАНСПОРТ

Практическое занятие № 3

Биосинтез мембран. Везикулярный транспорт. Внеклеточные везикулы

Цель: изучить типы мембранных транспортеров; биосинтез мембран; механизмы везикулярного транспорта, образование внеклеточных везикул.

Мотивация: сформировать представление о биосинтезе клеточных мембран, механизмах внутриклеточного транспорта, формировании внеклеточных везикул, о роли мембранных структур в межклеточной коммуникации.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос по теме Практического занятия № 2.
2. Устный опрос по теме «Строение и биологическая функция мембраны».
3. Обсуждение типов мембранных транспортеров и их роль в жизнедеятельности клетки.
4. Изучение механизма биосинтеза мембранных липидов в эндоплазматическом ретикулуме, формирования асимметрии билипидного слоя. Способы доставки мембран к другим органеллам.
5. Устный опрос по теме «Строение и функции органелл эукариотической клетки».
6. Рассмотрение механизмов функционирования основных путей везикулярного транспорта.
7. Изучение механизмов образования внеклеточных везикул и их роли в межклеточной коммуникации.

Основные понятия

Синтез мембран – образование билипидного слоя в эндоплазматическом ретикулуме, таким образом, что формируется асимметрия липидного состава на внешней и внутренней стороне мембраны, созревание мембран происходит в составе Комплекса Гольджи.

Флиппазы – ферменты, переносящие фосфолипиды с одного липидного слоя на другой с затратой энергии АТФ, формируют асимметрию липидного состава; **скрамблаза** переносит липиды в обоих направлениях без затраты энергии АТФ, восстанавливая равновесное содержание.

Внеклеточные везикулы – разнообразные по размеру (от 10 до 1000 нм в диаметре) и происхождению мембранные пузырьки. Активно выделяются клетками во внеклеточную среду, играют роль в межклеточных коммуникациях.

Экзосомы – везикулы, образующиеся в результате слияния мультивезикулярных телец с плазмалеммой, отличаются небольшим размером (от 40 до 100 нм в диаметре).

Формирование мембран происходит в ЭПР, там же где идёт основной синтез белка. Новосинтезированные липиды встраиваются во внутреннюю мембрану ЭПР, и специальные ферменты транспортируют их на внешнюю мембрану, образуя липидный бислой, что обеспечивает рост мембраны ЭПР. Перенос мембран в другие клеточные компартменты осуществляется путём везикулярного транспорта. Везикулы формируются вместе с белковым содержимым и отделяются от мембраны за счёт ассоциированных белков, формирующих окаймление. Белки окаймления: клатрин, СОРИ и СОРП. Транспорт везикул чаще всего опосредован моторными белками-динеинами и кинезинами, движущимися по микротрубочкам. Адресование везикул к конечным мишениям будет происходить с помощью белков семейства Rab, а слияние опосредовано белками семейства SNARE мембранные везикулы и адресной мембраны.

За счёт перераспределения синтезированных в ЭПР везикул происходит образование внутриклеточных мембранных органоидов. Так, присоединение маннозо-6-фосфата к синтезированным белкам будет приводить к накоплению таких белков в лизосомах. Формирование внеклеточных везикул на плазматической мемbrane возможно либо за счёт экзоцитоза, и тогда такие везикулы называются экзосомы, или же за счёт схлопывания участков мембранны, что формирует микрочастицы. Экзосомы и микрочастицы играют важную роль в межклеточных коммуникациях и способны передавать компоненты цитоплазмы и мембранные белки.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Типы мембранных транспортеров. Приведите примеры функционирования мембранных транспортеров.
2. Опишите биосинтез мембранных липидов в эндоплазматическом ретикулуме. Какие механизмы обеспечивают асимметрию билипидного слоя в мембранах? Опишите механизм их действия.
3. Какие ферменты участвуют в распределении липидов в эндоплазматическом ретикулуме и в клеточной мембране?
4. Опишите структурную организацию эндоплазматического ретикулума и его функции в зависимости от структуры.
5. Опишите структурно-функциональную организацию аппарата Гольджи.
6. Опишите механизмы, обеспечивающие сортировку и слияние везикул во внутриклеточном транспорте.
7. Опишите отличия микровезикул и экзосом, и их роль в межклеточной коммуникации.
8. Какой тип внеклеточных везикул может образовываться из мультивезикулярных телец?

9. Назовите типы окаймления и основные пути сортировки везикул внутри клетки.
10. Опишите молекулярные основы образования окаймлённых пузырьков.

Вопросы для самоподготовки:

1. Опишите общие молекулярные основы эндоцитоза и экзоцитоза.
2. Опишите роль цитоскелета в везикулярном транспорте.
3. Нарисуйте схему возможных путей транспорта белка, предназначенного для разных мембранных органелл клетки.

Практическое занятие № 4

Пути синтеза, процессинга и экспорта белка в клетке. Эндоцитоз и экзоцитоз. Лизосомы, аутофагия

Цель: изучить пути синтеза, процессинга и экспорта белка; молекулярные механизмы эндоцитоза и экзоцитоза, лизосомальные протеиназы; формирование и деградацию лизосом, молекулярный механизм аутофагии.

Мотивация: сформировать представление о взаимосвязи синтеза, процессинга и экспорта белка, функционировании и деградации лизосом, о роли аутофагии в жизнедеятельности клетки.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа

План занятия

1. Устный опрос по теме Практического занятия № 3.
2. Изучение процесса синтеза и этапов процессинга трансмембранных белков.
3. Рассмотрение механизмов распределения белков внутри клетки.
4. Рассмотрение функции и локализации шаперонов в процессе фолдинга белков. Примеры их функционирования. Пути и механизмы деградации неправильно сложенных белков.
5. Изучение молекулярных механизмов эндоцитоза и экзоцитоза.
6. Рассмотрение образования, функционирования и деградации лизосом. Лизосомальные протеиназы и их функции.
7. Рассмотрение процесса аутофагии и его роли в жизнедеятельности клетки, в физиологических и патологических процессах.

Основные понятия

Рибосома – белковый комплекс, осуществляющий синтез полипептидной цепи по матрице иРНК.

Аминоацил тРНК синтаза – фермент, ковалентно присоединяющий аминокислоту к соответствующей тРНК. Такой комплекс будет субстратом для синтеза пептидной цепи на рибосоме.

Факторы инициации трансляции – метионил-т РНК, три комплекса инициирующих трансляцию белков: инициирующий фактор 1,2, 3.

Факторы терминации трансляции – белки, связывающиеся со стоп-кодоном на рибосоме, освобождают полипептидную цепочку из рибосомы.

Процессинг белка – изменения, происходящие с полипептидной цепью после её высвобождения из рибосомы.

Пострансляционная модификация белков – ковалентное присоединение химических групп (метилирование, ацетилирование, гликозилирование, фосфорилирование, убиквитирование, сульфатирование и др.).

Шапероны – белки теплового шока, участвующие в организации трехмерной структуры белка, также осуществляют контроль складывания, инициируя протеосомную деградацию неправильно сложенных белков.

Убиквитинирование – добавление остатка(ов) убиквитина на С-конце белка, что служит сигналом протеасомной деградации.

Протеасомная деградация – расщепление белка до аминокислот посредством протеасомы – крупного белкового комплекса.

Синтез белка происходит с помощью крупного мультибелкового рибонуклеопротеина – рибосомы. Рибосомы часто ассоциированы с мембраной ЭПР, образуя шероховатый ЭПР. Рибосомы присоединяют аминокислоты в полипептидной цепочке согласно последовательности нуклеотидов в матричной РНК, заключённых в триплеты, таким образом обеспечивая трансляцию генетического кода в последовательность аминокислот. Посредниками при этом выступают тРНК, перенос аминокислот на которые осуществляют специфические аминоацил-тРНК-синтазы, разнообразие которых соответствует числу различных аминокислот в клетке.

Инициацию транскрипции осуществляют факторы инициации транскрипции, а синтез полипептидной цепи обрывается при встрече стоп-кодона при участии факторов трансляции. Новосинтезированная полипептидная цепь подвергается процессингу: модификации (метилирование, ацетилирование, гликозилирование и т.д), а также приобретению правильной третичной структуры – фолдигу. Трансмембранные белки встраиваются в мембрану ЭПР. В процессе фолдинга активную роль принимают белки-шапероны. Эти белки за счёт внутренней структуры обеспечивают сворачивание полипептида в правильную трехмерную конструкцию, они же отправляют неправильно свёрнутые белки, или же поврежденные на деградацию с участием протеасом, путём присоединения остатков убиквитина.

Эндосомы – внутриклеточные везикулы, возникающие в результате слияния нескольких эндоцитозных пузырьков. Подвергаются дальнейшей сортировке или созреванию.

Поздние эндосомы /мультивезикулярное тельце – клеточный компартмент, где происходит сортировка эндосом, формирование экзосом.

Лизосомы – клеточные органеллы, содержащие разнообразные ферменты, участвующие в деградации большинства макромолекул (липидов, белков, углеводов), поступающих в клетку в процессе эндо- и пиноцитоза.

Маннозо-6-fosфат – сигнал сортировки лизосомных ферментов в комплексе Гольджи.

Автофагия – один из путей деградации веществ, способ утилизации «отработанного» материала в клетке.

Лизосомные болезни накопления относятся к редким наследственным болезням обмена, наследуются в большинстве случаев по аутосомно-рецессивному типу и крайне редко Х-сцепленному типу, характеризуются дефицитом активности специфических ферментов лизосом. Патогенные мутации приводят к потере активности кодируемого белка-фермента (ферментопатии). Для многих лизосомных болезней накопления четкой корреляции между генотипом и фенотипом не установлено. Например, имеются данные, что в зависимости от этнической принадлежности одна и та же гомозиготная мутация может быть ассоциирована как практически с

бессимптомным течением заболевания, так и с тяжелой клинической картиной. Последствия дефицита лизосомных ферментов могут включать накопление субстрата, отсутствие конечного продукта, активацию альтернативных путей с образованием токсичных промежуточных продуктов или комбинацию этих факторов.

Лизосомные болезни накопления разделяют в зависимости от типа накапливающегося субстрата: мукополисахаридозы, липидозы (сфинголипидозы, галактосиалидоз и др), муколипидозы, гликопротеинозы (фукосидоз, сиалидоз, маннозидоз и др) и др. Известно около 60 различных лизосомных болезней накопления, дебют заболевания может варьировать от 0 до 70 лет. Клинические проявления могут сопровождаться жизнеугрожающими состояниями (кома в результате гипераммониемии или гипогликемии, или эпилептический статус). Клиническая картина характеризуется высокой гетерогенностью, прогрессирующим течением с вовлечением разных органов (печень, селезенка, костный мозг, легкие, почки, кости и др) и систем (иммунная, костно-суставная, центрально-нервная система, сердечно-сосудистая и др).

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Что является необходимым и достаточным условием эффективного распределения белков в клеточные компартменты? Опишите механизм доставки белков в митохондрии и пероксисомы.
2. Правильно ли утверждение, что все белки, предназначенные для внутриклеточных мембранных компартментов, поступают по мере синтеза в эндоплазматическую сеть и затем идут к местам использования? Ответ поясните.
3. Опишите пути синтеза и процессинга белка в клетке.
4. Опишите функции белков шаперонов.
5. По какому пути будет транспортироваться белок, не имеющий сигнальных последовательностей?
6. Опишите все процессы, в которых участвуют лизосомы. Приведите примеры ферментов лизосом. Какие условия нужны для их активации?
7. Что такое аутофагия и каково её значение для клетки? Приведите примеры нарушения процесса аутофагии.
8. Особенности процесса митофагии и её роль. Митофагия – зло или спасение?
9. Особенности строения первичных и вторичных лизосом. За счёт какого механизма кислые гидролазы активируются только в лизосомах?
10. Опишите различия (субстрат и клеточный механизм) рецептор-опосредованного эндоцитоза, фагоцитоза, пиноцитоза.
11. Опишите все этапы преобразования эндосом.
12. Опишите молекулярный механизм рецептор-опосредованного эндоцитоза.

Вопросы для самоподготовки:

1. Верно ли утверждение, что секвенирование гена является наиболее надежным и достаточным способом определения полной аминокислотной последовательности цитозольного белка в его функциональной форме. Ответ поясните.
2. Назовите места синтеза белка в клетке. Существуют ли различия в молекулярных основах синтеза белка в клетке в зависимости от локализации синтеза? Ответ обоснуйте.
3. Представьте, что вы – клеточный паразит. Вы понимаете, что, проникая внутрь клетки, можете попасть в лизосому. Предложите способы избежать этого?
4. Как реализован механизм защиты от активных форм кислорода в пероксисомах?
5. Как защита от окисления связана с метаболизмом липидов в пероксисомах?
6. Опишите молекулярные механизмы, приводящие к дефектам в работе лизосом. Приведите примеры мутаций, связанных с развитием лизосомных болезней накопления.

Практическое занятие № 5

Посттрансляционные модификации белков. Биохимические основы детоксикации экзогенных и эндогенных токсичных соединений

Цель: изучить биохимические механизмы детоксикации гидрофобных экзогенных и эндогенных соединений, роль этих механизмов в развитии патологических состояний, биохимические основы посттрансляционной модификации белков.

Мотивация: сформировать представление о биохимических процессах, протекающих в эндоплазматическом ретикулуме; о роли монооксигеназной системы в развитии патологических состояний.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос по теме: «Пути синтеза, процессинга и экспорта белка в клетке».
2. Изучение биохимических основ посттрансляционной модификации белков.
3. Изучение биохимических механизмов детоксикации соединений.
4. Рассмотрение функционирования системы цитохрома P-450.
5. Обсуждение роли монооксигеназной системы детоксикации в метаболизме лекарственных соединений и в развитии патологических соединений.

Основные понятия

Посттрансляционная модификация белков – ковалентное присоединение химических групп (метилирование, ацетилирование, гликозилирование, фосфорилирование, убиквитирование, сульфатирование и др.).

N-гликозилирование белков – многостадийный ферментативный процесс присоединение углевода к белку, протекающий в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме или аппарате Гольджи.

O-гликозилирование белков – присоединение 1-2 углеводных остатков по серину, триптофану или треонину, протекает в аппарате Гольджи.

Метилирование белков – процесс энзиматического присоединения метильной группы к пептиду при помощи метилтрансфераз.

Сульфатирование белков – процесс энзиматического присоединения сульфатной группы при помощи сульфотрансфераз (сульфатируются чаще боковые цепи).

Гемопротеид – сложный белок, простетическая группа которого представлена гемом.

Монооксигеназы – ферменты, катализирующие восстановление одного атома молекулы кислорода с образованием воды и включение другого атома кислорода в окисляемое вещество.

Микросомы – фрагменты внутриклеточных мембран, в частности мембран эндоплазматического ретикулюма, образующиеся при гомогенизации клеток.

Cytochromes P450 (CYPs) – семейство ферментов (интегральных гемопротеидов), локализованных в мембранах эндоплазматического ретикулюма и митохондрий.

Окислительно-восстановительные реакции – химические реакции, сопровождающиеся изменением степени окисления у атомов реагирующих веществ. При этом некоторые частицы отдают электроны, а некоторые получают.

Индукция – повышение количества фермента (белка) за счет увеличения его синтеза.

Ксенобиотик – вещество, поступающее в организм из окружающей среды и не используемое им для построения тканей организма или как источник энергии.

Микросомальные монооксигеназы представляют собой полиферментный комплекс, который состоит из четырех ферментов. Центральным звеном этого комплекса является **цитохром P450**. Восстановленный цитохром при взаимодействии с CO образует карбонильный комплекс, характеризующийся атипичной полосой поглощения на 450 нм, что и определило название фермента. В активном центре **цитохрома P450** выделяют две зоны:

- каталитическая, содержащая гем, в котором шестое положение железа вакантно для присоединения кислорода или других лигандов с более высоким сродством (CO, CN⁻). Также железо способно принимать и отдавать электрон, изменяя свою степень окисления;

- связывающая, образованная гидрофобными радикалами аминокислот, в которой происходит связывание гидрофобного субстрата.

Схема действия микросомальных монооксигеназ (схема Эстабрука): вещество, подвергающееся биотрансформации, на 1-й стадии взаимодействует с окисленной формой **цитохрома P450** (Fe^{+3}) с образованием фермент-субстратного комплекса. На 2-й стадии комплекс восстанавливается одним электроном. 3-я стадия характеризуется взаимодействием восстановленного комплекса с O_2 . Присоединение O_2 осуществляется с большой скоростью. На 4-й стадии тройной комплекс восстанавливается вторым электроном. 5-я стадия характеризуется внутримолекулярными превращениями восстановленного тройного комплекса и его распадом с освобождением воды и гидроксилированного субстрата. При этом **цитохром P450** переходит в исходную форму.

Примеры реакций:

- 1) гидроксилирование: бензол → фенол
- 2) тестостерон → эстрадиол
- 3) парацетамол → N-ацетил-*p*-бензохинонимин
- 4) бензопирен → эпоксид бензопирена

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР): шероховатый и гладкий. В мембранах гладкого ЭПР располагаются ферменты монооксигеназной системы (МОС). Биологическая роль: детоксикация гидрофобных эндогенных и экзогенных соединений (ксенобиотиков и лекарственных препаратов). Локализация в органах: печень, легкие, кишечник, почки, кожа, плацента, а также головной мозг, надпочечники и гонады. Важную роль при функционировании микросомальных монооксигеназ играет связь ферментов с мембранными ЭПР. Особенno имеют значение фосфолипиды микросом, которые обеспечивают поддержание каталитической активности МОС и участвуют в прикреплении ее компонентов к мембране ЭПР. Фосфолипиды влияют на конформационные изменения молекулы **цитохрома P450** и ее стабилизацию.

Реакции биотрансформации гидрофобных соединений направлены на увеличение полярности молекул, уменьшение растворимости в липидах, что обеспечивает быстрое выведение их из организма.

Реакции химической модификации соединений, их еще называют реакциями функционализации, протекают они при участии микросомальных монооксигеназ. Это окислительно-восстановительные превращения, в результате которых в молекулу соединения вводится новая полярная группа или отщепляются алкильные радикалы. Как следствие, изменяется молекула гидрофобного соединения: образуются функциональные группировки с активными атомами водорода – оксигруппы, первичные или вторичные аминогруппы, тиогруппы, карбоксигруппы и т. д.

Роль монооксигеназной системы в развитии патологических состояний

Транзиция аденина на гуанин в положении 2455 (A2455G) в 7 экзоне гена CYP1A1 (изоформа **цитохрома P4501A1**) приводит к замене изолейцина на валин в аминокислотной последовательности каталитического центра фермента, в результате чего продуцируется энзим с активностью в 2 раза выше исходной. Это повышает риск развития рака легкого.

Изоформа **цитохрома P4502C9** метаболизирует 18,5% всех известных лекарственных средств (например, антикоагулянтный препарат варфарин). Аллергенный вариант CYP2C9*2 имеет замену цитозина на тимин в положении 430 (C430T), в результате чего в аминокислотной последовательности **цитохрома P4502C9** в 144-м положении аргинин заменяется на цистein. При этом образуется фермент CYP2C9.2 со сниженной активностью. В этом случае при приеме варфарина чаще наблюдаются побочные эффекты.

Аллергенный вариант **цитохрома P4502A6**, обусловленный заменой T479A в 3-м экзоне, приводит к образованию фермента CYP2A6 с пониженной активностью. В результате происходит медленная инактивация никотина, а также снижение образования проканцерогенов.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Опишите постмодификационные изменения белка.
2. Дайте определение гемопротеидов. Особенности строения цитохрома Р-450.
3. Дайте характеристику микросомального окисления: локализация, ферменты и коферменты, биологическая роль.
4. Механизм биотрансформации гидрофобных соединений и роль цитохрома Р-450.
5. Приведите примеры реакций биотрансформации химических соединений при участии монооксигеназной системы.
6. Приведите примеры участия монооксигеназной системы в развитии патологических состояний.

Вопросы для самоподготовки:

1. Понятие окислительно-восстановительных реакций. Приведите примеры донор-акцепторных пар. Ферменты и коферменты, участвующие в этих реакциях.
2. Металлы с переменной валентностью, их роль в окислительно-восстановительных реакциях.
3. Гемопротеиды. Особенности строения цитохрома Р-450.
4. Механизм биотрансформации гидрофобных соединений и роль цитохрома Р-450. Роль ионов железа и молекулярного кислорода в функционализации гидрофобных соединений. Типы реакций, катализируемые ферментами монооксигеназной системы.
5. Примеры реакций биотрансформации химических соединений при участии монооксигеназной системы.
6. Роль монооксигеназной системы в развитии патологических состояний.

БЛОК 3

ЦИТОСКЕЛЕТ И СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ, ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ, СИГНАЛИНГ И АДГЕЗИЯ

Практическое занятие № 6

Структурные белки и цитоскелет клетки

Цель: изучить теоретические основы строения и функционирования актин-миозиновой системы миоцита, тонкие и толстые филаменты, промежуточные филаменты, миофибриллы, строение структурной единицы сократительного аппарата – саркомера.

Мотивация: сформировать представление о строении и функционировании цитоскелета клетки.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа

План занятия

1. Устный опрос по теме лекции «Цитоскелет клетки и внутриклеточный транспорт».
2. Изучение строения и функционирования актин-миозиновой системы миоцита; процесса полимеризации/деполимеризации микротрубочек; моторных белков микротрубочек, их роль в организации внутриклеточного транспорта, формировании веретена деления; промежуточные филаменты-кератины и ядерные ламины.
3. Рассмотрение строения саркомера, принципиальная схема взаимодействия белков при выполнении мышечного сокращения.

Основные понятия

Характерной особенностью элементов цитоскелета является их полимерная структура. Протяжённые молекулы состоят из большого числа белковых субъединиц. Другой особенностью цитоскелета является его способность к динамической перестройке.

Цитоскелет выполняет в клетке множество функций: является каркасом клетки; участвует во внутриклеточном транспорте, обеспечивает перемещение внутриклеточных структур, везикул, хромосом, положение органелл внутри клетки; обеспечивает поддержание, изменение формы и размеров клетки; поддержание и изменение формы ядра. Особым вариантом организации цитоскелета являются мышечные клетки, в которых белки цитоскелета (актин-миозиновая система) организованы в крупные повторяющиеся структуры, способные обеспечивать мышечное сокращение (производить значительную работу).

Различают три основных вида цитоскелетных белков: **микрофиламенты, промежуточные филаменты и микротрубочки.**

Микрофиламенты – полимеры, состоящие из белка актина (G-актин – мономерная глобулярная форма актина) и ассоциированных с ним белков.

Актиновые микрофиламенты являются динамичной структурой, обладающей полярностью и способной быстро собираться и разбираться. К ассоциированным белкам относятся, например, тропомиозин, участвующий во взаимодействии актиновых нитей, и фибрин, участвующий в формировании филаментов в пучки. Миозин – моторный белок актин-миозиновой системы мышечной клетки, обеспечивающий скольжение филамента актина.

Саркомер – функциональная единица мышечного волокна, представлена участком миофибриллы между двумя Z-линиями.

Толстые филаменты – полимеры миозина в составе саркомера.

Тонкие филаменты – полимеры актина (F-актин) в составе саркомера.

Промежуточные филаменты – полимеры, представленные в клетке преимущественно кератинами, а также белками, образующими ядерную ламину.

Микротрубочки – полимерные структуры, состоящие из димеров, альфа и бета тубулина. Порядка 25 нм в диаметре. Центросома (или клеточный центр) – белковая структура, представленная 2 цилиндрами из микротрубочек, служит центром образования веретена деления в процессе митотического деления клетки.

Динамическая нестабильность – процесс образования полимеров микротрубочек, заключающийся в их постоянном росте и укорочении.

Моторные белки микротрубочек – белки семейств динеины и кинезины. Обеспечивают перемещение внутриклеточных везикул по микротрубочкам, относятся к белкам, ассоциированным с цитоскелетом.

Жгутики служат для перемещения клетки в пространстве, их длина достигает до 150 мкм. Жгутики движутся волнообразно или воронкообразно.

Реснички обеспечивают перемещение среды вокруг клеток, их длина достигает до 5-10 мкм. Реснички движутся маятникообразно. Реснички бывают только у эукариотических клеток. У прокариот есть подобные структуры – пили.

Аксонема – цитоскелетный комплекс, составляющий основу движения жгутиков и ресничек эукариотических клеток, представленный тубулин-динеиновой системой, состоящей из микротрубочек тубулина и моторного белка – динеина.

Мукоцилиарный клиренс – естественное неспецифическое очищение дыхательных путей посредством перемещения слизи, которое обеспечивается взаимодействием «бьющихся» ресничек эпителиальных клеток со слизью в дыхательных путях.

Синдром Зиверта-Картагенера (первичная цилиарная дискинезия) – генетическое аутосомно-рецессивное заболевание, описанное в 1902 году А.К. Зивертом, возникающее в результате отсутствия динеиновых «ручек».

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Как собираются промежуточные филаменты? Каким образом можно

остановить этот процесс?

2. Как, где, когда и почему происходит реформирование системы промежуточных филаментов?
3. Что такое катастрофа микротрубочек? Какие свойства цитосклелета обеспечивает динамическая нестабильность микротрубочек, в каких клеточных процессах это используется?
4. Каким процессом обеспечивается формирование веретена деления эукариотической клетки?
5. В каких клеточных процессах цитоскелет играет ключевую роль? Опишите механизм функционирования цитоскелета в этих процессах.
6. Опишите цикл работы моторных белков микротрубочек – динеина и кинезина.
7. Объясните, почему у млекопитающих в процессе эволюции возникло много различных генов, кодирующих белки промежуточных филаментов.

Вопросы для самоподготовки:

1. В чем отличие в строение жгутиков у прокариот и эукариот?
2. Приведите примеры нарушений цитоскелета ресничек, приводящих к патологиям.
3. Разновидности цилиопатий. Какие системы органов страдают в патогенезе этих заболеваний.
4. Что составляет основу цитоскелета цилий органа слуха?
5. Какова роль миозинов в цилиях органа слуха? Как происходит слуховая рецепция волосковыми клетками?
6. Чем функционально отличаются наружные и внутренние волосковые клетки? В чем это отличие проявляется на уровне цитоскелета?
7. Как используется эффект отоакустической эмиссии в современной медицине?
8. Генетические мутации, связанные с потерей слуха. Устройство органа равновесия. Что такое заболевание Вертиго?

Практическое занятие № 7

Межклеточные взаимодействия

Цель: изучить строение и функционирование межклеточных контактов.

Мотивация: занятие формирует представление о различных типах межклеточных взаимодействий, обеспечивающих коммуникацию между клетками и играющих ключевую роль в развитии и функционировании многоклеточного организма.

Наименование вида занятия: семинар-дебаты.

Продолжительность занятия: 2 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос по теме лекции «Биомеханические процессы в жгутиках и ресничках».
2. Доклады на заданные темы.
3. Изучение межклеточных взаимодействий: плотные, адгезивные, щелевые контакты, десмосомы, синапсы.
4. Обсуждение роли межклеточных контактов в обеспечении функций клеток в составе различных тканей.

Основные понятия

Межклеточные взаимодействия – способы клеточной коммуникации, которые обеспечивают объединение клеток в составе более сложных систем: органов, тканей. Межклеточные контакты можно разделить на контакты типа **клетка-клетка** и **клетка-межклеточный матрикс**. Отдельно выделяются гуморально-опосредованные межклеточные взаимодействия.

Межклеточные контакты **клетка-клетка** разнообразны по структуре и выполняемым функциям (прикрепляющая, запирающая (изолирующая), соединительная, коммуникационная). Выделяют 3 основных типа межклеточных контактов **клетка-клетка**: плотные, адгезивные, щелевые.

Плотные контакты. В этом типе контактов мембранны клеток непосредственно сближены (2-4 нм), таким образом препятствуя проникновению жидкостей, ионов и других молекул через межклеточные пространства. Основные белки: клаудин и оклюдины. Соединения этого типа образуют развитую сеть, обеспечивая запирающую (изолирующую) функцию. Характерны для эпителиальных клеток.

Адгезивные контакты обеспечивают механическую связь между клетками, образуют механически плотные соединения мембран клеток за счёт взаимодействия с элементами цитоскелета, обеспечивая прикрепляющую функцию (**точки прикрепления актиновых филаментов**).

Десмосомы – вид адгезивных контактов **клетка-клетка**, состоящих из двух плотных пластинок, к которым прикрепляются **пучки промежуточных филаментов**, соединенных между собой. В десмосоме мембранны соседних клеток находятся на расстоянии 20-35 нм. Десмосомы обеспечивают структурную интеграцию слоёв клеток, объединяя их в функциональные

единицы, например, в клетках миокарда. В межклеточных контактах **клетка-клетка** участвуют трансмембранные белки **кадгерины**.

Полудесмосомы – межклеточные контакты **клетка-матрикс** морфологически сходные с десмосомами, прикрепляют **промежуточные фильтры** клетки к внеклеточному матриксу.

Фокальные контакты – межклеточные контакты **клетка-матрикс** прикрепляют **актиновые фильтры** клетки к внеклеточному матриксу. В контактах **клетка-матрикс** участвуют трансмембранные белки **интегрины**.

В результате генетического дефекта нарушения связи с внеклеточным матриксом посредством базальной мембраны развивается заболевание буллёзный эпидермолиз или пузырчатка. При данной патологии могут не образовываться некоторые белки базальной мембраны или особый тип коллагена, который должен прикреплять базальную мембрану к подстилающей её соединительной ткани, что становится причиной отделения эпидермиса от дермы.

Щелевые контакты. Основными функциями являются соединительная, коммуникационная (каналообразующие соединения). Образующие белки – коннексины (шесть молекул образуют пору – коннексон) и иннексины. Коннексоны соседних клеток объединяются в канал, в результате становится возможным обмен молекулами между цитоплазмами соседних клеток.

Синапсы – особый вид межклеточных соединений, обеспечивающих контакты нервных клеток (коммуникационные соединения). Разделяют на химический, коммуникация в котором происходит за счёт выделения медиаторов, и электрический синапс – вид щелевого контакта.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

1. Какие белки цитоскелета входят в состав межклеточных контактов?
2. Назовите типы межклеточных контактов, в результате активации которых будет происходить изменение уровня экспрессии ряда генов.
3. Перечислите функции клеточных мембран, имеющие значение для образования межклеточных контактов.
4. Какие из клеточных контактов являются временными? Опишите механизм образования и функционирования.
5. Основной функцией каких клеточных контактов является коммуникация и обмен молекулами между соседними клетками? Опишите механизм функционирования.

Вопросы для самоподготовки:

1. Приведите примеры патологий, связанные с неправильным функционированием системы межклеточных контактов.

БЛОК 4

КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ, МИТОЗ, АПОПТОЗ

Практическое занятие № 8

Регуляция клеточного цикла

Цель: изучить принципы организации и контроля прохождения фаз клеточного цикла, функционирование контрольных точек клеточного цикла, стадии и характеристики фаз митоза; а также особенности клеточного цикла в опухолевой клетке.

Мотивация: сформировать представление об организации контроля прохождения клеточного цикла в нормальной клетке, об особенностях регуляции клеточного цикла, наблюдаемые в опухолевой клетке.

Наименование вида занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

План занятия

1. Устный опрос по теме лекции «Клеточный цикл, основные фазы клеточного цикла. Регуляция клеточного цикла».
2. Изучение стадий и характеристик фаз митоза, структуры и функции центросомы, принципа ее образования; ультраструктуры кинетохоров, формирование связей с микротрубочками. Участие в контроле перехода из метафазы в анафазу. Цитокинез: сократимое кольцо, механизм формирования, сегрегация органелл клетки.
3. Изучение механизмов регуляции и контроля клеточного цикла при участии циклинов и циклин-зависимых киназ.
4. Изучение роли комплексов-регуляторов клеточного цикла: MPF и APC\C.
5. Обзор особенностей прохождения клеточного цикла в опухолевой клетке.

Основные понятия

Митотическое деление клетки – деление клетки, в процессе которого происходит удвоение всех элементов клетки, сопровождающееся равномерным распределением клеточных компонентов и генетического материала между двумя дочерними клетками.

Профаза – происходит формирование веретена деления, конденсация хромосом и разрушение ядерной оболочки. Делится на собственно профазу и прометафазу.

Прометафаза начинается с разрушения ядерной оболочки, центриоли расходятся к полюсам, формируется веретено деления, хромосомы перемещаются за счёт прикрепления к микротрубочкам.

Метафаза – завершается формирование веретена деления, в результате каждая хромосома оказывается связанной с микротрубочками, отходящими от обоих полюсов клетки. Активность микротрубочек обеспечивает выстраивание хромосом в районе экватора, что формирует метафазную пластику.

Анафаза завершается расхождением хромосом к полюсам. В анафазе А хроматиды расходятся к полюсам за счёт микротрубочкового тока. В анафазе В происходит удлинение веретена деления, за счёт моторных белков, связанных с полярными микротрубочками, удлинение веретена деления, что обеспечивает дальнейшее расхождение сестринских хроматид.

Телофаза – расхождение хроматид активирует разборку микротрубочек веретена деления и формирование ядерной оболочки в дочерних клетках. Цитоплазма клетки разделяется за счёт формирования сократительного кольца из полимеров актина и миозина второго типа, активность которого обеспечивает разделение цитоплазмы двух дочерних клеток (цитокинез).

Цитокинез (цитотомия) – разделение клеточного содержимого, является завершающей стадией деления клетки.

Веретено деления – структура, состоящая из микротрубочек, отходящих от клеточного центра, с помощью которой происходит ориентация и разделение наследственного материала между дочерними клетками.

Кинетохор – белковый комплекс, собирающийся в центромерном районе хромосомы, к которому прикрепляются микротрубочки веретена деления.

Метафазная пластиинка – ориентированные в экваториальной области конденсированные хромосомы, стабилизированные прикреплёнными микротрубочками веретена деления таким образом, что два кинетохора обращены к разным полюсам клетки.

Интерфаза – промежуток между митозами.

Фазы клеточного цикла:

G0 – фаза покоя, в которой находятся неделяющиеся клетки.

G1 – фаза роста, в которой накапливается необходимый для деления материал (белки, запасные вещества), а также происходит рост и накопление клеточного содержимого.

S – фаза синтеза, в которой основным процессом является репликация ДНК.

G2 – фаза, в которой происходит завершение репликации, репарация и подготовка к митозу.

M – митоз, происходит разделение генетического материала и клеточных структур с образованием двух дочерних клеток.

Циклины – белки-регуляторы клеточного цикла, уровень которых циклически меняется по мере прохождения фаз клеточного цикла.

Циклин-зависимые киназы – киназы, образующие комплекс с циклинами, активность которых приводит к переходу в следующую фазу клеточного цикла.

Фактор, стимулирующий митоз (MPF -maturation promoting factor) – комплекс из циклина B и циклин-зависимой киназы Cdk1, активация которого приводит к запуску митоза.

Комплекс, стимулирующий анафазу APC\C, представлен убиквитин-лигазой, ферментом, ковалентно присоединяющим остатки убиквитина к C-концу других белков, что вызывает их протеасомную деградацию. Активация

комплекса происходит под действием белка CDC20. Мишенями комплекса APC\C, в том числе, являются белок секьюрин и MPF.

Контрольные точки клеточного цикла – проверочные события этапов (процессов) клеточного цикла, которые необходимы для дальнейшего продвижения клетки по клеточному циклу. При наличии повреждений клеточный цикл клетки останавливается в контрольных точках и, либо после успешного устранения повреждений, переходит в следующую фазу клеточного цикла, либо запускается апоптоз. Различают по меньшей мере 3 контрольные точки: при переходе от G₁ к S фазе; после репликации ДНК в G₂; контрольная точка сборки веретена деления в M-фазе.

Контрольная точка сборки веретена деления регулируется прикреплением полярных микротрубочек. Неприкрепленные кинетохоры (в которых отсутствует биполярное натяжение, создаваемое микротрубочками) активируют MAD2, который ингибитирует комплекс Cdc20-APC. До тех пор, пока хоть один кинетохор остаётся неприкреплённым, запуск анафазы не происходит (рис. 2).

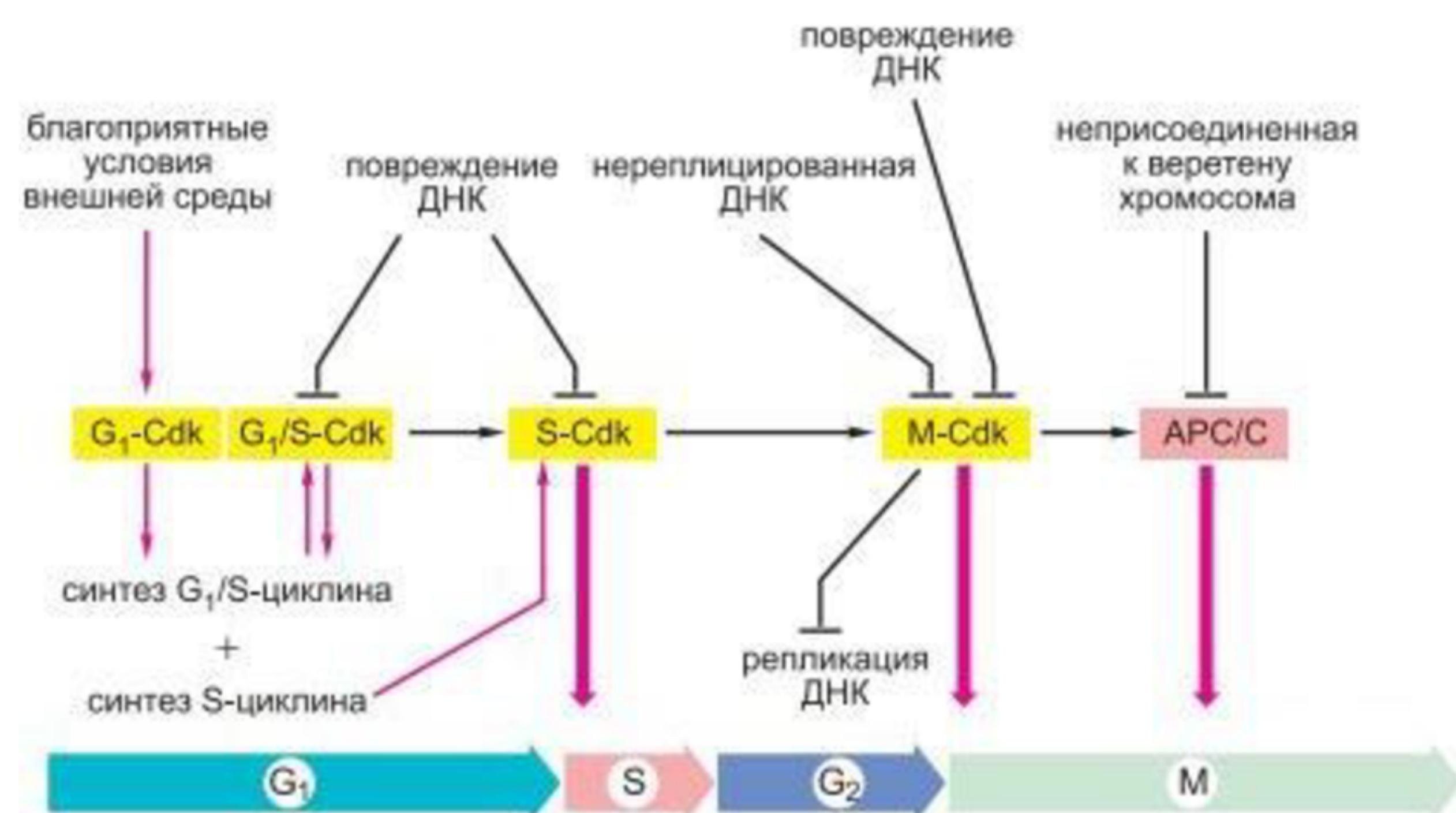


Рис. 2. Схема контроля клеточного цикла. По Альбертс и соавторы. Молекулярная биология клетки, 2013.

Задания, используемые для текущего контроля знаний

Контрольные вопросы:

- Назовите основные процессы, сопровождающие формирование веретена деления. Опишите роль кинетохора в обеспечении формирования веретена деления?
- Какое клеточное событие служит признаком наступления анафазы B?
- В чём отличие профазы и прометафазы?

4. Зависит ли продолжительность клеточного цикла от типа клеток и если да, то за счет какой фазы?
5. Можно ли измерить продолжительность клеточного цикла в тканях животных и если да, то как?
6. К чему может привести нарушение регуляции клеточного цикла?
7. Какие факторы запускают митоз? Опишите механизм действия.
8. Опишите процессы, протекающие в контрольных точках клеточного цикла.
9. Опишите процесс, приводящий к запуску апоптоза. В какой контрольной точке это может происходить?
10. Опишите механизм регуляции активности циклин-зависимых киназ в клеточном цикле.
11. В чем взаимосвязь механизмов регуляции клеточного цикла с процессом аутофагии?
12. Ошибки на каком этапе клеточного цикла могут привести к неконтролируемому делению. Приведите примеры.

Вопросы для самоподготовки обучающихся:

1. У многих эукариот митоз протекает без разрушения ядерной мембраны – эндомитоз. Назовите, какие отличия от классической схемы митоза будут наблюдаться в этом случае?
2. Определите основные события, которые происходят при переходе от Анафазы А к Анафазе В?
3. Какая связь между процессом мутагенеза и регуляцией клеточного цикла?

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Сертификат [01D9A9C6655B6ED0000BADF200060002](#)

Владелец [Пармон Елена Валерьевна](#)

Действителен [с 28.06.2023 по 28.06.2024](#)

