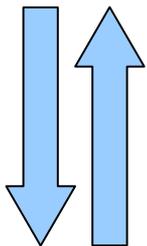


Наномашины в живой клетке

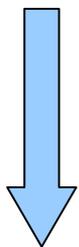
Ольга А. Донцова

**кафедра химии природных соединений
Химический факультет МГУ**

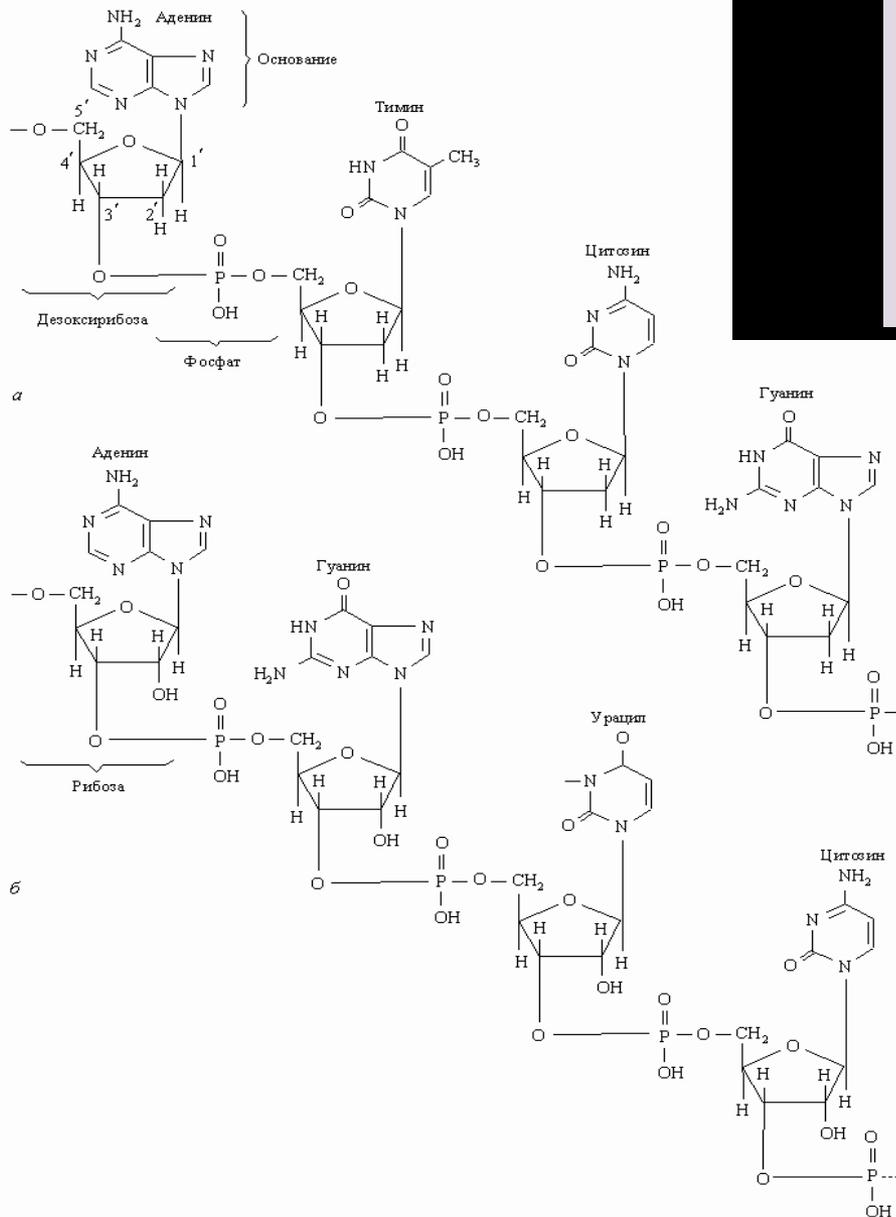
ДНК



РНК

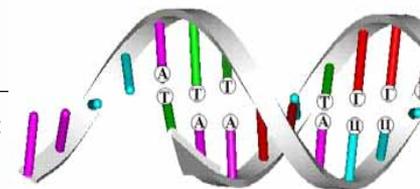
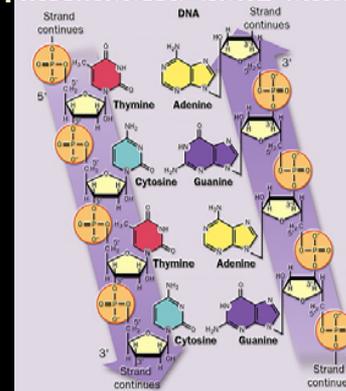


БЕЛОК



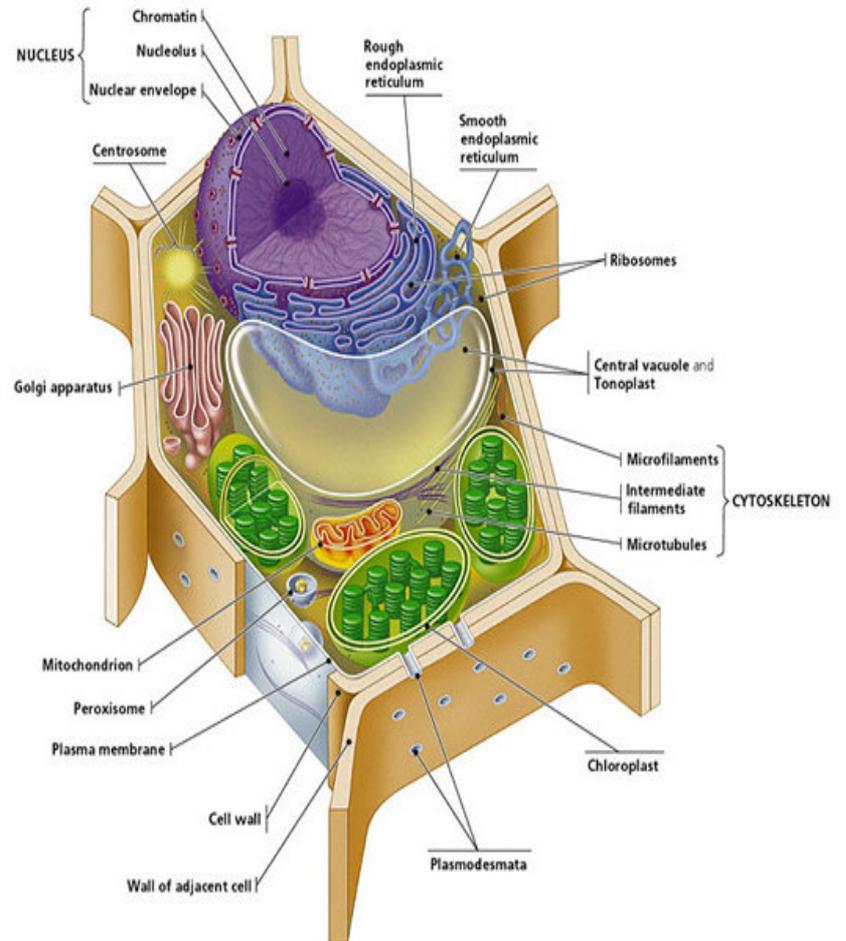
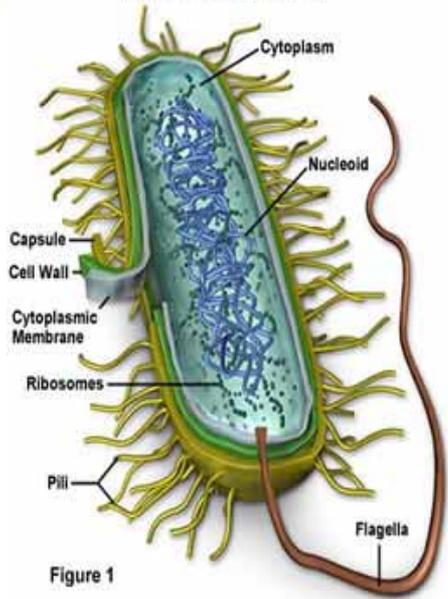
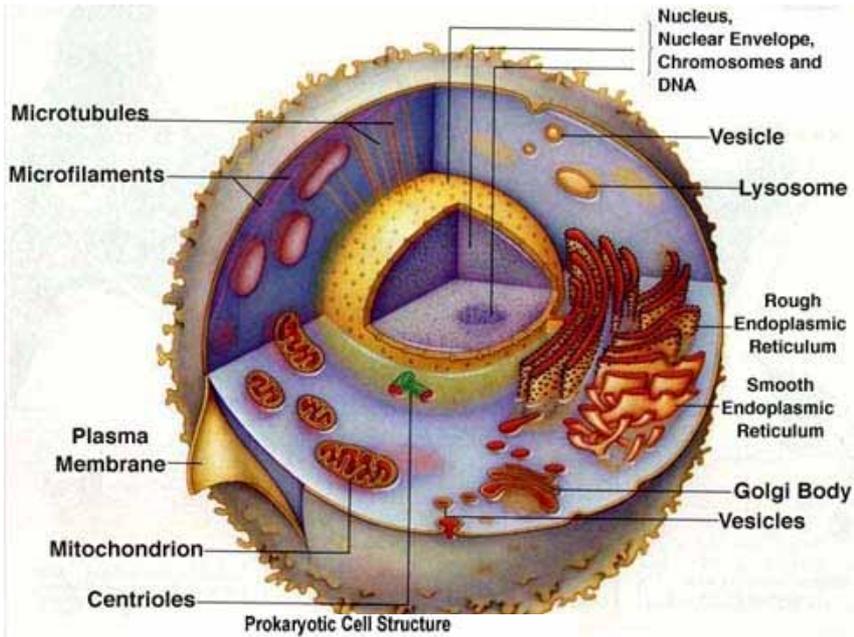
ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА дезоксирибонуклеиновой (а) и рибонуклеиновой (б) кислот.

Полиинкпеотилная цепь ДНК.

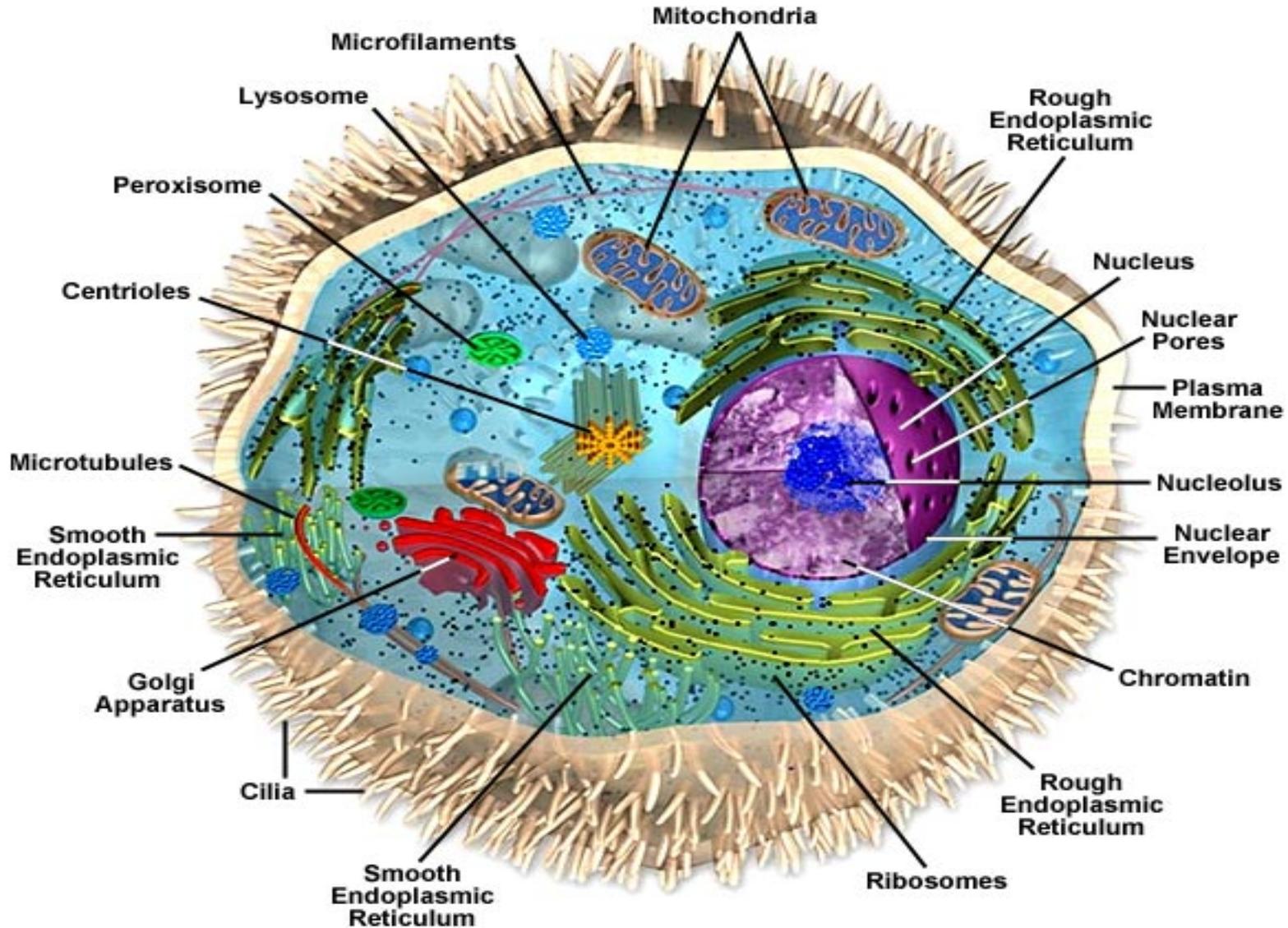


**Все организмы
состоят из клеток**

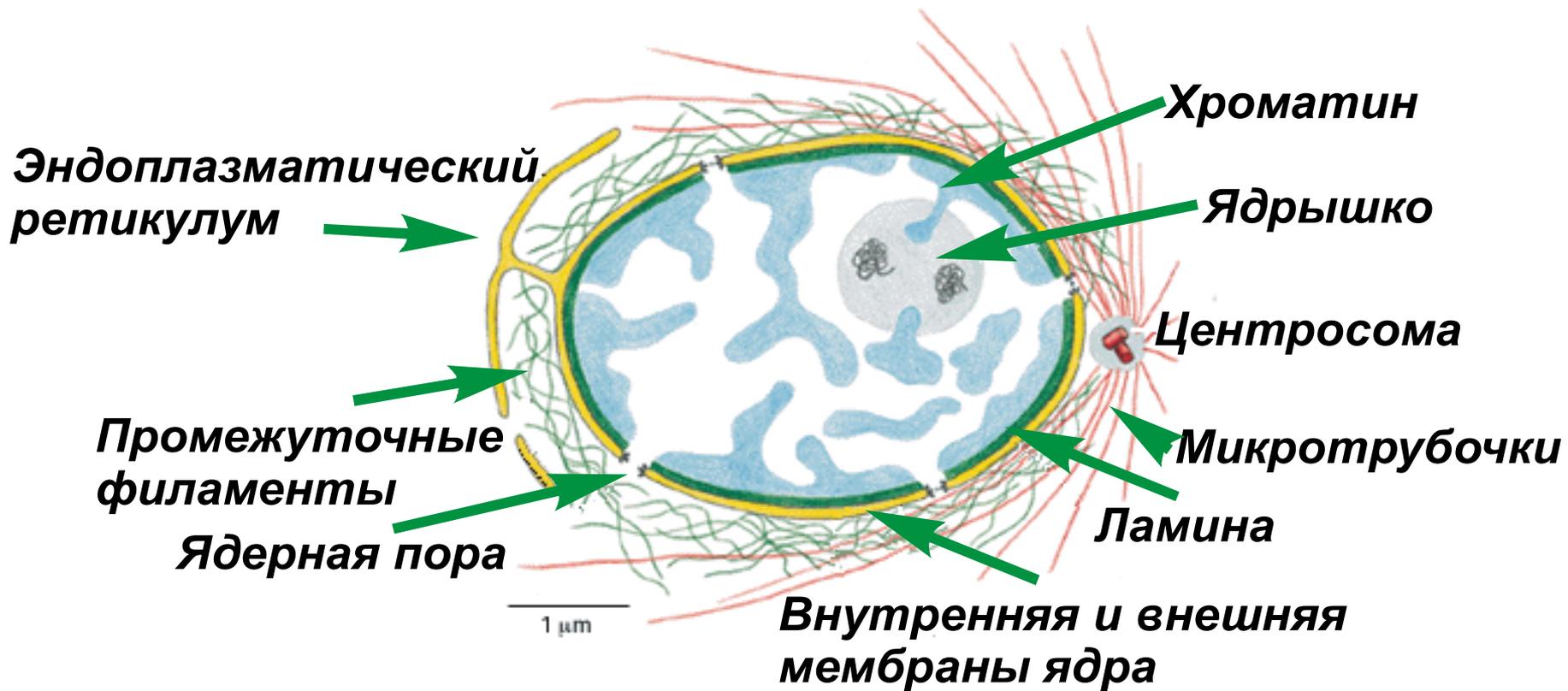
**у бактерий нет ядра и
органелл**



Структура эукариотической клетки



Ядро



Хромосомы

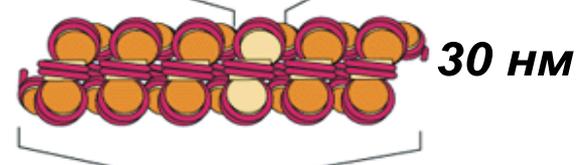
Двойная спираль ДНК



Нуклеосомы



30 нм спираль из нуклеосом



Участок хромосомы в растянутом виде



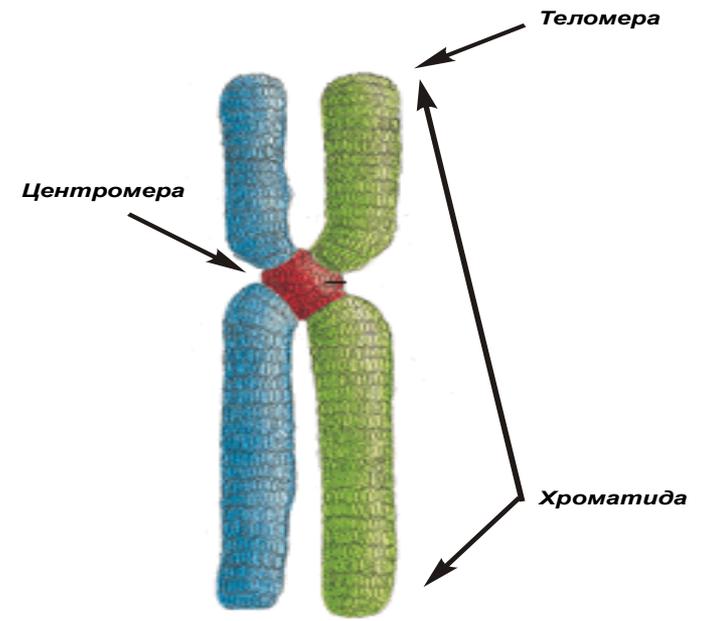
Конденсированные петли



Хромосома в митозе



46 хромосом, 1,8 м
 $3,3 \times 10^9$ bp



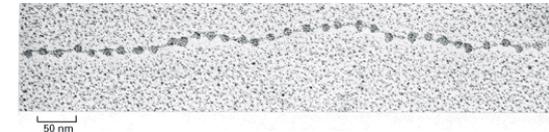
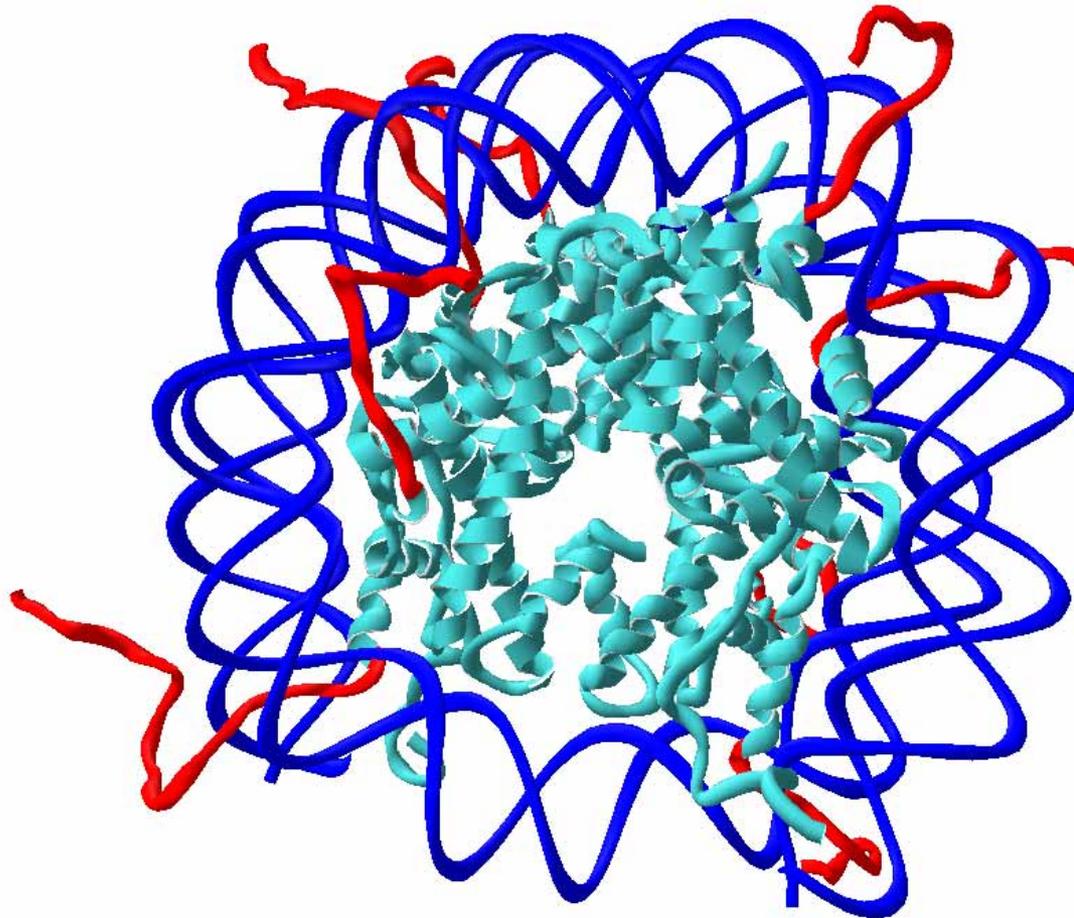
Хромосомы

Нуклеосомы содержат

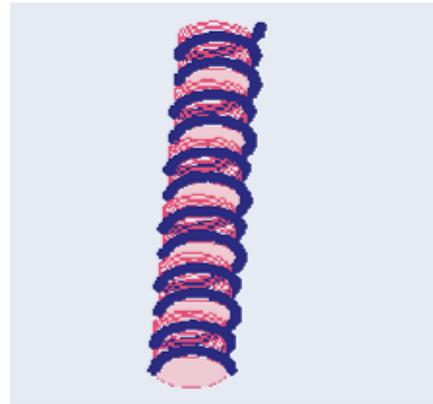
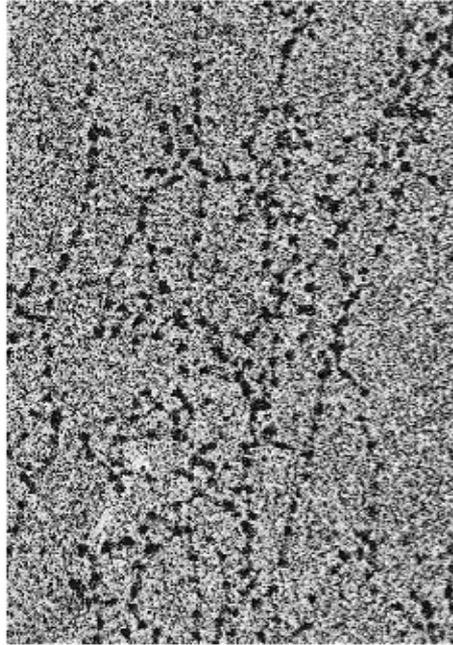
2xH2A 2xH2B

2xH3 2xH4

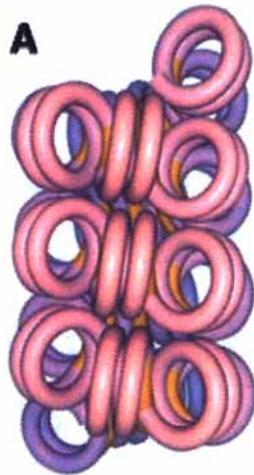
146 п.о. ДНК



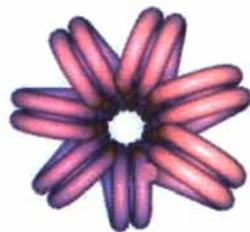
Роль гистона H1



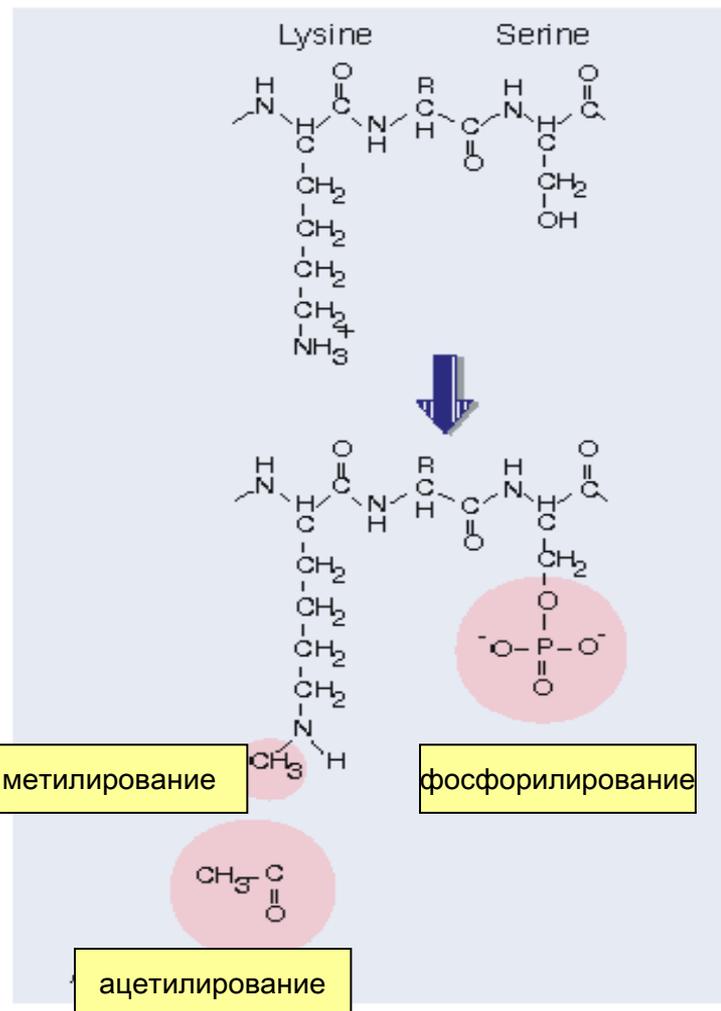
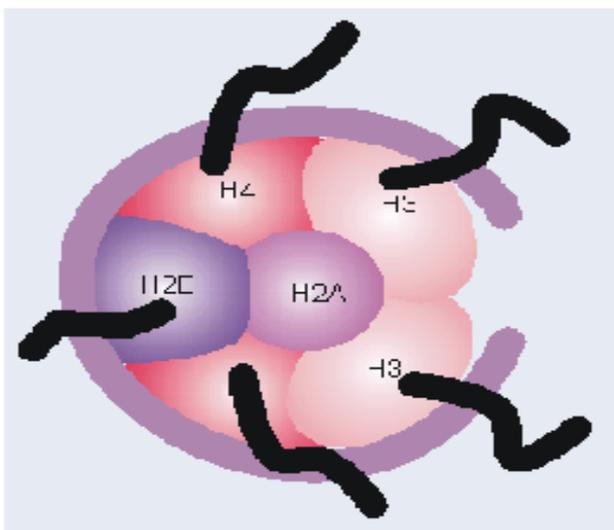
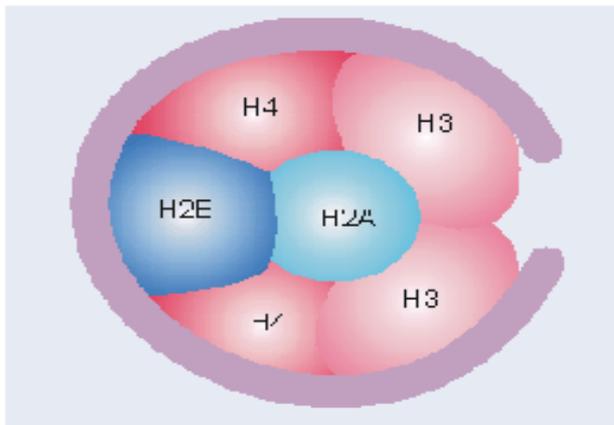
11 нм фибрилла может образовывать
спираль

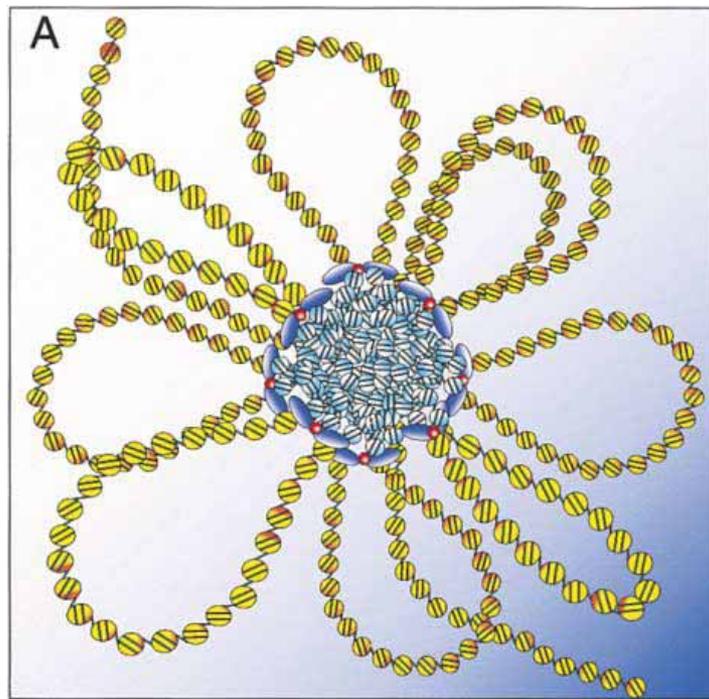


30 нм фибрилла
содержит
1 цепь ДНК

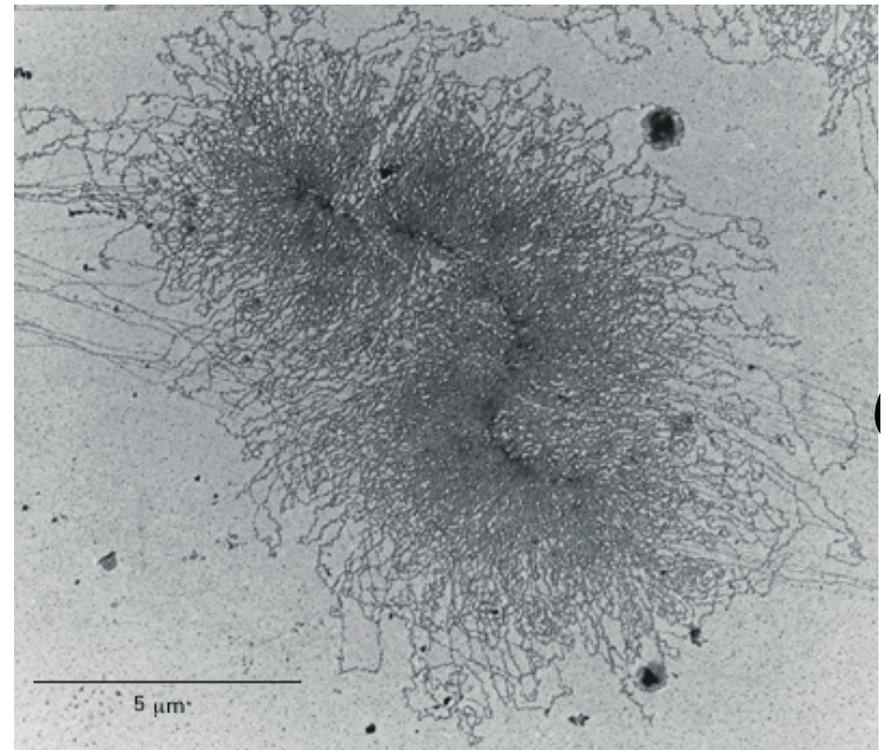
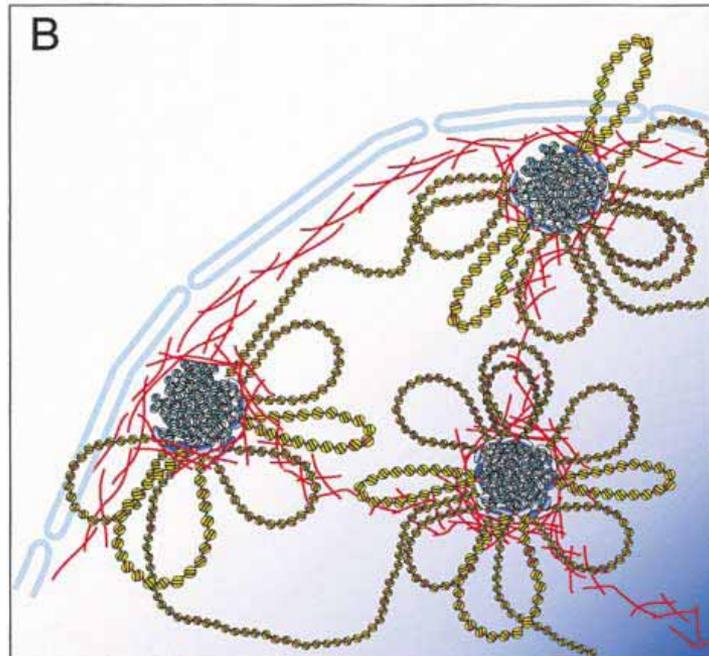


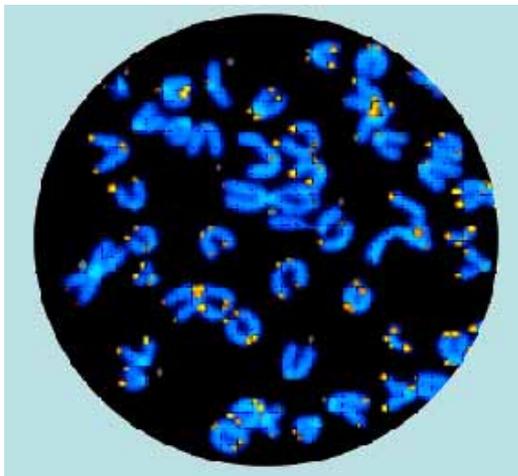
Гистоновый код



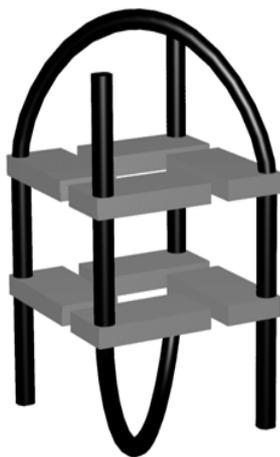
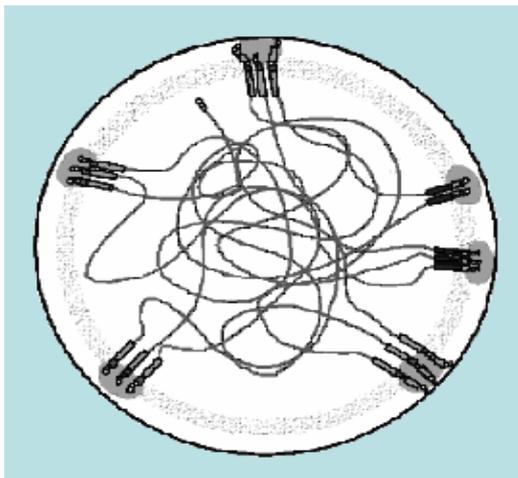
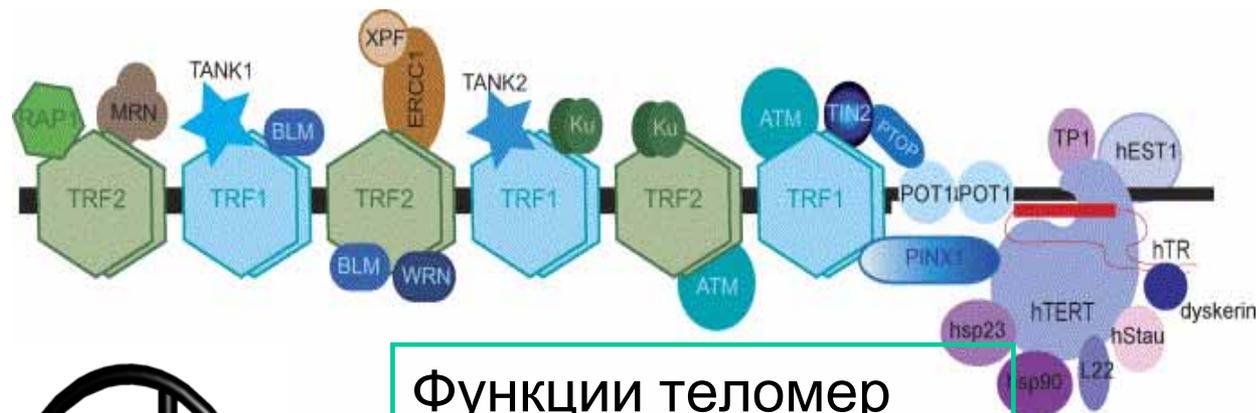


Активный эухроматин
расположен в петлях,
гетерохроматин
конденсирован
и связан с ядерным
матриксом





Теломеры – ДНК-белковые структуры на концах хромосом, содержат короткие повторы ДНК

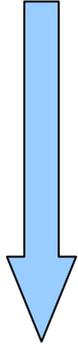


Функции теломер

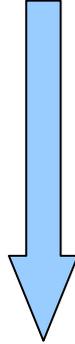
- Защита хромосом от деградации и слияния
- Контроль клеточного цикла
- Формирование архитектуры ядра

...GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTA - 3'
 ...CCCAATCCCAAT - 5'

УФ свет



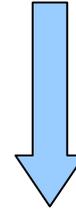
Ионизирующее
излучение



Продукты
метаболизма

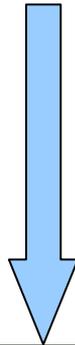


Активные
соединения
из внешней
среды

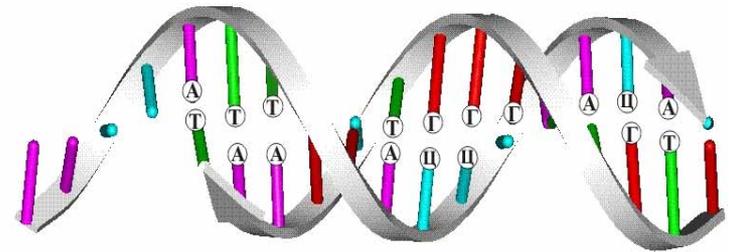


Повреждения в ДНК

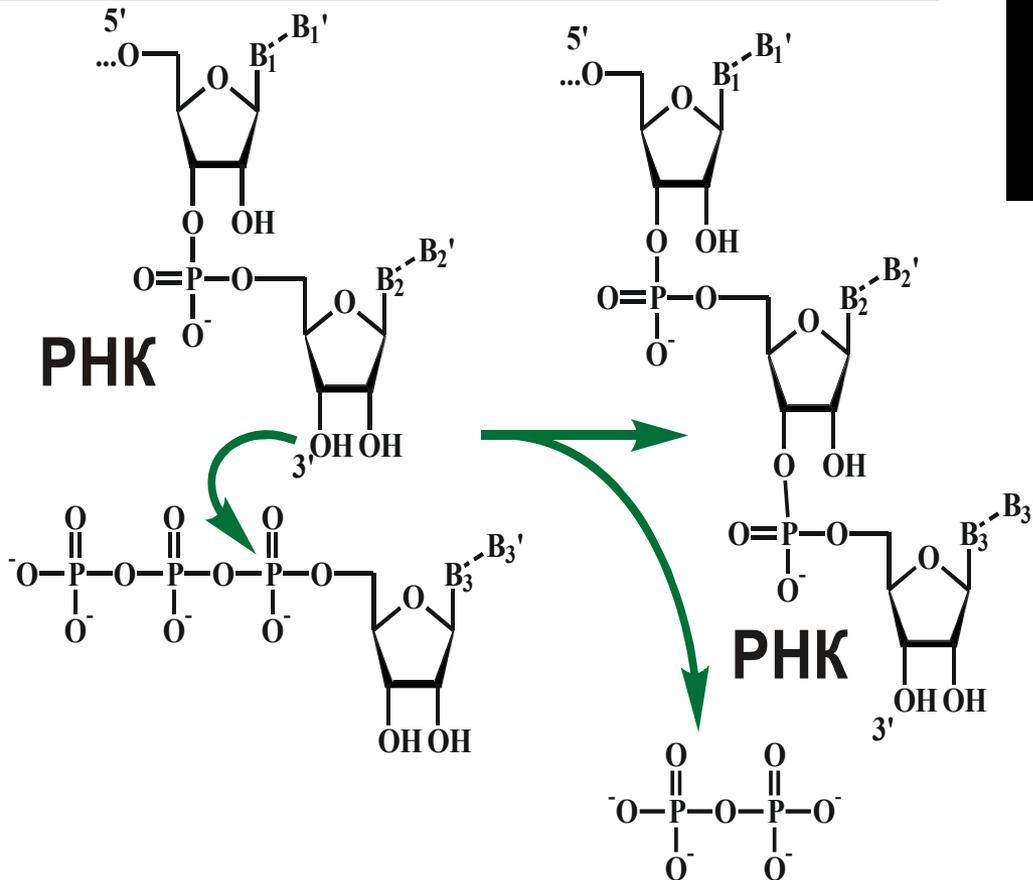
модификация нуклеотидов,
разрывы цепи



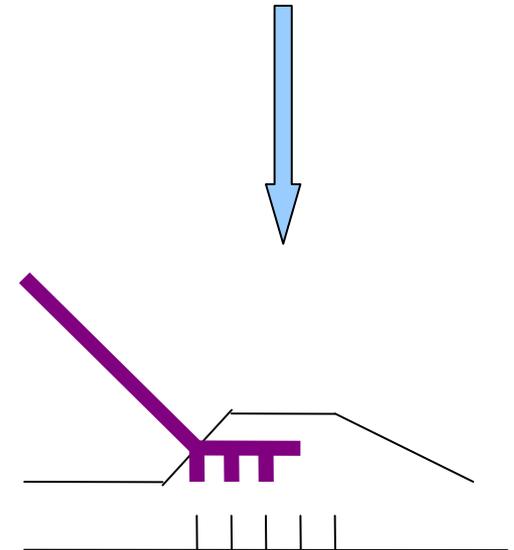
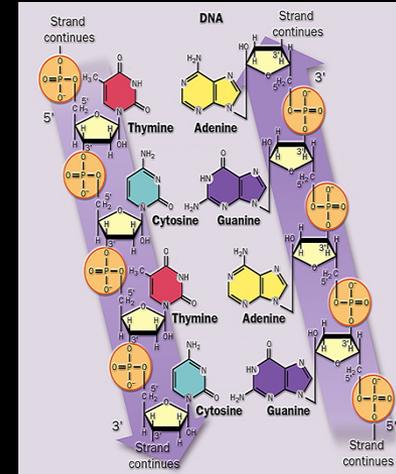
РЕПАРАЦИЯ



Транскрипция – синтез РНК на ДНК-матрице



Полинуклеотидная цепь ДНК.



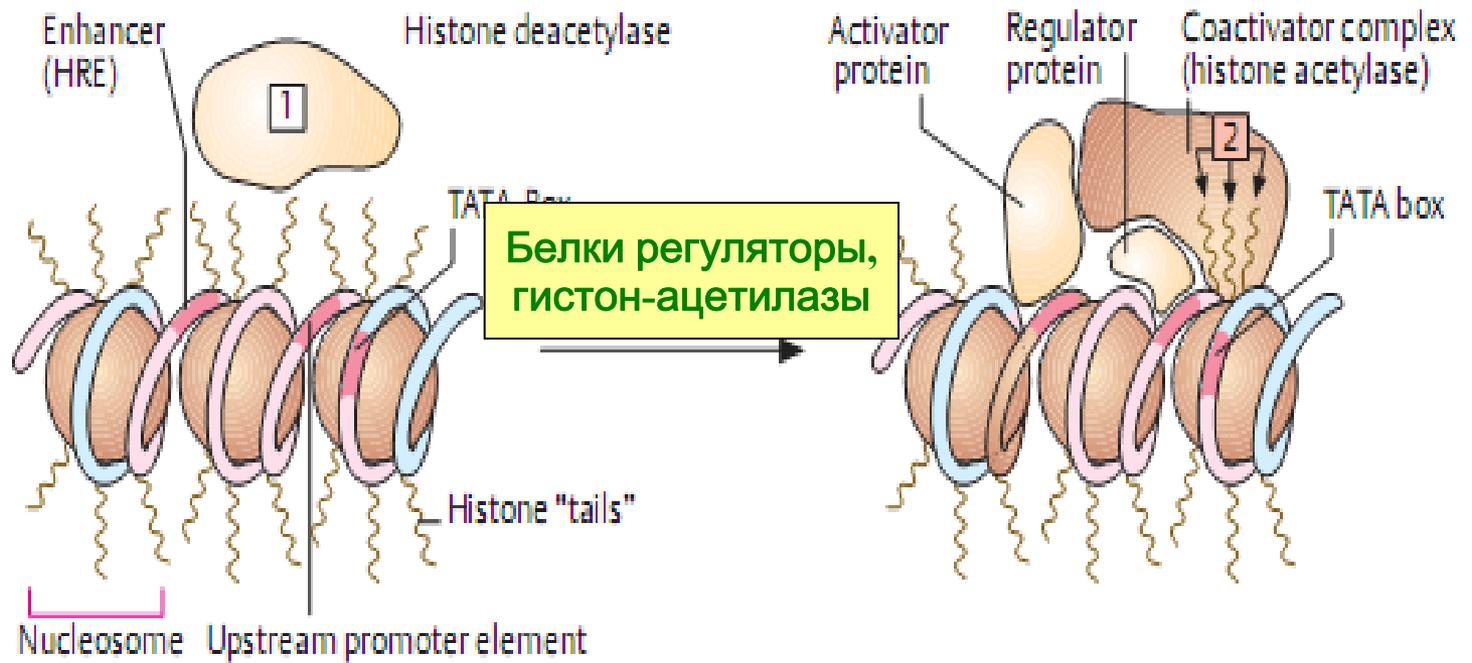
РНК полимеразы

РНК-полимераза I
18S, 5.8S и 28S рРНК

РНК-полимераза II
мРНК, некоторые мяРНК

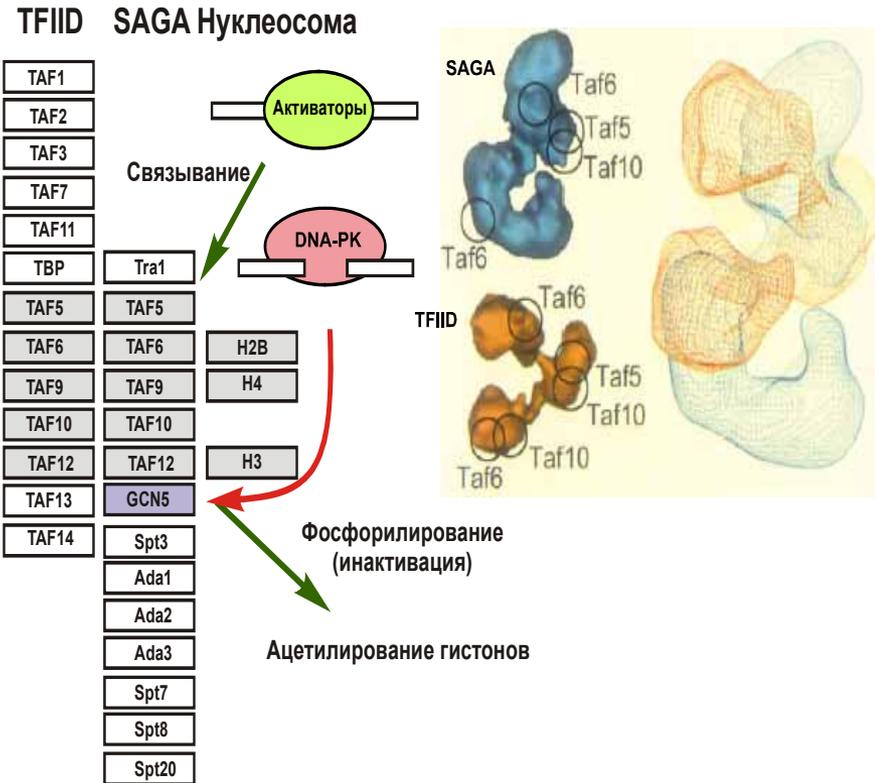
РНК-полимераза III
5S рРНК, тРНК, некоторые мяРНК

Деконденсация хроматина

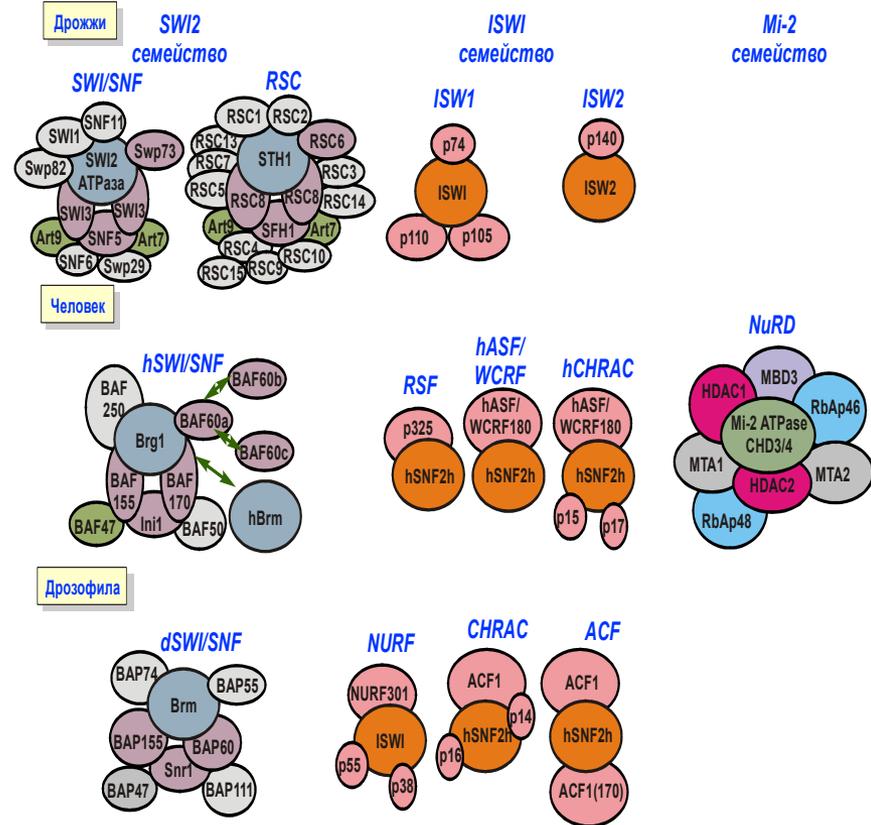


Факторы, изменяющие структуру хроматина, образуют сложные наномашинны

Ацетилирование гистонов: SAGA комплекс

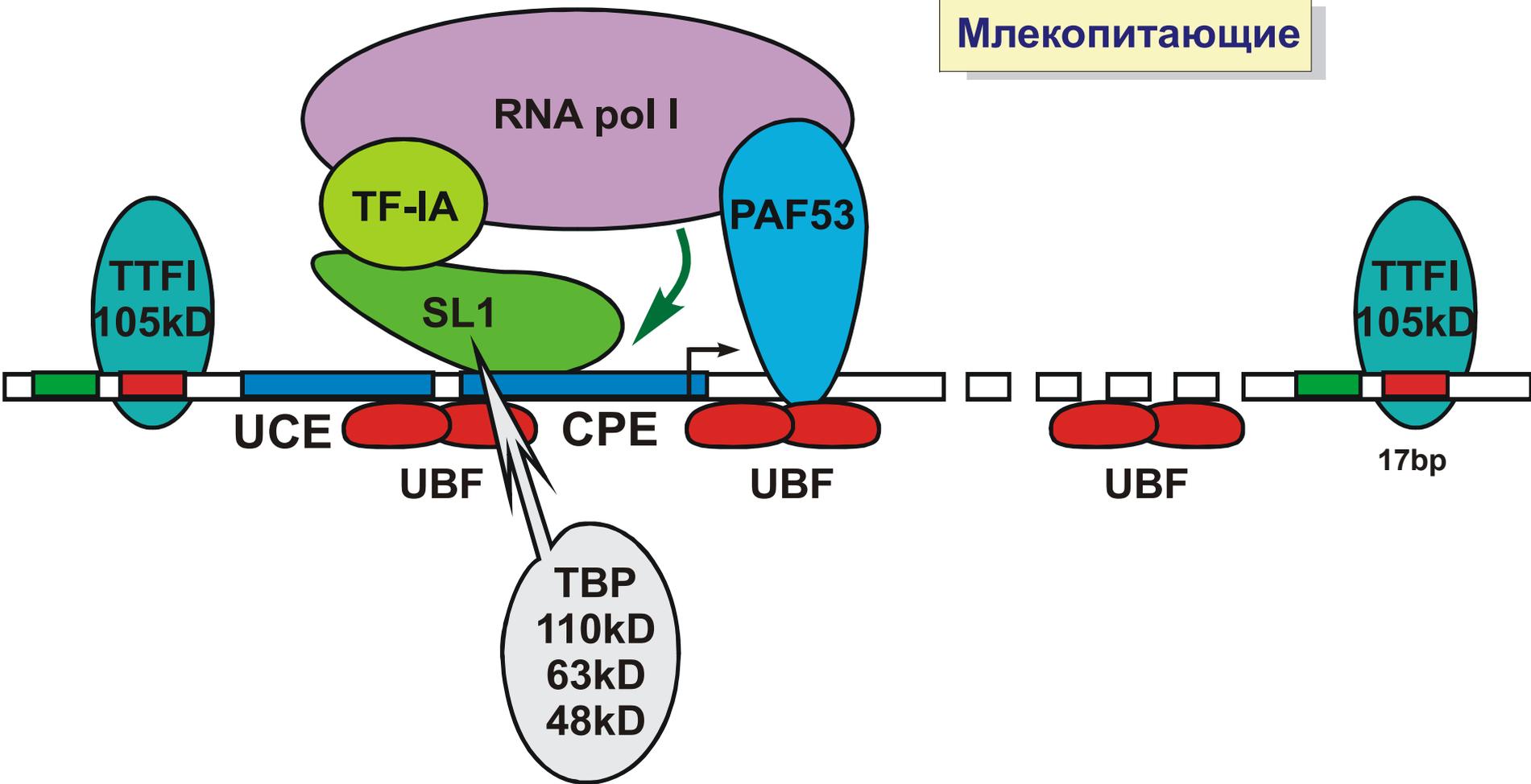


АТРазы, действующие на хроматин

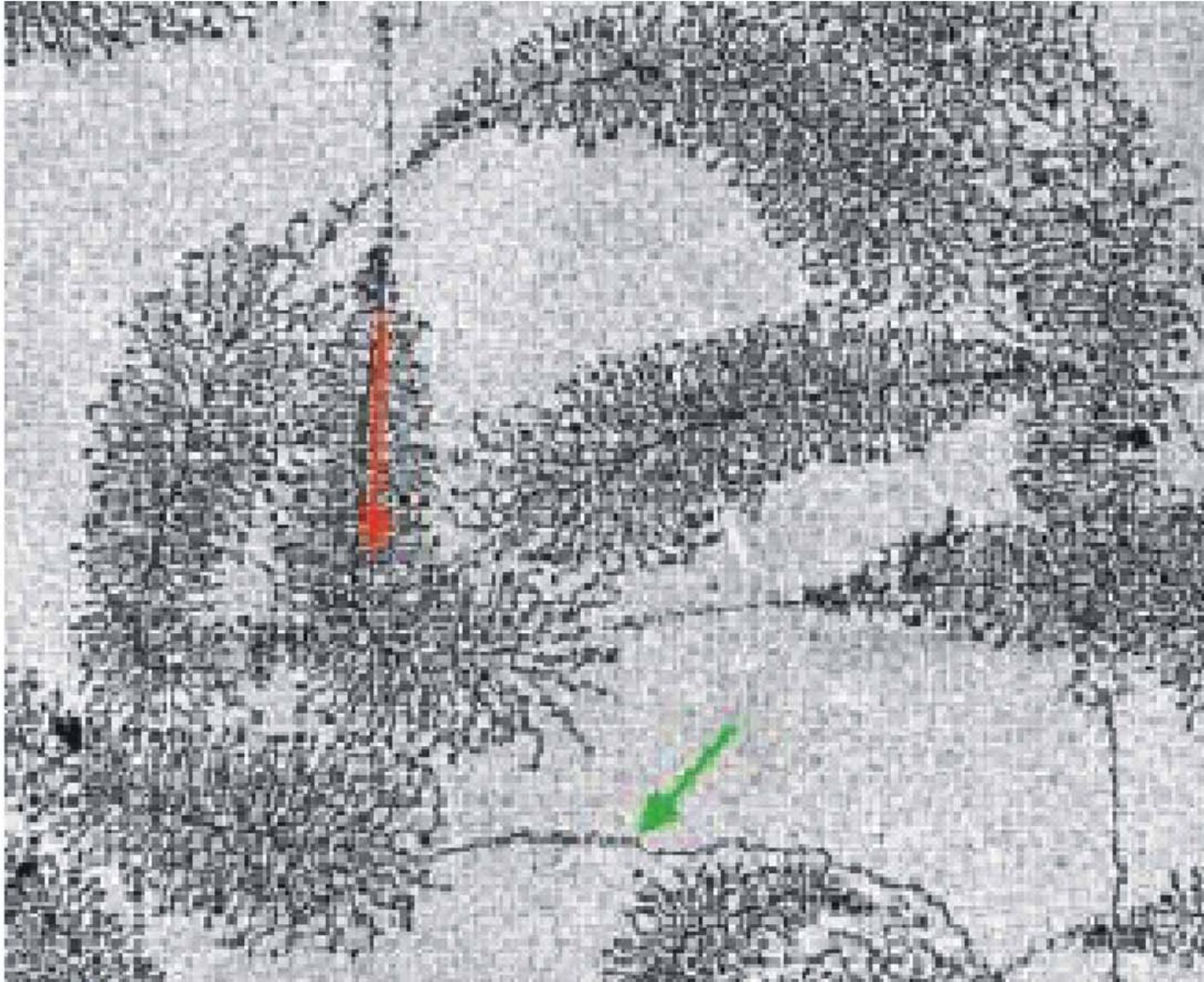


Инициация транскрипции генов рРНК

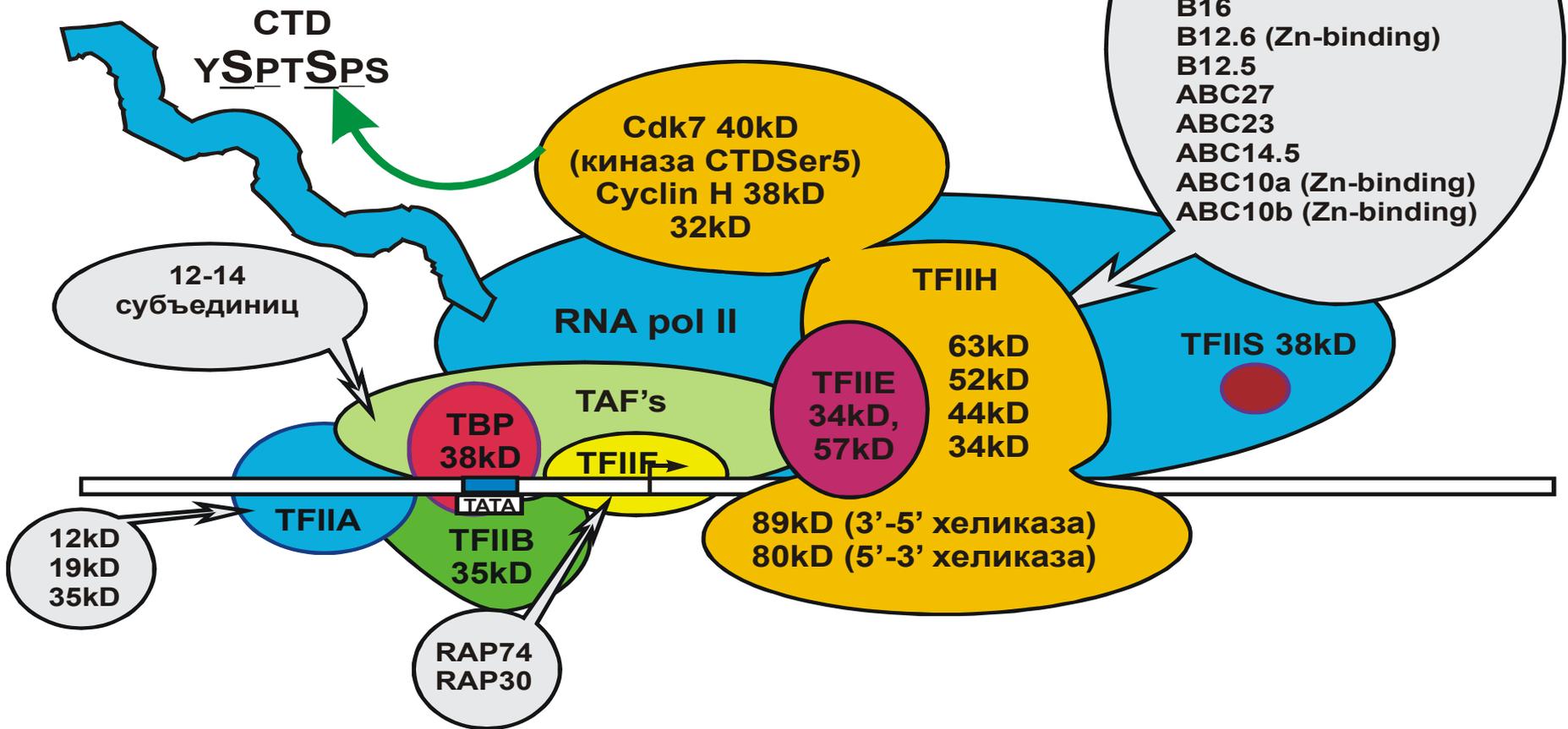
Млекопитающие



Транскрипция генов рРНК в ядрышке

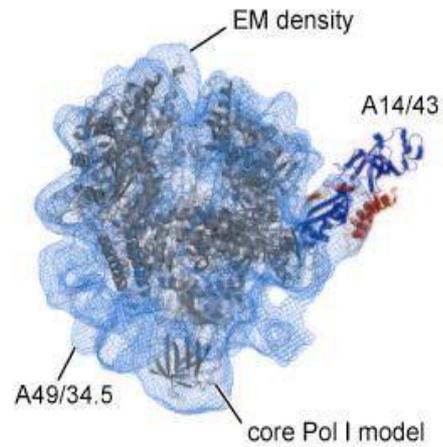


Инициация транскрипции РНК - полимеразой II

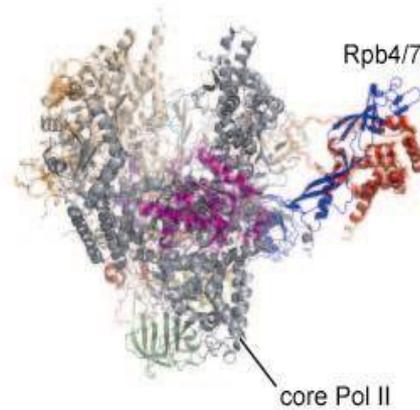


РНК-полимеразы с факторами – сложные наномашинны

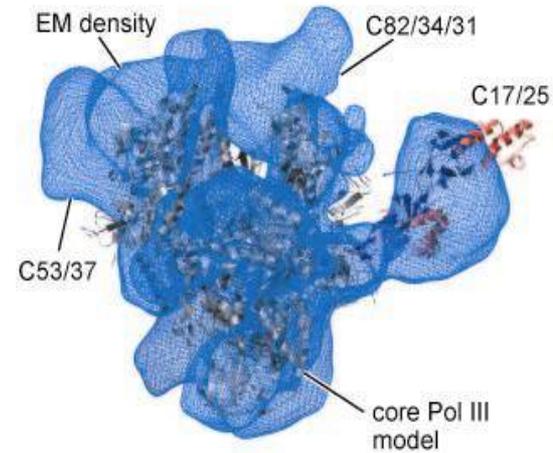
a RNA polymerase I



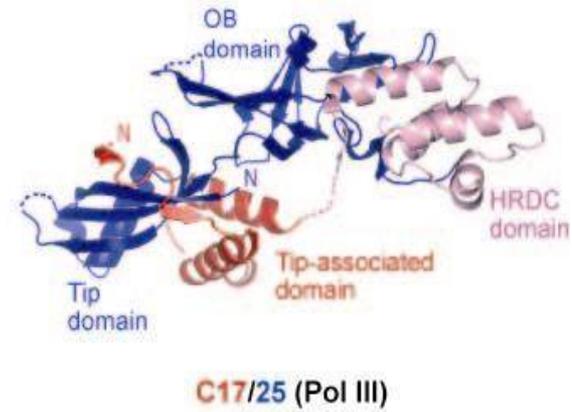
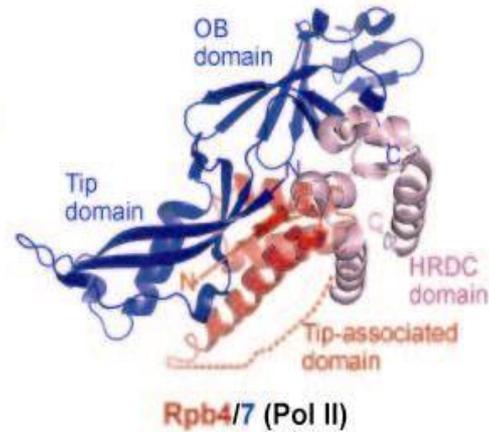
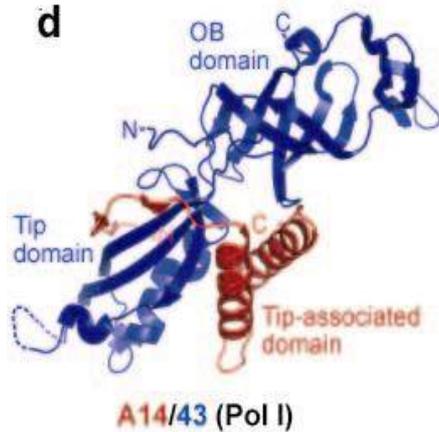
b RNA polymerase II



c RNA polymerase III



d

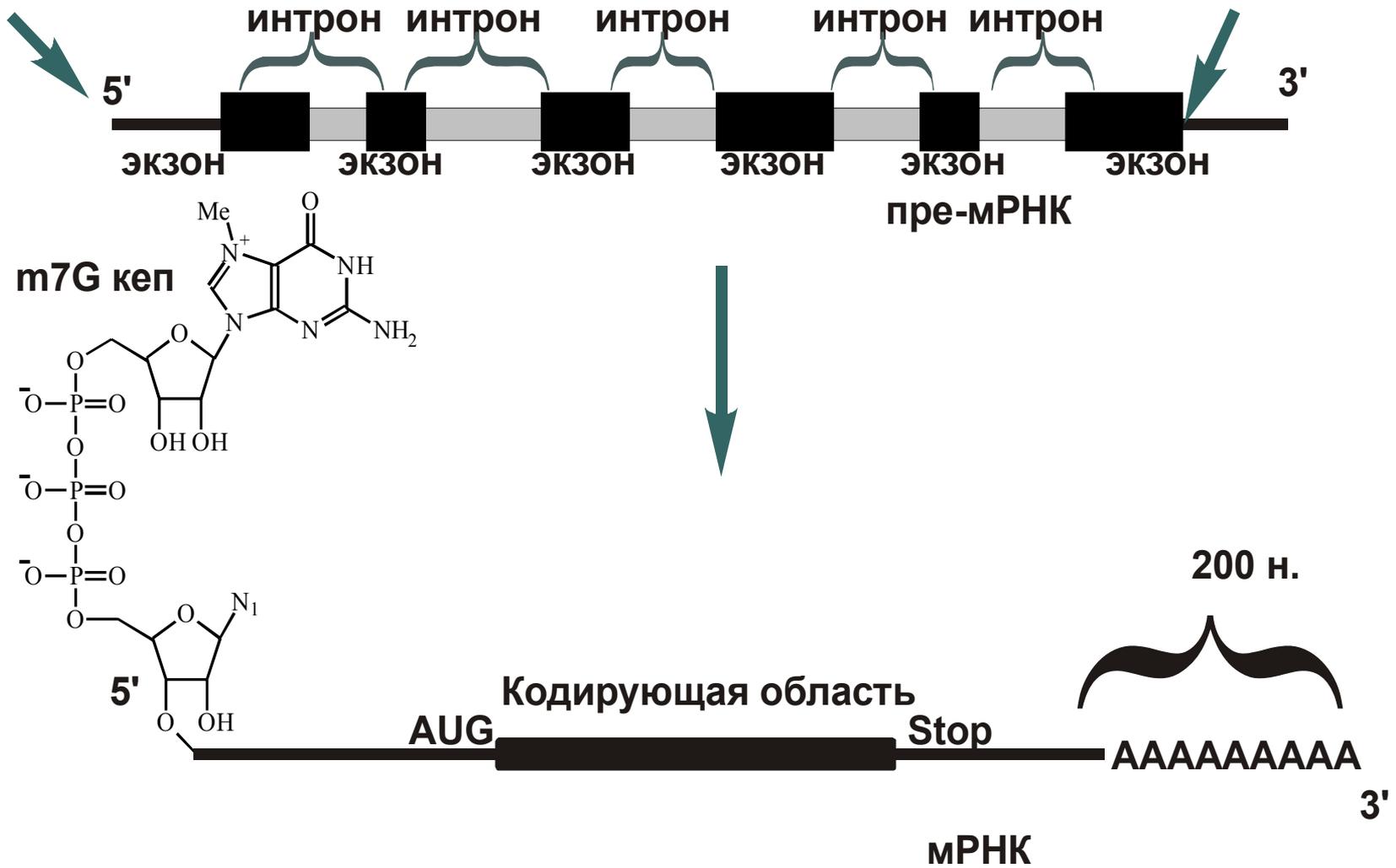


Процессинг мРНК

кепирование

сплайсинг

полиаденилирование



Как узнать интрон?

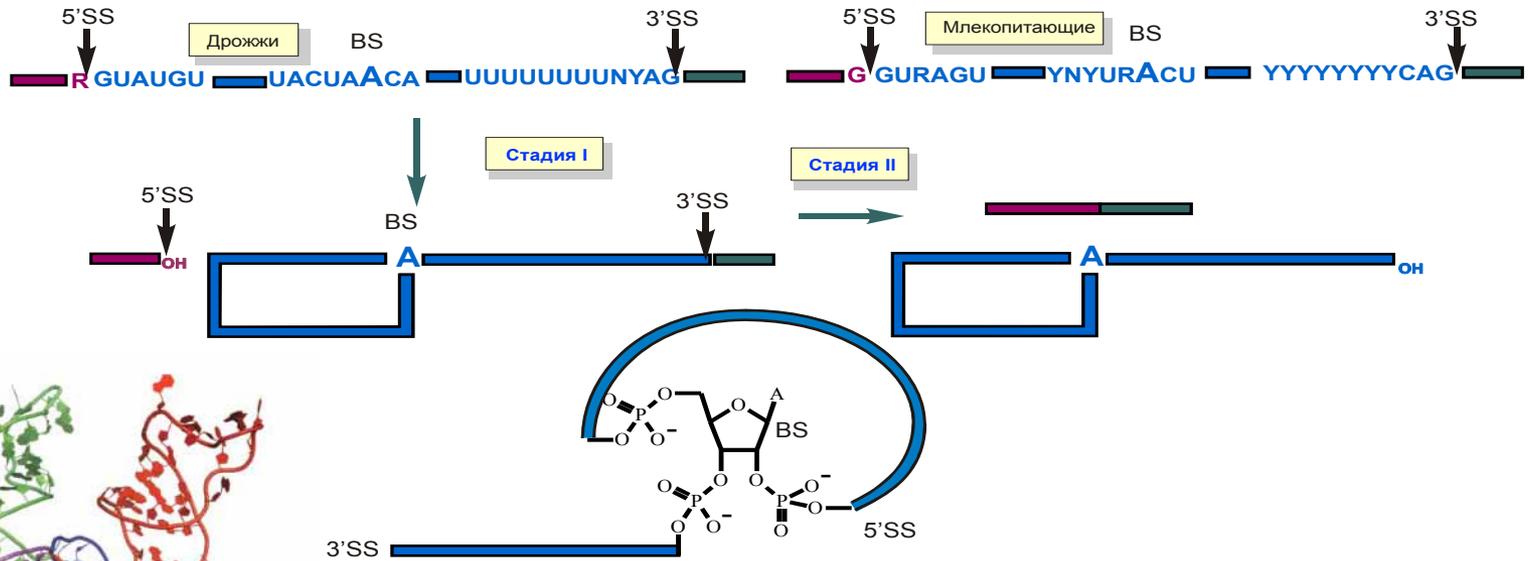
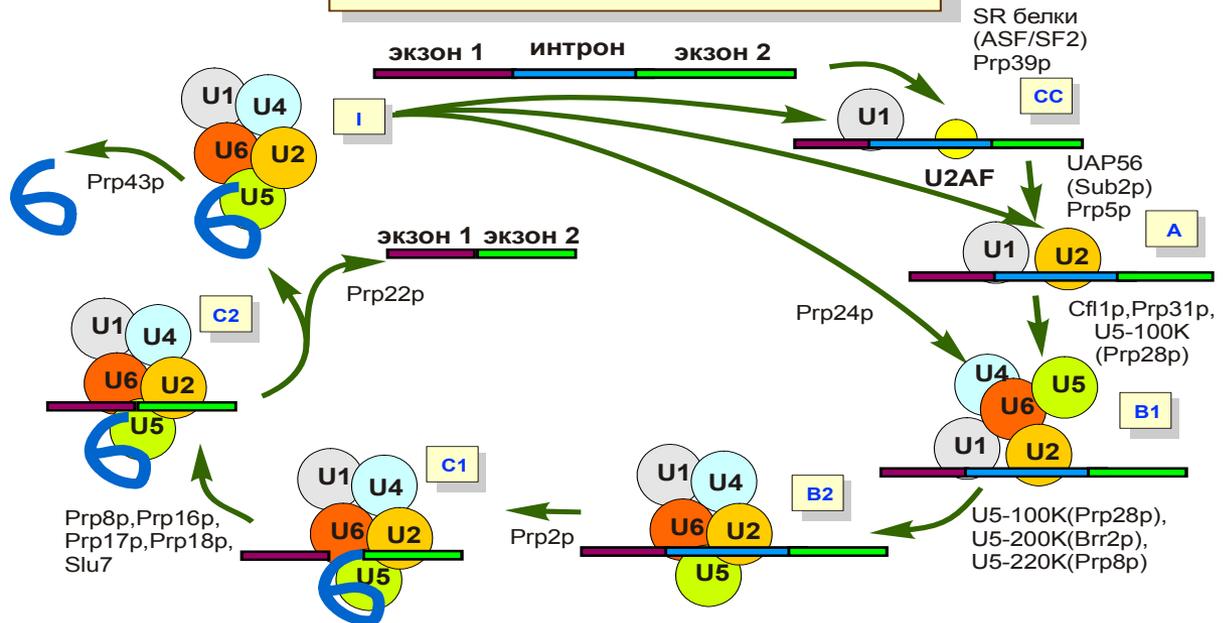
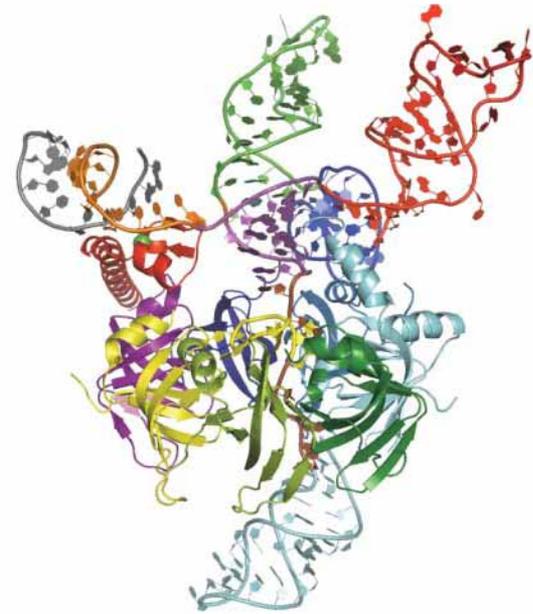


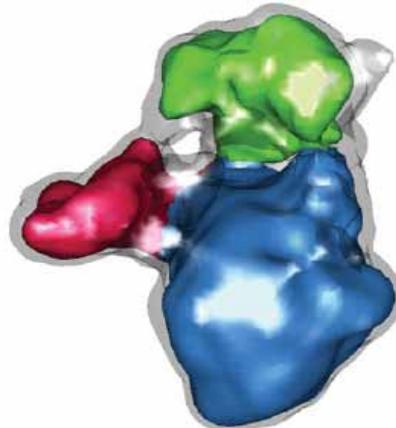
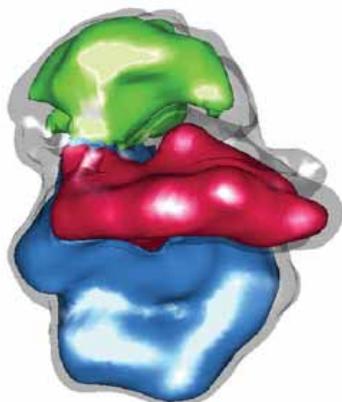
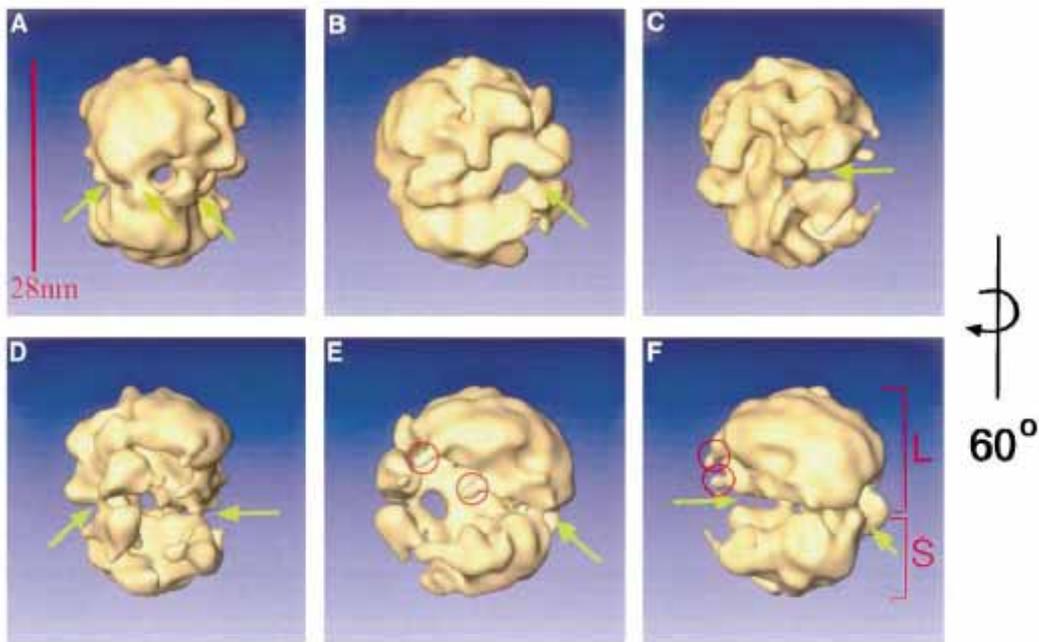
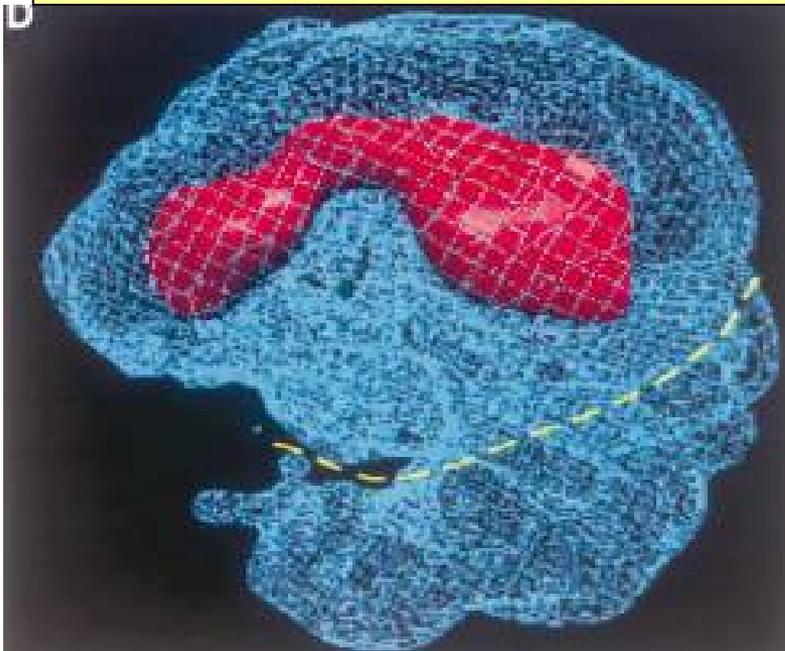
Схема работы сплайсосомы



U1 комплекс



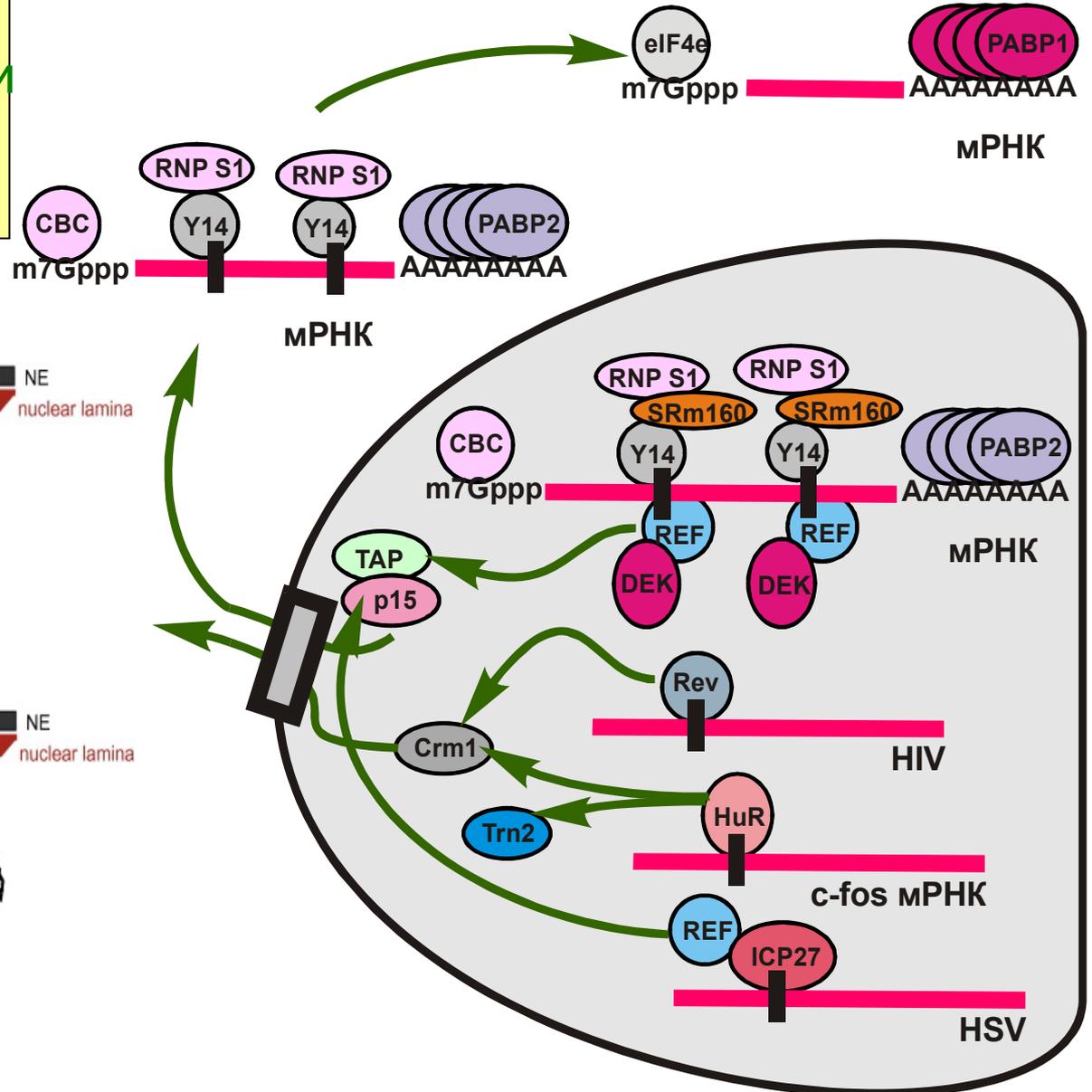
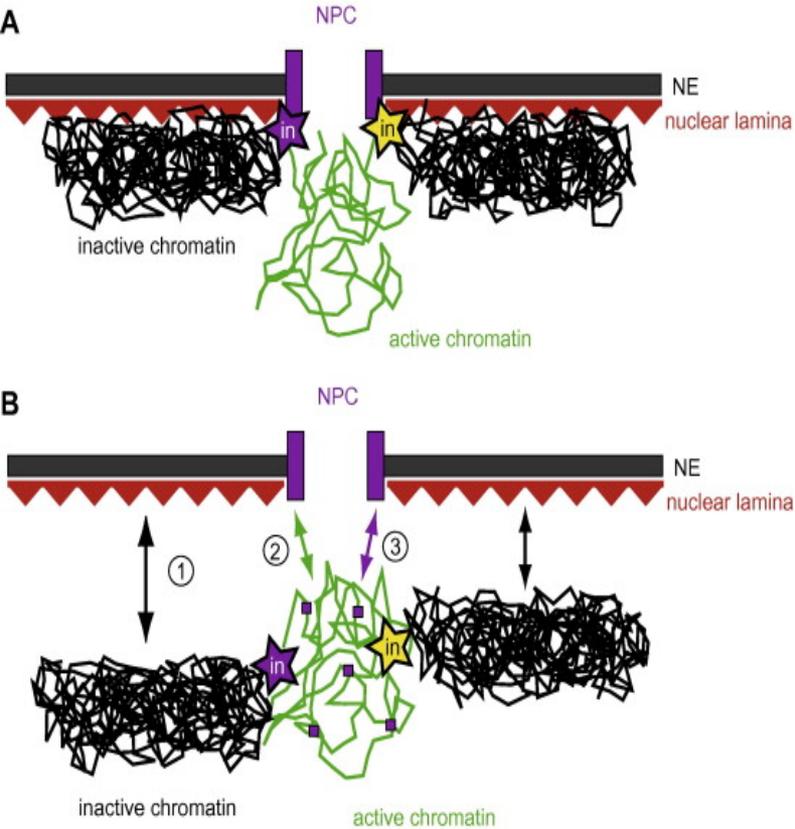
Сплайсососома – сложная динамическая наномашина



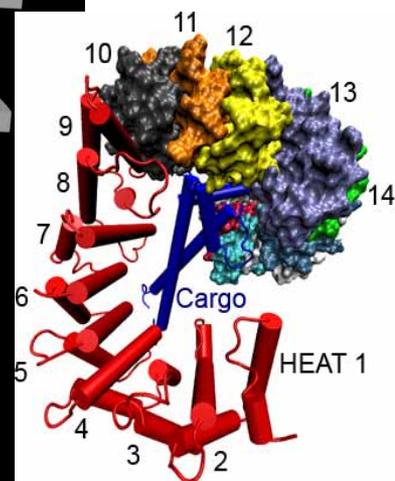
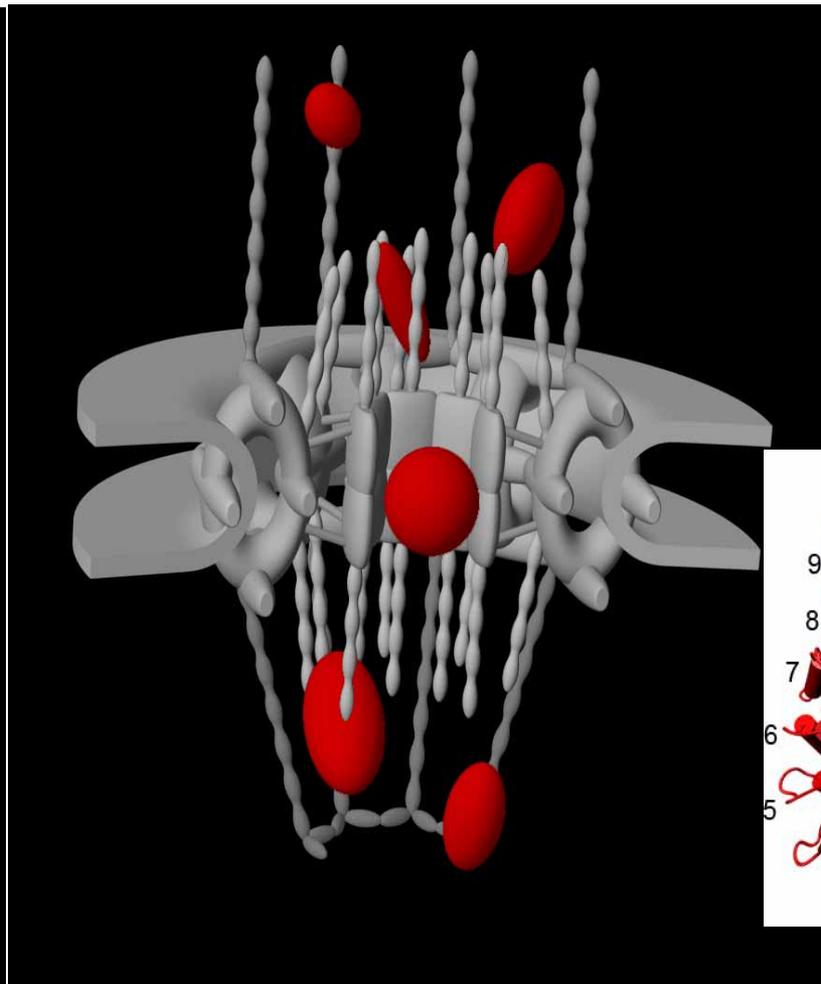
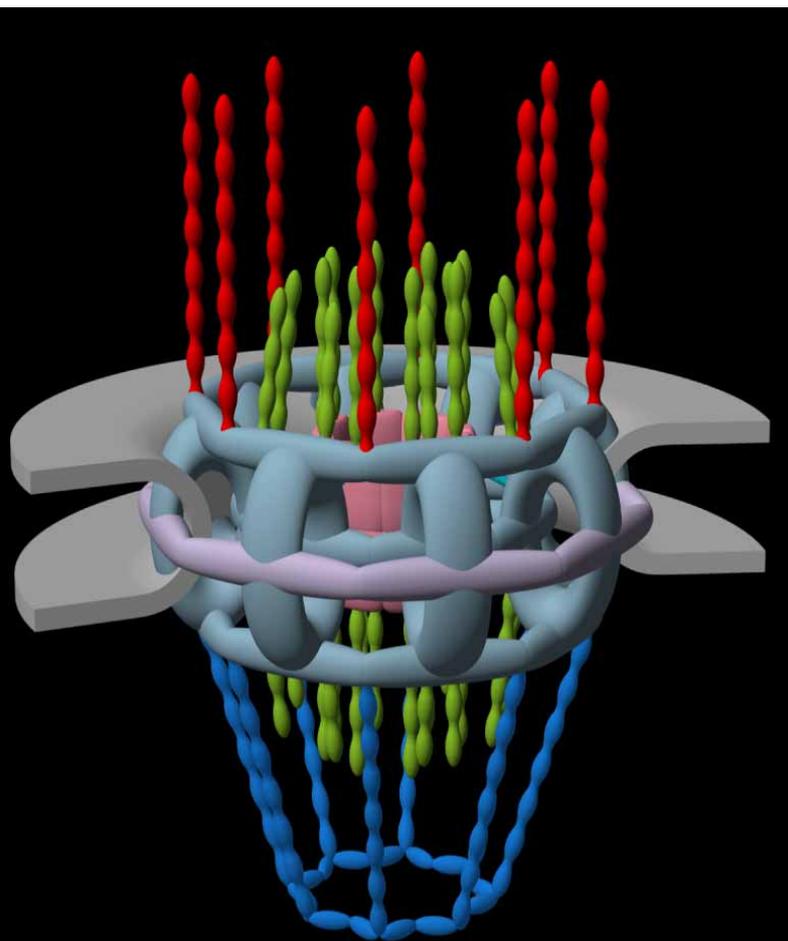
Состав и конформация сплайсосомы меняется в процессе сплайсинга

Активный хроматин располагается вблизи ядерной поры

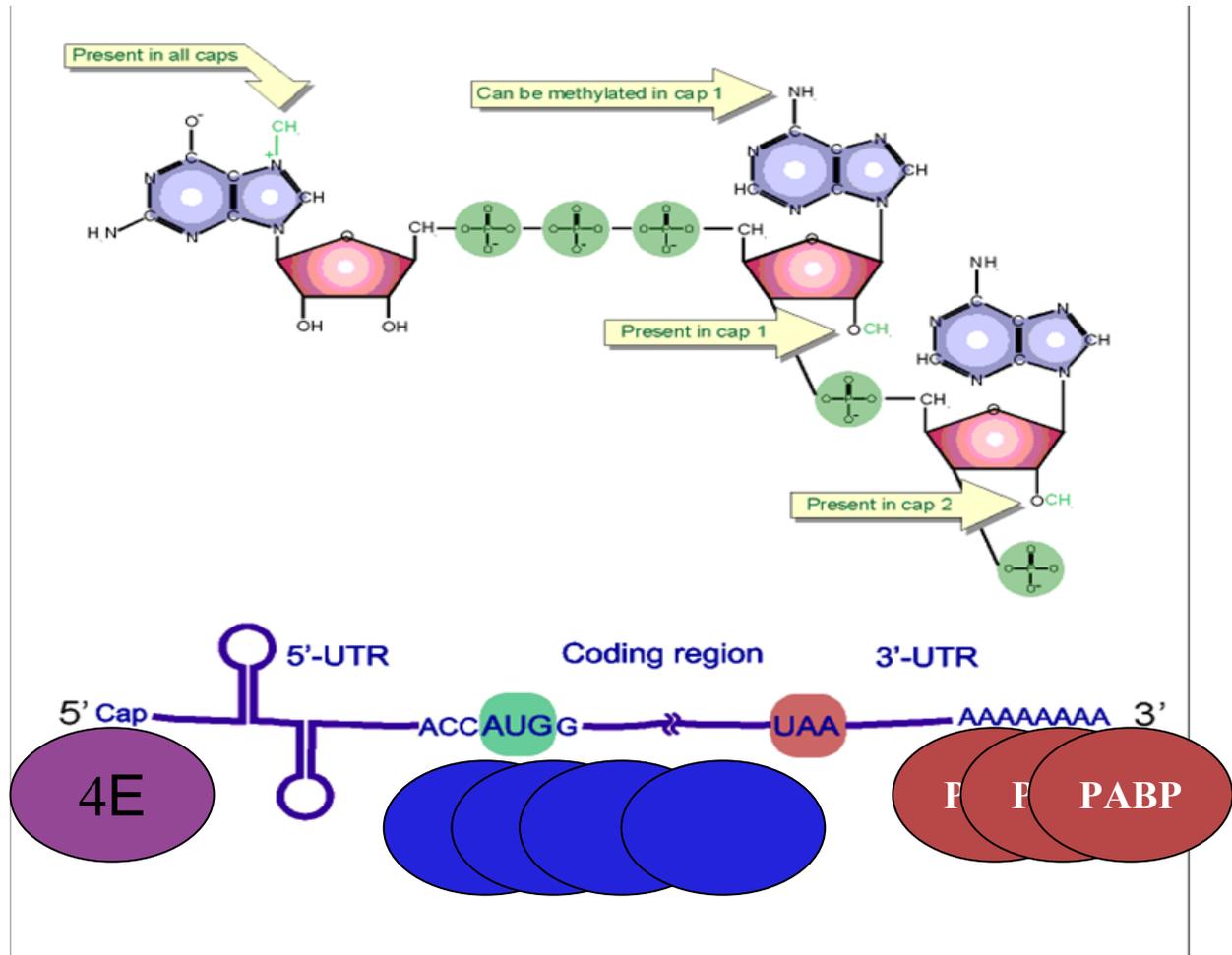
Транспорт мРНК



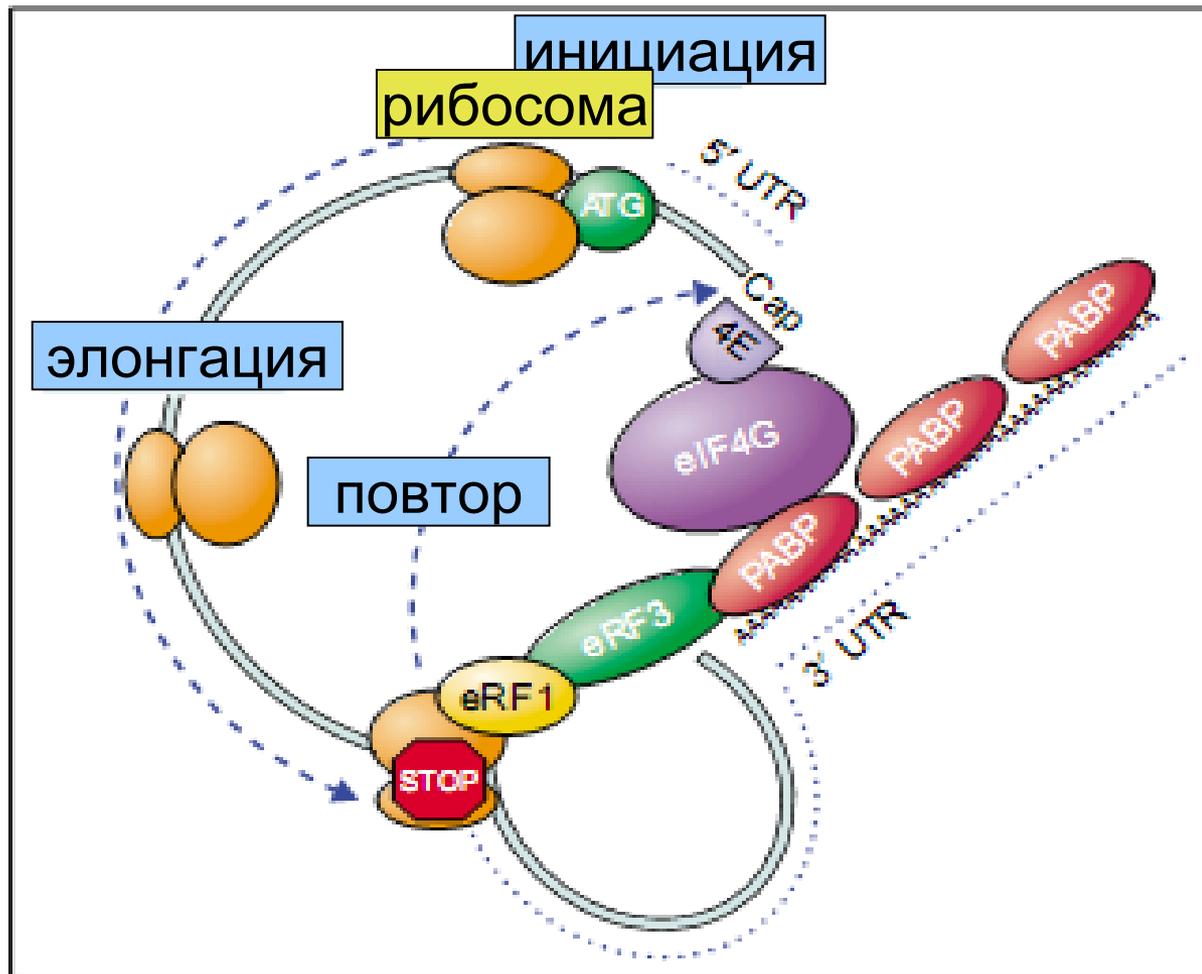
Ядерная пора: транспорт в ядро и из ядра



мРНК содержит Cap и polyA, формирует РНП



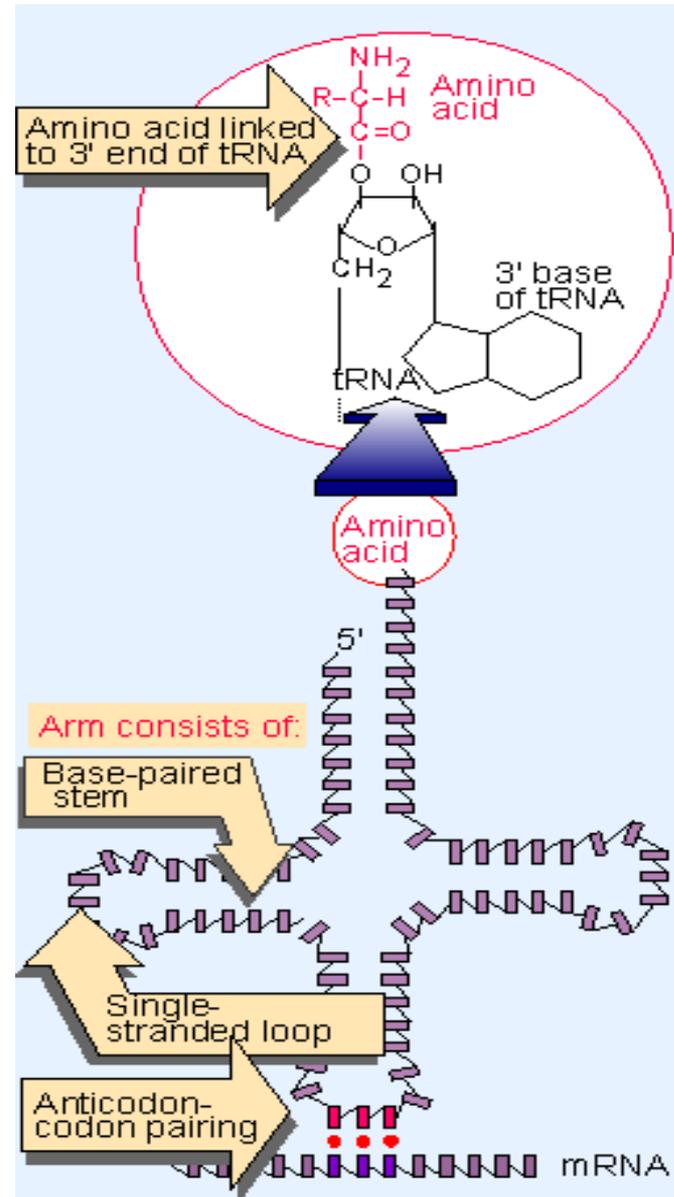
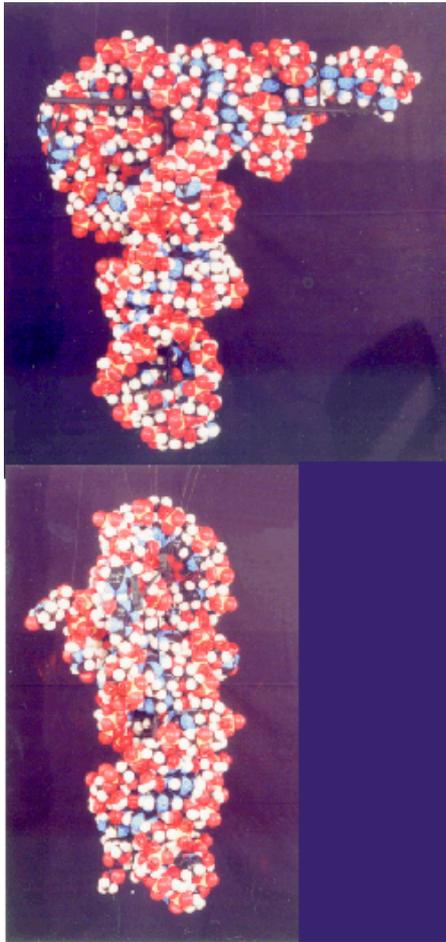
мРНК образует кольцо



		First base		Second base	
		U	C	A	G
U	UUU } Phe	UCL } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	
	UUC } Leu	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	
	UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } STOP	UGA } STOP	
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } STOP	UGG } Trp	
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	
	AUA } Met	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	
	AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	

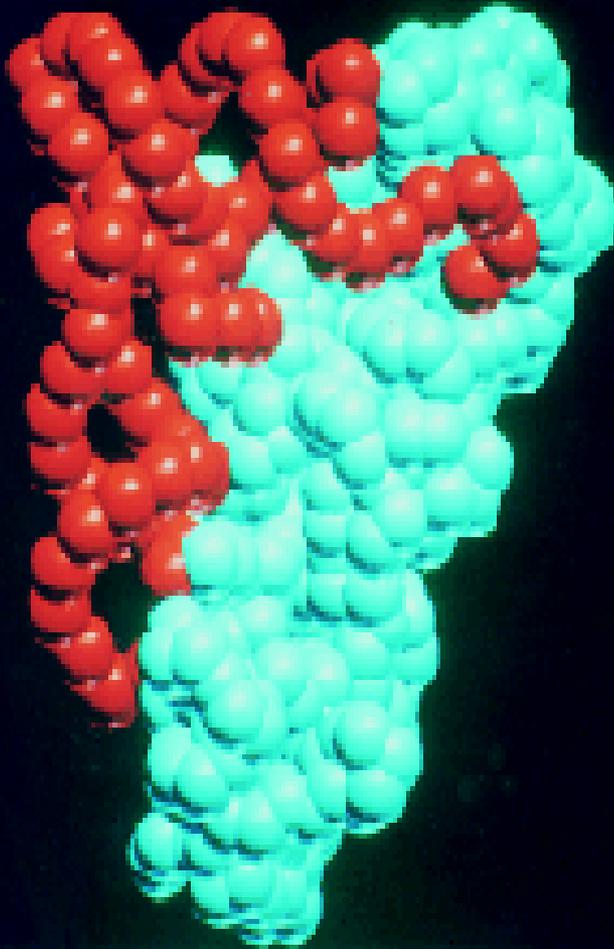
Генетический код -
 триплетный
 универсальный
 вырожденный
 старт – AUG
 стоп-UGA,UAA,UAG

тРНК - адаптор



аминоацил-тРНК - синтетазы

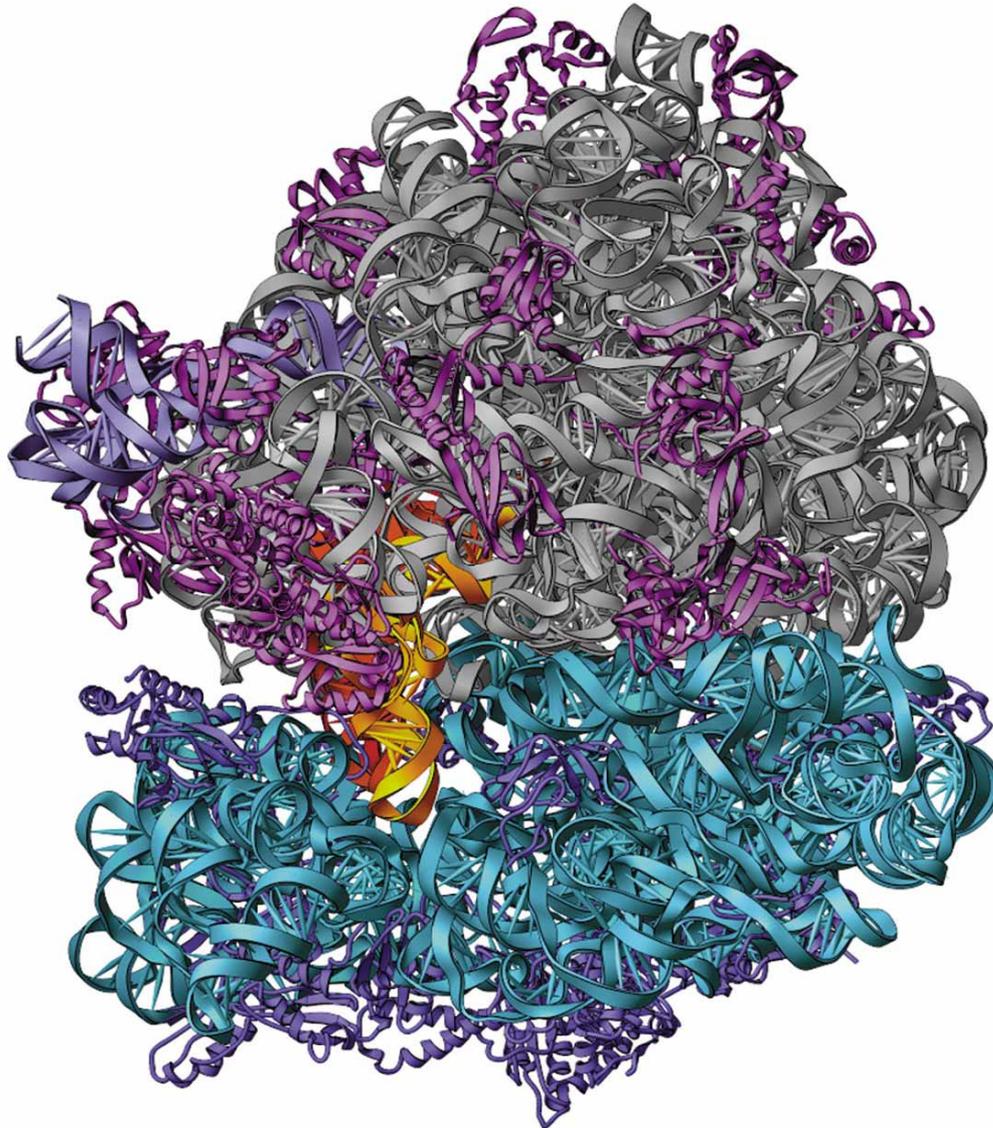
Class I (Glu-tRNA synthetase)



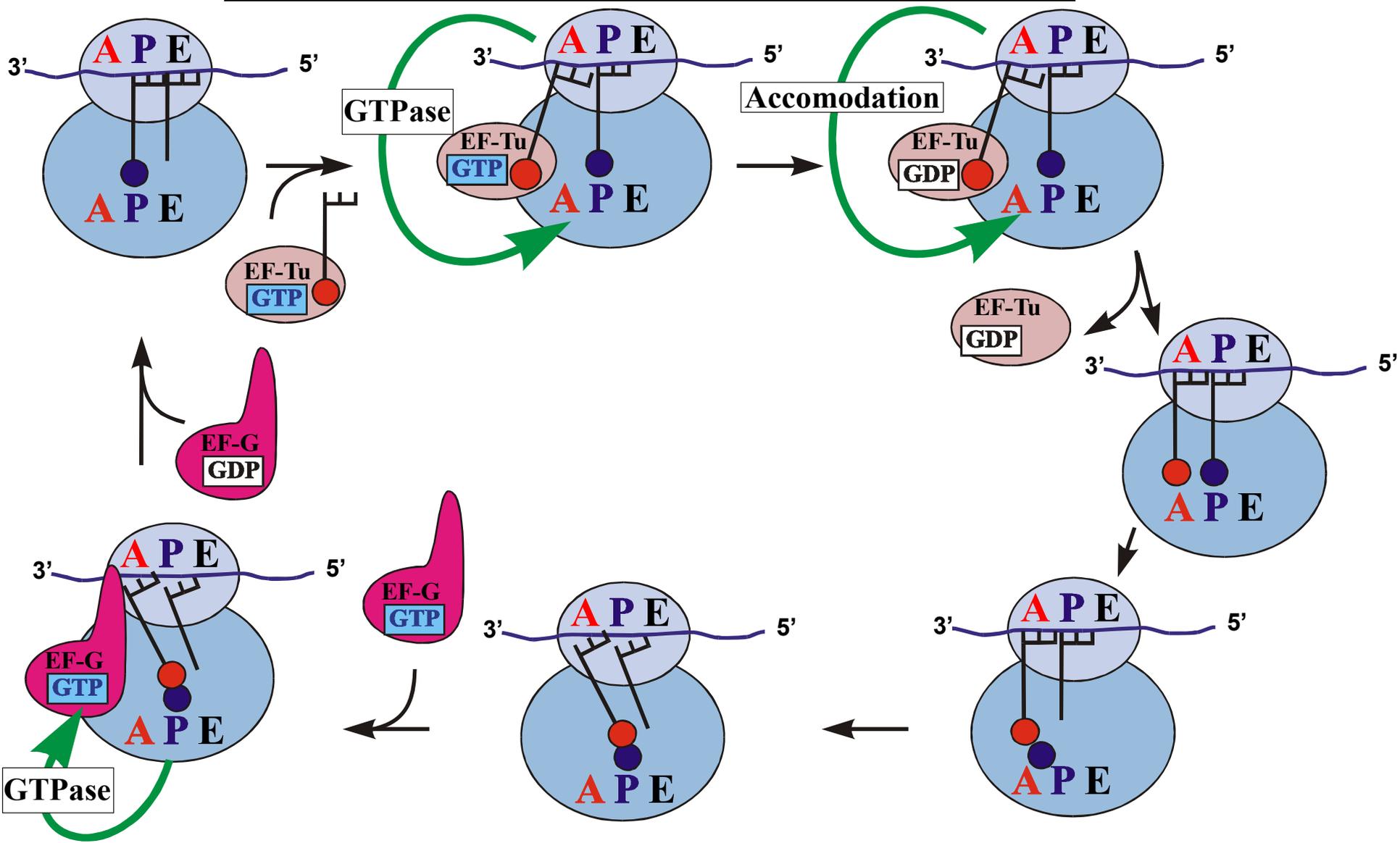
Class II (Asp-tRNA synthetase)



Биосинтез белка осуществляется на рибосоме

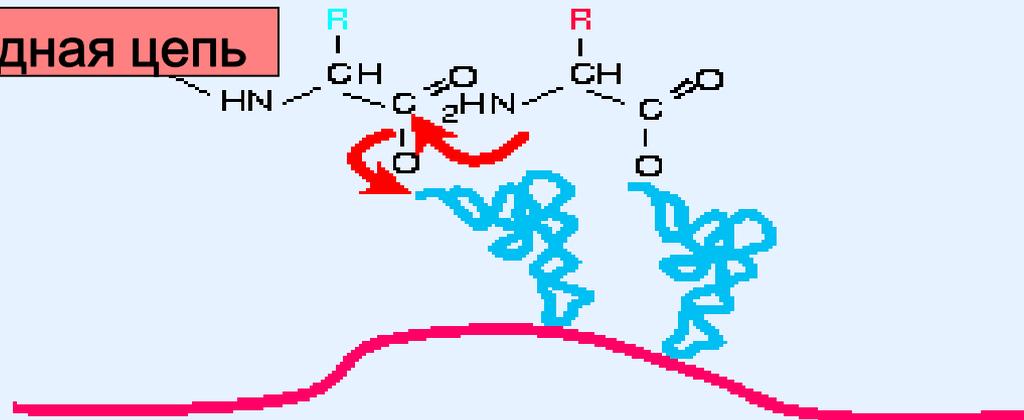


Цикл трансляции

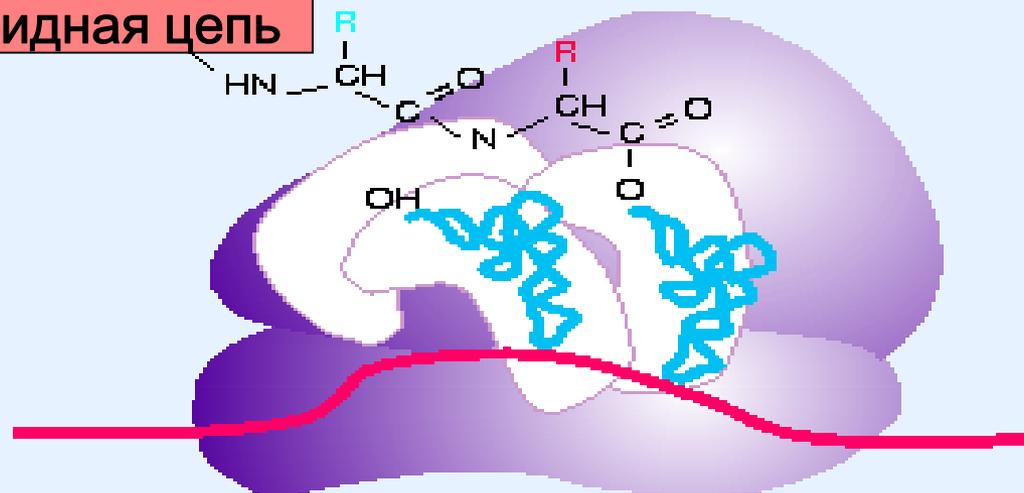


Пептид переносится с пептидил-тРНК на аминоксил-тРНК

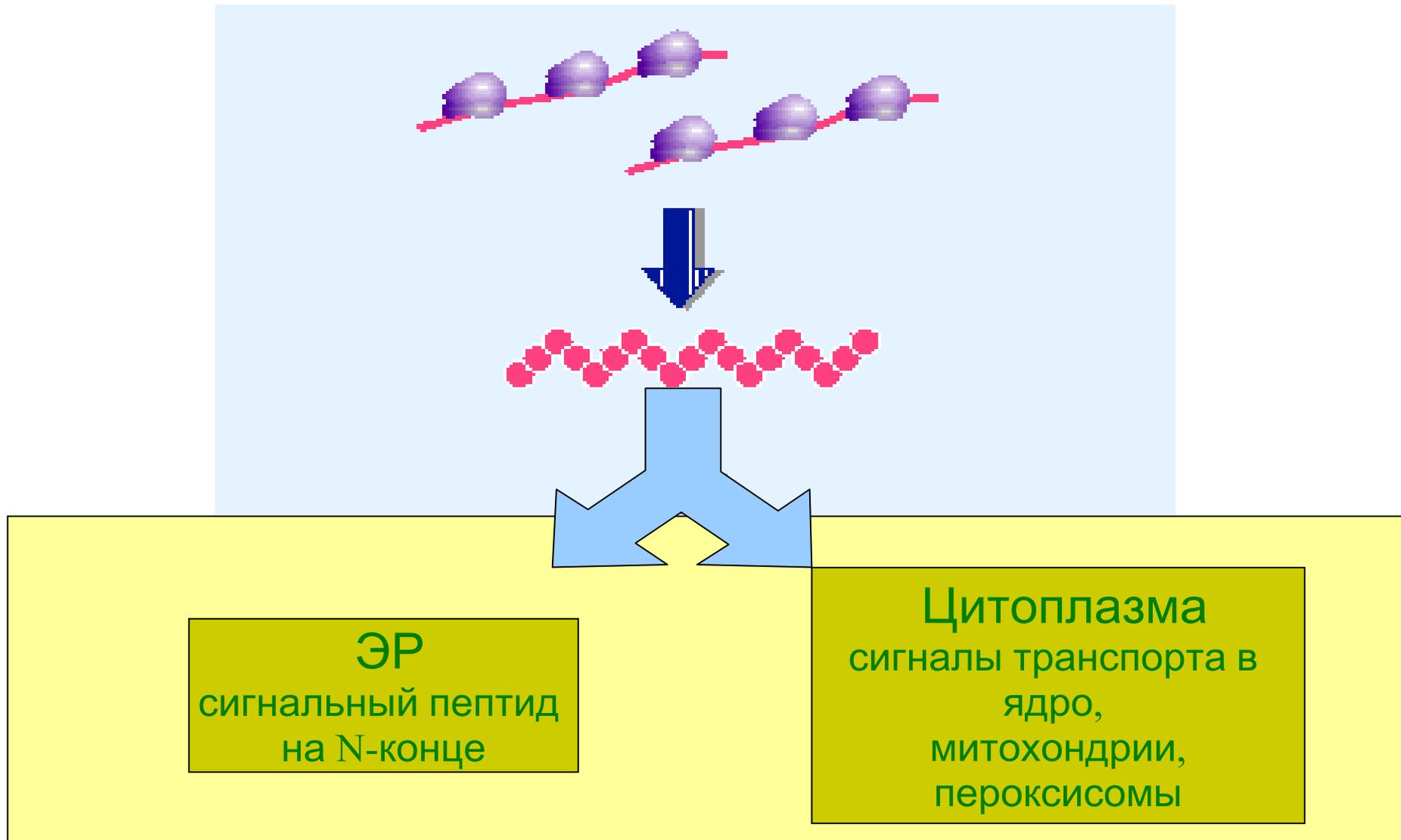
Пептидная цепь



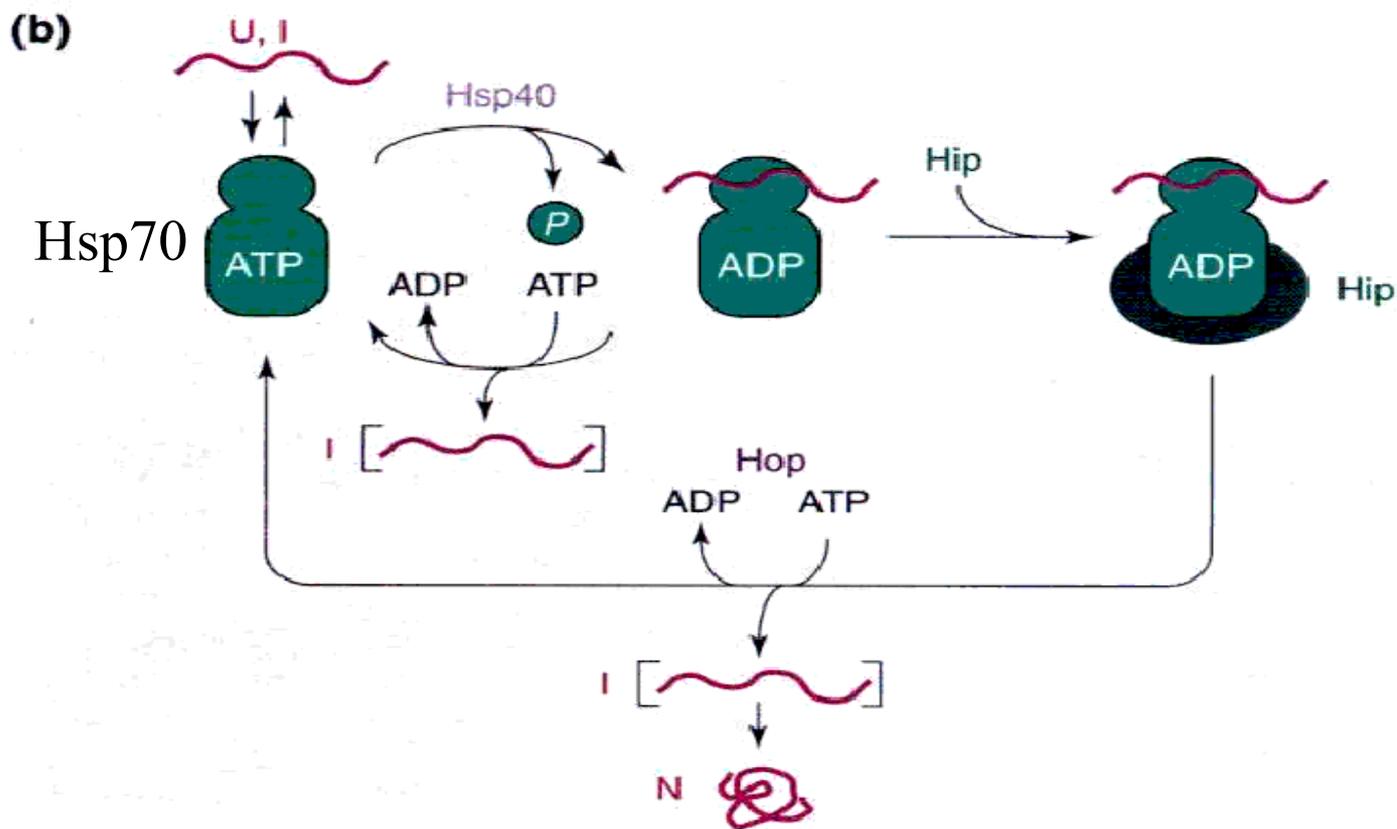
Пептидная цепь



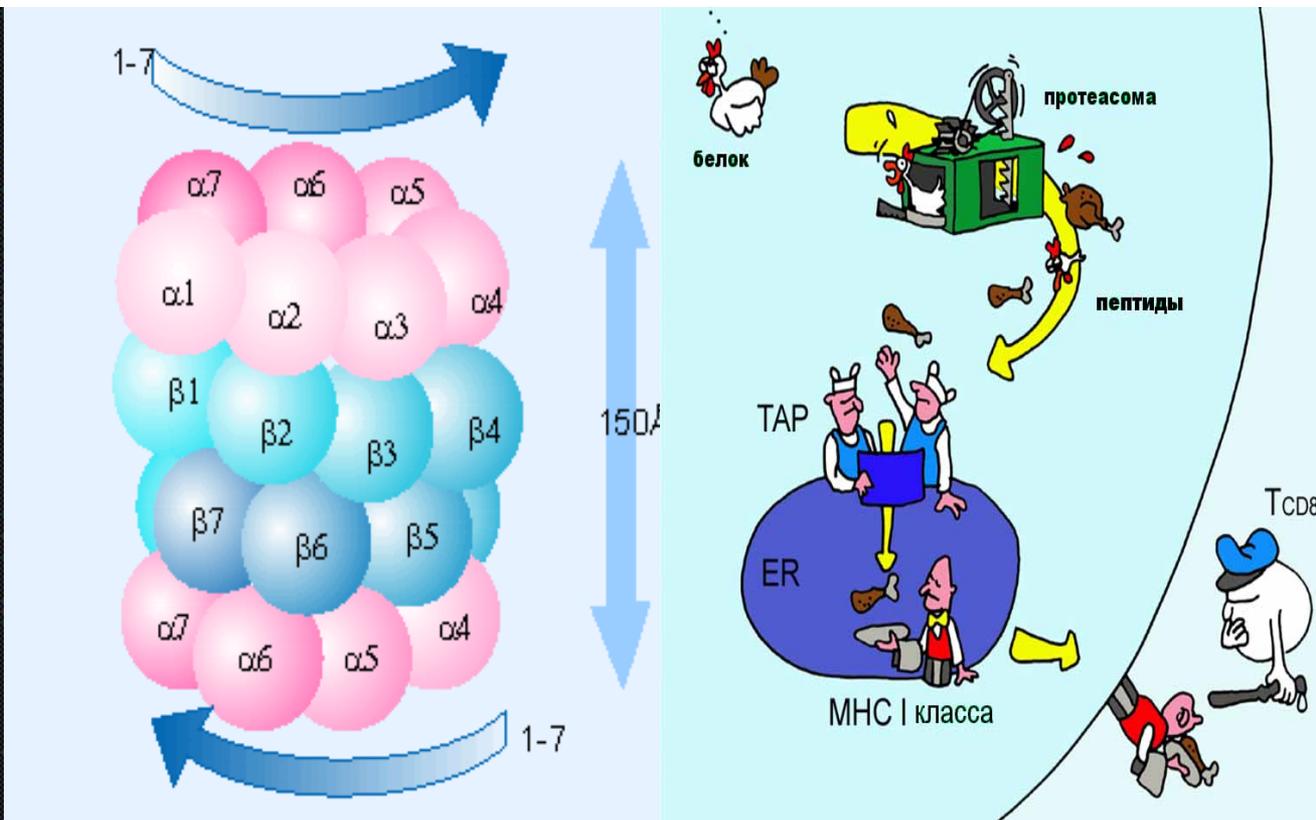
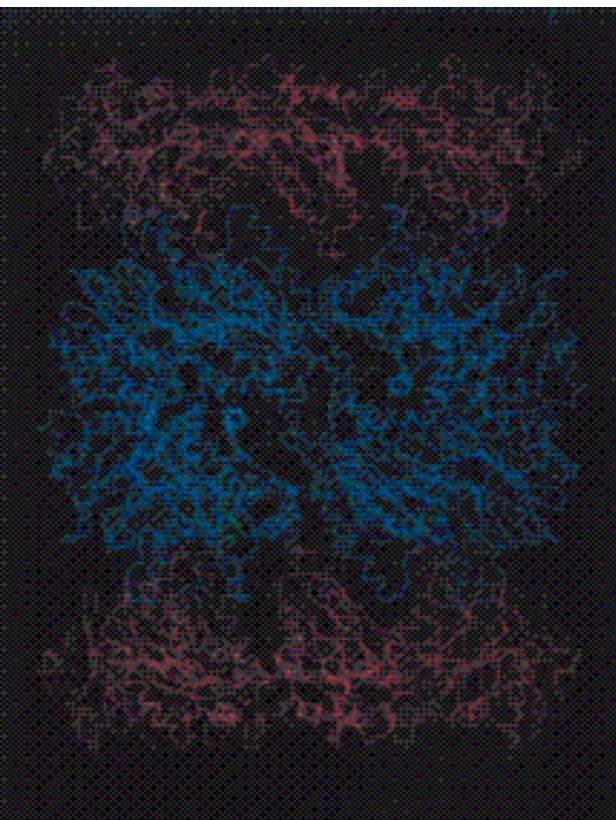
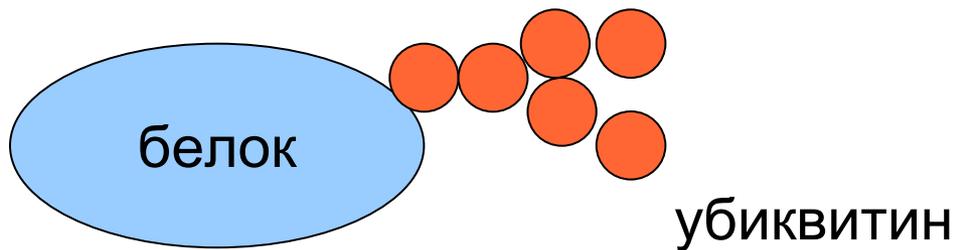
Судьба белка после трансляции



Шапероны помогают сворачиванию белков

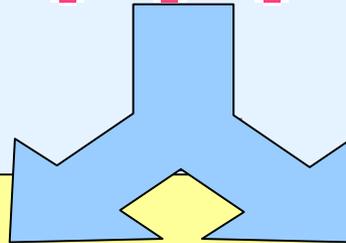
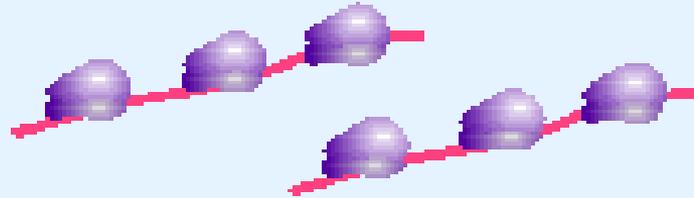


Деградация белков



Протеасом

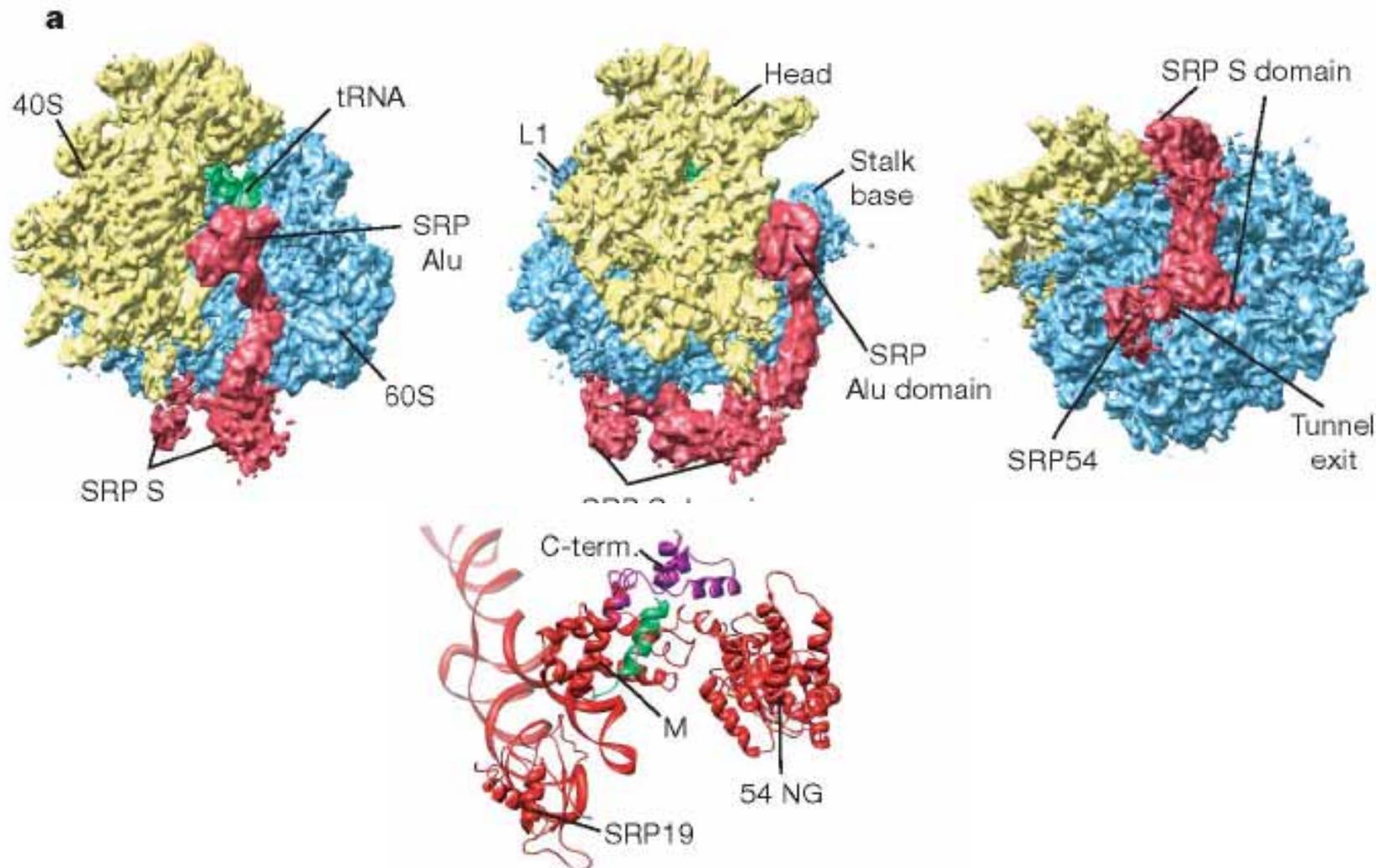
Судьба синтезированного белка зависит от сигнала в его последовательности



ЭР
сигнальный пептид
на N-конце

Цитоплазма
сигналы транспорта в
ядро,
митохондрии,
пероксисомы

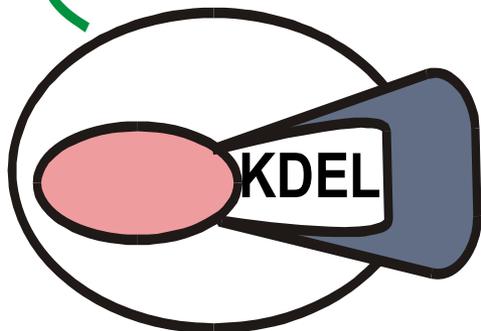
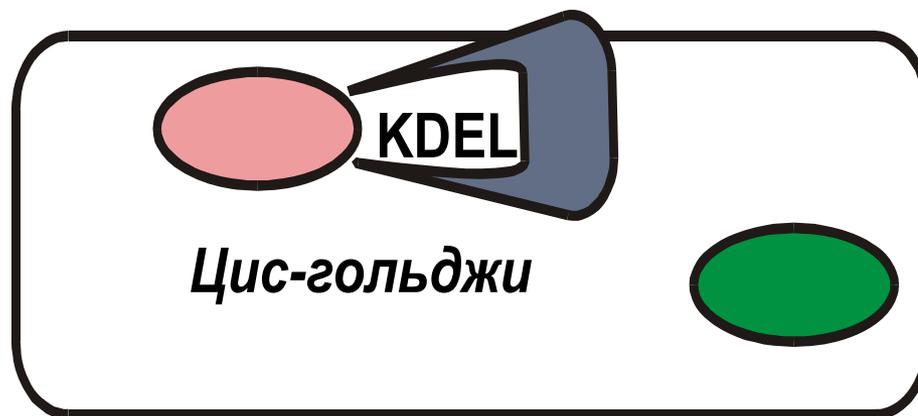
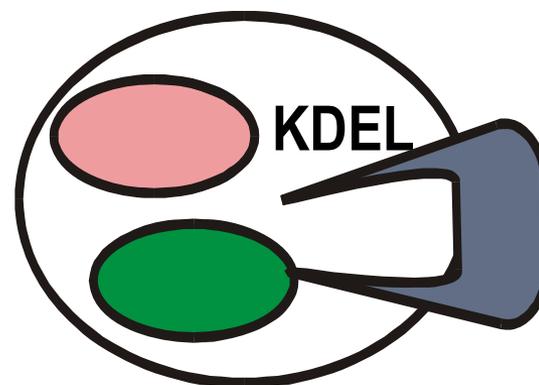
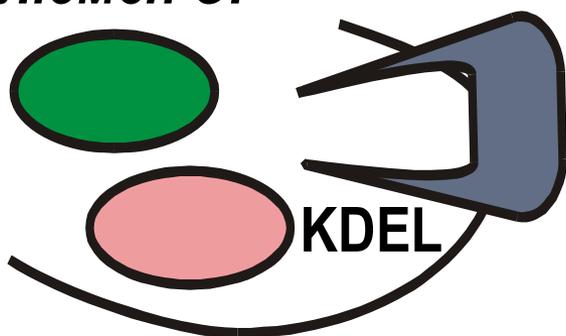
Сигнал транспорта в ЭР вызывает остановку трансляции с участием SRP



Белки, работающие в ЭР, имеют специальные сигналы

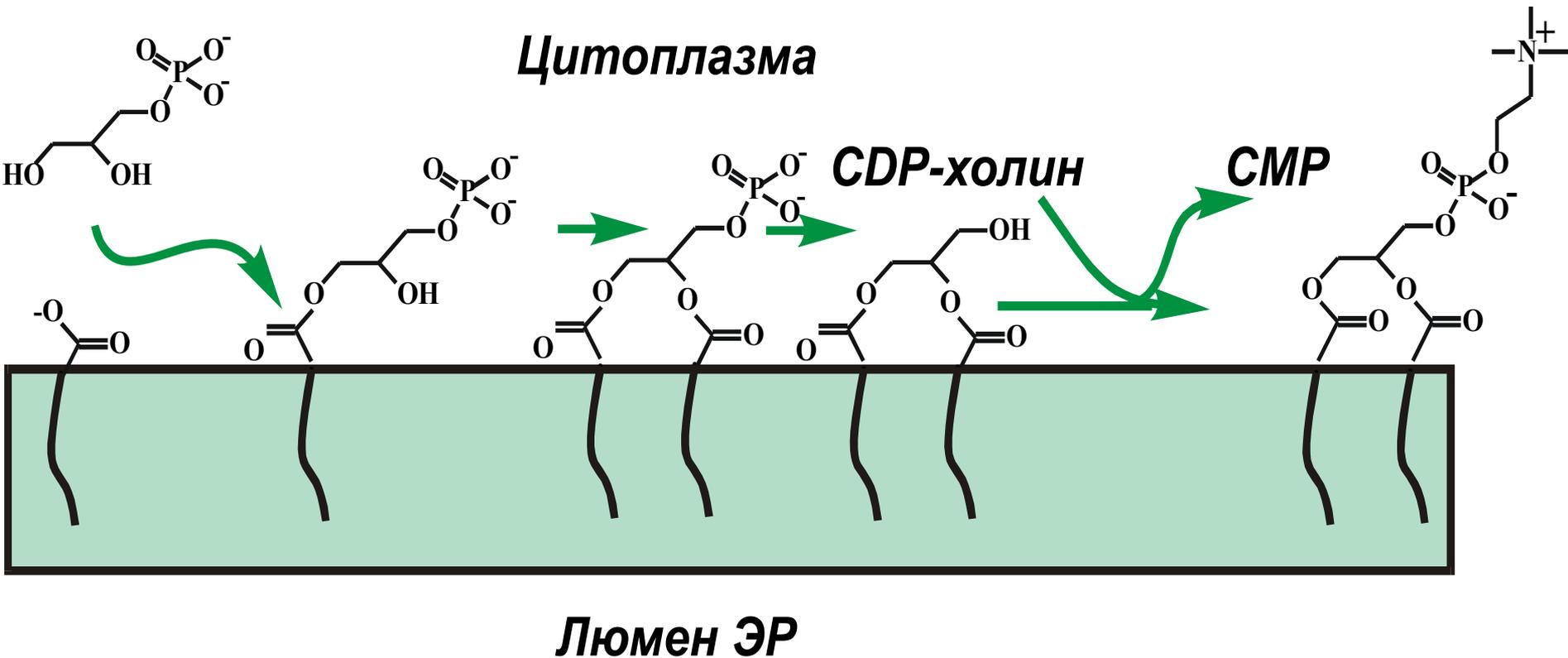
С-концевая последовательность KDEL определяет ЭР локализацию белка

Люмен ЭР

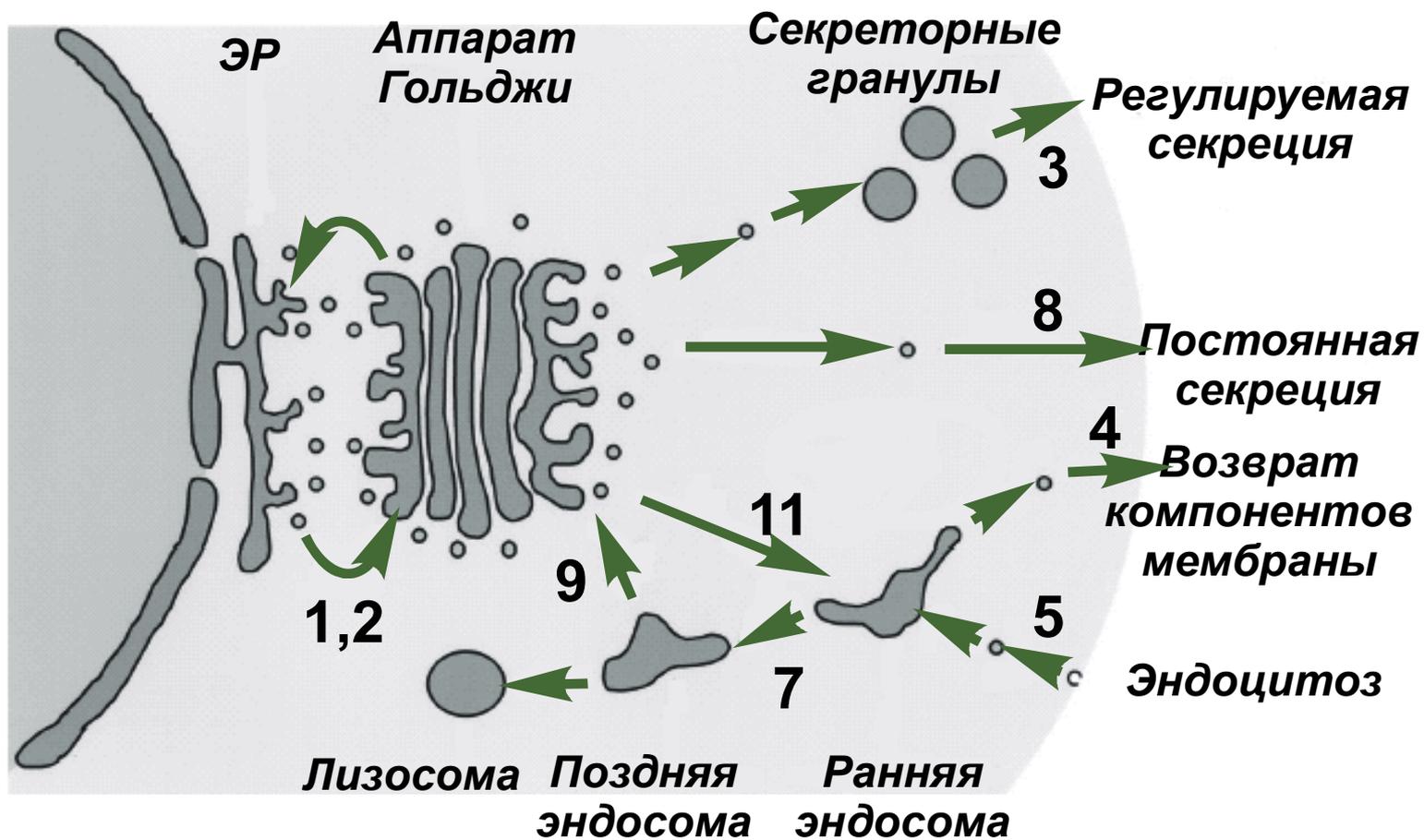


Эндоплазматический ретикулум

В клетках животных липиды синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме

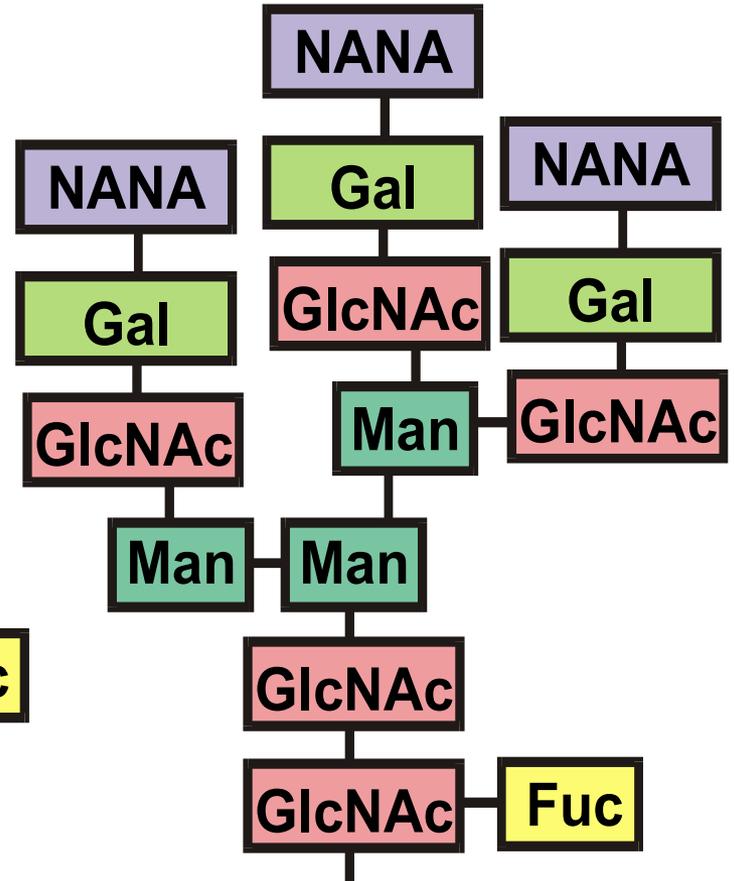
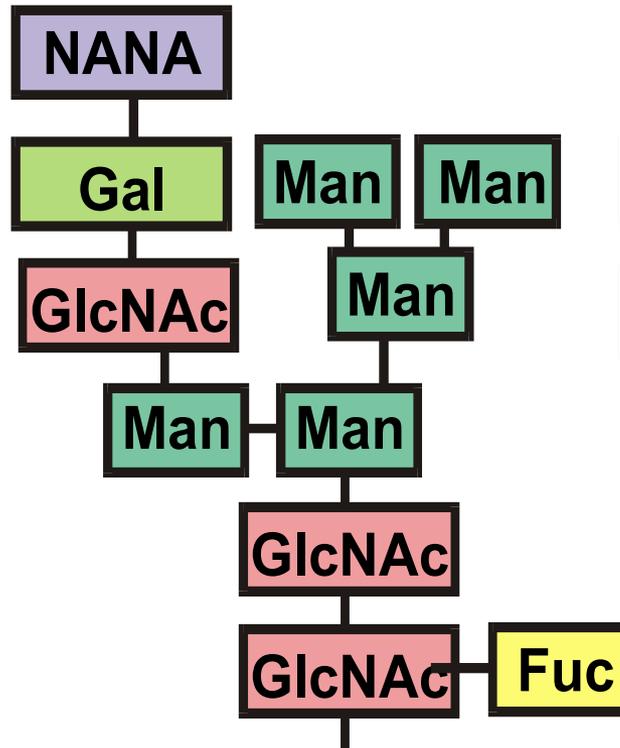
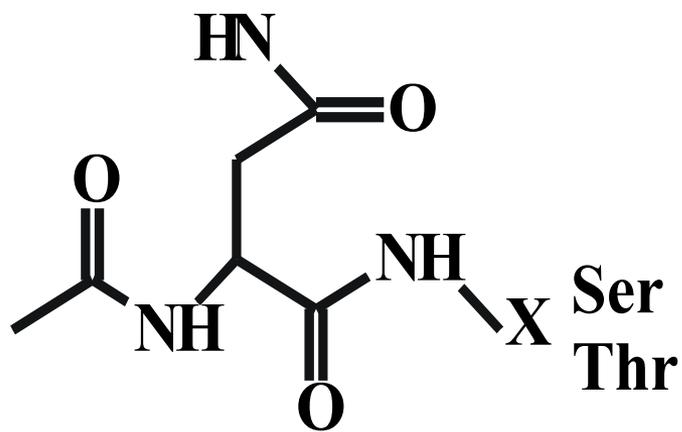
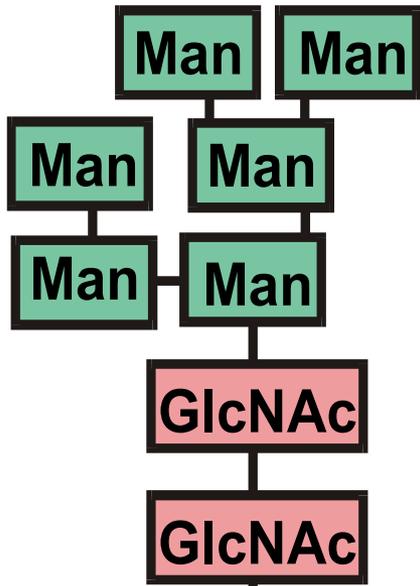


В ЭР начинается процесс созревания белков и их сортировка для последующего везикулярного транспорта

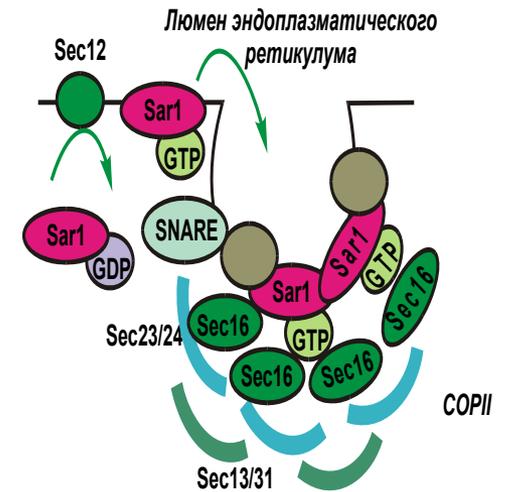
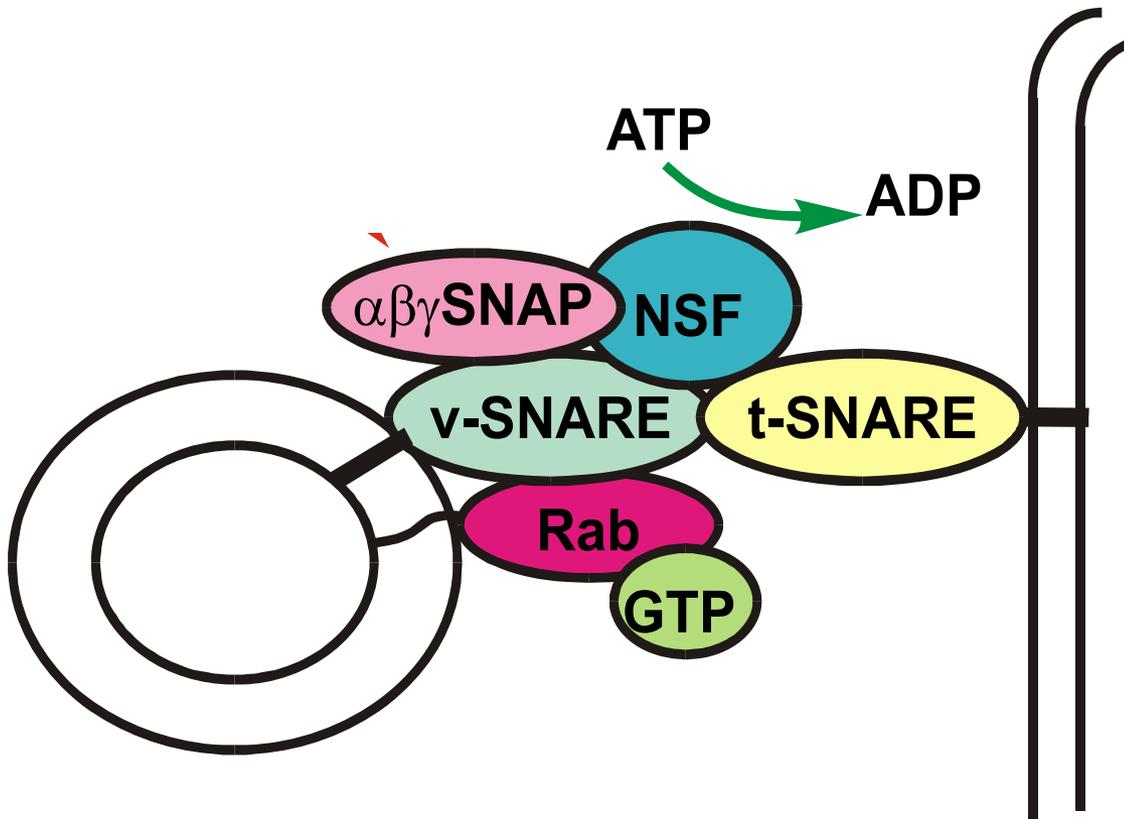


Гликозилирование белков

N-гликозилирование

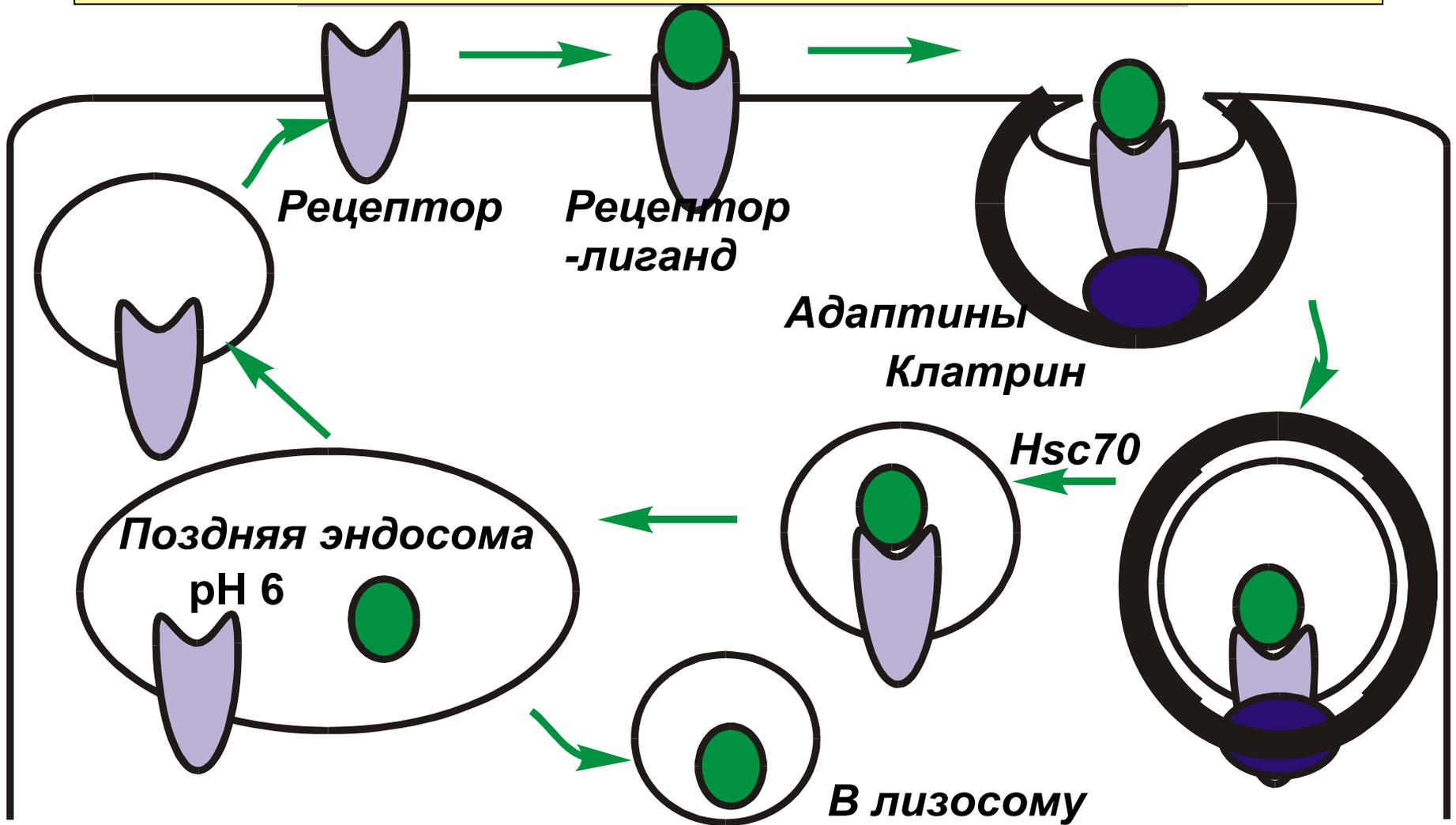


Молекулярные механизмы везикулярного транспорта



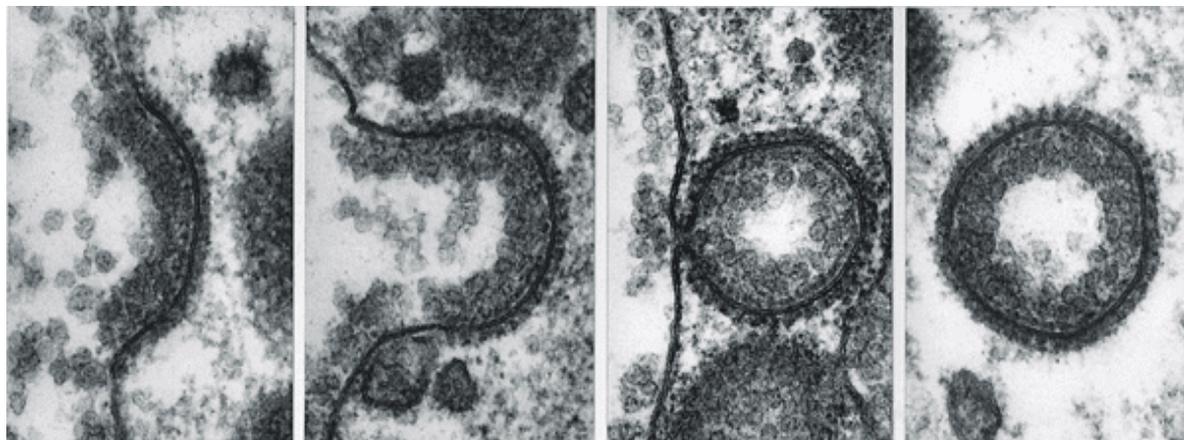
Эндоцитоз

Рецепторы, связавшие лиганд, эндоцитируют

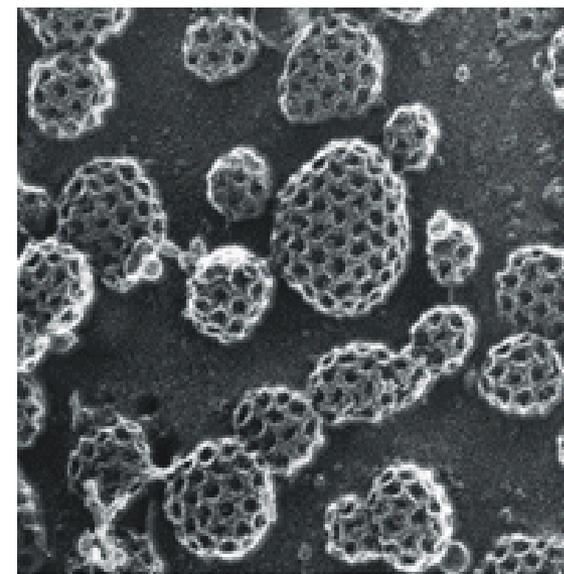


Эндоцитоз

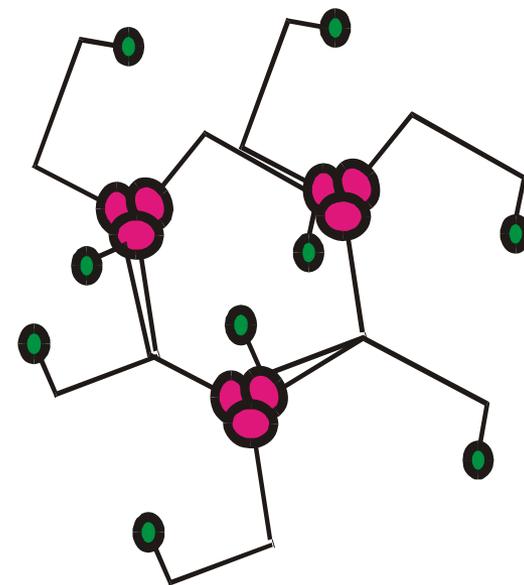
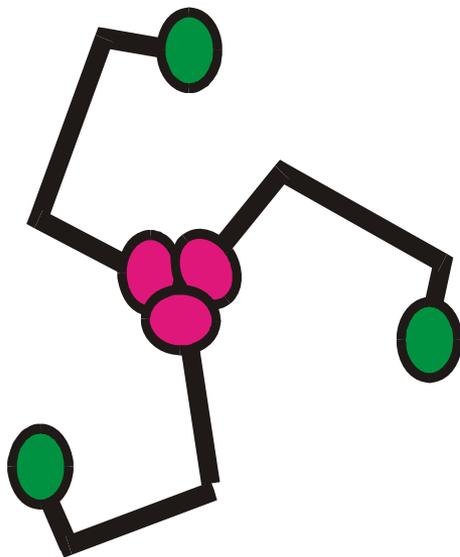
Клатрин



0.1 μm

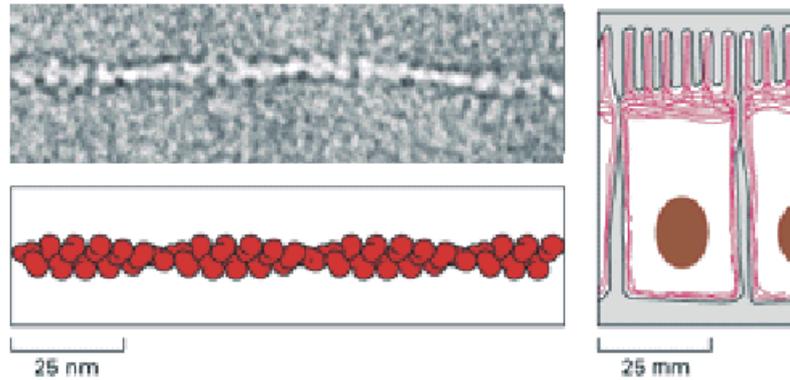


0.2 μm



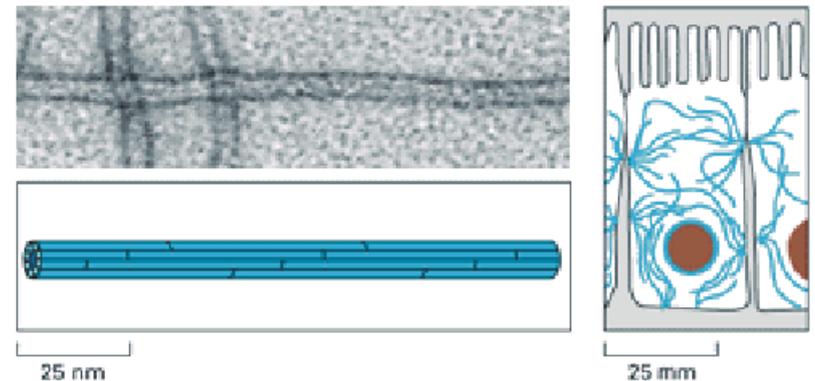
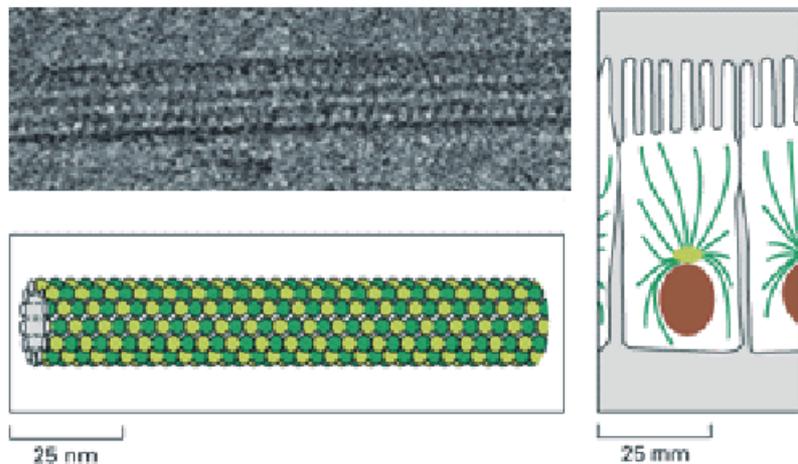
Цитоскелет

Актиновые филаменты



Микротрубочки

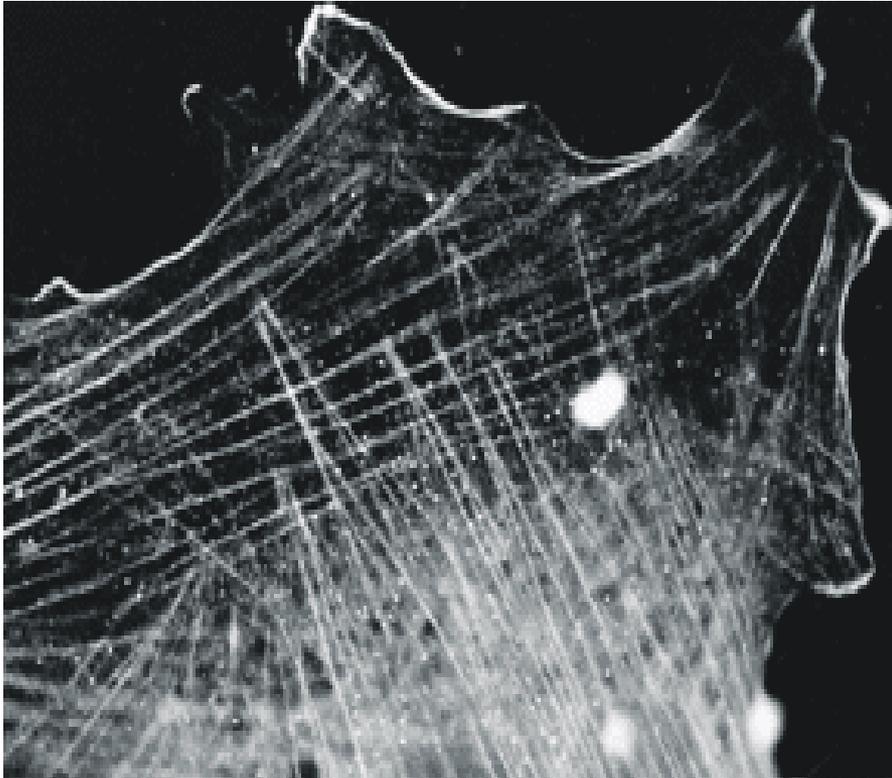
Промежуточные филаменты



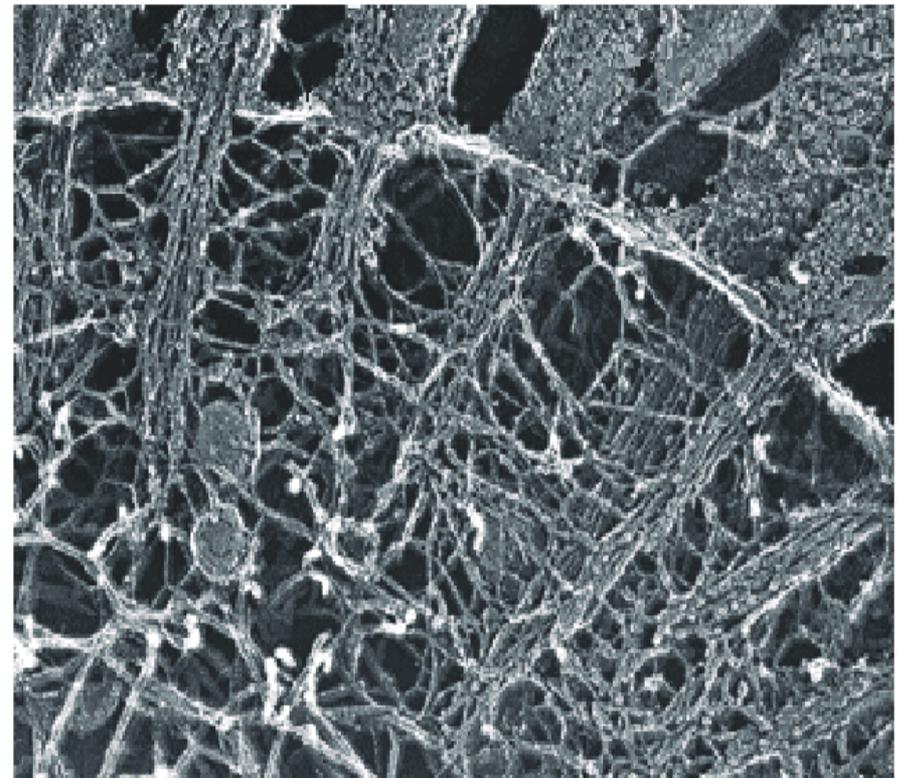
Актиновые филаменты

Внутриклеточная локализация

Стресс-фибриллы



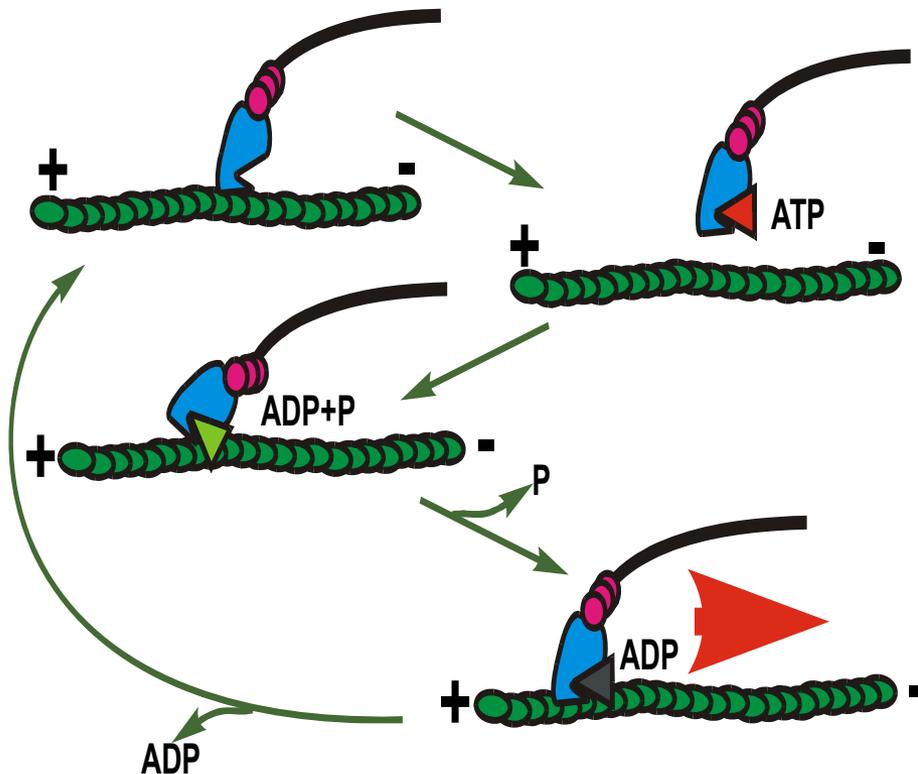
Микроворсинки



Моторные белки осуществляют транспорт по волокнам цитоскелета

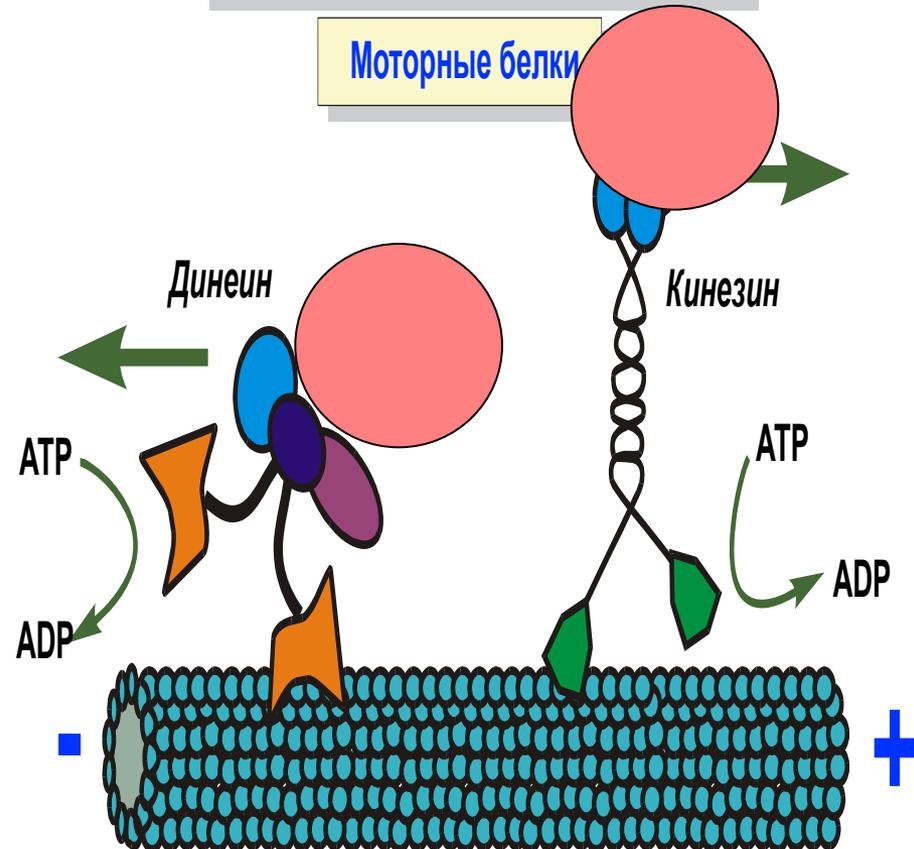
Актиновые филаменты

Движение миозина обеспечивается энергией гидролиза ATP

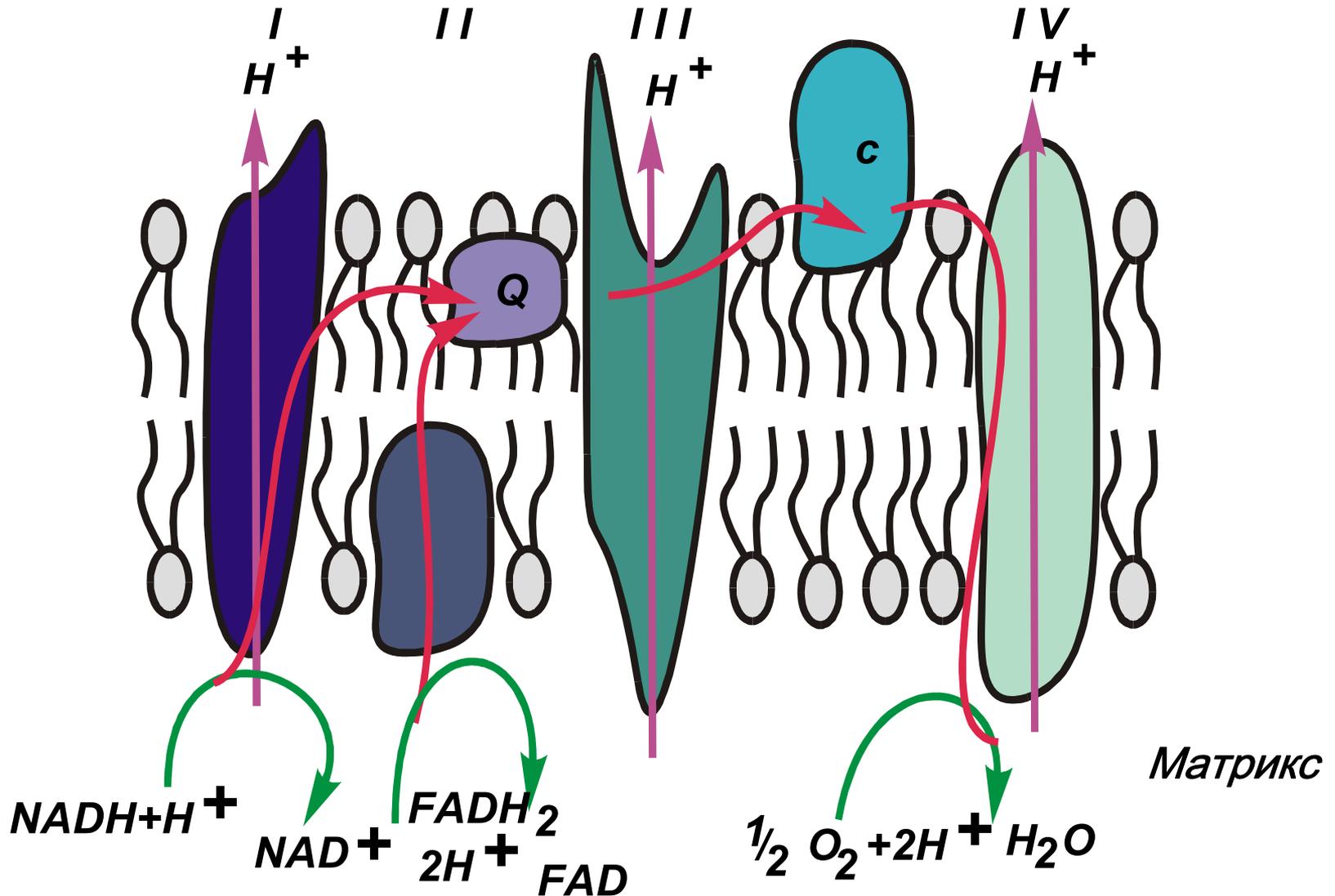


Белки, связанные с микротрубочками

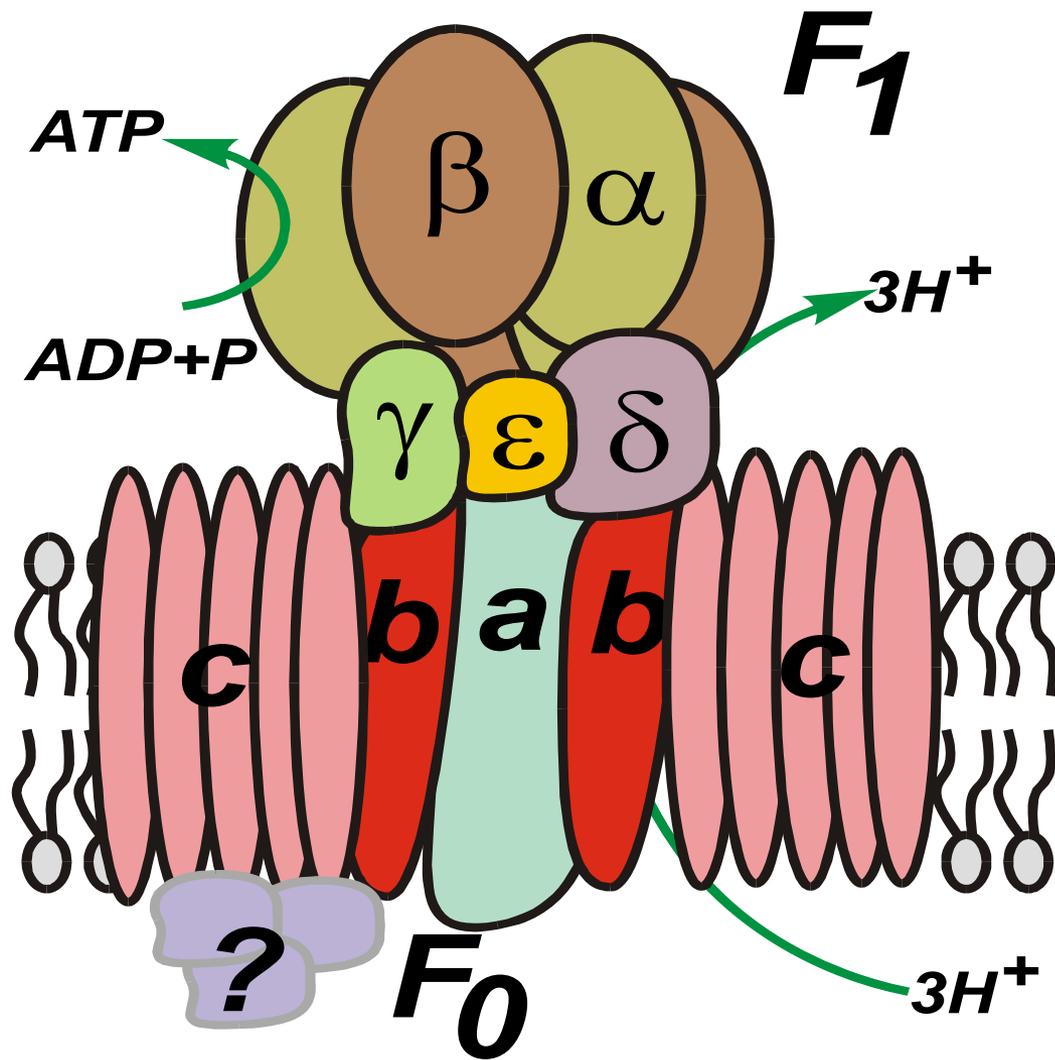
Моторные белки



Энергия переноса пары электронов с NADH на $\frac{1}{2} \text{O}_2$ используется для перекачивания протонов из матрикса митохондрии в межмембранное пространство



Синтез АТФ



Активация рецептора смерти

Bak, Bax

Bcl-X_L, Bcl-2



Cytochrome c

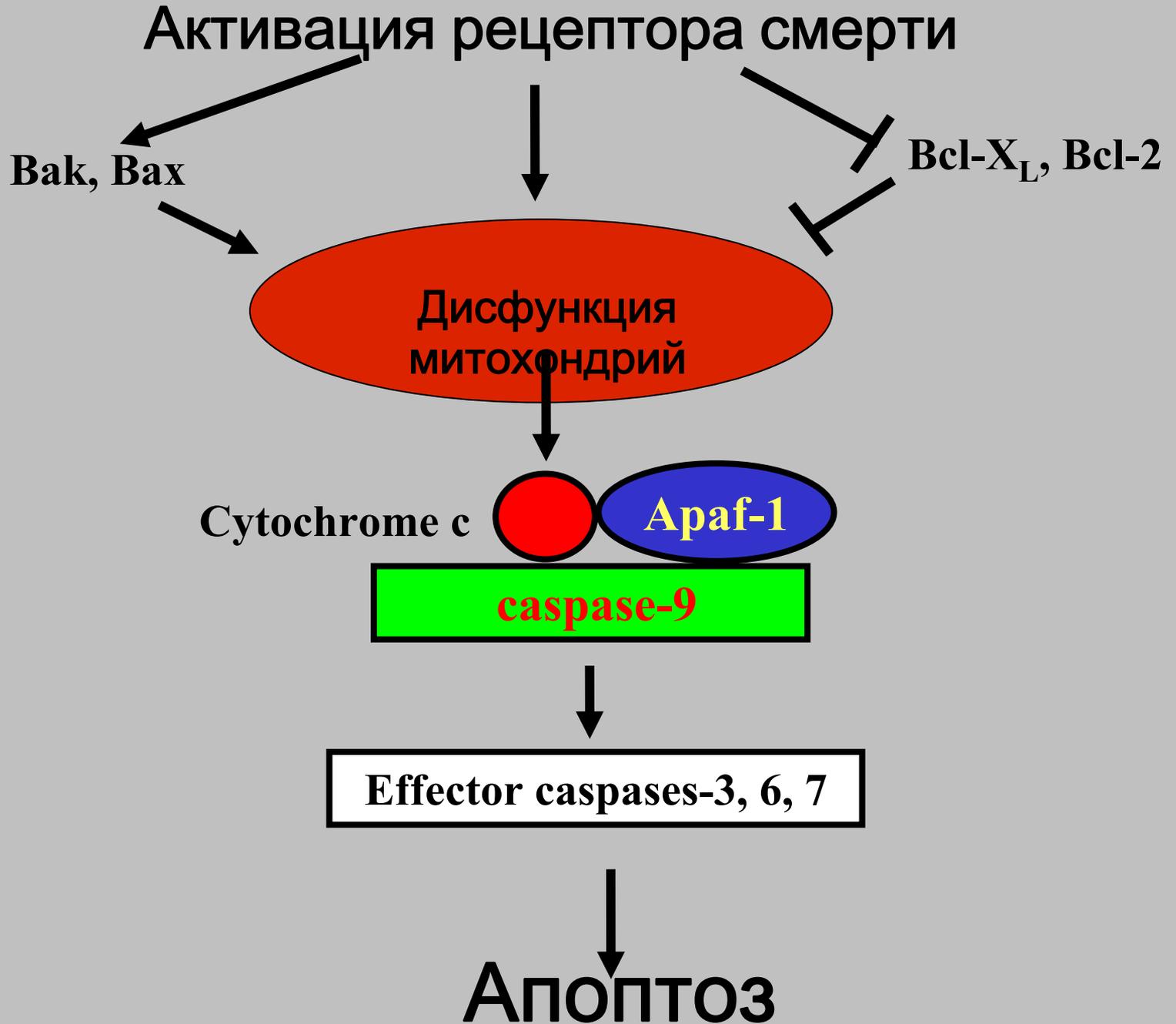


Apa1-1

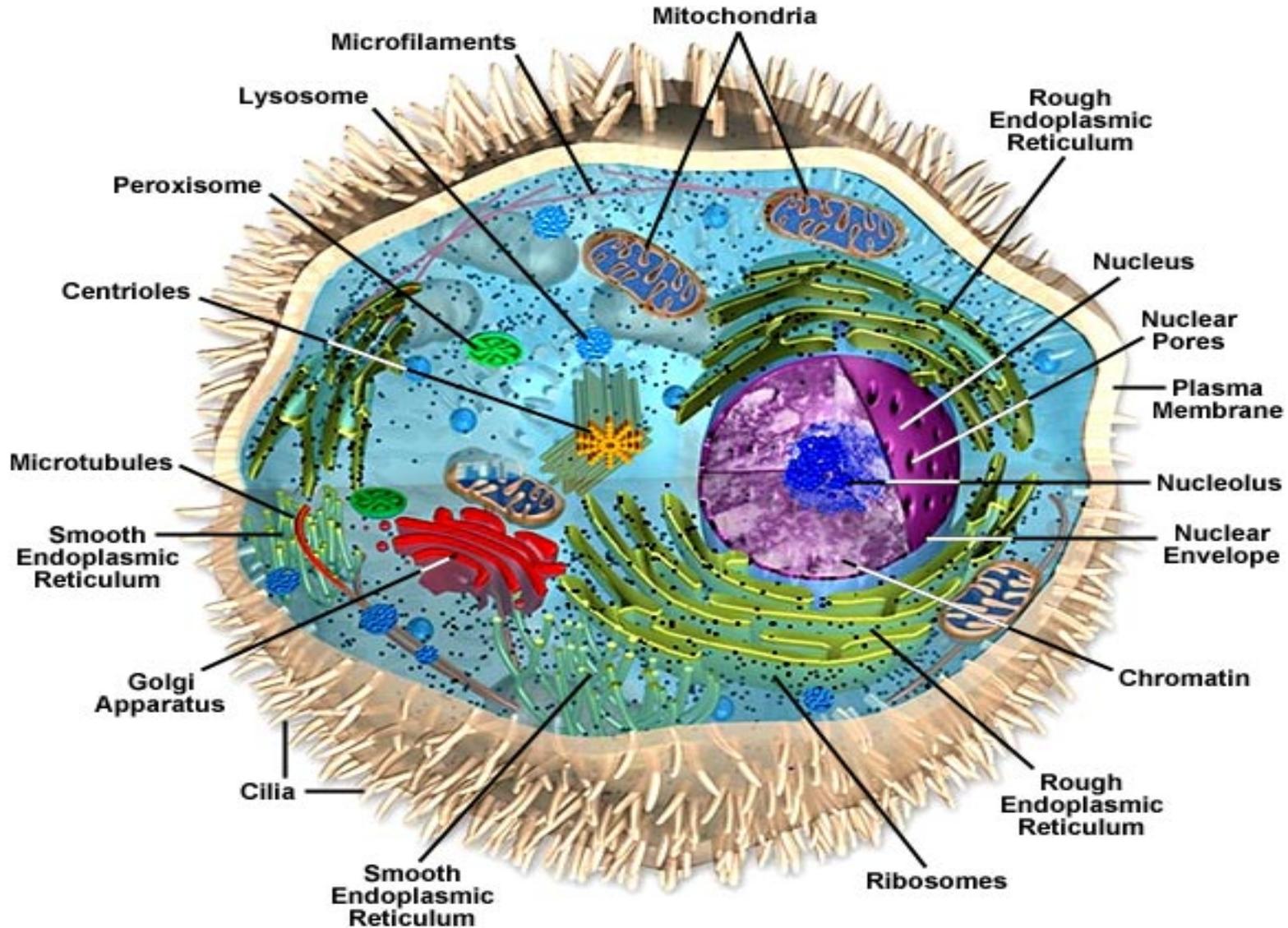


Effector caspases-3, 6, 7

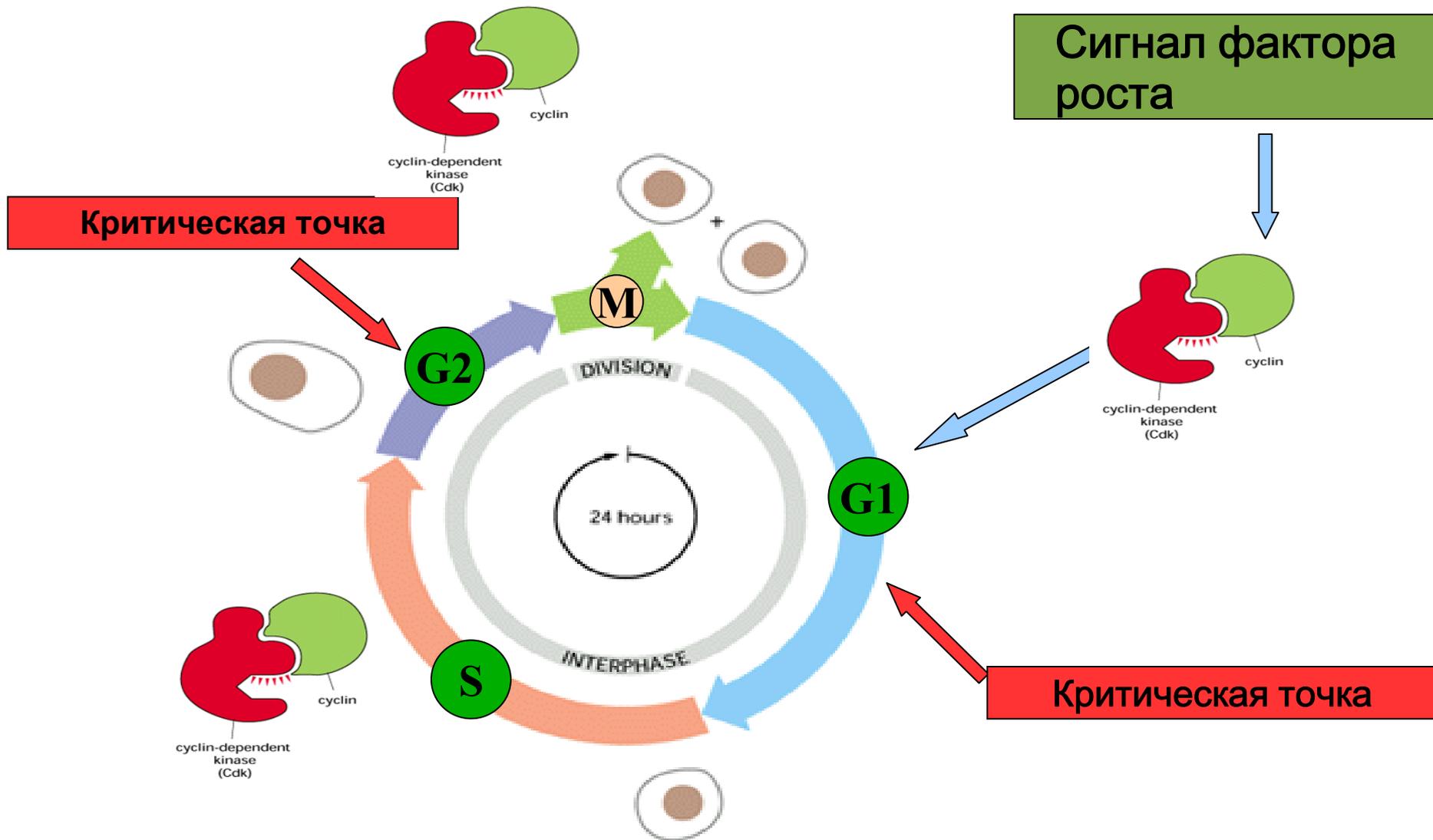
АПОПТОЗ



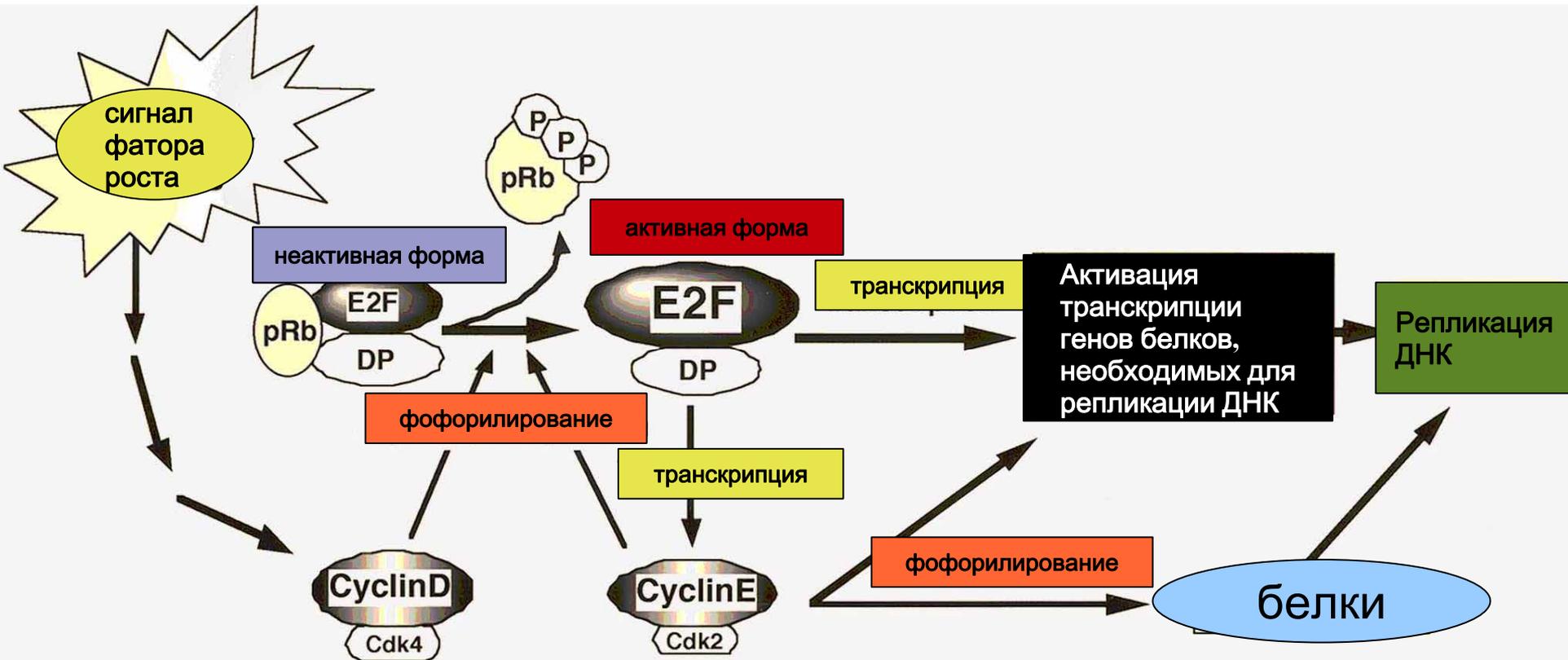
Структура эукариотической клетки



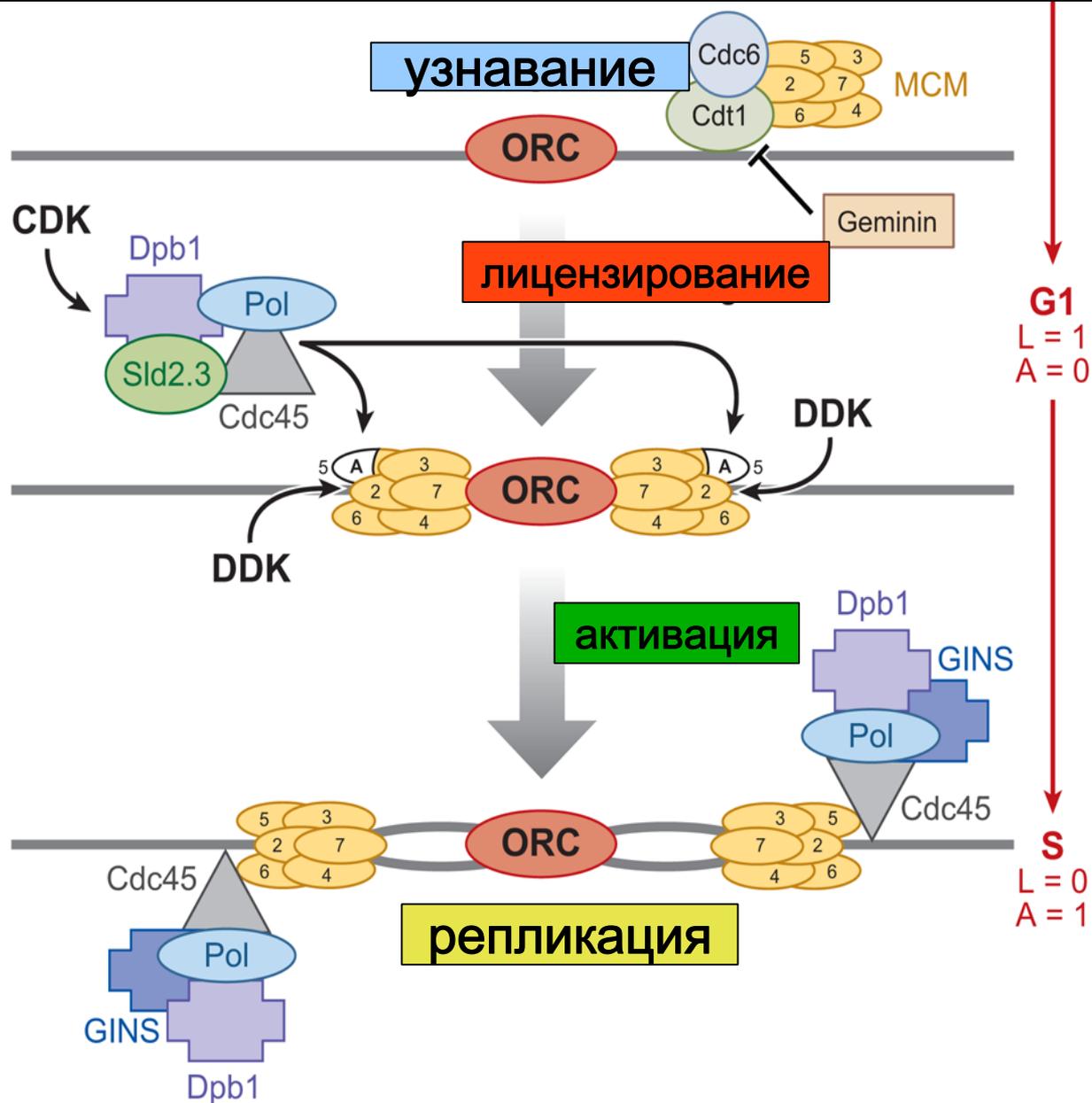
Фазы клеточного цикла



Клеточное деление стимулируется факторами роста



Прохождение критической точки инициации репликации

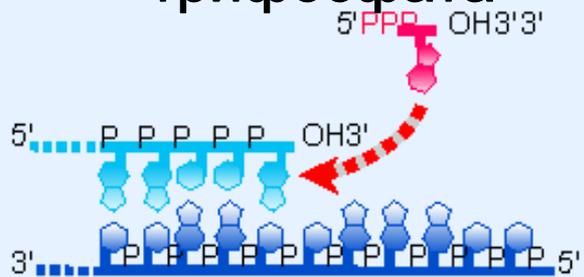


ДНК-полимеразе необходима затравка

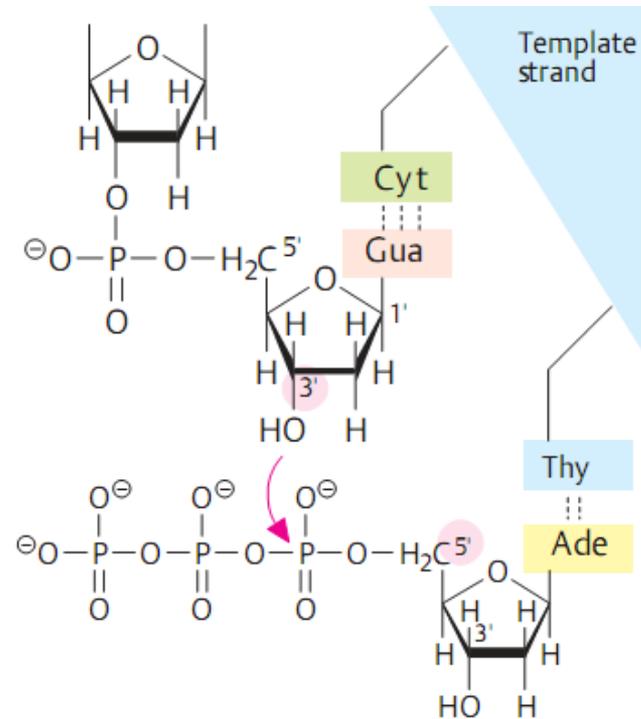
Свободный 3'-гидроксил



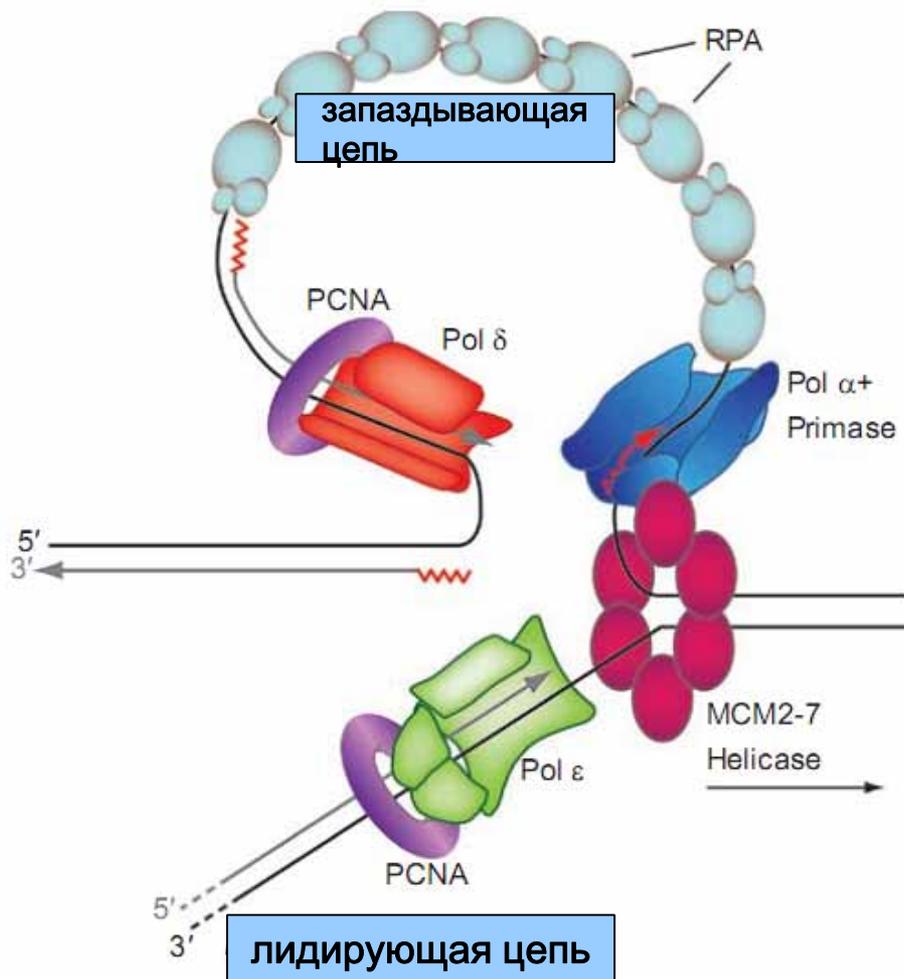
Включение 5'-трифосфата



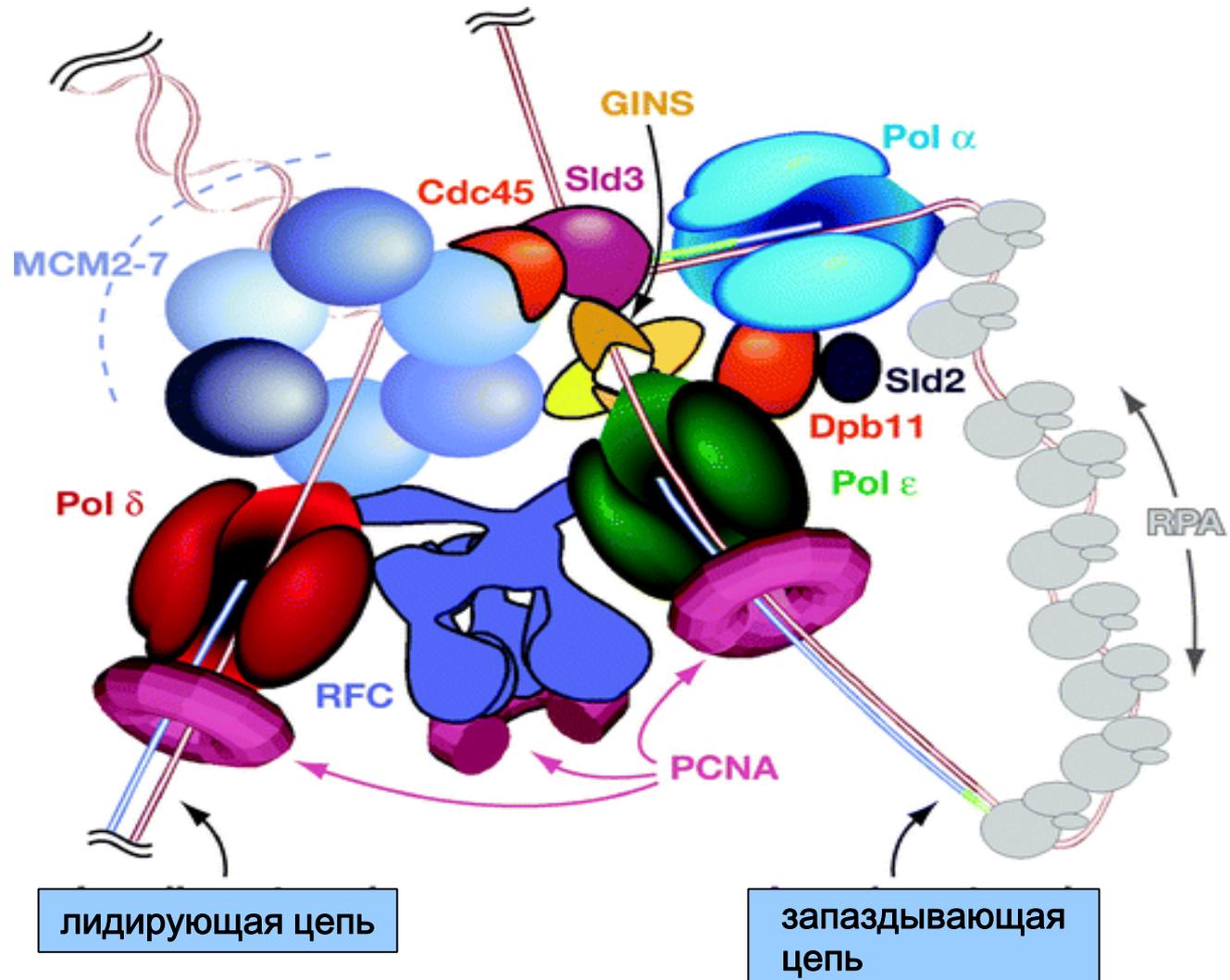
Уходит дифосфат



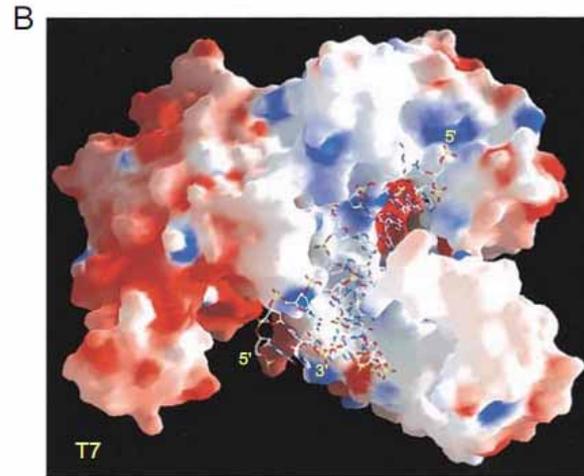
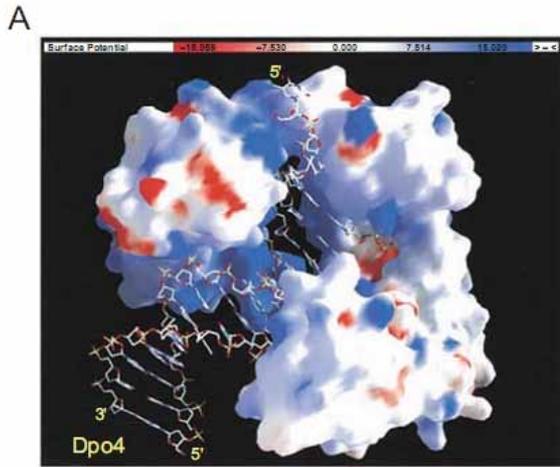
Репликативная вилка



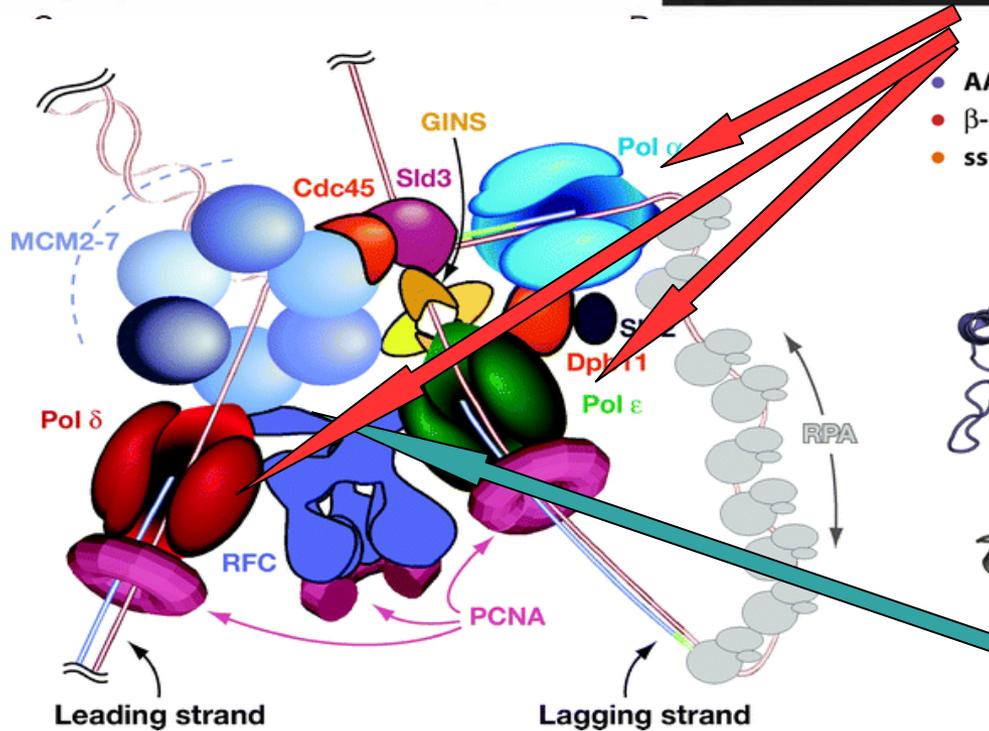
Реплисома - сложная наномашина



Компоненты реплисомы

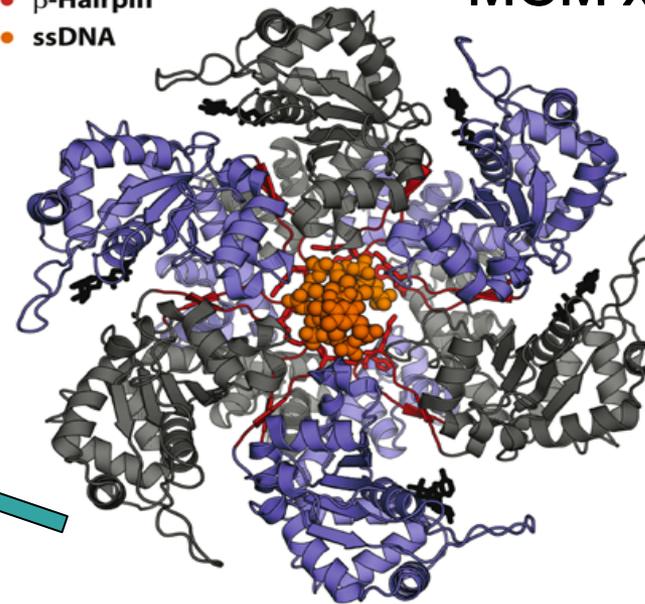


ДНК-полимеразы

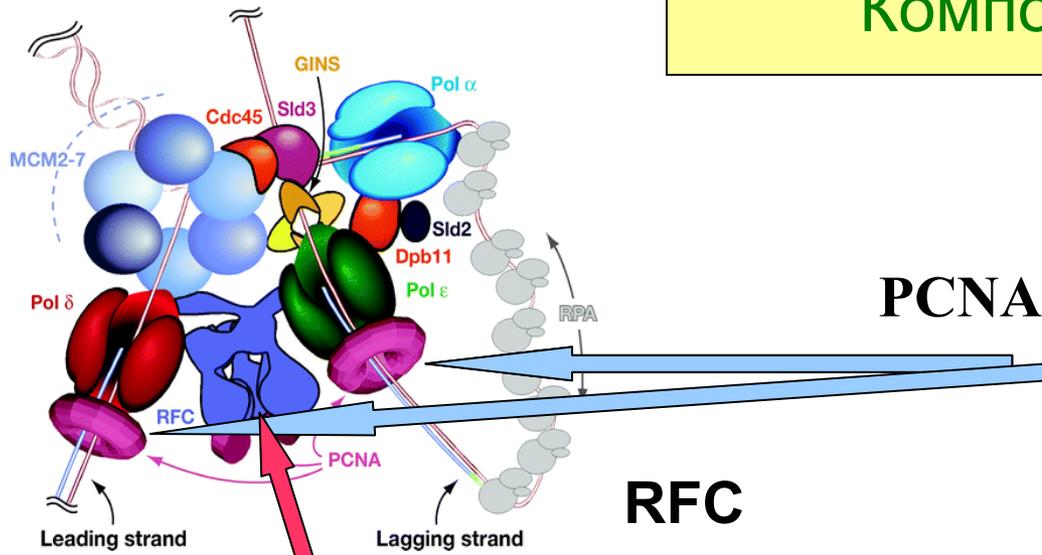


- AAA+
- β -Hairpin
- ssDNA

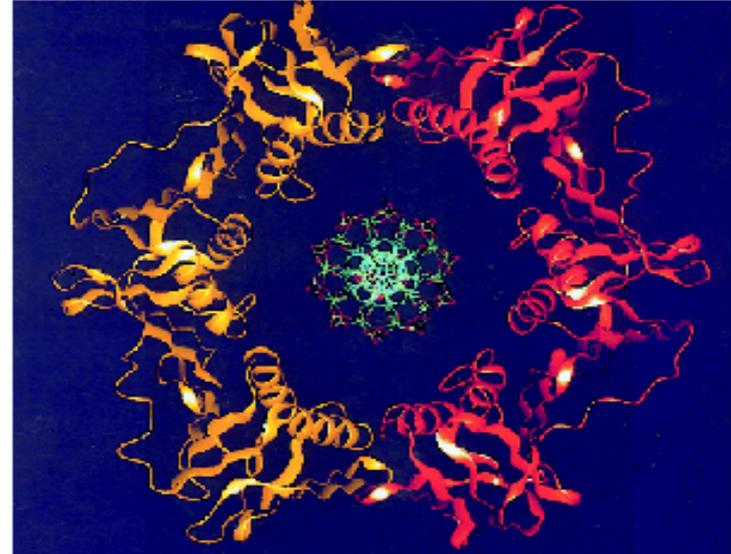
МСМ хеликаза



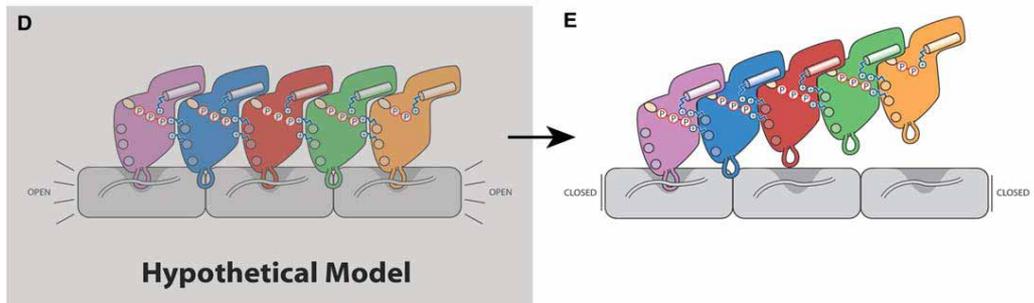
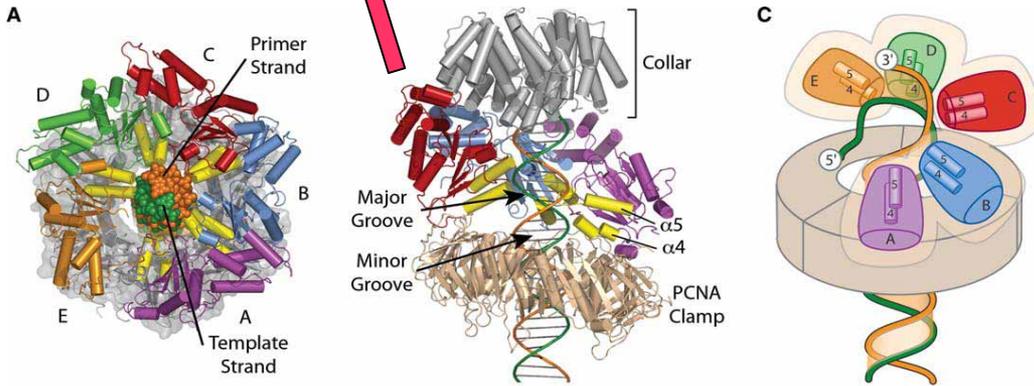
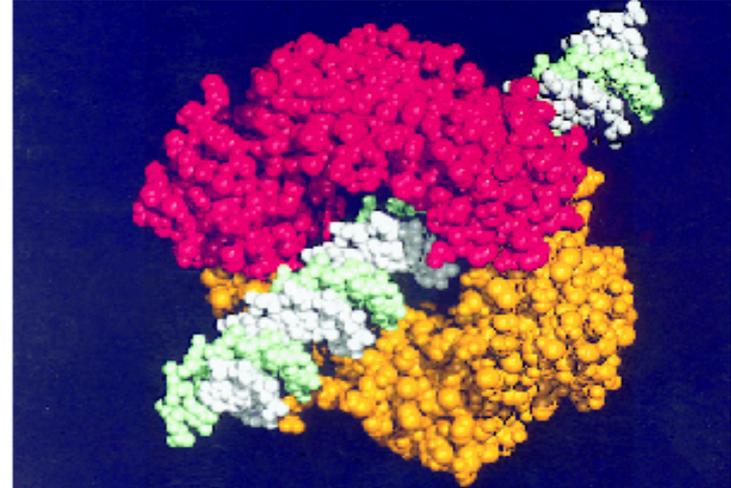
Компоненты реплисомы



Cross-section through DNA duplex surrounded by enzyme



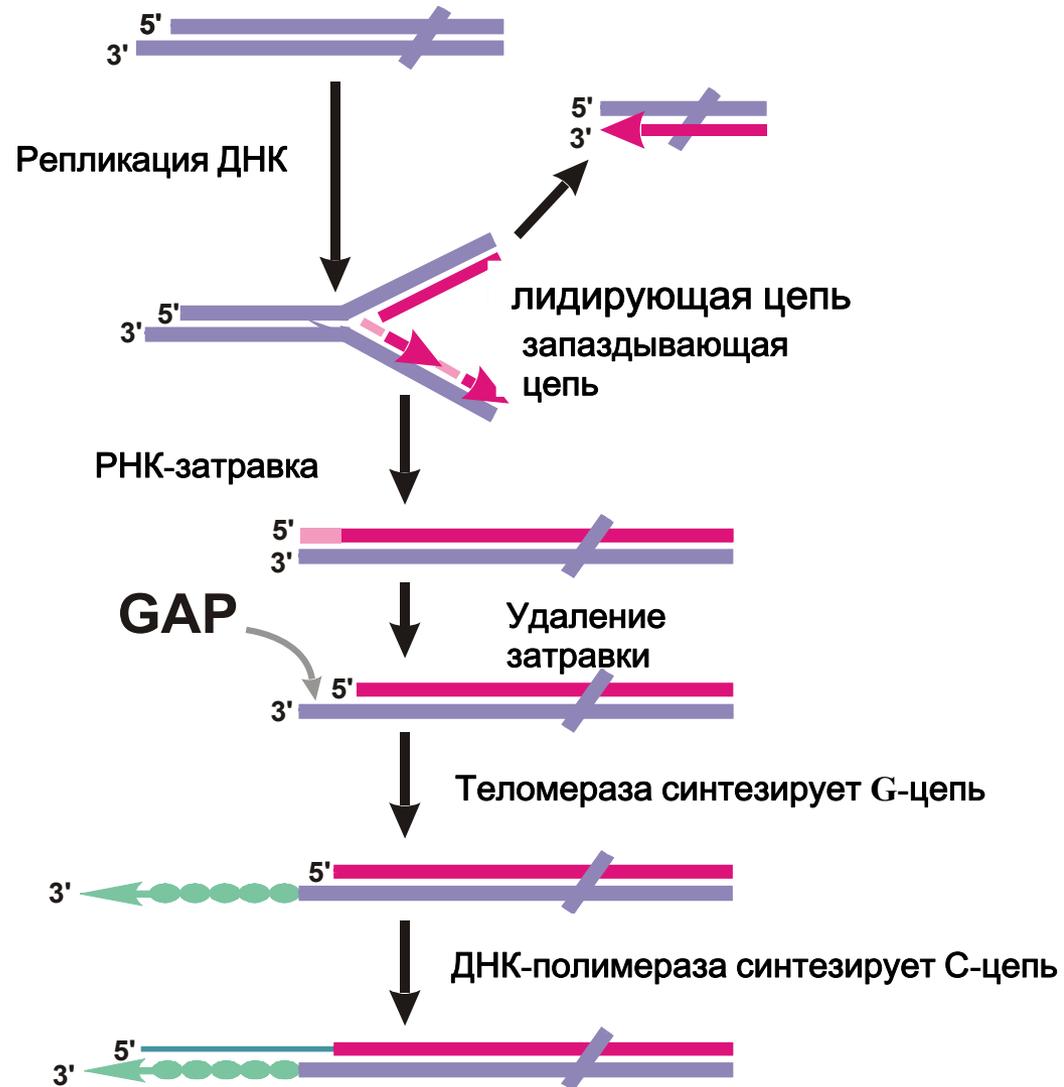
Side view of space-filling model (DNA strands in green and white)



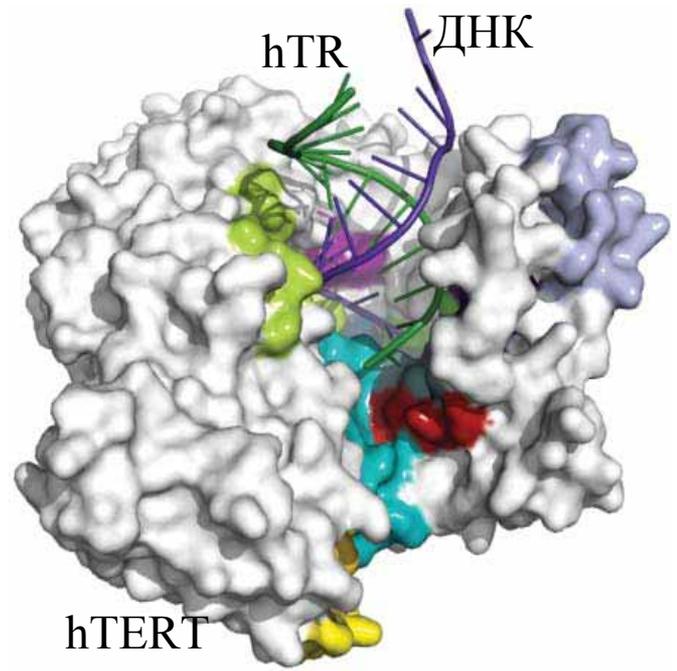
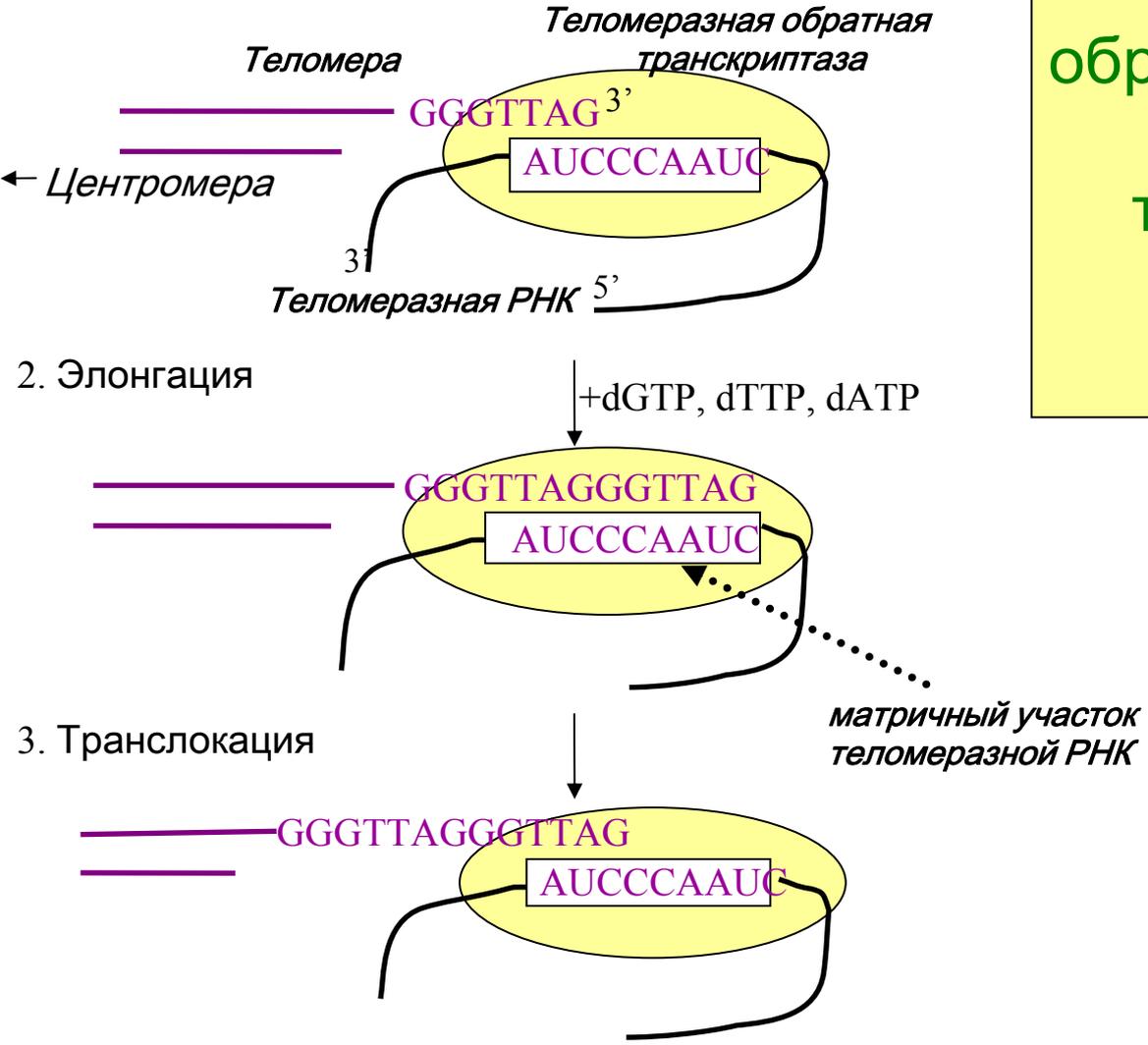
Hypothetical Model



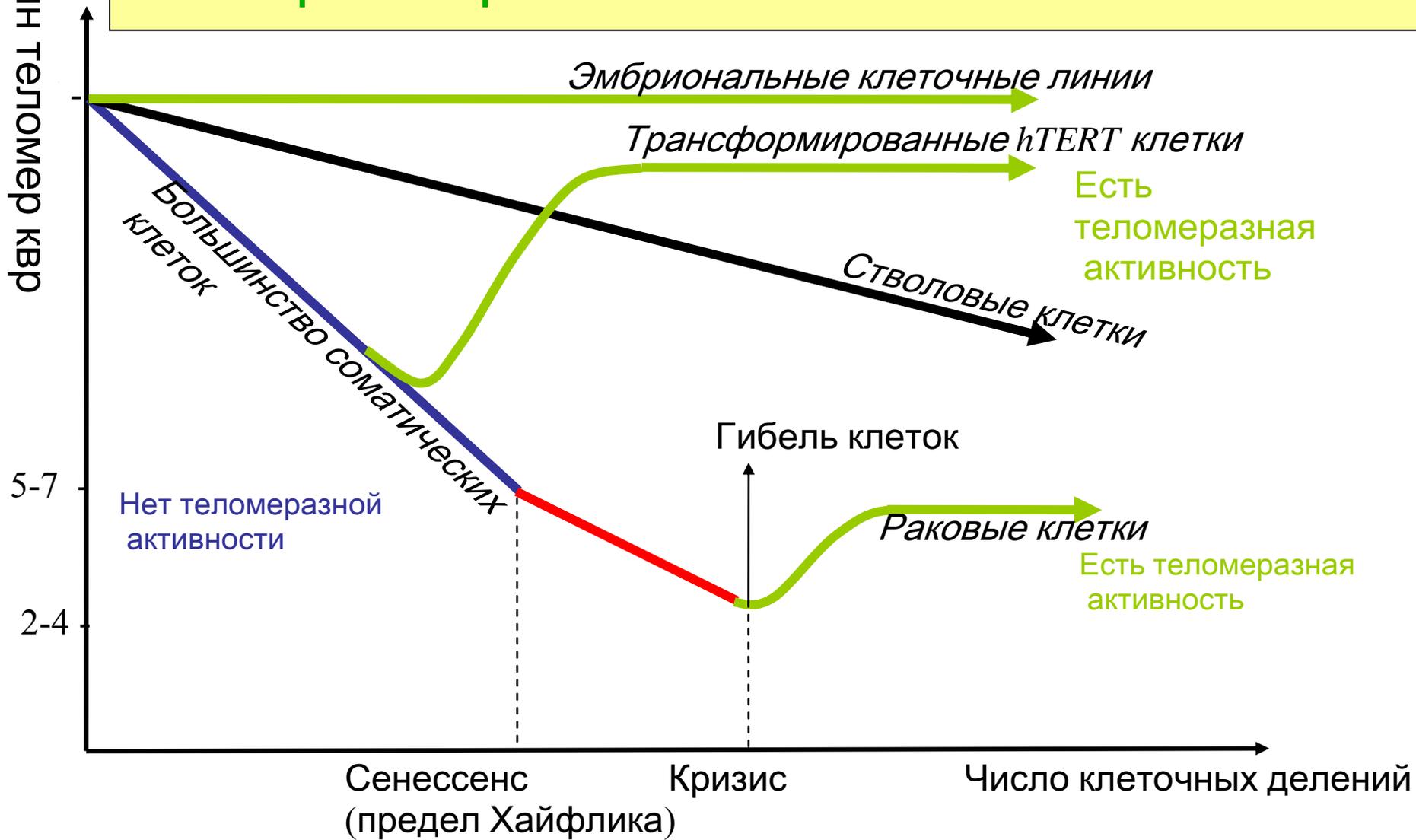
Проблема репликации концов линейной ДНК



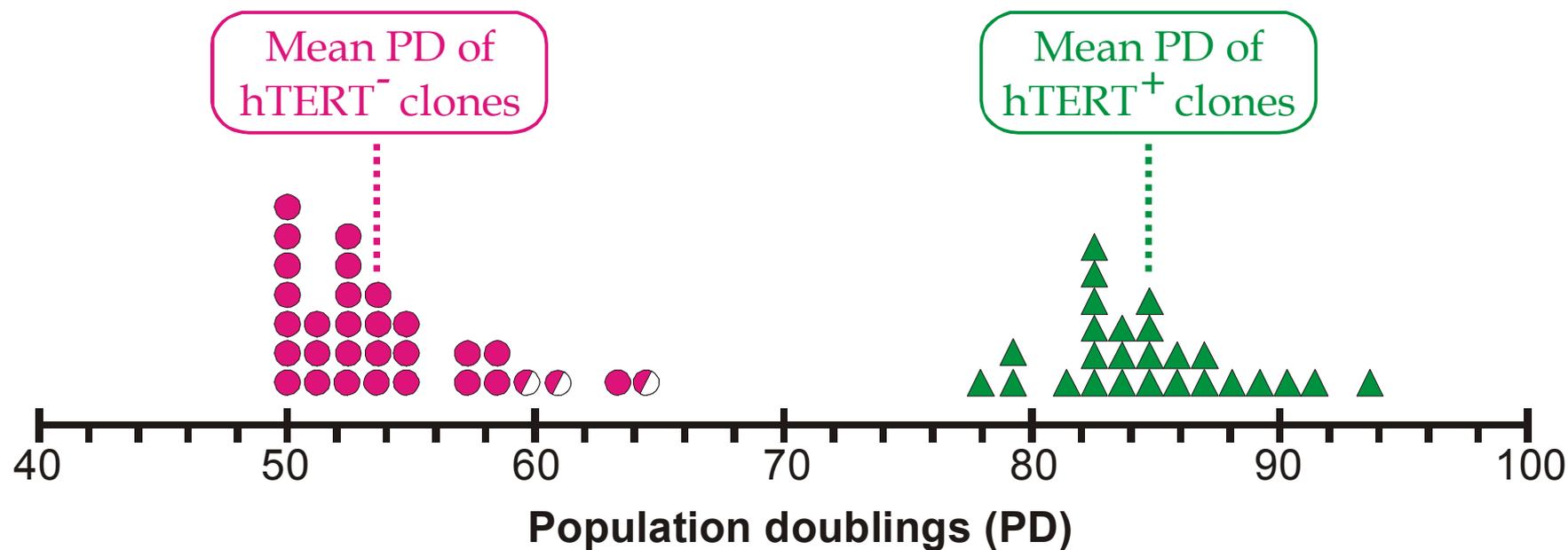
Теломераза:
 обратная транскриптаза,
 теломеразная РНК,
 содержит матрицу
 синтеза теломер



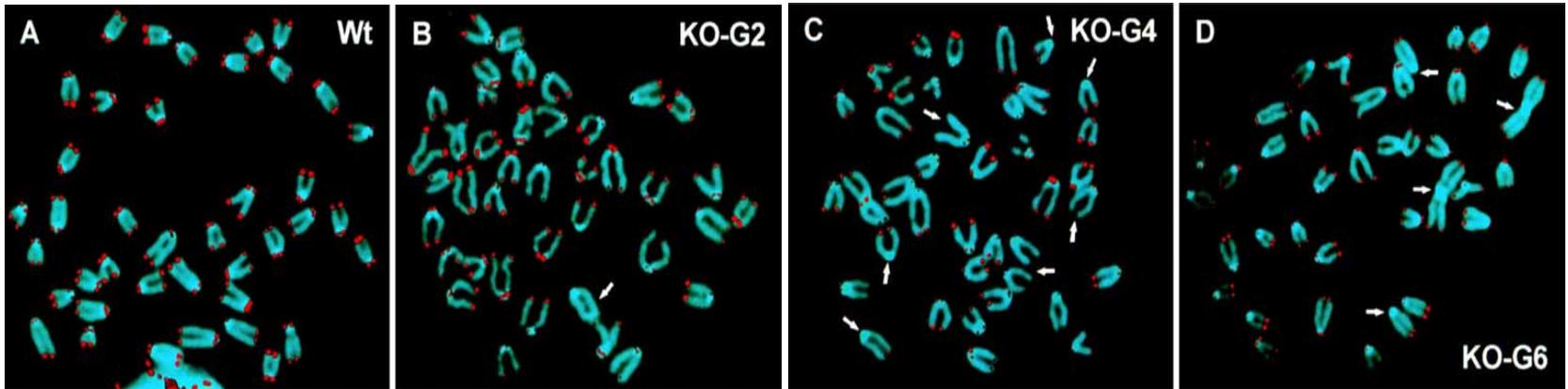
Теломераза активна в половых и стволовых клетках
Теломераза не работает в соматических клетках



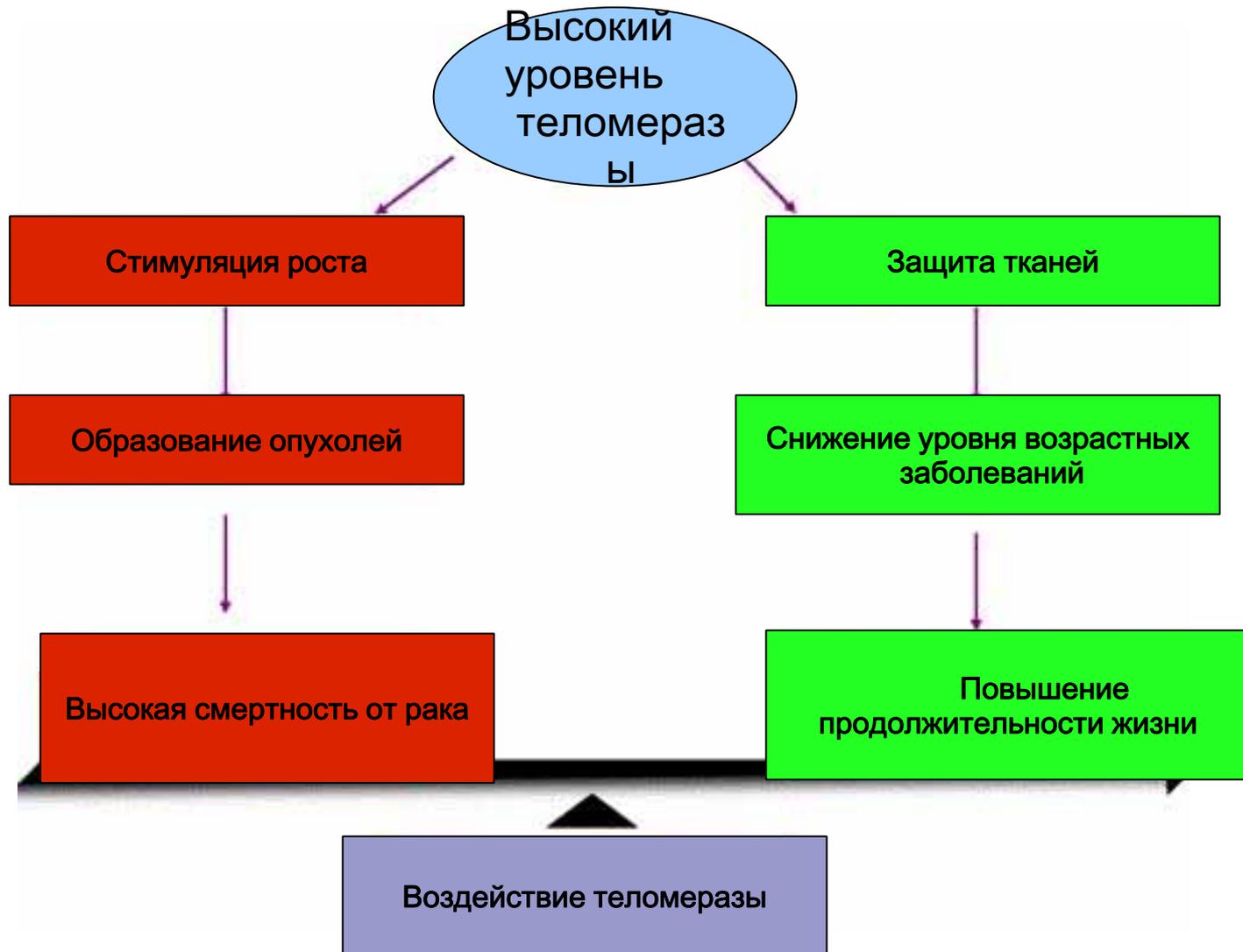
Активация теломеразы увеличивает
число делений клетки



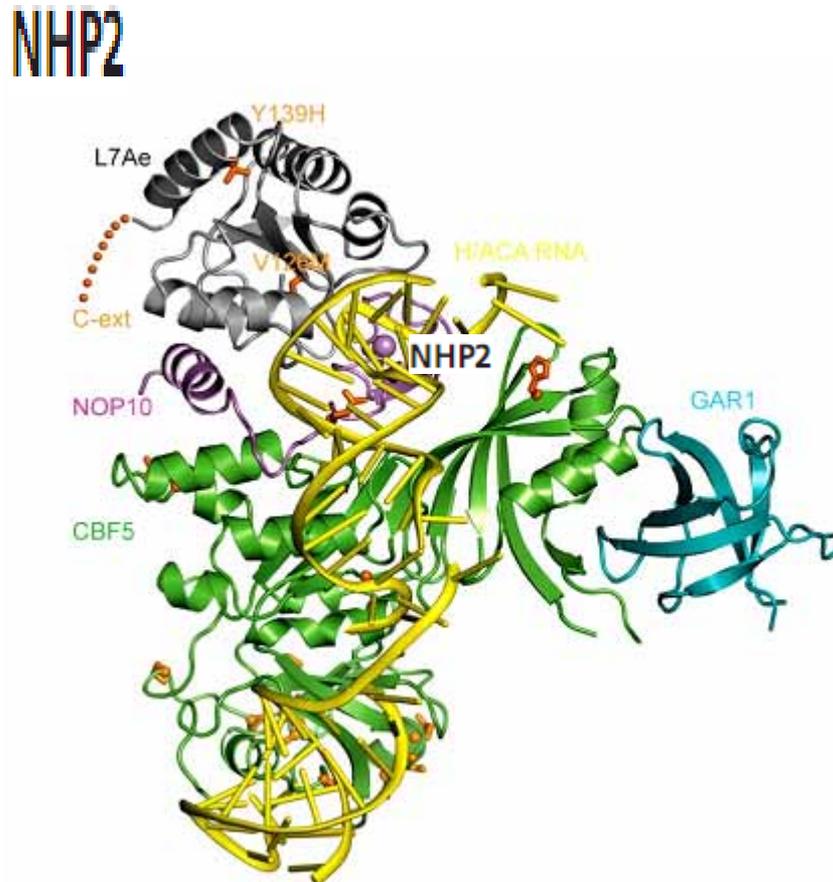
Мышь с выключенным геном одного из компонентов теломеразы становится стерильной



Активация теломеразы имеет противоположные последствия



Мутации в компонентах теломеразы человека
(hTERT, hTR)
и ассоциированных белках (Dyskerin, NPH2, NOP10)
вызывают ускоренное старение



Повреждения ДНК вызывают остановку клеточного цикла

Двцепочечный разрыв

Остановка репликативной вилки на повреждении

ATM

ATR

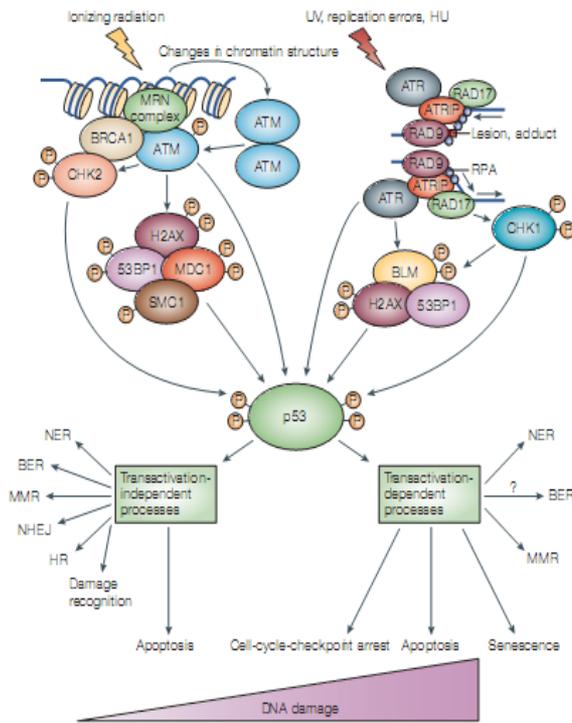
Активация p53 (фосфорилирование)

Репарация

Остановка цикла

АПОТОЗ

Продолжение цикла



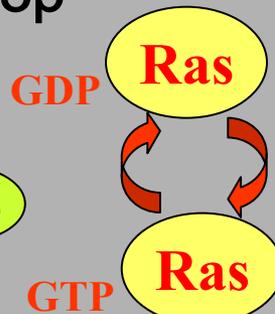
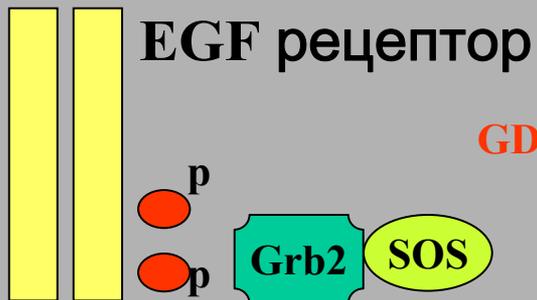
Р А К –

заболевание генетического аппарата клетки,

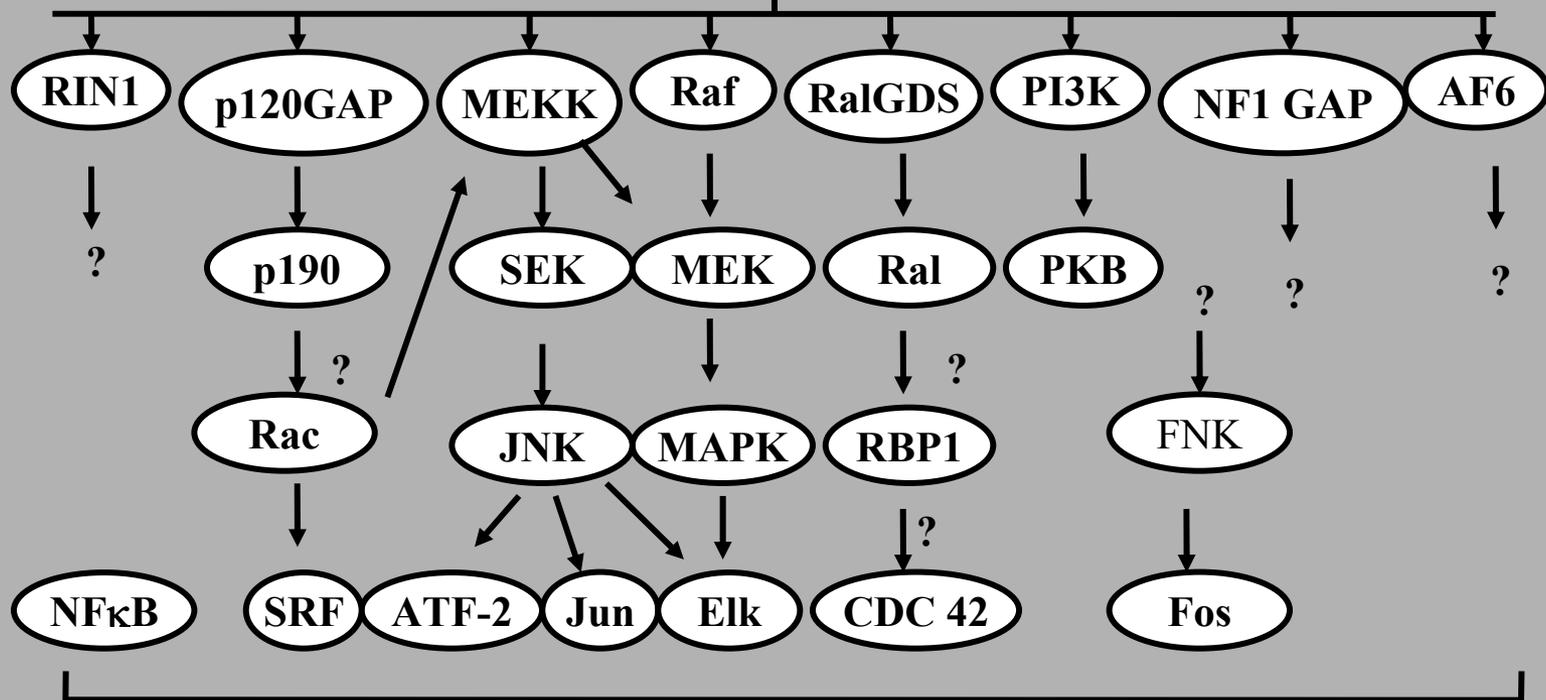
при котором :

- клетка не зависит от внешних сигналов**
- отключается программа апоптоза**
- включается система поддержания длины теломер**

В результате клетка приобретает способность к неограниченному независимому делению



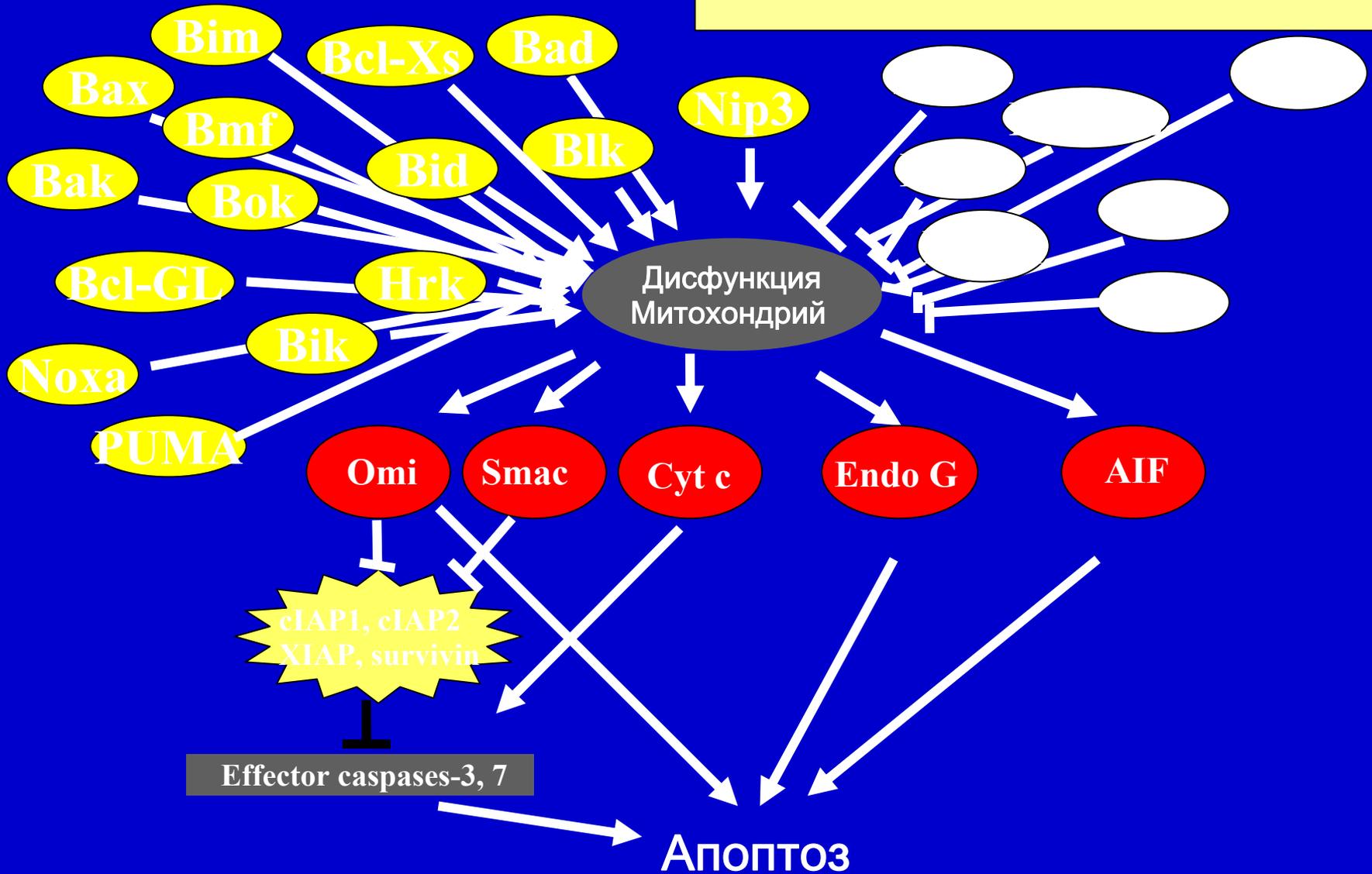
Раковая клетка не зависит
от внешних сигналов



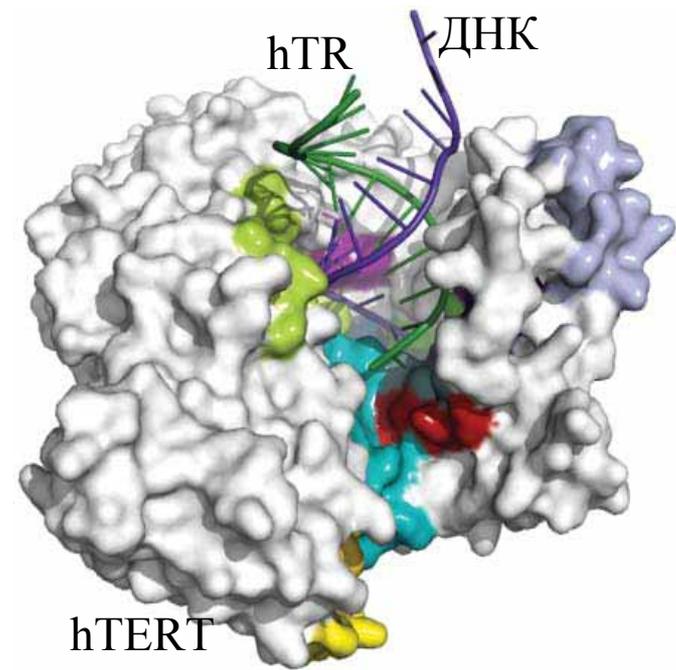
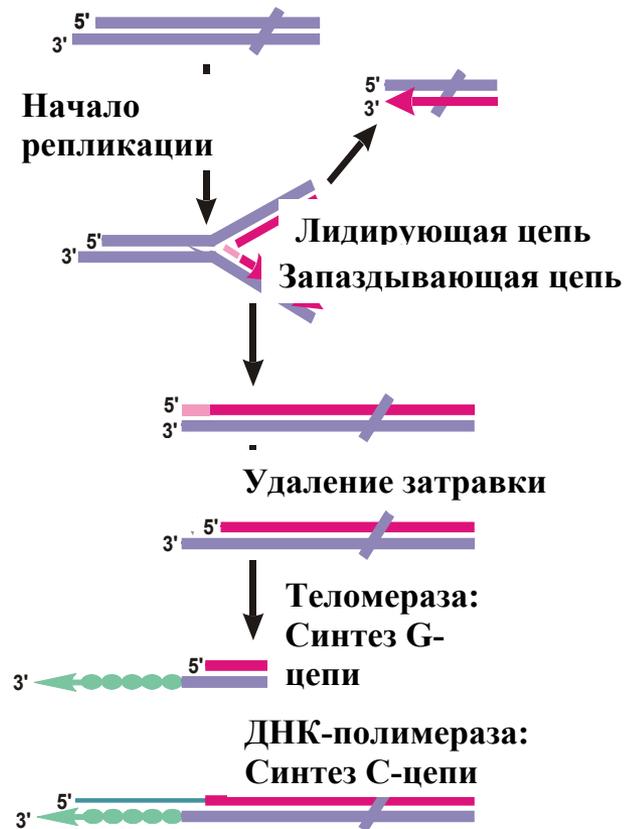
Экспрессия генов

Деление клетки

Раковая клетка подавляет апоптоз



Раковая клетка включает систему поддержания длины теломер, необходимую для неограниченного клеточного деления



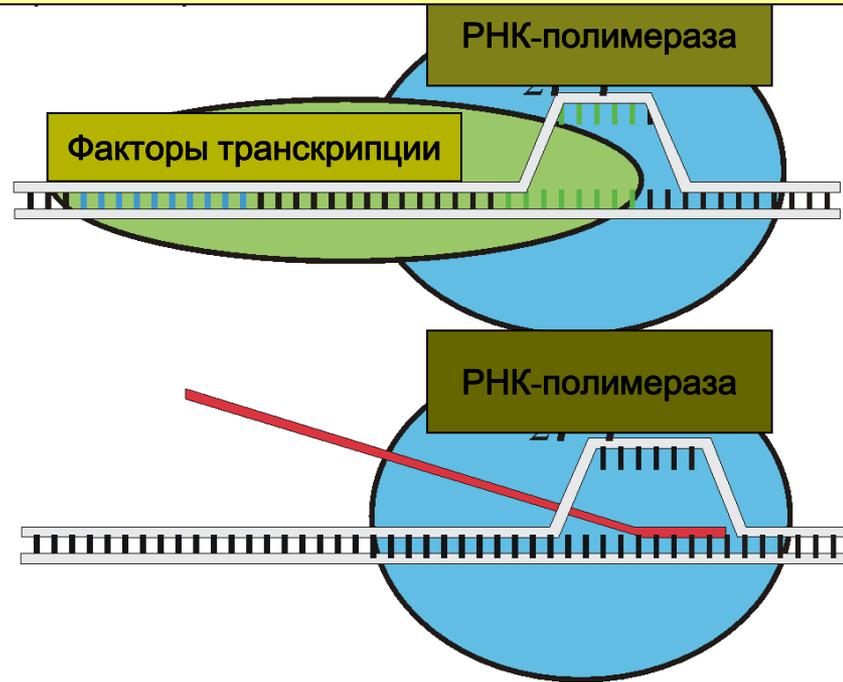
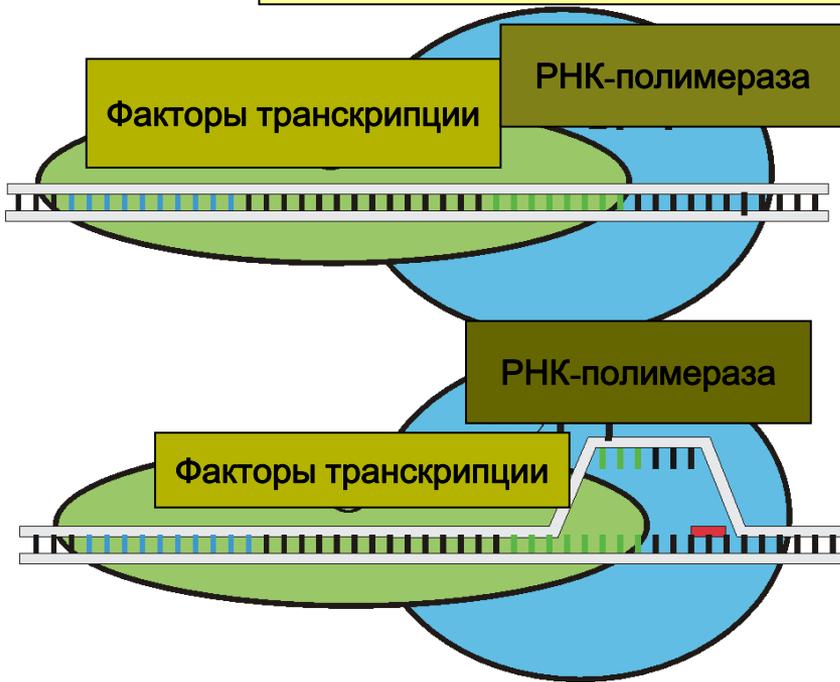
теломераза

Выяснение молекулярных механизмов онкологической трансформации дает возможность создания новой направленной терапии и диагностики

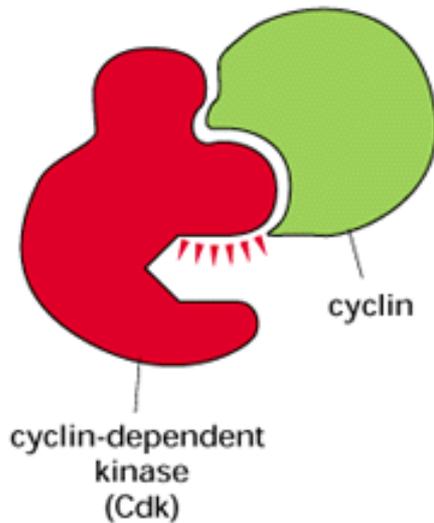
Нанотехнологии — инструмент диагностики и лечения

Спасибо за внимание!

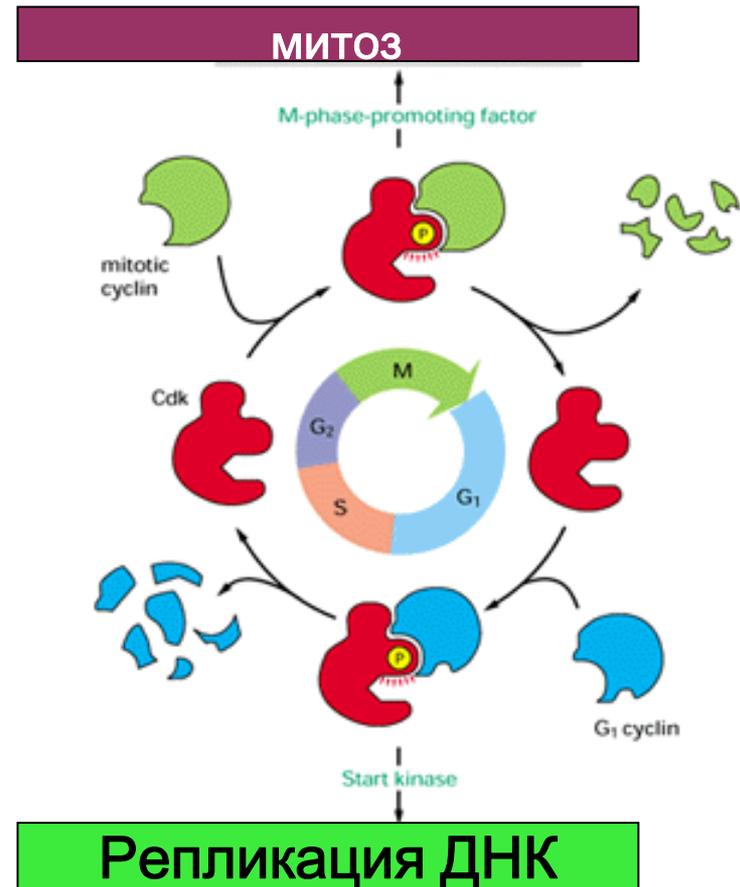
Инициация транскрипции. Образование открытого комплекса



Клеточный цикл контролируется циклин-зависимыми киназами

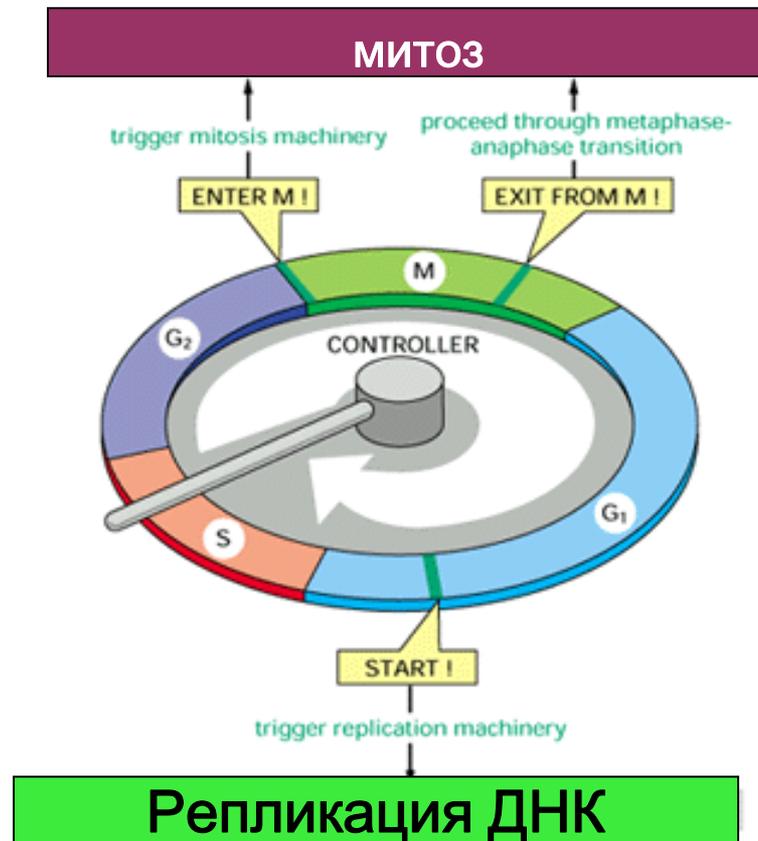


Киназа активна только в комплексе с циклином!!



Репликация ДНК

Критические точки в фазах клеточного цикла



Цикл работы теломеразы

