

Организация хромосом и биологические функции ДНК

Организация эукариотических хромосом

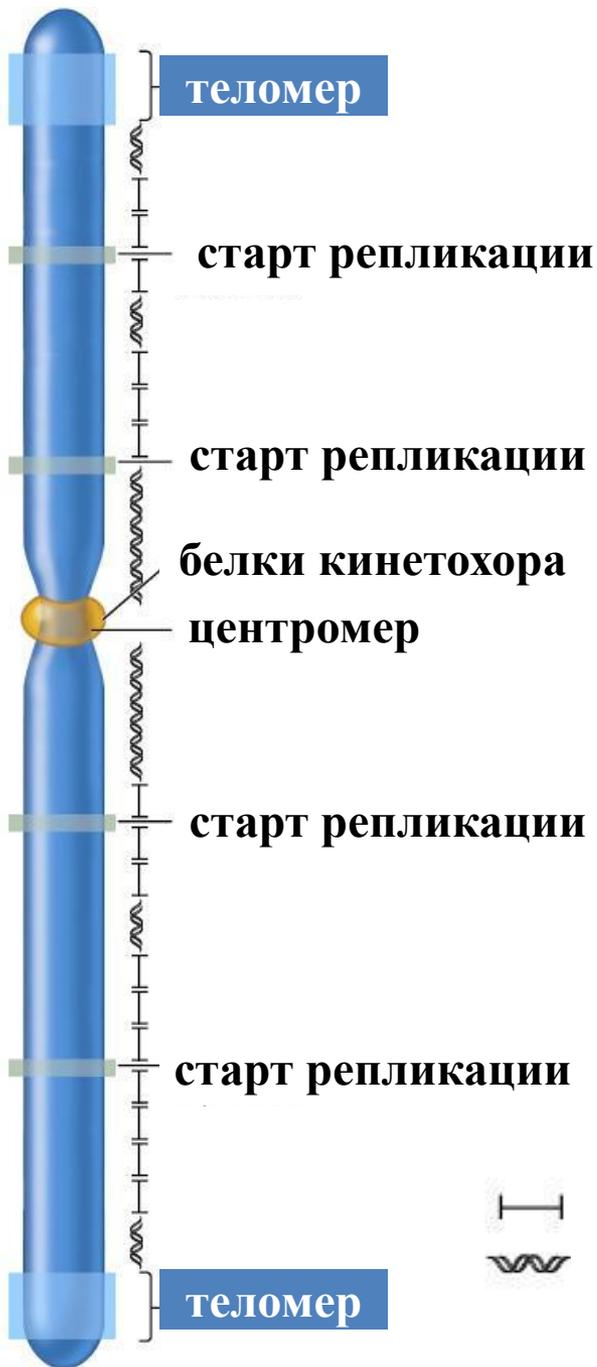
Эукариотическая хромосома содержит длинные, линейные молекулы ДНК, которые должны разделяться (сегрегации), размножаться и копироваться.

Для этого необходимо наличие **трех типов** последовательностей ДНК:

Теломеры – сегрегация;

Участок начала репликации – репликация;

Центромера – дупликация;



—|—| ген



повторяющиеся последовательности

- У эукариот ген, как правило, дискретен, то есть, разделен на участки интронами.
- Одна хромосома, как правило, имеет от нескольких сотен до нескольких тысяч генов.
- У низших эукариот (например, дрожжей) гены небольшие и содержат последовательности, кодирующие полипептиды, т. е., интронов очень мало.
- Напротив, у высших эукариот (например, млекопитающих) гены, как правило, имеют много интронов.

Нуклеотидные повторы

Уникальные (неповторяющиеся последовательности – в геноме встречаются один или несколько раз. Содержат **структурные** гены, а также межгенные области.

Умеренно повторяющиеся – в геноме встречаются в количестве от нескольких сотен до нескольких тысяч раз, содержат:

- гены рРНК и гистонов;
- реплицирующиеся области;
- мобильные генные элементы.
- **Часто повторяющиеся**

Биологическая роль ДНК повторов

ДНК повторы обеспечивают разнообразие **архитектоники** генома и хромосом как основных участников морфогенеза.

Пластичность генома и его **регуляция** определяются структурой и эволюцией тандемных и диспергированных повторов ДНК.

Эпигенетическая регуляция генома за счет самих повторов, их модификаций и их транскриптома.

Повторяемость, с образованием множества одинаковых или принципиально сходных элементов – общий принцип эволюции генома.

Терминология

Транскрипто́м (англ. *Transcriptome*). Полный специфический набор **транскриптов** (молекул РНК) в данном организме, представленный в клетках определённого типа. Транскриптом может сильно меняться в зависимости от условий окружающей среды, он отражает профиль экспрессии генов в данный момент времени.

Транскрипт – молекула РНК, образующаяся в результате транскрипции (экспрессии соответствующего гена или участка ДНК).

Транскриптон – (operon, transcripton, лат. operare – трудиться, заниматься) – участок ДНК, в состав которого входят несколько связанных между собой структурных генов, а также промоторный, операторный и др. регуляторные участки, контролирующие транскрипцию одной полицистронной молекулы мРНК.

С-парадокс (где «С» означает «константный» (англ. constant) или «характерный» (англ. characteristic)) – отсутствие корреляции между физическими размерами генома и сложностью организмов.

Терминология

Некодирующая функциональная РНК – функциональные молекулы РНК, не транслируемые в белки, например: рРНК, тРНК, рiРНК, микроРНК.

МикроРНК – РНК, содержащие примерно 300 нуклеотидов, контролирующие трансляционную активность приблизительно 30% всех белок-кодирующих генов у млекопитающих.

Цис-регуляторные элементы – последовательности, контролирующие транскрипцию близлежащего гена. Цис-элементы могут быть расположены 5' или 3' нетранслируемой области или внутри интронов.

Транс-регуляторные элементы контролируют транскрипцию генов на дальних расстояниях.

Терминология

Промоторы способствуют транскрипции конкретного гена и обычно располагаются вверху (в 5'-области гена) по направлению кодирующего региона.

Энхансер (англ. **enhancer** – усилитель, увеличитель) – небольшой участок ДНК, который после связывания с ним факторов транскрипции стимулирует транскрипцию с основных промоторов гена или группы генов. Энхансеры могут также влиять на уровень транскрипции гена на очень больших расстояниях.

Интроны – некодирующие участки гена, транскрибируемые в последовательности предшественников мРНК (пре-мРНК), но полностью удаляемые при сплайсинге в течение процесса созревания матричной РНК. Многие интроны представляют собой мобильные генетические элементы.

Экзон – кодирующая часть ДНК.

Терминология

Мобильные генетические элементы (МГЭ, англ. *Mobile genetic elements, MGE*) – последовательности ДНК, перемещающиеся внутри генома.

Псевдогены – последовательности ДНК, сходные с обычными генами, утратившими способность кодировать белок или больше не экспрессирующиеся в клетке. Возникают при ретротранспозиции или дупликации функциональных генов, и становятся неработающими «ископаемыми генами» вследствие мутаций, препятствующих транскрипции гена. Псевдогены получившиеся в результате ретротранспозиции промежуточных РНК называют **процессированными псевдогенами**; псевдогены получающиеся из остатков дублированных генов или инактивированных генов называют **непроцессированными псевдогенами**.

Терминология

Ретротранспозоны - повторяющиеся длинные последовательности, включают диспергированные повторы (LINEs) и короткие диспергированные повторы (SINEs), составляют большую часть геномной последовательности во многих видах, влияют на транскрипционный контроль некоторых белок-кодирующих генов.

Транспозон – подвижный генетический элемент, способный к самостоятельным перемещениям (транспозиции) и интеграции в разные участки хромосомной или внехромосомной ДНК.

Интеграза – фермент, осуществляющий внедрение какого-либо генетического элемента в геном.

Терминология

Alu-повтор, Alu-элемент – короткая последовательность ДНК, которая была открыта при обработке ДНК человека рестриктазой Alu. Alu-повтор принадлежит к классу коротких диспергированных повторов (SINEs). Alu-повторы различных типов в большом количестве представлены в геномах приматов.

В человеческом геноме они являются одними из самых распространенных элементов. Alu-повтор произошёл от гена, кодирующего 7SL РНК, которая является компонентом сигнал распознающей частицы.

Терминология

Последовательности эндогенных ретровирусов – продукты обратной транскрипции геномов ретровирусов и их включения в геном клеток зародышевой линии. Мутации внутри этих обратно-транскрибируемых последовательностей могут инактивировать геном вируса. Более 8% человеческого генома ведет свое начало от в основном уже распавшихся последовательностей эндогенных ретровирусов, из них свыше 42% узнаваемо произошли от ретротранспозонов, 3% – остатки ДНК транспозонов. Предполагается, что большая часть оставшейся половины генома, которая не имеет на данный момент ясного происхождения, произошла от подвижных элементов, бывших активными очень более 200 миллионов лет назад, но случайные мутации сделали их неузнаваемыми.

Теломеры – области повторяющейся ДНК на концах хромосом, обеспечивающие их защиту от слипания друг с другом.

Теломераза – фермент, добавляющий недостающих теломерные повторы к концам хромосом, то есть,



филогенетически
родственных организмов, разошедшихся
в процессе видообразования;
гены, которые у различных видов
произошли от общего предшественника
и передавались вертикально в эволюции.

генома одного вида
организмов, которые образовались путем
дупликации предкового гена, а затем
дивергировали в результате мутаций и
отбора или при дрейфе генов. Паралогичные
гены способны эволюционировать в
пределах одного вида.

Существуют два противоположных процесса:

1) эволюционная линия сохранения исходной функции ортолога и 2) **псевдогенизация**, т.е. потеря или перестройка функции ортолога.

Удвоимость генов с тенденцией сохранять функцию дубликата увеличивается по мере усложнения организма.

Псевдогенизация – адаптивное эволюционное приспособление.

У человека примерами **псевдогенизации** являются:

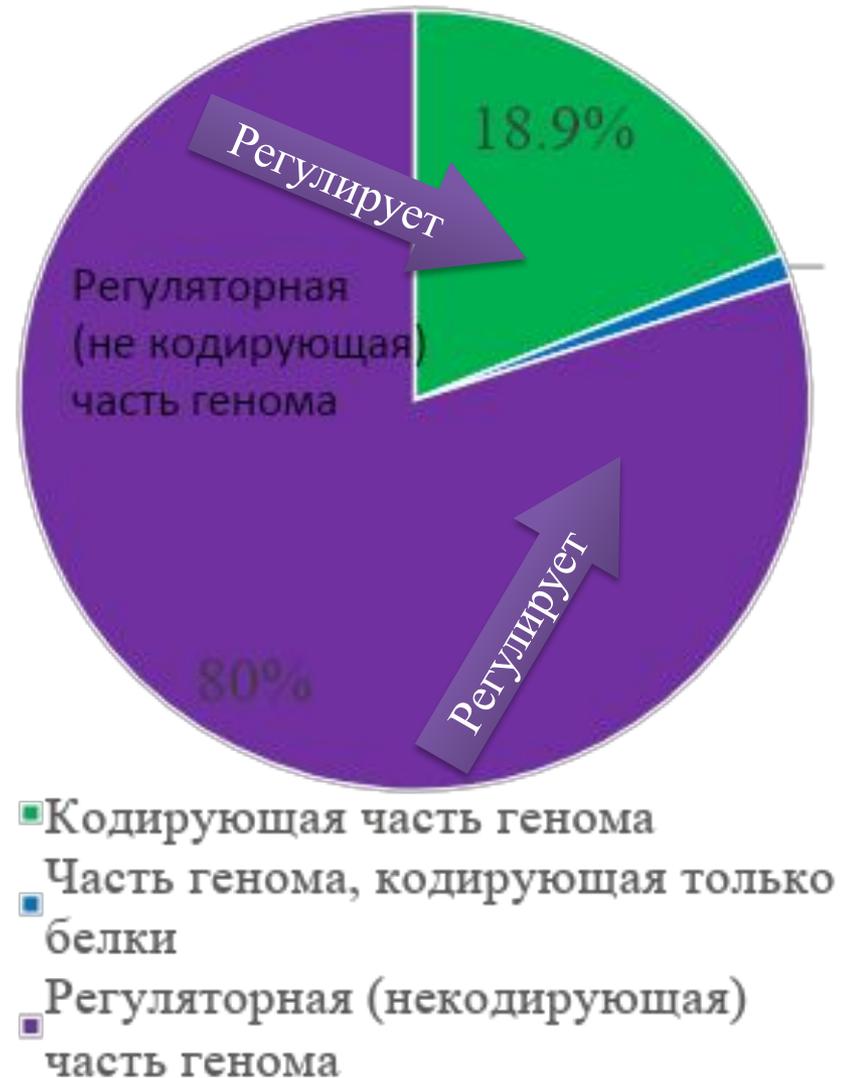
1) У коренных жителей Западной Африки и Новой Гвинеи отсутствуют эритроцитарные изоангигены системы Даффи, сопровождается появлением устойчивости к возбудителю малярии *P. vivax*;

2) устойчивость к вирусу иммунодефицита человека связана с потерей функции гена CCR5, в результате которой теряются некоторые рецепторы хемокинов, необходимые паразиту для инвазии;

3) псевдогенизация гена N цепи миозина 16 (MYH16), привела к уменьшению объема жевательных мышц и к последовавшему за этим увеличению размера головного мозга у человека.

Структура генома человека, % (по данным проекта ENCOD)

Большая часть генома представлена нетранскрибируемой (некодирующей) белок частью (80%), представленной, в основном, повторами различных регуляторных РНК. Это очень переменчивая часть генома, меняющаяся в зависимости от внешних условий среды и резко меняющая синтез белка *ex tempore*. Кроме того, это быстро эволюционирующая часть генома, функцией которой является приспособление имеющегося протеома и метаболома к меняющимся условиям среды обитания за счет изменения «правил чтения генома».



Естественный отбор не может просто поддерживать некий уровень «избыточности» участков генома, степень избыточности должна постоянно увеличиваться!

Один из основных признаков современной эволюции высших организмов – сегментные дубликации генома, вызывающие

- ✓ хромосомную нестабильность,
- ✓ индивидуальный полиморфизм,
- ✓ болезни – «драматическая пластичность генома»



Свободноживущая нематода
Caenorhabditis elegans

Маленький модельный геном животного. Геном: 100 млн. пар оснований.

Генов: ~20 000



Человек

Homo sapiens sapiens

Большой геном животного.

Геном: 3,1 млрд. пар оснований.

Генов: ~20 000-25 000

По-видимому, видообразование связано не с количеством генов, а с развитостью механизмов их чтения.

Упаковка хроматина эукариот

Если растянуть все 46 хромосом человека в одну нить, то набор хромосом одной клетки будет иметь длину около 190 см!

Поскольку ядро клетки имеет диаметр всего от 2 до 4 мкм — ДНК должна быть плотно спрессована.

Упаковка линейной ДНК в эукариотических хромосомах включает в себя взаимодействие ДНК и различных белков.

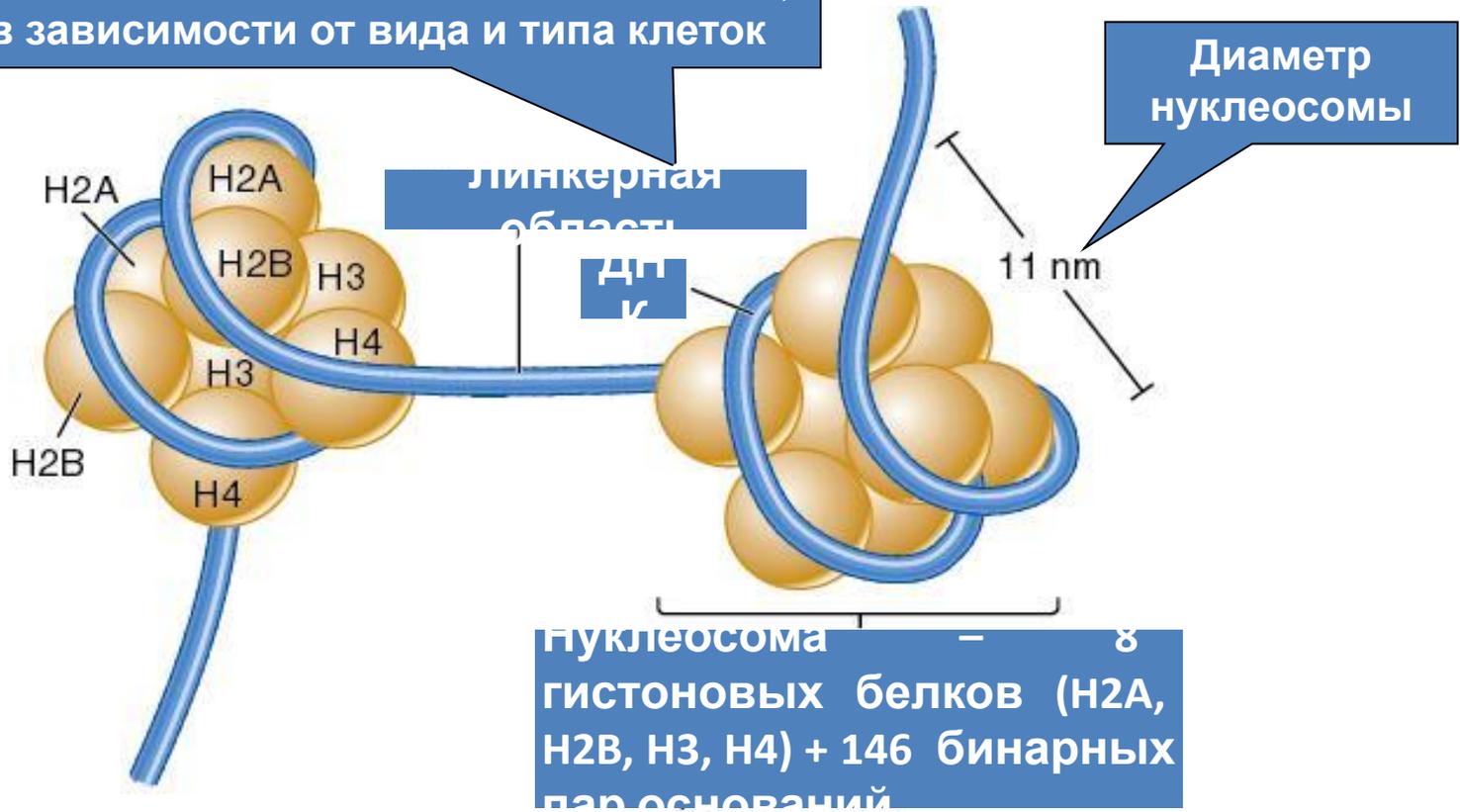
Нуклеосомы

Повторяющиеся структурные элементы эукариотического хроматина – нуклеосомы.

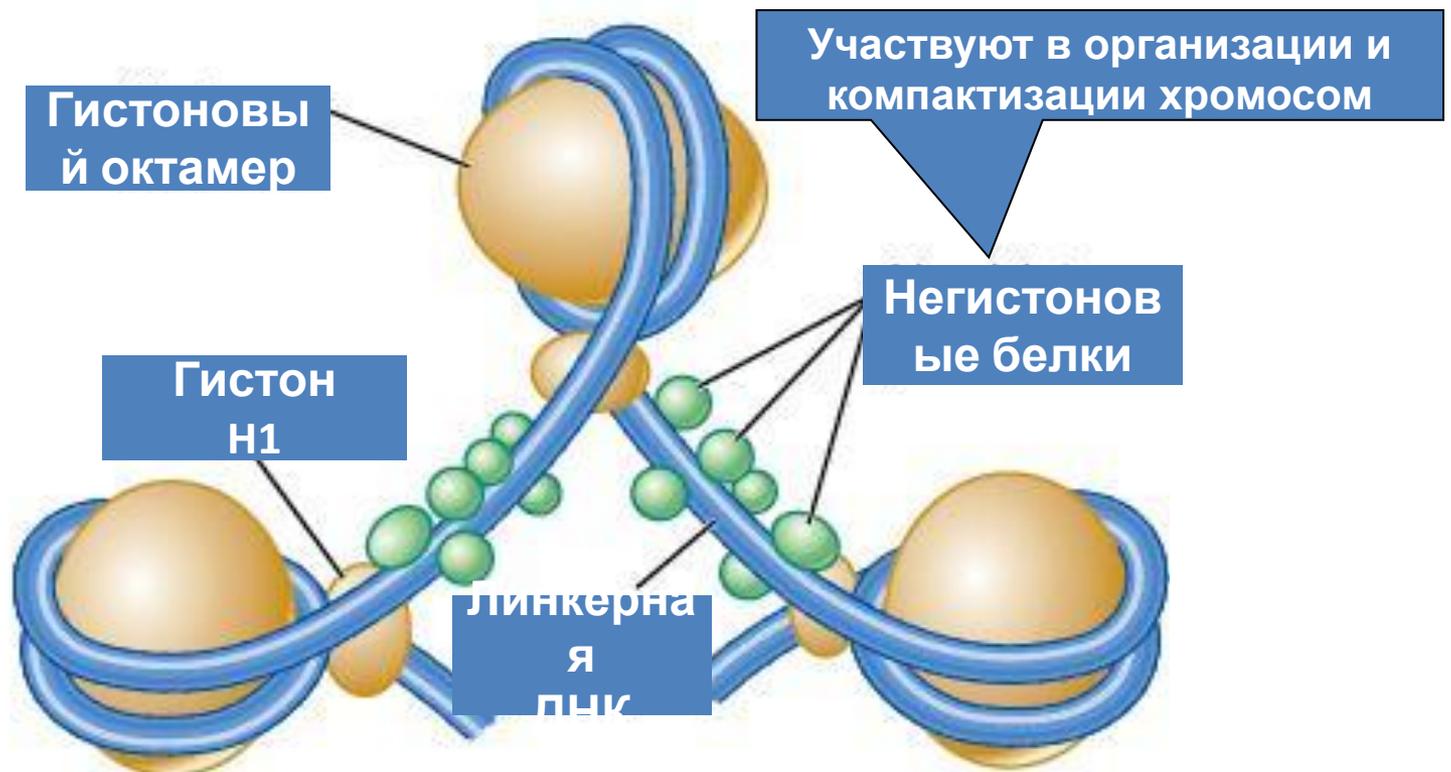
Они состоят из двухцепочечной ДНК, обернутой вокруг октамеров гистоновых белков.

Октамер составлен из двух экземпляров комплекса четырех гистонов, на который в 1,65 оборота накручено 146 бинарных нуклеотидных последовательностей (БП) ДНК (то есть, ДНК накручивается в виде двойной нити).

Различаются по длине от 20 до 100 БП,
в зависимости от вида и типа клеток



Общая структура нуклеосом напоминает «бусины на нитке».
Эта структура уменьшает длину ДНК примерно в семь раз



Нуклеосома показана в состоянии связи с гистонами и негистоновыми белками.

Гистон Н1 – «заклинивает» нить ДНК в области входа и выхода витка ДНК на нуклеосоме.

Нуклеосомы соединяются, образуя 30 нм волокна

Нуклеосомы связываются друг с другом и формируют более компактную структуру – 30 нм волокна.

Гистон H1 играет важную роль в этом уплотнении, результатом которого является классическая структура «бусин на леске».

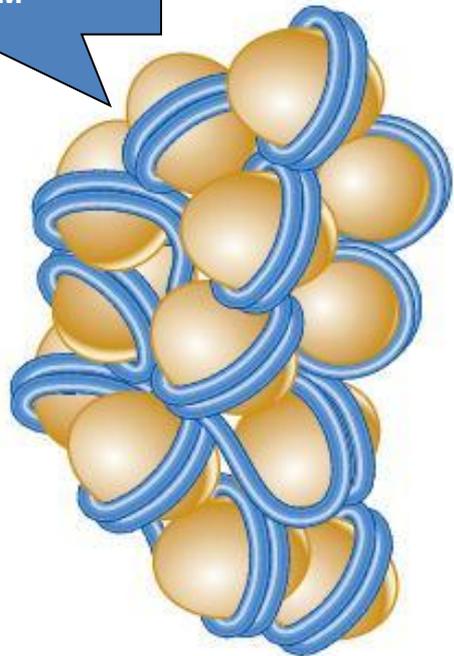
За счет образования 30 нм волокон общая длина ДНК укорачивается еще в семь раз.

Возможно существование двух видов такой укладки – «соленоид» и «зизаг».

30 nm

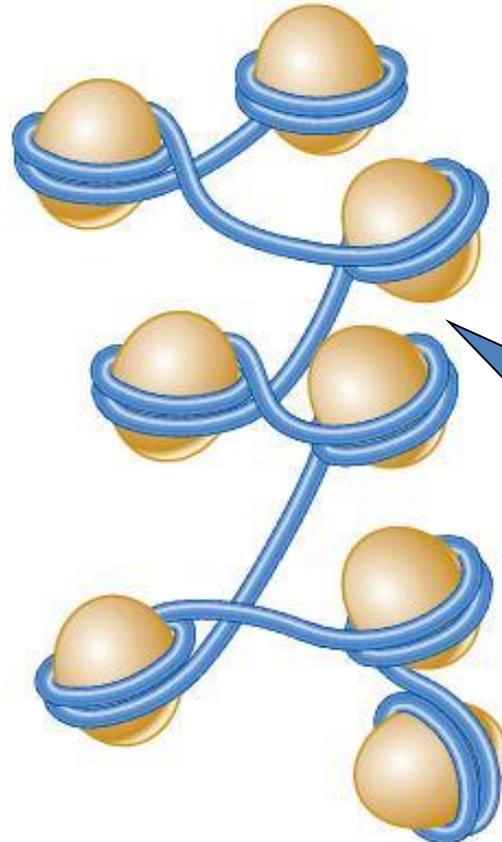
30 nm

Регулярная, спиральная конфигурация, содержащая шесть нуклеосом



Соленоидная модель укладки нуклеосом, ока-завшаяся неправильной

Нерегулярная конфигурация нуклеосом, располагающихся друг напротив друга



Трехмерная зигзагообразная модель укладки нуклеосом

Дальнейшее уплотнение хромосомы

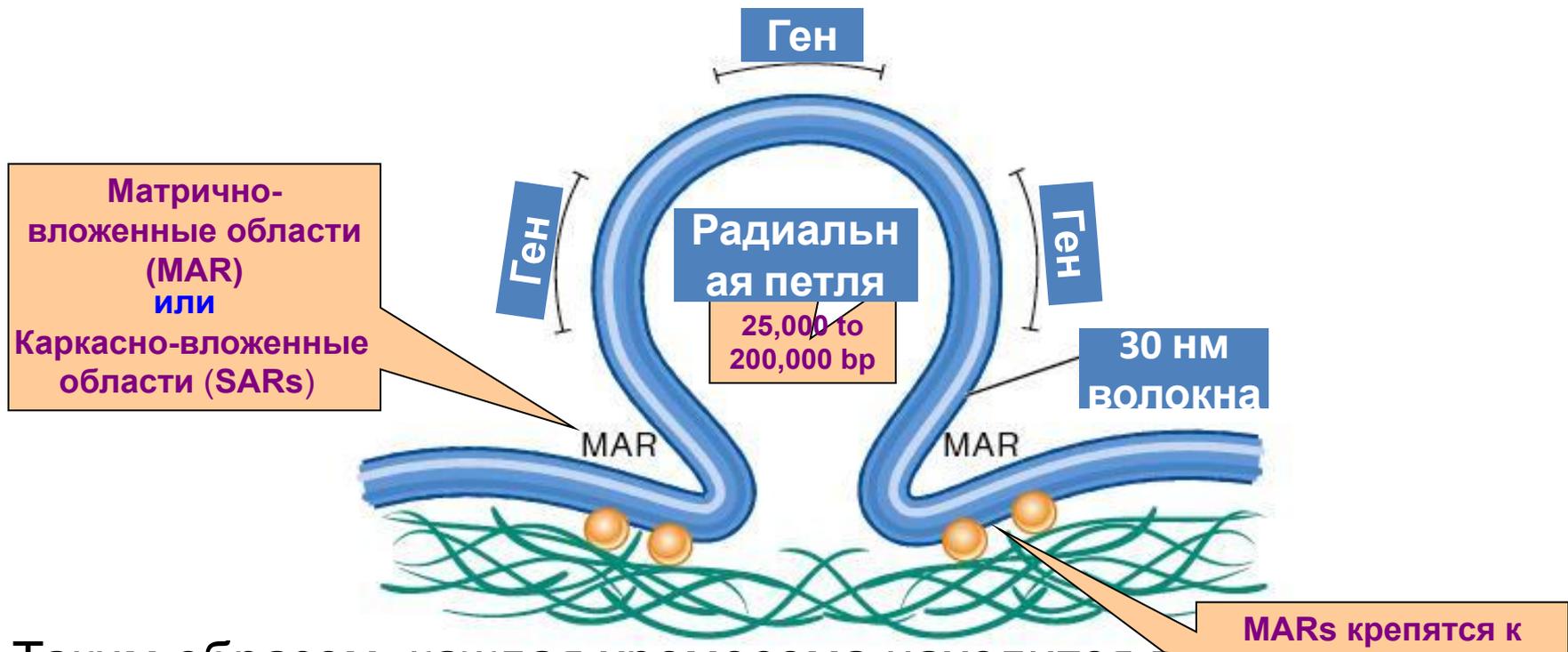
В результате двух предшествующих этапов, нить ДНК уменьшилась почти в 50 раз.

Третий уровень компактизации предполагает взаимодействие между 30 нм волокнами и ядерным матриксом, который состоит из двух частей:

ядерной ламины и

внутренней матрицы белков, представляющих собой 10 нм волокна и ассоциированных с ними сателлитных белков.

Третий этап компактизации ДНК предполагает формирование радиальной петли доменов



Таким образом, каждая хромосома находится в своем локализованном и не перекрывающемся с другими хромосомами пространстве – наглядный пример использования эффекта исключенного пространства.

Плотность разных участков интерфазных хромосом не одинакова.

Эухроматин образует менее сжатые участки хромосом. Это транскрипционно активные области, где 30 нм волокна образуют радиальные петли доменов.

Гетерохроматин плотно утрамбованные районы хромосом. В целом транскрипционно неактивные.

Радиальные петли доменов уплотняется еще больше.



Существует два типа гетерохроматина:

Конститутивный гетерохроматин – области, которые всегда гетерохроматны и постоянно транскрипционно неактивны.

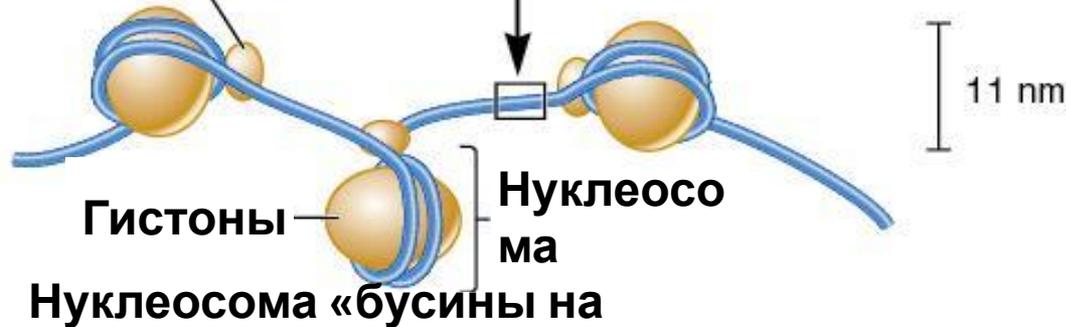
Факультативный гетерохроматин – области, взаимопревращающиеся в эухроматин и гетерохроматин, например: тельце Барра.



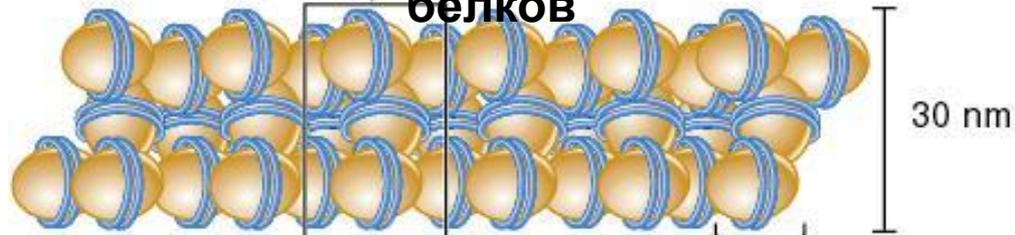
ДНК

Гистон
H1

ДНК, накрученная
на октамер



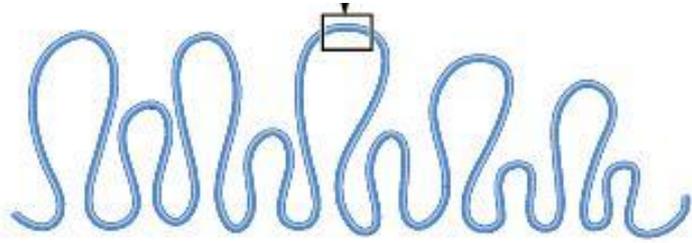
Формирование трехмерной зигзагообразной структуры с участием гистона H1 и других ДНК-связанных белков



30 нм волокна

Нуклеосома

К якорным радиальным петлям в ядерном матриксе



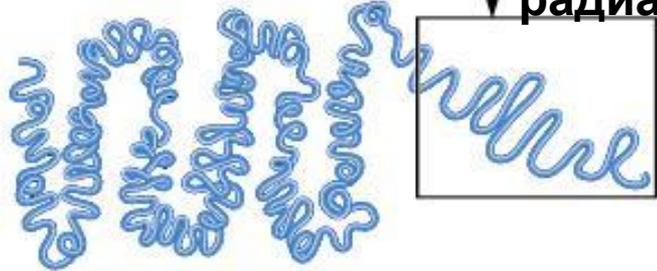
Петлевой домен

300 nm

**Плотность
компактизации в
эухроматин**

**Во время интерфазы
большинство
хромосомных областей
эухроматичны**

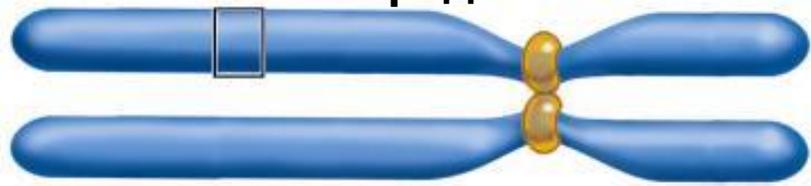
**Дальнейшая
компактизация всех
радиальных петель**



700 nm

**Плотность
компактизации в
гетерохроматин**

**Формирование каркаса в ядерном
матриксе и дальнейшей компактизацией
всех радиальных петель**



1,400 nm

Метафазная хромосома

Метафазные хромосомы

В метафазных хромосомах хроматин уплотнен сверхплотно.

В формировании и организации метафазных хромосом участвуют два мультибелковых комплекса:

Конденсин – играет важную роль в конденсации хромосом.

Когезин – играет важную роль в выравнивание сестринских хроматид.

Оба комплекса содержат белки, СПХ (SMC) белки – белки Структурной Поддержки Хромосом (Structural Maintenance of Chromosomes). Белки СПХ используют энергию АТФ и ускоряют изменения структуры хромосом.

Количество петель не изменилось,
но диаметр каждой петли уменьшился

Конденсин в
цитоплазме во
время интерфазы

300 нм радиальные петли –
эухроматин

700 нм – гетероматин

Конденсин

Конденсин

Конденсин
связывается с
хромосомами и
сжимает радиальные
шлейфы

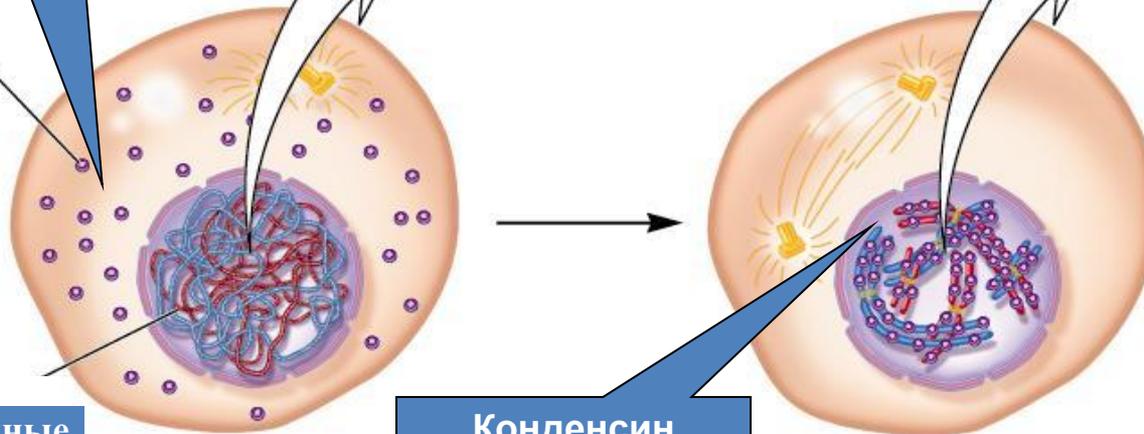
Деконденсированные
хромосомы

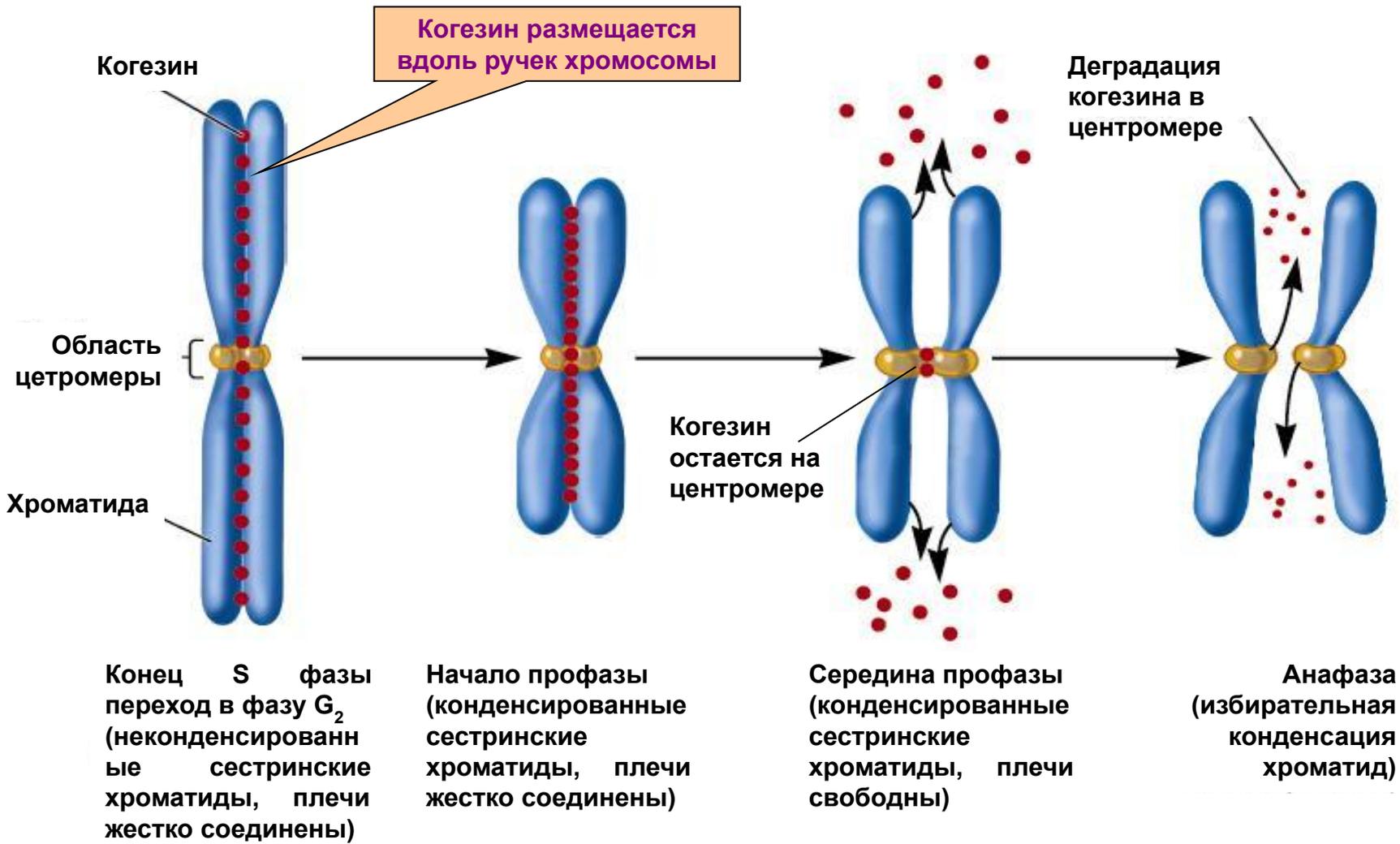
G_1 , S, и G_2

Конденсин
проникает в ядро

Начало метафазы

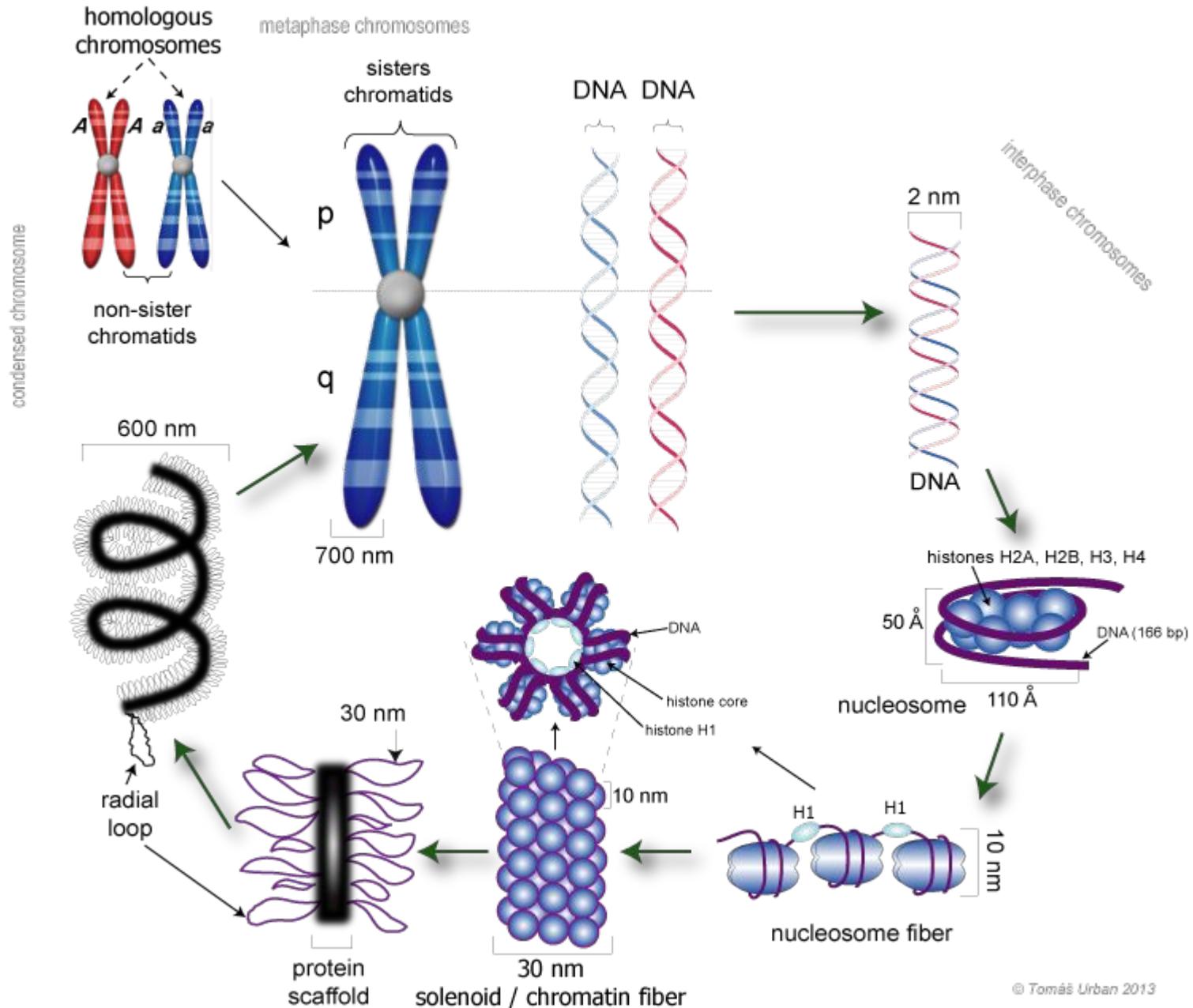
Конденсации метафазной хромосомы с участием конденсина





Выравнивание сестринских хроматид с помощью когезина

Chromosome structure in eukaryotes - chromatin



СВОЙСТВА ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

1. Триплетность кода. Как отмечалось выше, кодон состоит из последовательности, состоящей из трех нуклеотидов, из этого вытекает важнейшее свойство кода – его триплетность.

2. Вырожденность кода. Каждый из 61 смысловых триплетов кодирует включение в белок одну из 20 стандартных аминокислот. Поскольку число кодонов превосходит число, закодированных ими аминокислот приблизительно в 3 раза, включение одной и той же аминокислоты в белок определяет, как правило, несколько кодонов. Это особенность кода получила название вырожденность кода. Одним кодоном зашифрованы только 2 аминокислоты – метионин и триптофан.

3. Однозначность кода. Это свойства кода означает, что каждому кодону соответствует только одна строго определенная аминокислота. Например, триплет ГГУ кодирует только глицин, но ни какую другую аминокислоту.

4. Неперекрываемость кода. В соответствии с этим свойством следующие за иницирующим триплетом кодоны читаются друг за другом, не перекрываясь и без каких либо пропусков до нонсенс-кодона.

5. Универсальность кода. Универсальность кода означает, что он одинаков для всех организмов. Тем не менее, существуют исключения. В митохондриальной иРНК присутствуют триплеты, имеющие другой смысл, чем в иРНК ядерного происхождения. Так в иРНК митохондрий триплет УГА кодирует триптофан, триплет АУА – метионин, а АГА и АГГ прочитываются как стоп-кодона.

6. Коллинеарность — свойство, обуславливающее соответствие между последовательностью кодонов нуклеиновых кислот и аминокислот полипептидных цепей. Иными словами, коллинеарность — свойство, благодаря которому в белке воспроизводится та же последовательность аминокислот, в какой соответствующие кодоны располагаются в гене. Это означает, что положение каждой аминокислоты в полипептидной цепи зависит от особого участка гена. Генетический код считается коллинеарным, если кодоны нуклеиновых кислот и соответствующие им аминокислоты в белке расположены в одинаковом линейном порядке.

Биологические функции ДНК

- 1. Хранилище генетической информации** (генетическое копирование): генетическая информация кодируется трехмерным расположением нуклеотидных оснований.
- 2. Репликация:** ДНК имеет уникальное свойство репликации или производства копии (автокаталитической) функция. Это необходимо для передачи генетической информации от одной материнской клетки к дочерней и от одного поколения к следующему. Копирование ДНК – неточное, девиантное в пределах биологической нормы, что обеспечивает существование как индивидуального, так и видового разнообразия.
- 3. Хромосомы:** ДНК хранится в виде хромосом, что обеспечивает возможность правильного (равномерного) распределения ДНК во время деления клеток.
- 4. Рекомбинация** – осуществляется во время мейоза с помощью кроссинговера, дает начало новой комбинации генов, называемых рекомбинаций.

Биологические функции ДНК

- 5. Мутации** – изменения в последовательности азотистых оснований в связи с добавлением, удалением или неправильная репликация приводят к мутациям. Значительные направленные мутации большого числа генов обеспечивает все вариации и эволюцию.
- 6. Транскрипция:** ДНК служит основой для аутокаталитического транскрибирования РНК.
- 7. Клеточный метаболизм:** ДНК контроль метаболических реакций клеток с помощью специфических РНК, регуляция синтеза специфических белков, ферментов и гормонов.
- 8. Дифференцирование:** вследствие изменения активности функционирования отдельных регионов ДНК или генов, различные части организмов дифференцированы по форме, размеру и функциям.
- 9. Контроль времени:** за счет автоколебательных процессов с обратной отрицательной связью в результате которых ДНК запускает синтез o'clock белков, тормозящих транскрипцию участков ДНК, активирующих эти белки, осуществляется синхронизация всех регуляторных и синтетических процессов.

Биологические функции ДНК

- 10. Развитие:** ДНК контролирует развитие организма посредством работы внутренние генетические часы с или без помощи внешней информации.
- 11. ДНК, отпечатки пальцев:** последовательности гипервариабельной микросателлитной ДНК все люди различны. Они используются при идентификации лиц и расшифровки их отношения.
- 12. Ауторепаративная функция** – ДНК способна к репарации поврежденных участков с помощью молекулярных машин репарации. Эта способность позволяет осуществлять генную терапию с помощью включения «правильных» генов в замен дефектных.
- 13. Антисмысловая аутотерапия:** избыточное наличие анти-мРНК или антисмысловой РНК не позволяет «патогенным» генам реализовать себя в фенотипе. Вариантом этого явления является РНК-интерференция.

Что на современном этапе представляет собой структурная часть генома, кодирующая белки?

Структура гена.

Учебник: ген – единица наследственной информации, занимающая определенное положение в геноме или хромосоме и контролирующая выполнение определенной функции в организме.

Новые данные о структуре и функционировании генома послужили причиной формулирования новых определений понятия «ген»:

Human Genome Nomenclature Organization, **ген – это «сегмент ДНК, влияющий на фенотип или функцию. В отсутствие проявленной функции ген может быть охарактеризован последовательностью, транскрипцией или гомологией»** [Wang J. Genomic organization, transcript variants and comparative analysis of the human nucleoporin 155 (NUP155) gene / J. Wang [et al.] // Gene. – 2002. – Vol. 288. – P. 9–18.];
Sequence Ontology Consortium, **ген – это «локализуемый участок последовательности генома, соответствующий единице наследственности, которая ассоциирована с регуляторными, транскрипционными и другими функциональными участками последовательности»** [Pearson H. Genetics: what is a gene? // Nature. – 2006. – Vol. 441 (7092). – P. 398–401.];

Ensembl (совместный проект European Molecular Biology Laboratory, European Bioinformatics Institute и Wellcome Trust Sanger Institute) – **«все транскрипты, полученные в результате альтернативного сплайсинга, относятся к одному гену, даже если из них получаются разные белки»** [Wade N. 2003. Gene sweepstakes ends, but winner may well be wrong. New York Times.

<http://query.nytimes.com/gst/fullpage.html?sec=health&res=9A02E0D81230F930A35755C0A9659C8B63>];

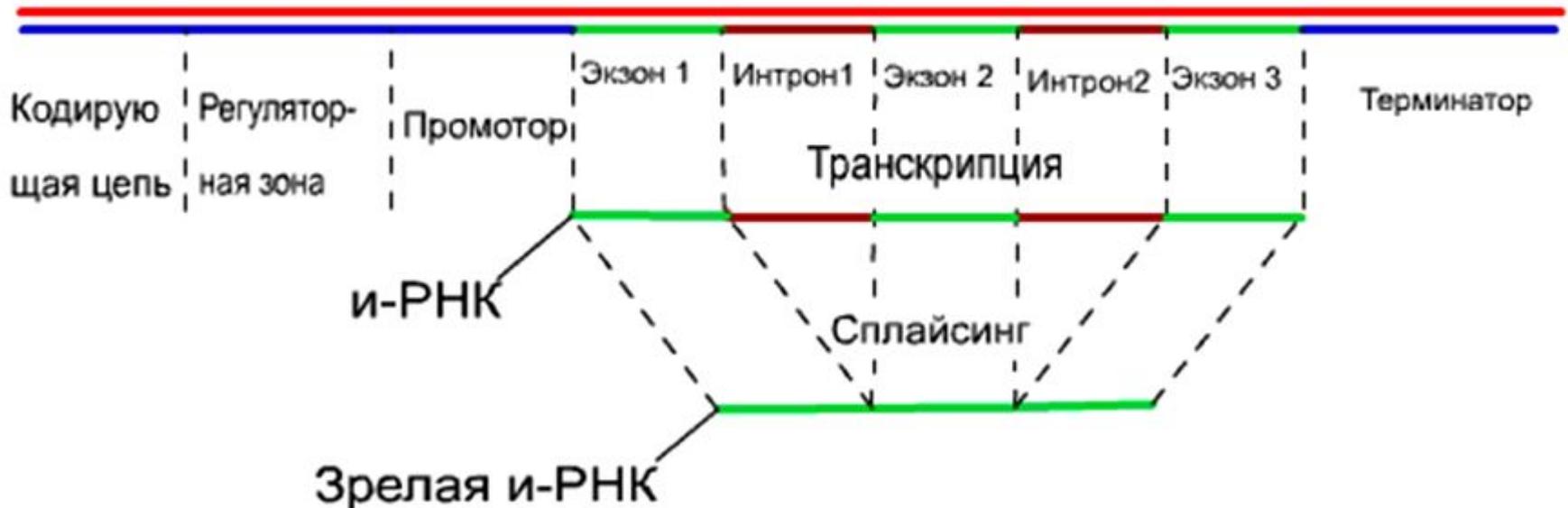
ген – это подпрограмма в операционной системе генома [Gerstein M. B., Bruce C., Rozowsky J. S., Zheng D., Du J., Korbel J. O., Emanuelsson O., Zhang Z. D., Weissman S., Snyder M. What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition // Genome Research. – 2007. – № 17. – P. 669–681.].

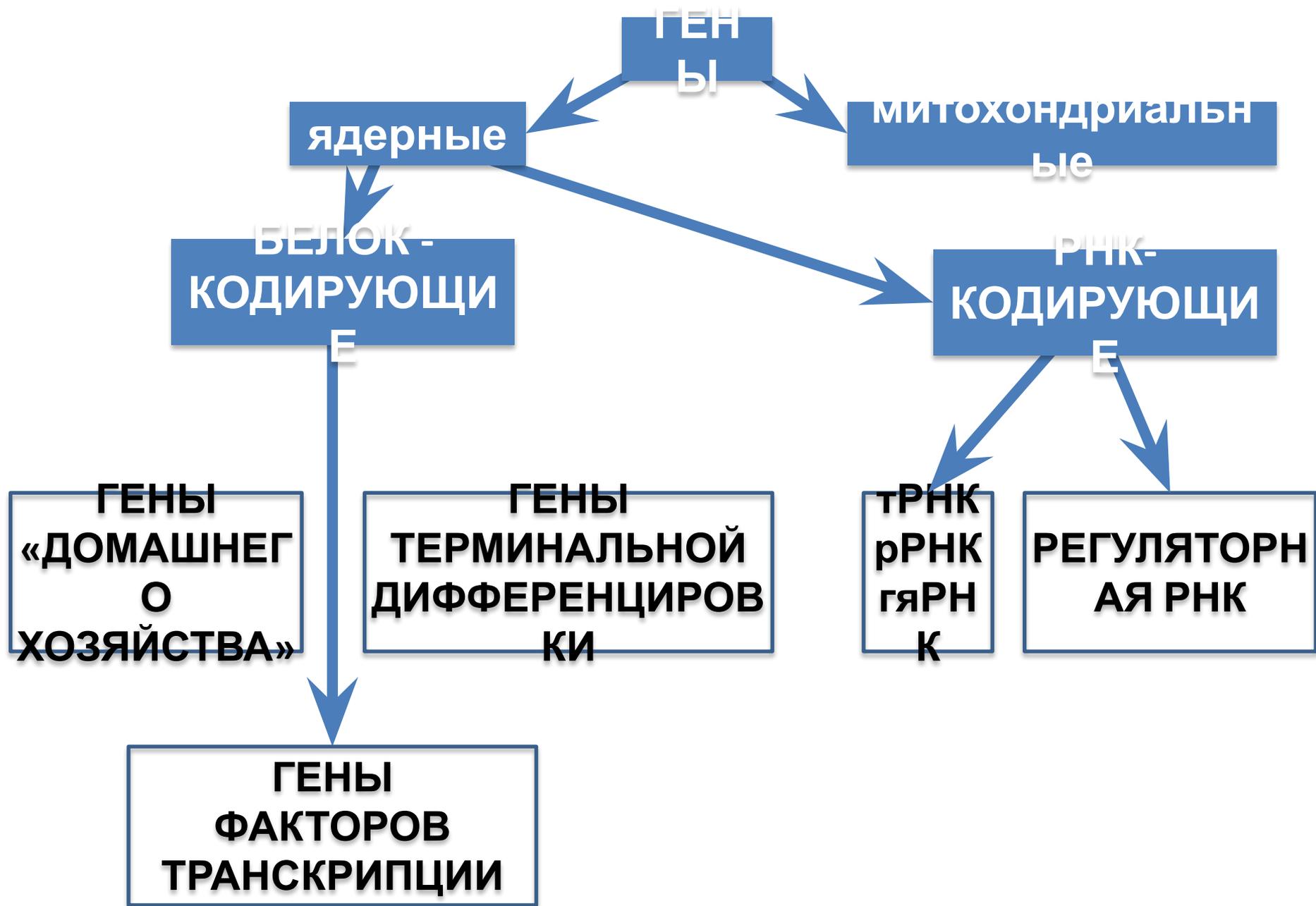
Определение понятия ген, сформулированное на основе реализации программы ENCODE: **«Ген – это объединение геномных последовательностей, кодирующих когерентный набор потенциально перекрывающихся функциональных продуктов»** [Wang J. Genomic organization, transcript variants and comparative analysis of the human nucleoporin 155 (NUP155) gene / J. Wang [et al.] // Gene. – 2002. – Vol. 288. – P. 9–18.]

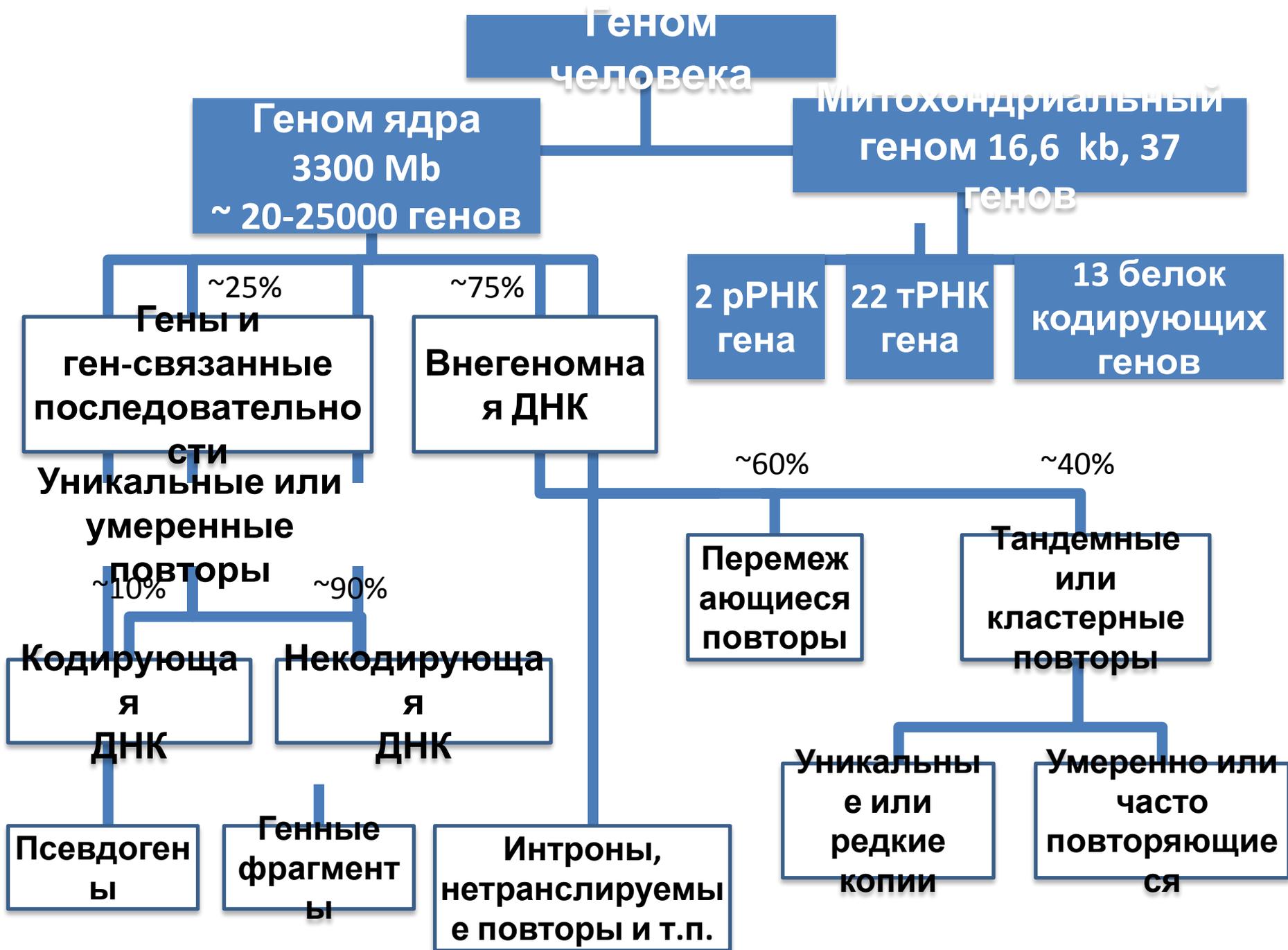
Структура гена

- Относительно короткие кодирующие последовательности оснований (**экзоны**) чередуются с длинными некодирующими последовательностями – **интронами**, которые вырезаются (**сплайсинг**) в процессе созревания иРНК (**процессинге**) и не участвуют в процессе трансляции. Выделенные и соединенные вместе в результате процессинга экзоны и являются собственно

ДНК







Классификация генов

По функциям:

- 1. Структурные**
- 2. Регуляторные:**
 - а) модификаторы**
 - б) супрессоры**

По влиянию на жизнеспособность:

**Летальные,
полуметальные,
нейтральные**

Ген состоит из 2-х основных элементов:

- 1) регуляторной части (не транскрибируется)**
- 2) собственно кодирующей части**

Регуляторная часть гена

Промотор – на 5' конце (инициация транскрипции)

Оператор – сайт связи с белком репрессором

Энхансеры – усиливают скорость транскрипции

Сайленсеры – снижают скорость транскрипции

Аттенуаторы – запускают или останавливают транскрипцию

Спейсеры – некодирующие последовательности

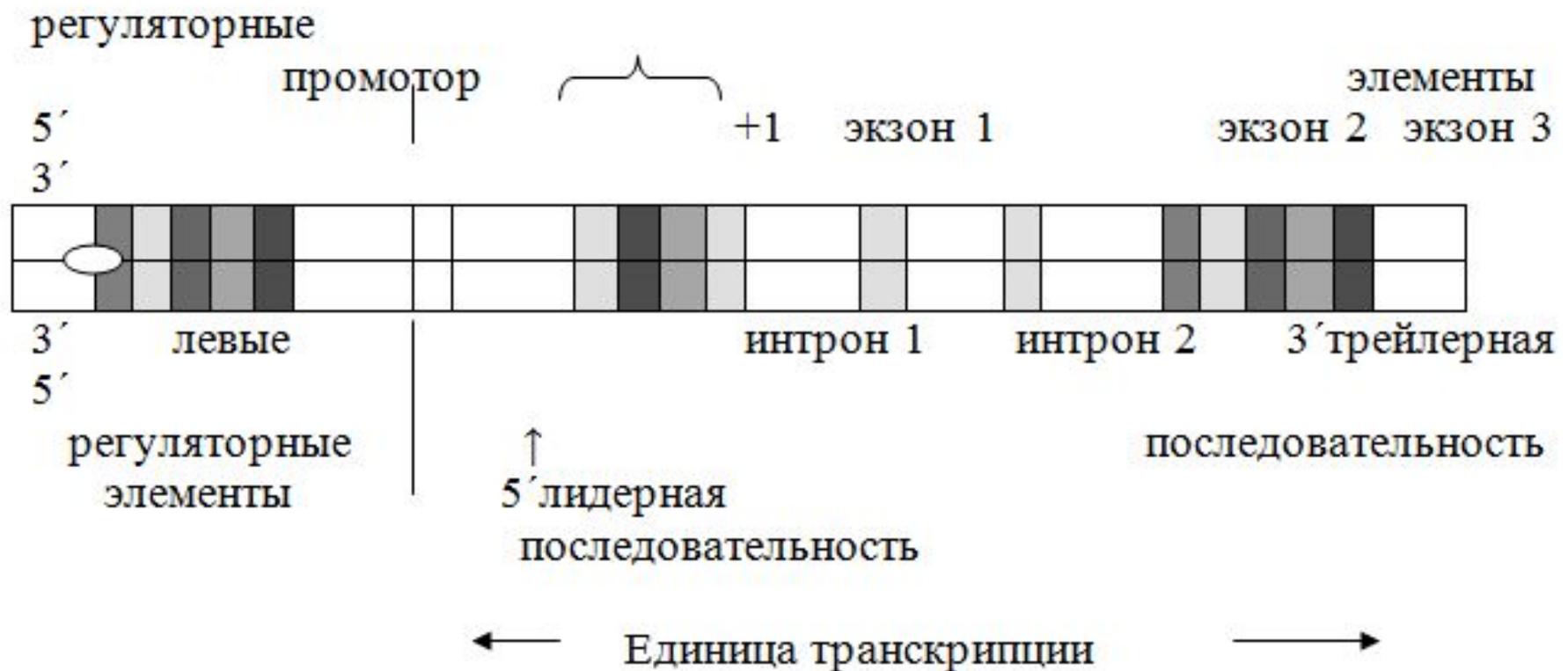
Терминатор – на 3' конце (терминация транскрипции)

Кодирующая часть гена

Находится между промотором и терминатором и называется единицей транскрипции

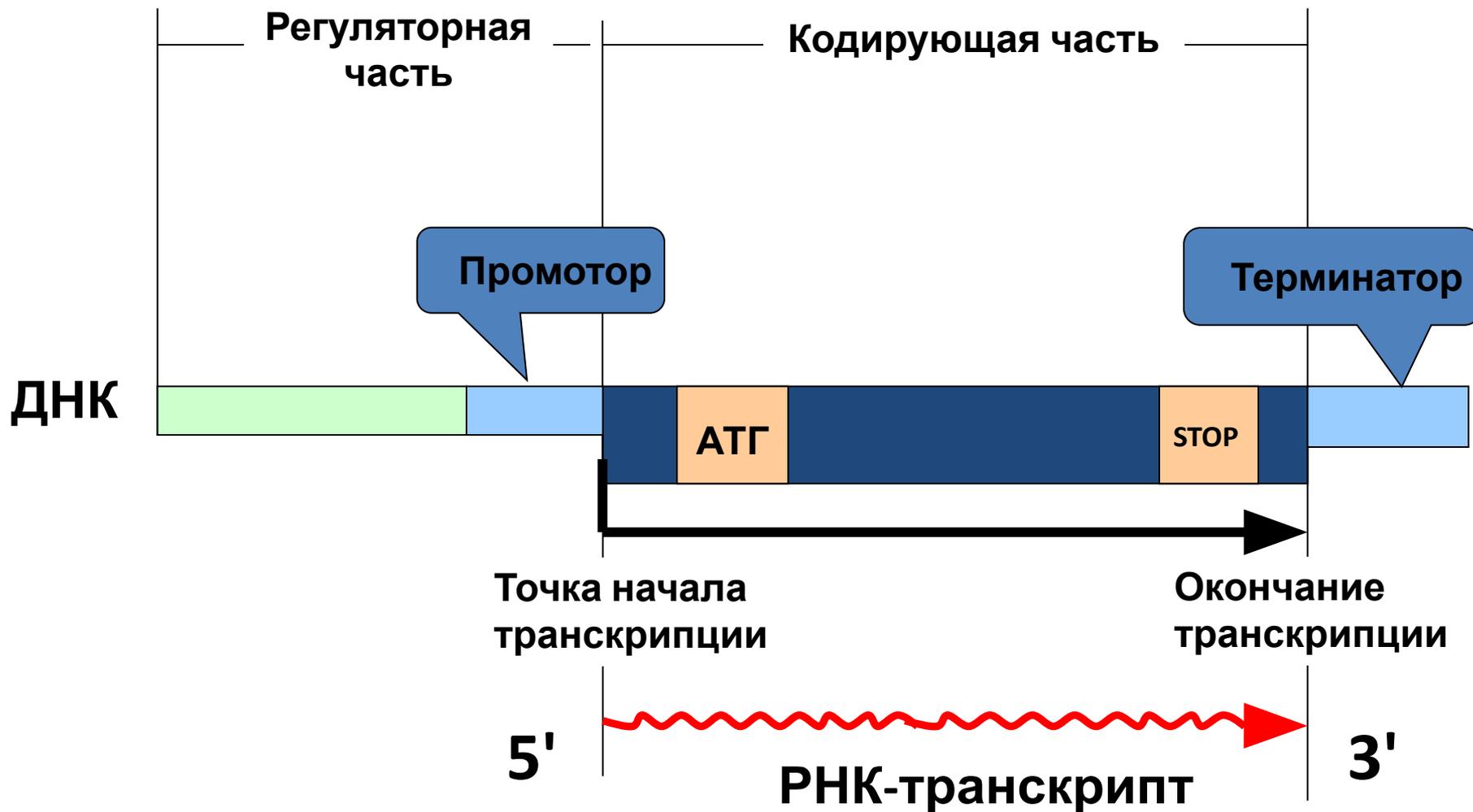
Кодирующая часть гена

1. нетранслируемая 5' область (НТО)
2. кодирующая область (состоит из кодонов)
3. нетранслируемая 3' область



Единица транскрипции – область, располагающаяся между сайтом инициации и терминации, транскрибируется как одна нить РНК.

Строение гена



У прокариот регуляторные зоны «обслуживают» несколько генов. Эти гены вместе с регуляторными элементами носят название **оперон**. Таким образом, оперон состоит из двух функционально различных участков: (см. предыдущий слайд).

1. **Кодирующего участка**, который содержит несколько структурных генов.
2. **Регуляторной зоны**, которая включает следующие участки:
 - а. Стартовый кодон – сайт (место) инициации транскрипции.
 - б. Терминатор – сайт конца транскрипции.
 - в. Лидирующую область.
 - г. Трейлерную область.
 - д. Промотор.
 - е. Оператор.
 - ж. Активатор
 - з. Спейсеры.

Оперон – группа тесно сцепленных генов, находящихся под контролем общего промотора и общего оператора и транскрибируемых как единая мРНК.

Промотор — участок ДНК, к которому присоединяется РНК-полимераза и начинается транскрипция.

Лидерная область включает или отключает транскрипцию иРНК, трейлерная принимает участие в «созревании» иРНК.

Лидерная область транскрибируется, т.е., представлена в молекуле иРНК. Но этот участок в рибосомах не транслируется, т.е., он не представлен аминокислотной последовательностью в белке.

Лидерная последовательность обладает уникальной способностью приобретать форму шпильки в том случае, когда транскрипция данного гена клетке не нужна.

Оператор – это регуляторный участок гена (или оперона) для присоединения белка-регулятора, который может блокировать транскрипцию (белок-репрессор), либо активировать ее (белок-активатор).

Трейлерная последовательность транскрибируется на иРНК и является сигналом для формирования полиаденилового хвостика (аденилирование 3`-конца) при «созревании» про-иРНК.

Промотор – участок, расположенный на 5'-конце ДНК перед сайтом инициации. В отличие от прокариот, у эукариот одна РНК-полимераза соединиться с промотором не способна. Прежде чем связаться с промотором РНК-полимераза эукариот соединяется с многочисленными белками (их около 50), которые способствуют её прикреплению к промотору. Эти белки называются **факторами транскрипции**, а образовавшийся комплекс РНК-полимеразы с факторами транскрипции именуется **комплекс транскрипции (или транскрипционный комплекс)**.

Регуляторные нуклеотидные последовательности часто объединяют термином – **контролирующие зоны или цис-регуляторные элементы**. К этой зоне относится **лидерная область, промотор** и регуляторные зоны, располагающиеся рядом с промотором.

Активатор обеспечивает присоединение РНК-полимеразы к промотору, на оператор осаждается белок регулятор, блокируя движение РНК-полимеразы через оператор.

Спейсеры (англ. Spacer — «разделитель») — участки нетранскрибируемой ДНК, расположенные между тандемно повторяющимися генами, например, генами рибосомальной РНК у эукариот.

Генотип у всех соматических клеток одинаковый (следствие равного распределения генетического материала между дочерними клетками при митозе), однако клетки разных тканей и органов одного организма сильно отличаются (нервные, мышечные, эпителиальные, соединительнотканые).

В разных клетках работают разные блоки генов.

Область проявления действия данного гена называется **поле действия гена**, например, гены, детерминирующие рост волос, развитие определенных папиллярных узоров на пальцах, ладонях и стопах и др.

Гены функционируют непостоянно. Например, гены, детерминирующие синтез пигмента меланина, окрашивающего волосы человека, в пожилом возрасте перестают работать, и волосы седеют.

Гены, детерминирующие синтез половых гормонов, интенсивно начинают функционировать с момента полового созревания. Их функция значительно снижается к старости.

Время работы гена — это период его функционирования.

ОСОБЕННОСТИ ЭУКАРИОТ

- Клетки эукариот имеют одинаковую ДНК, но фенотипически различаются.
- Это обусловлено тем, что в клетках разных тканей эукариот экспрессируются разные гены, соответственно синтезируются разные мРНК и белки.
- Экспрессия генов регулируется на различных уровнях реализации генетической информации.

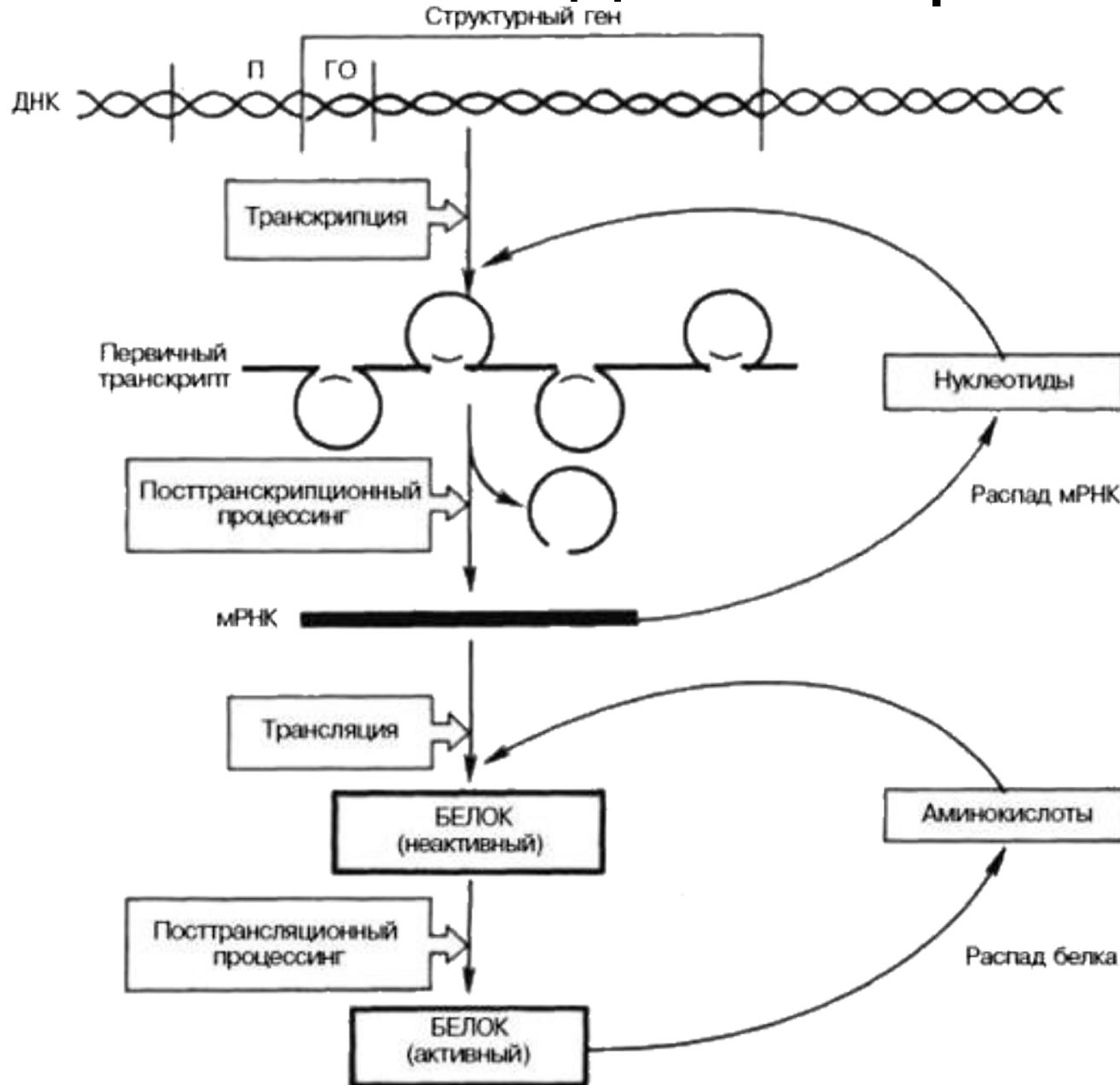
Экспрессия генов это совокупность процессов в клетке обеспечивающих реализацию информации гена в признак, то есть, это процесс, в котором наследственная информация от гена (последовательности нуклеотидов ДНК) преобразуется в функциональный продукт — РНК или белок.

Экспрессия структурных генов несущих информацию о структуре белка состоит из нескольких этапов:

транскрипция → процессинг → трансляция → фолдинг

то есть, экспрессия осуществляется на разных уровнях клеточной организации

Схема стадий экспрессии гена



Экспрессия гена может быть измерена

Количественный анализ экспрессии генов — измерение транскрипционной активности гена, с помощью определения количества его продукта – мРНК.

Для измерения количества мРНК разработан ряд методов, но наиболее употребим метод количественной ПЦР в реальном времени, который применяют для анализа уровня экспрессии нескольких генов – RNA-Seq.

Количественный анализ экспрессии с помощью RNA-Seq:

В результате секвенирования РНК создается библиотека ридов. Длина рида варьирует от 25 до 200 нуклеотидов. Затем риды картируются (или выравниваются) на референсный геном. Риды могут выравниваться сразу на несколько областей генома или на разные изоформы одного гена. Технология позволяет измерять лишь относительное количество транскрипта в клетке. Самый простой подход — рассматривать только однозначно выровненные риды на аннотированные модели генов. В этом случае величина RPKM (reads per kilobase per million mapped reads) является подходящей количественной мерой экспрессии транскрипта:

$$\text{RPKM} = \frac{X}{l/10^3 \times N/10^6}$$

где: X — количество ридов, попавших на транскрипт,

l — длина транскрипта,

N — общее количество ридов.

Эта формула является оценкой максимального правдоподобия при полиномиальной модели картирования ридов на транскрипты.

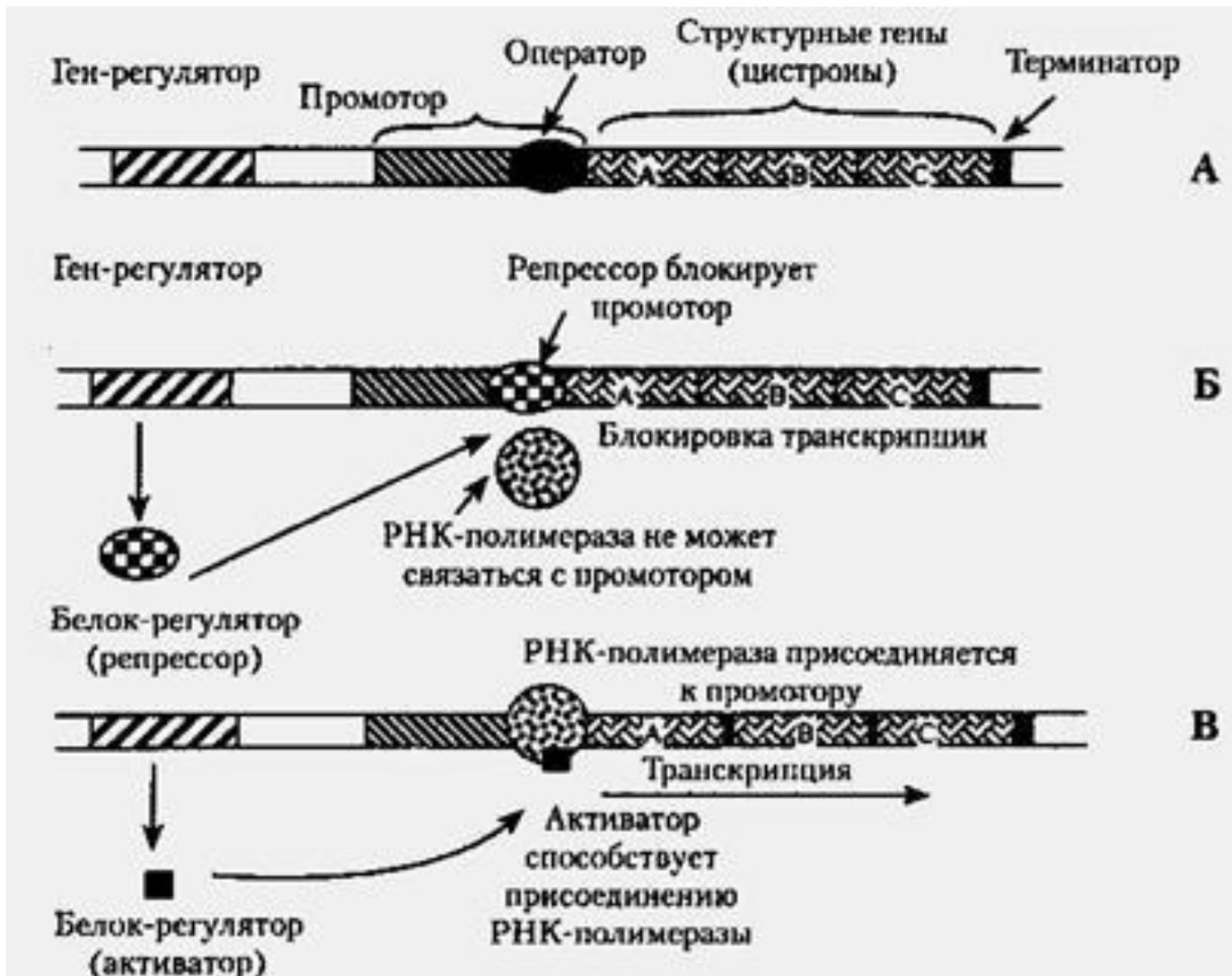


Схема структуры оперона – А, схемы негативного – Б и позитивного – В контроля экспрессии гена.

Контроль экспрессии генов осуществляется на следующих уровнях:

- при транскрипции (контролируется время и характер транскрипции гена);
- во время процессинга первичного транскрипта;
- при отборе зрелых мРНК для их транспорта в цитоплазму;
- в процессе трансляции – отбор в цитоплазме мРНК для трансляции на рибосомах;
- в процессе деградации – избирательная дестабилизация определенных типов мРНК в цитоплазме;
- в результате регуляции активности белка – селективная активация, инактивация или компартиментация молекул белка после их синтеза.

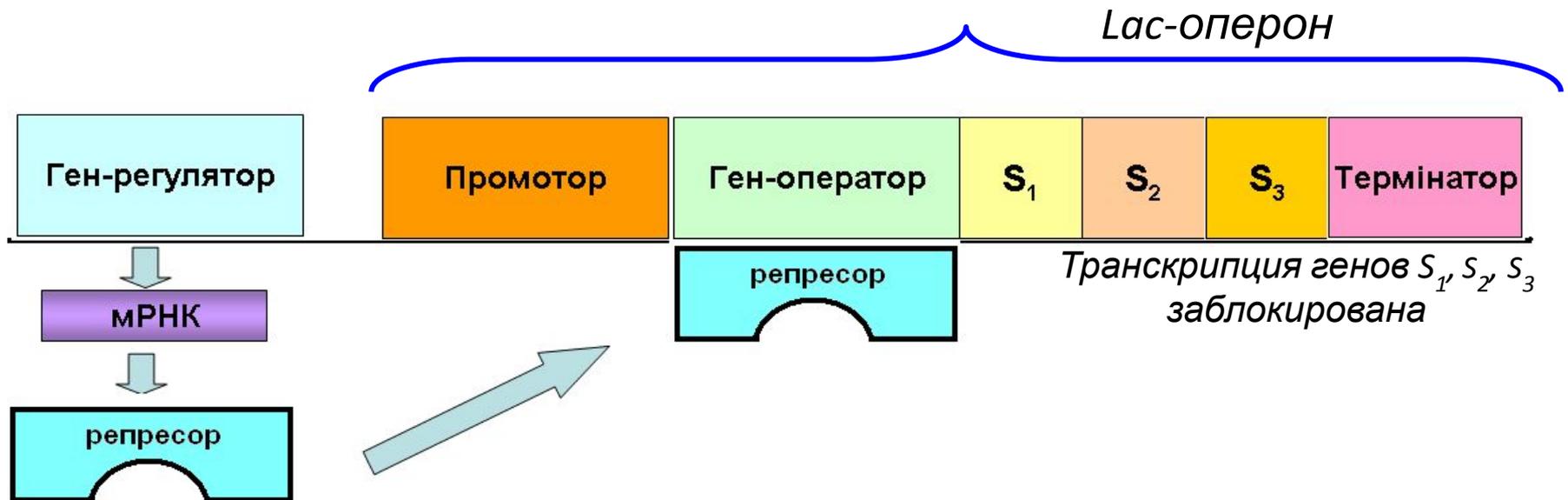
Регуляция экспрессии генов может осуществляться разными способами

По типу индукции – поступивший в клетку субстрат вызывает экспрессию генов, регулирующих синтез фермента, метаболизирующего этот субстрат, пример – гены индуцибельной циклооксигеназы 2 (ЦОГ-2) – ключевого фермента воспаления.

По типу корепрессии – у бактерий описана система регуляции, которая переводит активные структурные гены в неактивное состояние, в зависимости от концентрации в цитоплазме конечного продукта определенной биохимической реакции, пример – триптофановый оперон, являющийся системой, постоянно кодирующей синтез незаменимой аминокислоты – триптофана. Избыточное количество этой аминокислоты, то есть конечного продукта, активизирует белок – репрессор, он блокирует ген-оператор и транскрипция прекращается, синтез триптофана останавливается.

Lac-оперон E.coli:

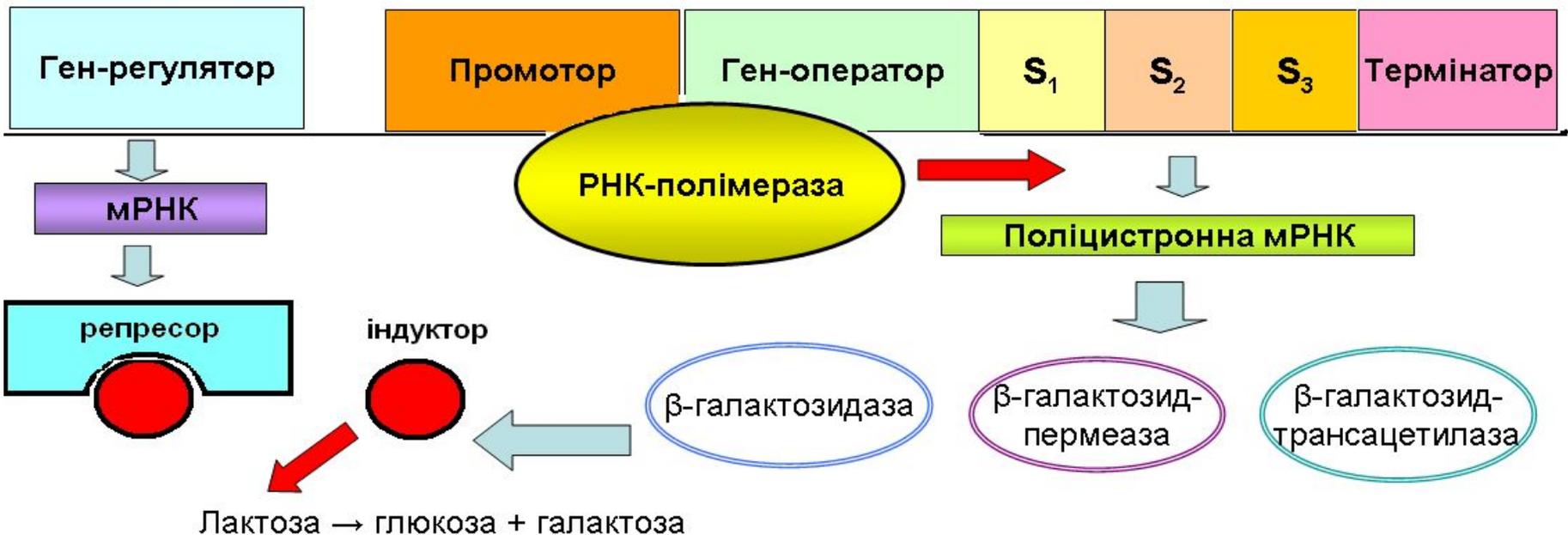
- Контролирует синтез ферментов катаболизма лактозы по типу индукции (**β -галактозидазы** и др.)
- При отсутствии лактозы в среде Lac-оперон находится в **состоянии репрессии**
- Активный белок-репрессор связывается с геном-оператором и блокирует транскрипцию структурных генов. **β -галактозидаза не синтезируется**



2. Лактоза выступает **индуктором** работы Lac-оперона и синтеза ферментов ее метаболизма

Лактоза связывает белок–репрессор и Lac-оперон переходит в **состояние индукции**:

- Ген-оператор освобождается
- РНК-полимераза связывается с промотором
- Происходит транскрипция структурных генов
- Синтезируются ферменты метаболизма лактозы



ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ

В основе дифференциальной активности генов на уровне транскрипции лежат обратимые (эпигеномные) изменения отдельных участков хроматина с сохранением непрерывной структуры (соответствуют эпигенетической изменчивости генома):

- 1) конденсация, деконденсация хроматина,
- 2) метилирование ДНК,
- 3) необратимые изменения участков хроматина, которые могут быть связаны с частичной перестройкой структуры генома.

Цитоплазматическая наследственность

Кроме ядерных генов, локализованных в хромосомах, существуют факторы наследственности, находящиеся в цитоплазме – **плазмагены (плазмиды)**.

В цитоплазме могут находиться также **чужеродная ДНК вирусов и плазмиды бактерий**. Внеядерная ДНК способна реплицироваться независимо от репликации хромосом, но под контролем ядерных генов.

Цитоплазматическое наследование идет строго по материнской линии, т.е. через цитоплазму яйцеклетки, поскольку сперматозоид цитоплазмы почти не имеет.

Цитоплазматическая наследственность

Возможными **критериями цитоплазматической наследственности** являются:

- отсутствие количественного менделевского расщепления в потомстве;
- невозможность выявления сцепления;
- различие результатов реципрокных скрещиваний.

Выделяют следующие основные виды цитоплазматической наследственности:

- ✓ пластидную,
- ✓ митохондриальную
- ✓ псевдоцитоплазматическую.

Цитоплазматическая наследственность

Геном митохондрий человека представлен кольцевой молекулой ДНК, содержащей 16 569 пар нуклеотидов. В состав генома входят гены р-РНК, 22 различных т-РНК, субъединиц I, II и III оксидазы цитохрома *c*, субъединиц б-АТФазы, цитохрома *b* и 9 других пока не известных белков. ДНК митохондрий имеет очень мало некодирующих участков; транскрибируются обе ее цепочки.

Цитоплазматическая наследственность

Псевдоцитоплазматическая наследственность обусловлена попаданием в цитоплазму клеток участков чужеродной ДНК, т. е. своего рода внутриклеточным паразитизмом. Так, у некоторых линий мух дрозофил имеется повышенная чувствительность к углекислому газу. Установлено, что эта особенность обусловлена передачей через цитоплазму яйца особых вирусов.

У мышей описаны линии с «наследственной» предрасположенностью к развитию рака молочной железы. При детальном изучении этого явления оказалось, что предрасположенность передается не через половые клетки, а через молоко, в котором содержится вирус (фактор молока). Если новорожденных мышат «раковой» линии вскармливает самка «нормальной» линии, они остаются здоровыми. Если же мышат «нормальной» линии вскармливает самка «раковой» линии, то у последних развивается рак молочной железы.