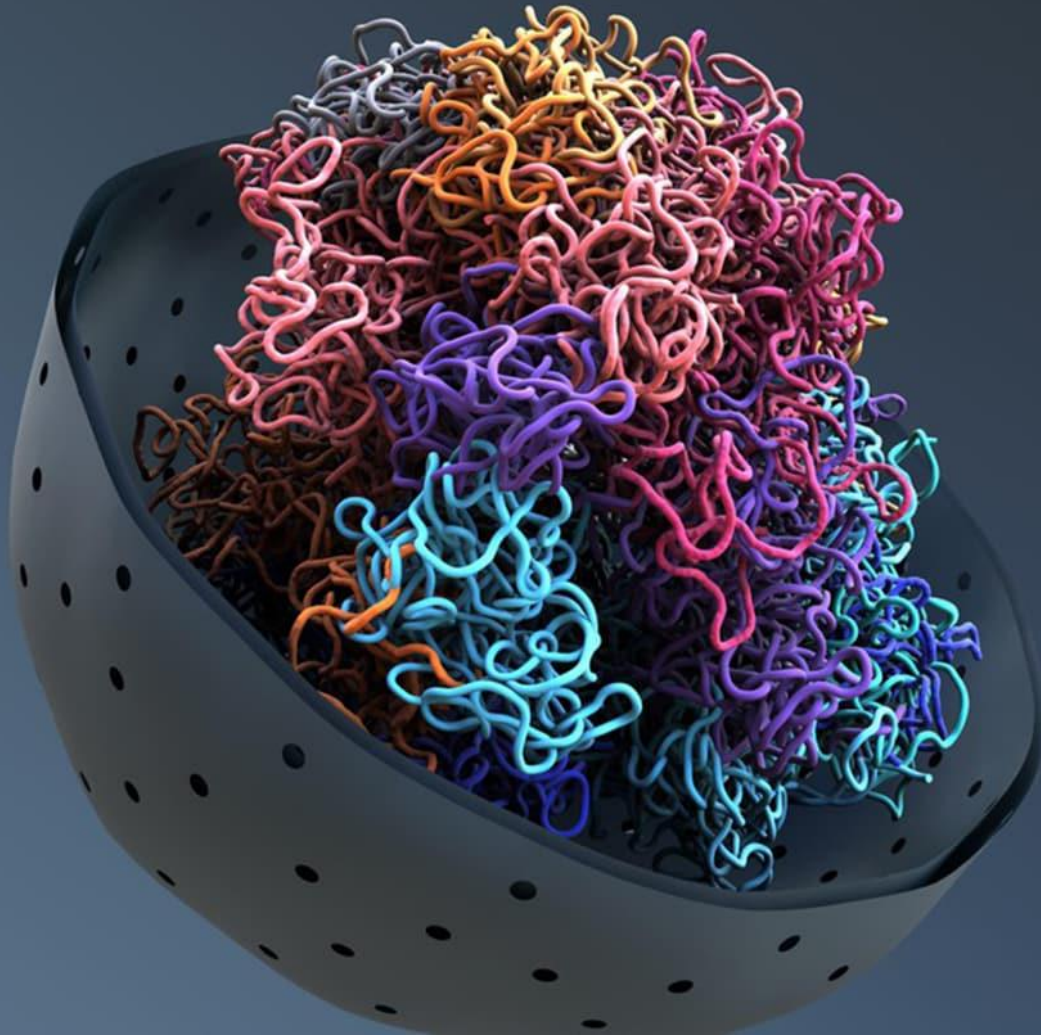


Jądro komórkowe i regulacja ekspresji genów

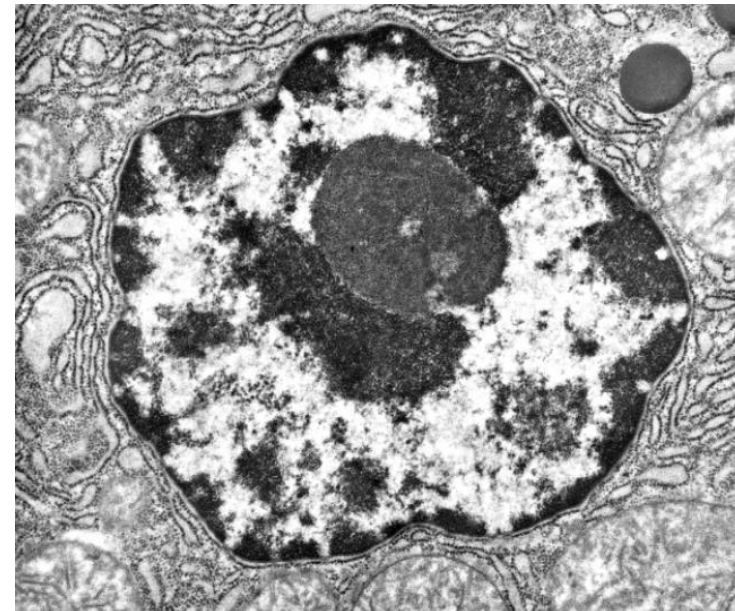
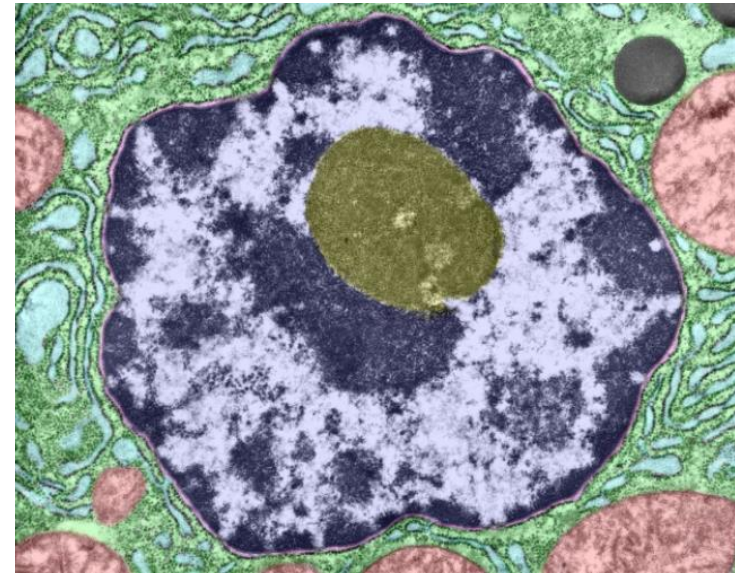


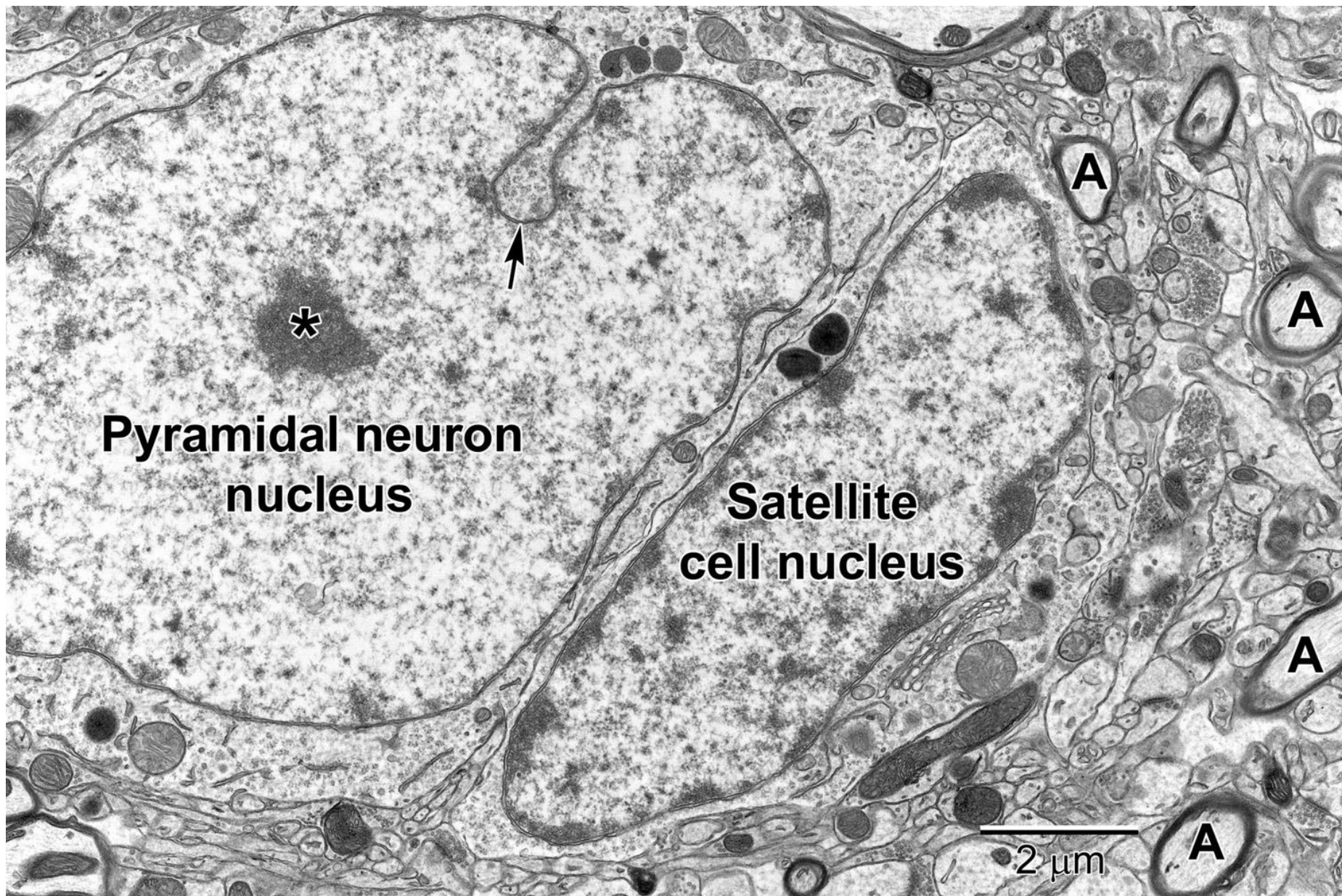
Struktura i funkcja jądra komórkowego i jąderka

Jądro: największa organela komórki, zawiera informację genetyczną zakodowaną w DNA

Funkcja: kieruje syntezą białek w cytoplazmie za pośrednictwem rybosomalnego RNA - rRNA, informacyjnego RNA - mRNA i transferowego RNA - tRNA.

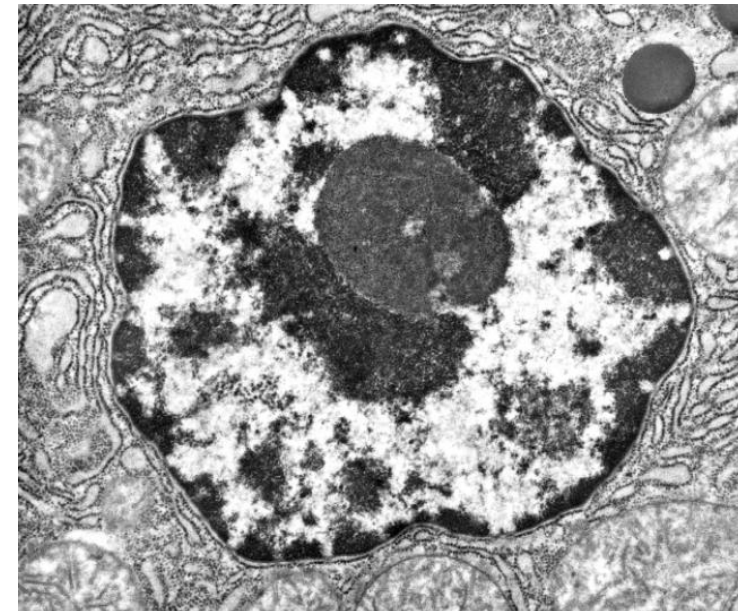
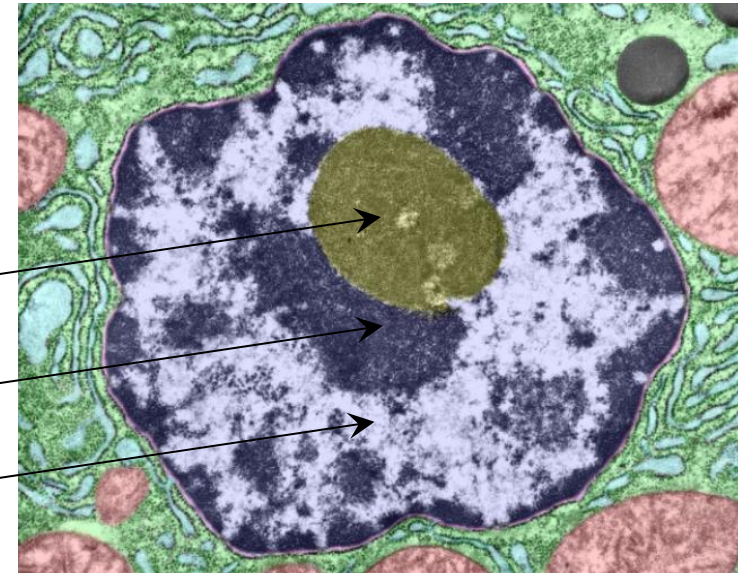
Wszystkie typy RNA (w tym regulatorowe RNA, niekodujące RNA) są syntetyzowane w jądrze.





Struktura i funkcje jądra komórkowego i jąderka

jąderko
Heterochromatyna
Euchromatyna

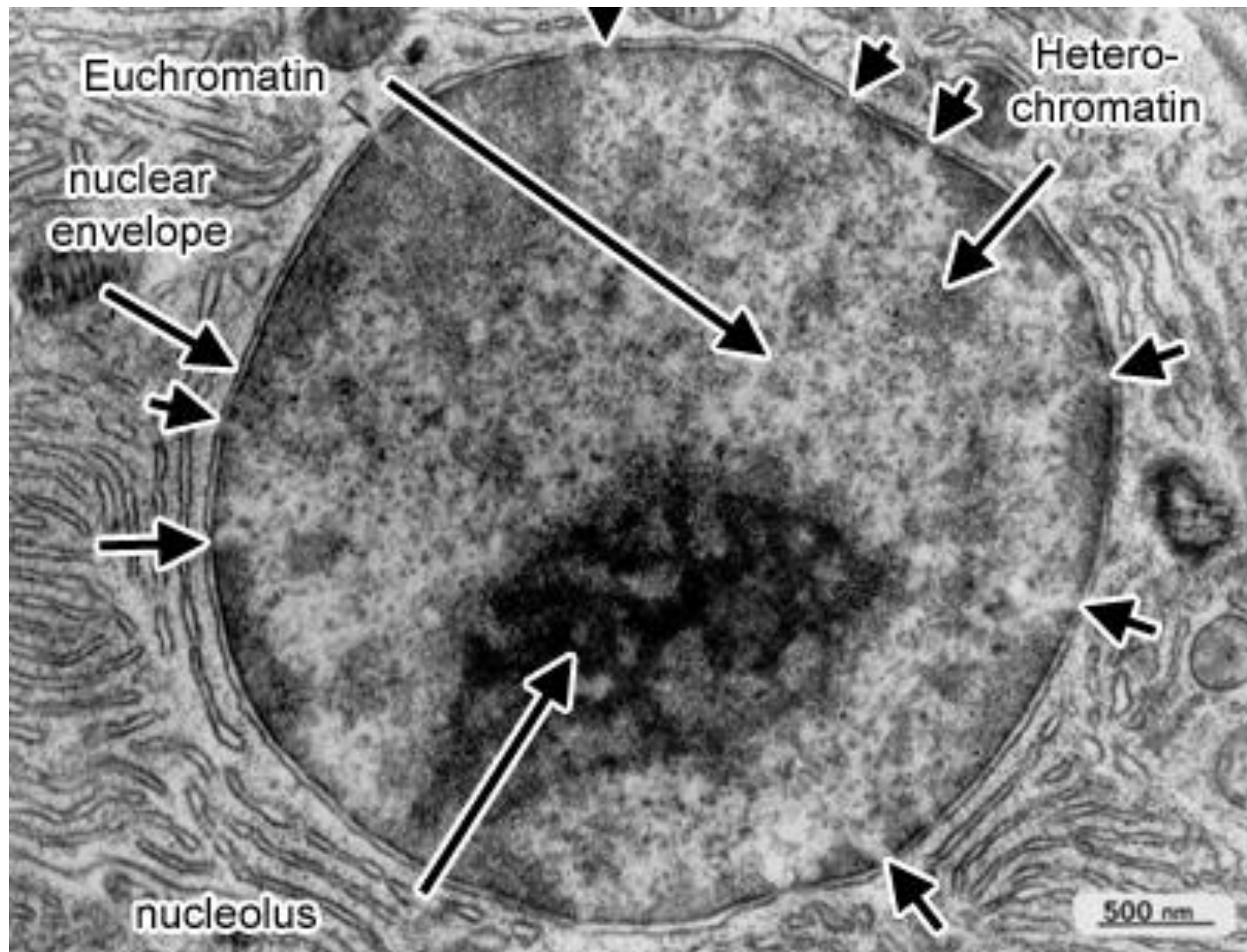


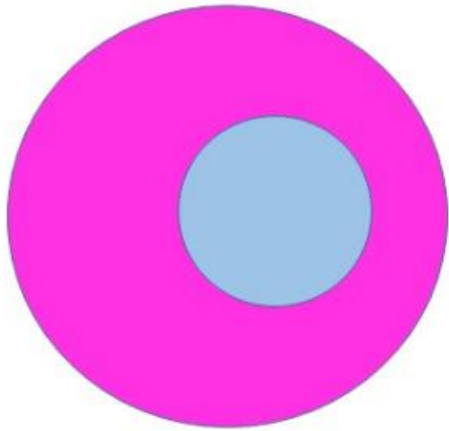
- **Chromatyna (niebieska)** - DNA związane z histonami i innymi białkami.

Heterochromatyna (ciemnoniebieska) - chromatyna skondensowana, nieaktywna transkrypcyjnie

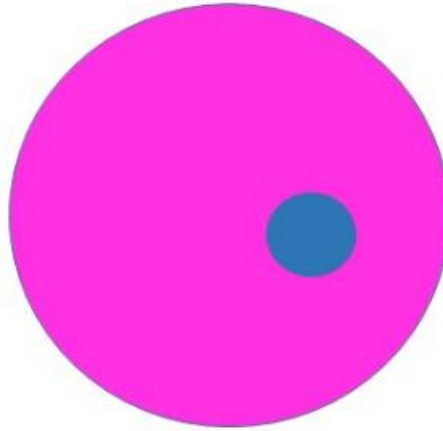
Euchromatyna (jasnoniebieska) - rozproszone obszary nieupakowanej chromatyny (często aktywnie transkrybowane)

Jąderko (zielony) - miejsce transkrypcji rybosomalnego RNA (rRNA), produkcja rybosomów

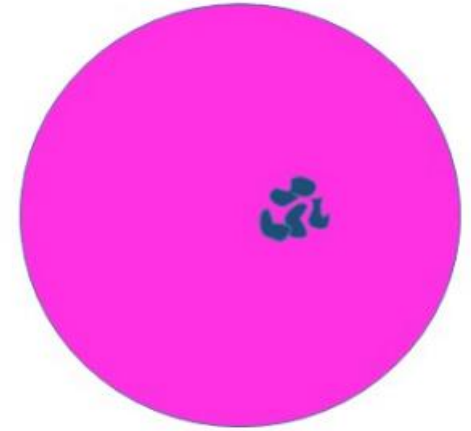




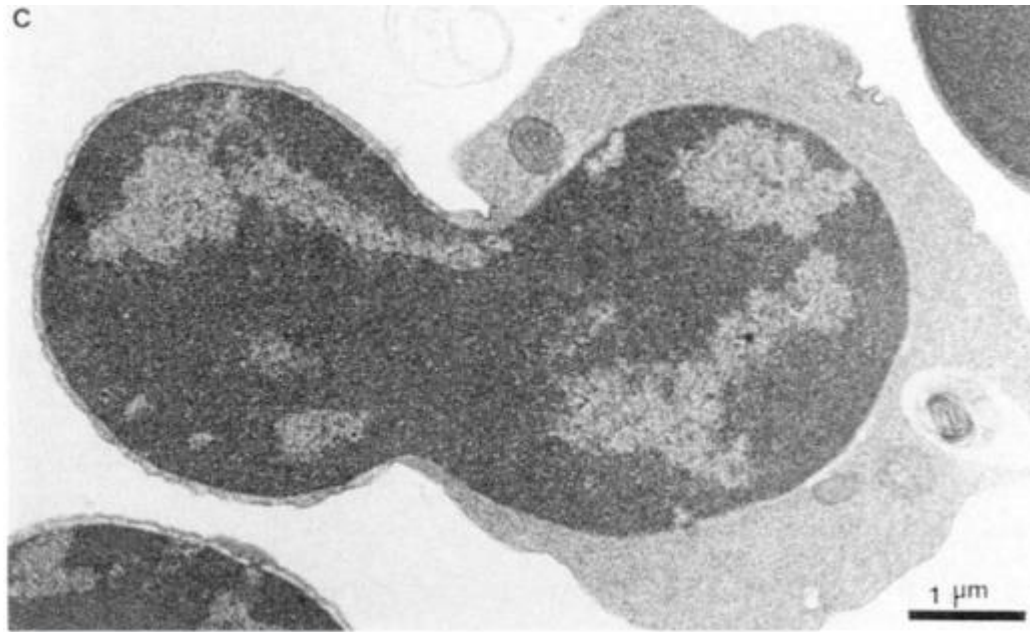
KARYOLYSIS

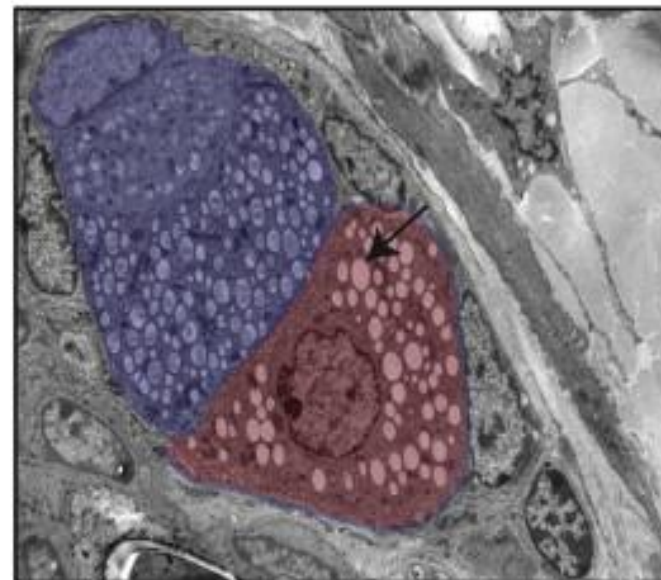
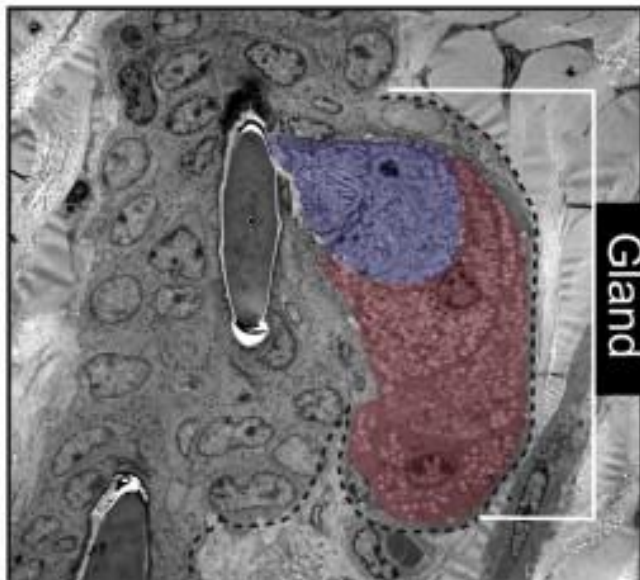
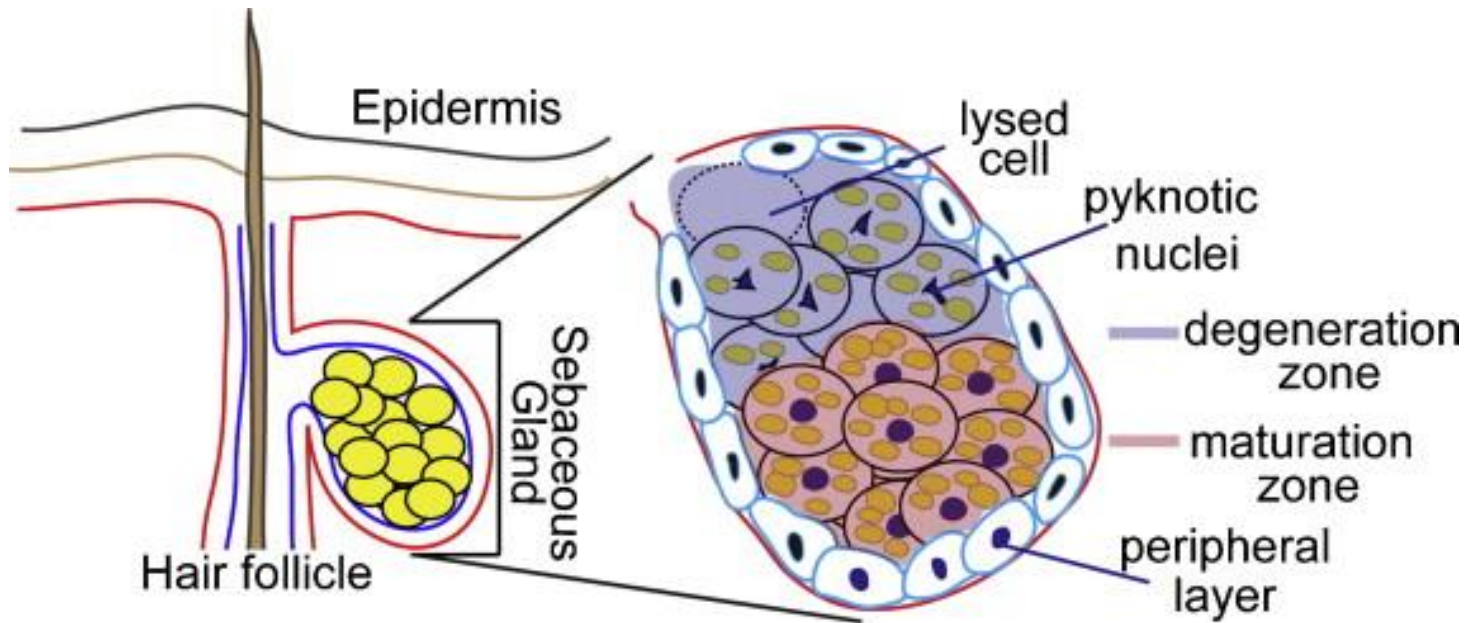


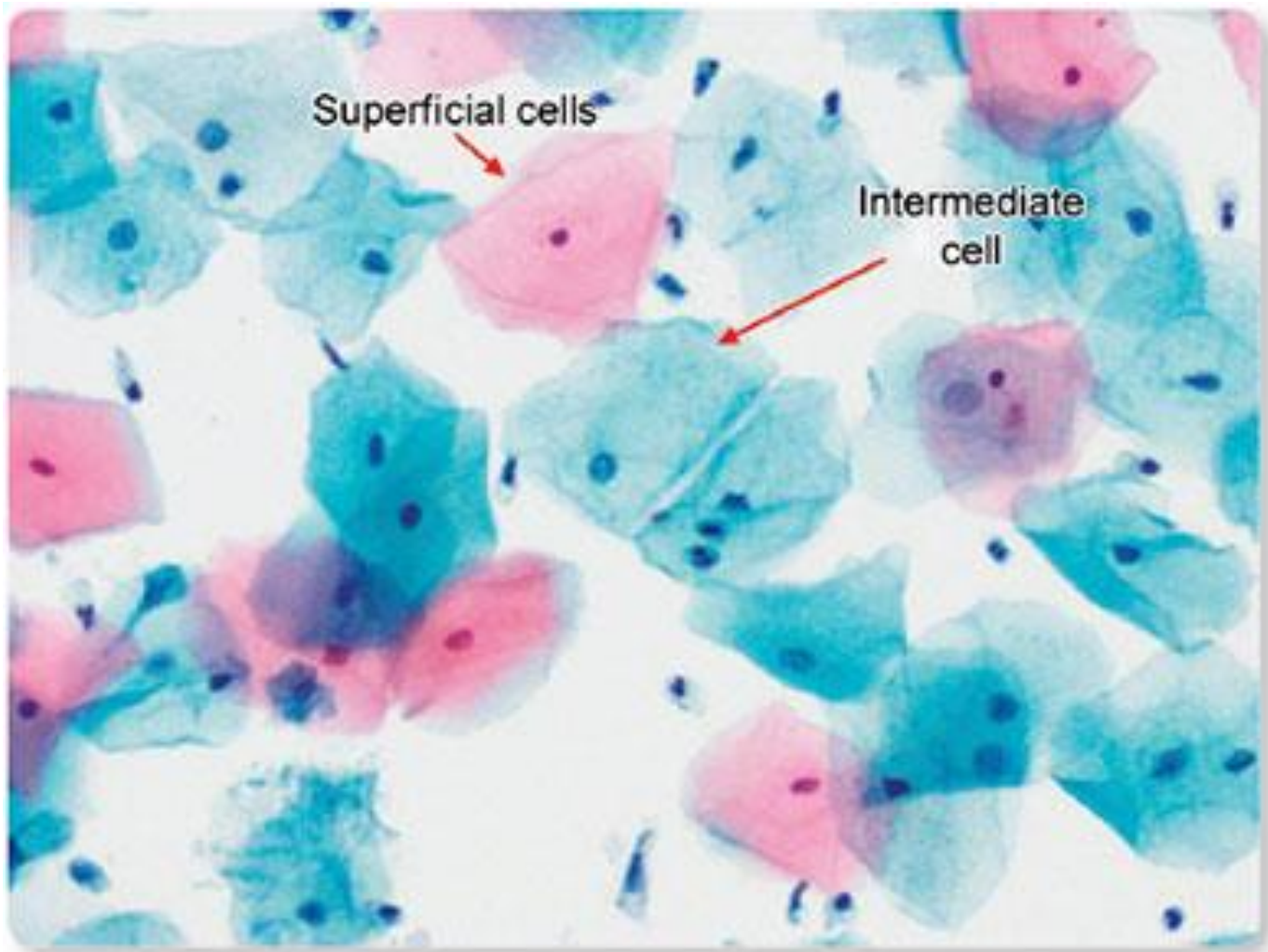
PYKNOSIS



KARYORRHEXIS



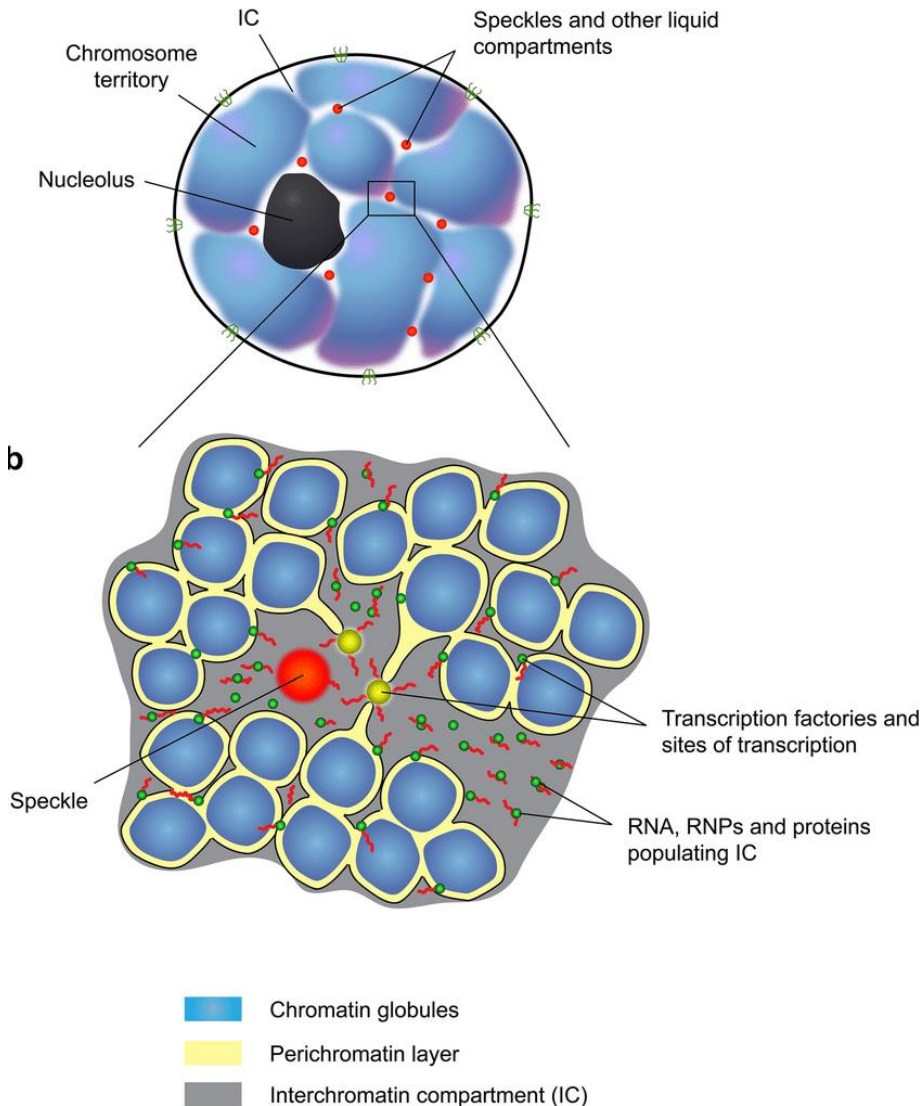




Cytologia eksfoliatywna (złuszczeniowa) – komórki nabłonka pochwy

Wewnątrzjądrowa architektura

interfaza



Nuclear **speckles**, also known as interchromatin granule clusters, are nuclear domains enriched in pre-mRNA splicing factors

- **Terytoria chromosomowe** - miejsca występowania chromosomów (chromatyna)

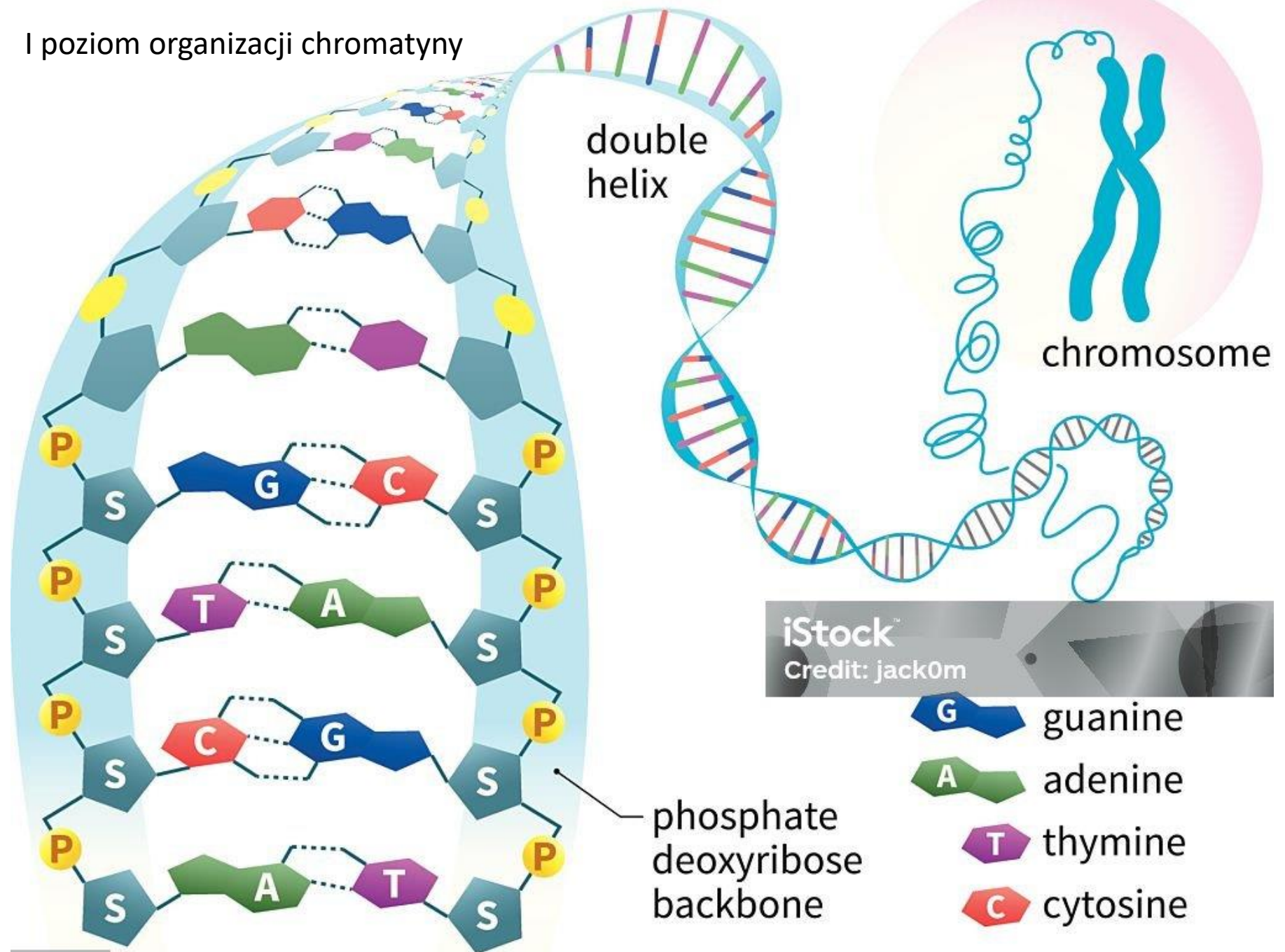
Nukleoplazma

- **przestrzeń międzychromatynowa**
replikacja DNA, synteza i formowanie RNA:

Perychromatyna i interchromatyna
(składniki włókniste i ziarniste)

- **macierz jądrowa** (szkielet jądrowy; po trawieniu DNA, głównie białka zwane matrynami (matrycyny) tworzące włókienka; składnik ziarnisty)

I poziom organizacji chromatyny



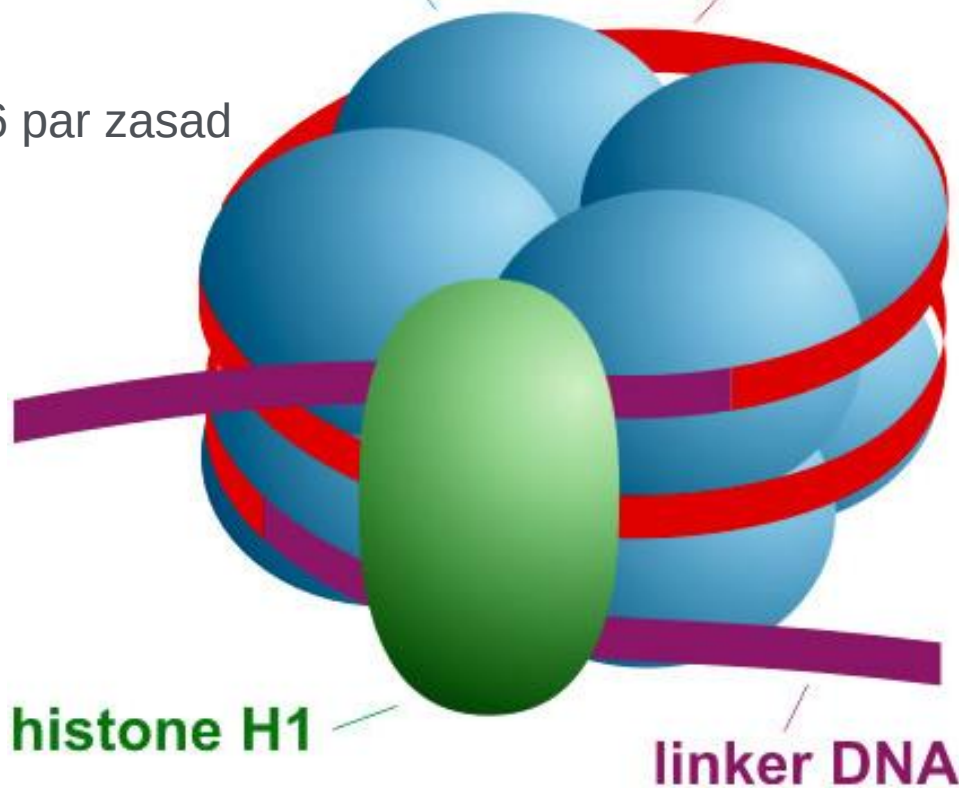
Nukleosom

200 par zasad

octamer of core histones:
H2A, H2B, H3, H4 (each one $\times 2$)

core DNA

146 par zasad



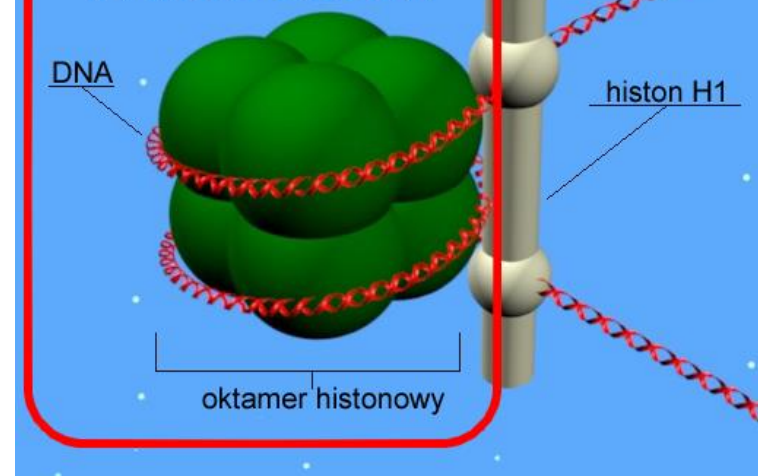
20-95 polinukleotydów (zmienny charakter)

Rdzeń nukleosomu: histony plus nawinięte DNA (charakter konserwatywny)

Wiązania wodorowe między DNA i histonami

Chromatosom

Nukleosom

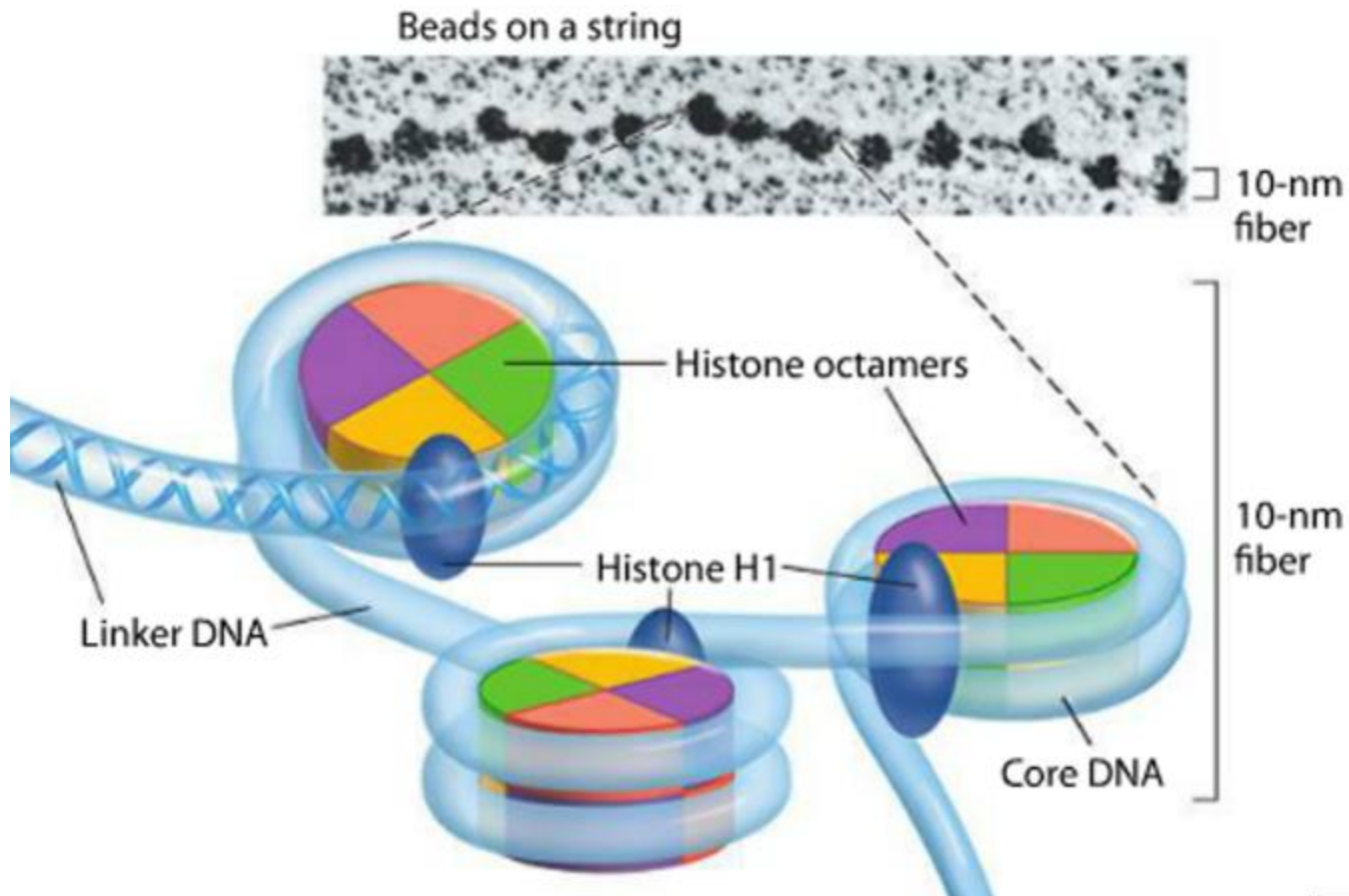


Cząstka rdzeniowa

Histon H1

20 par nukleotydów

Nukleofilament



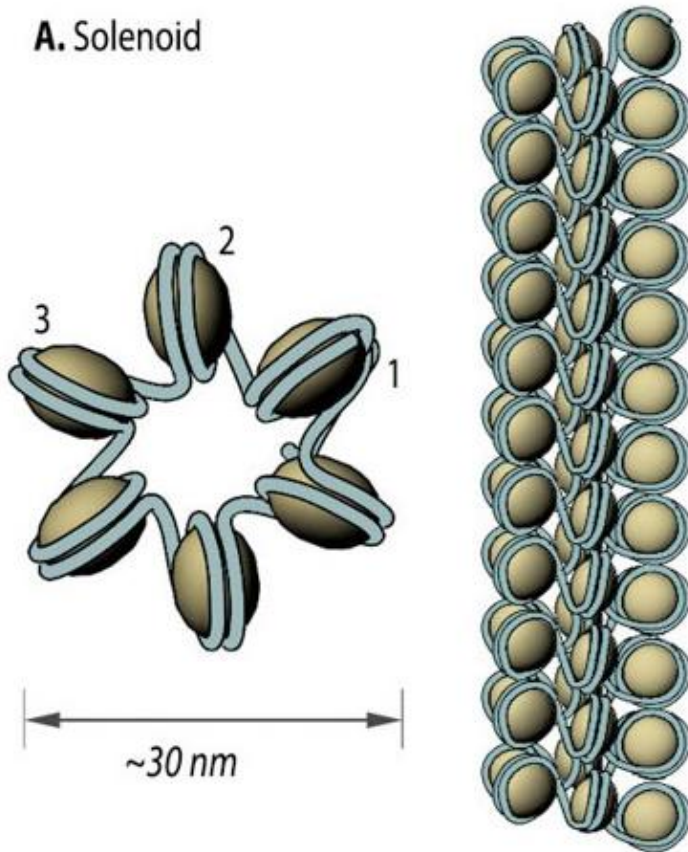
II poziom organizacji chromatyny
7-krotne skrócenie DNA

Solenoid/zygzak (włókno 30 nm)

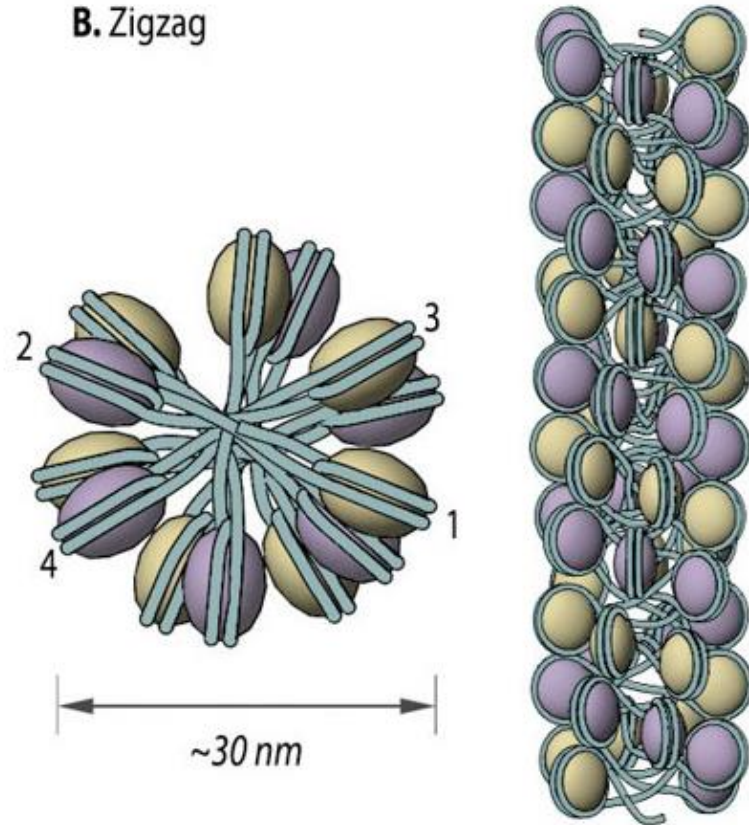
superspiralizacja

Dalsze 7-krotne skrócenie

A. Solenoid



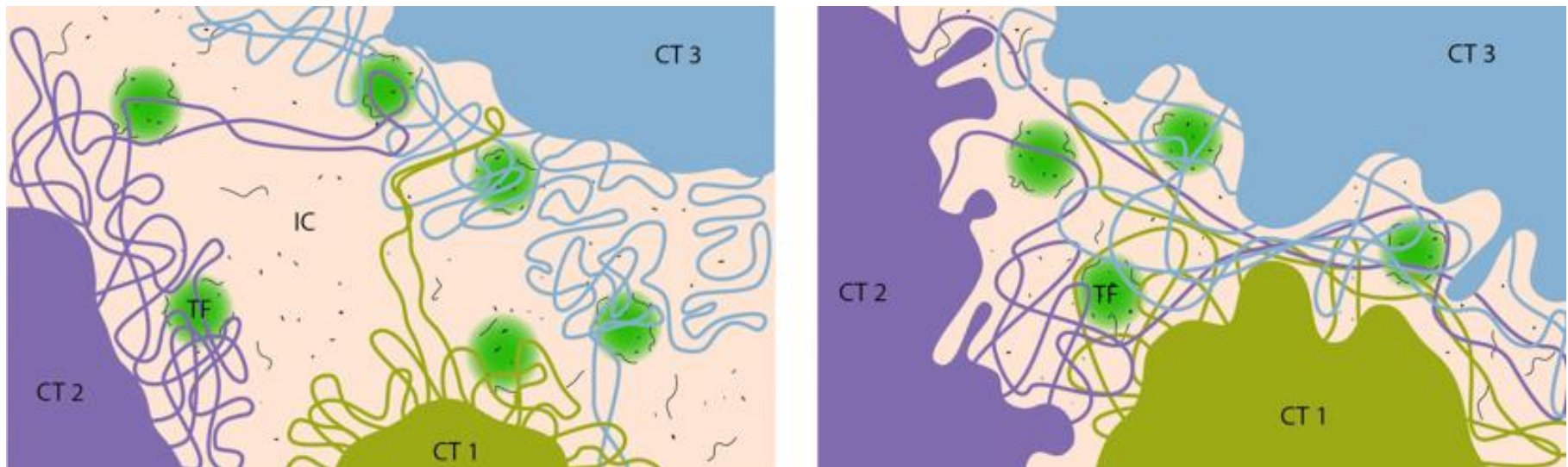
B. Zigzag



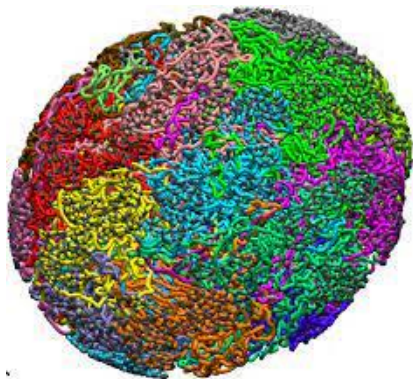
Dalsza kondensacja – struktura chromatyny wyższego rzędu
Współczynnik upakowania około 1700

Pętle chromatynowe (domeny) – 300 - 700 nm

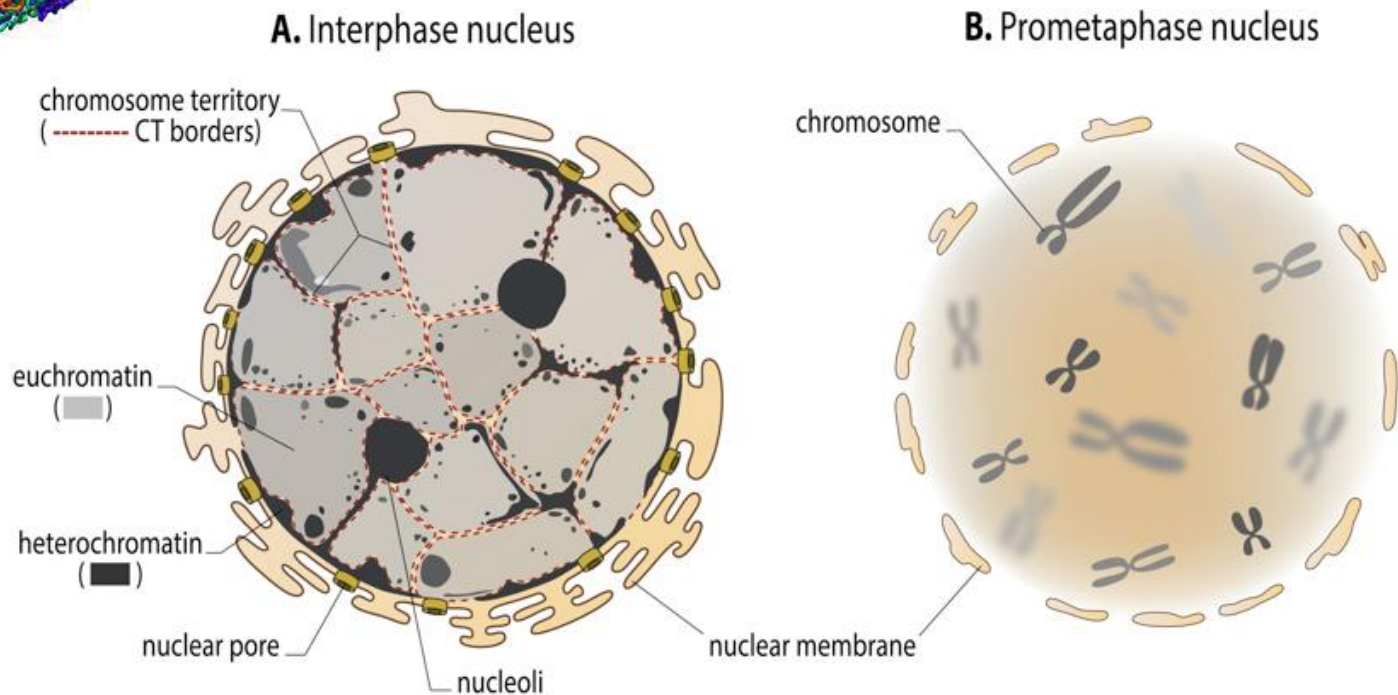
Zakotwiczone w macierzy lub blaszce jądrowej



Dalsza kondensacja – chromosom metafazowy



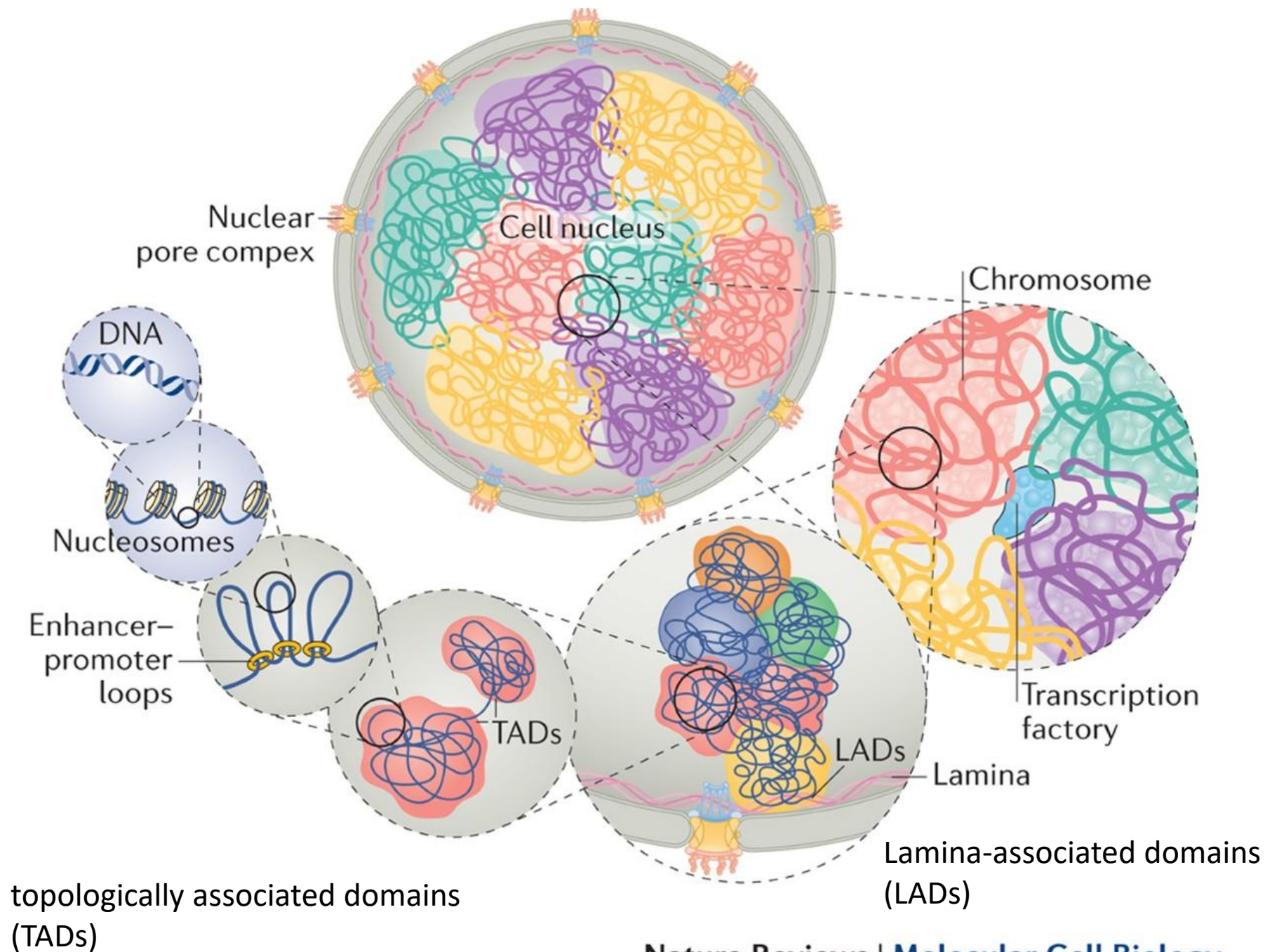
Terytoria chromosomów



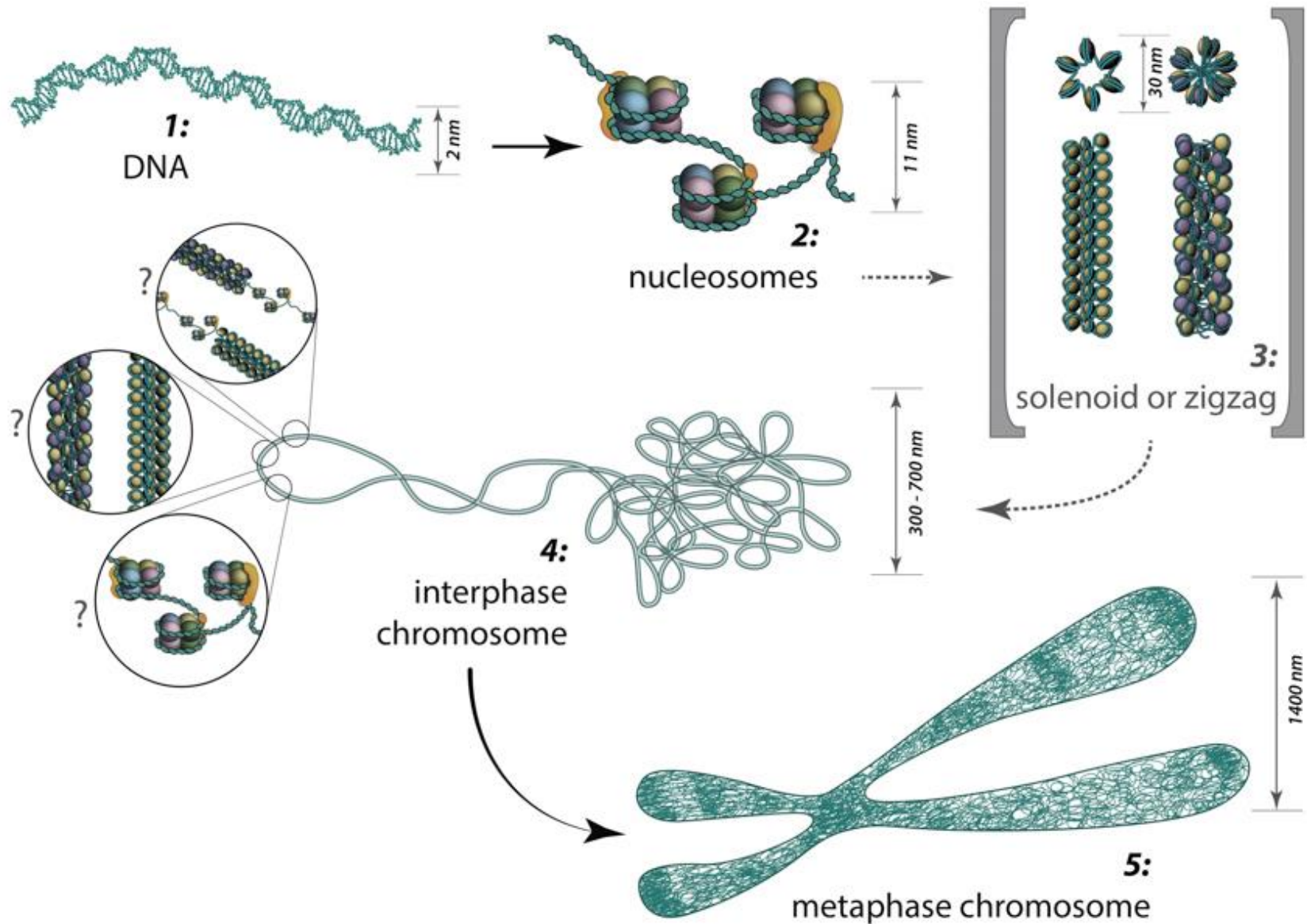
Chromosomy bogate w geny - pozycje wewnętrzne

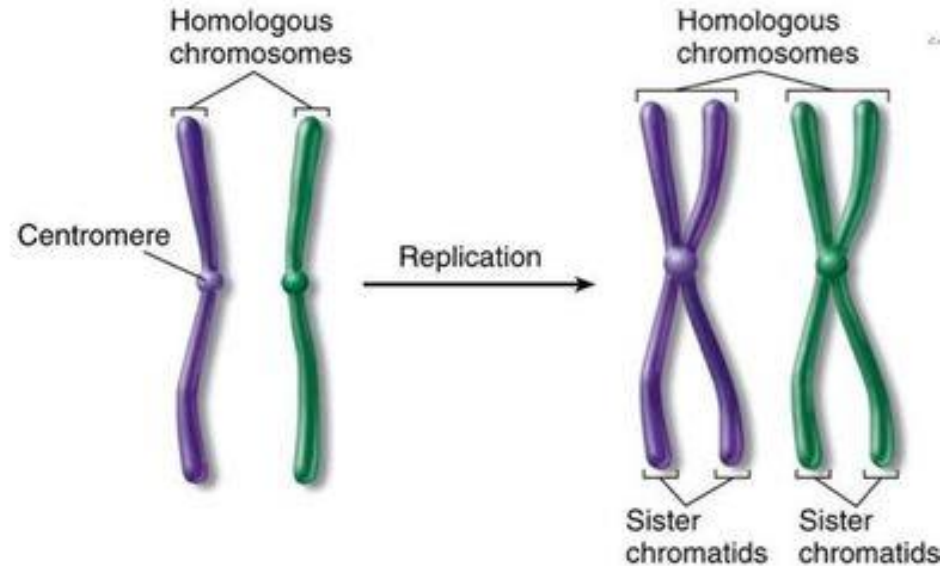
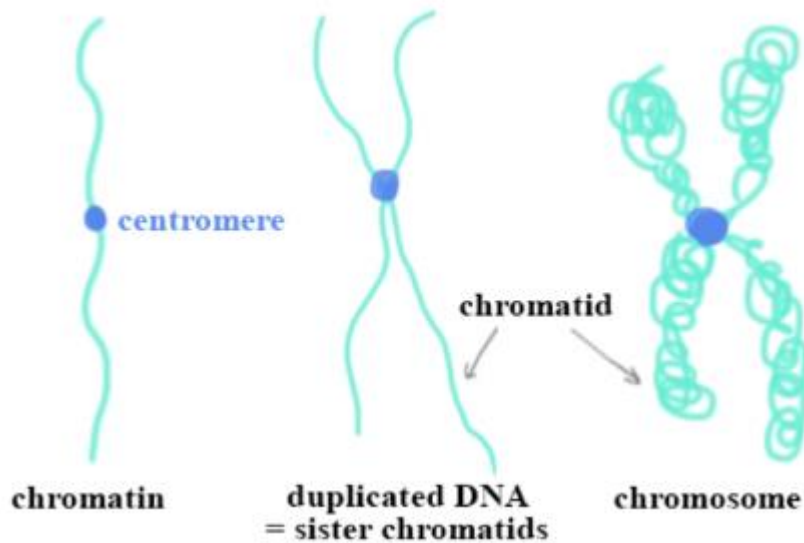
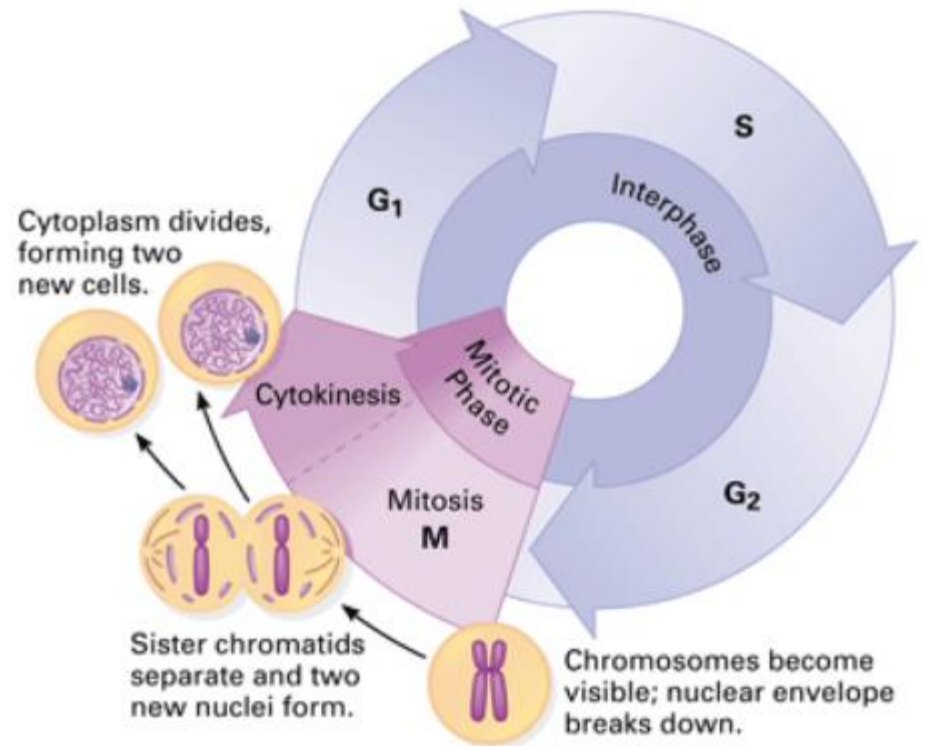
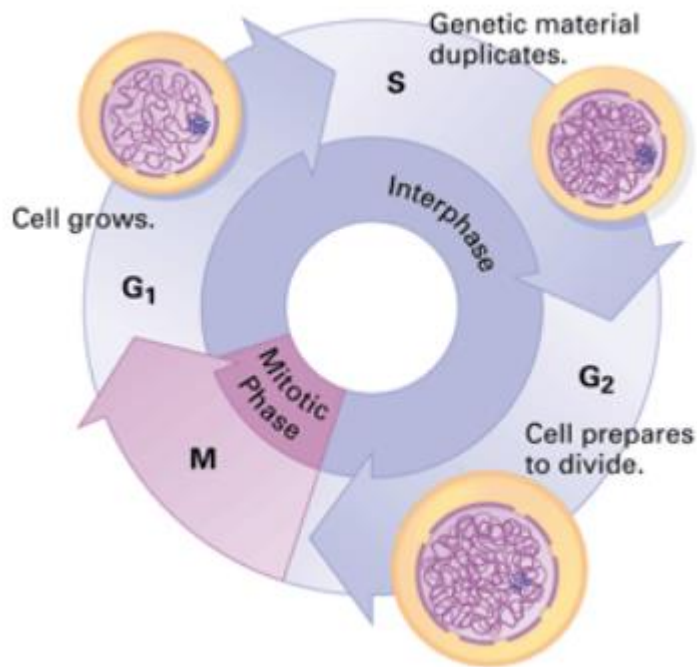
Chromosomy ubogie w geny – peryferie

Geny mogą przenosić się z peryferii w kierunku wnętrza po ich "włączeniu"



Upakowania DNA w jądrze komórkowym

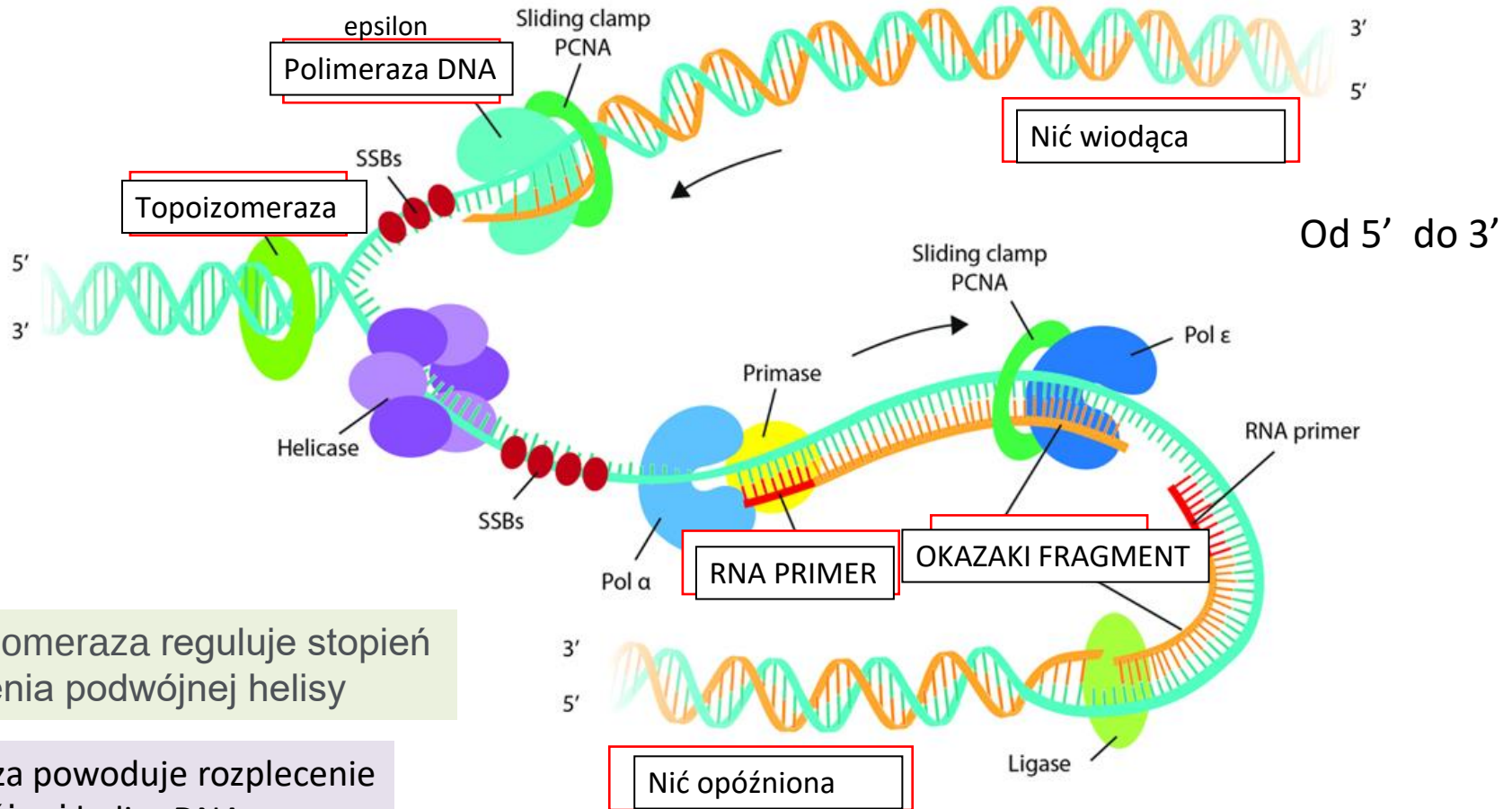




Polimeraza DNA - synteza i korygowanie błędnego parowania nukleotydów

Miejsce inicjacji lub ori

PCNA *Proliferating Cell Nuclear Antigen*



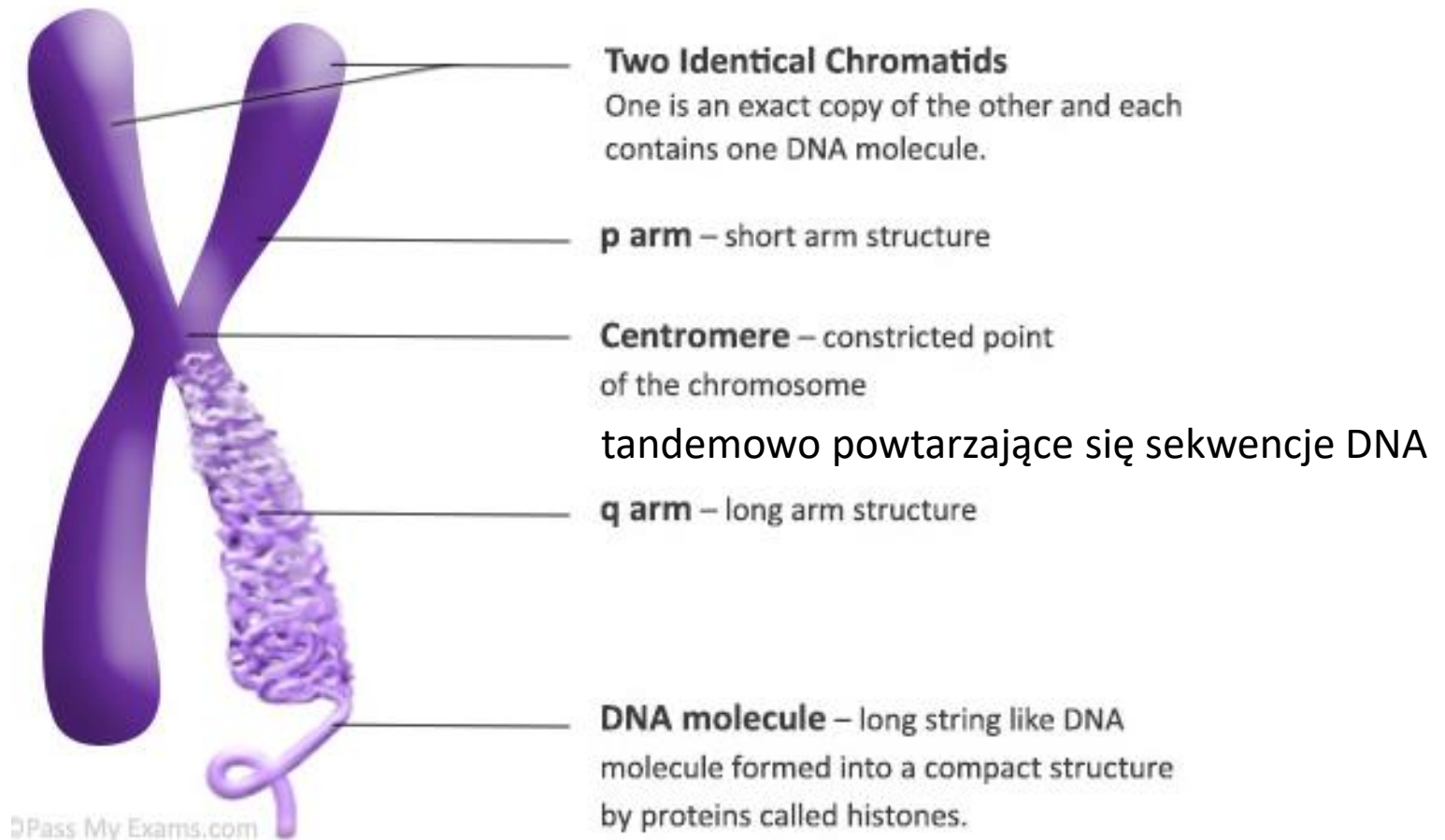
Topoizomeraza reguluje stopień skręcenia podwójnej helisy

Helikaza powoduje rozplecenie podwójnej helisy DNA

SSB *single strand binding*, białka wiążące jednoniciowe DNA

Nukleaza
Polimeraza DNA naprawcza
ligaza

Struktura chromosomów



Struktura chromosomów

Chromosomy metacentryczne

Centromer w środku, oba ramiona są równej długości. Ludzki chromosom 1 i 3.

Chromosomy submetacentryczne

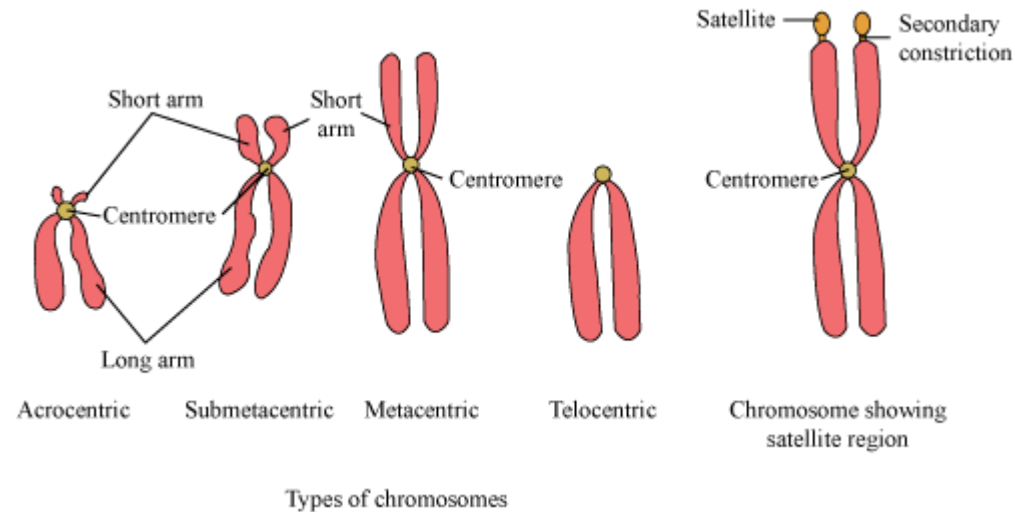
Niewielka asymetria w długości dwóch ramion. Ludzkie chromosomy 4 -12.

Chromosomy akrocentryczne

Jedno ramię bardzo długie, jedno mocno skrócone. Ludzkie chromosomy 13,15, 21 i 22.

Chromosomy telocentryczne

Centromer na samym końcu chromosomu. Ludzie nie posiadają chromosomów telocentrycznych, występują u innych gatunków, takich jak myszy



Kariotyp

Zestaw chromosomów (46; 44 autosomy plus 2 chromosomy płci)



Co możemy określić na podstawie kariogramu?

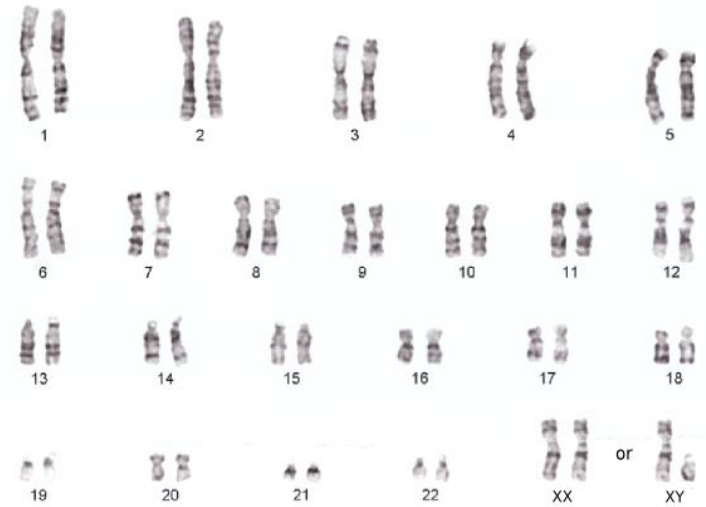
Liczba chromosomów

Wielkość chromosomów

Położenie centromeru, długość ramion chromosomalnych

Obecność satelitów

Wzór pasków

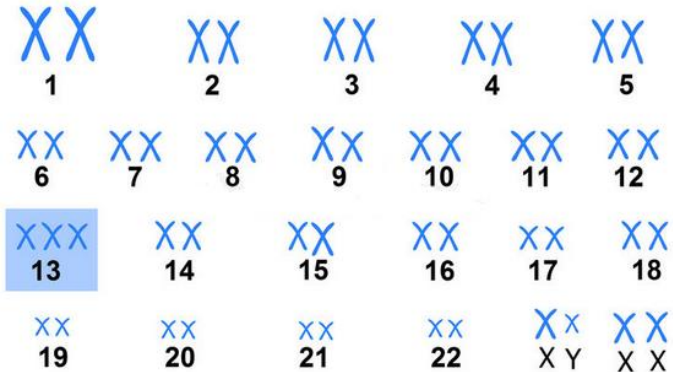


Kariogram

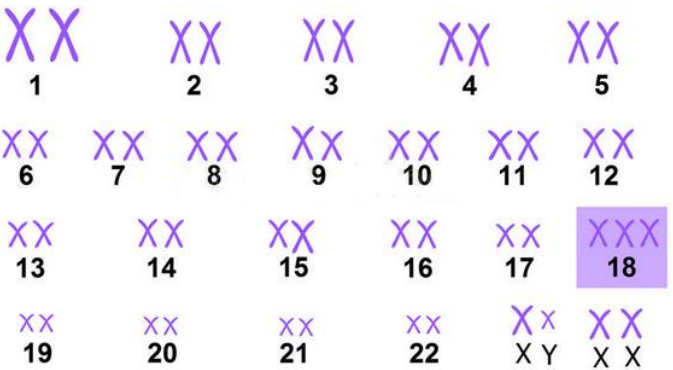
graficzny obraz chromosomów

Ludzie - łącznie 46 chromosomów (23 od każdego z rodziców). 44 autosomy

Anomalie chromosomowe w obrębie autosomów

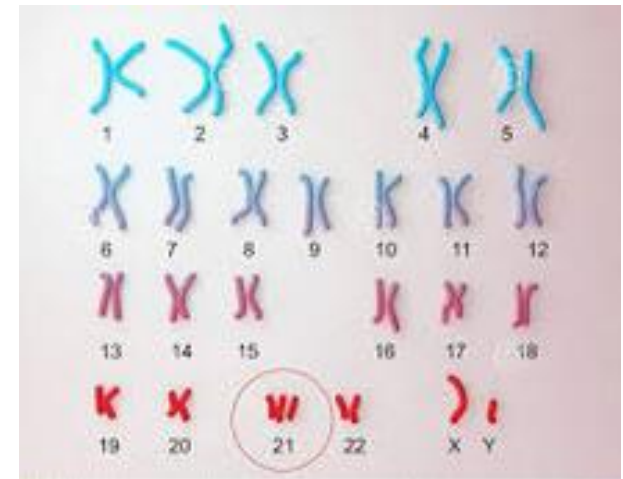


Zespół Patau - upośledzenie umysłowe, liczne wady rozwojowe, kardiopatia i nieprawidłowości nerek. Zmniejszenie napięcia mięśniowego, małe dłonie, uszy,

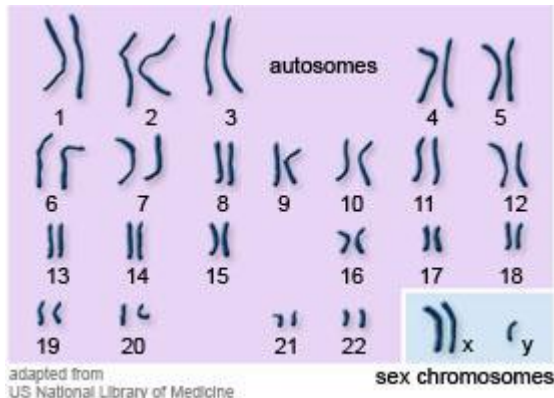


Zespół Edwardsa – Wady wielonarządowe. Wady serca. Inne cechy obejmują małą głowę, małą szczękę, zaciśnięte pięści z zachodzącymi na siebie palcami i ciężką niepełnosprawność intelektualną.

Zespół Downa - opóźnienia wzrostu fizycznego, charakterystyczne rysy twarzy i łagodna do umiarkowanej niepełnosprawność intelektualna

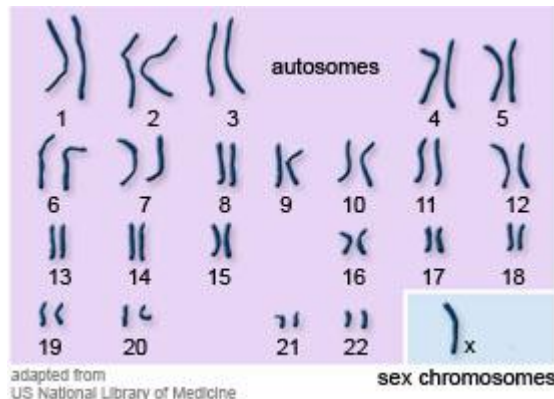


Anomalie chromosomowe w obrębie chromosomów płciowych



Zespół Klinefeltera - Dwa chromosomy X i jeden Y (47,XXY).

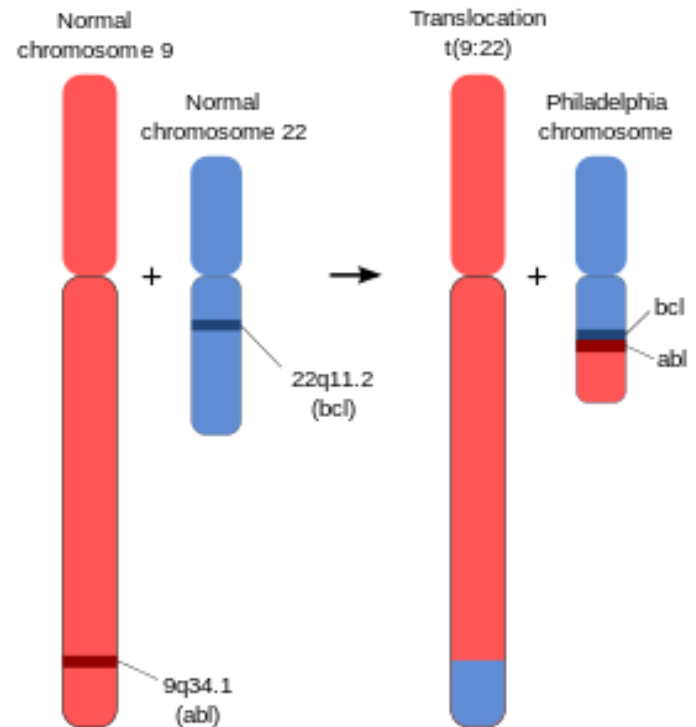
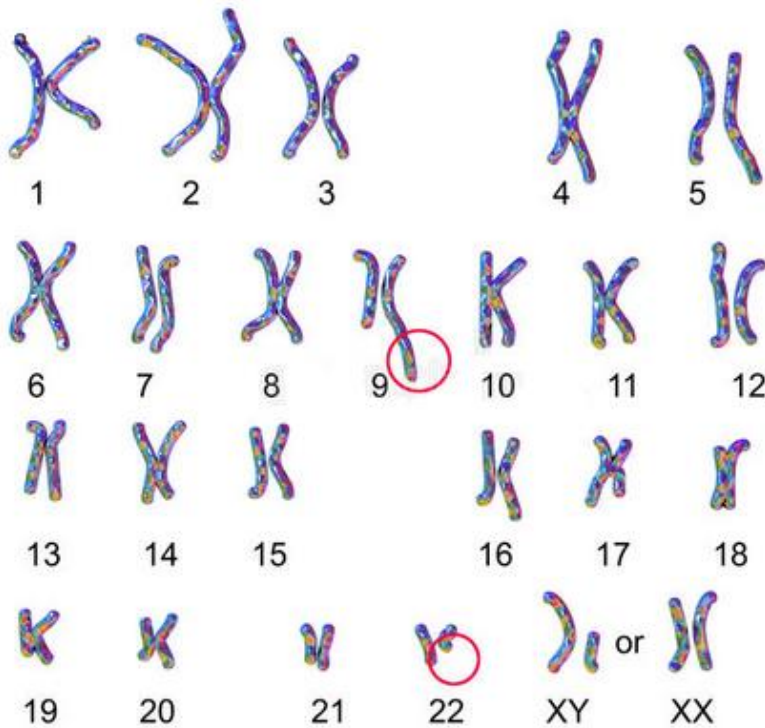
Wielu mężczyzn z dodatkowym chromosomem X nie ma oczywistych objawów i może nigdy nie wiedzieć, że mają ten zespół. Najczęstszym objawem jest niepłodność.



Zespół Turnera - Kobieta dziedziczy tylko jeden chromosom X i nie ma drugiego chromosomu płciowego (45,X).

Anomalie chromosomowe – chromosom fuzyjny

Chromosom Philadelphia - Nieprawidłowość genetyczna w chromosomie 22 komórek raka białaczki (szczególnie przewlekłych komórek białaczki szpikowej (CML) 95%). Chromosom 22 jest wadliwy i niezwykle krótki - translokacja materiału genetycznego między chromosomem 9 a chromosomem 22.



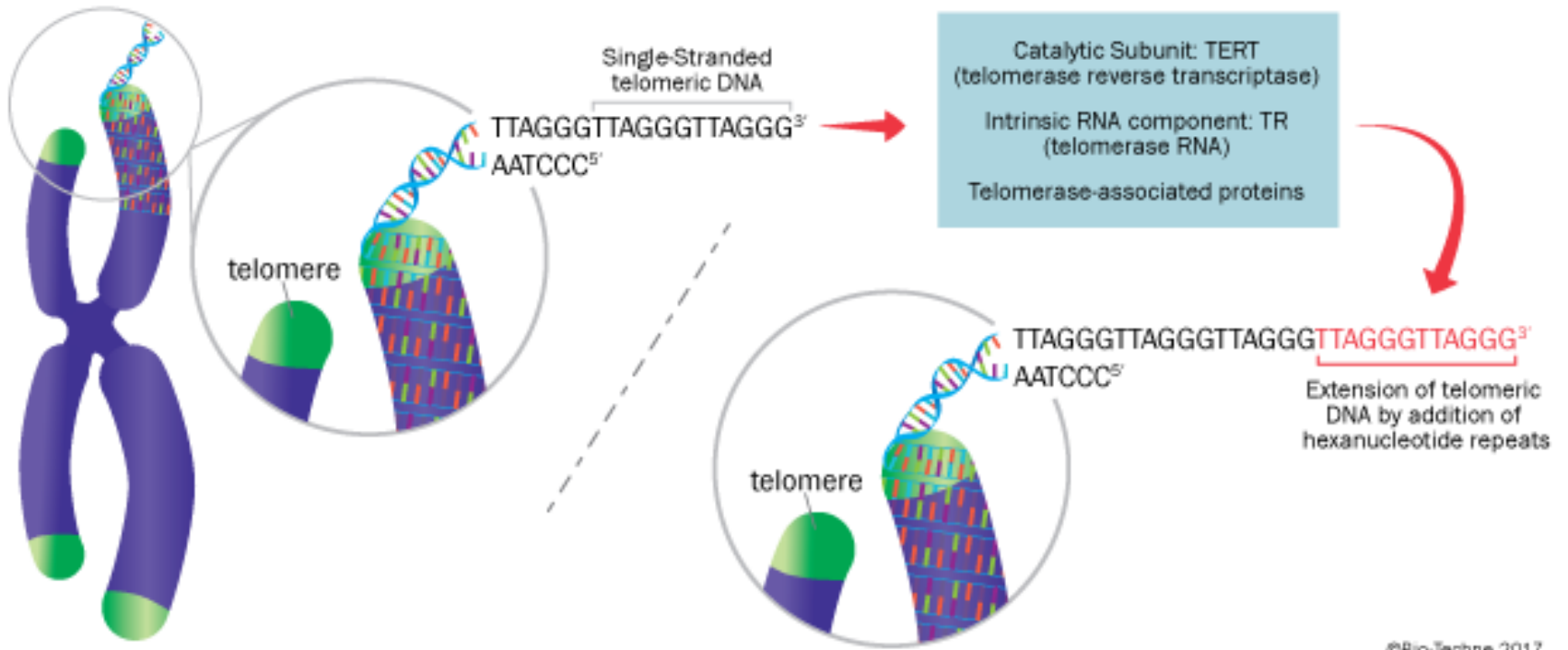
<https://www.dreamstime.com/stock-illustration-philadelphia-chromosome-karyotype-male-female-d-illustration-showing-defective-chromosomes-translocational-defect-image79799063>

https://en.wikipedia.org/wiki/Philadelphia_chromosome

Telomery

Heksameryczne powtórzenia DNA [(TTAGGG) n]- na końcach chromosomów, chronią chromosomy przed degradacją i sklejaniem

Replikacyjne skracanie telomerów - główna przyczyna starzenia się człowieka i chorób związanych ze starzeniem się



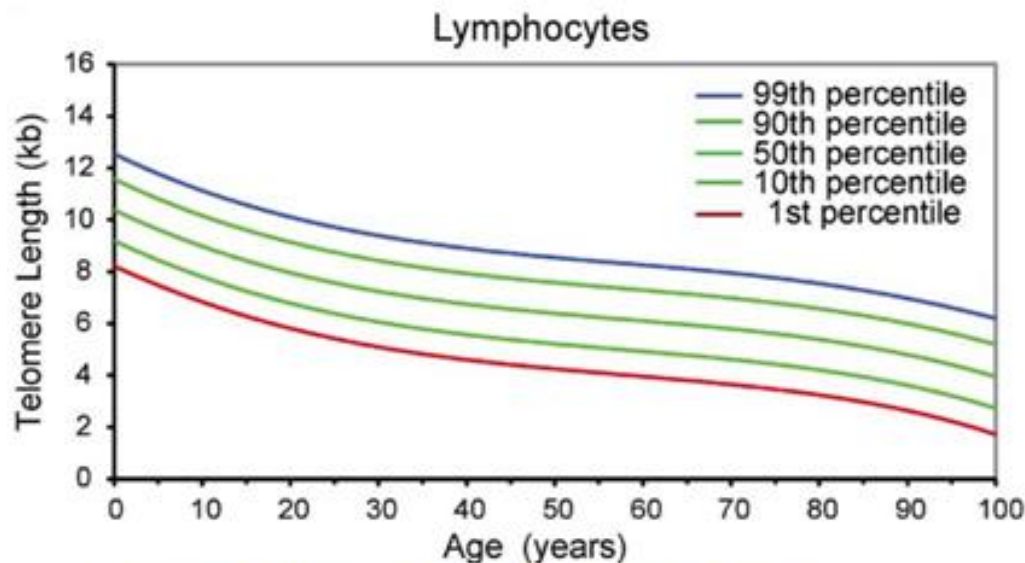
©Bio-Techne 2017

Telomery

Średnia długość telomerów w komórkach ludzkich w momencie **zapłodnienia** - 15 000 par zasad.

Średnia długość telomerów **przy urodzeniu** - 10.000 par zasad

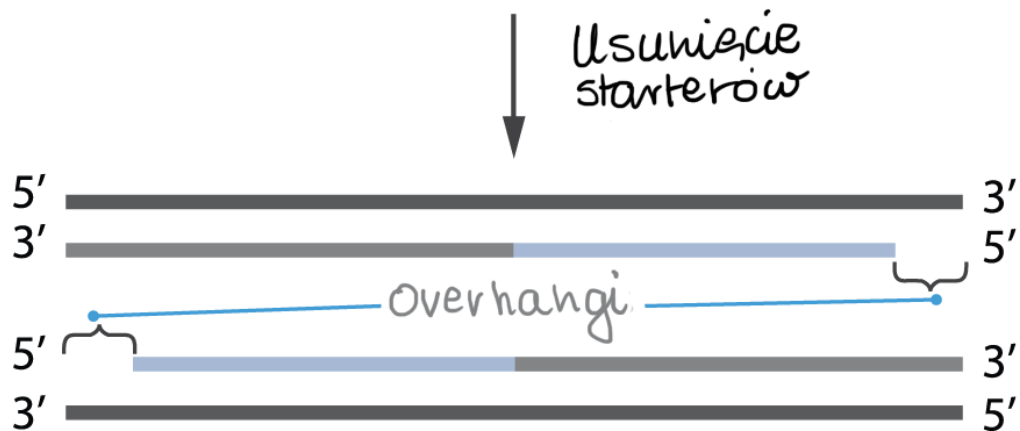
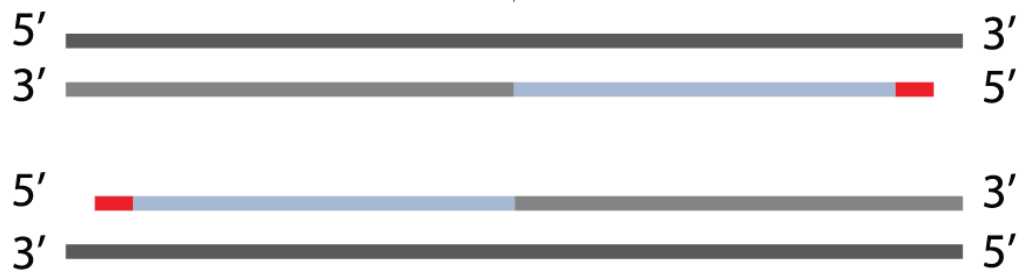
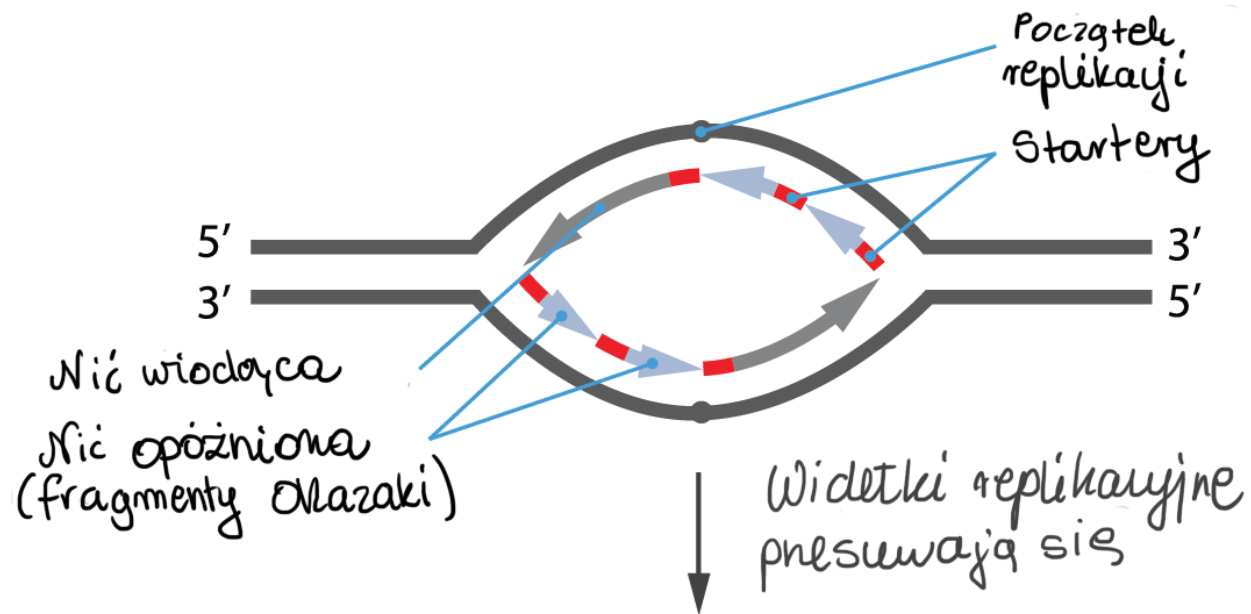
Chromosomy stają się niestabilne z długością telomerów mniejszą niż 4.500 par zasad



Average telomere length in relation to age.

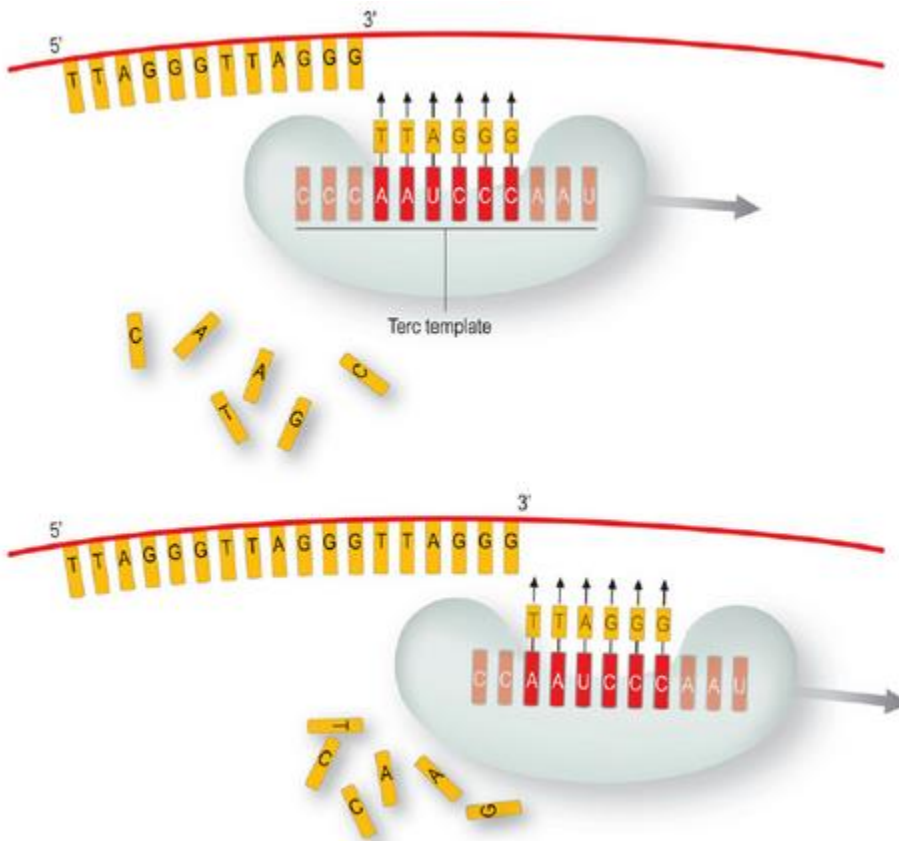
Modified from J. Exp. Med. 2014 Vol. 211 No. 13.

PIK3R1 mutation augments PI3K signaling in new PID | Lucas et al.



Telomery

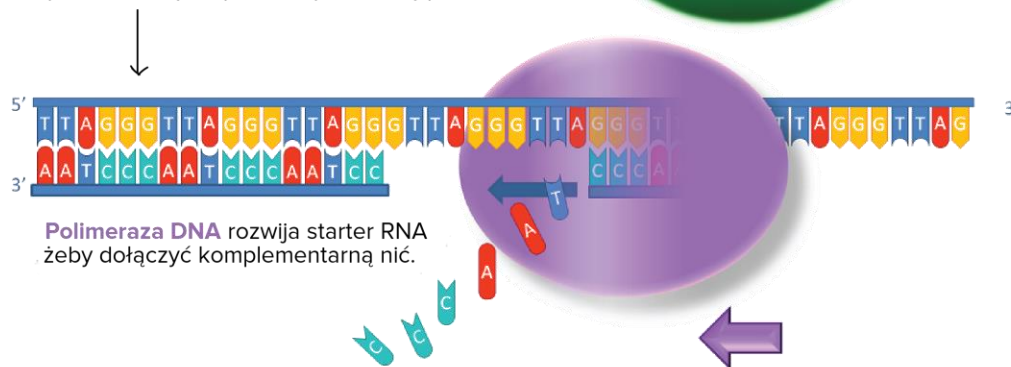
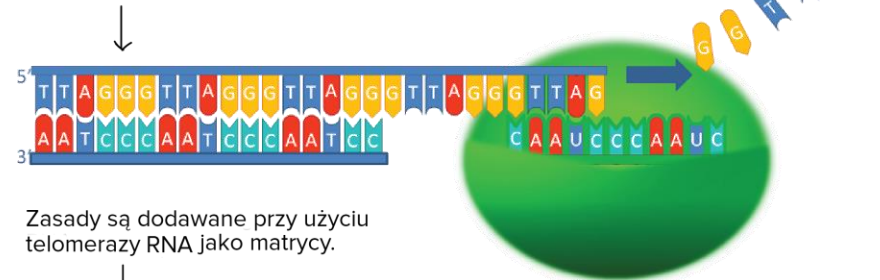
Wydłużenie telomeru przez telomerazę.



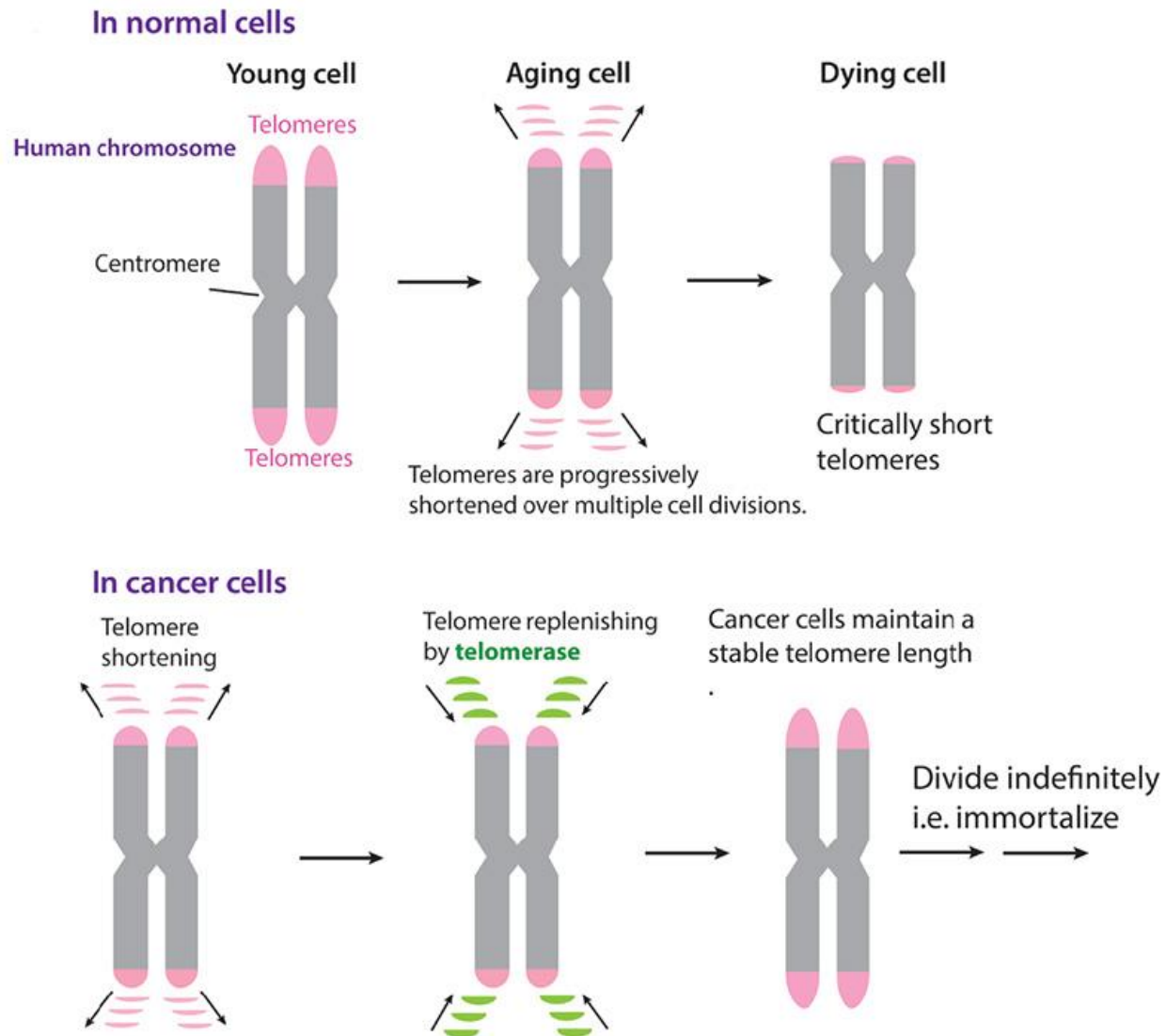
Telomeraza (human reverse transcriptase - hTERT) jest polimerazą DNA zależną od RNA. Telomeraza zawiera **matrycę RNA** (human telomerase RNA - hTR), która jest używana do dodawania powtórzeń nukleotydów telomerowych (w ludzkim TTAGGG) do 3' końców telomerów.



Telomeraza łączy się z końcem 3' (overhangerem) telomeru, który zawiera sekwencję komplementarną do telomerazy RNA.



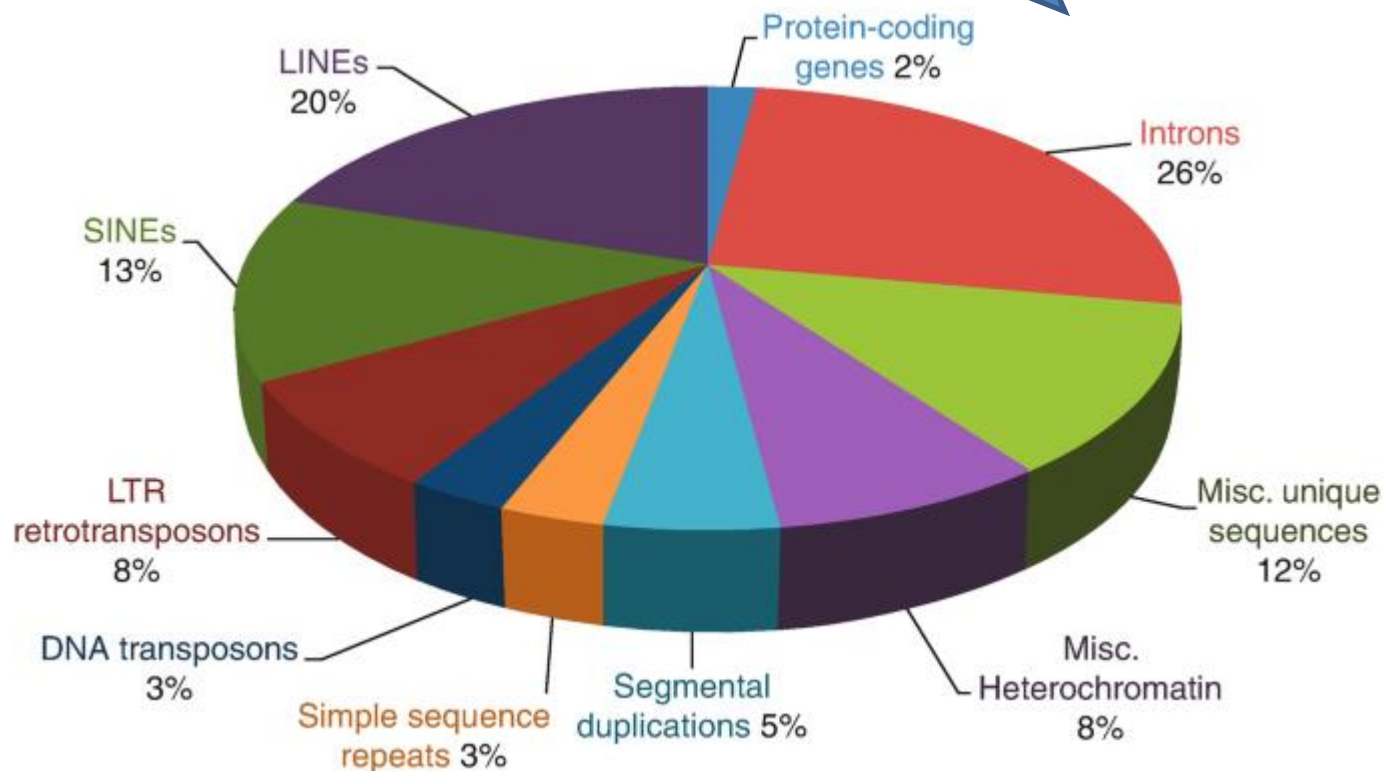
Telomery – telomeraza i nowotworzenie



Informacja genetyczna u człowieka

Sekwencje powtórzone
stanowią około 30%
całego genomu

20.000-30.000 genów



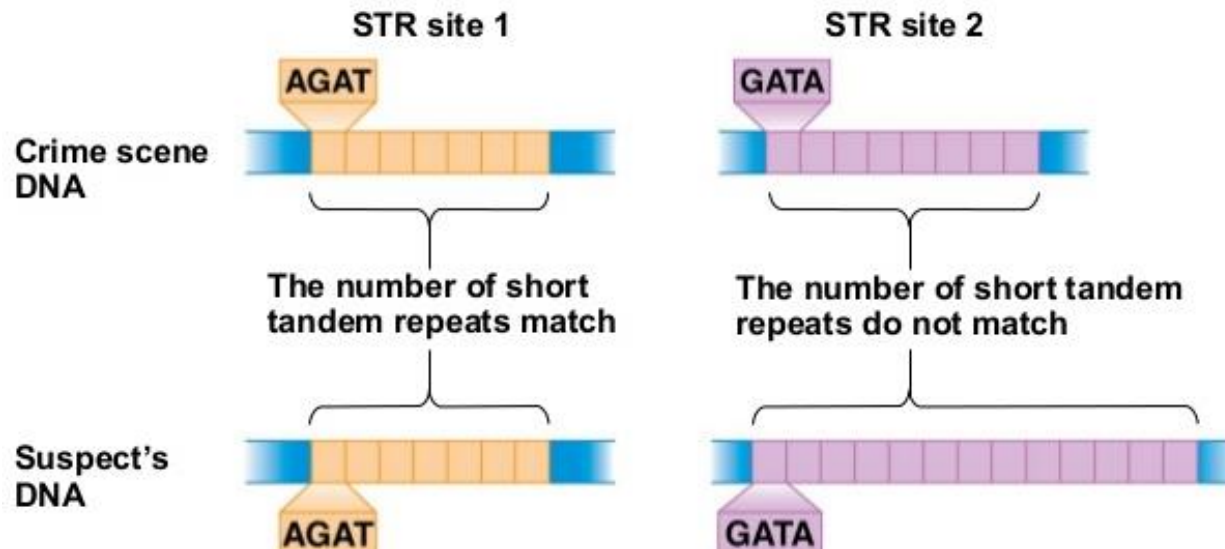
Niekodujące RNA
Mikro RNA
LNC RNA

Mini- i mikrosatelity

powtórzenia tandemowe

Minisatelite – średniej wielkości powtórzenia tandemowe 20-30 pz., rozproszone. Hiperzmienne, wysoce polimorficzne, występujące głównie w pobliżu telomerów; stosowane w pobieraniu “odcisków palców DNA” (medycyna sądowa)

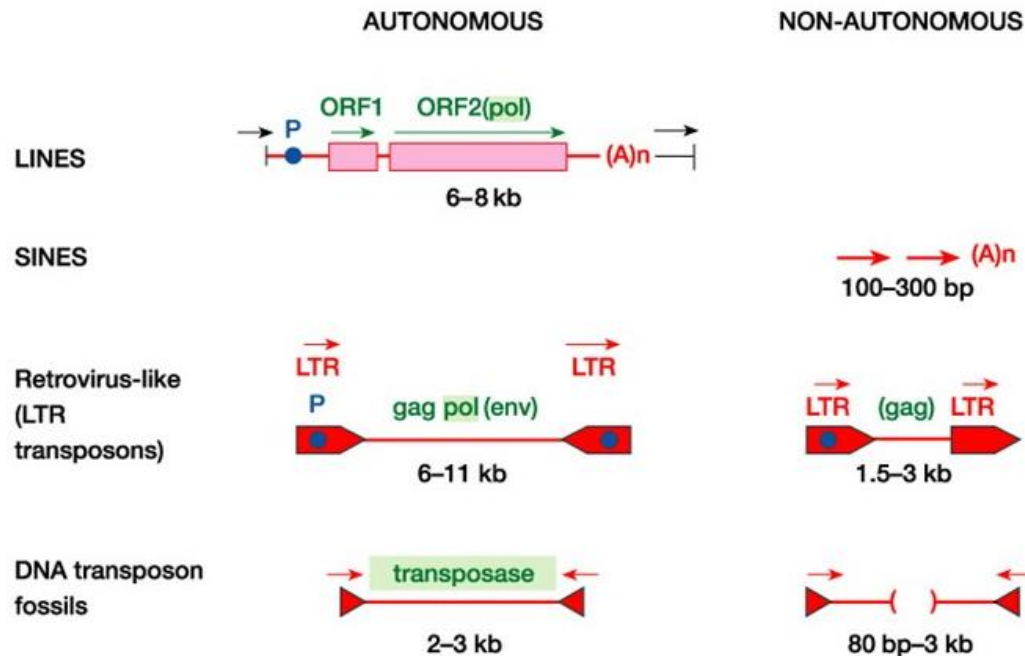
Mikrosatelite lub “simple sequence repeats” (SSR) – małe powtórzenia tandemowe 9-80 pz, rozproszone; najczęściej są to powtórzenia dinukleotydów, stosowane w pobieraniu “odcisków palców DNA” (medycyna sądowa)



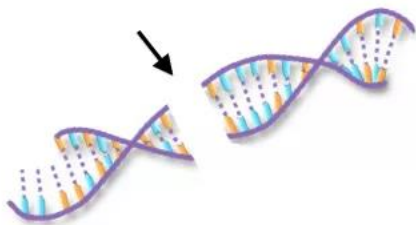
LINES, SINES, transpozony

sekwencje rozproszone

- **Transpozony** – elementy transpozycyjne migrujące w genomie
- **LINES** – długie przeplatane elementy jądrowe, autonomiczne, kodują odwrotną transkryptazę w celu zapewnienia transpozycji; mogą powodować choroby poprzez zakłócanie funkcji genu po insercji
- **SINES** – krótkie przeplatane elementy jądrowe, nieautonomiczne – poruszają się wzdłuż genomu wraz z LINES



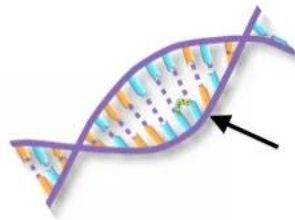
Uszkodzenie DNA – czynniki egzogenne



Type of Damage: Double-strand break

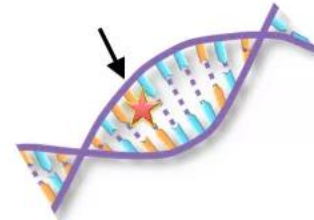
Common Causes:

- Normal cellular activity
- Ionizing radiation (including X-rays)
- Chemotherapeutic drugs
- DNA repair of other types of damage



Chemical bond between neighboring nucleotides

- Ultraviolet (UV) light



Chemical modification of a nucleotide

- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals
- Normal modifications that regulate what genes are active

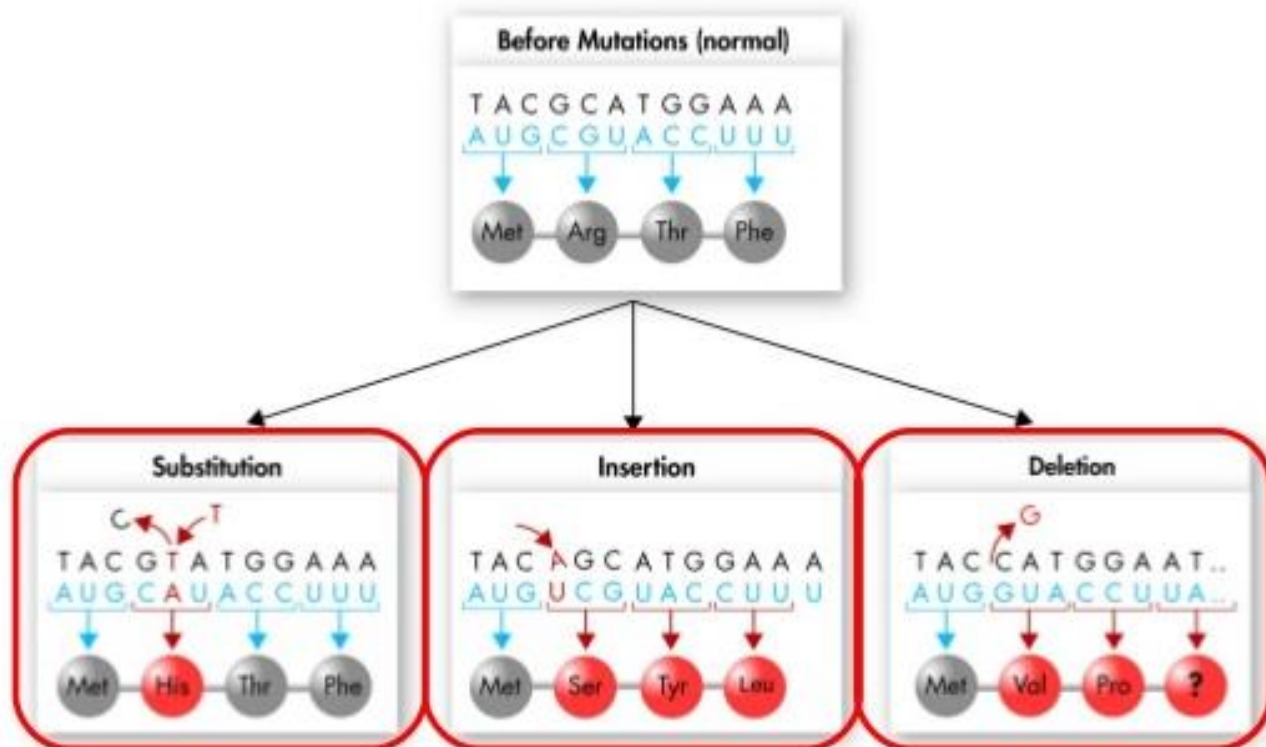


Chemical Linkage of Two Strands

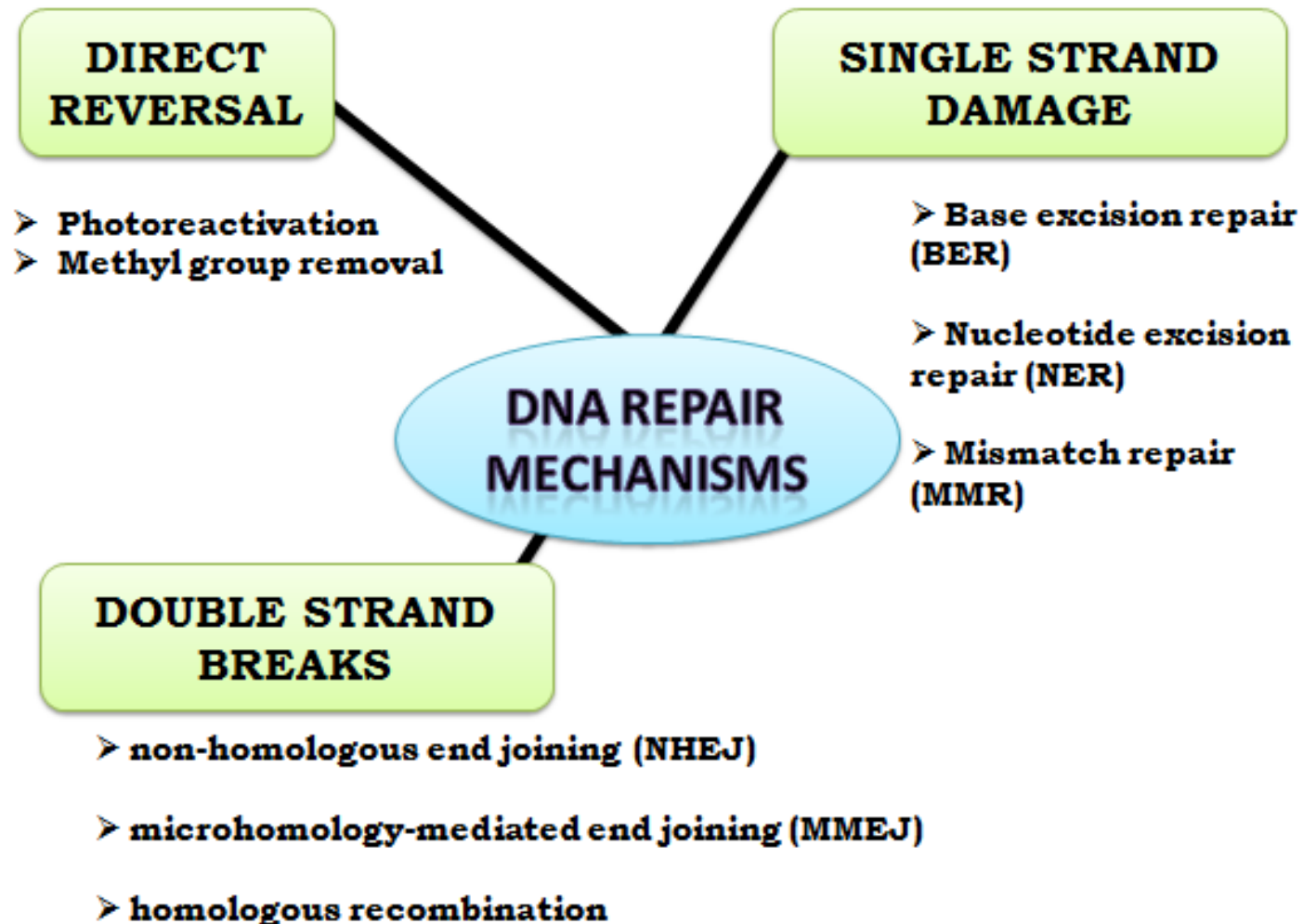
- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals

Uszkodzenie DNA – błędy replikacyjne

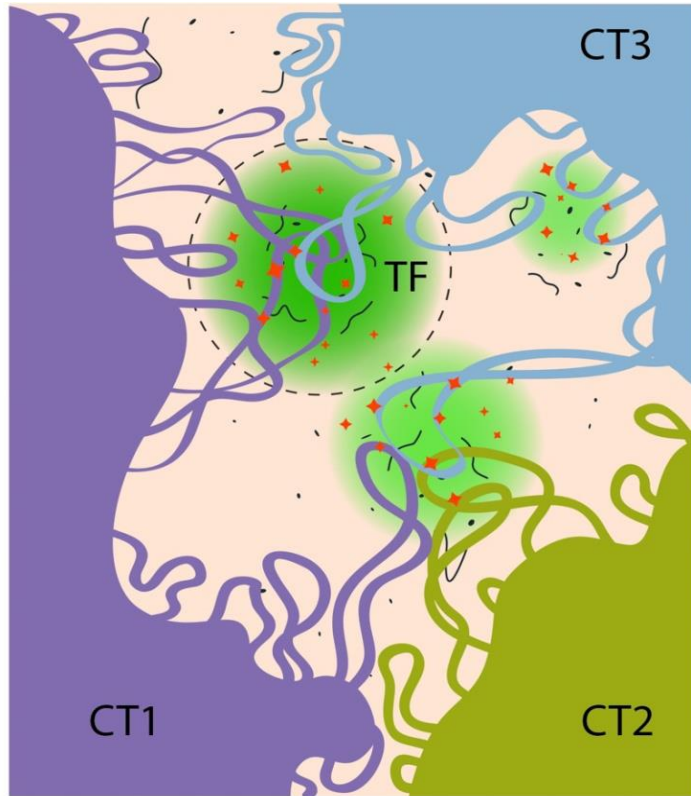
A point mutation is a change in a single nucleotide.
There are three types of point mutations:



Mechanizmy naprawy DNA



Transkrypcja



TF - transcription factory

CT - chromosome territory

★ RNA polymerase

— mRNA transcript

— chromatin loop

Ogniska transkrypcyjne (fabryki transkrypcyjne) - submikronowe regiony jądrowe (o średnicy 40–100 nm), które są wzbogacone w kompleksy polimerazy RNA II (RNAPol II).

Polimeraza RNA I jest ograniczona do jąderka, podczas gdy polimerazy RNA II i III są nukleoplazmowe.

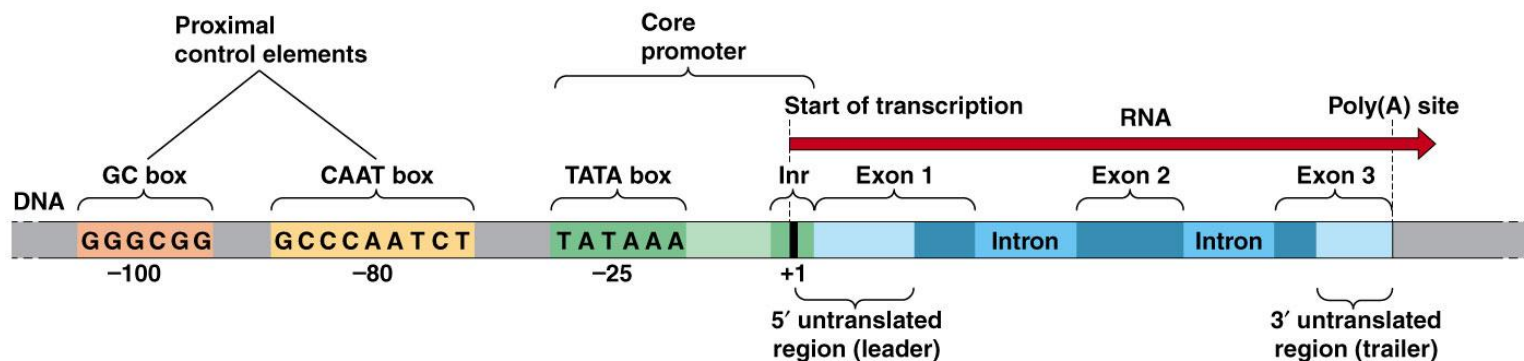
Transkrypcja

U eukariontów istnieją trzy polimerazy RNA (I, II i III) zaangażowane w transkrypcję :

polimeraza RNA I (zlokalizowana w jąderku) transkrybuje cząsteczki prekursora rRNA.

Polimeraza RNA II wytwarza większość mRNA oraz miRNA.

Polimeraza RNA III jest odpowiedzialna za produkcję pre-tRNA, 5SrRNA i innych małych RNA.



© 2012 Pearson Education, Inc.

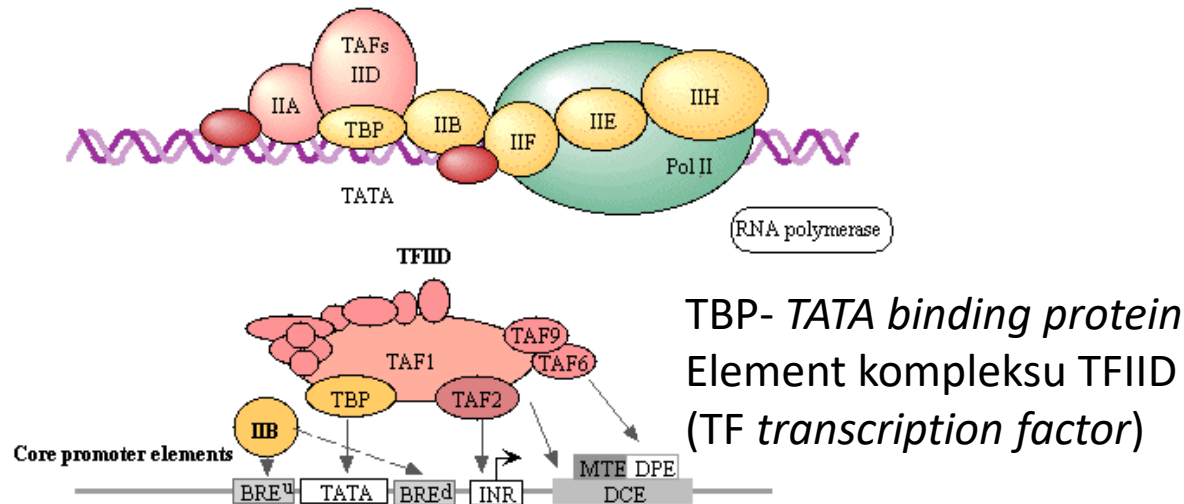
Sekwencje promotorów - zazwyczaj mają dwa składniki:

Składnik proksymalny - kaseta TATA (kieruje polimerazę RNA II we właściwe miejsce)

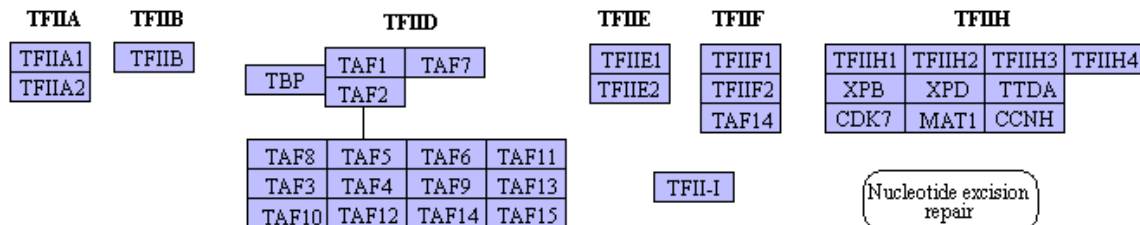
Komponent dystalny - sekwencje CAAT i GC (określa częstotliwość inicjacji transkrypcji).

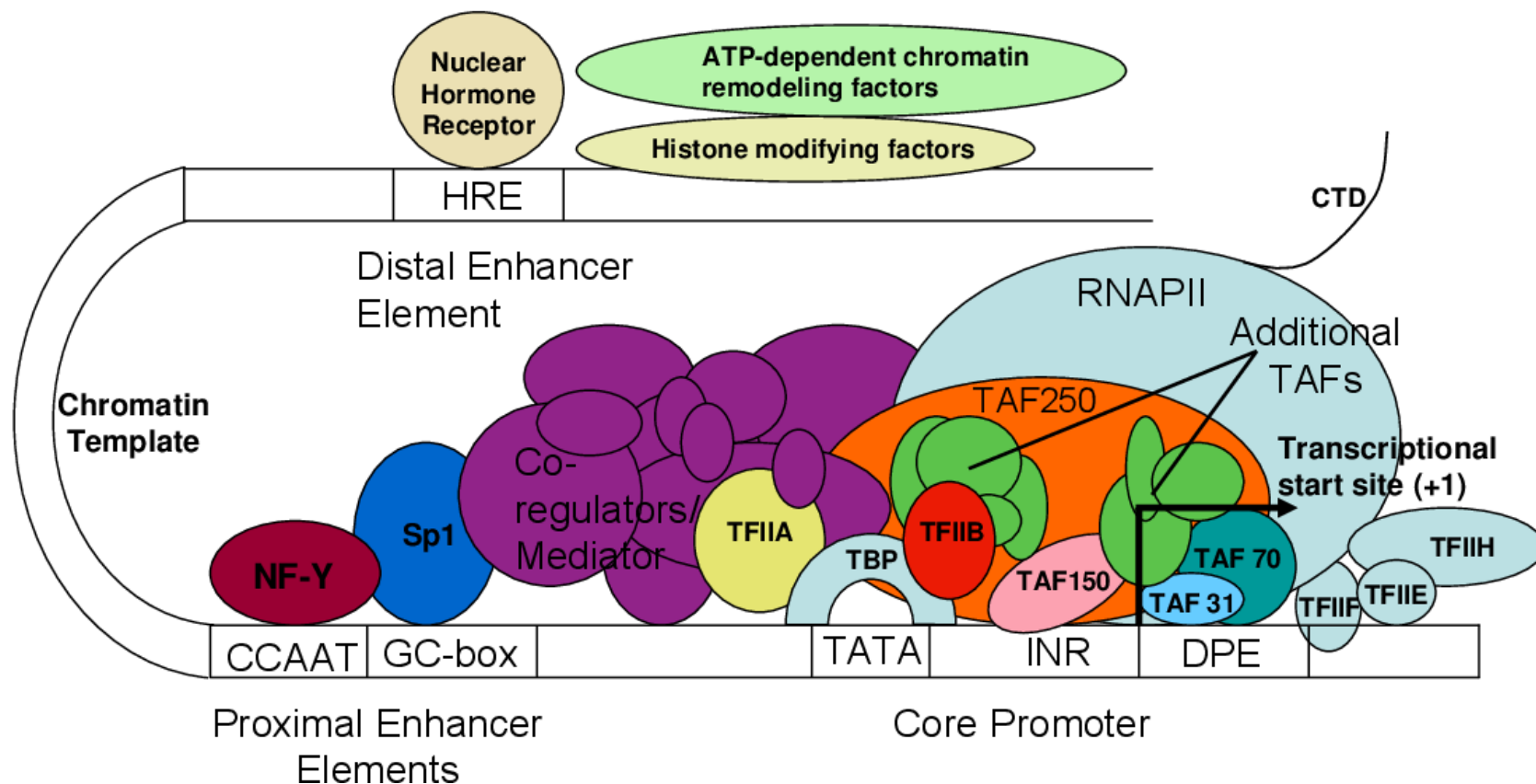
Ogólne czynniki transkrypcyjne

BASAL TRANSCRIPTION FACTORS (EUKARYOTES)



General transcription factors for RNA polymerase II



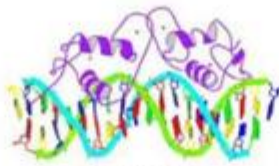
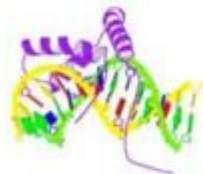


TFIID, wygięcie DNA, przyłączenie innych czynników ogólnych czynników transkrypcyjnych,
Powstanie kompleksu inicjującego transkrypcję

Fosforylacja polimerazy RNA uruchamia jej aktywność katalityczną

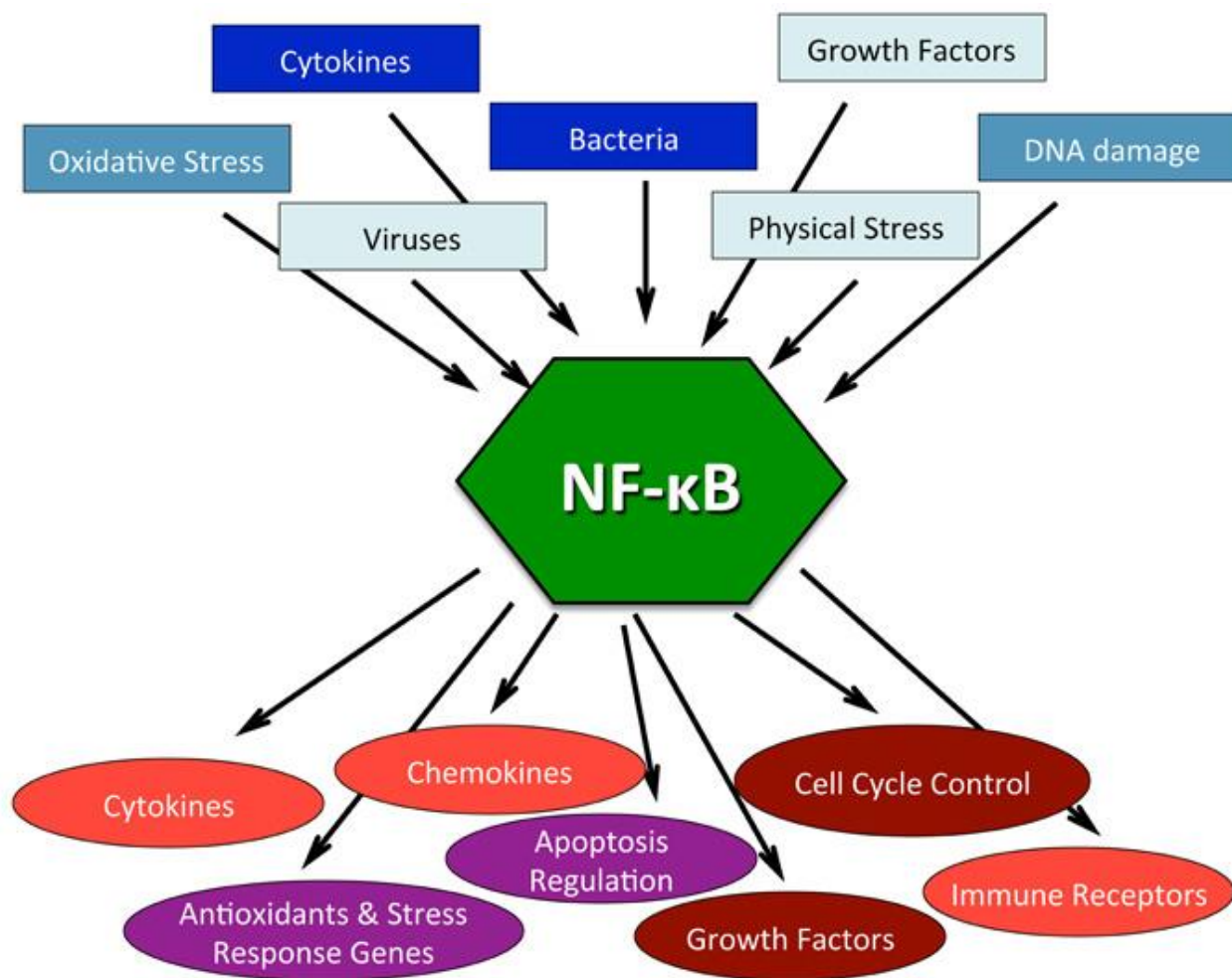
Geny House-keeping – brak kasety TATA

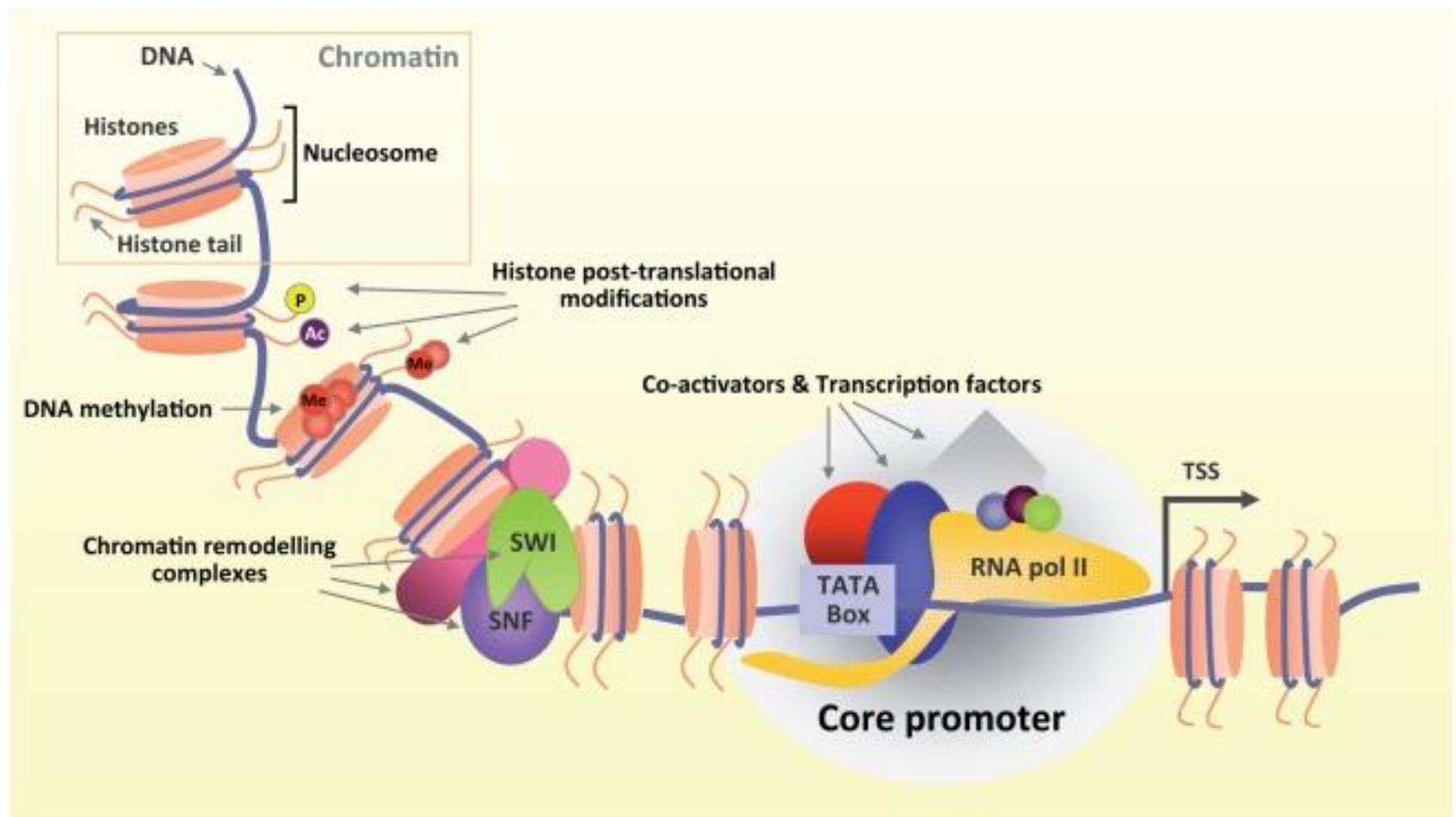
Swoiste czynniki transkrypcyjne

1. Basic domains  CREB (1DH3)	2. Zinc-coordinating DNA-binding domains  GR (1R4R)	3. Helix-turn-helix domains  Pax-6 (6PAX)
4. Other all-α-helical DNA-binding domains  SRY (1J46)	5. α-Helices exposed by β-structures  MEF2A (1C7U)	6. Immunoglobulin fold  NF-kappaB p50 (1SVC)
7. β-Hairpin exposed by an α/β-scaffold  SMAD3 (1MHD)	8. β-Sheet binding to DNA  TBP (1CDW)	9. β-Barrel DNA-binding domains  YB-1 (1H95)

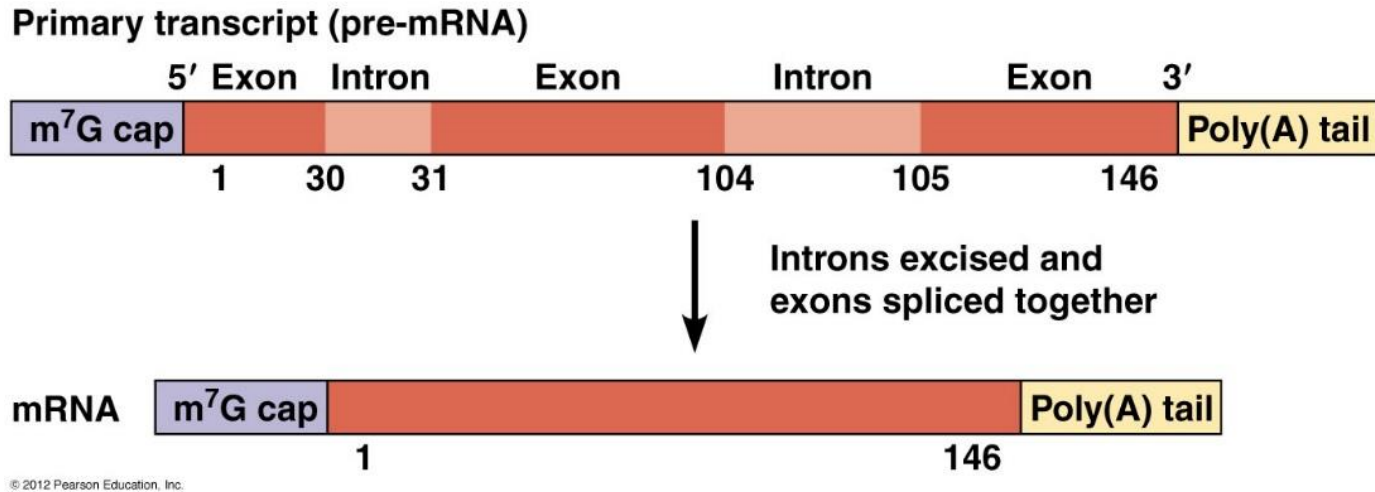
Np. HOX, PAX, MyoD, NF-kB, p53

Specyficzne czynniki transkrypcyjne – NF-kappaB





Dojrzewanie RNA



mRNA u eukariontów jest najpierw wytwarzany jako pre-mRNA (heterogeniczny jądrowy RNA; hnRNA), a następnie modyfikowany do dojrzałego mRNA:

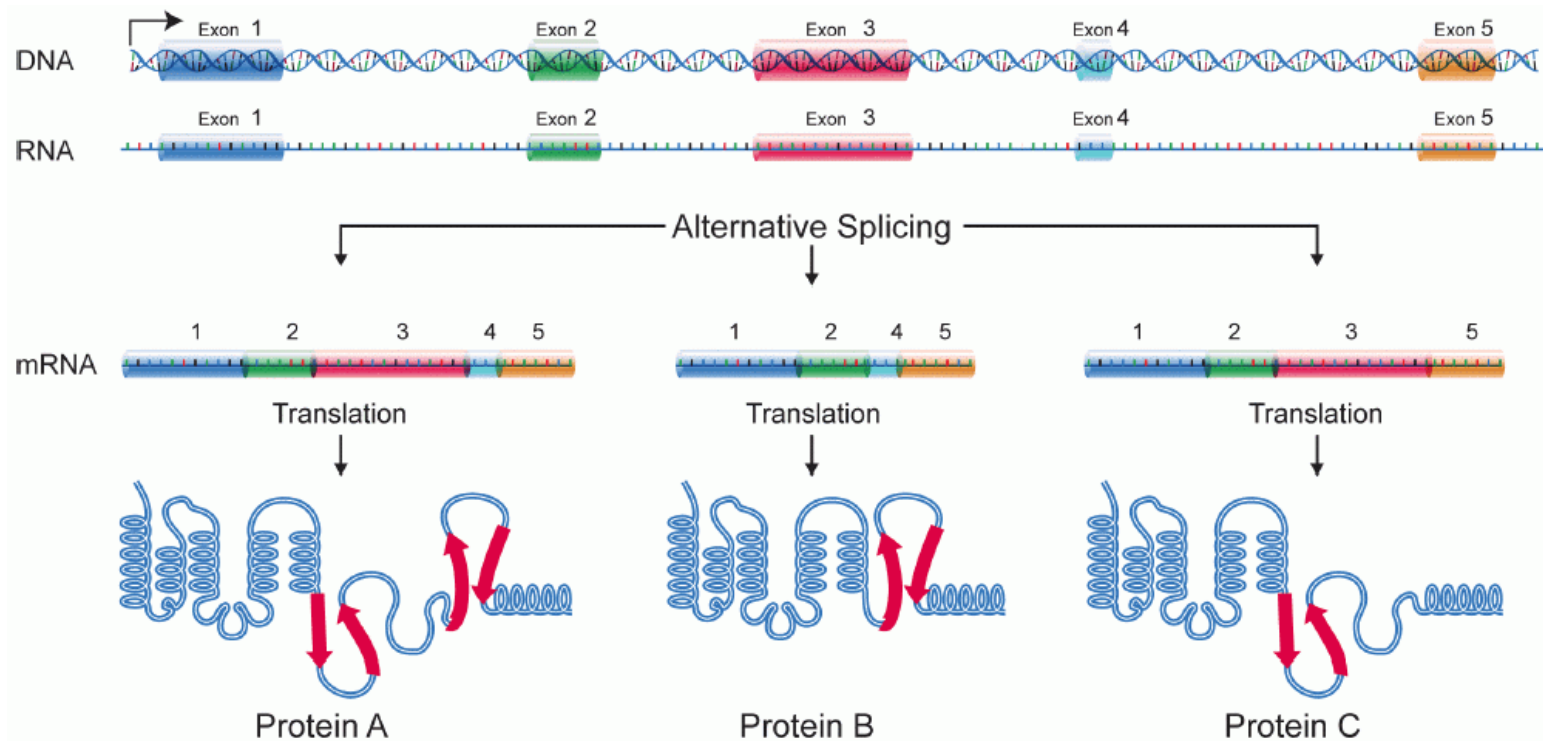
1. Dodanie struktury **czapeczki 5'** (nukleotyd guanozyny metylowany na 7 pozycji) - chroni przed degradacją przez 5'egzonukleazy; pomaga transkryptom wiązać się z rybosomem podczas syntezy białek

2. Dodanie **ogonów poli-A** - pierwotne transkrypty zawierają wysoce zachowaną sekwencję AAUAAA znaną jako sygnał poliadenylacji (w pobliżu końca 3'); stabilizuje transkrypt i umożliwia eksport do cytoplazmy

3. **Splicing** - wycinanie intronów

Alternatywny splicing

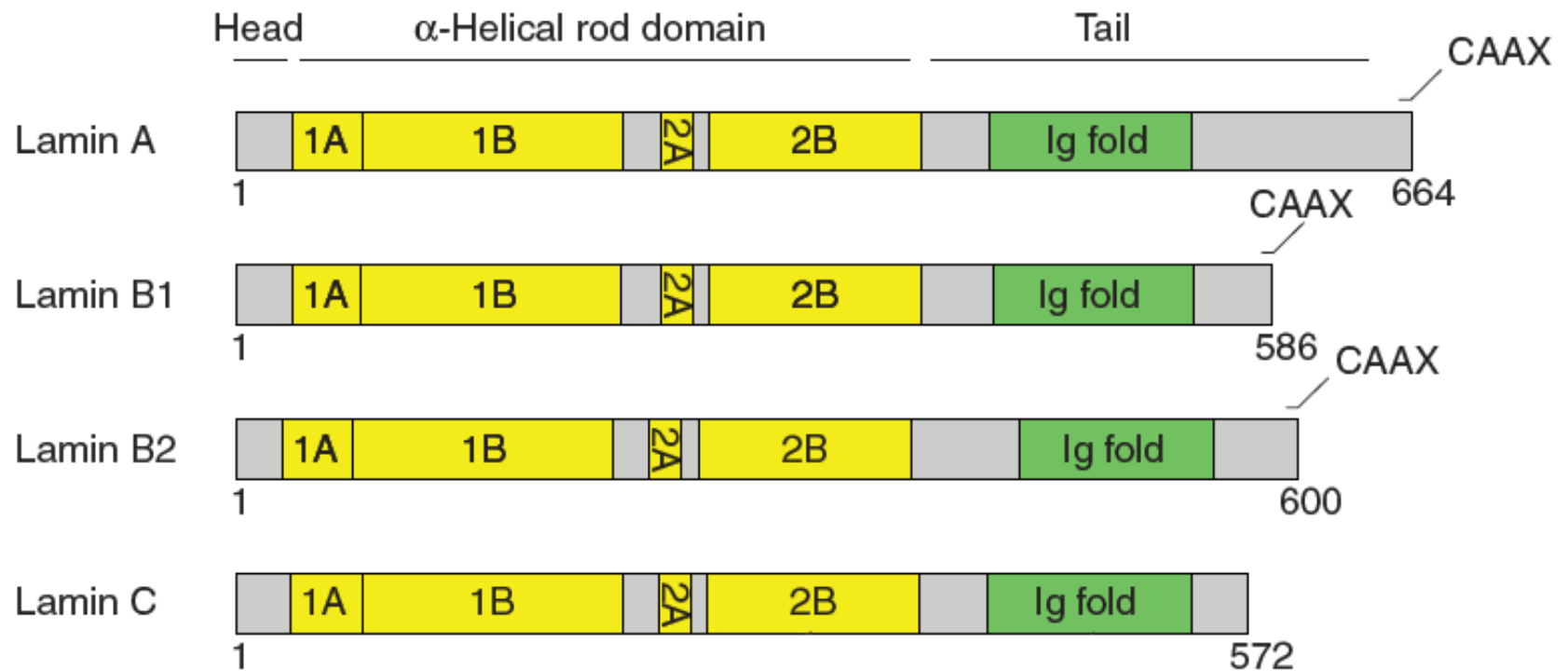
Alternatywny splicing - alternatywne formy mRNA

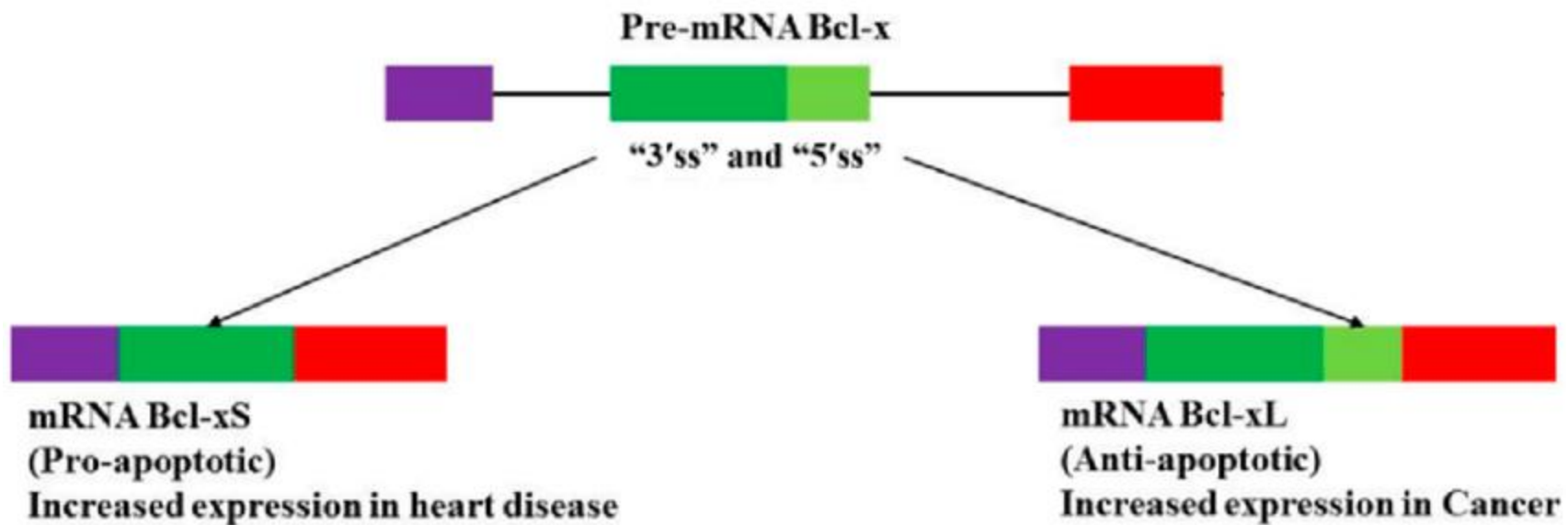


Białka powstające z alternatywnych mRNA różnią się sekwencją aminokwasową a także często funkcją.

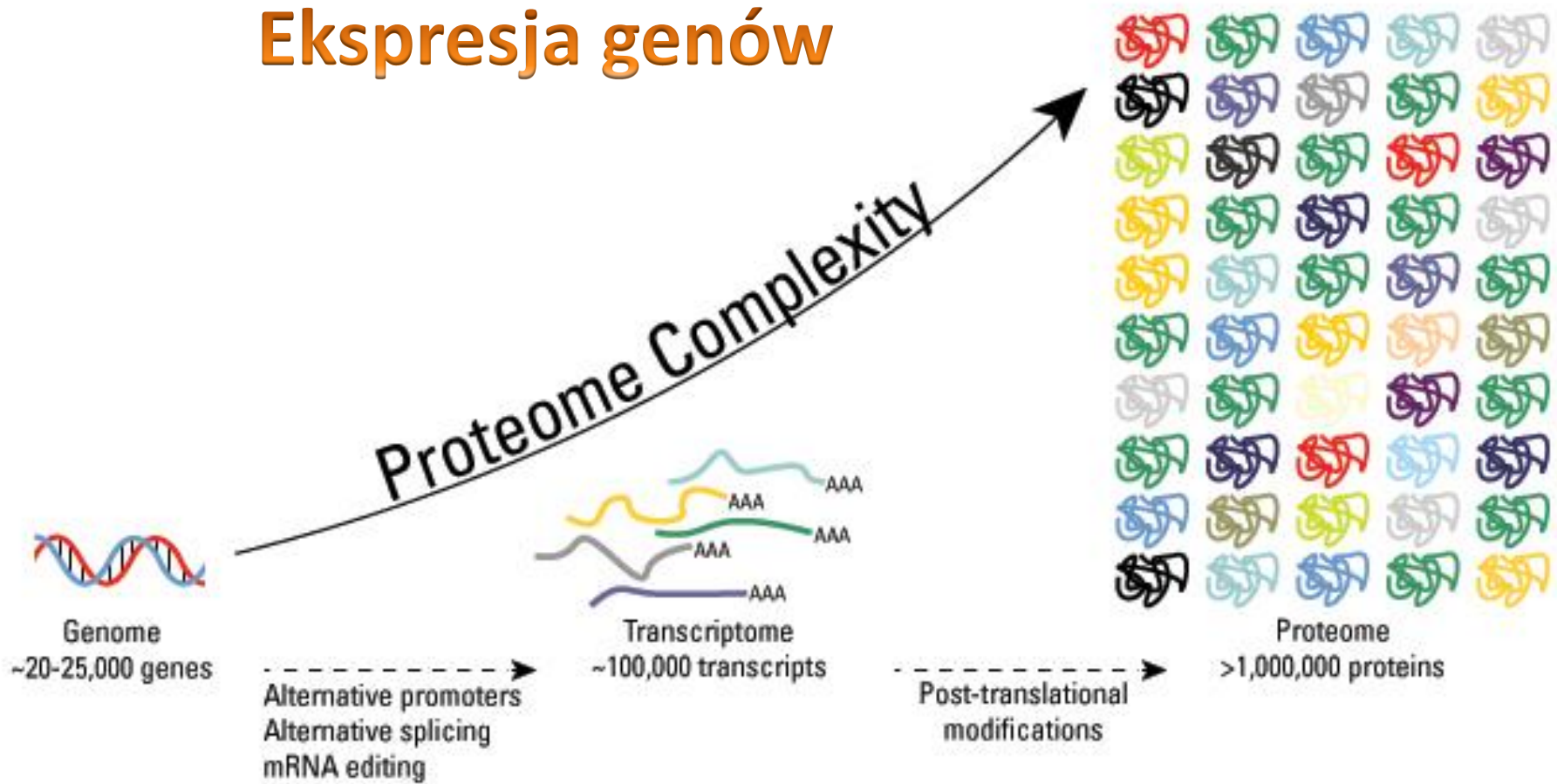
Alternatywny splicing - laminy

Dittmer and Misteli *Genome Biology* 2011, 12:222
<http://genomebiology.com/2011/12/5/222>





Ekspresja genów

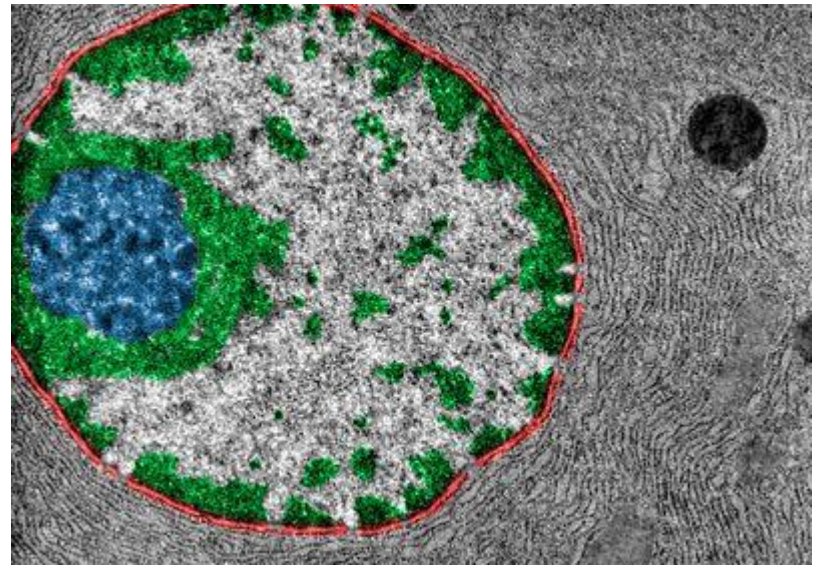


Alternatywny splicing pozwala na syntezę znacznie większej liczby białek (100 000), niż można by oczekiwać od 20 000 genów kodujących białka.

Redagowanie RNA – utrata nukleotydów od 3' do 5', zmiana ramki odczytu – mechanizm regulacji ekspresji genów

Jąderko

Miejsce transkrypcji rybosomalnego RNA i produkcji rybosomów, ale także miejsce, w którym przechowywane są niektóre białka:



Polimeraza RNA I

nukleolina – reguluje transkrypcję

fibrylaryna – obróbka snRNP (do rRNA)

telomeraza – nie jest aktywna w jąderku

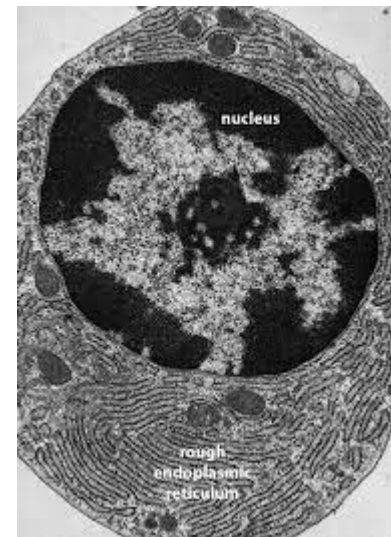
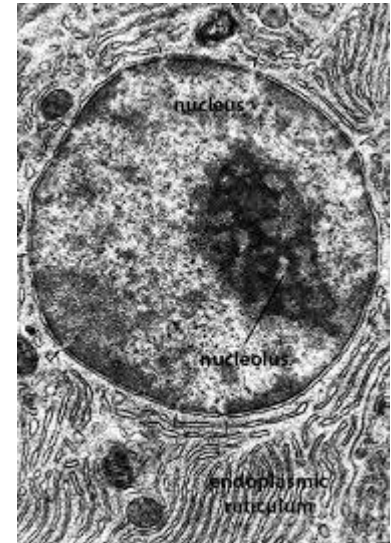
nucleostemina – wiąże p53 i czyni je nieaktywnym

- Jąderko zawiera około 500 genów niezbędnych do produkcji rybosomów; geny te pochodzą z chromosomów 13, 14, 15, 21 i 22

- Krótkie ramiona tych chromosomów zawierają regiony organizujące jąderko (NOR, *nucleolar-organizing region*), umożliwiając odtworzenie jąderka po podziale komórki

- W jądrze może znajdować się od 1 do 5 jąderek

- Geny rRNA są transkrybowane przez polimerazę RNA I.
- rRNA jest modyfikowane po transkrypcji i łączone z białkami rybosomalnymi (syntetyzowane w cytoplazmie i importowane do jądra przez pory jądrowe)



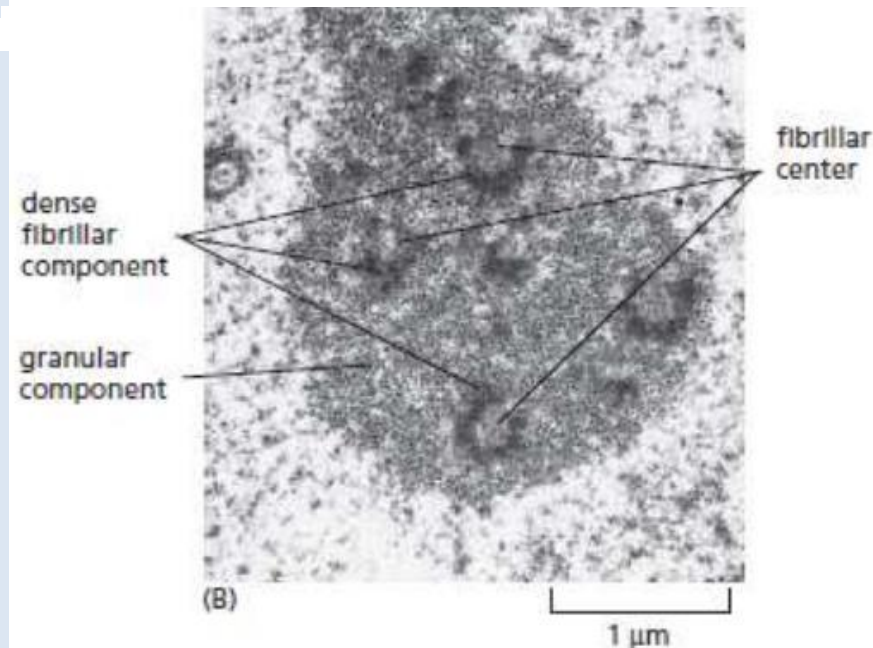
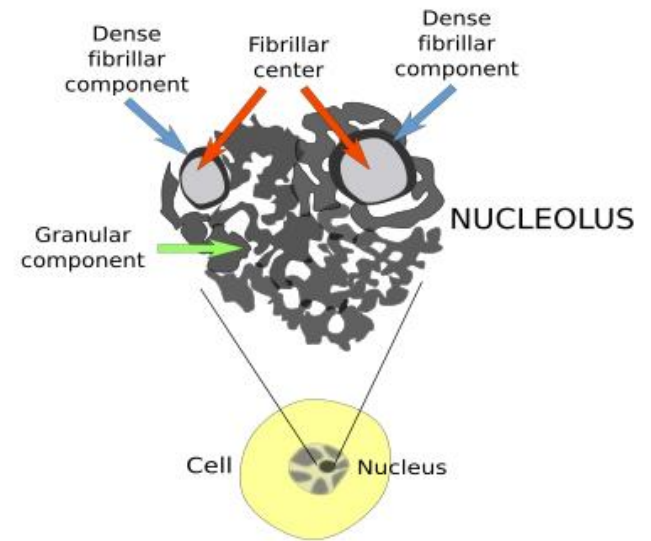
Aktywne transkrypcyjnie jąderko zawiera:

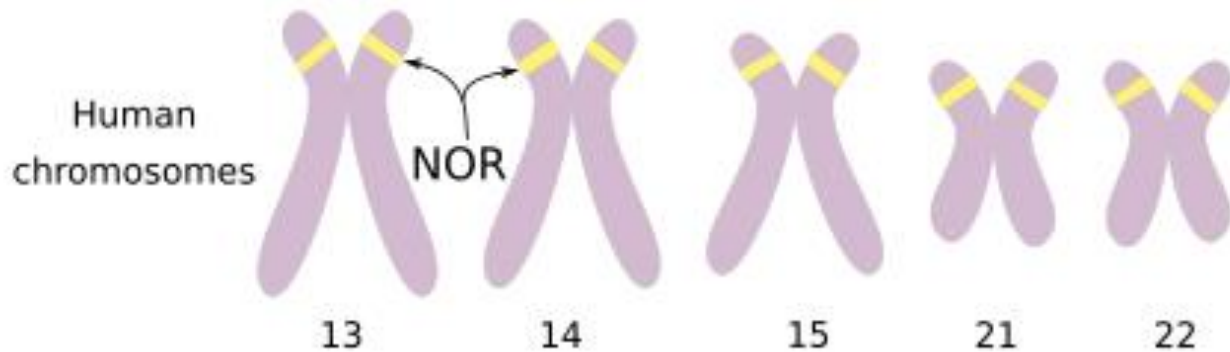
centra włókniste (FC, *fibrillar centers*) – zlokalizowane są w nich geny kodujące **pre-rRNA 45S**

gęsty składnik włóknisty (DFC, *dense fibrillar component*) – utworzony jest z włókien o średnicy 4–5 nm i długości do 50 nm, gęsto upakowanych w pasma i często otaczających ośrodki włókniste, **miejsce, w którym znajduje się i jest przetwarzany pre-rRNA 45S**

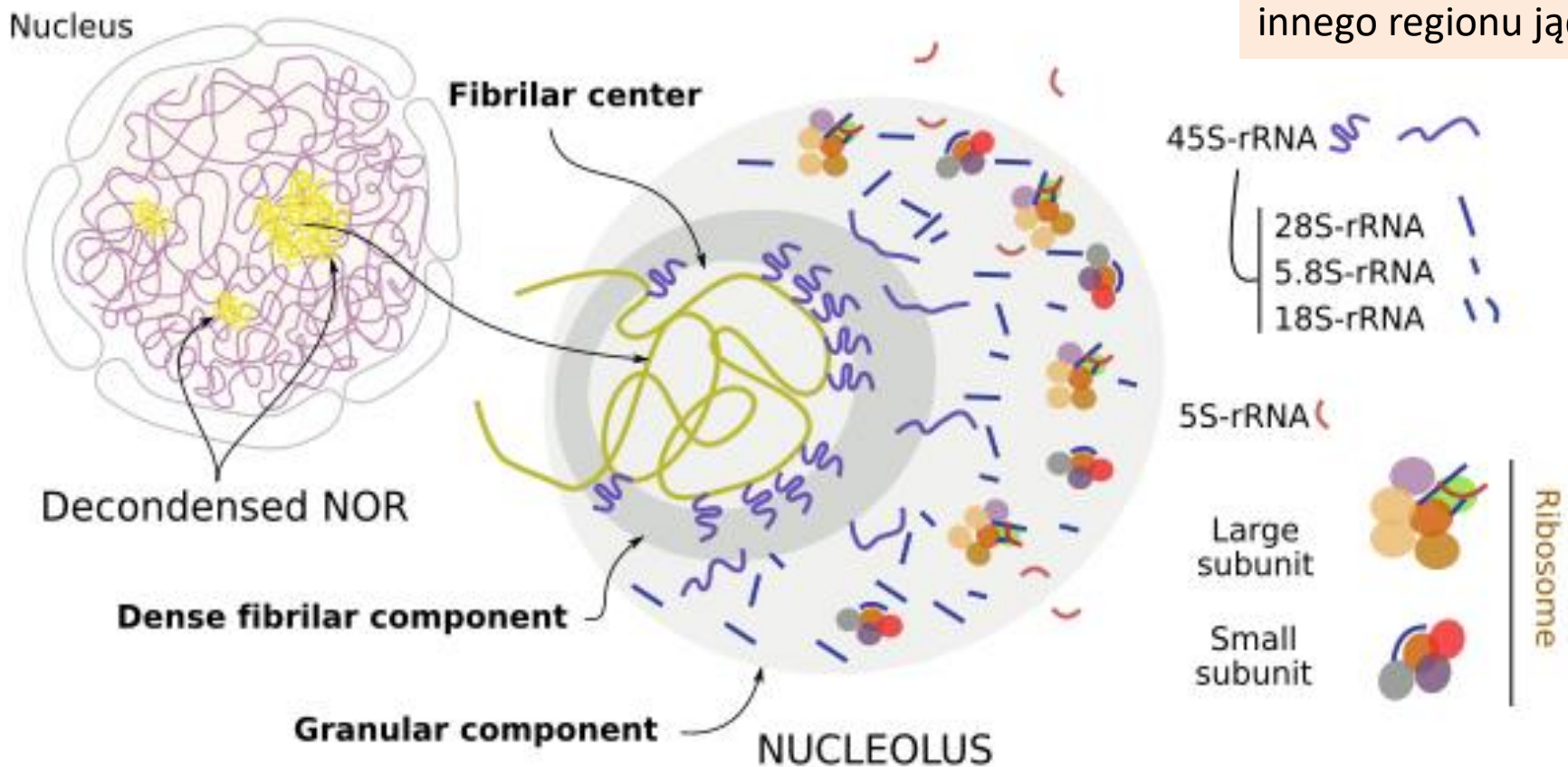
składnik ziarnisty (GC, *granular component*) – tworzą go ziarna o średnicy 15–20 nm w postaci pól wymieszanych z gęstym składnikiem włóknistym, **miejsce, w którym białka rybosomalne i rRNA, będące wynikiem przetwarzania pre-45S rRNA, są składane w podjednostki rybosomalne**

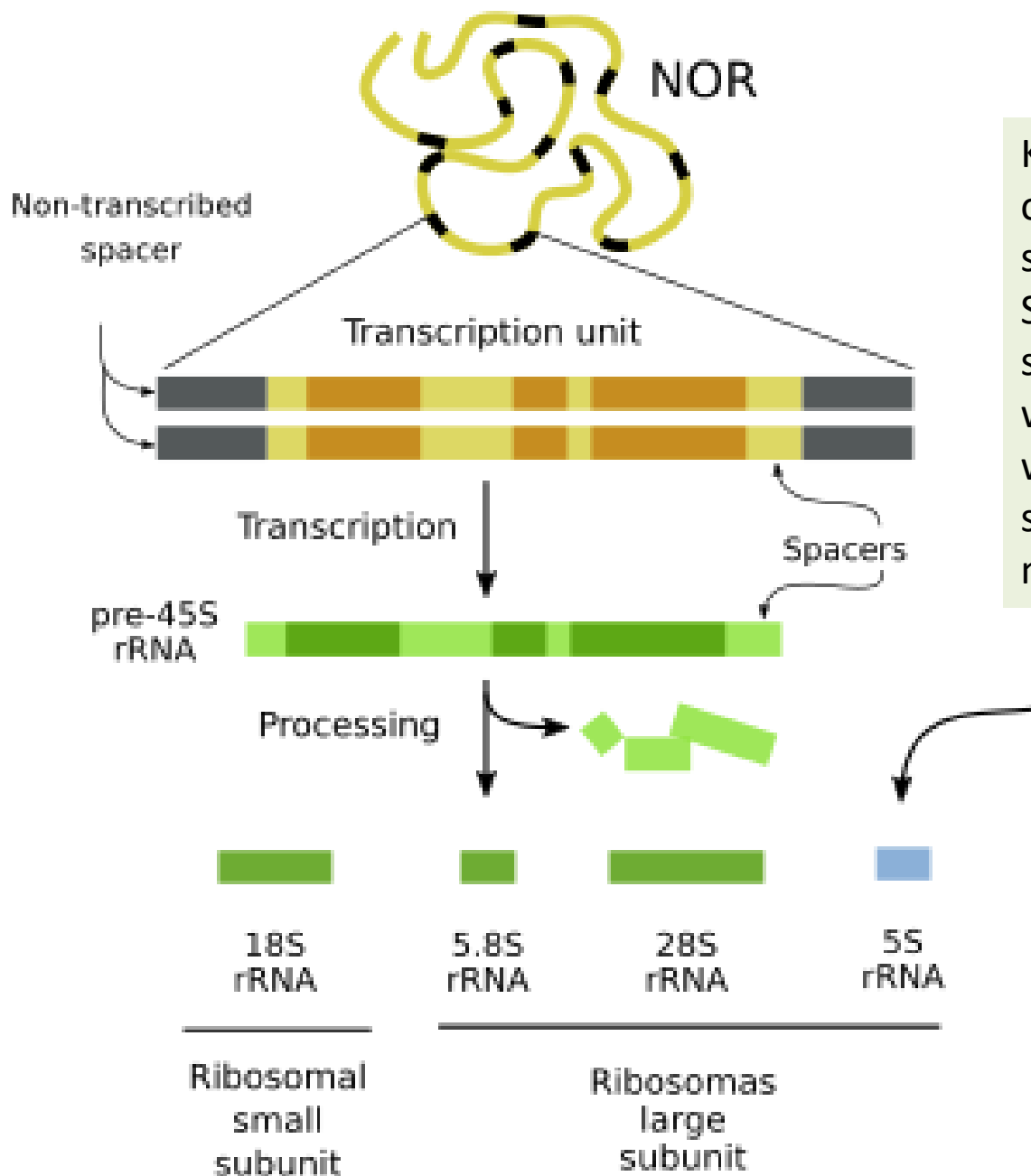
chromatynę związaną z jąderkiem (NAC, *nucleolar associated chromatin*)





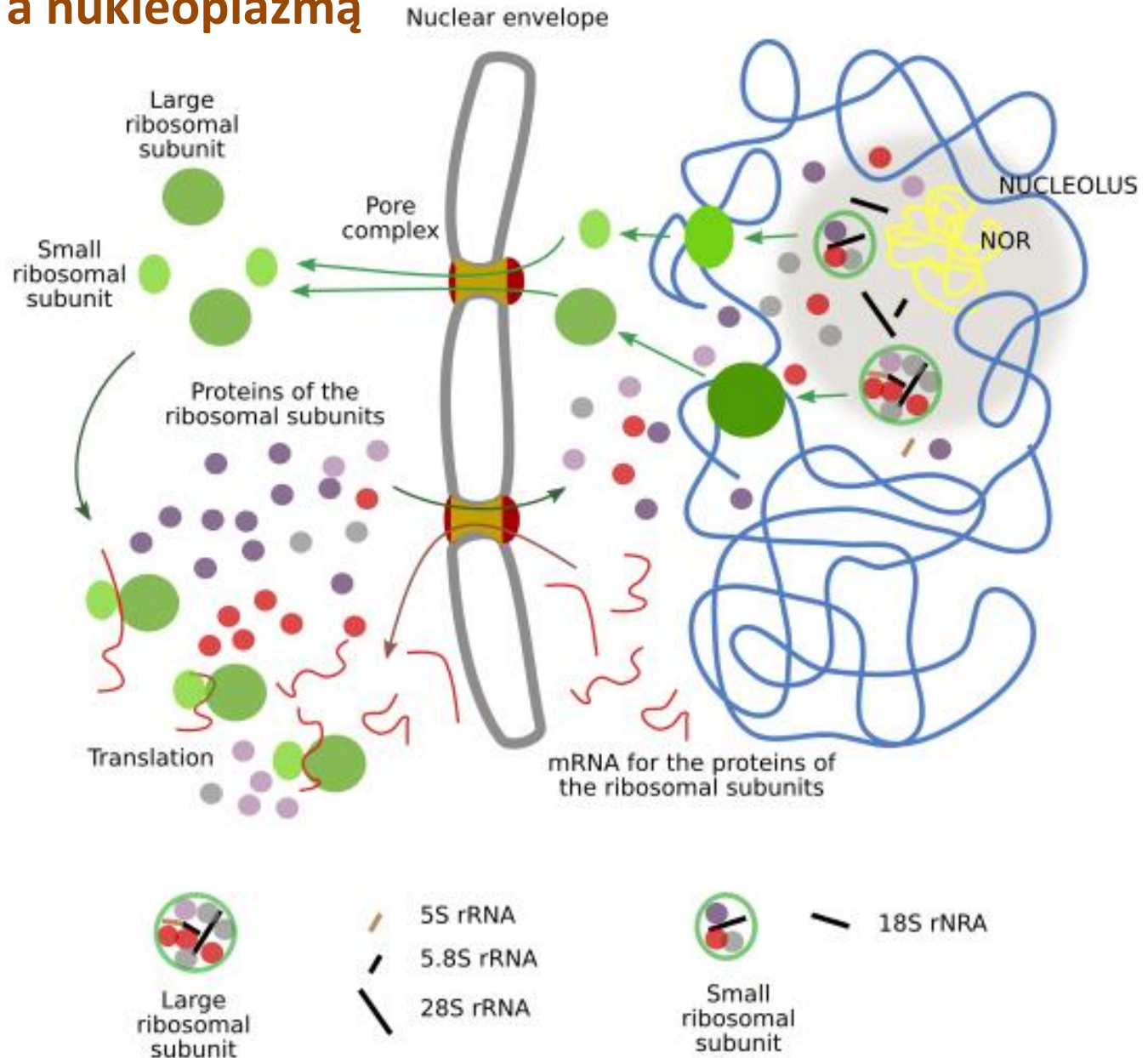
28S, 18S i 5.8S rRNA powstają w wyniku przetwarzania 45S rRNA.
5S rRNA pochodzi z innego regionu jądra.





Klasyfikacja rybosomów oparta jest na współczynniku sedymentacji (stałej Svedberga), który określa szybkość opadania cząsteczek w roztworze w czasie wirowania. Wartość stałej sedymentacji S zależy od masy i kształtu cząsteczek.

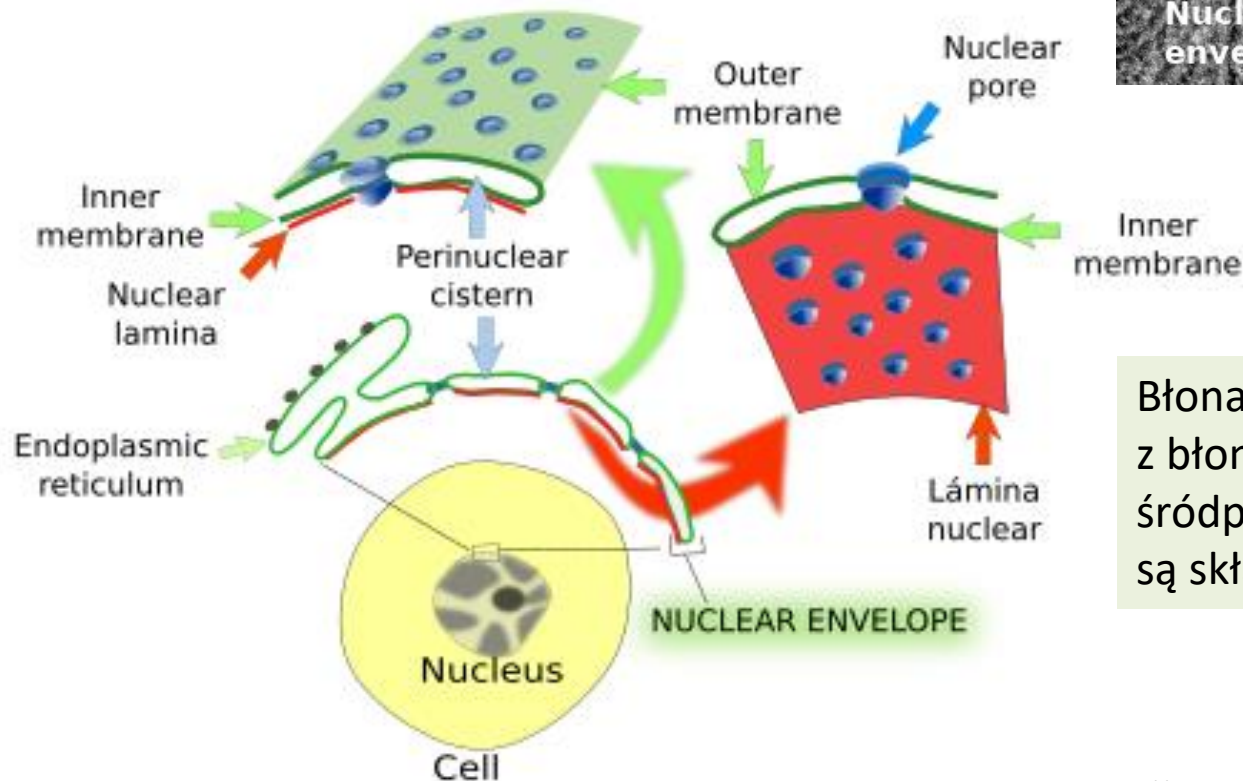
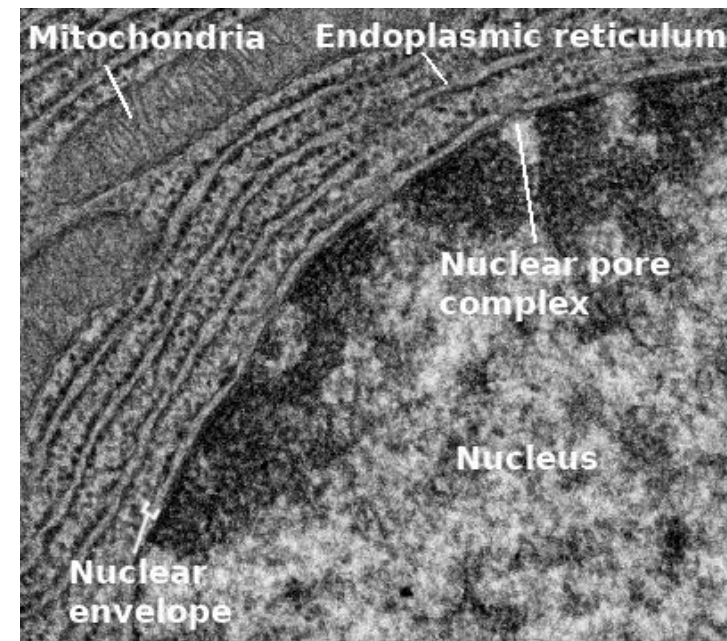
Transport składników molekularnych rybosomów pomiędzy cytoplazmą a nukleoplazmą



Otoczka jądrowa

Składa się z

- błony zewnętrznej,
- przestrzeni międzybłonowej (przestrzeni okołojądrowej),
- błony wewnętrznej,
- blaszki jądrowej.



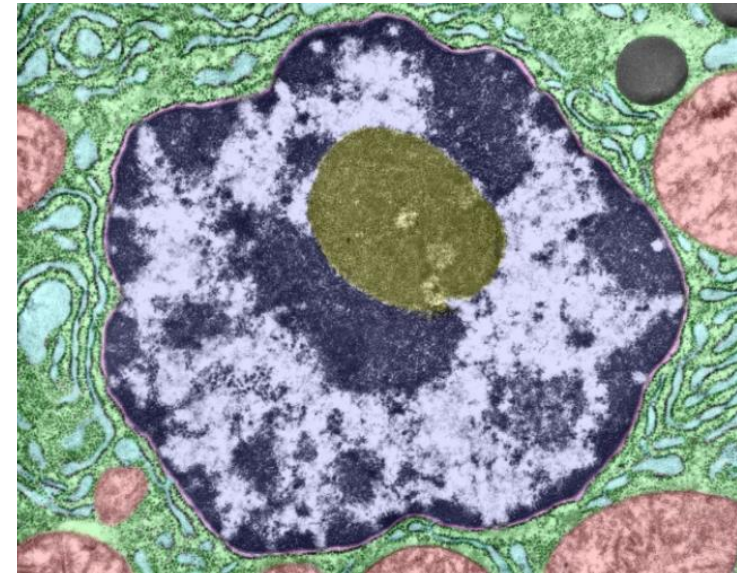
Błona zewnętrzna jest ciągła z błoną siateczki śródplazmatycznej. Pory jądrowe są składnikiem otoczki jądrowej.

Otoczka jądrowa

Otoczka jądrowa: składa się z dwóch błon

Zewnętrzna błona jądrowa:

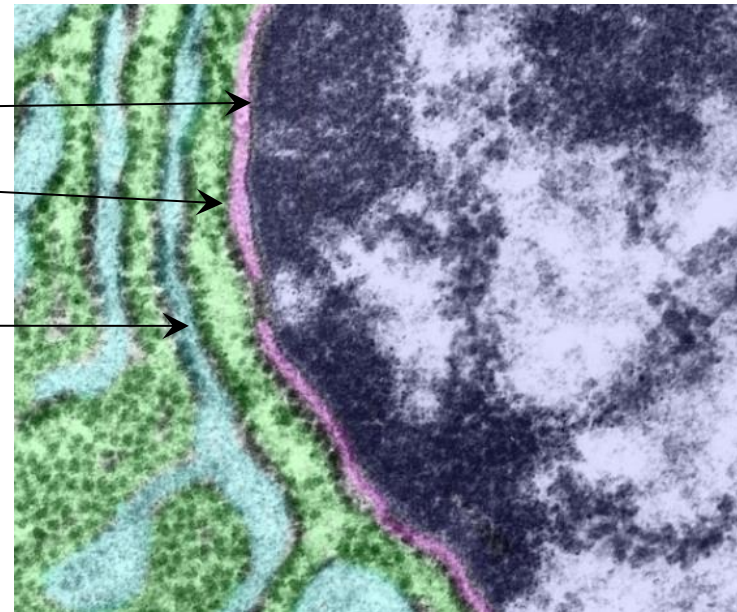
- W niektórych miejscach ciągła ze światłem retikulum endoplazmatycznego
- Otoczona elementami cytoszkieletu - wimentyna



Otoczka jądrowa

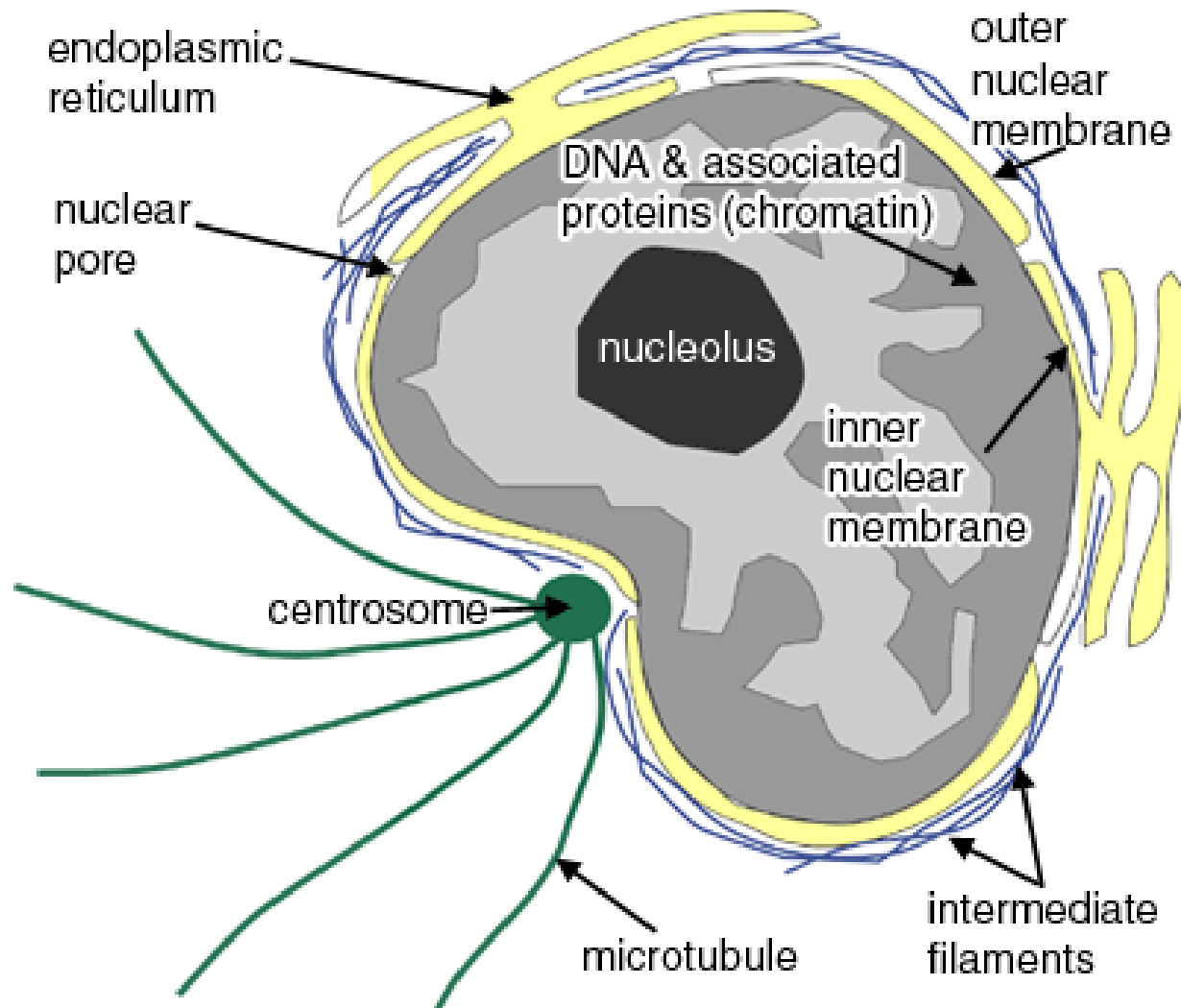
Rybosom

Szorstkie retikulum
endoplazmatyczne

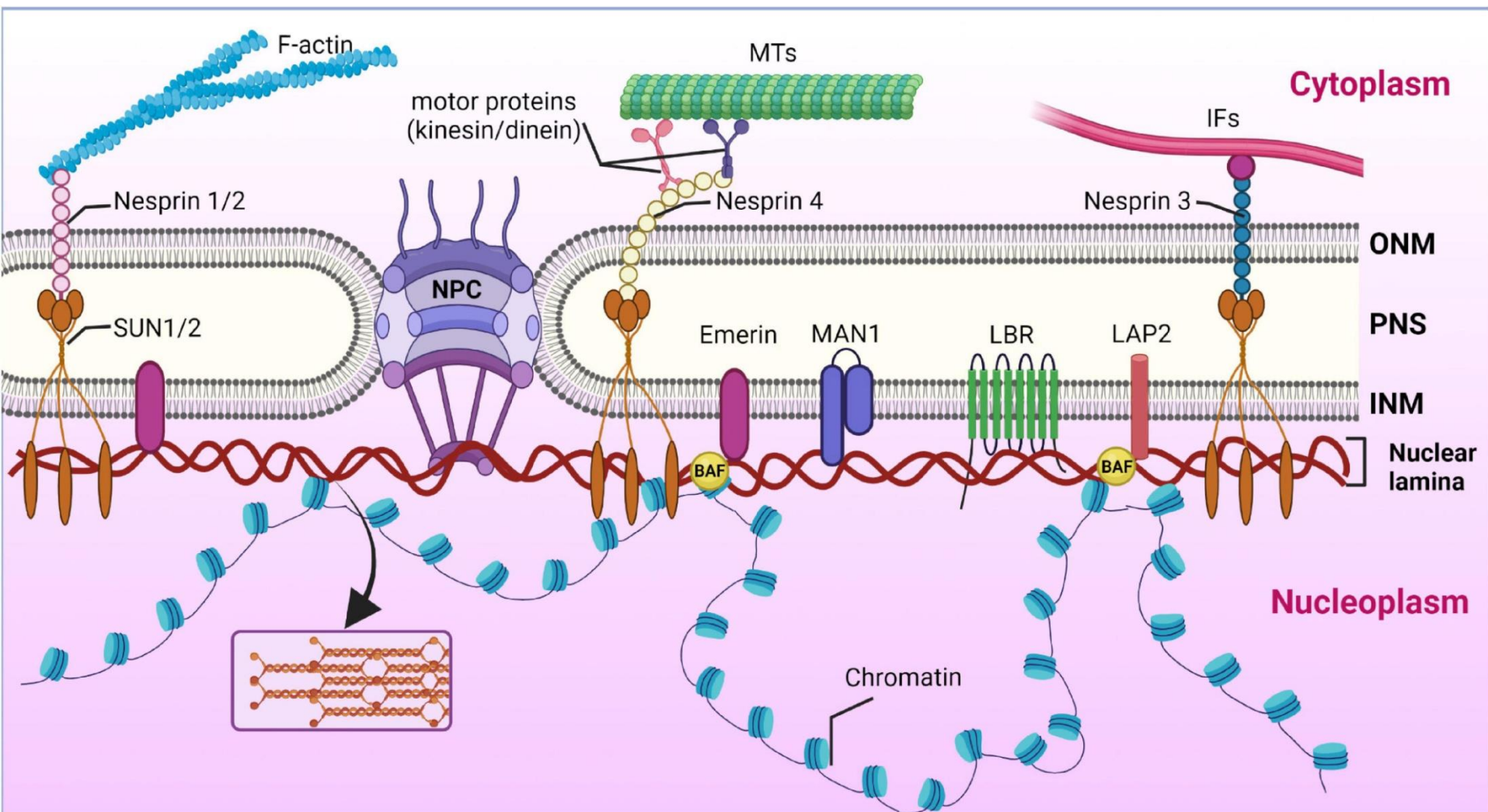


Wewnętrzna błona jądrowa:

Oddzielona od chromatyny blaszką jądrową
(głównie **laminy** A, B1, B2, C).



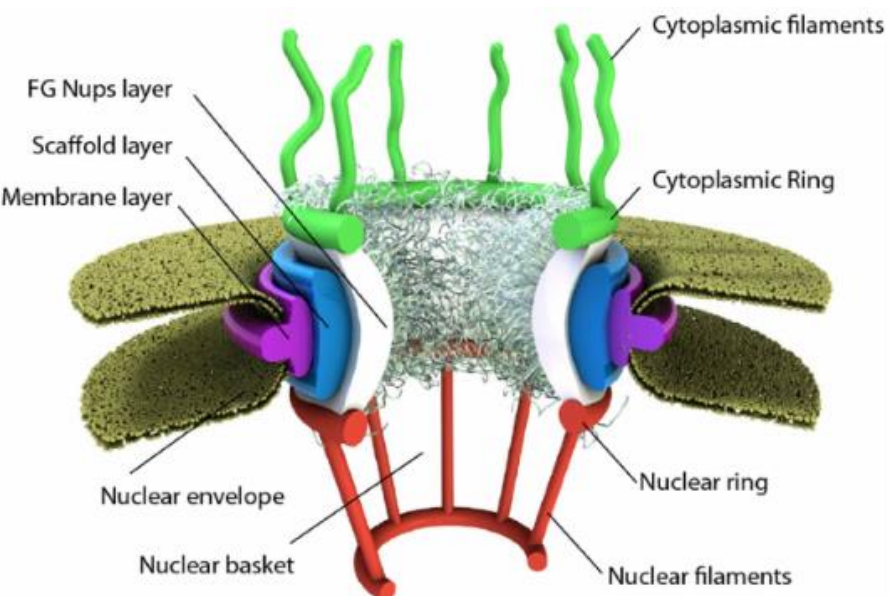
Filamenty wimentynowe
cytoplazma



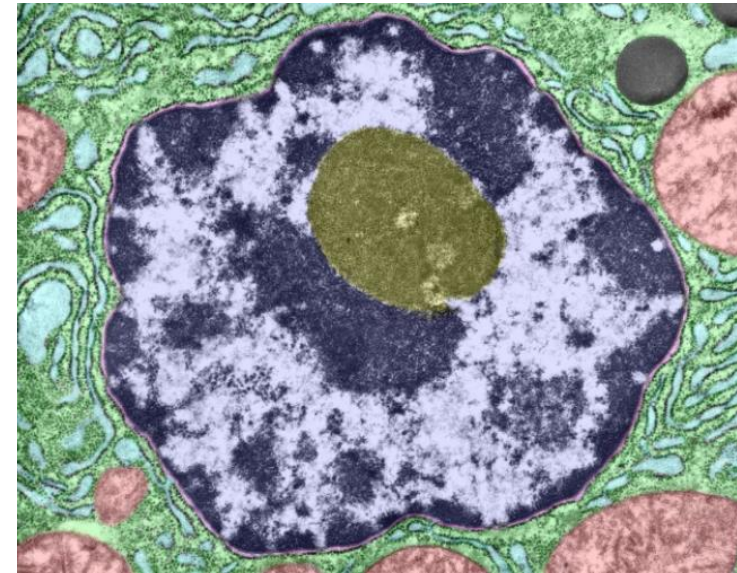
Pory jądrowe

kanały w błonie jądrowej

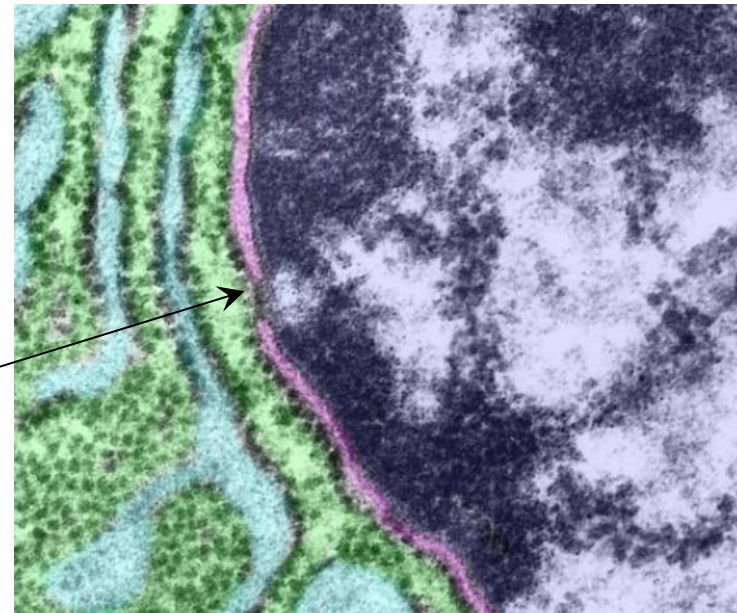
Służą do dwukierunkowego transportu ładunków (od różnych typów RNA do różnych białek) między jądrem a cytoplazmą



Nieselektywna dyfuzja - poniżej 40kDa



Por jądrowy

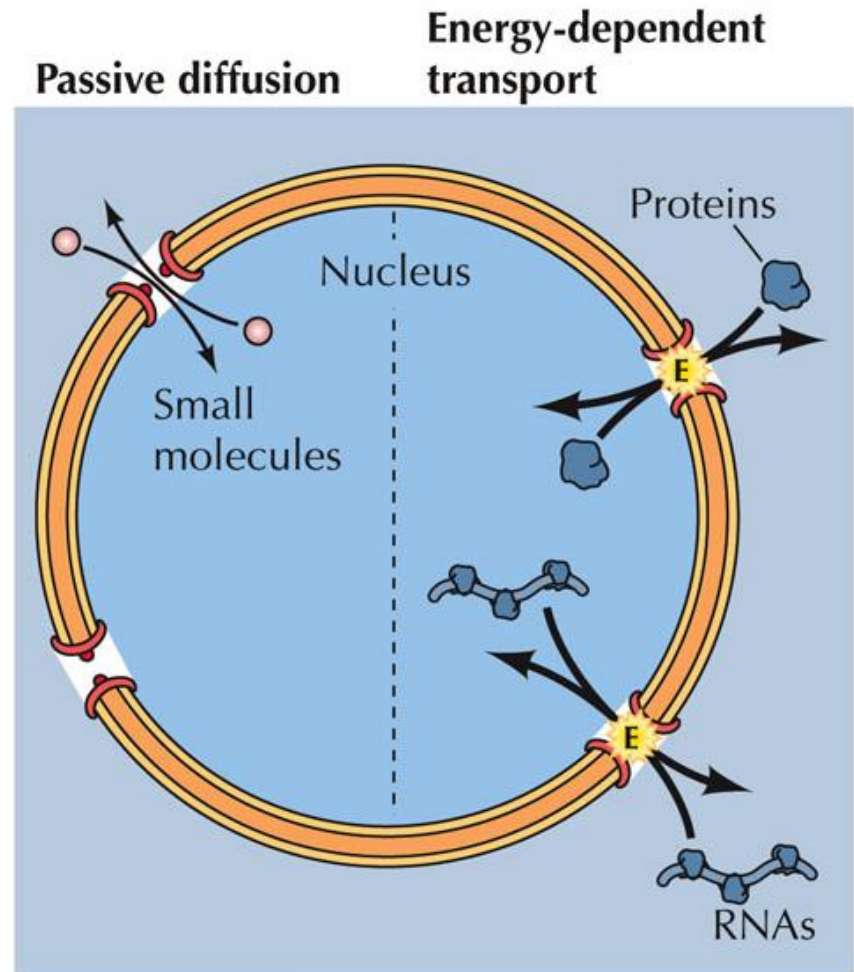


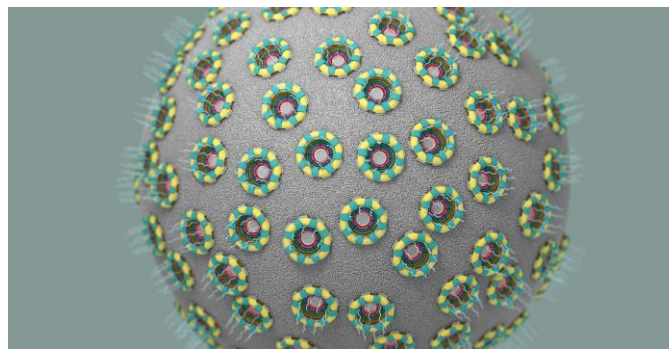
Pory jądrowe

(nuclear pore complex, NPC)

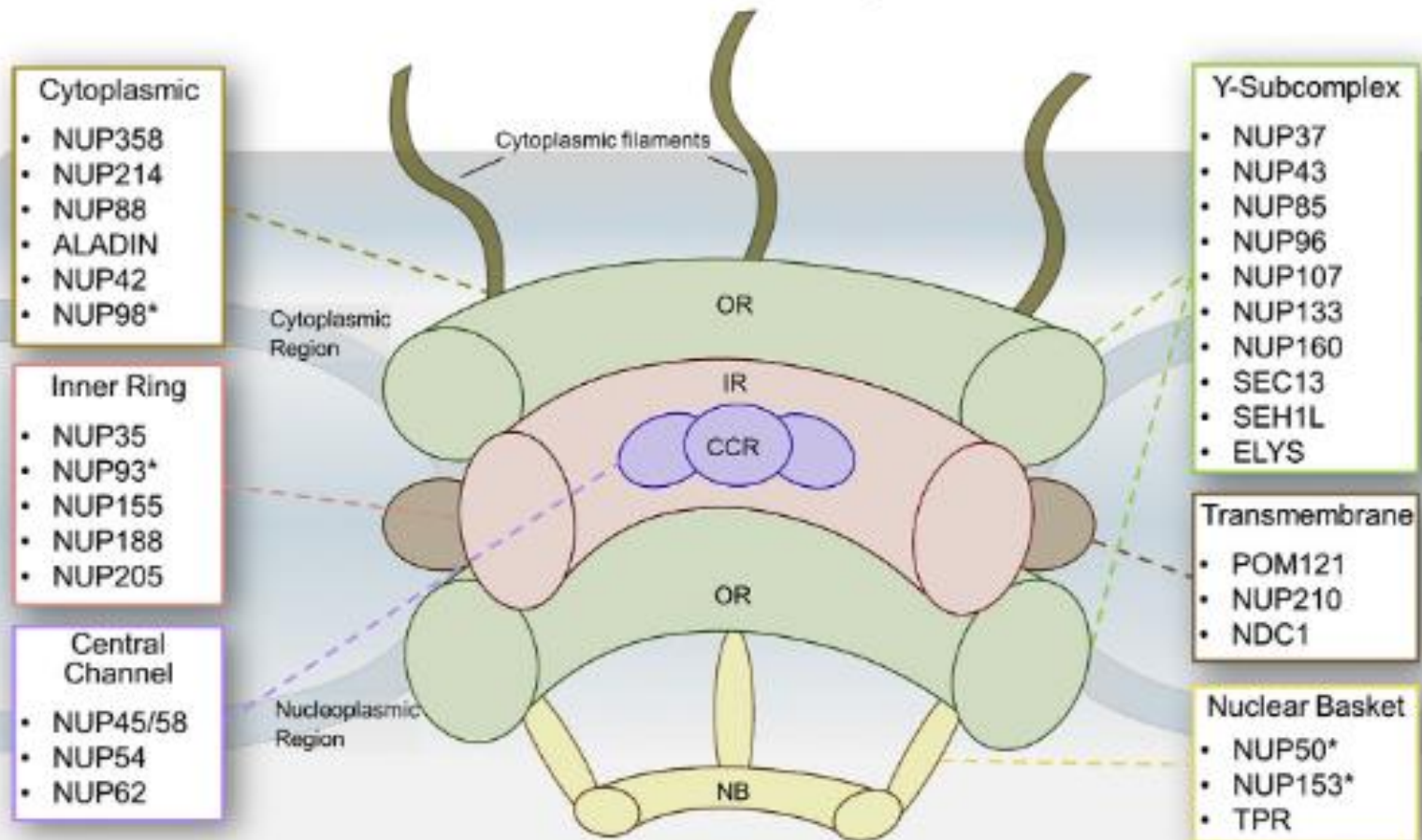
Mniejsze cząsteczki (małe metabolity lub białka poniżej 40 kDa) – transport pasywny przez NPC.

Większe cząsteczki (mRNA, tRNA, rybosomy i cząsteczki sygnałowe) - aktywny transport (z jądra).



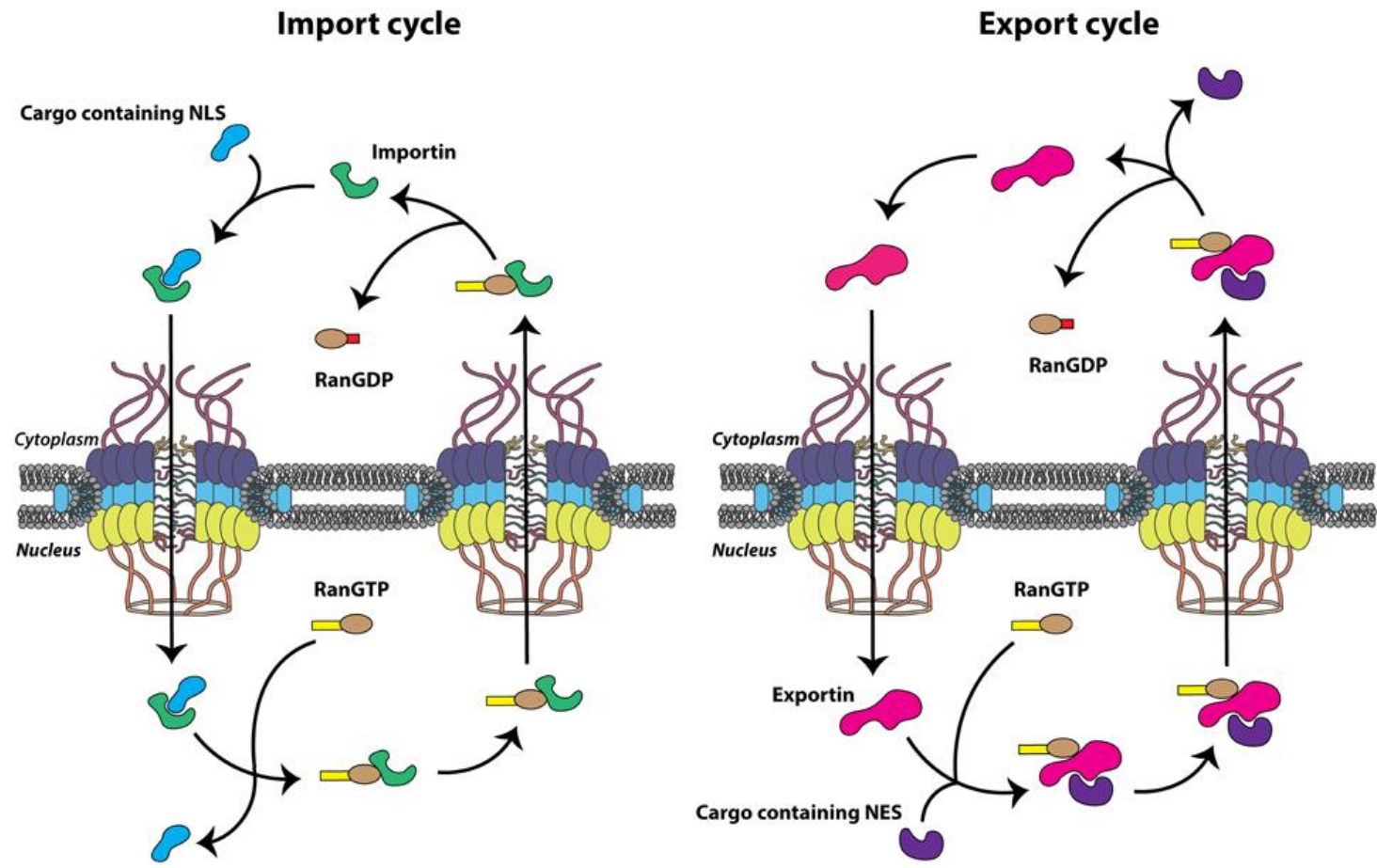


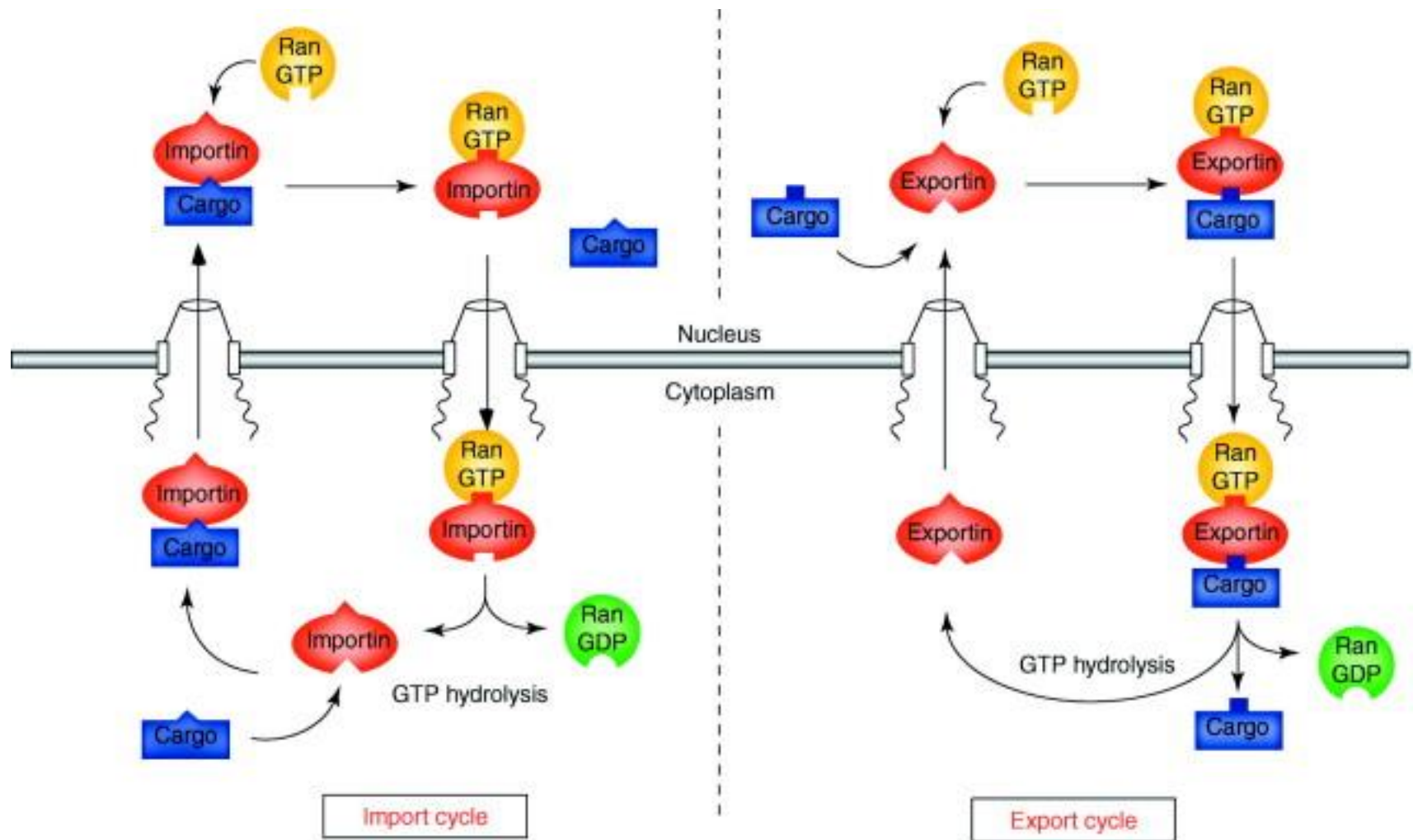
Nuclear Pore Complex



Recykling jądrowych receptorów transportowych (importyna (zielona) i eksportowa (różowa)),
poprzez kompleks porów jądrowych - (hydroliza GTP).

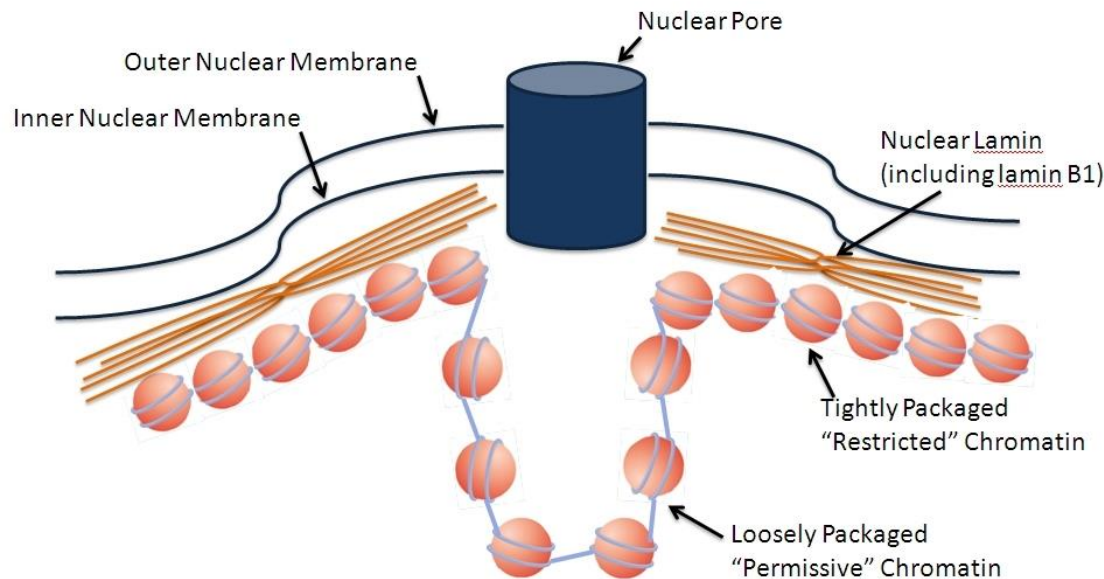
Cząsteczki importowane: sygnał lokalizacji jądrowej (NLS) (jasnoniebieski) lub sygnał eksportu jądrowego (NES) (fioletowy).





Blaszka jądrowa - laminy

Podczas interfazy chromatyna w jądrze jest upakowana na **terytoriach chromosomów** i zakotwiczona do blaszki jądrowej

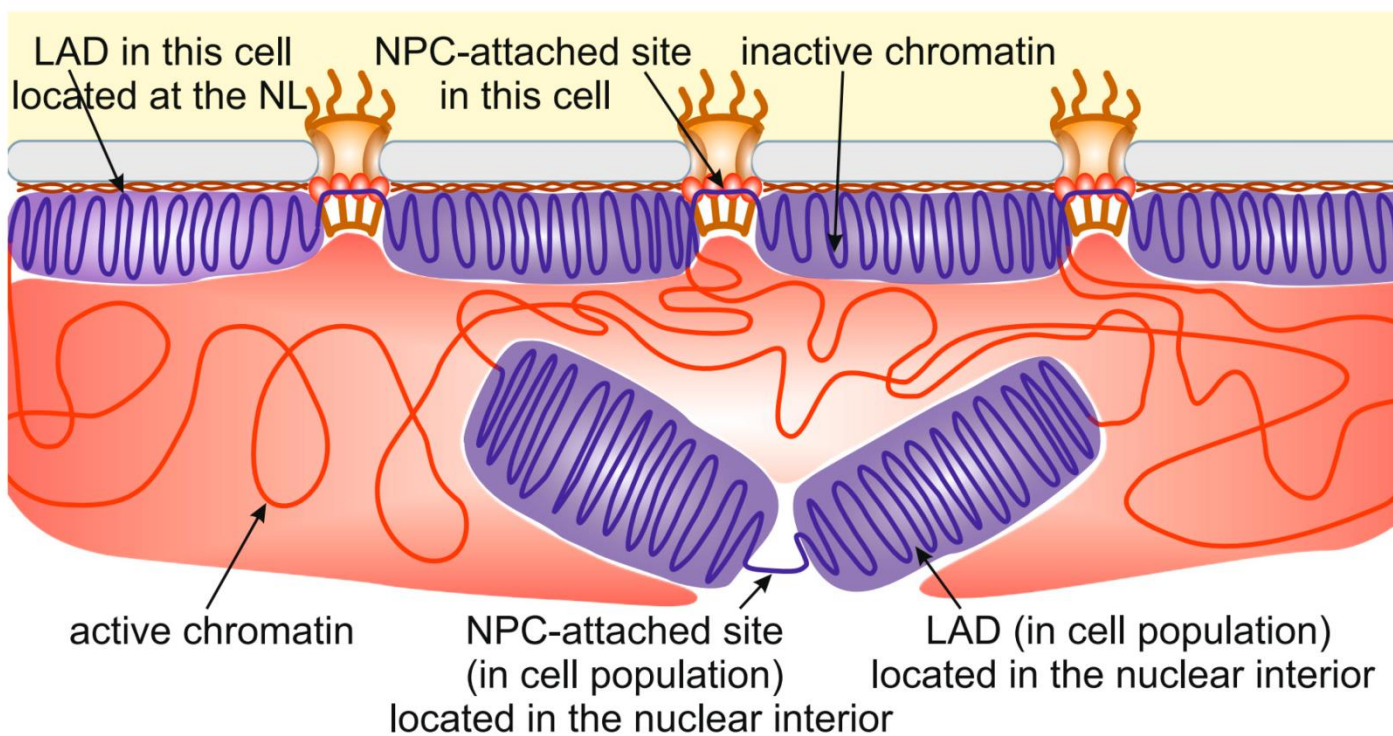


Laminy są regulatorami pozycji chromatyny. Transkrypcyjnie ciche obszary genomu, takie jak centromery, telomery i nieaktywny chromosom X, są preferencyjnie umieszczone pod blaszką jądrową

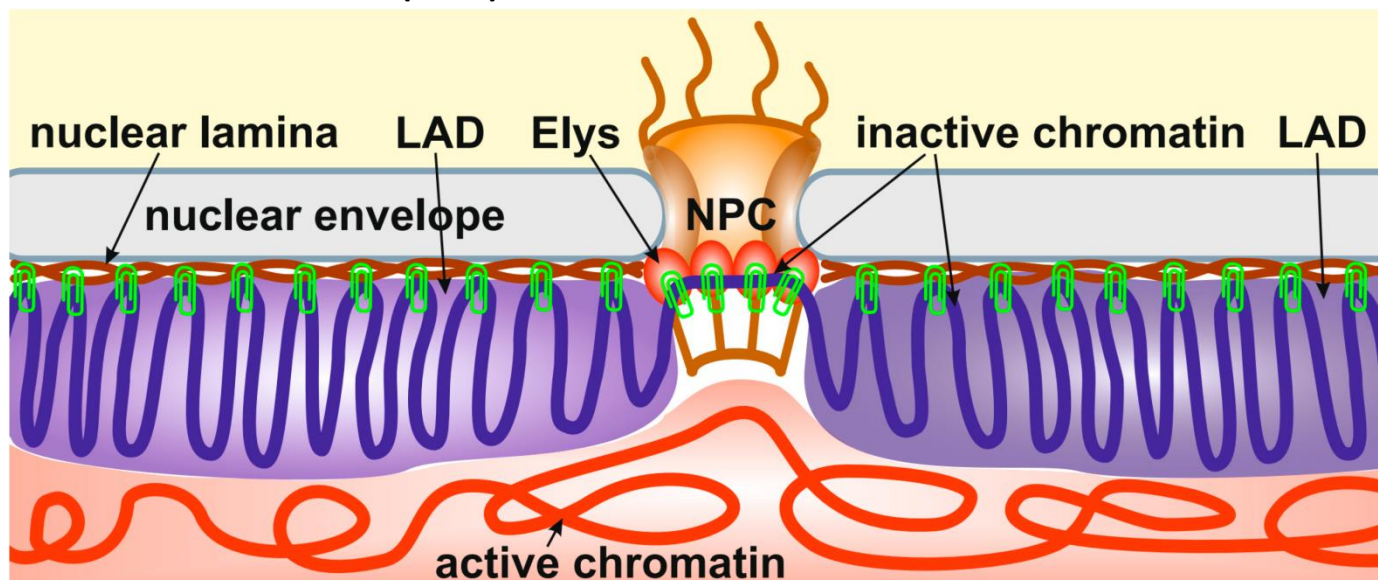
Adapted from Kind and van Steensel, *Curr Opin Cell Biol*

Owen K. et al., Chromatin Structure and Replication Origins: Determinants of Chromosome Replication and Nuclear Organization, In Journal of Molecular Biology, 2014

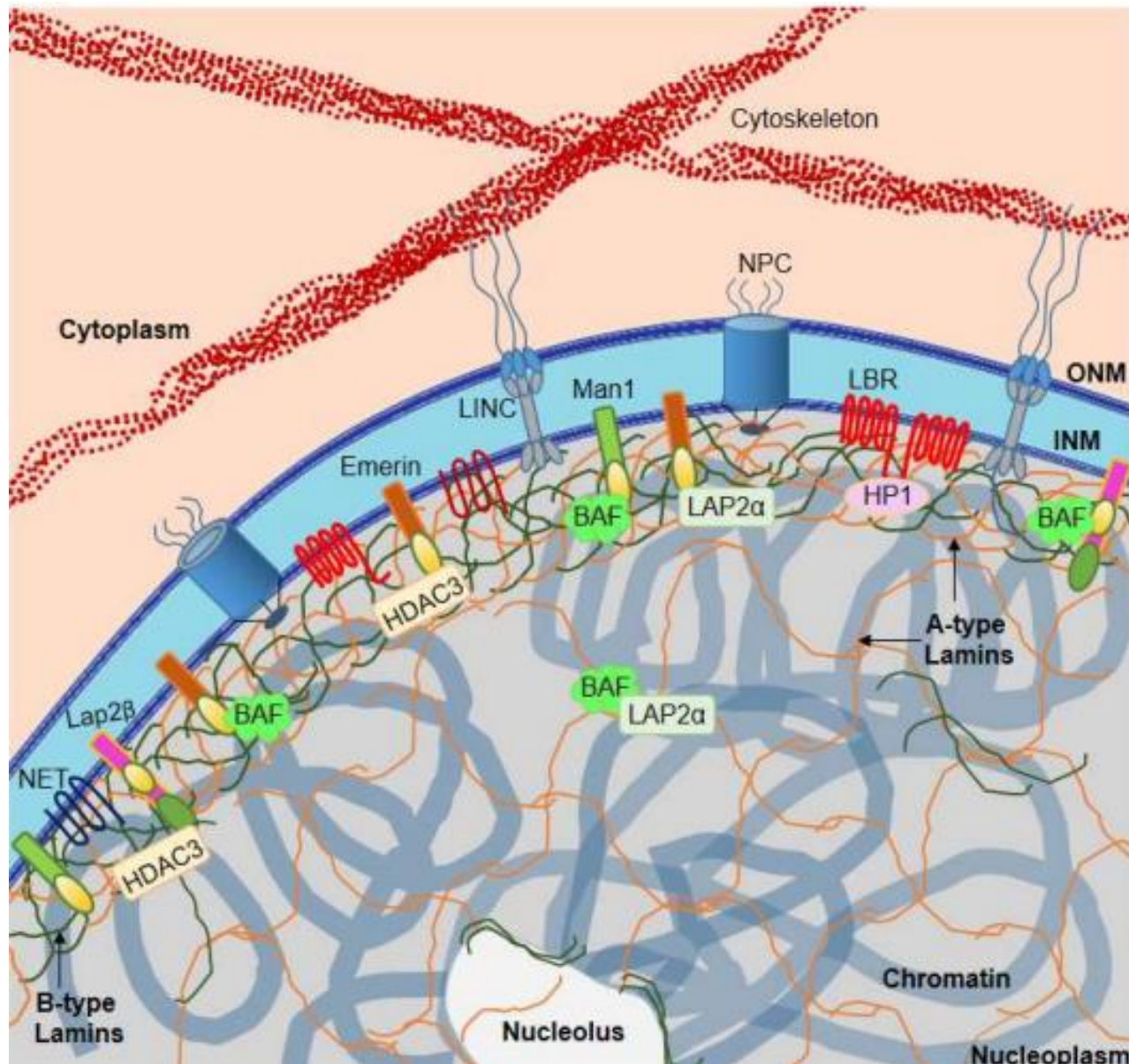
Bas van Steensel et al.; Genomics tools for unraveling chromosome architecture; Nature Biotechnology; 2010



lamina-associated chromatin domains (LADs)



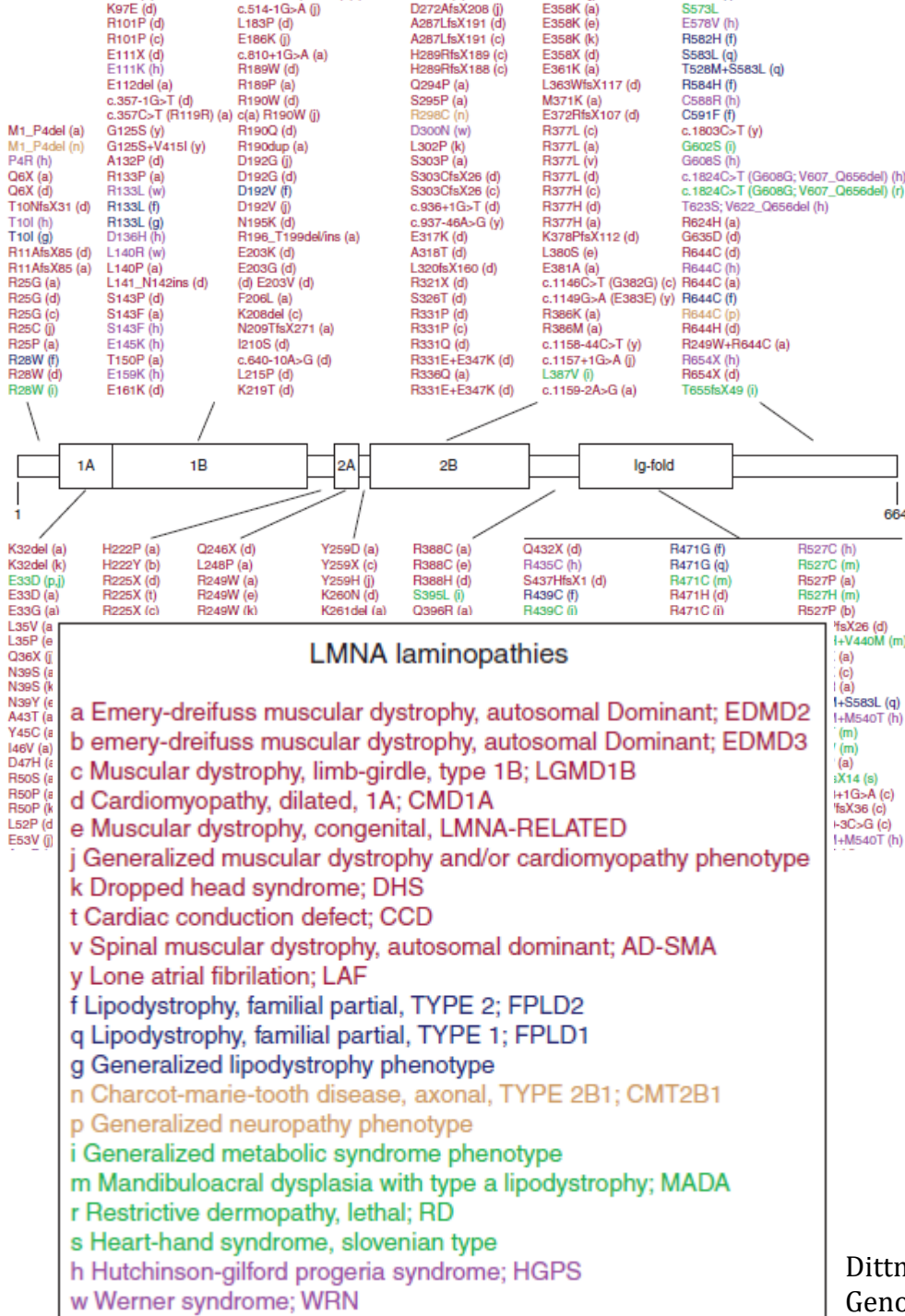
Organization of the nuclear envelope



The Laminopathies

LMNA mutations- numerous heritable human diseases

Over 20 distinct diseases - forms of cardiomyopathy, muscular dystrophy, lipodystrophy and aging-related progeria



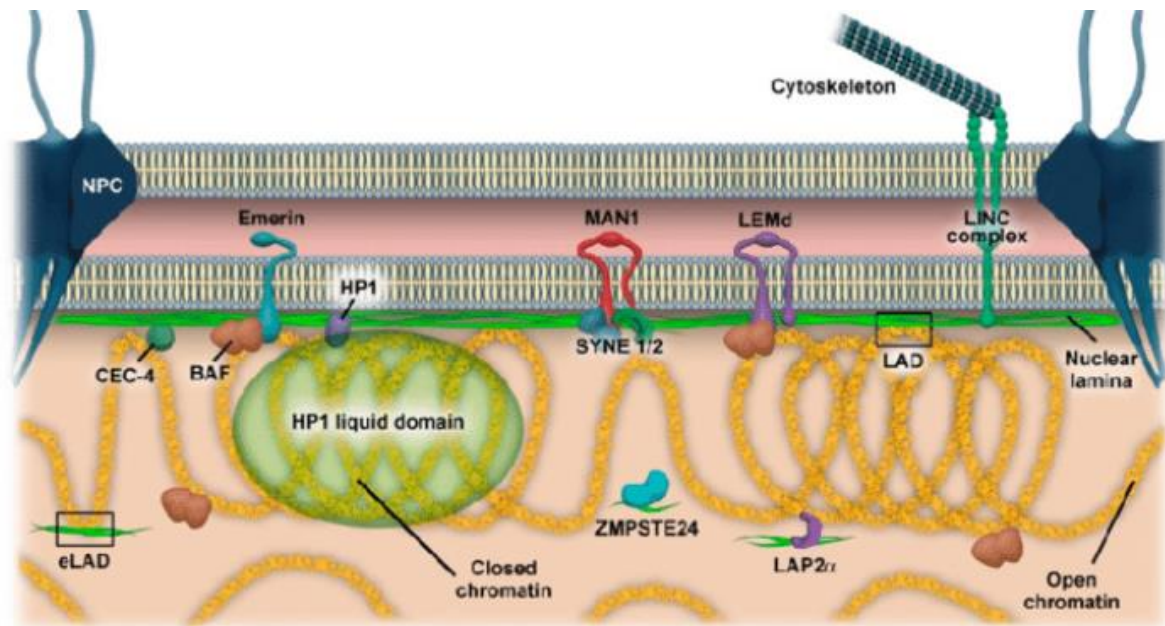
Dittmer, Travis & Misteli, Tom. (2011). The lamin protein family. Genome biology. 12. 222. 10.1186/gb-2011-12-5-222.

LMNA mutation

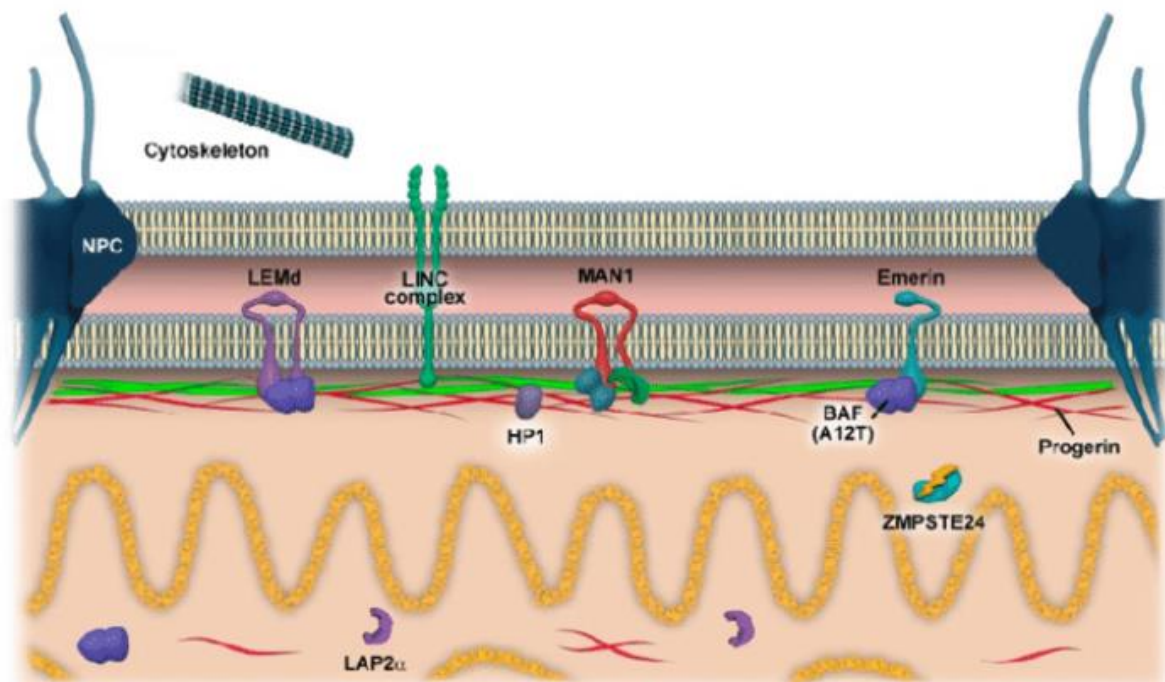


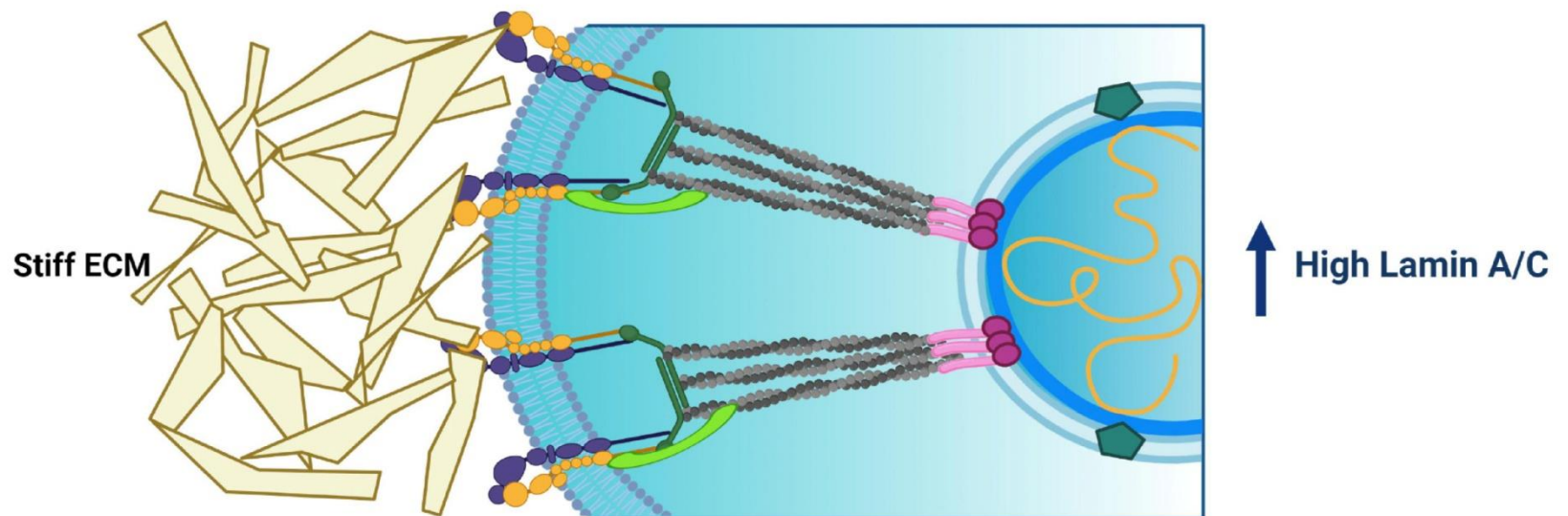
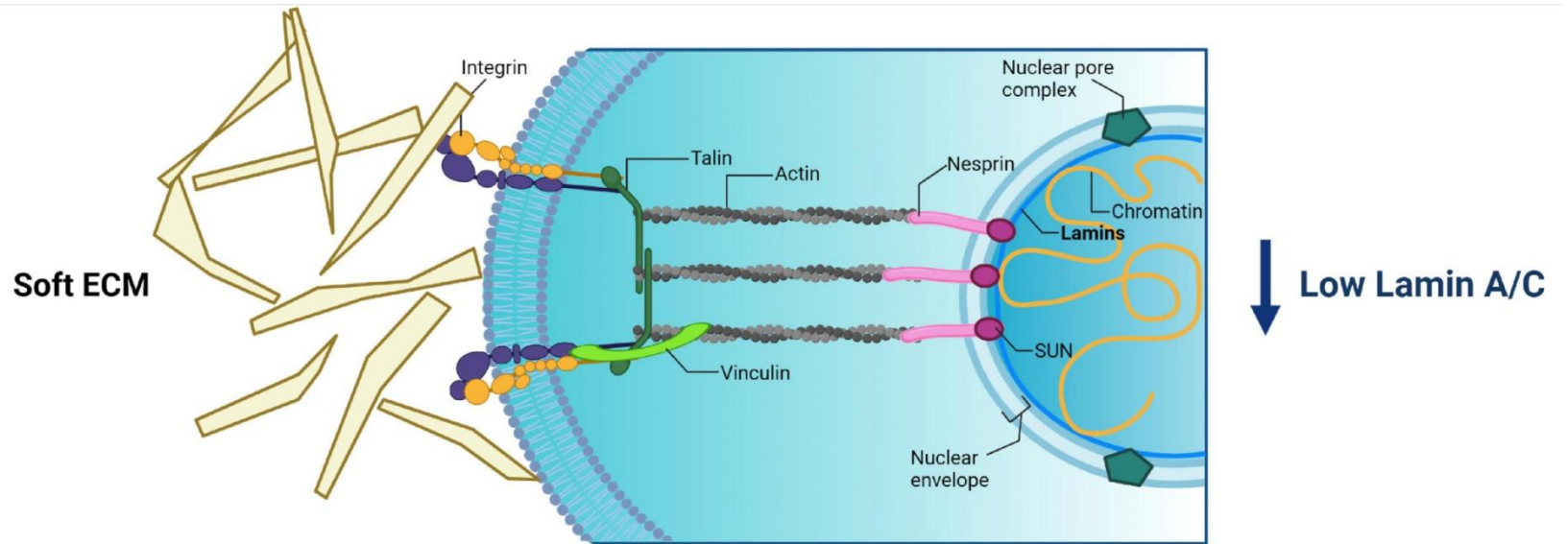
spectrum of affected tissues

 stricted muscle	 heard tissue	 bone	 adipose tissue	 peripheral nerve	multiple tissues:  muscle, bone, adipose, joints, ovarian, skin
<i>Emery-Dreifuss muscular dystrophy</i> <i>Limb-girdle muscular dystrophy</i> <i>Congenital muscular dystrophy</i>	<i>Dilated cardiomyopathy</i> <i>Heart-hand syndrome</i>	<i>Mandibuloacral dysplasia</i>	<i>Mandibuloacral dysplasia</i> <i>Dunnigan-type familial partial lipodystrophy</i> <i>Lipoatrophy</i>	<i>Charcot-Marie-Tooth disease</i>	<i>Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome</i> <i>Restrictive dermopathy</i> <i>Malouf syndrome</i>

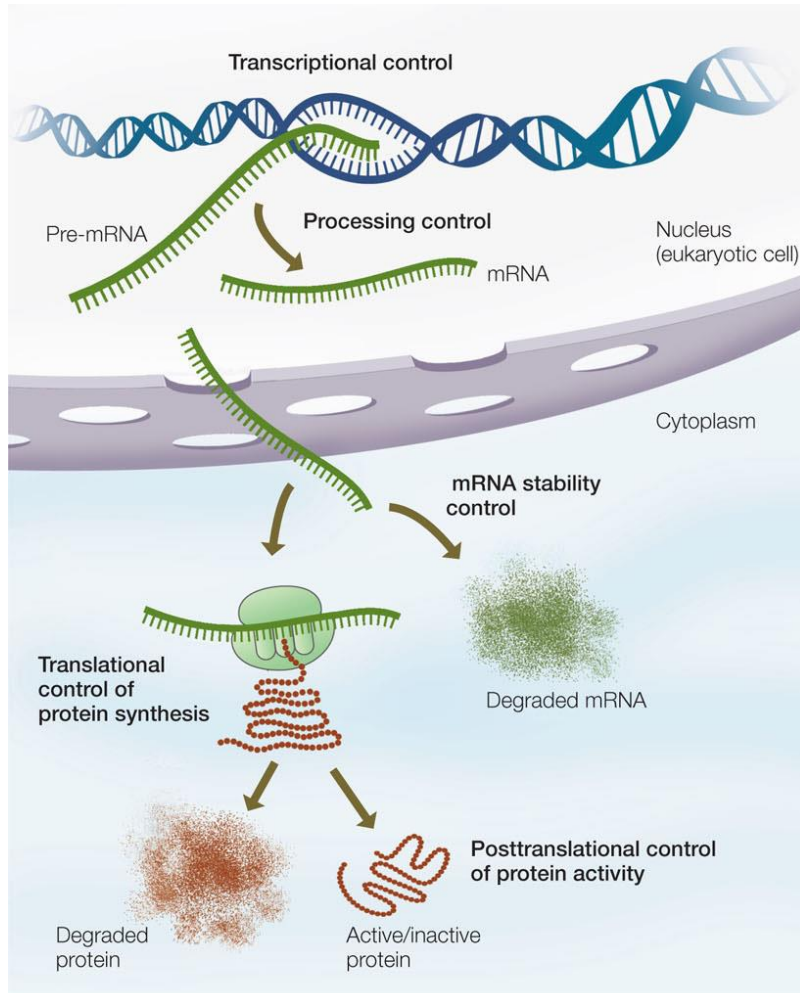


B. Progena



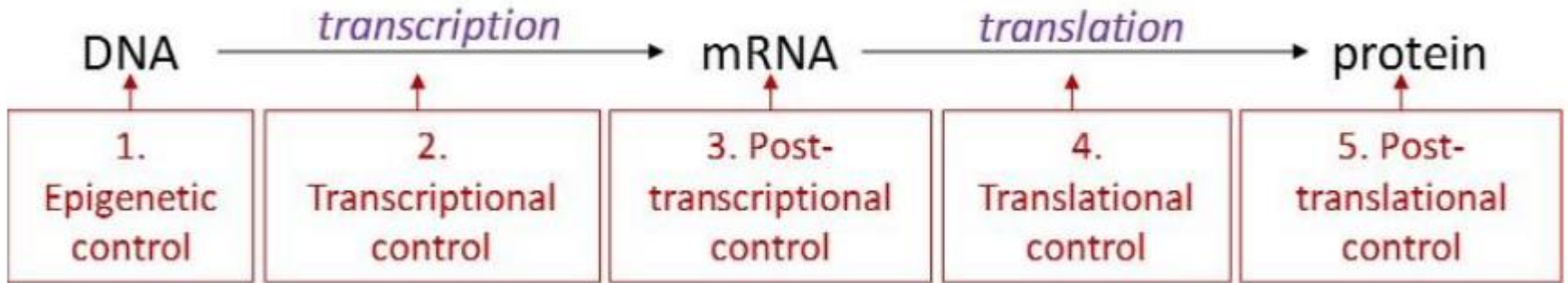


Potencjalne punkty regulacji ekspresji genów

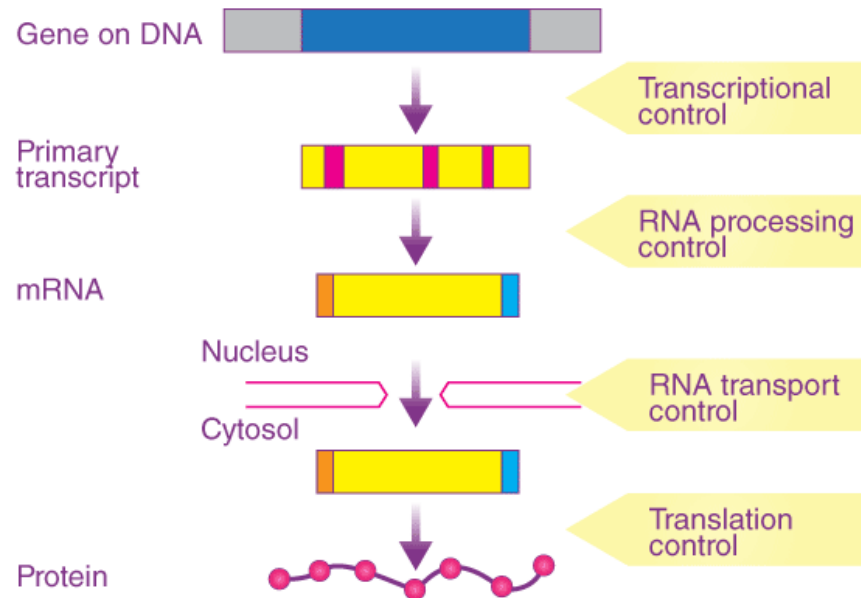


Ekspresja genów może być regulowana na każdym etapie drogi od DNA do białka

Regulacja ekspresji genów



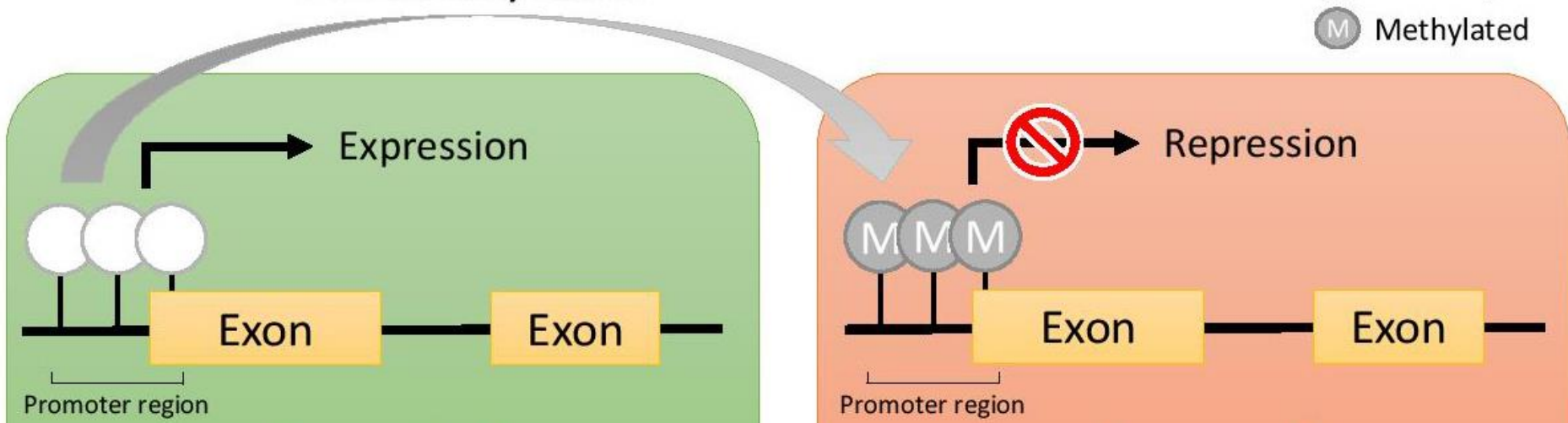
<https://rwu.pressbooks.pub/bio103/chapter/regulation-of-gene-expression/>



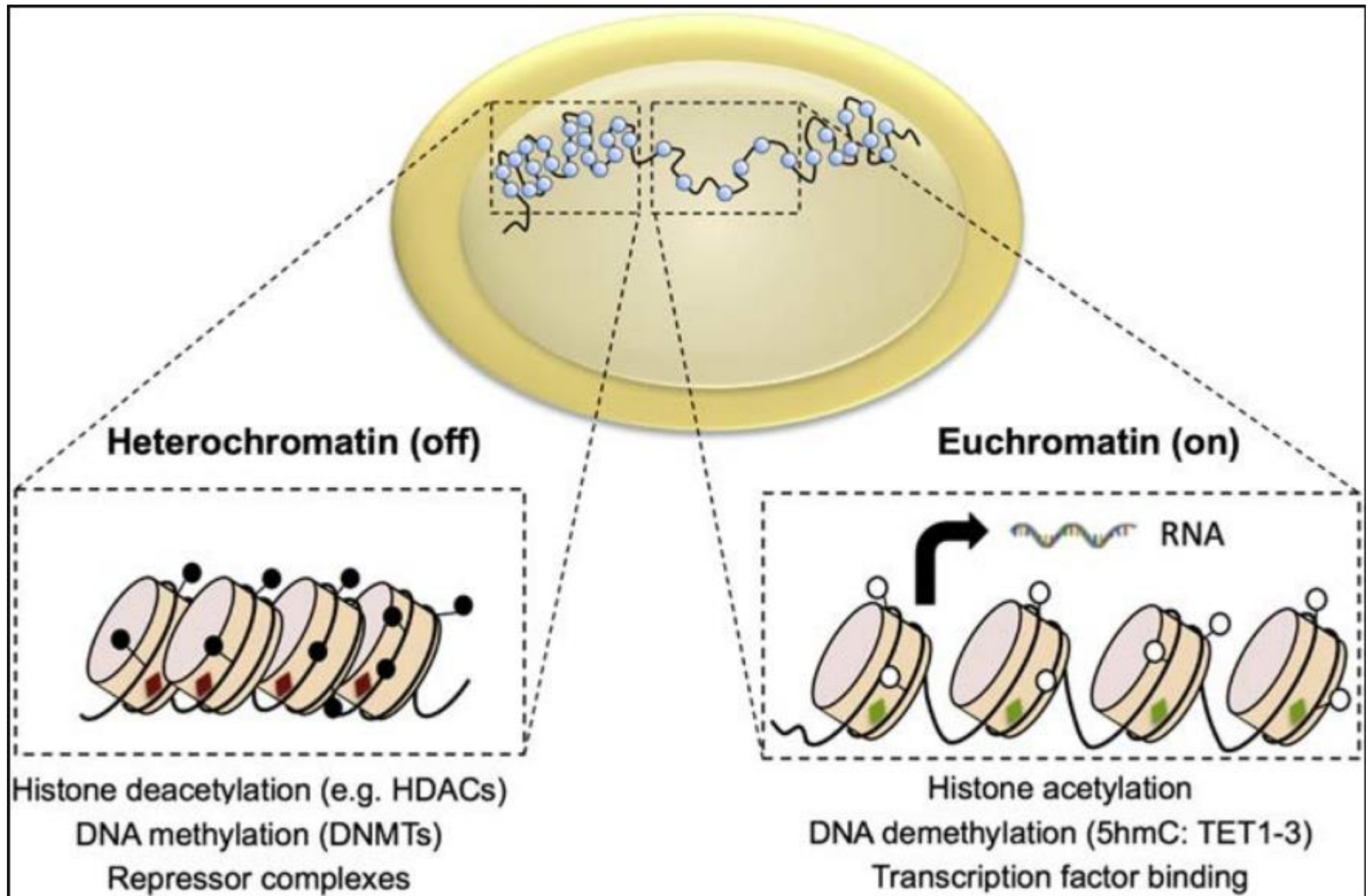
Metylacja DNA

DNA methylation

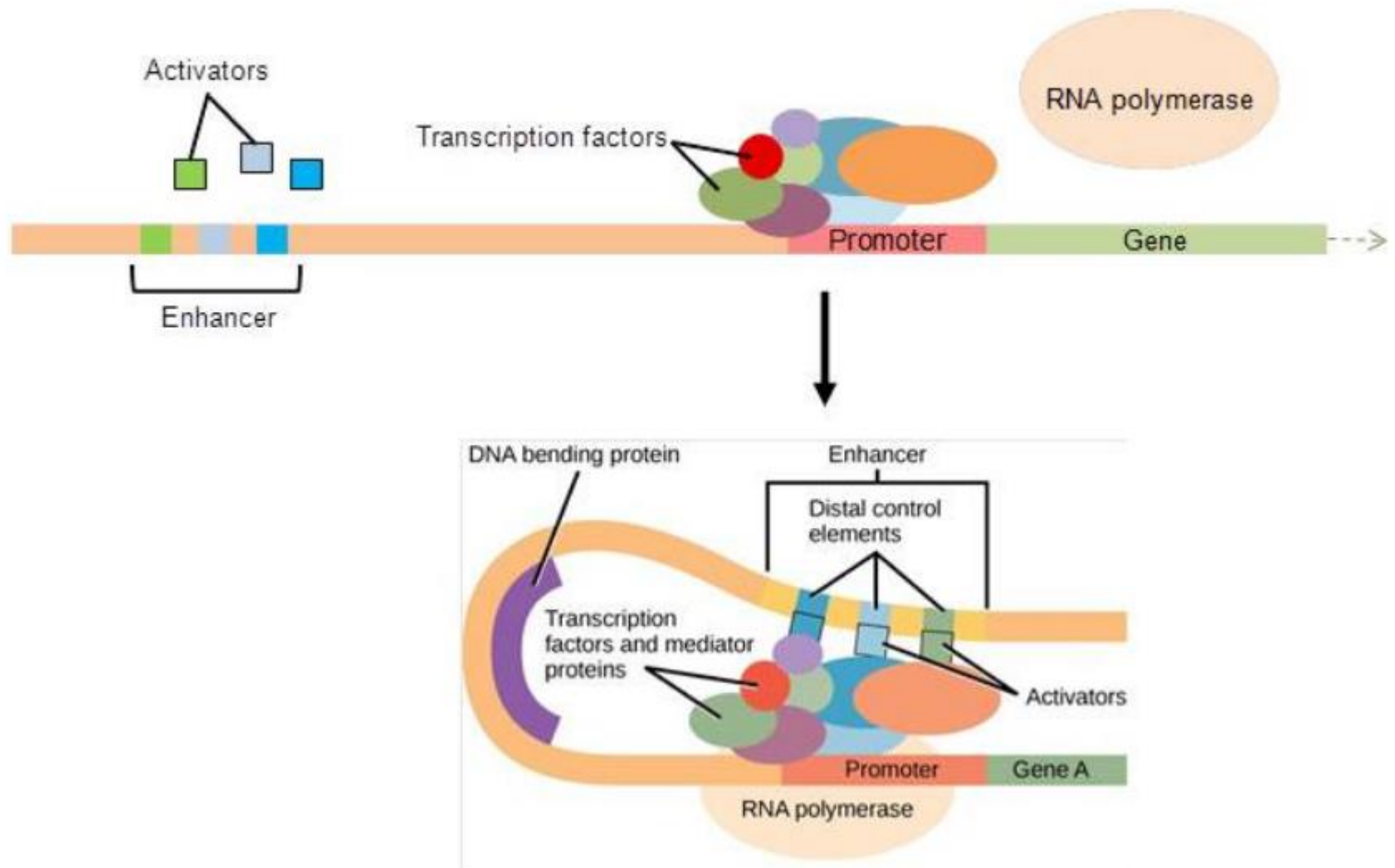
○ Unmethylated
● M Methylated



Epigenetic Control of Gene Expression



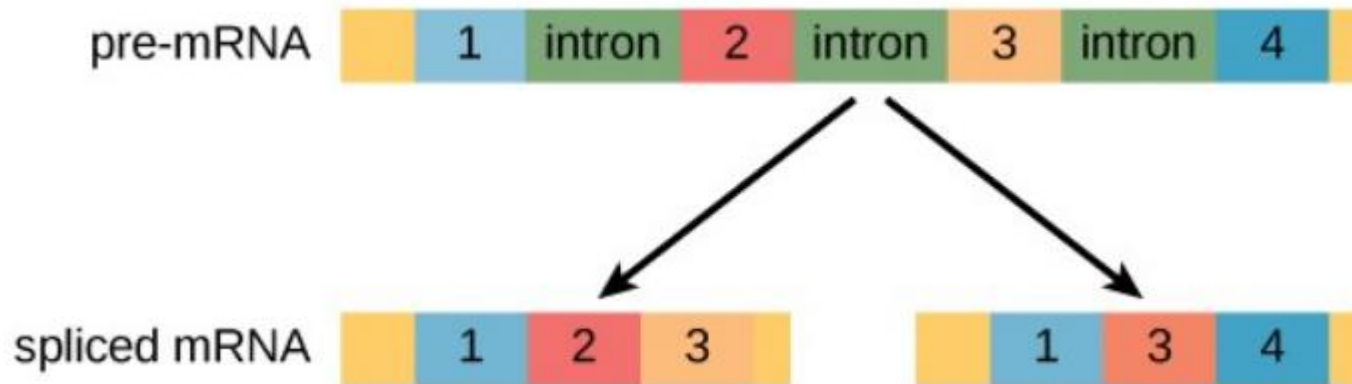
Transcriptional Control of Gene Expression



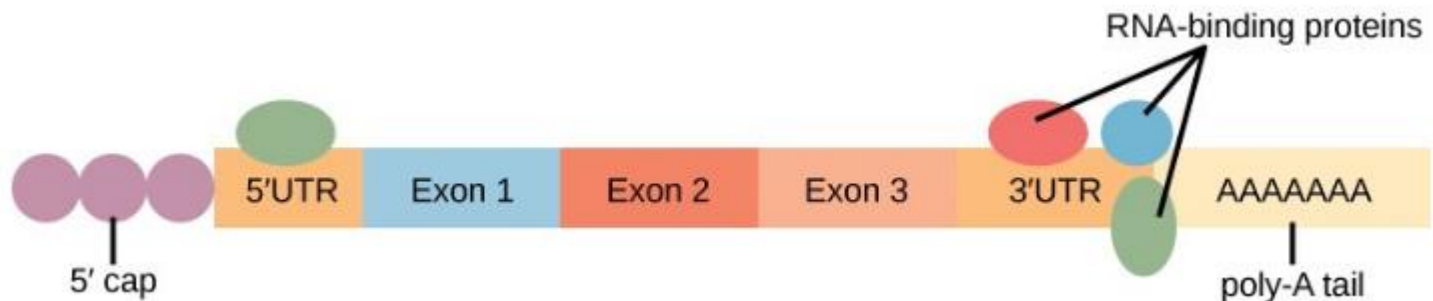
Post-transcriptional Control of Gene Expression

Alternative RNA splicing

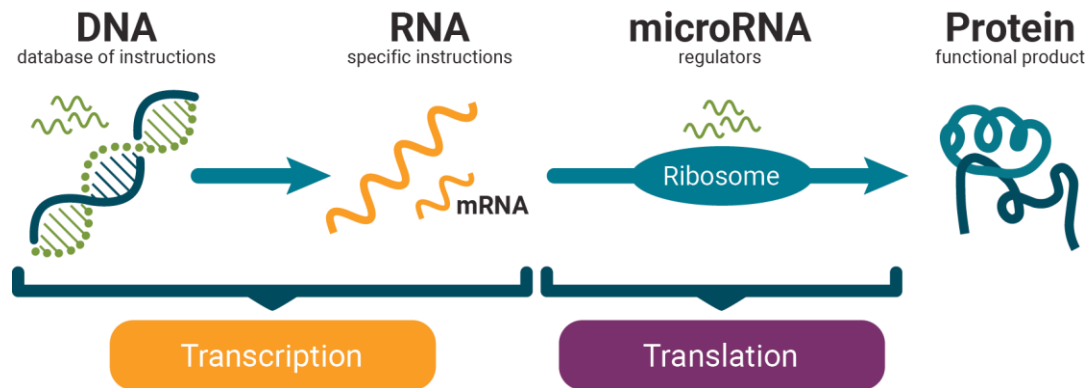
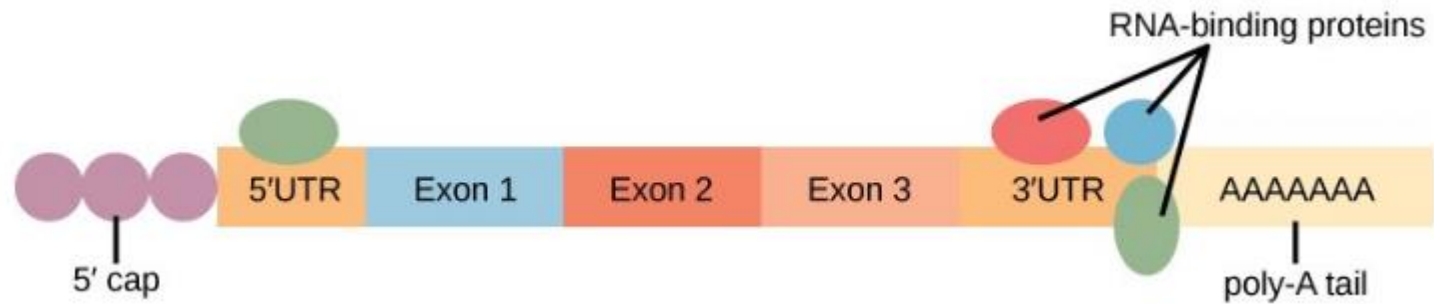
70% genów



Control of RNA Stability

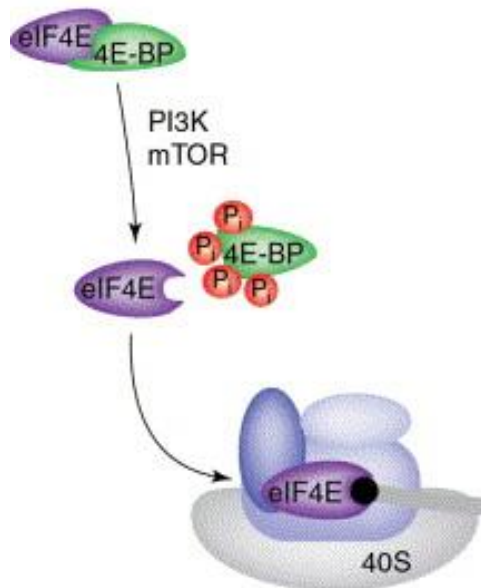


Control of RNA Stability

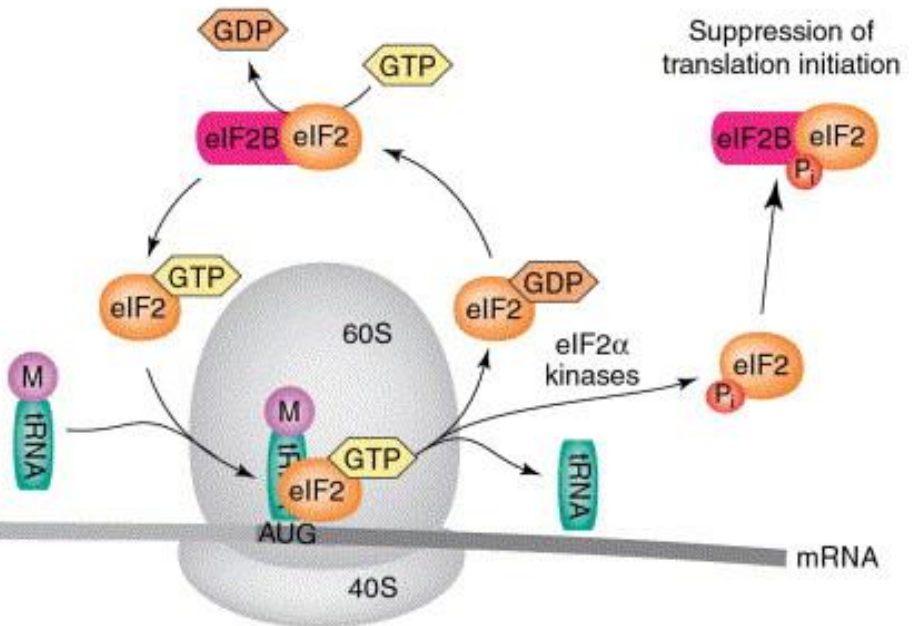


Translational Control of Gene Expression

(a) Formation of the cap-binding complex



(b) Formation of the ternary translation initiation complex



Post-translational Control of Gene Expression

