

Организация ГЕНОМОВ

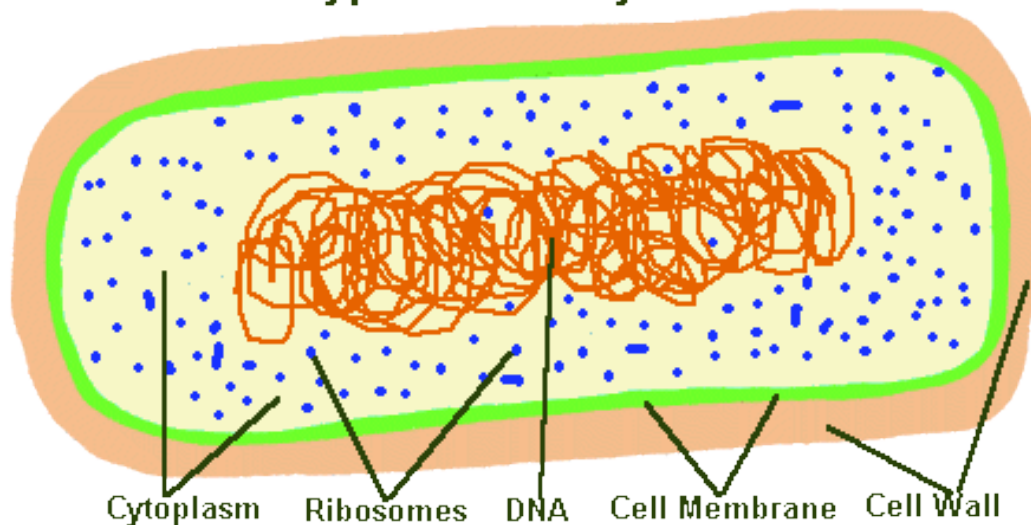
Средний размер гаплоидного генома у некоторых групп организмов

Группы организмов	Средний размер генома, п.о.
Мелкие вирусы	$1,0 \times 10^4$
Микоплазмы	$1,6 \times 10^6$
Бактерии	$2,0 \times 10^6$
Грибы	$4,7 \times 10^7$
Насекомые	$2,3 \times 10^9$
Моллюски	$1,6 \times 10^9$
Костистые рыбы	$1,4 \times 10^9$
Амфибии бесхвостые	$2,7 \times 10^9$
хвостатые	$3,6 \times 10^{10}$
Рептилии	$1,5 \times 10^9$
Птицы	$1,2 \times 10^9$
Млекопитающие	$2,6 \times 10^9$
человек	$3,0 \times 10^9$
Растения голосеменные	$1,6 \times 10^{10}$
покрытосеменные	$2,7 \times 10^{10}$
лилия <i>Lilium longiflorum</i>	$1,8 \times 10^{11}$

Геном прокариот

- отсутствует отдельный компартмент для основного генома
- геном компактный
- Мало некодирующих последовательностей и интронов
- гены организованы по оперонному принципу
- есть перекрывающиеся гены

A Typical Prokaryote Cell



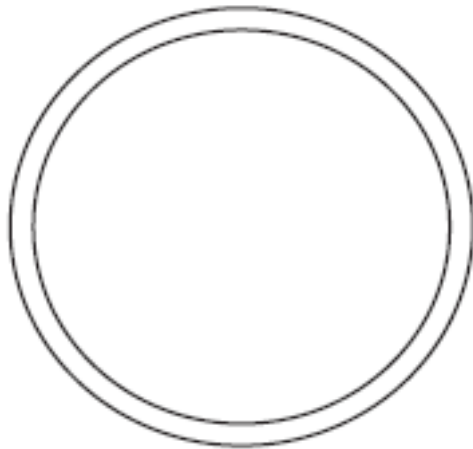
Состав генома прокариот

Локализация	Структуры
<p>Хромосома Плазмиды</p>	<p>Кодирующие последовательности генов Нетранслируемые области генов: 5'- и 3'-концевые районы, интроны Регуляторные элементы генома: промоторы, терминаторы транскрипции, сайты связывания регуляторных белков, сайты связывания рибосом Сайты связывания с клеточными мембранами Мобильные элементы Интегроны Профаги и интегрированные в хромосому плазмиды CRISPR – структуры</p>

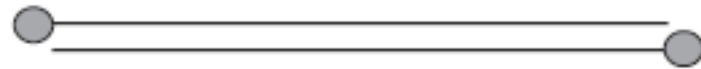
Размеры и структуры геномов некоторых прокариот

Вид бактерии или архея	Состав генома	Размер (т.п.н.)	Форма
Бактерии			
<i>Escherichia coli</i> K12 (MG1655)	Хромосома	4640	Кольцевая
<i>Bradhyrhizobium japonicum</i>	Хромосома	9207	Кольцевая
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Хромосома	580	Кольцевая
<i>Vibrio cholerae</i>	Хромосома	2941	Кольцевая
	Хромосома	1072	Кольцевая
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Хромосома	2842	Кольцевая
	Хромосома	2057	Линейная
	Плазмида	453	Кольцевая
	Плазмида	214	Кольцевая
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Хромосома	911	Линейная
	11 плазмид	9-54	Кольцевые и линейные
<i>Streptomyces coelicolor</i>	Хромосома	8667	Линейная
	Плазмида	356	Линейная
	Плазмида	31	Кольцевая
Архея			
<i>Methanosarcina acetivorans</i>	Хромосома	5751	Кольцевая
<i>Haloarcula marismortui</i>	Хромосома	3132	Кольцевая
	Хромосома	288	Кольцевая
<i>Nanoarchaeum equitans</i>	Хромосома	491	Кольцевая

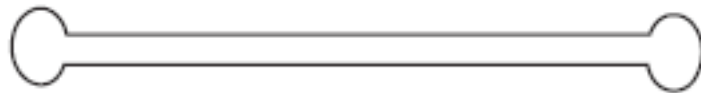
Структуры хромосом прокариот.



Кольцевая хромосома



Линейная хромосома
с незамкнутыми концами



Линейная хромосома
со «шпильчаными» концами

Геном прокариот

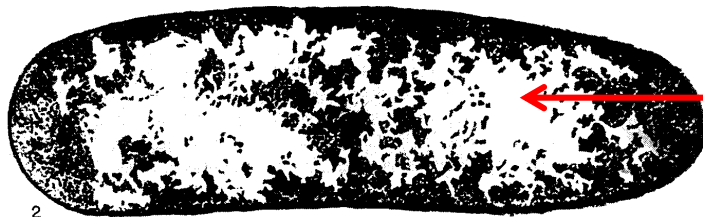
Нуклеоид *E. coli*.

ДНК в нуклеоиде ассоциирована с :

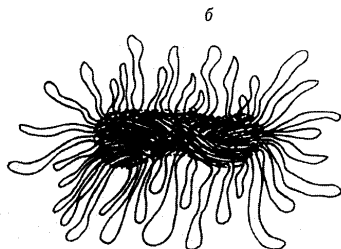
- гистоноподобными белками **HU**, **H-NS** и **IHF**
- негистоновыми ДНК-связывающими белками
- топоизомеразами
- РНК-полимеразами



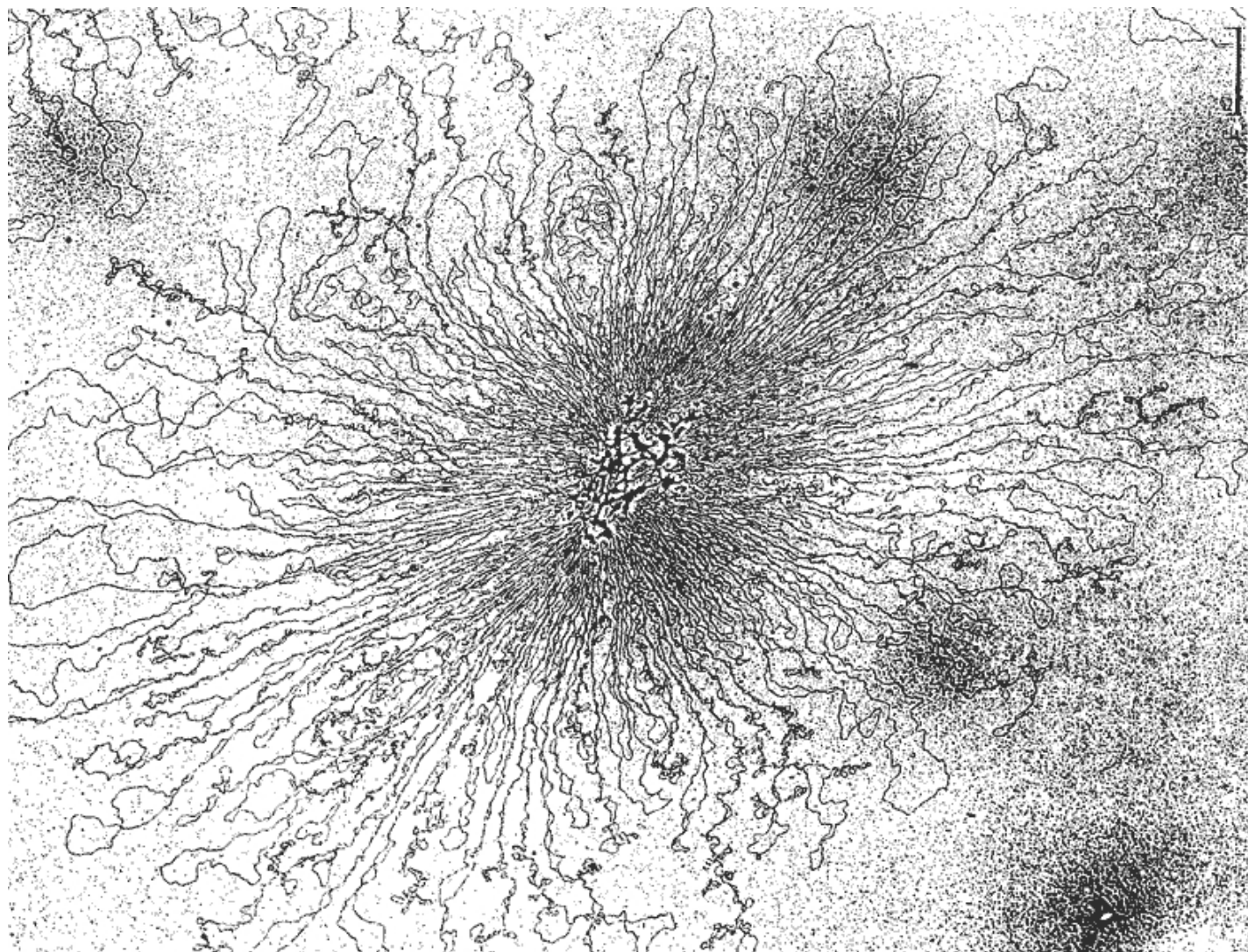
Области,
свободные от
рибосом

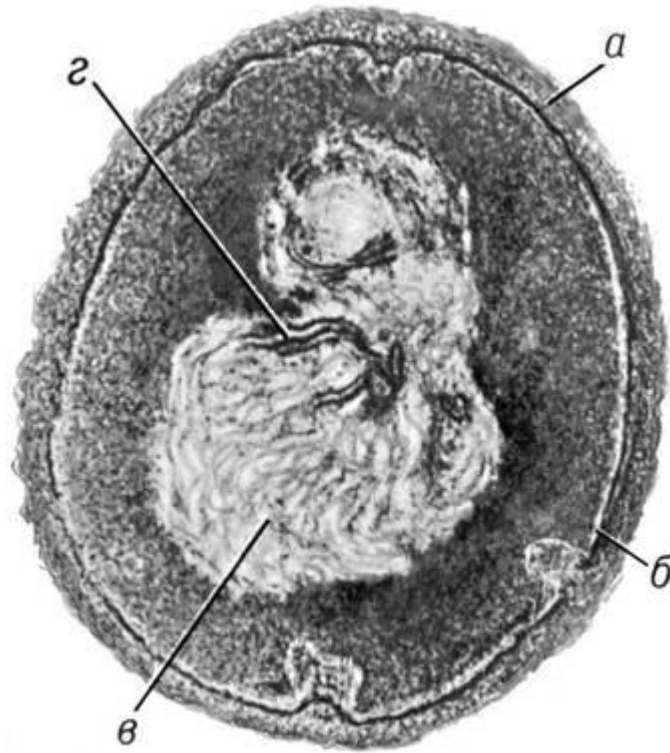


ДНК
нуклеоида



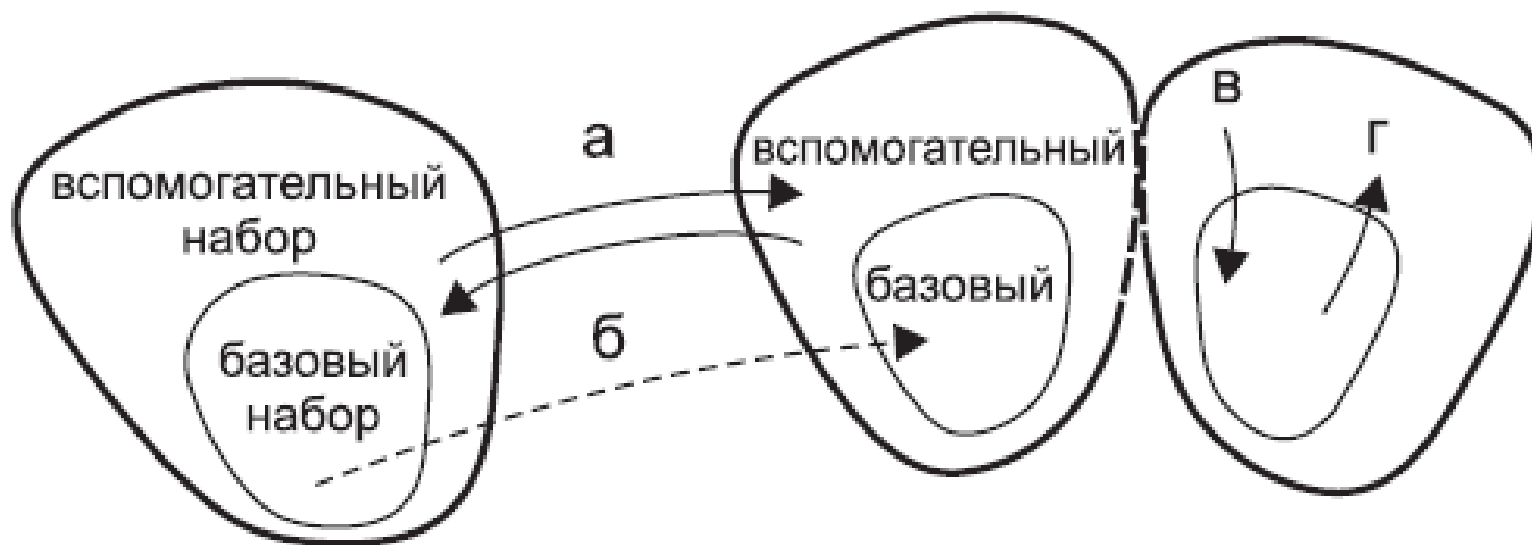
Модель нуклеоида в функционально-активном состоянии А. Райтера и А. Чанга. Изображены многочисленные петли активно транскрибируемой ДНК





Клетка золотистого стафилококка: а — клеточная стенка; б — цитоплазматическая мембрана; в — нуклеоид; г — мембранные структуры внутри нуклеоида.

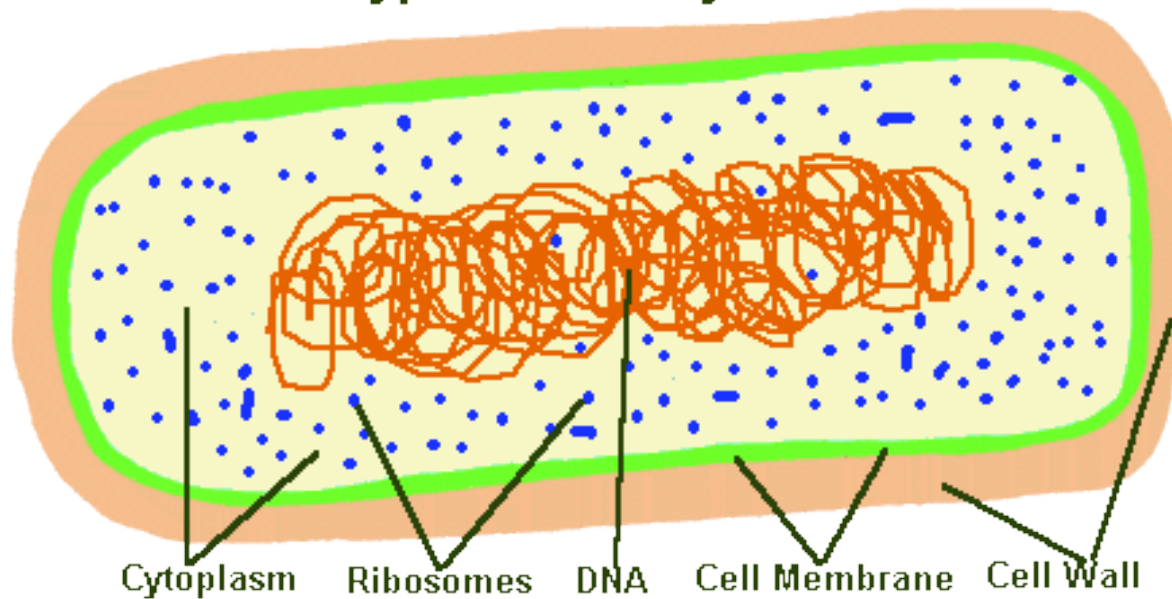
Базовый и вспомогательный наборы генов



Геном прокариот

- геном компактный
- гены организованы по оперонному принципу
- есть перекрывающиеся гены

A Typical Prokaryote Cell



Оперонный принцип организации генов у прокариот

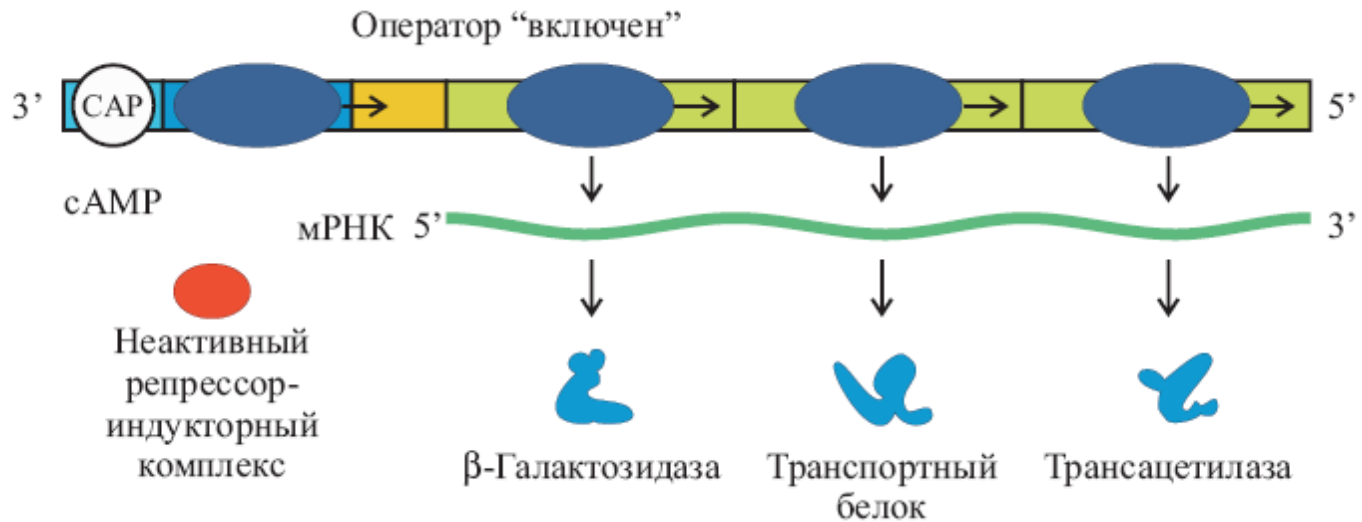
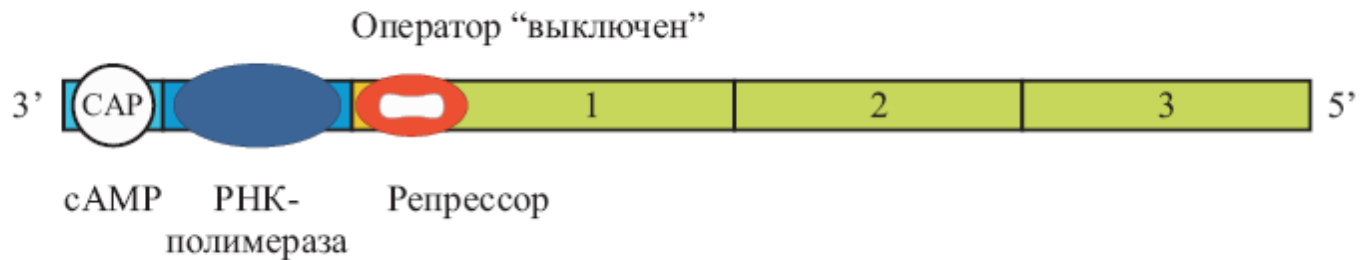
Лактозный оперон кишечной палочки

	P	<i>lacI</i>	PO	<i>lacZ</i>	<i>lacY</i>	<i>lacA</i>
ДНК (длина в п.н.)		1040	82	3510	780	825
полипептид: аминокислоты дальтоны		360 38000		1021 125000	260 30000	275 30000
белок: структура		тетрамер		тетрамер	мембранный белок	димер
дальтоны		152000		500000	30000	60000
функция белка		репрессор		β -галактозидаза	пермеаза	транс-ацетилаза
		мРНК:	Один транскрипт			

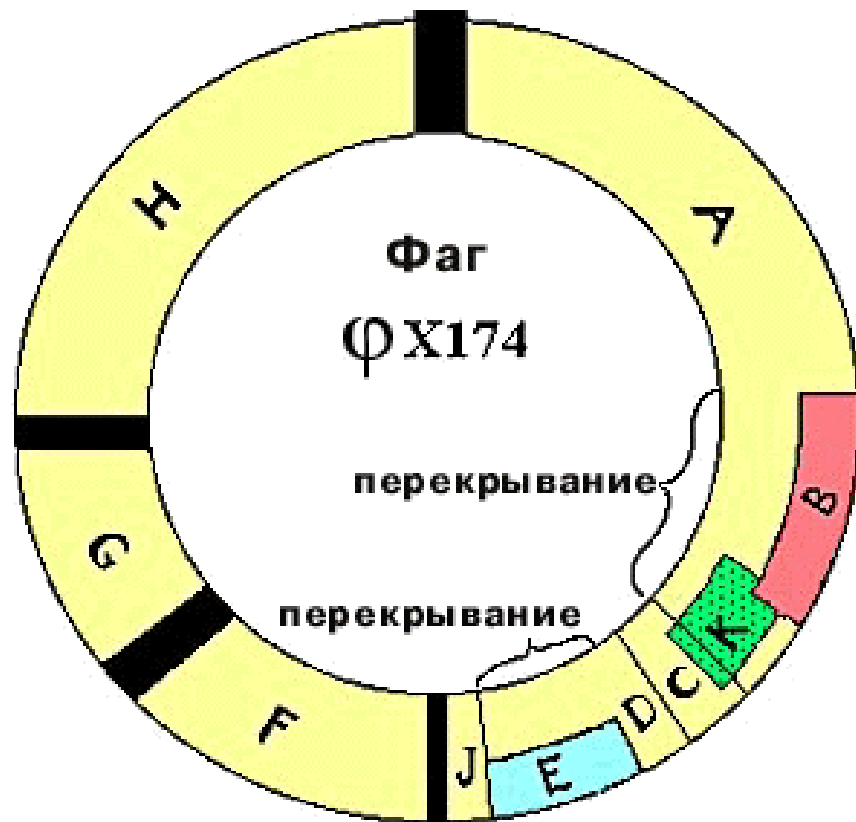
Преимущества оперонной организации генов прокариот:

- компактность
- быстрый ответ на изменения окружающей среды: синтез необходимых ферментов начинается и прекращается в любой момент.
- координация регуляции активности: все гены экспрессируются или не экспрессируются в унисон

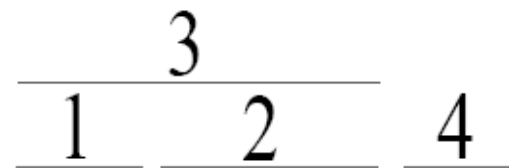
Оперонный принцип организации генов у прокариот



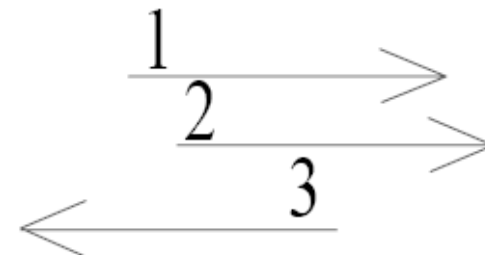
Перекрывающиеся гены у вирусов и прокариот



Вирус млекопитающих SV40



Мобильный элемент IS 50



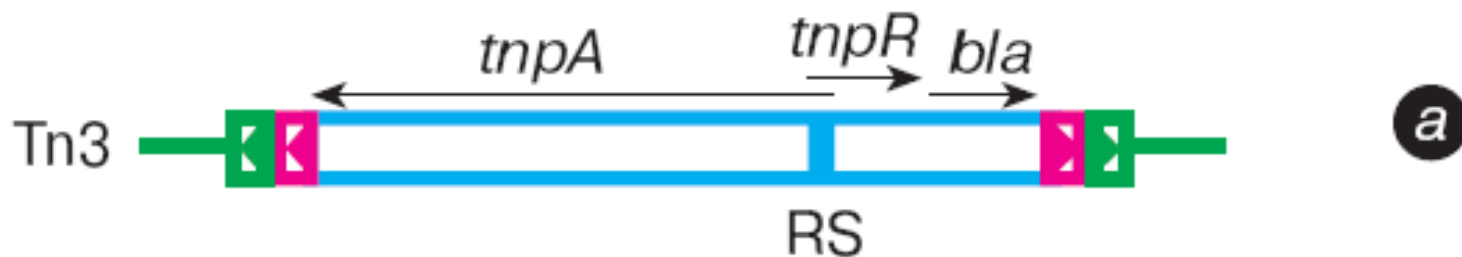
Инсерционные элементы (IS-элементы)



Рис. 3. Структура инсерционного элемента и транспозона.

Структурная организация некоторых подвижных элементов

а – бактериальный транспозон Tn3.



б – бактериальный транспозон Tn5.

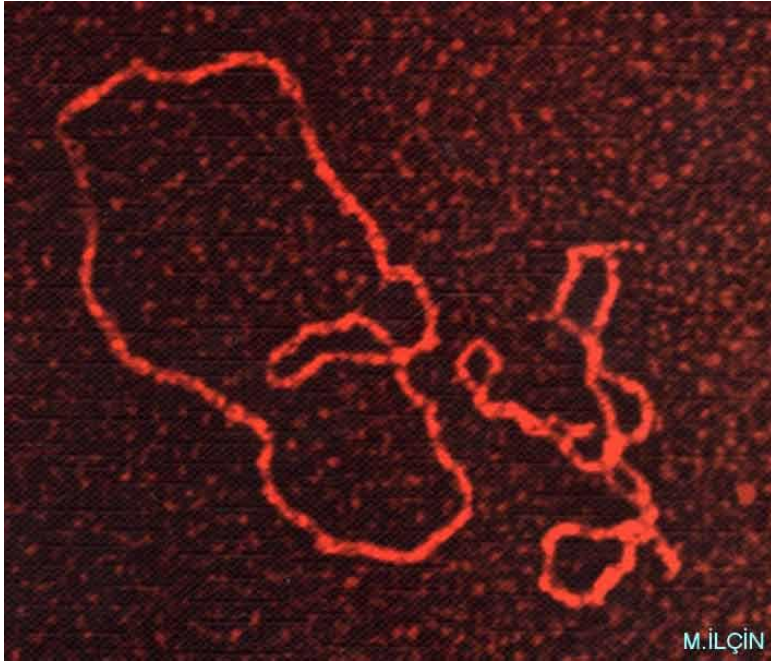


в – дрожжевой ретротранспозон Ty1.



Синим обозначена центральная часть элементов, красным - обращенные концевые повторы бактериальных подвижных элементов, зеленым - прямые повторы ДНК-мишени.

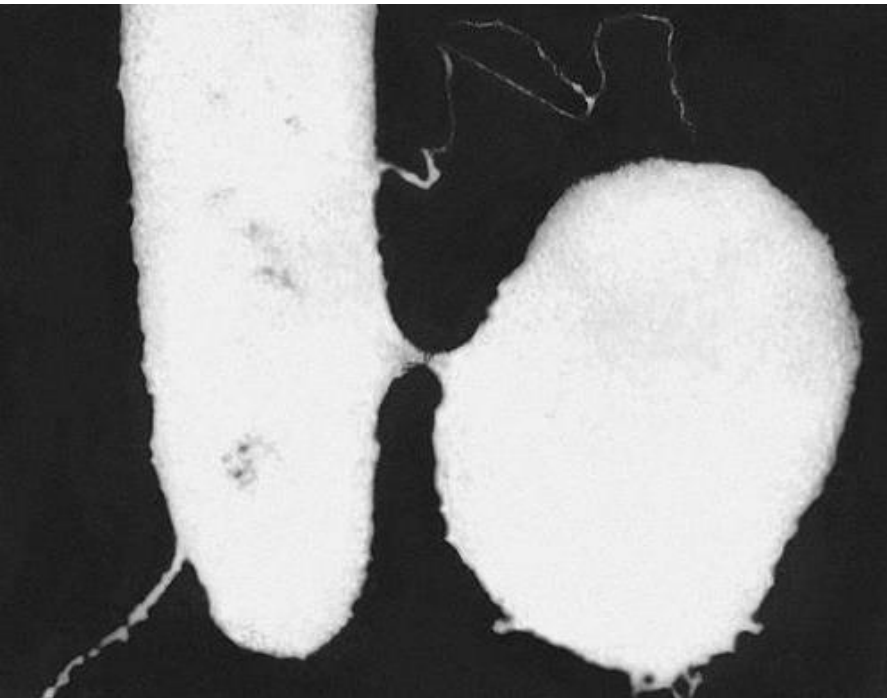
Плазмиды



Плазмиды – автономно реплицирующиеся внехромосомные генетические элементы (Квитко, Захаров, 2012).

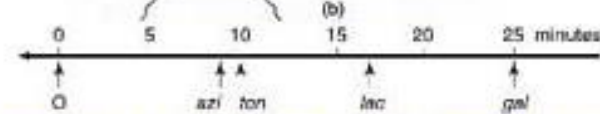
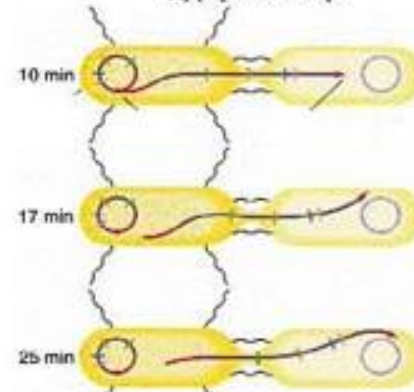
- F-плазида (fertility factor)
- R-плазмиды
- бывают совместимыми и несовместимыми
- однокопийные и мультикопийные
- существуют системы контроля количества плазмид

Рекомбинация у *Escherichia coli*: генетический контроль и молекулярный механизм

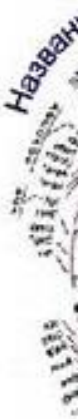
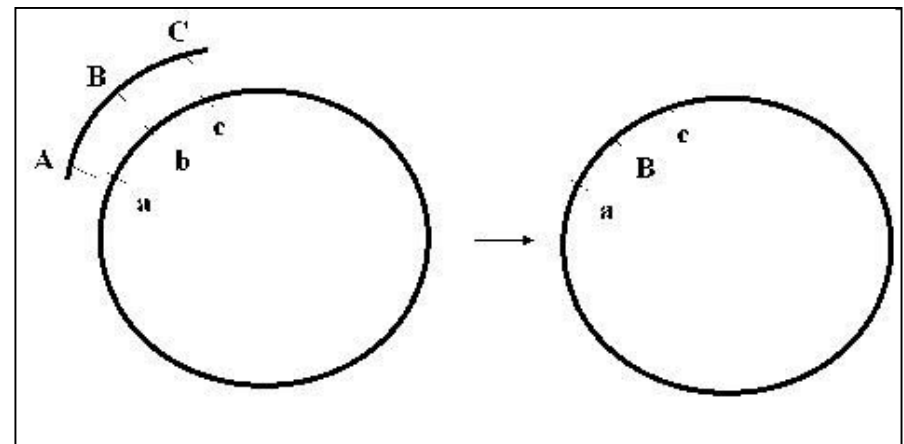


Электронномикроскопическое изображение **конъюгации** у кишечной палочки; удлинённая клетка — донор, круглая — реципиент.

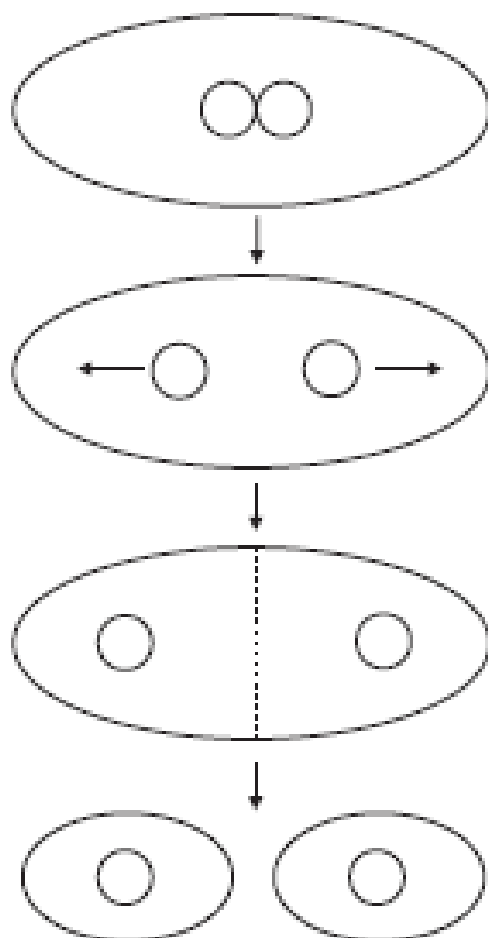
Чем дольше клетки конъюгируют, тем большая часть хромосомы (и большее число генетических маркеров) успевает перейти в другую клетку.



Генетическая карта участка генома *E. coli*, построенная на основе конъюгативного переноса маркеров



Механизм сегрегационной
стабильности плазмид



Механизм
постсегрегационной гибели

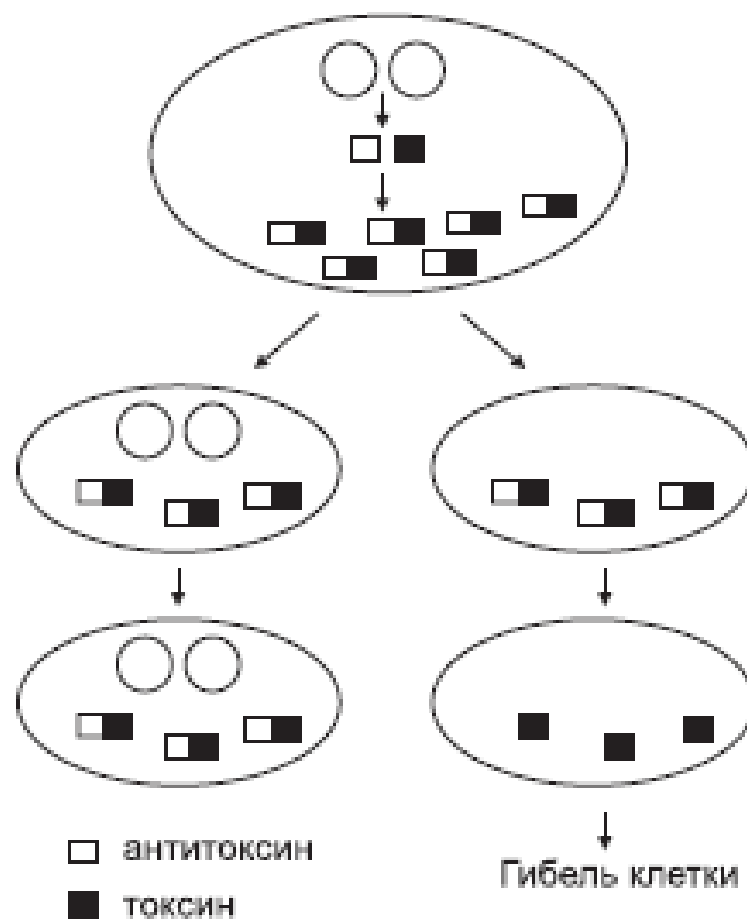


Рис. 4. Механизмы поддержания плазмид в клетках хозяина.

Особенности генома архебактерий

Methanococcus jannaschii (1996)

Основные черты строения генома – типично прокариотические:

- геном представлен основной кольцевой хромосомой (1700 т.п.о) и двух небольших внехромосомных элементов (58 и 16 т.п.о)

- геном организован компактно: обнаружено ~1700 потенциальных кодирующих участков ДНК, по одному на каждые 1000 п.о.

- гены организованы по оперонному принципу

Особенности генома, сближающие *M. jannaschii* с эукариотами

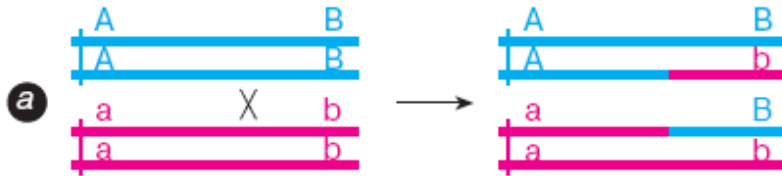
- гены, регулирующие транскрипцию, трансляцию и репликации ДНК схожи с генами эукариот

- специфические рибосомные белки, гистоны, белки систем репарации и транспорта имеют гомологичны эукариотическим.

Размеры и структуры геномов некоторых прокариот

Вид бактерии или архен	Состав генома	Размер (т.п.н.)	Форма
Бактерии			
<i>Escherichia coli</i> K12 (MG1655)	Хромосома	4640	Кольцевая
<i>Bradhyrhizobium japonicum</i>	Хромосома	9207	Кольцевая
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Хромосома	580	Кольцевая
<i>Vibrio cholerae</i>	Хромосома	2941	Кольцевая
	Хромосома	1072	Кольцевая
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Хромосома	2842	Кольцевая
	Хромосома	2057	Линейная
	Плазмида	453	Кольцевая
	Плазмида	214	Кольцевая
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Хромосома	911	Линейная
	11 плазмид	9-54	Кольцевые и линейные
<i>Streptomyces coelicolor</i>	Хромосома	8667	Линейная
	Плазмида	356	Линейная
	Плазмида	31	Кольцевая
Архен			
<i>Methanosarcina acetivorans</i>	Хромосома	5751	Кольцевая
<i>Haloarcula marismortui</i>	Хромосома	3132	Кольцевая
	Хромосома	288	Кольцевая
<i>Nanoarchaeum equitans</i>	Хромосома	491	Кольцевая

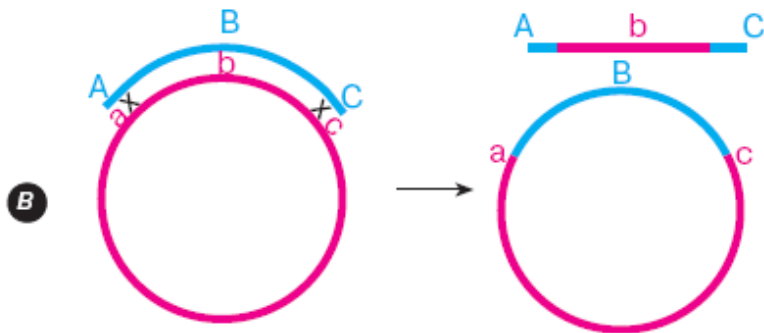
Схемы гомологичной рекомбинации



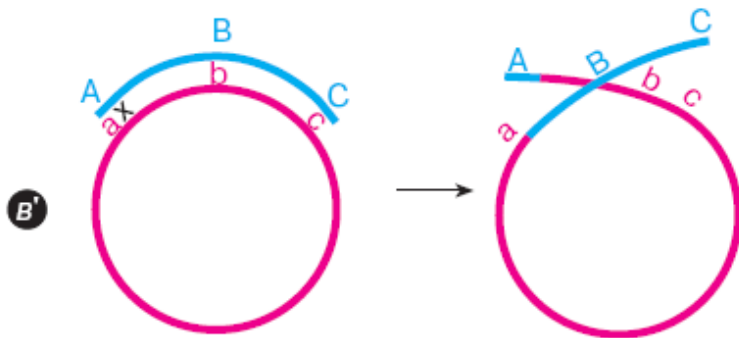
**Кроссинговер в профазе I
деления мейоза**



**Кроссинговер в соматической
клетке на стадии G1
клеточного цикла**



**Кроссинговер в клетке кишечной
палочки *Escherichia coli***



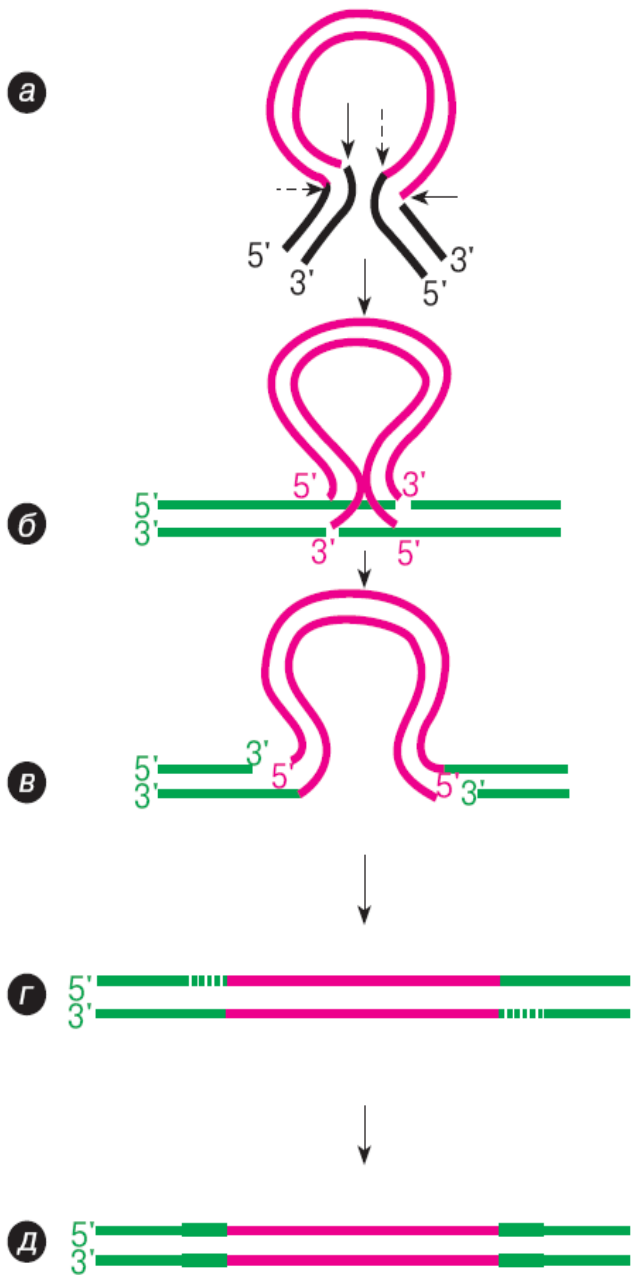
(Глазер, 1998)

Подвижные элементы - это особые последовательности ДНК, способные к перемещениям из одного участка молекулы ДНК (хромосомы или плазмиды) в другой, или в другую молекулу в той же клетке, или даже в клетки другого организма.

Подвижные элементы, как правило, не существуют автономно, а находятся в составе хромосом или плазмид.

Главный белок транспозиции – транспозаза.

Общая схема рекомбинационных реакций при транспозициях



а - транспозаза (у ретротранспозонов - интеграз) сводит вместе концы подвижного элемента и делает разрывы точно по этим концам

б - транспозаза сводит в контакт концы элемента и дуплекс ДНК-мишени. При этом она делает в обеих цепях ДНК-мишени ступенчатые разрывы

в - обмен цепями, приводящий к рекомбинации между ДНК элемента и мишени, остаются бреши

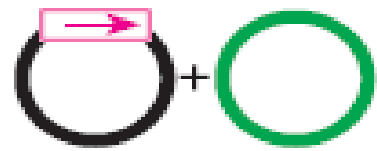
г - бреши заполняются путем репаративной репликации ДНК по матрице ДНК-мишени

д - возникновение прямых повторов ДНК-мишени на концах элемента

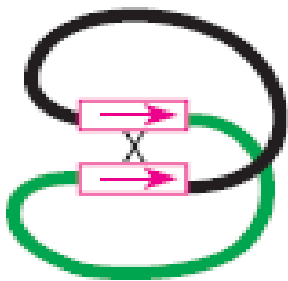
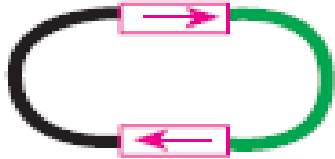
Выделяют три основных механизма рекомбинации при транспозициях:

- репликативная транспозиция
- нерепликативная транспозиция
- перемещение ретротранспозонов

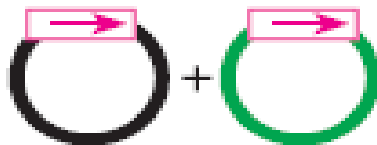
Репликативная транспозиция



коинтеграт



резолваза

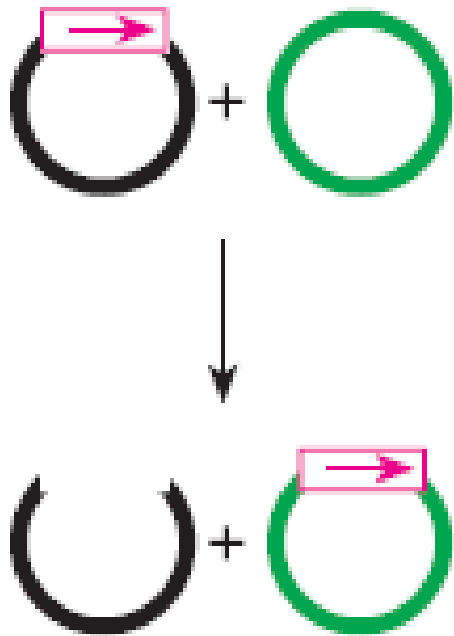


Подвижный элемент, перемещаясь в другую молекулу, оставляет свою копию в исходной ДНК.

Обнаружена у фага М₁ и бактериальных транспозонов семейства Tn3 с короткими обращенными повторами.

Нерепликативная транспозиция

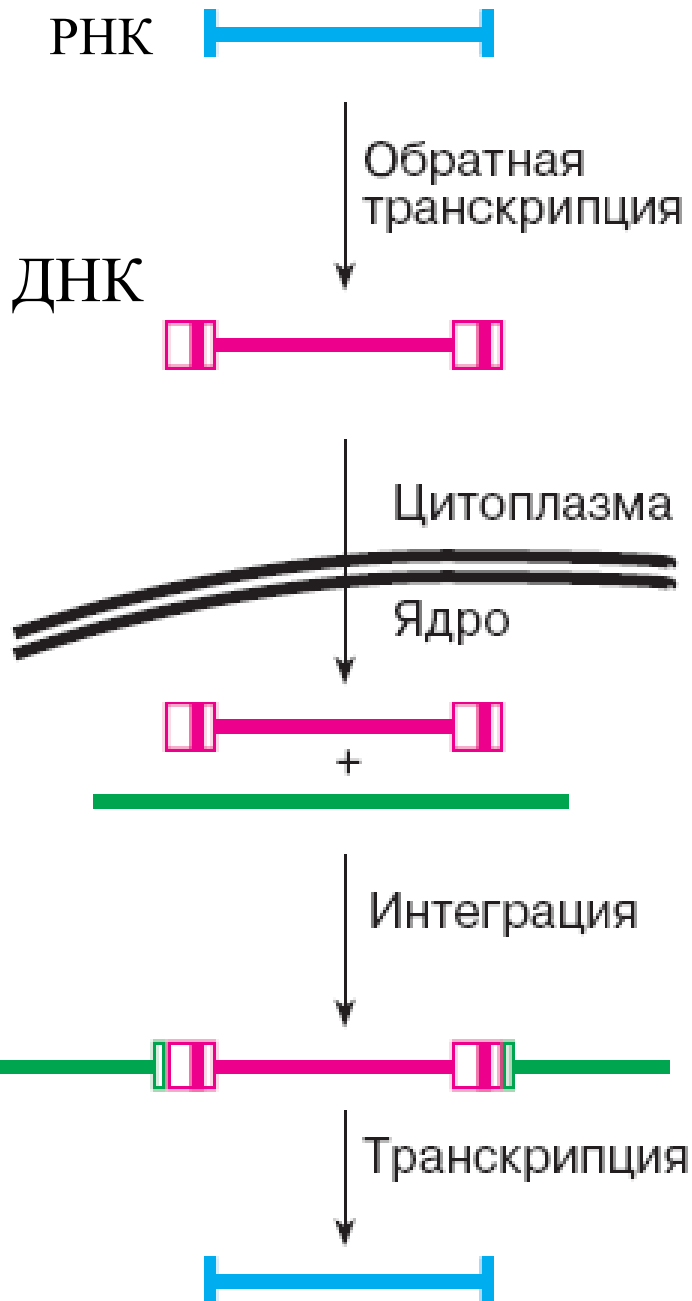
Заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место.



Характерна для большинства подвижных элементов бактерий и эукариотических элементов с короткими обращенными повторами

Перемещение ретротранспозонов

Ген *pol* ретротранспозона кодирует несколько ферментов: интегразу, обратную транскриптазу, РНКазуН и протеазу.



Незаконная рекомбинация

Сборная группа процессов, где рекомбинация происходит без гомологии между молекулами ДНК, и при этом без участия механизмов сайт-специфической рекомбинации или транспозиций. Общим для них является соединение концов негомологичных молекул ДНК.

- захват ретровирусом некоторых клеточных генов при его эксцизии из хромосомы хозяйской клетки
- интеграция фрагментов ДНК, вводимых в клетки позвоночных с помощью микроинъекций

Впервые описана японским исследователем Х. Икедой с сотрудниками в 1982 году.

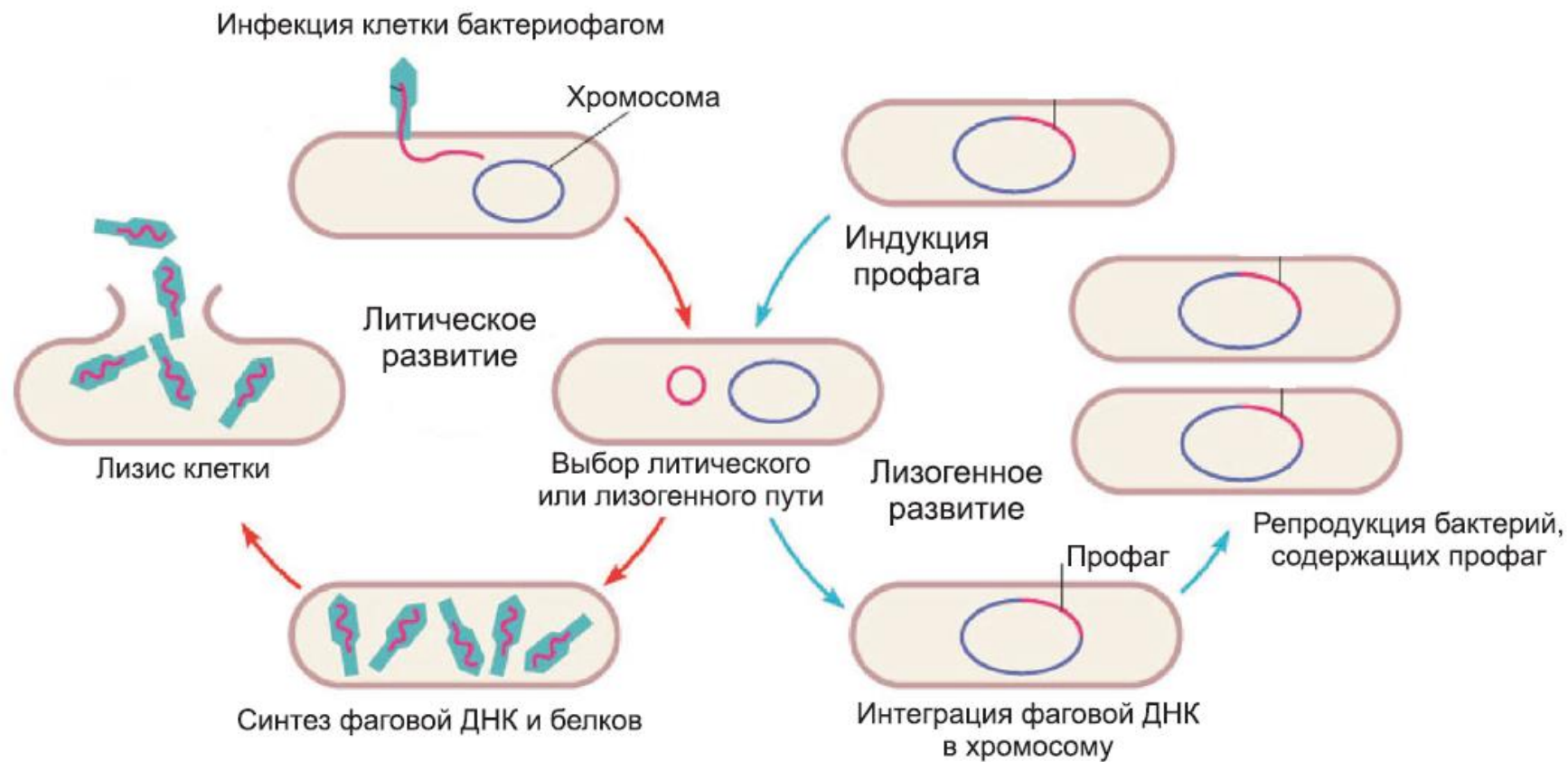
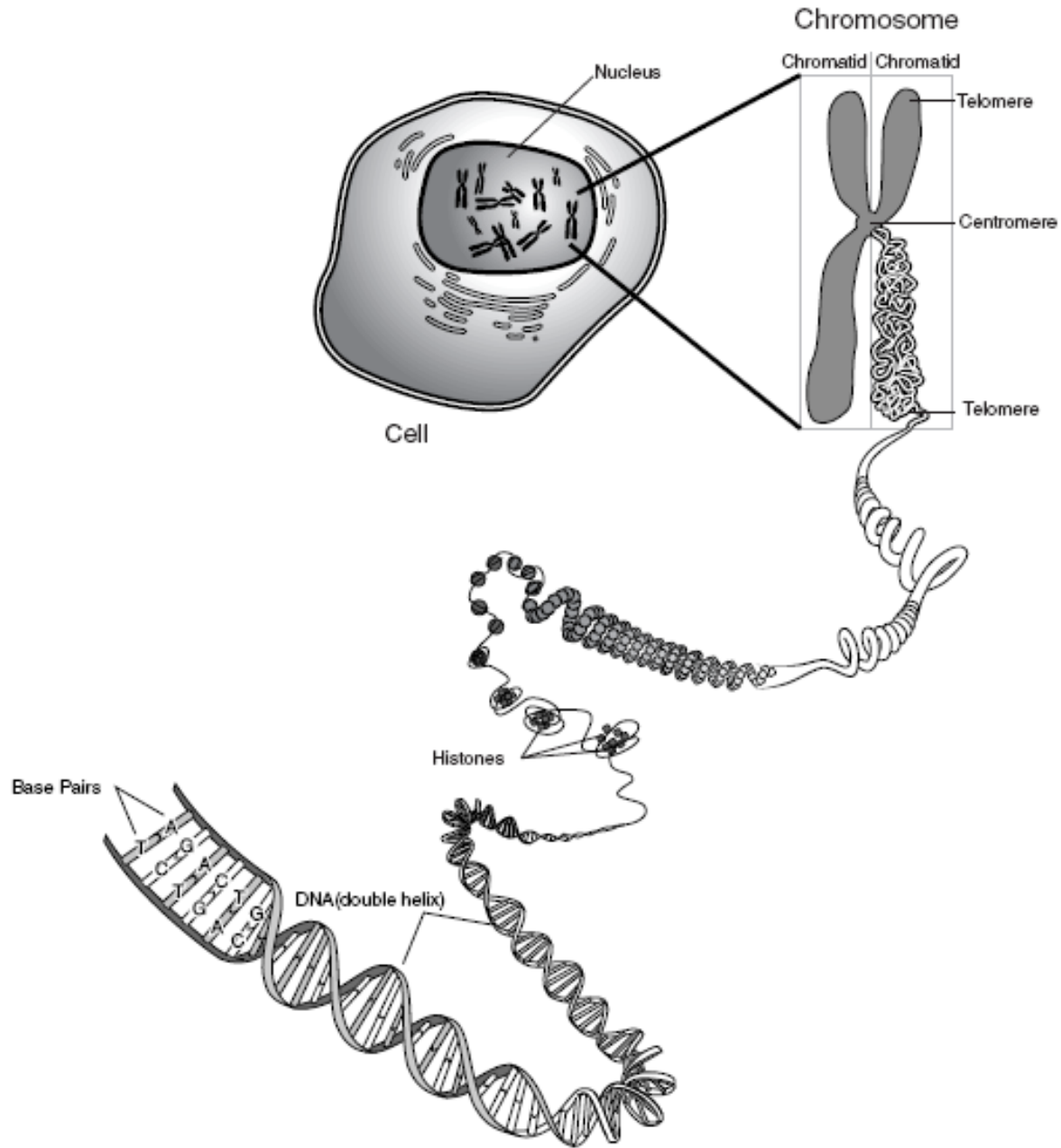


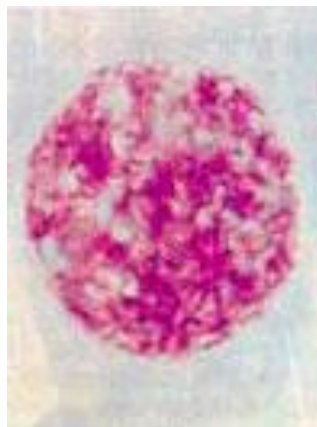
Рис. 5. Жизненный цикл бактериофага.

Геном эукариот

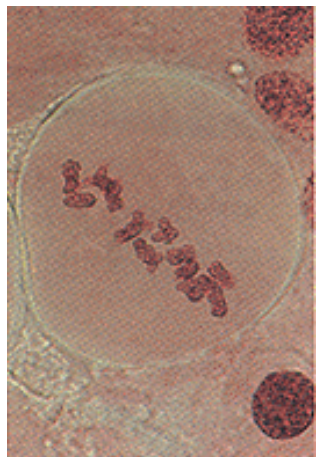


Хроматин

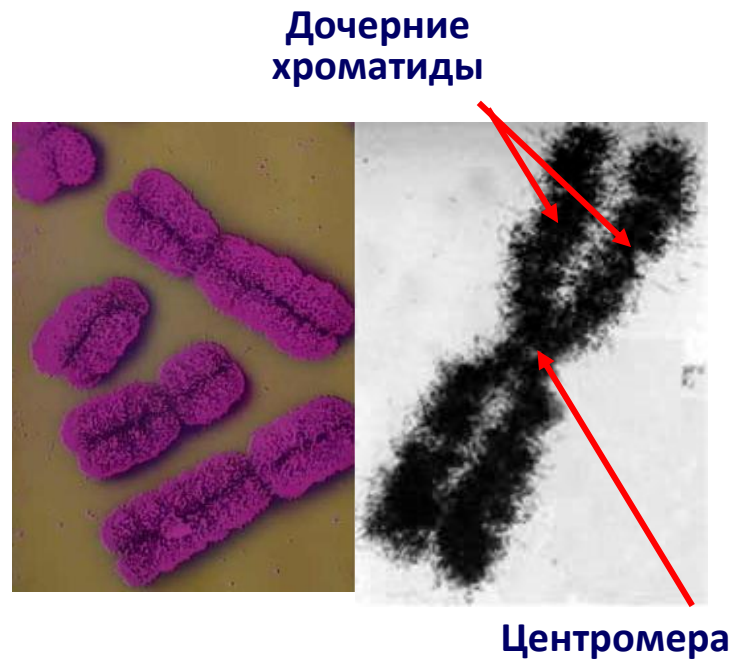
Хроматин – наследственное вещество эукариот.
Состоит из ДНК в комплексе с белками.



Ядро
интерфазной
клетки

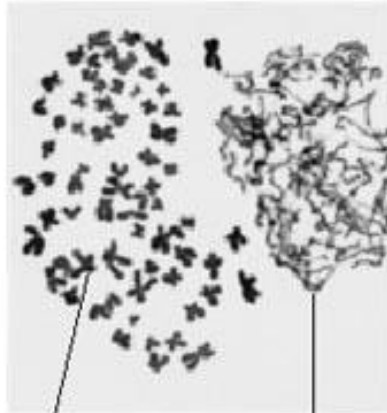


Ядро
делящейся
клетки



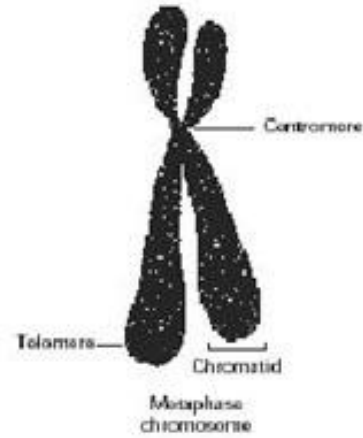
Строение хромосомы

Митотические хромосомы

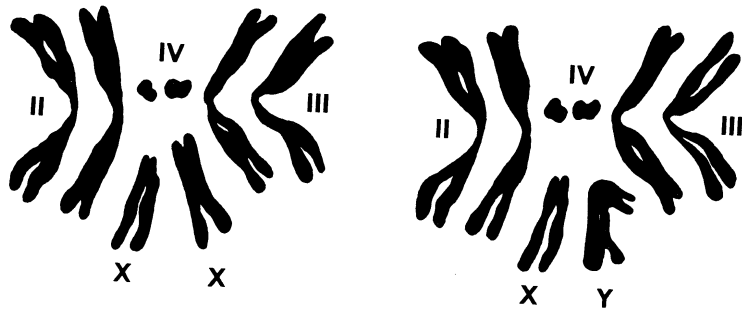


Митотическая
пластинка

G₁



Митотическая хромосома
состоит из двух хроматид



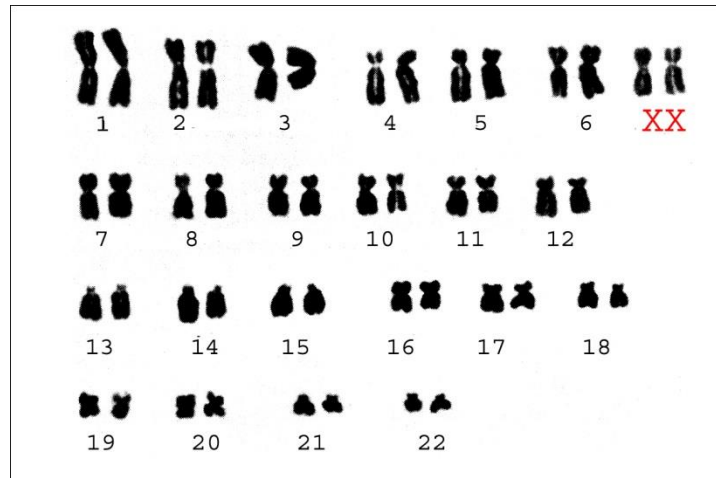
Дрозофила



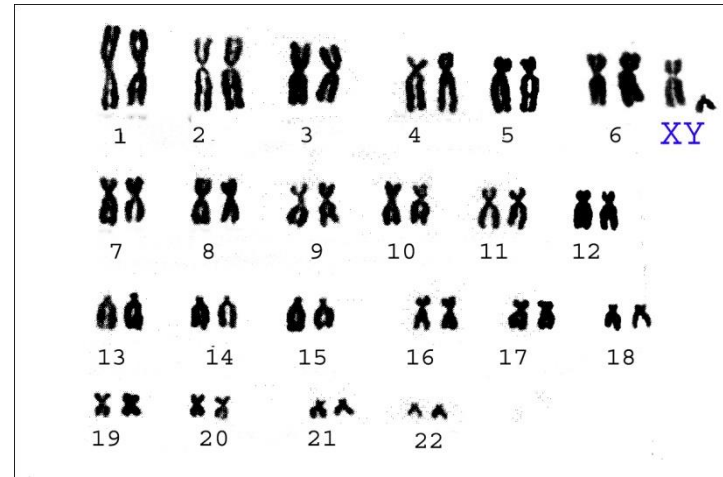
Человек

Кариотип

Кариотип – видоспецифичный набор хромосом.



Хромосомный набор женщины



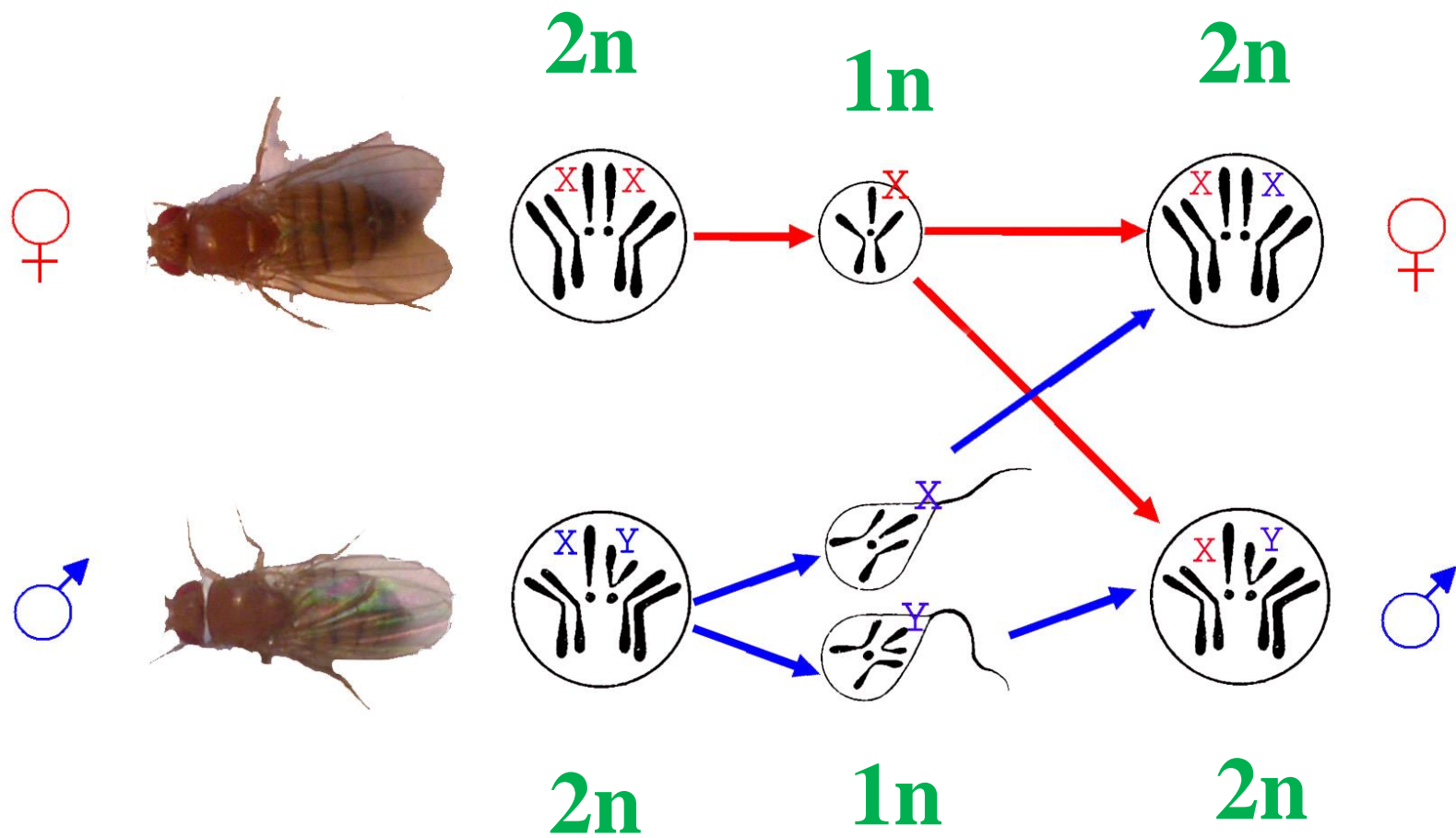
Хромосомный набор мужчины

Пример других кариотипов.

Гаплоидный и диплоидный наборы хромосом

Г
Е
Н
О
М

Э
У
К
А
Р
И
О
Т



Избыточность генома эукариот

Группы организмов	Средний размер генома, п.о.
Мелкие вирусы	$1,0 \times 10^4$
Микоплазмы	$1,6 \times 10^6$
Бактерии	$2,0 \times 10^6$
Грибы	$4,7 \times 10^7$
Насекомые	$2,3 \times 10^9$
Моллюски	$1,6 \times 10^9$
Костистые рыбы	$1,4 \times 10^9$
Амфибии бесхвостые	$2,7 \times 10^9$
хвостатые	$3,6 \times 10^{10}$
Рептилии	$1,5 \times 10^9$
Птицы	$1,2 \times 10^9$
Млекопитающие	$2,6 \times 10^9$
Человек	$3,0 \times 10^9$
Растения голосеменные	$1,6 \times 10^{10}$
Покрытосеменные	$2,7 \times 10^{10}$
Лилия <i>Lilium longiflorum</i>	$1,8 \times 10^{11}$

Прямой корреляции между количеством ДНК и эволюционной продвинутостью организма нет.

«Парадокс С»

(1978 г. Т. Кавалье-Смит) : у эукариот транскрибируется лишь незначительная часть последовательностей нуклеотидов генома (~3% генома человека).

Избыточность генома эукариот

Причины избыточности:

1. Большой размер генов (за счет наличия интронов).
2. Присутствие повторенных последовательностей. Повторяются и гены, и некодирующие участки.
3. Наличие большого числа некодирующих последовательностей.

Минусы "избыточной" ДНК:

- увеличение времени синтеза ДНК;
- сложнее организовывать удвоение ДНК;
- высокая энергоемкость - на 1 нуклеотид для включения в цепь ДНК нужно затратить ~60 молекул АТФ.

Неопределенное следствие:

- благодаря зависимости размера ядра от количества ДНК происходит увеличение размеров клетки.

Плюсы "избыточной" ДНК:

- возникает возможность создания сложного регуляторного аппарата, позволяющего поднять организм на более высокий эволюционный уровень.

Структурные элементы генома эукариот

Классификация по числу повторов в геноме

1. Часто повторяющиеся последовательности (быстрые повторы)

Частота встречаемости на гаплоидный геном больше 10^5

К быстрым повторам относится **сателлитная ДНК**.

Мини- и микросателлиты часто *называют тандемными повторами с изменяющимся числом копий VNTR (variable number of tandem repeats)*.

2. Умеренно повторяющиеся последовательности (medium reiterated frequency repeats – MERs),

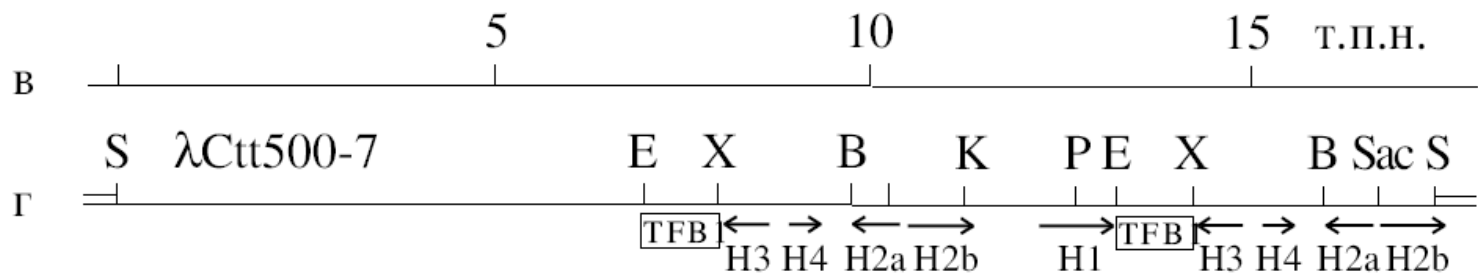
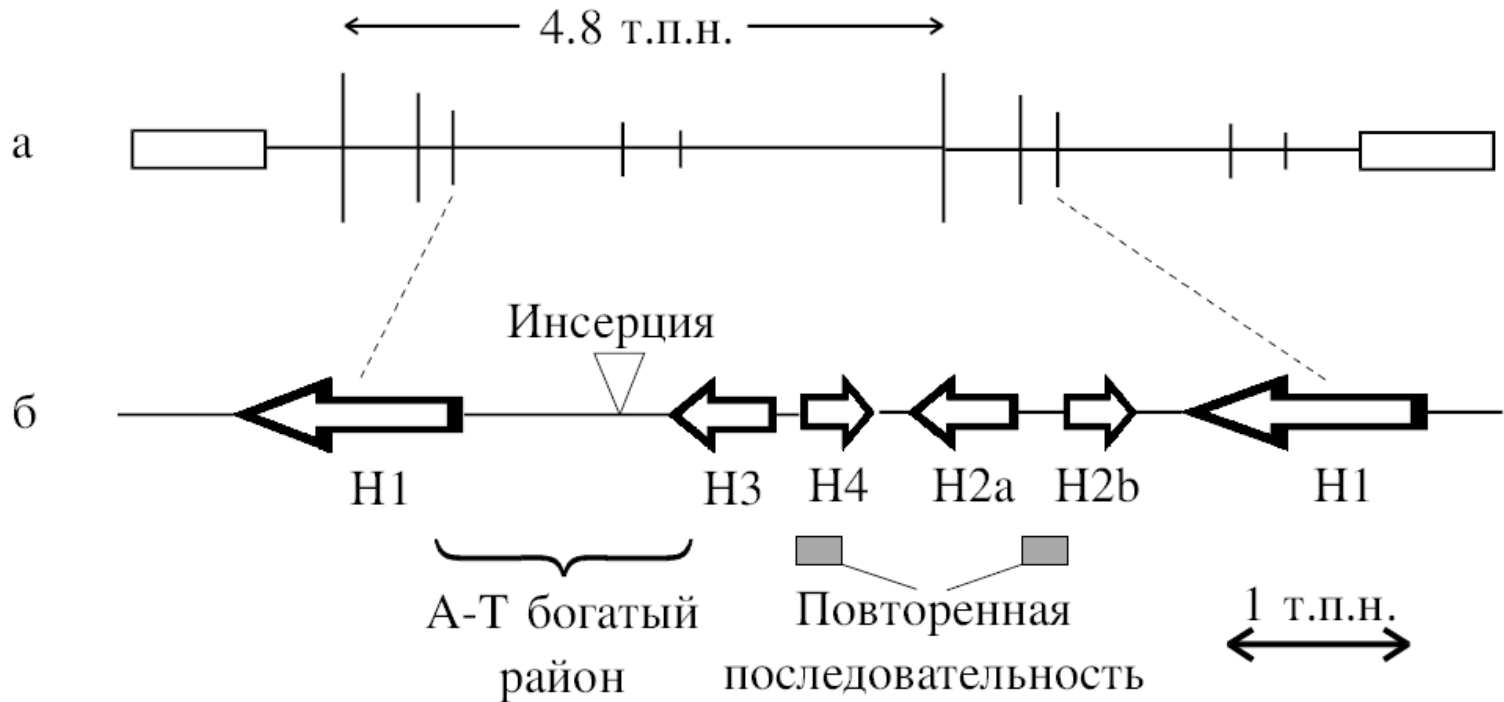
Частота встречаемости на гаплоидный геном больше 10, но меньше 10^5 .

Умеренные повторы					
гены		регуляторные участки			Некодирующие последовательности
транскрибируемые	и	транскрибируемые, но не	энхансерные модули,	ori	
транслируемые		нетранслируемые	репликации, промоторы	и	
Гены белков рибосом, гистоновые гены, гены мембранных, цитоскелетных белков, гены иммуноглобулинов		Гены rРНК, sРНК, tРНК	терминаторы транскрипции		

Г
Е
Н
О
М

Э
У
К
А
Р
И
О
Т

Схема организации генов, кодирующих гистоны в повторяющейся единице у *D. melanogaster* (а-б) и *Chironomus thummi* (в-г)



Структурные элементы генома эукариот

3. Диспергированные повторяющиеся последовательности

SINE (short interspersed elements) – короткие диспергированные элементы	LINE (long interspersed elements) – длинные диспергированные элементы
Длина 90–400 п.о	Длина 7 т.п.о.
<i>Пример</i> :Alu-повторы в геноме человека и приматов. Длина повторяющейся единицы ~300 п.о. У человека в геноме – 10^6 копий. Составляют 5% от суммарного количества ДНК.	Содержат гены обратных транскриптаз. <i>Пример.</i> LINE-1-повтор, широко распространенный в геноме животных.

Структурные элементы генома эукариот

3. Диспергированные повторяющиеся последовательности

SINE (short interspersed elements) – короткие диспергированные элементы	LINE (long interspersed elements) – длинные диспергированные элементы
Длина 90–400 п.о	Длина 7 т.п.о.
<i>Пример</i> :Alu-повторы в геноме человека и приматов. Длина повторяющейся единицы ~300 п.о. У человека в геноме – 10^6 копий. Составляют 5% от суммарного количества ДНК.	Содержат гены обратных транскриптаз. <i>Пример.</i> LINE-1-повтор, широко распространенный в геноме животных.

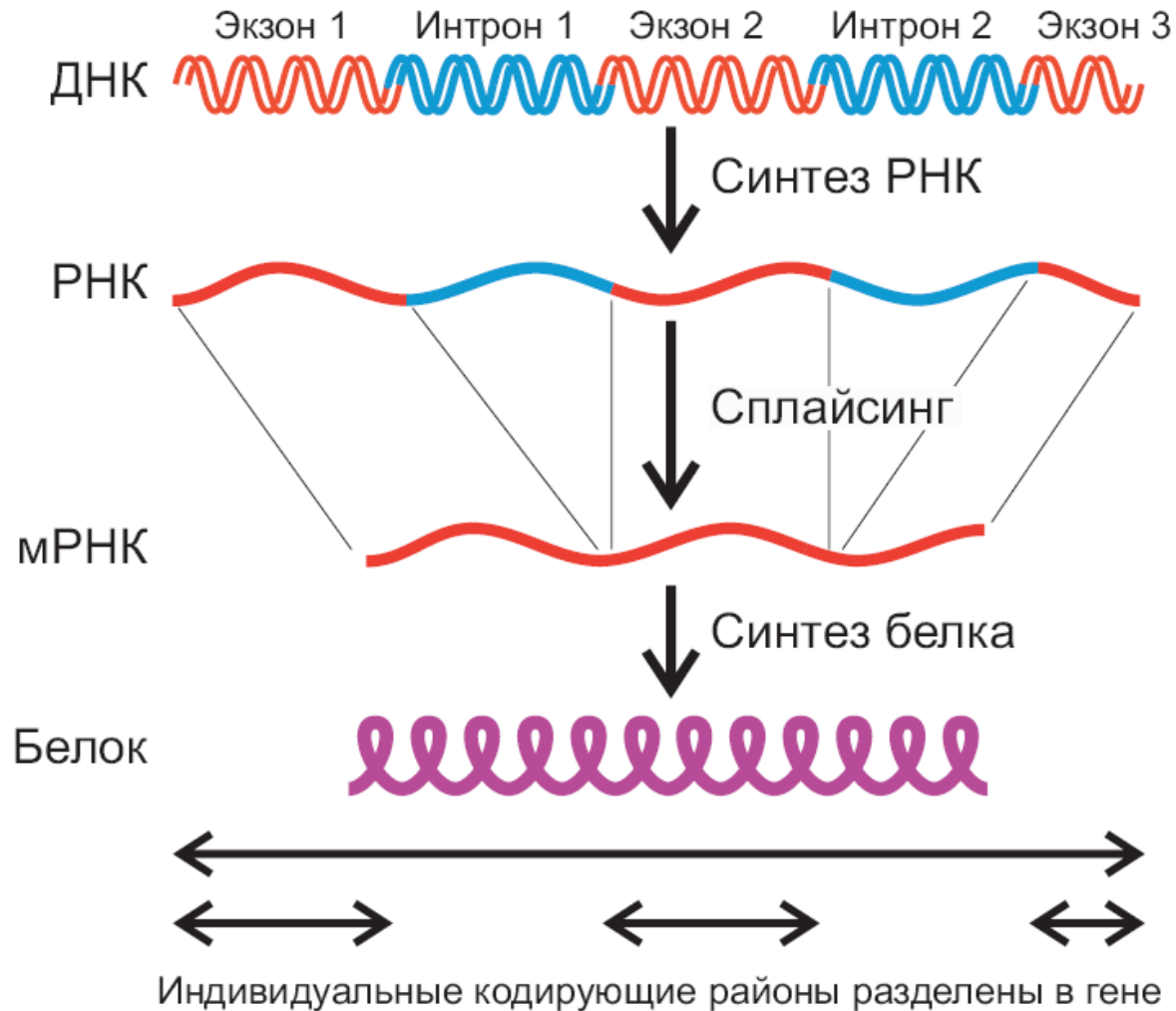
Структурные элементы генома эукариот

4. Уникальные последовательности

Частота встречаемости меньше 10 раз на геном.

Гены "домашнего хозяйства"	Гены "роскоши"
Кодируют то, что всегда нужно любой клетке независимо от ткани. По разным оценкам таких генов у человека 10-20 тыс. Это гистоновые гены, гены tРНК, rРНК и т.п.	Их заведомо больше в 2-3 раза, это гены, которые экспрессируются в клетках определенных тканей и в определенное время.

Экзон-интронная организация генов эукариот

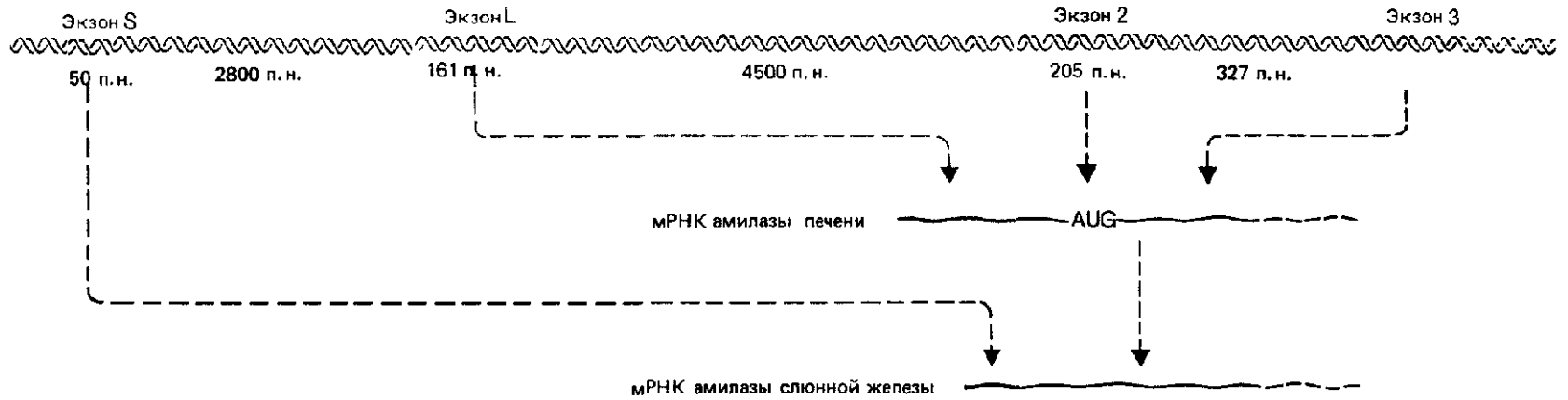


Процесс передачи информации от ДНК до белка

Соотношение длины гена и мРНК в зависимости от числа экзонов

Виды	Среднее число экзонов	Средняя длина гена (т.п.н.)	Средняя длина мРНК (т.п.н.)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	1.6	1.6
Грибы	3	1.5	1.5
<i>Cenorabditis elegans</i>	4	4.0	3.0
<i>Drosophila melanogaster</i>	4	11.3	2.7
Куры	9	13.9	2.4
Млекопитающие	7	16.6	2.2

Ген амилазы у мыши



Псевдогены

Ген	Число генов	Число псевдогенов
ЧЕЛОВЕК		
Аргинино-сукцинат синтетаза	1	14
В-актин	1	20
В-тубулин	2	15-20
Cu/Zn супероксид-дисмутаза	1	4
Цитохром С	2	20-30
Дигидрофолат-редуктаза	1	5
Немускульный тропомиозин	1	3
Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	1	25
Фосфоглицерат-киназа (ген и ретроген)	2	1
Рибосомальный белок L32	1	20
Триозо-фосфат изомераза	1	5-6
МЫШЬ		
А-глобин	2	1
Цитокератин эндо-А	1	1
Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	1	200
Миозин (легкая цепь)	1	1
Проопиомеланокортин	1	1
Рибосомальный белок L7	1-2	20
Рибосомальный белок L30	1	15
Рибосомальный белок L32	1	16-20
Опухолевый антиген р53	1	1
КРЫСА		
А-тубулин	2	10-20
Цитохром С	1	20-30

Компактность генома эукариот

Степень компактизации ДНК неравномерна в отдельных генетических локусах.

Хроматин

```
graph TD; A[Хроматин] --> B[Эухроматин]; A --> C[Гетерохроматин]; C --> D[Факультативный]; C --> E[Конститутивный];
```

Эухроматин

Относительно невысокая степень компактизации.
Содержит активно экспрессирующиеся гены.

Гетерохроматин

Высокая степень компактизации.
В основном генетически инертен.

Факультативный

Конститутивный

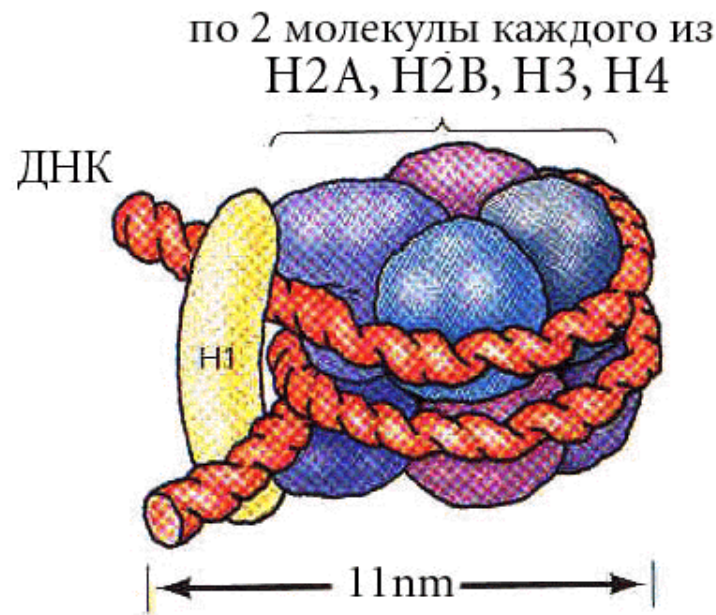
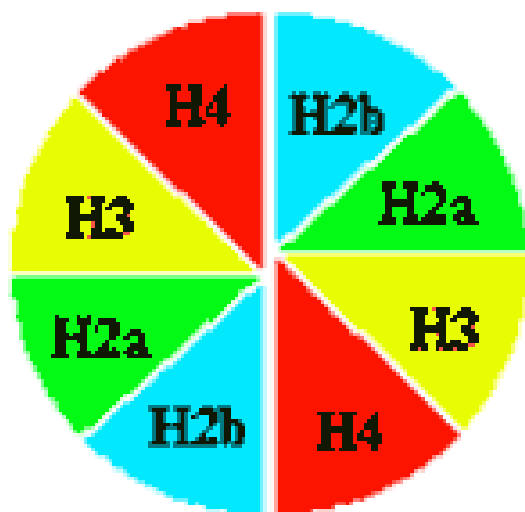
Гистоны

Фракция	Лизин	Аргинин	лиз./арг	осн.АК/кис.АК	Мол. вес (Да)
<i>H1</i> (очень богатая лизином)	29%	1%	>20	5.4	23000
<i>H2B</i> (умеренно богатая лизином)	16%	6%	~2.5	1.7	13774
<i>H2A</i> (умеренно богатая лизином и аргинином)	11%	9%	~1	1.4	13960
<i>H4</i> (богатая аргинином и глицином)	11%	14%	~0.8	2.5	11282
<i>H3</i> (очень богатая аргинином); в ней есть цистеин, а в других - нет	10%	13%	~0.7	1.8	15348

Уровни компактизации ДНК

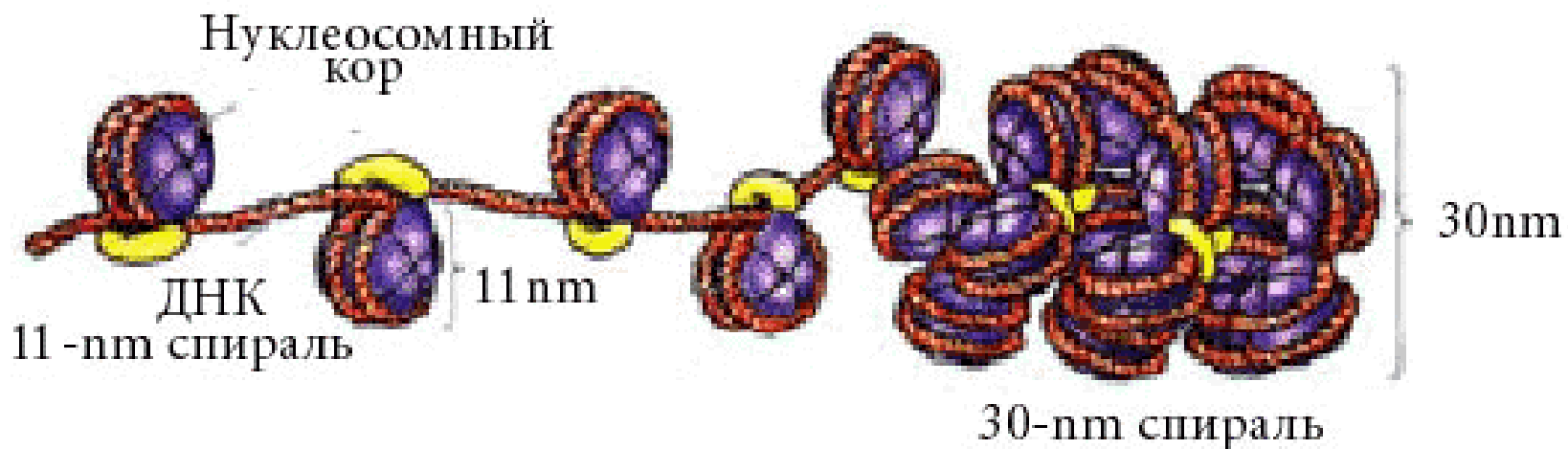
1. Нуклеосомный

В основе нуклеосомы лежит гистоновый октамер.

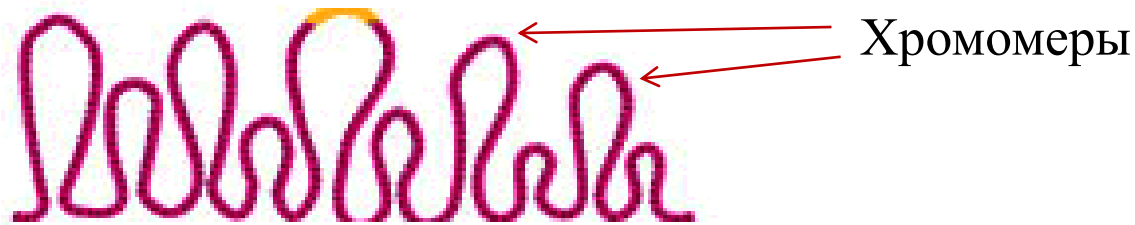


Нуклеосома

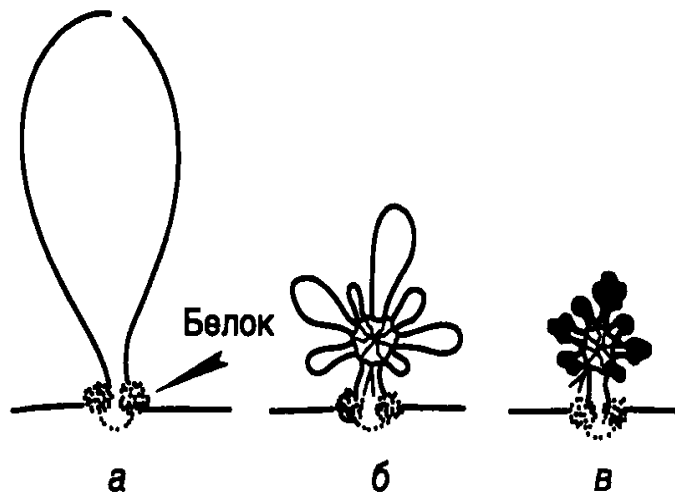
2. Супербидный, или соленоидный



3. Петельно-доменная структура



У основания хромомер расположены MAR/SAR-последовательности
 MAR (Matrix Associated Region)
 SAR (Scaffold Associated Region)



Схематическое изображение петельно-доменного уровня компактизации хроматина (Патрушев, 2000)

а – фиксация петли хромомера на ядерном матриксе с помощью MAR/SAR-последовательностей и белков;
 б – "розетки", образованные из петли хромомера;
 в – конденсация петель "розеток" с участием нуклеосом и нуклеомеров

Негистоновые белки хроматина

Белки с высокой подвижностью (high mobility group – HMG)

HMG 14/17	HMG 1/2	HMG I/Y
<p>Белки с молекулярной массой 10–12 кДа.</p> <p>На коровых частицах нуклеосом – по две молекулы HMG 14/17, которые соединяют между собой цепи ДНК двух соседних витков.</p> <p>Могут замещать гистон H1 в активно транскрибируемых генах.</p>	<p>Белки с молекулярной массой 25–30 кДа.</p> <p>Специфически связываются с одноцепочечными участками ДНК, а также с палиндромными последовательностями.</p>	<p>Взаимодействуют с АТ-богатыми участками ДНК.</p> <p>Предполагается, что они конкурируют с гистоном H1 <i>in vivo</i> за промоторы и области начала репликации ДНК</p>

4. Метафазная хромосома



Геномы органелл

Таблица 9.14. Геномный источник некоторых компонентов митохондрий¹⁾

Хромосомы (ядро)	Митохондрии
Ферменты + факторы репликации	
РНК-полимераза + факторы транскрипции	
Ферменты сплайсинга РНК (дрожжи)	Матуразы, участвующие в сплайсинге (дрожжи)
Рибосомные белки	Один рибосомный белок (дрожжи)
Аминоацил-тРНК-синтазы	тРНК
Факторы трансляции	рРНК
Субъединицы цитохром-оксидазы	Субъединицы цитохром-оксидазы
Субъединицы АТФазы	Субъединицы АТФазы
Субъединицы NADH-дегидрогеназы	Субъединицы NADH-дегидрогеназы

¹⁾ Распределение компонентов немного различается у разных организмов. Фермент дыхательной цепи NADH-дегидрогеназа известен также под названием комплекса I или NADH-убихинон оксидоредуктазы.

Геном вирусов

Геном вирусов, заключенный внутри вирионов, может быть представлен одноцепочечными или двухцепочечными ДНК или РНК.

