



От организации хроматина к пониманию функционирования геномов эукариот

Алексей Константинович Шайтан

д.ф.-м.н., профессор, чл.-корр. РАН

кафедра биоинженерии

биологический факультет

МГУ имени М.В.Ломоносова

Лекция 1.

*Введение: хроматин,
эпигенетика, эволюция. ДНК.*

Апрель 2023

Обзор курса

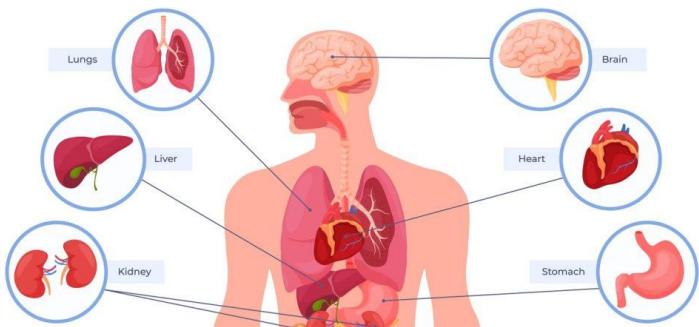
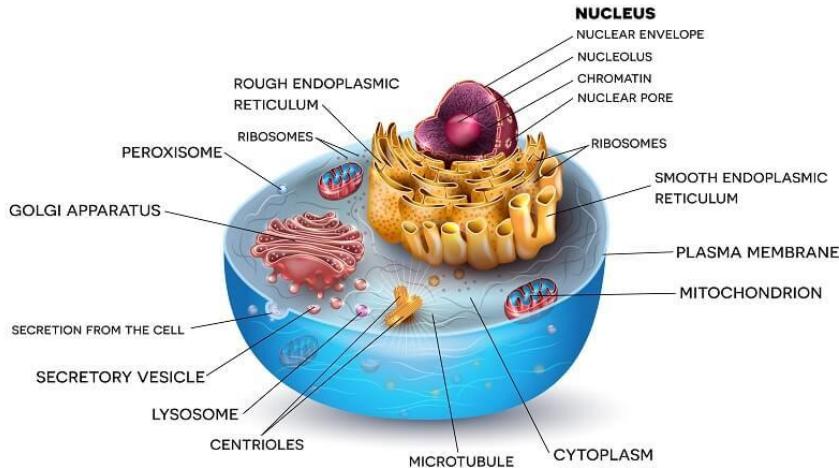
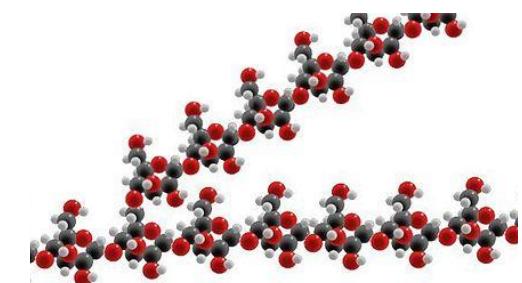
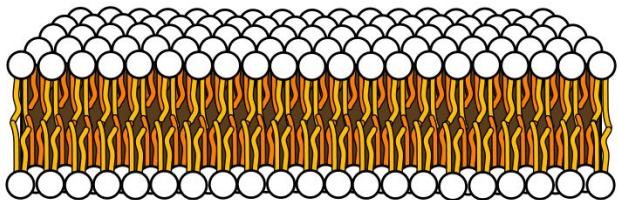
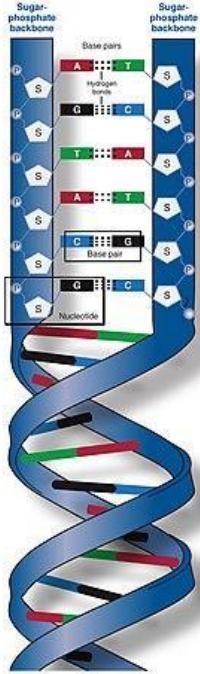
Понедельник	Вторник	Среда	Четверг	Пятница	Суббота
Л1. Введение. ДНК.	Л2. Хроматин. Строение ядра.	Л3. Эпигенетика	Л4. Экспериментальная эпигеномика.		Семинар
Семинар	Семинар	Семинар	Семинар	Л6.Практические аспекты	Консультация

Содержание лекции

- От молекул к геномам и организмам: рождение сложности.
- Эукариоты и прокариоты. Ядра клеток и хроматин. Генетика, эпигенетика и 3Д геномика.
- Хроматин и функционирование живых систем: практические примеры.
- Обзор курса
- Исторический контекст: от Дарвина до эпиаллелей, от Мишера и Флемминга до двойной спирали ДНК
- Все про ДНК/РНК: строение, физические основы структуры и свойства, A,B,Z,C-формы, описание геометрии, суперспиральность, влияние последовательности на структуру и свойства, Уотсон-Крик vs Хугстин, модификации ДНК, механизмы взаимодействия с белками, симметрия и кооперативность, примеры.

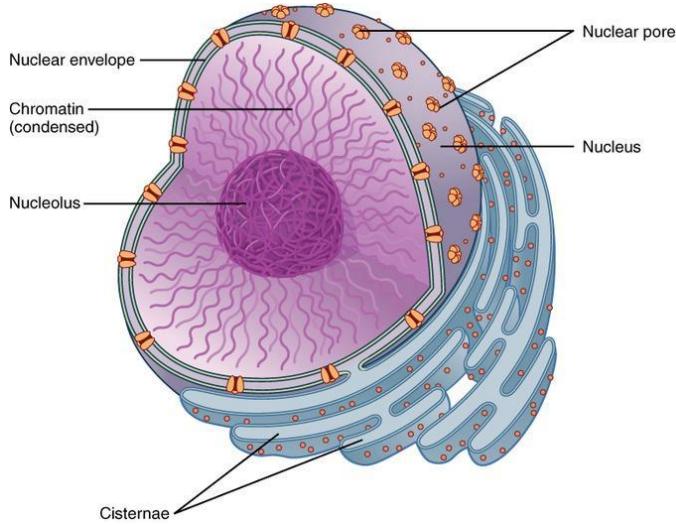
Введение

От молекул к геномам и организмам: рождение сложности

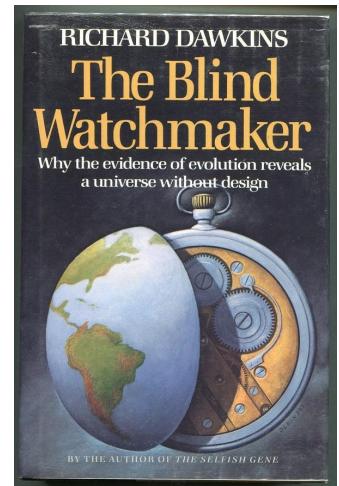
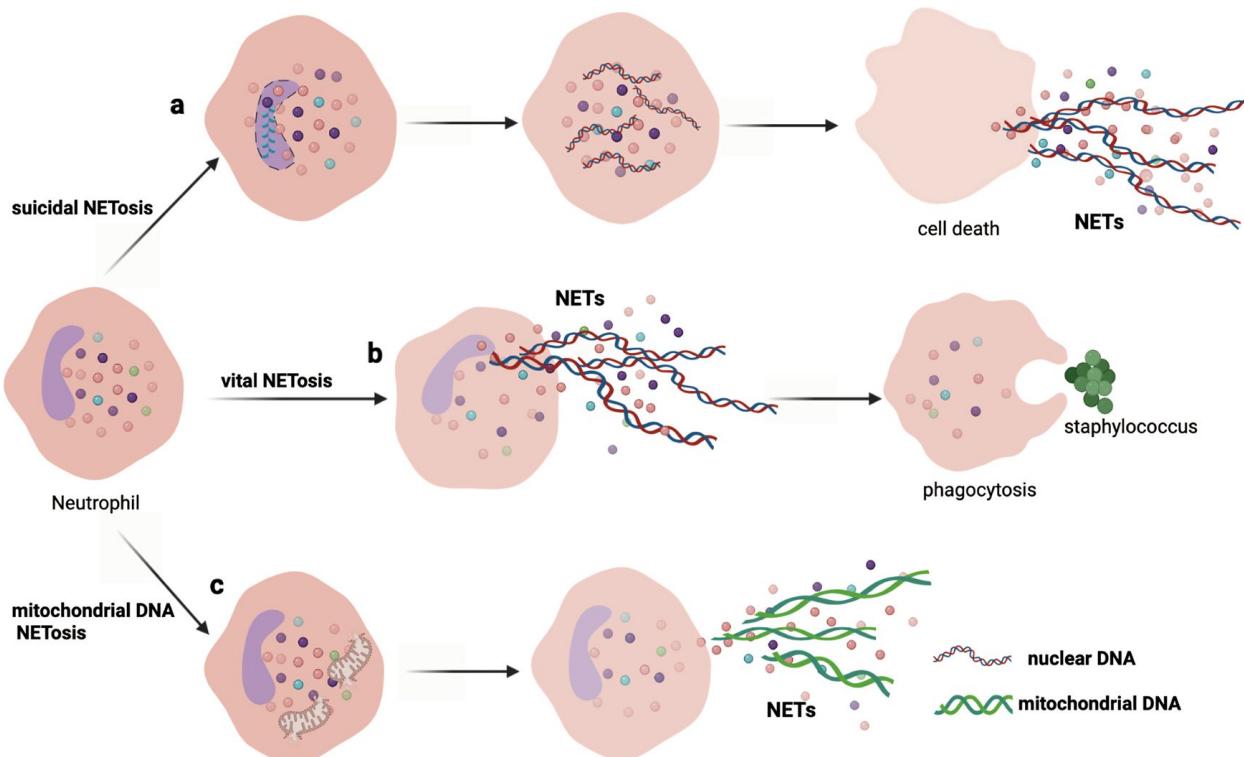


Геном – информация или физический объект?

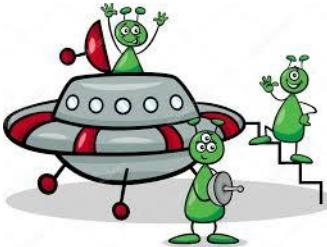
(?) "The genome is the entire set of DNA instructions found in a cell" – NHGRI



- ДНК как физический объект участвует в регуляции считываивания информации, закодированной в ней.
- Геном может функционировать только будучи воплощенным в виде ДНК, окруженной всеми необходимыми вспомогательными (?) молекулами в определенном порядке. Этот порядок также хранит в себе информацию. («проблема яйца и курицы» - что первее ДНК или белки?)



Можно ли по геному восстановить организм?

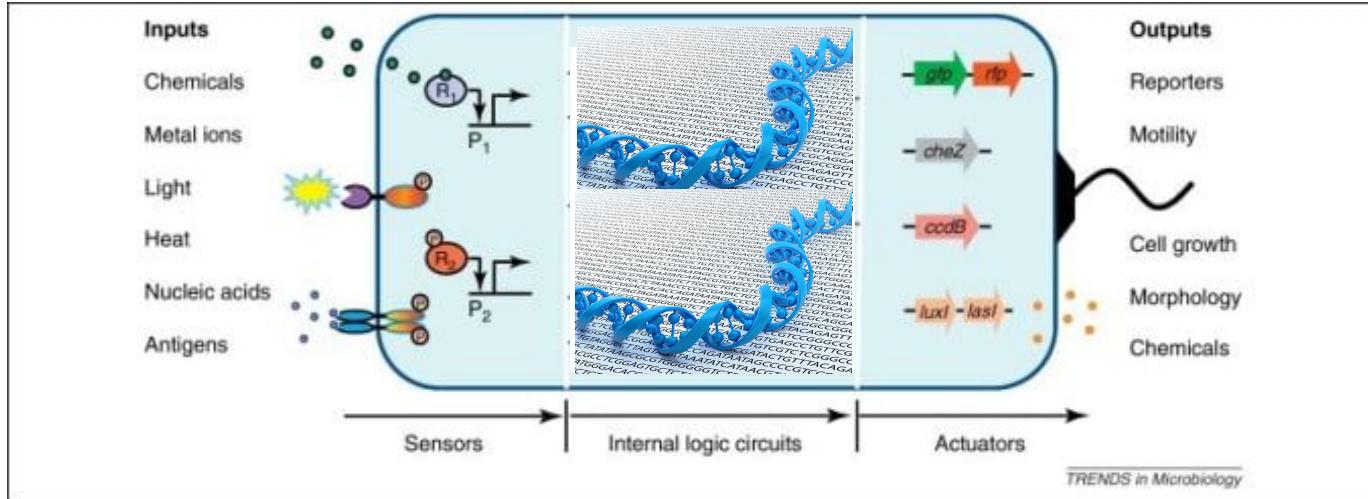


Off planet DNA storage and preservation. Place your unique biological signature – your DNA – aboard a spacecraft that resides either on the moon or in deep space, permanently.



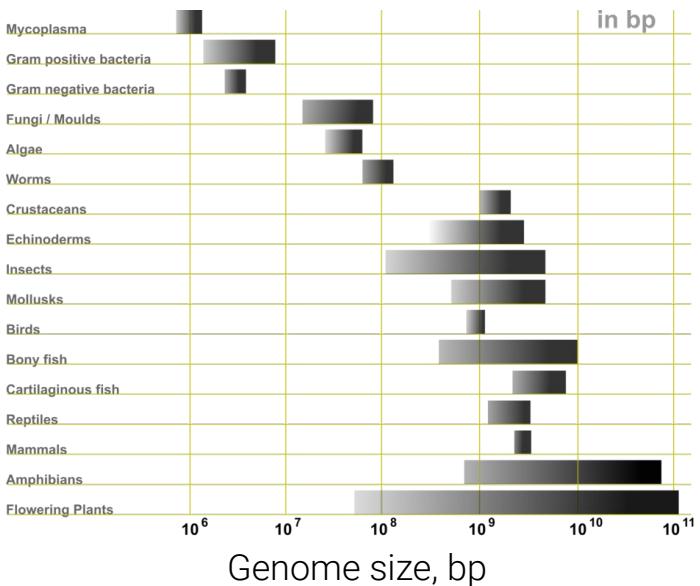
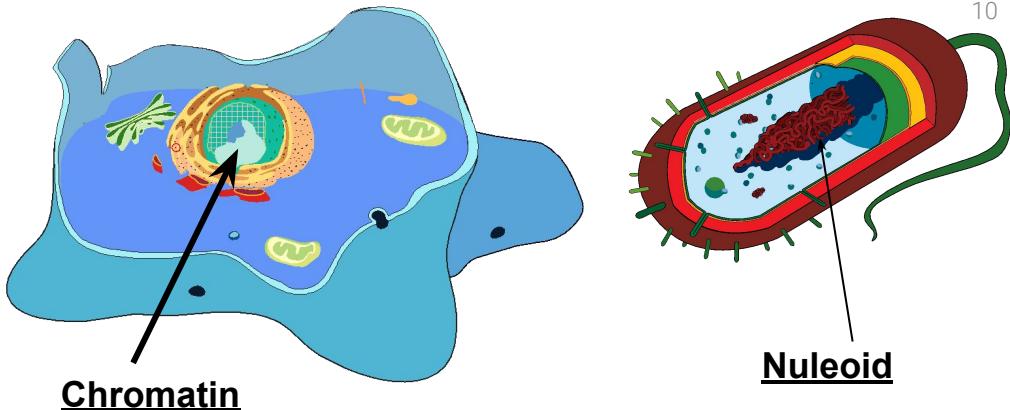
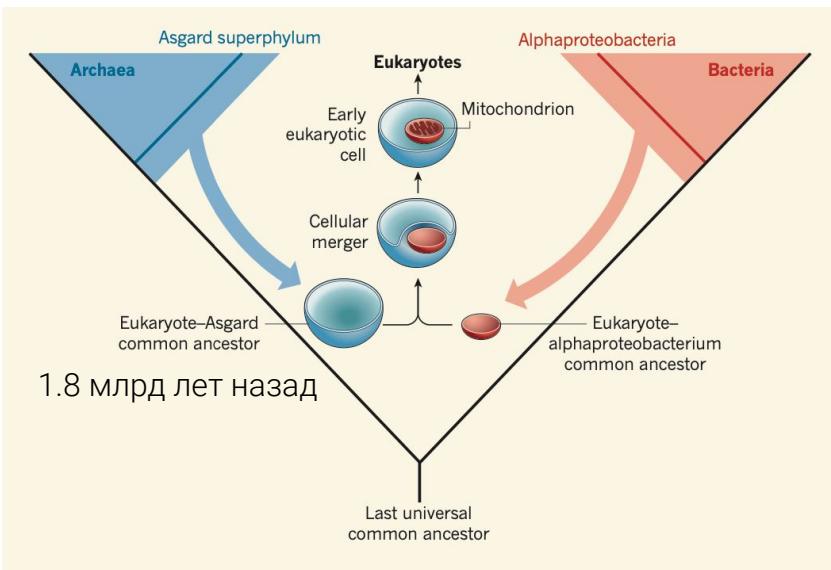
To commemorate the 35th anniversary of the Arecibo message, the artist Joe Davis traveled to Puerto Rico to broadcast the genetic sequence for the large subunit of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO) molecule.

Геном и функционирование организмов

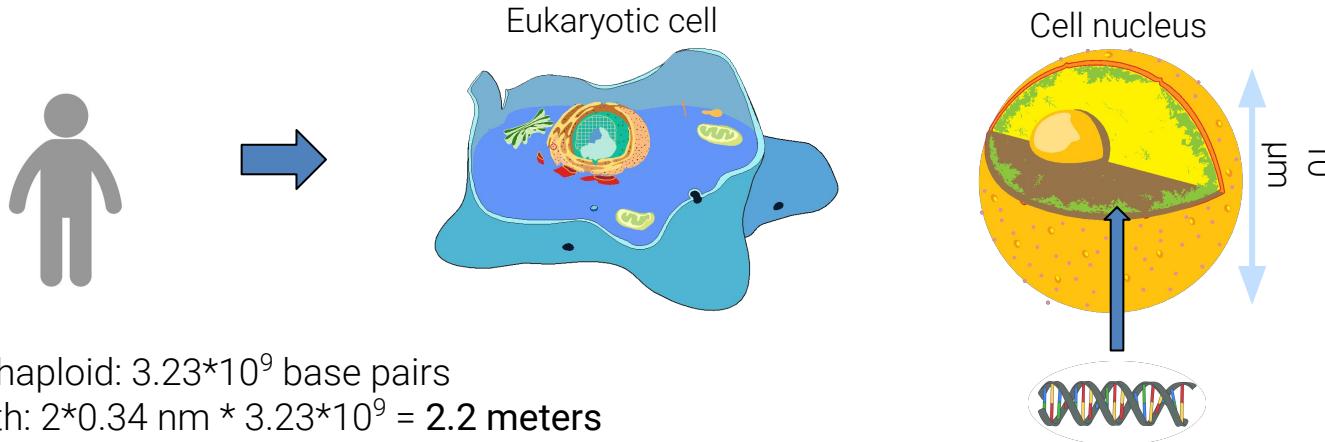


- Функционирование генома – определяет функционирование организма.
- В ответ на внешние стимулы происходит регуляция считывания информации (экспрессии генов).
- Задача XXI века понять комплексно, как регулируется этот процесс, как функционируют геномы.

Эукариоты и прокариоты



Ядра клеток и хроматин



Human DNA haploid: 3.23×10^9 base pairs
 Contour length: $2 \times 0.34 \text{ nm} \times 3.23 \times 10^9 = 2.2 \text{ meters}$
 Number of cells in human body: $\sim 30 \times 10^{12}$
 Total DNA length: $2.2 \times 30 \times 10^{12} = 66 \text{ billion km}$



Sun to Earth: 150 million km

- The human DNA could be densely packed into a cube of size:
 $(2 \text{ nm} \times 2 \text{ nm} \times 2 \times 0.34 \text{ nm} \times 3.23 \times 10^9)^{1/3} = 2 \mu\text{m}$
- The human DNA would form a random coil with gyration radius:

A schematic diagram of a random coil polymer. It consists of several line segments forming a loop-like shape, with arrows indicating the direction of the segments. A dashed circle around the center represents the gyration radius \vec{R}_G . A vector \vec{r}_i points from the center to one of the segments.

$$R_G = \frac{\sqrt{N} l}{\sqrt{6}} = 135 \mu\text{m}$$

Хроматин – ДНК + «связанные» с ней белки и РНК.

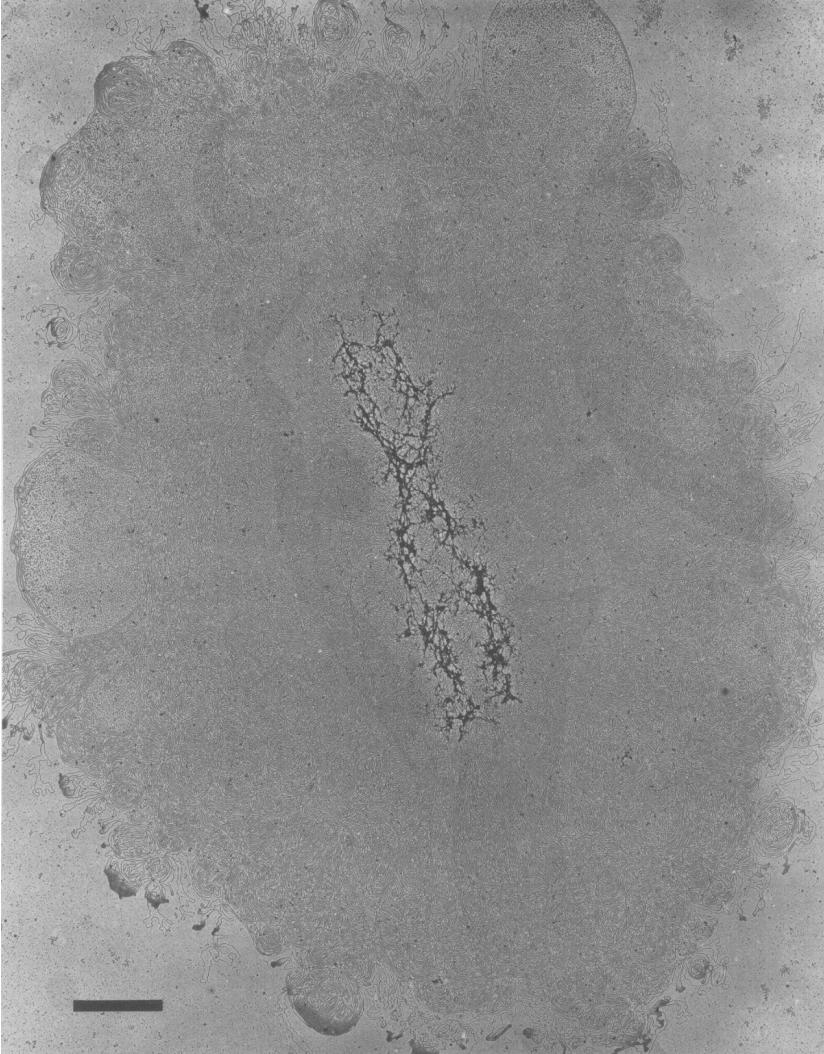
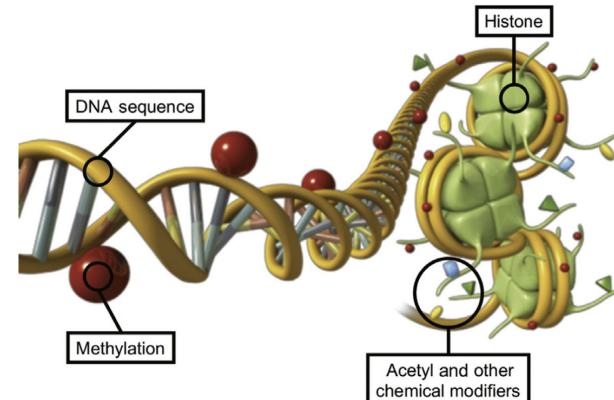
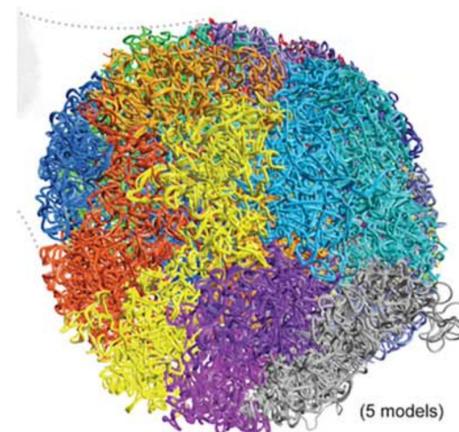
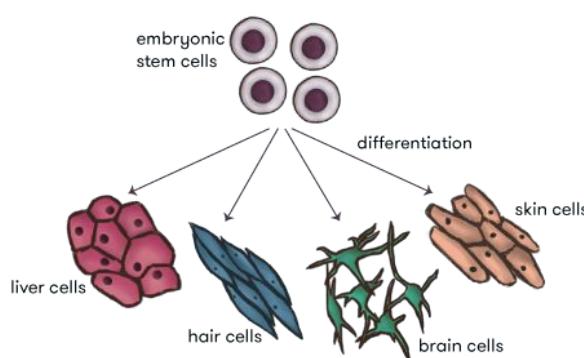


Figure 1. Electron Micrograph of a Histone-Depleted Metaphase Chromosome from HeLa

Paulson, James R.; Laemmli, U.K.
(1977). *The structure of histone-depleted metaphase chromosomes*. *Cell*, 12(3),
817–828. doi:10.1016/0092-8674(77)9028
0-X

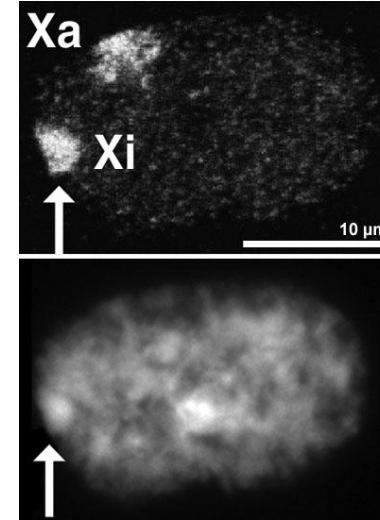
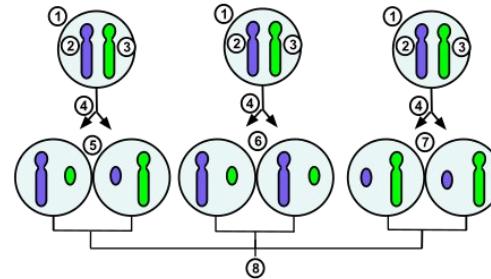
Генетика, эпигенетика, 3Д-геномика, эпитранскриптомика

- Генетика (от греч. γενητως — «порождающий, происходящий от кого-то») — раздел биологии, занимающийся изучением генов, генетических вариаций и наследственности в организмах
- Эпигеномом называется множество молекулярных меток, регулирующих активность генов, но не изменяющих первичную структуру ДНК.



Практические примеры

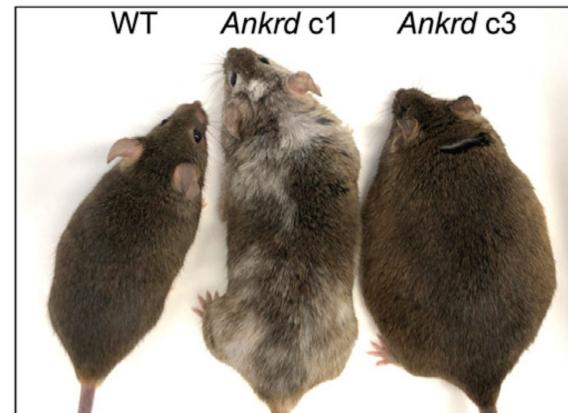
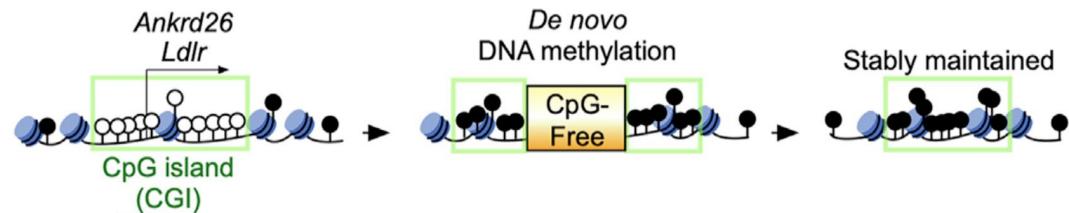
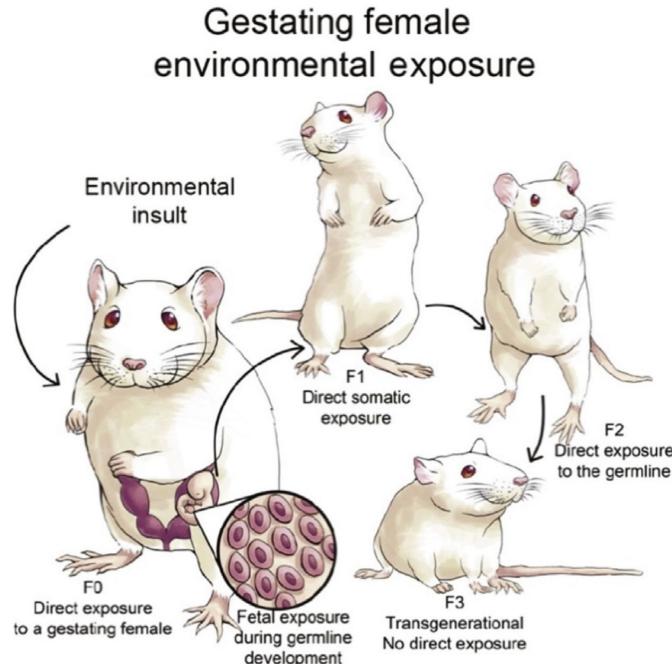
- Инактивация X-хромосомы



Трёхцветная кошка —
домашняя кошка с пятнами чёрного,
белого и рыжего цветов

Практические примеры

- Трасгенерационное наследование в млекопитающих

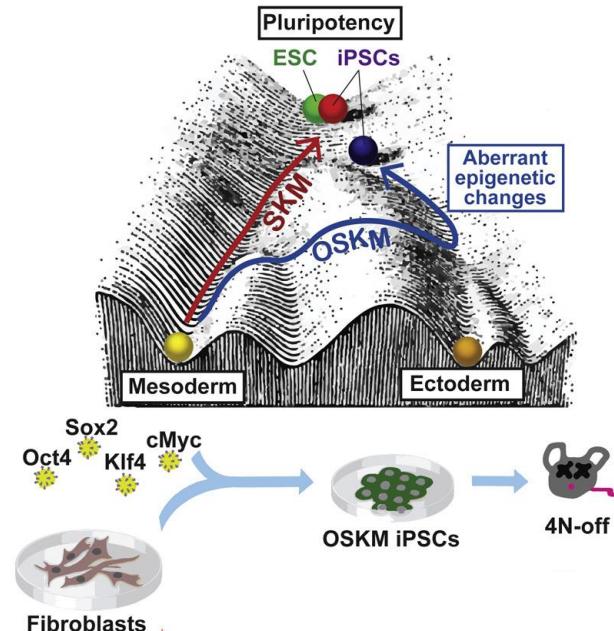
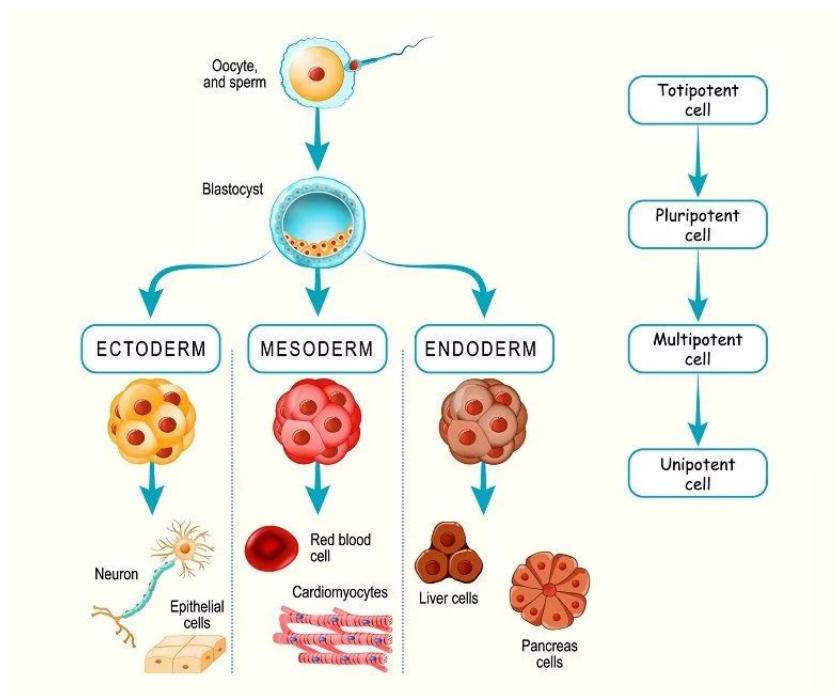


Cell

Transgenerational inheritance of acquired epigenetic signatures at CpG islands in mice

Практические примеры

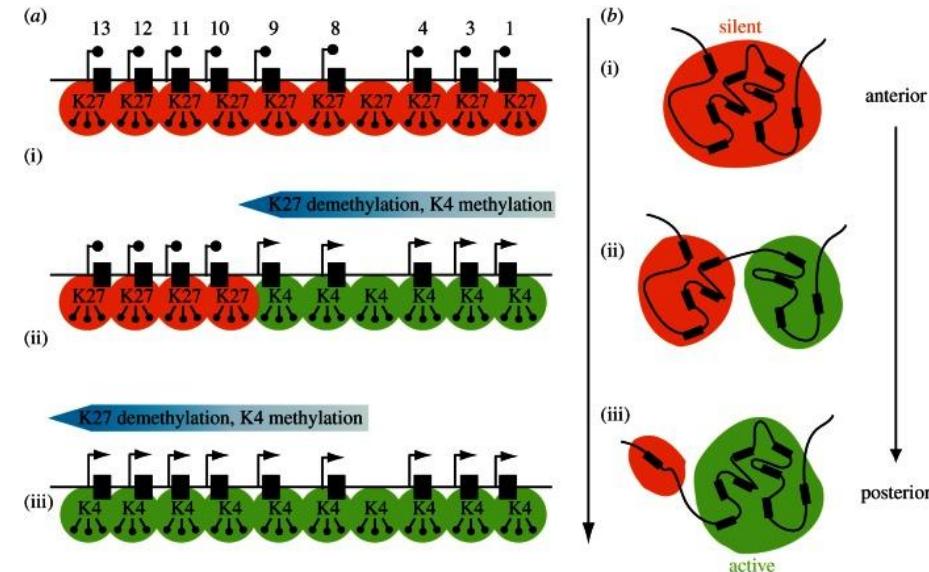
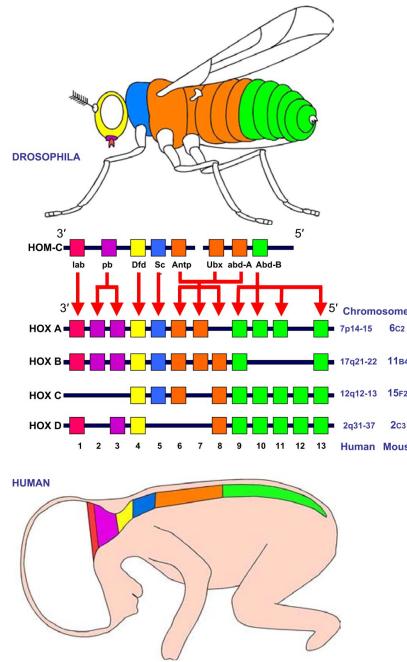
- Дифференцировка клеток/тканей и индукция плюрипотентности



Нобелевская премия 2012 г

Практические примеры

- Контроль развития организма вдоль оси голова-хвост

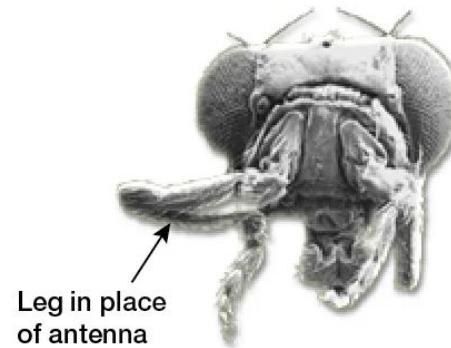
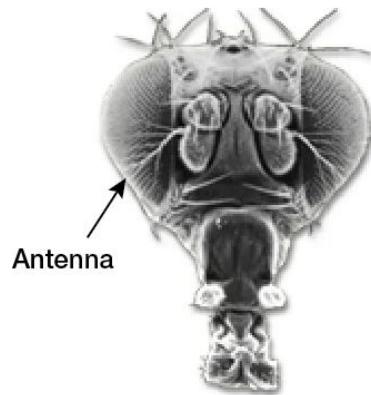


«Колinearность» – гены, расположенные вдоль ДНК, последовательно активируются в сегментах тела от головы к хвосту

Ноx-гены

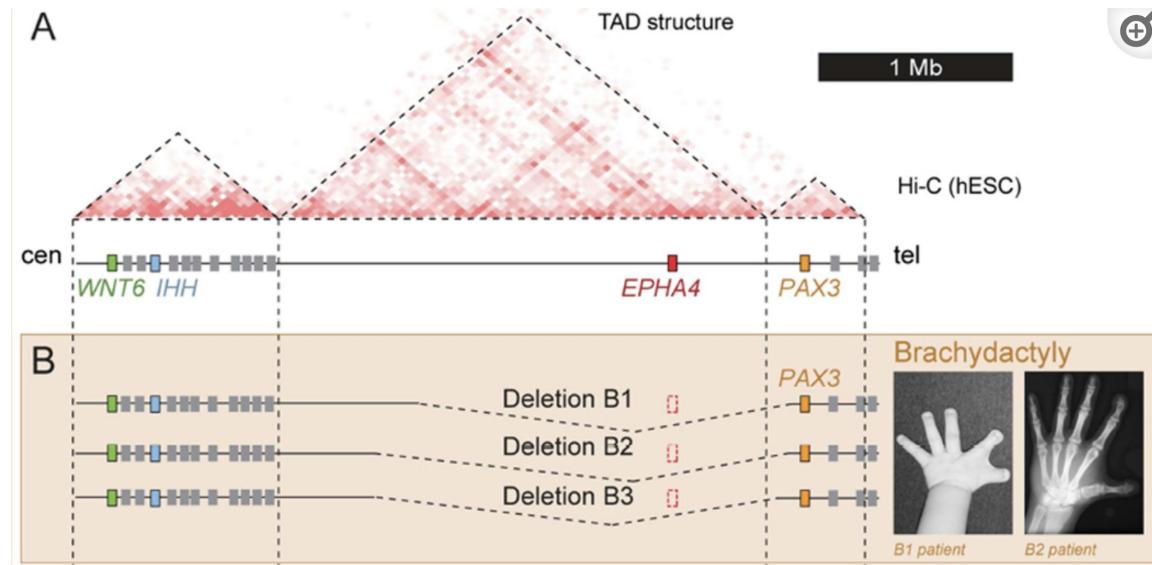
Практические примеры

- Мутации в HOX-генах



Практические примеры

- Трехмерная организация генома важна для развития организма



Cell, Author manuscript; available in PMC 2016 May 21.

Published in final edited form as:

Cell. 2015 May 21; 161(5): 1012–1025.

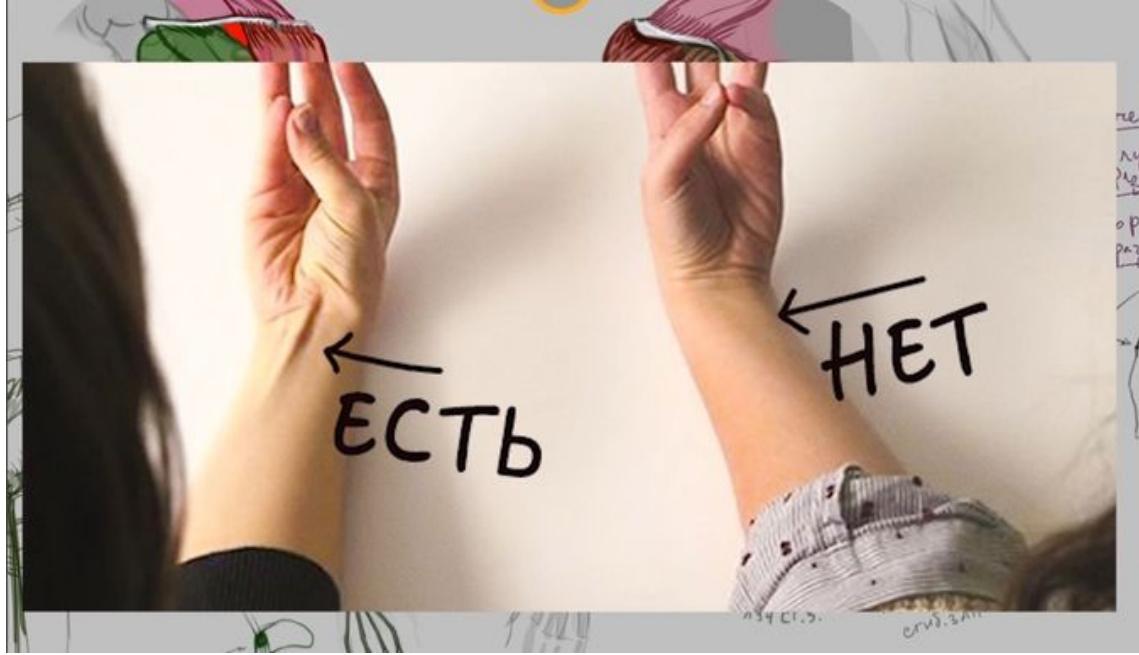
Published online 2015 May 7. doi: [10.1016/j.cell.2015.04.004](https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.004)

PMCID: PMC4791538

NIHMSID: NIHMS759344

PMID: 25959774

Disruptions of Topological Chromatin Domains Cause Pathogenic Rewiring of Gene-Enhancer Interactions



Длинная ладонная мышца

Acta Clin Croat. 2018 Dec; 57(4): 772–775.

doi: [10.20471/acc.2018.57.04.21](https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.04.21)

PMCID: PMC6544091

PMID: [31168216](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31168216/)

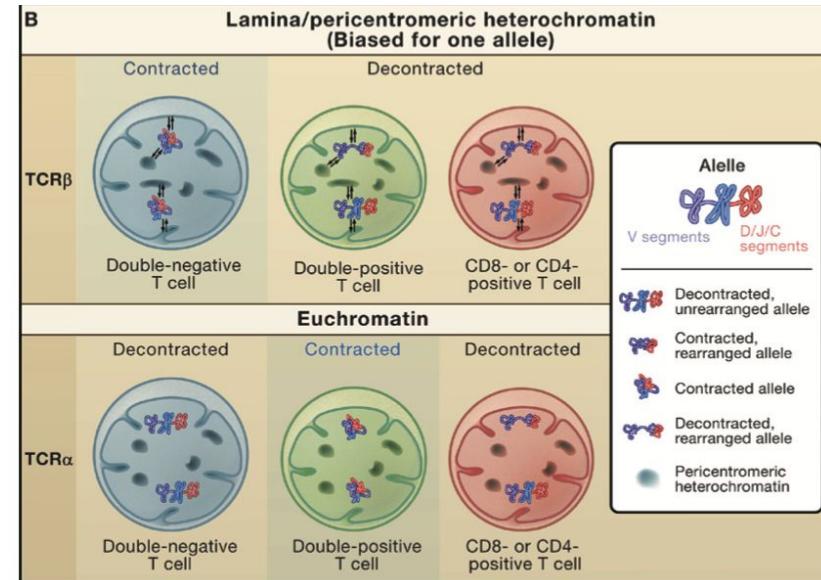
PALMARIS LONGUS ABSENT IN ONE IDENTICAL TWIN: A CASE REPORT

Nikola Vučinić,¹ Mirela Erić,¹ Lovorka Grgurević,² Ivo Dumić-Čule,³ and Nino Tičinović³

Практические примеры

- Развитие иммунных клеток

Animation of Loop Extrusion-mediated RAG Chromatin Scanning During IgH Locus D to J_H joining



Chromatin Architecture and the Generation of Antigen Receptor Diversity

Suchit Jhunjhunwala,¹ Menno C. van Zelm,^{1,2} Mandy M. Peak,¹ and Cornelis Murre,^{1,*}

Figure 3. Location and Conformation of Antigen Receptor Loci in Developing Lymphocytes

Практические примеры

- Вирусы и эпигенетика, внутриклеточный иммунитет

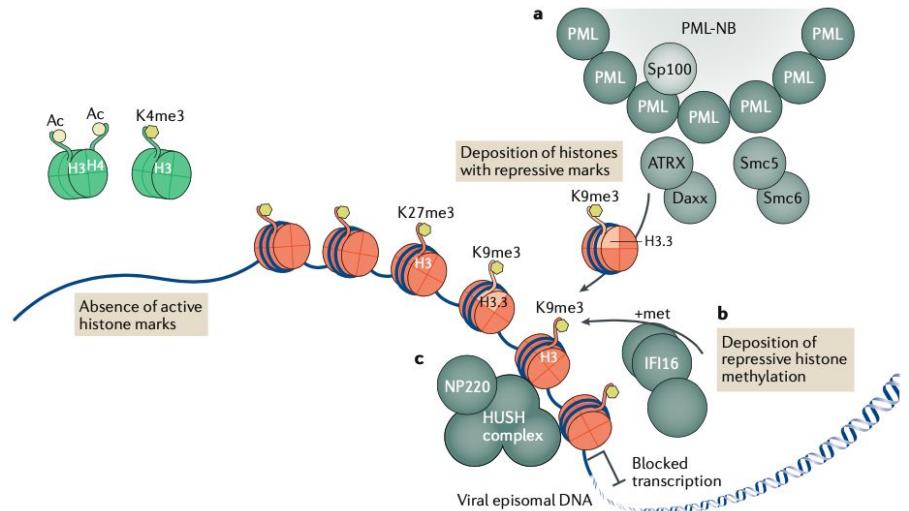
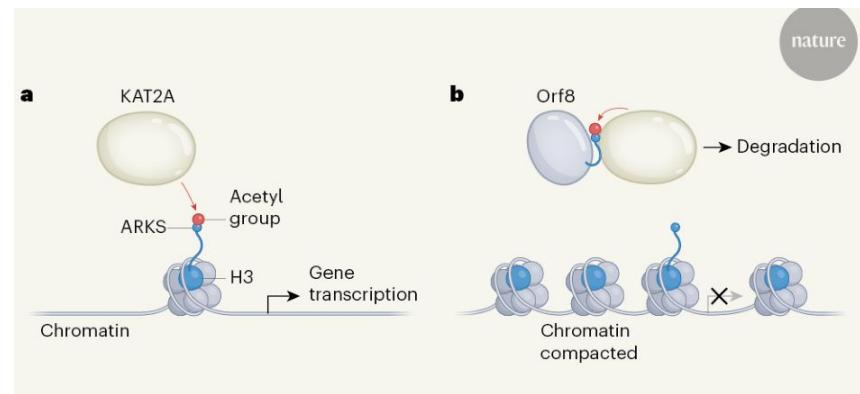


Fig. 1 | Epigenetic repression of viral DNA.

Epigenetic and epitranscriptomic regulation of viral replication

Kevin Tsai¹ and Bryan R. Cullen^{2,✉}



NEWS AND VIEWS | 06 October 2022

SARS-CoV-2 mimics a host protein to bypass defences

REVIEW

Drawing on disorder: How viruses use histone mimicry to their advantage

Alexander Tarakhovsky¹ and Rab K. Prinjha^{2,✉}

Исторический контекст

От Дарвина до эпиаллелей

Ключевые вопросы биологии:

1. Как функционируют живые системы?
2. **Как они возникают и развиваются?**
3. Как мы можем на них воздействовать?

**Жан-Батист Пьер Антуан де Моне
Шевалье де Ламарк**

фр. Jean-Baptiste Pierre Antoine de Monet,
Chevalier de Lamarck

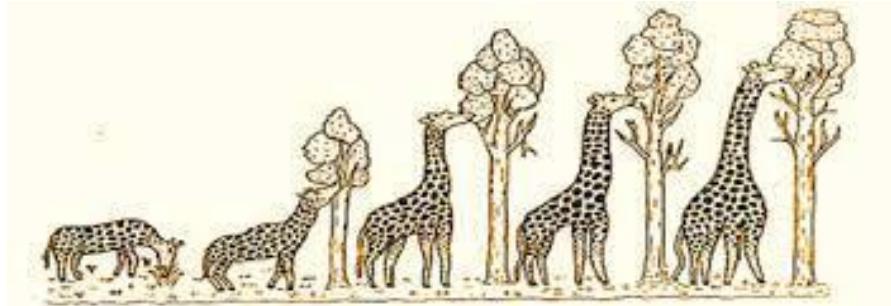
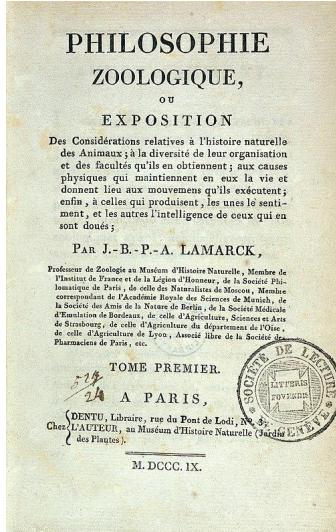
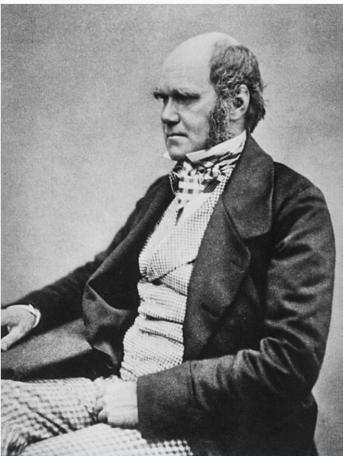


Diagram showing elongation of neck in giraffe according to Lamarckism

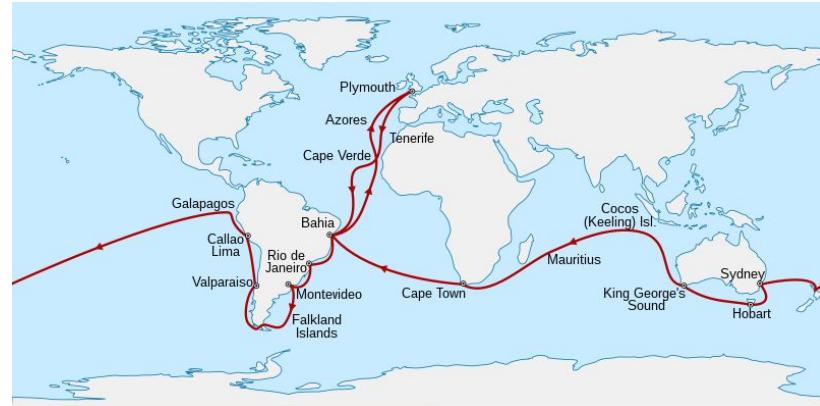
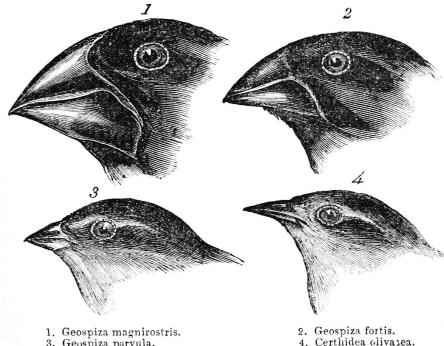
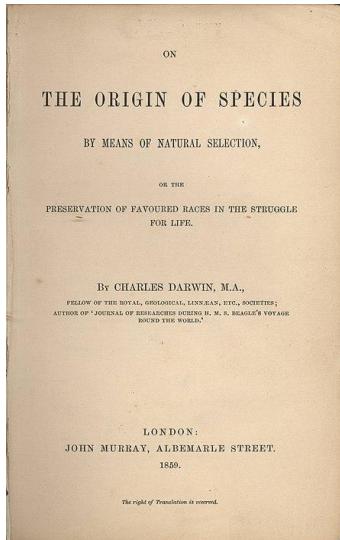
Дарвинизм

Charles Darwin

FRS FRGS FLS FZS JP



Darwin, c. 1854, when he was preparing *On the Origin of Species*^[1]

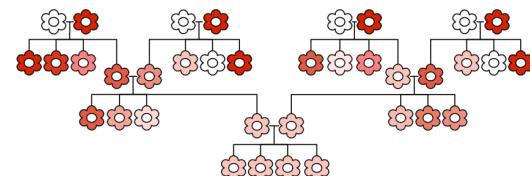


The round-the-world voyage of the *Beagle*, 1831–1836

Основные факторы эволюции по Дарвину

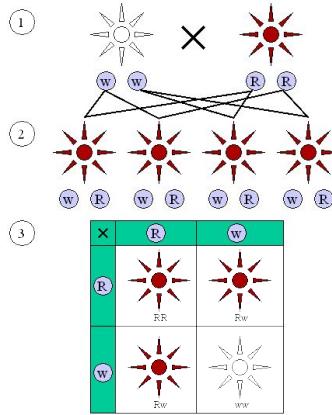
- Наследственная изменчивость
- Борьба за существование
- Естественный отбор
- Изоляция

Проблемы теории: смешанной наследование, «заболачивание» (кошмар Джленкина)



Survival of the fittest

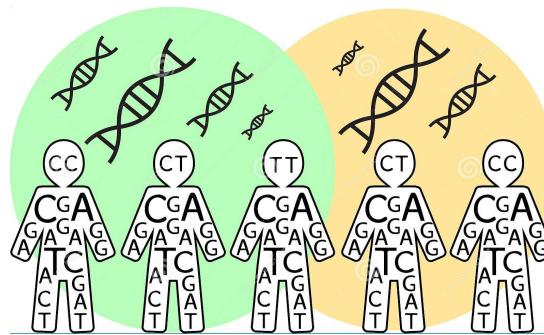
На пути к синтетической теории эволюции



Грегор Иоганн Мендель
Gregor Johann Mendel



1822-1884

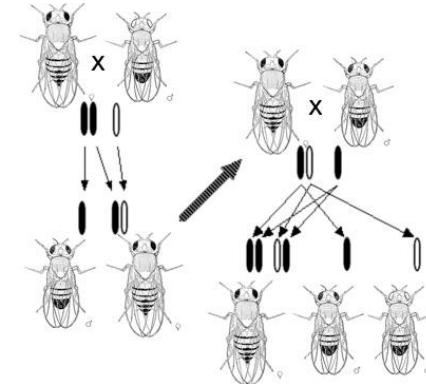


Популяционная генетика

Рональд Эйлмер Фишер
англ. Sir Ronald Aylmer Fisher



1890-1962



Хромосомная теория наследственности

Томас Хант Морган
англ. Thomas Hunt Morgan



1866-1945

Развитие представлений о ДНК

1869



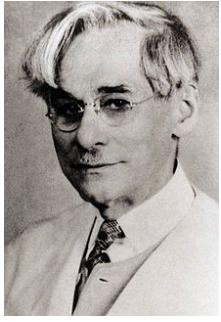
~1880



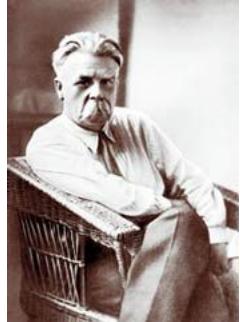
~1901



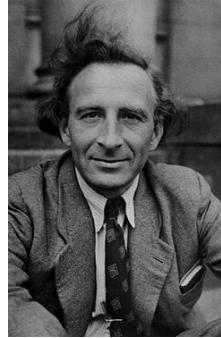
~1919



1927



1935



Oswald Avery

Friedrich Miescher

Walther Flemming

Albrecht Kossel

Phoebus Levene

Николай Константинович Кольцов

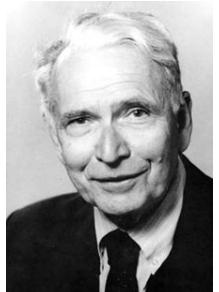
Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский

Max Delbrück
Karl Zimmer

1944



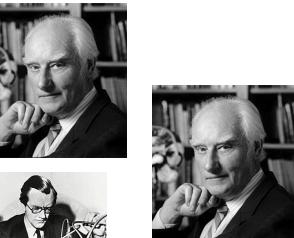
1947



1953



1957



1958



1966

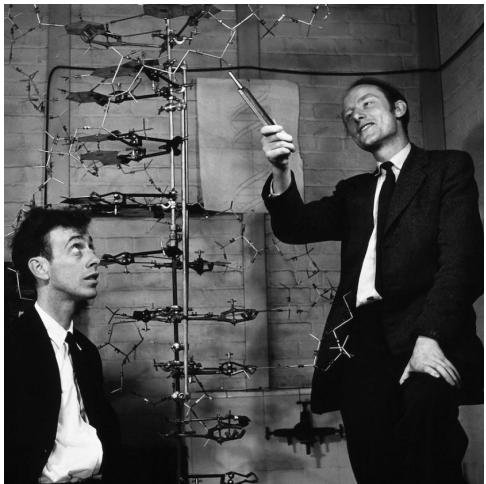


Erwin Schrödinger

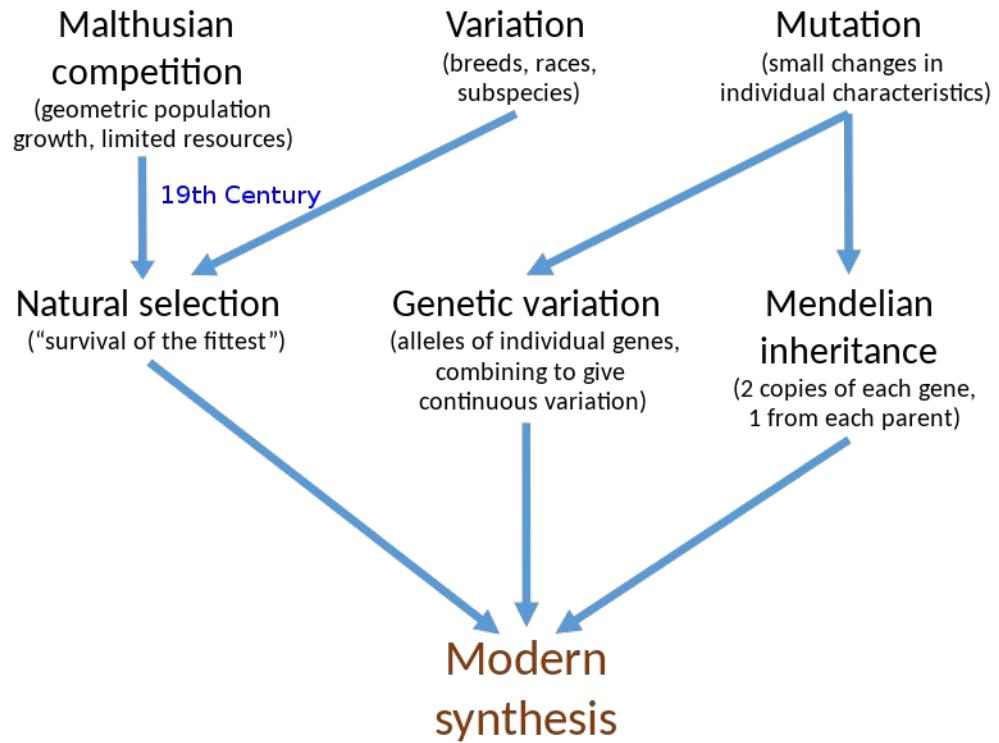
Erwin Chargaff

Синтетическая теория эволюции (середина XX века)

Modern Synthesis



1953



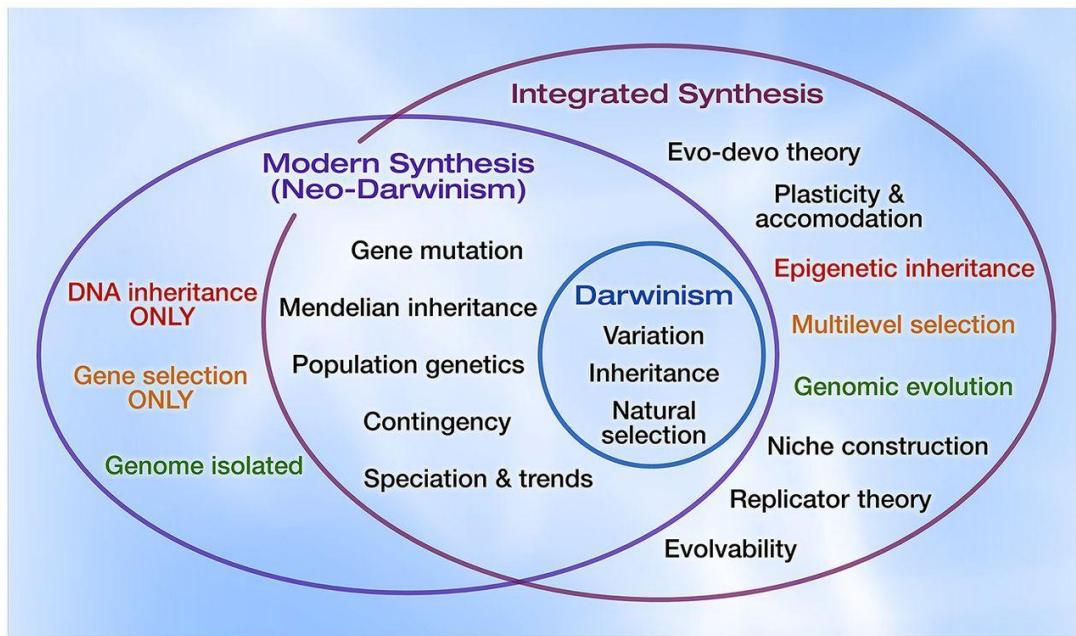
Открыта мемориальная доска памяти сотрудников факультета, пострадавших за свои научные убеждения в 1948 году

24 ноября на биологическом факультете состоялось большое событие.

Торжественно была открыта мемориальная доска памяти сотрудников факультета, пострадавших за свои научные убеждения в 1948 году.



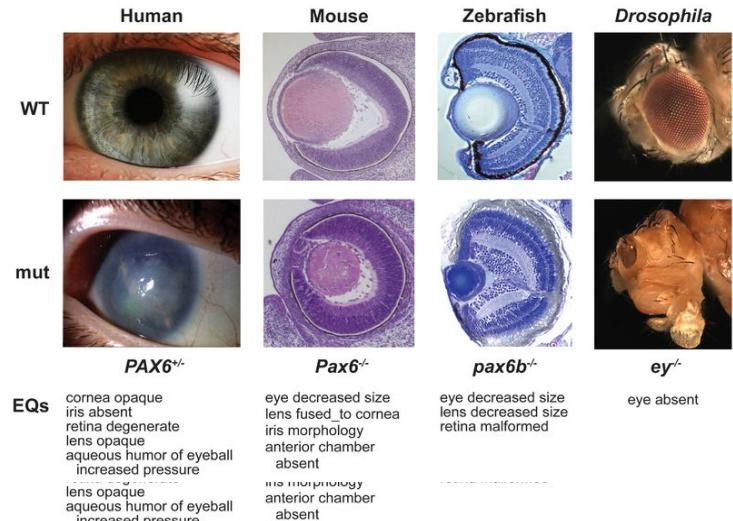
Postmodern evolutionary synthesis (?)



Evolution beyond neo-Darwinism: a new conceptual framework

Denis Noble

+ Author and article information
J Exp Biol (2015) 218 (1): 7–13.



Ген рак-6 контролирует развитие глаз в различных видах животных

О строении и свойствах нуклеиновых кислот (ДНК/РНК)

Развитие представлений о ДНК

1869



Friedrich Miescher

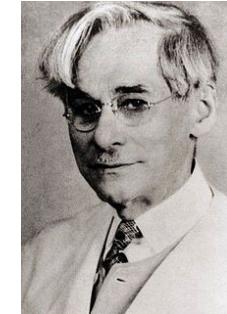
1896: изолировал нуклеиновые кислоты из нейтрофилов (нуклин)



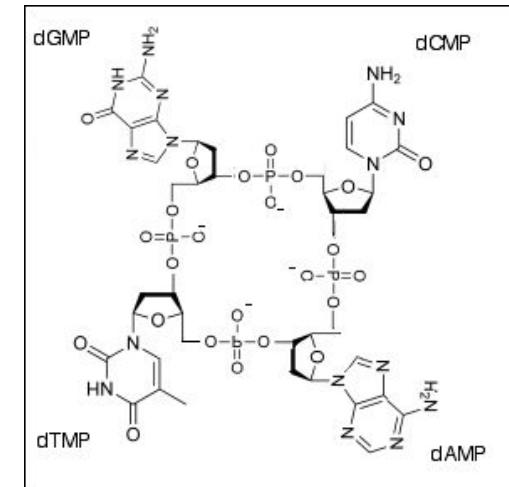
Albrecht Kossel

1885-1901:
выделил аденин, тимин,
гуанин, урацил
Нобелевская премия
1910

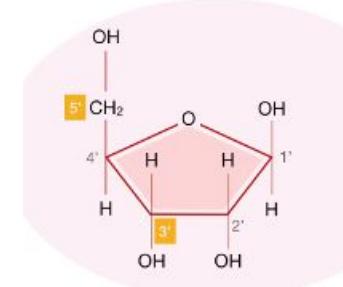
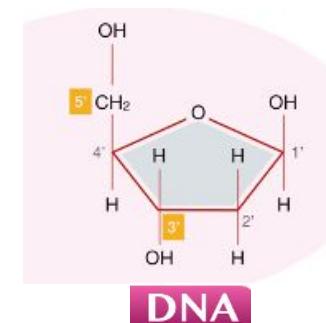
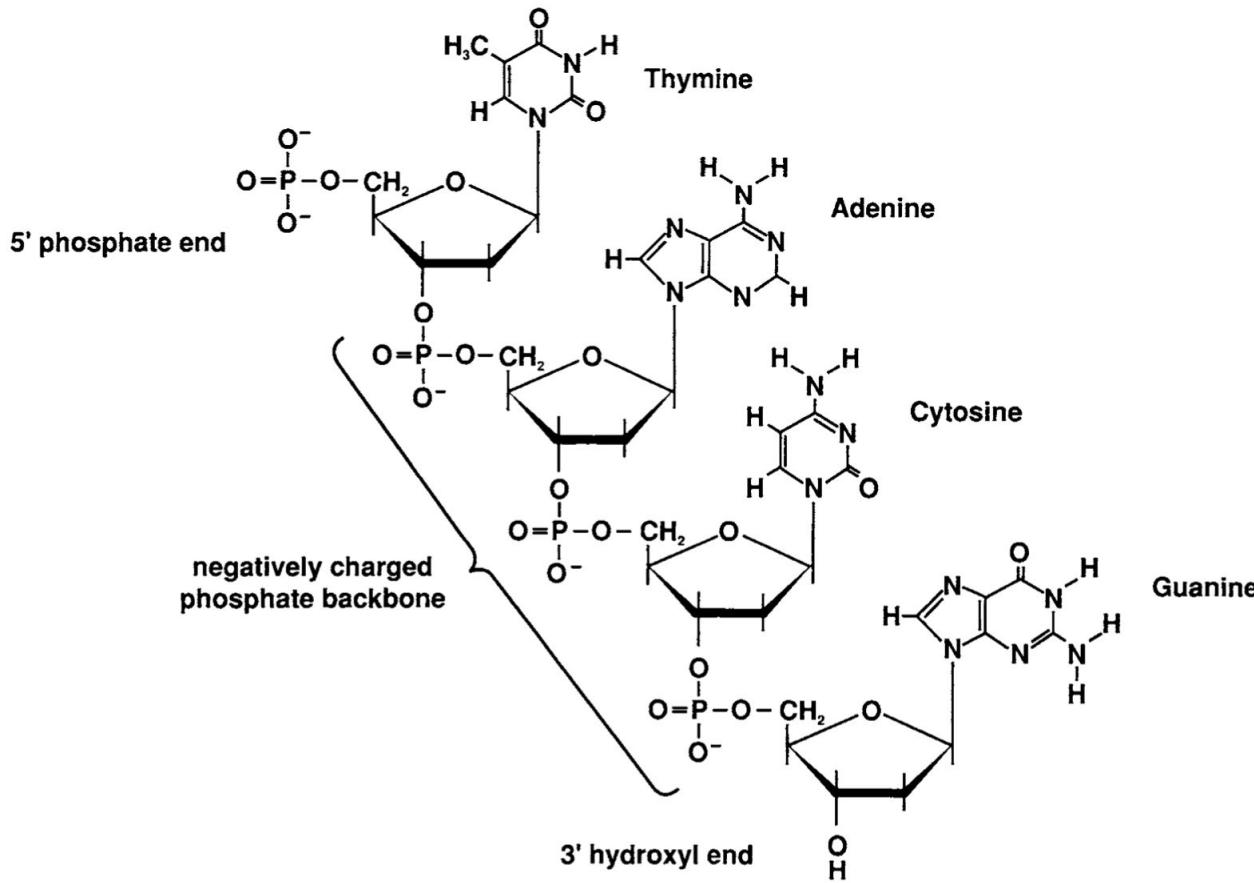
~1919



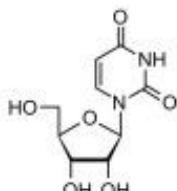
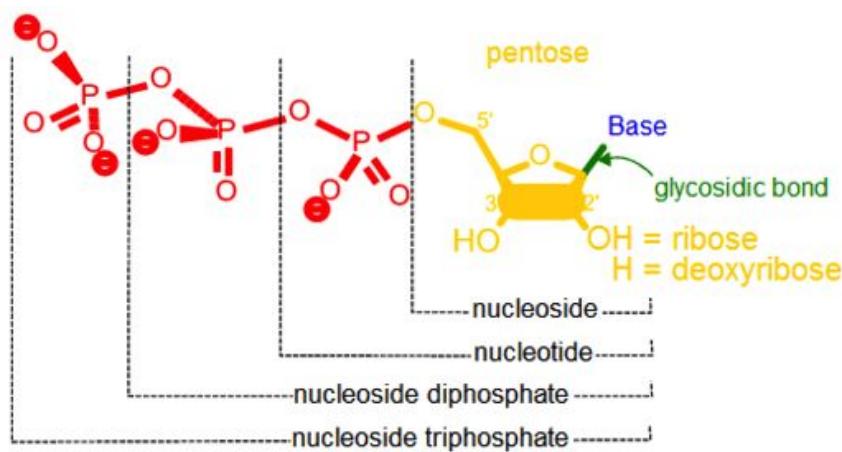
Phoebus Levene



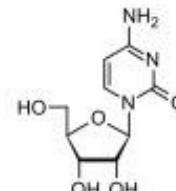
Структура ДНК/РНК



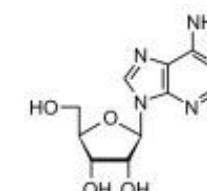
RNA



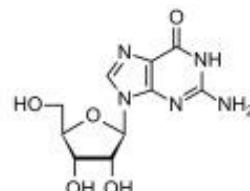
Uridine



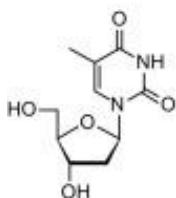
Cytidine



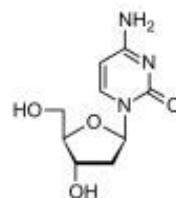
Adenosine



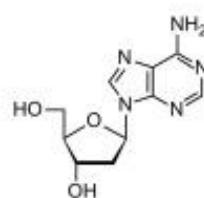
Guanosine



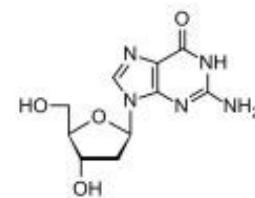
Deoxythymidine



Deoxycytidine

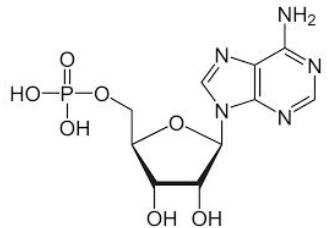


Deoxyadenosine

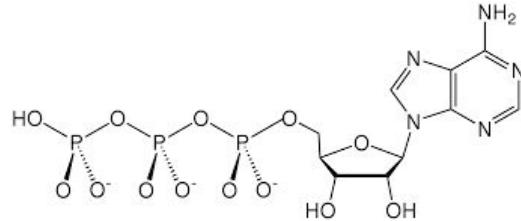


Deoxyguanosine

The name of the base is generally used as the name of the nucleotide, although this is technically incorrect.

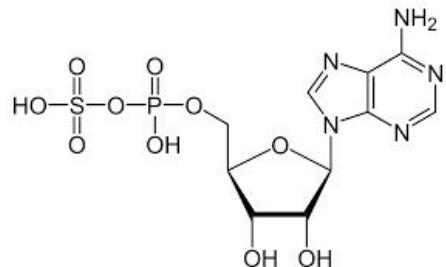


adenosine monophosphate (AMP)

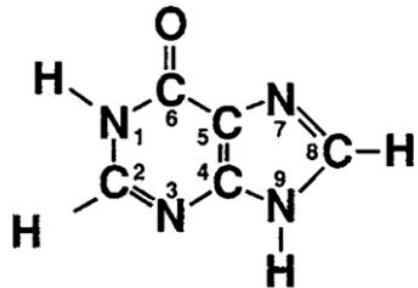
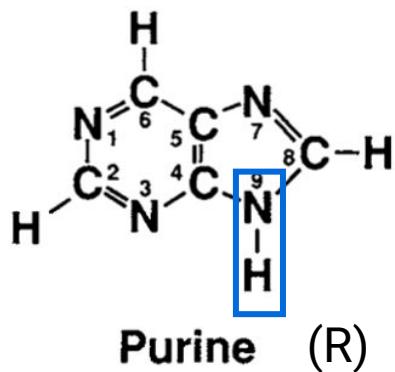


adenosine triphosphate (ATP)

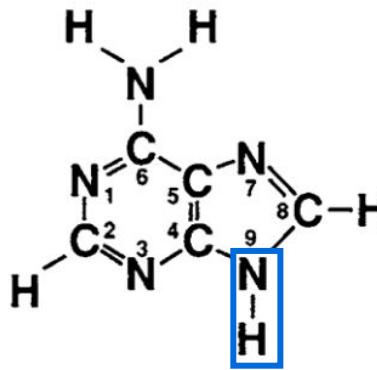
AMP derivateives => adenylyl



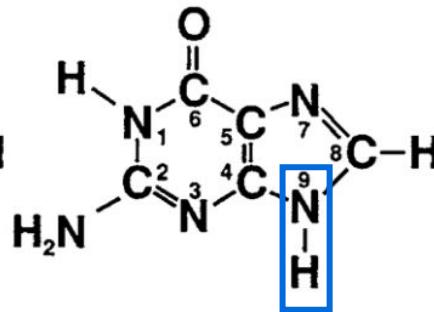
adenylyl sulfate



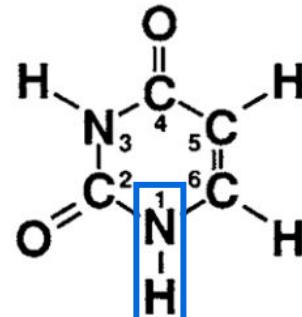
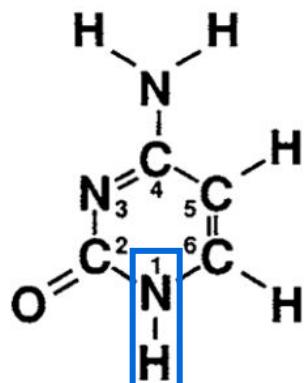
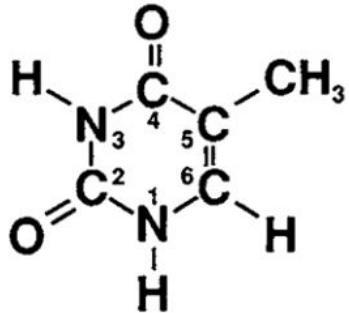
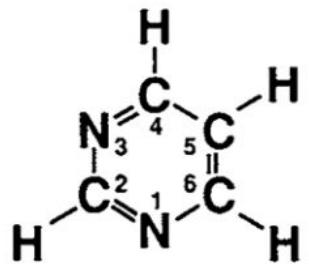
Hypoxanthine

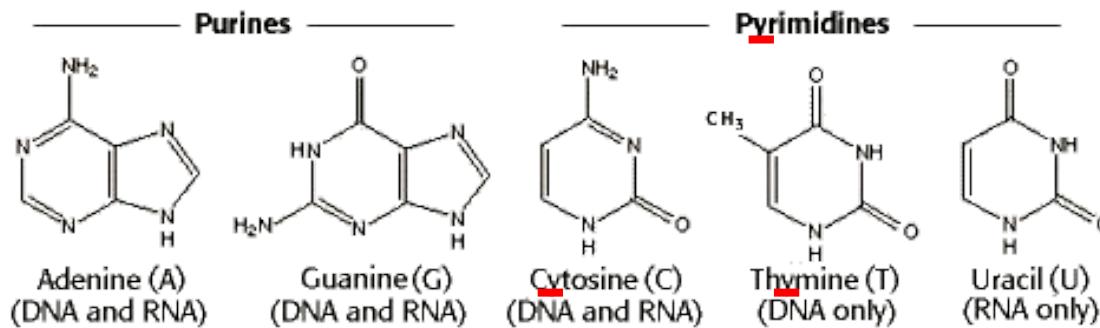


Adenine
(A)



Guanine
(G)

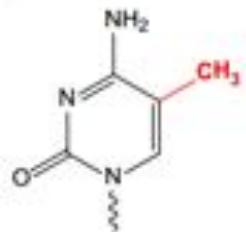




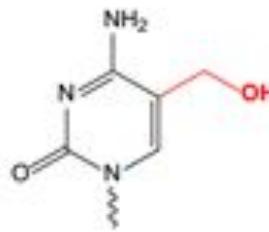
Однобуквенные обозначения классов оснований

	A	T	G	C
Weak/Strong	W	W	S	S
Purine/Pyrimidine	R	Y	R	Y

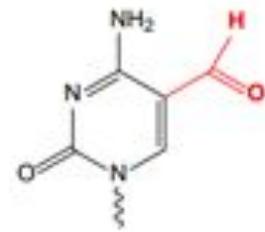
Некоторые модифицированные основания



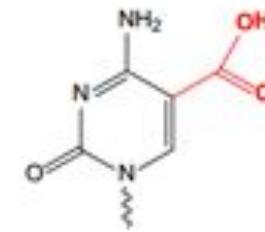
5-mC



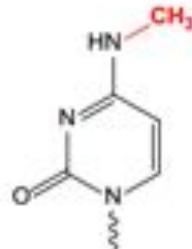
5-hmC



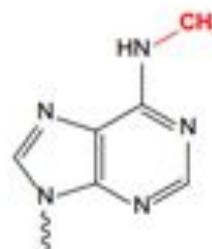
5-fC



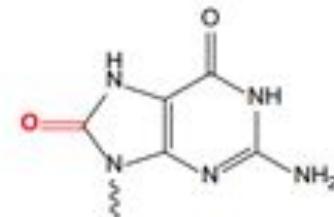
5-caC



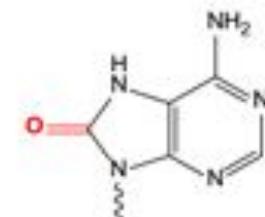
4-mA



6-mA



8-oxoG

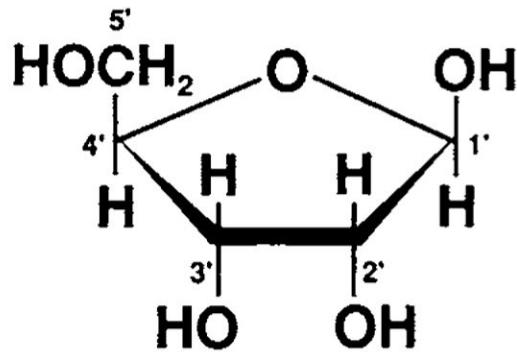


8-oxoA

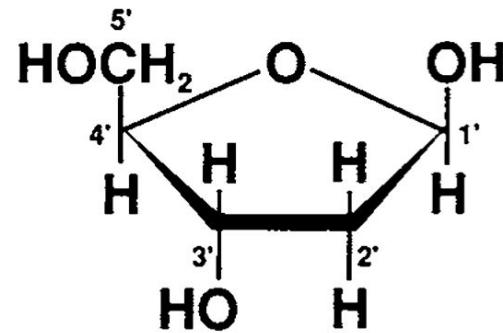


INTERNATIONAL UNION OF
PURE AND APPLIED CHEMISTRY

IUPAC nucleotide code	Base
A	Adenine
C	Cytosine
G	Guanine
T (or U)	Thymine (or Uracil)
R	A or G
Y	C or T
S	G or C
W	A or T
K	G or T
M	A or C
B	C or G or T
D	A or G or T
H	A or C or T
V	A or C or G
N	any base
. or -	gap



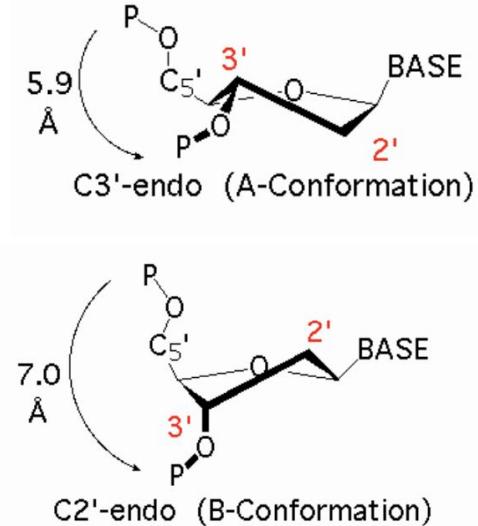
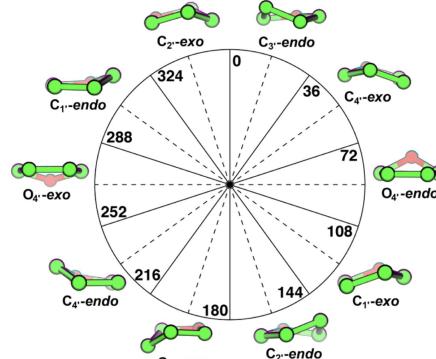
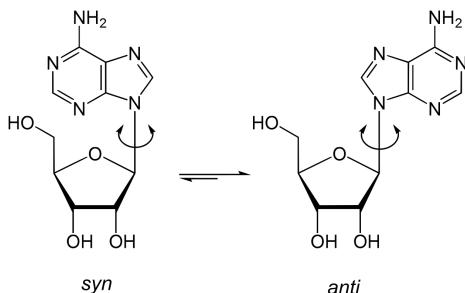
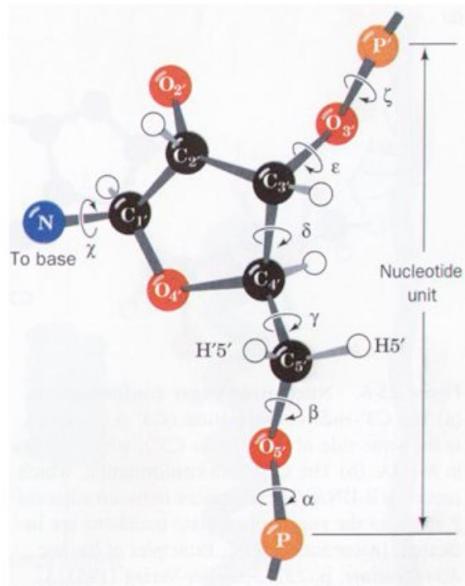
β -D-ribose



β -D-2-Deoxyribose

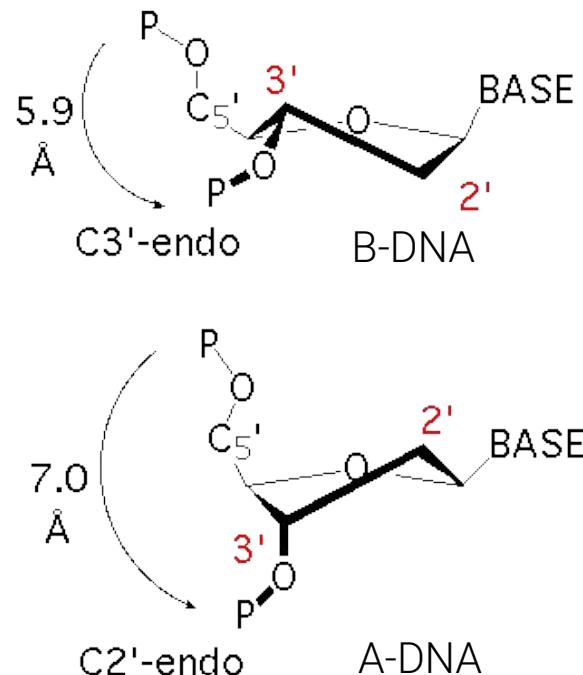
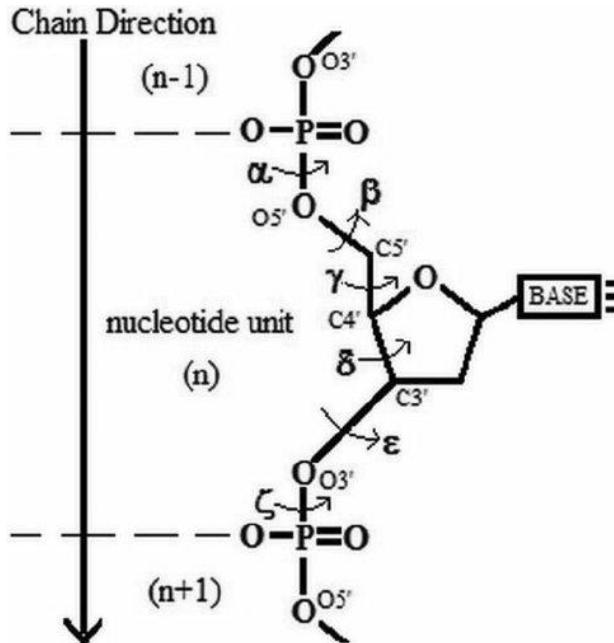
Пентозы (от др.-греч. πέντε — «пять» + фр. -ose — суффикс, обозначающий принадлежность к сахарам) — общее родовое химическое название класса пятиуглеродных [моносахаридов](#), то есть сахаров, общей формулой которых является $C_5(H_2O)_5$, или $C_5H_{10}O_5$.^[1]

Конформации нуклеотидов



- Nucleotides are flexible and can be twisted about their C-O-P bonds
- There are 7 torsion angles in a nucleotide
- One torsion angle joins base to sugar
- The deoxyribose ring is “puckered” and not flat
- Puckering influences position of PO_4 on the 3' and 5' position of the ring

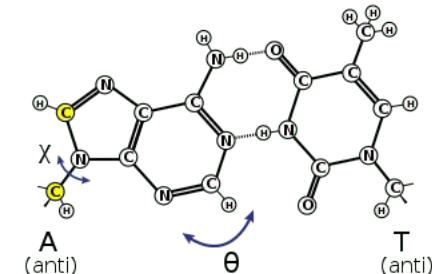
DNA structure, properties and its description



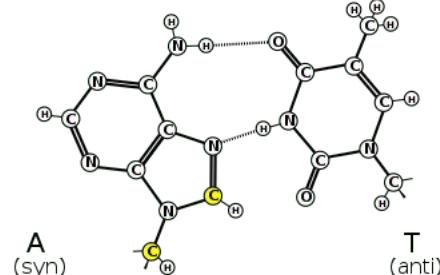
DNA backbone

sugar puckering
20 possible states

Watson-Crick

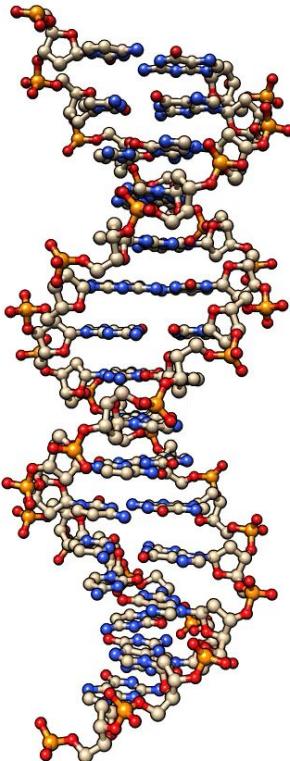


Hoogsteen

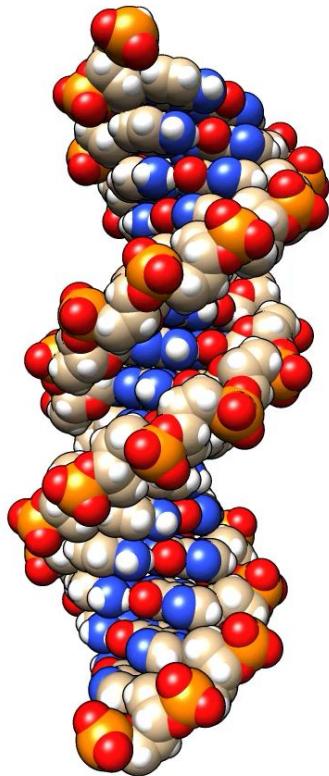


glycosidic bond angle

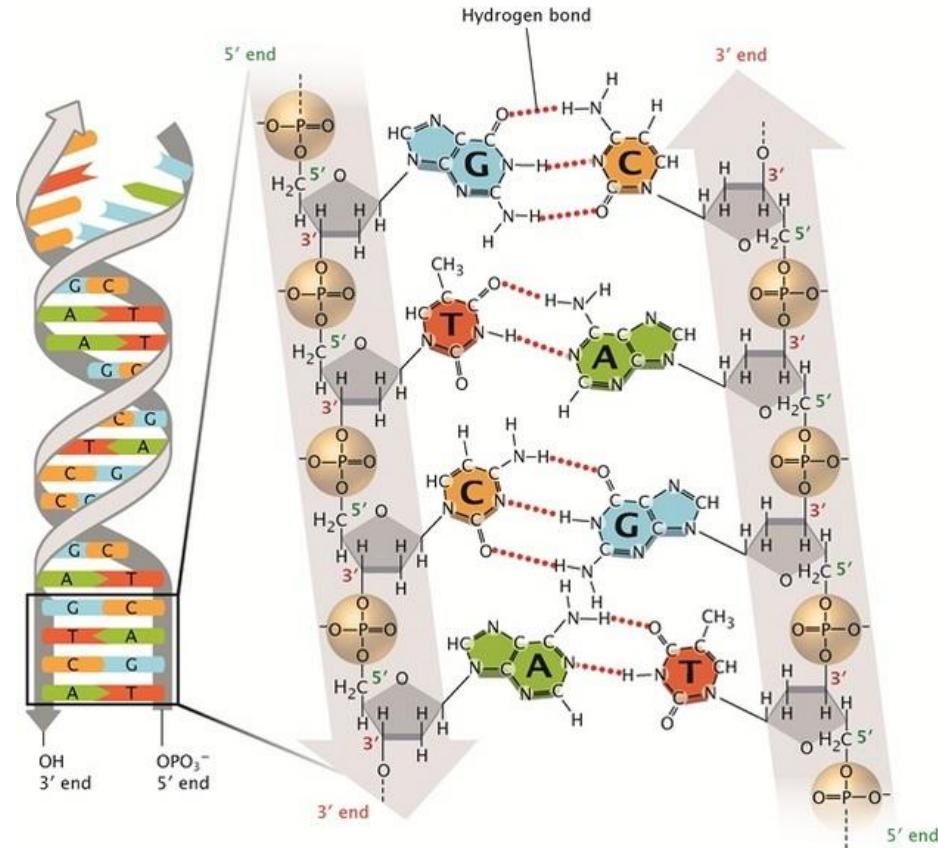
B-DNA



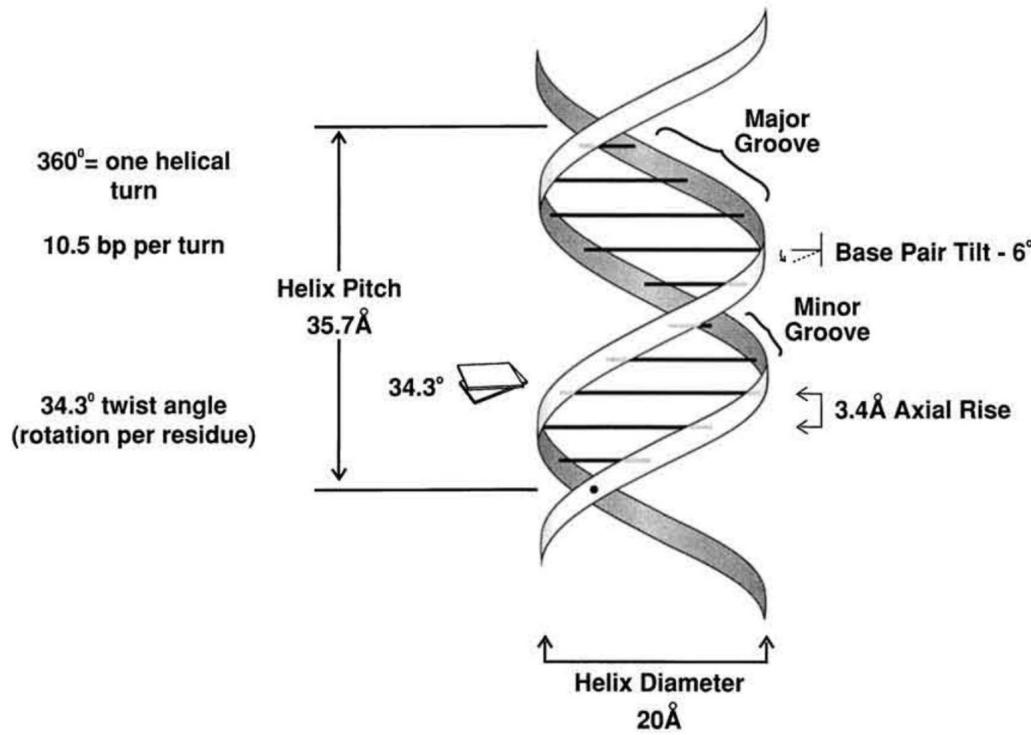
Ideal B-DNA



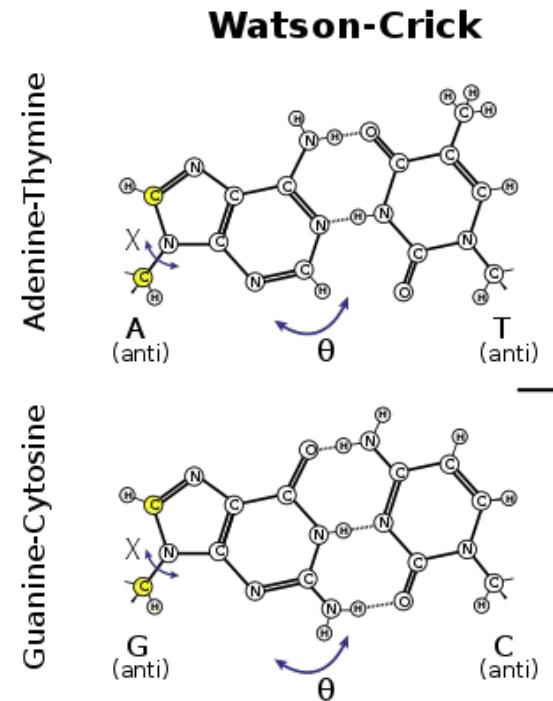
Ideal B-DNA

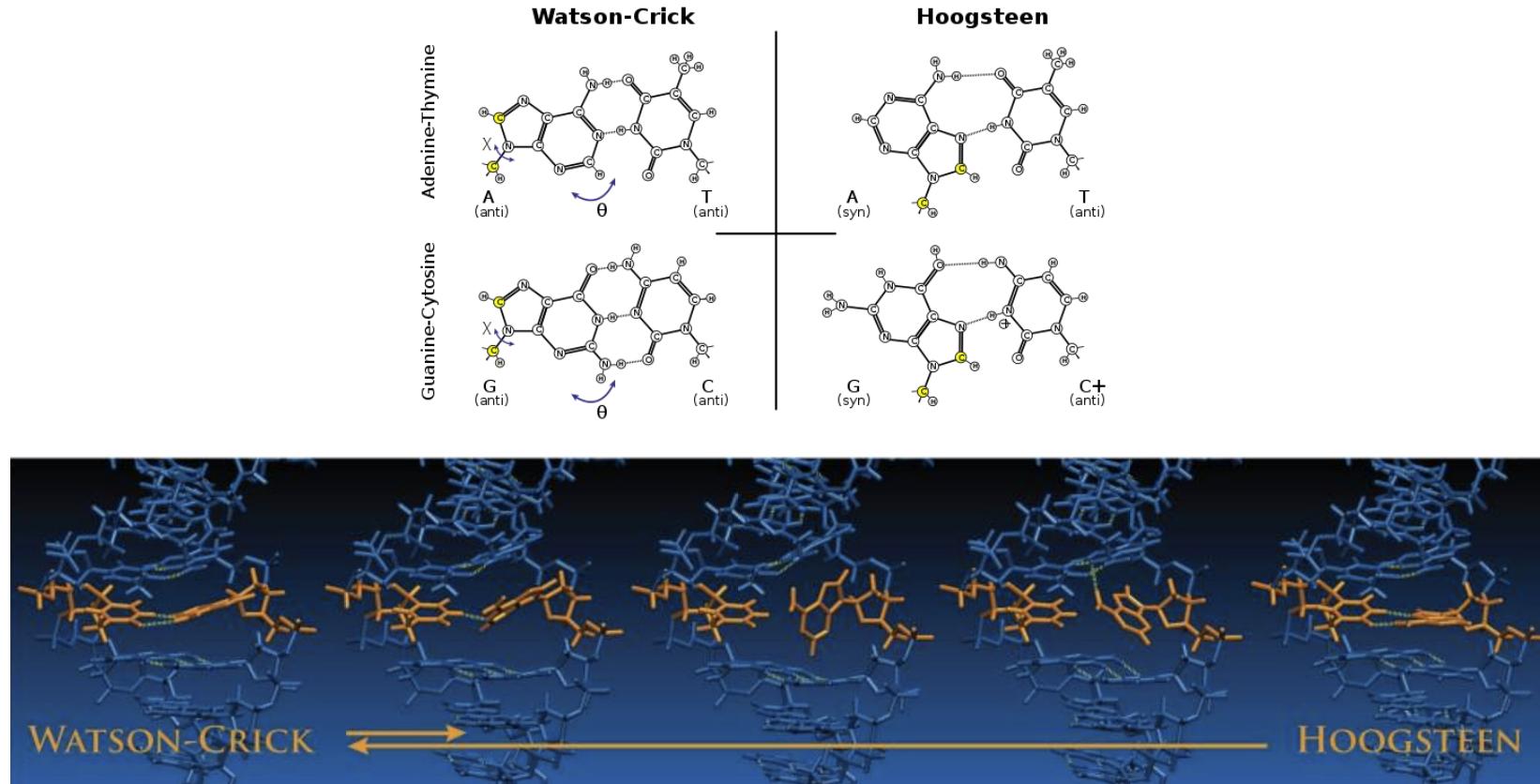


Двойные спирали ДНК/РНК



B-DNA



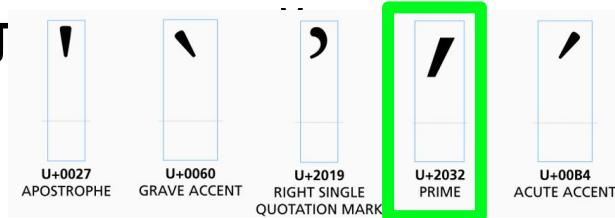


excited states in CA/TG steps of duplex DNA

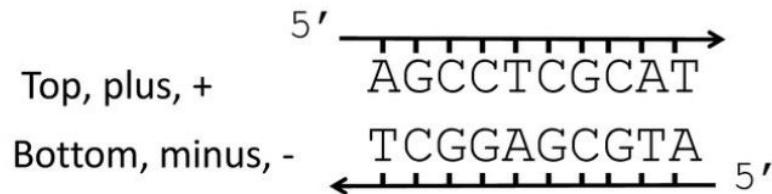
Правила записи

последователь

- ДНК от 5' (штрих) к 3' (штрих)
- Белок от N к C-концу



- Диаграмма двух комплементарных цепей ДНК делается так:
- Верхняя цепь 5' к 3' , нижняя 3' к 5'.
- При записи гена – верхняя кодирующая (смысловая), нижняя матричная.



Двойные спирали ДНК/РНК

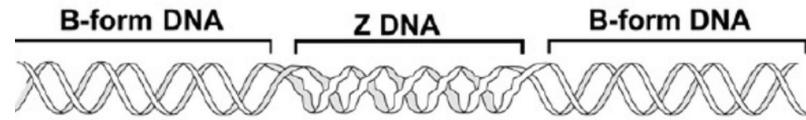
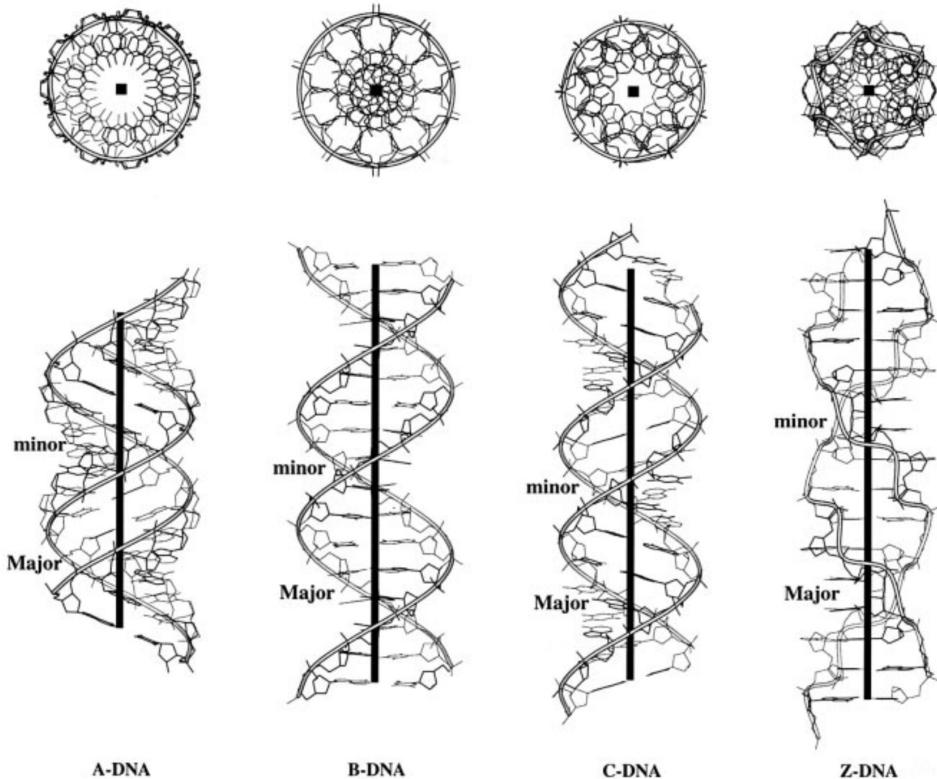


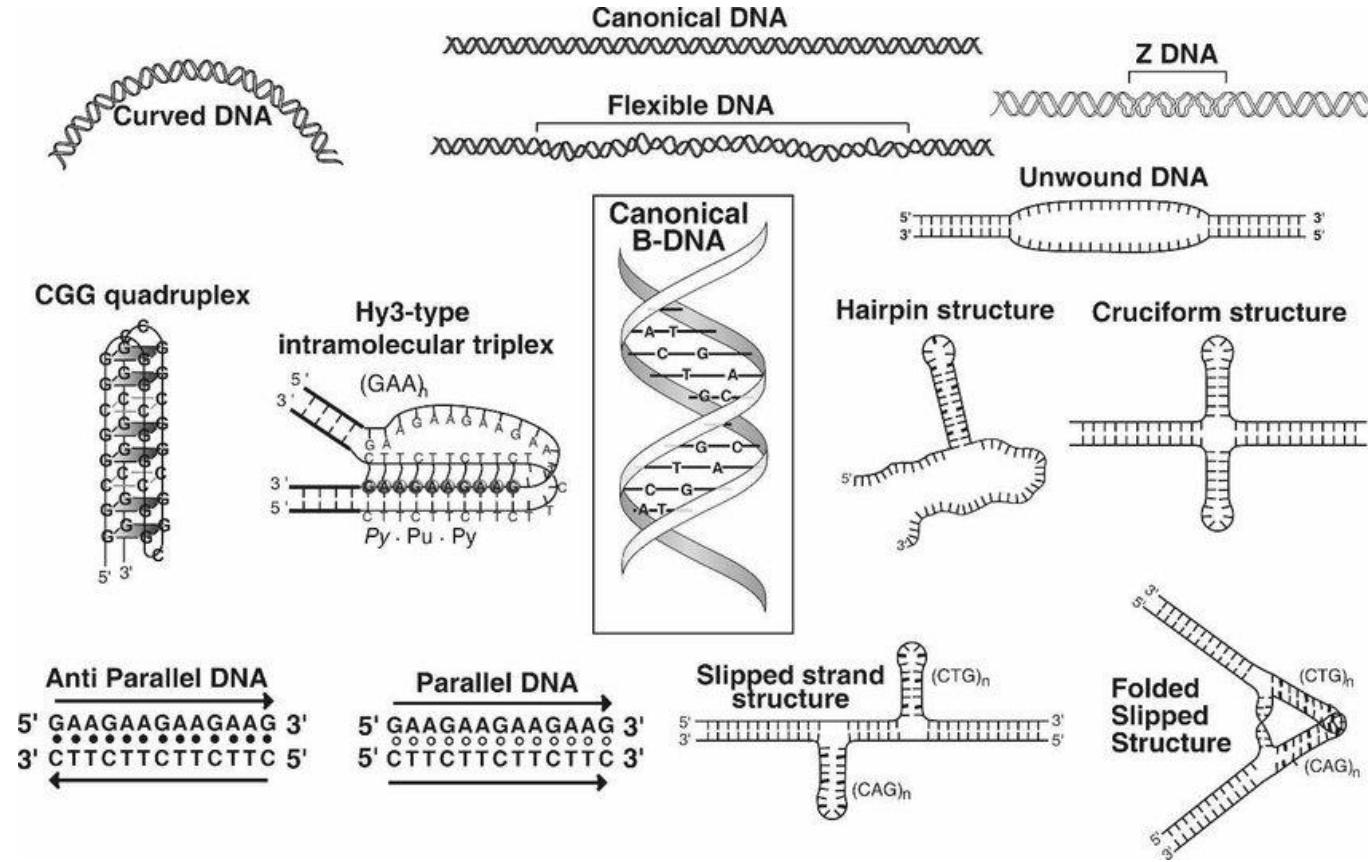
Table 1 Structural parameters of DNA helices

Structural Parameter	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Direction of helix rotation	Right handed	Right handed	Left handed
Residue per helical turn	11	10.5	12
Axial rise per residue	2.55 Å	3.4 Å	3.7 Å
Pitch (length) of the helix	2.82 Å	34 Å	44.4 Å
Base pair tilt	20°	-6°	7°
Rotation per residue	32.7°	34.3°	-30°
Diameter of helix	23 Å	20 Å	18 Å
Configuration dA, dT, dC of glycosidic bond dG	anti	anti	anti
Sugar Pucker dA, dT, dC dG	C3' endo	C2' endo	C2' endo
	C3' endo	C2' endo	C3' endo

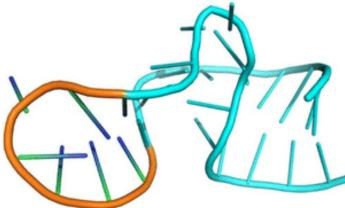
Правая и левая спираль



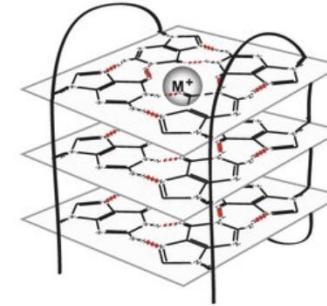
Неканонические структуры ДНК



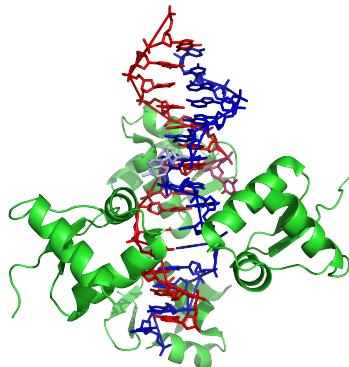
Неканонические структуры ДНК



DNA aptamer



G-quadruplex



B-Z-junction

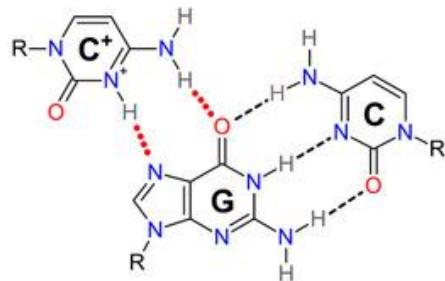


RNA-DNA triplex

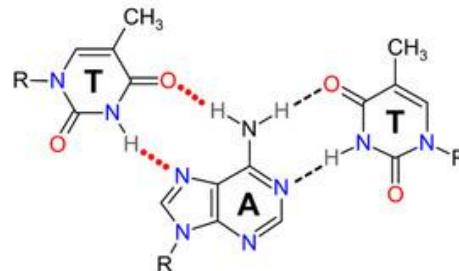
Неканонические структуры ДНК

– Watson-Crick base pairing • Hoogsteen base pairing

$C^+ \cdot G - C$

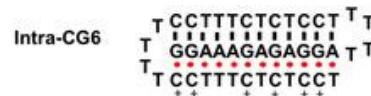


$T \cdot A - T$

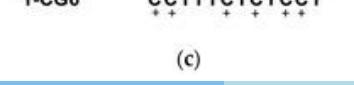


(a)

intramolecular triplex



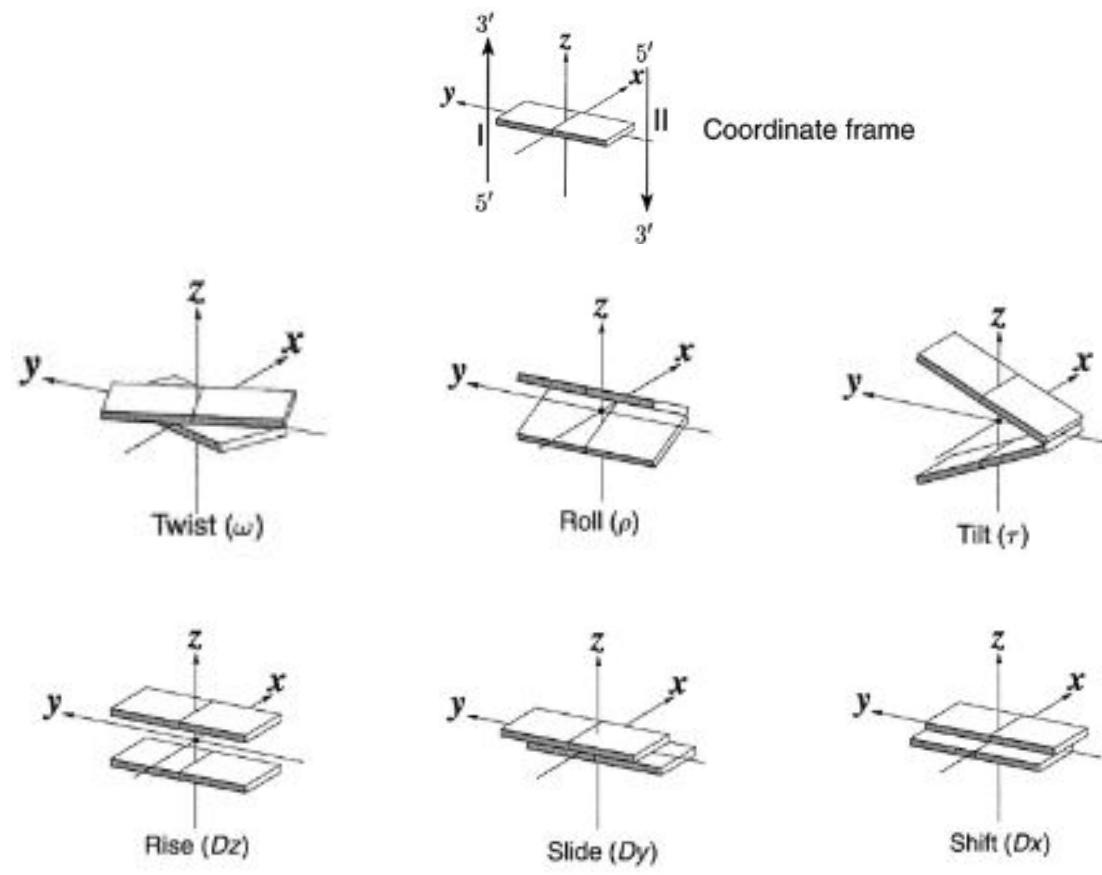
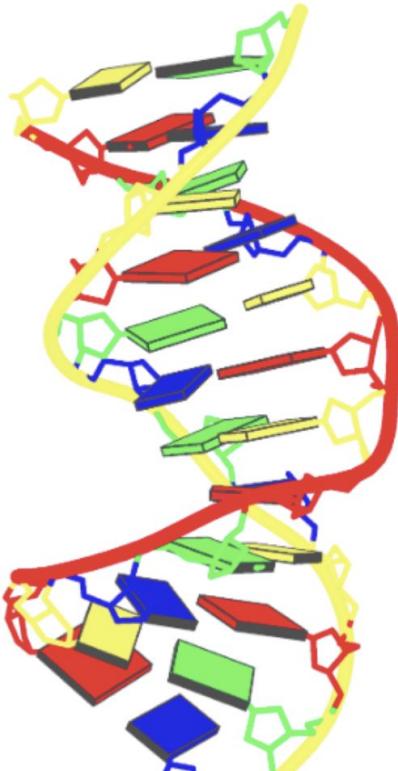
intermolecular triplex



(b)

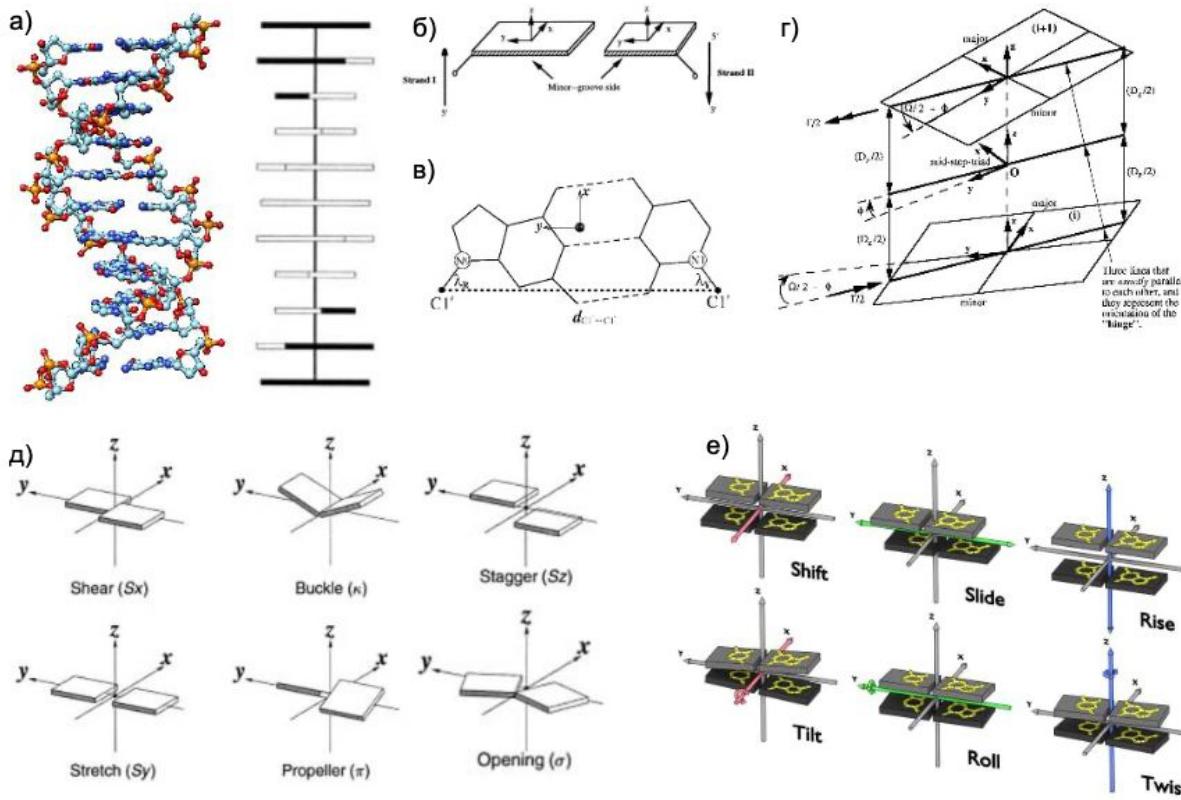
(c)

DNA structure, properties and its description



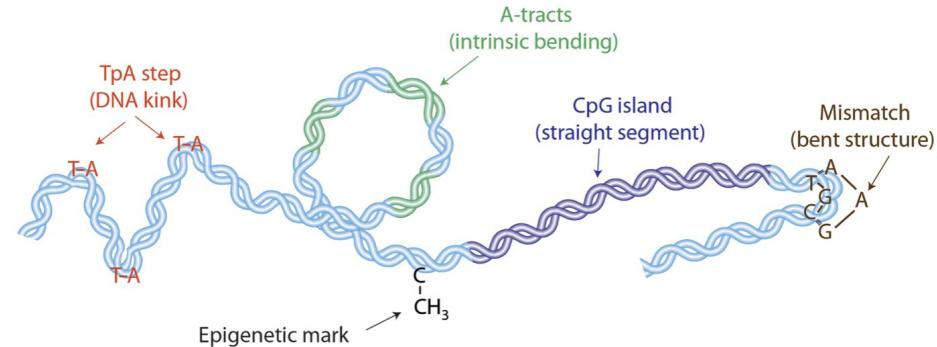
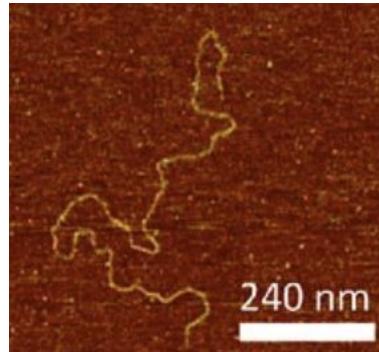
dinucleotide steps

Динуклеотидные параметры

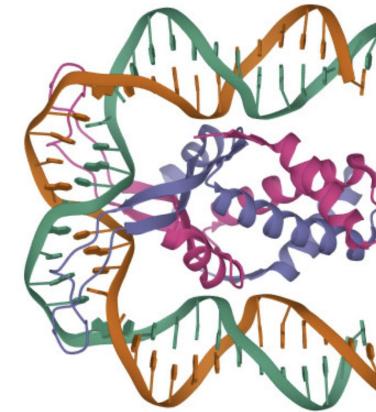
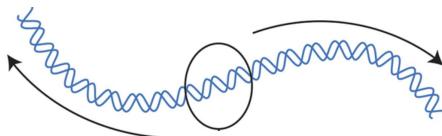


Гибкость ДНК

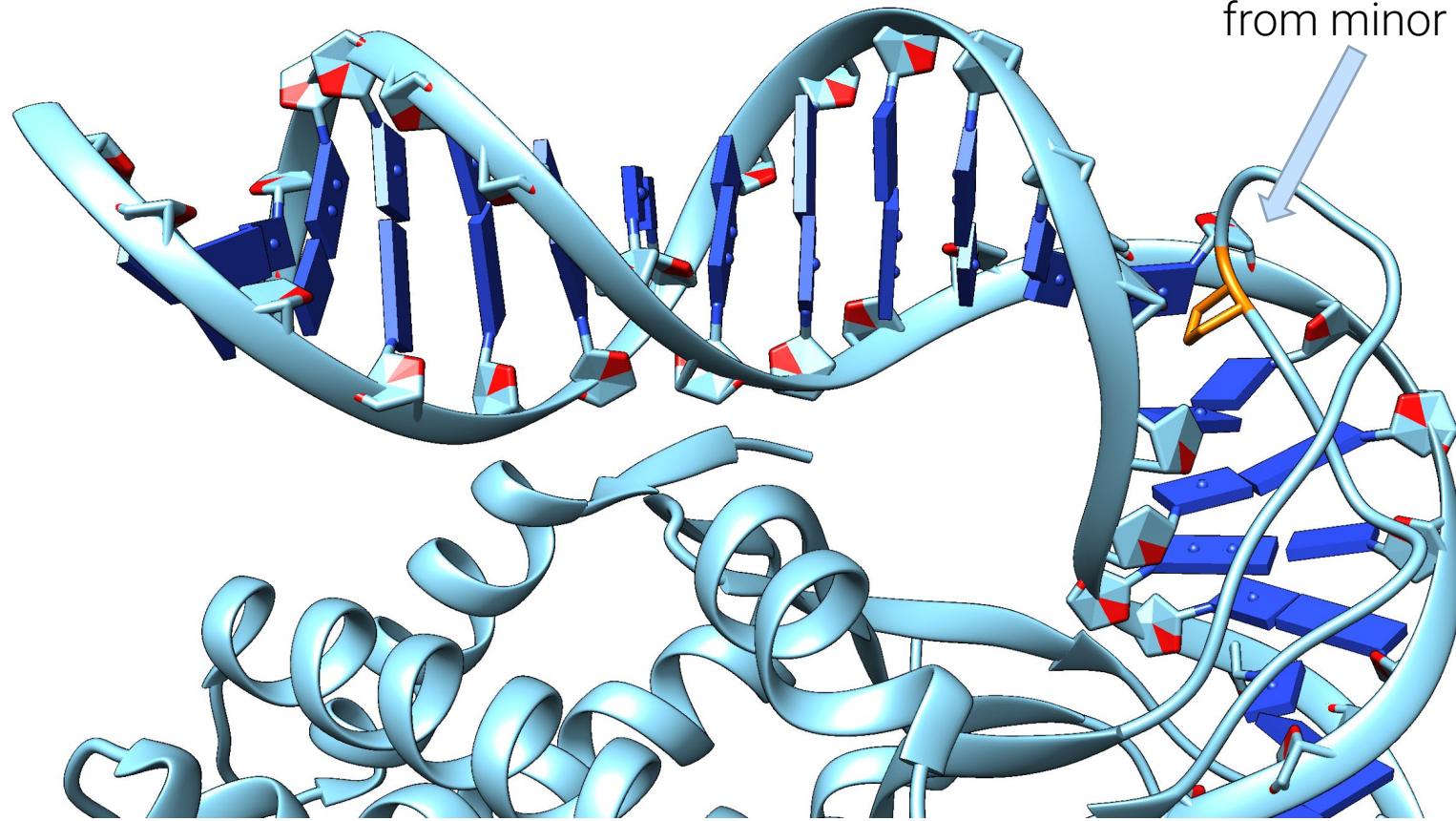
B-DNA persistence length: 50 nm (150 bp)



Worm-like chain model of flexibility



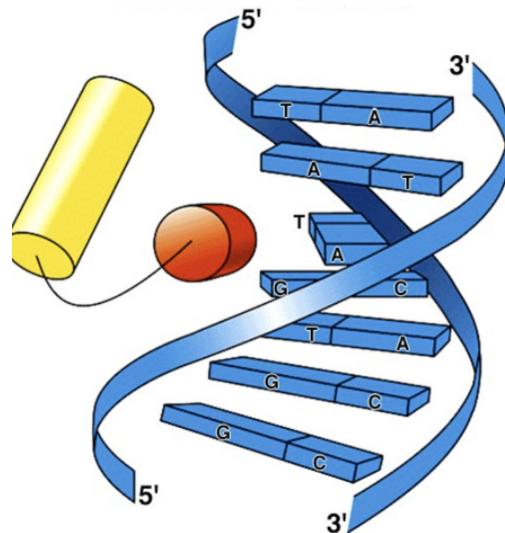
DNA-bending protein Hbb (*Borrelia burgdorferi*)



Proline intercalates
from minor groove

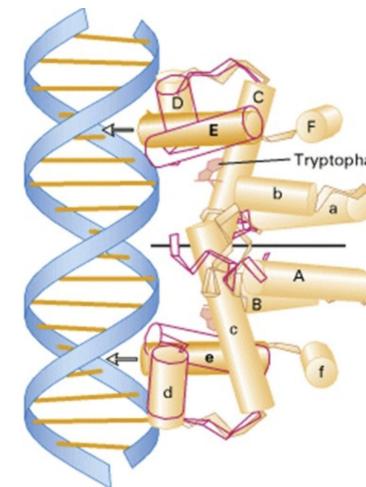
DNA-protein interactions

Direct readout



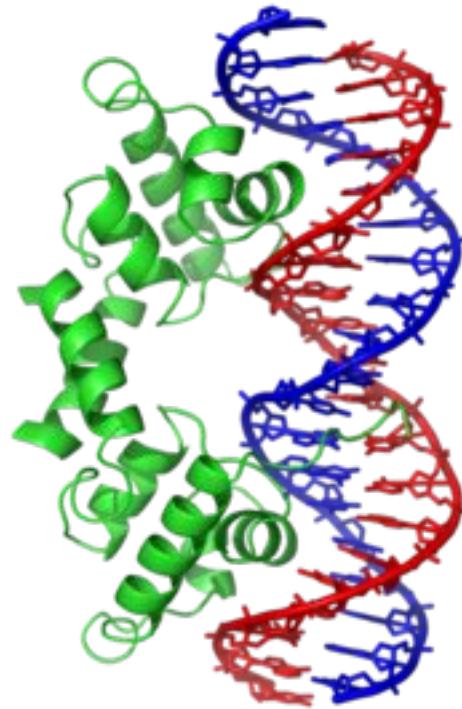
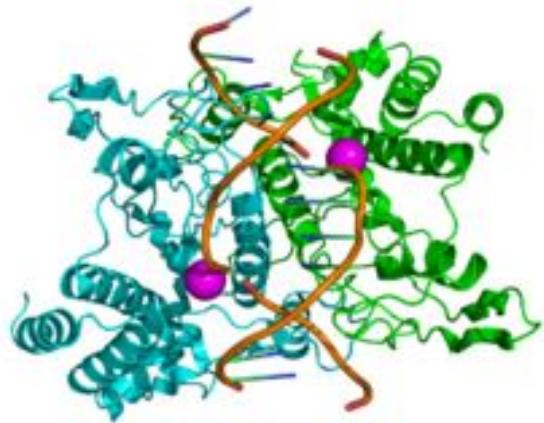
Direct H-bonds with bases

Indirect readout



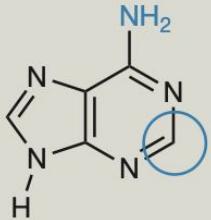
No direct H-bonds with bases
DNA shape and flexibility matters

DNA-protein interactions – dimers and cooperativity

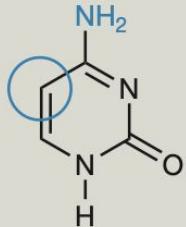


Разнообразие модификаций азотистых оснований ДНК⁵⁹

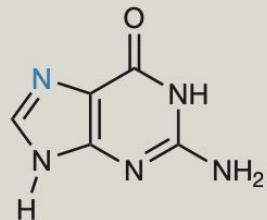
a



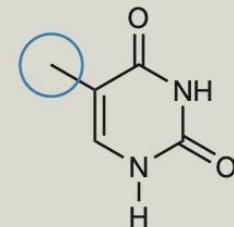
Adenine



Cytosine

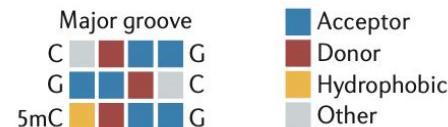
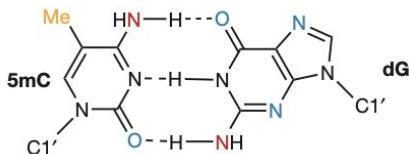
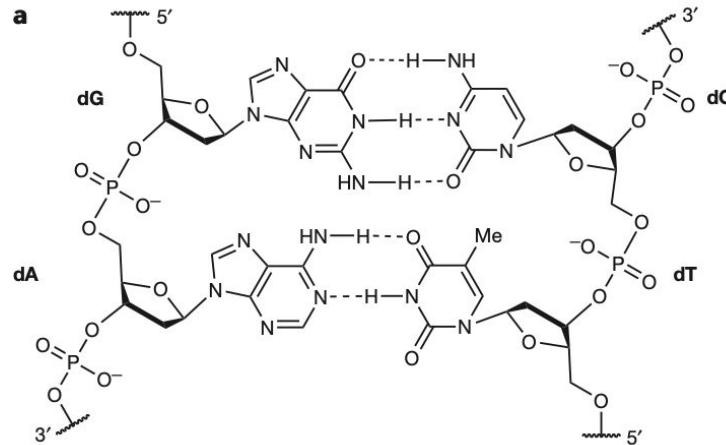
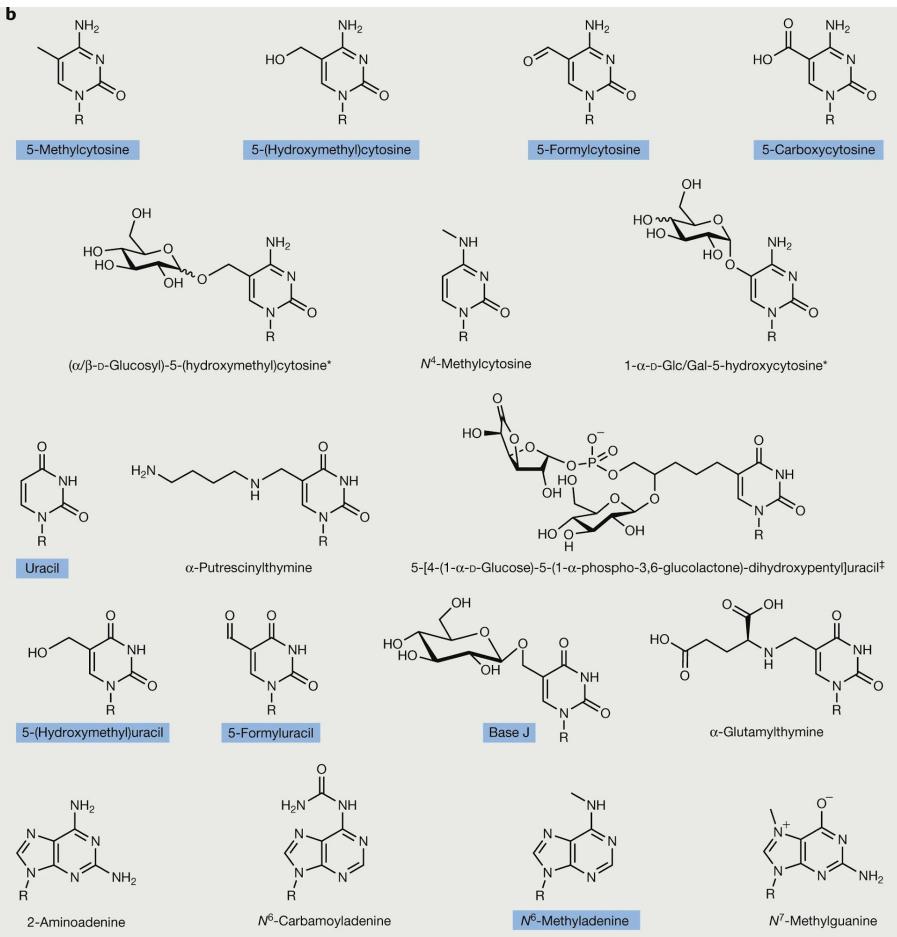


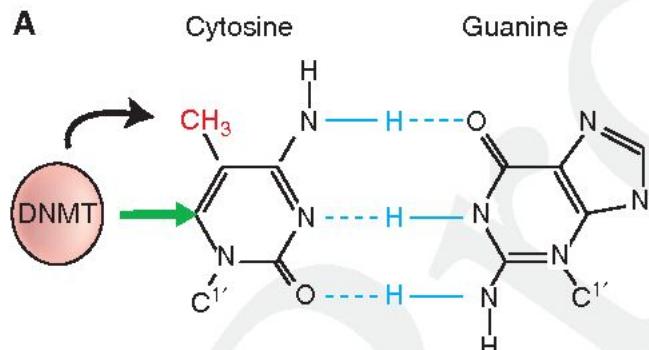
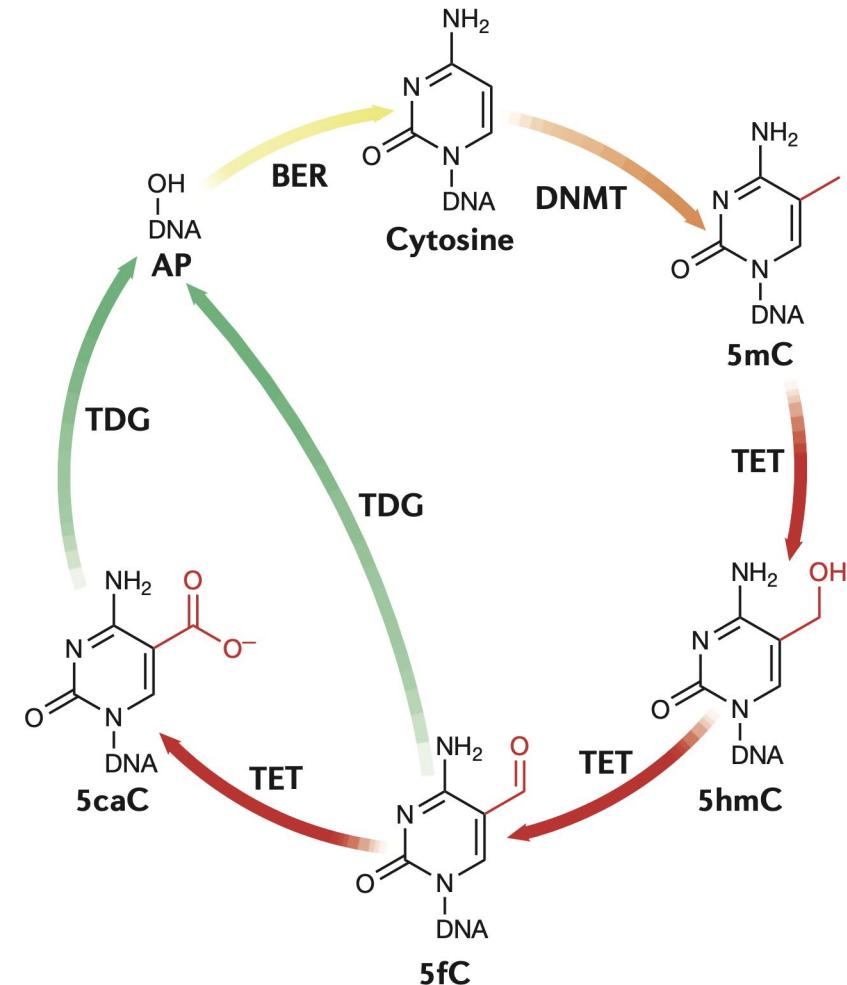
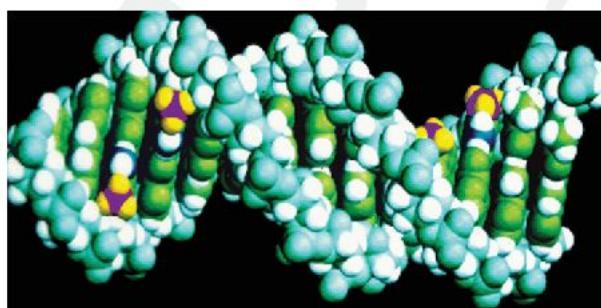
Guanine



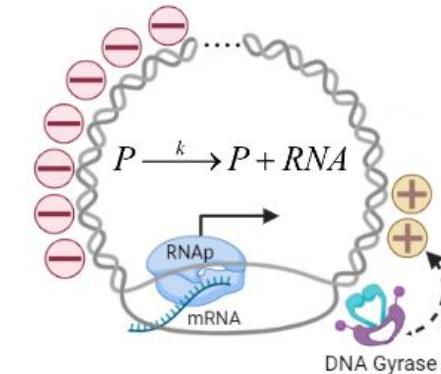
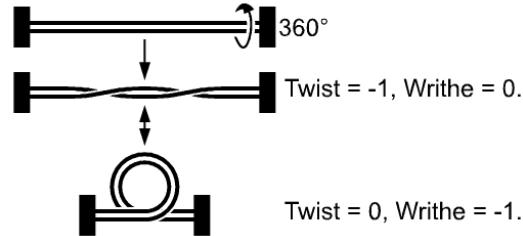
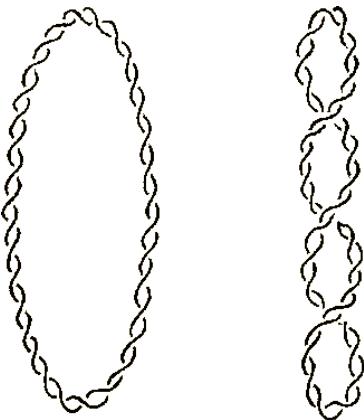
Thymine

Разнообразие модификаций азотистых оснований ДНК⁶⁰

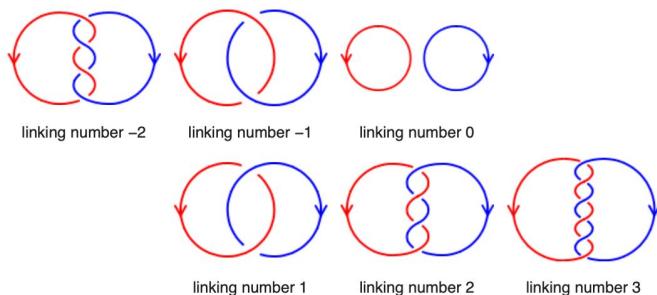


A**B**

Supercoiling



$$Lk = Tw + Wr$$



Спасибо за внимание!