



Cytofizjologia jądra komórkowego

Jarosław Józwiak, Konrad Majewski

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

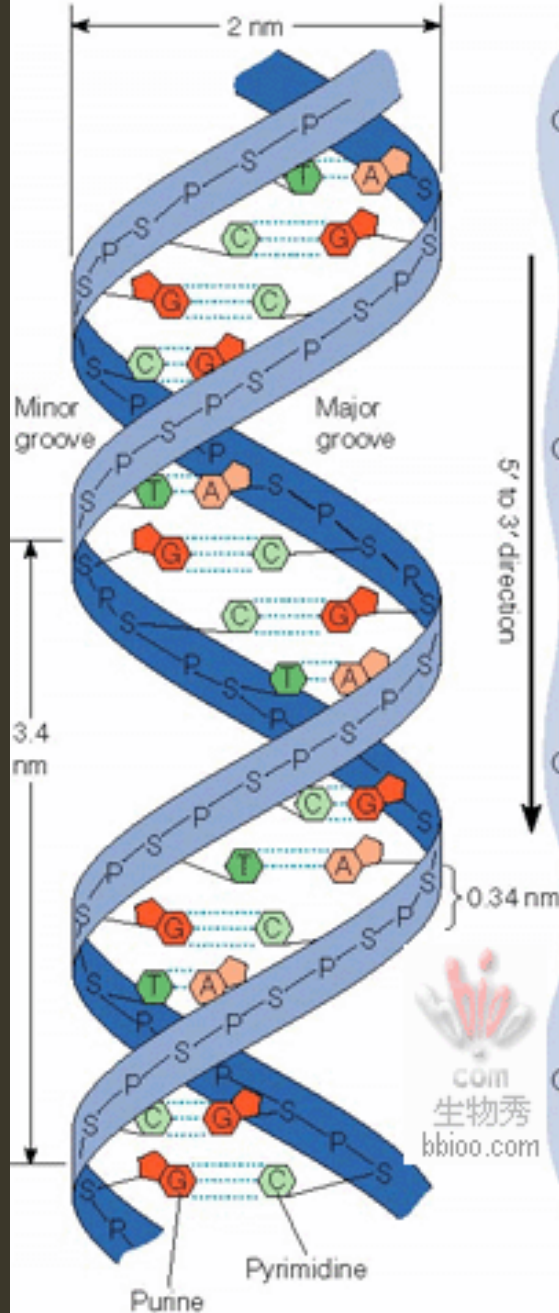


Cegiełki DNA

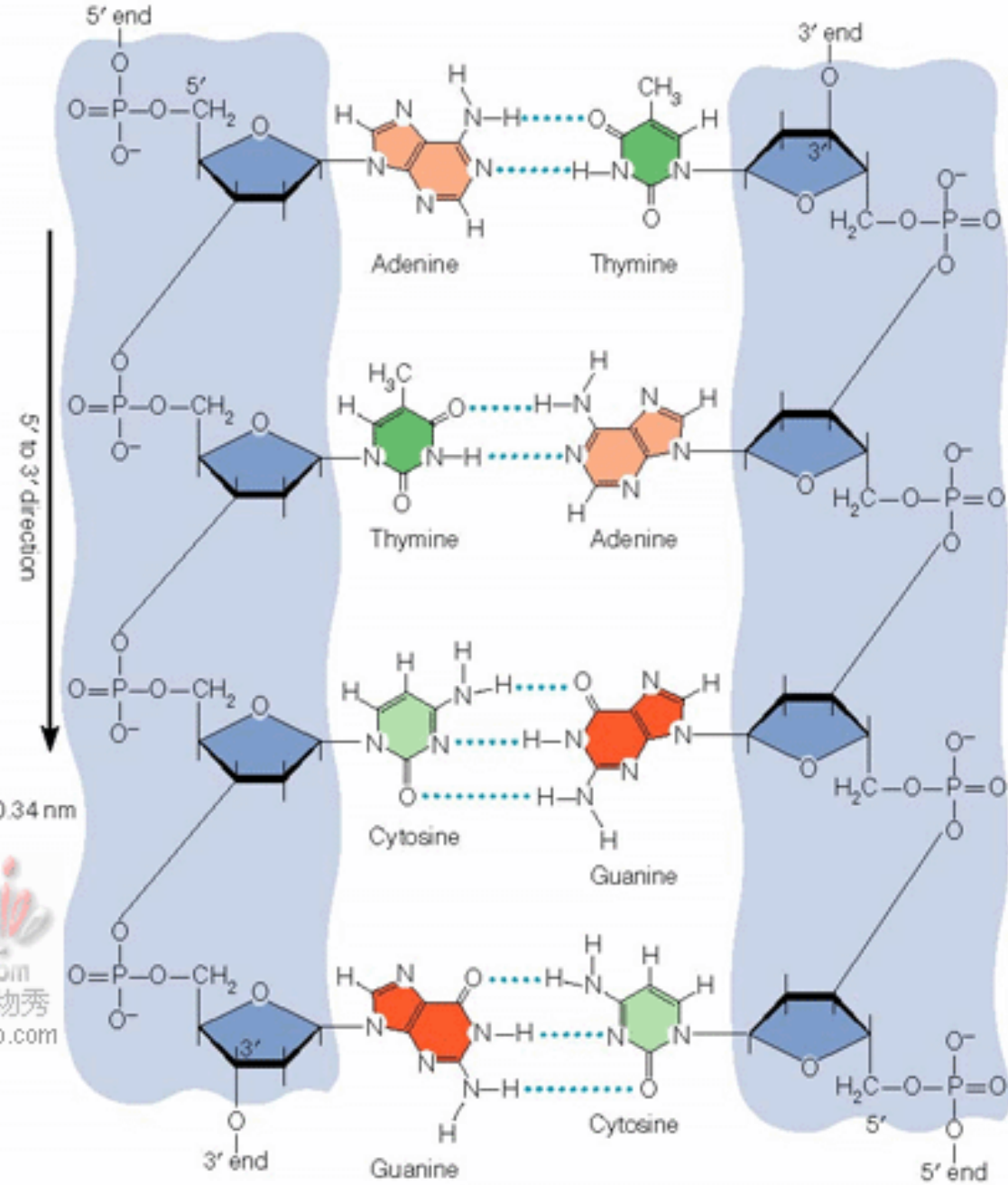
- ⦿ Kod genetyczny DNA złożony jest z **czterech zasad**: adeniny (A), guaniny (G), cytozyny (C) i tyminy (T)
- ⦿ Struktura podwójnej helisy powstaje dzięki **szkieletowi fosforylowanej deoksyrybozy**
- ⦿ Szkielet zawiera cząsteczki pentozy z przyłączonymi zasadami azotowymi (A, G, C lub T)

Struktura DNA

- Jakiej długości DNA znajduje się w jednej komórce?
- Jaka jest całkowita długość DNA w organizmie człowieka?



(a) Double helix



(b) Antiparallel orientation of strands



Upakowanie DNA

- Jedna komórka zawiera ok. 2 m DNA
- Jądro komórki ludzkiej ma średnicę ok. 6 mikrometrów
- Organizm ludzki zawiera
20,0 × 10⁹ kilometrów DNA
= 133,691627 jednostki astronomiczne
- $133,691627 / 2 = 66,8458135$ podróży na Słońce i z powrotem

Eu- i heterochromatyna

- ▶ Heterochromatyna – nieaktywna forma magazynowa
- ▶ Euchromatyna – transkrypcyjnie aktywna



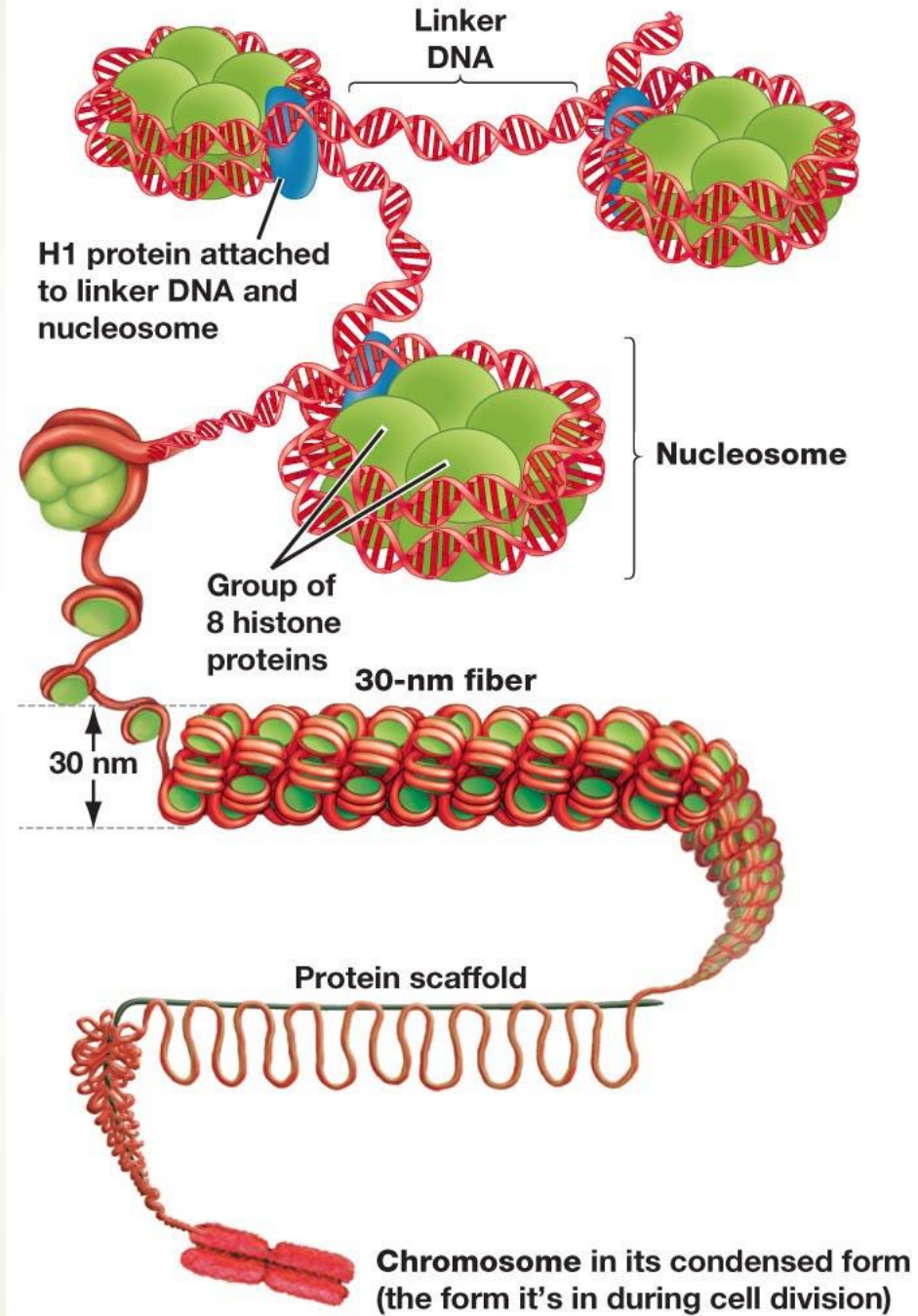


Histony

- Chromatyna składa się z bardzo długiej cząsteczki dwuniciowego DNA i prawie **takiej samej masy** małych, kwaśnych białek zwanych **histonami**
- Białka te są bogate w **argininę** i **lizynę** – **dodatnio naładowane** AA
- Dodatnio naładowane AA pomagają histonom w przyciąganiu ujemnie naładowanego szkieletu cukrowego DNA

Histony

(b) Nucleosome structure

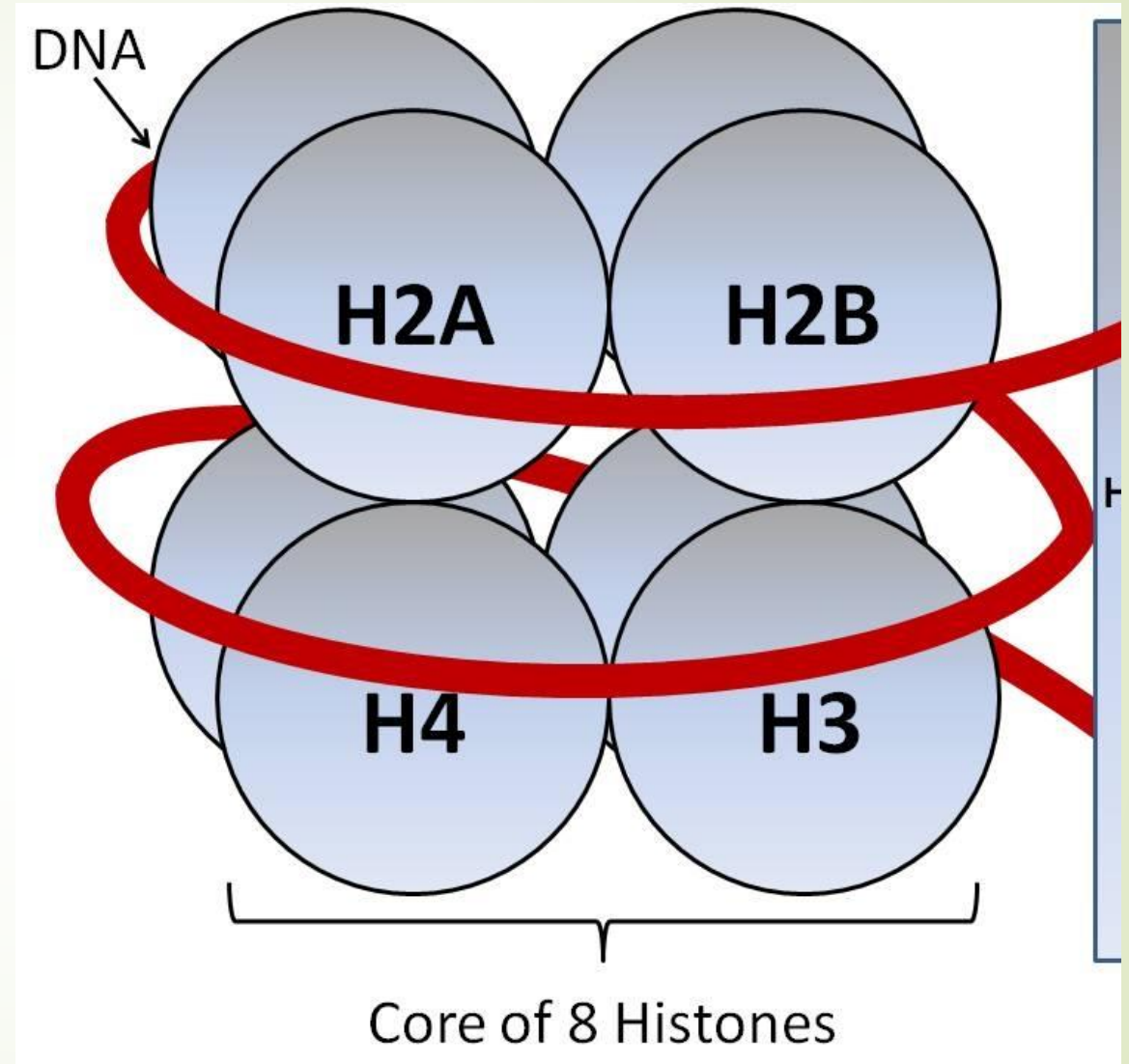




Upakowanie DNA

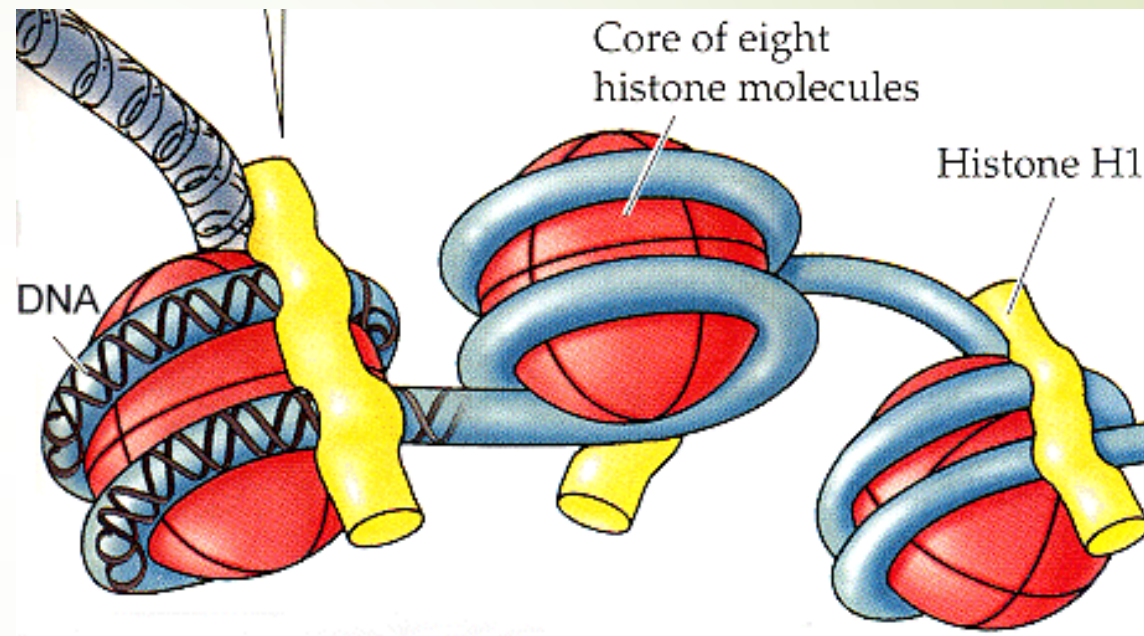
- ⦿ Istnieje kilka poziomów upakowania DNA
- ⦿ Podstawowym poziomem organizacji, na którym opierają się dalsze etapy upakowania, są **nukleosomy**
- ⦿ Są to struktury, których rdzeń stanowi **8 białek histonowych (oktamer)** oraz owinięta na nich dwuniciowa helisa DNA
- ⦿ Dodatkowy element stanowi **histon H1**, który stanowi element rozdzielający poszczególne nukleosomy

Oktamer histonowy



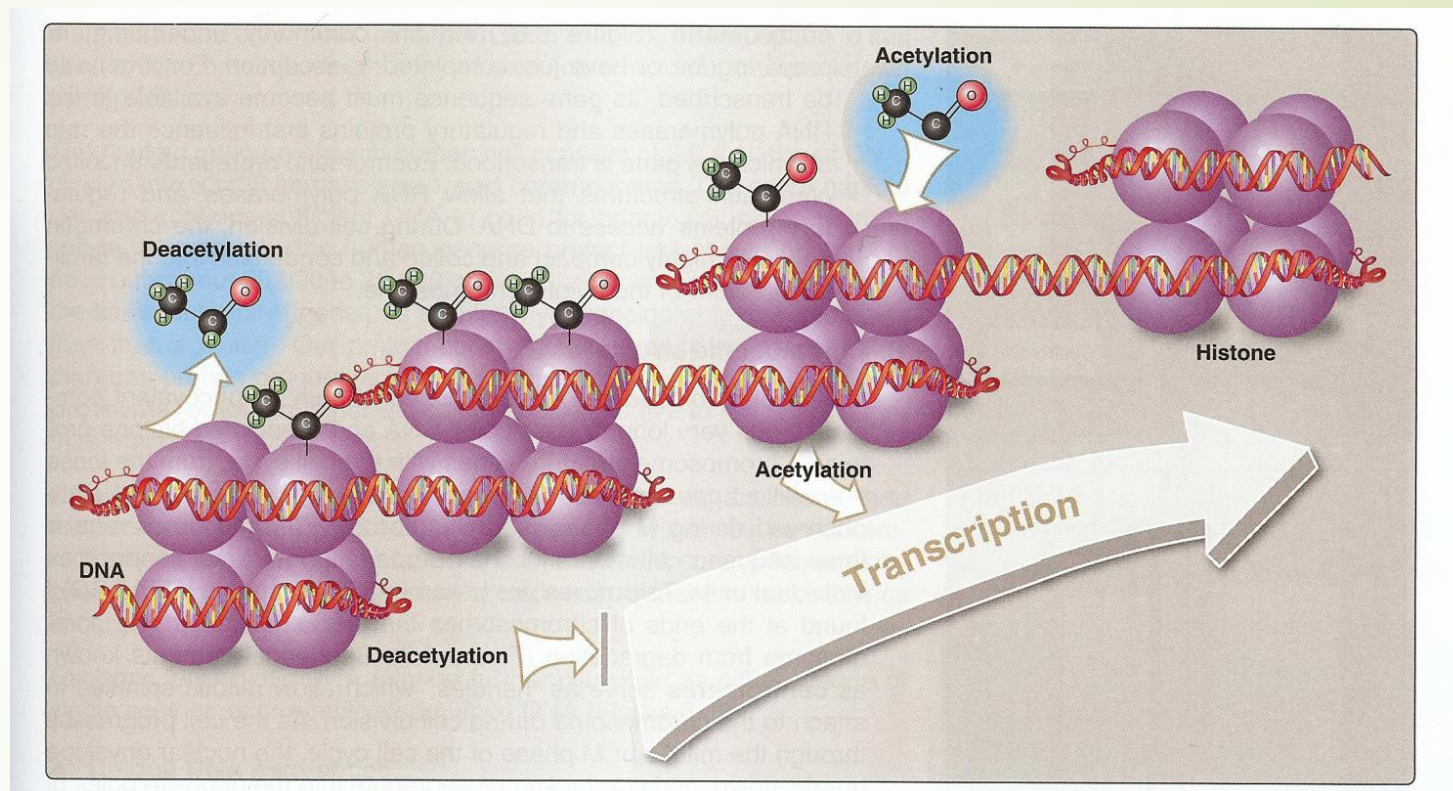
Nukleosomy

- Poza upakowaniem DNA, histony regulują również ekspresję genów (tzn. ich aktywność), poprzez odstawianie DNA i umożliwienie wiązania się czynników transkrypcyjnych



Modyfikacje histonów

- **Acetylacja i deacetylacja** reszt lizynowych sprawia, że DNA staje się łatwiej lub trudniej dostępne dla czynników transkrypcyjnych
- acetylacja** = aktywacja transkrypcji
- deacetylacja** = wyciszenie



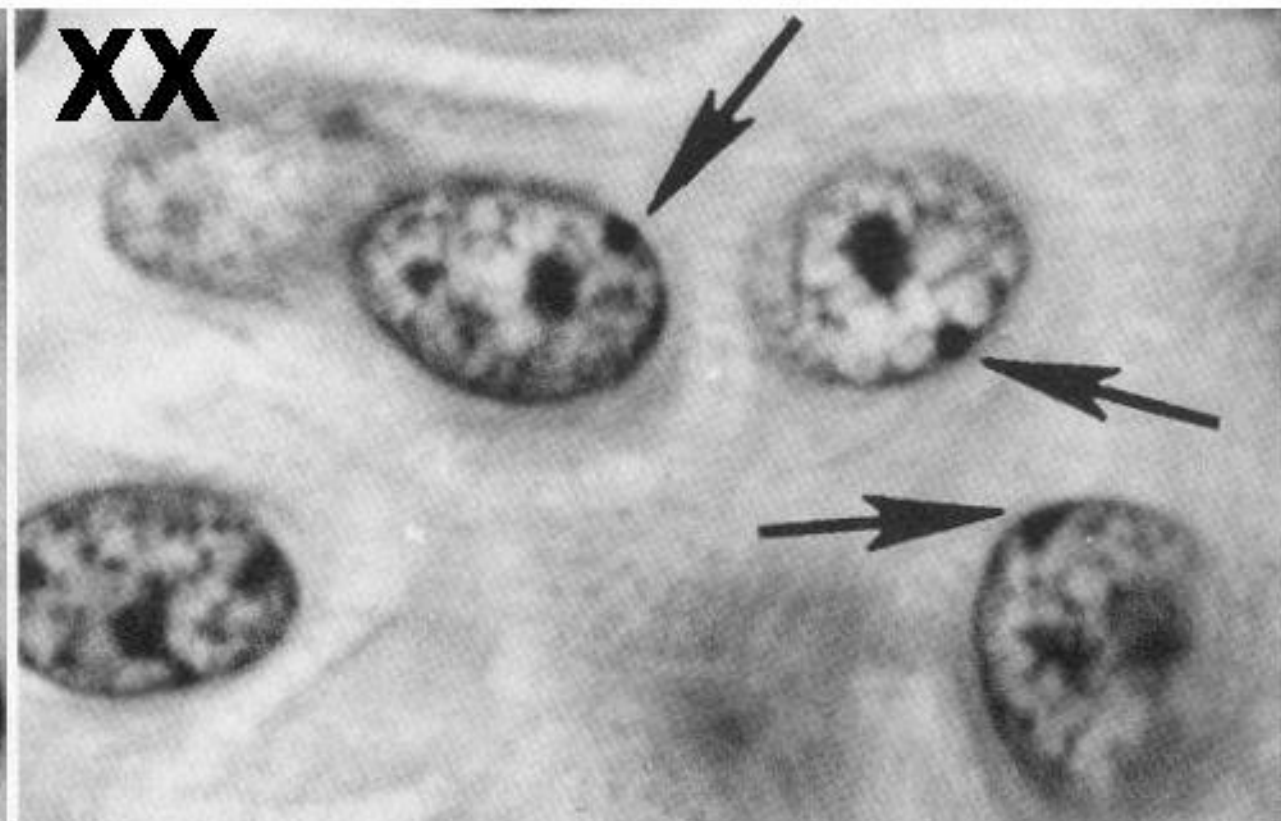


Metylacja DNA – inna metoda wyciszania genów

- ▶ Metylowana jest cytozyna
- ▶ Wiązanie jest stabilne przez cały okres życia organizmu
- ▶ W komórkach potomnych (po replikacji) DNA jest również zmetylowane

Ciałko Barra = jeden z chromosomów X u kobiet

- ▶ Przykład metylacji fizjologicznej
- ▶ Jedna z metod weryfikacji płci sportowców





Metylacja DNA w nowotworach

- ▶ Zazwyczaj w nowotworach wykrywa się hipermetylację supresorów nowotworzenia i hipometylację onkogenów

Hipermetylacja supresorów nowotworzenia

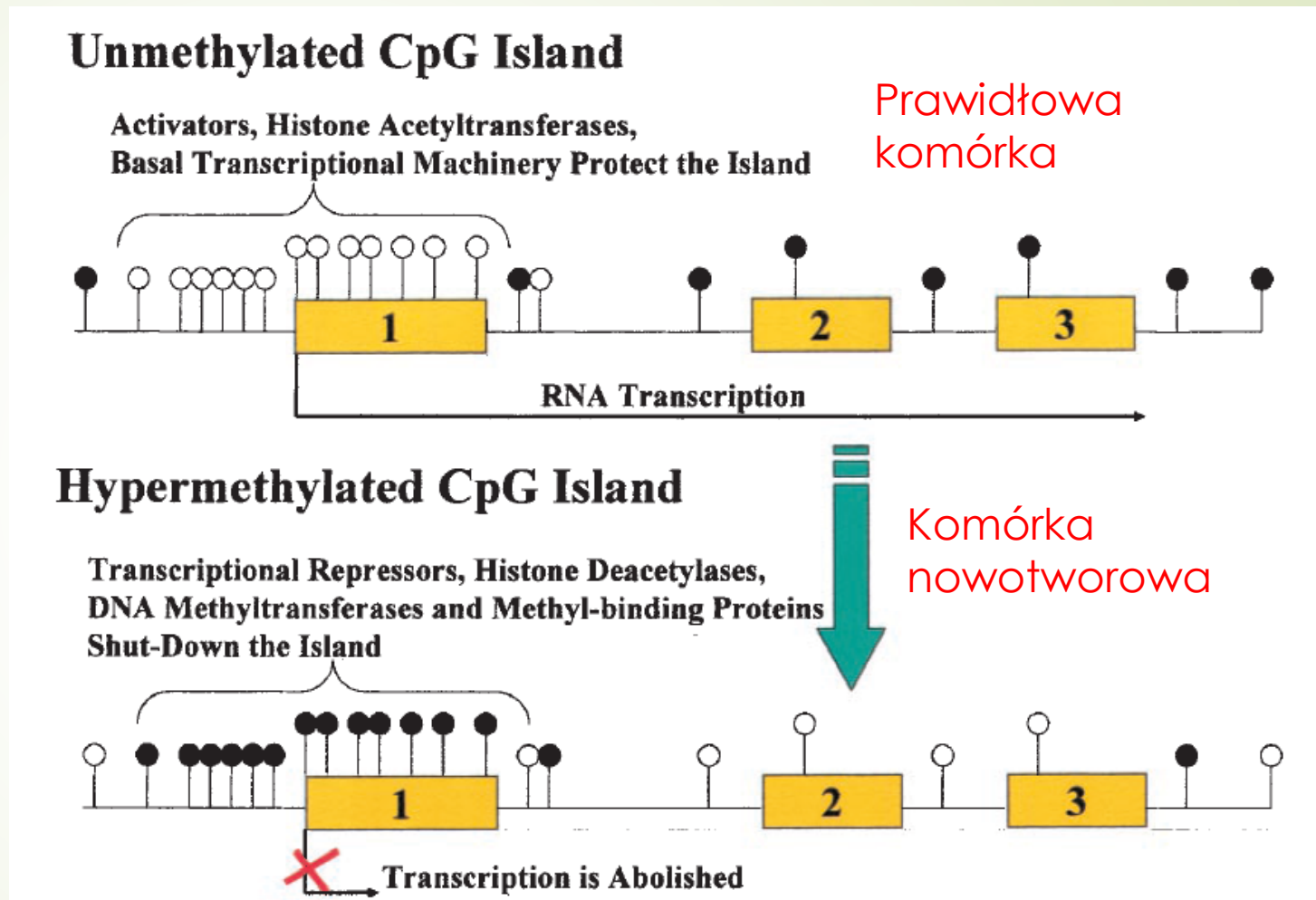


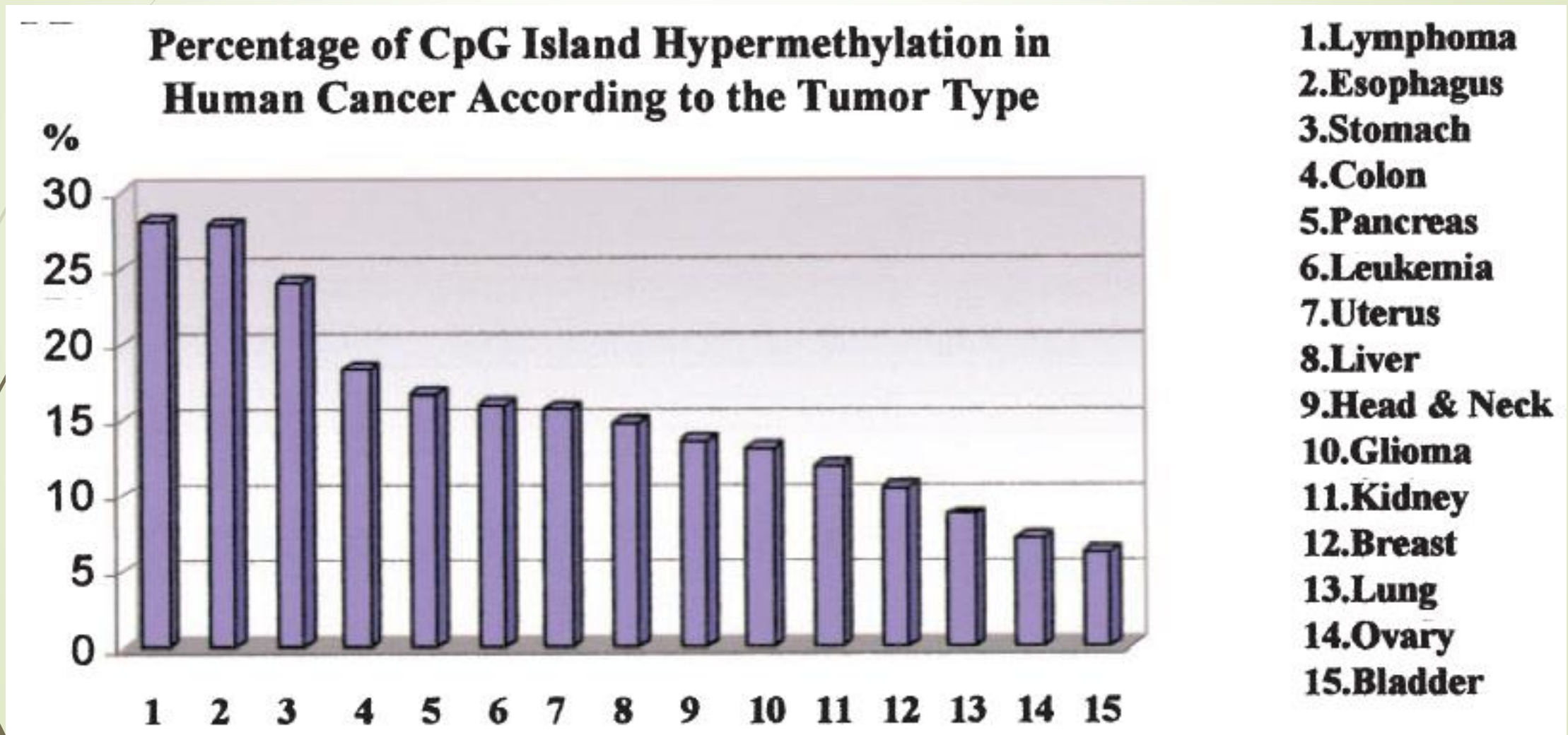
Figure 1 The typical CpG island of a tumor suppressor gene is represented in a normal and a tumor cell. The presence of a dense hypermethylation changes completely its molecular environment. White dots, unmethylated CpGs; Black dots, methylated CpGs

Przykłady genów metylowanych przez nowotwory

Table 1 Selected genes that undergo CpG island hypermethylation in human cancer

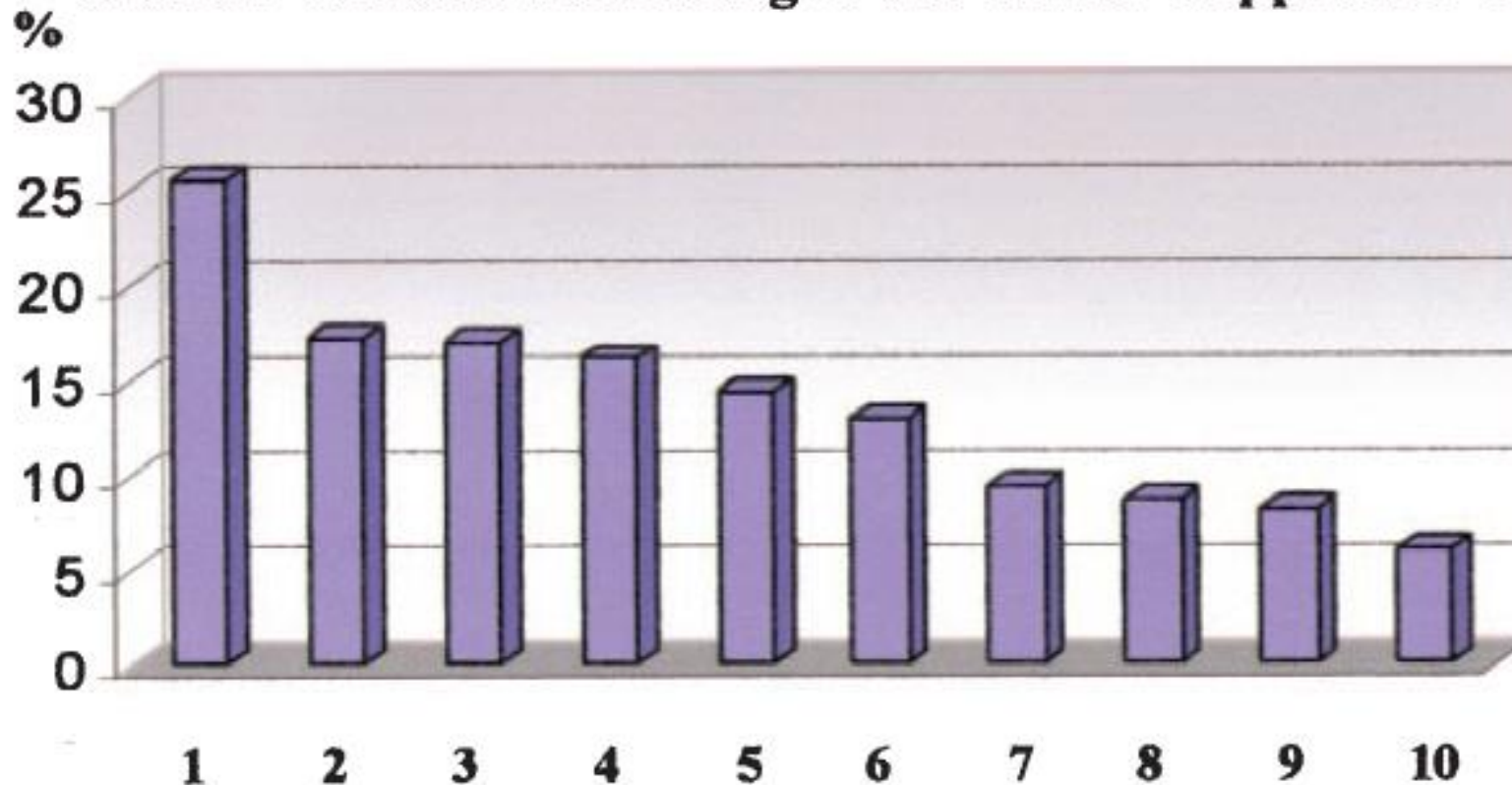
<i>Gene</i>	<i>Function</i>	<i>Location</i>	<i>Tumor profile</i>	<i>Consequences</i>
p16 ^{INK4a}	Cyclin-dependent Kinase Inhibitor	9p21	Multiple Types	Entrance in Cell Cycle
p14 ^{ARF}	MDM2 inhibitor	9p21	Colon, Stomach, Kidney	Degradation of p53
p15 ^{INK4b}	Cyclin-dependent Kinase Inhibitor	9p21	Leukemia	Entrance in Cell Cycle
hMLH1	DNA mismatch repair	3p21.3	Colon, Endometrium, Stomach	Frameshift Mutations
MGMT	DNA repair of 06-alkyl-guanine	10q26	Multiple Types	Mutations, Chemosensitivity
GSTP1	Conjugation to Glutathione	11q13	Prostate, Breast, Kidney	Adduct Accumulation?
BRCA1	DNA Repair, Transcription	17q21	Breast, Ovary	Double Strand-Breaks?
p73	p53 Homologue	1p36	Lymphoma	Unknown (Cisplatin?)
LKB1/STK11	Serine/Threonine Kinase	19p13.3	Colon, Breast, Lung	Unknown
ER	Estrogen Receptor	6q25.1	Breast	Hormone Insensitivity
PR	Progesterone Receptor	11q22	Breast	Hormone Insensitivity
AR	Androgen Receptor	Xq11	Prostate	Hormone Insensitivity
RAR β 2	Retinoic Acid Receptor β 2	3p24	Colon, Lung, Head and Neck	Vitamin Insensitivity?
RASSF1	Ras Effector Homologue	3p21.3	Multiple Types	Unknown
VHL	Ubiquitin Ligase Component	3p25	Kidney, Hemangioblastoma	Loss of hypoxic response?
Rb	Cell Cycle Inhibitor	13q14	Retinoblastoma	Entrance in Cell Cycle
THBS-1	Thrombospondin-1, Anti-angiogenic	15q15	Glioma	Neovascularization
CDH1	E-cadherin, cell adhesion	16q22.1	Breast, Stomach, Leukemia	Dissemination
HIC-1	Transcription Factor	17p13.3	Multiple Types	Unknown
APC	Inhibitor of β -catenin	5q21	Aerodigestive Tract	Activation β -catenin Route
COX-2	Cyclooxygenase-2	1q25	Colon, Stomach	Antiinflammatory Resistance?
SOCS-1	Inhibitor of JAK/STAT Pathway	16p13.13	Liver	JAK2 Activation
SRBC	BRCA1-binding Protein	1p15	Breast, Lung	Unknown
SYK	Tyrosine Kinase	9q22	Breast	Unknown
RIZ1	Histone/Protein Methyltransferase	1p36	Breast, Liver	Aberrant Gene Expression?
CDH13	H-cadherin, cell adhesion	16q24	Breast, Lung	Dissemination?
DAPK	Pro-apoptotic	9q34.1	Lymphoma, Lung, Colon	Resistance to Apoptosis
TMS1	Pro-apoptotic	16p11	Breast	Resistance to Apoptosis
TPEE/HPPI	Transmembrane Protein	2q33	Colon, Bladder	Unknown

Jaki odsetek genów supresorów nowotworzenia jest hipermetylowanych?



Które geny supresorów nowotworzenia są najczęściej hipermetylowane?

Percentage of CpG Island Hypermethylation in Human Cancers According to the Tumor Suppressor Gene



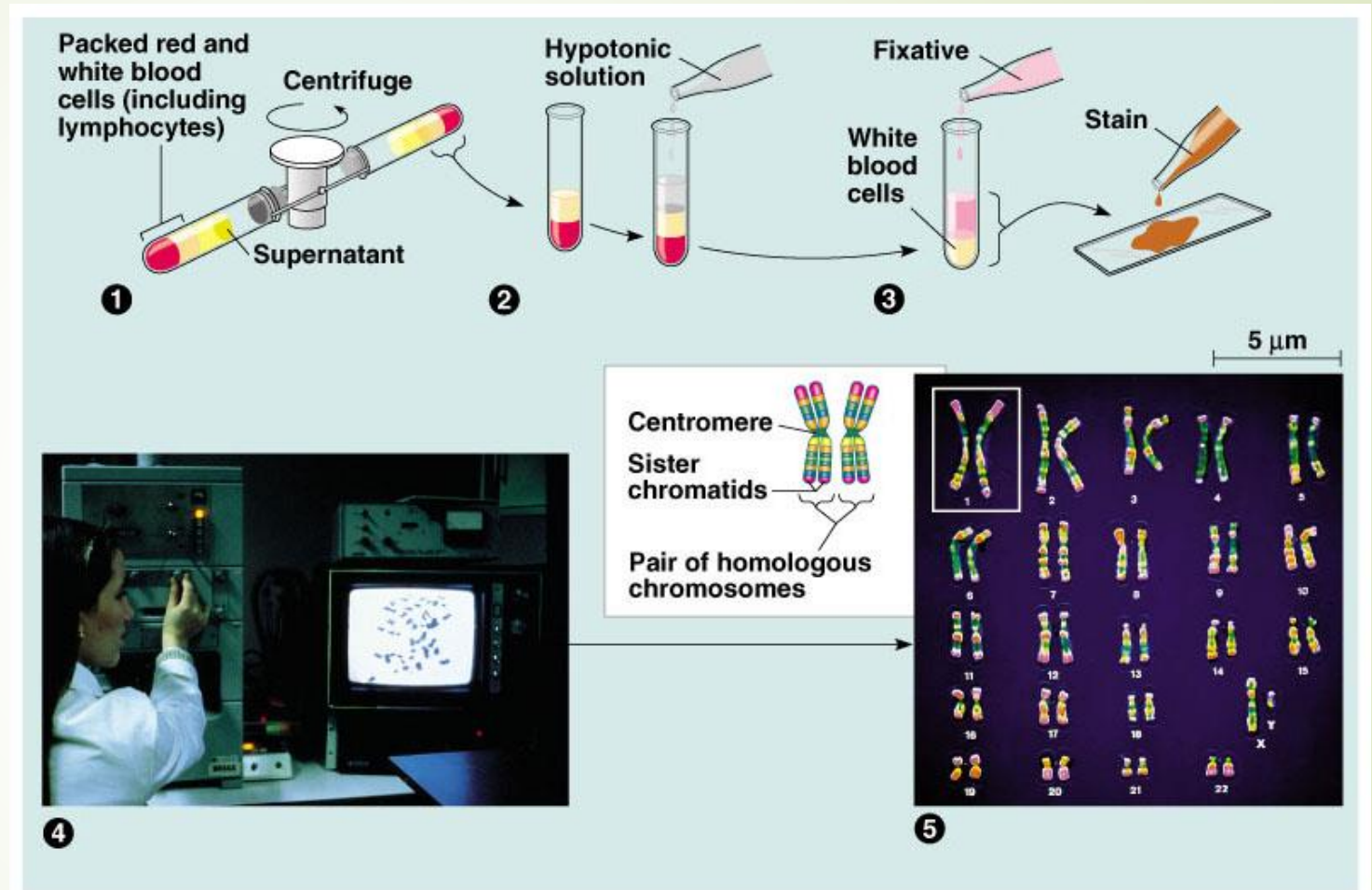
1. p16^{INK4a}
2. p15^{INK4b}
3. DAPK
4. hMLH1
5. MGMT
6. APC
7. GSTP1
8. p73
9. p14^{ARF}
10. BRCA1



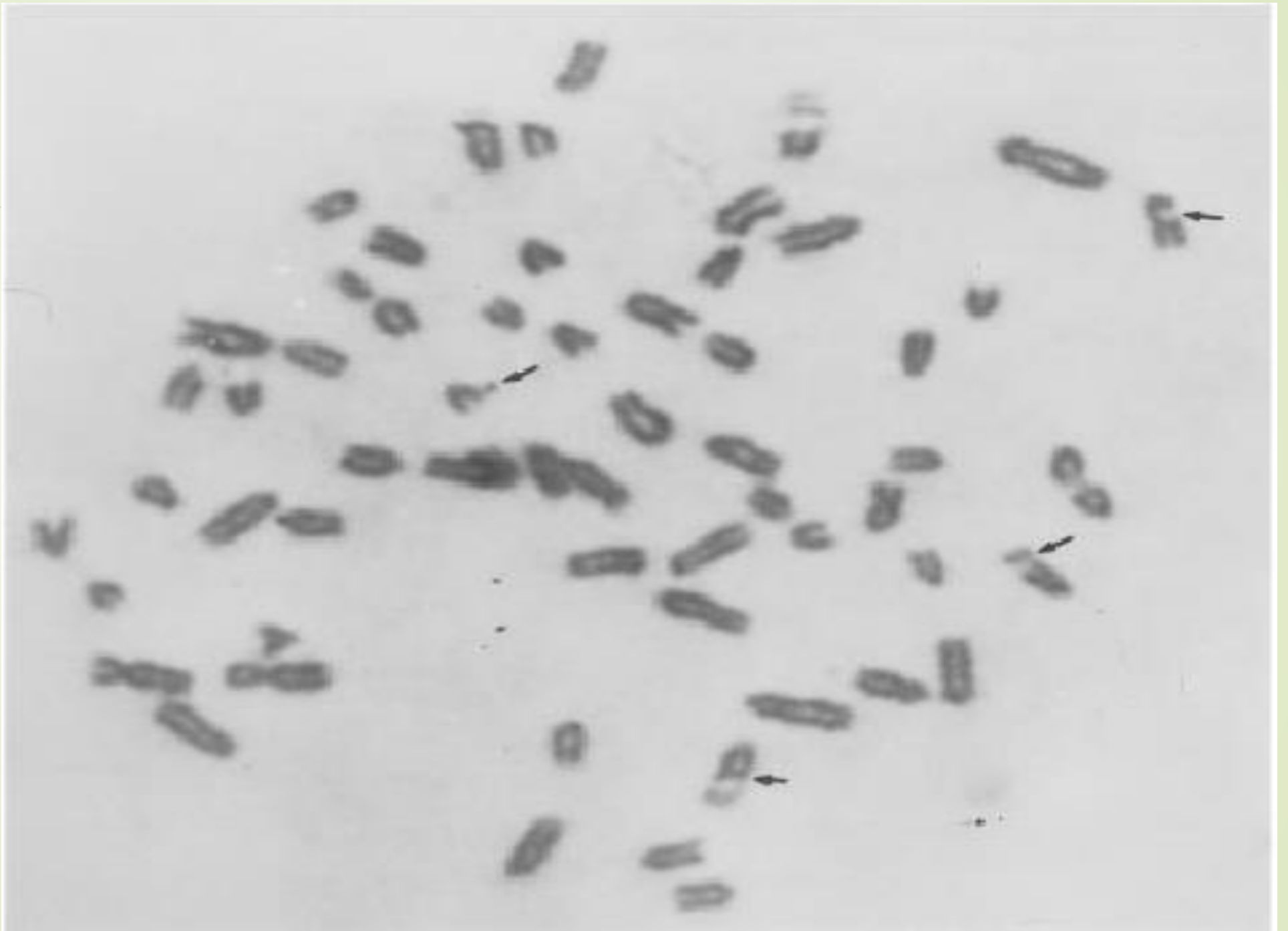
Kariotyp

- ▶ Kariotyp:
 - ▶ ułożone w kolejności chromosomy danego osobnika
 - ▶ zbiór chromosomów z komórek mitotycznych
 - ▶ barwienie pozwala uwidocznic prążki na chromosomach

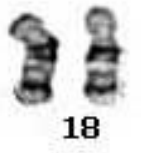
Karyotypowanie



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

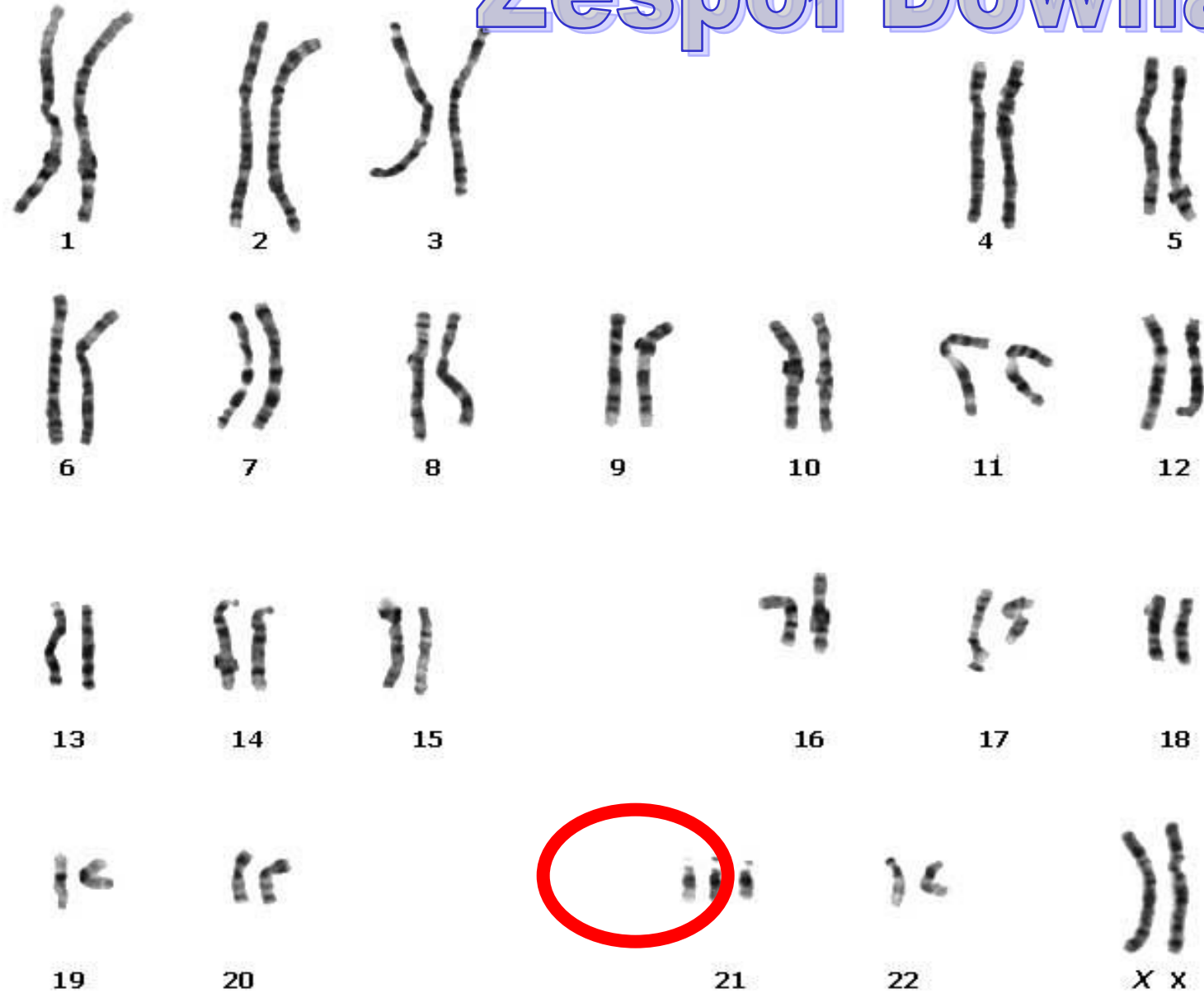


Human male
G-bands



Trisomy 21

Zespół Downa



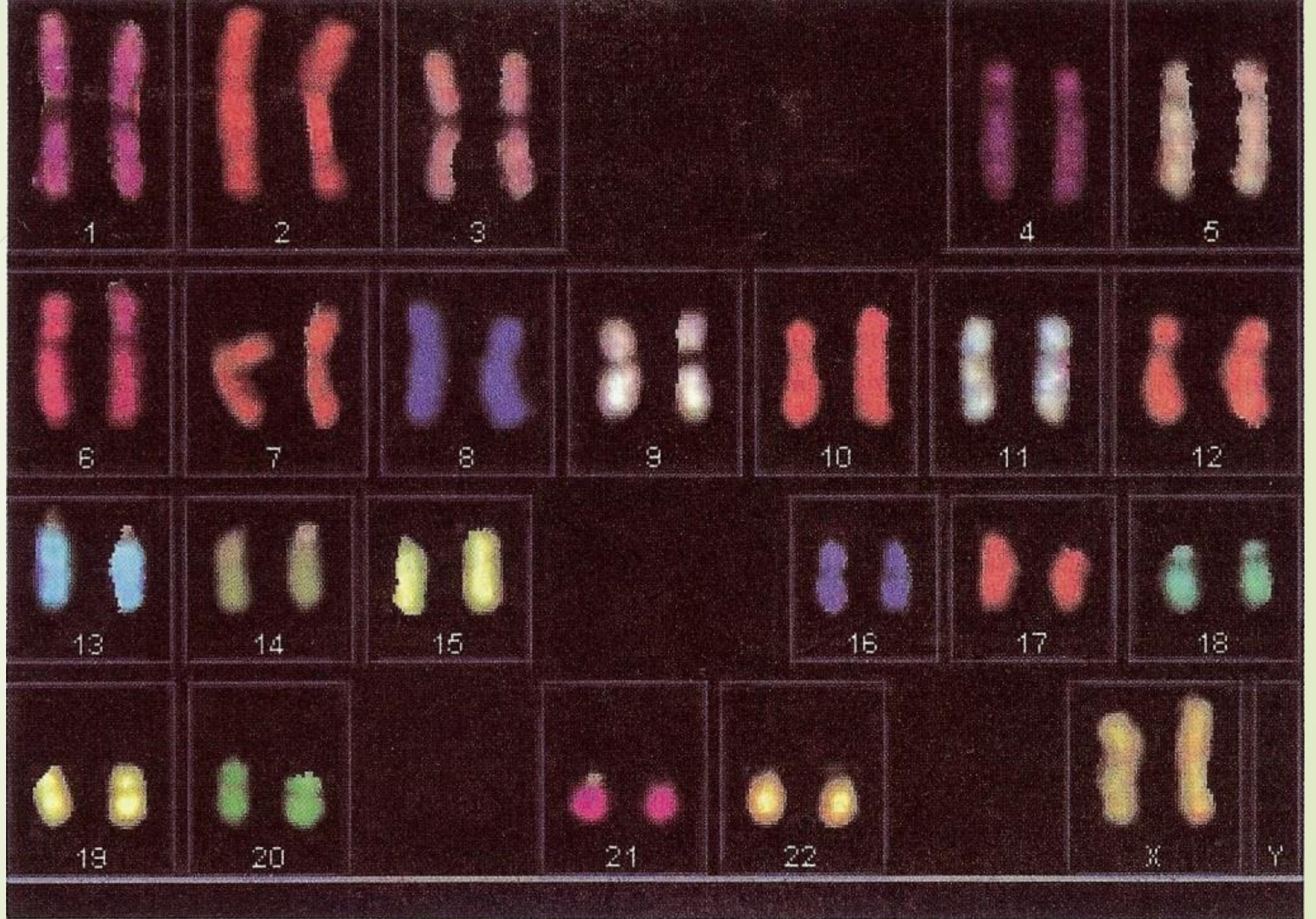


FIGURE 6-6. Spectral karyotype of human chromosomes.

Trisomia 21 = zespół Downa

- Niedobór wzrostu
- Opóźnienie umysłowe
- Płaska potylica

- Wrodzone wady serca (wspólny kanał przedsionkowo-komorowy, ubytek przegrody międzyprzedsionkowej, ubytek przegrody międzykomorowej, przetrwały przewód tętniczy)

- Mongoidalne, skośne oczy
- Zmarszczka nakątna
- Plamki Brushfielda

- Dysplastyczne uszy

- Wystający, duży, pomarszczony język

- Krótkie, szerokie ręce z bruzdą „matpią”

- Ostra białaczka limfoblastyczna

- Szeroki odstęp między 1. i 2. palcem stopy

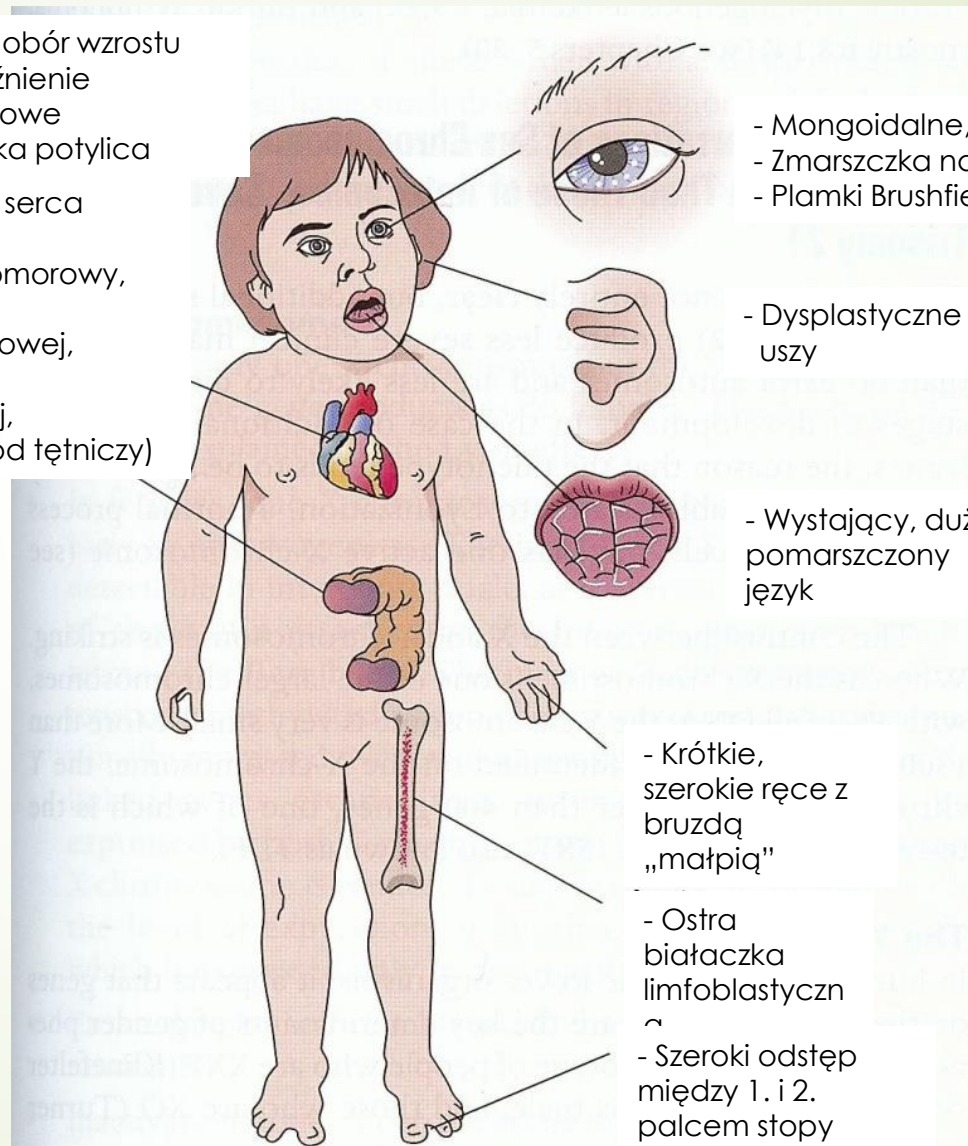


FIGURE 6-11. **A.** Clinical features of Down syndrome. **B.** A young girl with Down syndrome.

Zespół Klinefeltera (47, XXY)

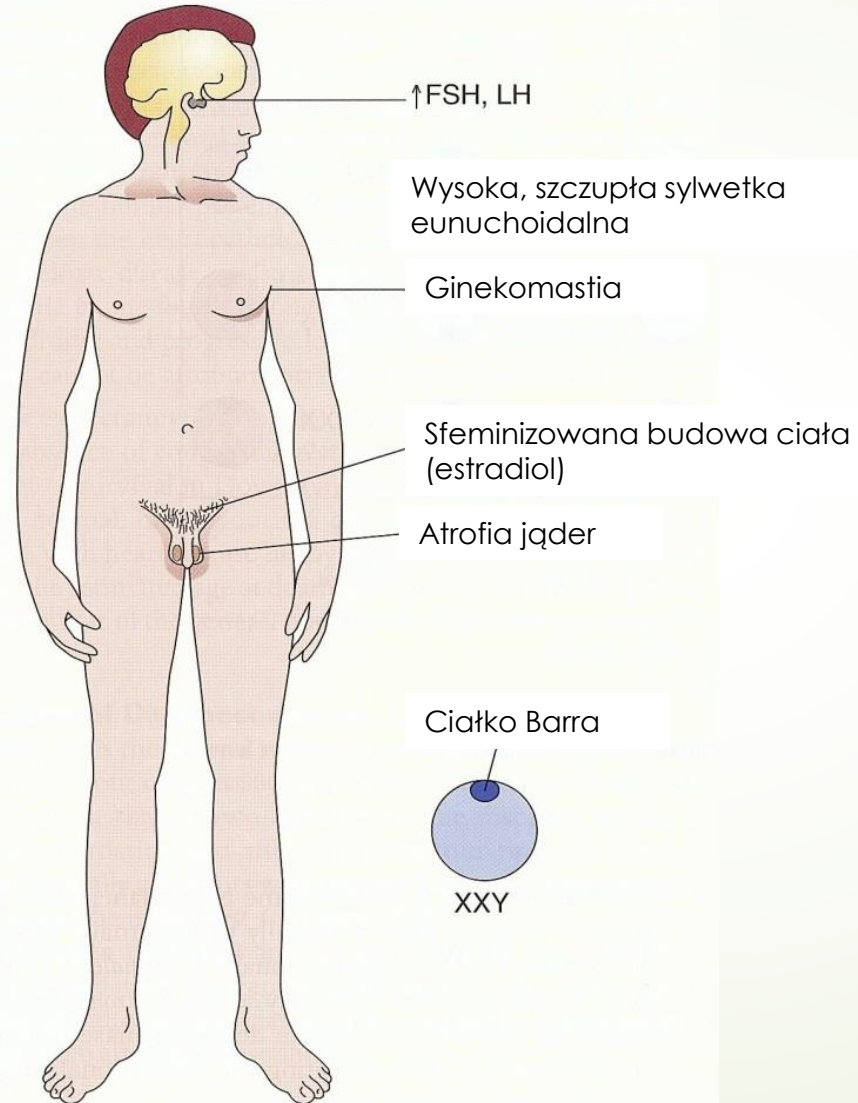
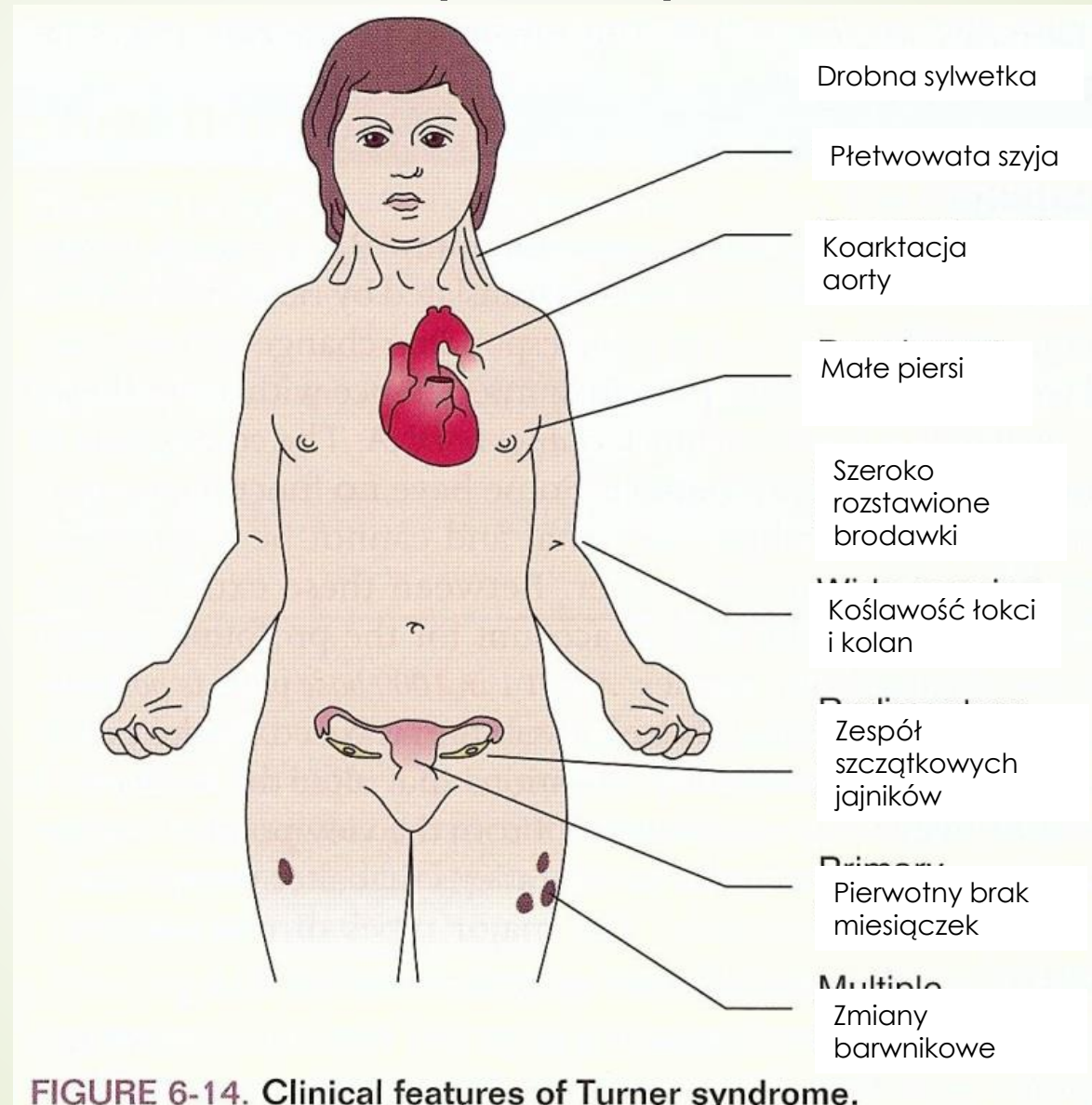


FIGURE 6-13. Clinical features of Klinefelter syndrome. FSH = follicle-stimulating hormone; LH = leuteinizing hormone

Zespół Turnera (45, X)



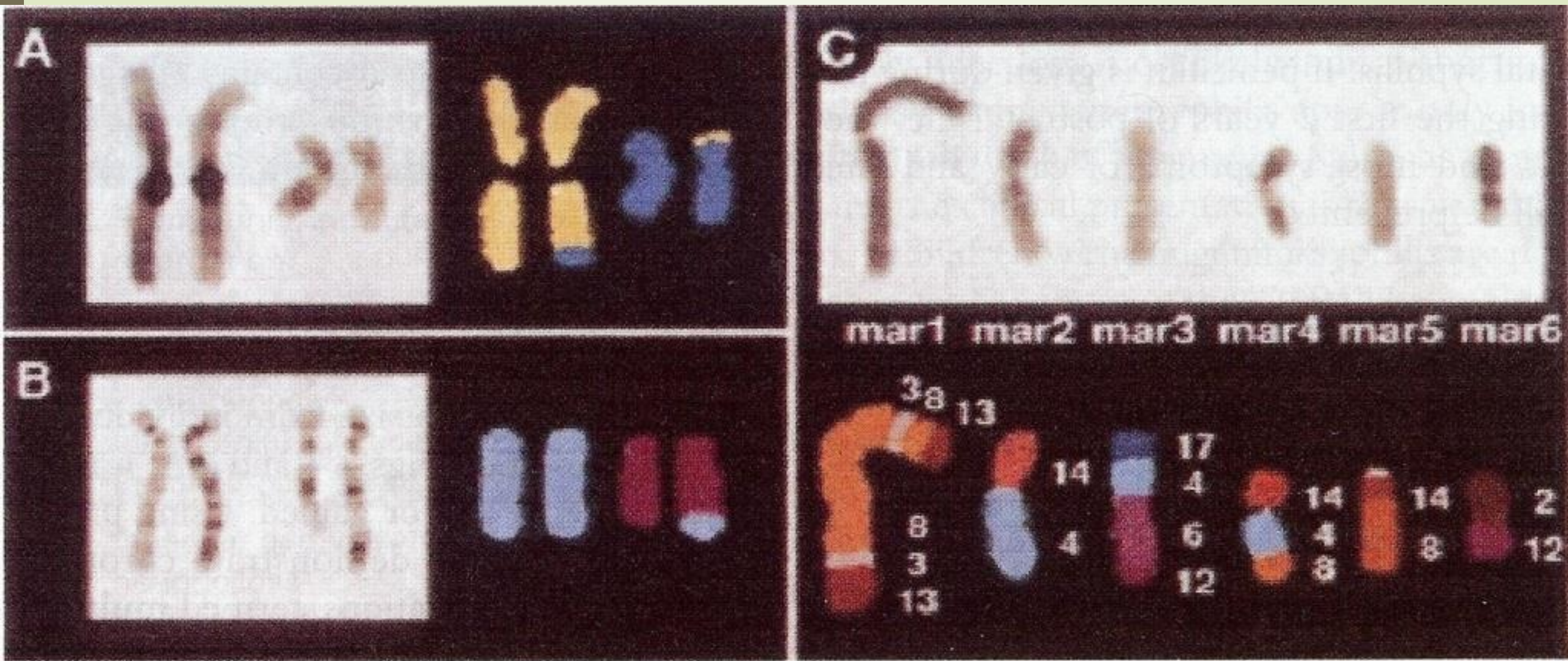


FIGURE 6-7. Translocations in human chromosomes demonstrated by spectral karyotyping. **A.** Balanced translocation: $t(1;11)$. **B.** Unbalanced karyotype: Derivative chromosome 12 with chromosome 4 material attached (partial trisomy for 4 and partial monosomy for 12q). **C.** Characterization of marker chromosomes from an aneuploid breast cancer showing multiple translocations.

Widelki replikacyjne DNA są asymetryczne

- Nić wiodąca i opóźniona są replikowane w inny sposób

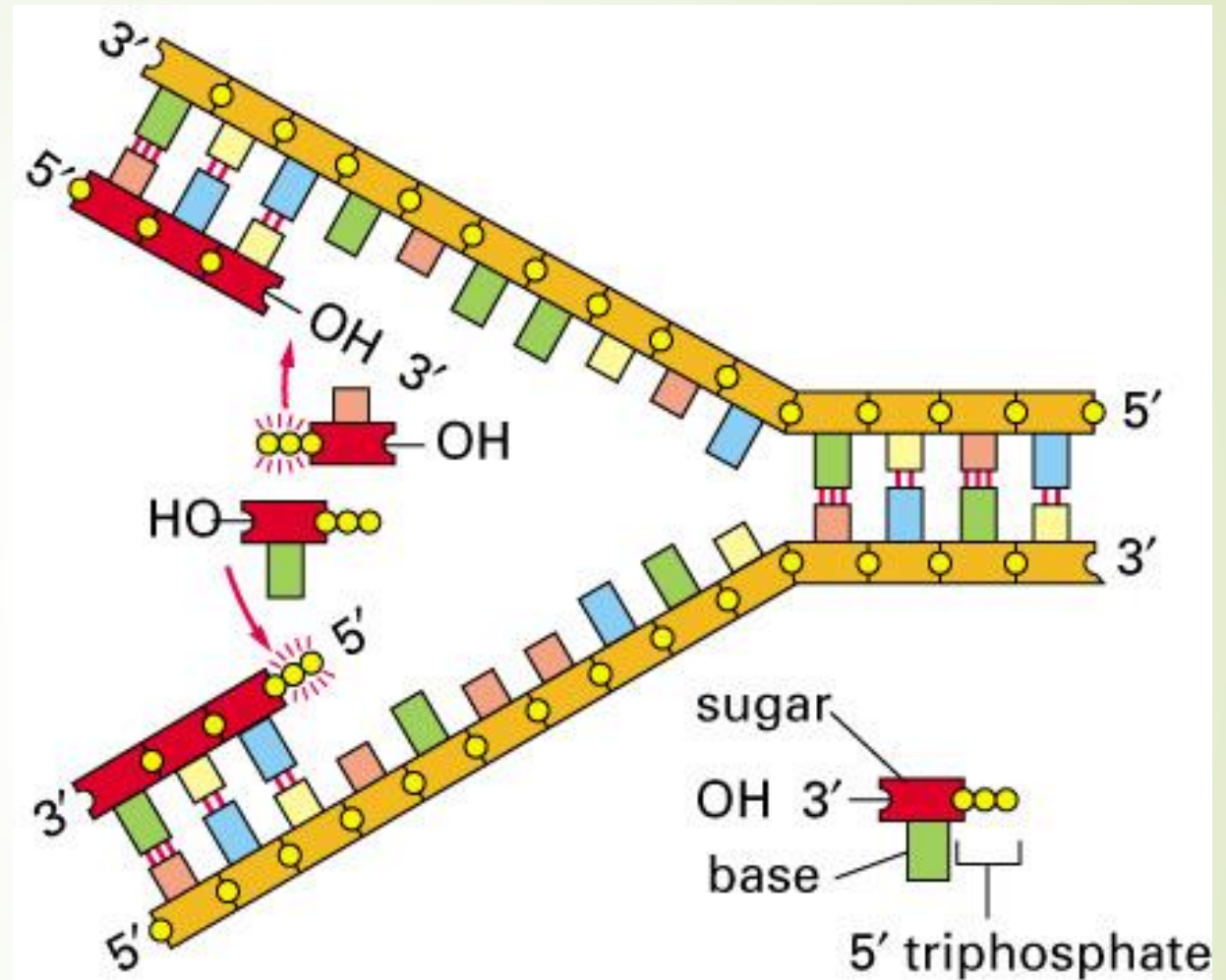


Figure 5-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

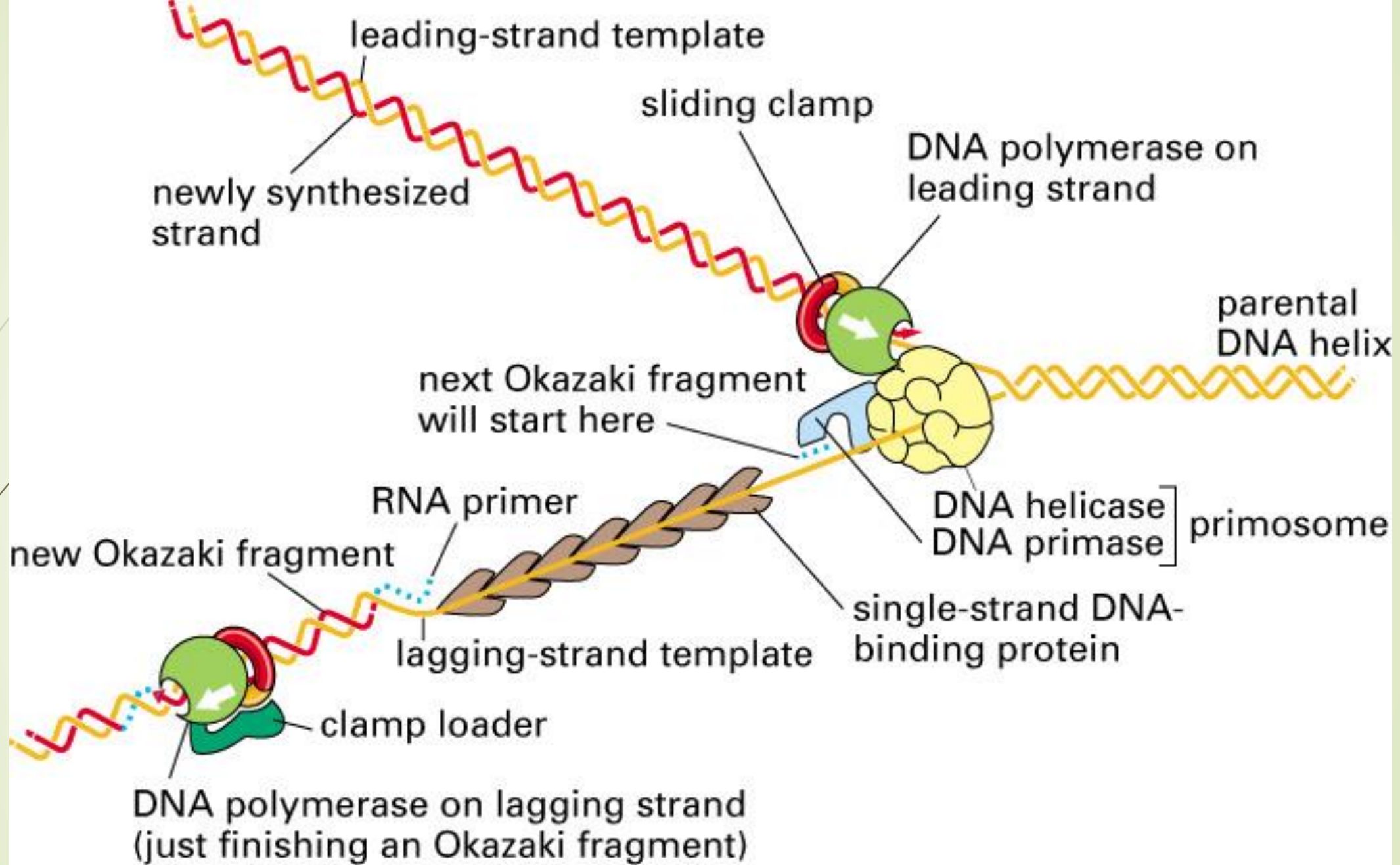


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Telomeraza rozwiązuje problem niekompletnej syntezy nici opóźnionej

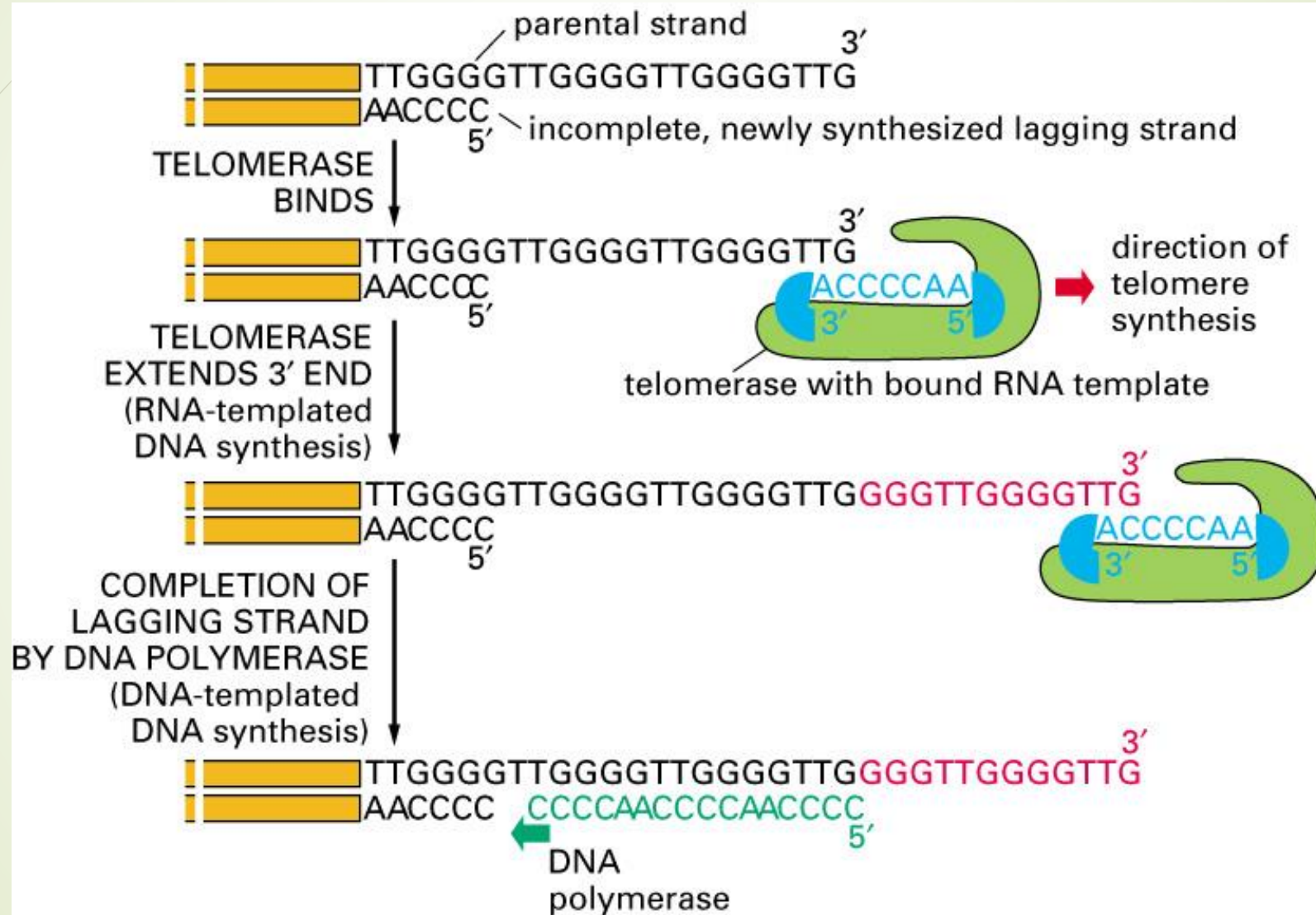


Figure 5-43. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Komórki somatyczne
charakteryzują się niską
aktywnością telomerazy

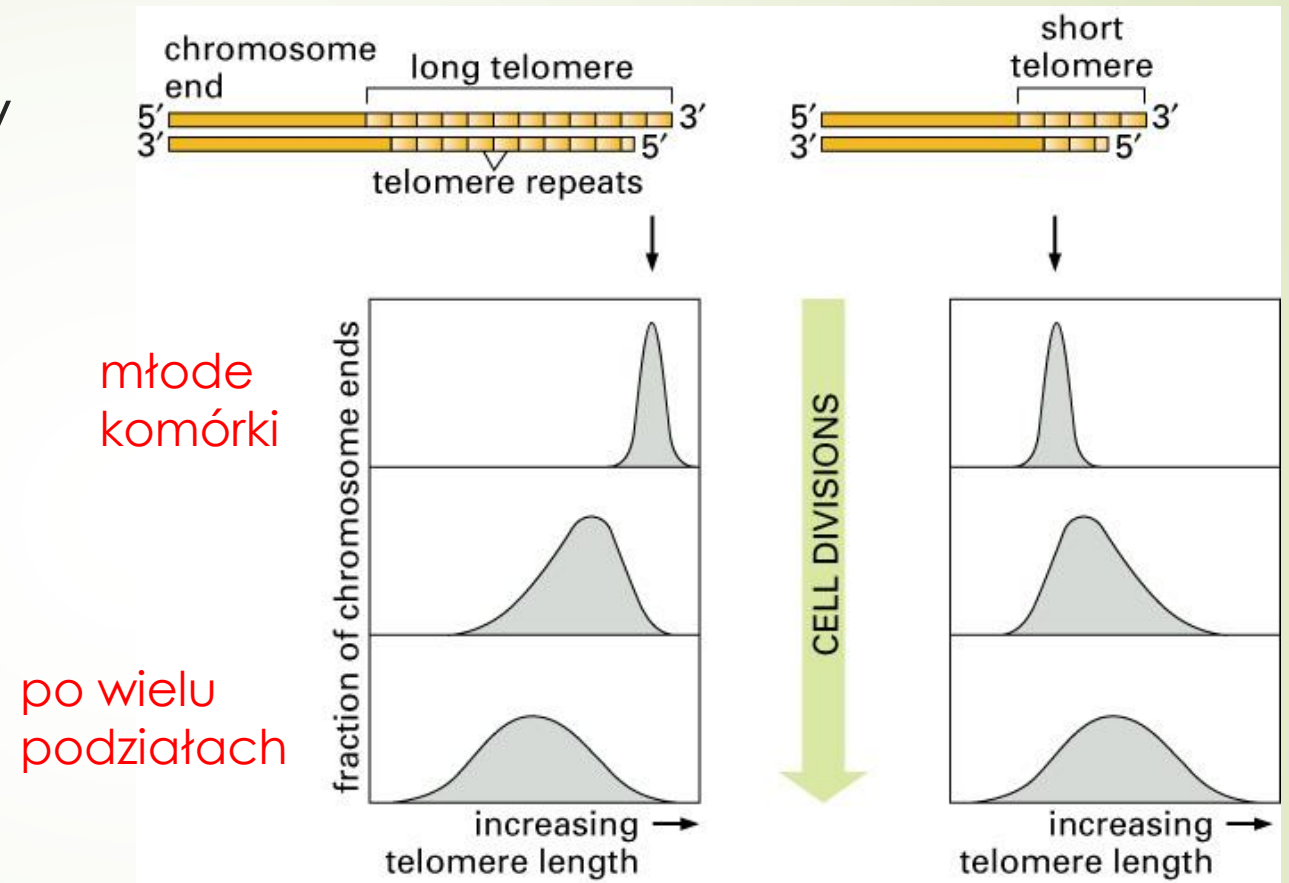
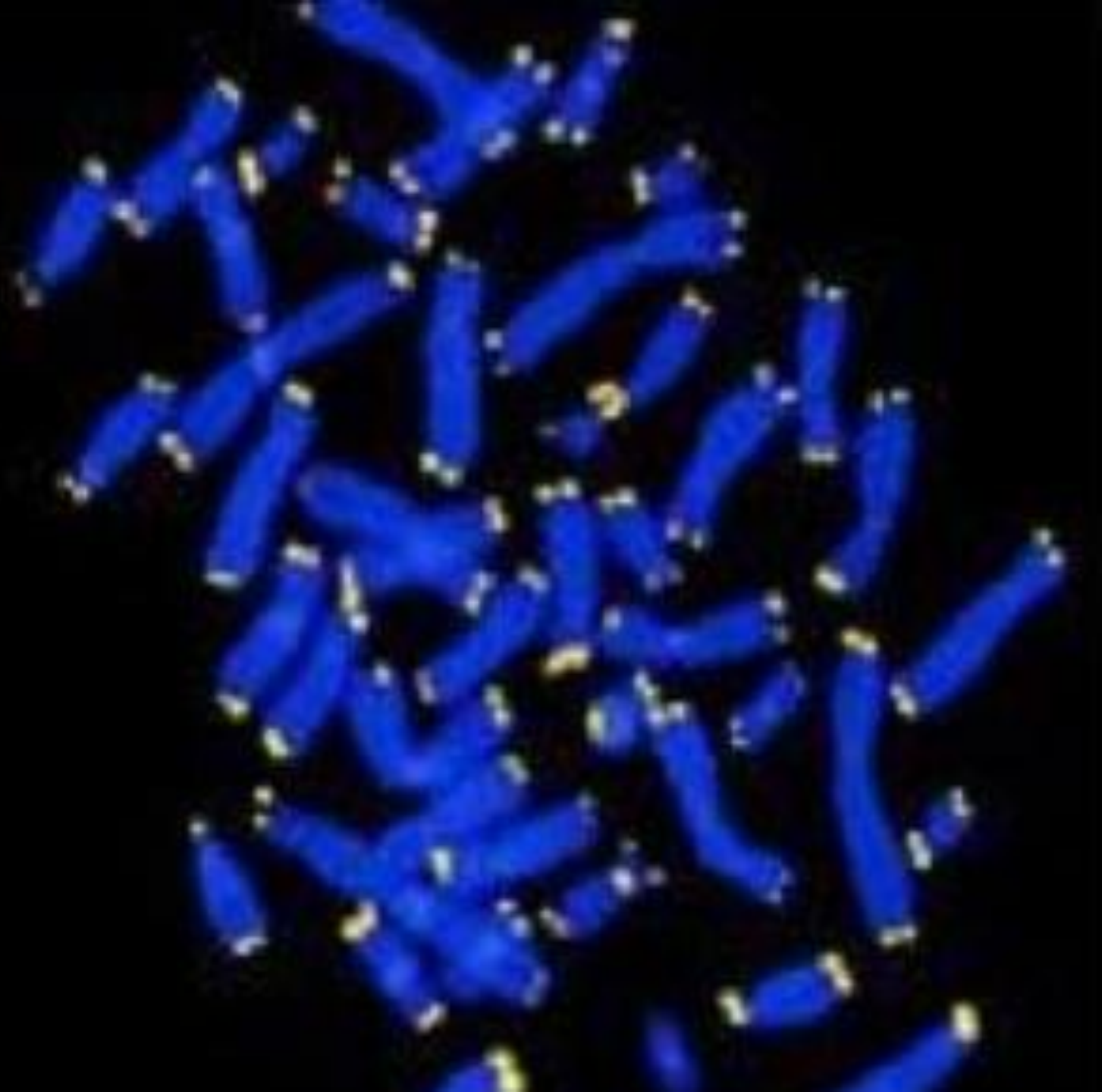
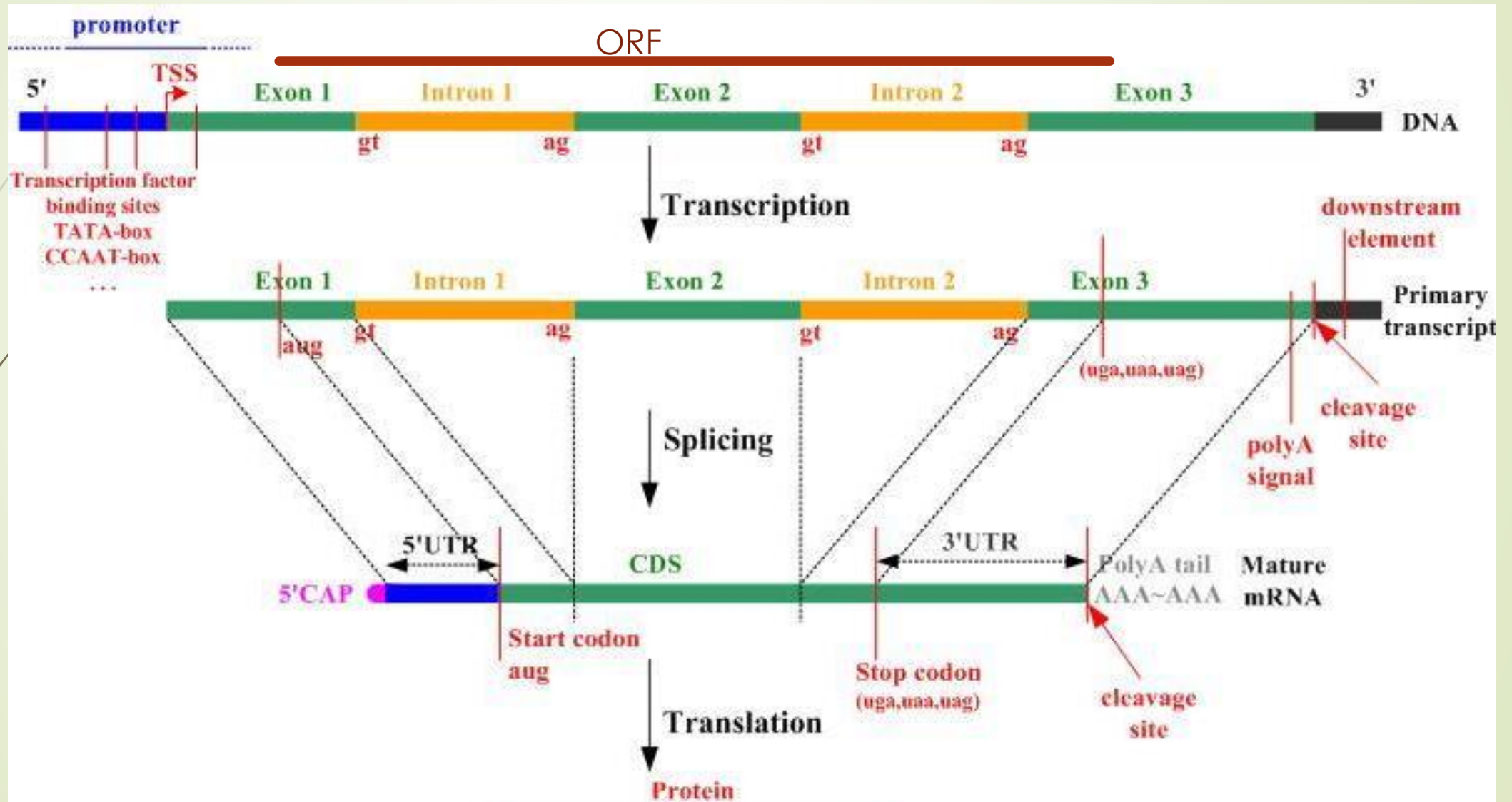


Figure 5-45. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

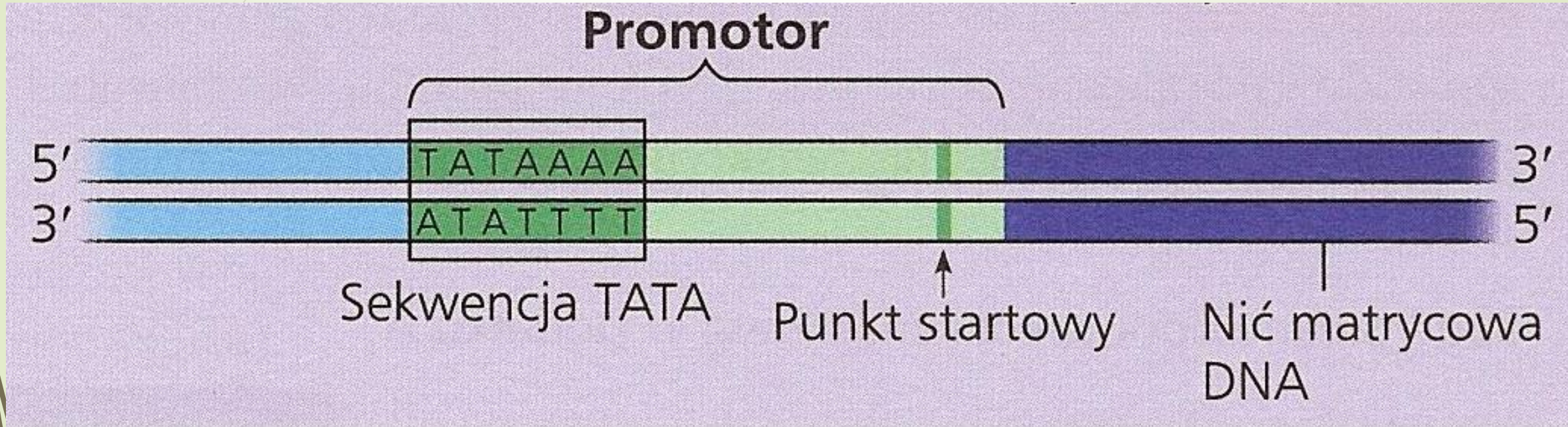
Telomery



Struktura genu



Promotor genu



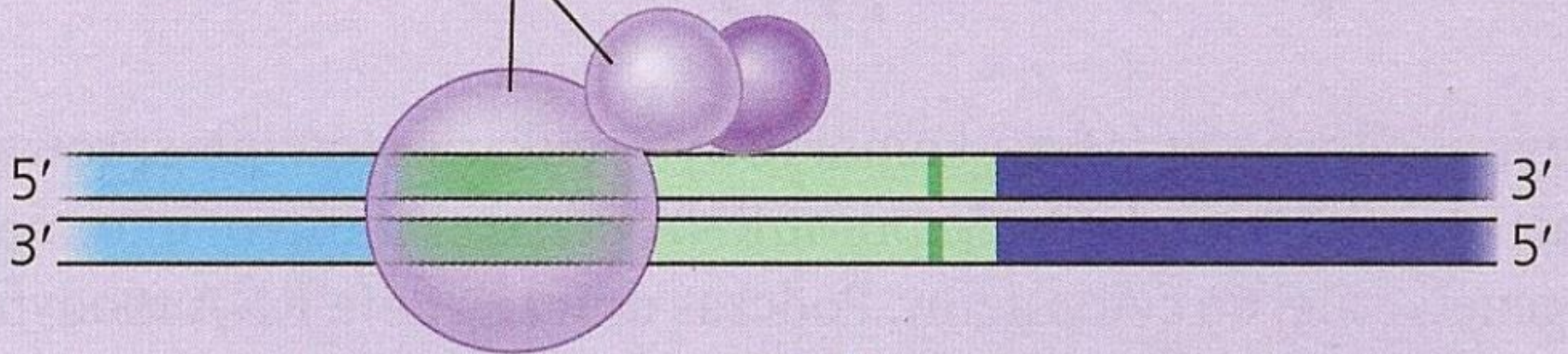
Czynniki transkrypcyjne

Ogólne czynniki transkrypcyjne:

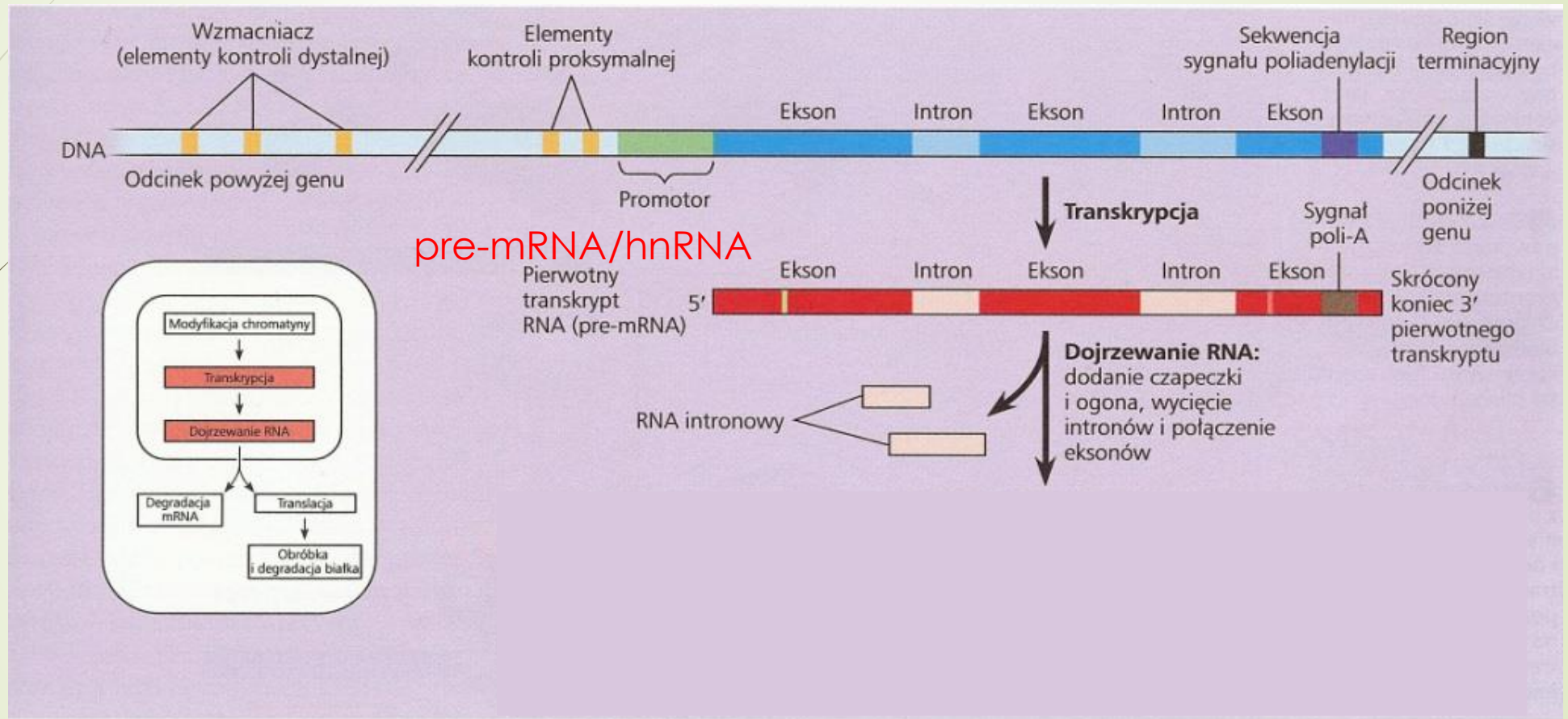
TFIIA
TFIIB
TFIID
TFIIE
TFIIF
TFIIH

2 Kilka czynników transkrypcyjnych, w tym jeden rozpoznający sekwencję TATA, musi się związać z promotorem, żeby mogła to zrobić polimeraza II RNA.

Czynniki transkrypcyjne



Dojrzwanie RNA

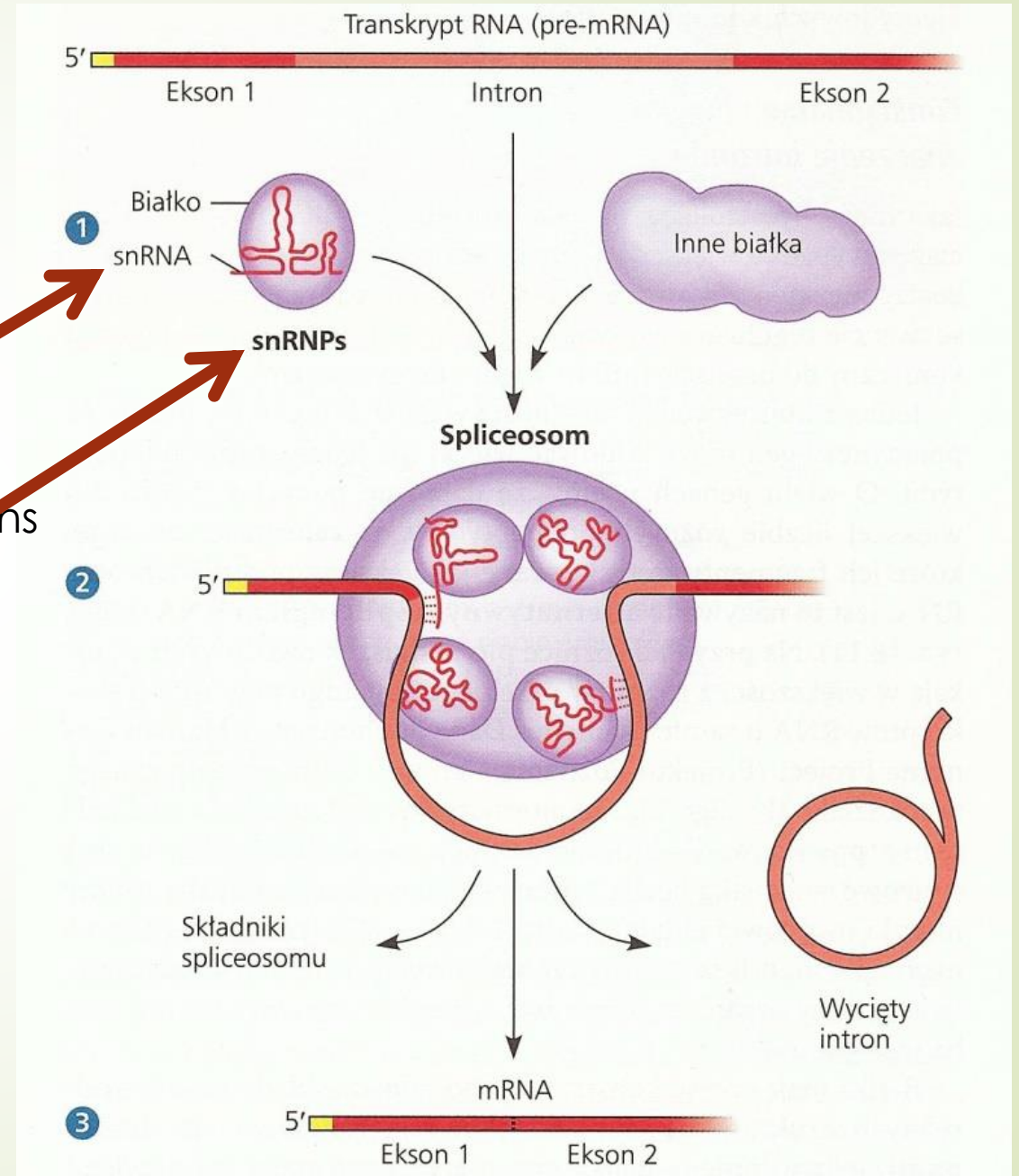


Dojrzewanie RNA

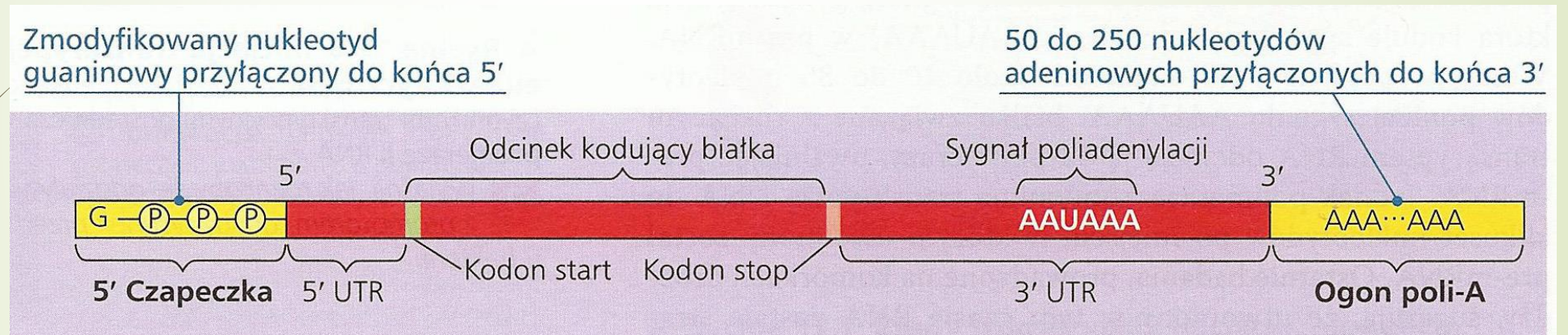
Spliceosom

small nuclear RNA

small nuclear ribonucleoproteins



Dojrzałe mRNA

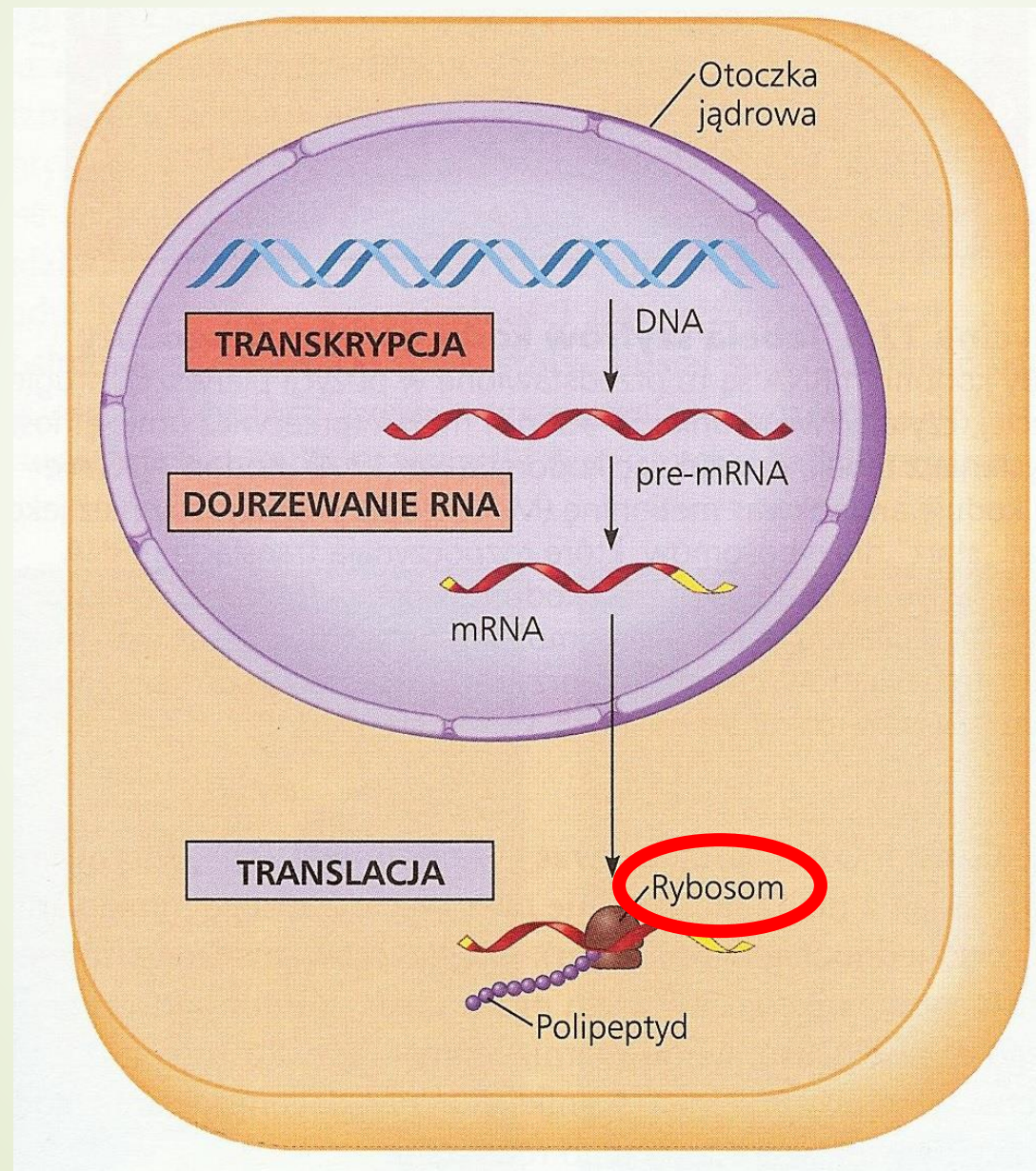




Alternatywny splicing

- ▶ Uważa się, że przynajmniej **75%** spośród około 30.000 ludzkich genów podlega alternatywnemu splicingowi

mRNA jest przenoszony do cysozolu



Rybosom jest syntetyzowany w jądru

- jądro zawiera około 500 genów potrzebnych do produkcji rybosomów; geny te znajdują się na chromosomach 13, 14, 15, 21 i 22
- krótkie ramiona tych chromosomów zawierają **regiony organizujące jądro (NOR)**, konieczne do uformowania jądra po podziale komórki
- w jądrze może znajdować się od 1 do 5 jąder



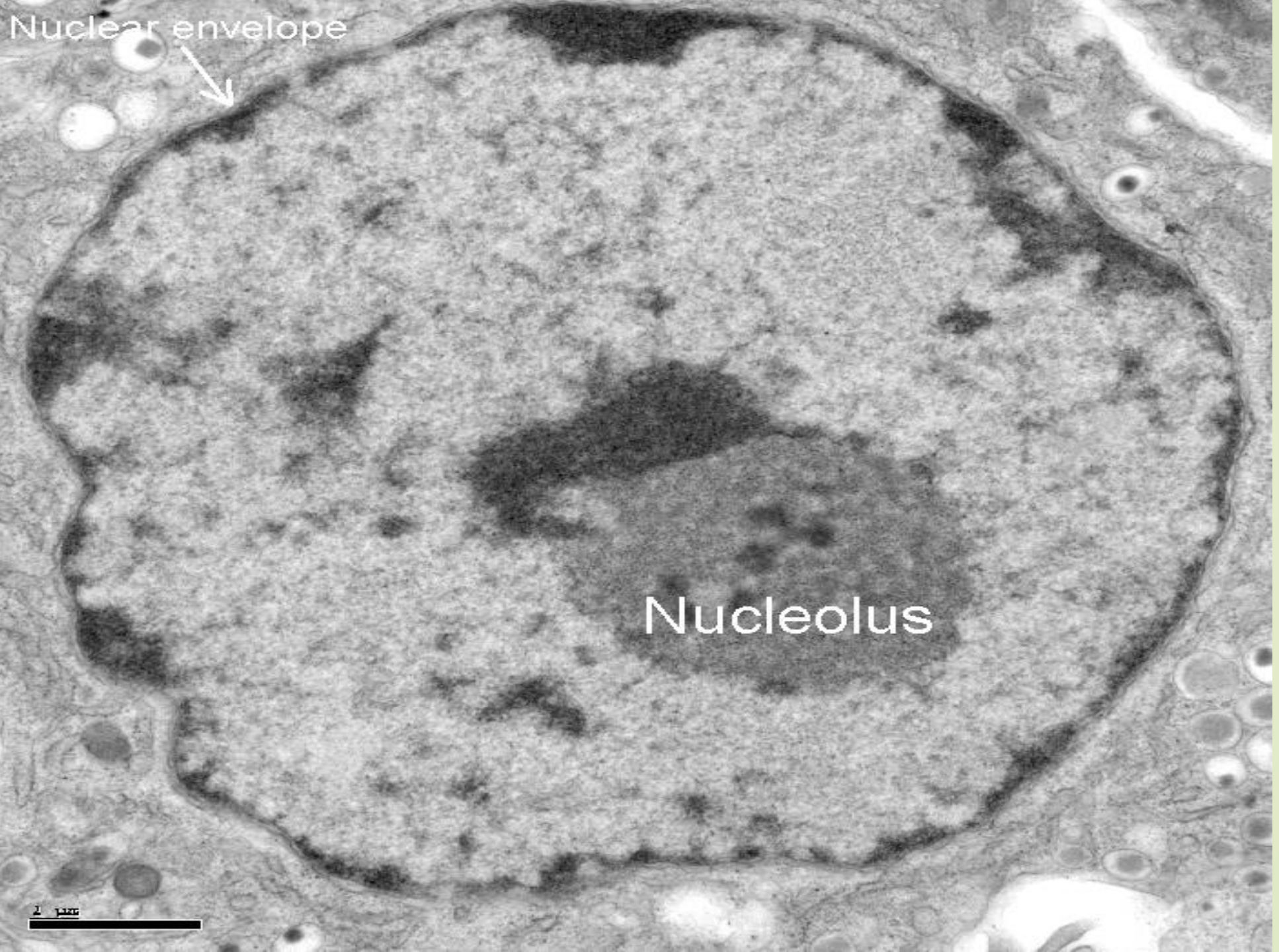
Rybosom jest syntetyzowany w jądru

- jądru jest również miejscem przechowywania niektórych białek:
- **nukleolina** – reguluje transkrypcję
- **fibrylaryna** – tworzy snRNP
- **telomeraza** – jest nieaktywna, gdy jest związana w jądru
- **nukleostemina** – wiąże i dezaktywuje p53

Nuclear envelope



Nucleolus

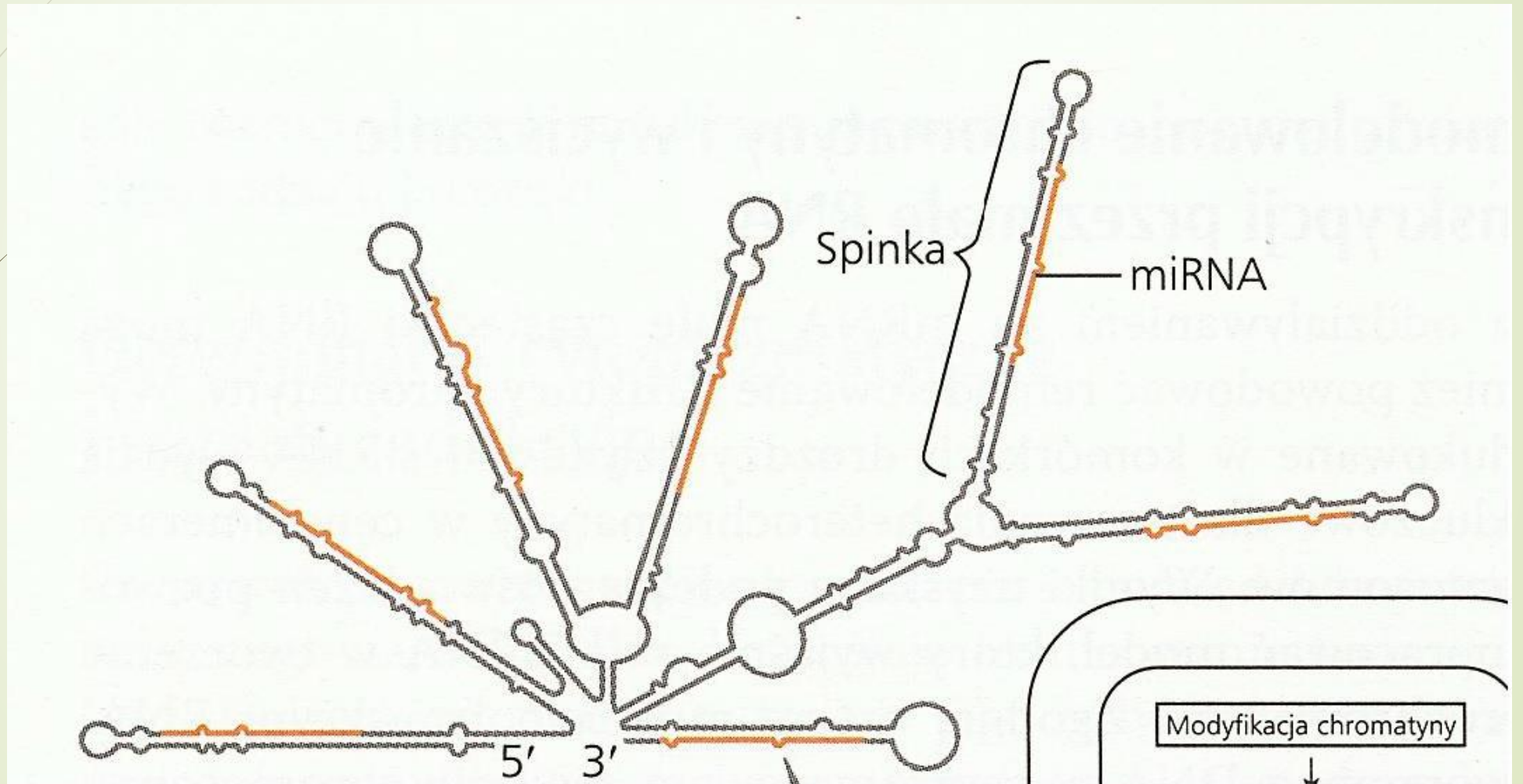




Regulacja ekspresji

- W 1993 roku odkryto jednoniciowy RNA, który jest w stanie wiązać i neutralizować mRNA
- Około jedna trzecia wszystkich genów jest regulowana za pomocą tego mechanizmu
- Mechanizm ten nazywany jest **interferencją RNA**

Transkrypt pierwotny miRNA (microRNA)

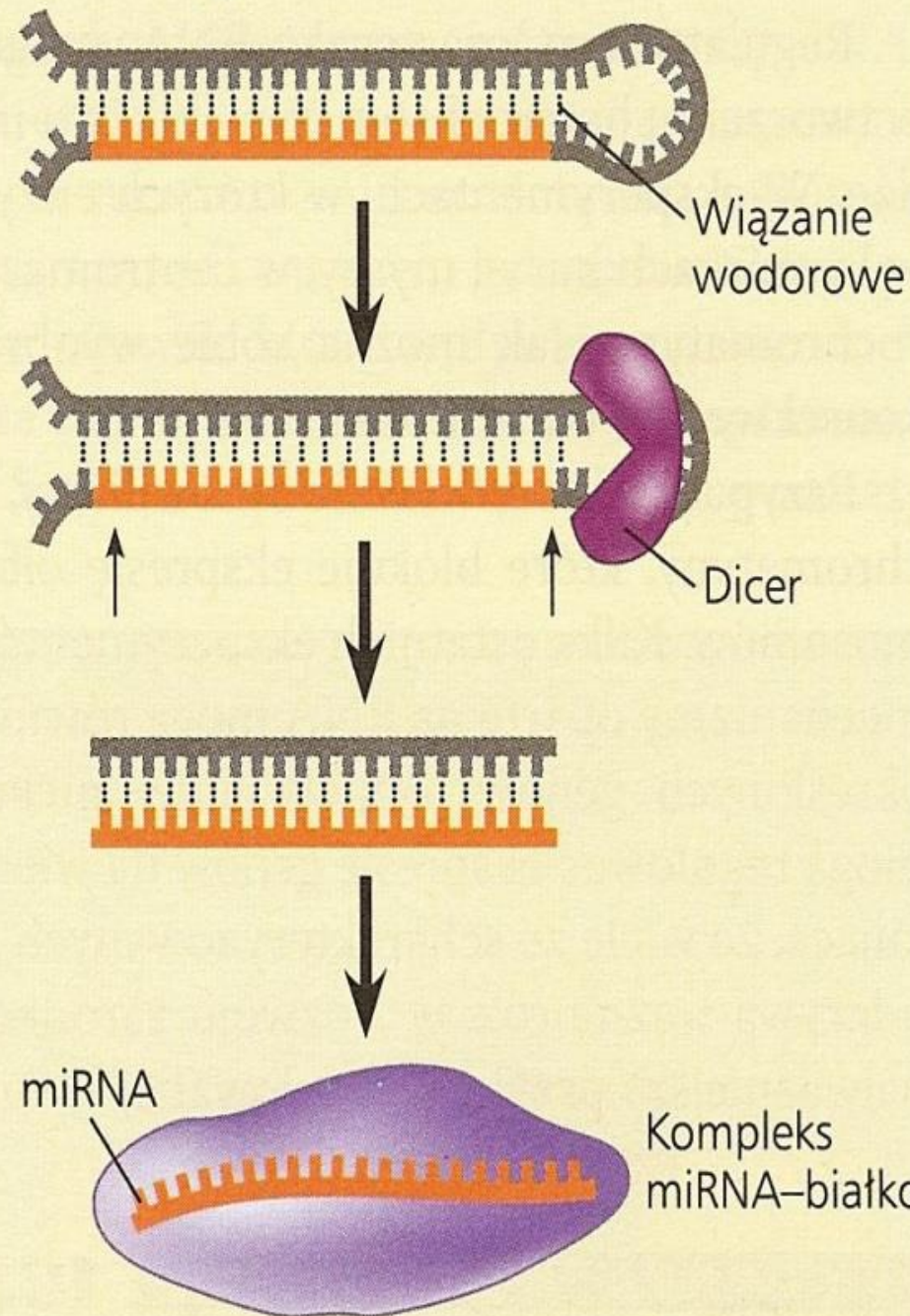


Powstawanie miRNA

1 Z pierwotnego transkryptu miRNA enzym odcina każdą spinkę.

2 Inny enzym, znany jako Dicer, odcina ze spinki pętlę oraz jednoniciowe końce, tak jak to wskazano na rysunku.

3 Jedna z nici dwuniciowego RNA jest degradowana. Pozostała nić (miRNA) tworzy wówczas kompleks z jednym lub kilkoma białkami.



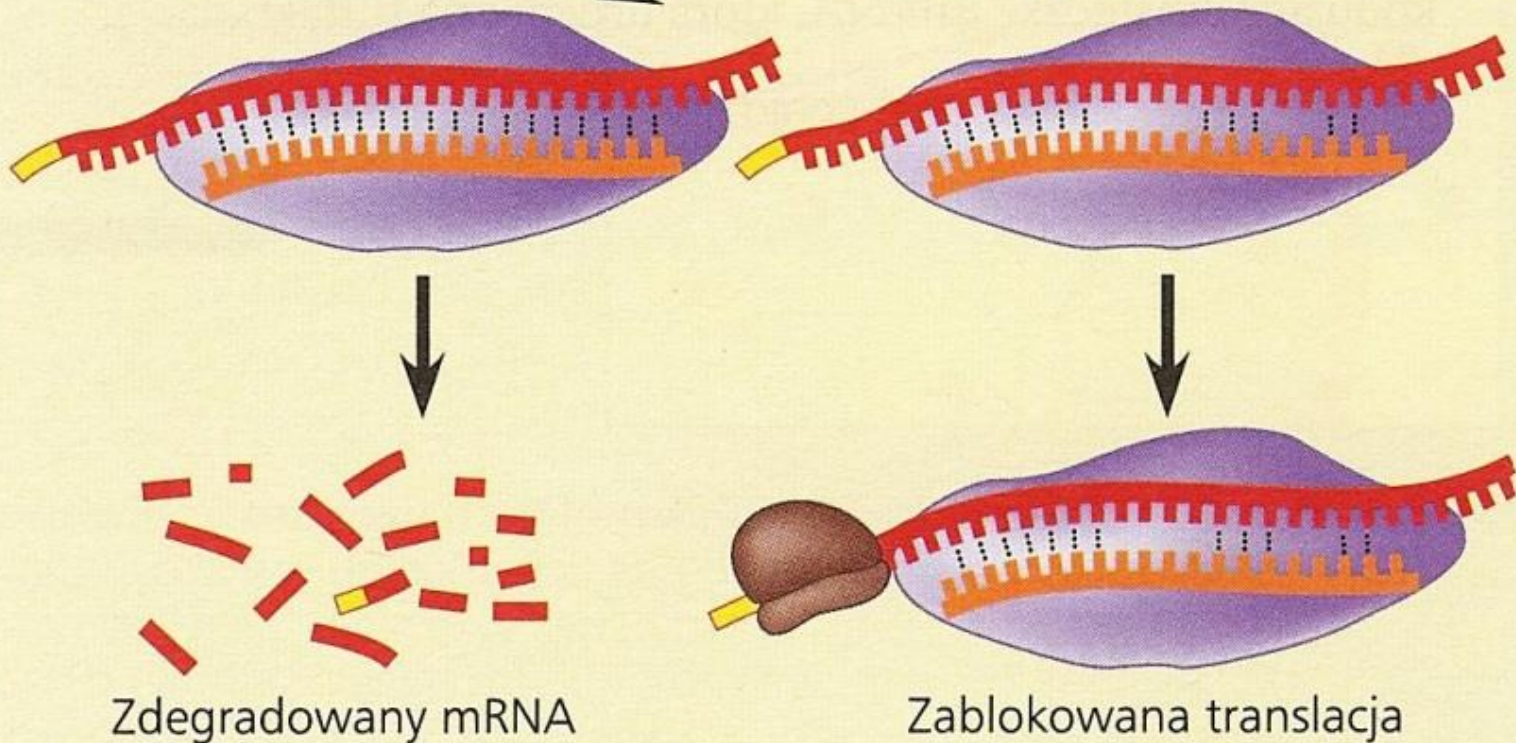
Aktywność miRNA

(miRNA) tworzy wówczas kompleks z jednym lub kilkoma białkami.

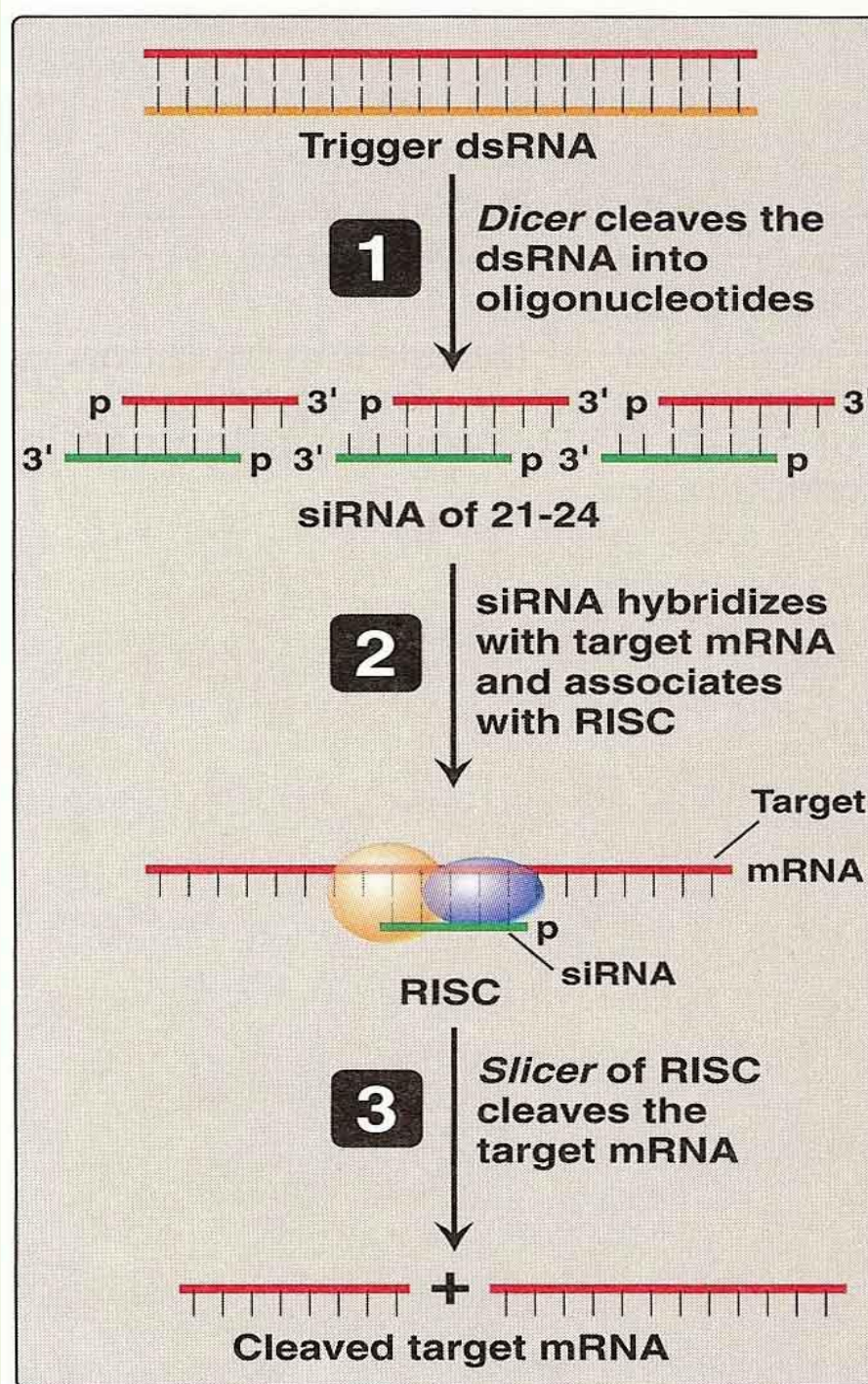
miRNA

Kompleks miRNA-białko

- 4 Wchodzący w skład kompleksu miRNA może się wiązać z każdym mRNA, który zawiera co najmniej sześćozasadową sekwencję komplementarną.



siRNA



miRNA (microRNA) i siRNA

Trigger	Strand	Length	Precursor	Complementarity to target Required	Silencing mechanism
siRNA	Ds	21-23 nt (mammals) 21, 25 nt (plants)	long dsRNA	Perfect	mRNA cleavage
miRNA/ stRNA	Ss	21-22 nt (eukaryotes)	70 nt stem-loop RNA (shRNA)	Imperfect	repress translation of mRNA to protein
miRNA	Ss	21-22 nt	70 nt stem-loop RNA (shRNA)	Perfect	mRNA cleavage

Podsumowanie: mechanizmy regulacji ekspresji genów

