

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ

ЛЕКЦІЯ 3

Тема: Генетика еукаріот

Найхарактернішими особливостями організації спадкового апарату еукаріотів порівняно з прокаріотами є:

- Наявність клітинного ядра з кількома молекулами ДНК, які є компонентами складних білково-нуклеїнових комплексів - хромосом.
- Присутність, поряд із головним ядерним спадковим апаратом, цитоплазматичних елементів спадковості - ДНК усередині мітохондрій і хлоропластів.
- Великий розмір еукаріотичних геномів, причому значна частка припадає на послідовності ДНК, які повторюються багато разів.
- Мозаїчний принцип будови еукаріотичних генів, причому один ген може давати кілька різних функціональних продуктів зарахунок альтернативного сплайсингу.
- Велика кількість генів, причому всі клітини багатоклітинного організму (за винятком деяких) містять ідентичні набори генів, хоча більша їхня частка є неактивною у клітинах даного типу. Це викликає необхідність реалізації складної системи регуляції експресії генів у процесі диференціювання клітин під час онтогенезу. Одним із важливих елементів цієї системи є епігенетична спадковість - забезпечення спадкування дочірніми клітинами не просто набору генів, а й системи специфічного блокування певної їхньої частини.
- Статевий процес, що лежить в основі розмноження переважної більшості багатоклітинних організмів: нащадок отримує два набори алельних генів від двох батьків різної статі. Механізми визначення статі є важливим розділом генетики еукаріотів.

Усі гени багатоклітинного організму можна розділити на дві групи:

- 1) гени, від яких залежать певні універсальні функції, і які є активними в усіх клітинах, - "гени домашнього господарства" (housekeeping genes);
- 2) гени, що специфічно активуються в клітинах певного типу, - "гени розкоші" (luxury genes).

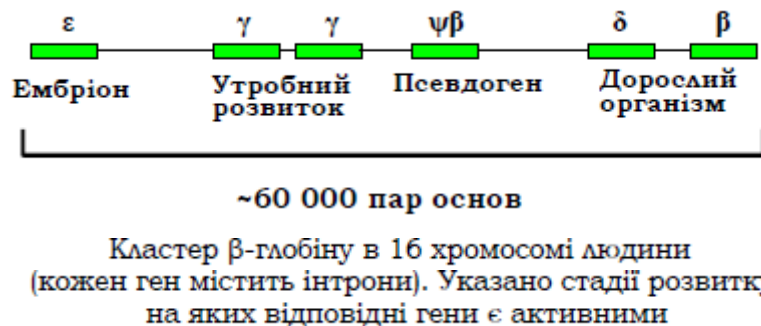
Досить загальною ознакою генів першої групи є розташування в їхніх регуляторних зонах так званих CpG-острівців - ділянок із підвищеним вмістом динуклеотидів CpG (мається на увазі послідовність нуклеотидів уздовж подвійної спіралі). Загалом вміст цих динуклетидів у еукаріотичних геномах приблизно у п'ять разів менший за очікуваний унаслідок метилювання цитозину в складі CpG-контакту: 5mC (5-метилцитозин) спонтанно перетворюється на тимін, що є одним із джерел виникнення мутацій. Метилювання цитозину в регуляторних ділянках є одним із механізмів репресії генів. Відповідно, гени, які зберігають свою активність у більшості клітин, містять неметилювані динуклеотиди CpG, вміст яких зберігається на високому рівні.

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ

Загальна кількість білкових генів у геномах вищих еукаріотів варіює приблизно від 20 до 30 тис.



Серед еукаріотичних генів 25–50 % є унікальними (представлені в геномі єдиною копією), решта належать до родин генів, що складаються з кількох копій, як правило, не ідентичних. Відповідні (гомологічні але не ідентичні) білки становлять родину білків. Кілька родин (протеїнкінази, транскрипційні фактори певного типу, імуноглобуліни) містять сотні білків, більшість родин складається з кількох (до 30) білків. Гени такої родини часто об'єднані в геномі в кластери - знаходяться поряд у певній хромосомі (кластери генів теплового шоку, глобінові гени). Слід зауважити, що такий кластер не є опероном – кожен ген піддається регуляції як окрема одиниця транскрипції. Наприклад, кластер генів β -субодиниці гемоглобіну містить гомологічні гени, які активуються на певних стадіях індивідуального розвитку.



Проте всі гени кластеру мають також спільну регуляторну зону, яка відповідає за загальний потенційно активний стан кластеру в клітинах, які в принципі мають здійснювати синтез гемоглобіну. β -Глобіновий кластер містить також неактивний псевдоген. Після дезактивації гена (порушення внаслідок мутації ініціації транскрипції, сплайсингу тощо) псевдоген перестає бути об'єктом відбору, і в ньому накопичується велика кількість мутацій.

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ

Зрозуміло, що в першу чергу псевдогени з'являються саме в кластерах - коли є кілька копій гена, і пошкодження одного з них не приводить до фатальних наслідків. Кілька генних кластерів повторюються в геномі багато разів. Серед білкових генів це стосується генів гістонів - гени п'яти молекул гістонів завжди згруповані в кластер (кожен ген - окрема одиниця транскрипції), який повторюється до 100 разів. Іншим прикладом кластерів, що повторюються, є гени рибосомної РНК, але в цьому випадку кластер є одиницею транскрипції.

Крім генів, що повторюються, еукаріотичний геном містить значну кількість інших послідовностей, що повторюються (до 50 % геному).

Основні типи таких повторів, крім уже згаданих псевдогенів, такі:

1. Тандемні повтори. До таких відносять багатократні повтори коротких послідовностей по 6-8 пар основ у теломерах і повтори так званої α -сателітної ДНК у центромерах (довжина повтору варіює від 7 пар основ у дрозофіли до 100-200 пар основ у ссавців, у людини - 171 пара основ). По всьому геному розподілені також так звані прості повтори (SSR, simple sequence repeats). Зазвичай виділяють мікросателіти - 1-15 пар основ, що повторюються від 10 до кількох тисяч разів, і мінісателіти - 15-500 пар основ, що повторюються до 100 разів. Кількість міні- та мікросателітних локусів становить десятки й сотні тисяч. Розподіл локусів за кількістю повторів є специфічною індивідуальною ознакою - на кшталт відбитків пальців.

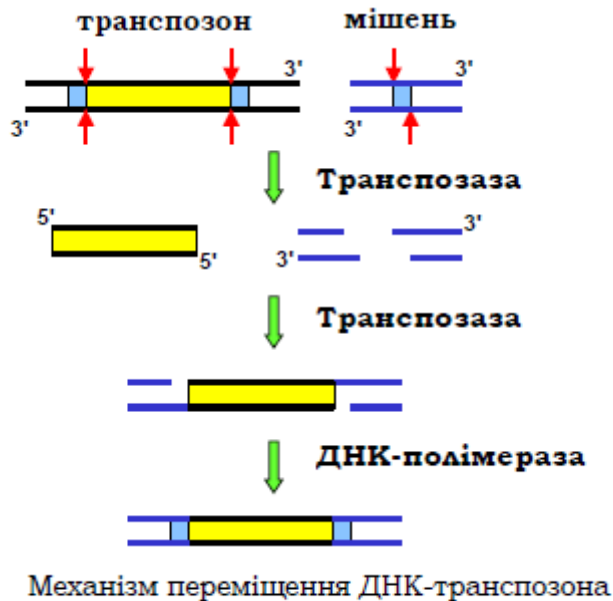
2. Сегментні дуплікації - великі блоки довжиною 1-200 тис. пар основ, які характеризуються високим ступенем гомології. Імовірно, сегментні дуплікації є продуктом колишніх порушень хромосом. Частіше зустрічаються в перицентромерних і субтеломерних зонах.

3. Інтерсперсні (мобільні) елементи, здатні до переміщення та розмноження в межах геному, становлять основну кількість ДНК, що повторюється. Частина таких послідовностей є результатом колишньої активності мобільних елементів (таких, що втратили здатність до переміщення). Основні типи еукаріотичних мобільних елементів:

- ДНК-транспозони - переміщення здійснюється шляхом вирізання ділянки ДНК із наступним вбудовуванням її в інше місце - цілком аналогічно до відповідних елементів у прокаріотів. Транспозони містять один або два гени (у різних видів), що кодують транспозазу - фермент, який забезпечує транспозицію елемента, - його вирізання з донорного сайту та вбудовування в сайт-мішень. Гени транспозази можуть бути пошкодженими - тоді транспозиція даного елемента відбувається з використанням транспозази, закодованої іншим ДНК-транспозоном. Кодуюча частина транспозона фланкована невеликими інвертованими повторами, які впізнає транспозаза, вирізаючи фрагмент ДНК. Сайт-мішень - невелика специфічна послідовність ДНК, котра теж упізнається транспозазою і теж розрізається, після чого транспозаза каталізує вбудовування транспозона до сайту-мішені. Процес транспозиції залишає дволанцюговий розріз у місці, де містився транспозон. У разі незалежної від реплікації транспозиції (нереплікативна транспозиція), цей розріз піддається репарації за механізмом негомологічного з'єднання кінців. Тобто транспозон просто "стрибає" в інше місце. Але досить часто

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ

транспозиція відбувається під час реплікації (реплікативна транспозиція) - тоді розріз репарується за механізмом гомологічної рекомбінації: сестринська молекула ДНК використовується як матриця, і ділянка, що містила транспозон, відновлюється - транспозон і стрибає в інше місце, і залишається в донорному сайті, тобто "розмножується".



- LTR-ретропозони - елементи послідовності, що містять довгі кінцеві повтори - Long Terminal Repeats - і кілька генів, зокрема ген зворотної транскриптази та інтегрази (аналог транспозази). Як і для наступних двох типів мобільних елементів, переміщення відбувається через проміжну молекулу РНК. Процес переміщення копії LTR-ретропозона нагадує життєвий цикл ретровірусів. Першим етапом є транскрипція ретропозона, після чого синтезована мРНК транспортується до цитоплазми, де піддається трансляції. Зворотна транскриптаза, яка є продуктом цієї трансляції, здійснює синтез ДНК: мРНК використовується як матриця, 3'-кінець молекули тРНК - як праймер. Комплекс синтезованої ДНК-копії ретропозона з інтегразою повертається до ядра, де ця ДНК вбудовується в геном.

- Інтерсперсні елементи LINE (Long INterspersed Elements) містять кілька генів, включаючи ген зворотної транскриптази. Після транскрипції та наступної трансляції мРНК у цитоплазмі синтезовані білки зв'язуються з мРНК, цей комплекс повертається до ядра, де й відбувається зворотна транскрипція та вбудовування елемента в геном. Синтез мРНК при транскрипції елемента LINE, як і для більшості інших еукаріотичних мРНК, закінчується на polyA-сигналі. Цей сигнал слабкий, що дозволяє елементу вбудовуватись в інтрони звичайних генів без особливих перешкод для експресії цих генів: система процесингу часто не помічає слабкий polyA-сигнал. Елементи LINE є, відповідно, надзвичайно поширеними мобільними елементами в геномі вищих еукаріотів.

ВЕЛИКИЙ ПРАКТИКУМ З ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ

Іноді вони є не просто ділянками "егоїстичної ДНК", що автономно розмножуються в геномі, а виконують певні конкретні біологічні функції. Наприклад, у дрозофіли відсутня теломеразна система, і елементи LINE певного типу виконують функцію подовження кінців хромосом після реплікації: зворотна транскриптаза виступає як теломераза, мРНК мобільного елемента - як теломеразна матрична РНК (див. розділ 1). Цікаво, що послідовності ДНК гена теломери та елементів LINE характеризуються високою гомологією: цілком можливо, що теломеразна система походить від мобільних елементів LINE.

- Інтерсперсні елементи SINE (Short INterspersed Elements) - короткі (100-400 пар основ) беззмістовні елементи, які використовують для переміщення ферменти системи LINE. До цього класу належить, зокрема, так званий Alu-повтор (назва походить від назви відповідної рестриктази, яка здатна специфічно гідролізувати цей елемент послідовності).

Мобільні елементи розподілені в геномі нерівномірно: є довгі ділянки, які на 90 % представлені мобільними елементами, і такі зони, де інтерсперсні елементи відсутні. Загалом спостерігається негативна кореляція між густиною генів і мобільних елементів. Винятком із цієї закономірності є позитивна кореляція між густиною генів та елементів типу SINE.