

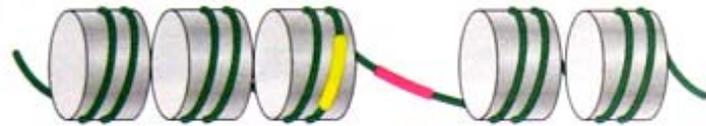
АТФ-зависимый ремоделинг (=реорганизация) хроматина

**Процессы, которые требуют
реорганизации хроматина:**

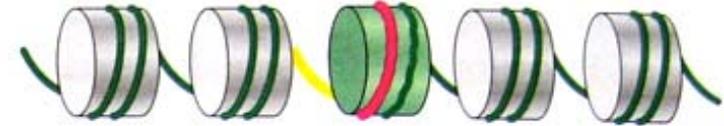
1. Репликация
2. Транскрипция
3. Рекомбинация
4. Репарация

Ремоделинг - это изменение связывания ДНК с гистонами

Перемещение отдельных нуклеосом (sliding)

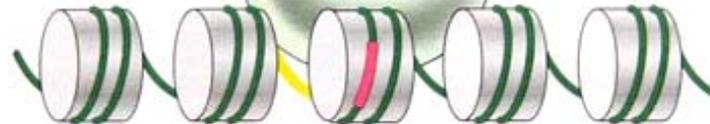


Сборка-разборка нуклеосом и замена вариантов гистонов



ATP
ADP

Chromatin-remodeling factor

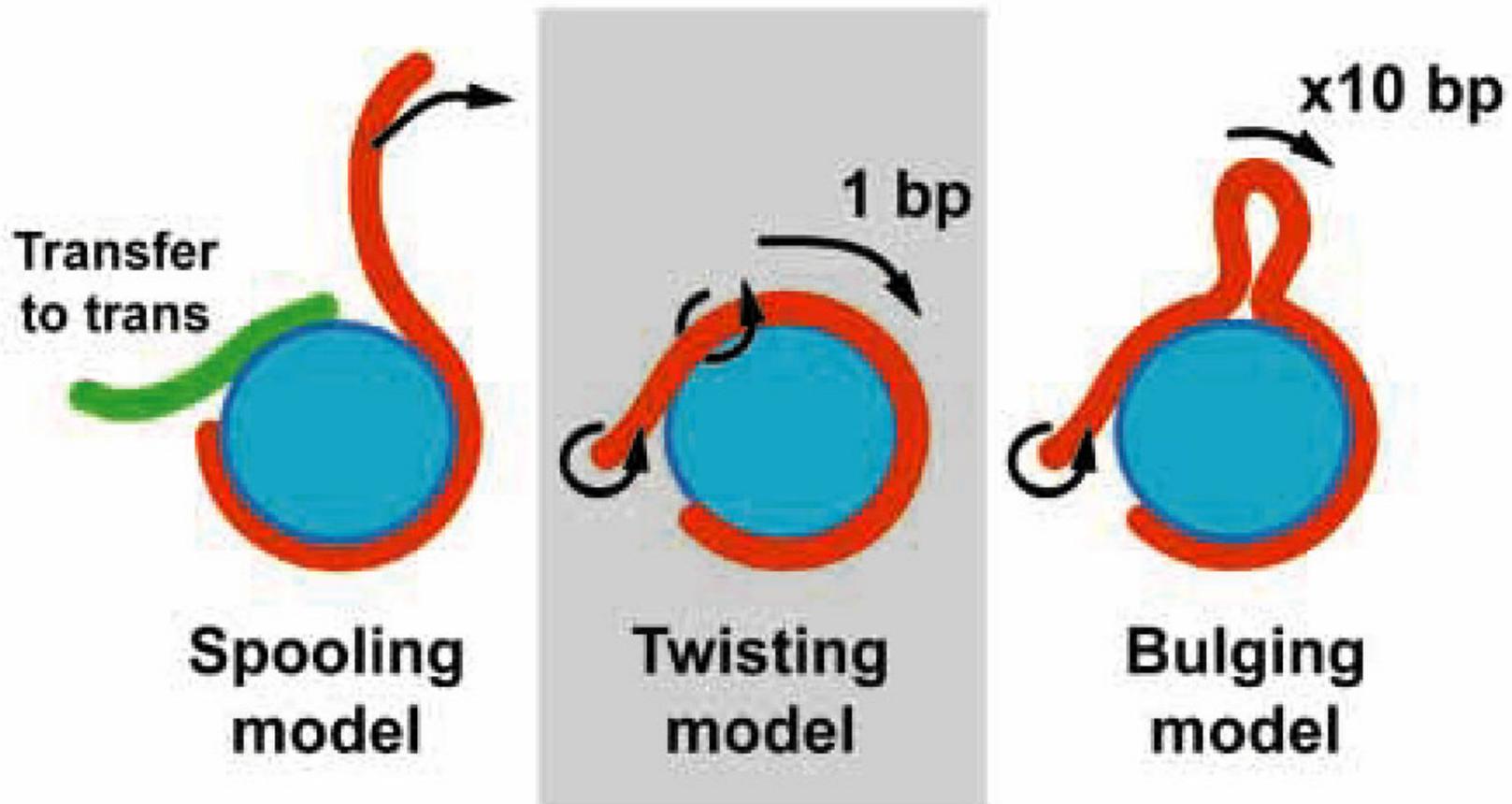


Удаление нуклеосом



Изменение расстояния между нуклеосомами
Дестабилизация нуклеосом
Изменение доступности ДНК

Работа комплекса ремоделинга



Структура комплекса ремоделинга

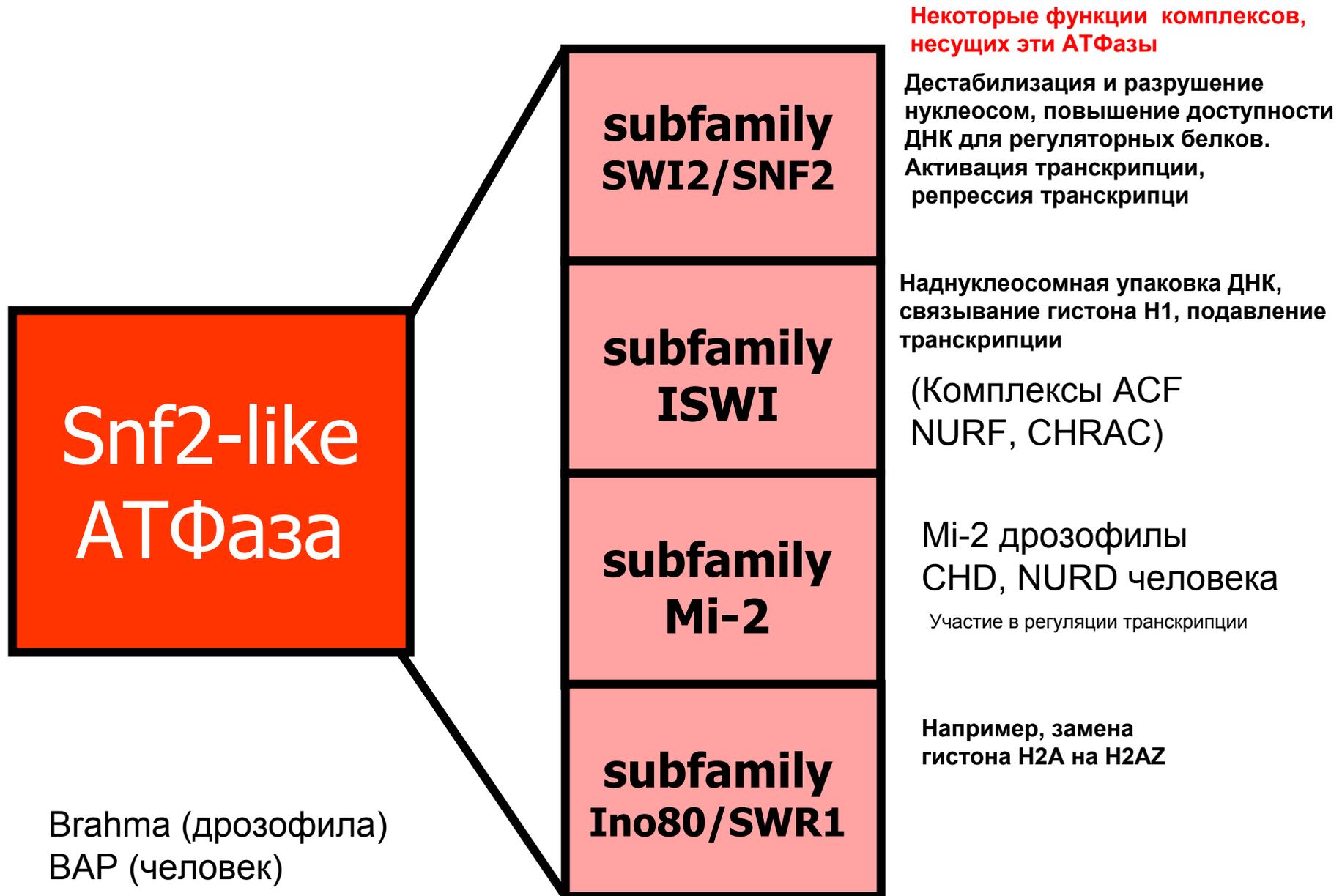
Ремоделинг хроматина осуществляется
многокомпонентными белковыми
комплексами

Одни и те же белки могут входить в состав нескольких комплексов

все комплексы ремоделинга содержат АТФазу



Классификация АТФаз, входящих в состав комплексов ремоделинга



АТФазы, входящие в состав комплексов ремоделинга, относятся к НМГ белкам

НМГ - фракция небольших ядерных белков (High Mobility Group – быстро бегут на форезе), связывающихся с ДНК

Их в клетке очень много – всего на порядок меньше, чем гистонов

Число молекул на
клетку

$2 \cdot 10^7$	Коровые гистоны
$\sim 10^6$	НМГ1/2 (=НМГВ) – содержат НМГ-бокс
$\sim 10^4$	НМГ1(Y) (=АТН1) – содержат АТ-хук домен
$\sim 10^5$	НМГ14/17 содержат домены для узнавания модификаций гистонов

Классификация условна, так как белок может одновременно включать все эти домены

Домены АТ-хук и НМГ-бокс связываются с малой бороздкой ДНК с разной специфичностью, в зависимости от конформации ДНК (изгибы, скручивание) и при связывании меняют эту конформацию.

АТФазы, входящие в состав комплексов ремоделинга, относятся к НМГ белкам

НМГ - фракция небольших ядерных белков (High Mobility Group – быстро бегут на форезе), связывающихся с ДНК

Их в клетке очень много – всего на порядок меньше, чем гистонов

Число молекул на клетку

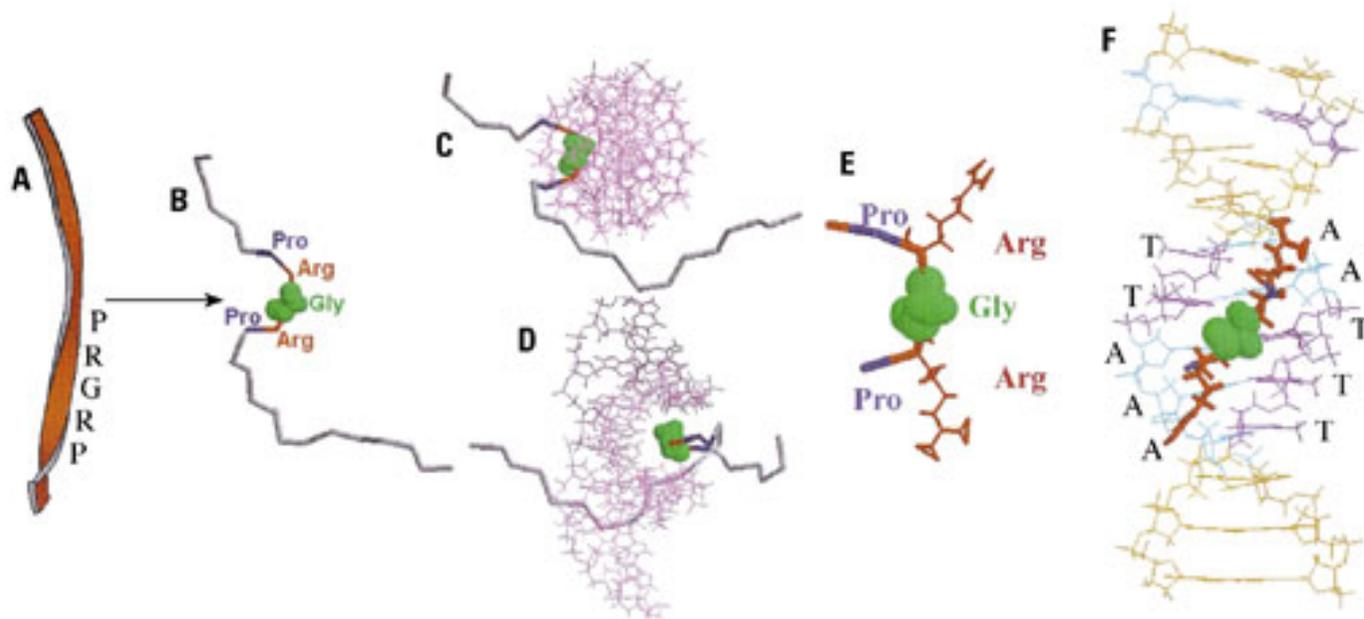
$2 \cdot 10^7$	Коровые гистоны
$\sim 10^6$	НМГ1/2 (=НМГВ) – содержат НМГ-box
$\sim 10^4$	НМГ1(Y) (=АТН1) – содержат АТ-hook домен
$\sim 10^5$	НМГ14/17 содержат домены для узнавания модификаций гистонов

Классификация условна, так как белок может одновременно включать все эти домены

Домены AT-hook и HMG-box

связываются с малой бороздкой ДНК с разной специфичностью, в зависимости от конформации ДНК (изгибы, скручивание) и при связывании меняют эту конформацию.

AT-hook лучше всего связывается с АТ-богатыми участками. При его связывании происходит «подкручивание» ДНК. Чем больше в белке АТ-hook доменов, тем сильнее он изменяет конформацию ДНК.

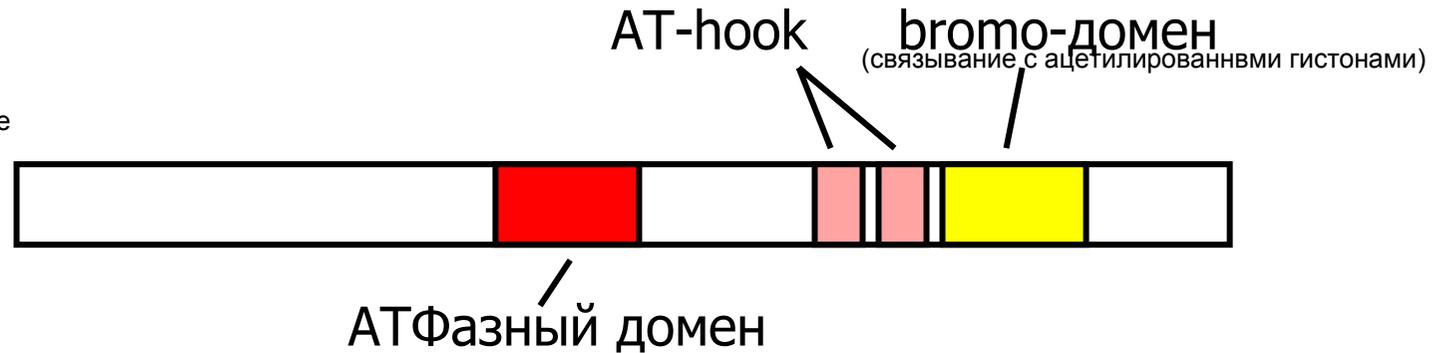


HMG-box наиболее специфично связывается с «недокрученной» ДНК, например, вблизи «входа-выхода» на нуклеосому

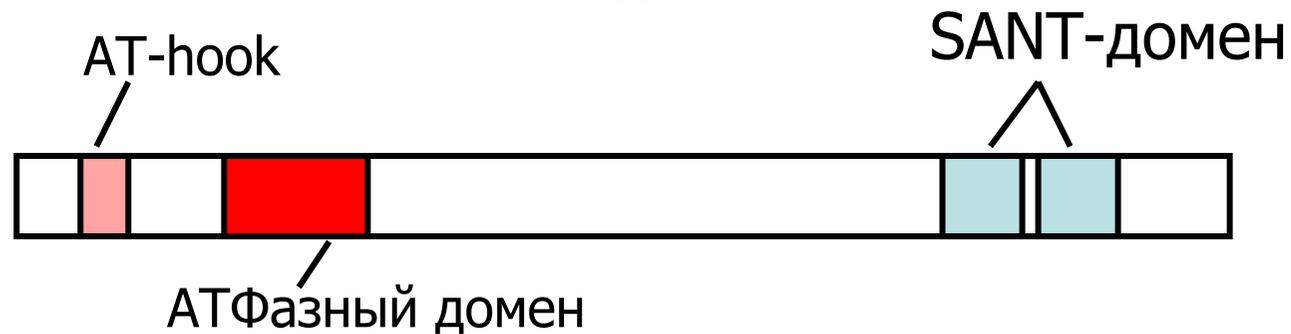
Консервативные домены АТФаз, входящих в состав комплексов ремоделинга

SWI/SNF

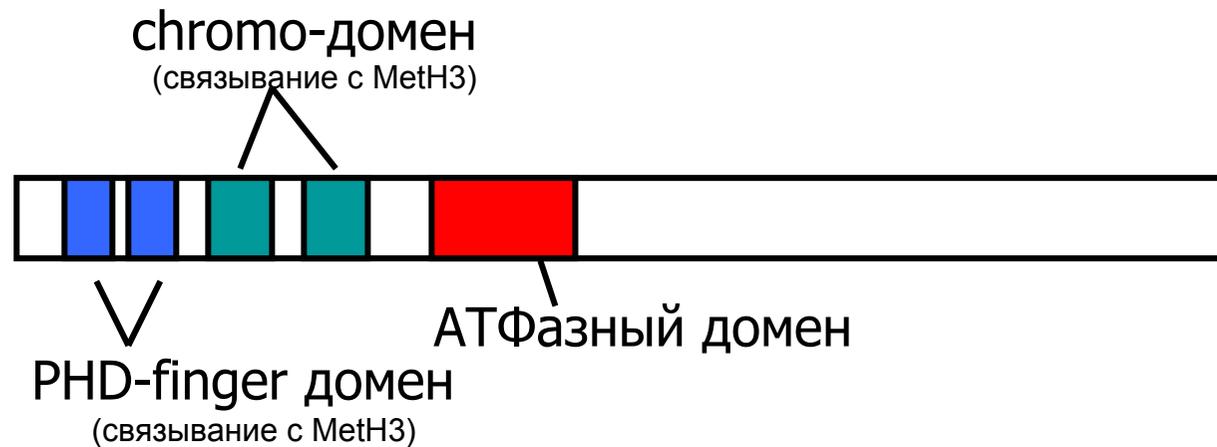
Например,
SWI2/SNF2 дрожжей *S. cerevisiae*
Brahma (BRM) дрозофилы
hBRM человека



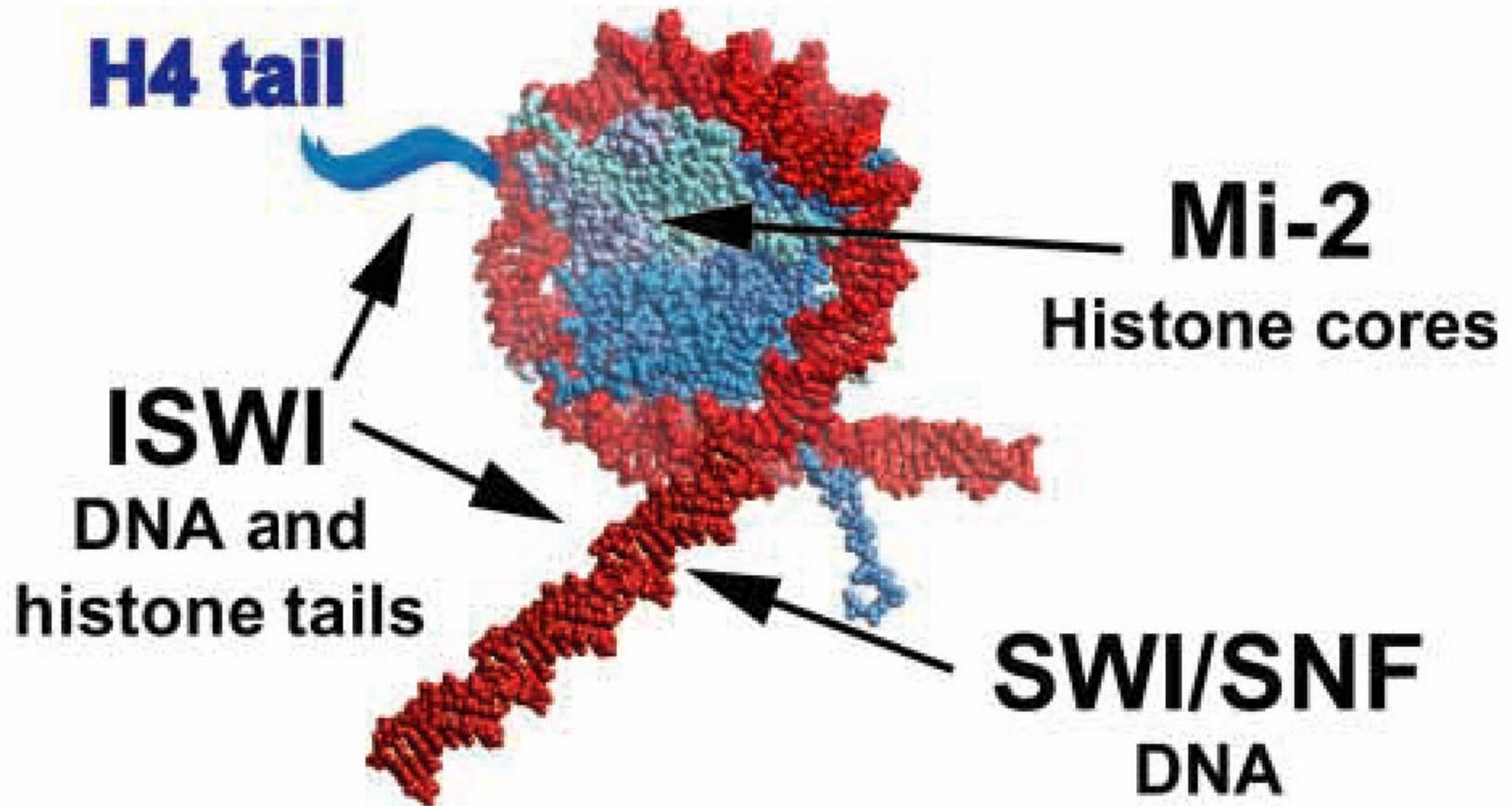
ISWI



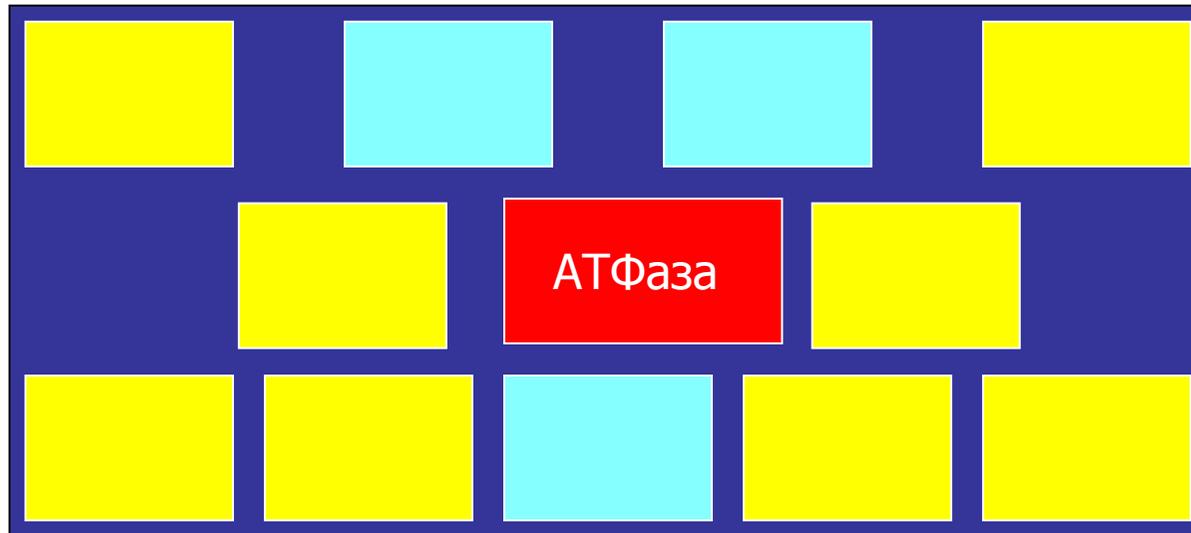
Mi-2



Все содержат домены для узнавания конформации ДНК и модификаций хроматина



Структура комплекса ремоделлинга



4 коровых компонента

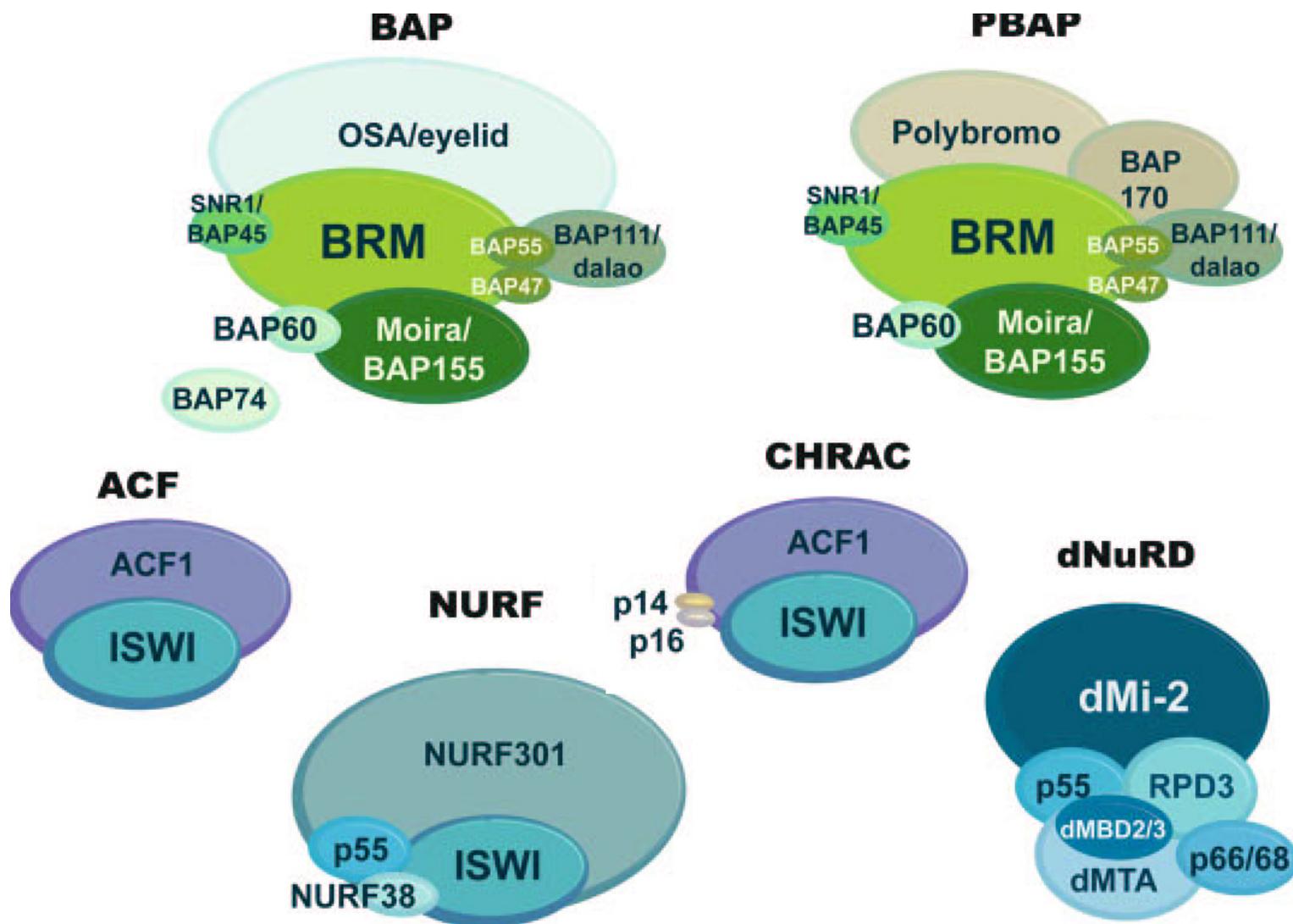
АТФаза+неАТФазные субъединицы
Обеспечивают работу комплекса *in vitro*

3-12 дополнительных

Обеспечивают
временную,
тканеспецифическую или
локус-специфическую
работу комплекса

Примеры комплексов ремоделинга

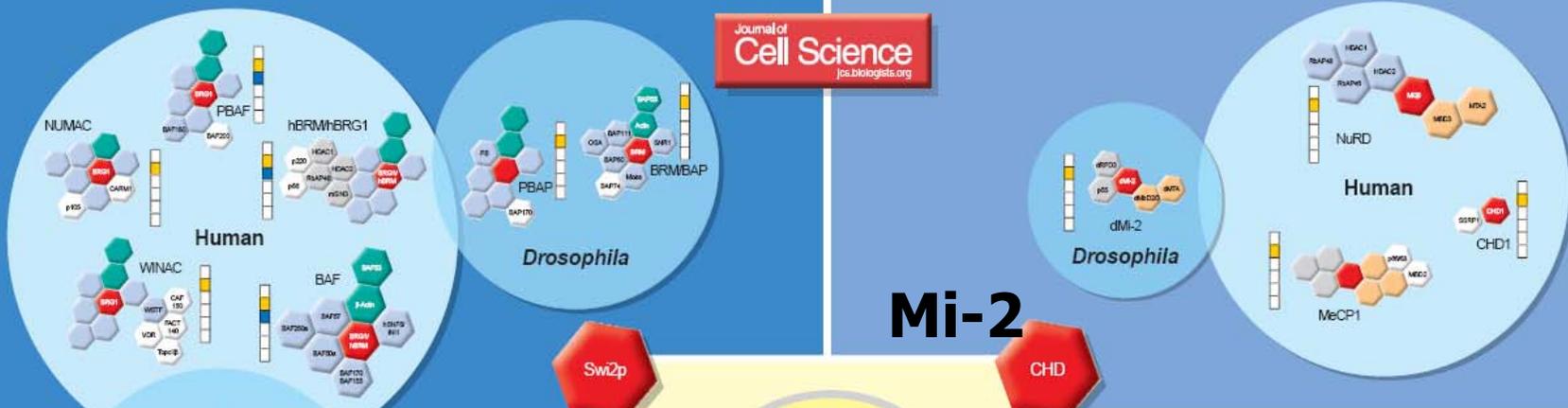
(страшная картинка для медитации)



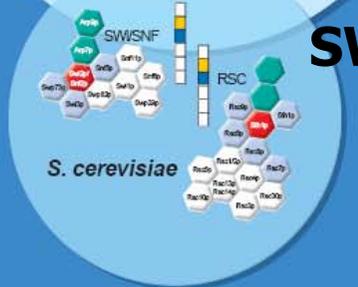
ATP-dependent Nucleosome Remodelling: Factors and Functions

Anton Eberharter and Peter B. Becker

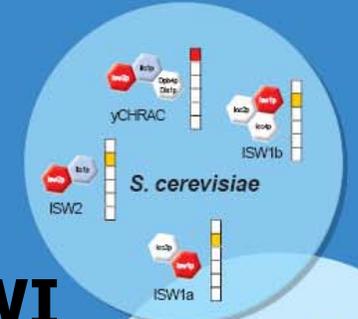
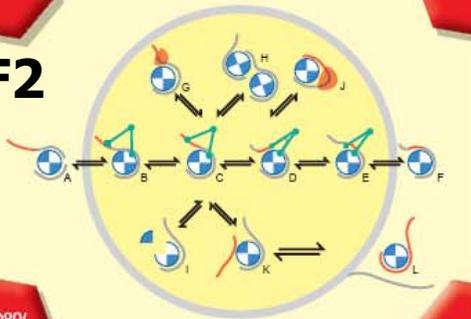
Journal of Cell Science
jcs.biologists.org



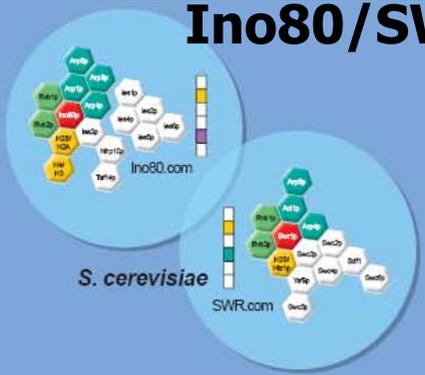
Mi-2



SWI2/SNF2

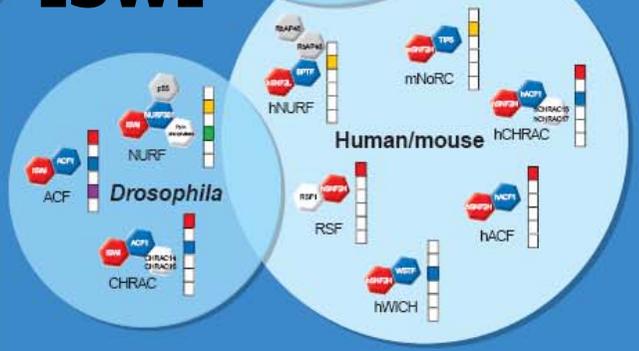


ISWI

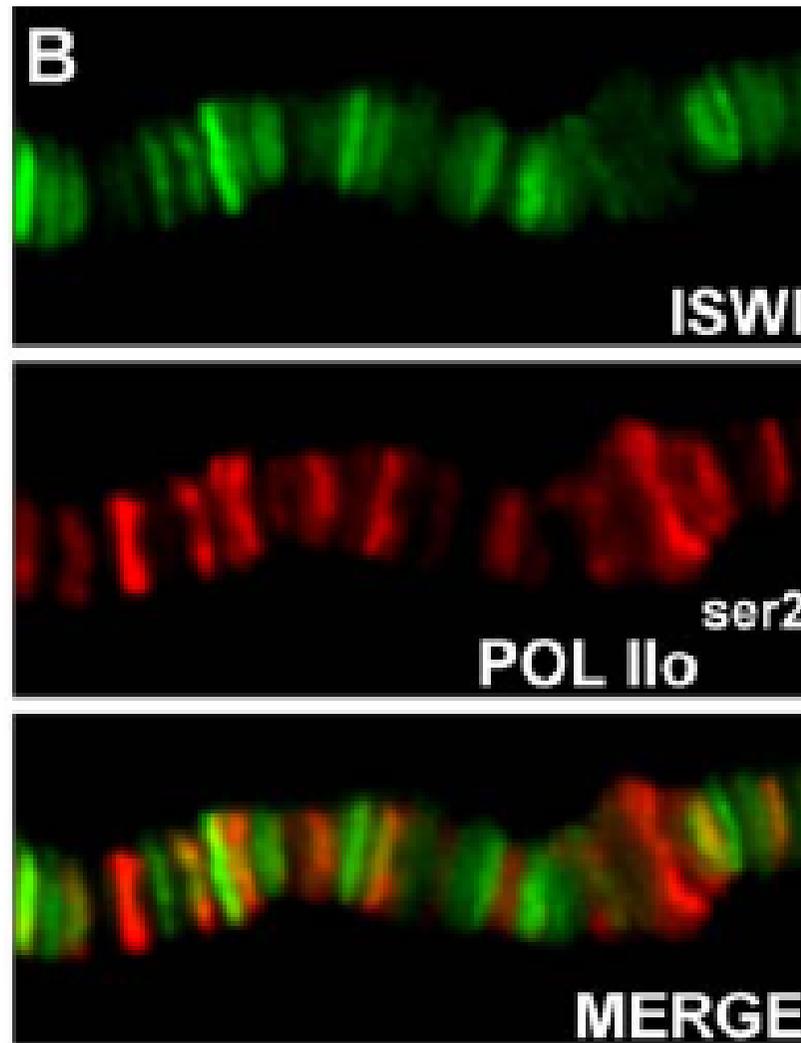


Ino80/SWR1

Key	
	ATPase
	Histones
	Actin and ARPs
	Ruv-like proteins
	Methyl-DNA binding complex
	Deacetylase complex
	BAZ/WAL family
	SWI complex
	Chromatin assembly
	Transcription
	Replication
	Chromosome structure
	Repair
	Recombination



ISWI Plays a Relatively Global Role in Transcriptional Activation and Repression In Vivo



Corona et al., 2007// ISWI Regulates Higher-Order Chromatin Structure and Histone H1 Assembly
In Vivo PLoS Biology | www.plosbiology.org

ISWI plays essential roles in global chromosome organization *in vivo*

ISWI⁺

*ISWI*²

ISWI^{K159R}

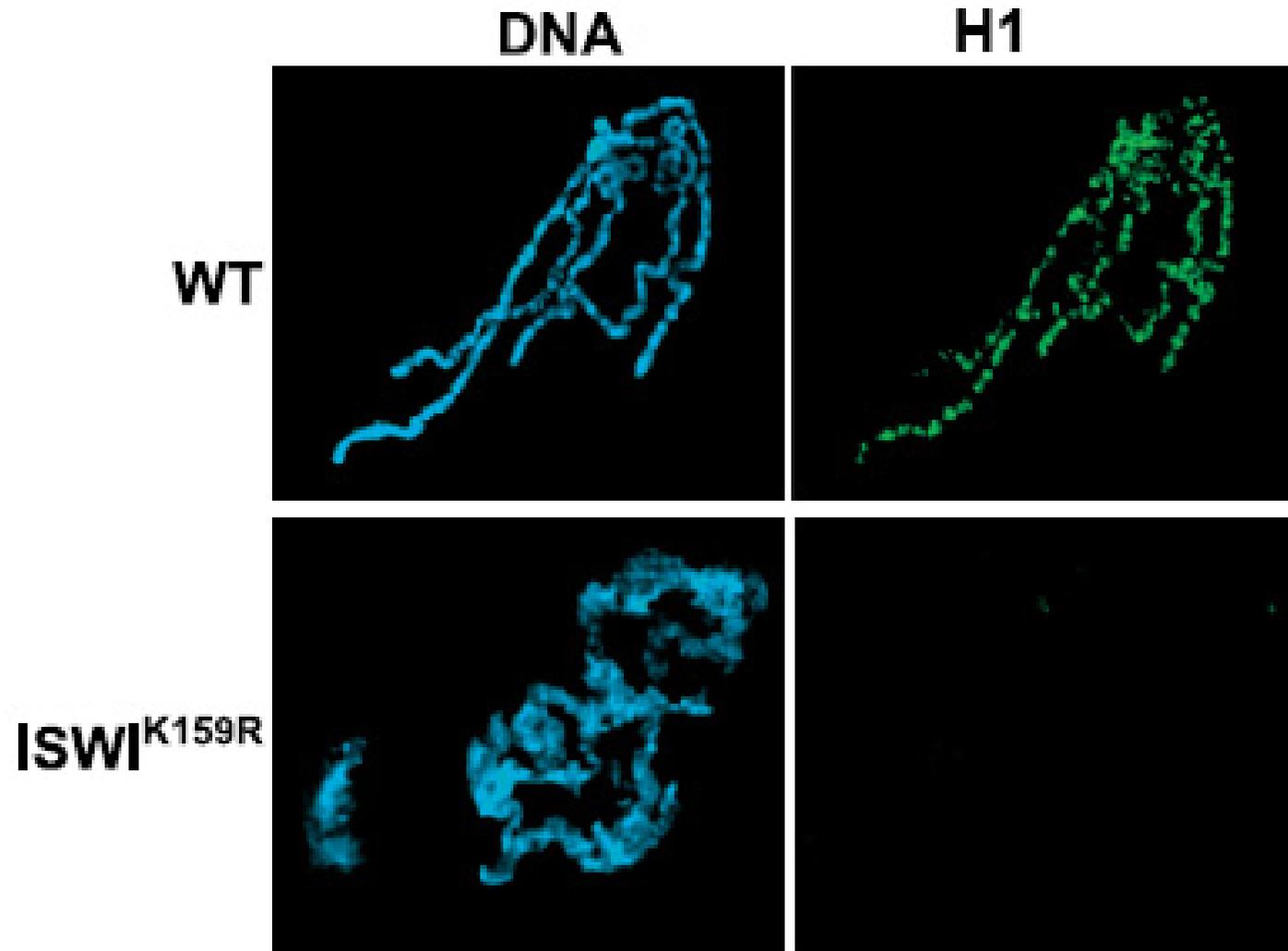


high

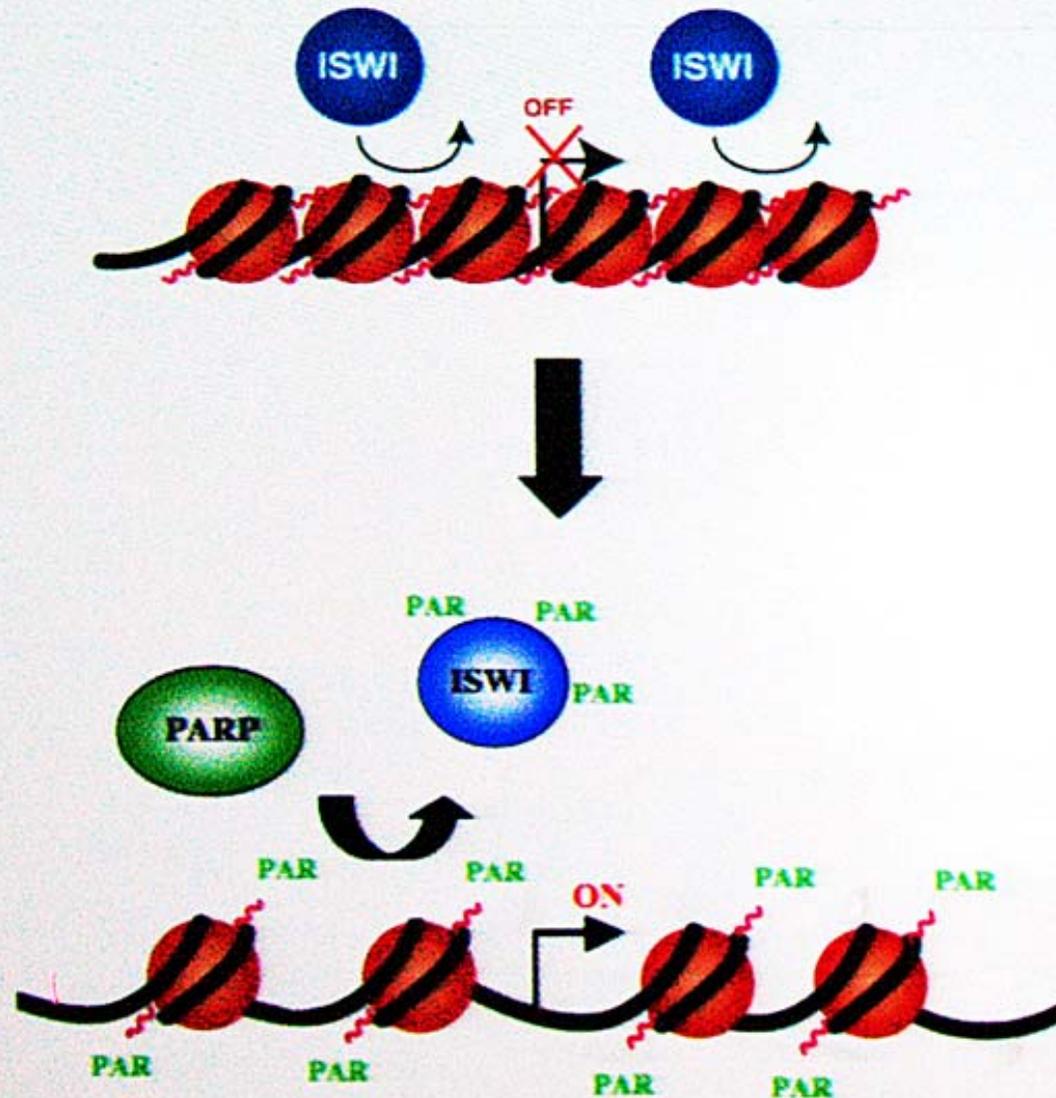
low

ISWI function

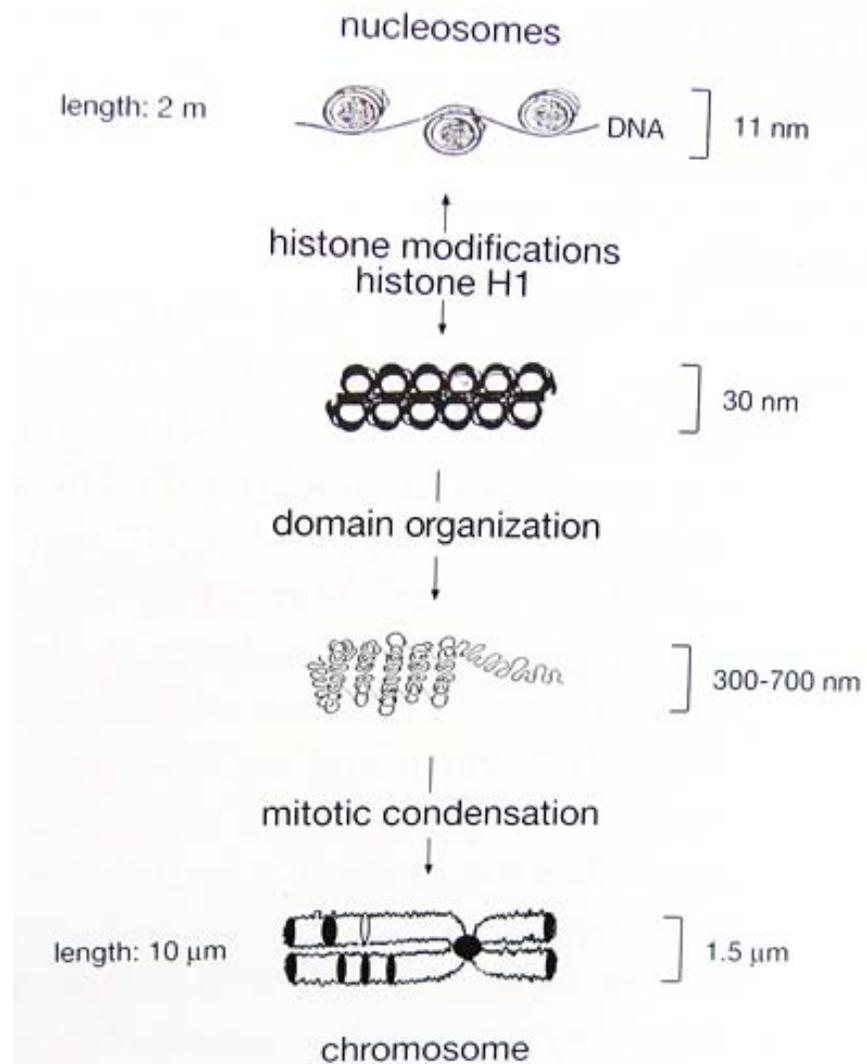
ISWI plays a global role in chromatin compaction in vivo by promoting the association of histone H1 with chromatin.

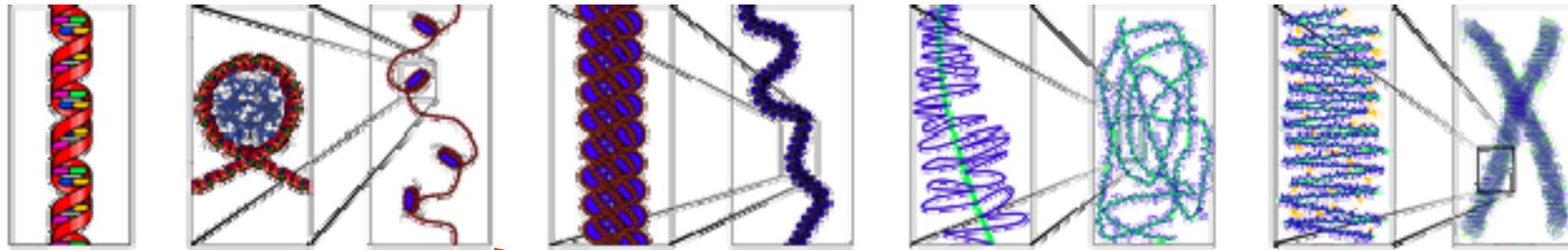


A model for ISWI / Parp genetic interaction



Уровни организации хроматина (общий обзор)





ДНК

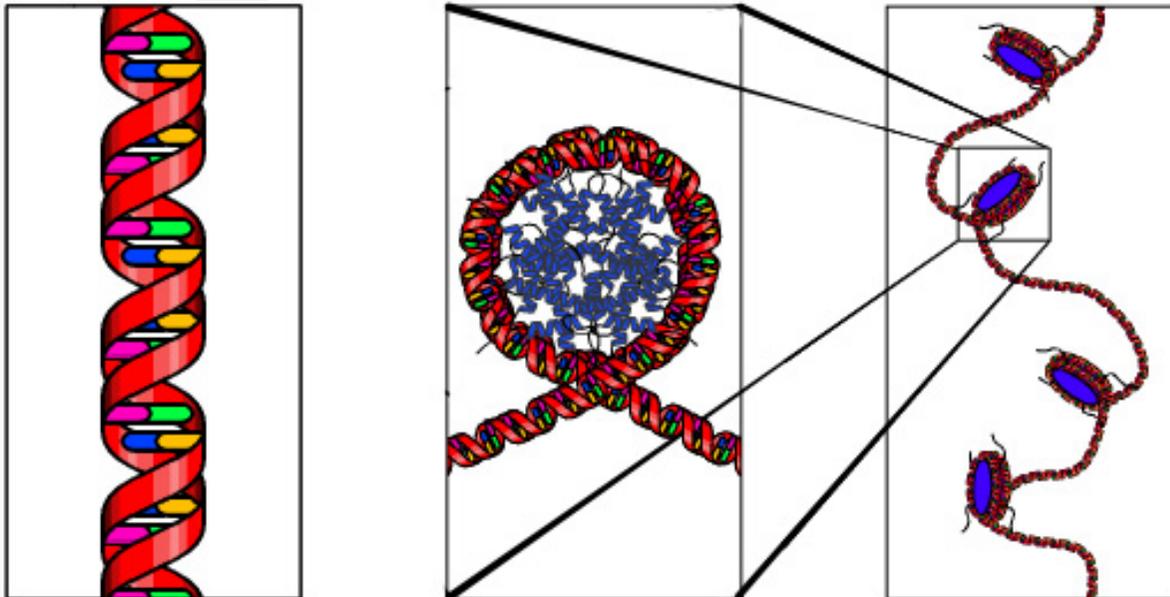
Изолированные
фрагменты

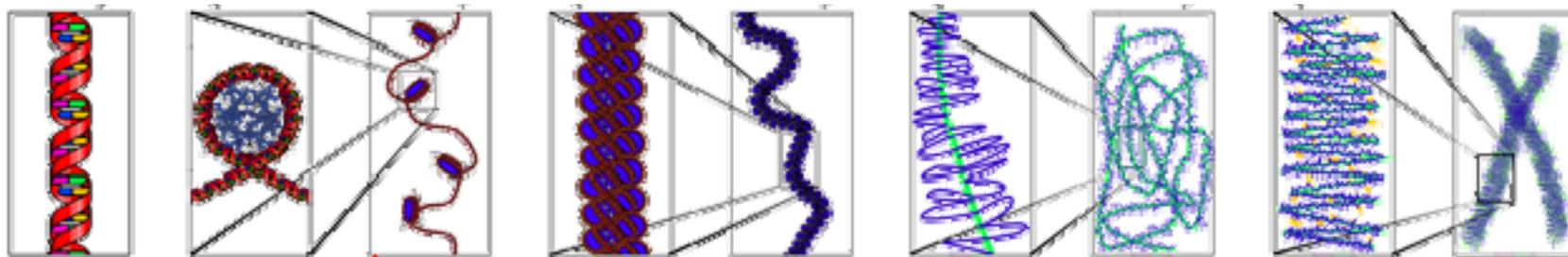
нуклеосомы

Активно транскрибирующиеся гены

«бусины на нитке»

+ коровые гистоны





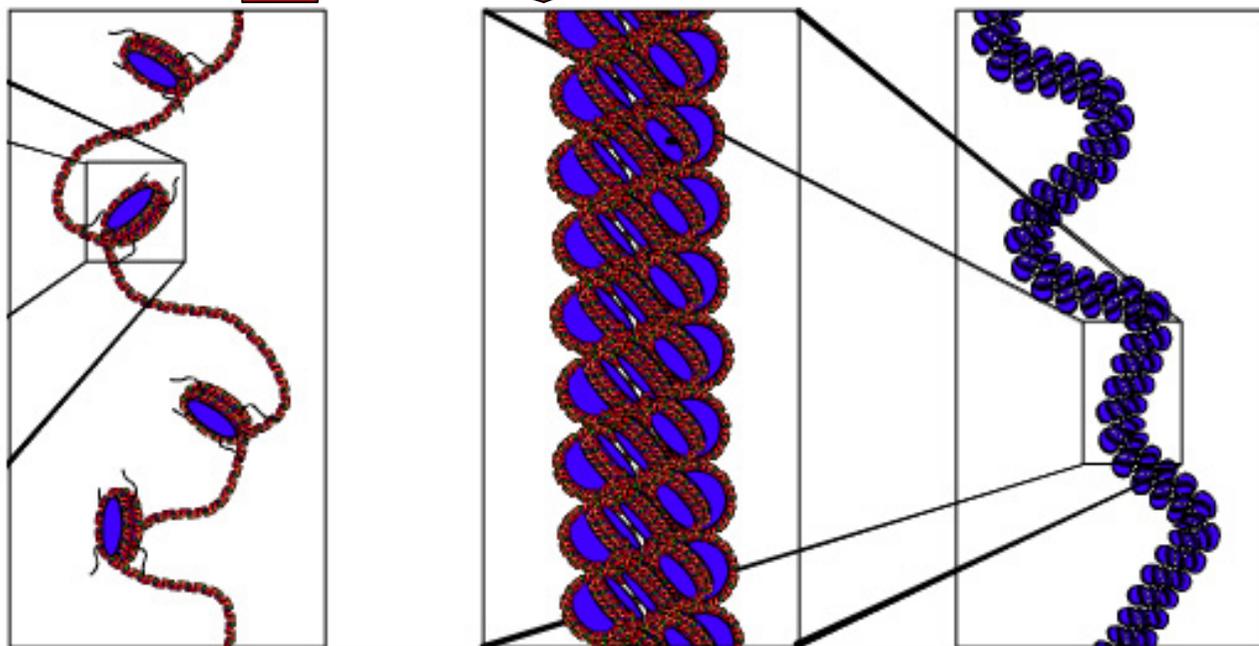
«бусины на нитке»

30 нм фибрилла

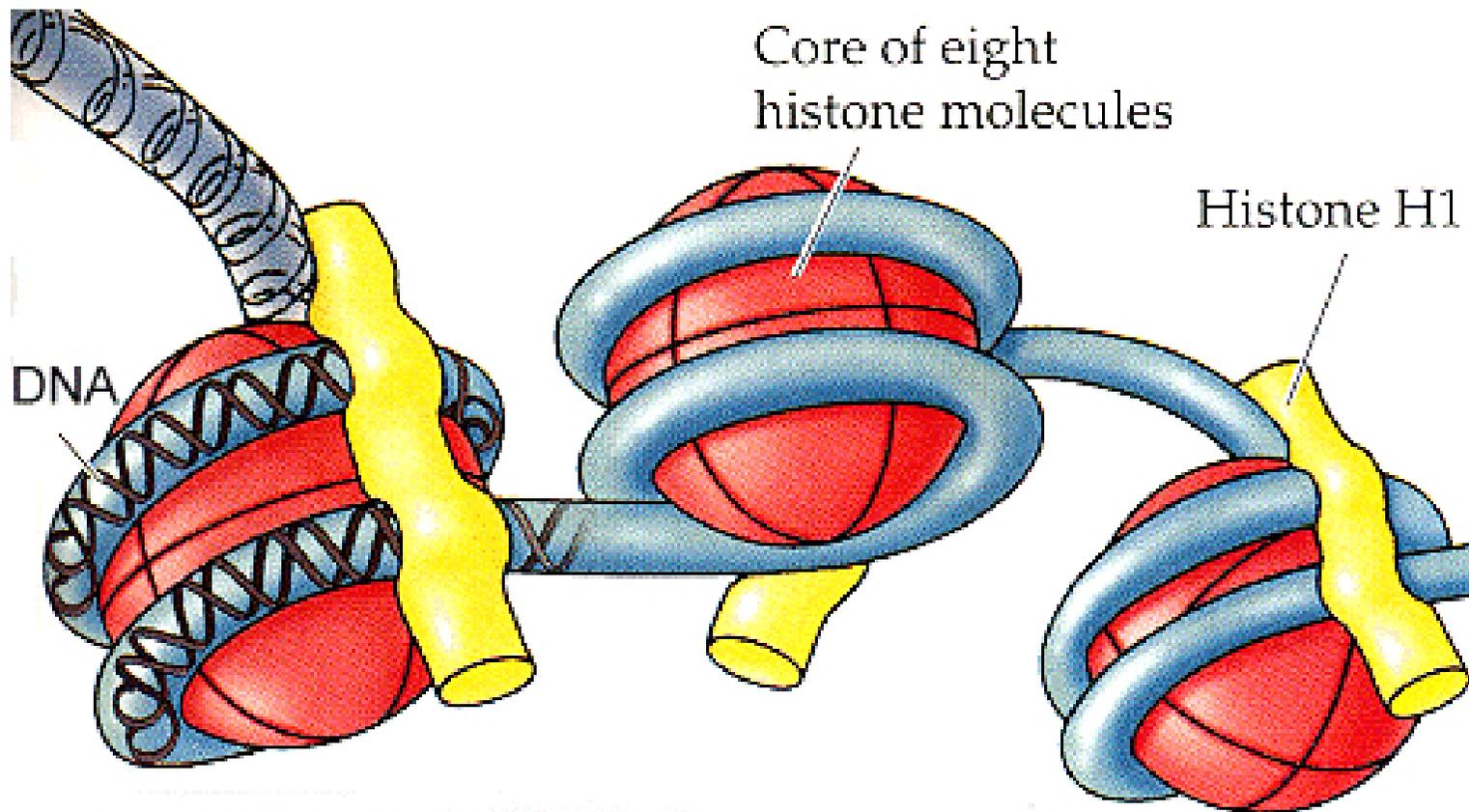
Активно транскрибирующиеся гены

Менее активные гены

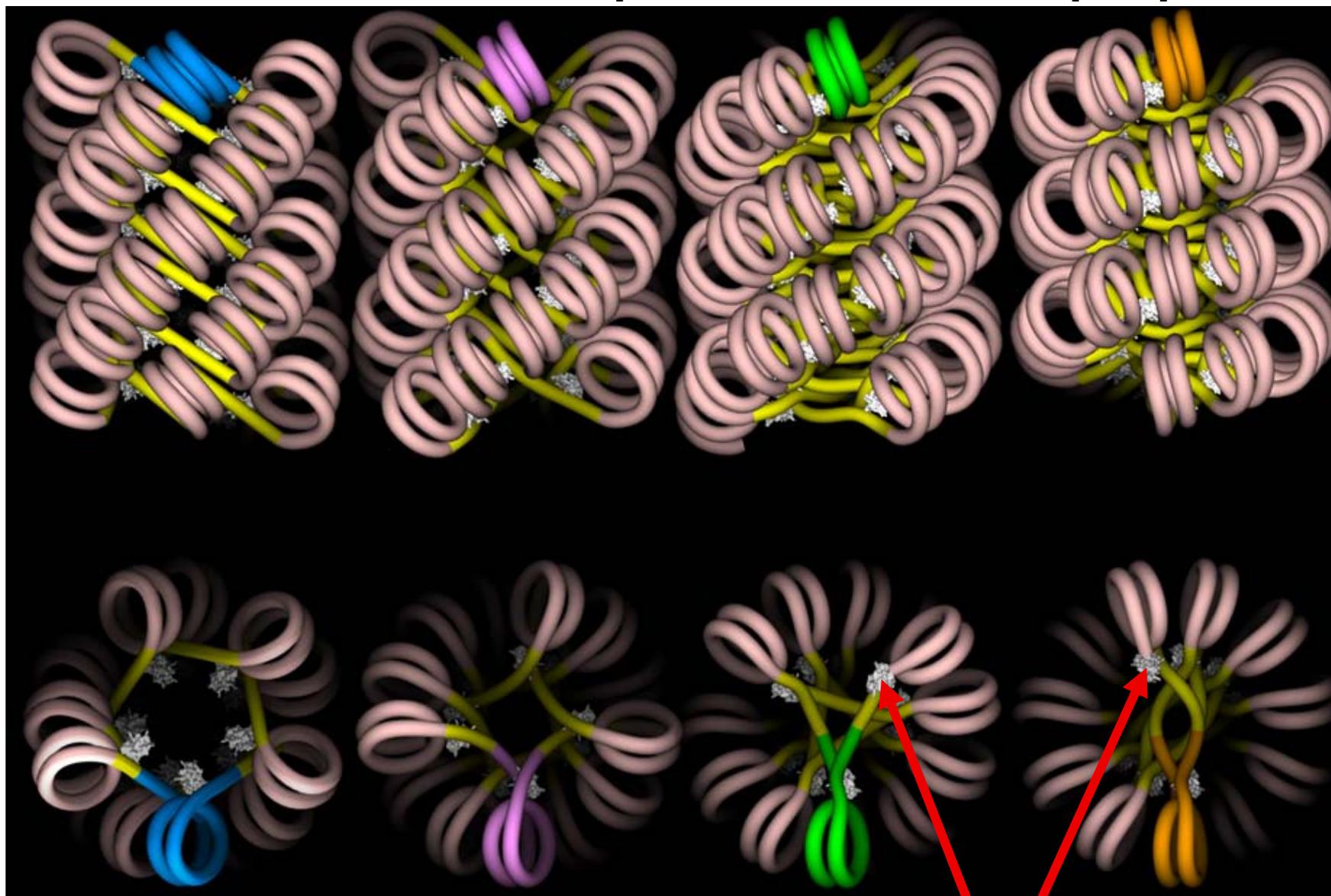
+ гистон H1



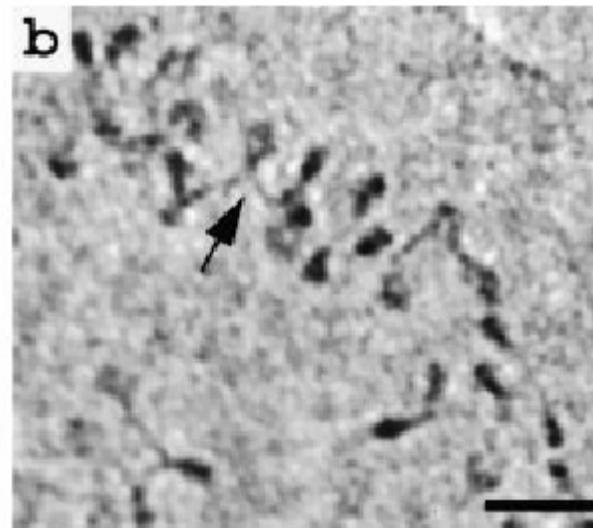
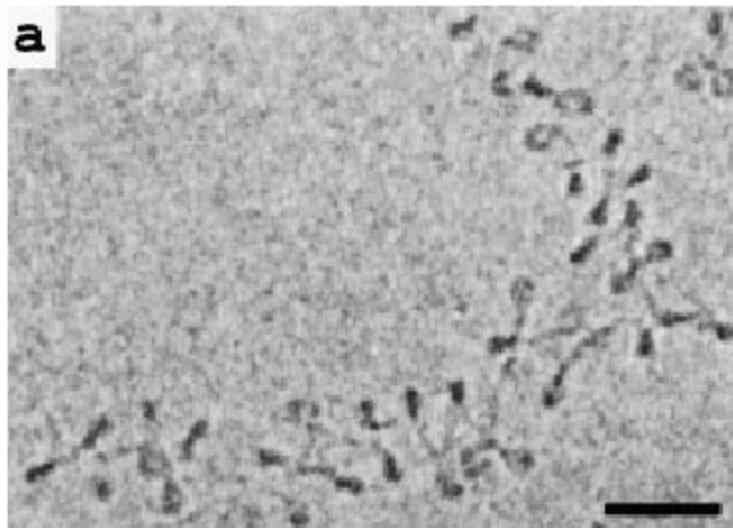
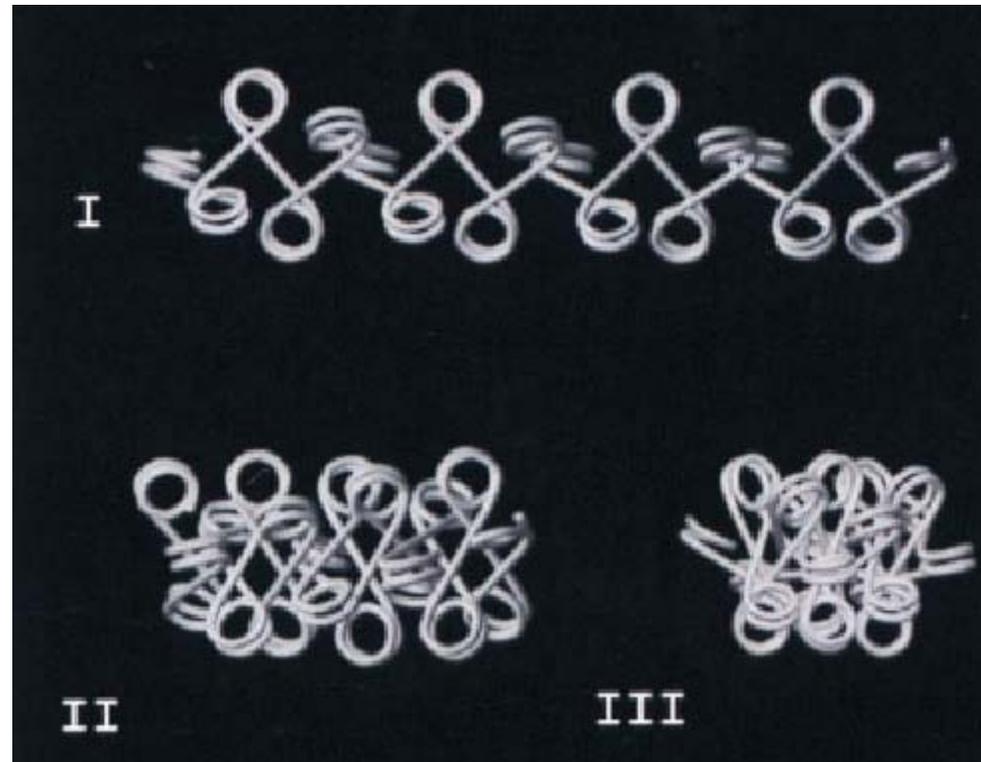
H1 – линкерный гистон

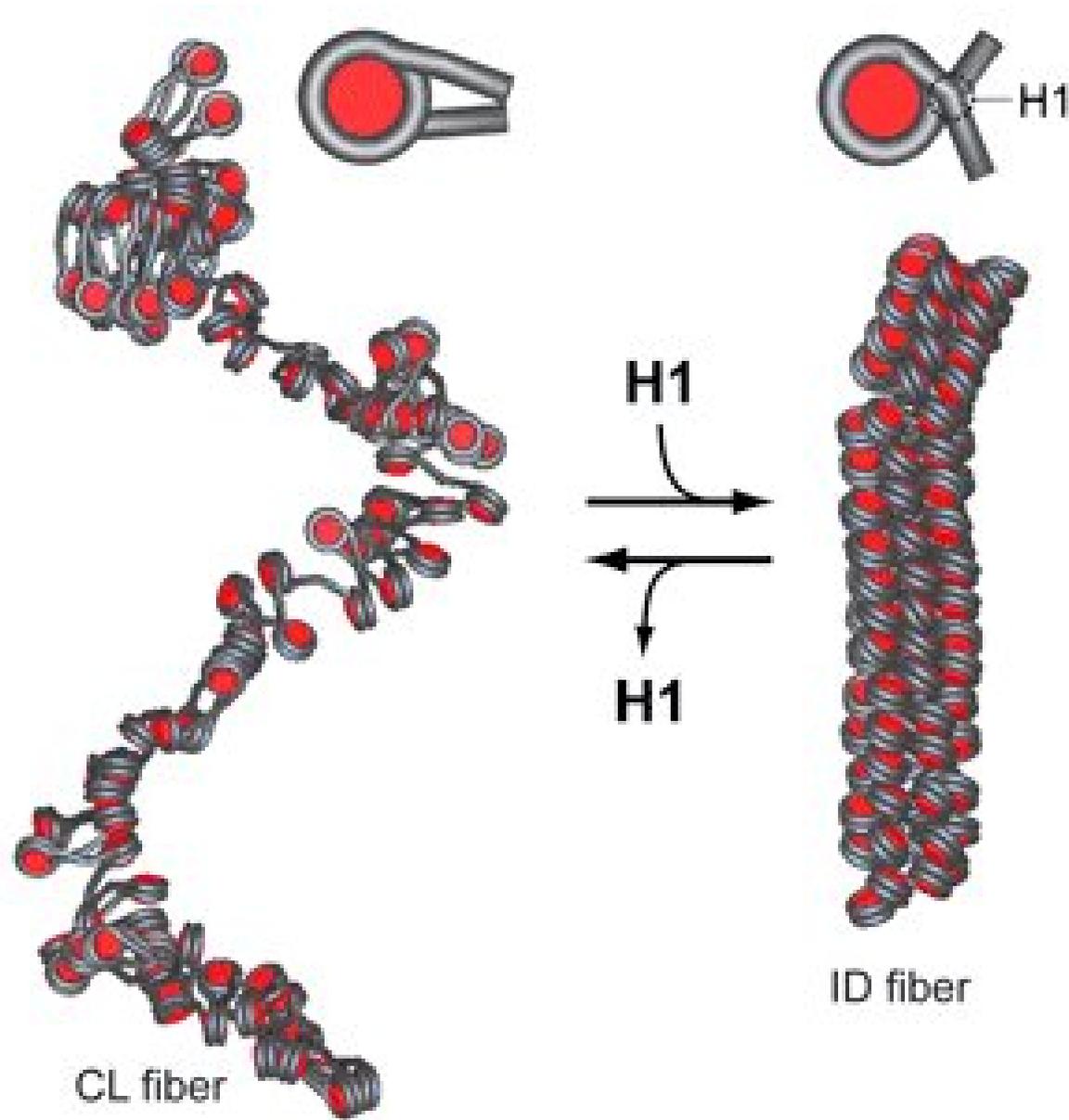


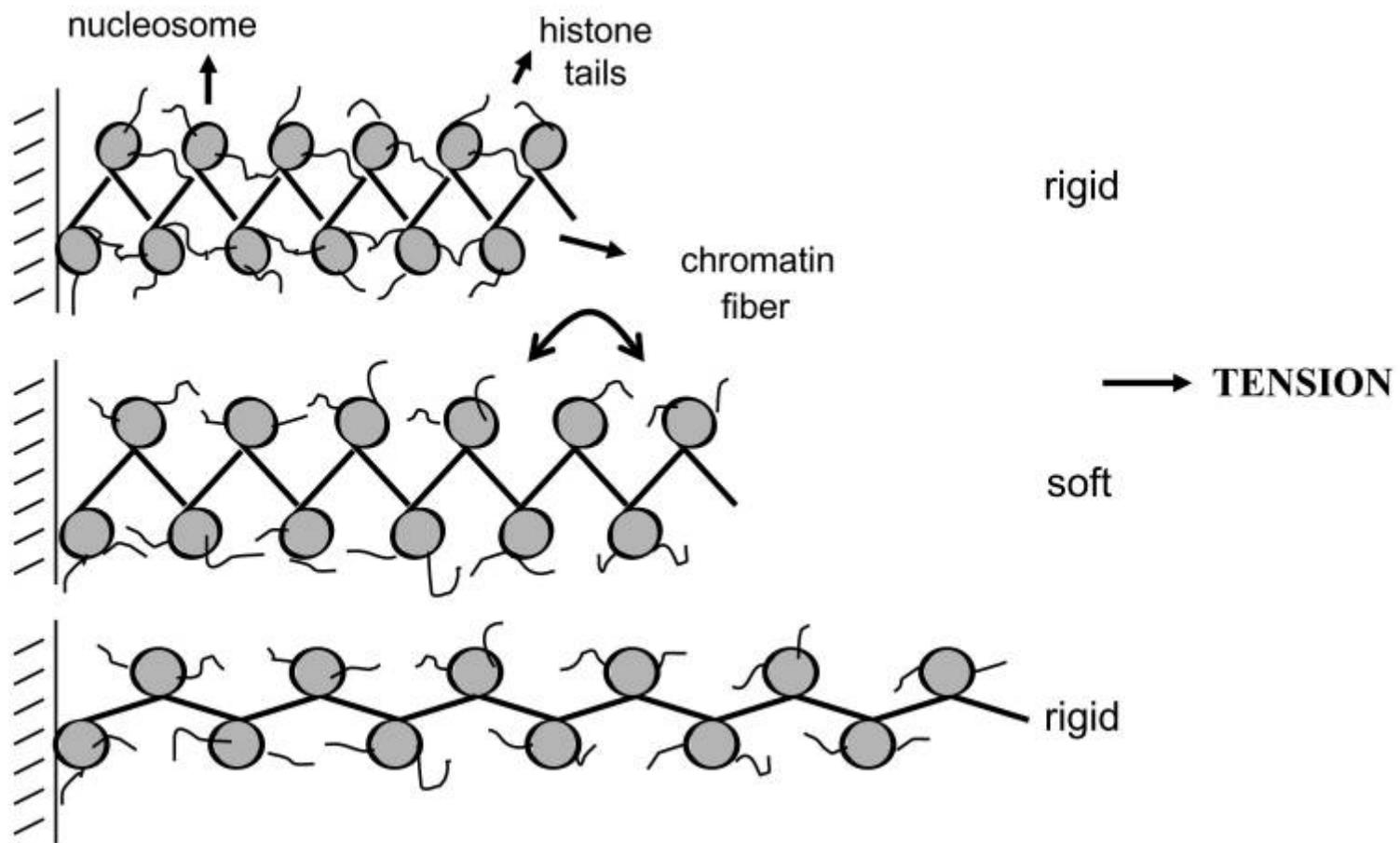
Гипотетические модели организации 30-нм фибриллы

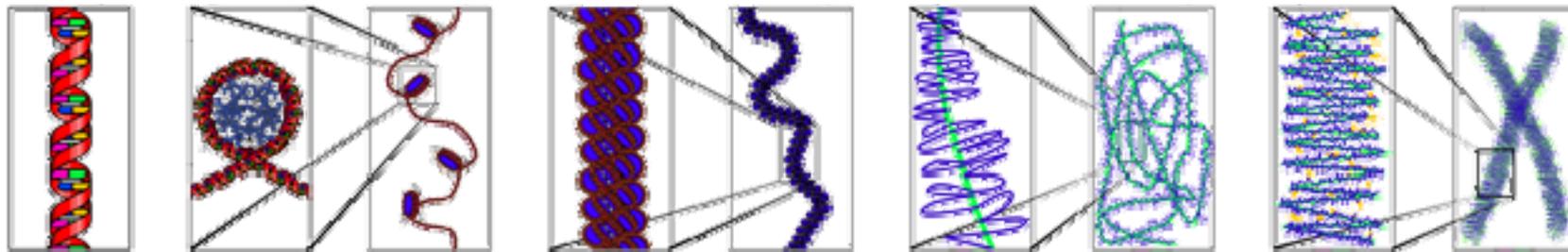


Гистон H1







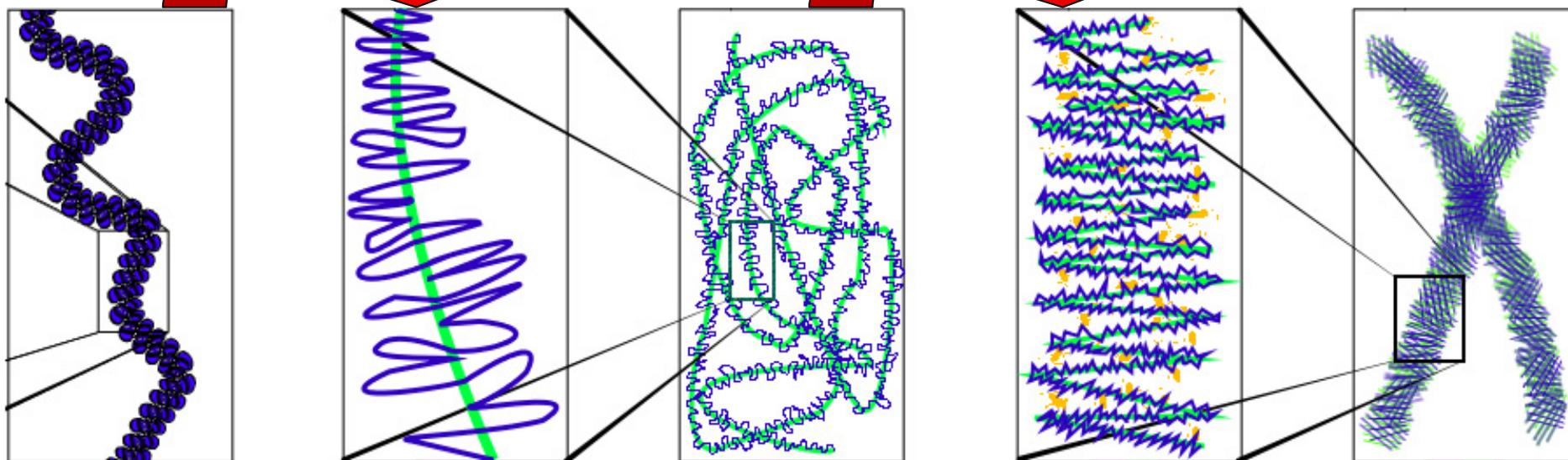


Активный хроматин
(интерфаза)

Метафазная хромосома
(деление клетки)

Белки ядерного матрикса

Белки ядерного матрикса



Что такое ядерный матрикс ?



HeLa cell nuclei; histones extracted with 25mM 3,5-diiodosalicylic acid (lithium salt)

Считается, что:

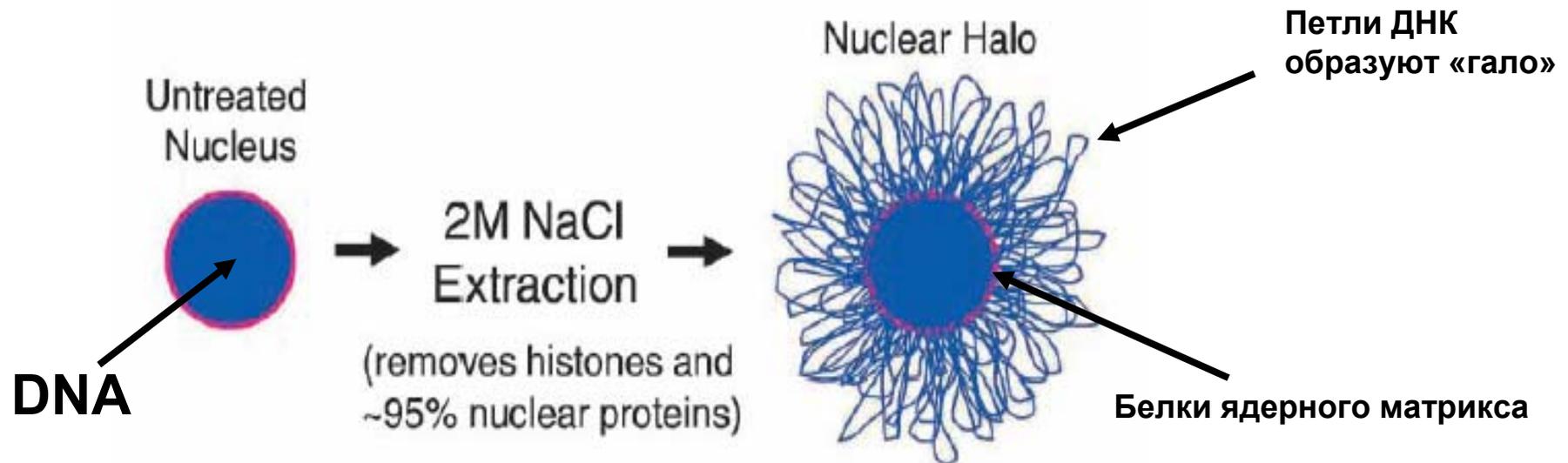
Ядерный скелет или ядерный матрикс (*nuclear matrix*) — опорная структура ядра клетки, составленная периферической пластинкой и пронизывающими ядро тяжами.

Матрикс построен преимущественно из негистоновых белков, формирующих сложную разветвленную сеть, сообщающуюся с ядерной ламиной.

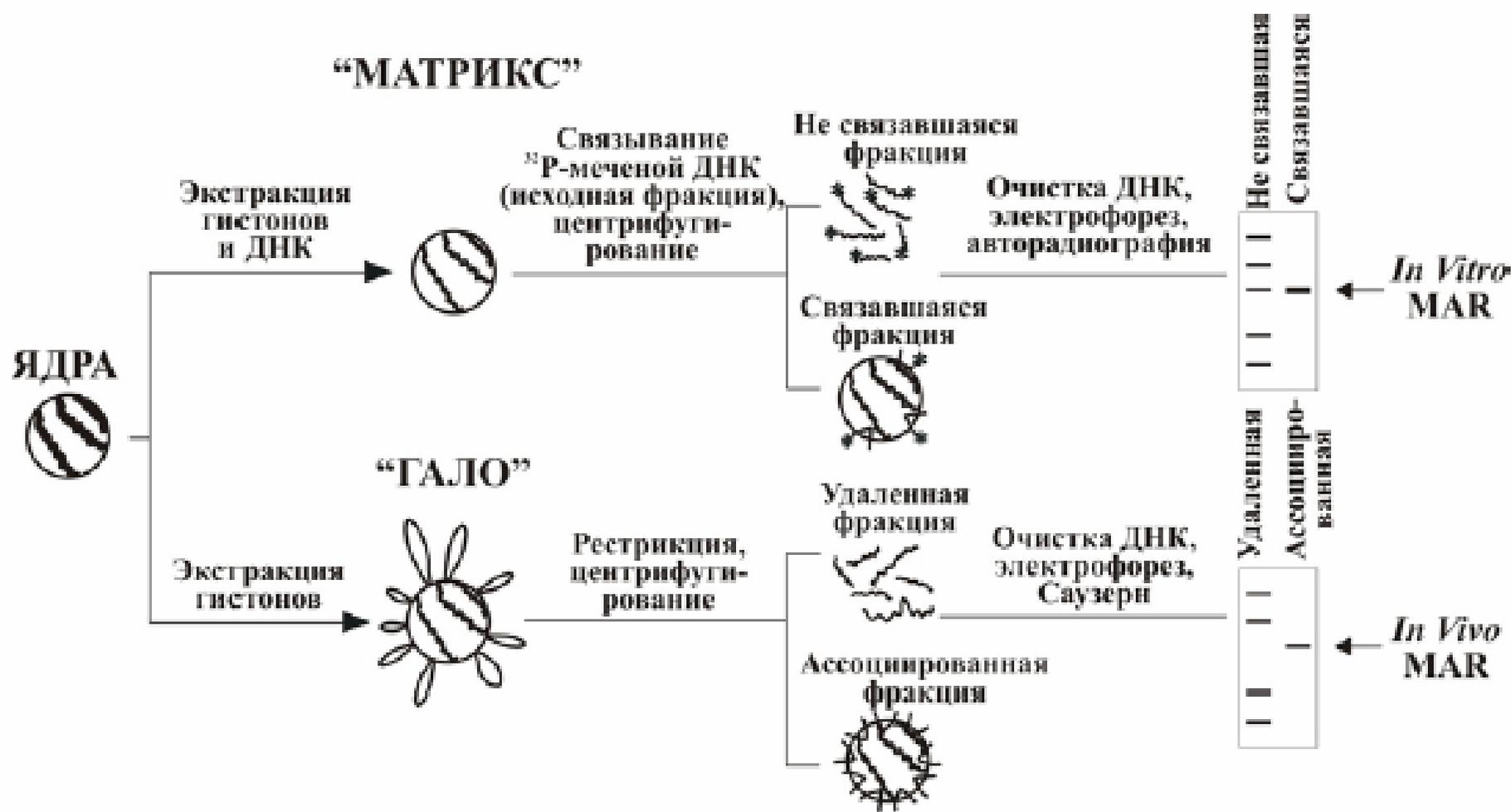
Ядерный матрикс принимает участие в формировании функциональных доменов хроматина.

Участки прикрепления к ядерному матриксу (англ. S/MAR — Matrix/Scaffold Attachment Regions), служат для закоривания петель хроматина на белках ядерного матрикса.

Но Строгого определения ядерного матрикса нет. Если обработать ядро концентрированными солями (например, 2M NaCl), из него экстрагируются 95% белков, в том числе нуклеосомы. То, что остается, считается белками ядерного матрикса, ДНК, связанная с этими белками – Matrix Attachment Regions.



Методики выявления MARs



К ядерному матриксу относят нерастворимый ядерный каркас, включающий:

- Хромосомный скаффолд
- Периферическую ламину с поровыми комплексами
- Остаточное ядрышко
- Внутриядерную протяженную сеть фибриллярных и гранулярных компонентов, обогащенных РНК

Белки, участвующие в формировании матрикса

Инсуляторные белки

Ламины

Торо II

Транскрипционные и
репликационные машины

И др.

Белки, участвующие в формировании матрикса

В составе выделяются около 400 белков

Инсуляторные белки

Ламины

Актин

Торо II

Транскрипционные и
репликационные машины

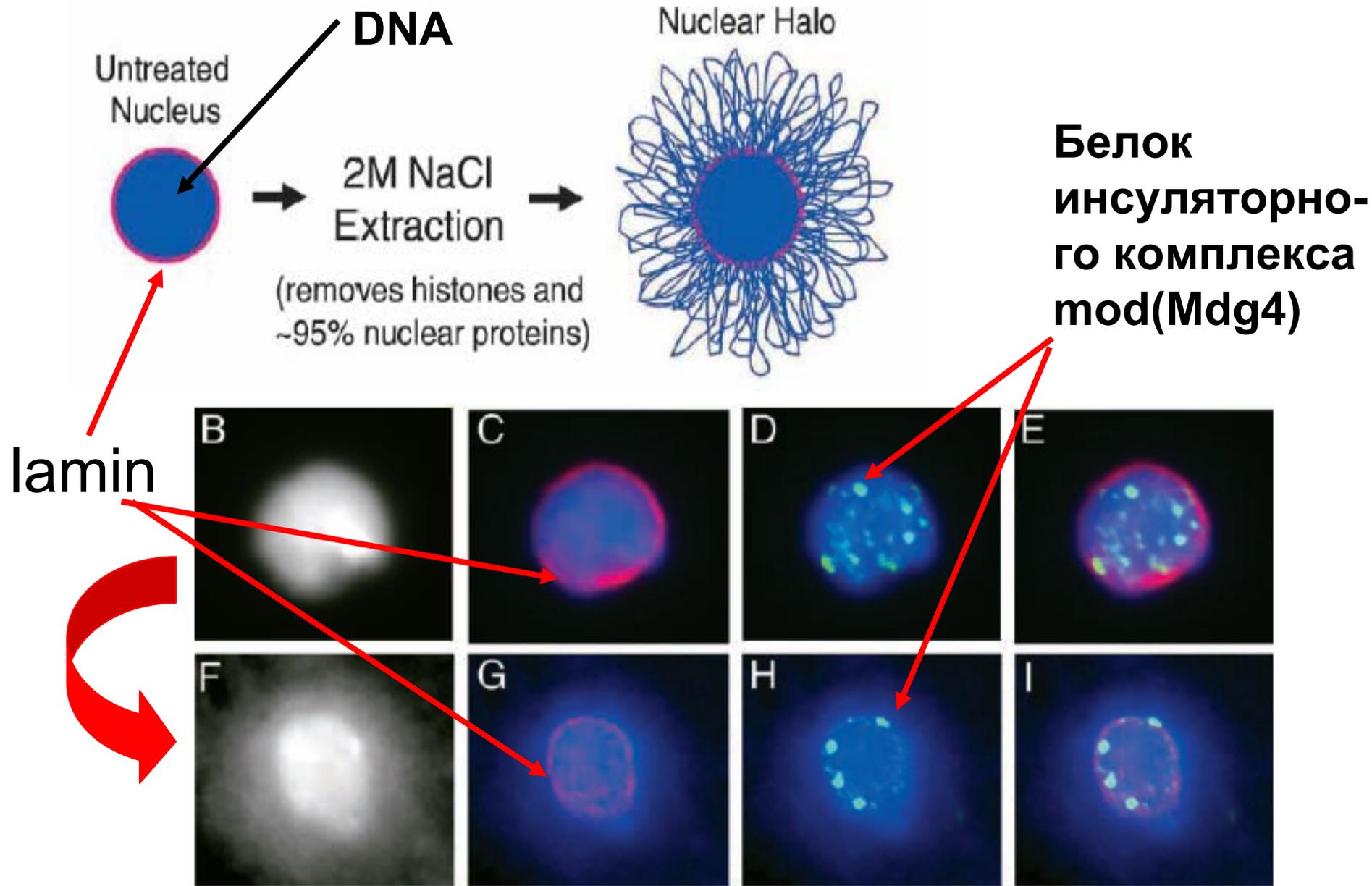
И др.

Около 130 белков появляются на стадии подготовки или в процессе деления клеток

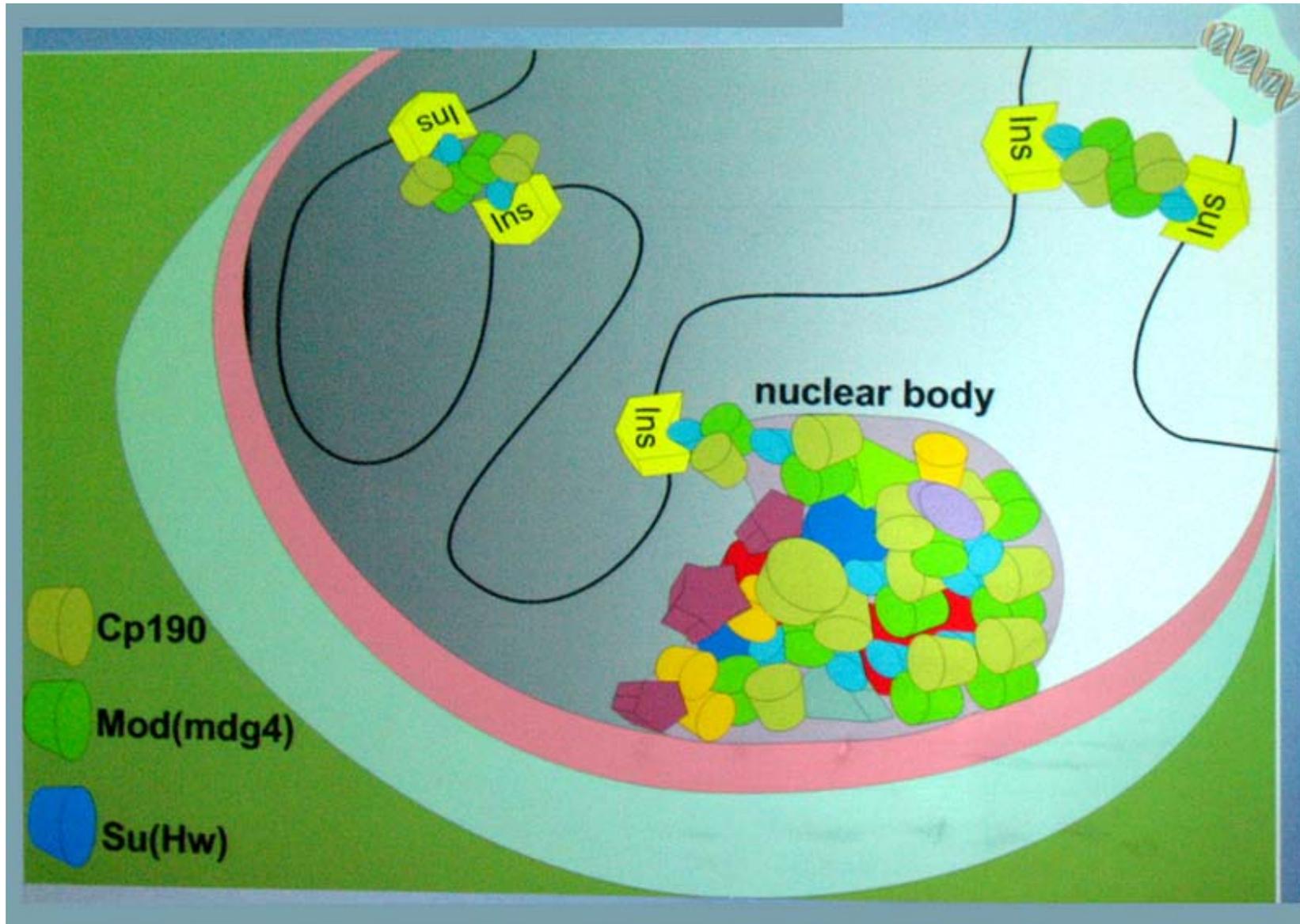
Ядерный матрикс – динамичная структура

Состав белков ЯМ в активно функционирующих (эритроциты эмбрионов кур) и клетках с репрессированным геномом (зрелые эритроциты кур) отличается (Eufemi et al., 2000)

Нарушение экспрессии белков ЯМ регистрируется при многих раковых заболеваниях у человека (Elcock et al., 2008).

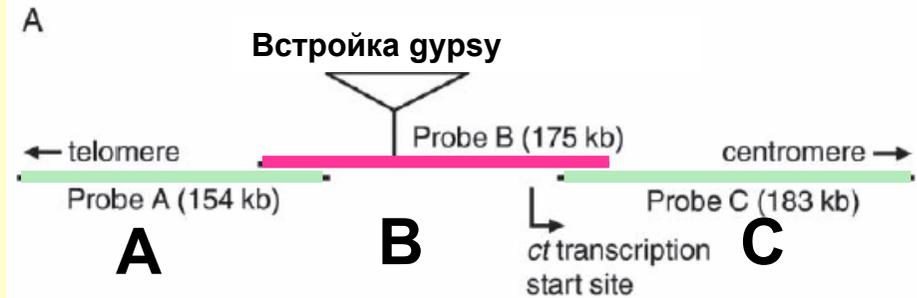


Инсуляторы



**Встройка инсулятора
(в составе ретротранспозона *gypsy*)
приводит к появлению
нового MAR – одна петля
разбивается на две**

Схема расположения зондов для гибридизации



2M NaCl
↓
Дикий тип
↓
Встройка *gypsy*

