

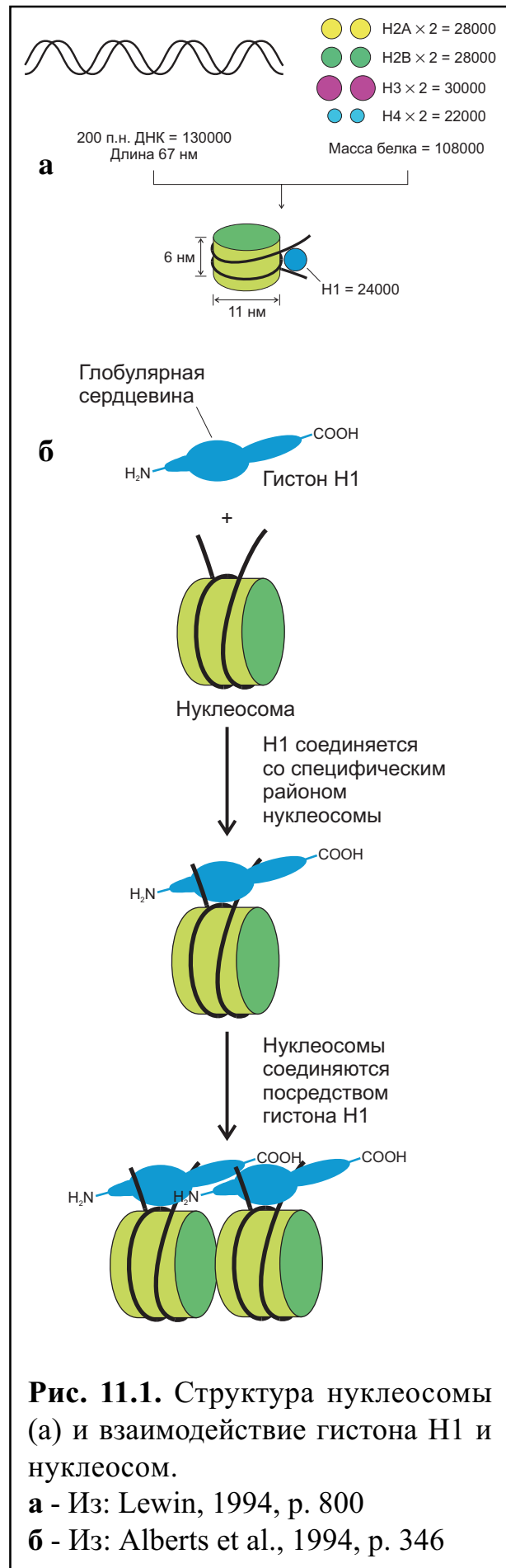
Глава 11. Упаковка ДНК в хромосомах	
<i>11.1. Нуклеосомы</i>	2
<i>11.2. Наднуклеосомная укладка ДНК</i>	7
<i>11.3. Хромомерная организация хромосом</i>	12
<i>11.4. Хромосомы типа “ламповых щеток”</i>	16

11. Упаковка ДНК в хромосомах

В клетках не бывает чистой ДНК. На всех этапах клеточного цикла молекулы ДНК в той или иной степени упакованы в нуклеопротеиновые структуры. При этом, при формировании митотической хромосомы, ДНК эукариотической клетки упаковывается в несколько тысяч раз “с такой точностью, что в каждом клеточном цикле воспроизводятся размеры хромосом, отношения плеч, особенности продольной дифференциации, подразделение на эу- и гетерохроматин, а также полосы, возникающие при дифференциальном окрашивании” (Gatti et al., 1983, p. 83). Несомненно, что в основе этой точности лежит какой-то удивительный по надежности механизм компактизации.

11.1. Нуклеосомы

Хроматин имеет компактную упаковку, в которой ДНК функционально неактивна. Фундаментальная субъединица хроматина - нуклеосома - имеет один и тот же тип организации у всех эукариот. Нити нуклеосом находят в ядрах, обработанных растворами низкой ионной силы. Индивидуальные нуклеосомы получают в результате переваривания хроматина микрококковой нуклеазой - эндонуклеазой, разрезающей нить ДНК между нуклеосомами. Каждая нуклеосома содержит примерно 200 п.н. ДНК, связанной с октамерной частицей, состоящей из белков-гистонов - по две копии H2A, H2B, H3 и H4. Это сердцевинные гистоны. Молекула гистона H1 является мономером, она расположена снаружи нуклеосомы, т.к. ее удаление не влияет на структуру частицы (Рис. 11.1.).



Нуклеосома выглядит в виде цилиндра, вокруг которого ДНК делает два оборота (Рис. 11.2.).

Участок ДНК между двумя нуклеосомами называется линкером. ДНК длиной 146 п.н. обматывается вокруг октамера, еще около 50 п.н. приходится на линкер.

Более 90% ДНК в клетке присутствует в составе нуклеосом. После упаковки ДНК в нуклеосомные структуры она укорачивается в 6 раз.

Когда изучают ультраструктуру хроматина под электронным микроскопом, обычно находят два типа нуклеопротеиновых нитей: 10 нм и 30 нм в диаметре. Первая представляет собой нить из нуклеосом, расположенных друг за другом. Нить диаметром 30 нм представляет собой спираль, свернутую из нити диаметром 10 нм. В каждом витке спирали находятся 6 нуклеосом (Рис. 11.3.).

В фибрилле диаметром 30 нм коэффициент упаковки ДНК составляет примерно 36-40, т.е. каждый микрометр вдоль оси этой нити содержит 40 мкм ДНК.

В системе *in vitro* нуклеосомы собираются независимо от того, какие последовательности ДНК присутствуют.

Не совсем ясным остается вопрос о том, всегда ли специфические последовательности ДНК находятся в определенных позициях в нуклеосоме (феномен, называемый фазированием нуклеосом).

Ставили следующий опыт: если расщепить нить с нуклеосомами микрококковой нуклеазой, получаются мономерные фрагменты. Если теперь изолировать ДНК и обработать рестриктазой, которая имеет

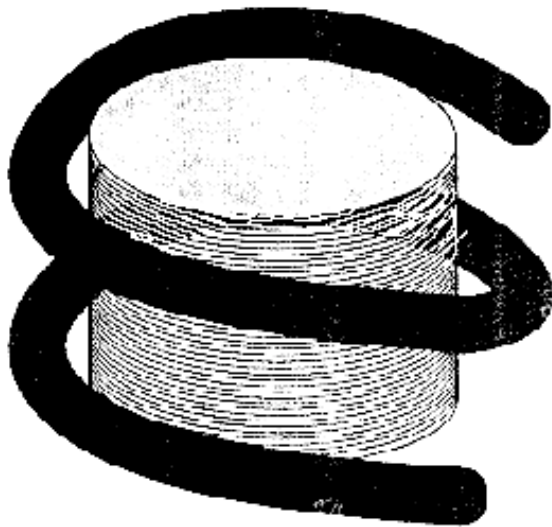


Рис. 11.2. Схема расположения ДНК на белковой сердцевине (Из: Lewin, 1994, р. 804)

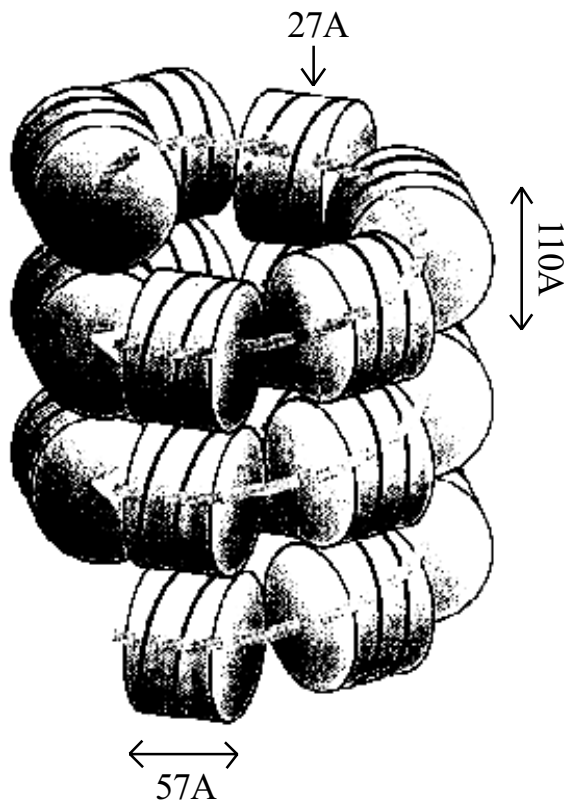
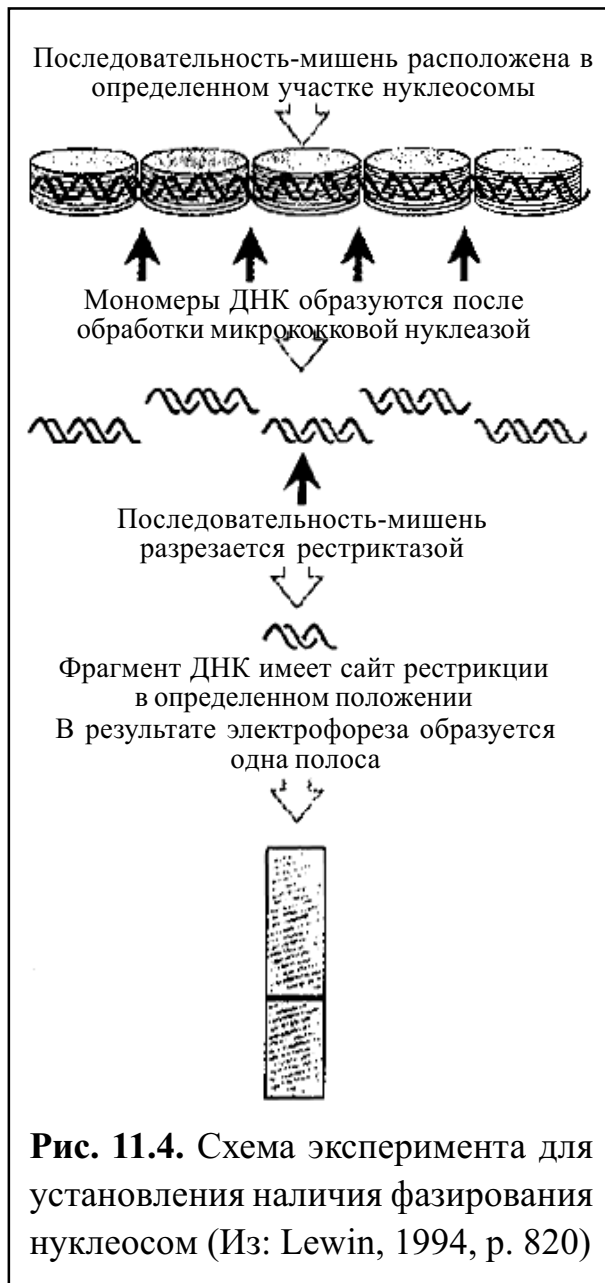


Рис. 11.3. Структура нити хроматина диаметром 30 нм (Из: Lewin, 1994, р. 812)

Дополнение 11.1.

Нобелевская премия 1982 года была присуждена А. Клаггу (А. Klug) за его вклад в анализ кристаллической структуры нуклеосом.



единственный сайт рестрикции в этом мономерном фрагменте, то получатся два фрагмента ДНК, каждый своего размера. Продукты этого двойного переваривания разделяют в геле с помощью электрофореза. Затем, используя зонд, представляющий последовательность по одну сторону от сайта рестрикции, выявляют соответствующий фрагмент. Если на фореграмме выявляется один фрагмент, то нуклеосомы фазированы. Если получается мазок, то фазирования нет (Рис. 11.4.). Результаты, полученные

в таких экспериментах не поддаются однозначной интерпретации.

Не совсем ясно, сохраняется ли нуклеосомная укладка, когда ген начинает транскрибироваться. В неделящемся ядре, где активно работает ряд генов, нуклеосомы расположены достаточно строго в определенных точках в промоторной области. Присутствие нуклеосом вместо факторов транскрипции в области промотора подавляет активность генов, препятствуя присоединению факторов транскрипции. Белки нуклеосом - гистоны конкурируют с факторами транскрипции за участки свободной от белков ДНК. Такие участки могут образовываться в клетке сразу после репликации ДНК. Если гистоны успеют образовать нуклеосомные структуры в условиях, когда концентрация факторов транскрипции недостаточна, то ген оказывается неактивным (репрессированным). Наоборот, при достаточной концентрации факторов они успешно конкурируют с гистонами и в области промотора образуют специфичную структуру, прилегая к РНК-полимеразе.

В то же время гистоны не сходят полностью с ДНК даже в активно транскрибируемом хроматине.

В некоторых генах, например, в блоках генов рибосомной 18 и 28S РНК, нуклеосомная укладка исчезает полностью.

Изменения структуры хроматина улавливаются после обработки очень низкими концентрациями ДНКазы I. После такой обработки образуются разрывы в участках, называемых гиперчувствительными к ДНКазе I. В этих сайтах ДНК не организована в нуклеосомные структуры. Каждый ген

имеет 1-2 участка, чувствительных к ДНКазе I, расположенных чуть выше зоны промотора.

В некоторых случаях промоторный участок обладает повышенной чувствительностью к разным нуклеазам (Рис. 11.5.).

Гиперчувствительные сайты, связанные с транскрипцией, могут образовываться под влиянием факторов транскрипции (Lewin, 1994, р. 827).

Можно выделить два типа генов по их отношению к нуклеосомной укладке: предустановленные (preset) и реконструирующиеся (remodeling) (Рис. 11.6.). Предустановленные гены - это такие, в которых сайты связывания транс-действующих факторов доступны этим факторам (т.е. в ненуклеосомном состоянии, гиперчувствительном к ДНКазе I) еще до начала активации гена. В ходе активирования гена регулирующие факторы связываются с цис-действующими регуляторными элементами и запускают процесс транскрипции без заметных изменений в хроматиновой структуре промоторного района. Напротив, в реконструирующихся генах некоторые из необходимых для активирования цис-действующих регуляторных

элементов упакованы в нуклеосомы и, поэтому недоступны. Нуклеосомы должны переформироваться в ответ на активирующий сигнал, чтобы цис-элементы стали бы доступными. В результате должны появиться участки, гиперчувствительные к ДНК-азе. Ген *hsp26* - является хорошим примером индуцируемого предустановленного гена (Рис. 11.6А.). Он индуцируется в течение нескольких минут после начала теплового шока. До индукции в регуляторном участке гена находятся два участка, гиперчувствительных к ДНКазе-I. Они локализованы в двух участках HSE. Рядом с ними расположены тракты из С и Т остатков (GAGA район), непосредственно примыкающих к HSE. Они связываются с GAGA-фактором в системе *in vitro* и выявляются на футпринтах *in vivo*. РНК-полимераза II занимает участок до +25 и даже транскрибирует короткую молекулу РНК. Однако РНК-полимераза делает паузу. После индукции гена тепловым шоком белок HSF связывается с элементом HSE и РНК-полимераза II двигается с участка паузы. Каких-либо изменений в структуре хроматина не происходит. Похожим образом организован ген *hsp70* (Рис. 11.6А).

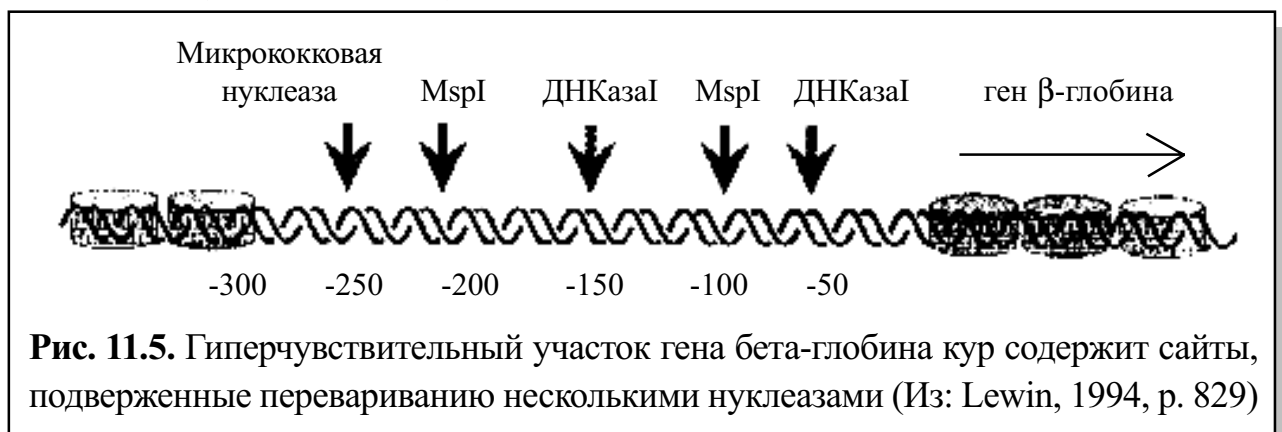


Рис. 11.5. Гиперчувствительный участок гена бета-глобина кур содержит сайты, подверженные перевариванию несколькими нуклеазами (Из: Lewin, 1994, р. 829)

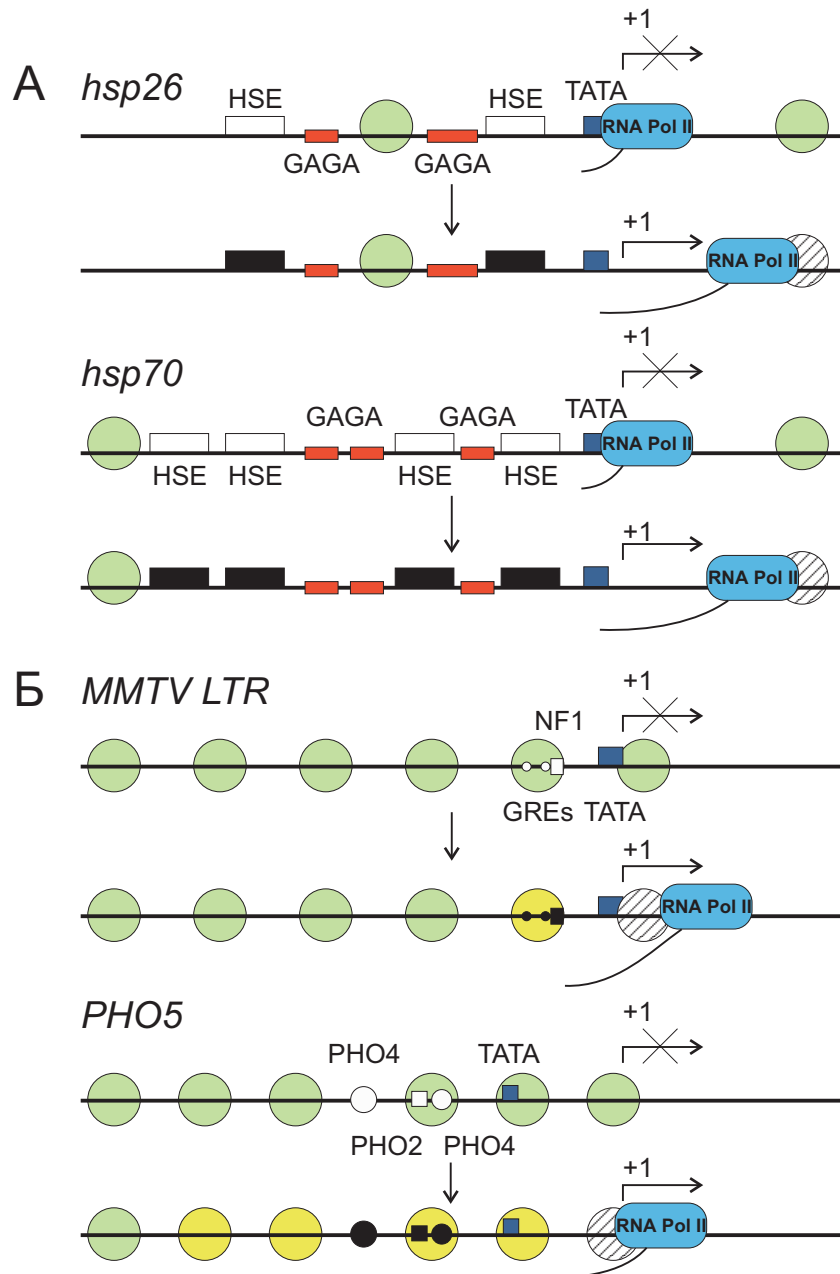


Рис. 11.6. Структура промотора и нуклеосомная укладка (Из: Wallrath et al., 1994) А - предустановленный и Б - реконструирующийся гены. *hsp26* и *hsp70* - гены белков теплового шока, *PHO5* и *MMTV LTR* гены дрожжей и млекопитающих, соответственно. Зеленые круги представляют собой постоянные нуклеосомы. Круги с косой штриховкой - нуклеосомы, расположенные ниже точки начала транскрипции. Желтые круги - переформирующиеся нуклеосомы в регуляторной области генов. Цис-действующие регуляторные элементы изображены прямоугольниками и кружками. Участки, связавшие транс-активаторы, изображены черным

У функционирующего в клетках млекопитающих гена *MMTV LTR* в промоторном районе находится 6 нуклеосом (Рис. 11.6Б.). В ходе индукции нуклеосома, расположенная в участке, с

которым связываются индуцирующие факторы GR и NF1 изменяется, он становится гиперчувствительным к ДНКазе I, и белок NF1 начинает связываться с регуляторным участком.

У дрожжей ген *PHO5* промоторный район упакован в 6 нуклеосом. В зоне образования второй нуклеосомы от участка начала транскрипции, расположен сайт связывания регулятора РНО4. Есть слабый участок связывания с РНО4 между второй и третьей нуклеосомой. В присутствии фосфата происходит активация гена, во время которой 4 нуклеосомы реконструируются (см. Рис. 11.6Б.).

Литература к разделу 11.1.

- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D. *Molecular biology of the cell* (Third edition) Garland Publishing, Inc. New York, London, p. 346, 1994.
- Gatti M., Smith D.A., Baker B.S. A gene controlling condensation of heterochromatin in *Drosophila melanogaster*. *Science* 221, 83-85, 1983.
- Lewin B. *Genes*. Oxford, New York, Tokyo; Oxford University Press, 1-1272, 1994.

- Russell, P.J. *Genetics* Fifth edition. Addison Wesley Longman, Ins, Menlo Park, California, p. 330-331, 1998.
- Wallrath L.L., Lu Q., Granok H., Elgin S.C.R. Architectural variations of inducible eukariotic promoters: present and remodeling chromatin structures. *BioEssays* 16, N3, 165-170, 1994.
- Wolffe A.P., Pruss D. Deviant nucleosomes: the functional specialization of chromatin. *Trends in Genetics* 12, N2, 58-62, 1996.

11.2. Наднуклеосомная укладка ДНК

Табл. 11.1. дает представления о том, как упакована ДНК в различных ядерных структурах.

По-видимому, процесс компактизации ДНК, приводящий в конце концов к построению плотного тела митотической хромосомы, проходит через несколько структурных уровней (Рис. 11.7а, б.). Первый уровень - *нуклеосомный* - обеспечивает сверхскручивание ДНК по поверхности

Табл. 11.1. Укладка ДНК, содержащейся в геноме дрозофилы, в различных ядерных структурах (Из: Жимулев, 1992, стр. 235)

Структура	Длина (мкм)	Коэффициент упаковки	
		по отношению к предыдущему уровню	исходной молекулы ДНК
ДНК в геноме	35-56000	-	-
Нуклеосома (нить диаметром 10 нм)	-	5-7	5-7
Нуклеомер (нить диаметром 25-30 нм)	-	5-7	25-49
Политенные хромосомы (эухроматиновая часть)	765-1150	1.2-1.5	30-73
Метафазная хромосома	7.5	90-210	6300

гистоновой сердцевины. Второй - *нуклеомерный* (сверхбусина), где идёт объединение 6 нуклеосом в виде глобулы. Так как все эти уровни компактизации происходят на огромных линейных молекулах ДНК, то ряд сближенных нуклеомеров и образует 30-нанометровую фибриллу ДНП. Третий уровень - *хромомерный*: петли фибрилл ДНП, объединённые скрепками из негистоновых белков, образуют компактные тела (0,1 - 0,2 мкм), которые при искусственной деконденсации дадут розетковидные структуры. Расположение петлевых доменов, хромомеров, может быть неравномерным: участки тела митотической хромосомы, обогащенные ими, могут соответствовать полосам при дифференциальной окраске хромосомы. Четвёртый уровень - *хромонемный*: сближенные в линейном порядке

хромомеры образуют толстые (0.1 - 0.2 мкм) нити, которые можно уже наблюдать и в световом микроскопе. Характер упаковки этой нити в теле хроматиды ещё недостаточно выяснен: возможна спиральная укладка хромонемы, но не исключено образование ею и ещё одного уровня петлевых структур. Конечно, такая общая схема организации митотических хромосом очень неполно отражает особенности строения их специализированных участков, таких как ядрышковый организатор, теломеры и центомеры.

В заключение этого обзора можно прийти к выводу, что при изучении ультраструктуры хромосом исследователи сталкиваются с парадоксальной ситуацией: чем ближе мы подходим к высшим структурным уровням организации митотических

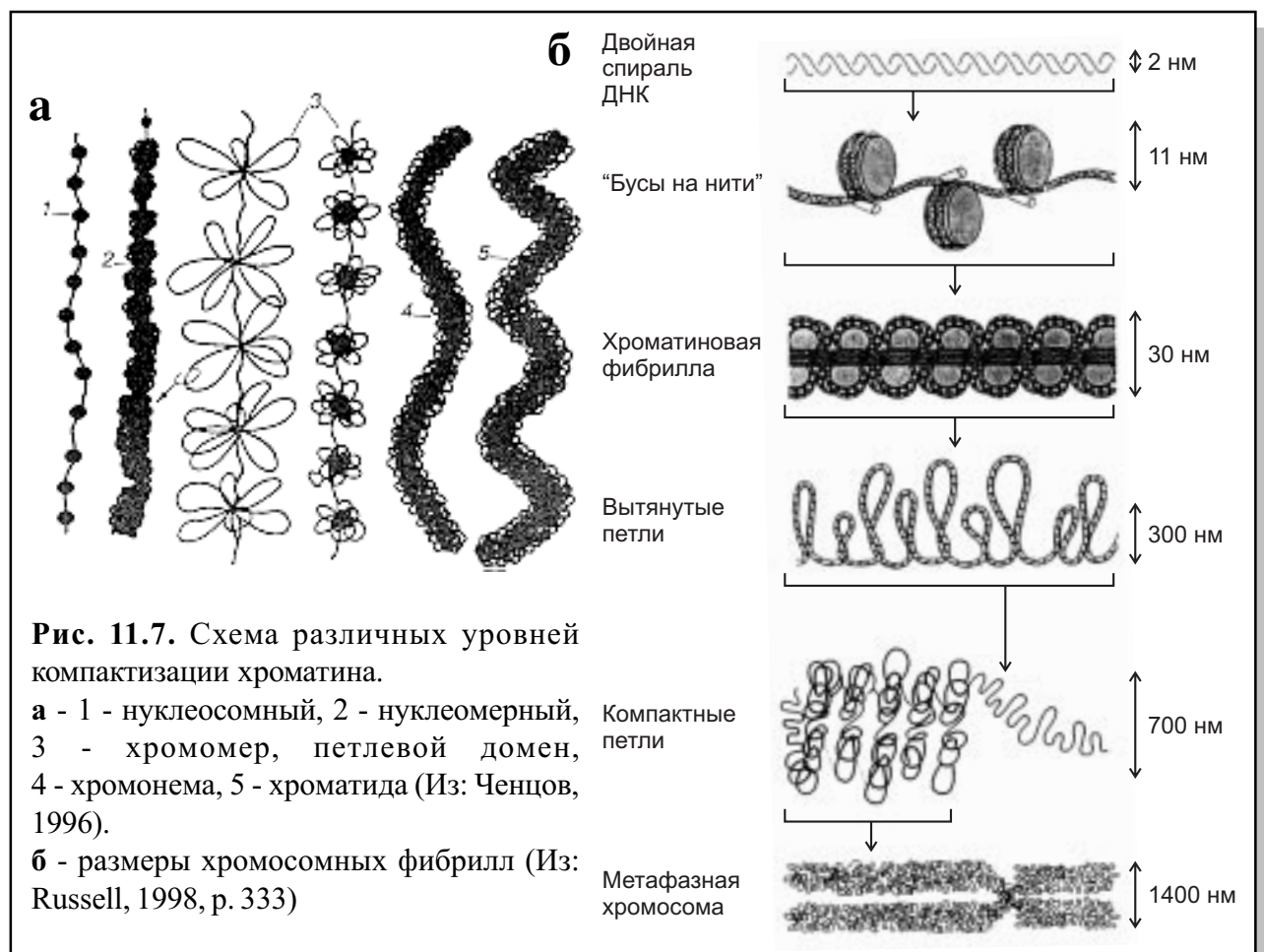


Рис. 11.8. Латеральные петли ДНК (1) и осевые компоненты - скаффолд (2) метафазной хромосомы после полного удаления гистонов (Неопубл. фото У. Леммли)

хромосом, тем меньшей по объёму и более низкой по надёжности становится информация об этой важнейшей клеточной структуре (Из: Ченцов, 1996, стр. 21). Большим шагом в моделировании структуры метафазной хромосомы оказалось изучение структуры хроматина после удаления гистонов из хромосом обработкой 2M NaCl. В таких случаях удаляются все гистоны и большая часть негистоновых белков. После этой обработки на месте метафазной хромосомы остается остов (scaffold) из негистоновых белков, из которого выходят и распределяются в виде гало петлеобразные нити ДНК длиной 10-30 нм (Рис. 11.8.).

Центральный скаффолд сохраняет очертания метафазной хромосомы, даже после полного переваривания ДНК нуклеазами. Петли, выходящие из скаффолда, часто называют “петлевыми доменами”. Одна из хромосом средних размеров у человека

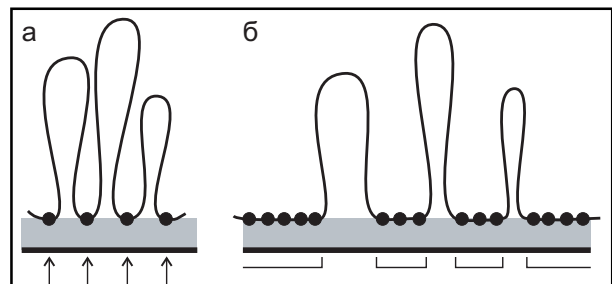


Рис. 11.9. Две модели закрепления оснований петель в ядерном матриксе. **а** - простейшая модель, предполагающая, что петли разделены участками MAR, состоящими из относительно коротких фрагментов ДНК, погруженных в ядерный матрикс. **б** - модель, постулирующая, что петлевые районы относительно длинные. Черными кружками обозначены районы, непосредственно взаимодействующие с белками матрикса. (Из: Razin, 1995, p. 431)

имеет около 2000 петлевых доменов. Участки ДНК, связанные со скаффолдом, называются SAR (scaffold attachment regions). На Рис. 11.9. показана схема образования петель,

основания которых погружены в скаффолд из негистоновых белков.

В интерфазном ядре такие петли связаны с нитчато-сетчатым белковым образованием, расположенным внутри ядерной оболочки и называемым ядерным матриксом. Для выделения фрагментов ДНК, к которым прикрепляются белки матрикса (их называют MAR-matrices attachment regions), используют следующие процедуры:

1. выделяют клеточные ядра.
2. экстрагируют гистоны.
3. Затем деградируют ДНК рестриктазами или ДНКазой.
4. Из оставшихся ДНК-белковых комплексов выделяют ДНК и анализируют.

Если обработать ДНКазой препараты хромосом с петлями, то можно получить белковые остовы и анализировать их состав. Оказалось, что в них присутствует около 20 видов белков негистоновой природы, сходных с белками интерфазного ядерного матрикса. Две фракции белков, с молекулярной массой 170 и 135 кДа, являются преобладающими. Белок 135 кДа является топоизомеразой II.

В последнее время получены данные, говорящие о том что скаффолды могут представлять собой артефакт, получившийся в результате монтажа и высушивания дегистонизированных хромосом на подложке. Действительно, в теле хромосомы есть негистоновые белковые скрепки, сшивающие основания боковых петель ДНК, но эти связки разбросаны рыхло по объему хромосомы.

Аргументы против существования петель *in vivo*:

1. Скаффолды формируются только в экспериментальных условиях и реальное существование их в нативных хромосомах не продемонстрировано.
2. Если скаффолд играет важную роль в организации каждой хромосомы, его морфология и структура должны быть неизменными, чего не наблюдают.
3. В метафазных хромосомах, окрашенных на белки, скаффолд не обнаружен.
4. Если X хромосомы несколько диспергируются перед тем как будут удалены гистоны, скаффолд впоследствии не образуется.

Как уже указывалось выше, при разных способах депротенизации кроме петель на периферии набухших хромосом можно выявить и розеткоподобные структуры, состоящие из ДНК. Так, во время распластывания метафазных хромосом образуются розетки, составленные из многих петель, выходящих из общего центра. Многочисленные розетки соединены межрозеточной ДНК. Средняя общая длина петель на одну розетку, образуемую в хромосомах китайского хомячка, составляет 14 μm , средняя длина межрозеточной ДНК - 4,2 μm и среднее число петель в одной розетке - около 20.

Каковы отношения между хромосомным скаффолдом в делящихся клетках и ядерным матриксом в интерфазных клетках? Одни и те же ли последовательности ДНК участвуют в связывании с SAR и MAR?

В ряде случаев одни и те же фрагменты ДНК входят и в скаффолд,

и в ядерный матрикс. Ядерный матрикс и хромосомный скаффолд состоят из разных белков, хотя есть и общие компоненты. Например, топоизомераза II является основным компонентом хромосомного скаффолда, одновременно входит и в ядерный матрикс.

Неожиданной чертой ядерного матрикса является отсутствие консервативных последовательностей во фрагментах MAR. Они обычно на 70% состоят из AT нуклеотидов, но не имеют каких-либо консенсусных последовательностей, исключая сайт распознавания топоизомеразой II.

Вопрос о соответствии петель хромосомам политенных хромосом также не решен. Длины ДНК, составляющей диск политенной хромосомы у дрозофилы, достаточно для формирования от 1 до 16 петель.

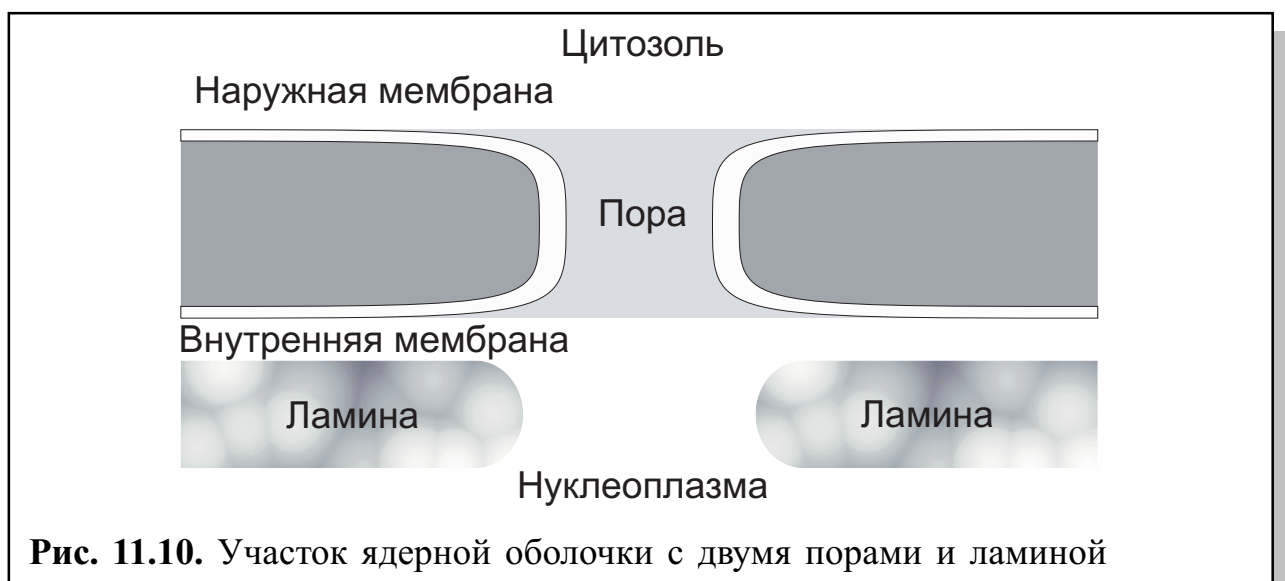
В результате картирования сайтов связывания с белками скаффолда в пределах клонированной области хромосомы дрозофилы размером 320 т.п.н., между SAR-сайтами выявлено пять фрагментов ДНК, размеры которых различны: 78, 43, 112, 26 и 62

т.п.н. Число генов, картированных в пределах каждой петли, варьирует от 1 до 8.

Ядерная ламина представляет собой белковый каркас 25-100 нм толщиной, состоящей из промежуточных филамент-подобных фибрилл, которые выстилают внутреннюю поверхность ядерной оболочки и таким образом ограничивают нуклеоплазму. Считается, что ядерная ламина несет на себе функцию скелетной поддержки ядерной оболочки, обеспечивая тем самым целостность интерфазного ядра (рис. 11.10.).

Масса хроматина, занимая большую часть ядерного объема, соединяется с какими-то участками ядерной ламины.

Во время митоза ядерная оболочка разрушается, превращаясь в маленькие пузырьки, а ламина диссоциирует на белковые субъединицы. В поздней телофазе ламина окружает деконденсирующийся хроматин, затем этот комплекс окружается мембранными пузырьками, из которых восстанавливается ядерная оболочка.



Основным компонентом ядерной ламины, являются белки, называемые ламинами. Эти белки в некоторых случаях специфично связываются с хроматином, а также с SAR и MAR-ДНК.

Литература к разделу 11.2.

Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. Москва, Наука, с. 83-140, 1989.

Жимулев И.Ф. Политенные хромосомы: морфология и структура. Новосибирск, Наука, стр. 1-479, 1992.

Ченцов Ю.С. Современные представления о строении митотических хромосом. Соросовский образов. журнал. N8, 14-22, 1996.

Berezney R., Jeon, K.W. (editors). Nuclear matrix: structural and functional organization. San-Diego, London, Boston, New York, Academic Press, 1-471, 1995.

Lewin B. Genes V. Oxford, New York, Tokyo; Oxford University Press, p. 46-48, 776-778, 1994.

Razin S.V. Specificity and functional significance of DNA interaction with the nuclear matrix: new approaches to clarify the old questions. Intern. Rev. Cytol. V. 162B. p. 405-449, 1995.

11.3. Хромомерная организация хромосом

В конце 19-го века ряд исследователей (E.G. Balbiani, W. Pfitzner, W. Flemming) (см. Вильсон, 1936) нашли, что хромосомная нить на стадии профазы митоза содержит ряд небольших сильно окрашивающихся телец или хромомеров, различающихся

по размерам и форме. В профазе мейоза рисунок хромомеров в гомологичных хромосомах полностью симметричен (Рис. 11.11.).

“Каждое хроматиновое зернышко одной нити имеет двойника в другой и нет хотя бы малейшей особенности одной нити, которая не повторялась бы в точности у ее спутника” (Вильсон, 1936, стр. 799). Различаясь между собой по величине, форме, содержанию ДНК и положению в хромосоме, хромомеры обладают отчетливо выраженной индивидуальностью и придают хромосомным нитям и отдельным их участкам постоянный и определенный рисунок, строго фиксированный наследственно (Прокофьева-Бельговская, Богданов, 1963, стр. 36).

Только в профазе митоза и мейоза (лептотена и пахитена) хромосомы имеют хромомерную организацию у всех эукариот, на других стадиях клеточного цикла хромомеры встречаются довольно редко. Идеи о том, что хромомеры (или гранулярность хромосомной нити) существуют и в интерфазных ядрах, в которых индивидуальные хромосомы не опознаются, развивал еще В. Флеминг в 1882 г.

Наиболее выраженные хромомеры встречаются в политенных хромосомах и хромосомах типа “ламповых клеток”. Х. Бауэр (H. Bauer) в 1935 году предложил, что диски политенных хромосом образуются за счет бокового слияния хромомеров в параллельно расположенных хроматидах. (Рис. 11.12.)

У. Дюрие в 1941 году описал хромомеры в хромосомах типа “ламповых щеток”, которые находят в первичных ооцитах (профаза, по-видимому, диплотена) многих

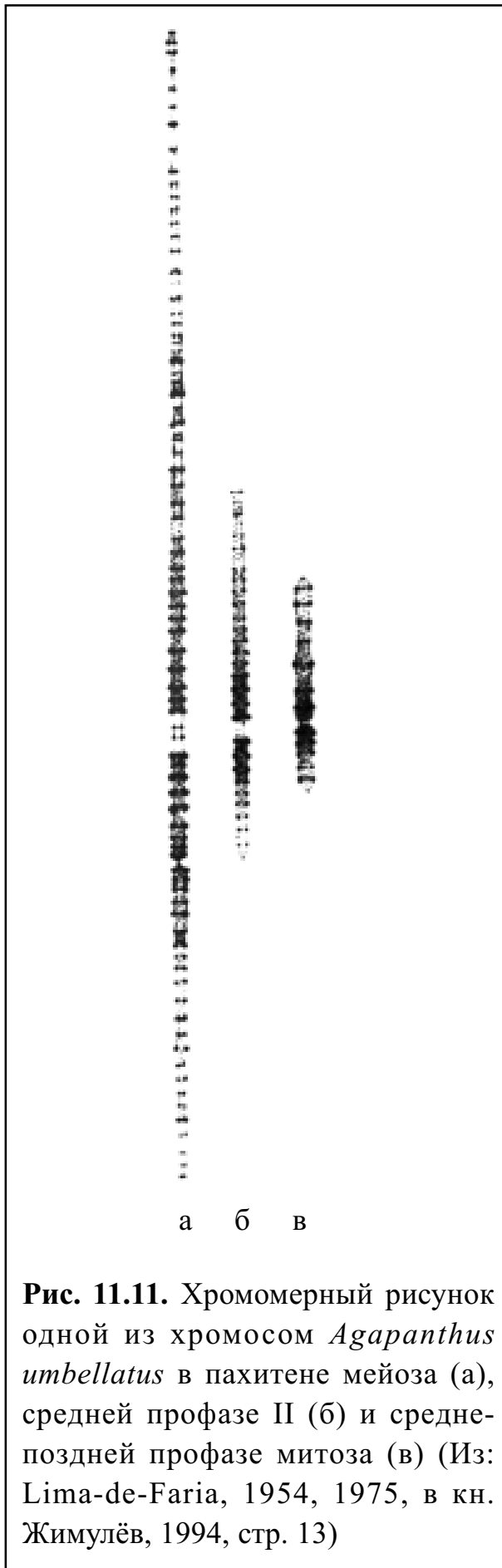


Рис. 11.11. Хромомерный рисунок одной из хромосом *Agapanthus umbellatus* в пахитене мейоза (а), средней профазе II (б) и средне-поздней профазе митоза (в) (Из: Lima-de-Faria, 1954, 1975, в кн. Жимулёв, 1994, стр. 13)



Рис. 11.12. Схема образования поперечных дисков в политенных хромосомах (Из: Гершензон, 1983, стр. 93)



Рис. 11.13. Хромомеры с отходящими от них петлями в биваленте хромосомы XII у тритона *Triturus cristatus karelinii* (Из: Callan, 1963, в кн. Жимулёв, 1994, стр. 12)

позвоночных и некоторых беспозвоночных (Рис. 11.13.).

От хромомеров отходят боковые петли, в результате чего хромосома выглядит как ершик для чистки керосиновых ламп, поэтому их и называют “хромосомами типа ламповых щеток” - lampbrush chromosomes. В целом, у амфибий картины хромомеров в хромосомах этого типа от препарата к препарату

одинаковы. Число хромомеров в кариотипах у разных видов саламандр варьирует в пределах от 4 до 10 тысяч.

В результате всех этих исследований в начале 1970-х годов сформировалось представление о едином типе организации хромосом - хромомерном. Однако современные данные о хромомере свидетельствуют скорее о сборности, чем универсальности этого понятия.

Два свойства являются общими для хромомеров различных типов: во-первых, все они представляют собой отрезки компактизированной ДНК, во-вторых, число и рисунок хромомеров у данного организма постоянны на данной стадии клеточного цикла.

Если разбирать признаки, отличающие хромомеры разных типов друг от друга, то их значительно больше:

1. В то время как хромомеры мейотических хромосом находят в клетках зародышевого пути, хромомеры, например, политенных хромосом - в клетках соматических. В онтогенетическом смысле слюнные железы являются конечным этапом дифференцировки, в то время как мейотические клетки дают начало новым клеточным поколениям.

2. Число хромомеров существенно варьирует в разных типах тканей (см. Рис. 11.7.). Так, у *Agapanthus umbellatus* в пахитенных хромосомах находят 1600 хромомеров, а в профазе II мейоза - 239, у *Ornithogalum virens* в пахитене - 274, в профазе митоза в клетках пыльцы - 67. Такие различия в числе компактных участков хроматина связаны с тем, что хромосомы из клеток, находящихся на разных стадиях клеточного цикла, имеют соответственно разную степень

компактизации. Если хромомеры, слагающие диски максимально декомпактизованных интерфазных политенных хромосом, представляют наиболее короткие фрагменты геномной ДНК, то хромомеры профазы мейоза или митоза формируются за счет более обширной компактизации материала и, соответственно, более высокого уровня укладки хроматина.

На более поздних стадиях клеточных делений происходит дальнейшее увеличение размеров хромомеров, укорочение межхромомерных промежутков, и в конечном счете весь материал объединяется в одну митотическую хромосому (Рис. 11.14.).

3. Соответственно изменению числа хромомеров изменяется и их генетическое содержание. Изучая мейоз у лилейных растений, и ряд свойств хромомеров и генов, Дж. Беллинг в 1928 году пришёл к выводу, что именно хромомеры и являются генами. Основанием для такого заключения послужили похожие черты в поведении или организации тех и других. И гены, и хромомеры расположены в хромосомах в строгом линейном порядке. Те и другие делятся в пахитене, сильно различаются между собой по размерам и конъюгируют только гомологичными участками. Эти сходства и дали основания Беллингу в 1928 году назвать генами именно хромомеры.

Эта гипотеза, несмотря на то, что имела явно положительный момент - делалась попытка найти соответствие между морфологической структурой хромосомы и информационной единицей (геном) - все же была оставлена.

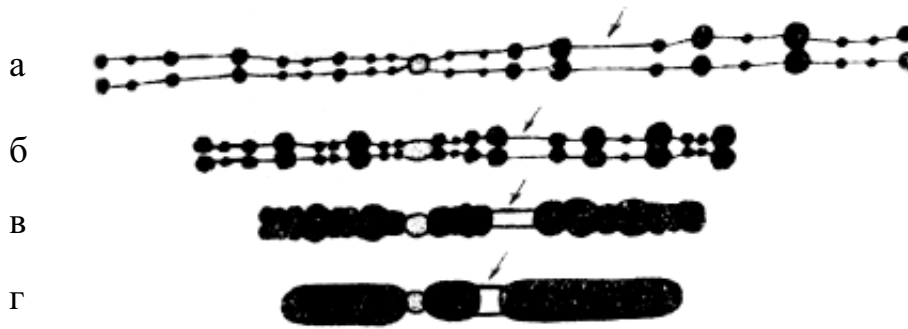


Рис. 11.14. Изменение хромомерного рисунка в ядрышкообразующей хромосоме *Allium cepa* в профазе-метафазе мейоза (Из: Элленгорн, 1937, в кн. Жимулев, 1994, стр. 14). **а** - ранняя профаза; **б** - укорочение профазных хромосом; **в** - дальнейшее укорочение межхромомерных участков; **г** - метафазная хромосома. Положение ядрышкового организатора указано стрелкой

Главной причиной было то, что генов должно быть значительно больше, чем найдено хромомеров. Можно привести рассуждение А. Lima-de-Faria (1975): У *Homo sapiens* общее число хромомеров в пахитенных хромосомах около 500. Если правильна гипотеза 1 ген - 1 хромомер, человек должен иметь около 500 структурных генов - число, которое большинством генетиков рассматривалось бы слишком низким, для примера у бактерии *E. coli* - около 4000 генов - см. раздел 7..). Число генов у человека по разным оценкам колеблется в пределах от 10 до 100 тыс.

По мнению Х. Кэллана хромомеры хромосом типа ламповых щеток не имеют ничего общего с "функциональными" единицами, а пассивно формируются транскрипционной активностью перемежающих их функциональных единиц.

Таким образом, завершая общее рассмотрение понятия хромомера, можно подчеркнуть, что это фрагменты хромосом, способные к локальной компактизации. Длина фрагмента ДНК, входящего в состав хромомера, различна

на разных этапах процесса компактизации хромосом в ходе клеточного цикла. Поэтому есть все основания считать, что хромомер не является постоянной структурной единицей организации генома, и для каждого этапа онтогенеза существуют свои наборы хромомеров. Поэтому все известные типы хромомеров можно разделить, по крайней мере, на четыре группы: а) лептотенные, б) пахитенные, в) хромосом типа "ламповых щеток", г) хромомеры интерфазных политенных хромосом.

Очевидно, что функциональная организация и генетическое содержание хромомеров в этих типах хромосом будут разными. (Текст по: Жимулев, 1994, стр. 11-15).

Литература к разделу 11.3.

- Жимулев И.Ф. Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск, Наука, 11-15, 1994.
- Прокофьева-Бельговская А.А., Богданов Ю.Ф. Организация хромосомы. Журнал. Всесоюзн. хим. о-ва Д.И. Менделеева. т. 8, N 1, с. 33-46, 1963.

Вильсон, с. 799, 1936.

Гершензон, с. 93, 1983.

11.4. Хромосомы типа “ламповых щеток”

Хромосомы типа “ламповых щёток” формируются в течение исключительно протяжённого по времени мейотического деления, которое может продолжаться до нескольких месяцев. В течение этого времени хромосомы пребывают в сильно декомпактизованном состоянии и могут наблюдаться под световым микроскопом. На более поздних стадиях мейоза хромосомы становятся компактными. Длина отдельных хромосом типа “ламповых щёток” у тритона *Notophthalmus viridescens* варьирует от 400 до 800 мкм. Общая длина набора хромосом “ламповых щёток” составляет 5-6 мм.

Хромосомы этого типа были открыты Вальгером Флеммингом (Walter Flemming) в 1878 году. Флемминг и его студент Wiebe в ходе исследований развития ооцитов у амфибий и рыб нашли “странные тонкие структуры” в окрашенных срезах ядер ооцитов аксолотля *Siredon pisciformis* (*Ambystoma mexicanum*), находящихся на ранних стадиях развития. Рисунок этих хромосом был опубликован в 1882 году. На нем были изображены ядра, содержащие толстые осевые тяжи, от которых отходили тонкие радиальные нити.

У. Дюрие в 1941 году показал, что эта хромосома состоит из длинной нити, на которой располагаются гранулы-хромомеры размером 1-2 мкм. Хромомеры присутствуют парами. От хромомеров отходят петли (Рис. 11.15).

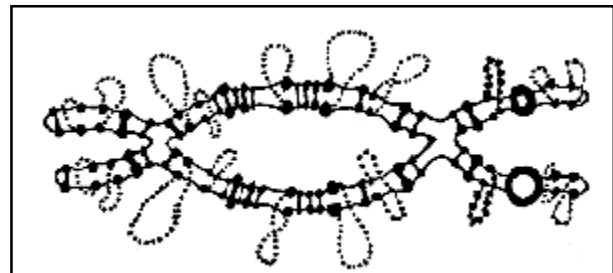


Рис. 11.15. Схема строения бивалента типа “ламповых щеток”, представленная Дюрие в 1941 году (Из: Callan, 1986, p. 12)

В исследования Дж. Голла (J. Gall), опубликованных в 1954 году, было показано, что хромомеры, имеющие различные размеры, были регулярно опознаваемы в одних и тех же положениях в хромосоме от препарата к препарату. Именно хромомеры и нити между ними, как оказалось, содержат ДНК, и наиболее крупные хромомеры и выходящие из них петли имеют индивидуальность, т.е. свои размеры и морфологию. Такие хромомеры, как правило редки, и в хромосомах ламповых щеток представлены в основном рядовые петли (Рис. 11.16.).

Наличие петель с сильно различающейся морфологией создает маркеры определенных участков хромосомы, благодаря чему как хромосома в целом, так и отдельный ее участок легко идентифицируются. Эти маркеры используют при построении карт хромосом этого типа (Рис. 11.17. и 11.18.).

Каждая из хромосом - “ламповых щеток” состоит из двух хроматид. Это становится очевидным при механическом растяжении хромосомы с помощью микроманипулятора (Рис. 11.19.).

На этом рисунке видно как материал петли выходит из одного хромомера и входит в соседний, а затем эти хромомеры сливаются в один в нерастянутой

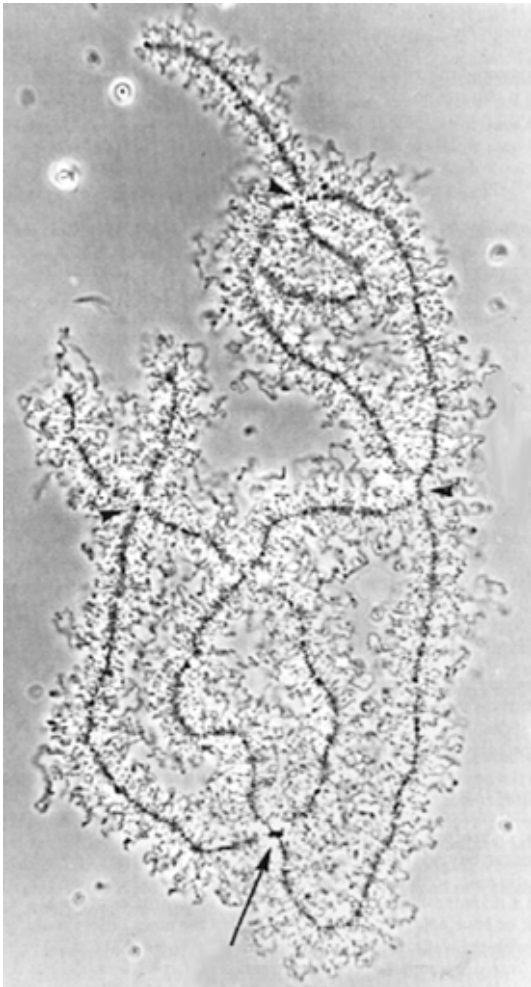


Рис. 11.16. Фазово-контрастная фотография свежее-изолированных и нефиксированных хромосом у *Notophthalmus viridescens* (Из: Callan, 1986, р. 29). На рисунке представлен один бивалент. Стрелка указывает на слившийся район центромер. Три треугольника указывают на хиазмы. Шкала - 50 мкм

хромосоме. Т.о., петля является межхромомерным промежутком хромосомы.

Две петли, выходящие из одной и той же пары хромомеров, являются по сути двумя хроматидами. Это очень хорошо видно на растянутой хромосоме (см. Рис. 11.19).

Каждая петля имеет довольно сложное строение: она имеет

нитевидную сердцевину - т.е. хроматиду, окруженную накопленными в районе продуктами активности.

От начала до конца петли накопление продуктов происходит асимметрично. На одном конце их почти нет, на другом - максимальное количество (см. Рис. 11.20.). По характеру накопления материала петли могут сильно различаться (Рис. 11.20.).

В 1956 году Дж. Голл предложил схему организации хроматиды в участках хромомеров и в петлях (Рис. 11.21.).

Текст: Callan, 1986, р. 106-115.

Включение ^3H -уридина в участки петель впервые было показано Голлом и Кэлланом в 1962 году. Как правило предшественник равномерно метит всю петлю. Однако некоторые петли не метились, другие метились только в одной своей части.

Найдено несколько типов распределения участков транскрипции в петле (Рис. 11.22.).

“Классический” тип - это когда матрикс располагается по длине всей петли. При этом ясно различаются толстый и тонкий конец петли, матрикс постепенно увеличивается в толщине от тонкого конца к толстому. Достигнув максимальной толщины, более не увеличивается.

Производным этого типа организации является следующий: транскрипционная единица в петле расположена также полярно, однако в ее начале и конце расположены нетранскрибируемые участки. Если петли, включающие две или более транскрипционных единиц противоположной полярности, расположены либо “голова к голове”

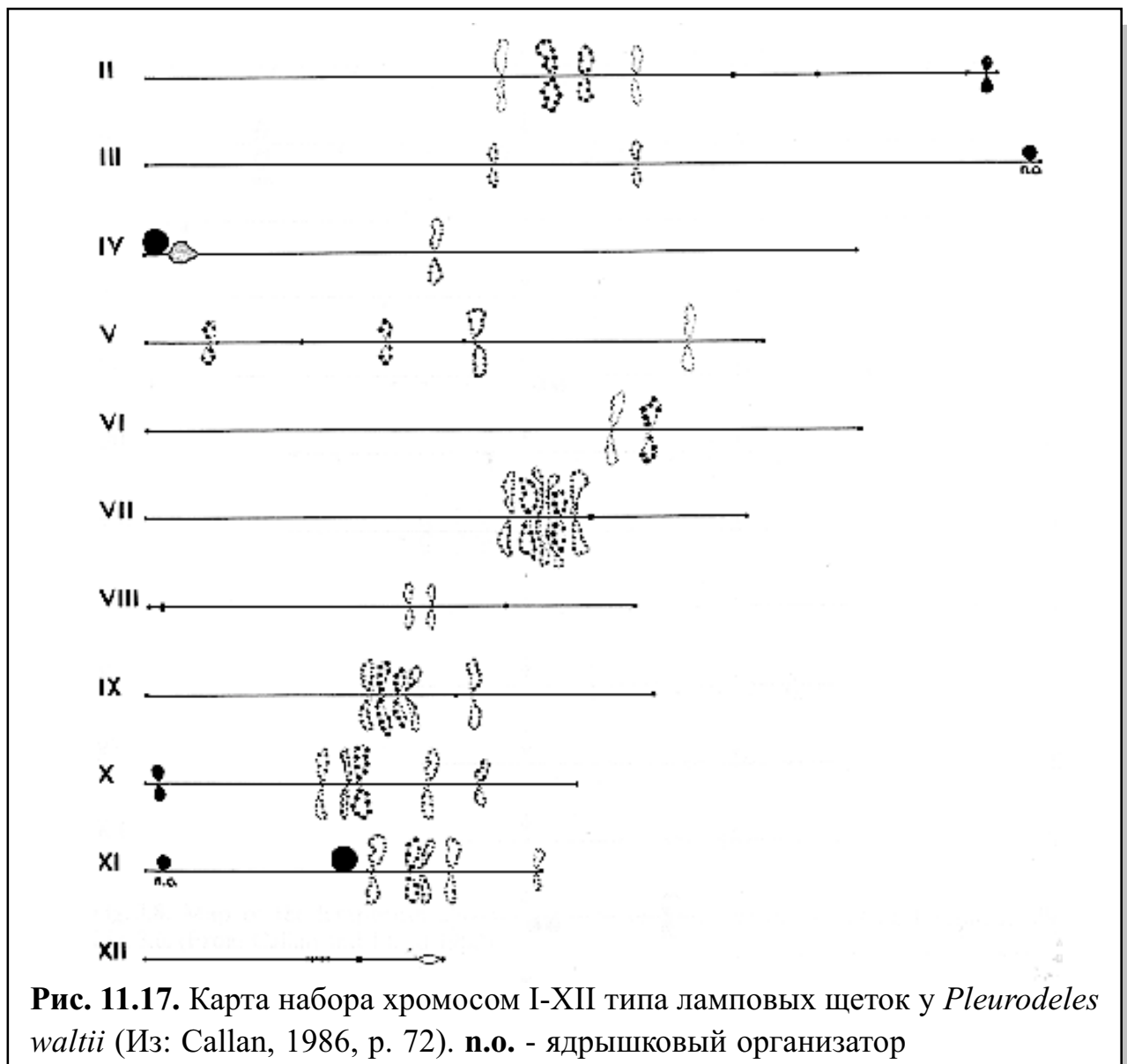


Рис. 11.17. Карта набора хромосом I-XII типа ламповых щеток у *Pleurodeles waltii* (Из: Callan, 1986, p. 72). **п.о.** - ядрышковый организатор

(под головой понимается точка начала транскрипции), или “хвост к хвосту” (под хвостом понимается участок терминации транскрипции) (см. Рис. 11.22.).

По результатам гибридизации *in situ* различных последовательностей ДНК показало, что некоторые гены полностью занимают участки транскрипционной активности в петлях. Например, ДНК гистоновых генов локализуется в 8 петлях *Triturus c. carnifex*.

В петлях транскрибируются сателлитные ДНК. Сателлитная ДНК, называемая у *N. viridescens* сателлитом I, и состоящая из повторенных

фрагментов длиной 222 п.н., гибридизуется с гигантской петлей, имеющей единственную транскрипционную единицу. Интересно, что гибридизация выявляется, если препарат предварительно не обрабатывали РНК-азой и ДНК на нём не денатурировали. Это свидетельствует о том, что данная сателлитная ДНК транскрибируется в хромосомах типа “ламповых щёток”. Сателлит TcS2 состоит из 330 п.н. Он транскрибируется во многих петлях в ооците. Транскрипты находят в цитоплазме ооцита.

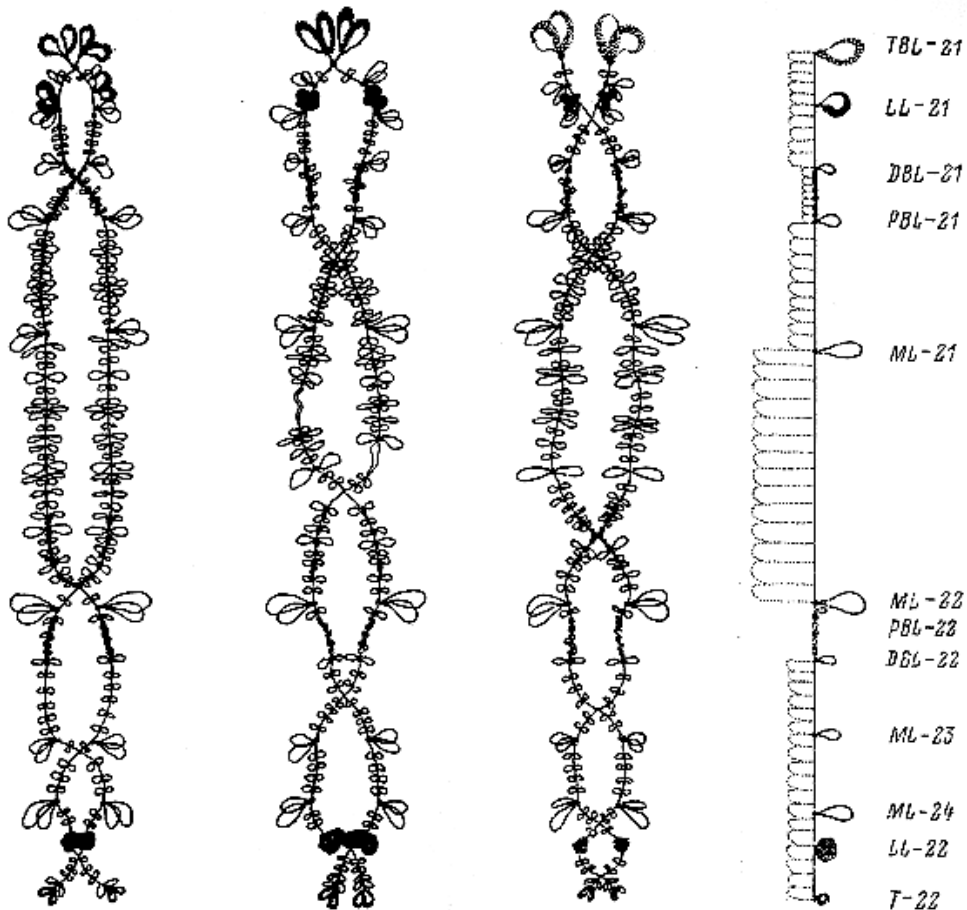


Рис. 11.18. Картирование петель в хромосомах типа “ламповых щёток” у курицы (Из: Чельшева и др.)

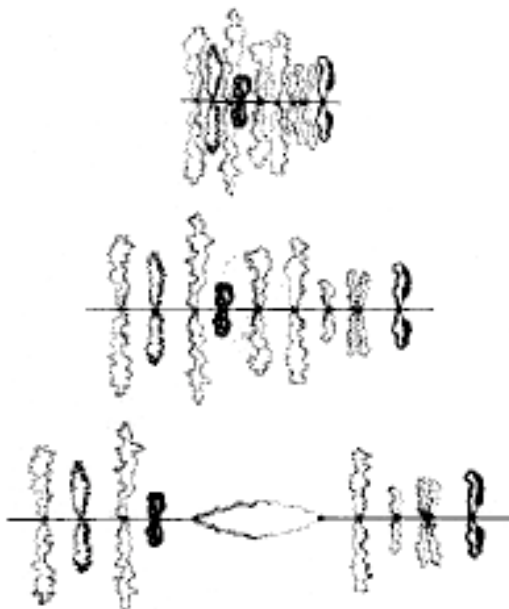


Рис. 11.19. Изменение структуры участка хромосомы “ламповой щетки” при растяжении его с помощью микроманипулятора (Из: Callan, 1986, p. 18)

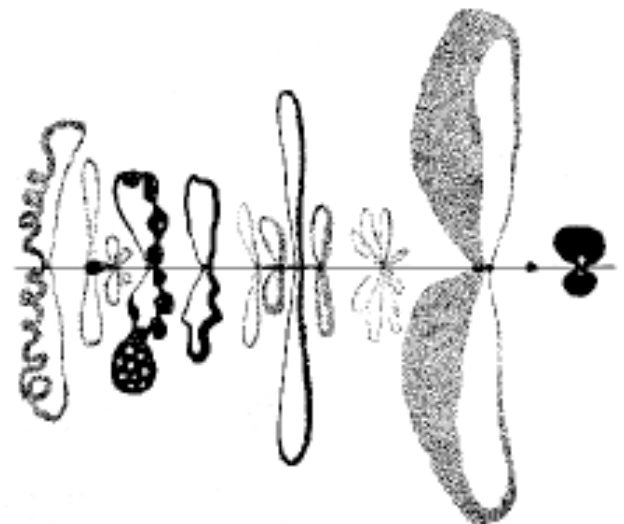


Рис. 11.20. Некоторые характерные типы петель в хромосомах типа “ламповых щёток” у тритона и связанных с ними хромомеров (Из: Callan, 1986, p. 20)

Литература к разделу 11.4.

Чельшева Л.А., Соловей И.В., Родионов А.В., Яковлев А.Ф., Гагинская Е.Р. Хромосомы-ламповые щетки курицы. Цитологические карты макробивалентов. Цитология Т. 32, с. 303-316, 1990.

Callan H.G. Lampbrush chromosomes. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo; Springer-Verlag, 1-254, 1986.



Рис. 11.21. Организация хромомеров и их предполагаемая связь с парой латеральных петель (Из: Callan, 1986, p. 21).

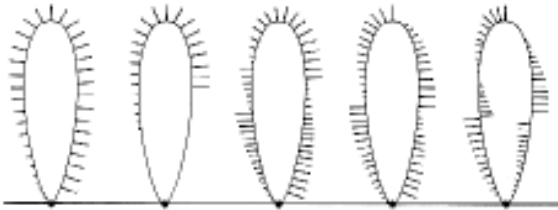


Рис. 11.22. Разные типы организации транскрипции в петлях хромосом типа “ламповых щеток” (Из: Callan, 1986, p. 117)