

Строение и функционирование хромосом.

Хромосомы и гены. Строение хромосом. Изменения хромосом в ходе митоза и мейоза. Специфичность морфологии и числа хромосом в кариотипе. Молекулярная организация хромосом. Компоненты хроматина. Уровни компактизации хромосом. Функциональные особенности эу- и гетерохроматина. Концепция теломеры.

Информационной макромолекулой генома эукариот является ДНК, которая неравномерно распределена по нескольким **хромосомам** в виде комплексов с многочисленными белками.

Хромосома - постоянный компонент ядра, отличающийся особой структурой, индивидуальностью, функцией и способностью к самовоспроизведению, что обеспечивает передачу наследственной информации от одного поколения к другому.

Число хромосом



Naplopappus gracilis
4



Lemna gibba
52



Huperzia selago
104



Ophioglossum vulgatum
110



Ophioglossum reticulatum
1260



Muntiacus muntjak
6



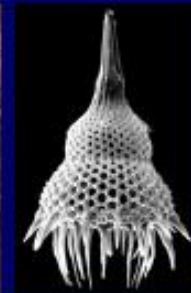
Muntiacus reevesi
46



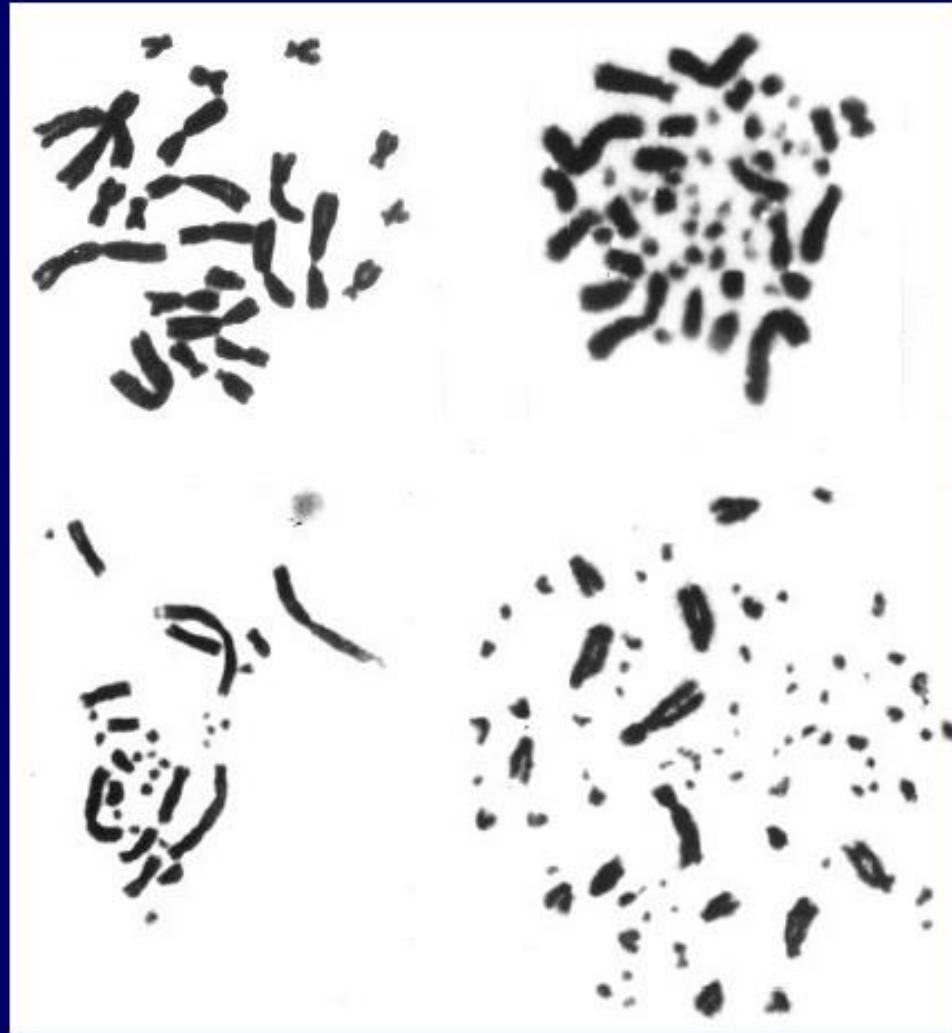
Pl. malariae
2



Paralithoides camtschatica
208



Radiolaria
~1600



- **Центромера** - участок хромосомы, играющий основную роль в её движении в процессе деления клетки — митоза и образует **первичную перетяжку**, разделяющую хромосому на два **плеча**:
- – q – длинное и
- p – короткое

- Некоторые организмы (скорпион и др.) имеют **полицентрические хромосомы** с диффузной центромерой

- **Кинетохор** (от греч. kinetós — движущийся и choros — место), механический центр центромеры хромосомы, к которому прикрепляются нити веретена деления клетки

- Некоторые хромосомы имеют **вторичную перетяжку** — **ядрышковый организатор**

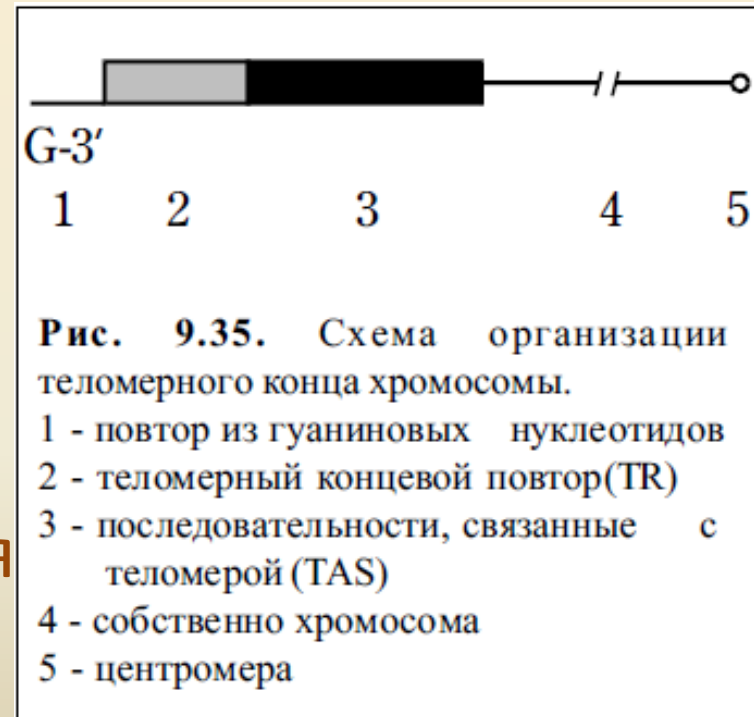
- **Спутник** – это хромосомный сегмент, чаще всего гетерохроматический, расположенный дистально от вторичной перетяжки.
- Спутник вместе с вторичной перетяжкой составляют **спутничный район**.
- Концевые участки хромосомы называют **теломерами**.

Теломеры - концевые участки хромосом



Строение теломеры

- Хромосома имеет две теломеры
- В состав теломерного района входят два типа фрагментов: собственно конечная часть хромосомы (или теломерный концевой повтор-TR) и последовательность, связанная с теломерой (TAS), которая располагается проксимальнее.



- Выступающий конец нити ДНК, представляющий собой октануклеотид, называется одноцепочечным G-концом с ориентацией 5'-3'
- Длина простого повторенного дуплекса, расположенного проксимальнее, варьирует от 50 пн до >100 тпн
- Четыре молекулы гуанина на выступающем конце не имеют возможности контактировать с молекулами цитозина, поэтому могут спариваться.

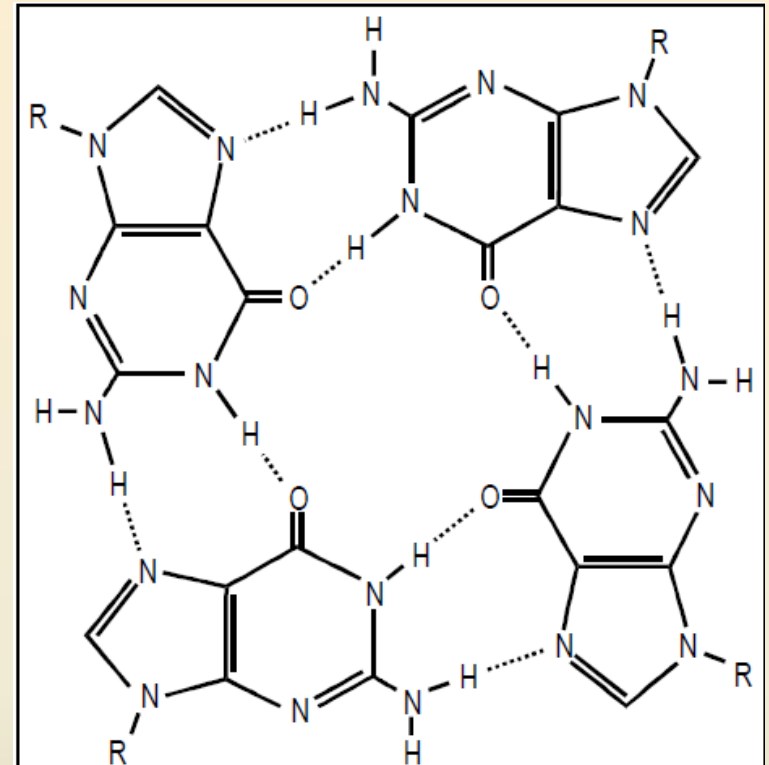


Рис. 9.37. Плоскостное расположение молекул гуанина в теломерном повторе. Каждая молекула гуанина соединена с двумя соседними (Из: Blackburn, Greider, 1995, p. 19)

Строение теломеры

- Теломера содержит специальные последовательности ДНК, обеспечивающие точную репликацию хромосом

- Теломерные фрагменты обогащены нуклеотидами G и C (у человека TTAGGG), которые располагаются в определенной последовательности (TR)

Табл. 9.4. Теломерные повторы в хромосомах некоторых видов (частично из: Blackburn, Greider, 1995, p. 12-13)

Вид	Последовательность нуклеотидов (5'-3')
Простейшие <i>Euplotes</i>	TTTTGGGG
Слизневые грибы <i>Phusarum</i>	TTAGGG
Жгутиковые <i>Trypanosoma</i>	TTAGGG
Споровики <i>Plasmodium</i>	TT(T/C)AGGG
Грибы <i>Neurospora</i>	TTAGGG
<i>Candida maltosa</i>	ACGGATGCAGACTCGCTTGGTGT
Нематоды <i>Ascaris</i>	TTAGGC
Насекомые <i>Bombyx mori</i>	TTAGG
Водоросли <i>Chlamidomonas</i>	TTTTAGGG
Высшие растения <i>Arabidopsis</i>	TTTAGGG
Позвоночные животные <i>Homo sapiens</i>	TTAGGG

- Рядом с теломерным повтором располагаются участки ДНК большой протяженности, называемые субтеломерными повторами-TAS.

Функции теломерных районов хромосом

- Фиксация хромосом к ядерному матриксу, что важно для ориентации хромосом в ядре и мейоза
- Фиксация сестринских хроматид друг с другом
- Предохраняют хромосомы от недорепликации
- Стабилизируют концы разорванных хромосом
- Влияют на экспрессию генов
- Отсчитывают количество делений

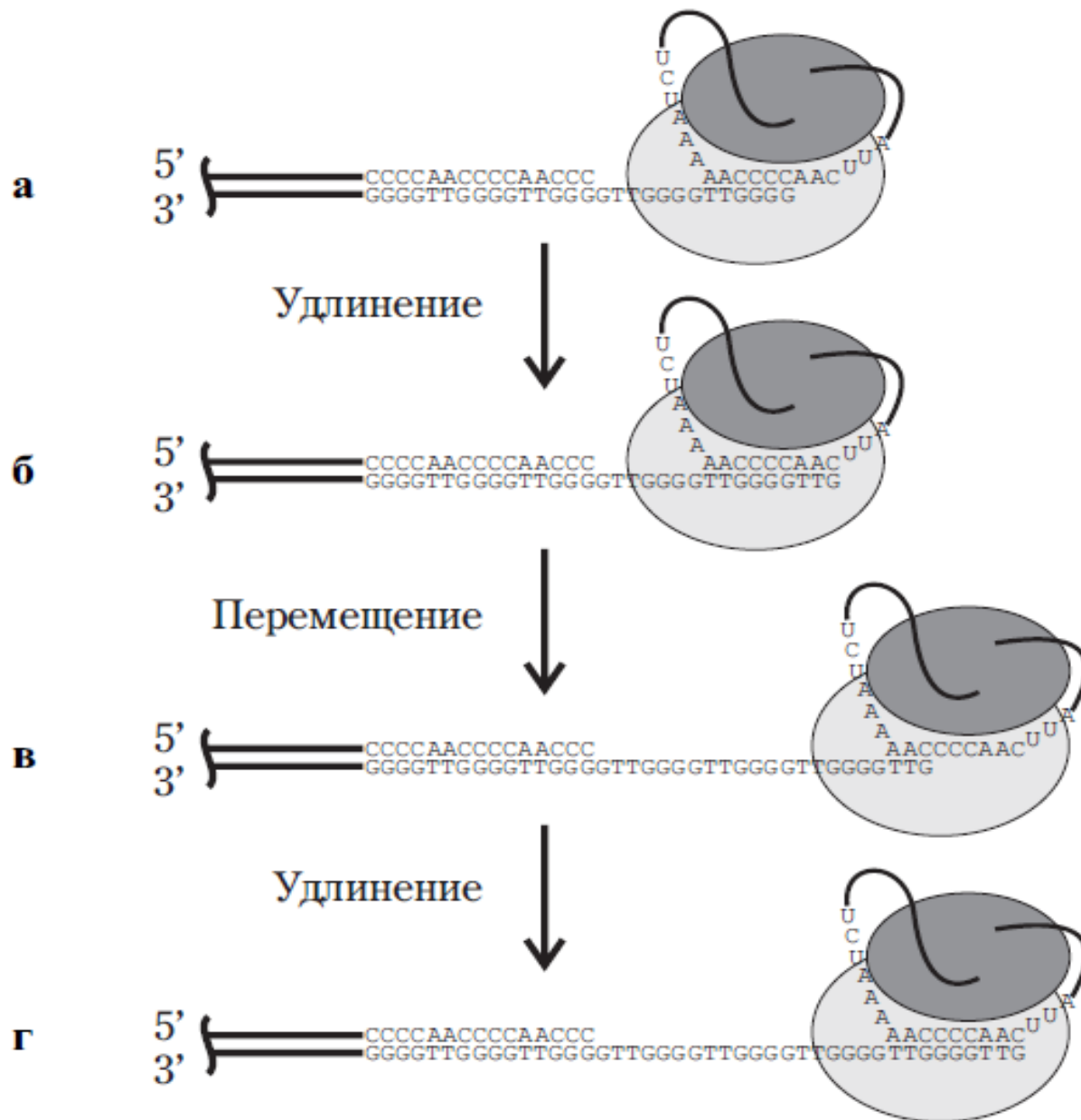


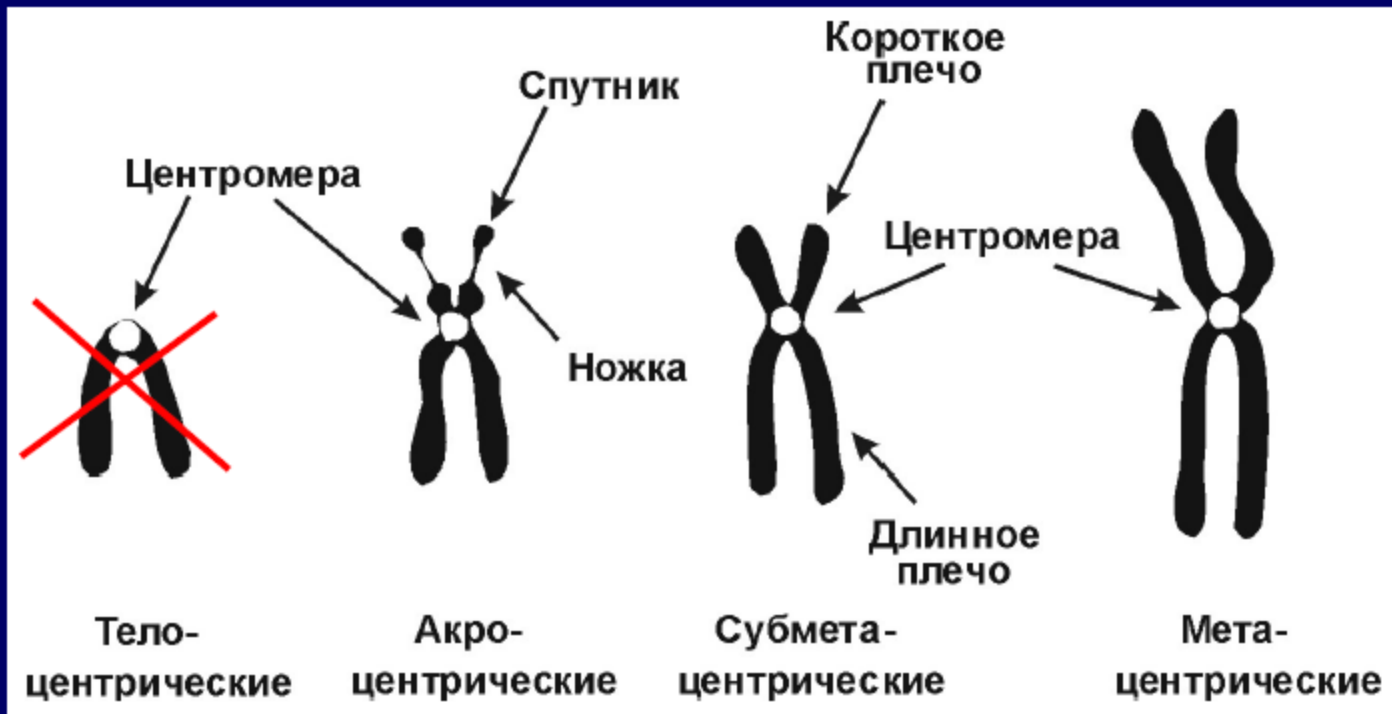
Рис. 9.41. Удлинение теломерного повтора с помощью фермента теломеразы (по: Blackburn, Greider, 1995) (Объяснения в тексте)

- **В клетках зародышевого пути** теломеры благодаря постоянно высокой активности теломеразы сохраняют нормальную длину
- **В соматических клетках**, культивируемых *in vitro*, теломераза неактивна и теломеры постоянно укорачиваются
- **В раковых клетках** клеточные деления не прекращаются и теломеры не укорачиваются

Выделяют основные формы хромосом:

- Метацентрические хромосомы отличаются тем, что плечи у них одинаковой или почти одинаковой длины.
- Субметацентрические хромосомы имеют плечи разной длины.
- У acroцентрических хромосом центромера расположена близко к одной из теломер.
- Изохромосомы – моноцентрические хромосомы с двумя генетически идентичными плечами, появляющиеся как результат неправильного деления центромеры после разрыва и воссоединения сестринских хроматид в области центромеры. Изохромосома имеет одинаковые плечи в результате деления центромеры по горизонтали.
- Дицентрические и ацентрические изохромосомы образуются после разрыва сестринских хроматид вне центромерной области и воссоединения их в центрические и ацентрический фрагменты.

Классификация по положению центромеры



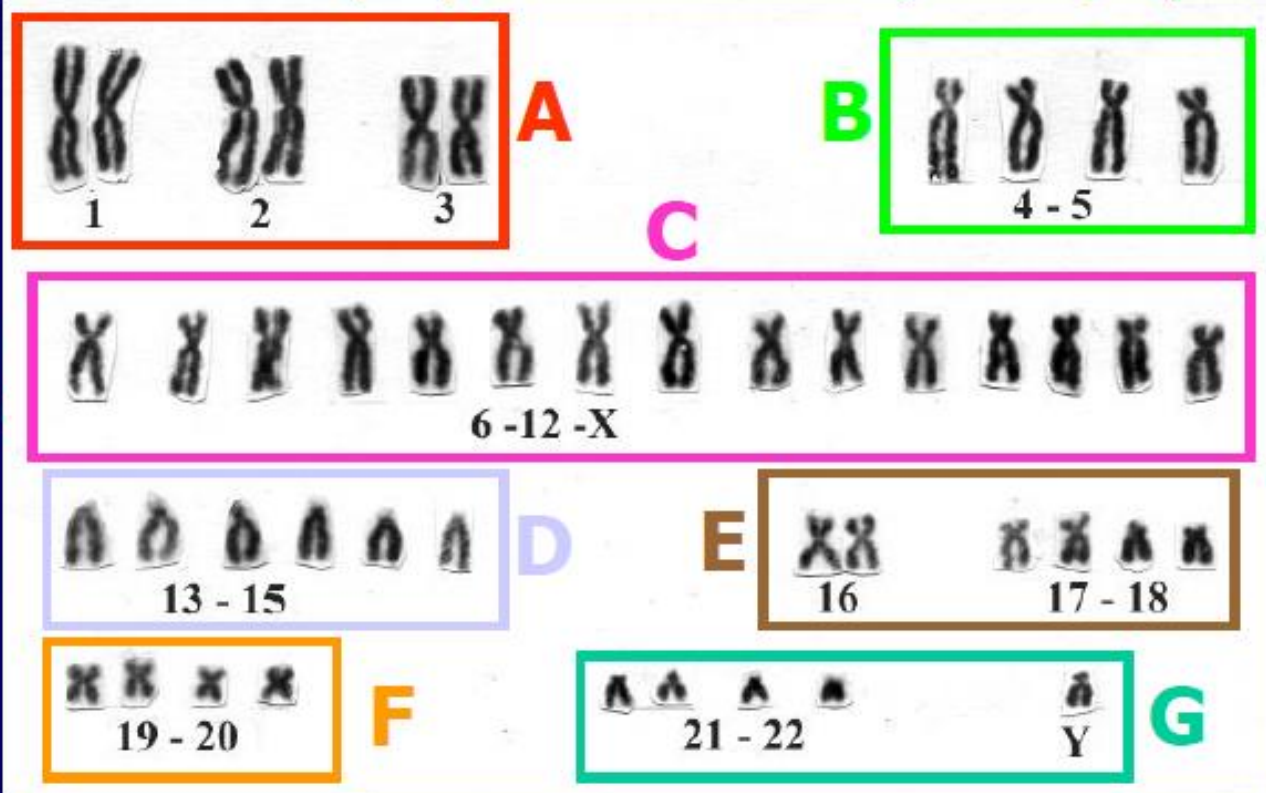
Кариотип - совокупность признаков хромосомного набора (число хромосом, их размер, положение центромер, наличие перетяжек или спутников)

Идиограмма - схематическое изображение гаплоидного набора хромосом организма, расположенных в ряд по размеру

Идиограмма кариотипа человека (46,XY)

большие метацентрики

большие субметацентрики



средние субметацентрики

средние акроцентрики

короткие субметацентрики

короткие метацентрики

короткие акроцентрики

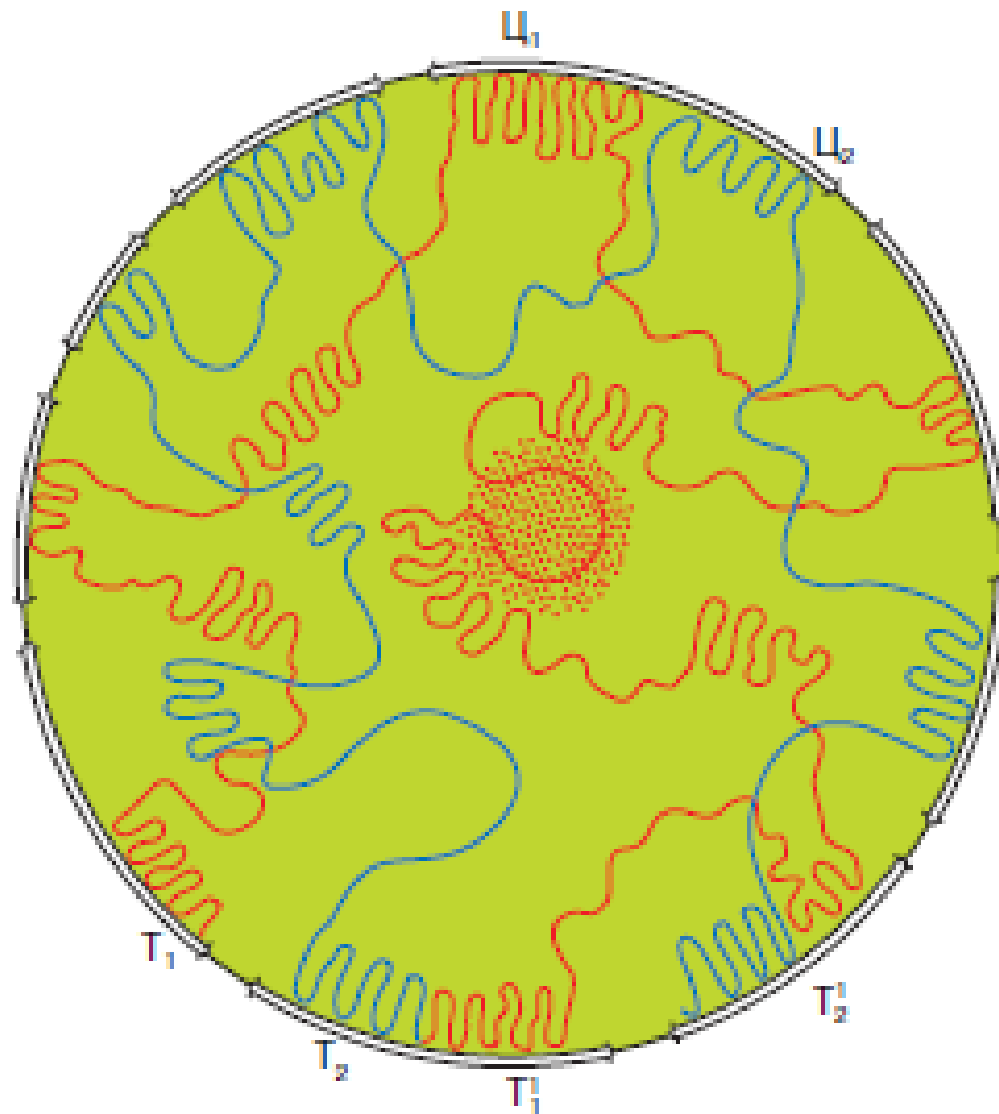


Рис. 2. Схема пространственного расположения хромосом в интерфазном ядре: Т – теломеры, ζ – центромеры.

a

1

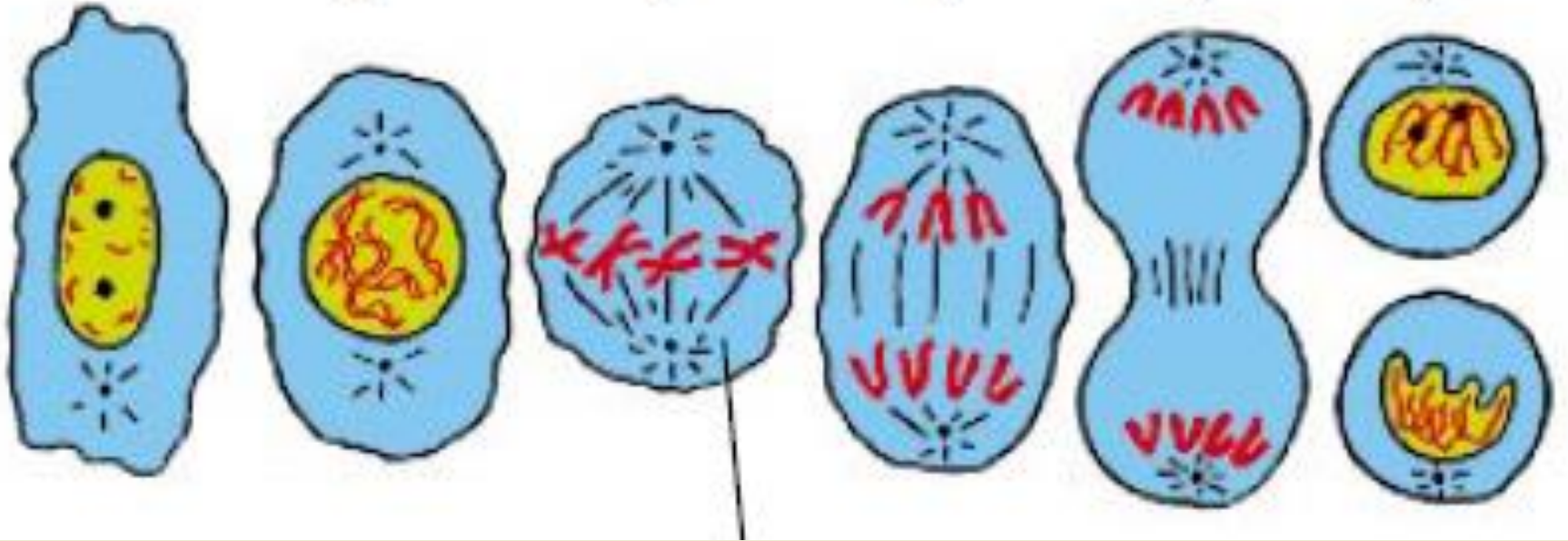
2

3

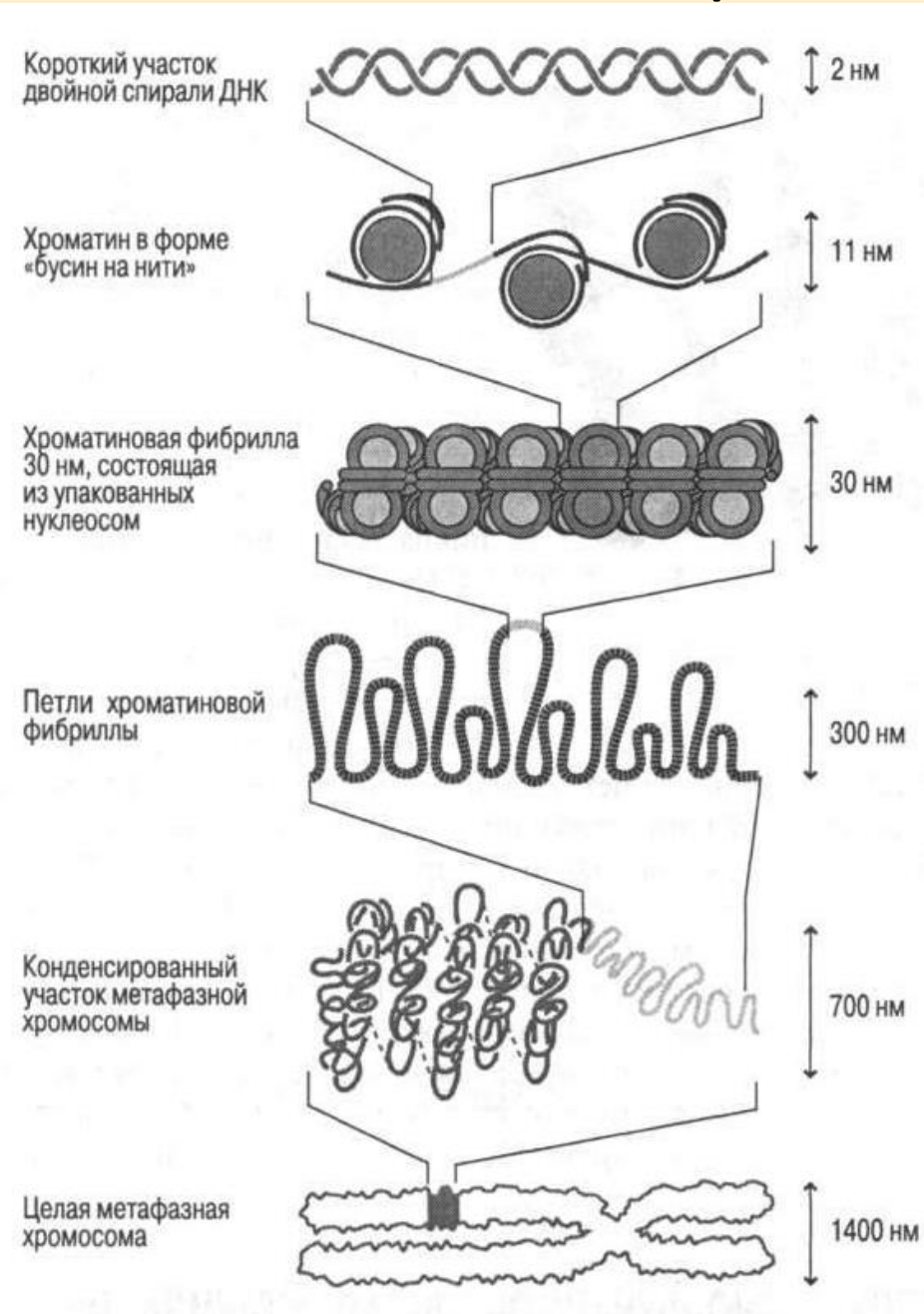
4

5

6

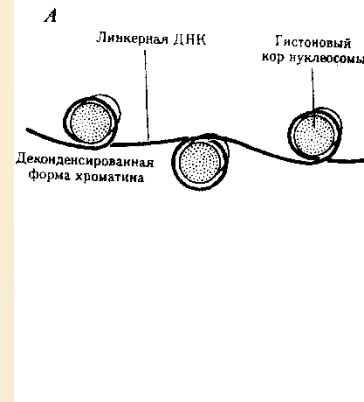
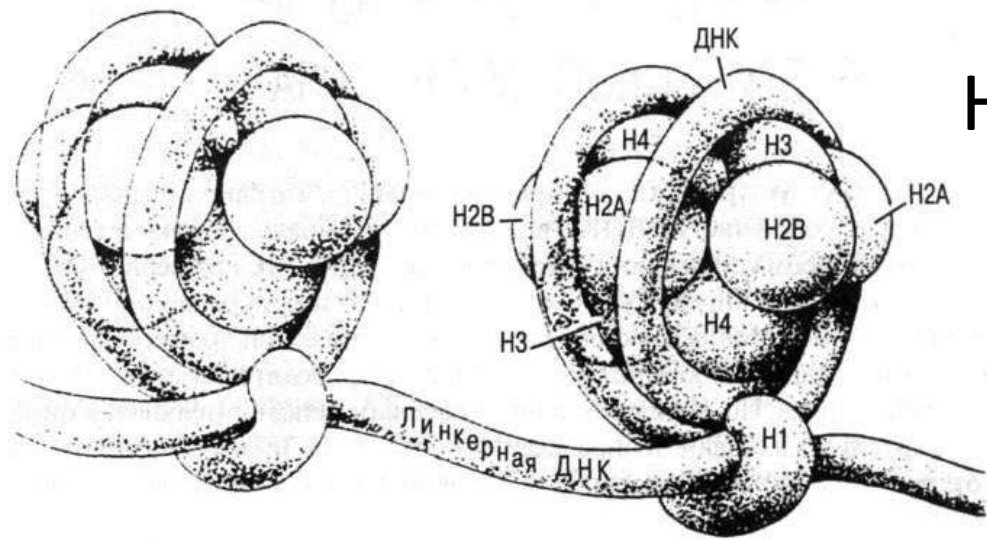


Уровни организации хромосом



- Нуклеосомный – диаметром 11 нм.
- Нуклеомерный - фибрилла диаметром 30 нм.
- Хромомерный (петлевой домен) - диаметром 300 нм.
- Хромонемный - диаметром 700 нм (0,3 — 0,7 мкм).
- Хроматидный (диаметр 1400 нм).

Нуклеосомный уровень



Нуклеосома образована четырьмя белками - гистонами, которые образуют её кор (ядро).

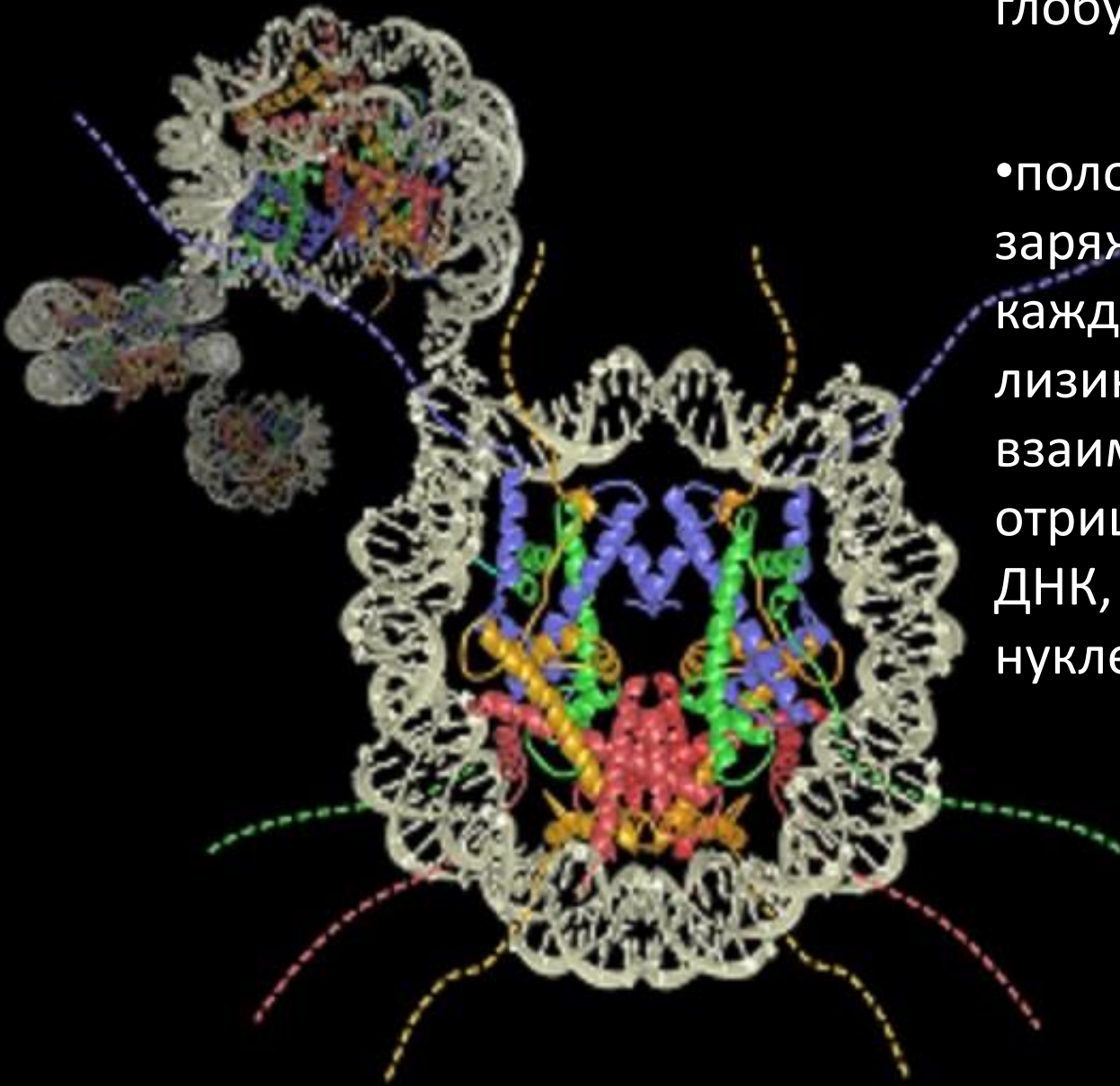
Две пары димеров H2A-H2B и тетрамер из 2 пар гистонов H3 и H4.

Сначала с ДНК ассоциируется тетрамер, а после - два димера. ДНК делает вокруг нуклеосомы 1.75 оборота. Минимальное количество оснований на нуклеосоме - 146. Реально на одну нуклеосому приходится примерно 180 п.н.

Кроме того, в организацию нуклеосомной последовательности вовлечён гистон H1. Считается, что он ассоциирован с линкерной ДНК.

- неструктурированный **C – конец** - центральная глобулярная часть,

- положительно заряженный **N – конец**, где каждый четвёртый остаток лизин или аргинин, взаимодействуя с ними, отрицательно заряженная ДНК, фиксируется на нуклеосоме.

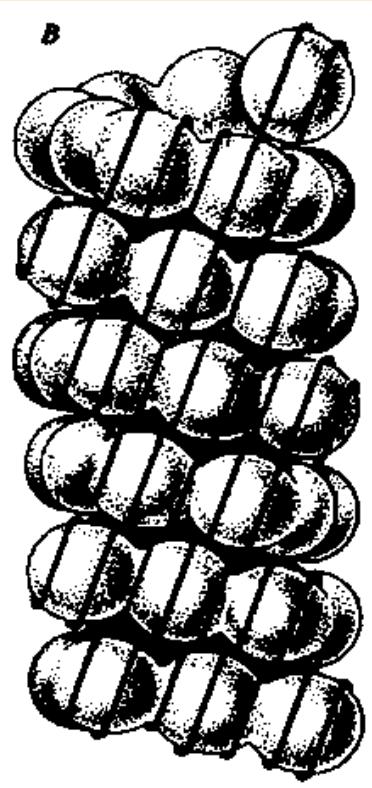


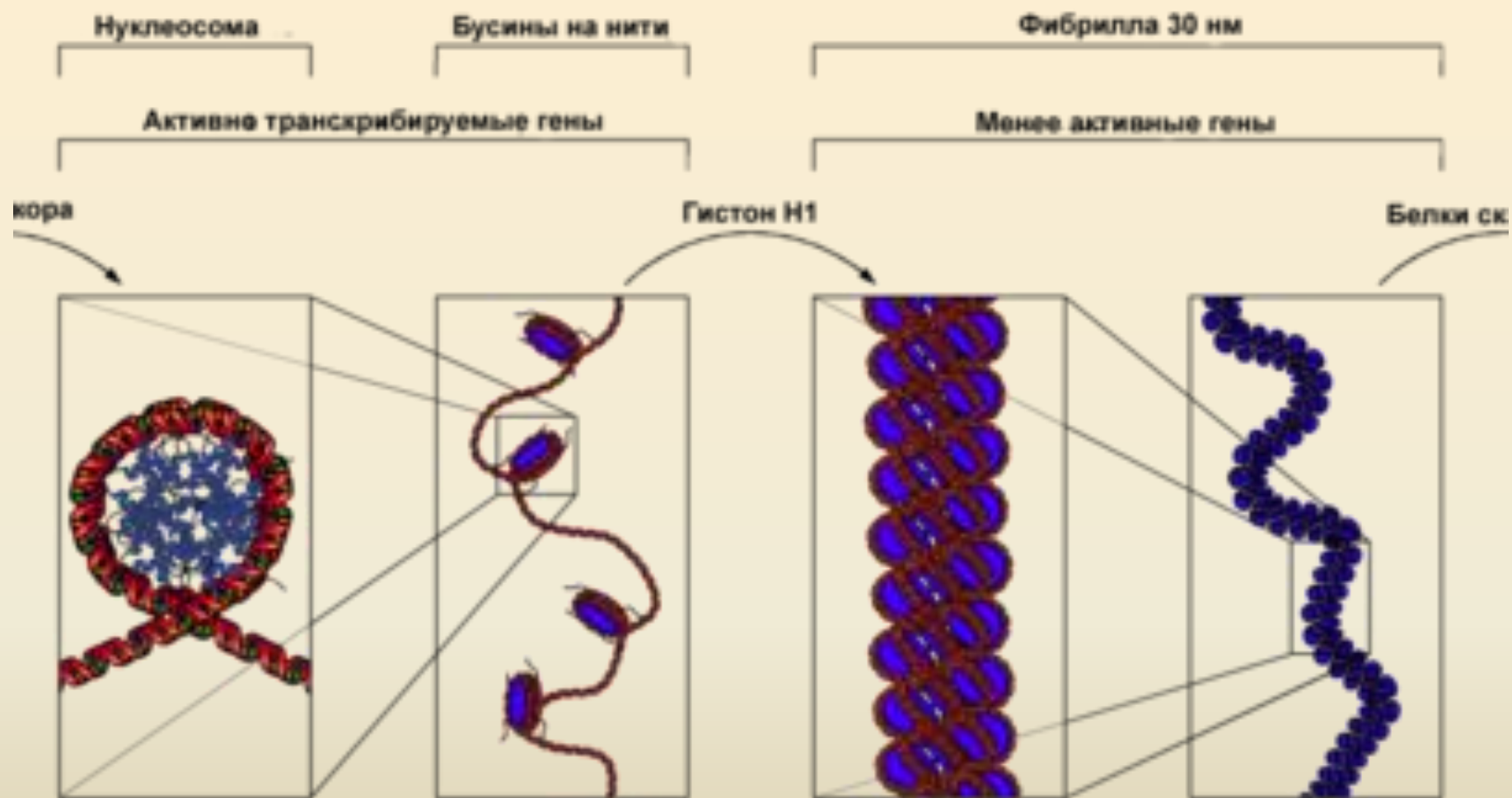
Нуклеомерный уровень

Соленоидный тип укладки: нить плотно упакованных нуклеосом образует витки.

На один виток такой суперспирали приходится 6—7 нуклеосом.

В результате такой упаковки возникает фибрилла спирального типа с центральной полостью.





Нуклесомный и нуклеомерный
уровни компактизации ДНК
хроматина осуществляются за
счет гистоновых белков.

Хроматин состоит из примерно
одинакового по массе количества
ДНК и белка.

Половину белков составляют
негистоновые белки. Они
выполняют структурные и
регуляторные функции в процессе
транскрипции и поддержании
определённых структур хроматина.

Хромомерный уровень

Петлевые домены ДНК — третий уровень структурной организации хроматина.

Негистоновые специфические белки связываются со специфическими последовательностями вненуклеосомной ДНК на отдаленном расстоянии.

Эти белки сближают указанные **участки с образованием петель** из расположенных между ними фрагментов хроматиновой фибриллы – называемых **хромомерами**.

Хромомерный уровень

Участок ДНК, соответствующий одной петле, содержит от 20 000 до 80 000 п. н.

В некоторых местах есть сгустки конденсированного хроматина, розетковидные образования, состоящие из многих петель 30 нм-фибрилл, соединяющихся в плотном центре. Средний размер розеток достигает 100—150 нм.

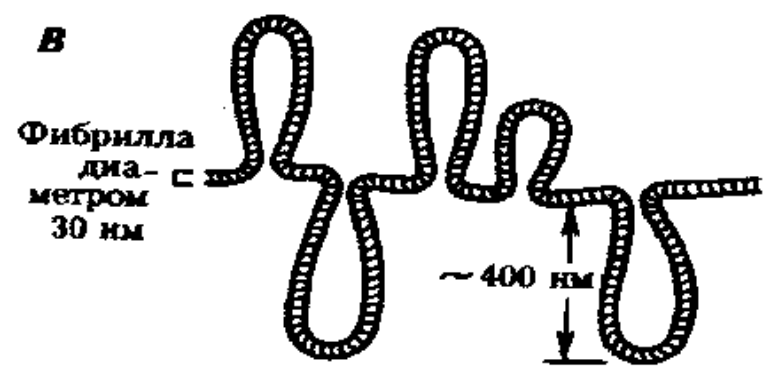
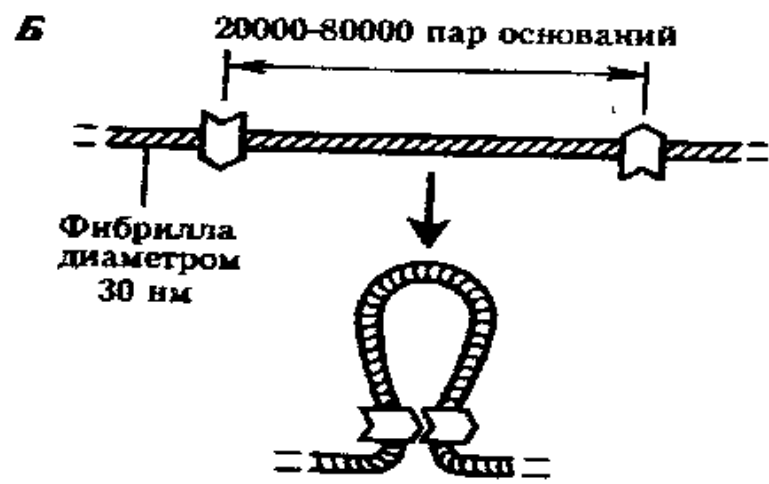
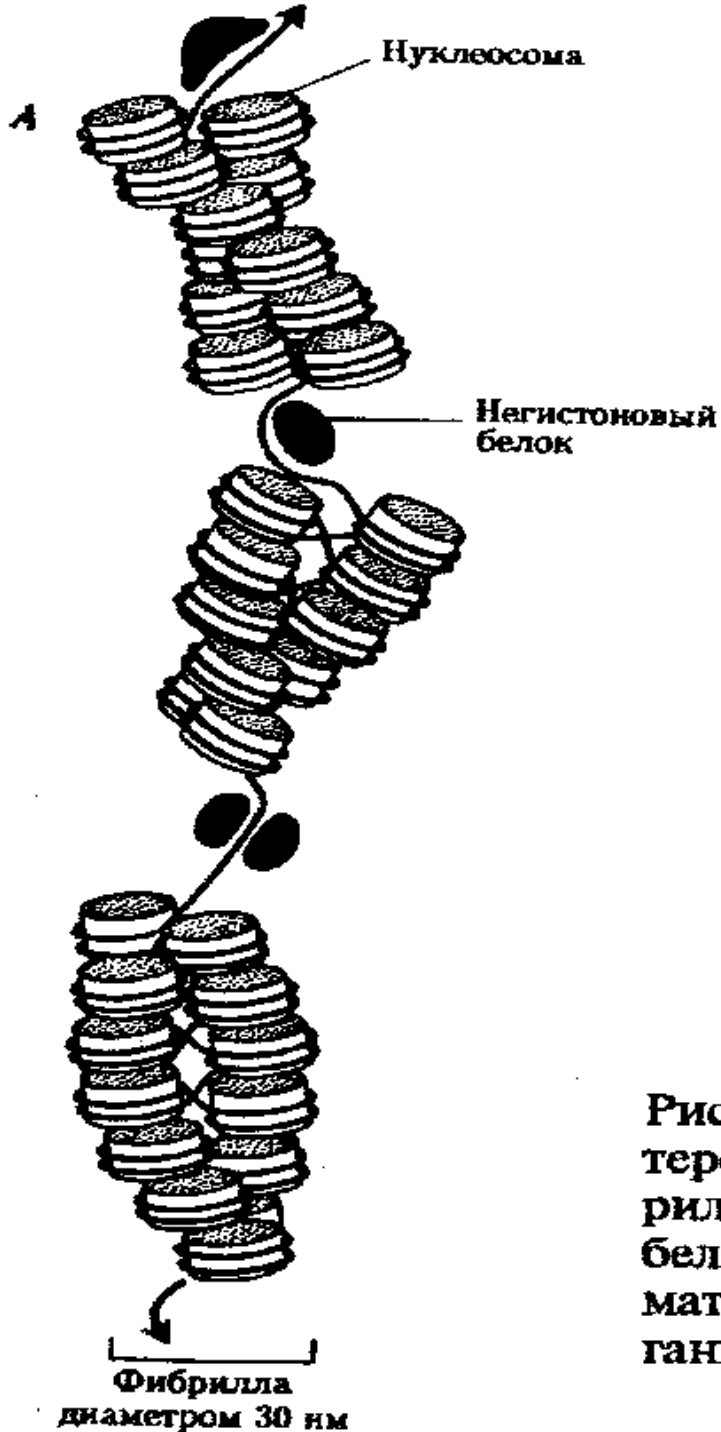
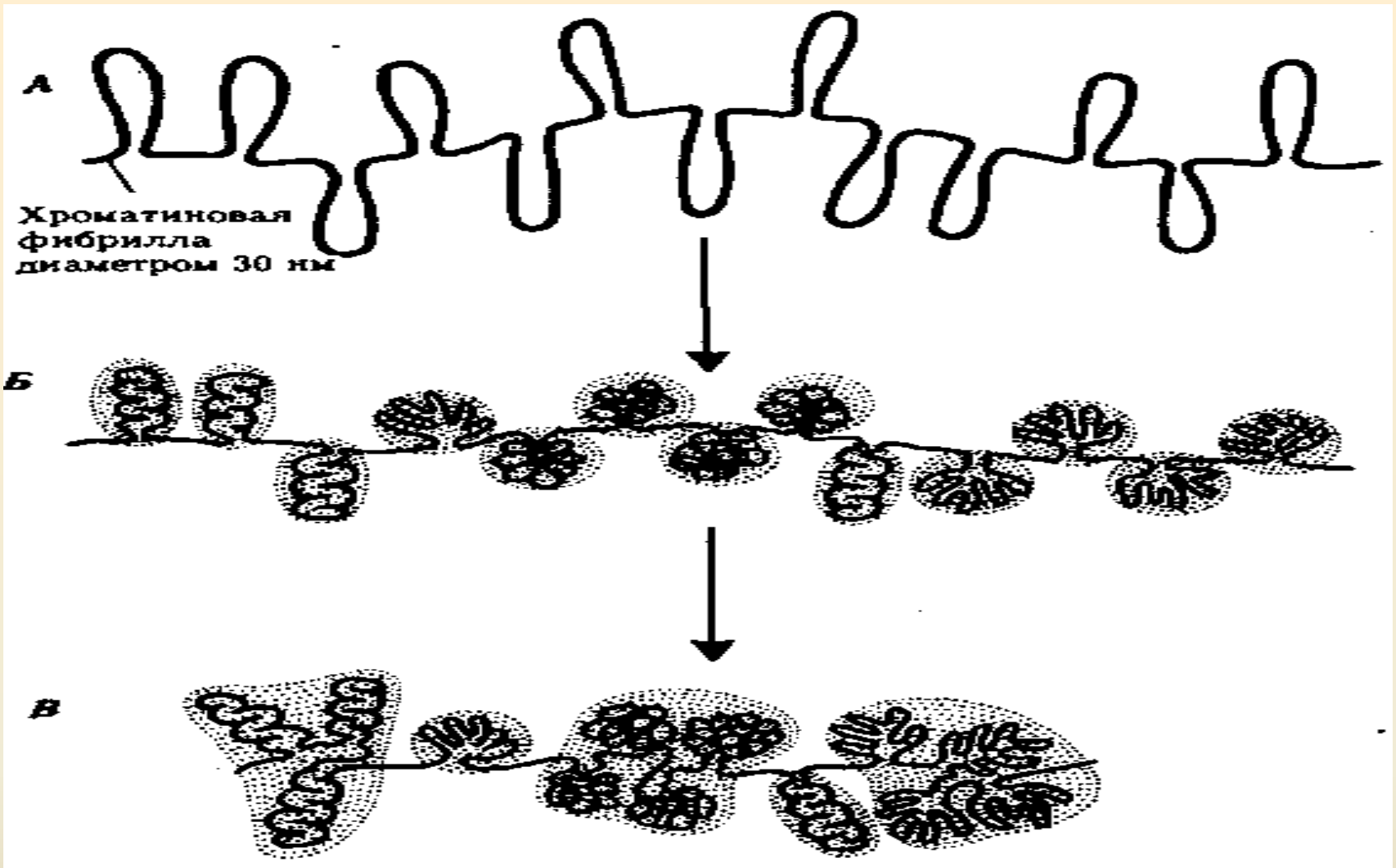


Рис. 3.48. Петельная структура хроматина — интерфазная хромонема. **А** — хроматиновая фибрилла с присоединенными к ней негистоновыми белками; **Б** — образование петли на участке хроматиновой фибриллы; **В** — схема петельной организации участка хромосомы

Хромонемный уровень

- Отдельные участки петлевого домена подвергаются дальнейшей компактизации, образуя *структурные блоки*, объединяющие соседние петли с одинаковой организацией.



А — петельная структура хроматина;

Б — дальнейшая конденсация хроматиновых петель;

В — объединение петель, имеющих сходную структуру, в блоки хромонемы

Хроматидный уровень

- Восемнадцать петель интерфазного хроматина образуют "розетку" или **спираль** с витком (**миникольцо**) диаметром приблизительно 0,84 мкм.
- Миникольца располагаются одно под другим вдоль центральной оси и формируют конденсированные метафазные хромосомы.
- Суперкомпактизация хроматина на этом уровне делает возможным изучение внешнего вида хромосом с помощью световой микроскопии.

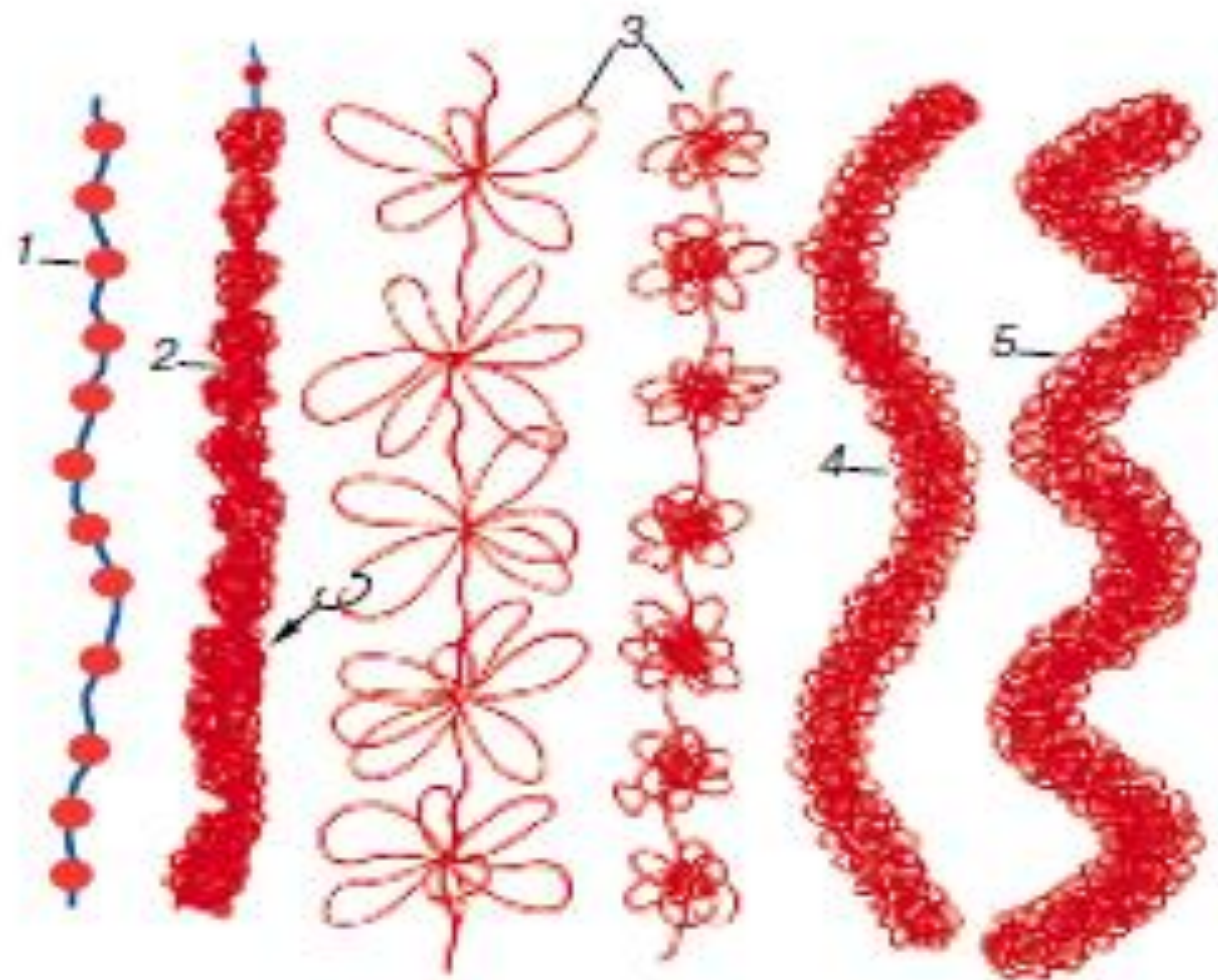


Рис. 7. Схема различных уровней компактизации хроматина (по Ю.С. Ченцову):

1 – нуклеосомный, 2 – нуклеомерный, 3 – хромомер, петлевой домен; 4 – хромонема, 5 – хроматида.

Хроматин

- внутренние нуклеопротеидные структуры ядра, окрашивающиеся некоторыми красителями и отличающиеся по форме от ядрышка. Хроматин имеет вид глыбок, гранул и нитей. Химический состав хроматина:
 - 1) ДНК (30–45%),
 - 2) гистоновые белки (30–50%),
 - 3) негистоновые белки (4–33%),
- следовательно, хроматин является дезоксирибонуклеопротеидным комплексом (ДНП).



В зависимости от функционального состояния хроматина различают:

- Эухроматин при световой микроскопии не различим, слабо окрашивается и представляет собой деконденсированные (деспирализованные, раскрученные) участки хроматина.
- Гетерохроматин под световым микроскопом имеет вид глыбок или гранул, интенсивно окрашивается и представляет собой конденсированные (спирализованные, уплотненные) участки хроматина.

Гетерохроматин

Факультативный

Эухроматин \rightleftharpoons гетерохроматин

Связан с репрессией генов, которые в других условиях работают

Примеры:

Гены раннего развития (эпигенетическая инактивация в развитии)

Часть тканеспецифичных генов
(эпигенетическая тканеспецифичная инактивация)

Геномный импринтинг (Эпигенетическая инактивация аллеля, пришедшего от одного из родителей)

Аллельное исключение

Эпигенетическая (наследуемая) инактивация одного из двух аллелей гена

Инактивация X-хромосомы
млекопитающих

Конститутивный

Постоянно компактный хроматин. Формируется в раннем эмбриогенезе и эпигенетически наследуется во всех клетках организма

Свойства:

- Компактное состояние в течение всего клеточного цикла
- Поздняя репликация
- **Обогащенность повторными последовательностями**
- **Низкая частота рекомбинации**
- Способность вызывать ЭП
- **Варьирование количества**

Локализация:

- Прицентромерные районы
- Прителомерные районы
- Локусы повторных последовательностей

- Обнаружены гетерохроматиновые участки в эухроматиновых плечах хромосом. Они выглядят как вкрапления (интеркаляции) гетерохроматина в эухроматин. Такой гетерохроматин называют *интеркалярным*.

Состав ДНК конститутивного гетерохроматина

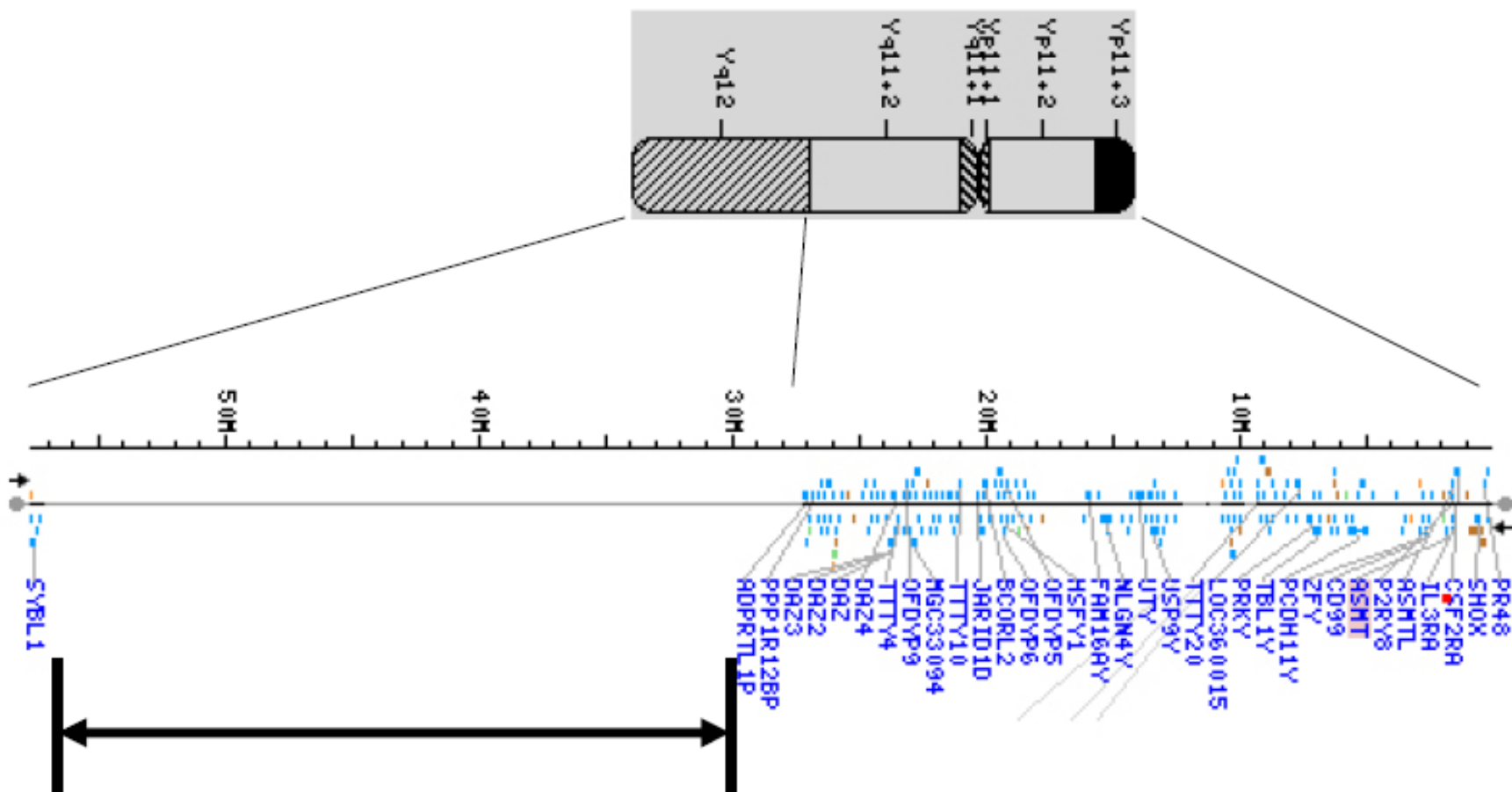
Высокоповторенная ДНК - сателлиты

**Умеренноповторенная ДНК -
МГЭ и другие повторы**

Уникальная ДНК - гены

Обычно генов в гетерохроматине очень мало!

Homo sapiens, Y хромосома



Гетерохроматиновый участок без генов в Y хромосоме человека

Но они есть

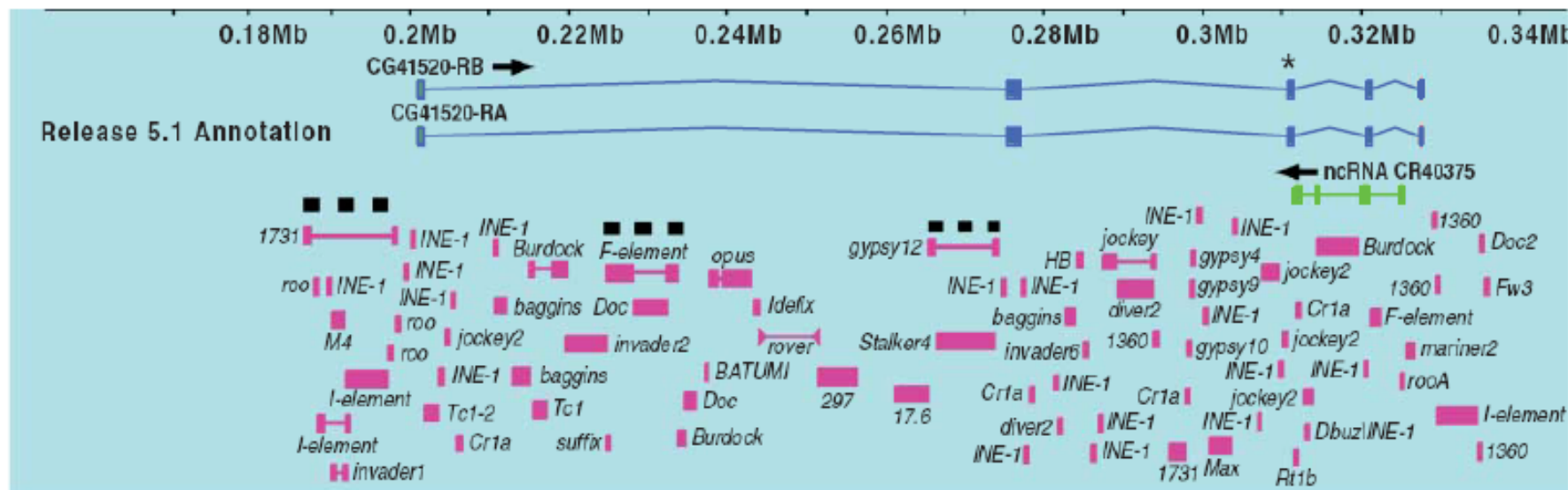
В гетерохроматине встречаются активно работающие гены.

Эти гены могут работать только в гетерохроматиновом окружении. При переносе в эухроматин испытывают эффект положения.

Особенность гетерохроматиновых генов – гигантские интроны, заполненные мобильными элементами и другими повторенными последовательностями.

Особенность гетерохроматиновых генов - гигантские интроны, заполненные мобильными элементами

70 т.п.н.



→ direction of transcription

■ ЭКЗОНЫ

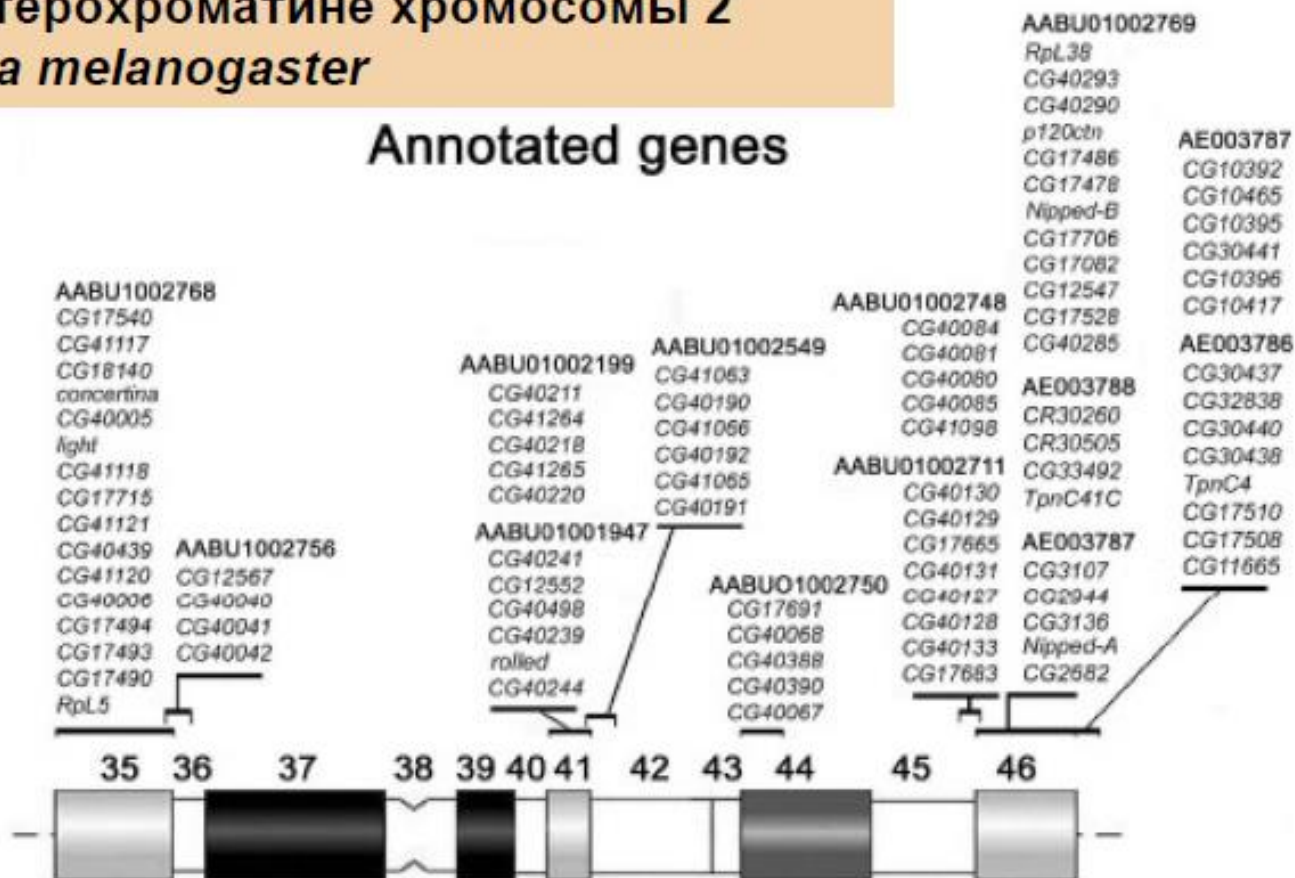
■ Фрагменты мобильных элементов

Science 316, 1586 (2007); Christopher D. Smith, *et al.*

The Release 5.1 Annotation of *Drosophila melanogaster* Heterochromatin

гены в гетерохроматине хромосомы 2 *Drosophila melanogaster*

Annotated genes



CG...

Гены, предсказываемые на основании
анализа последовательности ДНК

В хромосомах дрозофилы обнаружены «островки», состоящие из генов и умеренных повторов. Такие островки чередуются с районами, заполненными сателлитами, где генов нет

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

В гетерохроматине почти нет генов

Уточнения с современной точки зрения

В ГХ дрозофилы обнаружены сотни генов. Гены найдены и в ГХ млекопитающих, и в ГХ растений

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Гетерохроматин – антагонист генной экспрессии

ГХ может репрессировать, не репрессировать или активировать транскрипцию генов.

В ГХ есть белок-кодирующие гены, гены некодирующих РНК, рРНК, экспрессирующиеся мобильные элементы (у разных организмов)

Для формирования гетерохроматина необходима транскрипция (некодирующих РНК)

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Гетерохроматин обогащен белками – репрессорами генной экспрессии

Многие ГХ белки имеют функции в эухроматине

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Гетерохроматин реплицируется позднее эухроматина

Некоторые последовательности ГХ реплицируются одновременно с ЭХ

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Гетерохроматин равномерно упакован в нуклеосомы и недоступен для факторов транскрипции

Белки ГХ связываются динамично, транскрипция ГХ генов может сопровождаться реорганизацией плотной упаковки хроматина

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Гетерохроматин, это интенсивно окрашивающийся хроматин, видимый в течение всего клеточного цикла

При более высоком разрешении границы между эу- и ГХ достаточно протяженные, может наблюдаться градиент свойств. ГХ не однороден по свойствам.

Исторически сложившиеся представления о гетерохроматине

Уточнения с современной точки зрения

Конститутивный ГХ отличается от факультативного ГХ

Общим свойством ГХ является эпигенетический контроль

Зачем же нужен конститутивный гетерохроматин?

Для ответа на этот вопрос, посмотрим, в каких районах хромосом он обычно присутствует

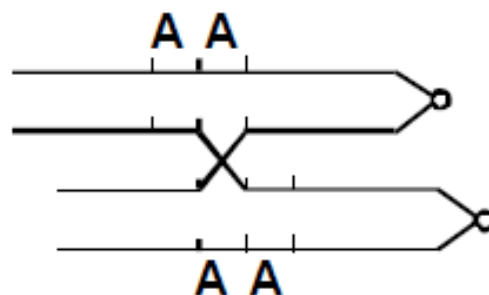
Drosophila:	прицентромерный гетерохроматин интеркалярный гетерохроматин теломеры
дрожжи:	локусы, отвечающие за пол теломеры кластер генов рРНК
млекопитающие:	прицентромерный гетерохроматин теломеры

Функции гетерохроматина:

- Структурная роль: гетерохроматин удлиняет зону контакта между сестринскими хроматидами в метафазе
- Роль в поддержании центромеры как независимого хроматинового домена. Для поддержания центромеры нужно, чтобы точно наследовались модификации хроматина (центромерный вариант гистона H3, модификации гистонов).
- Поддержание теломеры
- Гетерохроматиновые районы в ядре сливаются между собой, образуя ядерный компартмент, который участвует в репрессии некоторых генов
- Защита повторов от рекомбинации
- Сама центромера состоит из повторенных последовательностей, и ее надо защитить от рекомбинации

Первый тип районов – кластеры повторенных генов, например, гены рРНК

Гены рРНК у многих организмов окружены гетерохроматином рРНК клетке требуется много. Вероятно, поэтому эти гены присутствуют в большом количестве копий. Но такая повторенность могла бы привести к неравному кроссинговеру и постепенной потере копий.



Упаковка в гетерохроматин защищает эти гены от рекомбинации?

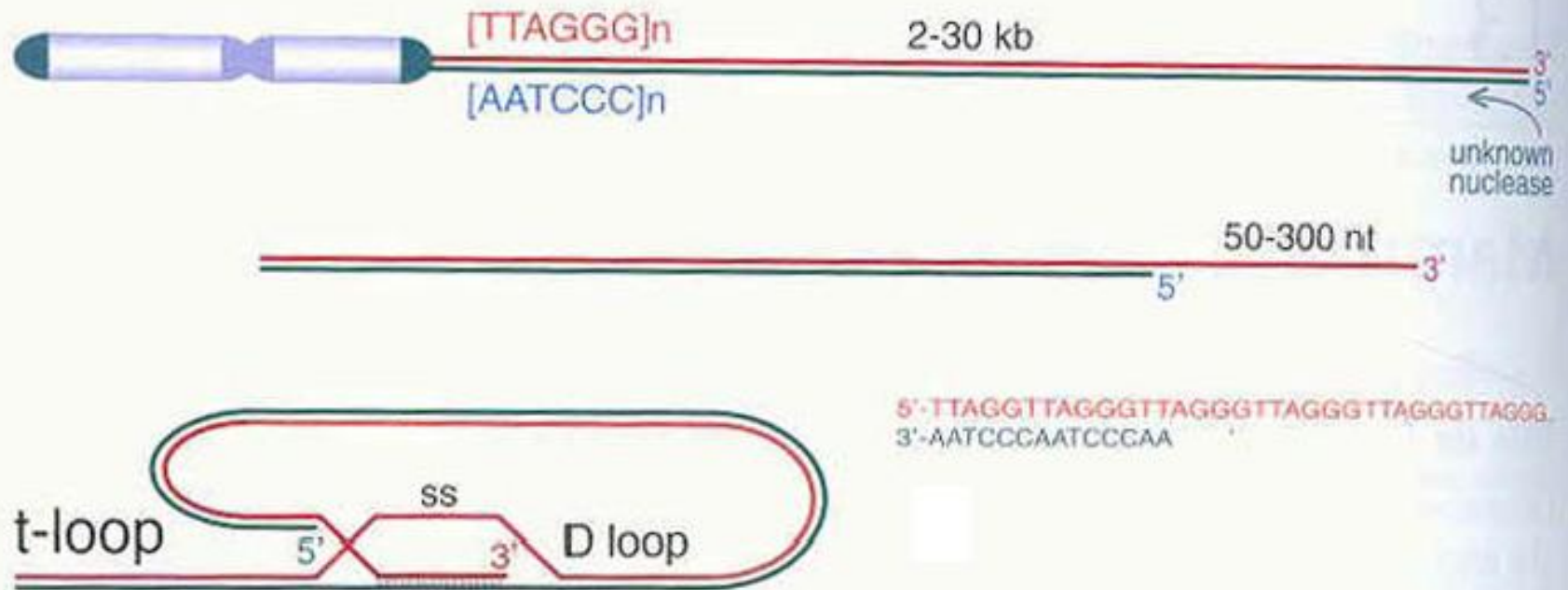
Подтверждение – быстрое «старение» дрожжей *S. cerevisiae* при мутациях, затрагивающих SIR белки

Теломерный гетерохроматин служит для защиты концов хромосом от слияния

Если конец хромосомы специально не запаковать, клетка решит, что это 2-цепочечный разрыв в ДНК, который надо репарировать.

У мутантов по гетерохроматиновым белкам концы хромосом слипаются друг с другом, происходят нарушения расхождения хромосом в митозе и гибель клеток.

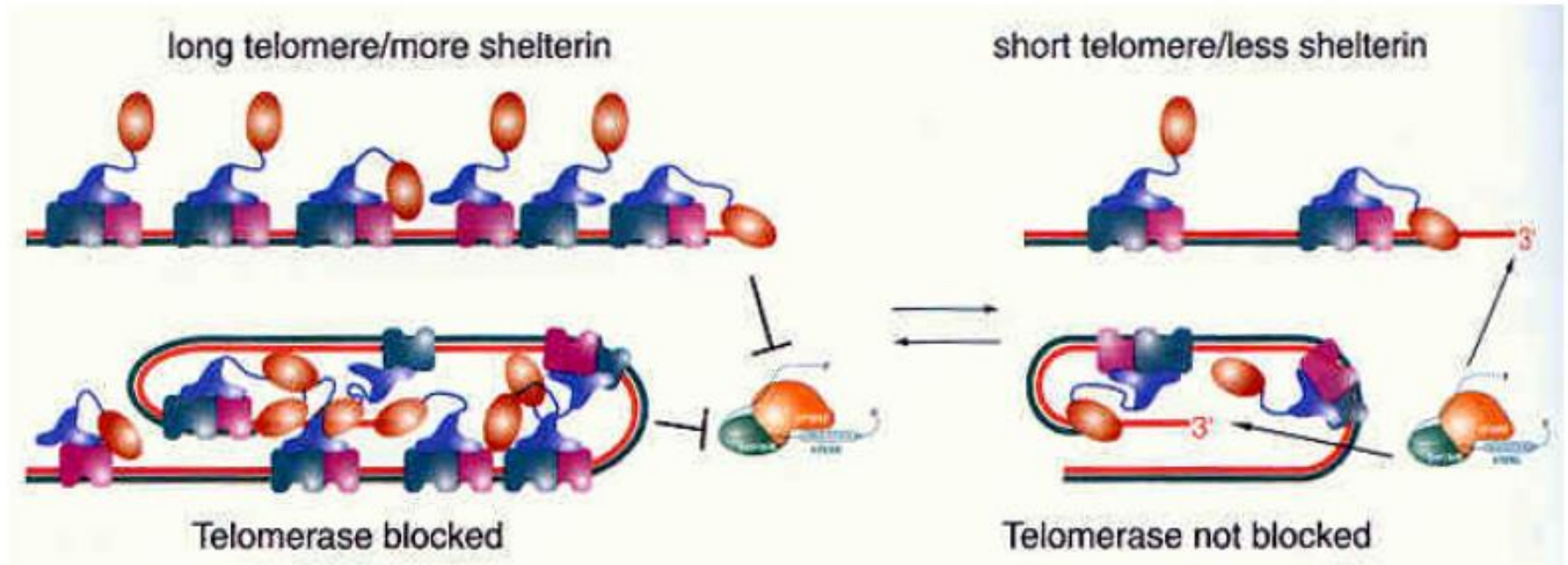
Организация теломеры в хромосомах человека



ДНК сворачивается, образуется Т-петля. В результате, свободный конец ДНК «прячется».

Для стабилизации структуры происходит упаковка в гетерохроматин.

С теломерными повторами связываются специальные белковые комплексы, которые привлекают гетерохроматиновые белки



Еще одна функция упаковки теломерной ДНК в гетерохроматин – не позволять теломеразе делать слишком длинные теломеры

Пока теломера достаточно длинная для формирования Т-петли, белковые комплексы блокируют теломеразную активность на данной теломере.

Что нужно для работы центромеры?

Нет консервативности последовательностей ДНК

КОНСЕРВАТИВНЫЕ БЕЛКИ!

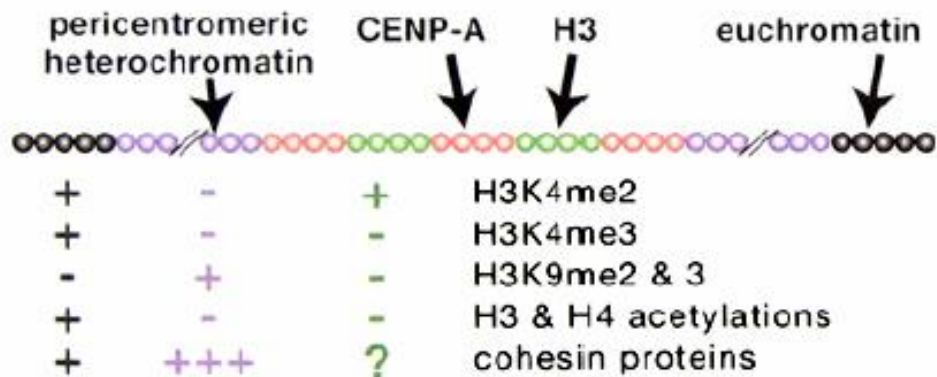
Прицентромерный
хроматин

Прицентромерный
хроматин

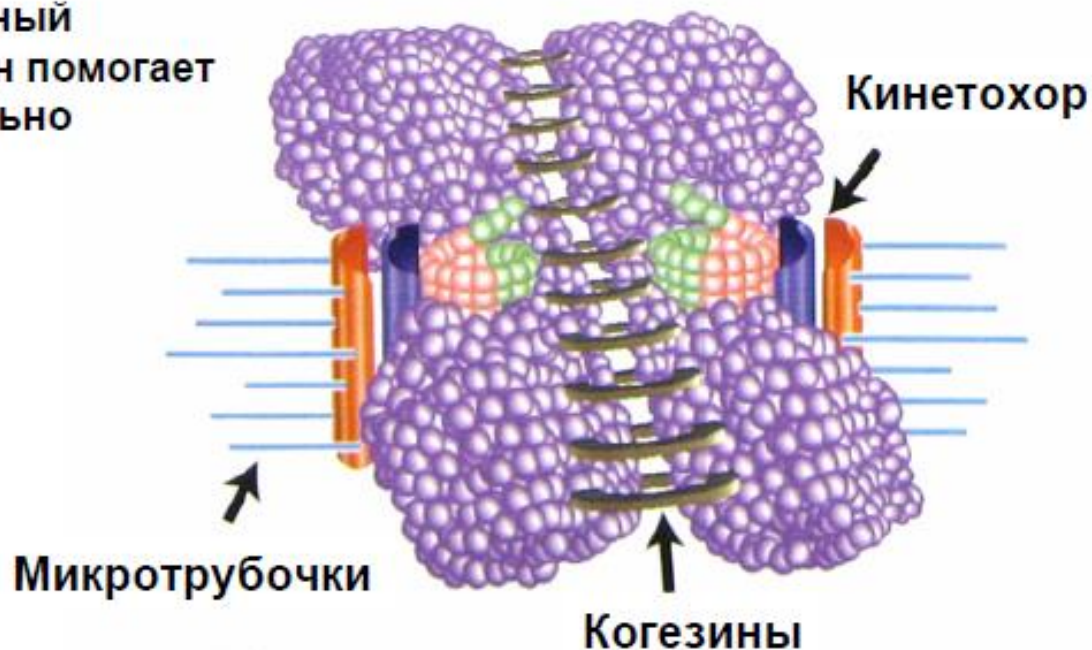


Центромерный
хроматин

Для того, чтобы сформировалась центромера, в хромосоме периодически повторяются участки с разными свойствами хроматина

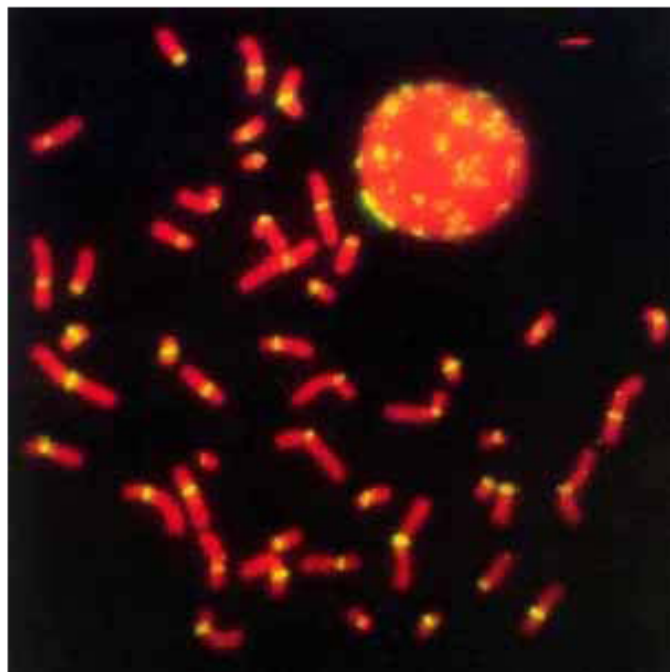


Прицентромерный гетерохроматин помогает все это правильно упаковать



Когезины поддерживают контакт сестринских хроматид. Связаны с прицентромерным гетерохроматином до начала анафазы. Чем меньше прицентромерного гетерохроматина, тем больше вероятность случайного неправильного расхождения хромосом по дочерним клеткам в митозе

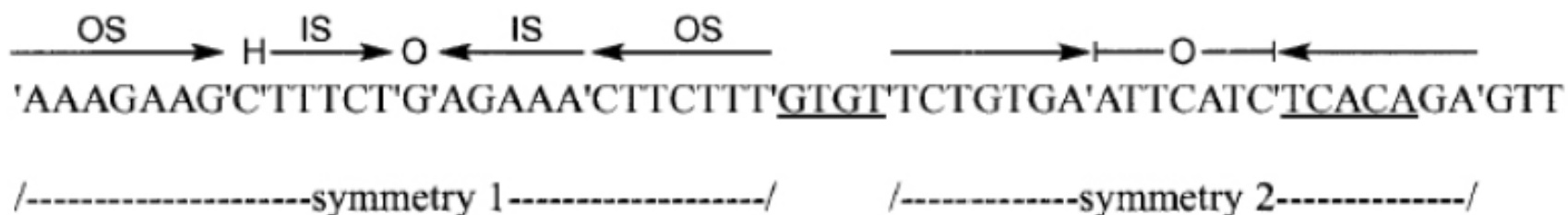
Центромеры в хромосомах человека



альфа-сателлит
~171 п.н.

консервативная часть - 54 п.н.
вариабельная часть - ~117 п.н.

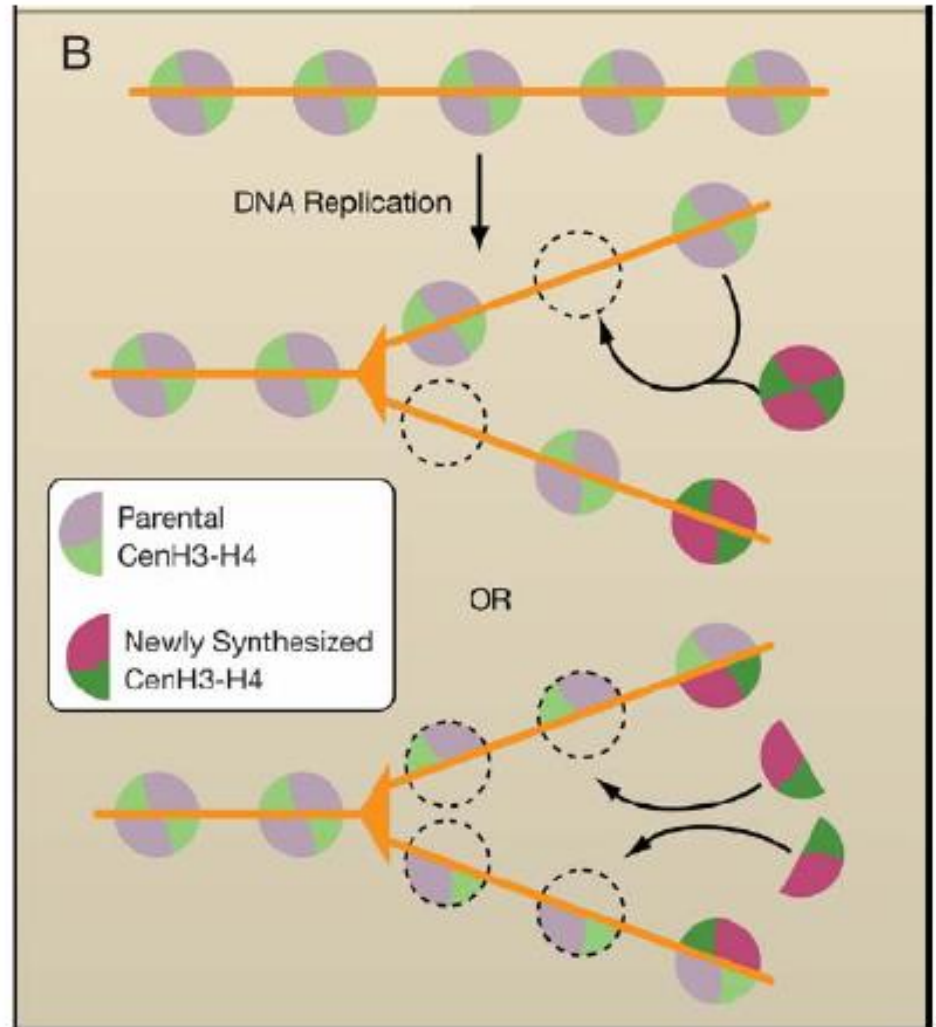
Primate alpha satellite DNA



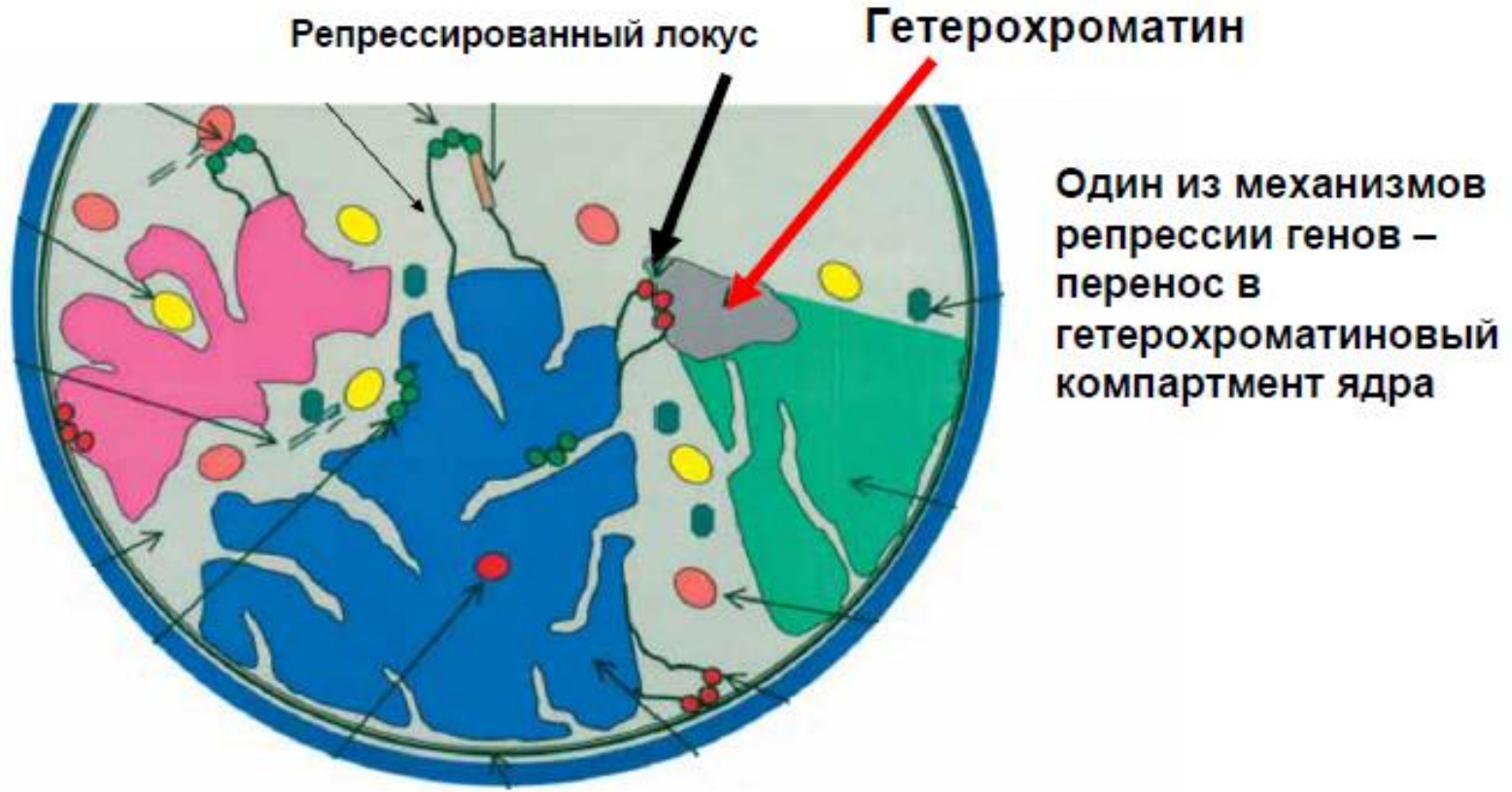
Воспроизведение центромерного хроматина во время репликации

Центромерный хроматин
реплицируется рано в **S-фазе**.

Расположение в глубине поздно
реплицирующегося прицентромерного
гетерохроматина помогает
поддерживать локализацию
центромеры, не дает «расползаться»
центромерным гистонам при репликации



Еще одна роль гетерохроматина – участие в пространственной организации ядра



Каждая хромосомная территория устроена сложно. ? гетерохроматин помогает их правильной укладке?

Фокусы поздней репликации соответствуют гетерохроматину. Мы знаем, что поздняя репликация – механизм поддержать репрессированное состояние

Структура и состав гетерохроматина

Конденсация хроматина в гетерохроматин сопровождается как модификацией гистонов, так и усложнением состава нуклеопротеидного комплекса за счёт участия в нём белков гетерохроматина HP1 (Heterochromatin Protein 1).

Гистоны гетерохроматинового комплекса характеризуются низкой степенью ацетилированности по лизиновым остаткам, что увеличивает их основные свойства и, соответственно, связывание с кислыми фосфатными группами ДНК, что способствует компактификации комплекса.

Другой особенностью, ведущей к образованию гетерохроматина, является метилирование 27-го лизинового остатка гистона H3 белками Polycomb-комплекса 2 (PRC2) и 9-го лизинового остатка гистона H3 гистоновой метилтрансферазой Suv39h.

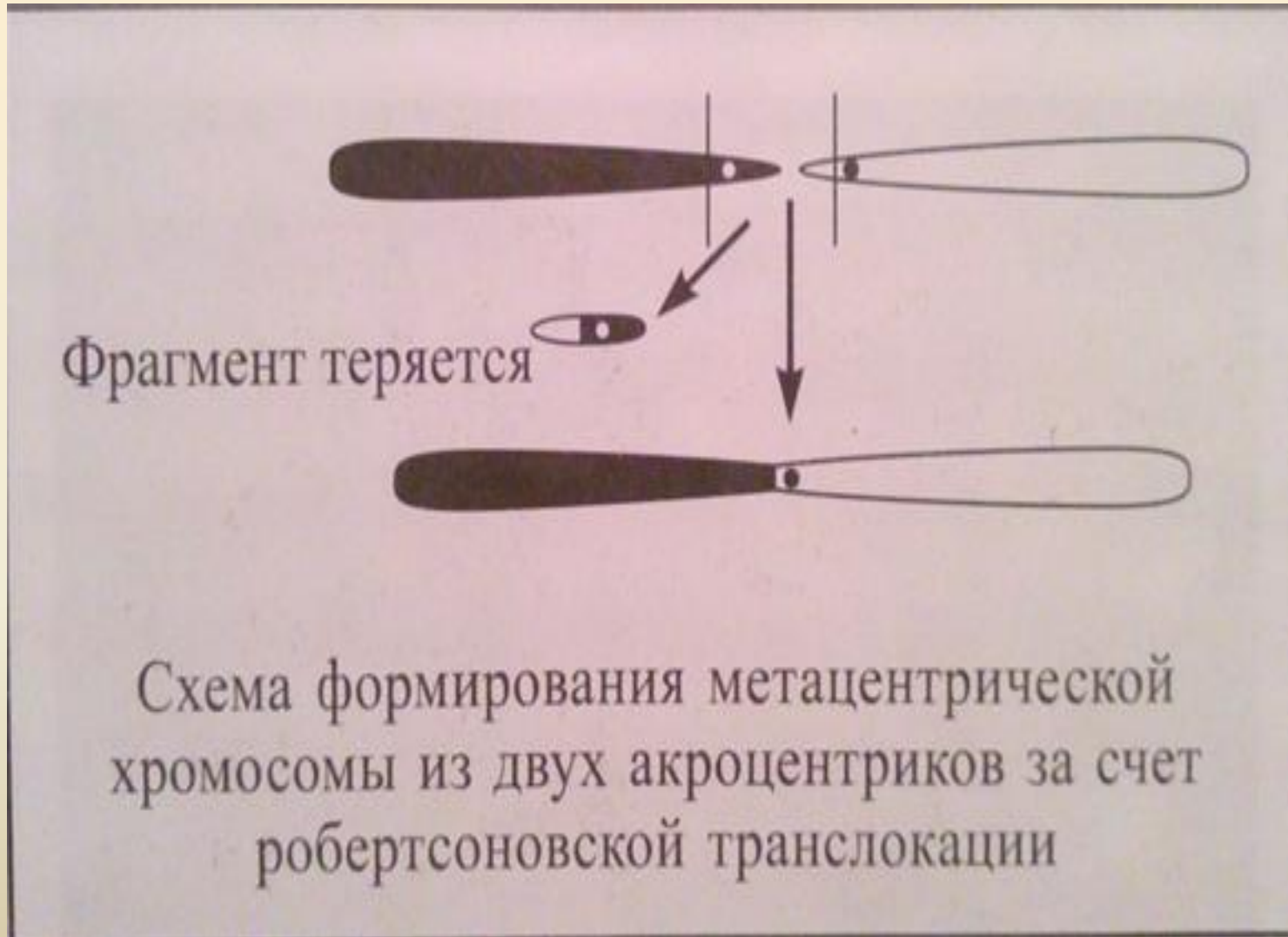
Метилирование 9-го лизинового остатка гистона H3 ведёт к образованию высокоаффинного сайта связывания гистона H3 и белка гетерохроматина HP1.

Формирование гетерохроматиновых районов хромосом в онтогенезе



Рис. 9.17. Хромосомы лосося *Salmo salar* (Прокофьева-Бельговская, 1986, стр. 312), слева - метафаза третьего деления дробления; справа - метафаза из поздней бластулы

Гетерохроматин и хромосомные перестройки



Благодарю за внимание