

## Ćwiczenie 02B

### Jądro komórkowe Cytoszkielelet

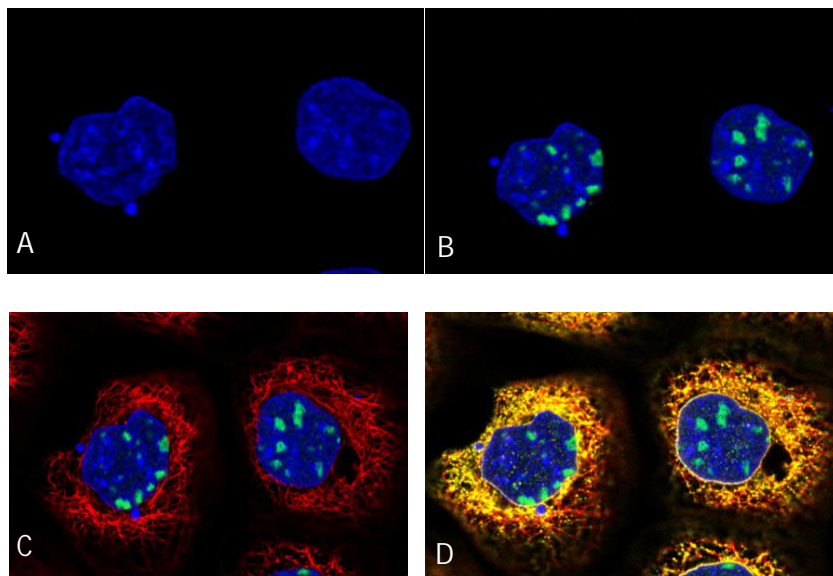
Prof. Dr hab. Roman Zieliński

#### 1. Jądro komórkowe

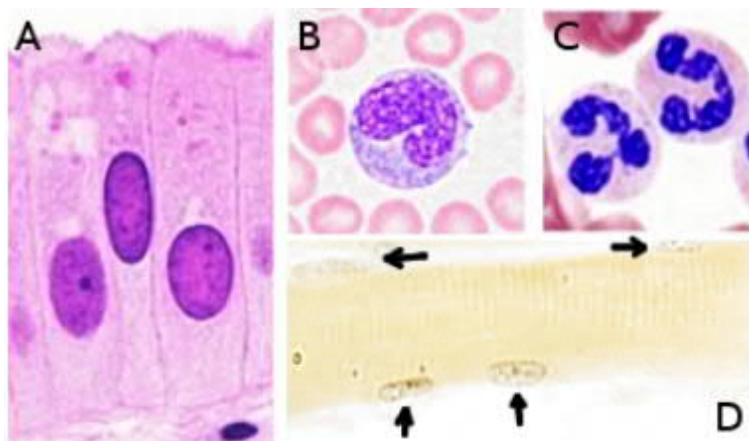
##### 1.1. Morfologia jądra komórkowego w różnych typach komórek



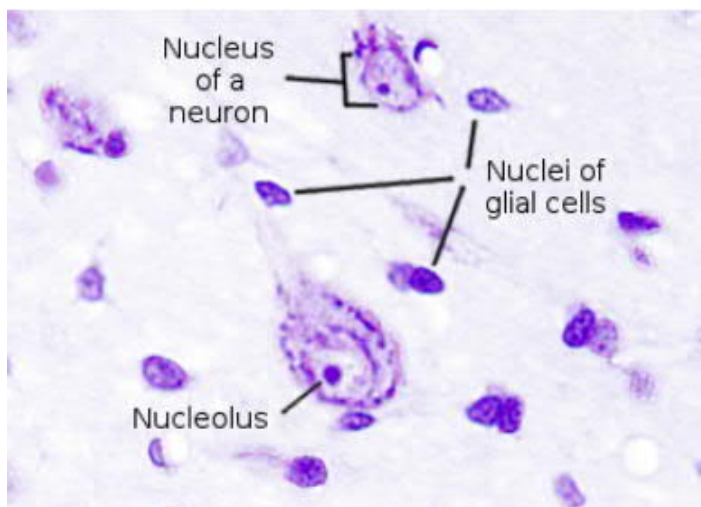
Jądro komórkowe jest najważniejszą strukturą komórki Eukariota, zajmuje ono 10% objętości komórki. Jest to największa struktura komórki Eukariota. Wymiary jądra mieszczą się w zakresie 1-10  $\mu\text{m}$ . Jest to struktura konserwatywna. Wszystkie Eukariota zawierają taki sam zestaw genów związanych z porami jądrowymi oraz transportem pomiędzy jądrem a cytoplazmą.



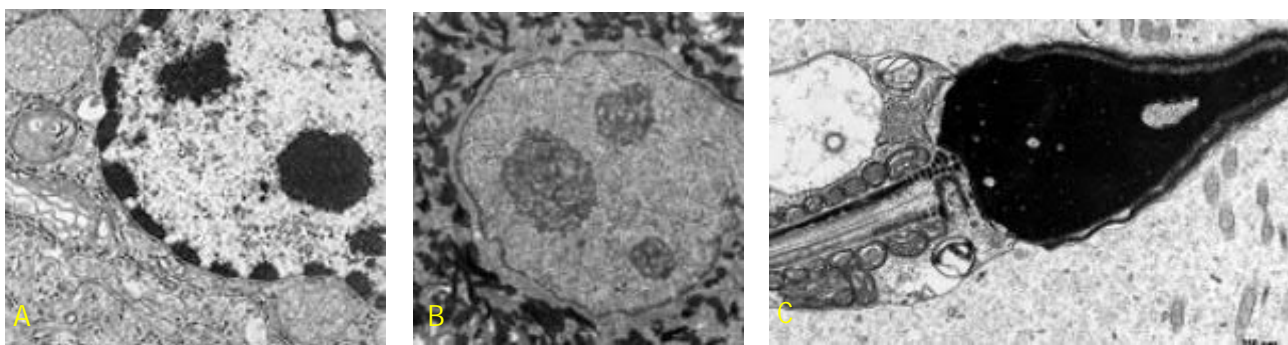
Rys. 1.1a. Jądra w ludzkiej linii komórkowej U-252 MG (pochodzi z komórek glejaka). A. Jądra barwione fluorescencyjnie. B. Uwidocznione jąderka. C. Widoczne mikrotubule, czerwone. D. Żółta struktura to retikulum endoplazmatyczne.



Rys. 1.1.b. Różne kształty jąder. A. Podłużne jądra w komórkach nabłonka pęcherzyka żółciowego. B. Jądro w kształcie „nerkowatym” w monocytach. C. Wielopłatowe jądra w neutrofilach. D. Podłużne jądra we włóknach mięśnia szkieletowego.



Rys. 1.1.c. Zróżnicowanie kształtu jąder w komórkach nerwowych. Jądra neuronów mają mniej zbitą chromatynę natomiast jądra komórek glejowych mają silnie skondensowaną chromatynę. Jądra komórek glejowych są mniejsze.

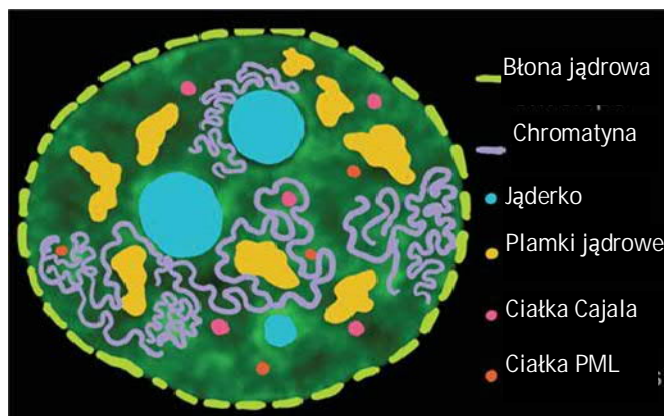


Rys. 1.1.d. Jądra w mikroskopie elektronowym (TEM). A. Jądro z widocznymi porami jądrowymi w błonie jądrowej, komórki nabłonka szczura. B. Jądro komórek nabłonkowych w skórze człowieka. C. Silnie skondensowana chromatyna w jądrze plemnika małpy.

## 1.2. Struktura przestrzenna jądra komórkowego

### ➔ 1.2.1. Heterogeniczność jądra komórkowego

Jądro stanowi zróżnicowane środowisko, w którym obok chromatyny, występują różnorodne struktury oraz związki chemiczne, w tym polimery, koloidy, makrocząstki i mikrocząstki. Jądro jest funkcjonalnie zorganizowane, przy czym jest to organizacja dynamiczna obejmująca wiele procesów zachodzących jednocześnie.



Rys. 1.2.1. Schemat heterogeniczności jądra.

Jądro podlega ciągłej restrukturyzacji i reorganizacji. W czasie interfazy

rozmiary jądra zwiększają się w ciągu kilku godzin, niewielkie modyfikacje oraz obroty jądra, a także fluktuacje błony jądrowej trwają sekundy. Amplituda fluktuacji spada podczas interfazy, co jest wiarygodnym markerem stadium cyklu życiowego.

Białka zlokalizowane w jądrze, ciałka jądrowe, enzymy zaangażowane w procesy jądrowe tworzą kondensaty w obrębie jądra, co prowadzi do kompartmentacji reakcji chemicznych związanych z poszczególnymi procesami biologicznymi. Składniki jądra znajdują się w specyficznym stanie nie-równowagi, który obejmuje komponenty aktywne (indukowane przez ATP) oraz pasywne (np., indukowane temperaturą).

W jądrze znajdują się liczne struktury, określane ciałkami jądrowymi. Cechy: są widoczne pod mikroskopem, zawierają specyficzne składniki jądrowe, głównie białka i RNA, ciągle wymieniają skład z otaczającą nukleoplazmą, co różni je od agregatów białkowych.

Ciałka jądrowe mają zróżnicowany kształt. Niektóre są jednorodne (np., jąderko), inne wykazują kompartmentację. Czynnikiem sprzyjającym powstawaniu ciałek jądrowych jest znaczna koncentracja białek rusztowania w określonym obszarze jądra. Z kolei białka rusztowania gromadzą się w miejscach transkrypcji specyficznych typów RNA, które wchodzi w interakcję z białkami. W ten sposób powstaje jąderko, ciałka P oraz ciałka stresowe. Transkrypty snRNA oraz chromatyna zawierająca geny dla snRNA stanowią miejsca łączenia niezbędne do powstania ciałek Cajala.

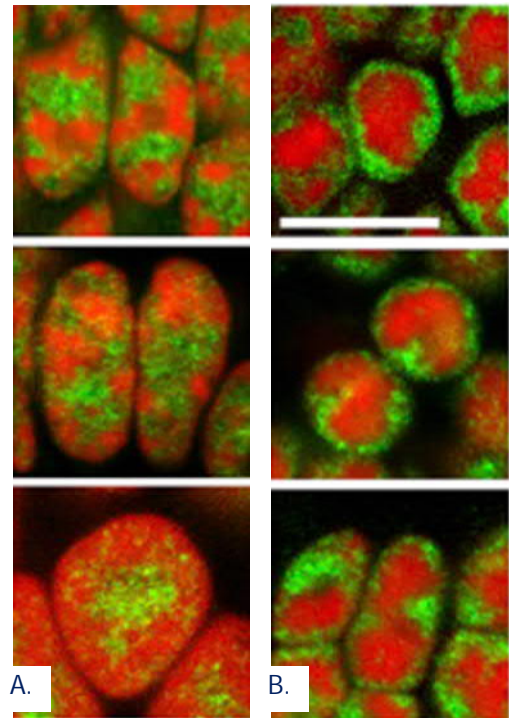


1.2.2. Na podstawie informacji w Internecie proszę scharakteryzować:

- ciątka Cajala (1 punkt)
- ciątka PML (1 punkt)
- jądrowe ciałka stresowe (1 punkt).

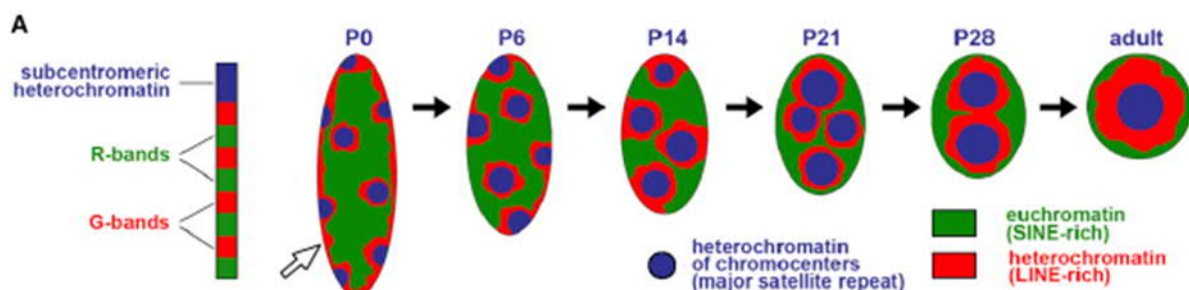
*Czas wykonania: 15 minut*

1.2.3. Organizacja chromatyny w jądrze komórkowym nie jest przypadkowa. Rozmieszczenie chromatyny ma znaczenie funkcjonalne. Na ogół euchromatyna występuje w wewnętrznej części jądra, natomiast heterochromatyna zlokalizowana jest w pobliżu wewnętrznej błony jądrowej, pomiędzy porami jądrowymi oraz wokół jąderka. Wyjątkiem jest rozmieszczenie eu- i heterochromatyny w komórkach pręcików światłoczułych siatkówki oka zwierząt nocnych (Rys. 1.2a). Pręciki umożliwiają widzenie czarno-białe przy słabym oświetleniu, natomiast czopki umożliwiają widzenie w normalnym oświetleniu. U zwierząt nocnych, w celu kompensacji ciągłego narażenia na brak światła, widzenie czarno-białe jest silnie rozwinięte. Okazuje się, że przystosowanie do widzenia nocnego jest także widoczne w odwróconym układzie euchromatyny i heterochromatyny w stosunku do typowego u kładu. Euchromatyna występuje w pobliżu wewnętrznej błony jądrowej, heterochromatyna tworzy jedynie wyspy. Odwrócony układ chromatyny powstaje po zakończeniu mitozy w wyniku remodelowania chromatyny (Rys. 1.2b).



Rys. 1.2.3a. Rozmieszczenie euchromatyny (zielona) i heterochromatyny (czerwona) w jądrach A. zwierząt o dziennym trybie życia (owca, koń, makak) oraz B. nocnym trybie życia (myszokoczek, polatucha, mikrusek) (Solovei et al., 2013).

Remodelowanie nie wpływa na wysoką aktywność transkrypcyjną. Mechanizm remodelowania jest regulowany przez laminy A (gen *Lmna*) oraz receptory dla lamin B (gen *Lbr*). U ssaków z odwróconym układem chromatyny w jądrze nie dochodzi do ekspresji genów *Lmna* oraz *Lbr*. U ssaków z typowym układem chromatyny dochodzi do ekspresji genów *Lbr* i *Lmna*. Początkowo ulega ekspresji gen *Lbr*, a następnie jego ekspresja jest zastępowana przez ekspresję genu *Lmna*. Delecja jednego z genów jest kompensowana dłuższą ekspresją drugiego genu. Delecja obu genów zawsze prowadzi do inwersji układu chromatyny.



Rys. 1.2.3b. Etapy remodelowania chromatyny podczas różnicowania jąder w komórkach pręcików światłoczułych zwierząt prowadzących nocny tryb życia (Solovei et al., 2013).

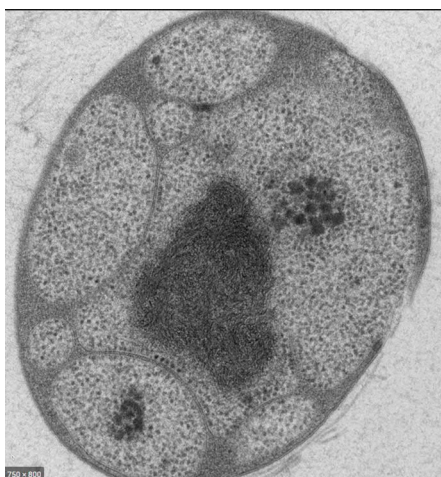
### 1.3. Pochodzenie jądra



Pochodzenie jądra komórkowego nie jest wyjaśnione. Istnieją dwie hipotezy pochodzenia jądra:

- autogeniczne — jądro powstało na skutek kompartmentacji materiału genetycznego;
- endosymbiotyczna — jądro wyewoluowało od wolno-żyjącego organizmu komórkowego lub wirusa, który wszedł w endosymbiozę.

#### 1.3.1. Autogeniczne pochodzenie jądra.



Rys. 5. *Gemmata obscuriglobus*, gram ujemna, tlenowa bakteria. Charakteryzuje się specyficzną organizacją genomu oraz obecnością rozbudowanych błon wewnętrznych. Genom zbudowany jest z 9 Mbp, 8000 genów. Bakteria posiada strukturę błonową, która otacza DNA, zawiera pory i przypomina jądro. Częściowo rozdzielona jest transkrypcja od translacji. Bakteria jest przykładem organizmu, u którego dochodzi do samorzutnego podziału przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Proces ten może wskazywać jak mogło powstać jądro u Eukariota.

#### 1.3.2. Mechanizmy prowadzące do podziału przestrzeni wewnątrzkomórkowej:

- chemiczna segregacja polega na samorzutnym rozdzieleniu poszczególnych procesów życiowych, przykładowo u bakterii beztlenowe utlenianie amoniaku na ogół jest oddzielony od innych procesów życiowych;
- biologiczna segmentacja polega na tworzeniu przedziałów komórkowych przez duże wirusy jako ochrona przez mechanizmami obronnymi gospodarza,
- unikanie – interakcja między mRNA i rybosomem prowadzi do translacji jednak może się zdarzyć, że mRNA zamiast z rybosomem reaguje z ncRNA, wówczas nie zachodzi translacja, selekcja może przeciwdziałać interakcji i prowadzić do powstania form, u których dochodzi do rozdziału przestrzennego między mRNA i ncRNA;
- spontaniczne obłonienie poprzez zagięcie fałdów błony wokół materiału genetycznego.

#### 1.3.3. Endosymbiotyczne pochodzenie jądra komórkowego



A. Na podstawie materiałów internetowych proszę znaleźć informacje na temat wirusów olbrzymich (giant viruses). (2 punkty)

*Czas wykonania 10 min.*

B. Hipoteza wirusowego pochodzenia jądra zakłada, że jądro powstało w odpowiedzi na infekcję wirusową komórki Archaea. U podłoża tej hipotezy leży podobieństwo między polimerazą DNA Eukariota (polimeraza  $\alpha$ ) a polimerazami DNA poxvirusów. Potwierdzeniem tej hipotezy jest tworzenie struktur przypominających jądra przez *Acanthamoeba* zainfekowane mimivirusem.

## 1.4. Nukleopatie



1.4.1. Nukleopatie to choroby wywołane mutacjami w genach kodujących elementy struktury jądra. Enwelopatie jądrowe to choroby wywołane mutacjami w genach kodujących białka błony jądrowej.

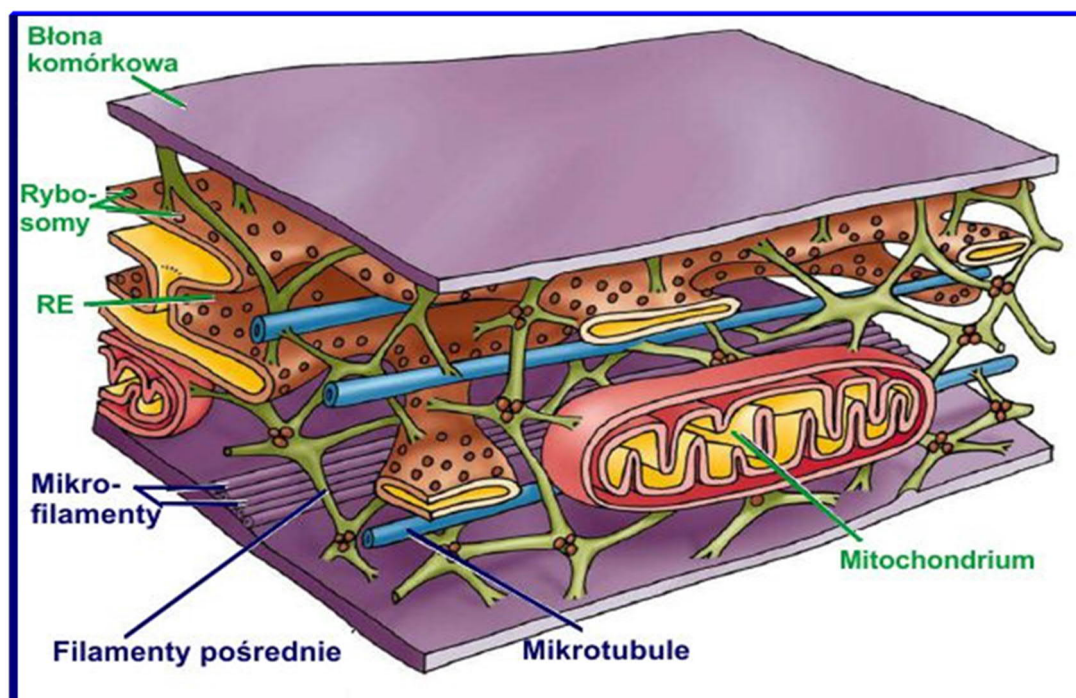
1.4.2. Na podstawie informacji zawartych w bazie OMIM (<https://www.omim.org/>) proszę podać jaką funkcję pełnią następujące geny i jakie efekty wywołują mutacje w tych genach: NESP4, LMNA (1-2 punkty)

- A. Proszę podać nazwę kodowanego białka.
- B. Proszę podać lokalizację genu.
- C. Proszę podać funkcję genu.
- D. Jakie efekty wywołują mutacje w tym genie, jaki jest sposób dziedziczenia?

*Czas 15 min.*

## 2. Cytoszkielelet

### 2.1. Elementy cytoszkieletu



2.2.1. Mikrotubule: najgrubsze włókna cytoszkieletowe o zewnętrznej średnicy 25 nm, determinują kształt i ruch komórki w trakcie mitozy.

2.2.2. Filamenty pośrednie o średnicy 10 nm stanowią szkielet komórki, nie uczestniczą w ruchu.

2.2.3. Filamenty aktynowe (mikrofilamenty) o średnicy 7 nm odpowiadają za ruch i wiążą się z miozyną.

## Odpowiedzi

### 1. Jądro komórkowe

#### 1.2. Struktura przestrzenna jądra

1.2.2. Na podstawie informacji w Internecie proszę scharakteryzować:

##### A. ciątka Cajala (1 punkt)

- Średnica 0,1-2  $\mu\text{m}$ , zawierają krótkie cząsteczki RNA, w tym snRNA, który uczestniczy w wycinaniu intronów, snoRNA, który uczestniczy w biogenezie rRNA.
- Ciątka Cajala są zaangażowane w składanie funkcjonalnego spliceosomu.
- W ciątkach zlokalizowane jest białko koilina, które odgrywa rolę w zapłodnieniu i embriogenezie. Koilina łączy się z snRNA prowadząc do połączenia sekwencji genów snRNA z ciątkami Cajala.
- Występują w jądrach komórek aktywnych metabolicznie, a także proliferujących. Są charakterystyczne dla organizmów wyższych.
- Na terenie ciątek Cajala zlokalizowane są także transkrypty dla podjednostek polimerazy II.

##### B. ciątka PML (1 punkt)

- Średnica 0,3-1  $\mu\text{m}$ , zaangażowane w wiele procesów i szlaków komórkowych, w tym w naprawę DNA, odpowiedź anty-wirusową i odpowiedź na stres.
- Indukowane są przez stres oksydacyjny i razem z ligazą ubikwityny promują degradację białek o błędnej strukturze II i III-rzędowej.
- Zawierają enzymy związane z obróbką po-translacyjną białek.
- Zawierają kinazę ATR istotną dla utrzymania telomerów oraz alternatywnego ich wydłużania.
- Ograniczają infekcję wirusową przez tworzenie otoczki wokół wirionów.

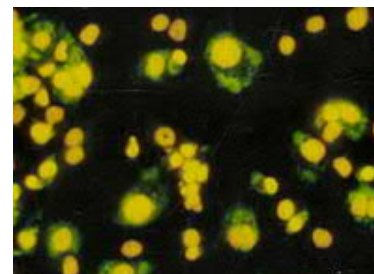
##### C. Jądrowe ciątka stresowe (1 punkt).

- Średnica 0,3-3  $\mu\text{m}$ , unikalne struktury jądrowe powstające w odpowiedzi na stres cieplny.
- Powstają w wyniku interakcji między czynnikiem transkrypcyjnym szoku termicznego (HSF1) oraz perycentrycznymi powtórzeniami tandemowymi.
- Uczestniczą w szybkim, globalnym przegrupowaniu chromatyny oraz zmiany ekspresji genów.
- Rzadko wykrywa się je w komórkach, które nie zostały poddane stresowi.

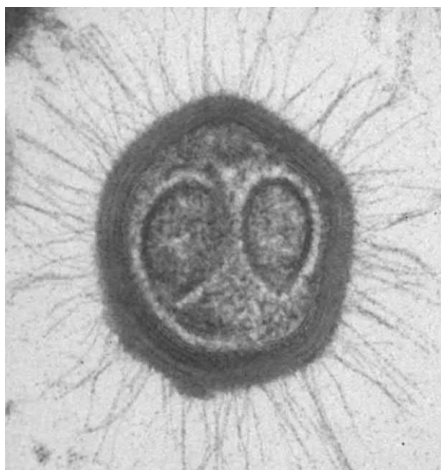
### 1.3. Pochodzenie jądra

1.3.3. „Giant viruses”, giruses, wirusy olbrzymie to wirusy z bardzo dużymi genomami, zawierają geny, które nie są znajdowane u innych form żywych. Genom wirusów może mieć >200 kb, największe wirusy mają genomy 2,5 Mbp (*Pandoraviridae*). Pierwszego wirusa (*Acanthamoeba polyphaga mimivirus*) wyizolowano w 2003 r. Początkowo uważano go za bakterię.

- Mają duży kapsyd (200-400 nm) otoczony warstwą białek fibrylarnych.
- Materiałem genetycznym jest dwuniciowy DNA, który zawiera 300–1000 genów.
- Replikacja odbywa się w cytoplazmie gospodarza w obrębie wiropłazmy (fabryka wirusowa). Wiroplazma to ciała w komórce stanowiące miejsce replikacji i składania wirusa, zlokalizowane są w przestrzeni perynuklearnej lub w cytoplazmie. Wiroplazma chroni przed mechanizmami obronnymi gospodarza. Uważa się, że jest efektem koewolucji gospodarza i wirusa. Wiroplazma może być infekowana przez wiropłazmowe wirusy satelitarne, które hamują replikację wirusów tworzących wiropłazmę.
- Wirusy olbrzymie wyizolowane z ekosystemów oceanicznych, lądowych (np. Amazonka, ściółka leśna) oraz z człowieka zawierają gen cytochromu P450 (oksygenaza, zawiera hem).
- Genomy wirusów olbrzymich zawierają geny niezbędne do translacji jak syntetazy aminocylo tRNA. Może to świadczyć iż wyewoluowały one od komórkowego przodka poprzez redukcję genomu.



Rys. 6. Wiroplazma zaznaczona na zielono.



Rys. 7a.. Mimivirus



Rys. 7b.. Pandovirus



## 1.4. Nukleopatie

1.4.2. Na podstawie informacji zawartych w bazie OMIM (<https://www.omim.org/>) proszę podać jaką funkcję pełnią następujące geny i jakie efekty wywołują mutacje w tych genach.

- NESP4 (NESPRIN4, SYNE4), Nuclear Envelope Spectrin Repeat Protein 4
  - A. Białko otoczki jądrowej z powtórzeniami spektrynowymi.
  - B. Gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 19.
  - C. Białko zlokalizowane w zewnętrznej błonie jądrowej, jest częścią kompleksu LINC, uczestniczy w pozycjonowaniu organelli komórkowych, w tym jądra, jest to białko wiążące kinezynę, które uczestniczy w pozycjonowaniu jądra przy pomocy mikrotubul. Nadekspresja powoduje oddzielenie jądra od centrosomu, oraz aparatu Golgiego od jądra.
  - D. Mutacja obejmująca delecję 2 bp w egzonie 2 prowadzi do utraty słuchu. Dziedziczenie autosomalne recesywne, częstość allela 0,013.
  
- LMNA
  - A. Białko: Lamina A i C.
  - B. Gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 1, dziedziczenie autosomalne recesywne.
  - C. Laminy są białkami strukturalnymi blaszki jądrowej, która determinuje kształt i rozmiar jądra. Występuje lamina A i C. Są to białka typu filamentów pośrednich. Gen składa się z 24 kbp i 12 egzonów. Alternatywna splicing egzonu 10 prowadzi do powstania dwóch form, prelaminy A i C. Prelamina A zawiera zmodyfikowaną cysteinę w pozycji 661 (prenylacja), która jest przekształcana w dojrzałą laminę za pomocą ZMPSTE24. Inhibitory proteaz stosowane w terapii HIV blokują ZMPSTE24 i prowadzą do gromadzenia się prelaminy A, co powoduje uboczne efekty terapii.
  - D. Mutacje prowadzą do licznych chorób. Około 10 różnych syndromów klinicznych jest związanych z genem LMNA, wiele z nich ma nakładające się efekty, które klasyfikuje się w 4 grupy: dystrofie mięśniowe i choroby mięśnia sercowego, lipodystrofie, neuropatie i przedwczesne starzenie. Mutacje te dziedziczą się autosomalnie recesywnie lub dominująco.