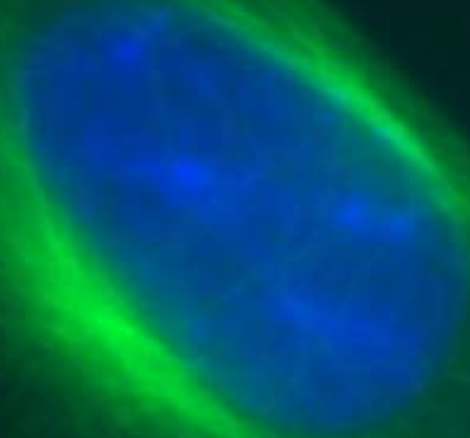


第十二章 细胞核



THE CELL NUCLEUS

- 1781年 Trontana发现于鱼类细胞；
- 1831年，Brown发现于植物。
- 大小：植物1~4 μm ，动物10 μm 。正常细胞核质比NP \approx 0.5，分裂期细胞NP $>$ 0.5，衰老细胞NP $<$ 0.5。

$$NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$$

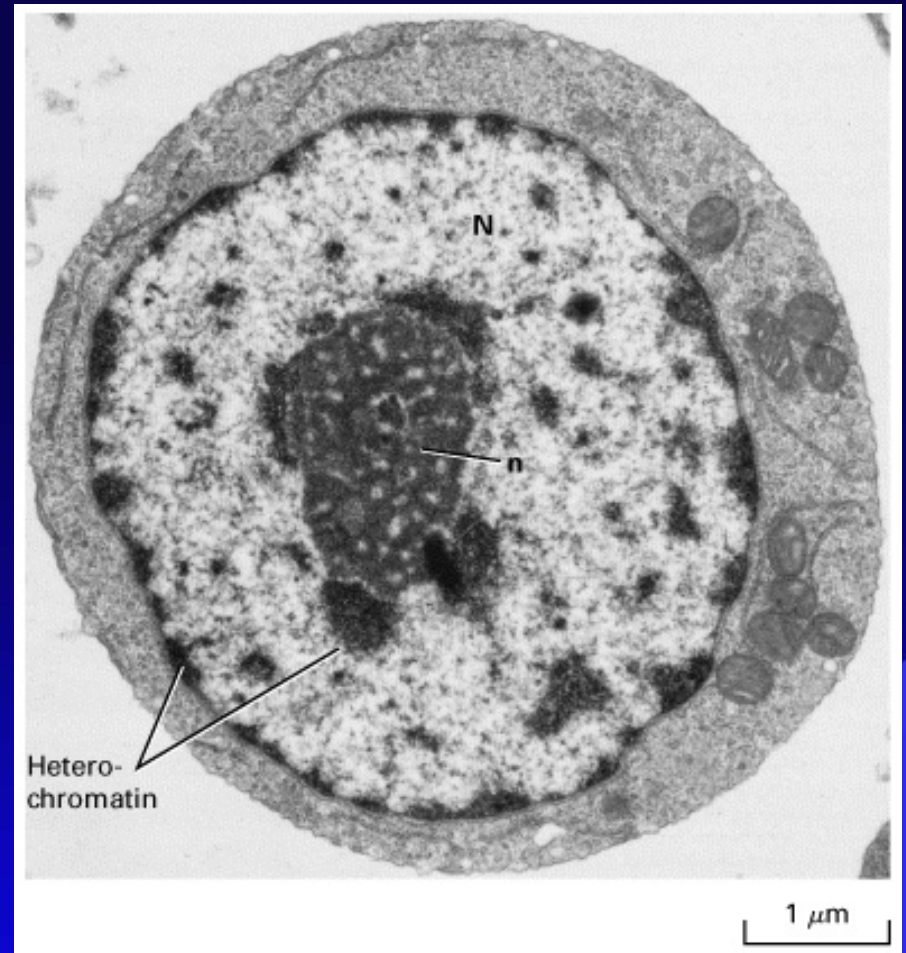


- 形状：圆形，胚乳(网状)、蝶类丝腺(分支状)。
- 位置：细胞中央，成熟植物细胞的边缘。
- 数目：通常一个，成熟的筛管和哺乳动物红细胞(0)、肝细胞、心肌细胞(1-2)、破骨细胞(6~50)、骨骼肌细胞(数百)、植物毡绒层细胞(2~4)。



结构：①核被膜、②核仁、③核基质、④染色质、⑤核纤层。

功能：①遗传、②发育。



Nucleus structure





<http://www.cella.cn>

第一节 核被膜

Nuclear envelope



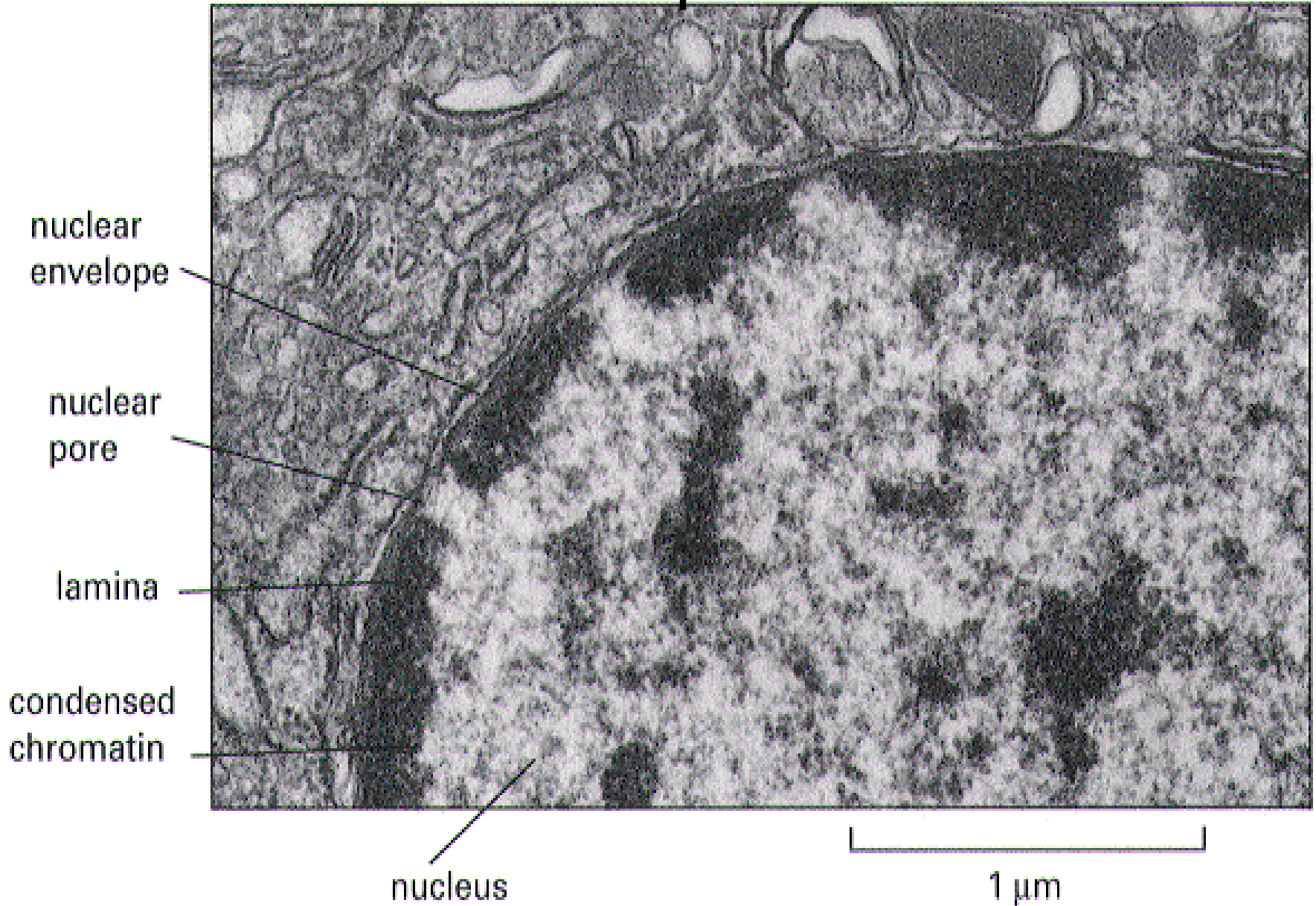
Dr Tian 2008

一、核被膜是双层膜结构

- 外核膜：来源于内质网，附有核糖体。
- 核周隙：宽20~40nm，与ER腔相通。
- 核纤层：内核膜内表面的纤维网络，支持核膜，并与染色质、核骨架相连。



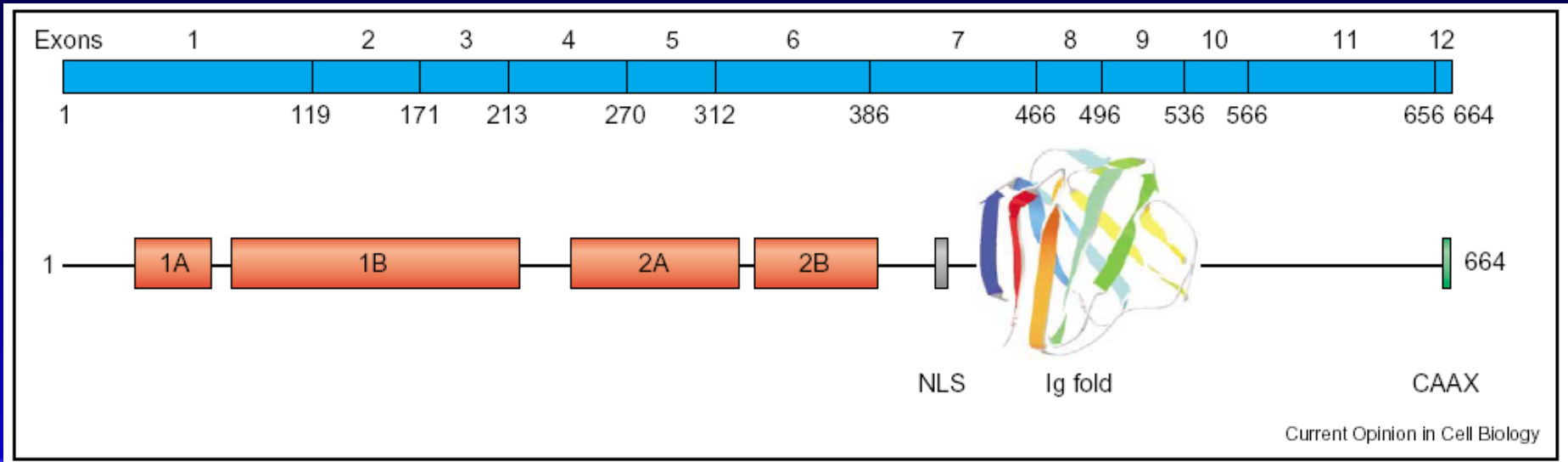
The nuclear envelope



- 核纤层由核纤肽构成，属IF，分A、B两型。
- 作用：
 - 1. 保持核的形态：
 - 2. 参与染色质和核的组装：M期核纤层被磷酸化，核膜解体。B型核纤肽与核膜残余小泡结合，A型溶于胞质。分裂末期，核纤肽去磷酸化重新组装，介导核膜重建。

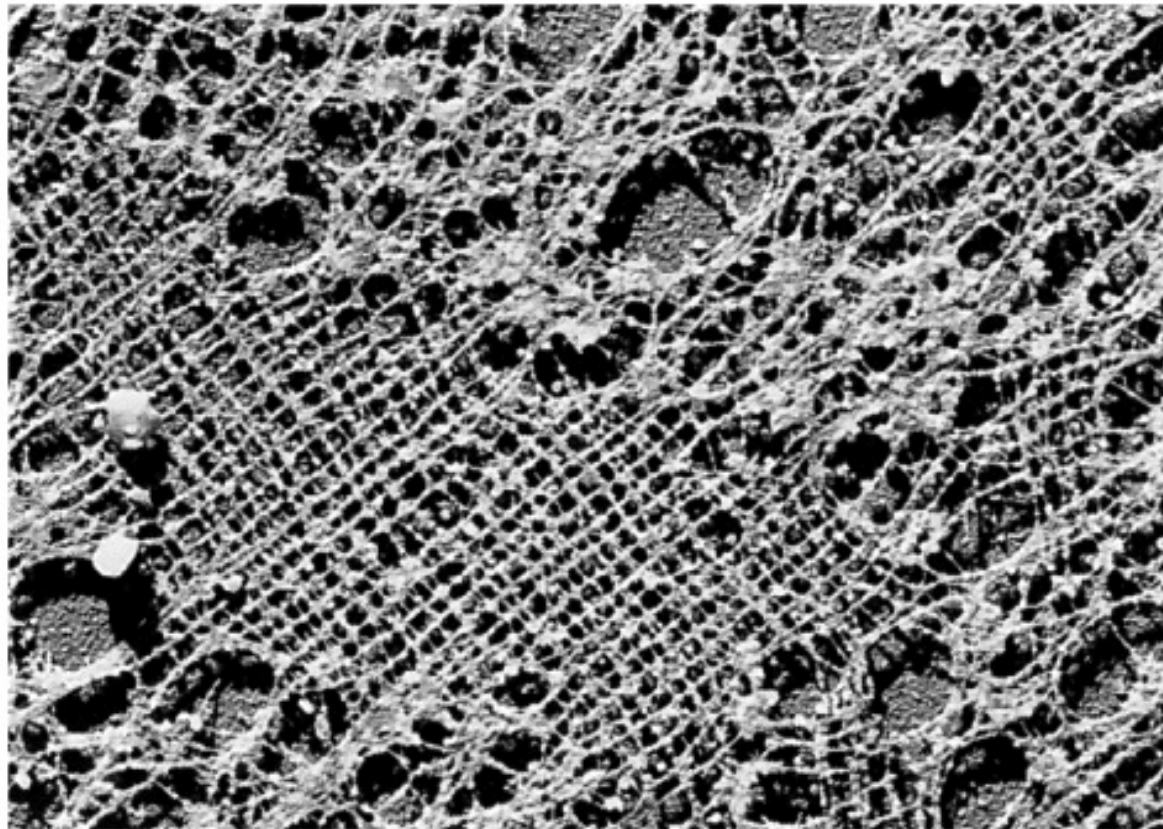


The structure of laminin

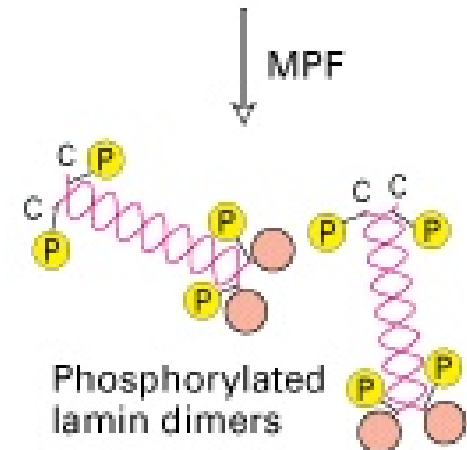
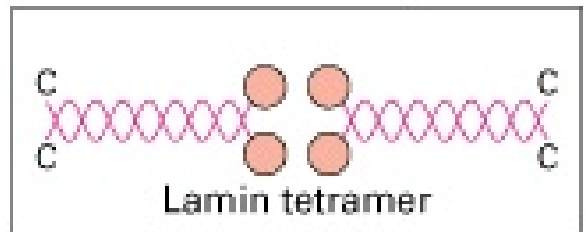
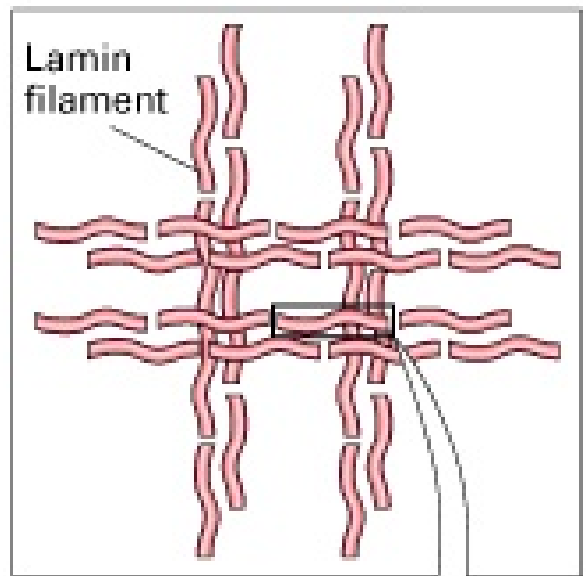


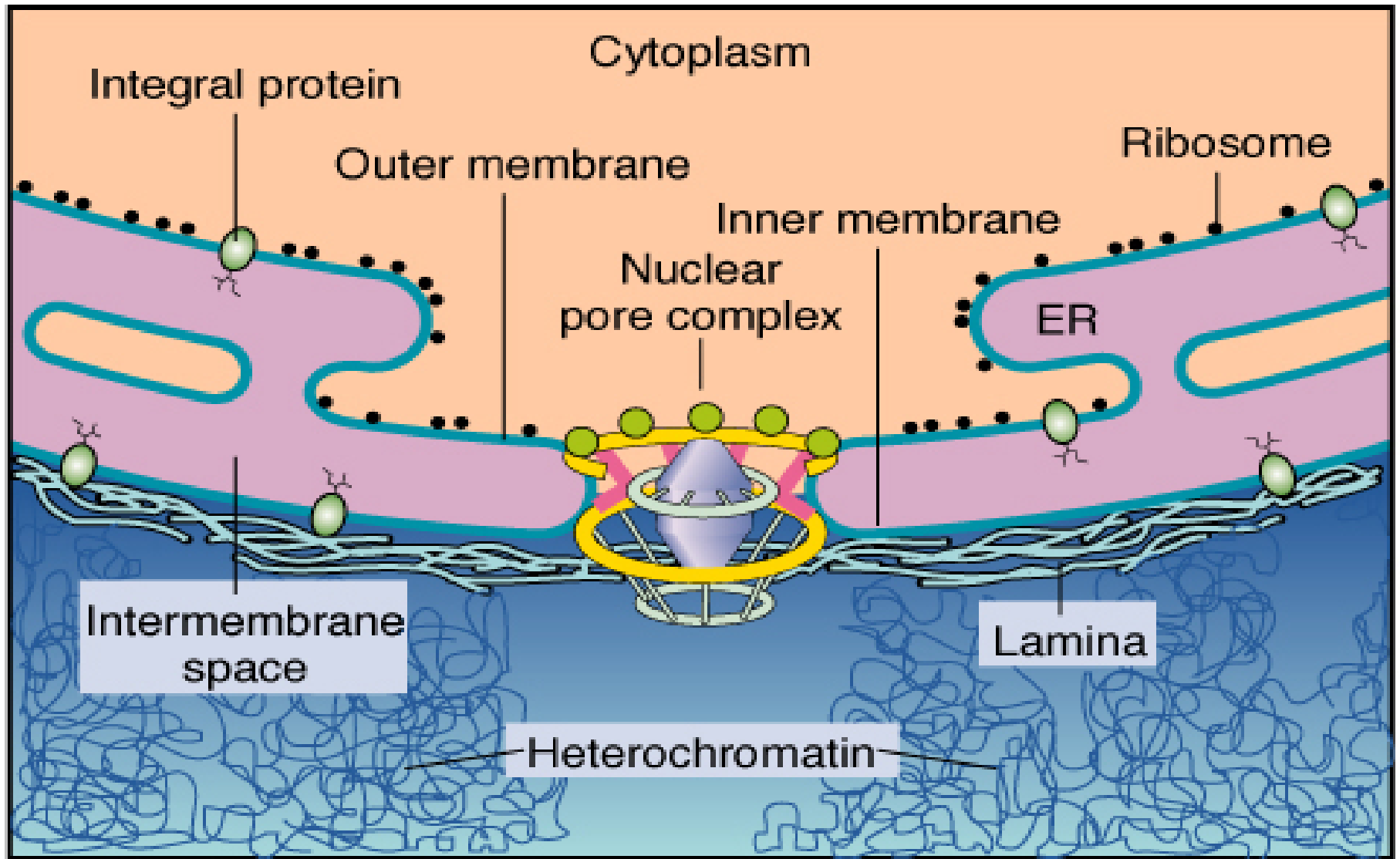
Lamins

(a)



1 μm





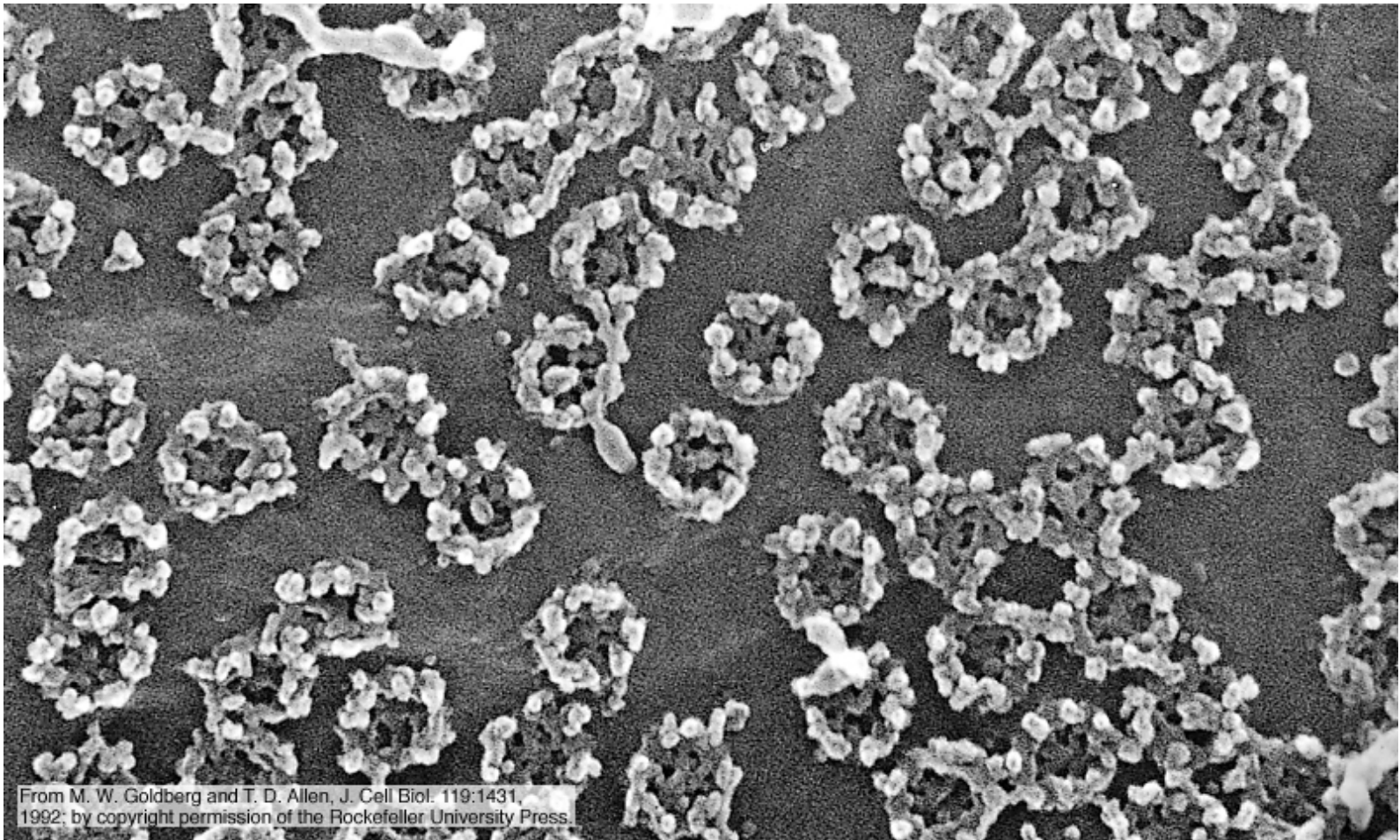
(a)

二、核孔是物质运输的通道

- 由至少50种不同的pr构成，称为核孔复合体（nuclear pore complex, NPC）。
- 一般哺乳动物细胞约3000个核孔。
- 电镜下观察核孔呈圆形或八角形，一般认为其结构如fish-trap。

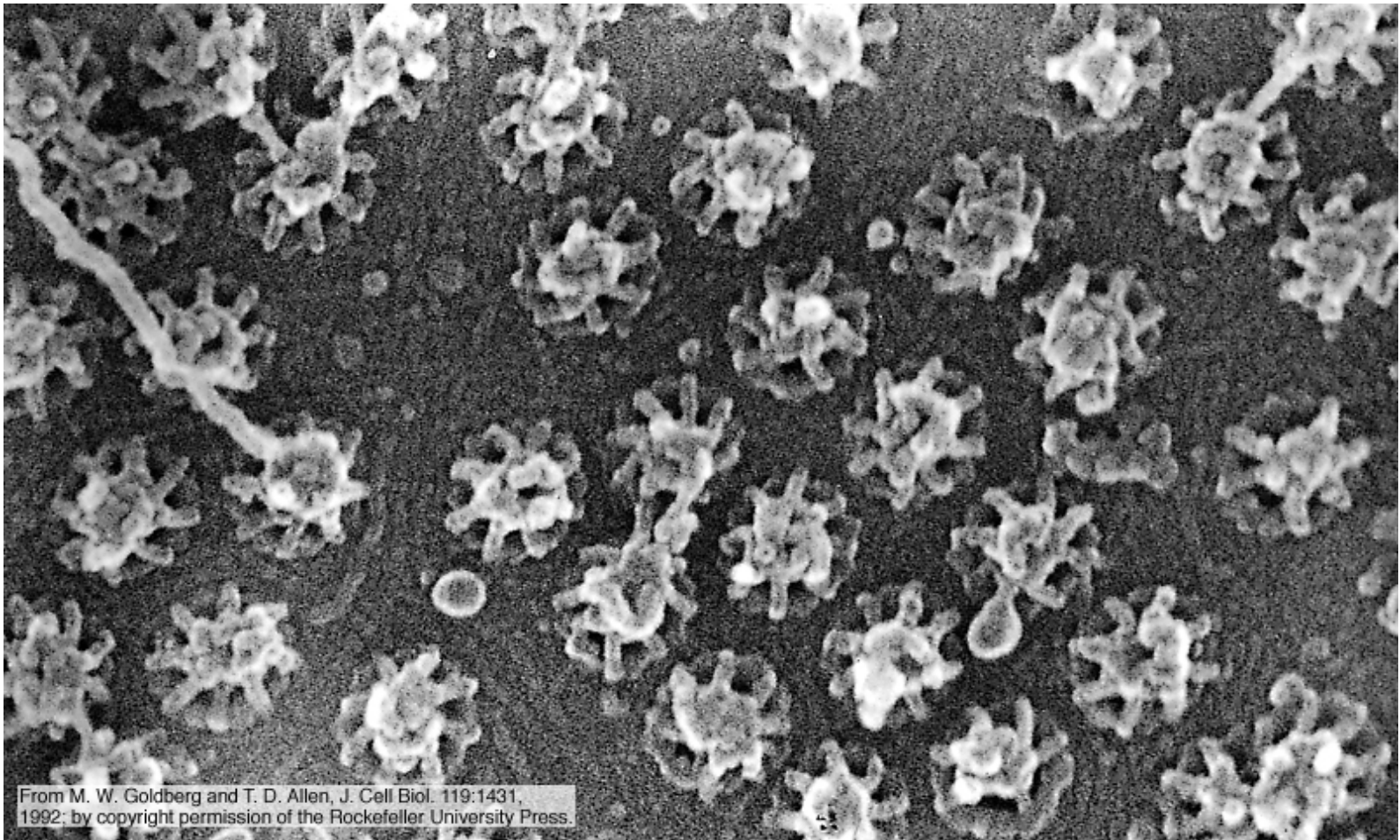


Cytoplasmic face cytoplasmic particles



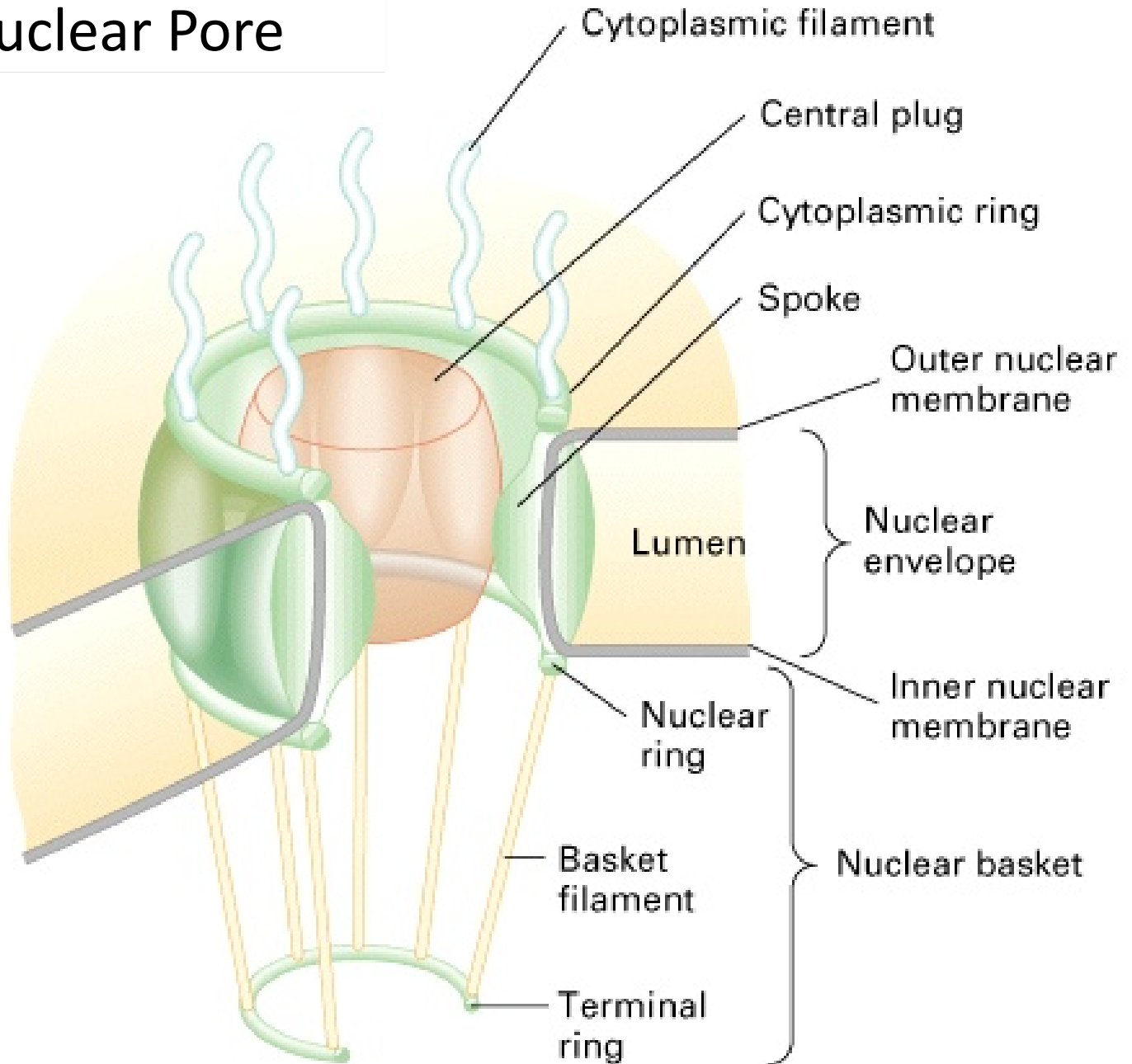
From M. W. Goldberg and T. D. Allen, *J. Cell Biol.* 119:1431, 1992; by copyright permission of the Rockefeller University Press.

Nuclear face basket inner complex



From M. W. Goldberg and T. D. Allen, *J. Cell Biol.* 119:1431, 1992; by copyright permission of the Rockefeller University Press.

The Nuclear Pore



三、通过核孔的物质运输与信号序列有关

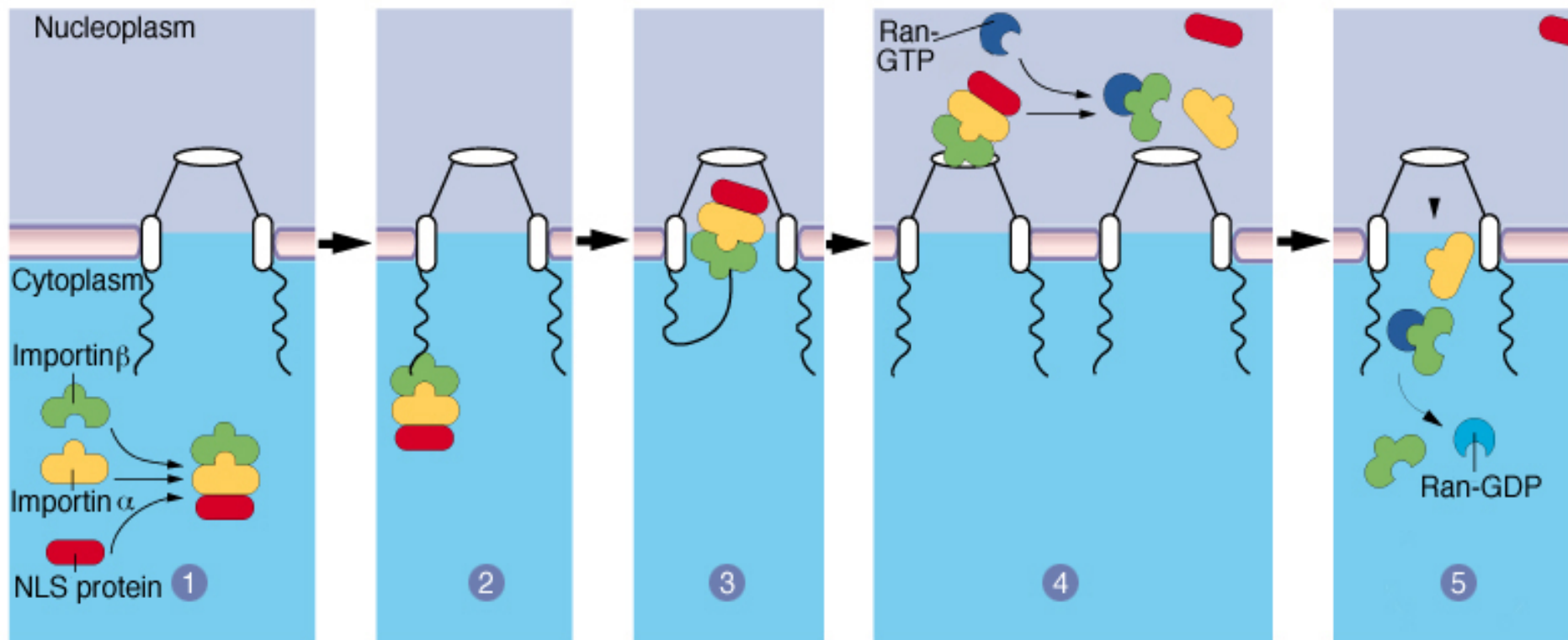
- 核定位信号（NLS）：引导蛋白进入细胞核，受体为importin，4-8个氨基酸组成，含Pro、Lys和Arg。完成核输入后不被切除。
- 第一个被确定的NLS是病毒SV40的T抗原，其NLS为：
- Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val



- 核输出信号（NES），引导RNP输出细胞核，受体为exportin。
- Ran蛋白，属G蛋白，调节货物复合体的解体或形成。
- 蛋白输入过程参见下图：

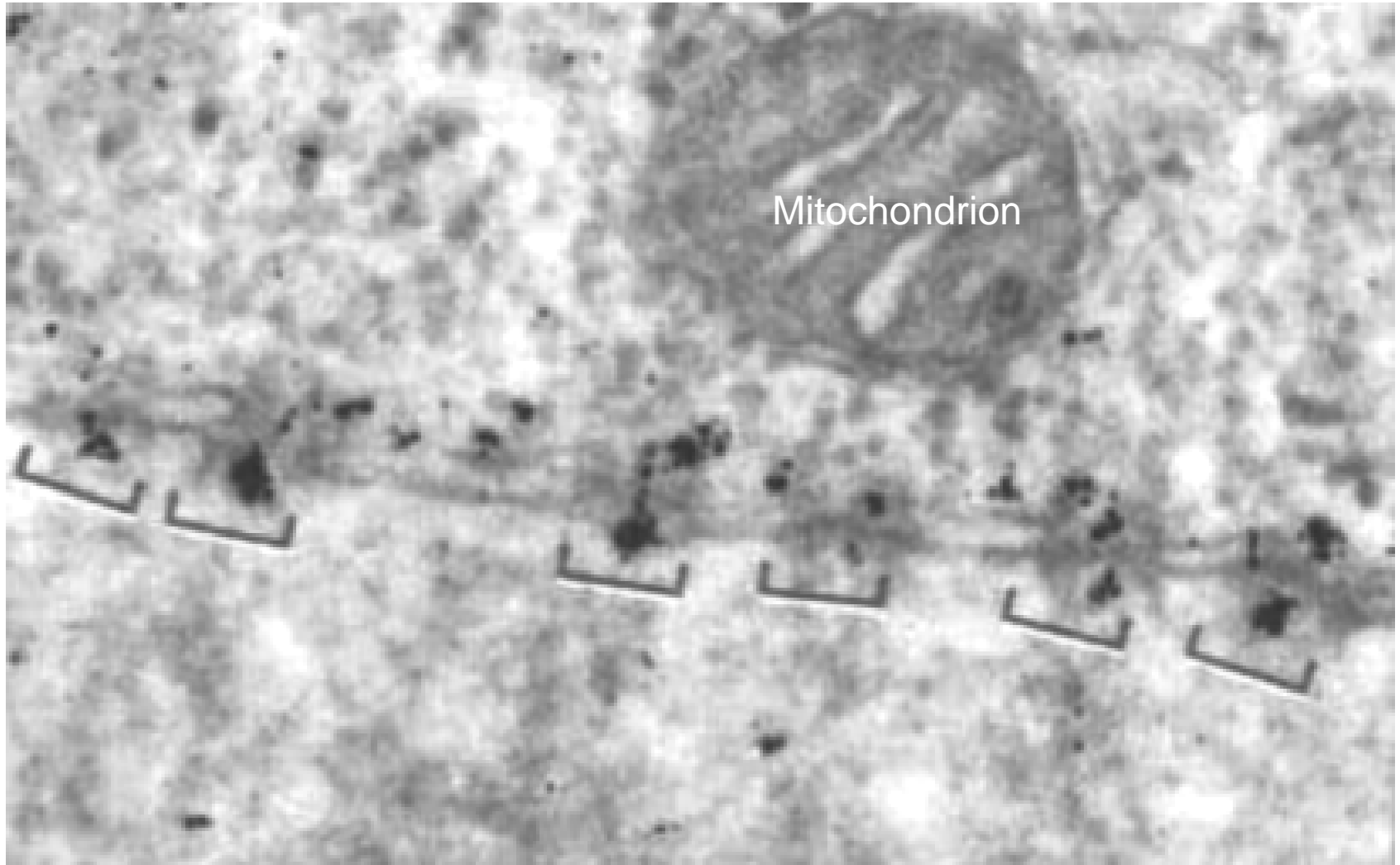


Process of Nuclear Import



(a)

Colloidal gold labeled Nucleoplasmin were transported into nucleus.



第二节 染色体

- 1848年，Hofmeister发现于鸭跖草的小孢子母细胞。
- 1879年，Flemming提出Chromatin。
- 1888年，Waldeyer提出Chromosome。



一、染色质的化学组成

- 组成：DNA、组蛋白、非组蛋白、少量RNA。
- 比例：1:1:(1-1.5):0.05。



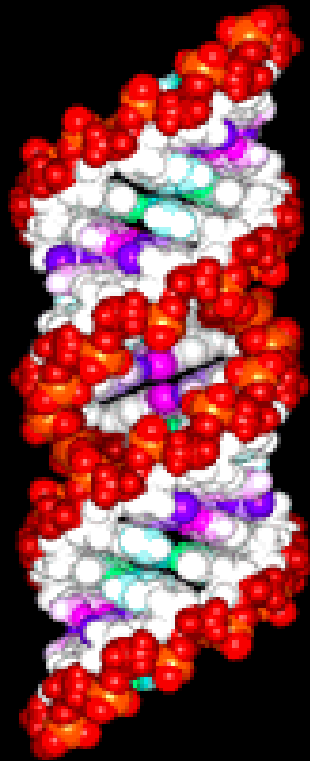
(一) DNA

- 3种序列：①单一序列；②中度重复序列（ $10^1 \sim 5$ ）；③高度重复序列（ $>10^5$ ）。
- 3种构像：①B-DNA、②Z-DNA、③A-DNA。
- 3种基本元素：①自主复制序列(ARS)；②着丝粒序列(CEN)；③端粒序列(TEL)。
- YAC 与BAC：含上述3种成分，用于转基因。

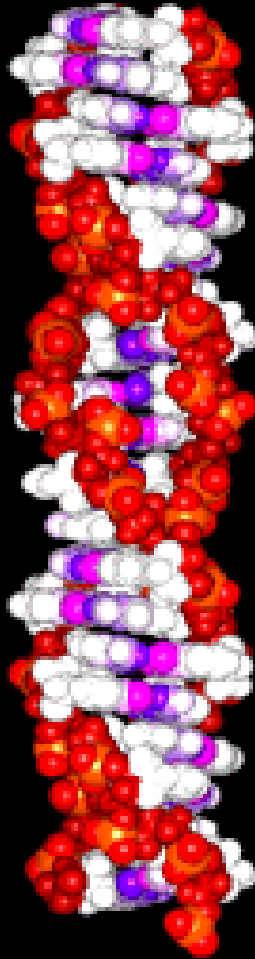


THREE DNA CONFORMATIONS

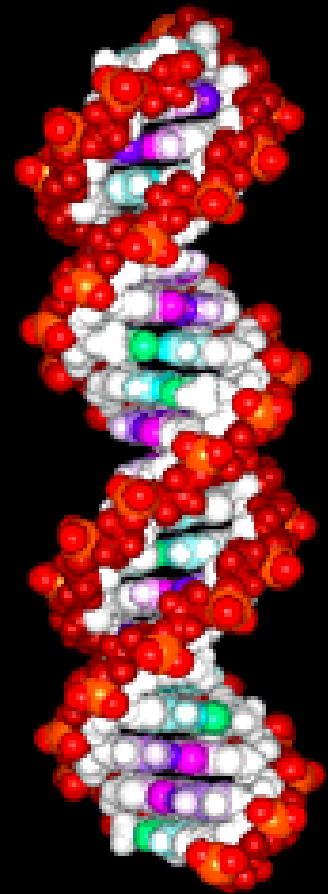
A-DNA



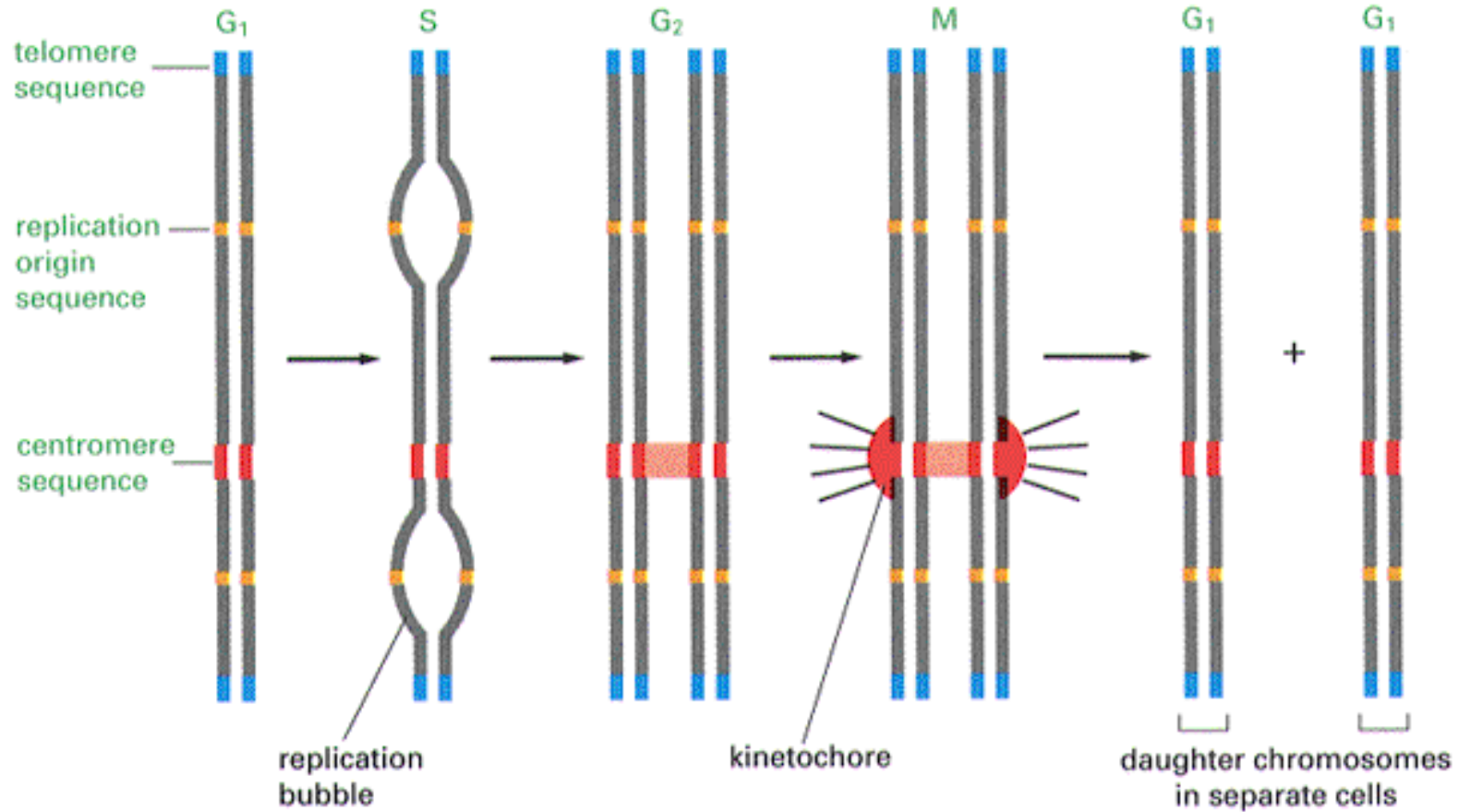
Z-DNA



B-DNA



THREE KEY REGIONS OF A CHROMOSOME



(二) 组蛋白

- 带正电荷，含Arg，Lys，属碱性蛋白，共5种，分为：
 - 核心组蛋白（core histone）：H2A、H2B、H3、H4；
 - 连接组蛋白（linker histone）：H1。



- 结构：高度保守，尤其是H4。
 - 核心组蛋白由球形部和尾部构成，球形部借Arg与磷酸二脂骨架间的静电作用使DNA分子缠绕在组蛋白核心上，形成核小体，尾部含有大量Arg和Lys，为转译后修饰的部位。
- H1多样性，具有属和组织特异性。



(三) 非组蛋白

- 序列特异性DNA结合蛋白。特性：
 - 带负电，属酸性蛋白。
 - 整个细胞周期都合成，组蛋白只在S期合成。
 - 能识别特异DNA序列，结合籍氢键和离子键。
- 功能：帮助DNA折叠、复制；调节基因表达。

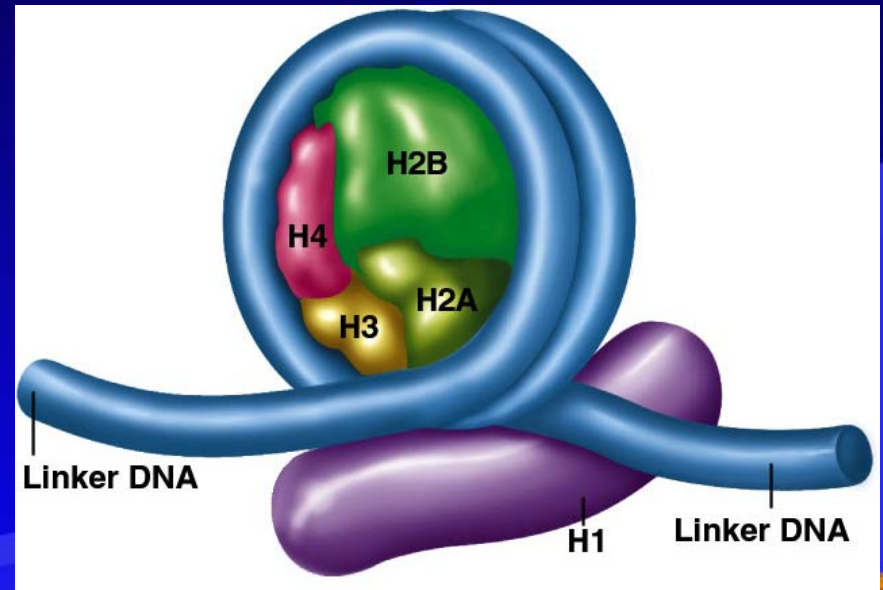


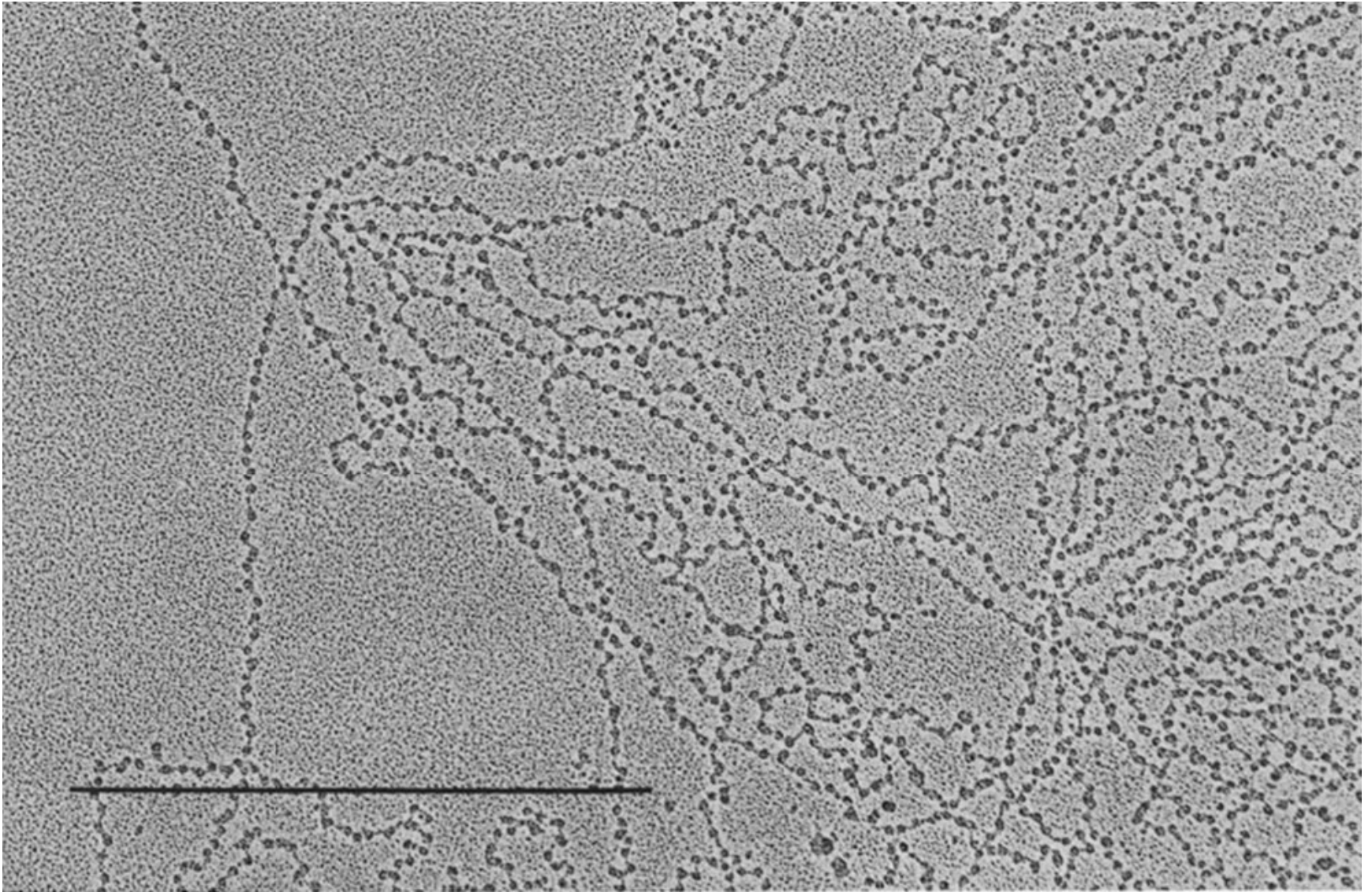
二、从DNA到染色体

- 核小体（nucleosome）：一种串珠状结构，由核心颗粒和连结线DNA两部分组成，通过酶消化实验建立。
- 核小体单位包括约200bp的DNA、一个组蛋白核心和一个H1。



- ①由H2A、H2B、H3、H4各两分子形成八聚体，构成核心颗粒；
- ②DNA分子以左手螺旋缠绕在核心颗粒表面，每圈80bp，共1.75圈，约146bp，两端被H1锁合；
- ③相邻核心颗粒之间为一段60bp的连接线DNA。

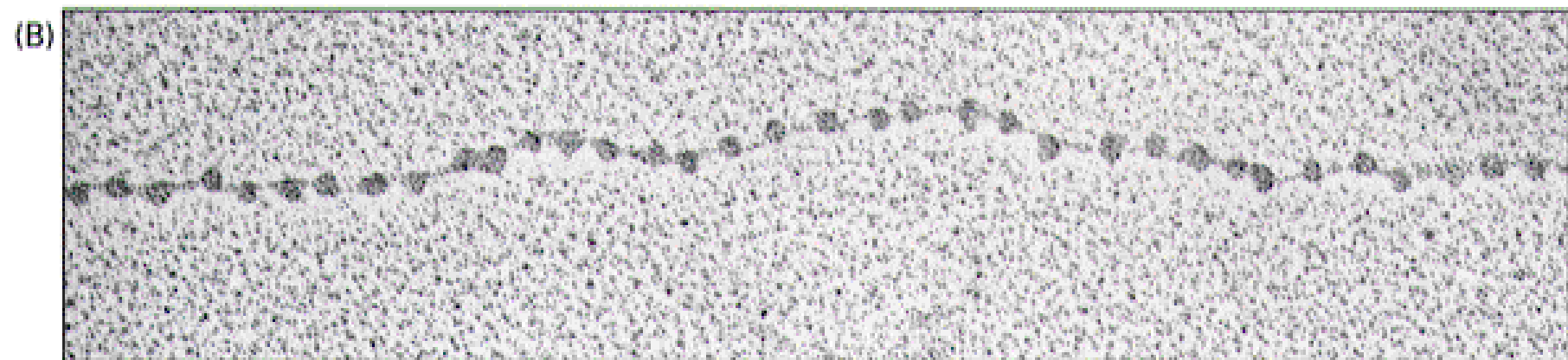
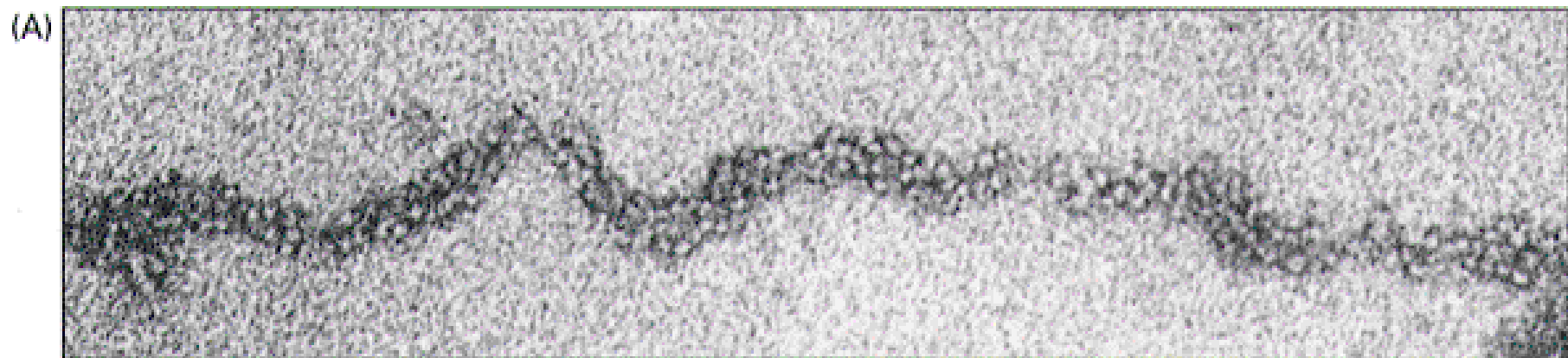




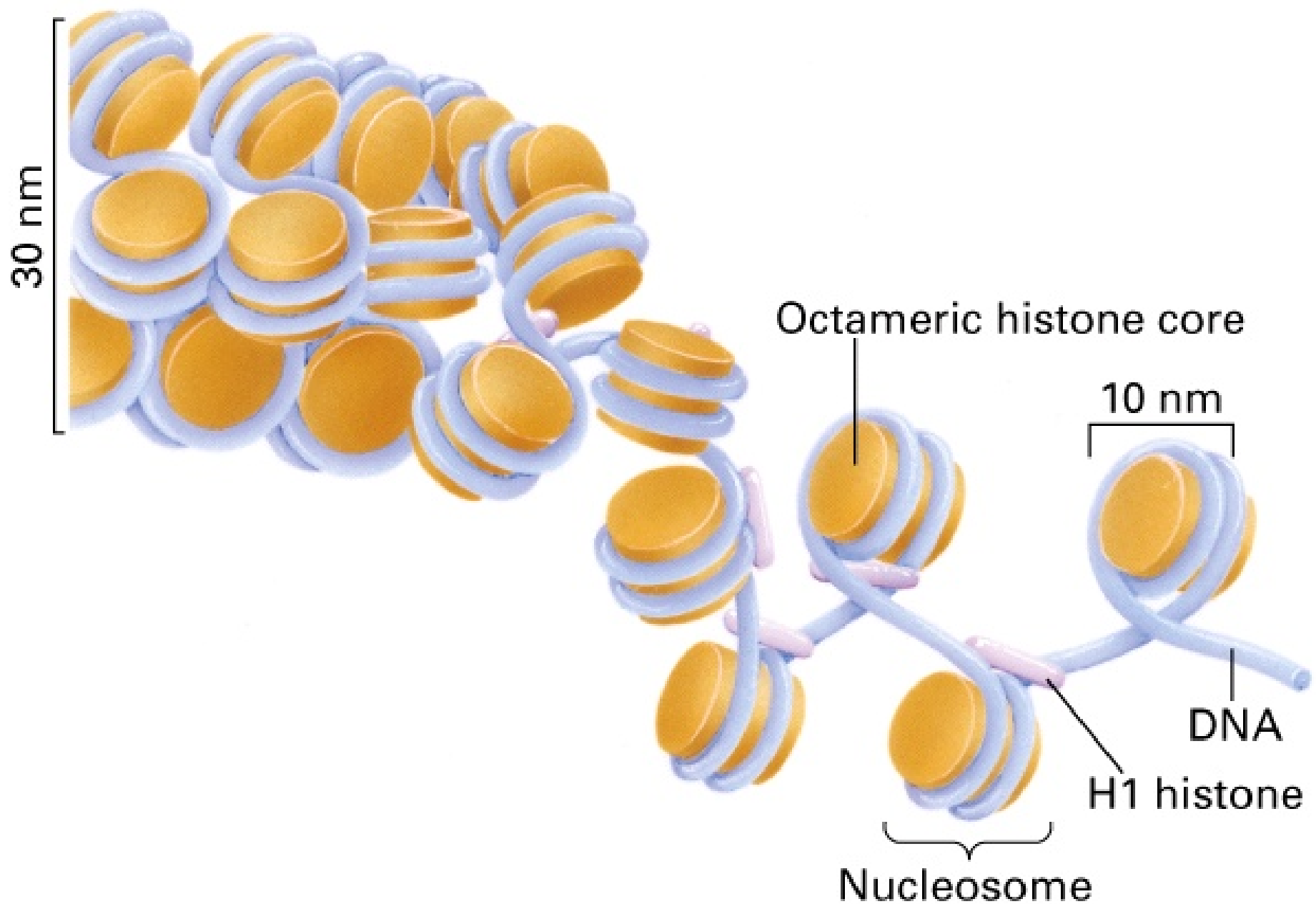
在低盐亲水介质中展开的染色质，示串珠状的核小体（JA, Gall 1981）

- 通过核小体长度压缩7倍，形成11nm纤维。
- 电镜下观察用温和方法分离的染色质是直径30nm的纤维，有两种解释：①由核小体螺旋化形成，每6个核小体绕一圈，长度压缩6倍；②由核小体纤维Z字形折叠而成，长度压缩40倍。





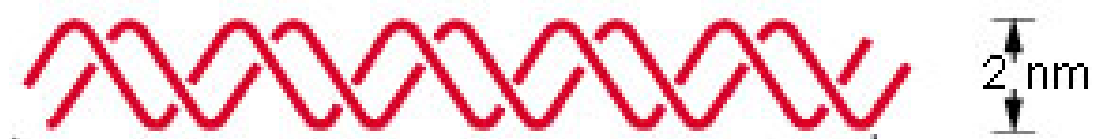
50 nm



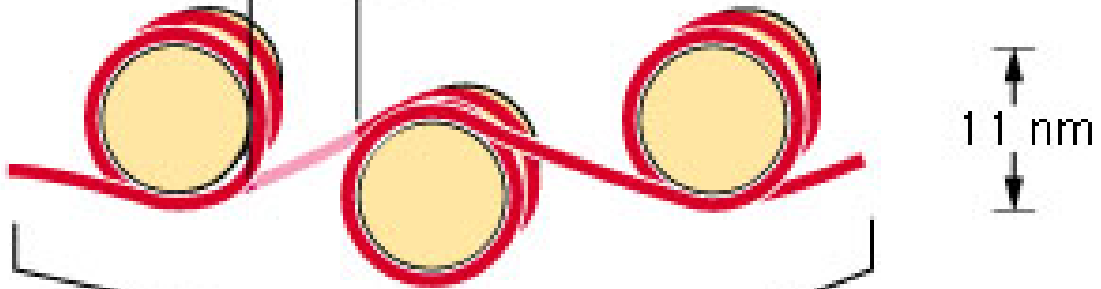
- 对更高级染色体包装方式，至今尚不明确。
- 目前多认为30nm的纤维折叠为一系列的环（loop）结合在核骨架上（或称染色体骨架），结合点是富含AT的区域。



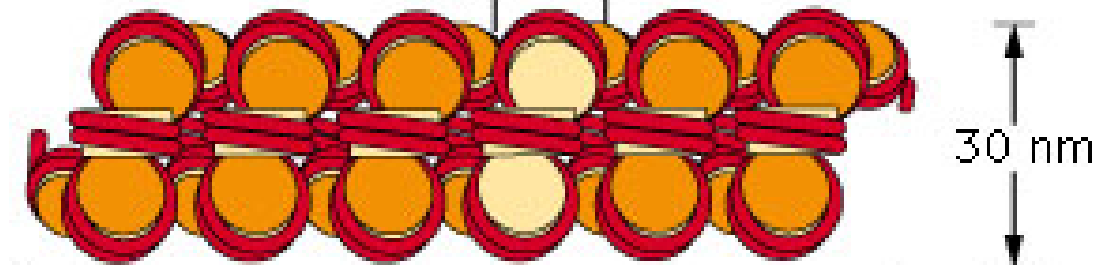
short region of
DNA double helix



"beads-on-a-string"
form of chromatin



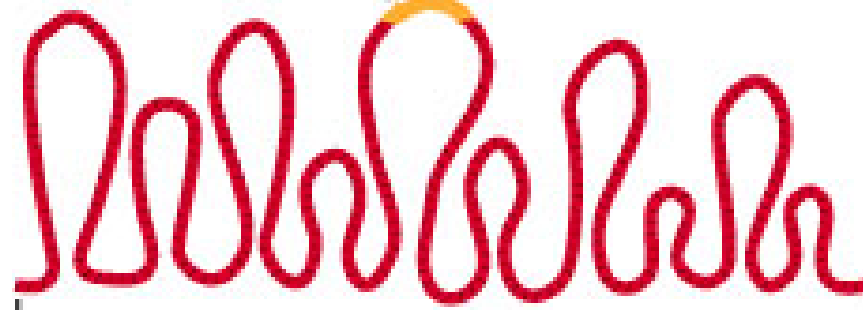
30-nm chromatin
fiber of packed
nucleosomes



section of
chromosome in an
extended form

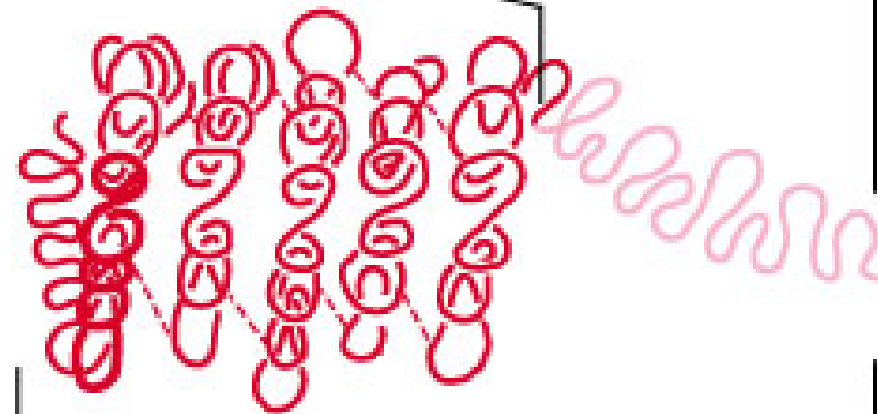


section of
chromosome in an
extended form



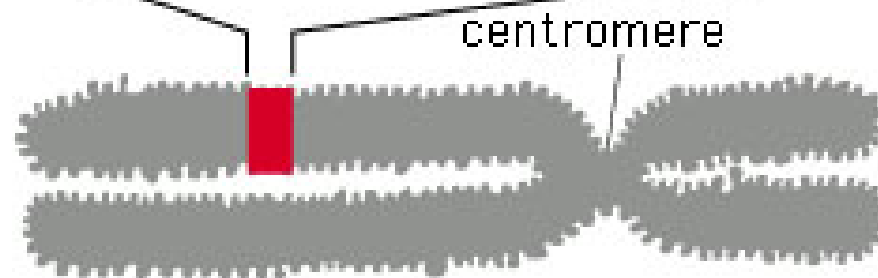
300 nm

condensed section
of chromosome



700 nm

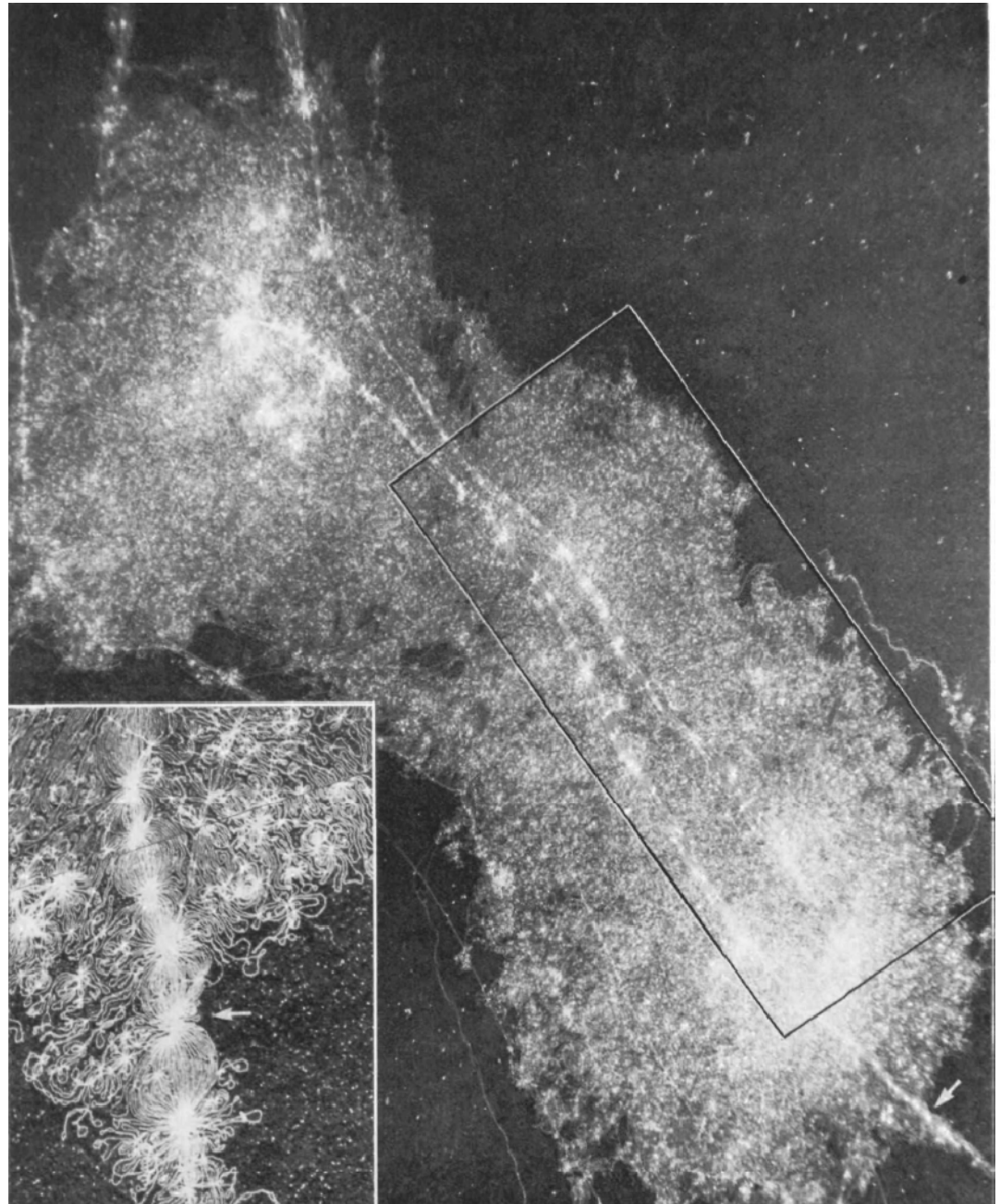
entire
mitotic
chromosome



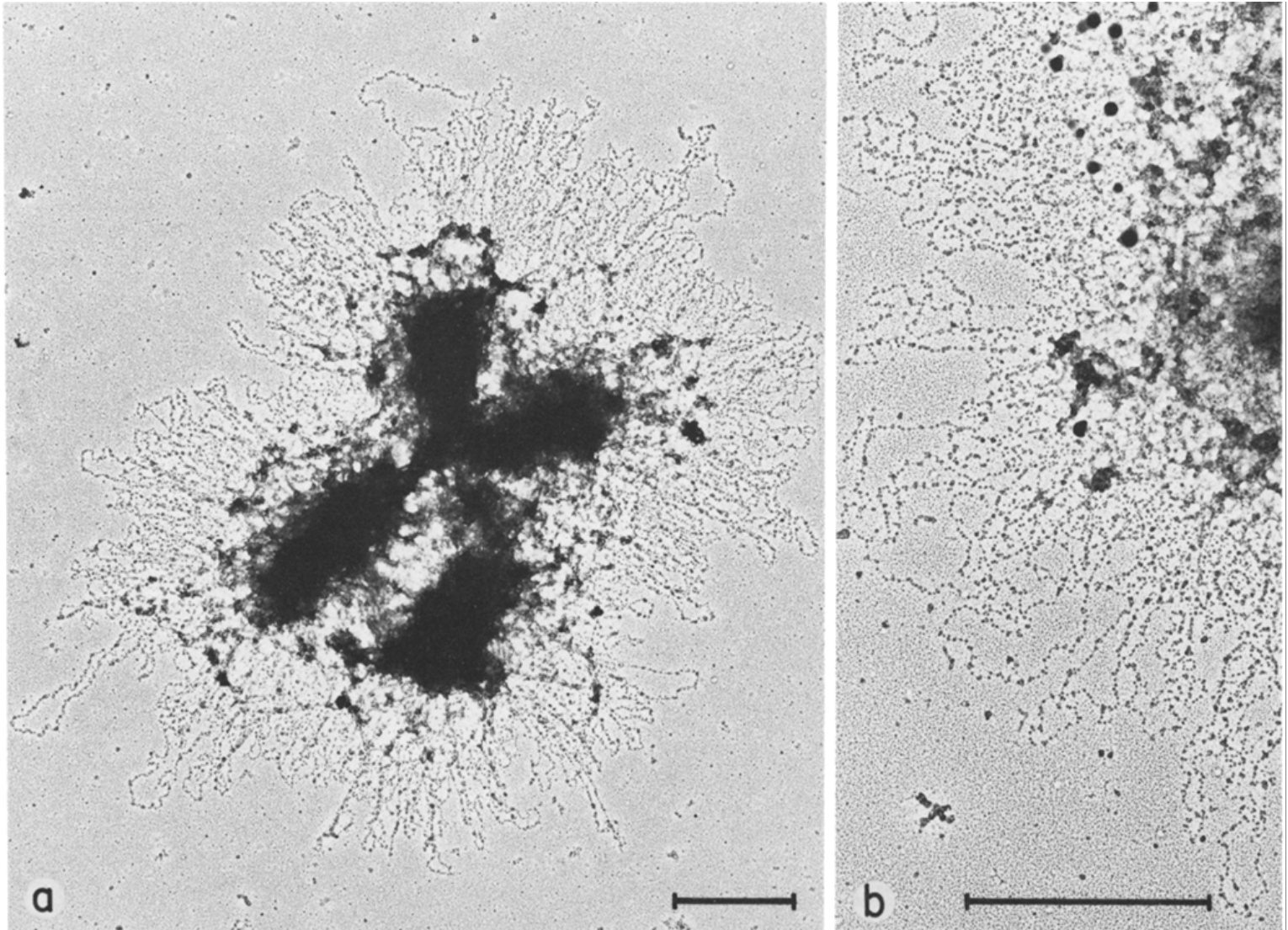
centromere

1400 nm

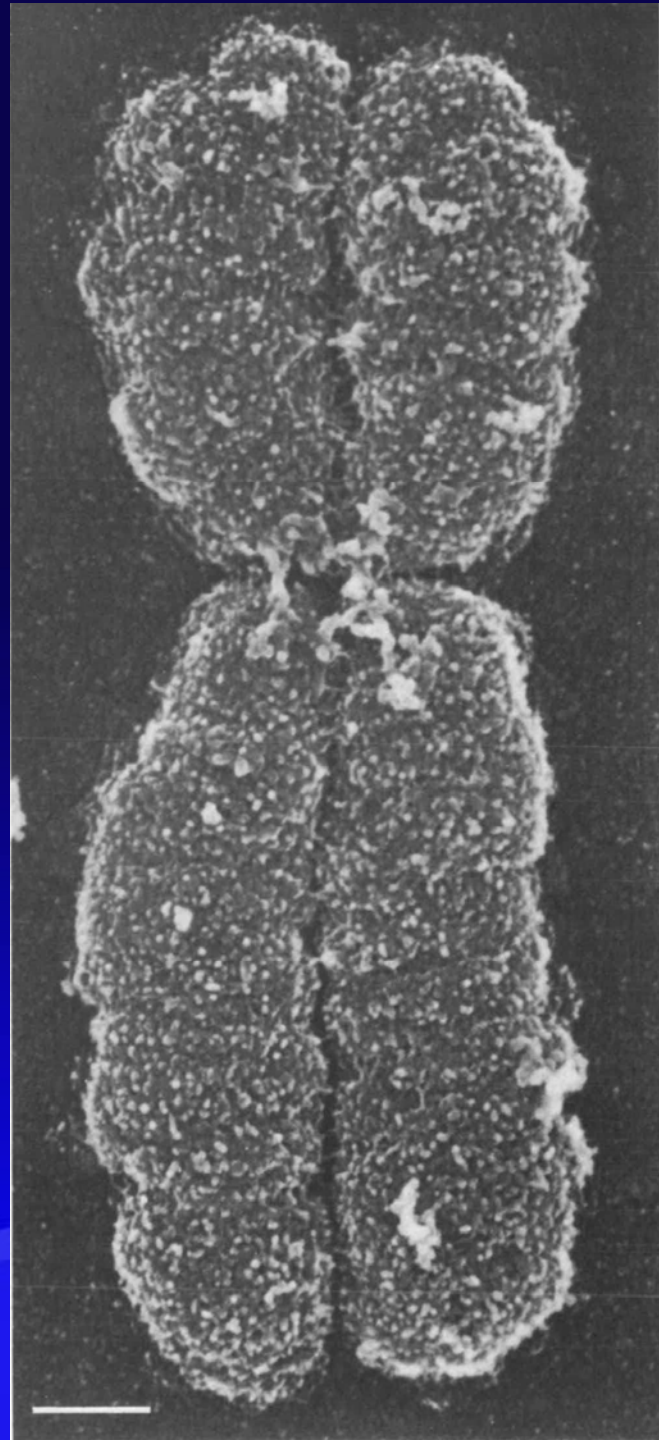
Nucleoid
spread with 2
long axes
made up of
bundles of
fibres



Radial loops of chromatin in undisrupted chromosomes



human chromosome 2



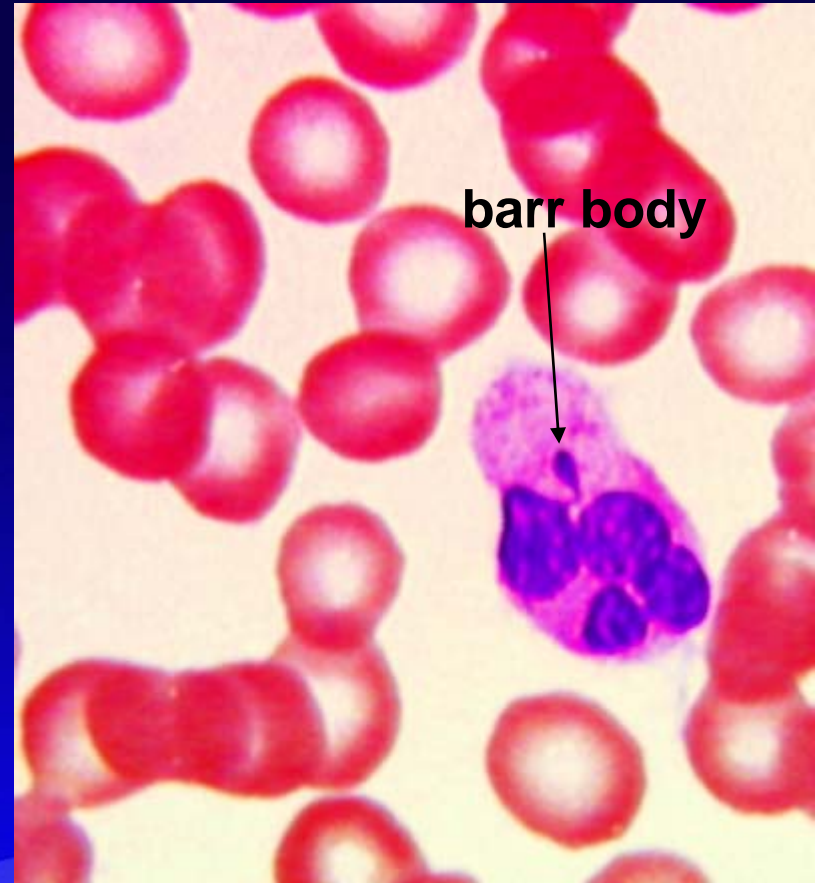
三、异染色质和常染色质

- 常染色质是具有转录活性的染色质，结构疏松，电子密度低。
- 异染色质的特点：
 - ①凝缩状态，无转录活性、是遗传惰性区。
 - ②在细胞周期中表现为晚复制、早凝缩。
 - ③分为两类：结构异染色质、兼性异染色质



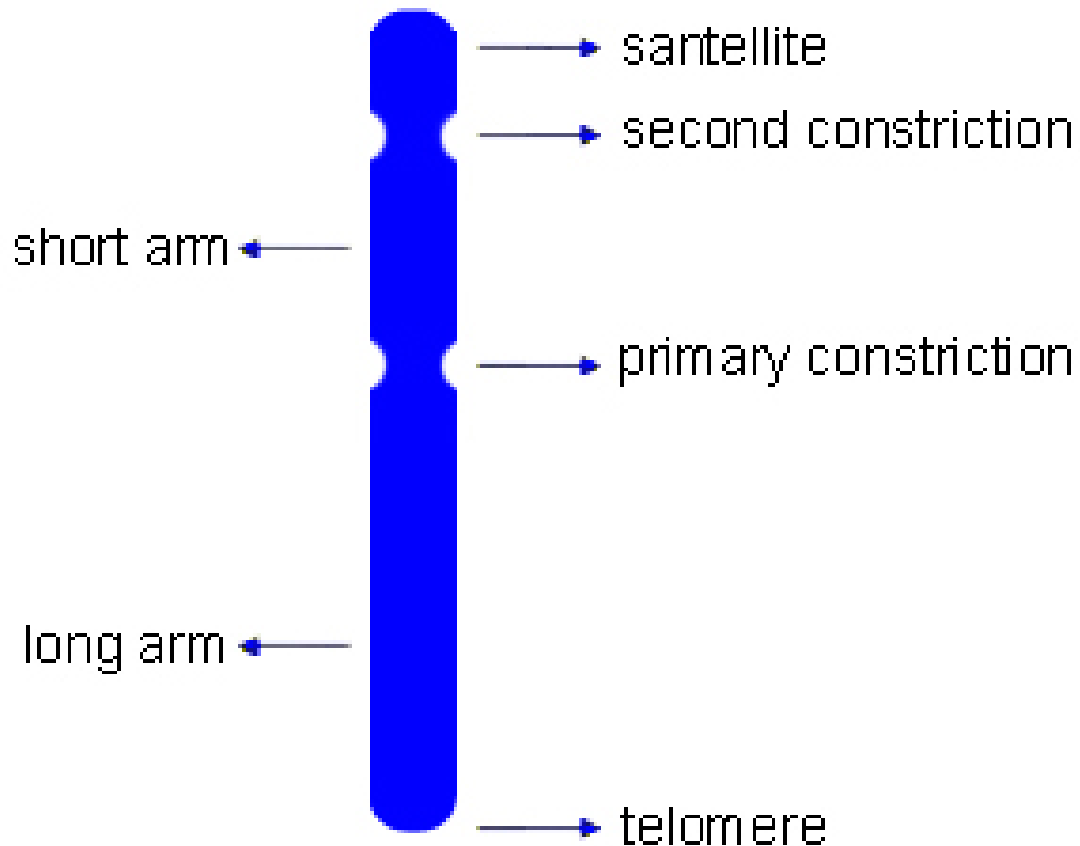
巴氏小体

- 雌性哺乳动物细胞中一条异固缩化的X染色体。
- 人胚胎发育16天后出现巴氏小体。

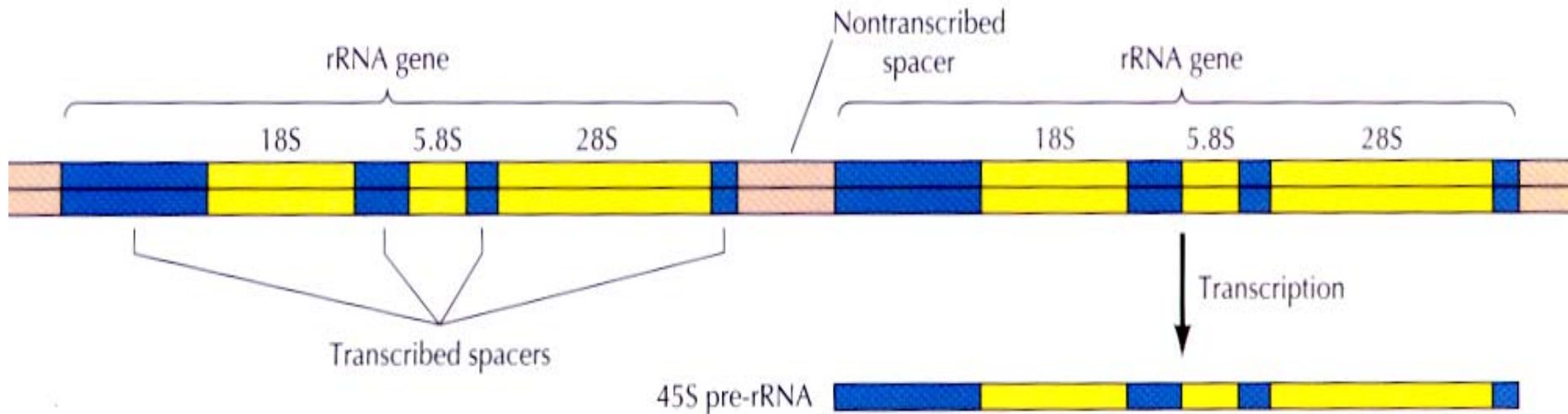


四、染色体

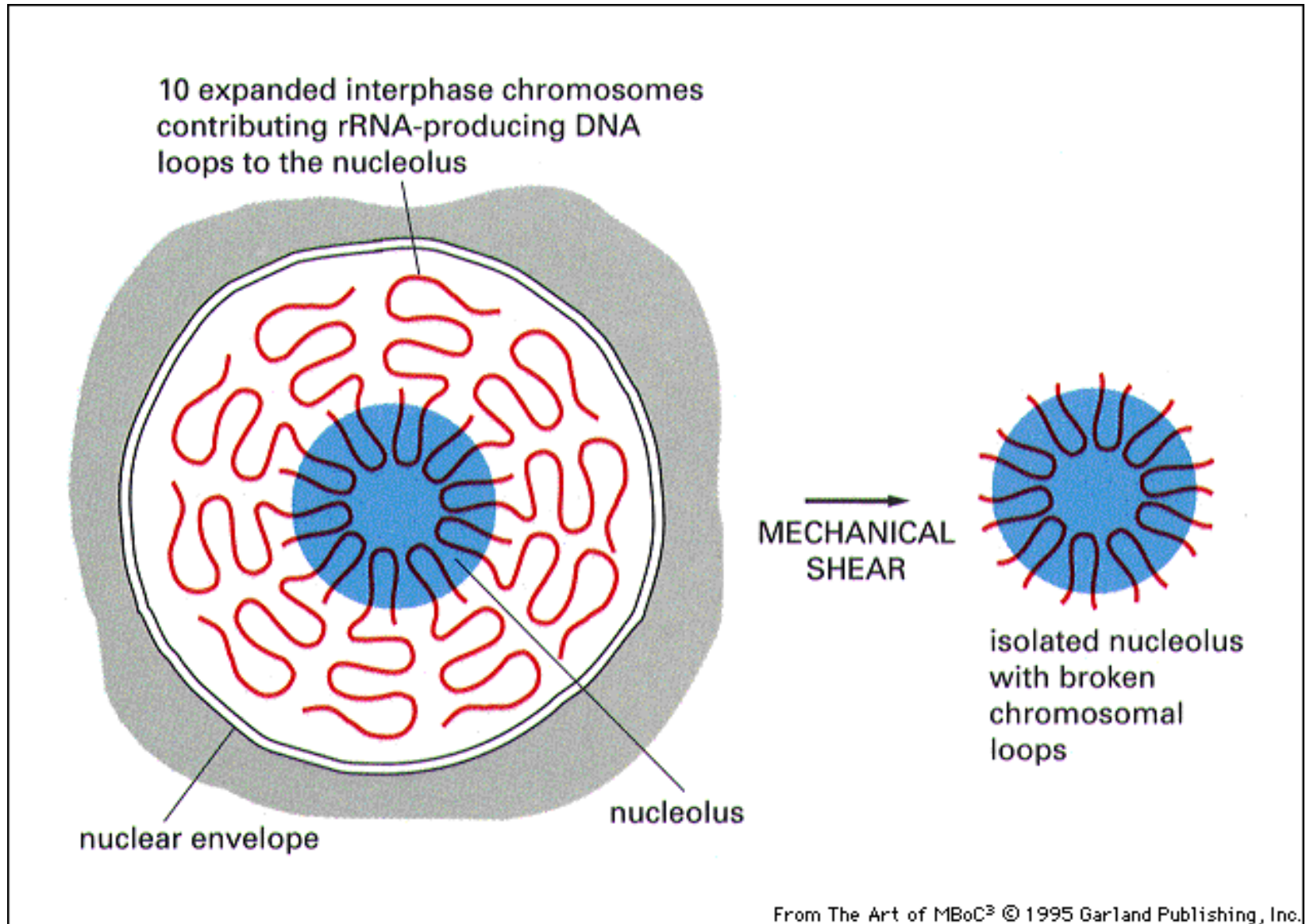
- 一、染色体相关的术语



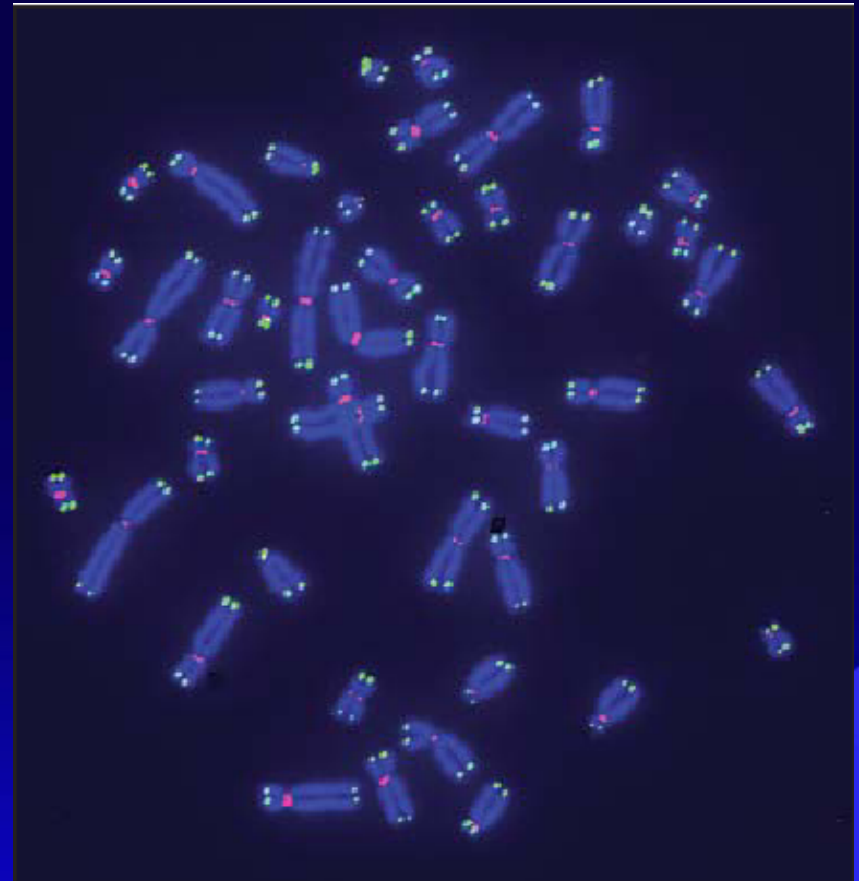
- 核仁组织区（NORs）
- 构成核仁，位于染色体的次缢痕区，但并非所有的次缢痕都是NORs。



How a nucleolus is organized



- 端粒（telomere）：由高度重复的短序列组成。
- 作用：
 1. 维持染色体稳定性。
 2. 起细胞分裂计时器的作用。DNA每复制一次端粒减少50~100bp。



Species	Telomere repeat sequence	Telomerase RNA template sequence
Human	TTAGGG	CUAACCCUAAC
Tetrahymena	TTGGGG	CAACCCCAA
Arabidopsis	TTTAGGG	CUAAACCCUAAAC

(二) 染色体的数目

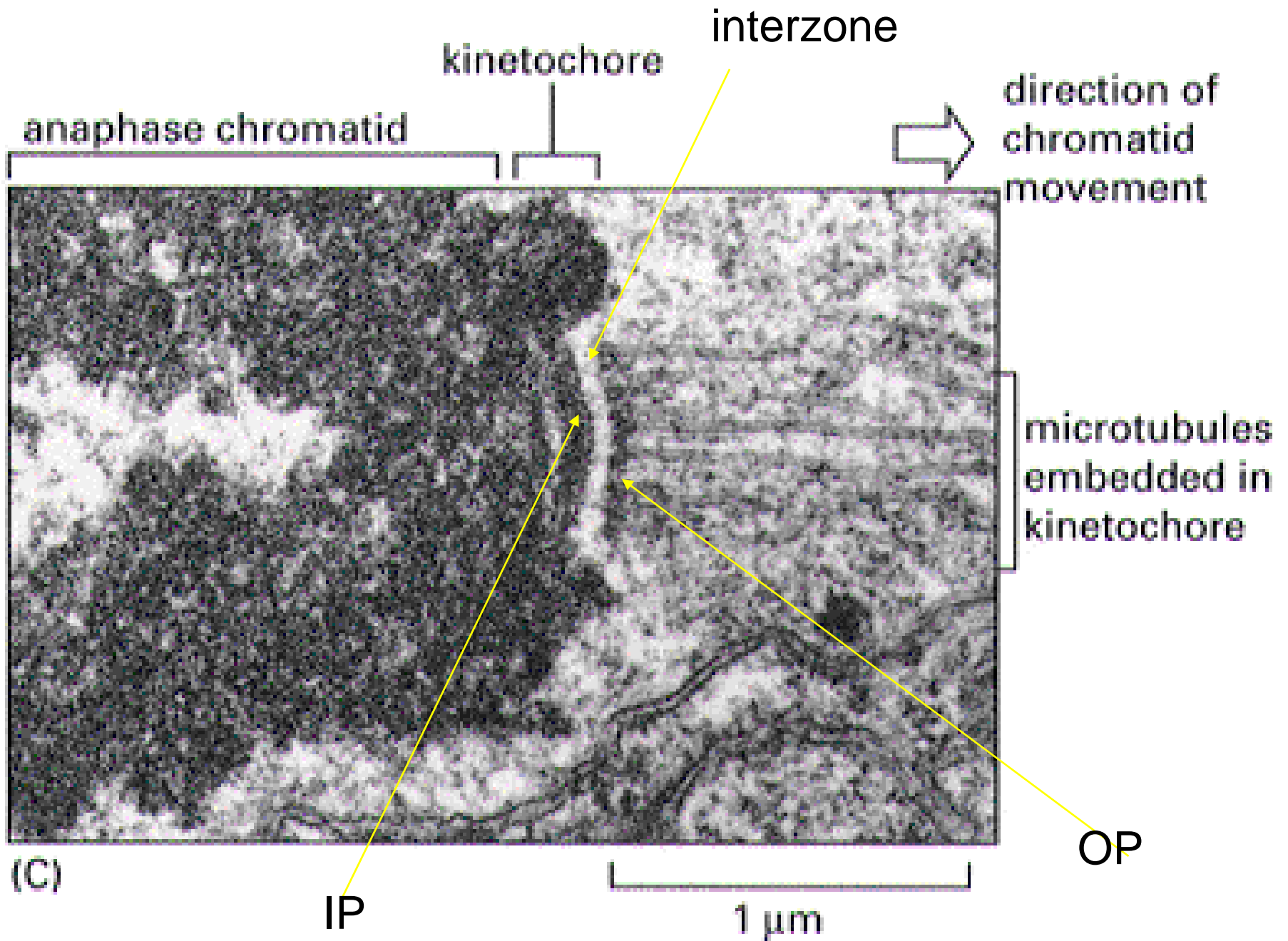
- 性细胞染色体为单倍体，用 n 表示；
- 体细胞为2倍体，以 $2n$ 表示，还有一些物种的染色体成倍增加成为 $4n$ 、 $6n$ 、 $8n$ 等，称为多倍体。
- 染色体的数目因物种而异。



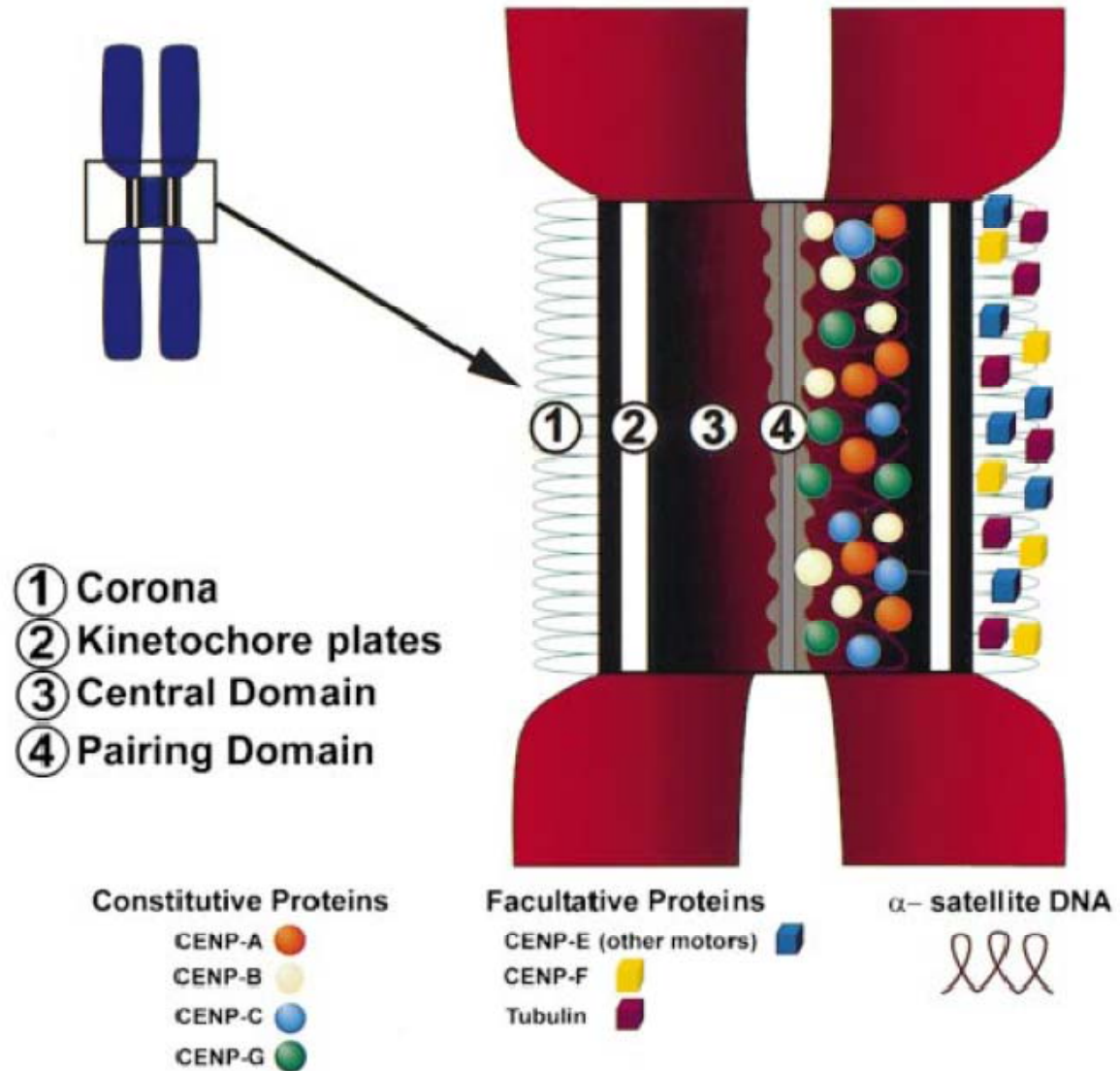
(三) 着丝粒的结构

- 着丝粒 (centromere) 和着丝点 (kinetochore) 是两个不同的概念。
- 着丝粒包含3个结构域：
 1. 着丝点结构域 (kinetochore domain)
- 位于着丝粒的表面，包括三层板状结构和围绕外层的纤维冠(fibrous corona)。





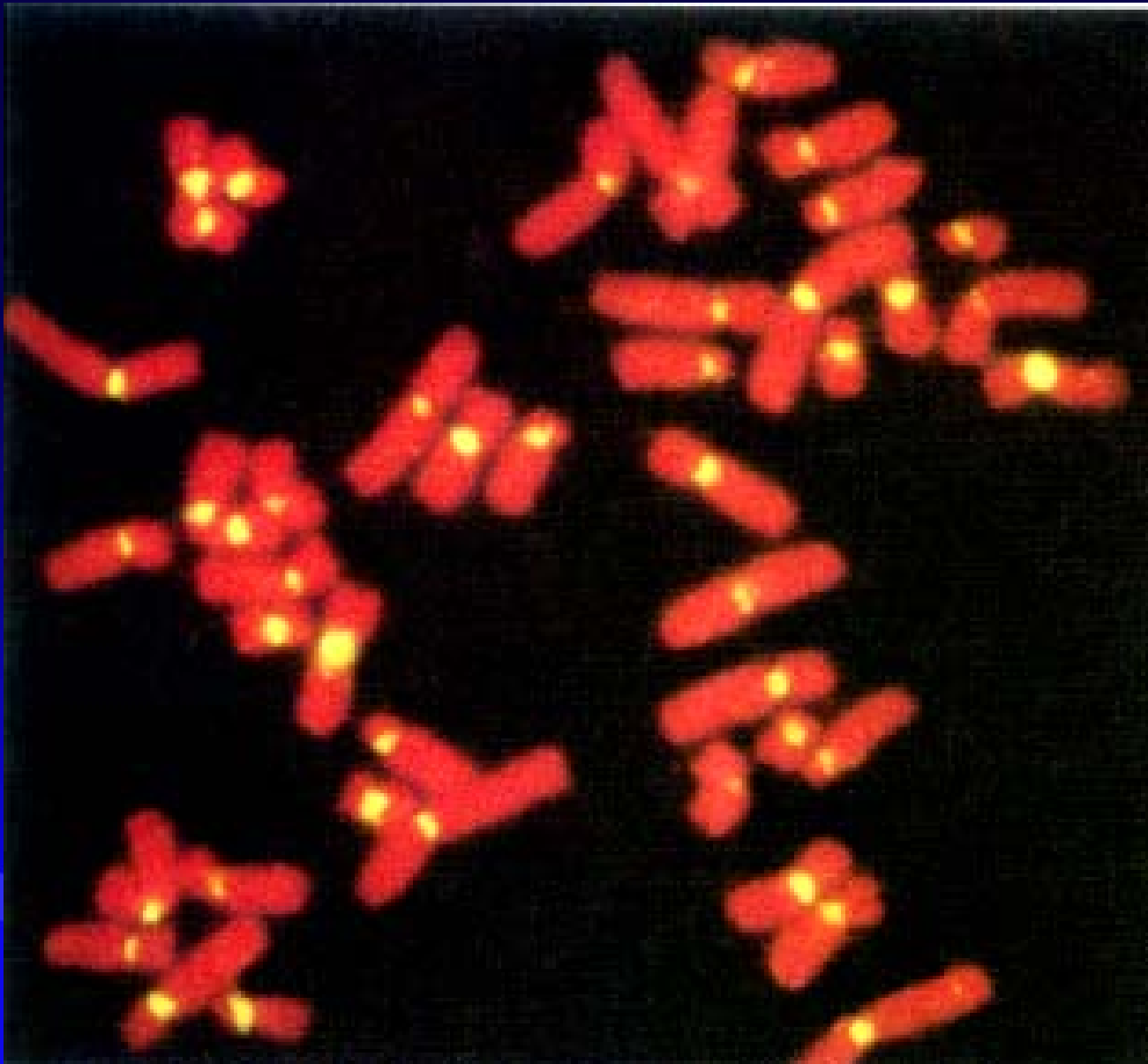
Centromere



- 2. 中央结构域
- 位于着丝粒结构域的下方，含 α 卫星DNA。
- 3. 配对结构域
- 位于着丝粒内层，中期连结染色单体。
- 4. 着丝点蛋白
- 用ACAs发现的着丝粒蛋白主要有6种（CENP A-F）



- Satellite DNA (FISH image)



Centromeric proteins

Proteins associated with the centromere have been identified using antibodies from scleroderma patients

CENP proteins

- CENP-A** centromere-specific histone
- CENP-B** binds central domain satellite DNA
- CENP-C** binds kinetochore
- CENP-D** binds kinetochore
- CENP-E** kinesin-like motor, involved in chromatid segregation
- CENP-F** binds kinetochore

INCENP proteins

- INCENP-A** sister chromatid association
- INCENP-B** sister chromatid association



（四）核型与带型

- 1. 核型：物种中期染色体特征的总和（染色体数目、大小、形态）。
- 2. 带型：染色体经理化因素处理后染色，呈现稳定的带纹（band）。
- 分带技术分两类：一类是产生的染色带分布在整过染色体的长度上如：Q、G和R带，另一类是局部性的显带，如C、Cd、T和N带。



**Human male
G-bands**

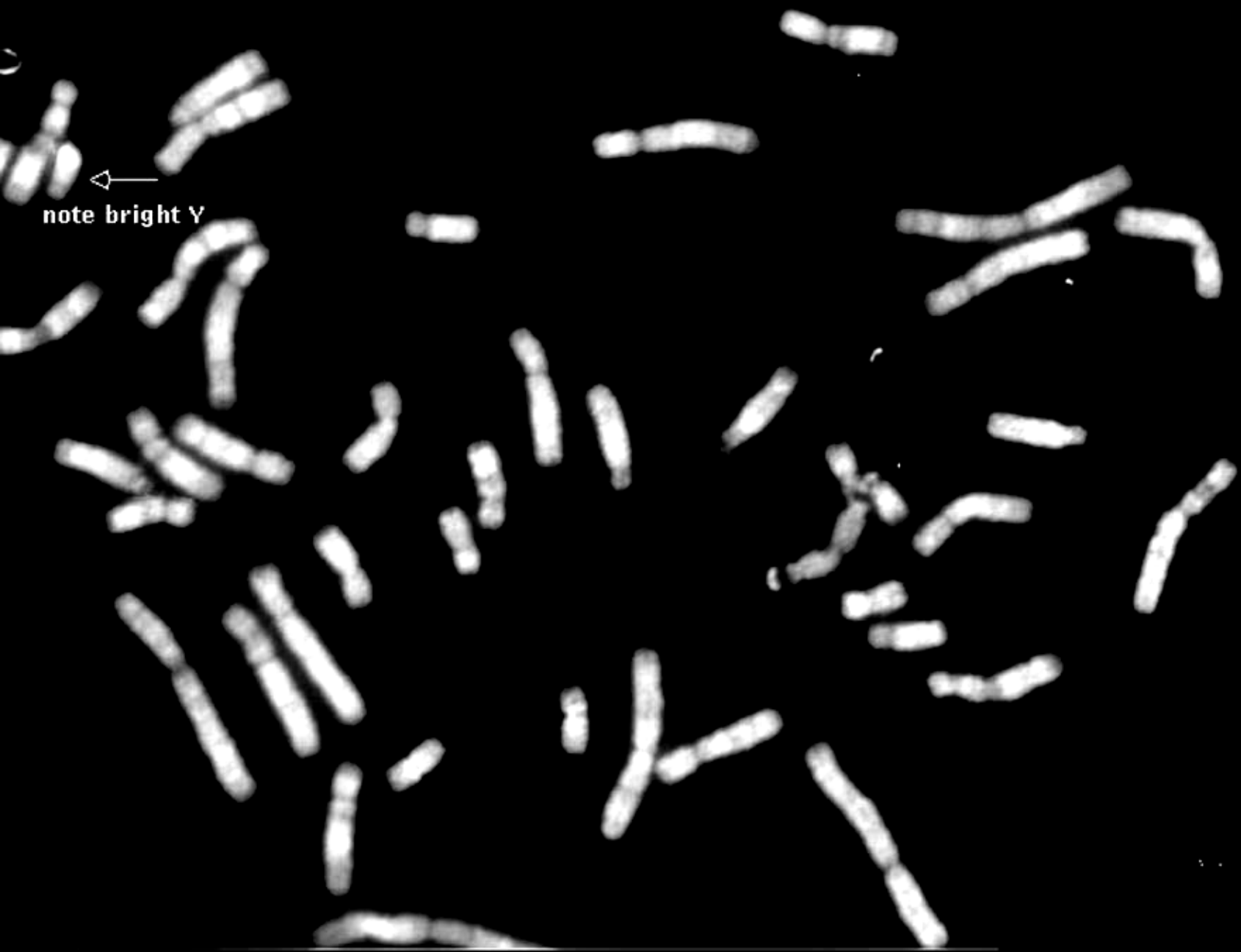


**Human male
G-bands**



human male
Q-bands

note bright Y



**Human female
C-bands**

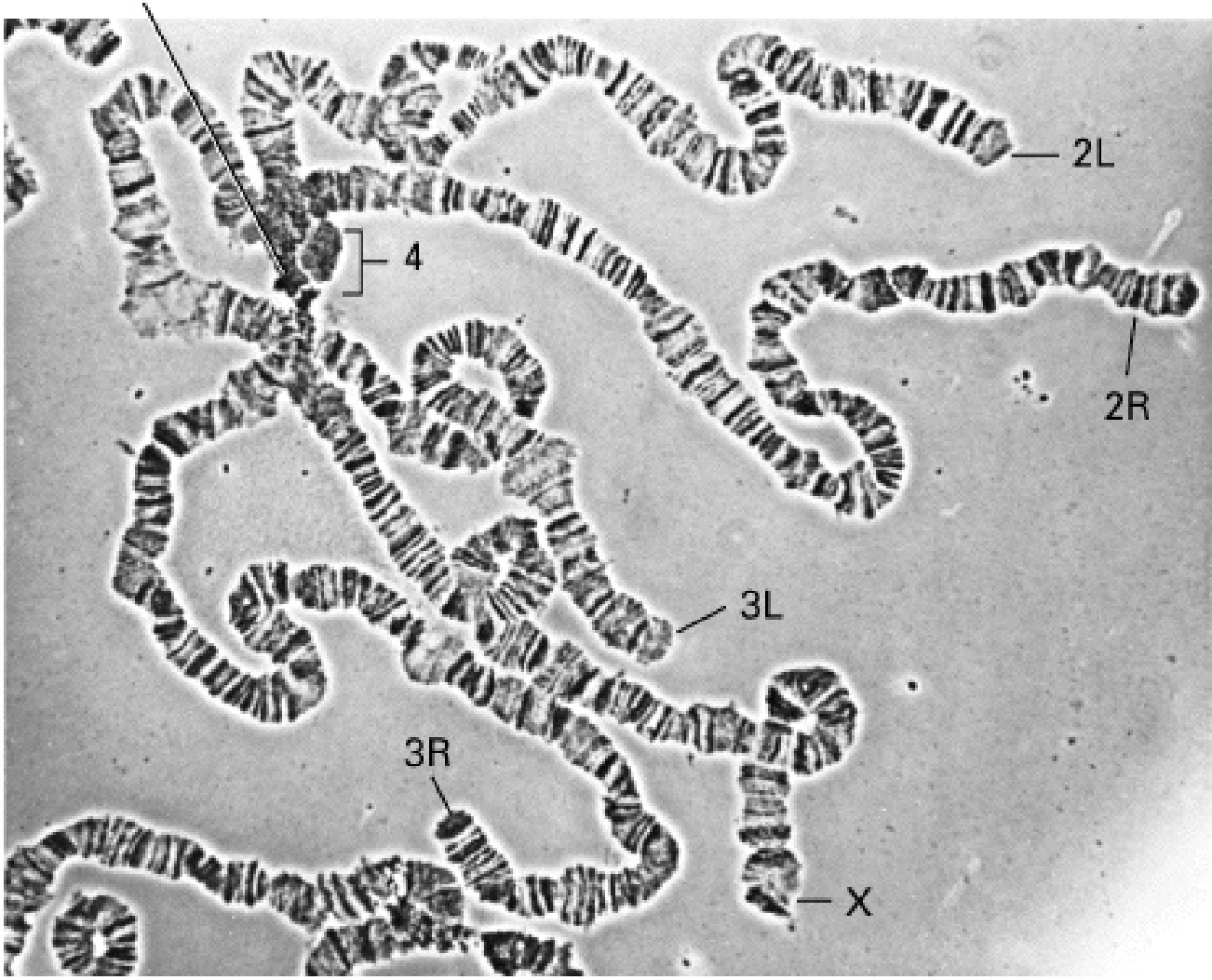


（五）几类的特殊的染色体

- 1. 多线染色体:
- Balbiani(1881)发现于摇蚊幼虫唾腺细胞，特点：
 - ①体积巨大，是由于核内有丝分裂的结果；
 - ②多线性；
 - ③体细胞联会；
 - ④横带纹；
 - ⑤膨突和环。在幼虫发育的某个阶段，多线染色体的某些带区疏松膨大，形成膨突（puff），或巴氏环（Balbiani ring）。用 H^3 -UdR处理细胞，发现膨突被标记，说明膨突是基因活跃转录的区域。



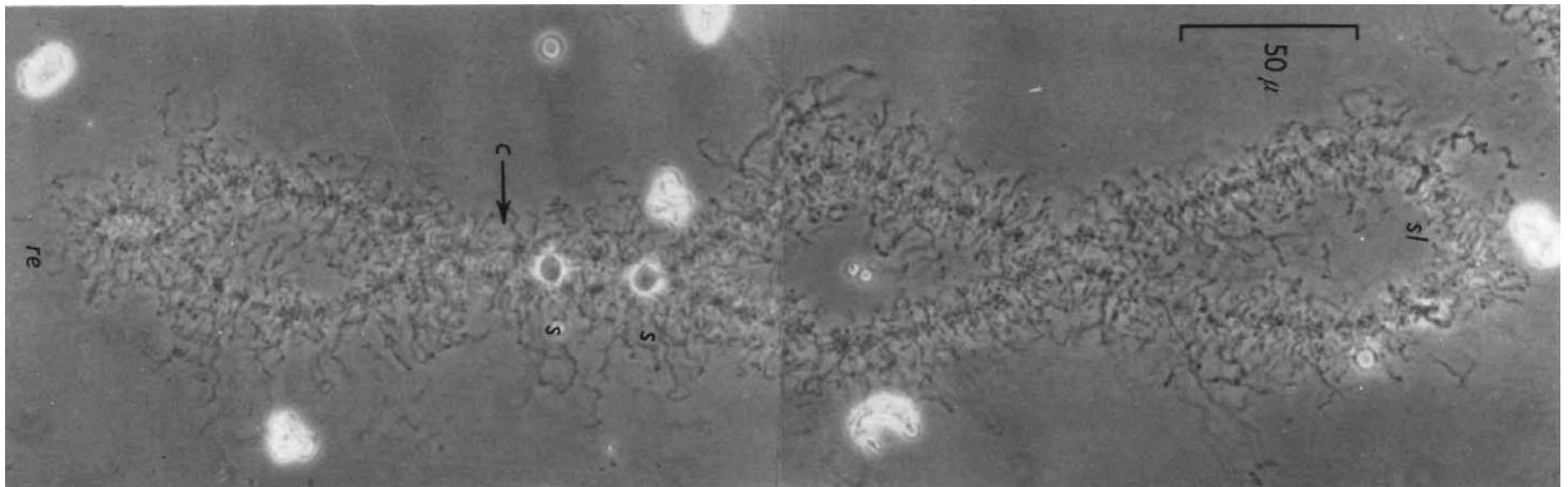
Polytene chromosomes



- 2. 灯刷染色体
- 见于鱼类、两栖类、爬行类双线期卵母细胞，双线期是卵黄合成的旺盛期。染色体主轴两侧有侧环，状如灯刷，故名。侧环是转录活跃的区域。
- 3. B染色体
- Randolph（1928）把生物的正常染色体叫做A染色体，把形态和行为不同为A染色体的超数染色体称B染色体。



Lampbrush chromosome

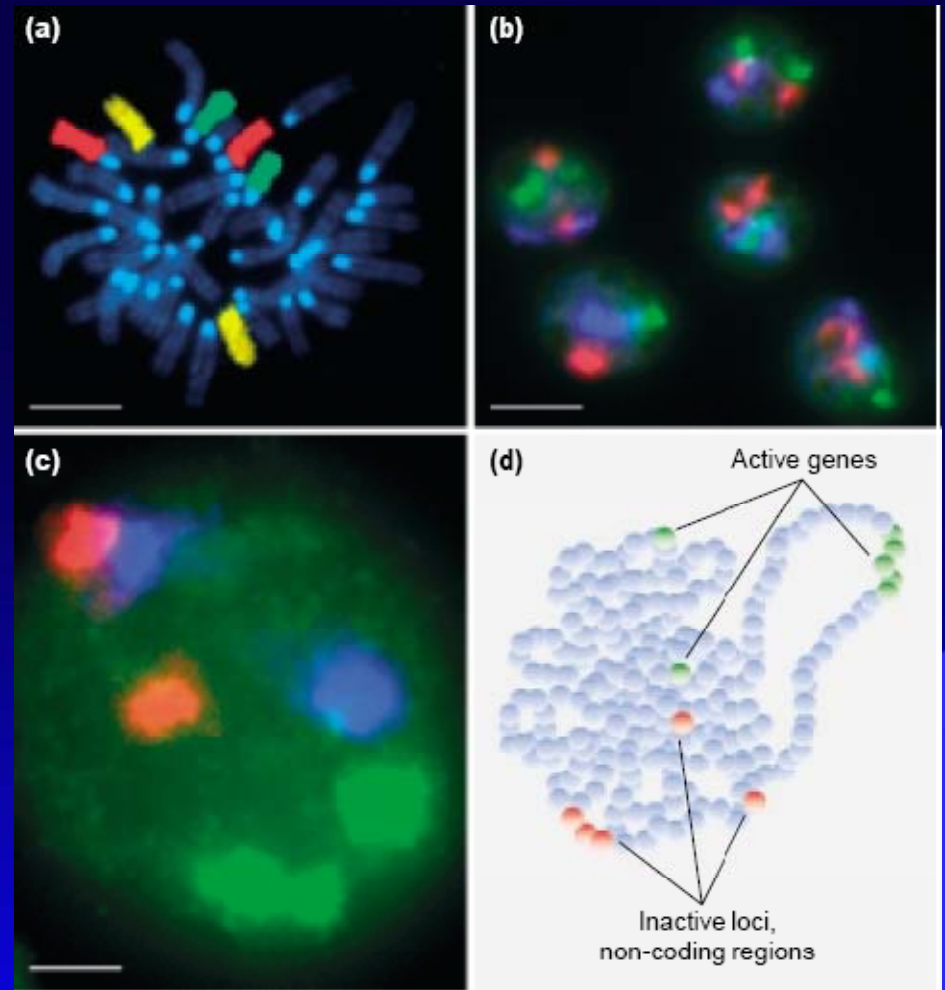


（六） 间期染色体

- 非随机分布，不同染色体具有各自的分布域，称为染色体域（chromosome territory）。
- 基因密度高的染色体（如19号）分布于核中心，基因密度低的（如18号）分布于核的周边区域。
- 同一染色体上，活动染色质可能位于细胞核的中心、远着丝点区域、或形成疏松的环状结构。



- (a) 12号染色体红色; 14号黄色; 15号绿色, (注意同源染色体的分布);
- (b,c) 12号染色体绿色, 14号红色, 15号蓝色;
- (d)染色体域模式图



小鼠淋巴细胞染色体的空间分布 (LA. Parada 和T Misteli 2002)



第三节 核仁

- 间期细胞核内呈圆球形的结构，一般1~2个。功能是转录rRNA和组装核糖体亚单位。
- 蛋白合成旺盛和分裂增殖较快的细胞有较大和较多的核仁，反之核仁很小或缺如。
- 核仁在分裂前期消失，末期又重新出现。

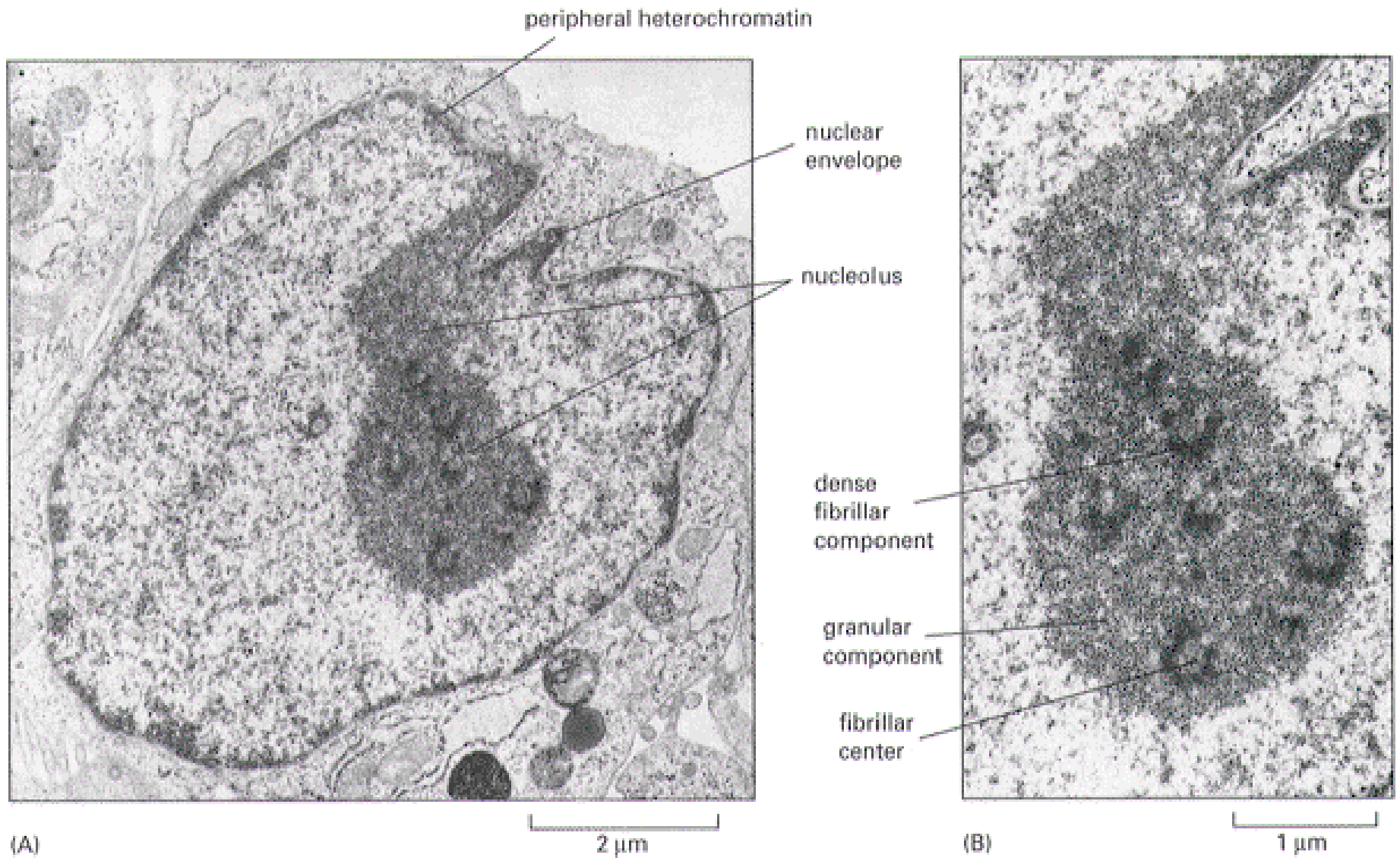


一、核仁形态

- ①纤维中心：是致密纤维包围的低电子密度的圆形结构，主要成分为RNA聚合酶和rDNA。
- ②致密纤维组分：呈环形或半月形包围FC，由致密纤维构成，是新合成的RNP。
- ③颗粒组分：由直径15-20 nm的颗粒构成，是不同加工阶段的RNP。



Nucleolus

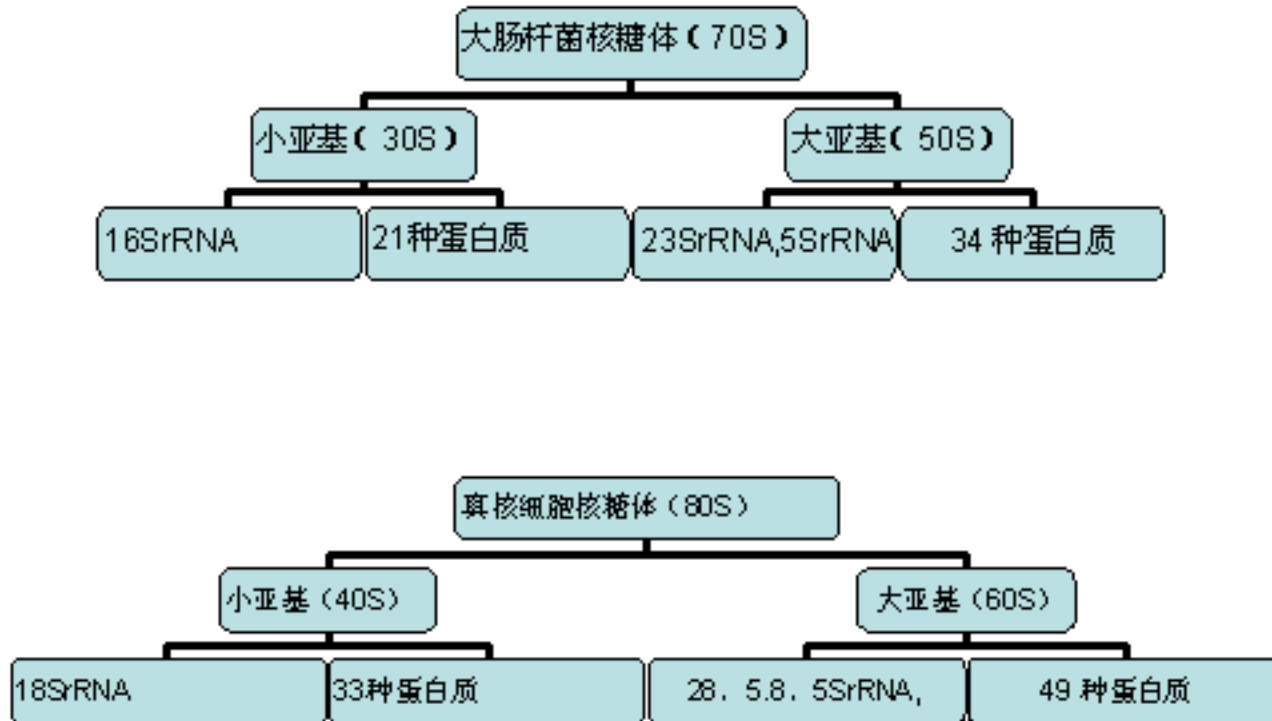


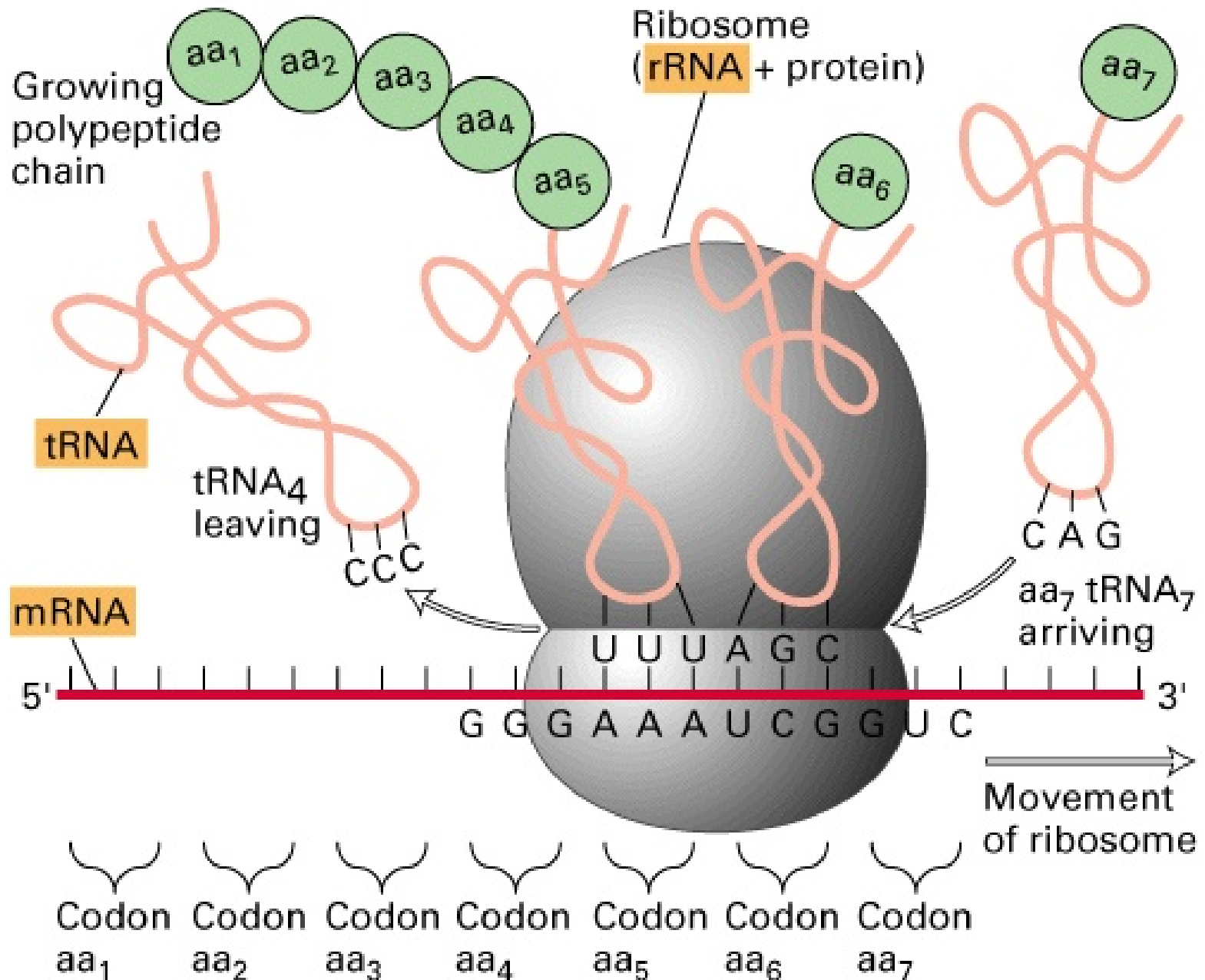
二、核糖体ribosome

- (一) 结构
- 含40%蛋白、60%RNA，2亚单位构成。分为70S和80S两类。
- 大小亚单位只在合成蛋白质时结合在一起，合成终止后解离。
- 多个核糖体结合在一条mRNA上，称多聚核糖体。



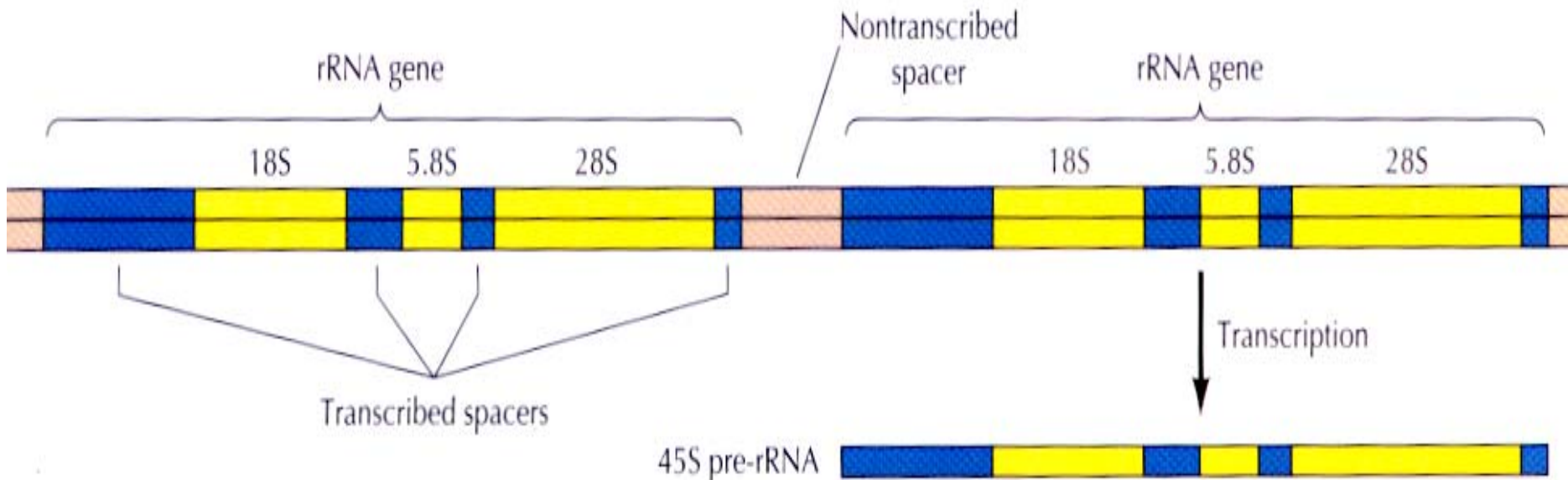
核糖体的组成



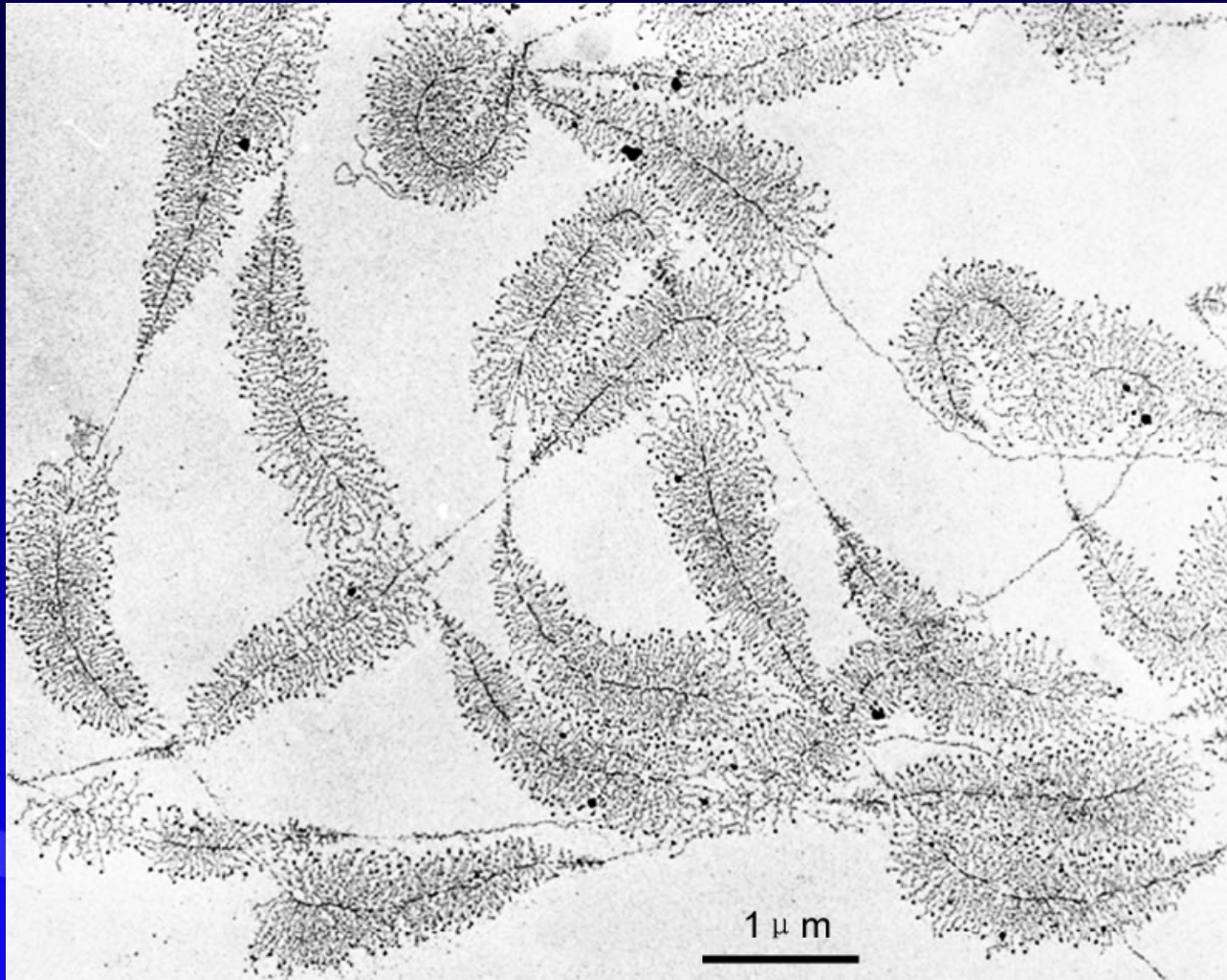


(二) 核糖体组装

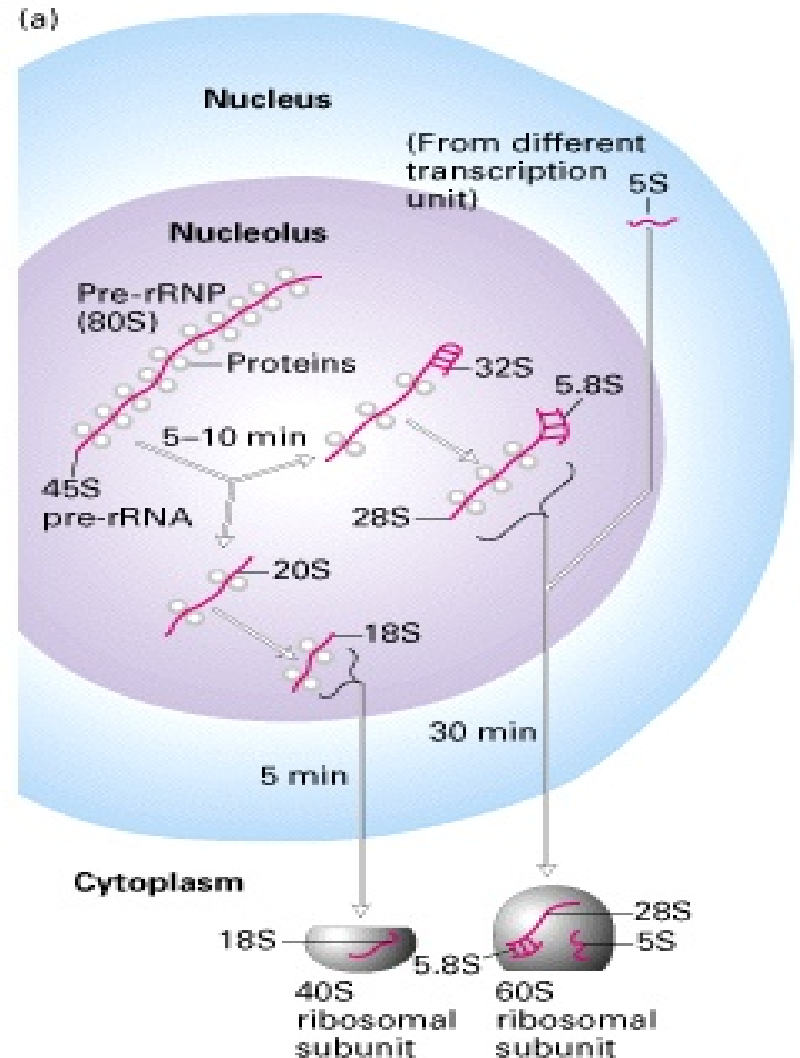
- rDNA为重复基因，人体细胞中约有200个拷贝，rDNA没有组蛋白核心，是裸露的DNA节段，相邻基因之间为非转录的间隔DNA。



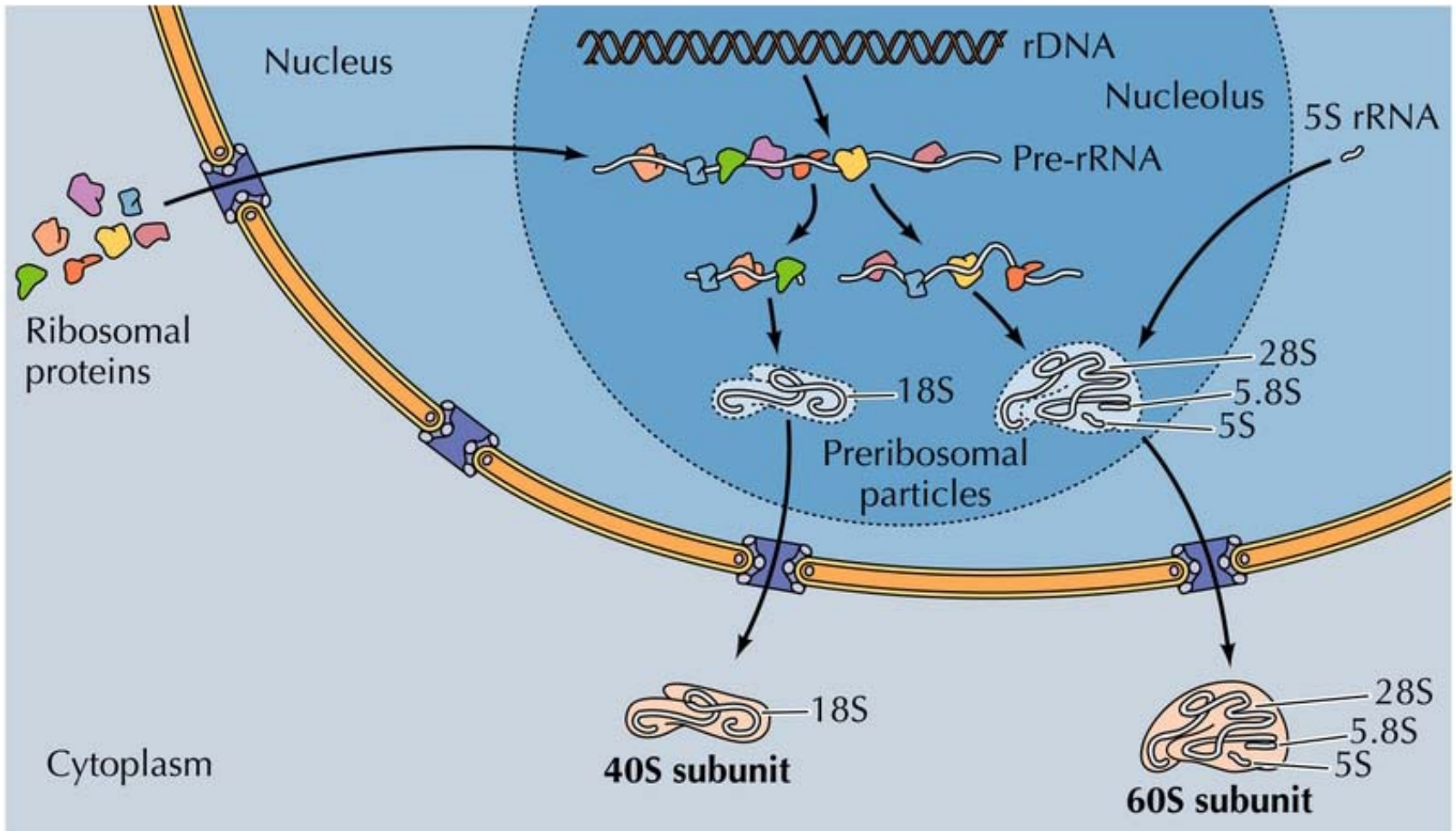
- 转录时RNA聚合酶沿DNA分子排列，产物排列呈羽毛状。rRNA首先出现在纤维部，而后转向颗粒部。



- 新合成的45SrRNA形成RNP。甲基化后经RNA酶裂解形成18s、28s、5.8srRNA。成熟的rRNA仅为45srRNA的一半，丢失的大部分是非甲基化和GC含量较高的区域。



- 5SrRNA定位在常染色体，合成后被转运至核仁区参与大亚基的装配。



第四节 核骨架 nucleoskeleton

- 核基质（nuclear matrix）或称核骨架，为真核细胞核内的网络结构，是指除核被膜、染色质、核纤层及核仁以外的核内网架体系。



（一）核基质的组成

- ①非组蛋白性纤维蛋白，10多种次要蛋白，包括肌动蛋白和波形蛋白，后者构成核骨架的外罩。已知三种支架蛋白（SC I、SC II、SC III），SC I是DNA拓扑异构酶 II。
- ②少量RNA（0.5%）和DNA（0.8%，MAR）。
- ③少量磷脂（1.6%）和糖类（0.9%）。

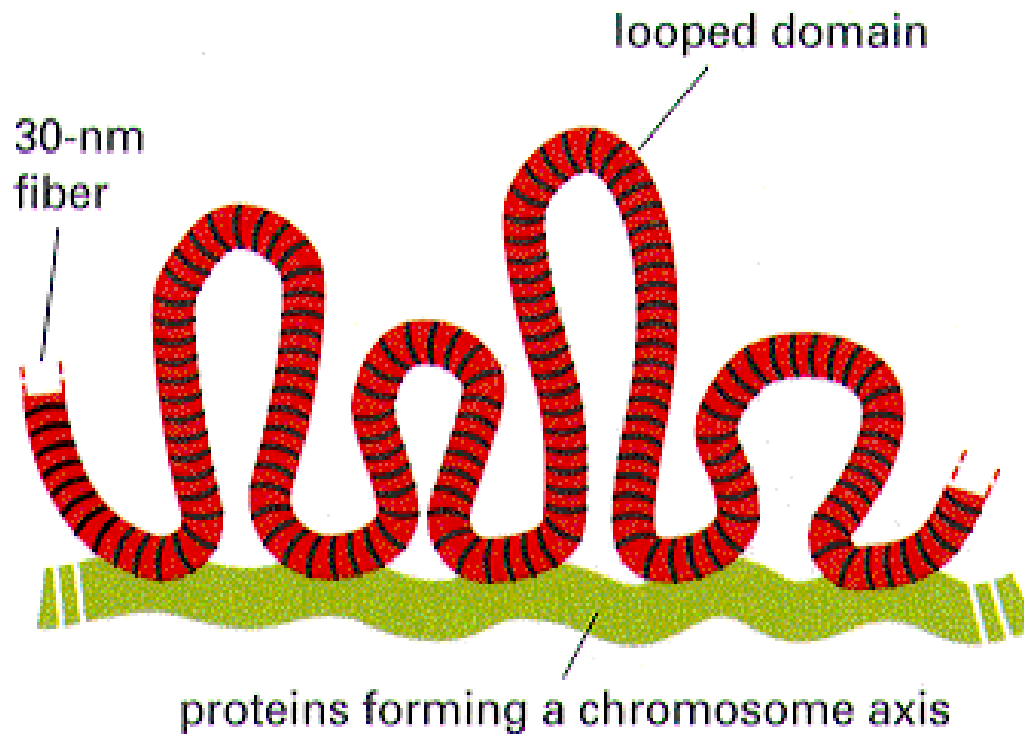


（二）核骨架的功能

- 1. DNA复制：提供DNA聚合酶结合位点。
- 2. RNA复制：提供RNA聚合酶结合位点。
- 3. 与染色体构建有关
 - 30nm的染色质纤维就是结合在核骨架上，形成放射环状的结构，在分裂期进一步包装成光学显微镜下可见的染色体。



Chromosome Structure





<http://www.cella.cn>

See you next week !



Dr Tian 2008