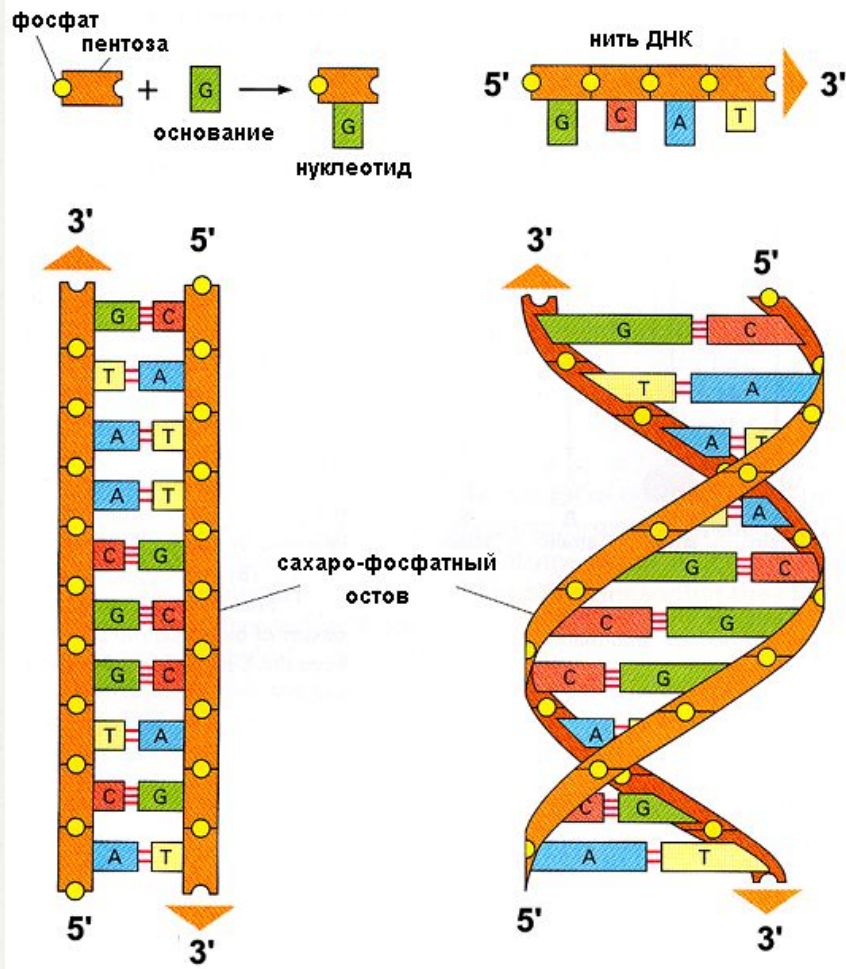


# Лекция 3

ДНК и РНК

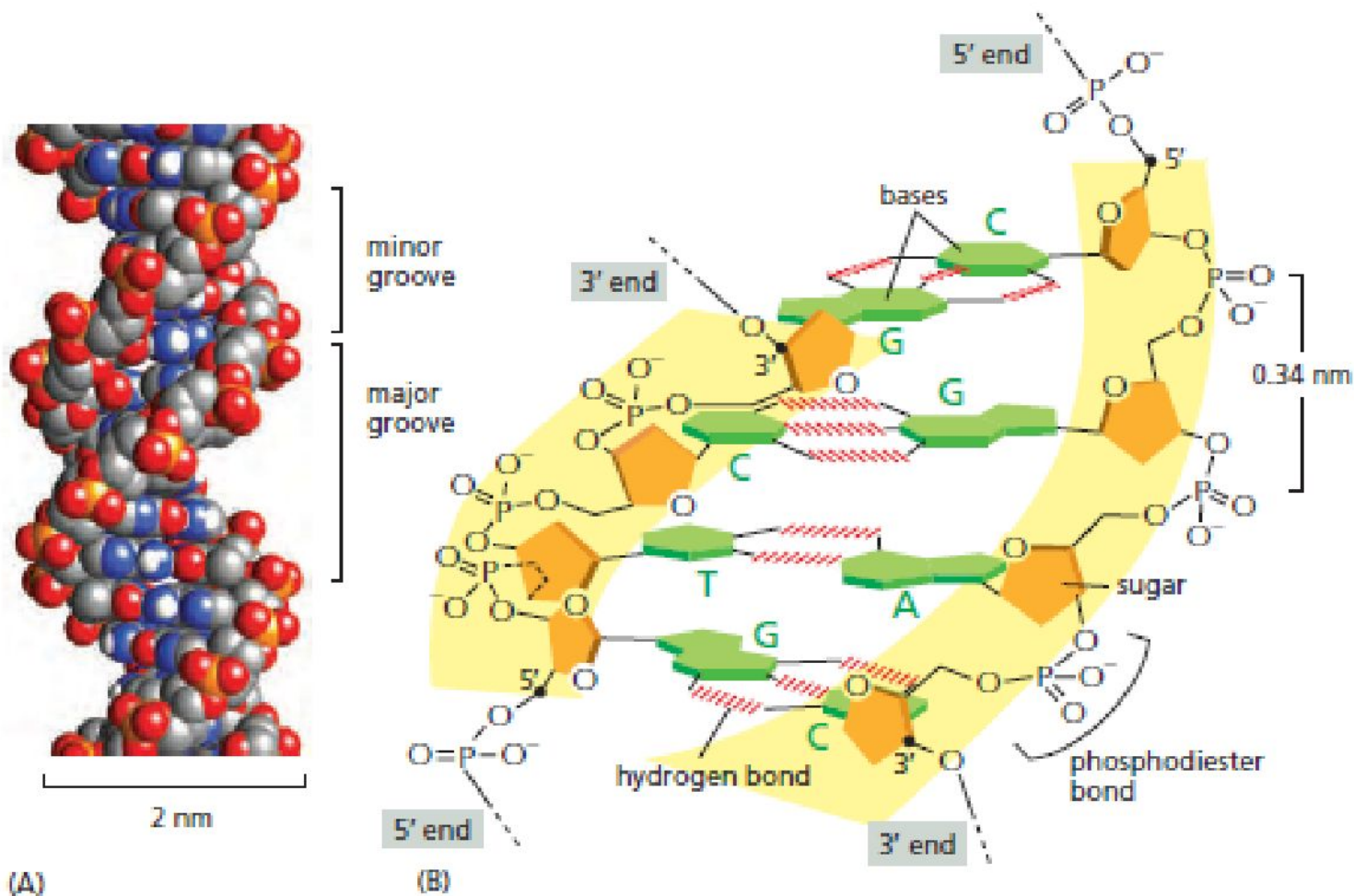
Устройство генома

# Схема молекулы ДНК



- Расстояние между нуклеотидами – 0,34 нм. Диаметр молекулы – 2 нм.
- Число нуклеотидов – от нескольких десятков тысяч (простейшие бактерии) до сотен миллионов.
- Длина молекулы – от 10 мкм до 10 см
- В водном растворе молекула ДНК заряжена отрицательно (при нейтральном pH) и стремится распрямиться (палочка).

# Молекула ДНК полярна



# Кариотип и хромосома



(b)



(a)

Структура хромосомы:  
плечи, первичная  
перетяжка, теломеры.

ДНК + белки=хроматин  
 Хроматин упакован в  
 хромосомы  
 Каждая хромосома – 1  
 молекула ДНК  
 В – S –фазе хромосомы  
 удваиваются  
 Половинки удвоенной  
 хромосомы называются  
**хроматидами**

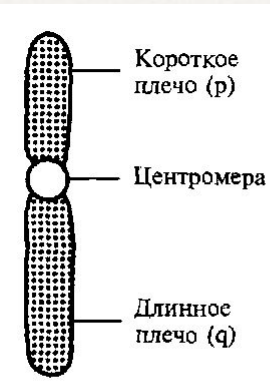


Рис. III.1. Схематическое изображение хромосомы

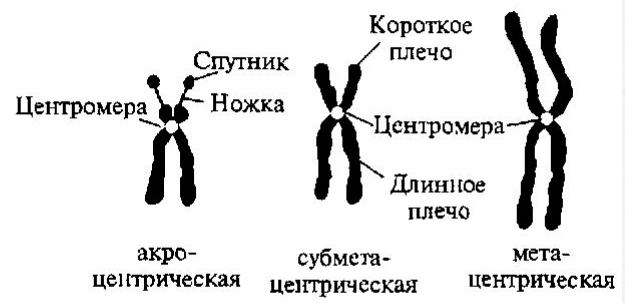
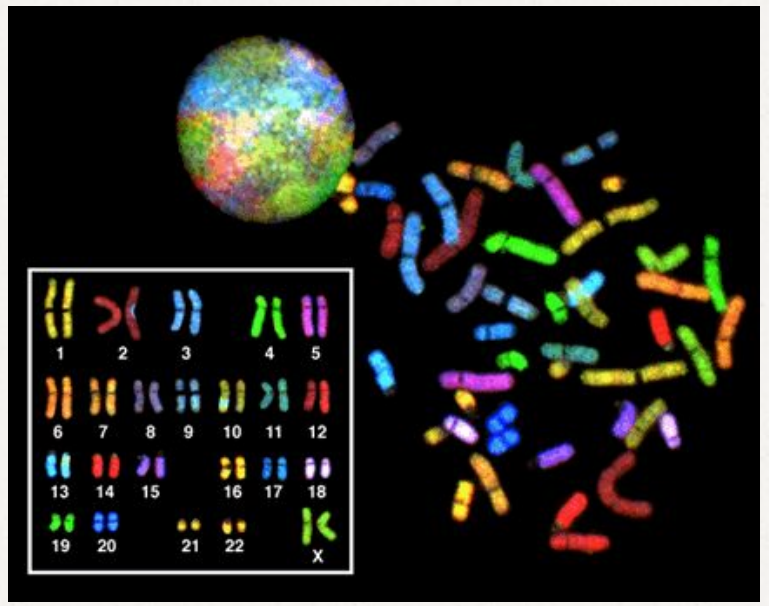
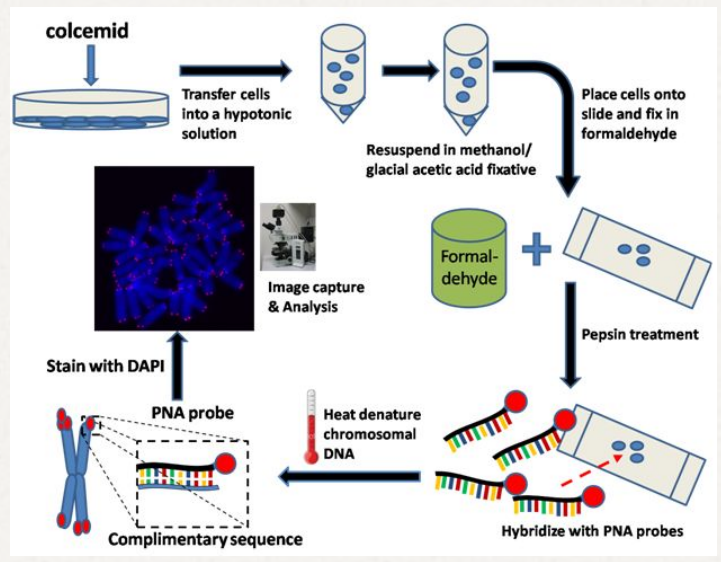
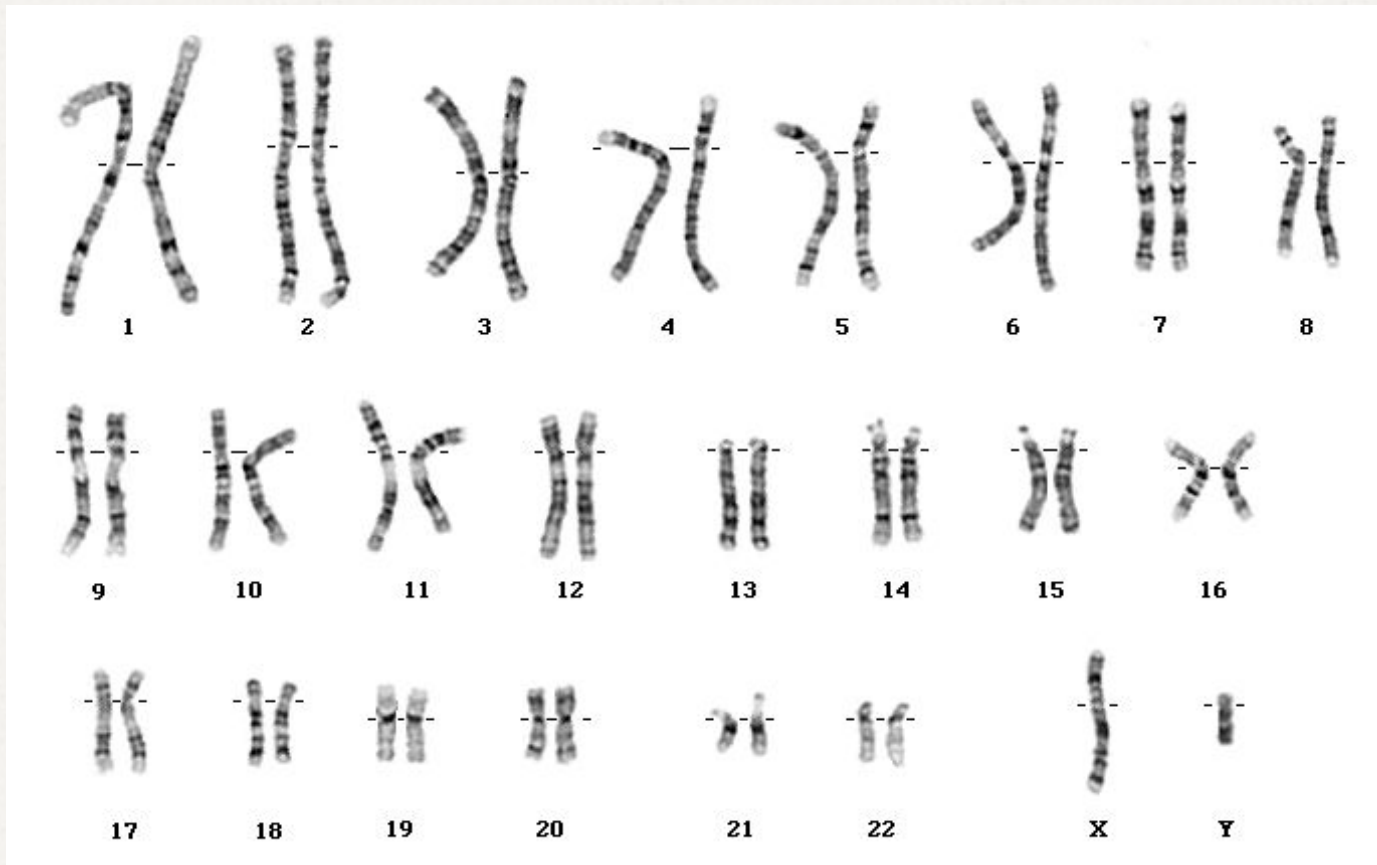


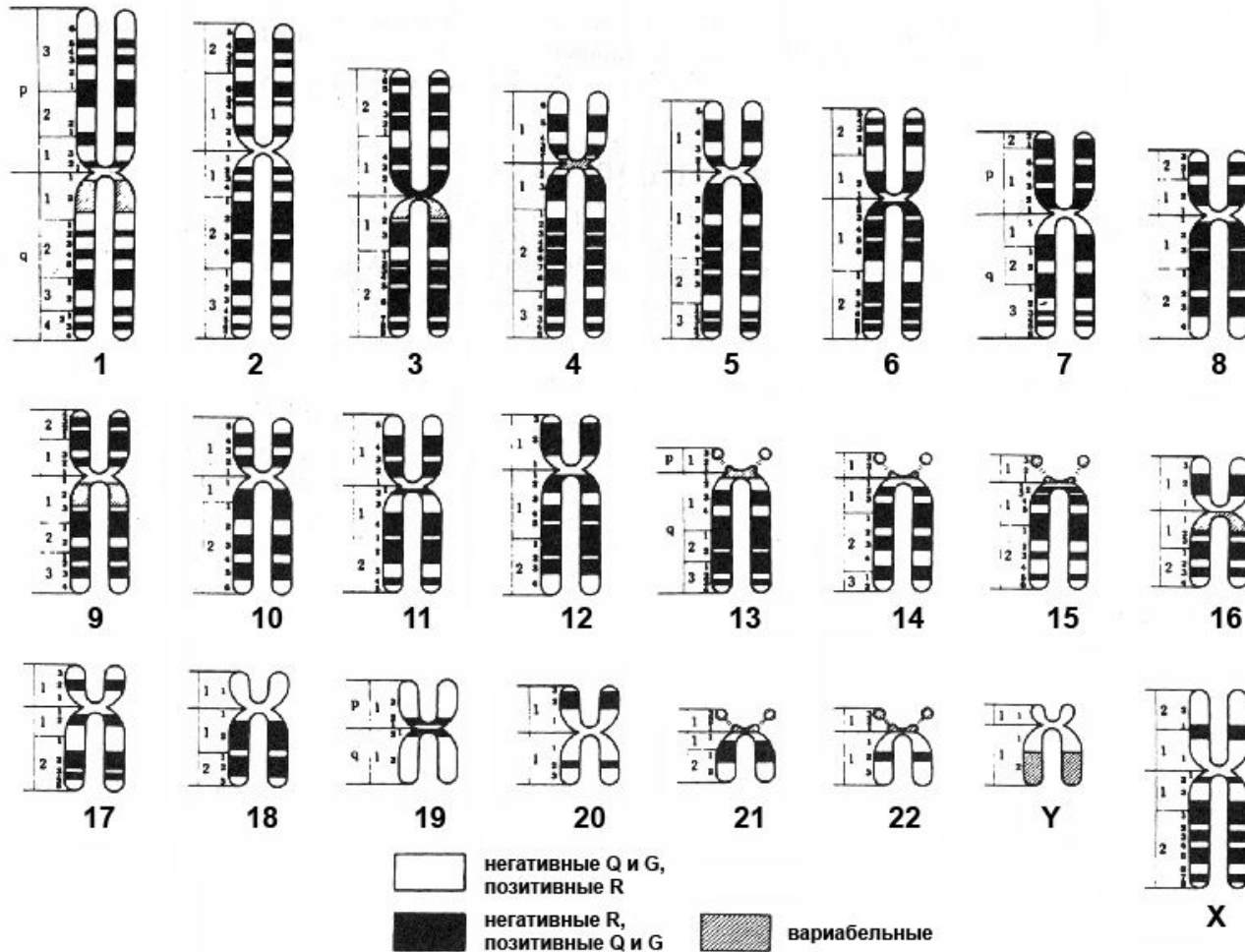
Рис. III.2. Зависимость формы хромосом от положения центромеры



# Хромосомы человека, дифференциальная окраска



# Кариотип человека - таблица



# Генетическая неоднородность хромосом

Большая часть ДНК у эукариот представлена некодирующими последовательностями (свыше 90%). Расположение генов, кодирующих различные РНК, в составе хромосом неравномерно – есть участки богатые генами и обедненные ими.

Дифференциальная окраска хромосом позволяет выделить участки, обогащенные генами (G-бенды) или обедненные ими (R-бенды).

Дифференциальная окраска позволяет отслеживать крупные хромосомные перестройки (изменение рисунка бендов в хромосоме – делеции, транслокации, инверсии и т.п.).



# Функциональная неоднородность хромосом

Неоднородность хромосом доказывается различной частотой мутаций (разрывов) и неслучайными рекомбинациями (перестановками).

Часто встречающиеся мутации и рекомбинации у эукариот захватывают районы длиной в несколько килобаз, то есть не имеют точной привязки к последовательности нуклеотидов.

Причины, лежащие в основе неоднородности хромосом: (1) структура самой ДНК – АТ-богатые участки ДНК длиной 300-1000 пар оснований, которые, по-видимому, закреплены вблизи оси хромосомы и боковые петли между этими участками; (2) закономерные контакты соседних хромосомных территорий в интерфазе.

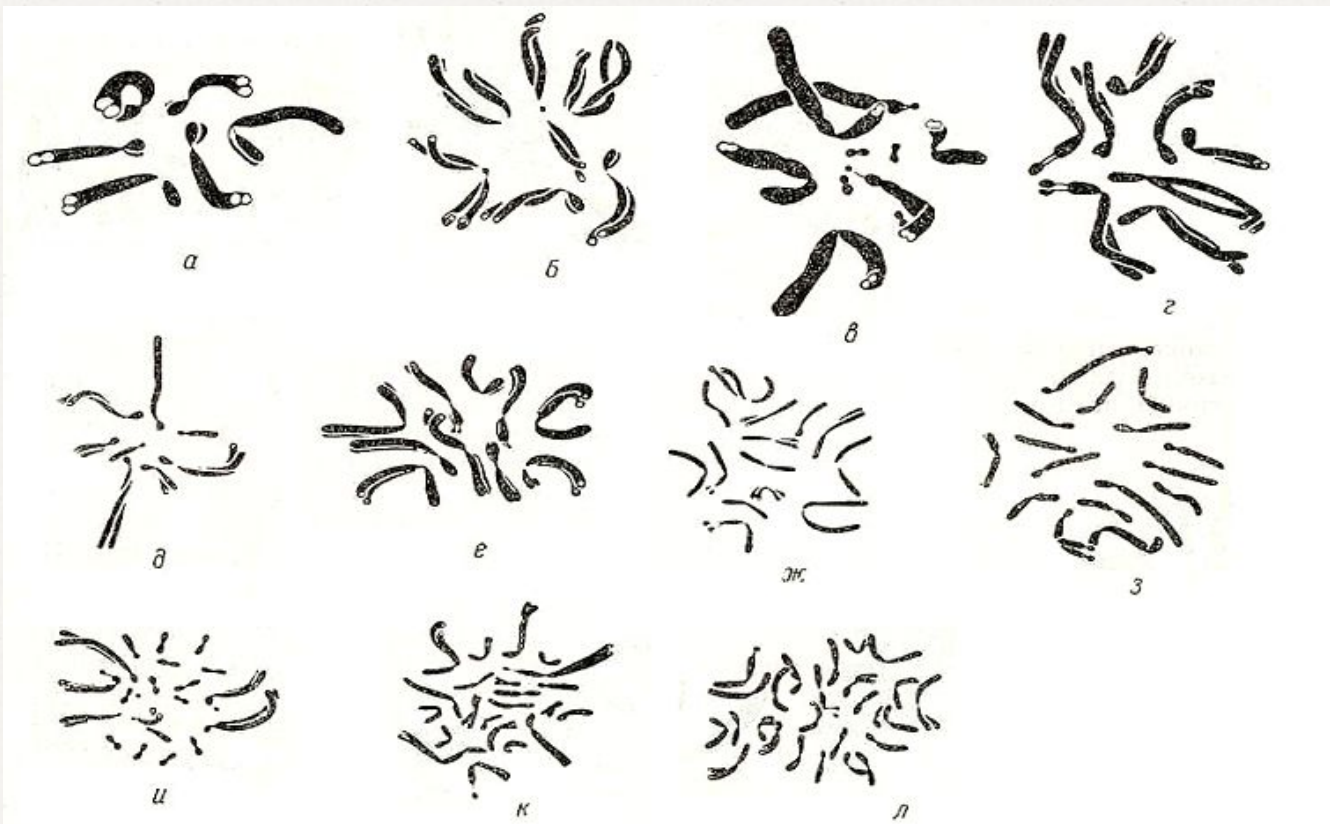
# Функциональная неоднородность хромосом

Неоднородность хромосом доказывается различной частотой мутаций (разрывов) и неслучайными рекомбинациями (перестановками).

Часто встречающиеся мутации и рекомбинации у эукариот захватывают районы длиной в несколько килобаз, то есть не имеют точной привязки к последовательности нуклеотидов.

Причины, лежащие в основе неоднородности хромосом: (1) структура самой ДНК – АТ-богатые участки ДНК длиной 300-1000 пар оснований, которые, по-видимому, закреплены вблизи оси хромосомы и боковые петли между этими участками; (2) закономерные контакты соседних хромосомных территорий в интерфазе.

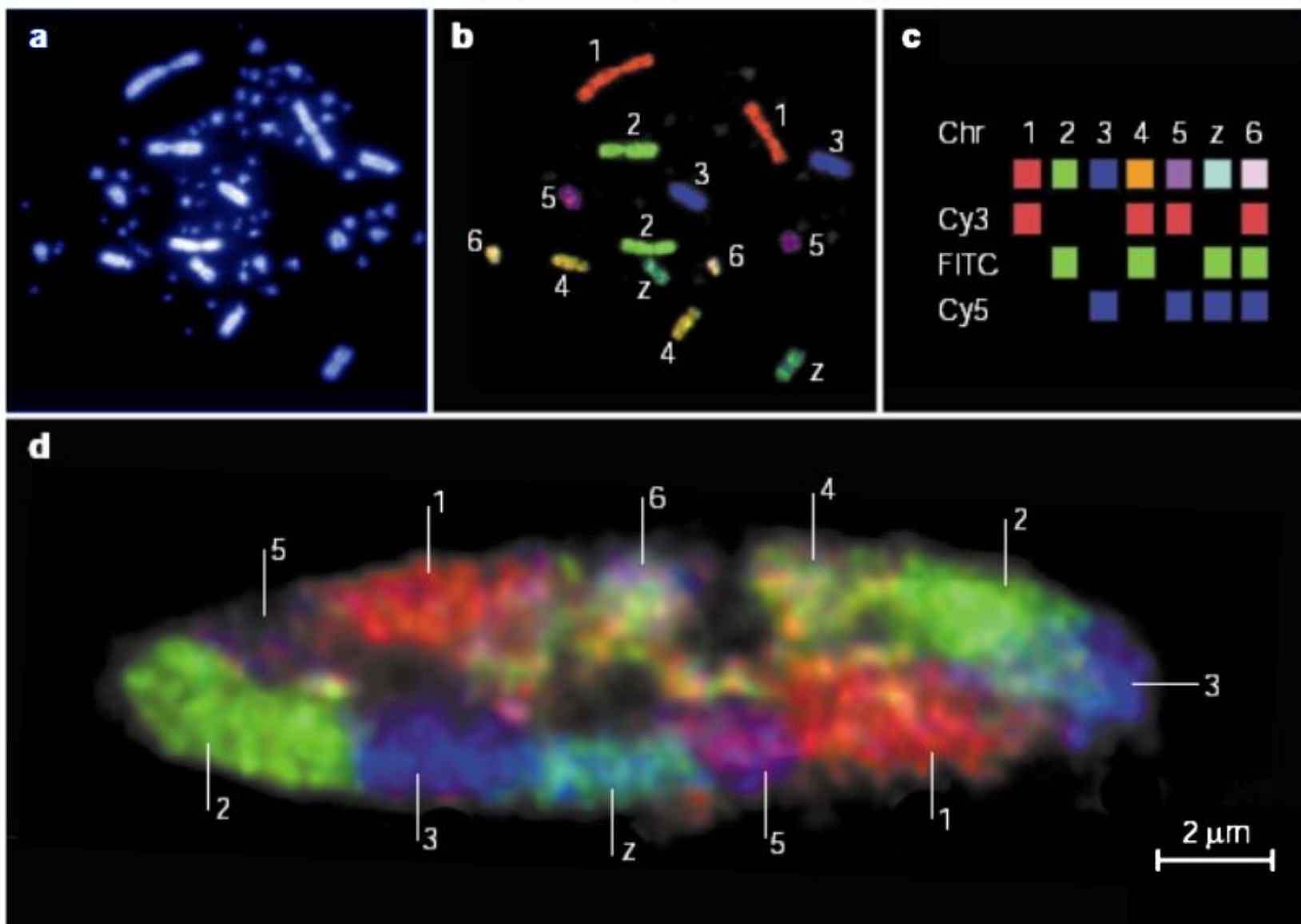
# Каждый кариотип уникален



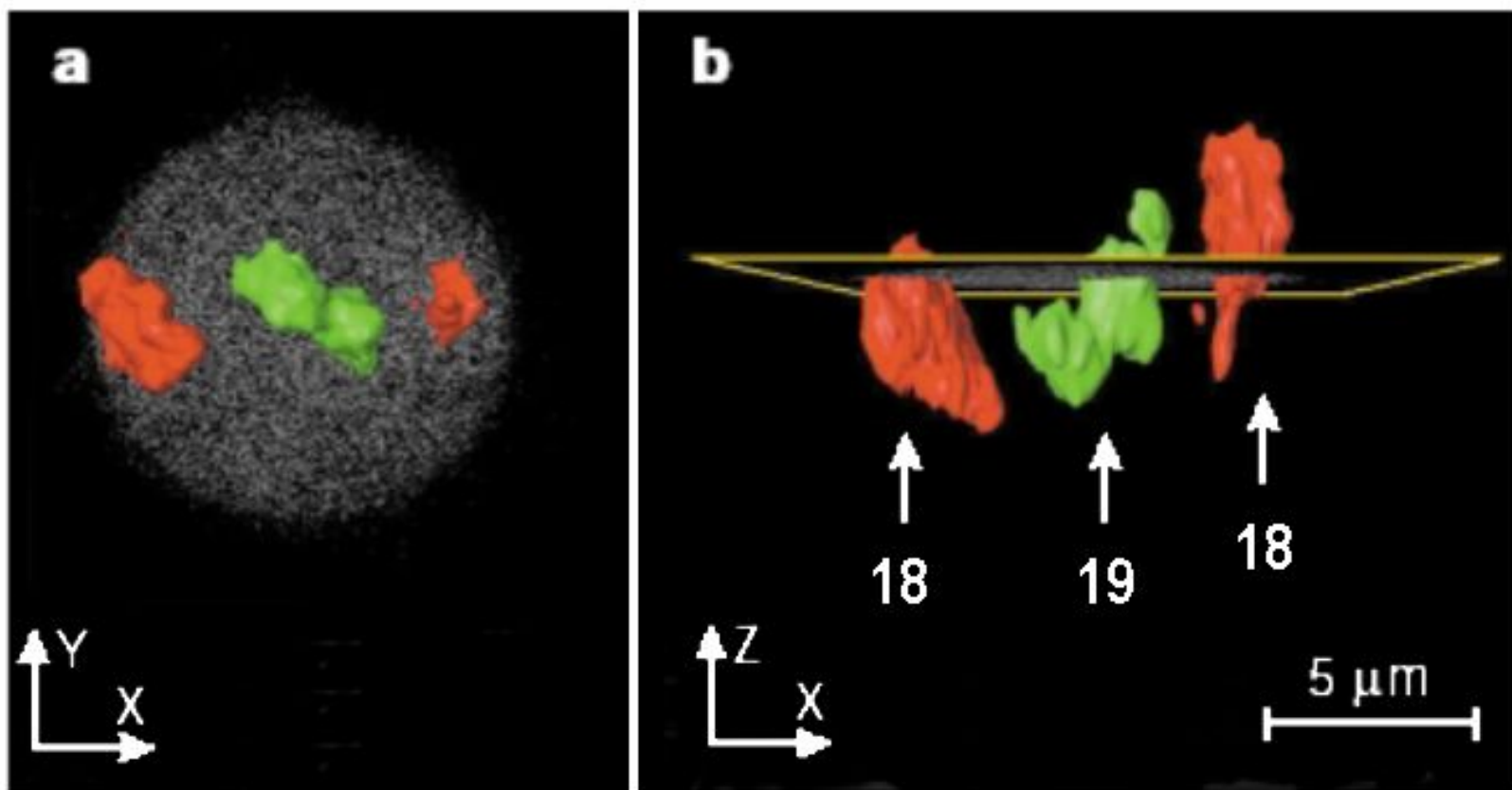
Митотические хромосомы из клеток корешков видов рода *Crocus*. 3700x. (по Mather, 1932).

*a* - *C. aucheri*, 2n=6; *б* - *C. graveolens*, 2n=6; *в* - *C. hyemalis*, 2n=6+4; *г* - *C. aureus*, 2n=8;  
*д* - *C. zonatus*, 2n=8; *е* - *C. stellaris*, 2n=10; *ж* - *C. huefelianus*, 2n=14; *з* - *C. hadriaticus*, 2n=16;  
*и* - *C. karduchorum*, 2n=20; *к* - *C. corsicus*, 2n=22; *л* - *C. imperati*, 2n=26

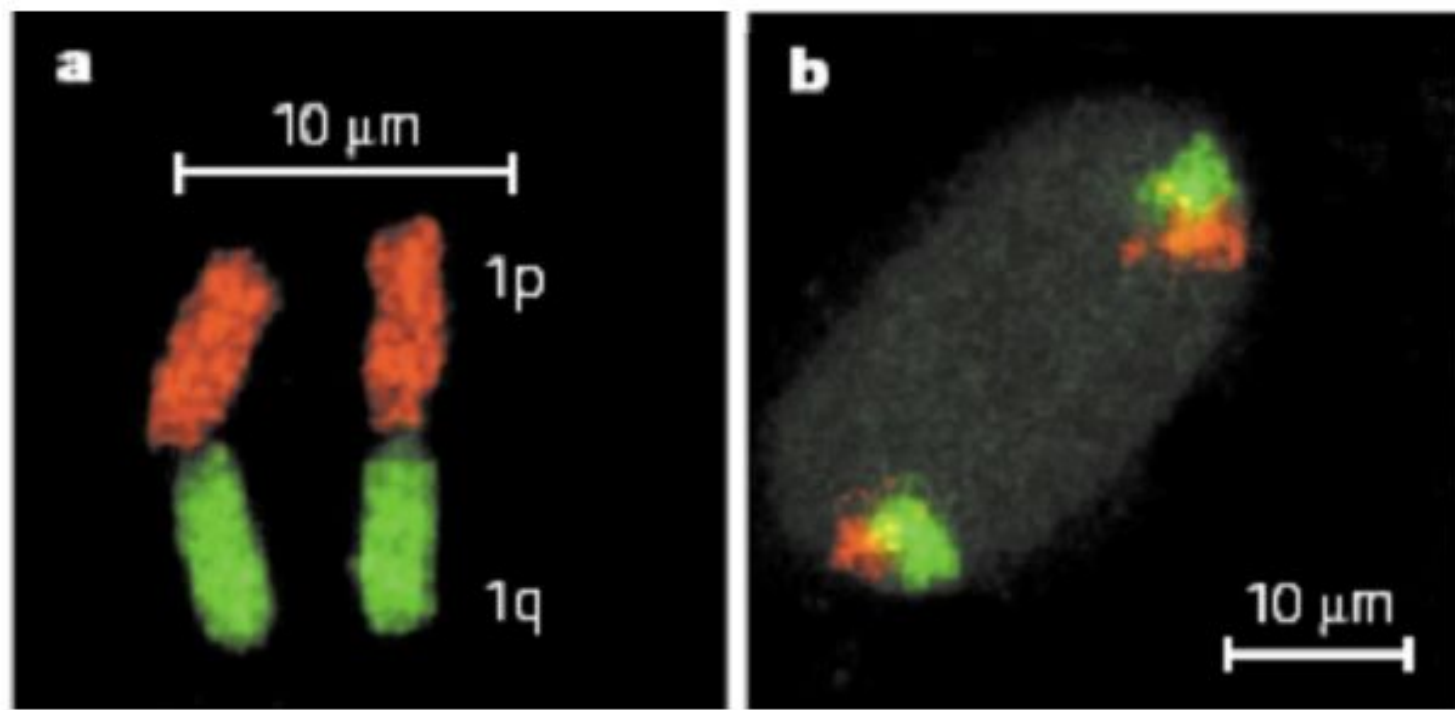
# Хромосомные территории в ядре



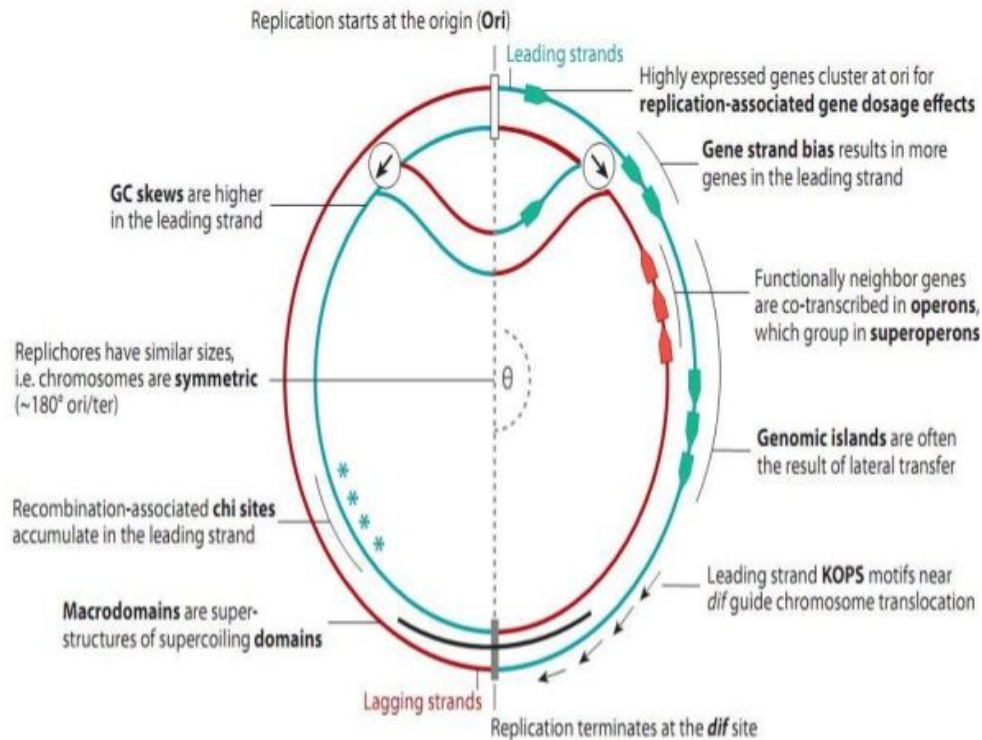
# 18 и 19 хромосомы в ядре лимфоцита человека



**Плечи хромосом также занимают в интерфазном ядре определенные территории**



# Строение генома прокариот



- Кольцевая молекула ДНК (одна)
- Кодирующие РНК участки – гены составляют основную часть генома (~70%)
- Гены собраны в группы (цистроны), которые имеют общий регулятор (промотор)
- Регуляторные последовательности короткие

# Строение генома эукариот

Несколько линейных молекул ДНК (хромосом). Кодирующие РНК участки составляют малую часть генома (~1,5% у человека).

Каждый ген содержит собственный промотор и некодирующие вставки – интроны. Гены могут перекрываться и считываться с одного участка ДНК в противоположные стороны.

Большинство генов уникальны – присутствуют в одной копии на геном. Множественные тандемные повторы (100-1000) – гены рибосом, гистонов и тРНК.

Сателлитная ДНК (до 30% генома) состоит из повторов длиной от одного до нескольких тысяч нуклеотидов. Набор повторов консервативен (в пределах вида), а длина вставок варьирует, что позволяет установить уникальность ДНК особи.

Разбросанные повторы (длина 6-10 пар оснований) составляют до 15% генома, они повторены  $10^5$ - $10^6$  раз.

Мобильные элементы и псевдогены – большие некодирующие участки с уникальными последовательностями.



# Размеры генома

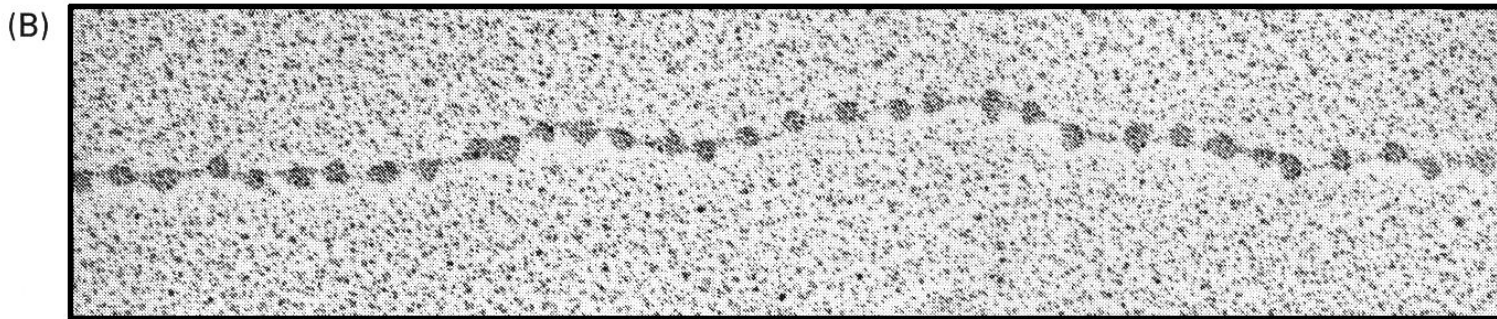
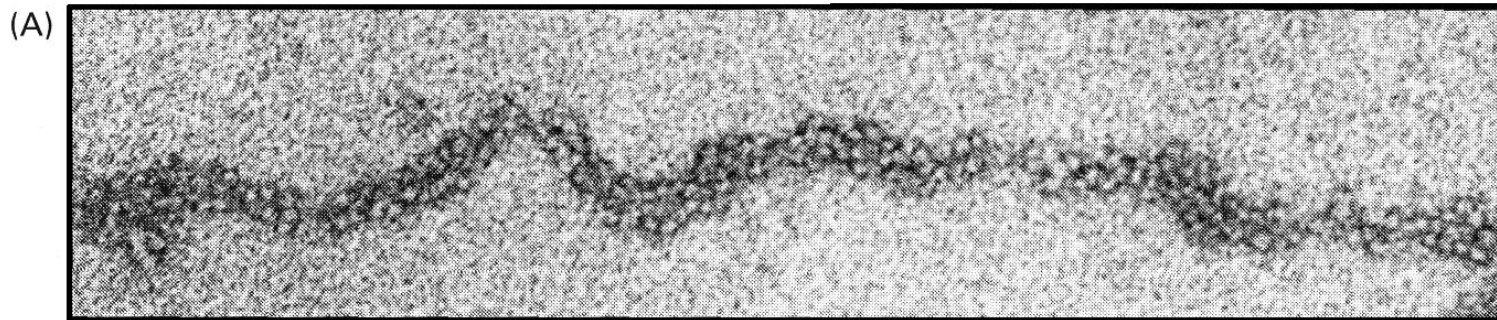
Прокариоты – от 500 до 7500 генов; длина – 0,5-10 млн. нуклеотидов.

Эукариоты – от 6300 до 75000 генов; разброс по длине значительно больше.

Дрожжи – 12 млн. нуклеотидов; человек – 3200 млн. нуклеотидов; рыбы – от 385 млн. до 130 млрд. нуклеотидов; амeba (*Polychaos dubium*) – 670 млрд. нуклеотидов.

Размеры геномов эукариот (суммарная длина молекул ДНК) могут в десятки раз различаться даже у родственных видов.

# Структура выделенной хроматиновой фибриллы



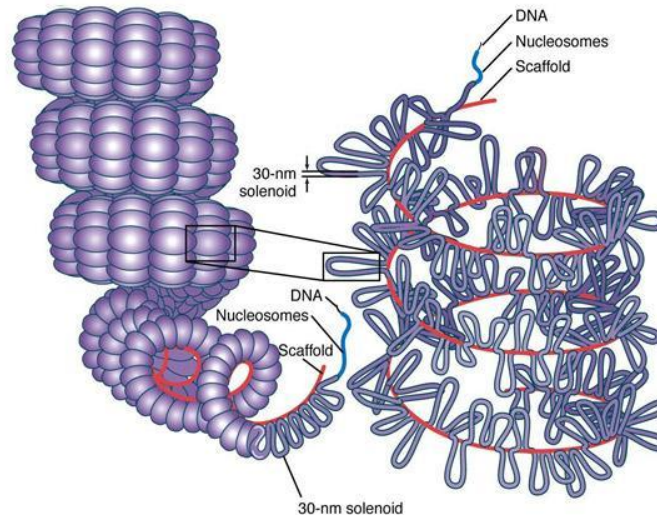
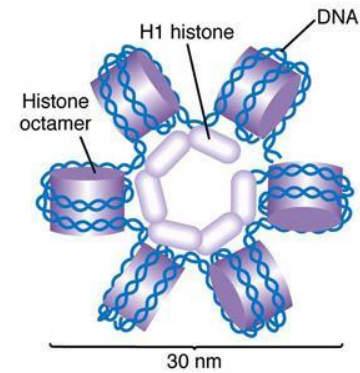
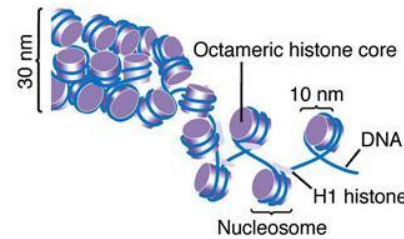
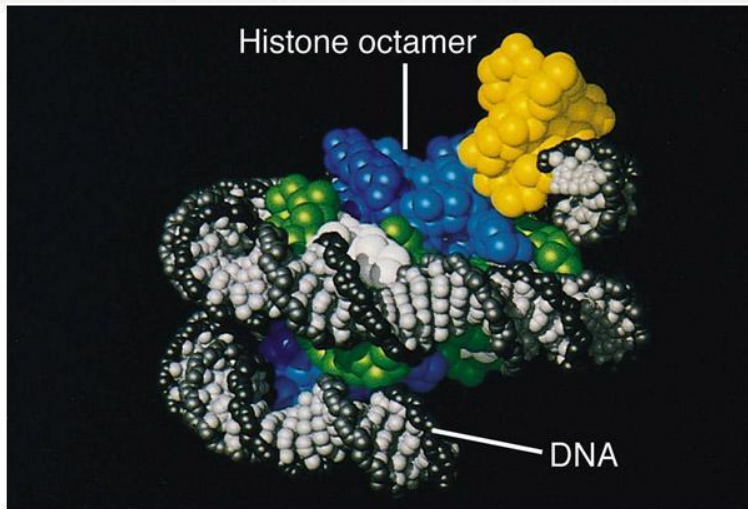
100 nm

A – в низкой ионной силе, B – в высокой ионной силе (0,5 M NaCl)

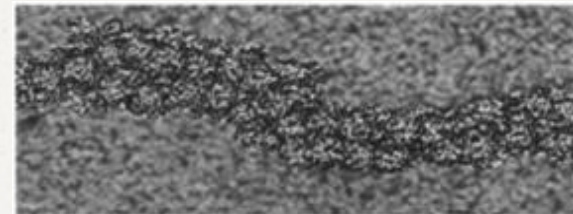
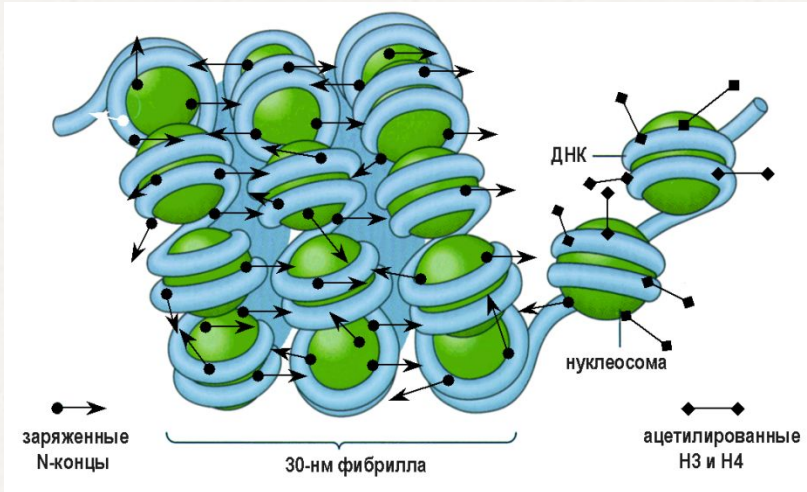
**ДНК и гистоны образуют нуклеосомы (первый уровень укладки хроматина)**



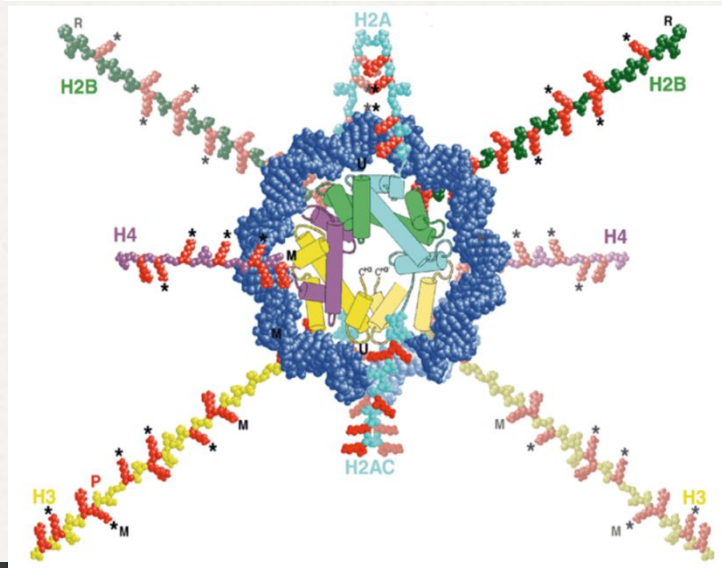
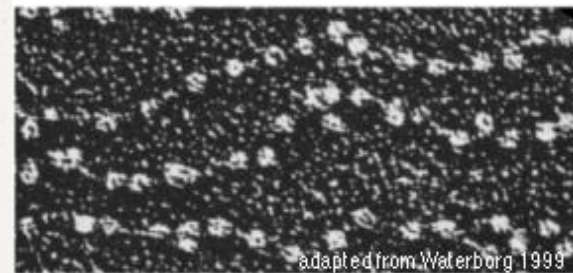
# Модель хроматиновой 30-нм фибриллы – основную роль играет гистон H1



# Модификации хвостов гистонов изменяют компактность хроматина



? ↑ ↓ acetylation



# Хроматин

Эухроматин  
(транскрипционно  
активный)

Гетерохроматин  
(транскрипционно  
неактивный)

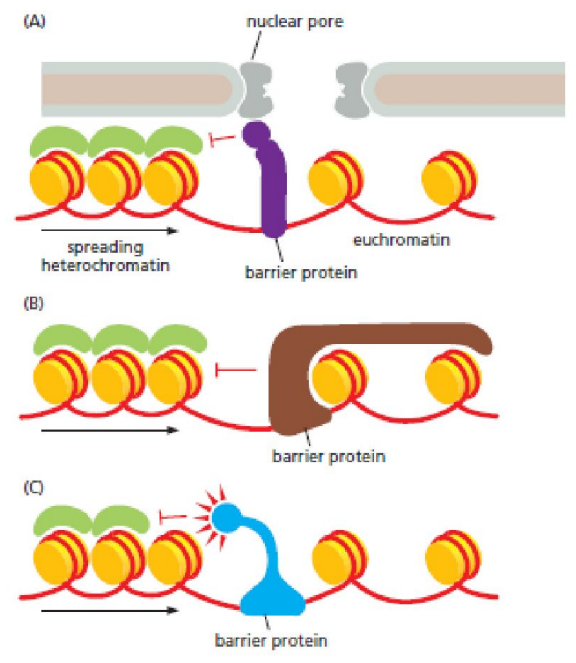
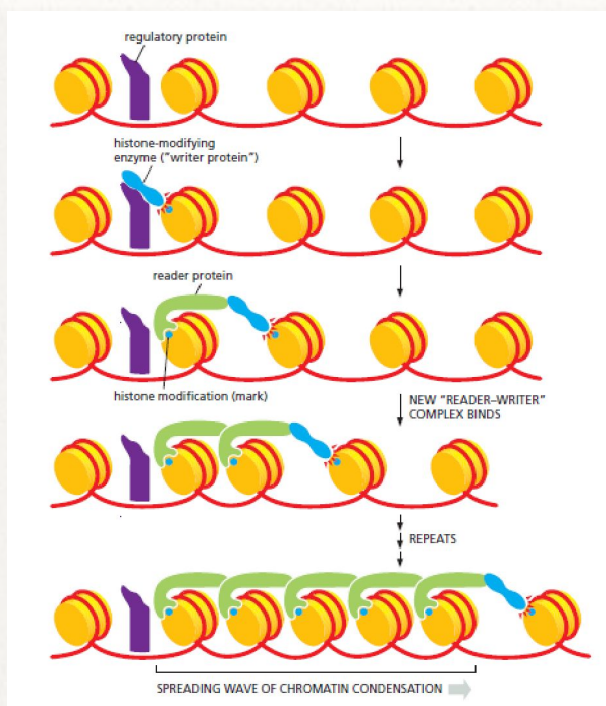
Конститутивный

Факультативный

Хроматин – комплекс ДНК и белков (~40:60) с небольшим количеством РНК (около 1%). В его составе различают гистоны и негистоновые белки.

Гистоны (5 основных типов молекул) – эволюционно консервативные небольшие белки с положительным зарядом.

Негистоновые белки – различные по массе и свойствам.



Гетерохроматин конститутивный – связан со специальными участками ДНК (например, сателлитная ДНК) и конденсирован во всех клетках многоклеточного организма.

Гетерохроматин факультативный – результат эпигенетической регуляции. Его содержание зависит от дифференцировки клеток. Чаще всего – метилирование 9-го лизина на гистоне H3, которое приводит к связыванию белка HP1. «Закрытая» структура хроматина поддерживается белком HP1, а также за счет низкого уровня ацетилирования гистонов и метилирования островков CpG.

Распространению гетерохроматина препятствуют специальные вставки в молекуле ДНК (Locus control regions – LCR и инсуляторы).

# Основные негистоновые белки хроматина

ДНК-полимераза и связанные с ней ферменты

Белок гетерохроматина 1 (HP1) – отвечает за формирование конститутивного гетерохроматина, связываясь с метилированным гистоном H3.

Белки группы поликомб (Polycomb) – регулируют доступность хроматина для транскрипции, играют важную роль в дифференцировке клеток.

Smc-белки (structural maintenance of chromosomes) – поддерживают структуру хромосом.



# Структурные белки хроматина

Smc-белки (structural maintenance of chromosomes) – эволюционно консервативные белки, связывающиеся с ДНК при участии АТФ.

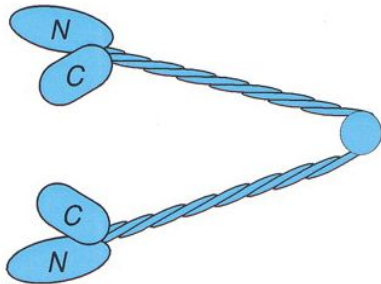
Когезины – образуют комплекс в S-фазе (период синтеза ДНК) и удерживают хроматиды до анафазы. SMC1+SMC3 – часть когезинового комплекса.

Конденсины – организуют укладку митотической хромосомы. Комплексы состоят из SMC2+SMC4 и других белков. Вероятно, регулируют формирование гетерохроматина.

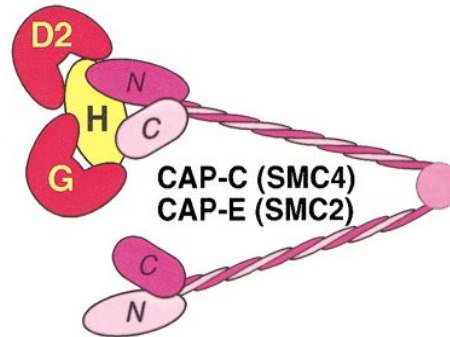
Репаративный комплекс содержит SMC5+SMC6

# Структурные белки хромосом

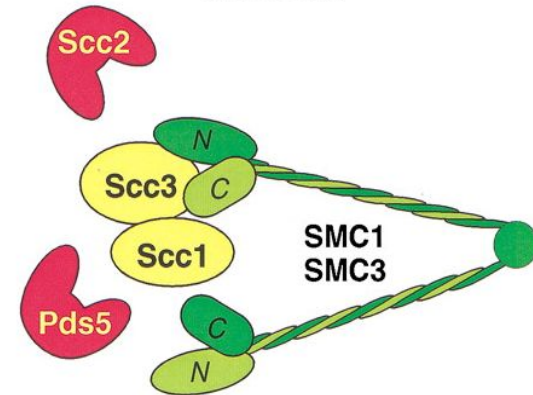
Бактериальный SMC



Конденсин



Когезин



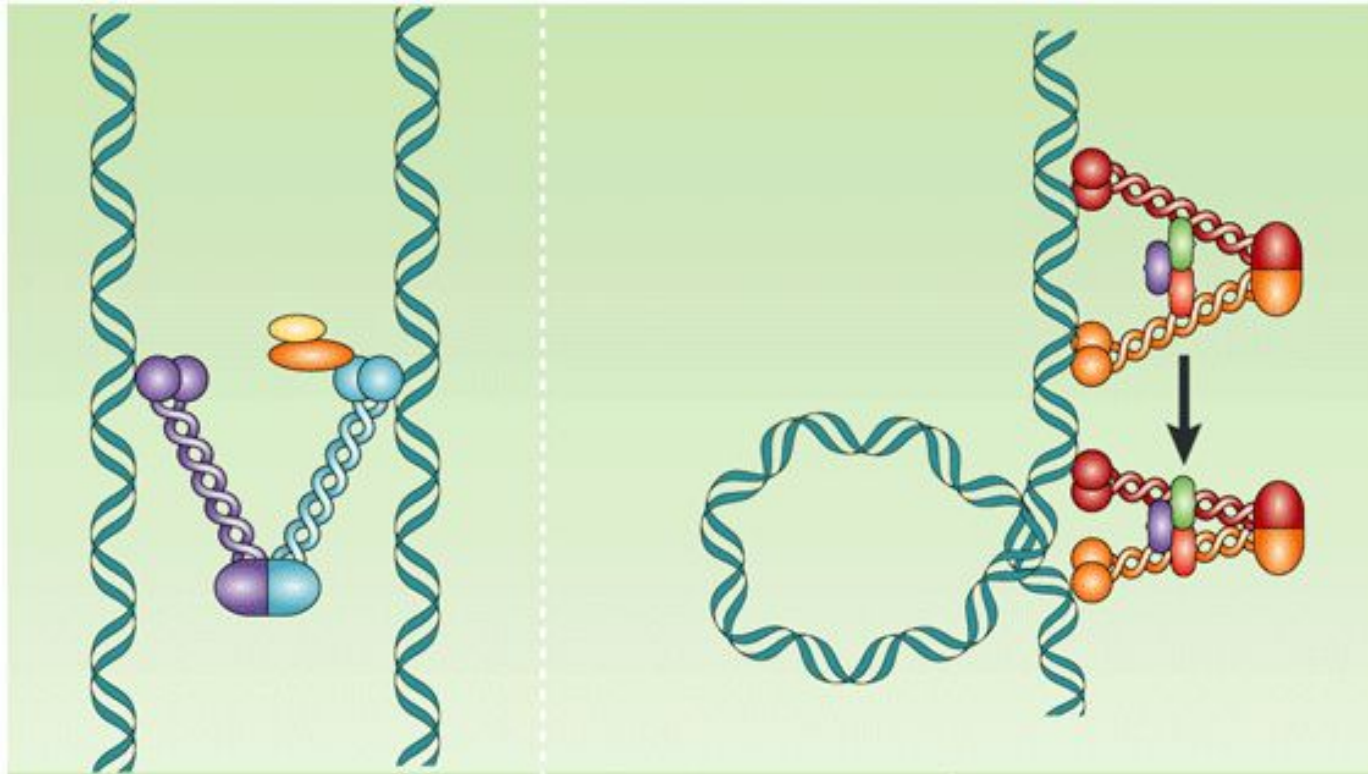
Когезины – внутри хромосомы, конденсины – межхромосомные взаимодействия гомологов. Все образуют гомодимеры с АТФ-азной активностью в глобулярных доменах.

SMC1+SMC3 – ядро когезинового комплекса (интерфаза)

SMC2+SMC4 – ядро конденсинового комплекса (митоз)

SMC5+SMC6 – ядро репаративного комплекса (устраняет двунитевые разрывы в ДНК в интерфазе)

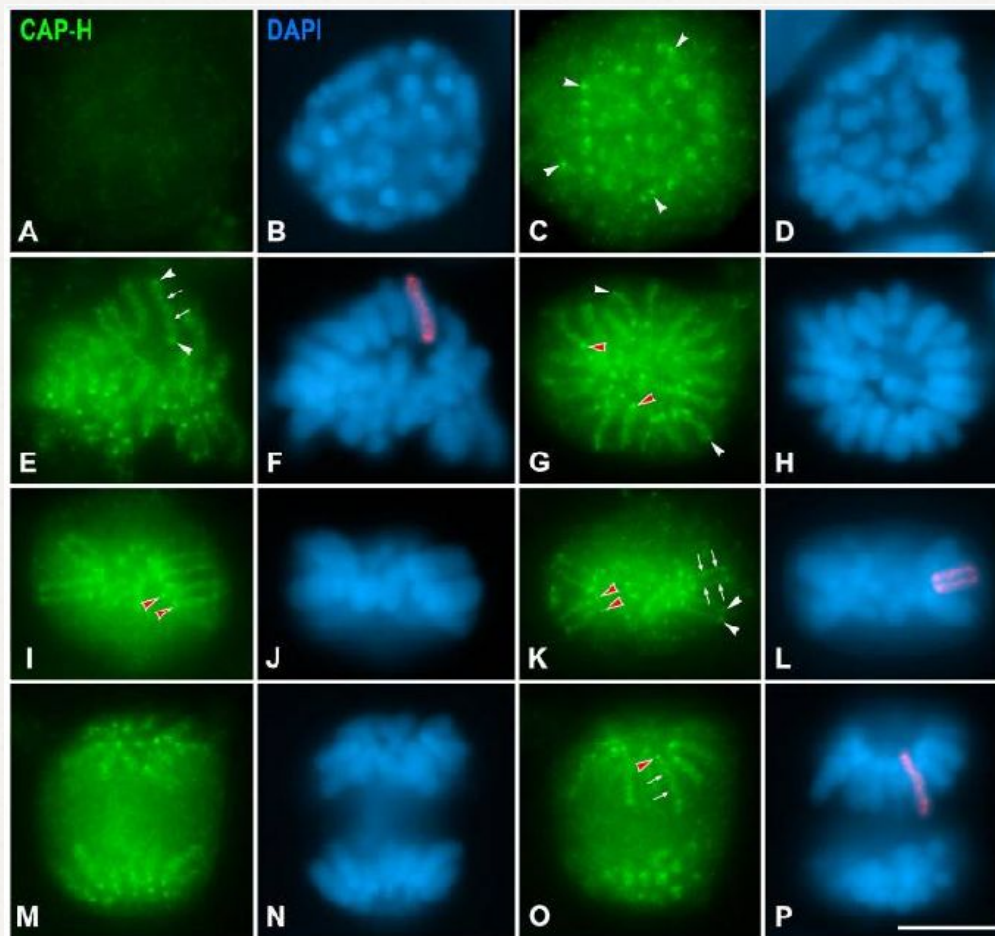
# Когезины и конденсины



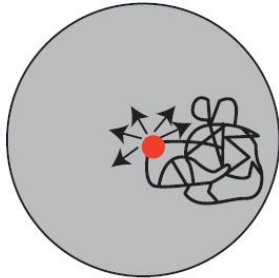
Когезин (слева) образует межмолекулярные связи с ДНК (связь между хроматидами, которая рвется в анафазе).

Конденсины (справа) образуют внутримолекулярные связи с ДНК и обеспечивают компактизацию внутри хроматиды в течение всего митоза.

# Конденсины в митозе

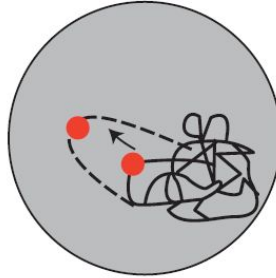


# Динамика хроматина



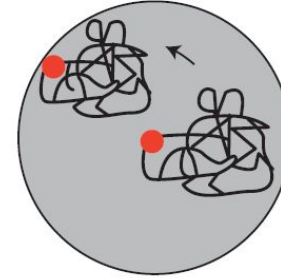
## Short-range motion

- Locally constrained within  $\sim 1\mu\text{m}$
- Fast (seconds)
- Random
- ATP dependent
- Frequent
- Occurs by default



## Long-range motion

- Several micrometers
- Moderate (minutes)**
- Directed
- ATP/motor dependent
- In response to physiological cues (cell cycle)
- Rare

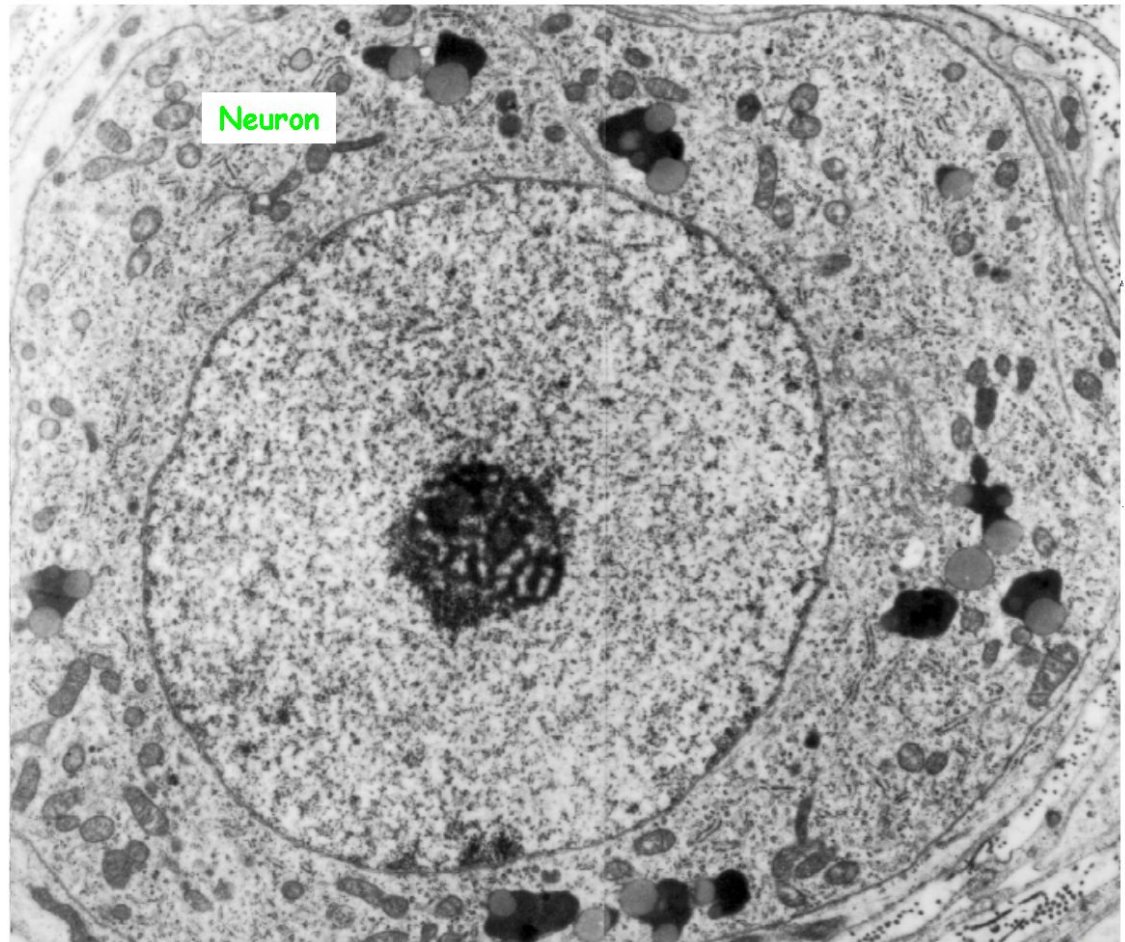
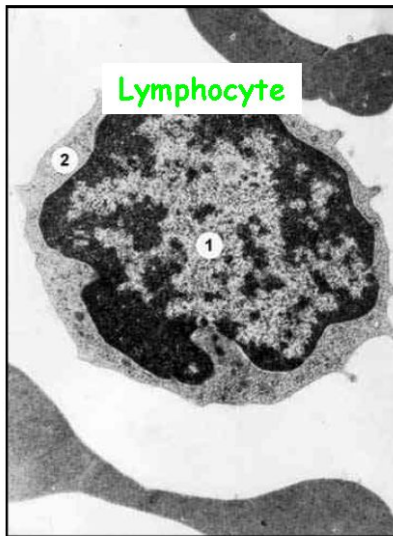
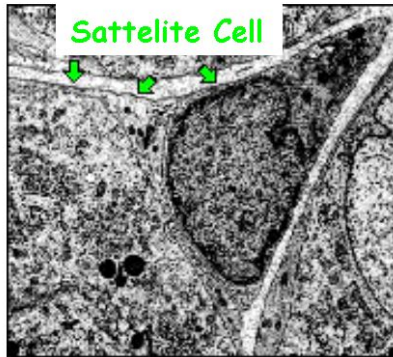


## Genome Reorganization

- Several micrometers
- Slow (hours, days)
- Global changes
- Likely requires cell division
- In response to physiological cues (differentiation, development)

В интерфазном ядре хроматин пластичен – его структура постоянно изменяется в связи с активацией и транскрипцией.

# Хроматин в ядрах животных



# Хроматин в ядрах растений

