

От организации хроматина к пониманию функционирования геномов эукариот

Алексей Константинович Шайтан

д.ф.-м.н., профессор, чл.-корр. РАН

кафедра биоинженерии

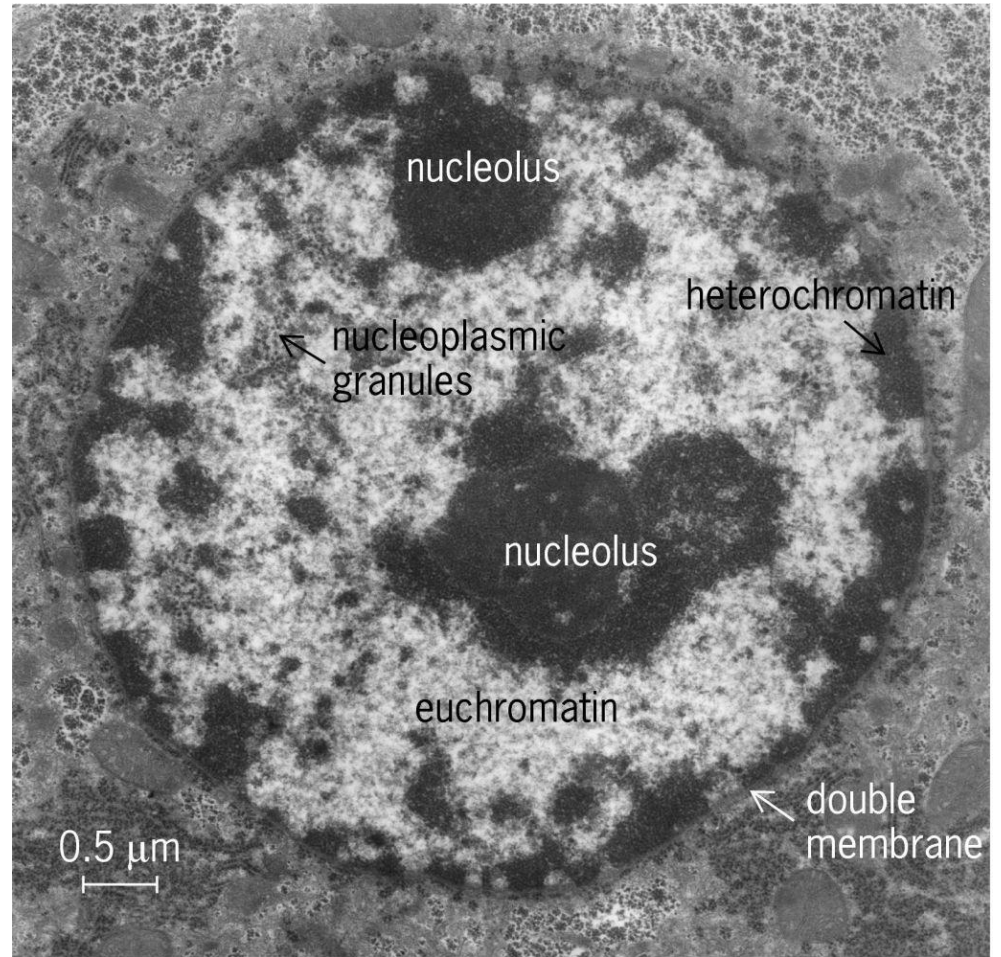
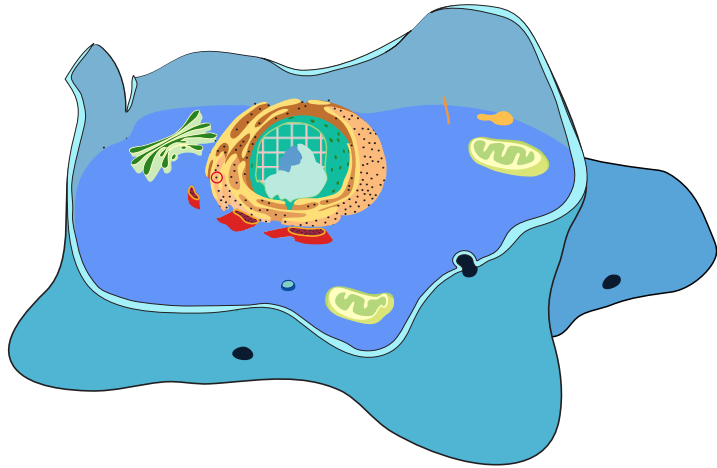
биологический факультет

МГУ имени М.В.Ломоносова

Лекция 1.

*Введение: геномы, хроматин,
эпигенетика, эволюция, история.*

Апрель 2024



Обзор курса

Понедельник	Вторник	Среда	Четверг	Пятница	Суббота
Л1. Введение.	Л3. ДНК как физический объект. Строение хроматина.	Л4. Эпигенетика, эпигеномика.	Л5. Методы эпигеномики и 3Д геномики.	Л6. Мир РНК. (или запасная лекция)	Л7. Практические аспекты
Л2. История изучения хроматина (академик С.А. Недоспасов)	Семинар	Семинар	Семинар	Семинар	Семинар\ Консультация

http://intbio.org/2024_chromatin_sirius/

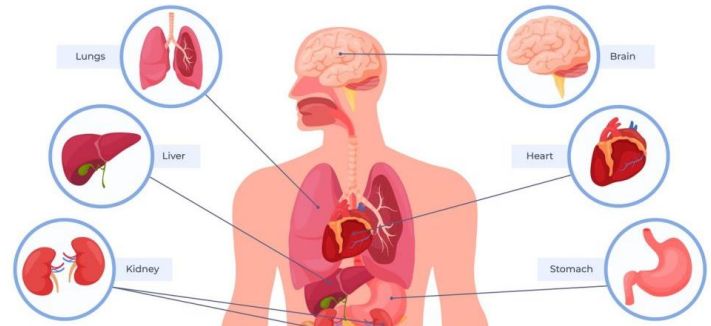
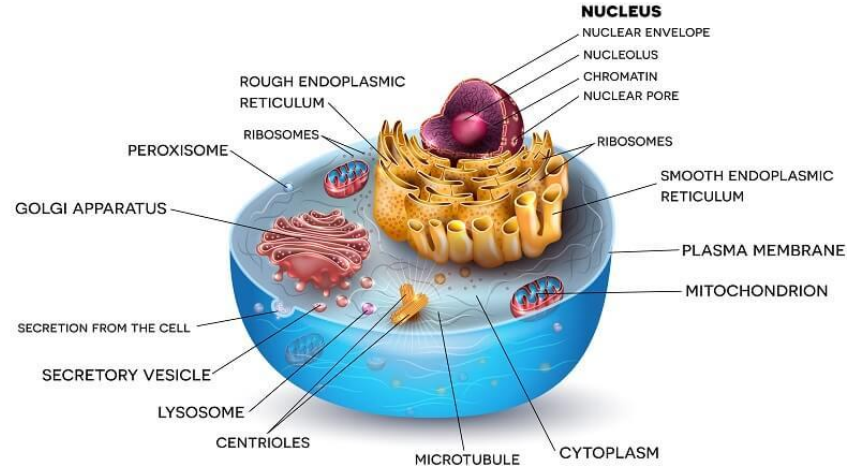
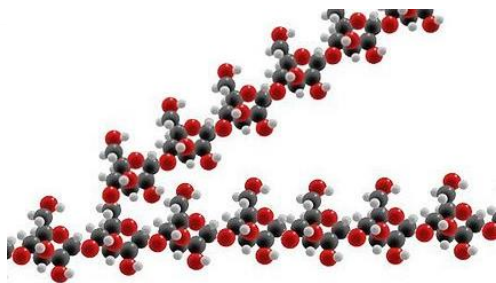
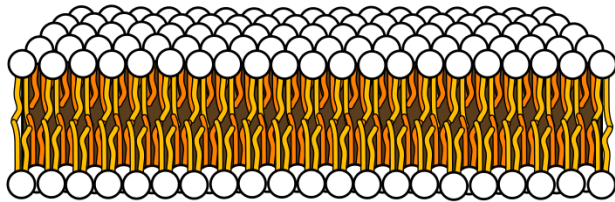
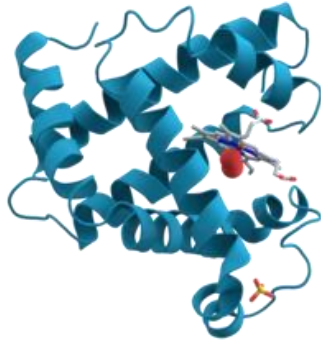
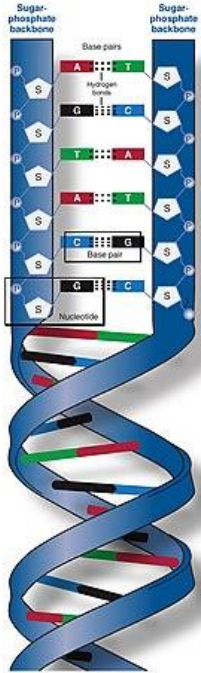
Зачет – на основании подготовленных рефератов
(темы на сайте)

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.
- Исторический контекст: от Дарвина до эпиааллелей, от Мишера и Флемминга до двойной спирали ДНК и нуклеосом.

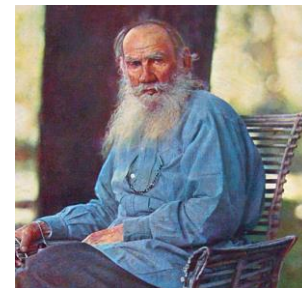
Введение

От молекул к геномам и организмам: рождение сложности



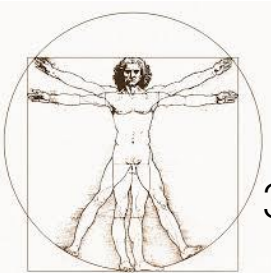


3 mln. characters



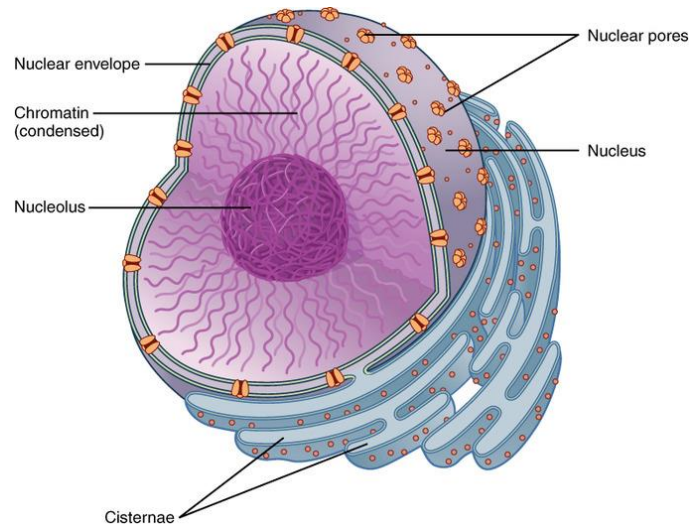
Leo Tolstoy in
Yasnaya Polyana

Human genome
sequenced(2001)
~ 3 billion nucleotides
262 thousand page
3 Giga bytes of information



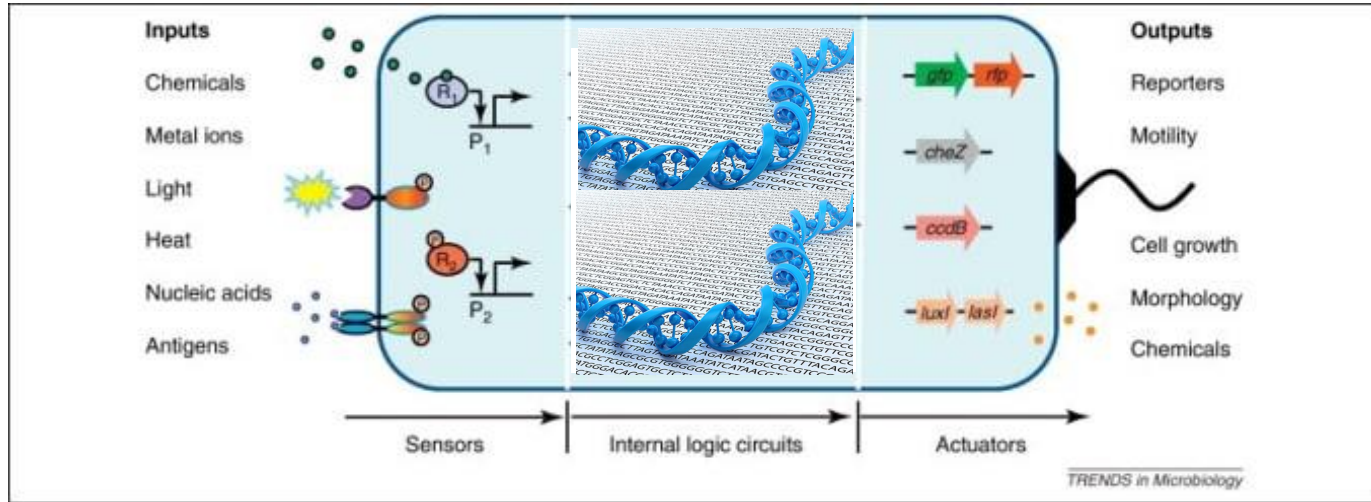
Геном – информация или физический объект?

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



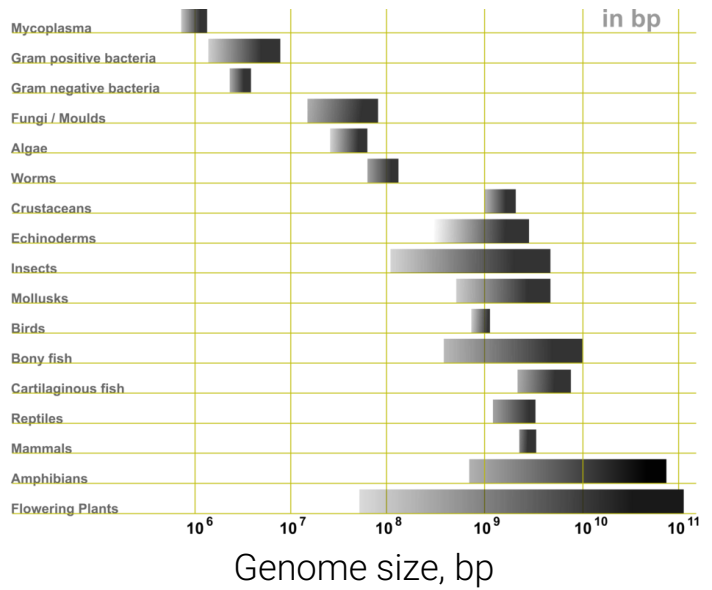
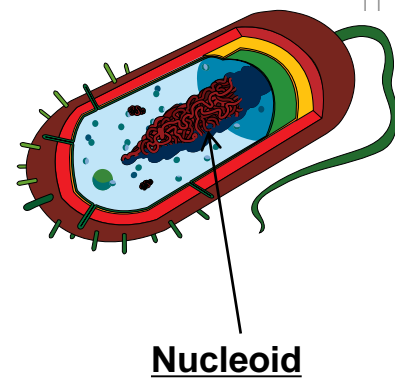
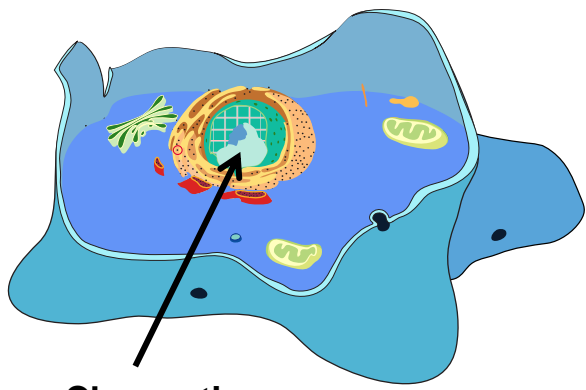
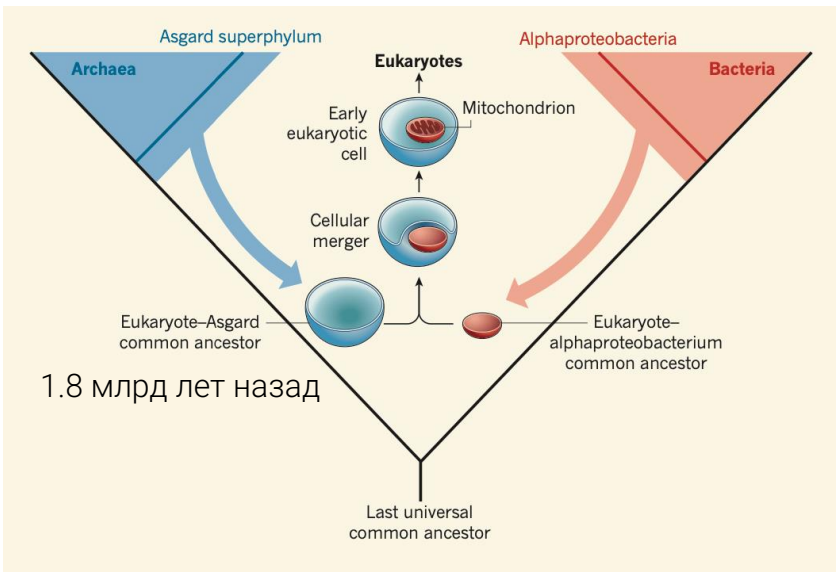
- ДНК как физический объект участвует в регуляции считывания информации, закодированной в ней.
- Геном может функционировать только будучи воплощенным в виде ДНК, окруженной всеми необходимыми вспомогательными (?) молекулами в определенном порядке. Этот порядок также хранит в себе информацию. («проблема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

Геном и функционирование организмов

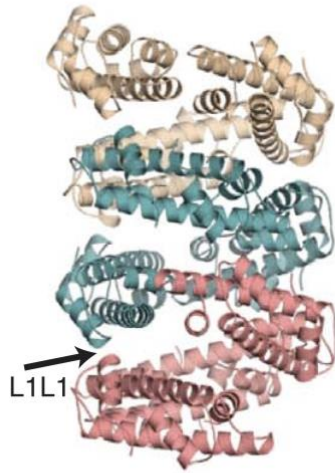
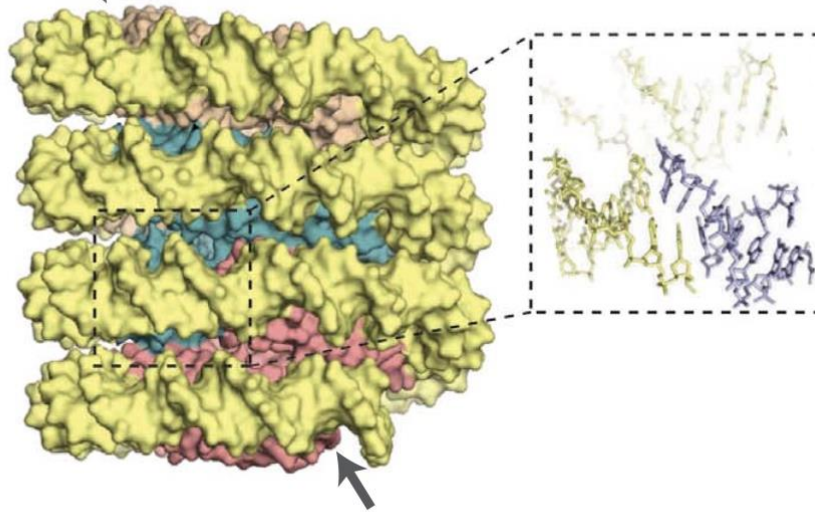


- Функционирование генома – определяет функционирование организма.
- В ответ на внешние стимулы происходит регуляция считывания информации (экспрессии генов).
- Задача XXI века понять комплексно, как регулируется этот процесс, как функционируют геномы.

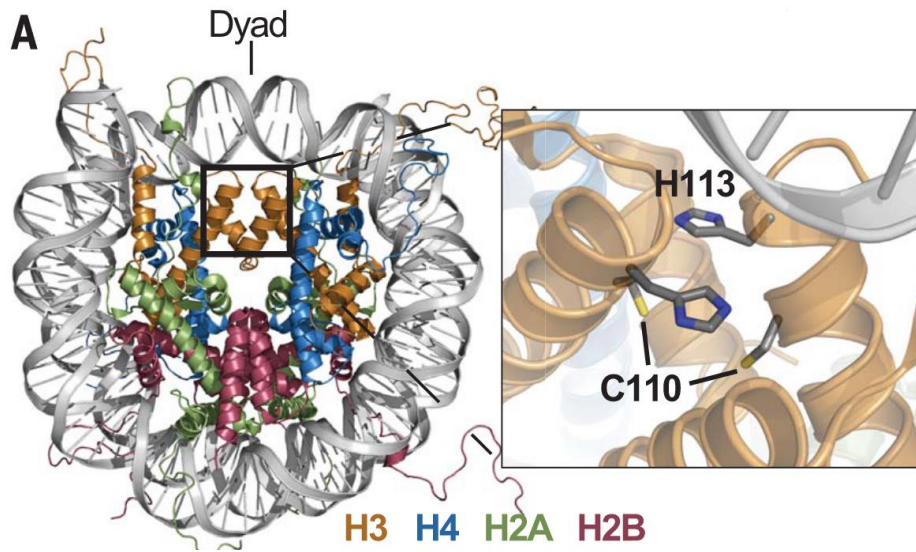
Эукариоты и прокариоты



Genome size, bp

B HMfB superhelix**E** HMfB superhelix with DNA**CHROMOSOME STRUCTURE****Structure of histone-based chromatin in Archaea**

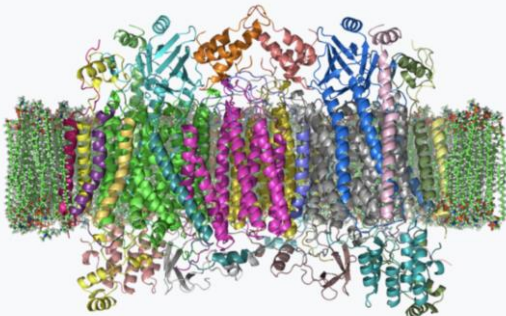
Francesca Mattioli,^{1*} Sudipta Bhattacharyya,^{2*†} Pamela N. Dyer,¹ Alison E. White,¹ Kathleen Sandman,³ Brett W. Burkhardt,² Kyle R. Byrne,² Thomas Lee,¹ Natalie G. Ahn,¹ Thomas J. Santangelo,^{2,4} John N. Reeve,³ Karolin Luger^{1,4,5†}



B

H3 (<i>S. c.</i>)	106	DTNLAAI	HAKRVTIQK	DKIK
H3.1 (<i>H. s.</i>)	106	DTNLCAI	HAKRVTIMP	KDIIQ
H3.2 (<i>H. s.</i>)	106	DTNLCAI	HAKRVTIMP	KDIIQ
H3.3 (<i>H. s.</i>)	106	DTNLCAI	HAKRVTIMP	KDIIQ
HMf-1 (<i>M. f.</i>)	42	EAVKLAK	HAGRKTIKA	EDIE
HMf-2 (<i>M. f.</i>)	41	EAIKLAR	HAGRKTIKA	EDIE

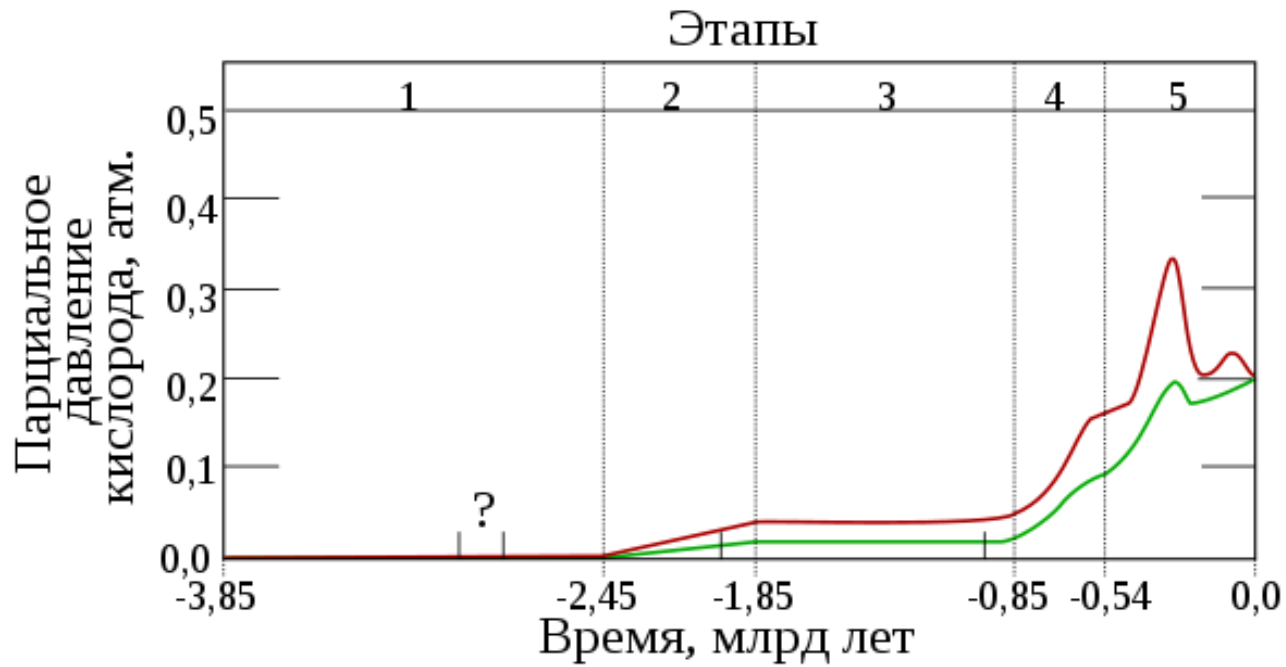
Cytochrome c oxidase



HISTONE FUNCTION

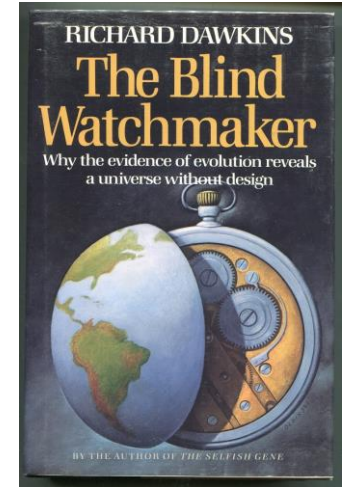
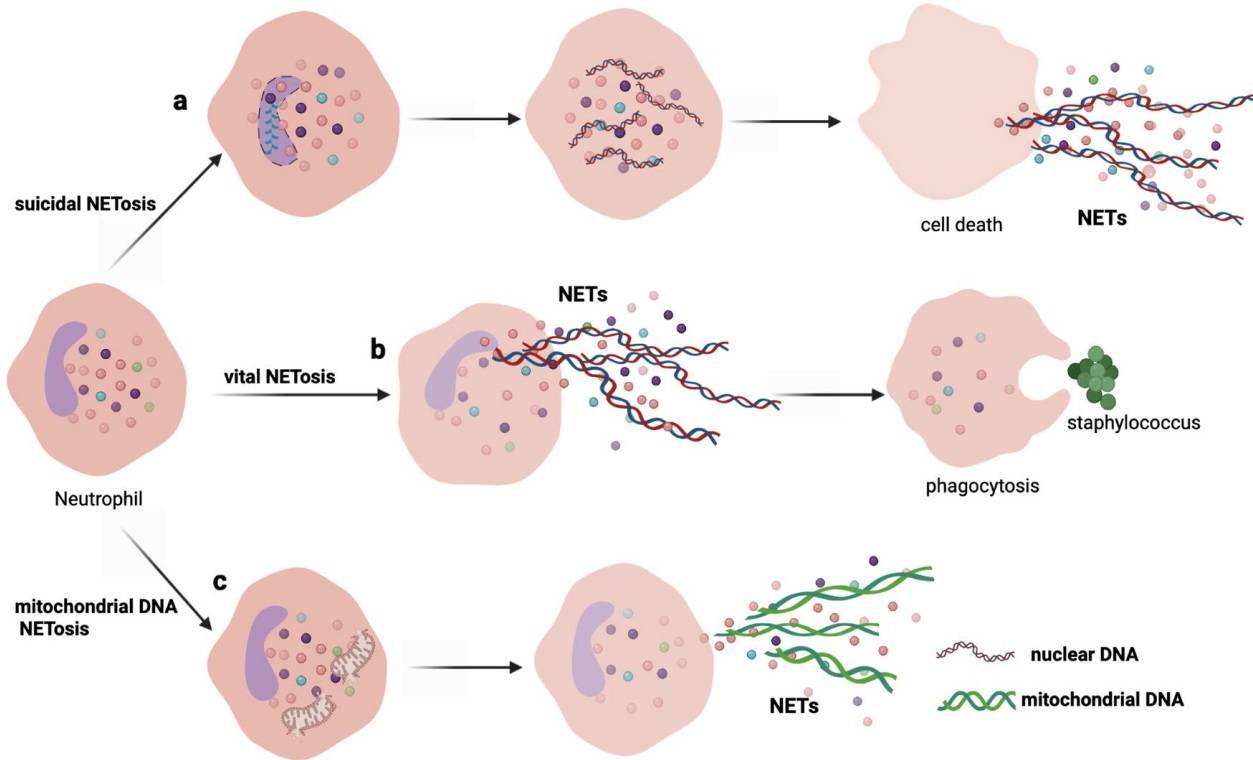
The histone H3-H4 tetramer is a copper reductase enzyme

Narsis Attar^{1,2*}, Oscar A. Campos^{1,2*}, Maria Vogelauer^{1*}, Chen Cheng¹, Yong Xue¹, Stefan Schmollinger^{3†}, Lukasz Salwinski^{1,4}, Nathan V. Mallipeddi¹, Brandon A. Boone¹, Linda Yen⁵, Sichen Yang¹, Shannon Zikovich¹, Jade Dardine¹, Michael F. Carey^{1,2}, Sabeeha S. Merchant^{3†}, Siavash K. Kurdistani^{1,2,6†}

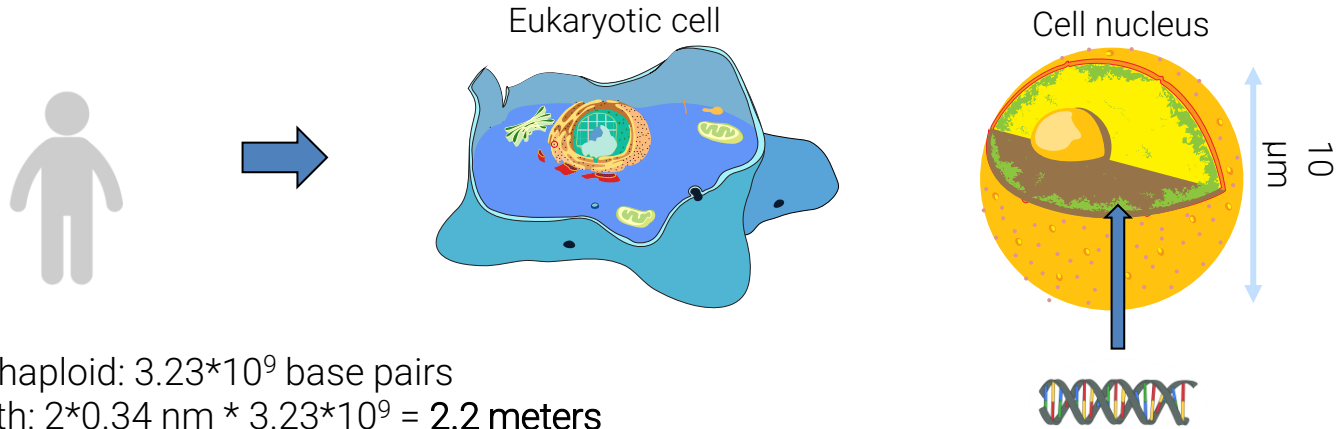


Кислородная катастрофа (?)

2,45 млрд лет назад. Результатом кислородной катастрофы стало появление в составе атмосферы свободного [кислорода](#) и изменение общего характера атмосферы с [восстановительного](#) на [окислительный](#).



Ядра клеток и хроматин



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



Sun to Earth: 150 million km

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

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

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

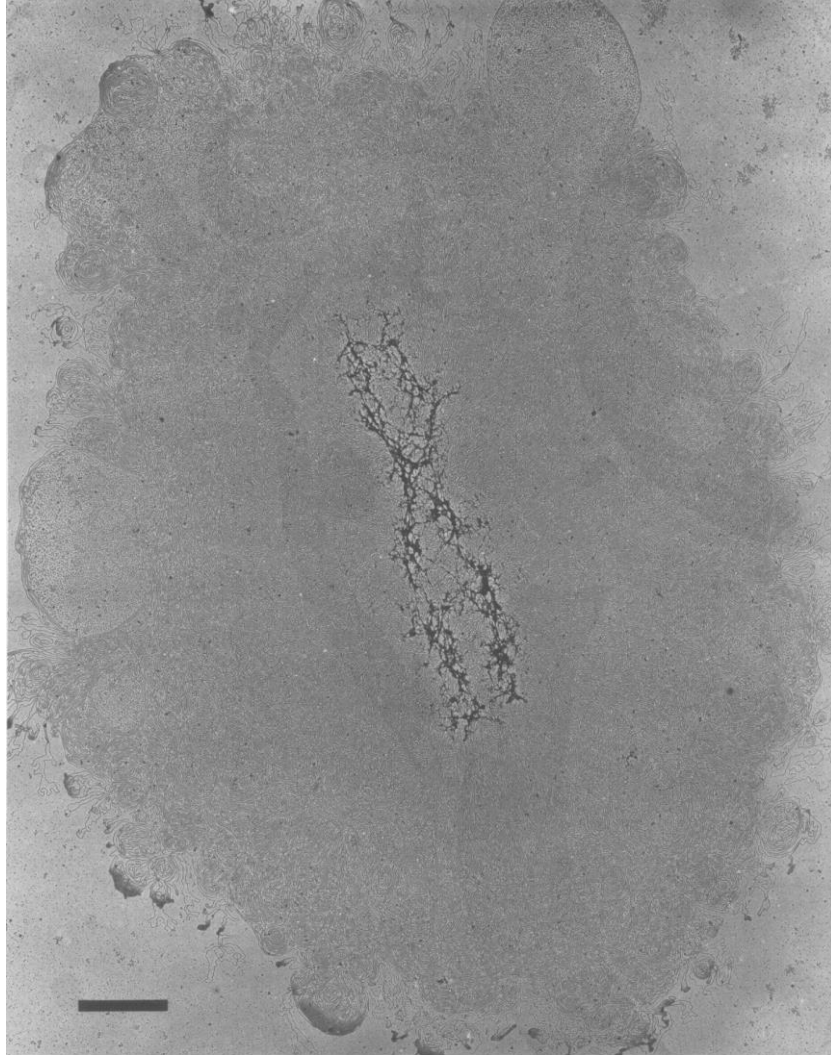
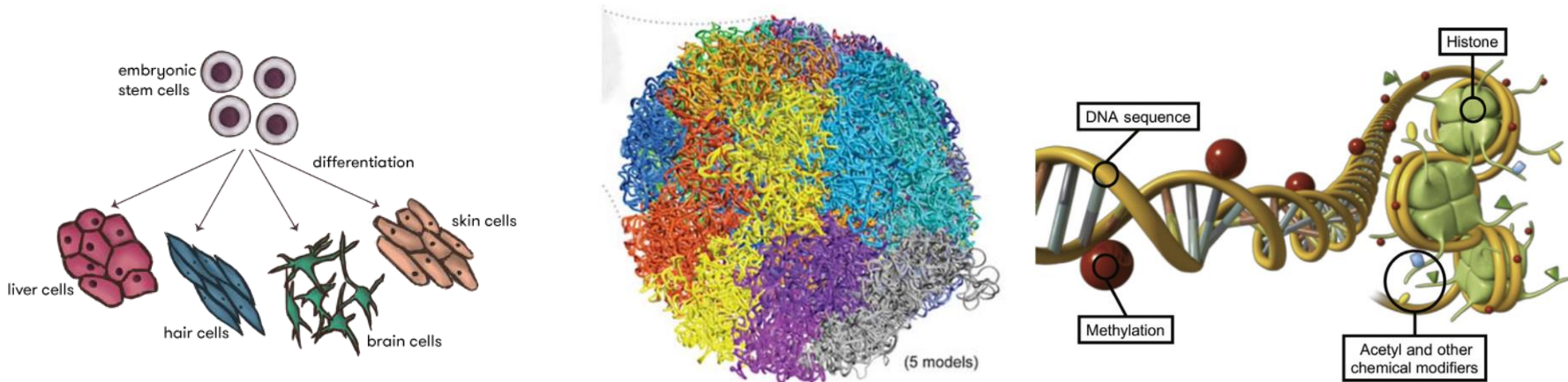


Figure 1. Electron Micrograph of a Histone-Depleted Metaphase Chromosome from HeLa

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)90280-X

Генетика, эпигенетика, 3Д-геномика, эпитранскриптомика

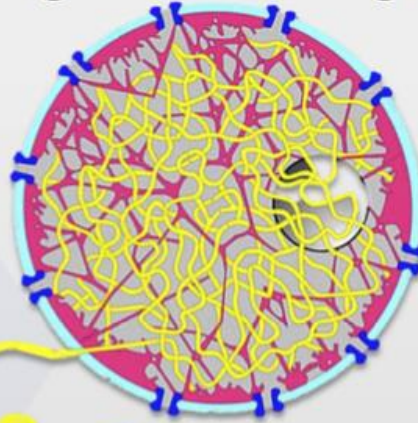
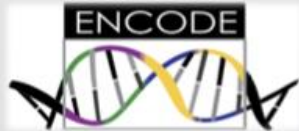
- Генéтика (от греч. γενητωρ — «порождающий, происходящий от кого-то») — раздел биологии, занимающийся изучением генов, генетических вариаций и наследственности в организмах
- **Эпигеномом** называется множество молекулярных меток, регулирующих активность генов, но не изменяющих первичную структуру ДНК.



Finishing the Job: Understanding Genome Organization



4D Nucleome

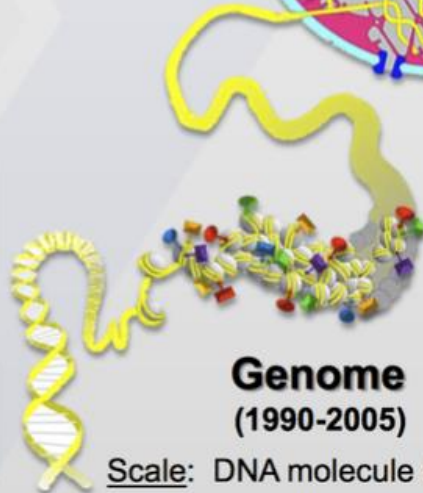


3D Nucleome
(2015-2022?)

Scale: cell nucleus &
chromatin domains

Epigenome
(2005-2015)

Scale: nucleosome &
epigenetic marks

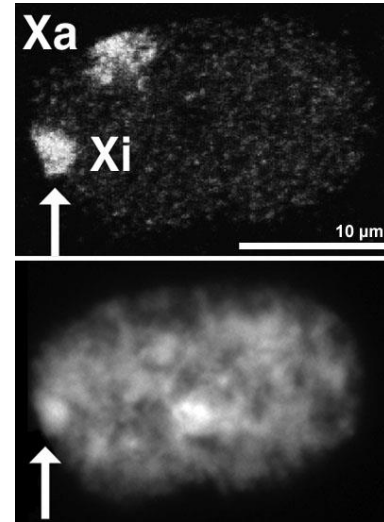
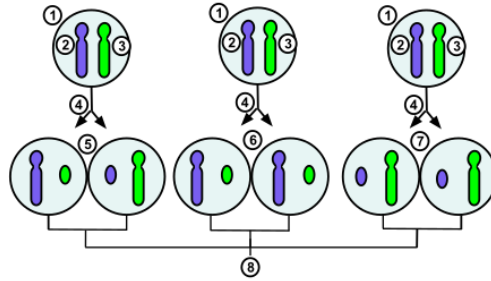


Genome
(1990-2005)

Scale: DNA molecule &
sequence

Практические примеры

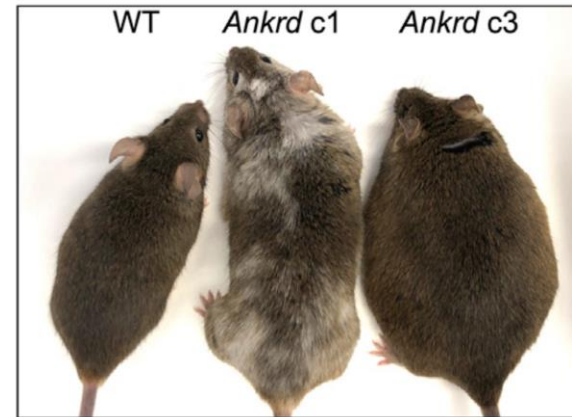
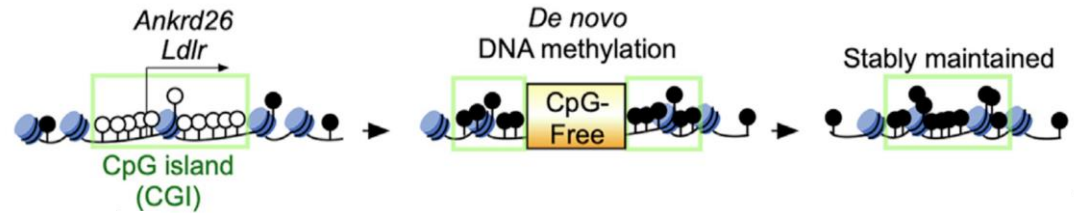
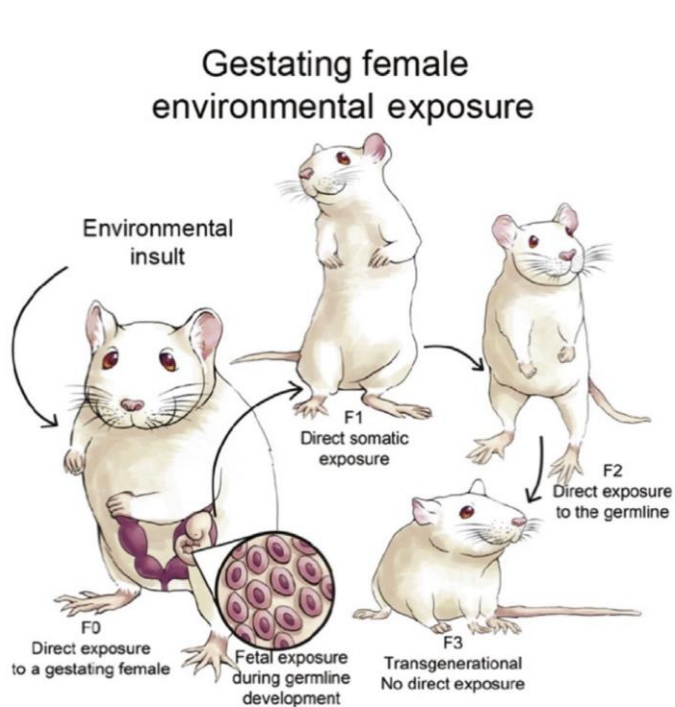
- Инактивация X-хромосомы



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

Практические примеры

- Трасгенерацiонное наследование в млекопитающих

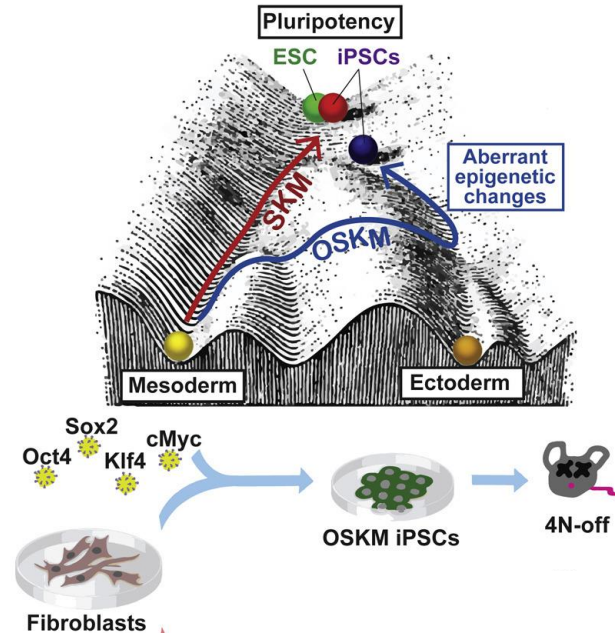
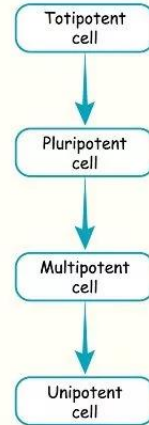
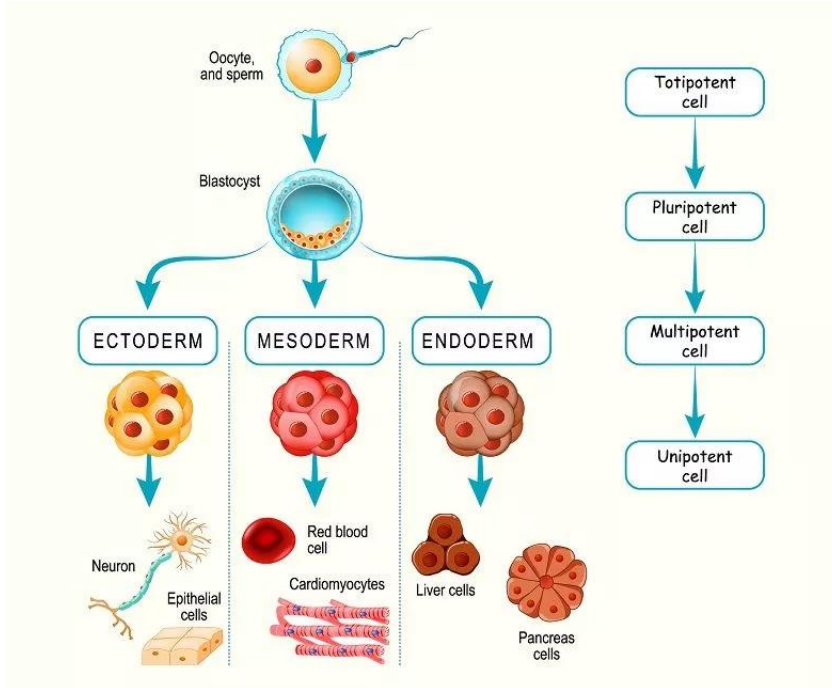


Cell

Transgenerational inheritance of acquired epigenetic signatures at CpG islands in mice

Практические примеры

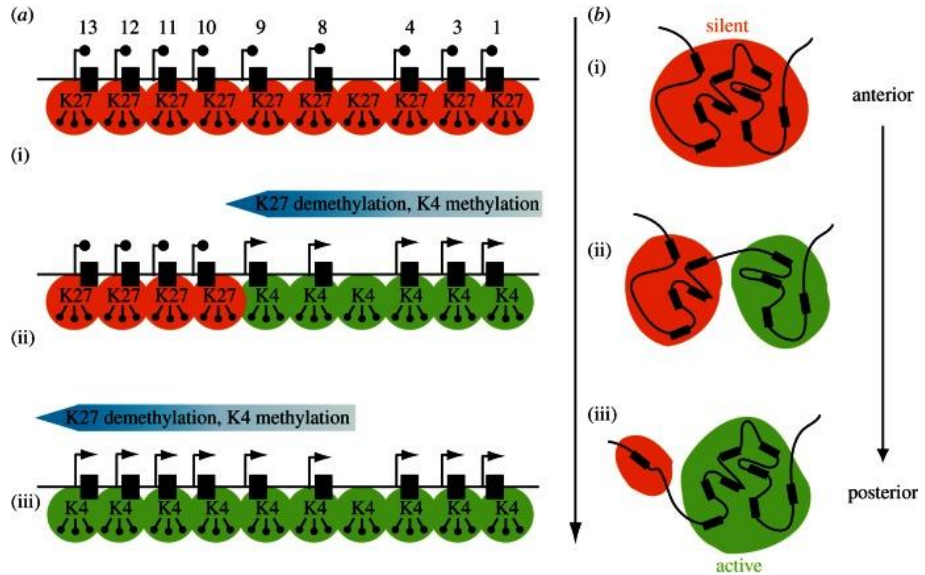
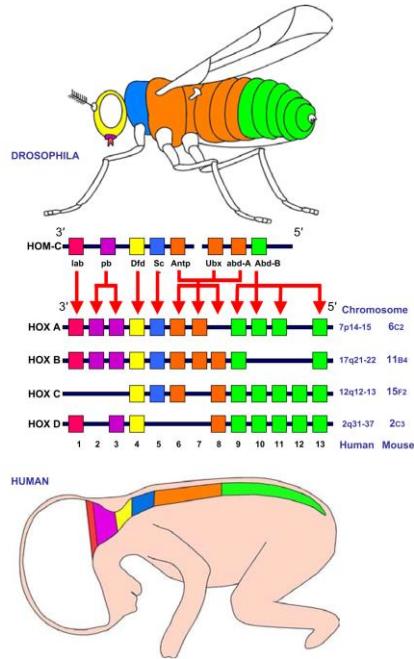
- Дифференцировка клеток/тканей и индукция плюрипотентности



Нобелевская премия 2012 г

Практические примеры

- Контроль развития организма вдоль оси голова-хвост

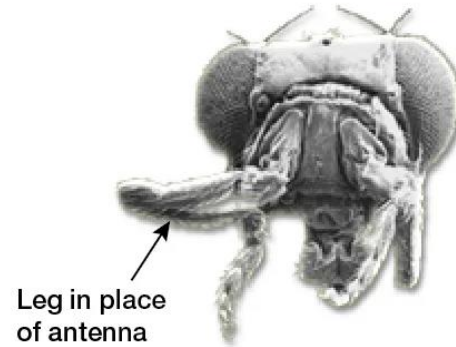
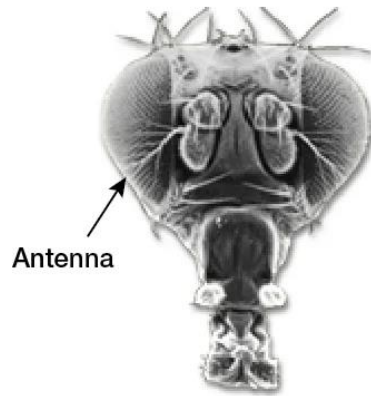


«Колинеарность» – гены, расположенные вдоль ДНК, последовательно активируются в сегментах тела от головы к хвосту

Нох-гены

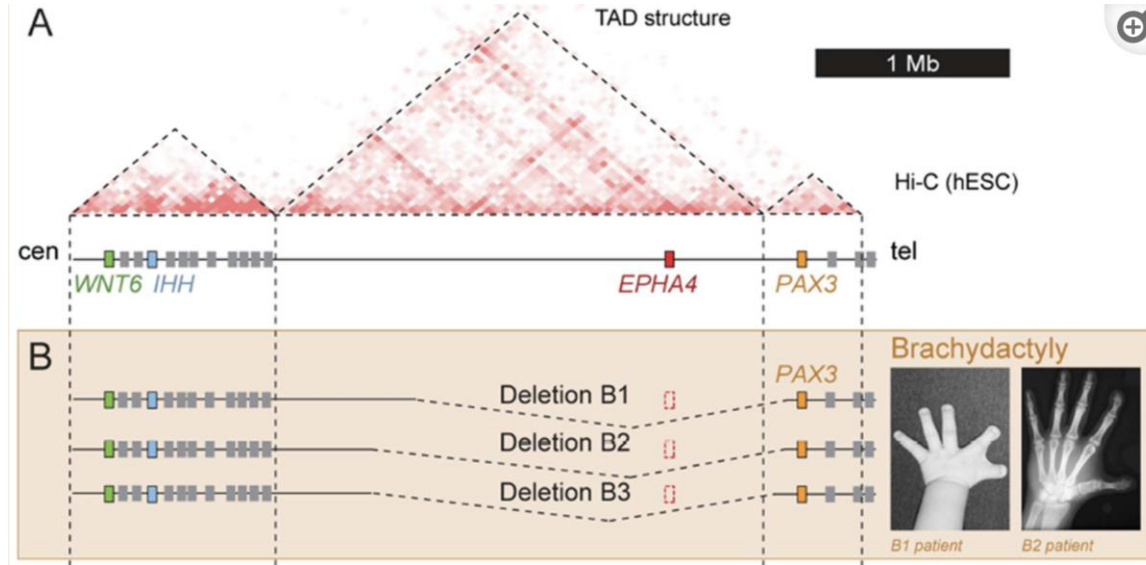
Практические примеры

- Мутации в HOX-генах



Практические примеры

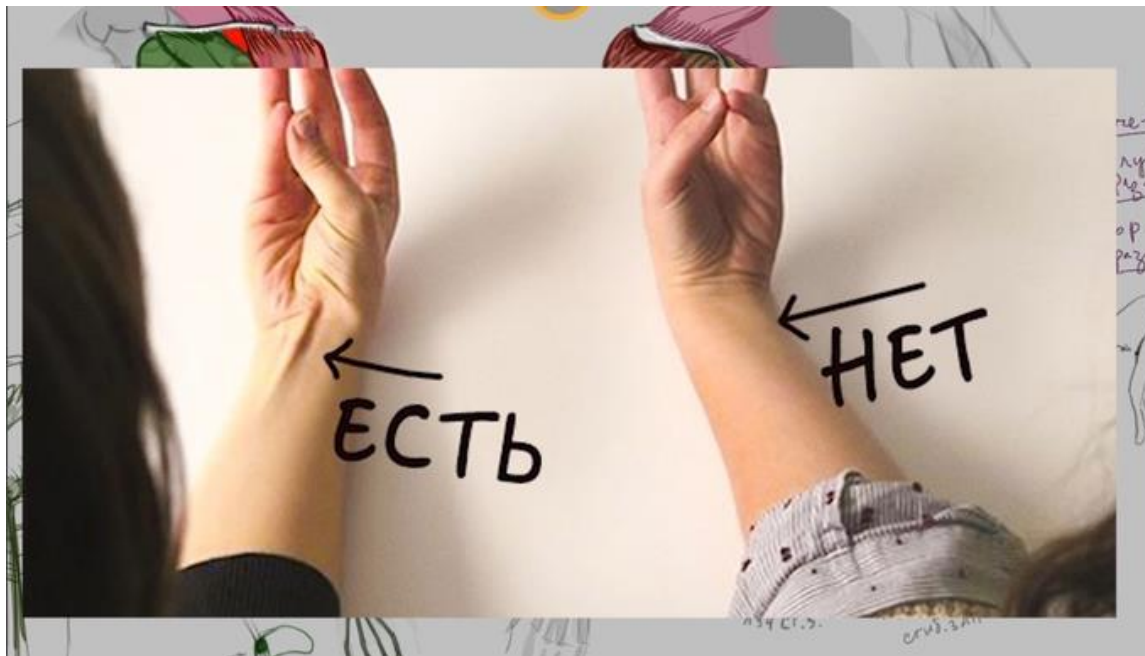
- Трёхмерная организация генома важна для развития организма



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

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/)

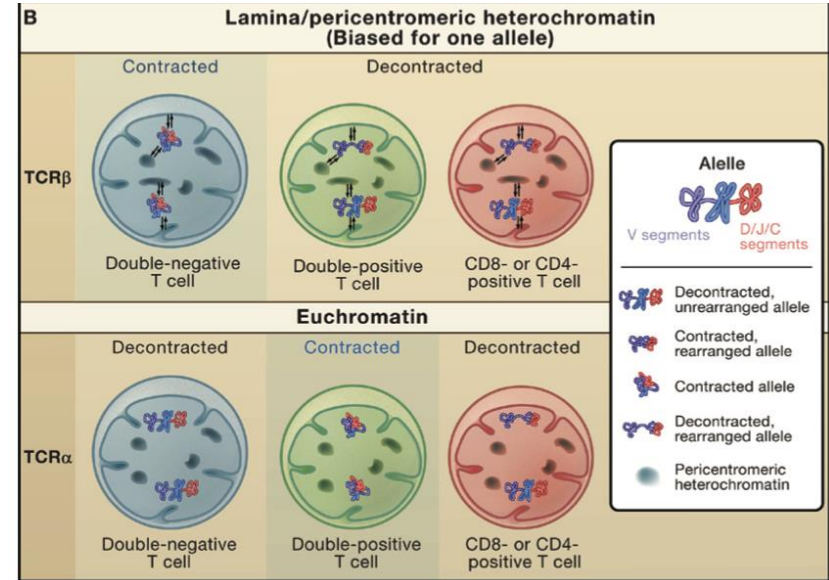
PALMARIS LONGUS ABSENT IN ONE IDENTICAL TWIN: A CASE REPORT

[Nikola Vučinić](#)⁰¹, [Mirela Erić](#)¹, [Lovorka Grgurević](#)², [Ivo Dumić-Čule](#)³, and [Nino Tičinović](#)³

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

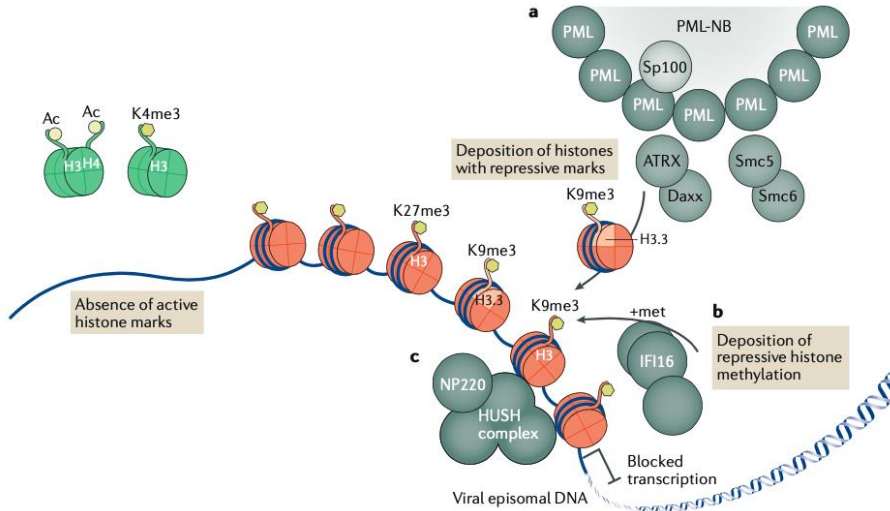
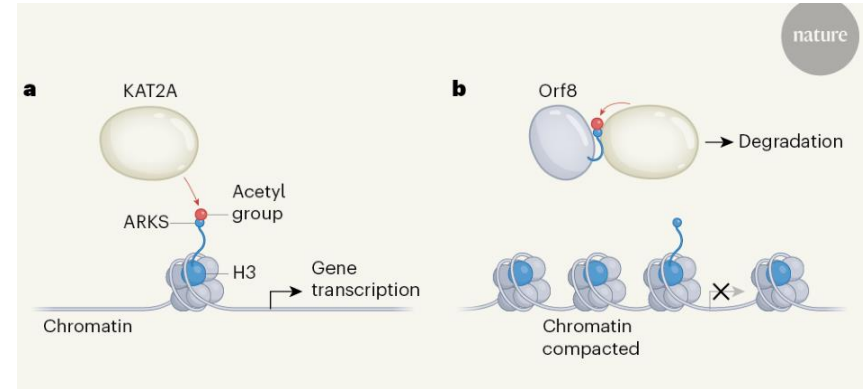


Fig. 1 | Epigenetic repression of viral DNA.

Epigenetic and epitranscriptomic regulation of viral replication

Kevin Tsai and Bryan R. Cullen



NEWS AND VIEWS | 05 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 Tarakhovskiy and Rab K. Prinjha

Исторический контекст

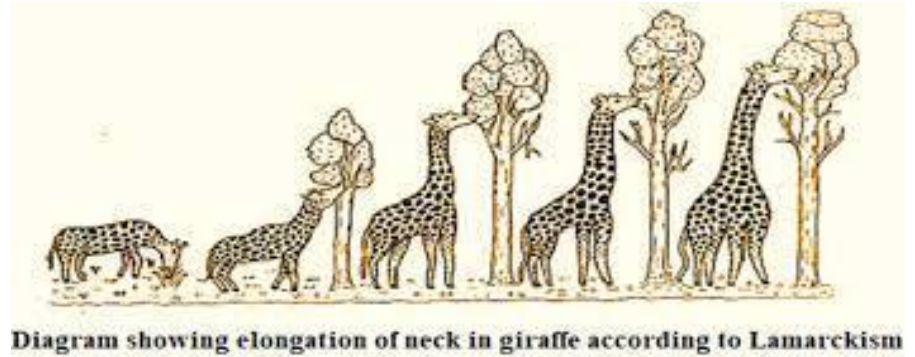
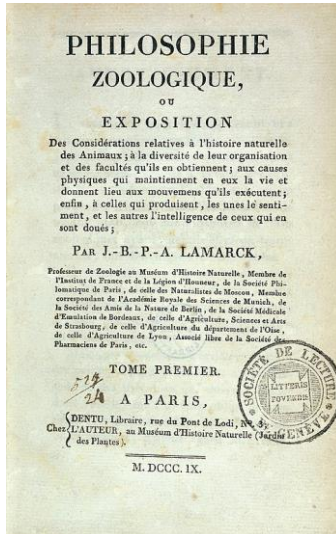
От Дарвина до эпиаллелей

Ключевые вопросы биологии:

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

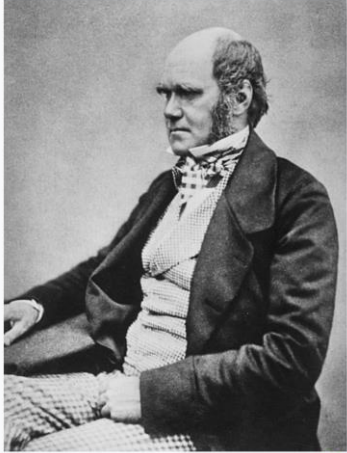
**Жан-Батист Пьер Антуан де Моне
Шевалье де Ламарк**

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

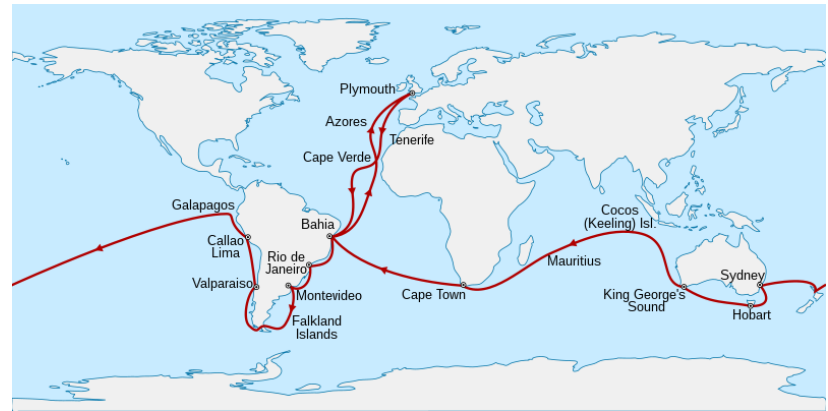
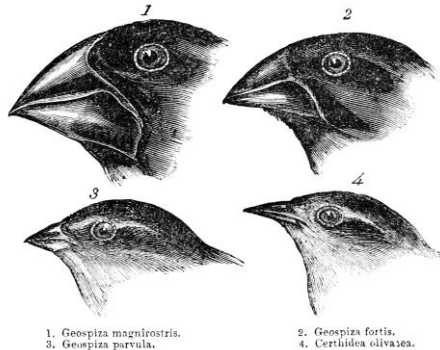
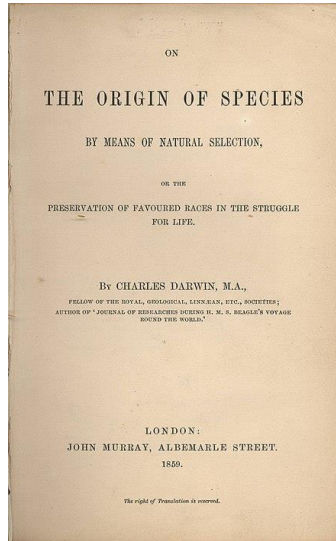


Дарвинизм

Charles Darwin
FRS FRGS FLS FZS JP



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

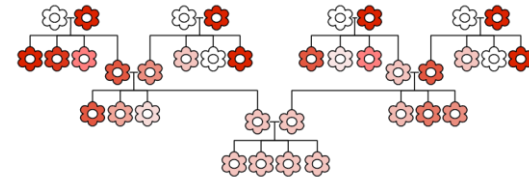


The round-the-world voyage of the *Beagle*, 1831–1836

Основные факторы эволюции по Дарвину

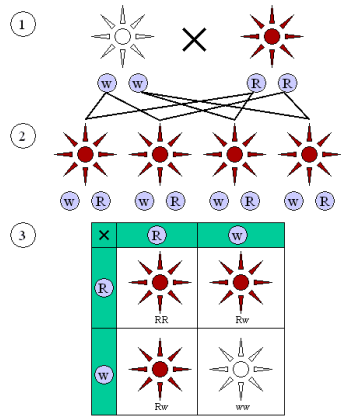
- Наследственная изменчивость
- Борьба за существование
- Естественный отбор
- Изоляция

Проблемы теории: смешенной наследование, «заблачивание» (кошмар Дженкина)



Survival of the fittest

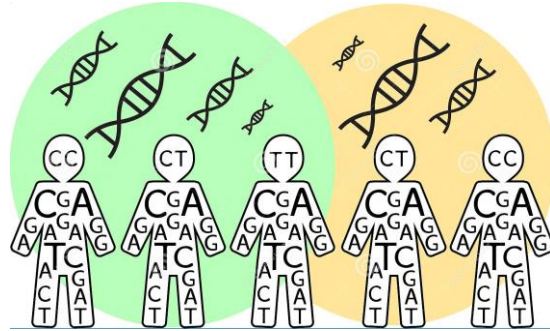
На пути к синтетической теории эволюции



Гены дискретны



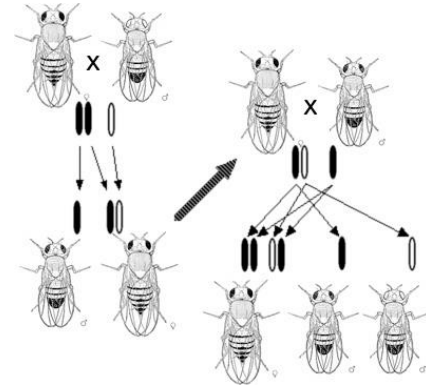
1822-1884



Популяционная
генетика



1890-1962



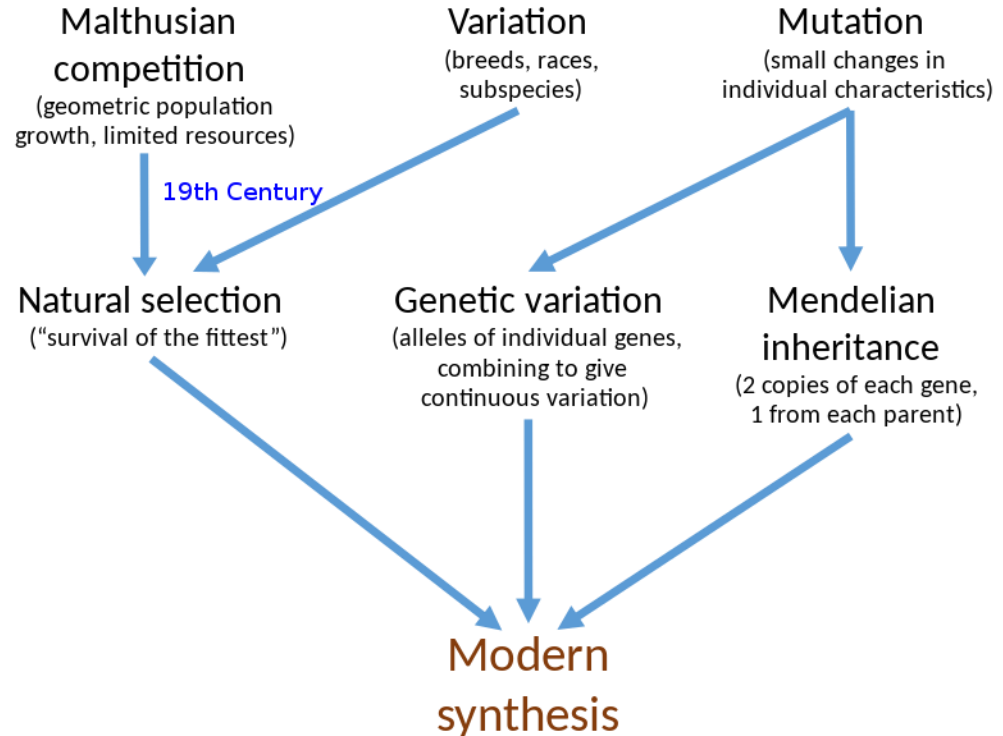
Хромосомная теория
наследственности



1866-1945

Синтетическая теория эволюции (середина XX века)

Modern Synthesis



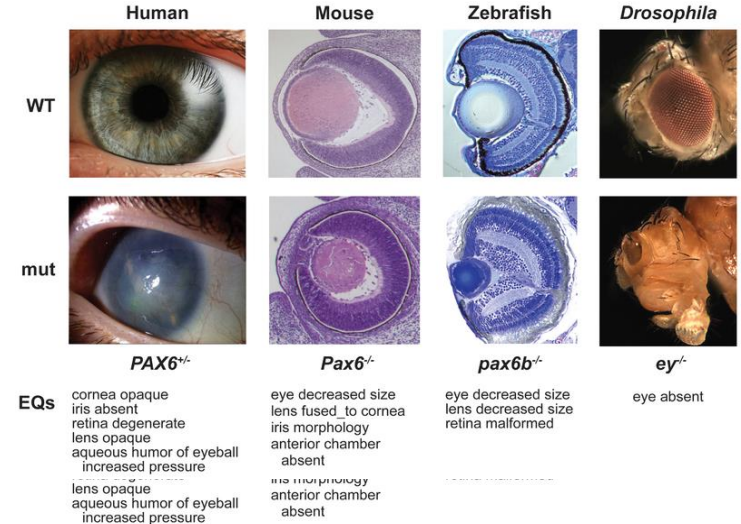
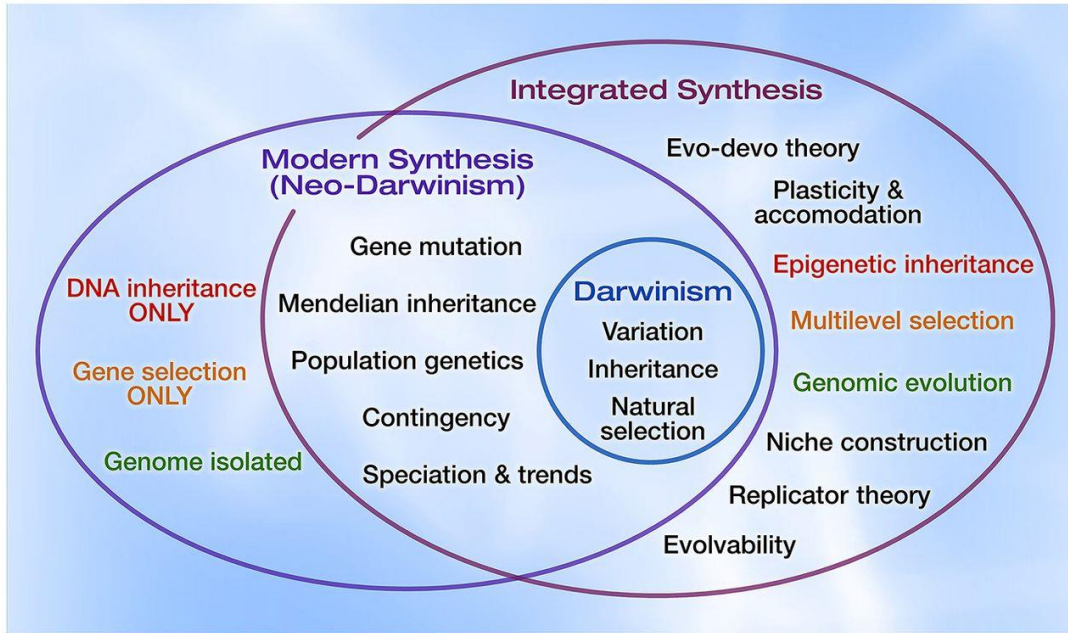
1953

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 (?)



Ген рах-6 контролирует развитие глаз в различных видах животных

Evolution beyond neo-Darwinism: a new conceptual framework ✓

Denis Noble ✉

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

Развитие представлений о ДНК

1869



Friedrich Miescher

~1880



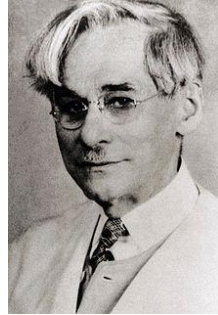
Walther Flemming

~1901



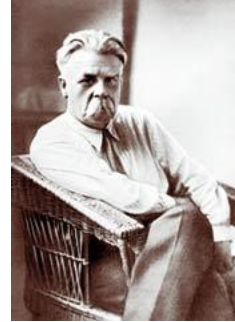
Albrecht Kossel

~1919



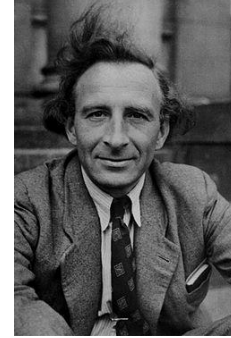
Phoebus Levene

1927



Николай
Константинович
Кольцов

1935



Николай
Владимирович
Тимофеев-Ресовский



Max Delbrück



Karl Zimmer

1943



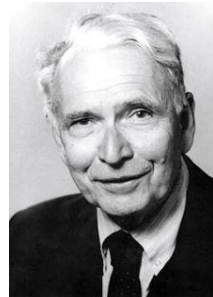
Oswald
Avery

1944



Erwin Schrödinger

1947



Erwin Chargaff

1953



1957



1958

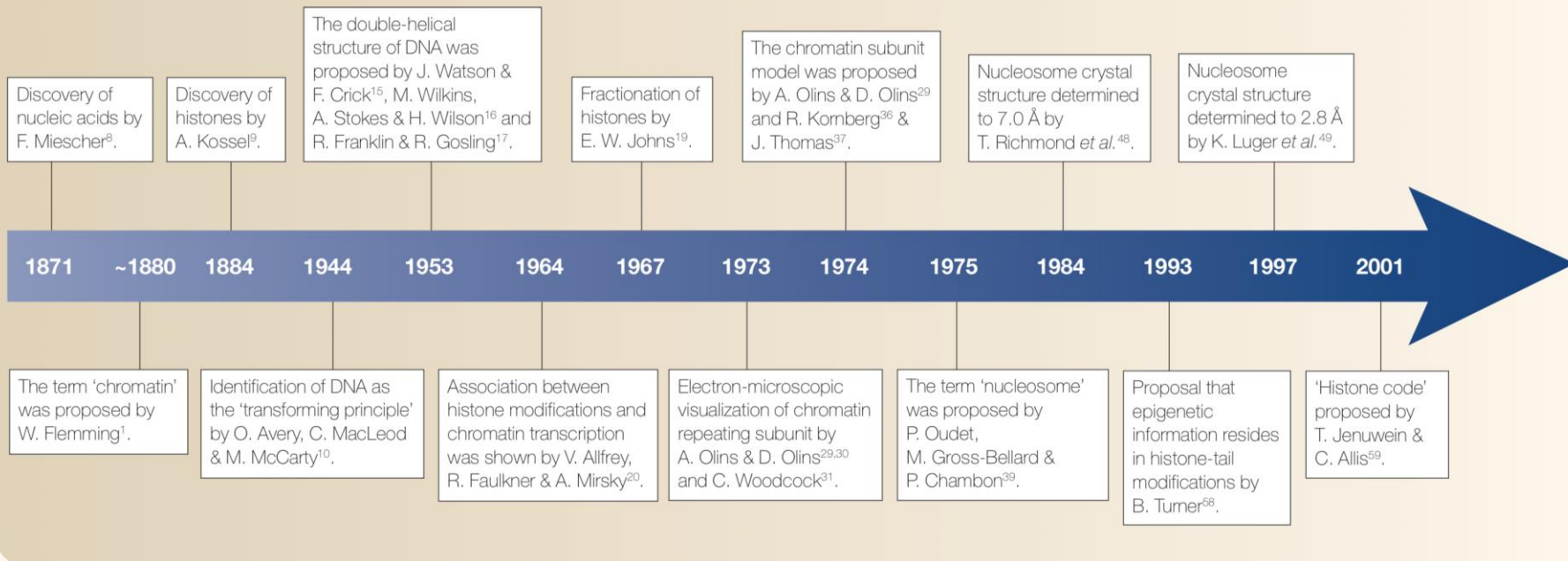


1966

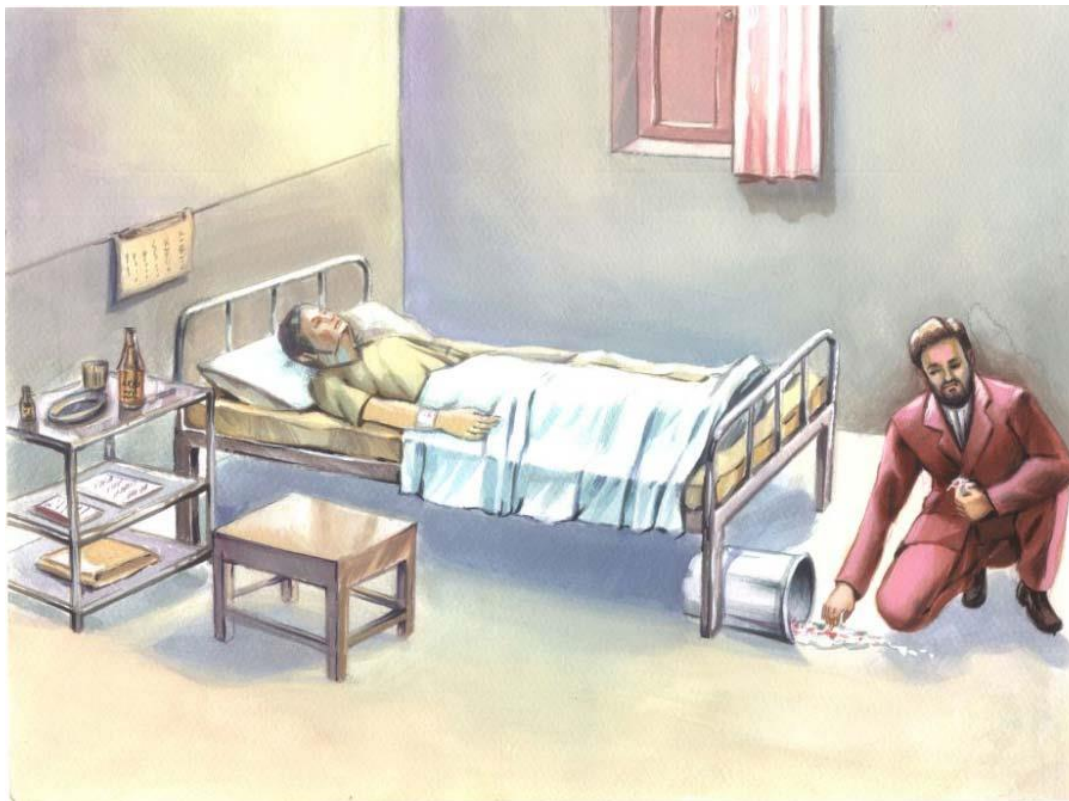


Немного истории ...

Timeline | **History of chromatin**



Ф. Мишер, выделение ядер, анализ **нуклина**, 1872



Мишер, выделение ядер, анализ нуклина, 1872

- Исследовал лейкоциты из гноя на повязках раненых
- Анализ компонентов цитоплазмы
- Некоторое вещество выпадало в осадок из раствора при добавлении кислоты и снова растворялось при добавлении щелочи.
- Первый протокол выделения ядер
- Он провел химический анализ нуклина и обнаружил, что он содержит атомы углерода, водорода, азота, не содержит серу, как белки, но содержит много фосфора (2.5%) - о чем он сообщил в письме к родителям. Сегодня этот препарат признали бы неочищенным хроматином (в чистой ДНК 10% фосфора, в чистой нуклине 1%)



- Отмывка разбавленным раствором соляной кислотой несколько недель при низких температурах. Далее он показал, что оставшиеся ядра не окрашиваются раствором йода - красителем цитоплазмы того времени.
- Затем он энергично встряхивал ядра в течение длительного периода времени со смесью воды и эфира. Это вызвало растворение липидов в эфире, в то время как ядра, все еще прикрепленные к цитоплазме, собрались на границе вода/эфир. Напротив, чистые ядра без загрязнения цитоплазмы сохранялись в водной фазе. Мишер отфильтровал эти ядра и исследовал их под микроскопом. Он заметил, что таким образом может получить «совершенно чистые ядра с ровным контуром, однородным содержимым, резко очерченным ядрышком, несколько меньшими по сравнению с их первоначальными объемами».
- Впоследствии Мишер экстрагировал изолированные ядра щелочными растворами. При добавлении к ядрам сильно разбавленного (1:100 000) карбоната натрия он заметил, что они значительно набухают и становятся полупрозрачными. Затем Мишер выделил из этих ядер желтый раствор вещества Q. Добавляя уксусную или соляную кислоту в избытке, он мог получить нерастворимый хлопьевидный осадок (ДНК). Мишер отметил, что он может снова растворить осадок, добавляя щелочные растворы. Нуклин выделили, но его сильно мало для исследований.
- Вторая версия протокола включала в себя следующее: отмывка лейкоцитов спиртом (удаление липидов), потом обработка пепсином из желудков свиней для очистки от белков цитоплазмы. Уже через несколько часов мелкий серый порошок отделялся от желтой жидкости. Несколько промывок пепсином и получался раствор ядер. При этом ядра, полученные таким способом проявляли те же химические свойства, что и ядра, выделенные соляной кислотой. Далее к этим ядрам он применял протокол щелочной экстракции и при добавлении избытка кислоты получал осадок нуклина.

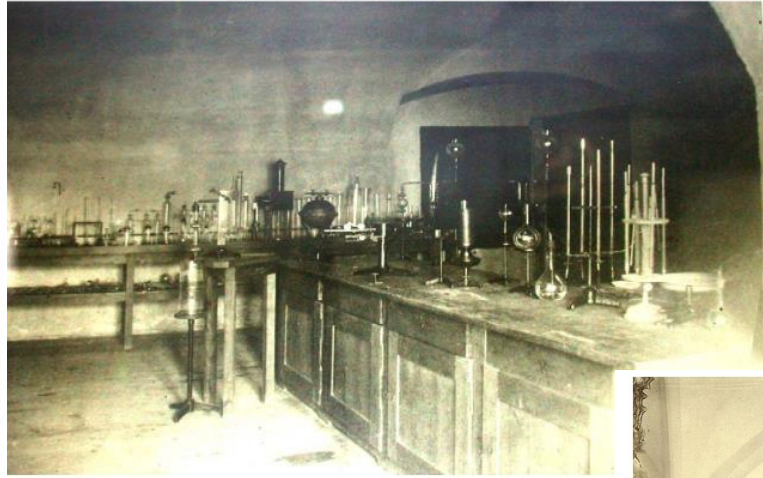
1874, Мишер, протамины



Нуклин это кислота, которая связана с основной молекулой, которую он назвал **протамином**. Нуклин с протамином составляют практически всю массу головки сперматозоида

В чистом нуклине из спермы лосося массовая доля P205 22.5%. (22.9% по текущим данным)

Friedrich Miescher (1844 – 1895)



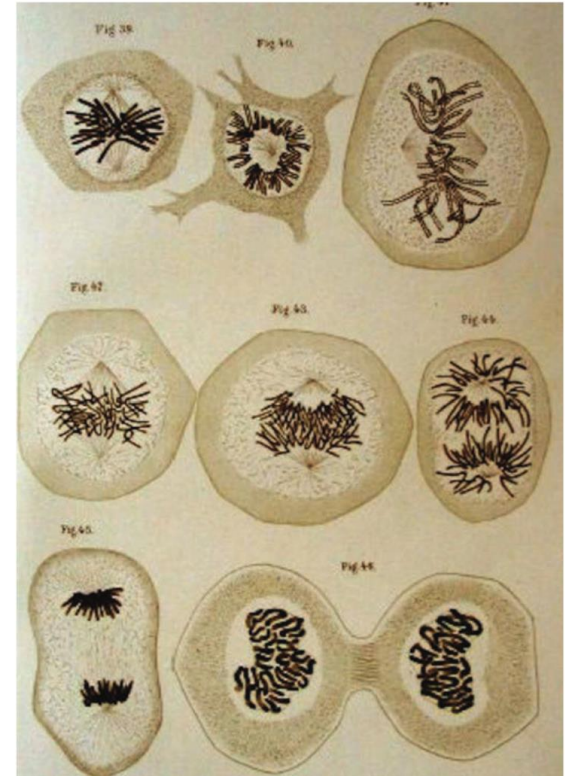
Тюбинген



(Dahm 2005)

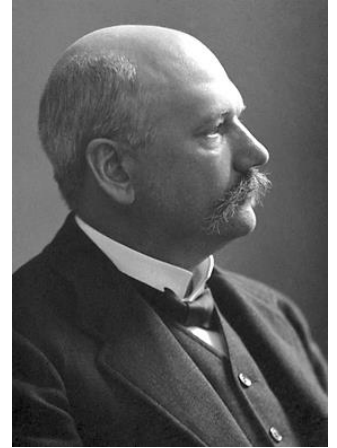
Флемминг, 1879, термин хроматин

Термин хроматин был предложен цитологом Вальтером Флеммингом в 1879-ом году. Флемминг был одним из пионеров микроскопической цитологии. Применяя новые материалы (анилиновые краски) он выявил структуры клеток, которые интенсивно окрашивались, и потому были названы им хроматин (от древнегреческого χρῶμα «насыщенность цвета»). Он обнаружил, что хроматин содержит нитевидные структуры, названные позднее хромосомами (название было опубликовано в 1888 году Генрихом Вальдейером). Он обобщил накопленные к тому времени результаты, дополнив их своими открытиями, и в 1882 году опубликовал в пионерской работе «Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung».



Альбрехт Коссель (1853 - 1927)

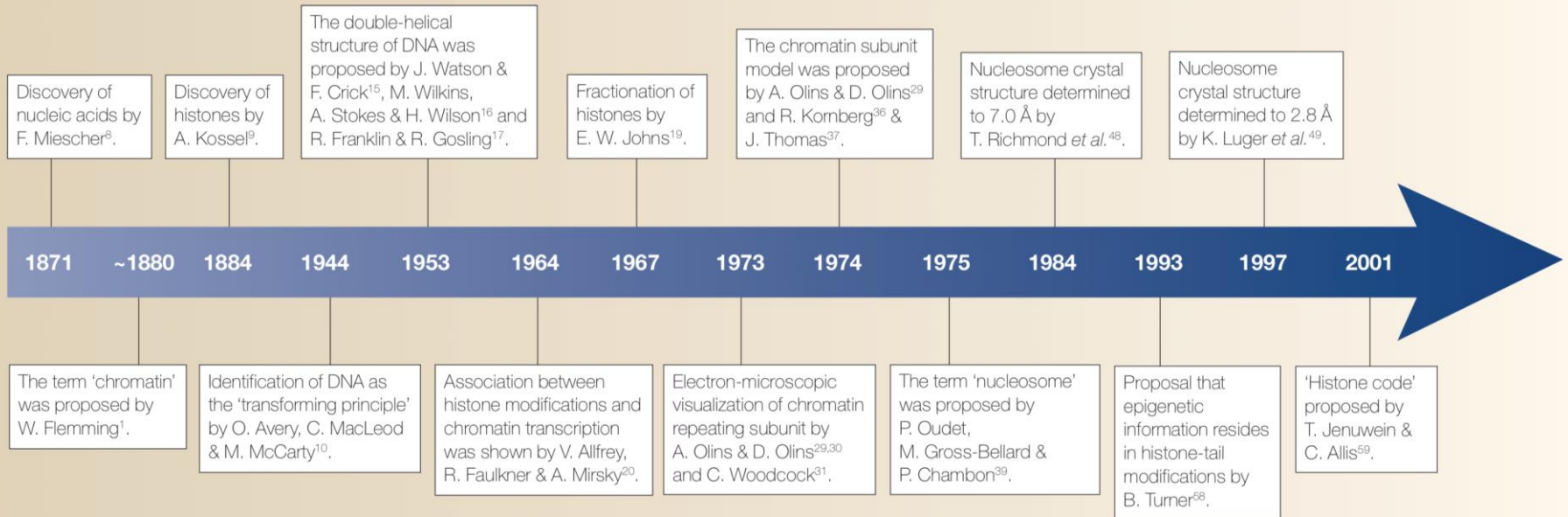
- Обнаружил белки **гистоны**, которые отличаются от протаминов (Kossel, 1884)
- Гистоны не во всех тканях
- Нобелевская премия по физиологии или медицине 10 декабря 1910 года за свои исследования клеточной биологии, химического состава клеточного ядра и за свою работу по выделению и описанию нуклеиновых кислот



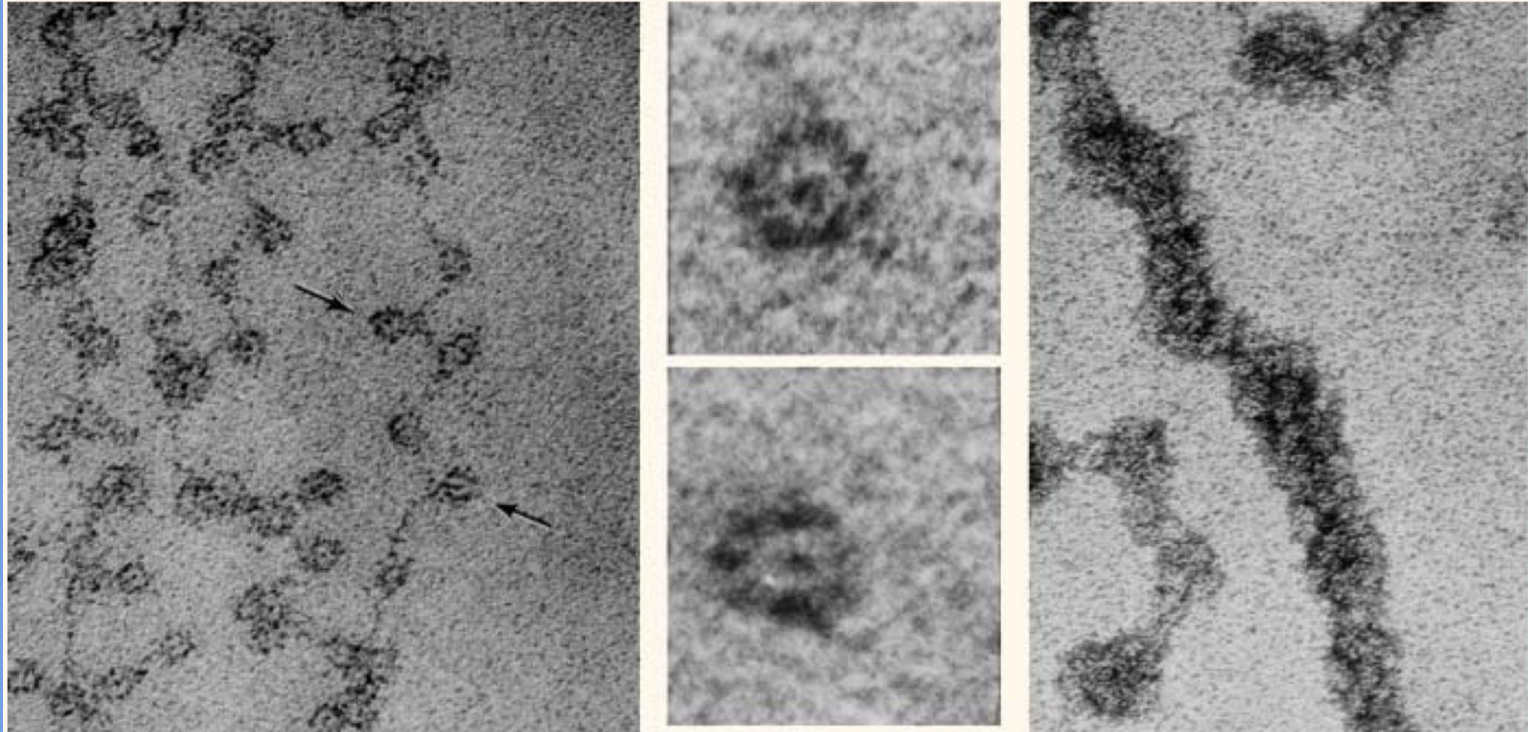
The word "histone" dates from the late 19th century and is derived from the German word "*Histon*", a word itself of uncertain origin, perhaps from Ancient Greek *ἵστημι* (*hístēmi*, "make stand") or *ἵστός* (*histós*, "loom")

Немного истории ...

Timeline | **History of chromatin**



1973 nu-bodies



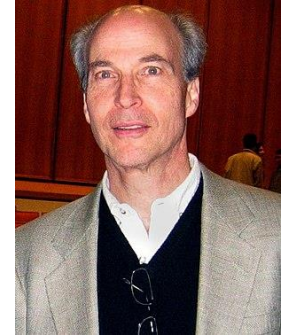
Don and Ada Olins

1974 nucleosome composition

Chromatin Structure: A Repeating Unit of Histones and DNA

Chromatin structure is based on a repeating unit of eight histone molecules and about 200 DNA base pairs.

Roger D. Kornberg



Roger Kornberg

These facts lead to two proposals:

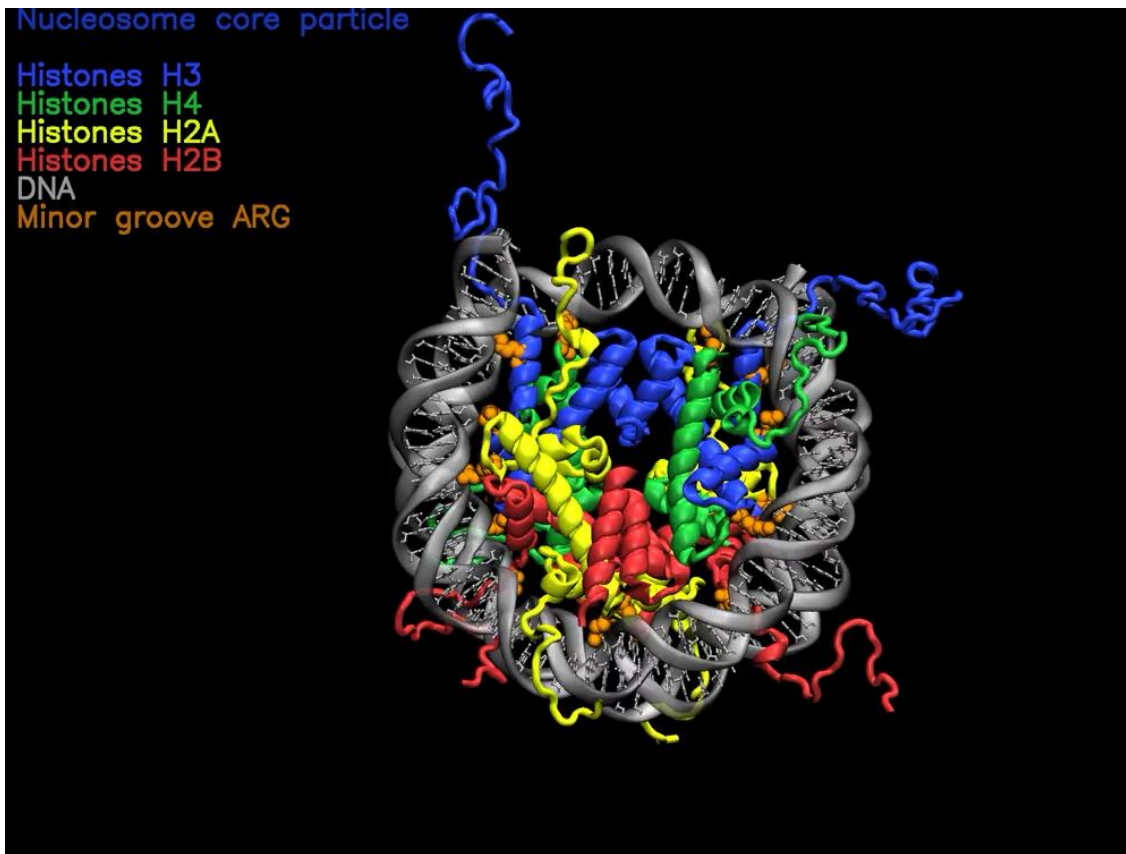
1) Chromatin structure is based on a repeating unit of two each of F2A1, F3, F2A2, and F2B and about 200 base pairs of DNA.

2) A chromatin fiber consists of many such units forming a flexibly jointed chain.

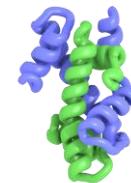
1.

Kornberg R.D. Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA // Science. American Association for the Advancement of Science, 1974. Vol. 184, № 4139. P. 868–871.

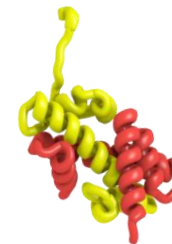
Nucleosome core structure



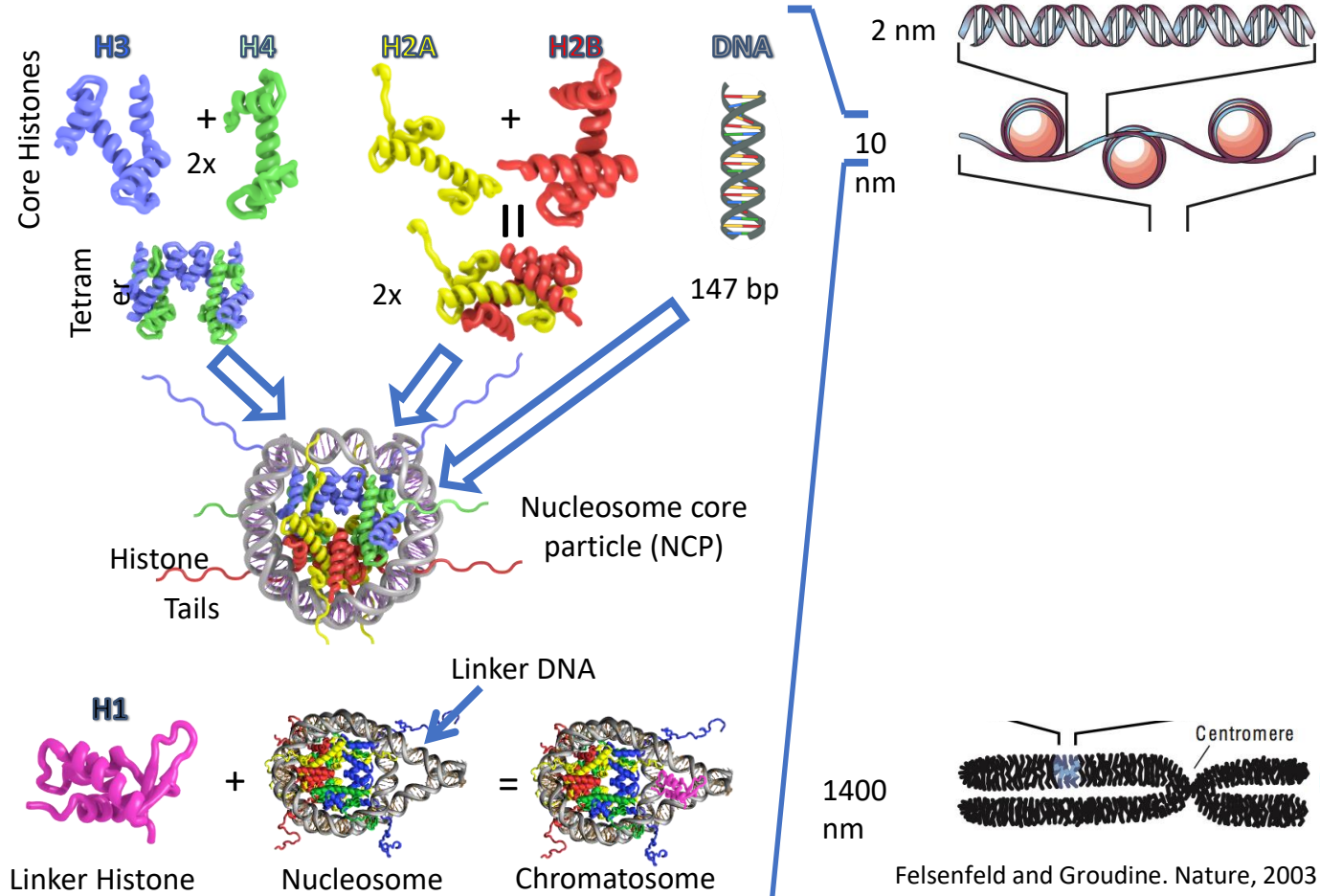
Histone H3-
H4 dimer



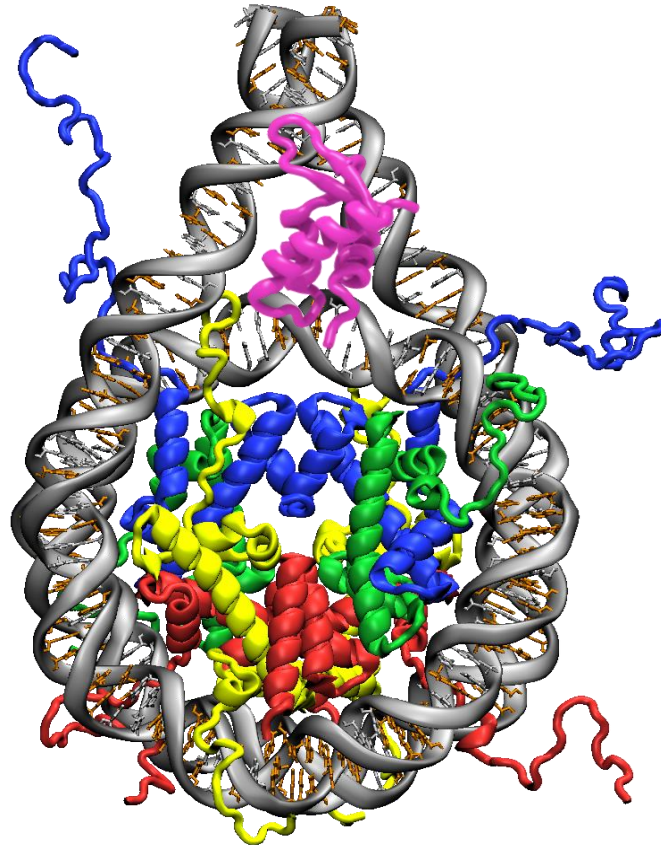
Histone H2A-
H2B dimer



Nucleosome structure



Хроматосома





“Plastic” model of a nucleosome
<https://github.com/molsim/nucLEGO>

2023年世界顶尖科学家协会奖获奖者
The 2023 WLA Prize Laureates

生命科学或医学奖
Life Science or Medicine



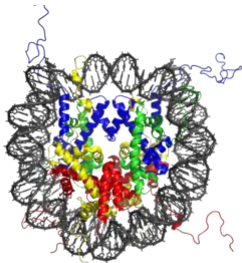
卡洛琳·卢格
Karolin LUGER



丹妮拉·罗兹
Daniela RHODES



蒂莫西·J·里士满
Timothy J. RICHMOND



"For elucidating the structure of the nucleosome at the atomic level, providing the basis for understanding chromatin, gene regulation, and epigenetics."

<http://www.thewlaprize.org/>

Спасибо за внимание!