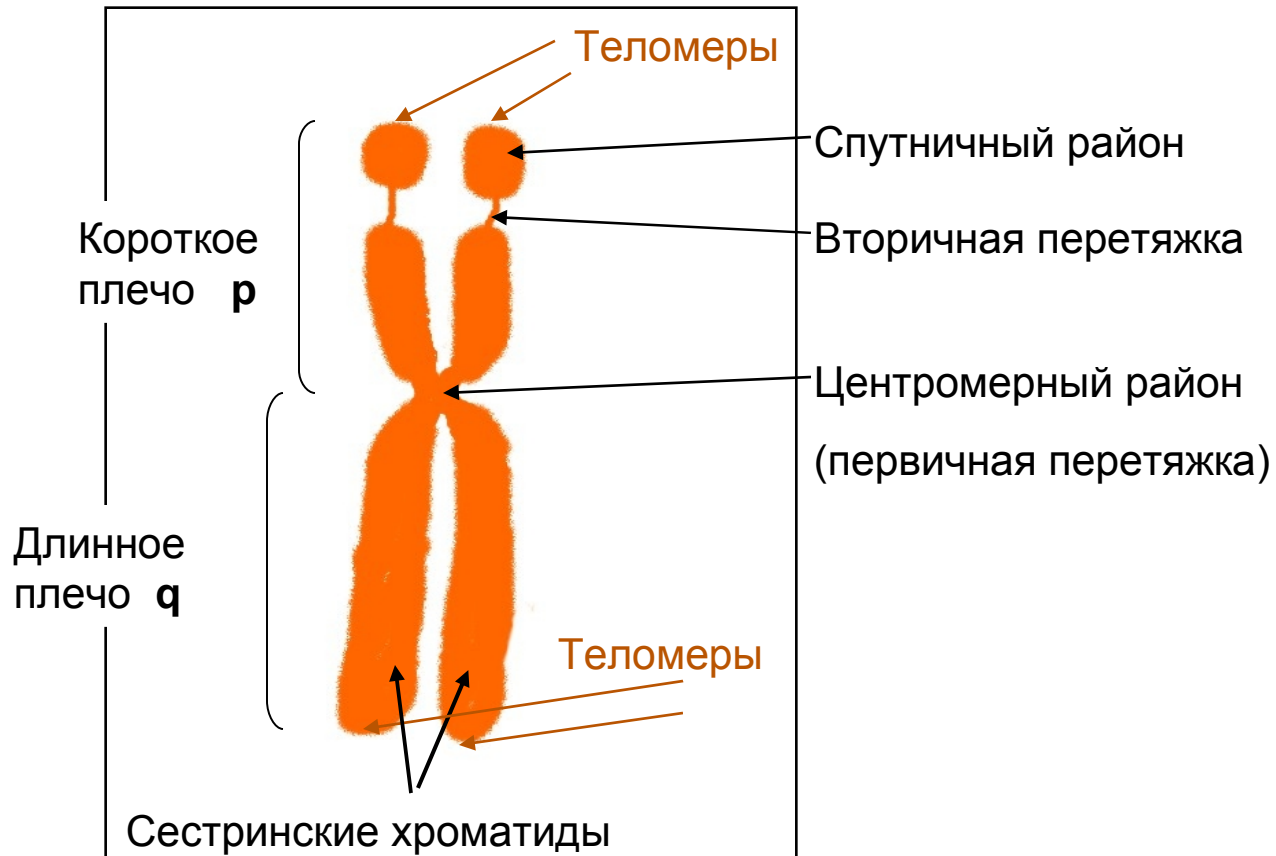


Тема 4. 3. Метафазная хромосома



Повторяющиеся последовательности

Сателлитная ДНК

Содержание нуклеотидных последовательностей разных типов в геноме человека ($3,2 \times 10^9$ н.п.), %

Уникальные последовательности	39
Кодирующие белок гены (~22 тысячи генов)	1,5
Интроны	25,9
Повторы	53
LINE-элементы	21
SINE-элементы	13
Ретротранспозоны	8
Простые повторы	5
Транспозоны	3
Сегментные дубликации	3
Гетерохроматин	8

Теломера

Функции теломеры:

1. Защита концов хромосом от повреждения
 2. Крепление к ламине
- 2а Обеспечение движения хромосом в профазе I мейоза при спаривании гомологов

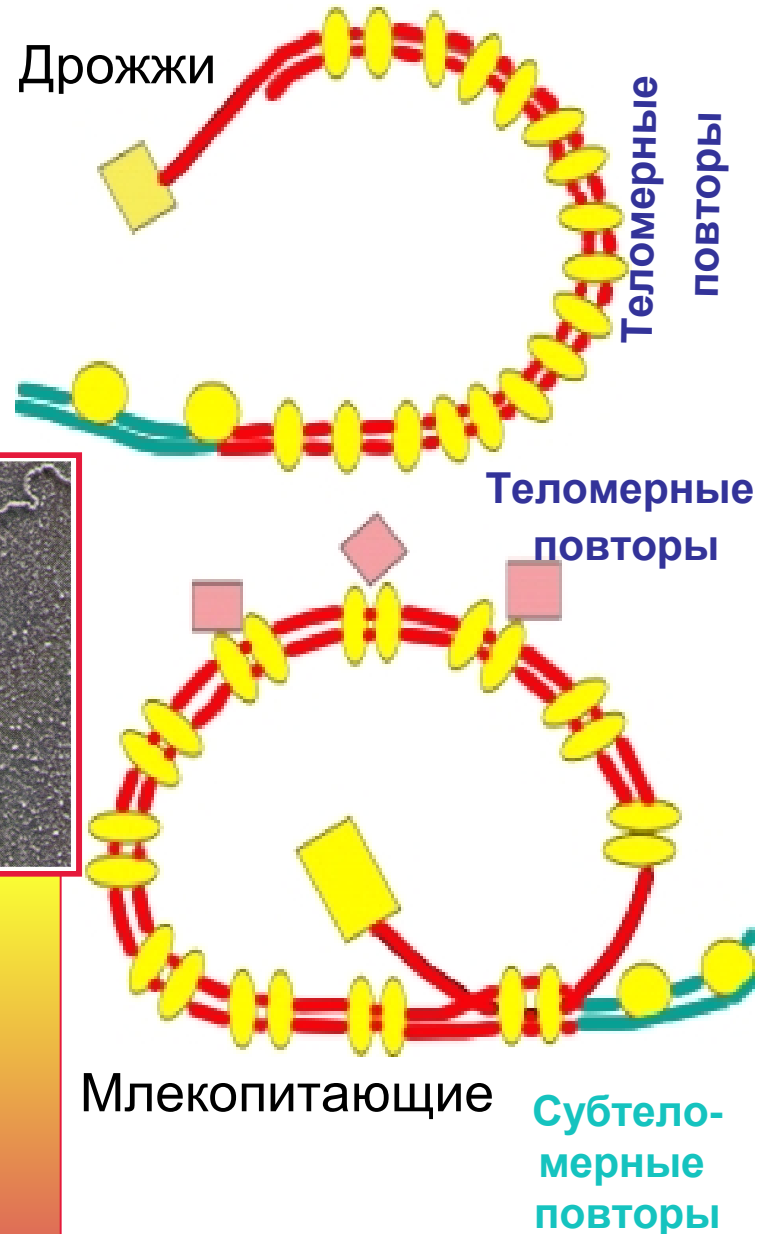
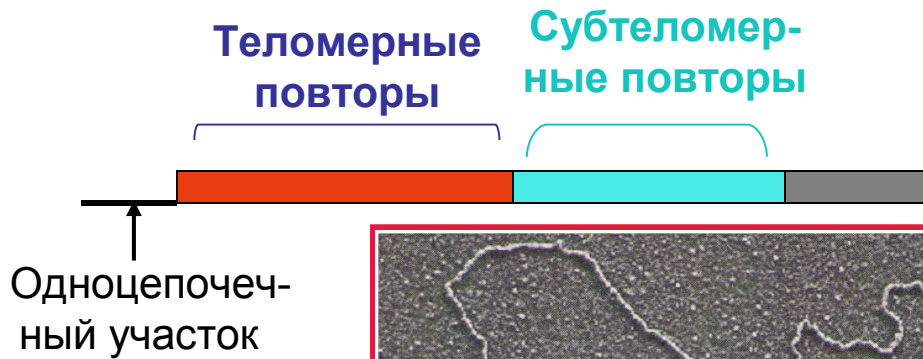
Теломера



Единица
теломерного
повтора

- **5'TTAGGG3'** – Млекопитающие, грибы (*N. crassa*, *Physarium*), земноводные (*X. laevis*), некоторые растения (*Aloe*, *Asparagus*)
 - **TTAGGC** – Круглые черви (*C.elegans*)
 - **TTGGGG** – Инфузории (*Tetrachymena*)
 - **TTTTGGGG** – Инфузории (*Stylonychia*)
 - **TTAGG** – Насекомые (*B.mori*)
 - **TTTAGGG** – Многие растения
- Исключения

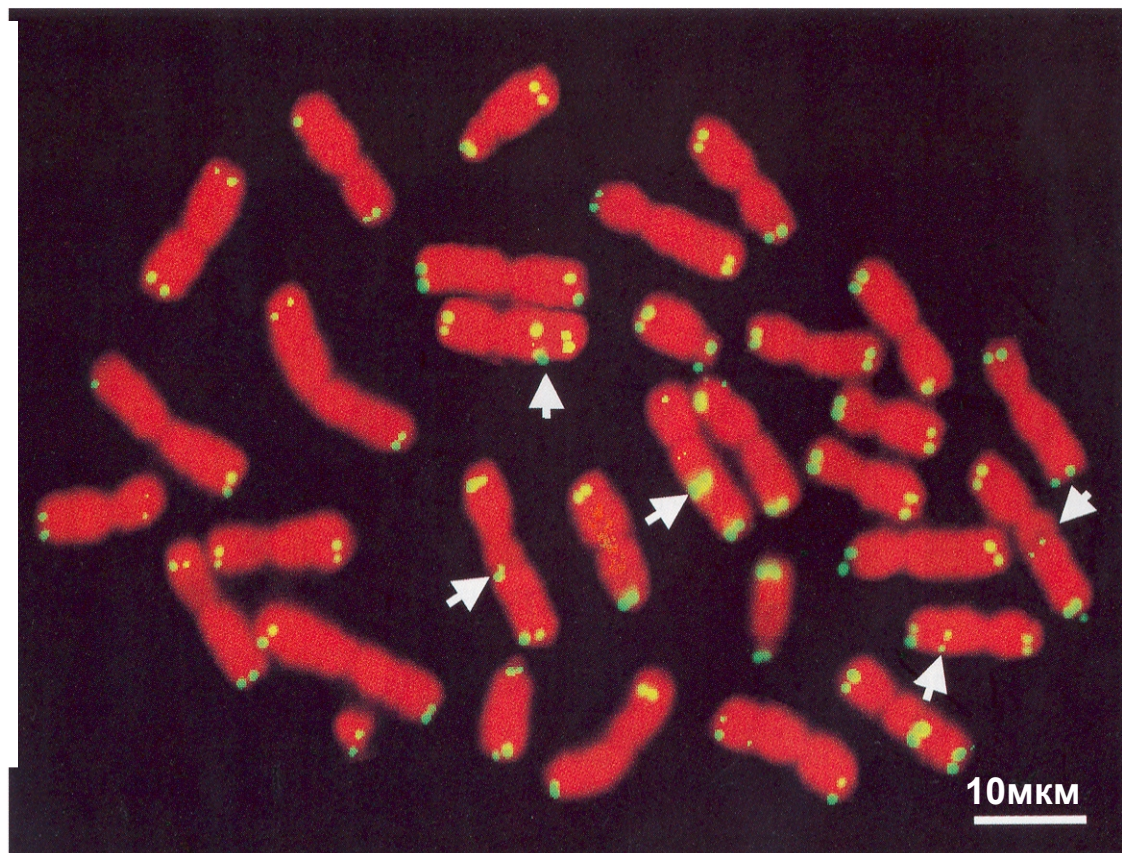
Теломера



Теломерная РНК и Белки теломер:

Теломераза = обратная транскриптаза
Комплекс Шельтерин – белки, связывающиеся с одно- и двуцепочечной ДНК
Метилазы гистона H3 (K9)
Геликазы, белки репарации и др.

Хромосомы зебры
Equus zebra hartmannae.
Гибридизационный
сигнал на
теломерную ДНК
(TTAGGG). Стрелки
указывают на
интерстициальные
участки мечения.

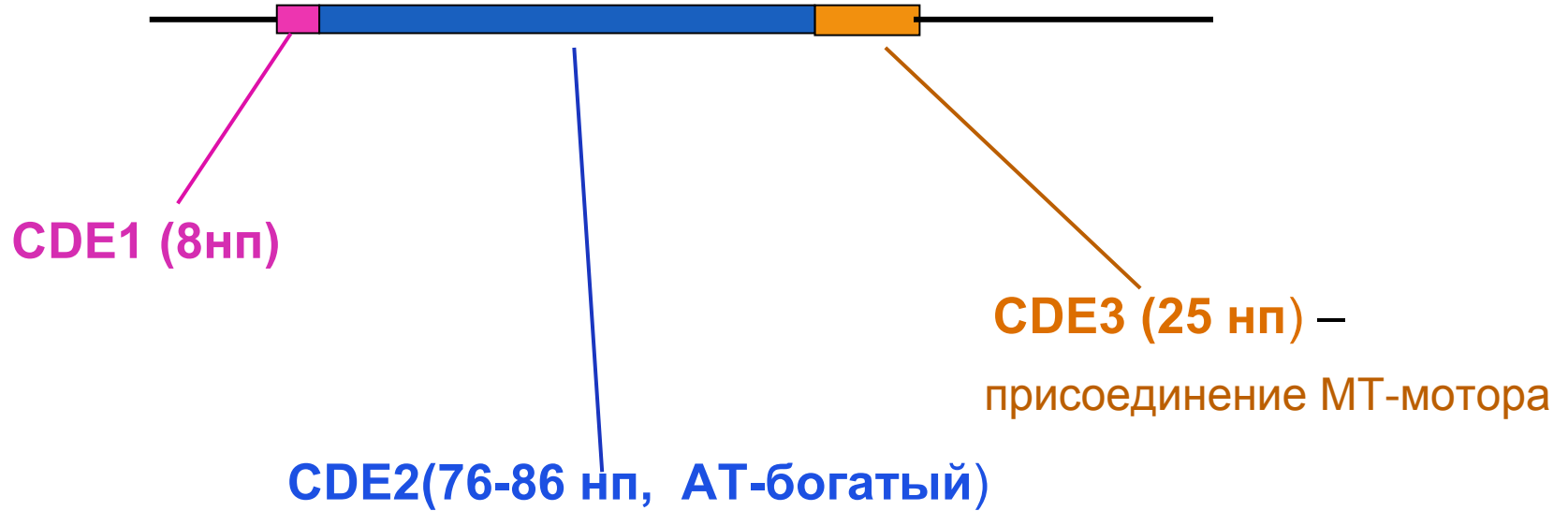


Центромера

Функции центромерного района:

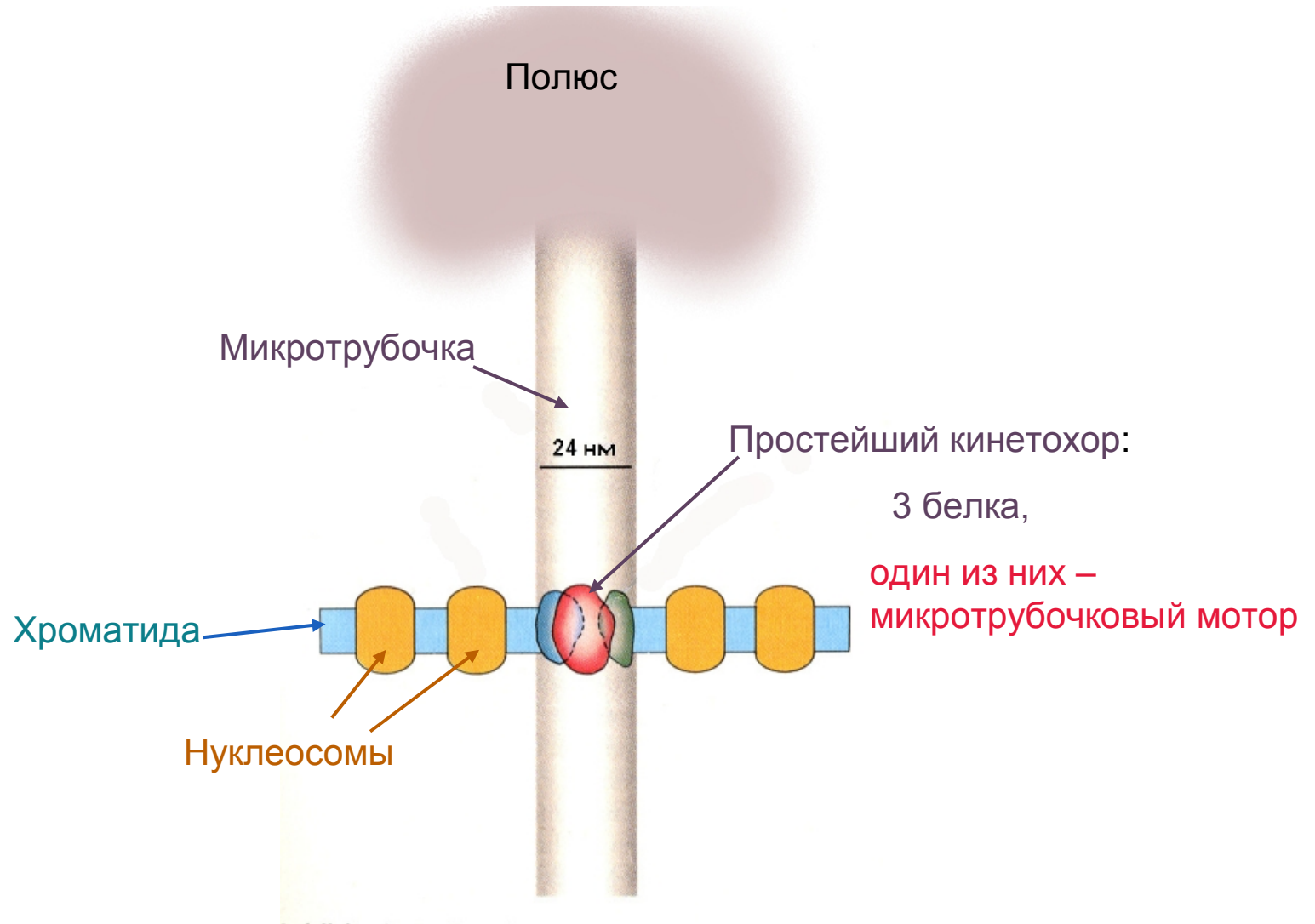
1. Крепление к ламине в интерфазе
2. Соединение сестринских хроматид до анафазы
3. Образование кинетохора в митозе (мейозе)
для успешного расхождения хромосом к полюсам

Центромерная ДНК дрожжей *S. cerevisiae* (110-120 нп)

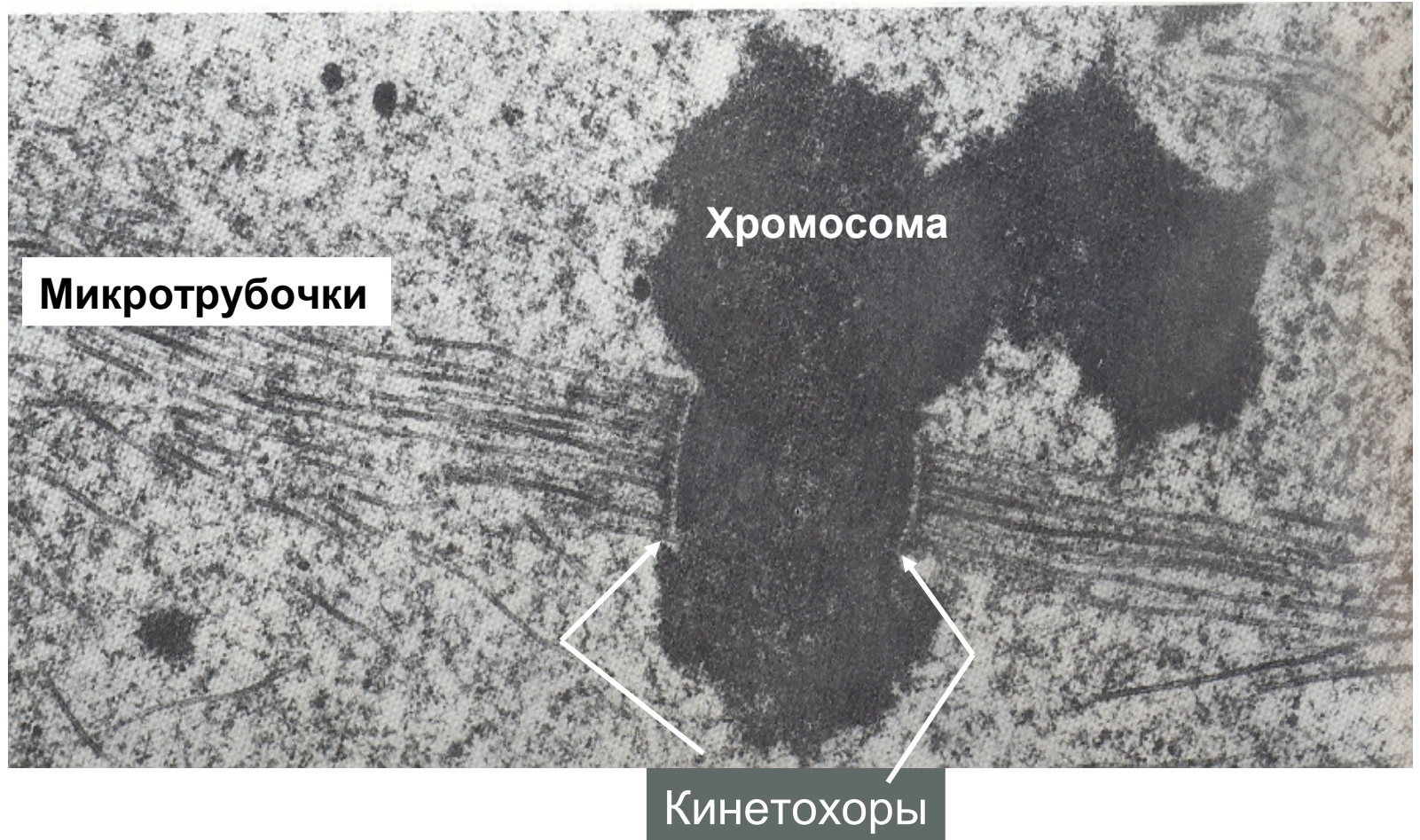


Кинетохор – белковая структура, формирующаяся в прометафазе и связанная, одной стороной с ДНК, другой - с микротрубочками веретена деления

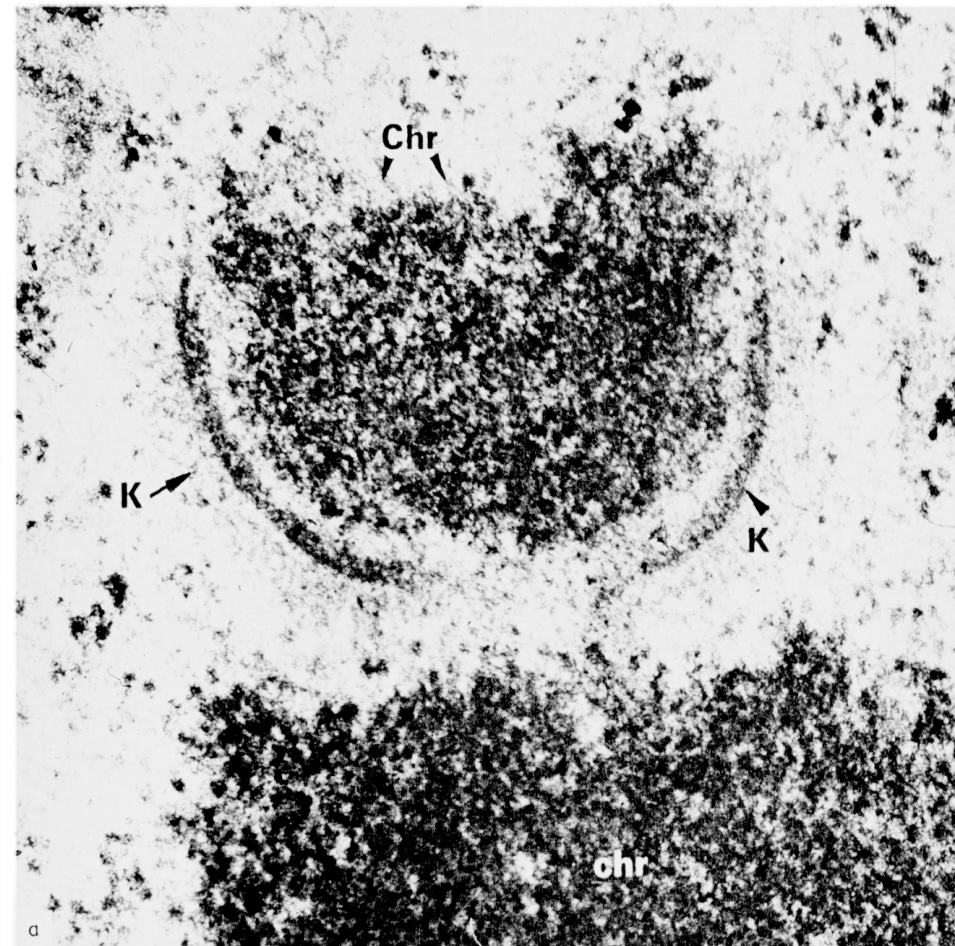
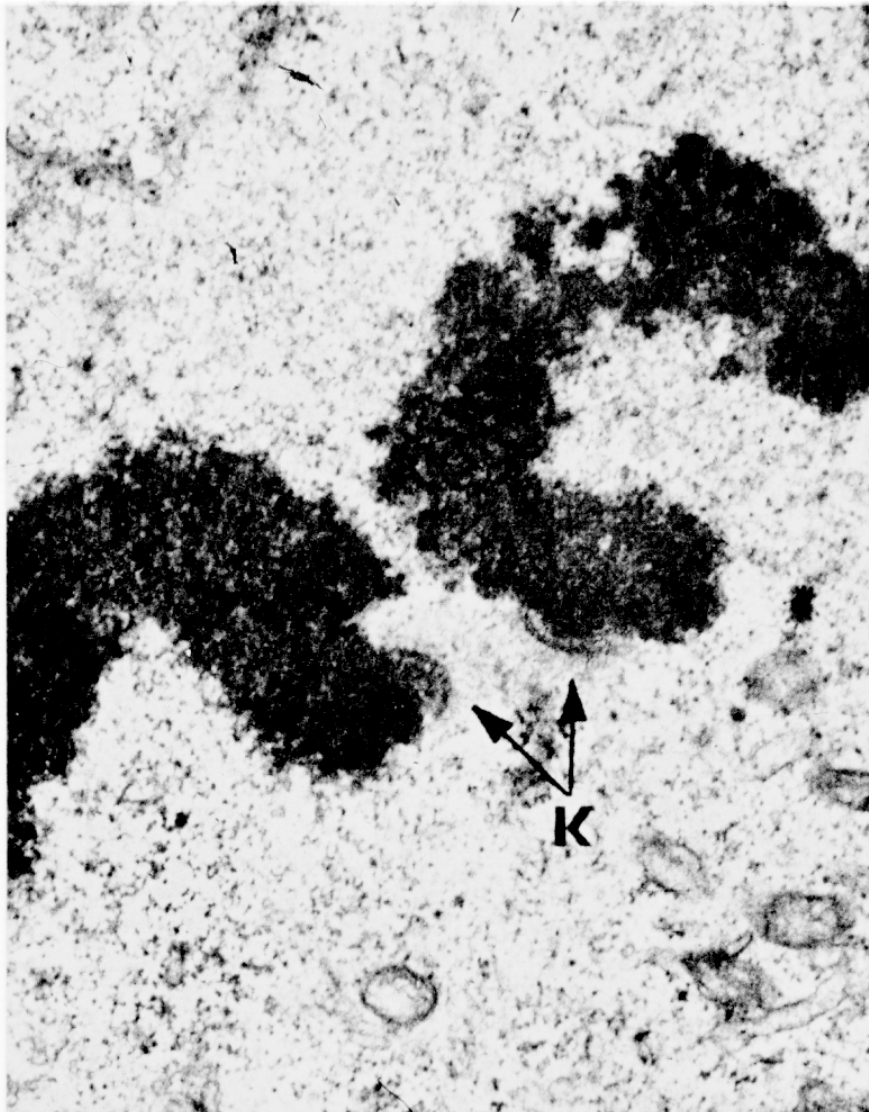
Центромерный район хромосомы дрожжей



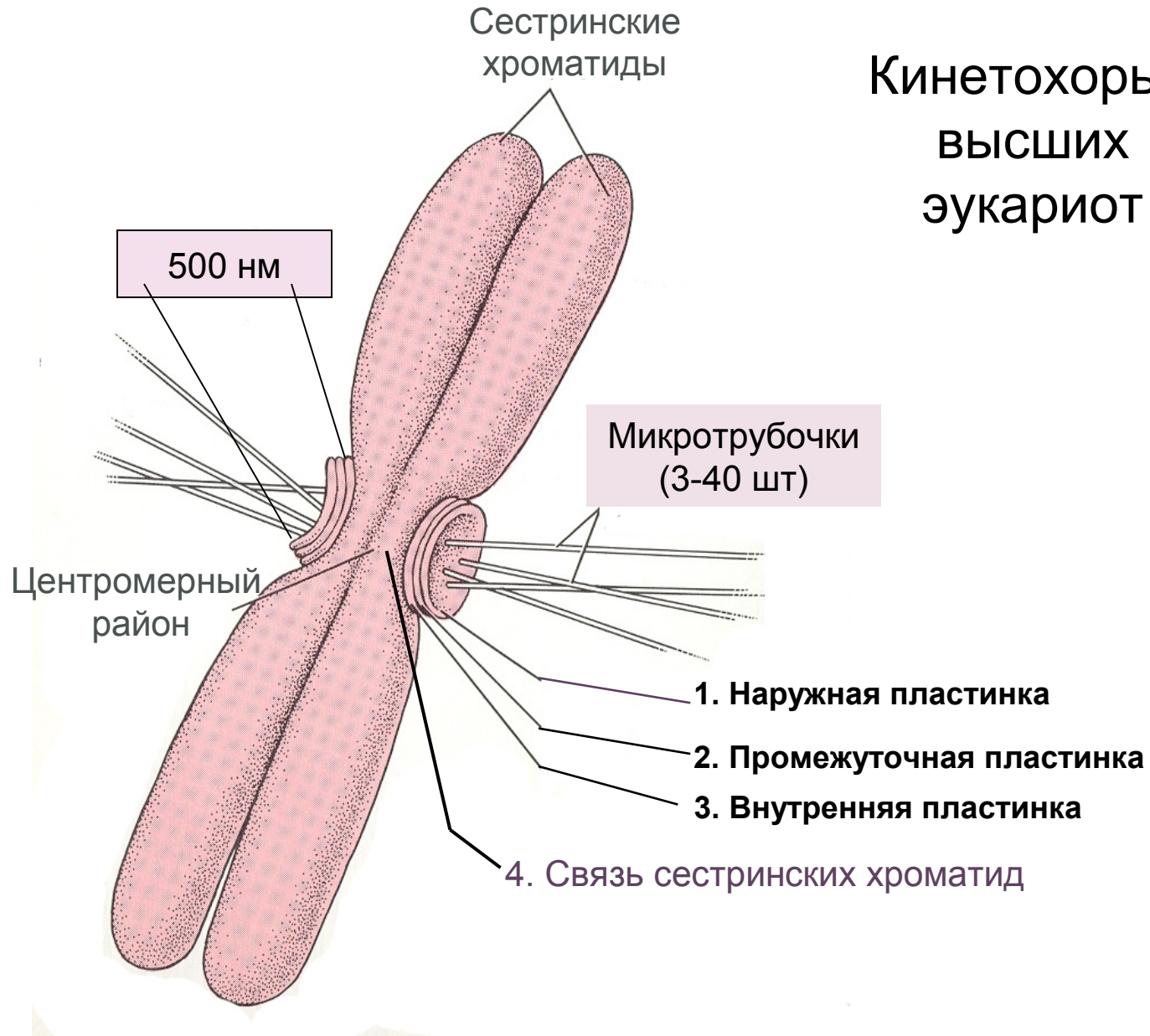
Кинетохоры высших эукариот



Кинетохоры высших эукариот



Кинетохоры высших эукариот



Функции центромерного района и кинетохора

1. Фиброзная корона. **Захват и удержание микротрубочек**
2. Промежуточная пластинка. **Связывание микротрубочек**
3. Внутренняя пластинка ?
4. Обеспечение соединения хроматид.

Состав центромерного района и кинетохора (не менее 50 белков)

Постоянные белки CENP и другие, меняющие свою локализацию.

1. **Фиброзная корона. Захват и удержание микротрубочек**
CENP E, цитоплазматический динеин, кинезин-подобные белки и др.
2. **Промежуточная пластинка. Связывание микротрубочек**
CENP E, CENP F, CENP I
3. **Внутренняя пластинка CENP A (= вариант H3), CENP C, CENP G,**
4. **Обеспечение соединения хроматид.**
CENP A, CENP B, CENP G

В митозе Киназа Aurora-B

В первом делении мейоза Rec8 и белки монополины.

Состав центромерного района и кинетохора (не менее 50 белков)

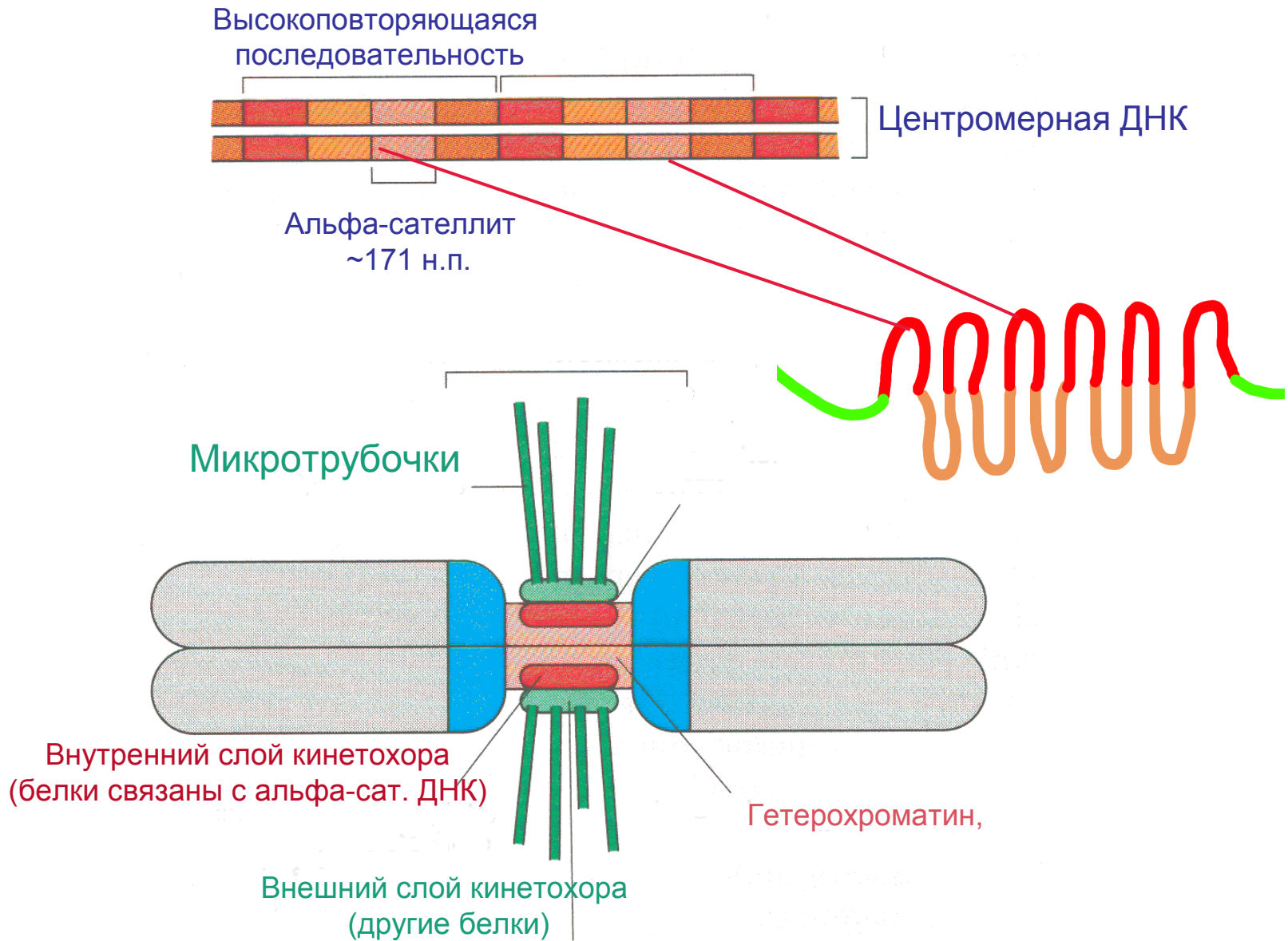
Постоянные белки CENP и другие, меняющие свою локализацию.

1. Фиброзная корона. Захват и удержание микротрубочек
CENP E, цитоплазматический динеин, кинезин-подобные белки и др.
2. Промежуточная пластинка. Связывание микротрубочек
CENP E CENP F CENP I
3. Внутренняя пластинка CENP A (= вариант H3), CENP C, CENP G,
4. Обеспечение соединения хроматид.
CENP A CENP B диметилирован K4, связан с альфа-сателлитной ДНК CENP G

В митозе Киназа Aurora-B

В первом делении мейоза Rec8 и белки монополины.

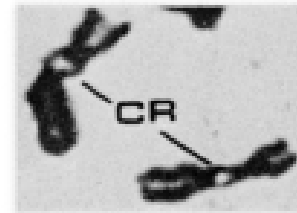
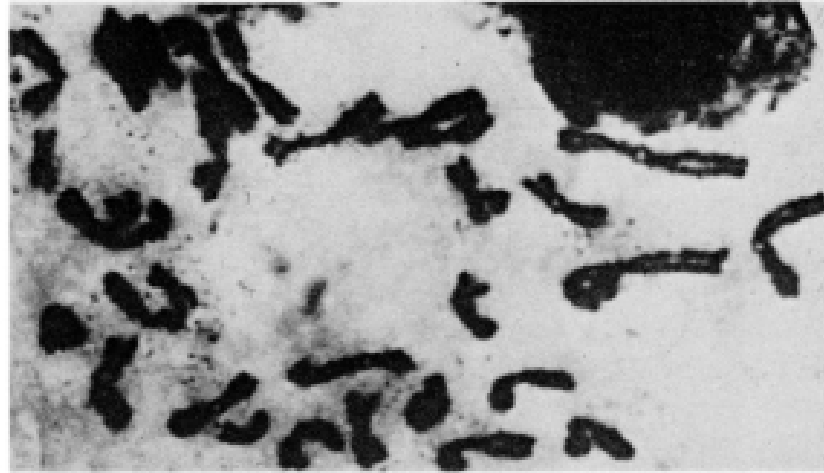
Центромерная ДНК *H. sapiens* (100 000-6 000 000 нп)



Типы центромерной активности

Дицентрические
хромосомы

Мертвоед-
Phosphuga atrata



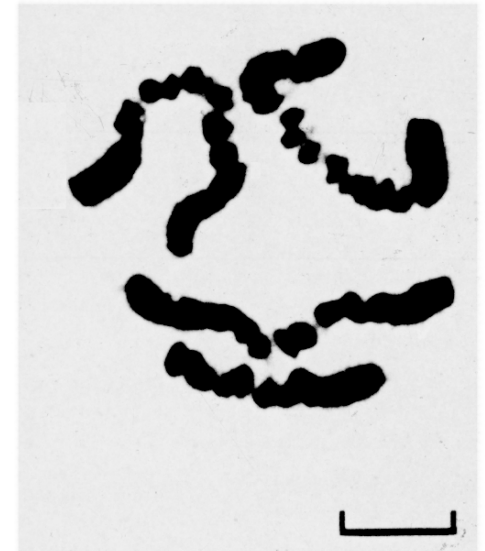
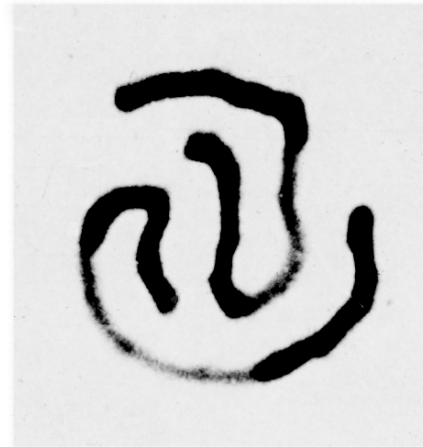
Типы центромерной активности



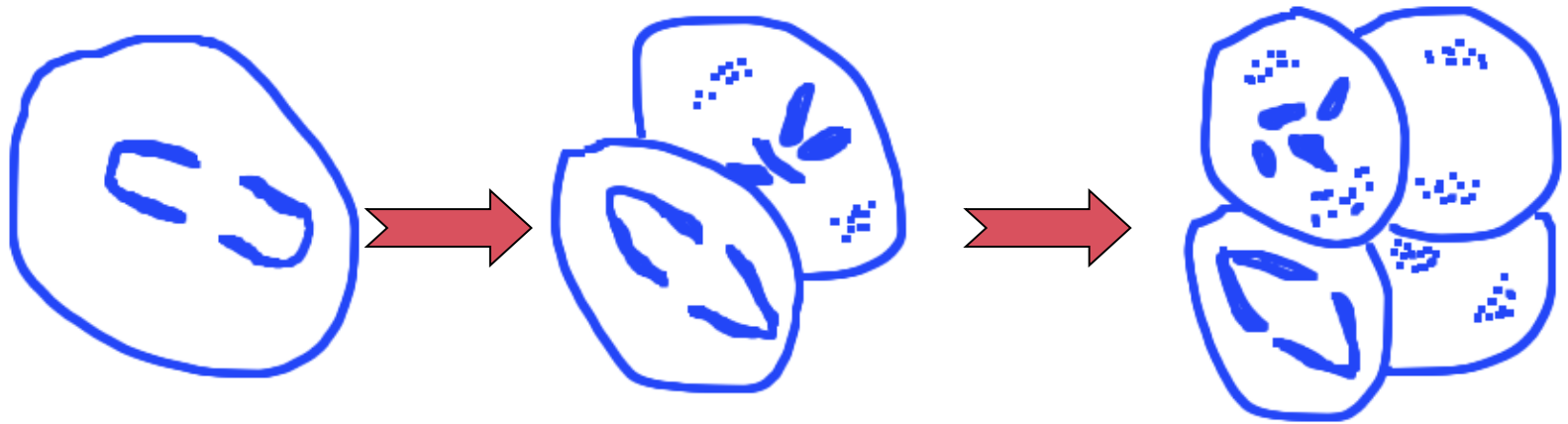
*Мертвоед-
Phosphuga atrata*

Полицентрические
хромосомы

Ascaris



Для видов с полицентрическими хромосомами известно явление диминуции хроматина



Диминуция у лошадиной аскариды наблюдается во втором-пятом делениях дробления: полицентрические хромосомы разделяются на много мелких, моноцентрических, значительная часть хроматина выбрасывается

Типы центромерной активности

Локализованная
центрическая
активность

Дицентрические
хромосомы

*Мертвоед-
Phosphuga atrata*

Моноцентрические
хромосомы

Полицентрические
хромосомы

Ascaris

Диффузная
центрическая
активность

Голокинетические
хромосомы

*Тли, цикады, клопы,
некоторые жуки, клещи,
простейшие, эвгленовые
и десмидиевые водоросли,
осоки, нематоды*

Ядро

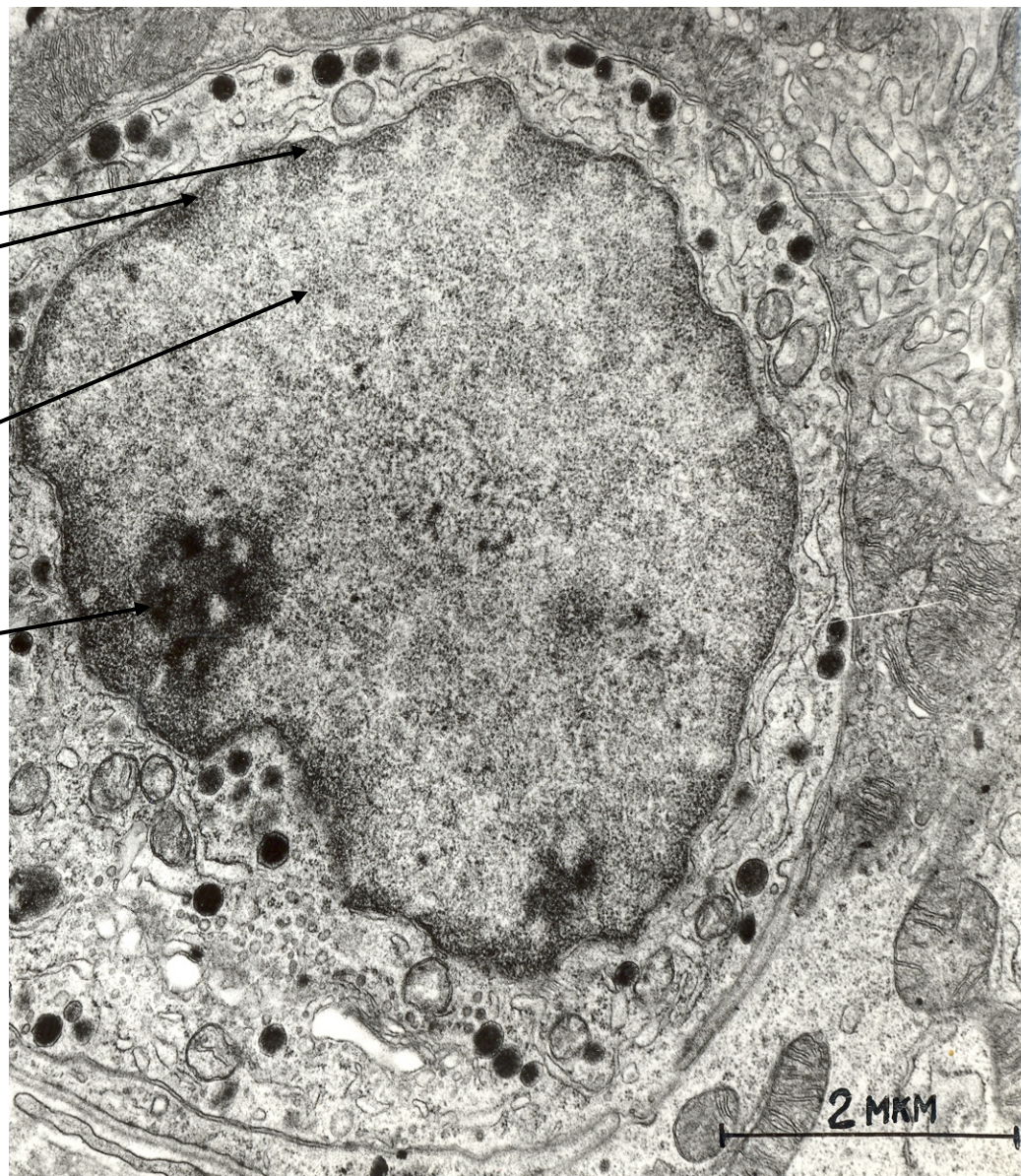
Хроматин
компактный

Хроматин
диффузный

Ядрышко

Гетерохроматин

Эухроматин



Хроматин

Эухроматин

Гетерохроматин
(ГХ)

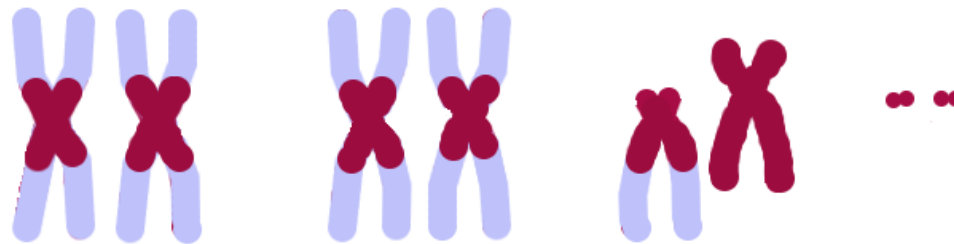
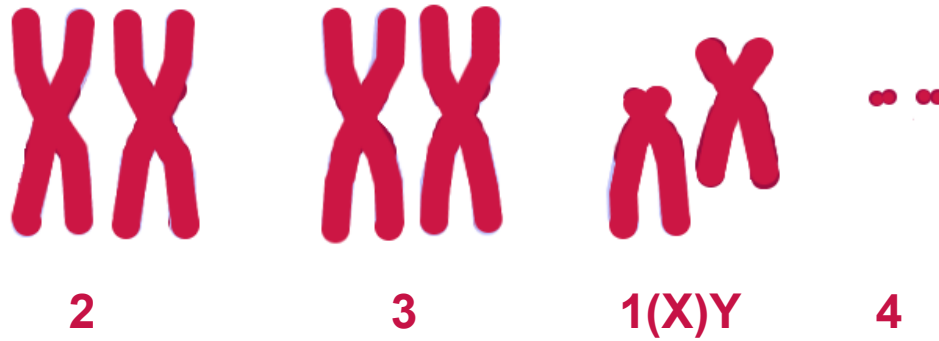
Конститутивный ГХ=
С-гетерохроматин
*Повторяющаяся ДНК,
сателлитная ДНК,
псевдогены*

Прицентромерный ГХ
Теломерный ГХ
Интерстициальный
(околядрышковый) ГХ
ГХ половых хромосом

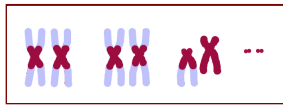
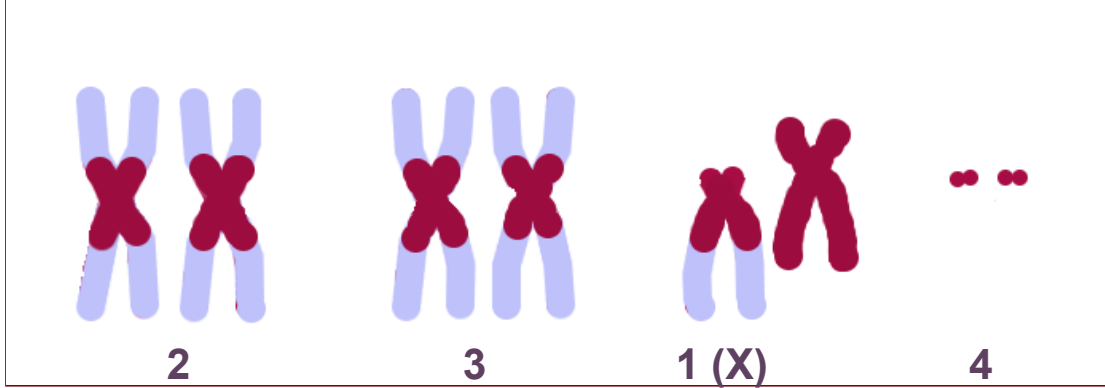
Свойства ГХ:

Конденсированное состояние
Эффект положения генов
Поздняя репликация
Недорепликация при политенизации
Эктопическое спаривание

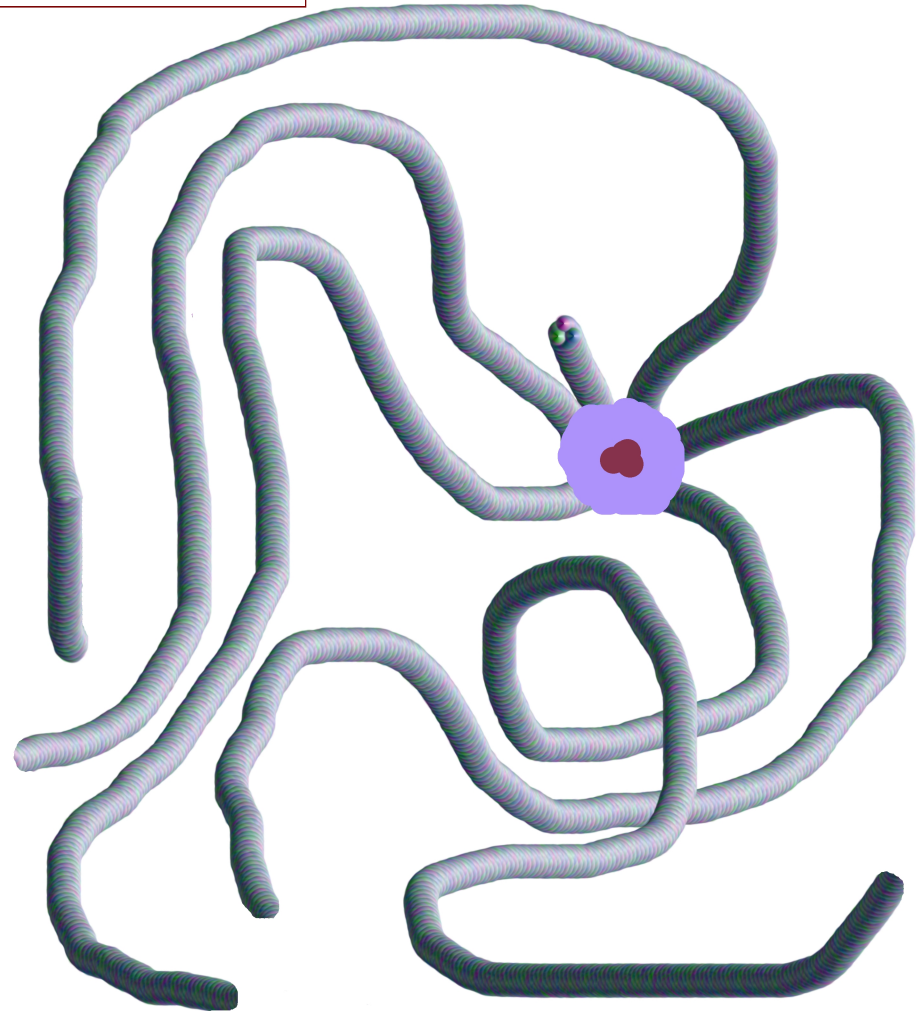
Метафазные хромосомы *Drosophila melanogaster*. $2n = 8$

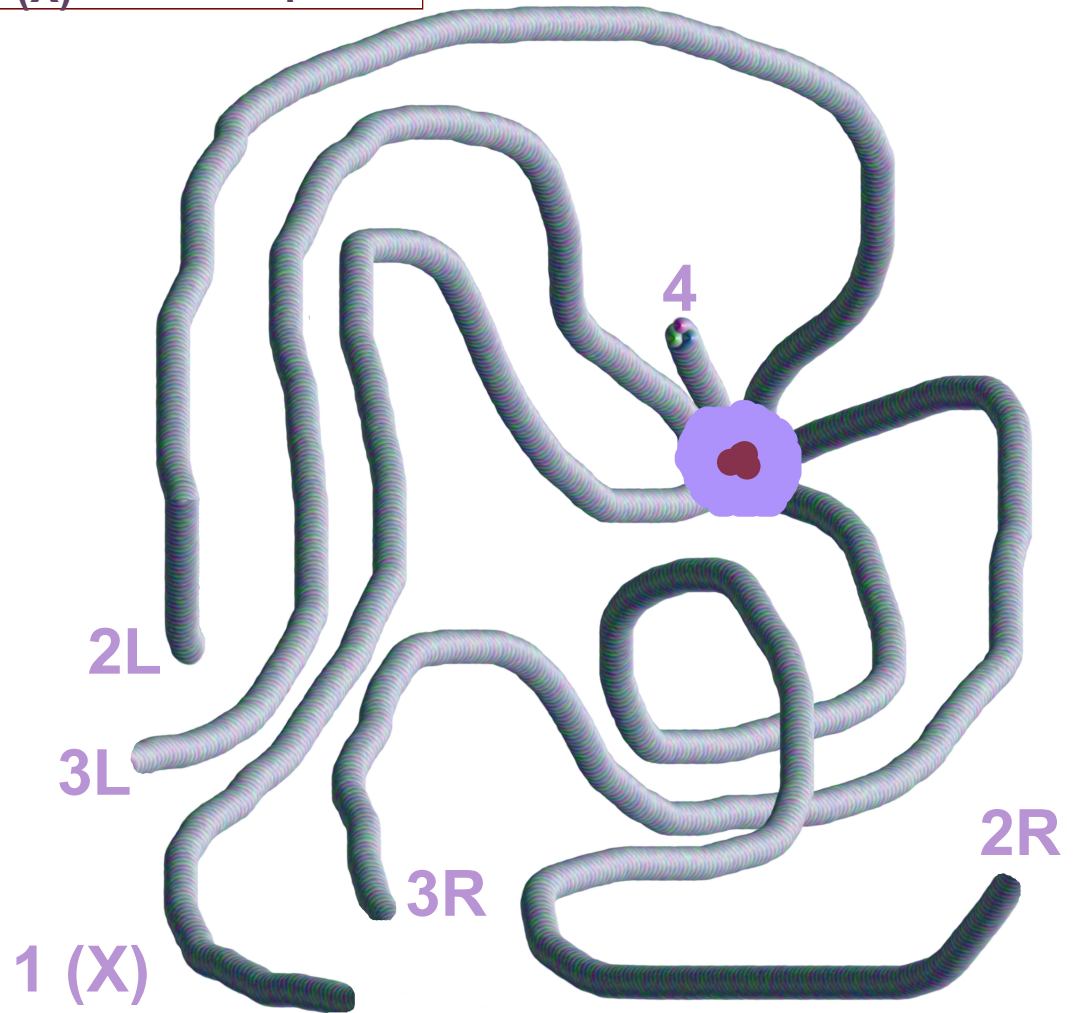
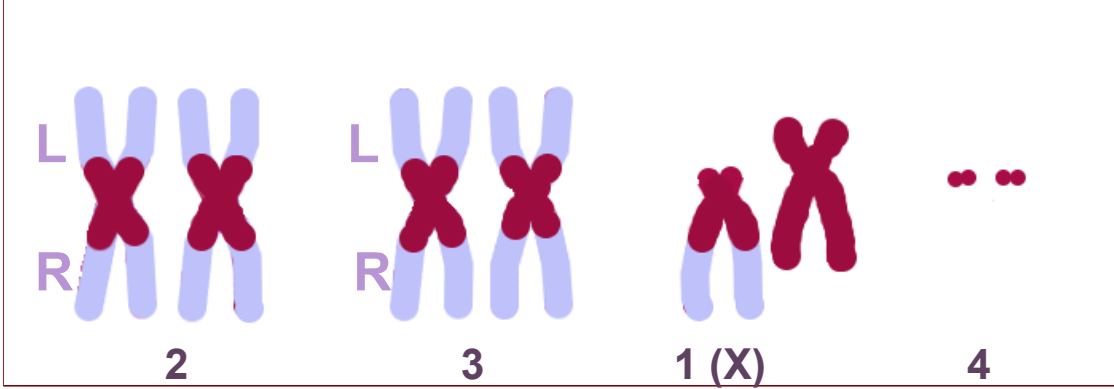


Окраска на конститутивный гетерохроматин



Недорепликация
районов
конститутивного
гетерохроматина
**(альфа-
гетерохроматин)** и
прилежащих
эухроматиновых
районов **(бета-
гетерохроматин)**





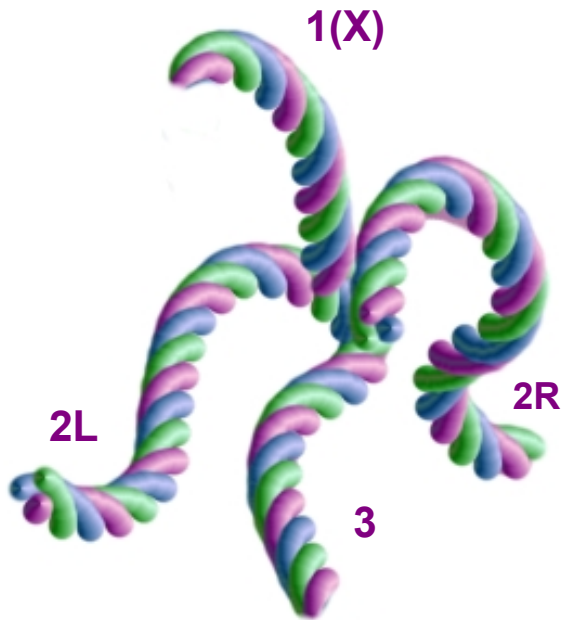
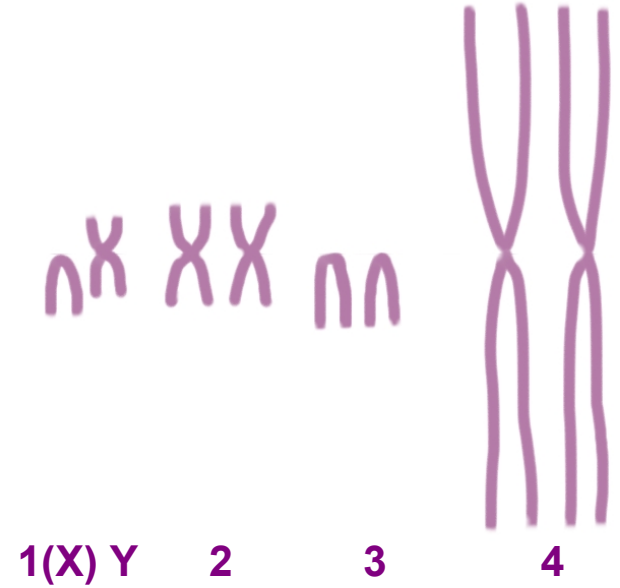
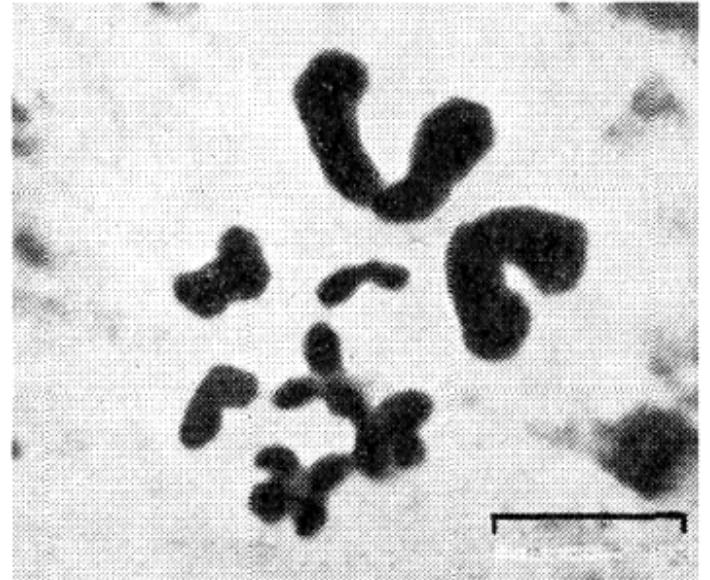


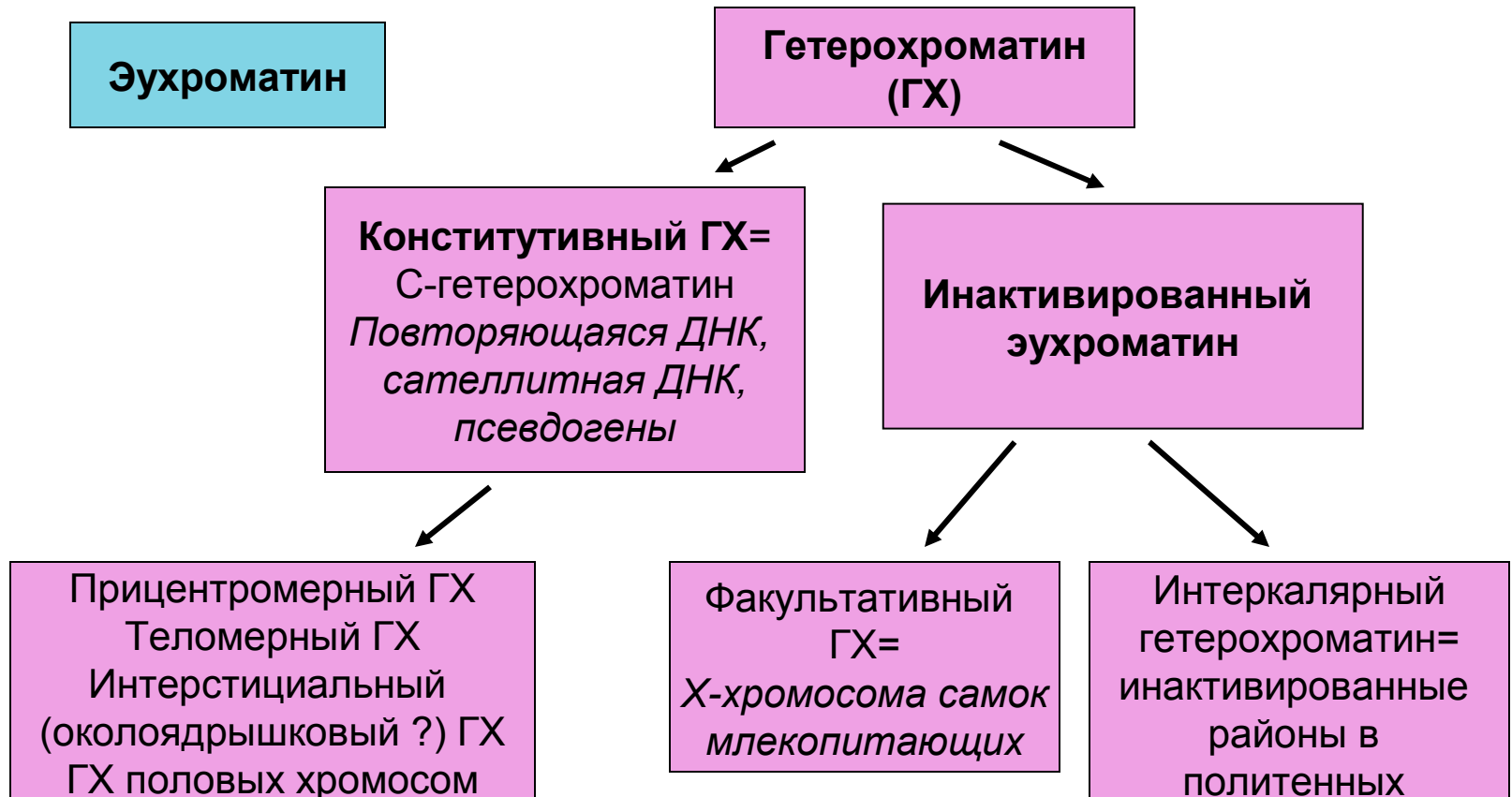
Схема
строения
политенных и
метафазных
хромосом
*Drosophila
nasutooides*



Окраска на конститутивный гетерохроматин



Хроматин



Конденсированное состояние

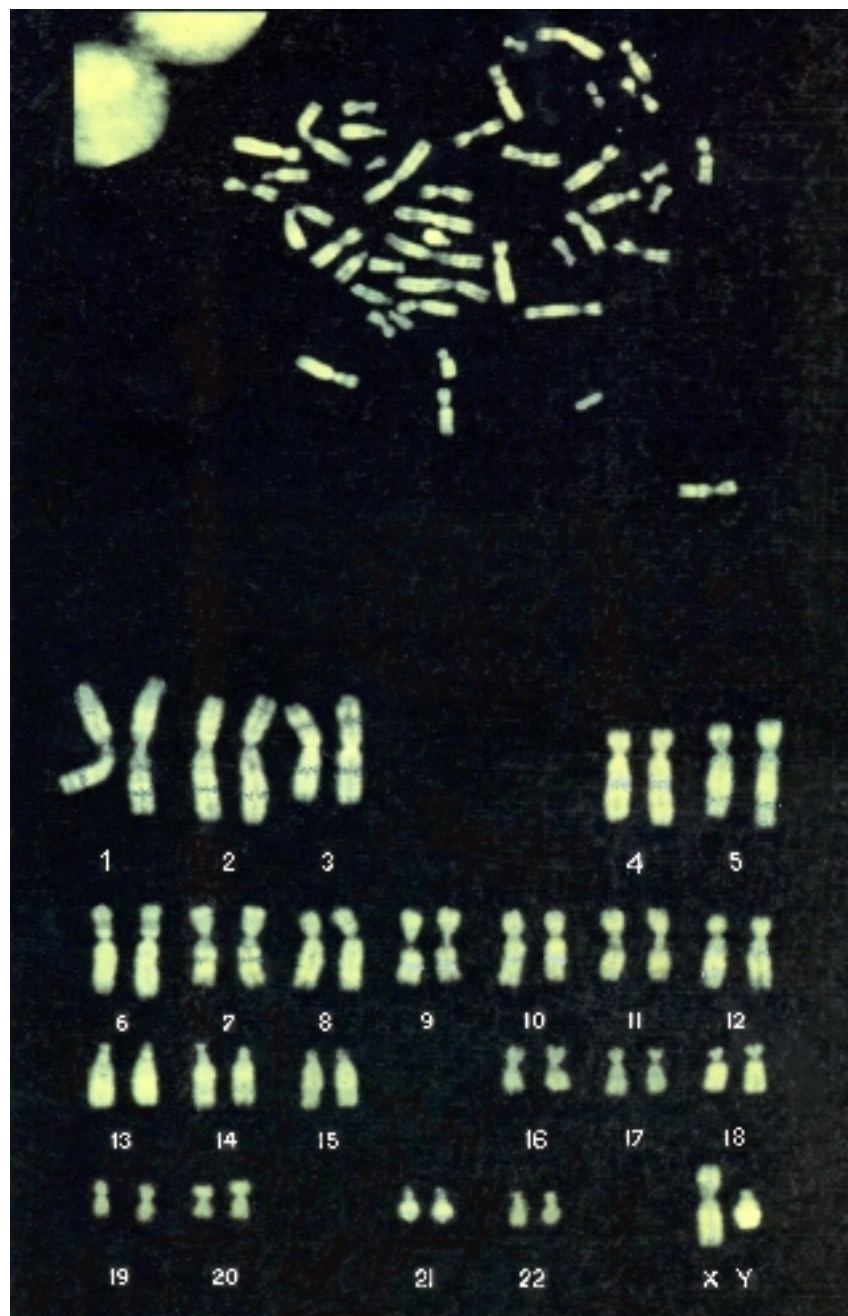
- Свойства ГХ:**
- Эффект положения генов
 - Поздняя репликация
 - Недорепликация при политенизации
 - Эктопическое спаривание

Дифференциальная
окраска хромосом

Q-, C-, G- и R-полосы=районы (bands)

Q-дифференциальная окраска

Хромосомы человека
(акрихин=quinacrine)



**Q-дифференциальная
окраска**

Quinacrine

DAPI (4'-6-диамидино-2-фенилиндол)

Ноеchst 33258



**АТ-богатые
районы ДНК**

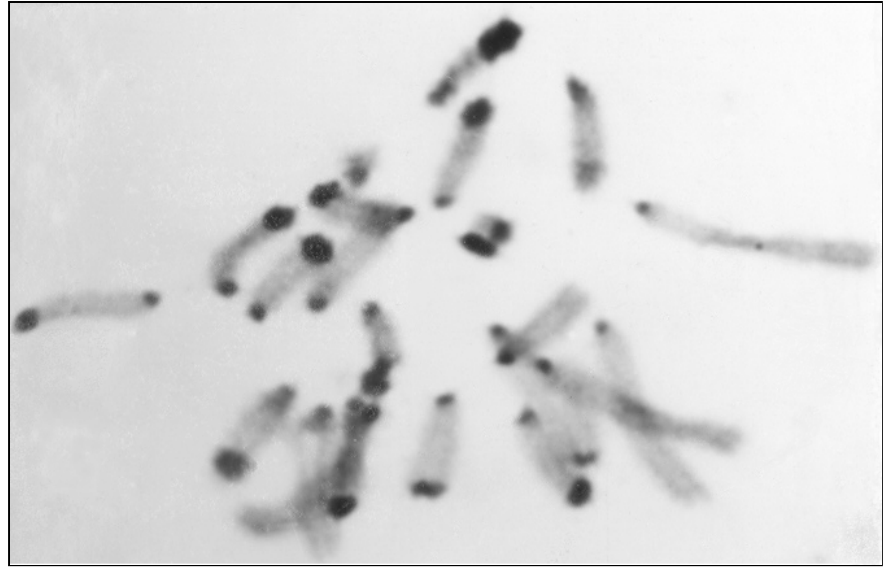
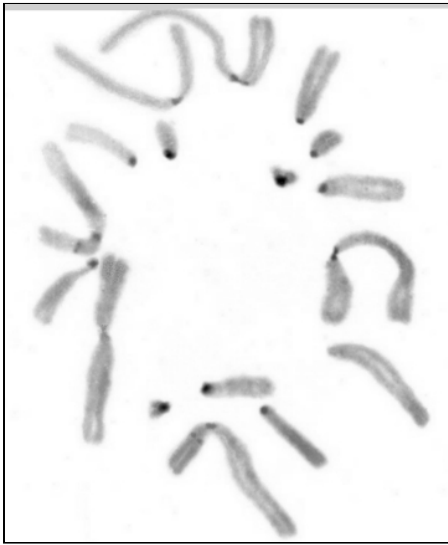
7-аминоактиномицин

Хромомицин А3

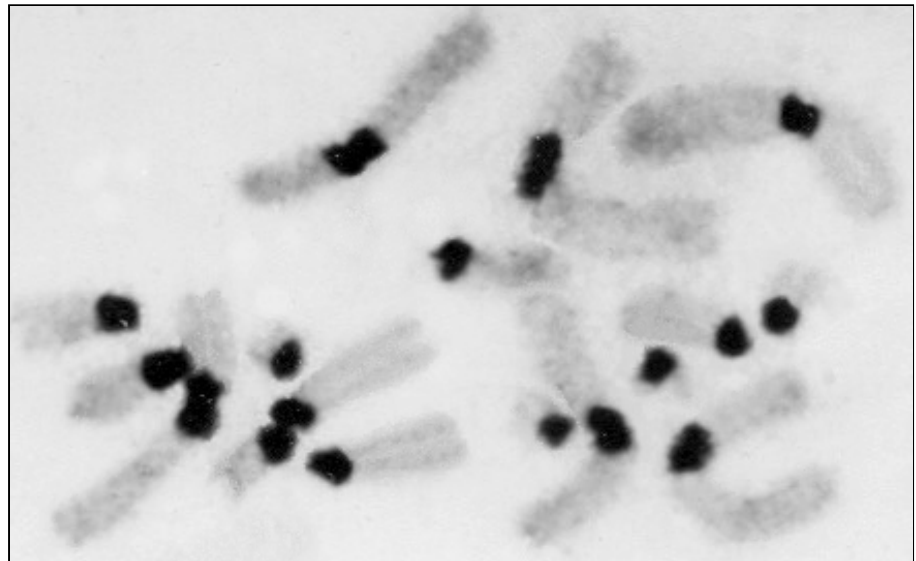
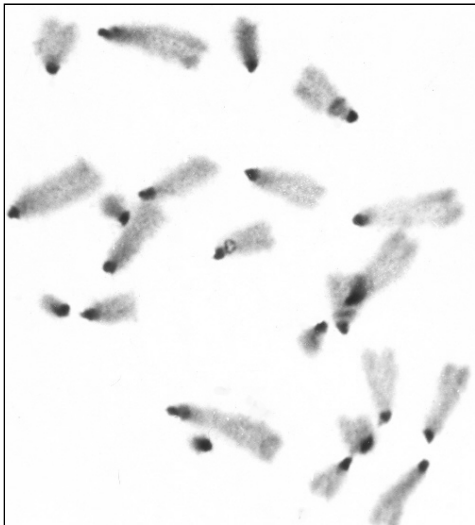
Оливомицин



**ГЦ-богатые
районы ДНК**



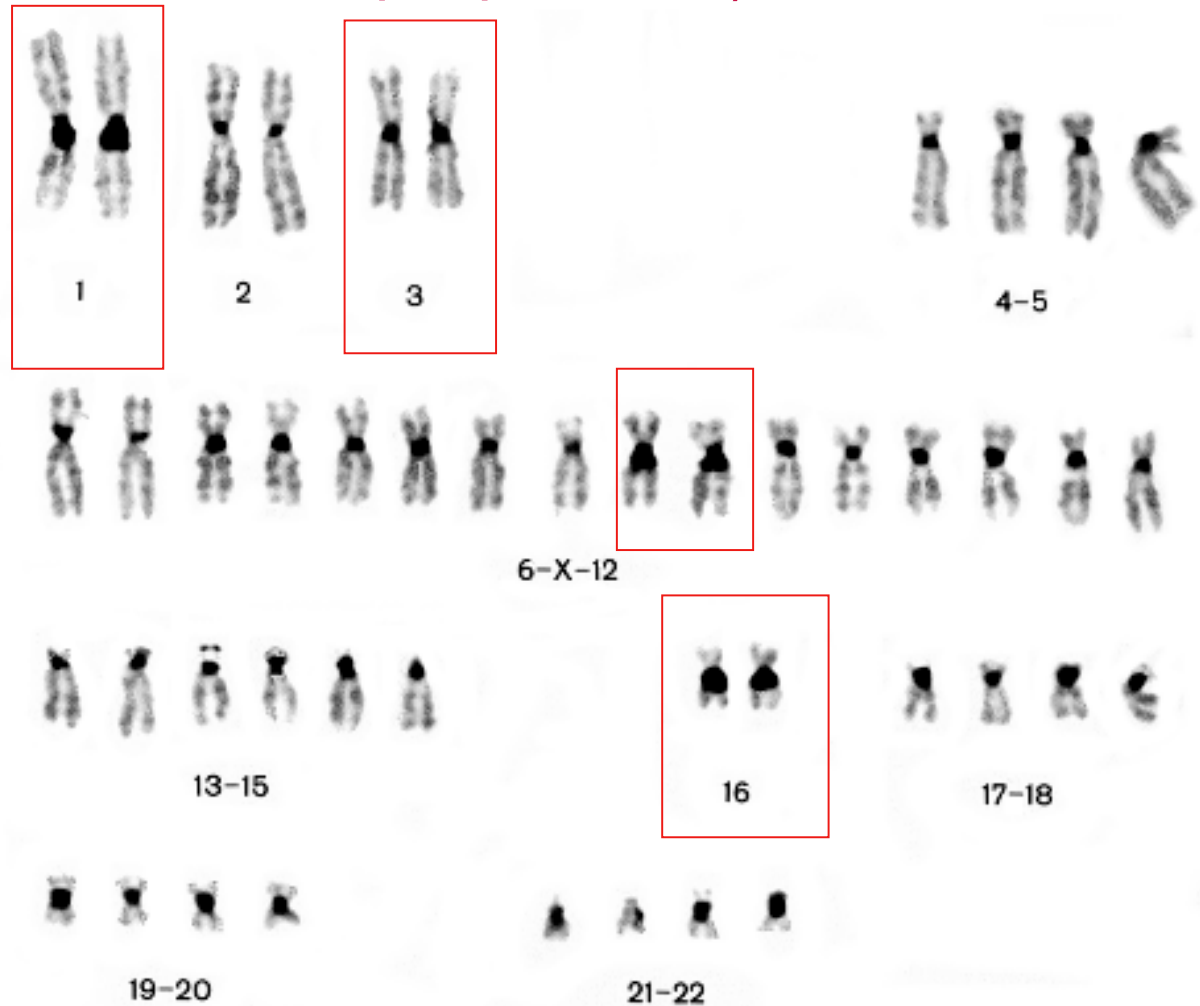
C-гетерохроматин у разных видов саранчовых



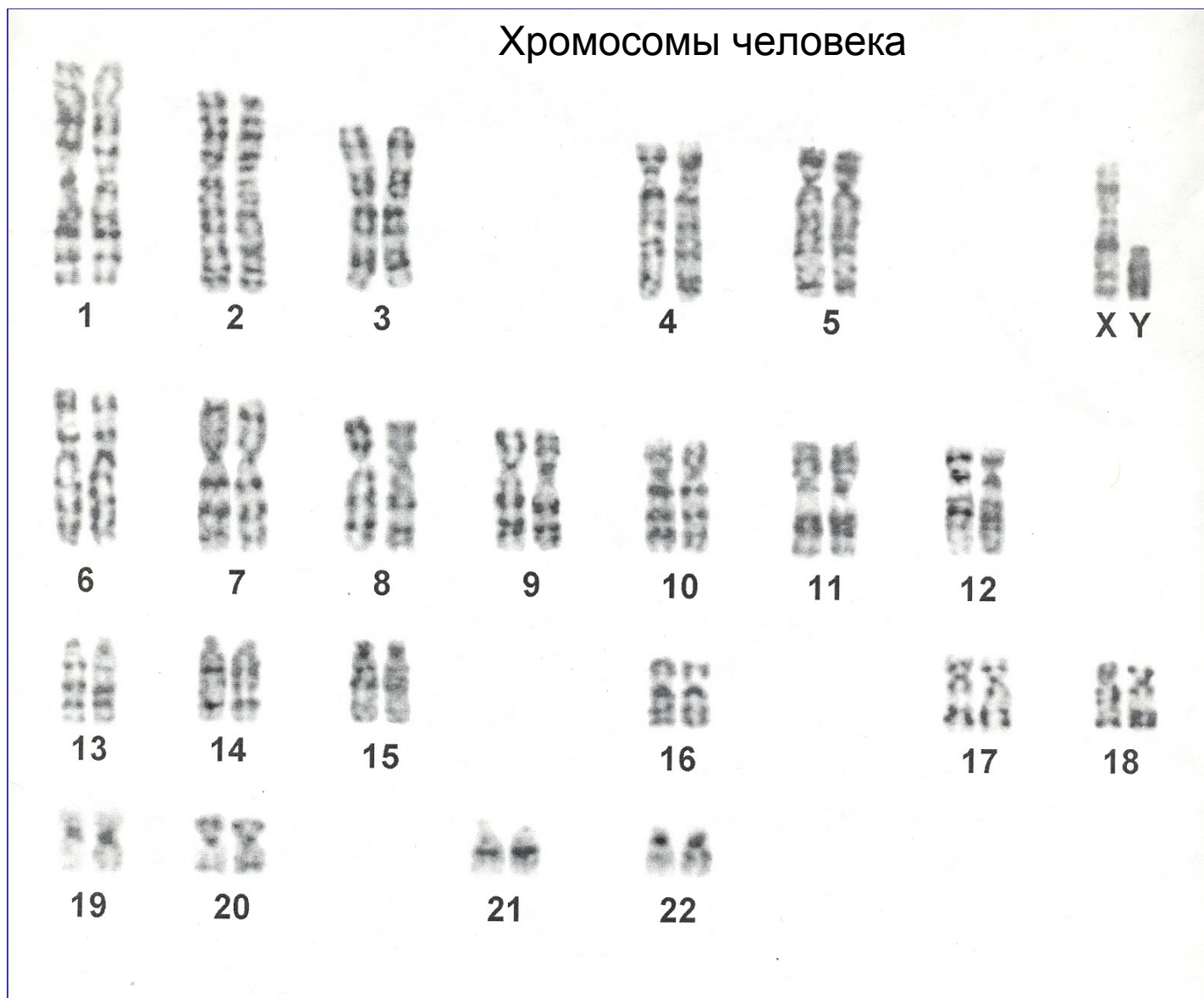
C-дифференциальная окраска (конститутивный гетерохроматин)

Хромосомы

человека

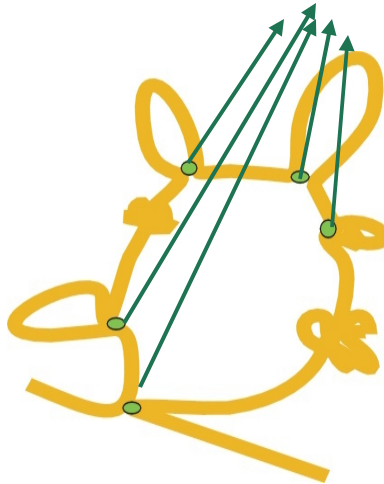


G-дифференциальная окраска (GTG)



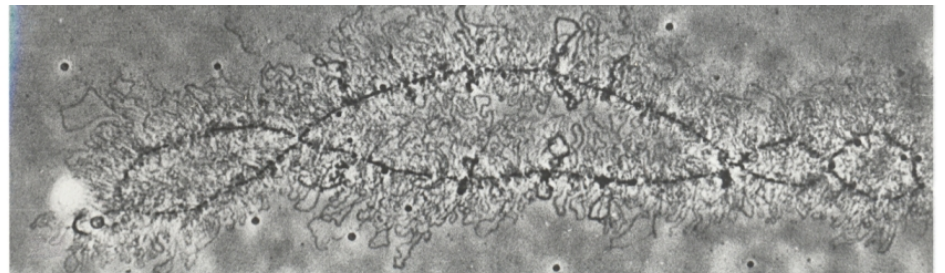
Розетка-петля G-полосы

Соединить все белки



Удалить белки
в основании
петель первого порядка

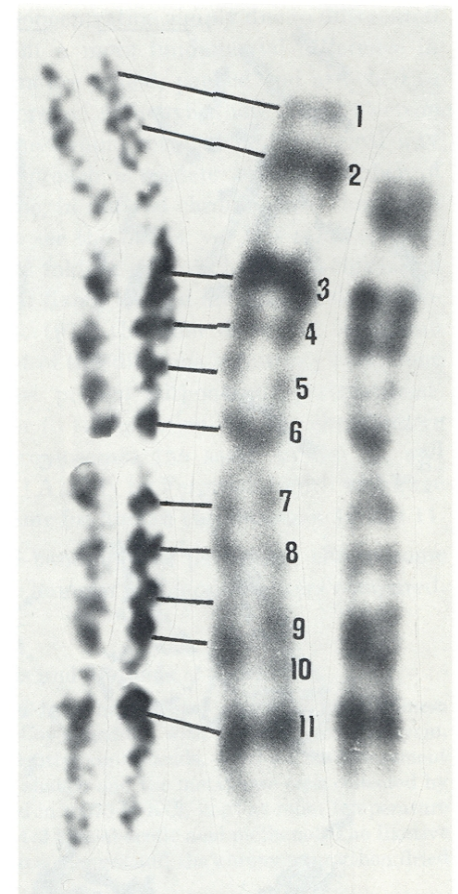
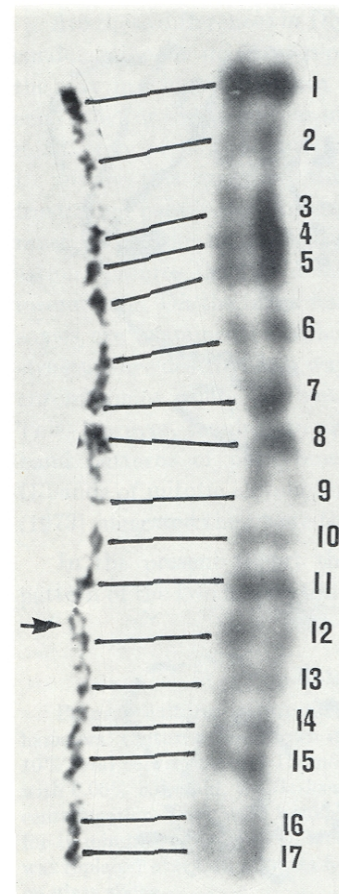
«Ламповые щетки»
в ооцитах амфибии.



Хромосомы китайского хомячка

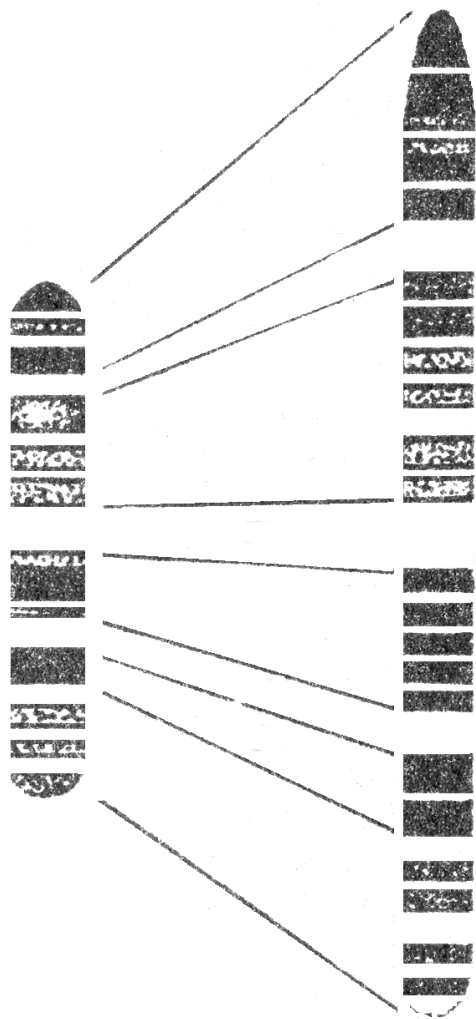
Метафаза митоза

Пахитена



Сравнение рисунка G-полос на метафазных хромосомах и расположения хромомеров на пахитенных бивалентах

G-дифференциальная окраска (GTG)



1-я хромосома мыши,
окрашенная G-
дифференциально
при разной степени
конденсации хроматина

Схема G-окрашенных хромосом человека

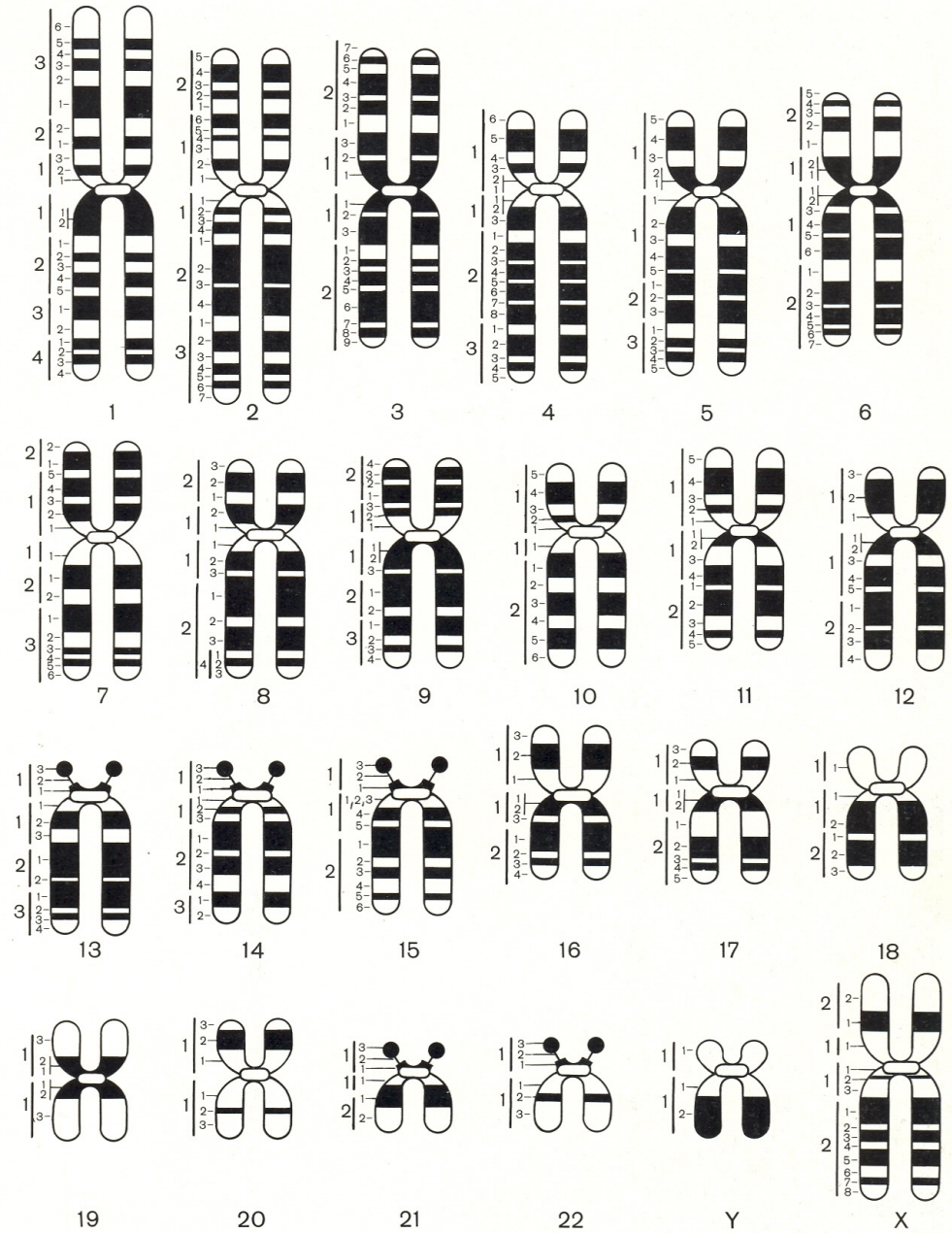
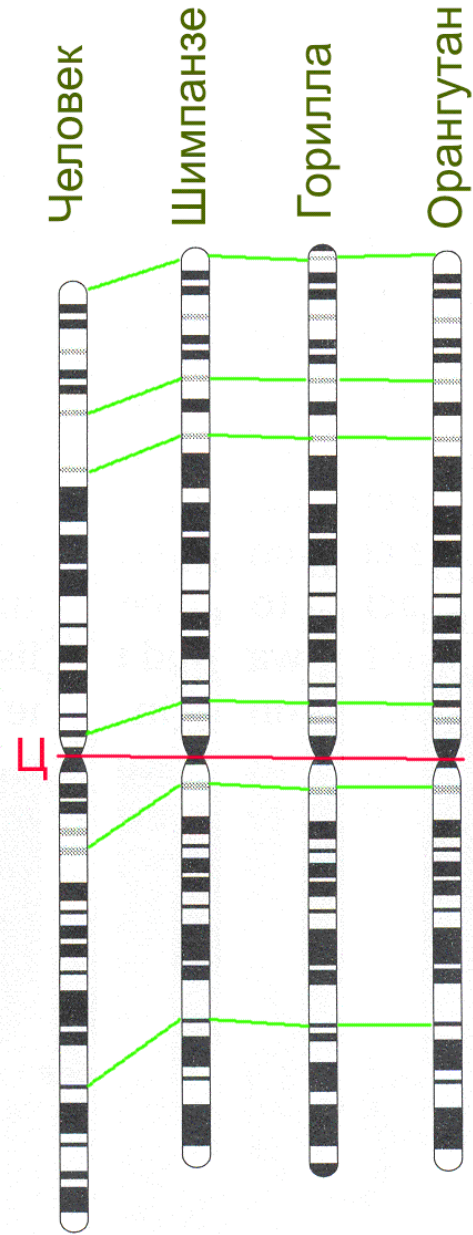
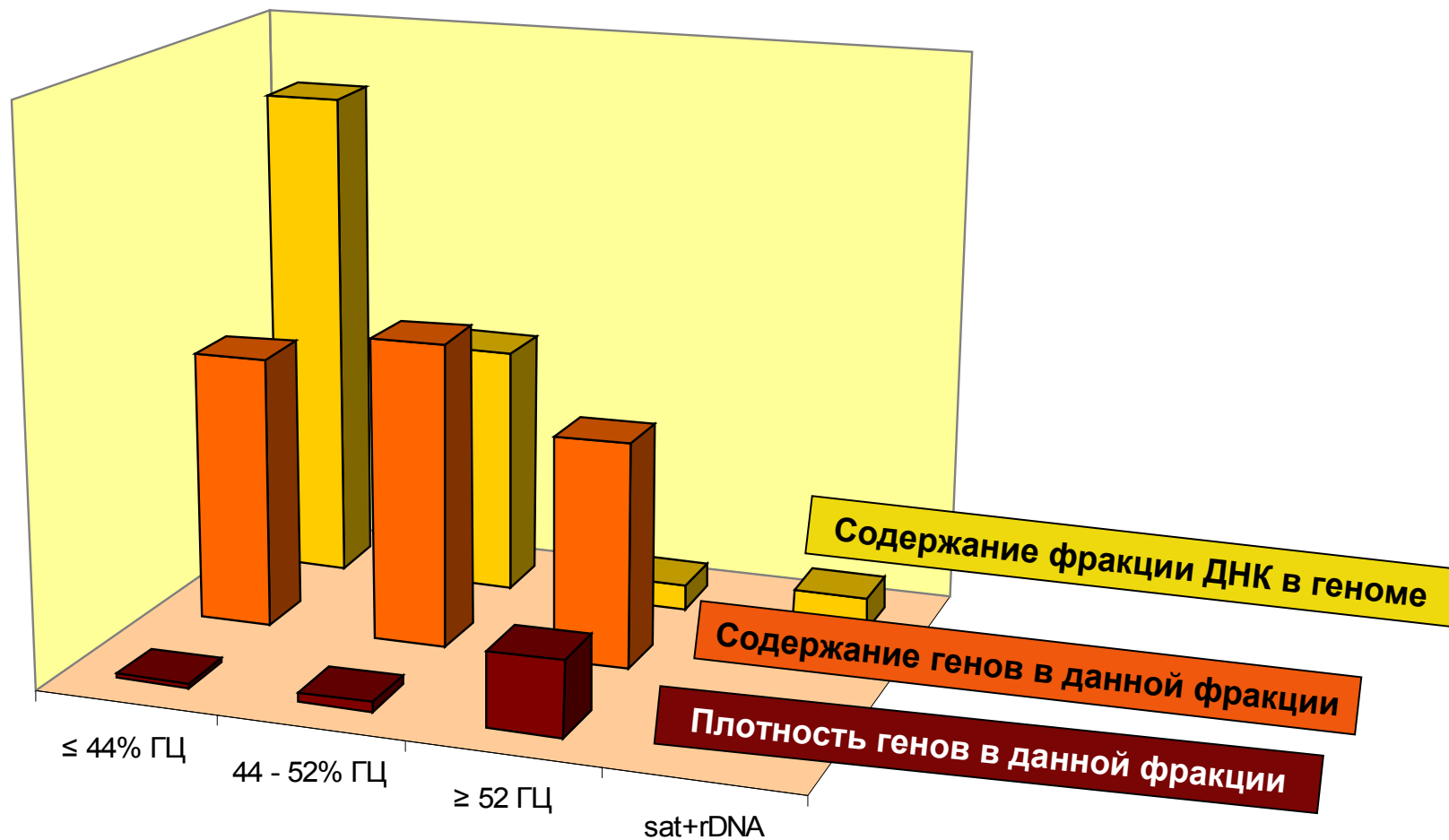


Рисунок G-полос специфичен и может быть использован в сравнительно-эволюционных исследованиях

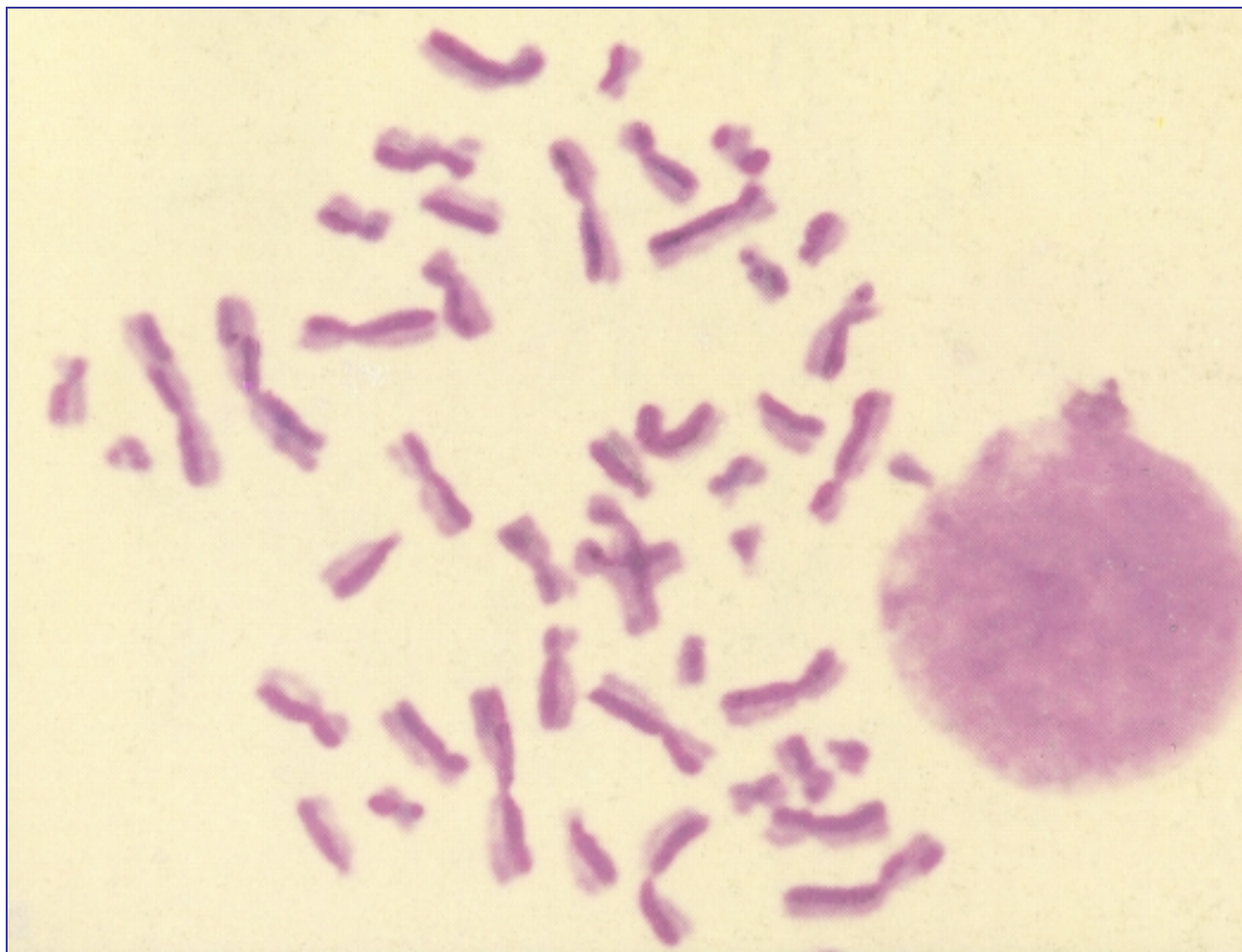


Связь между расположением генов и содержанием нуклеотидов в разных участках генома человека

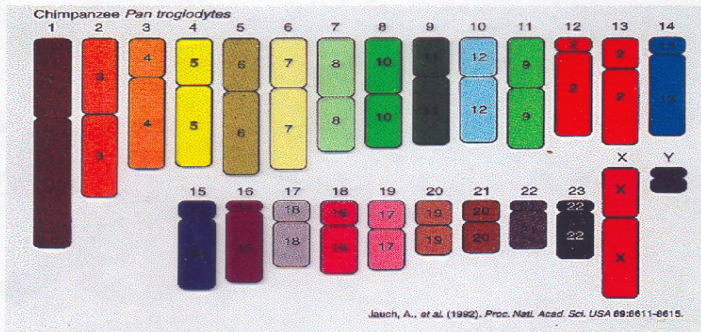


Дифференциальная окраска с помощью 5-бромдезоксиуридина (BrdU) («арлекиновая», СХО-метод)

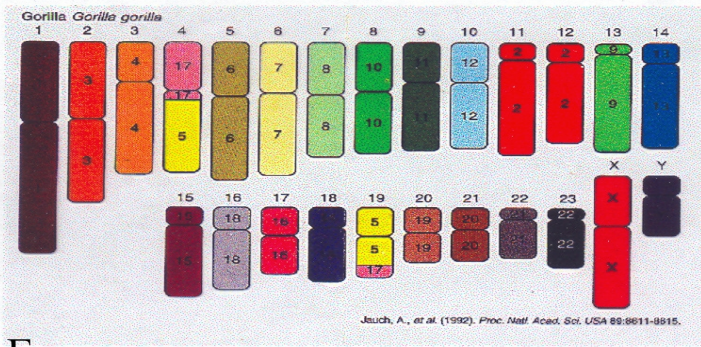
Хромосомы
человека



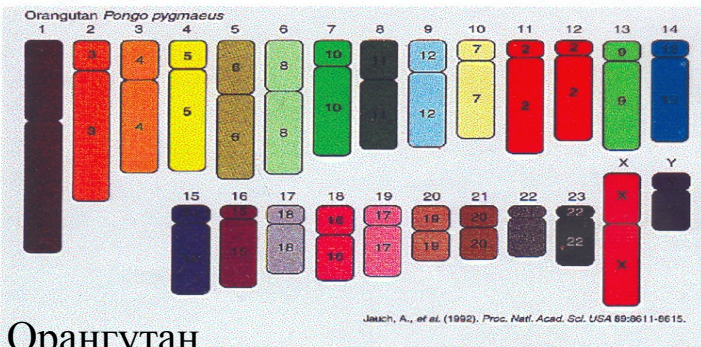
Цвета хромосом человека



Шимпанзе



Горилла



Орангутан

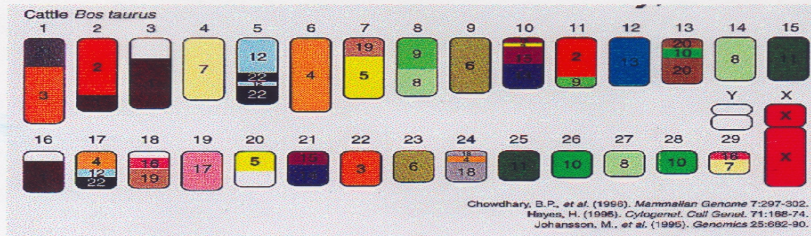
«Сравнительный хромосомный пэйнтинг»

FISH ДНК из хромосом человека на хромосомы других животных

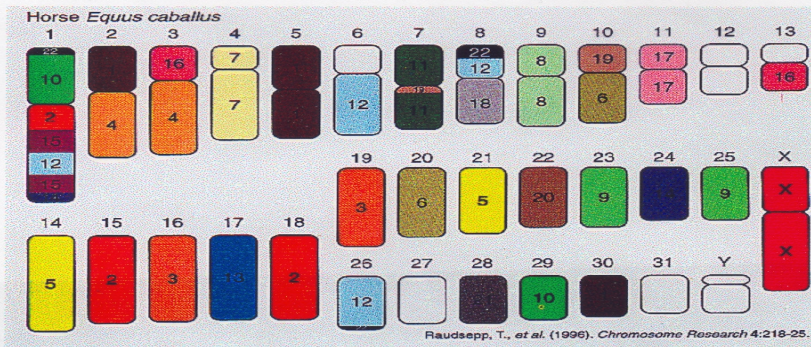
Homology to human chromosomes is indicated by color and number. Key:



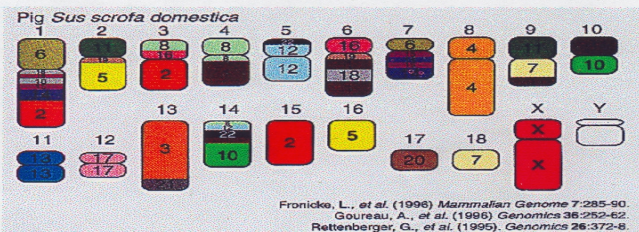
Цвета хромосом человека



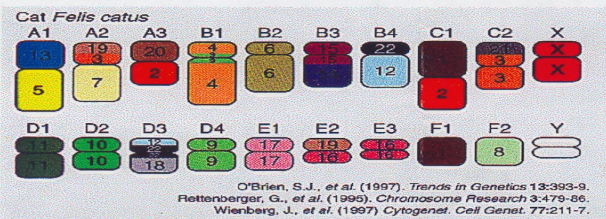
КРС



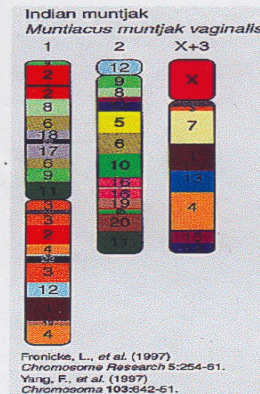
Лошадь



СВИНЬЯ



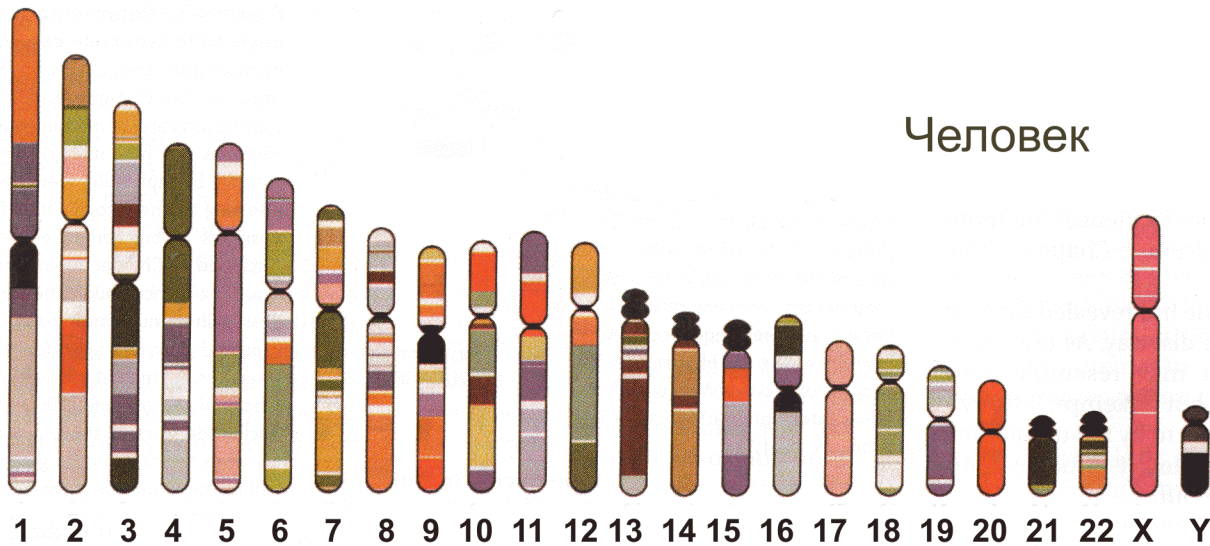
Кошка



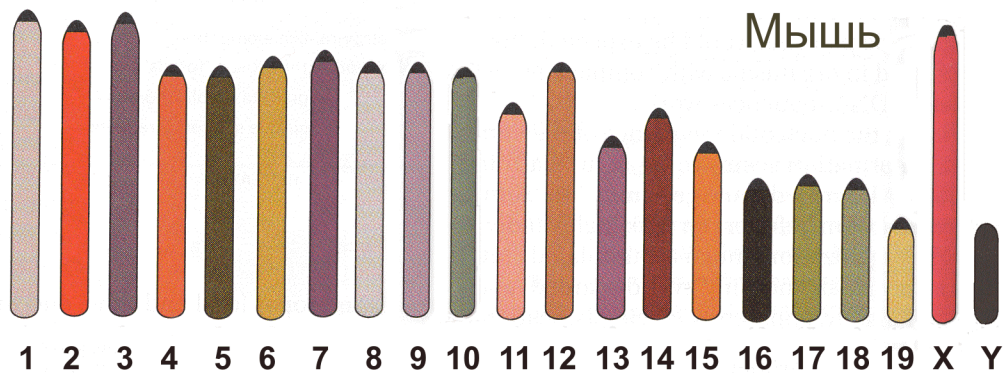
Мунтжак

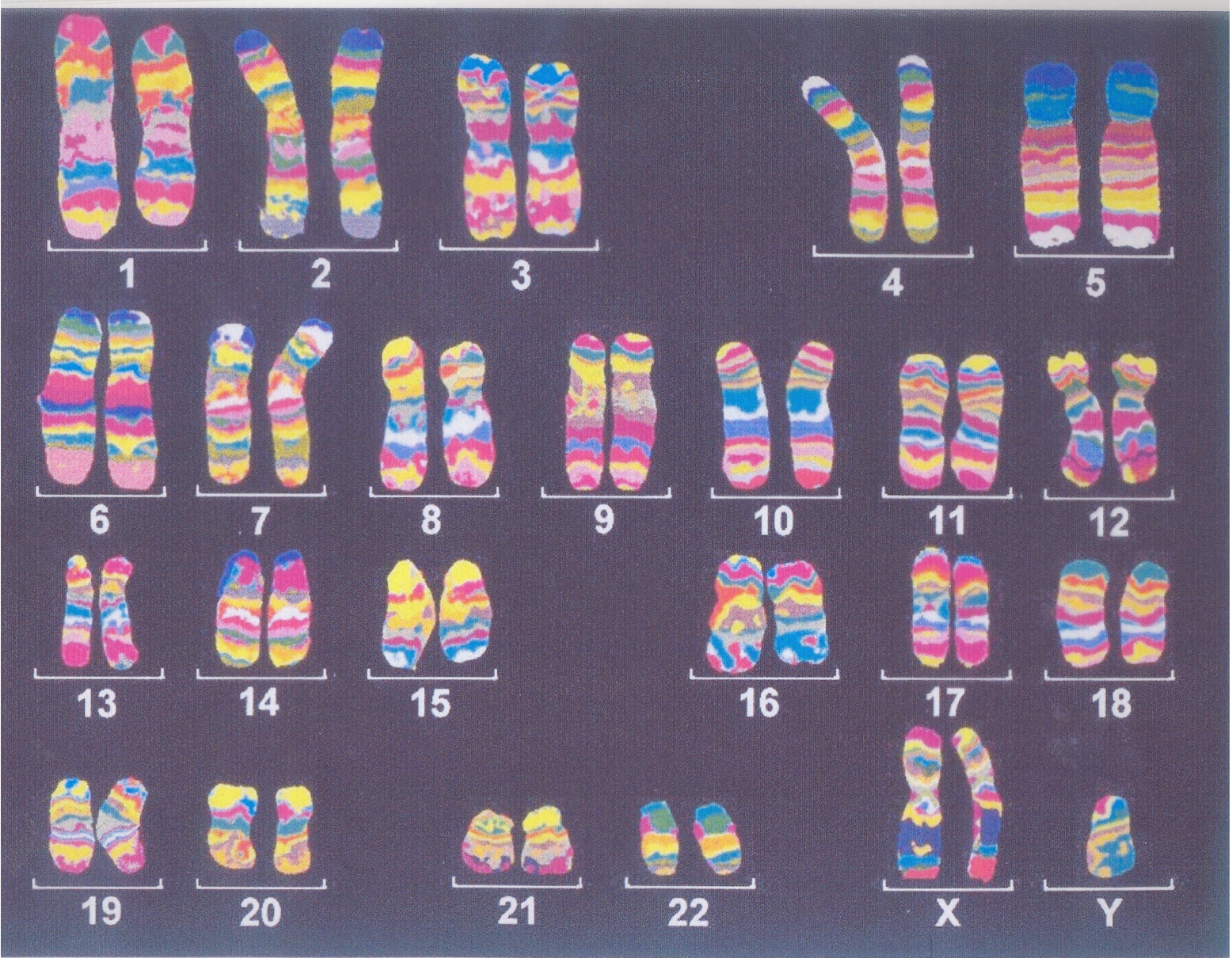
«Сравнительный хромосомный пэинтинг»

FISH ДНК из хромосом человека на хромосомы других животных

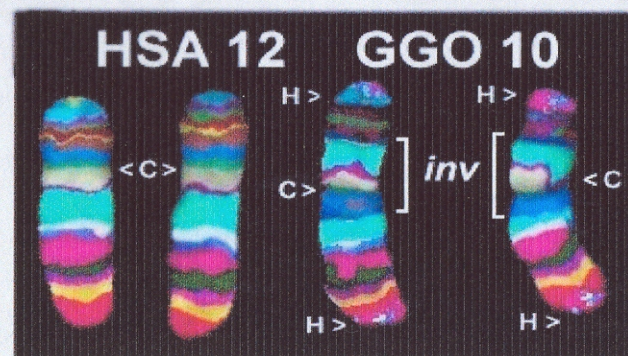


Результаты FISH
ДНК из
хромосом мыши
на хромосомы
человека



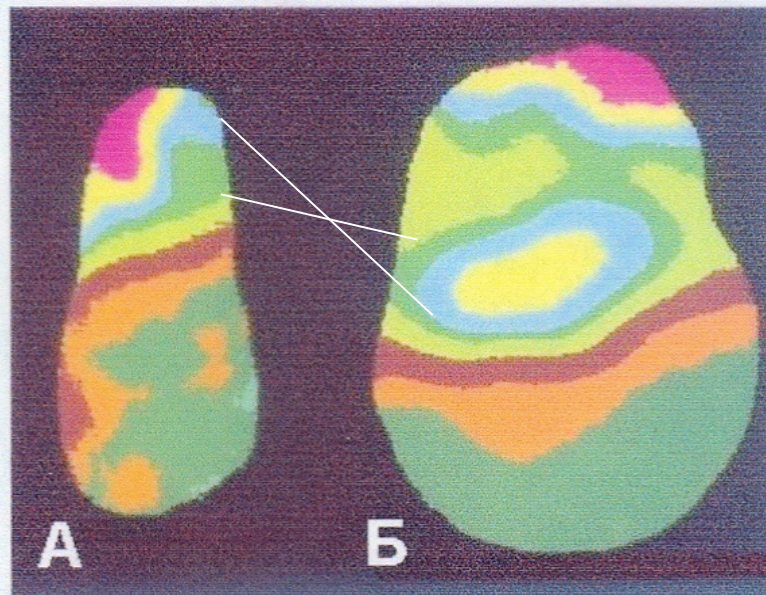


Многоцветный бэндинг всех хромосом человека



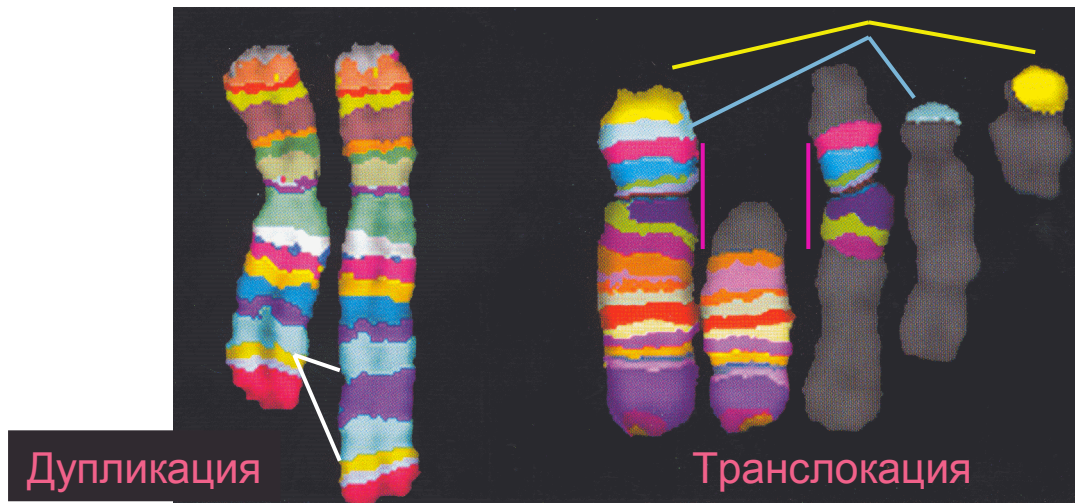
Сравнение хромосом человека (HSA) и гориллы (GGO) с помощью многоцветного бэндинга

Применение многоцветного бэндинга в диагностике наследственных болезней человека



Исследование перестроенной Y-хромосомы
с помощью многоцветного бэндинга
а) нормальная хромосома
б) хромосома с инвертированной дупликацией

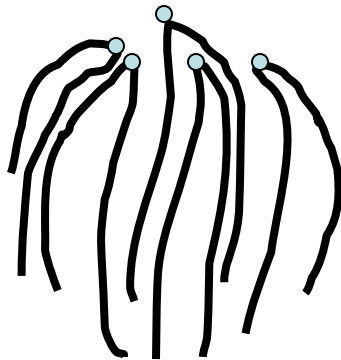
Применение многоцветного бэндинга в диагностике наследственных болезней человека



«Расшифровка» хромосомных перестроек

Пространственная организация хромосом в ядре

Центромерные районы
после телофазы



Радиаль-
ориентация

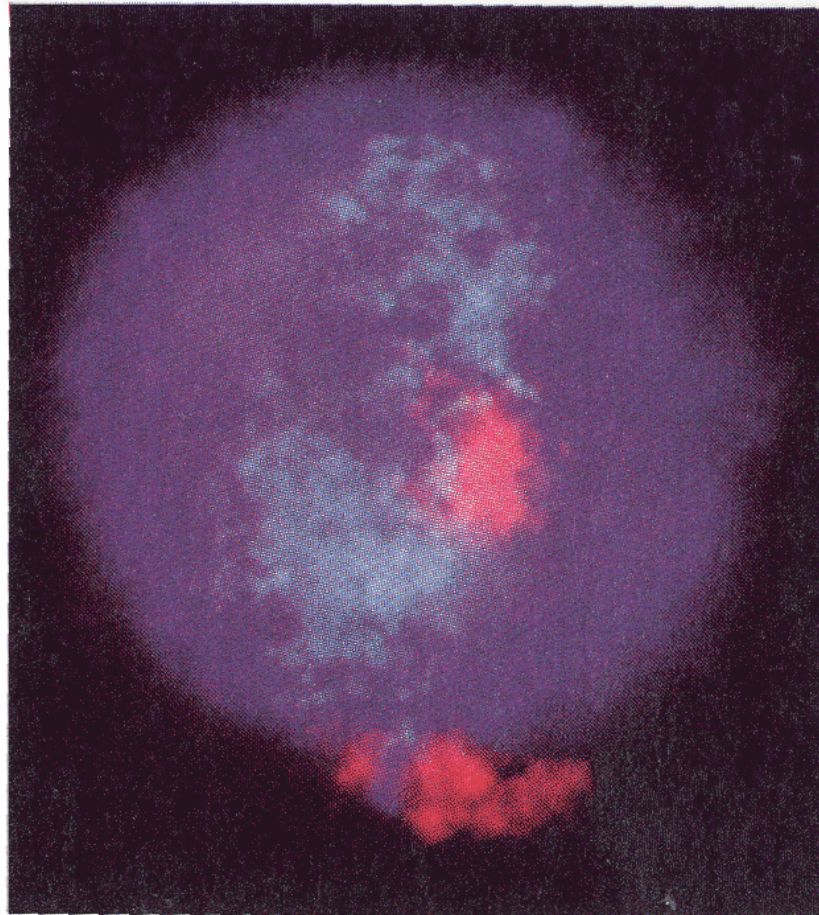
Пространственная организация
обеспечивается

Контактами ядрышкообразующих
хромосом

Эктопическими контактами между
негомологичными хромосомами

Взаимодействием хроматина с
ламиной и матриксом

Хроматин каждой хромосомы в интерфазном ядре располагается компактно, образуя «хромосомные территории»

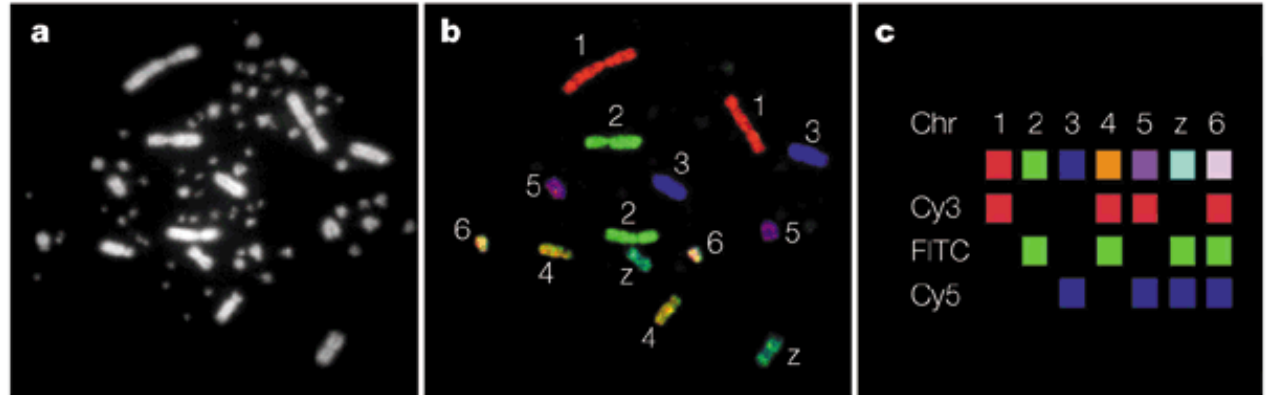


5 мкм

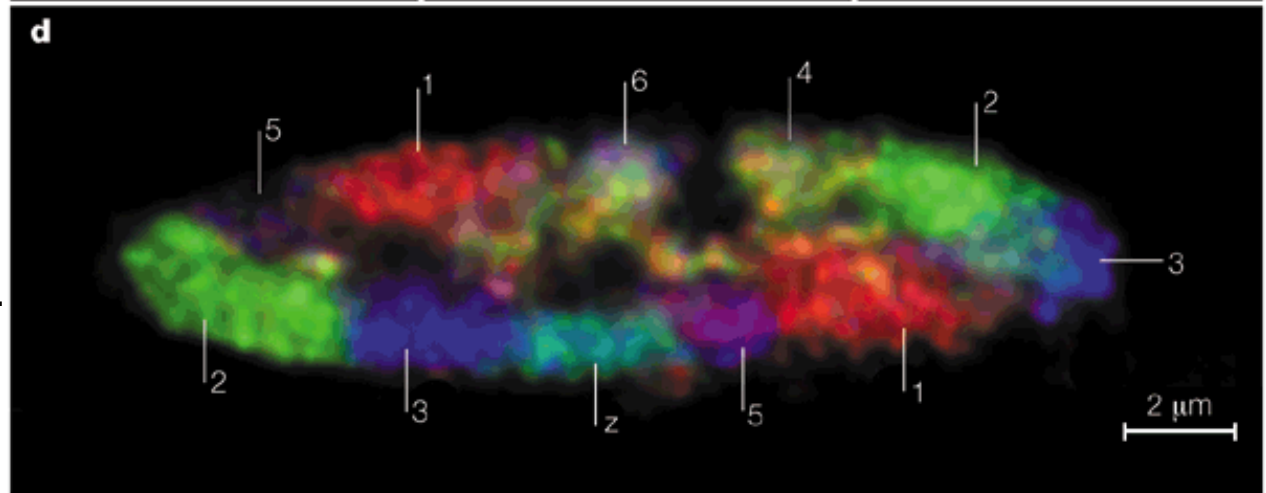
Расположение хромосом
восемнадцатой и
девятнадцатой пар
в интерфазном ядре
лимфоцита человека

Расположение хромосом в интерфазном ядре

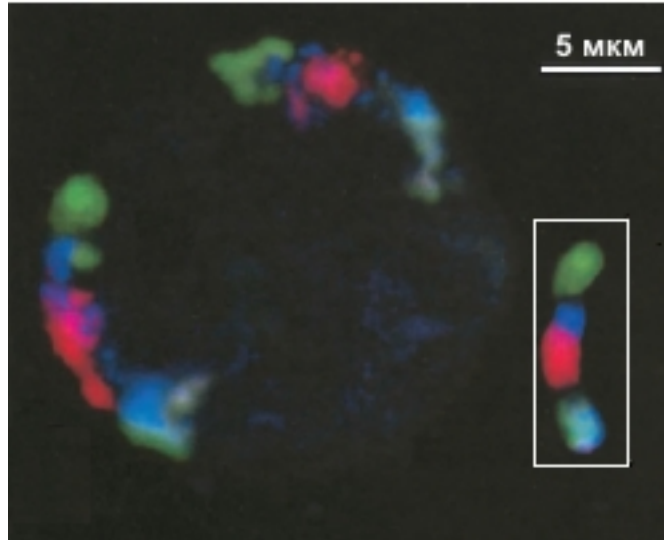
Метафазные хромосомы цыпленка



Расположение хромосом 1-6 и Z в ядре фибробласта.



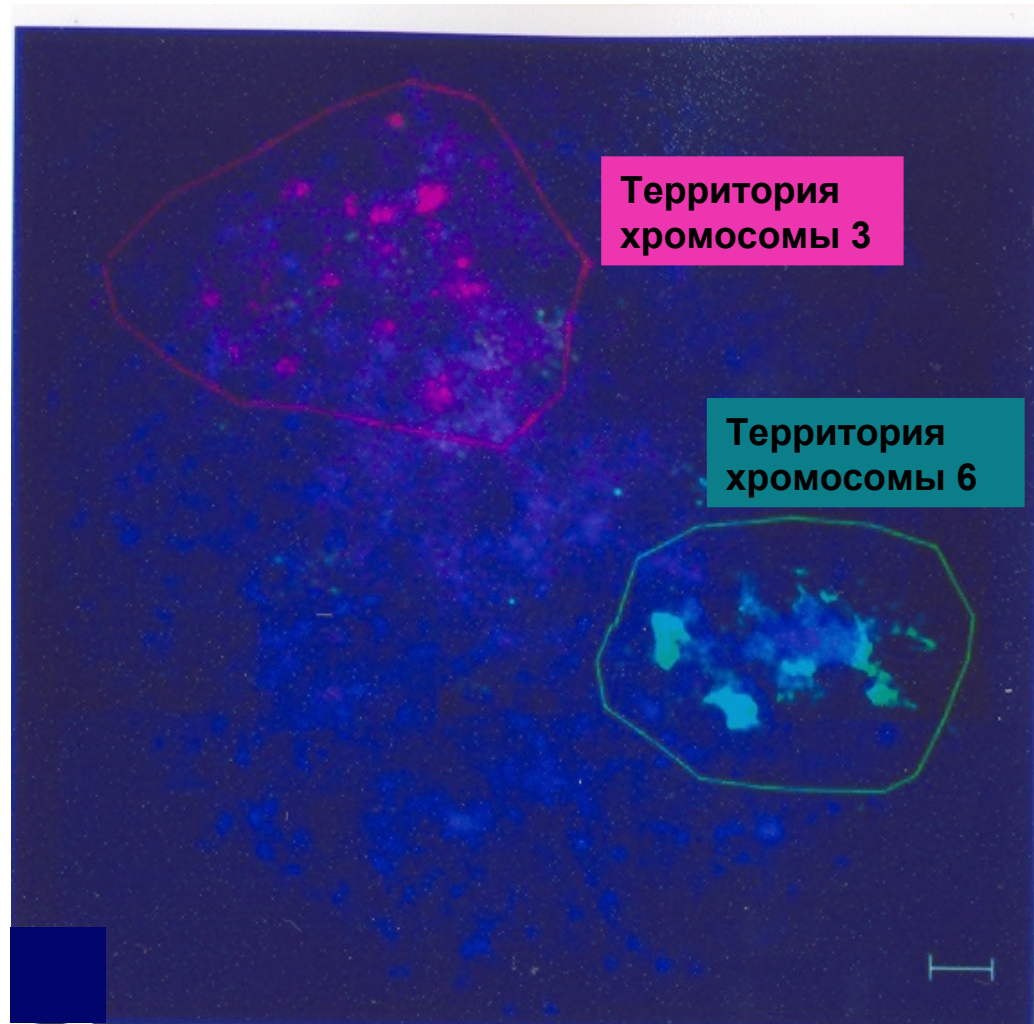
Расположение хромосом в интерфазном ядре



Расположение хромосом 5-й пары в ядре лимфоцита человека и метафазная хромосома 5 при том же увеличении

Интерфазное ядро: хромосомные территории

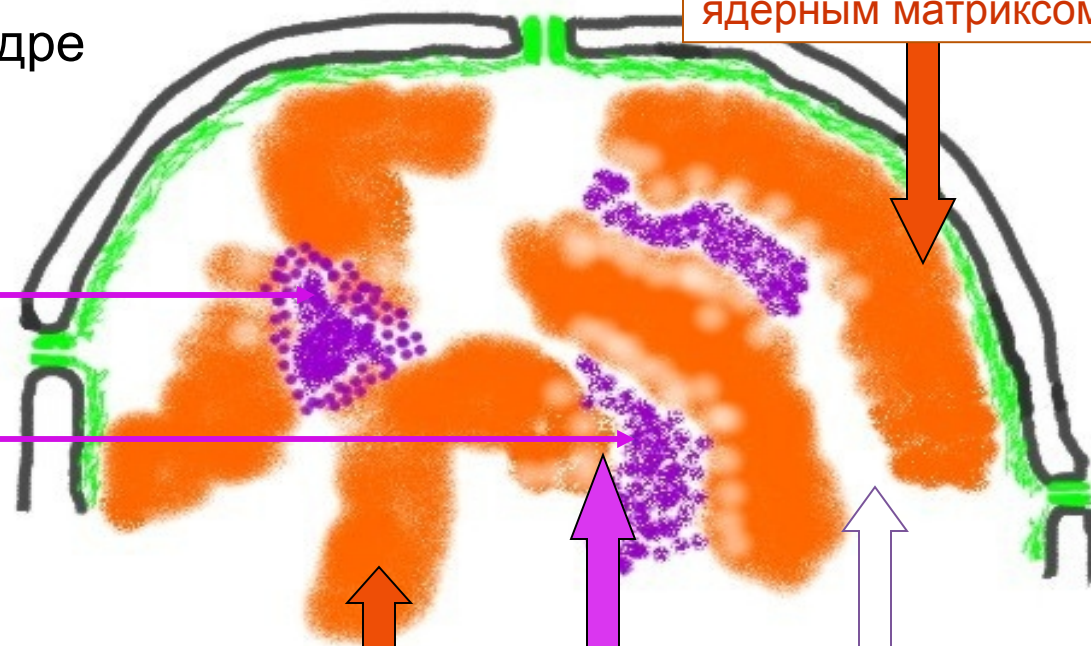
Флуоресцентная
in situ
гибридизация
(FISH) на
интерфазном
полиплоидном
ядре синей
мясной мухи



Современные представления об организации хроматина в интерфазном ядре

Ядрышко

Район транскрипции



Внутрихромосомная территория

Неактивный хроматин:
внутри территории,
компактный,
связан с ламиной или
ядерным матриксом

Межхромосомная область

Активный хроматин:
на границе территорий,
менее компактен,
доступен для транскрипции