

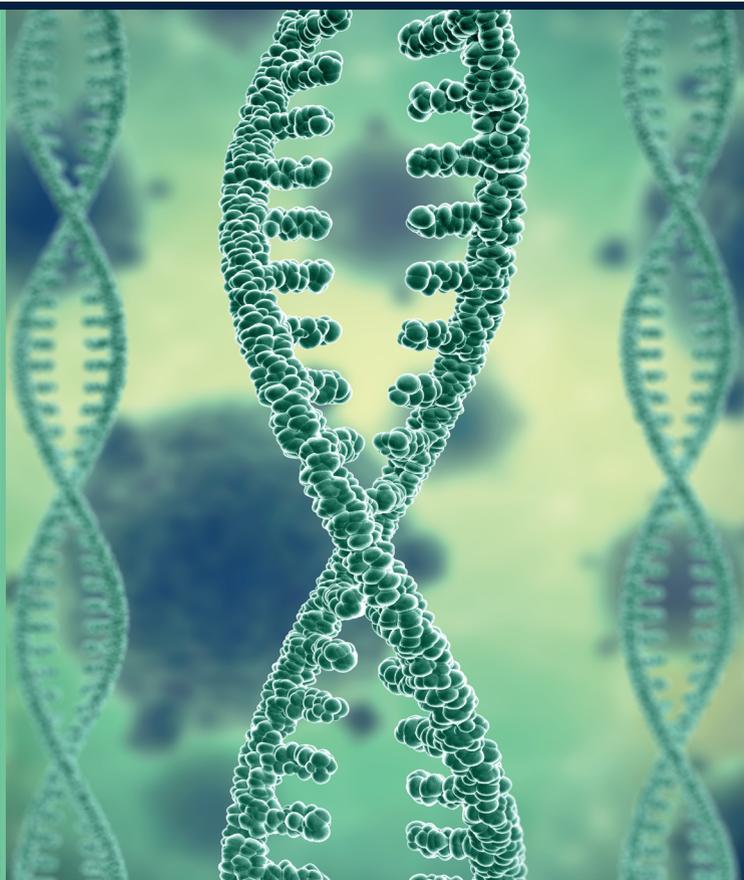


Московский
педагогический
государственный
университет

Н. С. Купрянова, А. П. Рысков

**СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ОРГАНИЗАЦИЯ
РИБОСОМНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА**

**Москва
2018**



УДК 577.215
ББК 21.041.10
К924

Рецензенты:

Г. В. Павлова, доктор биологических наук, профессор РАН (Институт биологии гена РАН)

А. А. Вергун, кандидат биологических наук, доцент (Московский педагогический государственный университет)

Куприянова, Наталья Сергеевна.

К924 Структурная и функциональная организация рибосомной ДНК человека : монография / Н. С. Куприянова, А. П. Рысков. – Москва : МПГУ, 2018. – 64 с.

ISBN 978-5-4263-0667-7

Рибосома является одной из самых древних и важных органелл клетки, сохранившей общие черты организации у всех ныне живущих организмов. Гены, ответственные за синтез нуклеиновых кислот и белков, формирующих рибосому, а также гены, обслуживающие процесс работы этих генов, созревание продуктов транскрипции и переход зрелых продуктов в активное состояние, образуют крупнейший полигенный комплекс, от согласованной работы которого зависит жизнеспособность отдельных клеток и всего организма в целом. У человека тандемные кластеры рДНК локализованы на коротких плечах пяти акроцентрических хромосом. Они формируют так называемые ядрышковые организаторы – специфические участки хромосом, где в телофазе митоза формируются ядрышки. В монографии рассмотрены литературные и собственные данные, посвященные разным аспектам изучения структуры и функций рДНК, в частности регуляторным элементам транскрипции рРНК, внутривнутрихромосомной, межхромосомной и эволюционной изменчивости и характеристике протяженных участков генома, соседствующих с кластерами рДНК в ядрышковых организаторах. Монография рассчитана на студентов, аспирантов и преподавателей биологических кафедр вузов, а также широкий круг ученых научных учреждений.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00178.

УДК 577.215
ББК 21.041.10

ISBN 978-5-4263-0667-7

© МПГУ, 2018

© Куприянова Н. С., Рысков А. П., 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	4
Введение	5
1. Организация, локализация и количественная оценка содержания рибосомной ДНК в геноме человека	6
2. Строение мономерных единиц рДНК. Орфоны	9
3. Консервативность и полиморфизм рДНК	11
4. Специфические особенности и возможные механизмы эволюции рДНК	20
5. Характеристика нуклеотидных последовательностей, дистальных и проксимальных относительно кластеров рДНК	28
6. Регуляторные элементы транскрипции рДНК	31
6.1. Элементы кратковременной регуляции транскрипции рРНК	31
6.2. Протеинкиназы в регуляции транскрипции рРНК	33
6.3. Элементы долговременной регуляции транскрипции рРНК	34
6.4. Некодирующие регуляторные РНК и их гены	38
7. Наследуемость рДНК и ее статус при некоторых заболеваниях	44
8. Ядрышковые организаторы, рДНК и эпигенетическая регуляция генома	47
Заключение	51
Литература	52

1. ОРГАНИЗАЦИЯ, ЛОКАЛИЗАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ РИБОСОМНОЙ ДНК В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА

В геноме высших организмов гены, кодирующие рибосомные РНК (рРНК), повторены многократно. Анализ имеющихся данных показывает, что количество повторяющихся элементов рибосомных ДНК (рДНК) резко различается у представителей разных классов эукариот. Диплоидный геном насекомых, птиц и млекопитающих содержит сравнительно небольшое число (200–500) повторов рДНК, и разброс значений этой величины минимален, тогда как для многих видов рыб, земноводных и растений характерно состояние полиплоидии, и в этом случае число генов рРНК не всегда коррелирует с размером генома. Например, от 240 повторов у линя (*Tinca tinca*) до почти 10 000 повторов у двоякодышащей рыбы рогозуба (*Neoceratodus forsteri*). Скорее всего, полиплоидное состояние, свойственное многим рыбам и земноводным, повышает возможности изменчивости генома и способствует ускорению процесса эволюции.

Точность определения числа повторов рДНК в геноме прямо зависит от точности используемого метода. В более ранних работах число повторов рДНК в геноме определяли методом насыщающей гибридизации нитроцеллюлозных фильтров, содержащих ядерную ДНК, с меченой рРНК известной удельной активности [150]. Число повторов рДНК у человека, определенное этим способом, составляет около 400 единиц на диплоидный геном. Более точный метод, разработанный значительно позже [2], позволяет утверждать, что количество повторов рДНК в геноме человека может варьировать у различных индивидов от 390 до 580 копий в пересчете на диплоидное ядро.

Тандемная организация генов рРНК показана различными способами: возможностью их выделения при центрифугировании в градиенте плотности CsCl в виде дискретной фракции; непосредственным наблюдением процесса транскрипции рРНК в гаметогенезе некоторых организмов (петли хромосом «ламповые щетки») [87, 148]; характером расщепления рестриктазами, специфичным для тандемных повторов; фракционированием крупных фрагментов ДНК в условиях

электрофореза в пульсирующем поле [54, 153]. Хотя время от времени появлялись данные, противоречащие утверждению о непрерывности кластеров рДНК [90, 171], все они впоследствии опровергались, так что в настоящее время тандемную организацию основной, функционально активной части рДНК можно считать практически доказанной.

У человека тандемные кластеры рДНК локализованы на коротких плечах пяти аacroцентрических хромосом (13, 14, 15, 21 и 22). Они формируют так называемые ядрышковые организаторы (ЯОР) – специфические участки хромосом, где в телофазе митоза формируются ядрышки. Во время митоза ядрышко исчезает, а ЯОР выглядит как вторичная, часто прителомерная перетяжка в конденсированных хромосомах. В телофазе существует корреляция между числом вновь образованных ядрышек и ЯОР, но в интерфазе число ядрышек уменьшается, так как они имеют тенденцию сливаться друг с другом [3, 119].

В то же время появилась тенденция использовать цитогенетический показатель – участие аacroцентрических хромосом в ассоциациях – для диагностических и прогностических целей при острых заболеваниях, затрагивающих иммунную систему, и при развитии опухолей. Известно, что способность аacroцентрических хромосом вступать в ассоциации так же, как интенсивность серебрения их ЯОР, отражает функциональное состояние ЯОР. Показана связь между этими параметрами [132]. При изучении тонкой структуры ядрышка методами FISH и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии показано, что кластеры рДНК занимают около 10% коротких плеч аacroцентрических хромосом и надежно изолированы от других генов протяженными участками сателлитных последовательностей (порядка миллионов пар нуклеотидов (п.н.)) [79, 168], входящими в состав крупных блоков гетерохроматина. Сателлитные последовательности и рассеянные повторяющиеся элементы, из которых в основном формируется гетерохроматин, имеют тенденцию образовывать необычные трехмерные структуры, возможно, имеющие большое значение для организации ядрышка и эволюции генома [123, 167].

Использование методов FISH и лазерной микроскопии позволило также оценить реальное пространственное расположение отдельных компонентов, формирующих ядрышко. В частности, оказалось, что как центромеры, так и кластеры рДНК находятся на периферии ядрышка и пространственно сближены друг с другом. Этим может быть объяснена высокая частота рекомбинационных событий между

рДНК и прицентромерными альфоидными сателлитами акроцентрических хромосом [38, 79]. Далее, было показано, что у человека и других исследованных приматов участки хромосом, фланкирующие кластеры рДНК с 5'-концов, обладают не менее высокой эволюционной консервативностью, чем значащие участки рДНК на всех (ЯОР)⁺ хромосомах. Полученные результаты позволяют с большой долей вероятности предположить, что фланкирующие области играют важную роль в обеспечении консервативности и/или, напротив, контролируют изменчивость нуклеотидных последовательностей ЯОР [9, 56].

2. СТРОЕНИЕ МОНОМЕРНЫХ ЕДИНИЦ рДНК. ОРФОНЫ

Каждый повторяющийся элемент рДНК состоит из транскрибируемой области (рибосомного оперона) и рибосомного межгенного спейсера (рМГС) (рис. 1).

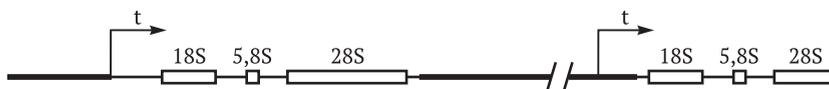


Рис. 1. Схема организации повторяющихся единиц рДНК у млекопитающих:

белыми прямоугольниками обозначены области рДНК, кодирующие 18S, 5,8S и 28S рРНК. Толстыми и тонкими черными линиями показаны транскрибируемые спейсеры и межгенный спейсер IGS (рМГС) соответственно. Стартовая точка транскрипции обозначена буквой *t*

В эукариотических клетках гены рРНК транскрибируются в ядрышке РНК-полимеразой I (Pol I) в виде большого (40–47S у разных организмов) предшественника рРНК (пре-рРНК). Молекула пре-рРНК содержит 5'-транскрибируемый спейсер (5'-ВШТС); 18S рРНК, левый внутренний транскрибируемый спейсер (ВТС1); 5,8S рРНК; правый внутренний транскрибируемый спейсер (ВТС2); 28S рРНК и 3'-транскрибируемый спейсер (3'-ВШТС). Зрелые продукты (28S, 18S и 5,8S рРНК) формируются в результате серии эндонуклеазных расщеплений пре-рРНК с последующим формированием зрелых концов молекул под действием специфических экзонуклеаз. В процессе эволюции происходит увеличение длины генов 18S и 28S рРНК и транскрибируемых спейсеров, однако общие принципы структурной организации транскрибируемой области остаются неизменными. 28S рДНК у млекопитающих примерно на 1,5 т.п.н. длиннее, чем 26S рДНК дрожжей, и представляет собой мозаику эволюционно консервативных и вариабельных областей. Инсерции и замены нуклеотидов в вариабельных областях фенотипически нейтральны. Внутривидовая вариабельность транскрибируемых