# Лекция 10

Ядрышко (окончание)

Ядерные поры и ядерно-цито-плазматический транспорт

Трансляция

# Ядрышковый организатор

Ядрышковый организатор (ЯО) – участок ДНК, где последовательно располагаются гены рРНК (5.8S, 18S, 28S)

ЯО – вторичная перетяжка на хромосоме

ЯО может быть активным и неактивным

Число ядрышек меньше, чем число ЯО вследствие инактивации ЯО или слияния ядрышек

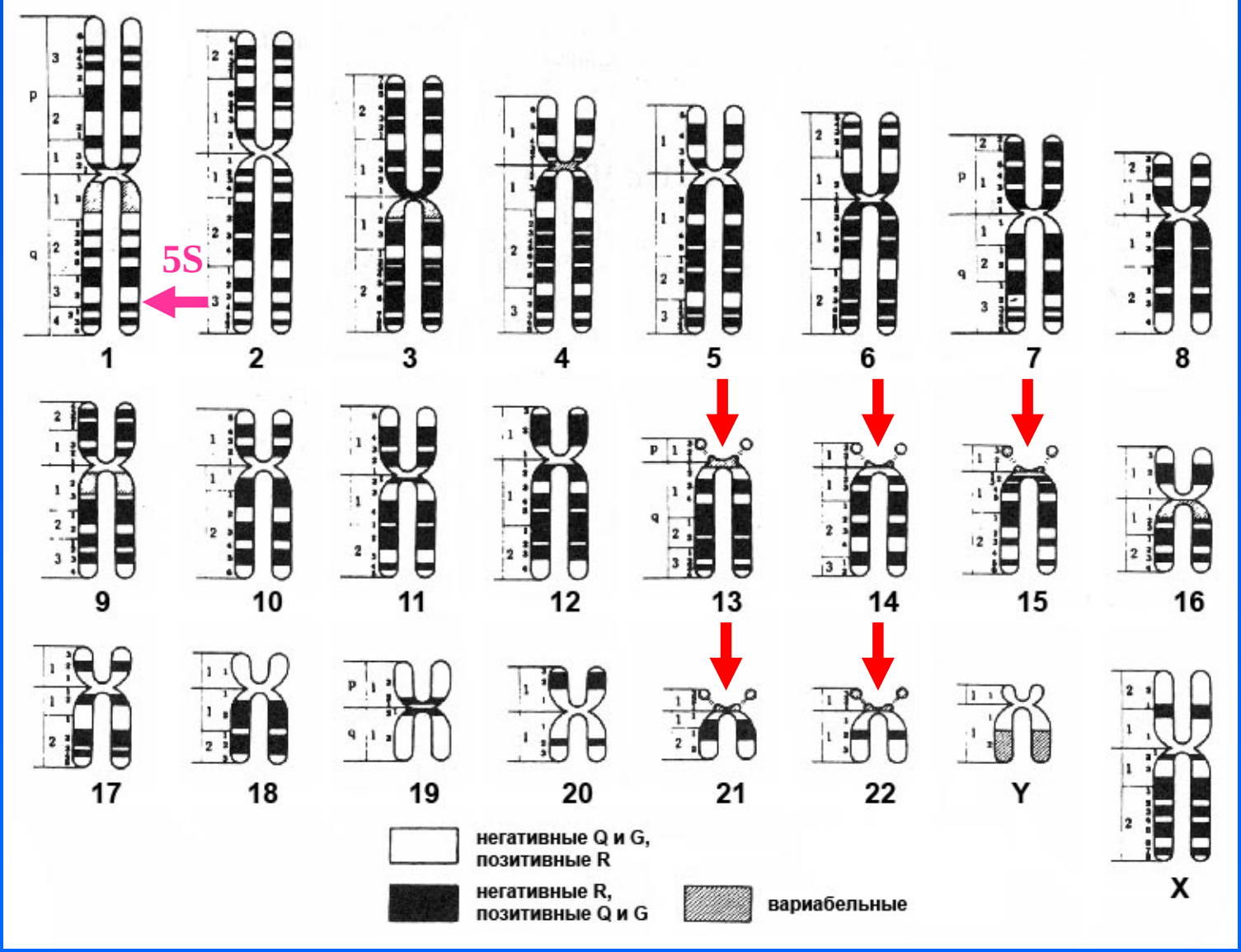
Некоторые белки ядрышка постоянно связаны с ЯО

Амплификация ЯО в оогенезе – внехромосомные ядрышки

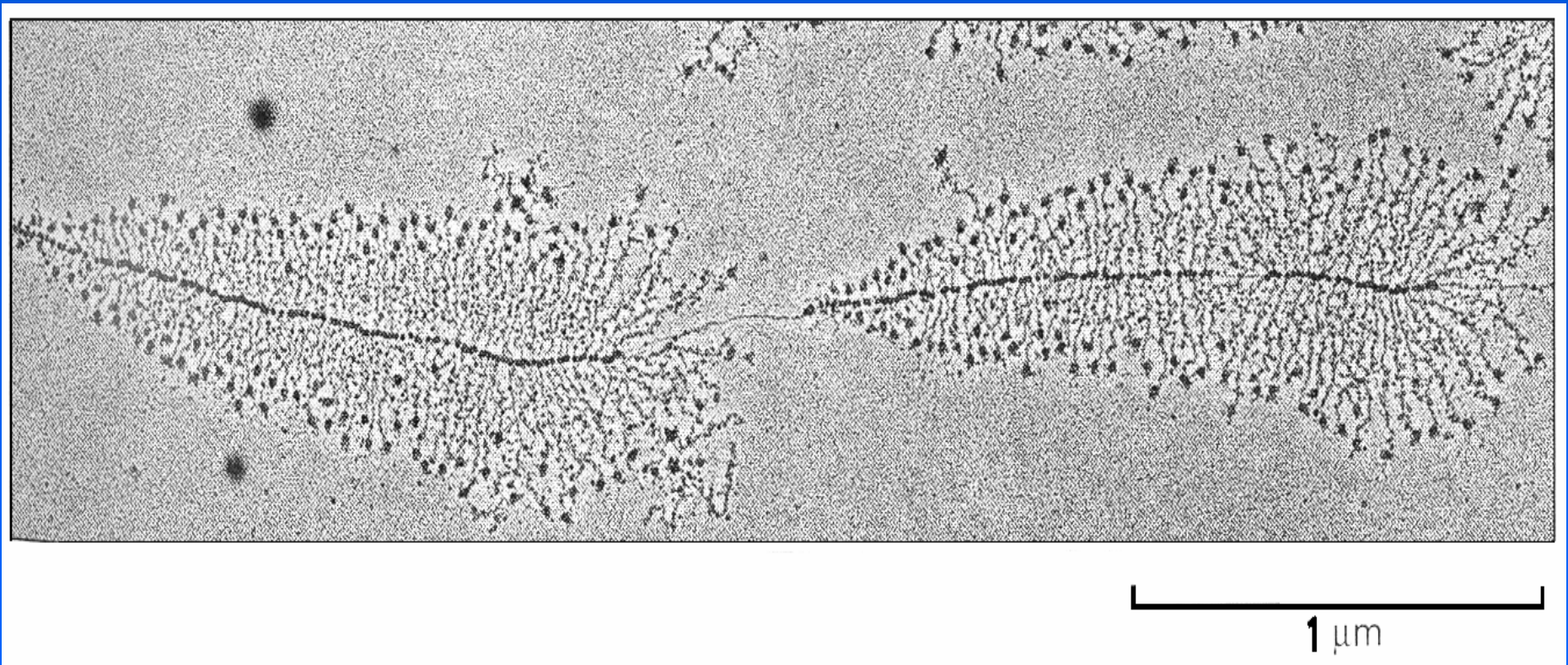
# Число ядрышковых организаторов (на гаплоидную клетку)

- Человек – 5 (13, 14, 15, 21 и 22 хромосомы)
- Мышь – 5-6 (12, 15, 16, 18, 19 хромосомы)
- Свинья – 2 (8 и 10 хромосомы)
- Курица –1
- Шпорцевая лягушка *(X. laevis)* – 1
- Дрожжи *(S. cerevisiae)* – 1 (12 хромосома)

# Ядрышковые организаторы в хромосомах человека



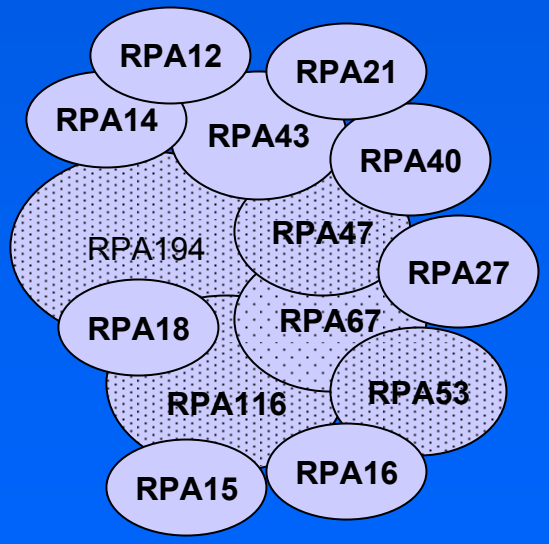
# Транскрипция рибосомных генов




Ось – молекула ДНК, от нее отходят новосинтезированные молекулы РНК. Глобулы на оси – комплексы РНК-полимеразы I.

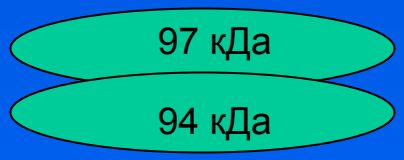
# Белки, участвующие в транскрипции рДНК

РНК-полимераза I

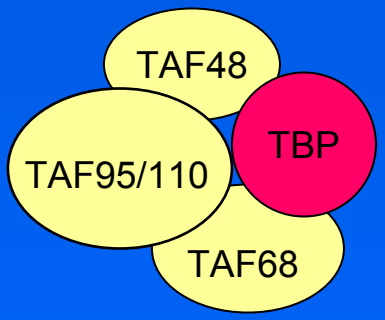



11-14 субъединиц ~ 500 кДа

UBF



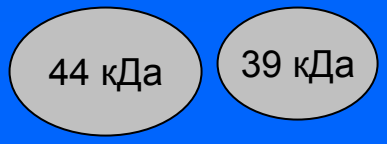

SL1/ TIF-IB



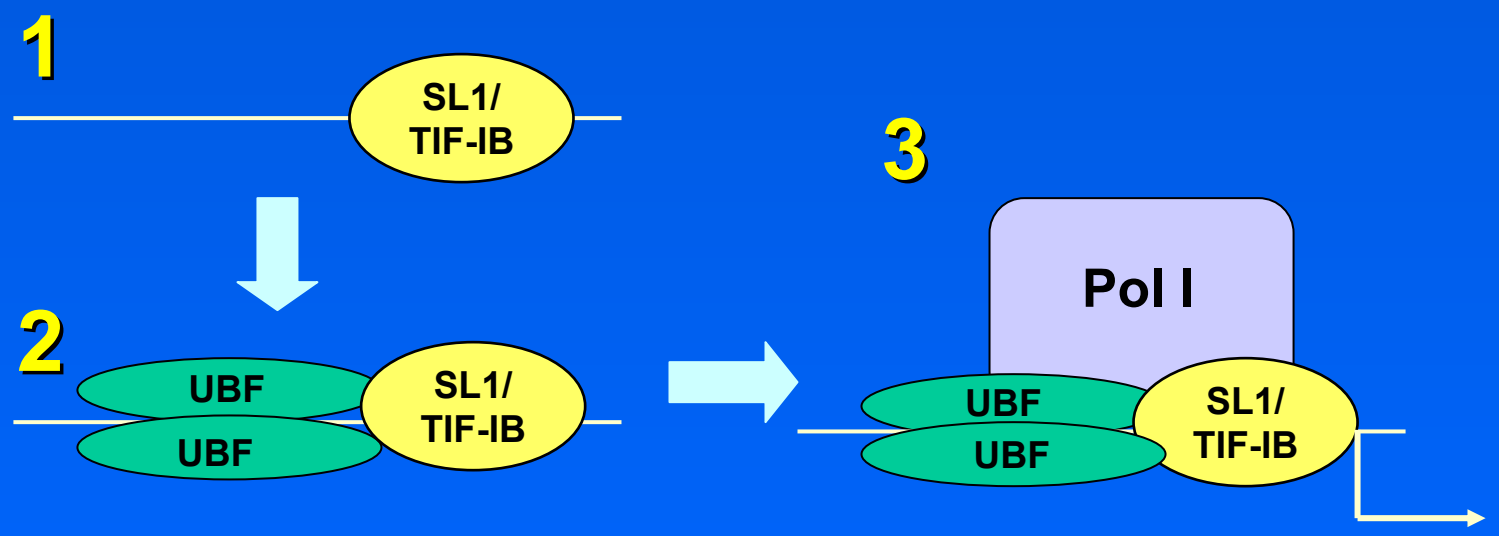

**TIF-A**

**TIF-C**

**CPBF**



# Формирование транскрипционного комплекса включает три основных этапа:

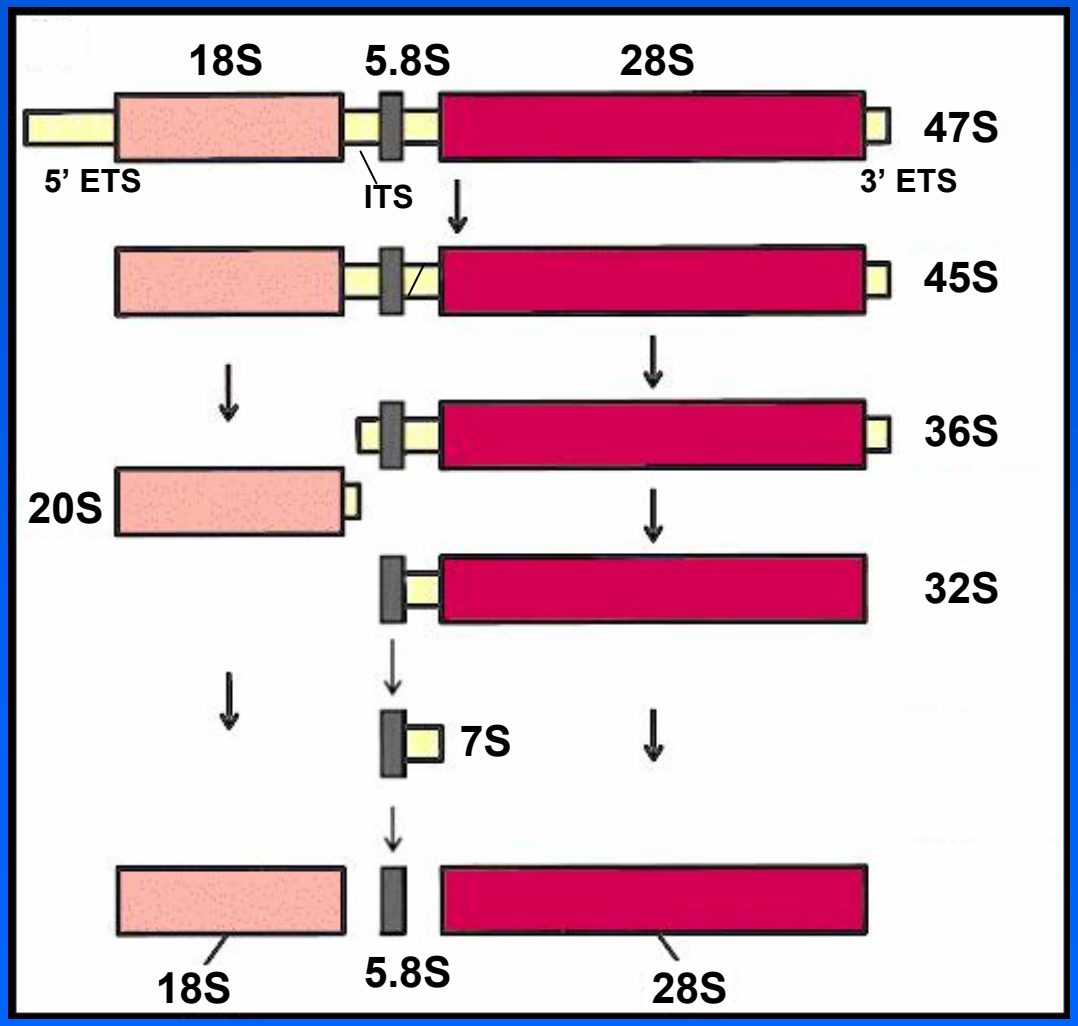



SL1 – selectivity factor 1

UBF – upstream binding factor,

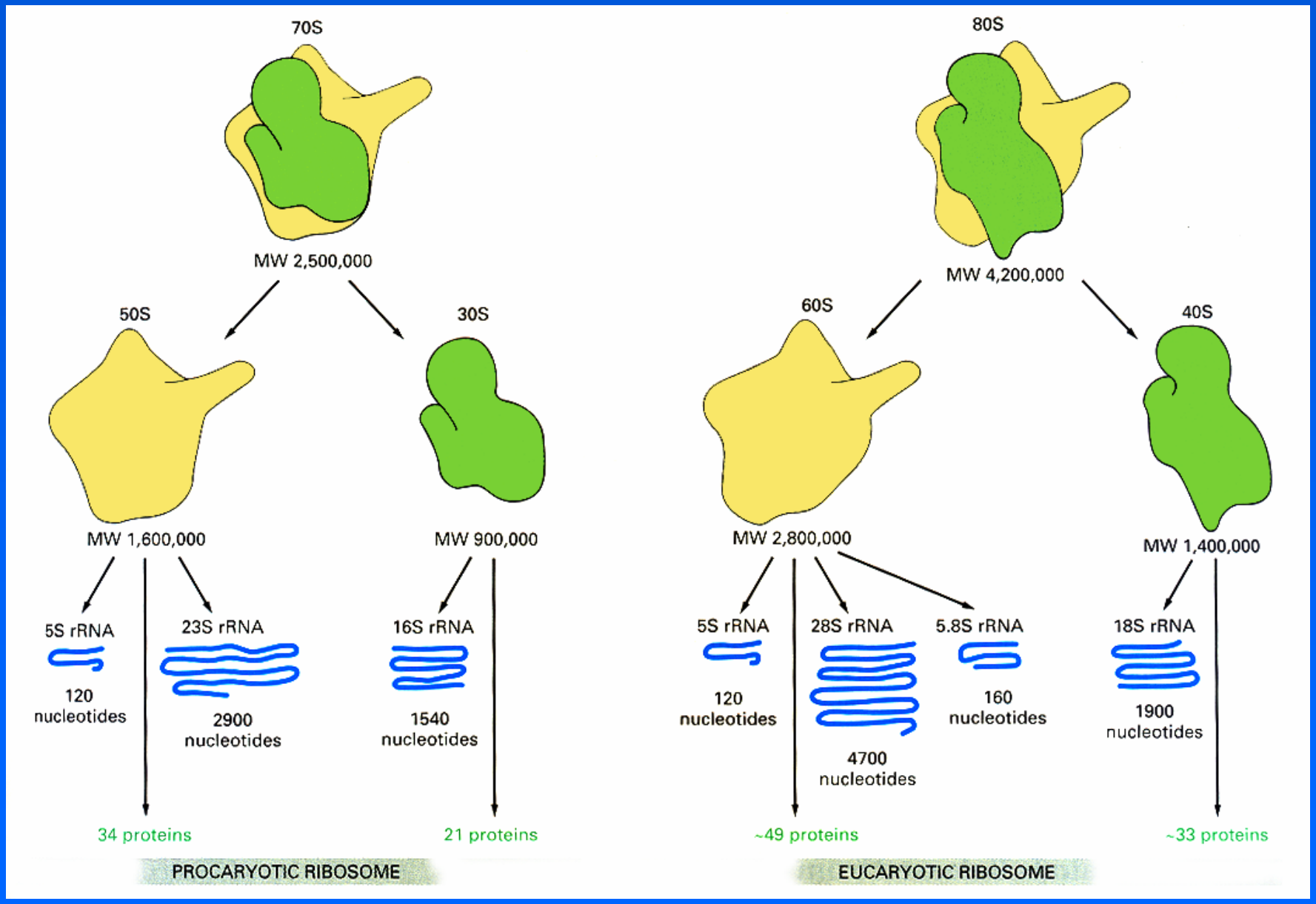
Pol I – РНК-полимераза I

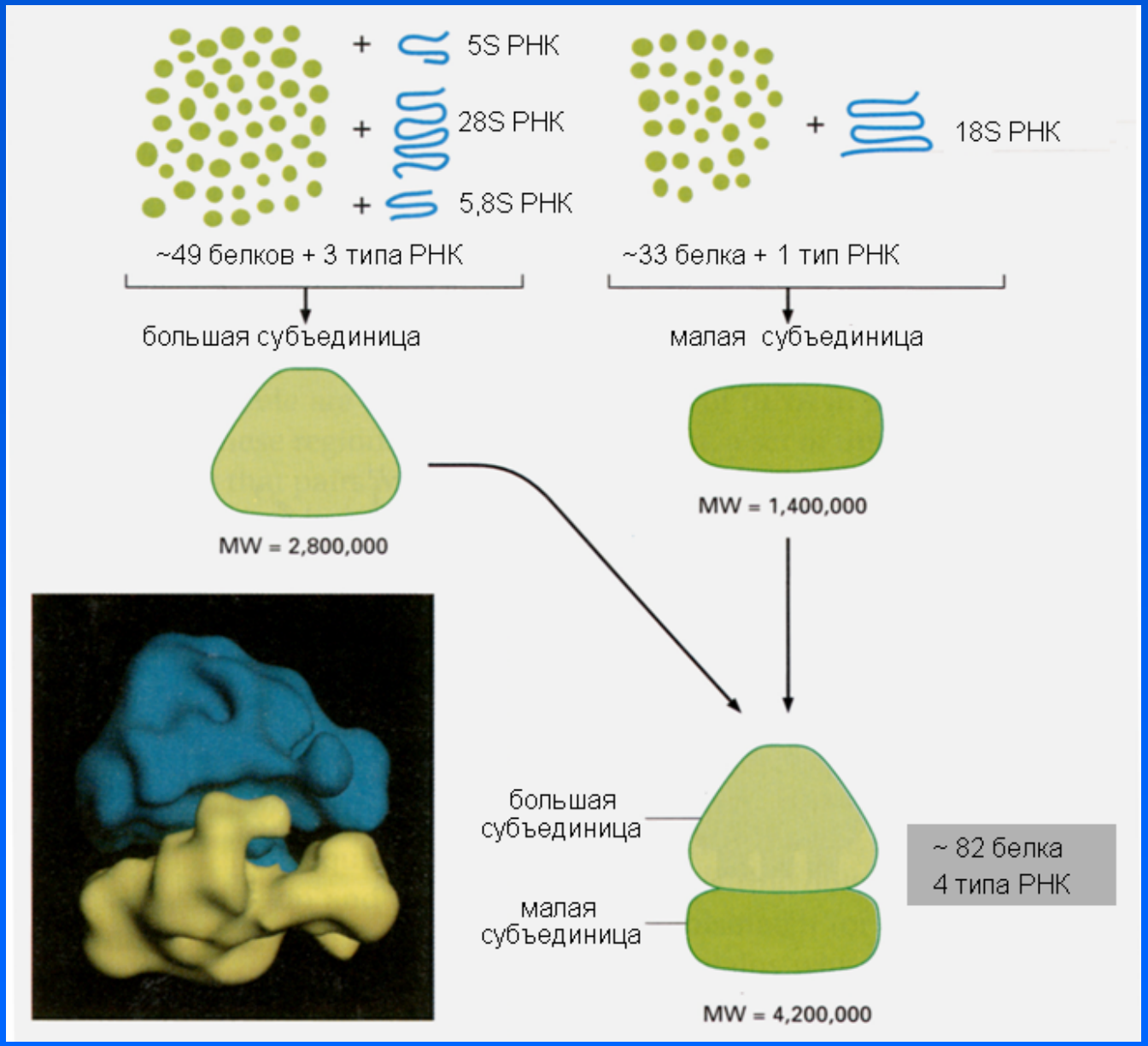
# Основные этапы процессинга рРНК




**Процессинг приводит к образованию трех молекул рРНК из одного транскрипта**

# Структура рибосомы

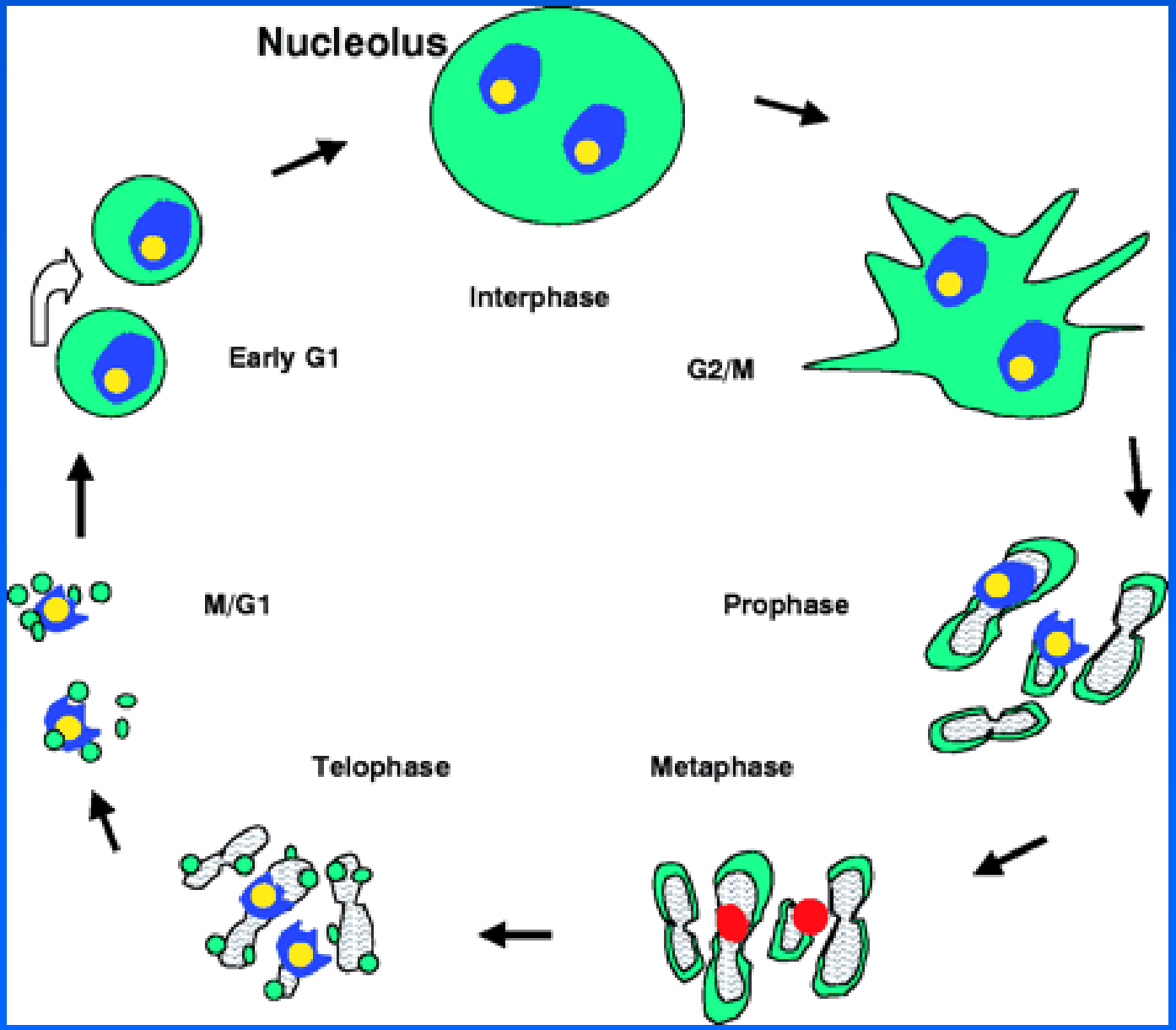


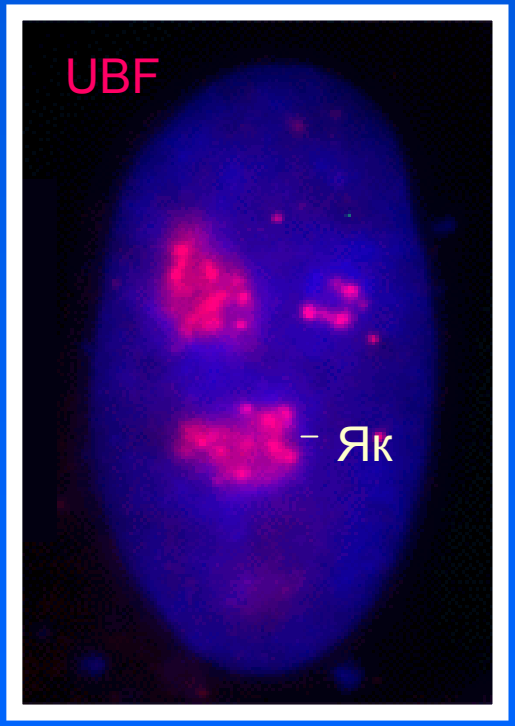

+ 5S РНК
+ 28S РНК
+ 5,8S РНК
+ 18S РНК
~49 белков + 3 типа РНК
~33 белка + 1 тип РНК
большая субъединица
малая субъединица
MW = 2,800,000
MW = 1,400,000
большая субъединица
малая субъединица
~ 82 белка
4 типа РНК
MW = 4,200,000

# Основные белки процессинга рРНК

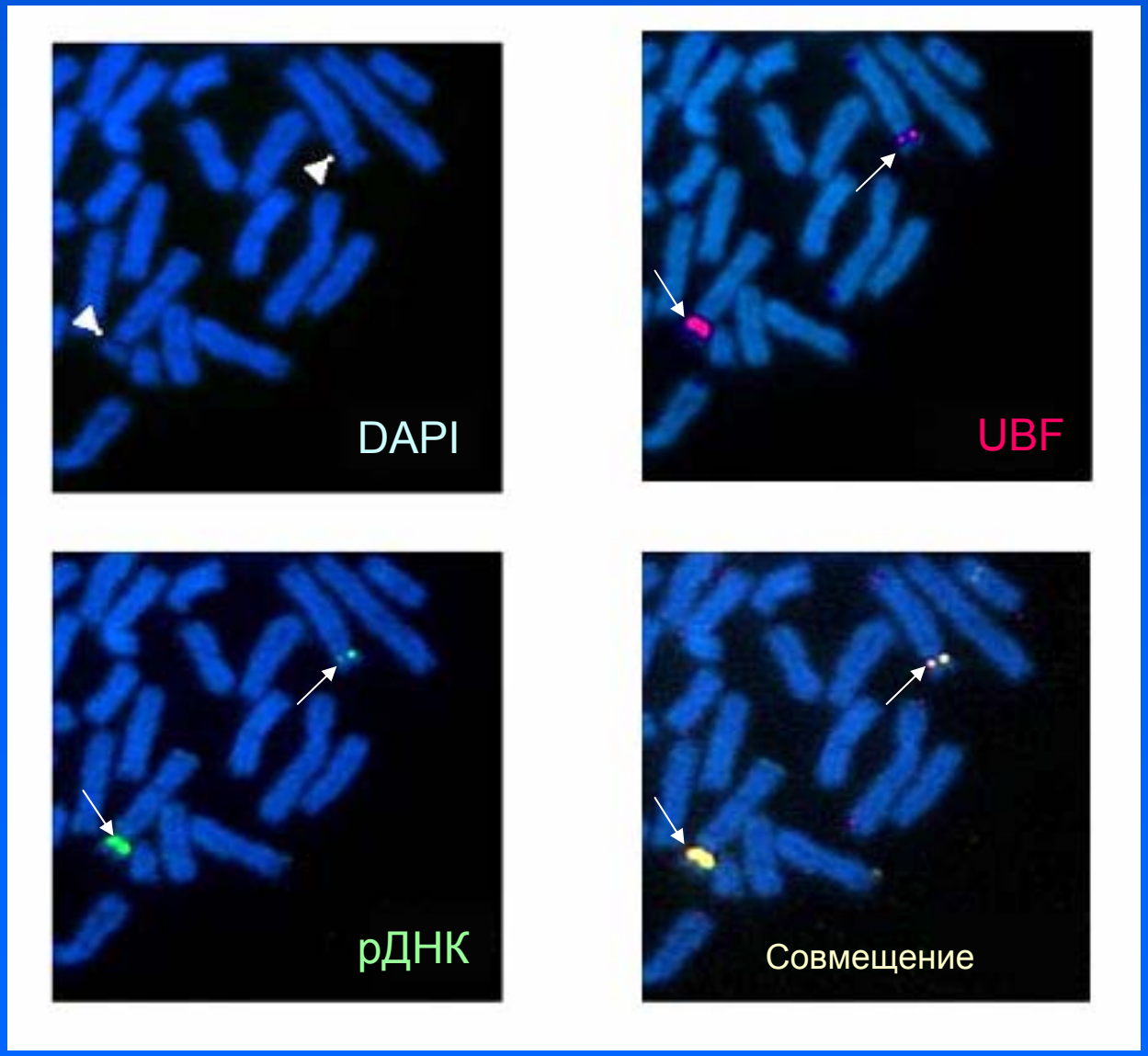
1. Фибрилларин (Nop1) – ранний процессинг рРНК, эволюционно консервативен, входит в состав мякРНП, эндонуклеаза и метилтрансфераза.
2. B23/нуклеофозмин – сборка пре-рибосом, фосфопротеин, шаперон.

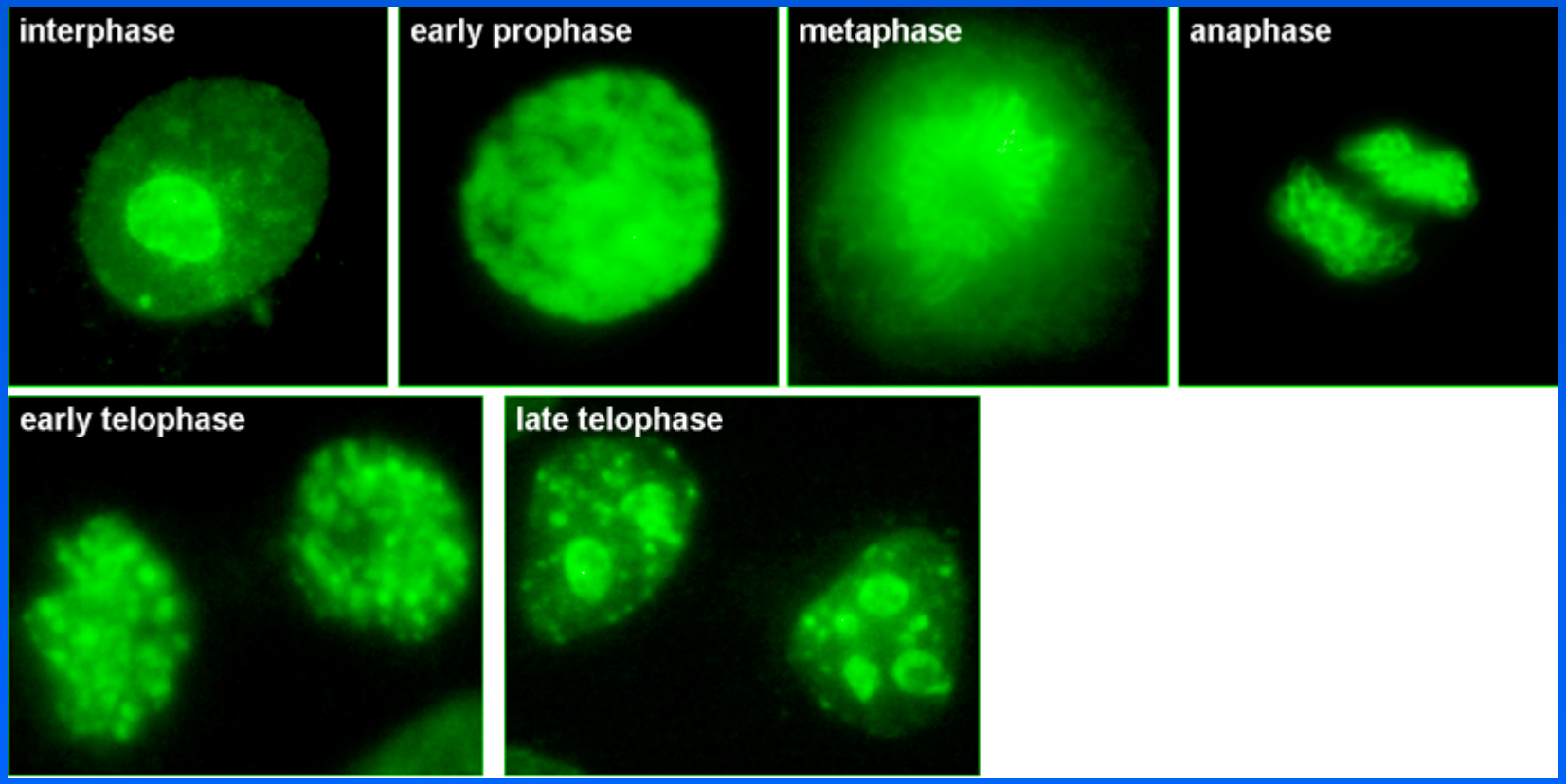
# Цикл ядрышка



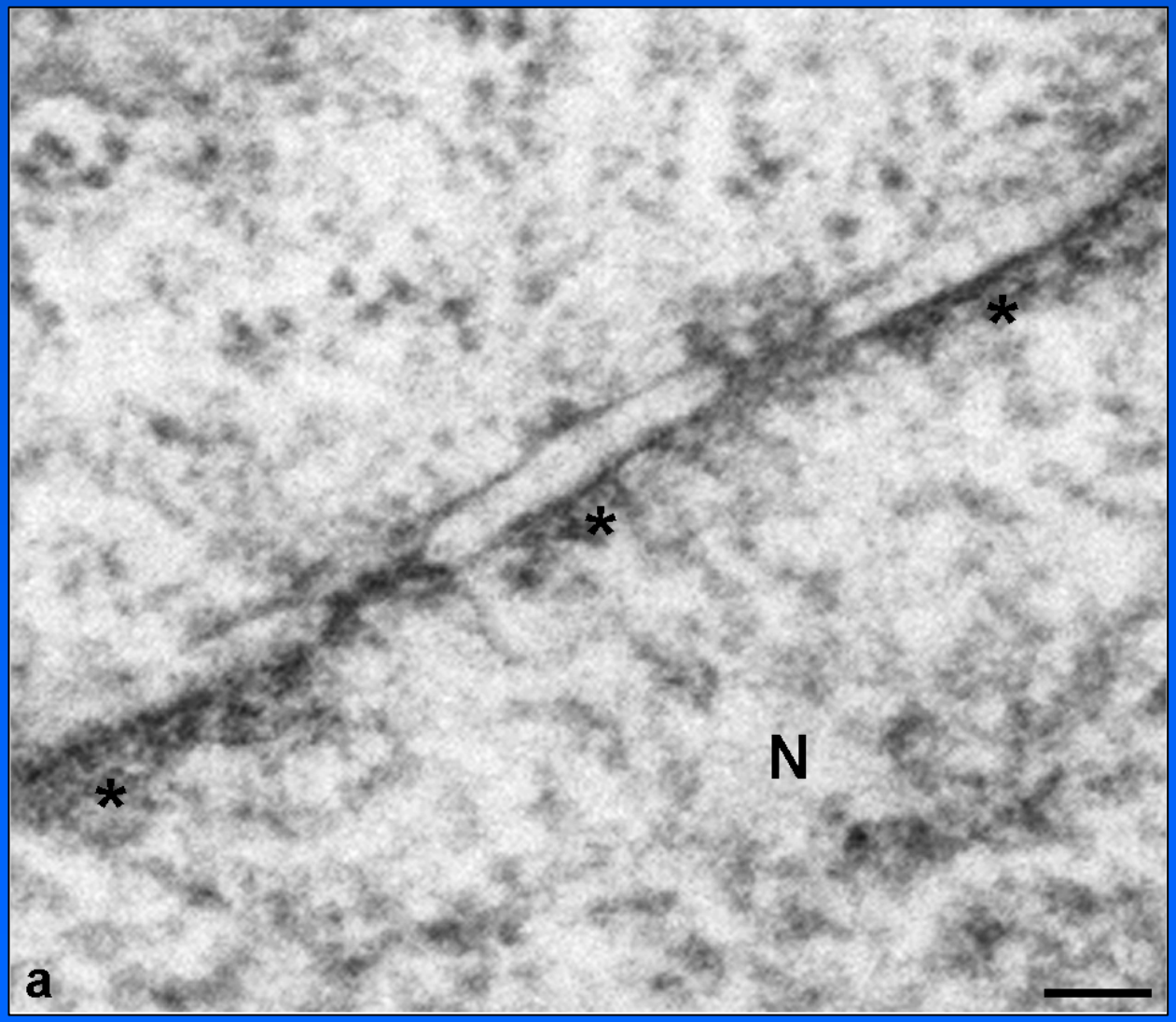



**Интерфаза**

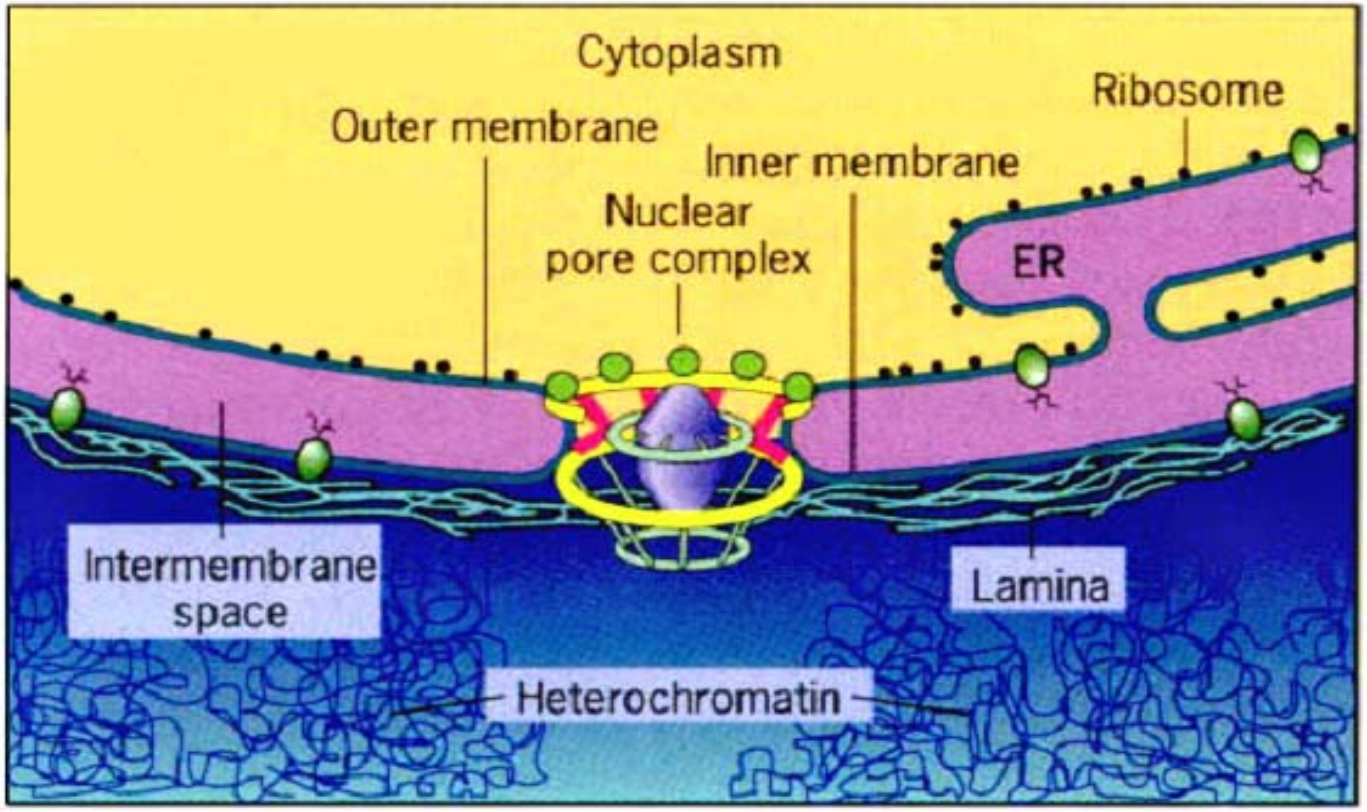


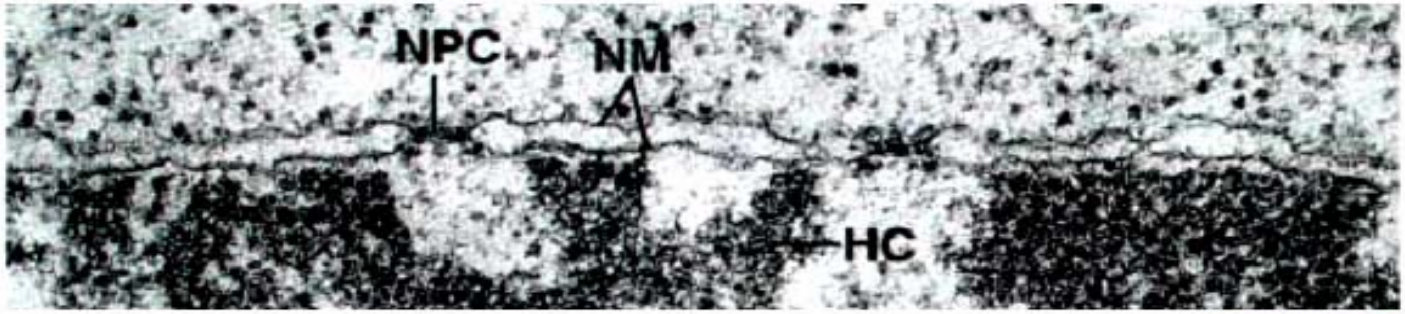

interphase
early prophase
metaphase
anaphase
early telophase
late telophase

# Ядерная оболочка

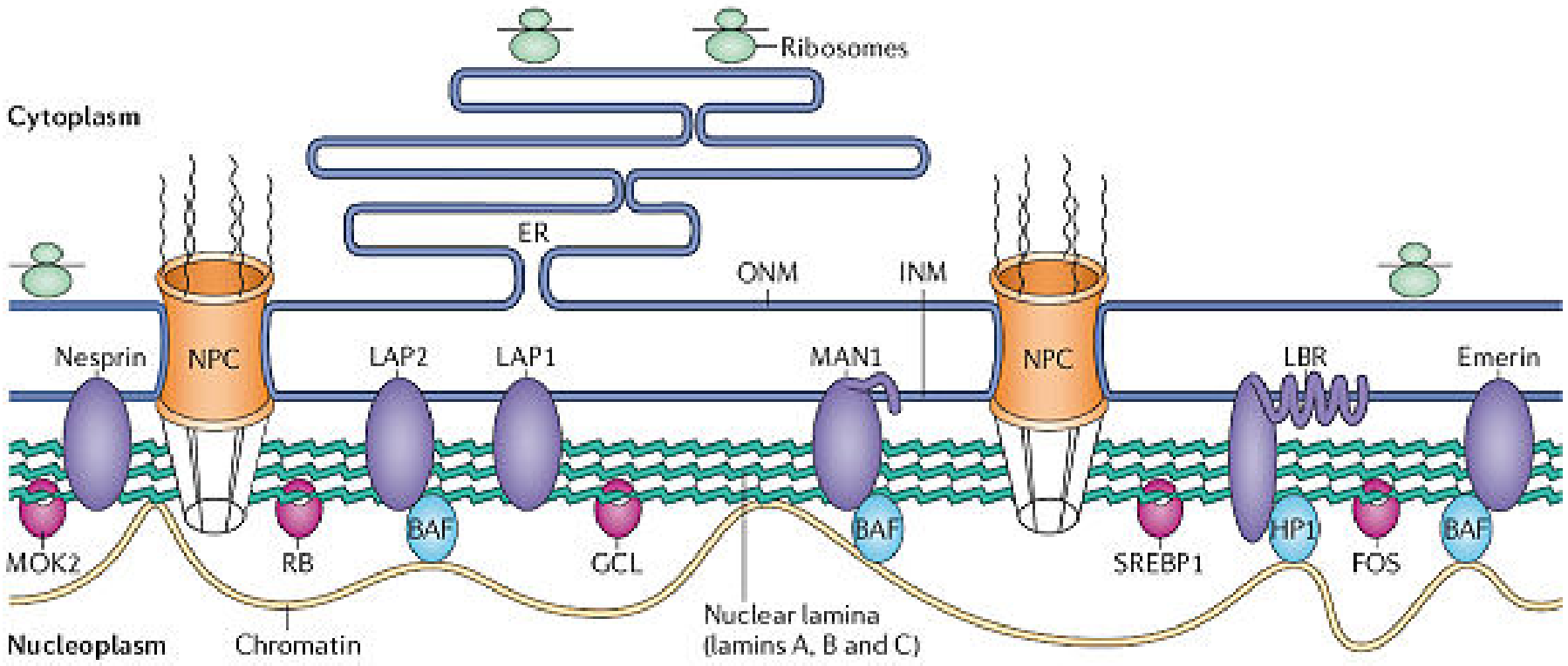


# Ядерная оболочка

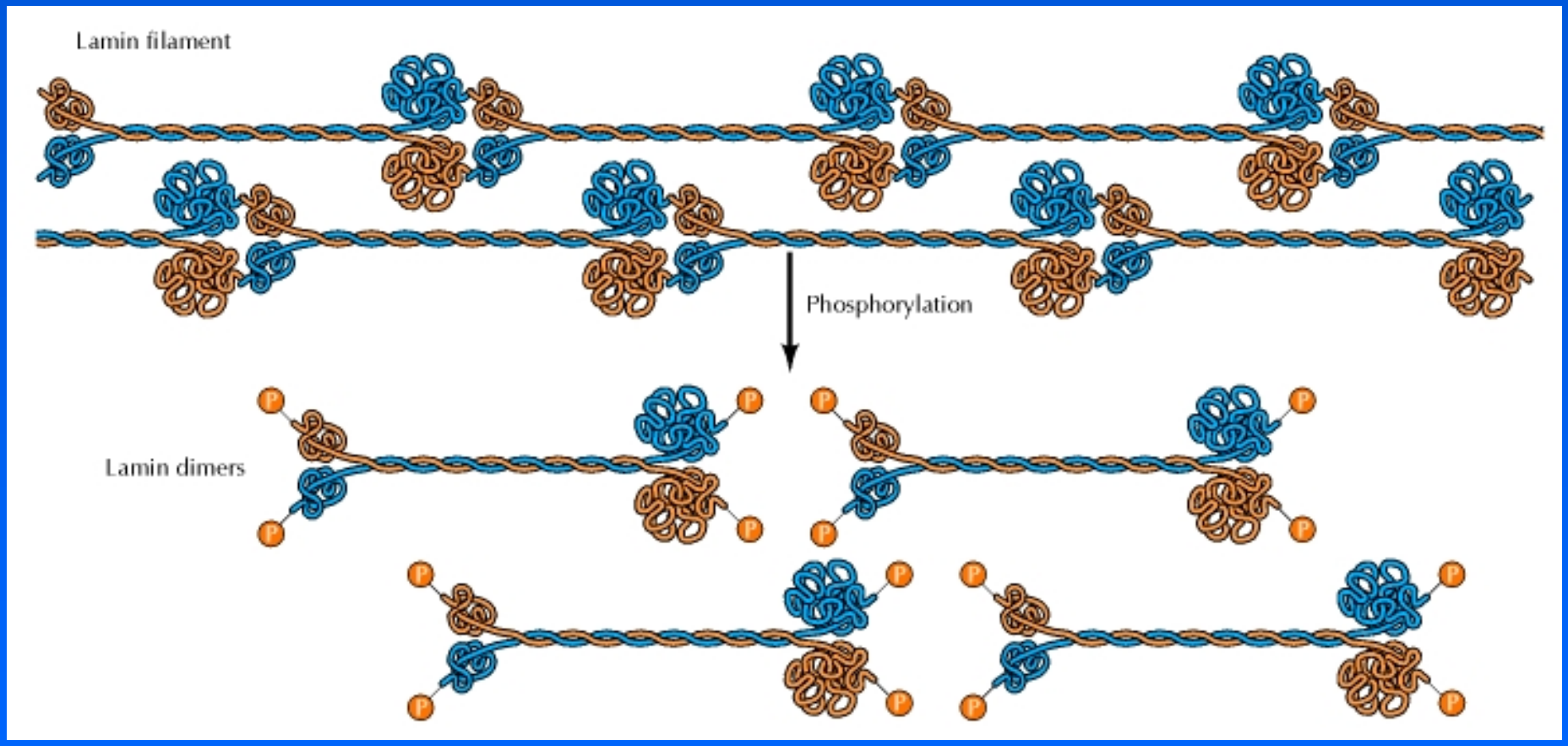


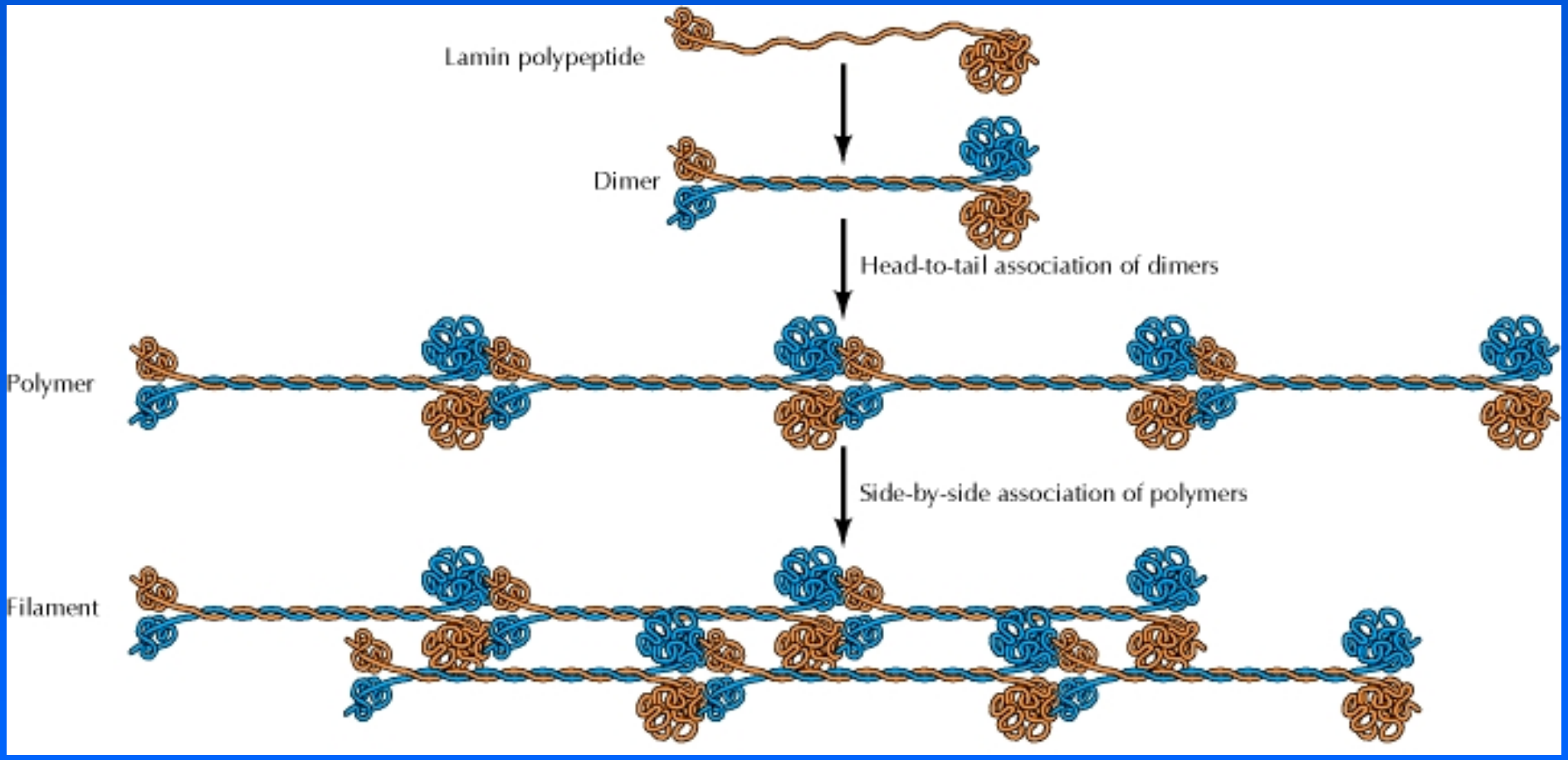



# Схема ядерной оболочки

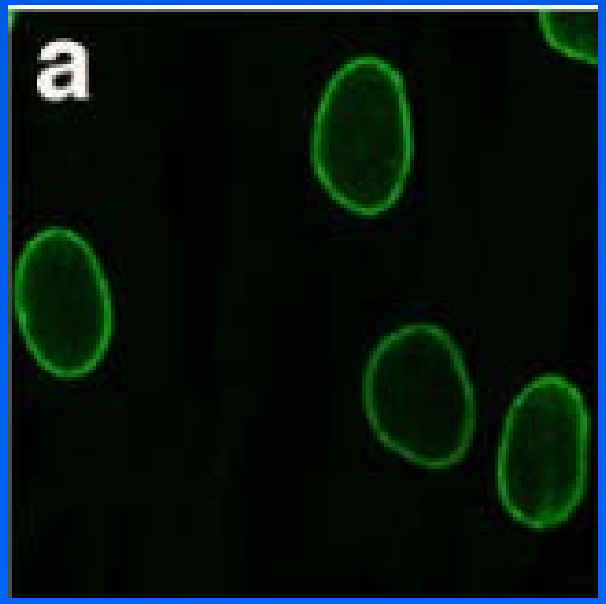


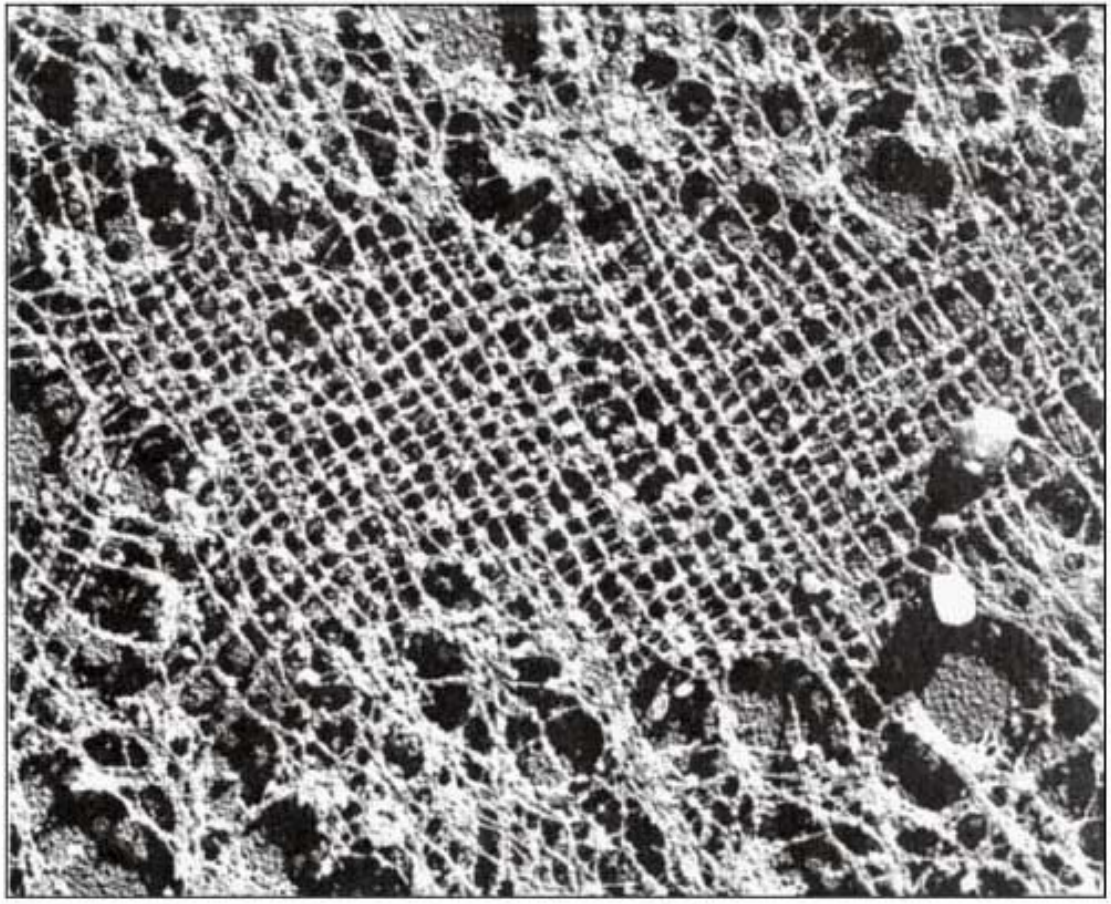
# Ламины ядерной оболочки




Lamin polypeptide
Dimer
Head-to-tail association of dimers
Polymer
Side-by-side association of polymers
Filament

# Ядерная ламина



**(b)** Surface view of nuclear lamina

1 $\mu$m

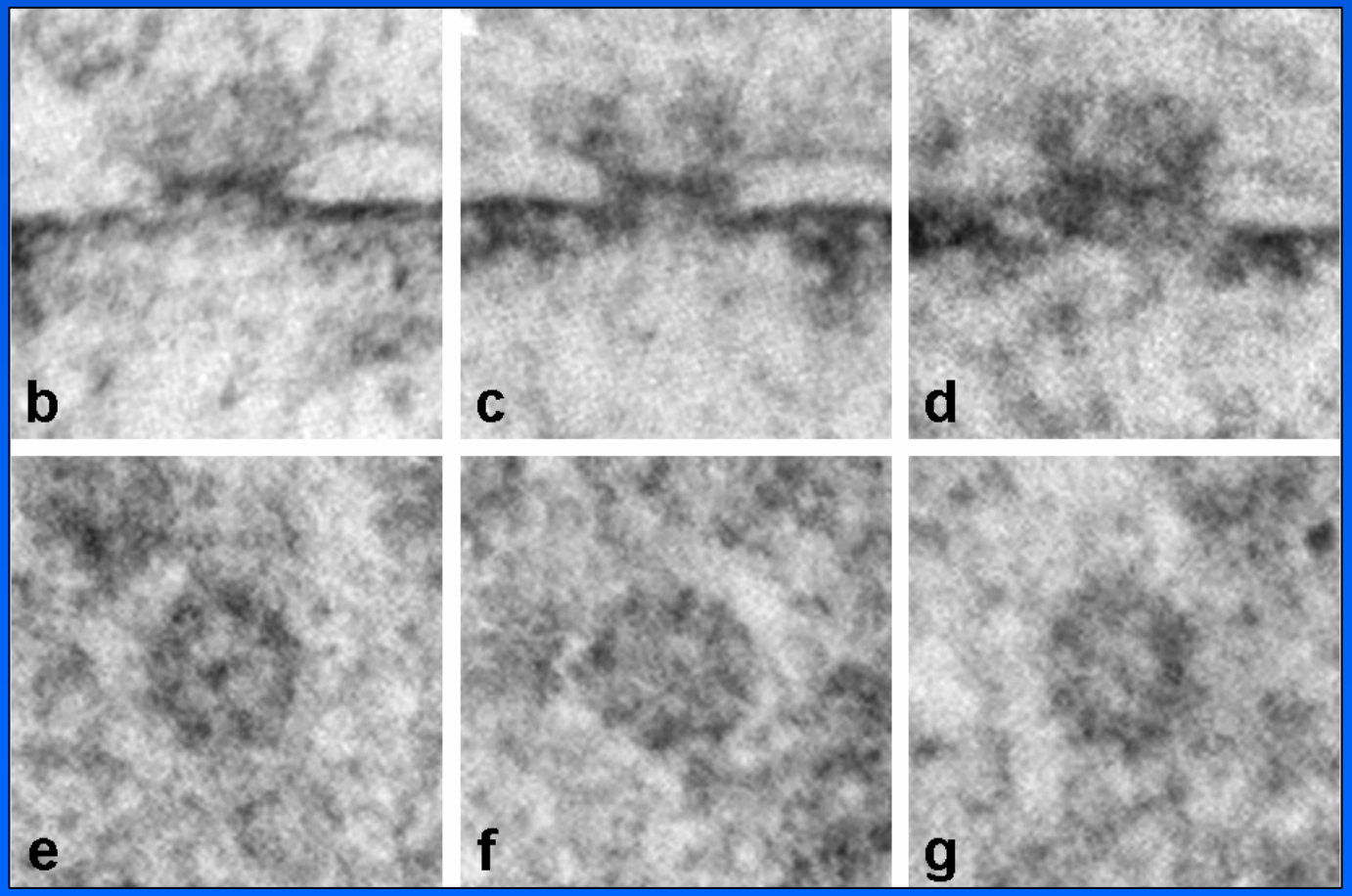
# Ядерные поры (поровые комплексы)

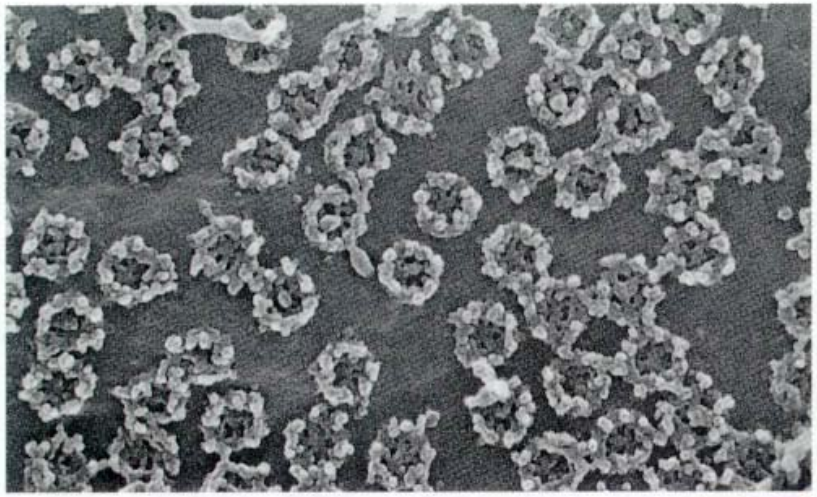
Ядерная пора – сложный белковый комплекс с уникальной трехмерной структурой. Структура ядерных пор универсальна для эукариот.

Через ядерные поры проходит транспорт всех высокомолекулярных белков (м.в. > 30 kD) и крупных нуклеиновых кислот (иРНК, рРНК).

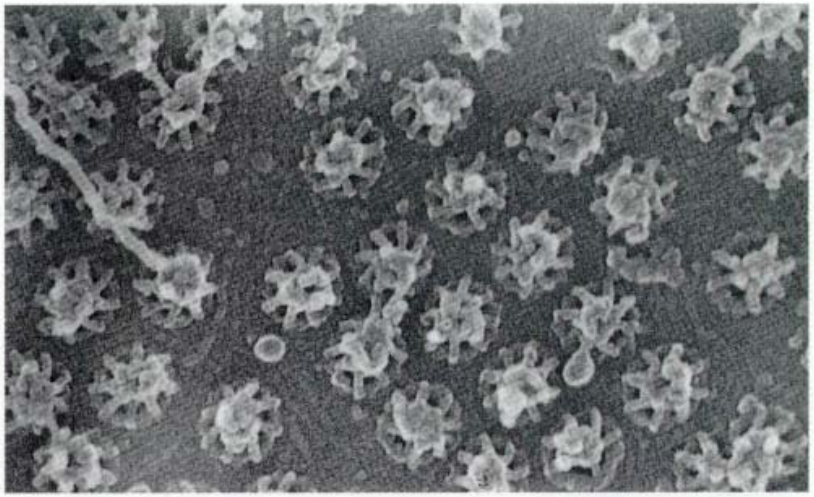
Плотность расположения пор в ядерной обболочке отражает интенсивность ядерно-цитоплазматического обмена.

# Ядерные поры (просвечивающая ЭМ)

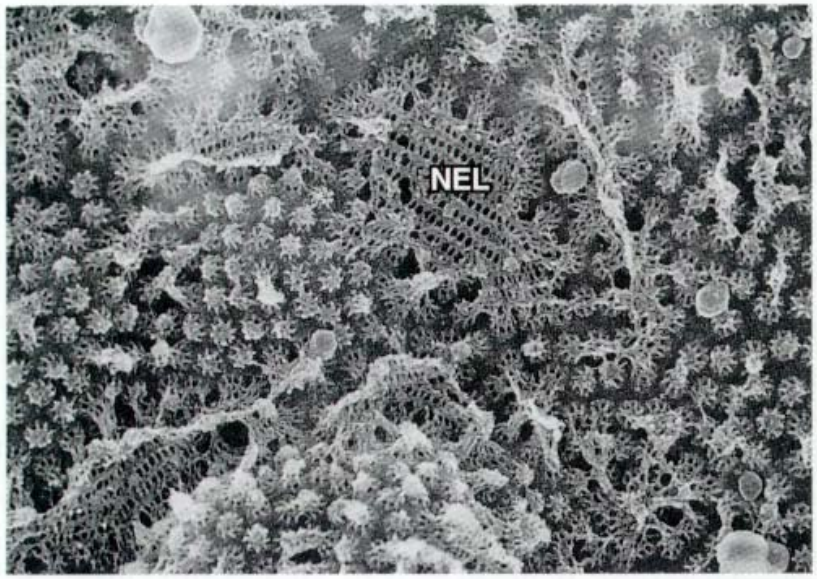




(a) 0.2 µm

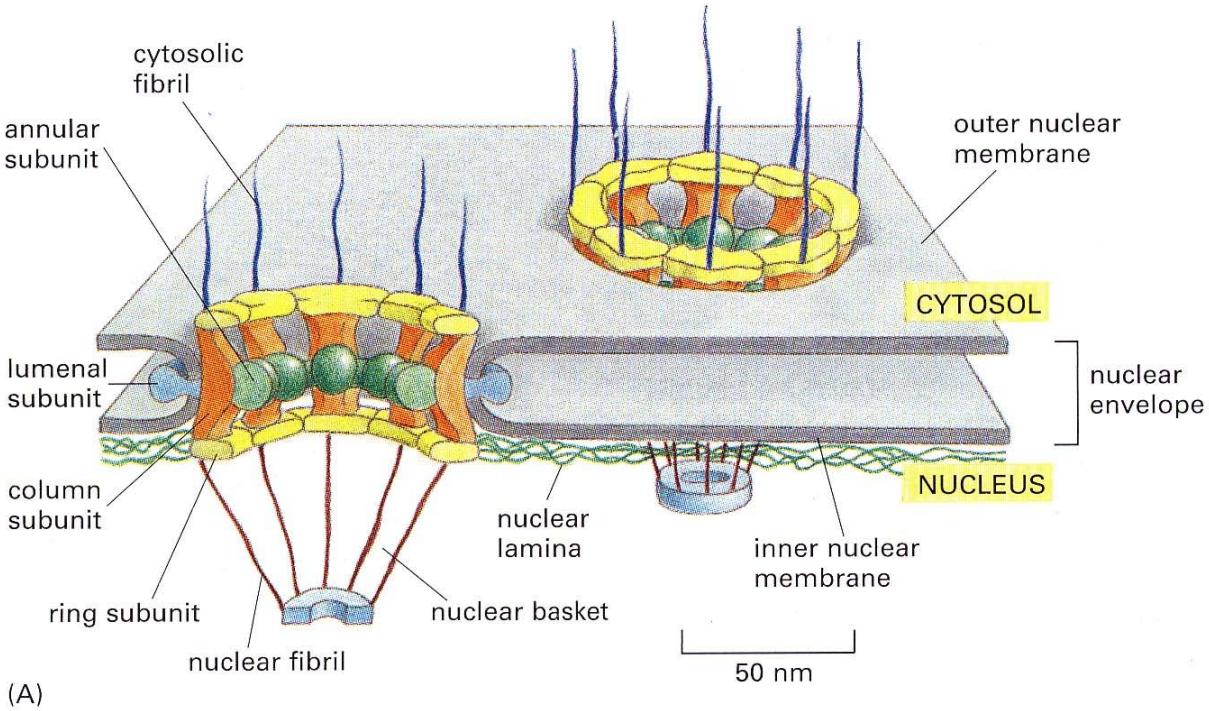


(b)

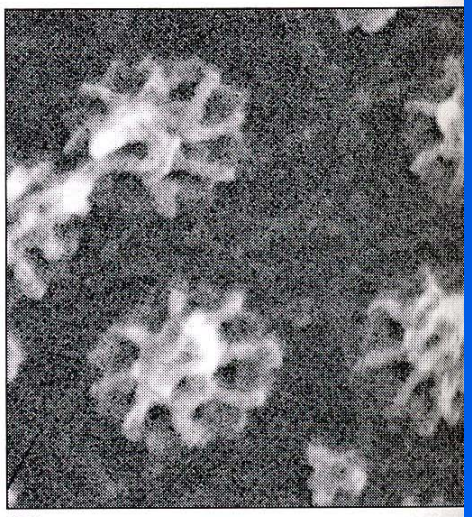



(c) 0.6 µm

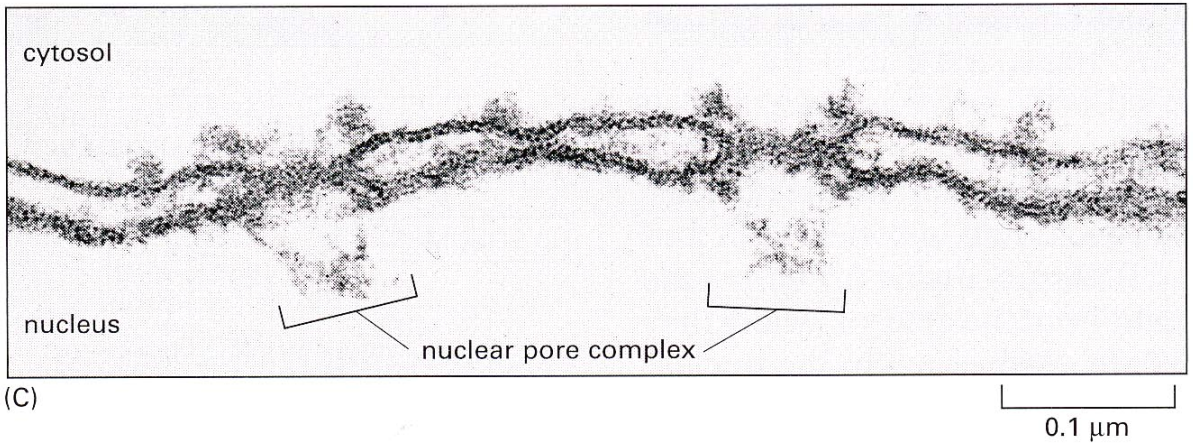
**Figure 12.5 Electron microscopic appearance of the nuclear pore complex from isolated nuclear envelopes of an amphibian oocyte.** *(a)* The cytoplasmic face of the nuclear envelope showing the peripheral cytoplasmic granules of the nuclear pore complex. *(b)* The nuclear face of the nuclear envelope showing the basketlike appearance of the inner portion of the complex. *(c)* The nuclear face of the envelope showing the distribution of the NPCs and places where intact patches of the nuclear lamina (NEL) are retained. The lamina is attached to the innermost aspect of the NPC baskets. In all of these micrographs, the isolated nuclear envelopes were fixed, dehydrated, dried, and metal coated. *(From M. W. Goldberg and T. D. Allen,* J. Cell Biol. *119:1431, 1992; by copyright permission of the Rockefeller University Press.)*


cytosolic fibril
annular subunit
outer nuclear membrane
CYTOSOL
lumenal subunit
nuclear envelope
column subunit
NUCLEUS
nuclear lamina
inner nuclear membrane
ring subunit
nuclear basket
nuclear fibril
50 nm

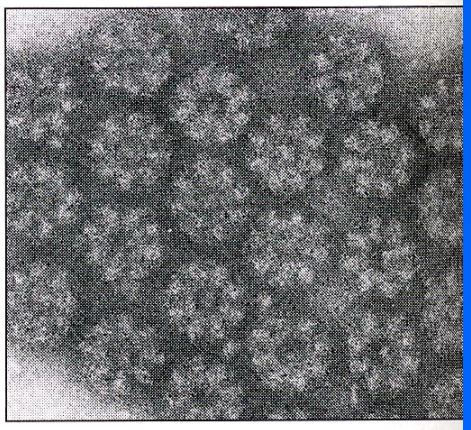
(A)



(B)

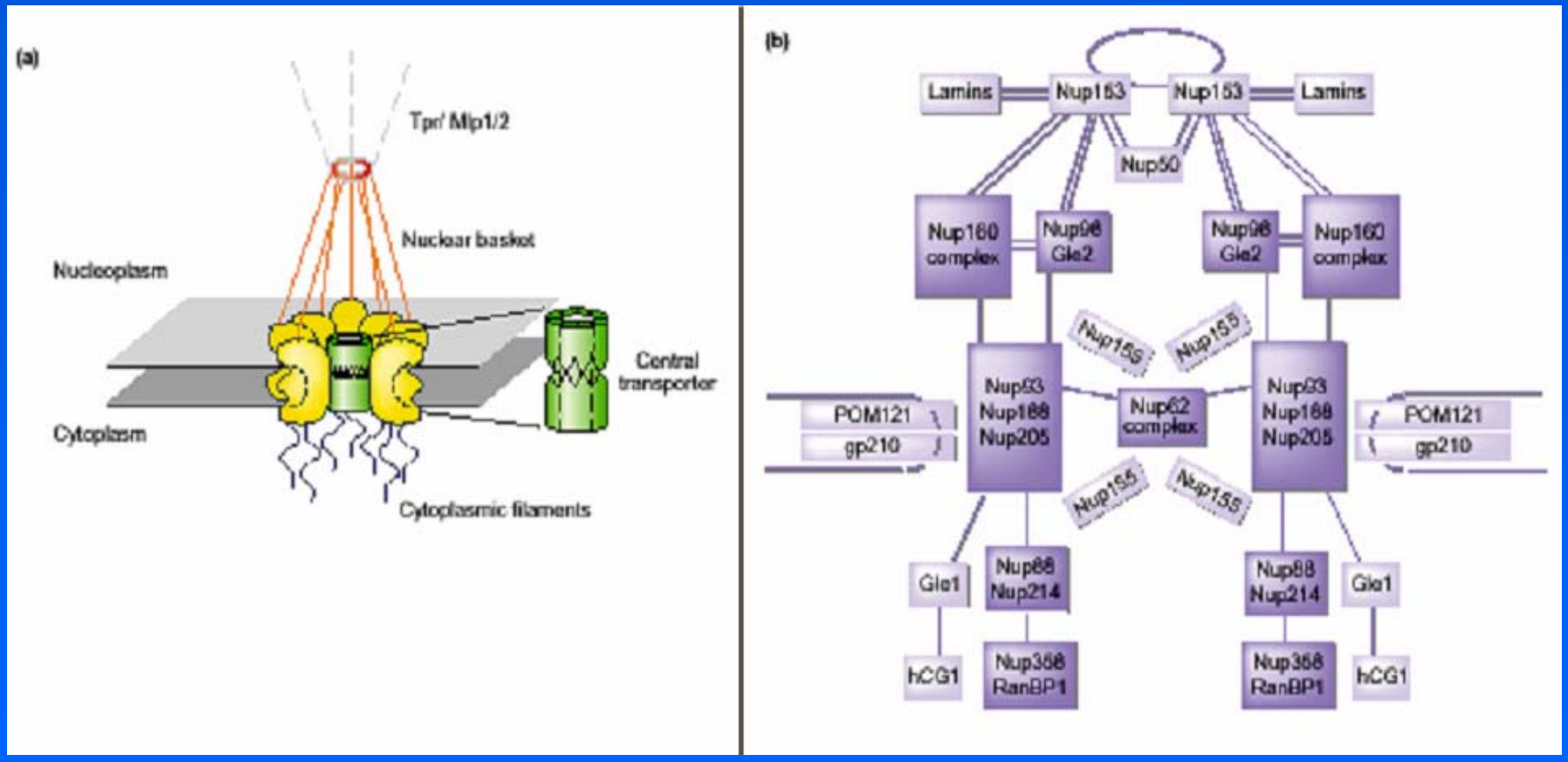

cytosol
nucleus
nuclear pore complex
0.1 µm

(C)



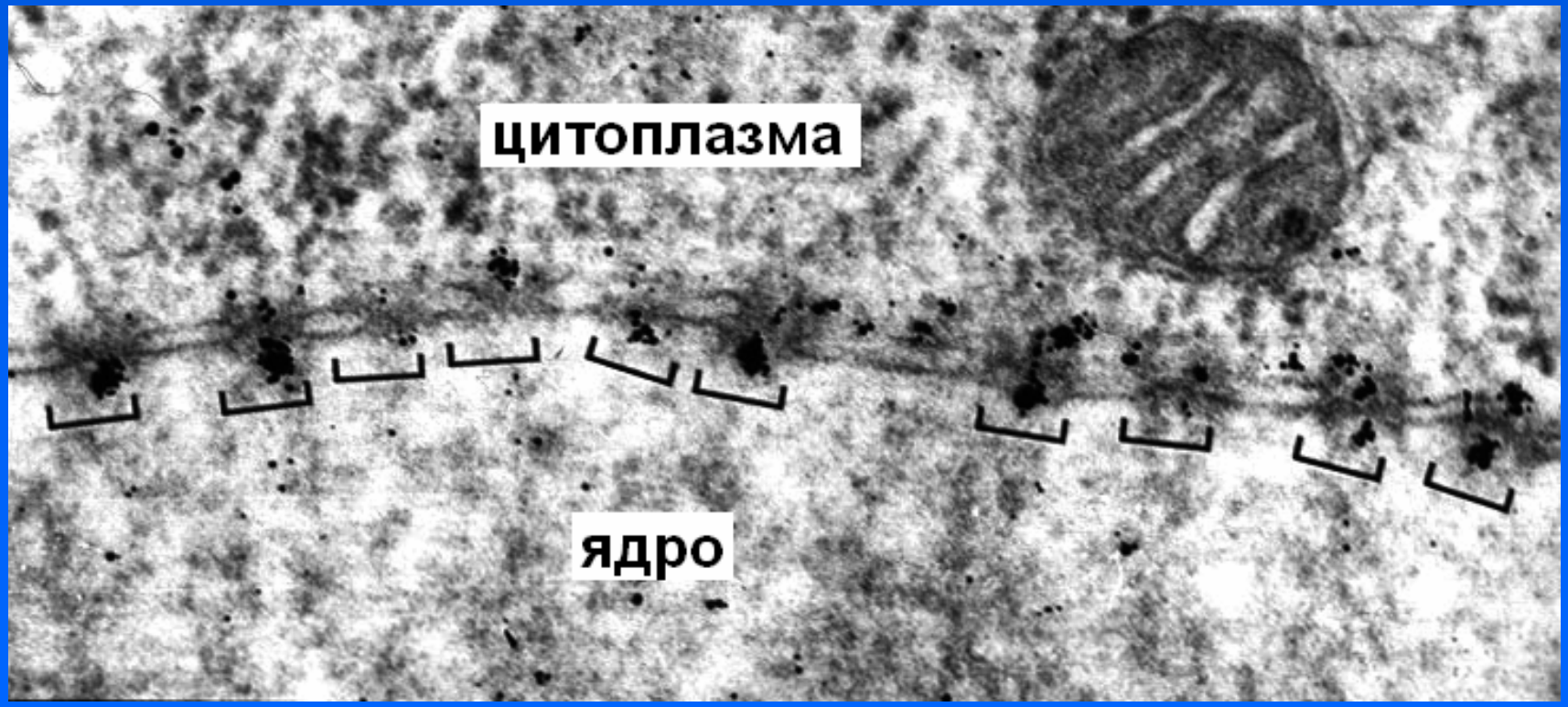
(D)

# Модель комплекса ядерной поры

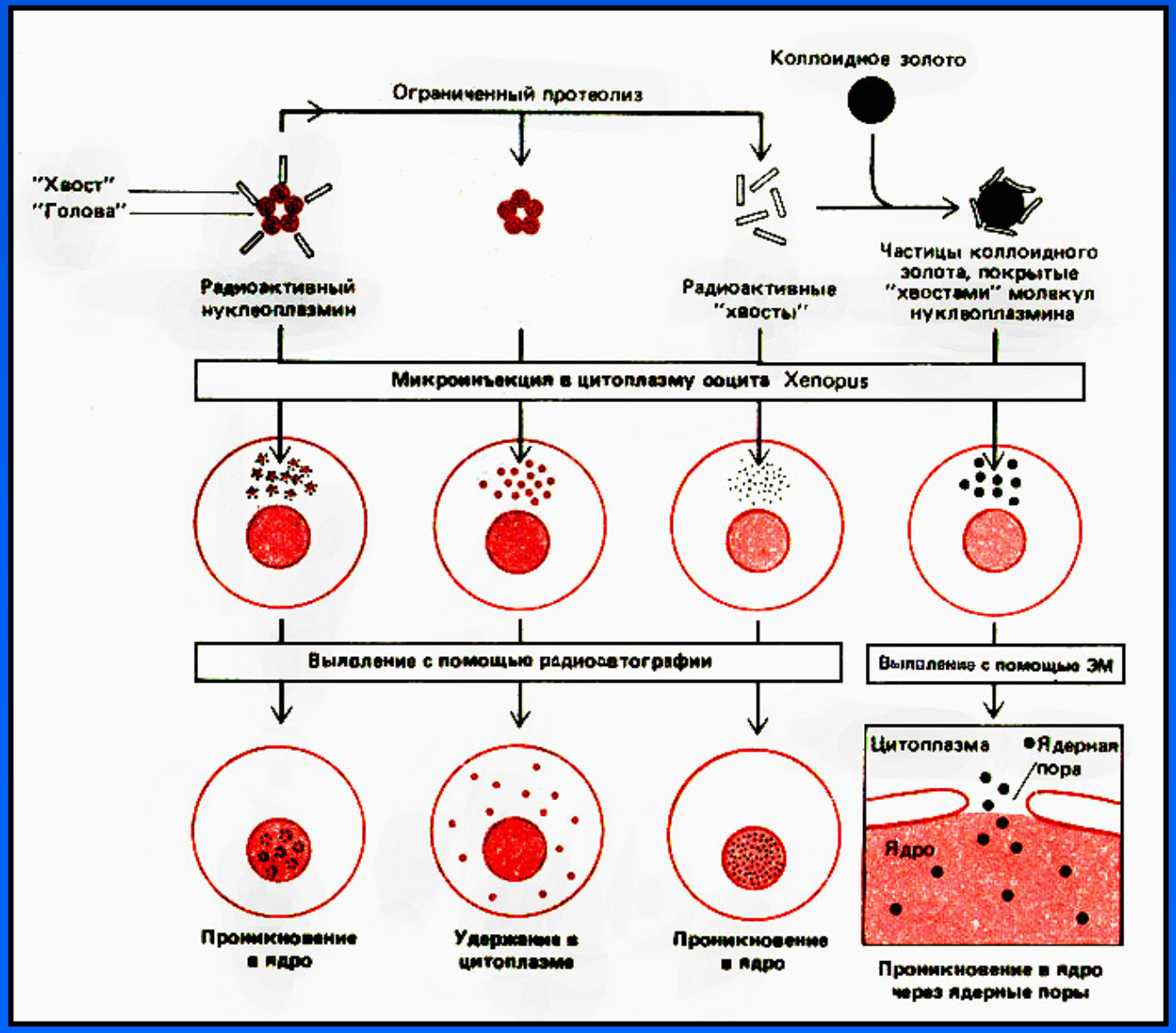



**Комплекс поры – 120 мД, содержит не менее 50 разных белков и обеспечивает избирательный транспорт между ядром и цитоплазмой.**

# Высокомолекулярные вещества могут накапливаться в порах (коллоидное золото)



# Для прохождения через ядерную пору нужна специальная сигнальная последовательность



# Транспорт через ядерную пору

Белки с м.в.>30 kD имеют сигнал ядерной локализации (NLS) и/или сигнал экспорта (NES); при их переносе происходит гидролиз ГТФ.

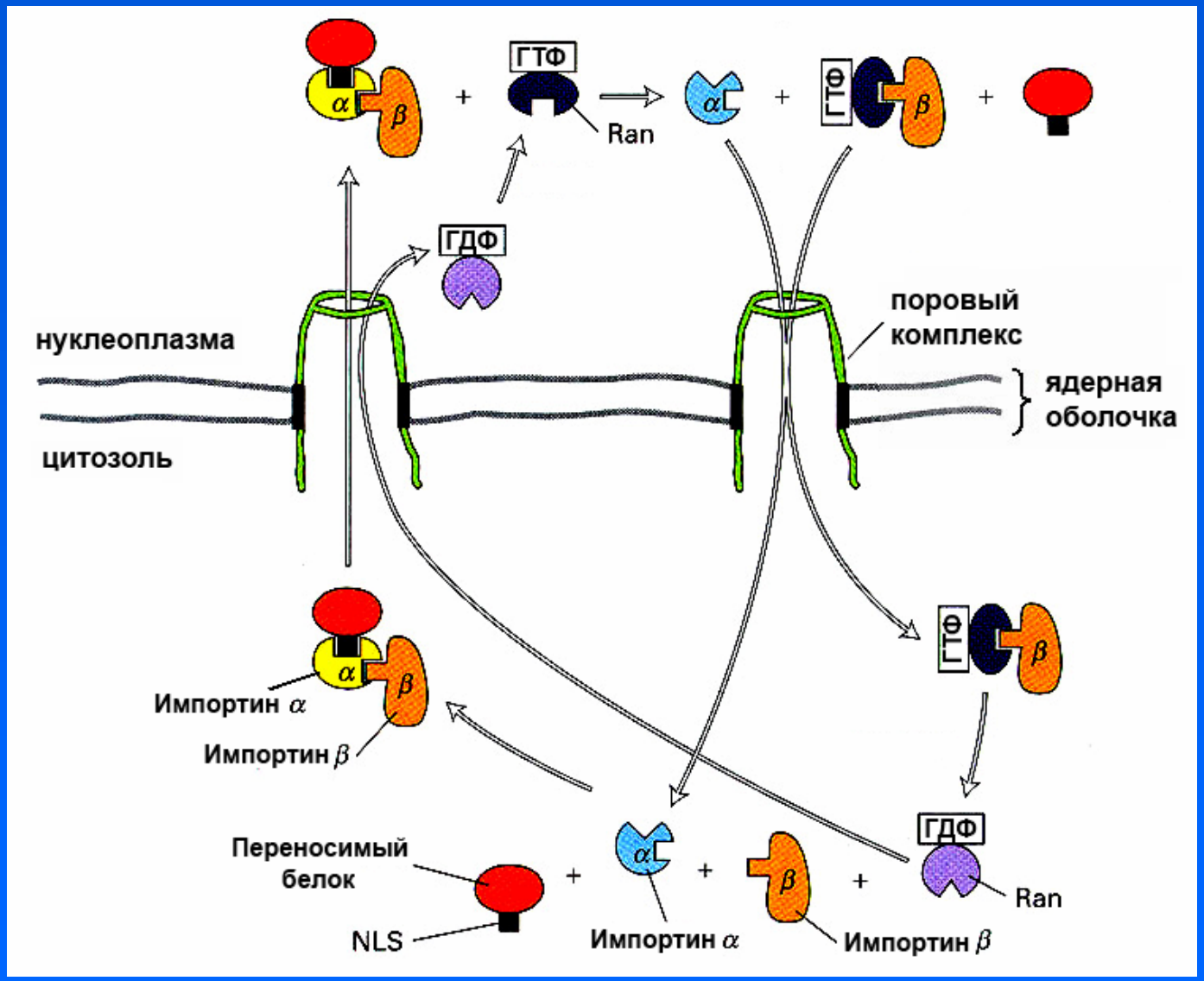
Сигнал локализации – короткий пептид.

Компоненты импорта и экспорта различаются: импортины α и β, и экспортины.

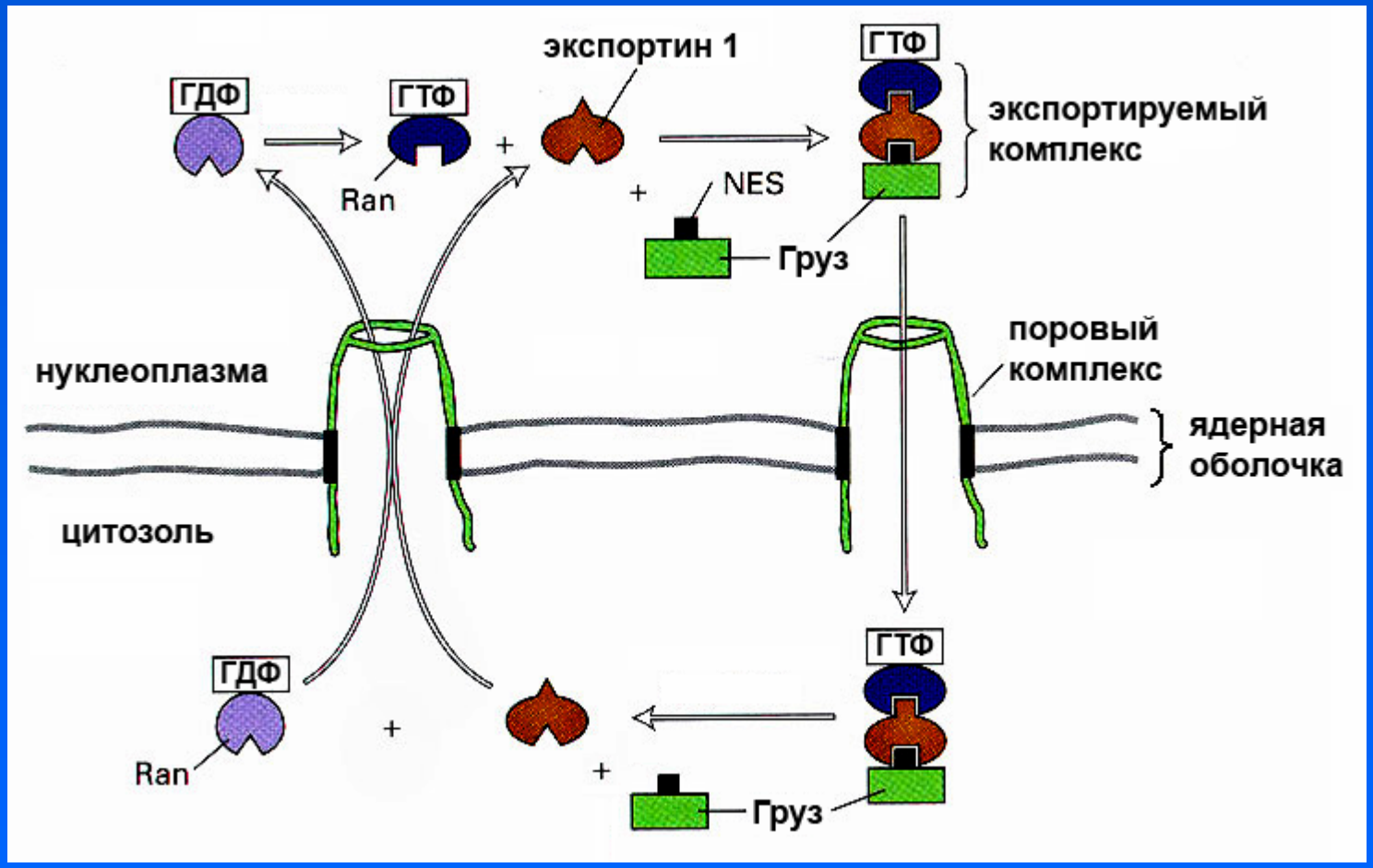
Система переноса включает малую ГТФ-азу Ran. Фосфорилирование RAN происходит в нуклеоплазме. Экспортины образуют комплекс в присутствии GTP-Ran, импортины – в присутствии GDP-Ran.

РНК для переноса через пору должны взаимодействовать с белками с сигналом экспорта.

# Импорт белков в ядро



# Экспорт из ядра

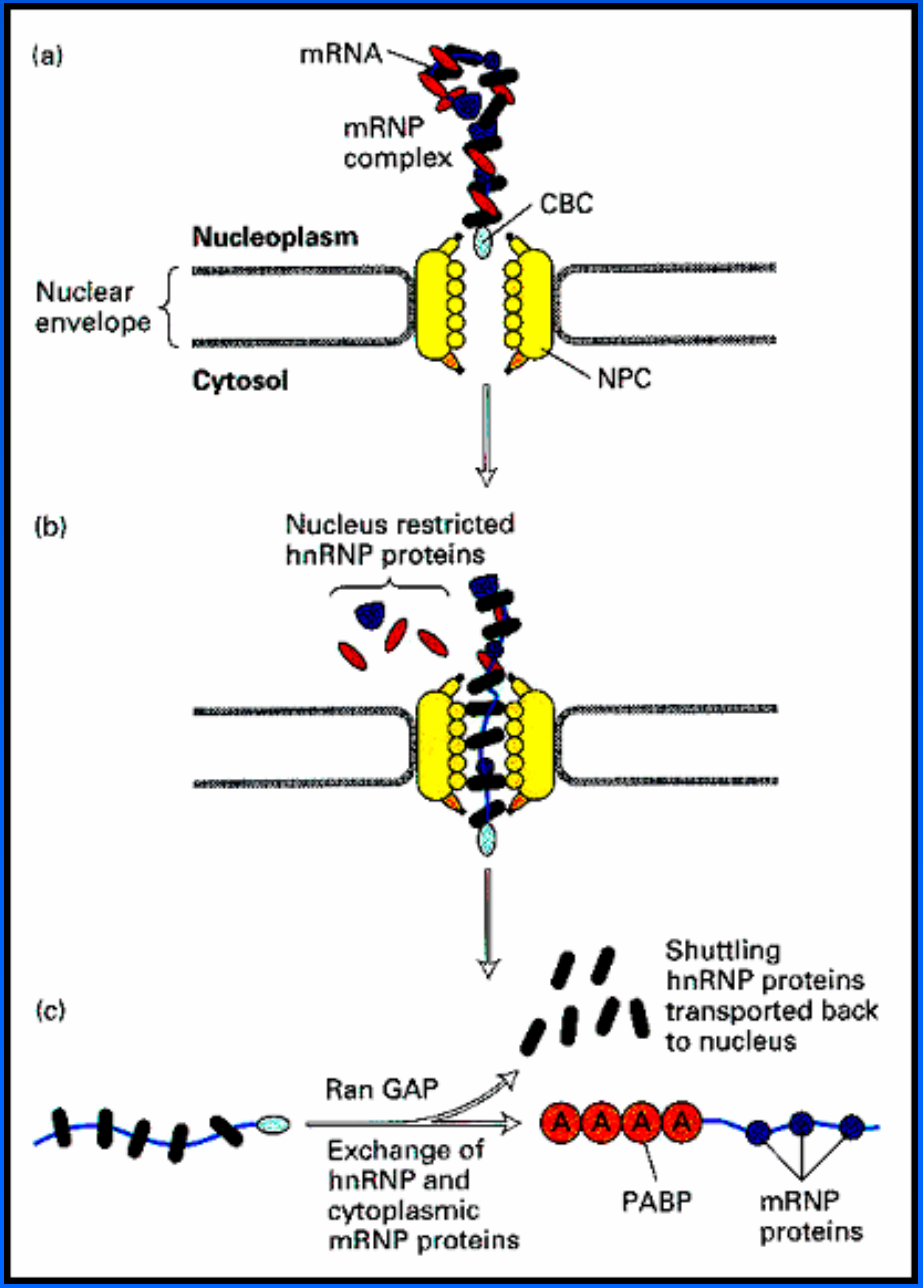



**В экспорте участвуют специальные белки (экспортины) и ГТФ-аза Ran.**

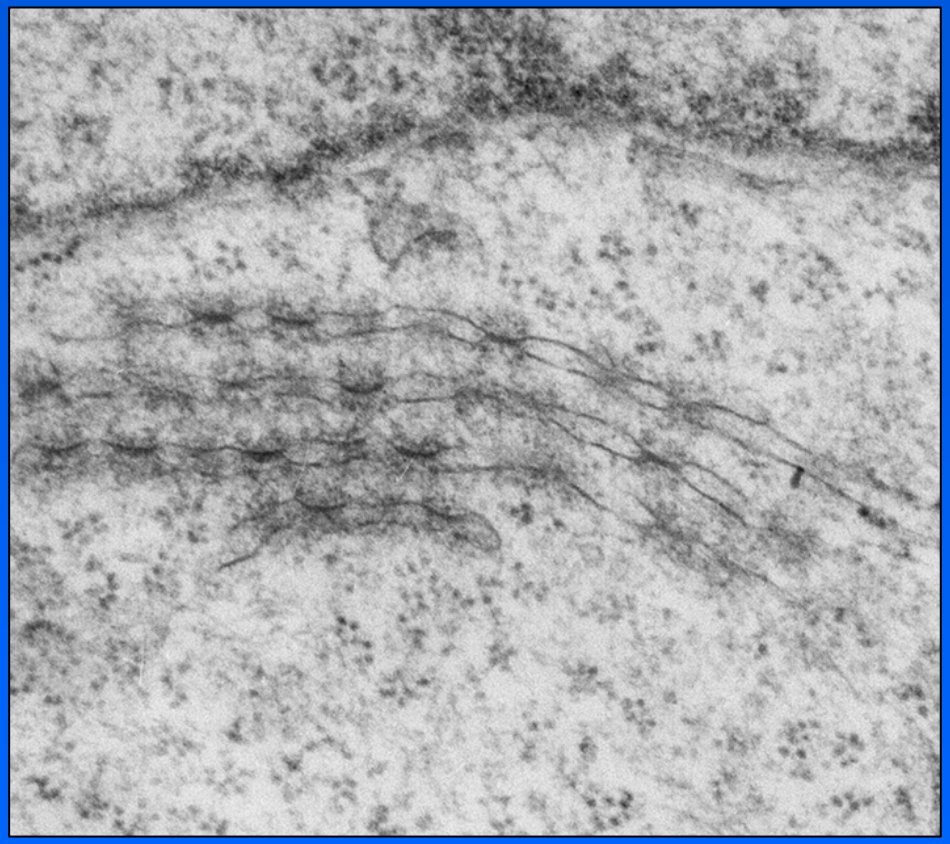
# Транспорт иРНК через ядерную пору

В экспорте участвует ГТФ-аза Ran и происходит замена связанных белков.

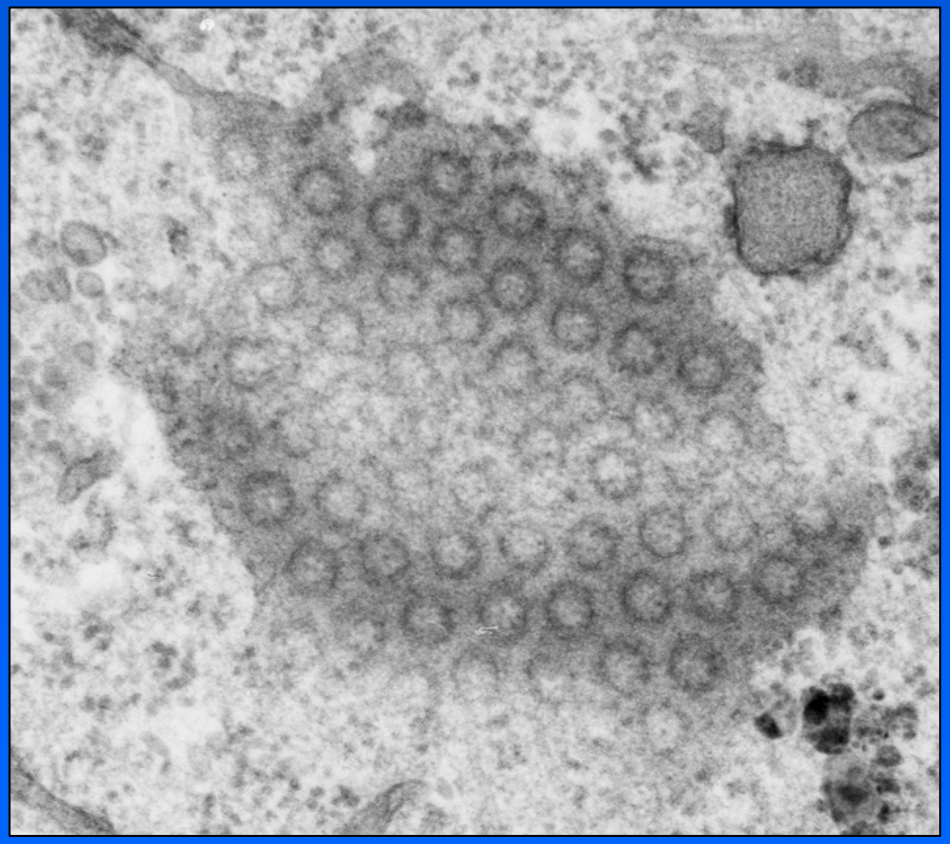
Перенос РНК сопровождается гидролизом ГТФ.



# Пористые пластинки (ЭМ)



Поперечный срез



Тангенциальный срез

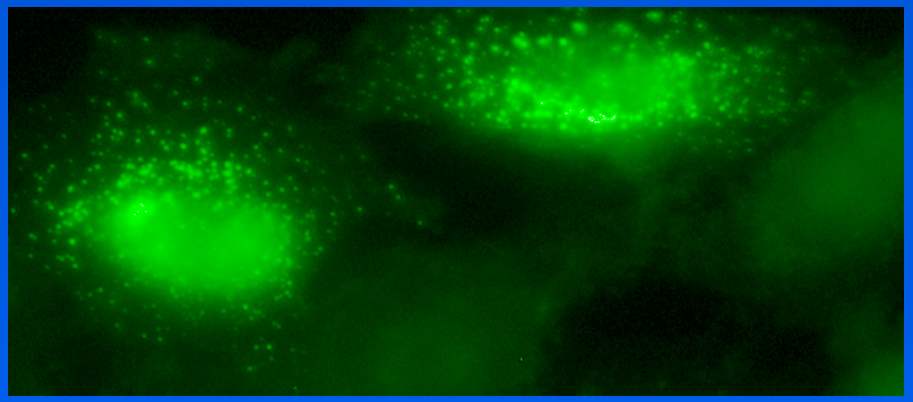
# Пористые пластинки

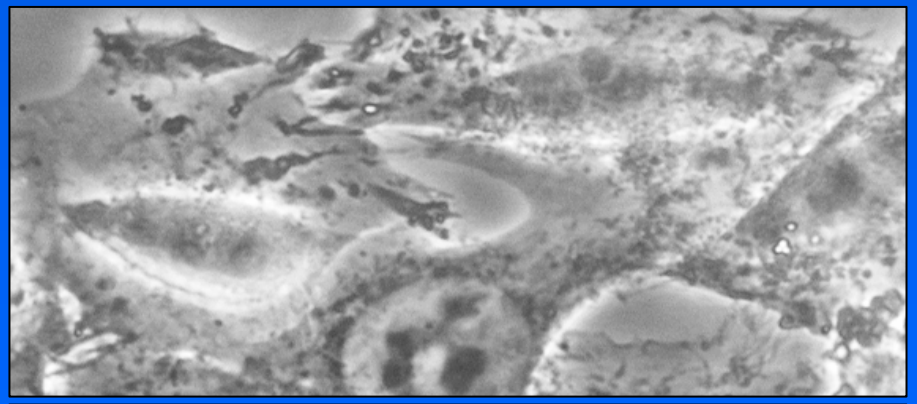
-обнаруживаются чаще всего в эмбриональных или опухолевых клетках

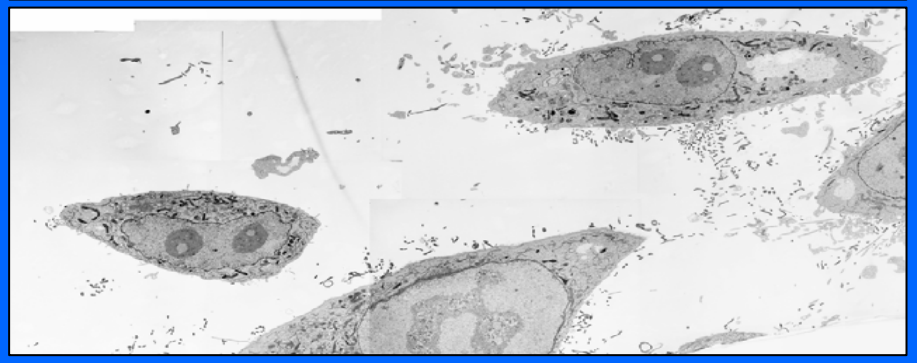
- количество пористых пластинок может быть повышено обработкой клеток винбластином

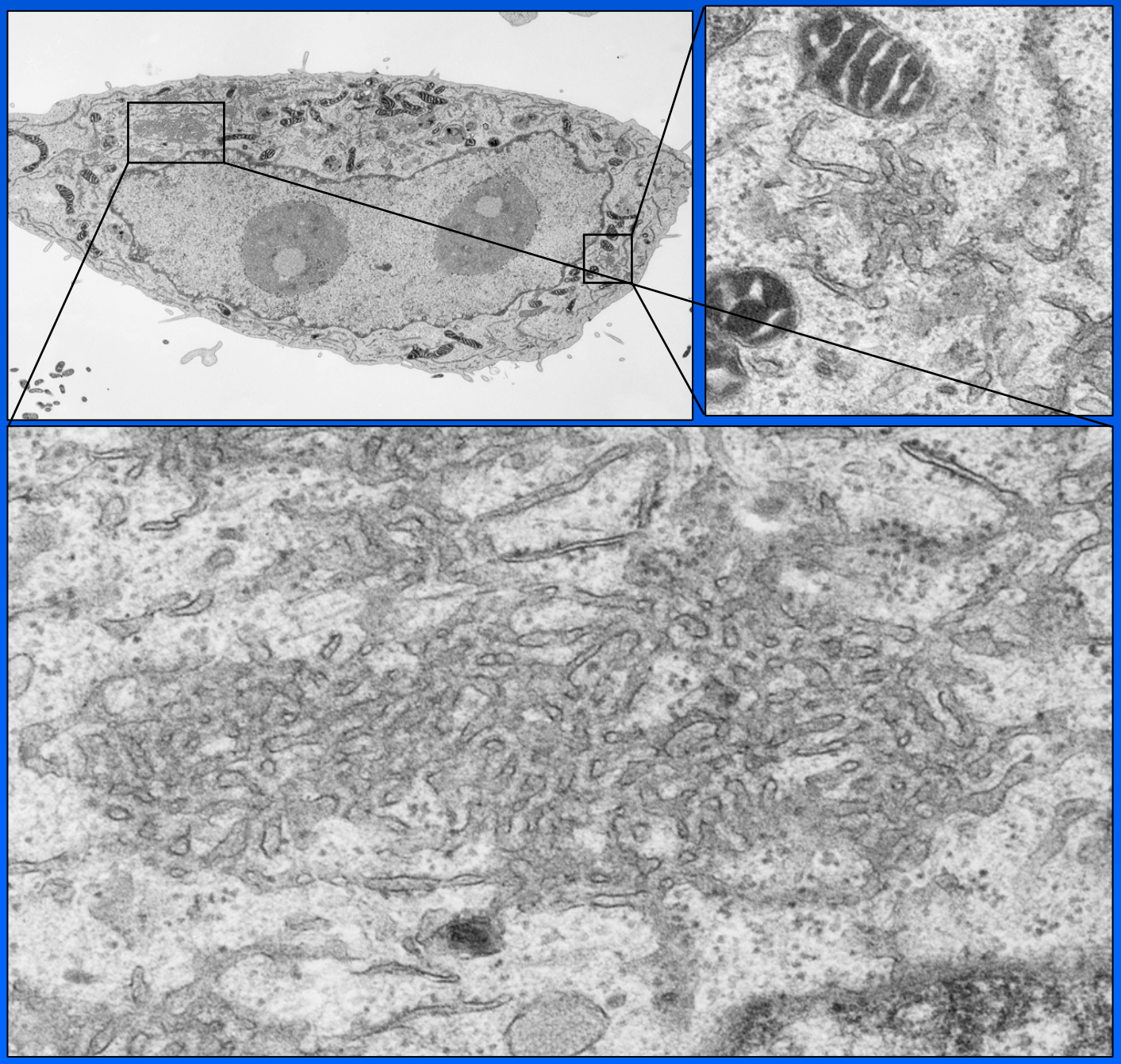
- по-видимому, содержат избыток поринов, не способных встроиться в ядерную оболочку (верно для ооцитов Xenopus, но ложно для эмбрионов Drosophila)

# POM121-содержащие гранулы в цитоплазме

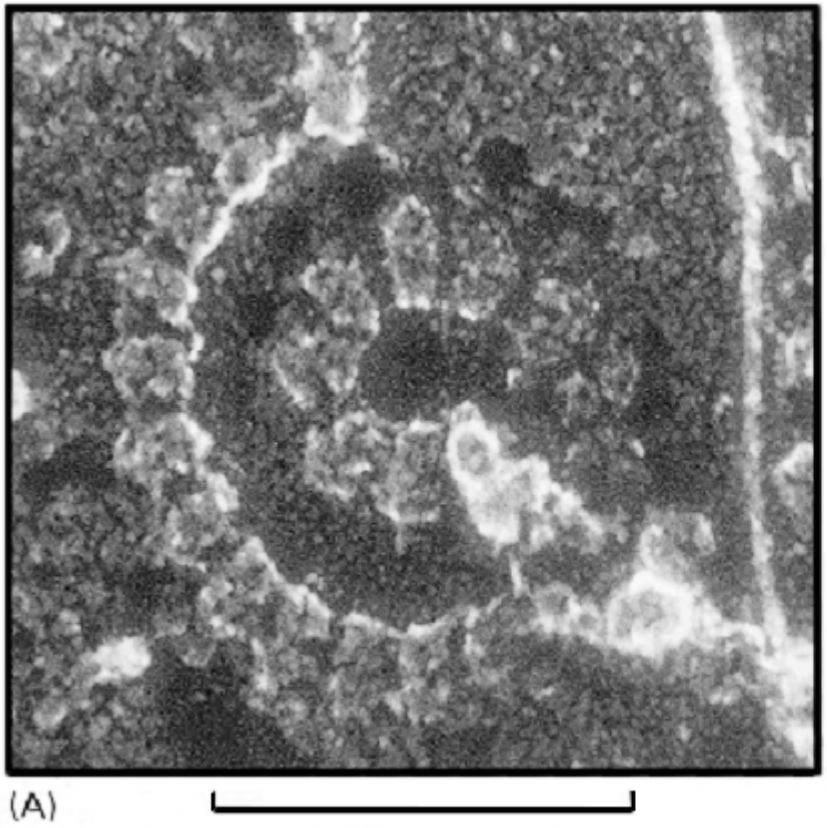




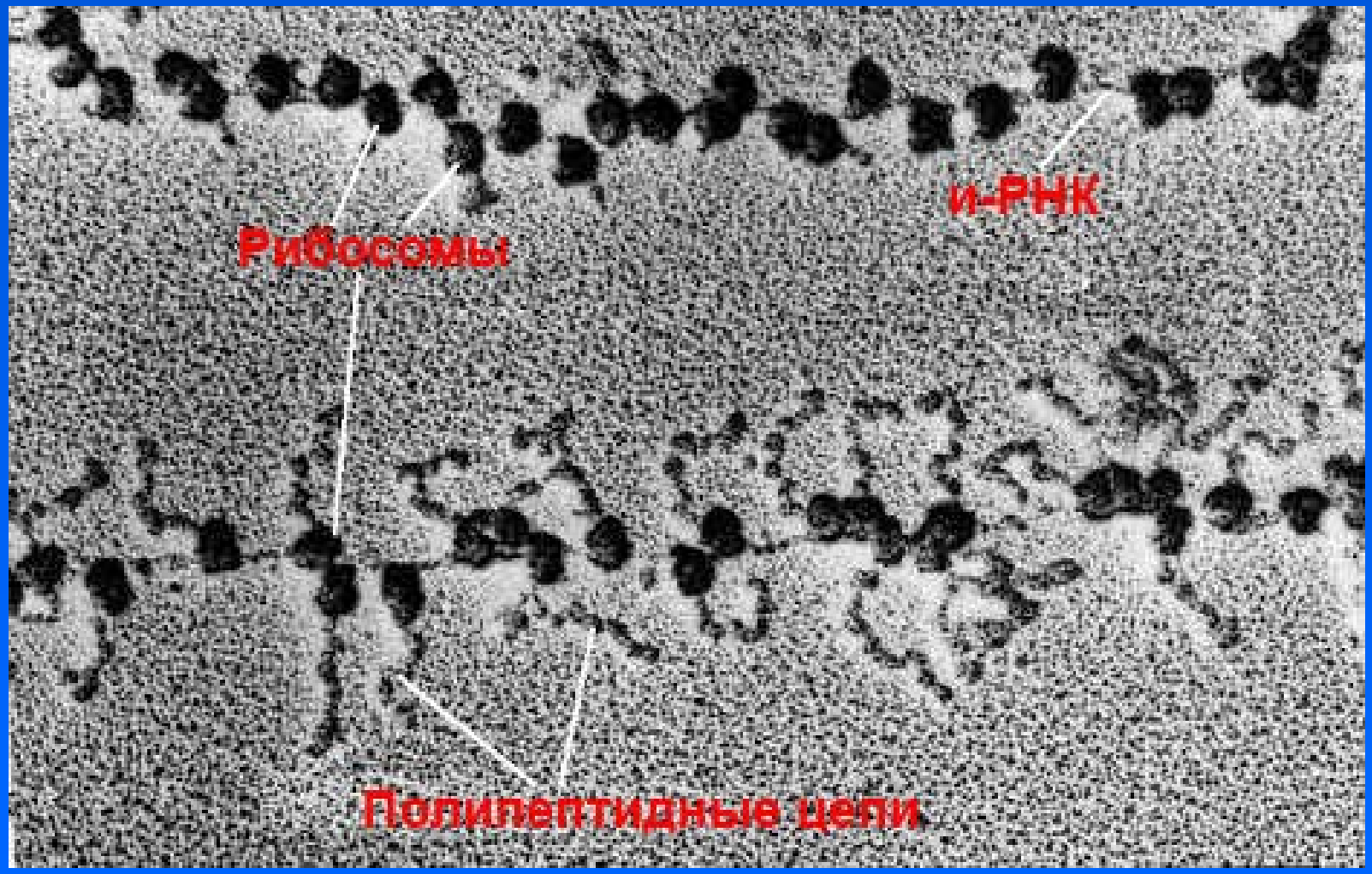




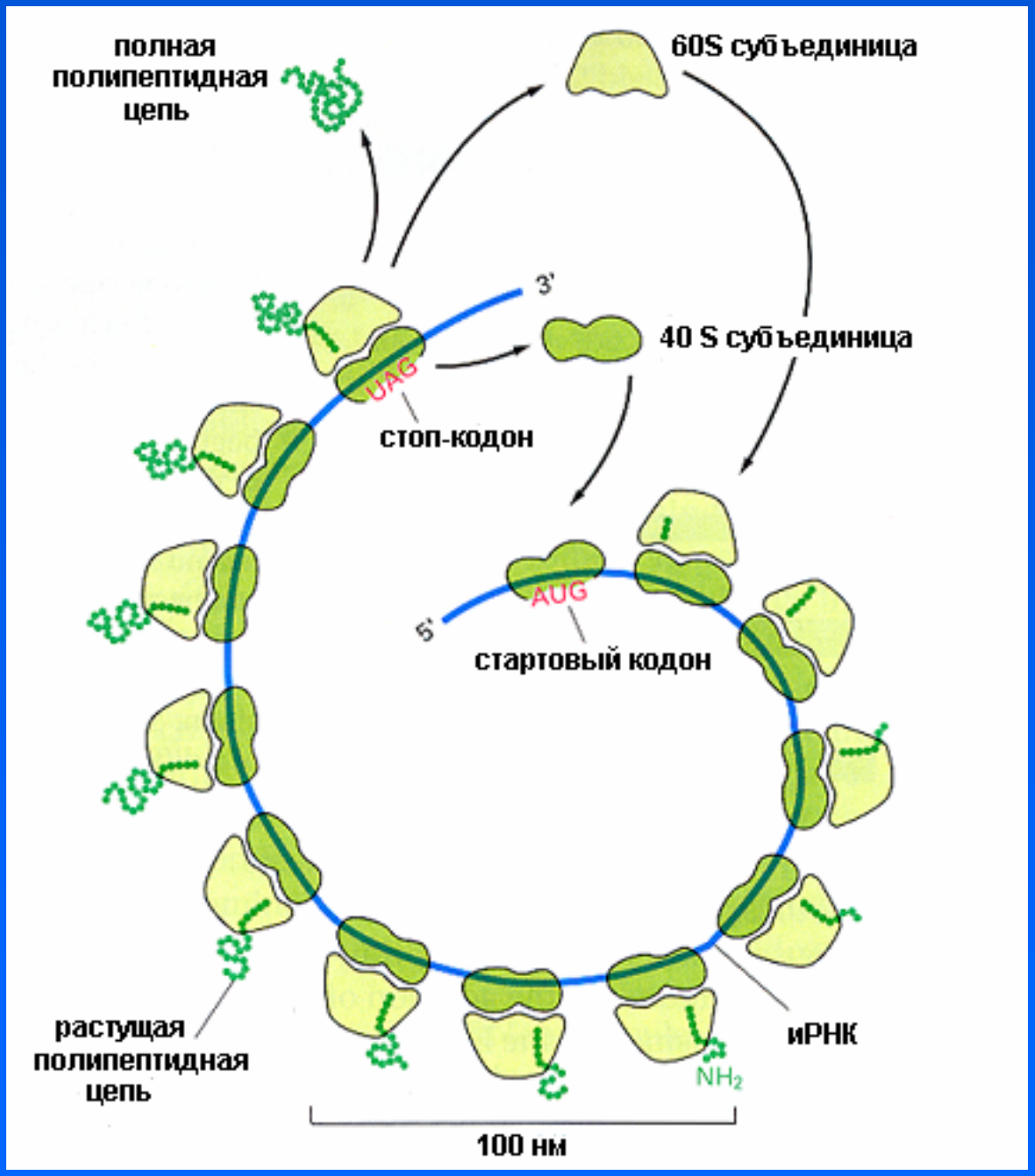
# Полирибосомы и гранулярная эндоплазматическая сеть



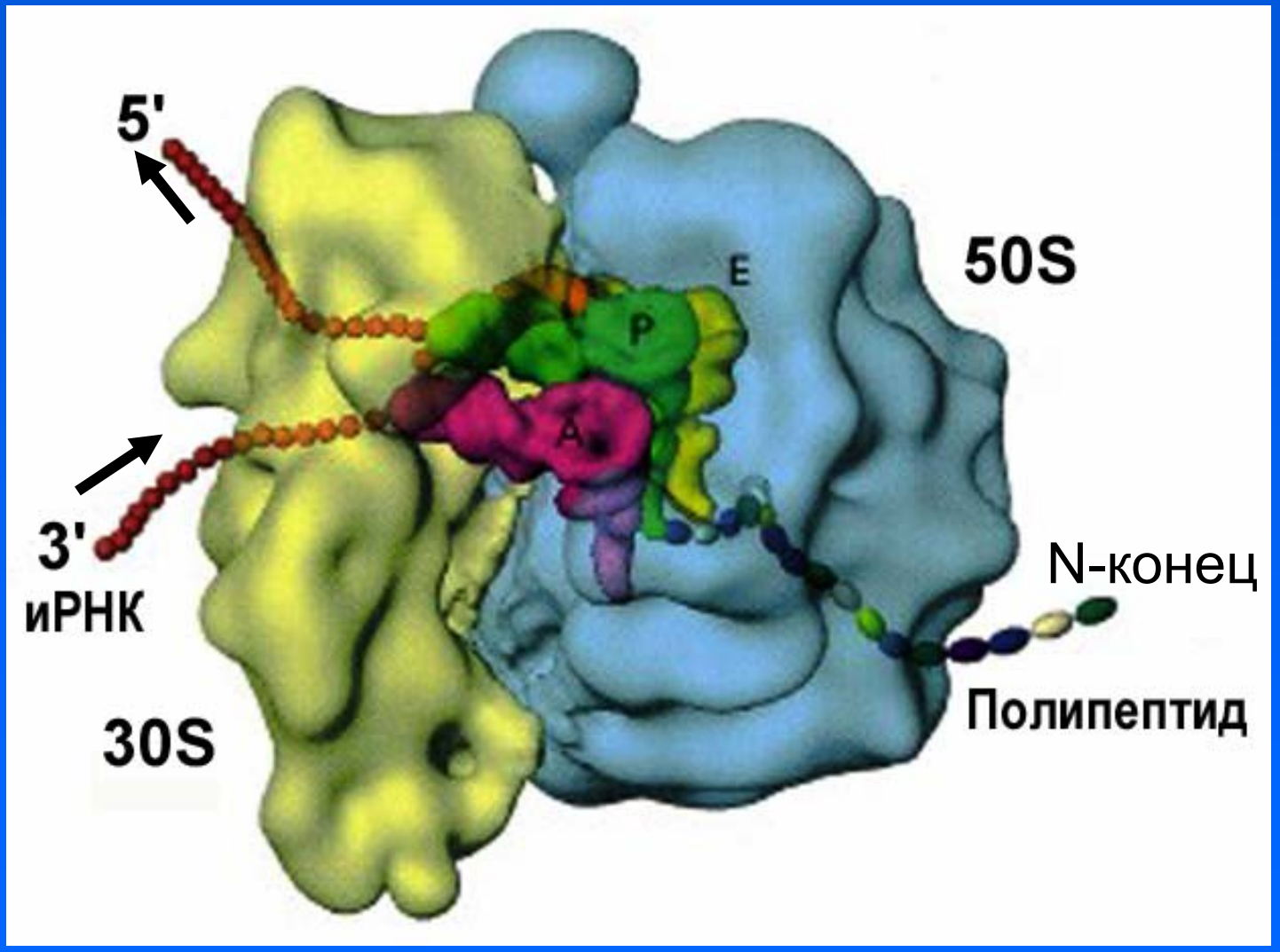
# Визуализация трансляции



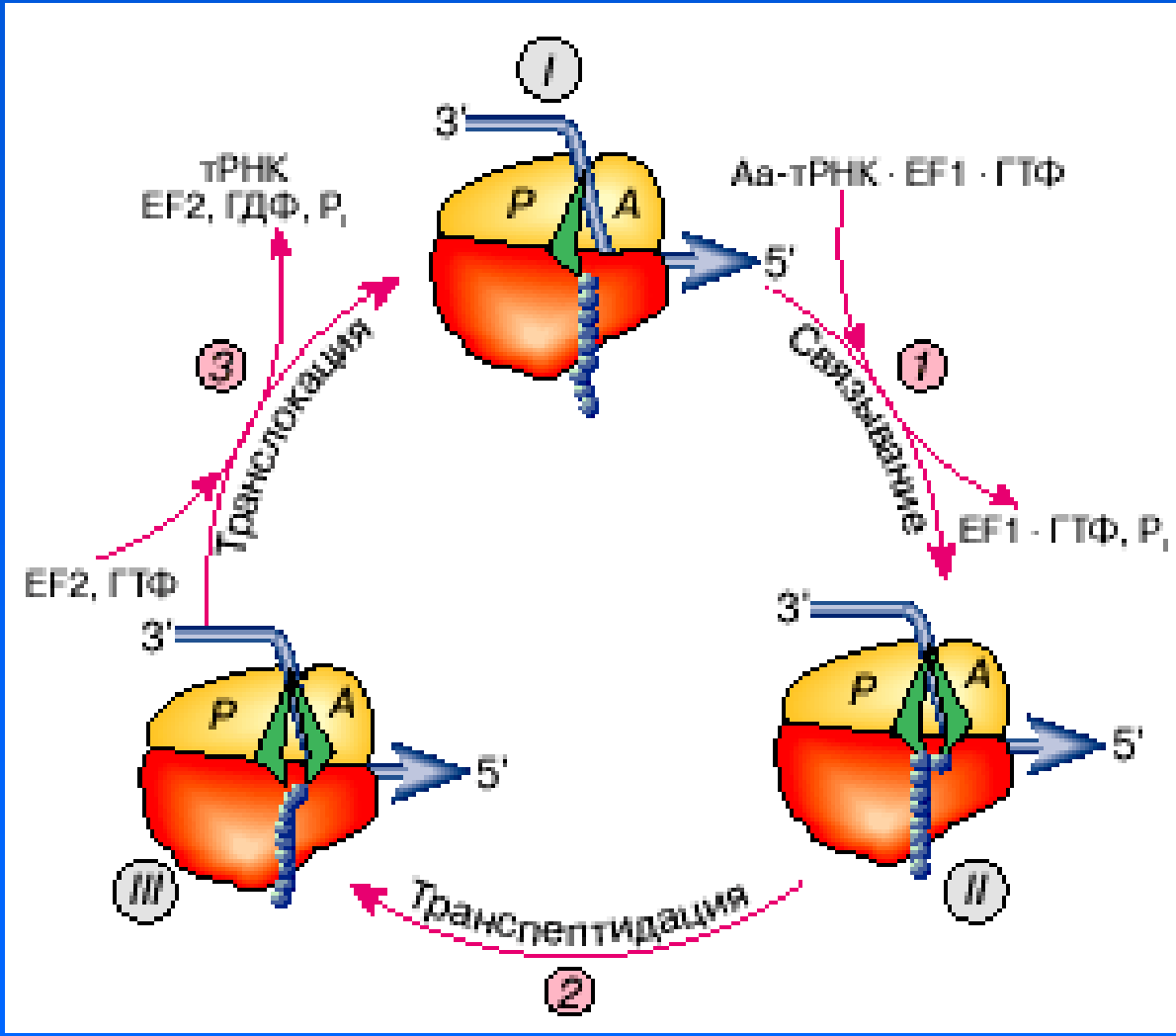
# Биосинтез белка



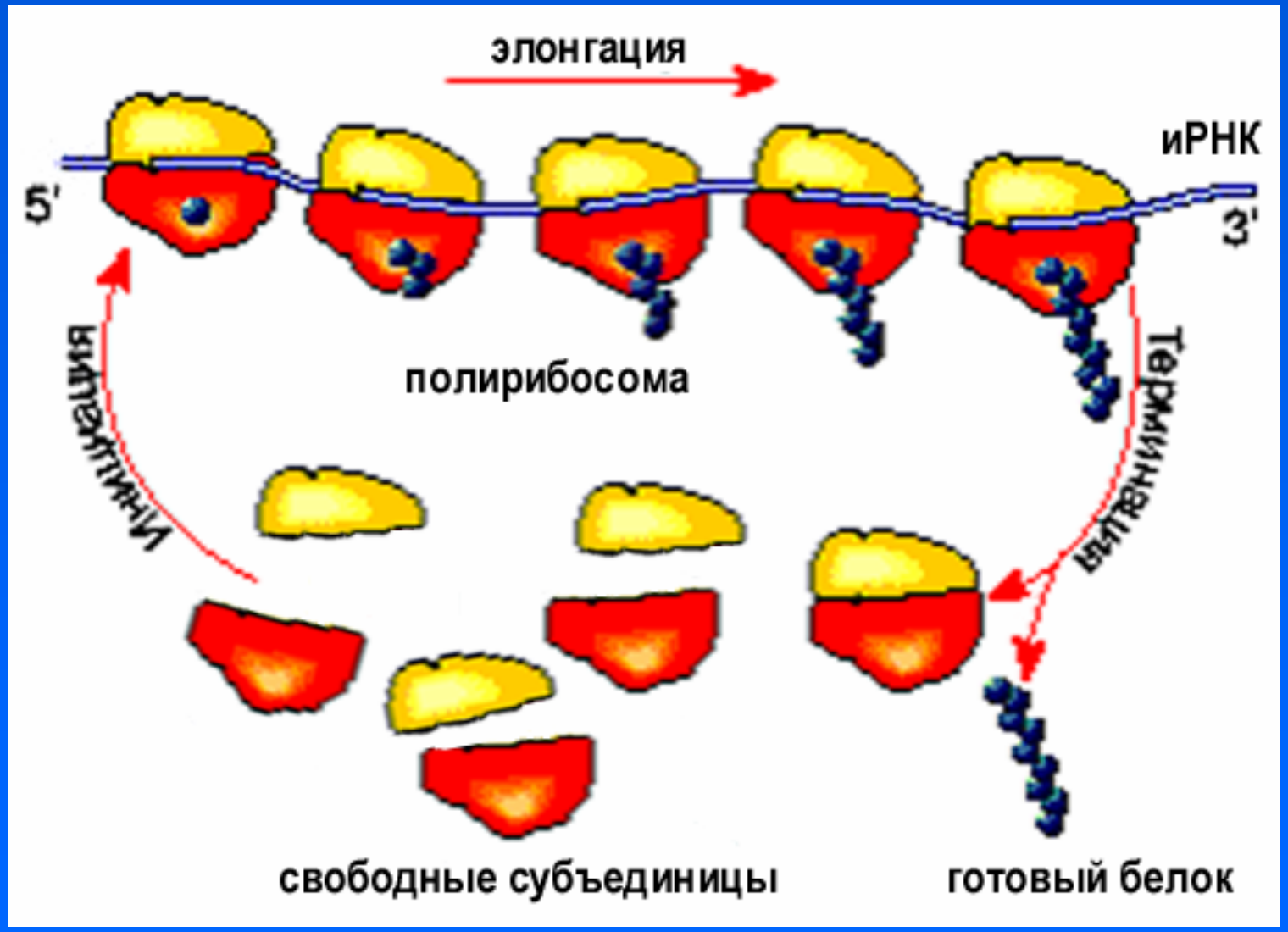
# Синтез белка в рибосоме (модель)



# Цикл работы рибосомы



# Эпицикл рибосомы



# Регуляция трансляции

Дискриминация иРНК – сильное/слабое связывание с факторами инициации и с рибосомой

Маскирование стабильных иРНК (многоклеточные эукариоты)

Блокирование через комплекс с микроРНК

Обратная связь через ингибирование комплекса иРНК/рибосома белком (трансляционная репрессия)

Инактивация факторов инициации (например, фосфорилирование eIF2)

Регуляция скорости трансляции на уровне считывания-коррекции – proofreading

# Этапы регуляции экспрессии генов у эукариот:

На уровне энхансеров – эффект положения

На уровне транскрипции – промоторы, метилирование ДНК

На уровне сплайсинга (альтернативный сплайсинг – удаление различных интронов)

Скорость деградации и-РНК (поли-А)

На уровне связывания и-РНК с рибосомами (интерференция с микро-РНК)

# Сравнение транскрипции и трансляции

Молекулы белков (С-конец – N-конец) и нуклеиновых кислот (5’-конец – 3’-конец) полярны.

5’-конец иРНК соответствует 3’-концу ДНК и N-концу молекулы белка. Синтез белка начинается, как правило, со специальной аминокислоты – N-формилметионина.

В гене первой закодирована С-концевая (последняя) аминокислота соответствующего белка.