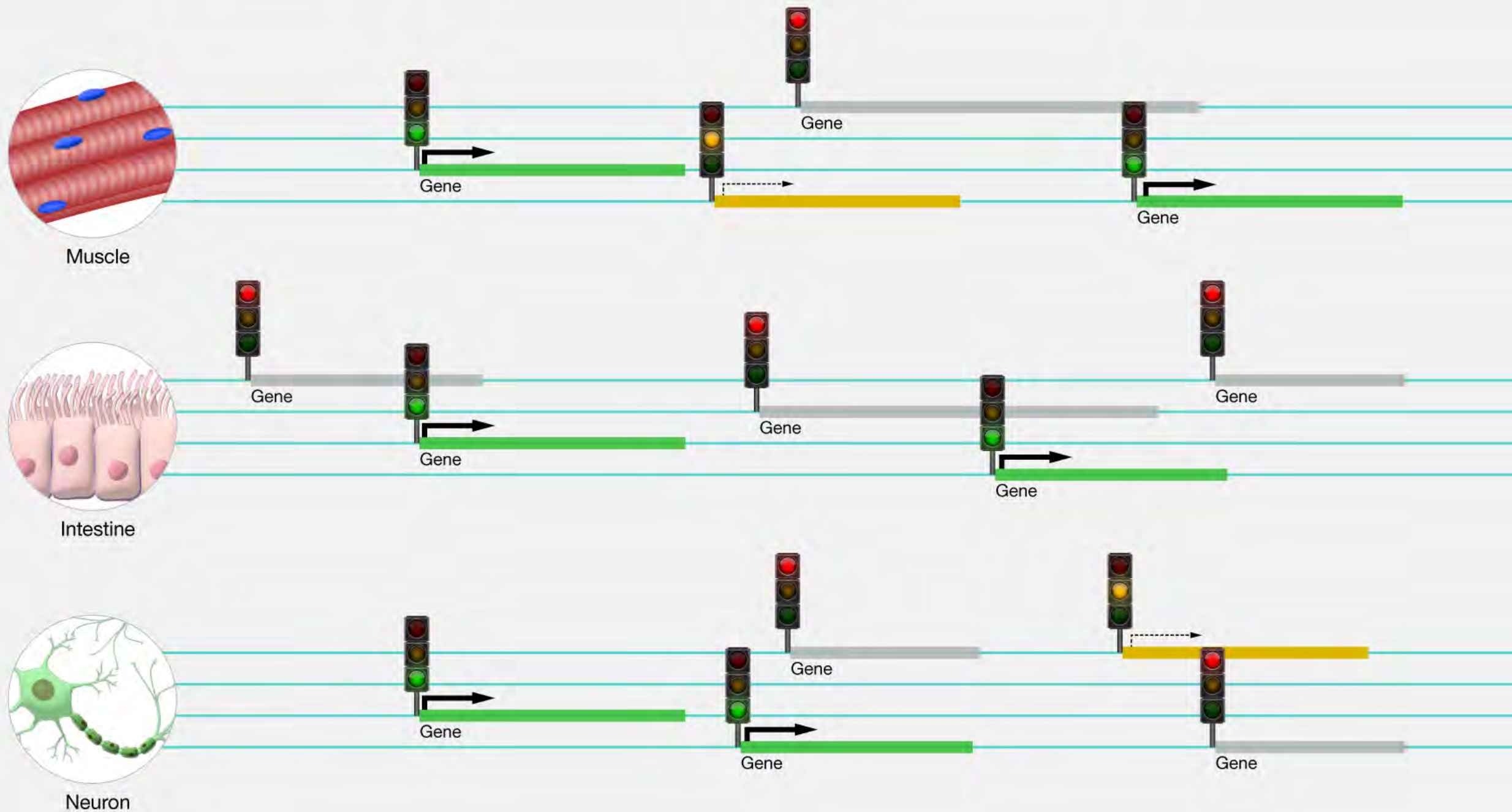


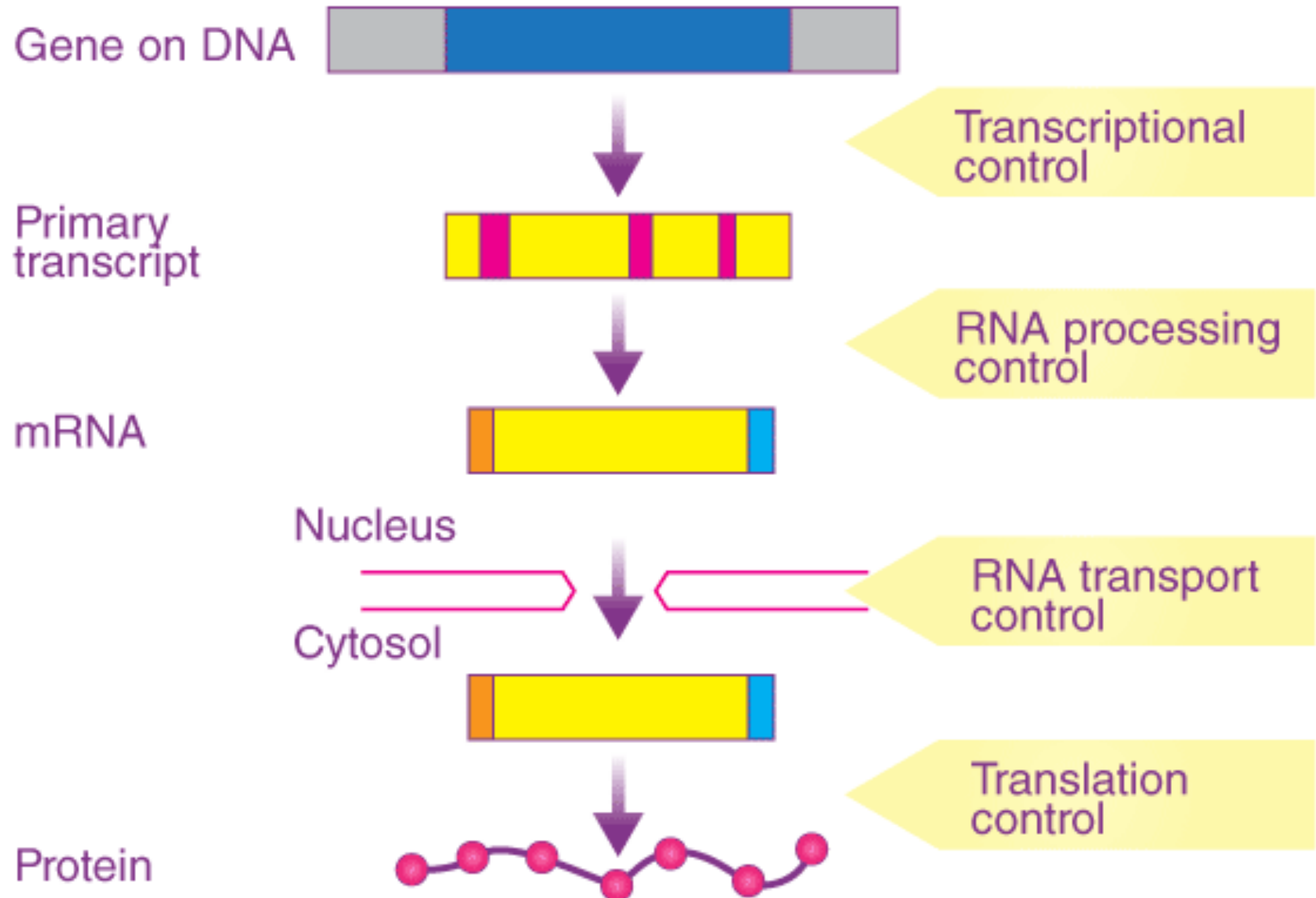
Введение в молекулярную биологию

Лекция 7. Регуляция генетической экспрессии и эпигенетика

Введение в регуляцию генов



Уровни регуляции экспрессии



Понятие эпигенетики

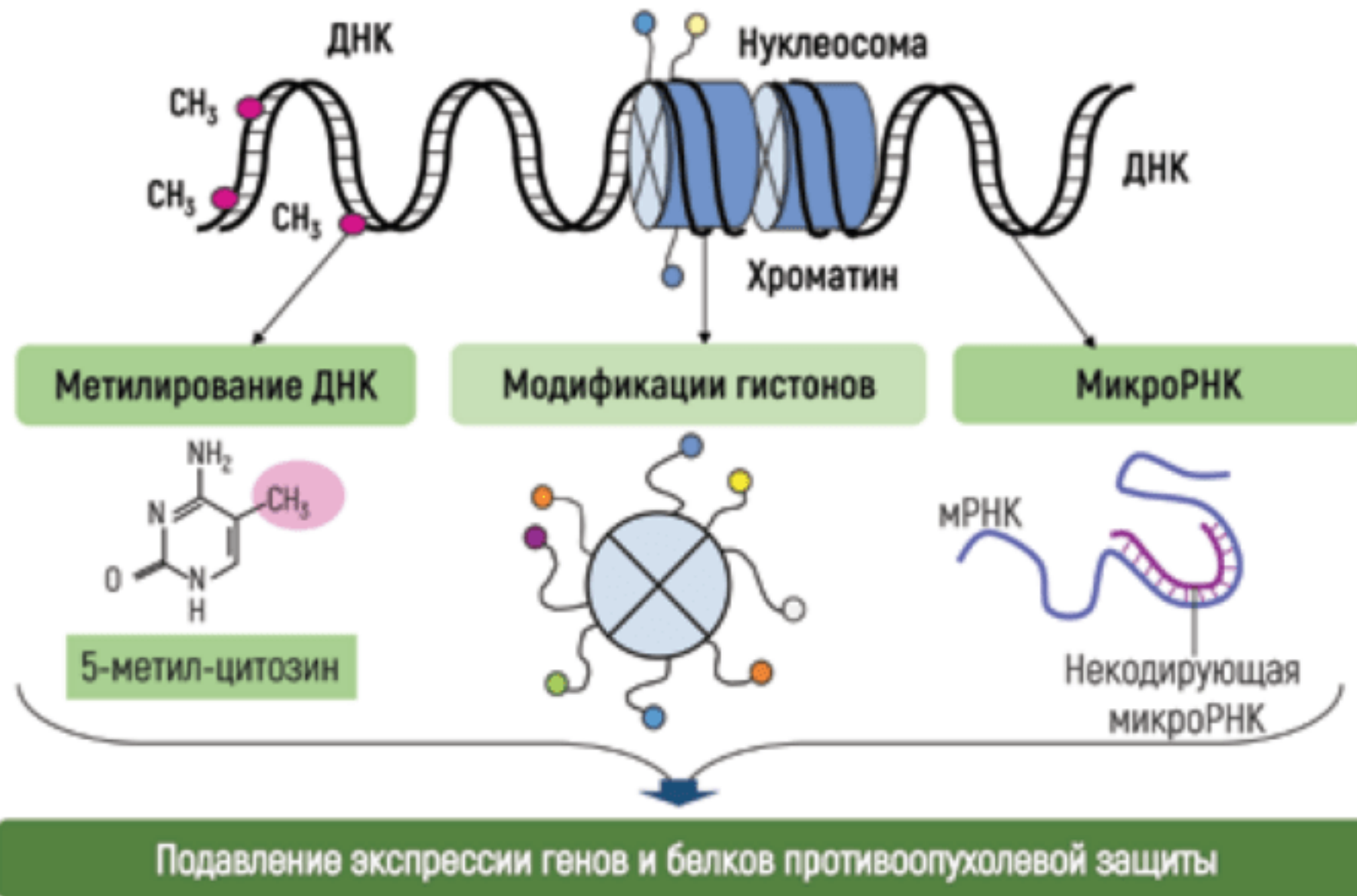
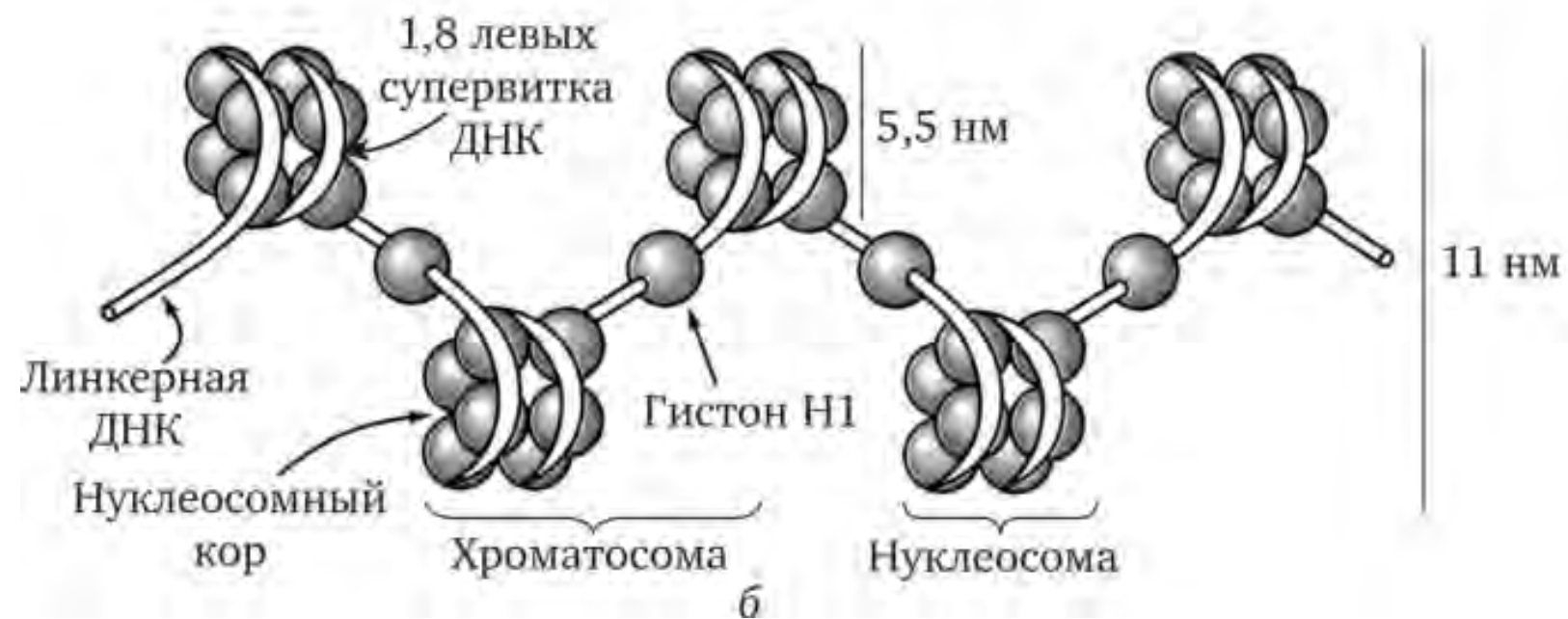
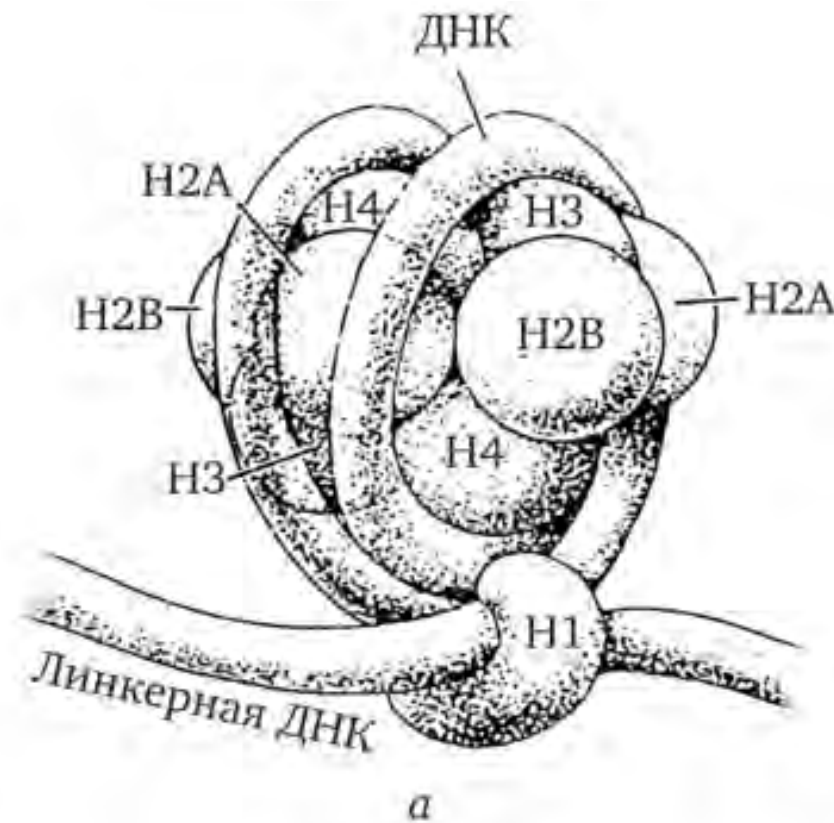
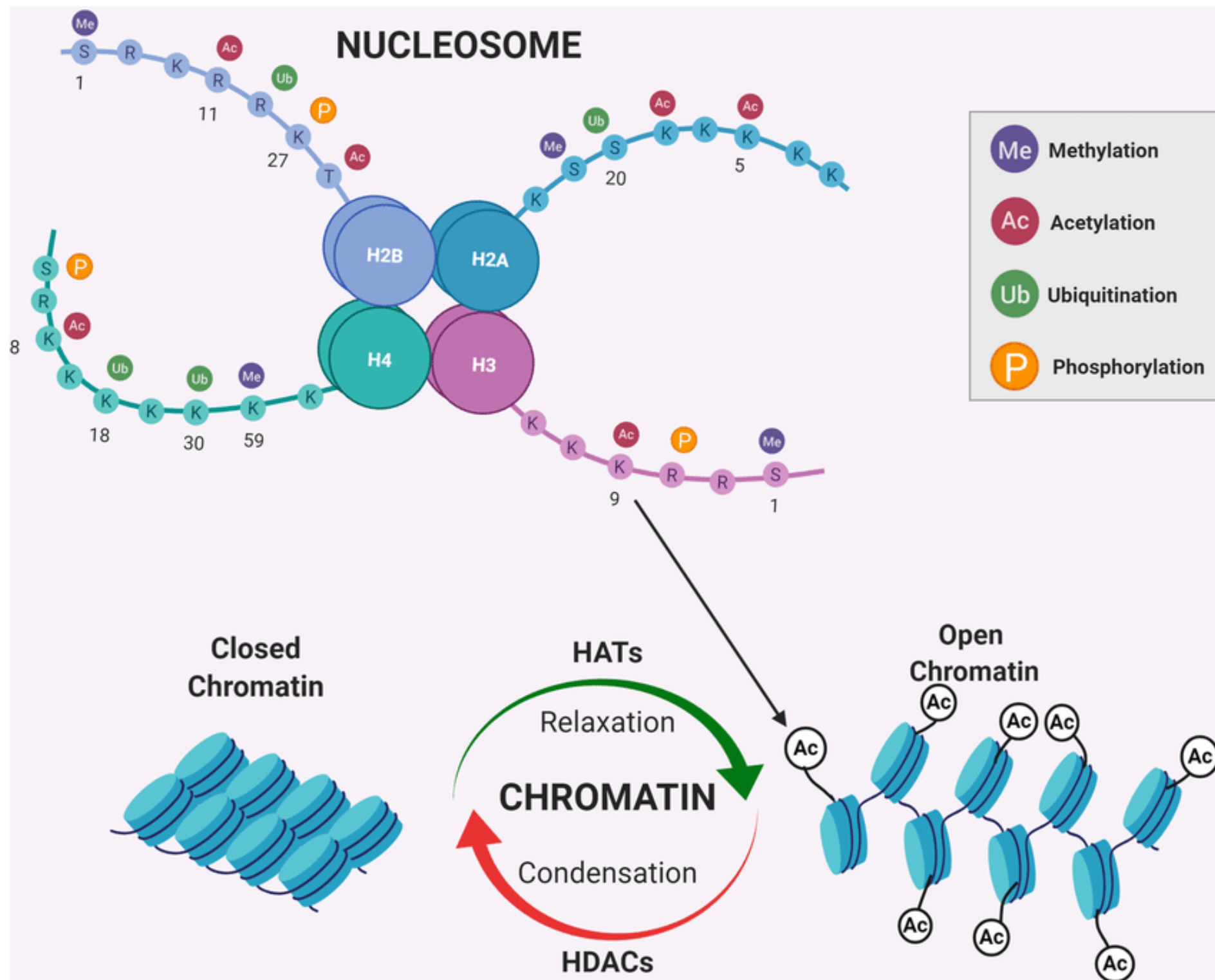


Рис. 2. Три механизма эпигенетической регуляции

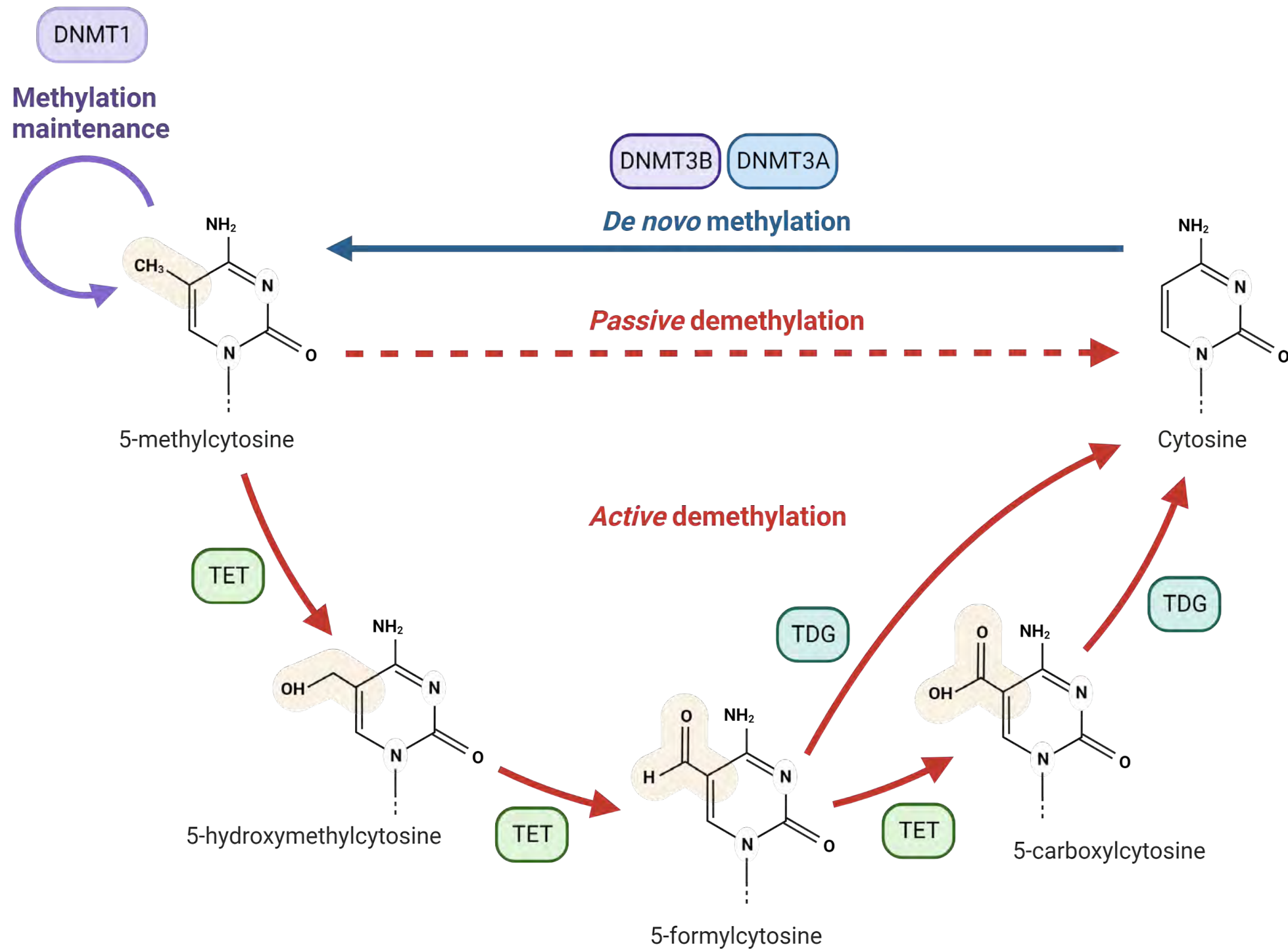
Структура хроматина



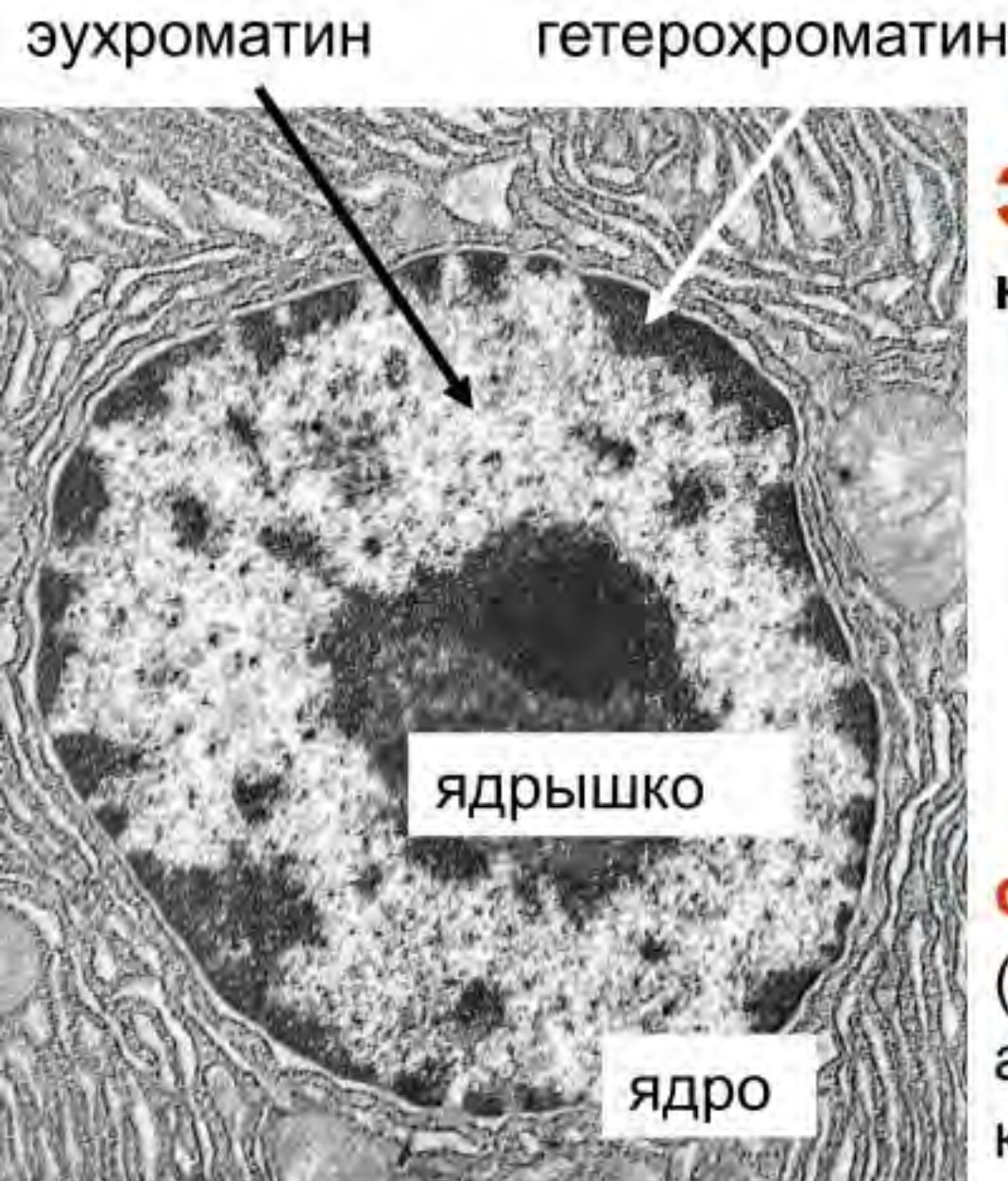
Модификации гистонов



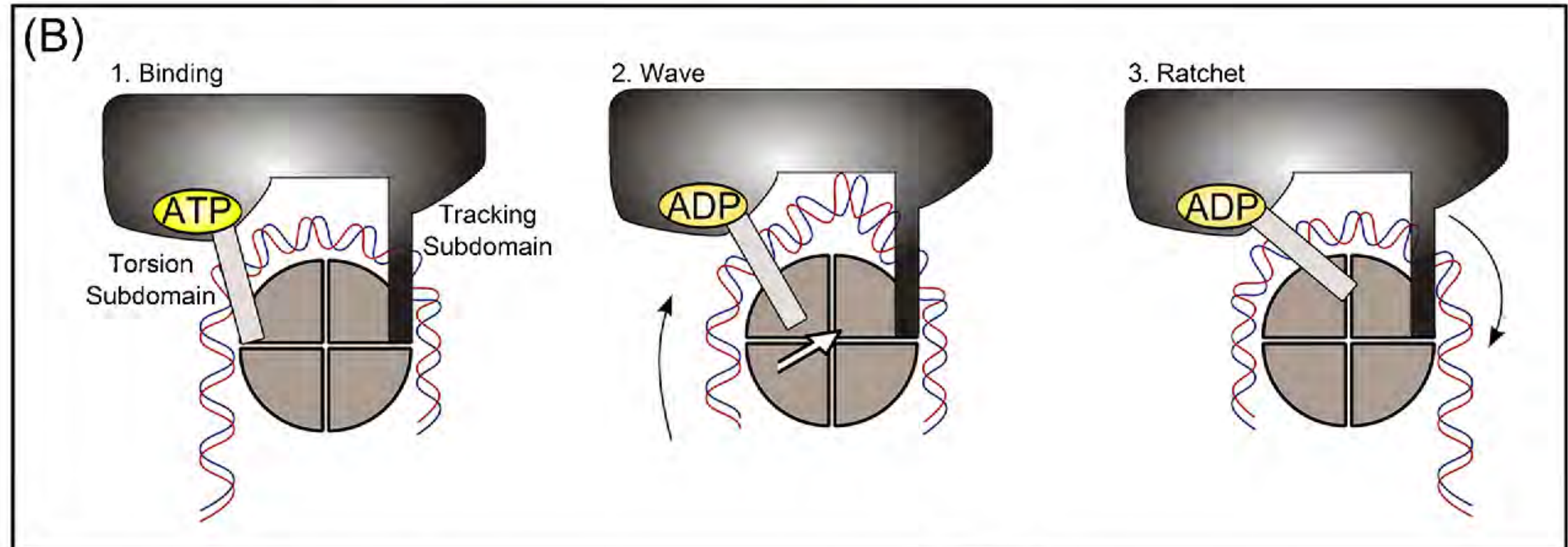
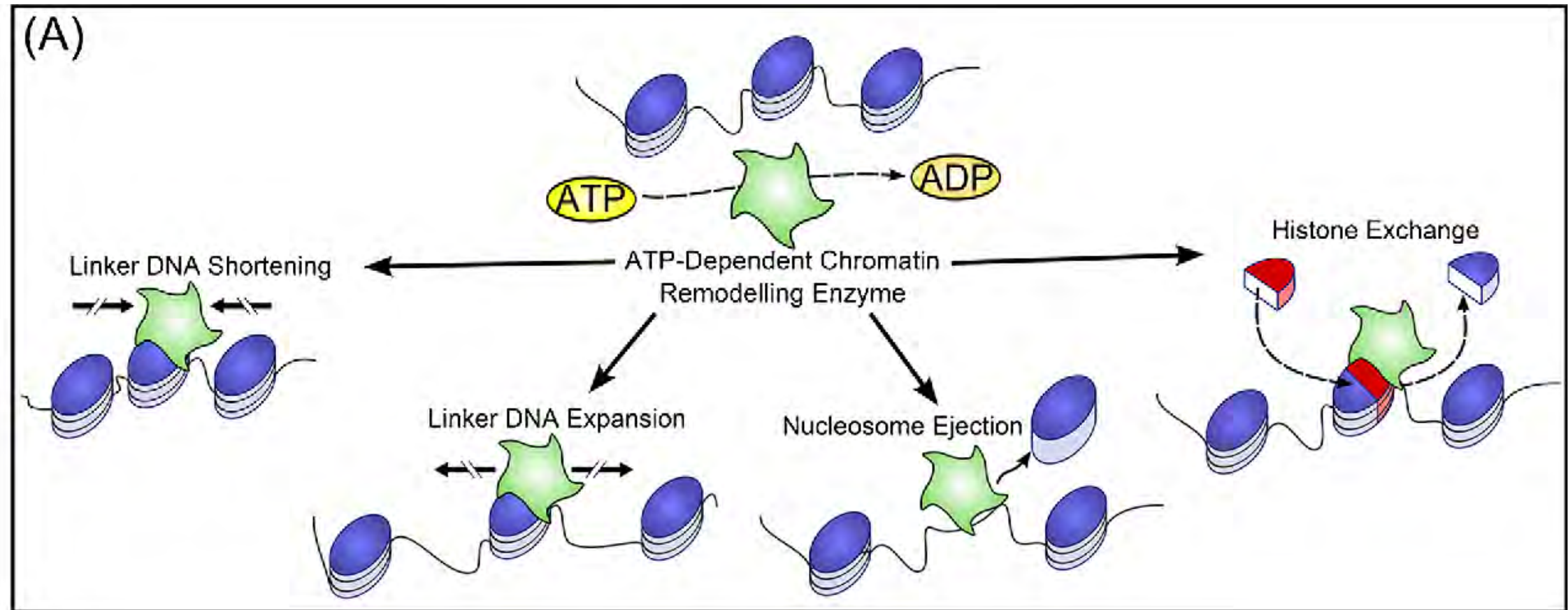
Метилирование ДНК



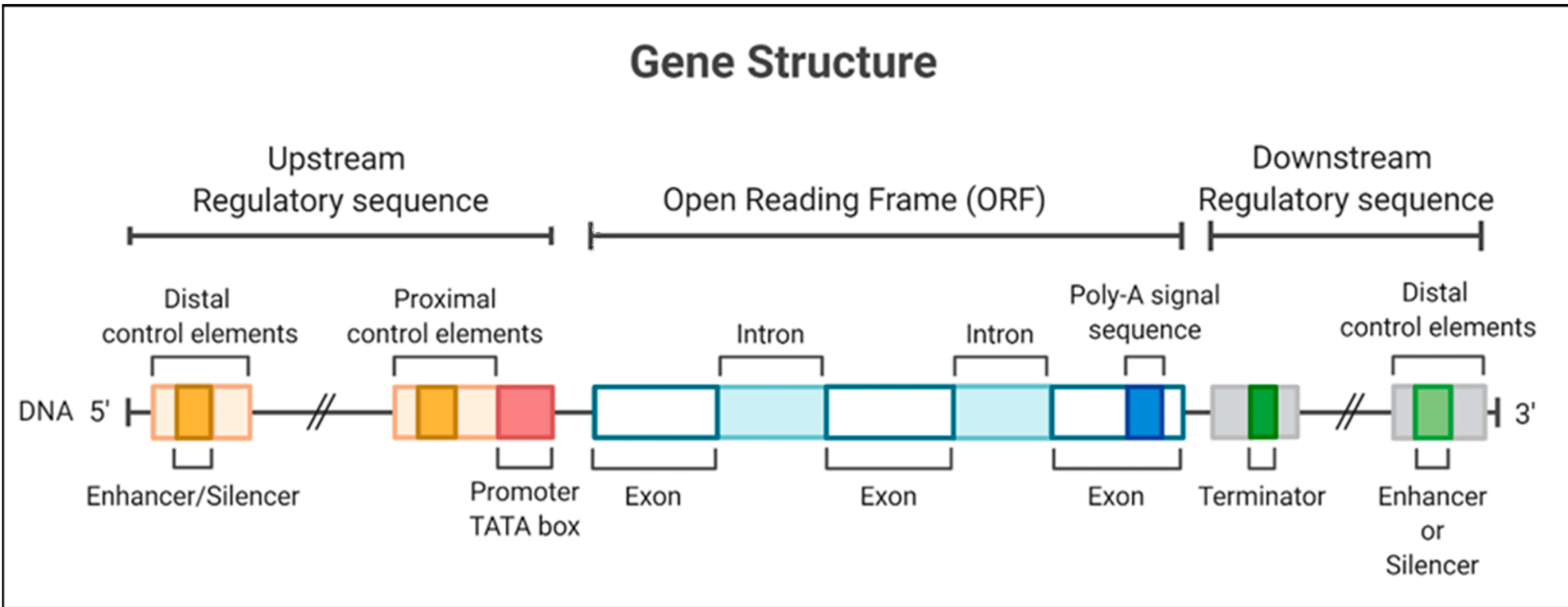
Эухроматин и гетерохроматин



Ремоделирование хроматина

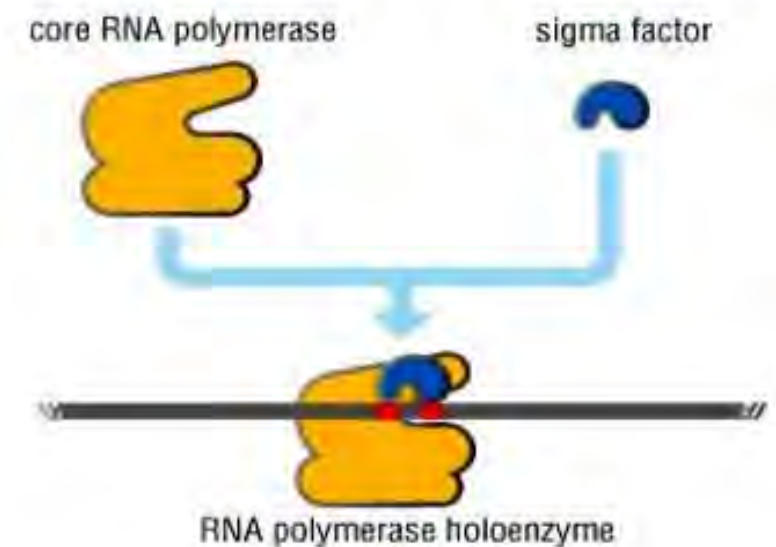


Регуляторные элементы ДНК

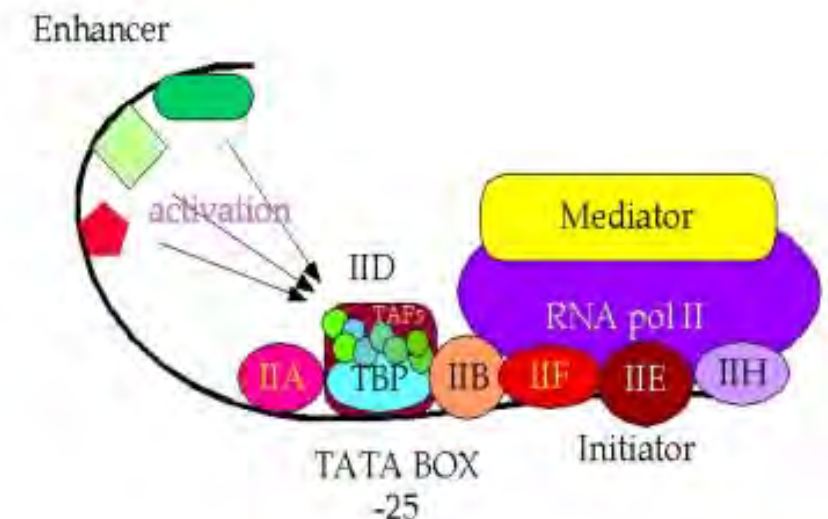


Промоторы и их функции

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.

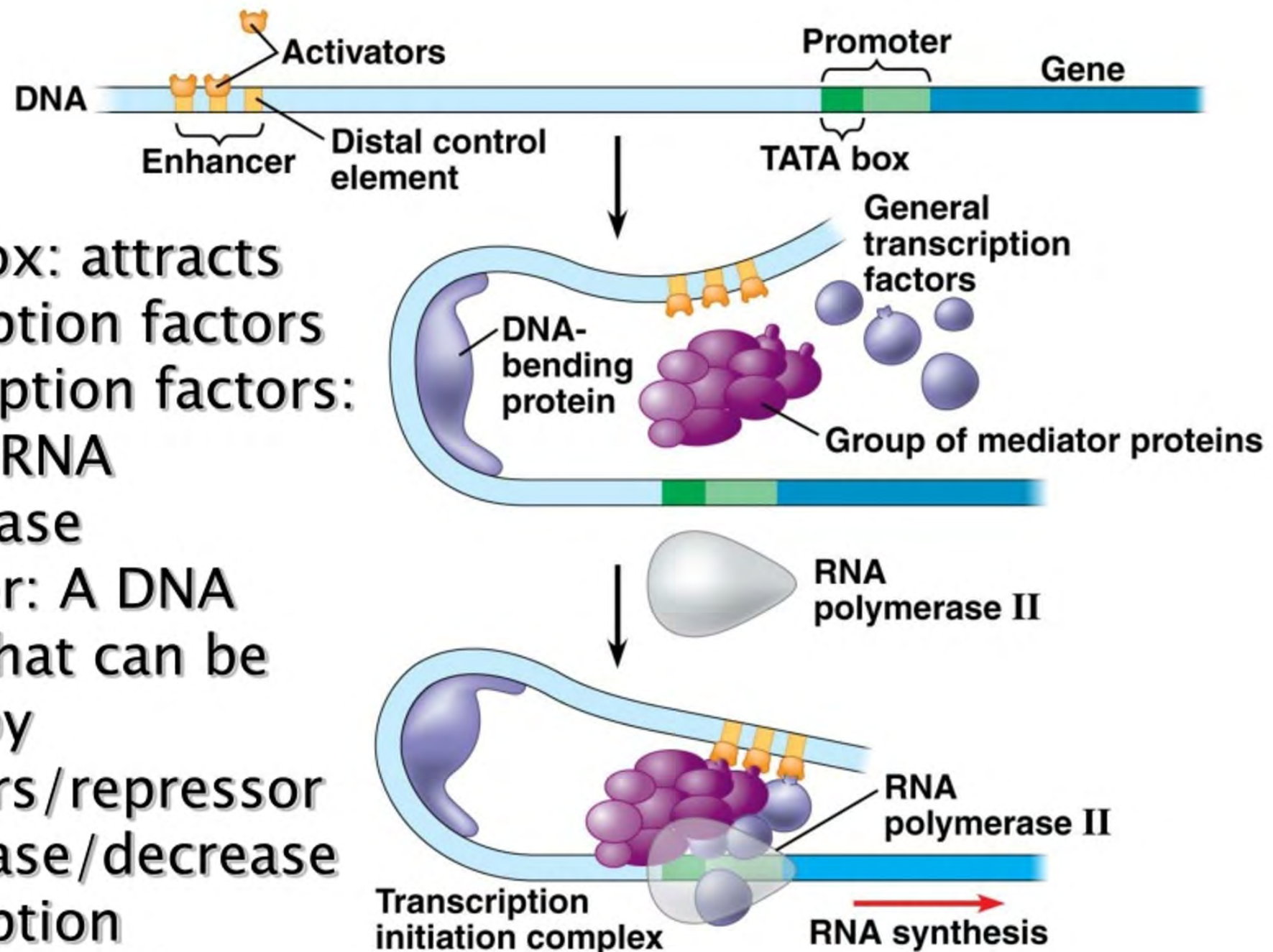


Энхансеры и сайленсеры

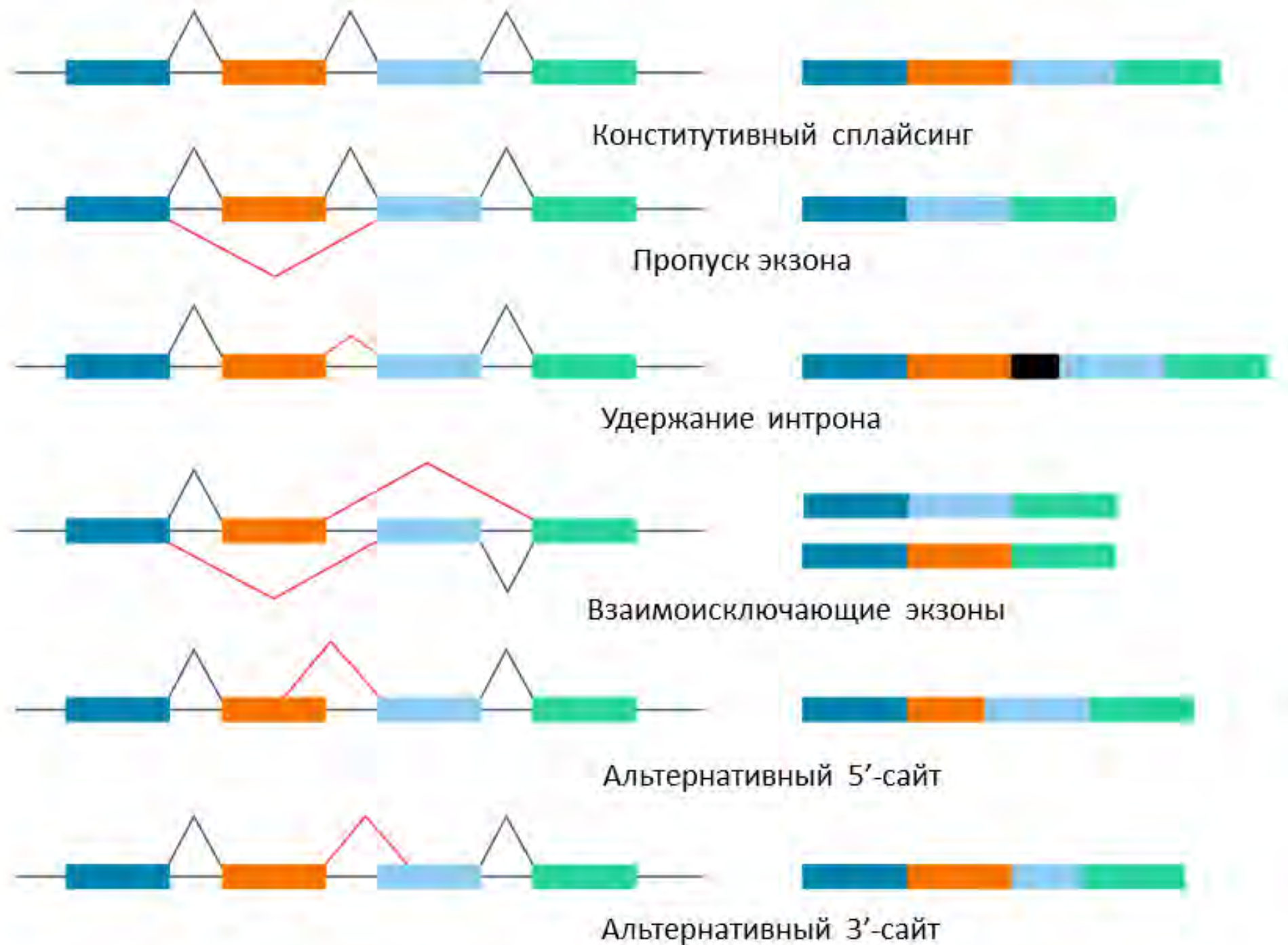


Транскрипционные факторы

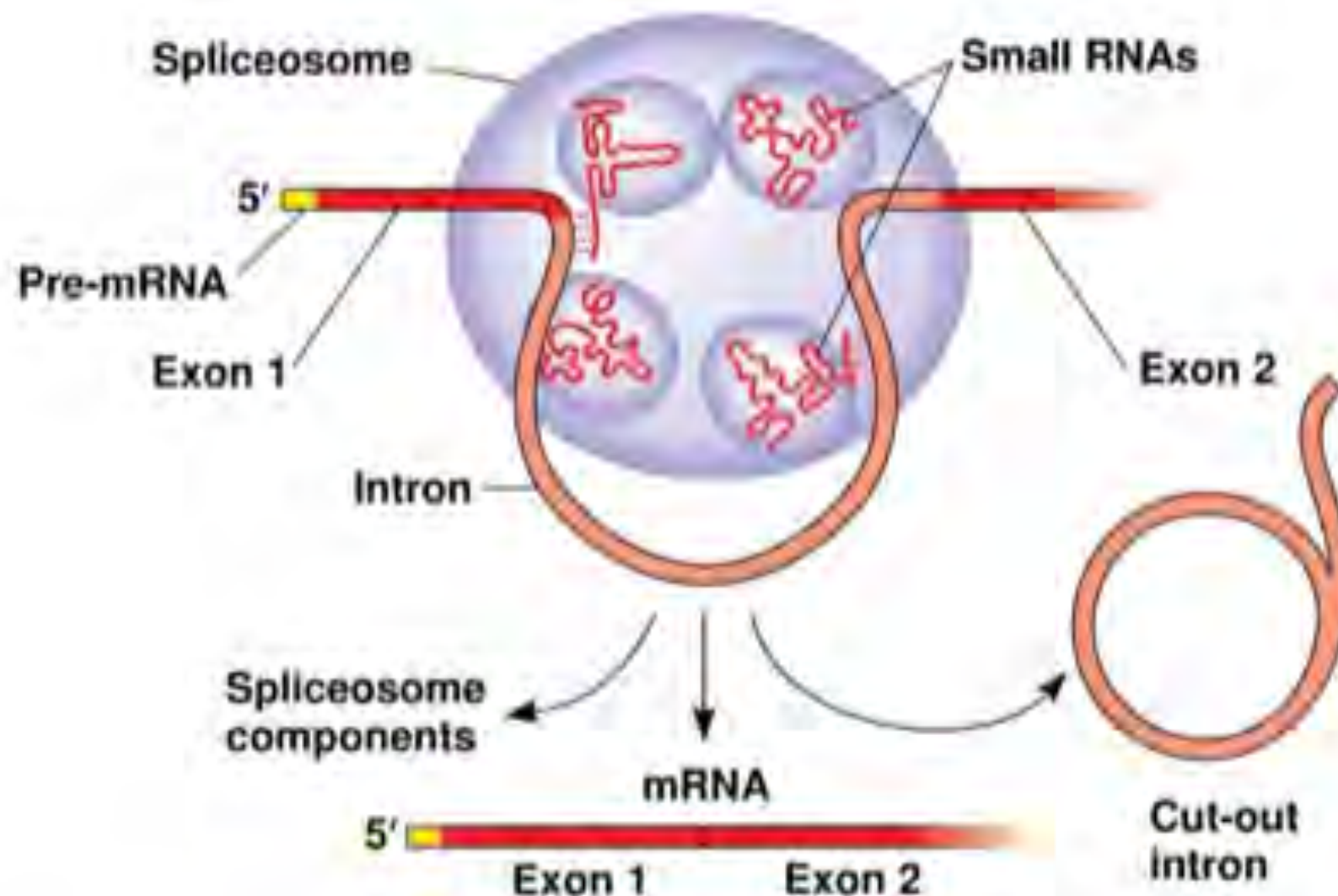
- TATA box: attracts transcription factors
- Transcription factors: attracts RNA Polymerase
- Enhancer: A DNA region that can be bound by activators/repressor to increase/decrease transcription



Альтернативный сплайсинг РНК



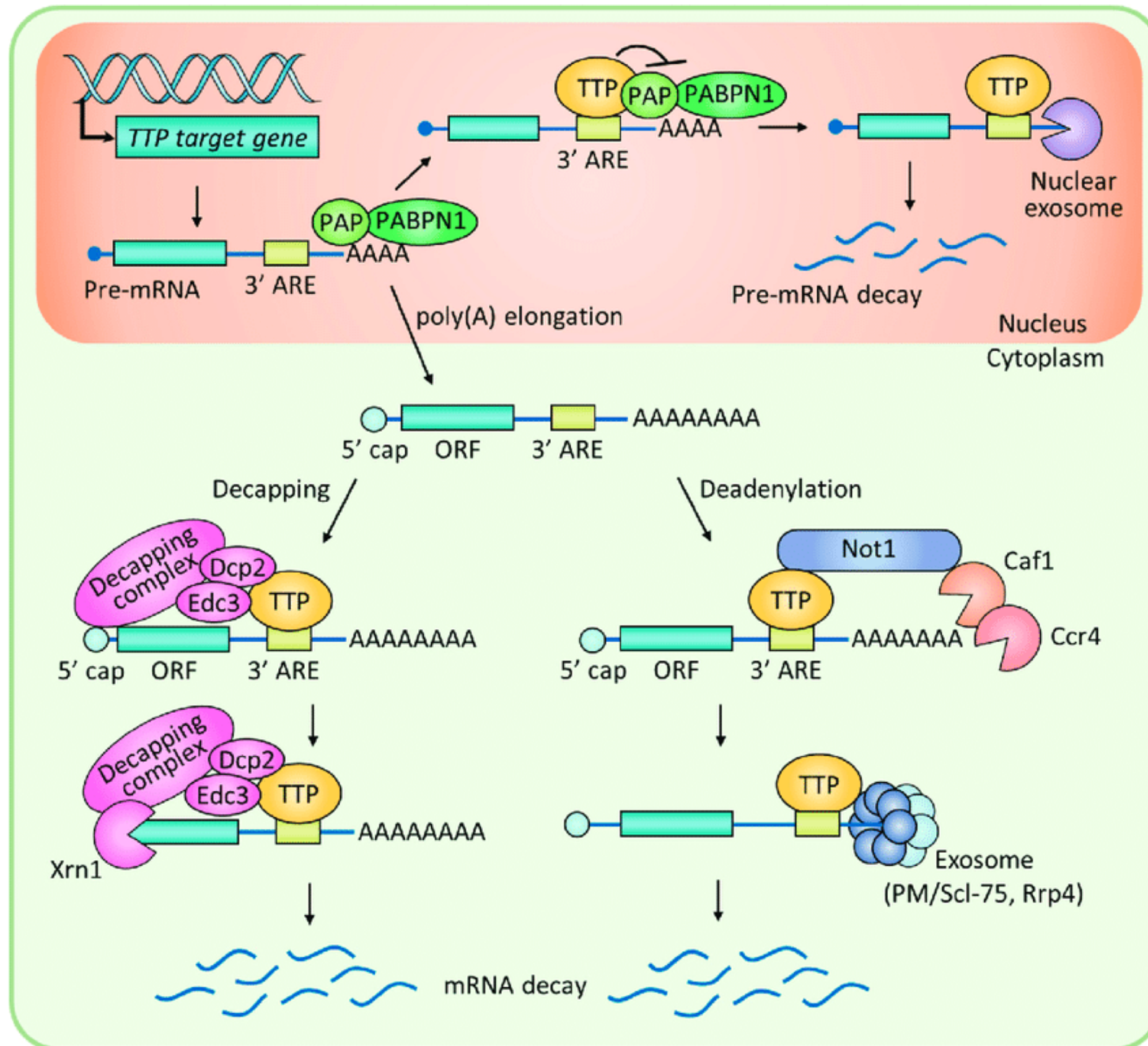
Альтернативный сплайсинг РНК



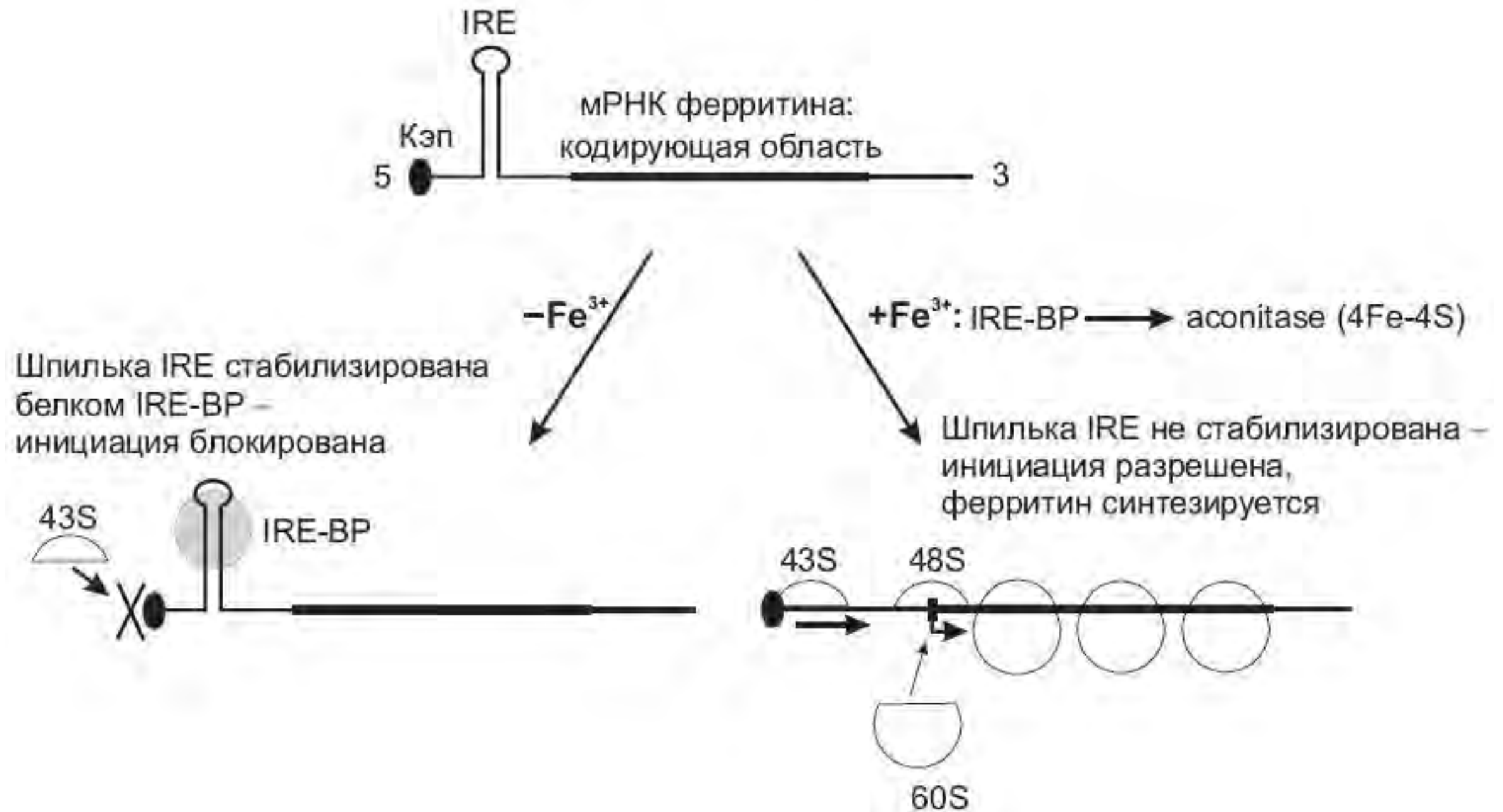
Сплайсосома – рибонуклеопротеидный комплекс:

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

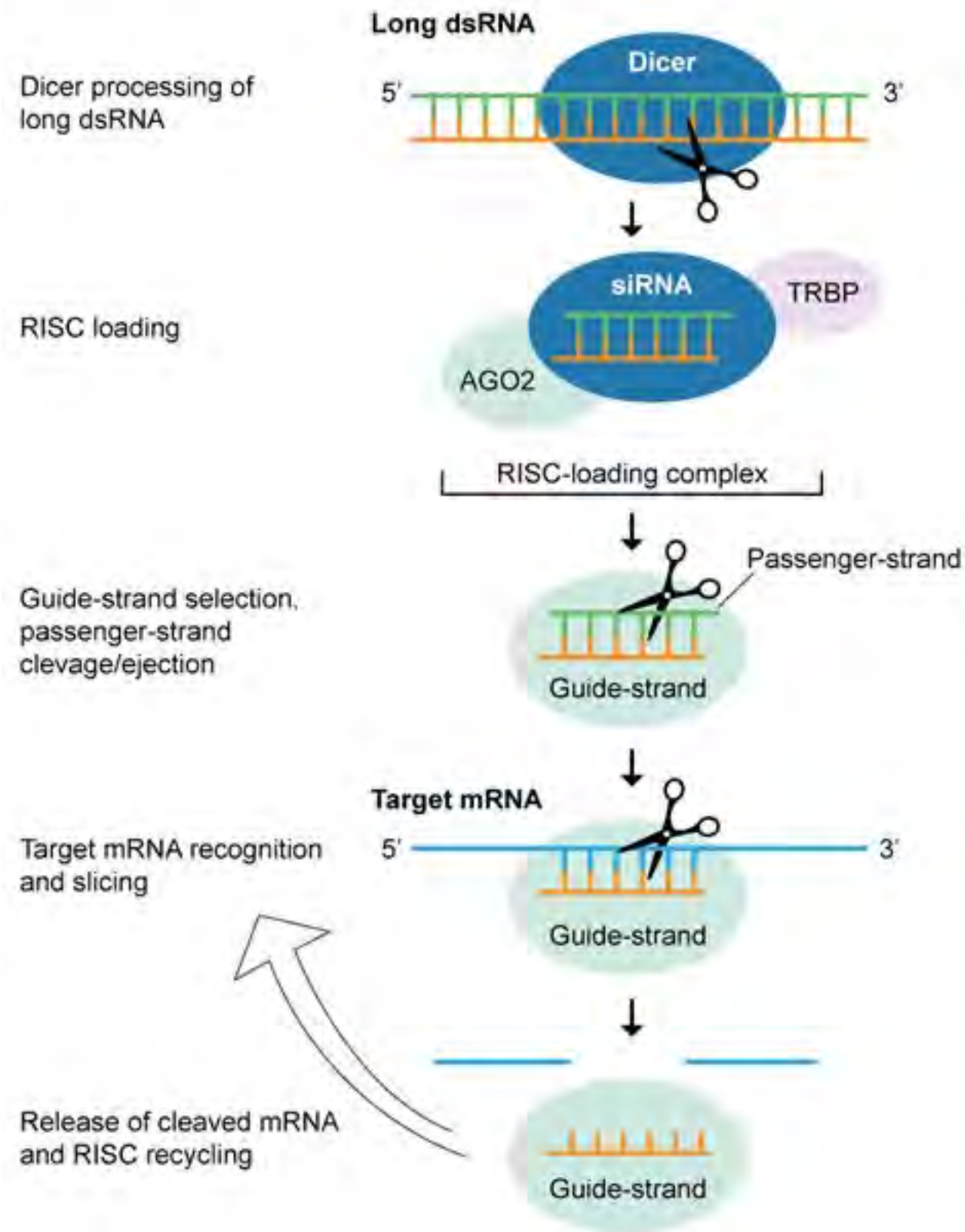
Стабильность мРНК



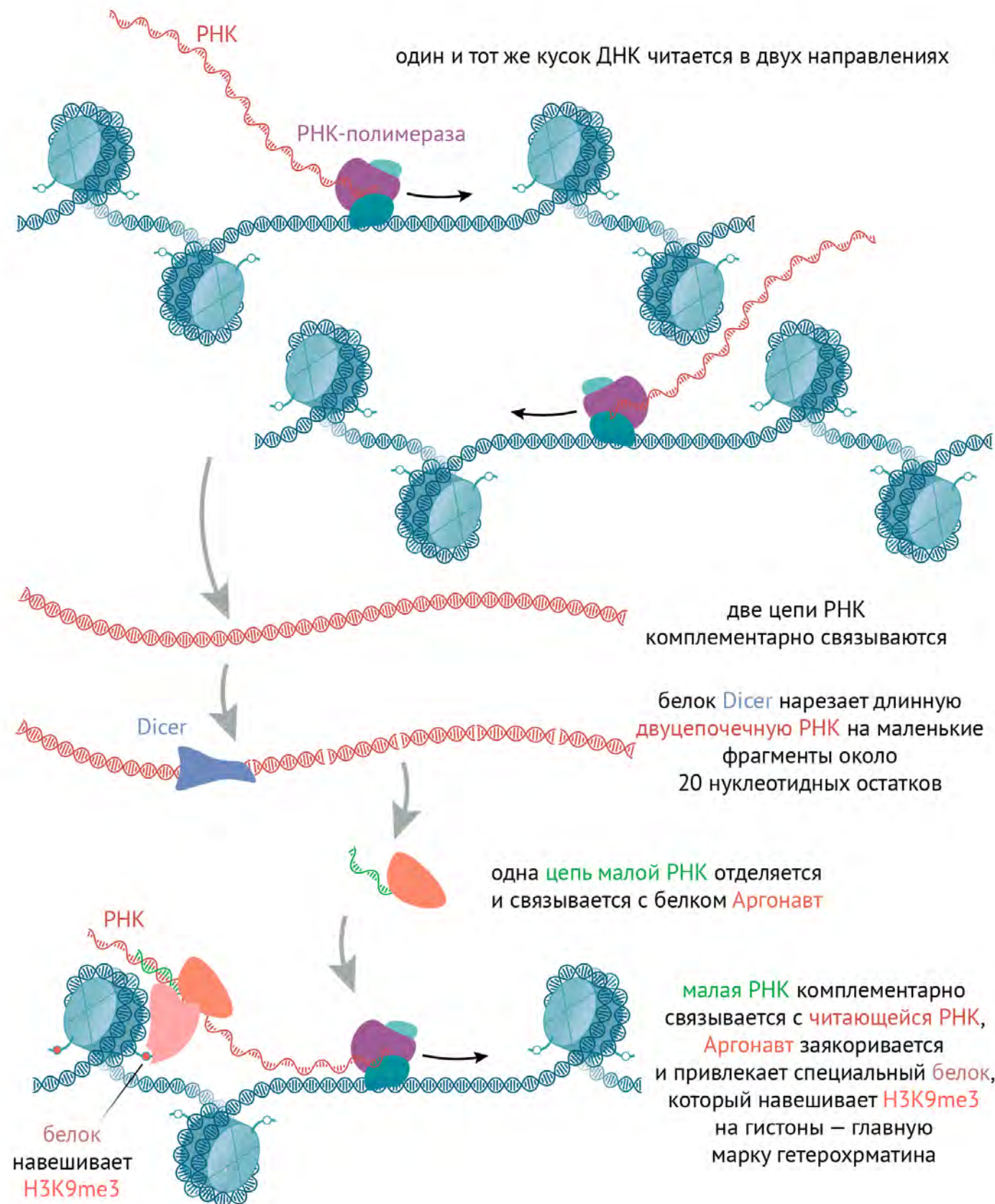
Регуляция трансляции



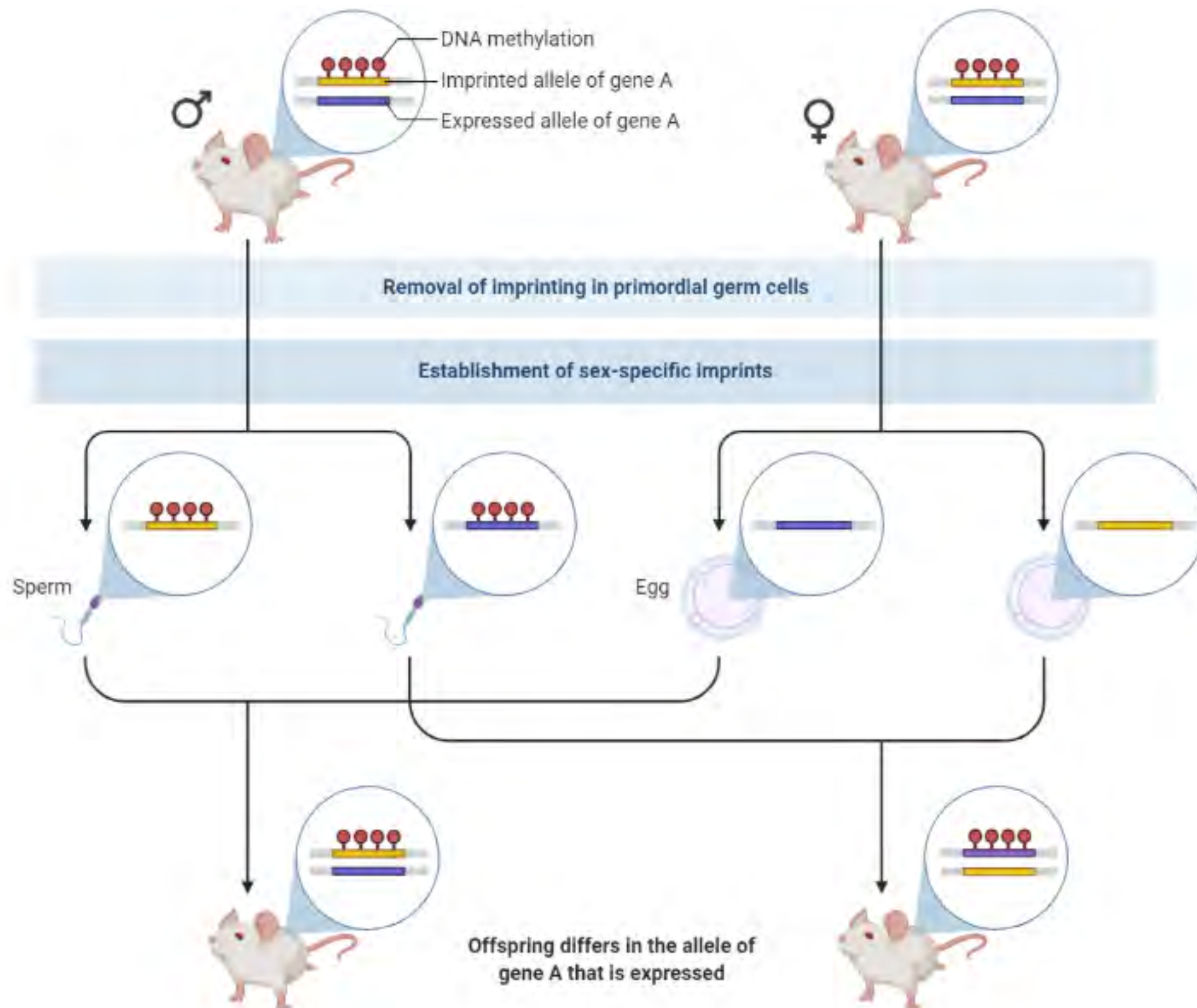
Малые интерферирующие РНК (siРНК)



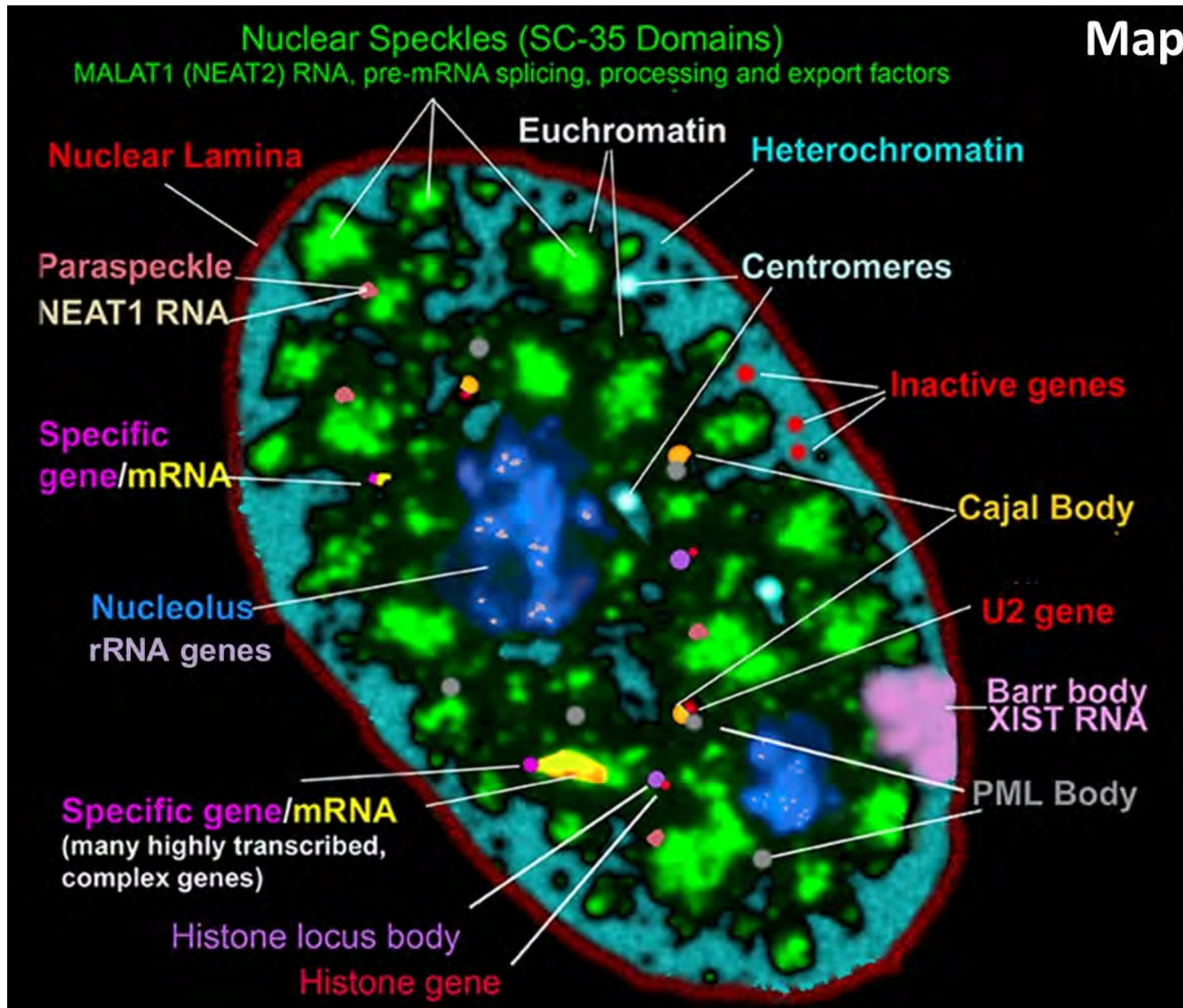
Длинные некодирующие РНК



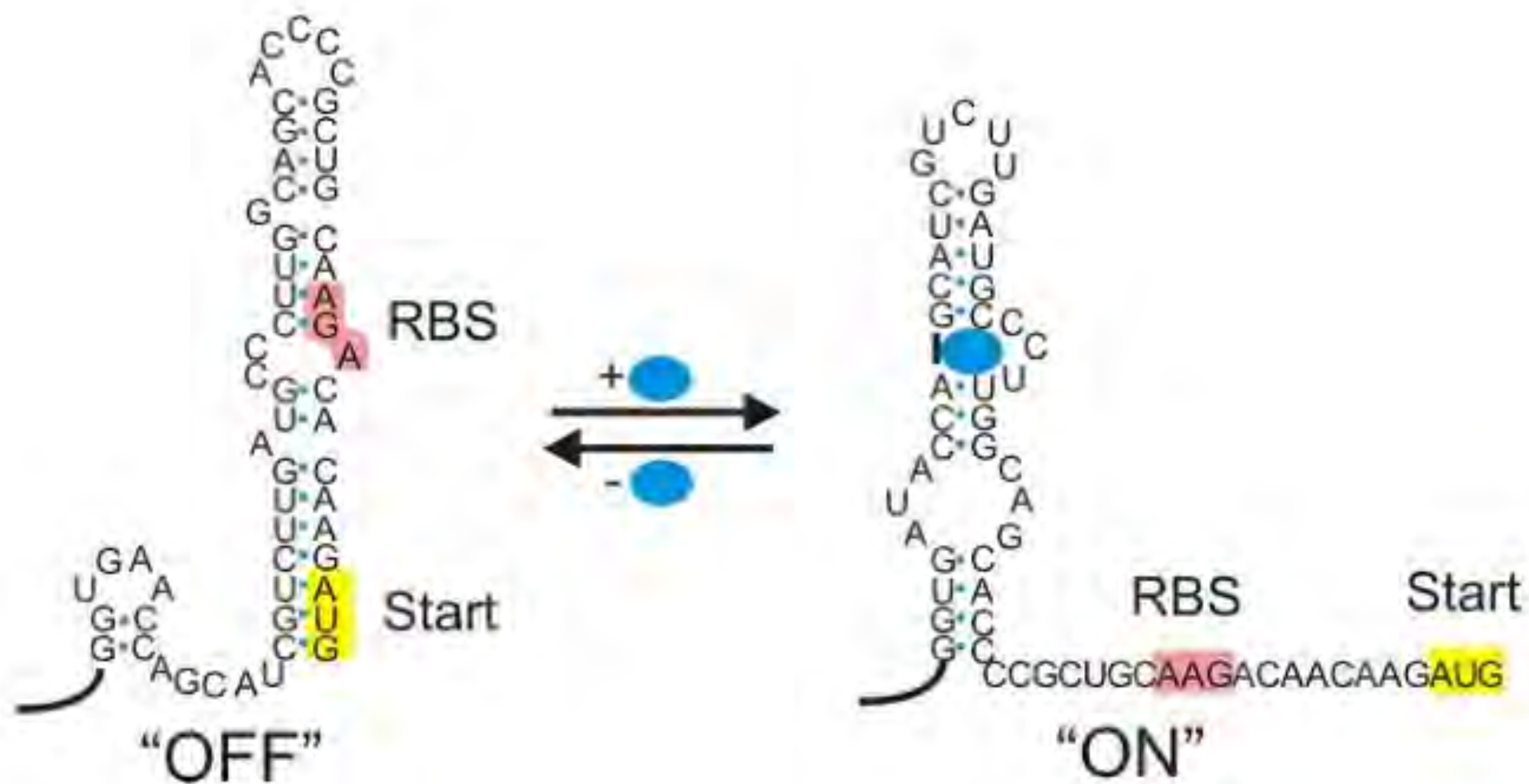
Импринтинг генов



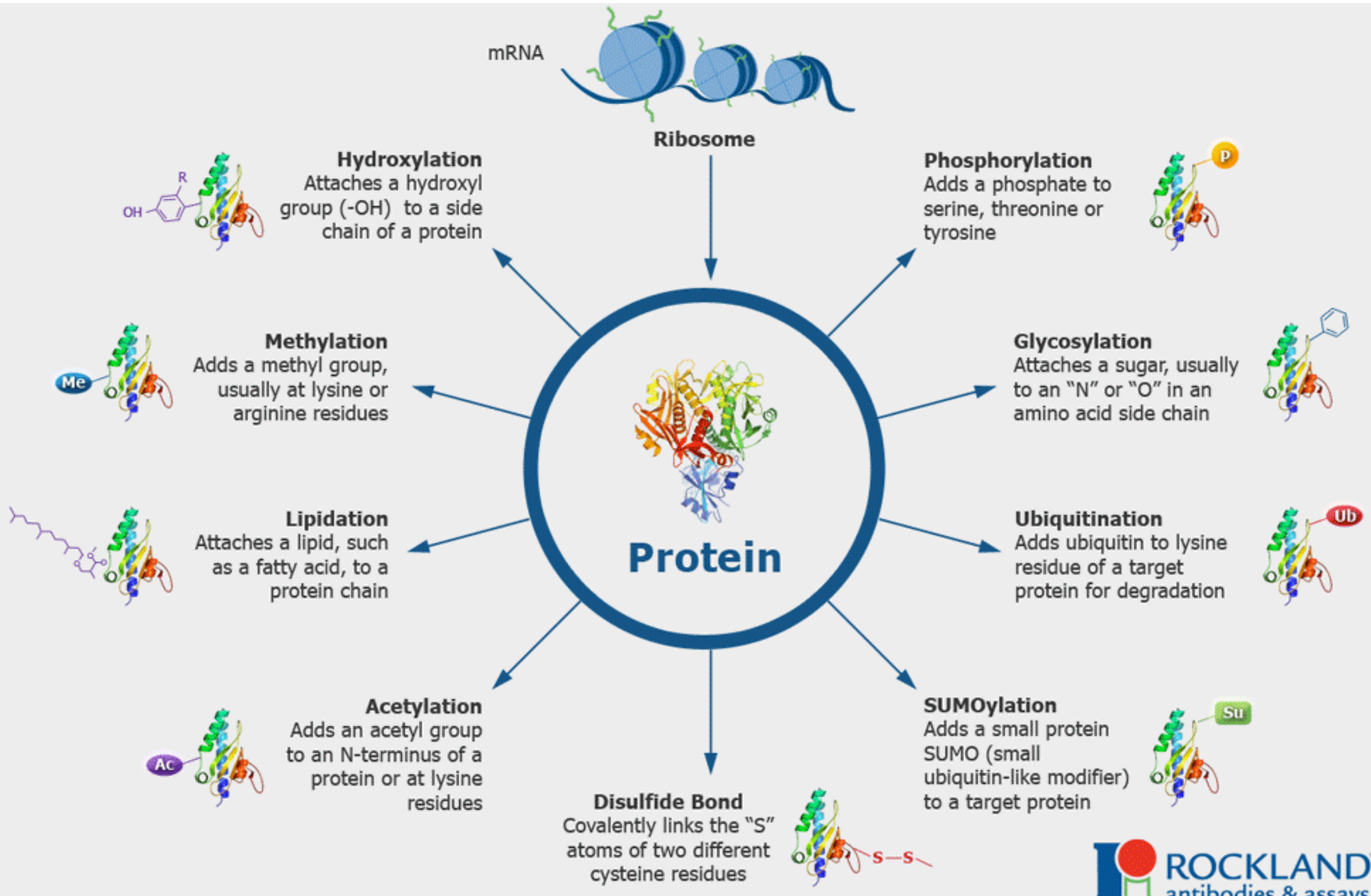
Хромосомные территории в ядре



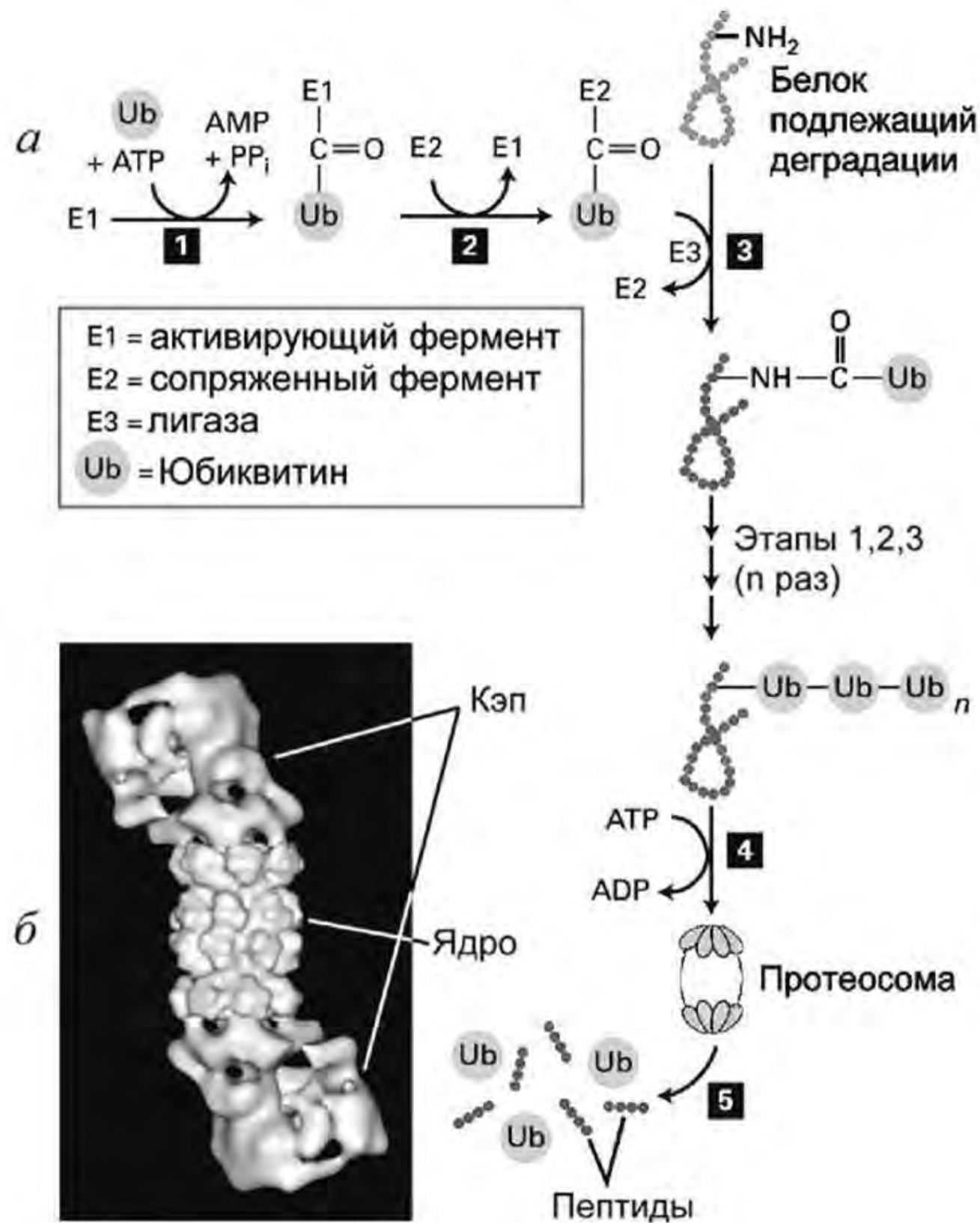
Рибопереклюватели



Посттрансляционные модификации



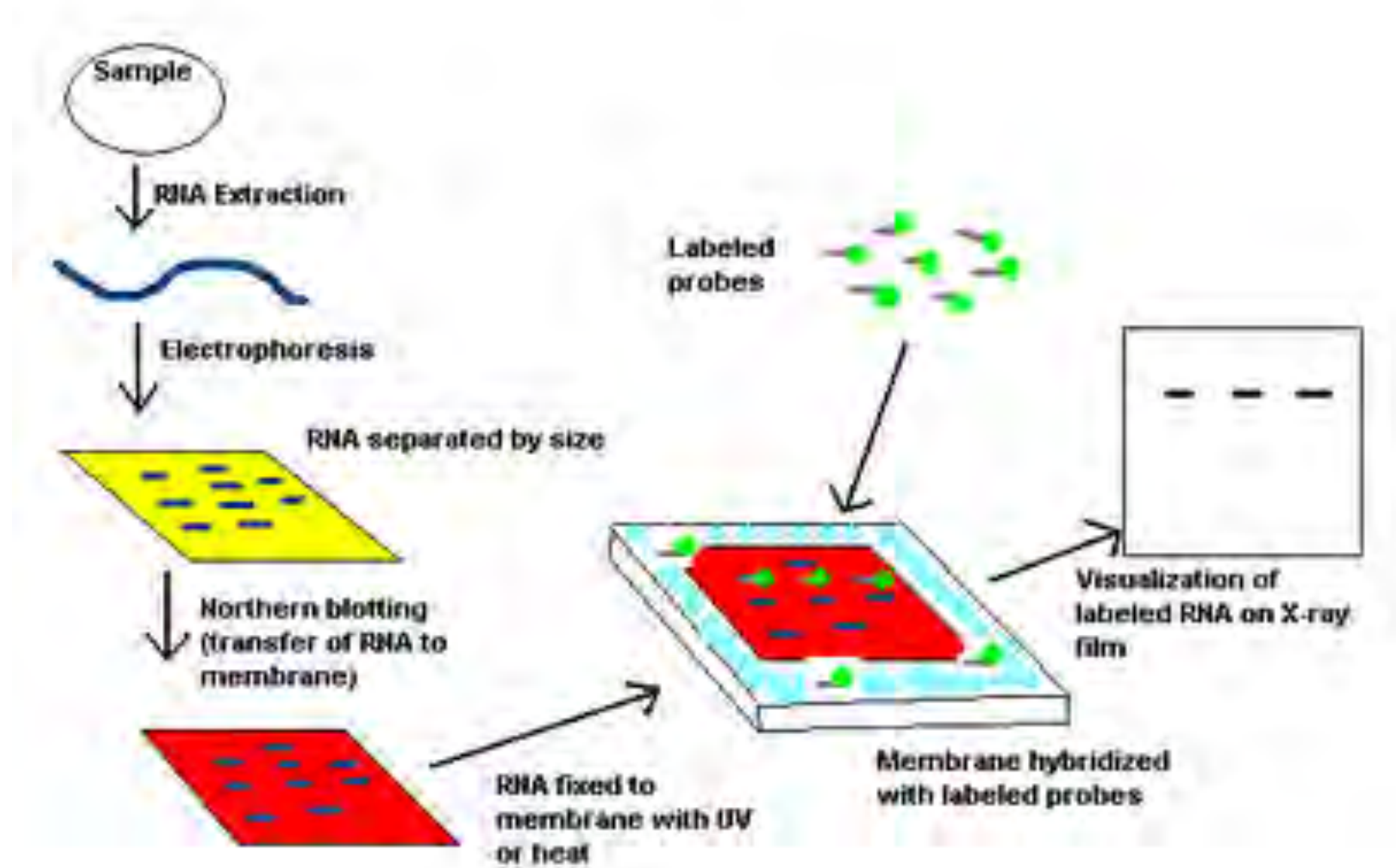
Убиквитинирование и деградация белков



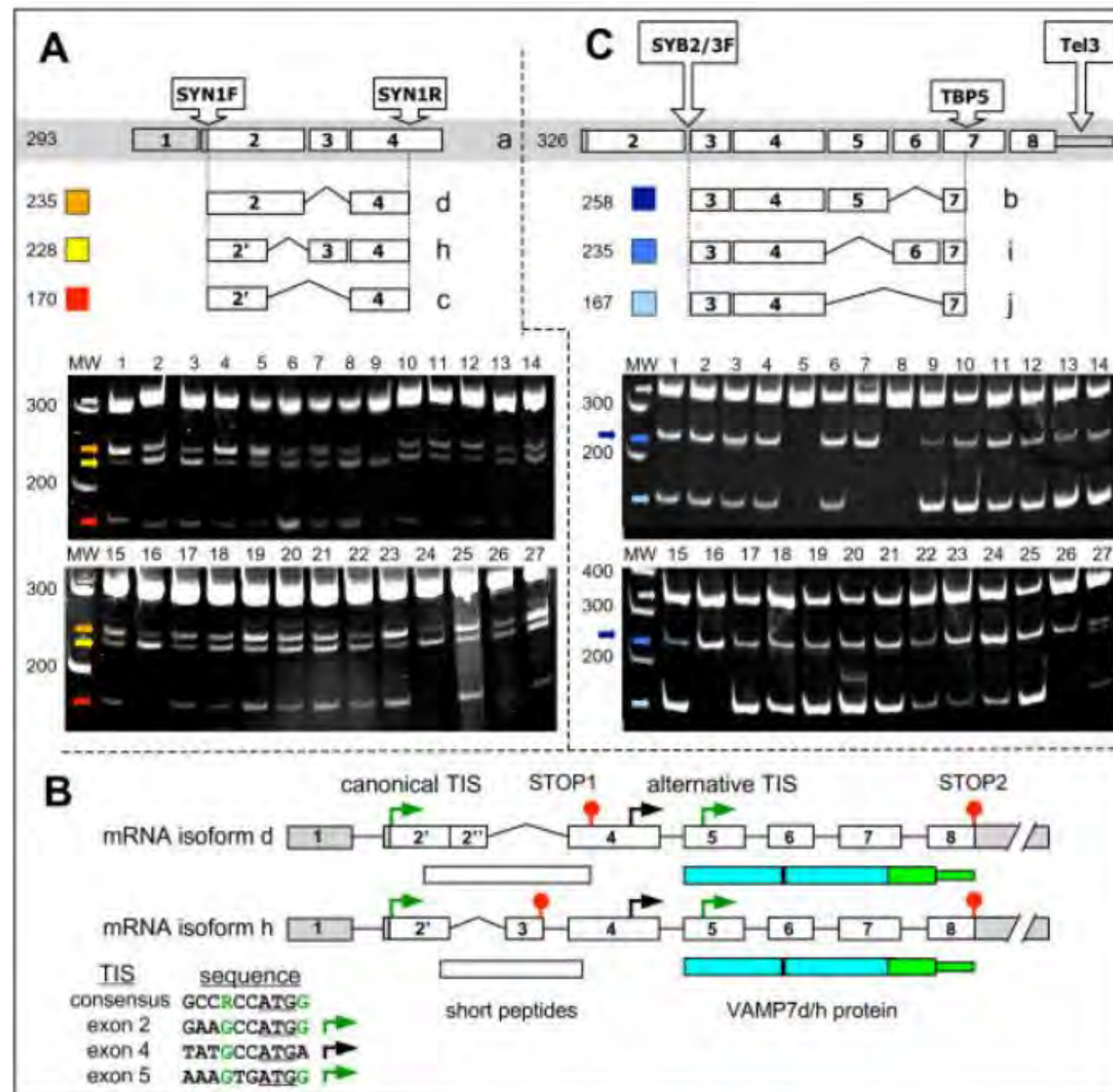
Убиквитинирование и деградация белков

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

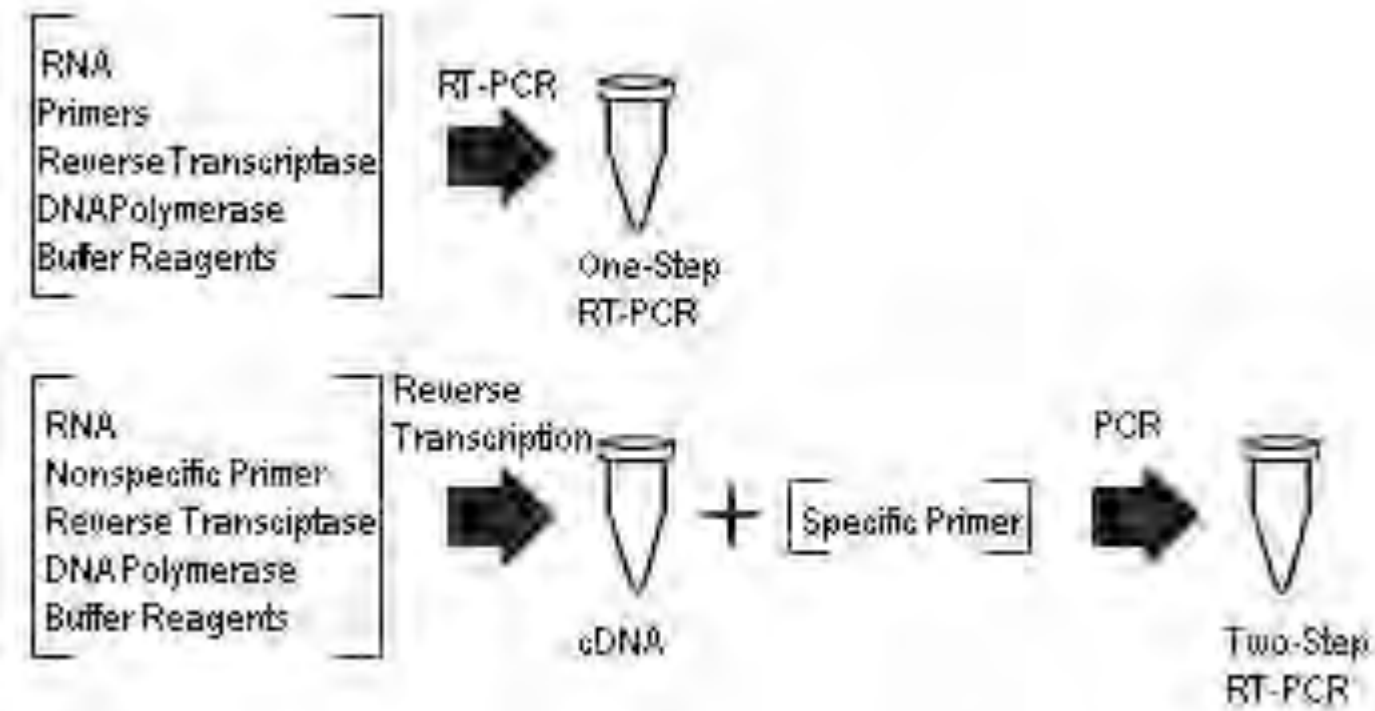
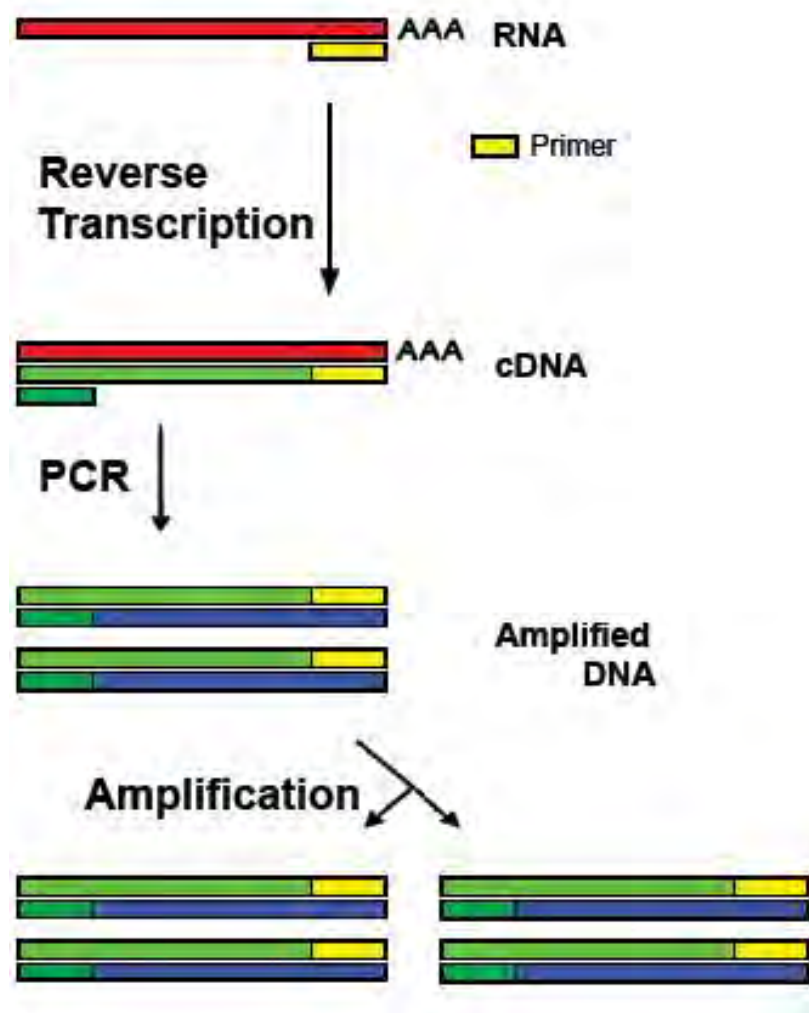
Northern blot



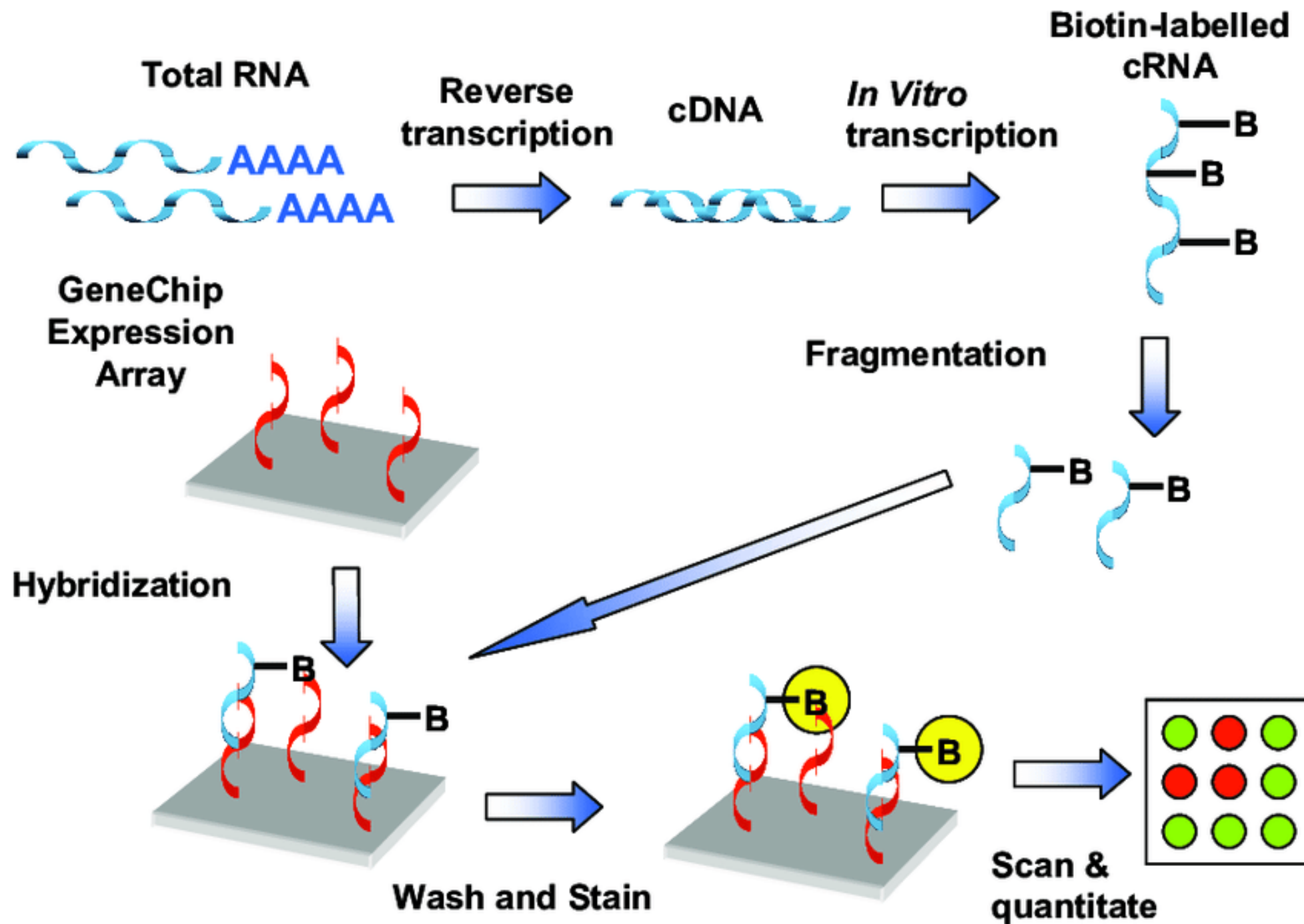
Исследование альтернативного сплайсинга



ОТ-ПЦР



Микрочипы: Введение



Микрочипы Affymetrix: Особенности технологии

Figure 1A

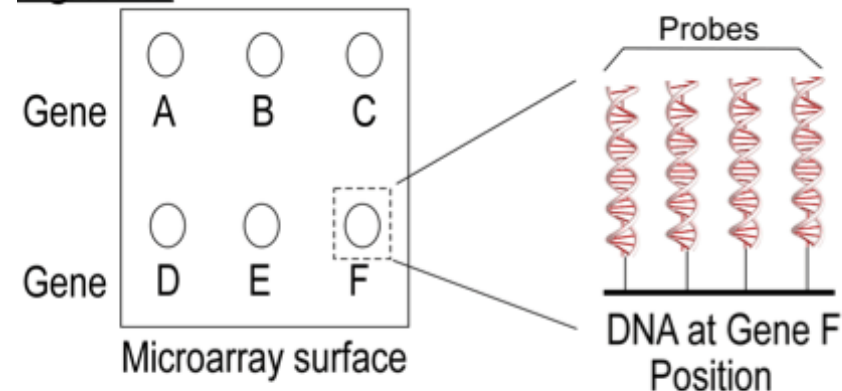


Figure 1B

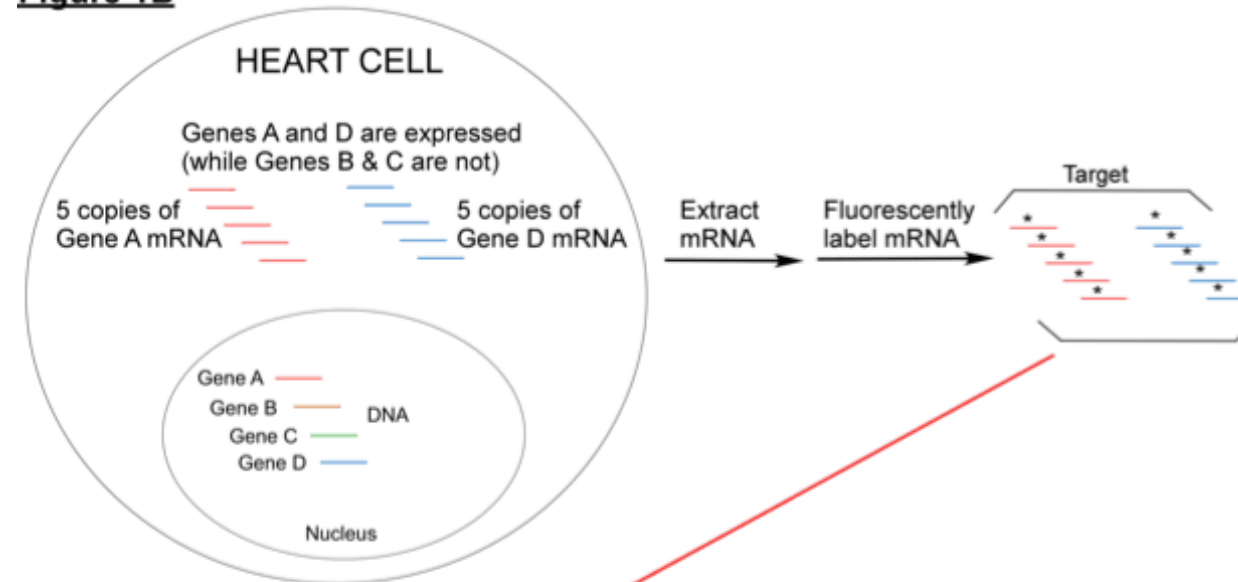
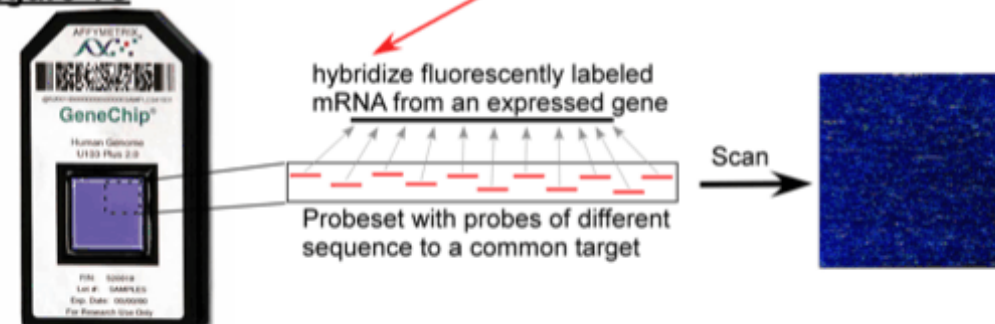
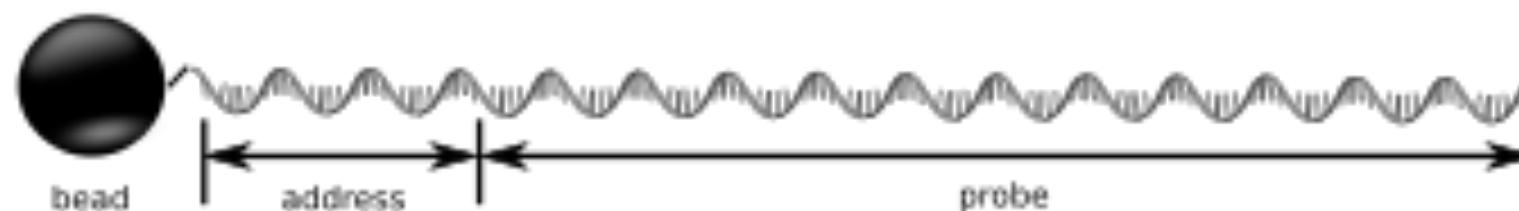
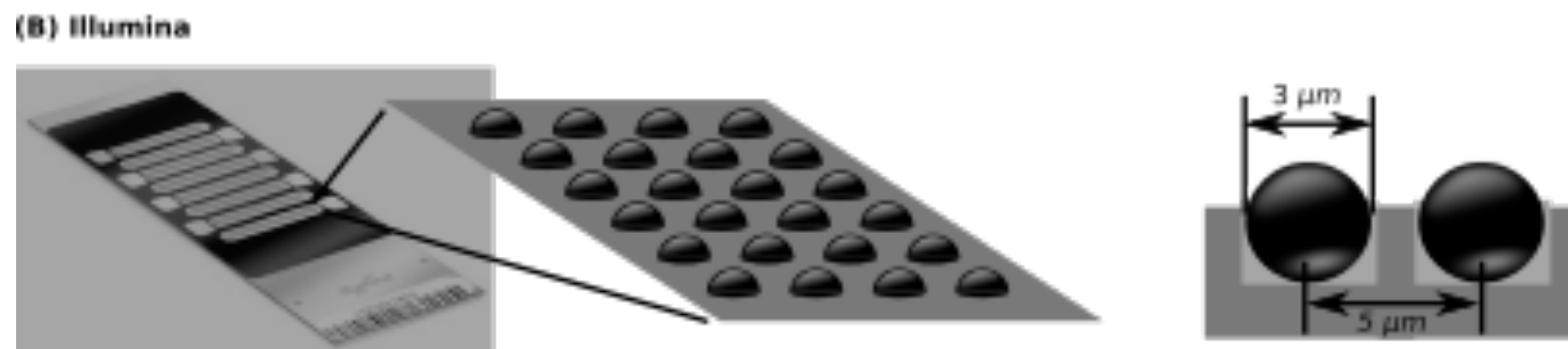
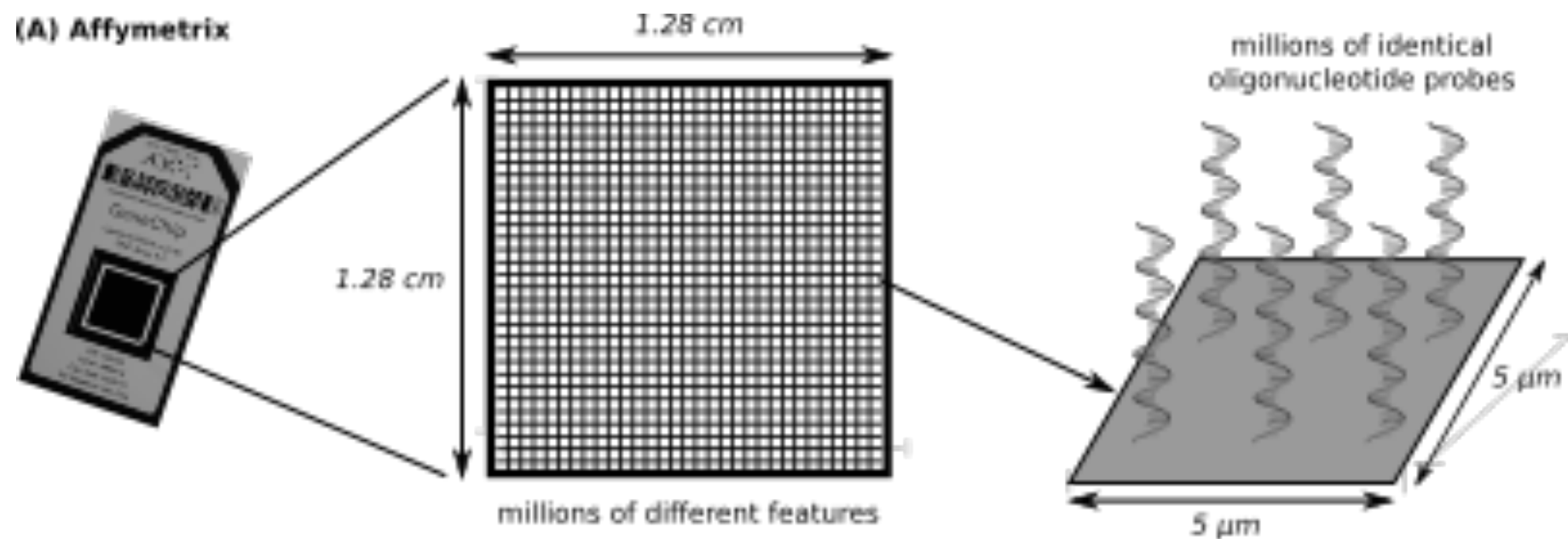


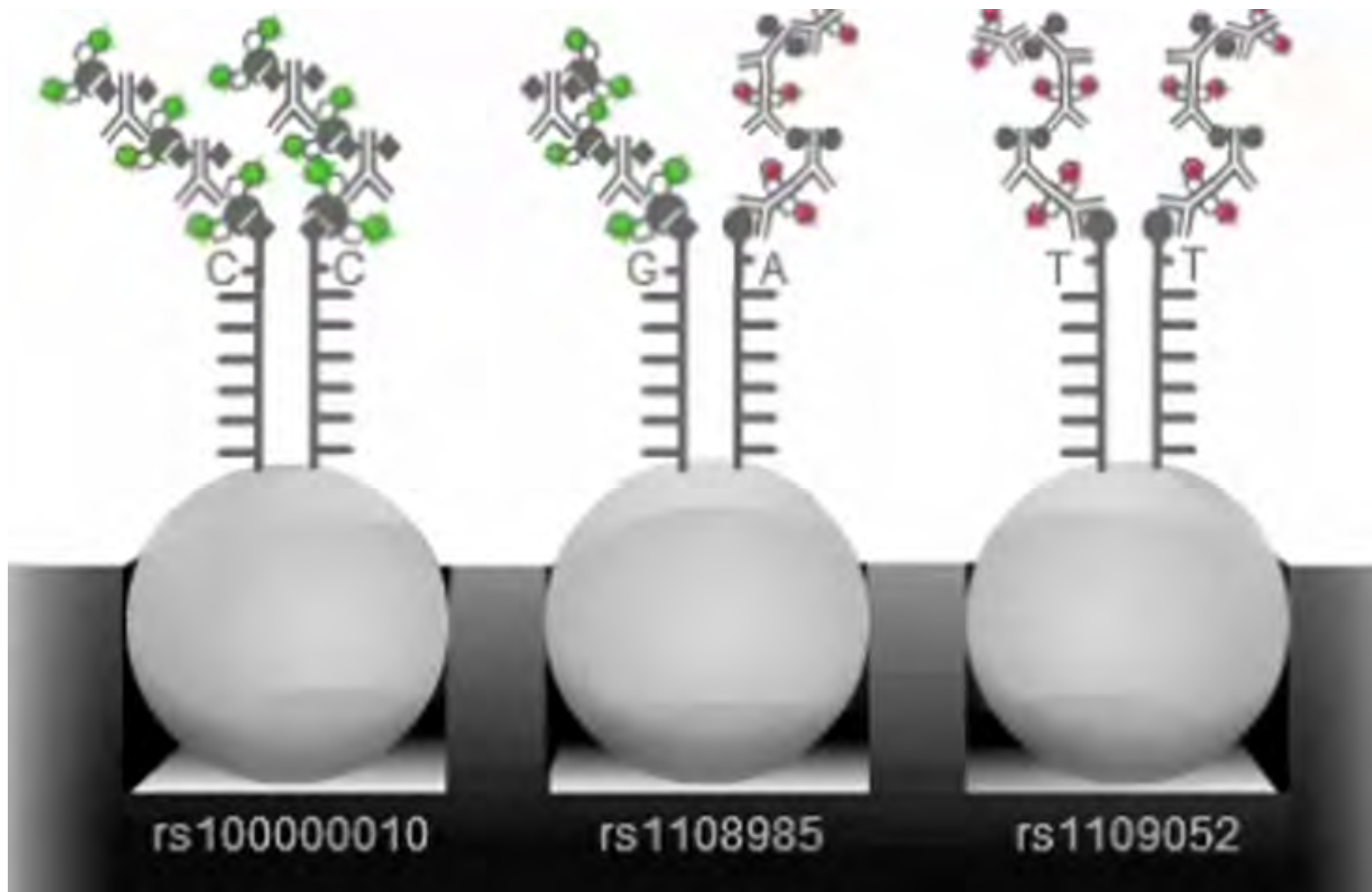
Figure 1C



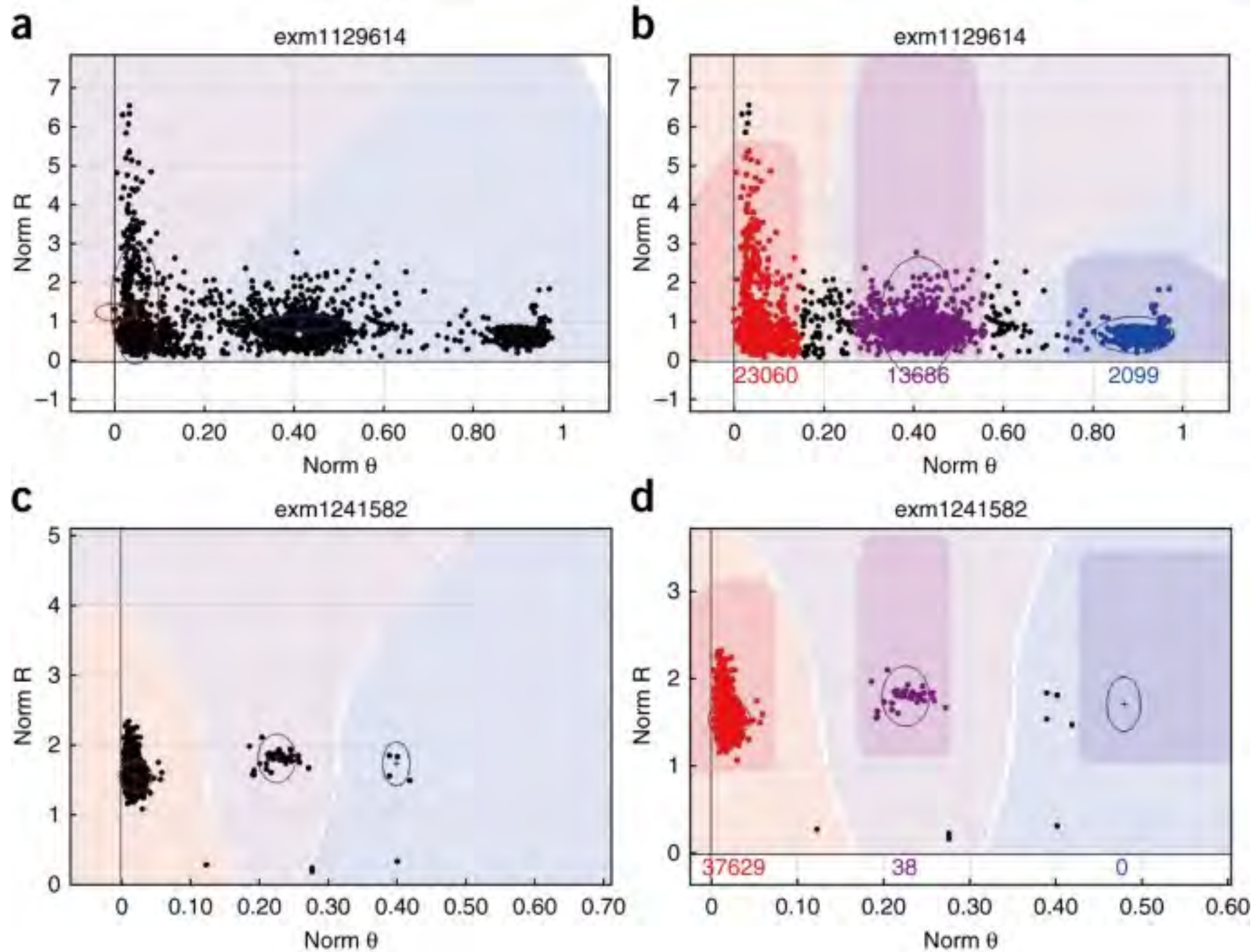
Микрочипы Illumina: Технология



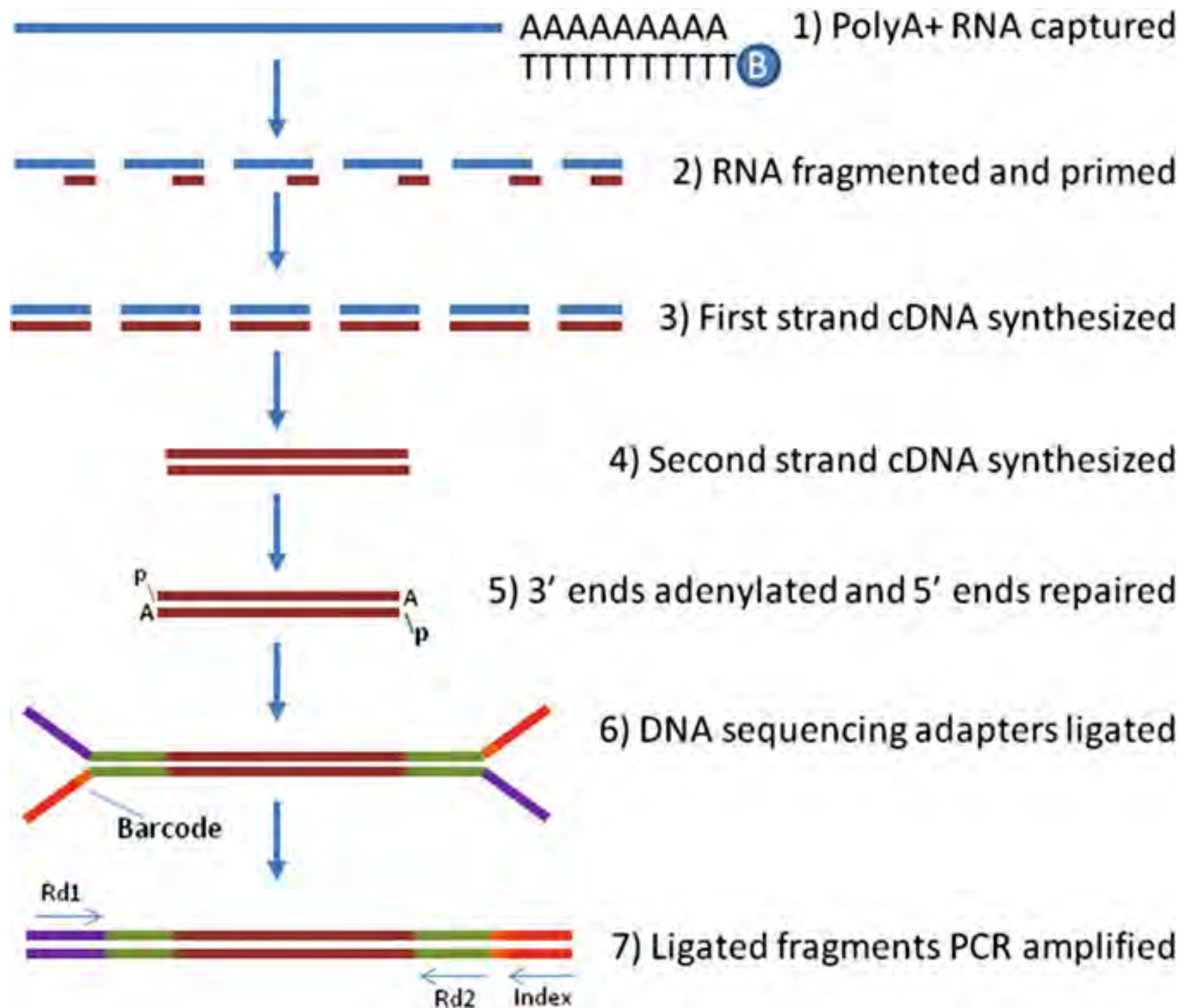
Микрочипы Illumina: Технология



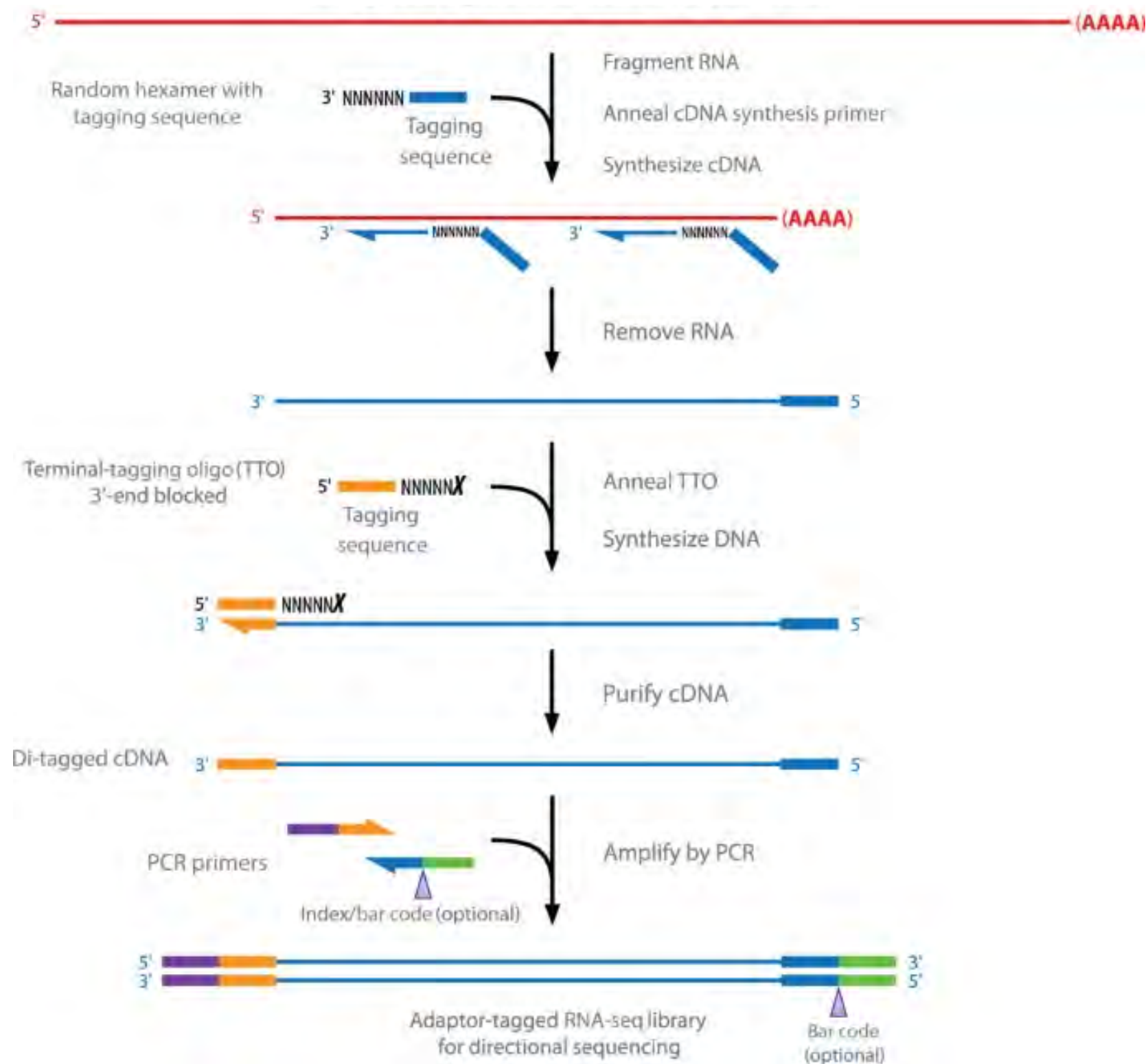
Микрочипы Illumina: обработка данных



RNA-seq: Подготовка библиотек



RNA-seq: Stranded vs. Non-stranded



RNA-seq: Подготовка библиотек

Total RNA or purified small RNA

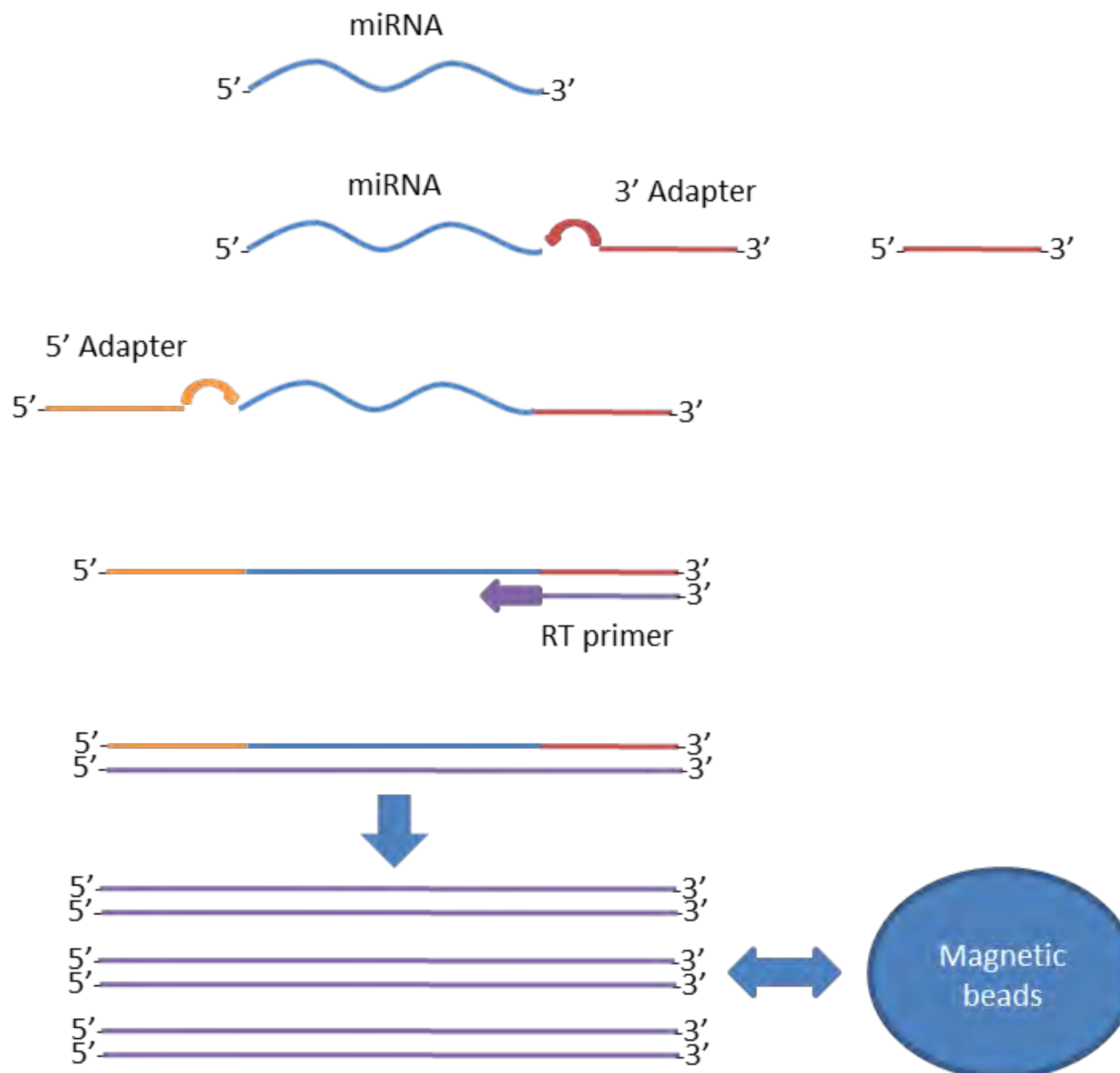
3' Adapter Ligation

5' Adapter Ligation

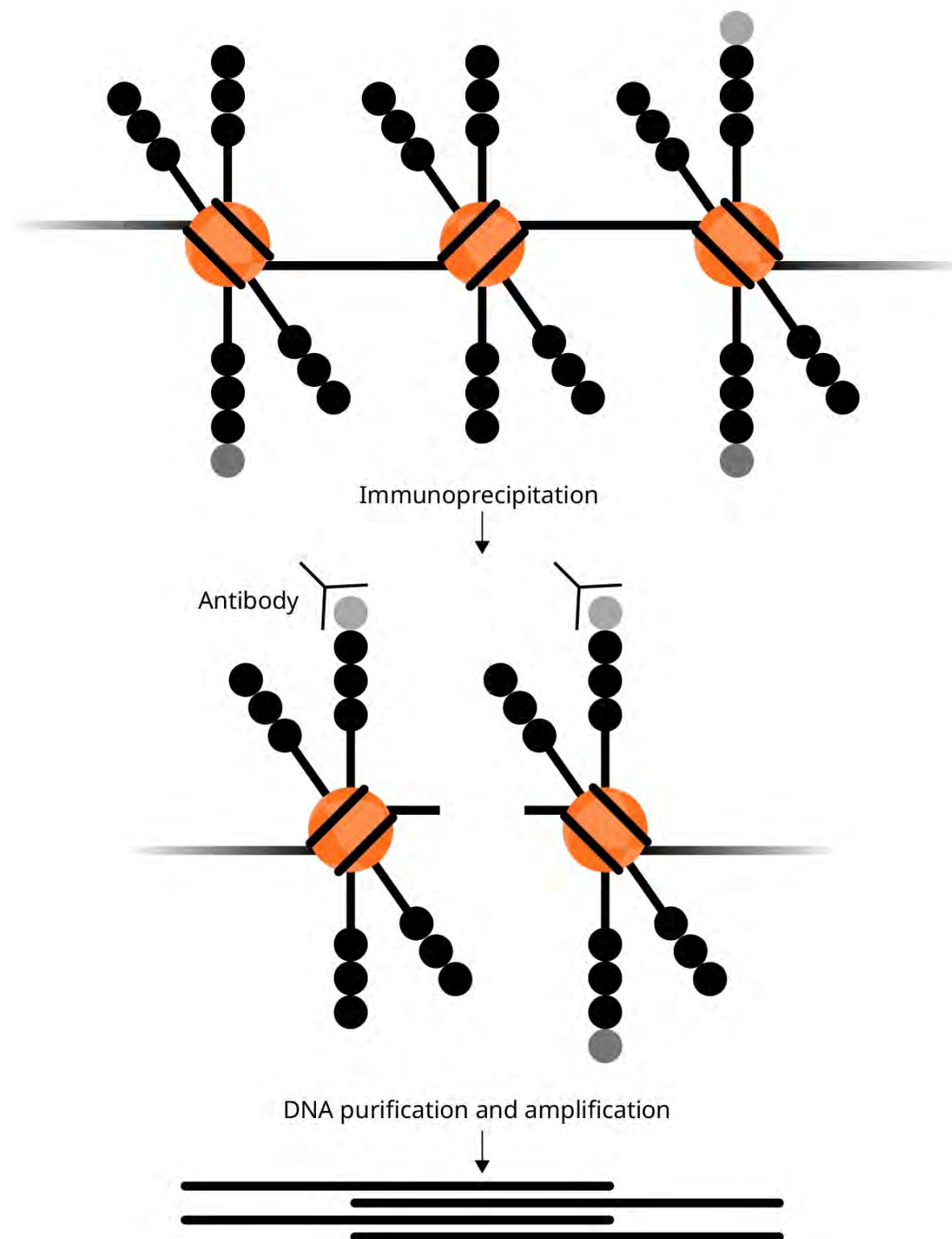
Reverse Transcription

PCR Amplification

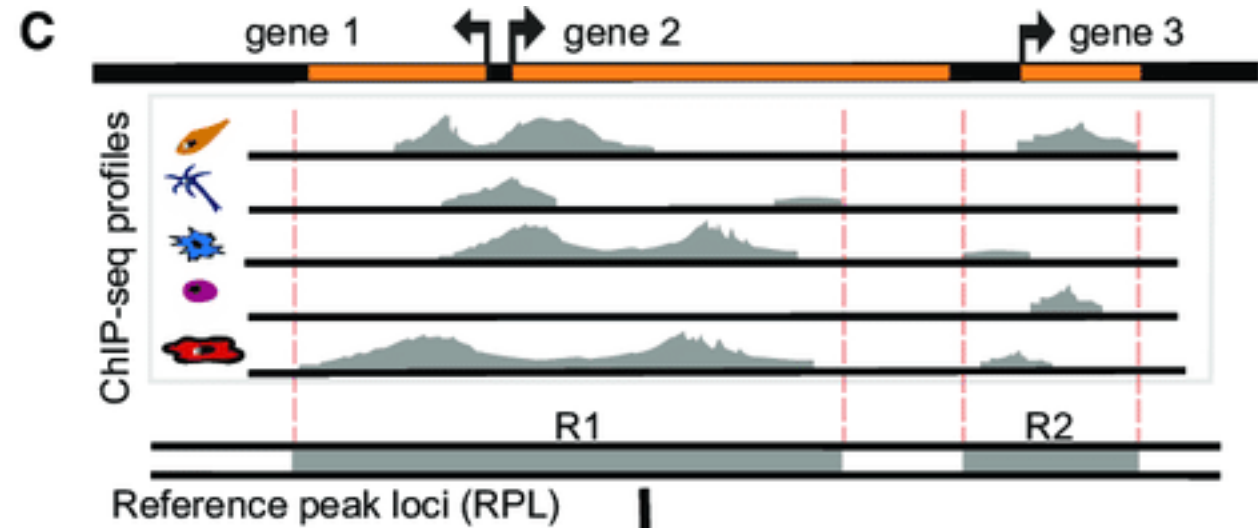
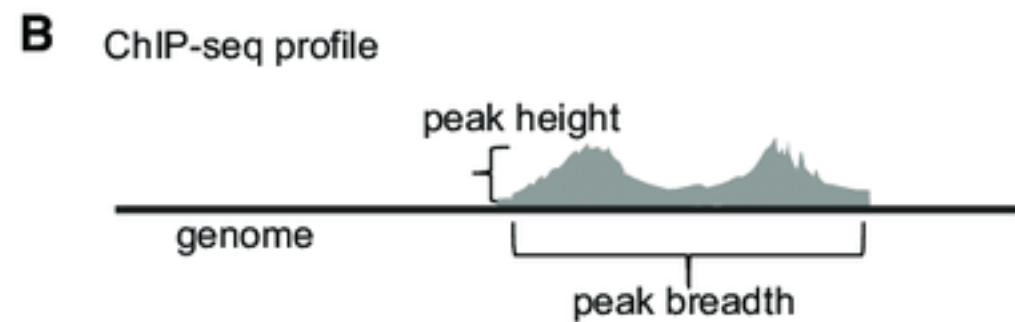
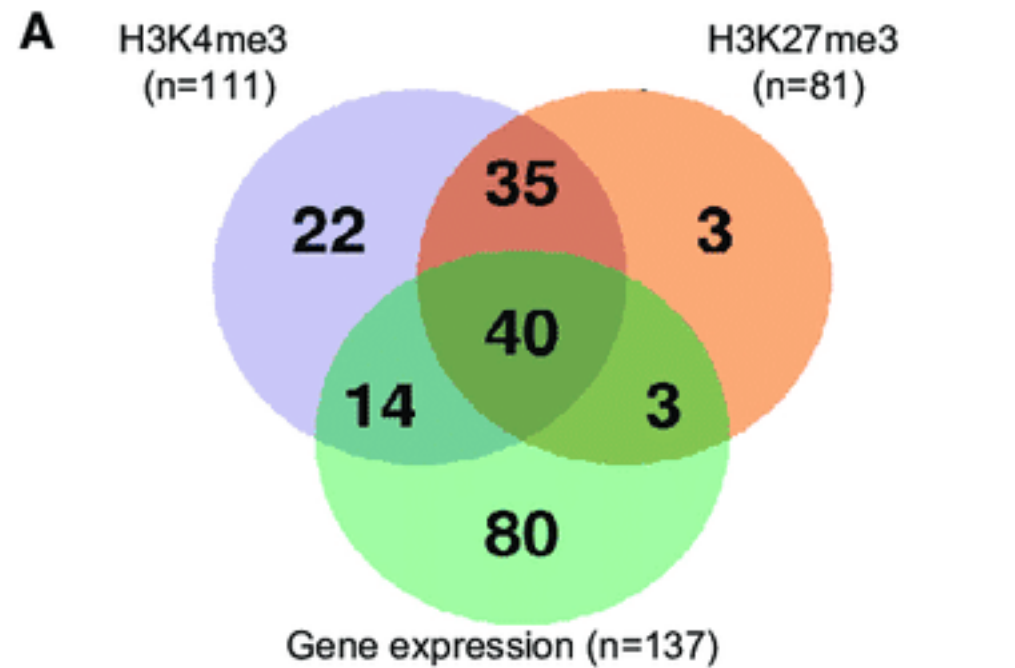
Final Library Cleanup



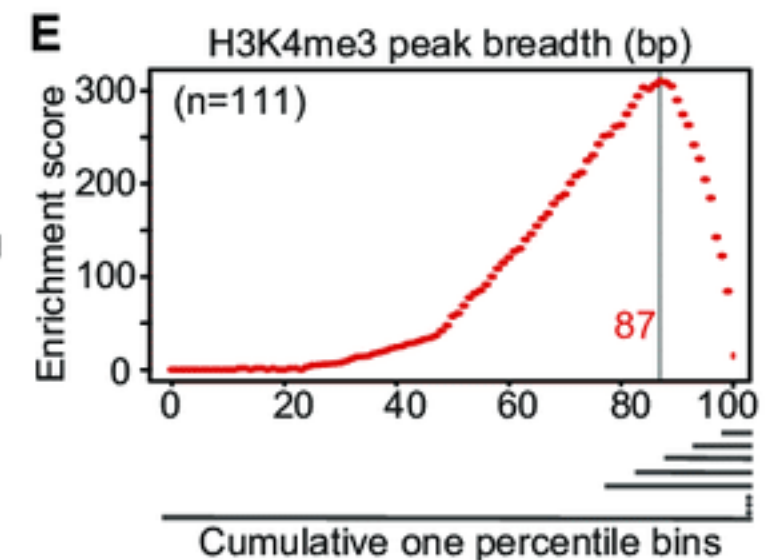
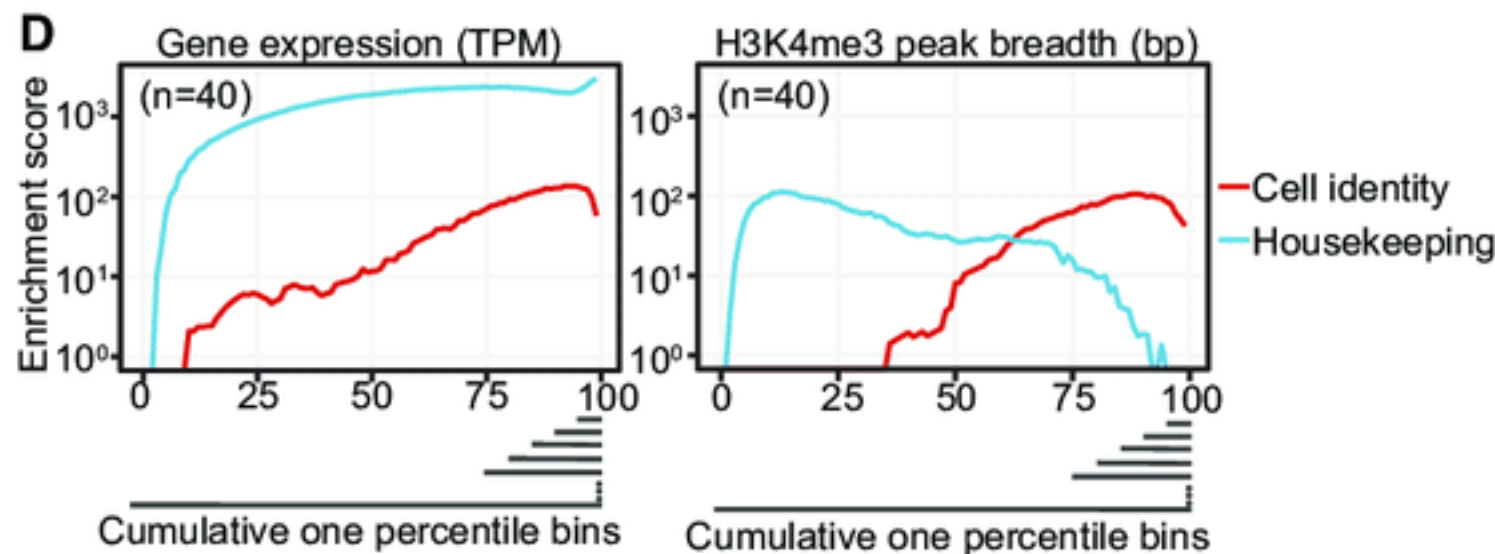
Хроматин иммунопреципитация



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

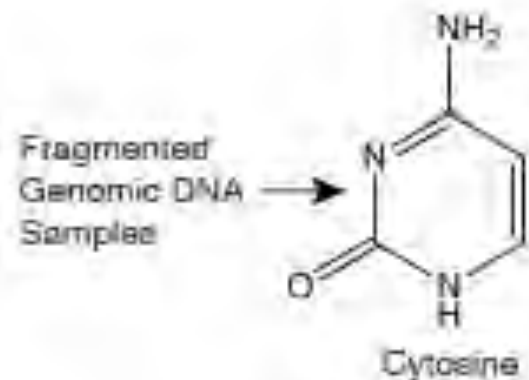


Methyl-seq: Анализ метилирования

STEP 1

Denaturation

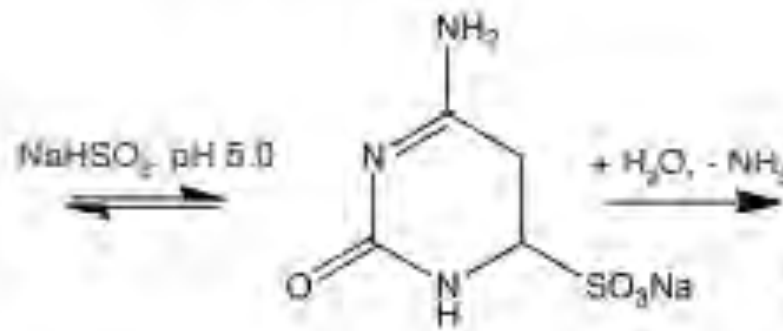
Incubation at 98°C
fragments genomic DNA



STEP 2

Conversion

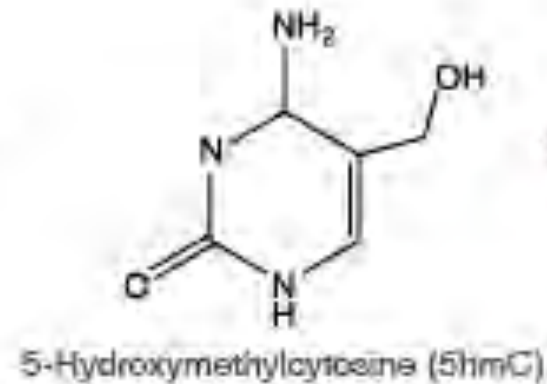
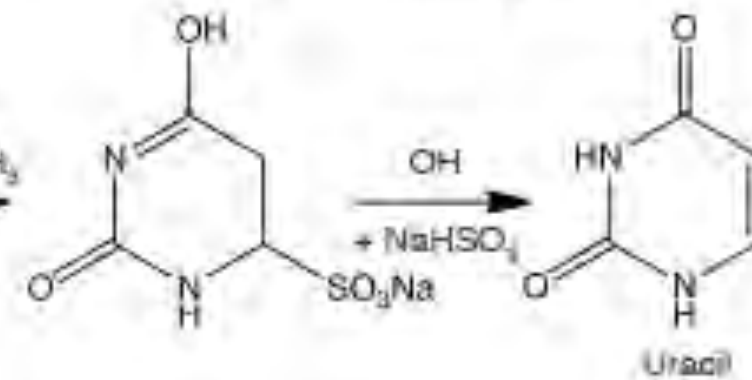
Incubation with sodium bisulfite
at 64°C and low pH (5-6)
deaminates cytosine residues
in fragmented DNA.



STEP 3

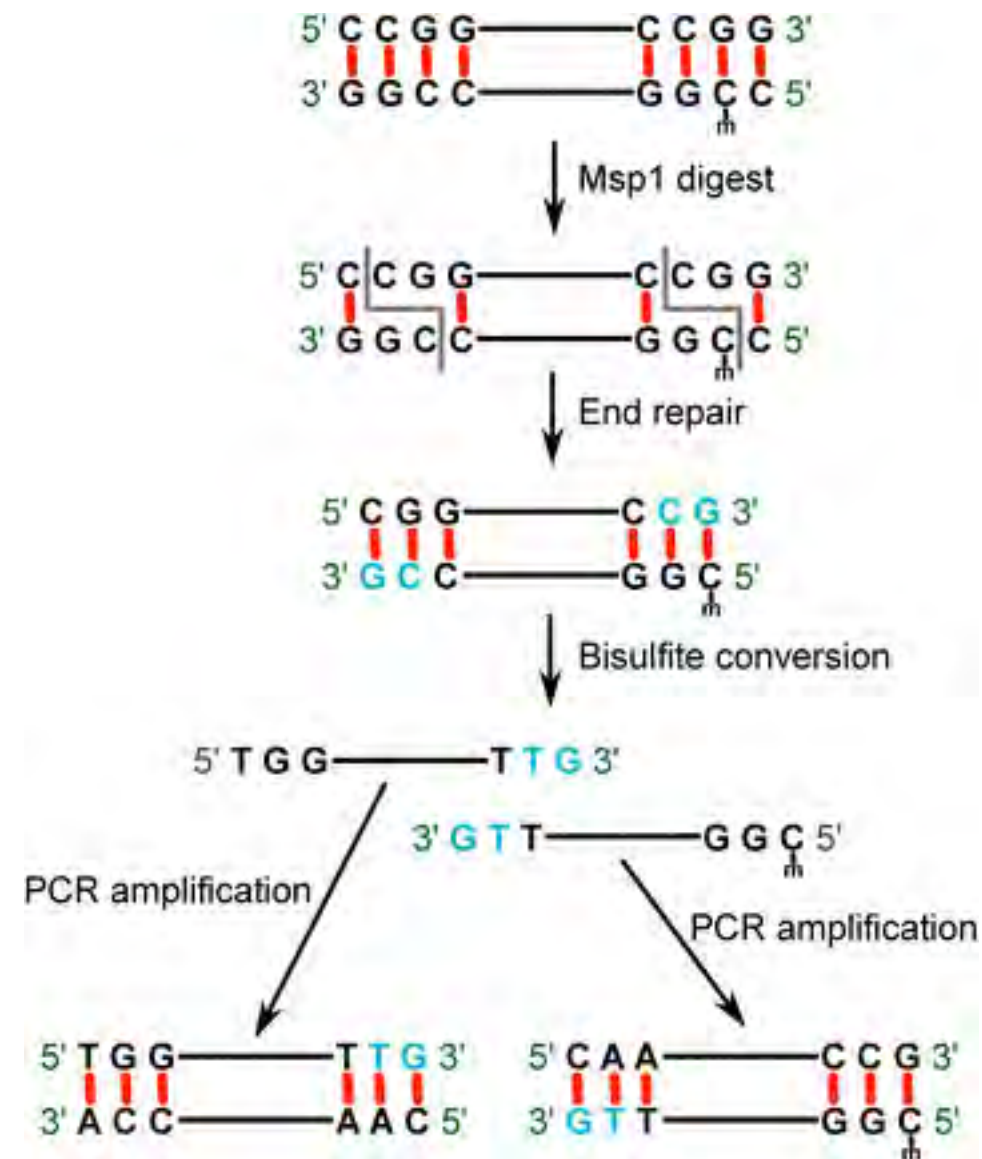
Desulphonation

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



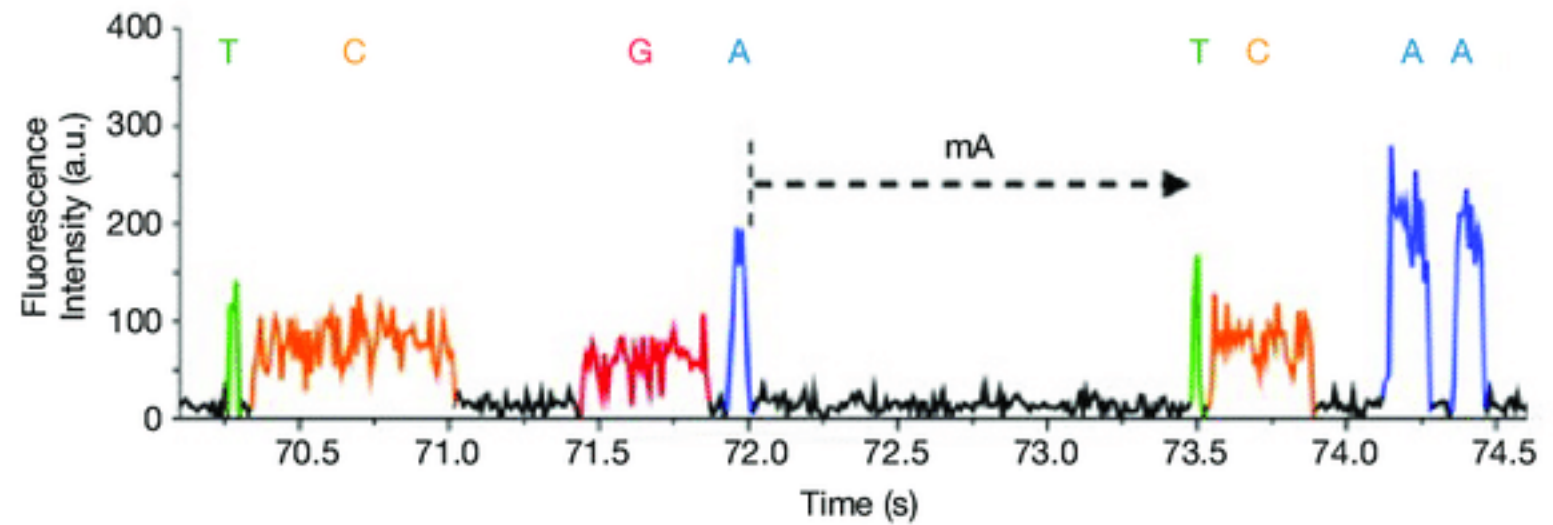
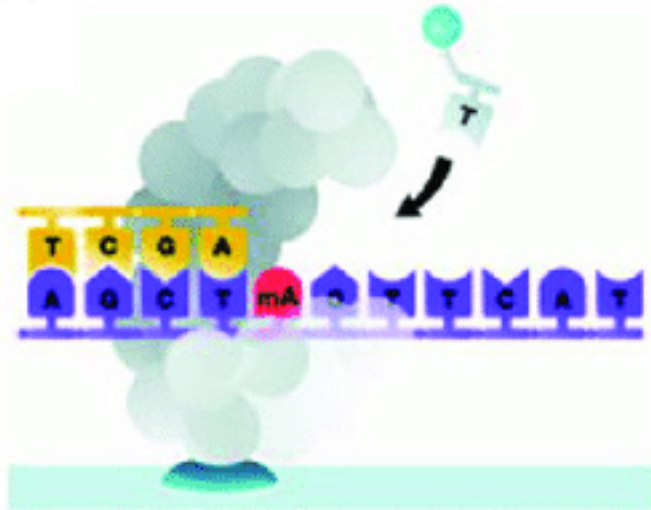
5mC and 5hmC are not
susceptible to bisulfite
conversion and remain intact

RRBS: Анализ метилирования

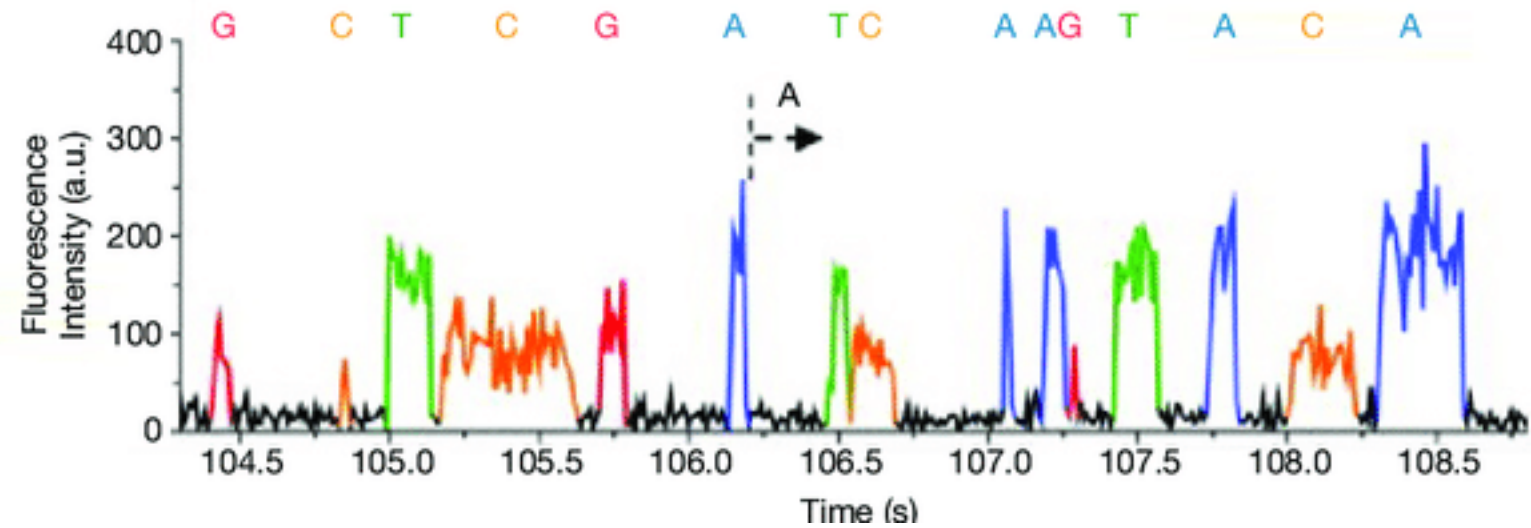
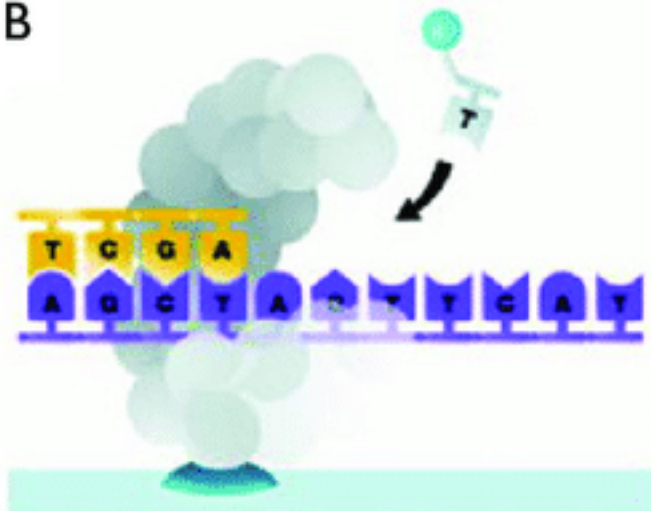


Анализ модификаций с PacBio

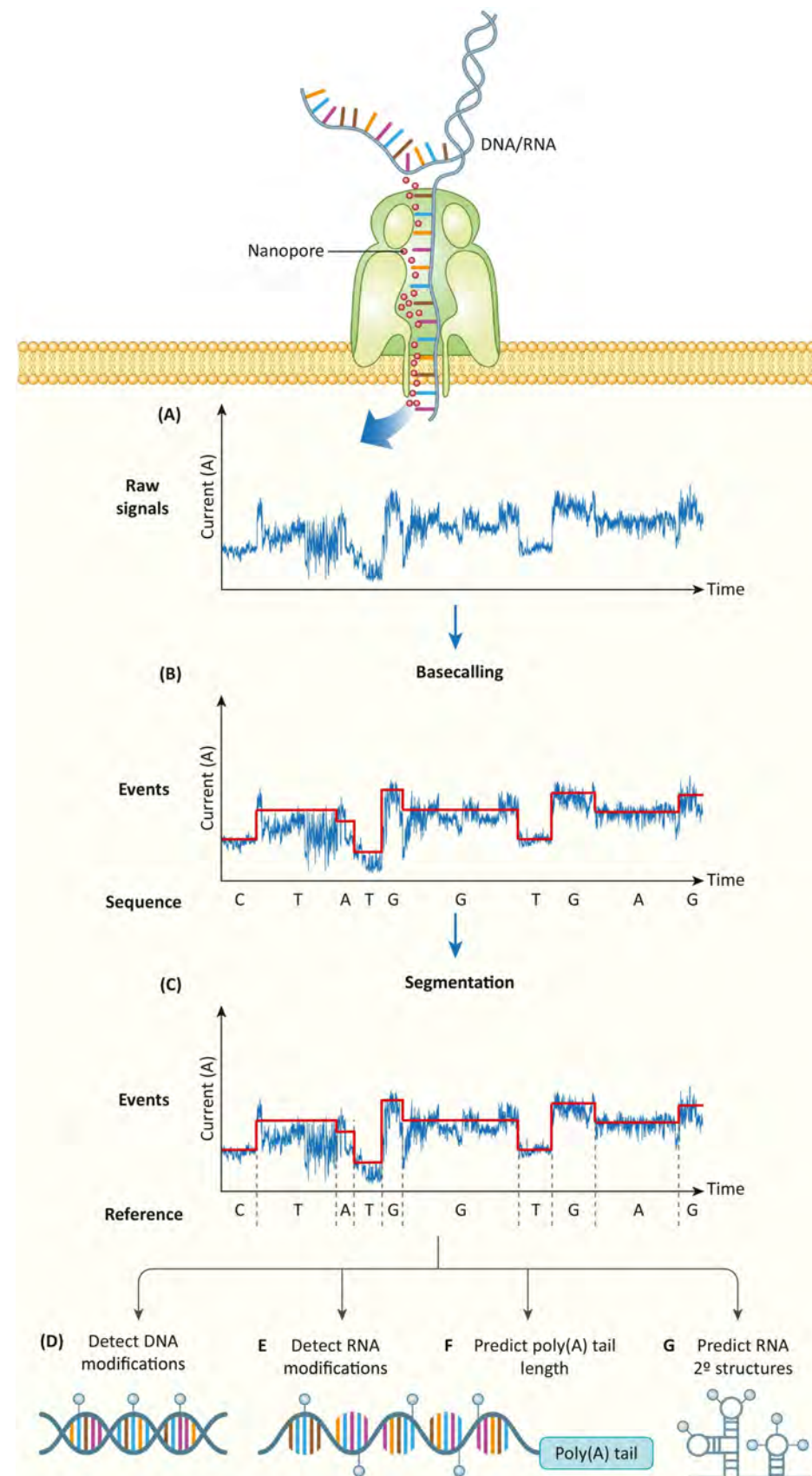
A



B



Анализ модификаций с Nanopore



Репортерные генные конструкции



**Растительный
ген**



**Бактериальный
ген-репортер**

Слитые гены-репортеры



Химерный белок

Репортерные генные конструкции



Ген GFP

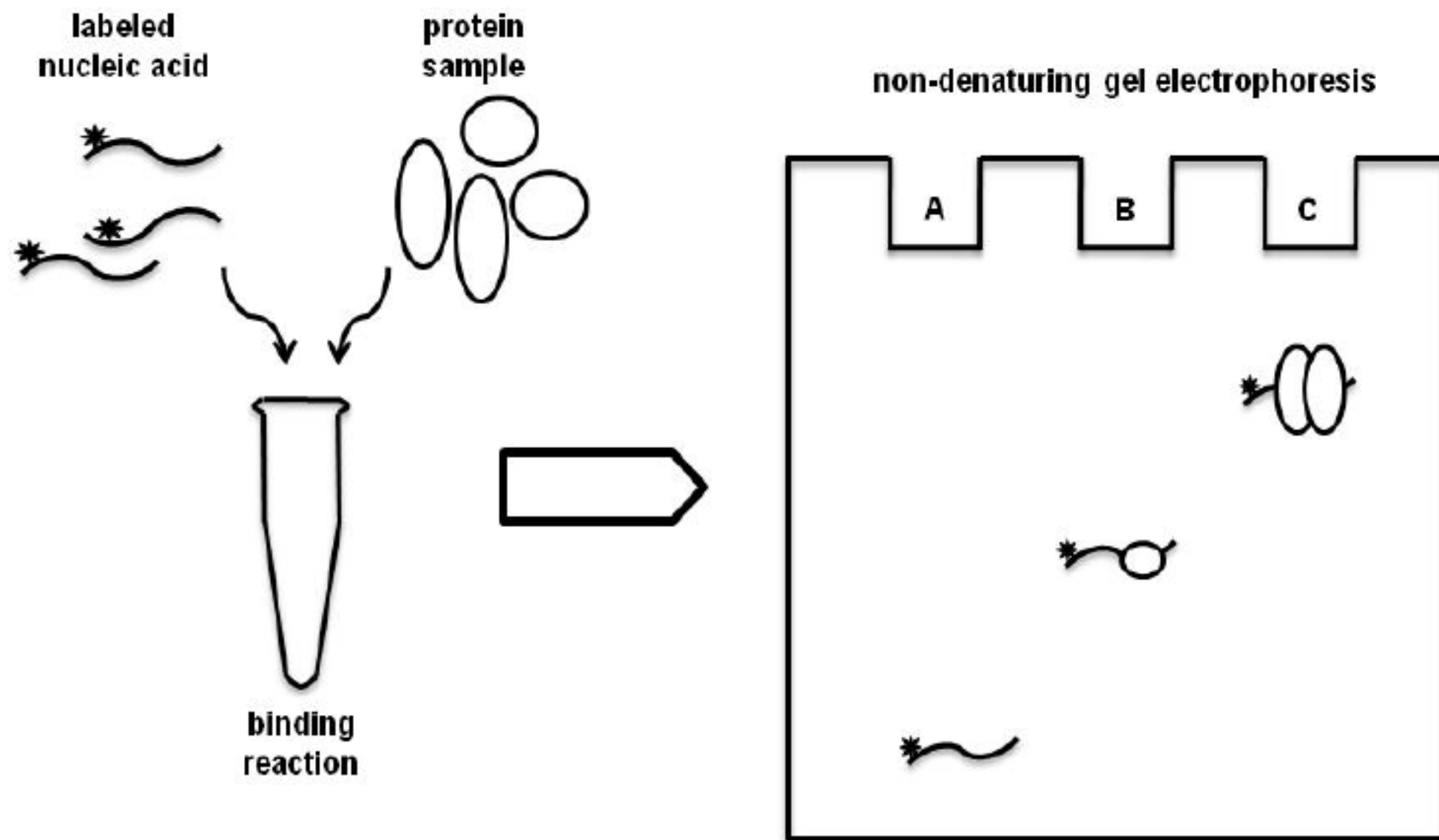


Ген GUS

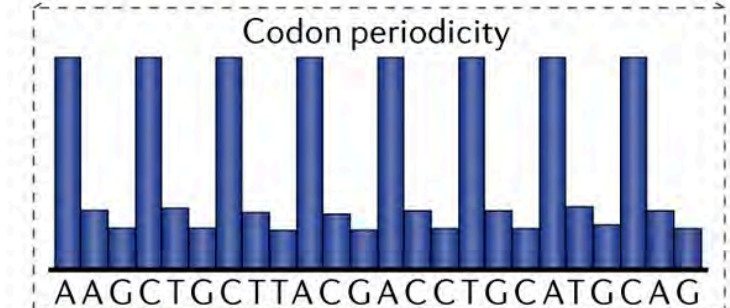
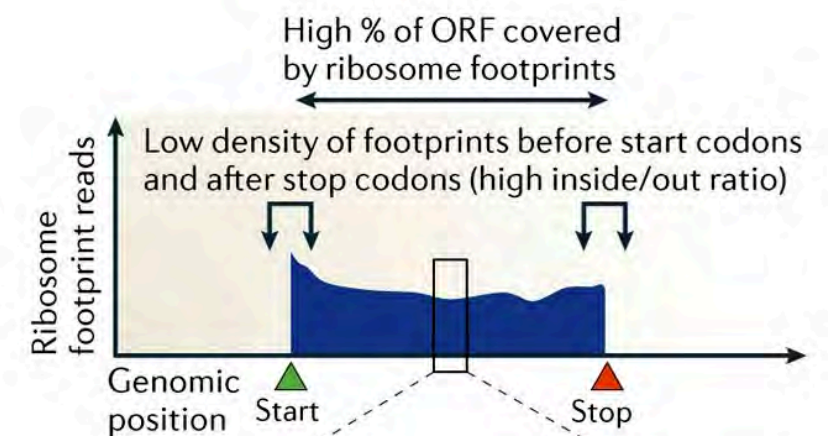
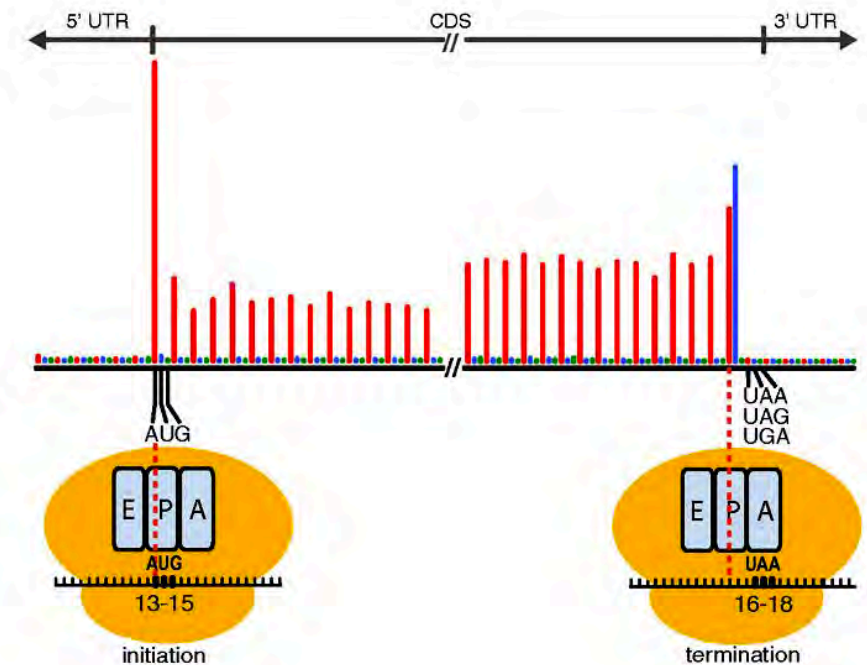
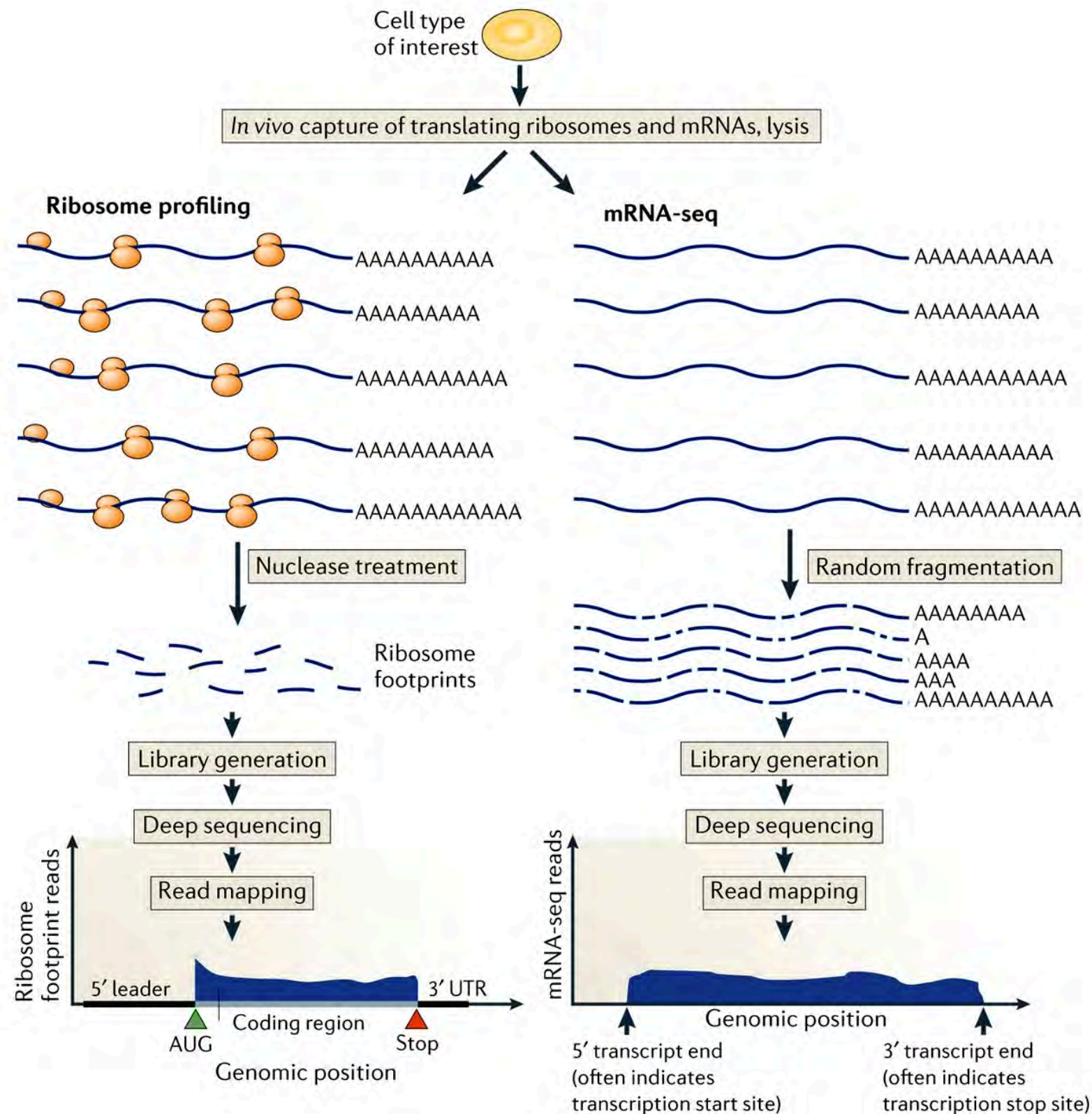
Ген LUX



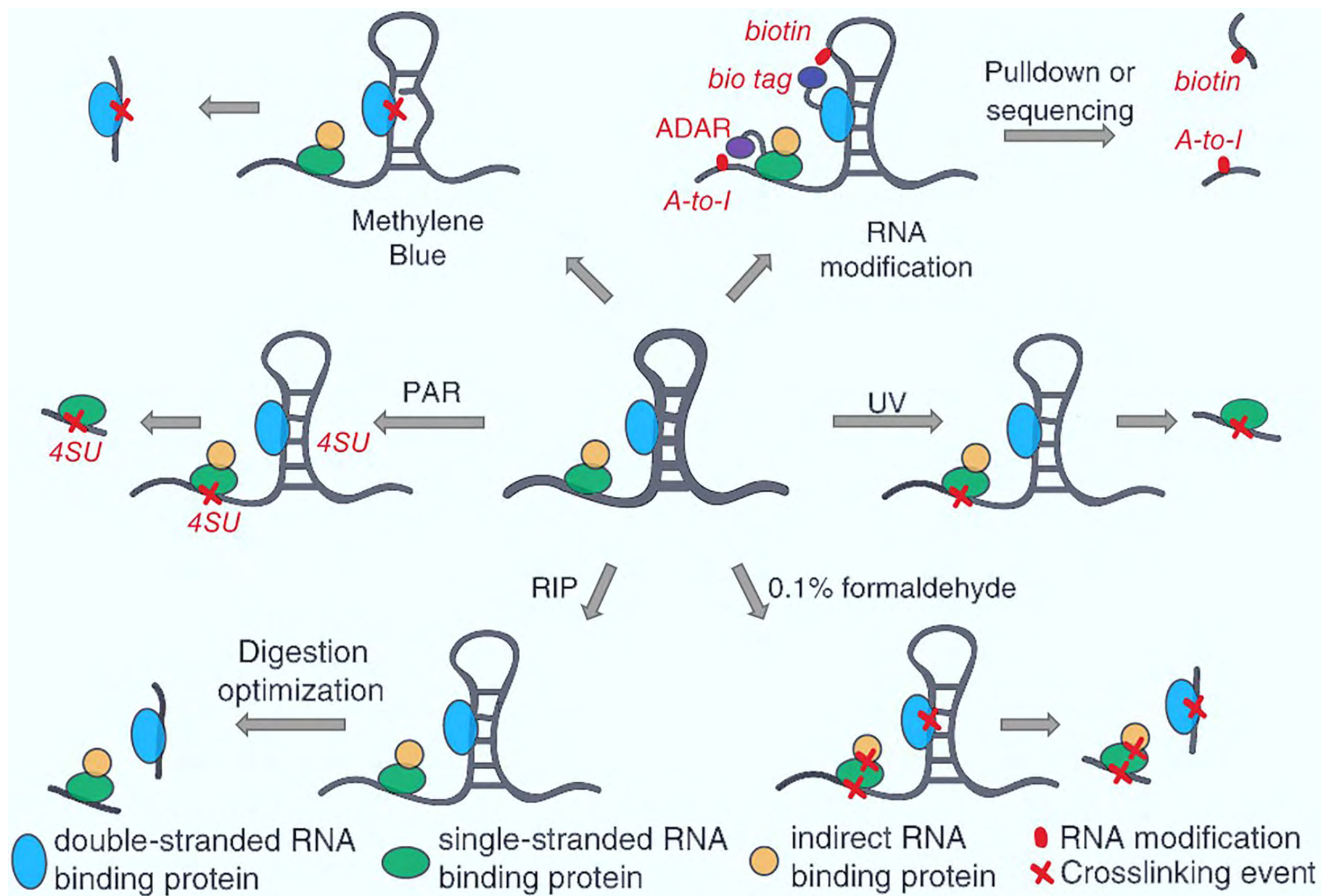
EMSA (сдвиг подвижности)



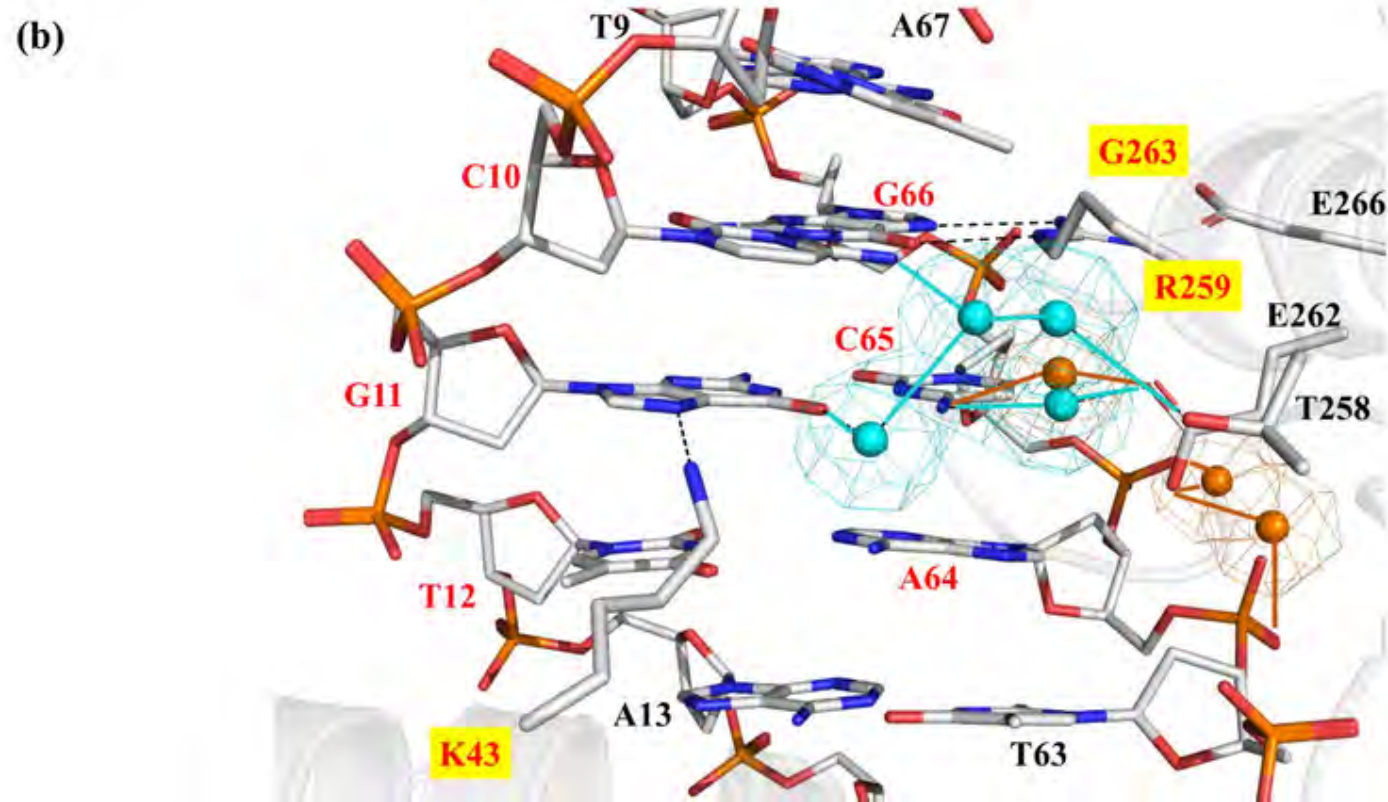
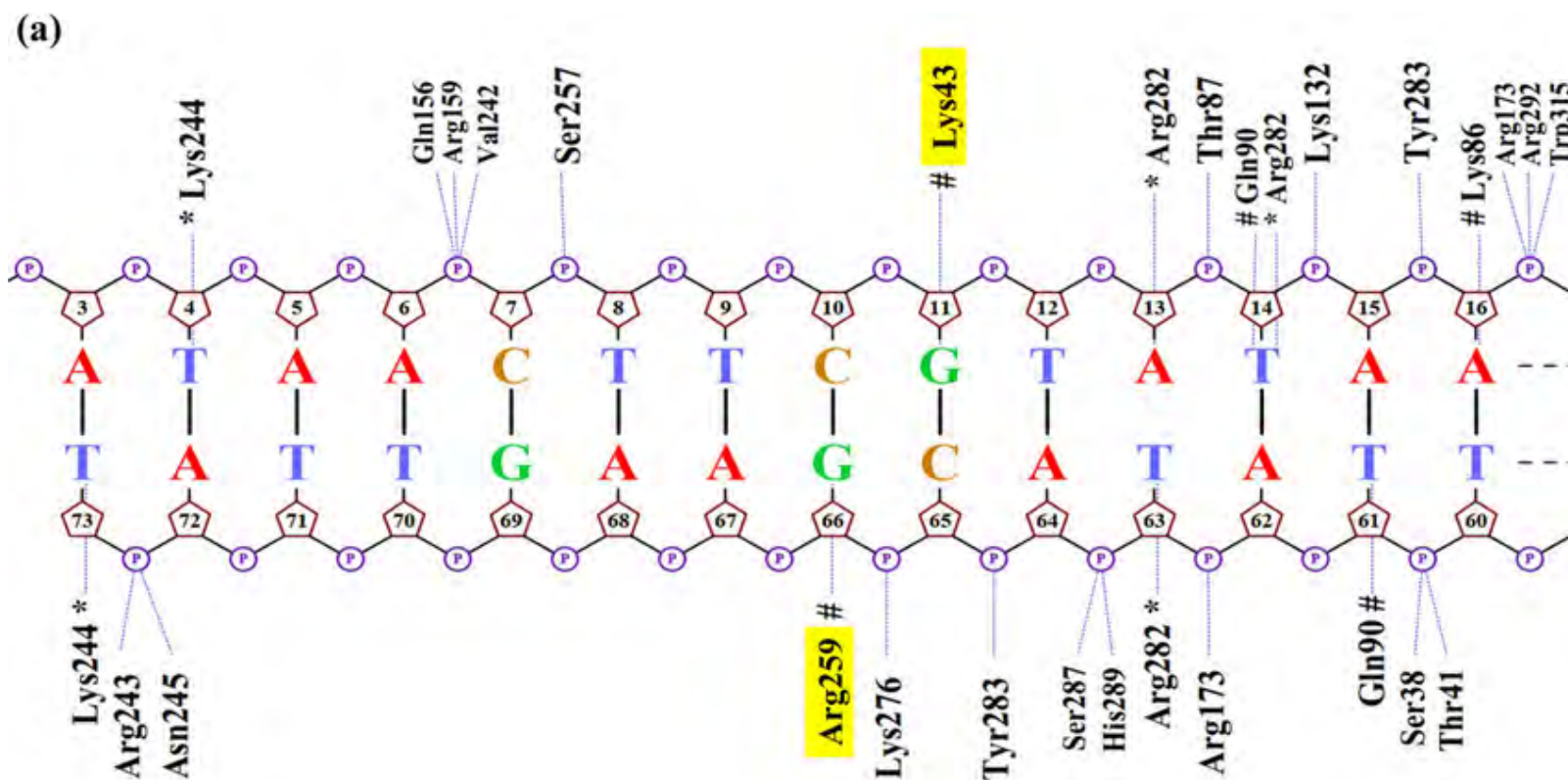
Ribo-Seq анализ



Анализ взаимодействий ДНК-белок



Анализ взаимодействий ДНК-белок



Субклеточная фракционирование



Вопросы и обсуждение