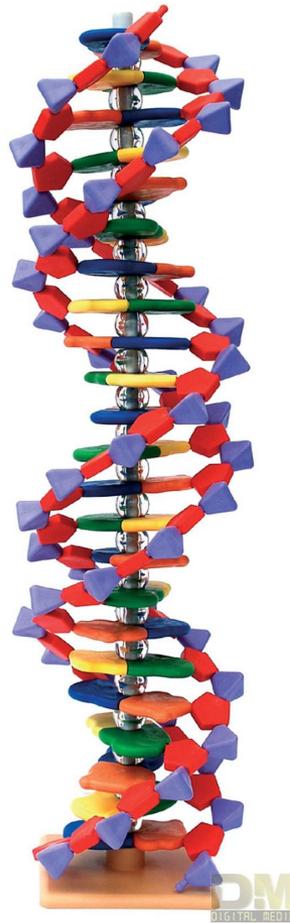
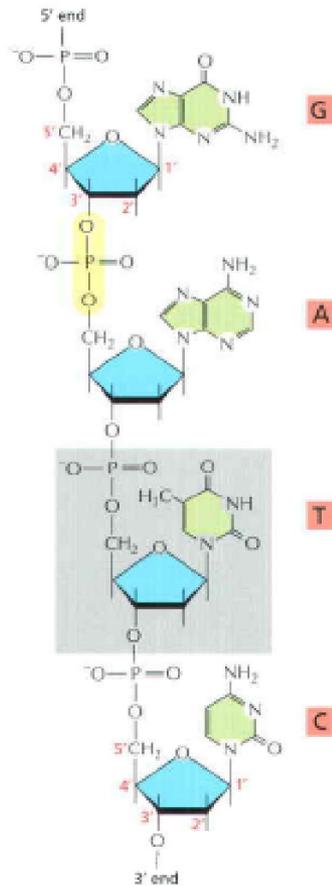


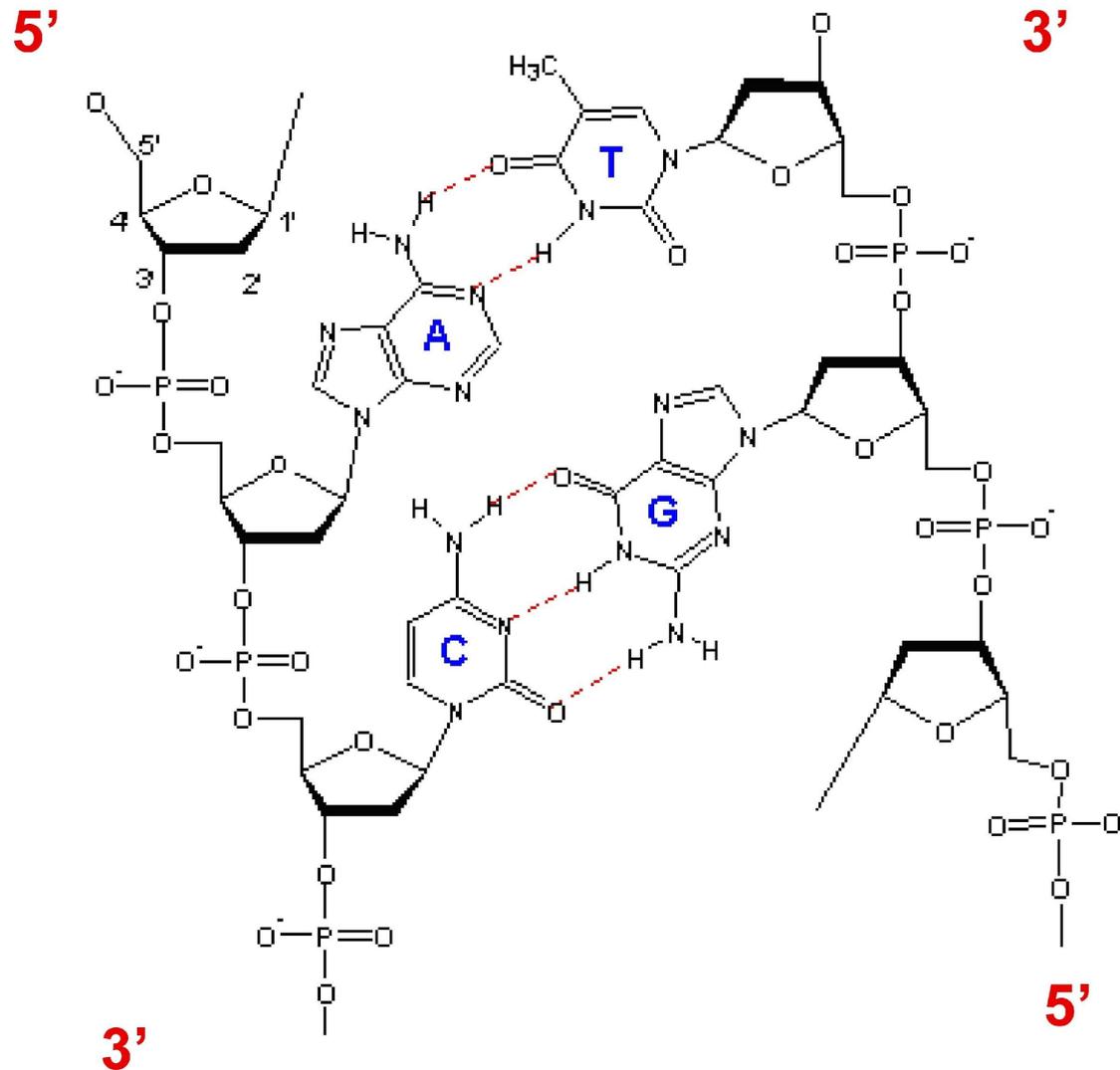
Пространственная модель ДНК



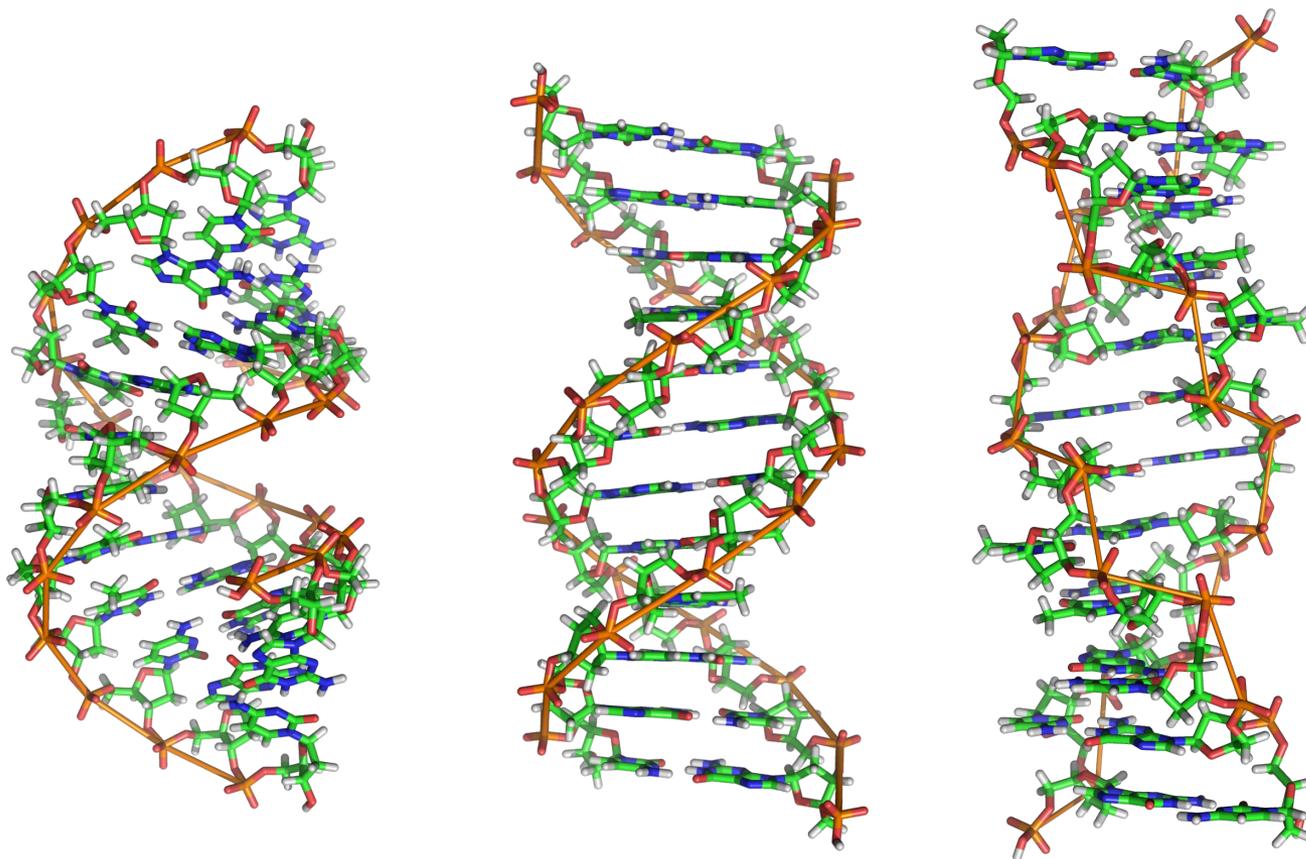
Сахорофосфатные связи в цепи ДНК



Взаимодействие между цепями ДНК



Три конформации ДНК – А, В, Z

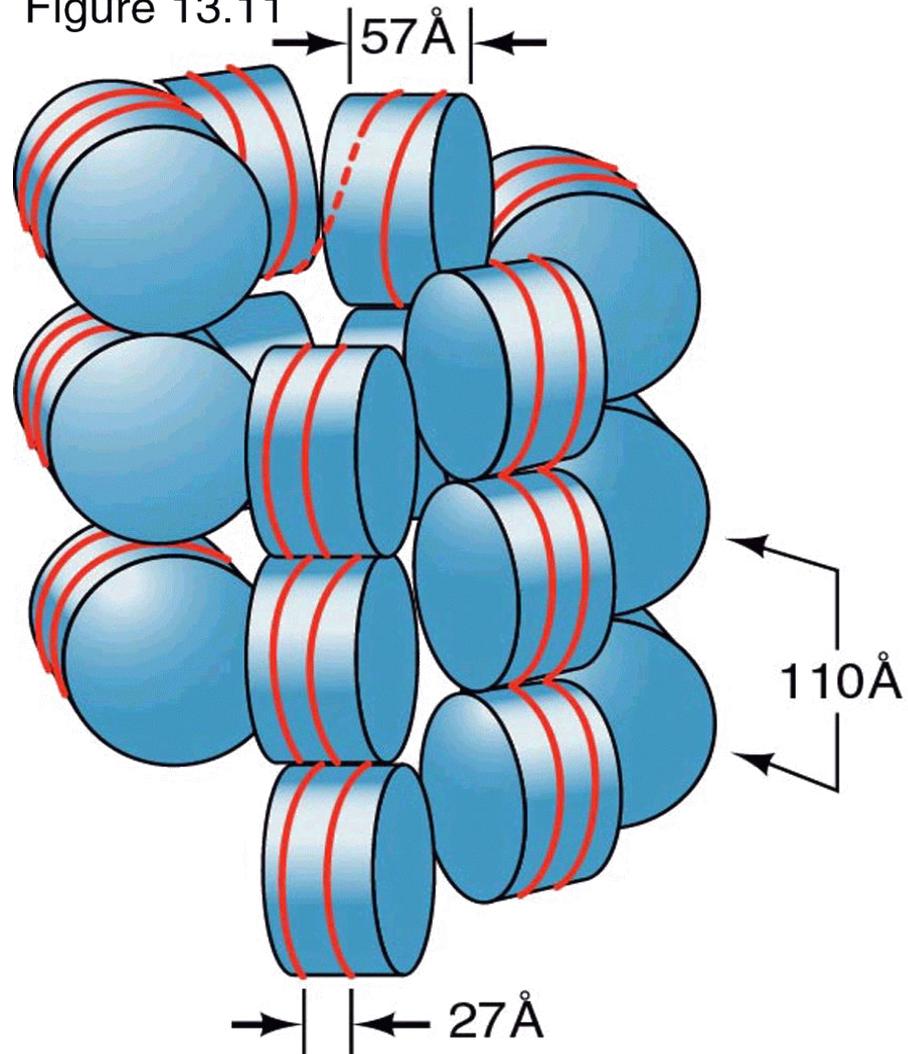


Конформации ДНК	A	B	Z
Тип спирали	правая	правая	левая
Количество оснований на 1 поворот спирали	11	10,5	12
Шаг спирали	28.2 Å	33.2 Å	45.6 Å
Диаметр	23 Å	20 Å	18 Å

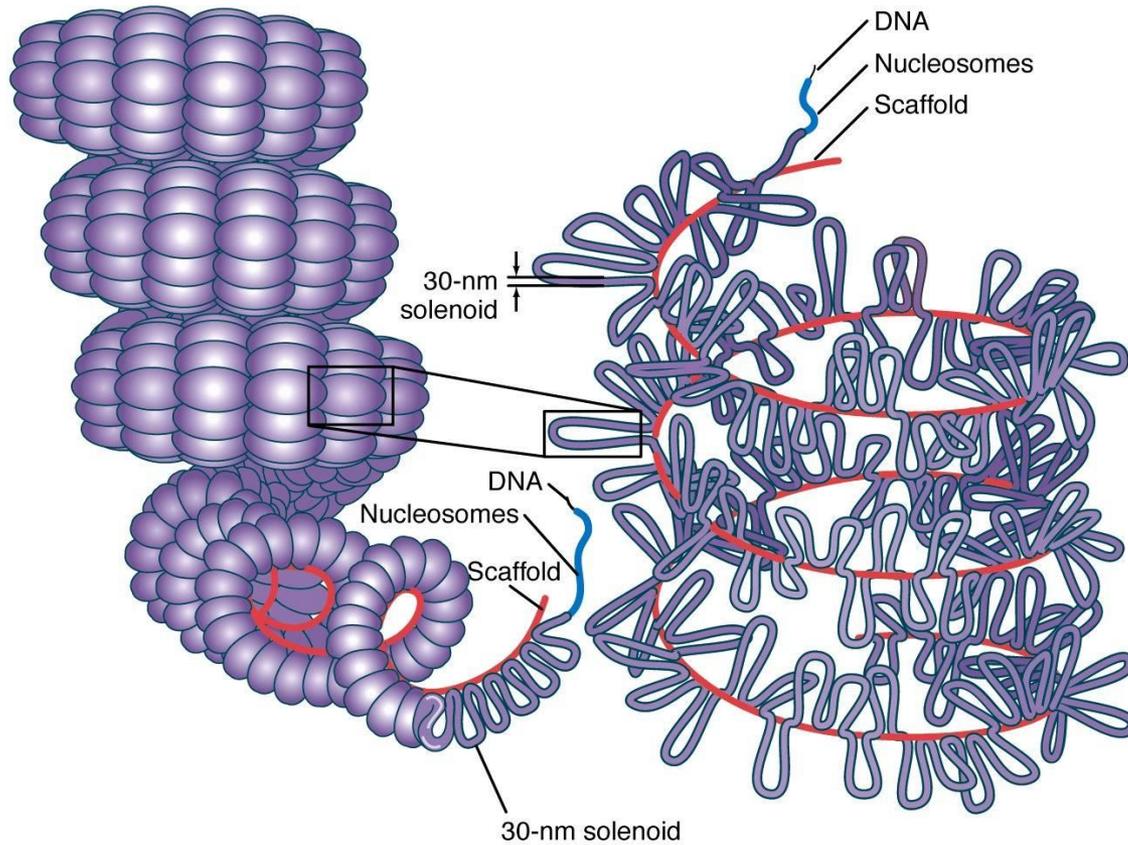
Нуклеосомы

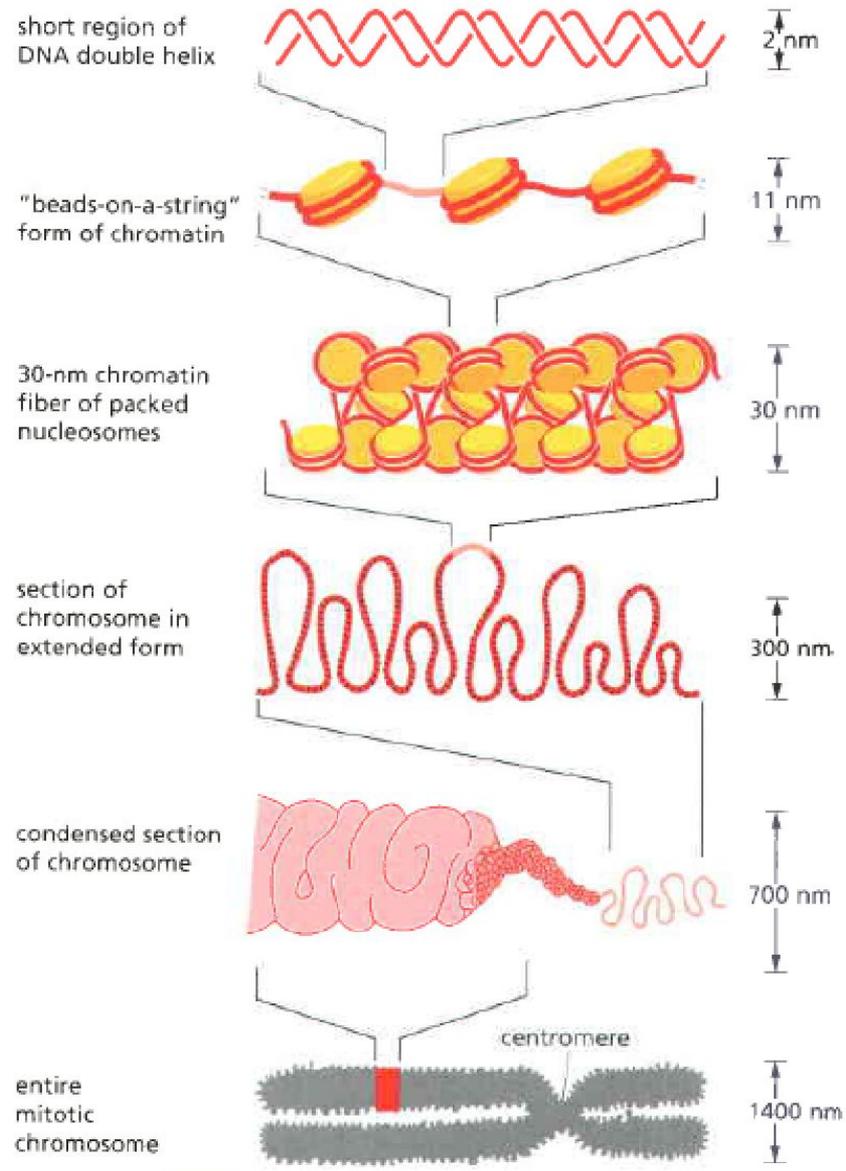
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Permission required for reproduction or display.

Figure 13.11



Модель пространственной организации хроматина





Уровни упаковки ДНК в митотической хромосоме

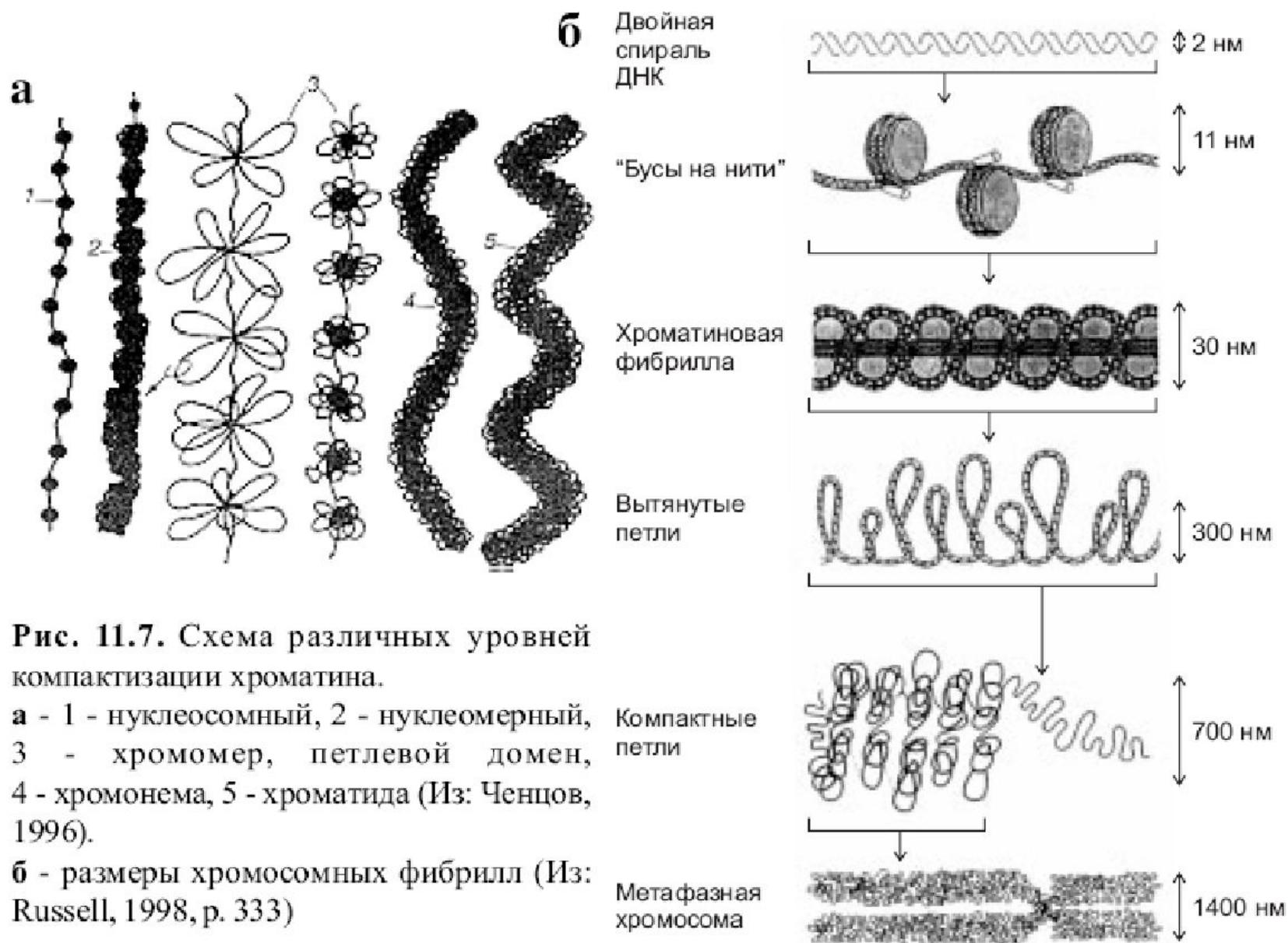
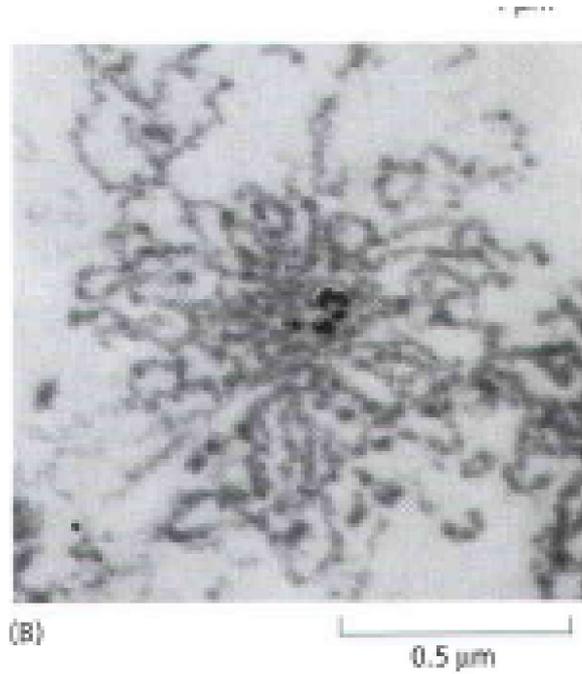


Рис. 11.7. Схема различных уровней компактизации хроматина.

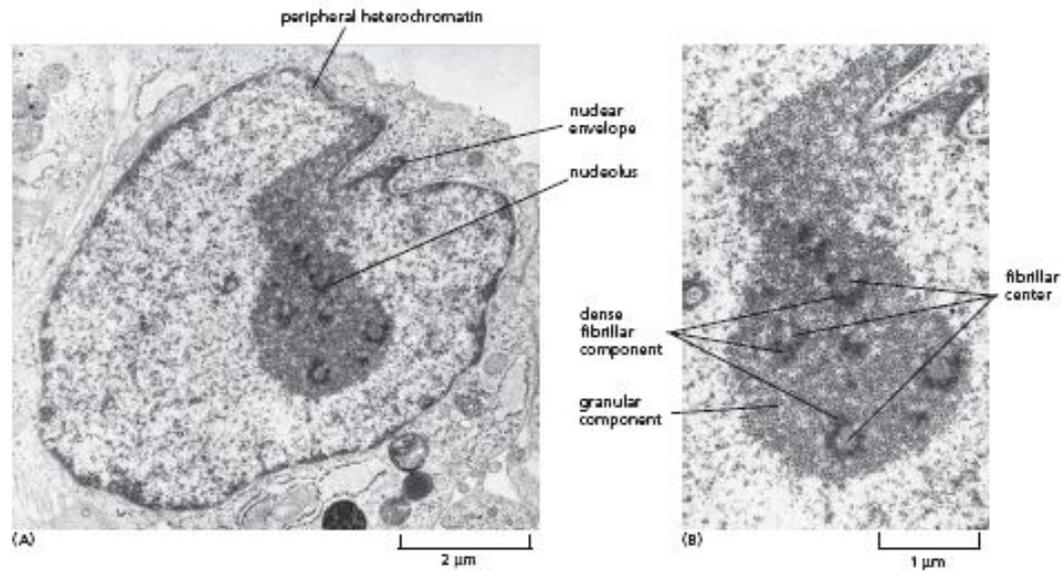
а - 1 - нуклеосомный, 2 - нуклеомерный, 3 - хромомер, петлевой домен, 4 - хромоноема, 5 - хроматида (Из: Ченцов, 1996).

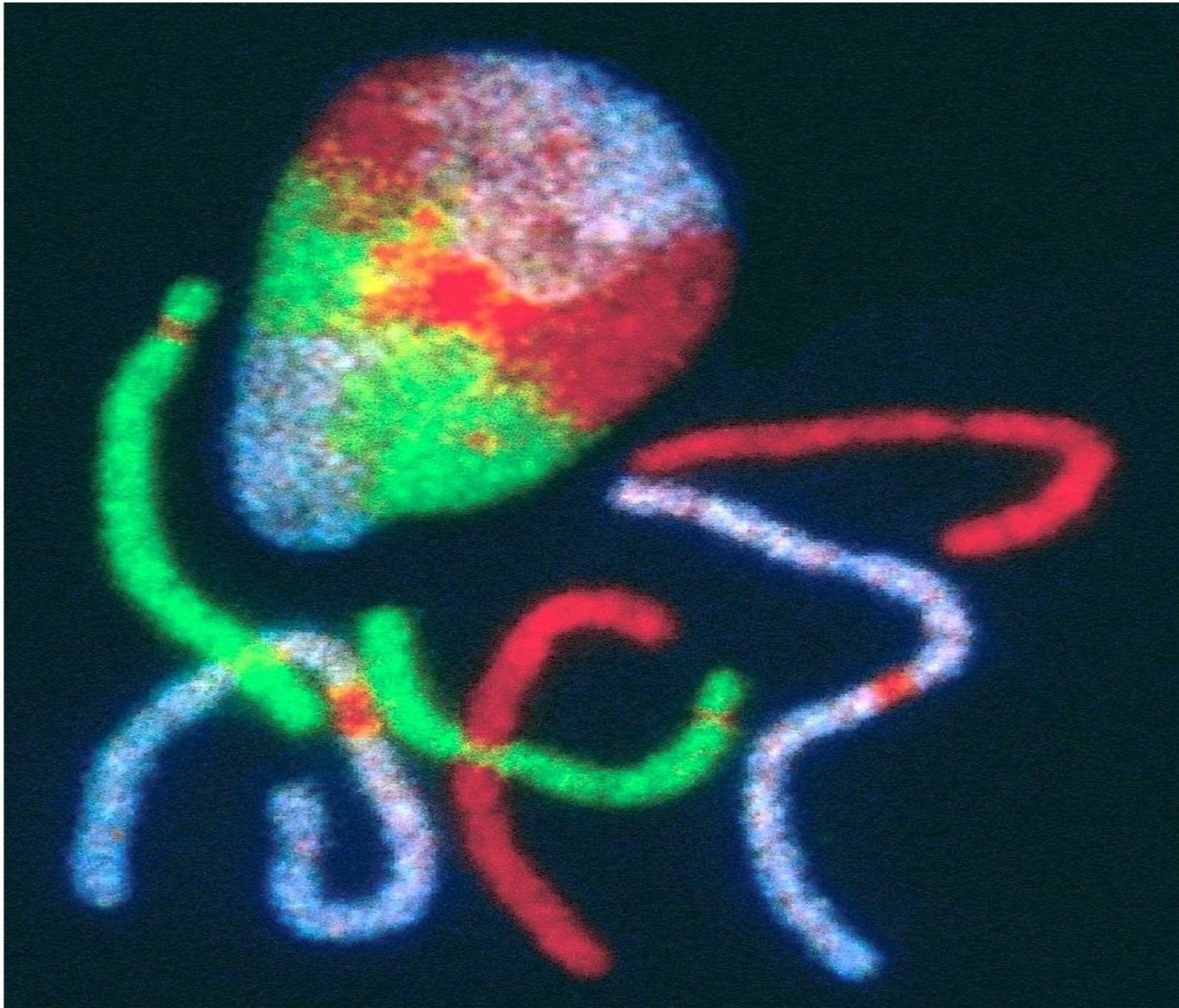
б - размеры хромосомных фибрилл (Из: Russell, 1998, p. 333)

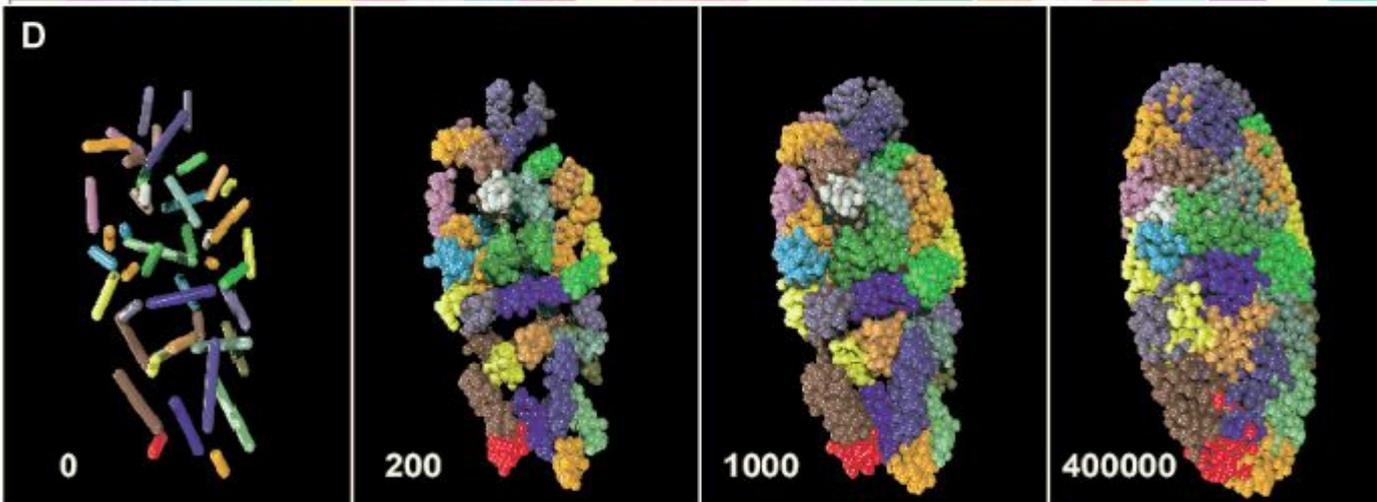
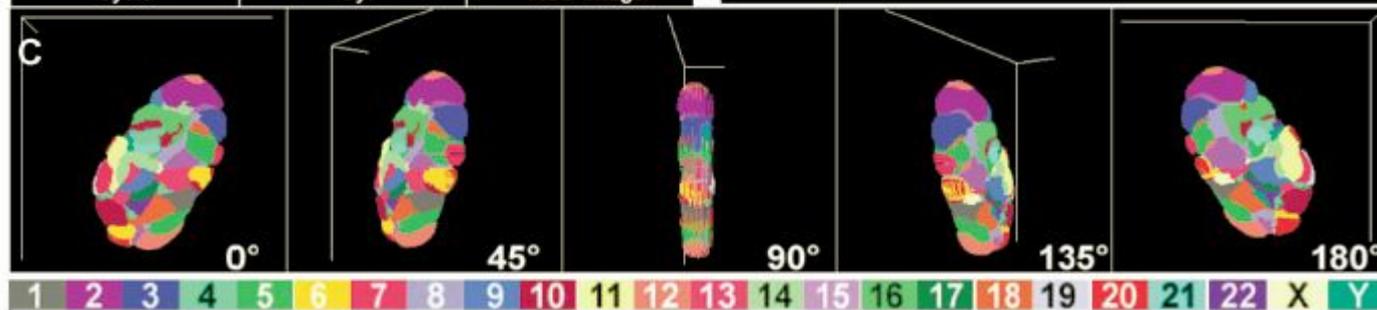
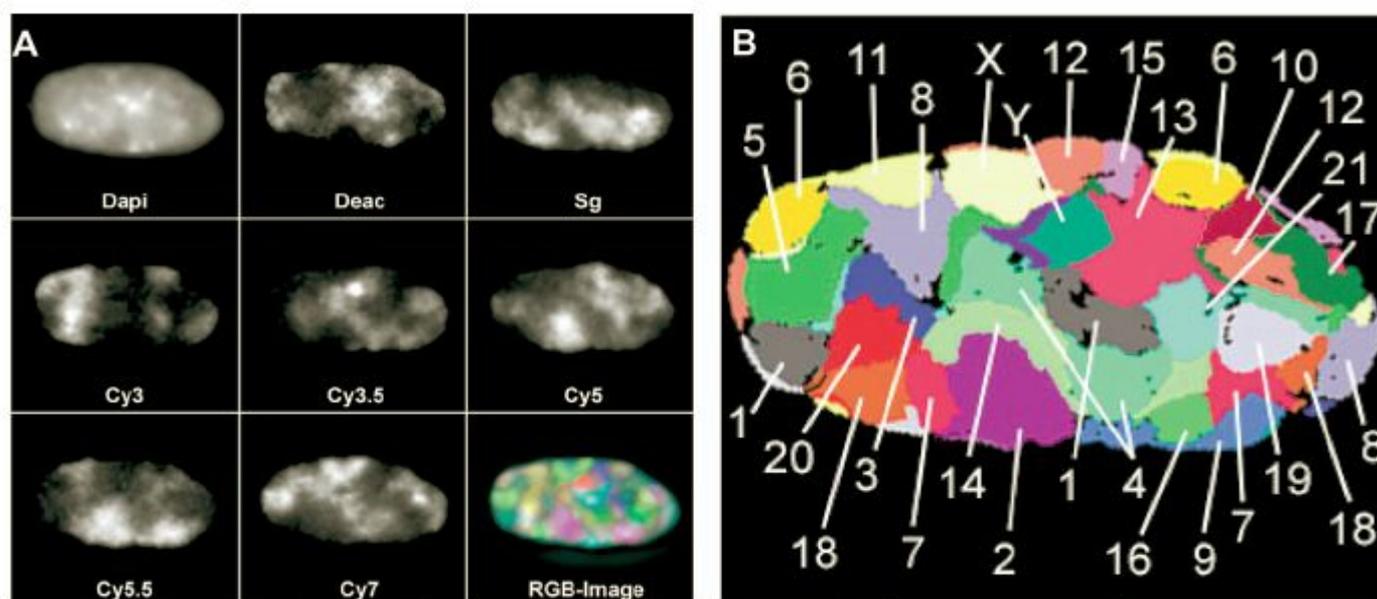
Митотическая хромосома в разрезе



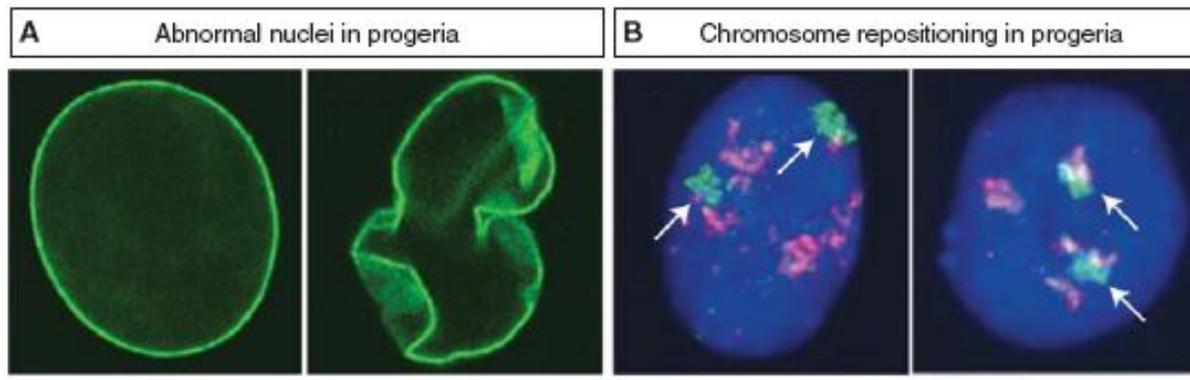
Компоненты ядра и ядрышка







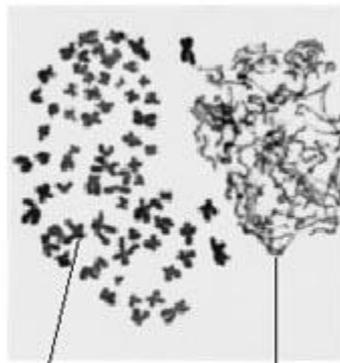
Изменение формы ядра и позиционирования хромосомы 13 (зеленая) при прогерии



Синдром прогерии

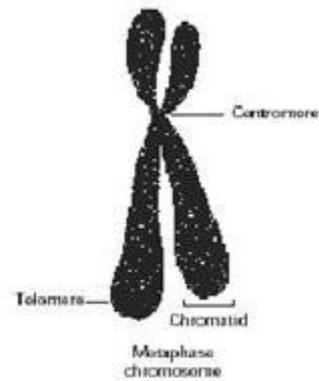


Митотические хромосомы



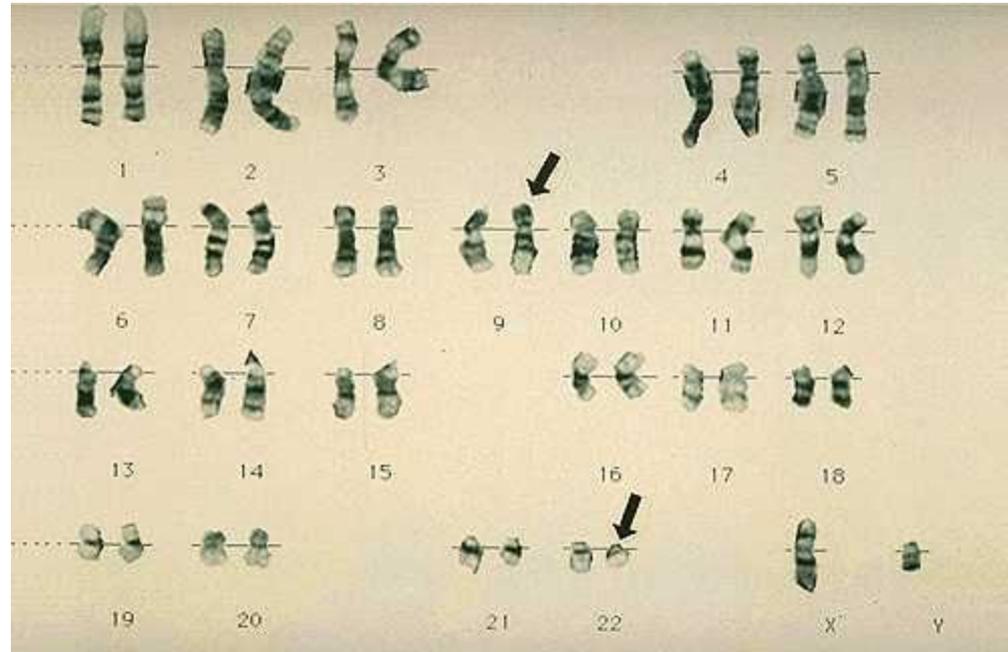
Митотическая
пластинка

G₁



Митотическая хромосома
состоит из двух хроматид

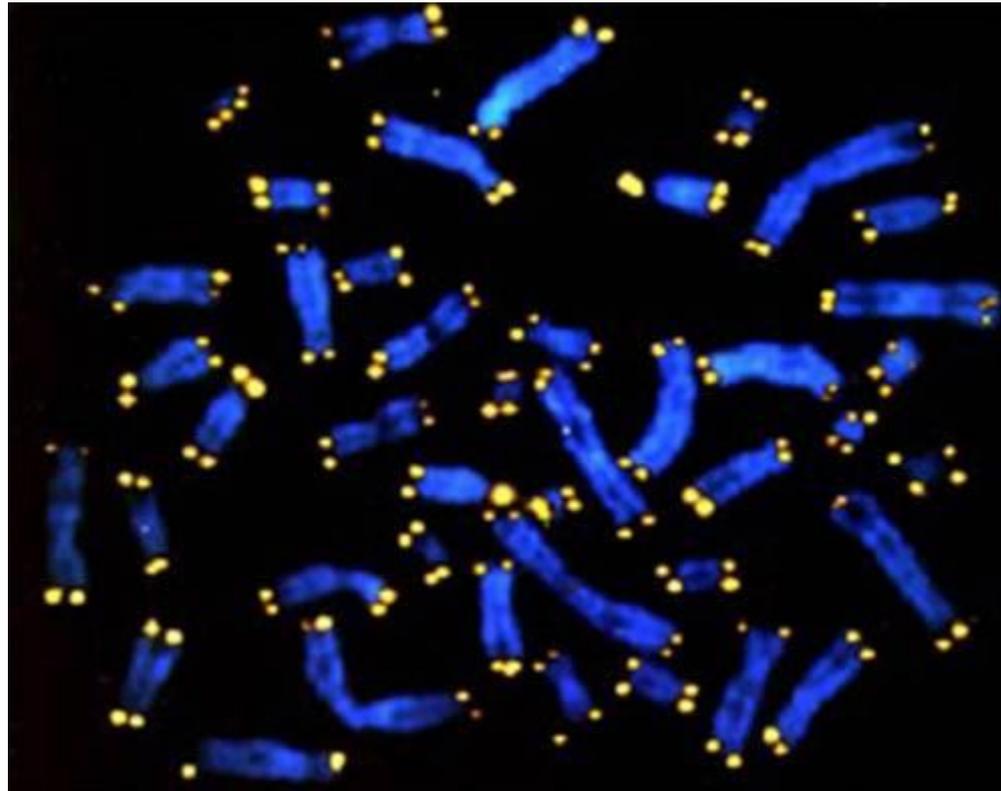
Диплоидный набор хромосом человека

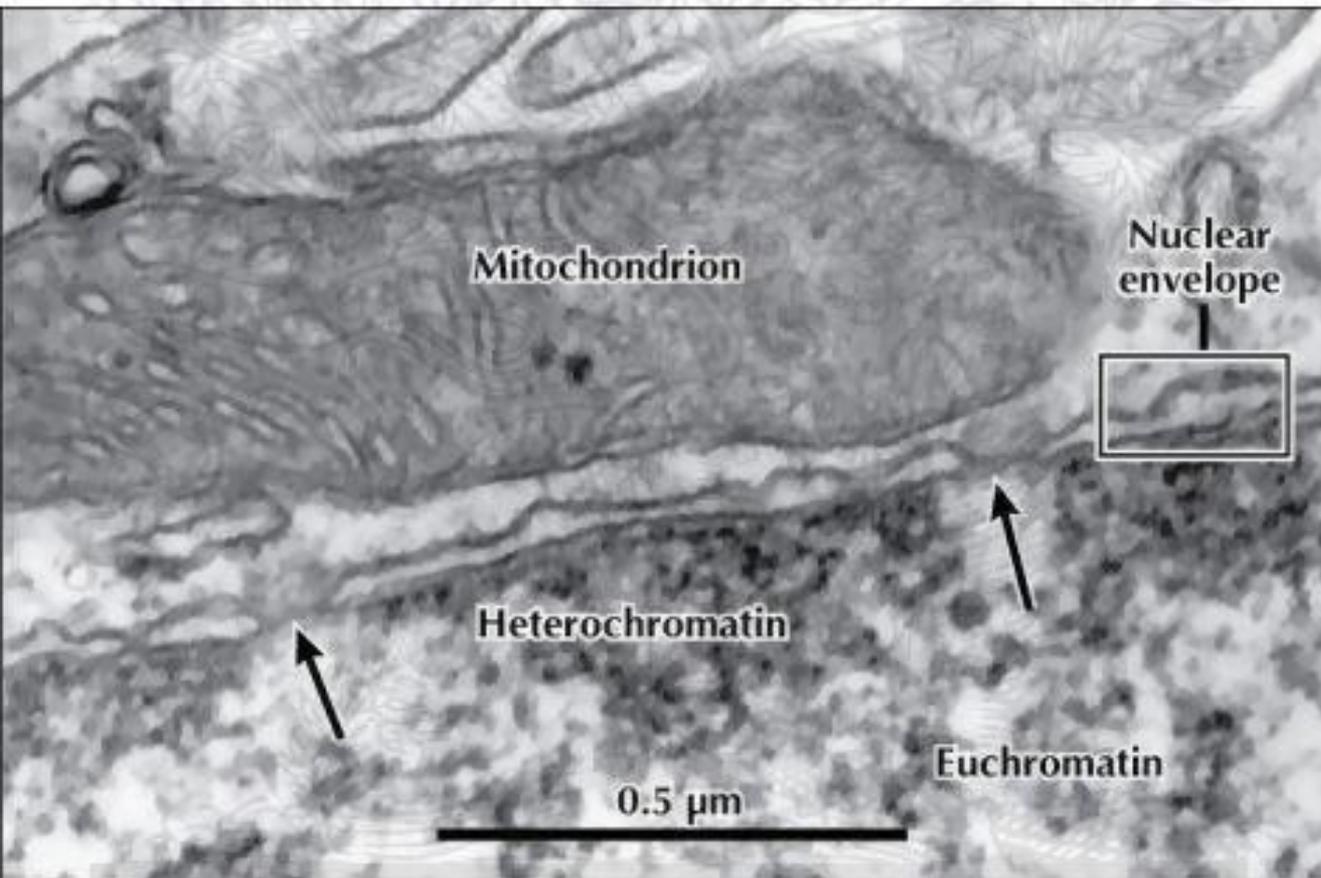


Кинетохор – место прикрепления микротрубочек к хроматиде



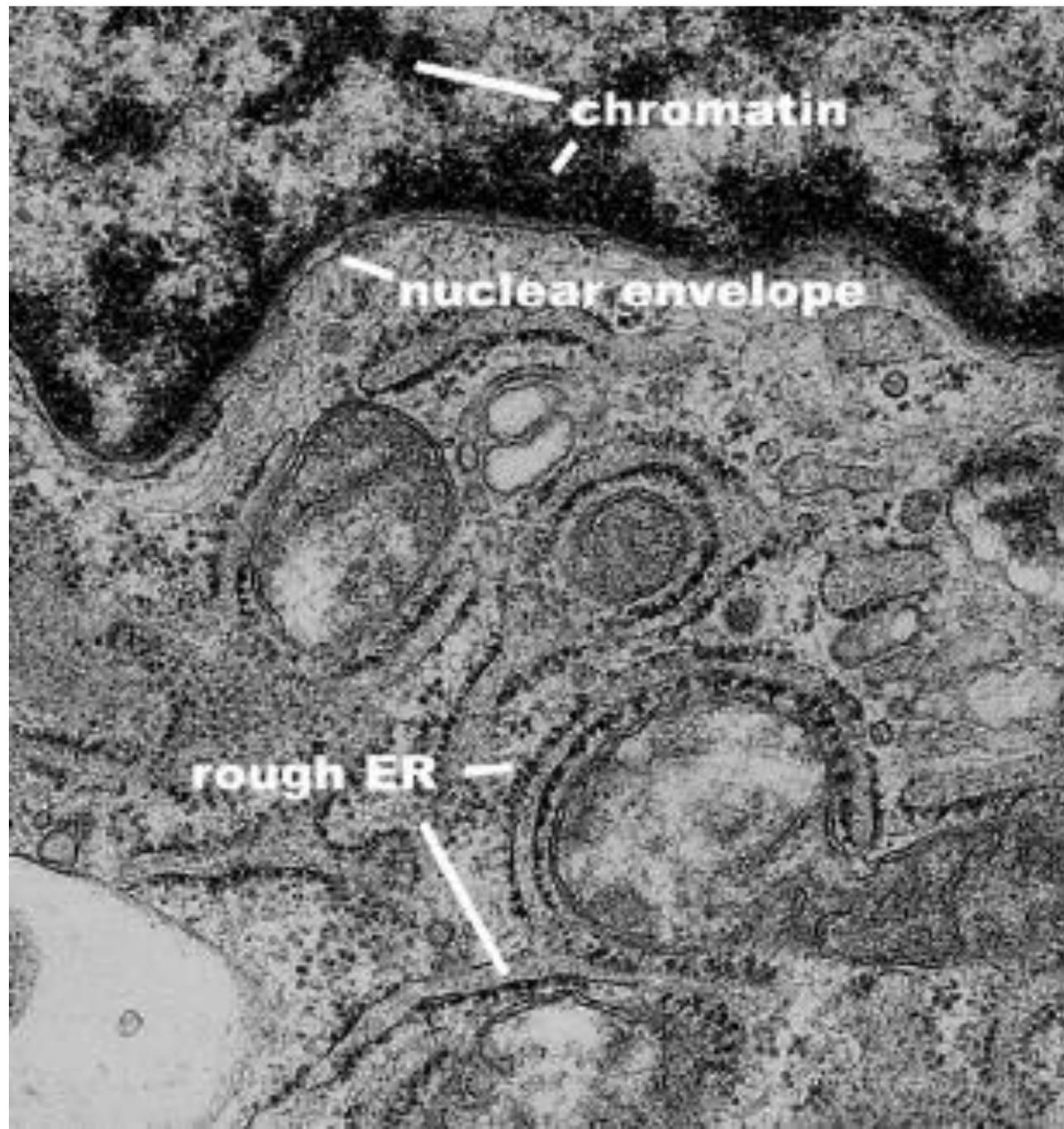
Хромосомы человека

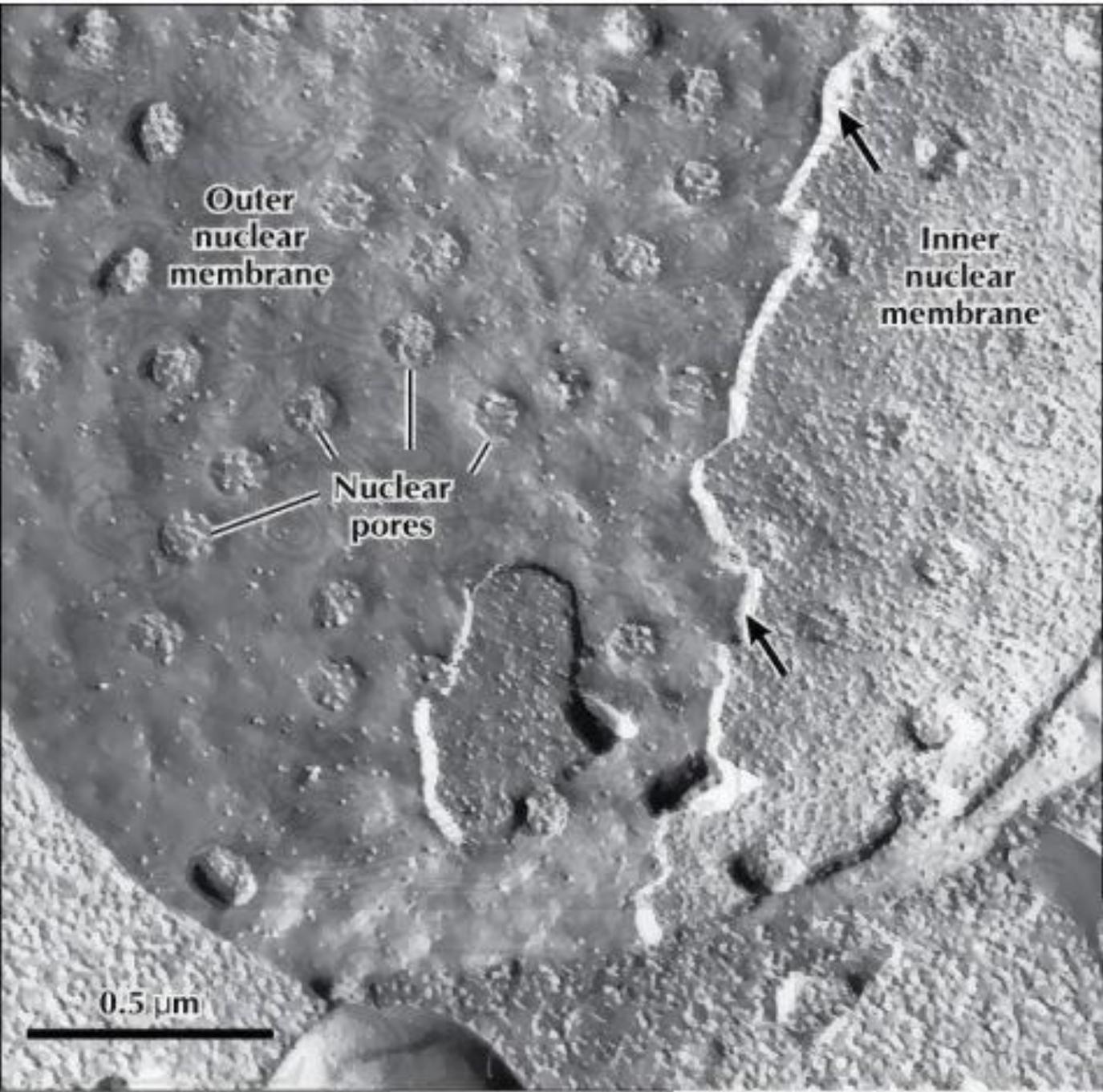




Перинуклеарное пространство - 20–40 нм

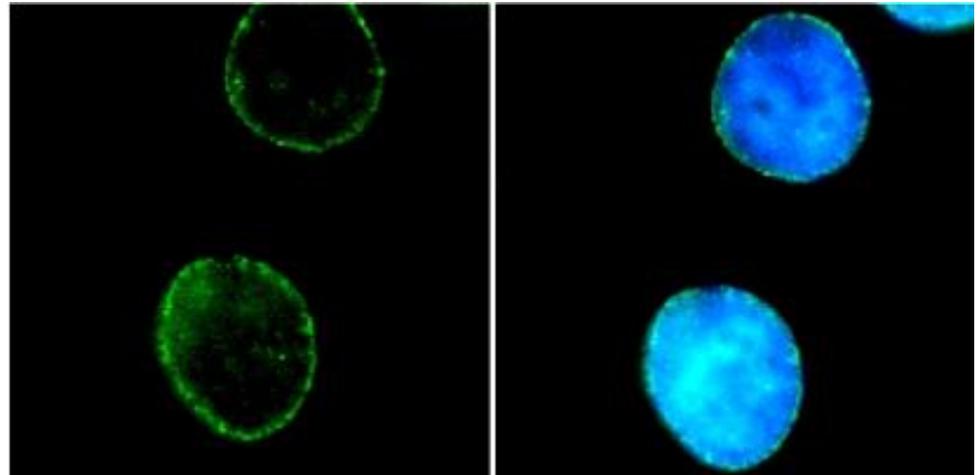
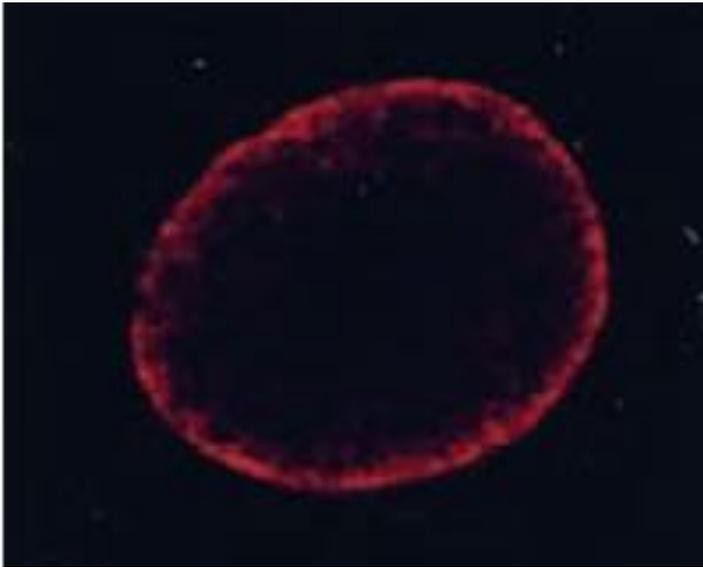
ELSEVIER

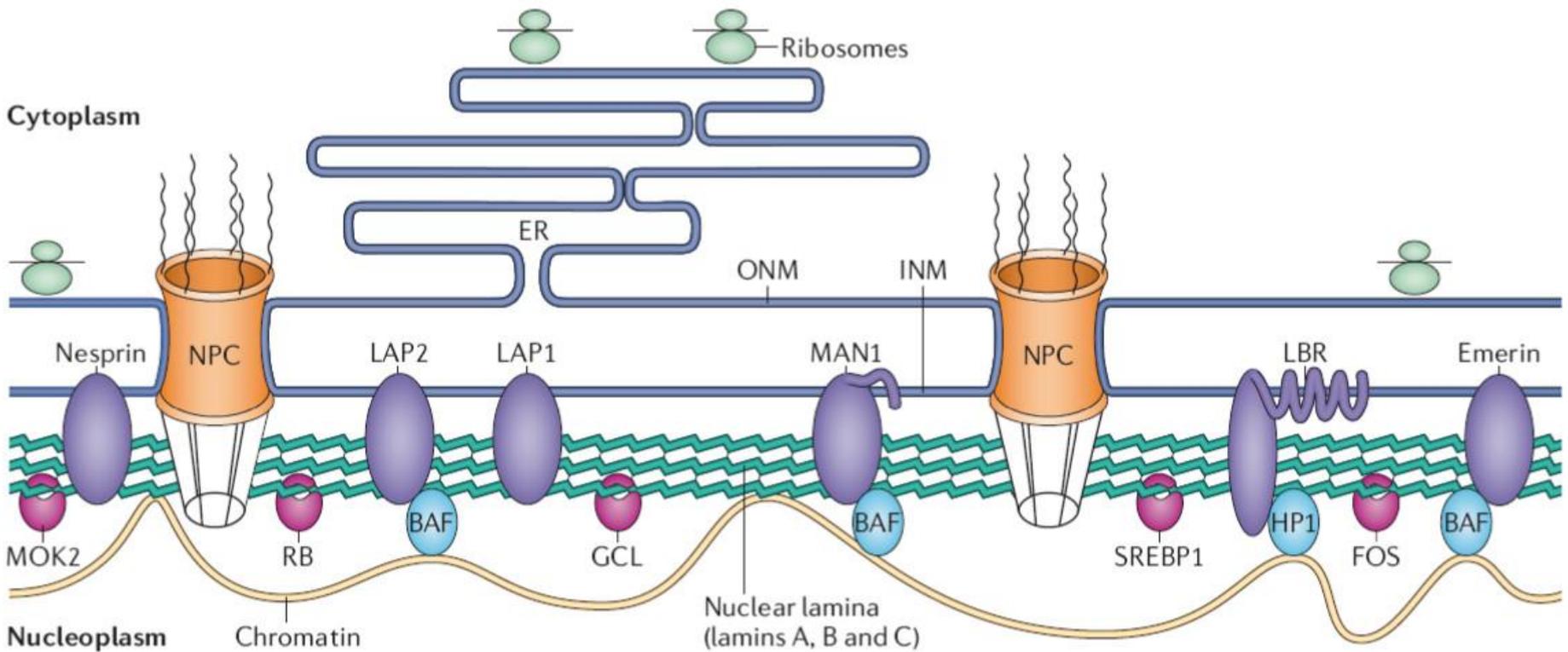




- Ядерная ламина (30-100 нм) представляет собой слой белков под внутренней ядерной мембраной и состоит из белков ламинов А-и В-типа и ряда интегральных белков внутренней ядерной мембраны, таких как рецептор ламина В (LBR), эмерин, а также различных изоформ ламин-связанных полипептидов 1 (LAP1) и других белков
- Молекулярная масса ламина А 74 кДа, ламина В 67 кДа, ламина С - в 65 кДа.
- Функция ламинов нарушена при ряде наследственных заболеваний, например, мутации и вариации гена LMNA ассоциированы с мышечной дистрофией Эмери-Дрейфуса, связанной с потерей функции emerin-lamin A/C комплекса, семейной частичной липодистрофией, конечностно-поясной мышечной дистрофией, дилатационной кардиомиопатией, болезнью Шарко-Мари-Тута и синдромом прогерии Хатчинсона-Гилфорда. Синдром прогерии, исключительно редкое расстройство, вызывается синтезом ламина А неправильной формы, называемой прогеринном.

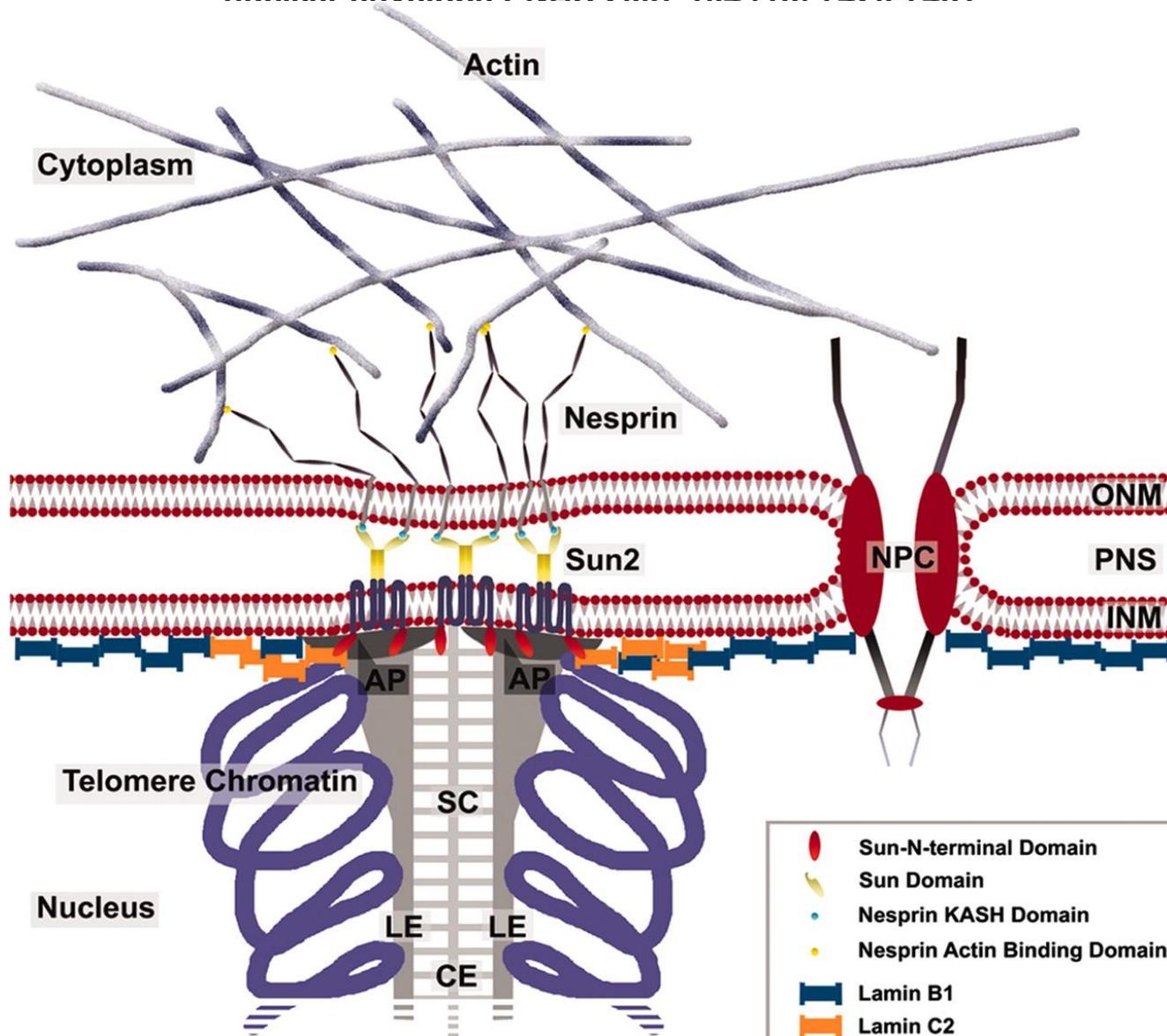
Ядро, окрашенное антителами к ламину В1 и В2



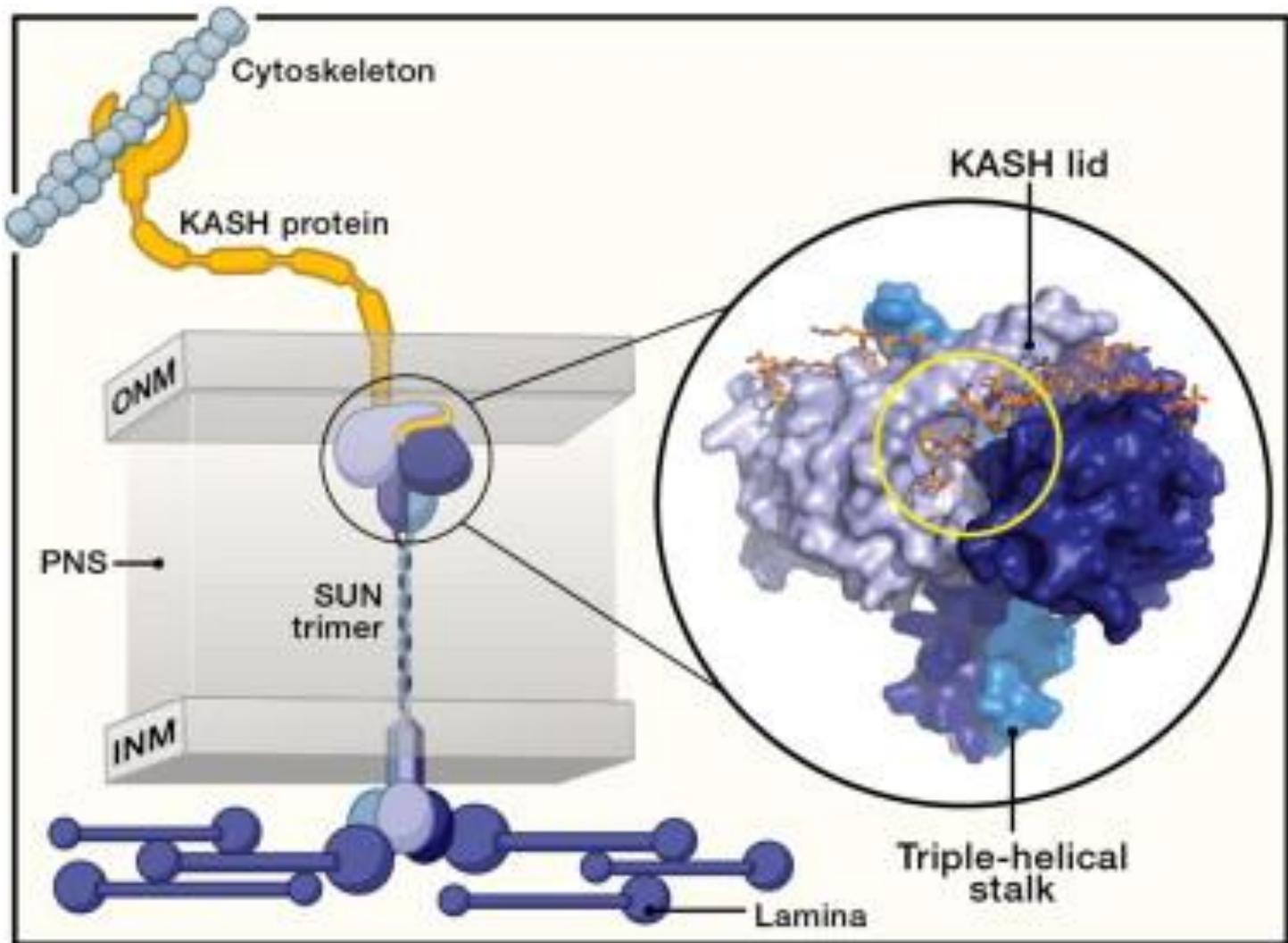


В состав ядерной ламины входят белки: несприн, эмерин, ламинассоциированные белки 1 и 2, рецептор ламина В и белок МАН 1 (nesprin, emerlin, lamina-associated proteins 1 and 2 (LAP1 and LAP2, the lamin B receptor (LBR) and MAN1). Факторы транскрипции прикрепляются к ядерной ламине изнутри. Среди них: ретинобластомный фактор регуляции и другие (retinoblastoma transcriptional regulator (RB), germ cell-less (GCL), sterol response element binding protein (SREBP1), FOS and MOK2). Barrier to autointegration factor (BAF) – белок, который прикрепляется к ядерной ламине и некоторым из перечисленных белков. Регуляторный белок 1 (HP1- Heterochromatin protein1) прикрепляется к хроматину и LBR. Henrique Douglas M Coutinho et al. *Immunity & Ageing* 2009, **6**:4

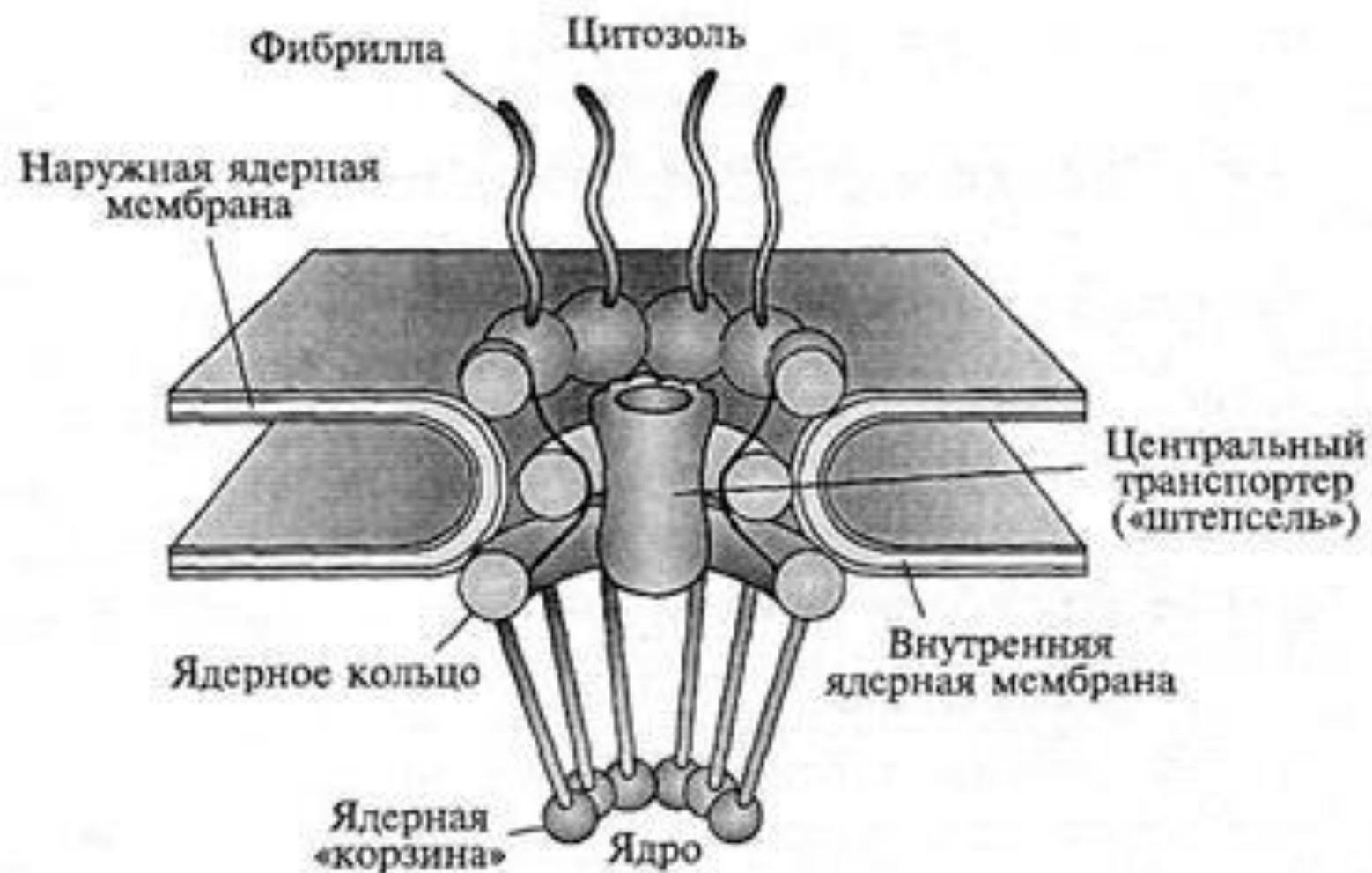
Johannes Schmitt, Ricardo Benavente, Didier Hodzic, Christer Höög, Colin L. Stewart, and Manfred Alsheimer Transmembrane protein Sun2 is involved in tethering mammalian meiotic telomeres to the nuclear envelope *PNAS* 2007 104 (18) 7426-7431

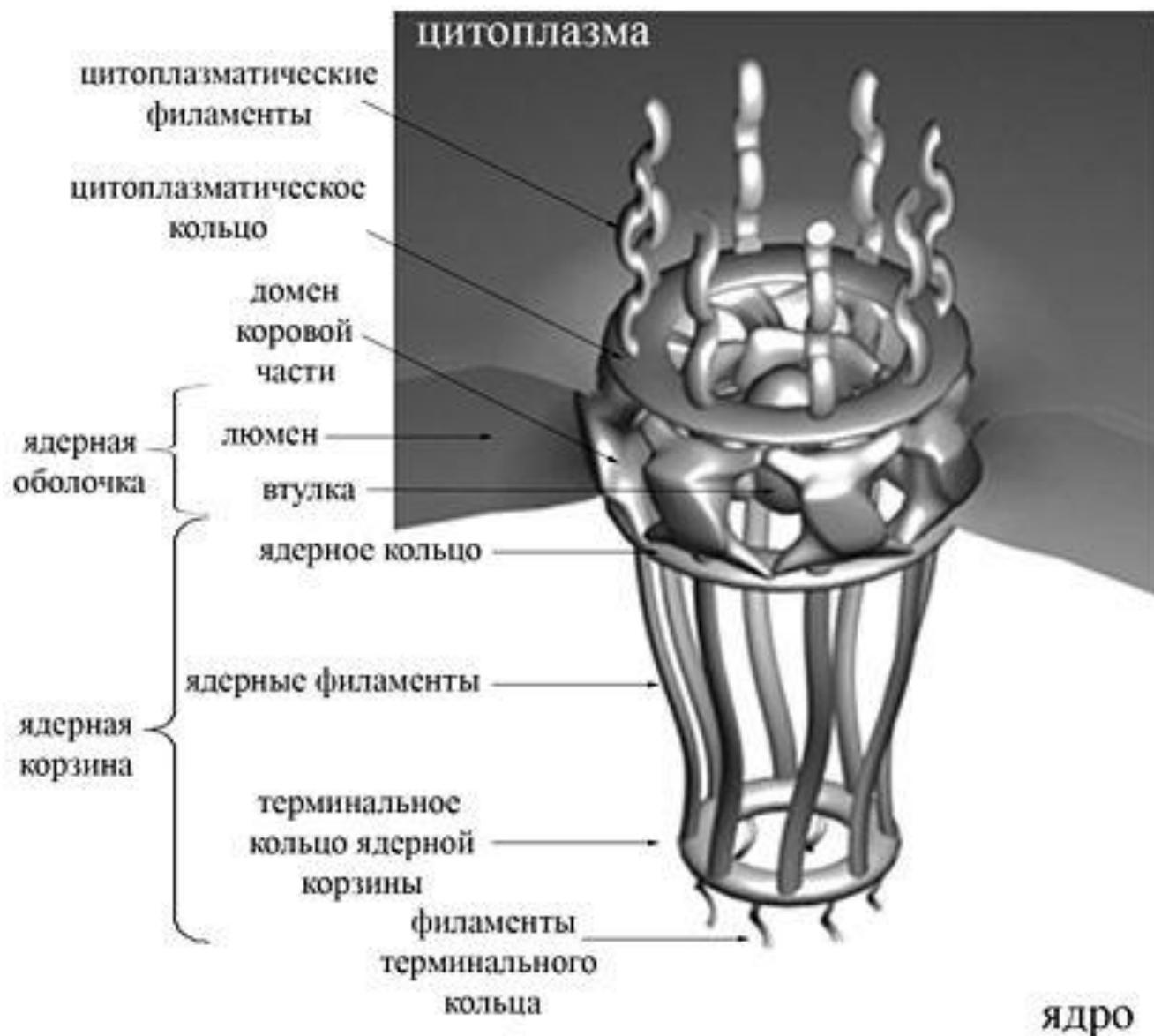


AP, attachment plate; CE, central element of the SC (synaptonemal complex); NPC, nuclear pore complex; PNS, perinuclear space; ONM, outer nuclear membrane.

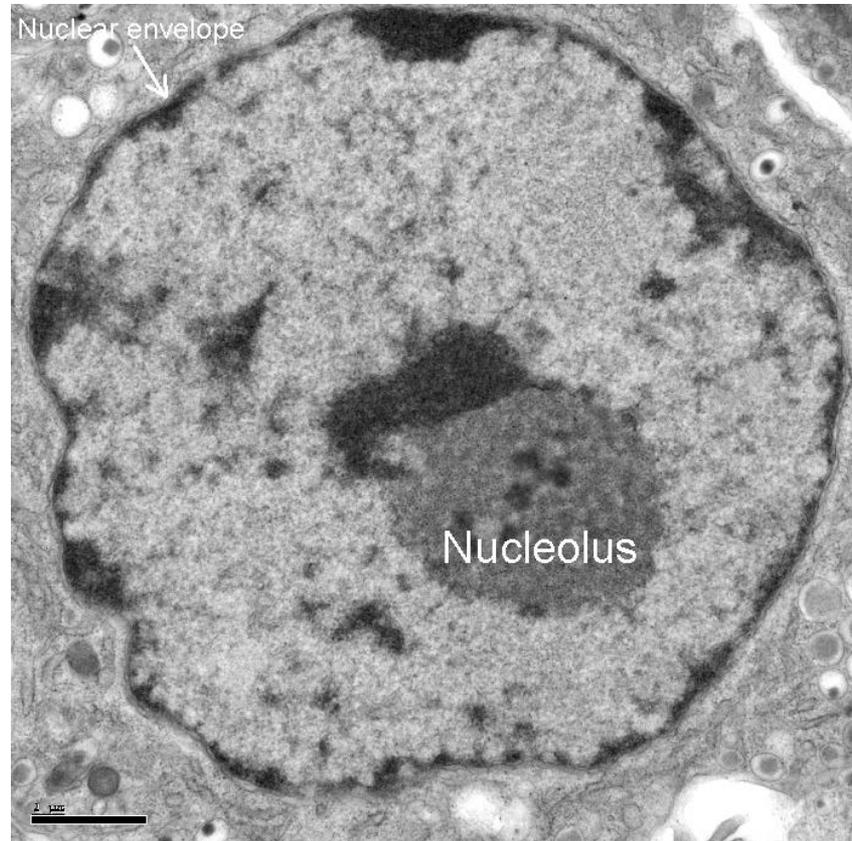


Brian Burke It Takes KASH to Hitch to the SUN
Cell Volume 149, Issue 5, 25 May 2012, Pages 961–963

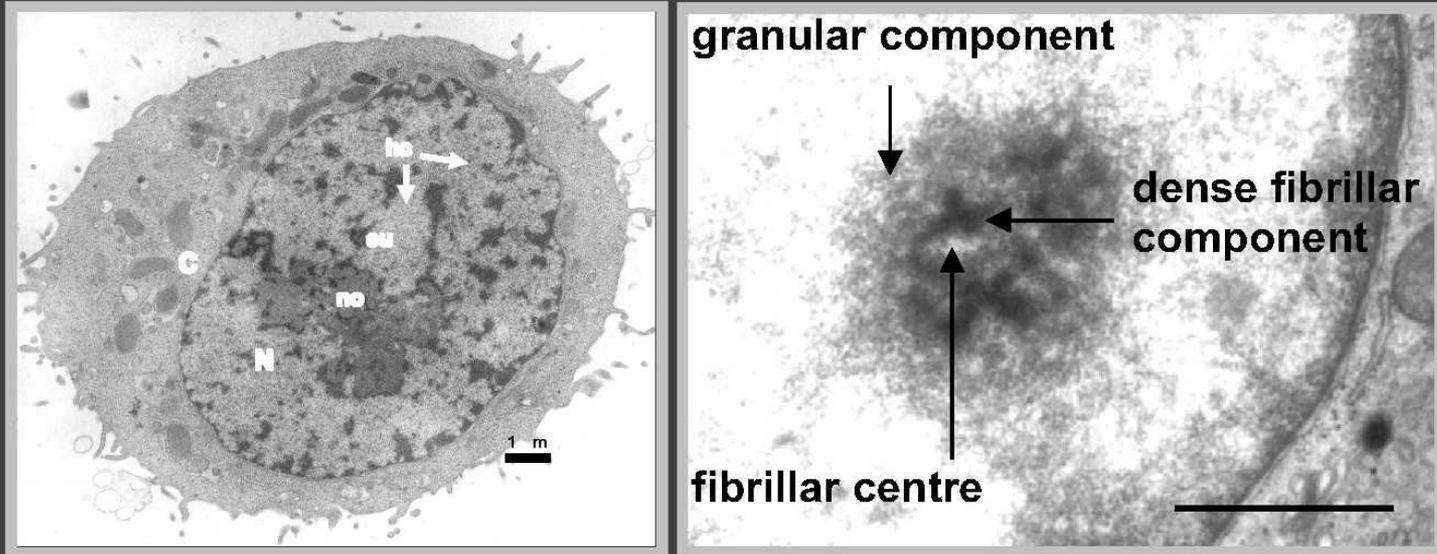




Ядрышко (1-5 нм в диаметре) - место синтеза рибосом на участках хромосом, содержащих гены рибосомальной РНК (рРНК), так называемых ядрышковых организаторах (ЯОР) У человека ЯОР расположены в коротких плечах 13, 14, 15, 21 и 22 хромосом

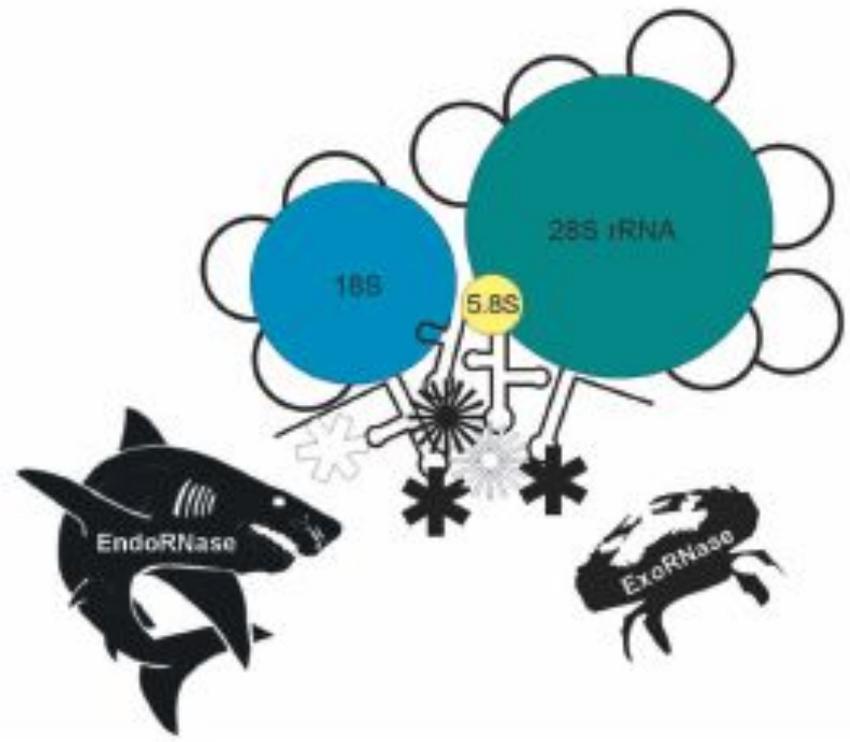
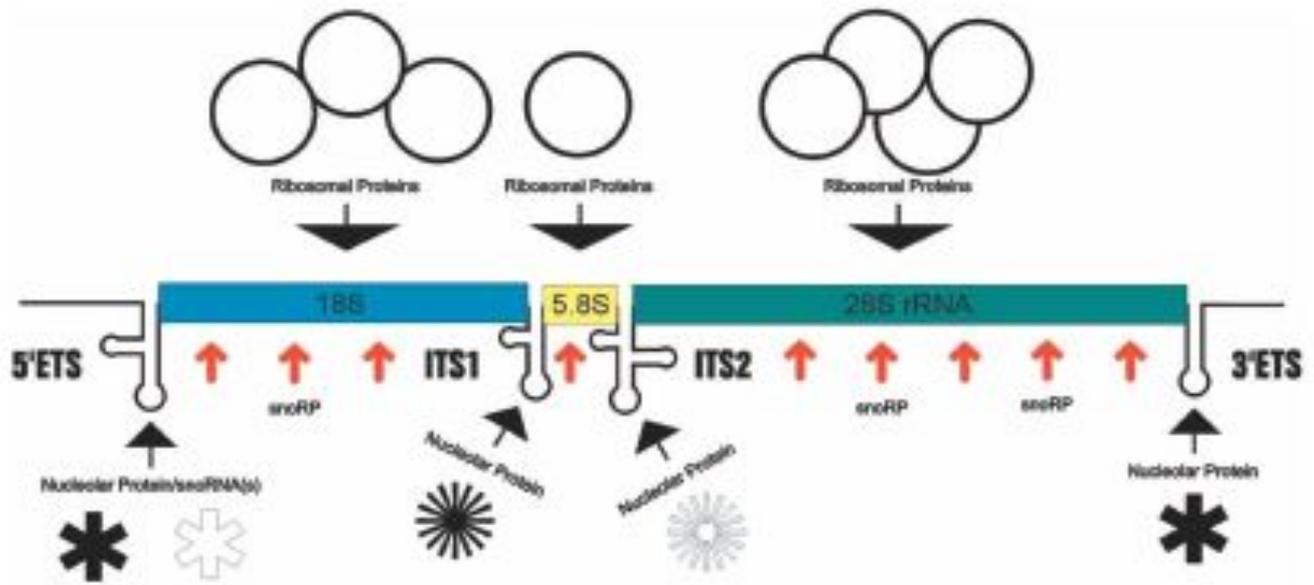


Ultrastructure of the nucleolus

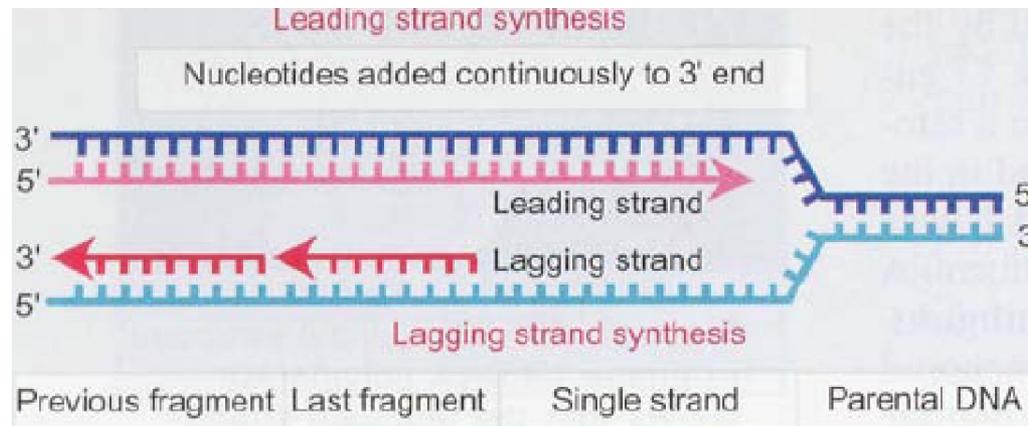


Гранулярный компонент – представляет собой гранулы 15-20 нм и расположен на периферии ядрышка
Фибриллярный компонент содержит нити толщиной 100 – 200 нм
Фибриллярные центры – участки скопления фибрилл с низкой электронной плотностью, окруженные зоной фибрилл с высокой электронной плотностью (плотный фибриллярный компонент)

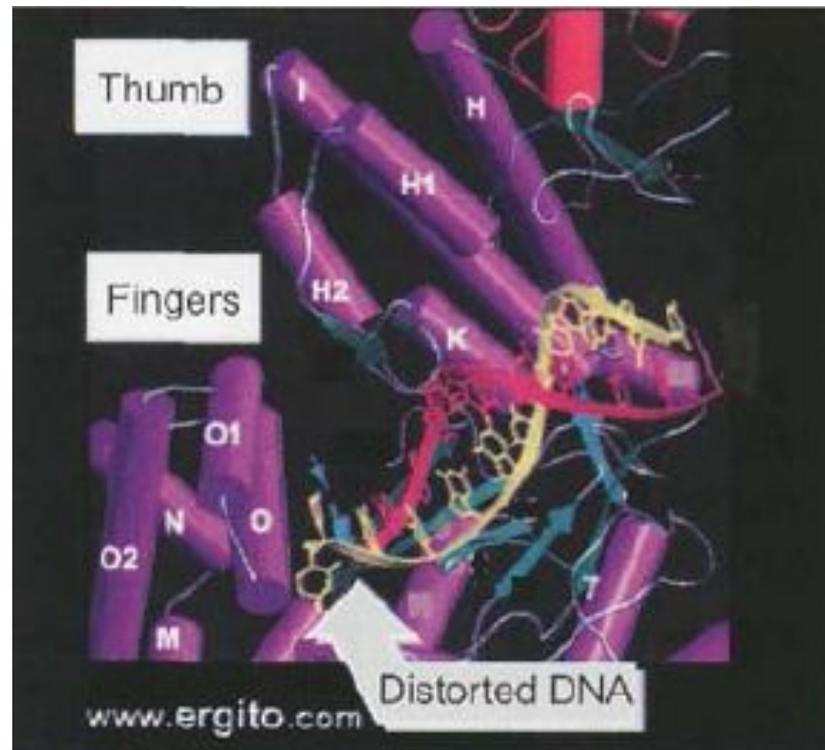
- У человека гены, кодирующие рРНК, как и у других организмов, организованы в группы тандемных повторов, расположенных в центральных областях короткого плеча 13, 14, 15, 21 и 22-й хромосом.
- 80S рибосома эукариот состоит из большой 60S субъединицы (построенной на основе трех молекул рРНК — 5S, 5,8S и 28S) и малой 40S субъединицы (построенной на основе 18S рРНК).
- У эукариот 18S, 5.8S и 25/28 рРНК ко-транскрибируются РНК-полимеразой I, в то время как ген 5S рРНК транскрибируется РНК-полимеразой III.



Полуконсервативный синтез ДНК



ДНК-полимераза бактериофага T7



ДНК-полимеразы прокариот на примере *E. coli*

	ДНК-пол -I	ДНК-пол -II	ДНК-пол -III
Молек. масса	103 кД	120 кД	900 кД
Колич. субъединиц	1	1	10
Скорость синтеза	600 нукл/мин	30 нукл/мин	60 000 нукл/мин
Количество молекул в клетке	400	100	1--20

Схема ДНК-полимеразы III бактериальной клетки

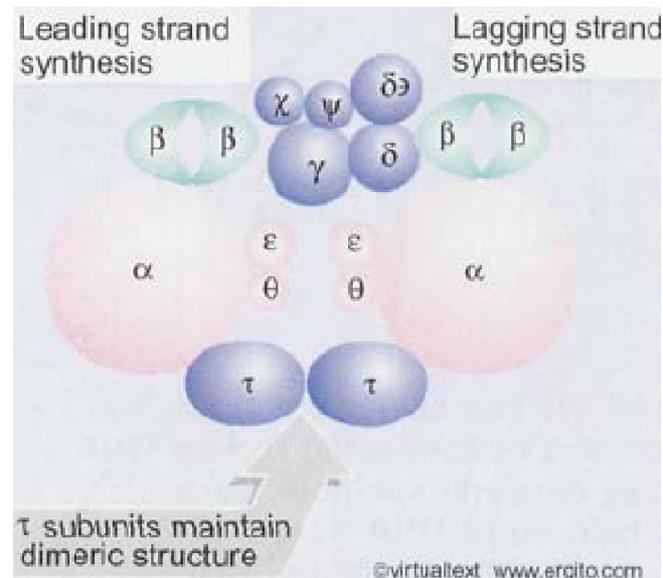
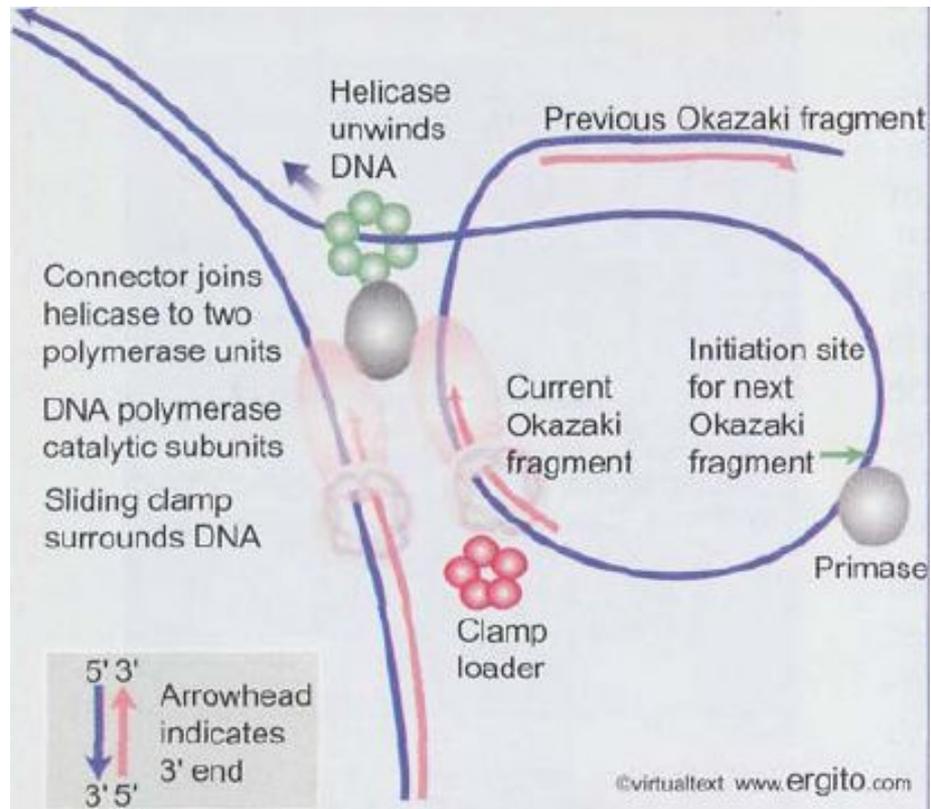


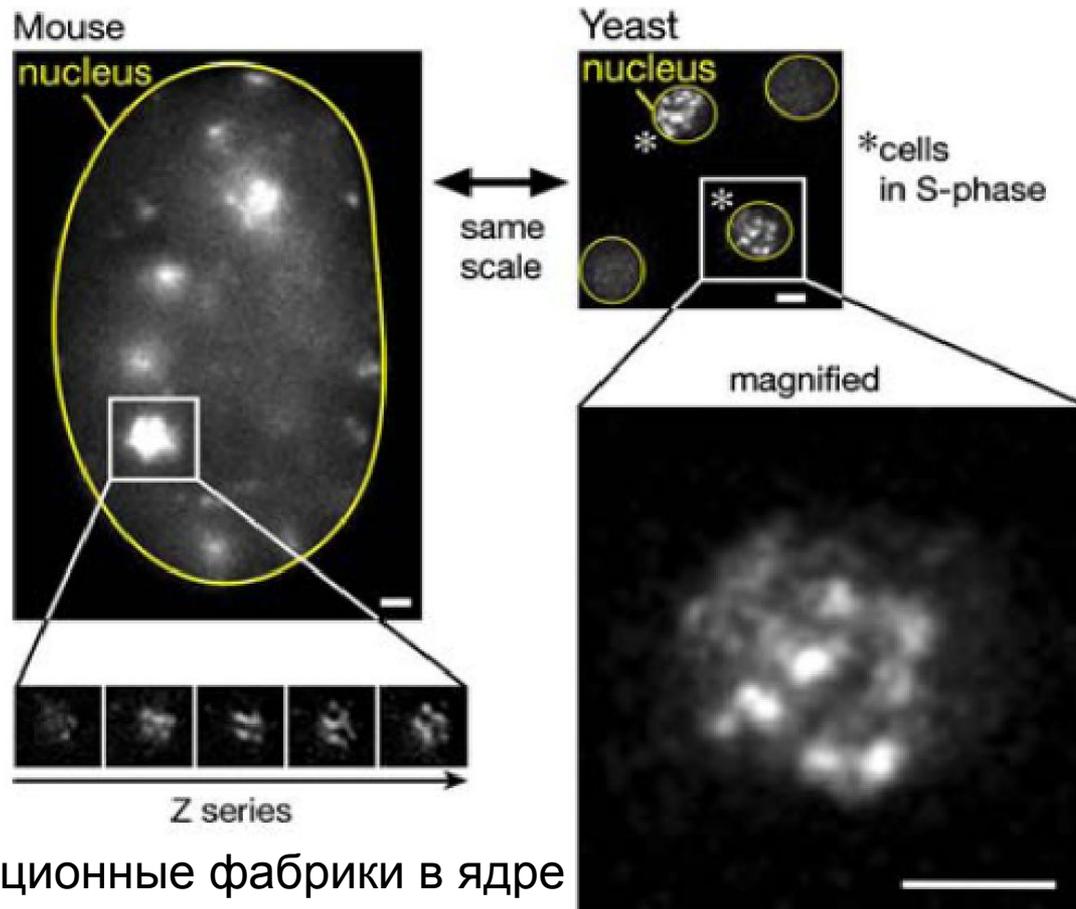
Схема репликативной вилки



Eukaryotic DNA polymerases undertake either replication or repair

DNA polymerase	Function	Structure
	High fidelity replicases	
α	Nuclear replication	350 kD tetramer
δ	"	250 kD tetramer
ϵ	"	350 kD tetramer
γ	Mitochondrial replication	200 kD dimer
	High fidelity repair	
β	Base excision repair	39 kD monomer
	Low fidelity repair	
ζ	Thymine dimer bypass	heteromer
η	Base damage repair	monomer
ι	Required in meiosis	monomer
κ	Deletion and base substitution	monomer

Репликационные фабрики в ядре мыши и дрожжей



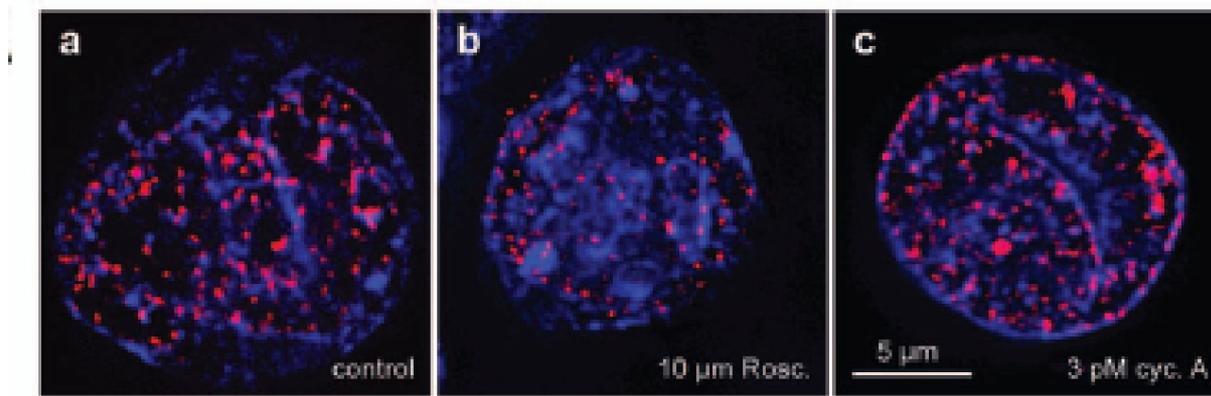
Крупные репликационные фабрики в ядре мыши составлены из нескольких мелких

В ядрах дрожжей содержится 15-20 репликационных фабрик

Репликационные фабрики в ядрах СНО, активированных в экстракте ооцитов шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*

В клетках эукариот содержится 100-1000 репликационных фабрик
в каждой фабрике 10-100 репликонов.

В клетках мыши каждый репликон содержит около 1 тыс. пар оснований



Roscovitine – ингибитор Cdk
Сус. А – циклин А

Пространственная модель РНК-полимеразы прокариотической клетки

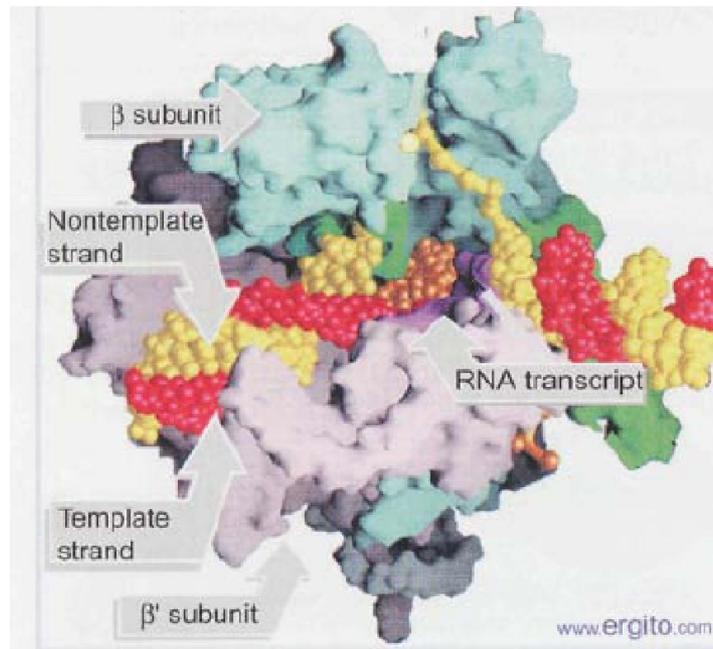
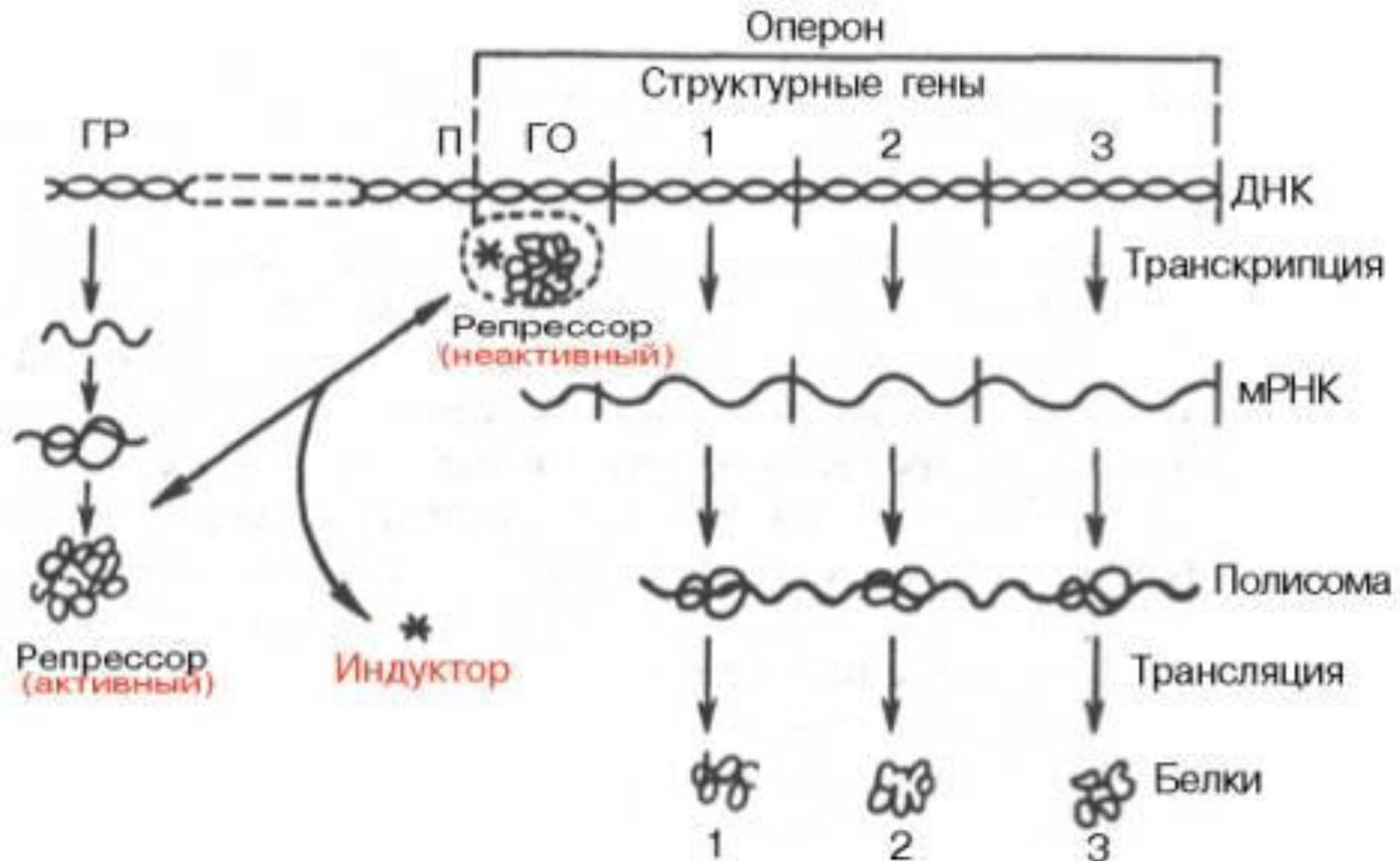


Figure 9.8 The β (cyan) and β' subunit (pink) of RNA polymerase have a channel for the DNA template. Synthesis of an RNA transcript (copper) has just begun; the DNA template (red) and coding (yellow) strands are separated in a transcription bubble. Photograph kindly provided by Seth Darst.

Пространственная модель РНК-полимеразы II клетки дрожжей (12 субъединиц)



Синтез иРНК у прокариот



Промотор для РНК-полимеразы II



Кэп (7-метилгуанозин) на 3' конце эукариотической мРНК

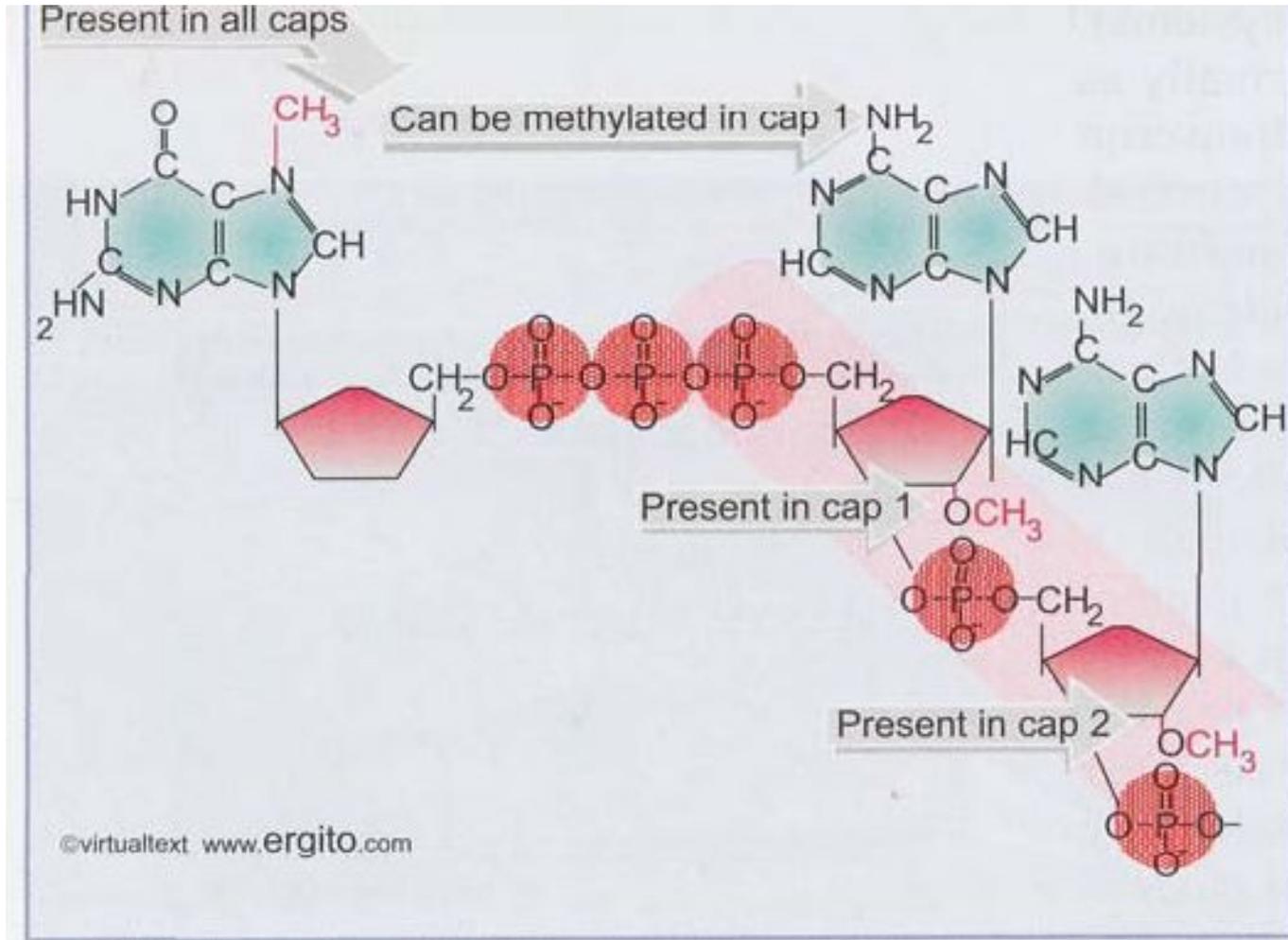


Схема сплайсинга

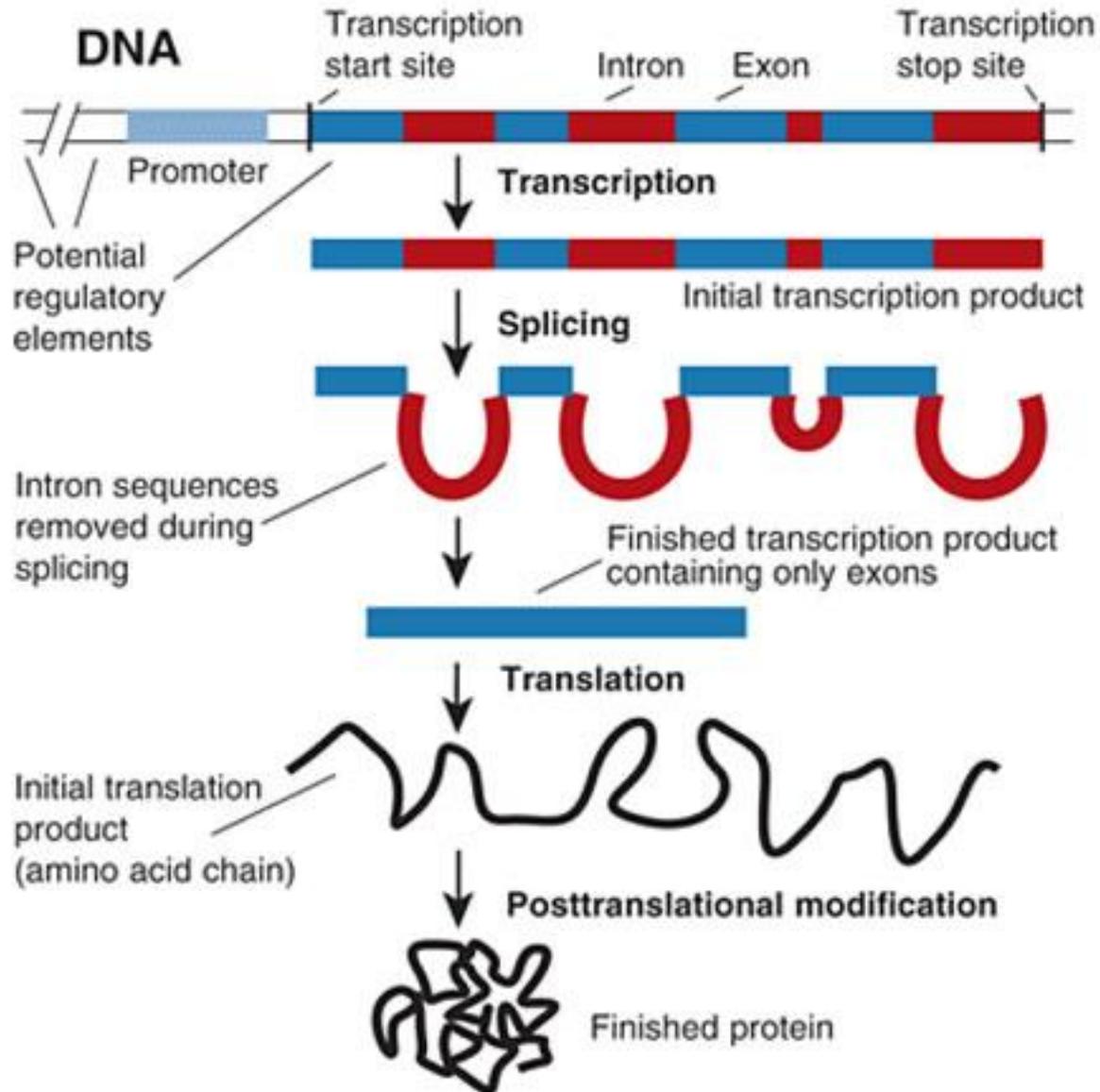
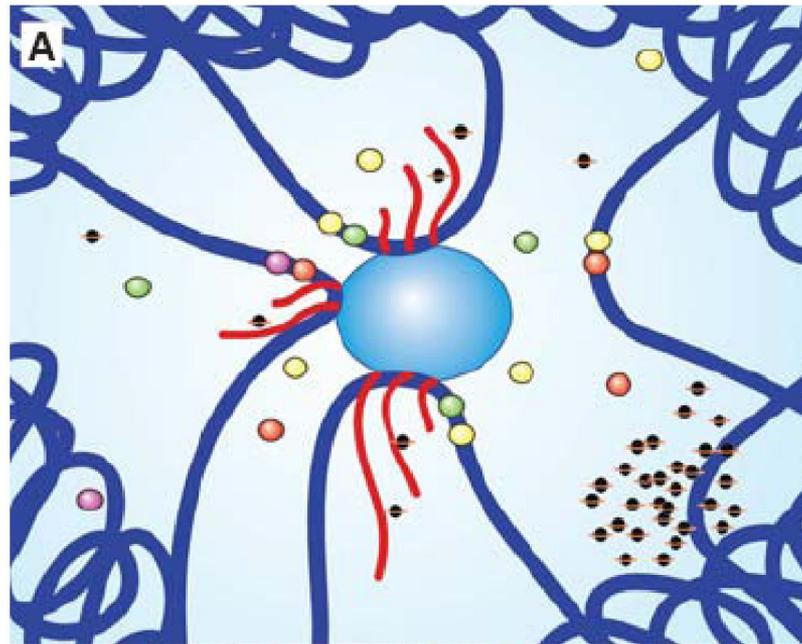


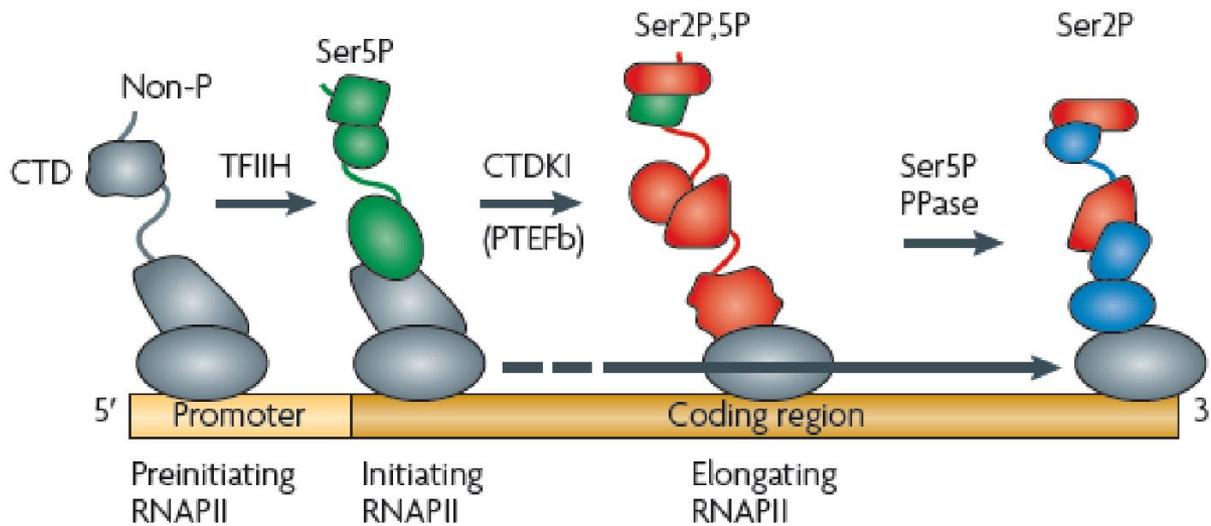
Схема строения транскрипционной фабрики



Диаметр фабрики – 56, 75 нм, по данным разных авторов

В клетках HeLa приблизительно
8000 фабрик RNAPII и 2000 RNAPIII

Схема изменений в состоянии фосфорилирования большой субъединицы РНК-полимеразы -II процессе транскрипции



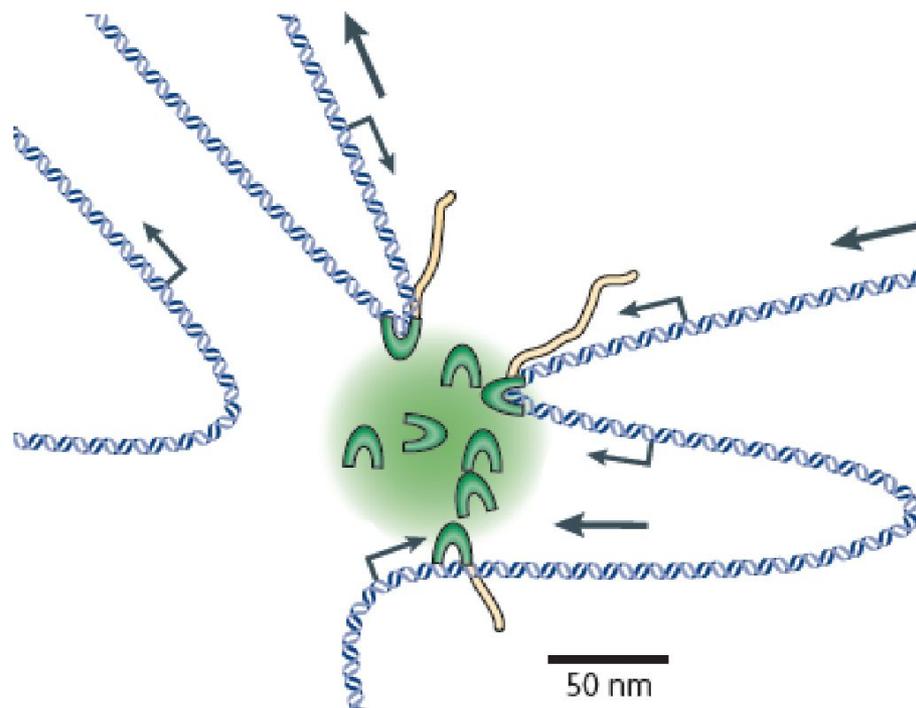
Большая субъединица (RPB1) полимеразы RNAP II имеет С-терминальную область (CTD), состоящую из 52 tandemных серинбогатых повторов, которые могут быть посттрансляционно фосфорилированы.

Изначально RNAP II нефосфорилирована, затем, в процессе инициации Ser5 фосфорилируется с помощью фактора транскрипции TFIIH.

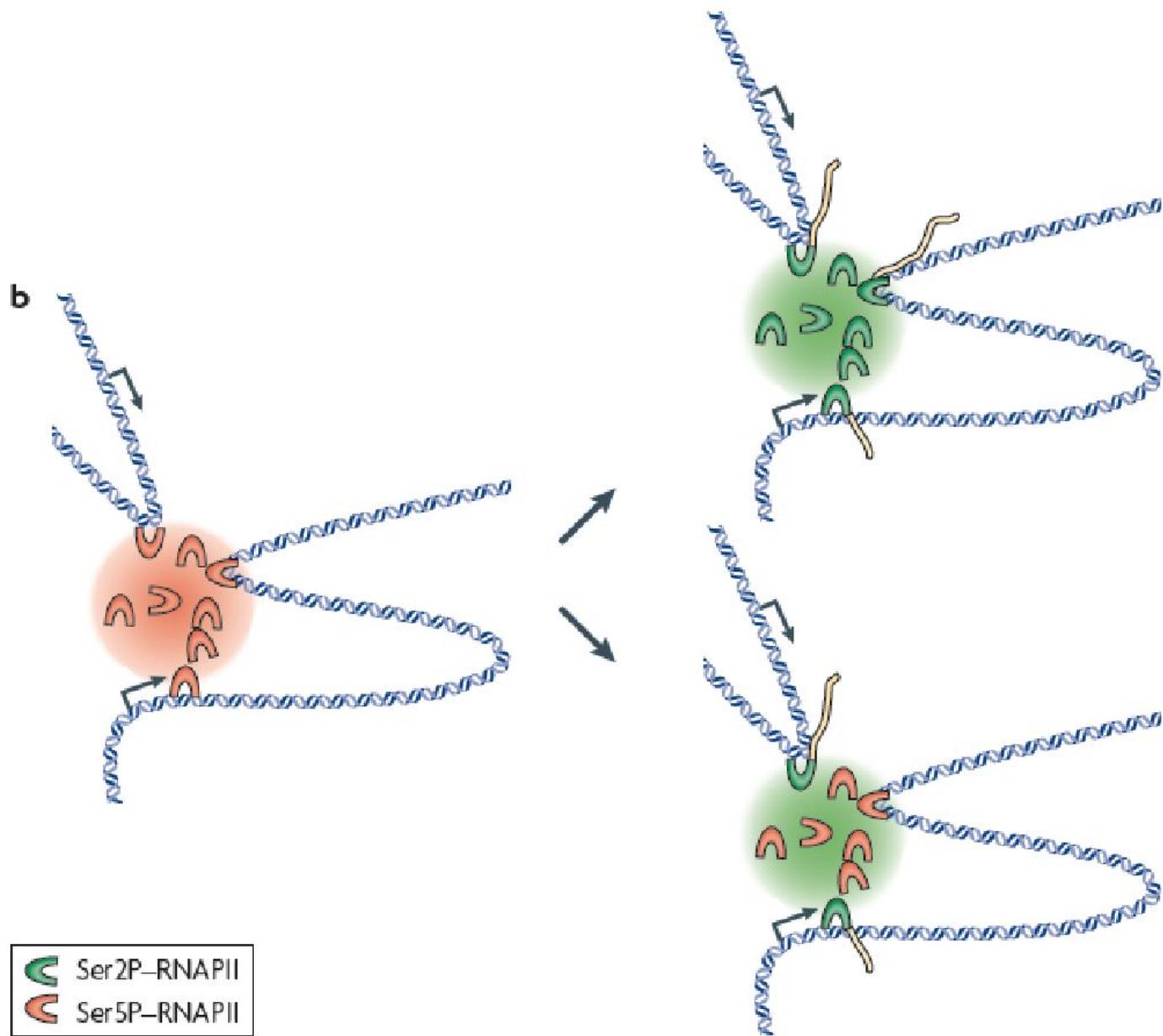
В процессе элонгации наблюдается Фосфорилирование серина Ser2 киназой CTDKI, которая является частью фактора элонгации PTEFb.

На завершающем этапе элонгации происходит дефосфорилирование по Ser5 с помощью протеинфосфатазы. Фосфорилирование Ser7 необходимо для транскрипции малых ядерных РНК.

Схема транскрипционной фабрики



Зеленым цветом отмечены 8 молекул
РНК-полимеразы, желтым - РНК

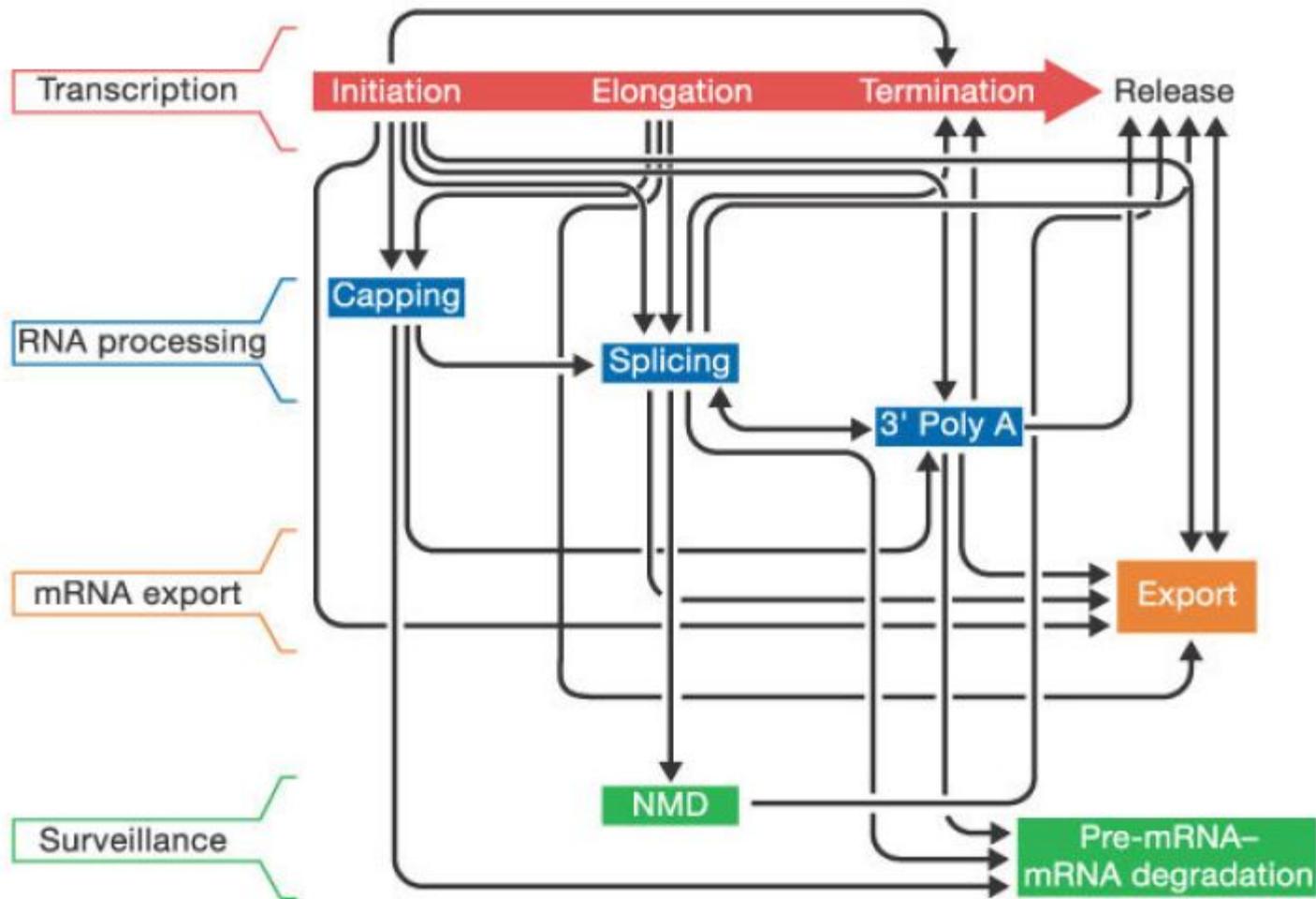


Две возможные схемы сплайсинга генов, транскрибируемых на двух транскрипционных фабриках



с – транскрипция двух генов идет на общей транскрипционной фабрике
в - транскрипция двух генов идет на разных транскрипционных фабриках,
объединение в одну мРНК идет за счет факторов сплайсинга (желтые кружочки)

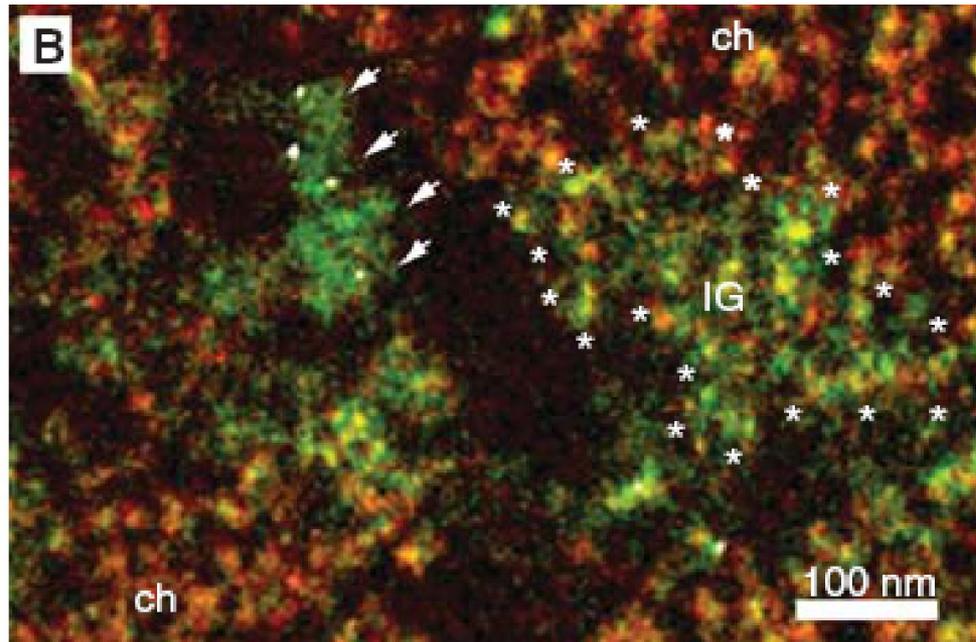
Transcription



From ???

Taken from
???

Транскрипционные фабрики в клетках HeLa



Транскрипционные фабрики указаны стрелочками, интерхроматиновые гранулы (сплайсосомы) - звездочками

Транскрипционные фабрики в клетках бактерий

Pol-GFP factories

cell, **DNA**

pol-GFP

merge

Pol-GFP in 3-4 foci

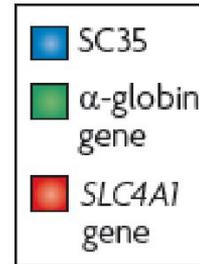
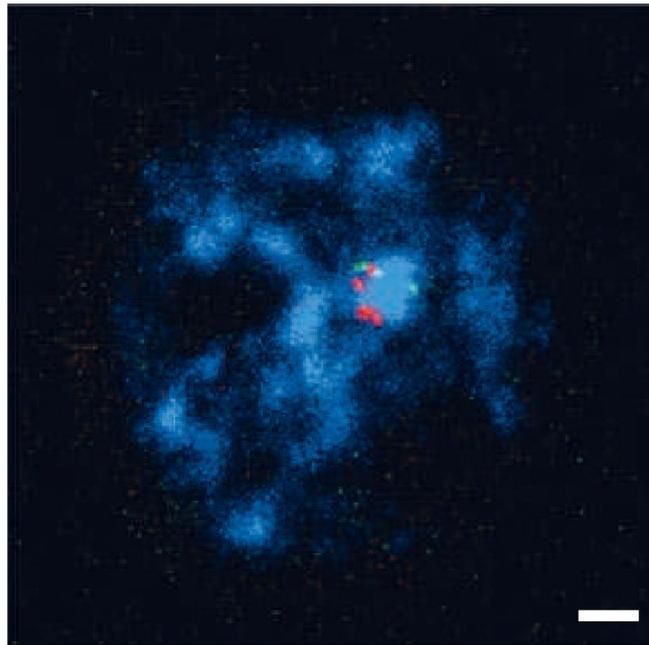


Rifampicin
destroys foci,
disperses **DNA**



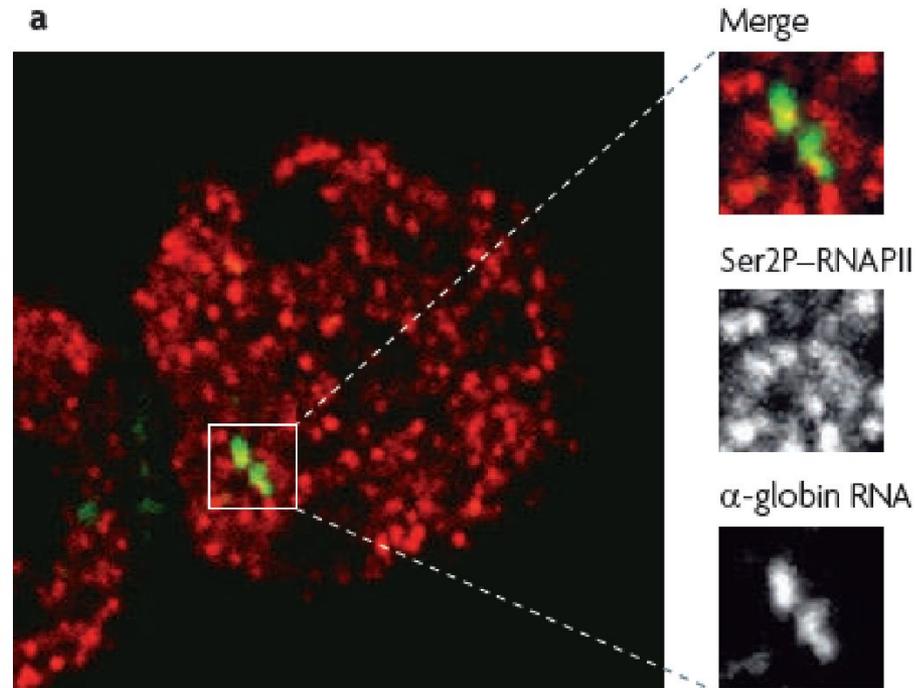
Транскрипция двух генов в эритроблотах человека

б



SC35 – фактор сплайсинга

Транскрипция глобиновых генов в эритроблестах человека

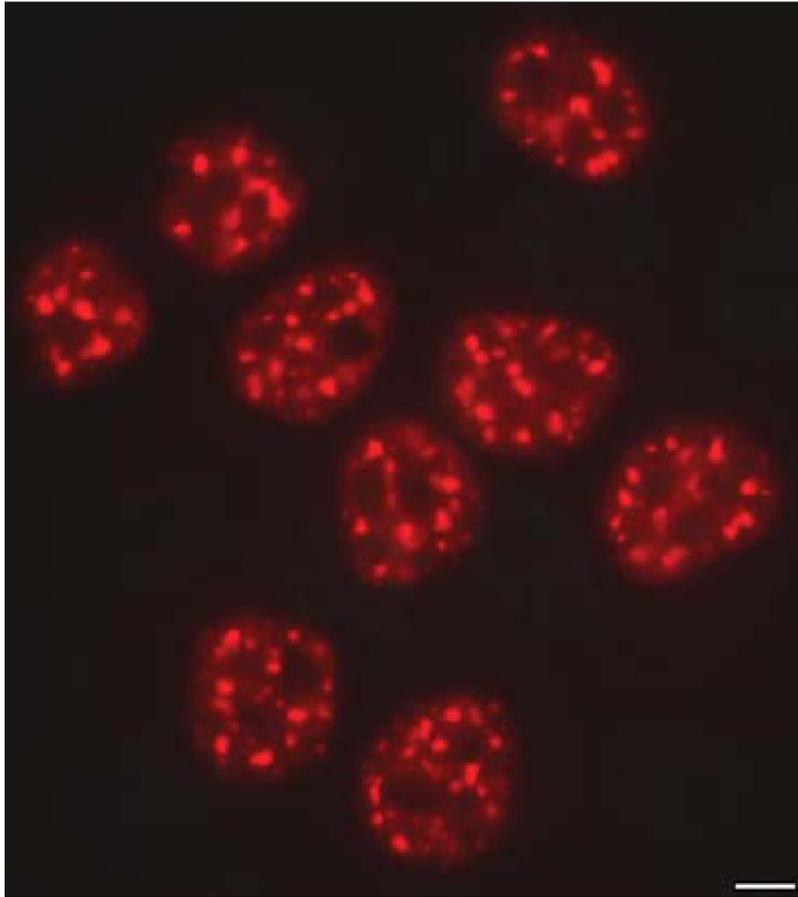


Красный цвет – РНК-пол II

Зеленый – РНК

Два глобиновых гена транскрибируются на разных полимеразных фабриках

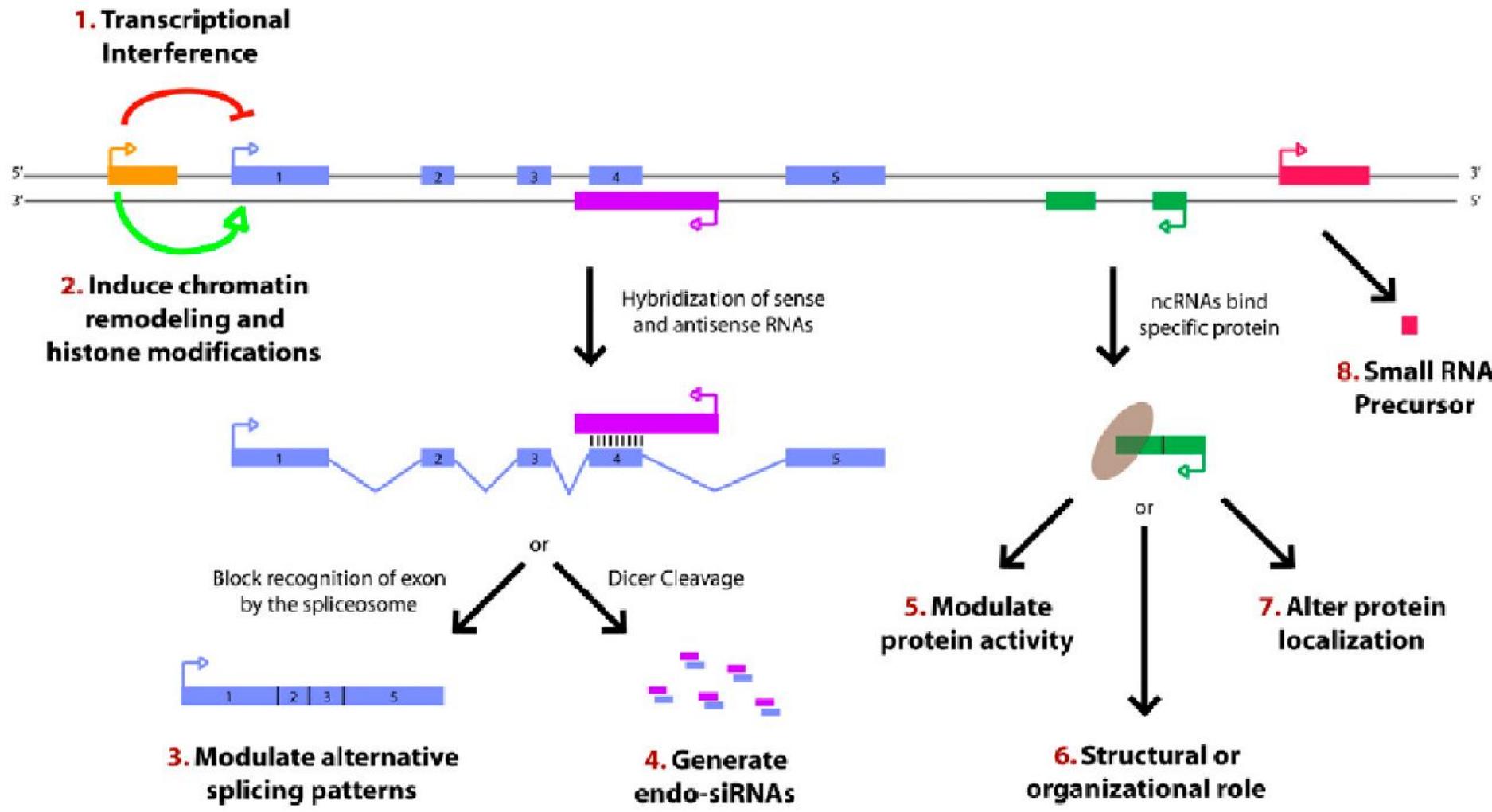
Интерхроматиновые гранулы (speckles, 20-25 нм) в клетках HeLa



Гранулы содержат мРНК
и факторы сплайсинга

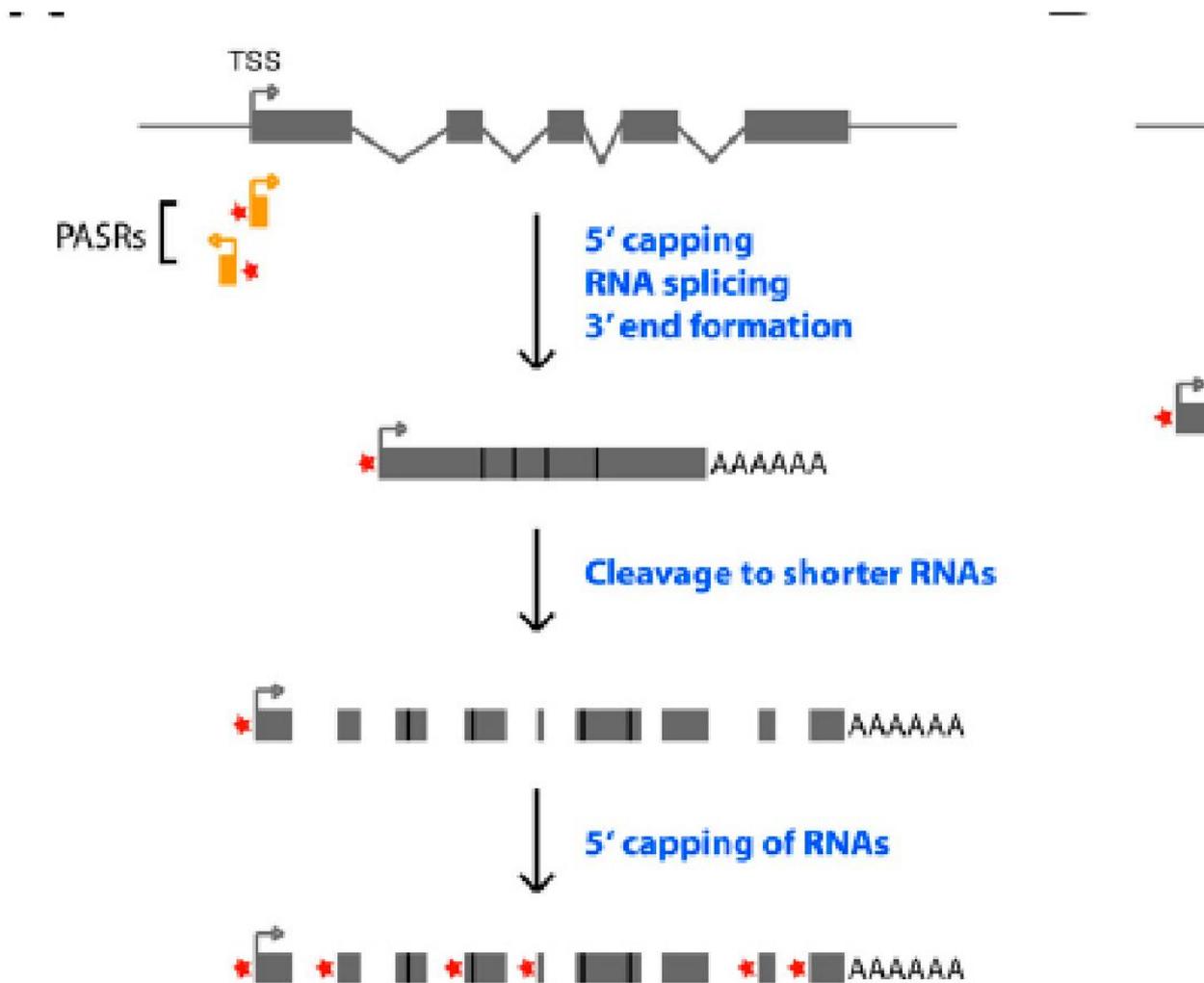
Размер черточки – 5 мкм

Возможные функции некодирующих РНК (нкРНК) и малых интерференционных РНК (миРНК)

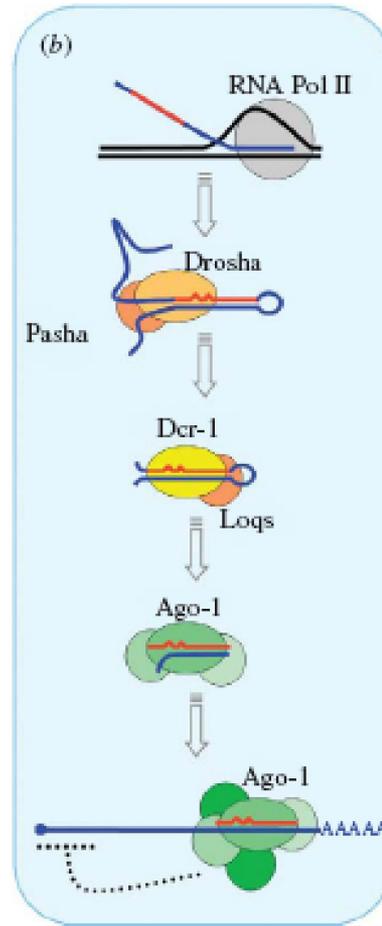


Small interfering RNA (siRNA)

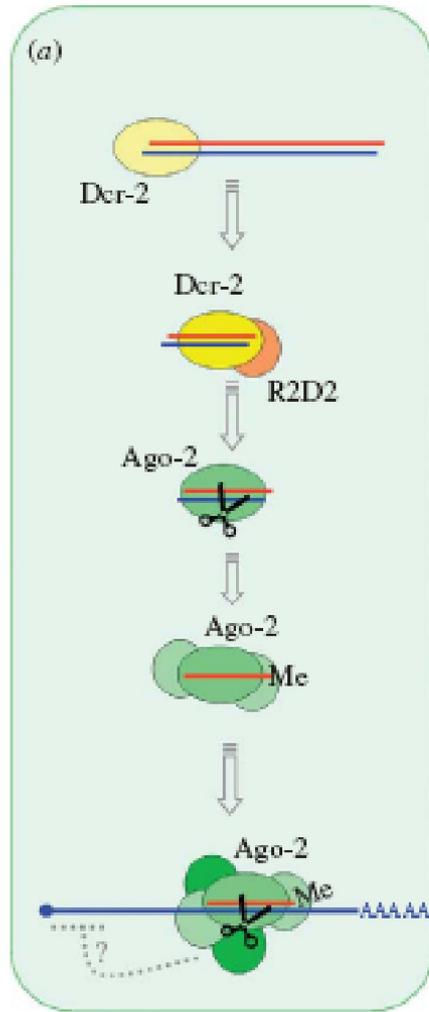
Схема образования малых ядерных РНК путем разрезания нк РНК



Регуляция трансляции с помощью микро РНК (miRNA)

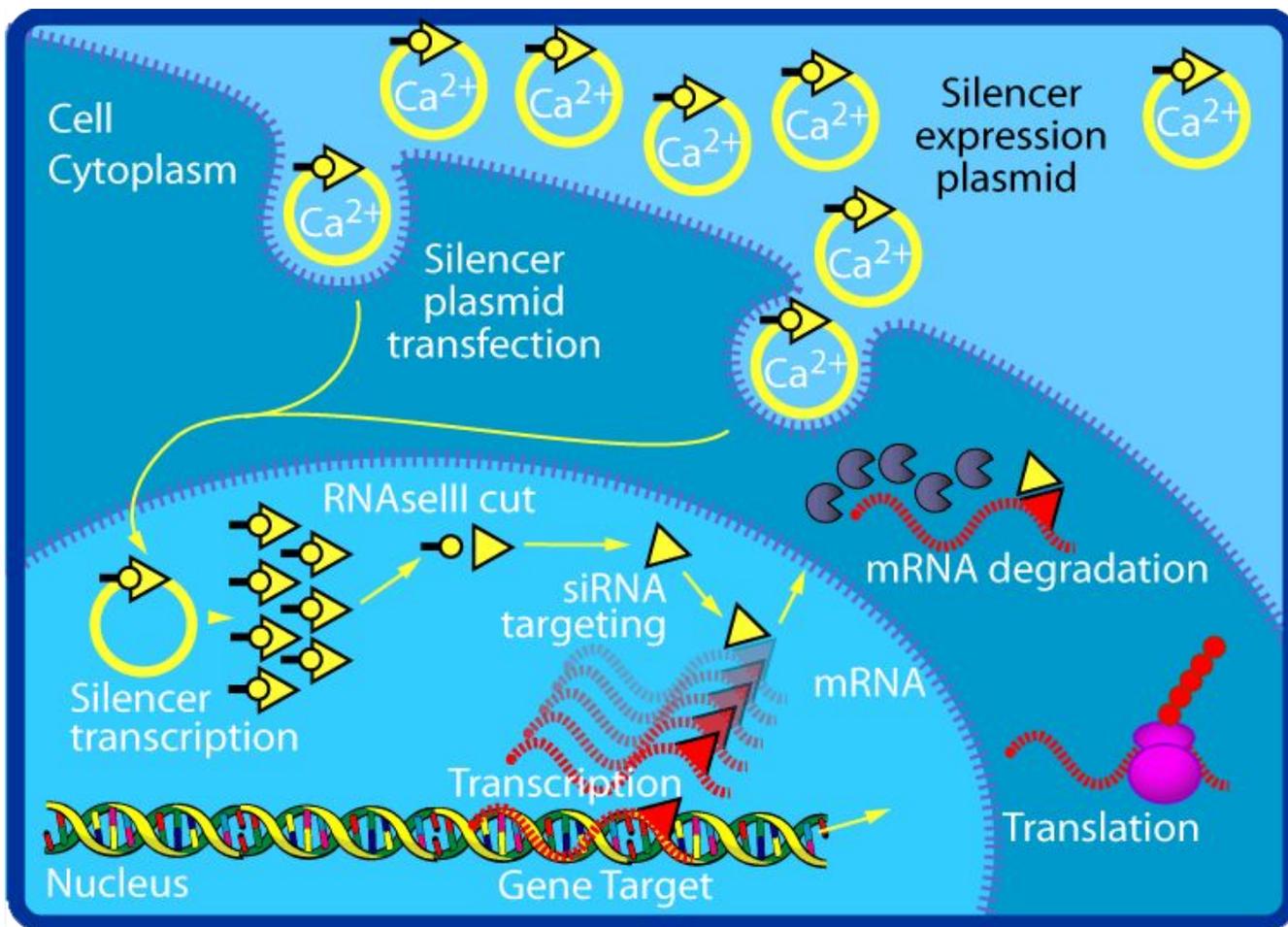


Предшественники miRNA транскрибируются и подвергаются процессингу РНКазами Drosha и Dicer-1 до зрелой miRNA. Последняя загружается в комплекс RISC, содержащий фермент Argonaute-1, который присоединяется к мРНК и привлекает ряд других белков – ингибиторов трансляции



РНКаза Dicer-2 разрезает двухцепочечную dsRNA на фрагменты малых интерфенирующих РНК (siRNA), которые попадают в ферментный комплекс RISC (RNA-induced silencing complex) и подвергают деградации РНК вируса с помощью белка Argonaute-2

Малые ингибиторные РНК (20-25 нуклеотидов) или small interfering RNA (siRNA) как средство для избирательного ингибирования экспрессии генов



Гипотетическая модель участия длинных некодирующих РНК в регуляции транскрипции, как матрицы, на которой собираются комплексы белков, регулирующие транскрипцию

