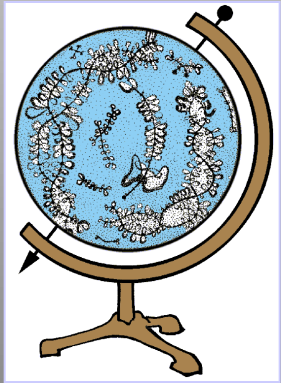
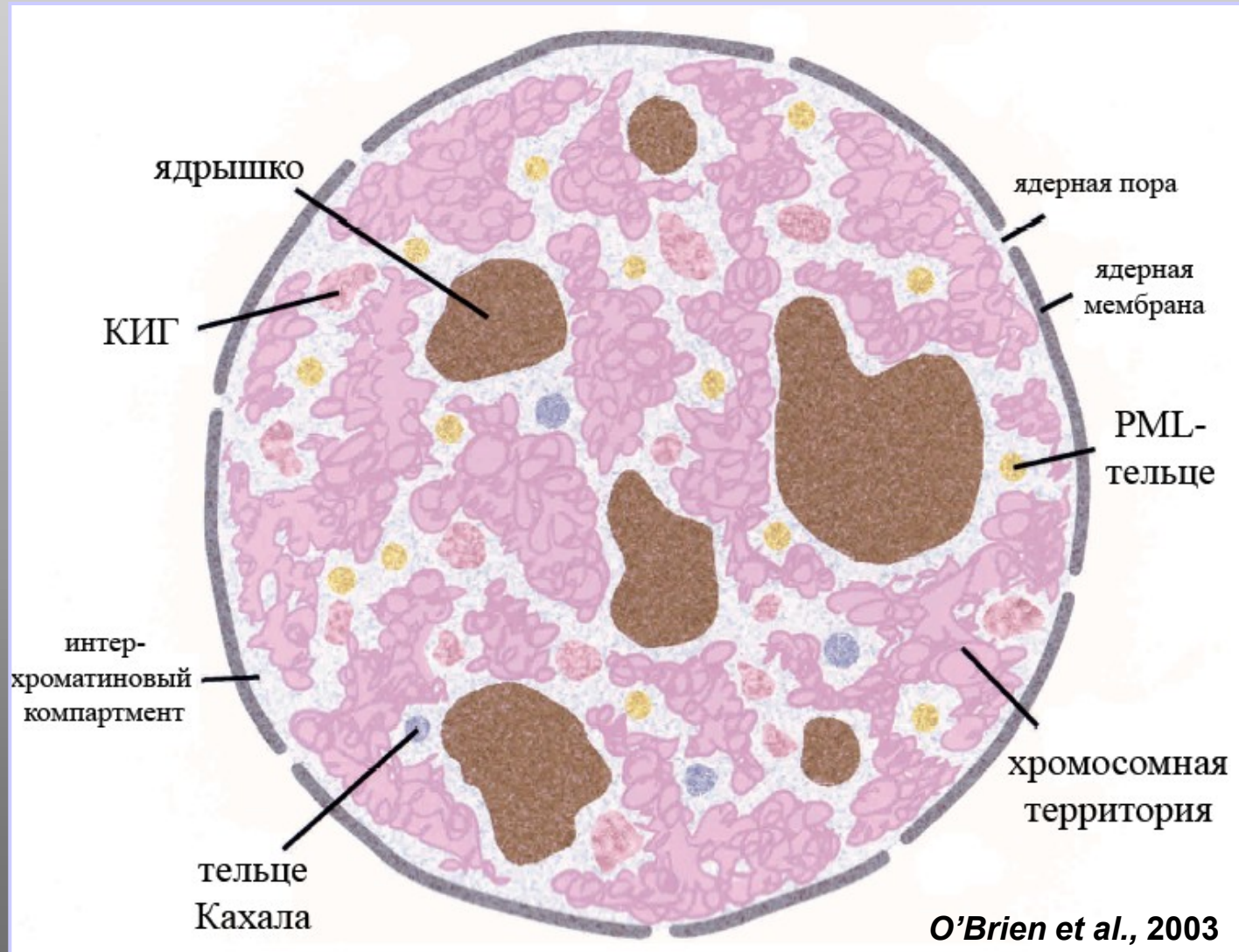


АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК: ТОПОГРАФИЯ ПОВЕРХНОСТИ РНП-МАТРИКСА ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ЕДИНИЦ

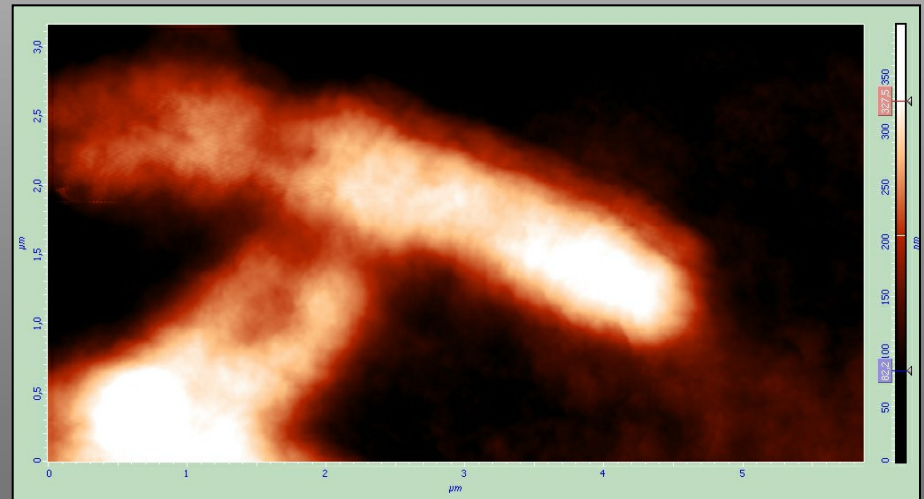
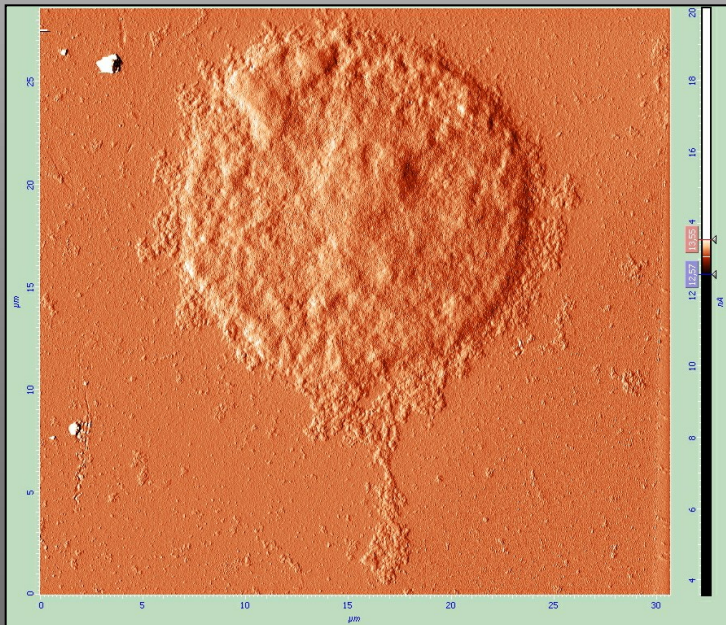
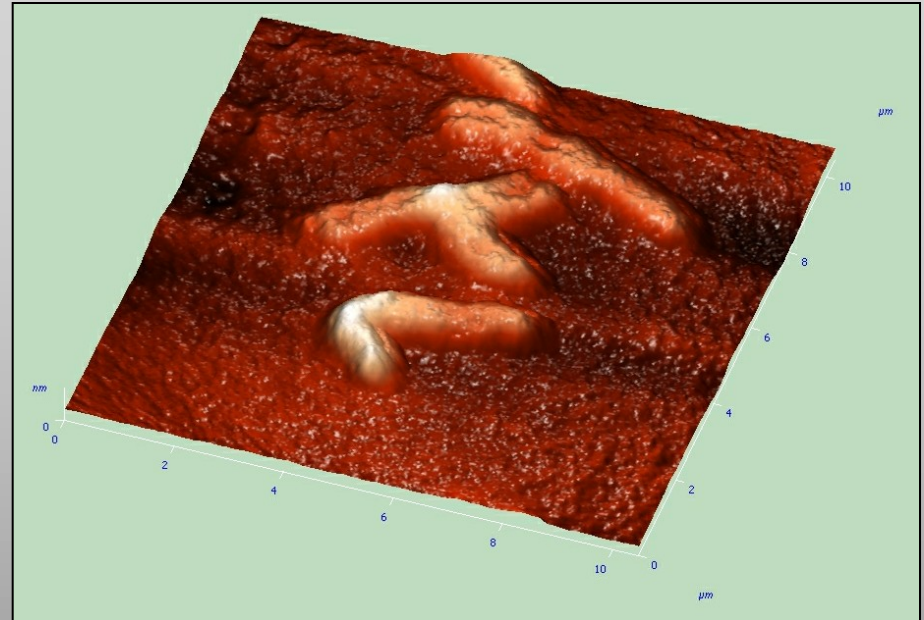
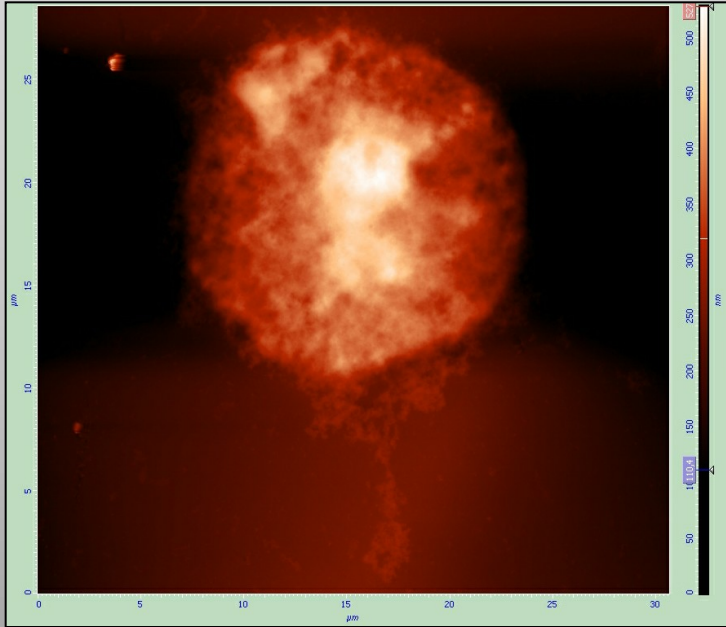


Санкт-Петербургский государственный университет
2010

Архитектура генома и специализированные внутриядерные компартменты играют существенную роль в регуляции экспрессии генов



Атомно-силовая микроскопия интерфазных ядер и метафазных хромосом птиц



Микроскоп NTEGRA Aura (фирма NT-MDT)

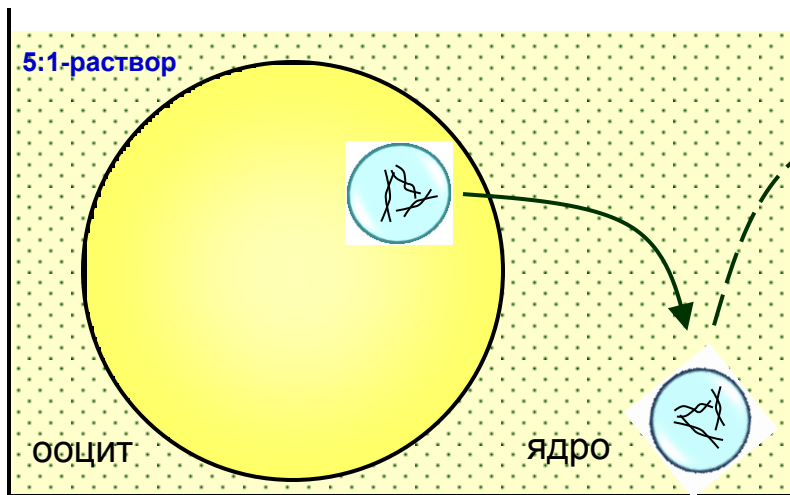
Ядро ооцита (зародышевый пузырек) как экспериментальная система

Преимущества:

- гигантские размеры (до 400 μm в диаметре);
- упрощенная техника микроинъекций;
- возможность исследований ядра *in vivo*;
- хромосомы приобретают форму "ламповых щеток";
- отдельные транскрипционные единицы видны на цитологическом уровне.

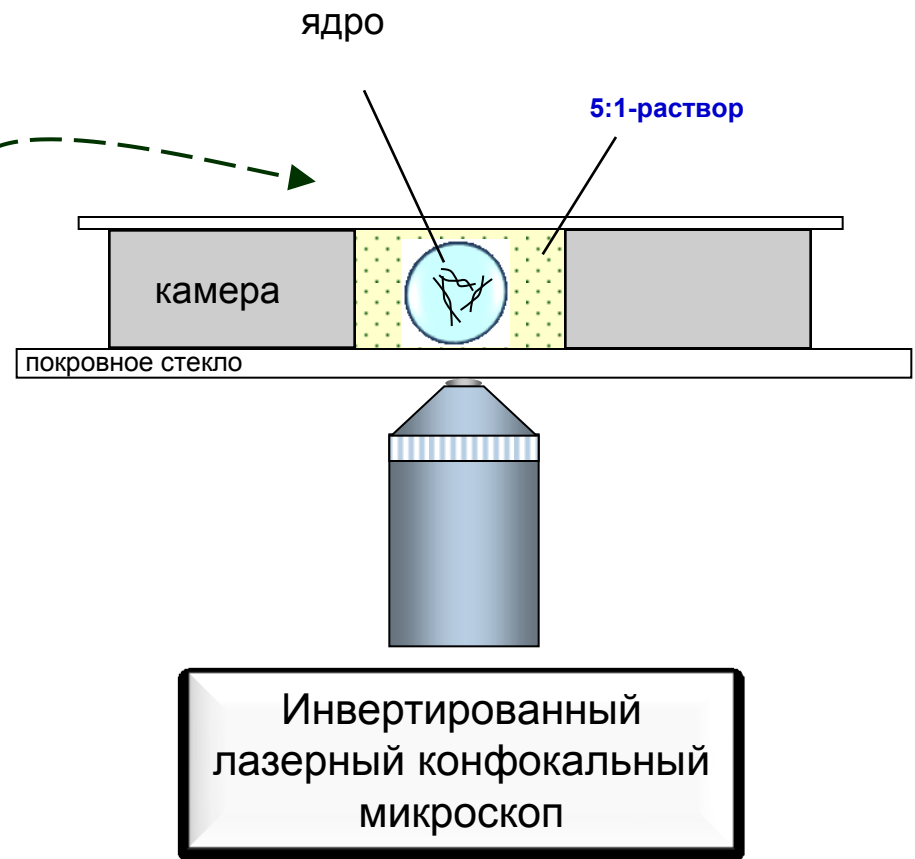


Метод трехмерного (3D) анализа архитектуры ядра ооцитов птиц и амфибий

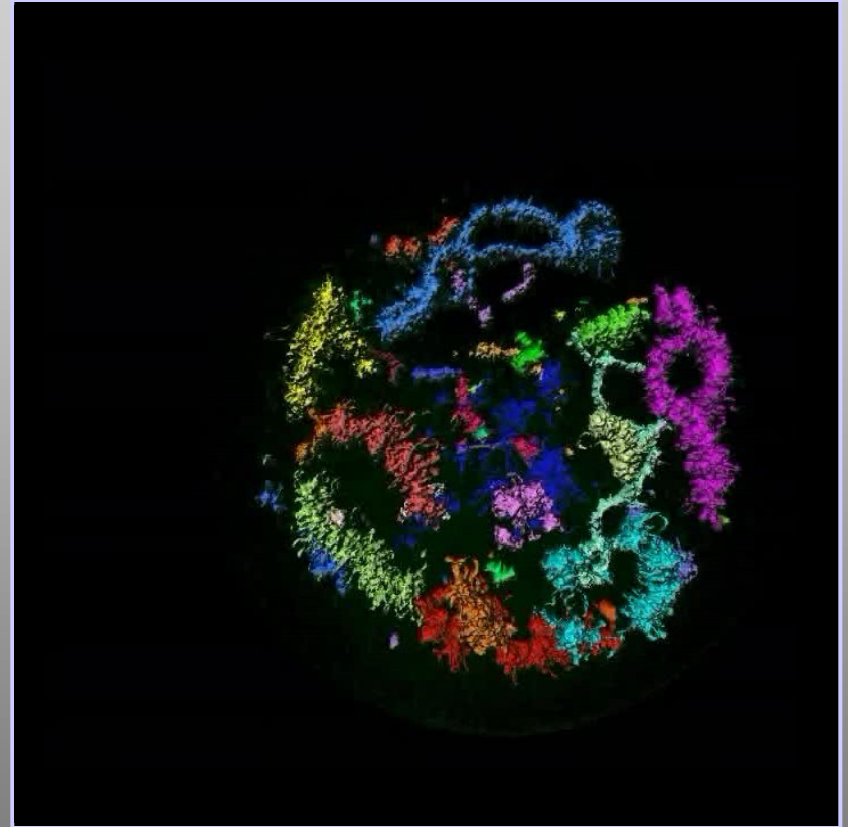
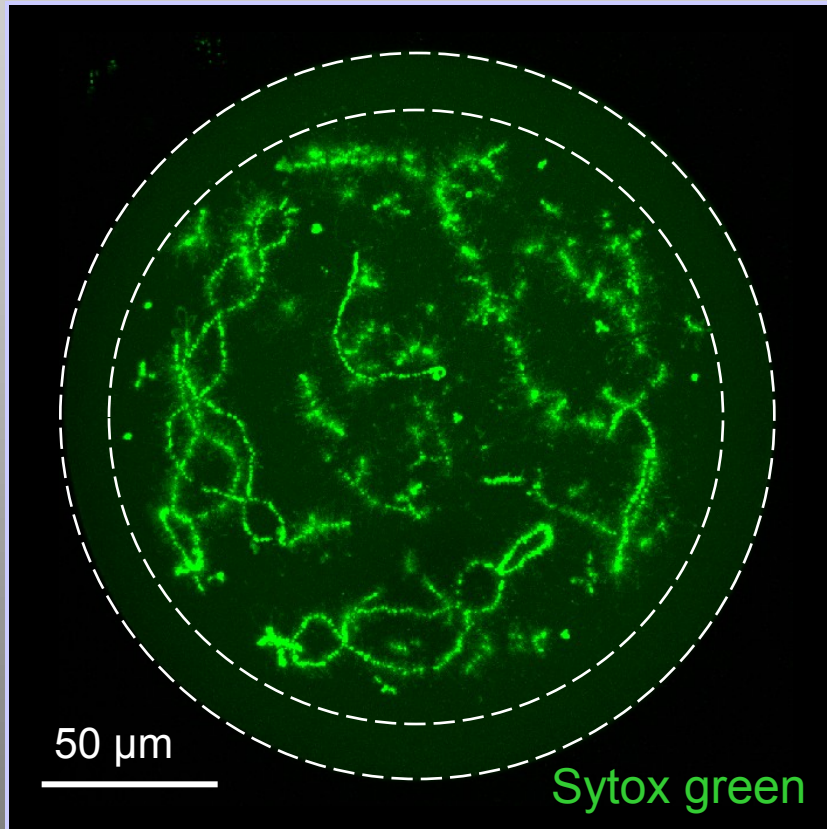


Зародышевый пузырек можно вручную изолировать из ооцитов птиц и амфибий

- немедленное наблюдение
- фиксация
- цитологическое окрашивание
- иммунофлуоресцентное окрашивание



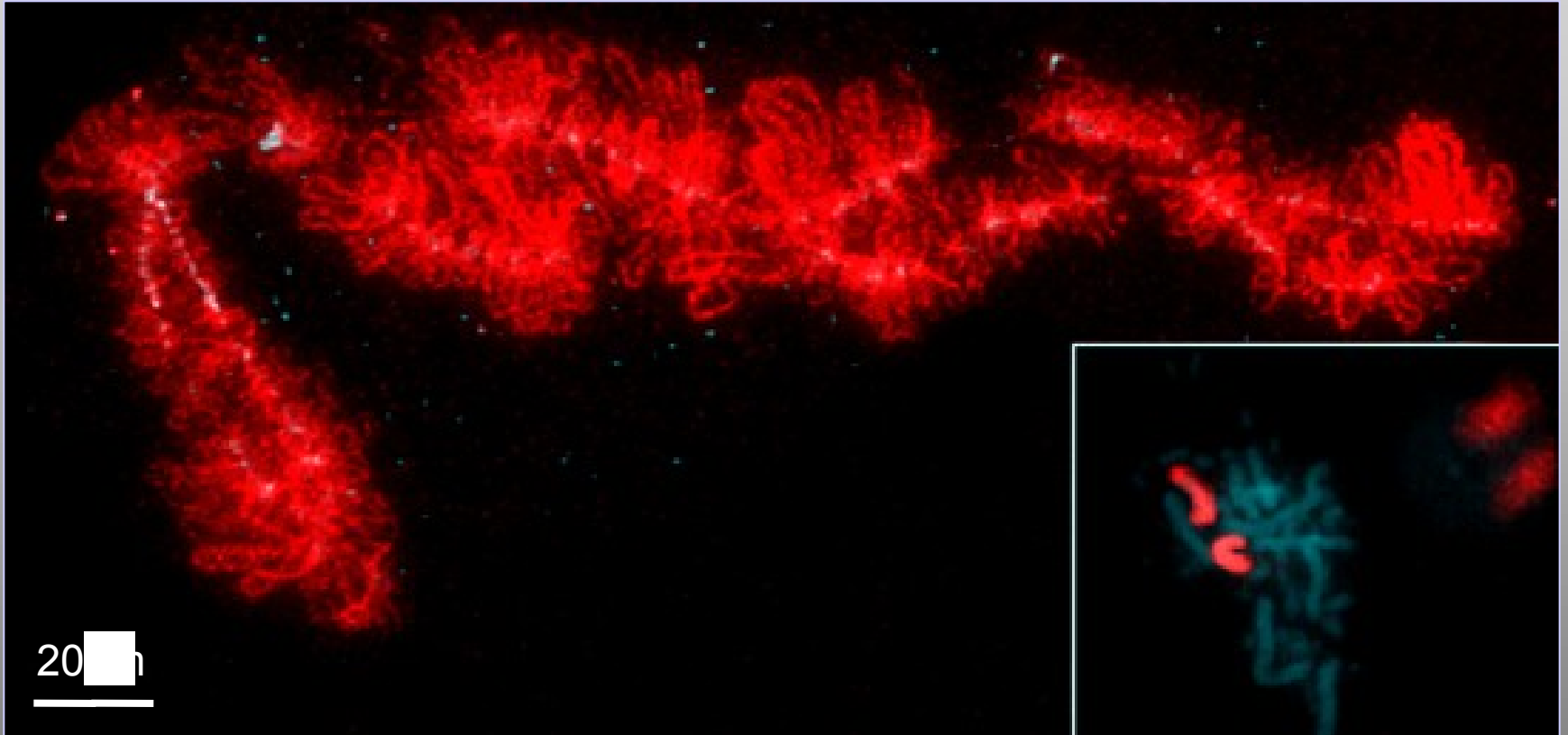
Трёхмерная организация генома в ядре ооцита



Ядро ооцита
домашней курицы

3D-реконструкция ядра
38 хромосом

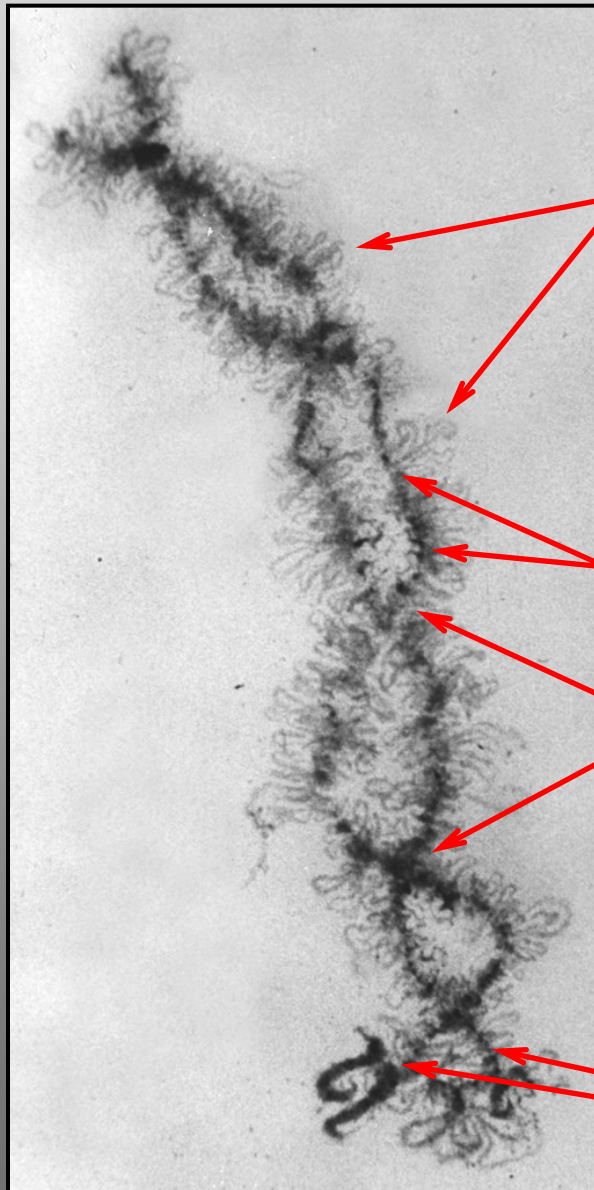
Хромосомы птиц в соматических и половых клетках



Хромосома 4 курицы

Использование специфичных зондов для идентификации хромосом методом FISH («хромосомный пэйнтинг»)

Строение хромосом типа ламповых щеток



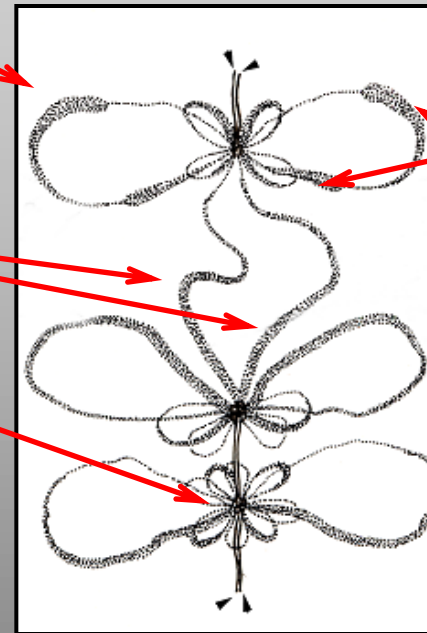
Латеральные
петли

Сестринские
хроматиды

Хромомеры

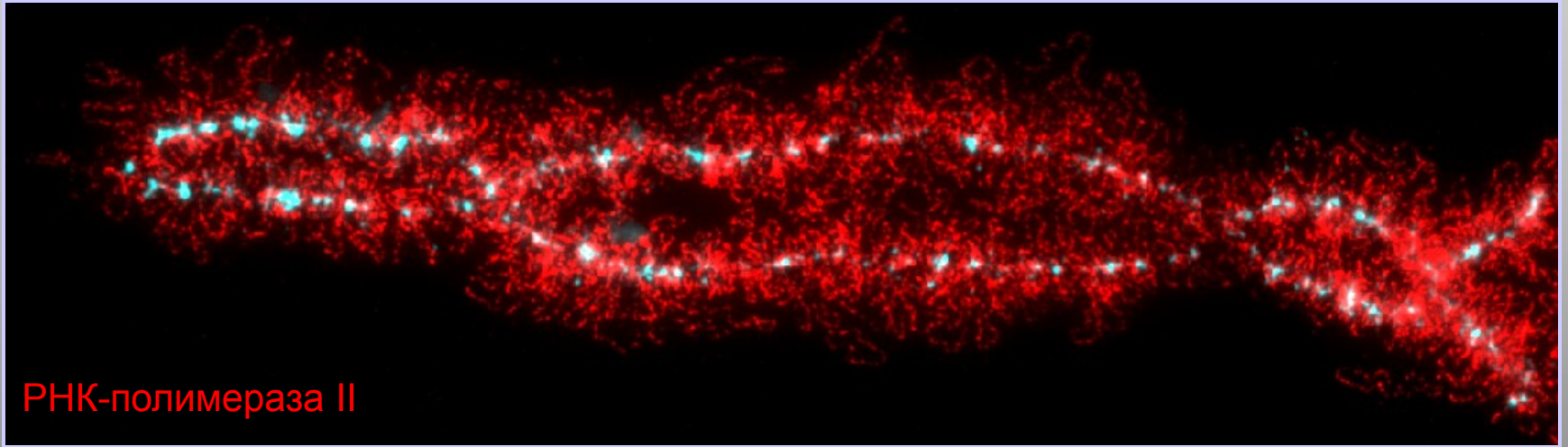
Хиазмы

Гомологичные хромосомы



Транскрипци-
онные
единицы

Структура хромосом в ядре ооцита

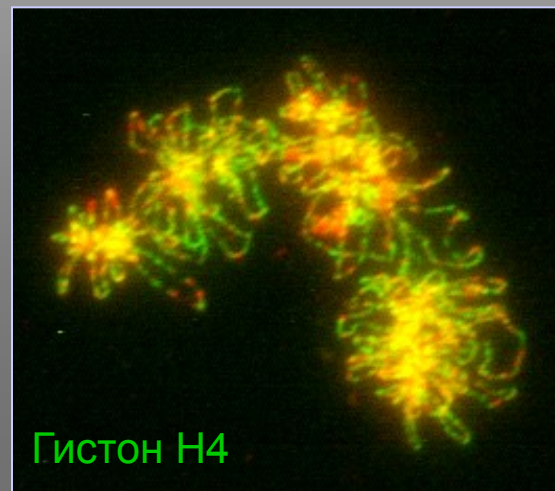
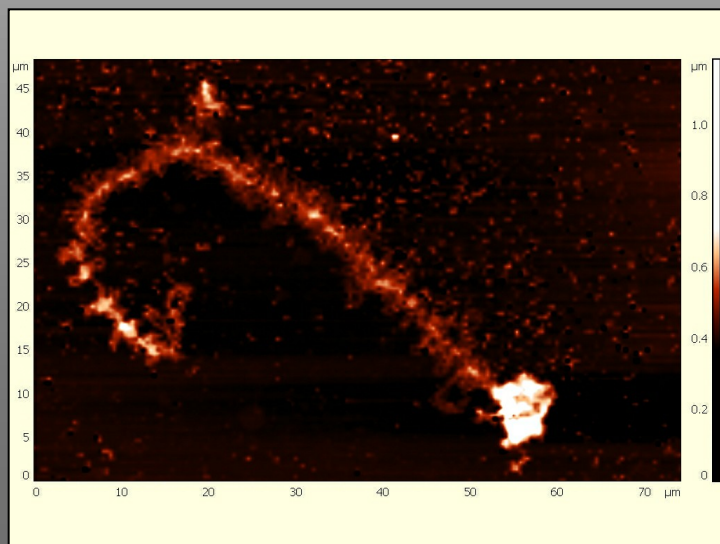
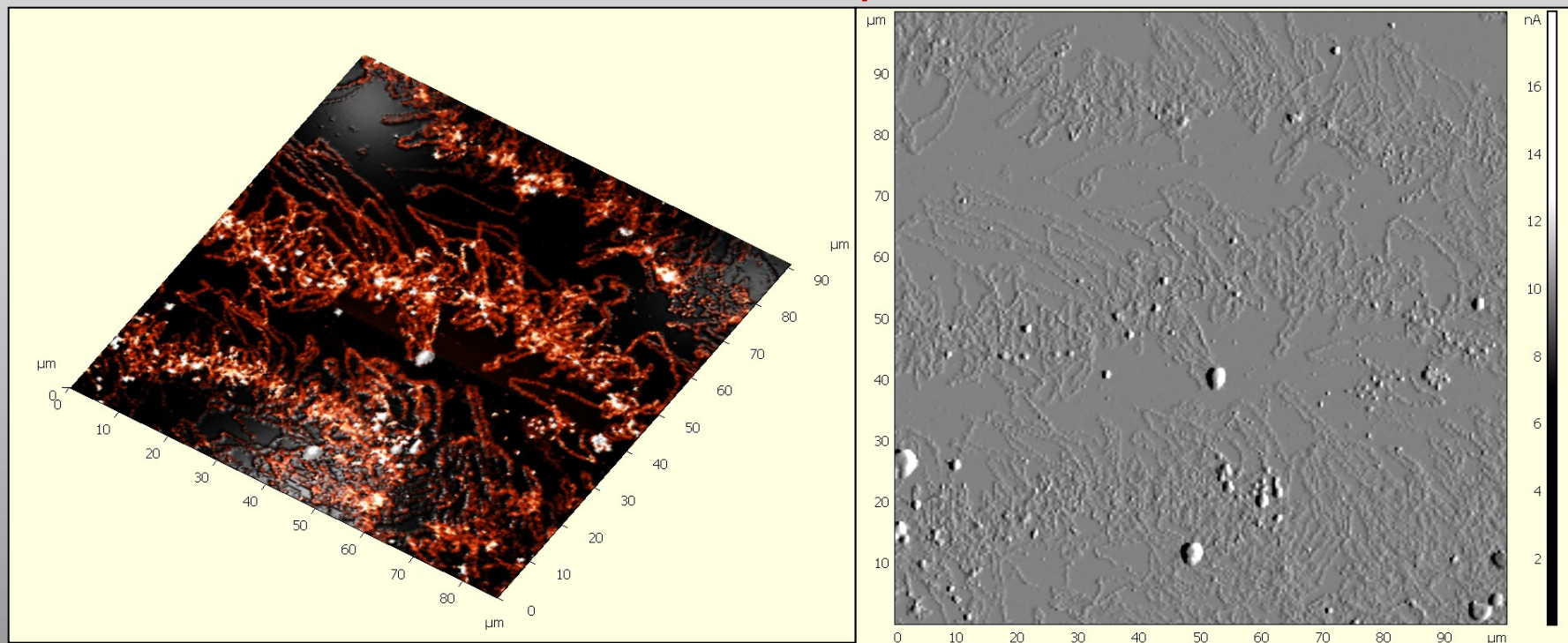


РНК-полимераза II

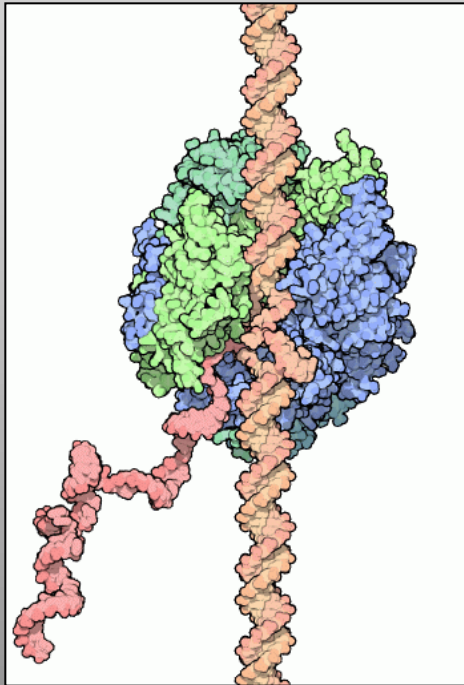
Хромомерно-петлевая организация ламповой щетки (ЛЩ):

- компактные хромомеры;
- транскрипционно-активные боковые петли.

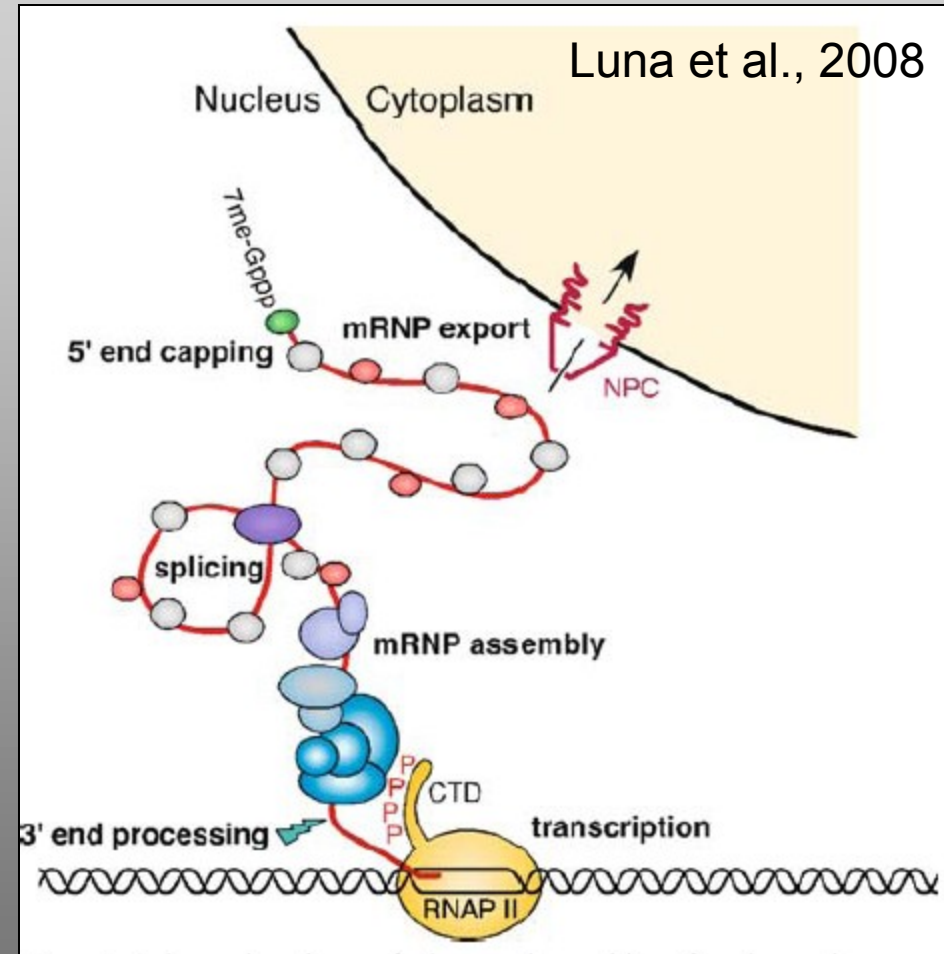
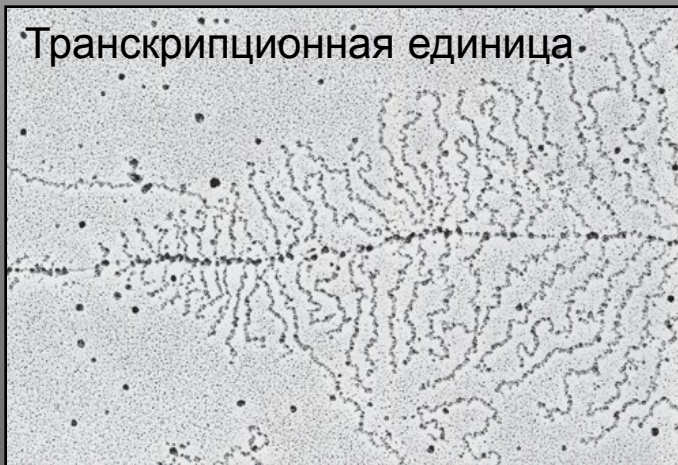
Атомно-силовая микроскопия хромосом типа ламповых щеток птиц и амфибий



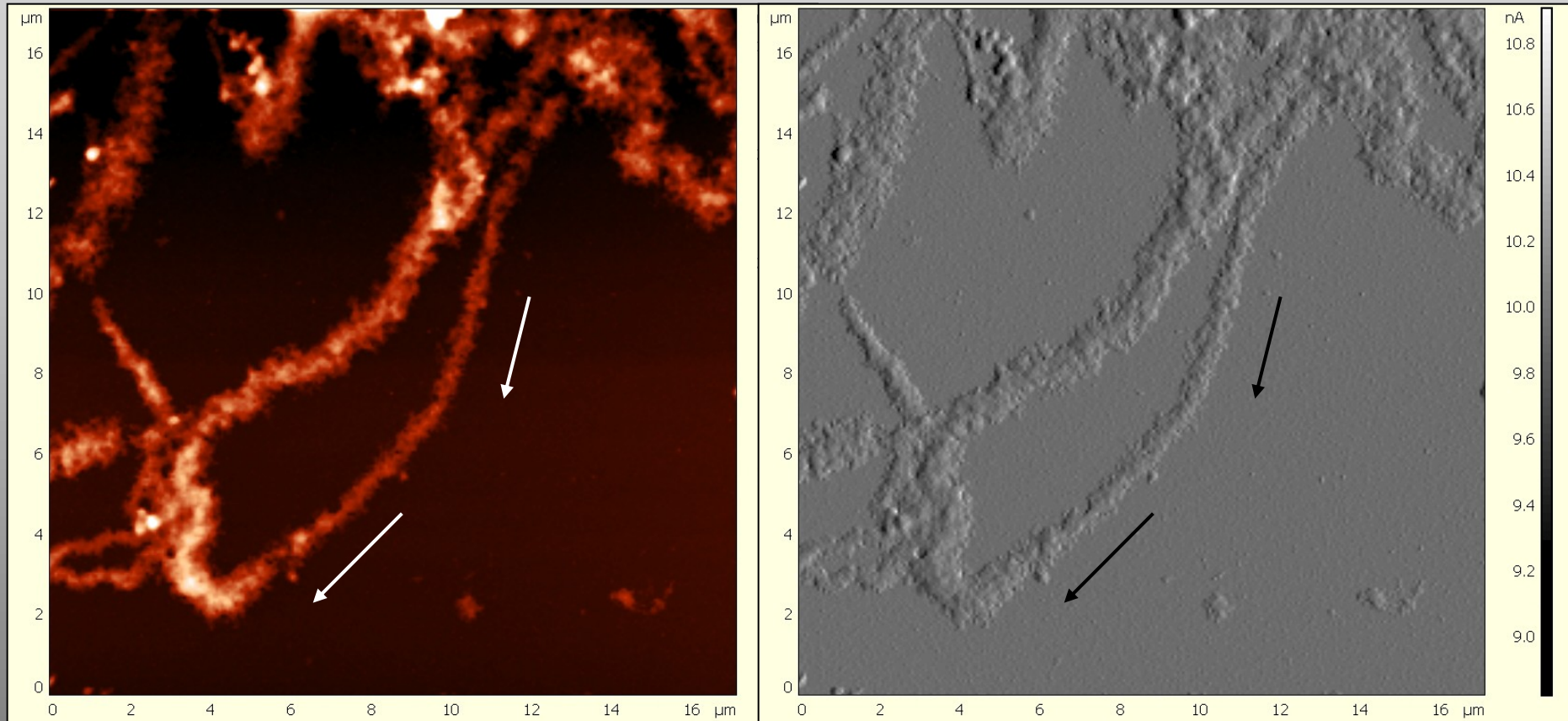
Молекулярный состав РНП-матрикса латеральных петель хромосом типа ламповых щеток



Транскрипционная единица

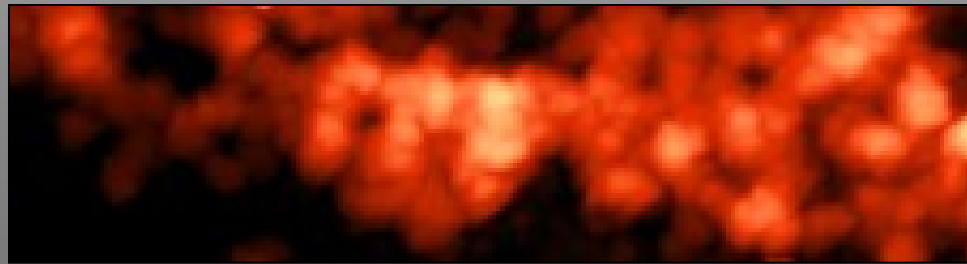
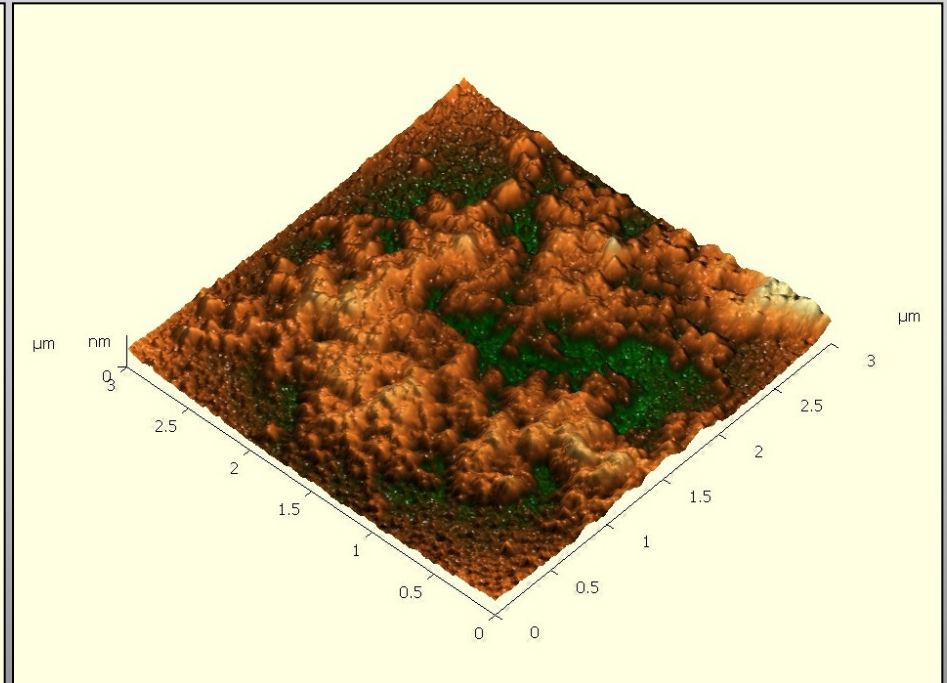
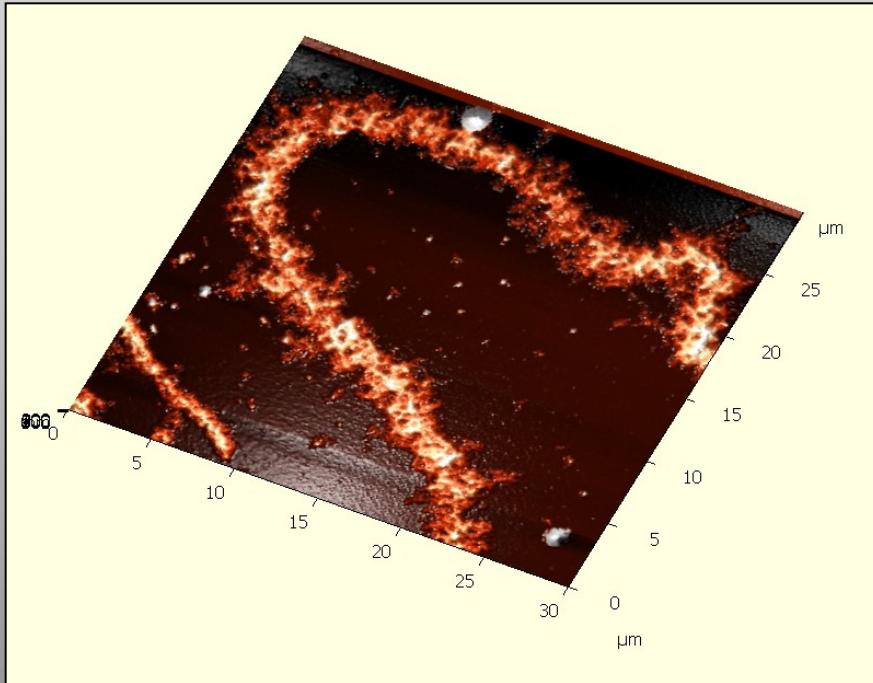


Визуализация транскрипционных единиц с «простым» РНП-матриксом с помощью атомно-силовой микроскопии



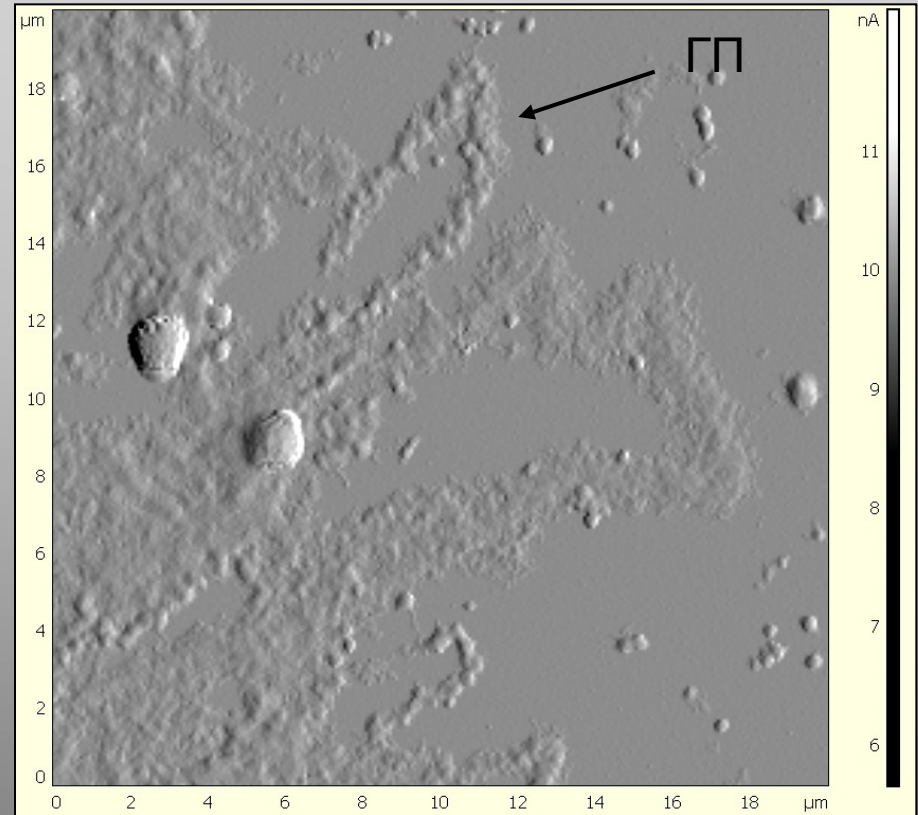
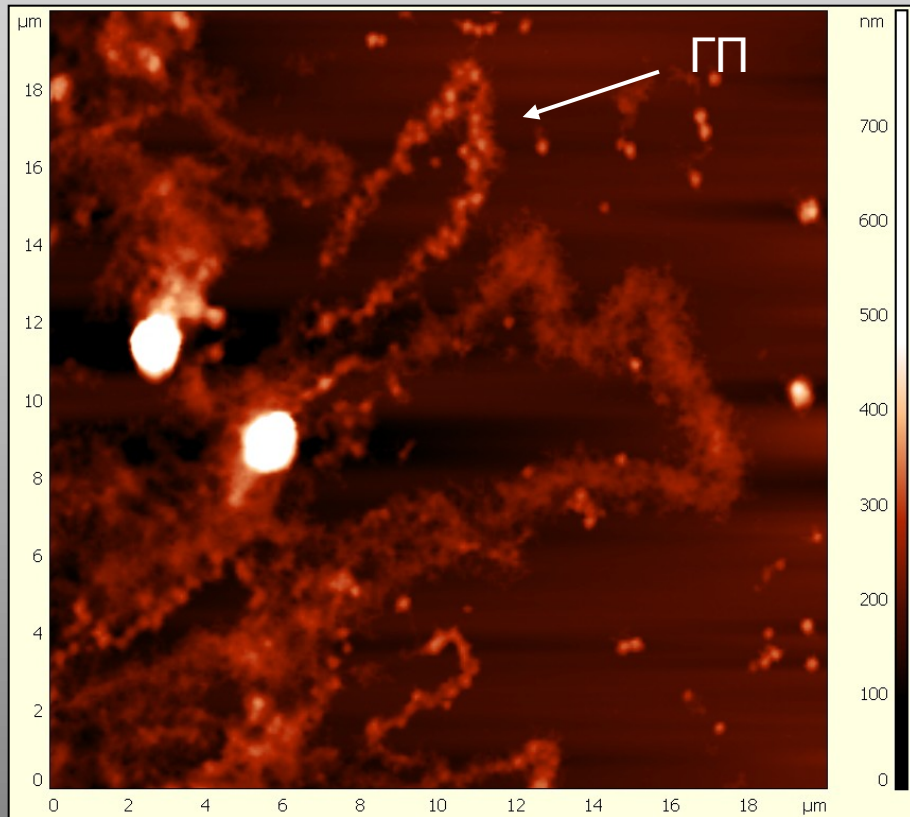
Стрелками указано направление транскрипции

Основная структурная единица РНП-матрикса – это гранула
размером от 30 нм до 100 нм



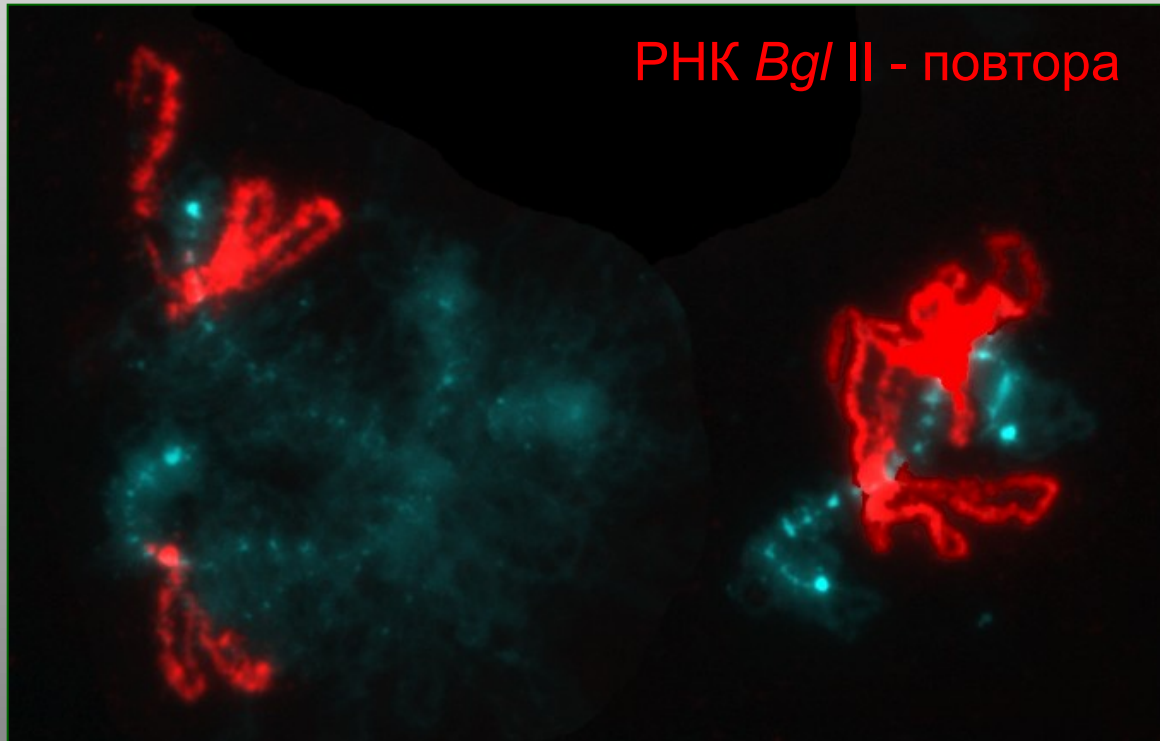
Транскрипционная единица

Визуализация транскрипционных единиц со «сложным» РНП-матриксом с помощью атомно-силовой микроскопии

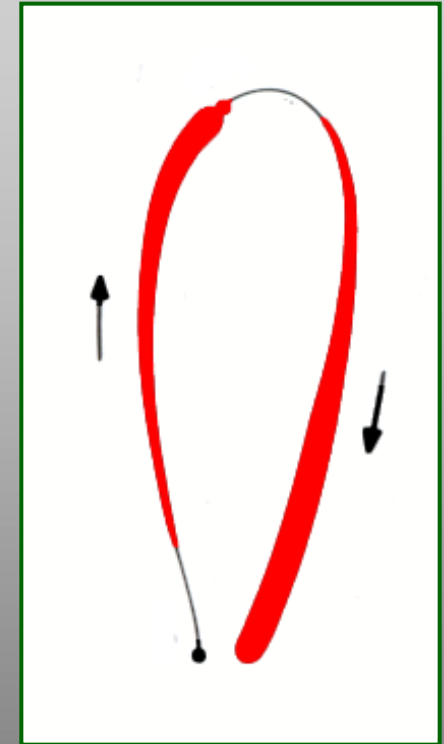


ГП – гранулярная петля

Транскрипция сателлитной ДНК во время оогенеза



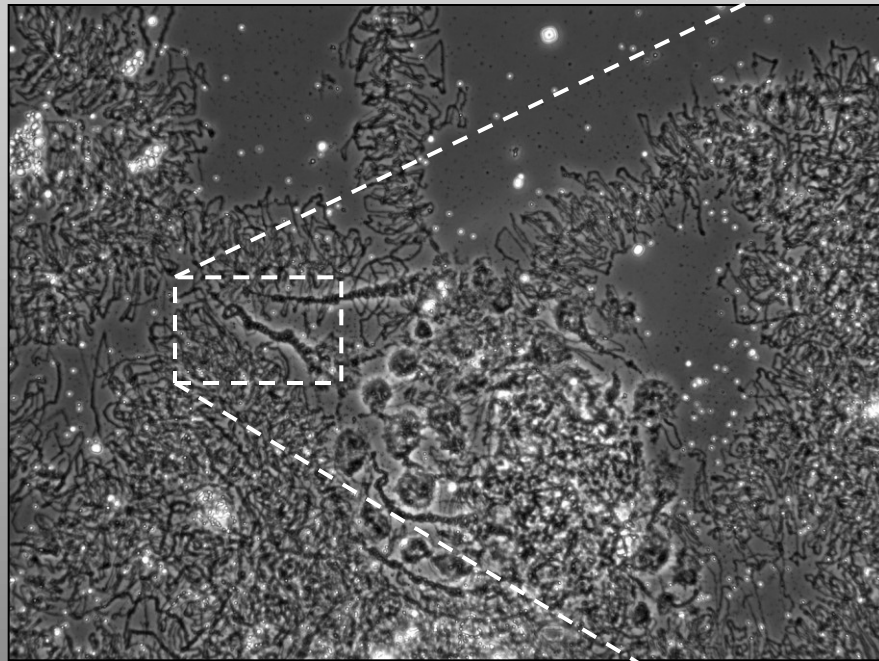
Хромосомы японского перепела



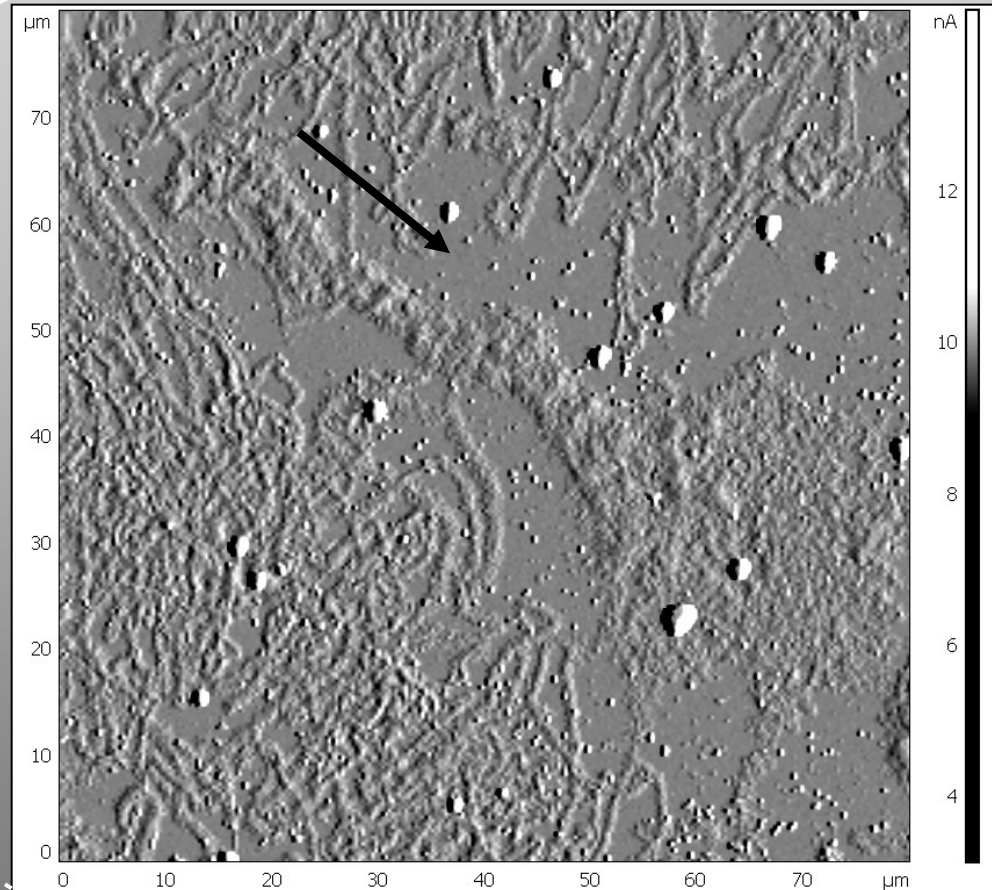
Deryusheva et al., 2007

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

Гигантские латеральные петли на хромосомах типа ламповых щеток амфибий



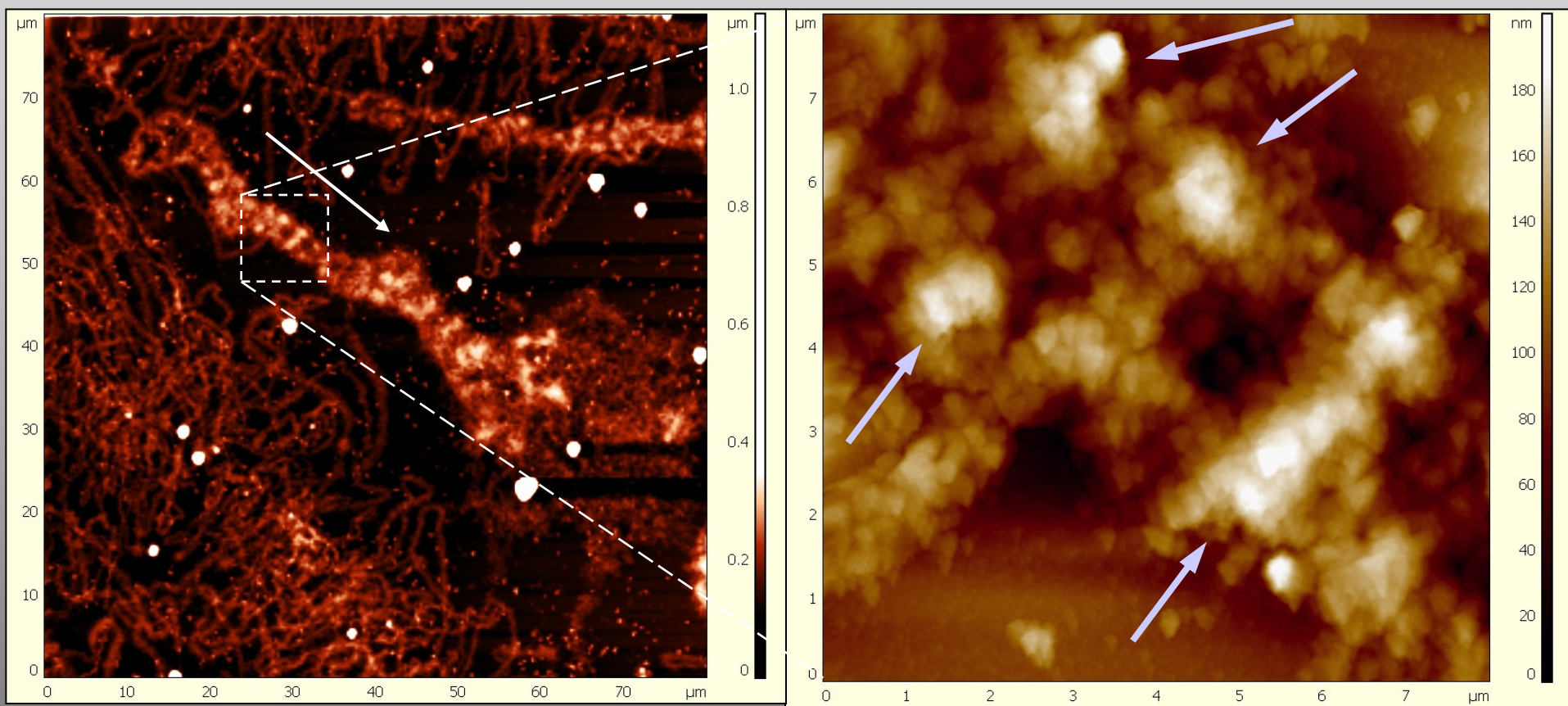
Микроскоп Leica DM 4000B



Микроскоп NTEGRA Aura (фирма NT-MDT)

Стрелкой указано направление транскрипции

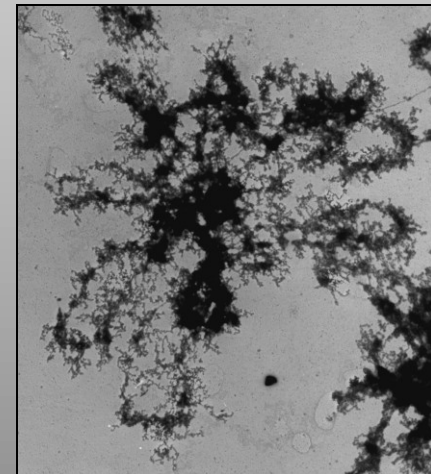
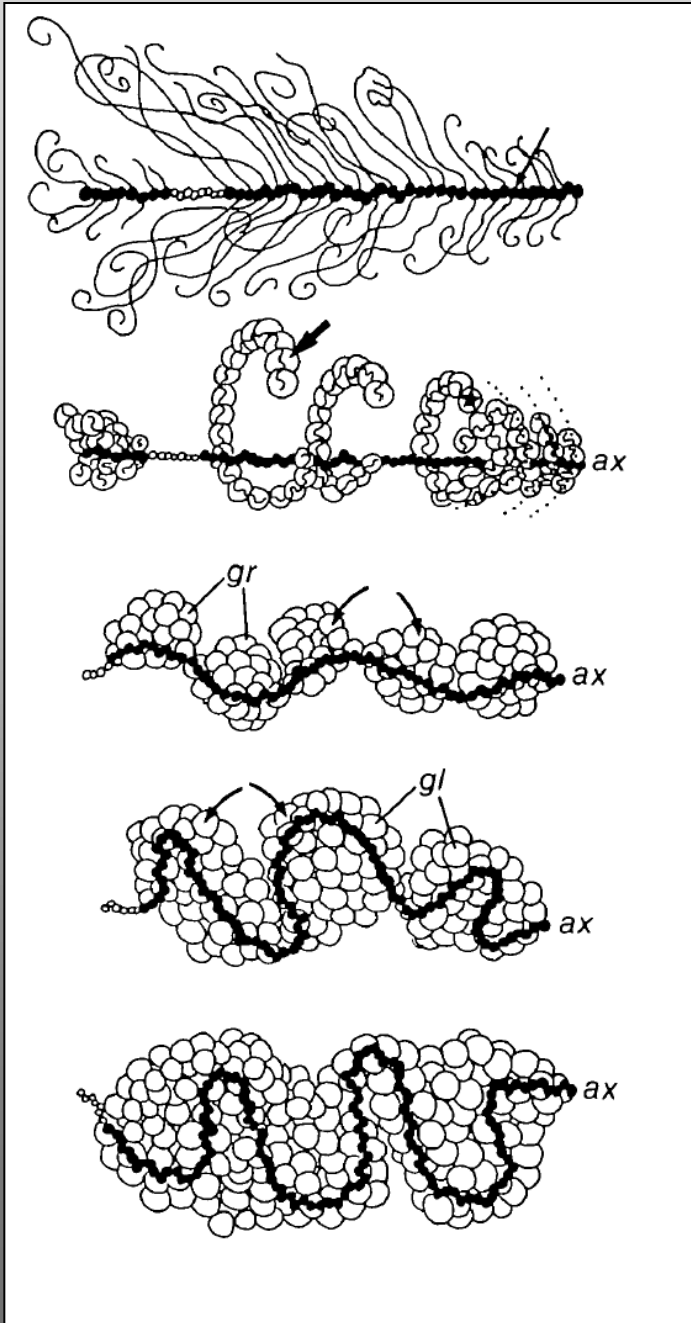
РНП-матрикс гигантских латеральных петель имеет сложное строение



Стрелкой указано направление транскрипции

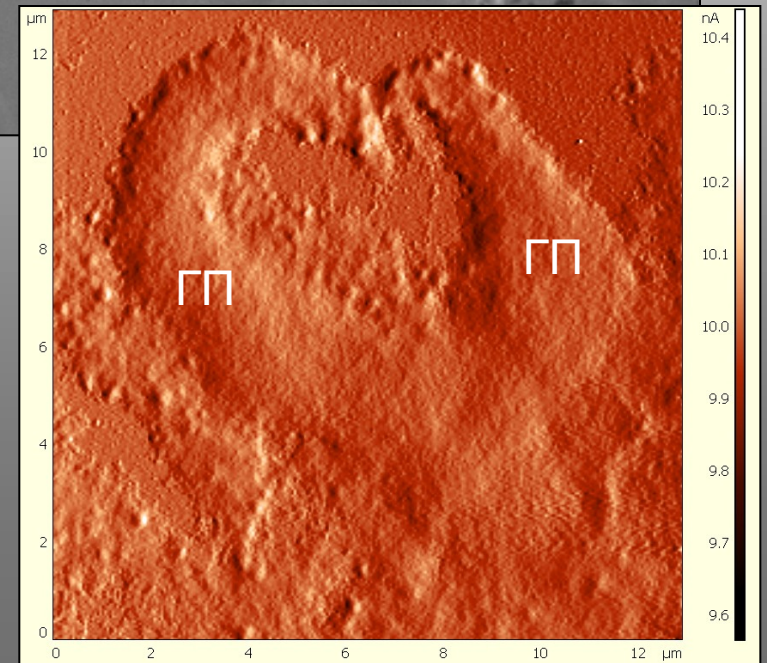
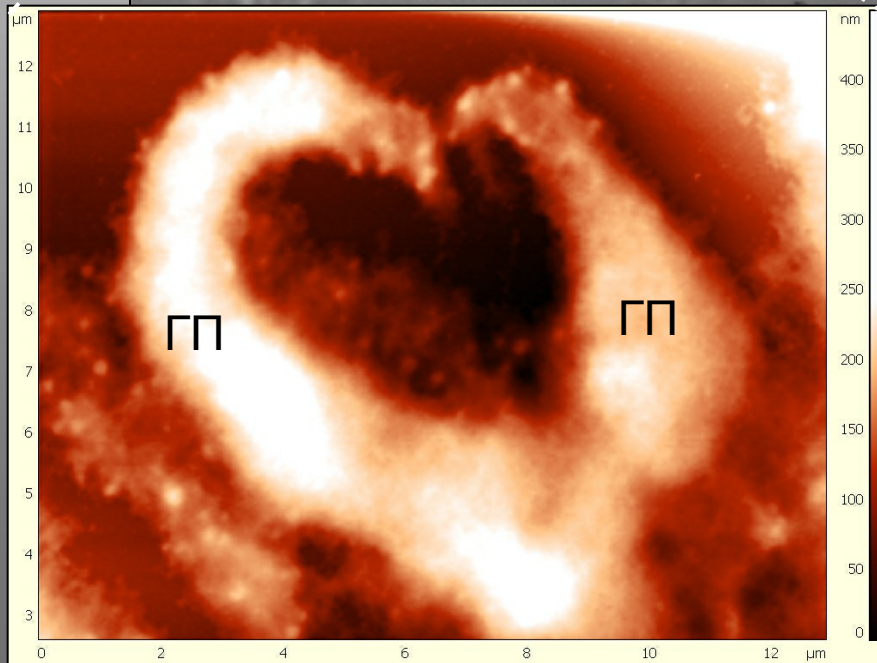
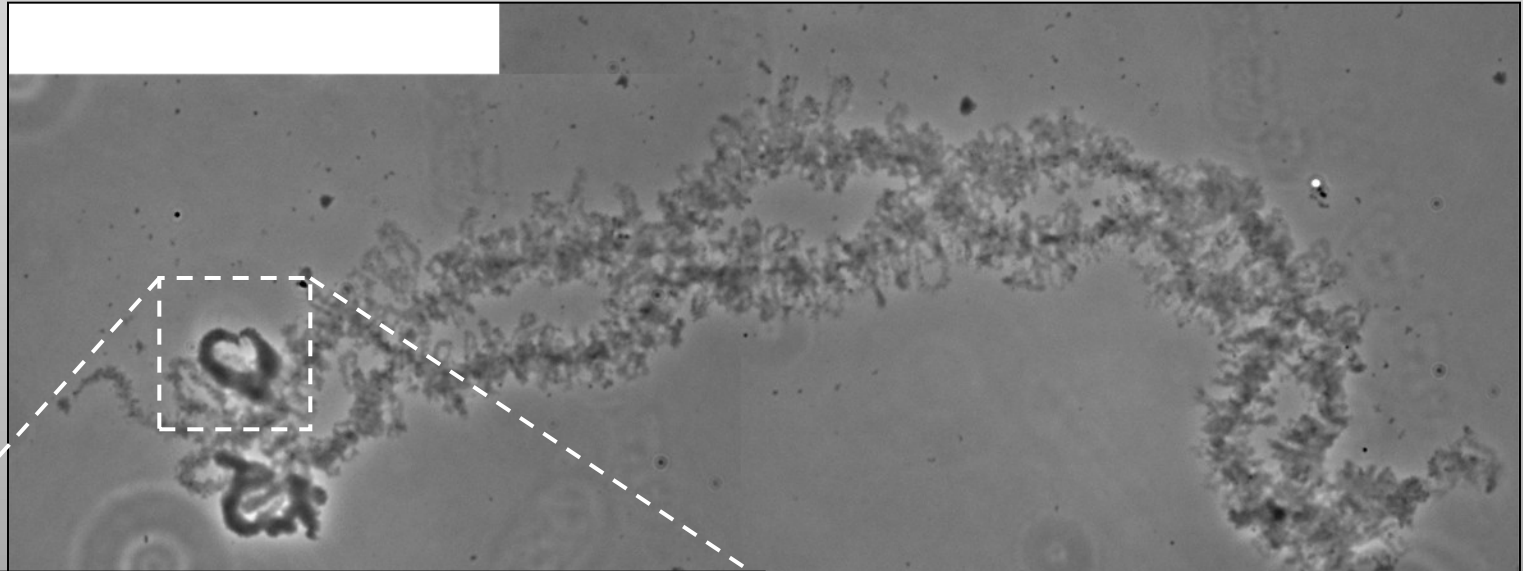
Стрелками обозначены комплексы РНП-гранул

Стадии упаковки РНП-матрикса в транскрипционных единицах



Bonnanfant-Jais et al., 1986

Глубчатые петли на хромосоме 2 в ооцитах домашней курицы



Структурная организация глыбчатых петель (ГП) на хромосоме 2 в ооцитах курицы

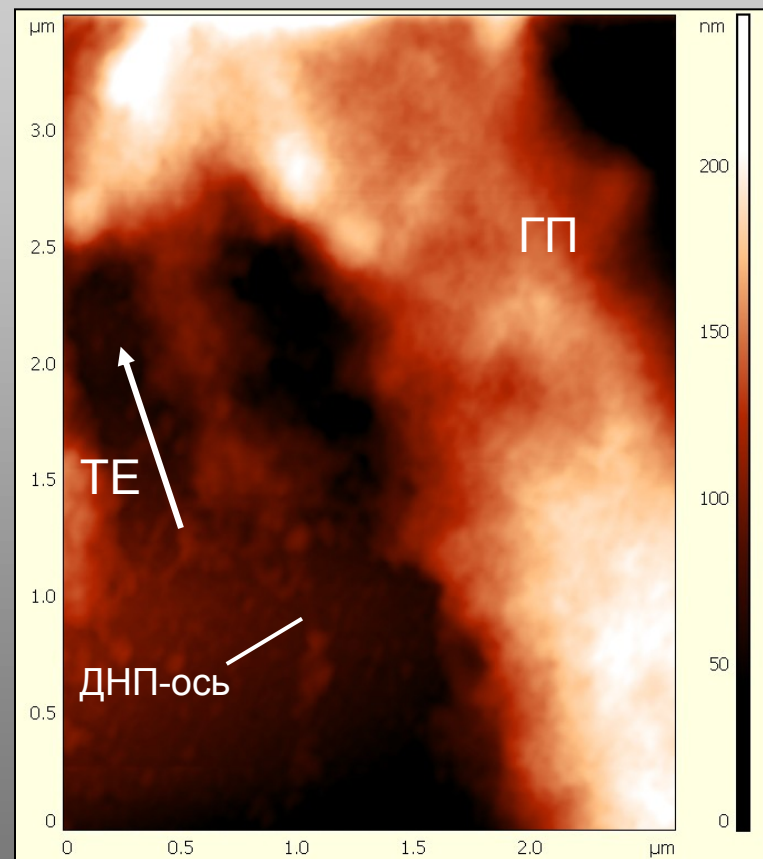
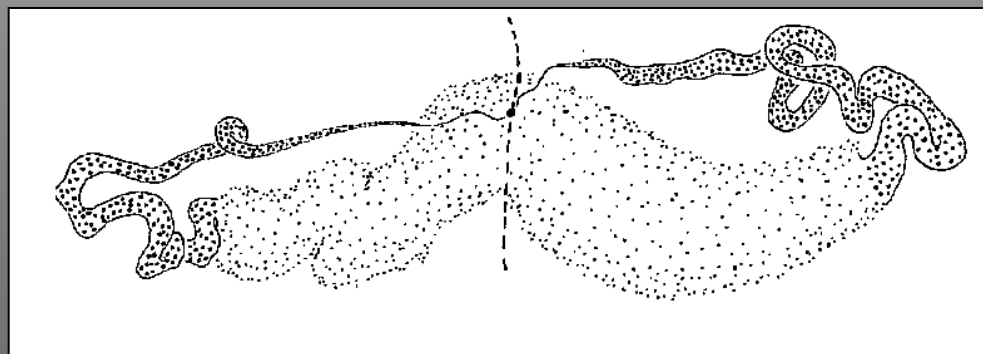
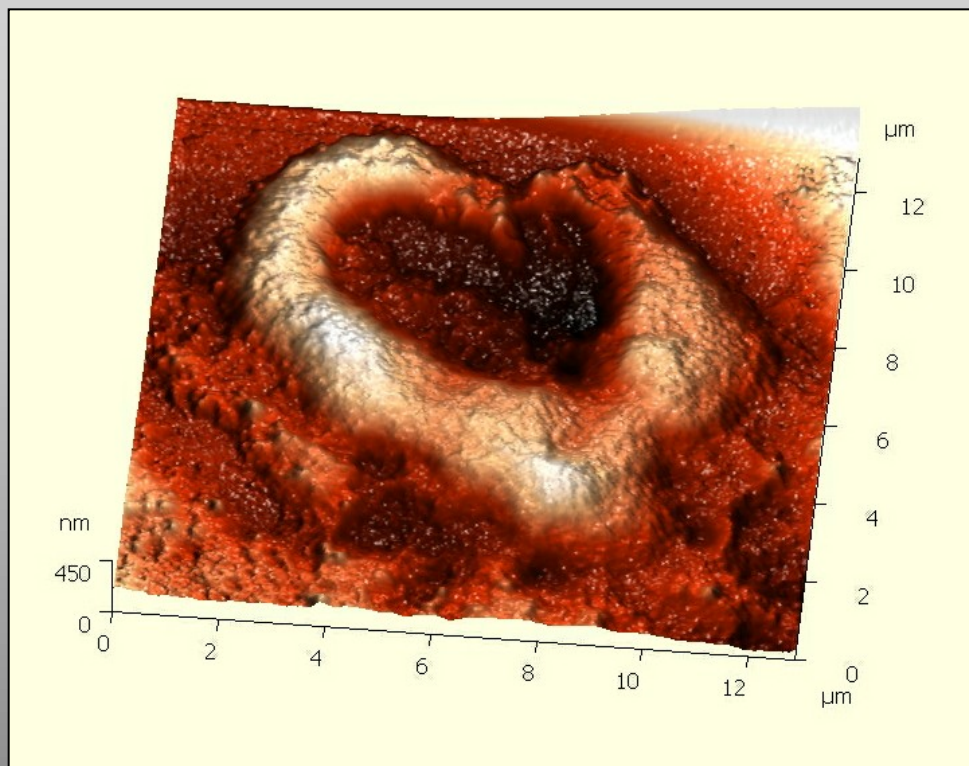
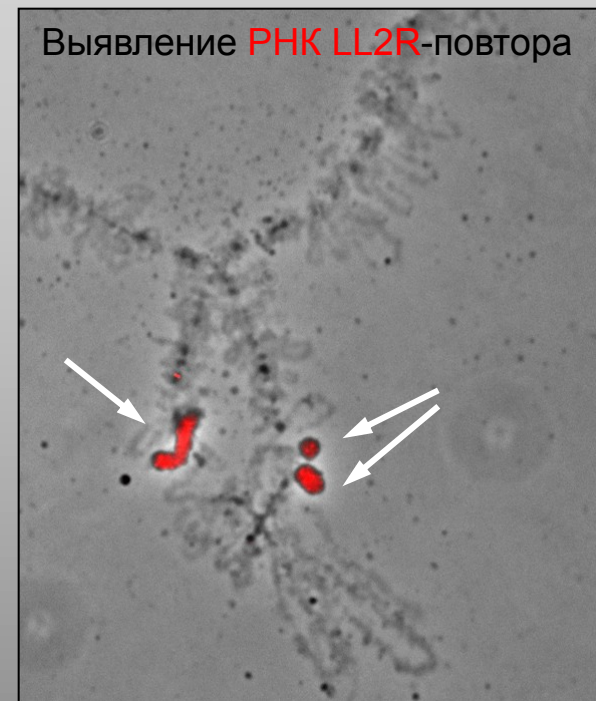
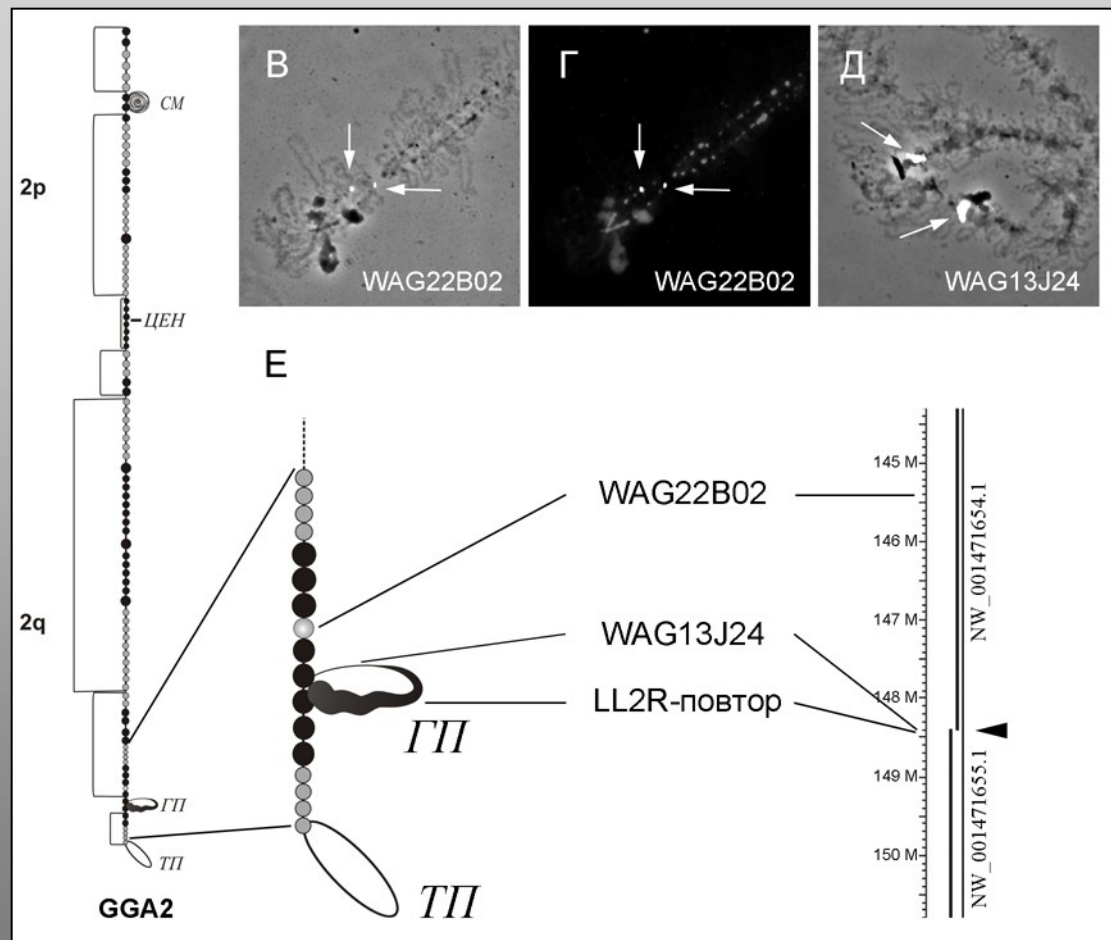


Схема строения глыбчатых петель

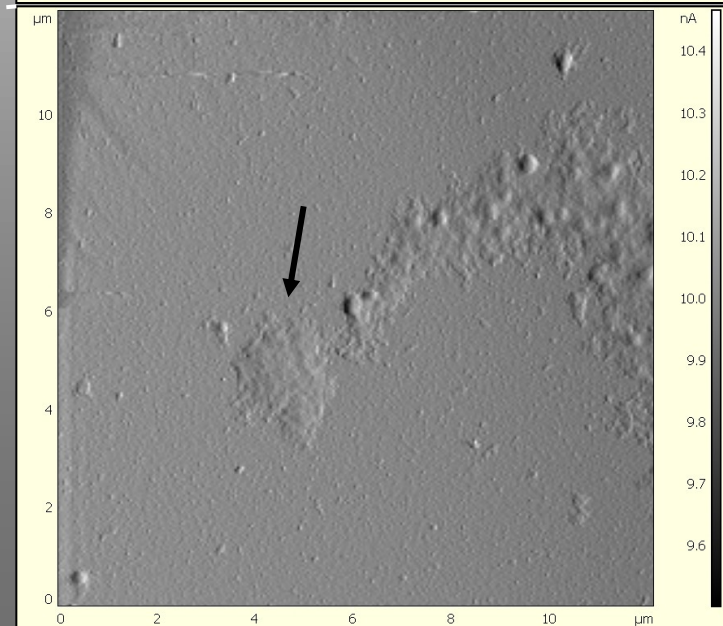
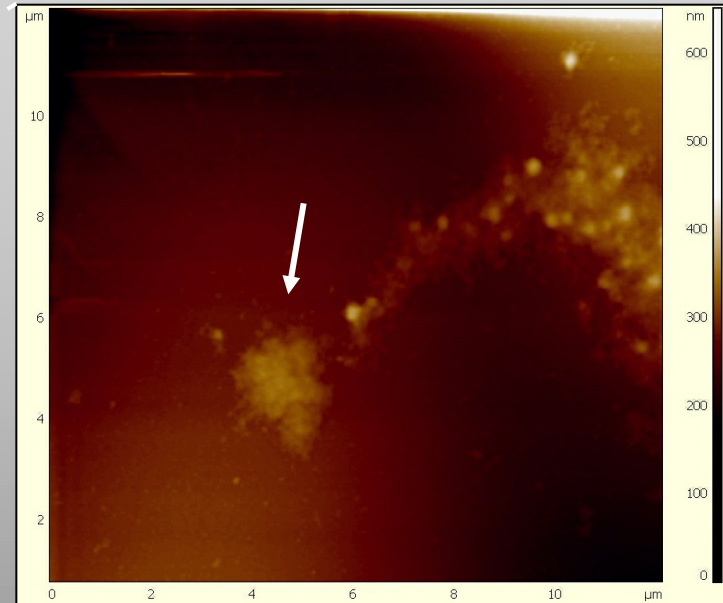
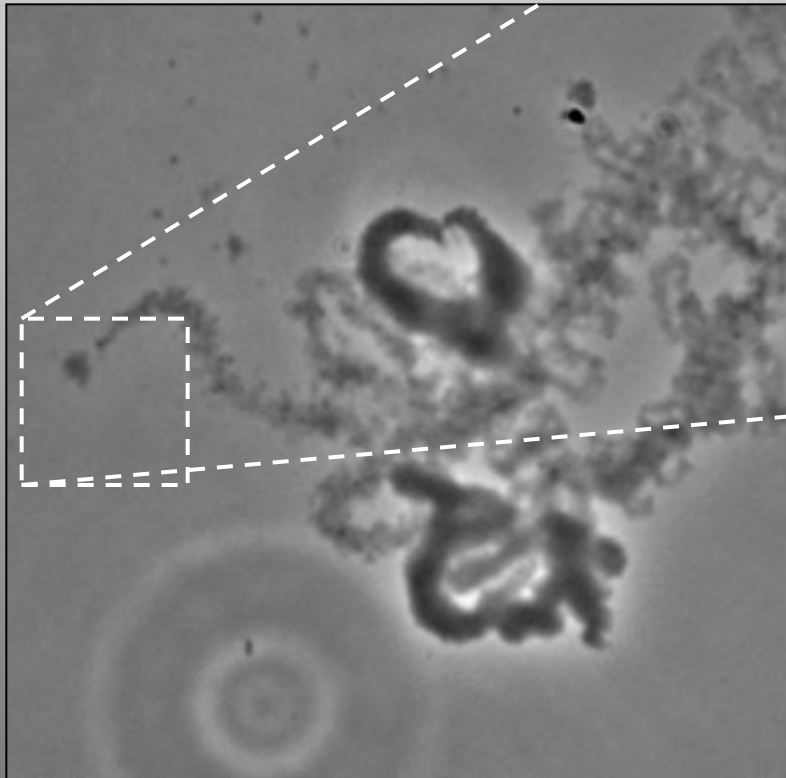
Молекулярно-цитогенетический анализ локуса формирования глыбчатой петли



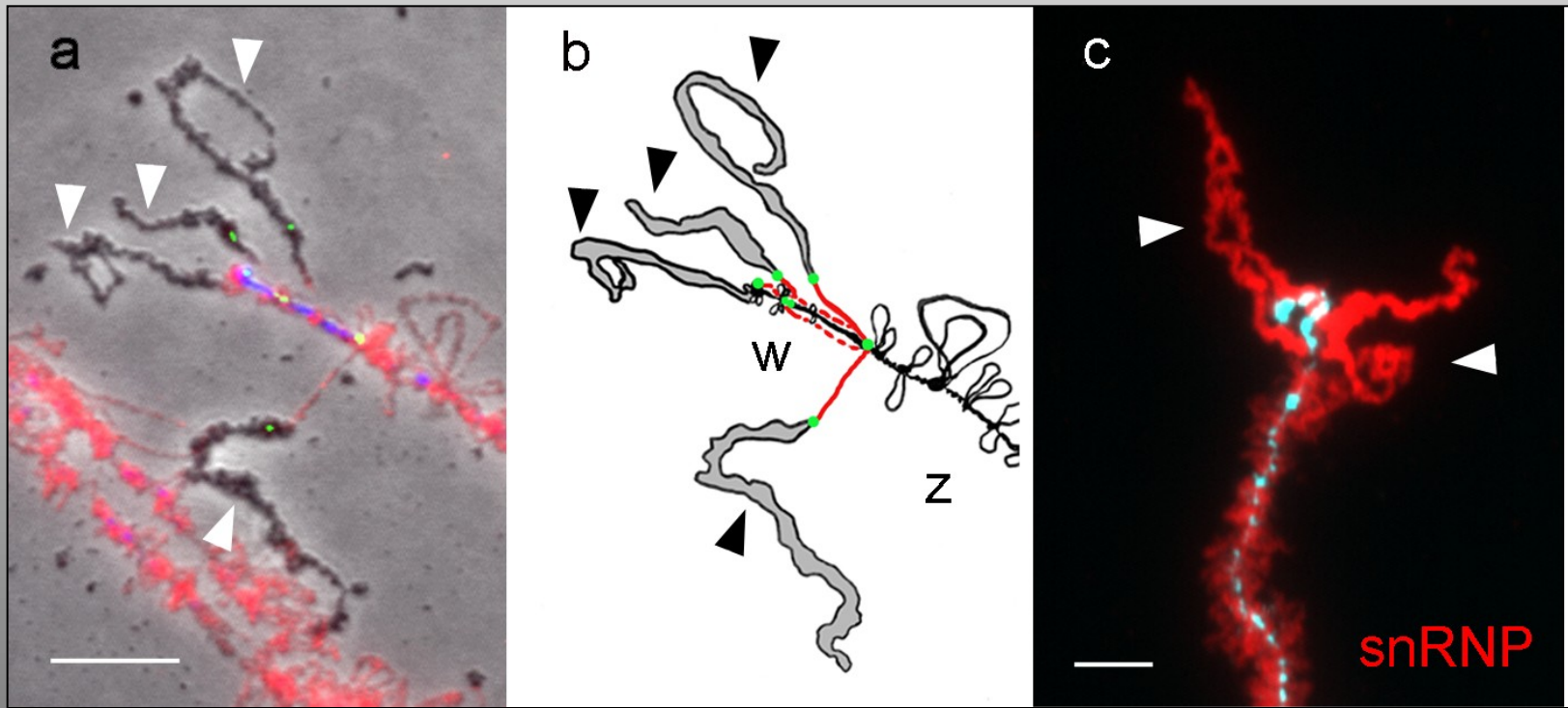
Фрагмент GGA2

Транскрипты тандемного **повтора LL2R** («lumpy loop» 2 repeat) участвуют в формировании глыбчатых петель, обогащенных факторами сплайсинга РНК

Строение терминальных районов хромосом типа ламповых щеток у птиц

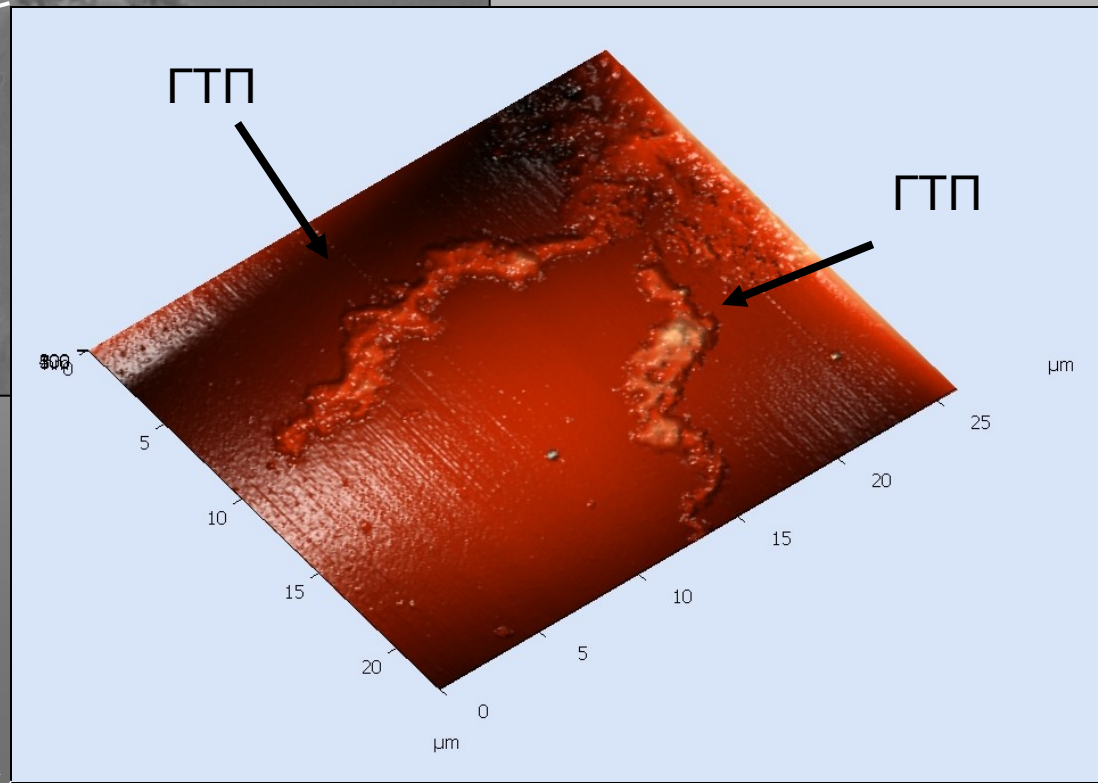
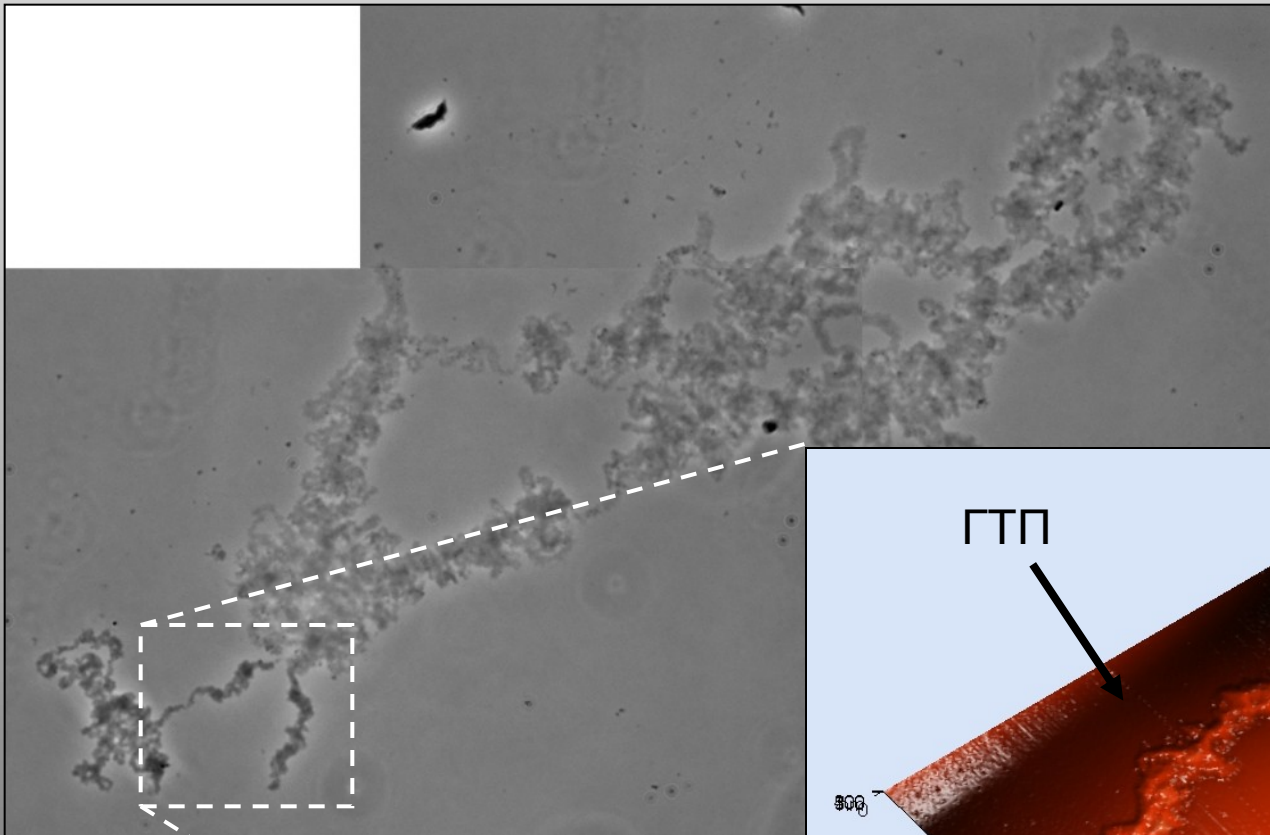


Строение терминальных районов хромосом типа ламповых щеток у птиц

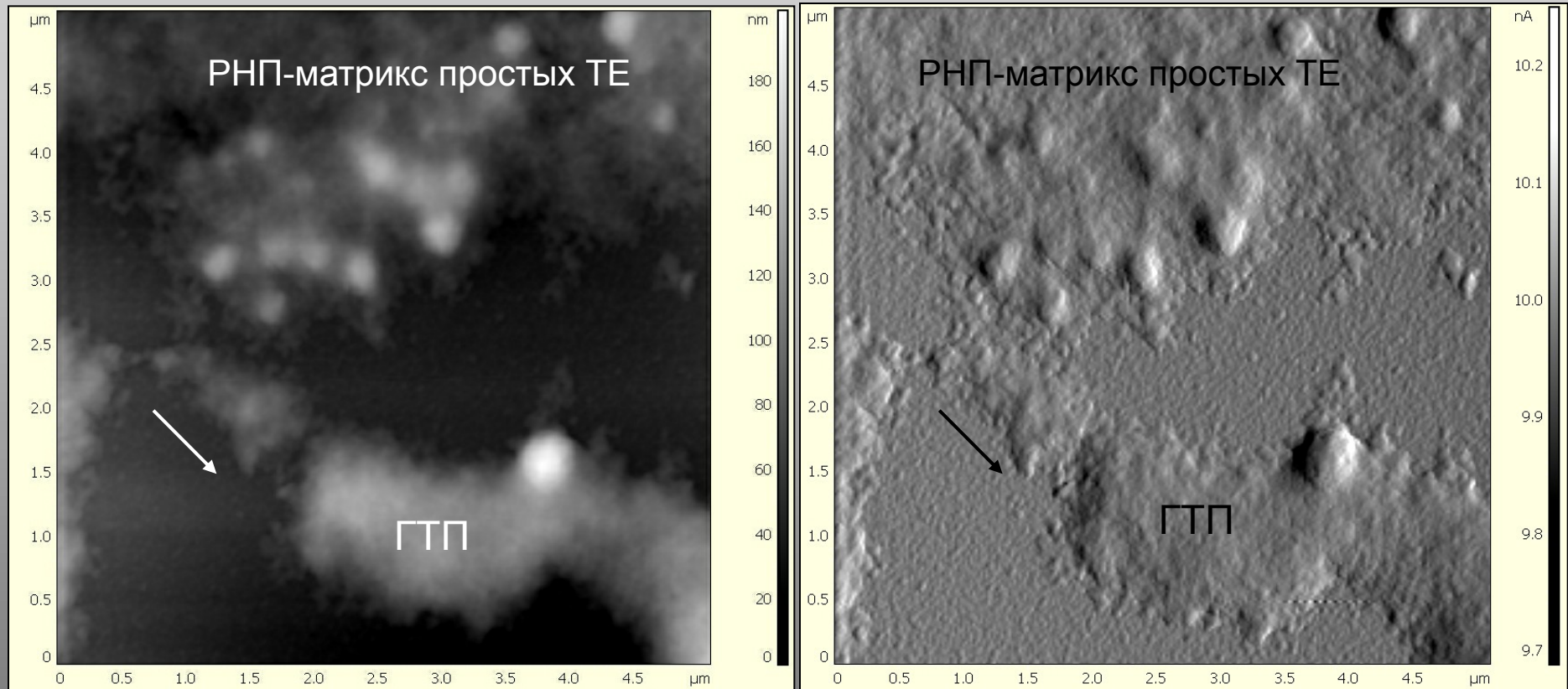


Гигантские терминальные петли (ГТП) на хромосомах типа ламповых щеток

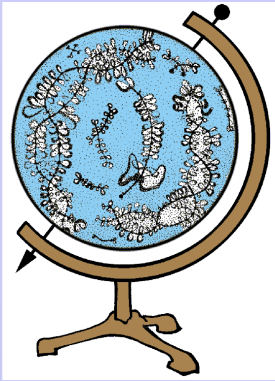
Хромосома 4 курицы



Гигантские терминальные петли (ГТП) на хромосомах типа ламповых щеток имеют фибриллярную структуру



В основании гигантских терминальных петель обнаружены транскрипционные единицы длиной около 1 мкм



А.В. Красикова*, К.А. Бенкен**

* - Лаборатория структуры и функции хромосом

** - «Межфакультетский ресурсный центр микроскопии и микроанализа» СПбГУ

<http://rat.inst.bio.spbu.ru/people.html>

spbchromas@gmail.com