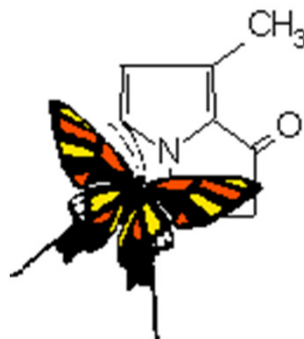


Лаборатория
НГУ-Интел



ЭПИГЕНЕТИКА

Грин Инга Ростиславовна



Мультимедийный курс для студентов – биологов Китайско-российского института.

Часть 3. Эпигенетика: внутриклеточный уровень

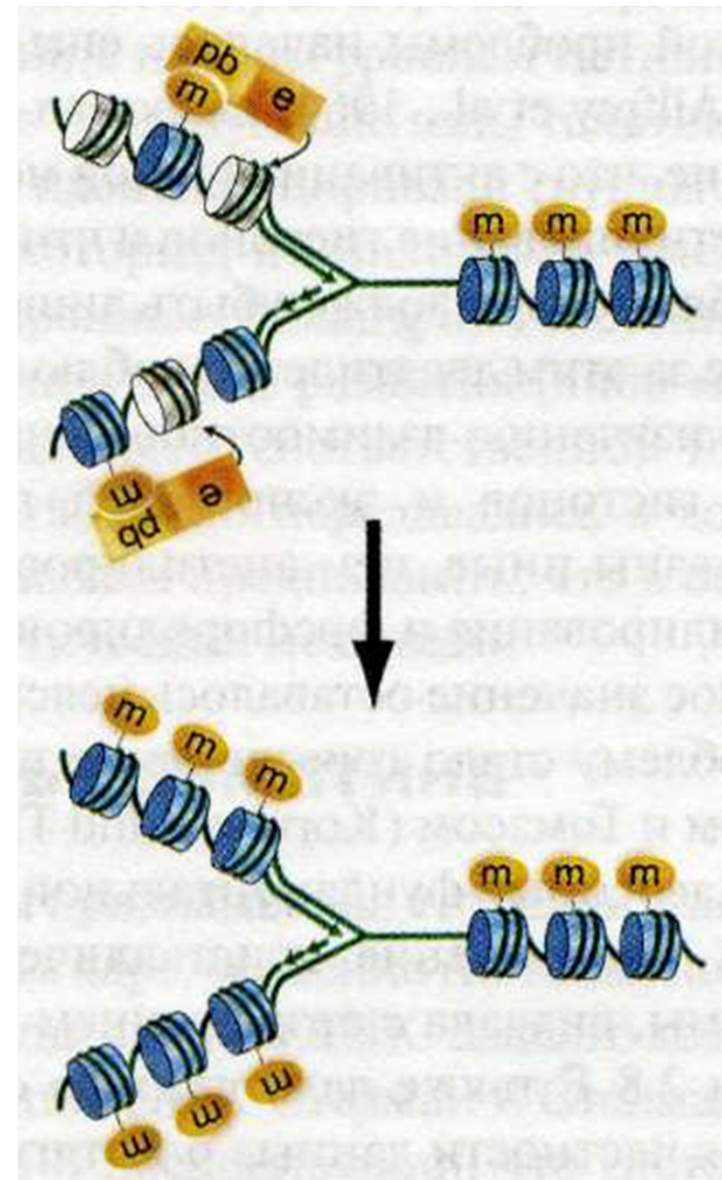
Эпигенетическая регуляция

Эпигенетическая регуляция - наследственные и ненаследственные изменения в экспрессии конкретного гена без каких-либо соответствующих структурных изменений в его нуклеотидной последовательности.

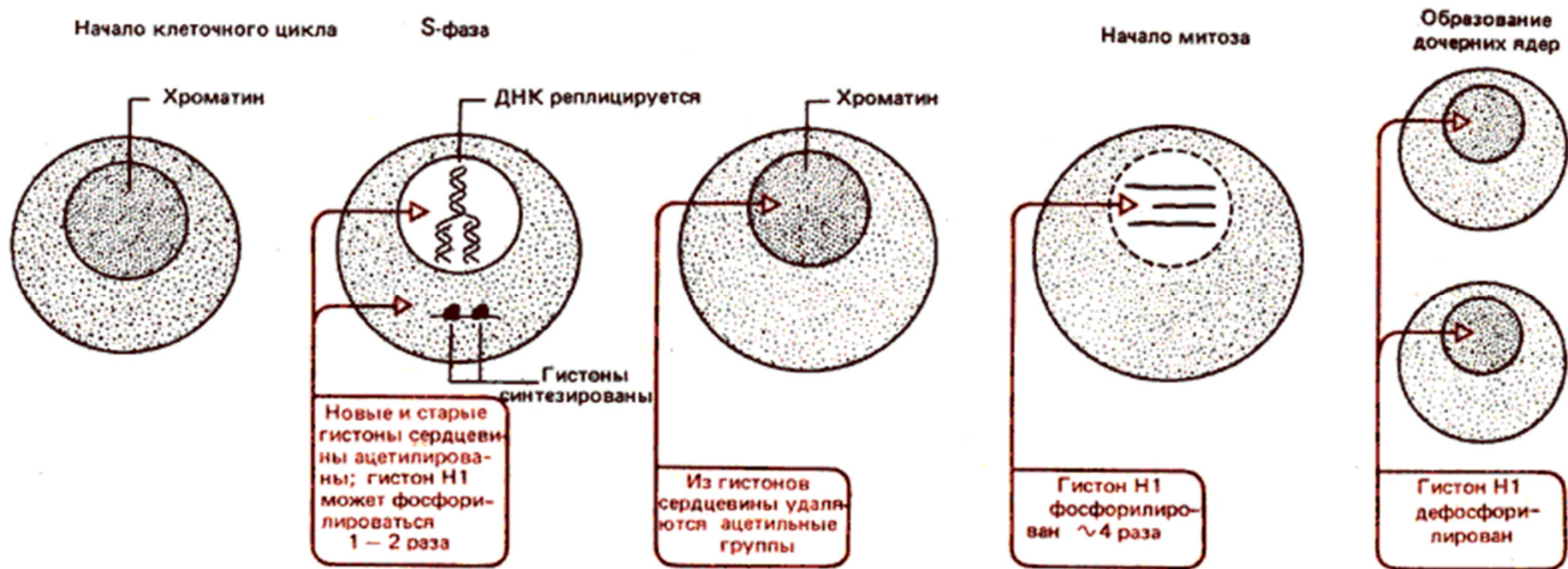
1. ДНК (геном)	метилирование, повторяющиеся последовательности, мутации отдаленных регуляторных элементов, мобильные генетические элементы
2. РНК (транскриптом)	регуляторные мотивы пре-мРНК, малые интерферирующие РНК, микро РНК и другие нетранслирующиеся РНК
3. Белки (протеом)	метилирование/деметилирование, ацетилирование/деацетилирование, фосфорилирование/дефосфорилирование гистоновых хвостов.

Модификации гистоновых хвостов и репликация

Модифицированный гистоновый «хвост» (**m**) взаимодействует с белком-связкой (**pb** – a protein binder), имеющим сайт связывания, специфичный для данной модификации. У **pb** есть специфический сайт для энзима (**e**), который выполняет модификацию гистона. Кроме того, **e** может модифицировать и соседнюю нуклеосому. Во время репликации вновь образующиеся нуклеосомы из новых гистонов расположены среди родительских нуклеосом и, таким образом, могут приобретать родительскую модификацию.



Репликация и клеточный цикл



Эпигенетические маркеры могут наследоваться при репликации ДНК и митозе.

Эпигенетика: внутриклеточный уровень

ЭПИГЕНЕТИКА – наука о закономерностях наследования и изменения экспрессии генов без изменения самой последовательности ДНК.

❖ Молекулярный уровень

❖ Внутриклеточный уровень



Эпигенетические механизмы регуляции внутриклеточных процессов

❖ Организменный уровень

❖ Трансгенерационное наследование

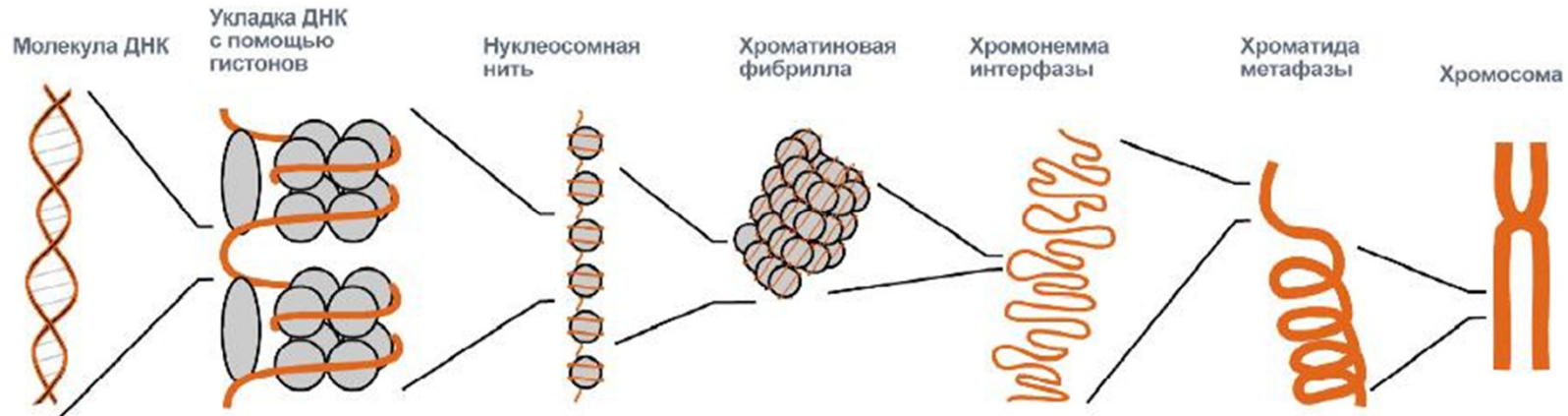
ЭПИГЕНОМ - это совокупность всех эпигенетических маркеров, обуславливающих экспрессию определенных генов в данной клетке.

Эпигенетический контроль экспрессии генов

- ❖ Ремоделирование хроматина
- ❖ Транскрипционные факторы

Компактизация ДНК

Компактизация: ДНК + гистоны = хроматин



ДНК накручивается на гистоновые белки для образования хроматина и компактизации ДНК: ~2 метра ДНК упакованы в ядро ~10 мкм (диаметр).

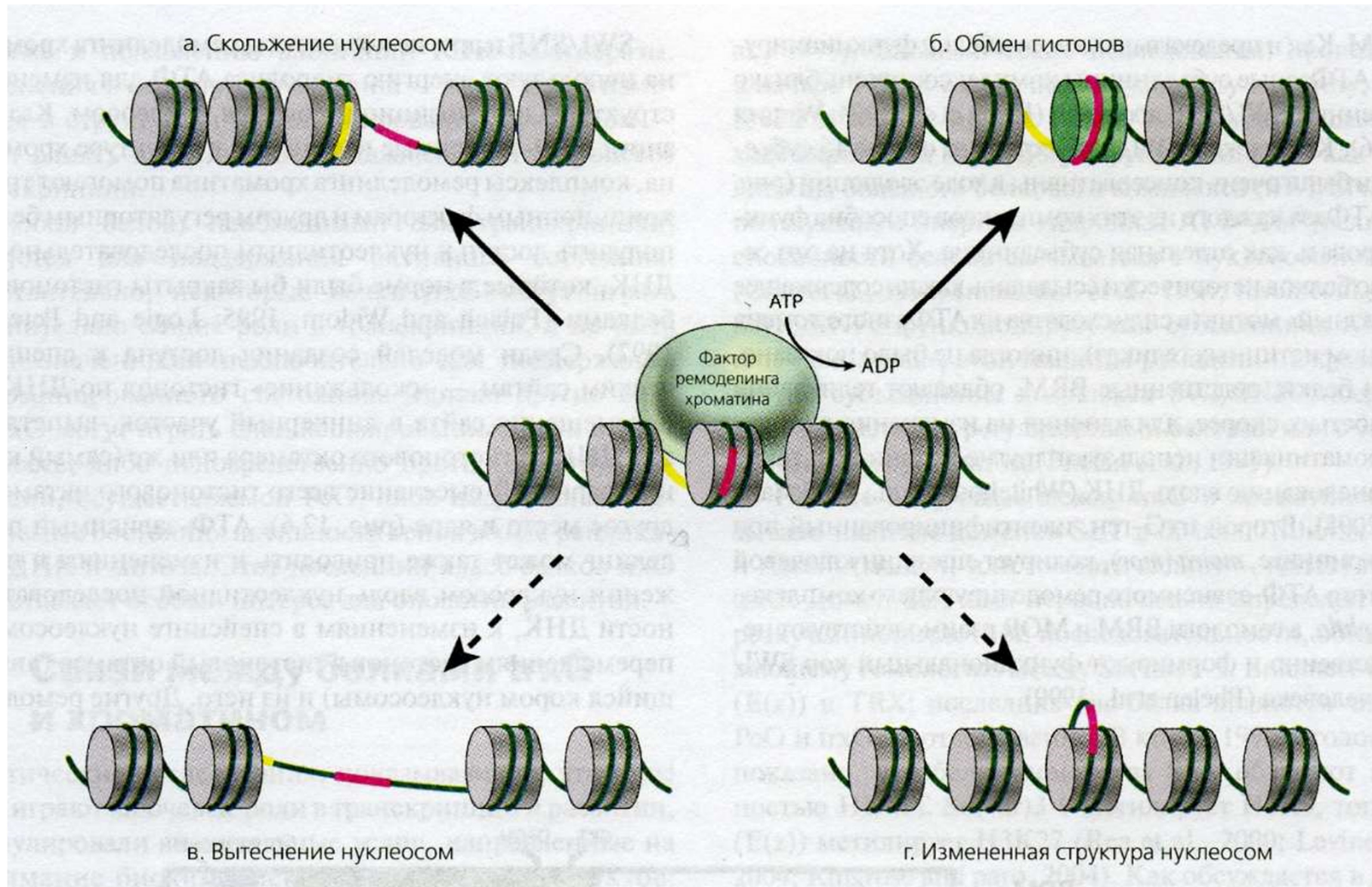
Упаковка ДНК в сжатую форму вызывает проблемы доступа к ДНК белков для транскрипции и репликации ДНК (и репарации ДНК).

Компактизация ДНК и клеточные процессы

Все процессы метаболизма ДНК происходят в эукариотической клетке с ДНК в составе хроматина и все они, в той или иной степени, требуют его разборки и сборки.



Ремоделирование хроматина



Организация генетического материала в ядре

Хромосомные домены:

- ❖ Хромосомные территории
- ❖ Скоординированная экспрессия генов
- ❖ Скоординированная репликация

По каким характеристикам можно выделить хромосомные домены?

Набор модификаций гистонов

Набор негистоновых белков

Время репликации

Плотность генов

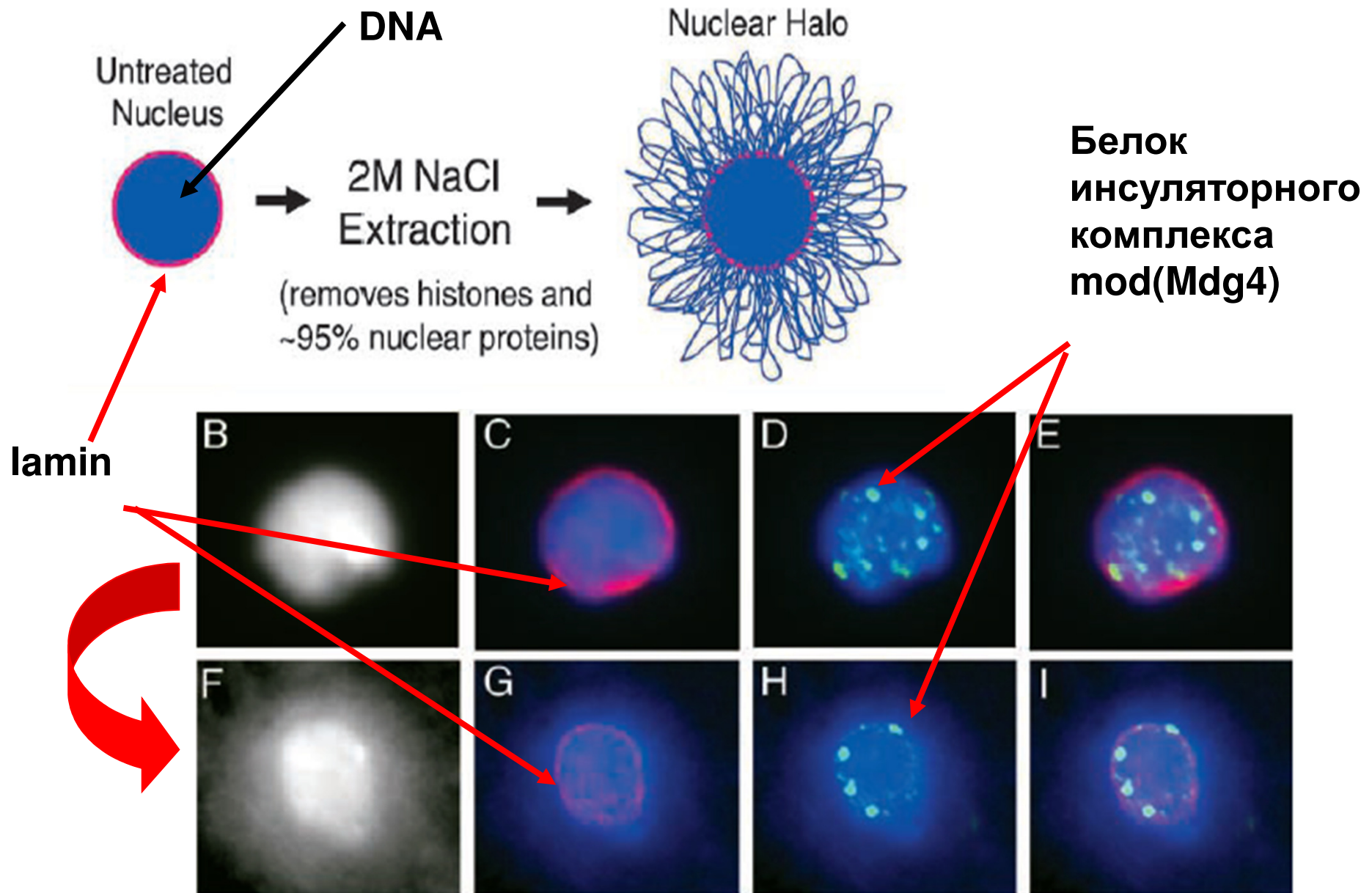
Плотность активно транскрибирующихся генов

Плотность повторяющихся последовательностей

Локализация в ядре

Границы (барьеры, конкуренция между противоположными ферментными активностями)

Хромосомные домены



Регуляция внутриклеточных процессов

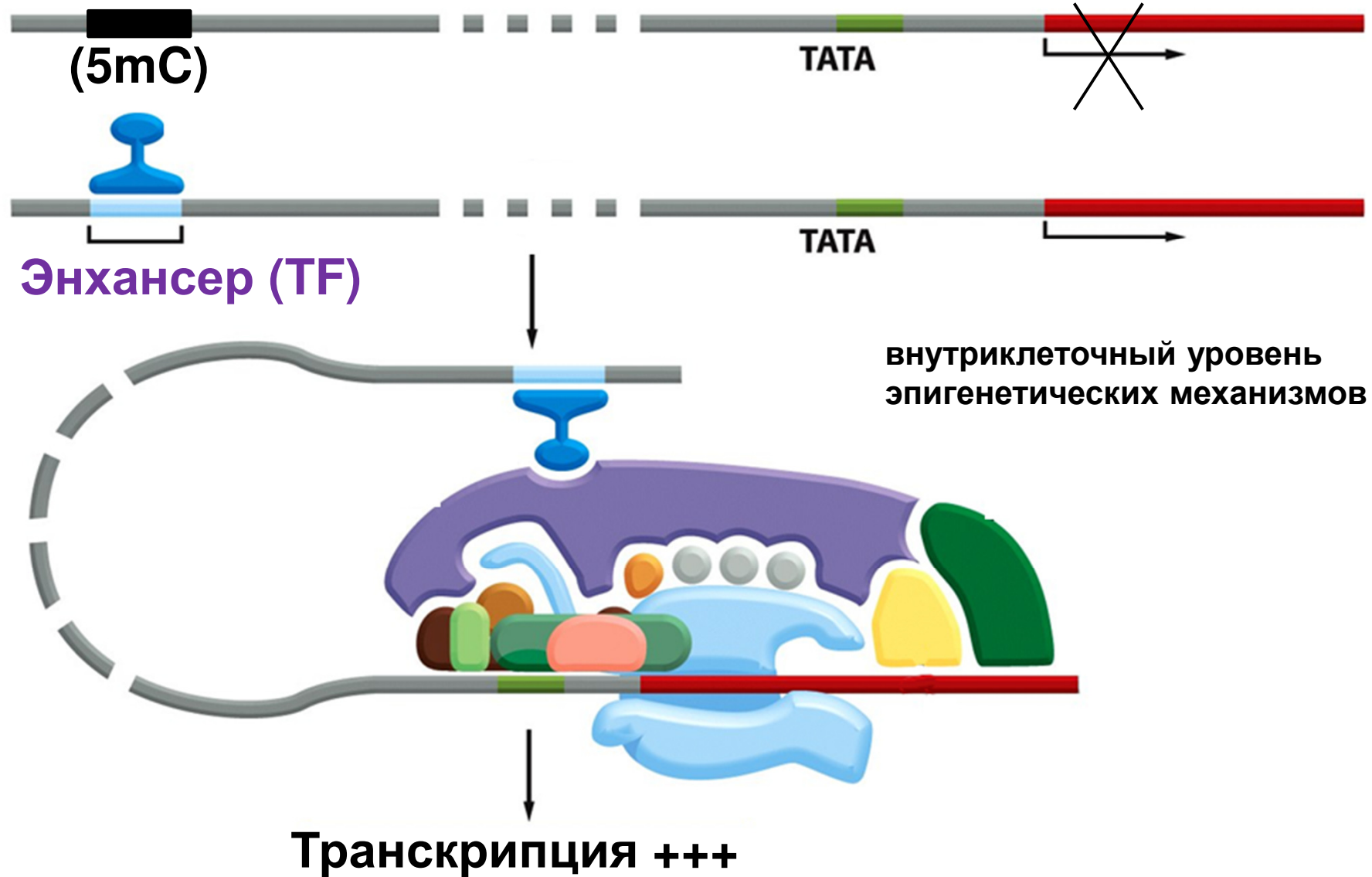
Регуляция экспрессии генов может осуществляться на разных уровнях:

- ❖ Некоторые гены регулируются только на уровне промотора
- ❖ Другим генам дополнительно необходимы энхансеры или сайленсеры
- ❖ Многие участки генома регулируются как единые протяженные домены хроматина. На этом уровне возможна эпигенетическая регуляция (эпигенетическое наследование состояния экспрессии)

В этой регуляции участвуют:

- ❖ Пространственно-временная организация генома
- ❖ Варианты и модификации гистонов
- ❖ Различные негистоновые белки хроматина
- ❖ Пространственная организация ядра

Активация транскрипции посредством деметилирования ДНК



Репрессия транскрипции посредством метилирования ДНК

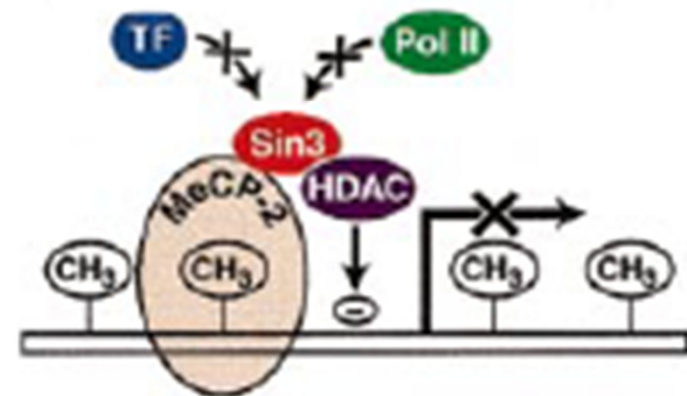
- 1. Метильные группы нарушают ДНК-белковые взаимодействия, выступая в большую бороздку ДНК и препятствуя связыванию специфических транскрипционных факторов.**
- 2. Метилированные районы ДНК специфически связывают транскрипционные репрессоры.**
- 3. Метилирование ДНК влияет на структуру хроматина.**

Репрессия транскрипции посредством метилирования ДНК

Активация транскрипции

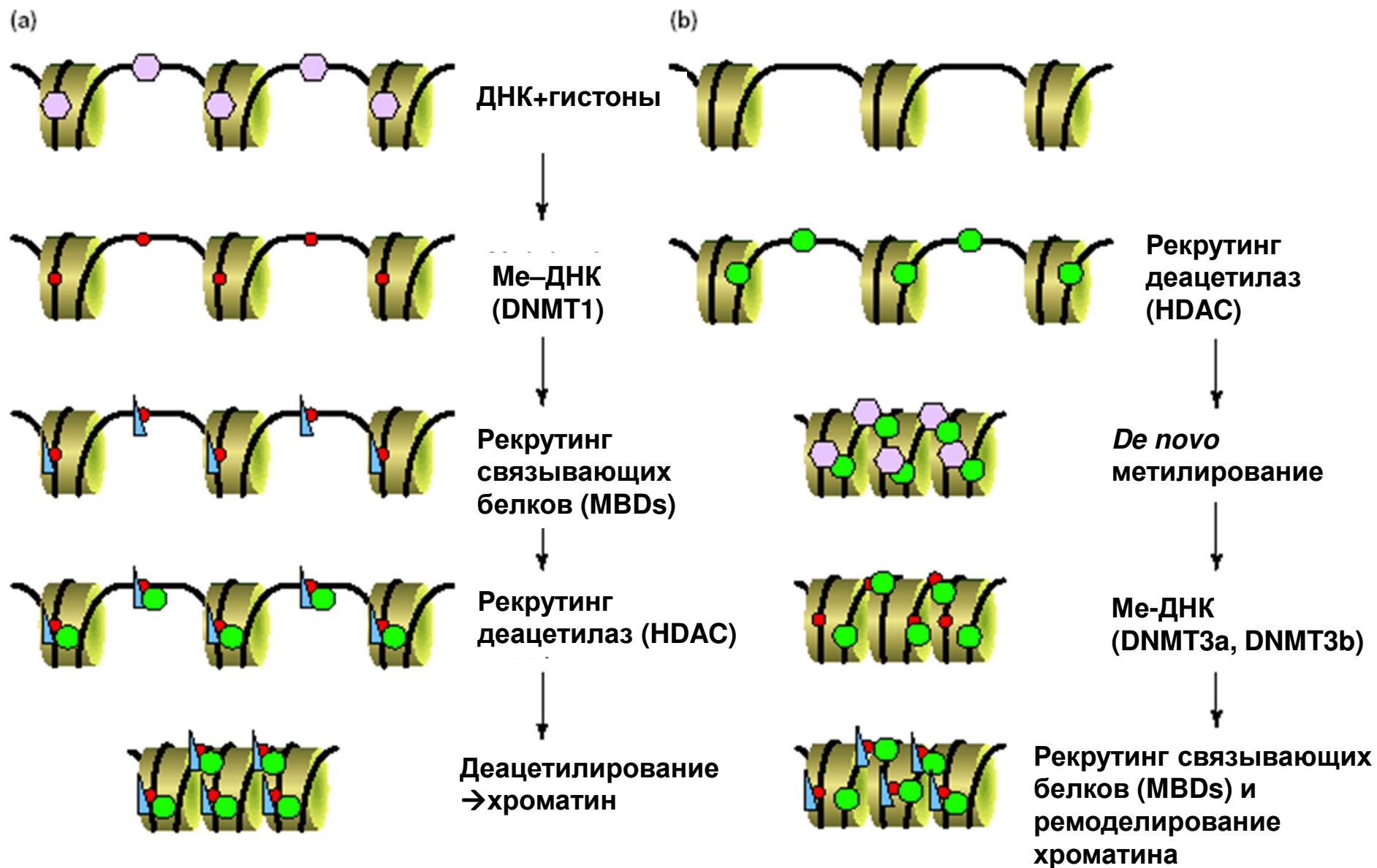


Репрессия транскрипции



- ❖ Белки связывающие ДНК = MBD (methyl-binding-protein) (MeCP-1, MeCP-2, MBD4) могут связывать ДНК и рекрутировать другие белки и факторы для компактизации ДНК и ремоделирования хроматина (внутриклеточный уровень эпигенетических механизмов).

Взаимосвязь между метилированием цитозина в молекуле ДНК и ацетилированием гистонов



Теория «гистонового кода»

Каждая нуклеосома имеет свой «**гистоновый код**» – набор модификаций гистоновых хвостов и белков, который регулирует активность транскрипции (внутриклеточный уровень эпигенетических механизмов).

Изменение гистонового кода (репрограммирование)



Изменение структуры нуклеосом



активация
транскрипции



репрессия
транскрипции

Консервативность эпигенетических механизмов у эукариот

	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. pombe</i>	<i>N. crassa</i>	<i>C. elegans</i>	<i>Drosophila</i>	Mammals	<i>A. thaliana</i>
GENOMIC FEATURES							
Genome size	12 Mb	14 Mb	40 Mb	100 Mb	180 Mb	3,400 Mb	150 Mb
Number of genes	6,000	5,000	10,000	20,000	14,000	~25,000	25,000
Average size of genes	1.45 kb	1.45 kb	1.7 kb	2 kb	5 kb	35–46 kb	2 kb
Average number of introns/gene	≤1	2	2	5	3	6–8	4–5
% Genome as protein coding	70	60	44	25	13	1–1.5 (Hs)	26
EPIGENETIC FEATURES							
ON	Histone acetylation	+	+	+	+	+	+
ON	H3K4 methylation	+	+	+	+	+	+
ON	H3K36 methylation	+	+	+	+	+	+
ON	H3K79 methylation	+	+	+	+	+	+
ON	H3.3 histone variant	+	+	+	+	+	+
ON/OFF	SWI/SNF ATPase complexes	+	+	+	+	+	+
ON	CHD1 ATPase family	+	(+) ^a	(+) ^a	(+) ^a	+	+
ON	SWR1 ATPase	+	(+) ^a	(+) ^a	(+) ^a	+	(+) ^a
ON/OFF	ISWI ATPase	+	+	+	+	+	+
ON/OFF	INO80 ATPase	+	+	+	+	+	+
OFF	MI-2 ATPase	–	(+) ^a	(+) ^a	+	+	+
OFF	CENP-A centromeric histone variant	+	+	+	+	+	+
OFF	H3K9 methylation ^b	–	+	+	+	+	+
OFF	HP1-like proteins	–	+	+	+	+	+
OFF	RNA interference	–	+	+	+	+	+
OFF	H4K20 methylation ^c	–	+	+	+	+	+
OFF	H3K27 methylation	–	–	+	+	+	+
OFF	Polycomb repressive complexes	–	–	–	+	+	+
OFF	DNA methylation	–	–	+	–	(+) ^d	+
OFF	DNA methylation binding proteins	–	+ ^e	+	+ ^f	+ ^g	+
OFF	Imprinting	–	–	–	–	+ ^h	+

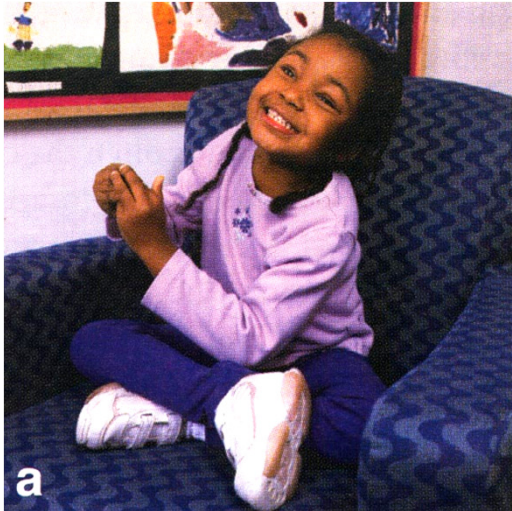
Заболевания, связанные с нарушением процесса метилирования ДНК

Ген	Функция	Фенотипические проявления	Заболевания человека
ДНК-метилтрансфераза 1 мыши (Dnmt1)	Поддержание статуса метилирования ДНК	Гибель эмбриона мыши, потеря импринтинга, инактивация X-хромосомы	-
ДНК-метилтрансфераза 10 мыши (Dnmt10)	Ооцит-специфическое сохранение меток импринтинга на стадии 8-кл. зародыша	Гибель эмбриона, потеря импринтинга	-
ДНК-метилтрансфераза 3А мыши (Dnmt3a)	Метилирование ДНК <i>de novo</i>	Гибель на 4 недели жизни, нарушение сперматогенеза	-
ДНК-метилтрансфераза 3В мыши (Dnmt3B)	Метилирование ДНК <i>de novo</i>	Эмбриолеталь, иммунодефицит, лицевые аномалии, деметилирование и нестабильность прицентромерного гетерохроматина 1,9 и 16 хромосом	Синдром ICF

Заболелвания, связанные с нарушением процесса ремоделирования хроматина

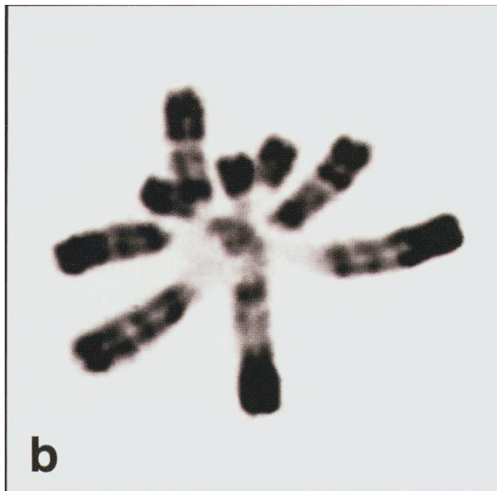
Ген	Функция	Фенотипические проявления	Заболелвания человека
МетилСрG-связывающий белок (MECP2)	Распознавание сайта метилирования ДНК	Гибель зародышей мужского пола, умственная отсталость, аутизм, стереотипное движение рук	Синдром Ретта
X-сцепленная хеликаза SNF2 семейства (ATRX)	Часть белкового комплекса, участвующего в репрессии хроматина	Тяжелая умственная отсталость у мальчиков, микроцефалия, альфа-талассемия, лицевые, скелетные и др. аномалии развития	Синдром α -талассемии/X-сцепленной умственной отсталости
Белок 1, подсемейство А-подобных, SWI/SNF-связанный актин-зависимый регулятор хроматина	Часть белкового комплекса, участвующего в ремоделировании хроматина	Спондилоэпифизарная дисплазия, Т-клеточный иммунодефицит, дисфункция почек	Костноиммунная дисплазия, тип Шимке
Рибосомная S6 киназа (RSK2)	Фосфорилирование гистоновых белков	Умственная отсталость, макроцефалия, отставание в росте, лицевые и скелетные аномалии	Синдром Коффина-Лаури

Синдром Ретта и синдром ICF



Синдром Ретта (RTT, OMIM 312750):

- ❖ описано в 1966 году
- ❖ встречается преимущественно у девочек: регрессия развития, аутизм, стереотипные движения рук
- ❖ основная причина – мутации **MeCP2** (главный компонент метилцитозин связывающего комплекса)



Синдром ICF (ICF, OMIM 242860)

- ❖ гетерохроматиновые районы хромосом 1, 9 и 16 неметелированы, вследствие чего растянуты и имеют ветвистую структуру
- ❖ иммунодефицит, хромосомная нестабильность, аномалии лицевого черепа
- ❖ причина - мутации в гене **DMNT3B** (метилтрансфераза *de novo*).

Эпигенетический контроль экспрессии генов

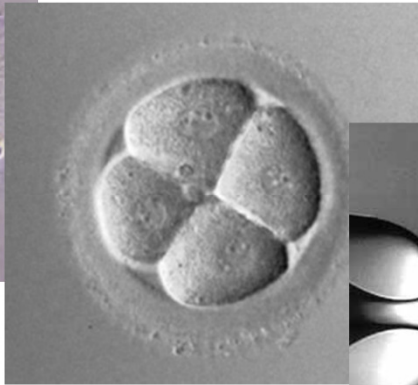
❖ Ремоделирование хроматина

❖ Транскрипционные факторы

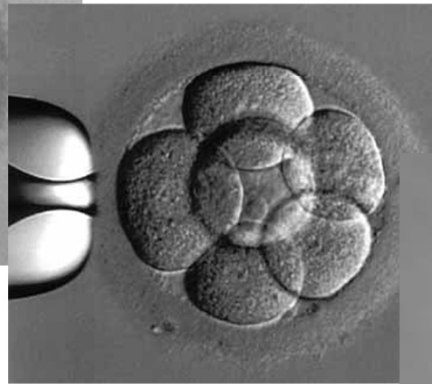
Доимплантационное развитие человека



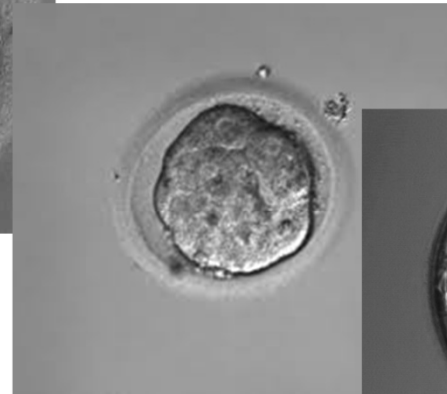
День 1.
Стадия зиготы



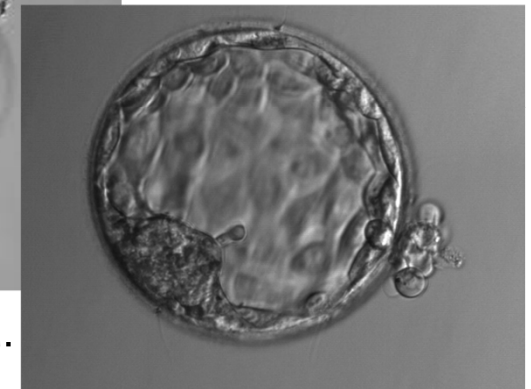
День 2.
Эмбрион в
стадии
дробления 4
бластомера



День 3.
Эмбрион на
стадии
дробления 8
клеток.



День 4. Морула.



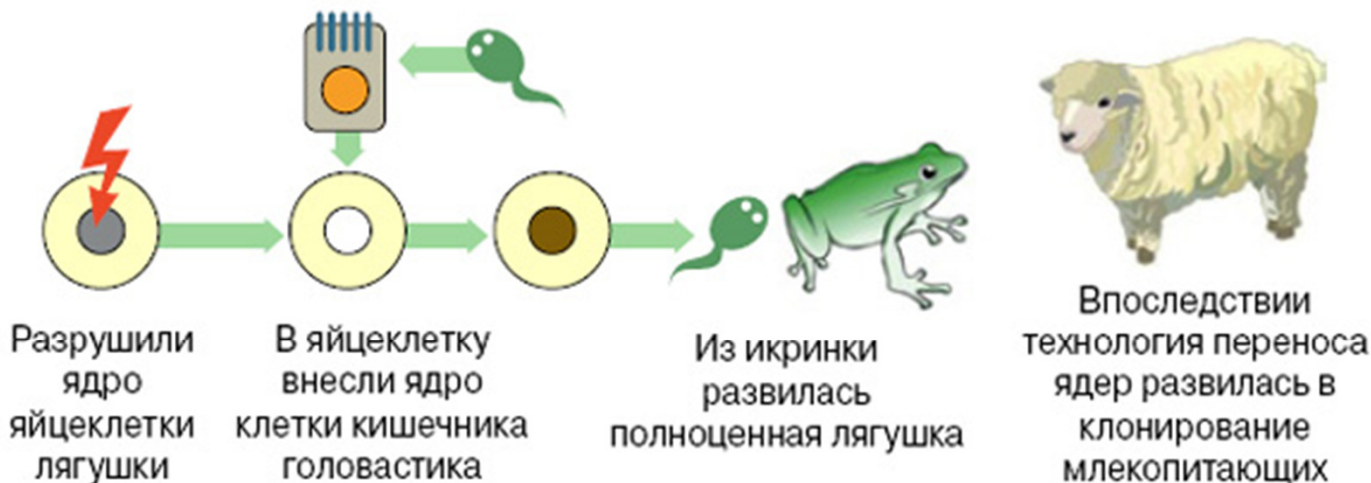
День 5. Бластоциста

Стволовые клетки человека

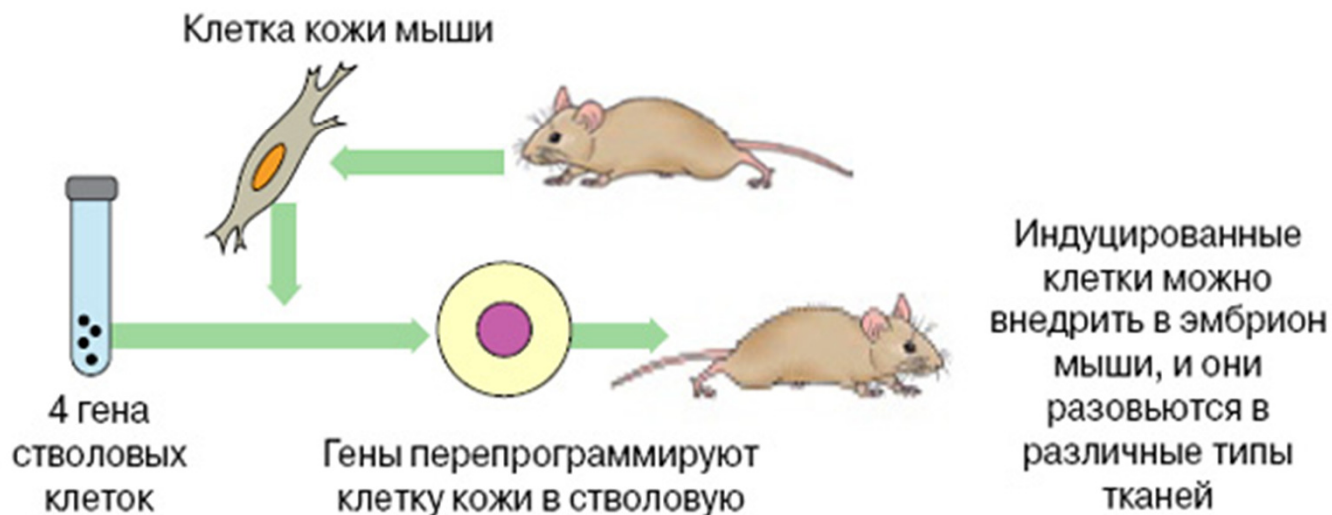
<i>Типы стволовых клеток человека</i>	<i>Способность к дифференцировке</i>		<i>Стволовые клетки в организме человека</i>
<i>Тотипотентные клетки</i>	Все эмбриональные и экстра-эмбриональные ткани		<ul style="list-style-type: none"> • Оплодотворённый ооцит • Бластомеры 2 – 8 клеточной стадии.
<i>Плюрипотентные клетки</i>	Все типы клеток эмбриона		<ul style="list-style-type: none"> • Эмбриональные стволовые клетки • Первичные половые клетки • Клетки эмбриональных карцином
<i>Пролиферирующие дифференцированных тканей взрослого организма клетки</i>	<i>Мульти</i> потентные	Способны дифференцироваться в нескольких направлениях.	<ul style="list-style-type: none"> • Гемопоэтические • Мышечные • Нервной ткани • Кожи • Эндотелия • Кишечника • Миокарда • Мезенхимные стволовые клетки
	<i>Уни</i> потентные	Способны дифференцироваться только в одном направлении.	<ul style="list-style-type: none"> • Волосяного фолликула • Семенников • Яичников

Клонирование (ЭСК) и репрограммирование (ИПСК)

ЭКСПЕРИМЕНТ ДЖОНА ГЕРДОНА



ЭКСПЕРИМЕНТ СИНЬИ ЯМАНАКИ



Клонирование (ЭСК) и репрограммирование (ИПСК)

