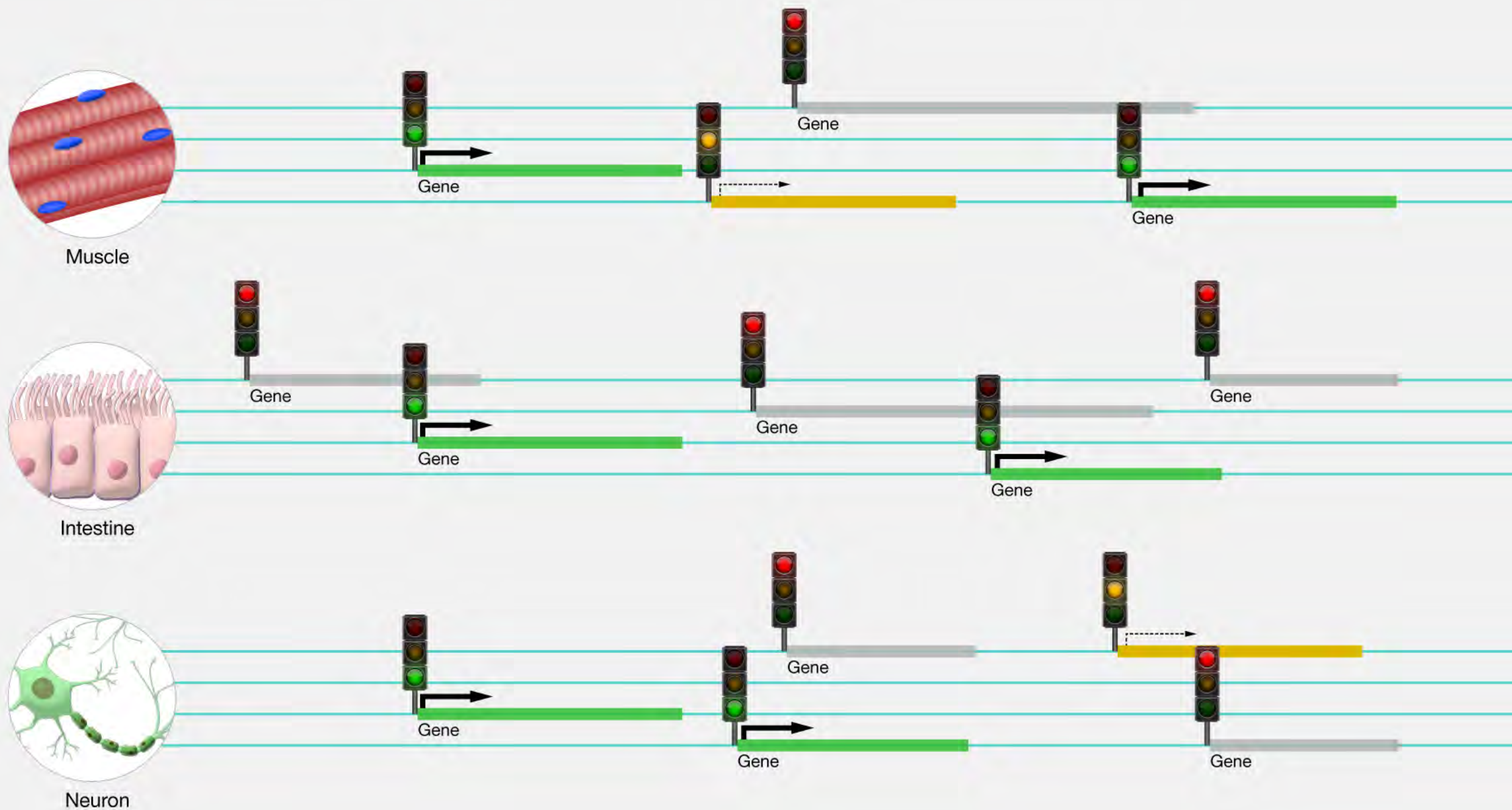


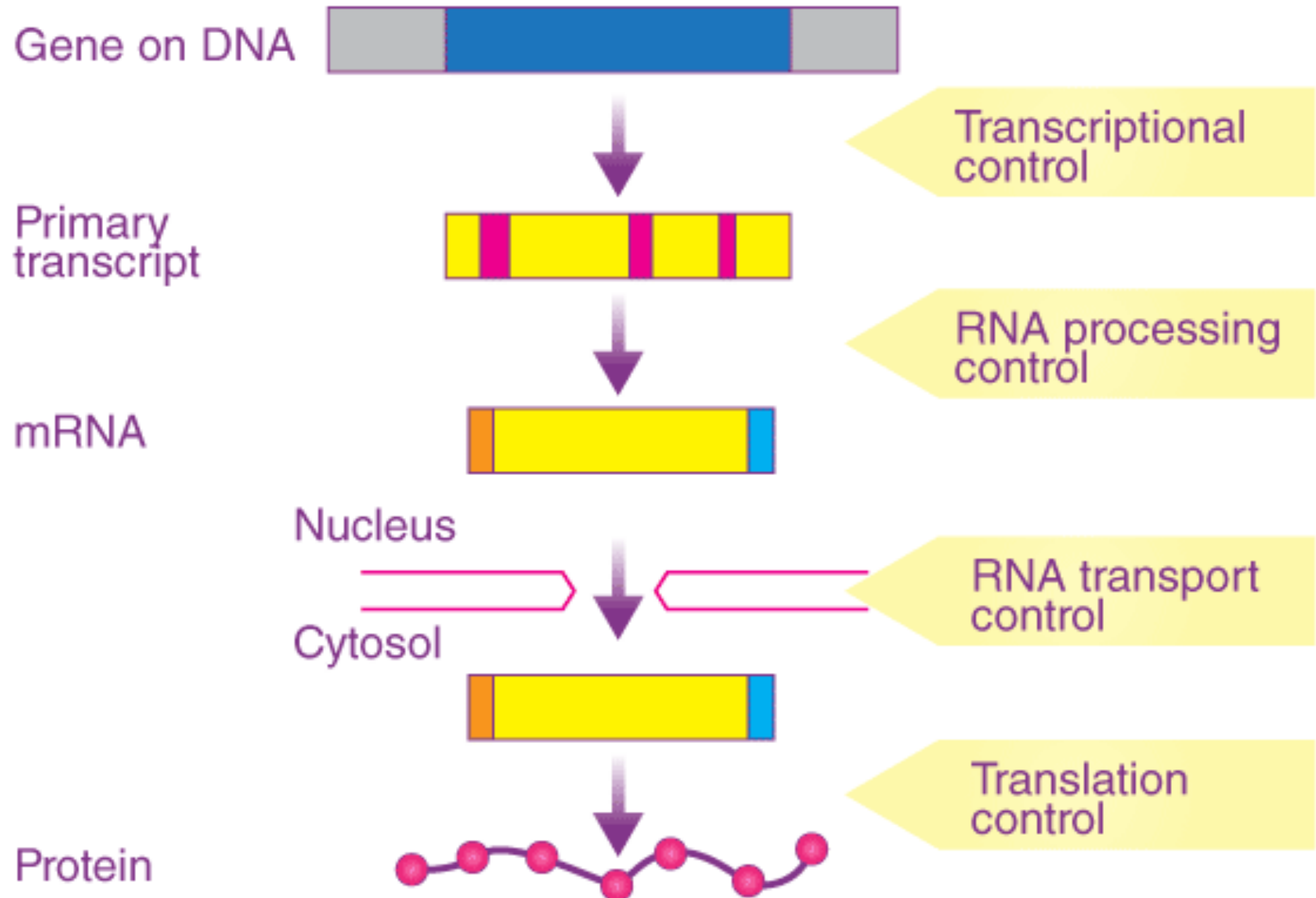
Введение в молекулярную биологию

## Лекция 7. Регуляция генетической экспрессии и эпигенетика

# Введение в регуляцию генов



# Уровни регуляции экспрессии



# Понятие эпигенетики

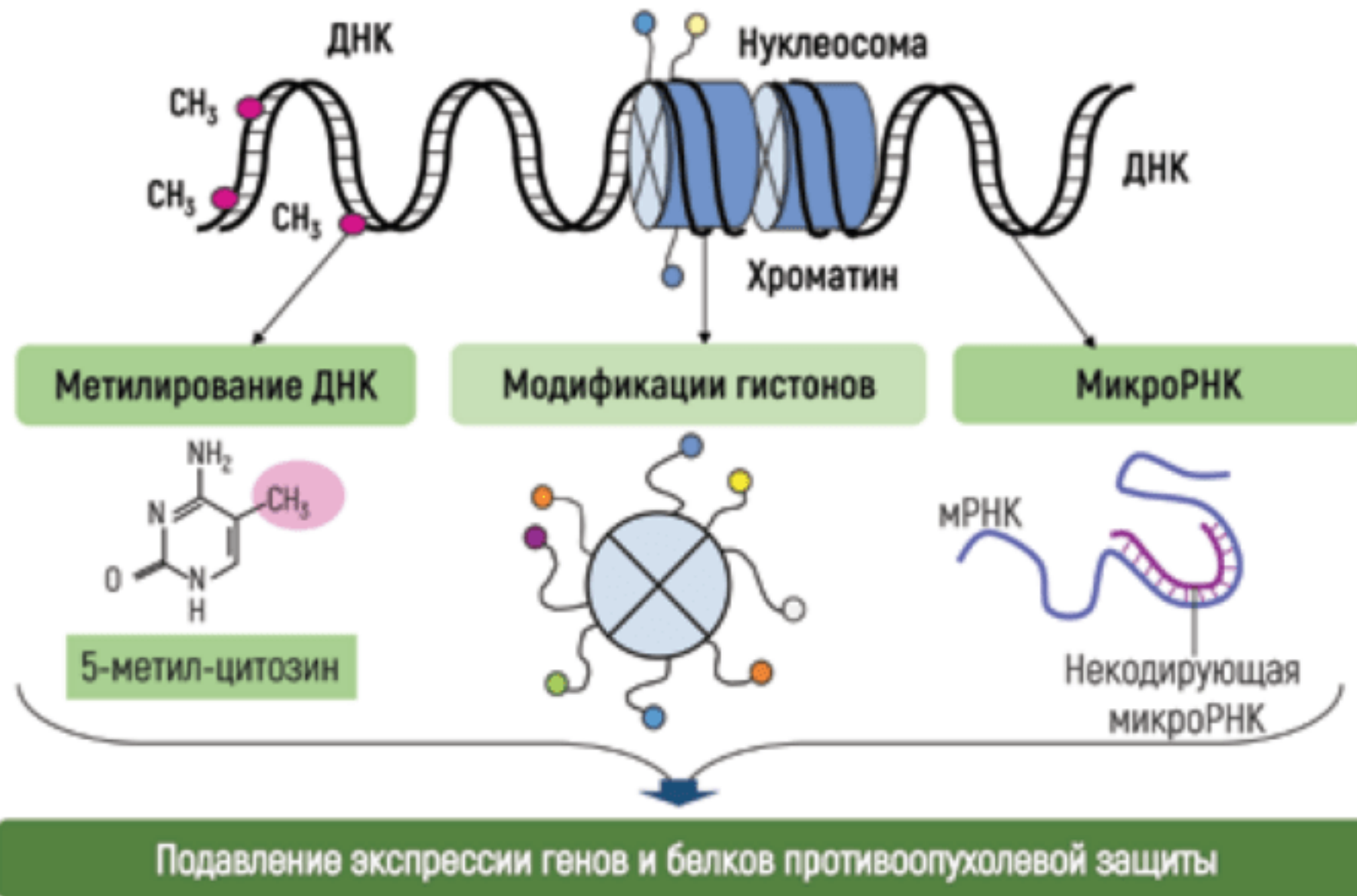
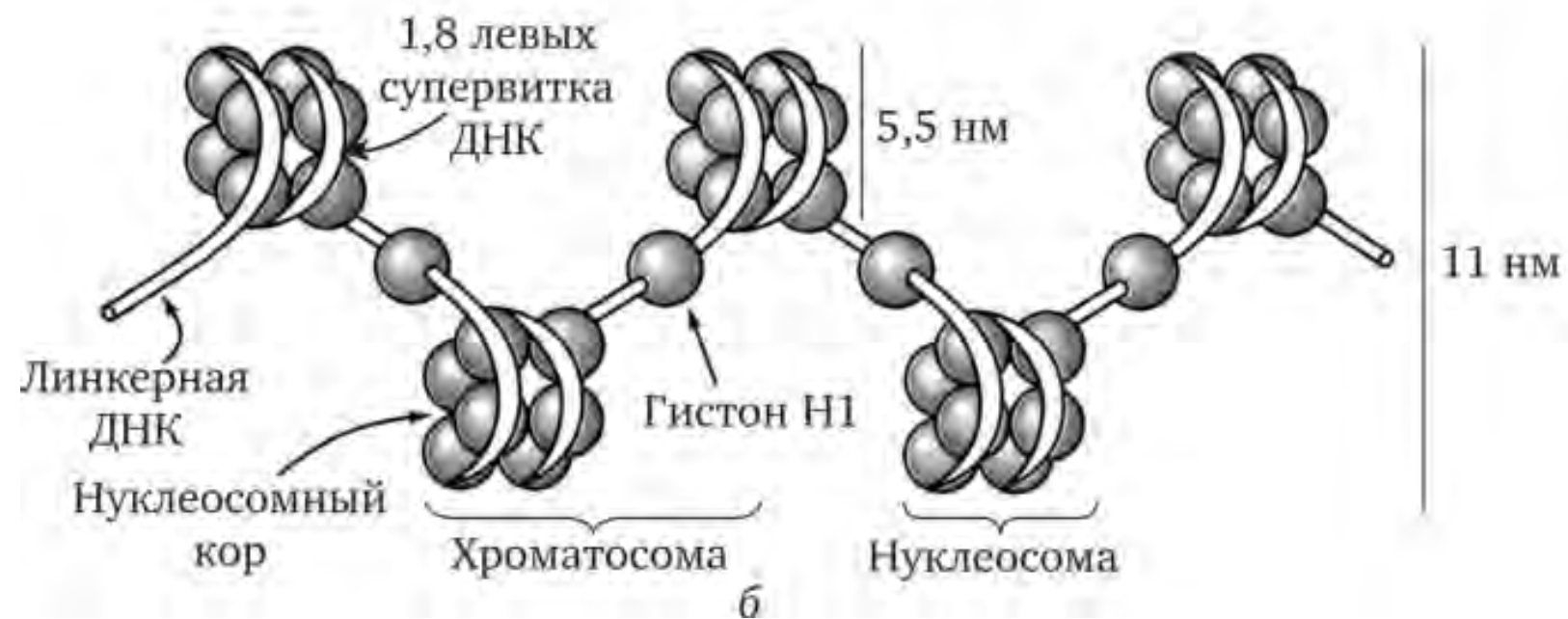
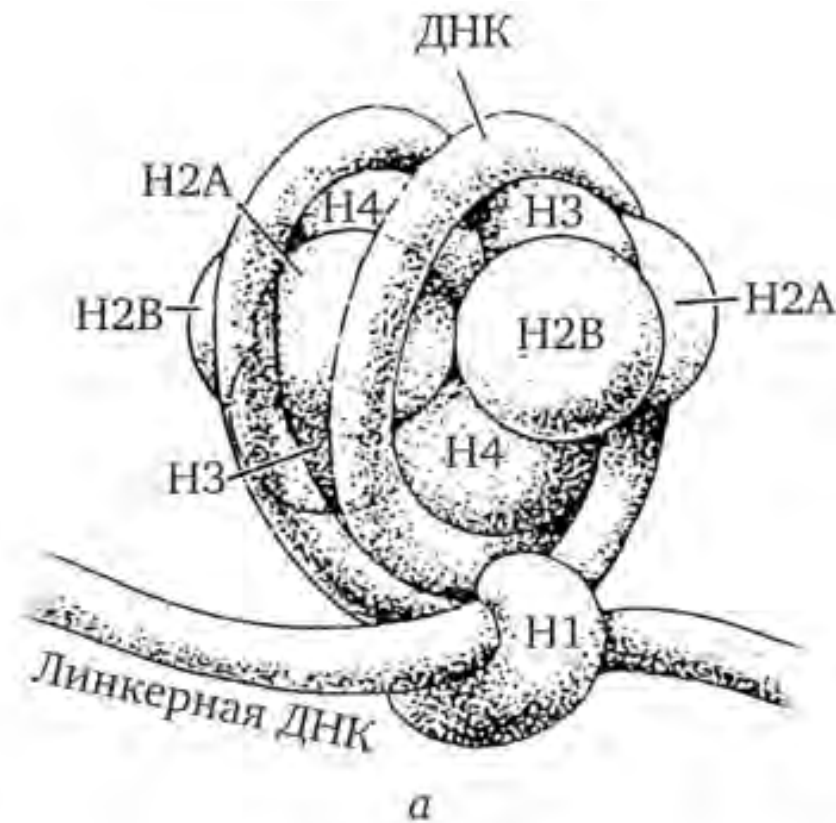
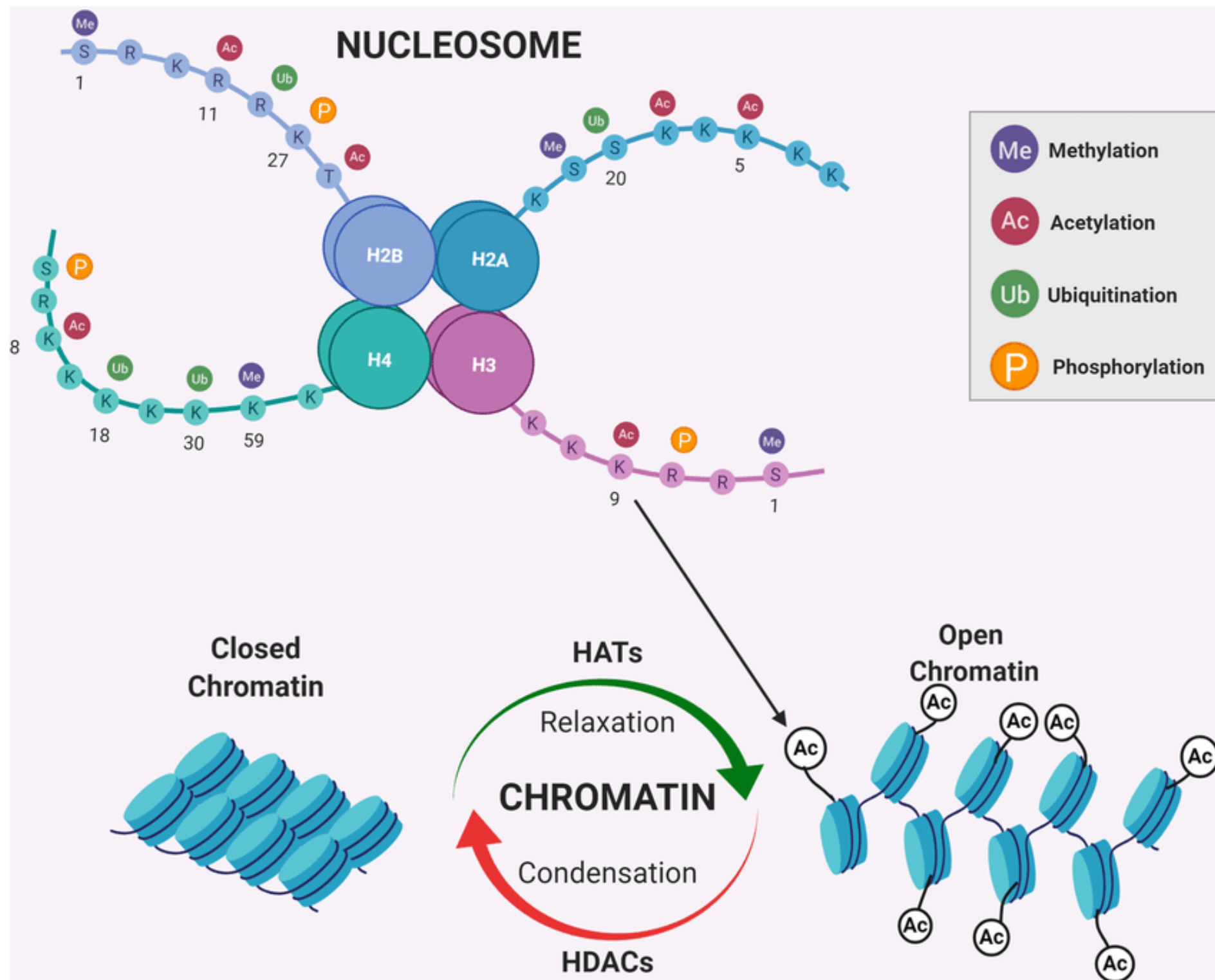


Рис. 2. Три механизма эпигенетической регуляции

# Структура хроматина

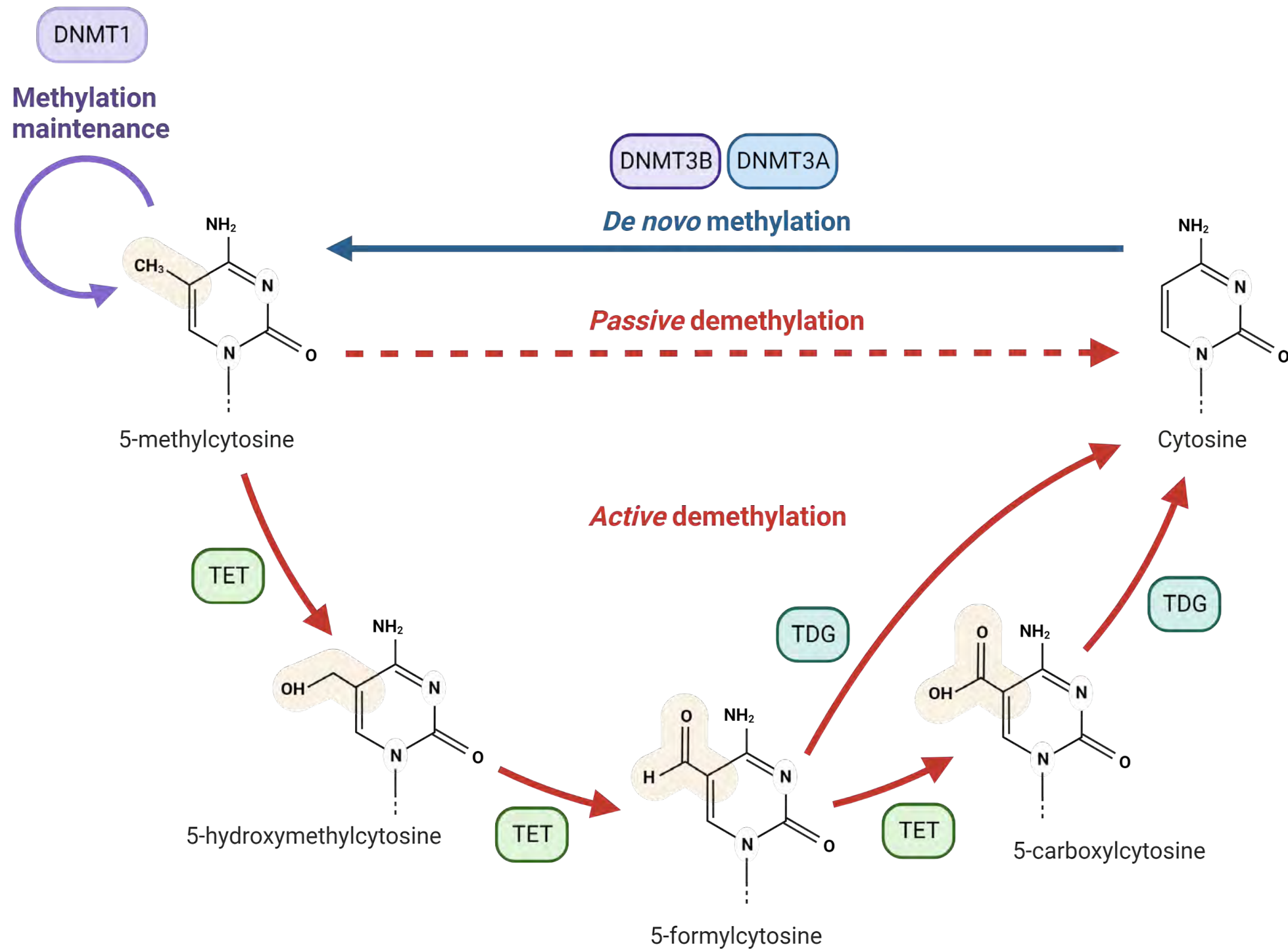


# Модификации гистонов

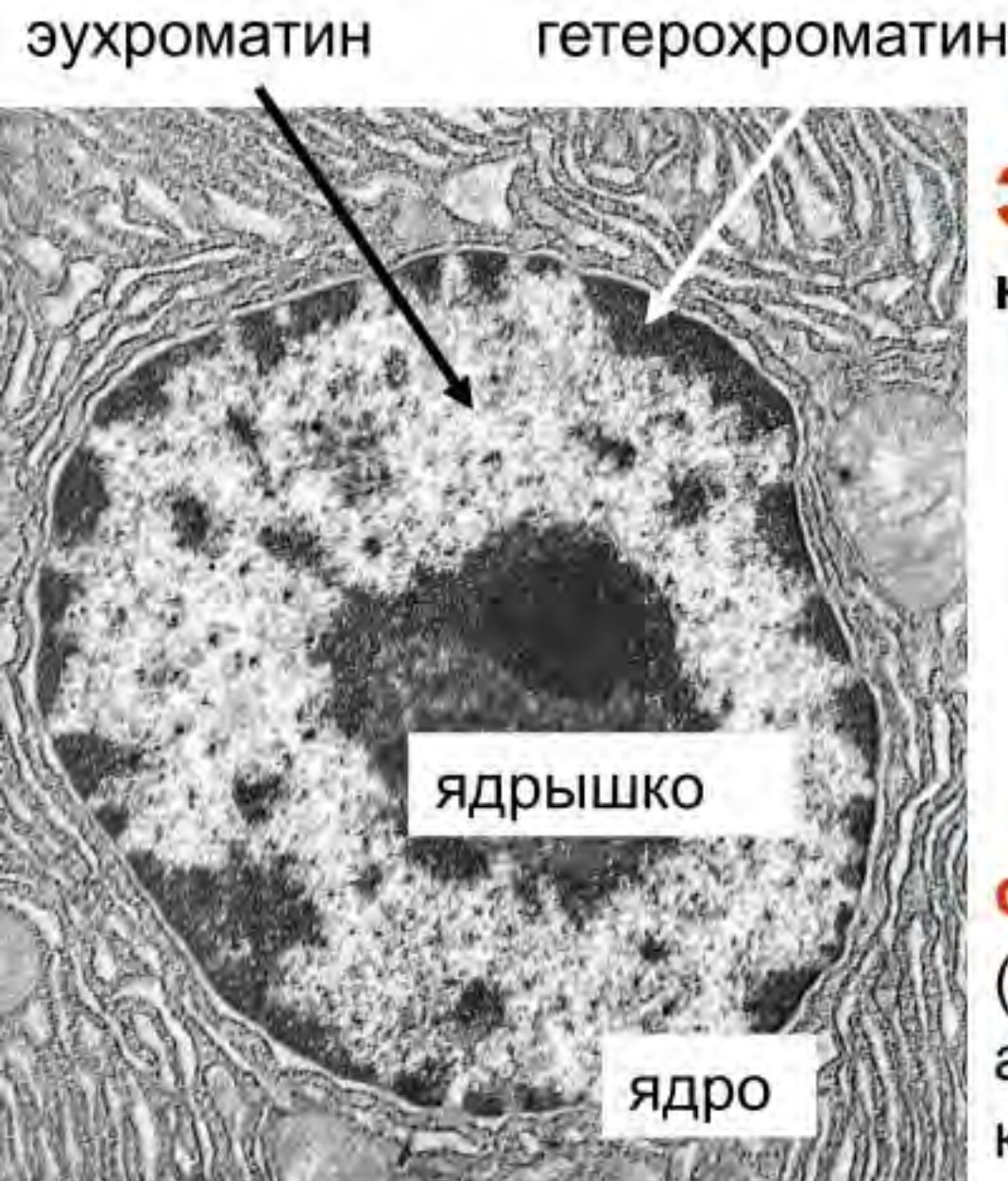




# Метилирование ДНК

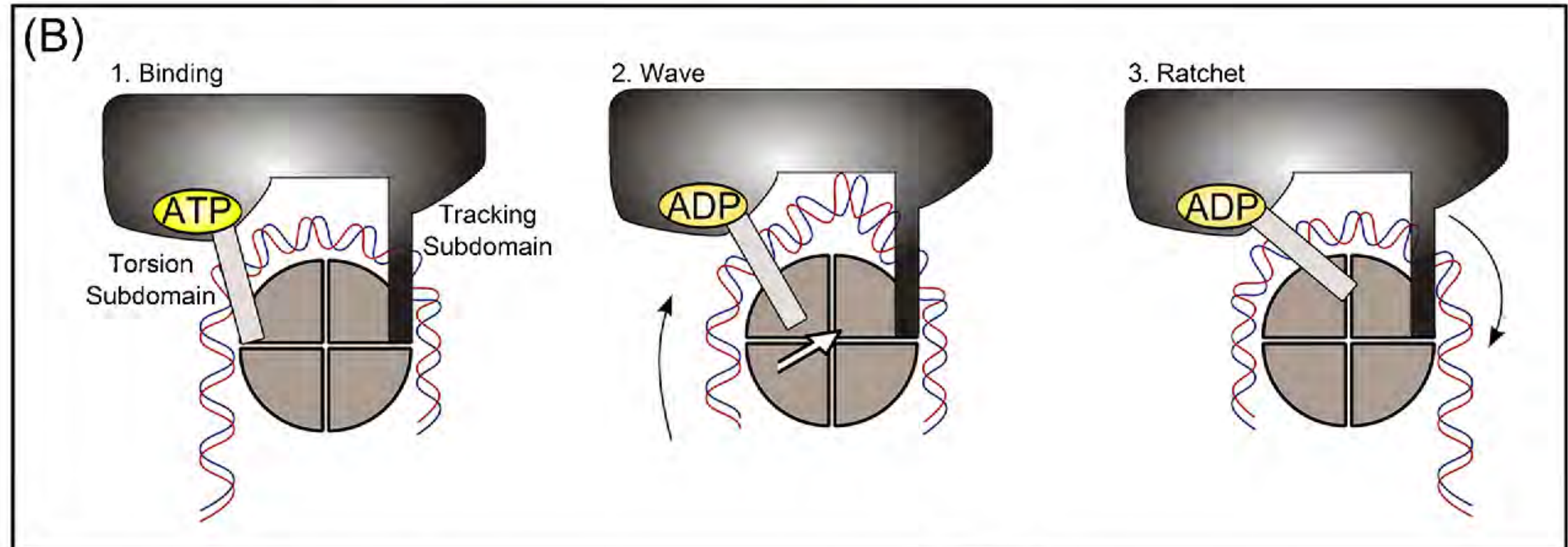
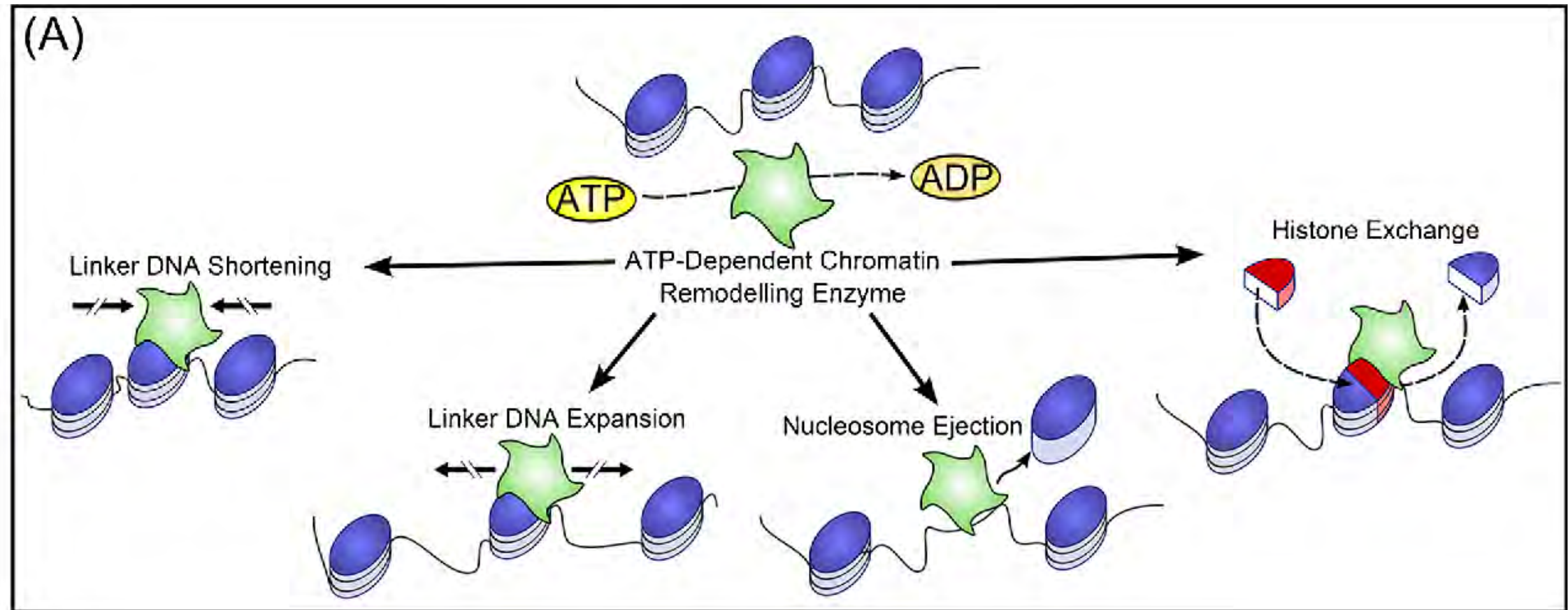


# Эухроматин и гетерохроматин

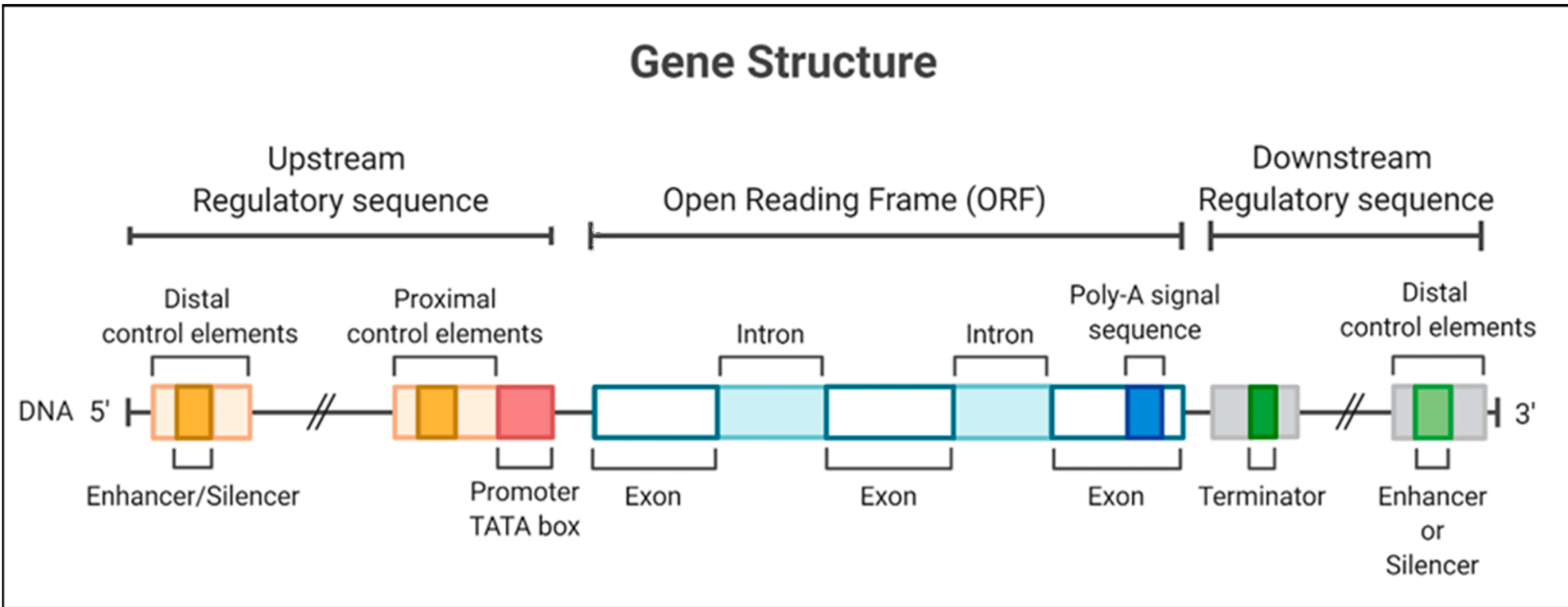




# Ремоделирование хроматина

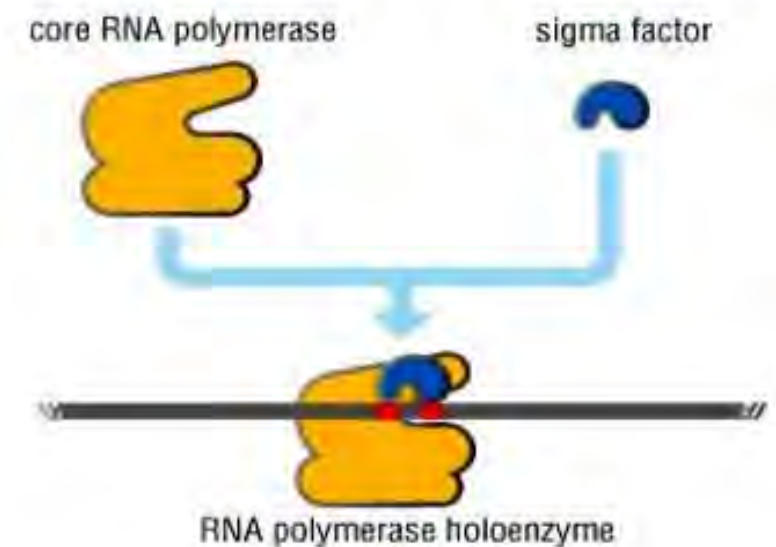


# Регуляторные элементы ДНК



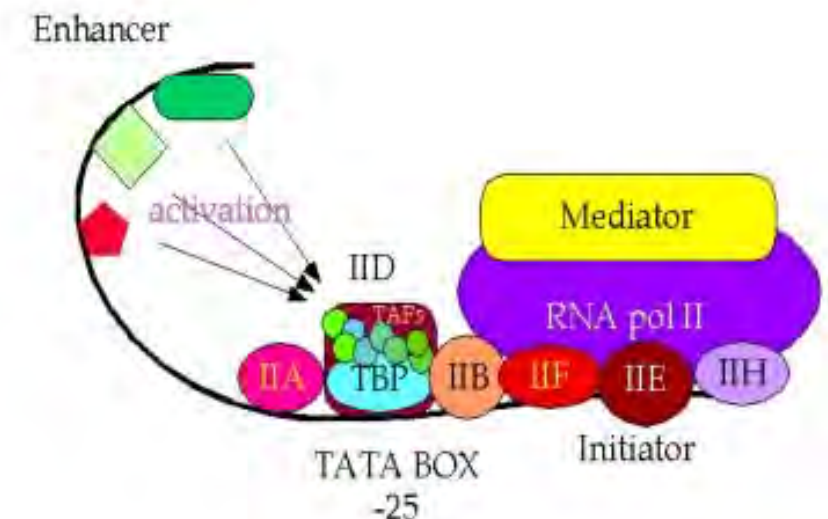
# Промоторы и их функции

In **bacteria** the promoter is recognized by **RNA polymerase** and **sigma factor**,



In **eukaryotes**

at least **seven different factors** are necessary for the binding of an RNA polymerase II to the promoter.





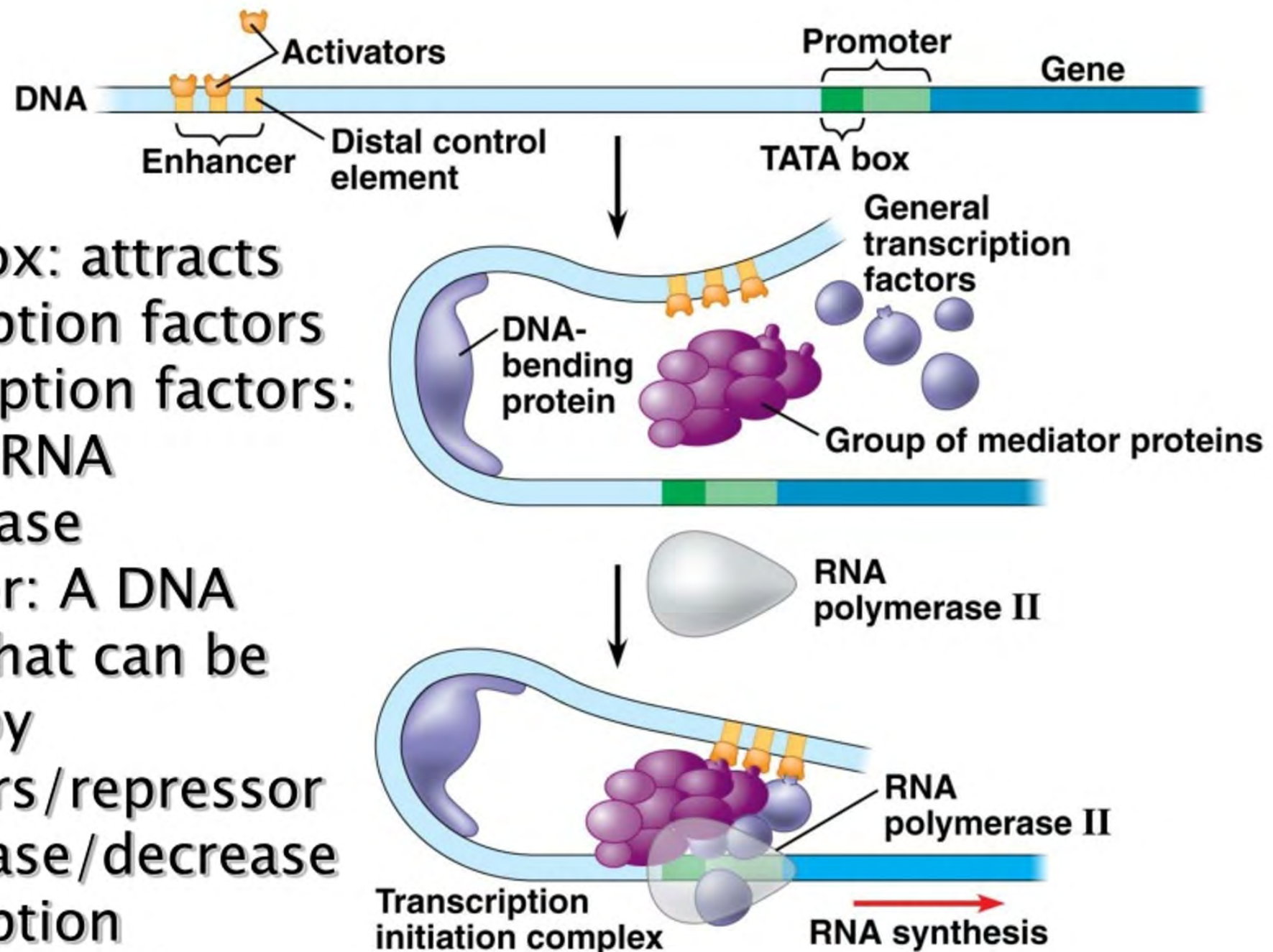
# Энхансеры и сайленсеры



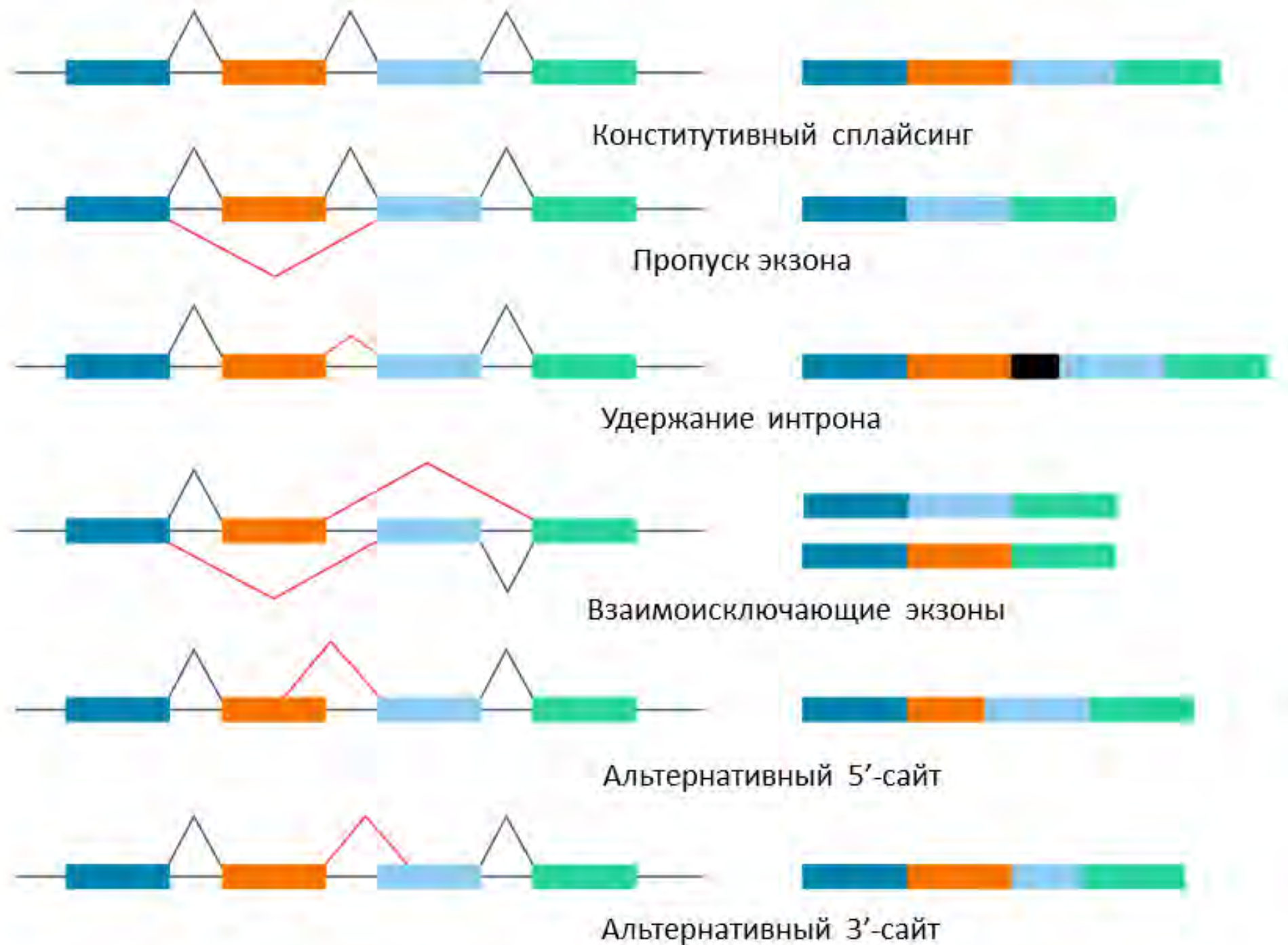


# Транскрипционные факторы

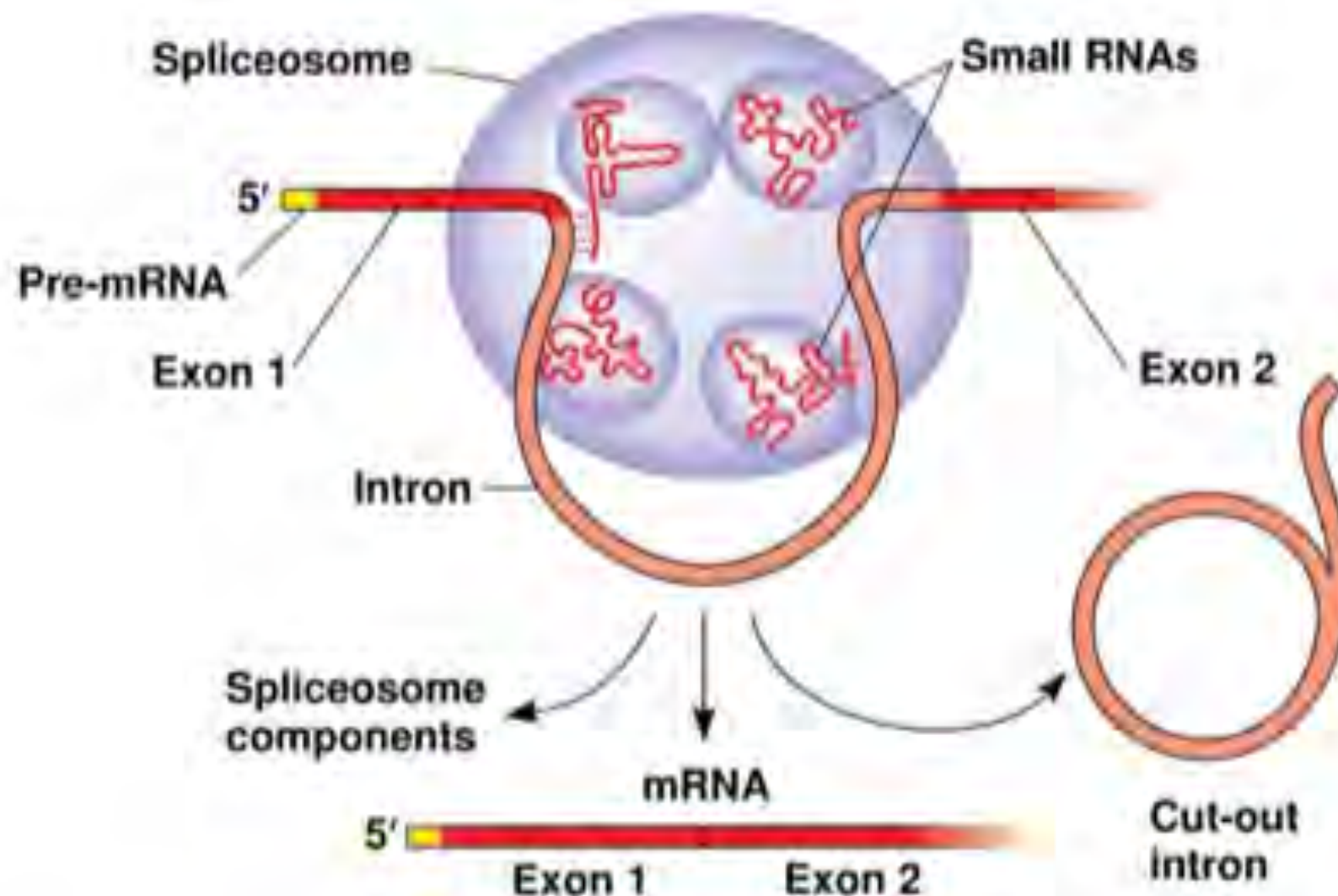
- TATA box: attracts transcription factors
- Transcription factors: attracts RNA Polymerase
- Enhancer: A DNA region that can be bound by activators/repressor to increase/decrease transcription



# Альтернативный сплайсинг РНК



# Альтернативный сплайсинг РНК

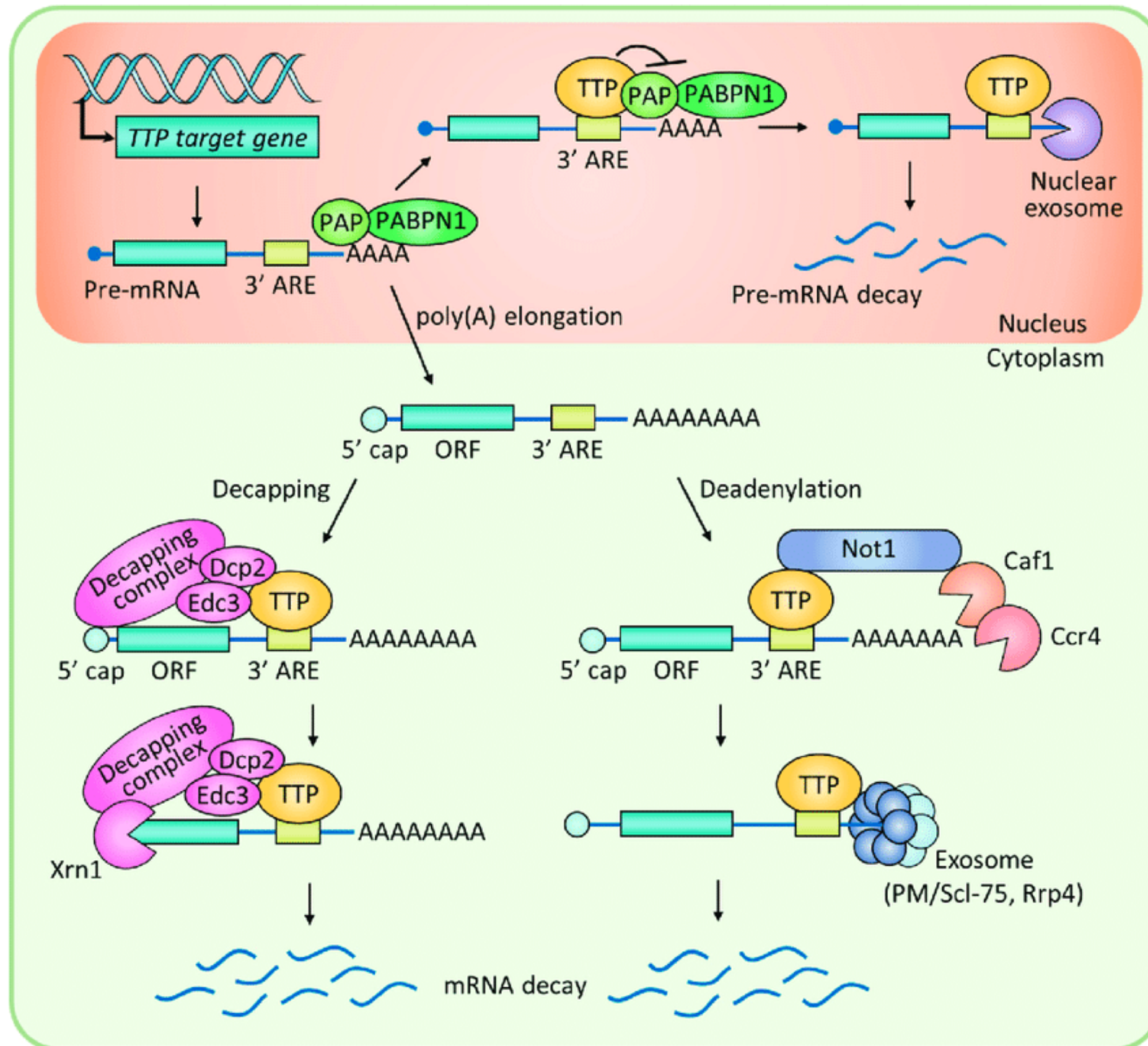


Сплайсосома – рибонуклеопротеидный комплекс:

5 мяРНК (U1, U2, U4, U5, U6) + около 100 белков

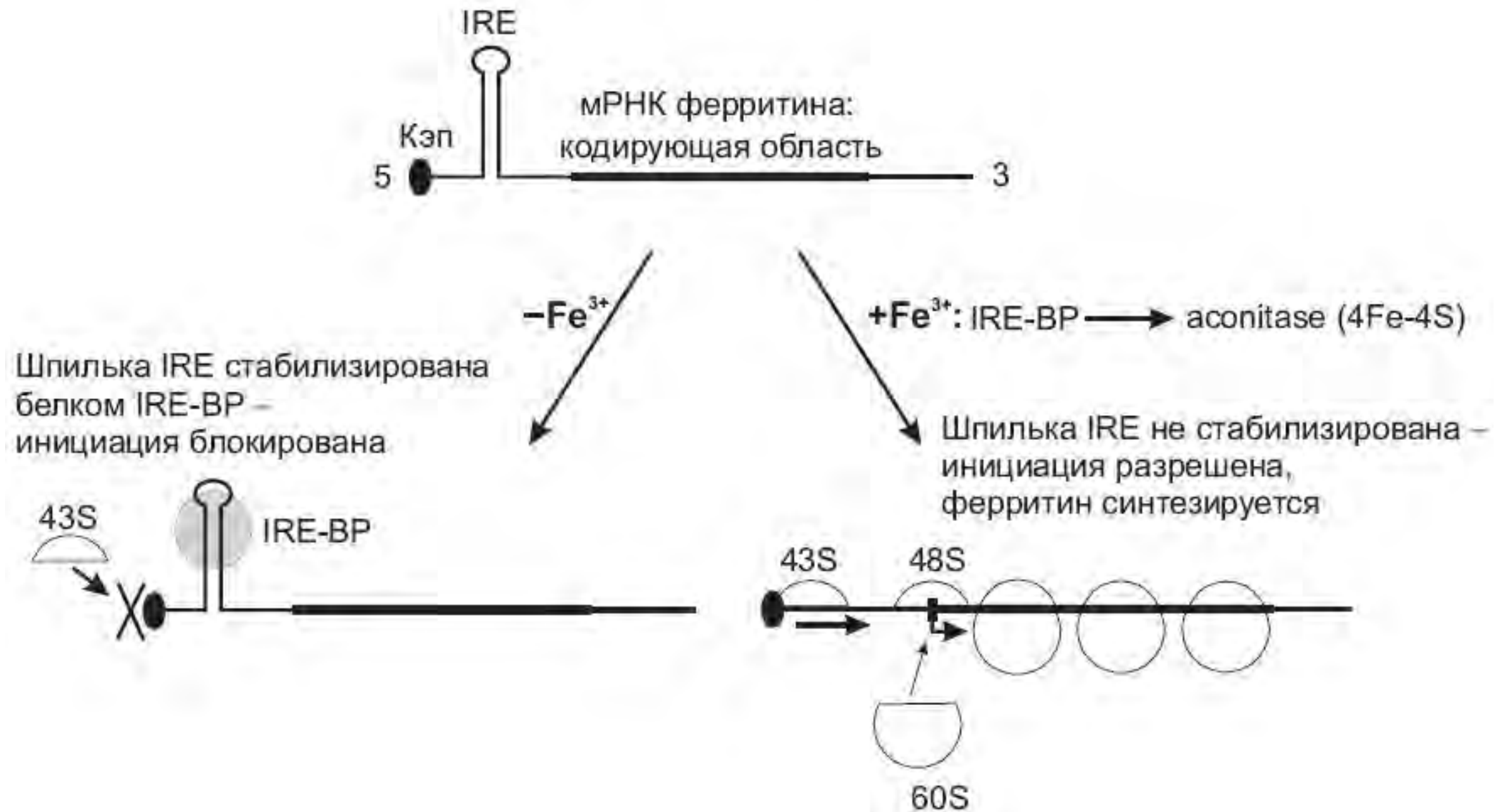


# Стабильность мРНК

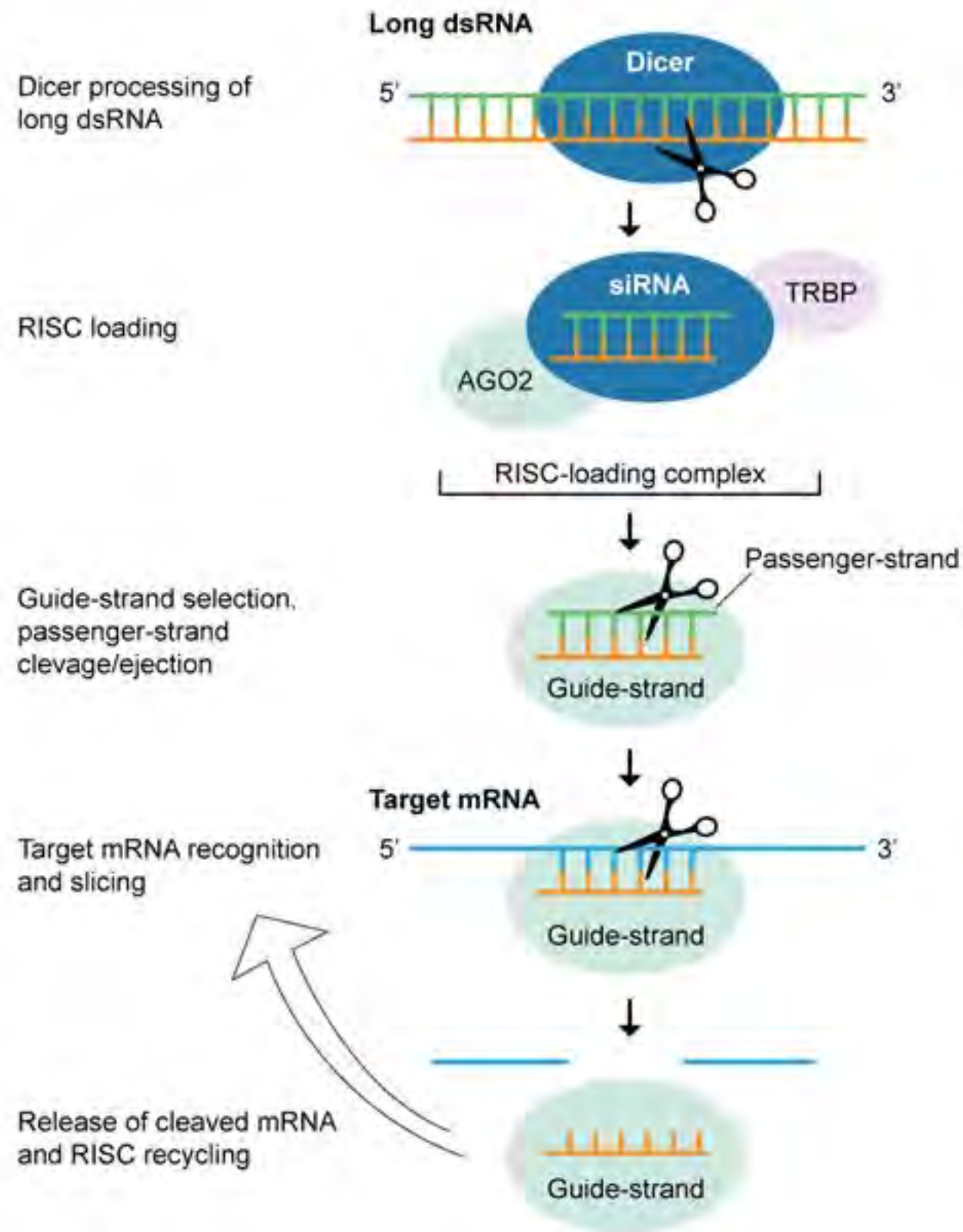




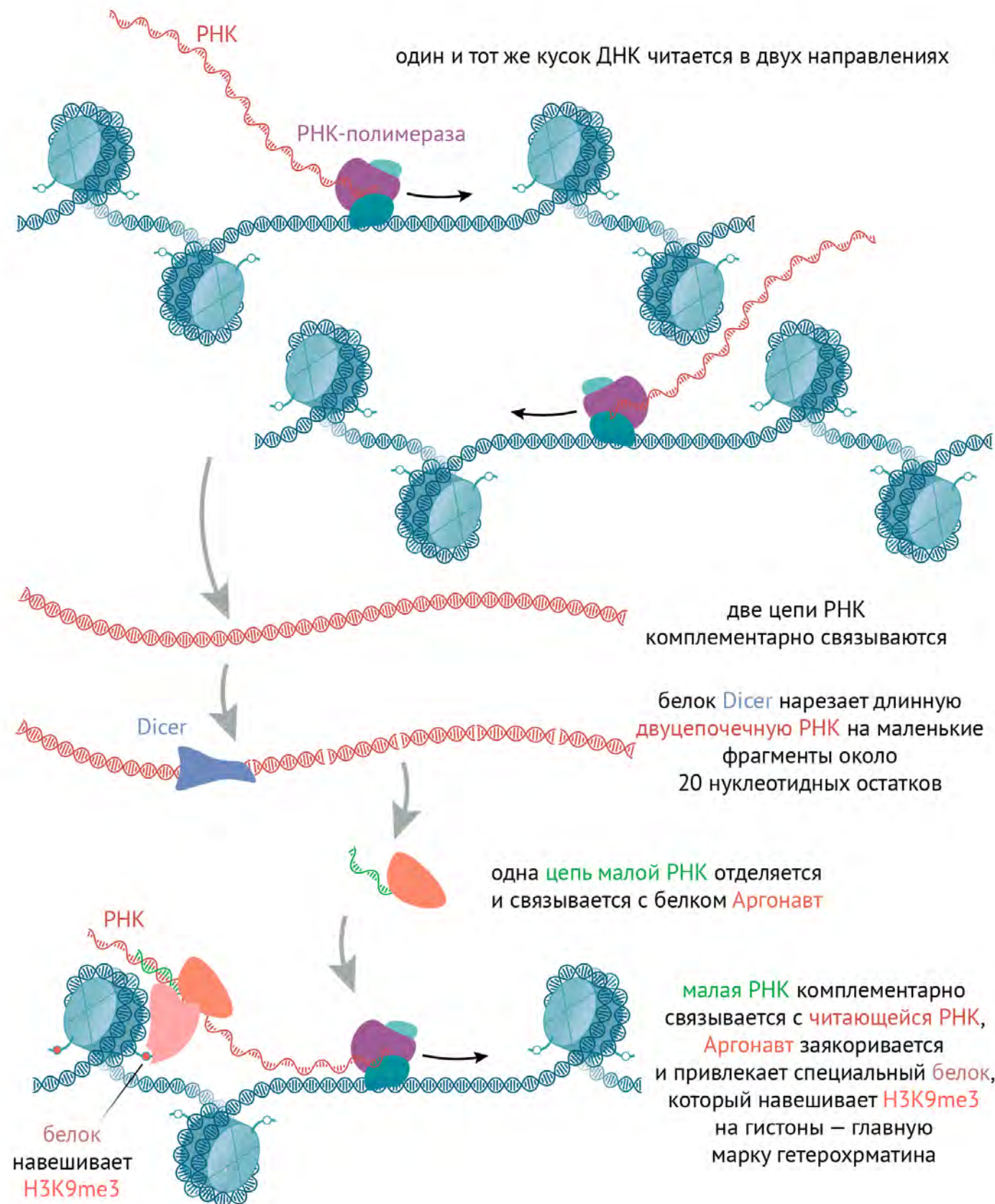
# Регуляция трансляции



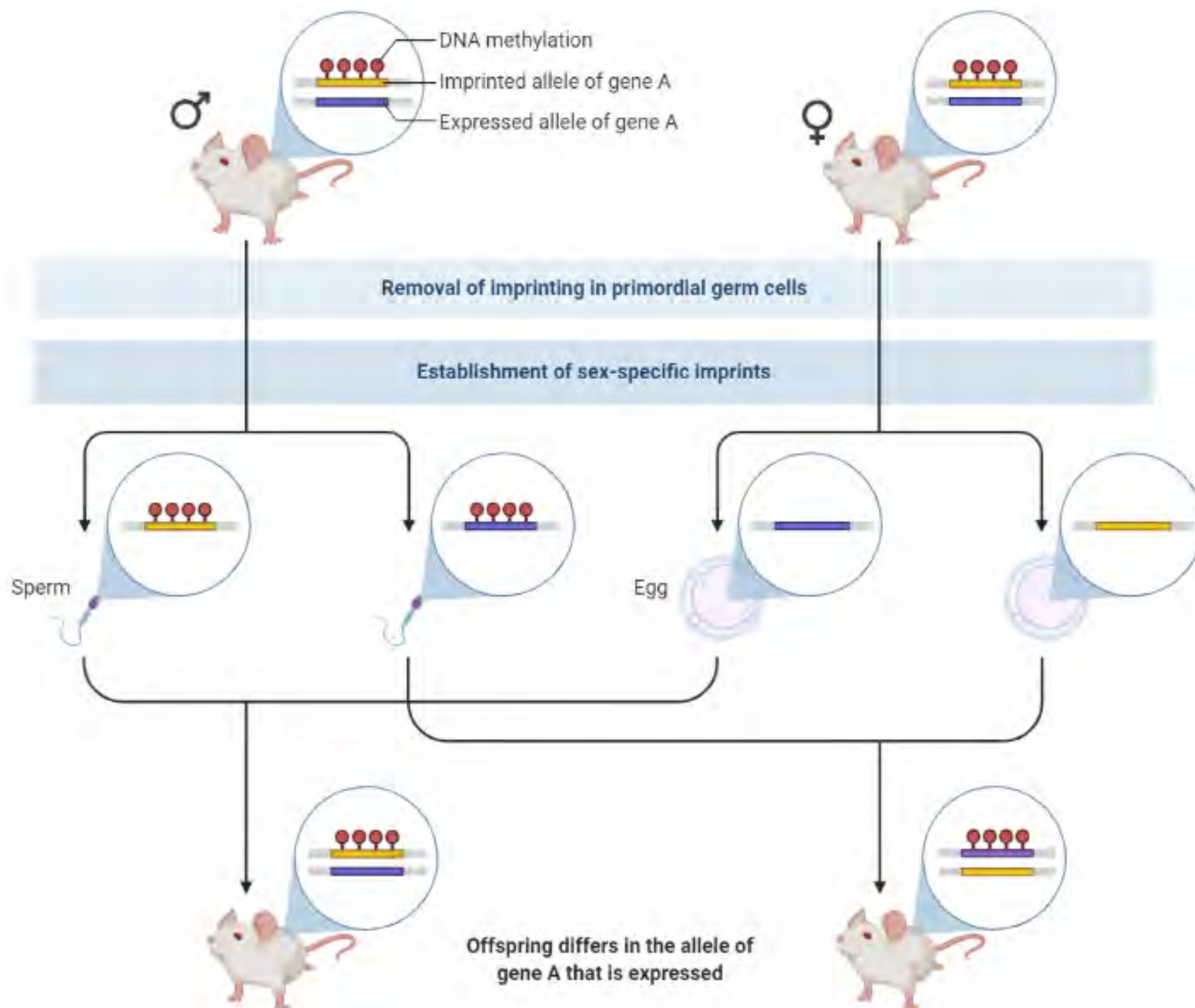
# Малые интерферирующие РНК (siРНК)



# Длинные некодирующие РНК

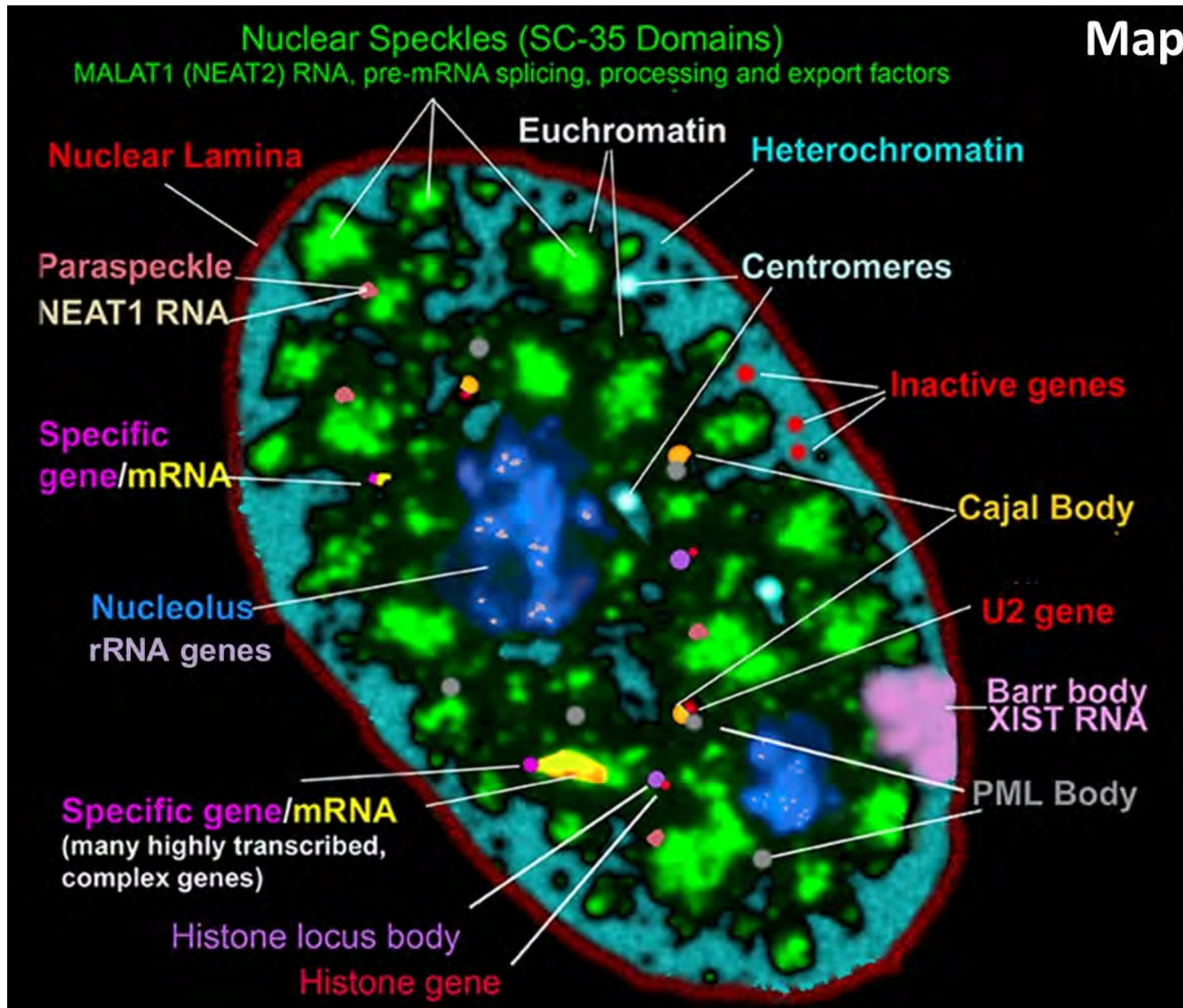


# Импринтинг генов

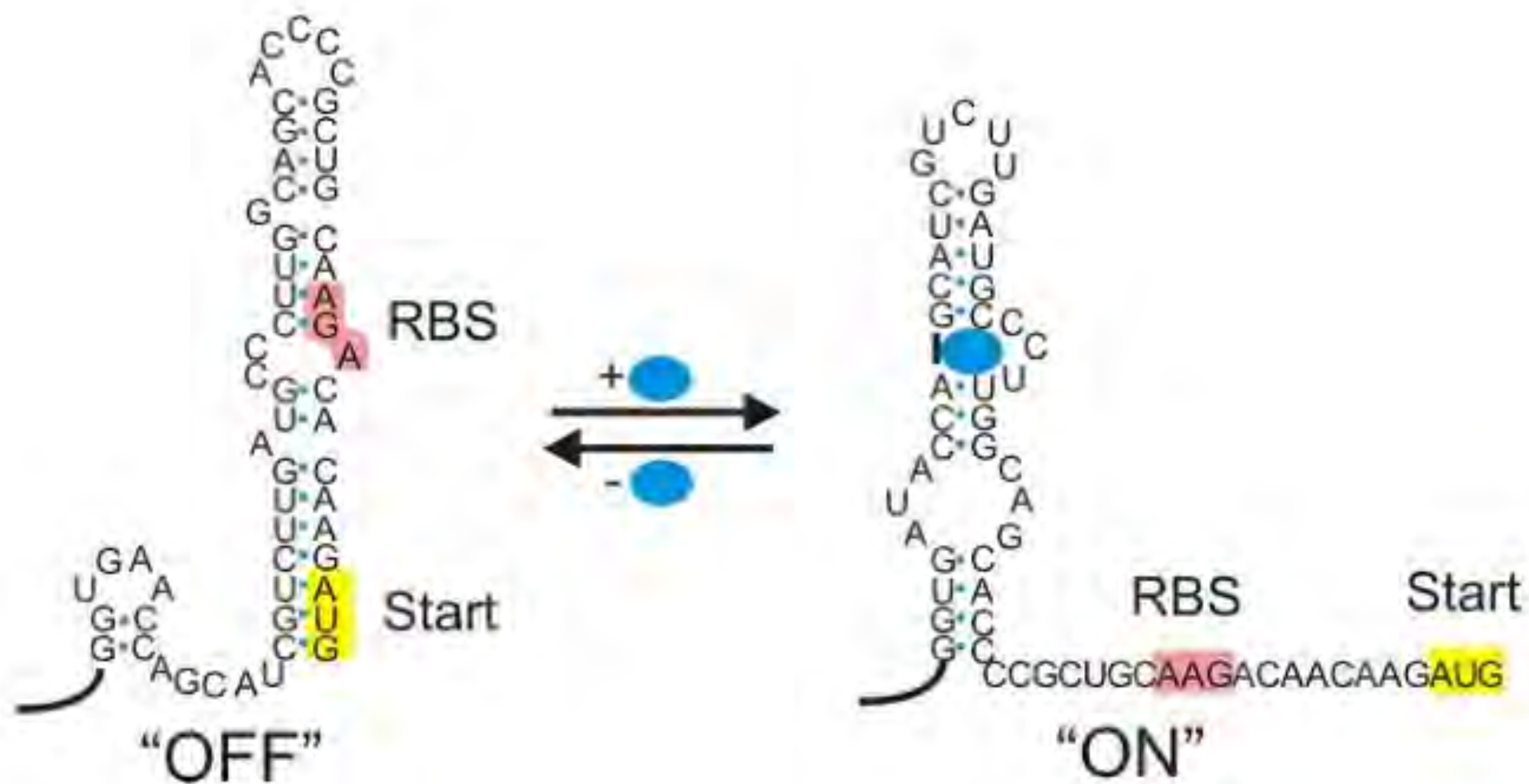




# Хромосомные территории в ядре

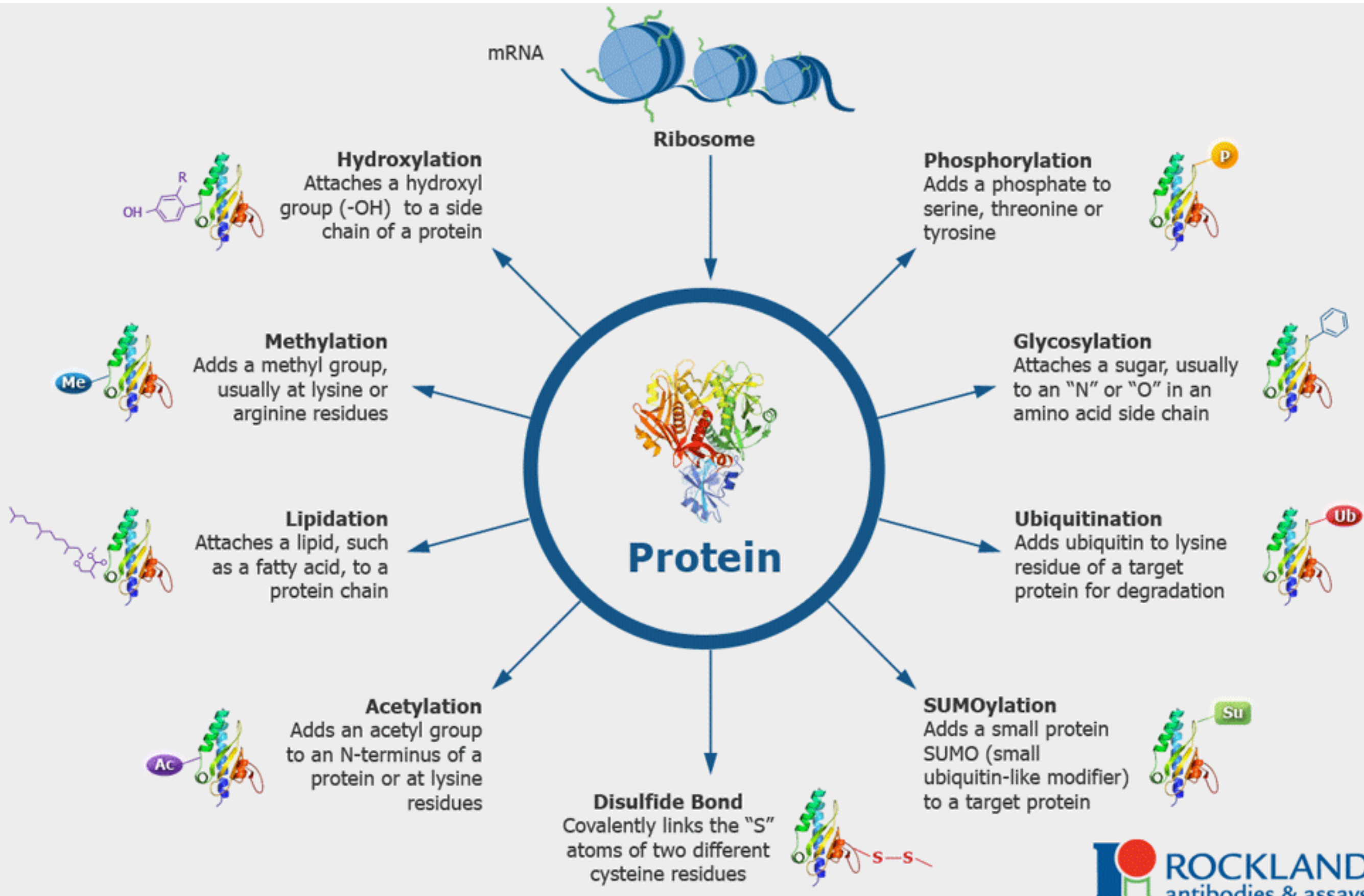


# Рибопереклюватели

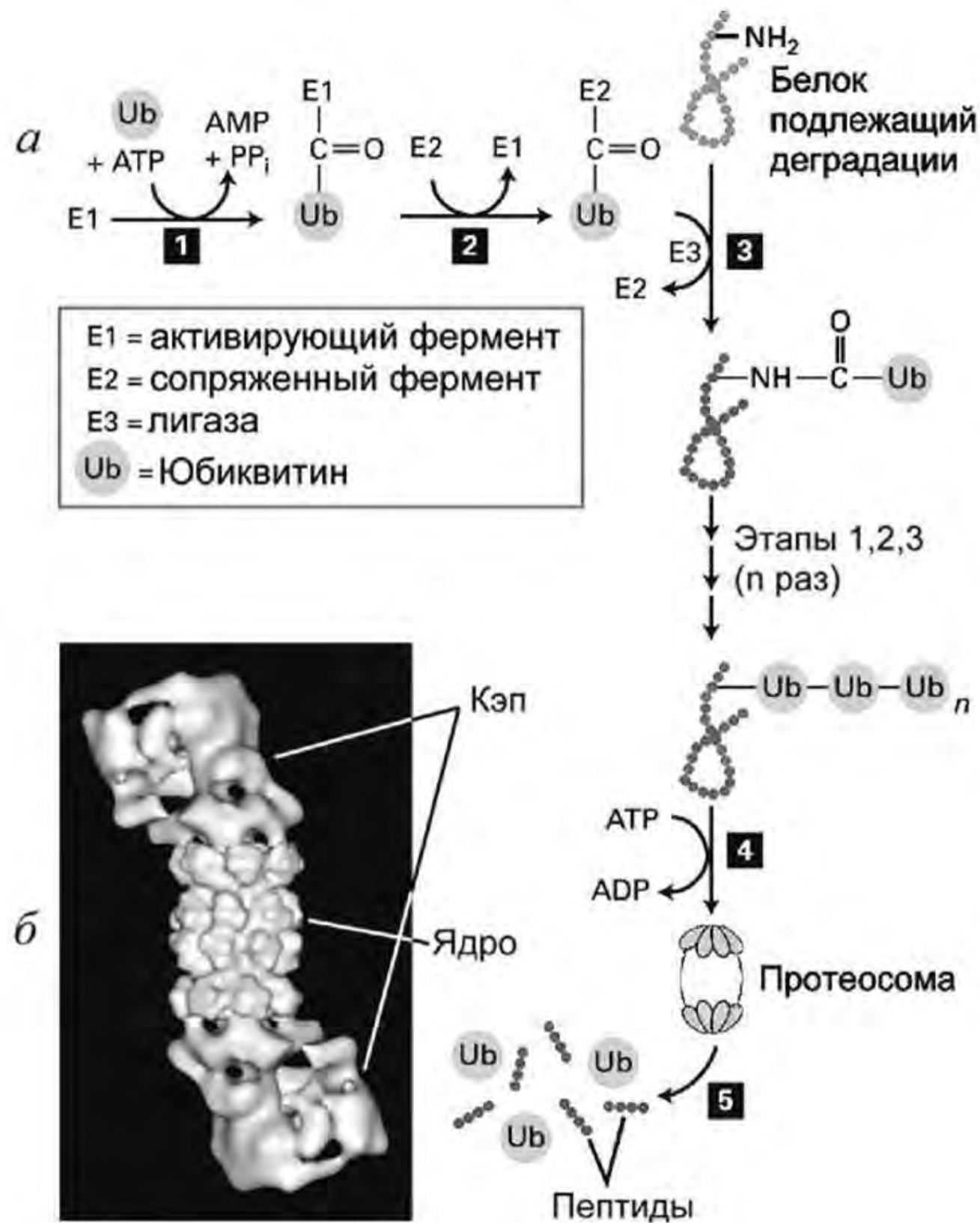




# Посттрансляционные модификации



# Убиквитинирование и деградация белков

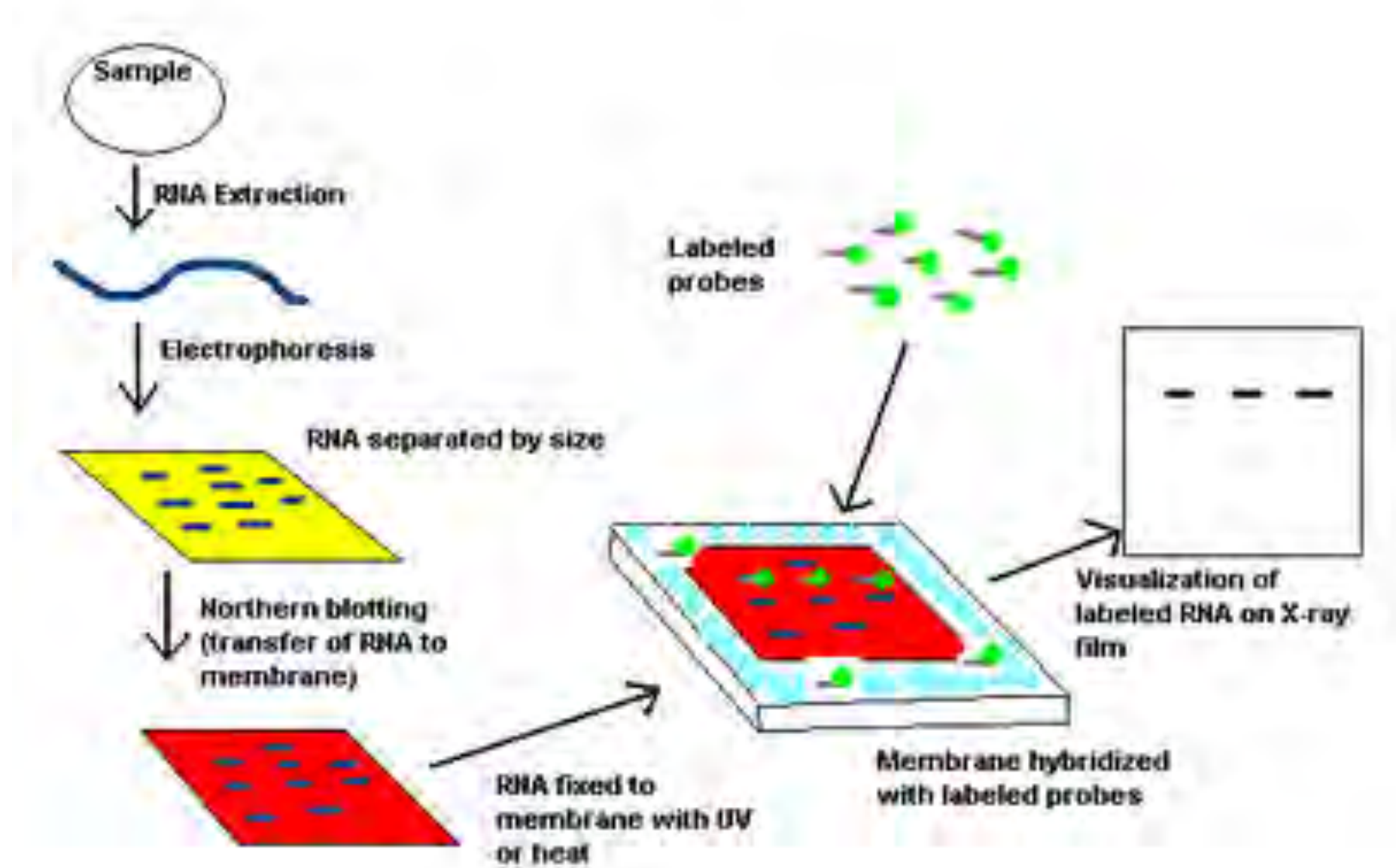




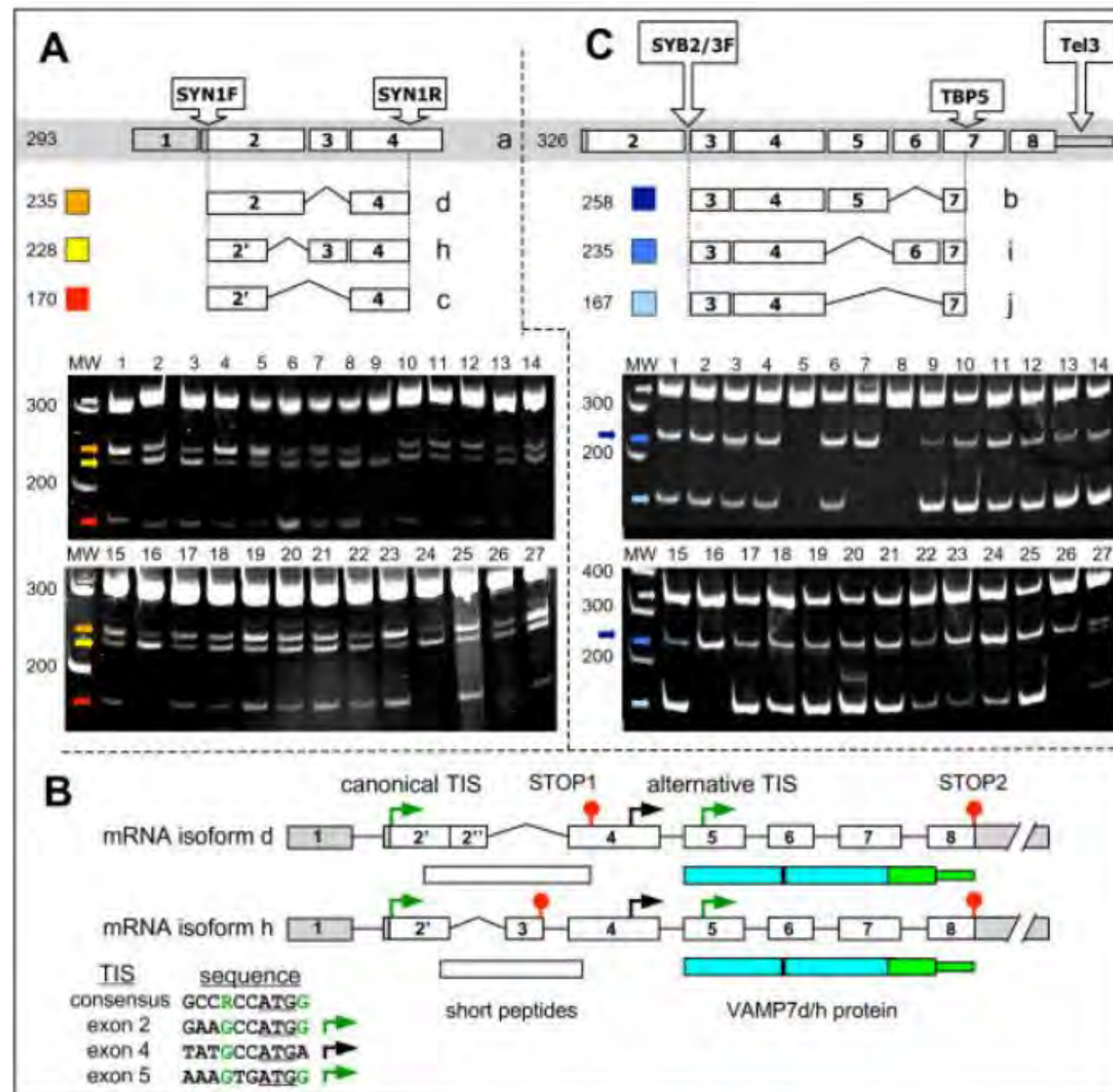
# Убиквитинирование и деградация белков

Белок или ткань	Содержание белка (кг)	Время полураспада (сут)
Коллаген (мышцы, кожа, кость)	<b>2,75-3.3</b>	<b>&gt;300</b>
Альбумины, глобулины (мышцы)	<b>1.7</b>	<b>30</b>
Гемоглобин	<b>0.9</b>	<b>120</b>
Белки плазмы	<b>0.4</b>	<b>10</b>
Печень, почки, легкие	<b>0.5</b>	<b>5</b>

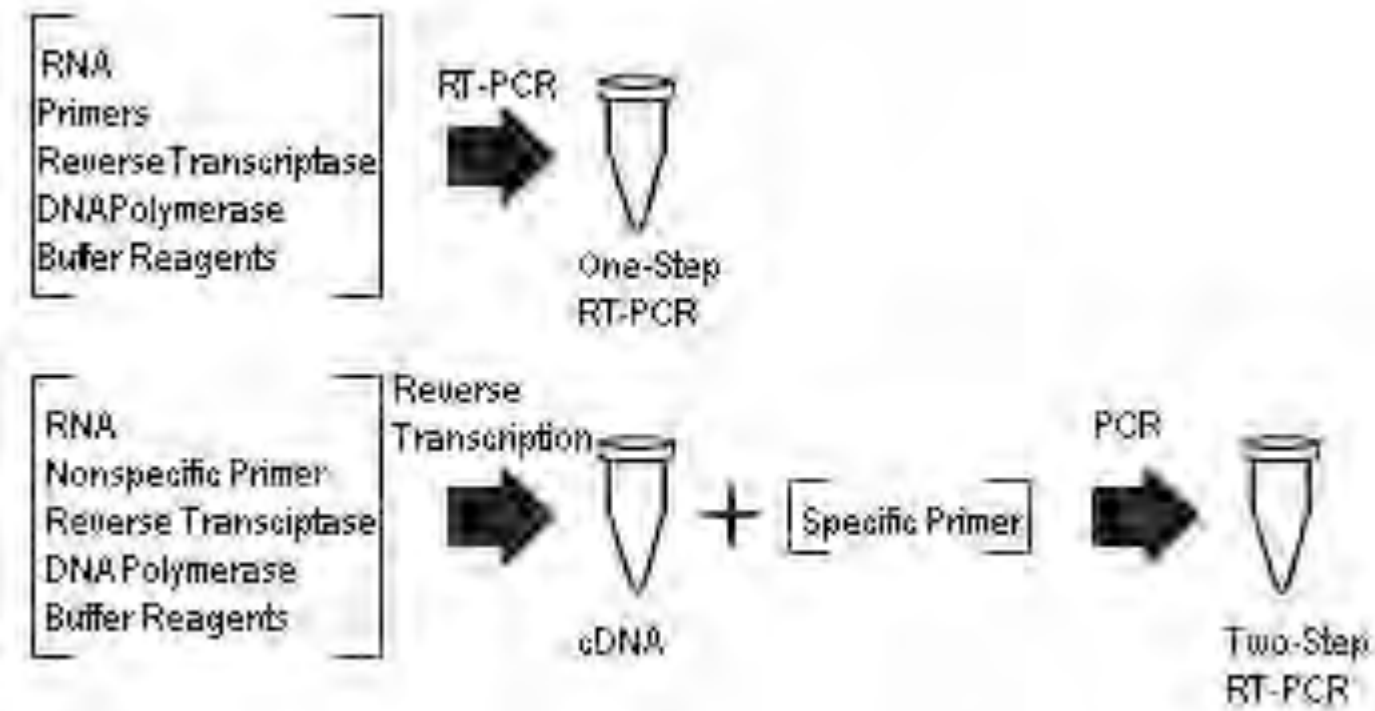
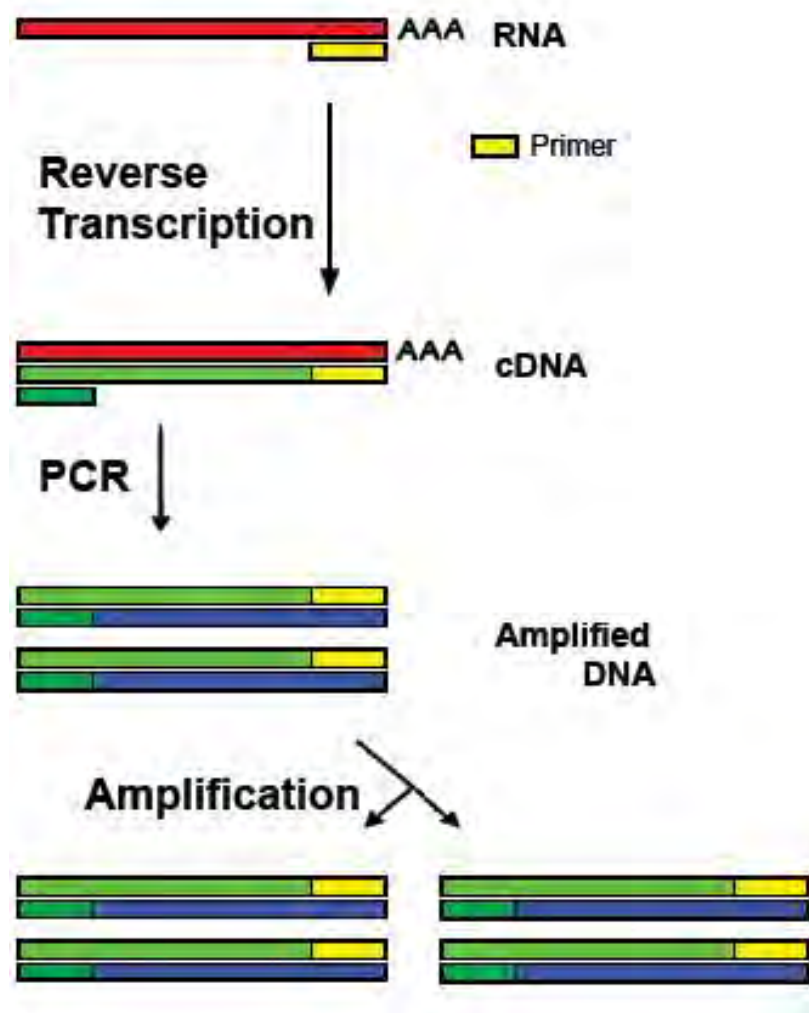
# Northern blot



# Исследование альтернативного сплайсинга

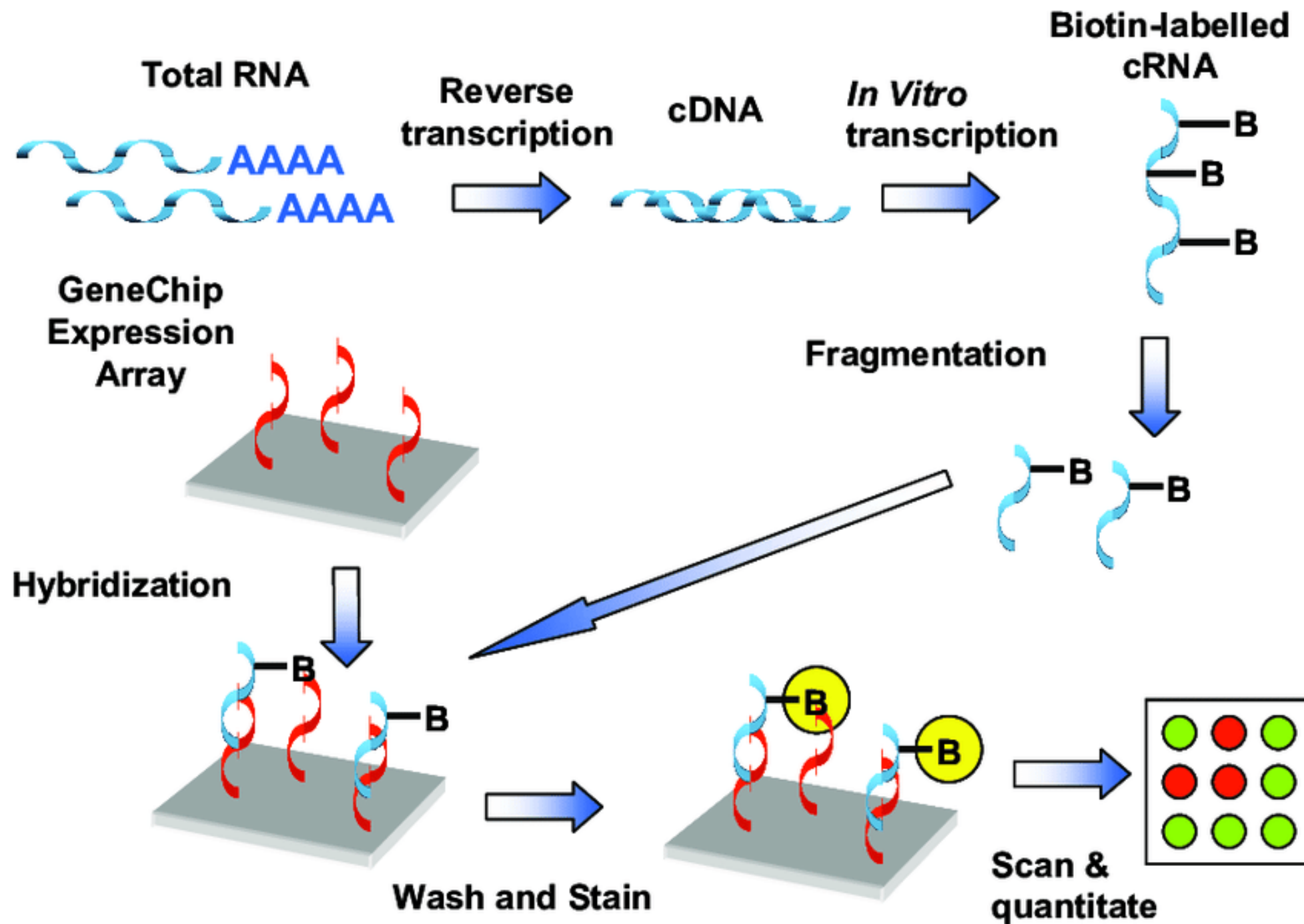


# ОТ-ПЦР



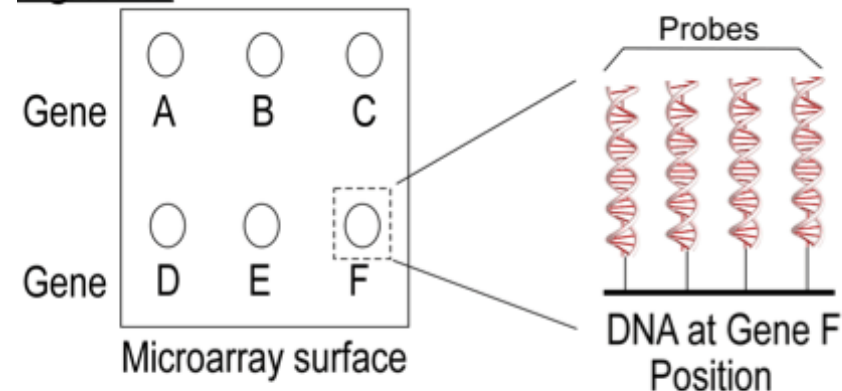


# Микрочипы: Введение

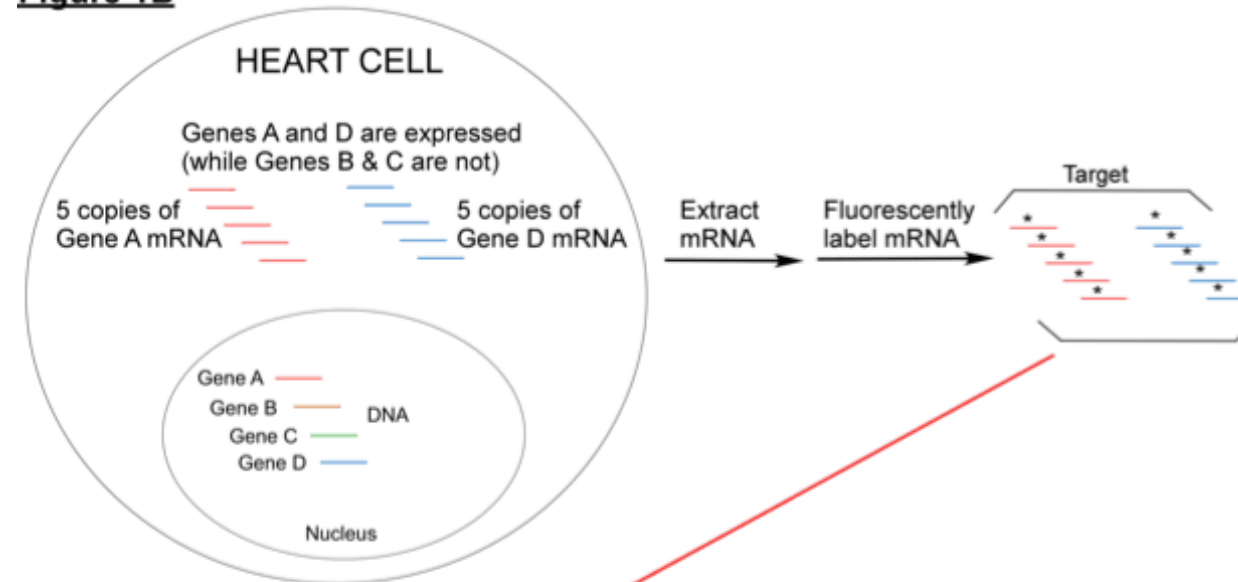


# Микрочипы Affymetrix: Особенности технологии

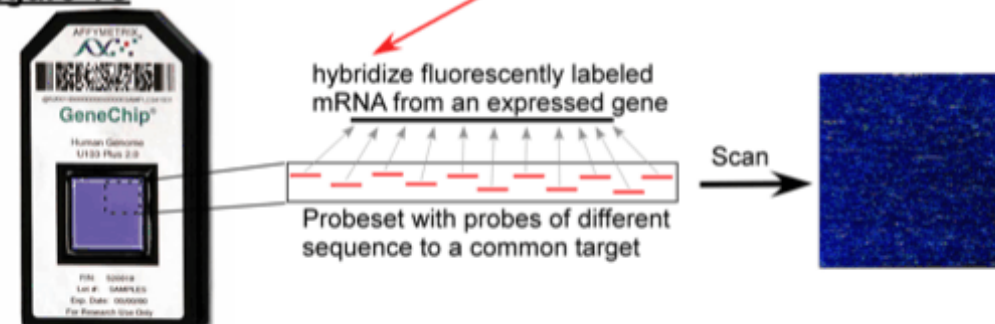
**Figure 1A**



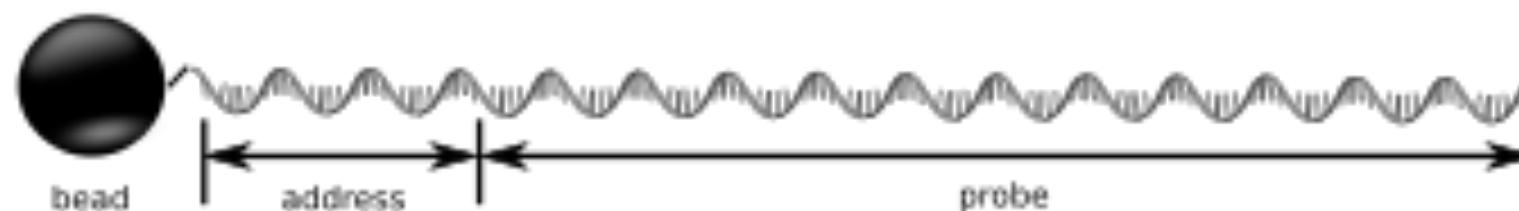
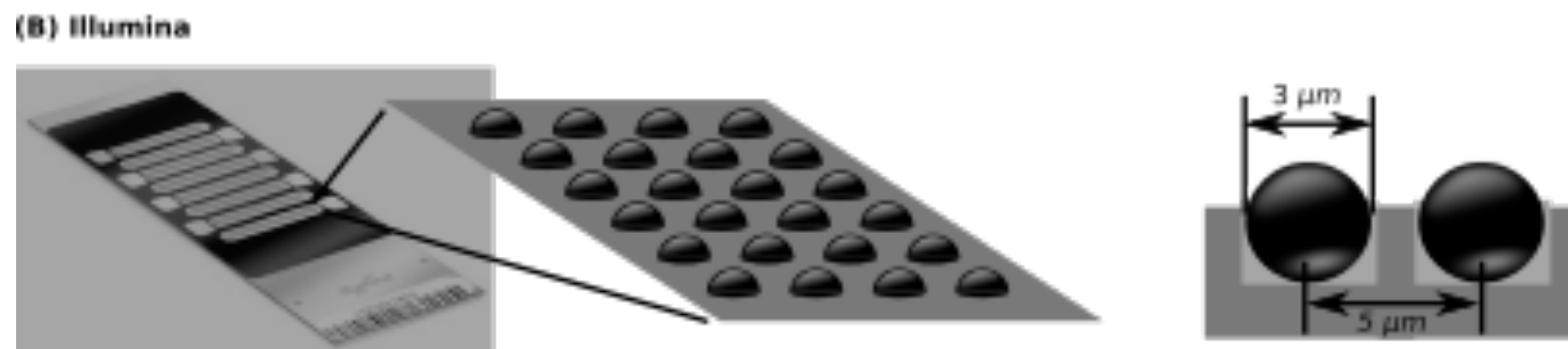
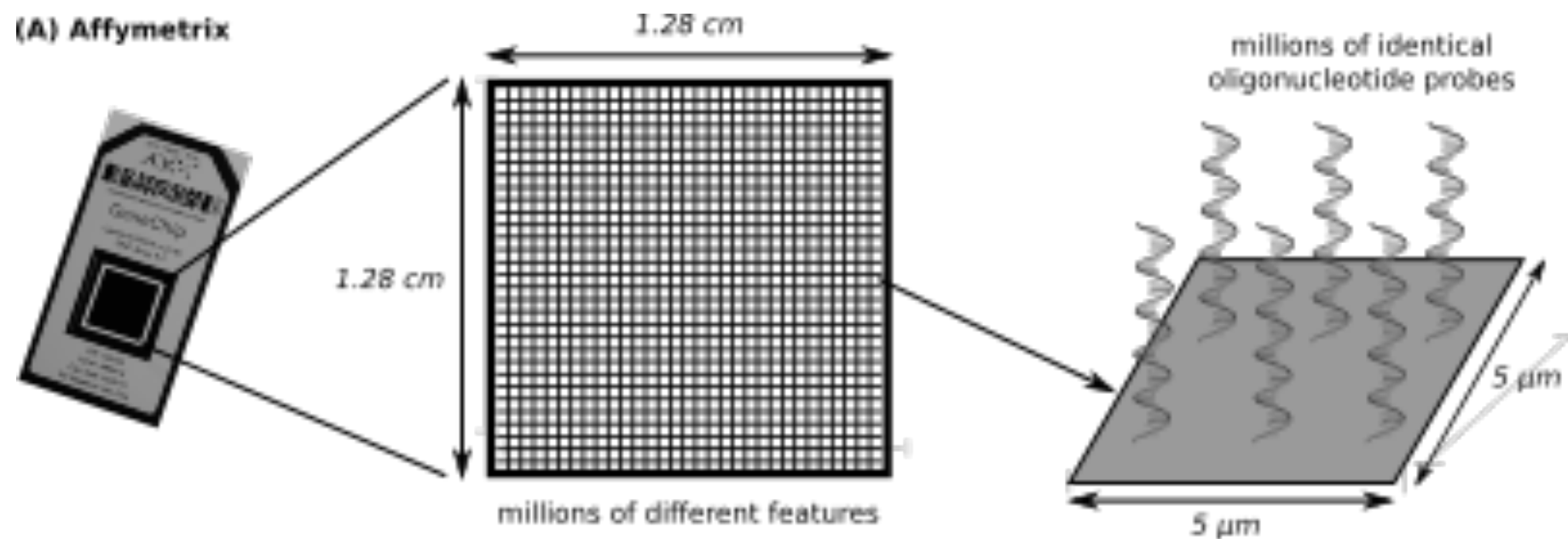
**Figure 1B**



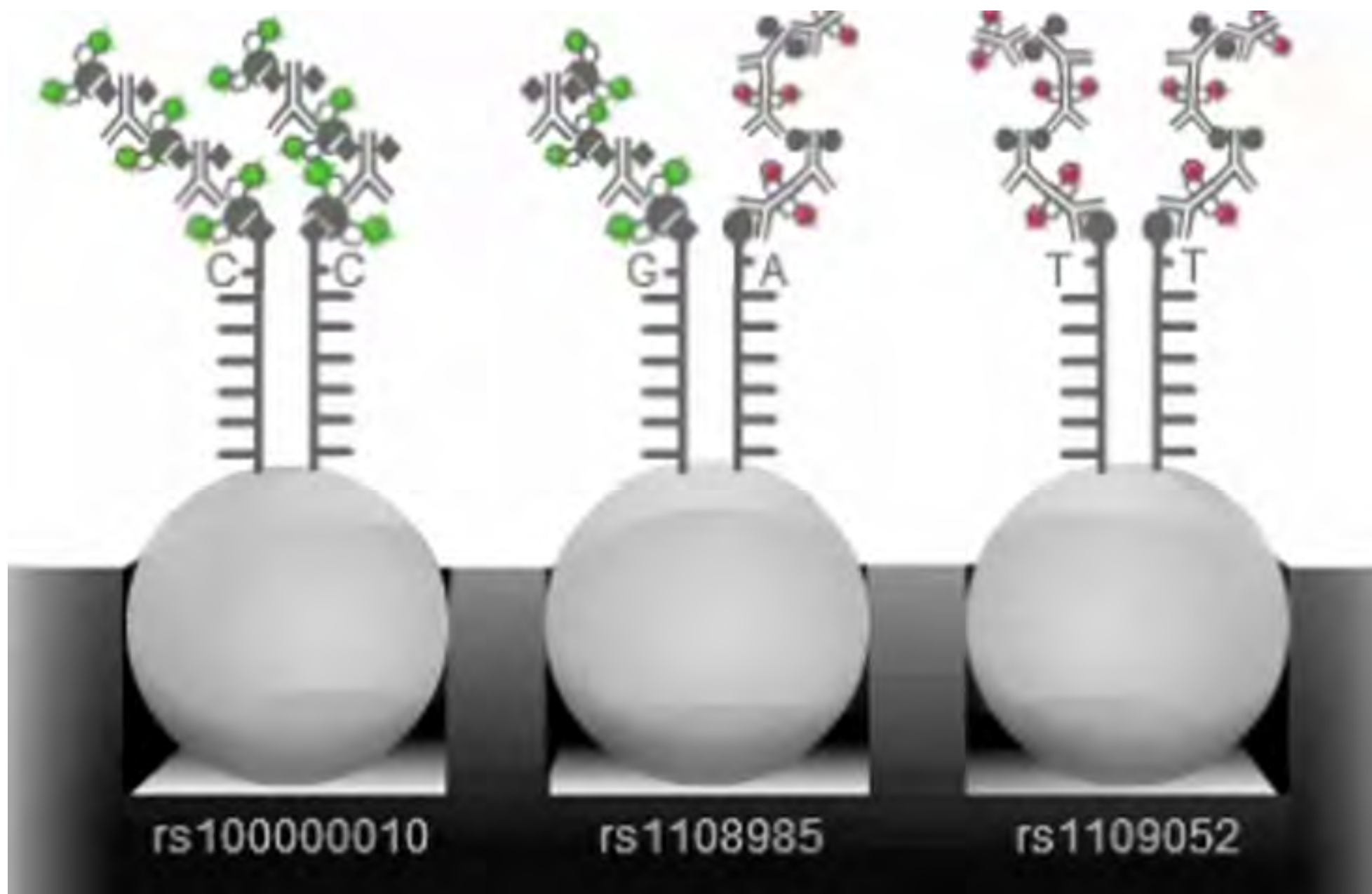
**Figure 1C**



# Микрочипы Illumina: Технология

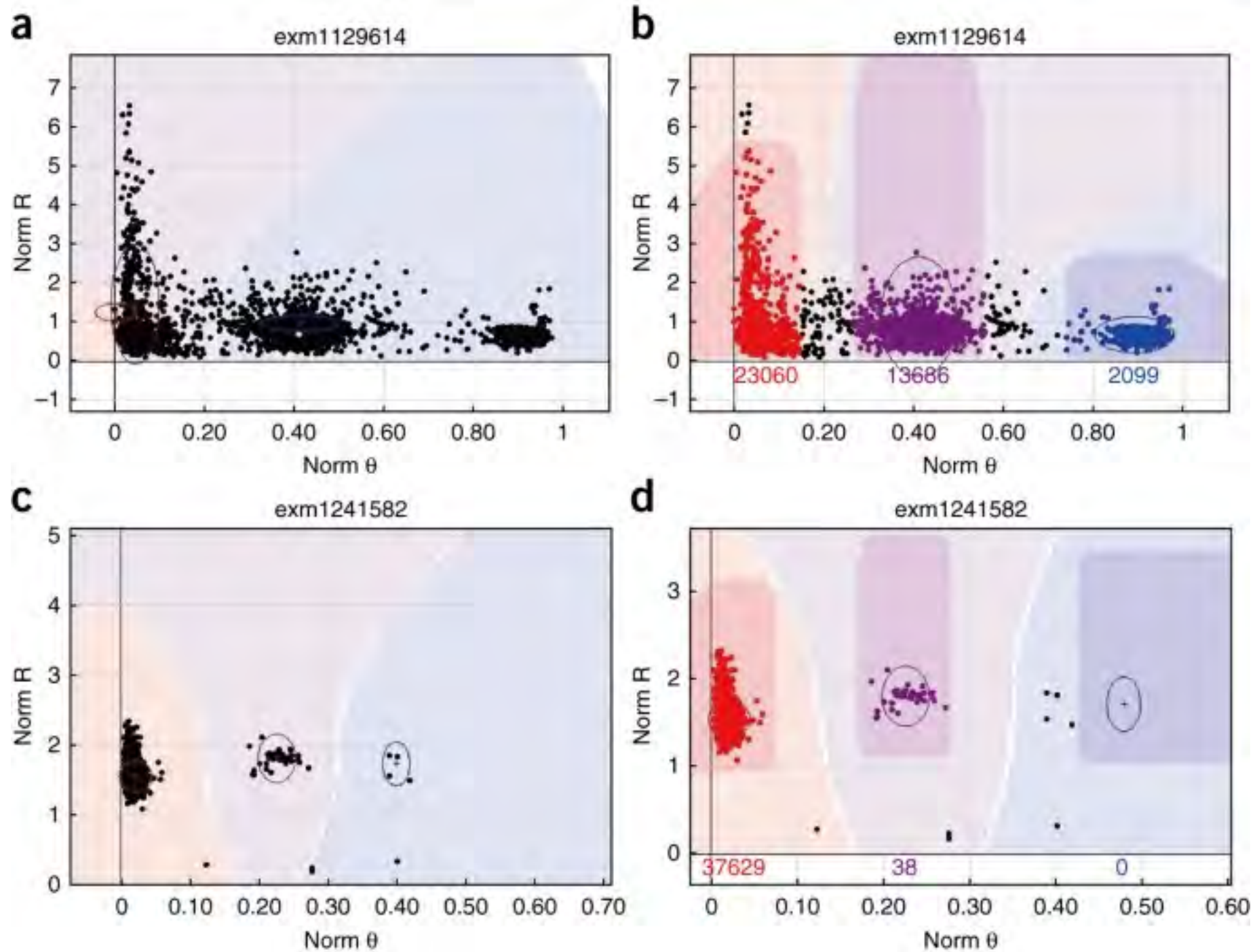


# Микрочипы Illumina: Технология

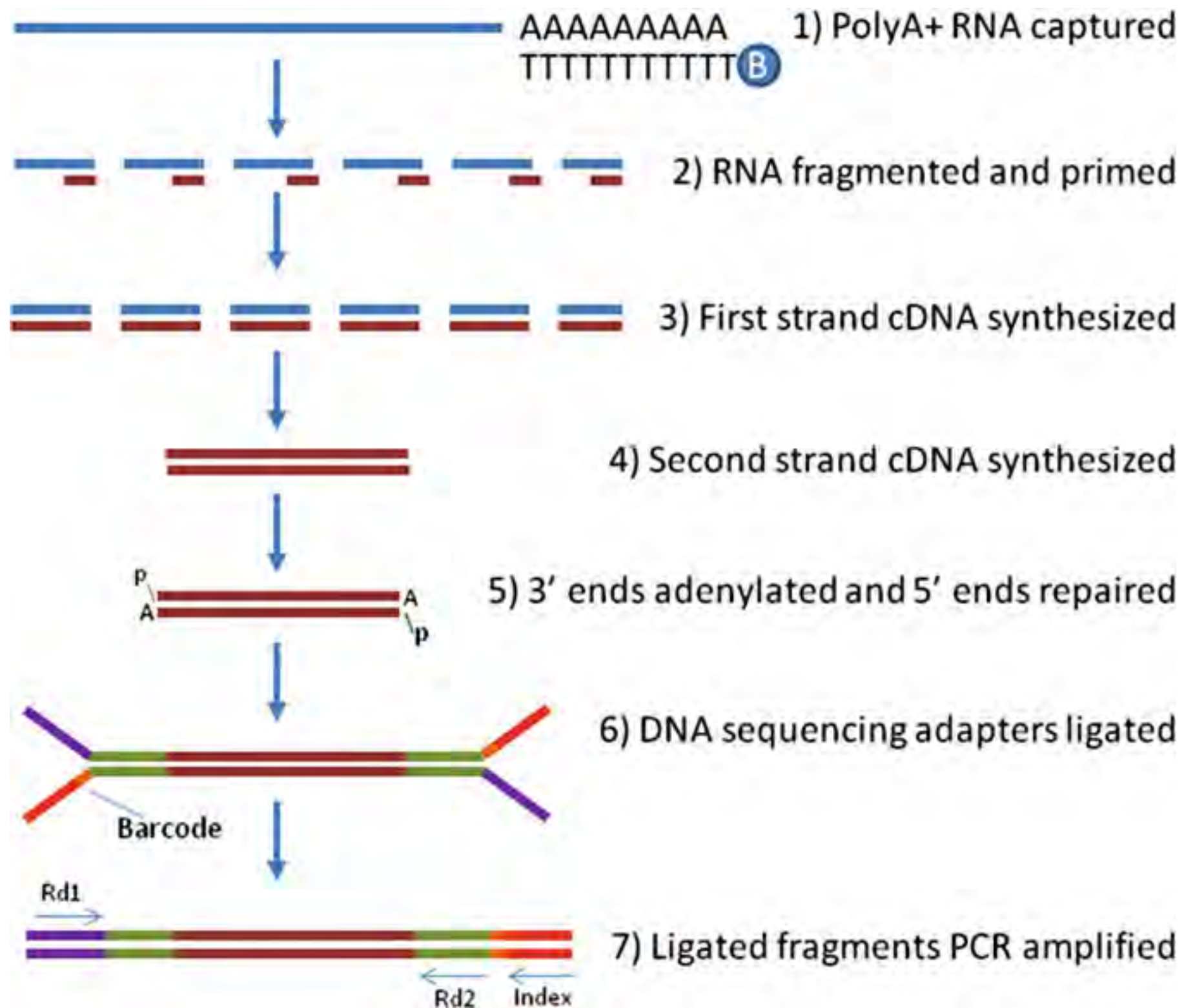




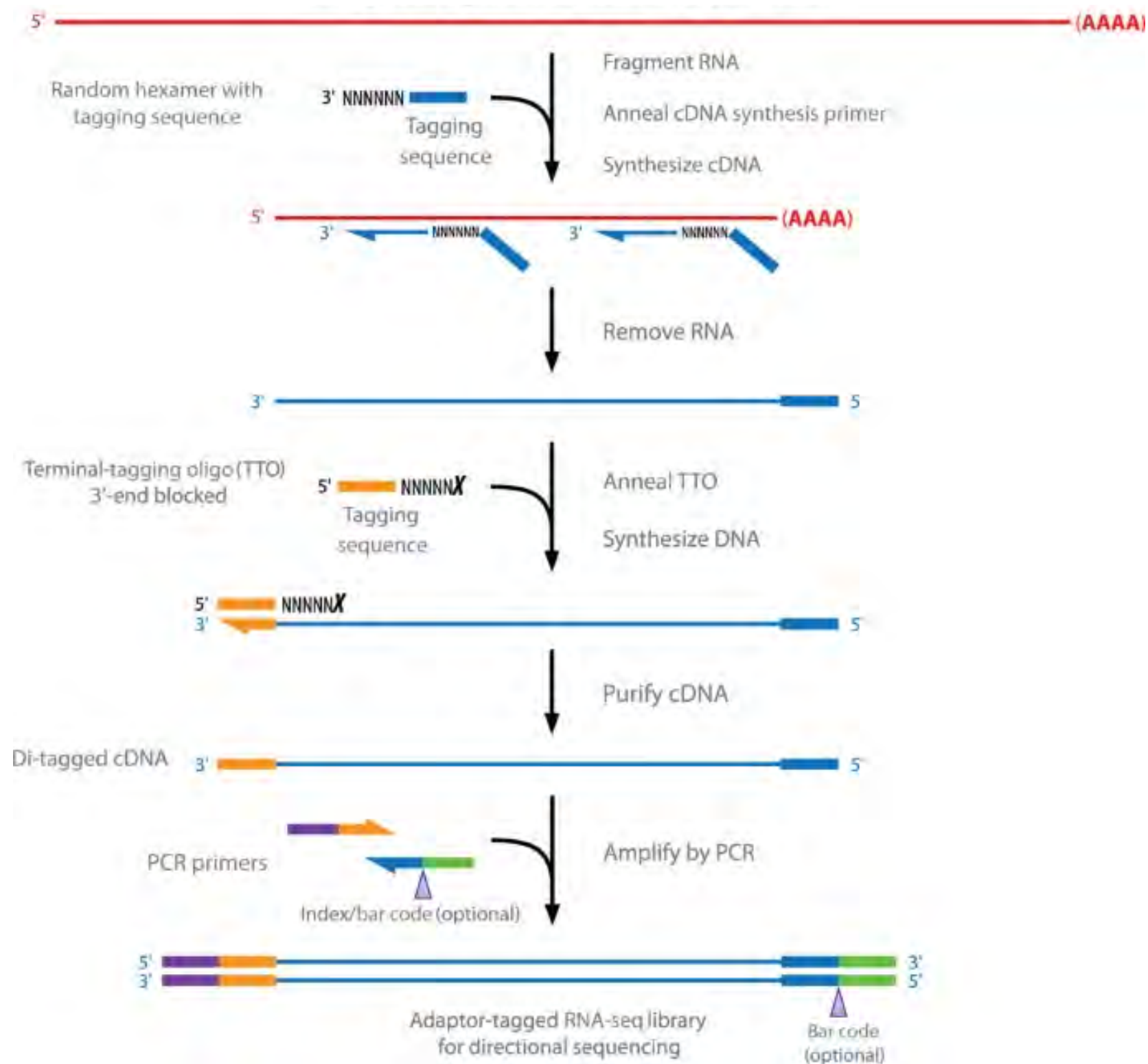
# Микрочипы Illumina: обработка данных



# RNA-seq: Подготовка библиотек



# RNA-seq: Stranded vs. Non-stranded





# RNA-seq: Подготовка библиотек

Total RNA or purified small RNA

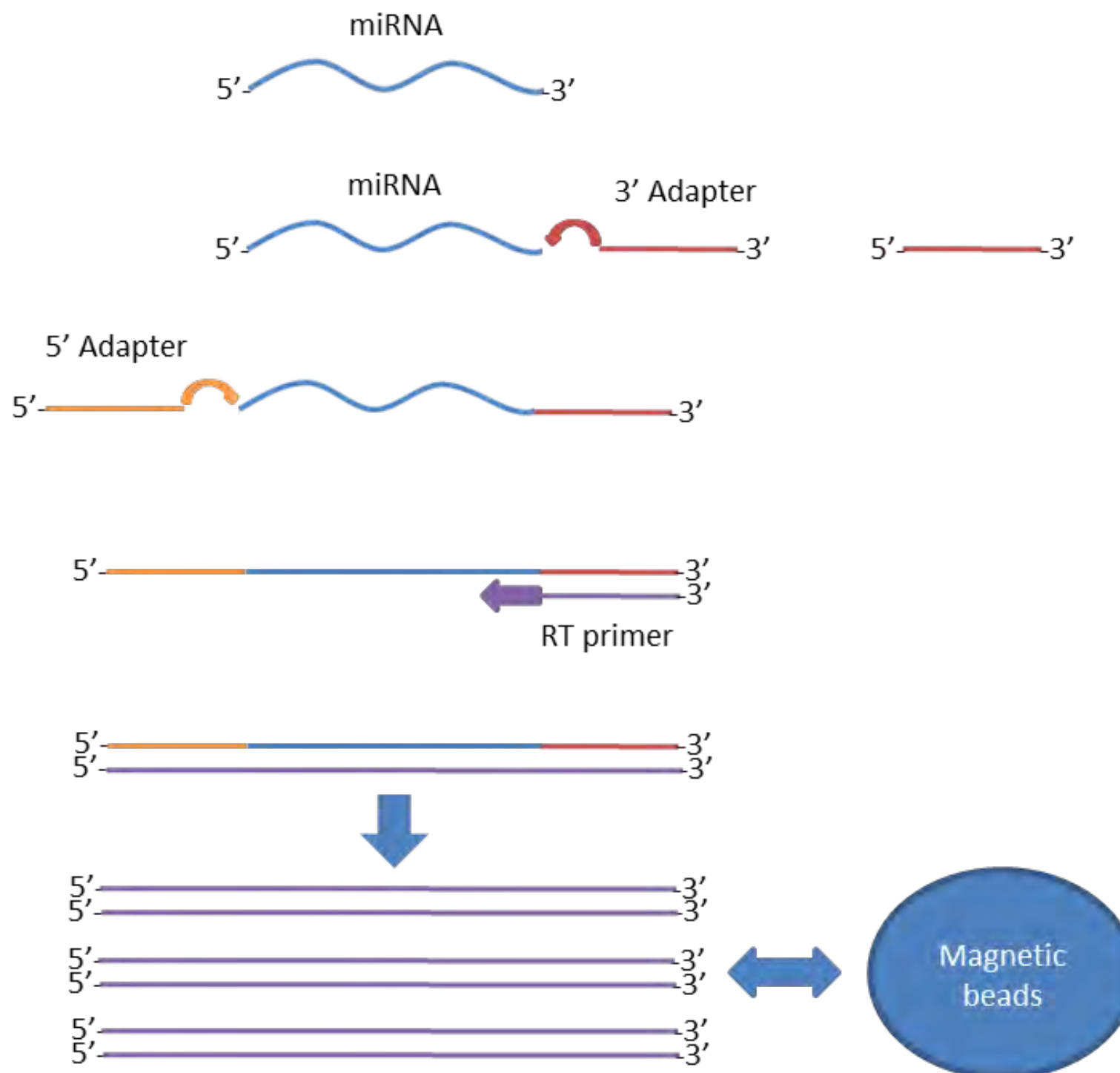
3' Adapter Ligation

5' Adapter Ligation

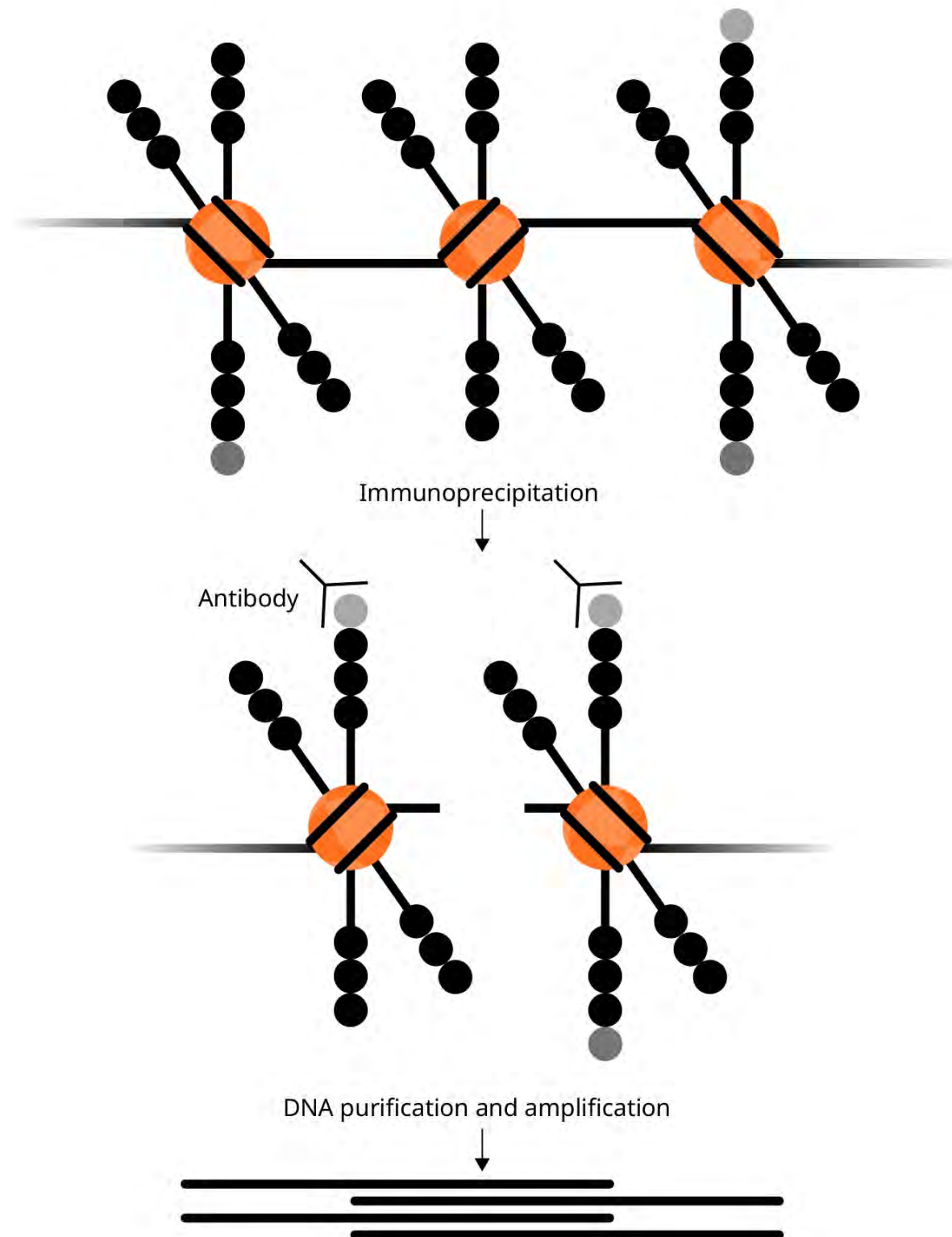
Reverse Transcription

PCR Amplification

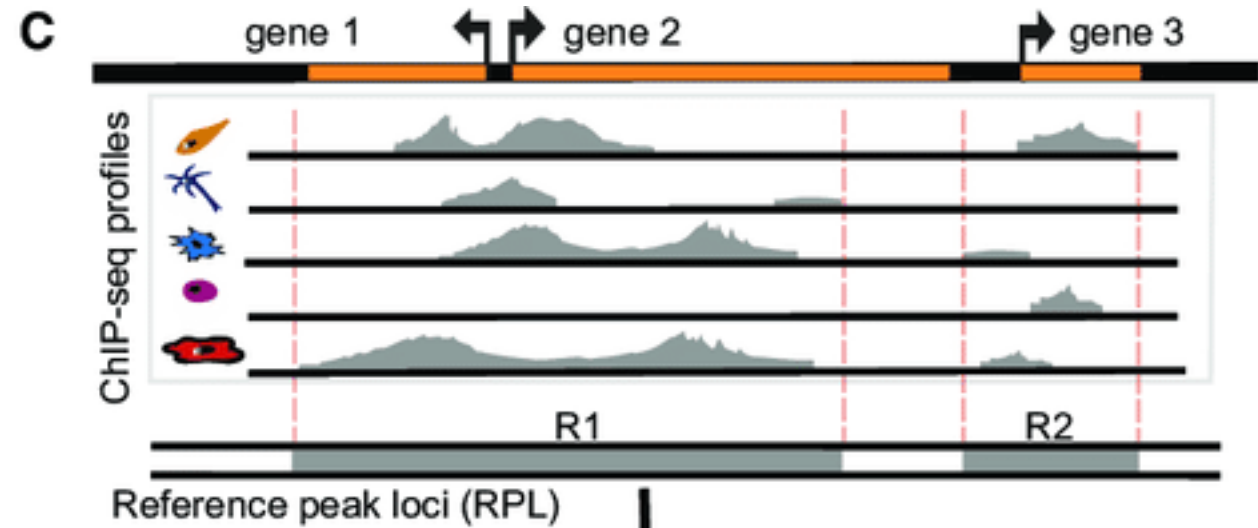
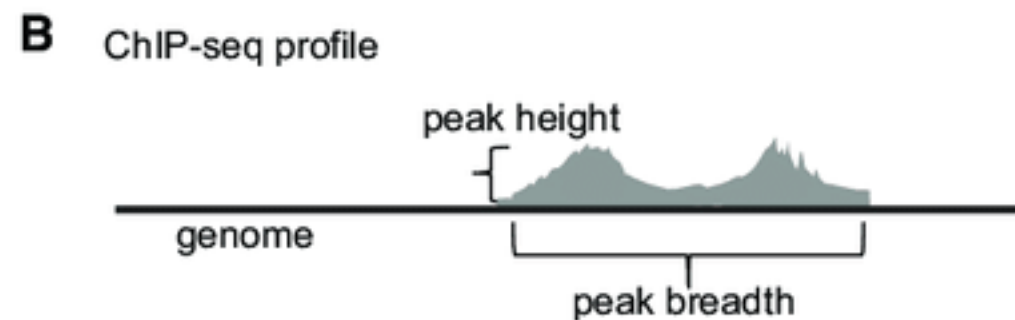
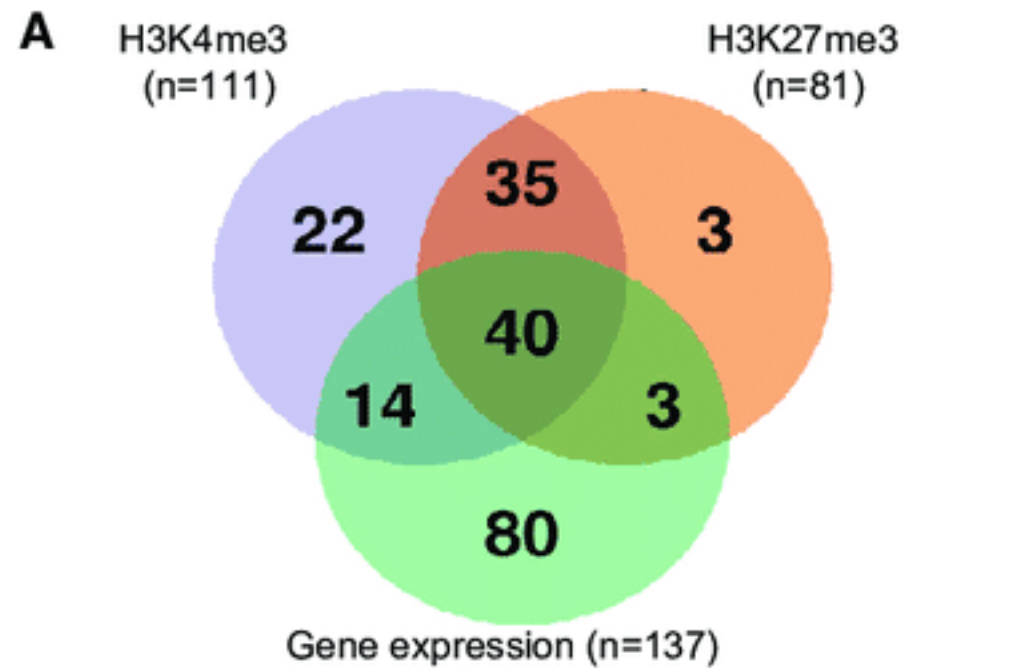
Final Library Cleanup



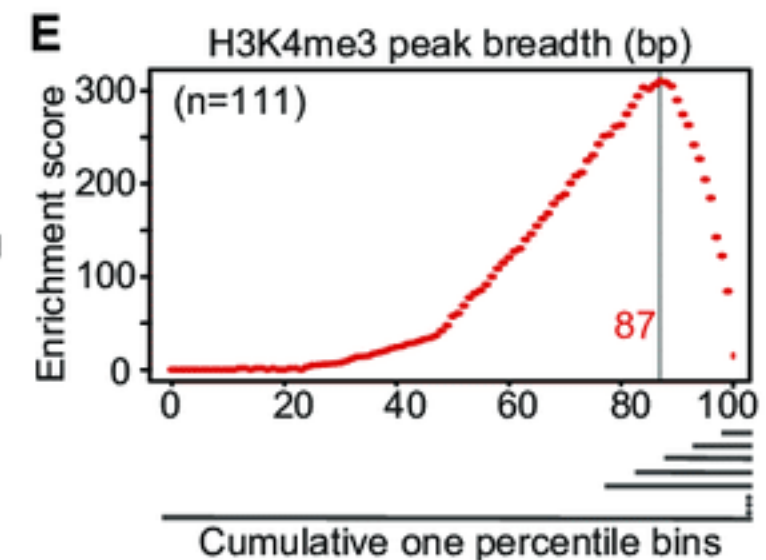
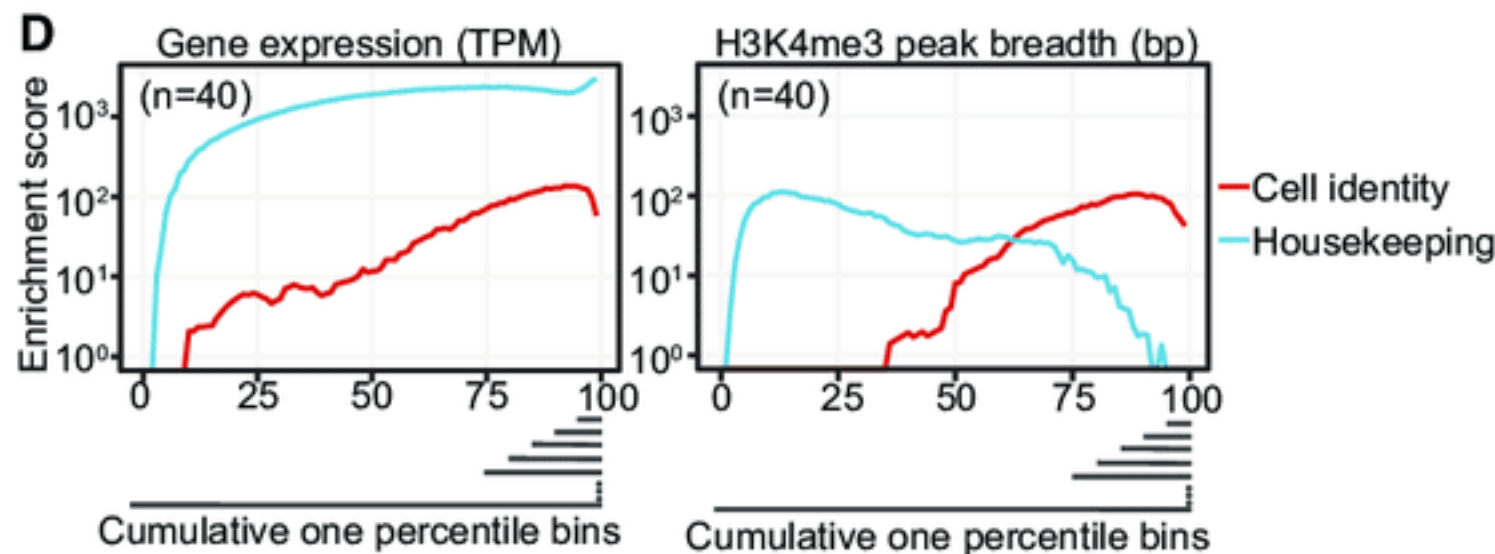
# Хроматин иммунопреципитация



# ChIP-seq анализ



RPL	Genes	Peak breadth (B) and height (H)				
R1 B:10,000 H:50	gene 1	B	3500	500	7000	0
		H	50	30	45	0
	gene 2	B	3500	500	7000	0
		H	50	30	45	0
R2 B:300, H:14	gene 3	B	240	0	100	120
		H	14	0	4	10



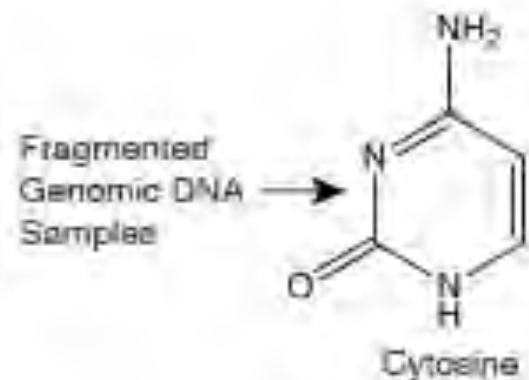


# Methyl-seq: Анализ метилирования

## STEP 1

### Denaturation

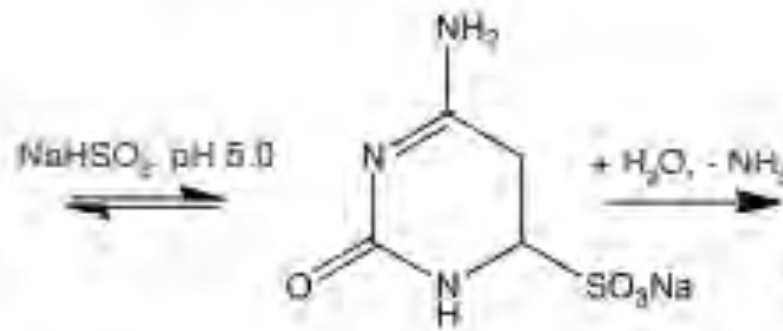
Incubation at 98°C  
fragments genomic DNA



## STEP 2

### Conversion

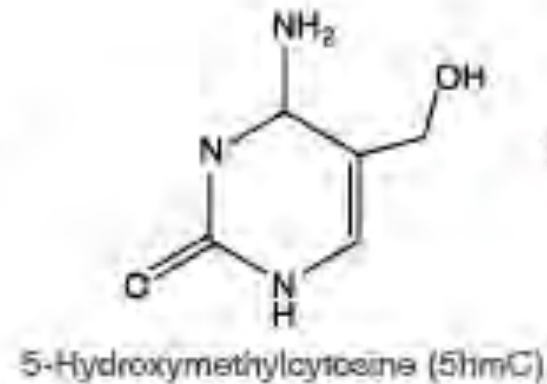
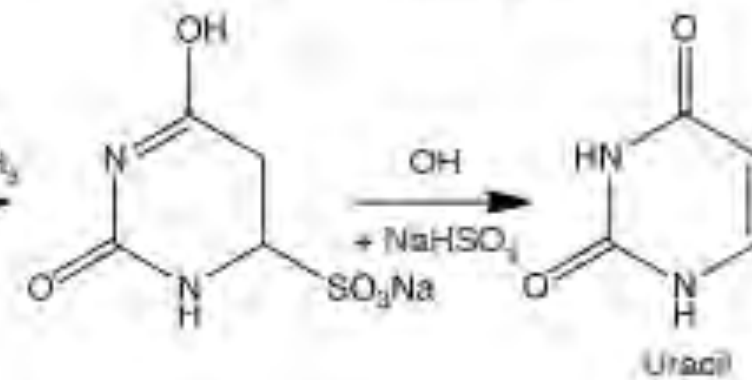
Incubation with sodium bisulfite  
at 64°C and low pH (5-6)  
deaminates cytosine residues  
in fragmented DNA.



## STEP 3

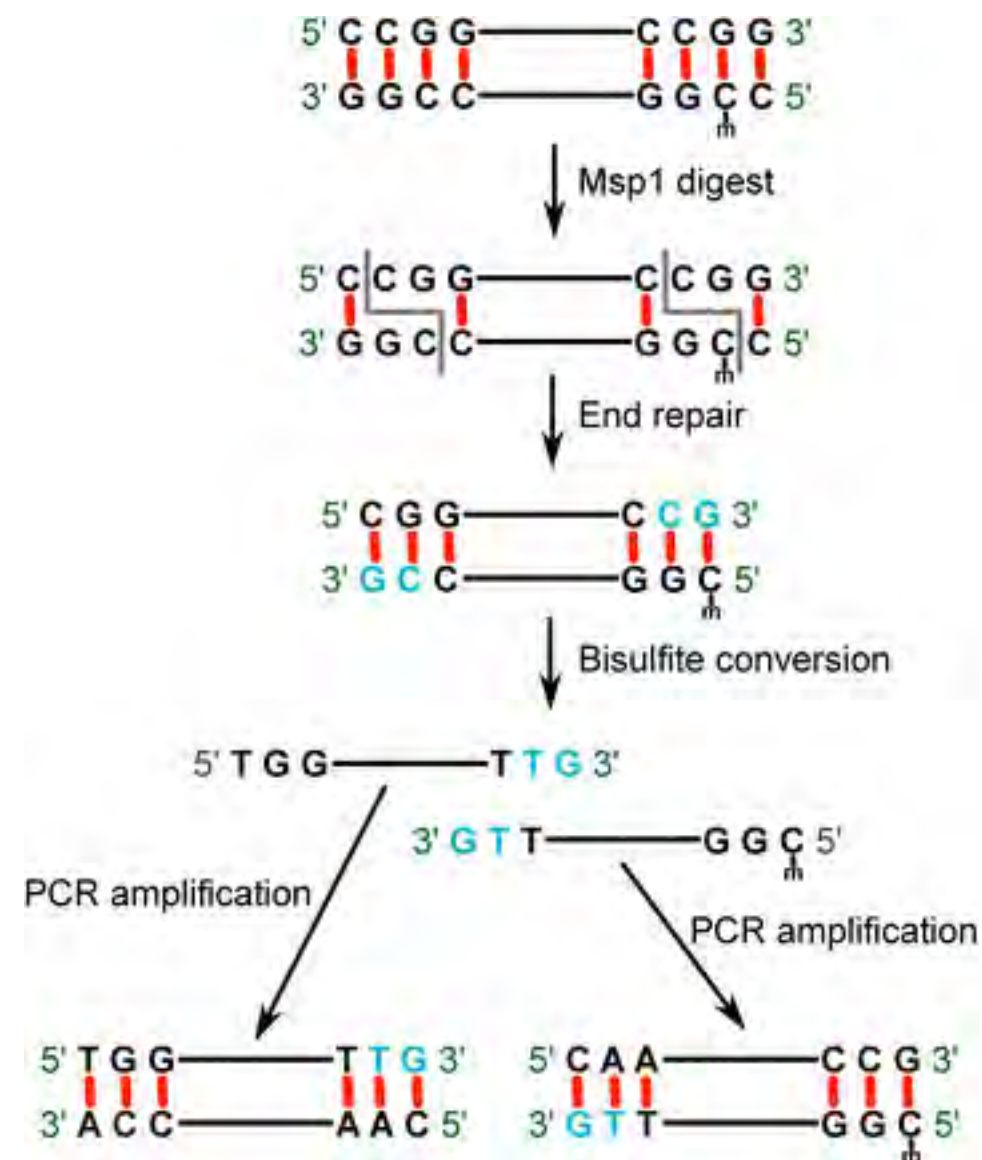
### Desulphonation

Incubation at high pH  
at room temperature for  
15 min removes the  
sulfite moiety,  
generating uracil



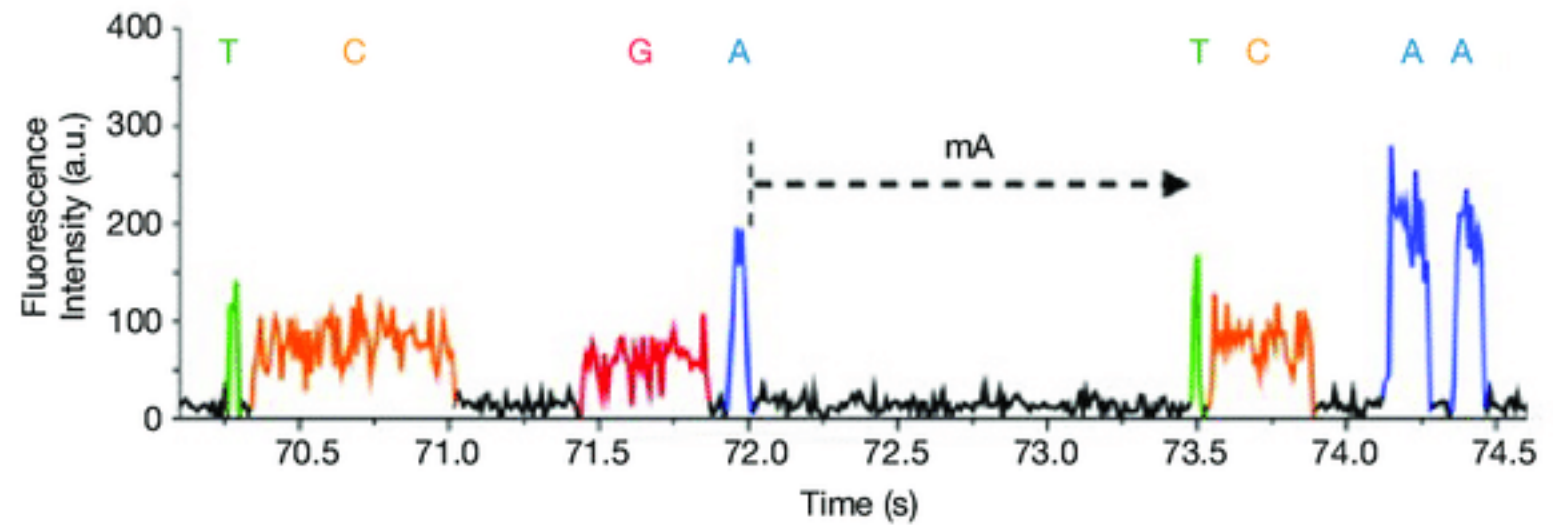
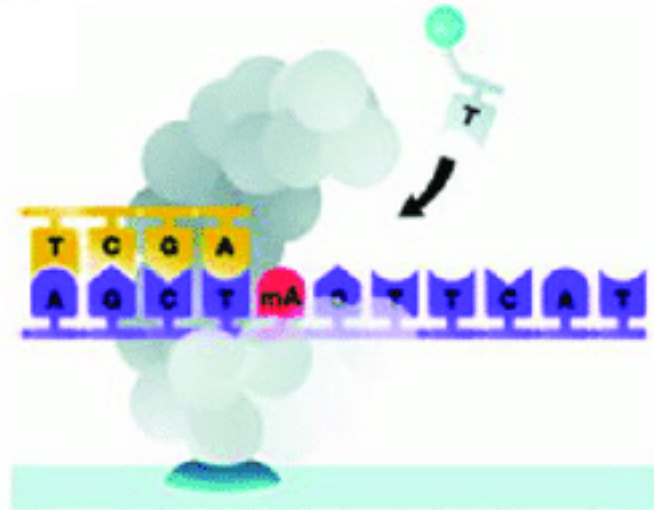
5mC and 5hmC are not  
susceptible to bisulfite  
conversion and remain intact

# RRBS: Анализ метилирования

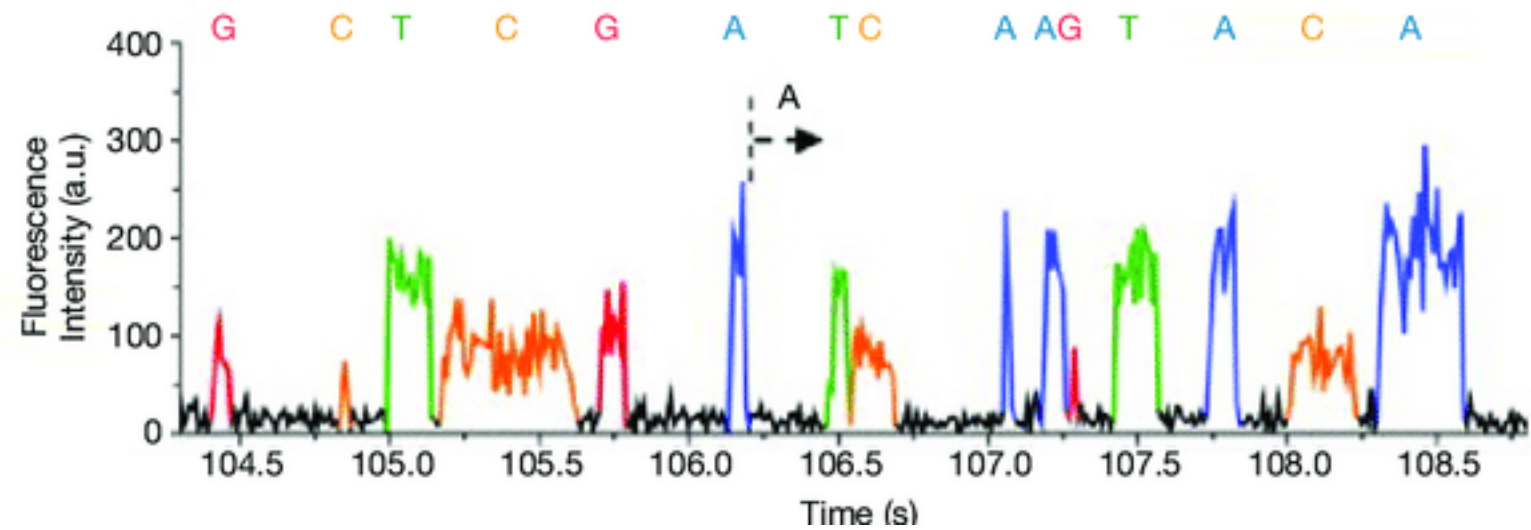
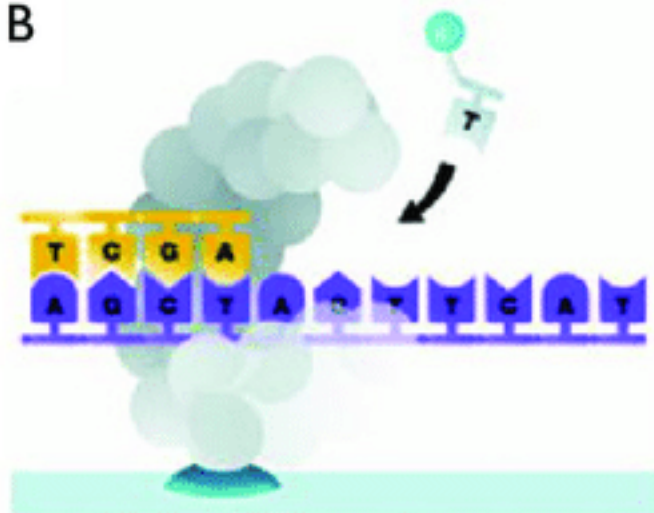


# Анализ модификаций с PacBio

A

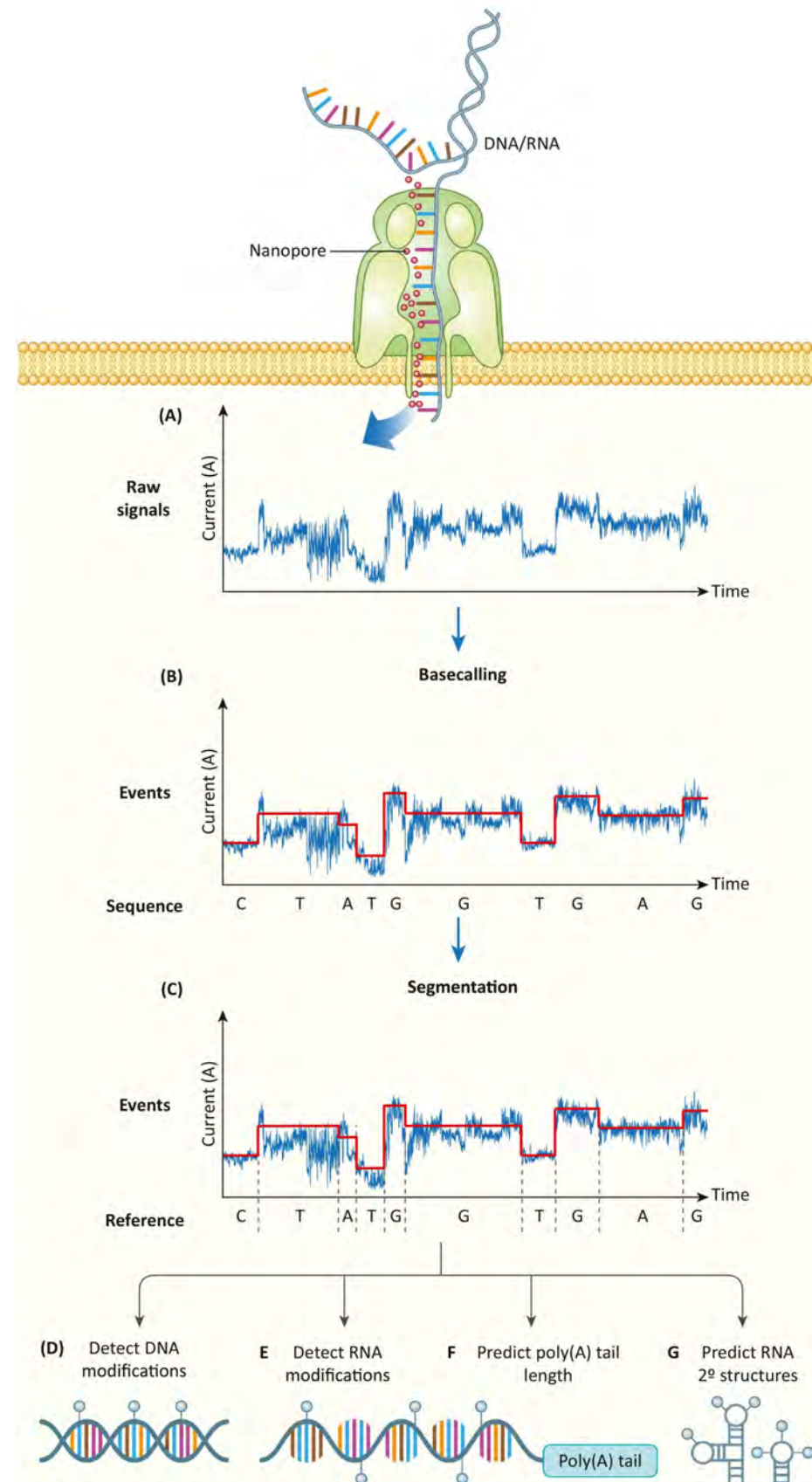


B





# Анализ модификаций с Nanopore



# Репортерные генные конструкции



Растительный  
ген



Бактериальный  
ген-репортер

## Слитые гены-репортеры



Химерный белок

# Репортерные генные конструкции



**Ген GFP**



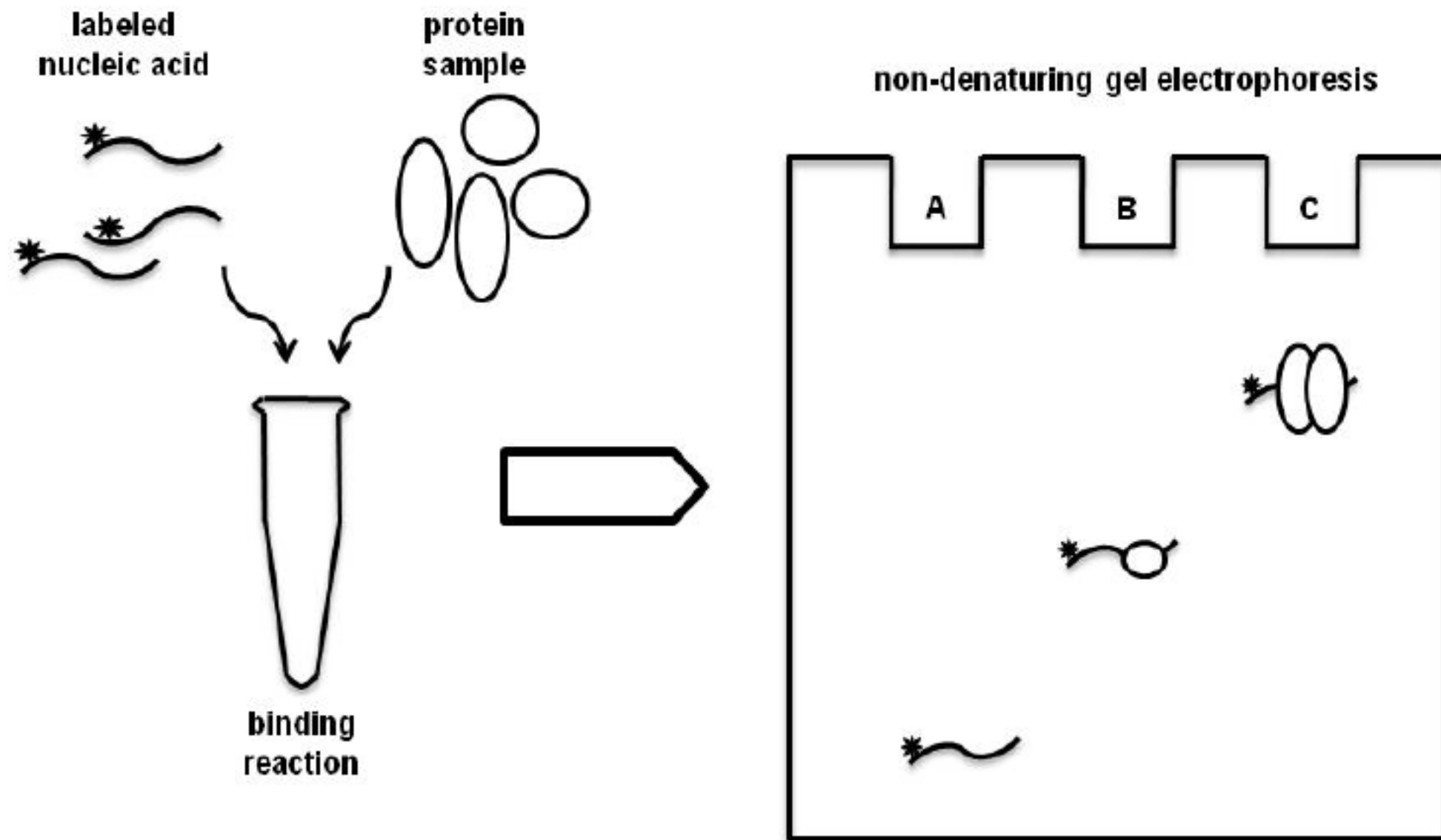
**Ген GUS**

**Ген LUX**

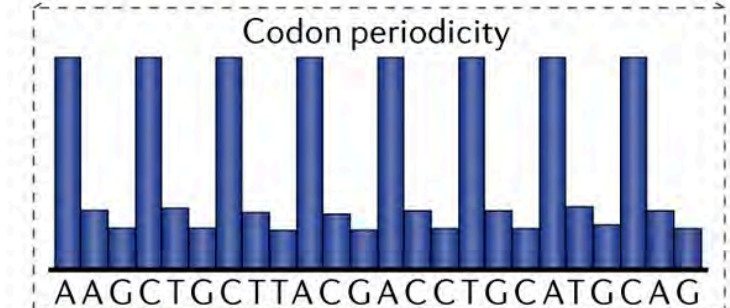
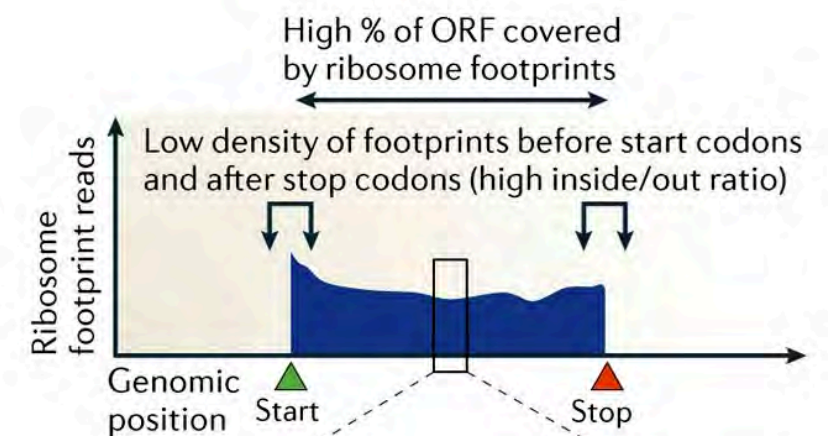
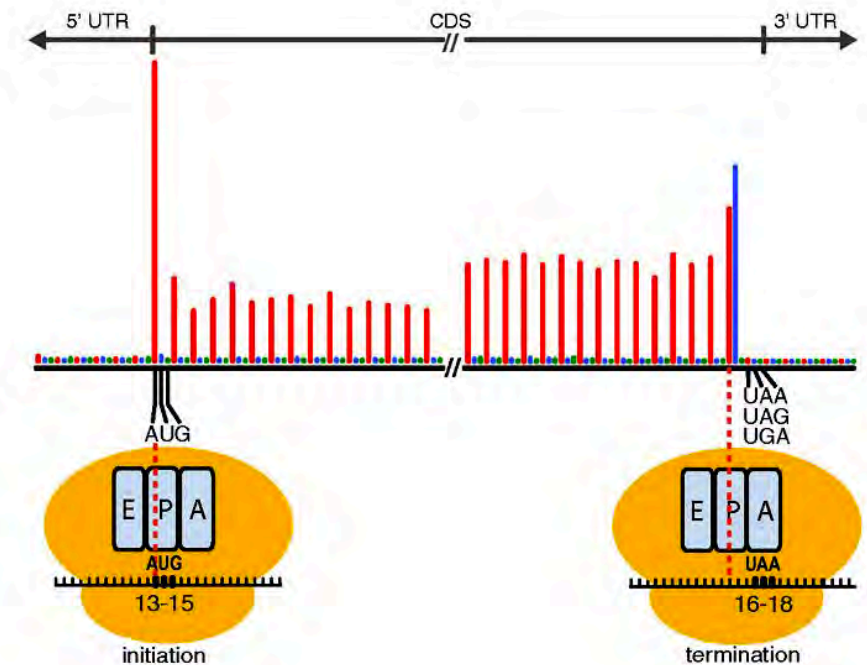
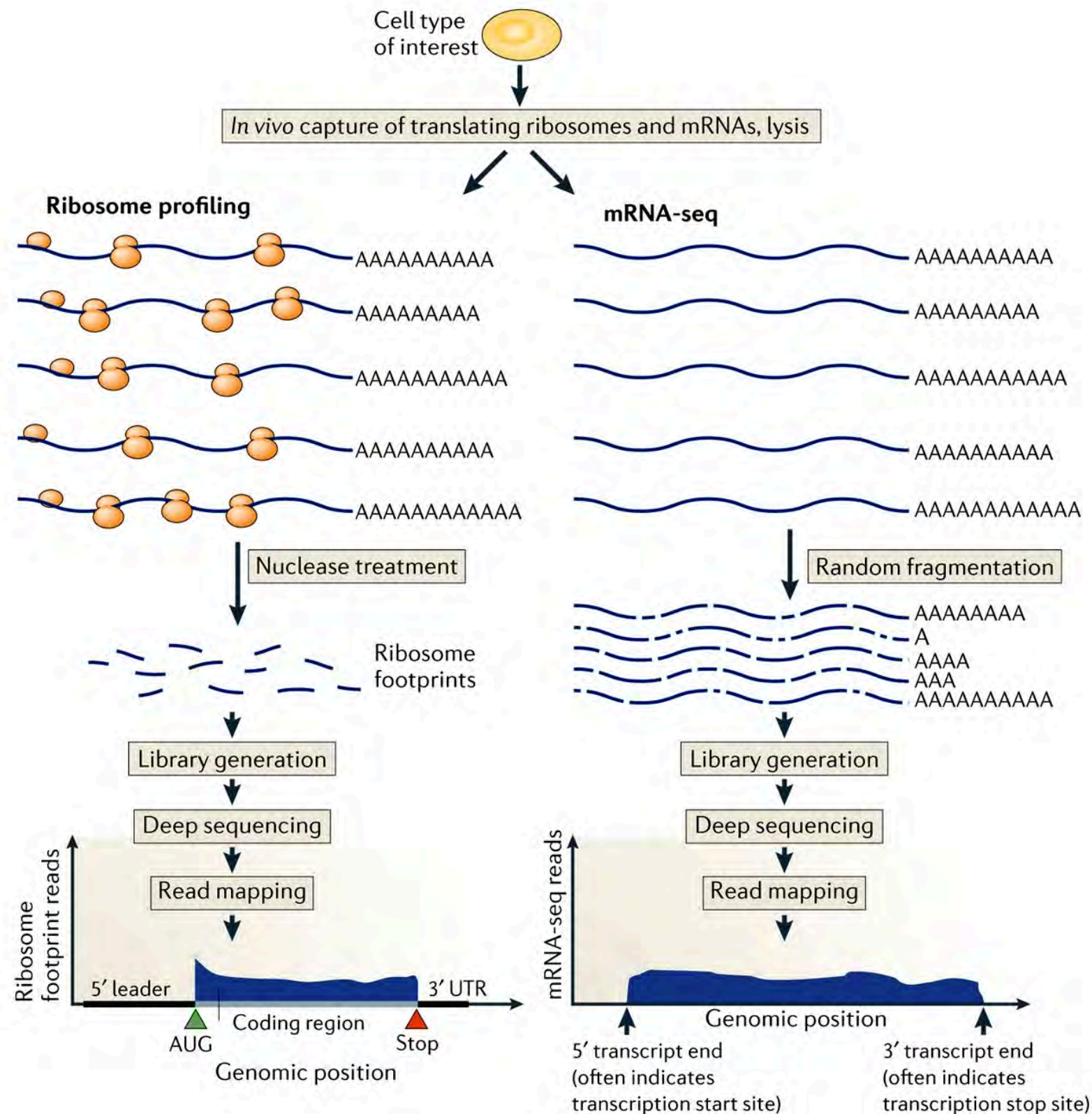




# EMSA (сдвиг подвижности)

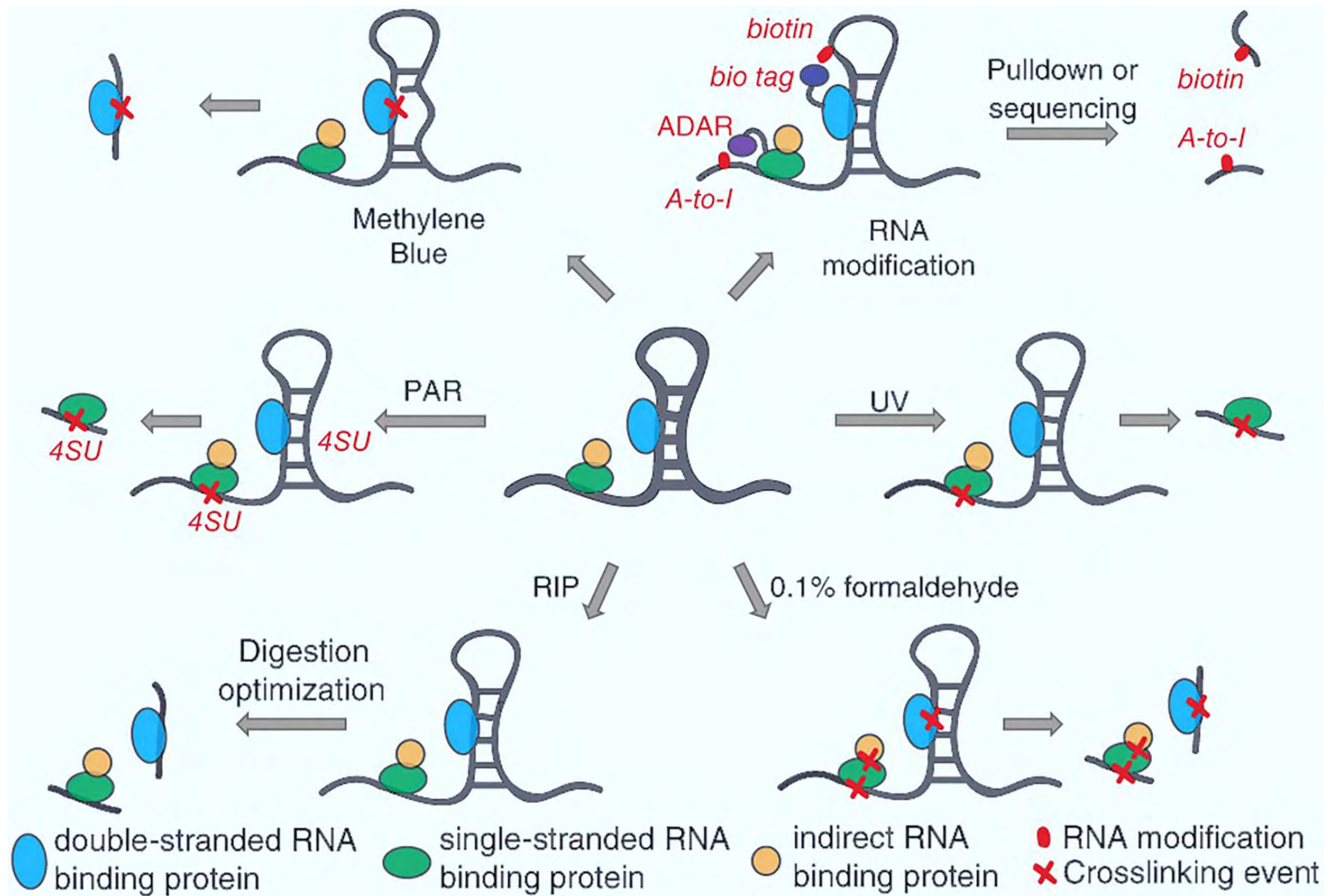


# Ribo-Seq анализ

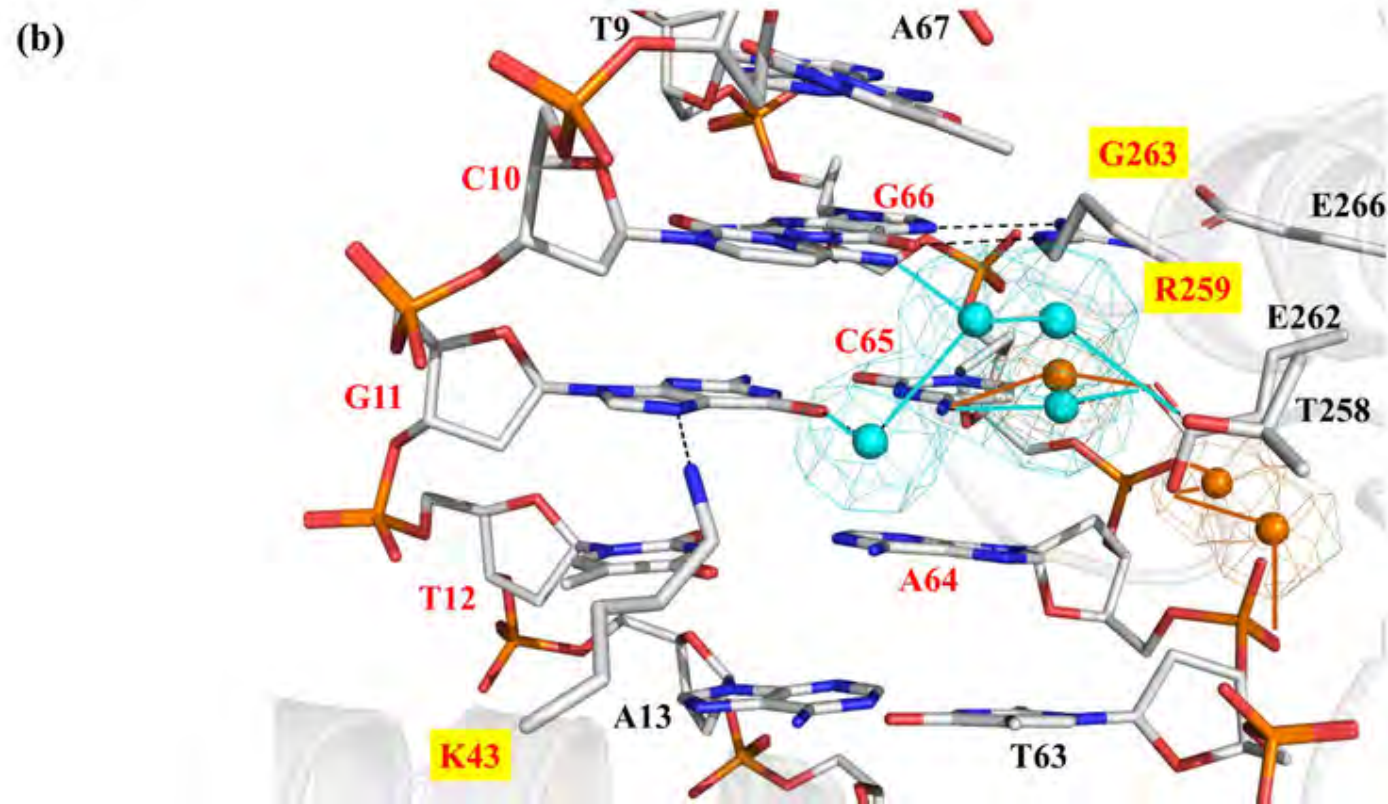
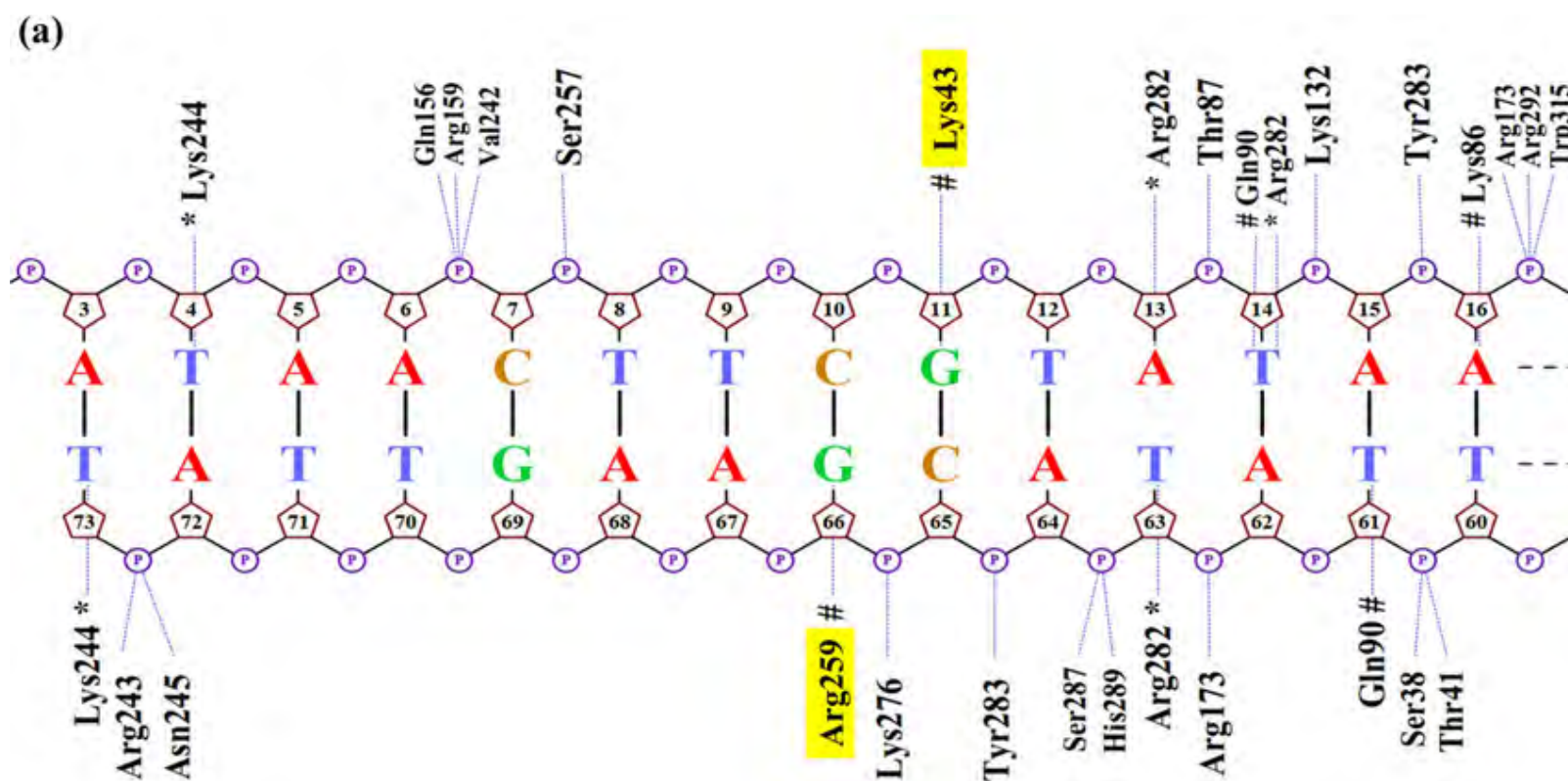




# Анализ взаимодействий ДНК-белок



# Анализ взаимодействий ДНК-белок





# Субклеточная фракционирование



# Вопросы и обсуждение