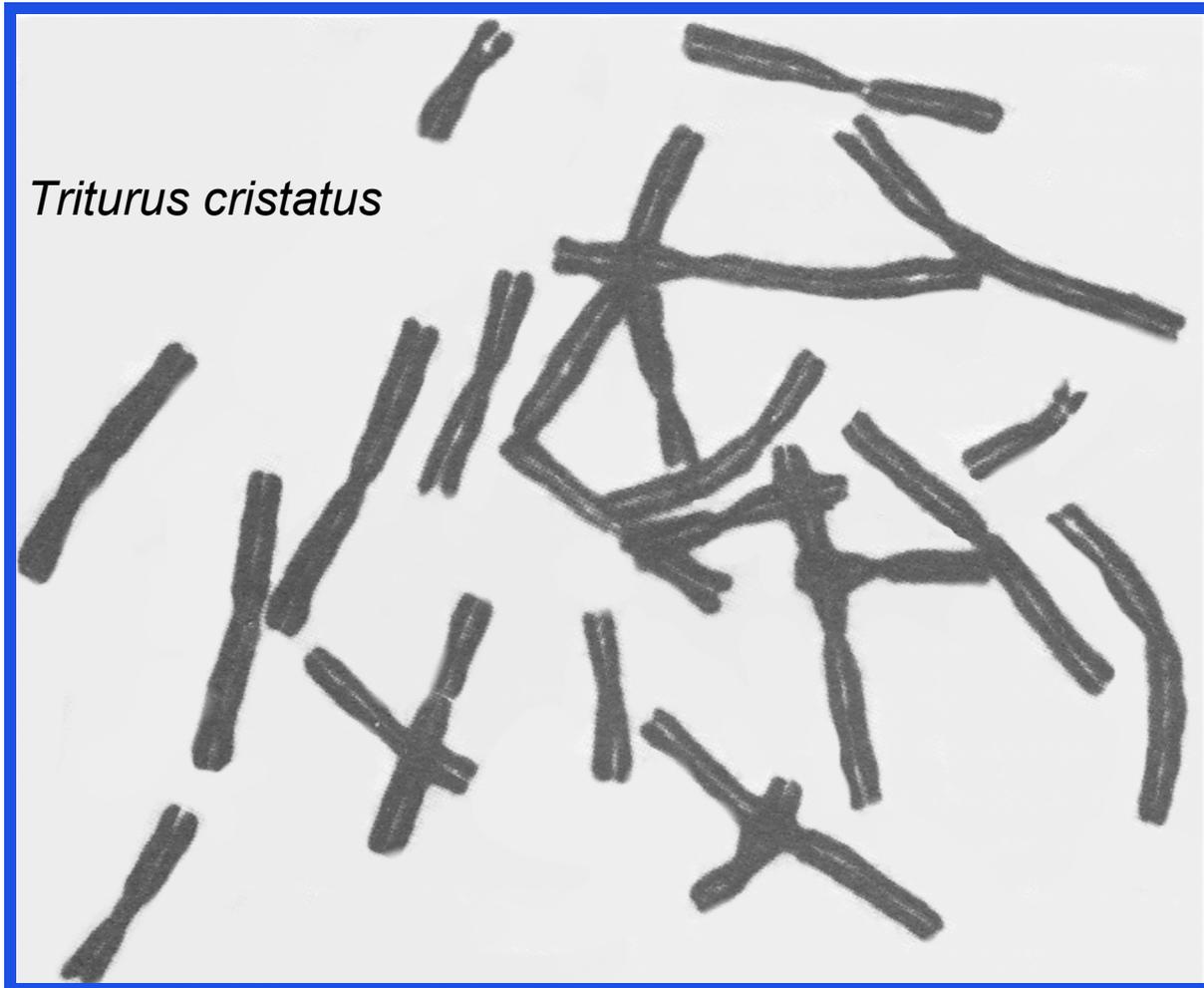


Тема 4. 2. Интерфазное ядро. Хроматин

Виды могут различаться по содержанию ДНК

Homo sapiens

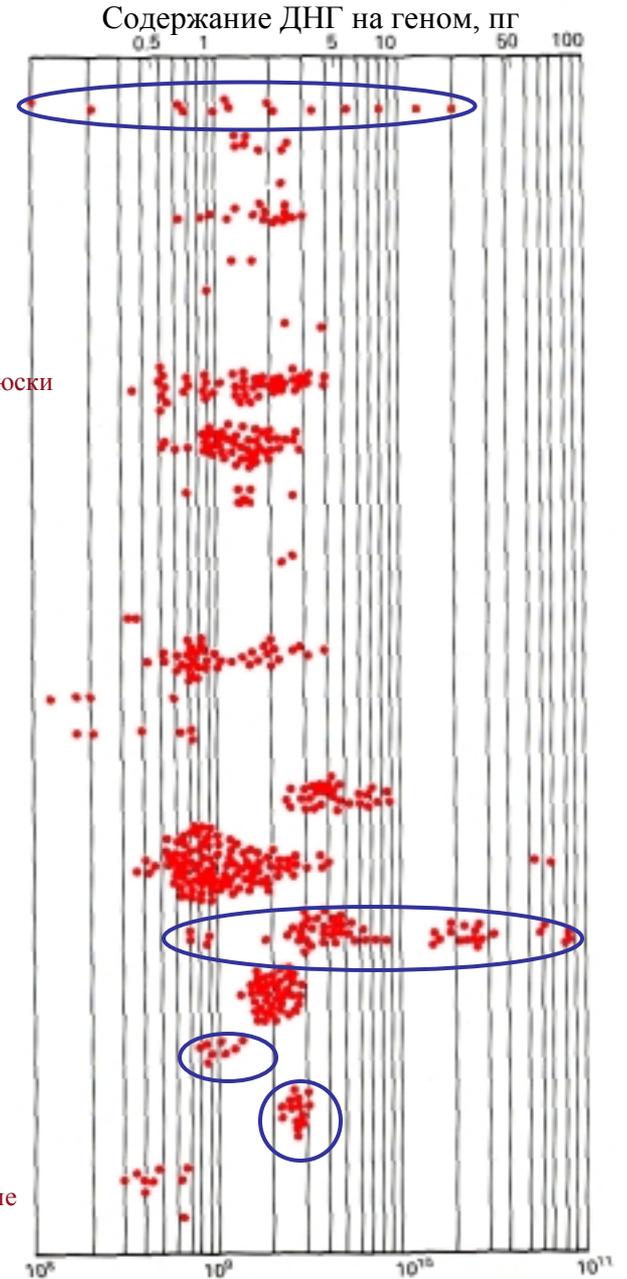
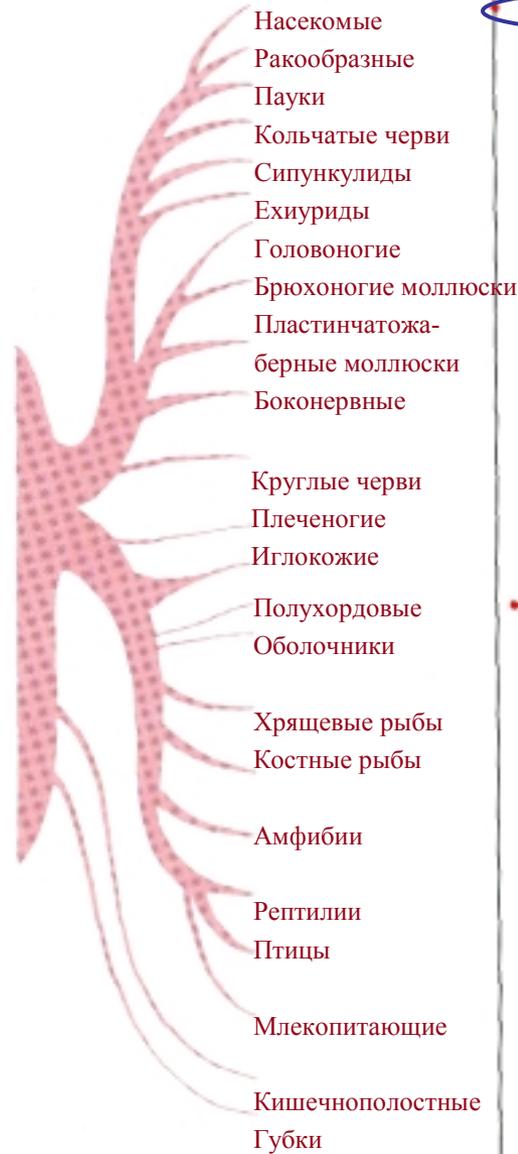


*Drosophila
melanogaster*



30 мкм

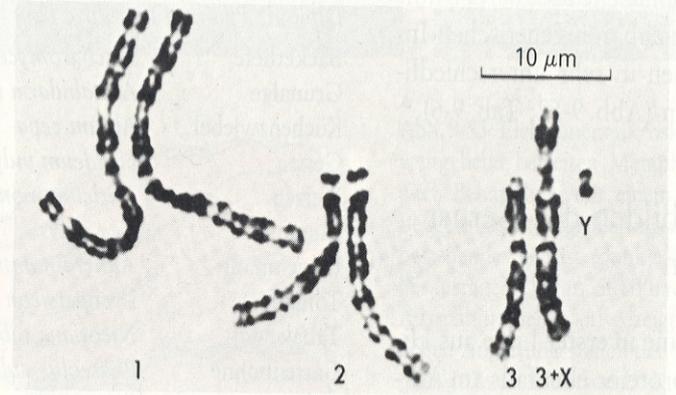
Содержание ДНК в гаплоидном наборе (с), пг



Оленьки:

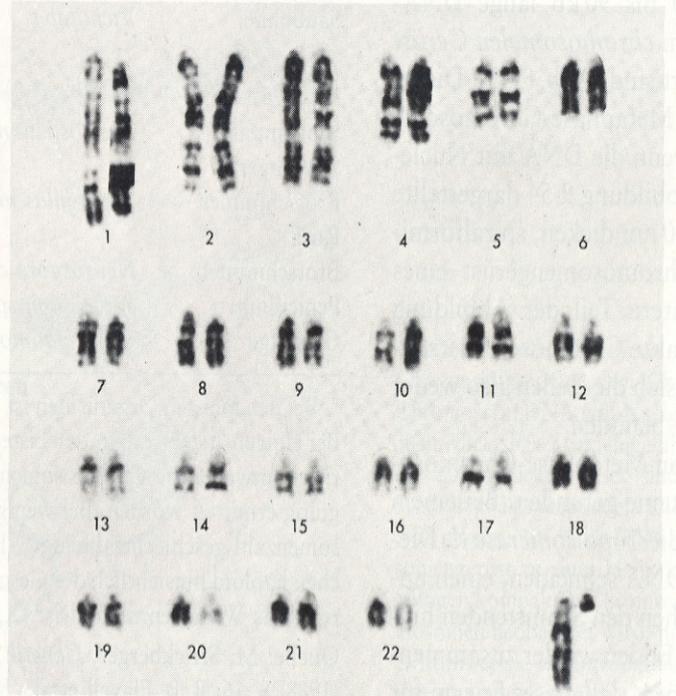
*Muntiakus
munrjak
vaginalis*

$2n=7$



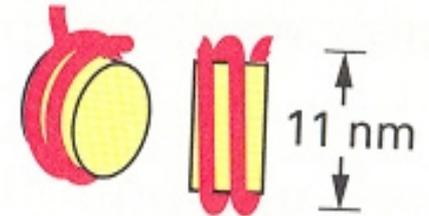
Muntiakus sp.

$2n=46$



Уровни упаковки ДНК

ДНК



1. Нуклеосомный «бусины на нитке»

Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4

Коровая частица:



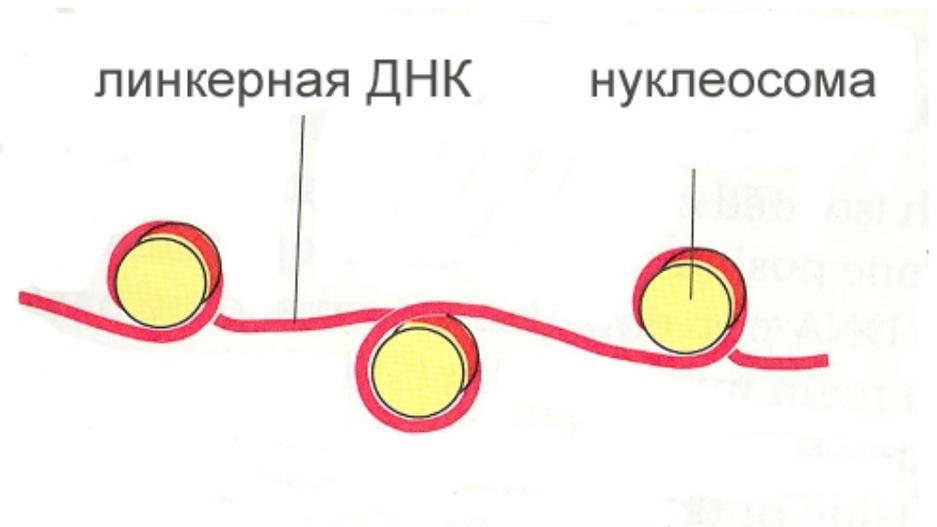
H2a + H2b



2 x (H3 + H4)

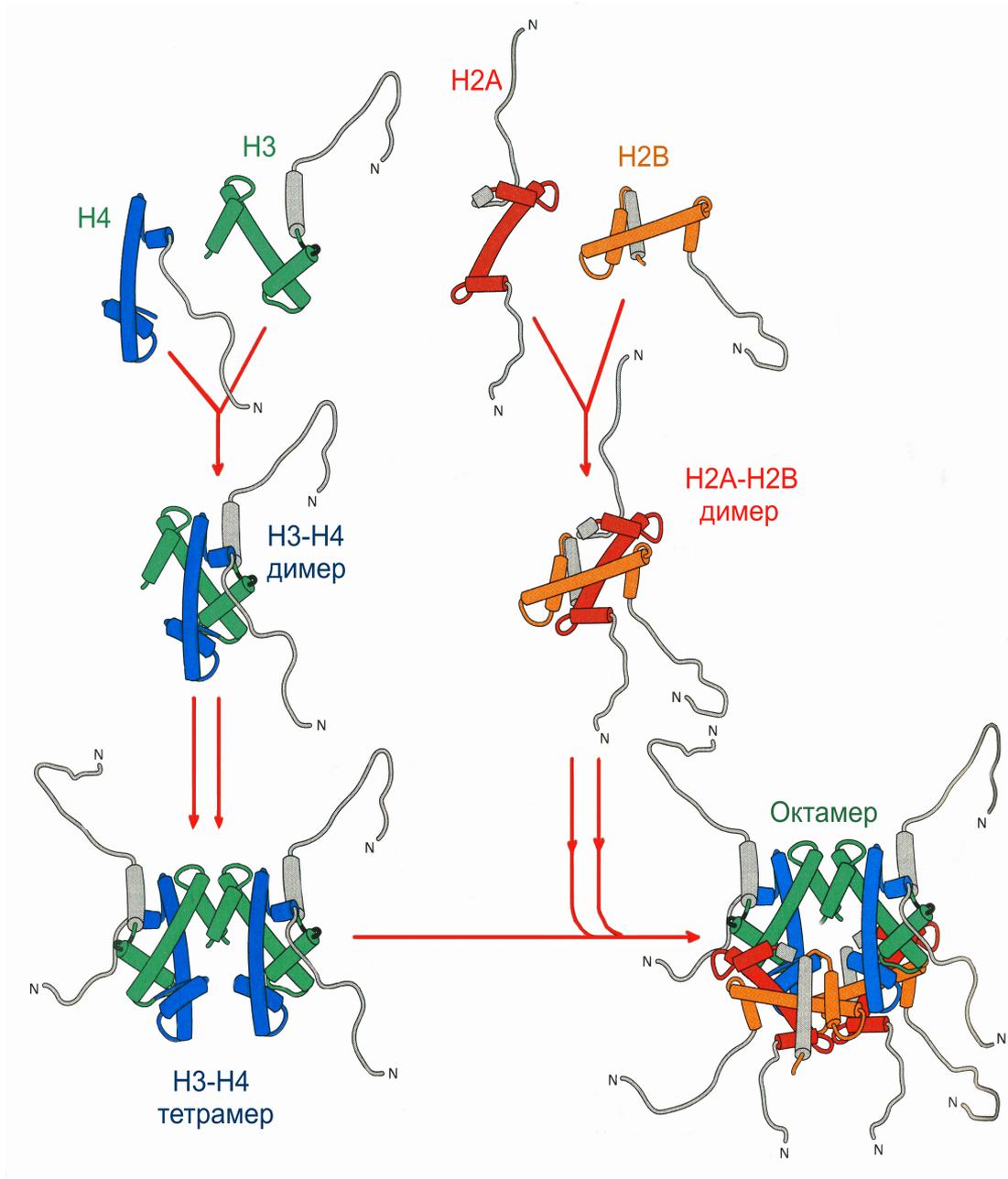


H2a + H2b



Укорочение в 2.4 раза

**Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4**



Уровни упаковки ДНК

1. Нуклеосомный «бусины на нитке»

Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4

Коровая частица:



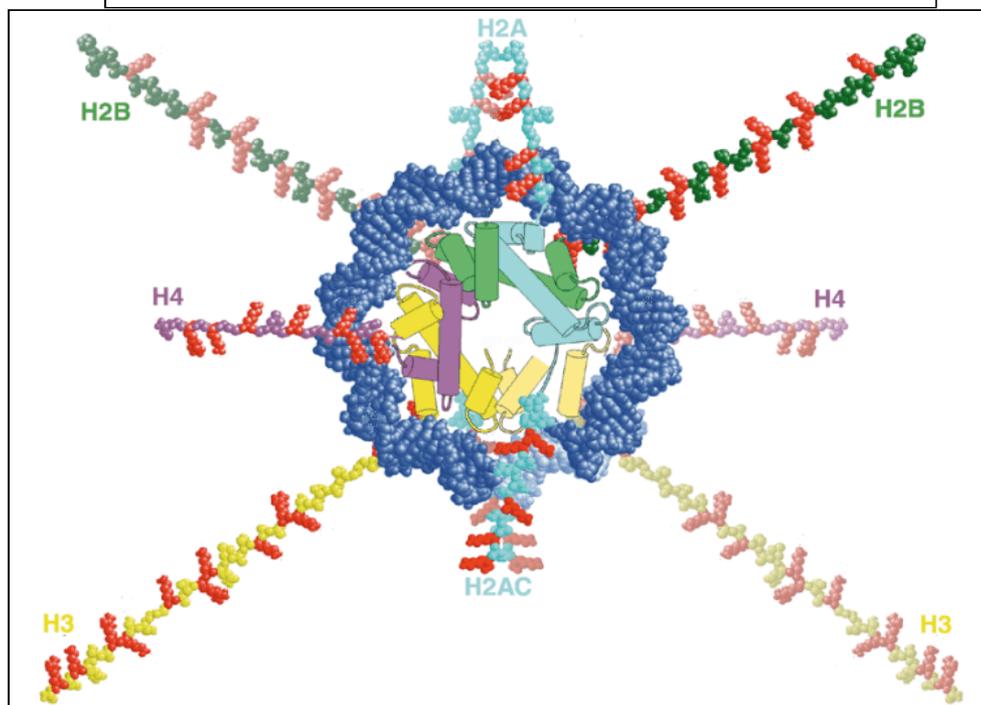
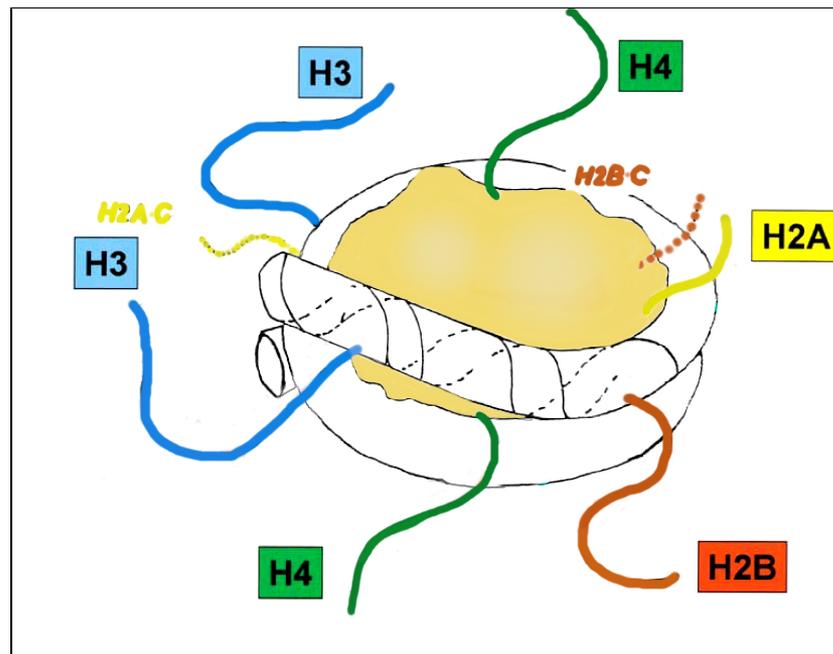
H2a + H2b

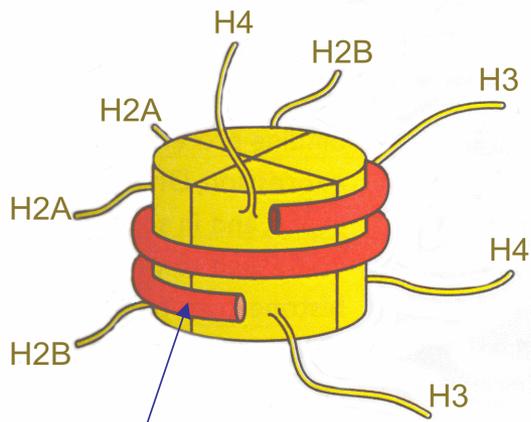


2 x (H3 + H4)

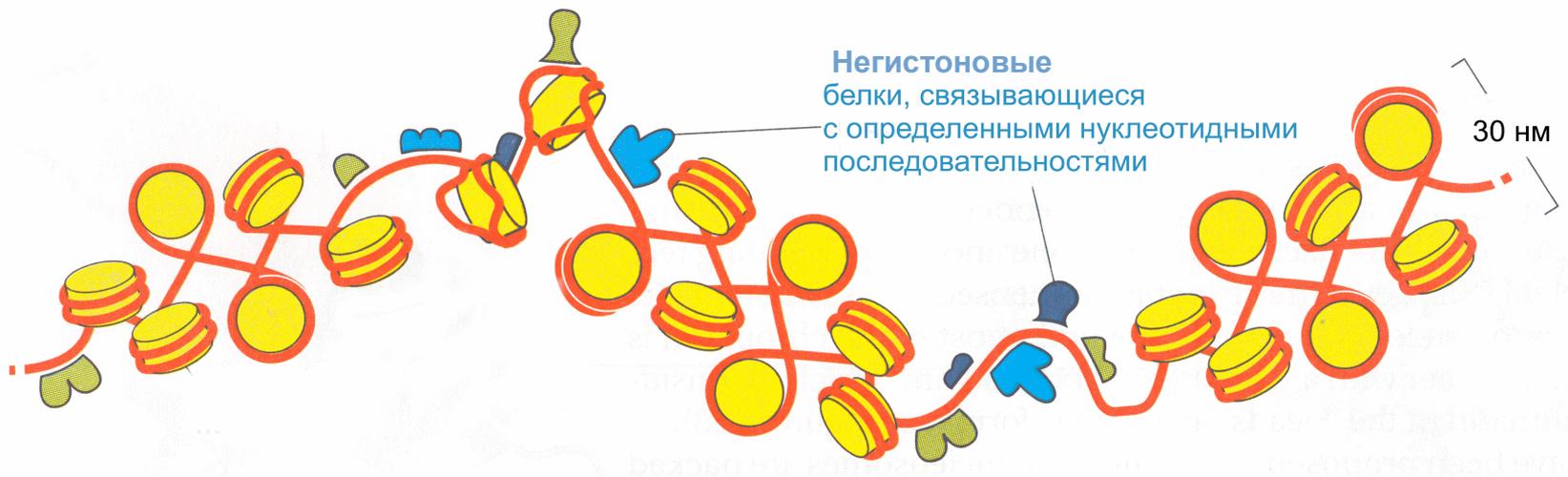
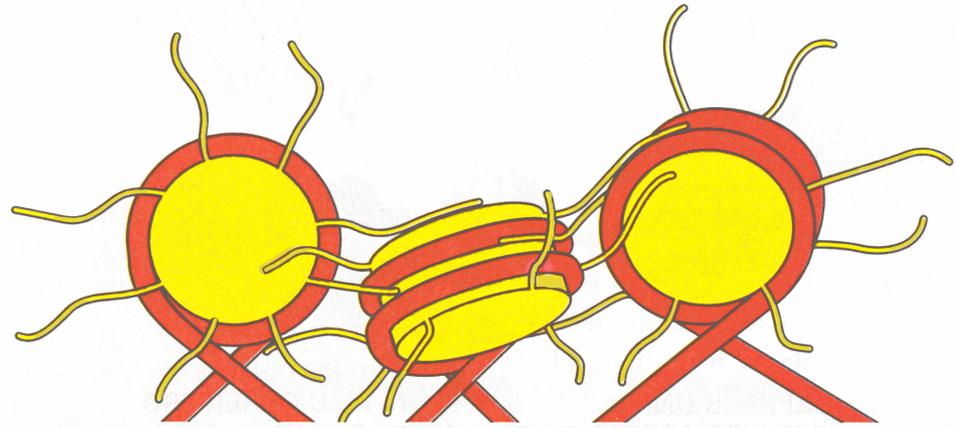


H2a + H2b





**Участок ДНК
длиной 146 (147) н.п.**



Хроматин. Уровни упаковки ДНК

ДНК

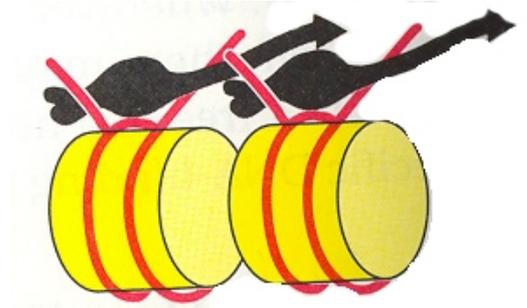


1. Нуклеосомный

Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4

2. Хроматиновая фибрилла

Гистон H1



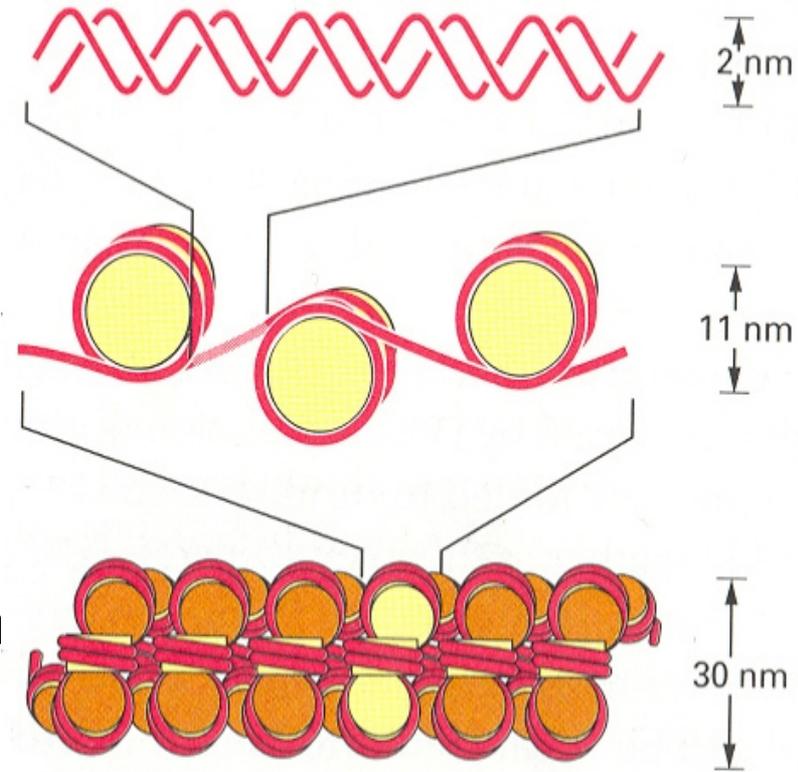
ДНК

1. Нуклеосомный

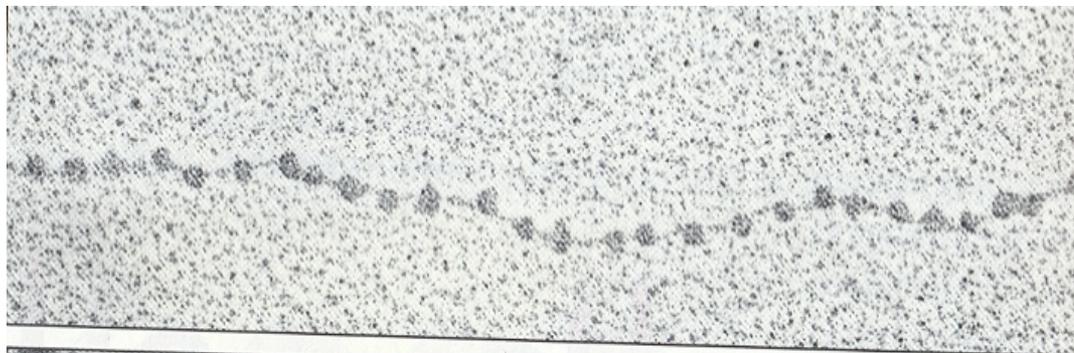
Белки-гистоны:
H2A, H2B, H3, H4

2. Хроматиновая фибрилла

Гистон H1



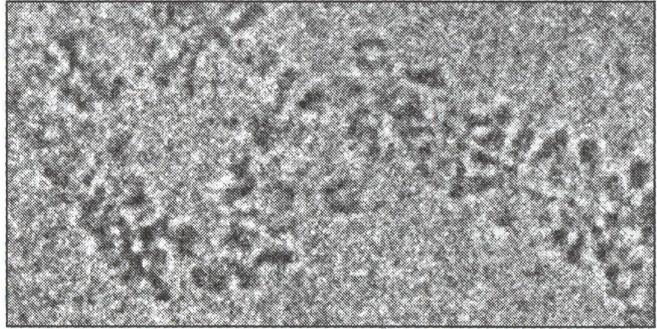
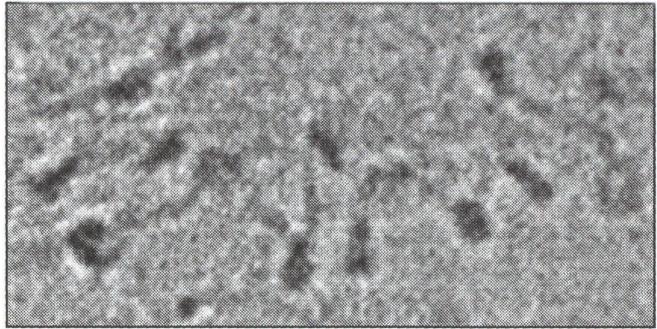
Укорочение еще в 17 раз



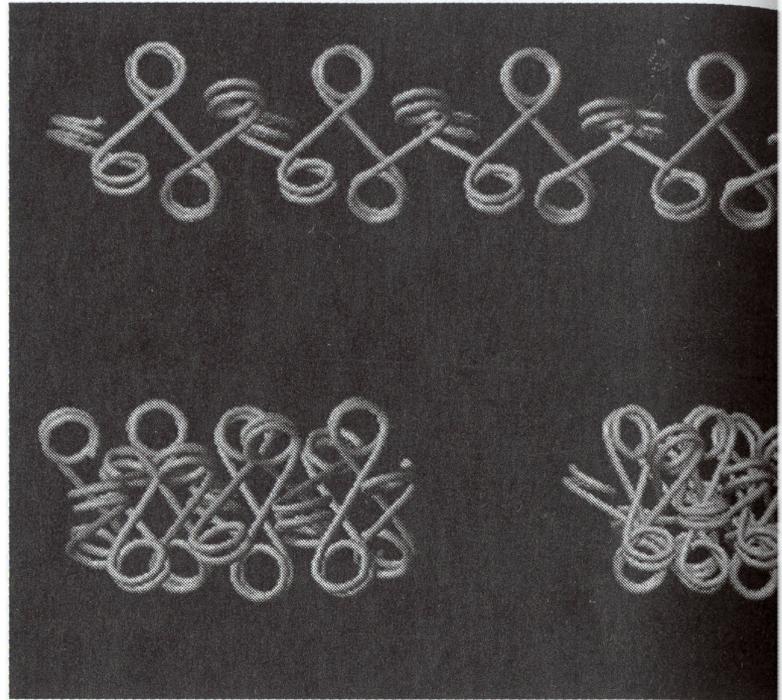
1 уровень



2 уровень



50 нм



Модель образования хроматиновой фибриллы

3. Хромомерно- петлевой уровень

Негистоновые белки

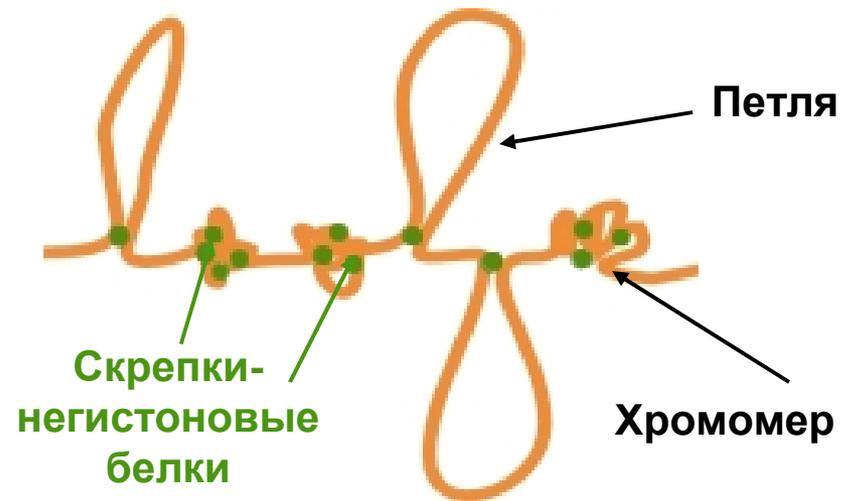
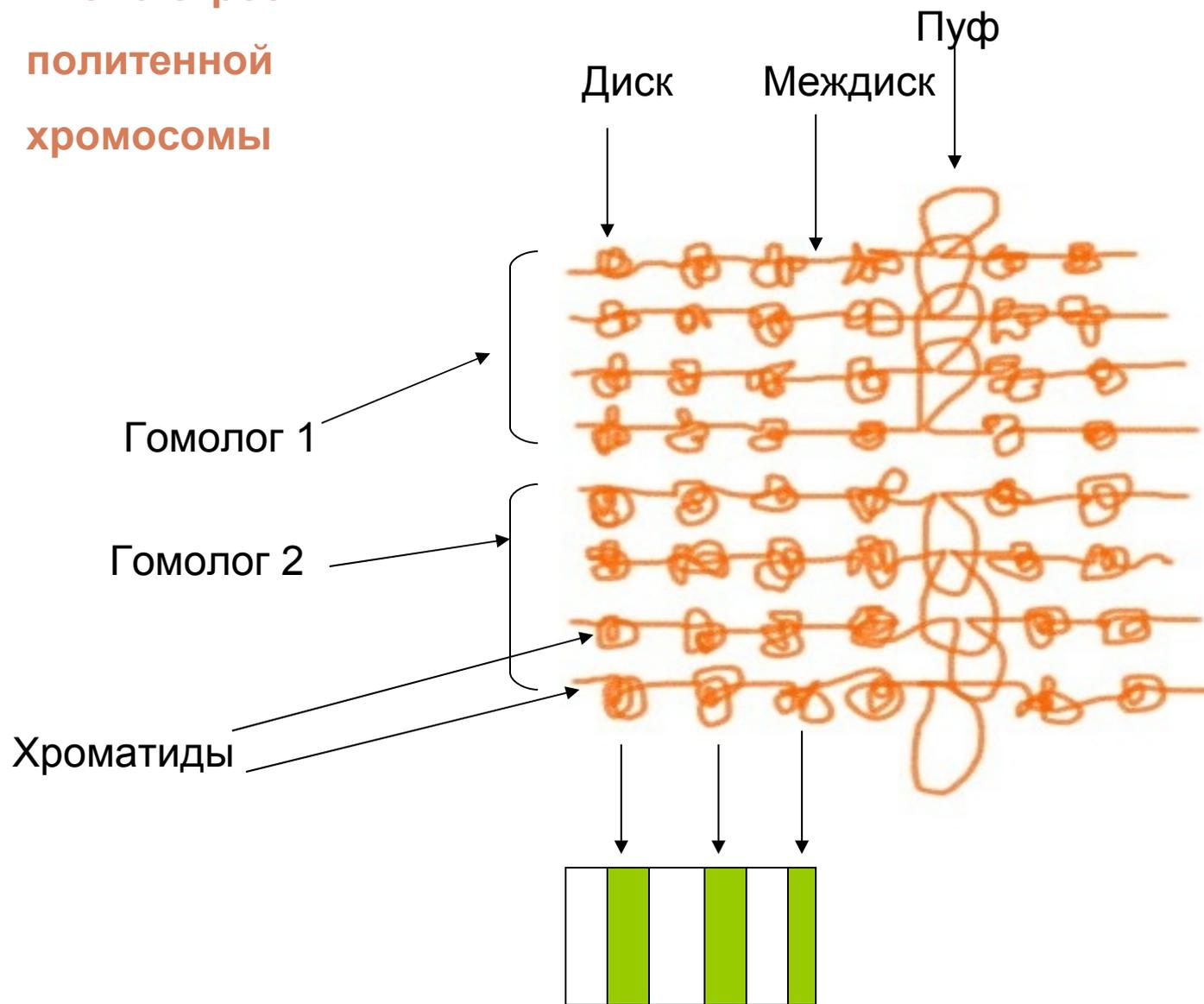
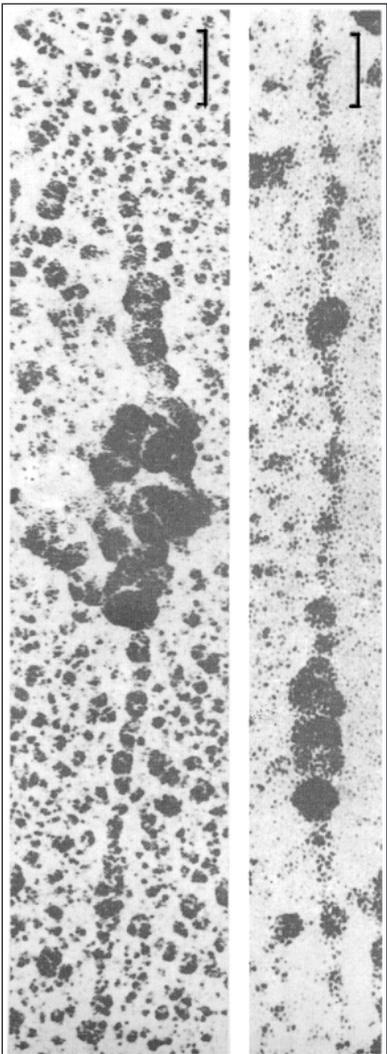
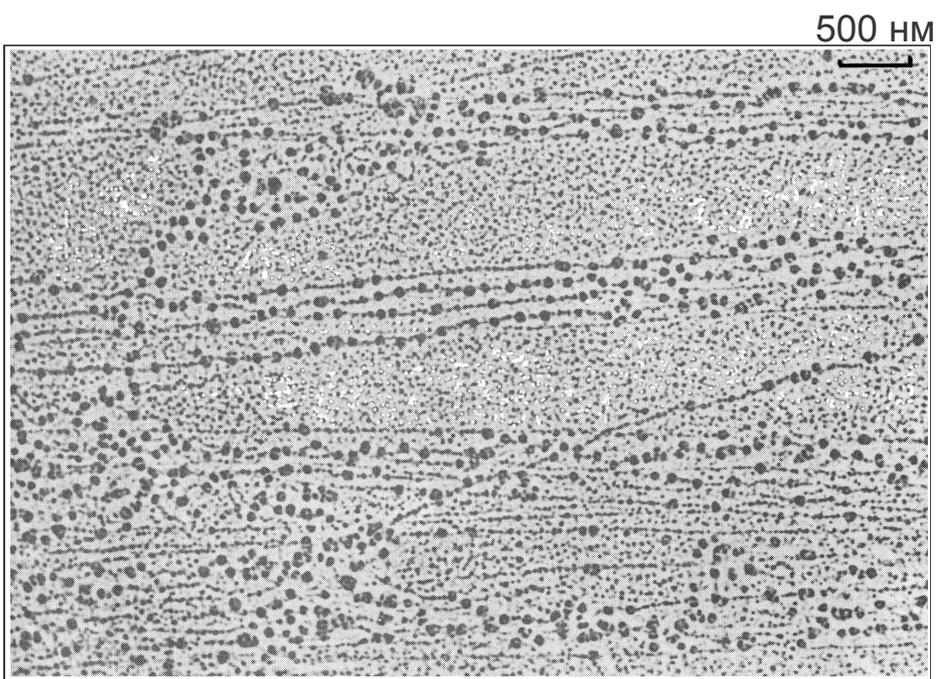
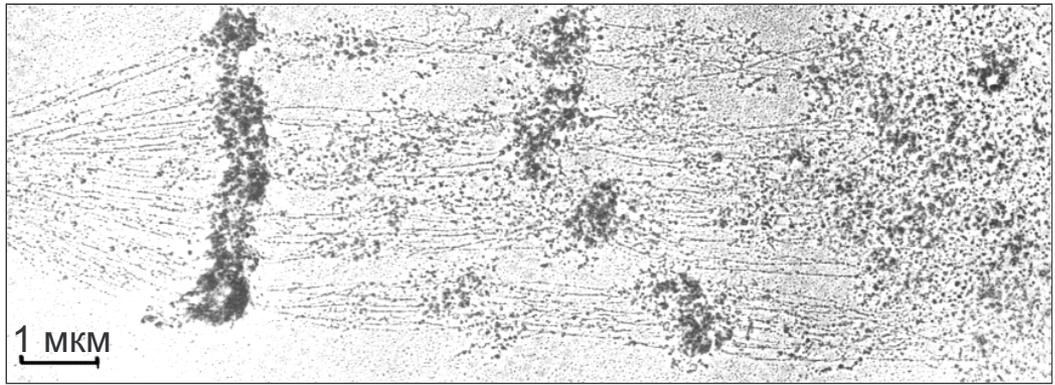
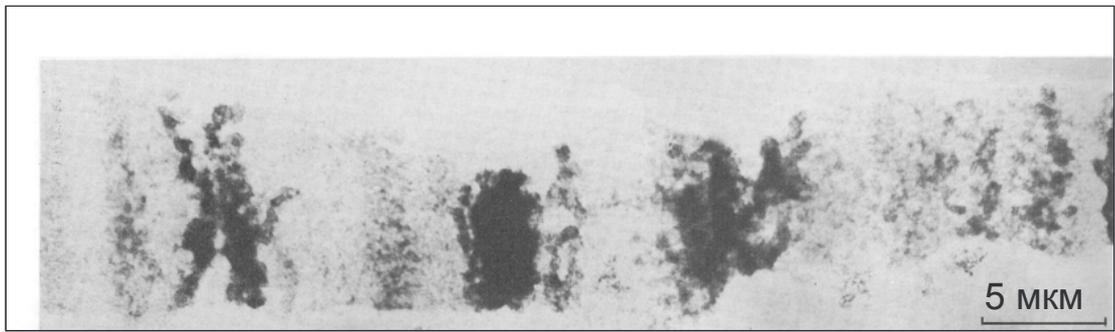


Схема строения политенной хромосомы



Политенные
хромосомы
Chironomus'а

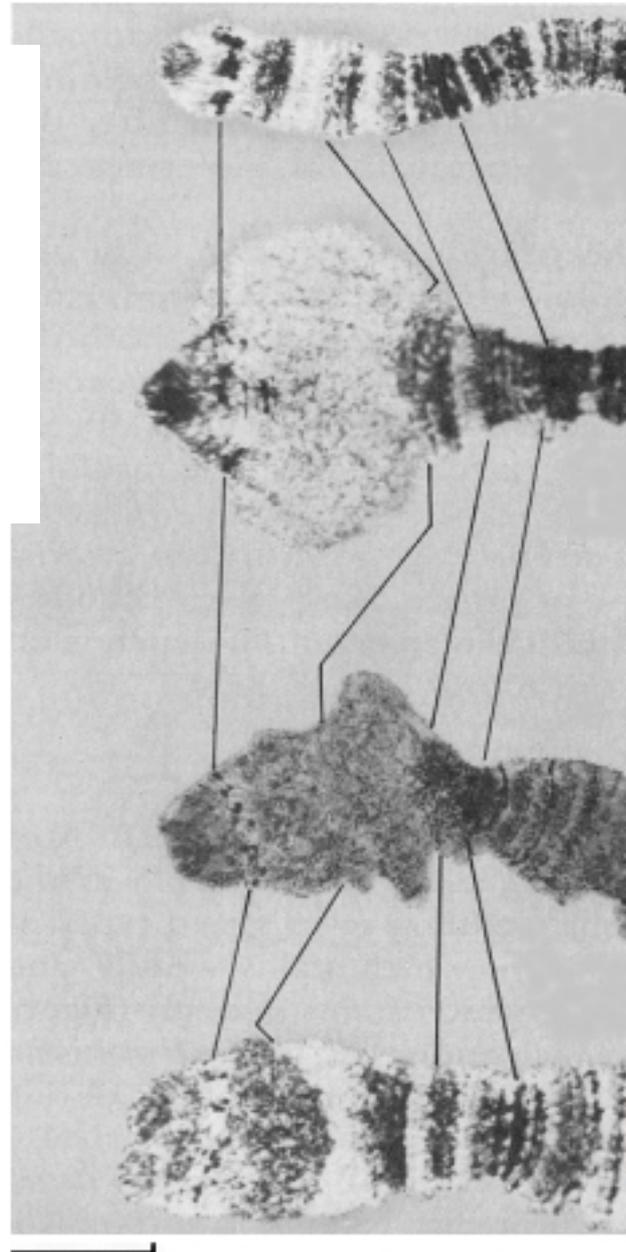




Обработанные специальным образом участки политенных хромосом *D. melanogaster*, при разном увеличении электронного микроскопа

**Политенные
хромосомы**

**Диски
превращаются в
пуфы, пуфы – в
диски**



До пуфинга

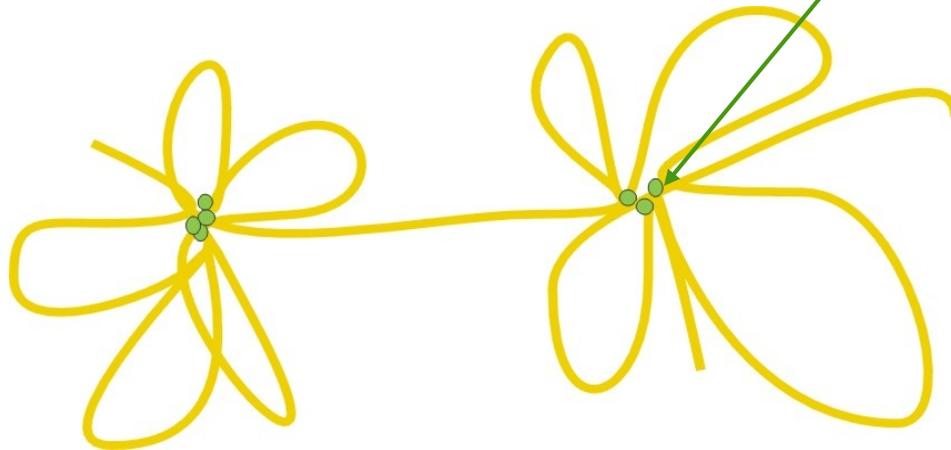
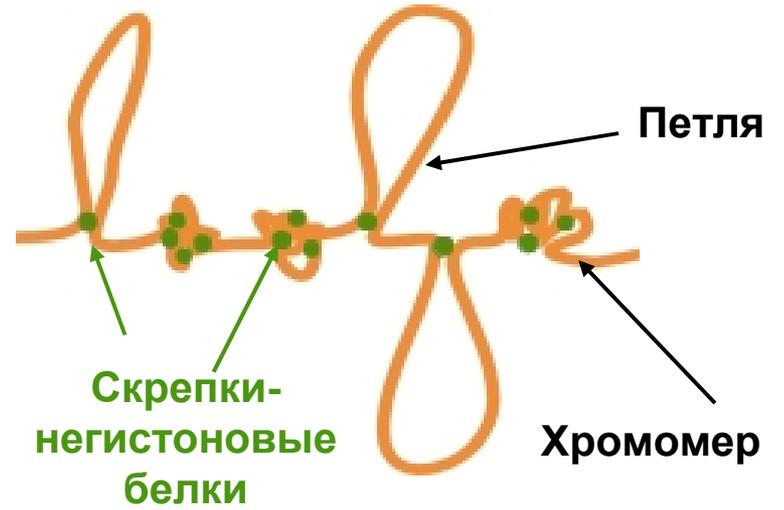
Первый пуф

Второй пуф

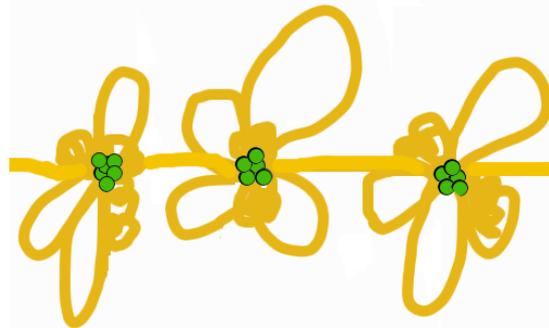
Исчезновение пуфов

Уровни упаковки ДНК

3. Хромомерно-петлевой Негистоновые белки

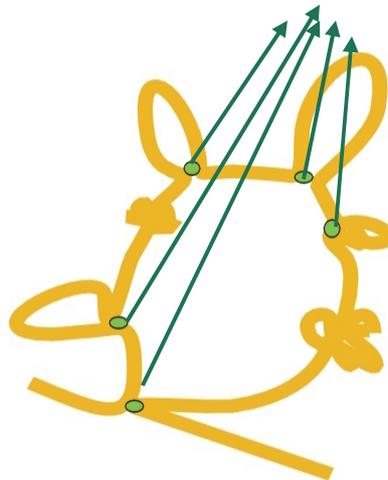


3. Хромомерно-петлевой уровень упаковки ДНК



Розетка - петля G-полосы

Соединить белки в основании нескольких близлежащих петель

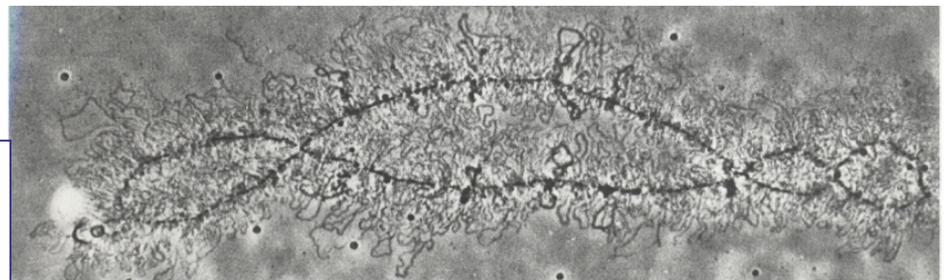


Удалить белок в основании петли второго порядка

Хроматида в составе политенной хромосомы

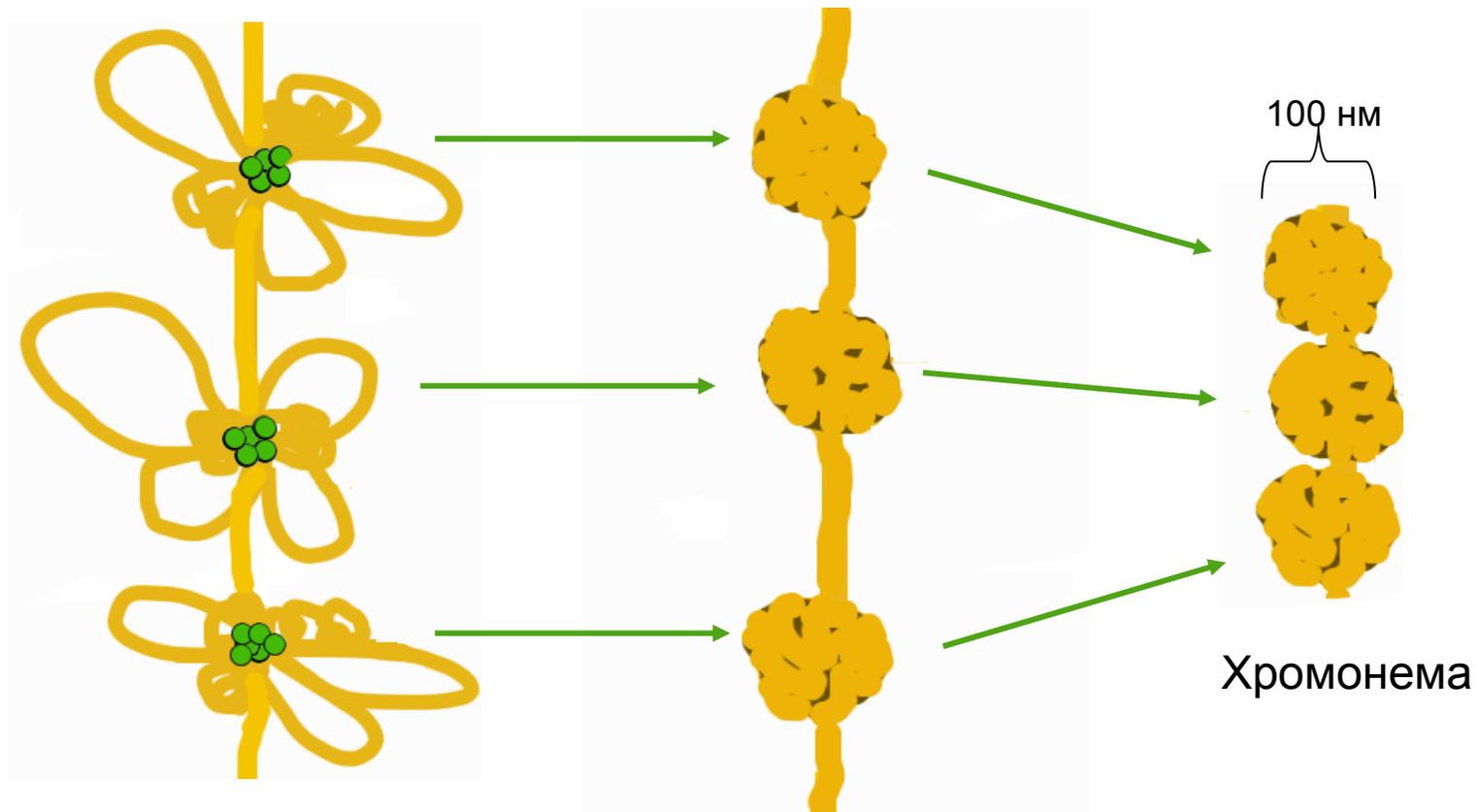
Удалить белки в основании петель первого порядка

«Ламповые щетки» в ооцитах амфибии.



3. Хромомерно-петлевой уровень упаковки ДНК

4. Хромонемный уровень упаковки ДНК



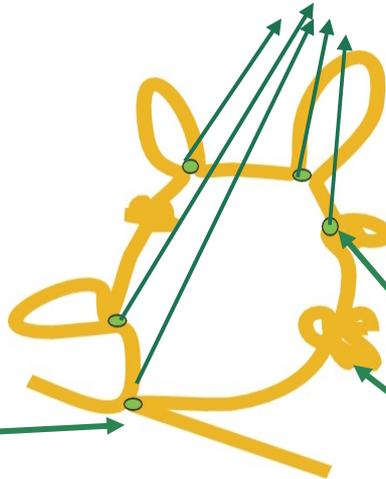
Розетка-петля G-полосы

Соединить все белки
в основании петель
первого порядка

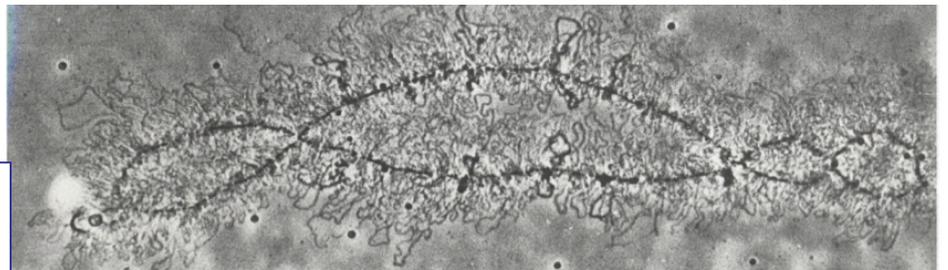
Удалить белок в
основании петли
второго порядка

Хроматида в составе
политенной хромосомы

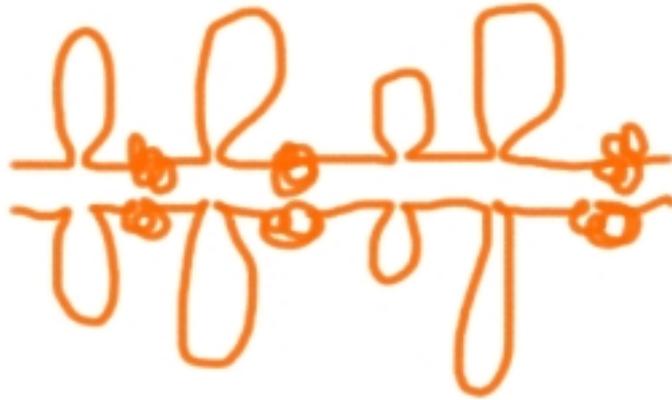
Удалить белки
в основании
петель первого порядка



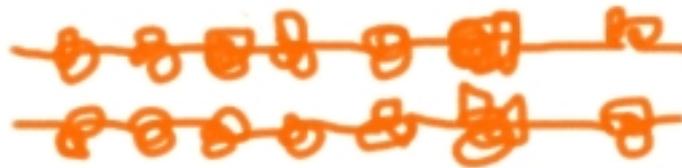
«Ламповые щетки» в ооцитах



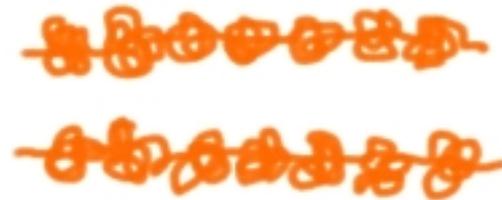
5 уровень упаковки ДНК – метафазная хромосома



Конденсация в профазную хромосому:

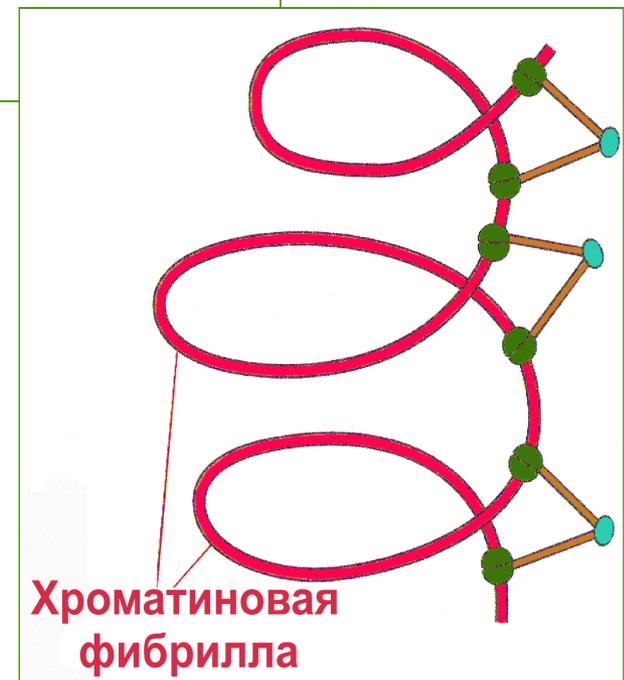
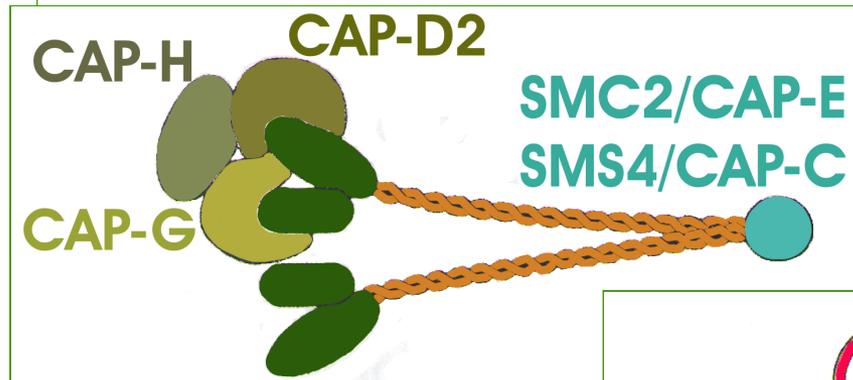
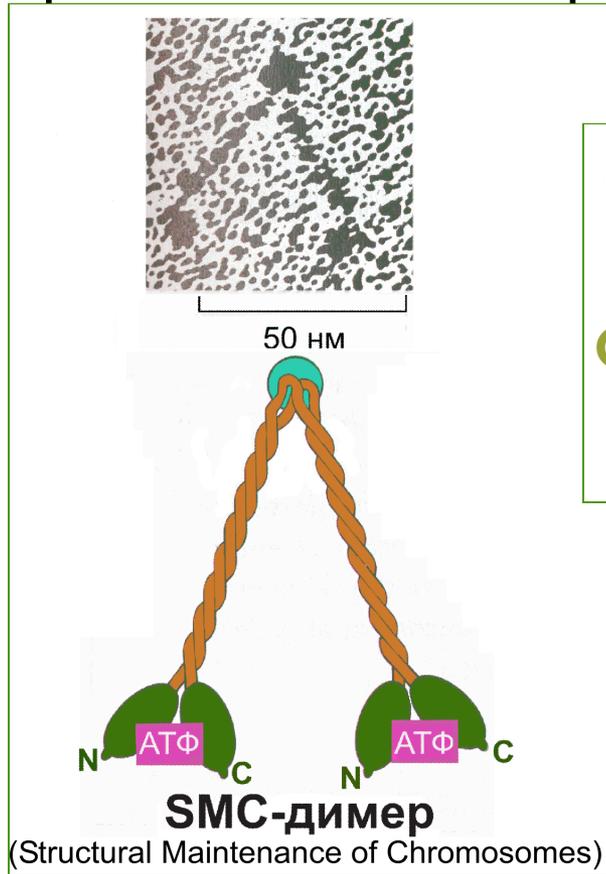


Компактизация петель в хромомеры

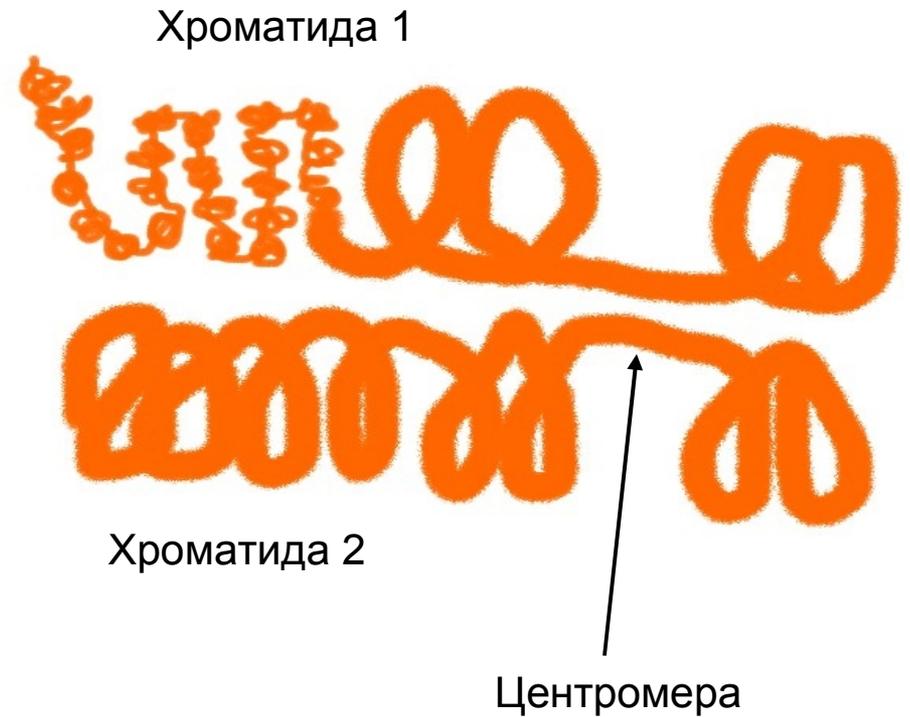


Компактизация межхромомерных участков – образование хромонемы

Во время профазы в ядре появляются белки комплекса **конденсин**, благодаря которым происходит упаковка хроматина в метафазную хромосому.

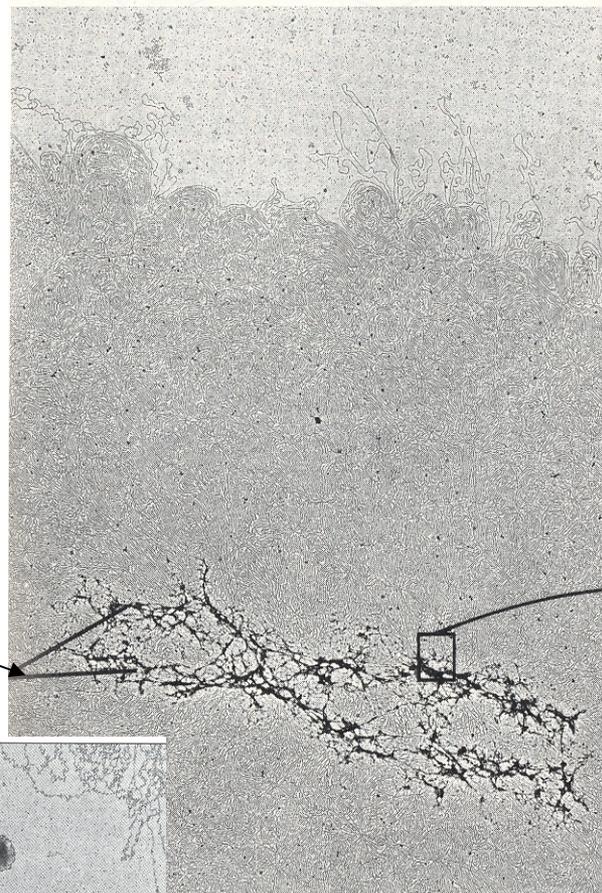


5 уровень упаковки ДНК – метафазная хромосома



Укорочение еще в 12.5 раз

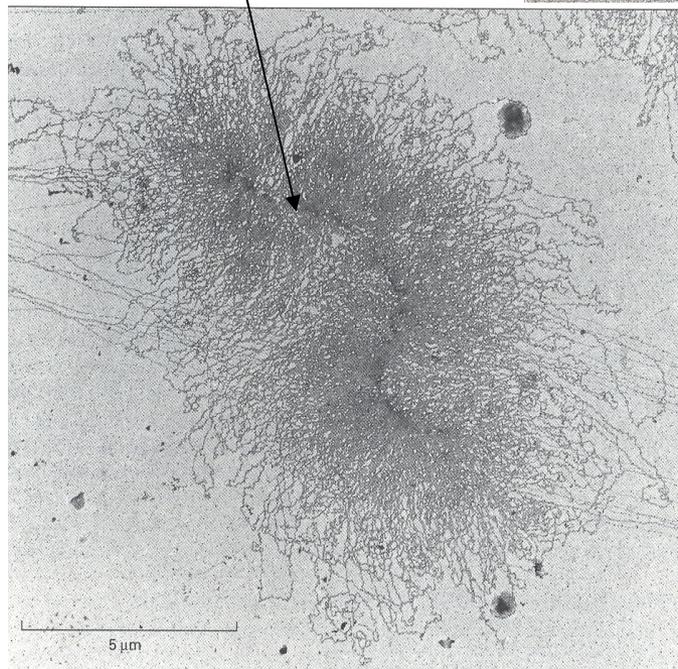
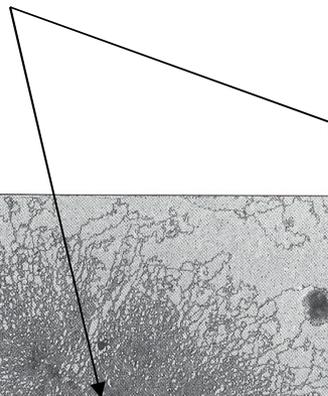
(a)



(b)



Скэффорд



5 μm

Последовательности ДНК,
участвующие в упаковке
хроматина с интерфазного уровня
- SAR/MAR

MAR - районы, ассоциированные с
ядерным матриксом

Выделяют из интерфазных ядер

SAR - районы, ассоциированные со
скэффолдом

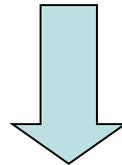
*Выделяют из метафазных
хромосом*

SAR/MAR:

AT- богатые районы (70%), не содержат консервативных последовательностей.

Формируют вторичную структуру, которую узнают белки

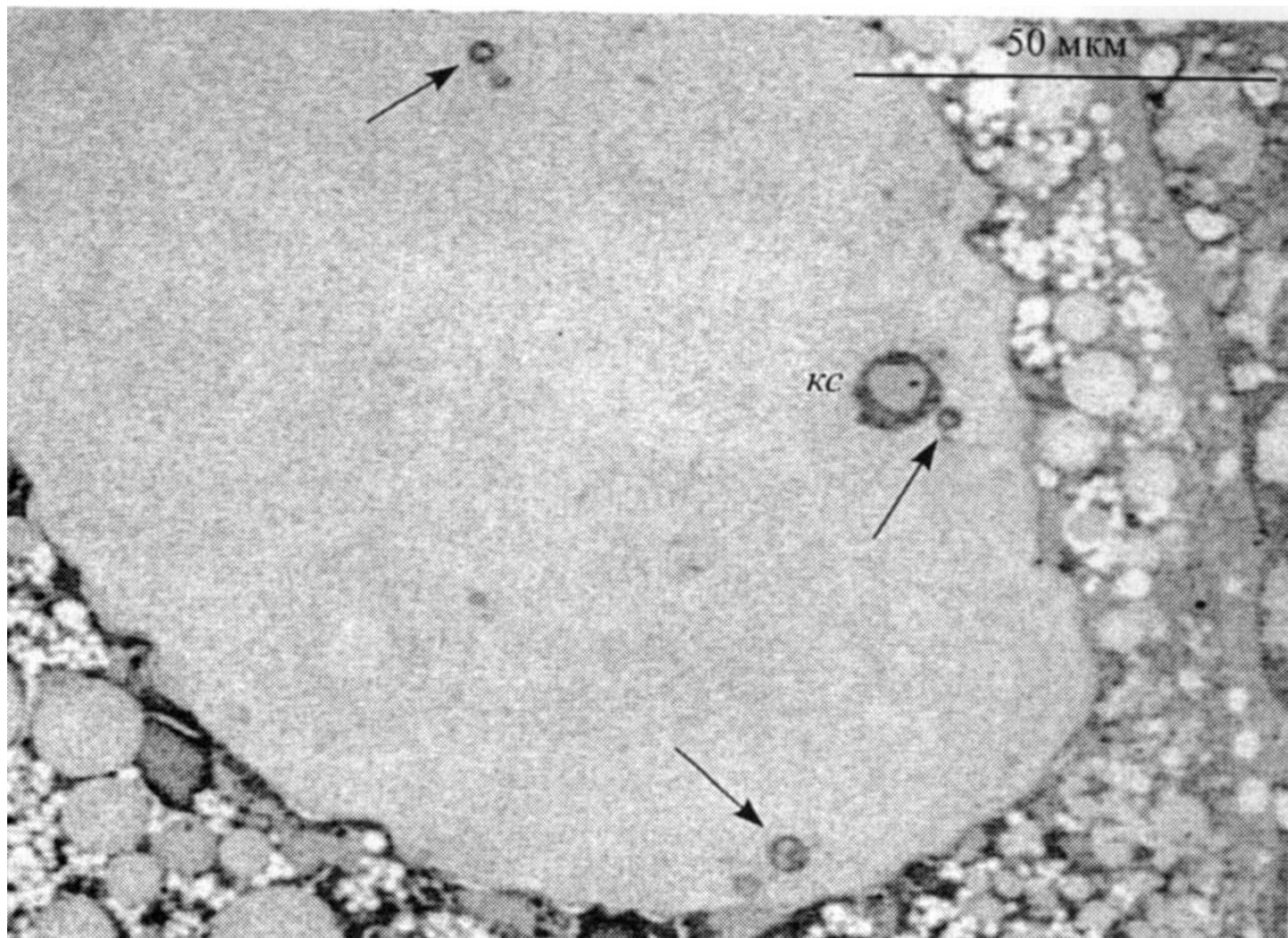
Отвечают за прикрепление районов начала репликации и структурных генов к ядерному матриксу, ламине, скэффолду



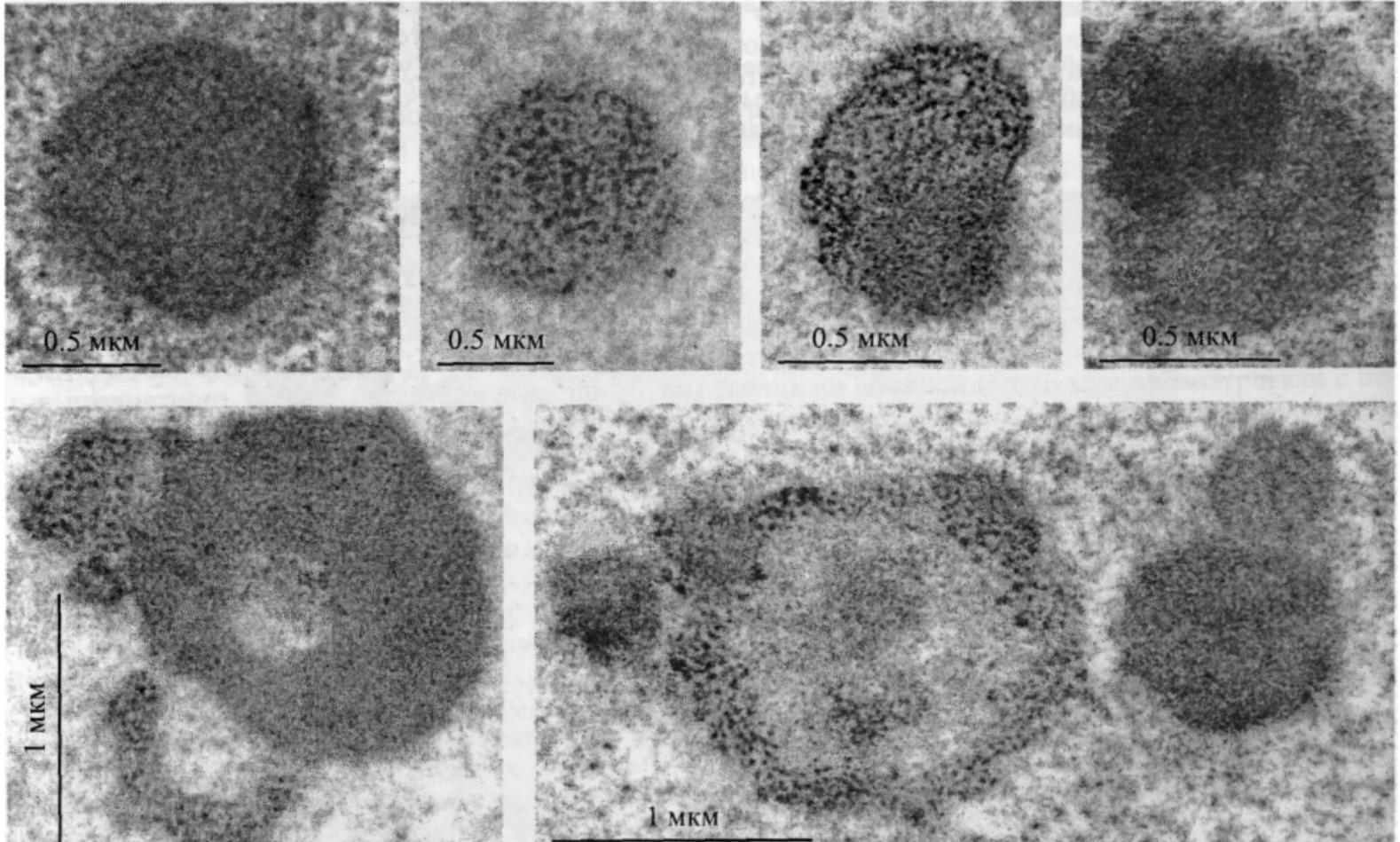
Петли - единицы репликации

Петли - **часто** единицы транскрипции или содержат несколько генов

Интерфазное ядро: тельца Кахала



Тельца Кахала



Тельца Кахала

Описаны в 1903 г. в овоцитах как структуры, часто тесно связанные с ядрышком

Содержат:- малые ядерные РНК U1, U2, U4, U5, U6

- белки коилин, фибрилларин (необходим для процессинга пре рРНК)
- все три РНК-полимеразы
- факторы транскрипции и процессинга

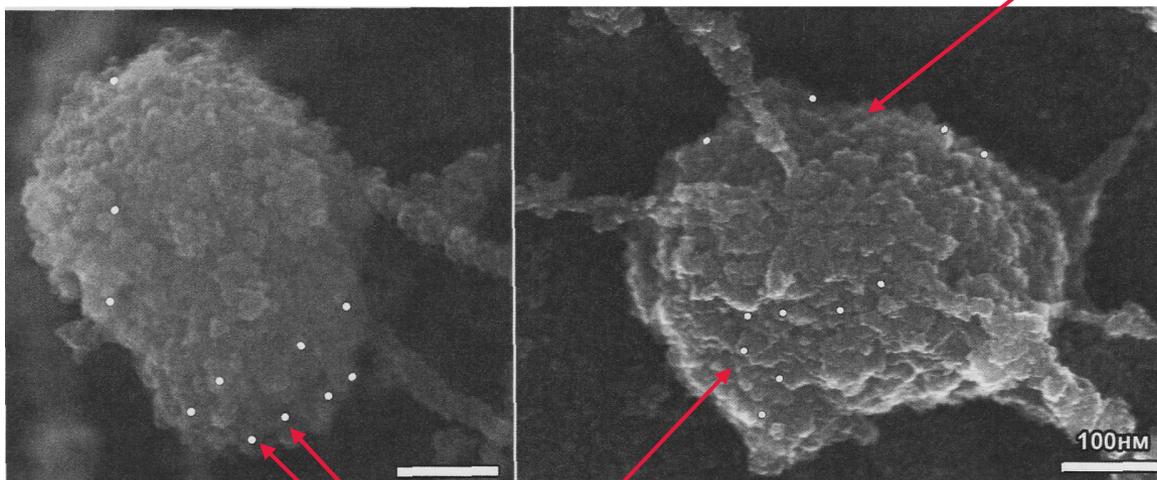
В тельцах Кахала происходит предварительная сборка всех участников транскрипции, процессинга и сплайсинга в течение нескольких часов

Уже из телец Кахала они расходятся к месту назначения

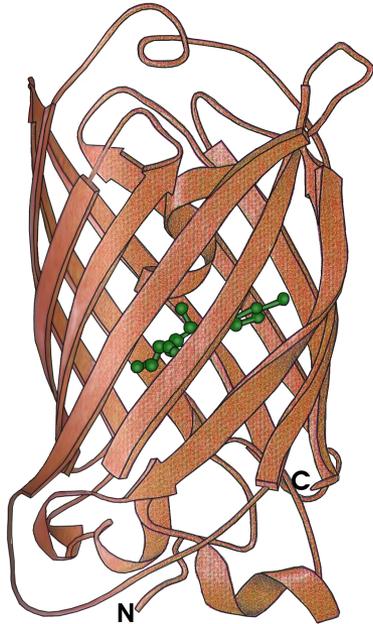
Пол1-транскриптосомы - в ядрышко

Пол2-транскриптосомы - в район транскрипции пре-иРНК

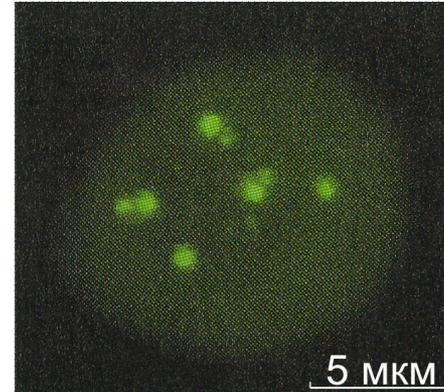
Пол3-транскриптосомы - к генам-мишеням Пол3



**Иммуногистохимическое выявление белков
сплайсосом в тельцах Кахала** (Морозова, Струнов, Киселева, 2011)



«Зеленый» белок (GFP)
из медузы *Aequoria victoria*.
Флуорофор состоит
из боковых цепей трех
аминокислотных остатков.

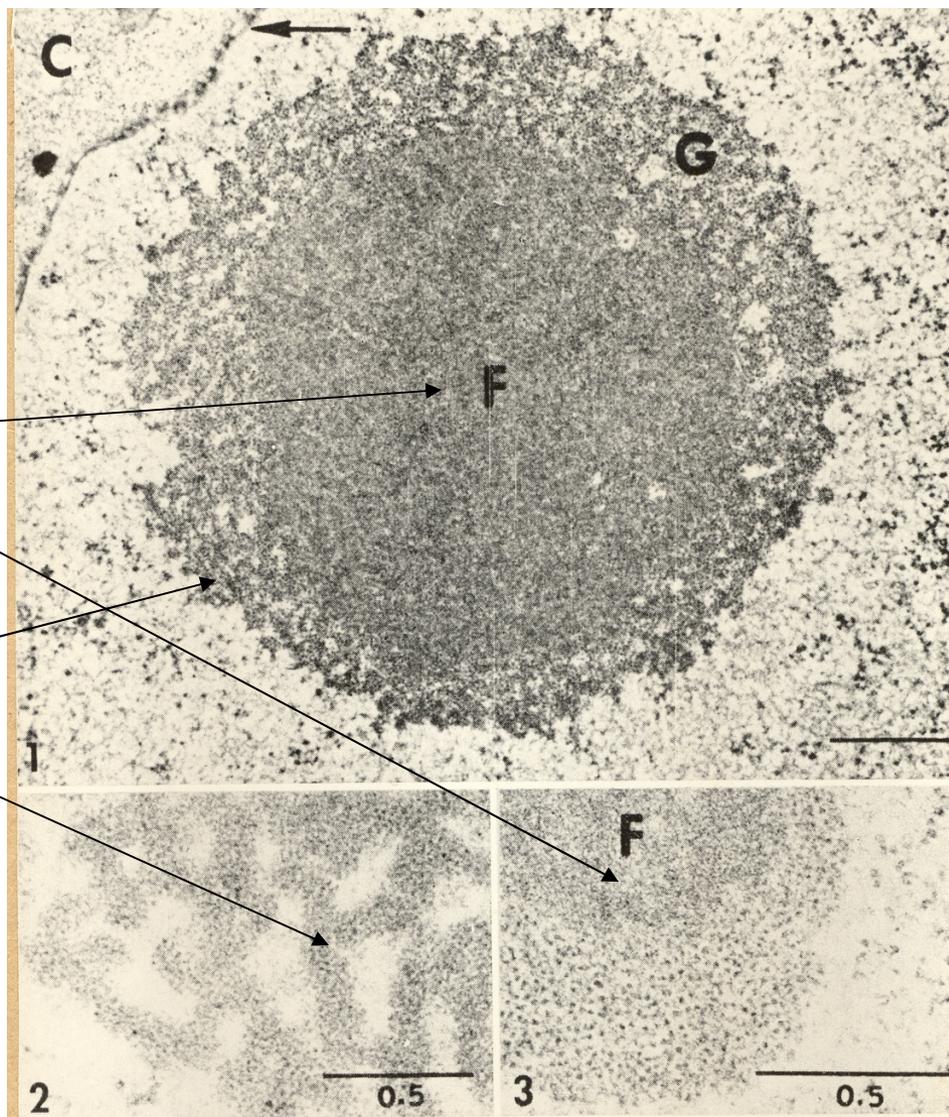


GFP, «пришитый» к одному из
белков сплайсинга, оказывается
вскоре после трансляции в
составе телец Кахала, через 2
часа перемещается в места
транскрипции, в том числе и в
ядрышко

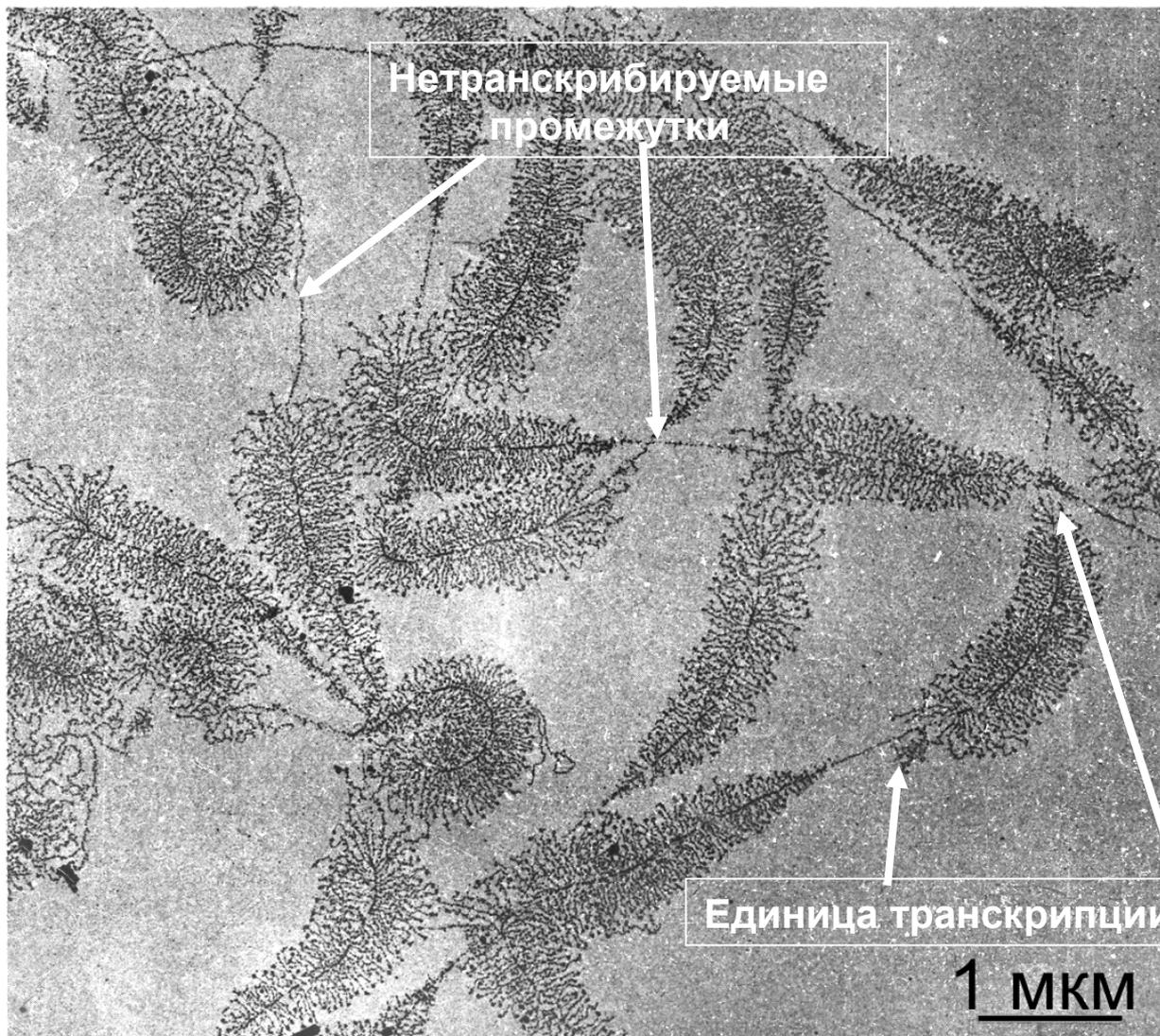
Ядрышко

Фибриллярная часть

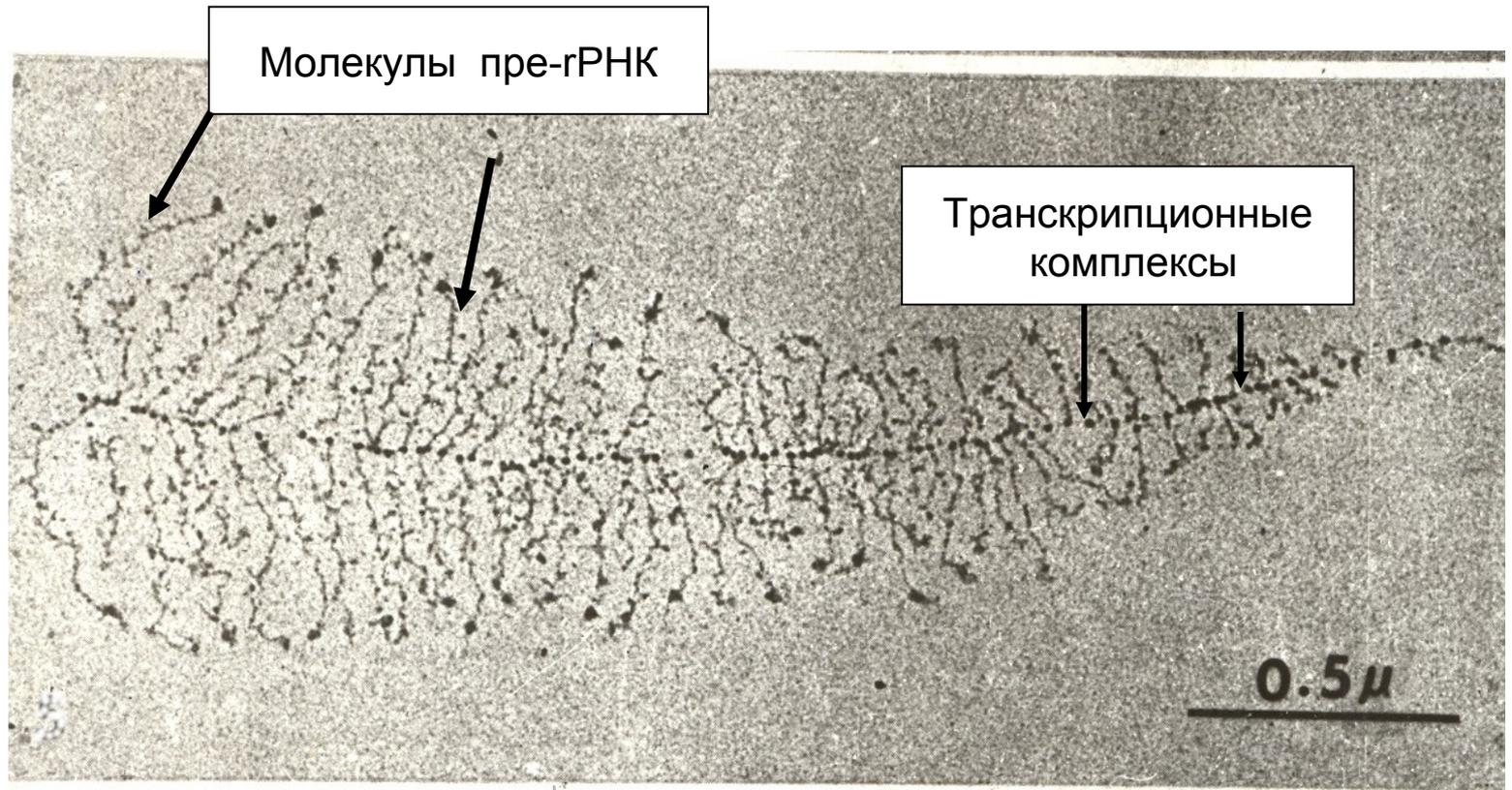
Гранулярная часть



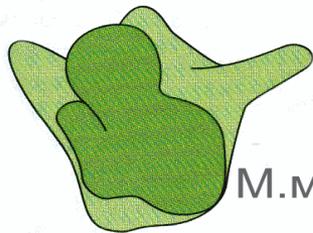
Метод распластывания позволяет увидеть тонкое строение фибриллярной части ядрышка



Единица транскрипции в ядрышковом организаторе

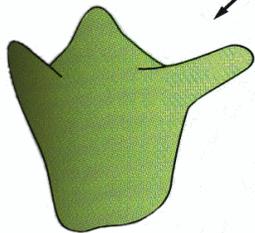


Прокариотическая рибосома 70S



М.м. 2 500 000

50S



М.м. 1 600 000

5S рРНК



120 н.

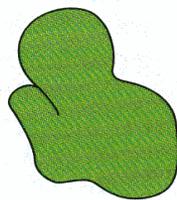
34 полипептида

23S рРНК



2 900 н.

30S



М.м. 900 000

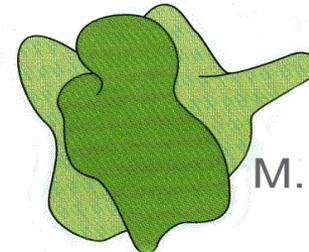
16S рРНК



1 540 н.

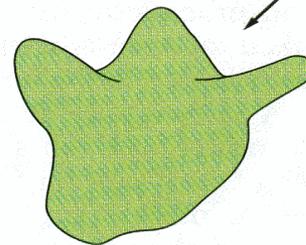
21 полипептид

Эукариотическая рибосома 80S



М.м. 4 200 000

60S



М.м. 2 800 000

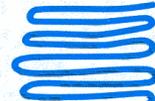
5S рРНК



120 н.

49 полипептидов

28S рРНК



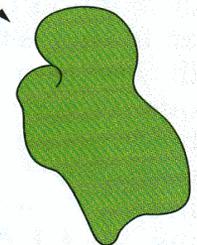
4 700 н.

5,8S рРНК



160 н.

40S



М.м. 1 400 000

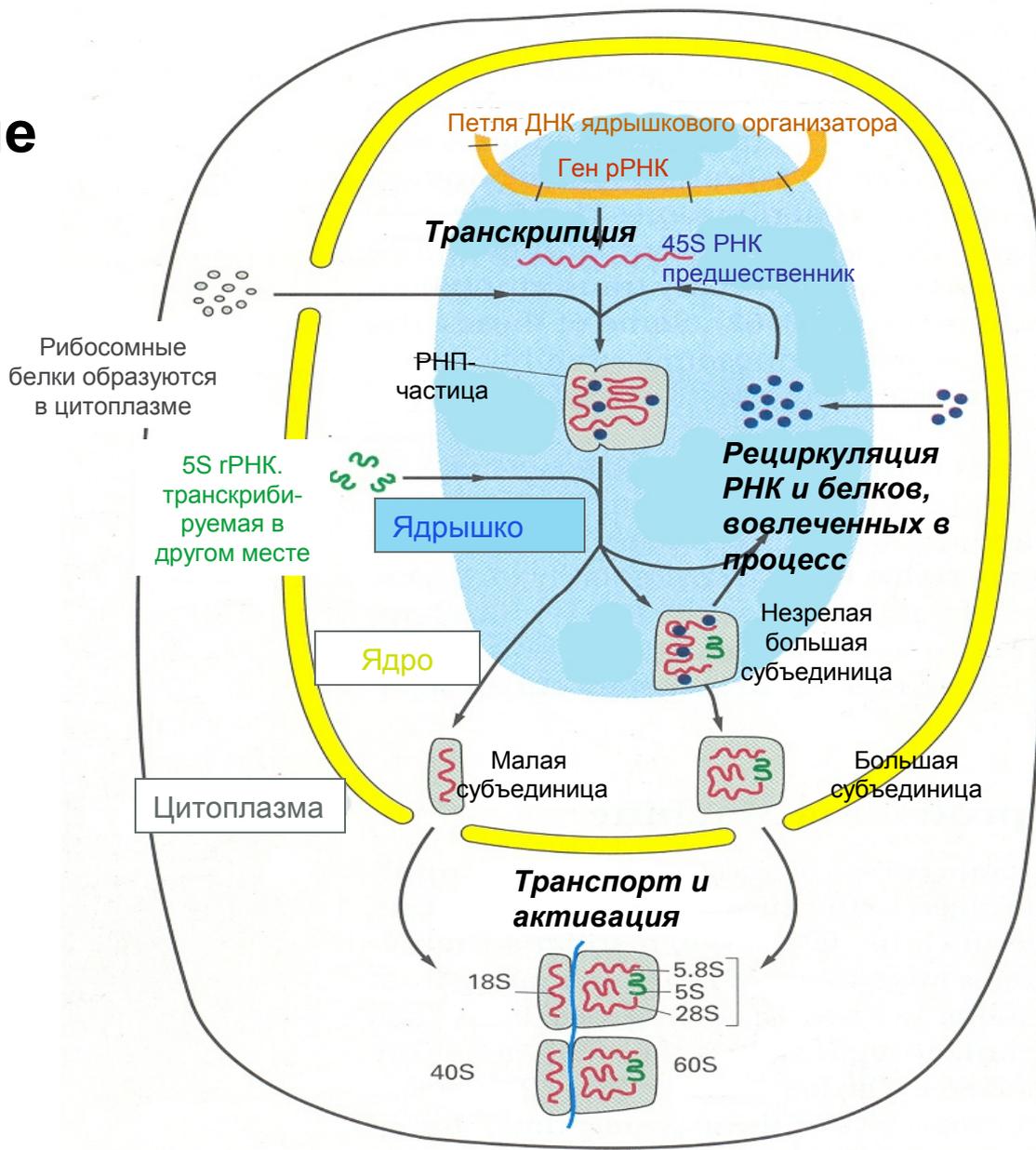
18S рРНК



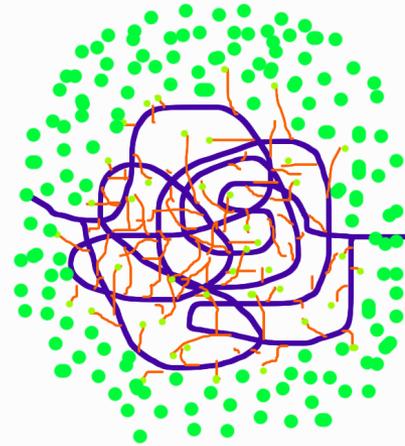
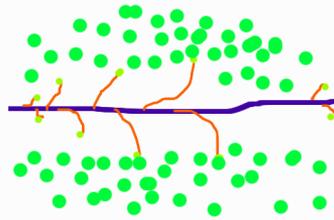
1 900 н.

33 полипептида

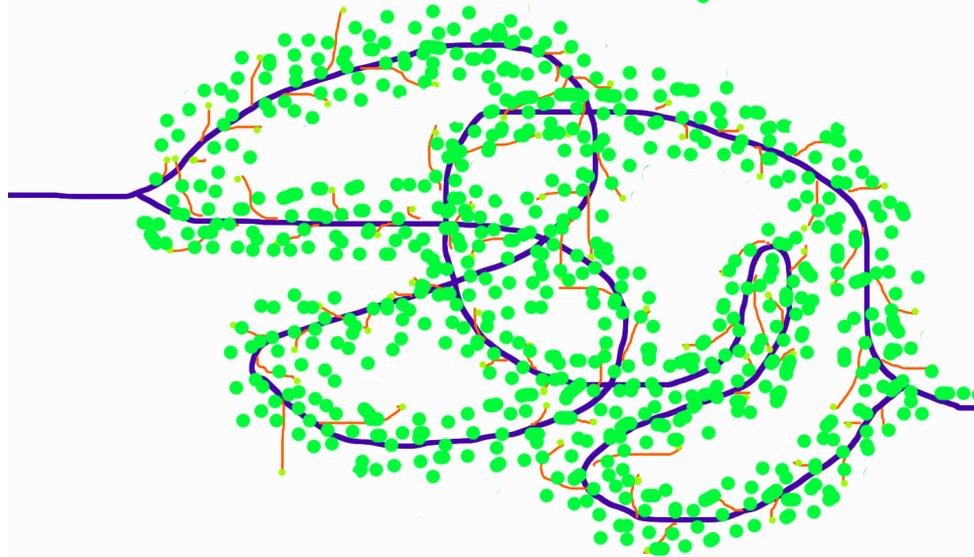
Образование рибосом



РНК
ДНК
РНП



«Кора-
сердцевина»

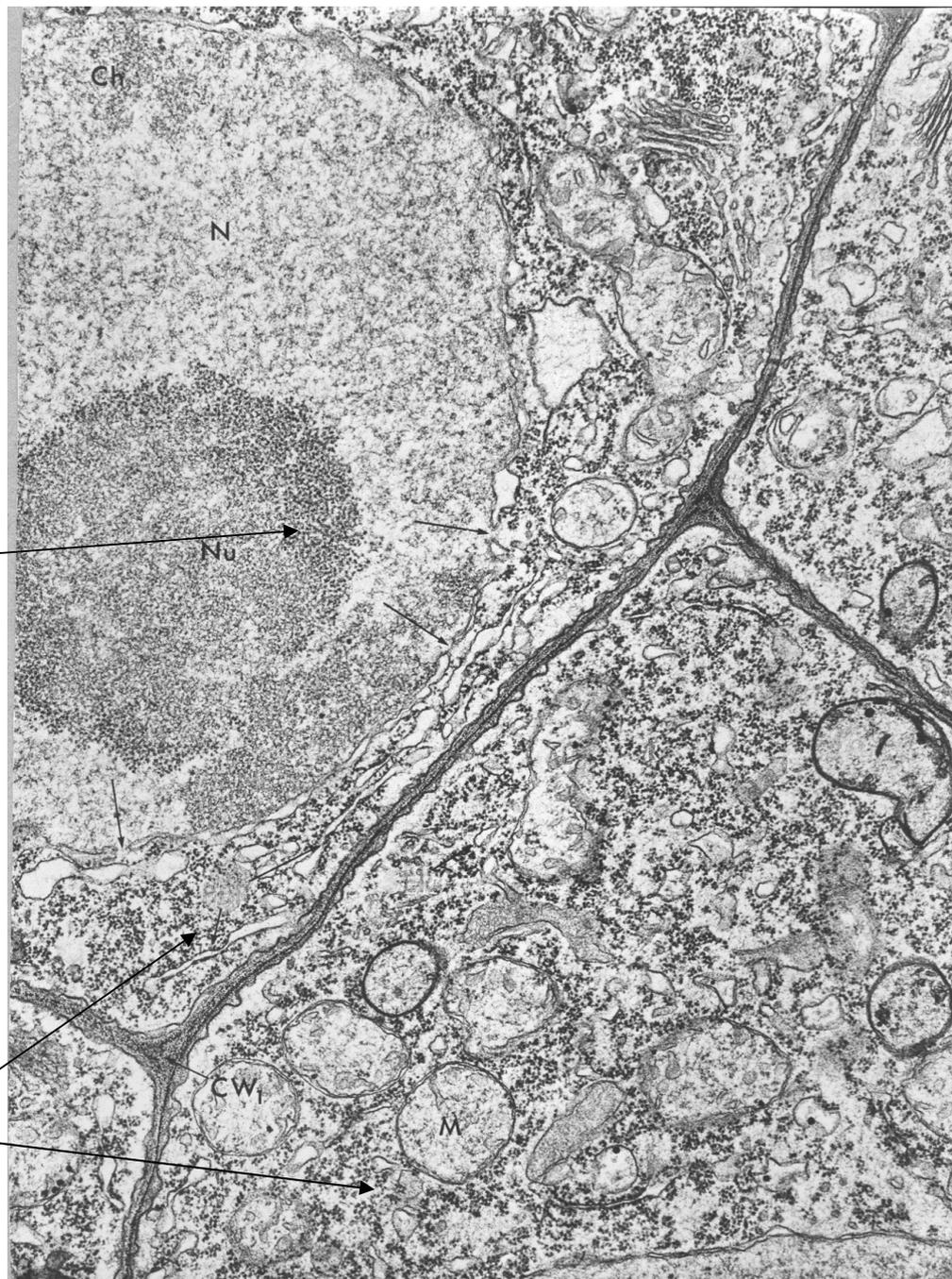


Нуклеоло-
немное
ядрышко

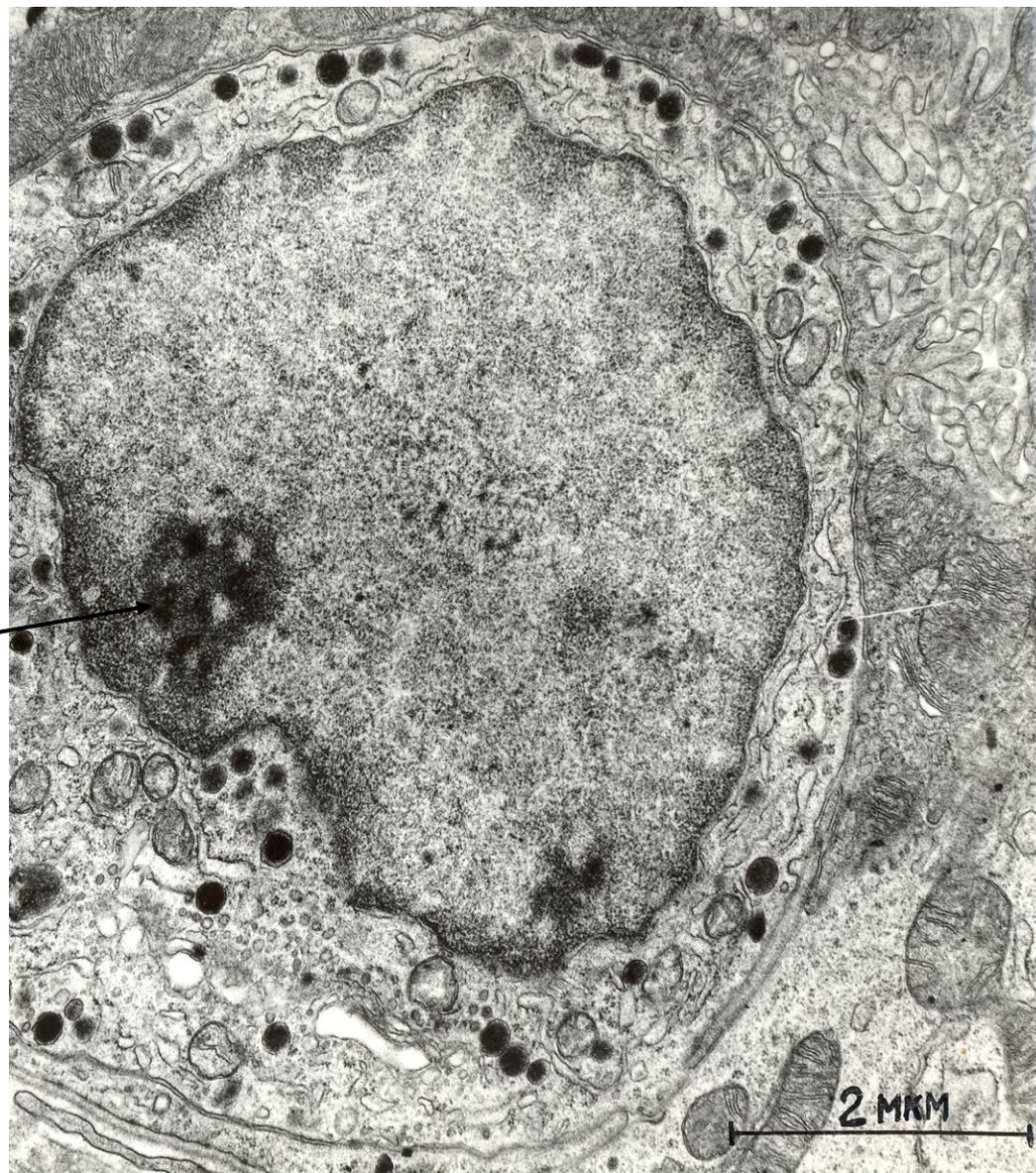
Организация
ядрышка по типу
«сердцевина-кора»

Незрелые
субъединицы
рибосом

Функционирующие
рибосомы



Нуклеолонемное
ядрышко

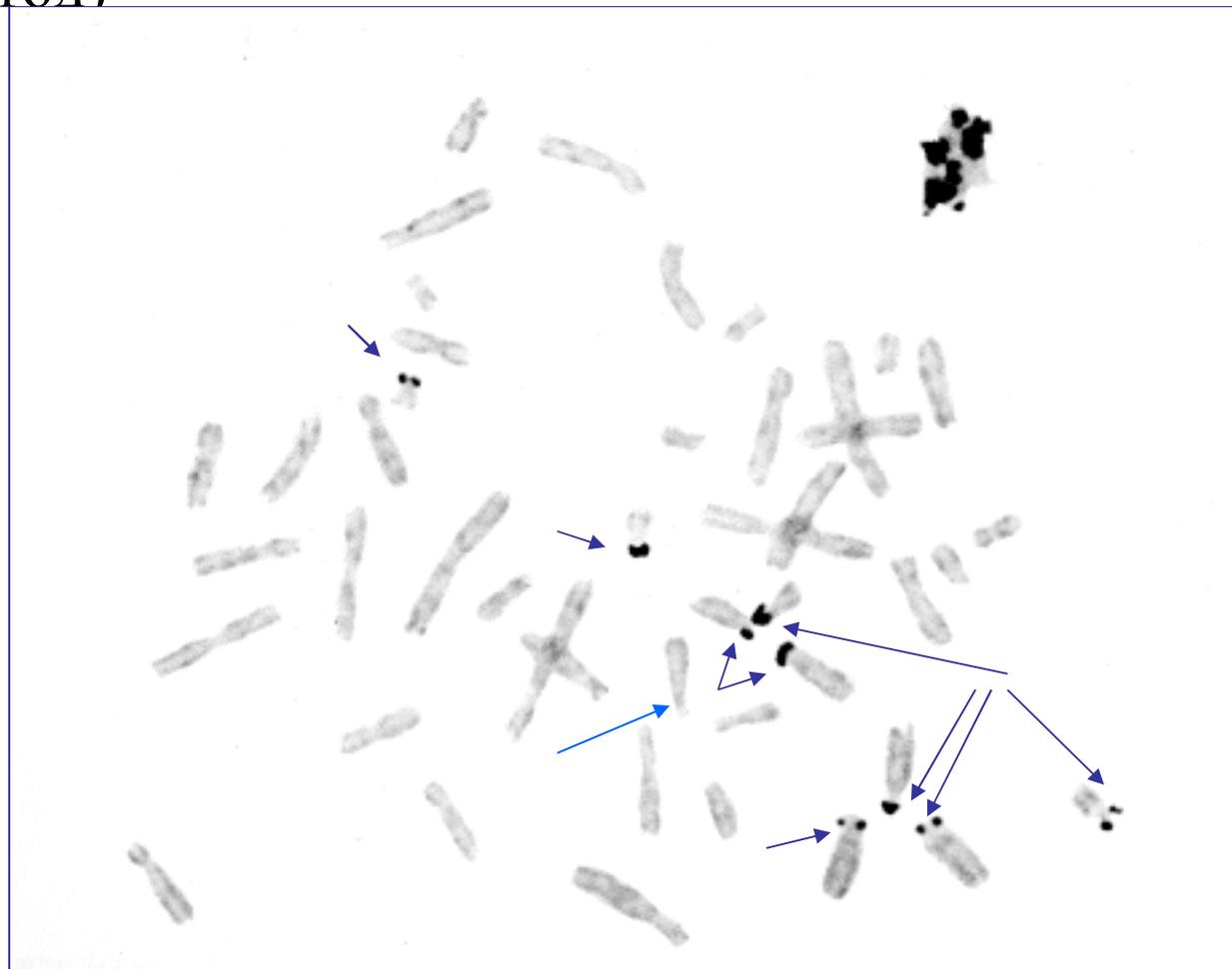


Ag-NOR-дифференциальная окраска

(Ag-ЯО-метод)

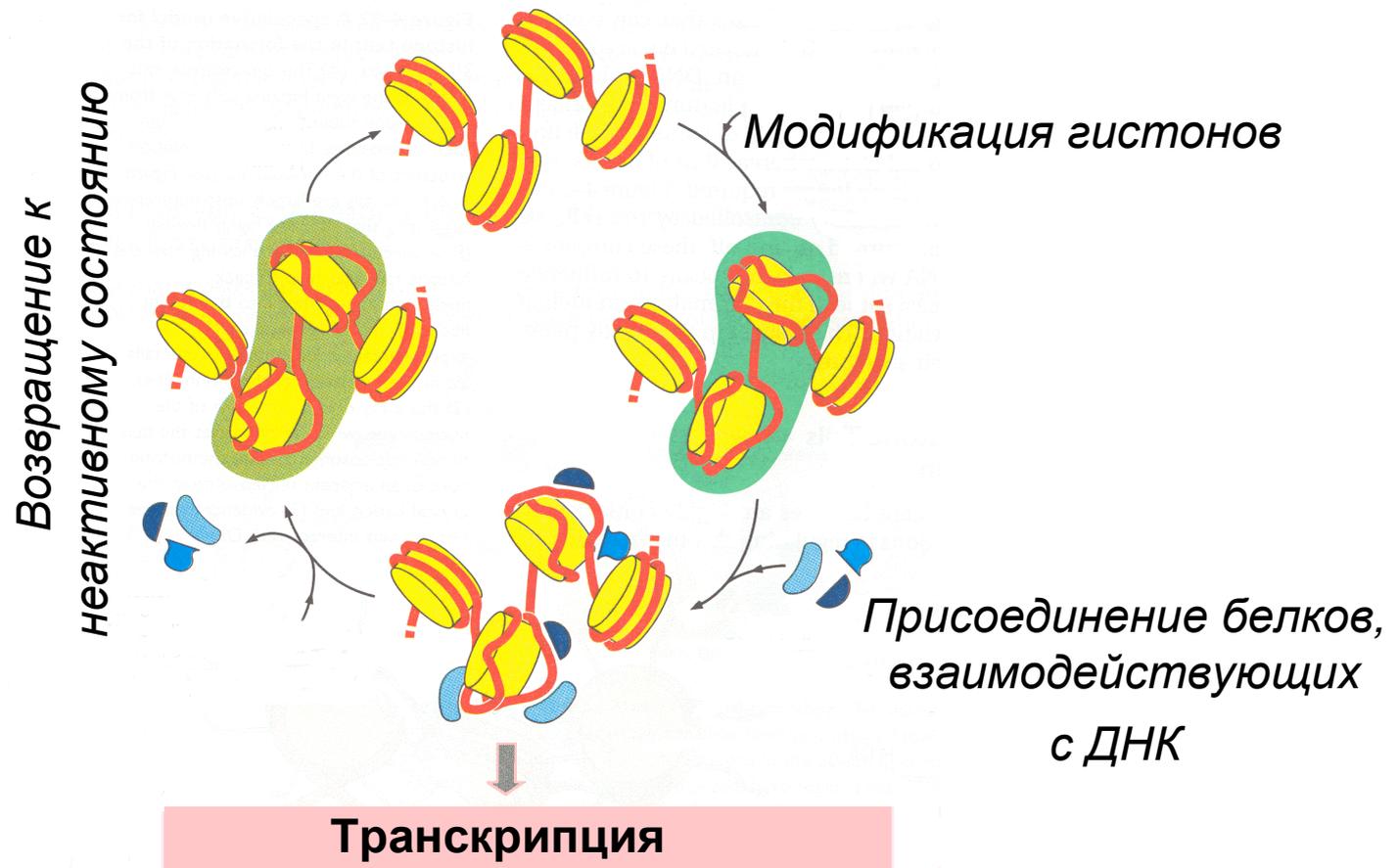
Хромосомы

человека



Изменения хроматина во время транскрипции

Упаковка хроматина разрушается:
-хромомер превращается в петлю
-удаляется гистон H1
-гистоновый октамер разрушается или частично разъединяется, к чему приводит **ремоделирование хроматина**



Изменения хроматина во время транскрипции

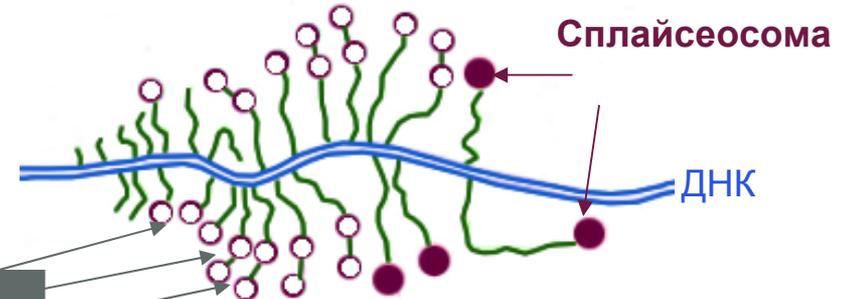
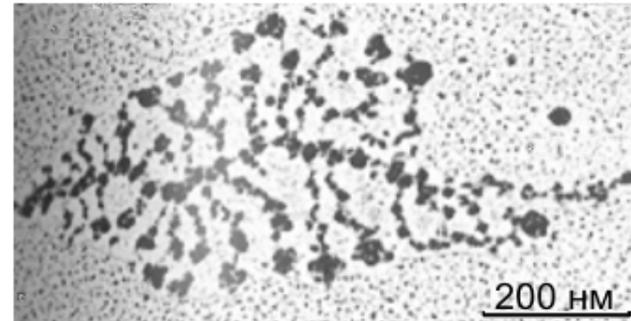
Упаковка хроматина разрушается:
-хромомер превращается в петлю
-удаляется гистон H1
-гистоновый октамер разрушается или частично разъединяется, к чему приводит **ремоделирование** хроматина

Посттранскрипционные изменения РНК на примере иРНК

1. Кэпирование - пришивание к 5'-концу 7-метилгуанозинтрифосфата + специального кэпирующего белка
- 2. Наматывание синтезированной иРНК на информоферы - белковые глобулы, состоящие из белков-информатинов**
3. Присоединение к 3'-концу синтезированной РНК 100-200 остатков адениловой кислоты с помощью поли-А-полимеразы (полиаденилирование). **Возможно, пришивание специальных белков**
4. Созревание РНК - превращение гяРНК в иРНК - **вырезание** интронов, сшивание экзонов (**сплайсинг**). Вырезание осуществляется с помощью малых ядерных РНК в составе РНП-комплекса-**сплайсеосомы**

Малые ядерные РНК U1-U7 существуют в ядре в виде нуклеопротеидов: **snRNP's**;

snRNP's вместе с другими белками и **информоферами** образуют **сплайсеосому**, которая организует сплайсинг и обеспечивает внутриядерный транспорт иРНК



Информоферы
глобулы: 20 нм, 30S
30-40 белков-
информатинов