

Организация ГЕНОМОВ

Основные темы курса:

1. Геномика. Методы изучения генома
2. Геном прокариот
3. Ядерный геном эукариот:
 - организация хроматина
 - типы последовательностей в геноме
 - причины геномных перестроек
 - организация и экспрессия генов
4. Геномы органоидов – хлоропластов и митохондрий
5. Геномы вирусов
6. Эволюция геномов:
 - механизмы геномных перестроек
 - размер геномов
 - эволюция генов

Примерные темы рефератов:

1. Проект «Геном человека»
2. Эволюция хромосом млекопитающих
3. Эволюция хромосом растений
4. Подвижная ДНК
5. Геномные проекты по животным
6. Геномные проекты по растениям
7. Эпигенетические перестройки геномов

Основная литература:

1. Сингер М., Берг П. 1998. Гены и геномы. М: Мир.
2. Льюин Б. 2012. Гены. М.: Бином.
3. Патрушев Л.И. 2000. Экспрессия генов. М.: Наука.
4. Разин С. В., Быстрицкий А. А. 2009. Хроматин: упакованный геном. М.: Бином.

Определение генома

Термин "геном" был предложен Г. Винклером в 1920 г. для описания *совокупности генов, заключенных в гаплоидном наборе хромосом организмов одного биологического вида*

Геном включает всю совокупность молекул ДНК клетки (в случае ряда вирусов говорят о геномной РНК).

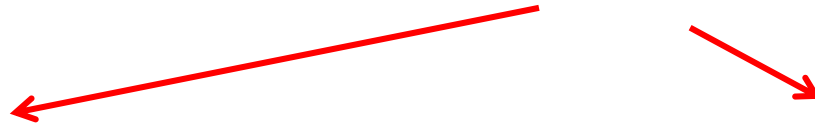
Средний размер гаплоидного генома у некоторых групп организмов

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>	$1,8 \times 10^{11}$

Геномика

1. Структурная геномика
2. Функциональная геномика
3. Сравнительная геномика
4. Эволюционная геномика
5. Медицинская геномика

Структурная организация генома является фундаментальным таксономическим признаком, лежащим в основе современной систематики живых организмов.



Эукариоты (ядерные)

- животные
- растения
- грибы
- протисты

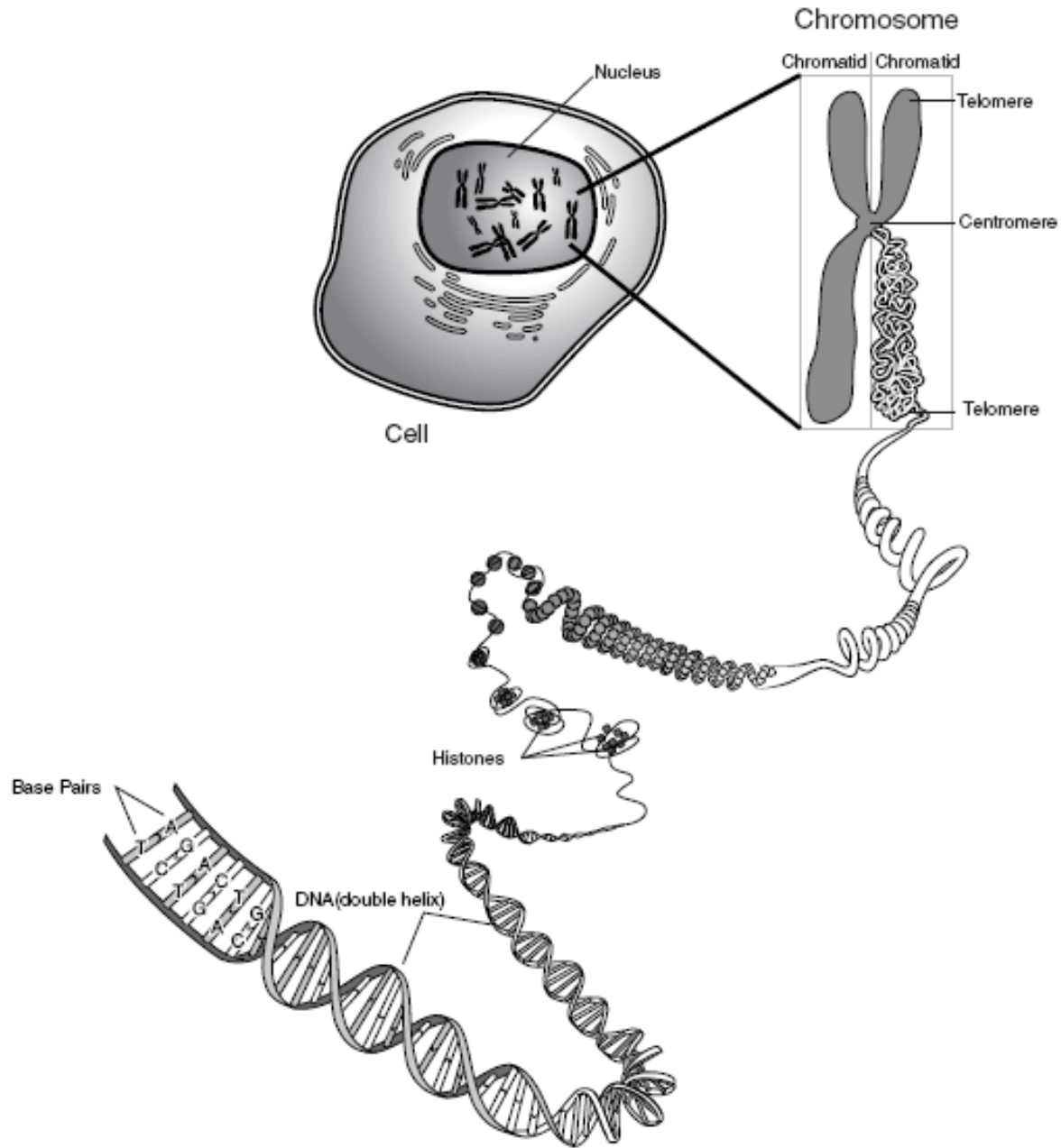
Прокариоты (доядерные)

- эубактерии
- сине-зеленые водоросли
- актиномицеты
- микоплазмы
- риккетсии

Вирусы

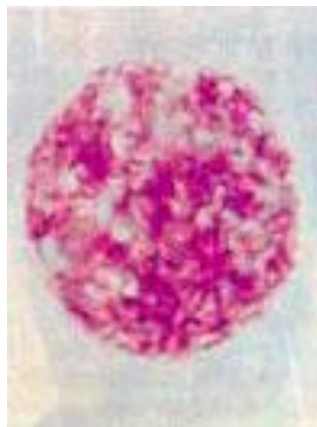
Геном эукариот

Геном эукариот



Хроматин

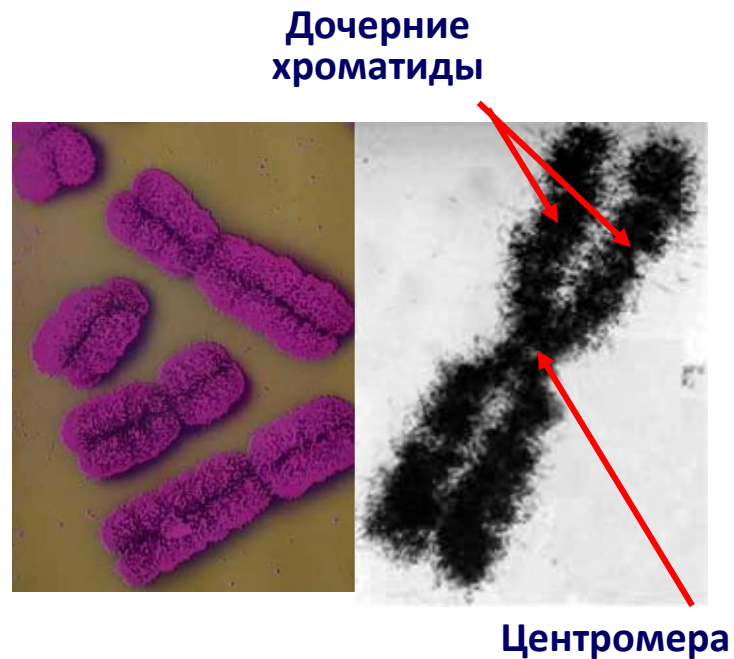
Хроматин – наследственное вещество эукариот.
Состоит из ДНК в комплексе с белками.



Ядро
интерфазной
клетки

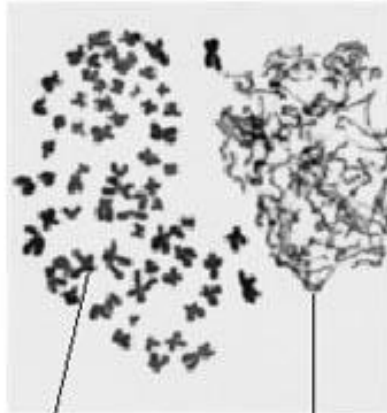


Ядро
делящейся
клетки



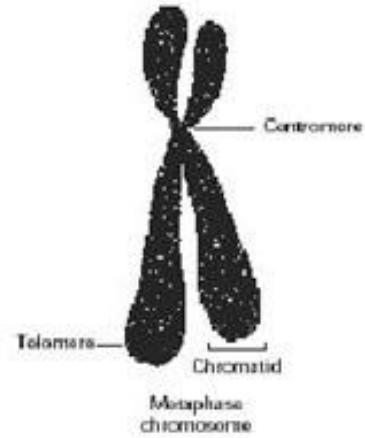
Строение хромосомы

Митотические хромосомы

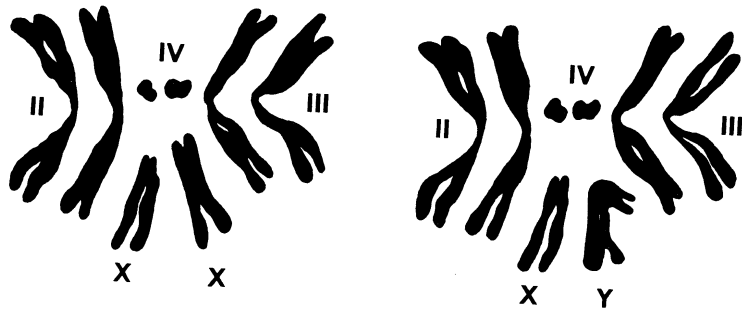


Митотическая
пластинка

G₁



Митотическая хромосома
состоит из двух хроматид



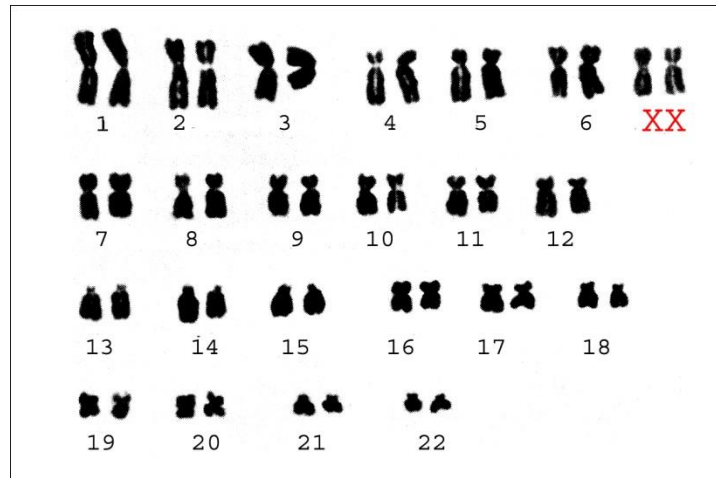
Дрозофила



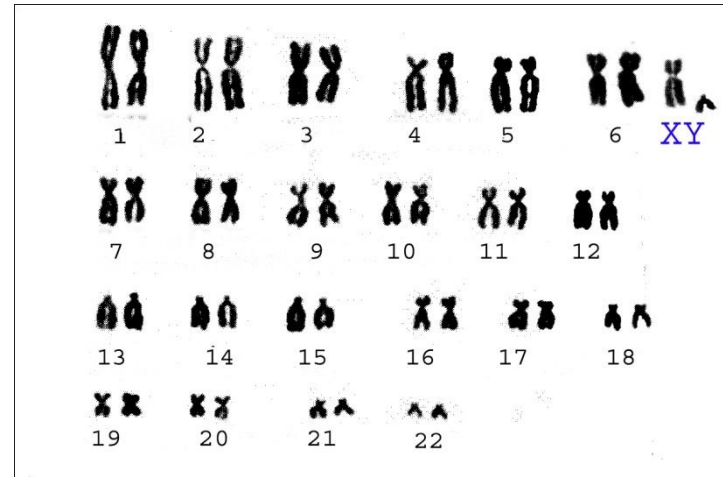
Человек

Кариотип

Кариотип – видоспецифичный набор хромосом.



Хромосомный набор женщины



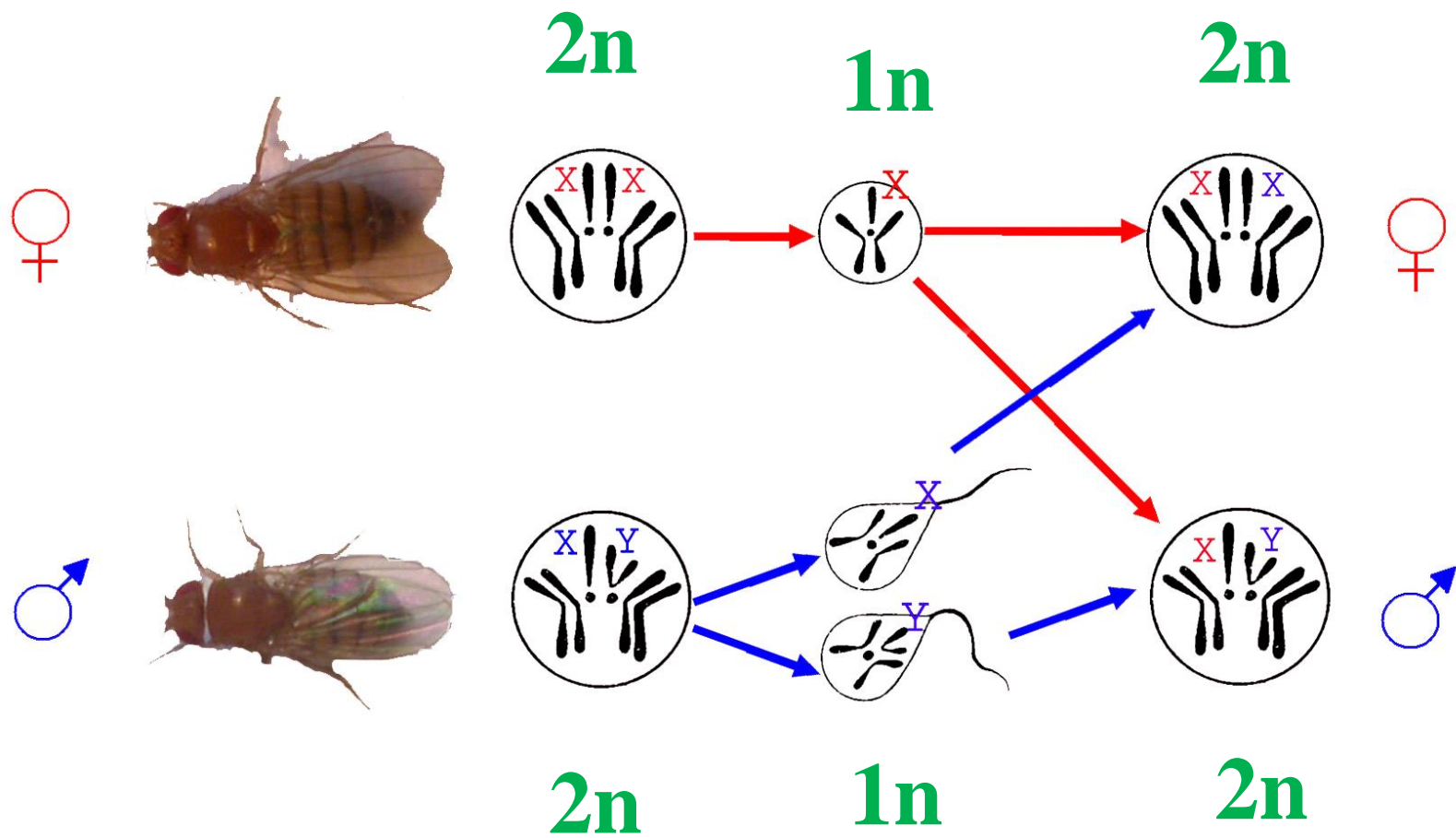
Хромосомный набор мужчины

Пример других кариотипов.

Гаплоидный и диплоидный наборы хромосом

Г
Е
Н
О
М

Э
У
К
А
Р
И
О
Т



Геном эукариот

Свойства:

- Избыточность
- Компактность
- Экзон-интронная организация генов
- Сложные механизмы регуляции активности генов
- Наличие эпигенетических перестроек

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),

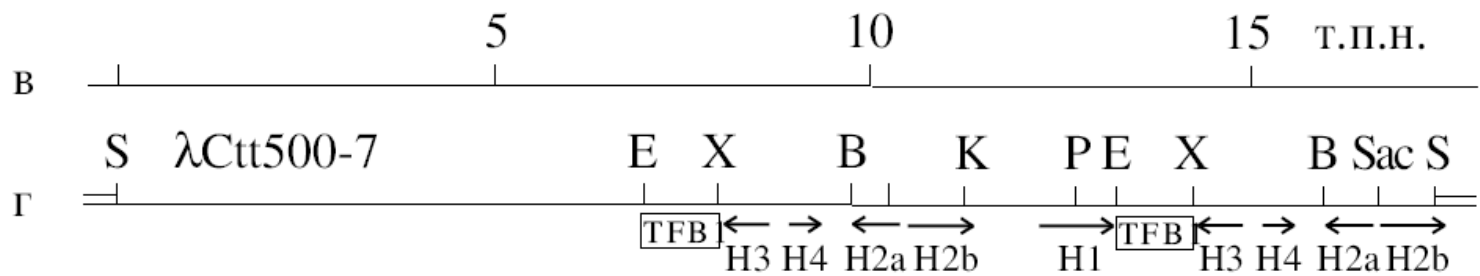
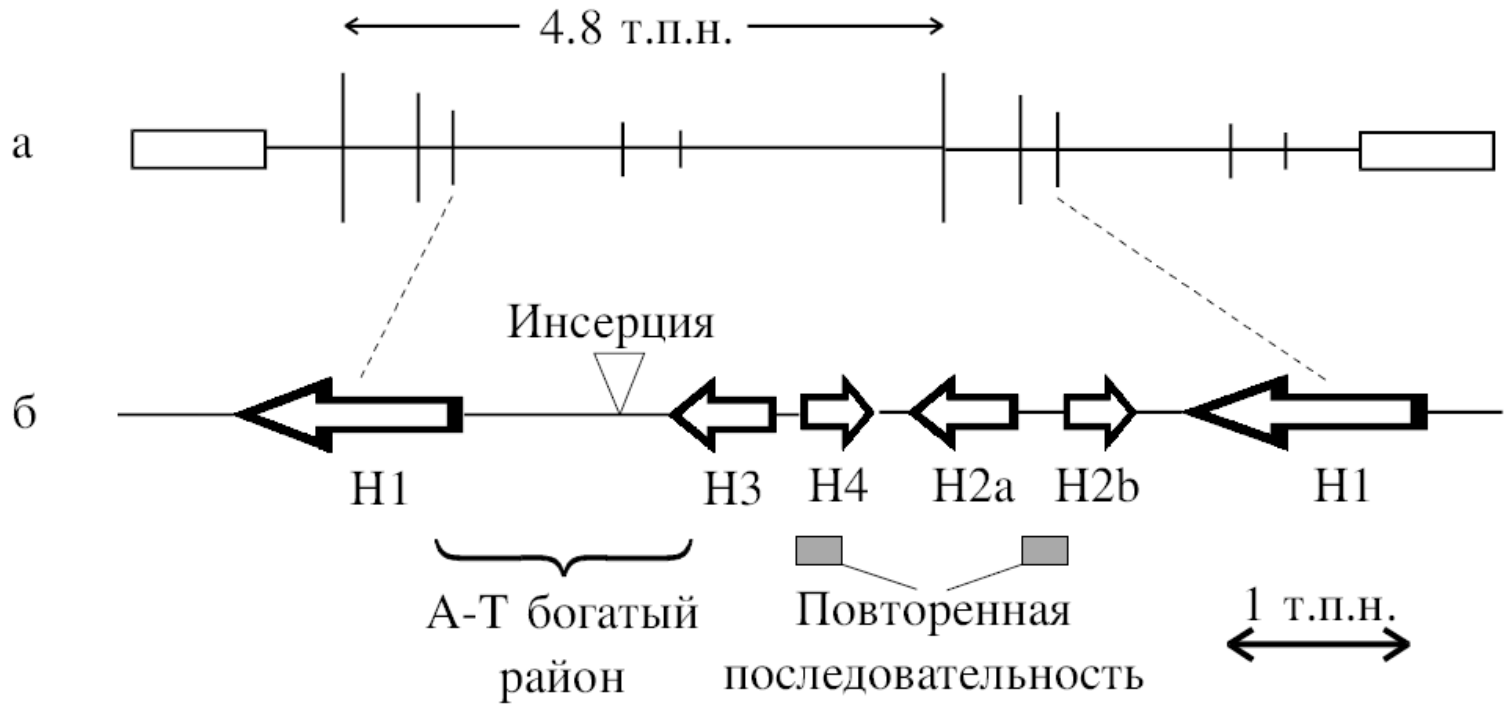
Частота встречаемости на гаплоидный геном больше 10, но меньше 10^5 .

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.

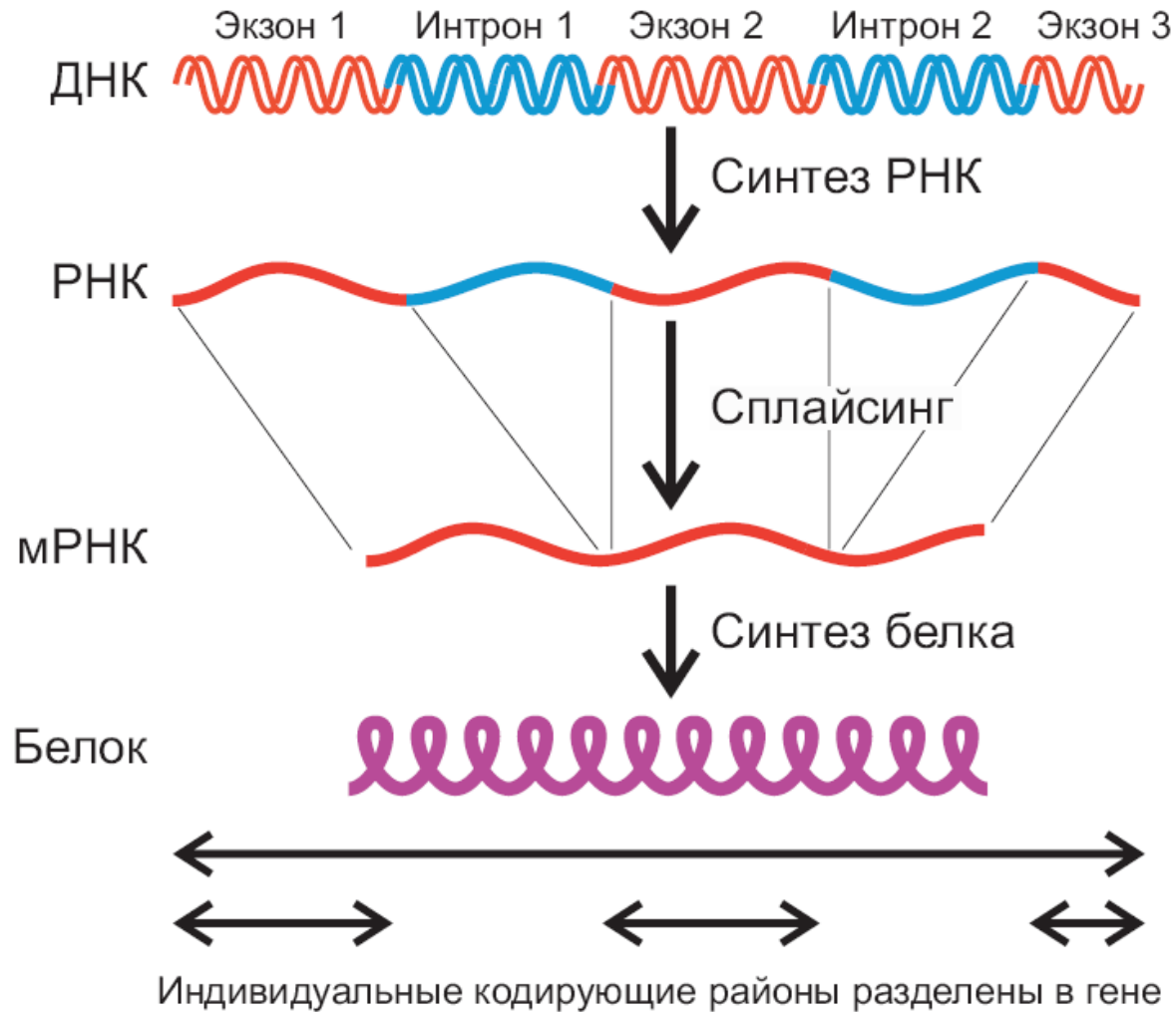
Проявления избыточности генома эукариот

- высокая насыщенность повторами
- экзон-интронная структура генов
- низкая плотность белок-кодирующих последовательностей

Экзон-интронная организация генов эукариот

- 1. Мозаичные гены** эукариот имеют больший размер, чем последовательность нуклеотидов, представленная в мРНК (3-5%).
- 2. Мозаичные гены** состоят из **экзонов и интронов**. Интроны удаляются из первичного транскрипта и отсутствуют в зрелой мРНК, которая состоит только из экзонов. Число и размеры интронов и экзонов индивидуальны для каждого гена, но интроны по размерам значительно больше экзонов.
- 3. Ген начинается экзonom и заканчивается экзonom**, но внутри гена может быть любой набор интронов (гены глобина имеют 3 экзона и 2 интрона). Экзоны и интроны обозначаются цифрами или буквами в порядке их расположения вдоль гена.
- 4. Порядок расположения экзонов в гене совпадает с их расположением в мРНК.**
- 5. На границе экзон-интрон** имеется определённая постоянная последовательность нуклеотидов (ГТ - АГ), присутствующая во всех мозаичных генах.
- 6. Экзон одного гена может быть интроном другого.**
- 7. В мозаичном гене** иногда нет однозначного соответствия между геном и кодируемым им белком, то есть одна и та же последовательность ДНК может принимать участие в синтезе различных вариантов белка.

Экзон-интронная организация генов эукариот

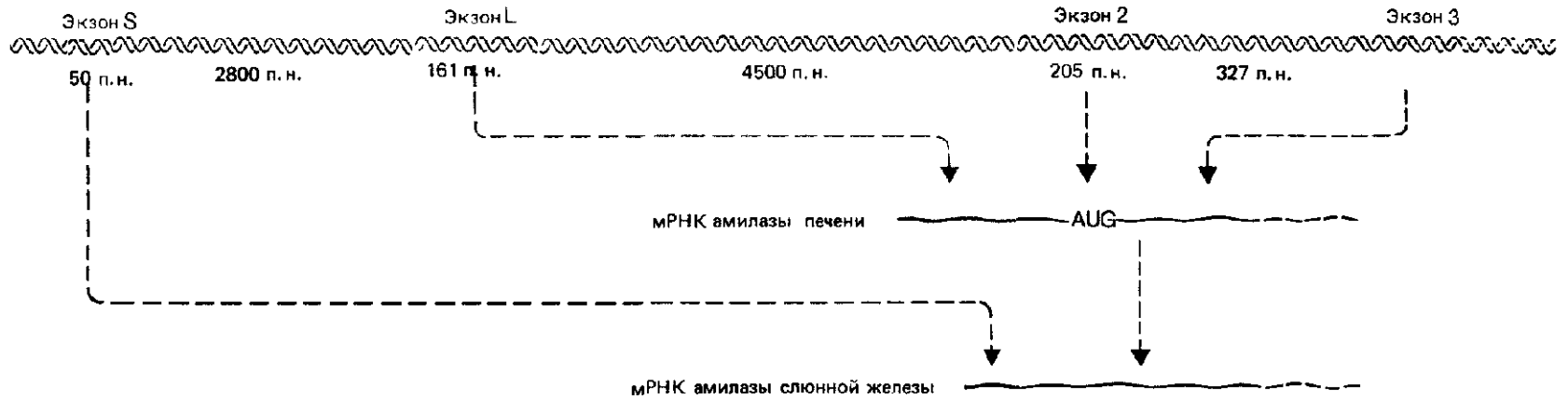


Процесс передачи информации от ДНК до белка

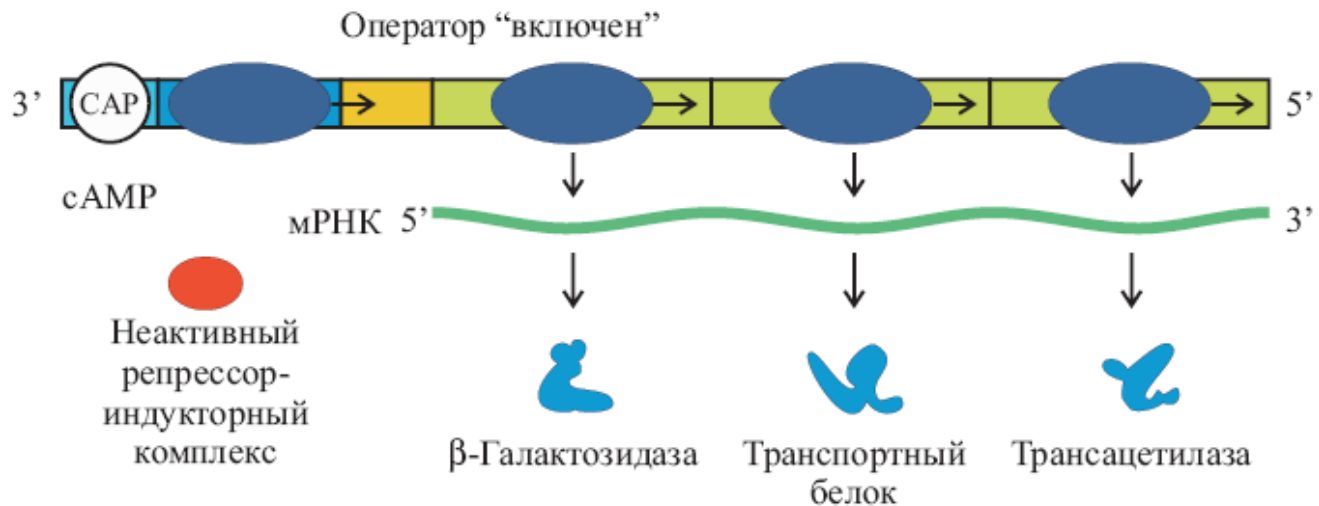
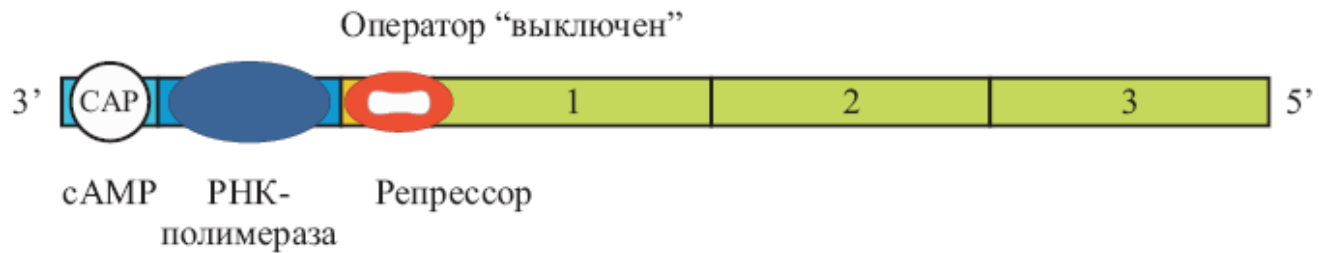
Соотношение длины гена и мРНК в зависимости от числа экзонов

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



Наличие ближних и дальних регуляторных элементов



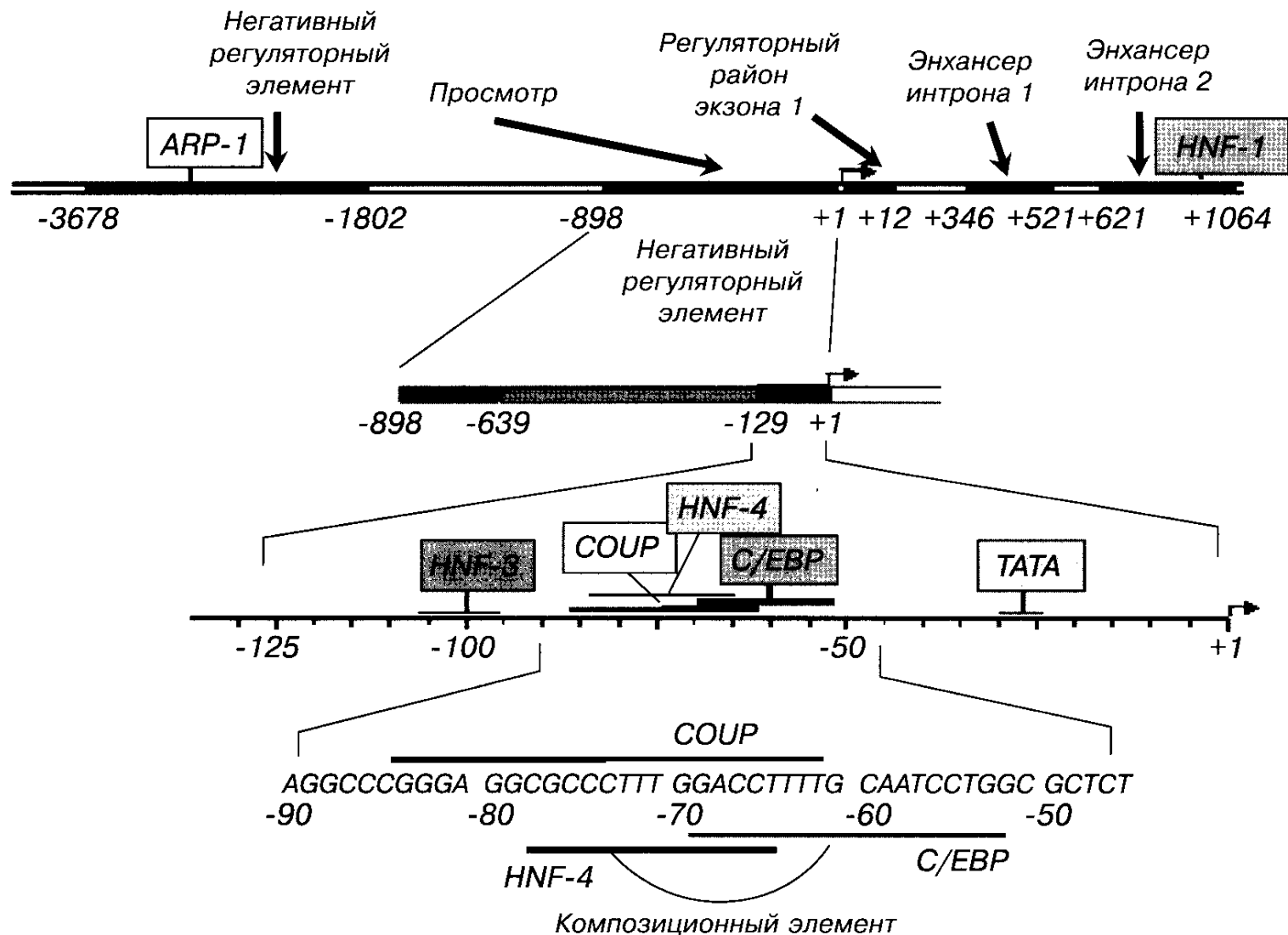


Рис. 2. Фрагмент иерархически организованного РР гена апо-липопротеина В [68].

Ген апо-липопротеина В содержит множество регуляторных элементов, которые могут находиться на большом расстоянии от старта транскрипции, а также в интронах и 3'-фланкирующем районе гена

Генные сети

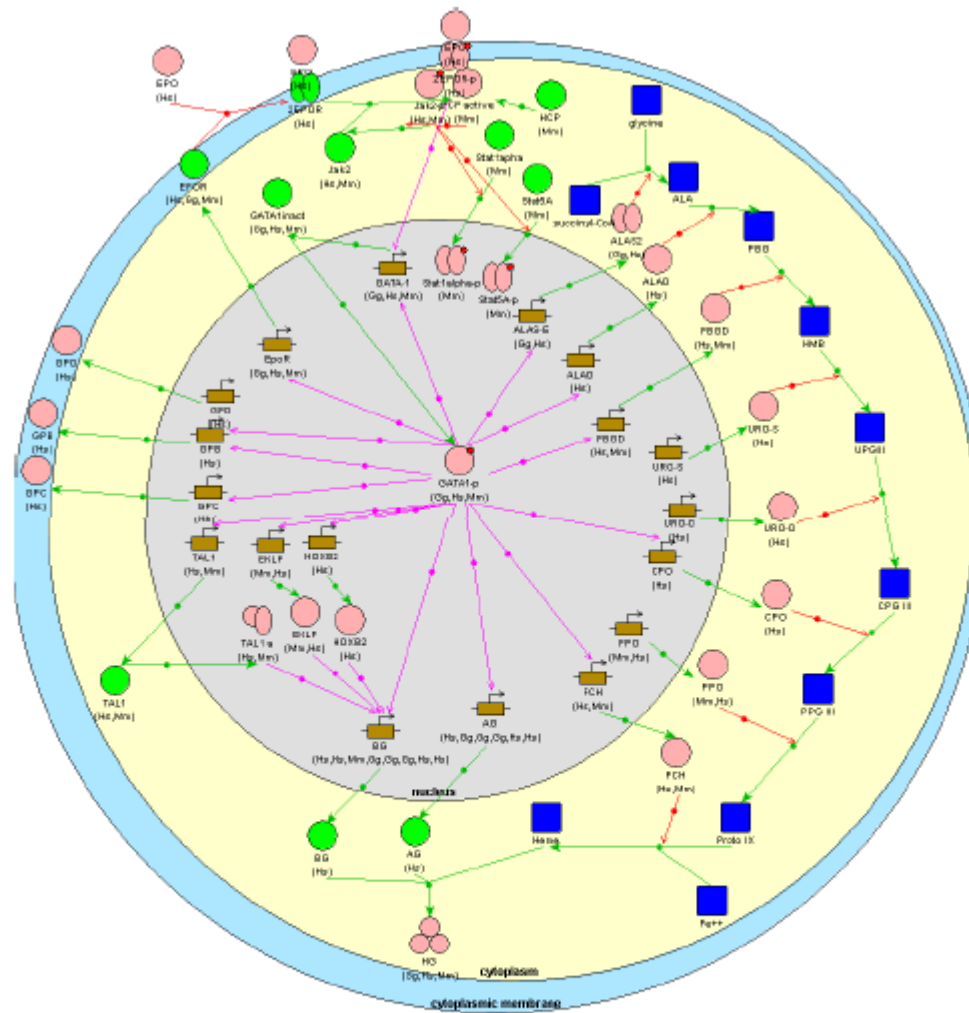


Рис. 5. Генная сеть, регулирующая дифференцировку эритроцитов.
 ● - активные белки, ● - неактивные белки, ■ - низкомолекулярные соединения,
 □ - гены, → - реакции, → - положительные регуляторные воздействия.

Под генной сетью понимается совокупность координированно экспрессирующихся генов, их белковых продуктов и взаимосвязей между ними.

Важным моментом в функционировании генной сети является ее связь с внешней средой, в том числе и с другими генными сетями.

Компоненты генной сети:

- 1) группы координированно экспрессирующихся генов (ядро сети);
- 2) белки, кодируемые этими генами (выполняющие как определенные структурные, транспортные, биохимические, так и регуляторные функции);
- 3) отрицательные и положительные обратные связи, стабилизирующие параметры генной сети на определенном уровне или, напротив, отклоняющие их от исходного значения;
- 4) низкомолекулярные соединения (метаболиты и др.) и различные внешние сигналы, обеспечивающие переключение состояний генной сети.

Классификация генных сетей:

Анализ информации из базы данных **GeneNet**, а также из имеющихся литературных данных позволяет выделить несколько основных типов генных сетей.

1. Генные сети, обеспечивающие осуществление циклических процессов, например, клеточного цикла, цикла сокращения сердечной мышцы и т.д.
2. Генные сети, обеспечивающие процессы роста и дифференцировки клеток, морфогенеза тканей и органов, роста и развития организмов.
3. Генные сети, обеспечивающие гомеостаз биохимических и физиологических параметров организма.
4. Генные сети, обеспечивающие реакции организмов на изменение состояния внешней среды, например, стрессовый ответ.

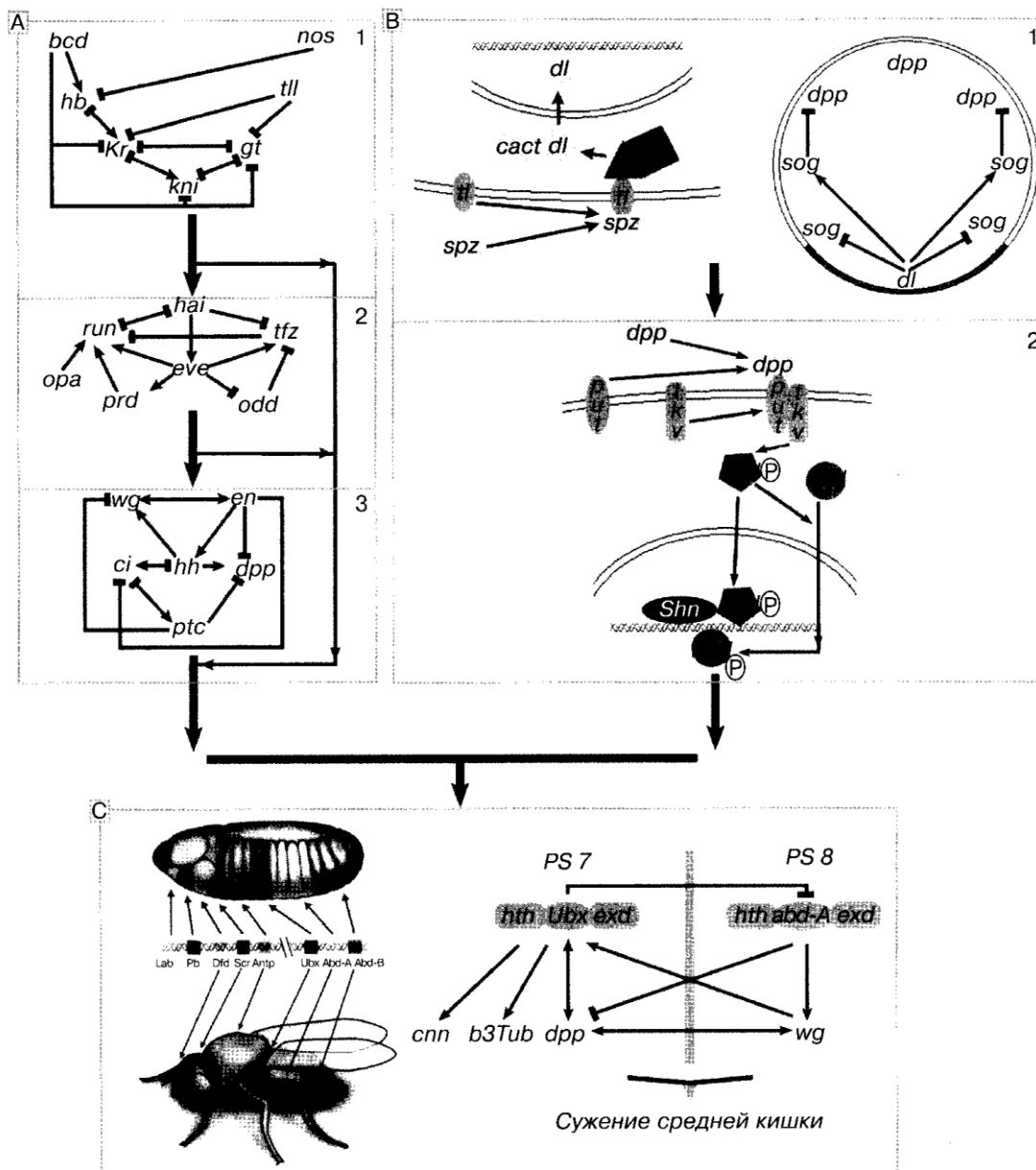


Рис. 3. Общая схема генной сети раннего эмбриогенеза *Drosophila melanogaster* (см. текст).

А. Подсеть установления антерио-постериорной оси тела и ее спецификации. В. Подсеть установления и спецификации дорзовентральной оси. С. Подсеть морфофункциональной спецификации сегментов тела регулируемая компонентами вышеназванных подсетей (см. А. и В.). На рис. представлена схема генной сети спецификации висцеральной мезодермы 7-го и 8-го парасегментов (PS)

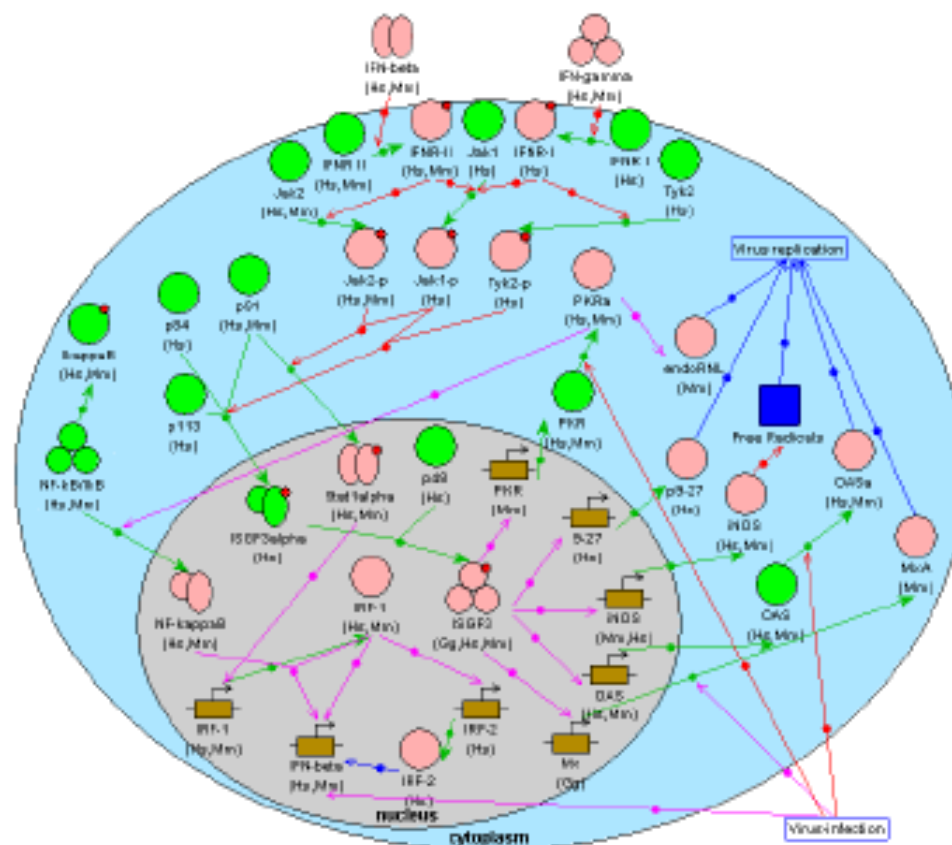


Рис. 10. Генная сеть, регулирующая противовирусный ответ.

- ● – белки (зеленые – неактивные, розовые – активные),
- – низкомолекулярные соединения, □ → – гены,
- (зеленый) – реакции,
- (розовый) – положительные регуляторные эффекты,
- (синий) – ингибирующие эффекты.

Роль генов *Drosophila melanogaster* в различных биологических процессах [118]

Ген	Роль гена	
	В индивидуальном развитии	В иных процессах
run	Ранний эмбриогенез, развитие центральной нервной системы, развитие периферической нервной системы	Определение пола
dl	Определение дорзовентральной оси тела, развитие эктодермы, миграция клеток зародышевого пути, развитие эмбрионального сердца, развитие мезодермы, развитие центральной нервной системы	Иммунный ответ, функционирование жирового тела личинки
Tl	Определение дорзовентральной оси тела, развитие мускулатуры	Иммунный ответ
Kr	Ранний эмбриогенез, развитие Мальпигиевых трубок, развитие эмбриональной мышечной системы, развитие центральной нервной системы, развитие амниосерозы, развитие глаза	
sgg	Детерминация сегментной полярности, морфогенез щетинок, развитие сердца, морфогенез крыла	Циркадный ритм
ci	Ранний эмбриогенез, развитие имагинальных дисков, развитие аксонов сетчатки, развитие фолликулярных клеток	Клеточный цикл
Amph	Развитие глаза	Эндоцитоз синаптических пузырьков, регуляция мышечных сокращений
dsh	Развитие женских гонад, овогенез, развитие крыла	Движение клеток



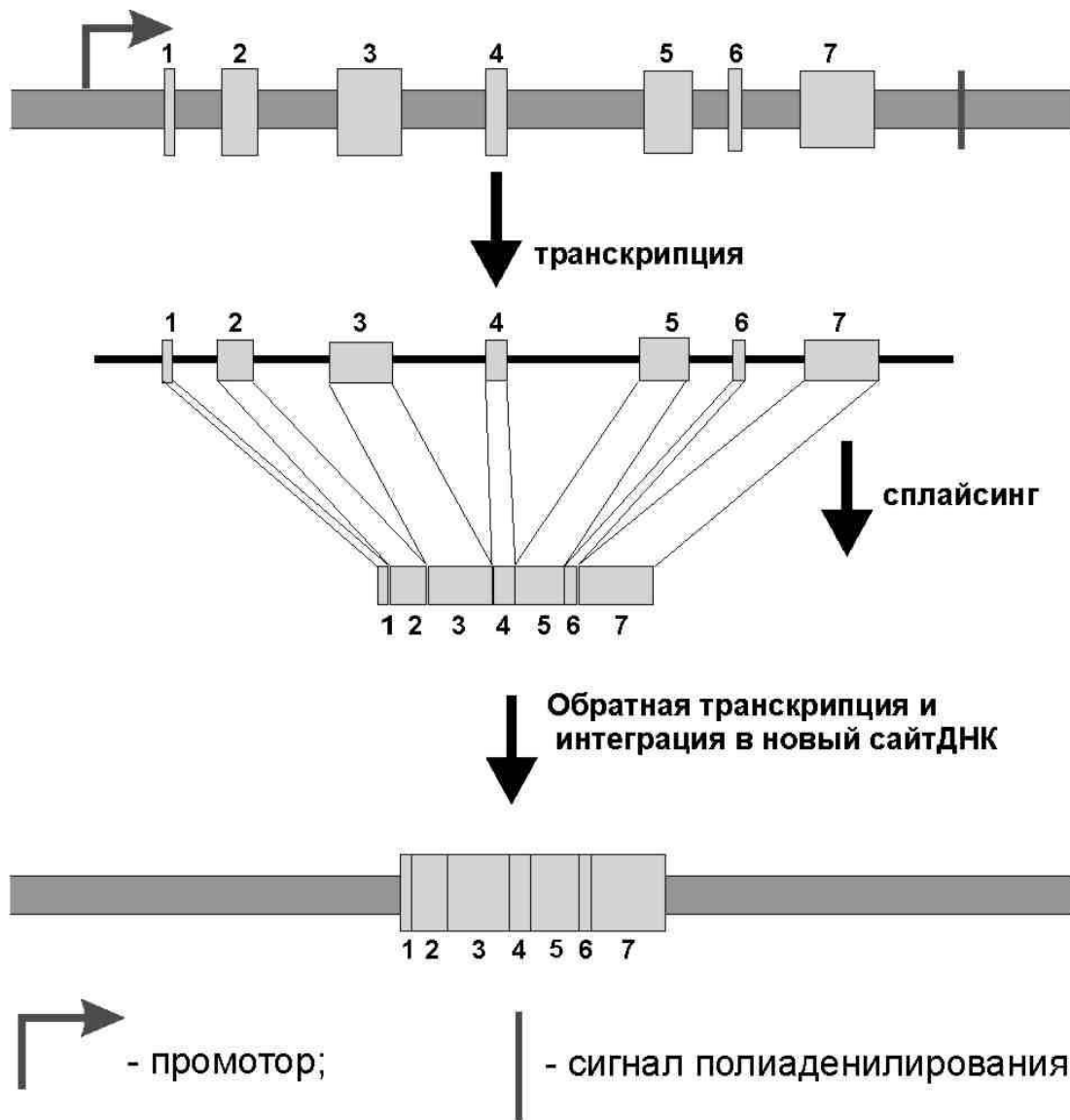
Псевдогены

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

Псевдогены – последовательности, сходные с обычными структурными генами, но, как правило, не экспрессирующиеся с образованием функционально активных полипептидов.

Один из основных механизмов образования псевдогенов – интеграция в геном копий ДНК, комплементарных зрелой молекуле мРНК, возникающих в результате ее обратной транскрипции, т.е. образование процессированных псевдогенов.

Также псевдогены могут образовываться вследствие дупликаций генов с последующей инактивацией копий мутациями.



Цифрами 1-7 обозначены экзоны.

Рис.1.6.5. Схема образования псевдогенов.

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

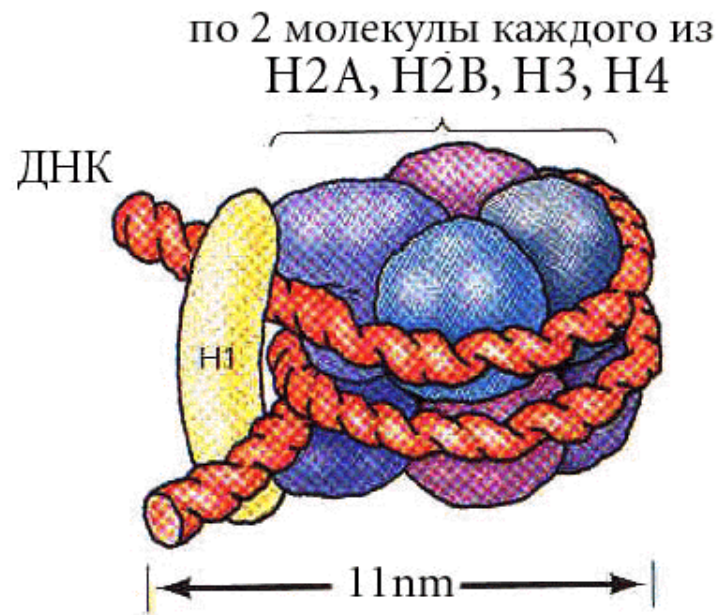
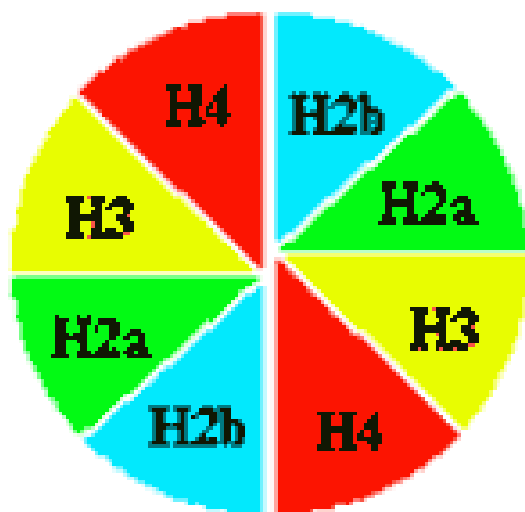
Гистоны

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

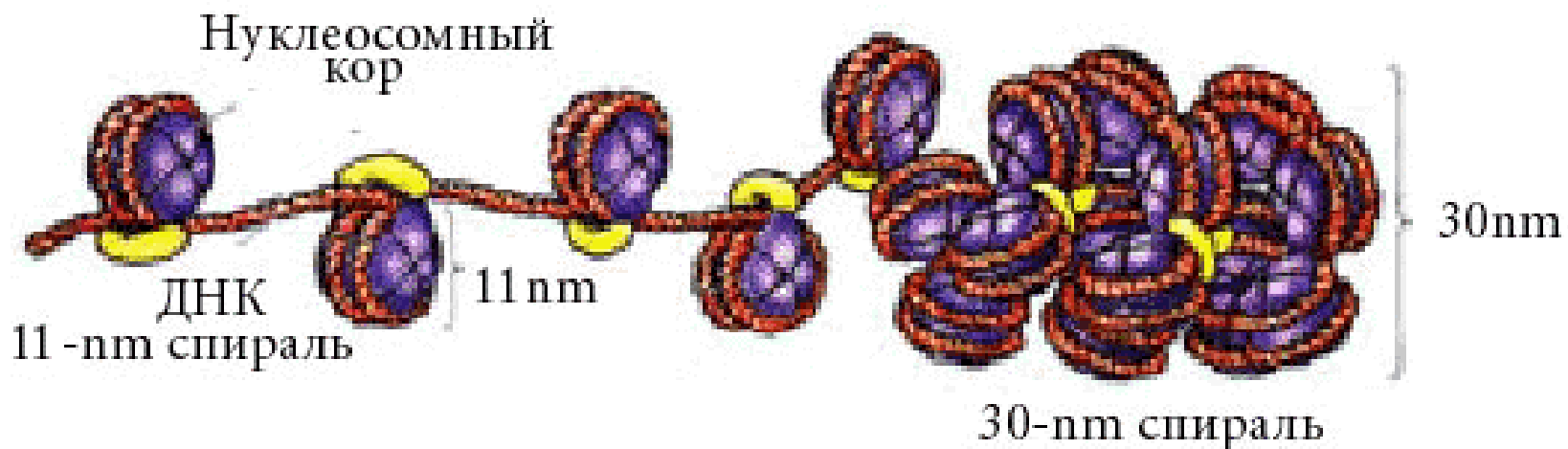
1. Нуклеосомный

В основе нуклеосомы лежит гистоновый октамер.

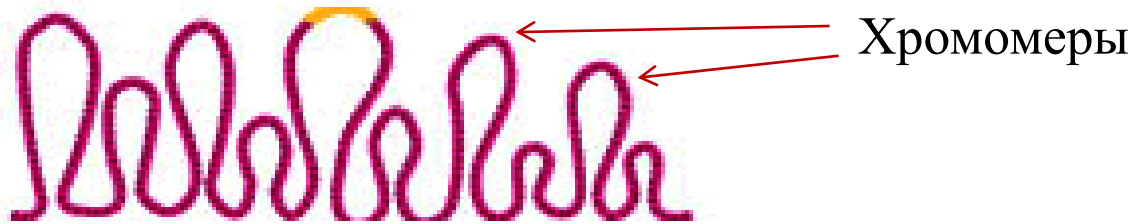


Нуклеосома

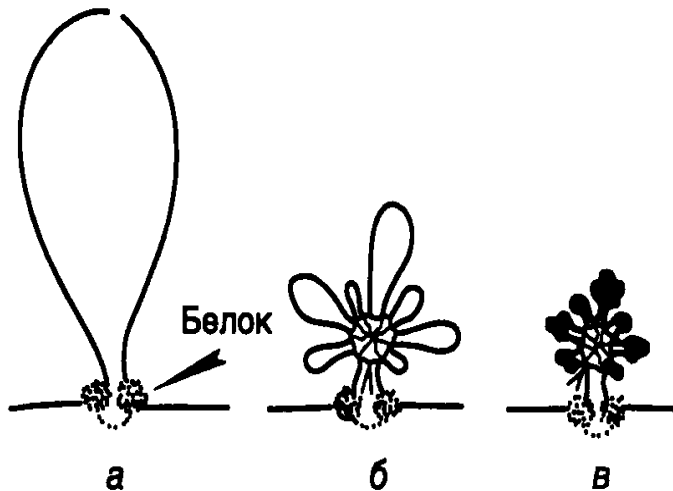
2. Супербидный, или соленоидный



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

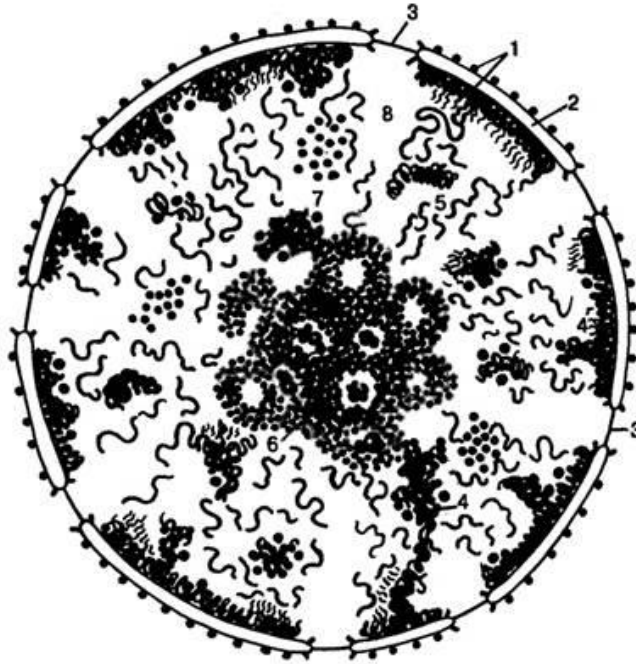
Белки с высокой подвижностью (high mobility group – HMG)

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

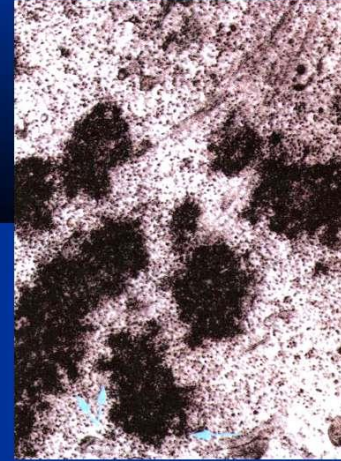


Интерфазные хромосомы в ядре

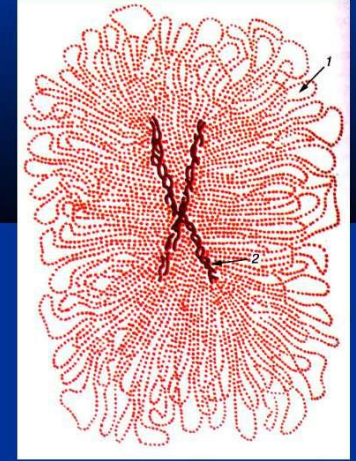


Строение интерфазного ядра (схема).

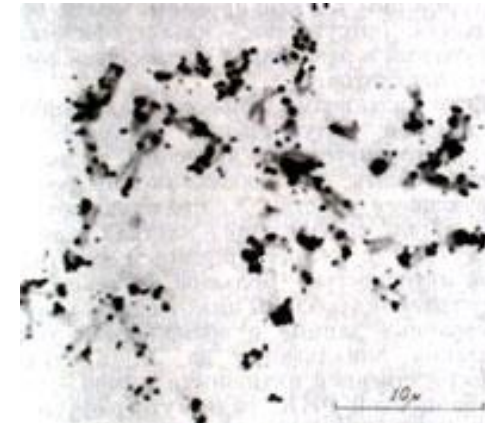
1 — ядерная оболочка с наружной и внутренней мембранами; 2 — перинуклеарное пространство; 3 — комплекс пор; 4 — конденсированный хроматин; 5 — диффузный хроматин; 6 — ядрышко (гранулярная и фибриллярная части); 7 — межхроматиновые гранулы РНК; 8 — кариоплазма (по Ю. С. Ченцову, 1984).



Глыбки хроматина в интерфазном ядре



1. Нить ДНК в виде хроматина.
2. Она же в виде хромосомы при делении клетки



Признаки функциональной компартментализации ядра эукариот

1. Эффект положения
2. Локализация теломерных участков вблизи ядерной оболочки
Белки Sir3 и Sir4 (silent information regulators)
3. Активно экспрессирующиеся гены локализуются преимущественно во внутренних частях интерфазных ядер
4. Отдельные хромосомы занимают внутри ядра дискретные, хотя и обширные, территории.
5. Ядрышковый организатор
6. Пространственная организация синтеза мРНК

Функциональная компартиментализация ядра

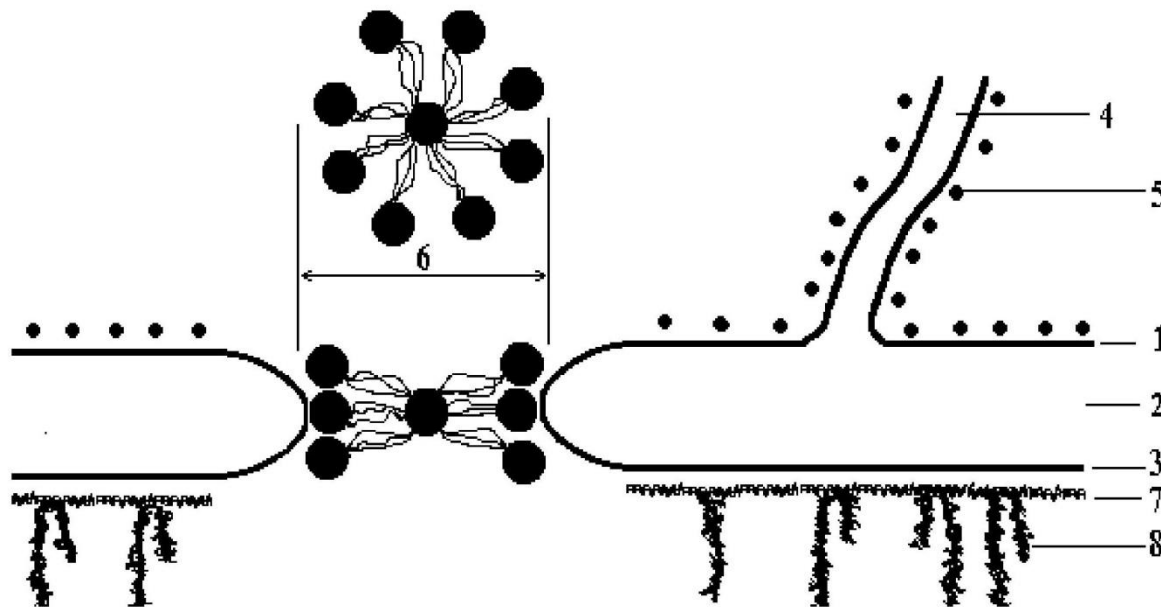
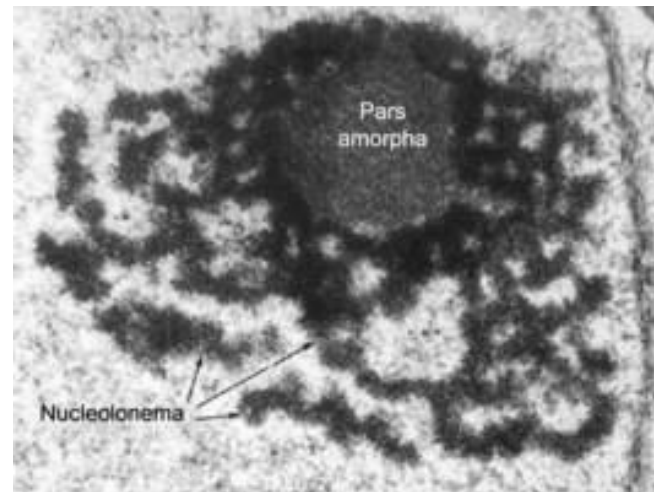
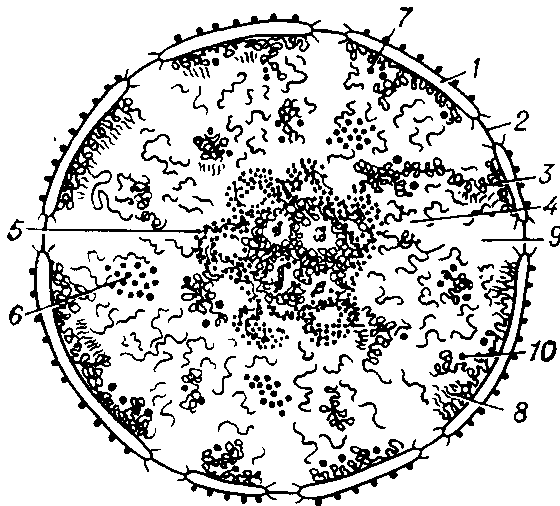
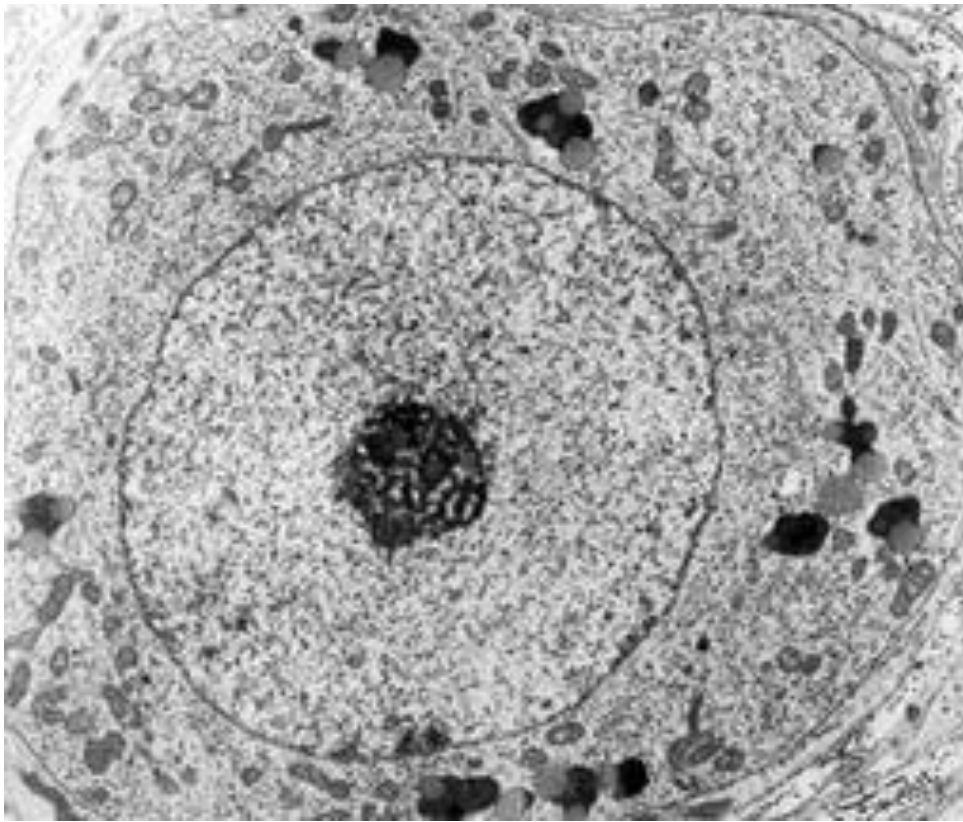


Рис. 8. Строение
поверхностного аппарата
ядра.

- 1 - наружная мембрана;
- 2 - перинуклеарное пространство;
- 3 - внутренняя мембрана;
- 4 - гранулярная ЭПС;
- 5 - рибосомы;
- 6 - поровый комплекс;
- 7 - ламина;
- 8 - хроматин.

Ядрышко

Морфологически в ядрышке различают три основные зоны: фибриллярный центр (1), окруженный плотной фибриллярной (2) и гранулярной (3) областями



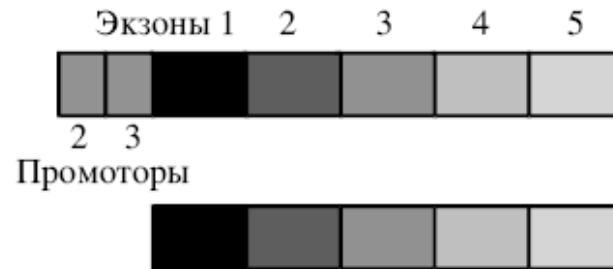
Пространственная организация синтеза мРНК

1. Аппарат транскрипции, участвующий в синтезе пре-мРНК, ассоциирован с **перихроматиновыми фибриллами**, обнаруживаемыми на границах доменов конденсированного хроматина.
2. Места синтеза специфических транскриптов такие РНК были обнаружены в виде "треков" или более компактных "точек" в одном или двух дискретных участках ядра.
3. Треки РНК тесно ассоциированы с дискретными внутриядерными структурами, называемыми **межхроматиновыми гранулами, или спеклами**. Спеклы представляют собой микрокомпартменты, в которых происходит процессинг РНК наиболее активно транскрибируемых генов.
4. Во время внутриядерного транспорта молекулы РНК объединяются с другими белками, участвующими в их процессинге, образуя **гетерогенные ядерные рибонуклеопротеиновые комплексы (гяРНП)**, в которых пространственная структура пре-мРНК оптимизирована для ее созревания.

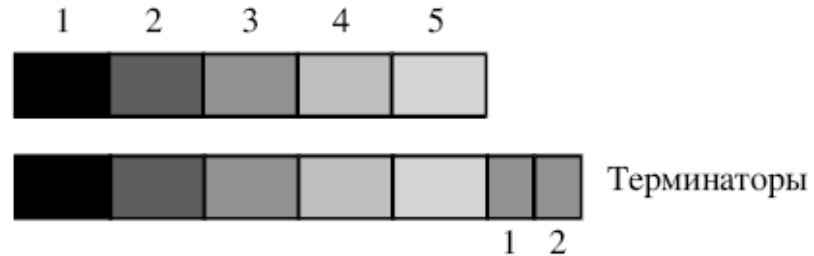
Схема возможных вариантов альтернативного сплайсинга



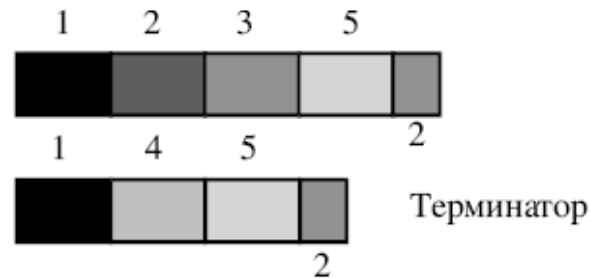
Использование альтернативных промоторов

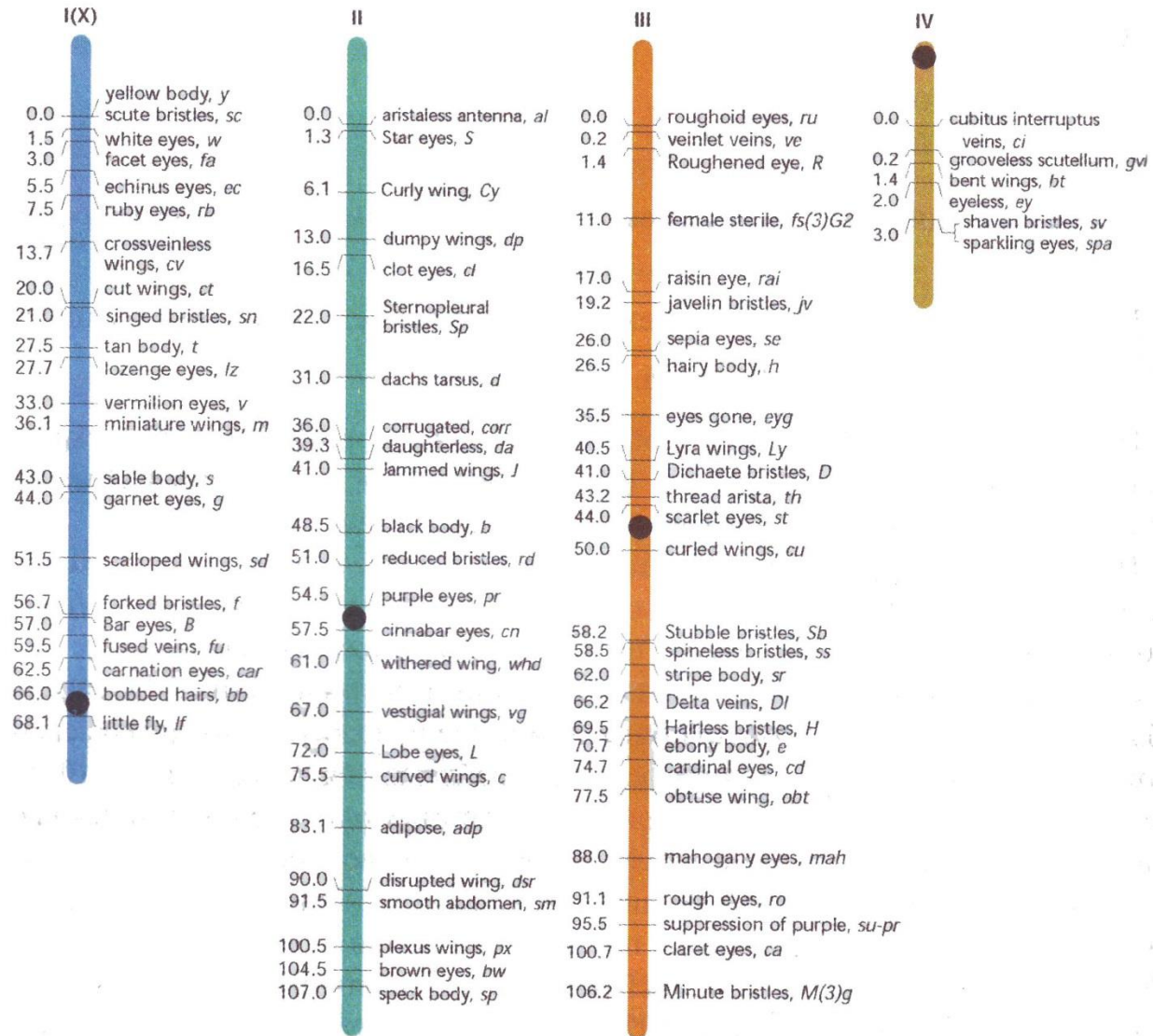


Использование альтернативных терминаторов



Альтернативный сплайсинг





Генетическая карта четырех хромосом *Drosophila melanogaster*. Кругом показано положение центromеры.