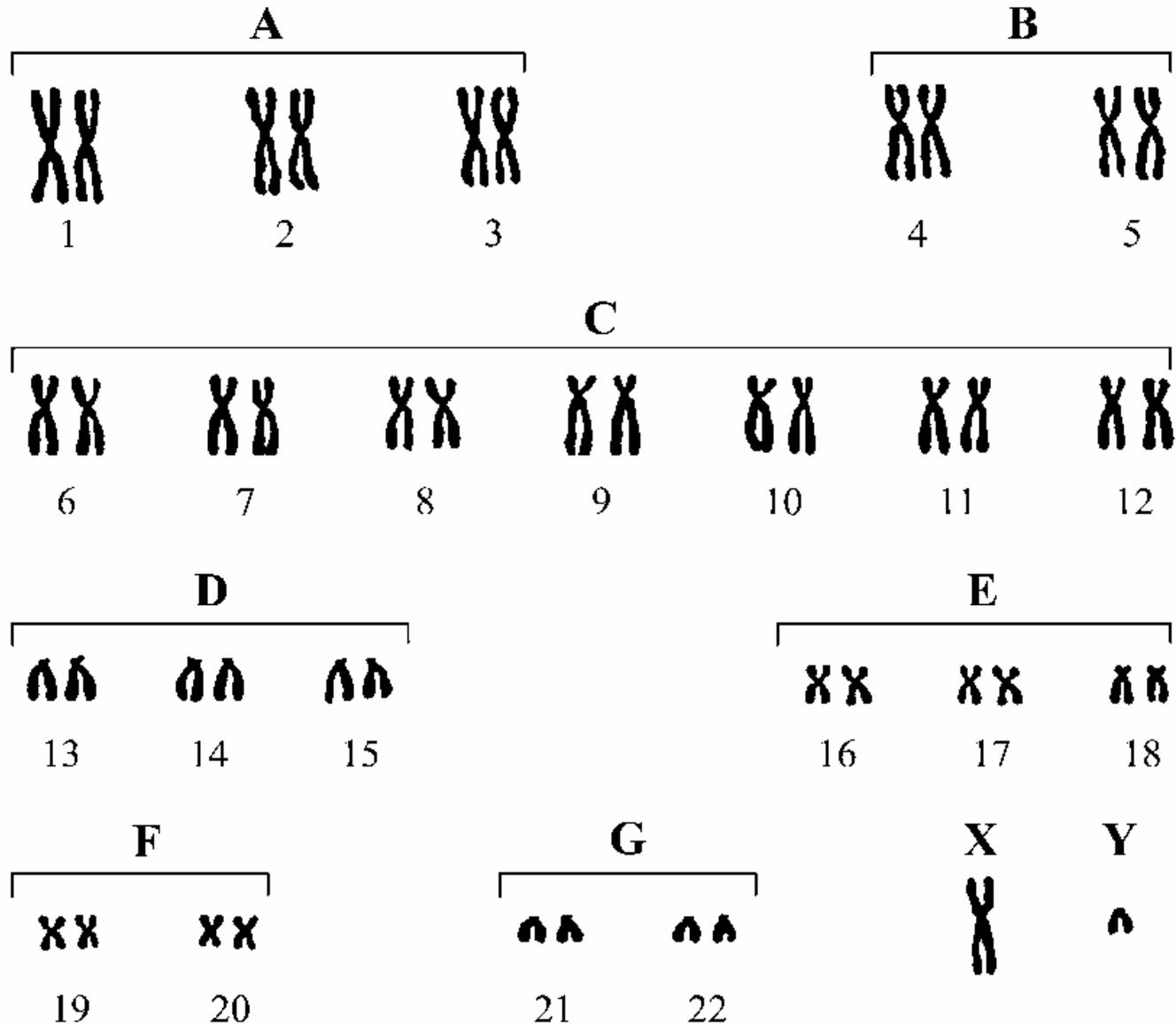


# Кариотип человека



# Методы изучения кариотипа

Получение хромосомных препаратов:

- выделение митотических клеток
- лизис клеток в гипотонических условиях и разбрызгивание хромосом
- окраска препаратов

Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH):

- получение препаратов (срезы, осадок клеток на стекле)
- пробоподготовка (фиксация и денатурация)
- гибридизация флюоресцентных зондов с денатурированной ДНК в клеточных препаратах

# Дифференциальная окраска хромосом

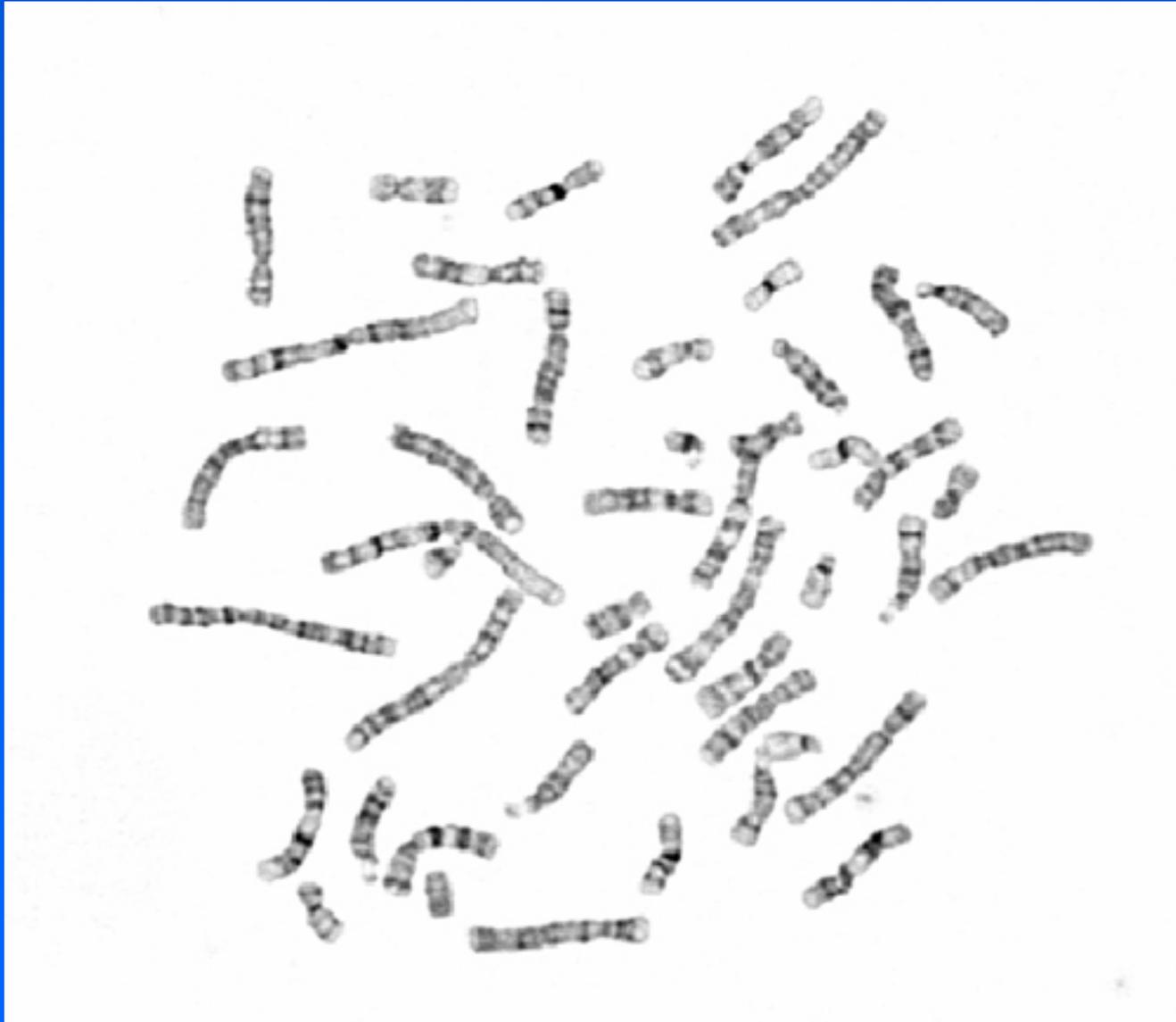
Принцип – частичная (дифференциальная) деконденсация в гипотоническом растворе и частичный протеолиз.

G-бэнды (сегменты)

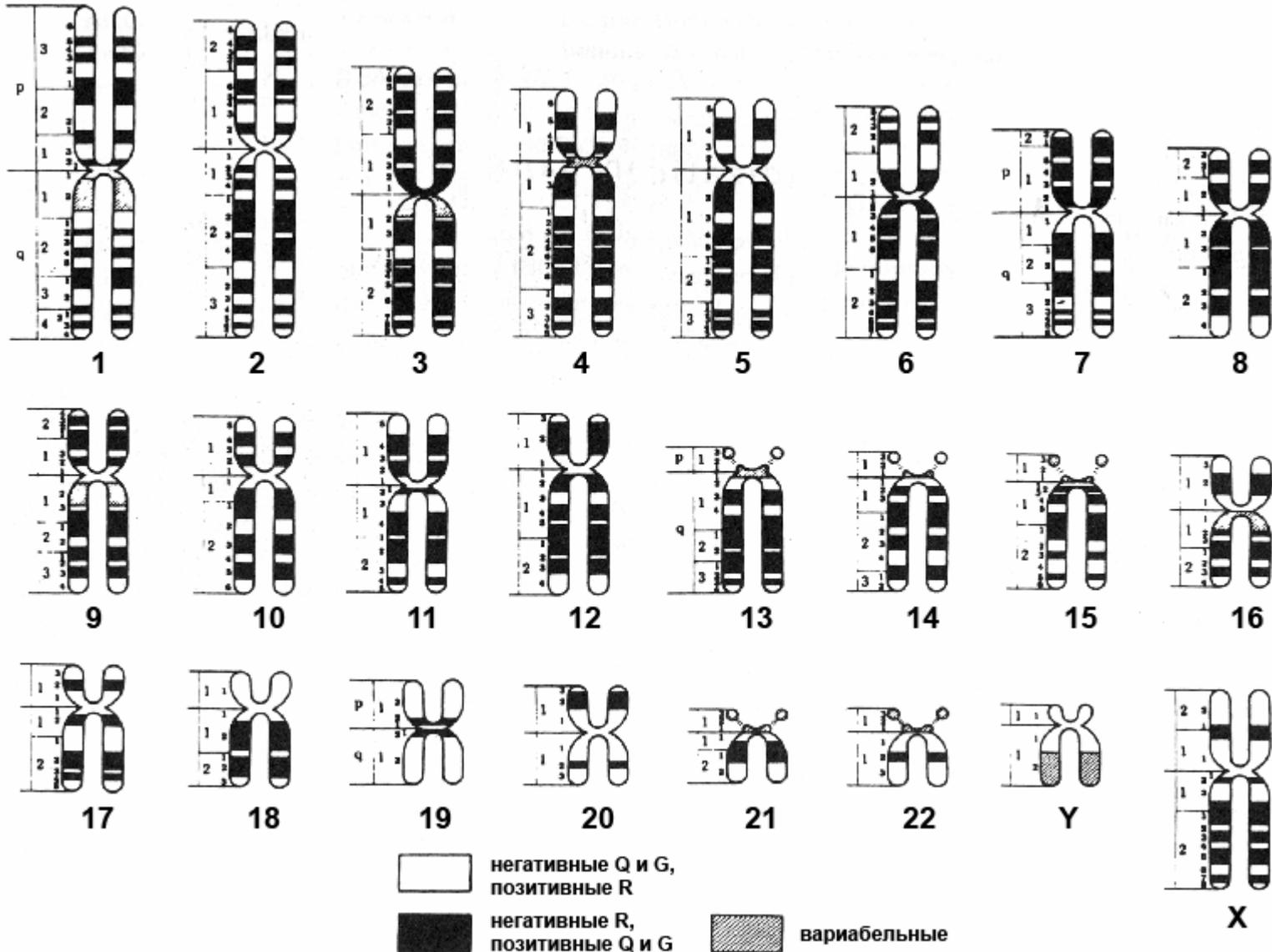
Q-бэнды (сегменты) – окраска, обратная к G-сегментам

R-бэнды (сегменты) – центромерные районы

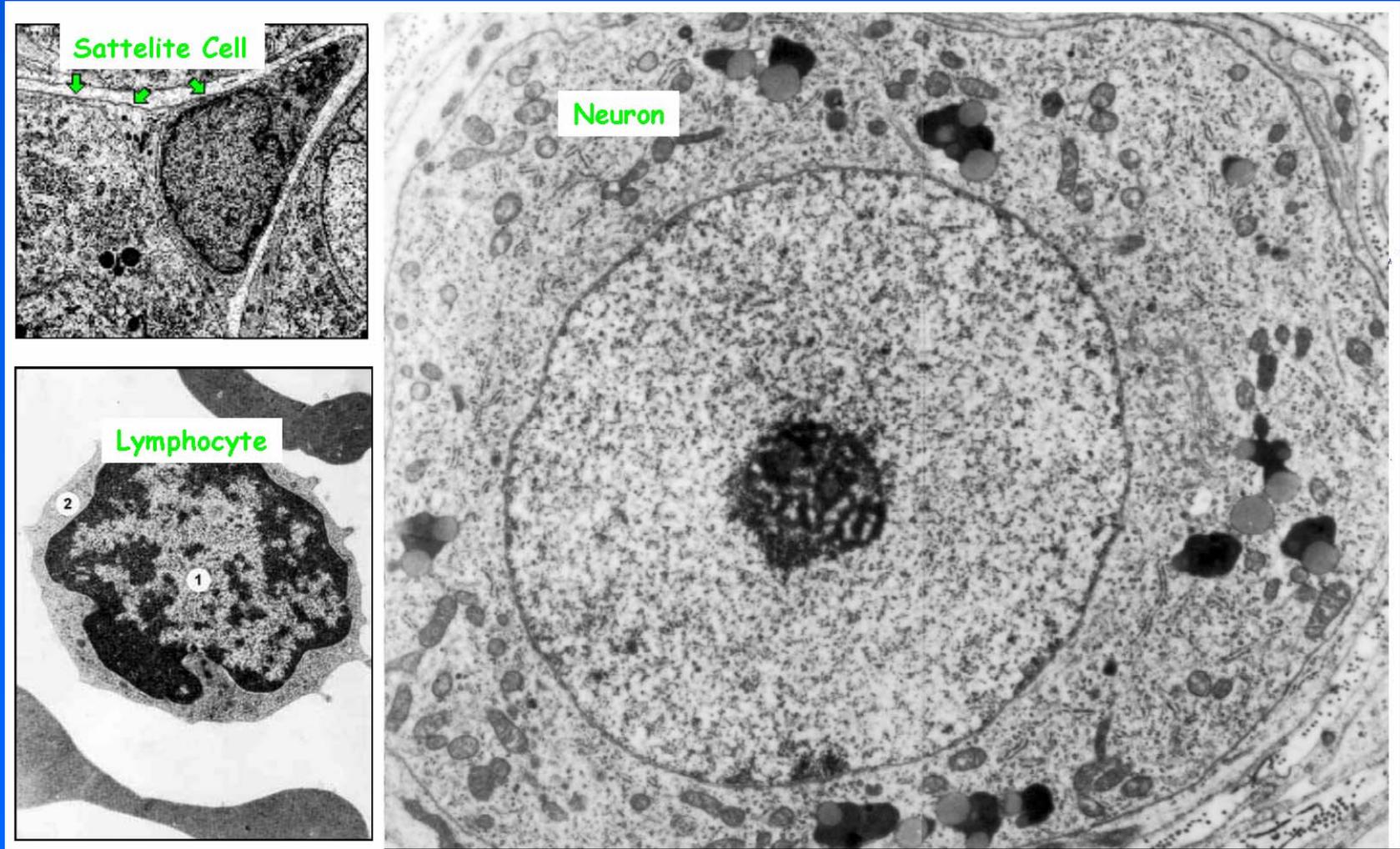
# Хромосомы человека, дифференциальная окраска



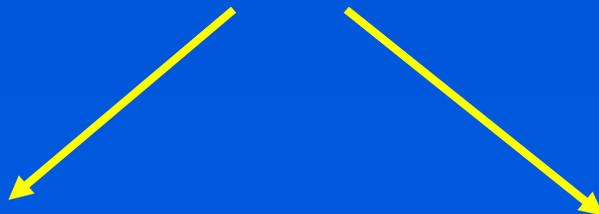
# Кариотип человека



# Хроматин в ядрах животных



# Хроматин



**Гетерохроматин**  
**= конститутивный**  
**гетерохроматин**

**(С-сегменты, конденсирован**  
**на протяжении всего**  
**клеточного цикла)**

**Эухроматин**



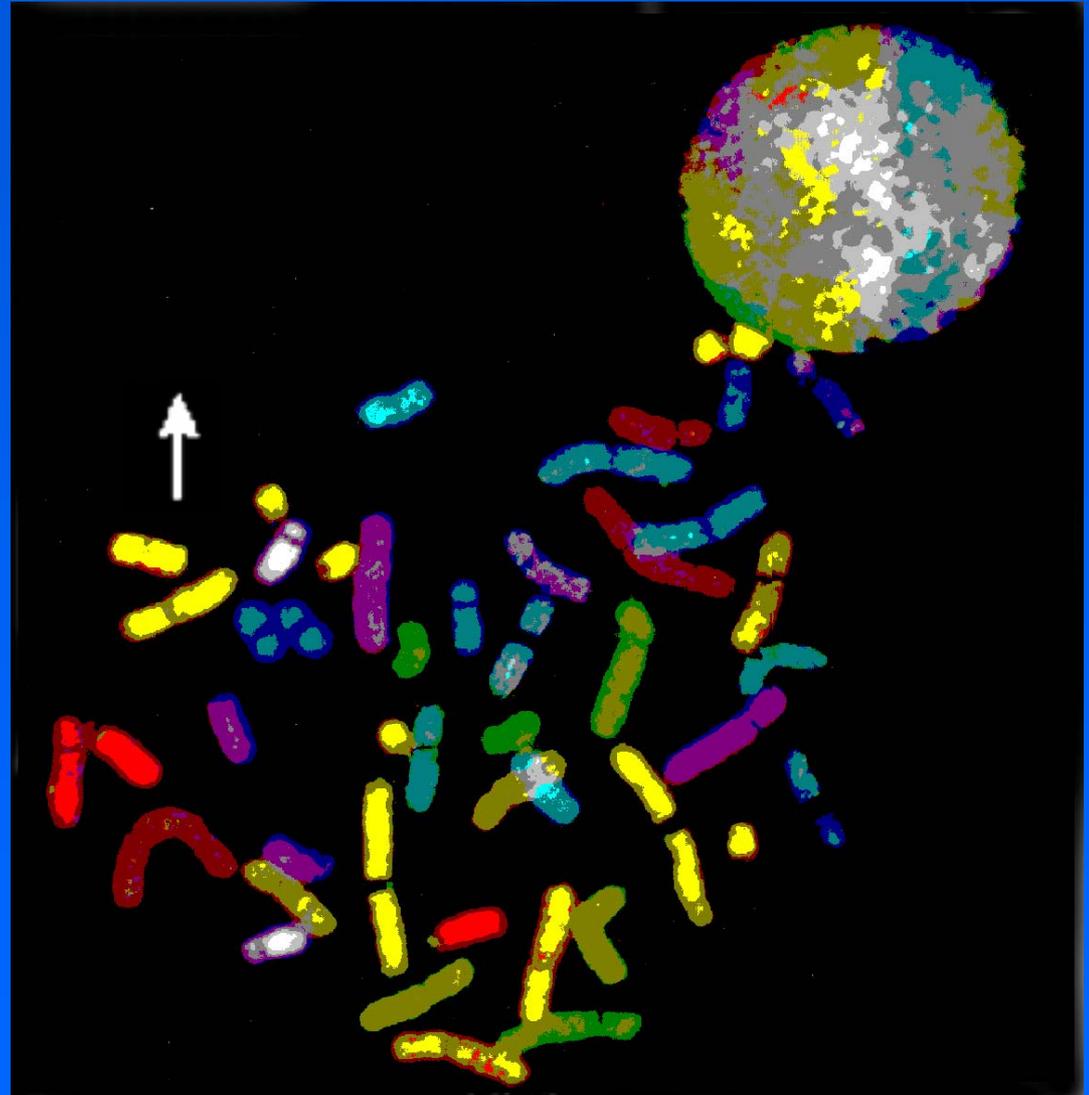
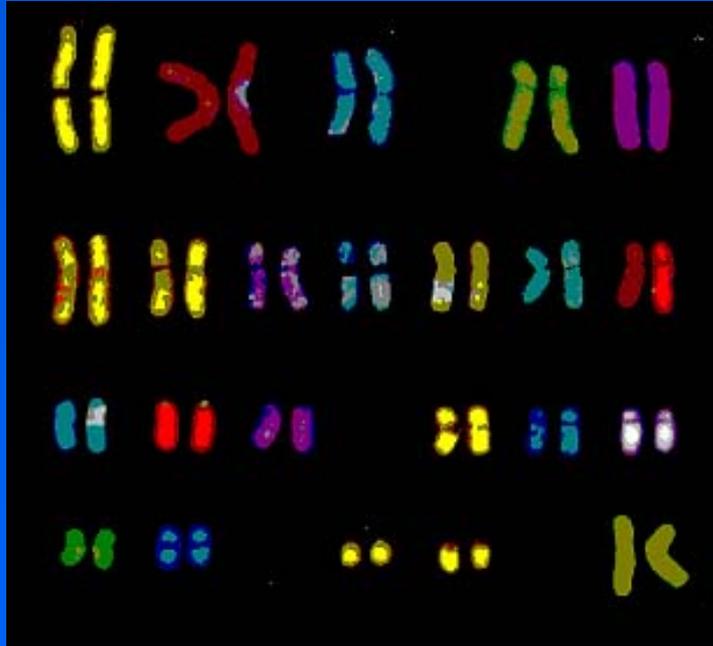
**Эухроматин**

**(R-сегменты)**

**Факультативный**  
**гетерохроматин**

**(G-сегменты)**

# Хромосомы человека, многоцветная окраска



# Перестройки хромосом

**Транслокации – перенос участка с одной хромосомы на другую.**

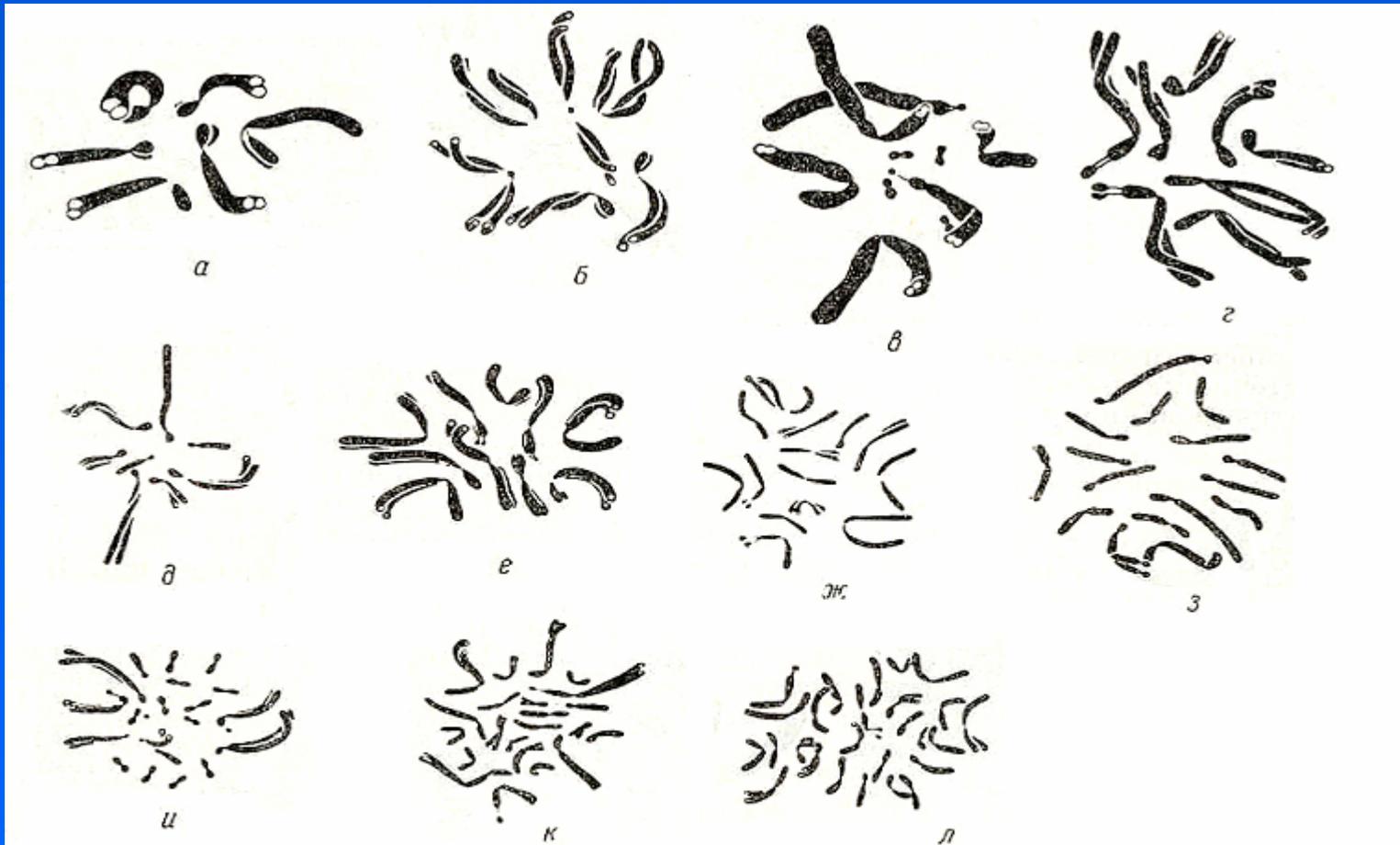
**Инверсия – перестановка со вставкой в обратной последовательности**

**Делеция – потеря плеча (или его части)**

**Дупликация – удвоение плеча или участка**

**Другие aberrации: безцентромерный фрагмент, закольцовка хромосомы, образование изохромосомы.**

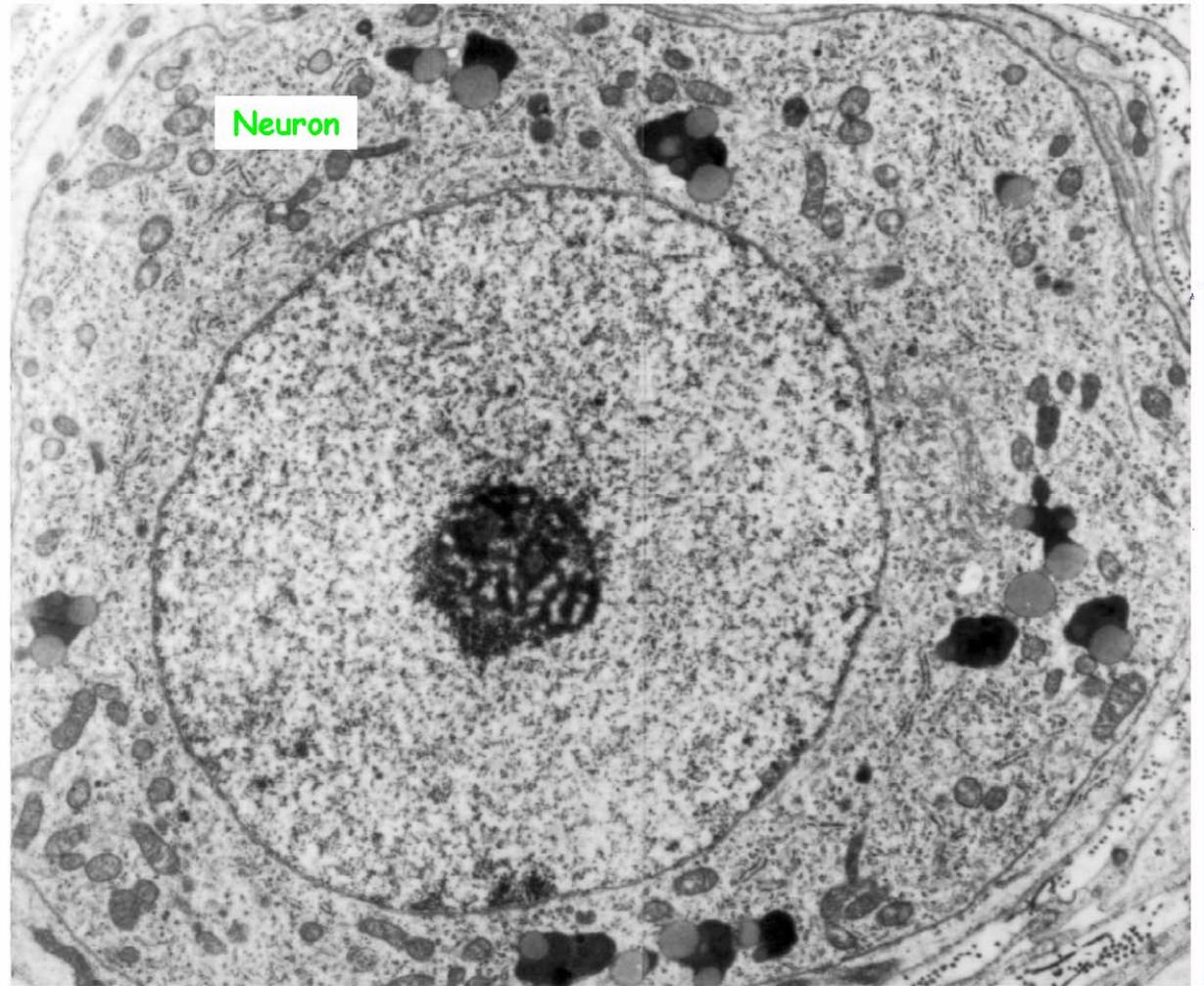
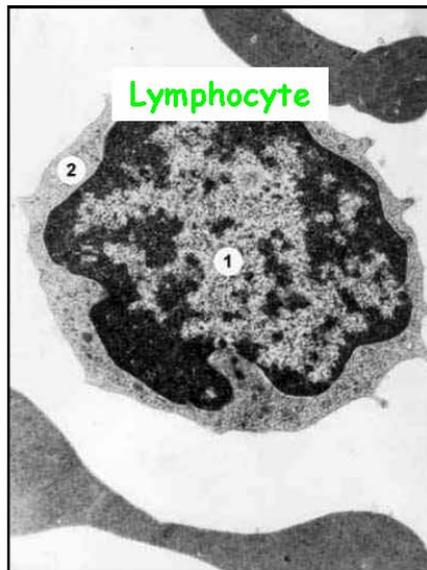
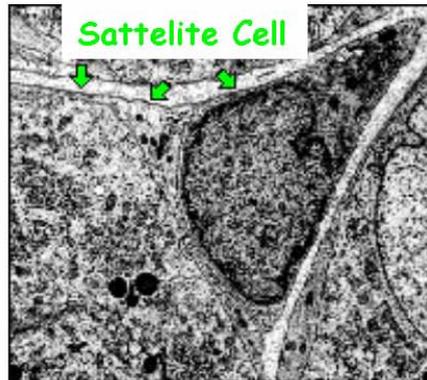
# Хромосомы растений рода *Crocus*



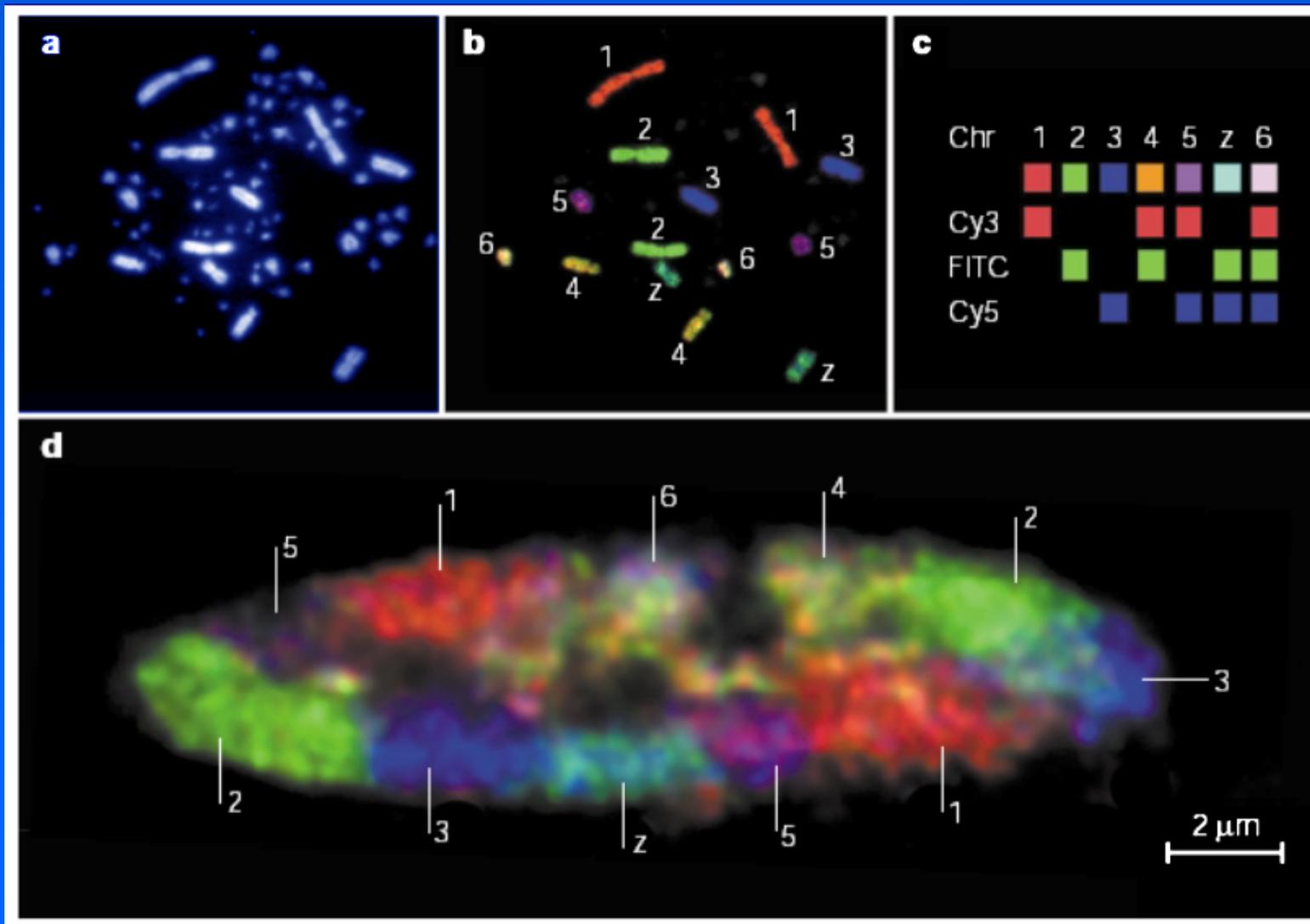
Митотические хромосомы из клеток корешков видов рода *Crocus*. 3700x. (по Mather, 1932).

*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*,  $2n=26$

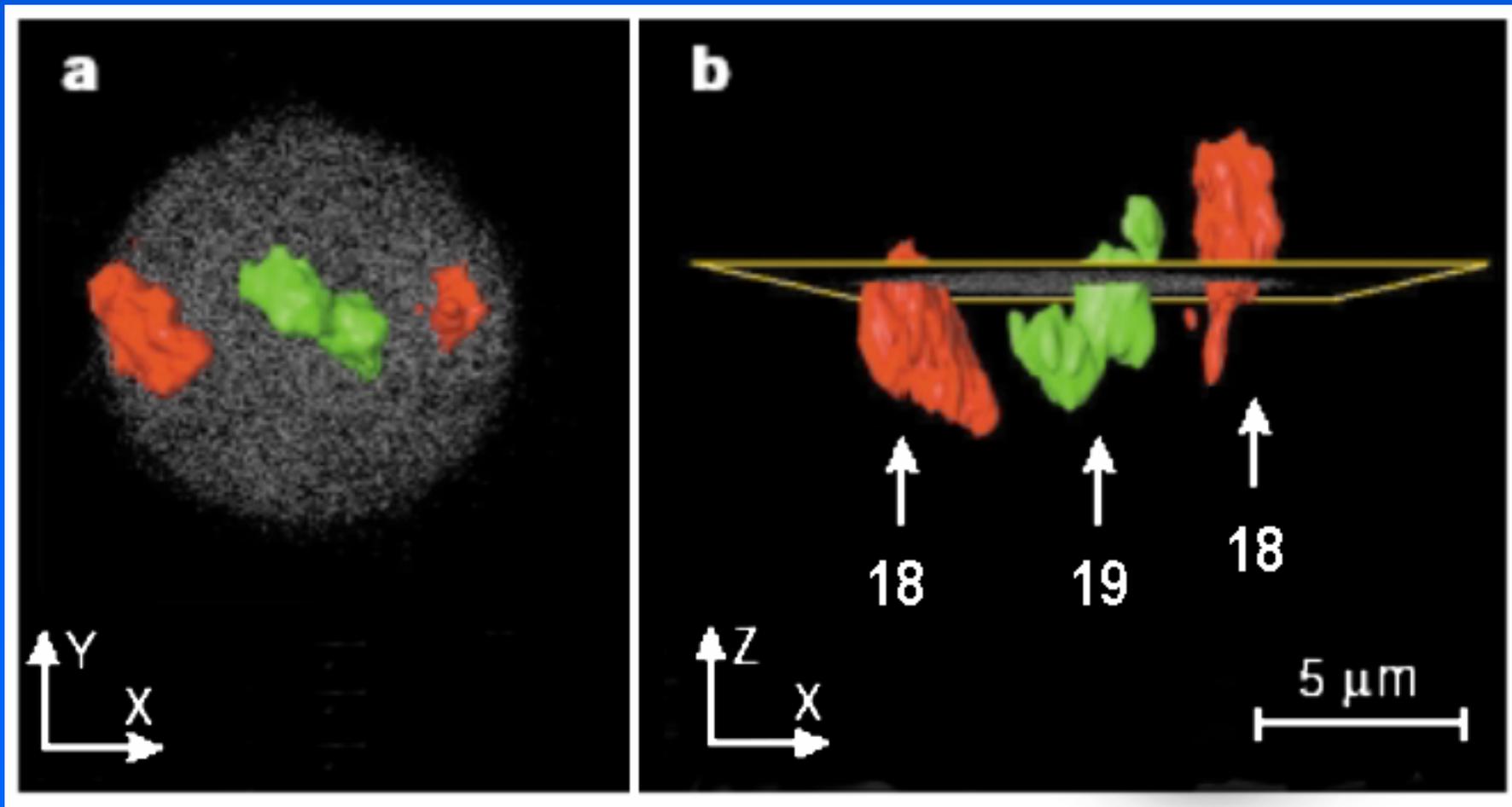
# Хроматин в ядрах животных



# Хромосомные территории в ядре у курицы



# 18 и 19 хромосомы в ядре лимфоцита человека



# Лекция 3.

Строение генома.

Транскрипция.

Виды молекул РНК и их роль в  
клетке.

Центральная догма молекулярной  
биологии

Ядрышко: строение и функции

# Размеры генома

**Прокариоты – 500-4500 генов; 0,5-4 млн. нуклеотидов.**

**Эукариоты: дрожжи – около 6300 генов (12 млн. нуклеотидов); человек – около 30000 генов (3200 млн. нуклеотидов).**

**Размер генома эукариот (суммарная длина молекул ДНК) и число транскрибируемых генов слабо связаны друг с другом.**

# Строение генома прокариот

Кольцевая молекула ДНК (одна)

Кодирующие РНК участки – гены составляют основную часть генома (~70%)

Гены собраны в группы (опероны), которые имеют общий регулятор (промотор)

Регуляторные последовательности короткие

# Строение генома эукариот

Несколько линейных молекул ДНК (хромосом).

Кодирующие РНК участки составляют меньшую часть генома (~1,5% у человека).

Каждый ген имеет свой промотор и содержит несколько некодирующих вставок – интронов.

Гены могут перекрываться и считываться в противоположные стороны.

Некодирующие последовательности – повторы различной длины; регуляторные участки – энхансеры; мобильные элементы; псевдогены (в сумме ~90% генома).

# Последовательности ДНК в составе хромосом

Специфические области – центромеры и теломеры.

Структурные области – точки репликации и сайты прикрепления к матриксу.

Уникальные последовательности – гены, энхансеры.

Умеренные повторы – некоторые гены (рРНК, гистоны и проч.).

Тандемные повторы (до 15% генома, повторены  $10^5$ - $10^6$  раз) :  
короткие (несколько сотен нуклеотидов – Alu) и длинные  
(несколько тысяч нуклеотидов).

Сателлитная ДНК (до 10% генома, расположена в основном  
вблизи центромер и теломер) – минисателлиты и  
микросателлиты (используется для идентификации личности)

Мобильные элементы – транспозоны (ретротранспозоны)  
(включая псевдогены).

# Перестройки генома эукариот

Подстановка кодирующей рамки под активный промотор или энхансер (транслокация).

Состыковка разобщенных частей гена (иммуноглобулины, макронуклеус инфузорий).

Удаление гена из генома (диминуция хроматина).

Амплификация генов (рибосомные и гистоновые гены в ооцитах, политенные хромосомы).

# Параметры молекулы РНК:

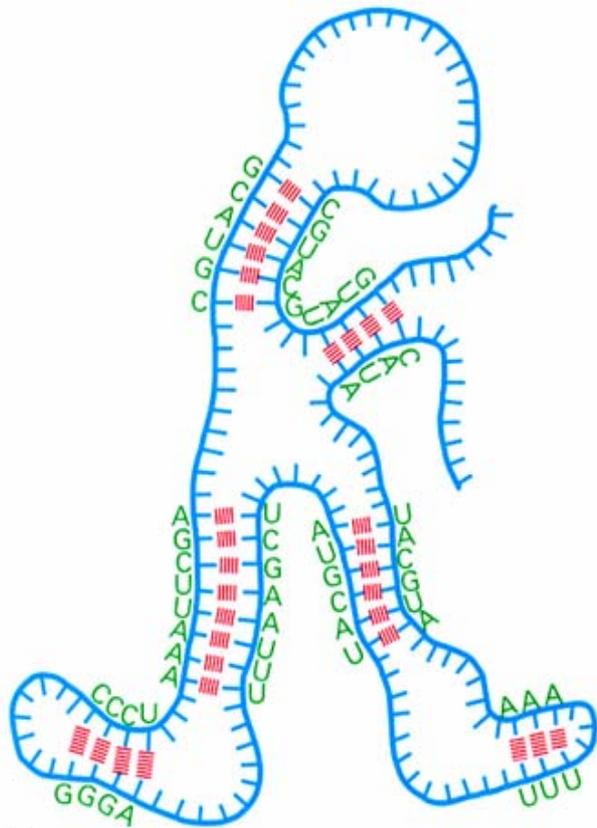
Расстояние между нуклеотидами – 0,34 нм

Длина молекулы – от 20 до 10000 нуклеотидов (несколько мкм)

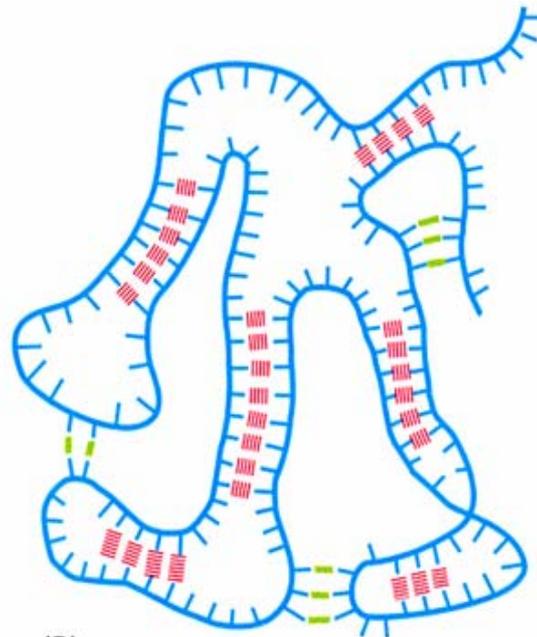
В водном растворе молекула РНК заряжена отрицательно (при нейтральном рН), но может образовывать трехмерную структуру (за счет шпилек).

Энергия водородных связей между нуклеотидами в РНК больше, чем в ДНК.

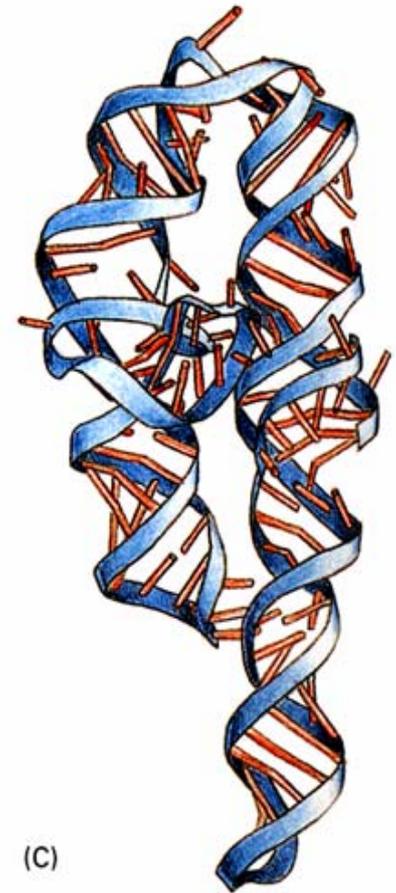
# Трехмерная структура молекулы РНК



(A)

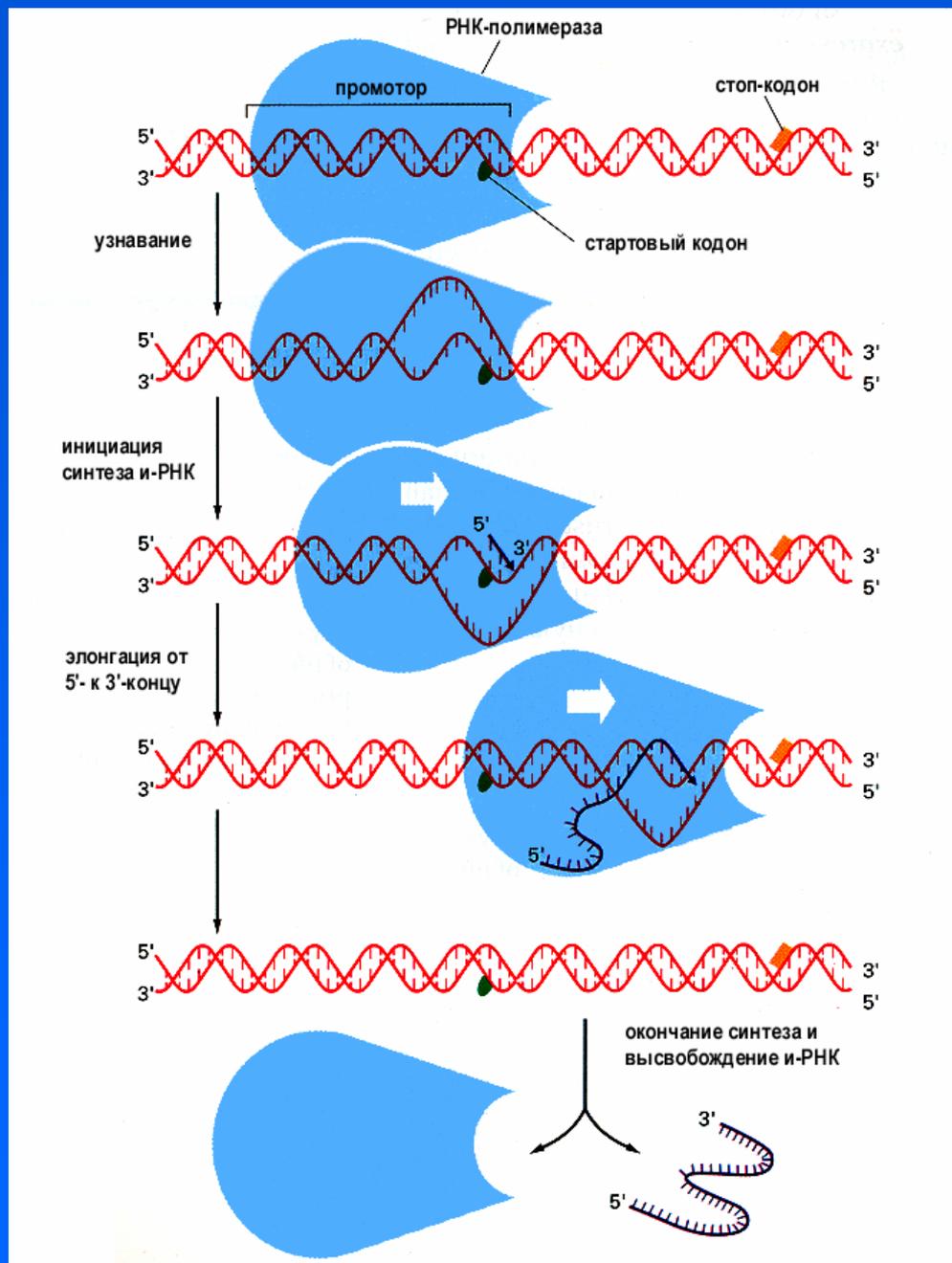


(B)

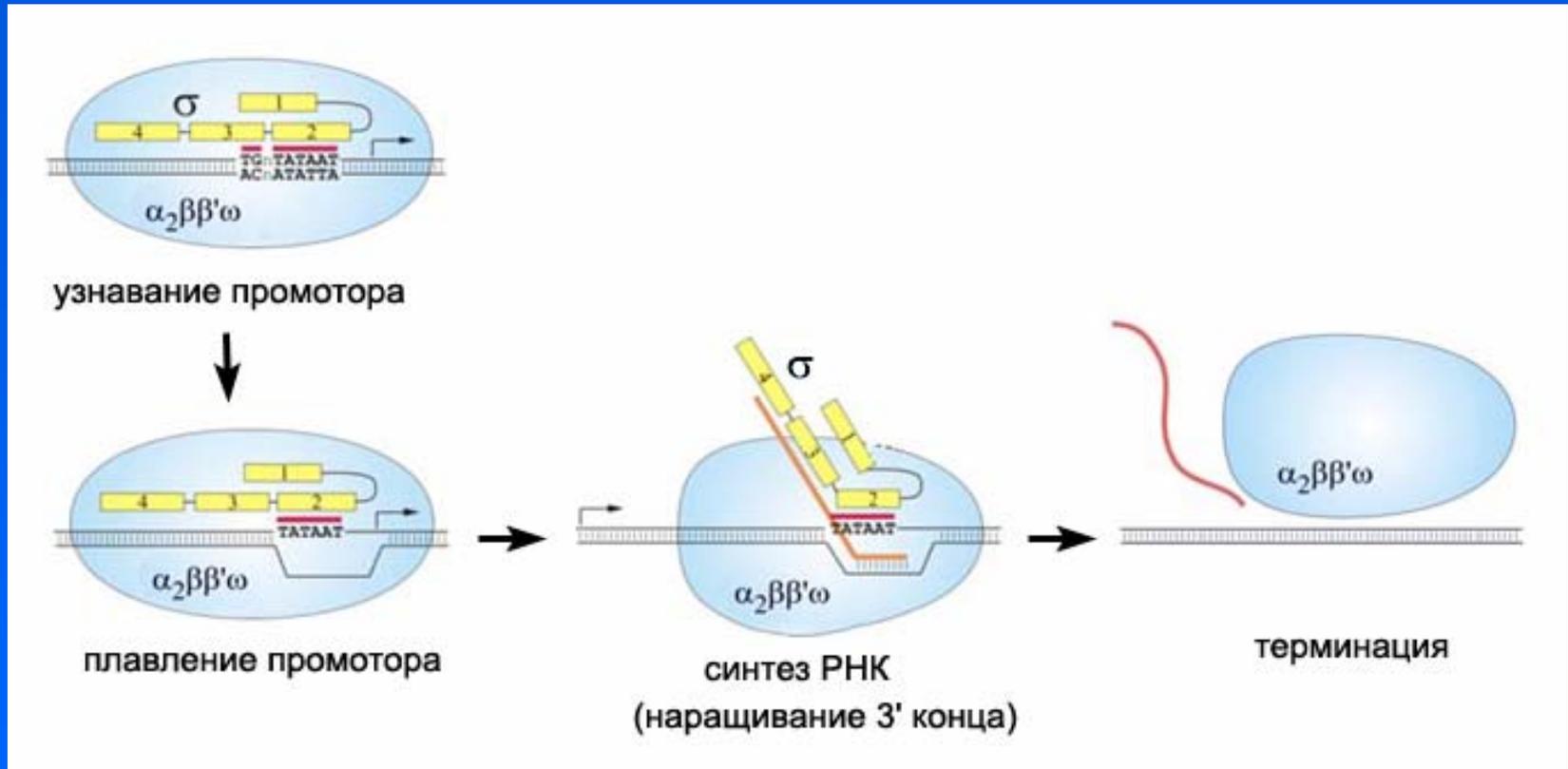


(C)

# Матричный синтез РНК - транскрипция



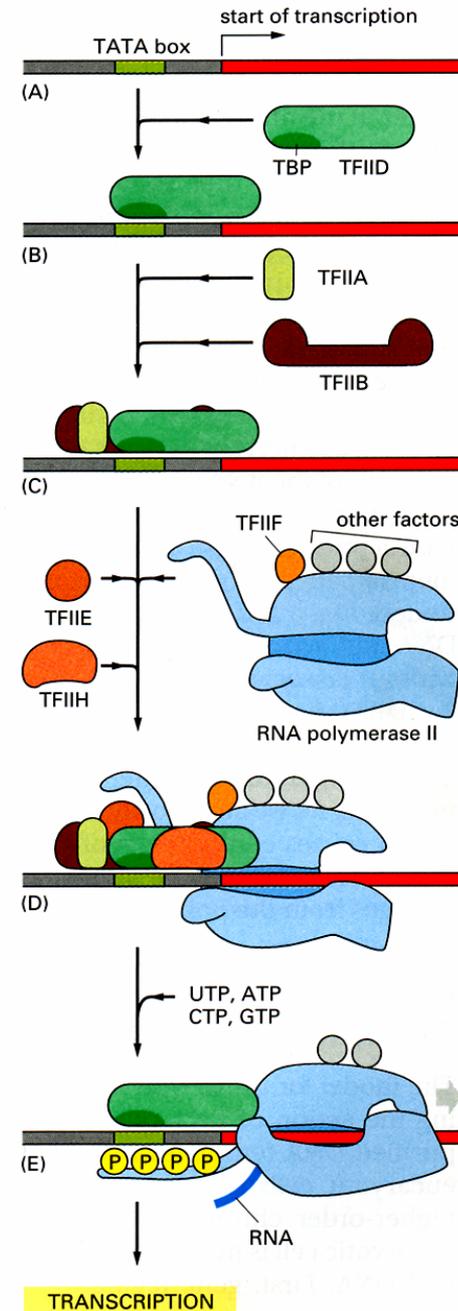
# Работа РНК-полимеразы



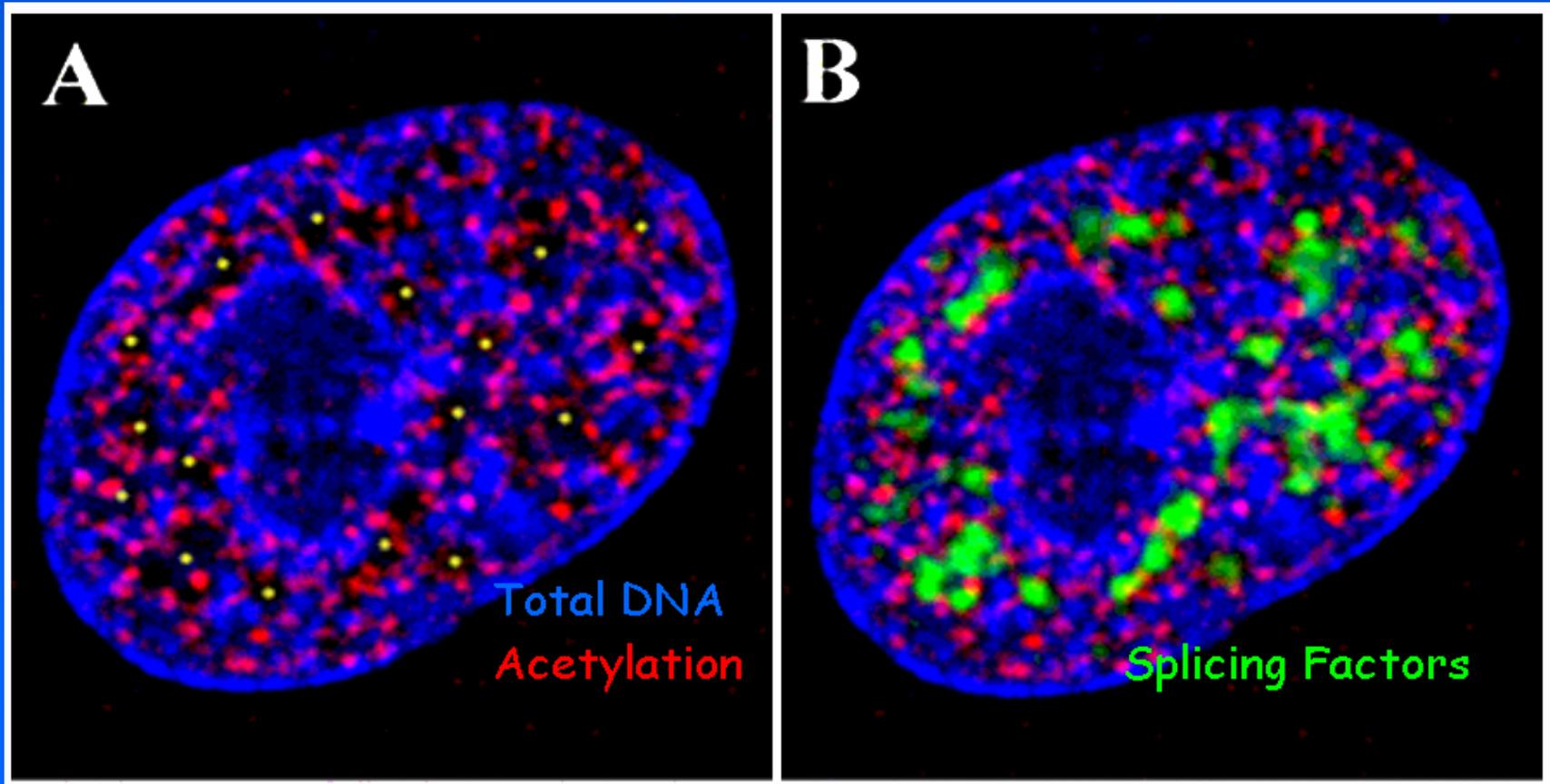
Плавление – TATA-бокс; элонгация – вытеснение  $\sigma$ -субъединицы; терминация – терминирующий кодон

# Регуляция через факторы транскрипции

Факторы транскрипции  
высокоспецифичны: каждая  
группа обеспечивает посадку  
РНК-полимеразы на строго  
определенный промотор.

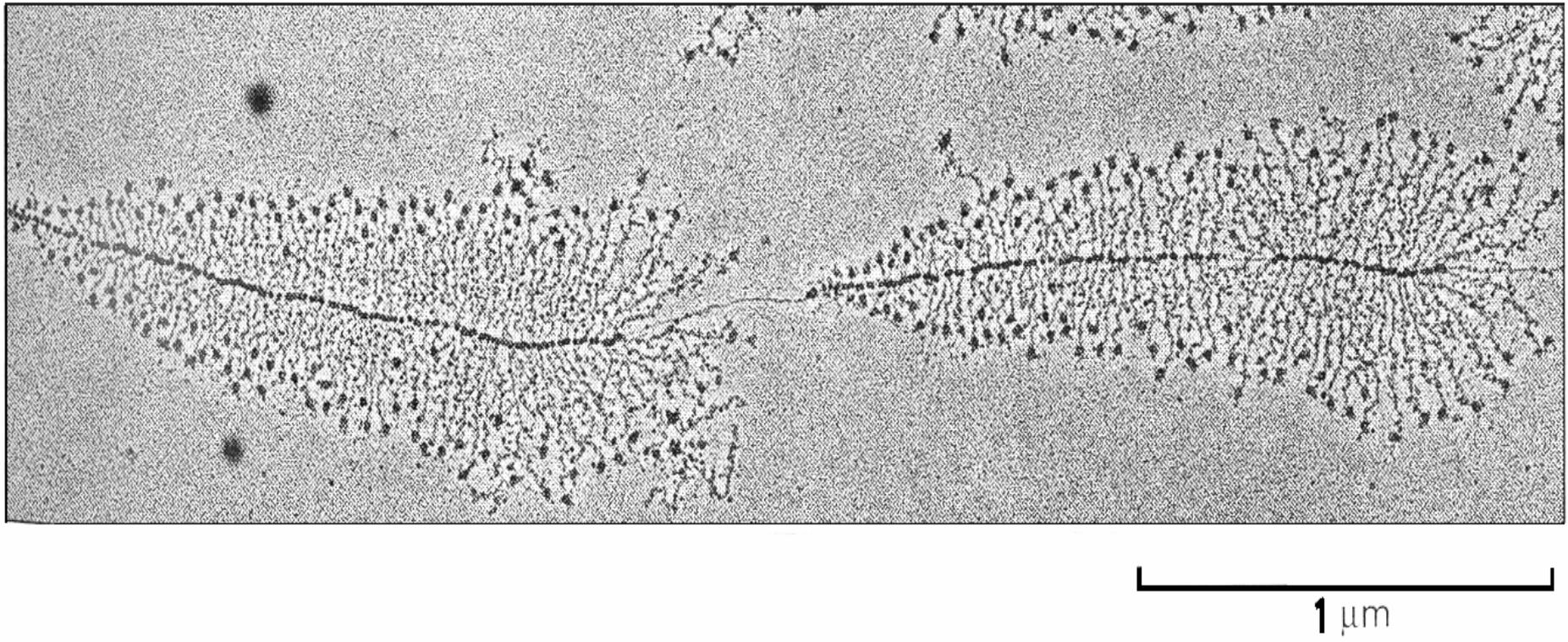


# Транскрипционные фабрики



**Комплекс нескольких РНК-полимераз II, факторов процессинга, сплайсинга и коррекции транскрипта.**

# Транскрипция на примере рибосомных генов

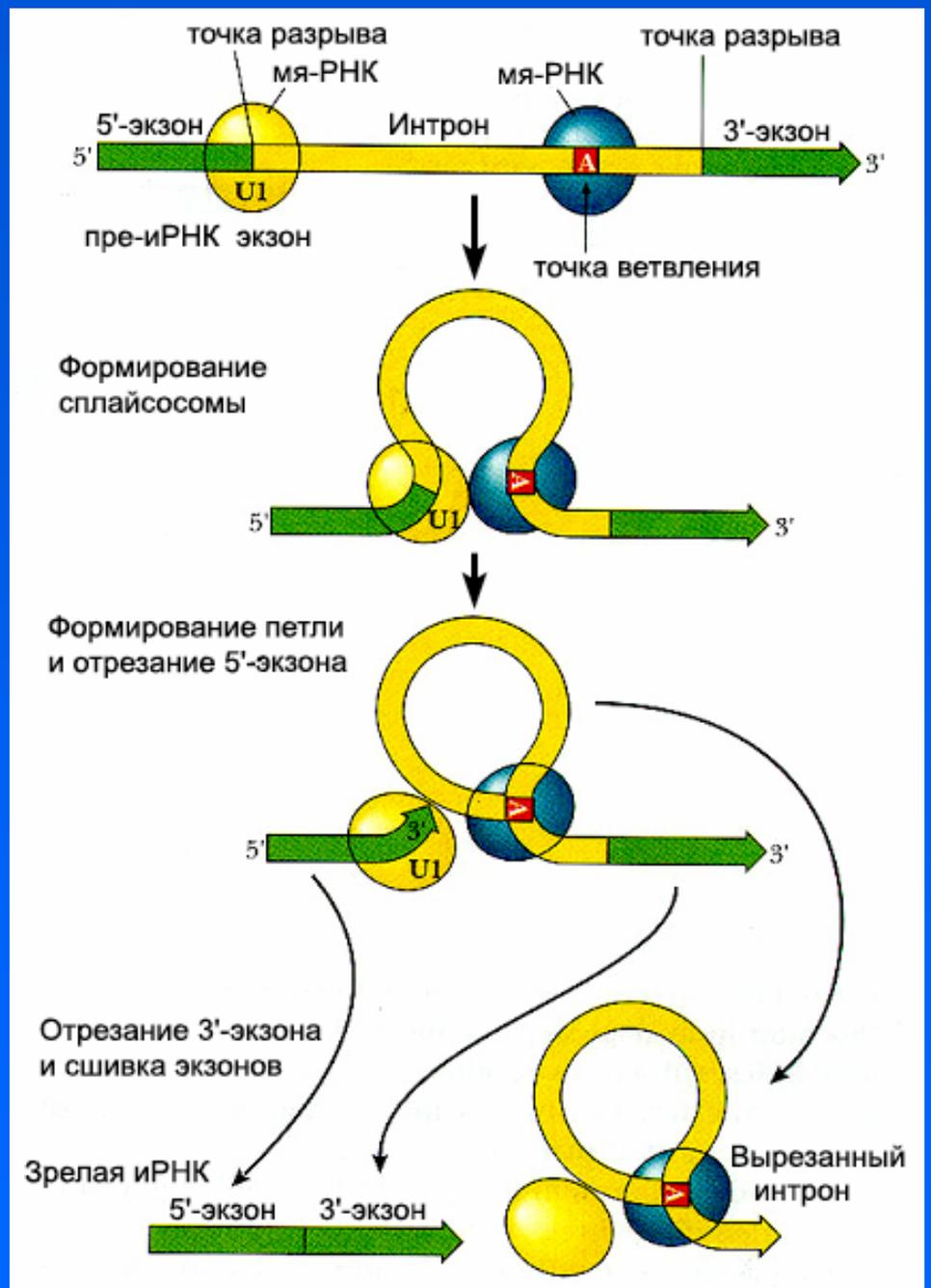


**Ось – молекула ДНК, от нее отходят новосинтезированные молекулы РНК. Глобулы на оси – комплексы РНК-полимераз.**

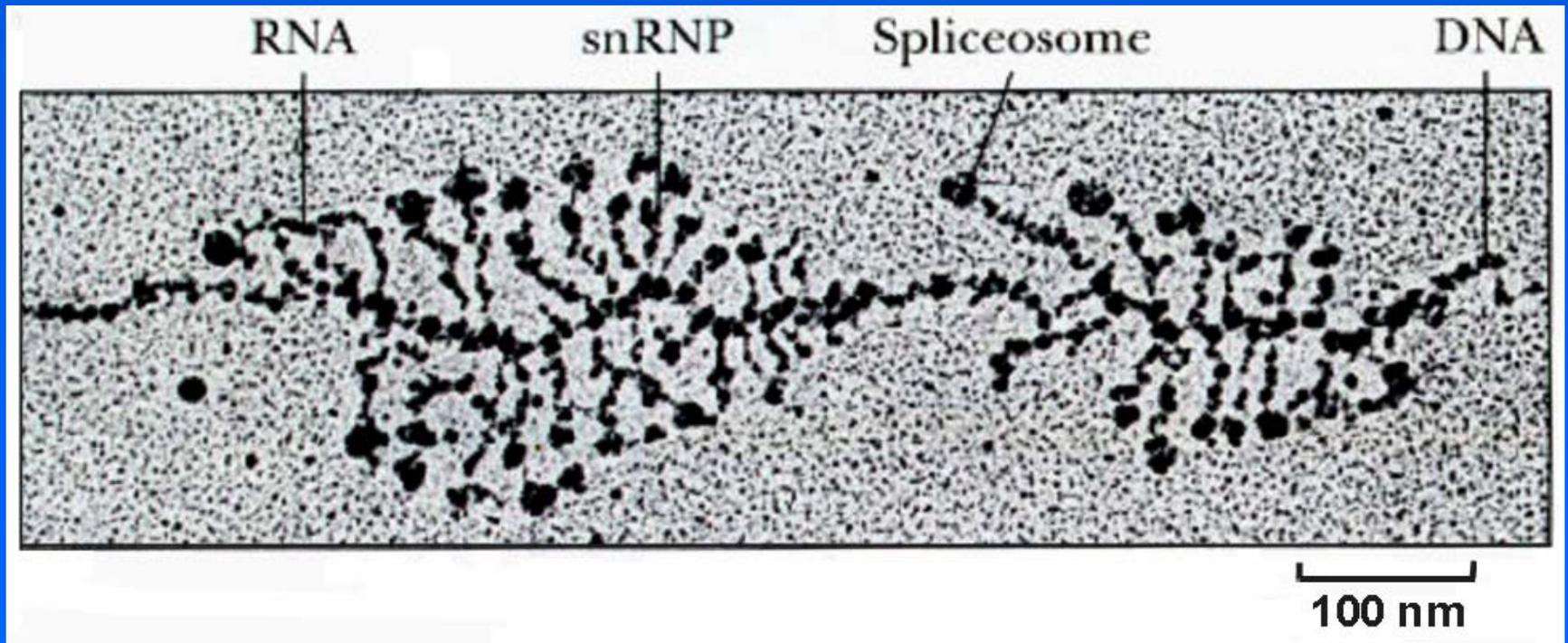
# Посттранскрипционные преобразования и-РНК

1. Кэпирование (защита) 5'-конца
2. Сплайсинг – удаление вставок (интронов)
3. Процессинг – укорочение с 5'- и 3'-концов
4. Надстройка поли-А на 3'-конце

# Последовательность сплайсинга и-РНК



# Формирование и-РНК в ядре эукариот

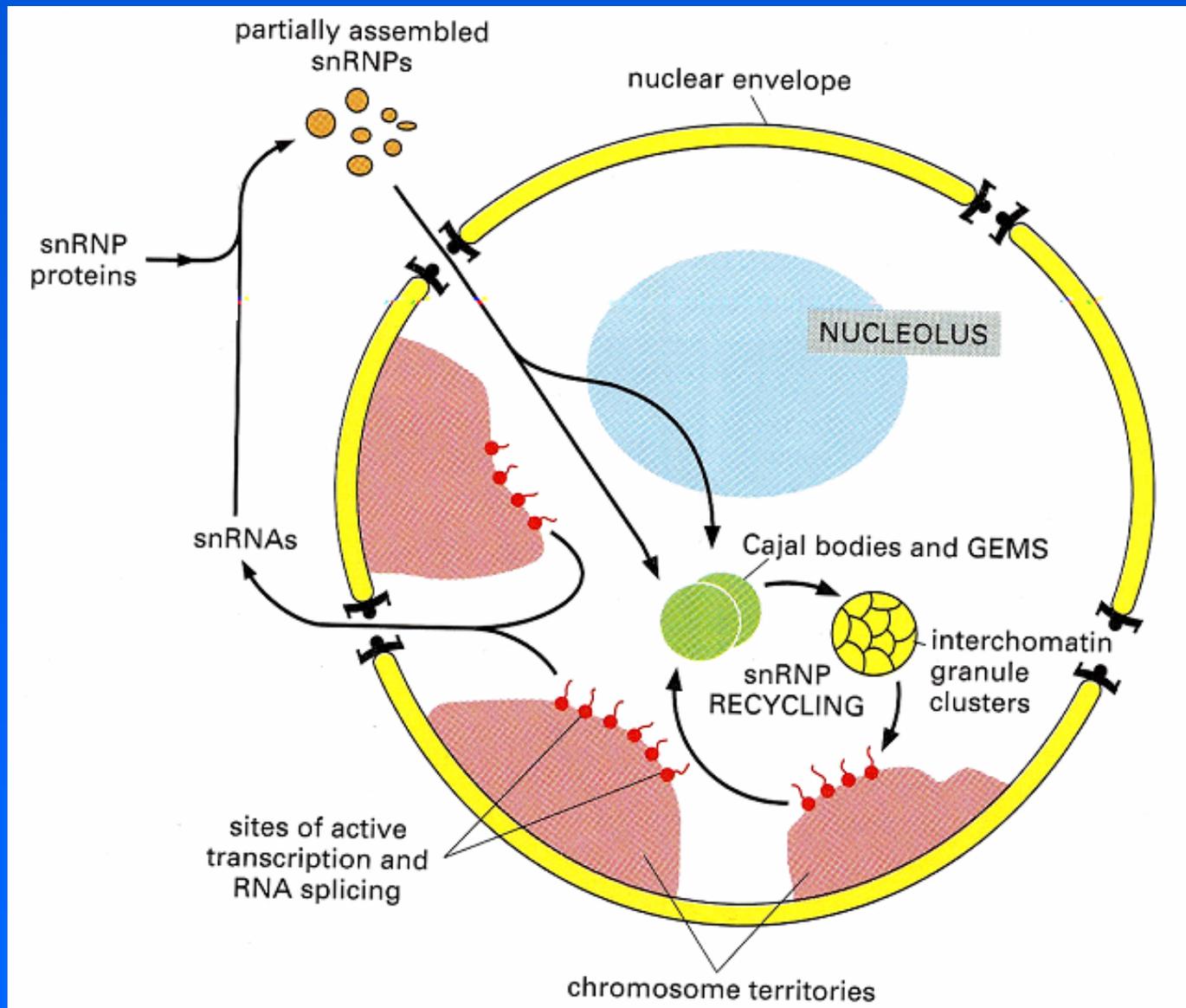


**ЭМ, оттенение металлом**

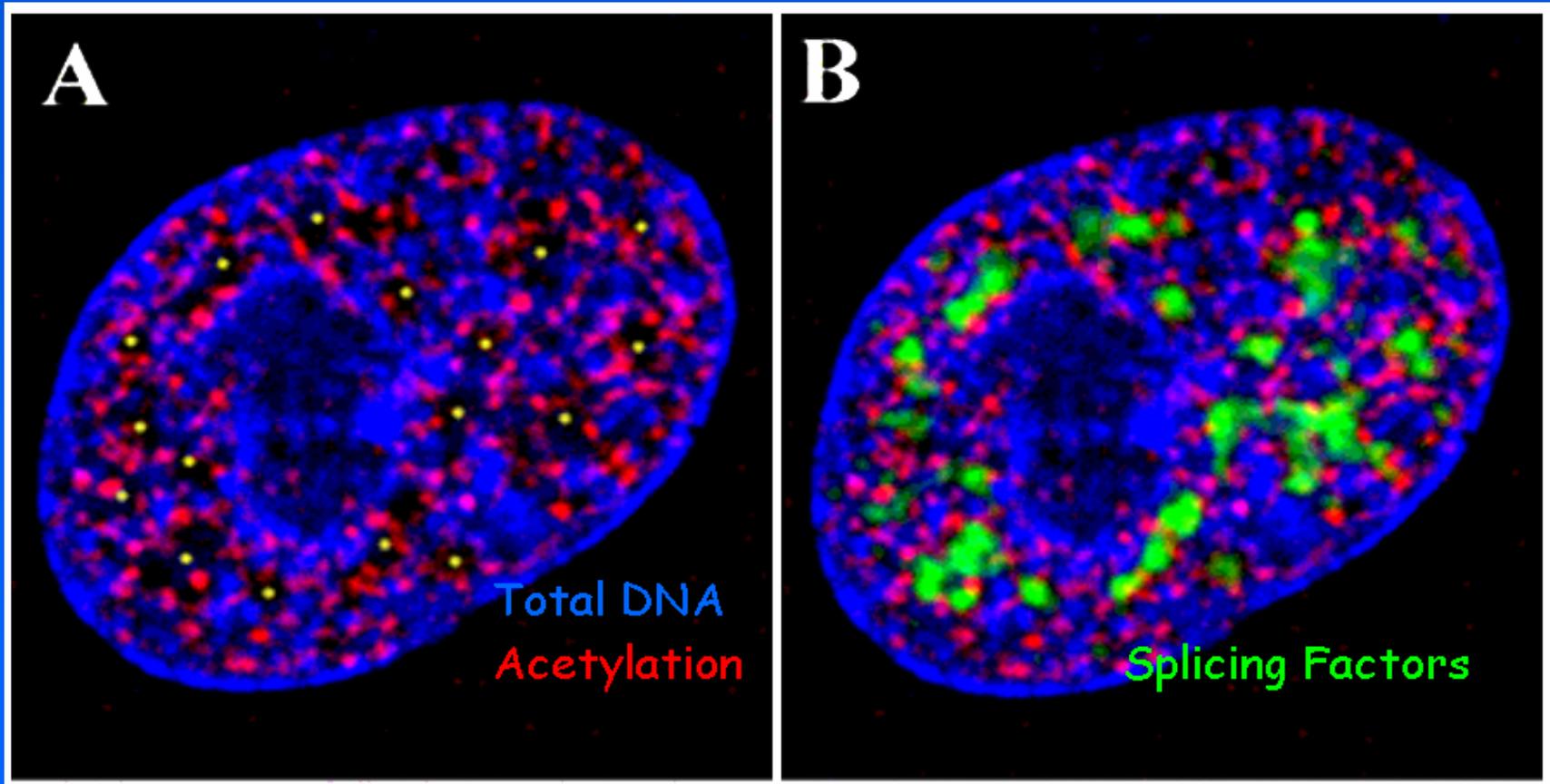
# Виды молекул РНК

1. информационные – свыше 10000 (РНК-полимераза II)
2. транспортные – 20 (РНК-полимераза III)
3. рибосомные – 4 (РНК-полимераза I для 28S, 18S, 5,8S и РНК-полимераза III для 5S)
4. малые – не менее 100 (РНК-полимеразы II и III)  
snRNA – малые ядерные, snoRNA – малые ядрышковые
5. микроРНК – не менее 100 (вероятно – РНК-полимераза II). Длина функционального участка – 21-23 нуклеотида.

# Цикл малых ядерных РНК



# Транскрипционные фабрики



**Комплекс нескольких РНК-полимераз II, факторов процессинга, сплайсинга и коррекции транскрипта.**

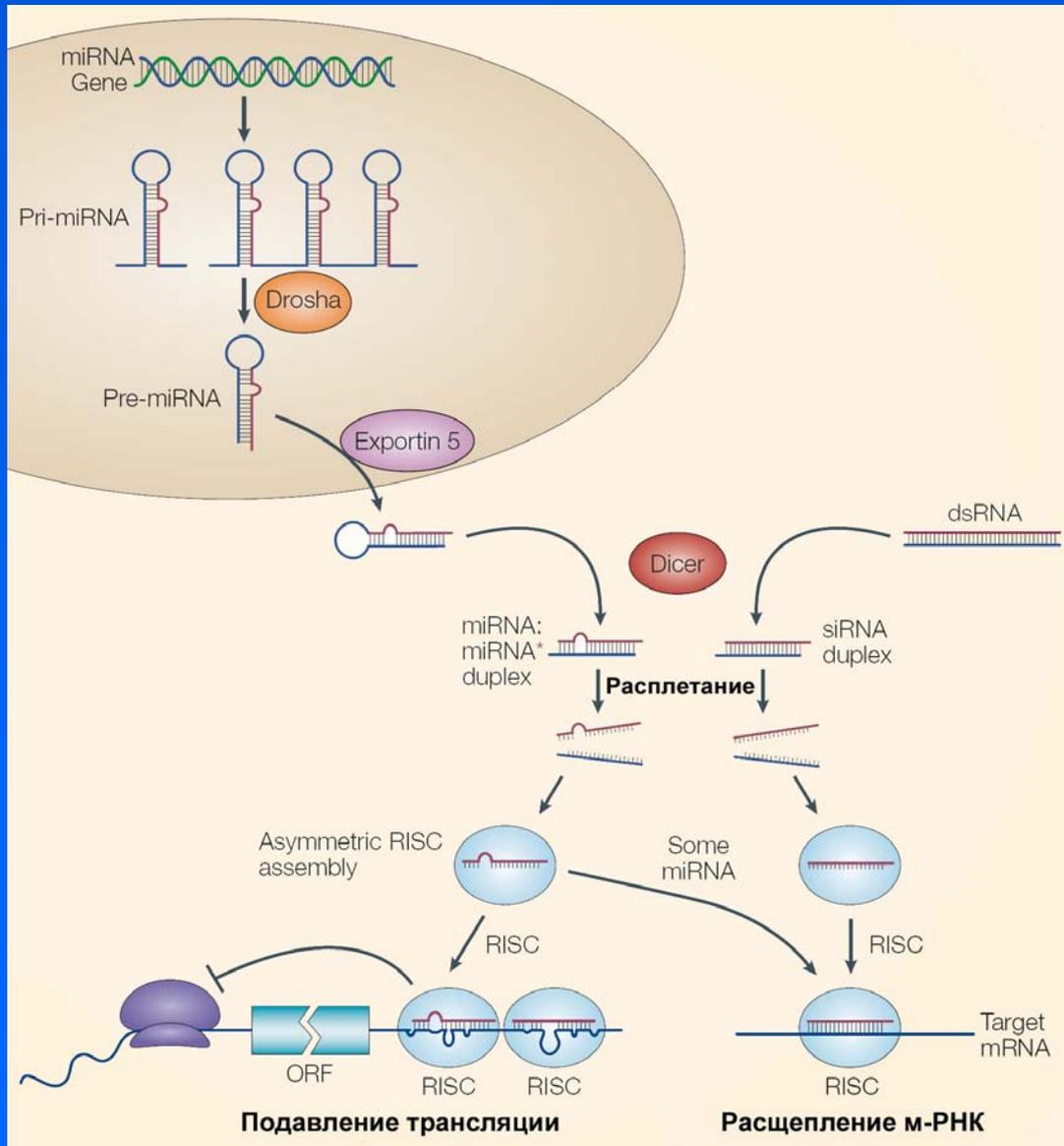
# Работа малых ядерных РНК

Непосредственная регуляция сплайсинга – формирование сплайсосомы.

Образование комплексов, регулирующих РНК-полимеразу II.

Регуляция транскрипционных факторов.

# Биогенез и работа микро-РНК



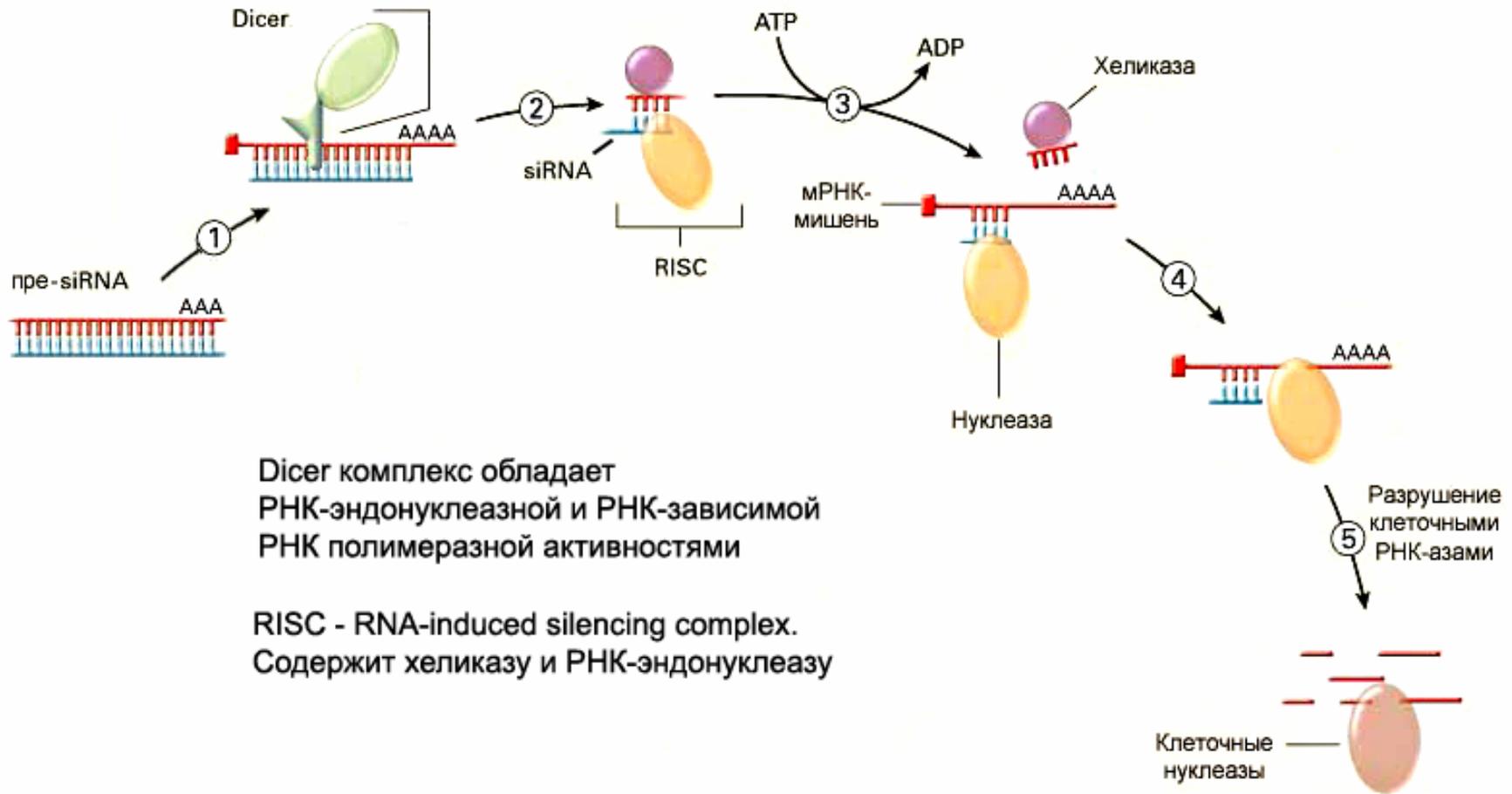
МикроРНК кодируются отдельными генами или находятся в интронах других генов.

Предшественники миРНК имеют длину до нескольких килобаз.

Сами миРНК неактивны – они работают только в составе комплекса RISC.

Одна миРНК может подавлять трансляцию нескольких генов.

# РНК-интерференция



Dicer комплекс обладает РНК-эндонуклеазной и РНК-зависимой РНК полимеразной активностями

RISC - RNA-induced silencing complex. Содержит хеликазу и РНК-эндонуклеазу

# Регуляция транскрипции у эукариот

Непосредственная регуляция – промоторы, взаимодействующие с факторами транскрипции. Малоспецифические белки в большом числе копий.

Удаленная регуляция – энхансеры.

Предполагаемый механизм – через петлевую организацию хроматина. В регуляции участвуют высокоспецифические белки, представленные в малом числе копий.

# Центральная догма молекулярной биологии

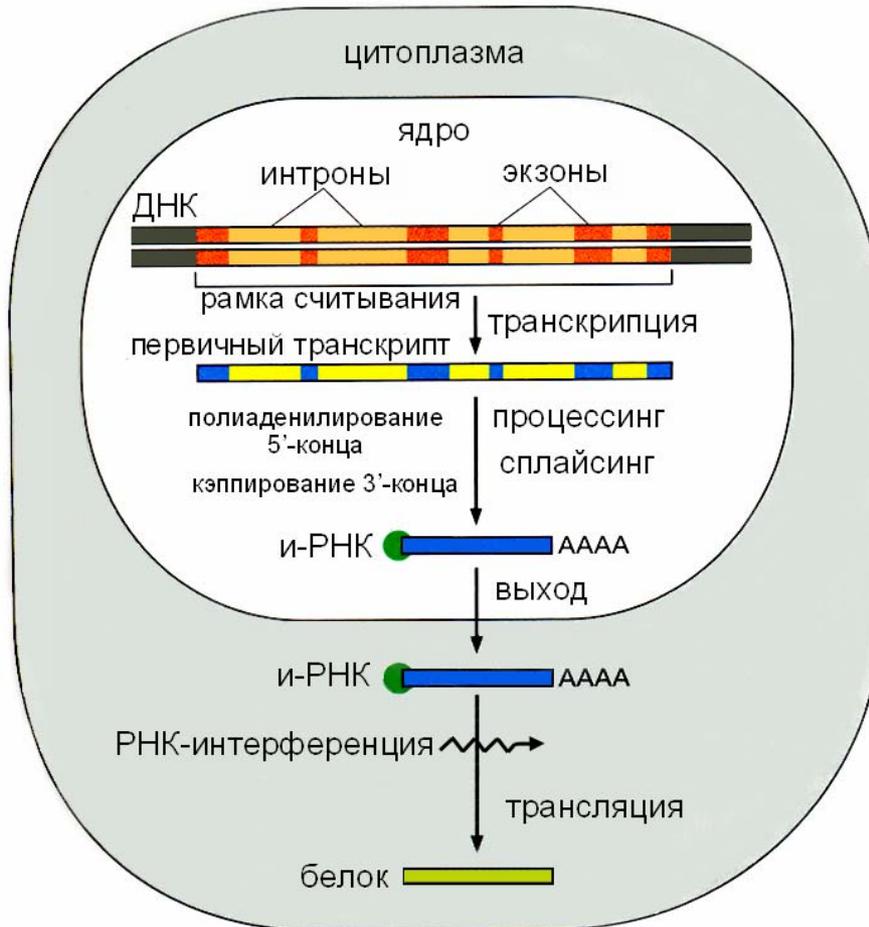
Передача информации в клетке  
однонаправлена:

**ДНК-РНК-белок**

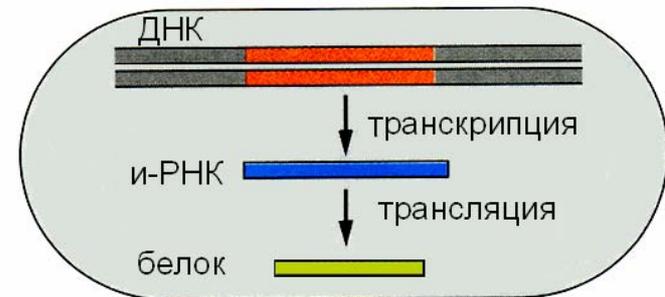
Обратная транскрипция:  
вновь синтезированная кДНК не  
сразу интегрируется в геном.

# ДНК-РНК-белок

## эукариоты



## прокариоты



# Регуляция экспрессии генов у эукариот:

На уровне энхансеров – эффект положения

На уровне транскрипции – промоторы, метилирование ДНК

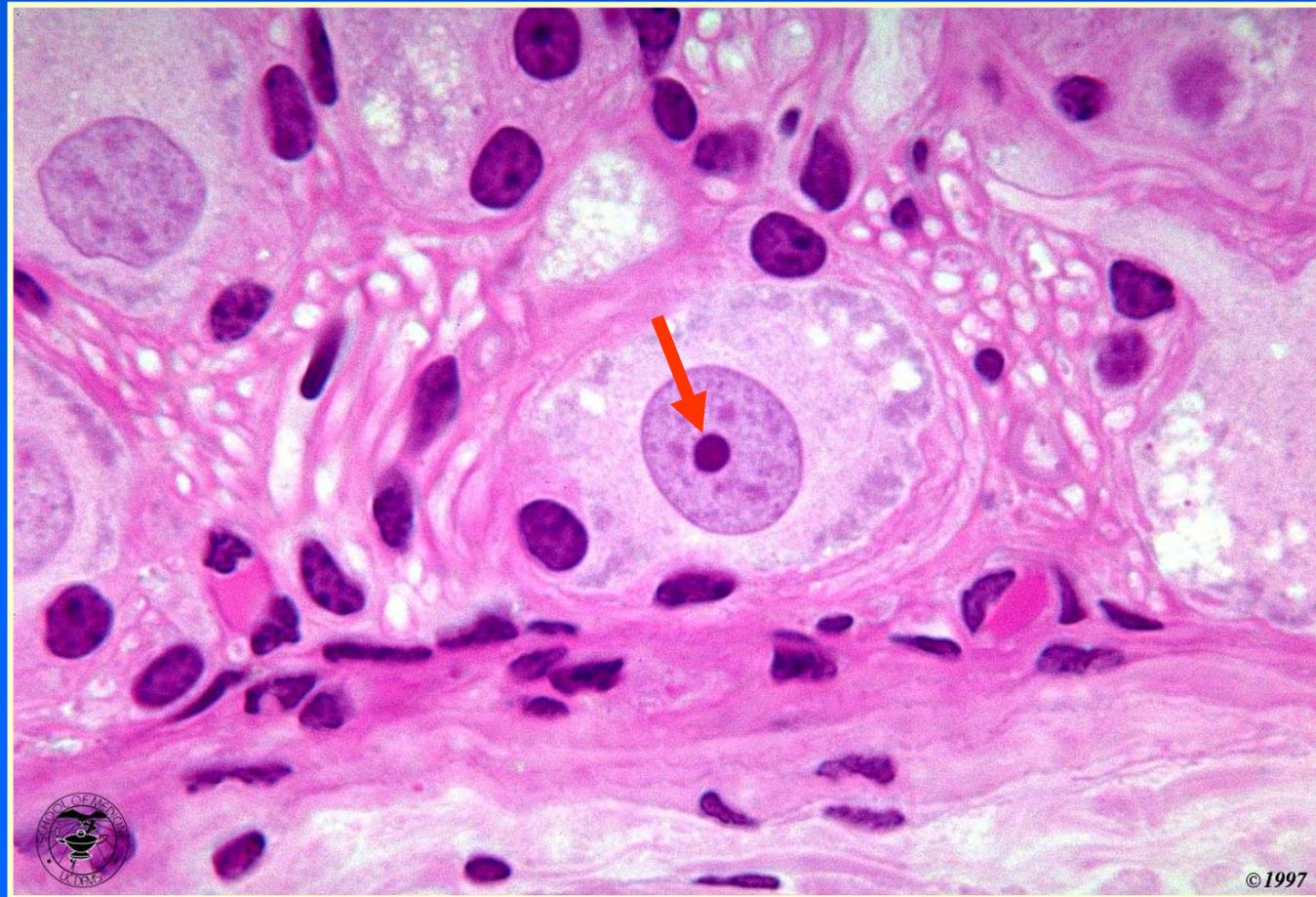
На уровне сплайсинга (альтернативный сплайсинг – удаление различных интронов)

Скорость деградации и-РНК (поли-А)

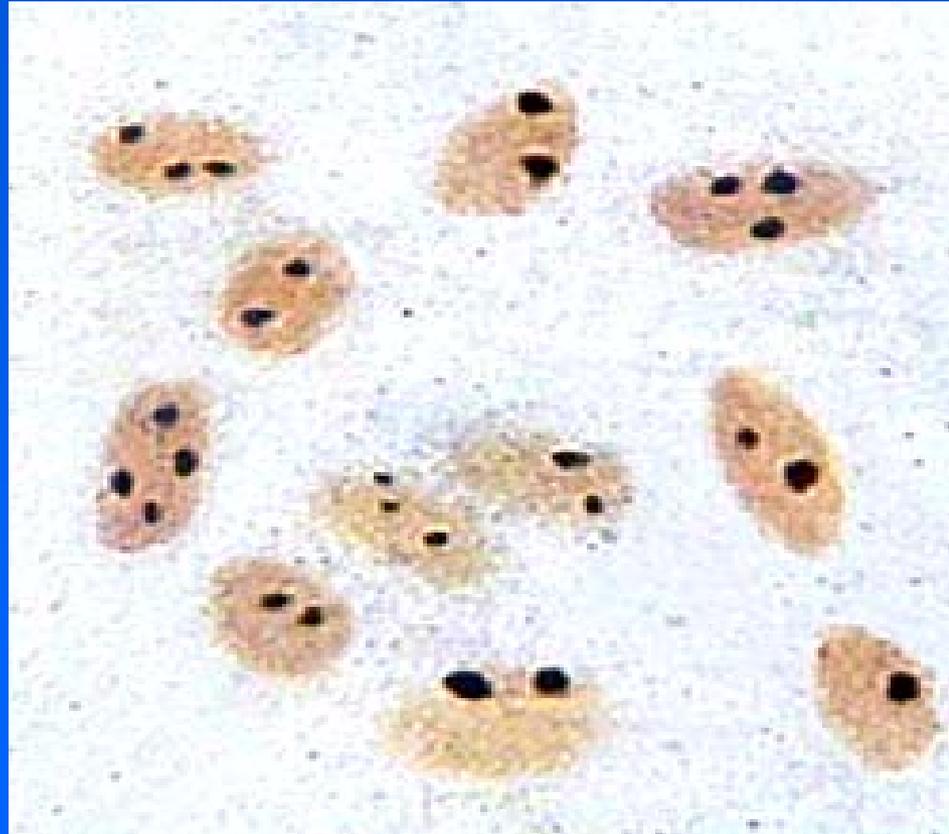
На уровне связывания и-РНК с рибосомами (интерференция с микро-РНК)

# Ядрышко – наиболее заметная структура клеточного ядра

- 1774-81 - первое описание ядрышка (Fontana)
- 1836 - предложен термин "ядрышко" (G.Valentin)

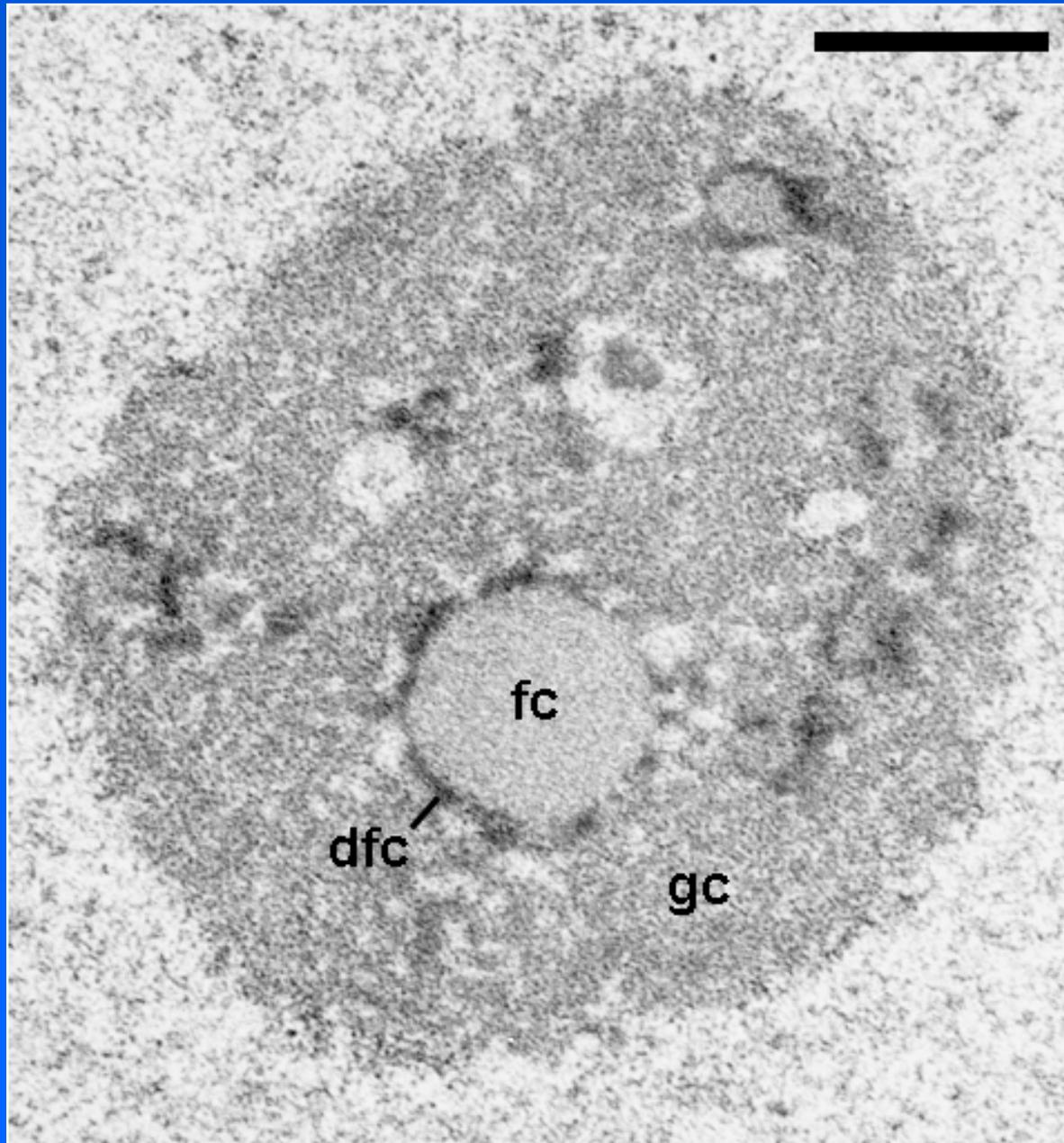


# Серебрение ядрышек



Число и размер ядрышек в клетках непостоянны

# Ультраструктура ядрышка



# Компоненты ядрышка

Фибриллярный центр – низкая электронная плотность, вероятно, содержит рДНК

Плотный фибриллярный компонент – фибриллы толщиной 5-7 нм (РНП)

Гранулярный компонент – гранулы (РНП и белки) диаметром около 15 нм

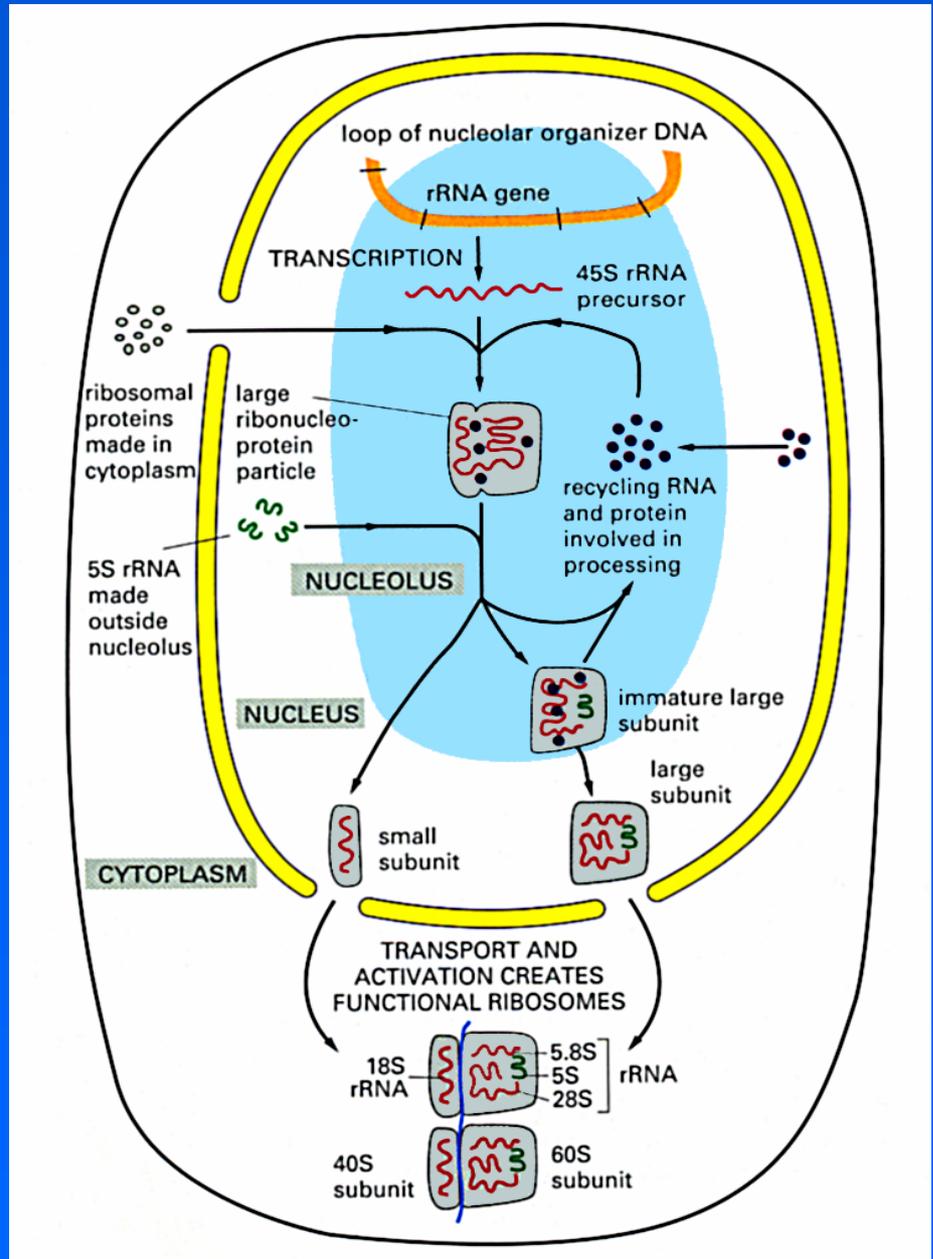
# **Химический состав ядрышка**

**ДНК – 2 – 12% (из них рДНК – не более 2%)**

**РНК – 5 – 14% (транскрипты рРНК на разных стадиях созревания, малые ядрышковые РНК)**

**Белки – 70 – 80%. Идентифицировано более 300 белков. Гистоновые белки, белки рибосом и др.**

# Схема работы ядрышка



# Основные характеристики ядрышка

Включение предшественников РНК – постоянно. Транскрипция пре-рРНК – 5-10 мин. Переход РНК из фибриллярного компонента в гранулярный занимает около 20 мин. Созревание и выход рибосомы в цитоплазму – 20-60 мин.

45S РНК – длина 5,2 мкм; 80S частица РНП – прерибосома.

Продуктивность ядрышка – 1000 рибосом в секунду.

Число генов 45S РНК – 100-5000; 5S РНК – 200-10000

За клеточный цикл образуется  $\sim 10^7$  рибосом.

# Динамика белков ядрышка

