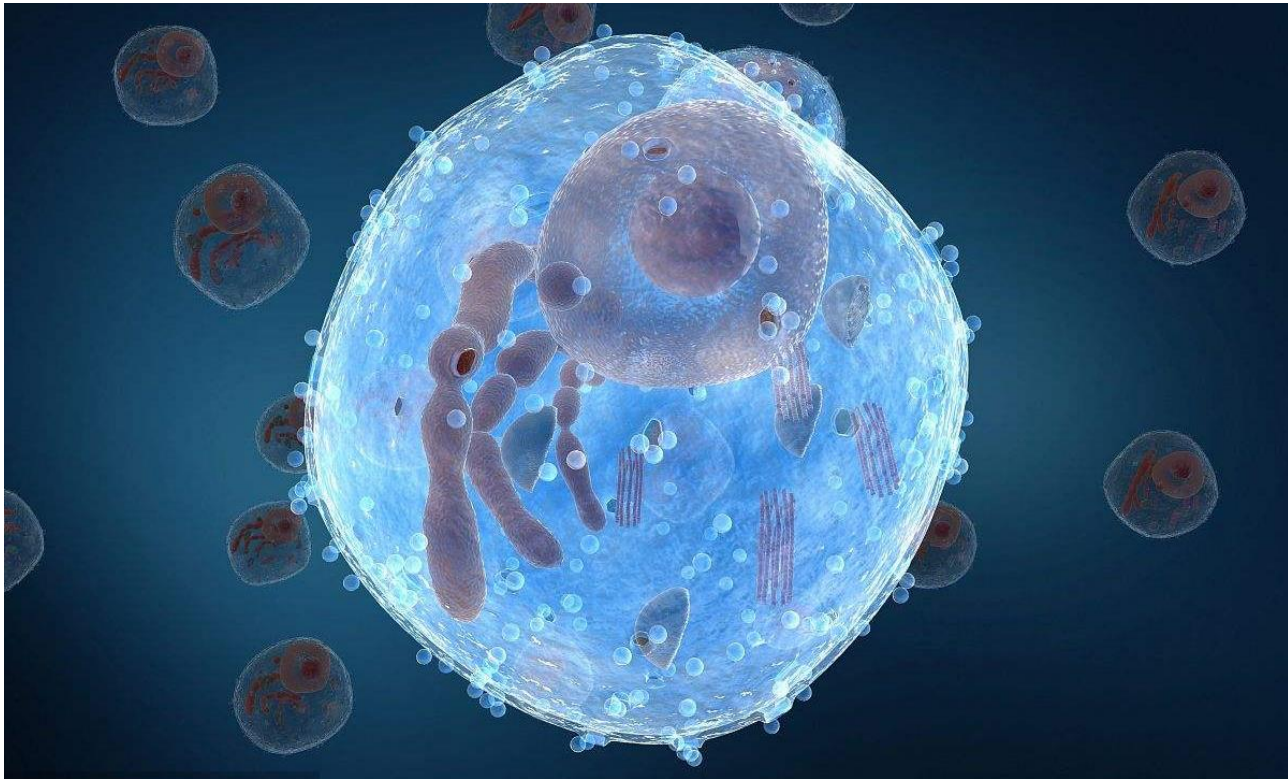
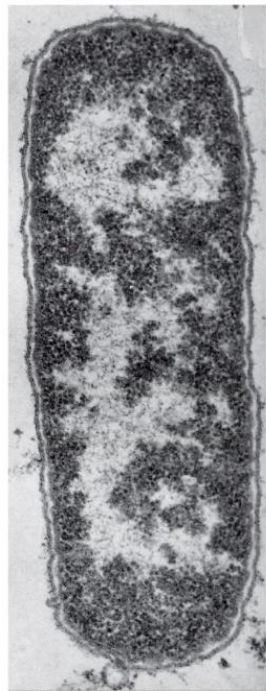


第九章 细胞核与染色质



细胞核

- 细胞核 (nucleus, 复数 nuclei)
- 细胞核的体积约占细胞总体积的10%



E. coli 1 μm

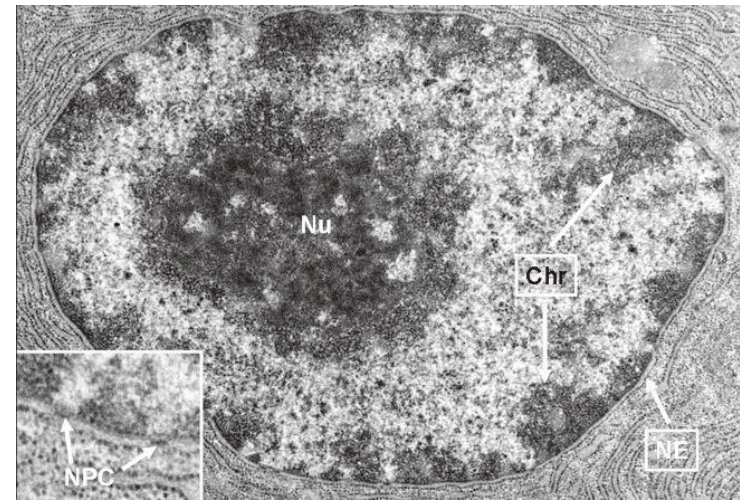
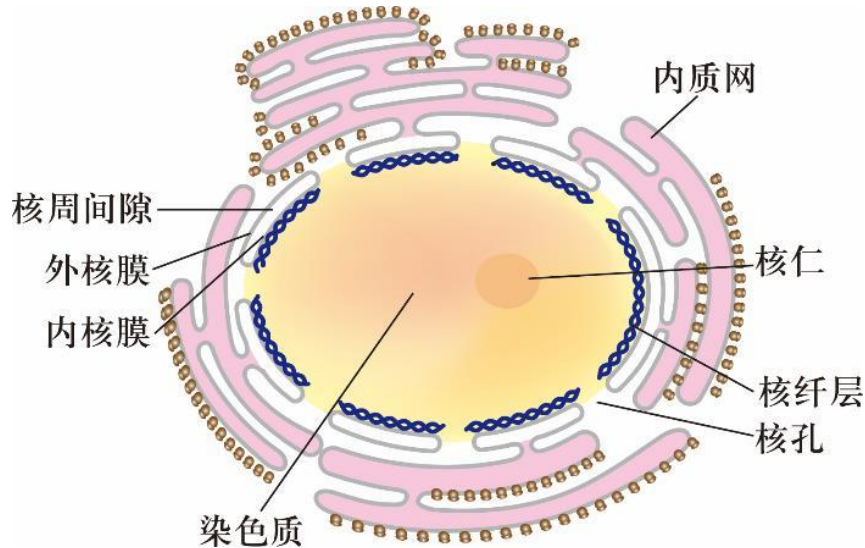


图9-1 细胞核截面图

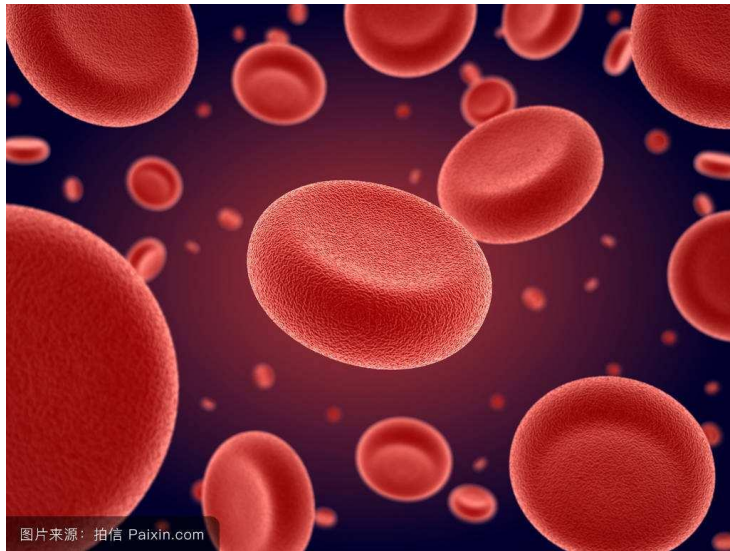
A. 细胞核结构组成示意图。B. 透射电镜图片显示胰腺细胞核：
Nu, 核仁; NPC, 核孔复合体; Chr, 染色质; NE, 核被膜

细胞核

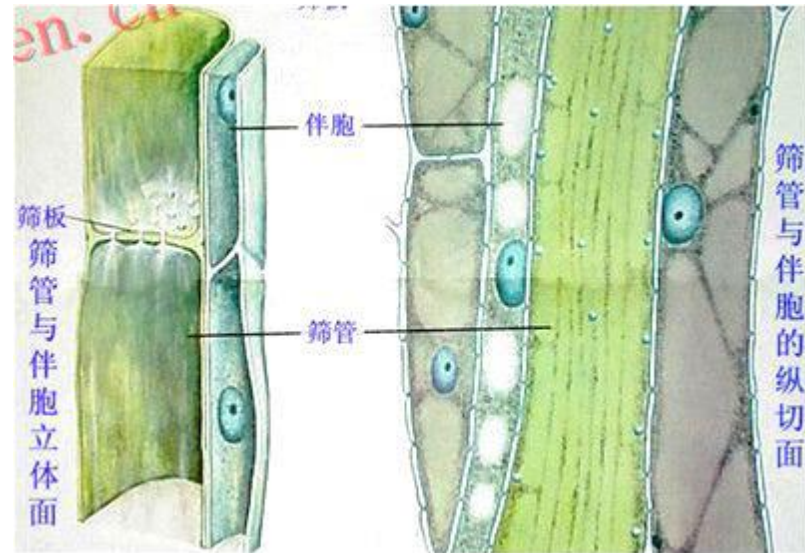
- 细胞核 (nucleus, 复数 nuclei)
- 细胞核的体积约占细胞总体积的10%



E. coli 1 μm



哺乳动物成熟的红细胞



高等植物韧皮部成熟的筛管

本章主要内容

01/ 核被膜

02/ 染色质

03/ 染色质的复制与表达

04/ 染色体

05/ 核仁与核体

06/ 核基质

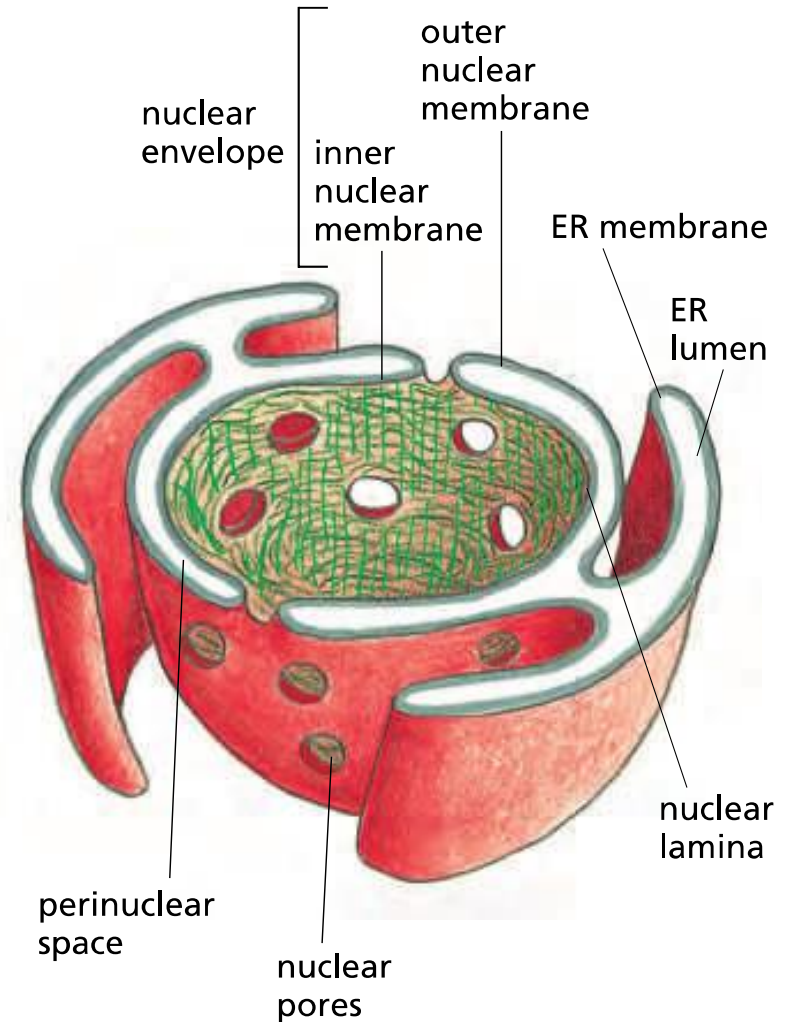
第一节

核被膜

- 核膜
- 核孔复合体
- 核纤层

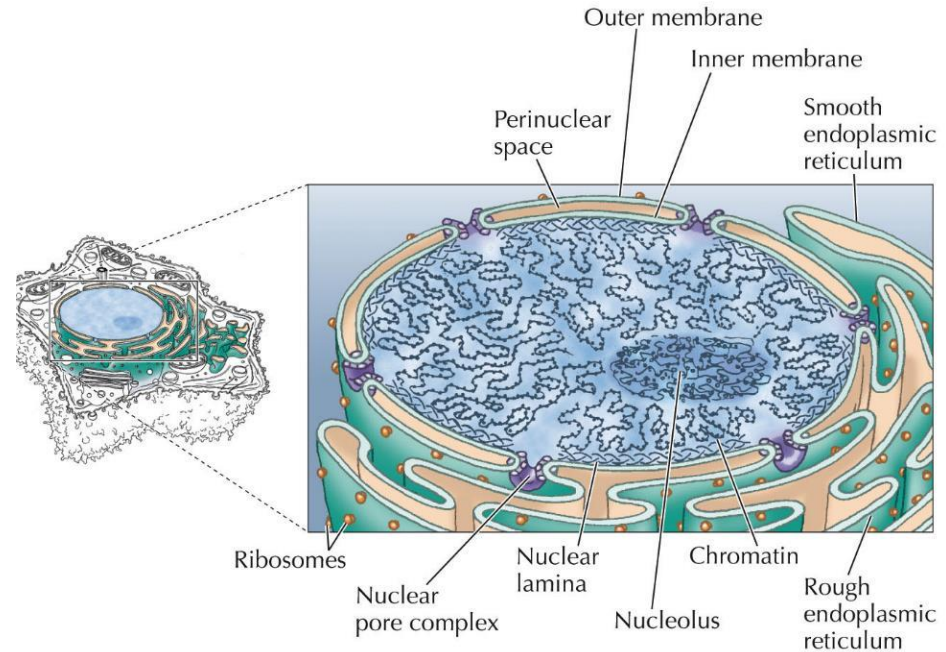
第一节 核被膜 (nuclear envelope)

- 位于细胞核的最外层，是细胞核与细胞质之间的界膜
- 3 种结构组分：
 - 双层核膜
 - 核孔复合体
 - 核纤层
- 功能：
 - 构成了核、质之间的天然选择性屏障；
 - 调控细胞核内外的物质交换和信息交流



一、核膜——结构

- 由内外两层平行但不连续的单位膜构成
- **内（层）核膜**（inner nuclear membrane）：
无核糖体颗粒附着，紧贴其内表面有一层致密的纤维网络结构，即核纤层（nuclear lamina）
- **外（层）核膜**（outer nuclear membrane）：
常附有核糖体颗粒，与糙面内质网相连续
- **核周间隙**（perinuclear space）或核周池（perinuclear cisternae）
- **核孔**（nuclear pore）
- **核孔复合体**（nuclear pore complex, NPC）
- **孔膜区**（pore membrane domain）



一、核膜——崩解与组装

- 真核细胞中，核膜伴随着细胞周期的进行有规律地解体与重建
- 核被膜去组装、重组装可能通过对核纤层蛋白、核孔复合体蛋白等进行磷酸化与去磷酸化修饰来实现

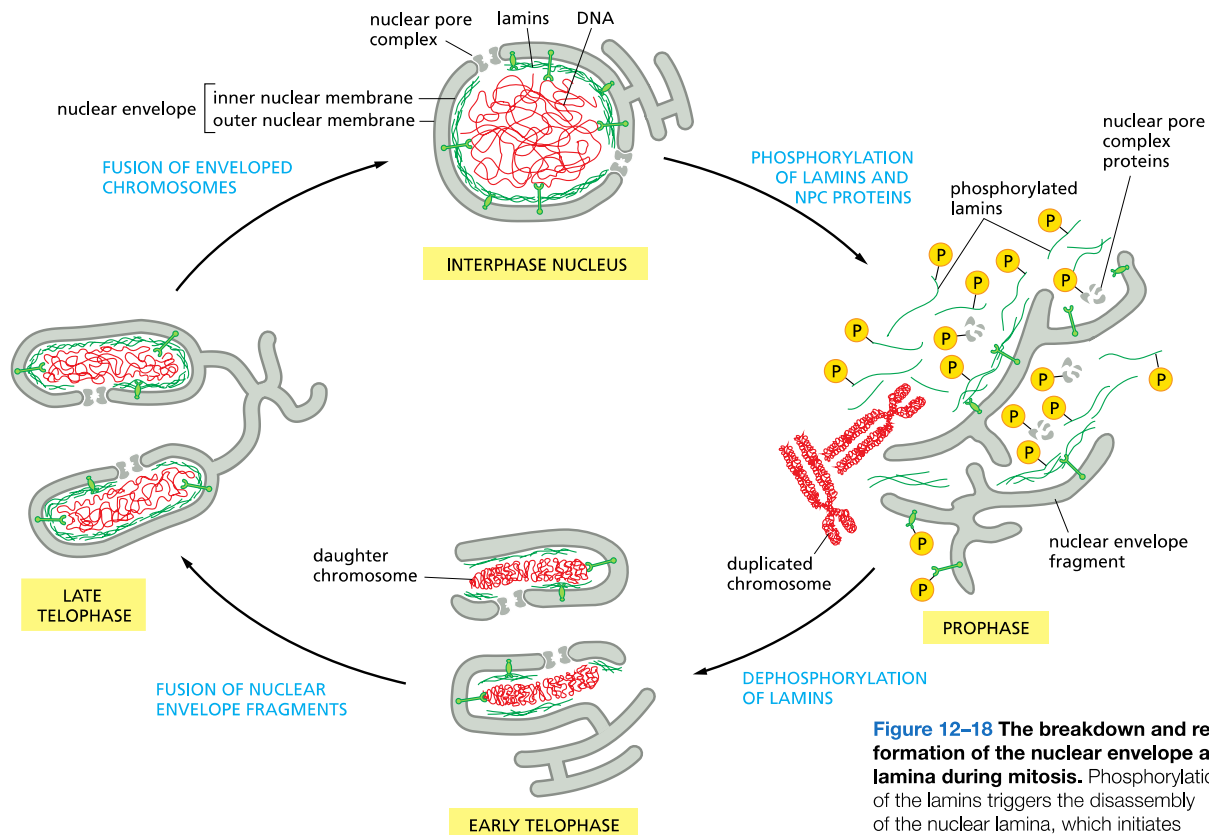
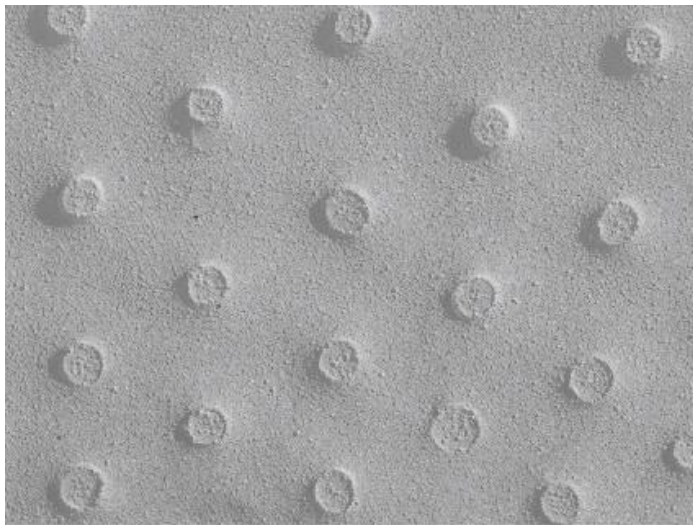


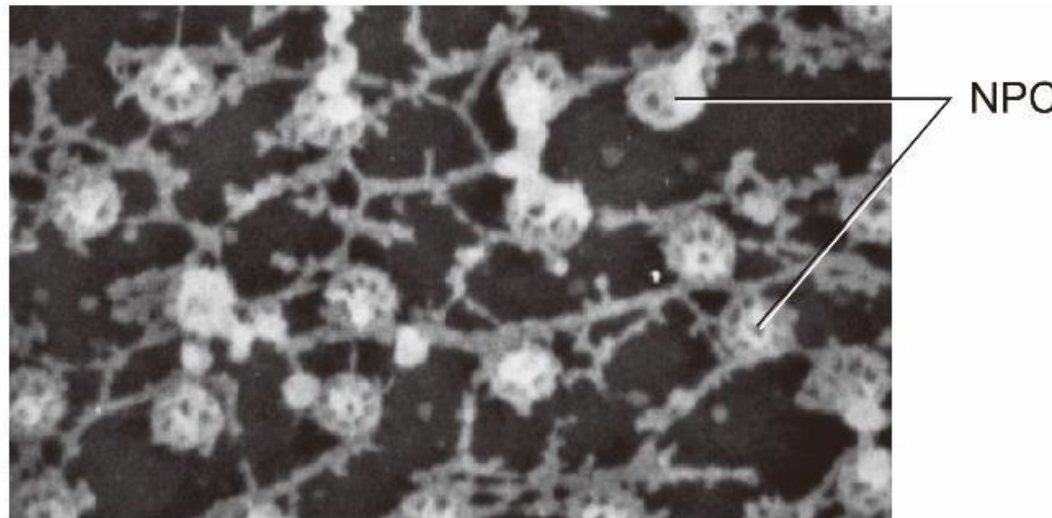
Figure 12-18 The breakdown and reformation of the nuclear envelope and lamina during mitosis. Phosphorylation of the lamins triggers the disassembly of the nuclear lamina, which initiates the nuclear envelope to break up.

第二节 核孔复合体

- 核孔复合体是一个相对独立的复杂结构；间期细胞核普遍存在
- 核孔复合体在核被膜上的数量、分布密度与分布形式随细胞类型、细胞核的功能状态的不同而有很大的差异



A



B

图9-2 用冷冻蚀刻电镜技术 (A) 和高分辨率扫描电镜 (B) 显示的核孔复合体 (NPC)

(一) 结构模型——“fish-trap”

- 胞质环 (cytoplasmic ring)
- 核质环 (nuclear ring)
- 辐 (spoke)：柱状亚单位；腔内亚单位；环带亚单位
- 中央栓 (central plug)，中央颗粒 (central granule)

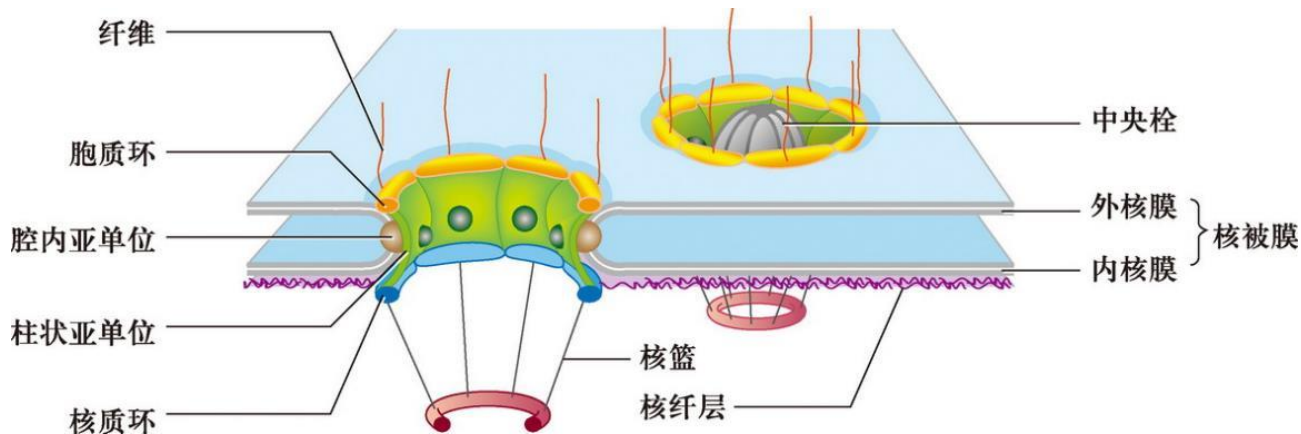
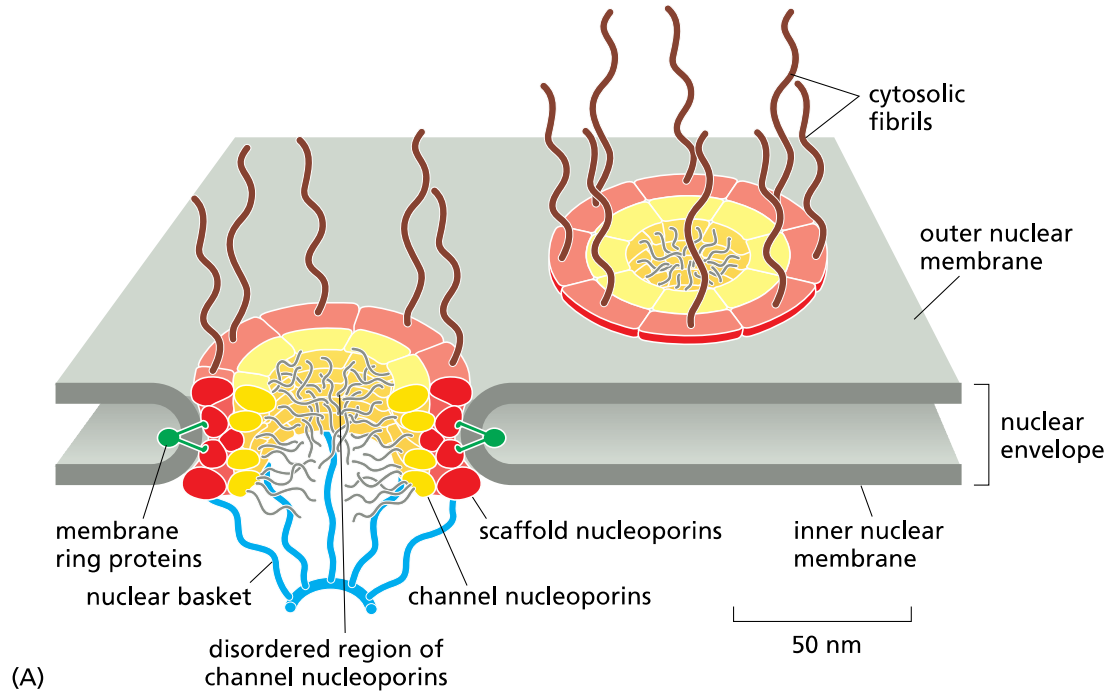
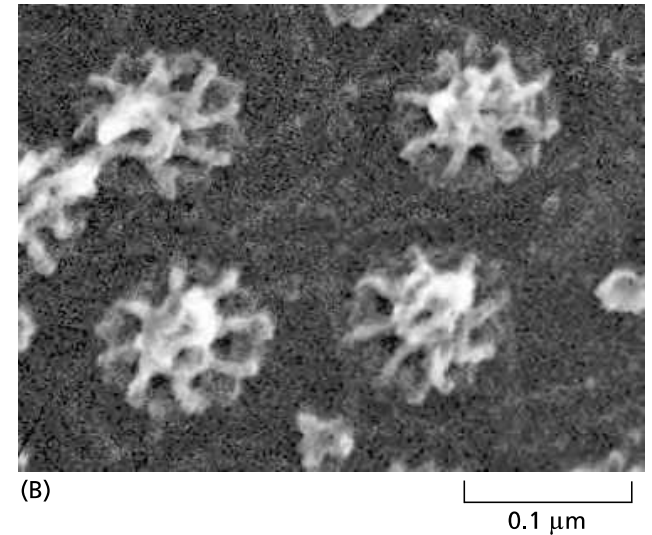


图9-3 核孔复合体结构模型

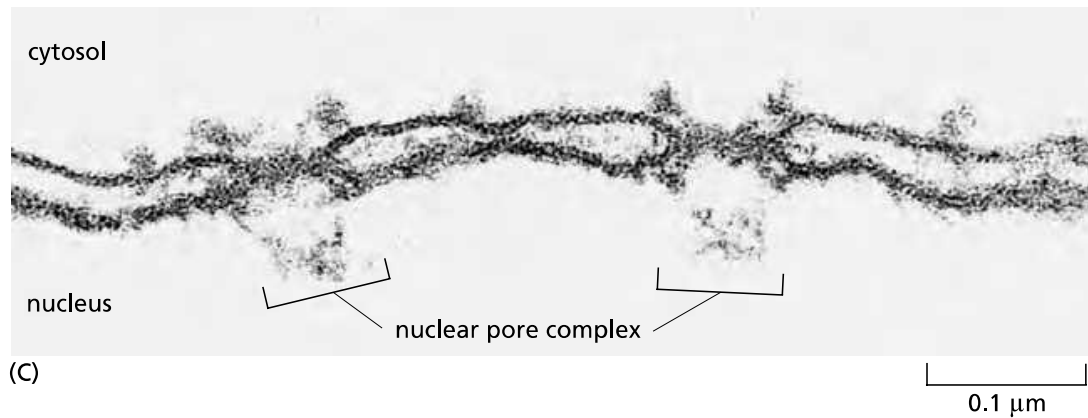
(一) 结构模型——“fish-trap”



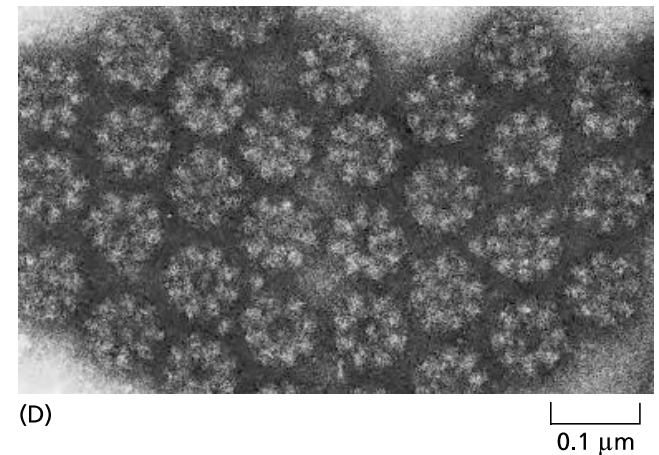
(A)



(B)

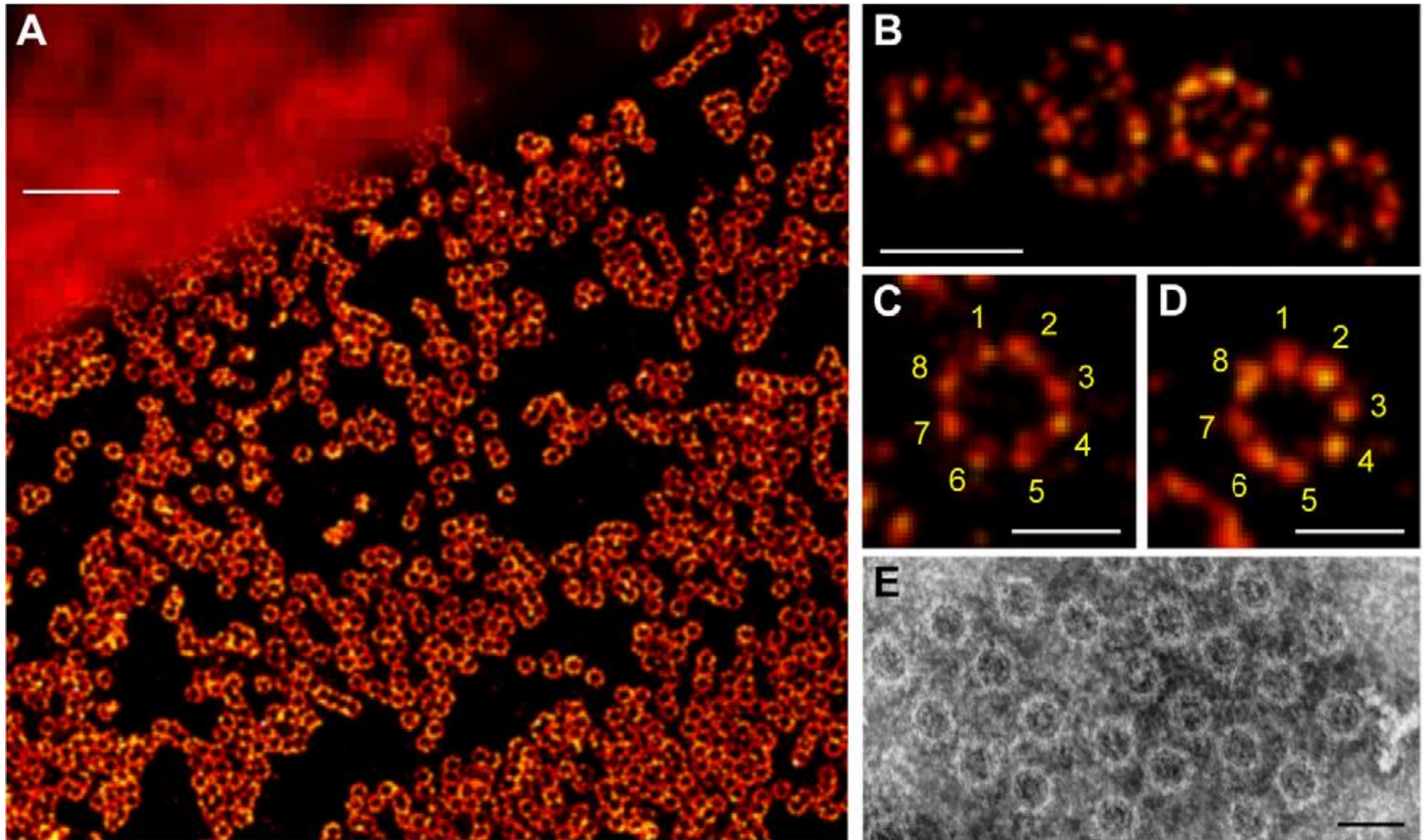


(C)



(D)

(一) 结构模型——“fish-trap”

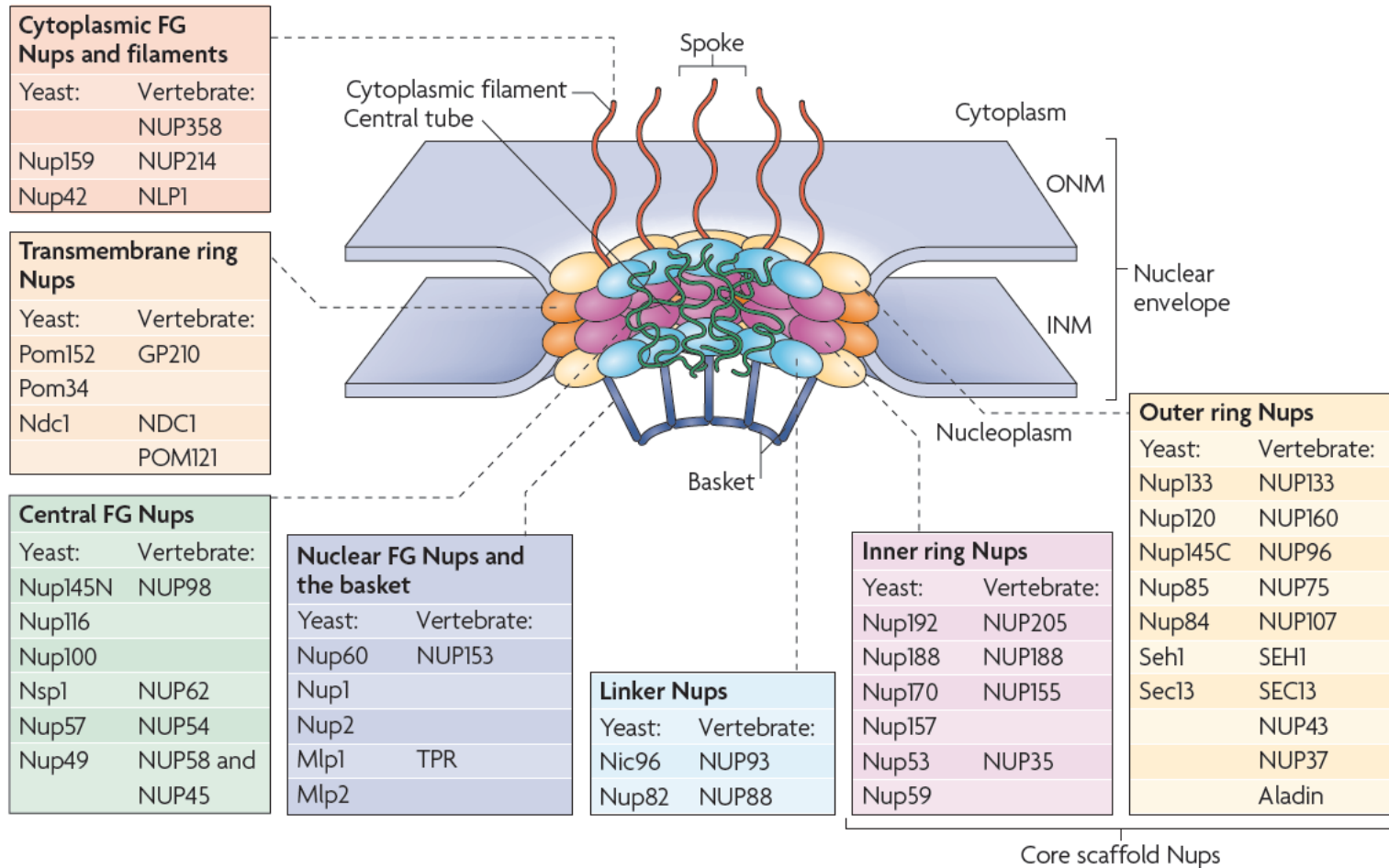


Published in Journal of Cell Science 2012

Super-resolution imaging visualizes the eightfold symmetry of gp210 proteins around the nuclear pore complex and resolves the central channel with nanometer resolution

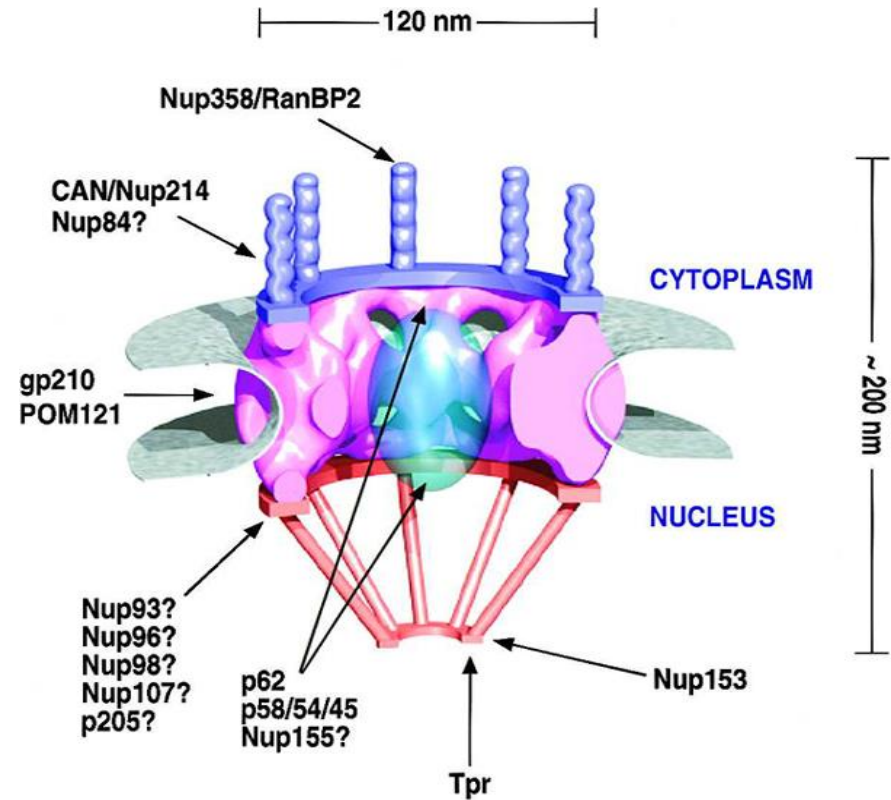
Anna Löschberger, S. van de Linde, +4 authors M. Sauer

(二) 组成成分——核孔蛋白 (nucleoporin, Nup)



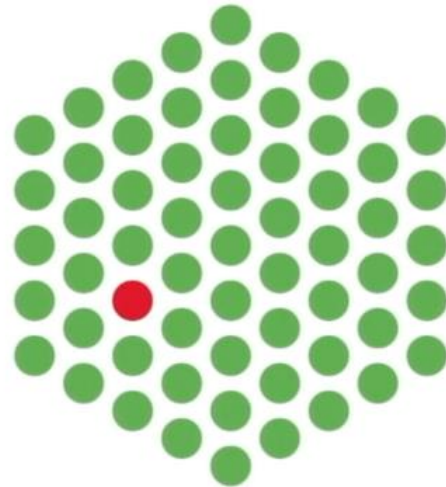
(二) 组成成分——核孔蛋白 (nucleoporin, Nup)

- **gp210: 结构性跨膜蛋白**
 - 介导NPC与核被膜连接
 - 在内、外核膜融合形成核孔中起重要作用
 - 在核质交换中起作用
- **p62: 功能性Nup**
 - 疏水性N端区: 具有FXFG重复序列
 - C端区: 具有疏水性的7肽重复序列



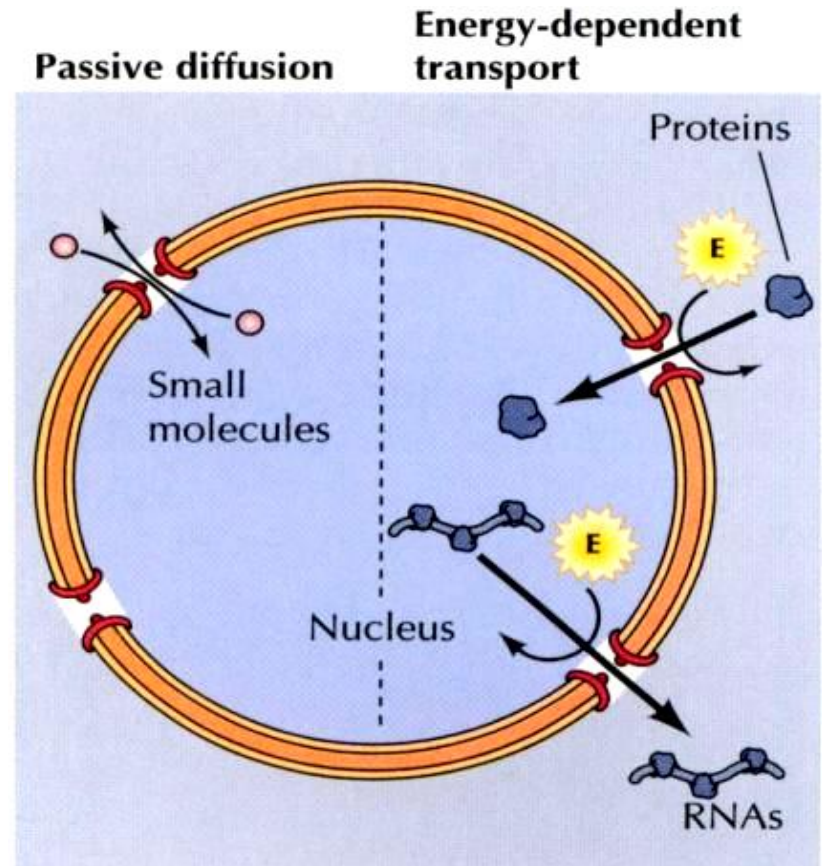
核孔复合体

EMBL



(三) 功能

- 双功能、双向性的亲水性核质交换通道
- 双功能表现在它有两种运输方式：被动扩散与主动运输
- 双向性表现在既介导蛋白质的入核转运，又介导RNA、核糖核蛋白颗粒（RNP）的出核转运



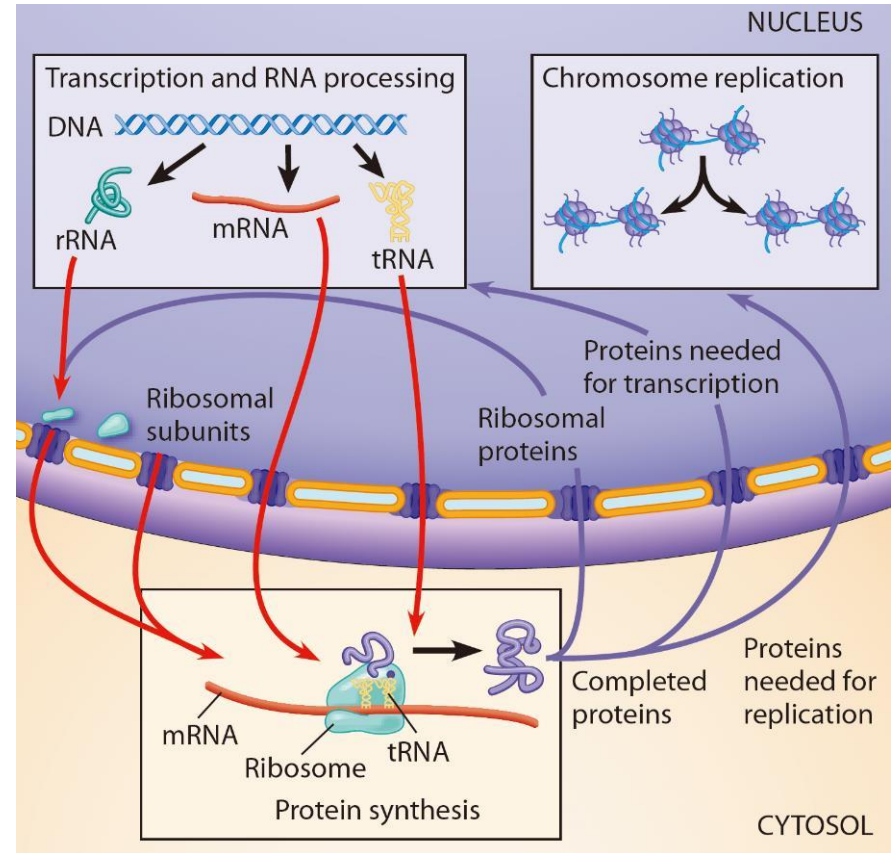
1. 通过核孔复合体的被动扩散

	被动扩散	协助扩散	信号介导的核输入	信号介导的核输出
示意图				
说明	<ul style="list-style-type: none"> ● $M_r < \sim 5 \times 10^4$ ● $M_r > \sim 5 \times 10^4$ ● 中央栓 (转运体) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 核孔作用蛋白 	<ul style="list-style-type: none"> ● 核输入物 ● 核输入受体/载体 	<ul style="list-style-type: none"> ● 核输出物 ● 核输出受体/载体
特点	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 4℃时不被抑制 ▶ 不需要提供能量 ▶ 最大转运物M_r为5×10^4 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 4℃时被抑制 ▶ 不需要提供能量 ▶ 需要与NPC相互作用 ▶ 无明显大小限制 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 需要核定位信号序列 ▶ 需要核定位信号序列受体/载体 ▶ 在研究过的情况中, 似乎不需要核苷酸水解 ▶ 4℃时被抑制 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 需要核输出信号序列 ▶ 需要核输出信号序列受体/载体 ▶ 在研究过的情况中, 似乎不需要核苷酸水解 ▶ 4℃时被抑制

图9-4 通过核孔复合体物质运输的功能示意图

2. 核孔复合体的主动运输

- 具有高度选择性
 - 对运输颗粒大小的限制
 - 是一个信号识别与载体介导的过程，需要消耗ATP能量，并表现出饱和动力学特征
 - 双向性：核输入与核输出



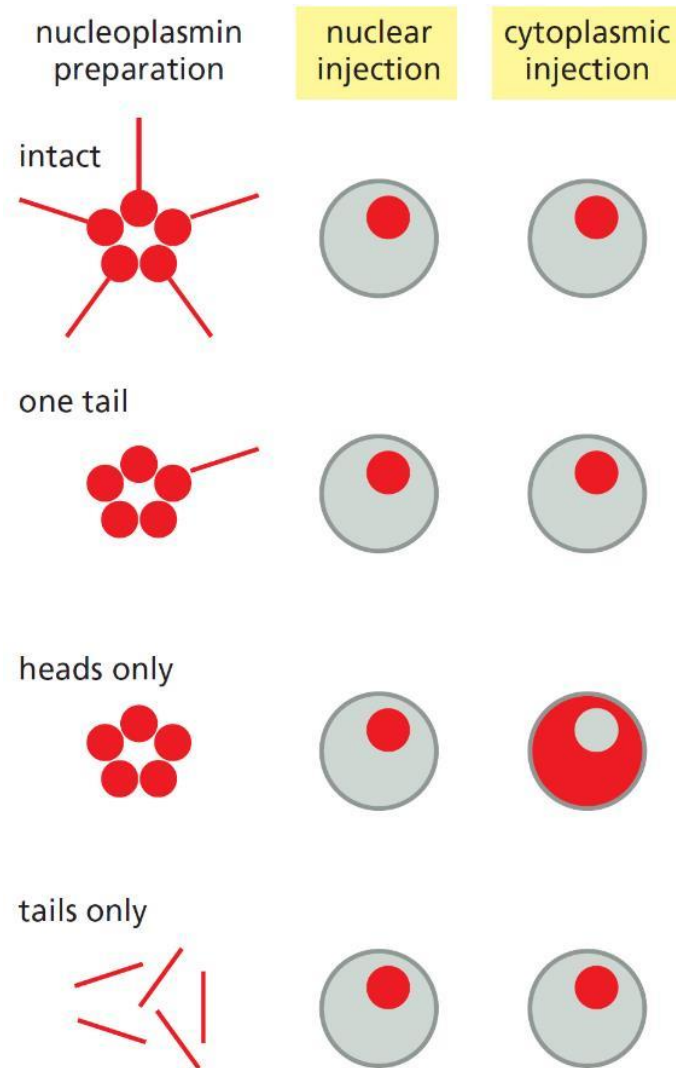
2. 核孔复合体的主动运输

Nuclear Import

This material copyright
© W. W. Norton and Company, Inc.,
unless otherwise stated. All rights reserved.

亲核蛋白 (karyophilic protein) 入核转运机制

- 亲核蛋白：在细胞质内合成后，需要或能够进入细胞核内发挥作用的一类蛋白质
 - 在一个细胞周期中一次性地被转运到核内，并一直停留在核内行使功能的亲核蛋白，如组蛋白、核纤层蛋白等；
 - 需要穿梭于核质之间进行功能活动的亲核蛋白，如importin



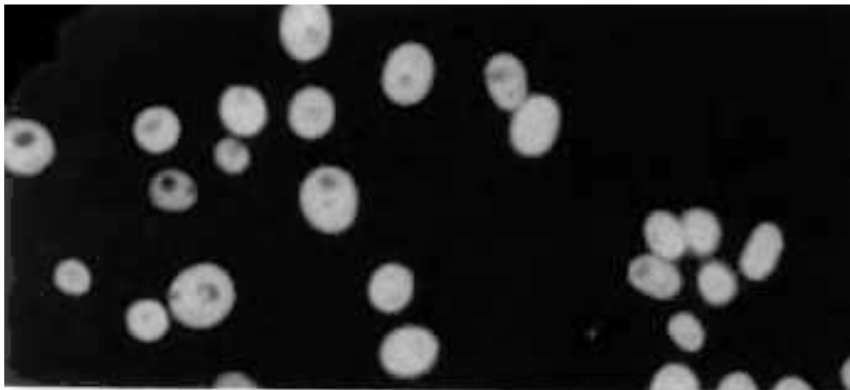
Nucleoplasmin (核质蛋白), which is a large pentameric protein involved in chromatin assembly.

亲核蛋白入核转运机制

- 核定位序列 (nuclear localization sequence) 或核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) : 引导亲核蛋白入核, 富含碱性氨基酸残基, 如 Lys、Arg, 还常含有Pro;

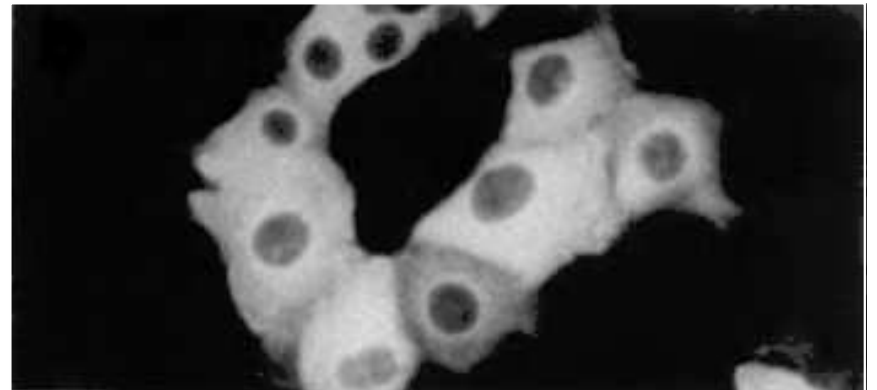
(A) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING ITS NORMAL NUCLEAR IMPORT SIGNAL

Pro — Pro — Lys — Lys — Lys — Arg — Lys — Val —



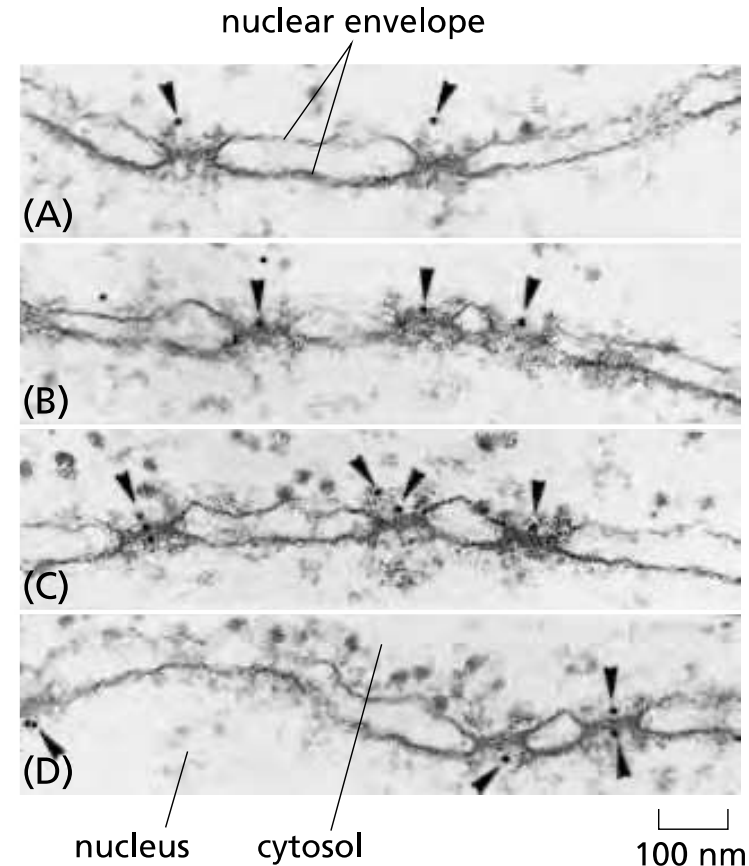
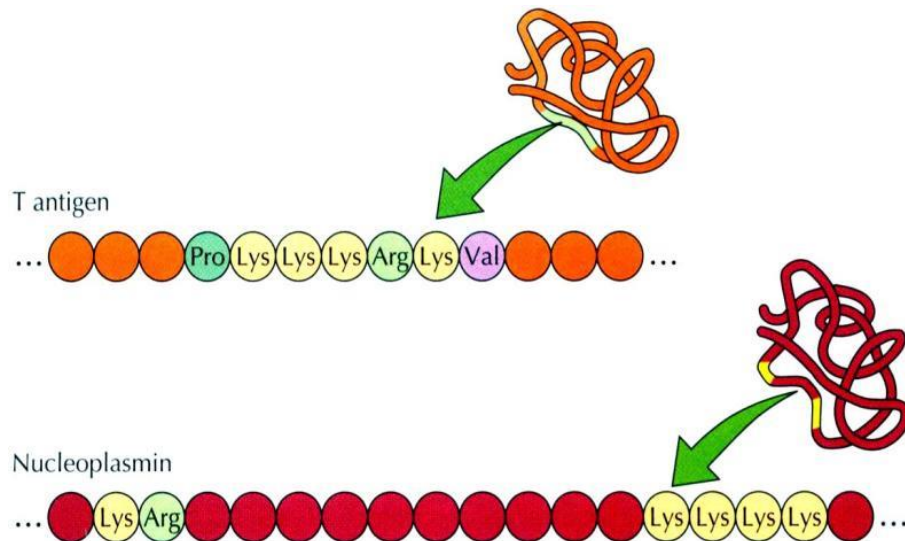
(B) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING A MUTATED NUCLEAR IMPORT SIGNAL

Pro — Pro — Lys — Thr — Lys — Arg — Lys — Val —



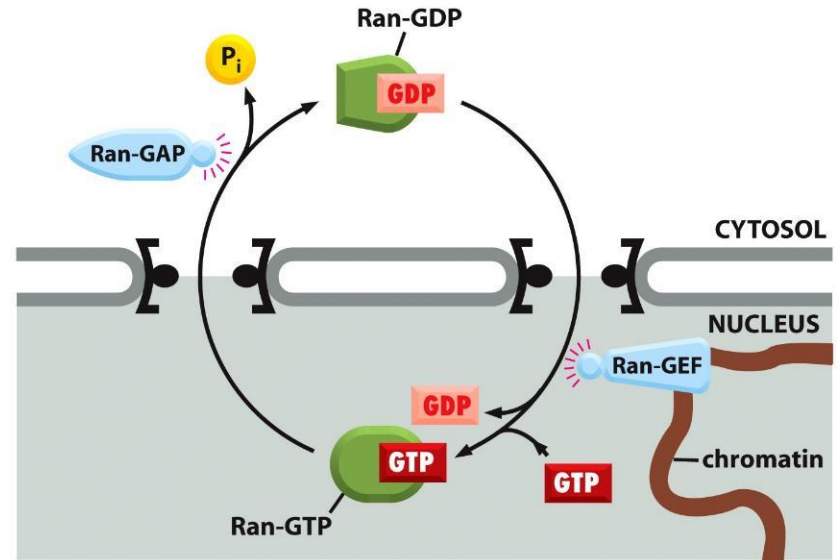
亲核蛋白入核转运机制

- 核定位信号
 - 引导亲核蛋白入核，富含碱性氨基酸残基，如Lys、Arg，还常含有Pro；
 - 可以是一段连续的序列，也有分成两段存在；
 - 完成核输入后不被切除



亲核蛋白入核转运机制

- 核定位序列 (nuclear localization sequence) 或核定位信号 (nuclear localization signal, NLS)
- 核定位信号受体为importin;
- 核输出信号 (nuclear export signal, 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



亲核蛋白通过核孔复合体的转运

- 结合 (binding) 与转移 (translocation)
- 亲核蛋白NLS 识别importin α , 与可溶性受体importin α/β 异二聚体结合, 形成转运复合物
- 在importin β 介导下, 转运复合物与核孔复合体的胞质纤维结合
- 转运复合物通过改变构象的核孔复合体从胞质面被转移到核质面
- 转运复合物在核质面与Ran-GTP 结合, 并导致复合物解离, 亲核蛋白释放
- 受体亚基与结合的Ran 返回胞质, 在胞质内Ran-GTP 水解形成Ran-GDP 并与importin β 解离, Ran-GDP返回核内再转换成Ran-GTP 状态

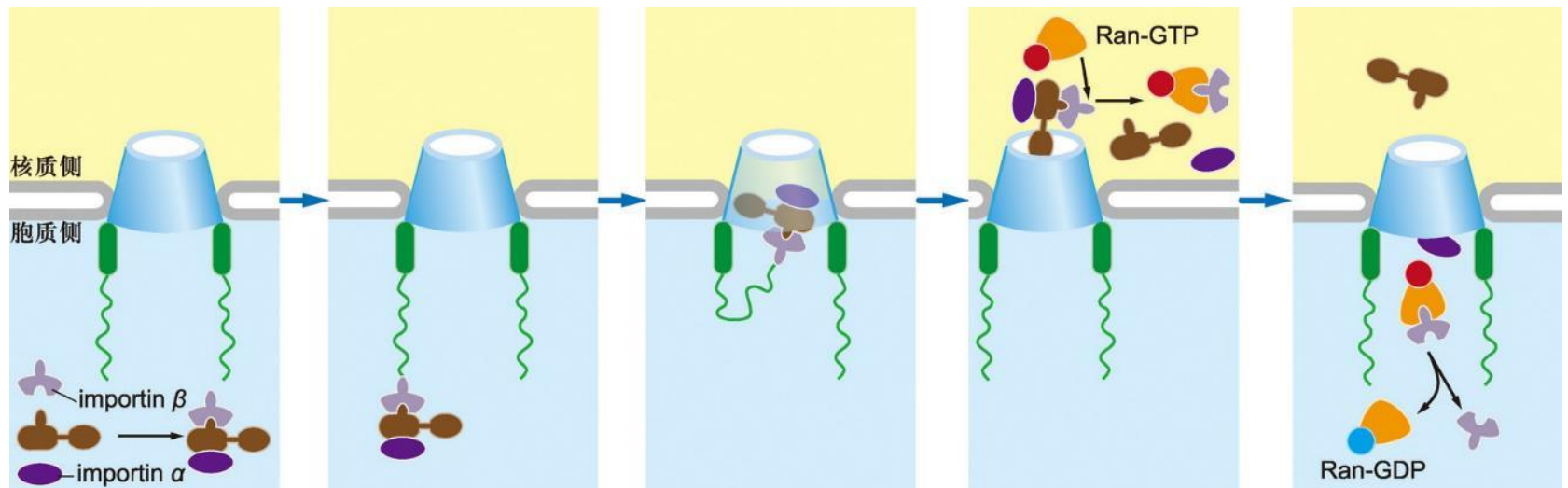
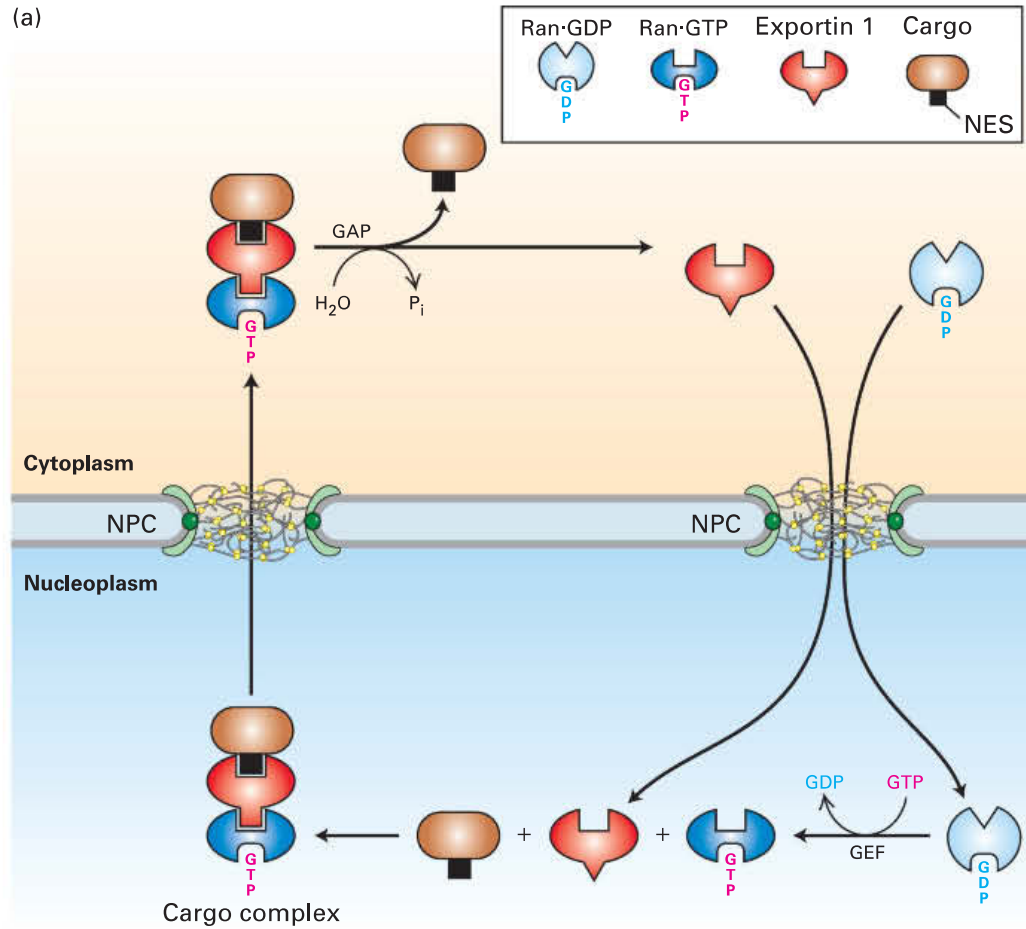
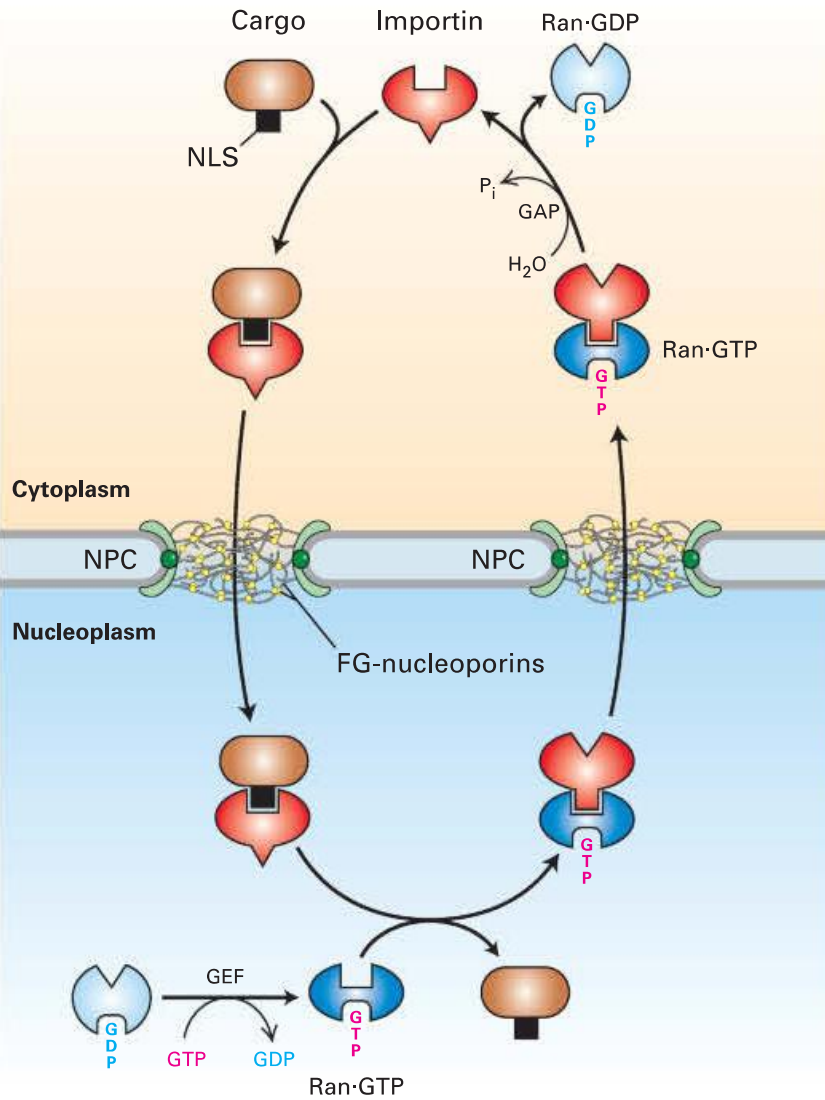


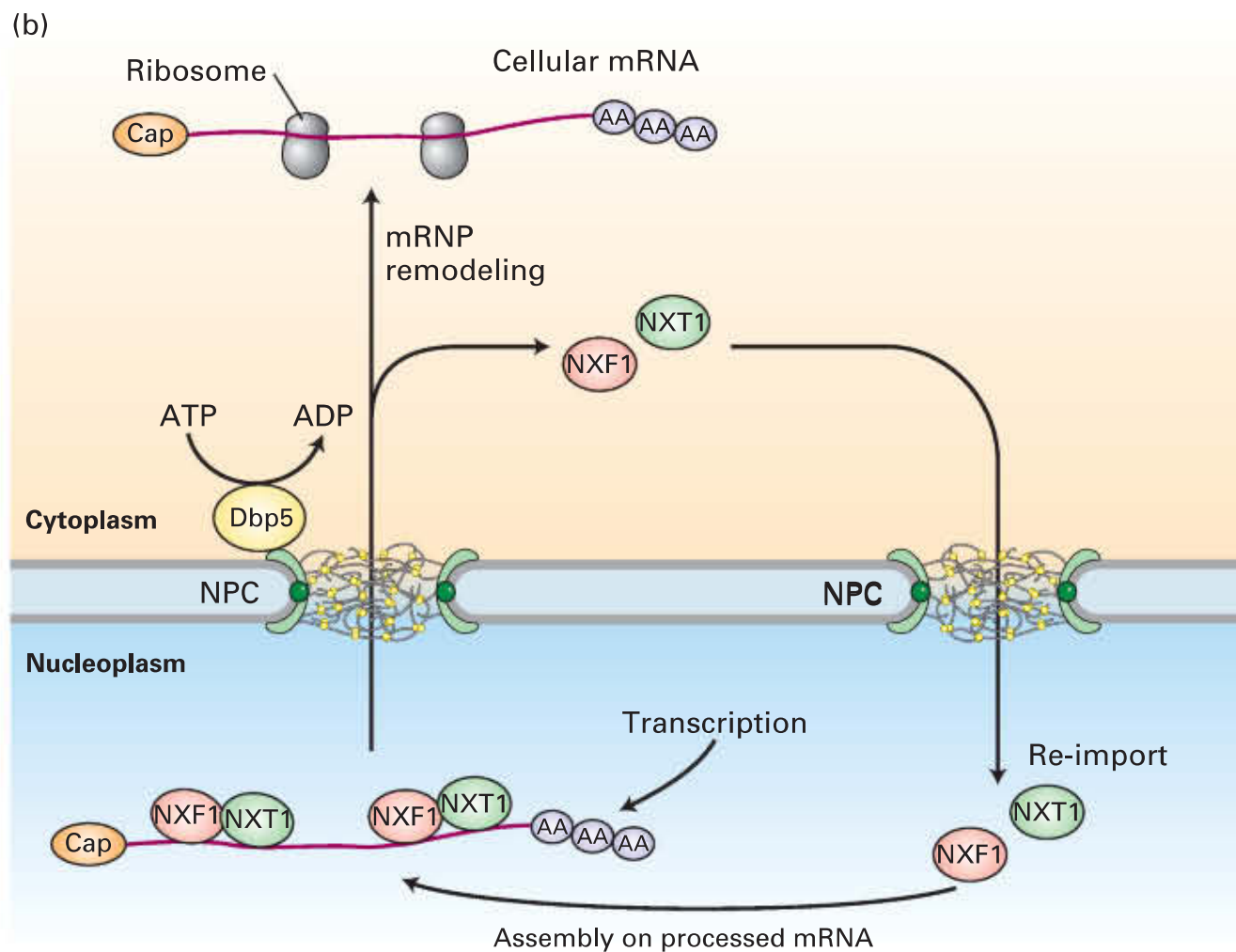
图9-5 亲核蛋白从细胞质向细胞核输入的过程示意图

Ran介导的入核转运和出核转运



不依赖于Ran的出核转运

- NXF1/NXT1作为出核转运受体



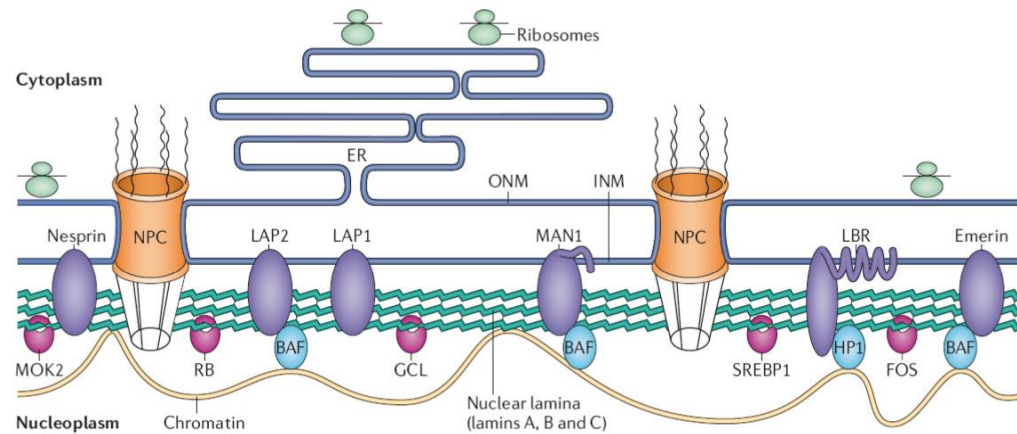
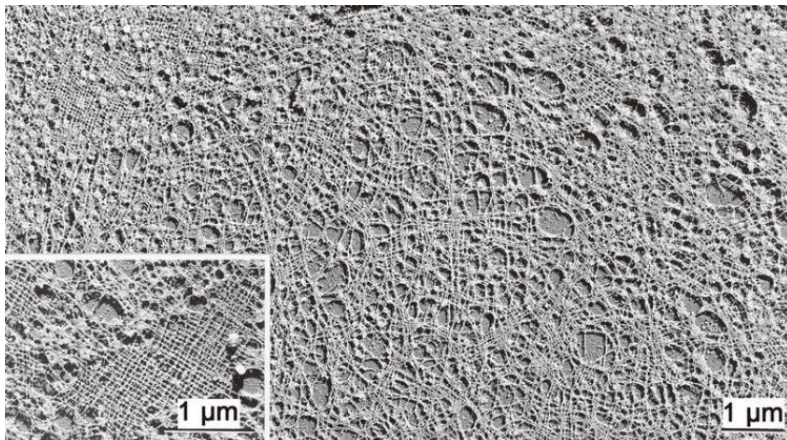
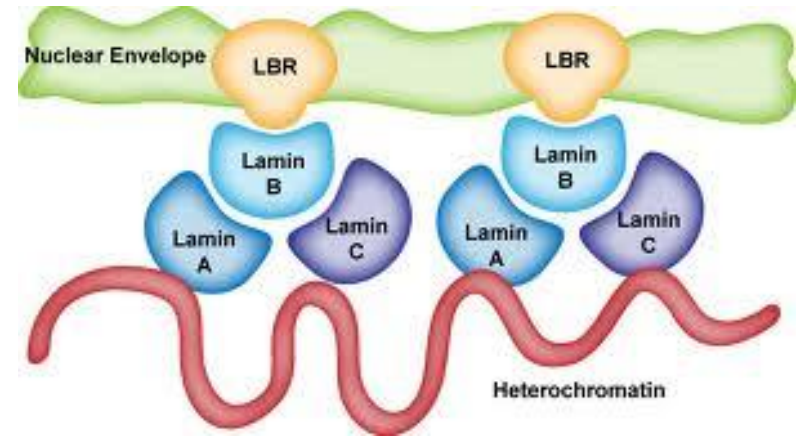
入核转运与出核转运

Nuclear Import and Export

© Sinauer Associates, Inc.

三、核纤层 nuclear lamina

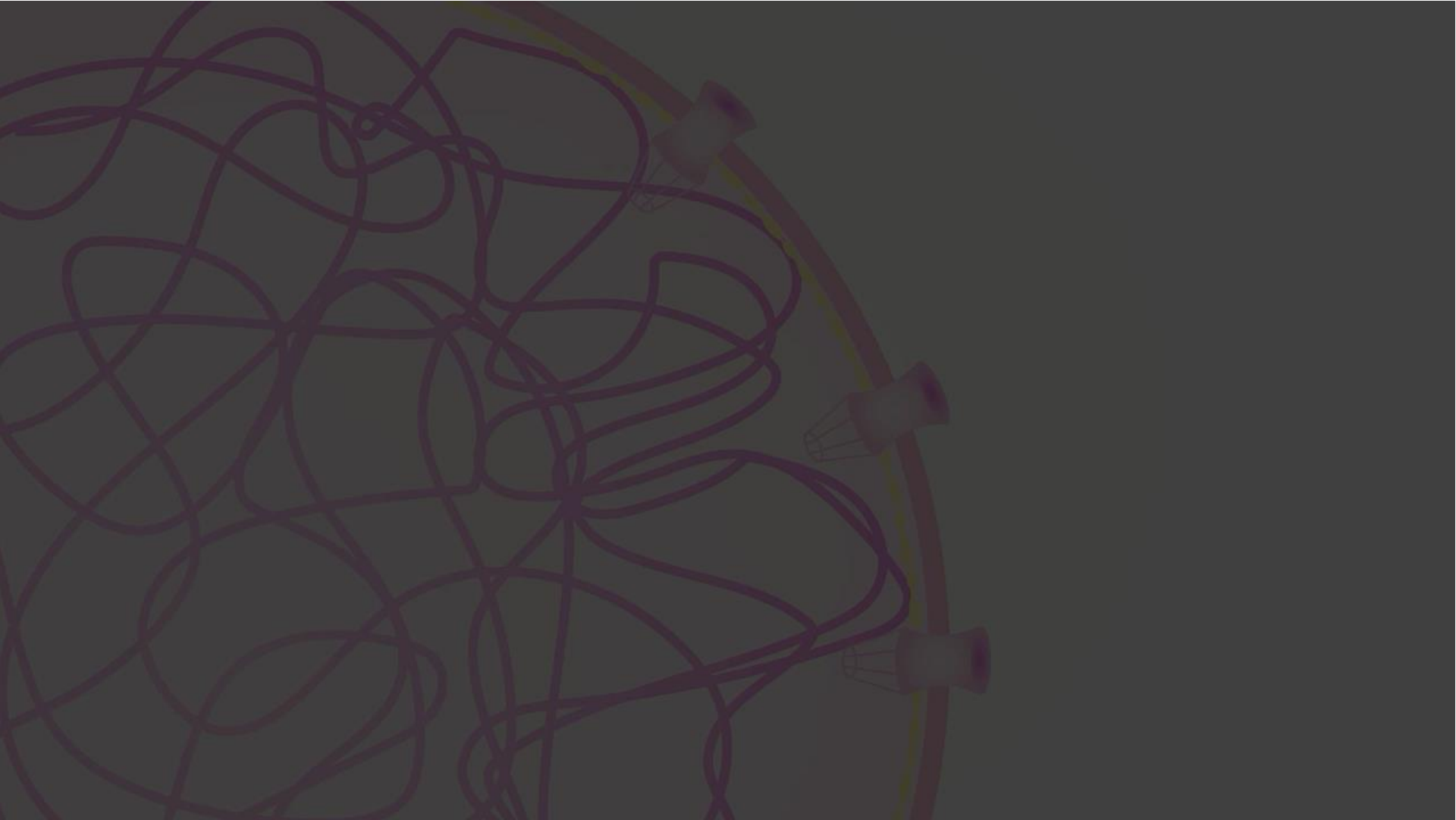
- 3 种核纤层蛋白： lamin A、B、C
- 核纤层蛋白本身形成纤维状网络结构
- 功能： 结构支撑； 调节基因表达；
调节DNA 修复； 与细胞周期有关



http://en.wikipedia.org/wiki/Nuclear_lamina

图9-6 冷冻蚀刻电镜技术显示核纤层的纤维结构

核纤层与疾病



第二节

染色质

□ 染色质DNA

□ 染色质蛋白

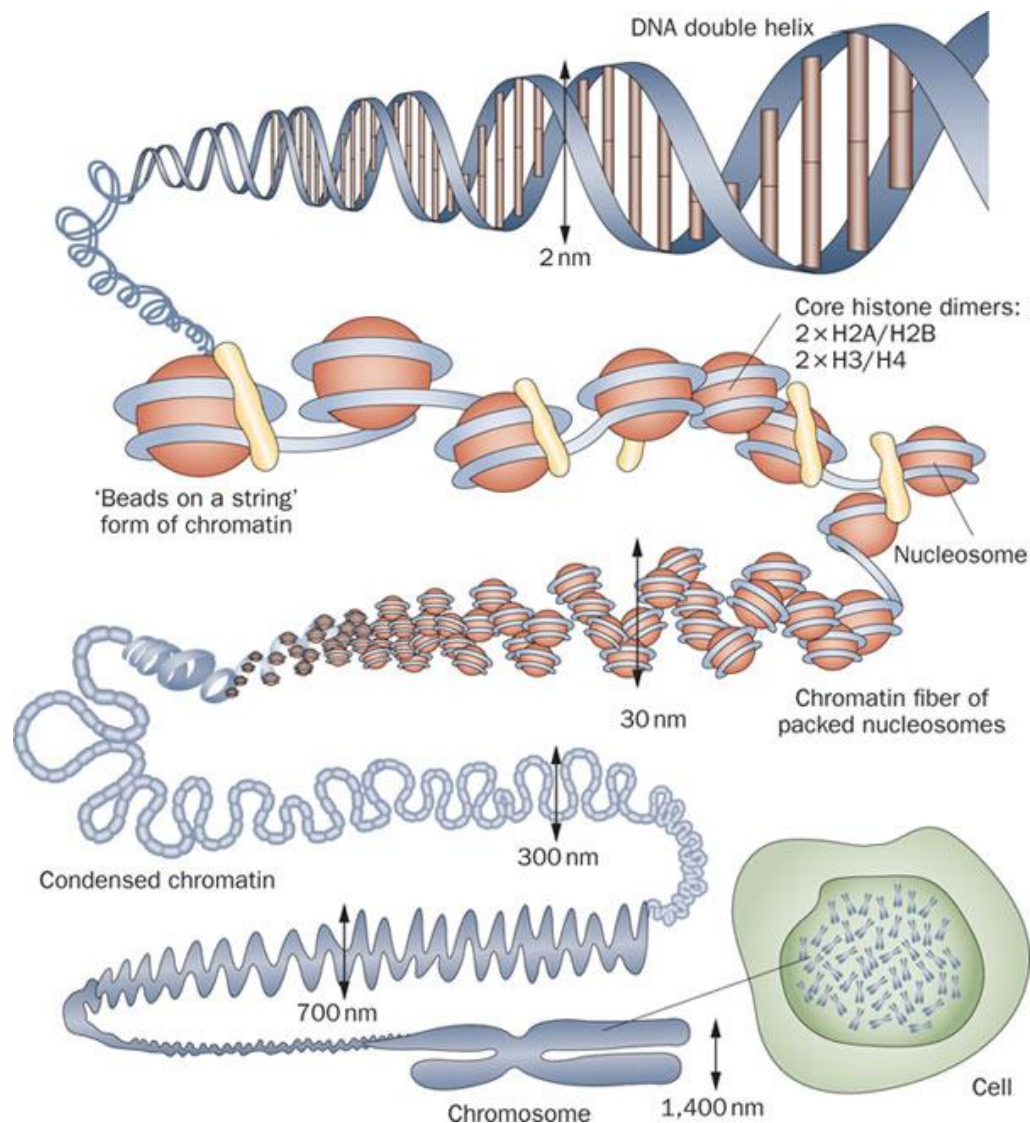
□ 核小体

□ 染色质组装

□ 染色质类型

染色质 (chromatin)

- 染色质是间期细胞核内由**DNA**、**组蛋白**、**非组蛋白**及**少量RNA**组成的线性复合结构，是间期细胞遗传物质存在的形式
- 染色体是指细胞在有丝分裂或减数分裂的特定阶段，由染色质聚缩而成的棒状结构
- 包装程度不同



染色质 (chromatin)

- 细胞内基因存在与发挥功能的结构基础
- 与基因组直接相关的细胞活动都是在染色质水平进行，如DNA复制、基因转录、同源重组、DNA修复，包括转录偶联的修复 (transcription coupled repair) 以及DNA和组蛋白的各种修饰

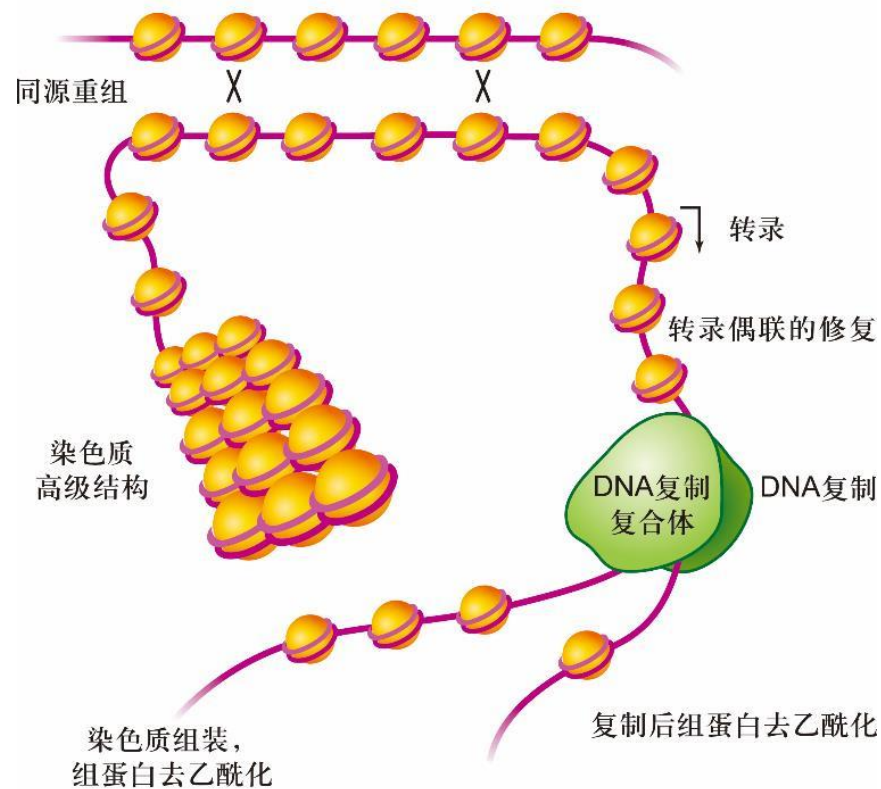


图9-7 DNA复制、转录和重组都是在染色质水平进行

一、染色质DNA——基因组大小比较

- 基因组 (genome)：某一生物的细胞中储存于单倍染色体组中的总遗传信息
- 真核生物基因组DNA 的含量比原核生物高得多

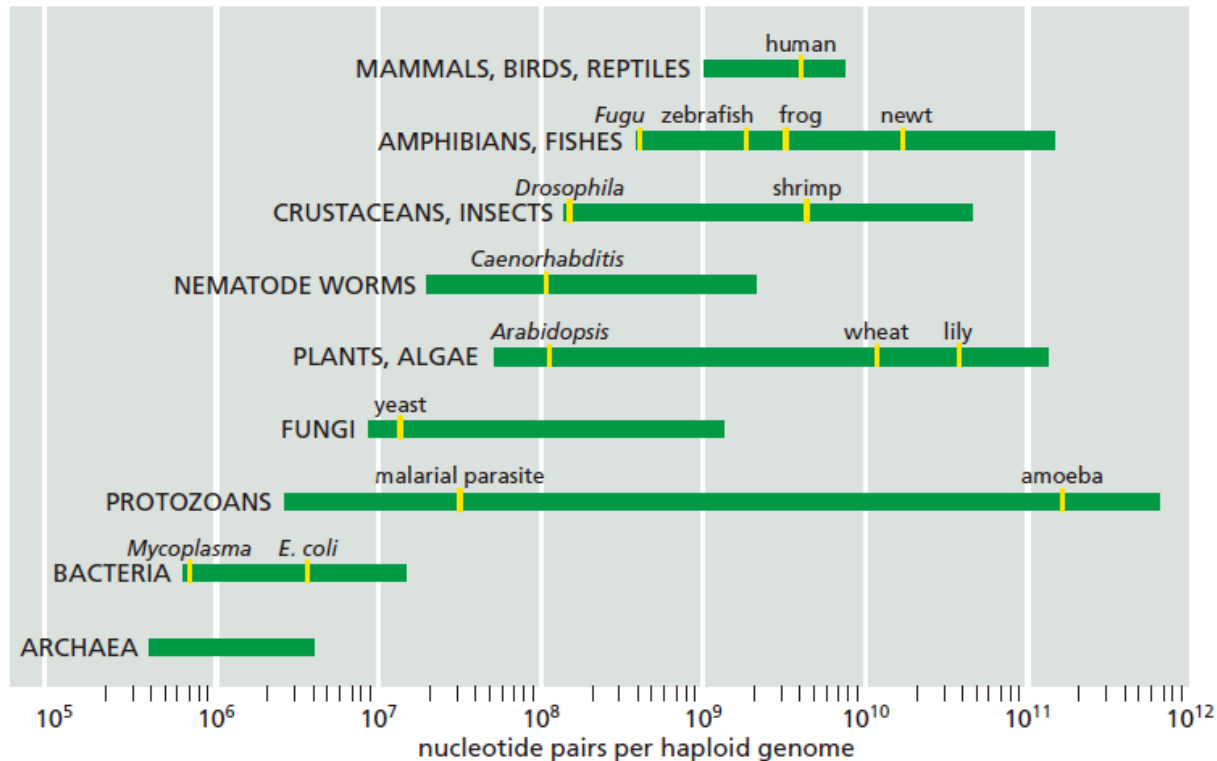


Figure 1-32 Genome sizes compared. Genome size is measured in nucleotide pairs of DNA per haploid genome, that is, per single copy of the genome. (The cells of sexually reproducing organisms such as ourselves are generally diploid: they contain two copies of the genome, one inherited from the mother, the other from the father.) Closely related organisms can vary widely in the quantity of DNA in their genomes, even though they contain similar numbers of functionally distinct genes. (Data from W.H. Li, *Molecular Evolution*, pp. 380-383. Sunderland, MA: Sinauer, 1997.)

一、染色质DNA——基因组大小比较

- 必需基因与非必需基因
- 最小最简单的细胞支原体，有迄今发现的能独立生活的有机体的最小基因组（470个基因，其中256个必须基因）

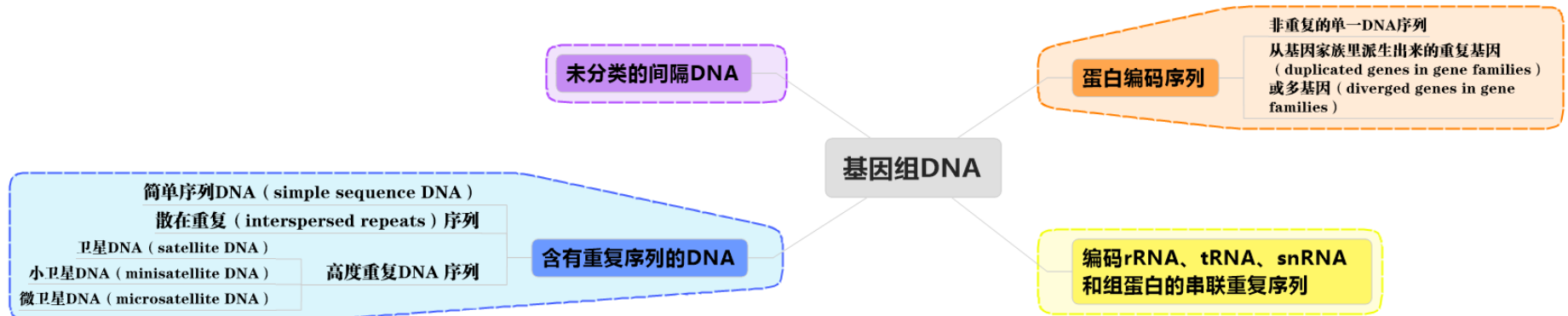
表 11-2 已测序的基因组比较

物种	基因组大小 /Mb	基因数目
细菌		
生殖支原体	0.58	470
流感嗜血杆菌	1.8	1 743
大肠杆菌	4.6	4 288
酵母		
芽殖酵母	12	6 000
裂殖酵母	12	4 800
无脊椎动物		
秀丽隐杆线虫	97	19 000
果蝇	180	13 600
植物		
拟南芥	125	26 000
水稻	440	30 000~50 000
哺乳动物		
人	3 200	30 000~40 000

Mb = 百万碱基对。

一、染色质DNA——基因组DNA 类型

- 蛋白编码序列
- 编码rRNA、tRNA、snRNA和组蛋白的串联重复序列
- 含有重复序列的DNA
- 未分类的间隔DNA



一、染色质DNA——基因组DNA 类型

- 蛋白编码序列
- 编码rRNA、tRNA、snRNA和组蛋白的串联重复序列
- 含有重复序列的DNA
- 未分类的间隔DNA

表 11-2 已测序的基因组比较

物种	基因组大小 /Mb	基因数目	蛋白编码序列
细菌			
生殖支原体	0.58	470	88%
流感嗜血杆菌	1.8	1 743	89%
大肠杆菌	4.6	4 288	88%
酵母			
芽殖酵母	12	6 000	70%
裂殖酵母	12	4 800	60%
无脊椎动物			
秀丽隐杆线虫	97	19 000	25%
果蝇	180	13 600	13%
植物			
拟南芥	125	26 000	25%
水稻	440	30 000~50 000	~10%
哺乳动物			
人	3 200	30 000~40 000	1%~1.5%

Mb = 百万碱基对。

一、染色质DNA——基因组DNA 类型

- 蛋白编码序列
- 编码rRNA、tRNA、snRNA和组蛋白的串联重复序列
- 含有重复序列的DNA
- 未分类的间隔DNA

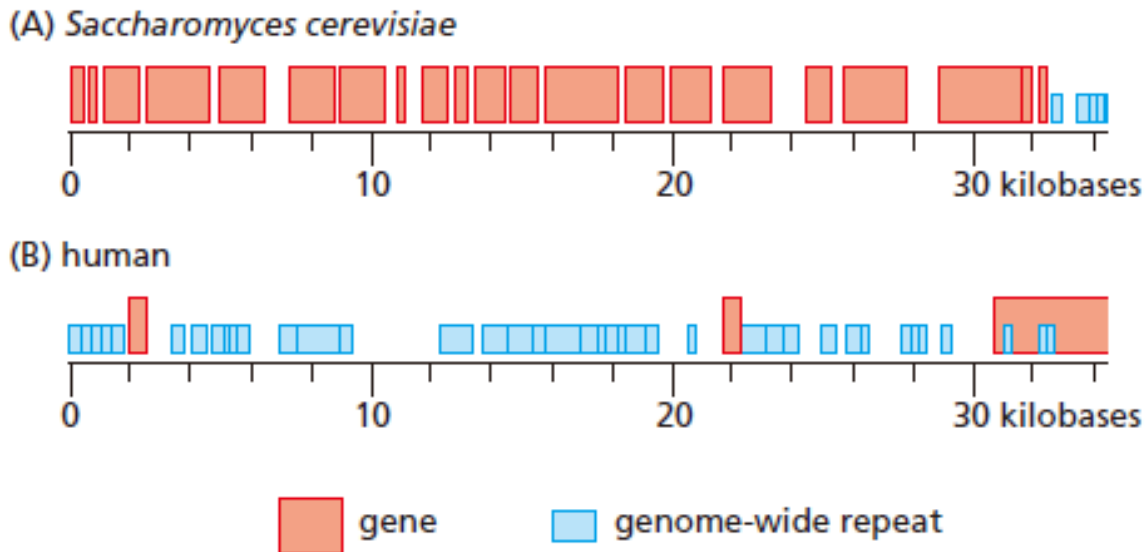
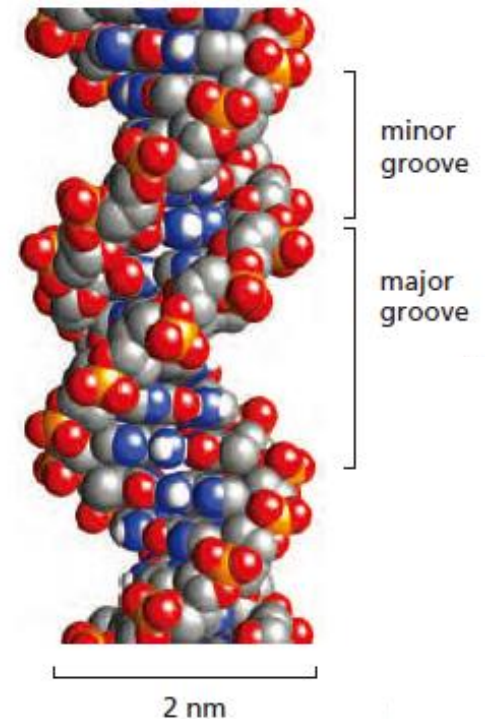
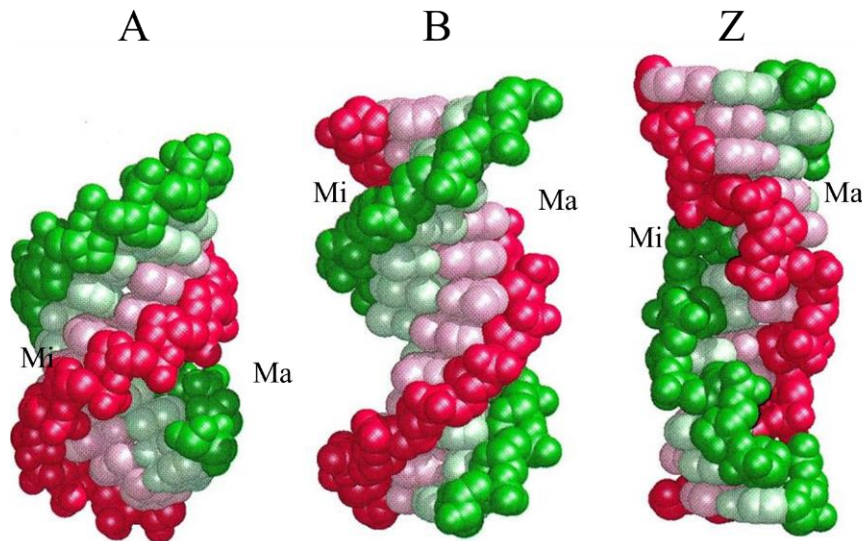


Figure 4-13 The arrangement of genes in the genome of *S. cerevisiae* compared to humans. (A) *S. cerevisiae* is a budding yeast widely used for brewing and baking. The genome of this single-celled eukaryote is distributed over 16 chromosomes. A small region of one chromosome has been arbitrarily selected to show its high density of genes. (B) A region of the human genome of equal length to the yeast segment in (A). The human genes are much less densely packed and the amount of interspersed DNA sequence is far greater. Not shown in this sample of human DNA is the fact that most human genes are much longer than yeast genes (see Figure 4-15).

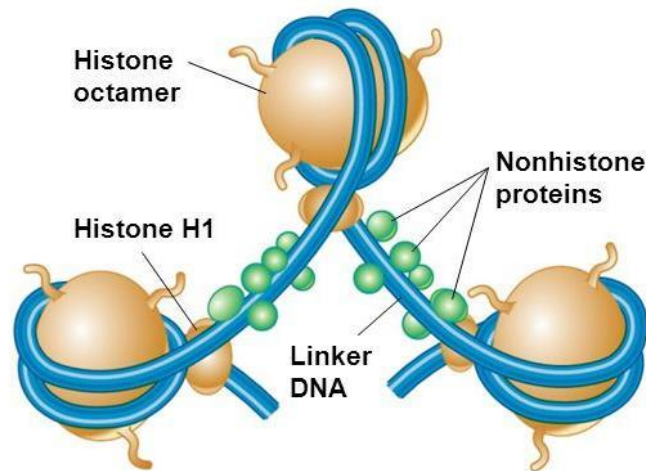
DNA 二级结构构型

- DNA一级结构具有多样性，二级结构也具有多态性
- 二级结构：两条多核苷酸链反向平行盘绕所生成的双螺旋结构
 - B型DNA（右手双螺旋，“经典”的Watson-Crick 结构）：活性最高
 - A型DNA（B型DNA变构形式，右手双螺旋）
 - Z型DNA（B型DNA变构形式，左手螺旋）
- 高级结构：正、负超螺旋



二、染色质蛋白

- 组蛋白 (histone)
 - 与DNA 结合, 没有序列特异性
 - 构成真核生物染色体的基本结构蛋白
- 非组蛋白 (nonhistone)
 - 与特定 DNA 序列或组蛋白相结合
 - 功能多样



Nucleosomes showing linker histones and nonhistone proteins

(一) 组蛋白 (histone)

- 属**碱性蛋白质**，富含带正电荷的Arg 和Lys 等碱性氨基酸，可以和酸性DNA 紧密结合，一般不要求特殊核苷酸序列
- **核小体组蛋白**
 - H2A、H2B、H3 和H4
 - 没有种属及组织特异性，进化上十分保守
- **H1 组蛋白**
 - 有一定的种属和组织特异性

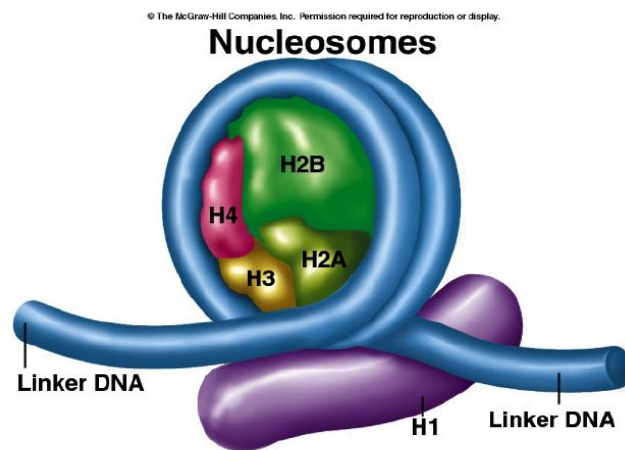


表 11-4 5 种组蛋白的某些特性

种类	类型	碱性氨基酸			酸性氨基酸	碱性氨基酸 / 酸性氨基酸	氨基酸残基数	相对分子质量	核小体上位置
		Lys	Arg	Lys/Arg					
H1	极度富含 Lys	29%	1%	29	5%	6.0	215	23 000	连接
H2A	同上	11%	9%	1.2	15%	1.3	129	14 500	核心
H2B	同上	16%	6%	2.7	13%	1.7	125	13 774	核心
H3	轻度富含 Lys	10%	13%	0.77	13%	1.8	135	15 324	核心
H4	富含 Arg	11%	14%	0.79	10%	2.5	102	11 822	核心

(二) 非组蛋白 (nonhistone)

- 序列特异性 DNA结合蛋白 sequence specific DNA binding protein
- 特性:
 - 多样性
 - 识别DNA具有特异性
 - 具有功能多样性

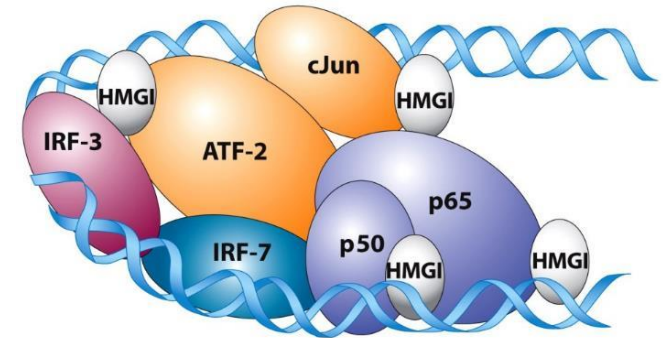


Figure 7-30
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

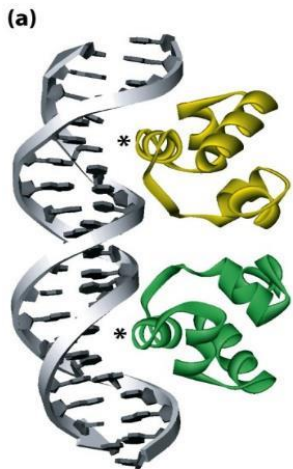


Figure 7-24
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

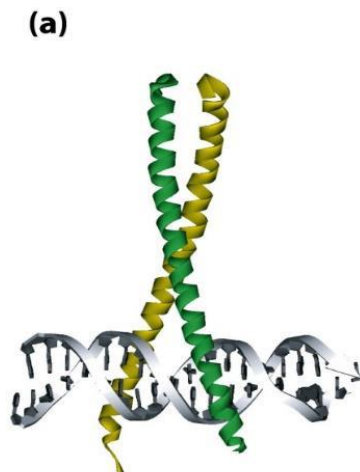


Figure 7-26
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

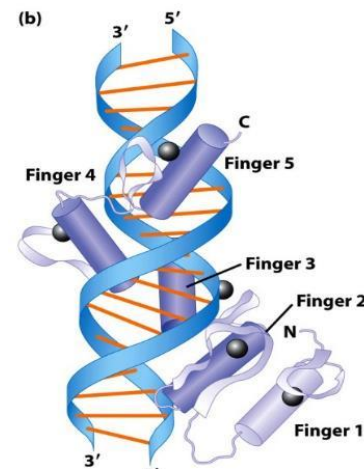


Figure 7-25bc
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

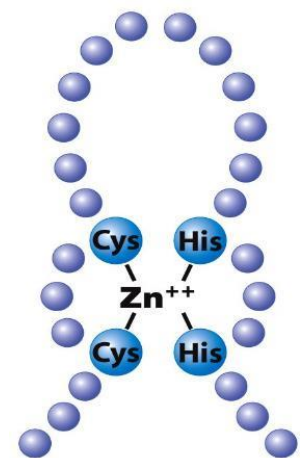
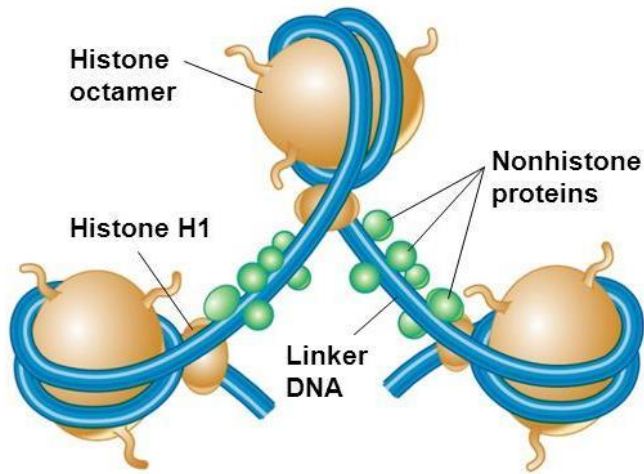


Figure 7-25a
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

三、核小体 (nucleosome)

- 核小体：染色质组装的基本结构单位
- 染色质结构的“串珠”模型



Nucleosomes showing linker histones and nonhistone proteins

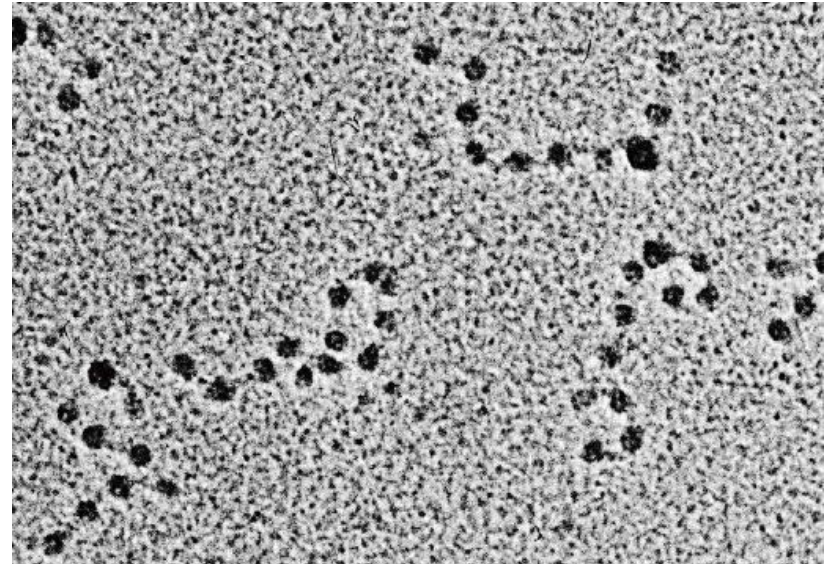


图9-8 透射电镜显示串珠状11 nm 的核小体结构

(一) 核小体的发现

- 温和的方法裂解细胞核
- 未经处理的染色质自然结构为30nm的纤丝
- 经盐溶液处理后解聚的染色质成11nm的串珠状结构

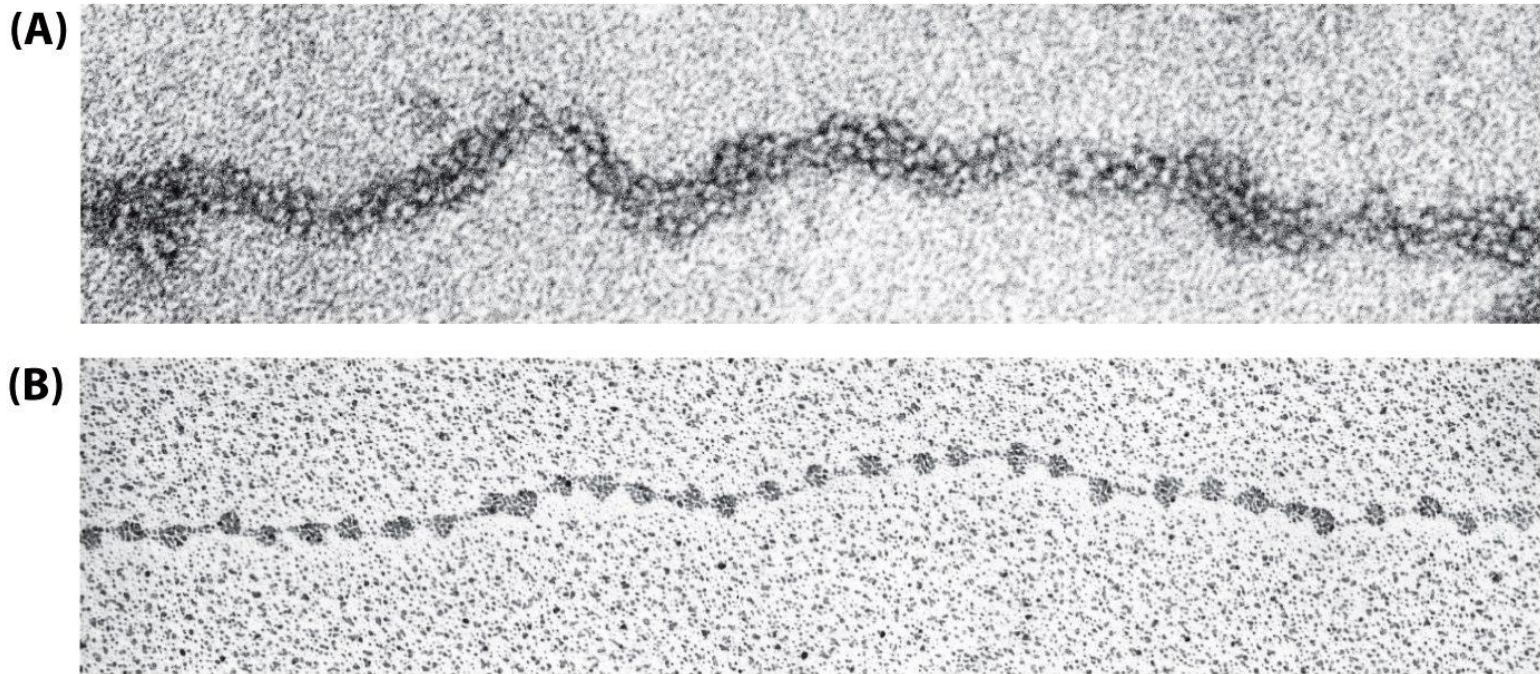


Figure 4-22 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

50 nm

(一) 核小体的发现

- 非特异性微球菌核酸酶 (micrococcal nuclease) 消化染色质，DNA 被降解成约200 bp 的片段

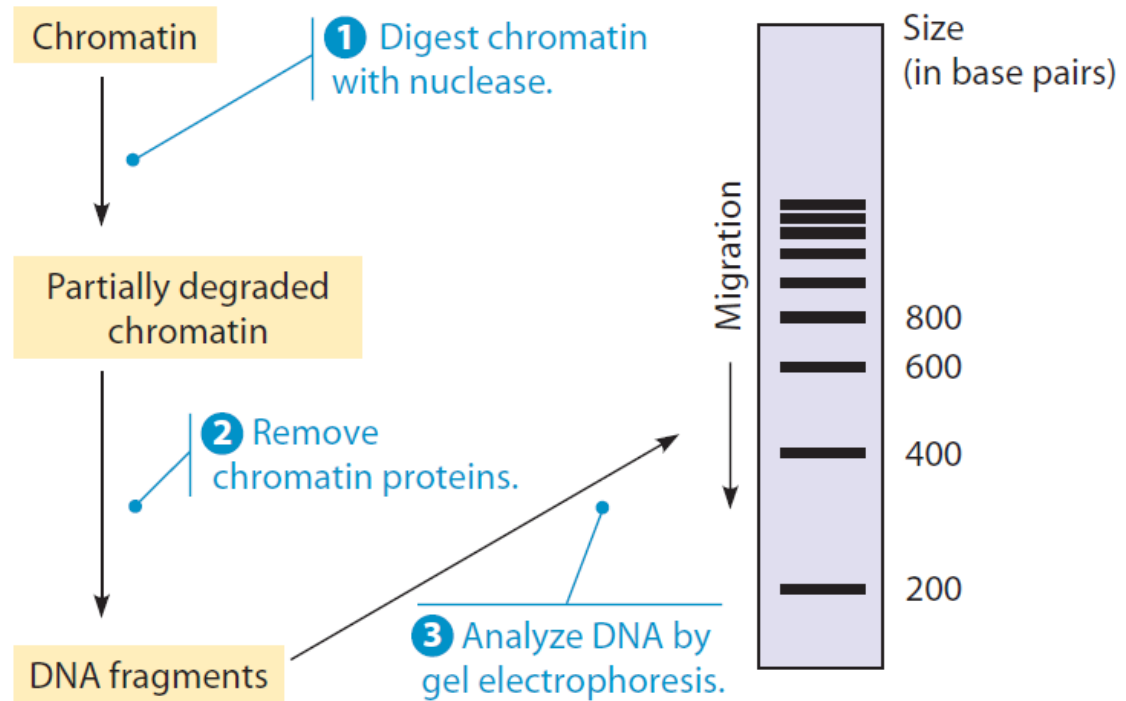


FIGURE 18-19 Evidence That Proteins Are Clustered at 200 Base-Pair Intervals Along the DNA Molecule in Chromatin Fibers. In these experiments, DNA fragments generated by nuclease digestion of rat liver chromatin were analyzed by gel electrophoresis. The discovery that the DNA fragments are multiples of 200 base pairs suggests that histones are clustered at 200 base-pair intervals along the DNA, thereby conferring a regular pattern of protection against nuclease digestion.

(一) 核小体的发现

- X 射线晶体衍射揭示核小体三维结构
- 直径为11nm，高6.0nm的扁圆柱体，具有二分对称性

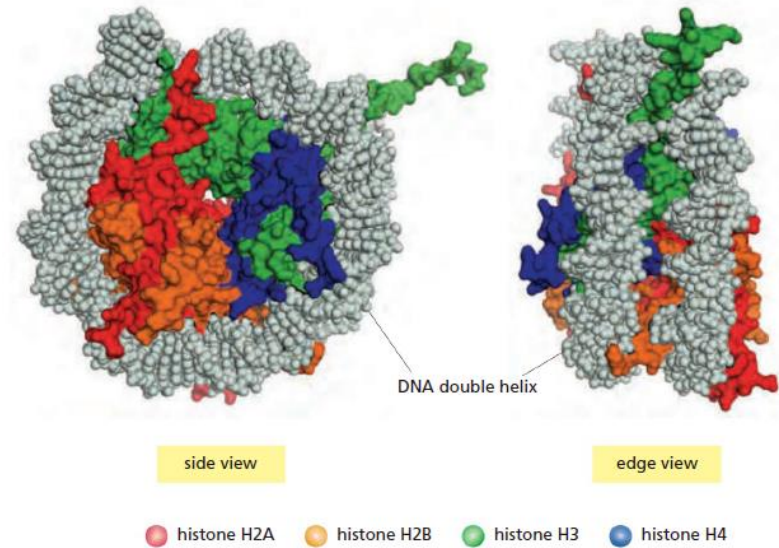
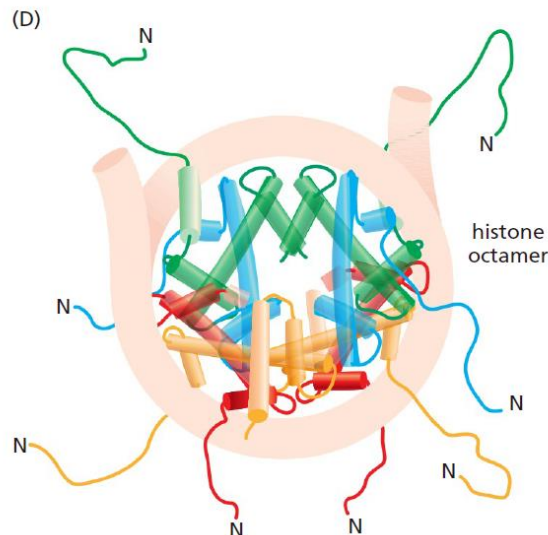
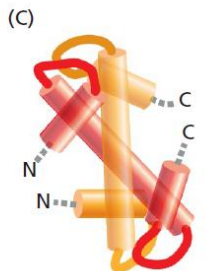
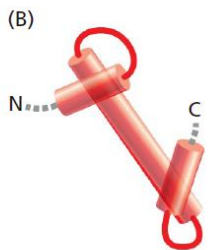
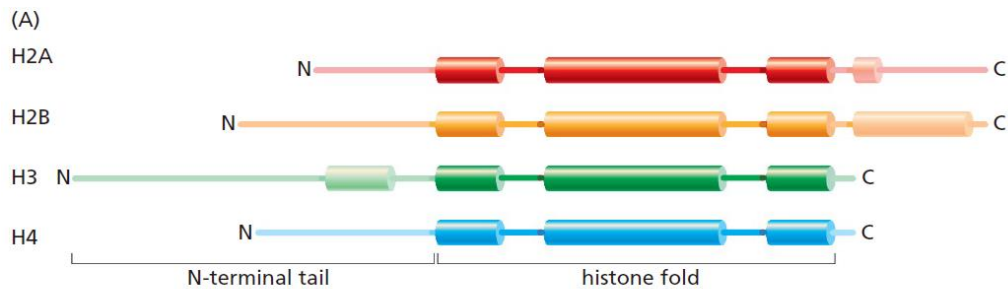
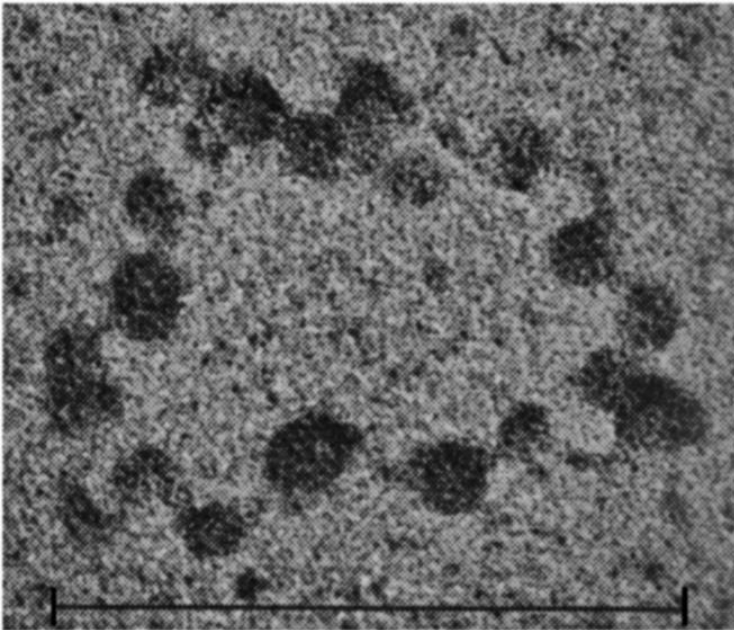


Figure 4-23 The structure of a nucleosome core particle, as determined by x-ray diffraction analyses of crystals. Each histone is colored according to the scheme in Figure 4-22, with the DNA double helix in light gray. (Adapted from K. Luger et al., *Nature* 389:251-260, 1997. With permission from Macmillan Publishers Ltd.)

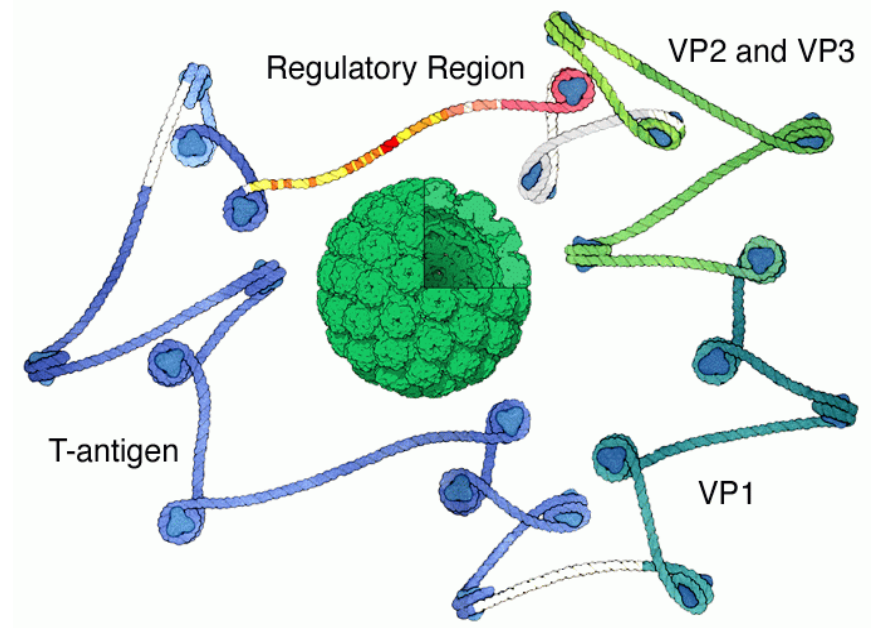
Figure 4-24 The overall structural organization of the core histones. (A) Each of the core histones contains an N-terminal tail, which is subject to several forms of covalent modification, and a histone fold region, as indicated. (B) The structure of the histone fold, which is formed by all four of the core histones. (C) Histones 2A and 2B form a dimer through an interaction known as the "handshake." Histones H3 and H4 form a dimer through the same type of interaction. (D) The final histone octamer on DNA. Note that all eight N-terminal tails of the histones protrude from the disc-shaped core structure. Their conformations are highly flexible, and they serve as binding sites for sets of other proteins.

(一) 核小体的发现

- SV40 微小染色体 (minichromosome) 分析



Virology, 2009, 384(2): 352-359



<http://hpdb.hbu.cn/molecule/sv40/sv40.asp>

(二) 核小体的结构

- 包括200 bp 左右的DNA 超螺旋和一个组蛋白八聚体以及一个分子的组蛋白H1
- 组蛋白八聚体构成核小体的盘状核心颗粒，由4个异二聚体组成，包括两个H2A • H2B 和两个H3 • H4

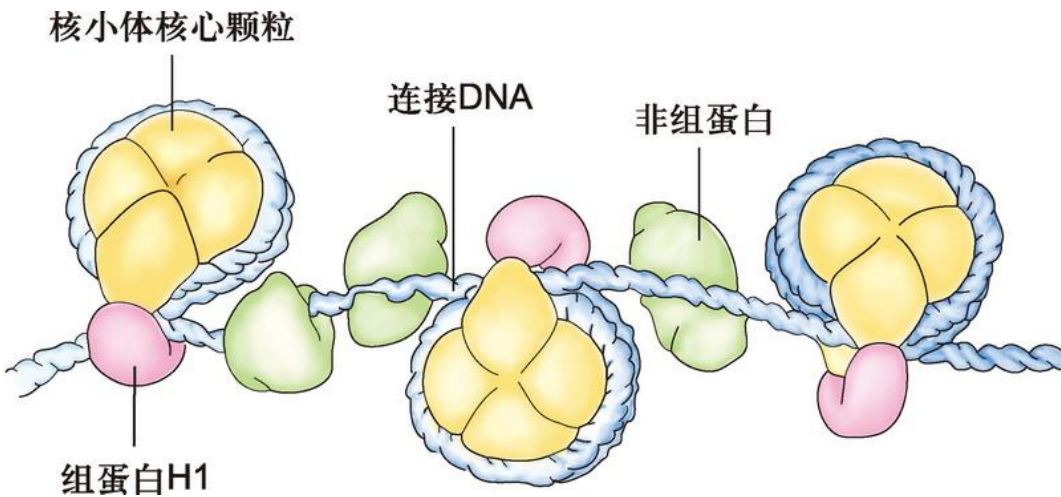


图 9-10 核小体的结构要点示意图

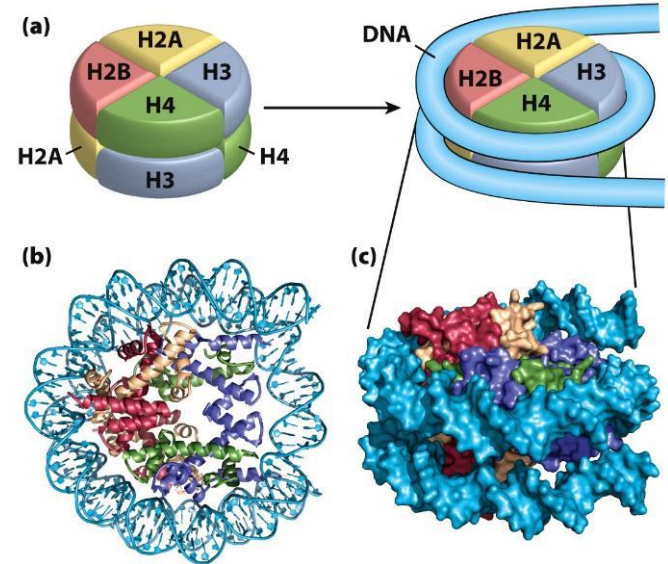
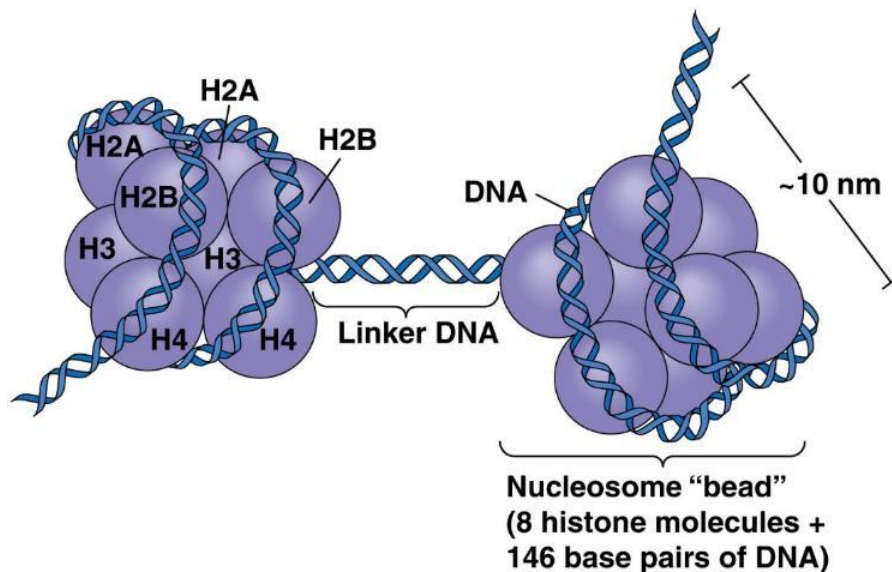


Figure 24-26abc
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

(二) 核小体的结构

- 146 bp的DNA分子超螺旋盘绕组蛋白八聚体1.75 圈
- 组蛋白H1 结合额外20 bp DNA， 锁住核小体DNA的进出端， 稳定核小体
- Linker DNA: 相邻核小体之间； 典型长度为60 bp， 不同物种变化值为0 ~ 80 bp 不等



(二) 核小体的结构

- 组蛋白与DNA 之间的相互作用主要是结构性的，基本不依赖于核苷酸的特定序列
- 核小体沿DNA 的定位受不同因素的影响

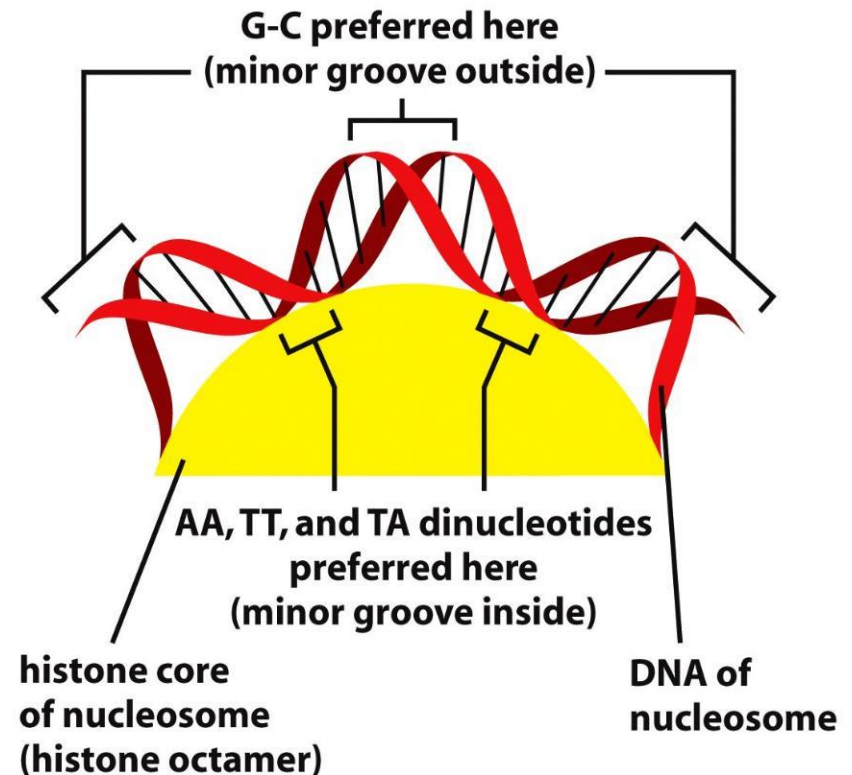


Figure 4-27 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

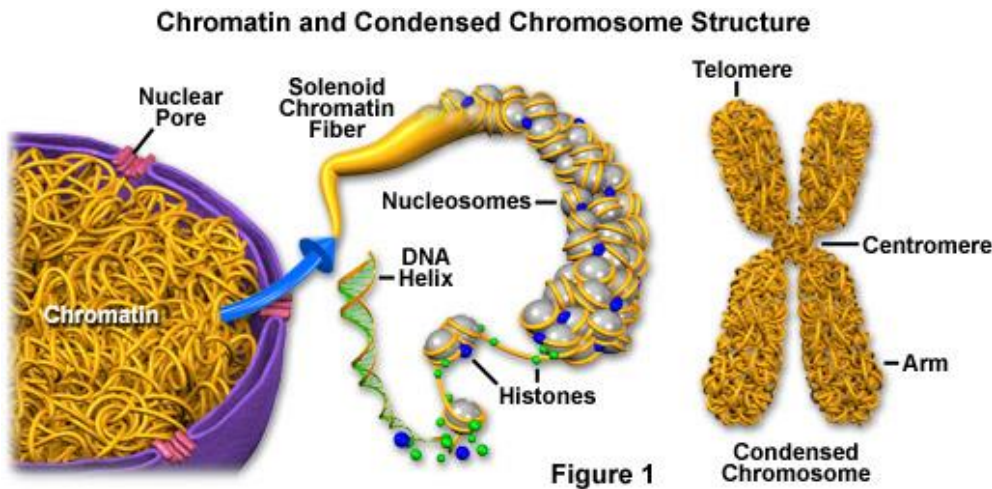
四、染色质组装

Chromosome Coiling

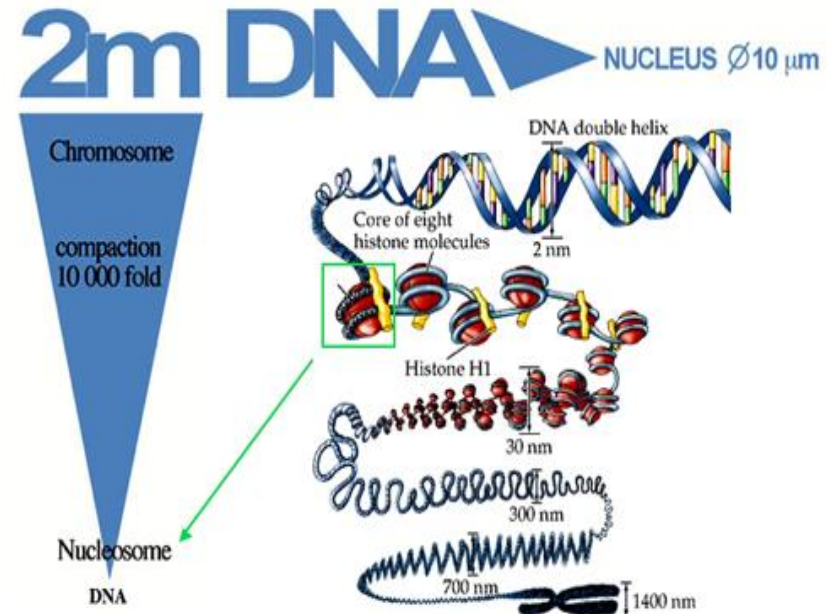
This material copyright
© W. W. Norton and Company, Inc.,
unless otherwise stated. All rights reserved.

四、染色质组装

- 人体细胞46条染色体含DNA约 6×10^9 bp，总长2米



<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/nucleus/chromatin.html>



<http://www.chromatintoronto.ca/projects.html>

(一) 染色质组装的前期过程

- 裸露DNA 组装直径30 nm 螺线管
 - H3 • H4 两个异二聚体结合
 - 两个H2A • H2B 异二聚体加入
 - 组蛋白去乙酰化, H1组蛋白结合
 - 伴随着核小体折叠
 - 6 个核小体组成一个螺旋或由其他组装方式形成一个螺线管结构
 - 进一步折叠事件使染色质在核中形成确定的结构

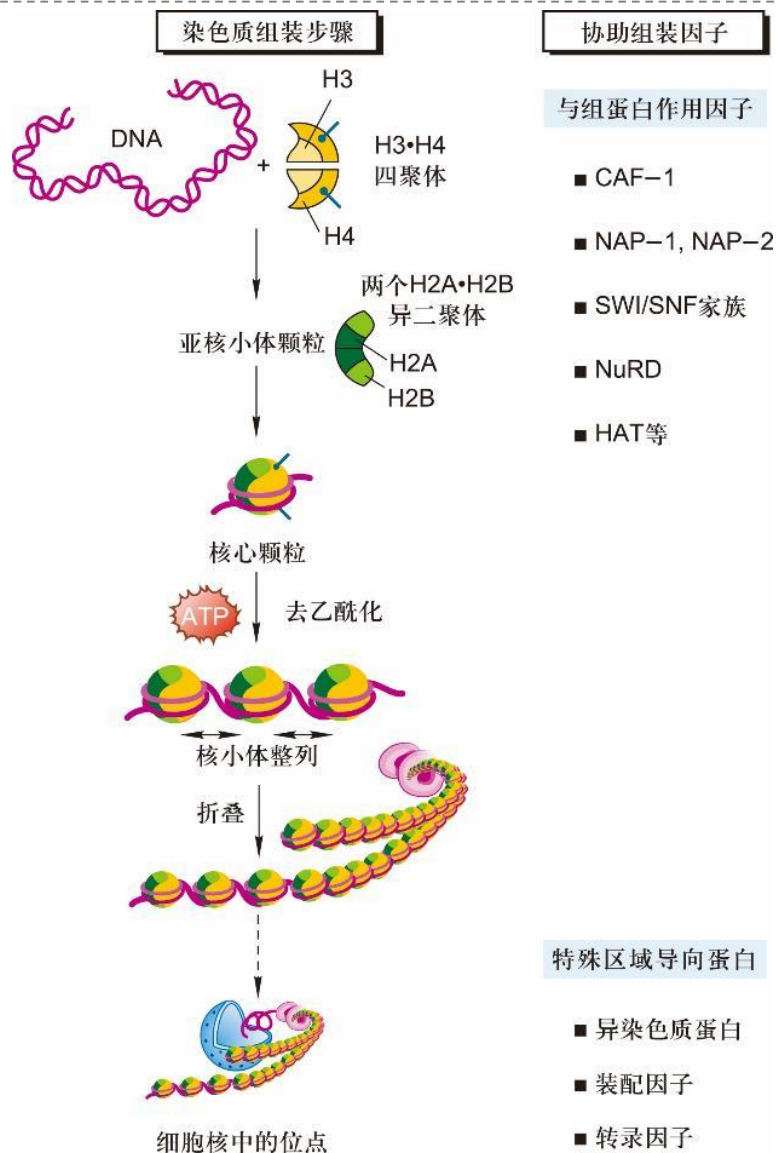


图9-11 DNA 组装成染色质的过程及各阶段的协助组装因子

(二) 染色质组装的多级螺旋模型

- 一级结构：核小体
- 二级结构：螺线管 (每圈6个核小体)
- 三级结构：超螺线管
- 四级结构：染色单体

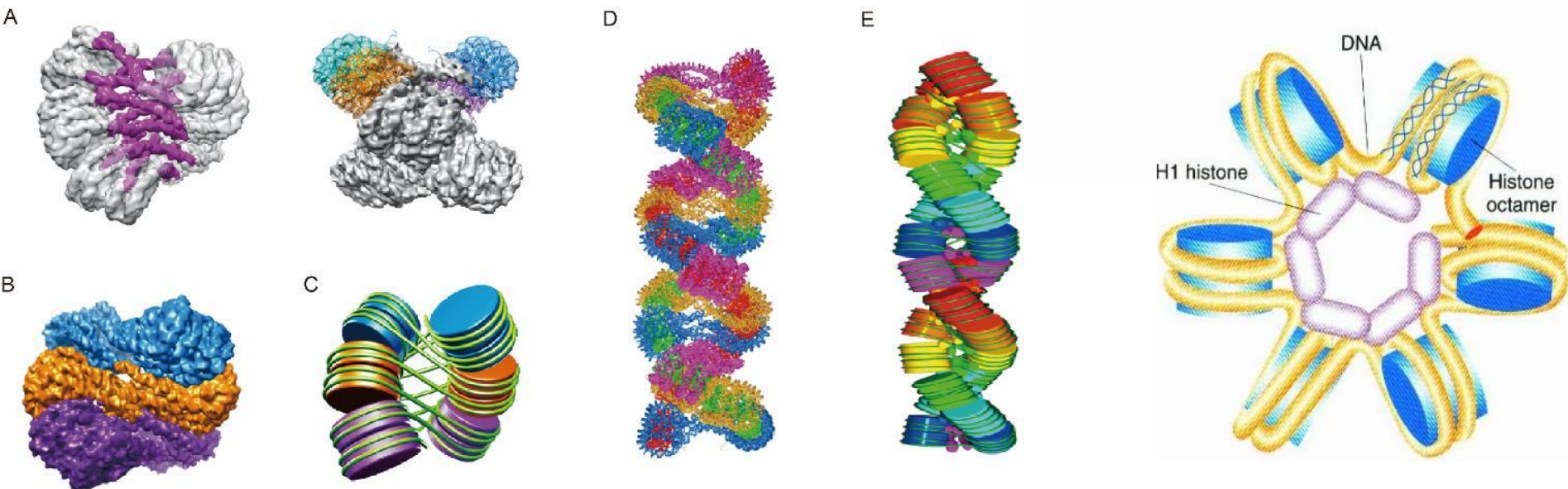
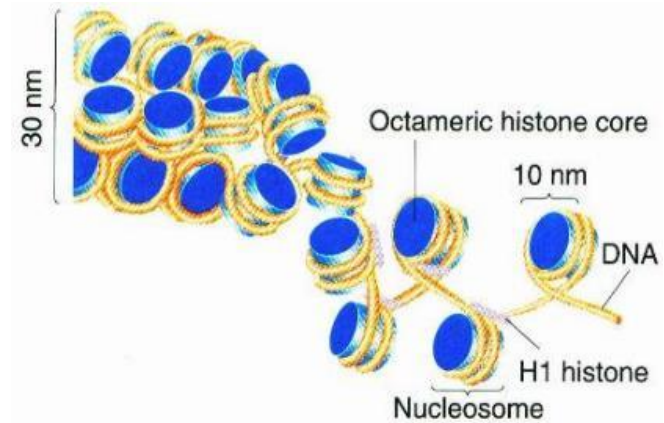
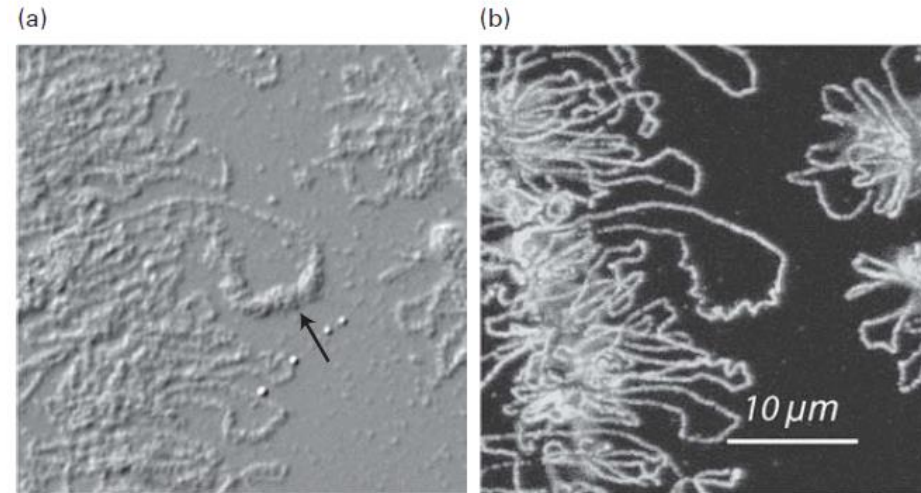
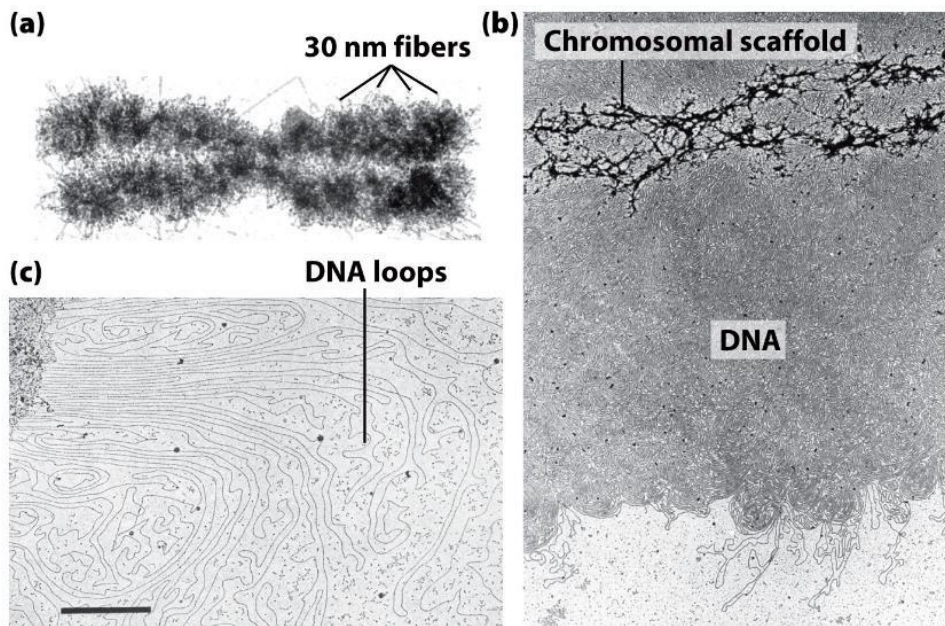


图9-12 30 nm 染色质纤维的三维结构

(三) 染色质组装的放射环结构模型

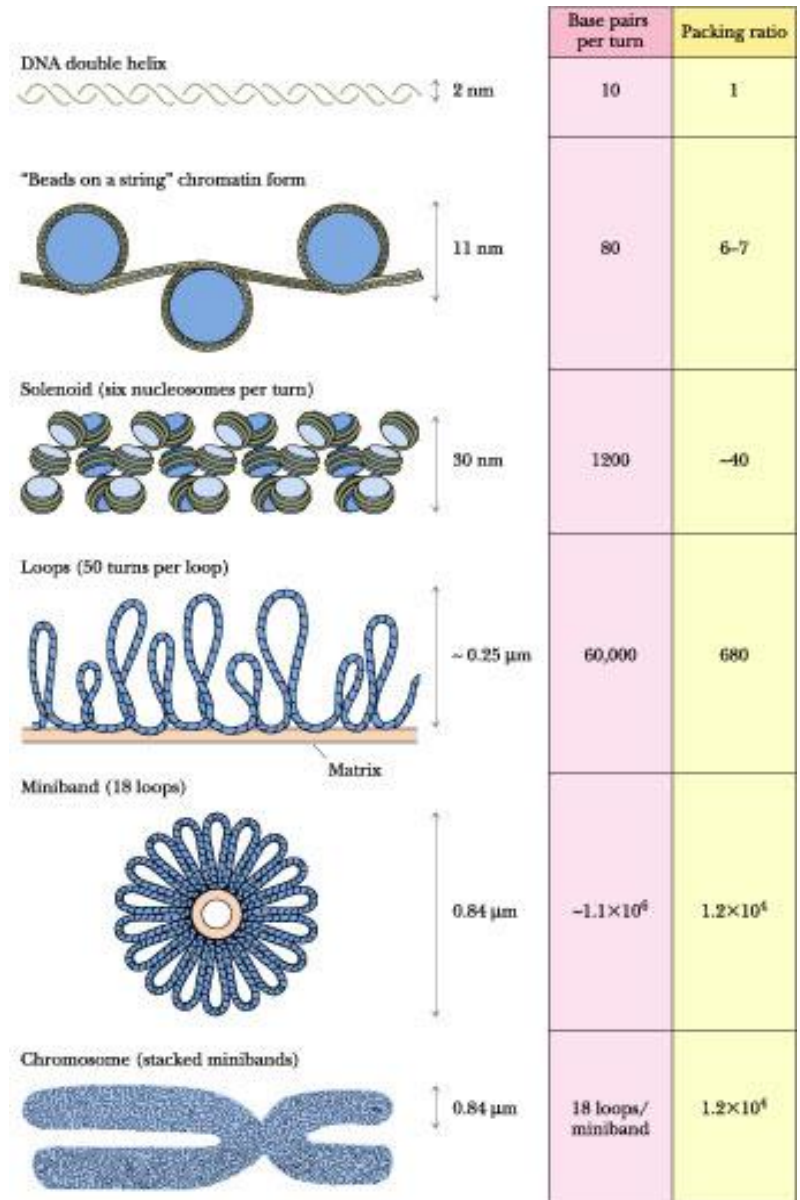
- 非组蛋白构成染色体骨架 (chromosomal scaffold) 和与骨架相连的无数 DNA 侧环
- 袢环结构可能是染色体高级结构的普遍特征



蝶螈卵母细胞中的灯刷染色体

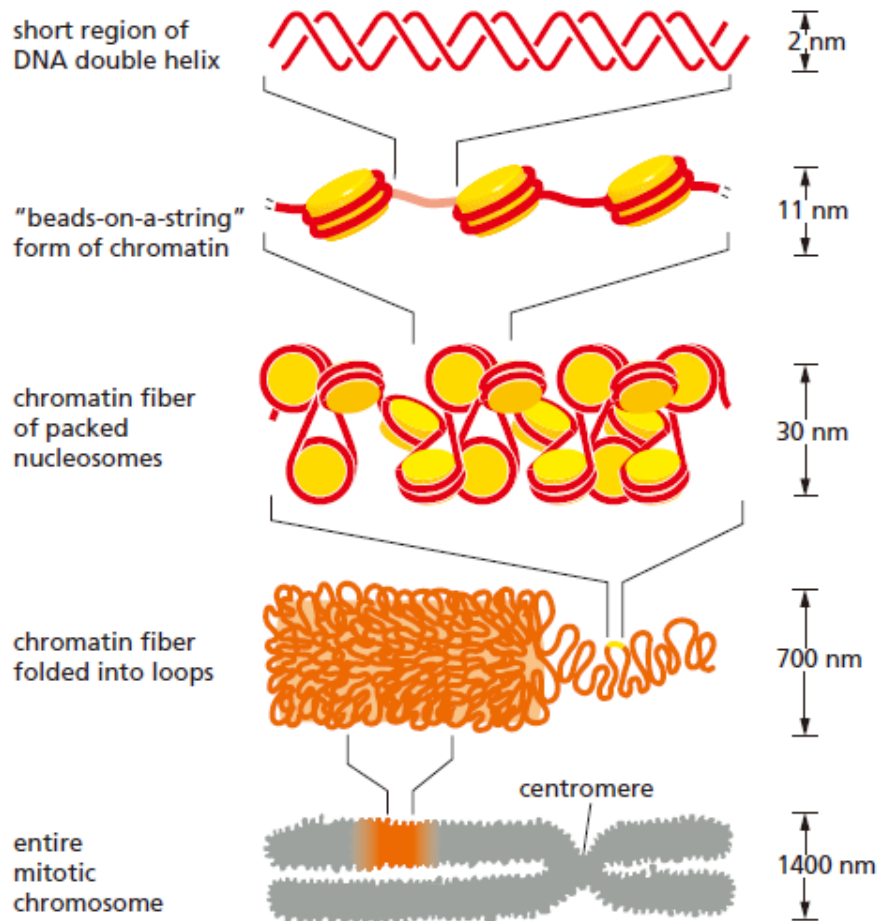
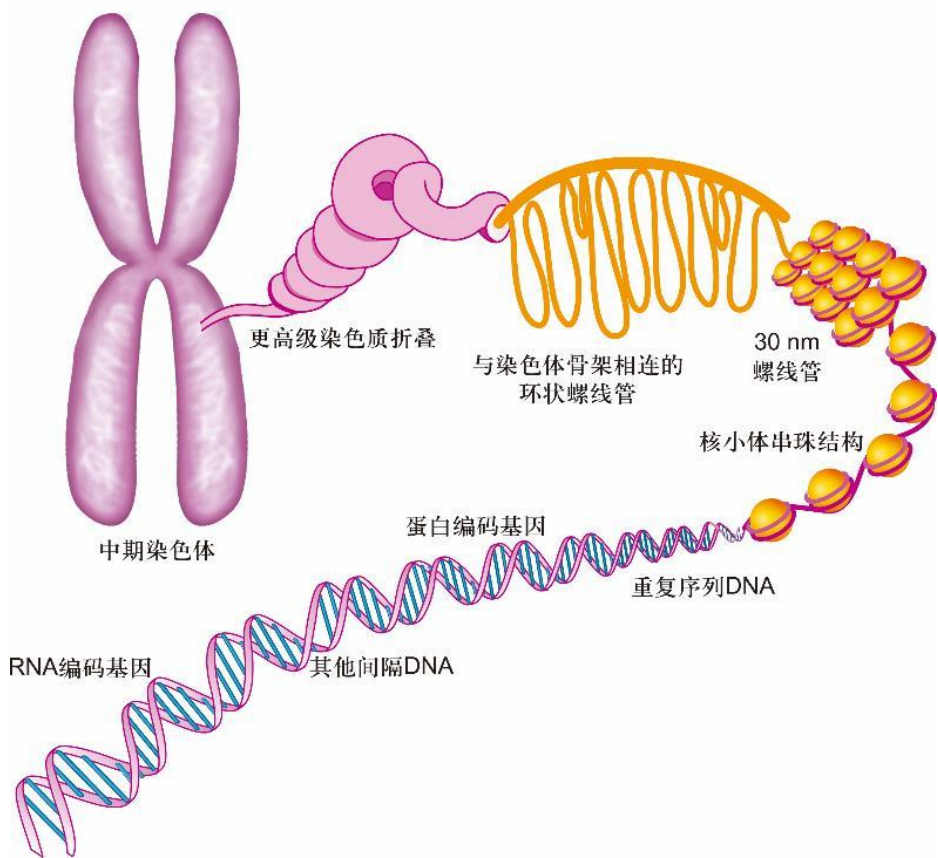
(三) 染色质组装的放射环结构模型

- 染色体的骨架 – 放射环结构模型 (scaffold radial loop structure model) : 30 nm 的染色线折叠成环, 沿染色体纵轴, 由中央向四周伸出, 构成放射环



染色质组装模型

- 可能不同机制共同起作用



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS FULLY EXTENDED LENGTH

图9-13 基因组结构和染色质组装一览图

五、染色质类型

- 按形态特征、活性状态和染色性能区分
 - 常染色质 (euchromatin)
 - 异染色质 (heterochromatin)
- 按功能状态的不同
 - 活性染色质 (active chromatin)
 - 非活性染色质 (inactive chromatin)

常染色质与异染色质

- **常染色质 (euchromatin)**

- 间期细胞核内染色质纤维折叠压缩程度低，相对处于伸展状态，用碱性染料染色时着色浅
- 基因转录的必要条件，不是充分条件

- **异染色质 (heterochromatin)**

- 间期细胞核中染色质纤维折叠压缩程度高，处于聚缩状态，用碱性染料染色时着色深
- **结构异染色质或组成型异染色质 (constitutive heterochromatin)**：各种类型的细胞中，在整个细胞周期均处于聚缩状态，没有较大变化；
- **兼性异染色质 (facultative heterochromatin)**：在某些细胞类型或一定的发育阶段，原来的常染色质聚缩，并丧失基因转录活性，变为异染色质；如巴氏小体 (Barr body)

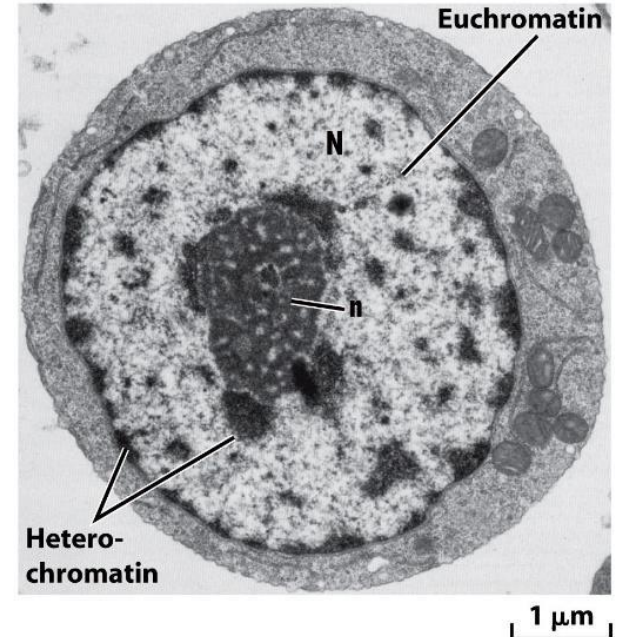
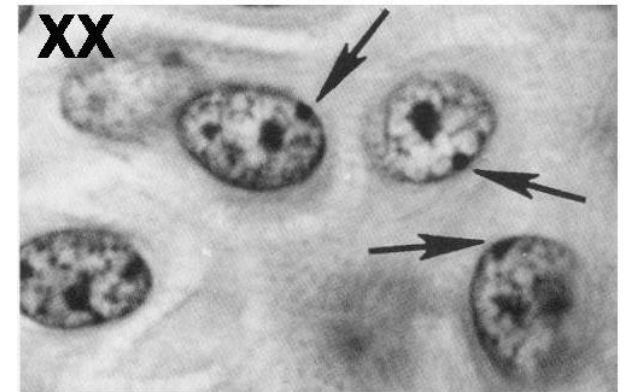


Figure 6-33a
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



Barr Bodies: heterochromatinized X-chromosomes

常染色质与异染色质间的转变

- 二者随着发育时期或细胞周期的变化可能相互转化
- 二者之间的转变常常需要伴随着一些组蛋白与DNA修饰: 如H3K9的甲基化是异染色质的一个重要标志

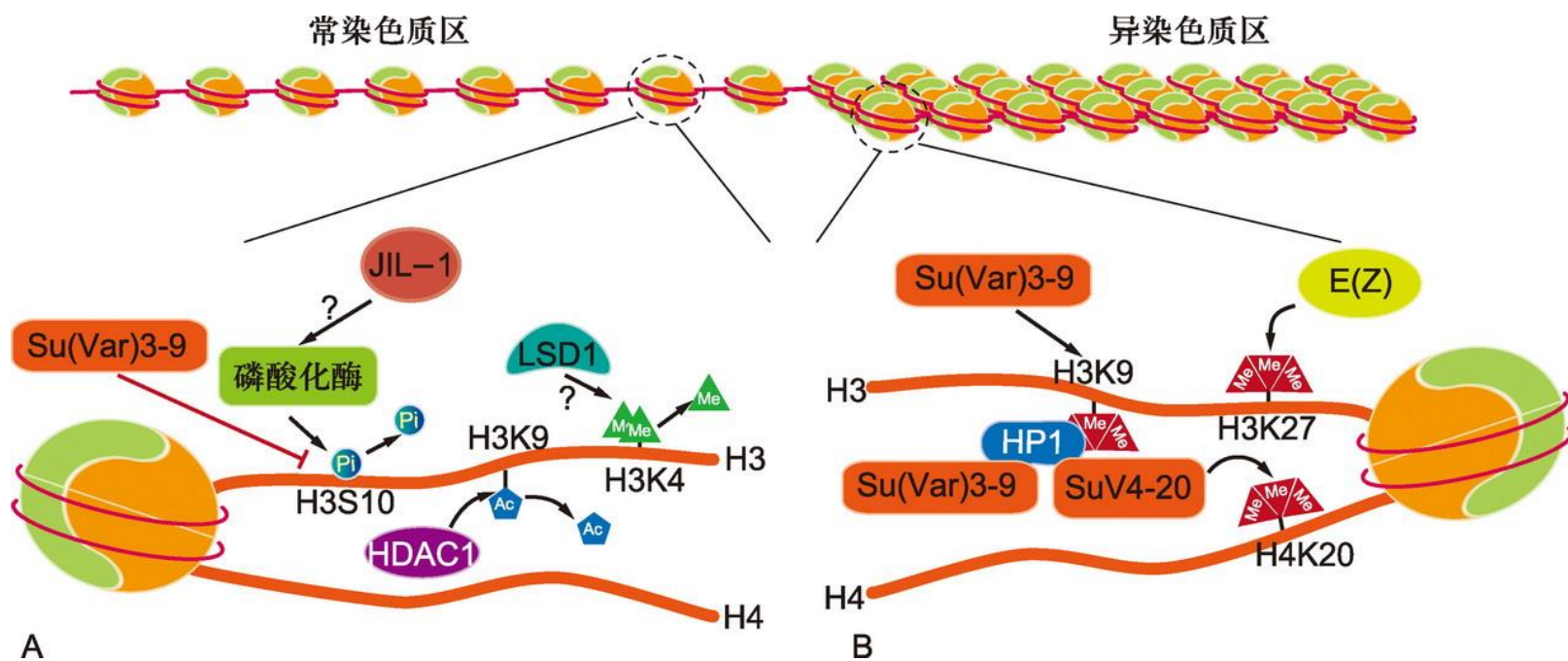


图9-14 常染色质与异染色质转变过程中伴随的组蛋白修饰的变化

活性染色质的蛋白组成与修饰变化

- 活性染色质的蛋白组分及修饰特征
 - 很少有组蛋白H1 与其结合；组蛋白乙酰化程度高；H2B很少被磷酸化；H2A在活性染色质中很少有变异形式存在；H3 变种H3.3 只在活跃转录的染色质中出现；非组蛋白HMG14 和HMG17 只存在于活性染色质中，与DNA 结合
- 活性染色质标志：H3 N 端第4 个赖氨酸甲基化，第9 和14 个赖氨酸乙酰化以及第10 个丝氨酸磷酸化；
- 非活性染色质标志：H3 N 端第9 个赖氨酸甲基化而不是乙酰化

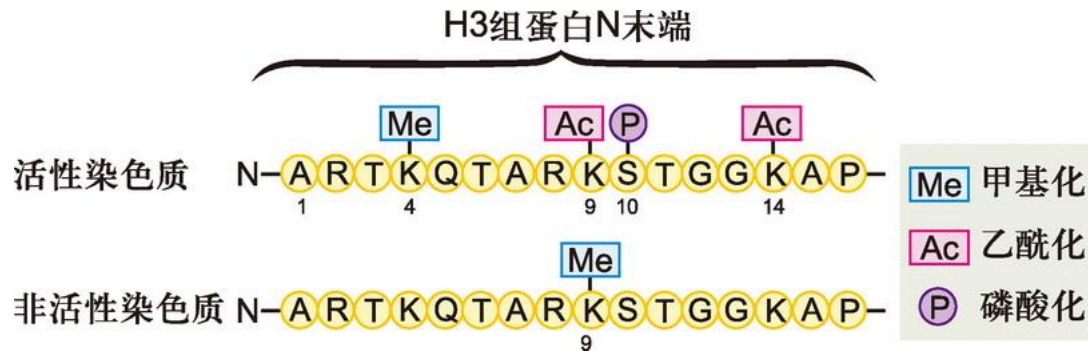


图9-15 H3 组蛋白修饰与染色质活性的关系

染色质的三维动态分布与细胞ID

- 染色质在细胞核内的分布不是均匀的，也不是静止不变的，而是存在时间和空间上的特异性
- 特异分布的特性与细胞内的基因表达相关，更与细胞的状态直接相关
- 细胞核内染色质的分布模式可以作为细胞的身份（identity, ID）

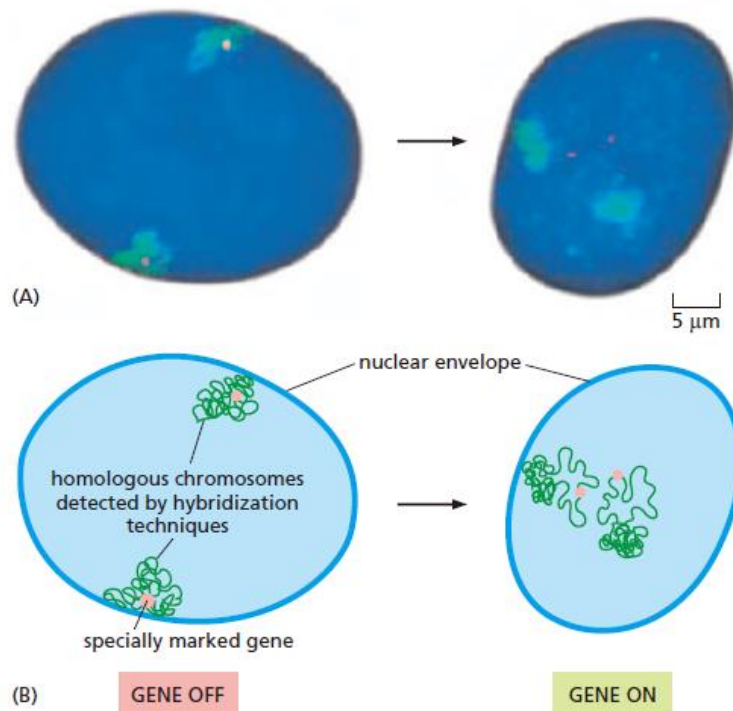


Figure 4-56 An effect of high levels of gene expression on the intranuclear location of chromatin. (A) Fluorescence micrographs of human nuclei showing how the position of a gene changes when it becomes highly transcribed. The region of the chromosome adjacent to the gene (*red*) is seen to leave its chromosomal territory (*green*) only when it is highly active. (B) Schematic representation of a large loop of chromatin that expands when the gene is on, and contracts when the gene is off. Other genes that are less actively expressed can be shown by the same methods to remain inside their chromosomal territory when transcribed. (From J.R. Chubb and W.A. Bickmore, *Cell* 112:403–406, 2003. With permission from Elsevier.)

第三节

染色质的复制与表达

- 染色质的复制与修复
- 染色质的激活与失活
- 染色质与基因表达调控
- 染色质的三维动态分布与细胞ID

第四节

染色体

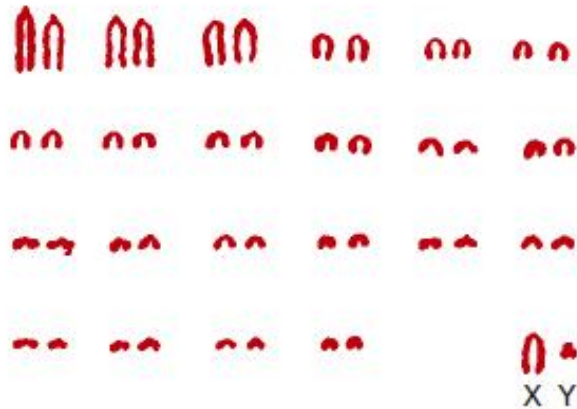
- 染色体的形态结构
- 染色体的功能元件
- 染色体带型
- 特殊染色体

一、染色体形态结构

- 染色体是细胞在有丝分裂（或减数分裂）时遗传物质存在的特定形式，是间期细胞染色质结构紧密组装的结果
- 所有单倍体染色体组包含的DNA组成该生物的基因组



Chinese muntjac



Indian muntjac



一、染色体形态结构

- 中期染色体具有比较稳定的形态，由两条相同的姐妹染色单体 (chromatid) 构成，彼此以着丝粒 (centromere) 相连
- 着丝粒/主缢痕的形态特征：浅染内缢
- 根据着丝粒在染色体上所处的位置，分为4种类型

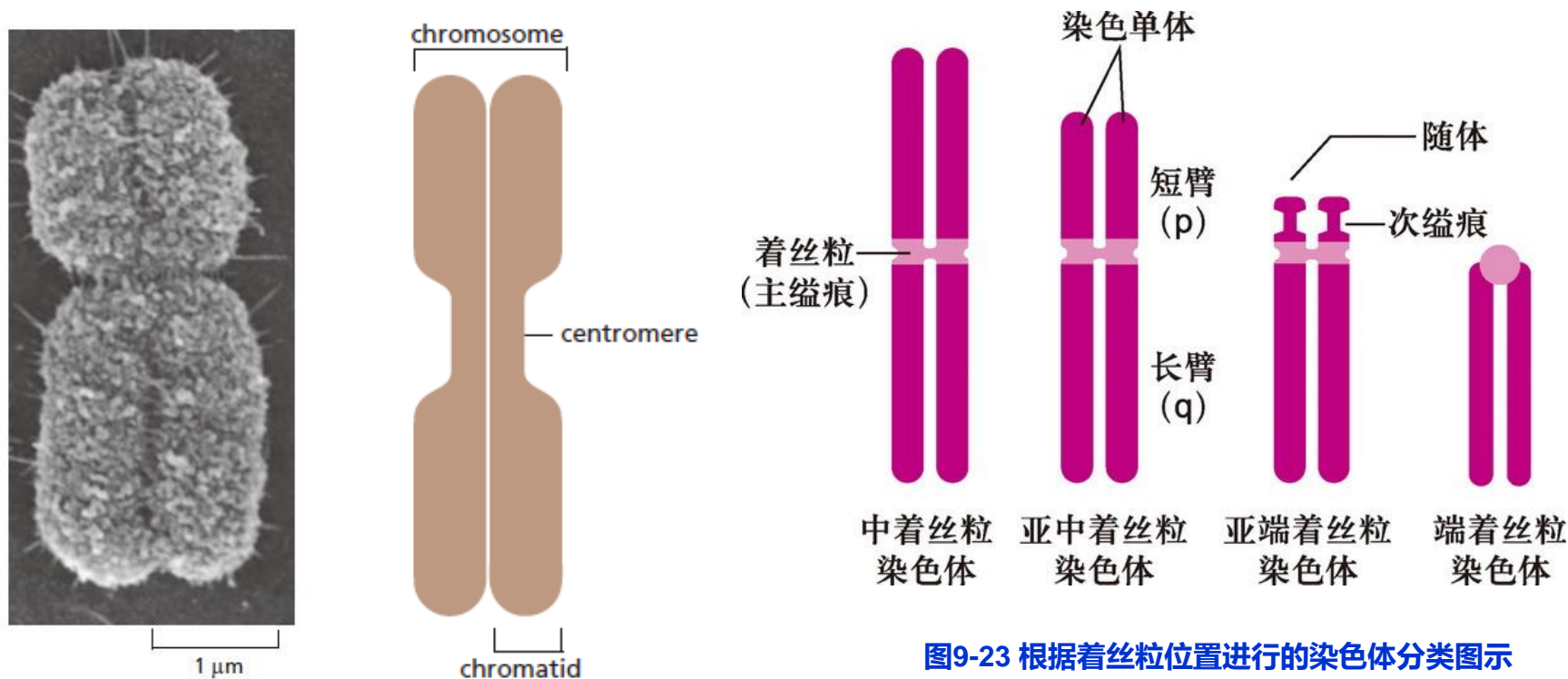


图9-23 根据着丝粒位置进行的染色体分类图示

(一) 着丝粒与动粒

- 动粒结构域 (kinetochore domain) : 纺锤体的动粒微管
 - 内板 (inner plate) 中间间隙 (middle space) 外板 (outer plate)
 - 纤维冠 (fibrous corona) : 微管蛋白
- 中央结构域 (central domain) : 主体部位, 由串联重复的卫星DNA组成
- 配对结构域 (pairing domain) : 中期姐妹染色单体相互作用的位点

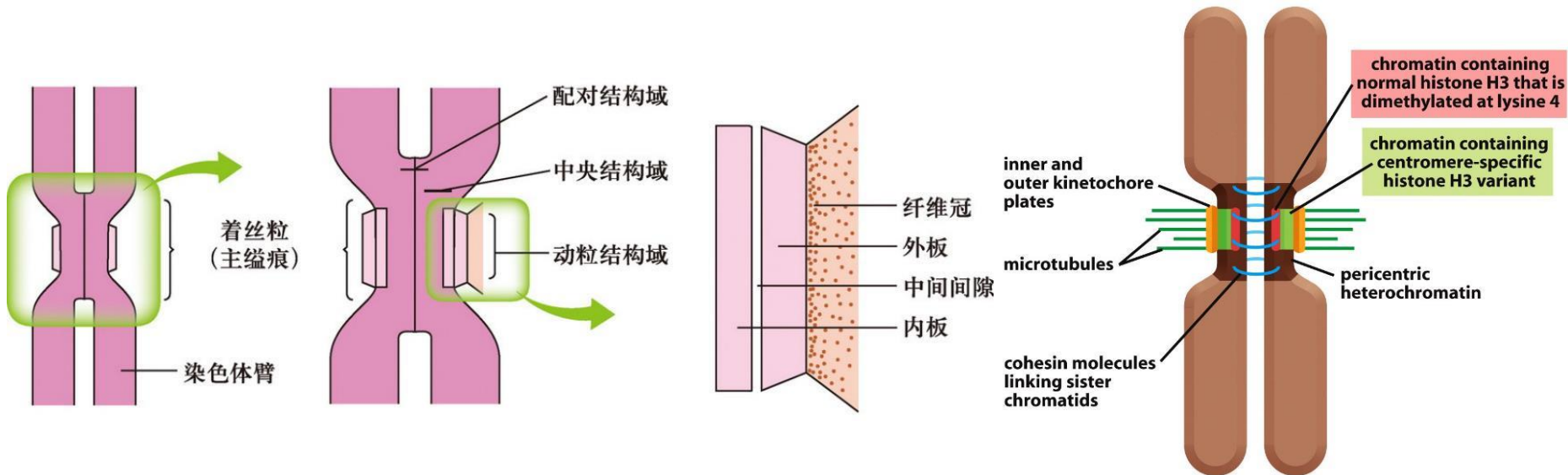
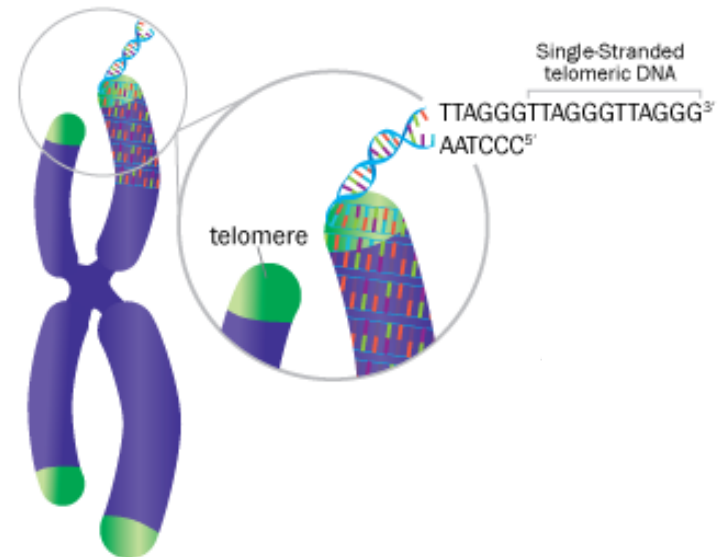
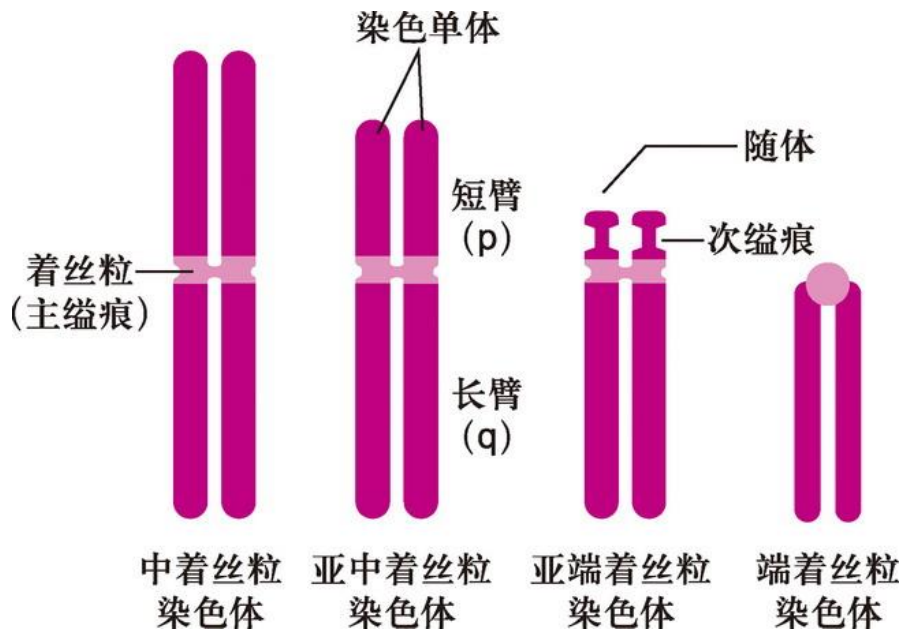


图9-24 着丝粒的结构域组织

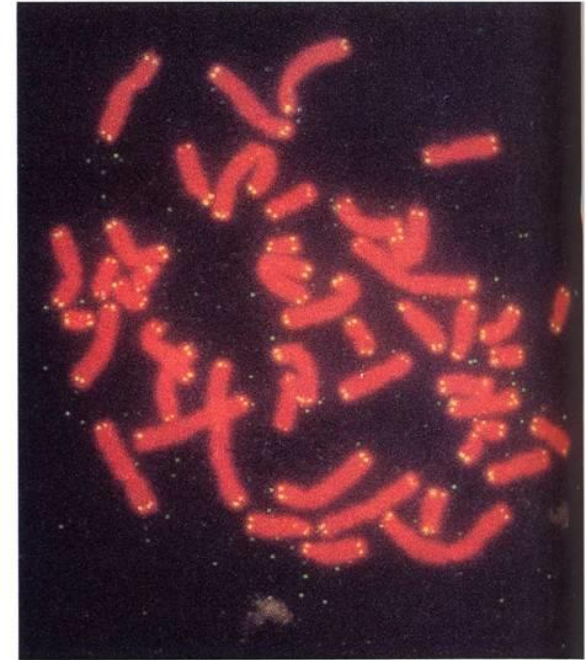
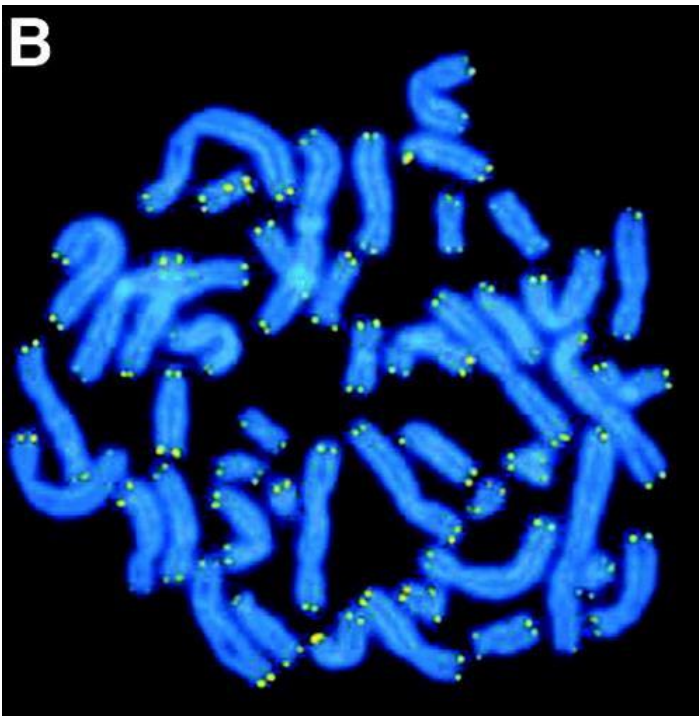
(二) 染色体的其他主要结构

- 次缢痕 (secondary constriction)：其他的浅染内缢部位
- 核仁组织区 (nucleolar organizing region, NOR)：位于次缢痕部位，rRNA 基因所在部位
- 随体 (satellite)：染色体末端的球形染色体节段；sat染色体
- 端粒 (telomere)：染色体两个端部特化结构



(二) 染色体的其他主要结构

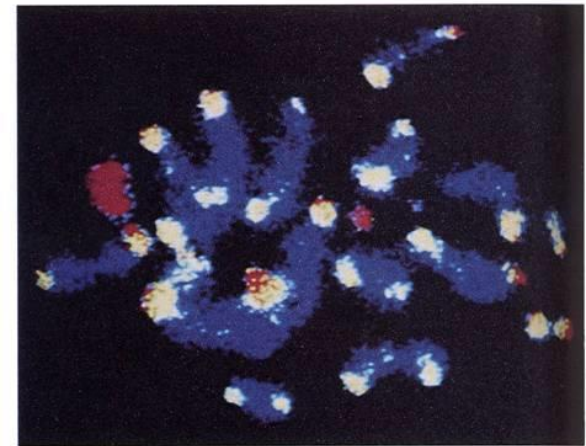
- 次缢痕 (secondary constriction)
- 核仁组织区 (nucleolar organizing region, NOR)
- 随体 (satellite)
- 端粒 (telomere)



(a)

人染色体端粒的DNA序列
探针TTAGGG的原位杂交
图。

染色体端粒DNA的特异结
合蛋白的免疫荧光图。



(b)

二、染色体的功能元件 (functional element)

- 构成染色体DNA的3种关键序列 (key sequence)
 - DNA复制起点
 - 着丝粒
 - 端粒
- “人造微小染色体” (artificial minichromosome)

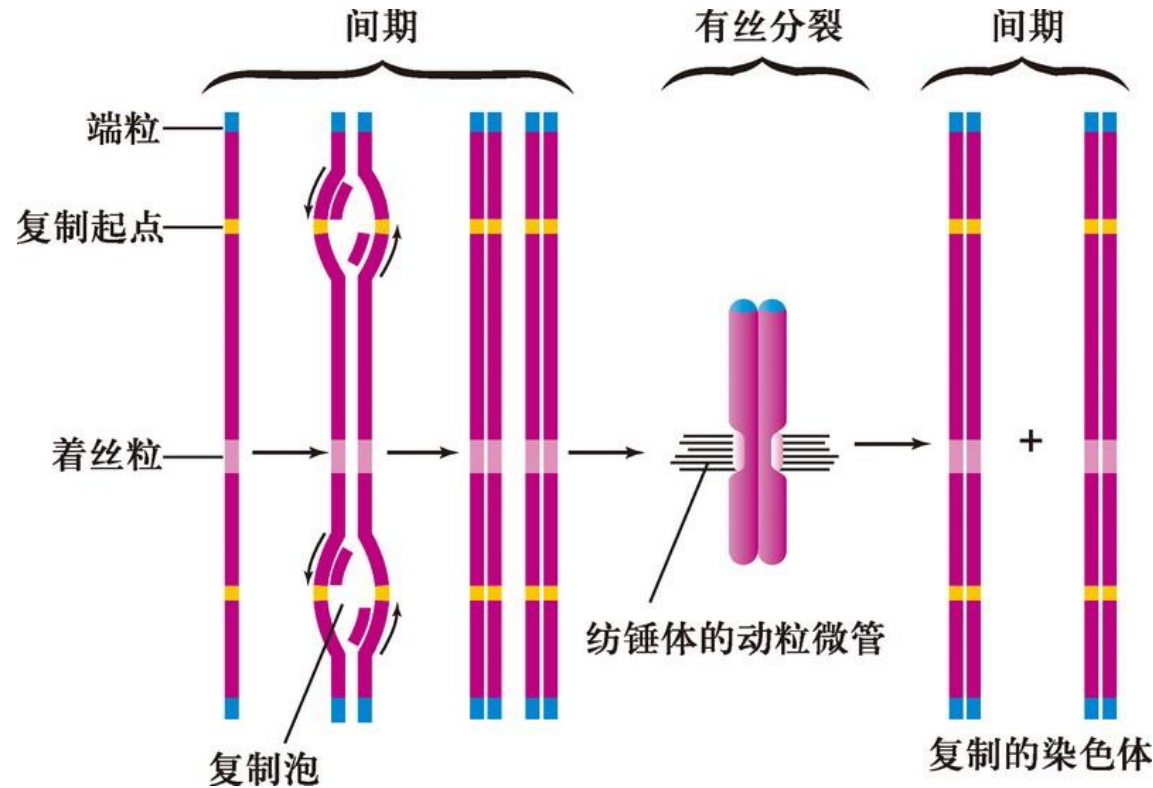
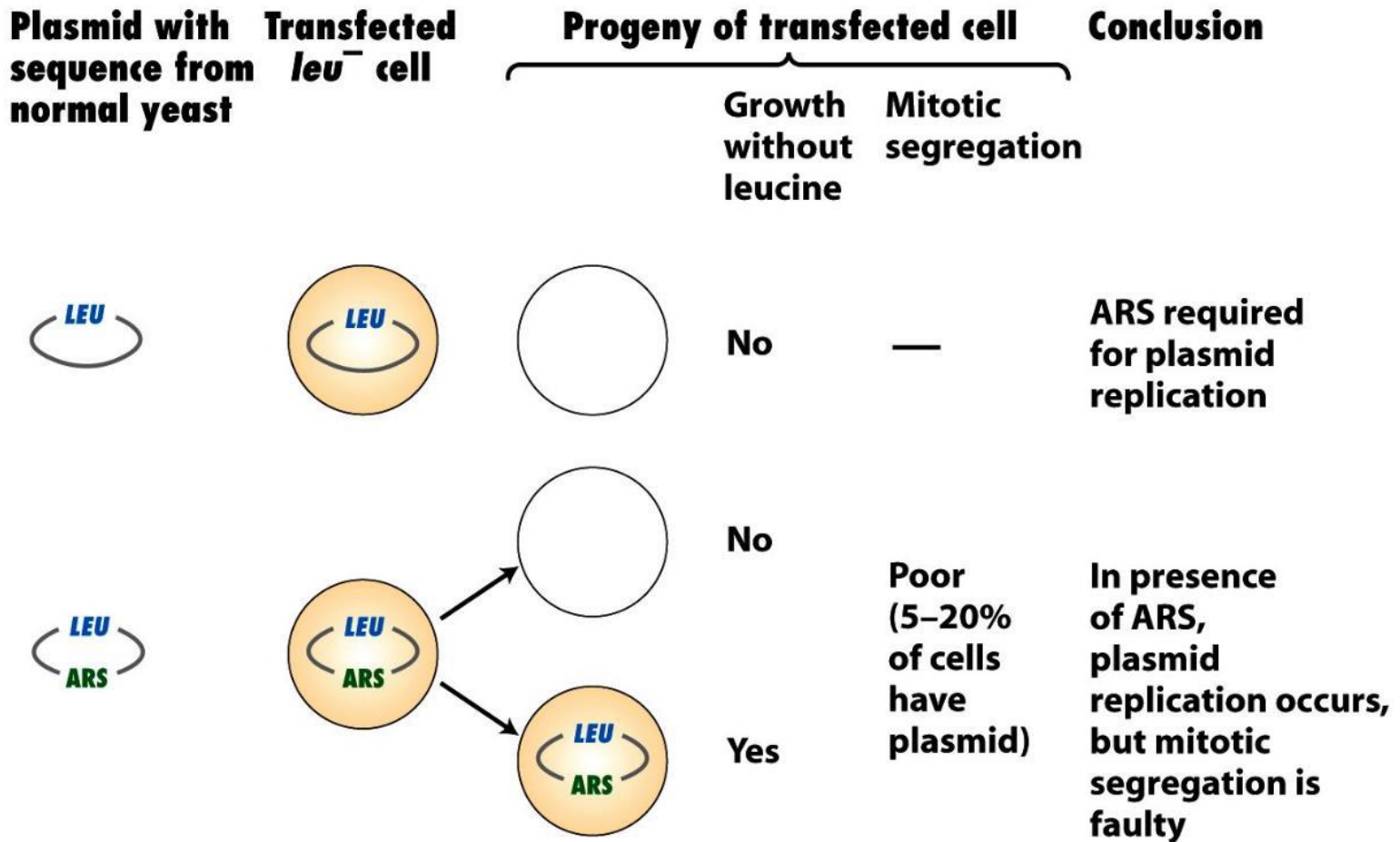


图9-25 真核细胞染色体的3种功能元件示意图

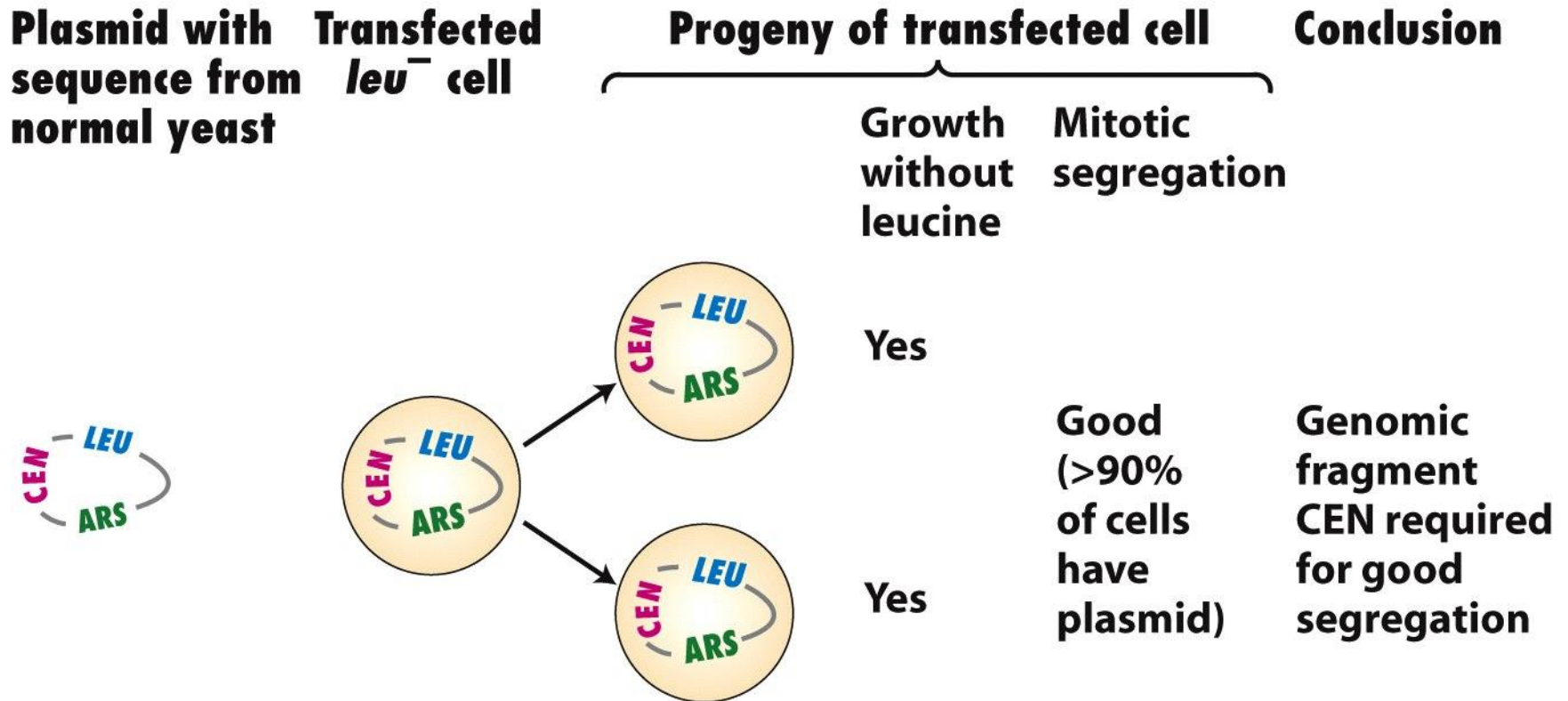
(一) 自主复制DNA序列

- 自主复制DNA序列 (autonomously replicating DNA sequence, ARS)



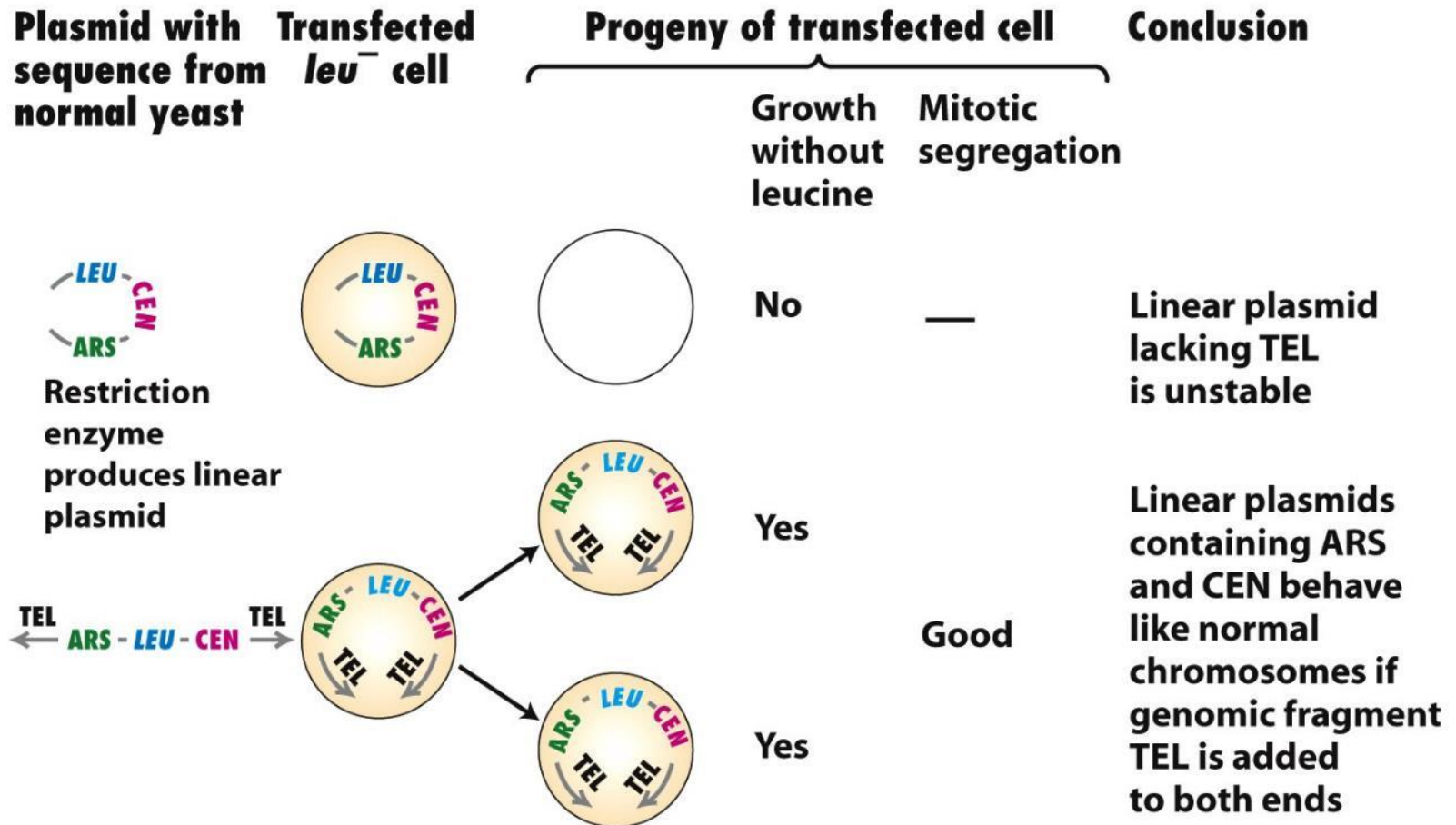
(二) 着丝粒DNA序列

- 着丝粒DNA序列 (centromere DNA sequence, CEN)



(三) 端粒DNA序列

- 端粒DNA序列 (telomere DNA sequence, TEL)



(三) 端粒DNA序列

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Elizabeth H.
Blackburn

Prize share: 1/3



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Carol W. Greider

Prize share: 1/3



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Jack W. Szostak

Prize share: 1/3

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"

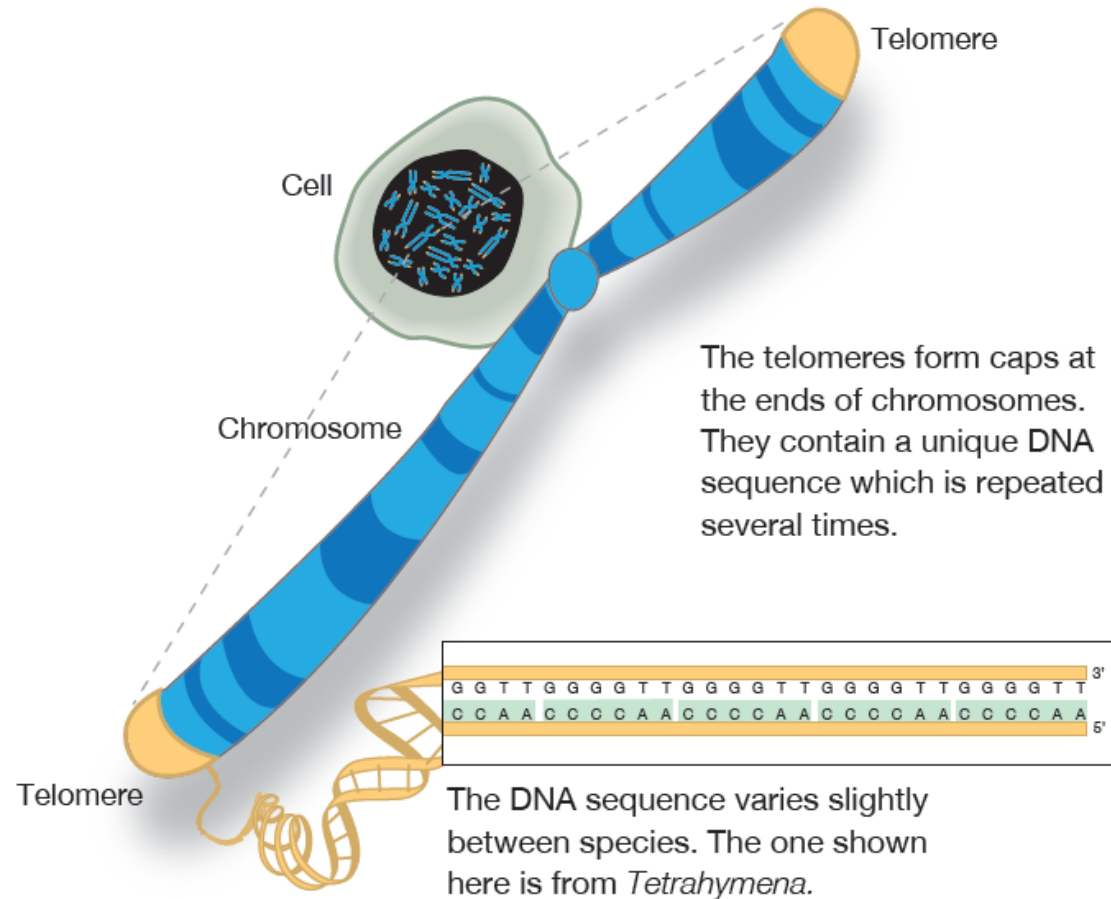
(三) 端粒DNA序列

The Telomere – Function and Synthesis

1. The mysterious telomere

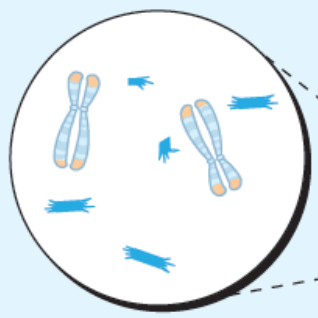
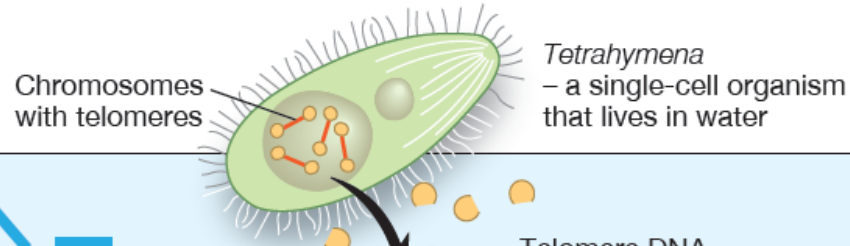
The telomeres appear to protect the chromosomes from damage. But how?

Telomere = Greek for “end” (*telos*) and “part” (*meros*)

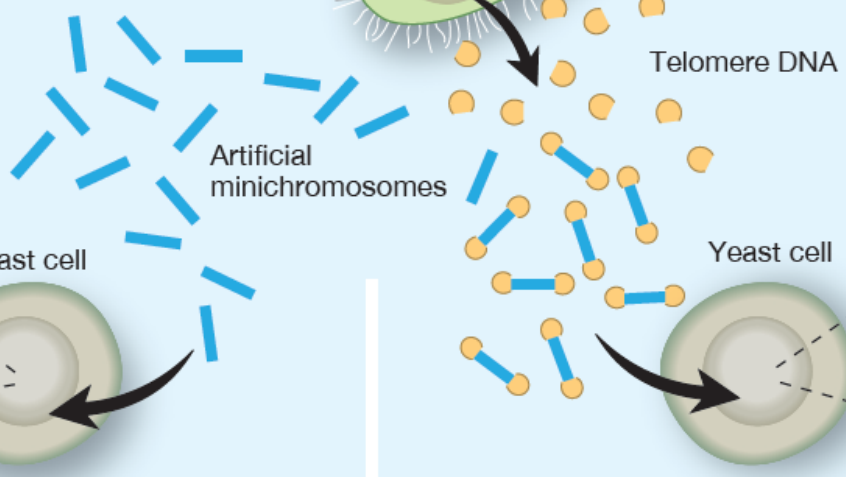


(三) 端粒DNA序列

2. Telomere function discovered:
Telomere DNA protects the chromosomes



Minichromosomes without telomeres were introduced into yeast cells. They were not protected and were damaged.



Telomere DNA was purified from *Tetrahymena*, coupled to the minichromosomes and introduced into yeast cells. Minichromosomes with telomere DNA were protected against degradation and remained intact.

(三) 端粒DNA序列

- 端粒酶: 生殖细胞, 部分干细胞, 肿瘤细胞
- ALT (alternative lengthening of telomere): 不依赖于端粒酶使端粒变长

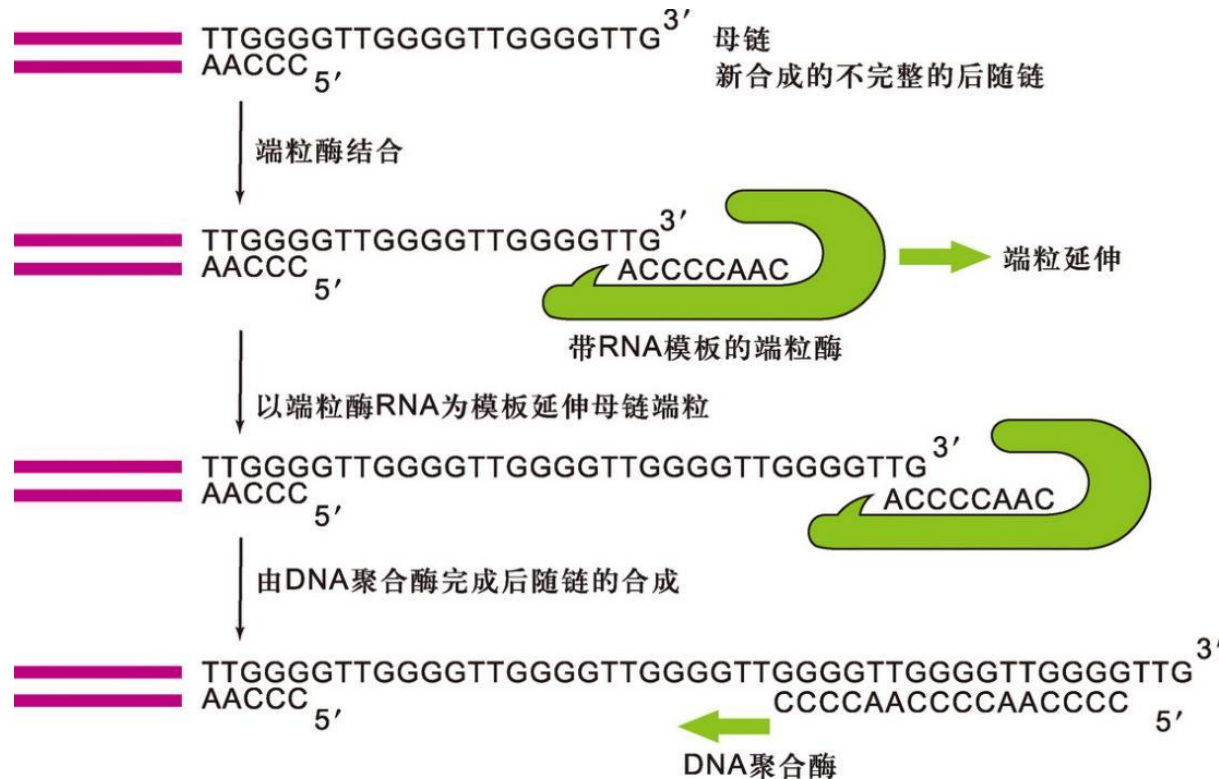
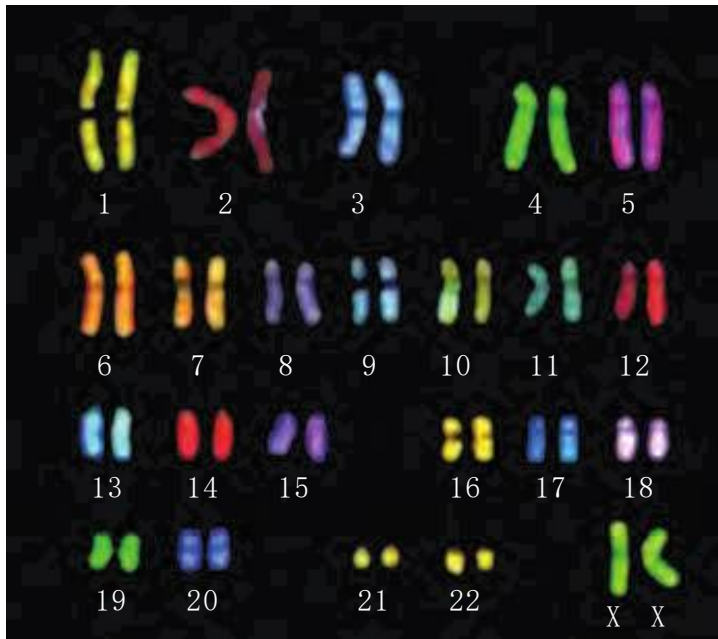


图9-26 端粒酶的作用示意图

三、染色体带型

- 核型 (karyotype): 染色体组在有丝分裂中期的表型, 包括染色体数目、大小、形态特征的总和
- 核型模式图 (idiogram): 一个染色体组全部染色体逐个按其特征绘制下来, 再按长短、形态等特征排列起来的图象



荧光原位杂交 FISH
Fluorescence in situ
hybridization

(A)

(B)

10 μm

三、染色体带型

- 染色体显带技术
 - 经物理、化学因素处理后，再用染料对染色体进行分化染色，使其呈现特定的深浅不同带纹（band）的方法
 - 一类是产生的染色带分布在整过染色体长度上如：G、Q和R带，
 - 一类是局部性显带，它只能使少数特定区域显带，如C、T和N带

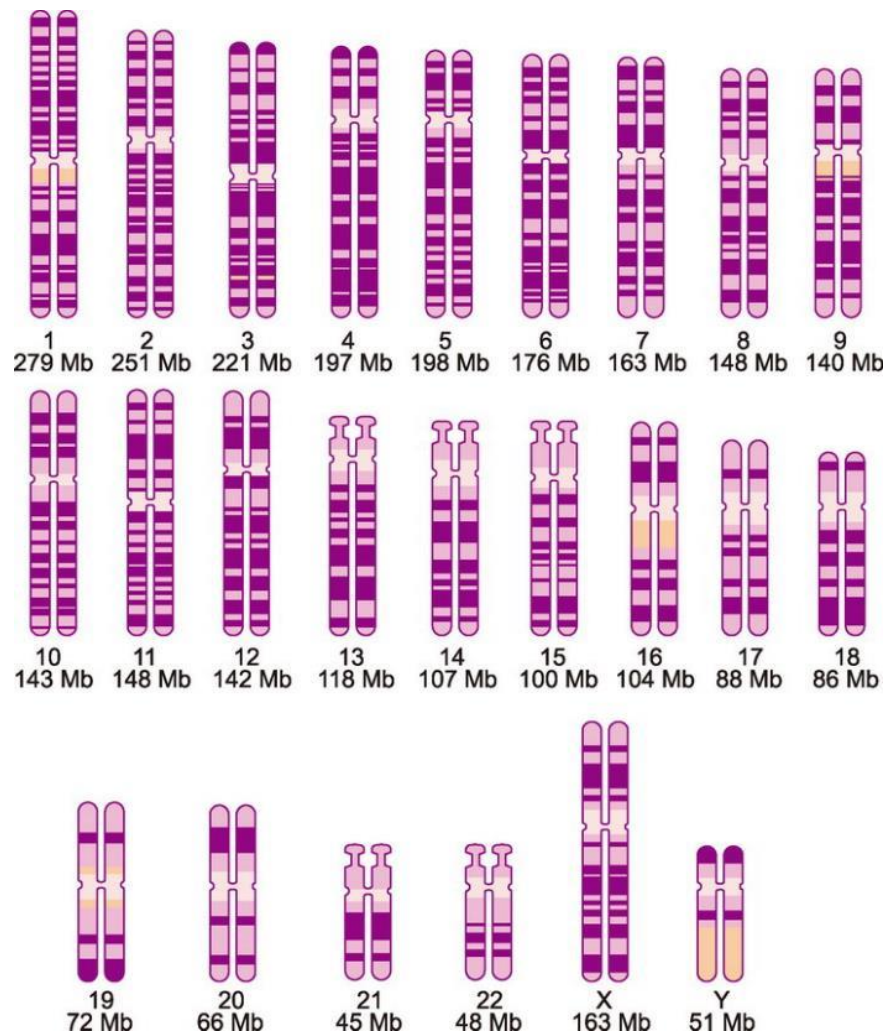
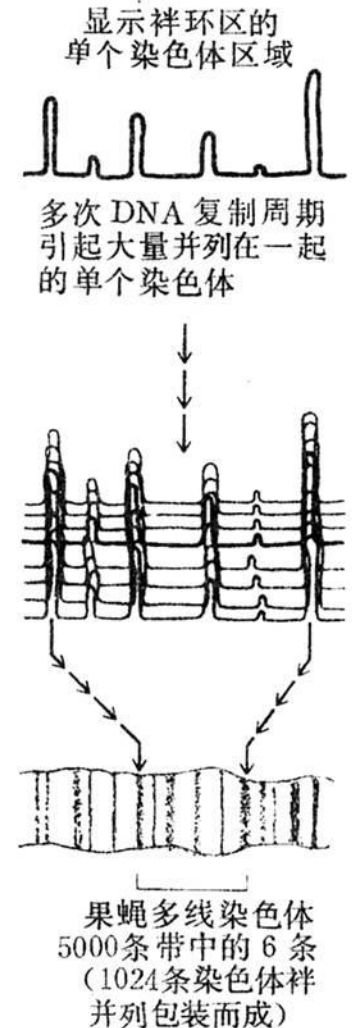
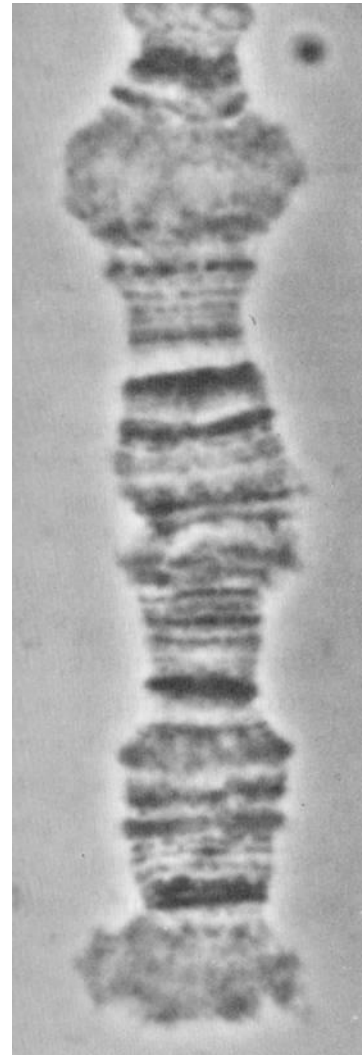


图9-27 人类细胞中期染色体显带及染色体大小示意图

四、特殊染色体——巨大染色体

- 多线染色体
- 存在于双翅目昆虫的幼虫组织细胞内，植物胚珠细胞等
- 来源于核内有丝分裂：核内DNA多次复制而细胞不分裂
- 多线化的细胞处于永久间期
- 多线染色体的带和间带都含有基因



四、特殊染色体——巨大染色体

- 多线染色体

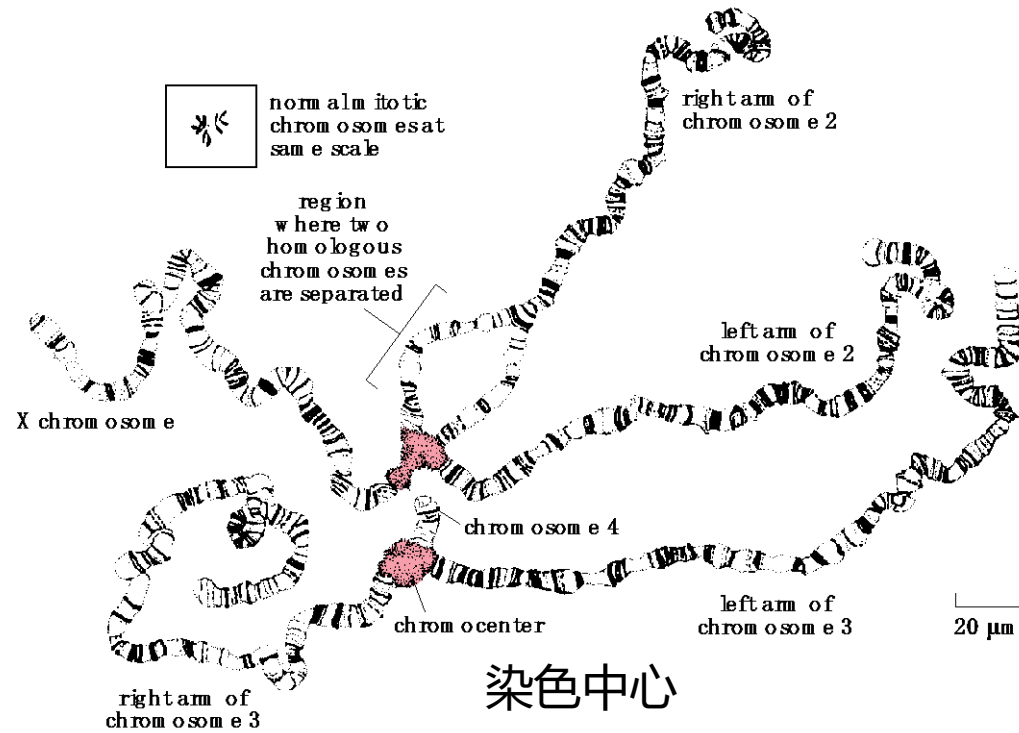
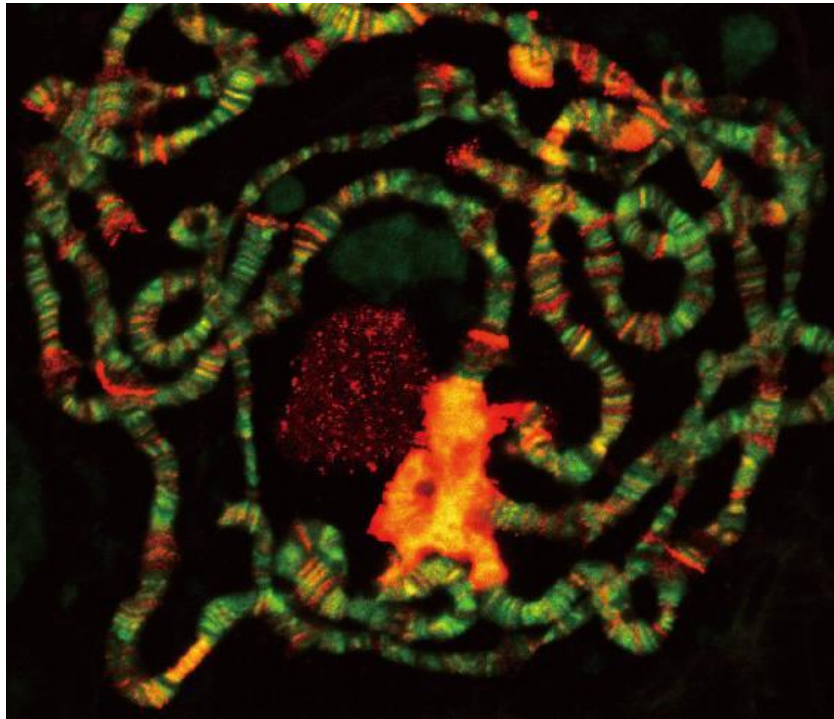
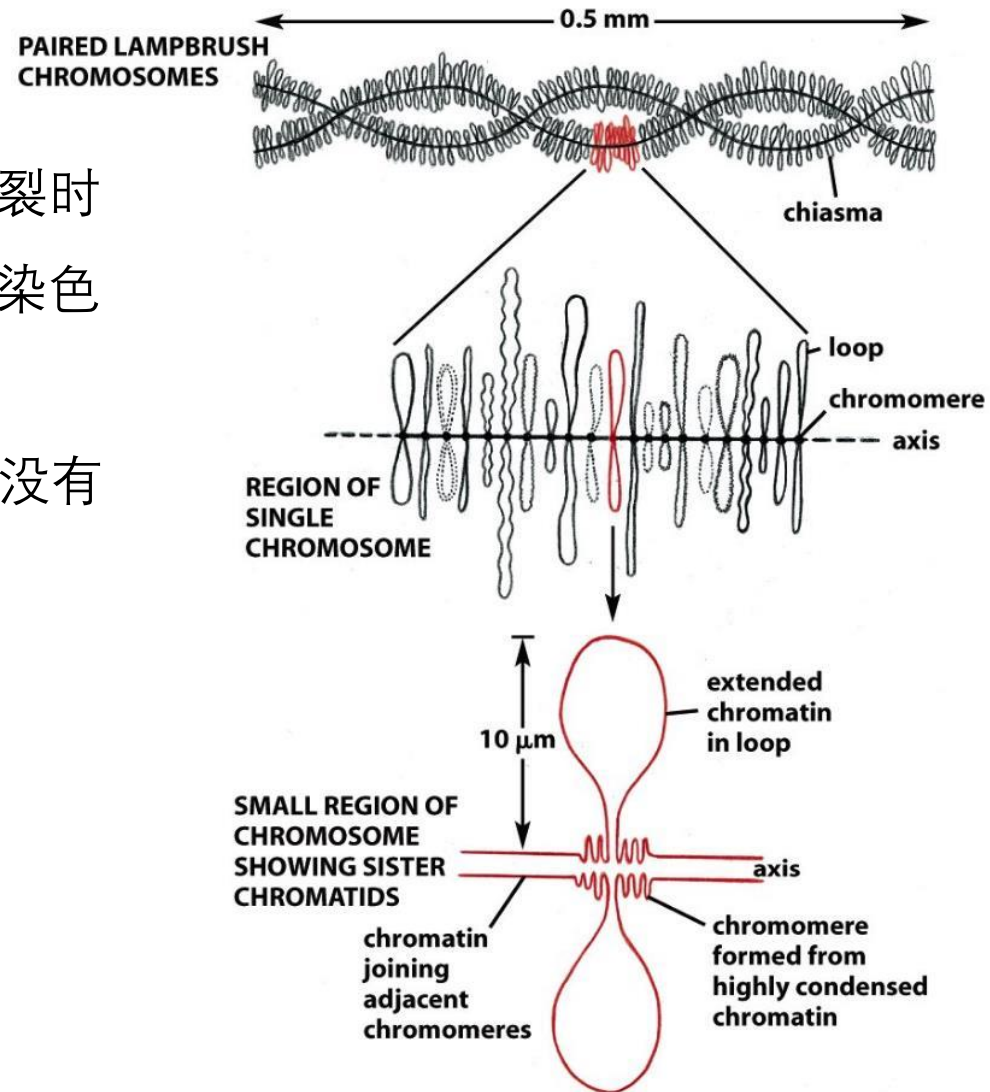


图9-28 果蝇唾腺细胞全套多线染色体

图中红色信号表示异染色质蛋白HP1 在多线染色体上的分布，绿色是dCAF-1-p180 蛋白的分布

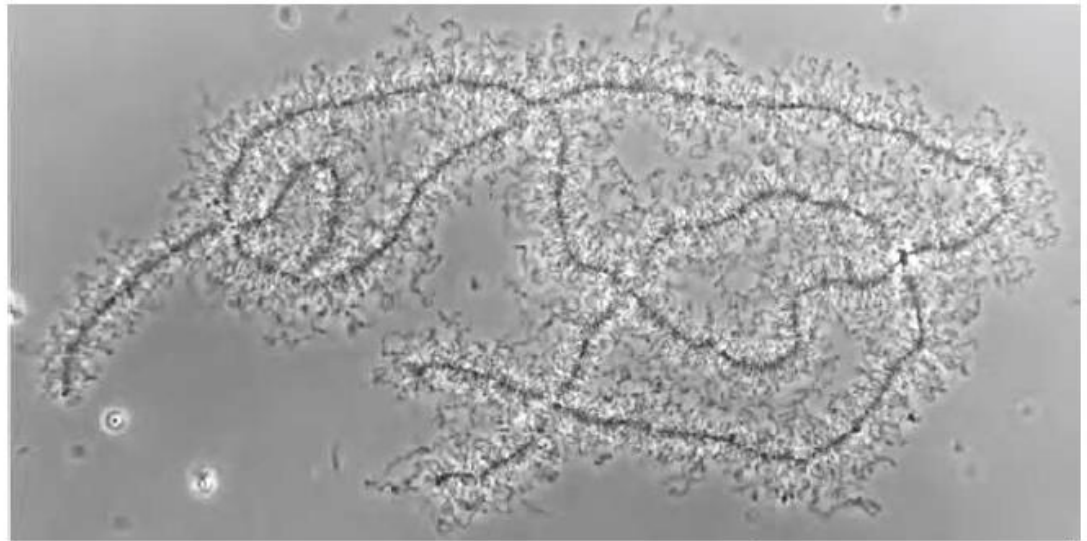
四、特殊染色体——巨大染色体

- 灯刷染色体
- 卵母细胞进行减数分裂第一次分裂时停留在双线期的染色体，含四条染色单体
- 大部分DNA以染色粒形式存在，没有转录活性
- 侧环是RNA活跃转录区域



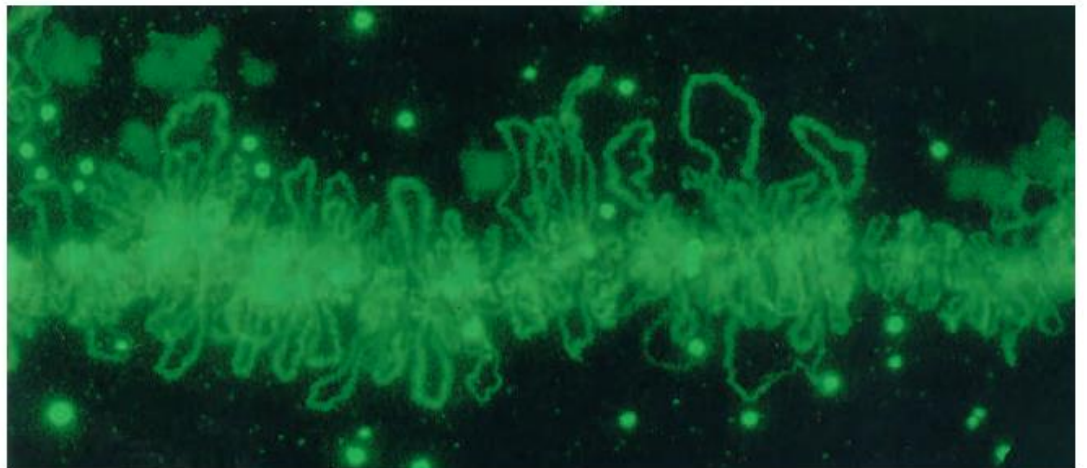
四、特殊染色体——巨大染色体

- 灯刷染色体



(A)

100 μm



(B)

20 μm

两栖类卵母细胞中的灯刷染色体

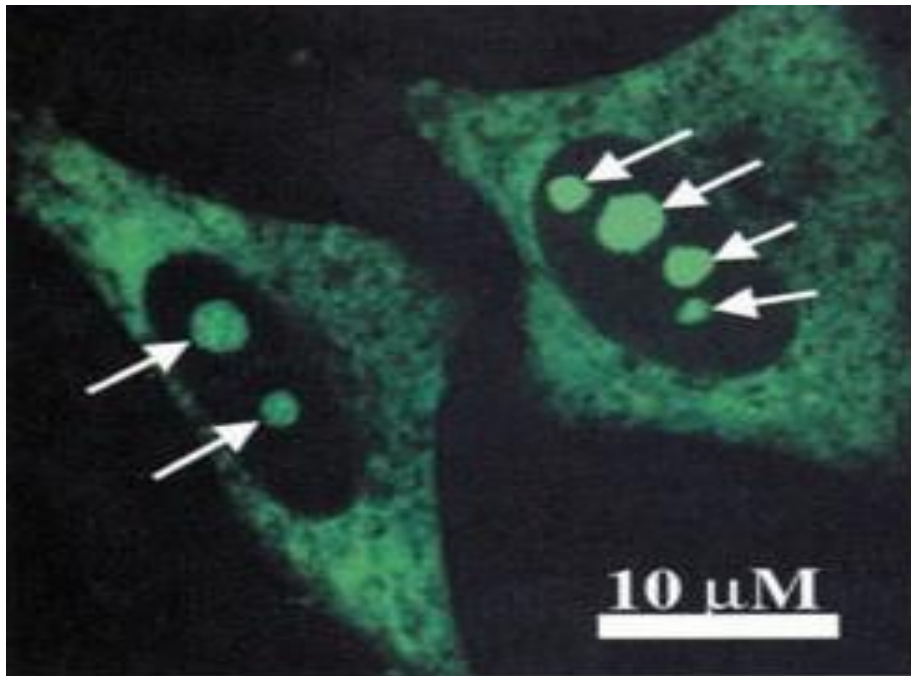
第五节

核仁与核体

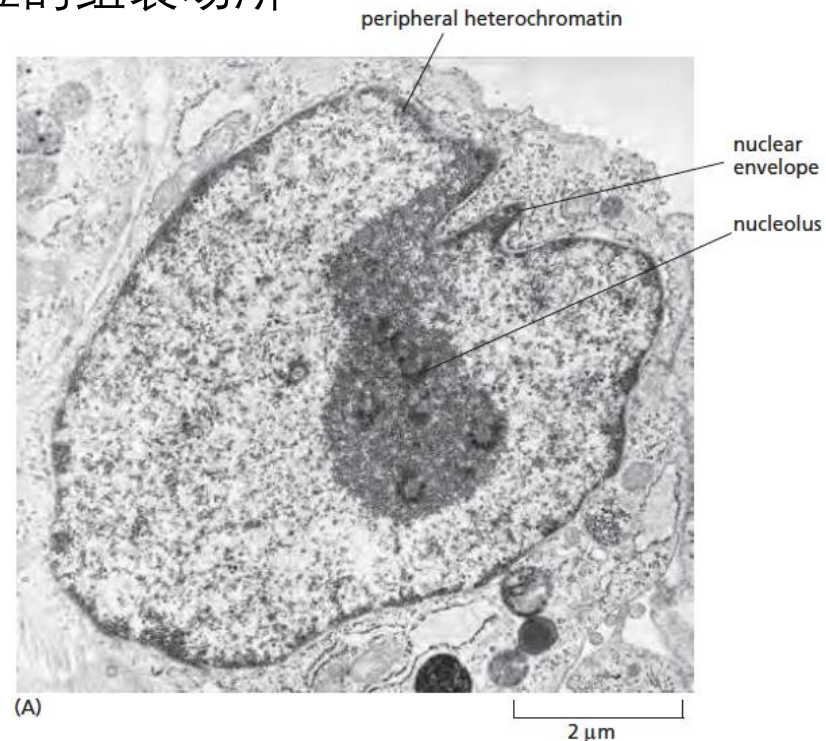
- 核仁的结构
- 核仁的功能
- 核仁的动态周期变化
- 核体

核仁 (nucleolus)

- 真核细胞间期核中最显著的结构
- 核仁的大小、形状和数目随生物的种类、细胞类型和细胞代谢状态不同而变化
- 核仁是rRNA 合成、加工和核糖体亚单位的组装场所



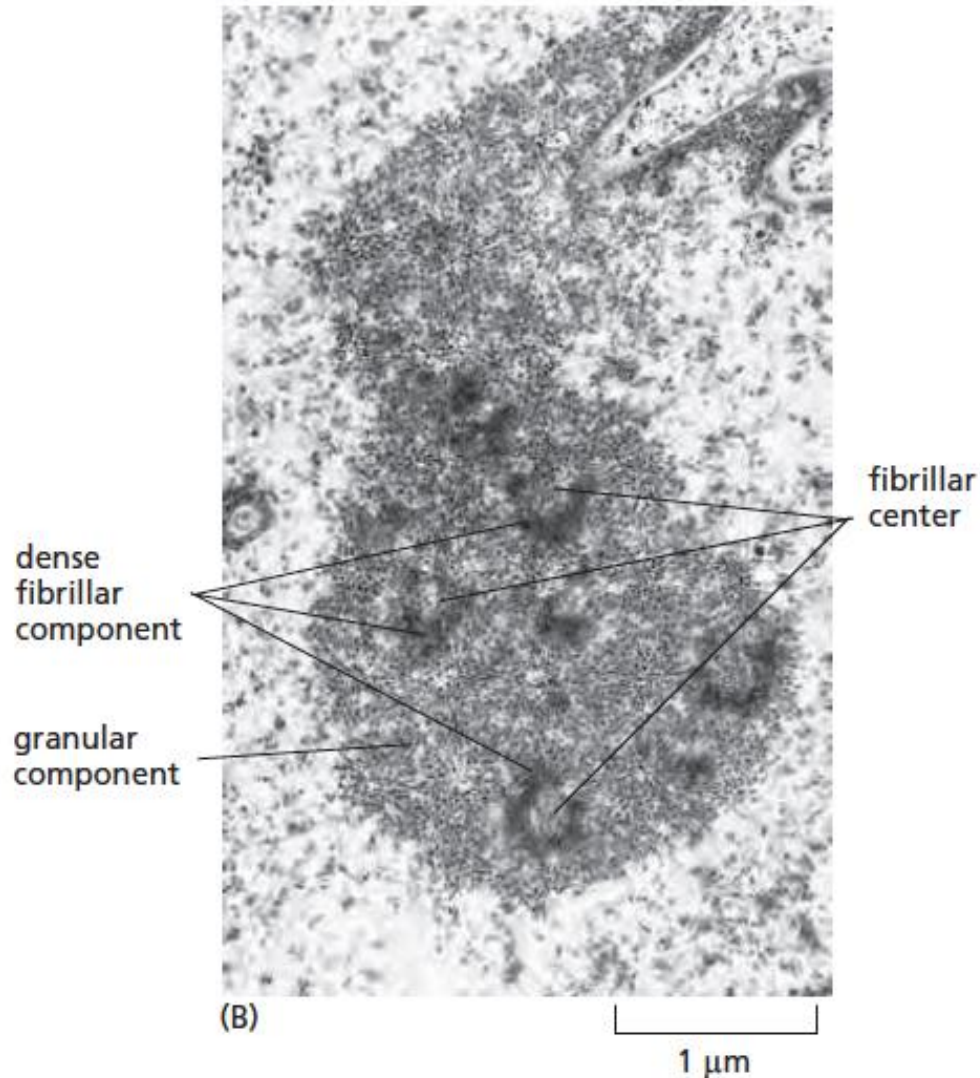
Nucleoli (nucleolus 的复数)
HeLa cell, GFP-ribosomal protein



(A)
human fibroblast

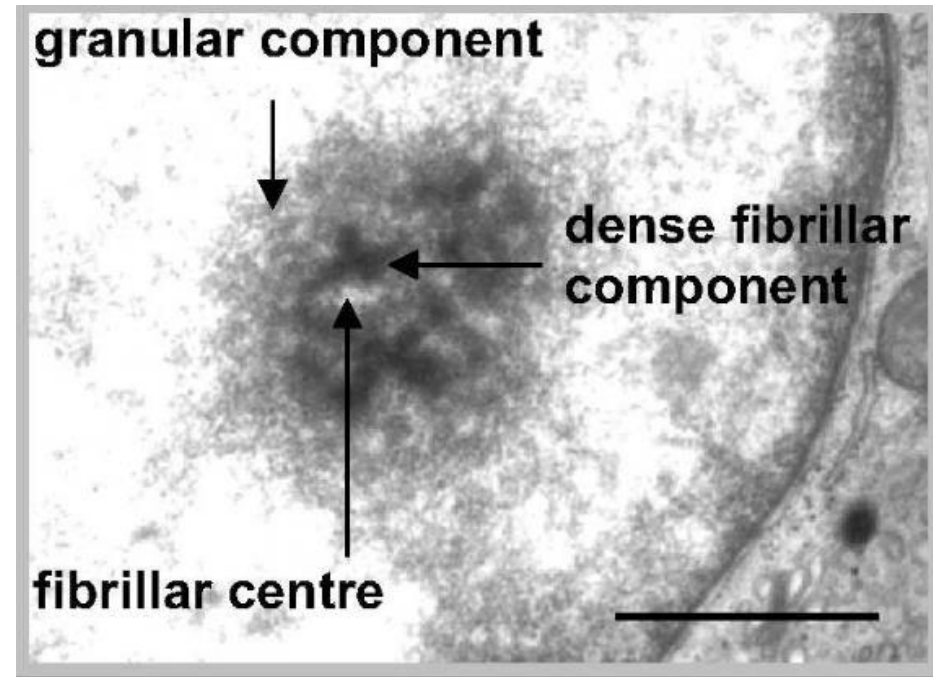
一、核仁的结构

- **纤维中心(fibrillar centers, FC):**
是被致密纤维包围的一个或几个低电子密度的圆形结构
- **致密纤维组分(dense fibrillar component, DFC):** 呈环形或半月形包围FC, 由致密的纤维构成
- **颗粒组分(granular component, GC):** 由直径15-20 nm的颗粒构成



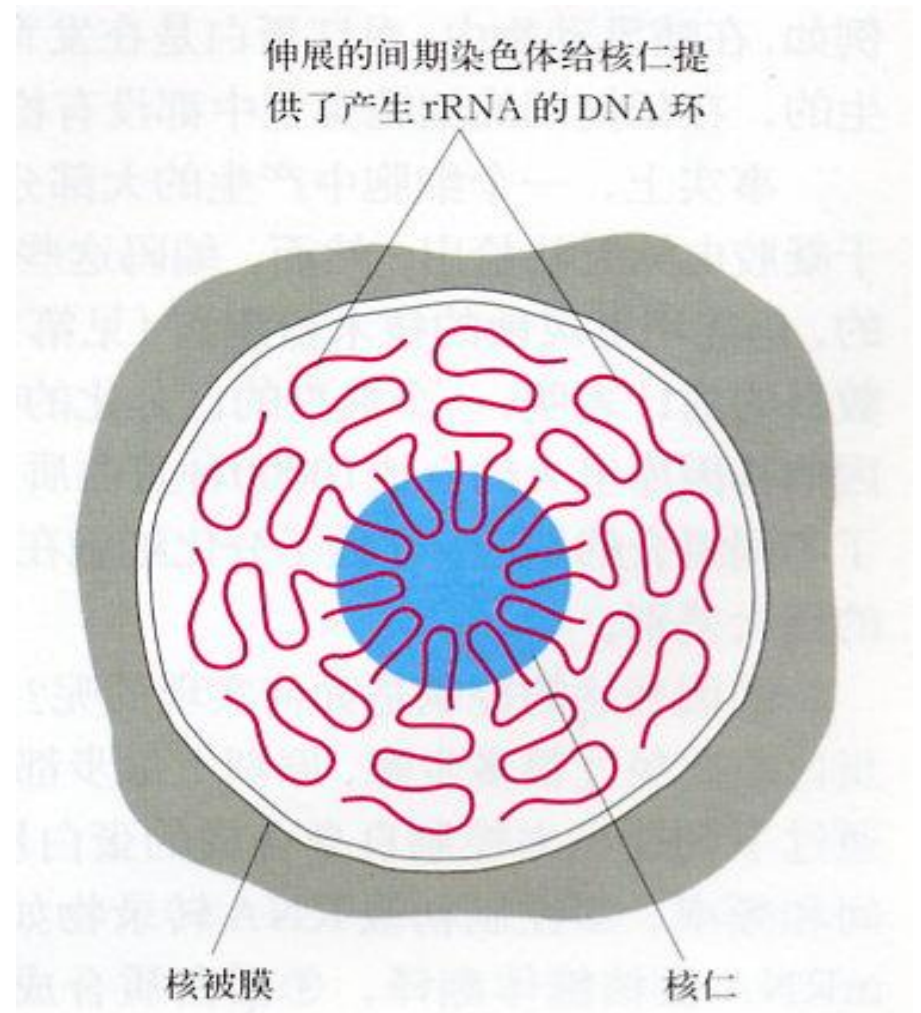
一、核仁的结构

- **纤维中心(fibrillar centers, FC):**
主要成分为RNA聚合酶和rDNA;
是rRNA基因的储存位点
- **致密纤维组分(dense fibrillar component, DFC):** 是新合成的rRNA和特异性结合蛋白; 转录主要发生在FC与DFC的交界处
- **颗粒组分(granular component, GC):** 是不同加工阶段的RNP, 核糖体亚基前体颗粒; 是核糖体亚单位装配和储存位点



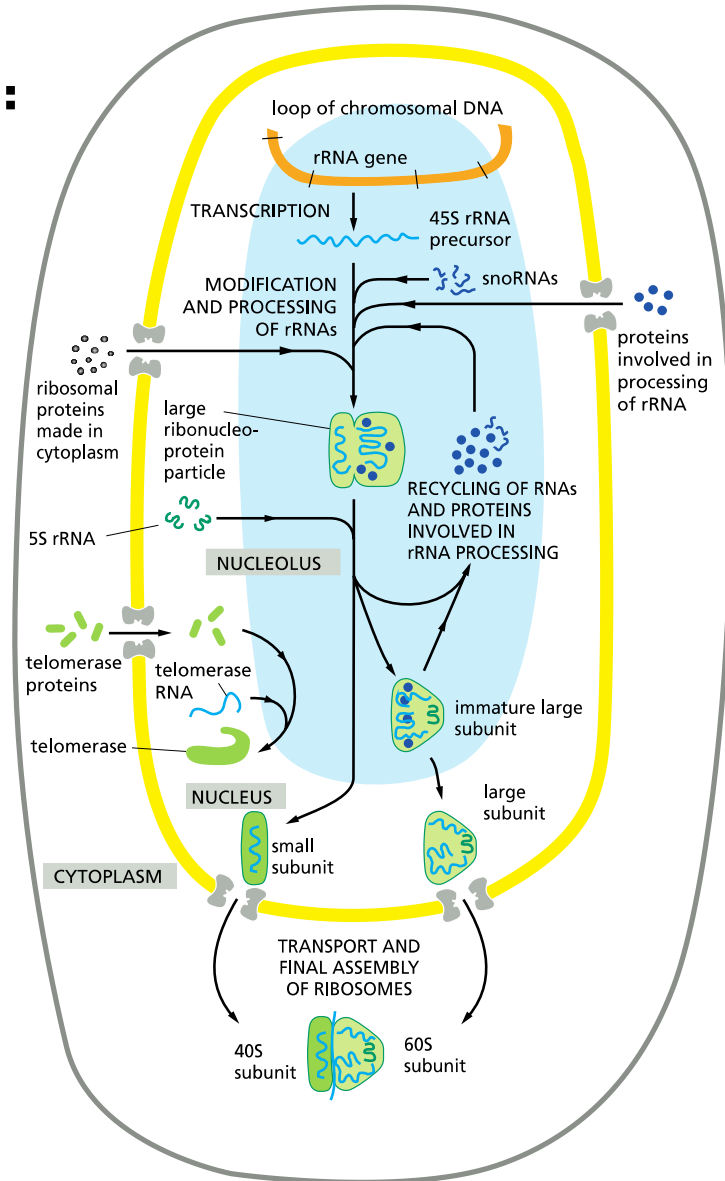
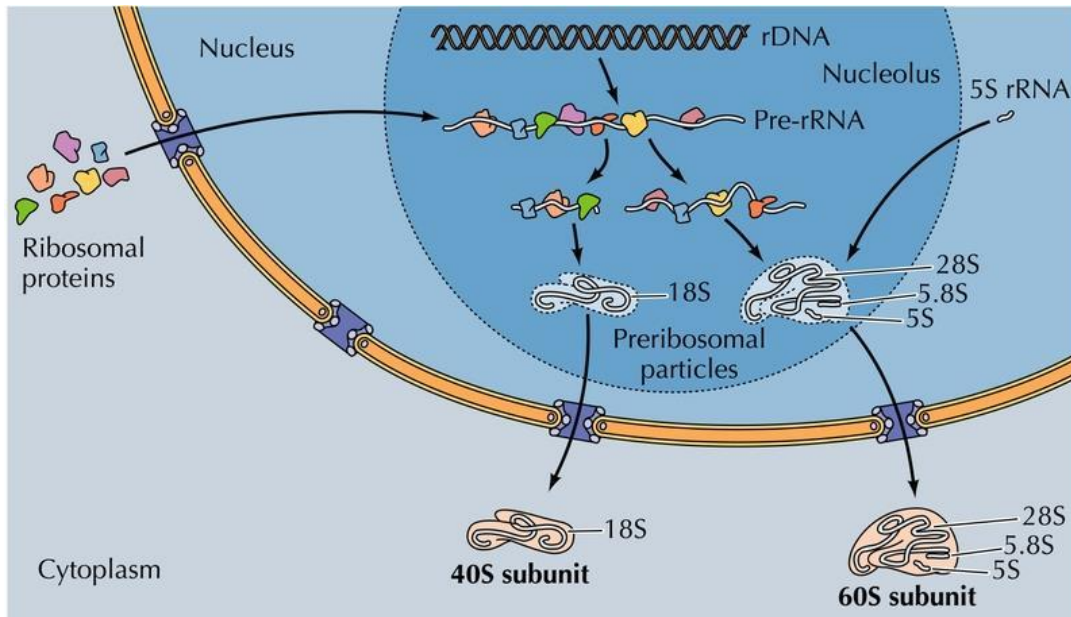
一、核仁的结构

- 核仁相随染色质
- 人间期细胞中，核仁组织区含有rRNA基因的10条染色质袢环延伸进入并簇集在核仁



二、核仁的功能

- 核糖体的生物发生 (ribosome biogenesis) : 包括rRNA的合成、加工和核糖体亚单位的组装
- 涉及mRNA的输出与降解



三、核仁的动态周期变化

- 核仁周期 (nucleolar cycle)
- 核仁结构的动态变化依赖于rDNA转录活性和细胞周期的运行

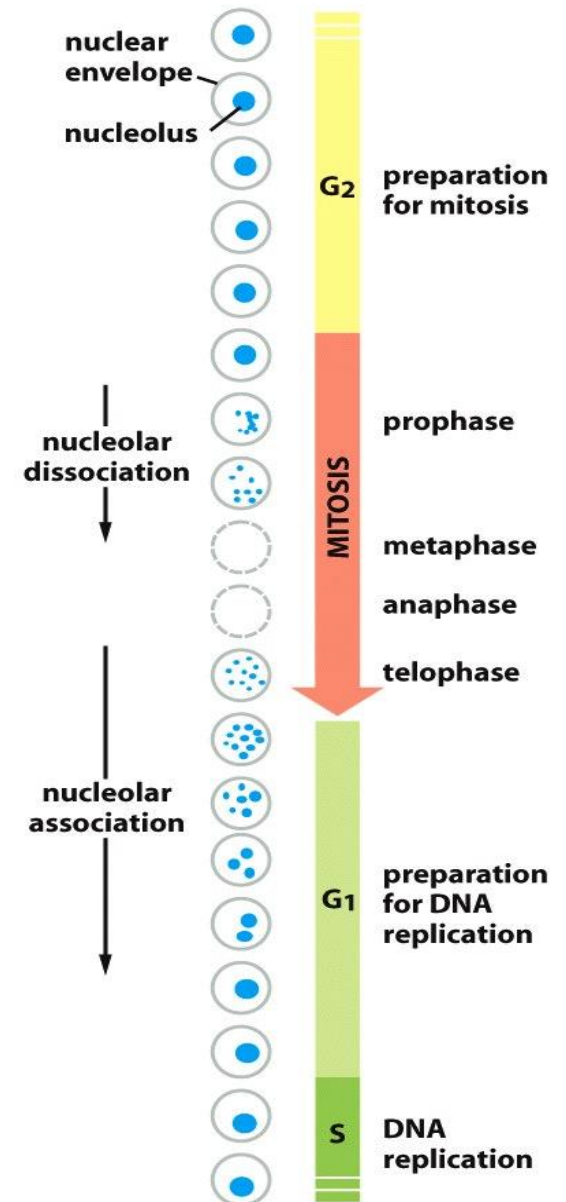
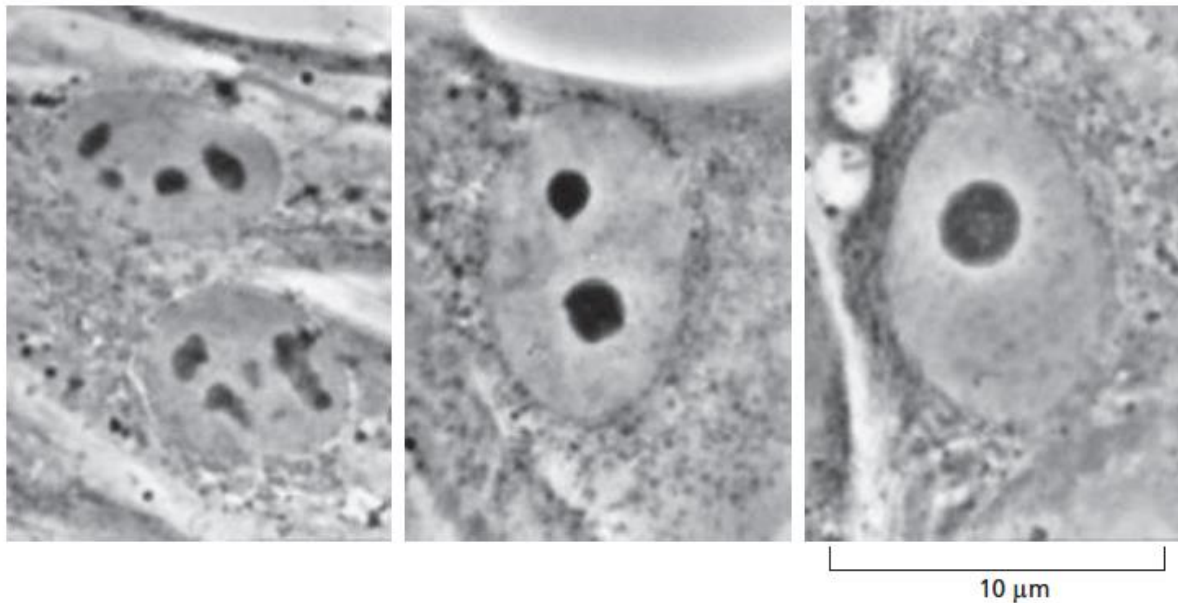
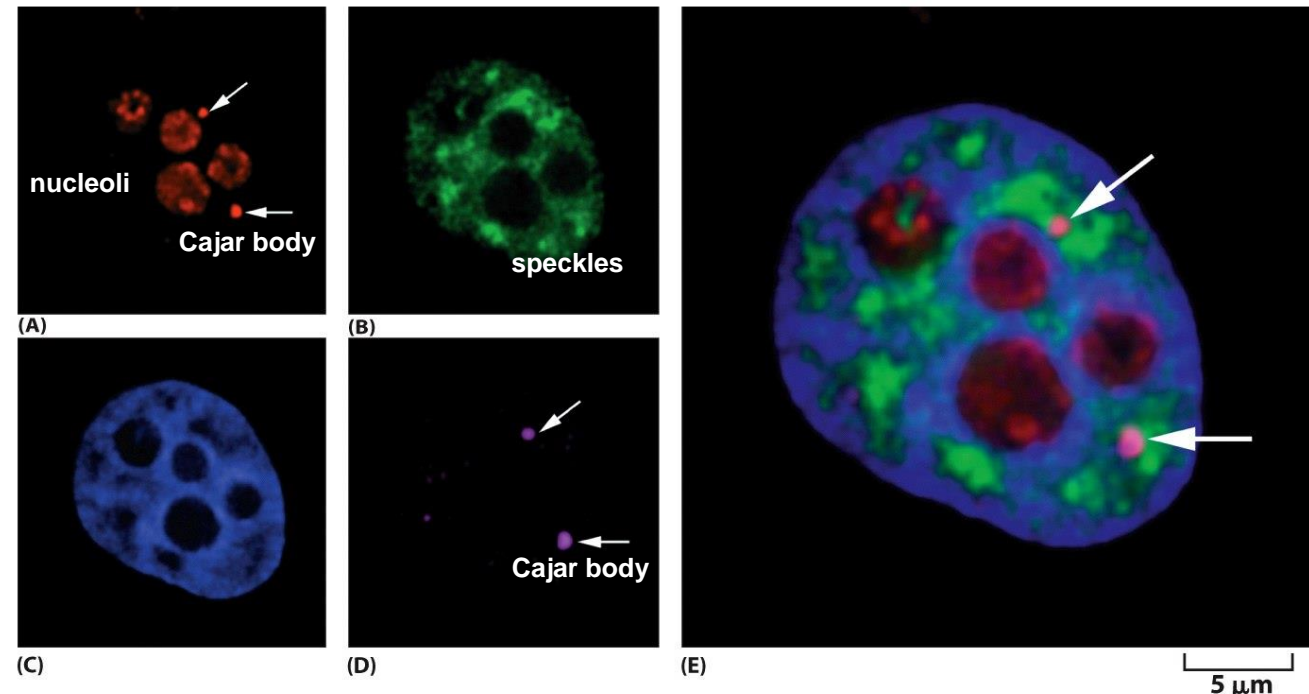


Figure 6-44 Nucleolar fusion. These light micrographs of human fibroblasts grown in culture show various stages of nucleolar fusion. After mitosis, each of the 10 human chromosomes that carry a cluster of rRNA genes begins to form a tiny nucleolus, but these rapidly coalesce as they grow to form the single large nucleolus typical of many interphase cells. (Courtesy of E.G. Jordan and J. McGovern.)

四、核体 (nuclear body)

- 亚核结构, 没有膜包被, 高度动态变化
 - 卡哈尔体 (Cajal body)/GEMS (Gemini of coiled body) : snRNP组装和循环利用的场所
 - 染色质间颗粒 (interchromatin granule clusters, speckles): 用于pre-mRNAs剪切的snRNP的储存位点。



(A) Shows the location of the protein fibrillarin (a component of several snoRNPs), which is present at **both nucleoli and Cajal bodies**, the latter indicated by arrows. (B) shows interchromatin granule clusters or “**speckles**” detected by using antibodies against a protein involved in pre-mRNA splicing. (C) is stained to show bulk chromatin. (D) shows the location of the protein coilin, which is present at **Cajal bodies**.

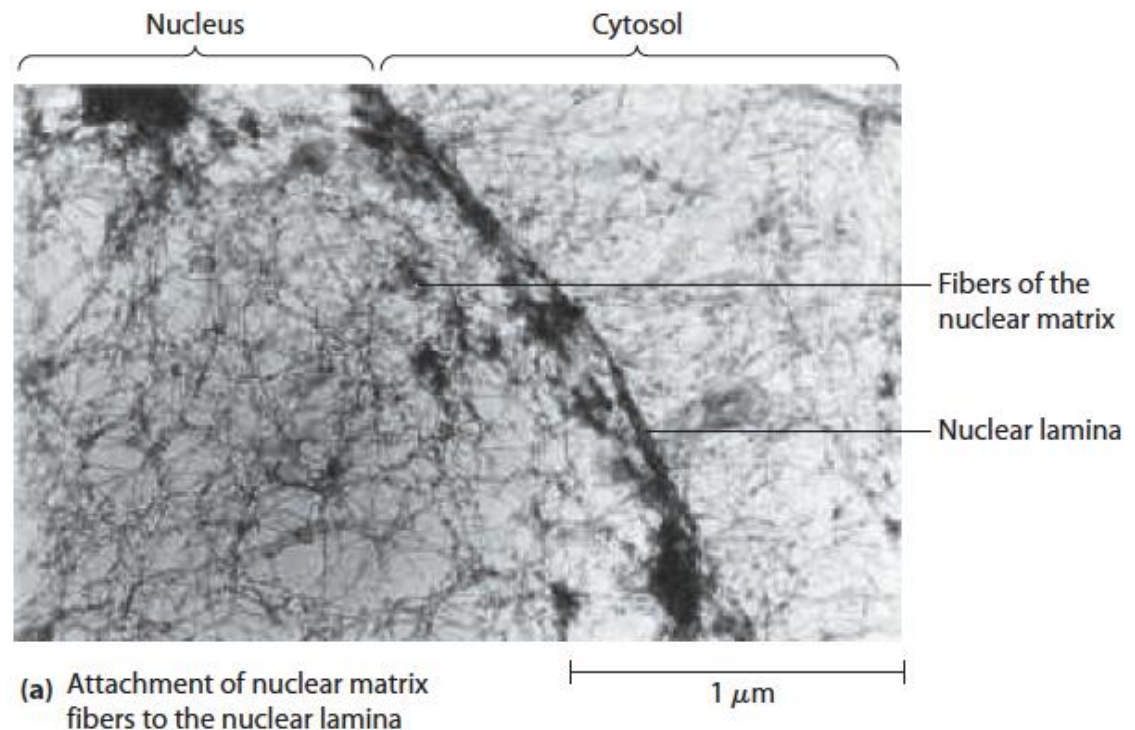
第六节

核基质

核基质 (nuclear matrix)

- 将DNA、组蛋白和RNA抽提后，残留在核内的纤维蛋白网架结构
 - 与核纤层、中间丝相互连接形成的网络体系，是贯穿于核与质的一个相对独立的结构系统
 - 主要成分由非组蛋白的纤维蛋白构成的，含有多种蛋白质成分，存在少量RNA

Figure 16-34 The Nuclear Matrix. (a) This electron micrograph of part of a mammalian cell nucleus shows a branched network of nuclear matrix filaments traversing the nucleus. These filaments seem attached to the nuclear lamina, the dense layer of filaments that lines the nucleoplasm side of the nuclear envelope.



本章内容提要

