

Buněčné jádro

J. Vondráček

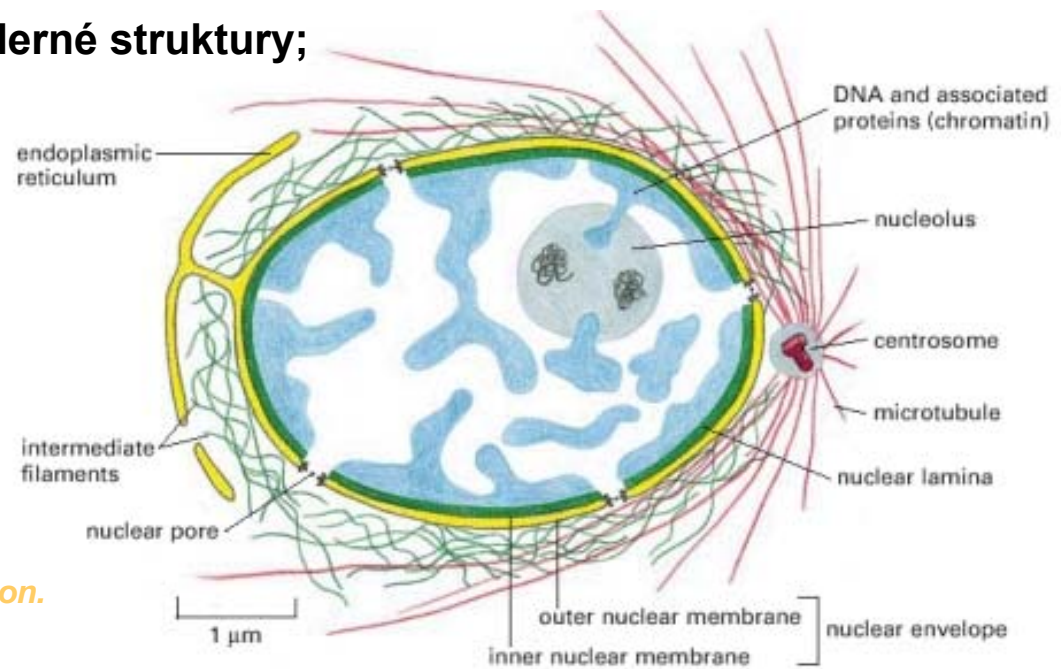
Téma přednášky

- BUNĚČNÉ JÁDRO A JEHO DYNAMIKA
- přehled struktury buněčného jádra a chromatinu;
- komunikace mezi složkami buněčného jádra a cytoplazmou;
- variabilita buněčného jádra v živočišných buňkách;

Stavba buněčného jádra živočišné buňky

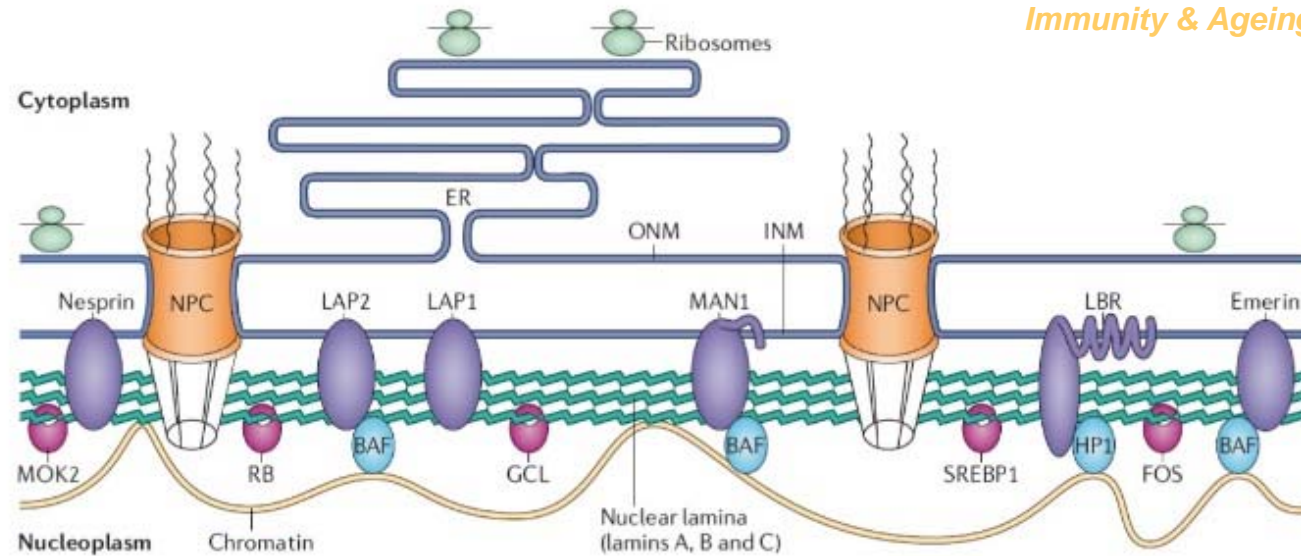
Interfázní jádro živočišné buňky:

- **vnitřní a vnější jaderná membrána;**
- **perinukleární prostor;**
- **jaderná lamina;**
- **jaderné póry;**
- **chromatin;**
- **jadérko a další subjaderné struktury;**



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

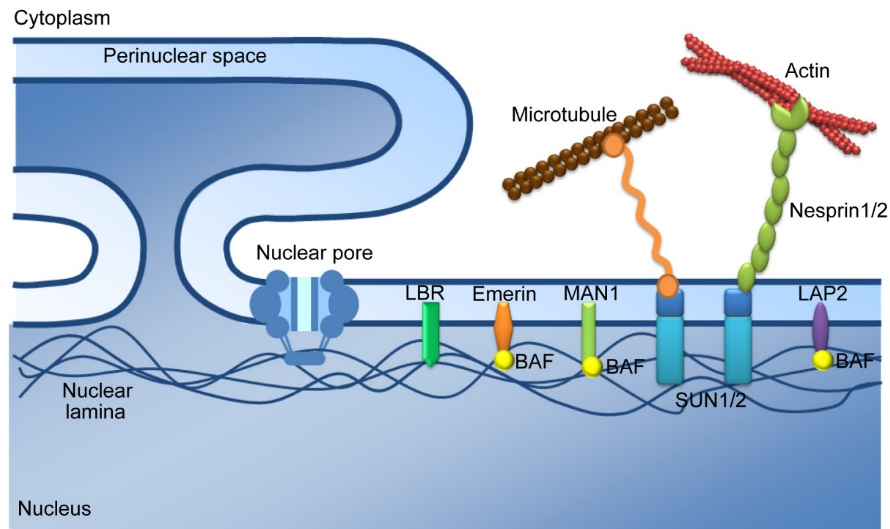
Jaderná lamina a její funkce



- **jaderná lamina** leží na vnitřní straně vnitřní jaderné membrány
- funkce –**stabilizuje jádro, podílí se na organizaci chromatinu, váže jaderné póry a řadu proteinů jaderné membrány i transkripčních regulátorů;**
- hlavní složkou laminy živočišných buněk jsou laminy – **laminy** – vláknité proteiny vytvářející intermediární filamenta;
- **laminy typu A – A a C** – převážně v diferencovaných buňkách;
- **laminy typu B – B1 a B2** – ve všech buňkách;
- jsou propojené s proteiny vnější jaderné membrány a cytoskeletem;

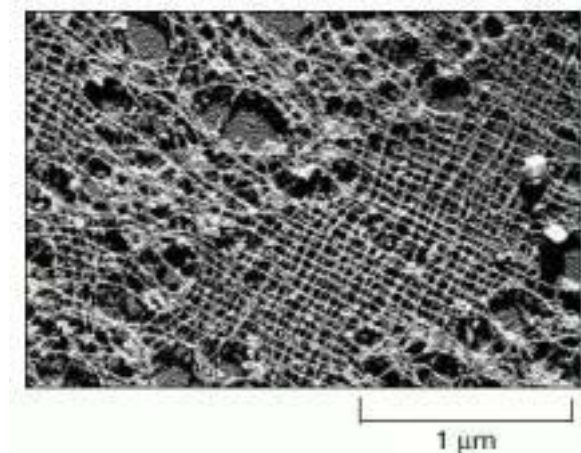
Jaderná lamina a její funkce

- ▶ druhou složkou jsou proteiny asociované s jadernou laminou - lamin associated polypeptide 1 a 2 (LAP1, LAP2), emerin, lamin B-receptor (LBR), otefin a MAN1;
- ▶ propojena přímo či nepřímo s povrchem jádra, ER a cytoskeletem;
- ▶ dědičné poruchy struktury a funkce laminů – laminopatie;



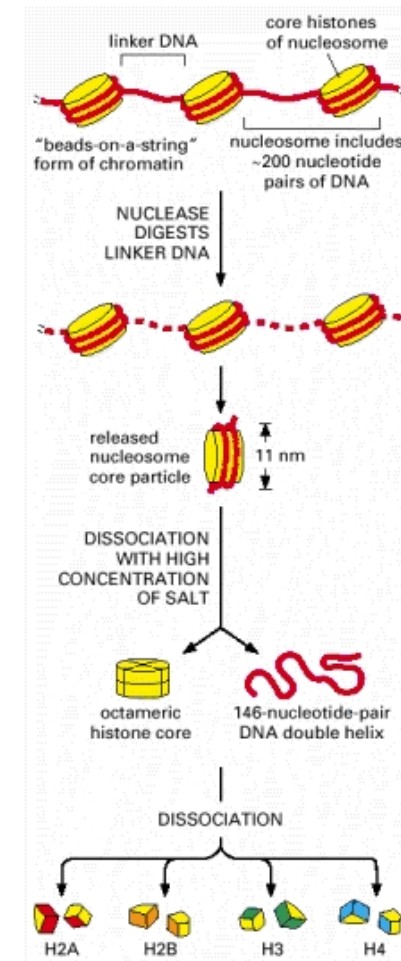
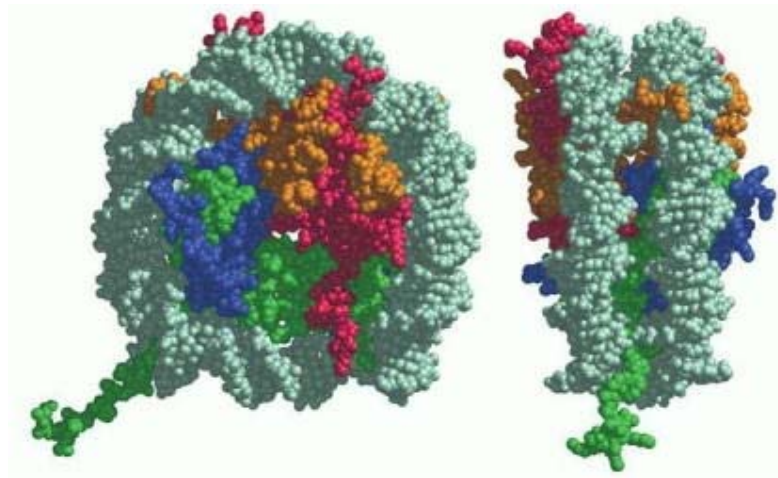
J. Biomed. Sci., 2009, 16:96

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*



Chromatin

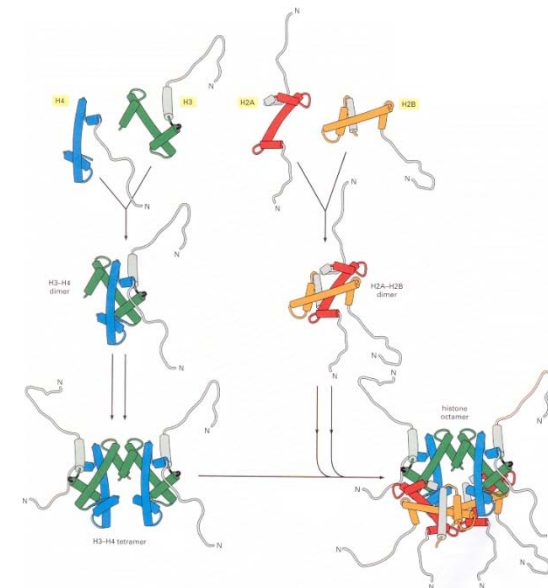
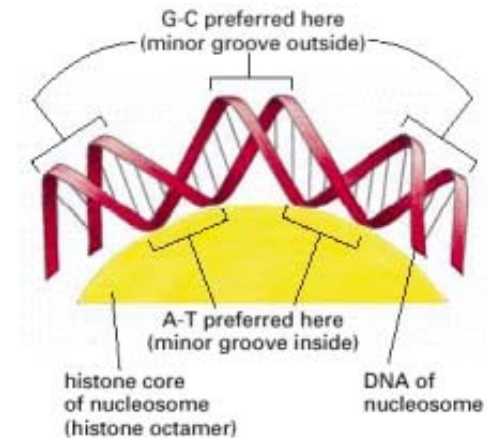
- genomová DNA je v jádře spolu s asociovanými proteiny organizována to jednotlivých chromozómů vytvářejících chromatin;
- základní jednotkou je **nukleozóm** – DNA + histony, ale s DNA je asociována také řada dalších proteinů:



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Nukleozómy dynamicky interagují s DNA

- DNA je propojena s histony v nukleozómu prostřednictvím vodíkových můstků, prostřednictvím hydrofobních interakcí i na základě rozdílného náboje (pozitivní histony – jedna pětina AA jsou Lys a Arg - vs. negativní DNA);
- všechny histony mají **N-terminální úsek** orientovaný mimo nukleozóm – regulační význam – kontrola struktury chromatinu – zásadní význam jak pro replikaci tak pro transkripci;
- vedle sekvenčně vysoce konzervovaných „core“ histonů, vytvářejí buňky i menší množství **variantních histonů** (histone variants) s modifikovanou DNA sekvencí – podobně jako post-translační modifikace se podílejí na regulaci struktury chromatinu;



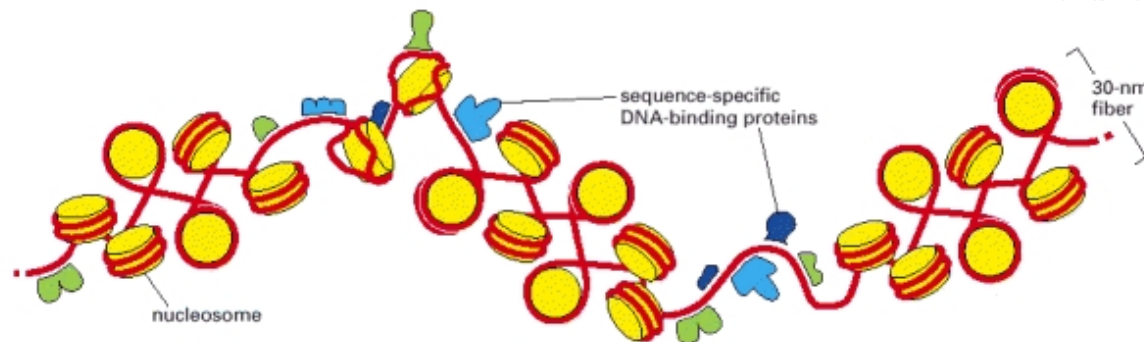
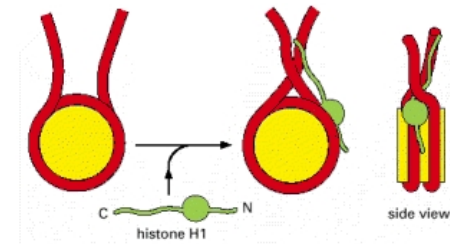
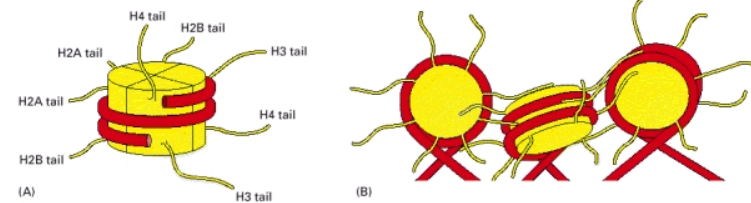
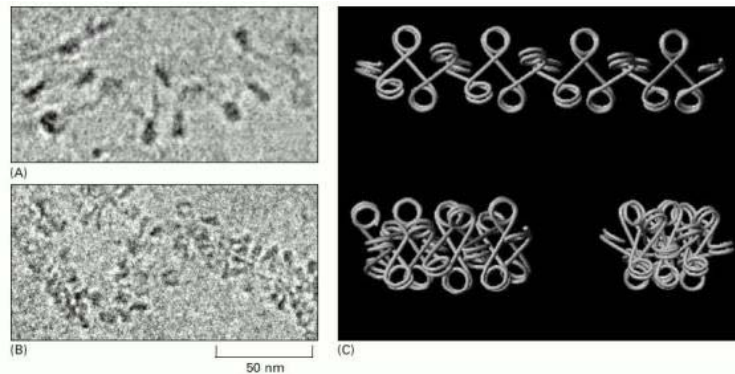
*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Komplexy remodelující chromatin

- ▶ vazba DNA-histony je dynamická - **komplexy proteinů obsahujících podjednotku hydrolyzující ATP** – tato energie je využita k částečnému uvolnění DNA z nukleozómu a posunu (**nucleosome sliding**) – může dojít k vystavení specifických oblastí DNA jiným proteinům (transkripční regulátory, replikace DNA, opravy DNA);
- ▶ spolu s dalšími proteiny (histonové chaperony) mohou tyto komplexy také katalyzovat úplné odstranění core histonů (**ejection**), **odstranění dimeru H2A – H2B, nebo jeho nahrazení dimerem**, který obsahuje **H2A variantu** – např. H2A.Z);
- ▶ těchto komplexů je v buňce velké množství (obsahují často 10 a více proteinových podjednotek) a většina je regulována v závislosti na dalších faktorech regulujících transkripci;

Nukleozómy vytvářejí 30 nm vlákno

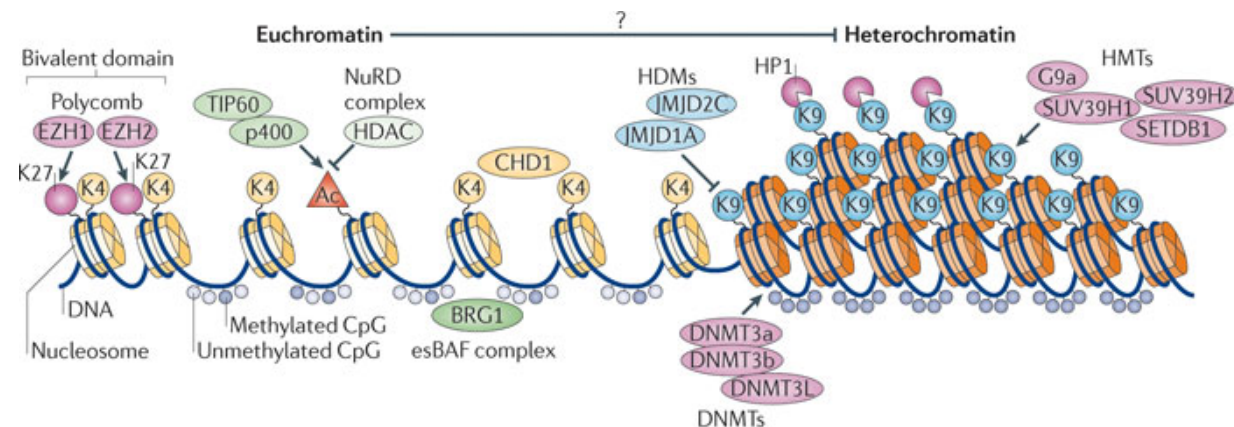
- jednotlivé nukleozómy vytvářejí struktury vyššího řádu – jak jsou vytvářeny, není dosud zcela jasné – **zig-zag teorie** – interakce zprostředkovaná N-terminálními oblastmi a histonem **H1** (spojovací – „**linker**“ histon - není součástí core histonů):



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Heterochromatin vs. euchromatin

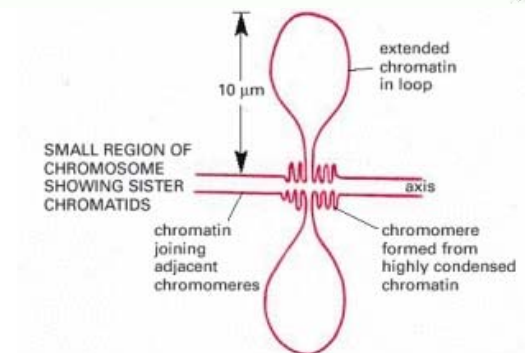
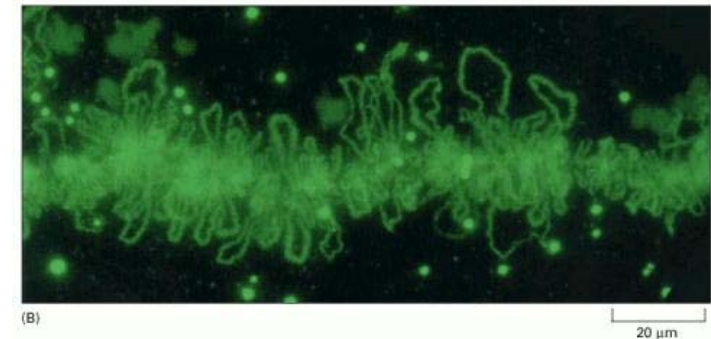
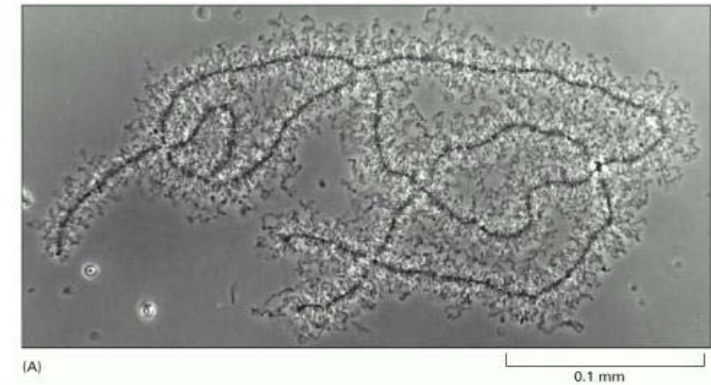
- ▶ chromatin je v jádru přítomen ve vysoce kondenzované formě – **heterochromatin**, nebo jako méně kondenzovaný **euchromatin**;
- ▶ heterochromatin je lokalizován v oblasti centromer a telomer, ale v dalších oblastech chromozómů se dynamicky mění v souvislosti s epigenetickými regulacemi a regulací transkripce;
- ▶ typicky obsahuje menší množství genů, často DNA repetice;
- ▶ heterochromatin typicky stimuluje tvorbu heterochromatinu v přilehlých oblastech na chromozómech – umlčování sousedících genů;



Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

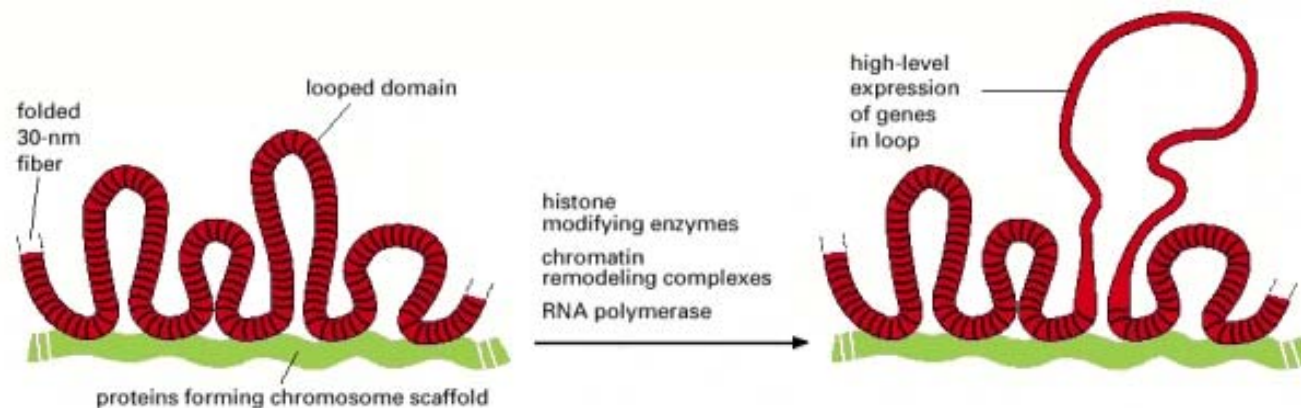
- ▶ i jako 30 nm vlákno by byl chromozóm stále příliš dlouhý – i interfázní chromozóm proto musí vytvářet struktury vyššího řádu;
- ▶ packaging vyššího řádu vychází z tvorby smyček – poznatky na základě některých atypických chromozómů;
- ▶ kartáčové (štetkovité) chromozómy – **lampbrush chromosomes** - v oocytech obojživelníků;
- ▶ ve smyčkách – dekonzenzovaný chromatin – aktivní syntéza RNA – naopak v ose chromozómu – kondenzovaný chromatin – tyto geny nejsou obvykle exprimovány;
- ▶ předpokládá se, že interfázní chromozómy ostatních eukaryot jsou uspořádány podobně;

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*



Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

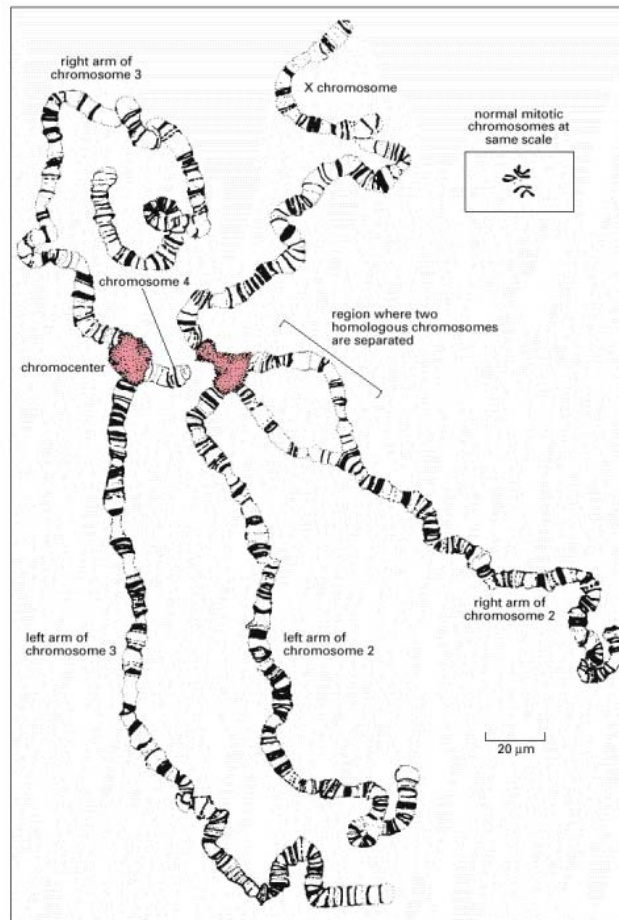
- ▶ smyčky chromozómů v interfázním normálních buněk jádře jsou příliš malé pro pozorování – dají se detekovat prostřednictvím speciálních technik;
- ▶ **smyčky obsahují 50 – 200 tis. párů nukleotidů kondenzovaných do podoby chromatinového vlákna** (mechanismus je nejasný);
- ▶ ty jsou připojeny k ose chromozómů – její vlastní složení a jak je chromatin k ní připojen není příliš jasné – může obsahovat (během mitózy) proteiny jako kondenziny, topoizomerázy II apod.



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

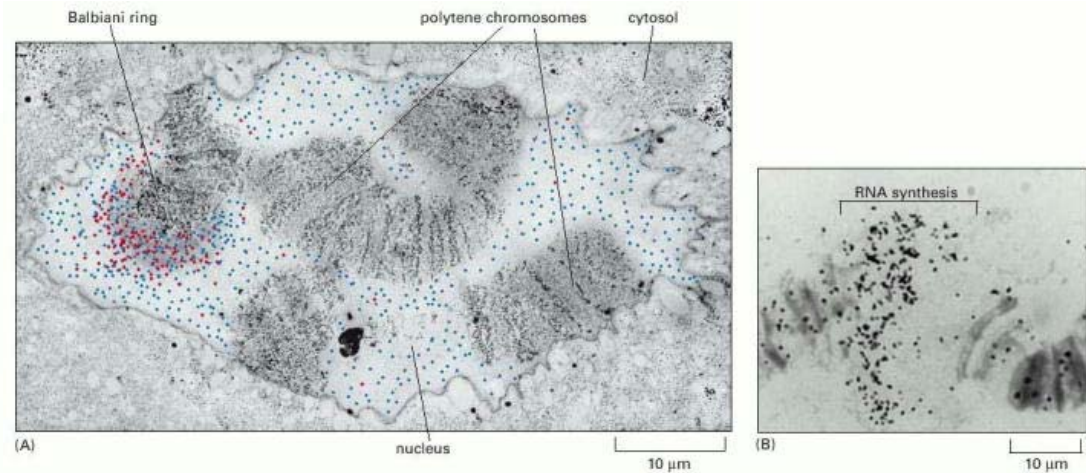
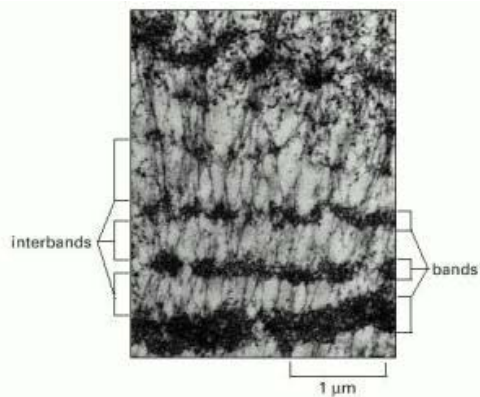
- ▶ další informace – pozorování polytenních chromozómů ve slinných žlázách některých druhů hmyzu;



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

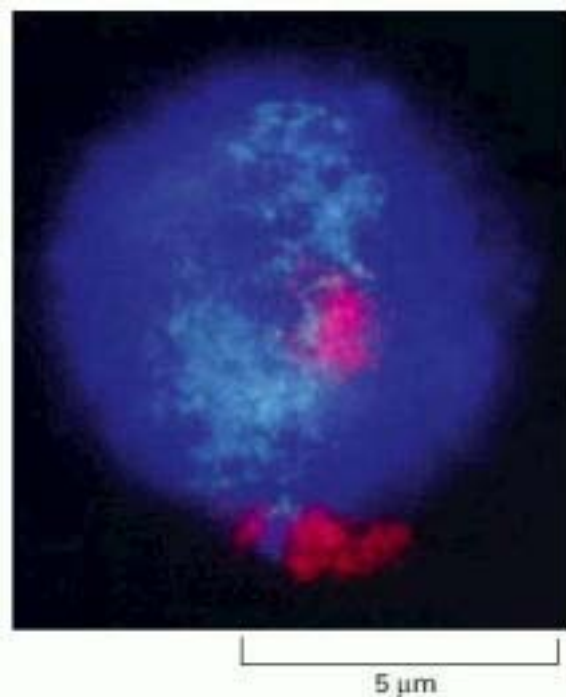
- ♦ zvláštním typ somatických chromozómů vznikající po mnohonásobné endoreduplikaci - výsledkem jsou chromozómy obsahující stovky až tisíce neoddělených chromatid;
- ♦ proužky – kondenzovaný chromatin (3 – 200 tis. nukl.) – světlé oblasti – dekonenzovaný chromatin – podobné uspořádání jako v kartáčových chromozómech; střídáním tmavých proužků a světlých difúzních meziproužků - sekvence je stabilní a dědičná;
- ♦ umožňují sledovat **uspořádání chromatinu v interfázi – v závislosti na přítomnosti specifických typů histonů, nehistonových proteinů apod., případně přímo transkripci;**
- ♦ proužky jsou nabobtnalé - vytvářejí disky, které se označují se jako „puffs“ (Balbianiho prstence) - zde probíhá aktivní syntéza mRNA;



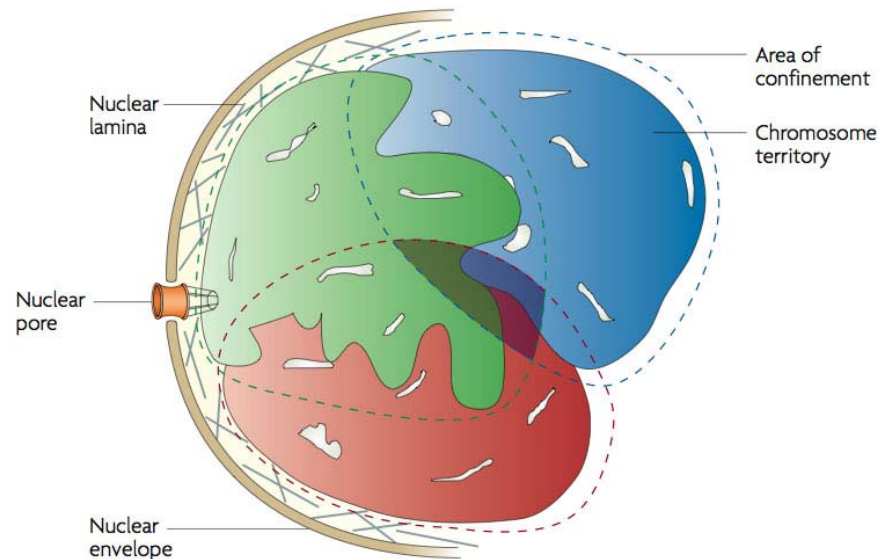
*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

- ▶ v interfázním jádře buněk savců – chromozómy jsou umístěny v oddělených lokacích – chromozomálních teritoriích – interagují mezi sebou i s dalšími jadernými strukturami;
- ▶ heterochromatin často asociován s jadernou laminou;



chromozóm 18 (červená) a 19 (tyrkysová) v jádře periferního lymfocytu

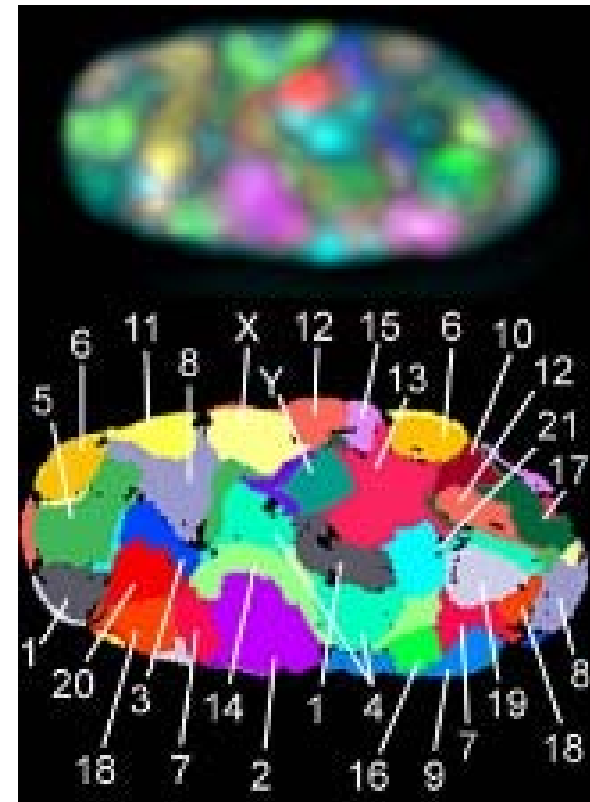


Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Struktura a lokalizace chromozómů v jádře

- ▶ v interfázním jádře buněk savců – chromozómy jsou umístěny v oddělených lokacích – chromozomálních teritoriích – **interagují mezi sebou i s dalšími jadernými strukturami**;
- ▶ **pozice genů v jádře se mění v závislosti na intenzitě exprese**; často dochází po dekondenzaci chromatinu k vytvoření smyčky, která se nachází mimo teritorium daného chromozómu – pravděpodobně to souvisí s nutností asociace s proteiny zapojenými do transkripce – DNA se přemisťuje do oblastí bohatých na tyto proteiny;
- ▶ tyto oblasti (podobně jako jadérka, Cajalových tělísek, interchromatinových granulí apod.) **vytvářejí struktury umožňující přístup proteinům a RNA – vytvářejí specifické biochemické prostředí** nezbytné pro reakce spojené s transkripcí a post-transkripčními úpravami mRNA;
- ▶ dochází tak ke **kompartmentalizaci jádra** bez nutnosti využití membrán;
- ▶ tyto oblasti nesouvisejí jen s transkripcí – specifické oblasti jsou spojovány např. s opravami DNA;
- ▶ **existuje jaderná matrix** – analogie cytoskeletu??

PLoS Biol 3(5): e157

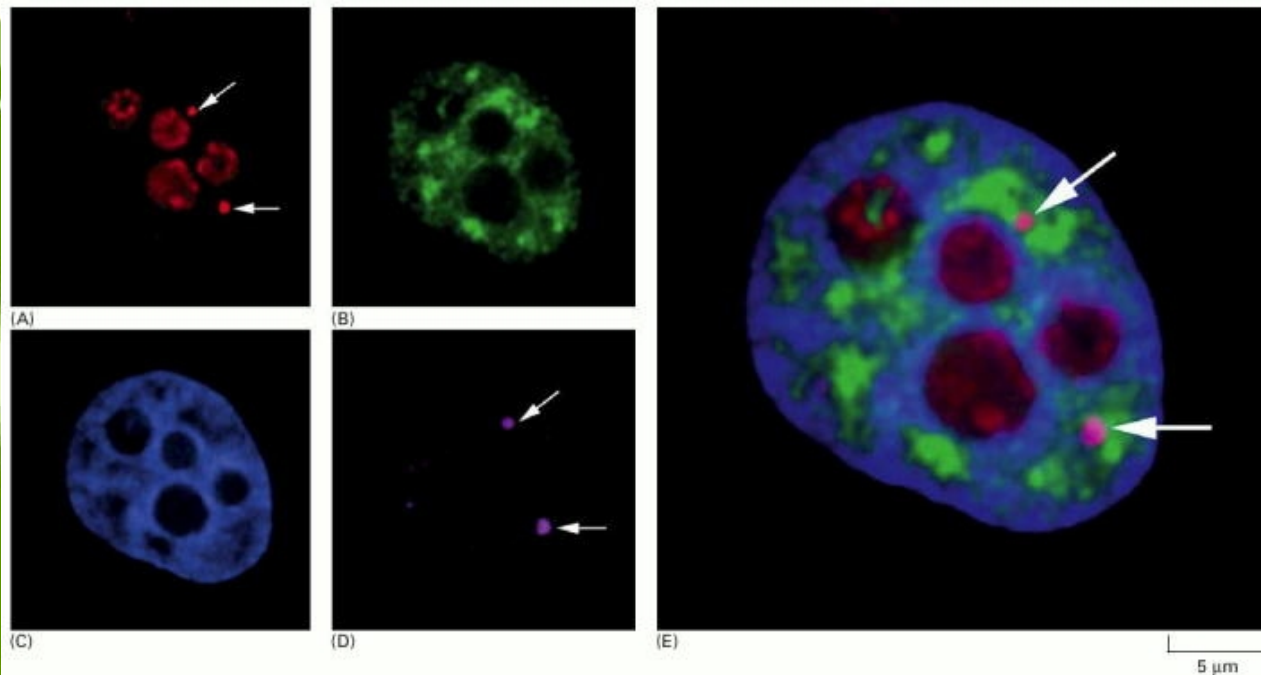


pozice všech chromozómů v jádře lidského fibroblastu

Subjaderné struktury

- obsah jádra tedy není amorfní směs proteinů a nukleových kyselin – má svoji strukturu a řád;
- v rámci jádra se dají rozpoznat další struktury – především **jadérko** (nukleolus), ale i řada dalších: **Cajalova tělíska** (Cajal bodies), **interchromatinová granula** (speckles nebo splicing speckles), perichromatinová granula, apod.;
- **velmi dynamické struktury** (mění se v závislosti na intenzitě transkripce i buněčném cyklu), které **nejsou definovány membránou**; vznikají v důsledku asociace proteinů a RNA zapojených do syntézy a ukládání makromolekul, které se podílejí na genové expresi – syntéze mRNA;
- dají se většinou lokalizovat sondami detekujícími specifické proteiny;

Subjaderné struktury



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

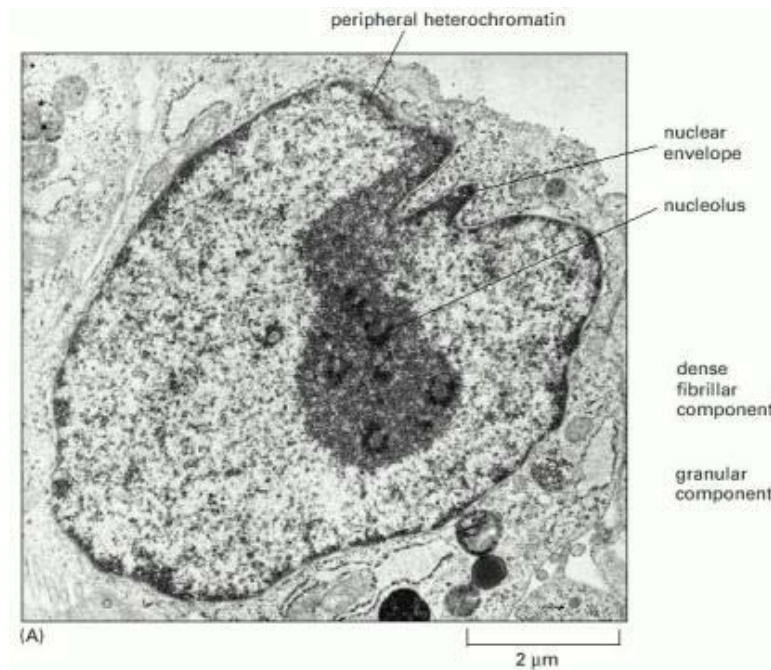
- červeně – fibrilarin – komponent malých jadérkových ribonukleoproteinů – součást jadérka a Cajalových tělísek;
- růžově – koilin – marker Cajalových tělísek;
- zeleně – interchromatinová granula (protein podílející se na sestřihu mRNA);
- modře - DNA – dekondezované chromozómy (DAPI);

Subjaderné struktury

- **Cajalova tělíska** – maturace malých jaderných a jadérkových nukleoproteinů (snRNP a snoRNP), recyklace snRNP po změnách, které v nich proběhly v průběhu sestřihu;
- **interchromatinová granula** – ukládání zralých snRNP a dalších komponent zapojených do post-transkripčních úprav RNA;
- v jádře existují, aby se **lokálně zvýšila koncentrace jejich komponent a zrychlilo se tak sestavování funkčních snRNP a snoRNP**;
- **v řadě buněk nemusí být detekovatelné, ale jsou nezbytné např. pro rychle proliferující buňky**, např. v časně embryogenezi;
- na rozdíl od ukládání a maturace komponent podílejících se na post-transkripčních úpravách, **vlastní sestřih neprobíhá ve specializovaných strukturách, ale ko-transkripčně – v místech syntézy pre-mRNA**;
- „továrny“ na mRNA (mRNA production factory) – v místech transkripce jsou obsaženy jak komponenty transkripce, tak sestřihu RNA – agregáty proteinů a RNP, spolu s interchromatinovými granuly (zásobárna materiálu);

Jadérko a syntéza ribozómů

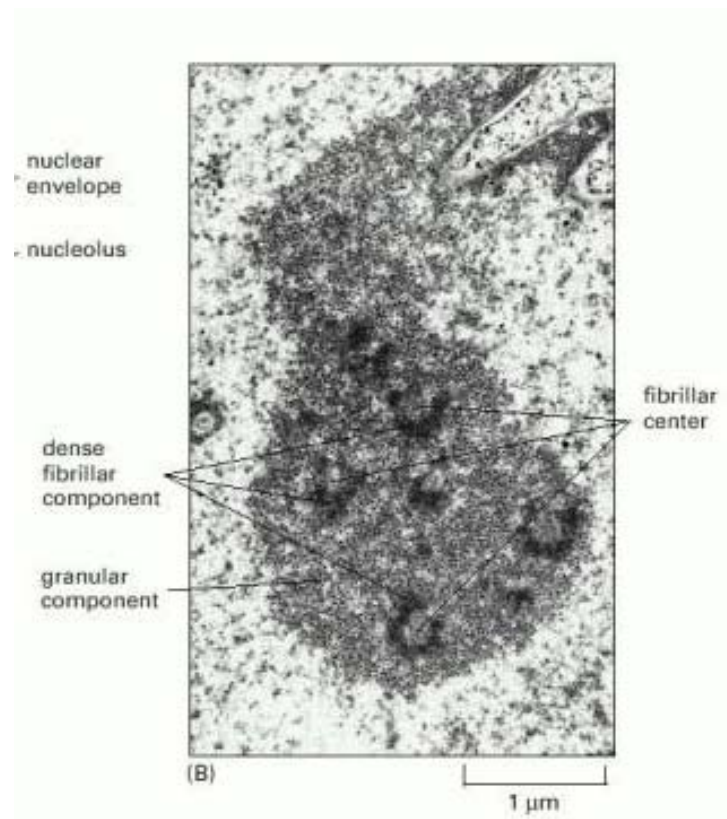
- ▶ nejvýraznější strukturou pozorovatelnou v buněčném jádře je **jadérko**;
- ▶ je to místo kde probíhají úpravy **ribozomální RNA (rRNA)** a **sestavování podjednotek ribozómů**; **místo syntézy a úprav dalších nekódujících RNA**;
- ▶ není to definovaná organela – shluk makromolekul zahrnující DNA kódující rRNA, pre-rRNA, zralé rRNA, proteiny podílející se na sestavování (assembly) ribozómů, ribozomální proteiny, částečně sestavené ribozómy, apod.;



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Jadérko a syntéza ribozómů

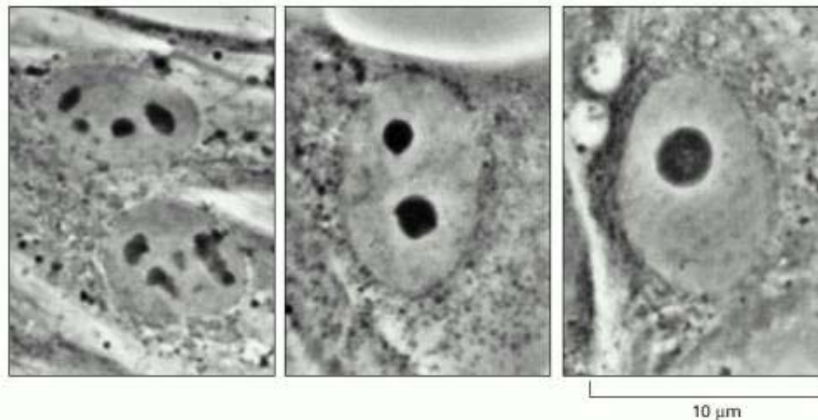
- ▶ **fibrilární centrum** – probíhá transkripce pre-rRNA;
- ▶ síť vláken přecházející v granulózní oblast – probíhají zde úpravy rRNA a následné sestavování ribozomálních podjednotek;



Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

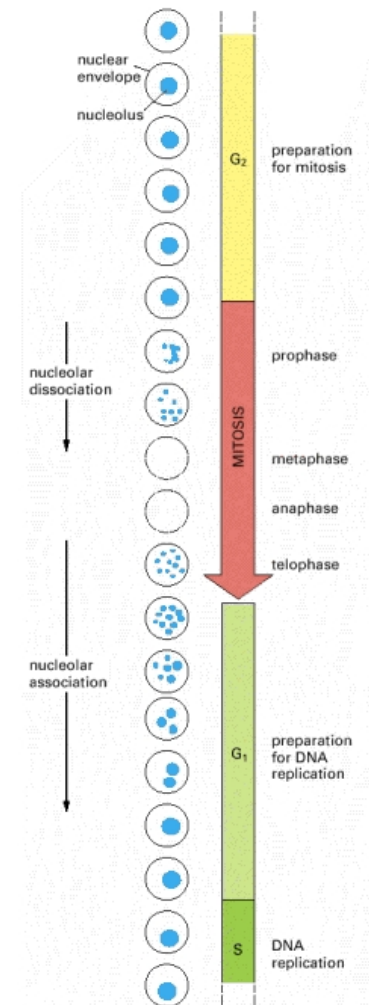
Dynamické změny jadérka v průběhu buněčného cyklu

- ▶ v lidských buňkách jsou geny kódující rRNA distribuovány do 10 klastrů – v koncových oblastech 5 chrom. párů - v průběhu mitózy dojde ke kondenzaci chromozómů a jadérko se rozpadá; teprve v telofázi dojde znovu ke zformování malých jadérek, které následně fúzí v jediné interfázní jadérko;
- ▶ velikost jadérka závisí na intenzitě proteosynézy – v buňkách produkujících velké množství proteinů může tvořit až čtvrtinu objemu jádra;



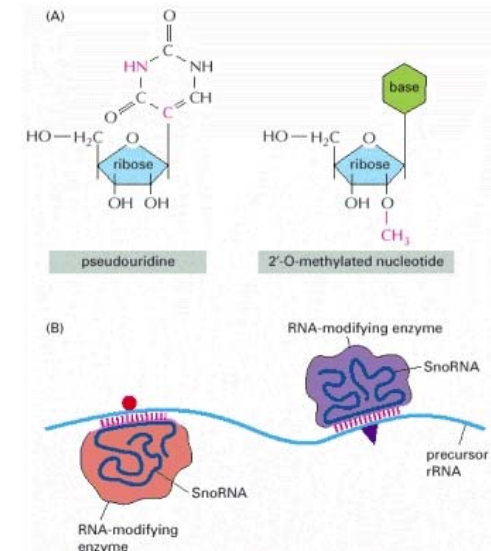
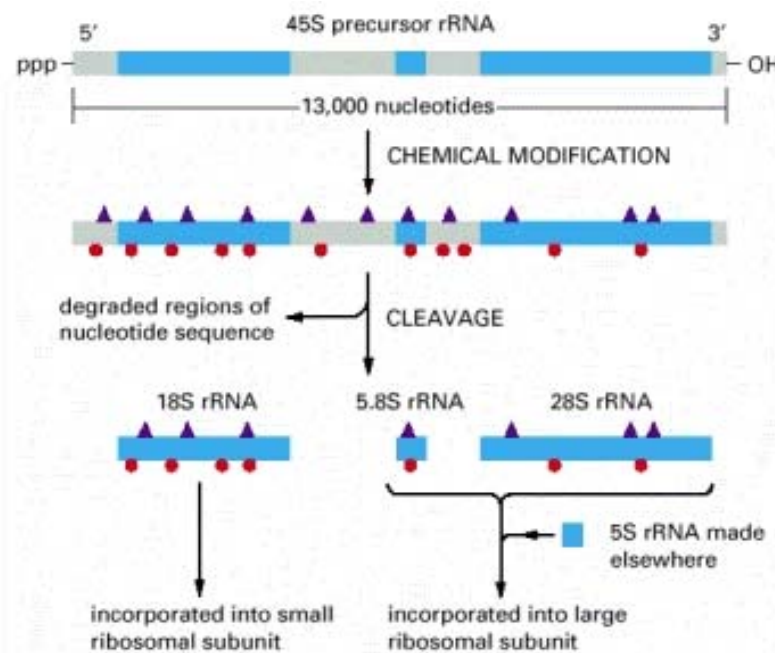
fúze jadérek v lidském fibroblastu

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*



Syntéza a úpravy rRNA

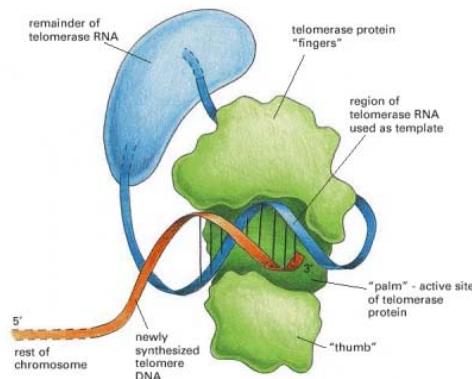
- ▶ živočišné buňky obsahují **několik set kopií genů pro rRNA** (člověk – cca 200; drápatka – 600) – rRNA je finální produkt – 1 kopie = 1 molekula rRNA (na rozdíl od mRNA, kde slouží jako matrice pro translaci velkého počtu proteinů); RNA polymeráza I – podobná RNApol II – ale nedochází k tvorbě čepičky a polyadenylaci;
- ▶ 4 typy - 18S, 5,8S a 28S (**modifikace, štěpení a chemická modifikace** 45S pre-rRNA – methylace, isomerizace) a 5S rRNA (vzniká z jiných genů, působením RNA pol III a není chemicky pozměněna); snoRNP – enzymy obsahují malé jadéřkové RNA, které rozpoznávají specifické sekvence pro chemické modifikace (guide RNA);



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

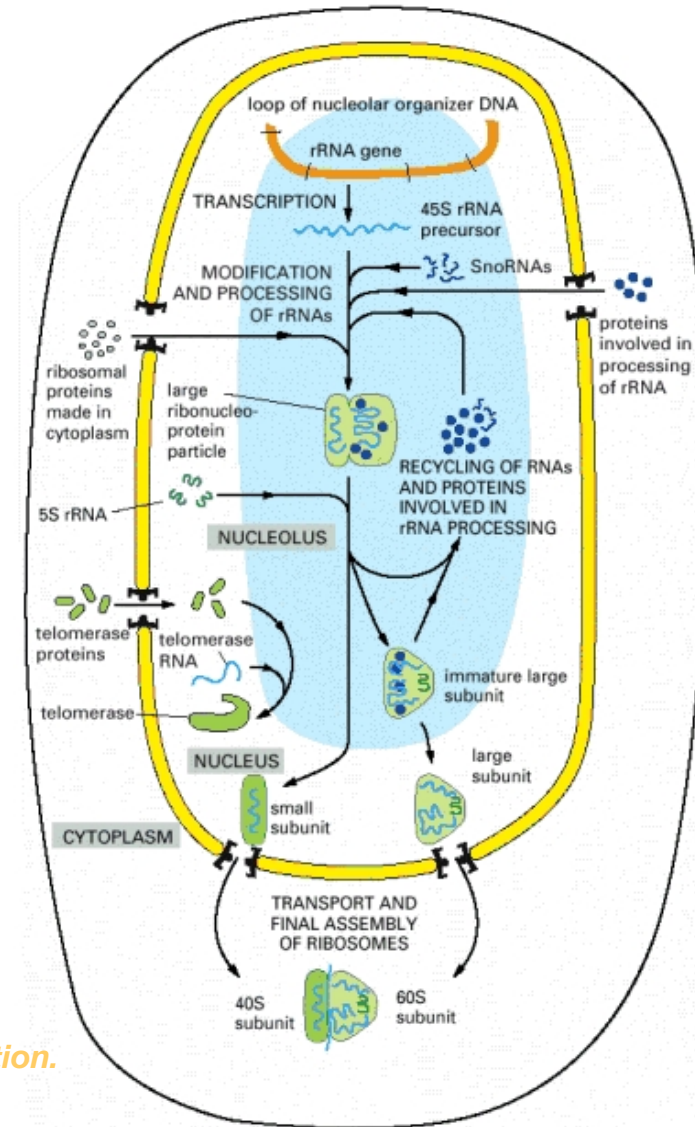
Jadérko – tvorba ribozómů, ale i dalších nekódujících RNA

- vedle tvorby ribozómů probíhá v jadérku i syntéza řady nekódujících RNA podléjících se na tvorbě snRNP;
- tvorba komplexů protein – RNA – např. telomeráza;



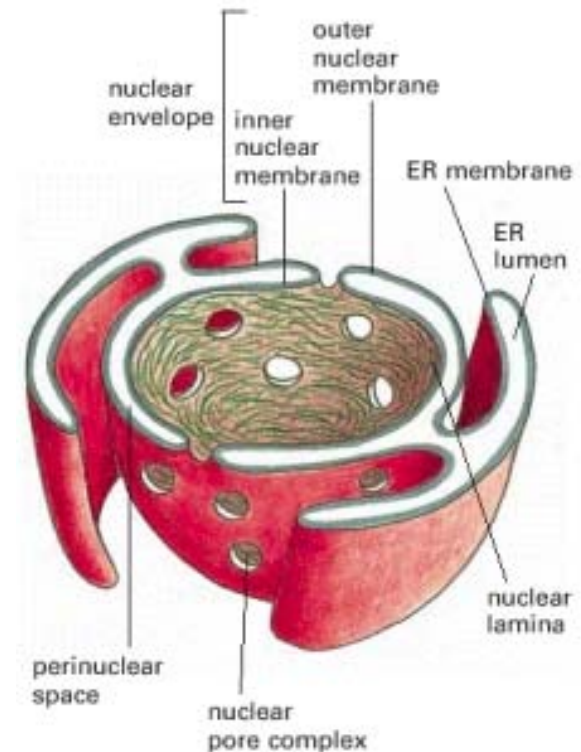
- probíhají zde úpravy transferové RNA (tRNA) – geny kódující tRNA jsou lokalizovány v klastrech v jadérku;

Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.



Principy transportu mezi jádrem a cytosolem

- ▶ jaderný obal (nuclear envelope) sestává z:
 - **vnitřní a vnější jaderné membrány** obklopující **perinukleární prostor**;
 - perinukleární prostor je přímo spojen s endoplazmatickým retikulem;
 - na vnitřní j. membráně jsou lokalizovány proteiny umožňující vazbu chromozómů a jaderné **laminy**;
 - jaderná lamina umožňuje vazbu chromozómů a cyt. cytoskeletu (prostřednictvím proteinů procházejících jaderným obalem);
 - na vnější jaderné membráně je lokalizováno velké množství **ribozómů** – probíhá zde intenzivní proteosyntéza proteinů uvolňovaných do perinukl. prostoru;
 - jádro je propojeno s cytosolem prostřednictvím **jaderných pórů**;



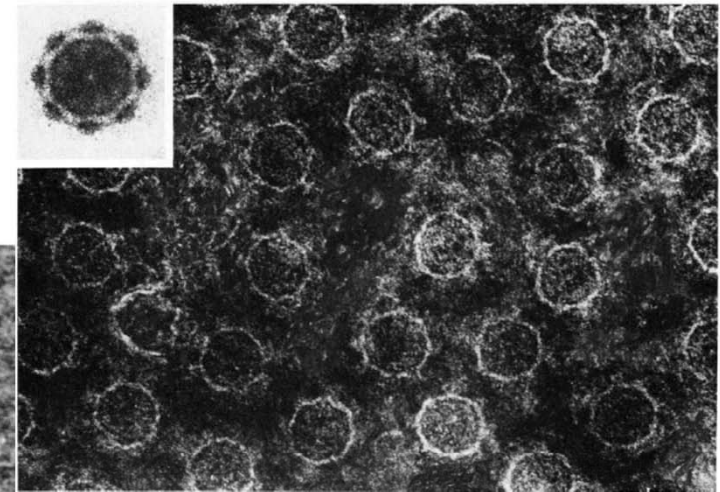
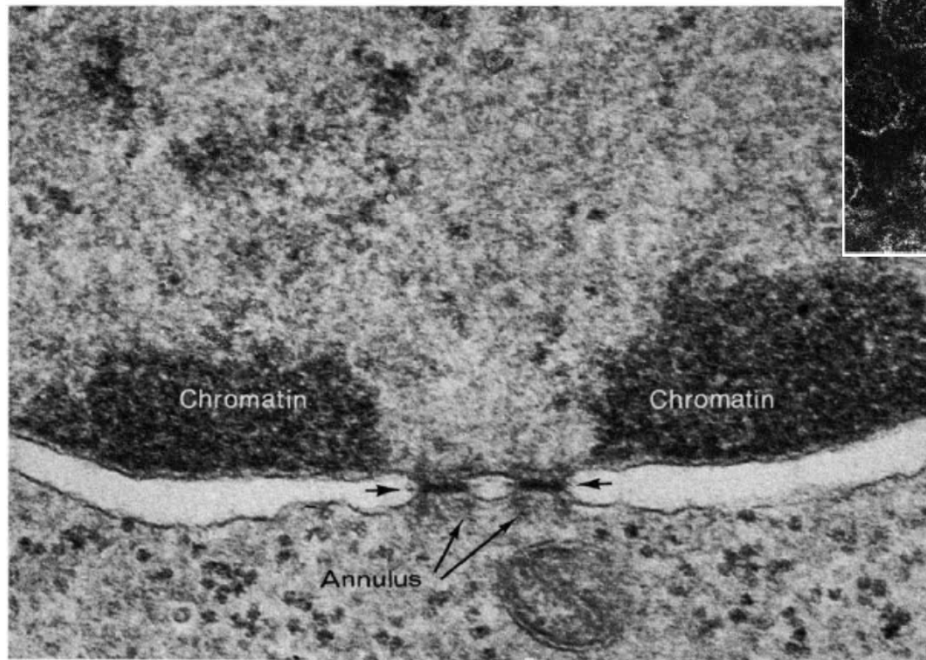
*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Principy transportu mezi jádrem a cytosolem

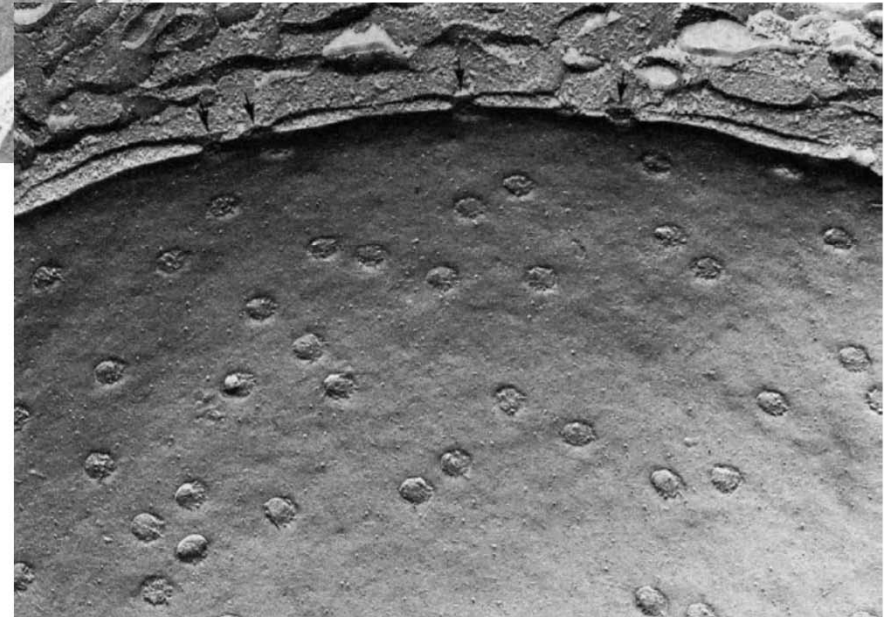
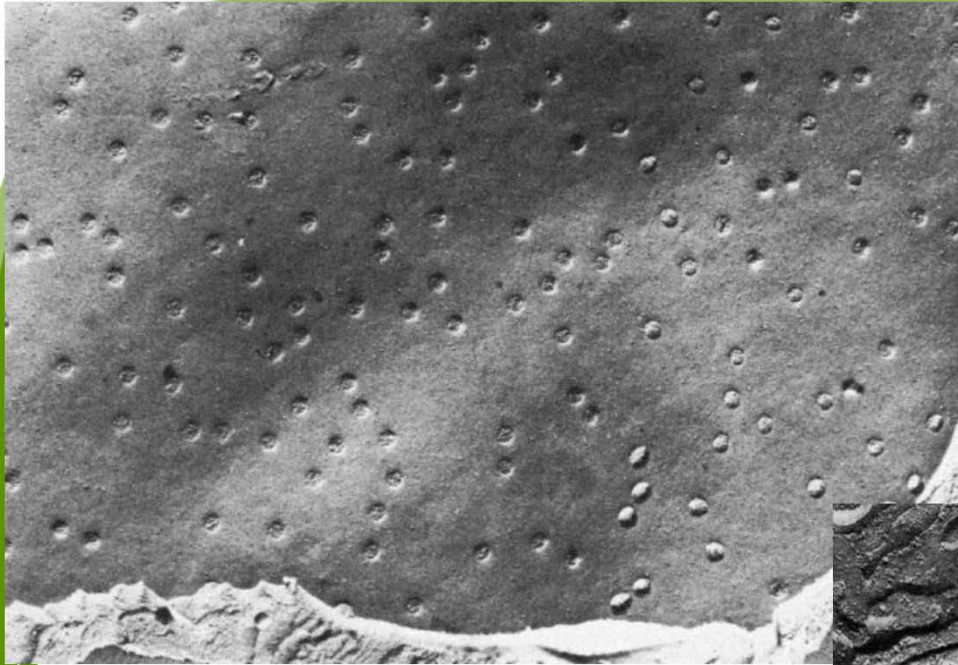
- ▶ mezi jádrem a cytosolem probíhá **velmi intenzivní transport**;
- ▶ **jaderné proteiny** (histony, DNA polymerázy, RNA polymerázy, transkripční regulátory, proteiny zapojené do procesování RNA) jsou **importovány do jádra z cytosolu**;
- ▶ naopak **téměř všechny formy RNA** – mediátorová, ribozomální, transferová, mikro a malé jaderné RNA jsou **exportovány do cytosolu**;
- ▶ proces transportu je často velmi složitý – např. ribozomální proteiny jsou importovány do jádra, kde se spojují s rRNA a vytvářejí částice, které jsou následně exportovány do cytosolu, kde dochází k finálnímu sestavení ribozómů;
- ▶ ve všech těchto krocích musí příslušný protein/RNA překonat jadernou membránu;
- ▶ + transport nukleotidů, ATP a všech dalších malých molekul (volný průchod jadernými póry – jaderná membrána je pro ně „permeabilní“);

Jaderné póry

- ▶ velká struktura – dobře pozorovatelná v EM;
- ▶ 1 x 4 osy souměrnosti;



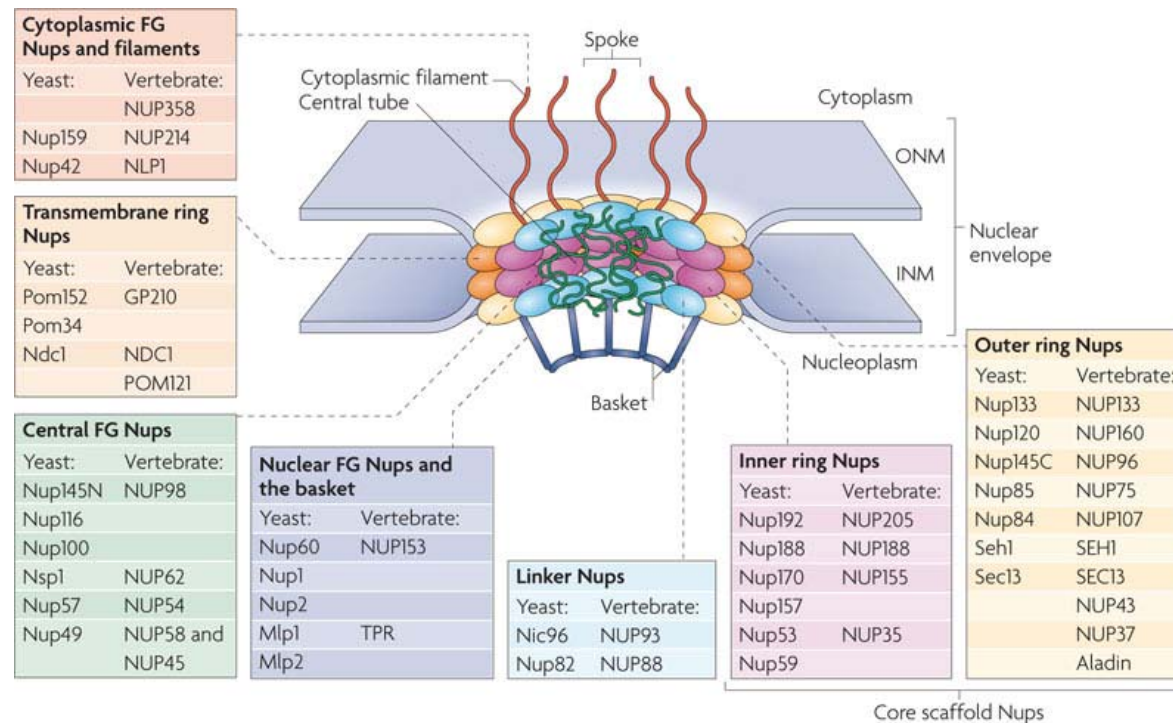
Rozložení jaderných pórů



*The Cell. Fawcett D.W.
Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1981*

Struktura jaderného póru

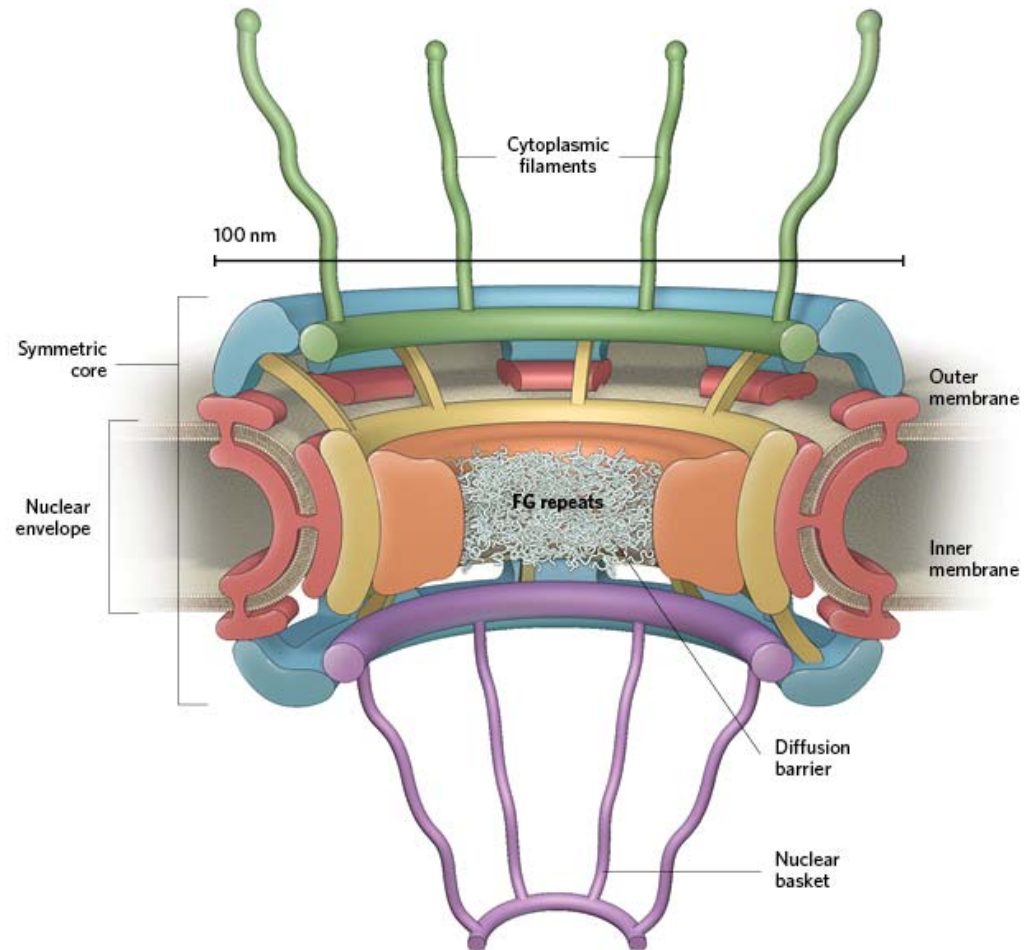
- ▶ pro transport jsou nezbytné jaderné póry – komplexy proteinů – nukleoporinů (cca 30);
- ▶ **komplex jaderného póru** – 500 – 1000 proteinů (MW 125 MDa) – uspořádané symetricky;
- ▶ savčí buňka obvykle obsahuje 3 – 4000 pórů (od několika 100 po 20000);



Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2010, 11: 490-501

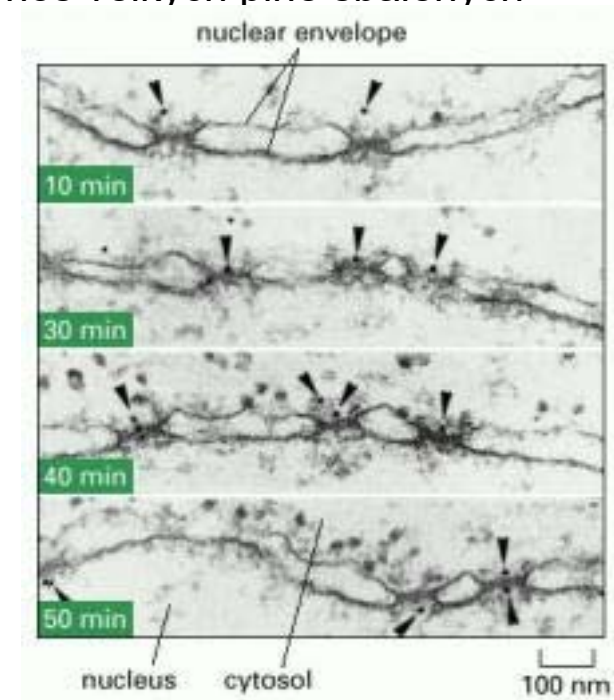
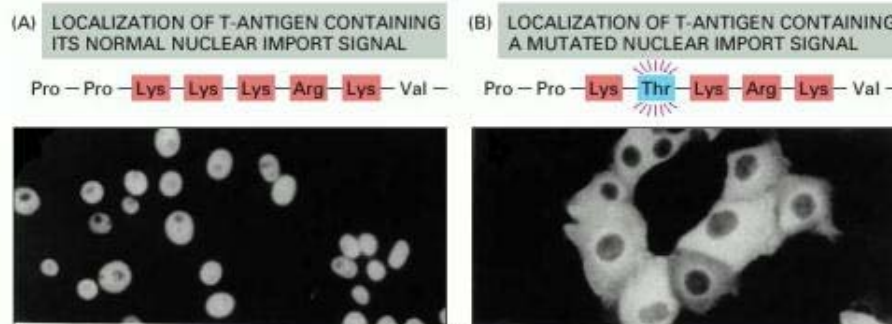
Struktura jaderného póru

- jaderný pór není volně prostupný – obsahuje „zátku“ vytvořenou proteiny obsahujícími struktury s opakovanými motivy Phe – Gly (FG repeats);
- ta blokuje průnik větších makromolekul; to umožňuje jejich kontrolovaný specifický transport;



Transport proteinů do jádra (jaderný import)

- jaderné proteiny – obsahují **jaderný lokalizační signál (NLS)** – definovanou sekvenci aminokyselin, obvykle bohatou na pozitivně nabitě AA – Lys, Arg;
- předpokládá se, že tyto AA sekvence vytvářejí krátké smyčky nebo oblasti na povrchu proteinu;
- aktivní transport jadernými póry umožňuje přenos velkých plně sbalených proteinů či riboz. částic (ne u jiných organel);



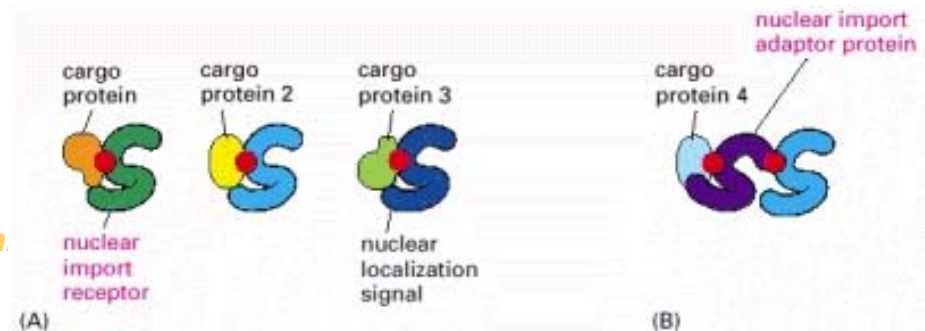
transport částic koloidního zlata pokrytých peptidy obsahujícími NLS

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Transport proteinů do jádra (jaderný import)

- ▶ import proteinu je zahájen vazbou NLS na **receptory pro jaderný import** (nuclear import receptors; **importiny**) – přímo či nepřímo, přes adaptérové proteiny;
- ▶ jsou to cytosolové proteiny, schopné vazby jak na transportovaný protein, tak na centrální nukleoporiny (FG repetice - jsou také na cytopl. vláknech a jaderném košíku);
- ▶ FG repetice pravděpodobně umožňují přechod transportovaného proteinu pomocí slabých interakcí s importinem;
- ▶ uvnitř jádra dojde k uvolnění transportovaného proteinu – importin se vrací do cytoplazmy – k uvolnění dochází jen na vnitřní straně jaderného póru – to zajišťuje, že transport probíhá v daném směru – dovnitř jádra;

*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

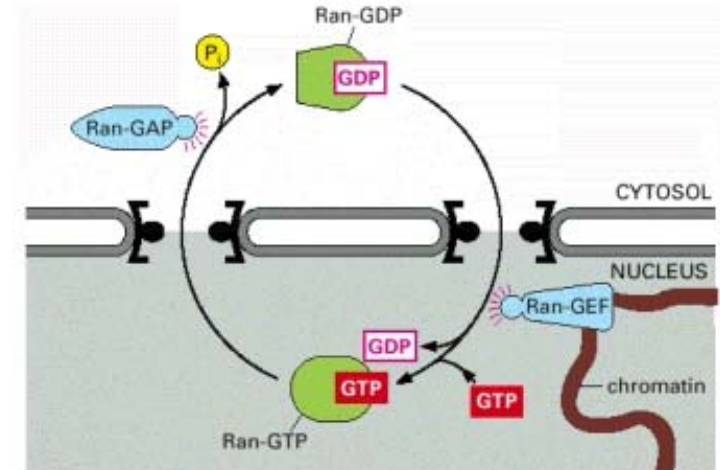


Jaderný export

- ▶ **export ribozomálních podjednotek a RNA** také závisí na selektivním transportu přes jaderné póry;
- ▶ jaderné exportní signály jsou rozpoznávány **receptory pro jaderný transport** (nuclear export receptors; **exportiny**);
- ▶ exportiny jsou strukturně příbuzné importinům – kódovány rodinou genů pro receptory pro jaderný transport (nuclear transport receptors); společně bývají označovány jako karyoferiny
- ▶ jak **jaderný import**, tak **export**, představují **aktivní proces spotřebovávající energii** – ta pochází ze specifického zdroje – využívá štěpení GTP pomocí specifické GTPázy Ran;

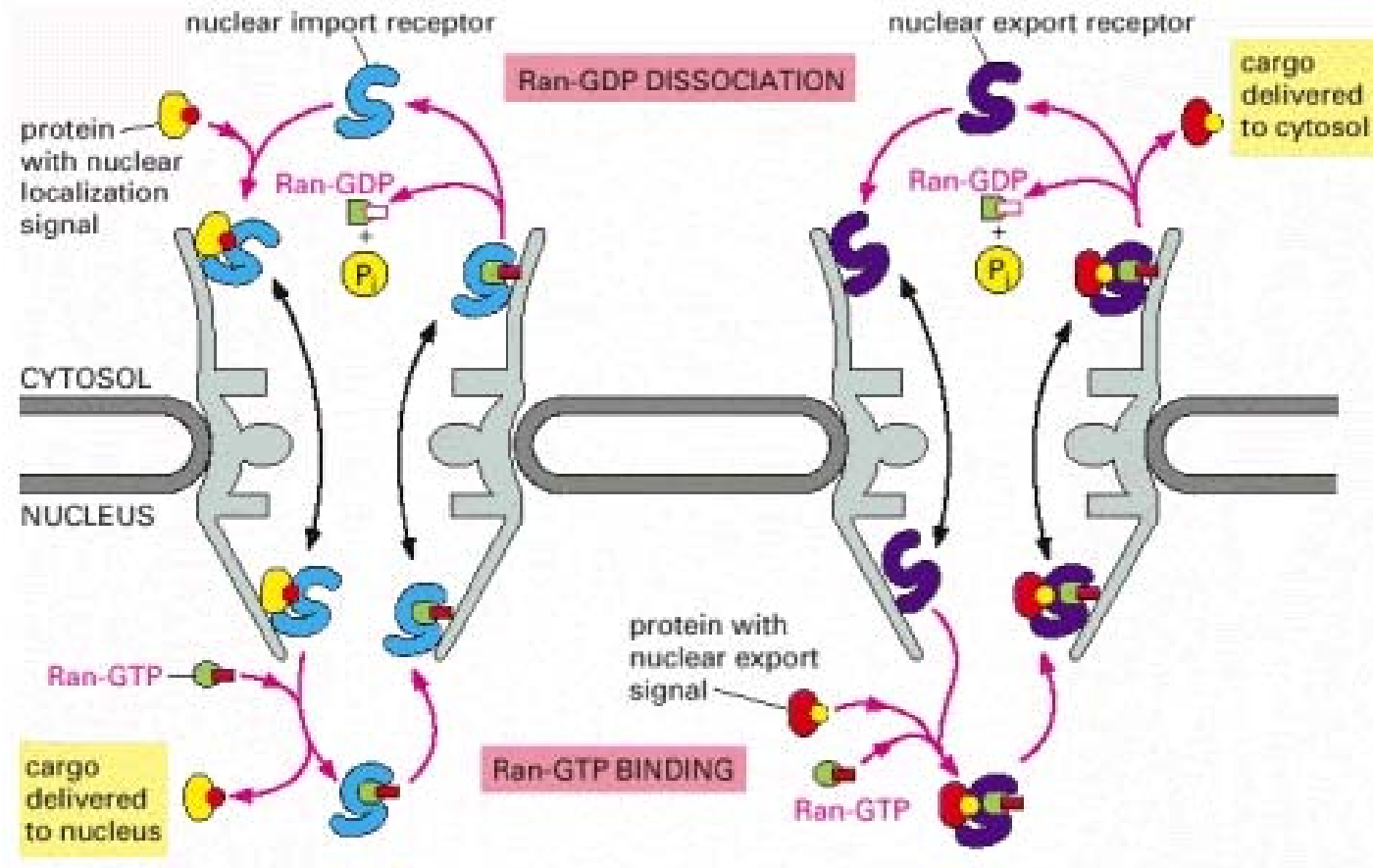
Úloha GTPázy Ran

- ▶ Ran existuje **ve dvou konformacích** v závislosti na vazbě **GDP** a **GTP**;
- ▶ cytosolový **GAP** (protein aktivující GTPázu) katalyzuje hydrolyzu GTP a jaderný **GEF** (guanine exchange factor) reguluje výměnu GDP za GTP;
- ▶ vzniká tak gradient – v jádře vyšší hladina Ran-GTP a v cytosolu vyšší hladina Ran – GDP;
- ▶ k uvolnění transportovaného proteinu dochází pouze po navázání Ran-GTP – je tak kontrolován směr transportu;
- ▶ importin s navázanou Ran-GTP je transportován zpět do cytoplazmy, kde je hydrolyzováno GTP – Ran-GDP se uvolní z importinu;
- ▶ podobně (opačně) funguje i jaderný export – Ran-GTP indukuje vazbu transportované makromolekuly na exportin:



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

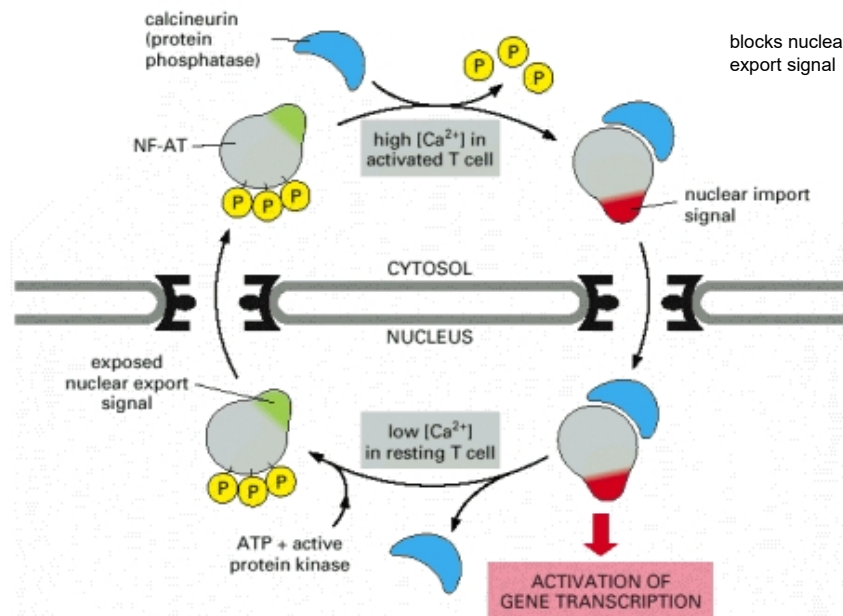
Princip jaderného importu/exportu



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Proteiny obsahující jak NLS tak NES

- některé proteiny obsahují oba typy lokalizačních signálů – **shuttling proteins**;
- v závislosti na intenzitě importu/exportu se nacházejí v jádře/cytoplazmě;
- transport neregulovaný nebo naopak **přísně regulovaný např. prostřednictvím post-translačních modifikací, vazbou na cytosolové proteiny**, které je mohou buď vázat v cytoplazmě nebo maskovat příslušné lokalizační signály (cytoskelet, organely) – **např. u transkripčních regulátorů**;
- **vysoce dynamický systém** – umožňuje buňkách citlivě reagovat na signály a změny v metabolismu, okolí buněk apod.

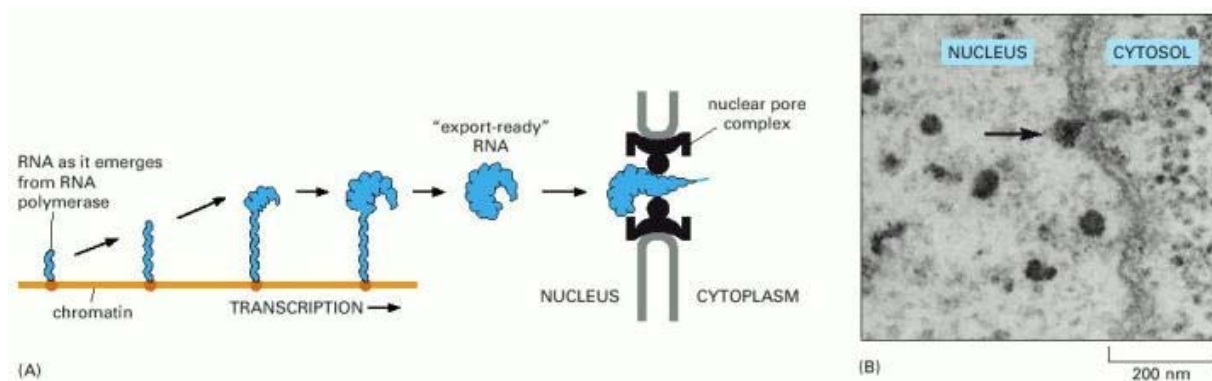


Nuclear factor of activated T cells (NF-AT) transkripční regulátor, který je v klidových T buňkách v cytoplazmě. Po aktivaci T buněk, roste Ca^{2+} koncentrace a dojde k vazbě kalcineurinu (fosfatáza) na NF-AT, jeho defosforylaci a odhalení NLS (a zablokování NES). Po transportu do jádra je indukována transkripce genů aktivní T buňky. Po snížení hladiny Ca^{2+} re-fosforylace NF-AT inaktivuje NLS a odhalí NES.

Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

Export RNA

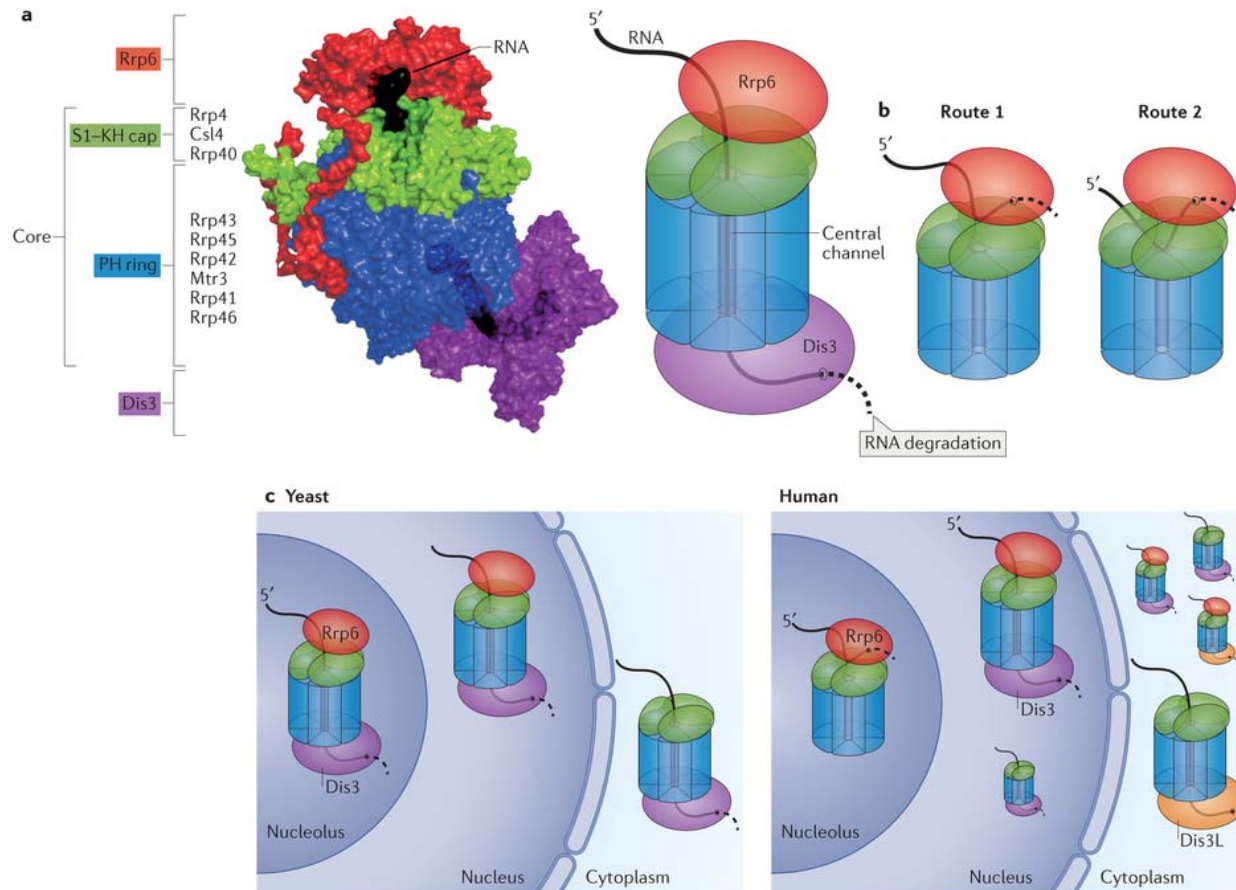
- malé jaderné (sn)RNA, tRNA a miRNA využívají k exportu stejný systém exportinů a gradient Ran-GTP;
- pro export mRNA je využíván jiný mechanismus;
- syntéza pre-mRNA se odehrává v jádře, ale většina nasyntetizované RNA (introny, aberantní pre-mRNA, naštěpená mRNA vznikající během post-transkripční úpravy mRNA) není exportována, ale naopak degradována působením **exozómu** v jádře (multiproteinový komplex obsahující 3' – 5' RNA exonukleázy);



Proces maturace mRNA Balbianiho prstence (abundantní mRNA v hmyzích buňkách) podle EM.

Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. New York: Garland Science; 2002.

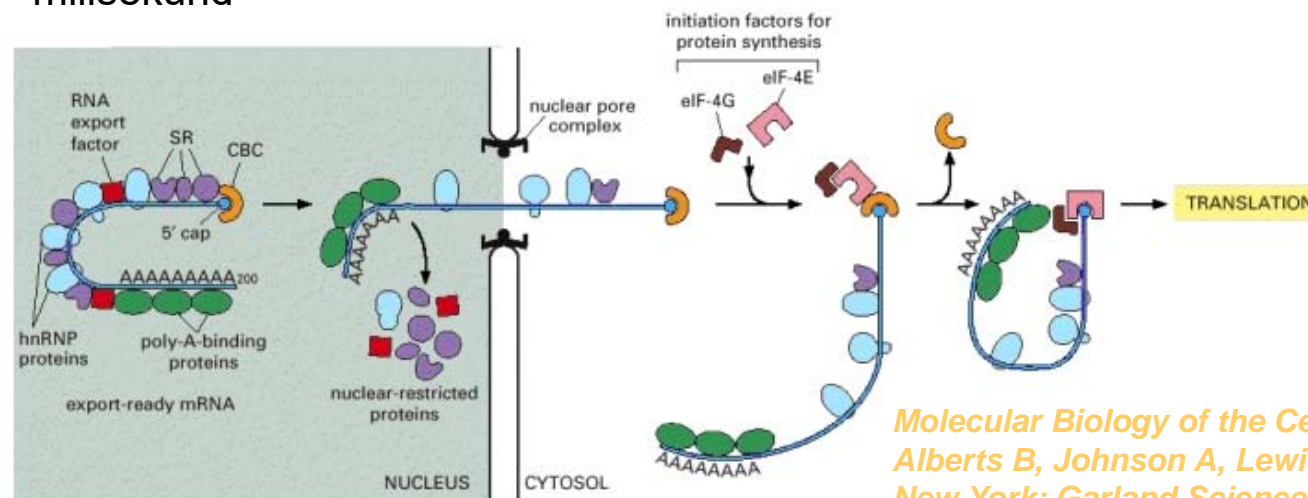
Exozóm – klíč ke kontrole kvality RNA a regulaci hladiny mRNA v jádře i cytoplasmě



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Export mRNA

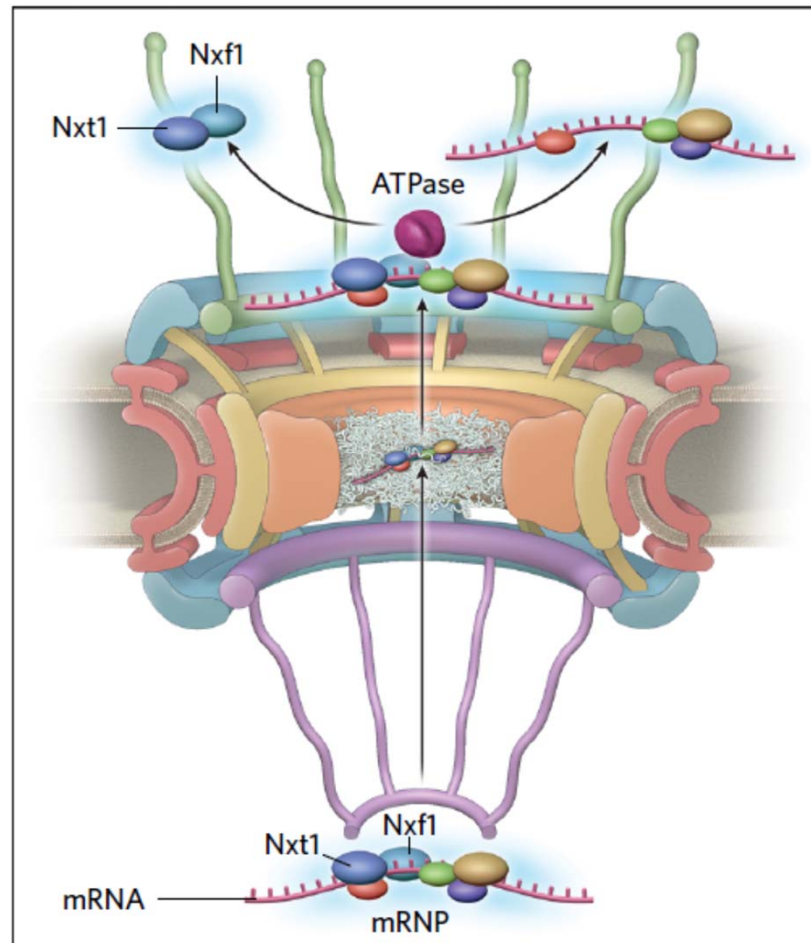
- ▶ v průběhu syntézy pre-mRNA se na ni váží **hnRNP** (heterogeneous nuclear ribonuclear proteins – cca 30) – podílejí se na regulaci sestřihu a post-transkripčních úpravách obecně, ale některé se preferenčně váží na introny – napomáhají při rozpoznávání debris; také řada dalších proteinů;
- ▶ post-traskripčně upravovaná mRNA se (většinou zároveň s polyadenylací a dalšími úpravami) váže na receptor pro jaderný transport – přenos přes jaderný pór (část proteinů zůstává v nukleoplazmě, část přechází do cytosolu – důležité pro stabilitu mRNA, zahájení translace i lokalizaci mRNA) – následně je receptor vrácen do jádra;
- ▶ celý proces trvá od zahájení transkripce několik minut (během toho dochází k post-transkripčním úpravám mRNA), ale vlastní přenos RNA jen několik milisekund



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

Export mRNA

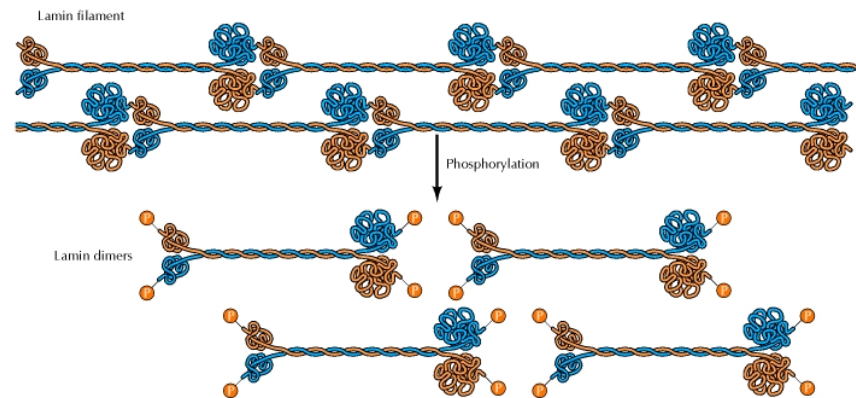
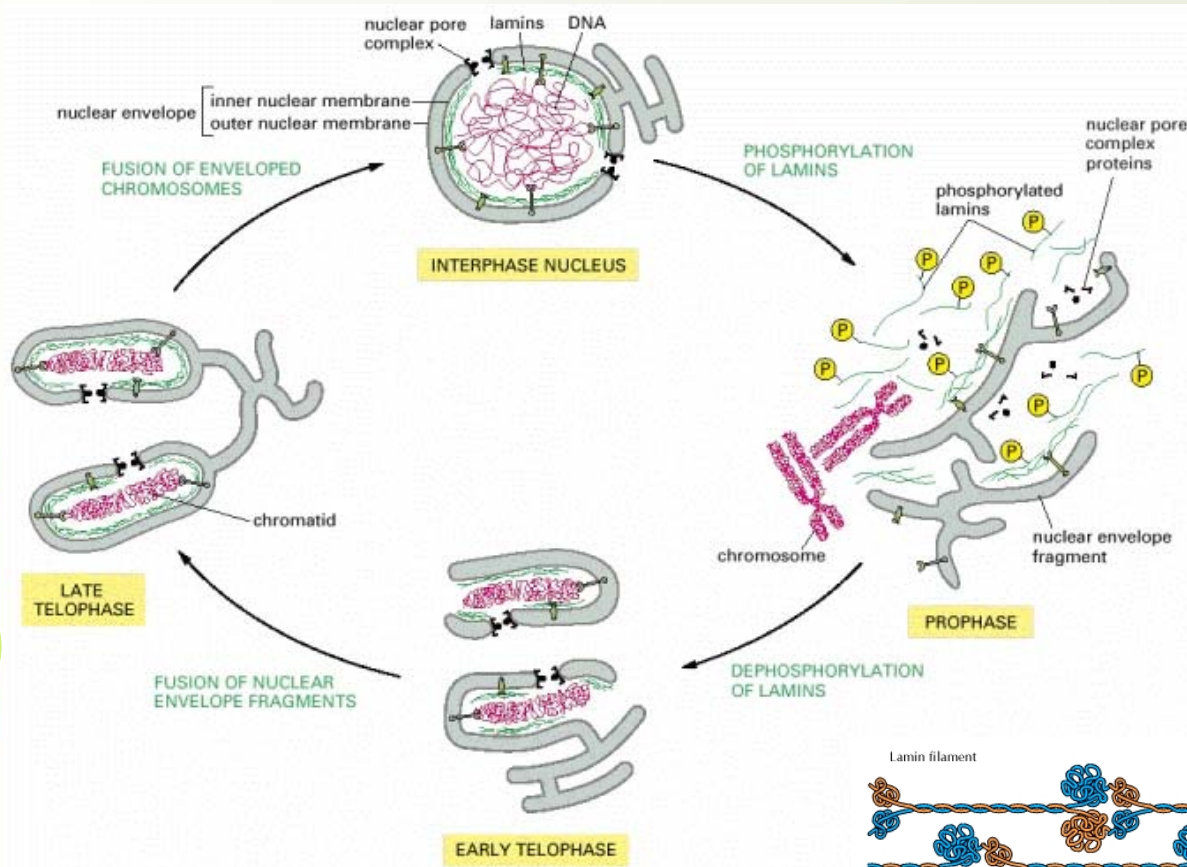
mRNA EXPORT



- mRNAs váží řadu proteinů – vytvářejí mediátorové ribonukleoproteiny (mRNP)
- mezi ně patří Nxf1 a Nxt1, které se vážou na FG repetice v centrálním kanálu, přechází do cytoplazmy;
- nukleoporiny na straně cytosolu vážou a aktivují ATPázu, která uvolní Nxf1 a Nxt2 – uvolněná mRNA pak pokračuje k translaci na ribozómu

<http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/47560/title/Infographic--The-Nuclear-Pore-Complex/>

Jaderný obal během mitózy



*Molecular Biology of the Cell. 4th edition.
Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.
New York: Garland Science; 2002.*

*The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.
Cooper GM. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000.*

Variabilita buněčného jádra

- ▶ v závislosti na buněčné funkci se může velikost tvar a lokalizace buněčného jádra výrazně lišit
- ▶ mění se např. v závislosti na metabolické aktivitě, stadiu diferenciaci či v buňkách, kde je nutná velká plocha kontaktu mezi jadernou membránou a ER/cytoplasmem



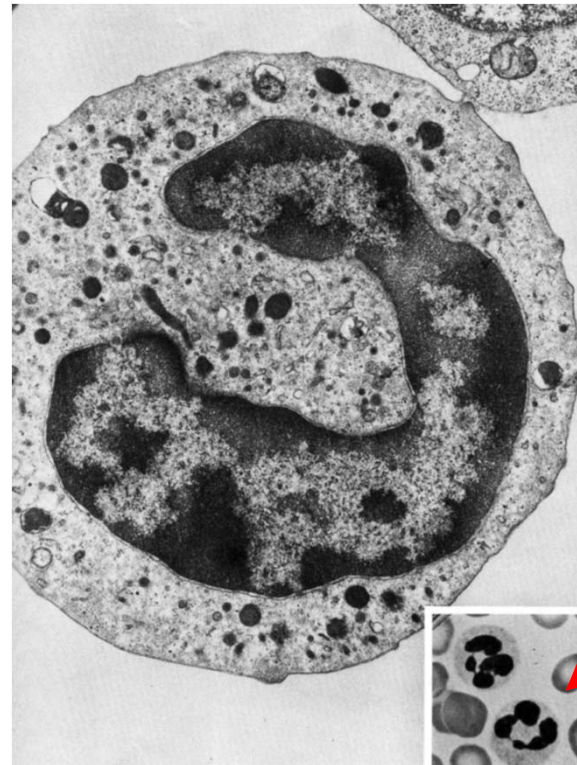
polyploidní
buňka
slinné žlázy

diploidní
intersticiální
epiteliální
buňka

klíště *Rhipicelphals appendiculatus*

Variabilita buněčného jádra

- ▶ v závislosti na buněčné funkci se může velikost tvar a lokalizace buněčného jádra výrazně lišit
- ▶ mění se např. v závislosti na metabolické aktivitě, stadiu diferenciaci či v buňkách, kde je nutná velká plocha kontaktu mezi jadernou membránou a ER/cytosolem

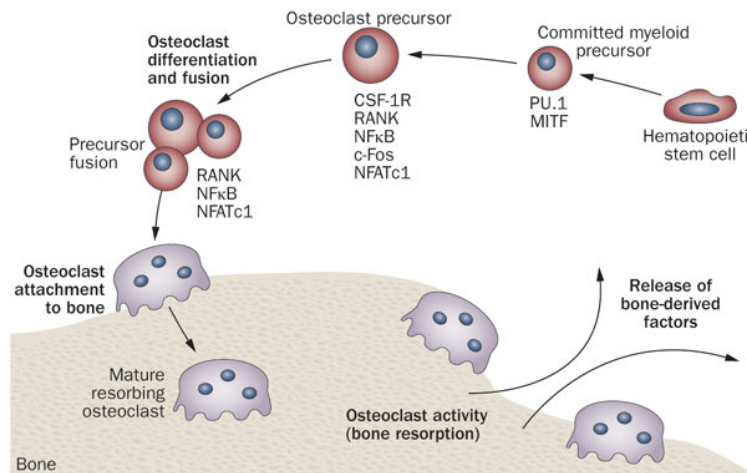


neutrofil ve
stadiu tyčky

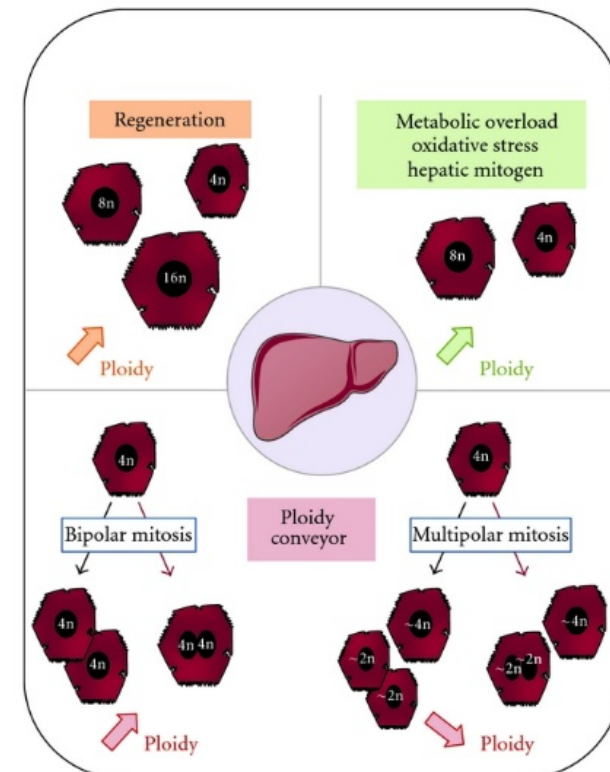
plně
diferencovaný
zralý neutrofil

Poměr jádro/cytoplasma (NC ratio)

- ▶ **poměr velikosti jádra a cytoplazmy** (nuclear-cytoplasmic ratio – NC ratio) se mění v závislosti na stupni diferenciace – obecně platí že velikost jádra v poměru k cytoplasmě klesá; mění se i v souvislosti s transformací buněk při nádorových onemocněních;
- ▶ vícejaderné buňky – např. osteoklasty, zralé hepatocyty – díky fúzi buněk nebo polyploidii;
- ▶ bezjaderné buňky;



Nat. Rev. Rheumatol. 2011, 7: 235-243



Int. J. Hepatol. Article ID 282430

Příští přednáška: Životní cyklus proteinů

- ŽIVOTNÍ CYKLUS PROTEINŮ
- základní principy životního cyklu proteinů a mechanismů regulujících dynamiku těchto procesů;
- post-translační modifikace proteinů významné z pohledu regulace buněčného metabolismu, buněčné proliferace, diferenciaci a rychlých reakcí buněk na změny ve vnějším prostředí;
- možnosti manipulace vzniku, intracelulární lokalizace a degradace proteinů;
- fyziologické dopady deregulace syntézy a degradace proteinů;