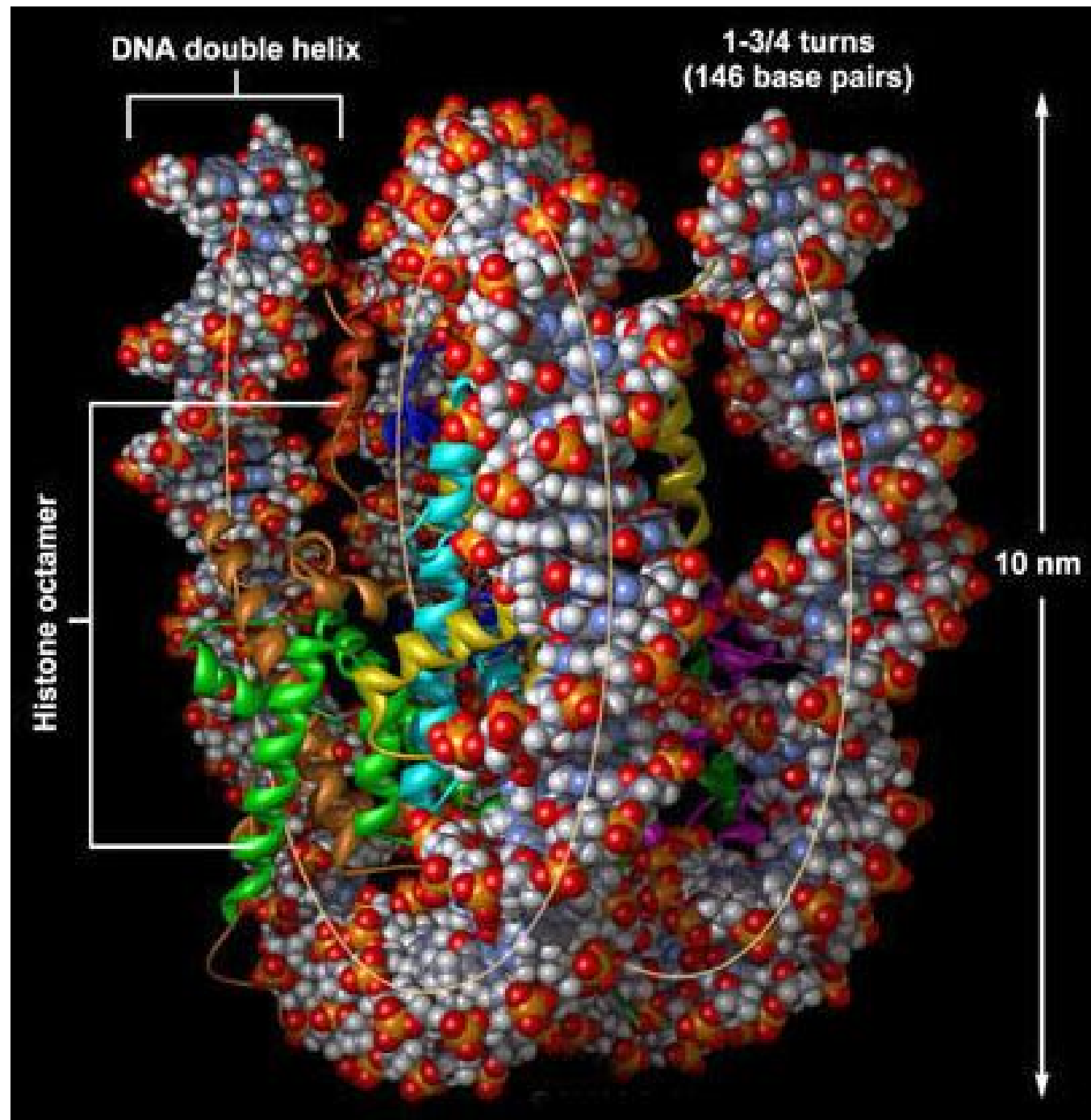
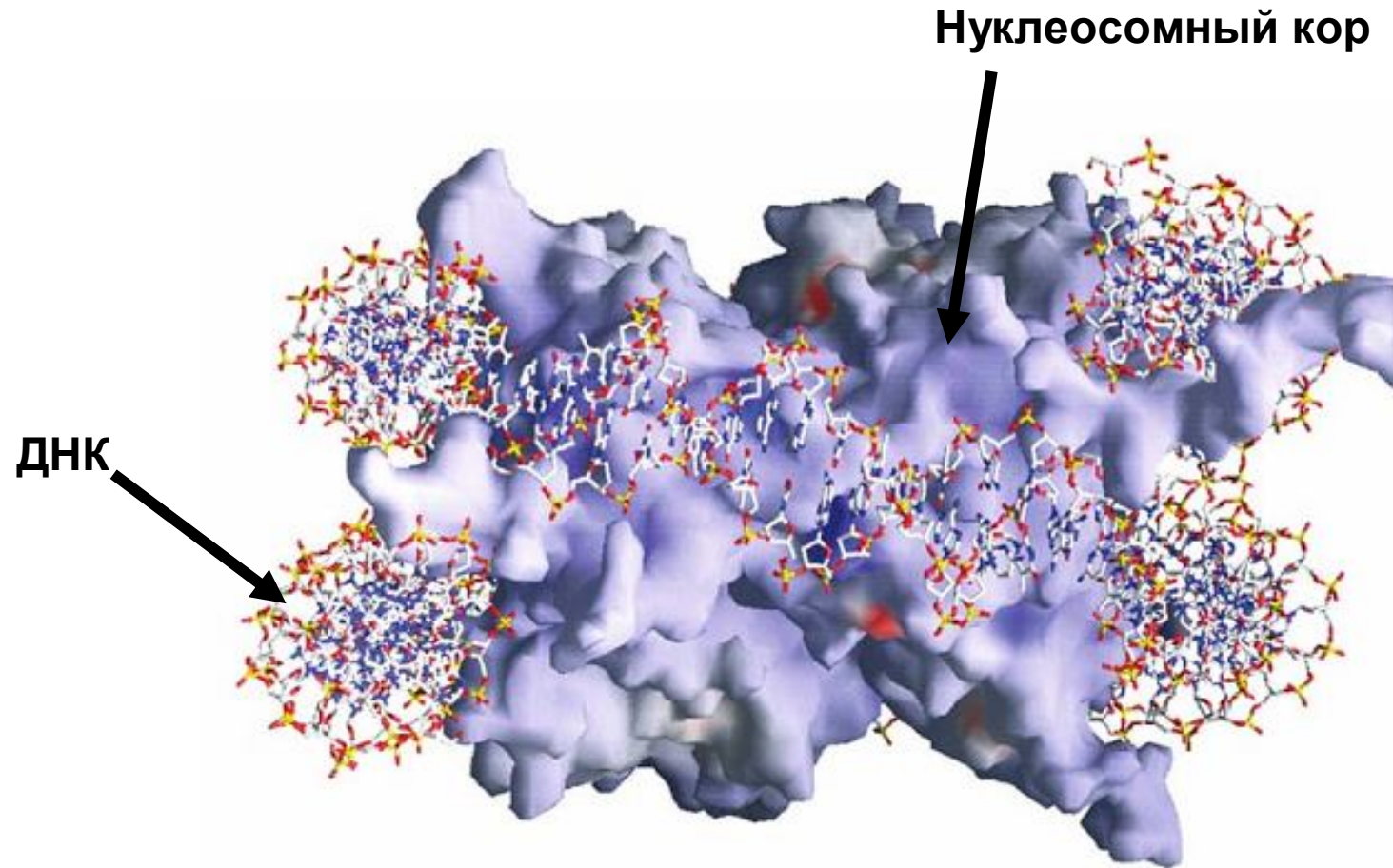


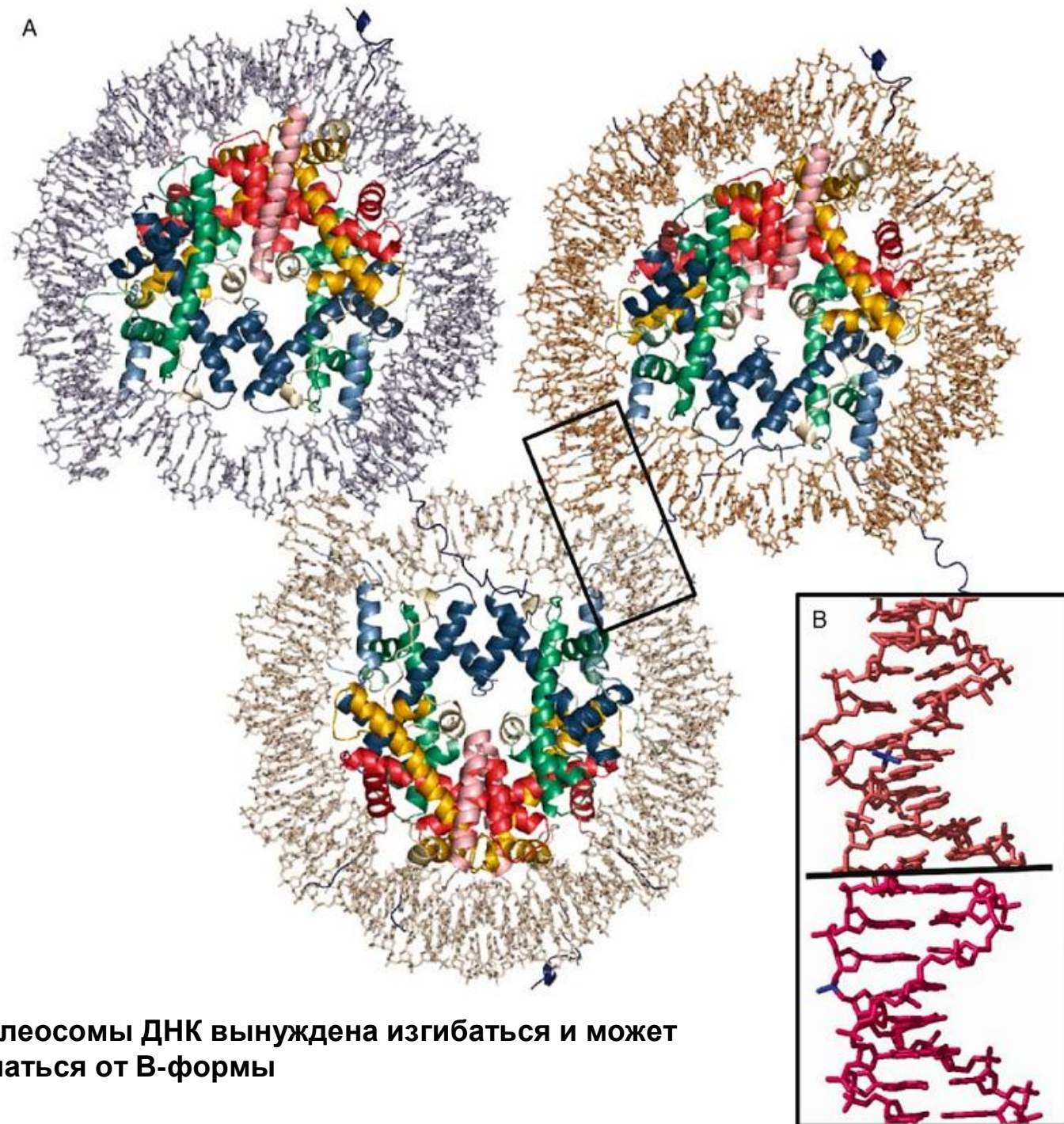
Структура нуклеосомы



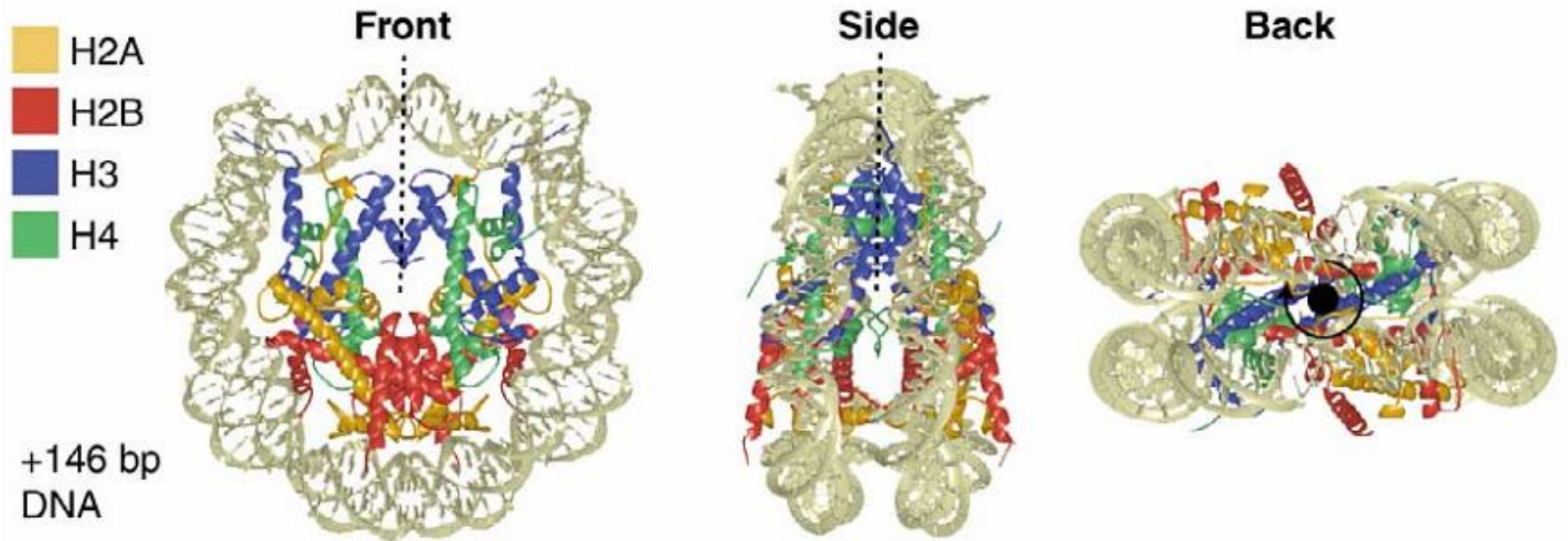
3D структура нуклеосомы



Синяя раскраска – основные аминокислоты, красная - кислые



Намотанная на нуклеосомы ДНК вынуждена изгибаться и может значительно отличаться от В-формы



Структура нуклеосомы

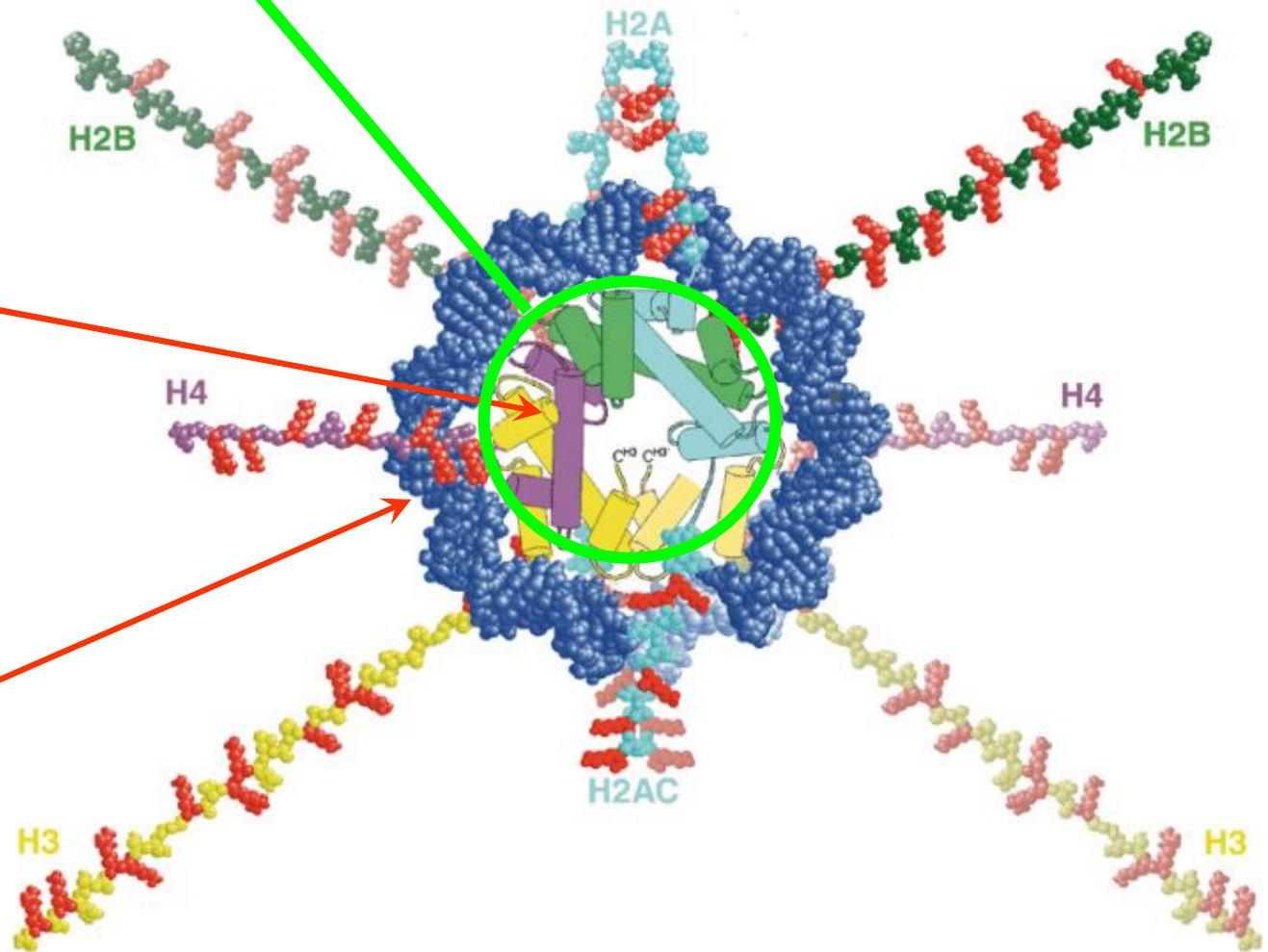
Нуклеосомный
кор

Гистоновый
октамер

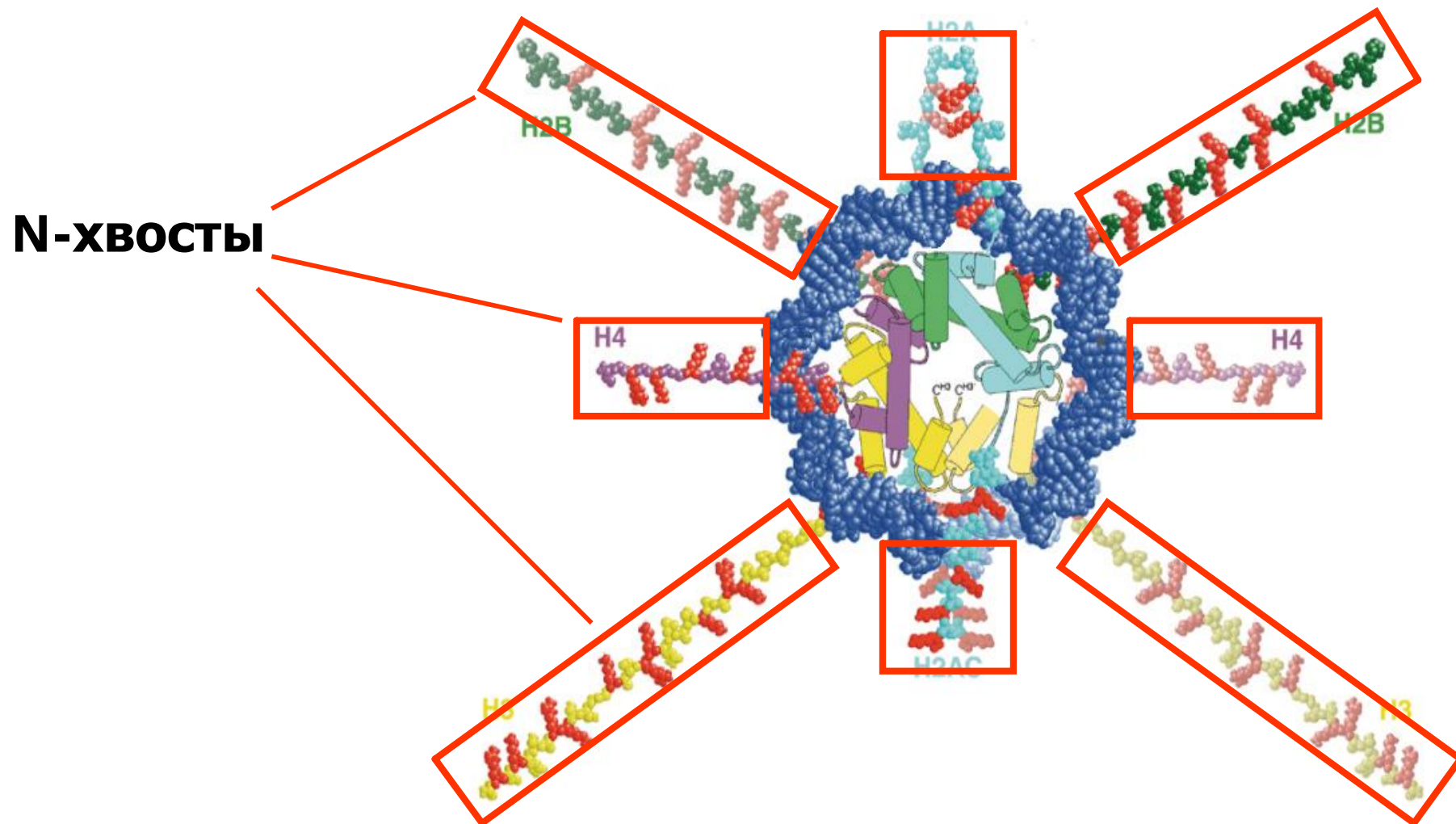
2 x (H2A+H2B)
2 x (H3+H4)

ДНК

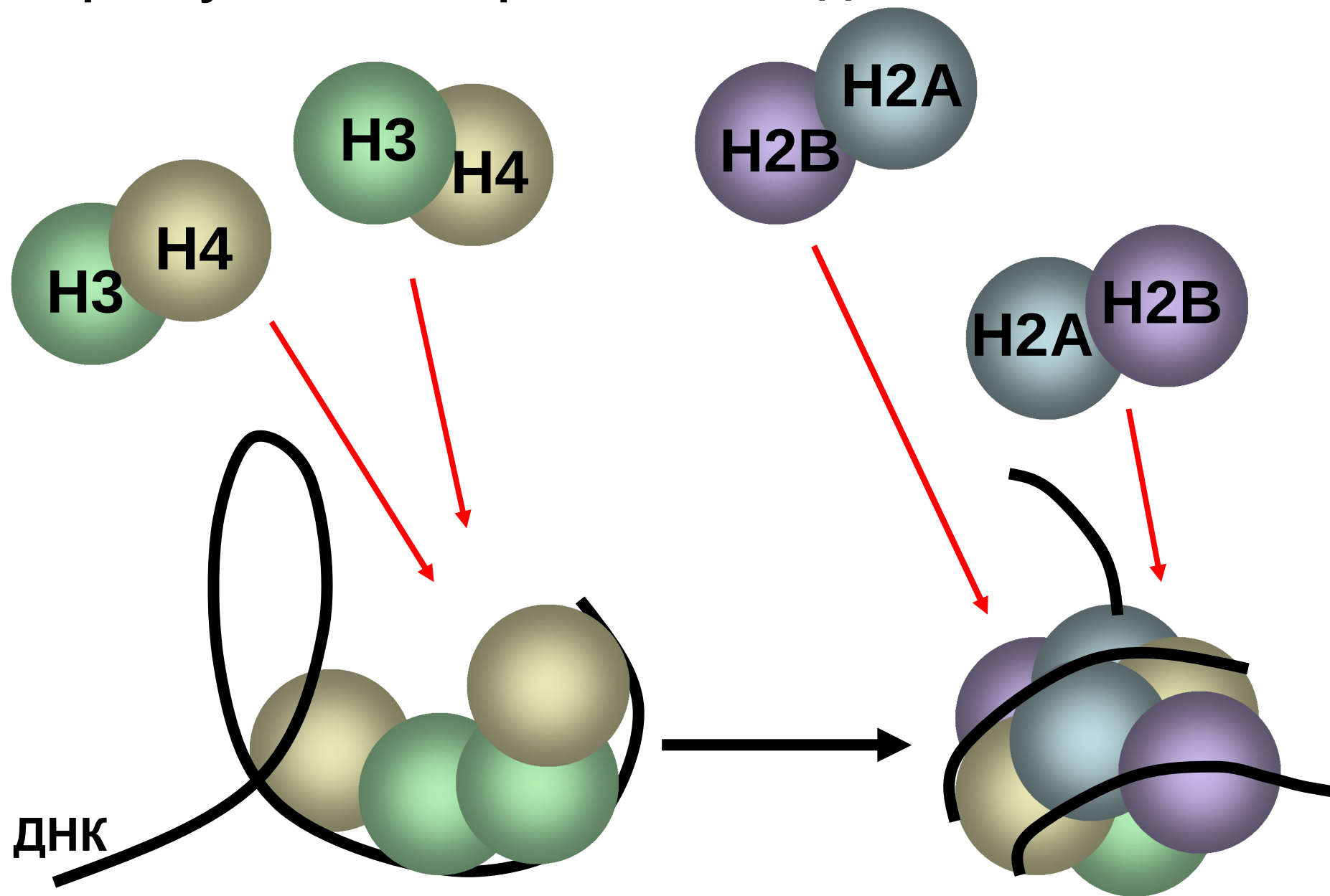
146 п.н.



Структура нуклеосомы

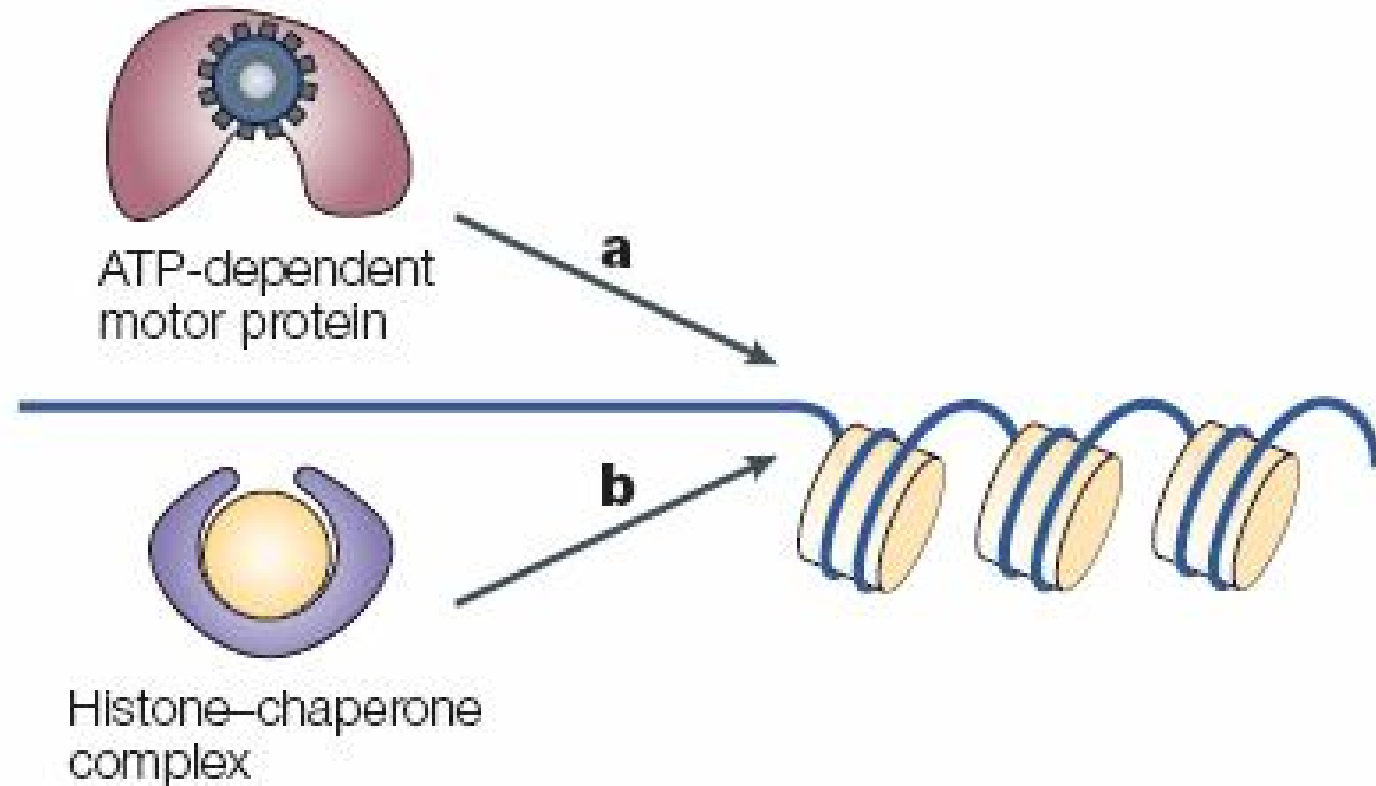


Сборка нуклеосомы происходит на ДНК



Сборка нуклеосом

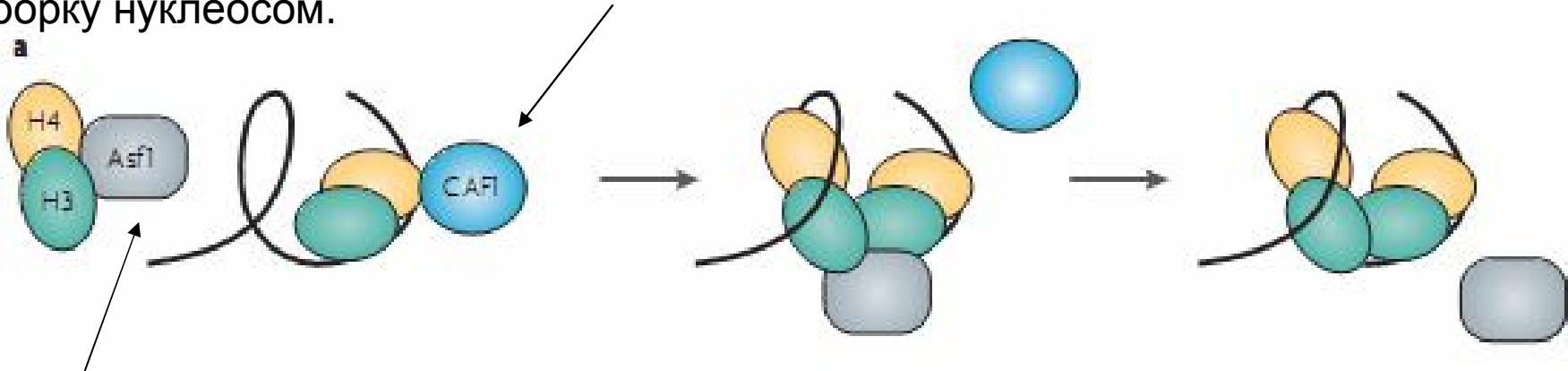
АТФ-зависимые «моторные» белки (комплексы АТФ-зависимого ремоделинга хроматина) необходимы для упорядочивания нуклеосом на ДНК. Без них нуклеосомы располагаются на случайном расстоянии друг от друга.



Гистоновые шапероны временно экранируют заряд гистонов, обеспечивая правильную сборку нуклеосомы. Без них ДНК образует с молекулами гистонов нерастворимый комплекс

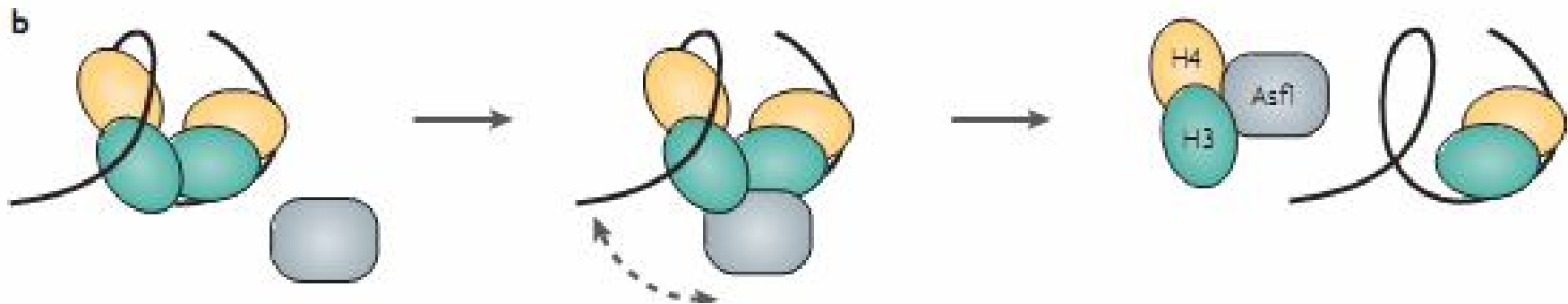
Сборка нуклеосомы

Шаперон CAF1 связан с PCNA, сидит в репликационной вилке и связывает преимущественно «старые» димеры H3H4. Начинает пострепликационную сборку нуклеосом.



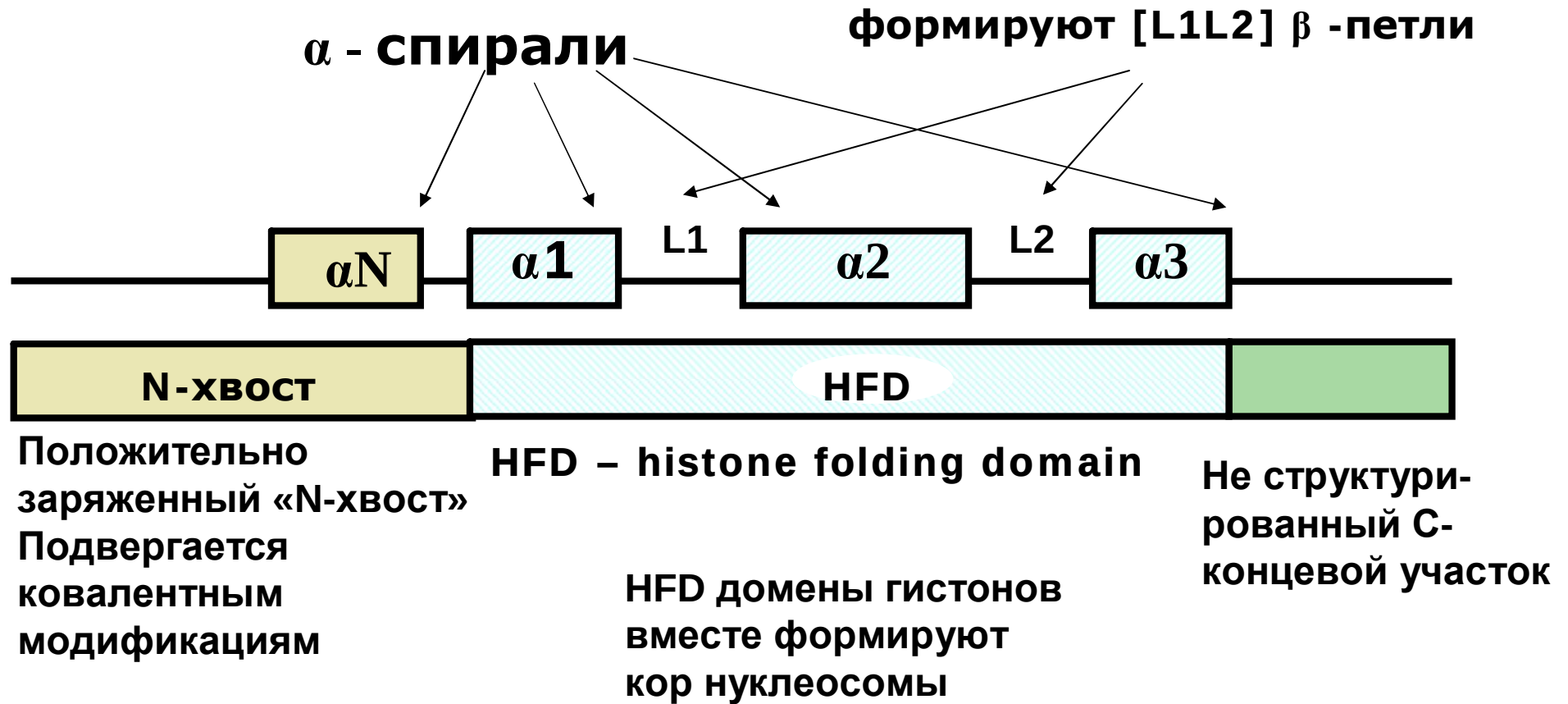
Шаперон Asf1 может связываться со вновь синтезированными димерами H3H4.

Разборка нуклеосомы происходит в обратном порядке



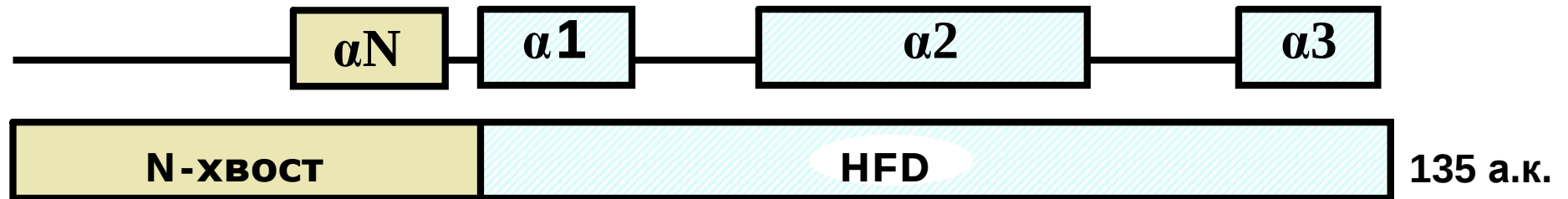
Структура коровых гистонов

В общем виде

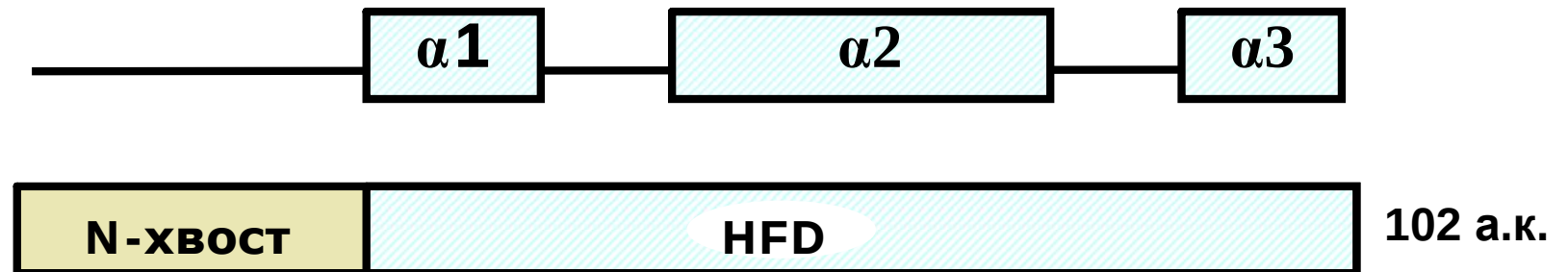


Структура коровых гистонов

H3

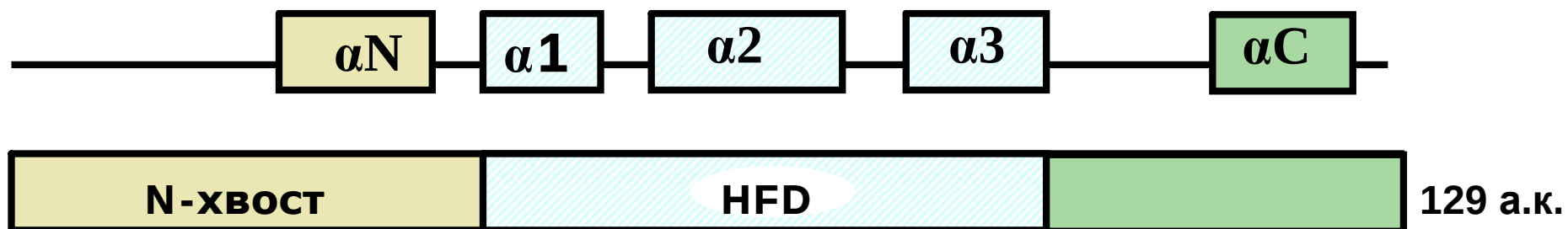


H4

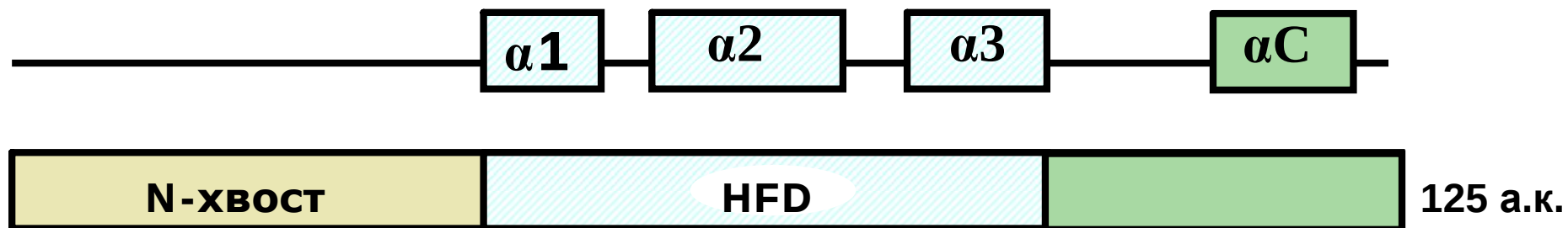


Структура коровьих гистонов

H2A



H2B



**Все гистоны обогащены основными
аминокислотами, лизином и аргинином**

В Н1 лизин составляет 29 %

В Н3 аргинин составляет 13 %

Консерватизм аминокислотных последовательностей гистонов

**Последовательности аминокислот гистона
Н4 у гороха и тельца отличаются всего
на 2 аминокислоты (1969)**

Но...

H4

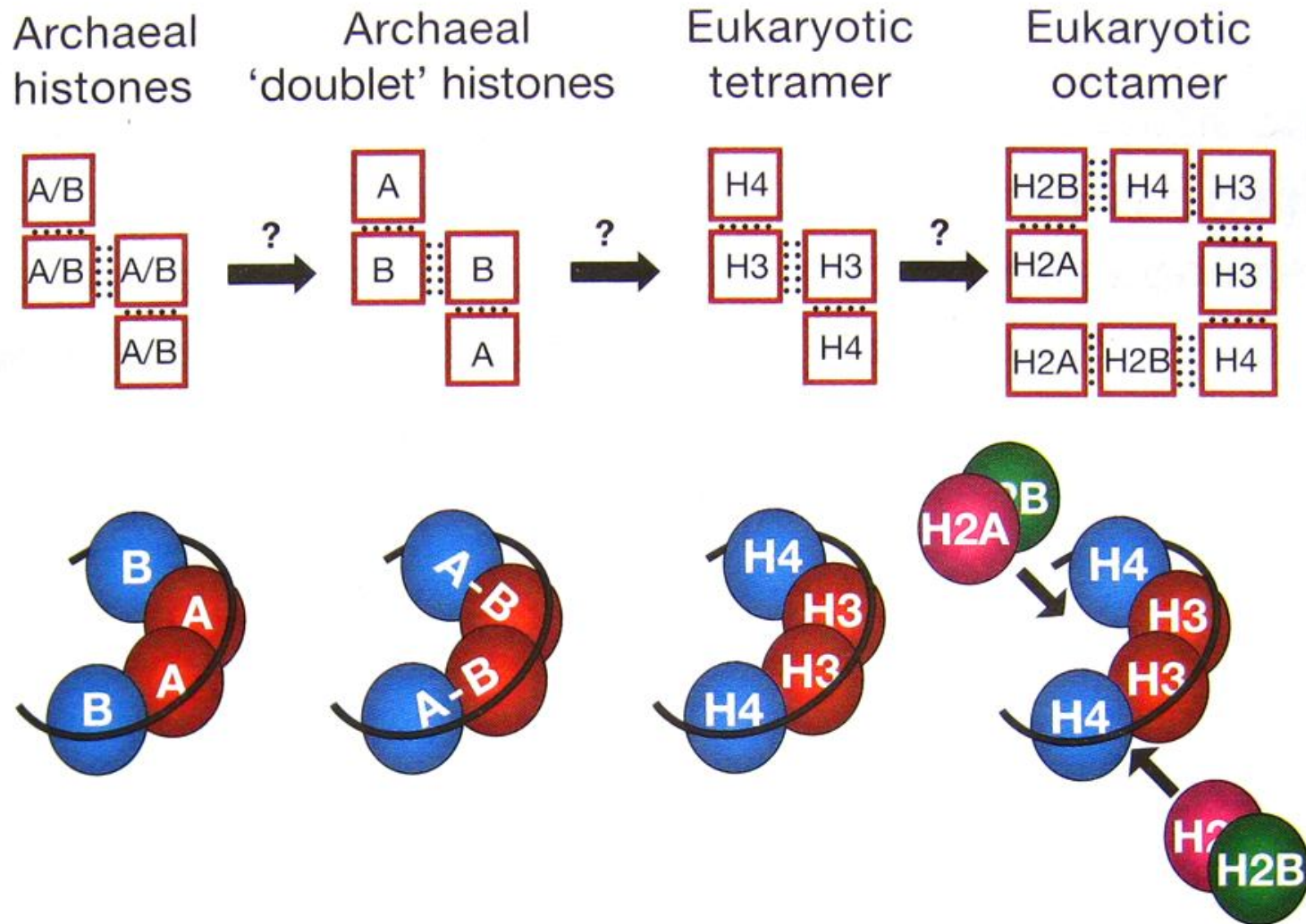
[illegible]

H2B

**Менее
консервативен,
чем H4**

[illegible]

Эволюция нуклеосом



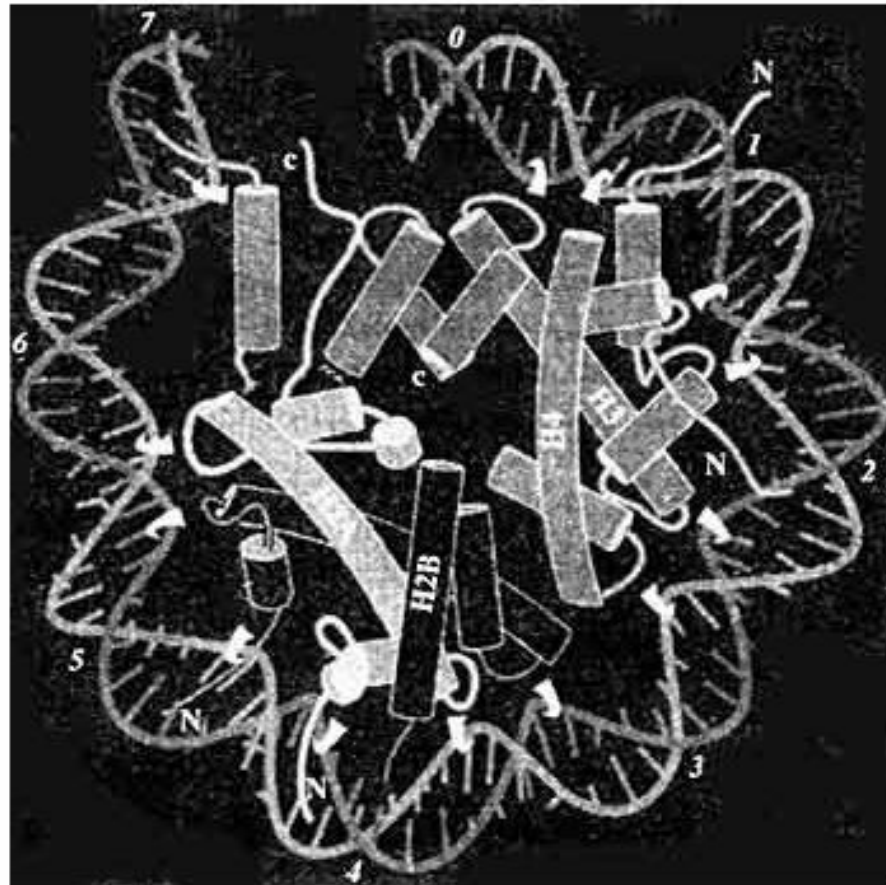
Взаимодействие ДНК - нуклеосома

14 «точек» соприкосновения между ДНК и гистонами

8 [L1L2] петель (β -петли)

4 [α 1 α 2] спирали

2 α N спирали гистона H3



Структура нуклеосомы с разрешением 2.8 А. Вид вдоль оси суперспирали ДНК

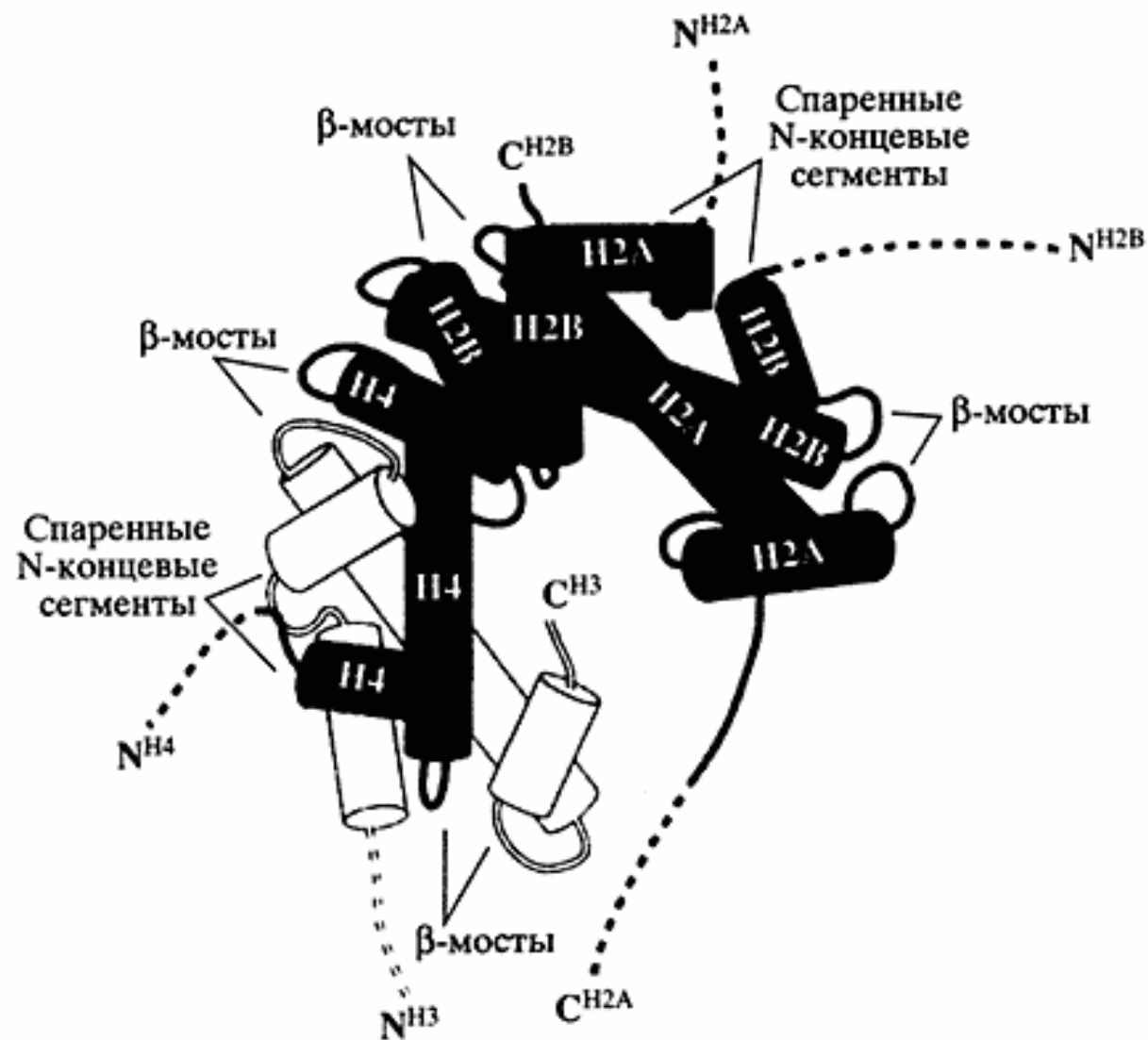
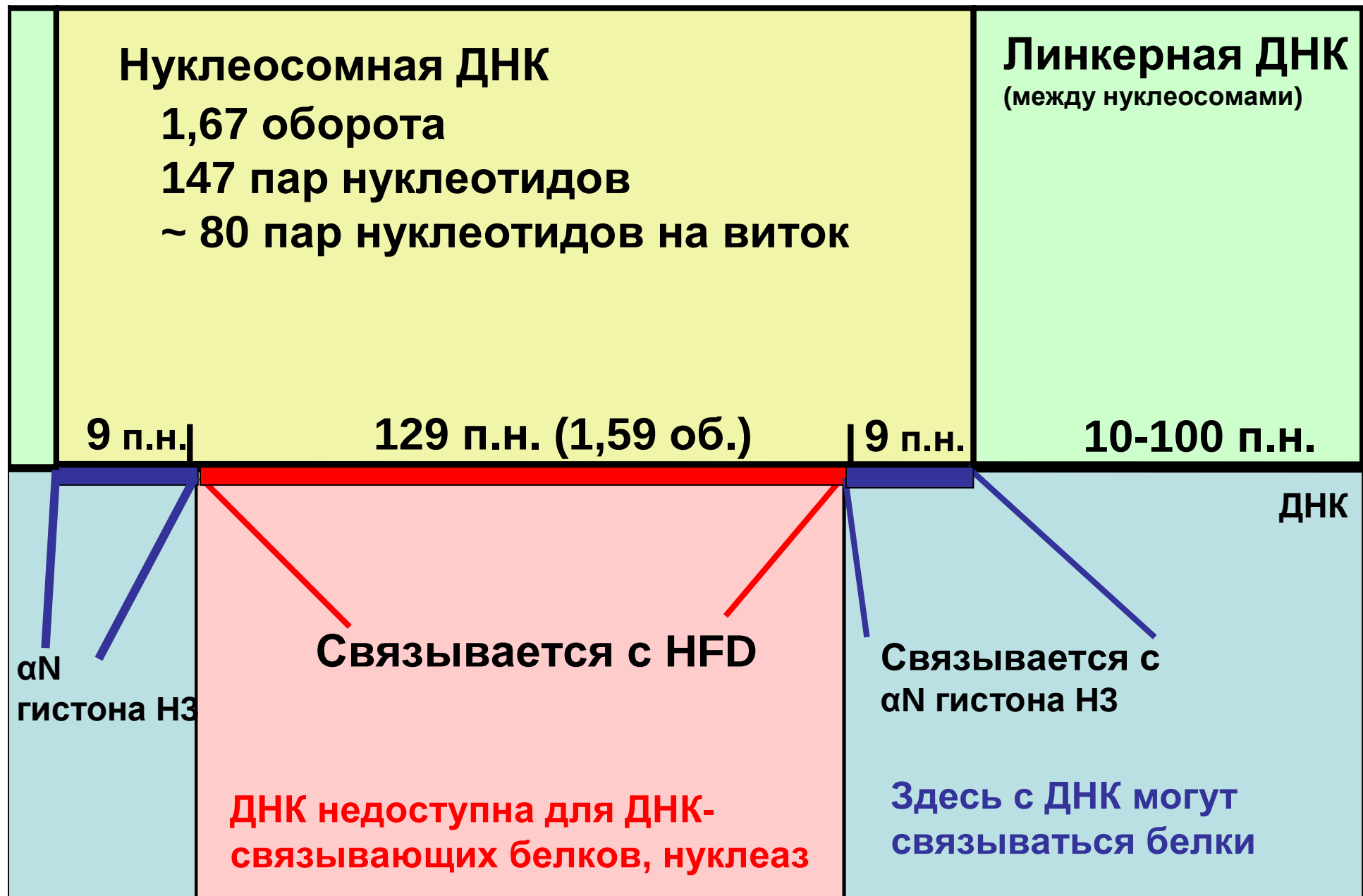


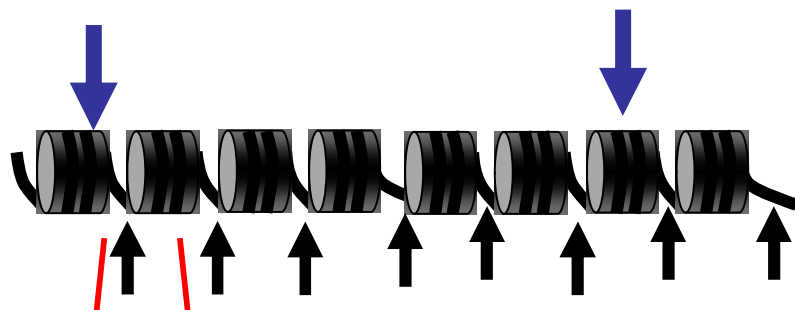
Схема "гистоновой укладки" и ДНК-связывающего мотива (фрагмент).
Вид сверху вдоль оси суперспирали ДНК

Взаимодействие ДНК-нуклеосома

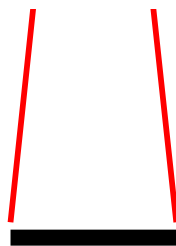


Исследуем нуклеосомную укладку в выбранном участке хроматина

Сайты рестрикции выбранной рестриктазой

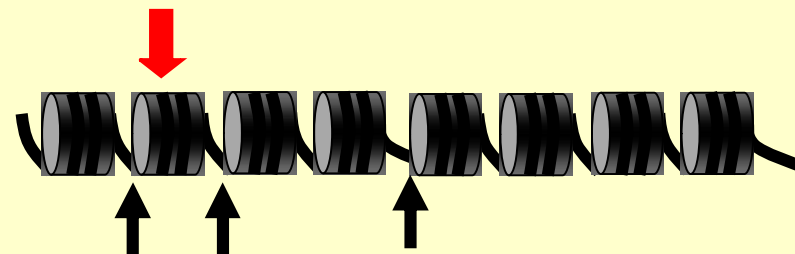


Здесь потенциально ДНК режется микрококковой нуклеазой

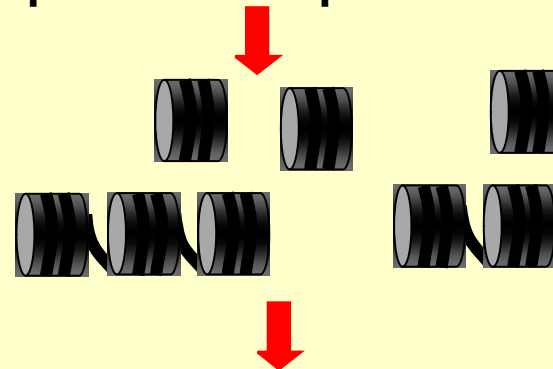


Зонд для гибридизации

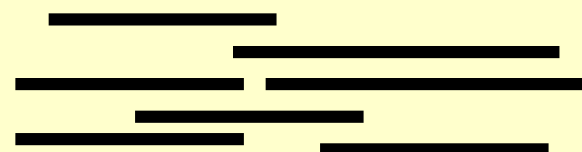
Выделение хроматина



Обработка микрококковой нуклеазой

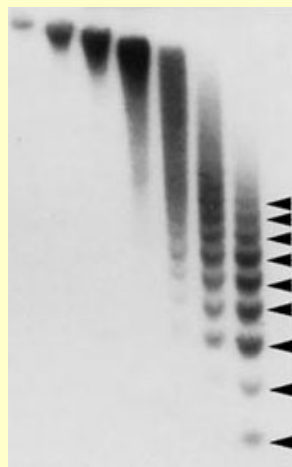


Отмывка от белков

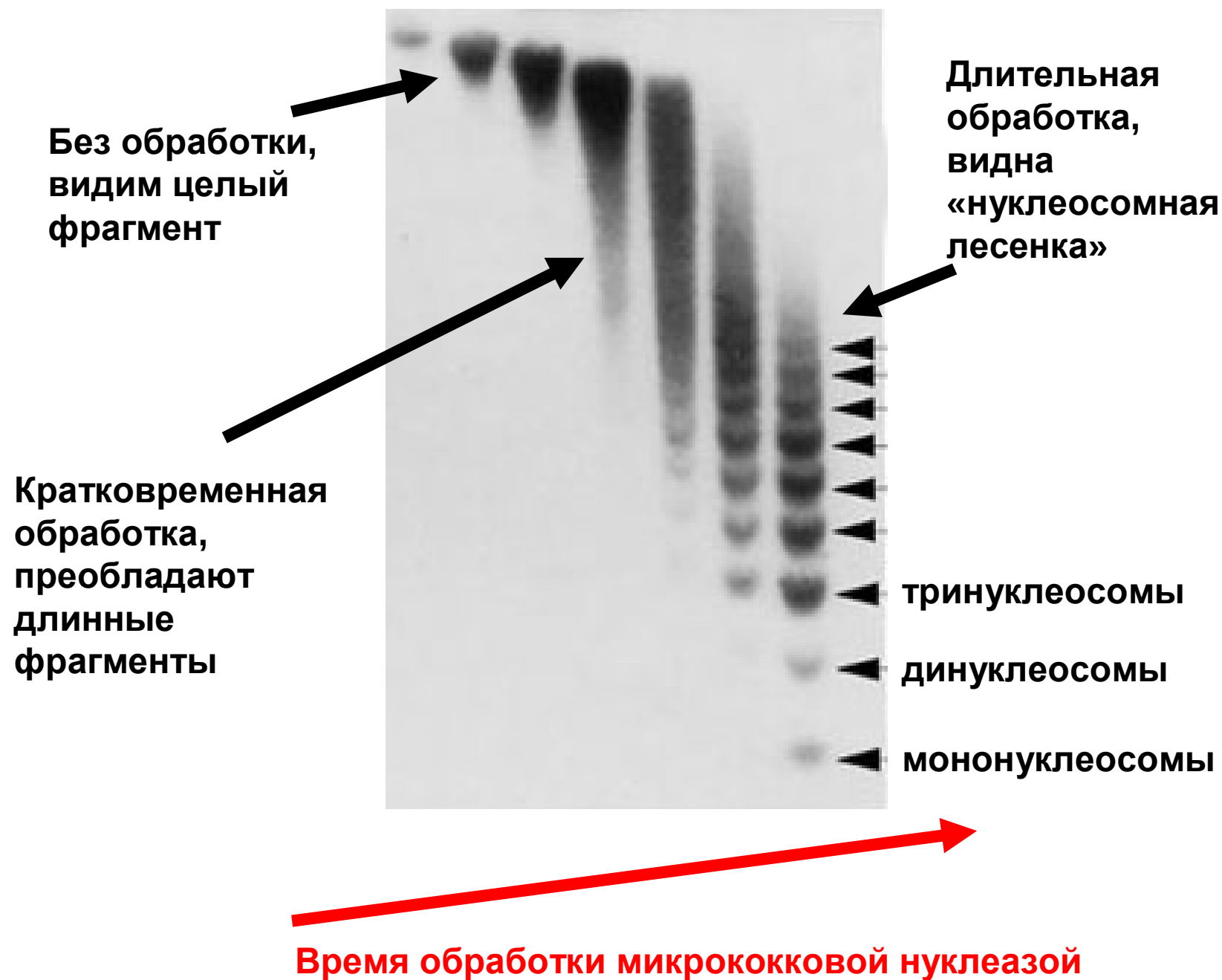


Обработка рестриктазой

Саузерн-блот гибридизация



Обработка хроматина микрококковой нуклеазой



Не во всех районах хромосом наблюдается «нуклеосомная лесенка», свидетельствующая строгой периодичности нуклеосом.

Пример картирования участков ДНК, связывающих нуклеосомы, в кластере генов, кодирующих гистоны

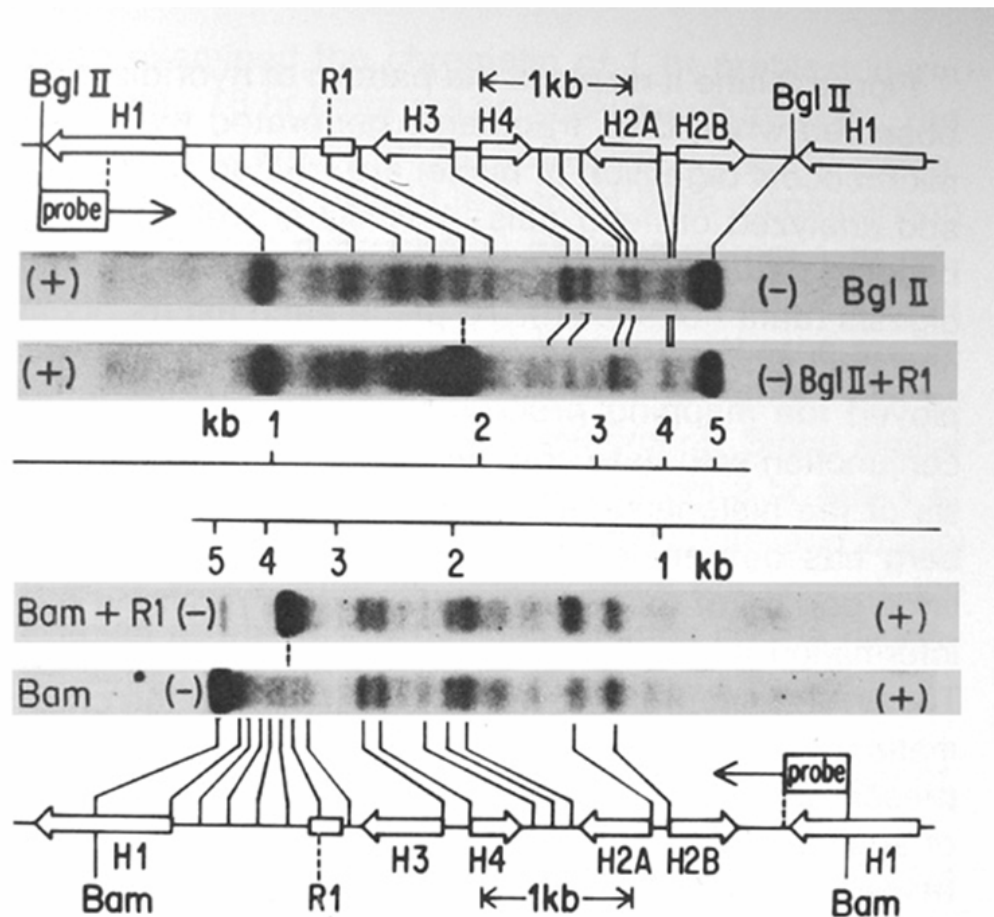


Figure 2. Mapping of Micrococcal Nuclease Sites on Histone Gene Chromatin

Samal, Worcel, Cell, 1981

Последовательности ДНК могут в 1000 раз отличаться по потенциалу связывать нуклеосому.

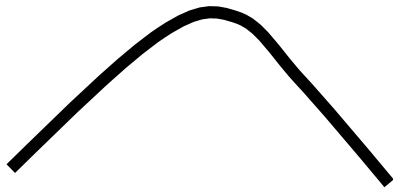
Это связано с анизотропной гибкостью ДНК

Пары нуклеотидов

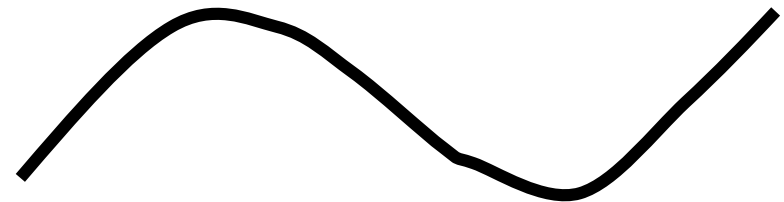
AG/CT, CG/GC, GA/TC, GC/CG, AA/TT

изгибают ДНК

Если подряд следуют последовательности, изгибающие ДНК в одну сторону (например, **ТАТА!**), связывание нуклеосомы будет неустойчиво

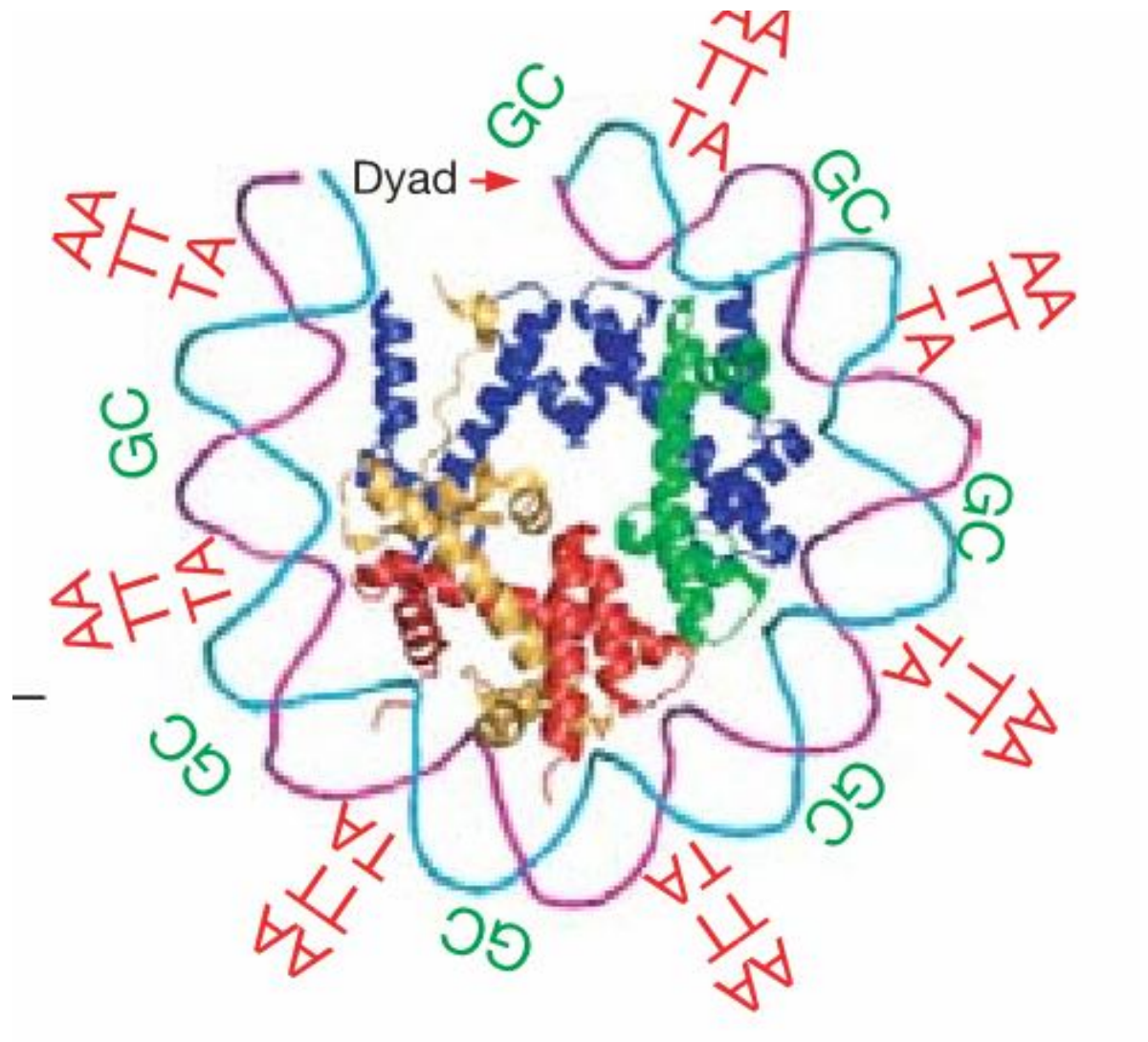


Противоположно направленный изгиб ДНК с периодом, соответствующим 1 витку спирали ДНК – максимально прочное связывание с нуклеосомой



Зная только первичную структуру ДНК можно предсказать точное положение более 50% нуклеосом! («A genomic code for nucleosome positioning»)

«идеальная» последовательность, обеспечивающая наиболее прочное связывание



В геноме присутствуют

Участки, свободные от нуклеосом

сайты связывания транскрипционных факторов, регуляторных белков

Участки, где положение нуклеосомы строго фиксировано

+1 нуклеосома в генах (дрожжи – от +1 нуклеотида, позвоночные – от +60)

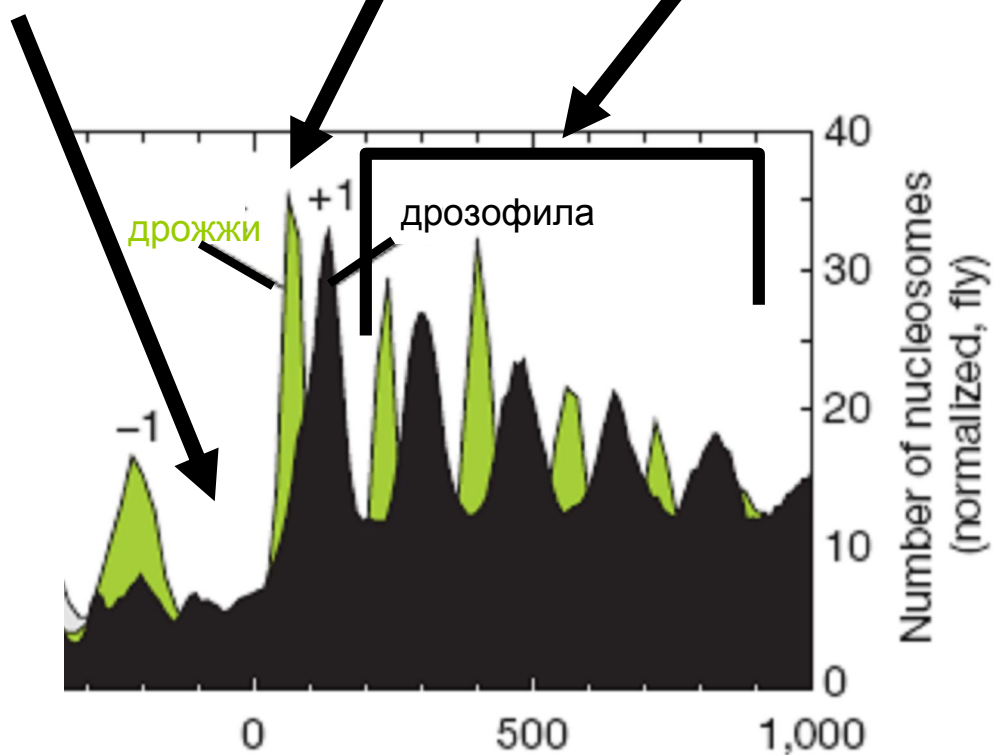
Участки, в которых нуклеосомная укладка подвержена регуляции Белками АТФ-зависимого ремоделинга хроматина

Участки, в которых наблюдается фаззирование нуклеосом, начиная от фиксированной нуклеосомы

Фиксированная +1 нуклеосома

Фаззирование от +1 нуклеосомы

Отсутствие нуклеосомы в промоторе



Расстояние от сайта начала транскрипции (п.н.)

В промоторах почти всех генов **дрожжей** в непосредственной близости от старта транскрипции присутствует участок, свободный от нуклеосом

Промоторы, не содержащие ТАТА-бокса (80% промоторов) имеют характерную картину расположения нуклеосом



Доступность ТАТА-бокса может регулироваться положением нуклеосом

b

Group 1



Требуется убрать нуклеосому с ТАТА для инициации транскрипции

Group 2

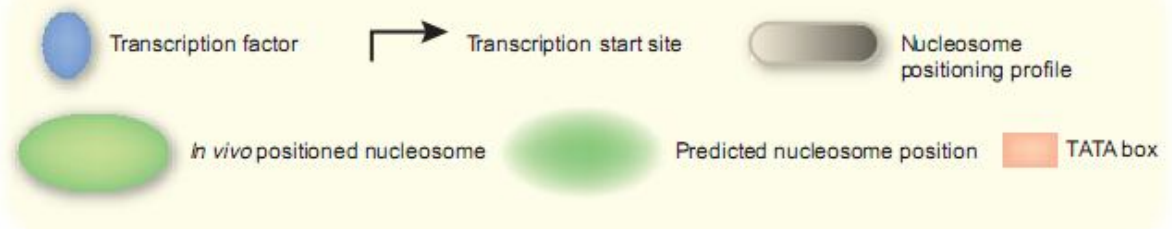


ТАТА-бокс доступен, РНК-полимераза связывается с промотором, но для элонгации транскрипции требуется дополнительный сигнал

Group 3



Наиболее активно транскрибирующиеся гены

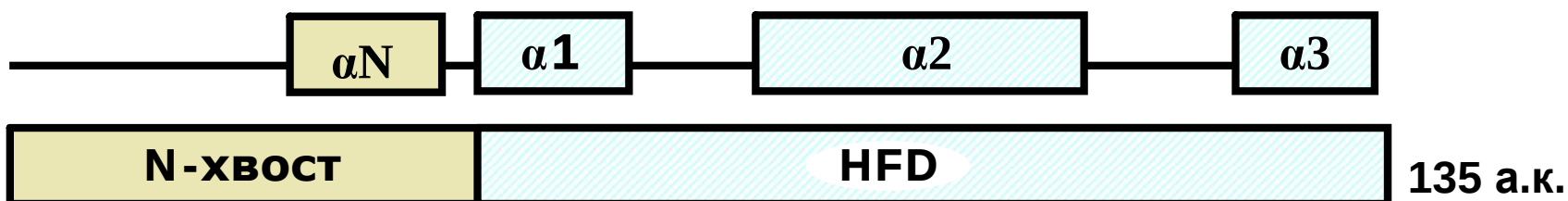


Стабильность связывания между ДНК и нуклеосомой может изменяться при замене основных вариантов гистонов на специфические и в результате ковалентных модификаций гистоновых ХВОСТОВ

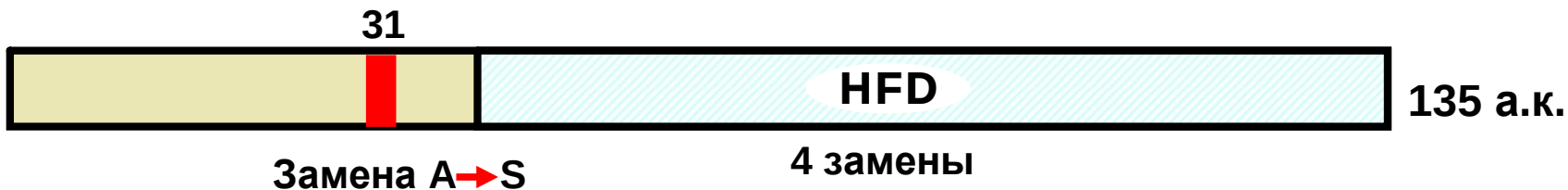
Варианты гистонов кодируются отдельными генами. Они гомологичны генам основного набора гистонов, но менее консервативны.

Варианты гистона H3

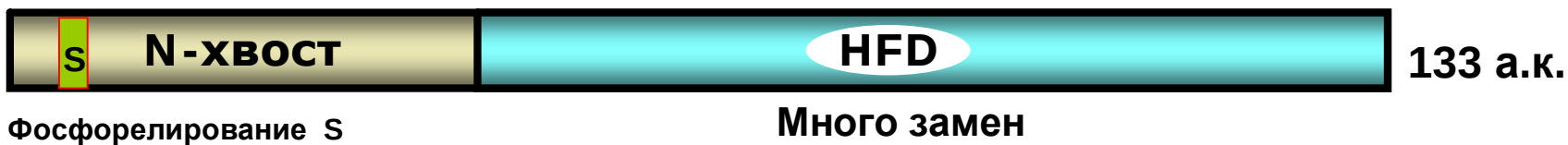
H3



H3.3 Вариант гистона H3, характерный для транскрипционно-активных районов

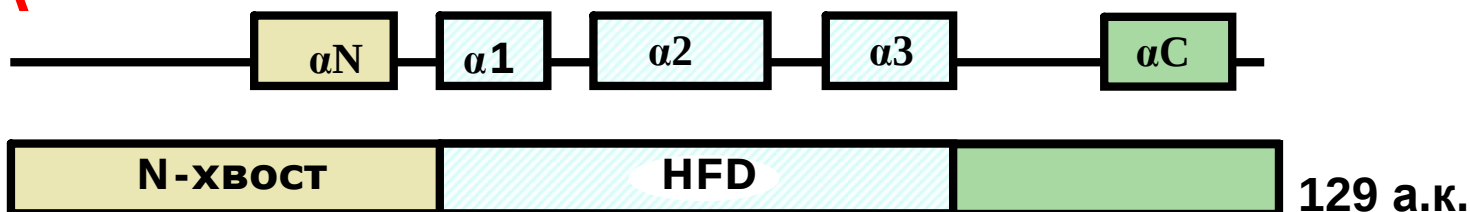


СенрА Заменяет гистон H3 в центромерах



Варианты гистона H2A

H2A



H2AX

В случае 2ц. разрывов в ДНК фосфорилируется по S139, что является меткой для систем репарации



H2AZ

Изменяет прочность связывания нуклеосомы с ДНК, встречается в окрестностях промоторов и других регуляторных элементов, а также в гетерохроматине

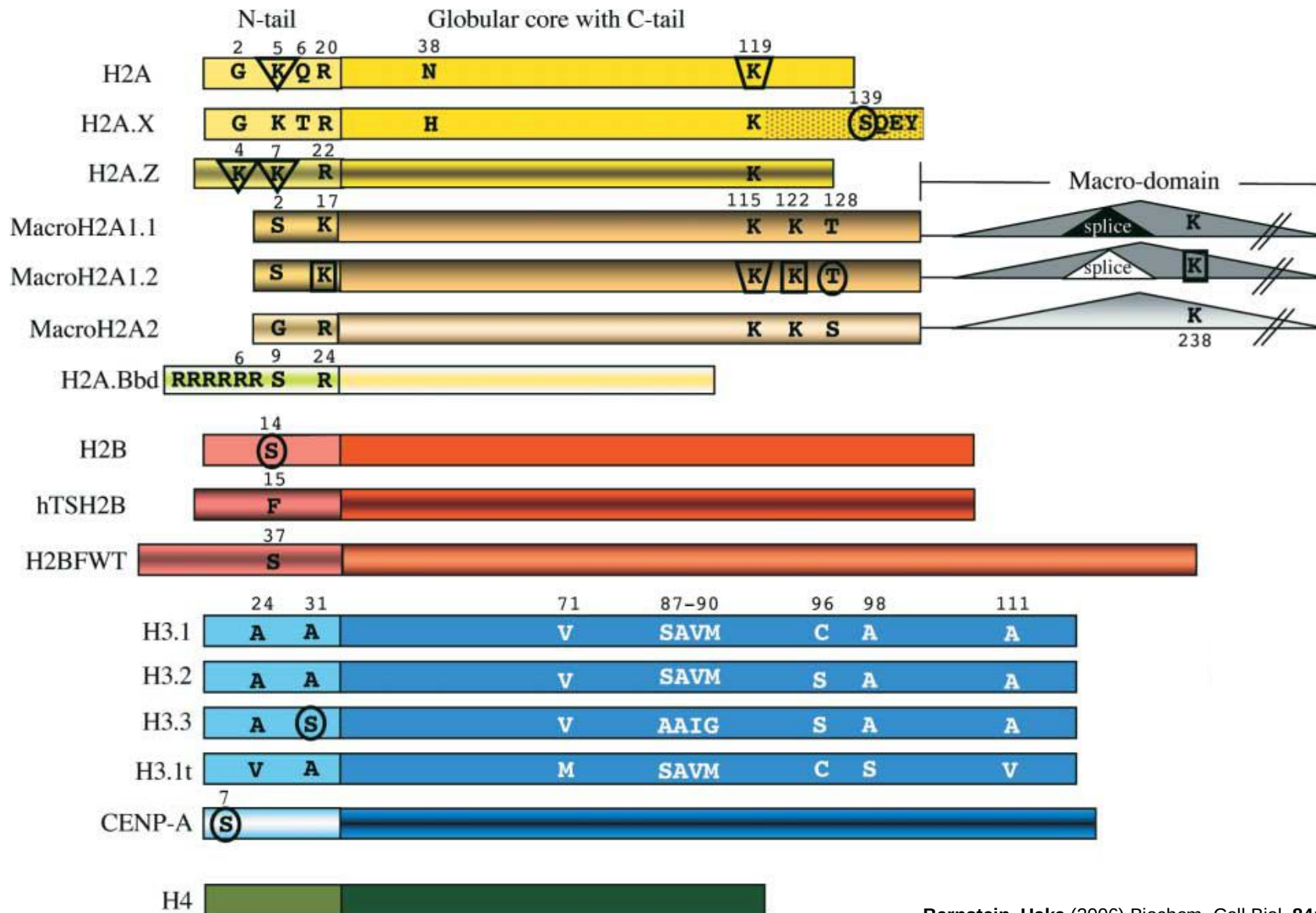


MacroH2A

Участвует в инактивации одной из X-хромосом самок млекопитающих



Разные варианты гистонов претерпевают различные ковалентные модификации



Bernstein, Hake (2006) Biochem. Cell Biol. **84**: 505–517



Метилированный лизин



Ацетилированный лизин



Фосфорилированный серин

Варианты гистонов распределены на хромосомах в зависимости от их функции

