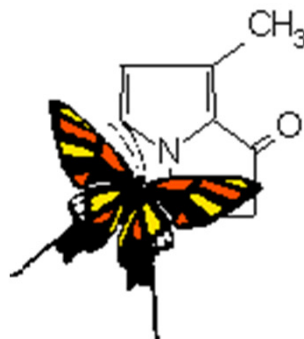


Лаборатория  
НГУ-Интел



# ЭПИГЕНЕТИКА

*Грин Инга Ростиславовна*



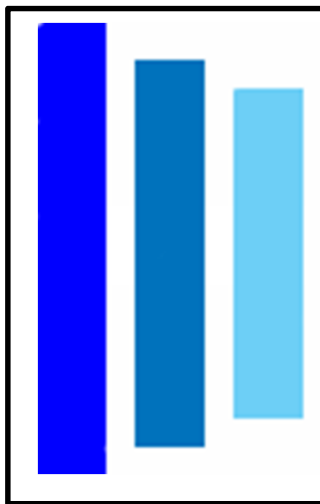
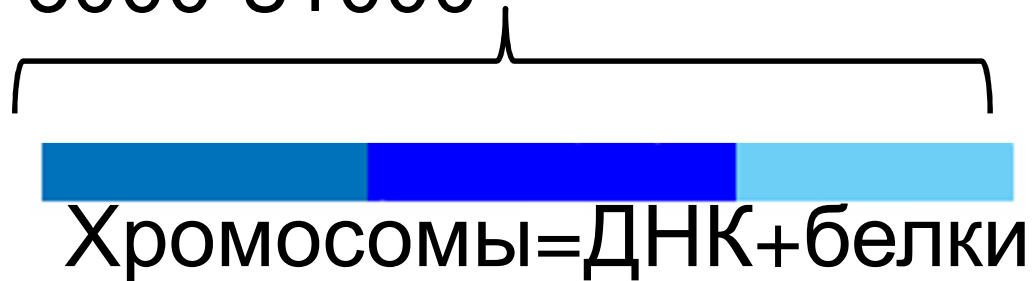
Мультимедийный курс для студентов – биологов Китайско-российского института.

# **Структура генома эукариот**

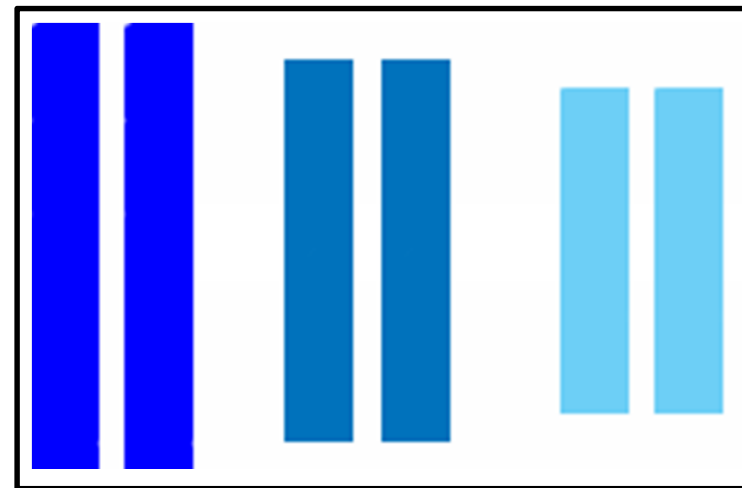
# Геном Эукариот

Размер:  $1,2 \times 10^6$  –  $1,5 \times 10^{11}$  п.н.

Генов: 6000-31000



Гаплоидный  
геном (в гамете)



Диплоидный  
геном

# Избыточность генома эукариот

У *E.coli* на 1 ген приходится 1000 п.н.;

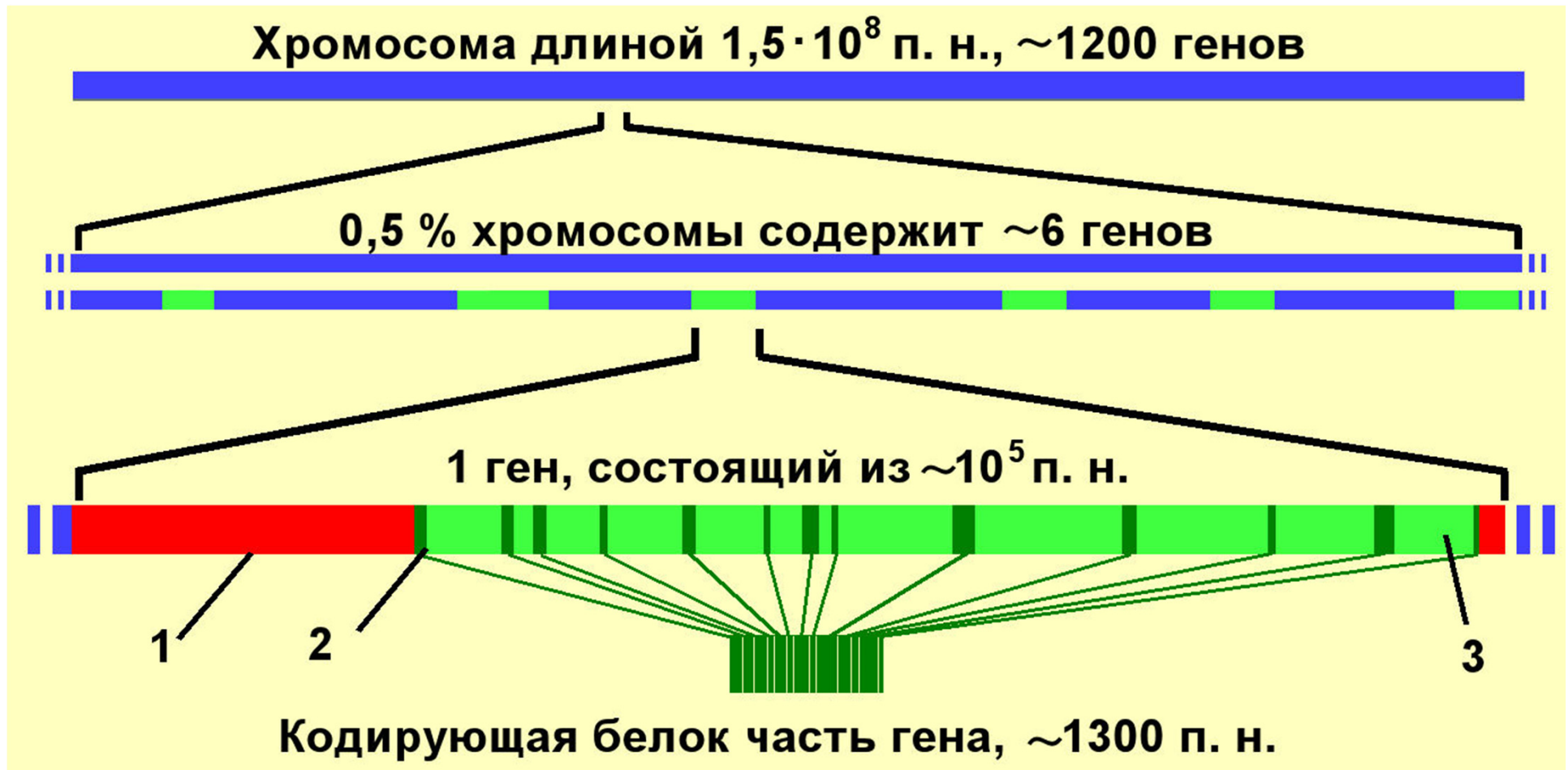
У млекопитающих – 160 000 п.н.;

У эукариот ~2% генома является кодирующим;

# Избыточность генома эукариот (~98% генома)

- ❖ **Интроны;**
- ❖ **Регуляторные области генов;**
- ❖ **Многие гены повторяются (100 –1000 генов рРНК)**
- ❖ **Псевдогены (неработающая копия гена – нет промотора, сбой рамки считывания);**
- ❖ **Некодирующие последовательности;**
- ❖ **Мобильные элементы;**

# Геном Эукариот

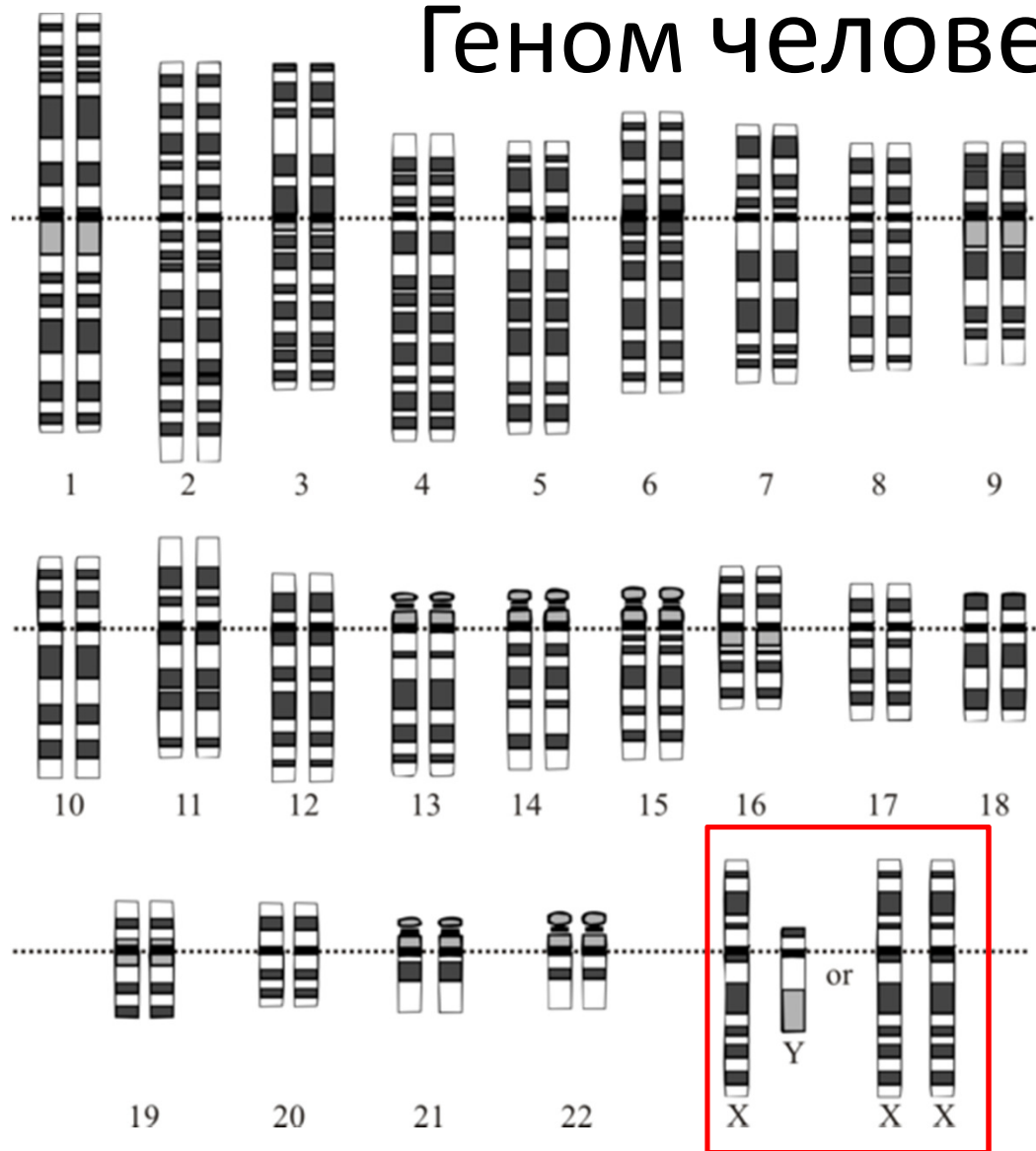


- 1 – Регуляторная часть гена (Промотор и Энхансеры);
- 2 – экзон; 3 – интрон

# Гены

- Домашнего хозяйства – транскрибируются во всех клетках (тРНК, рРНК, белки рибосом, гистоны, белки мембраны и цитоскелета, ферменты, участвующие в синтезе ДНК, РНК, белков);
- Роскоши – транскрибируются ограниченное время или не во всех клетках (гормоны, ферменты пищеварения);

# Геном человека



Половые  
хромосомы

23 пары хромосом =  $44 + XX$  или  $XY$



# Геном человека



# ВысокоПовторяющиеся Последовательности (2% от генома, $> 10^5$ )

Центромерные повторы  
(сателлитная ДНК) – 171 н.т.;

Теломерные повторы – 6 н.т.



Теломерный повтор человека



# УмеренноПовторяющиеся Последовательности ( $< 10^5$ )

## Регуляторные элементы:

- Промоторы;
- Энхансеры;
- Терминаторы;

## Повторенные гены “домашнего хозяйства”:

- Гены Гистонов;
- рРНК;
- тРНК;
- Рибосомных белков;
- Белков цитоскелета;

# Другие Повторяющиеся Последовательности

- Микросателлиты (1-4 п.н.)
- ...**ttt**aatttatttatttattta  
tttatttatttatttatttattt  
atttatttatttatttattta  
...
- .....**ccaccat**cacca  
ccaccaccatcacca  
tcaccaccaccatca  
ccatcactaccacca  
ccaccaccaccacc  
atcactacca...

- Минисателлиты (4-6 п.н.)
- Gggaaggatgatggggaagg  
atgatgggaaggatgatggg  
gaaggatgatggtaaggatg  
atggagaaggatgat
- ggcaggggggcaggggggcag  
ggggcaggggggcaggggggc  
...

## **Часть 3. Эпигенетика: внутриклеточный уровень**

# Эпигенетика: внутриклеточный уровень

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

❖ Молекулярный уровень

❖ Внутриклеточный уровень

❖ Организменный уровень

❖ Трансгенерационное наследование



Эпигенетические механизмы регуляции внутриклеточных процессов

# Эпигенетический контроль экспрессии генов

❖ Ремоделирование хроматина

❖ Транскрипционные факторы



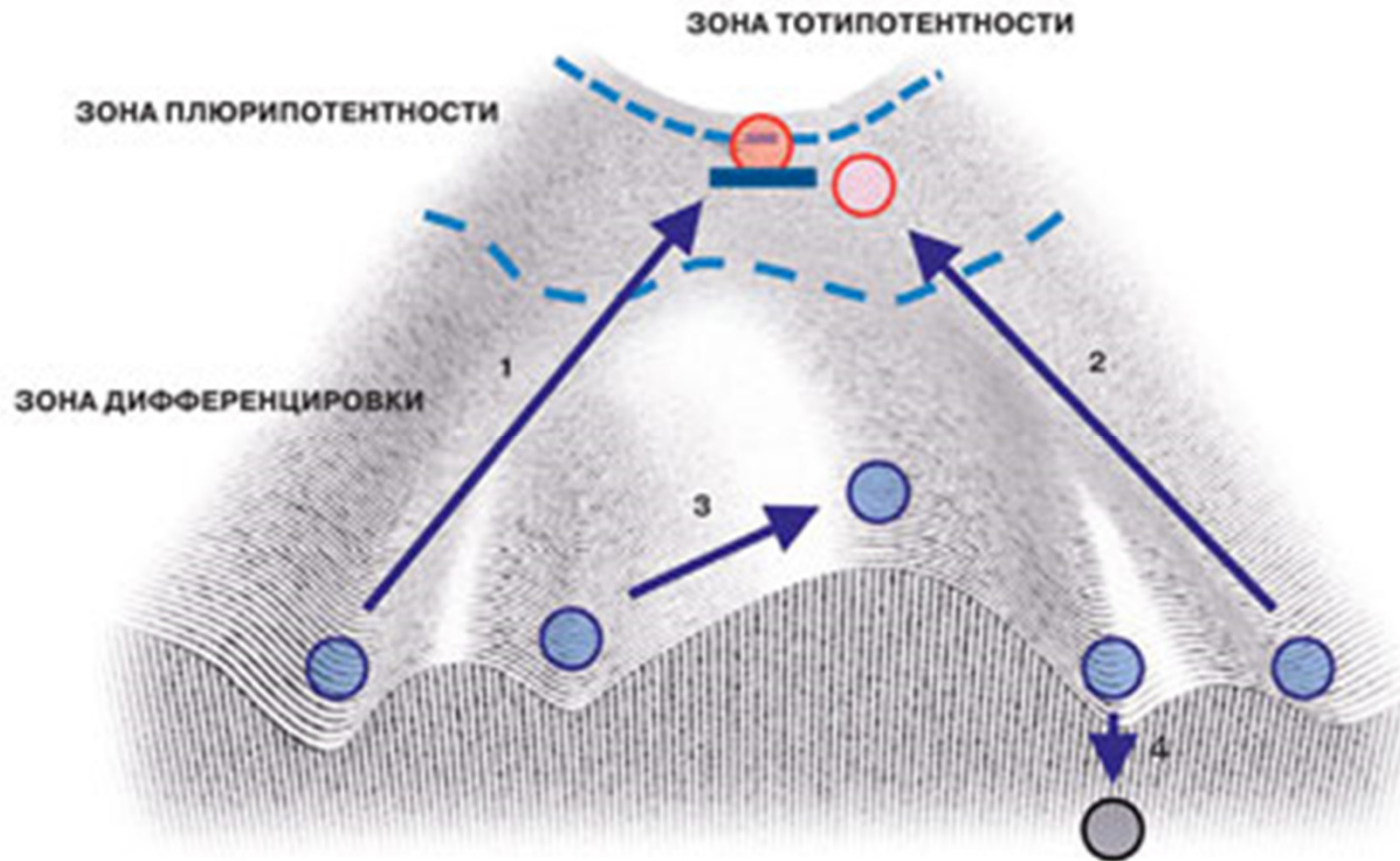
**ЭПИГЕНОМ** - это совокупность всех эпигенетических маркеров, обуславливающих экспрессию определенных генов в данной клетке.

# Эпигенетические маркеры могут наследоваться при репликации ДНК и митозе

- -Метилирование ДНК
- -Варианты гистонов
- -Ковалентные модификации гистонов



В 1957 году **К.Х.Уоддингтон** в качестве поясняющей метафоры сформулировал концепцию «**эпигенетического ландшафта**»:

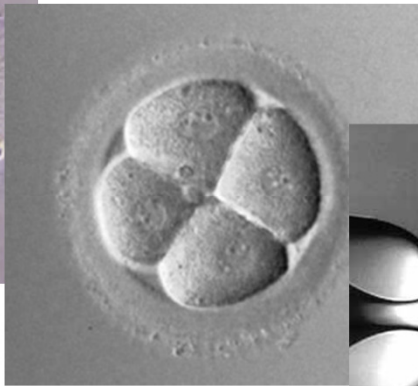


*«Исследование причинных взаимодействий между генами и их продуктами, приводящих к формированию фенотипа» (Waddington, 1942).*

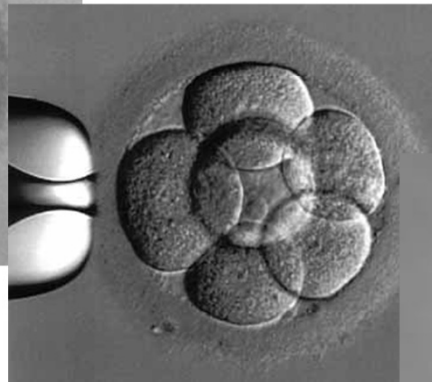
# Доимплантационное развитие человека



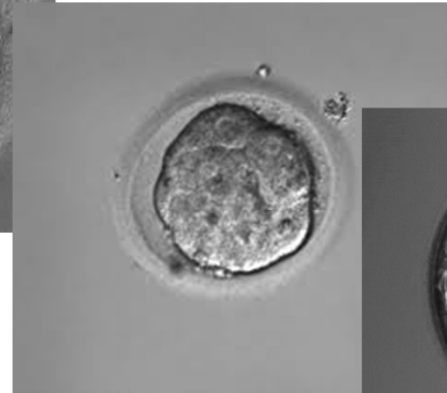
**День 1.**  
Стадия зиготы



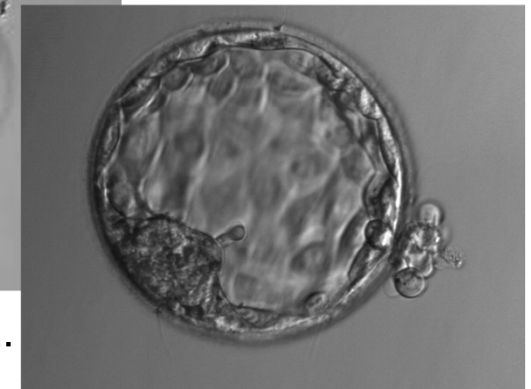
**День 2.**  
Эмбрион в  
стадии  
дробления 4  
бластомера



**День 3.**  
Эмбрион на  
стадии  
дробления 8  
клеток.



**День 4.** Морула.

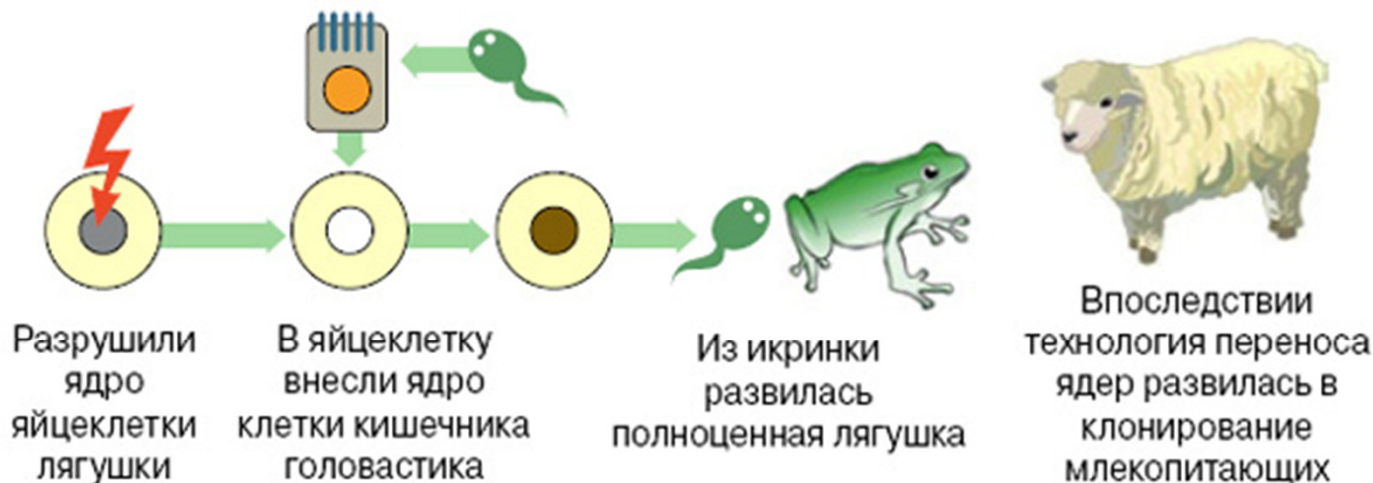


**День 5.** Бластоциста

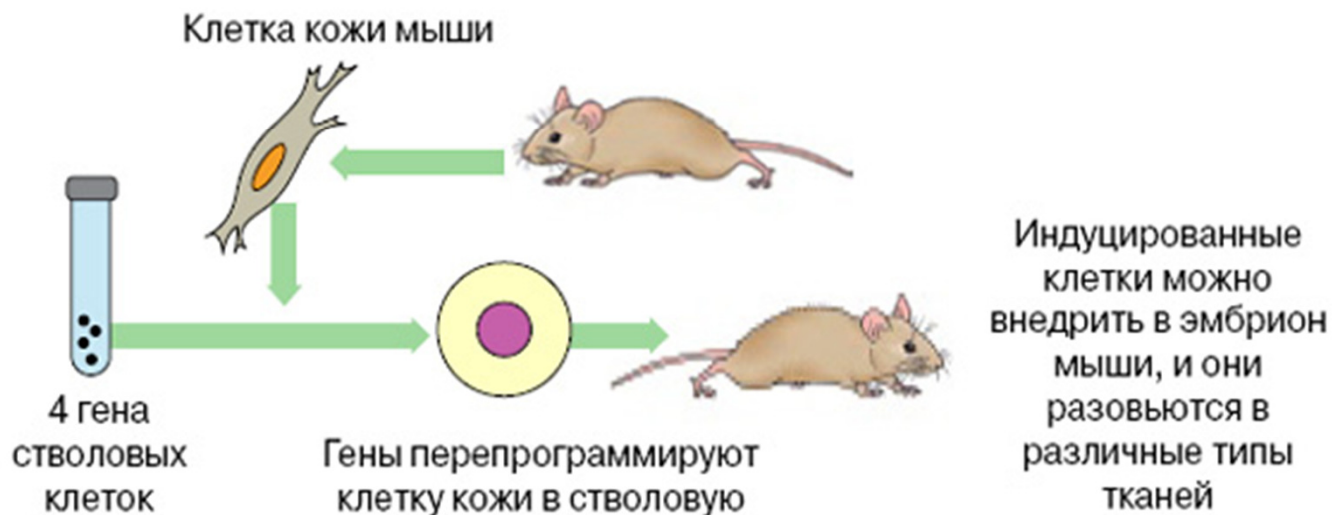
<i>Типы стволовых клеток человека</i>	<i>Способность к дифференцировке</i>		<i>Стволовые клетки в организме человека</i>
<i>Тотипотентные клетки</i>	Все эмбриональные и экстра-эмбриональные ткани		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Оплодотворённый ооцит</li> <li>• Бластомеры 2 – 8 клеточной стадии.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

# Клонирование (ЭСК) и репрограммирование (ИПСК)

## ЭКСПЕРИМЕНТ ДЖОНА ГЕРДОНА

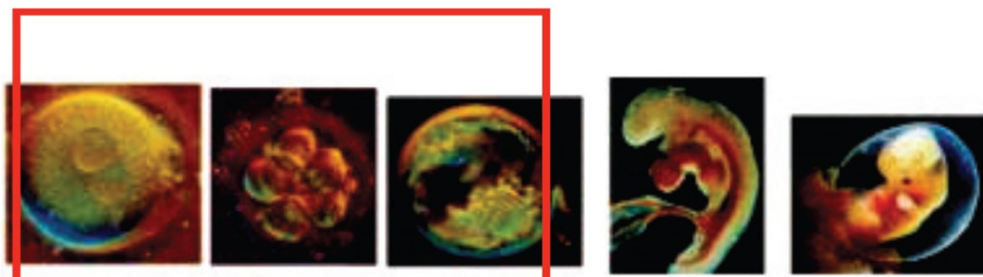


## ЭКСПЕРИМЕНТ СИНЬИ ЯМАНАКИ



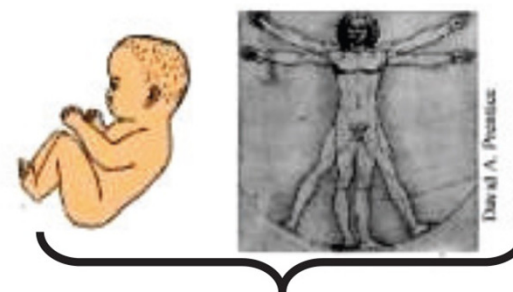
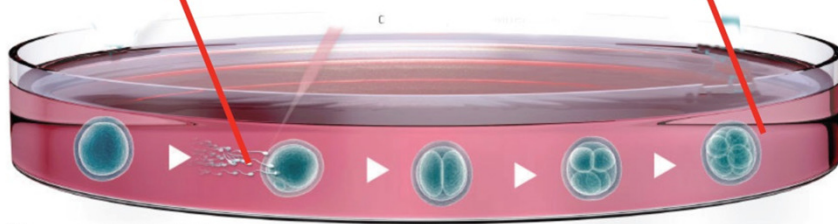


# ЭСК (плюрипотентность)



**Тотипотентные**  
(полностью, лат)  
- зигота

**Плюрипотентные**(много, греч.) –  
эмбриональные  
стволовые клетки

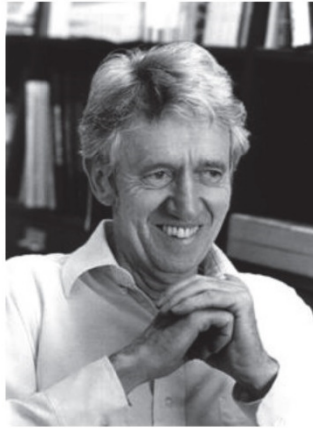


**Мультипотентные**  
(много, лат.)  
дифференцировка в  
ткани внутри  
зародышевых слоев

Пуповинная кровь,  
клетки костного мозга  
и т.д.

**Предшественники**  
дифференцировка в  
определенные клетки  
в пределах  
определенной ткани

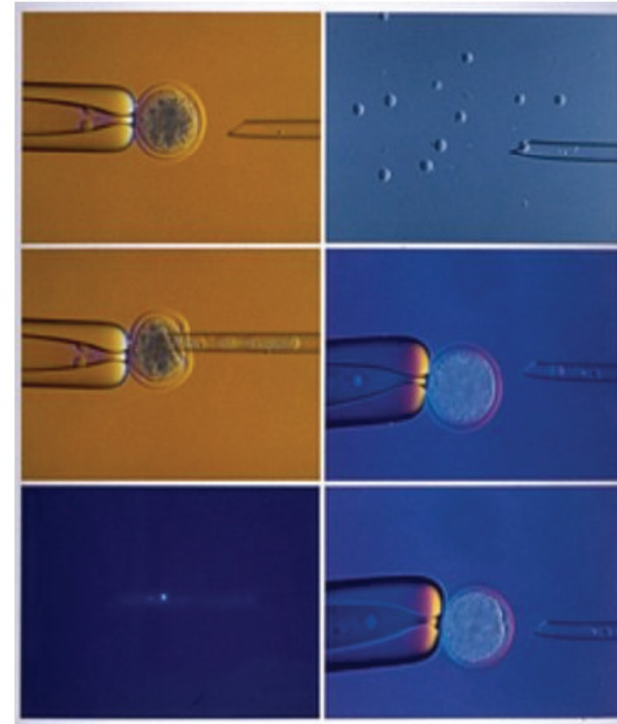
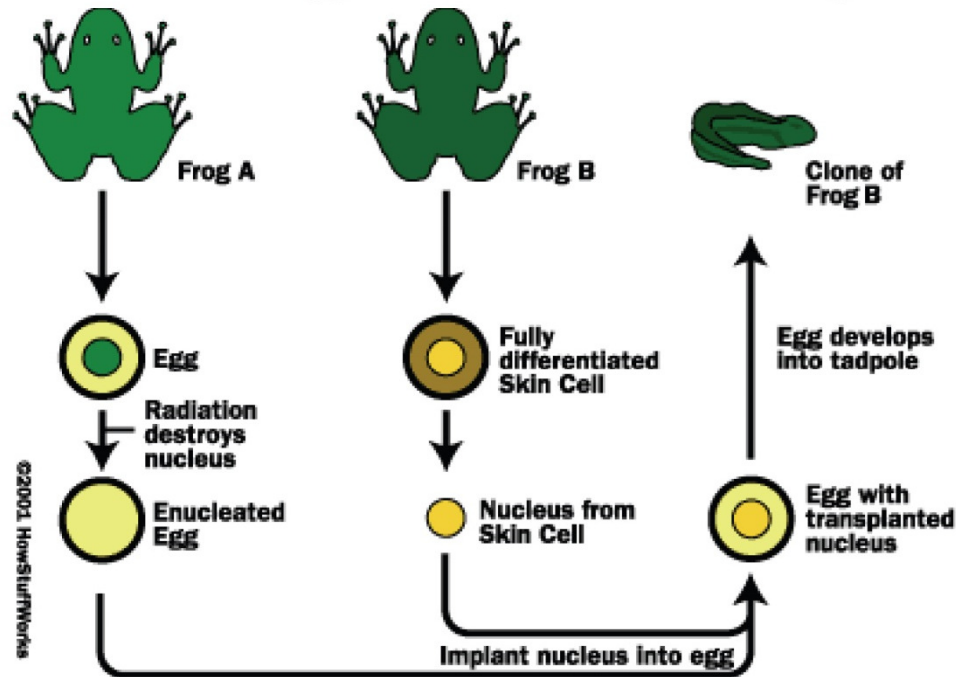
# Технология переноса ядра Briggs & King 1952



R. Briggs



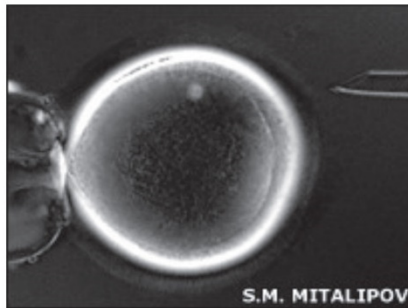
T. King



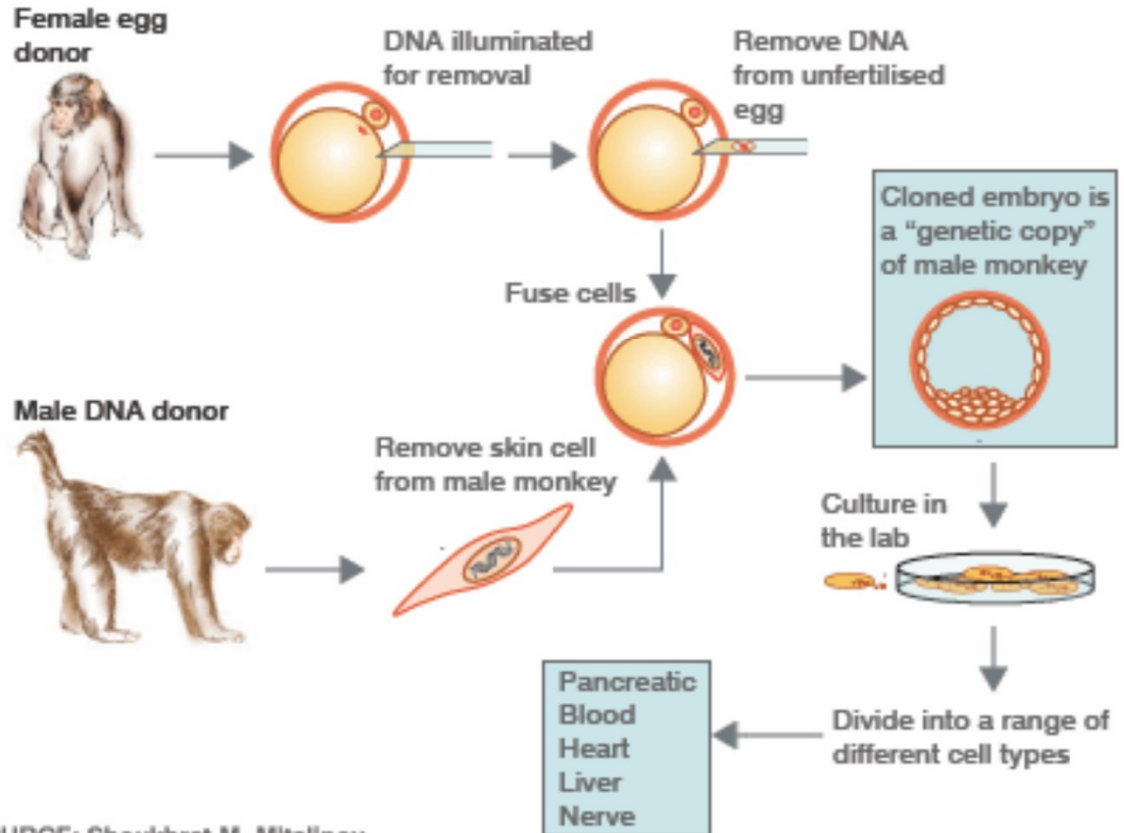
Рождались живые головастики при переносе ядра эмбриональной клетки. Gurdon в 1962 г. использовал ядро из клетки кишечника взрослой лягушки

# Клонирование приматов

«Впервые эмбриональные стволовые клетки приматов клонированы американскими учеными», 2007



## CLONING A RHESUS MACAQUE MONKEY



SOURCE: Shoukhrat M. Mitalipov

**Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer**

J. Byrne D. A. Pedersen L. Clepper, M. Nelson, W. G. Sanger, S. Gokhale, D. P. Wolf & S. M. Mitalipov

**Genotyping of *Rhesus* SCNT pluripotent stem cell lines**

David S. Cram, Bi Song & Alan O. Trounson



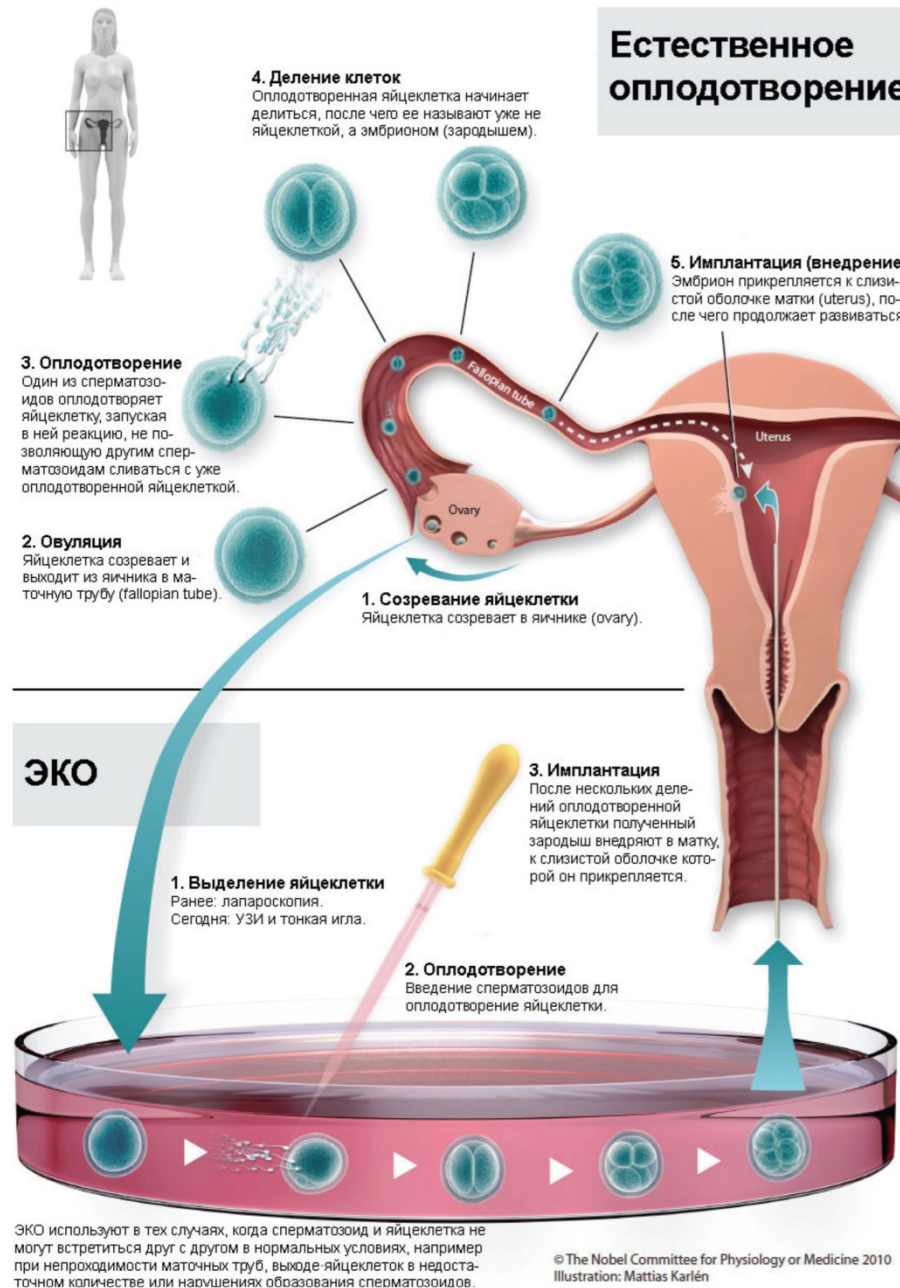
# ЭКО: 4 миллиона человек



Роберт Эдвардс

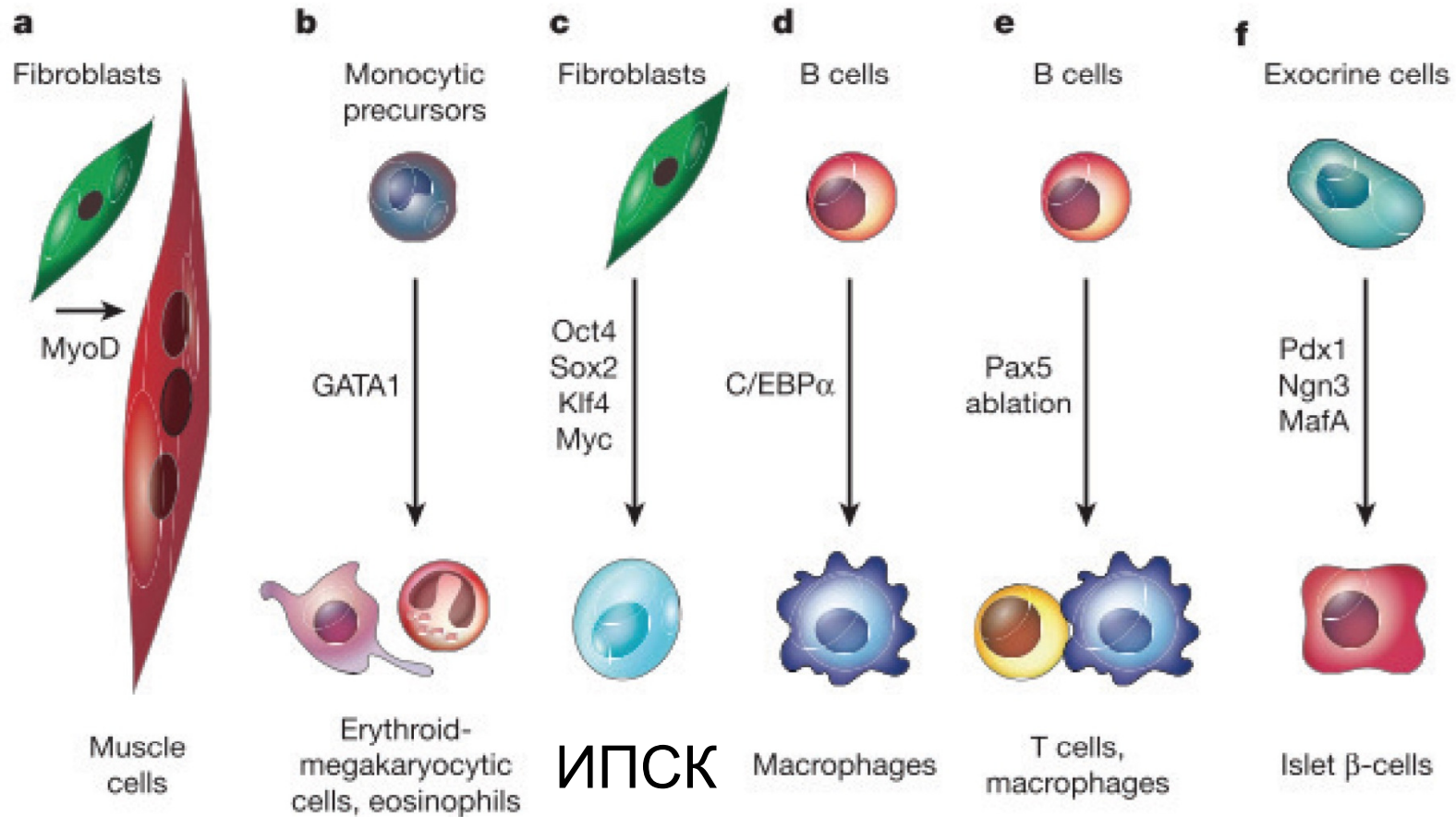


Нобелевская премия по медицине 2010





# Транскрипционные факторы (TF)



ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPS cells)

# Генетическое репрограммирование: индуцированные плюрипотентные клетки (iPS)

Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi<sup>1</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,\*</sup>  
<sup>1</sup>Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan  
<sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan  
 \*Contact: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp  
 DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024

Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells

Keisuke Okita<sup>1</sup>, Tomoko Ichisaka<sup>1,2</sup> & Shinya Yamanaka<sup>1,2</sup>

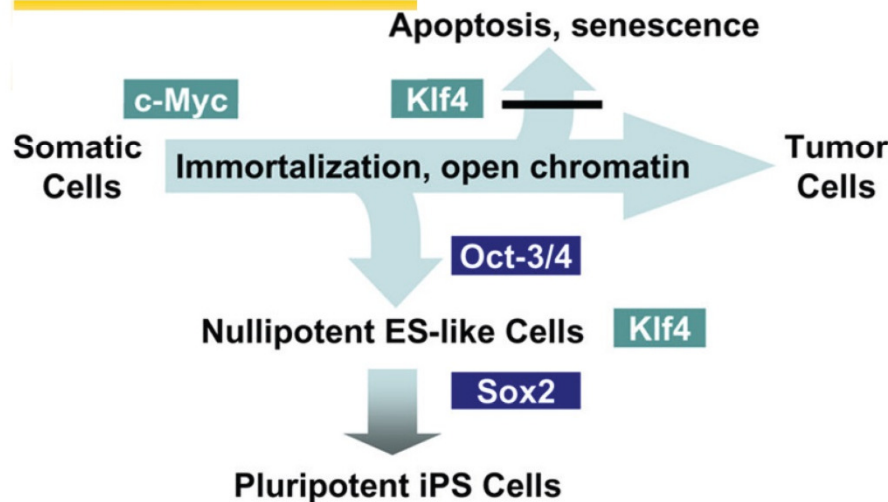
Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi,<sup>1</sup> Koji Tanabe,<sup>1</sup> Mari Ohnuki,<sup>1</sup> Megumi Narita,<sup>1,2</sup> Tomoko Ichisaka,<sup>1,2</sup> Kiichiro Tomoda,<sup>3</sup> and Shinya Yamanaka<sup>1,2,3,4,\*</sup>  
<sup>1</sup>Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan  
<sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency, Kawaguchi 332-0012, Japan  
<sup>3</sup>Gladstone Institute of Cardiovascular Disease, San Francisco, CA 94158, USA  
<sup>4</sup>Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan  
 \*Correspondence: yamanaka@frontier.kyoto-u.ac.jp  
 DOI 10.1016/j.cell.2007.11.019

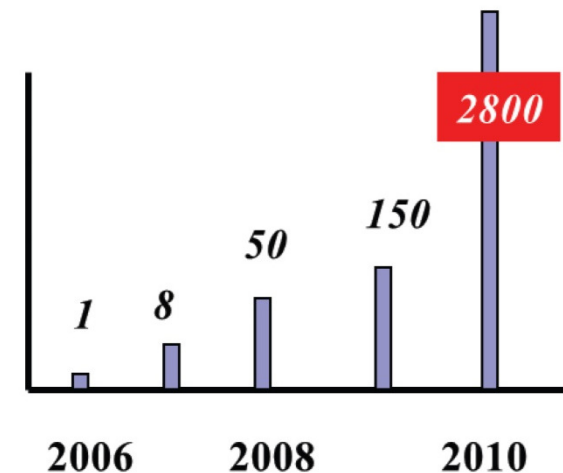
Клетки  
взрослого  
организма



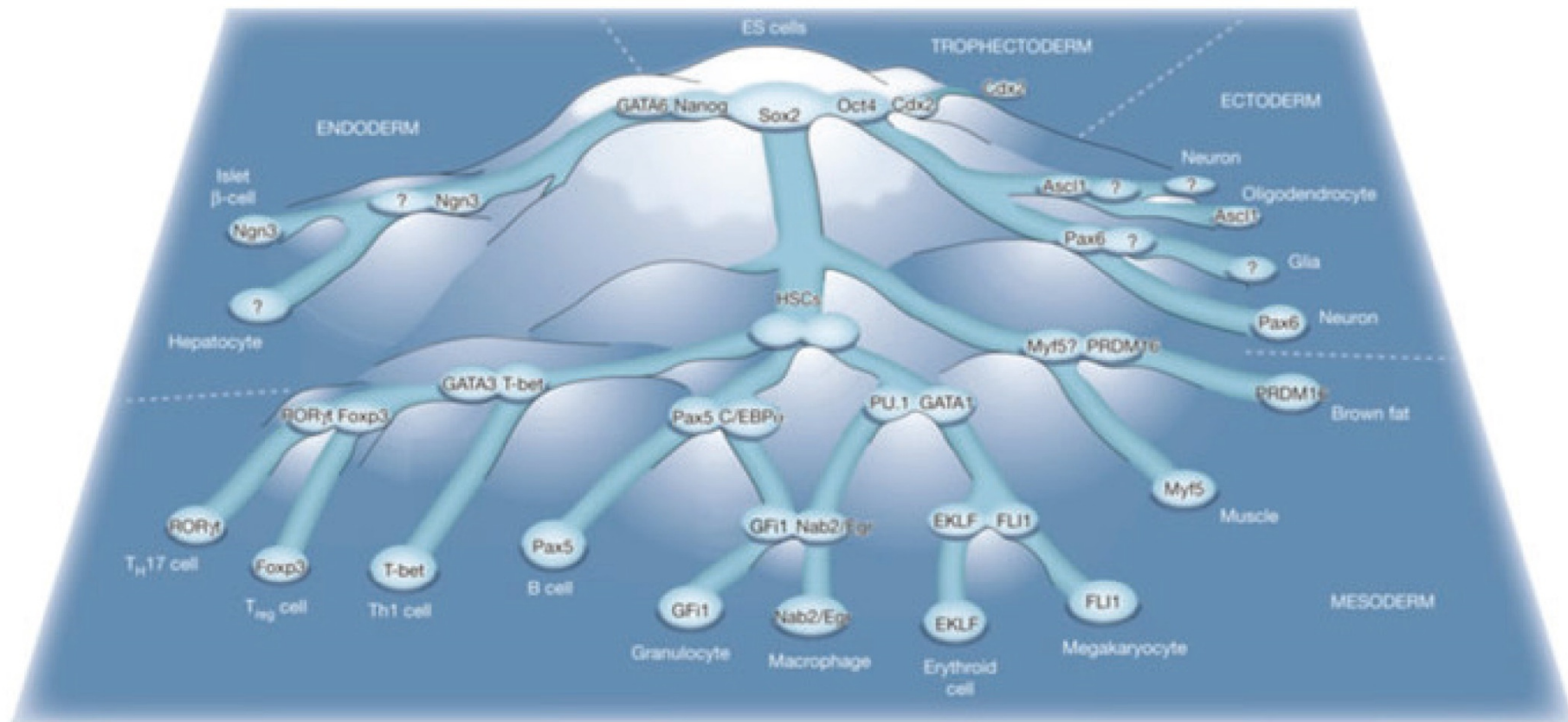
Стволовые клетки с индуцированной плюрипотентностью = эмбриональным стволовым клеткам



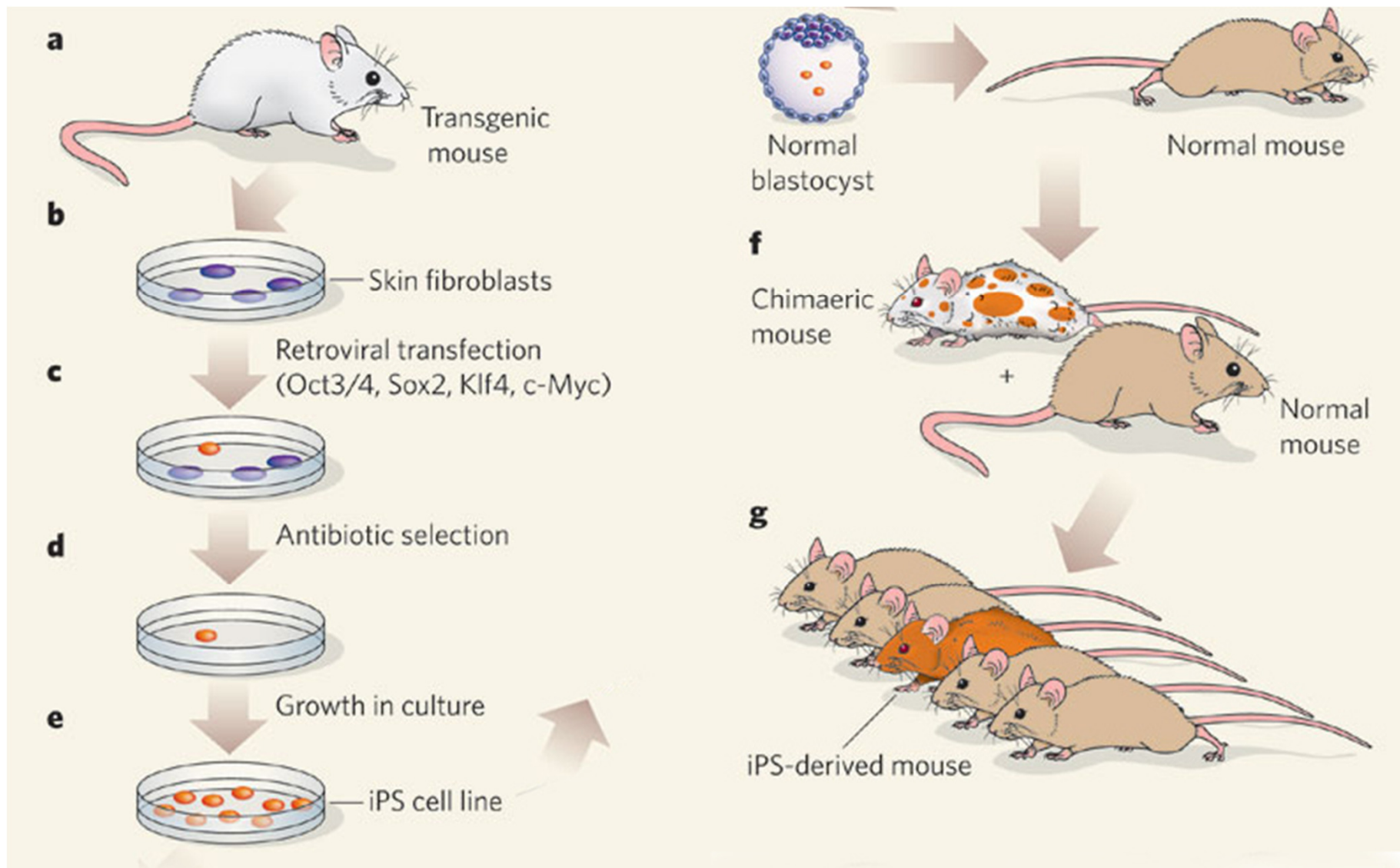
Ссылки в PubMed на iPS



# Транскрипционные факторы (TF)

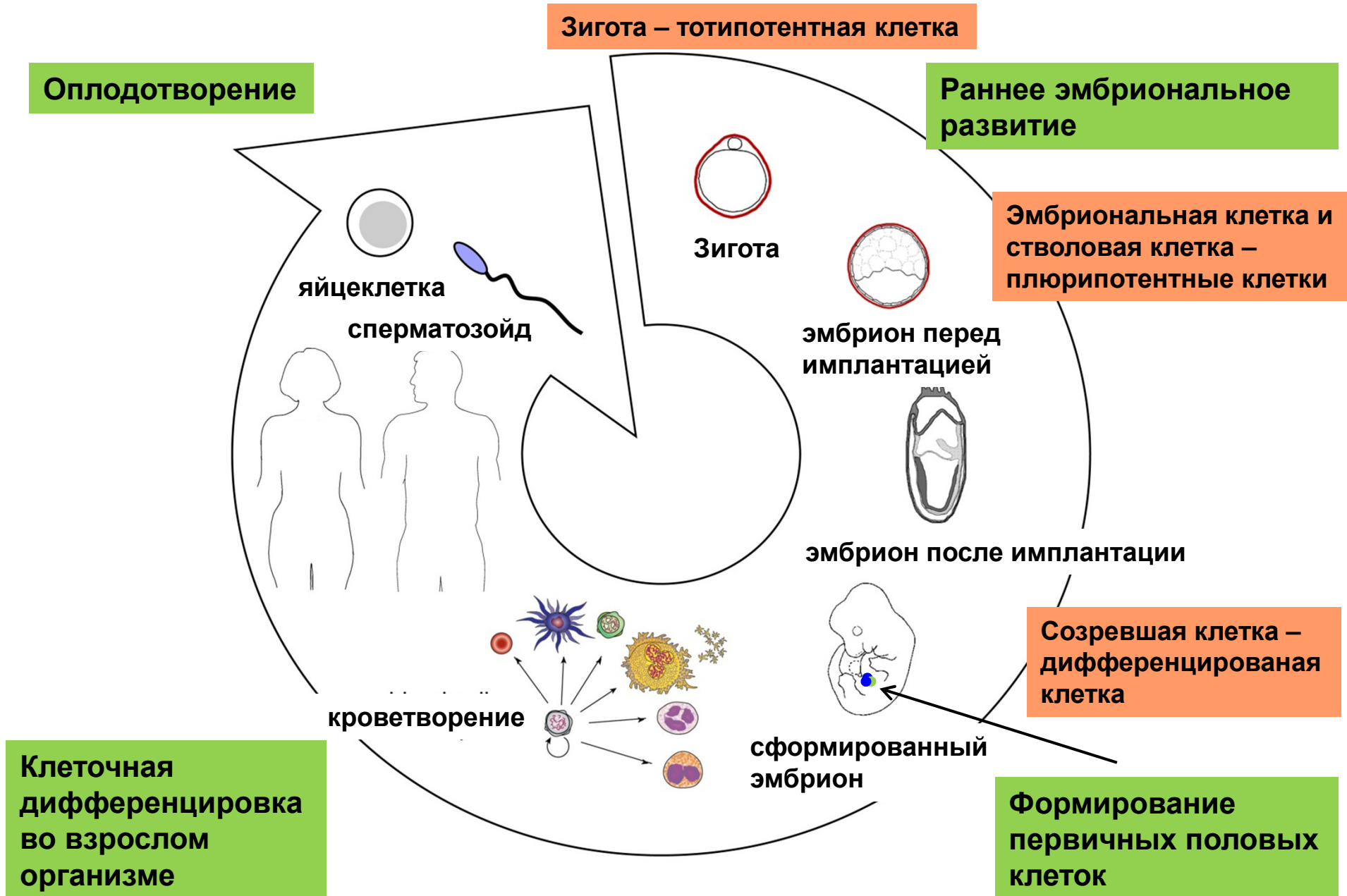


# Можно создавать стволовые клетки, органы и организмы



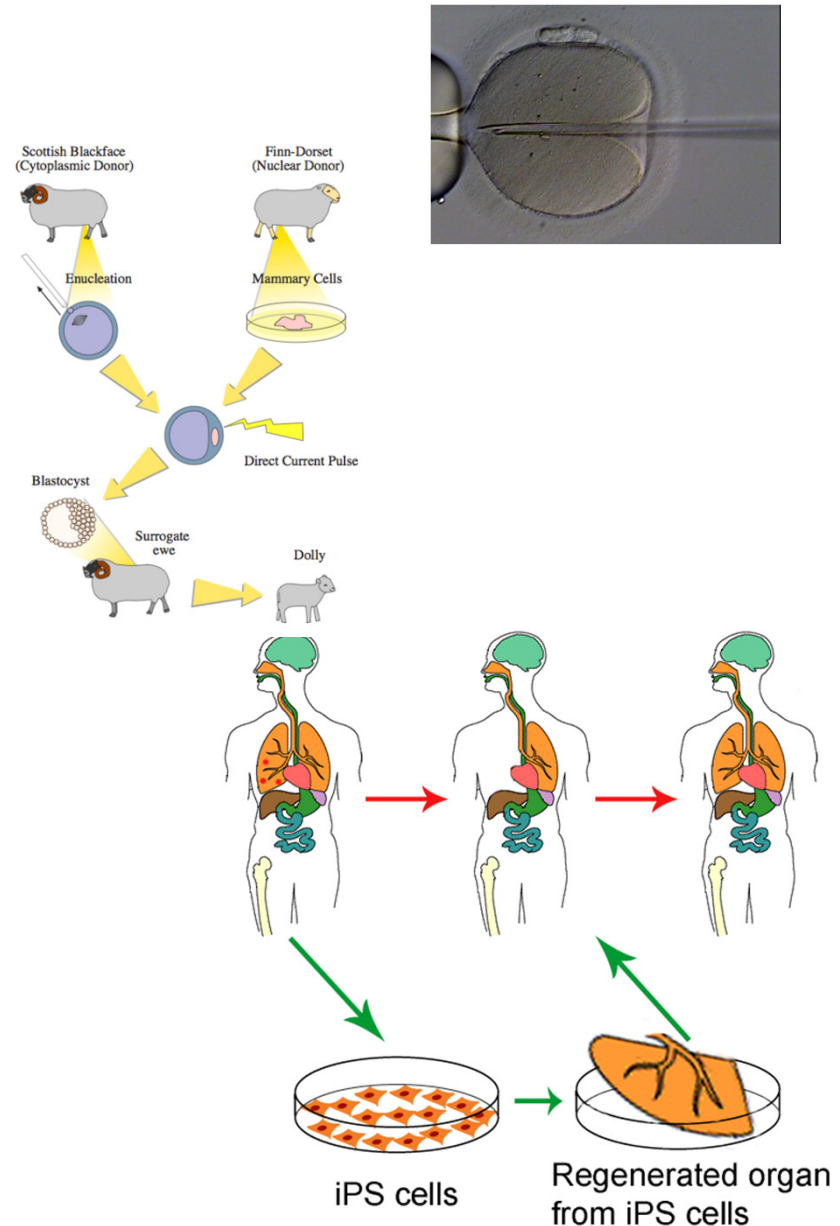


# Примеры эпигенетических явлений



# Эпигенетические проблемы репрограммирования

- ❖ Эпигенетические аномалии при имплантации эмбриональных клеток (ЭКО) и раннем развитии (1/300 000).
- ❖ Эпигенетическое репрограммирование клеток с переносом генетического материала из соматических клеток дает наследственные отклонения – аномальный рост эмбриона и плаценты.
- ❖ ИПСК – возврат к первоначальному состоянию или трансформацию клеток в раковые



# Онкология и эпигеном

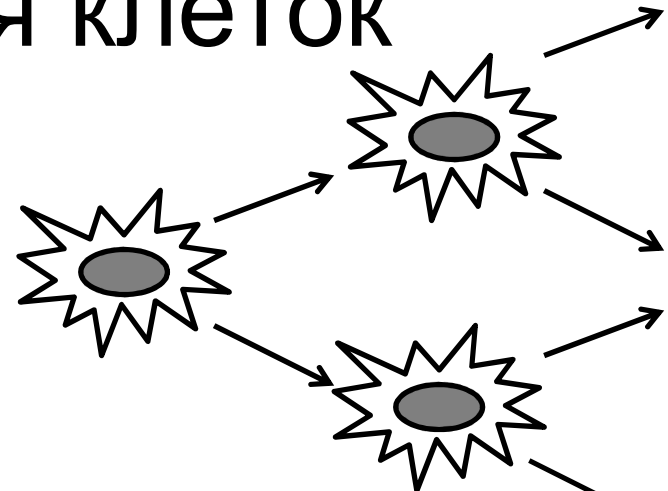
Рак (Cancer) – одна из самых важных проблем Биологии и Медицины.

Раковые клетки приобретают новые свойства – Трансформируются.

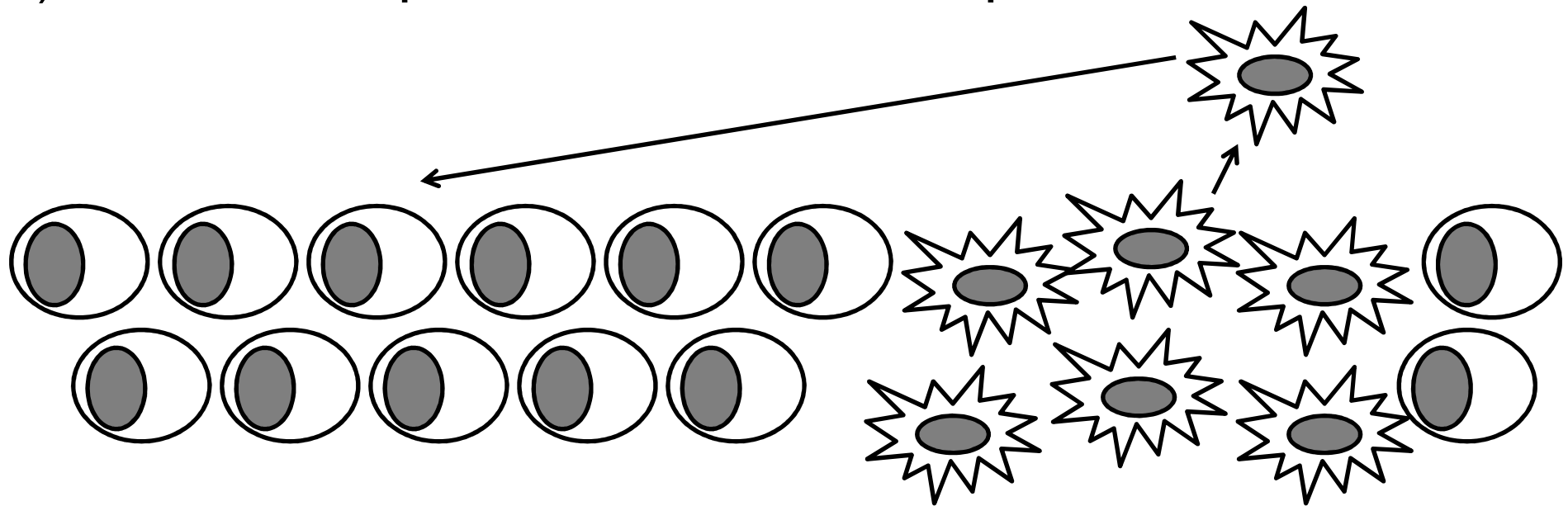
# Трансформация клеток

Раковые клетки:

1) Бесконтрольно делятся:



2) Плохо держатся в ткани -> перемещение:



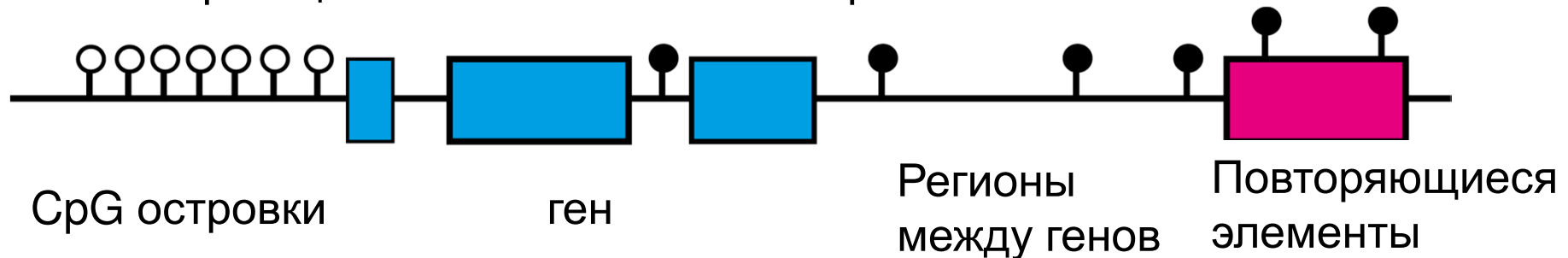
3) Генетически и эпигенетически нестабильны



# Нормальные и раковые клетки

## Нормальные клетки

- ❖ CpG островки – неметилированы
- ❖ Регионы между генов – метилированы
- ❖ Повторяющиеся элементы – метилированы



## Раковые клетки

- 1) Начало: полногеномное деметилирование
- 2) Окончание:
  - ❖ CpG островки – гиперметилированы (много)
  - ❖ Регионы между генов и повторяющиеся элементы – гипометилированы (мало)

