

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
Биологический факультет  
Кафедра клеточной биологии и гистологии

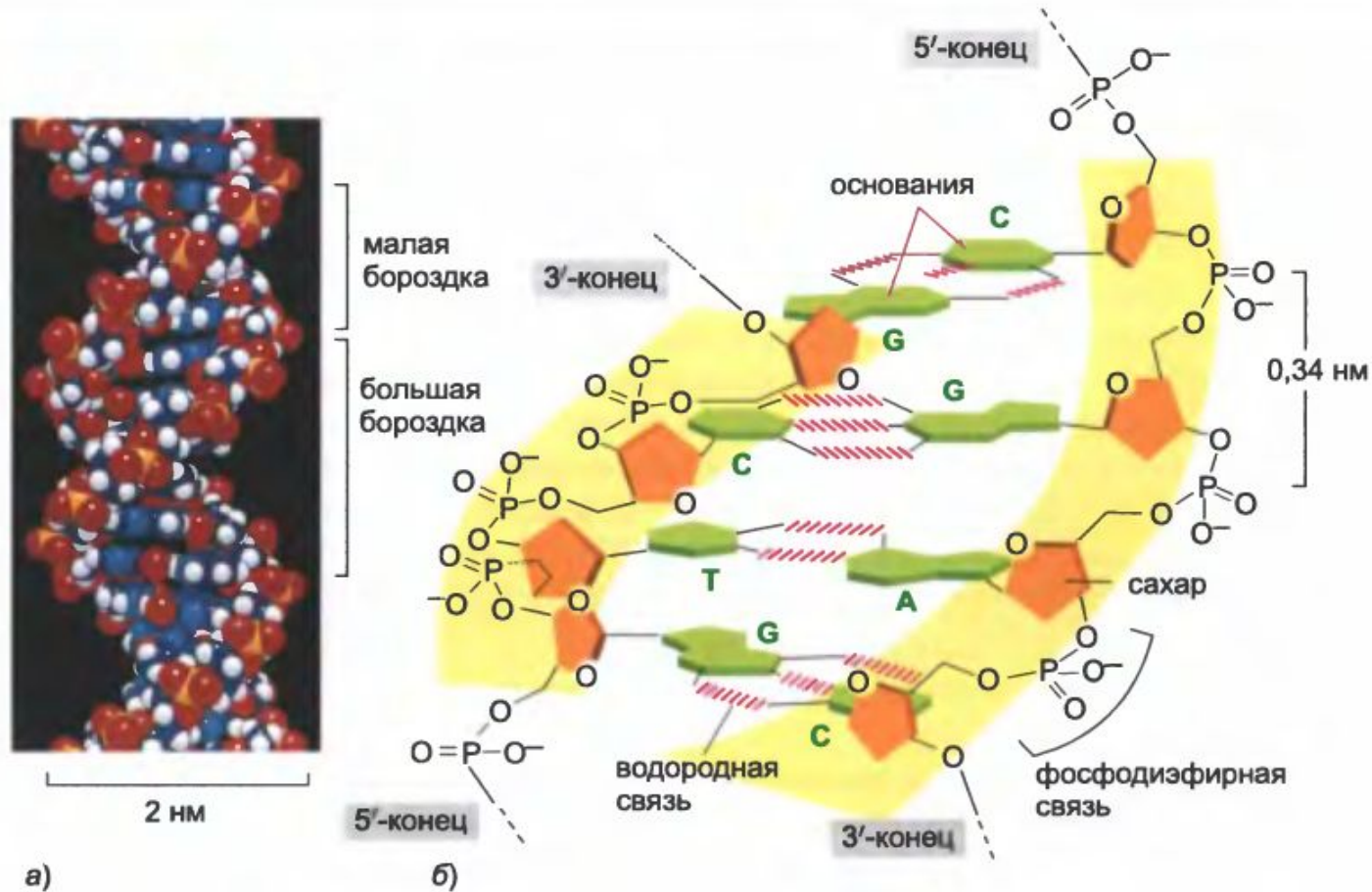
# **Занятие 5.**

# **Хроматин и хромосомы**

**Доронина Татьяна Валерьевна**

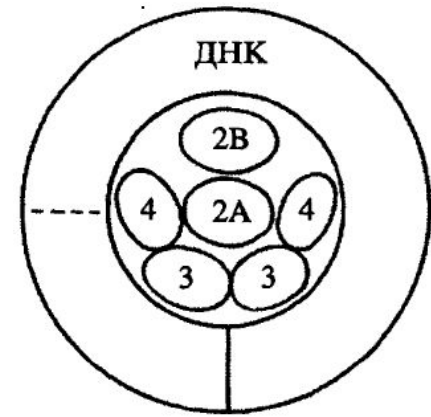
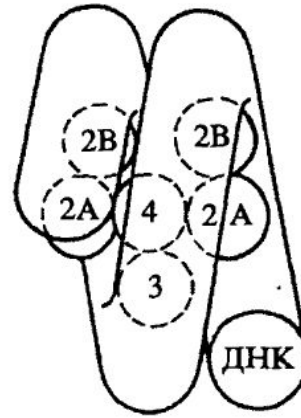
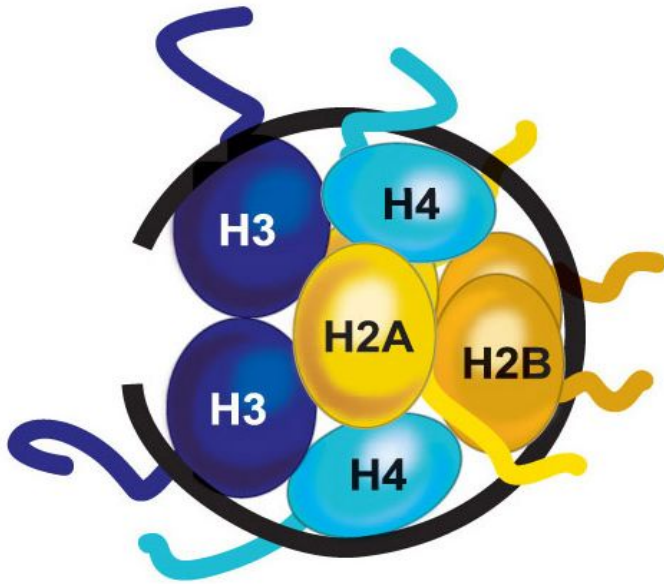
2019 год

# ДНК



На каждый виток ДНК приходится 10,4 пар нуклеотидов

# Нуклеосома



# Нуклеосома




Линкер (8 – 114 п.н., в среднем 54 п.н.),  
30 п.н. – в комплексе с гистоном H1,  
остальное – свободная ДНК

Нуклеосома содержит 200 п.н. ДНК

200 п.н. длиной 68 нм уложены в глобулу  
величиной 10 нм

# Гистоновые белки

- H3 и H4 – аргинин-богатые, консервативные
- H2A и H2B – умеренно обогащенные лизином, есть межвидовые вариации
- H1 – лизин-богатые, очень переменчивы



ВХОДЯТ В СОСТАВ  
КОРОВОЙ ЧАСТИЦЫ  
НУКЛЕОСОМЫ

В линкерном  
участке

# Изоформы гистонов

## Гистон H1:

- гистон H1 - в неактивных ядрах эритроцитов птиц
- у мыши – 8 вариантов

## Гистон H3:

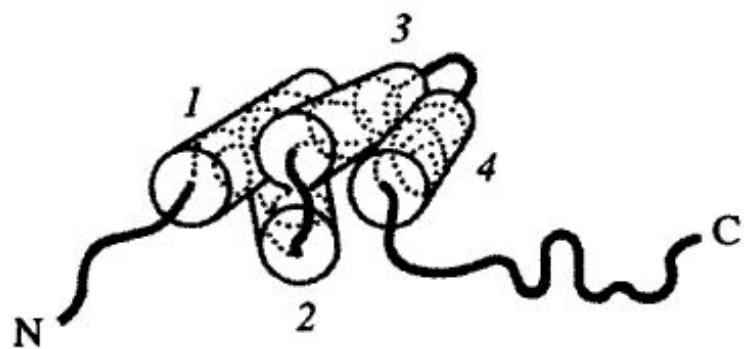
- CENP-A – в центромере
- H3.3 - в транскрипционно-активном хроматине
- H3.1t – в клетках семенников

## Гистон H2B:

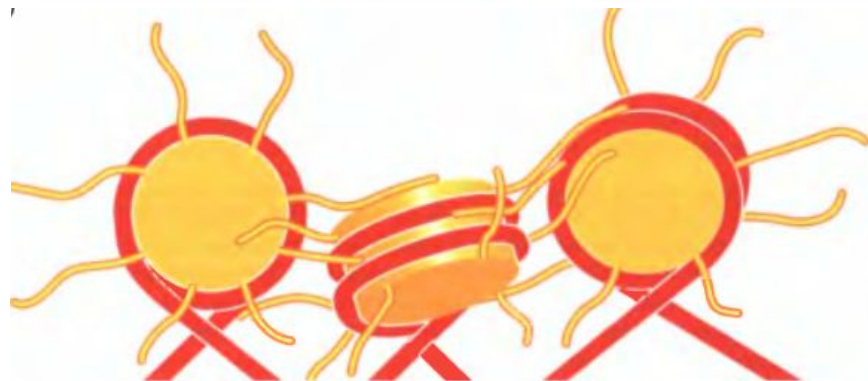
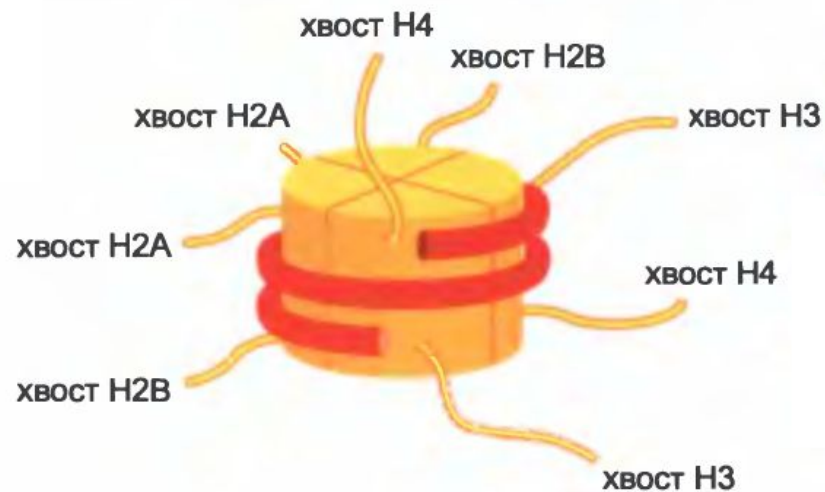
- hTSH2B и H2BFWT – специфичные для клеток семенников и сперматозоидов

## Гистон H2A:

- macroH2A - в неактивной копии X-хромосомы млекопитающих
- H2A.Bbd – компонент активного хроматина
- H2A.Z
- $\gamma$ H2A.X - маркирует места разрывов в ДНК

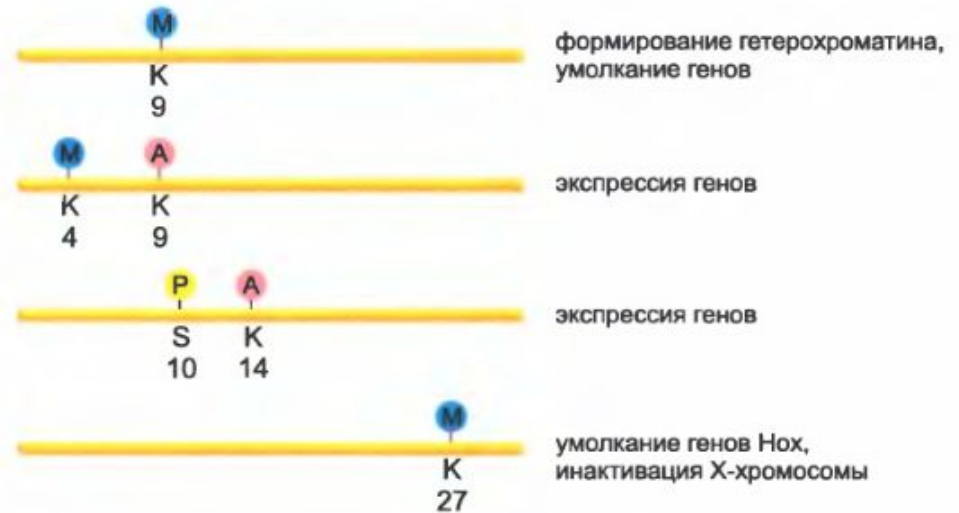


**Рис. 56.** Схема трехмерной структуры гистона H1  
 $\alpha$ -Спиральные участки (1–4) и фибриллярные С- и N-концы полипептидной цепи

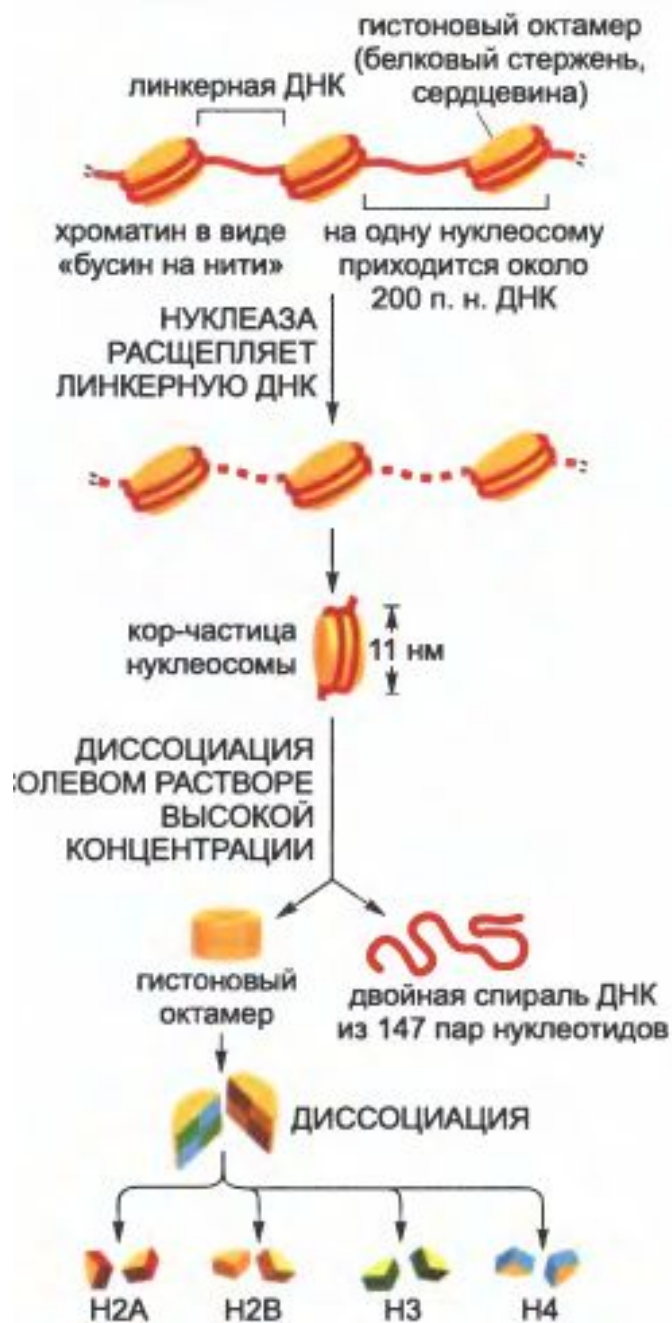


# Гистоновый код

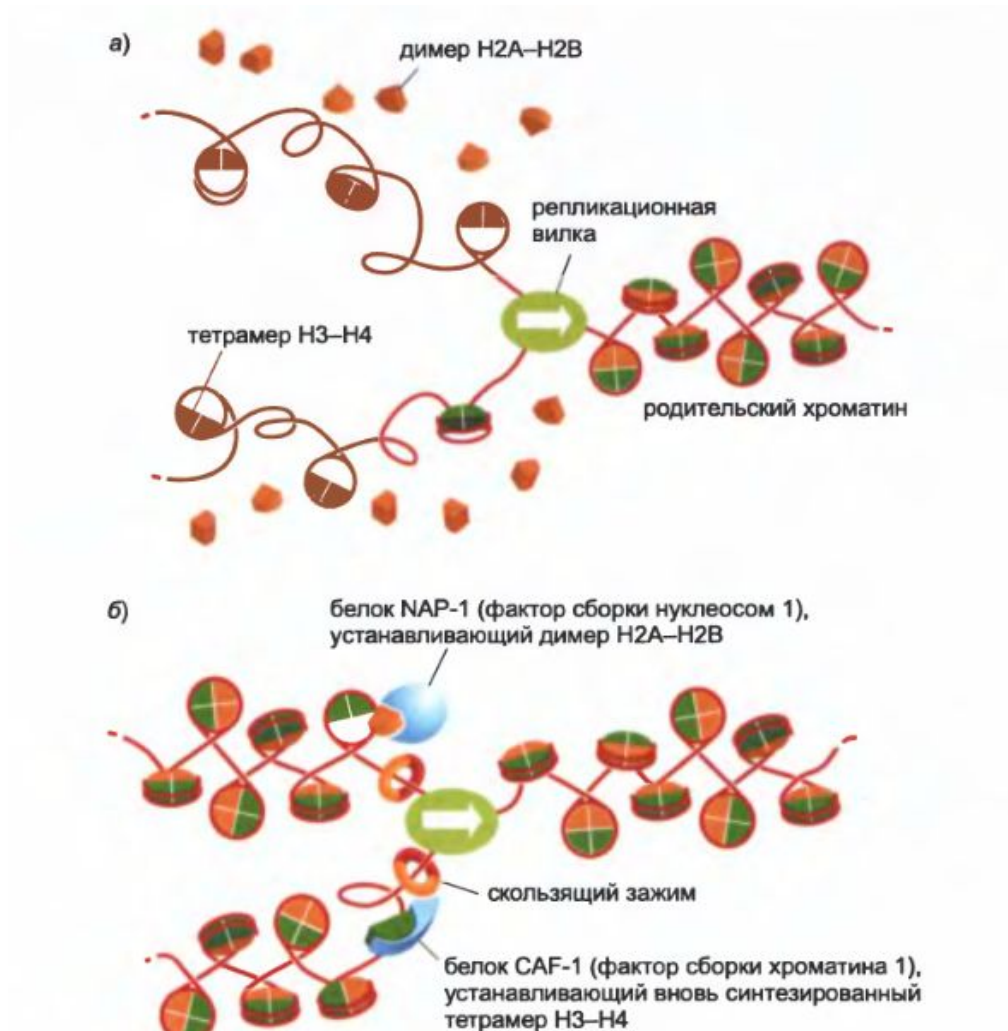
- ацетилирование лизиновых остатков,
- метилирование лизиновых, аргининовых и гистидиновых остатков,
- фосфорилирование остатков
- треонина и серина,
- сумоилирование и убиквитинилирование лизиновых остатков
- поли-АДФ-рибозилирование остатков глутаминовой кислоты







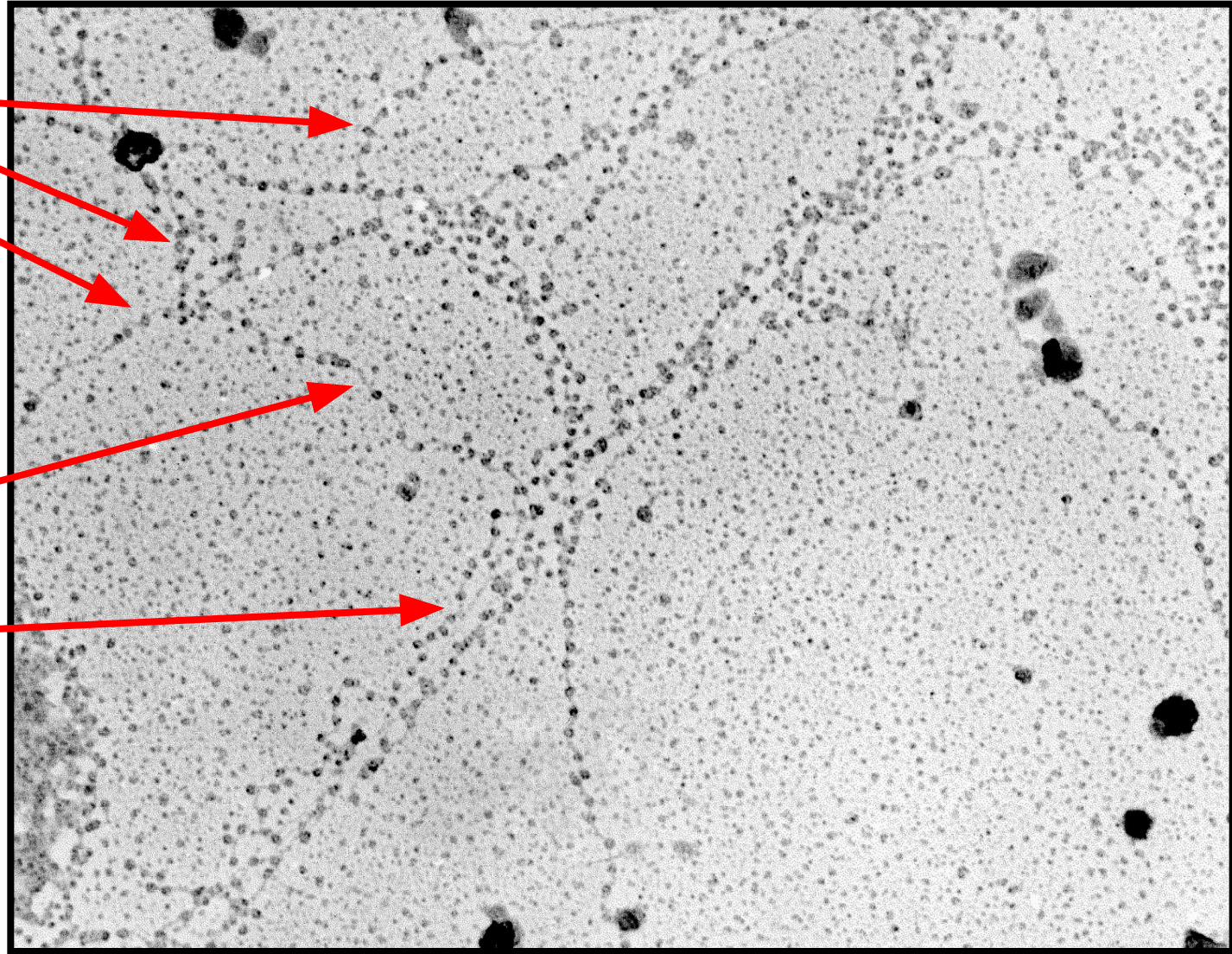
# Восстановление нуклеосом после репликации



# Нуклеосомные фибриллы, ТЭМ, ПОЗИТИВНОЕ КОНТРАСТИРОВАНИЕ

нуклеосомы

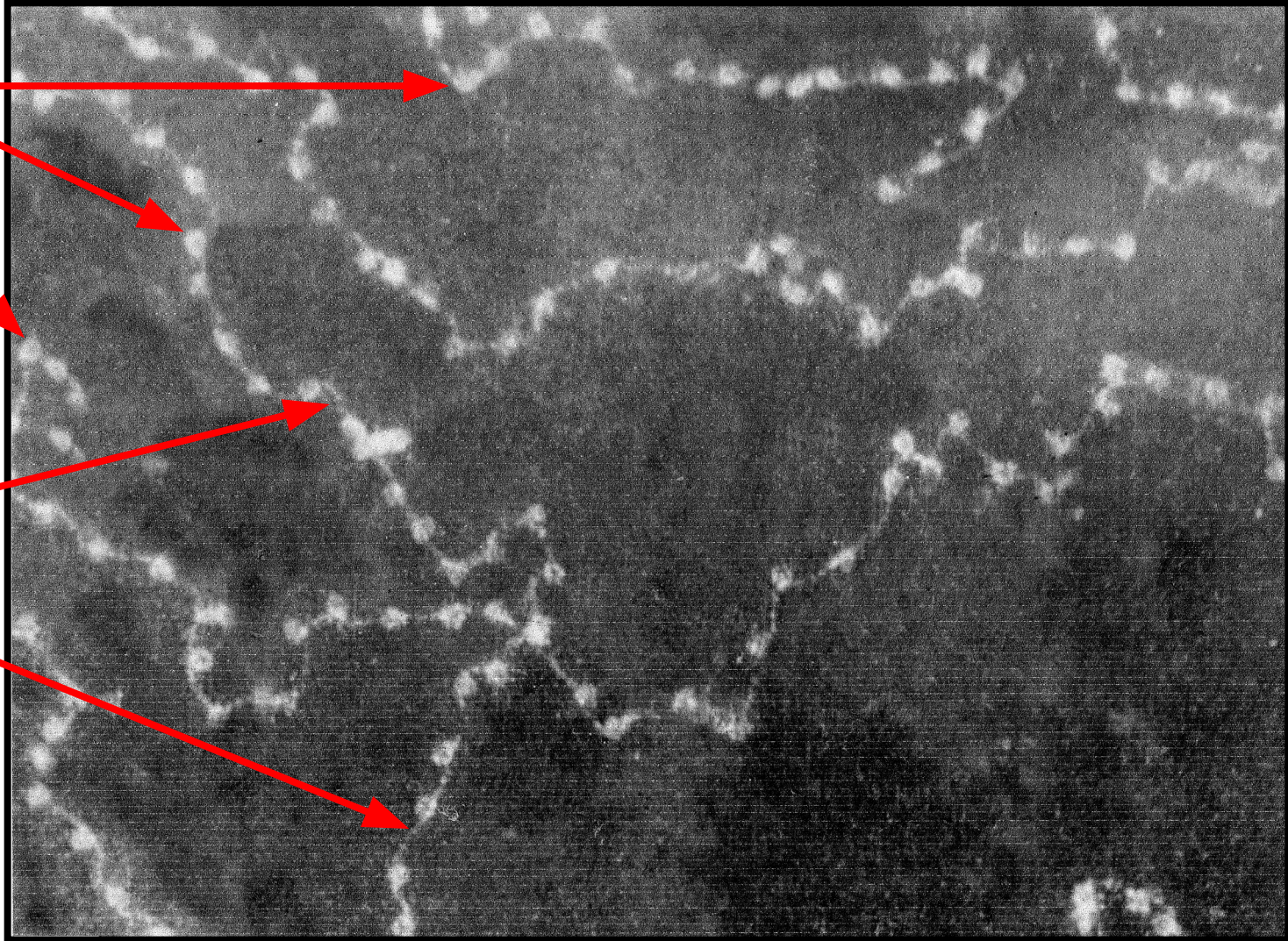
линкерные  
участки  
(линкеры)



# Нуклеосомы, ТЭМ, негативное контрастирование

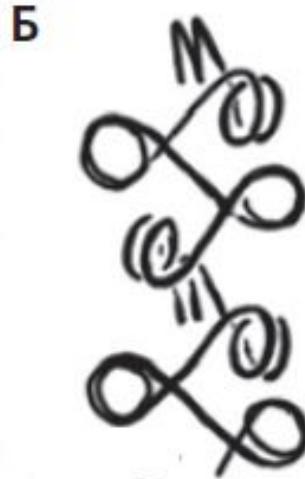
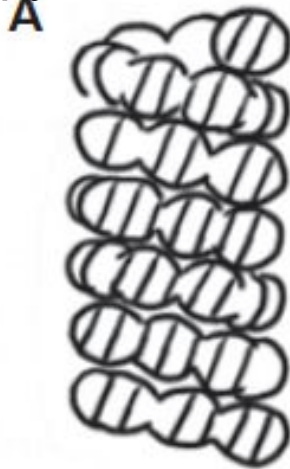
нуклеосомы

линкерные  
участки  
(линкеры)

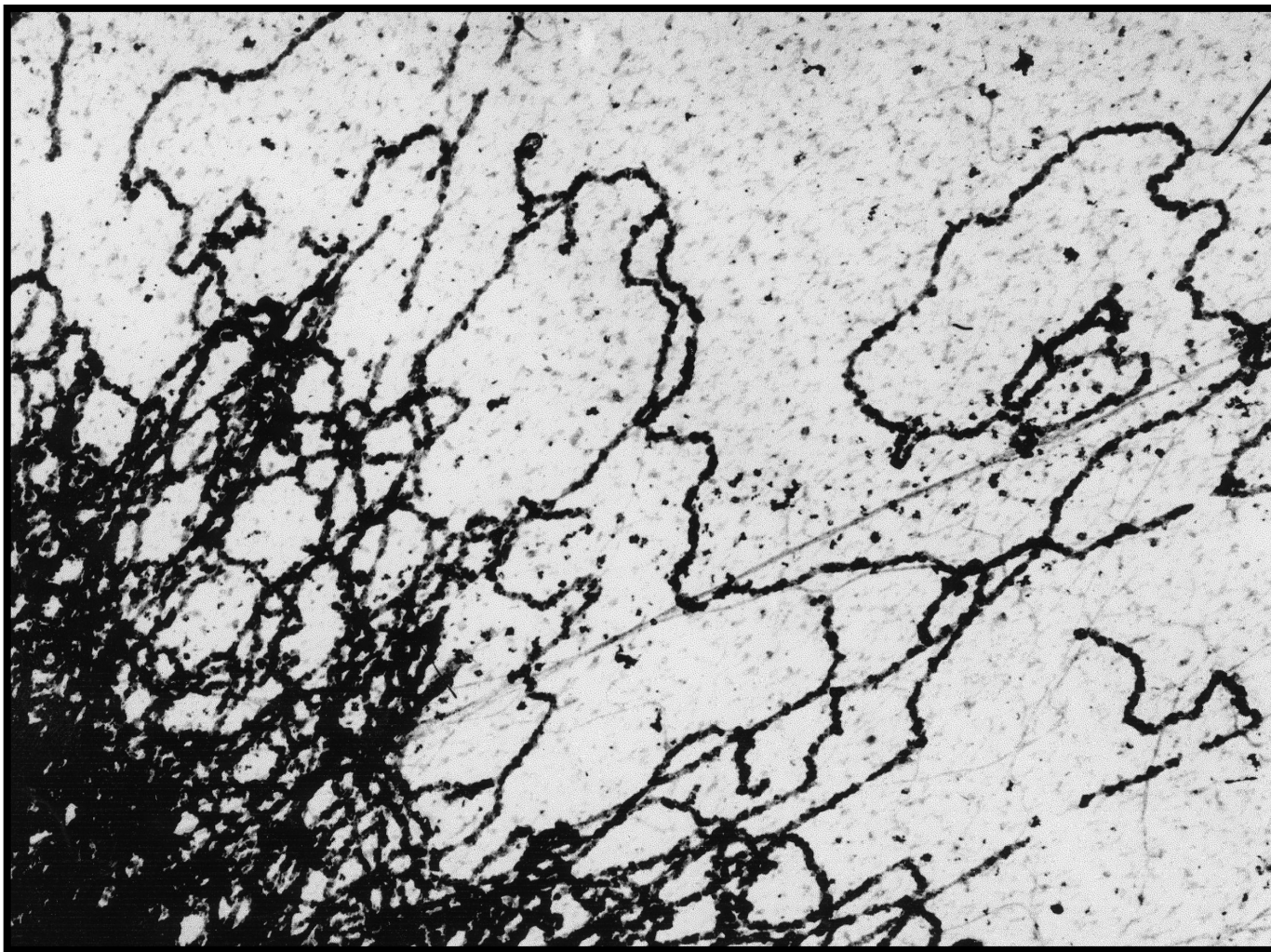


# 30 нм фибрилла

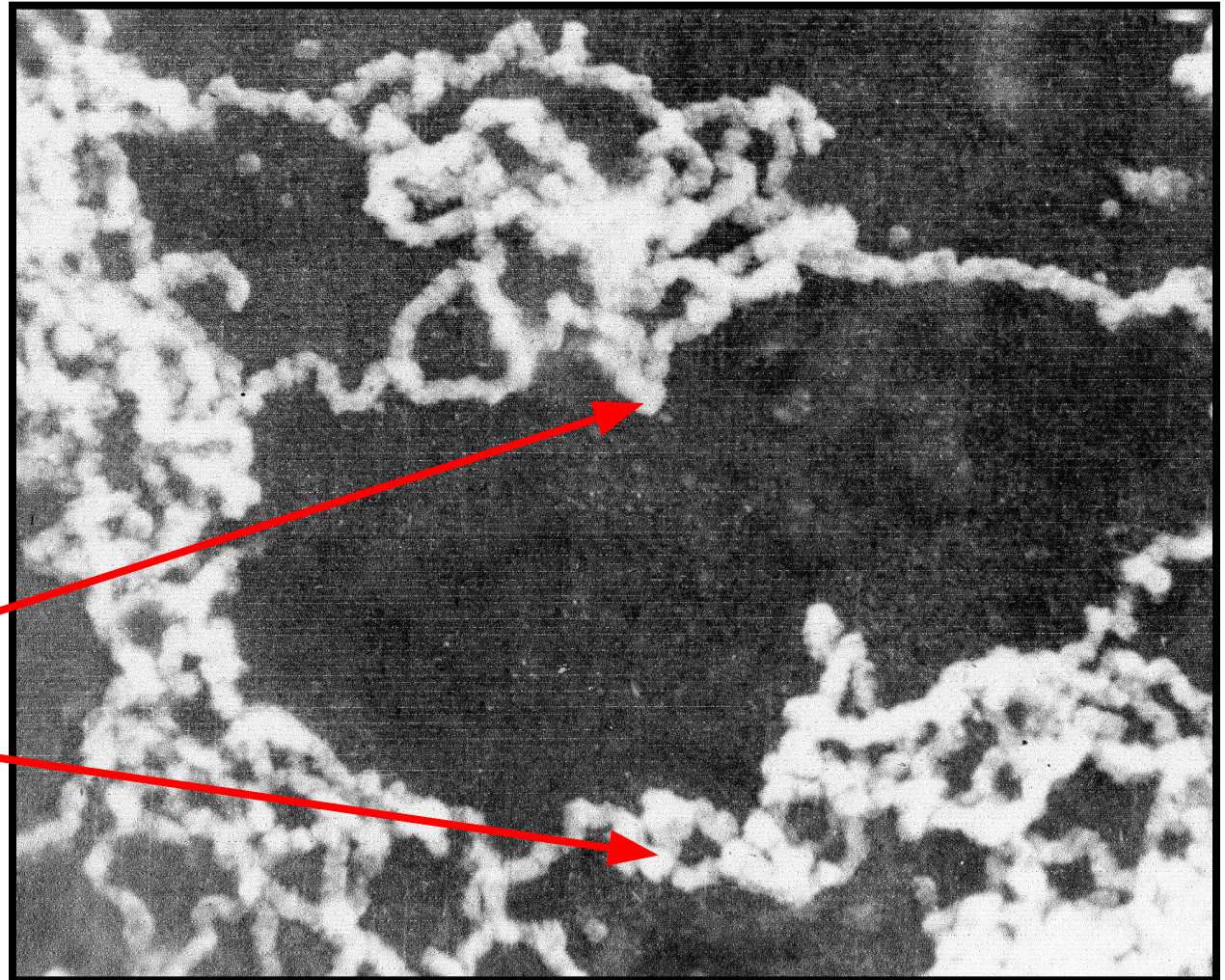
- при повышении ионной силы (до 60 мМ) либо при добавлении ионов  $Mg^{2+}$  до 0,3 мМ
- соленоид - в одном витке (с шагом в 11 нм) содержится 6 нуклеосом
- супербиды – при концентрации двухвалентных катионов не ниже 1мМ
- для упаковки ДНК в 30-нм фибриллу существенны взаимодействия между соседними нуклеосомными глобулами
- гистон H1 стабилизирует 30-нм фибриллу, но не определяет ее архитектуру.



**30 нм фибриллы, выделенные из ядер эритроцита тритона, ТЭМ, позитивное контрастирование**



# 30 нм фибриллы, ТЭМ, негативное контрастирование

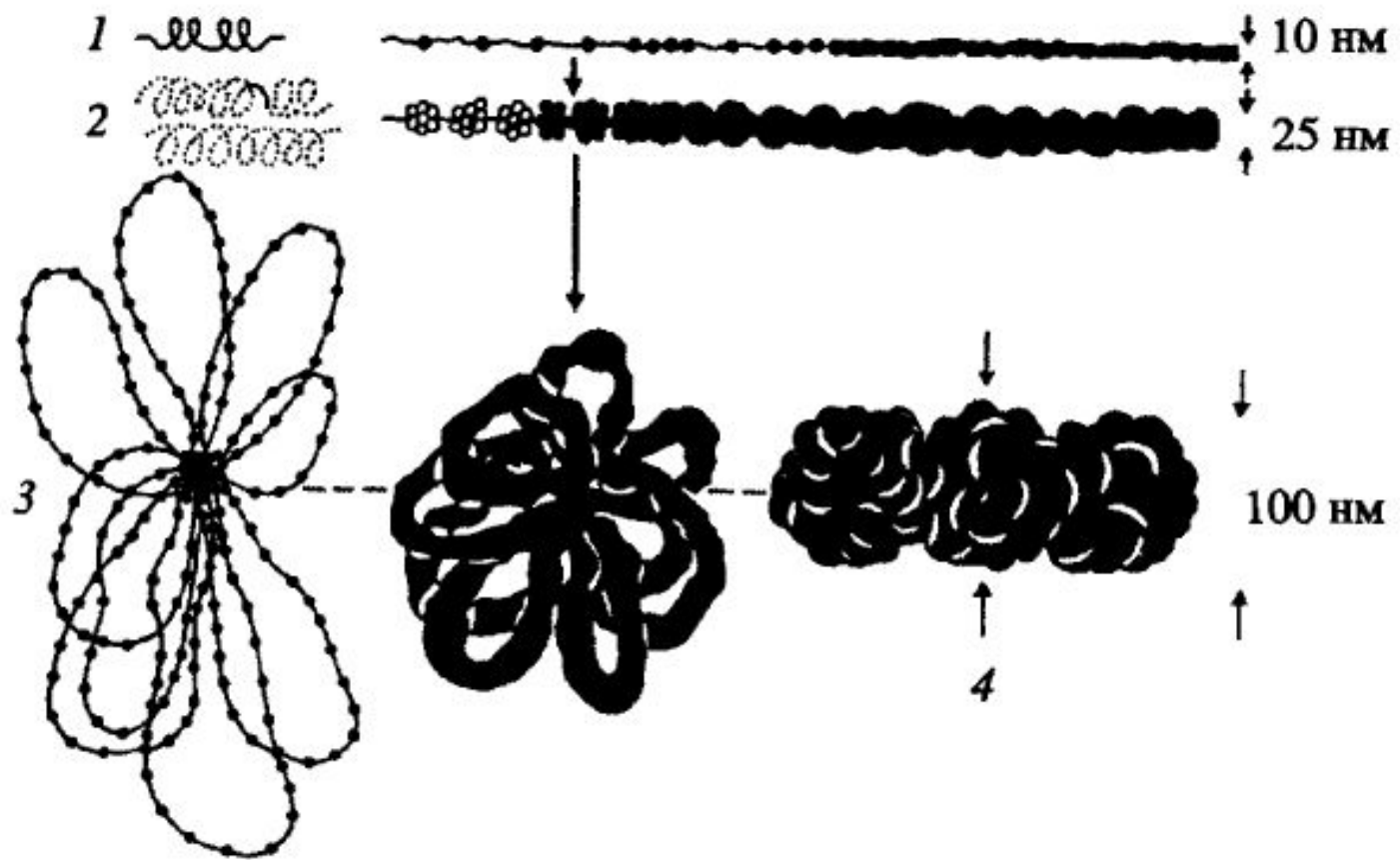


нуклеомеры

# Негистононовые белки

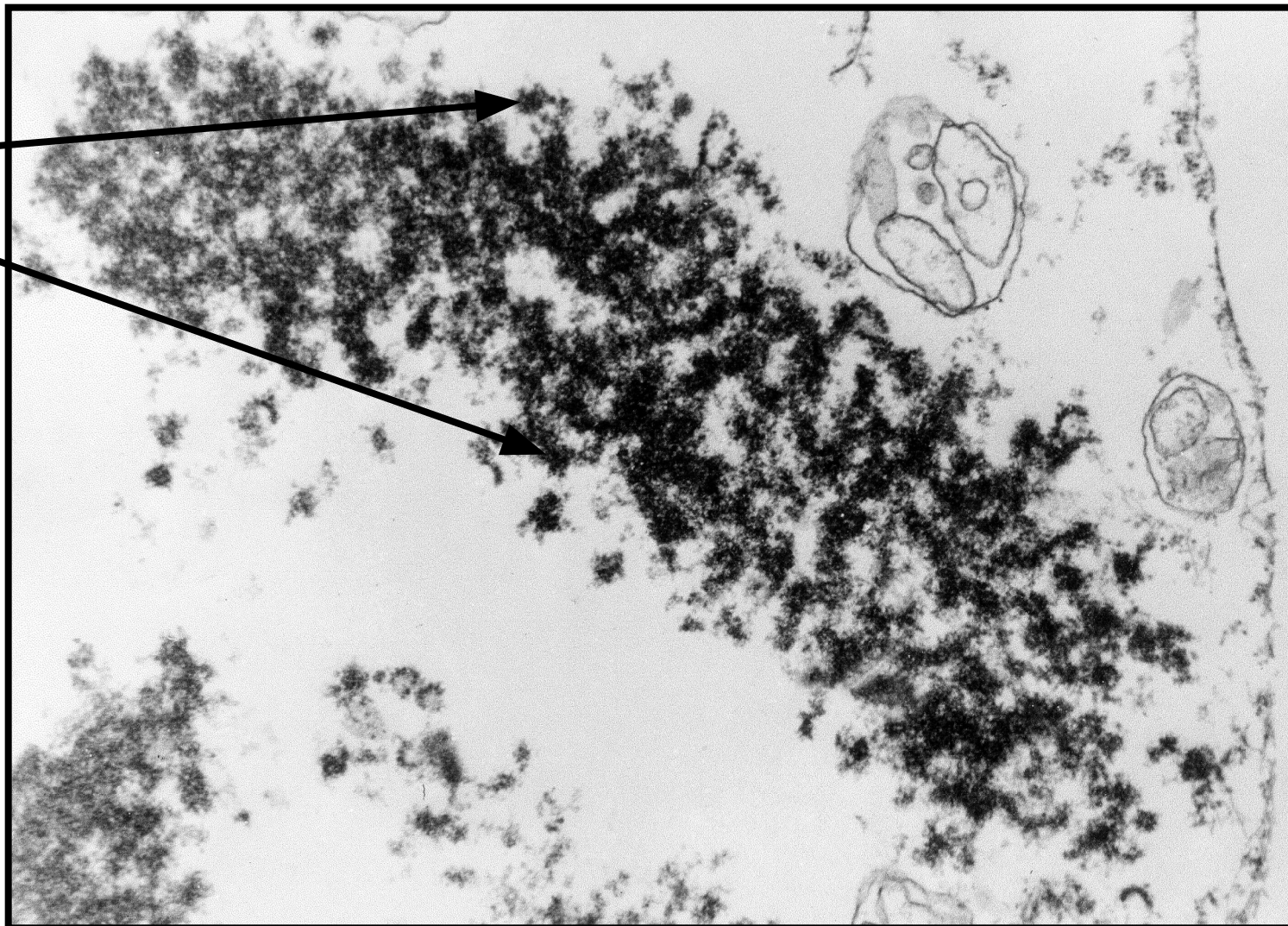
- HMG - high mobility group
- HP1 - heterochromatin protein 1
- белки группы Polycomb, белок MENT (терминально дифференцированные клетки, MeCP2 (methyl-CpG binding protein 2) позвоночных животных и Sir-белки дрожжей
- Регуляторные белки, ферменты



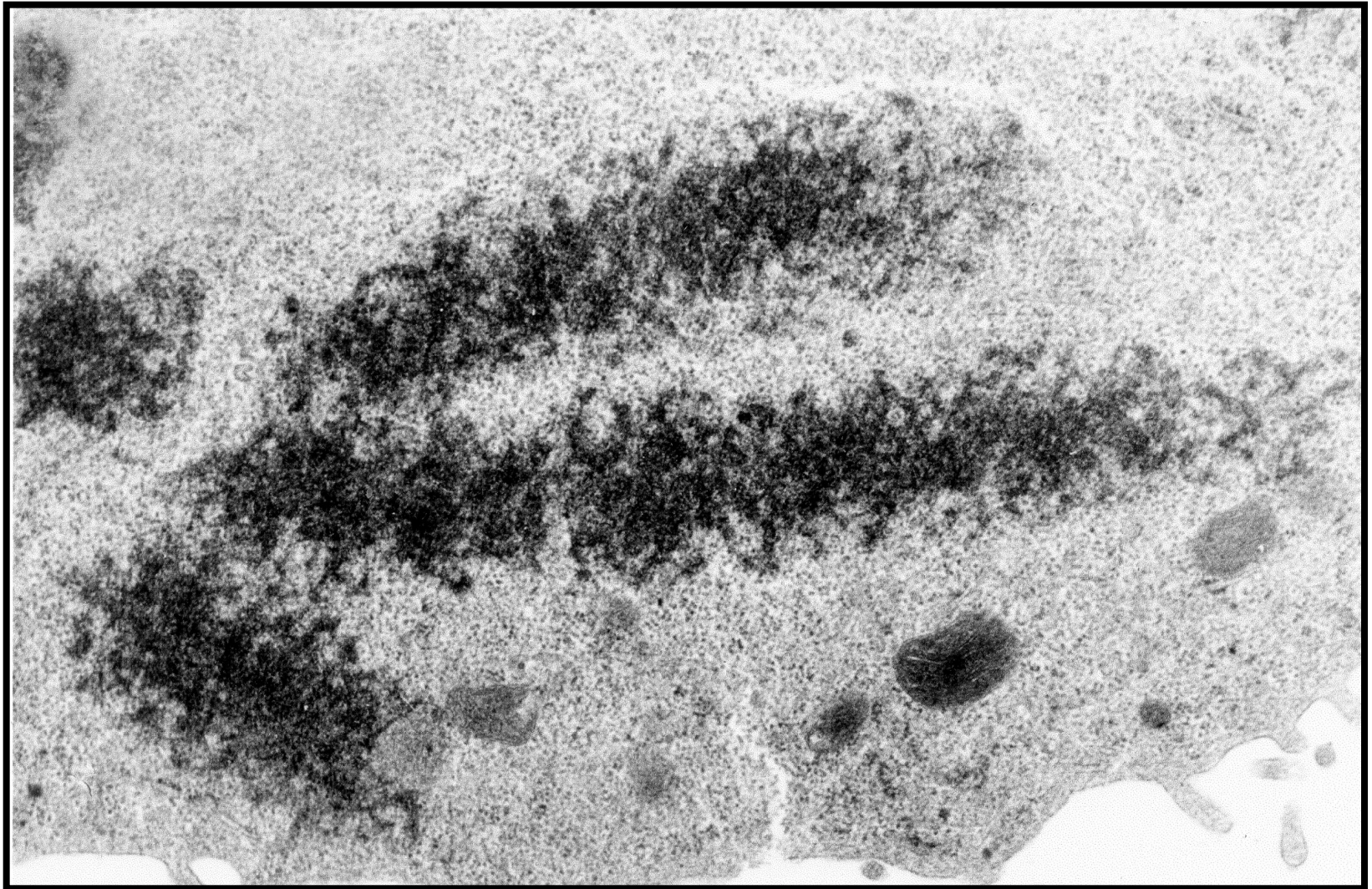


# Элементы хромонемы в деконденсированных хромосомах, ТЭМ

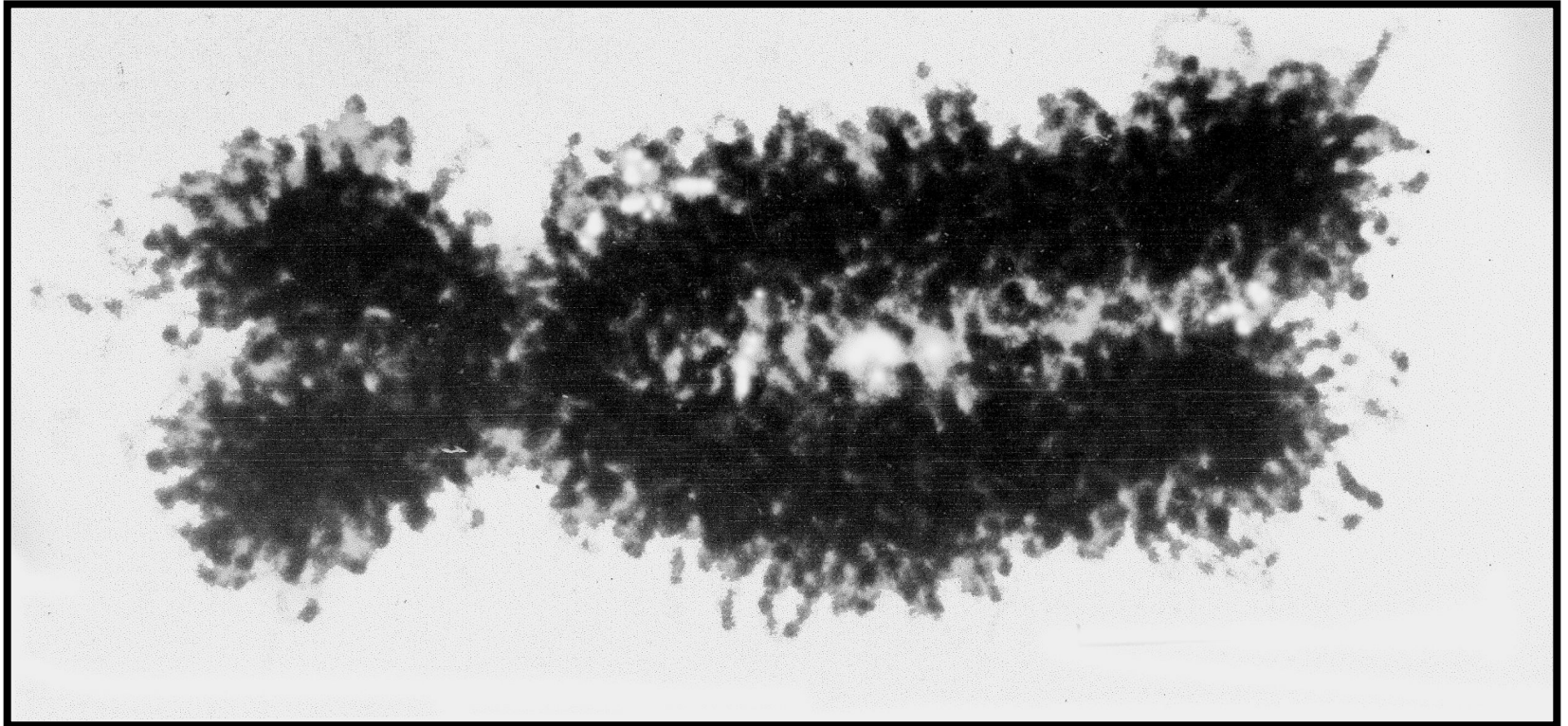
хромомеры

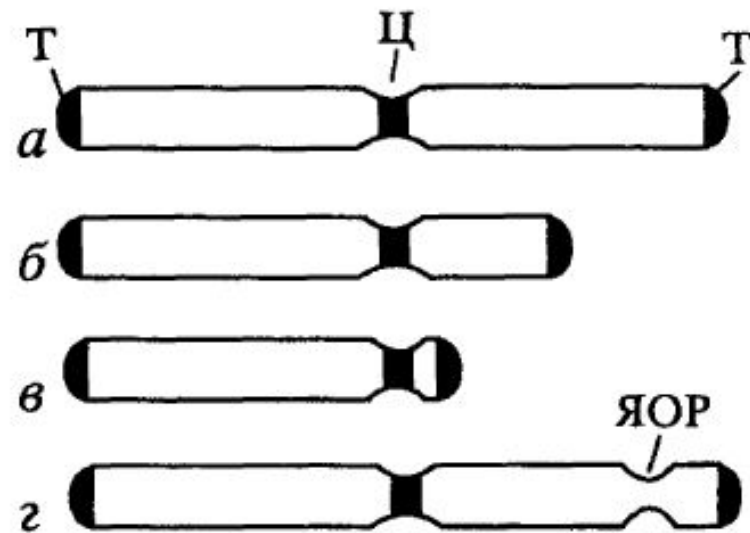


# Элементы хромонемы в анафазных хромосомах, ТЭМ



# Выделенная хромосома из клетки китайского хомячка, ТЭМ

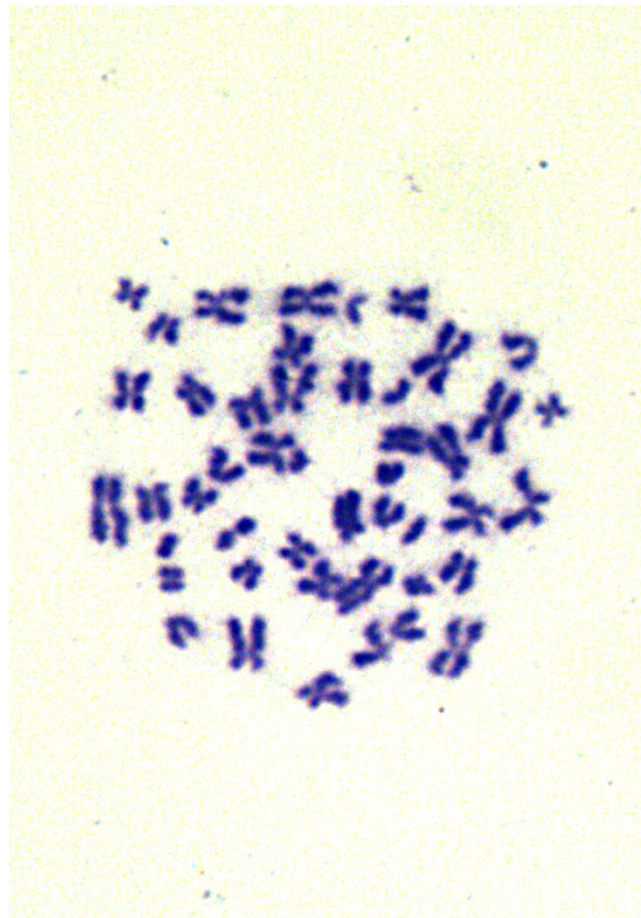
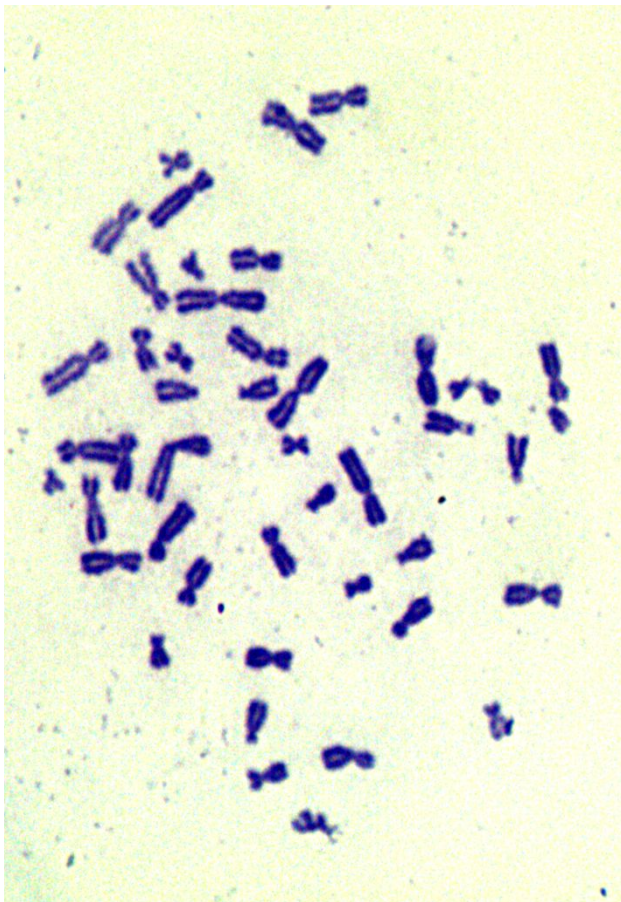




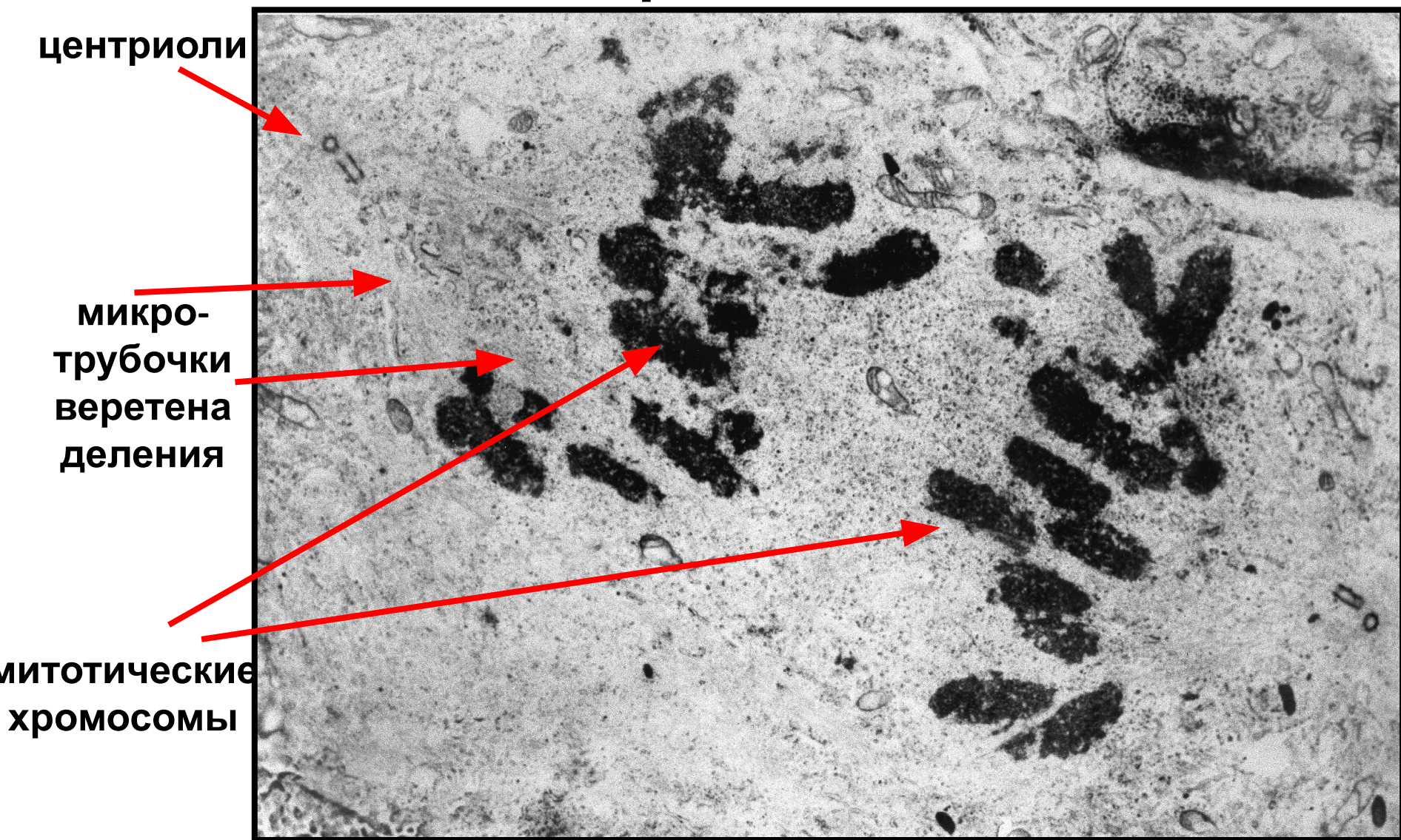
**Рис. 32.** Схема морфологии метацентрических (а), субметацентрических (б), акроцентрических (телоцентрических) (в) и спутничных (ядрышковых) (г) хромосом

Т – теломеры; Ц – центромеры (первичные перетяжки); ЯОР – ядрышковый организатор (вторичная перетяжка)

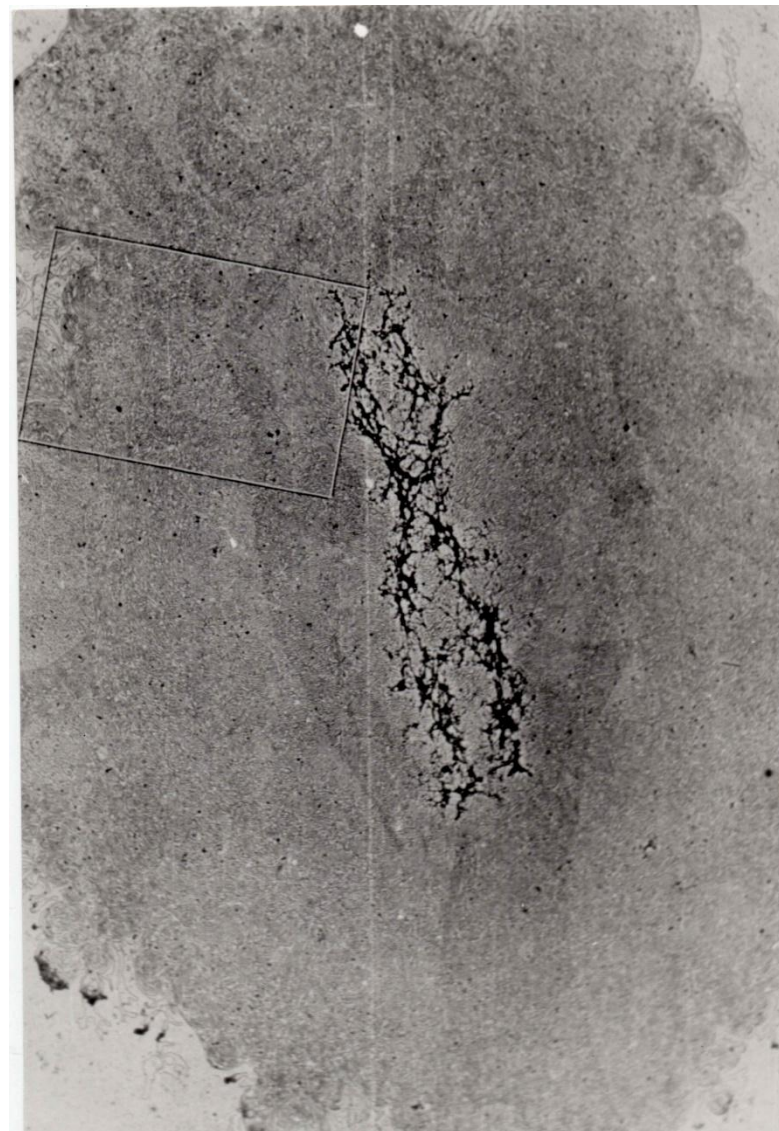
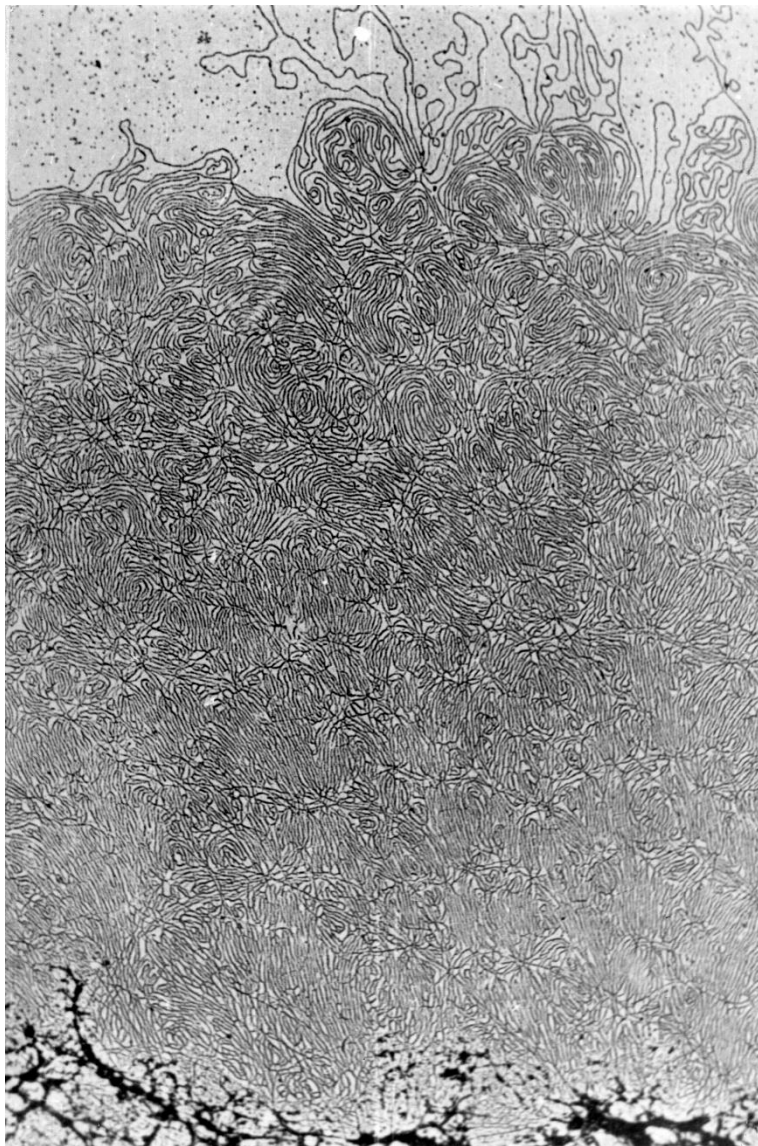
# Хромосомные препараты



# Ультраструктура клеток СПЭВ на стадии анафазы, ТЭМ



# Петли ДНК, отходящие от осевого скэффолда

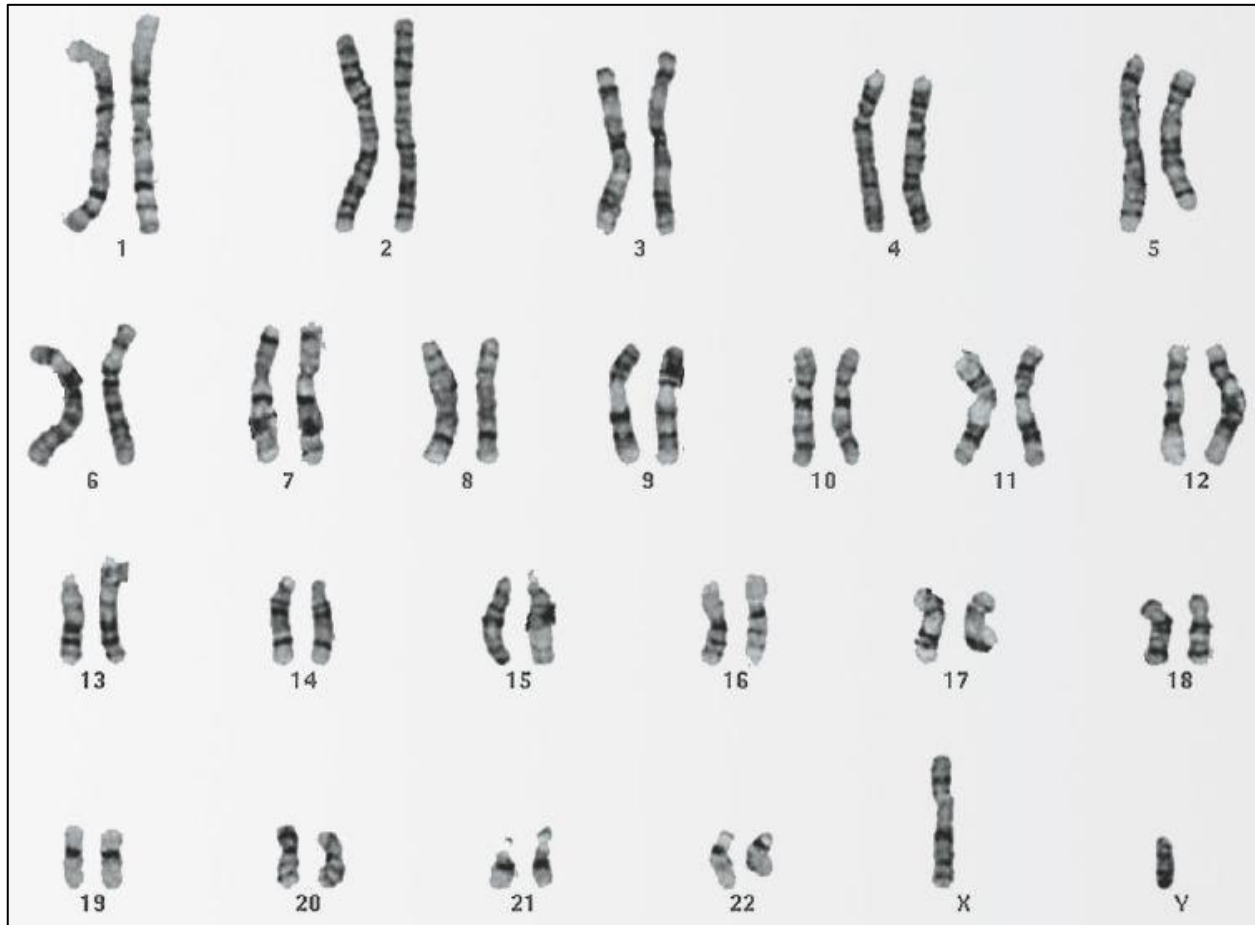




# Приготовление хромосомных препаратов

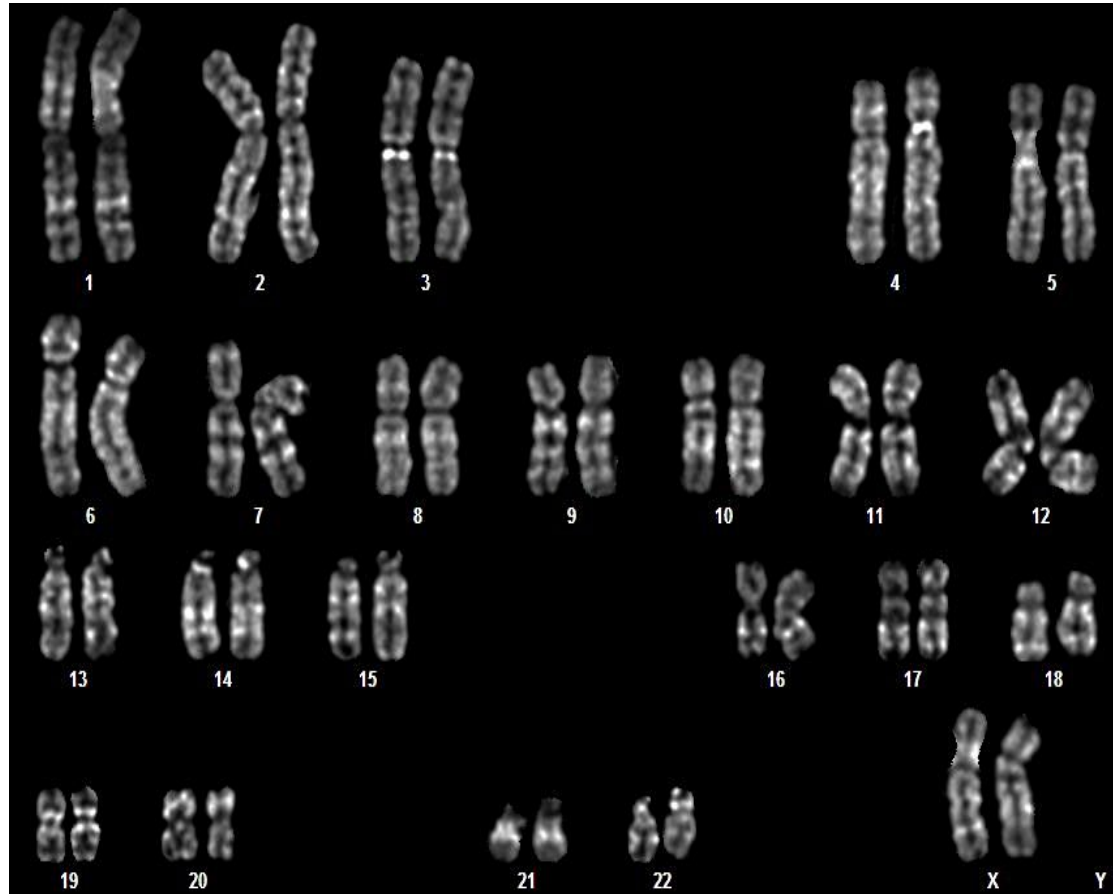
1. Использование **колхицина** – разборка митотического веретена.
2. **Гипотонический шок** с использованием растворов солей калия или натрия, которые вследствие разницы осмотического давления внутри и снаружи клеток вызывают их набухание..
3. **Фиксация клеток** с использованием ледяной уксусной кислоты и этанола в соотношении 3:1
4. **Раскапывание** суспензии клеток на предметные стекла.
5. **Окрашивание** хромосомных препаратов.

# G-бэндинг



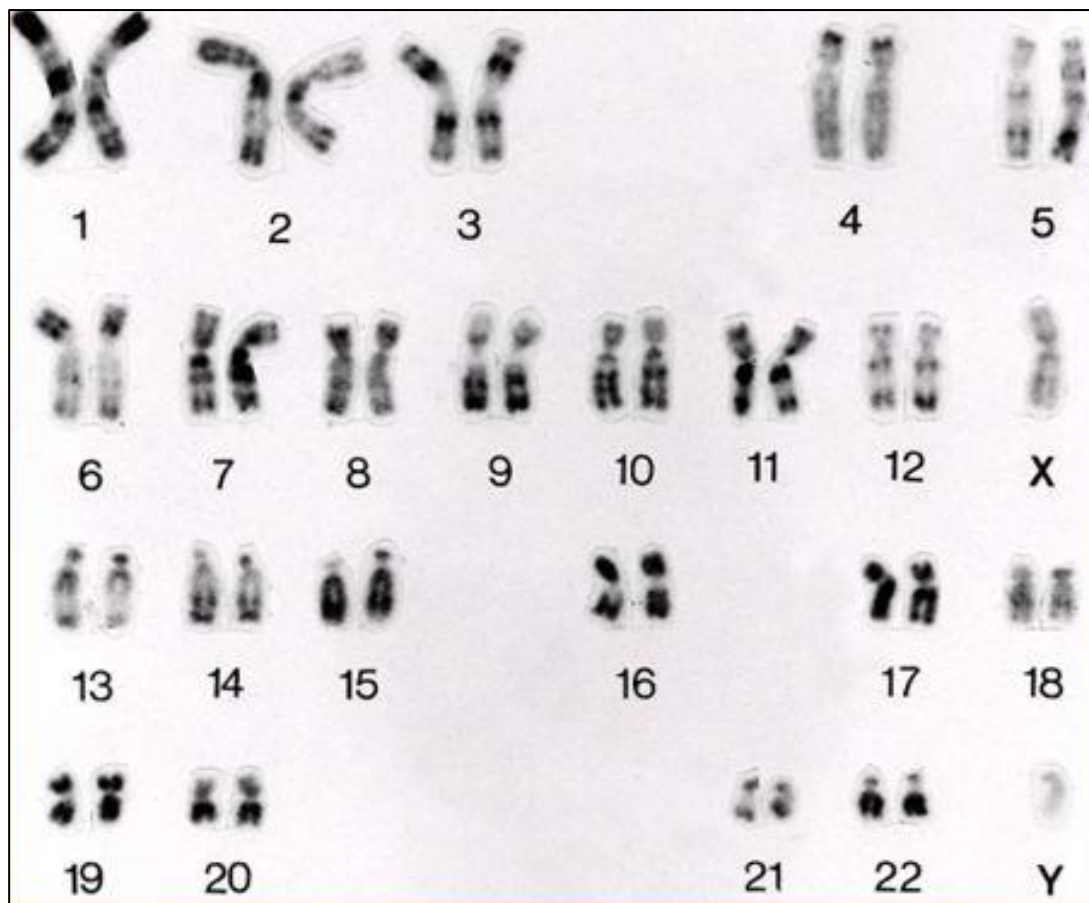
Обработка хромосомных препаратов трипсином или солевыми растворами → окраска красителем Гимза

# Q-бэндинг



Окраска флуоресцентным красителем кинакрином

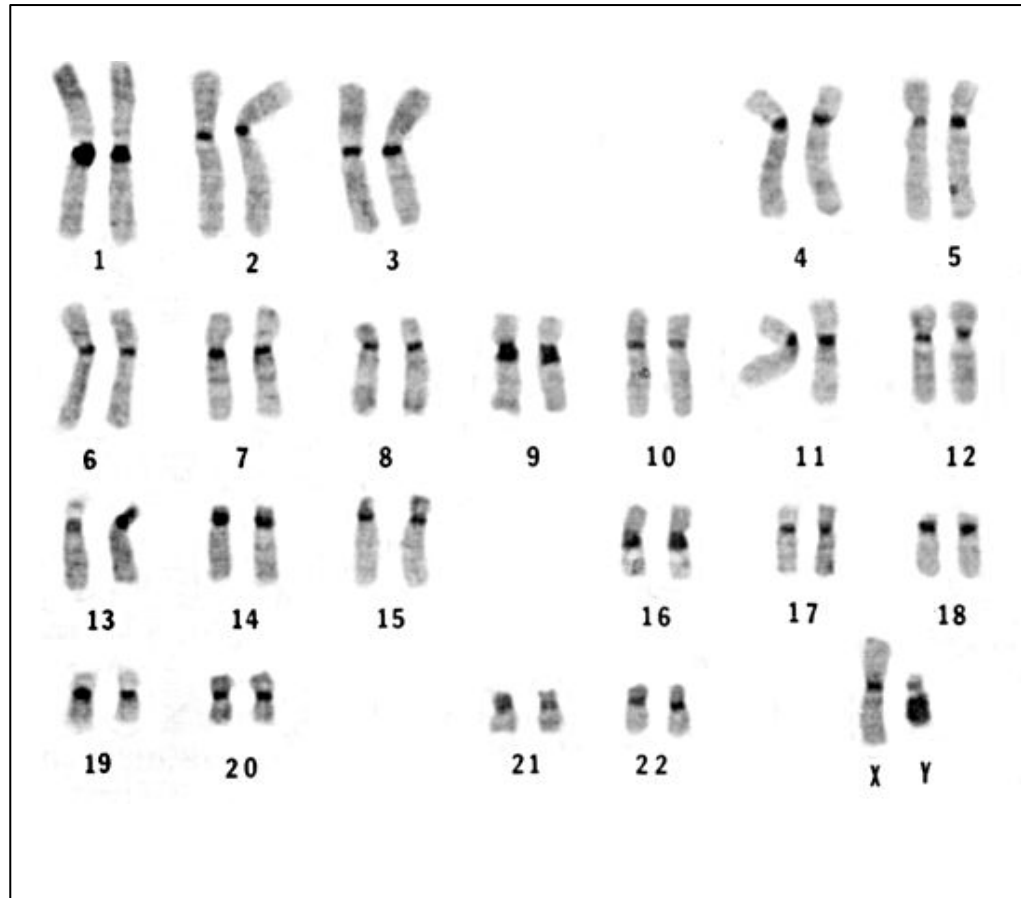
# R-бэндинг



Обработка хромосомных препаратов горячим фосфатным буфером → окрашивание красителем Гимза либо флуорохромом оранжевым акридином

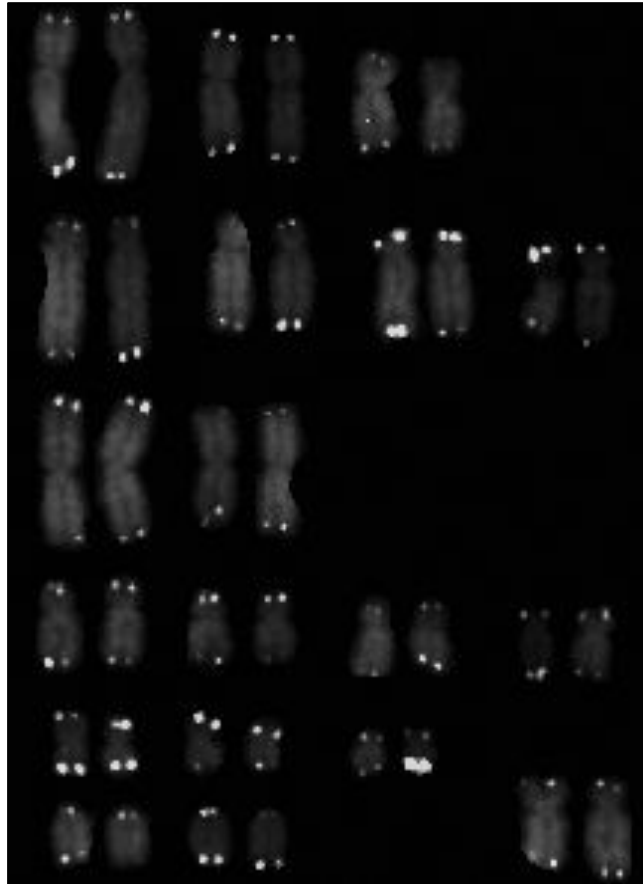
Картина обратная G-бэндингу

# C-бэндинг



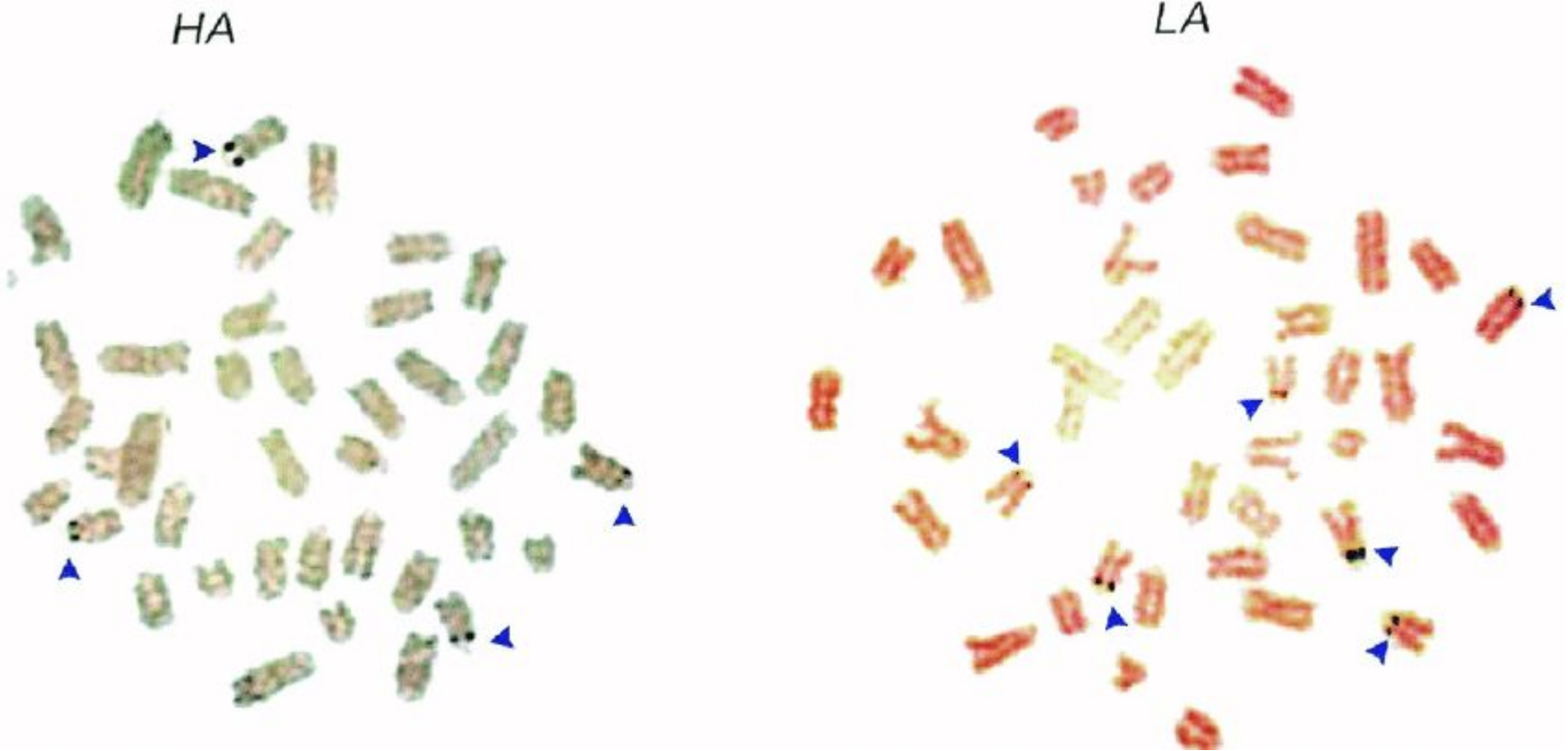
Обработка 5%-ным (насыщенным) раствором гидроокиси бария, инкубация в сбалансированном солевом растворе ( $2\times\text{SSC}$ ) при 60 С и кратковременную окраску красителем Гимза  
Выявление центромер

# T-бэндинг



Выявление теломер

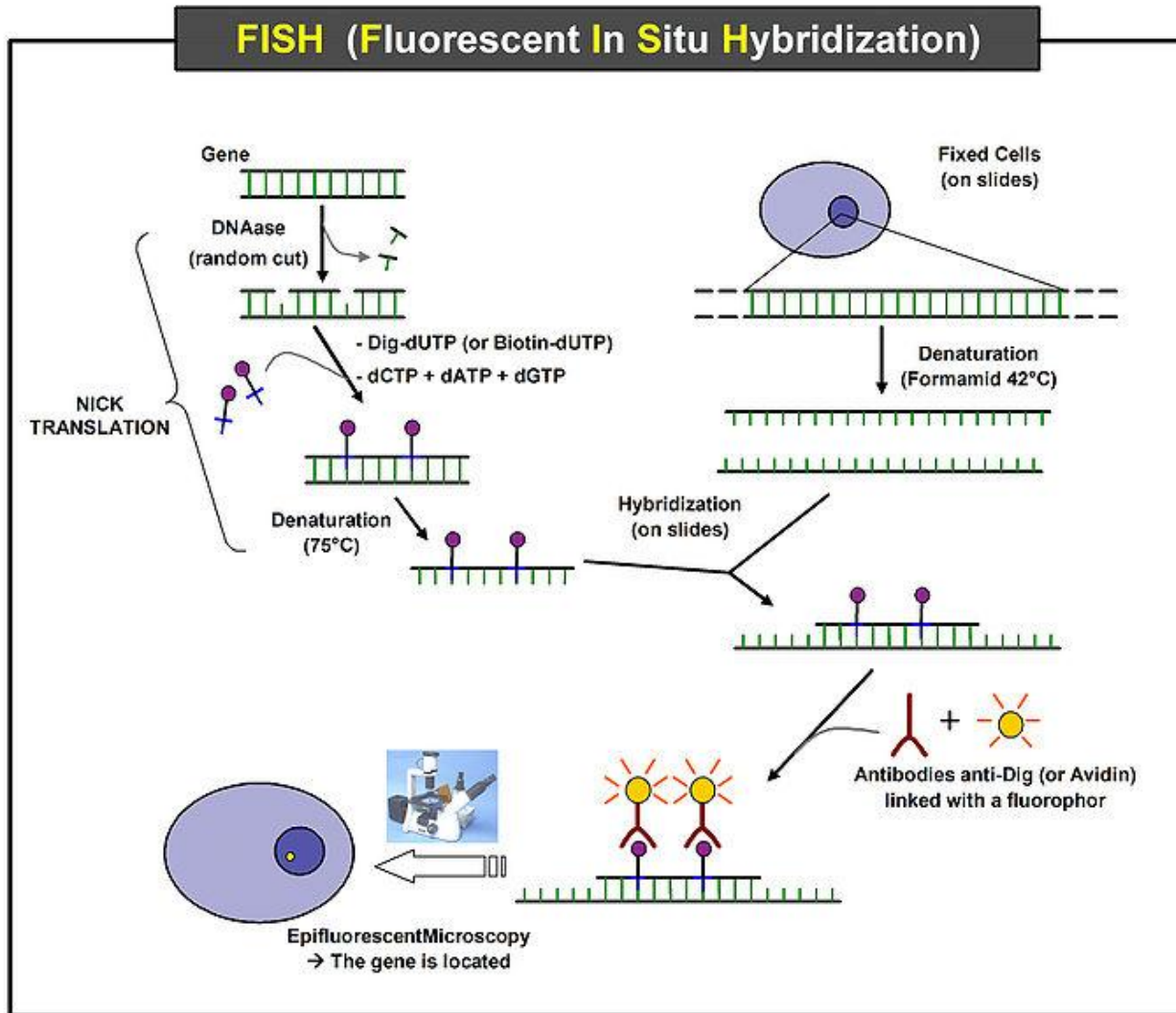
# N-бэндинг



Выявление ядрышковых организаторов

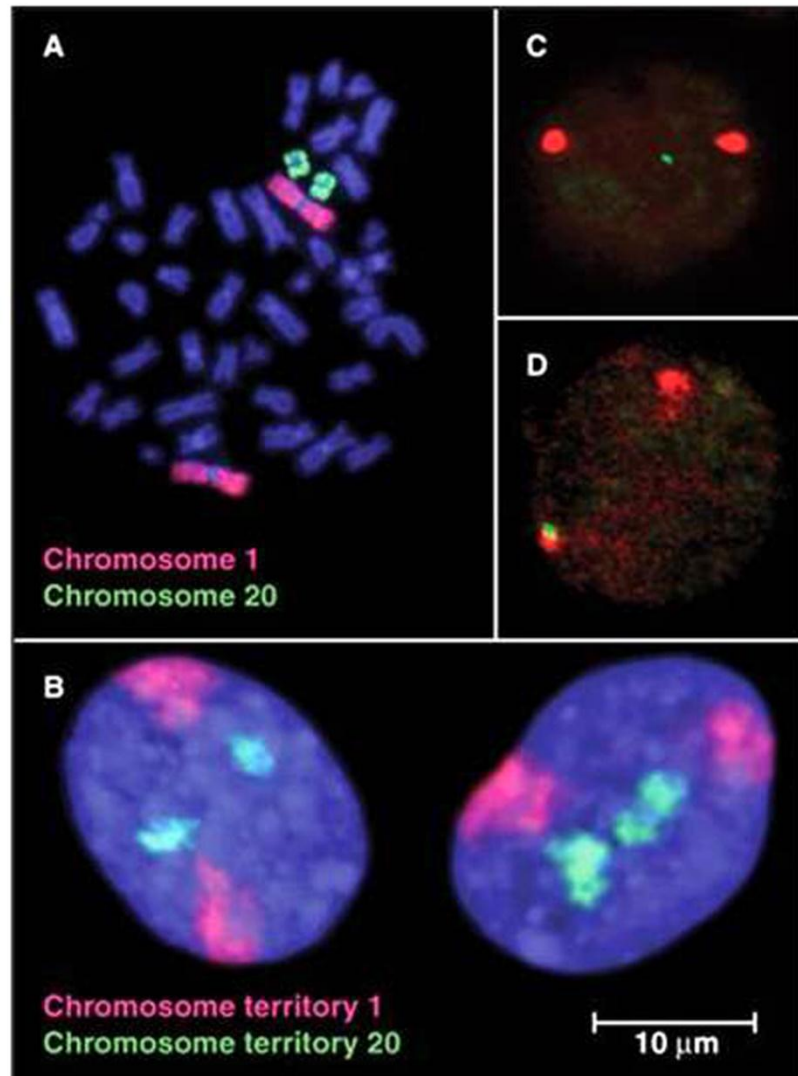
# FISH

## FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)





# Хромосомные территории



Хромосомные территории