

ПРОГРАММА СПЕЦКУРСА «КАРИОЛОГИЯ»

преподаватель - д.б.н., профессор И.И. Киреев

Ядерные компоненты бактерий: нуклеоид, его химический состав, структура нуклеоида, петлевые домены, единица репликации - репликон, механизм расхождения нуклеоидов после репликации.

Ядро эукариот: компоненты, структурные типы интерфазных ядер (диффузные, хромоцентрические, хромонемные, политенные).

Хроматин. ДНК хроматина, линейность, гетерогенность, кинетика реассоциации ДНК, изохоры, уникальные последовательности нуклеотидов, умеренно и высокоповторяющиеся последовательности нуклеотидов, сателлитные ДНК, функциональные элементы хромосомных ДНК: участки независимой (автономной) репликации, центромерные ДНК, теломерные ДНК, роль теломеразы, MAR, SAR- участки ДНК, связанные с ядерным белковым матриксом. Феномен синтении.

Гетерохроматин и эухроматин, их функциональное значение и структуризация.

Синтез ДНК хроматина: полирепликонность, кластеры репликации ДНК (реписомы), асинхронность репликации по длине хромосомы, репликация участков уникальных последовательностей и повторов, репликация гетерохроматина и эухроматина, причины блокады повторной репликации.

Белки хроматина: гистоны и негистоновые белки (ферменты, факторы, HMG- , белки ядерного матрикса). Гистоны: общая характеристика и свойства, консервативность состава, характер ассоциации с ДНК, типы гистонов, их функциональная и структурная роль, модификации гистонов в связи с активацией хроматина.

Уровни компактизации ДНК.

Нуклеосомный уровень. Характеристика нуклеосомы, спейсеры и их величина, динамика построения нуклеосомы, поведение нуклеосом при репликации и транскрипции. Модификации N-концевых участков молекул гистонов, их значение.

30 нм- фибрилла - основной нативный компонент хроматина, общая характеристика, суперсоленоидная модель, нуклеомерная модель, состав нуклеомера, его характеристики, роль гистона H1 в поддержании структуры 30 нм - фибриллы.

Третий уровень компактизации ДНК- петлевые домены. Получение “нуклеоидов” интерфазных ядер, величина петель ДНК “нуклеоидов”, модели петлевых доменов, “розетки” в составе хроматина при его декомпактизации, размер петель в “розетках” и количество в них ДНК, розетки в составе интерфазных ядер, политенных и митотических хромосом, понятие “хромомер”, примеры их обнаружения в естественных условиях. Роль негистоновых белков в поддержании структуры петлевых доменов.

Хромонемный уровень укладки фибрилл хроматина. Хромонема в интерфазных ядрах, хромонема в профазе и телофазе митоза и при искусственной декомпактизации хромосом.

Структура митотических хромосом. Фазы митоза, хромосомный цикл.

Продольная неоднородность хромосом: G(Q), R,C бэнды, их химическая природа, методы дифференциальной окраски хромосом, химические особенности различных бэндов; искусственная дифференцированная деконденсация хромосом – причина дифференциальной окраски, этапы деконденсации хромосом, обратимость и стабилизация деконденсированного состояния хромосом.

Уровни структурной организации митотических хромосом: петлевые домены, белковый матрикс митотических хромосом, иерархия уровней компактизации ДНК.

Локализация хромосом в интерфазном ядре: Хромосомные территории. Тельца Барра, локализация центромер и теломер, локализация по Раблю, распределение меченного тимидина в ряду клеточных делений, трехмерная локализация в ядрах политенных хромосом, метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH)..

Продукты ядерной активности. Типы синтезированных РНК, коротко и долго живущие РНК, синтез РНК, транскрипционная единица, типы РНК-полимераз. Малые ядерные РНК и РНП, их синтез, функции и значение для клетки.

Особенности синтеза и-РНК: структура гена, интроны и экзоны, синтез гетерогенных ядерных РНК, сплайсинг, сплайсосомы, малые ядерные РНП, интерхроматиновые гранулы, перихроматиновые гранулы, информофоры и информосомы, морфология транскрипции и-РНК, синтез и-РНК в кольцах Бальбиани политенных хромосом, разные типы активности транскрипционных единиц.

Синтез т-РНК: полицистронность участков синтеза т-РНК, предшественник, процессинг и образование зрелых т-РНК.

Синтез р-РНК: структура р-гена, консервативность состава р-РНК, полицистронность р-генов, их кластерность, локализация в районах ядрышковых организаторов, строение транскрипционных единиц, синтез предшественника, его процессинг, образование четырех типов р-РНК и их участие в структуре субъединиц рибосом, образование рибосом.

Ядрышко – хромосомный локус синтеза р-РНК и рибосом: ядрышковый организатор, число ядрышек в ядре, амплификация ядрышек. Строение ядрышек: фибриллярные центры, плотный фибриллярный компонент, гранулярный компонент; количество и структура этих компонентов в зависимости от функциональной нагрузки ядрышка, ферменты и ядрышковые белки при синтезе рибосом; судьба ядрышковых компонентов при митозе; периферический хромосомный материал; пред-ядрышковые структуры, локализация белков ядрышка и их судьба во время митоза.

Ядрышко как мультифункциональный компартмент, нетрадиционные функции ядрышка. Малые ядрышковые РНП и их функции.

Специальные ядерные компартменты: тельца Кахаля, PLM- структуры, околоядрышковый хроматиновый компартмент, их функции.

Ядерный белковый матрикс. Способы выявления ядерного белкового матрикса (ЯБМ), его компоненты и биохимический состав; ламина и ламины, их участие в связывании с периферическим хроматином; ДНК в составе ЯБМ, РНК в составе ЯБМ; белки ЯБМ; роль его в синтезе ДНК и РНК, распределение компонентов ЯБМ во время митоза.

Ядерная оболочка. Строение и состав: внешняя ядерная мембрана, перинуклеарное пространство, внутренняя ядерная мембрана, ламина, комплексы ядерных пор; ламины и их роль в связывании фибрилл хроматина с ламиной, гранулярный периферический слой хроматина, механизм связи хроматина с ядерной оболочкой.

Ядерные поры: комплекс ядерной поры (КЯП), строение, химический состав, число ядерных пор; участие КЯП в ядерно-цитоплазматических связях, импорт белковых молекул, рецепторы импортинов, роль ПЯЛ в транспорте нуклеофильных белков, механизмы транслокации через ядерную пору; ядерный экспорт: экспортины и контроль за выходом из ядра белков, РНП и рибосом, особенности транспорта и-РНП; судьба ядерной оболочки во время митоза, модификация ламин, образование микроядер.

Ядерная технология: получение гетерокарионов, получение преждевременно конденсированных хромосом, получение микроядер, микрохирургические и лучевые манипуляции с ядерными компонентами, пересадки ядер, молекулярная гибридизация *in situ*.

План лекций

1.Функциональная архитектура ядра. Основные функциональные компартменты ядра эукариотической клетки. Сайты репликации, их динамика в S-периоде. Ядрышко, сплайсосомы, тельца Кахаля, PML- тельца и др. Характеристики их белкового состава, функции

2.Хромосомные территории и регуляция активности генов. Способы визуализации хромосомных территорий. Различные теории взаимодействия хрс территорий в ядре.

Зависимость топологии отдельных хромосом в ядре от активности содержащихся в них генов.

3. Гистоны и их модифицированные формы. Общая архитектура строения нуклеосомы. Способы и сайты ковалентных модификаций N-концевых участков различных гистонов. Роль модифицированных гистонов в эпигенетической регуляции транскрипции и др. процессов.. Гистоновый код.

4. Многофункциональное ядрышко. Канонические и неканонические функции ядрышка. Ядрышко в митозе, поведение ядрышкового организатора. Ядрышко в интерфазе, процессинг различных РНК. Белки ядрышка и их функции. Взаимодействие ядрышка с другими функциональными компартментами ядра.

5.Ламина и ее связь со структурой и функцией хроматина. Структура ламины, белки, заякоривающие ее структуры во внутренней ядерной мембране. LBR- комплекс, белки группы LAP. Взаимодействие ламины с хроматином. Регуляторные аспекты взаимодействия ламины с пристеночным гетерохроматином.

6.Комплекс ядерной поры. Морфология комплекса ядерной поры (КЯП) по данным, полученным различными методами. Белки КЯП, их взаимодействие с ламиной и оболочкой ядра. Функционирование КЯП, его участие в сегрегации и активном транспорте макромолекул. Белки, обеспечивающие эти процессы.

7.Хроматин и транскрипция. Отличительные черты транскрипционно активного хроматина, модификации гистонов в этом процессе. Ремоделинг хроматина, сопровождающий транскрипцию. Поведение нуклеосом в процессе транскрипции. Транскрипция и высшие уровни упаковки хроматина.

8.Малые ядерные РНК и их функции. Виды малых ядерных РНК, их размеры. Приуроченность отдельных видов мяРНК к определенным типам клеток. Происхождение мяРНК в клетке – метаболические пути их образования. Транскрипция прицентромерного гетерохроматина. Явление РНК-интерференции. Функции мяРНК, регуляторная роль и их значение при внутриклеточной инактивации вирусной агрессии.

9. Центромера. Центромера, как специфический локус хромосом высших организмов. История изучения. Локализация на хромосоме, состав ДНК, специфические белки. Варианты строения ЦМ у разных организмов. Консервативность строения. Взаимодействие ЦМ с веретеном деления и поведение ее в митозе. Образование и элиминация ЦМ, неоцентромеры.

10 Теломера. История изучения, проблема концевой репликации. Структура Т, состав ее ДНК, консервативность. Пространственная структура Т по современным данным. Специфические белки Т., их свойства. Теломеразный комплекс, его функции. Теломера, старение и раковый рост.

11.Негистоновые белки хроматина. Группы негистоновых белков хроматина. Общие функции. HMG-белки, конденсины, когезины – функционирование на различных стадиях клеточного цикла.

12.Ядерный белковый матрикс (ЯБМ). История изучения. Способы изучения ЯБМ, его визуализации для ультраструктурного исследования. Структуры, входящие в ЯБМ, белки ЯБМ. Специфические участки ДНК , связанные с ЯБМ. Взаимодействие ЯБМ и хроматина. Структура нативного ЯБМ в живой клетке, его изменения в процессах функционирования хроматина. Соотношение ЯБМ и «скэффолда» митотических хромосом.

13. Уровни упаковки хроматина в интерфазном ядре и митотических хромосомах. Факторы, поддерживающие различные уровни упаковки хроматина, начиная с нуклеосомного уровня до уровня митотической хроматиды. Элементарная 30нм фибрилла

хроматина. Возможное участие негистоновых белков в упаковке хроматина на разных уровнях. Хромонема, ее выявление и свойства.

14.Современные модели строения митотической хромосомы. Сопоставление моделей укладки хроматина в митотическую хромосому с данными о структуре и свойствах различных видов хроматина: эухроматин, факультативный гетерохроматин, конститутивный гетерохроматин. Корреляция плотности укладки отдельных районов митотических хромосом с данными дифференциальной окраски хромосом. Причины дифференциальной конденсации хромосом.

Промежуточные аттестации

Чтение курса «Кариология» проходит параллельно с практическими занятиями по той же теме в рамках большого практикума, где студенты самостоятельно получают препараты и исследуют в световой и электронный микроскопы ядра и хромосомы, полученные из различных объектов. В ходе обсуждения практических заданий и их выполнения проходит промежуточная аттестация студентов по отдельным темам курса.

Итоговая аттестация (вопросы)

- 1.Функциональная архитектура ядра. Основные функциональные компартменты ядра эукариотической клетки. Сайты репликации, их динамика в S-периоде.
2. Ядрышко, сплайсосомы, тельца Кахаля, PML- тельца и др. Характеристики их белкового состава, функции
- 3.Хромосомные территории и регуляция активности генов. Способы визуализации хромосомных территорий. Различные теории взаимодействия хрс территорий в ядре.
4. Гистоны и их модифицированные формы. Общая архитектура строения нуклеосомы. Способы и сайты ковалентных модификаций N-концевых участков различных гистонов.
- 5.Роль модифицированных гистонов в эпигенетической регуляции транскрипции и др. процессов.. Гистоновый код.
6. Канонические и неканонические функции ядрышка. Ядрышко в митозе, поведение ядрышкового организатора.
- 7.Ядрышко в интерфазе, процессинг различных РНК. Белки ядрышка и их функции. Взаимодействие ядрышка с другими функциональными компартментами ядра.
- 8.Ламина и ее связь со структурой и функцией хроматина. Структура ламины, белки, закоривающие ее структуры во внутренней ядерной мембране.

9.Комплекс ядерной поры. Морфология комплекса ядерной поры (КЯП) по данным, полученным различными методами. Белки КЯП, их взаимодействие с ламиной и оболочкой ядра.

10.Функционирование комплекса ядерной поры, его участие в сегрегации и активном транспорте макромолекул. Белки, обеспечивающие эти процессы.

11.Хроматин и транскрипция. Отличительные черты транскрипционно активного хроматина, модификации гистонов в этом процессе. Ремоделинг хроматина, сопровождающий транскрипцию.

12. Малые ядерные РНК и их функции. Виды малых ядерных РНК, их размеры. Приуроченность отдельных видов мРНК к определенным типам клеток. Происхождение мРНК в клетке – метаболические пути их образования.

13. Явление РНК-интерференции. Функции мРНК, регуляторная роль и их значение при внутриклеточной инактивации вирусной агрессии.

14. Центромера, как специфический локус хромосом высших организмов. Локализация на хромосоме, состав ДНК, специфические белки. Варианты строения ЦМ у разных организмов.

15. Взаимодействие центромеры с веретеном деления, ее функции и поведение в митозе. Образование и элиминация ЦМ, неоцентромеры.

16. Теломера. Проблема концевой репликации. Структура Т, состав ее ДНК, консервативность. Пространственная структура Т по современным данным.

17.Специфические белки теломер, их свойства. Теломеразный комплекс, его функции. Теломера, старение и раковый рост.

18.Негистоновые белки хроматина. Группы негистоновых белков хроматина. Общие функции. НМГ-белки, конденсины, когезины – функционирование на различных стадиях клеточного цикла.

19.Ядерный белковый матрикс (ЯБМ). Способы изучения ЯБМ, его визуализации для ультраструктурного исследования. Структуры, входящие в ЯБМ, белки ЯБМ. Структура нативного ЯБМ в живой клетке, его изменения в процессах функционирования хроматина.

20. Уровни упаковки хроматина в интерфазном ядре и митотических хромосомах. Факторы, поддерживающие различные уровни упаковки хроматина, начиная с нуклеосомного уровня до уровня митотической хроматиды.

21.Современные модели строения митотической хромосомы. Корреляция плотности укладки отдельных районов митотических хромосом с данными дифференциальной окраски хромосом. Причины дифференциальной конденсации хромосом.

Список учебной литературы

- Босток К., Самнер Э. Хромосома эукариотической клетки. "Мир", 1981.
- Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Изд.2-ое, Новосибирск, 2003
- Захаров А.Ф. Хромосомы человека, М., "Медицина", 1977.
- Збарский И.Б. Организация клеточного ядра. М., "Медицина", 1988.
- Збарский И.Б., Кузьмина С.Н. Скелетные структуры клеточного ядра. М., "Наука", 1991.
- Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск, Изд-во Сибирского отделения РАН, 2009.
- Прокофьева- Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом. М., «Наука», 1986.
- Разин С.В., Быстрицкий А.А. Хроматин: упакованный геном. М., 2009.
- Ченцов Ю.С., Поляков В.Ю. Ультраструктура клеточного ядра. М., «Наука», 1974.
- Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. 4-е изд. М., ИКЦ «Академкнига», 2004.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular Biology of the Cell. 5-th edition. 2007.
- Pollard T., Earnshaw W.C., Lippincott-Schwartz J. Cell Biology. (2-nd edition). 2006.

Компетенции

После прослушивания курса «Кариология» студент должен иметь полное представление о современном состоянии цитологических знаний о структуре и функционировании хроматина и хромосом эукариотической клетки.