

Геном

Андрей Владимирович Алексеевский
aba@belozersky.msu.ru

Геном — совокупность наследственной информации организма

Что это значит?

Как проверить?

Ликбез

Наследственная информация (генотип) определяет как выглядит и действует организм (фенотип) и передается его потомкам.

Наследственная информация – основной функциональный признак живого организма.

Биологи формулируют так:

“наследственность и изменчивость”

Носителем наследственной **информации** в организме являются молекулы ДНК
(у многих вирусов – РНК, напр. вирус гриппа)

Значит, геном сосредоточен в совокупности всей ДНК организма.

Первоначально хранится в оплодотворенной яйцеклетке – **зиготе** (у эукариот)

Копируется один-к-одному во все клетки организма (репликация)

ДНК как носитель информации

- ДНК – молекула: полярный линейный гетерополимер

Картинка – см. след. слайд

- При обычной температуре (в живых организмах) состоит из двух цепочек, связанных водородными связями между комплементарными основаниями А-Т и G-C
- Очень устойчива ко внешним воздействиям (получена из кости лошади, жившей 700 000 лет тому назад!)
- Остов – полимер, и четыре основания: А, Т, G, С (аденин, тимин, гуанин, цитозин)

Химическая формула ДНК

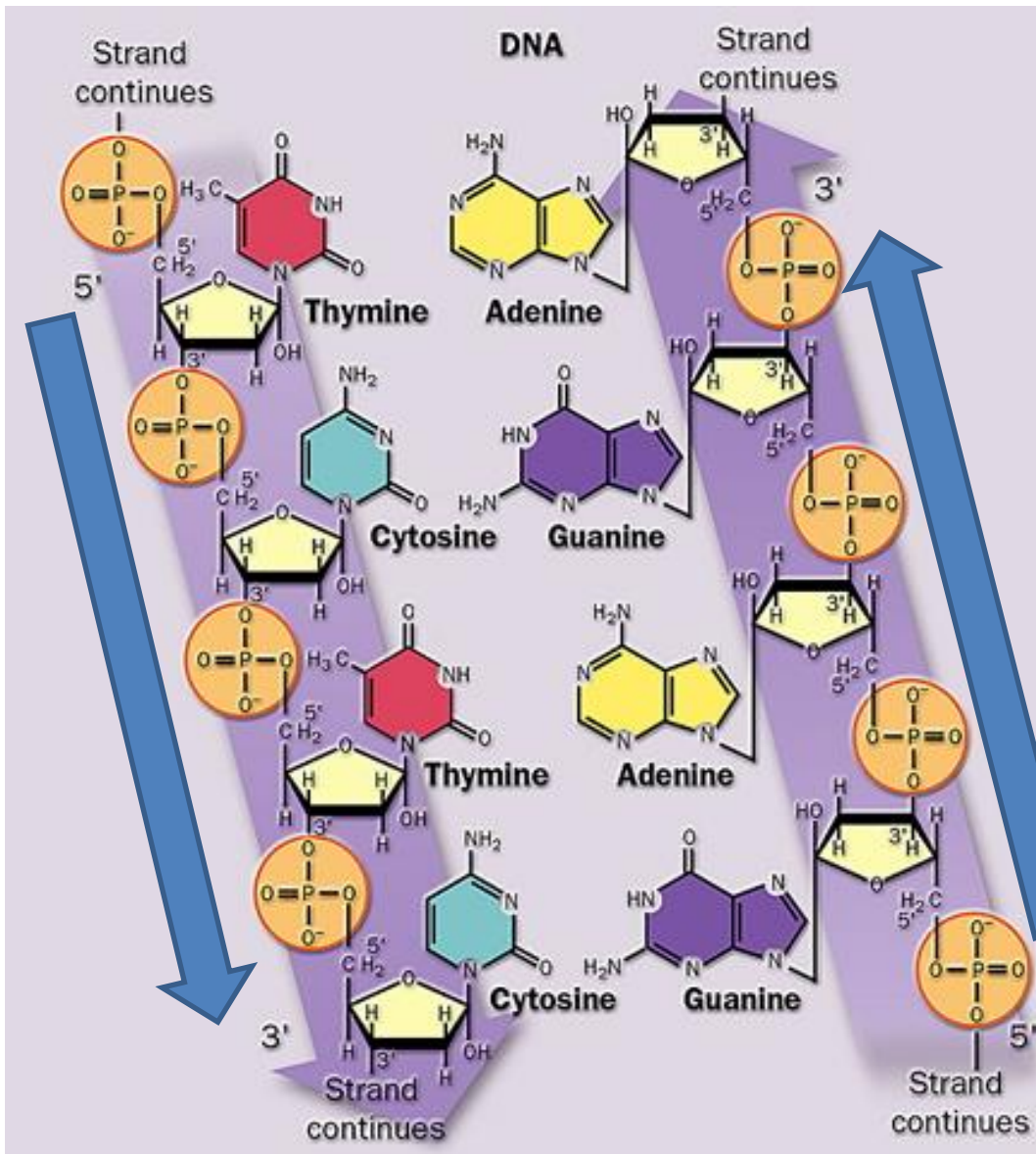
Последовательность этой ДНК:

TCTC или **GAGA**

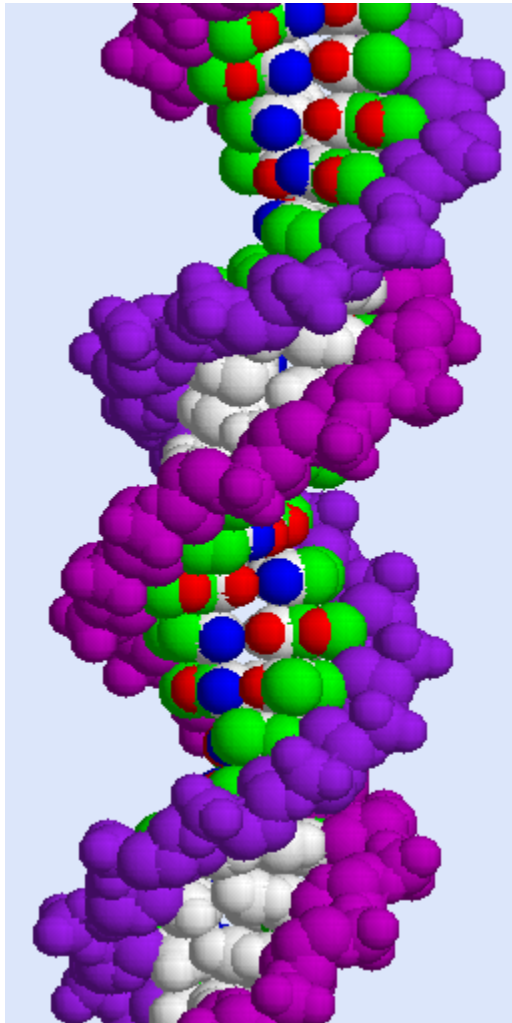
Обратите внимание на стрелки:

каждая цепочка ДНК имеет ориентацию **от 5'- к 3'-концу.**

Цепочки ориентированы **противоположно!**

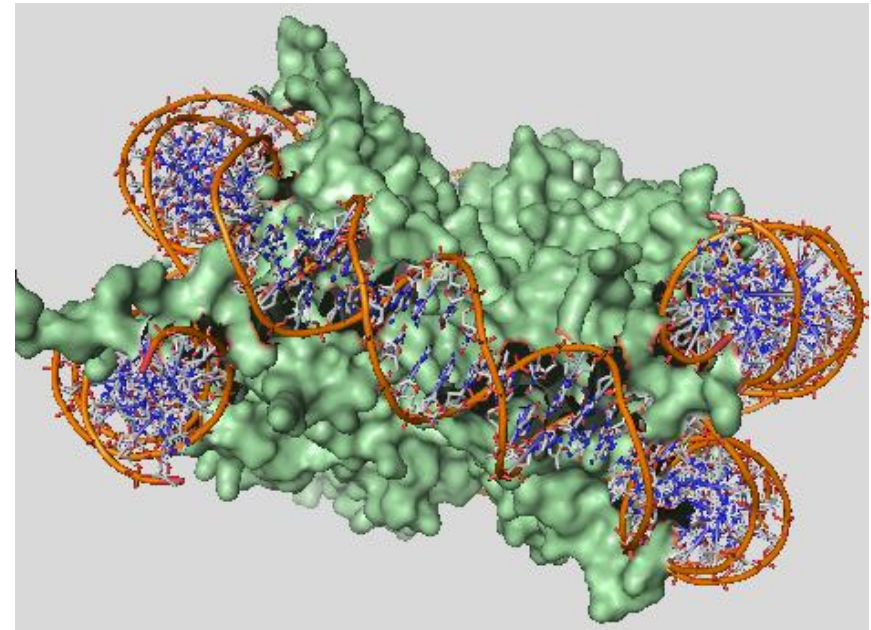


Лучше один раз увидеть



Двойная
спираль
ДНК.

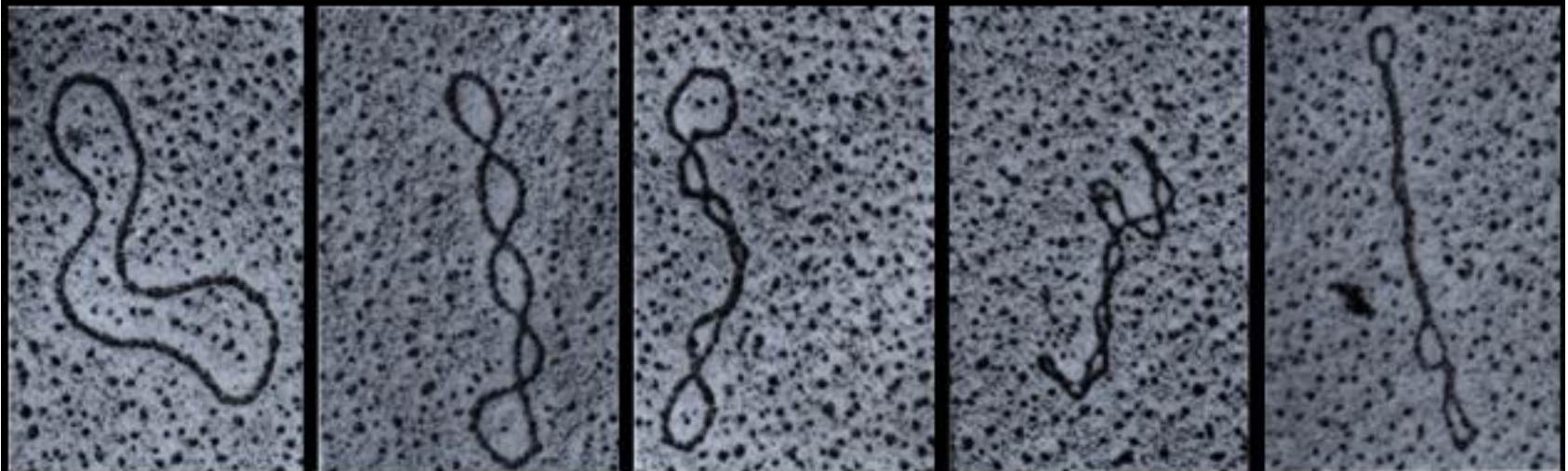
Раскраска
моя ААл 😊



ДНК человека на
"катушке" из гистонов:
вид сбоку
(гистоны – такие белки)

Обе структуры расшифрованы с помощью рентгеноструктурного анализа.

Микрофотография маленькой кольцевой ДНК бактерии - плазмиды



No
supercoiling

Tightly
supercoiled

Маленькая **плазмида** бактерии
Электронная микроскопия

Запомнить!

Последовательность оснований **всегда**
записывается от 5'-конца к 3'-концу

Последовательность оснований
однозначно определяет химическую
формулу молекулы ДНК

Последовательность одной цепочки
однозначно определяет двухцепочечную
ДНК

Упражнение

Дана последовательность **AATTTGCGATC**

Напишите последовательность
комплементарной цепи.

Информацию можно хранить по-разному

Геном – наследственную информацию организма – можно переписать в виде последовательности ДНК и хранить в электронной базе данных

Процесс определения последовательности ДНК организма называется секвенированием.

Лекция о технологии секвенирования и сборки генома планируется

**ЭТО КРЭГ ВЕНТЕР
(CRAIG VENTER)**



**А ЭТО ГЕНОМ КРЭГА ВЕНТЕРА : 2007 ГОД
(ПОКАЗЫВАЮ)**

>chrX

ctaaccctaaccctaaccctaaccctaaccctaaccctCTGaaagt
ggacctatcagcaggatgtgggtgggagcagattagagaataaaag
cagactgcctgagccagcagtggaacccaatgggggtccctttcca
tactgtggaagcttcgttctttcactctttgcaataaatcttgcta
ttgctcactctttgggtccacactgcctttatgagctgtgacactc
accgcaaaggctctgcagcttcactcctgagccagtgagaccacaac
cccaccagaaagaagaactcagaacacatctgaacatcagaagaa
aaaactccggacgcgccacctttaagaactgtaacactcaccgcg
aggttccgctcttcattcttgaagtcagtgagaccaagaaccac
caattccagacacactaggaccctgagacaacCCCTAGAAGAGCAC
CTGGTTGATAACCCAGTTCCCATCTGGGATTTAGGGGACCTGGACA
GCCCGGAAAATGAGCTCCTCATCTCTAACCCAGTTCCCCTGTGGGG
ATTTAGGGGACCAGGGACAGCCCGTTGCATGAGCCCTGGACTCTA
ACCCAGTTCCCTTCTGGAATTTAGGGGCCCTGGGACAGCCCTGTAC
ATGAGCTCCTGGTCTGTAACACAGTTCCCCTGTGGGGATTTAGGGA
CTTGGGCCTTCTGTCTTTGGGATCTACTCTCTATGGGCCACACAGA

Крэг Вентер создал институт, который переписал геном Крэга Вентера (записанный на его ДНК) в текстовый файл (мы его видели)



Сегодня в базе данных Genome на сайте NCBI, представлены геномы

- Eukaryotes [3716] (организмы, имеющие ядро в клетках)
- Prokaryotes [75302] (бактерии и археи)
- Viruses [5962] (вирусы)

В этой БД лежат далеко не все известные геномы!

Задание 1: узнать сколько стоит
секвенирование вашего персонального
- генома
- экзома (все последовательности,
кодирующие белки)

Как проверить, что ДНК несет наследственную информацию?

Однояйцовые близнецы развиваются из одной гаметы – первой клетке зародыша.

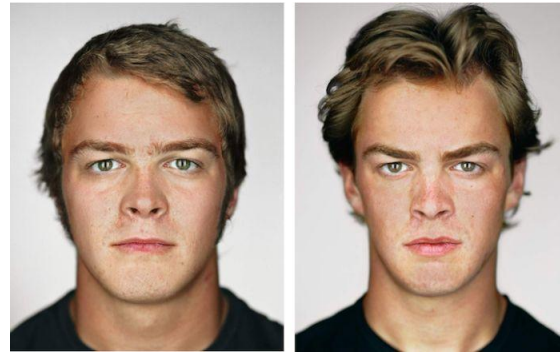
Значит, они имеют идентичные последовательности ДНК



Евгений Галимов
University College
London



Артур Галимов
ARTORG Center
for Biomedical
Engineering
Research (Bern)



Однако, в гамете есть много чего, кроме ДНК ...¹⁹

“Её родитель – компьютер”



+





Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson,¹ John I. Glass,¹ Carole Lartigue,¹ Vladimir N. Noskov,¹ Ray-Yuan Chuang,¹ Mikkel A. Algire,¹ Gwynedd A. Benders,² Michael G. Montague,¹ Li Ma,¹ Monzia M. Moodie,¹ Chuck Merryman,¹ Sanjay Vashee,¹ Radha Krishnakumar,¹ Nacyra Assad-Garcia,¹ Cynthia Andrews-Pfannkoch,¹ Evgeniya A. Denisova,¹ Lei Young,¹ Zhi-Qing Qi,¹ Thomas H. Segall-Shapiro,¹ Christopher H. Calvey,¹ Prashanth P. Parmar,¹ Clyde A. Hutchison III,² Hamilton O. Smith,² J. Craig Venter^{1,2*}

We report the design, synthesis, and assembly of the 1.08–mega–base pair *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 genome starting from digitized genome sequence information and its transplantation into a *M. capricolum* recipient cell to create new *M. mycoides* cells that are controlled only by the synthetic chromosome. The only DNA in the cells is the designed synthetic DNA sequence, including “watermark” sequences and other designed gene deletions and polymorphisms, and mutations acquired during the building process. The new cells have expected phenotypic properties and are capable of continuous self-replication.

Этапы эксперимента

1. Из базы данных скачали последовательность генома одной бактерии --- *M. mycoides*
Mycoplasma mycoides (возбудитель лёгочных заболеваний крупного рогатого скота и домашних коз). Геном состоит из 1 млн 80 тыс. букв
2. Синтезировали химическим путем ДНК с такой последовательностью
3. ДНК поместили в клетку другой бактерии ---
M. capricolum
Mycoplasma capricolum (возбудитель инфекционных заболеваний у домашних коз)

Химерные бактерии оказались
жизнеспособными!

По микробиологическим
признакам химерные бактерии
были как *M. mycooides*

Из интервью С. Venter'а CNN

“We built it from four bottles of chemicals.”

“So it's the first living self-replicating cell that we have on the planet whose DNA was made chemically and designed in the computer.”

“So it has no genetic ancestors. **Its parent is a computer.**”

Торжество науки, но ...

Биологи не были потрясены: они знали, что так и должно быть

Эксперимент не был настолько чистым, как кажется из публичных интервью и общения Вентера с чиновниками

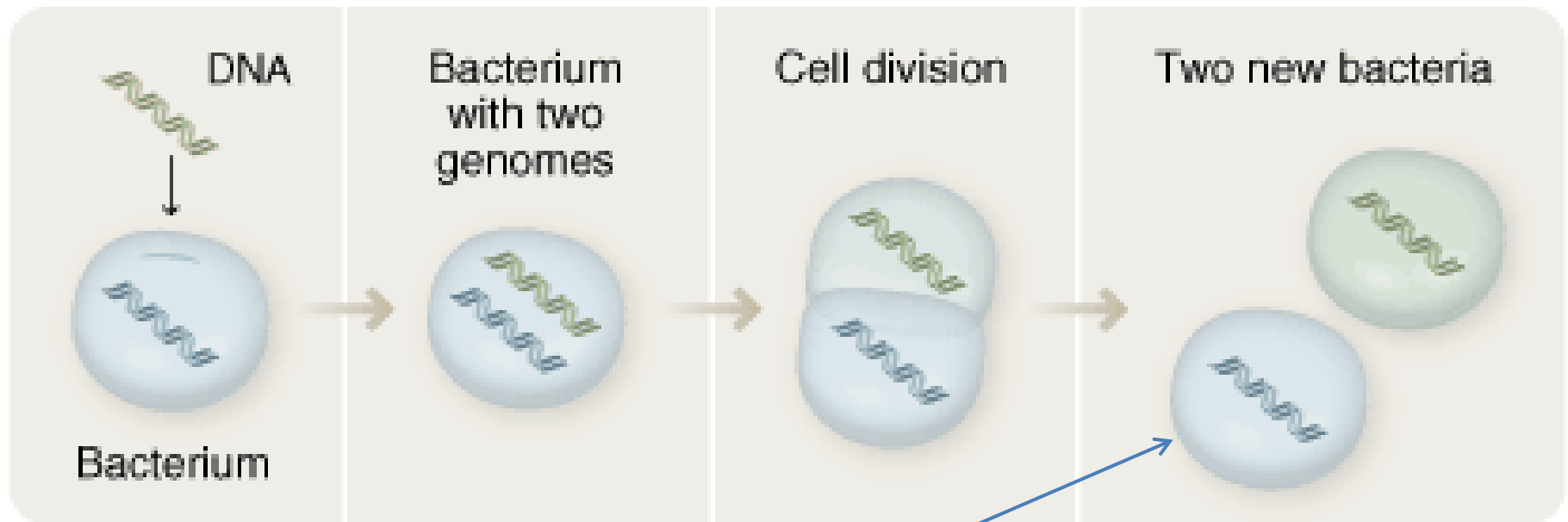


Детали

- На фирме были заказаны фрагменты ДНК длиной 1080 п.н., покрывающие геном с пересечениями
(сегодня – порядка \$0.2 за нуклеотид)
- Фрагменты соединили в одну ДНК путем биоинженерных процедур **в клетках дрожжей**
- Трансфецировали (внедрили) “синтетическую” ДНК в клетки другой – **но близкородственной родственной!** – бактерии

- Исходно в геном *M. mycooides* вставили дополнительные последовательности, нужные по плану эксперимента.
- Например, последовательность гена устойчивости к тетрациклину
- После трансфекции и деления половина клеток получила свой геном, а другая половина – синтетический геном (см. след слайд)
- Все клетки с геномом *M. capricolium* были убиты антибиотиком тетрациклином

Как получились бактериальные клетки, содержащие только синтетическую ДНК



Убили, добавив в среду антибиотик тетрациклин

Геном содержит инструкцию по
созданию организма

Нужны “исполнители”, умеющие
читать и выполнять инструкцию.

Исполнители должны понимать язык

崔天凯大使出席肯尼迪表演艺术中心中国新年音乐会

2017年2月6日晚，肯尼迪表演艺术中心举办中国新年音乐会。中国驻美大使崔天凯、美国国家艺术基金会主席朱简、肯尼迪中心总裁黛博拉·鲁特女士等出席。演出前，崔...

崔天凯大使为来美参加“欢乐春节”活动的艺术团体 举办招待会

2月5日，崔天凯大使在使馆为来美参加“欢乐春节”活动的艺术

Исполнители инструкций в клетке

Получена бактерия с чужой ДНК.

Посмотрим на исполнителей в одном
пути жизнедеятельности клетки:
производстве белков

- Специальный белок (сигма субъединица полимеразы) должен найти начало последовательности, кодирующей белок (промотор)
 - Последовательности промоторов отличаются у разных бактерий; уже может быть облом :(
- До этого надо как-то сообщить сигма субъединице какие белки надо производить (экспрессировать) в данный период времени (регуляция). Это делают специальные белки (транскрипционные факторы), которые садятся на определенные последовательности ДНК и либо мешают сигма-субъединице найти промотор (репрессия), либо помогают (активация). Видов транскрипционных факторов много. Каждый регулирует экспрессию “своих” генов.
 - Последовательности, узнаваемые транскрипционными факторами, да и сами транскрипционные факторы отличаются у разных бактерий

- Специальный белок (ДНК-зависимая РНК-полимераза) присоединяется к сигма-субъединице и копирует кодирующую последовательность ДНК (одну или несколько идущих подряд) в матричную РНК (мРНК)
- Огромная молекулярная машина (рибосома) садится на начало кодирующей последовательности в мРНК (тоже нужен определенный сигнал) и синтезирует белок с последовательностью, соответствующей кодонам.

Генетический код

Т в ДНК соответствует U в РНК

		Second base					
		U	C	A	G		
U	U	UUU Phe	UCU	UAU Tyr	UGU Cys	U	
		UUC	UCC Ser	UAC	UGC	C	
		UUA Leu	UCA	UAA Stop	UGA Stop	A	
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G	
C	C	CUU Leu	CCU	CAU His	CGU	U	
		CUC	CCC Pro	CAC	CGC Arg	C	
		CUA	CCA	CAA Gln	CGA	A	
		CUG	CCG	CAG	CGG	G	
A	A	AUU Ile	ACU	AAU Asn	AGU Ser	U	
		AUC	ACC Thr	AAC	AGC	C	
		AUA	ACA	AAA Lys	AGA Arg	A	
		AUG Met/Start	ACG	AAG	AGG	G	
G	G	GUU Val	GCU	GAU Asp	GGU	U	
		GUC	GCC Ala	GAC	GGC Gly	C	
		GUA	GCA	GAA Glu	GGA	A	
		GUG	GCG	GAG	GGG	G	

В упрощенной схеме трансляции белков уже видны потенциальные различия в языках (последовательностях сигналов), препятствующие выполнить эксперимент Вентера для далеких организмов.

У бактерий таких путей сотни ... В них задействованы разные типы белков, РНК (не только матричные) и другие маленькие молекулы – метаболиты.

Все они нужны для исполнения инструкций, записанных в геноме

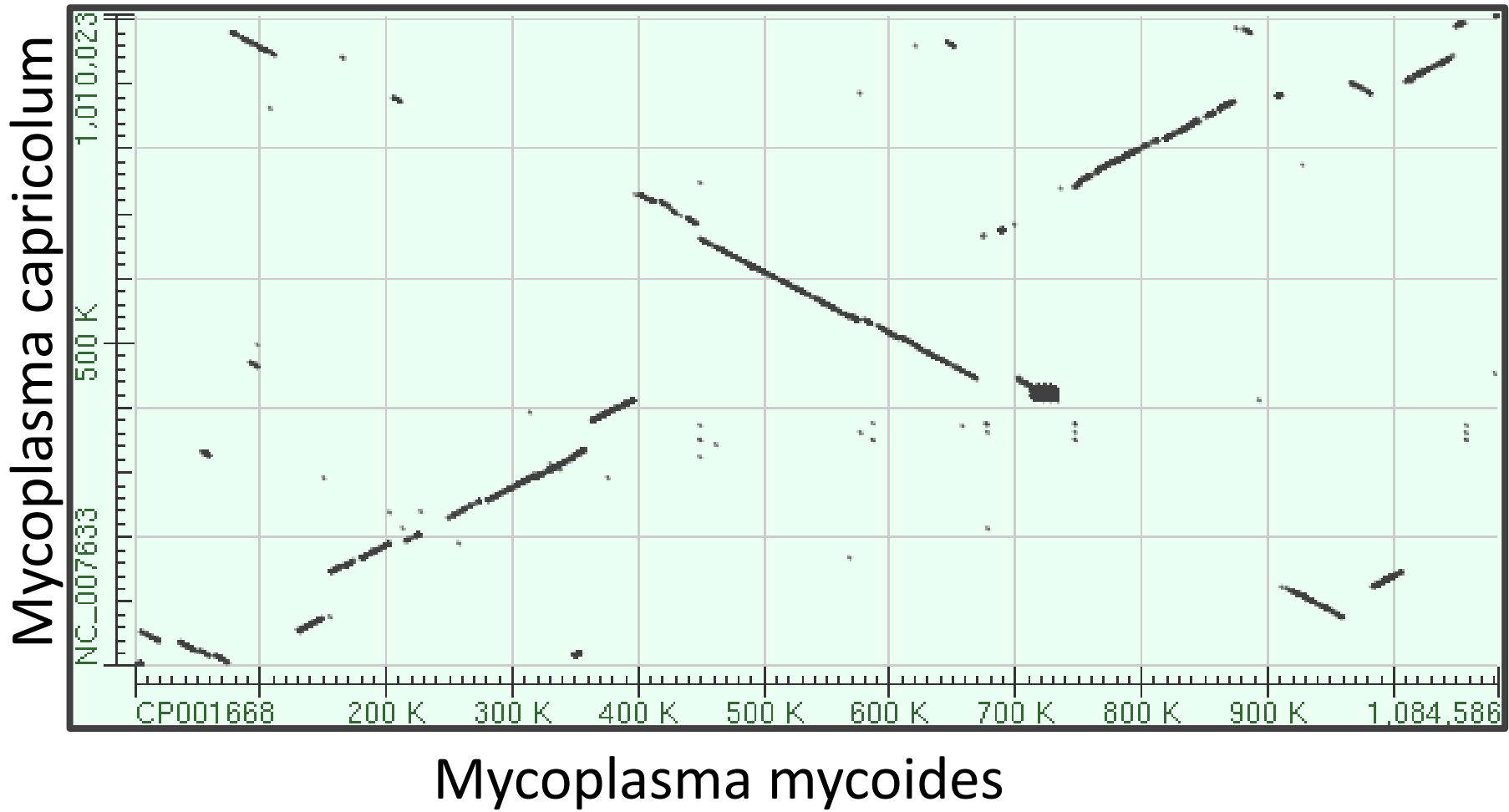
M. capricolum и *M. mycooides*
близкородственные. Что это значит?

Задание 2: сравнить геномы
M. capricolum и *M. mycooides*

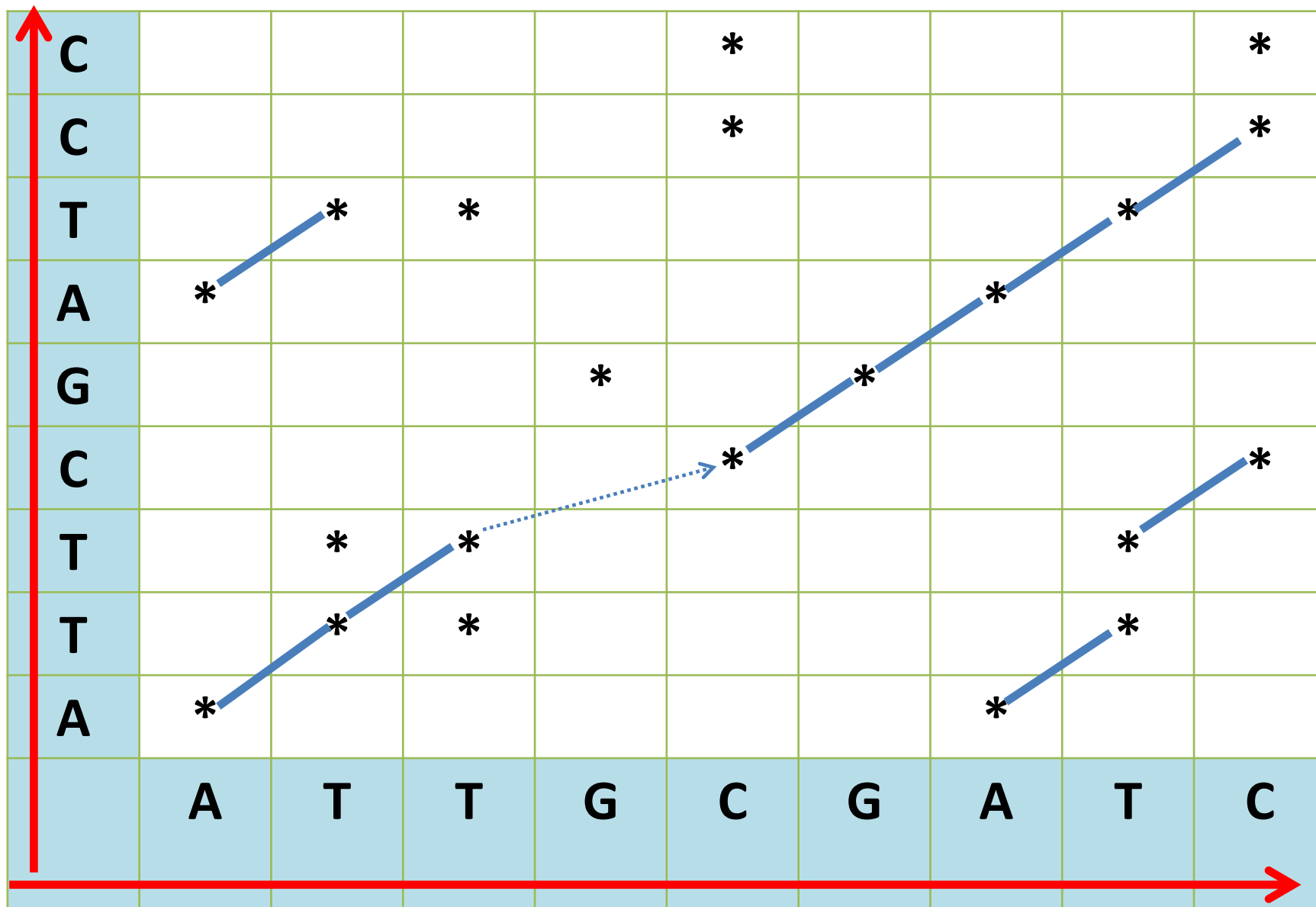
Два метода сравнения последовательностей

- Карта локального сходства. Может быть применена для сравнения геномов целиком
- Выравнивание последовательностей. Может быть применена только для сравнения последовательностей, произошедших из одной и той же предковой последовательности. Такие последовательности называются **ГОМОЛОГИЧНЫМИ**

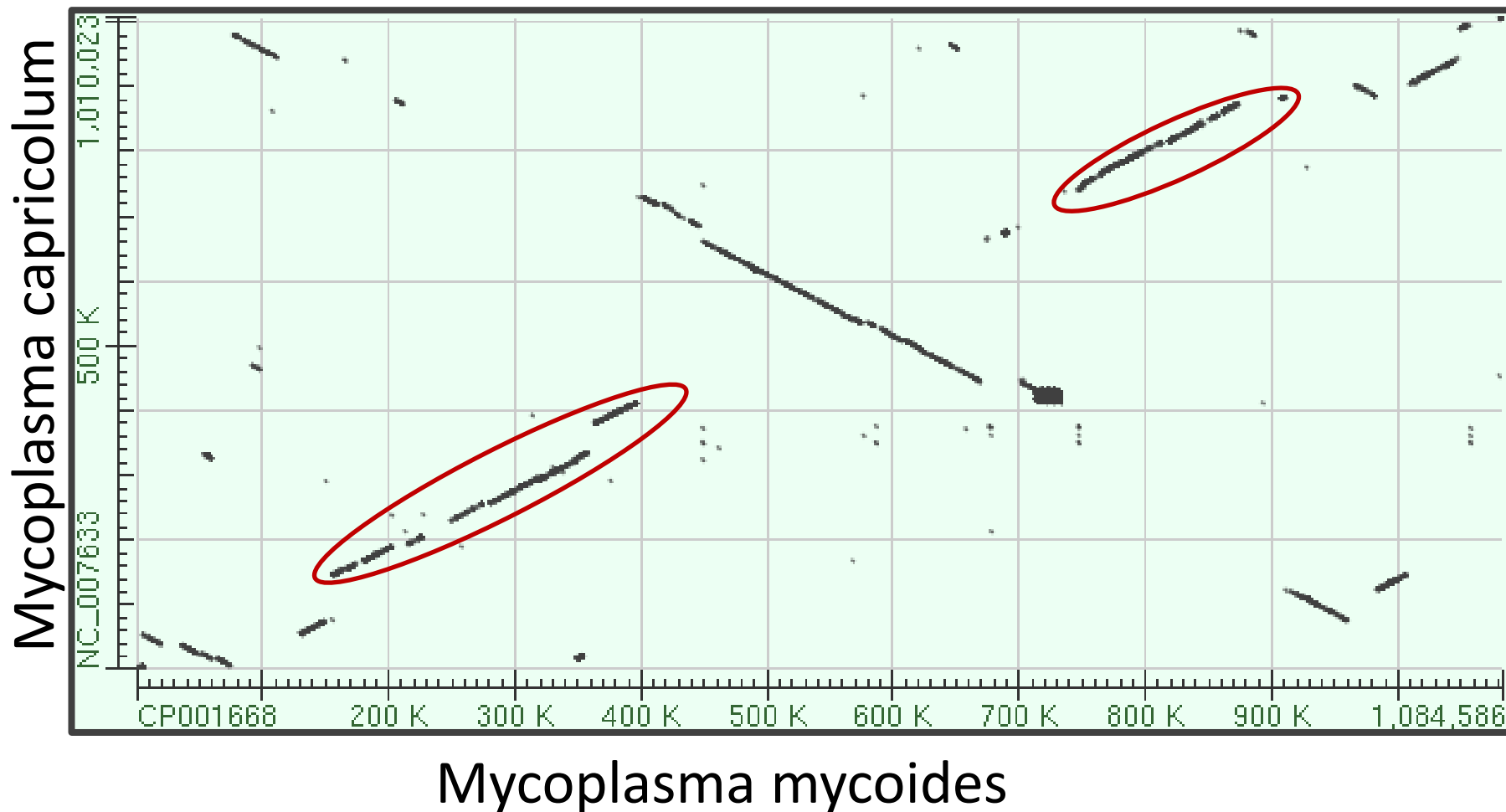
Карта локального сходства геномов *M. capricolum* и *M. mycoides*



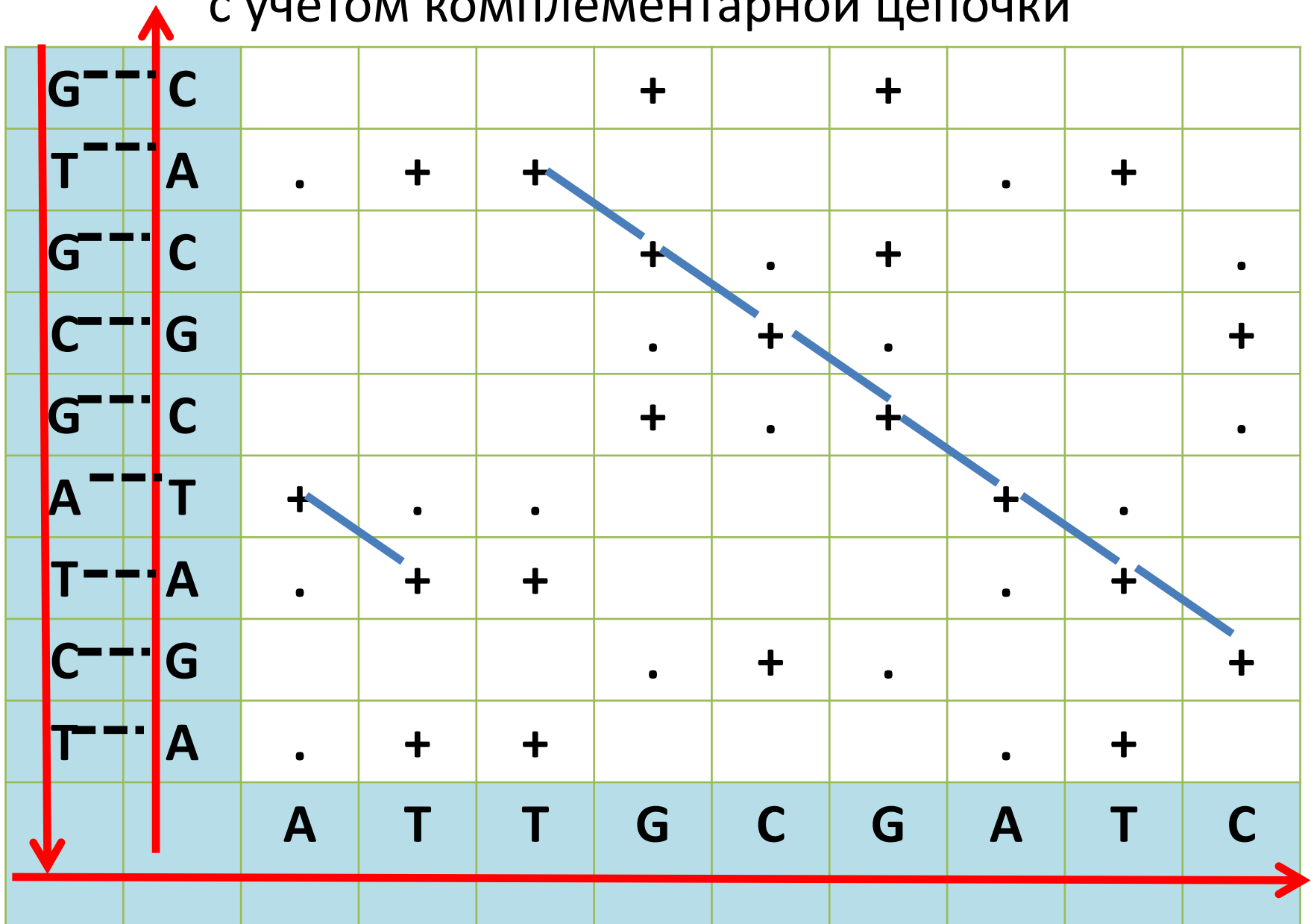
Карта сходства 2х последовательностей



Карта локального сходства геномов *M. capricolum* и *M. mycoides*

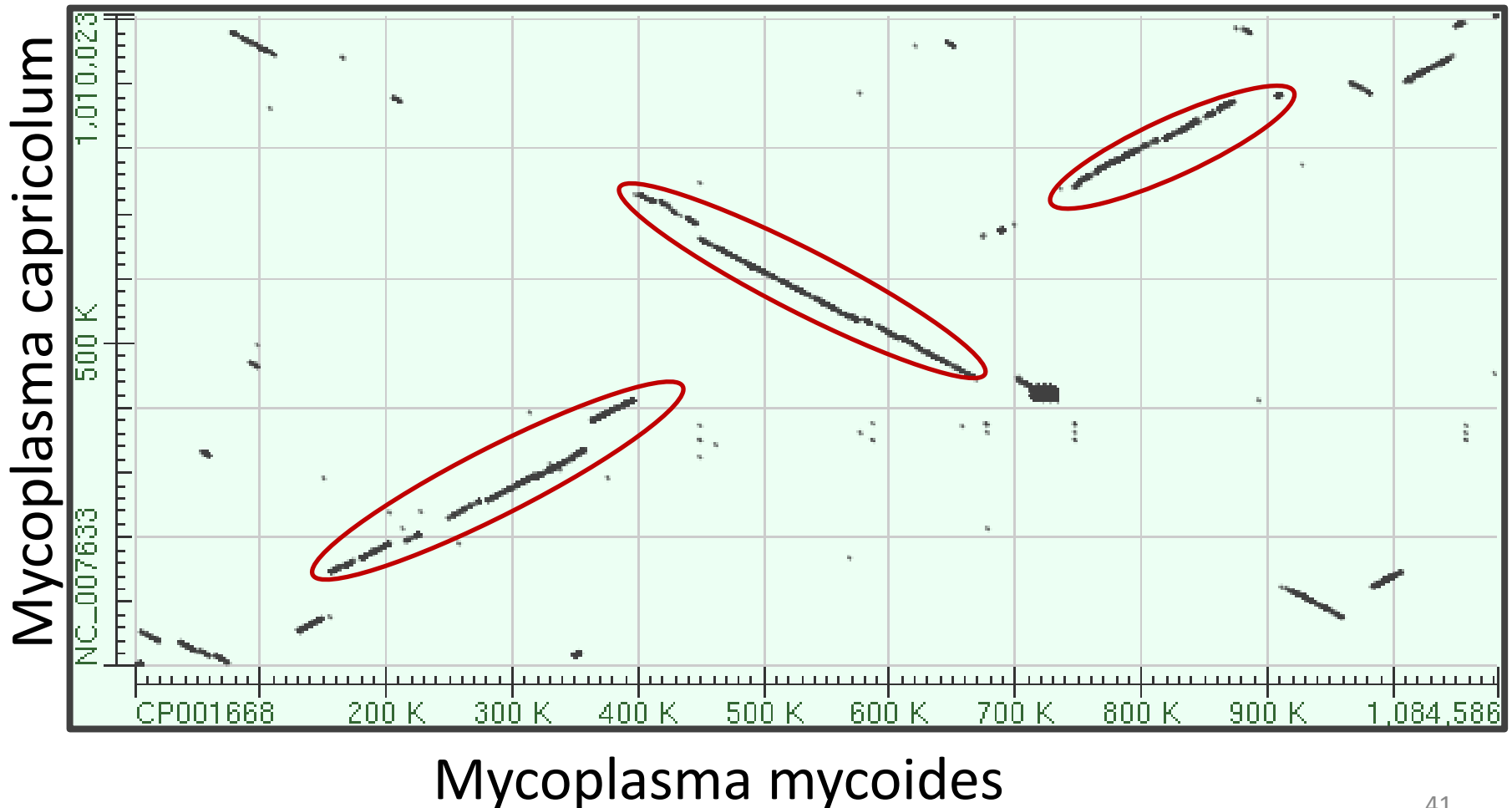


Карта сходства 2х последовательностей с учетом комплементарной цепочки

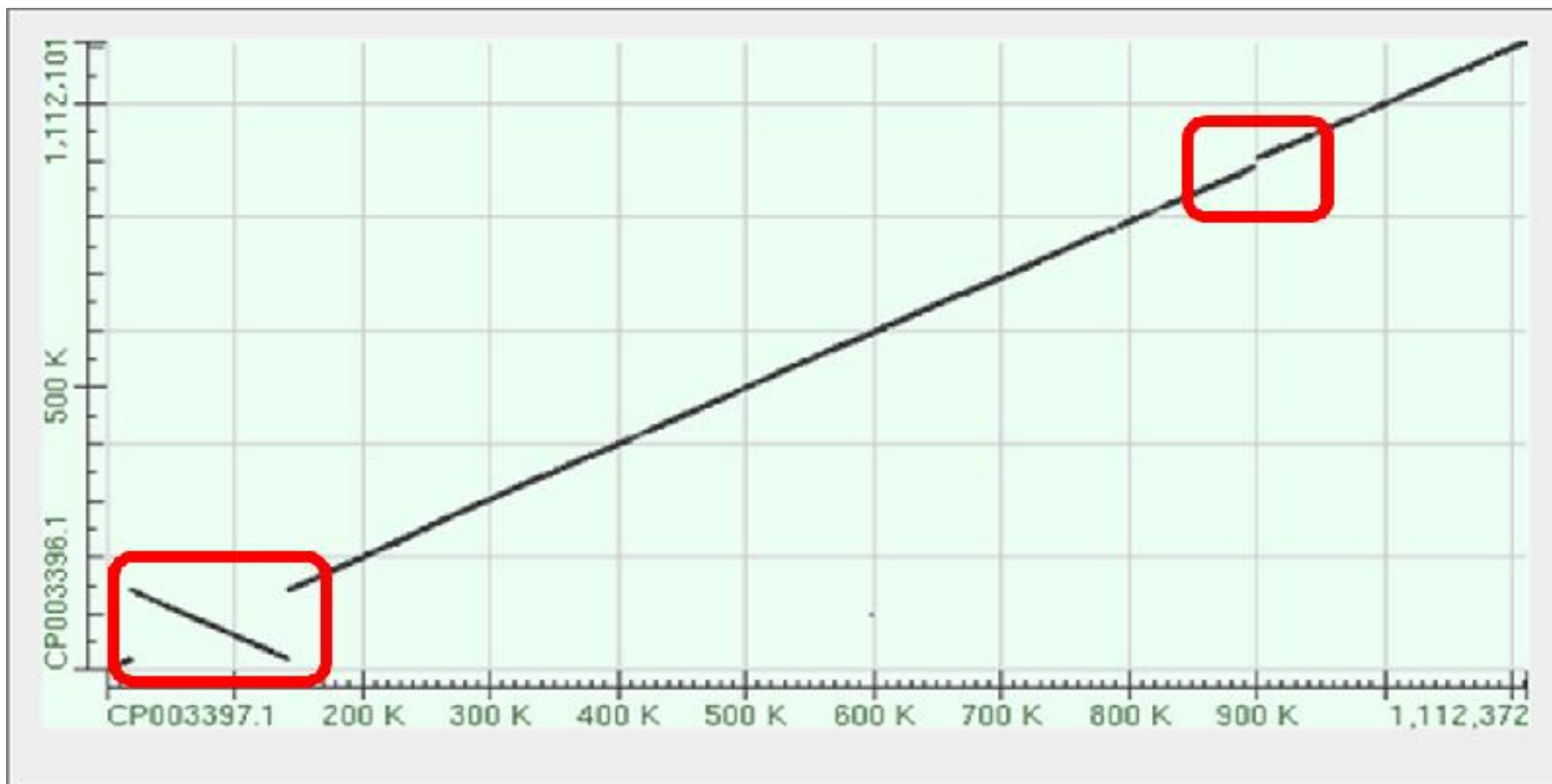


Карта локального сходства геномов *M. capricolum* и *M. mycoides*.

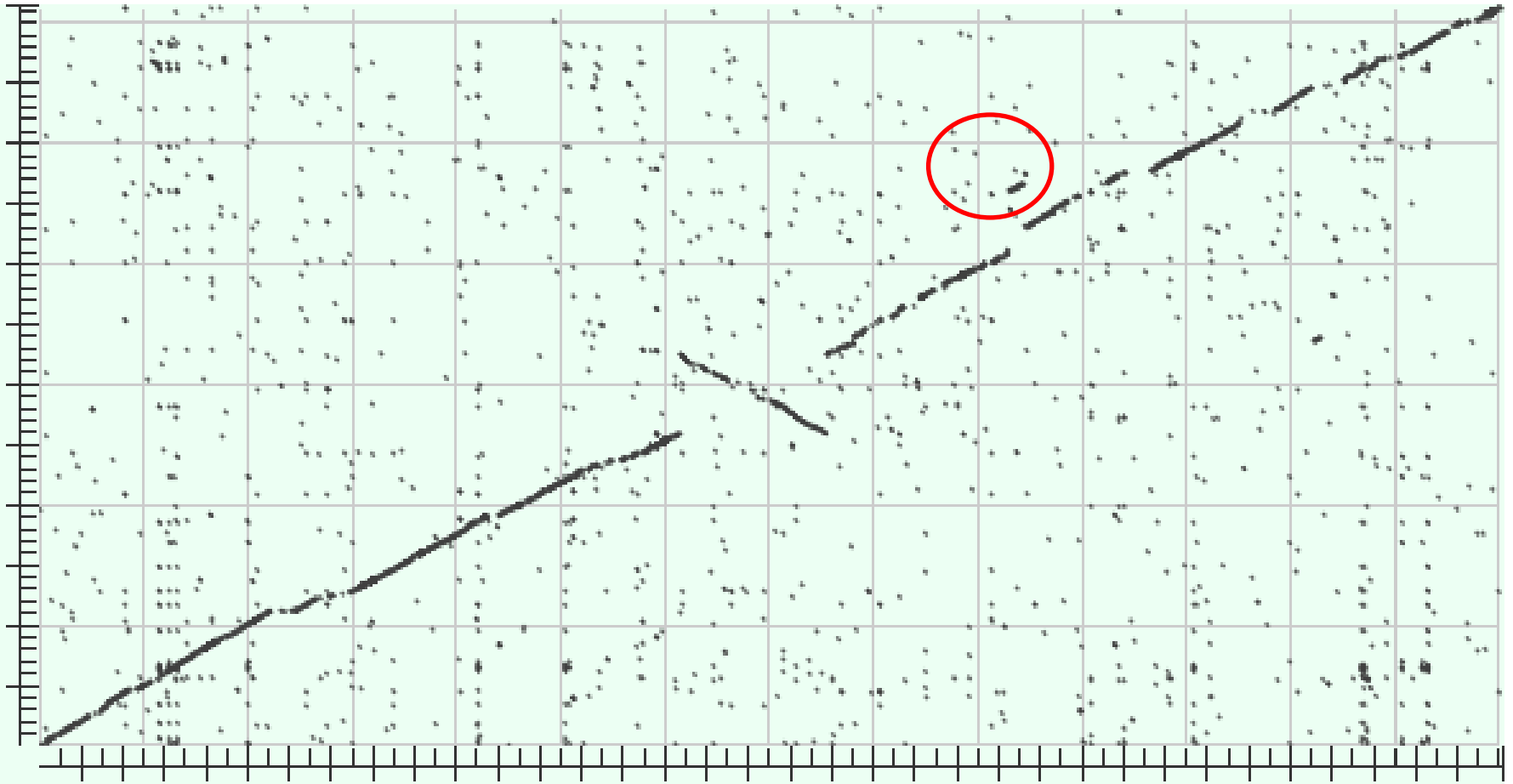
Инверсия



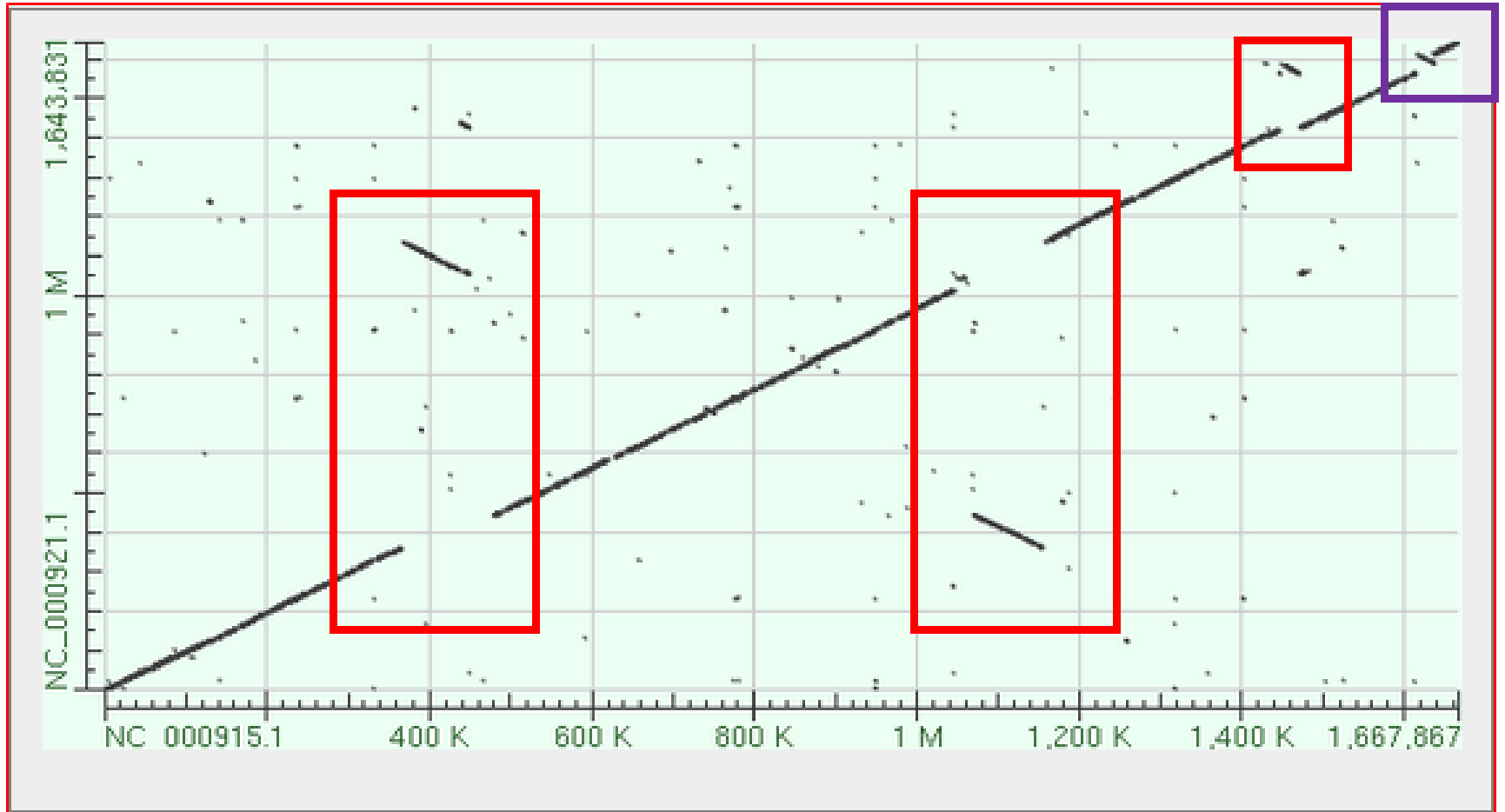
События: Инверсия на месте (*in situ*); делеция в одной из бактерий;



События: ... перемещение участка ДНК в другое место (транслокация) в одной из бактерий



События: ... транслокация с инверсией



“Ребенок от трех родителей”



Emma Foster, 17, of Red Bank, N.J.

Ликбез: Геном человека

The image is a screenshot of the Human Genome Resources website. At the top, the browser address bar shows the URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/human/index.shtml>. The page header includes the NIH logo, "U.S. National Library of Medicine", and "NCBI National Center for Biotechnology Information". A "Log in" link is visible in the top right corner. Below the header, the main title "Human Genome Resources" is displayed in large, bold black text. To the right of the title are four navigation buttons: "Find", "View", "Download", and "Learn". The central part of the page features a karyotype of human chromosomes, with each chromosome represented by a vertical bar with characteristic banding patterns. The chromosomes are labeled with numbers 1 through 22, followed by X, Y, and MT. A red circle highlights the "MT" label. Above the karyotype is a search bar with the text "Search for Human Genes" and a blue "Search" button. At the bottom left of the karyotype area, there is a text prompt: "Select a chromosome to access the genome data viewer".

Некоторые мутации вызывают наследственные заболевания.

Среди них есть мутации в митохондриальной ДНК, приводящие к тяжелому заболеванию - синдрому Ли:

наследственная энцефаломиопатия в детском возрасте.

Типичная мутация в мтДНК, ведущая к синдрому Ли: замена тимина (Т) на гуанин (G) в положении 8993, что ведет к замене аргинина на лейцин в составе 6-й субъединицы фермента АТФазы)

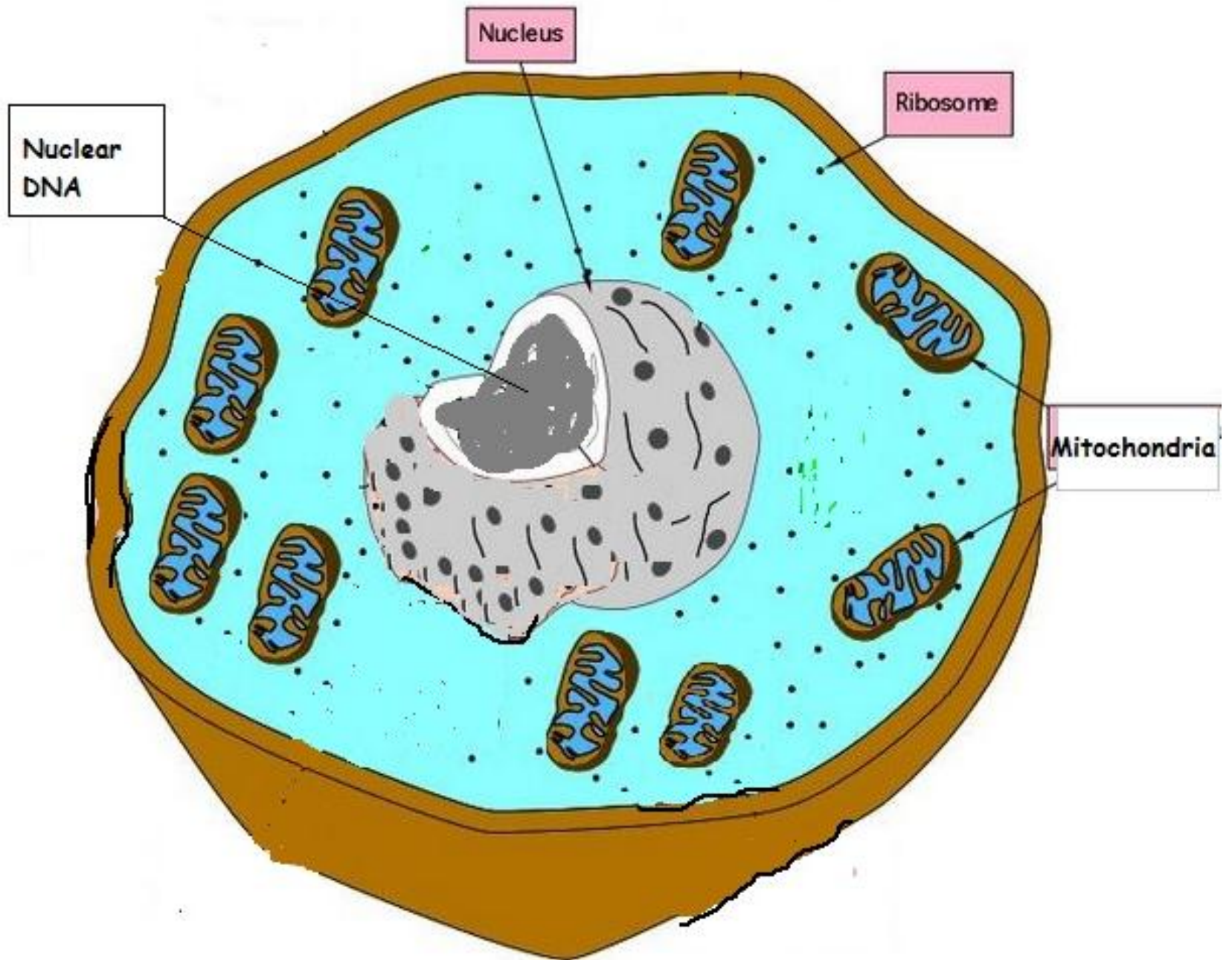
Митохондриальная ДНК содержится в митохондриях – фабрике энергии в клетке.

Митохондрии произошли > 1 млрд лет тому назад путем поглощения бактерии клеткой предка всех эукариот – животных, растений.

С тех пор геном митохондрий претерпел значительные изменения, редуцировался до 16 000 пар нуклеотидов, в нем осталось несколько десятков генов, самых необходимых для дыхания – основного способа получения и запасения энергией.

Но! В зиготе вся митохондриальная ДНК - от мамы.

Папин сперматозоид представлен в зиготе только хромосомами, которые попадают в ядро зиготы.

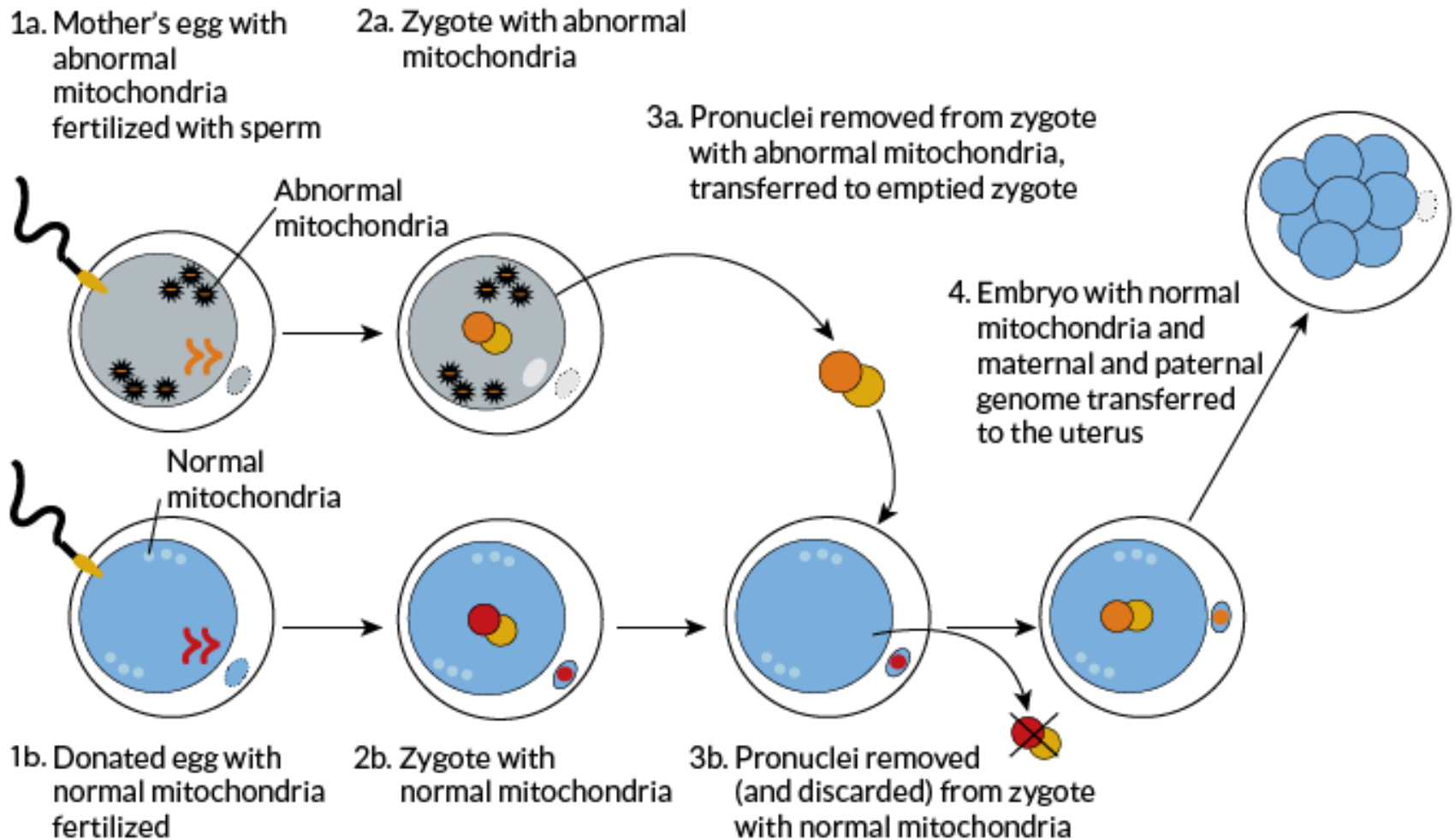


Если митохондриальная ДНК матери содержит вредную мутацию, то она обязательно передаётся плоду.

Митохондрий много. В них мутации могут появляться независимо. Клинические проявления зависят от числа митохондрий с плохой мутацией.

Поэтому у матери может не быть синдрома Ли (т.к. в ее соматических клетках мало плохих митохондрий), а в ее яйцеклетках – много митохондрий с мутациями, что приведет к болезни ребенка – если он сможет родиться.

Схема экстракорпорального оплодотворения с использованием митохондриальной ДНК женщины - донора



Такой способ зачатия разрешен в UK

Первый ребенок по такой схеме родился в апреле 2016 года

По юридическим причинам, экстракорпоральное зачатие выполнено в Мехико, родился ребенок в Нью-Йорке.

У него митохондриальная ДНК от матери - донора (проверено), он здоров.

Эмма Форстер и еще 17 детей были зачаты иначе, но по-видимому, дело тоже в донорской мтДНК. Им в оплодотворенной клетке заменяли 20% цитоплазмы на цитоплазму от яйцеклетки матери-донора.

Такие манипуляции выполняли в США, NJ, с 1996 по 2001 год. Потом они были запрещены в США.

Emma Foster, 17, of Red Bank, N.J.



Jacques **Cohen**, Saint Barnabas Medical Center in Livingston, N.J.

More than 15 years ago, 17 babies were born after an experimental infertility treatment that gave them DNA from three people: Mom, Dad and an egg donor.

Now researchers have checked up on how the babies are doing as teenagers. The preliminary verdict: The kids are all right.

Cohen's hospital performed the infertility treatment between 1996 and 2001 on 33 couples who failed to conceive after roughly five tries at in vitro fertilization.

КОНЕЦ ПРЕЗЕНТАЦИИ