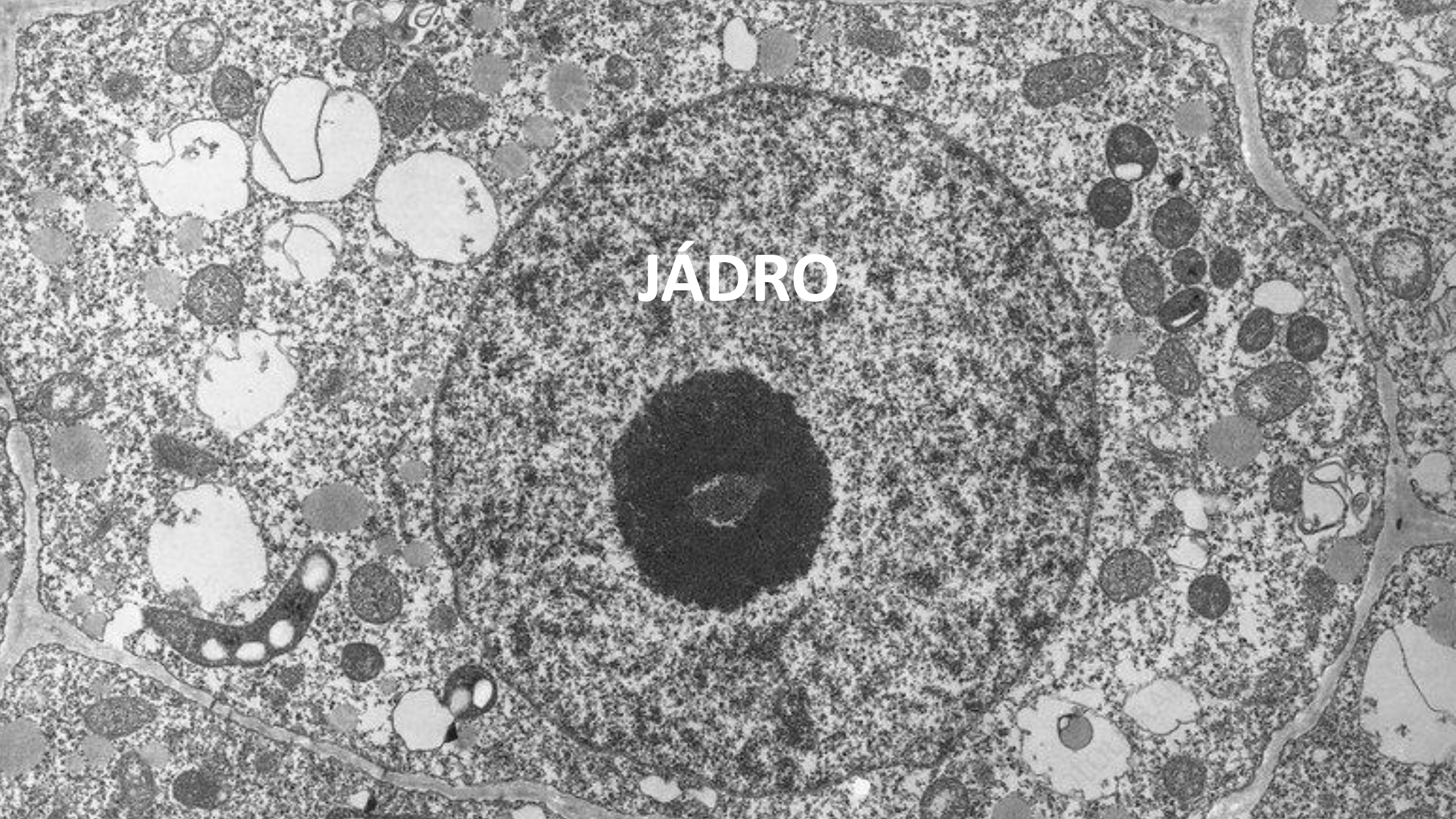


JÁDRO



Funkce jádra

- Uchování a přenos genetické informace

Procesy probíhající v jádře:

- Transkripce DNA (syntéza mRNA, tRNA, rRNA)
- Sestřih RNA
- Oprava poškozené DNA

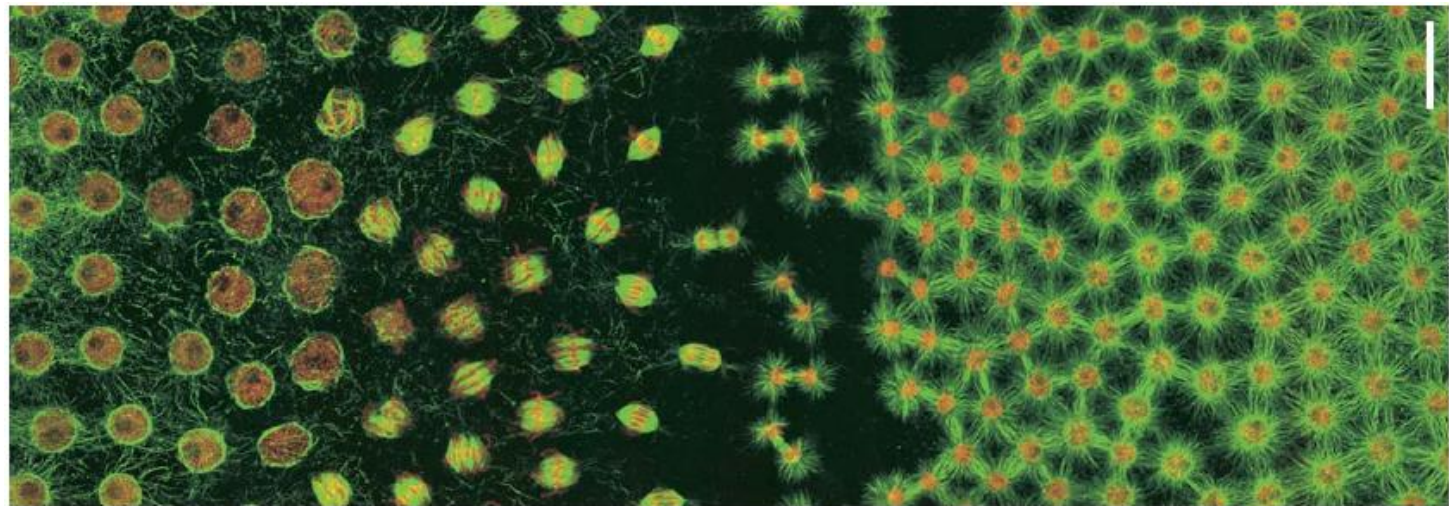
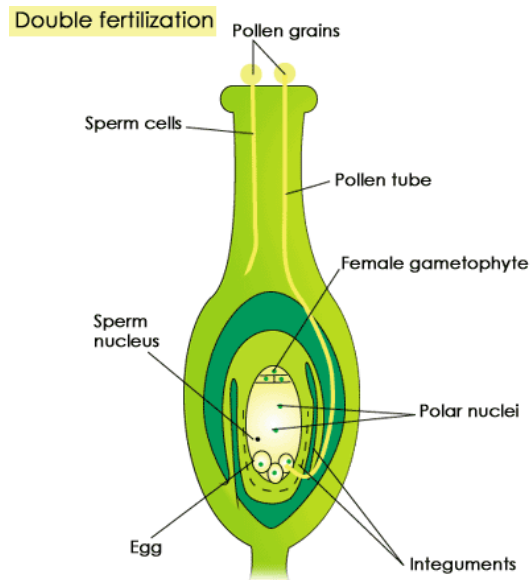
Počet jader

Většina buněk obsahuje **jedno jádro**

Vícejaderné buňky: např. syncytia (modifikovaný buněčný cyklus – opakované mitózy bez dělení buňky; některé druhy endospermu), reprodukce (dvojitě oplození).

Bezjaderné buňky: ztráta jádra v důsledku specializace; např. plně vyvinuté sítkové elementy.

Mitotická vlna v syncytiálním endospermu *Ginkgo biloba*



Profáze

Metafáze

Anafáze

Telofáze

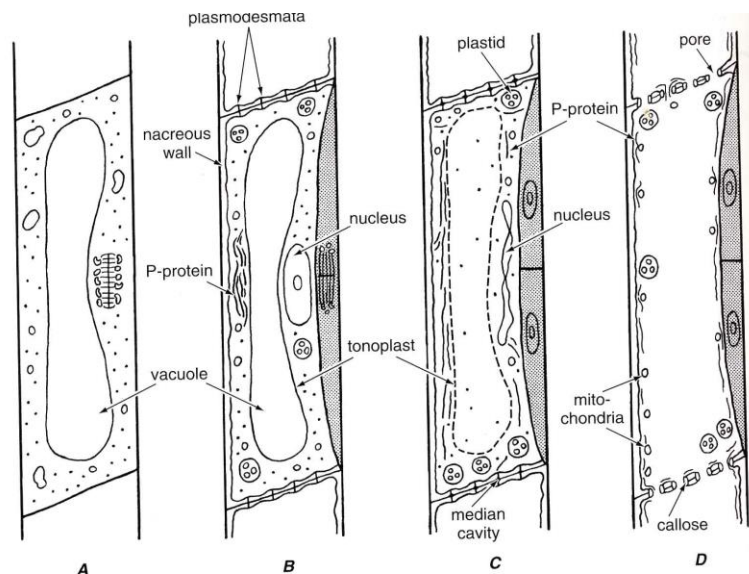
Interfáze

Počet jader

Většina buněk obsahuje **jedno jádro**

Vícejaderné buňky: např. syncytia (modifikovaný buněčný cyklus – opakované mitózy bez dělení buňky; některé druhy endospermu), reprodukce (dvojitě oplození).

Bezjaderné buňky: ztráta jádra v důsledku specializace; např. plně vyvinuté sítkové elementy.



Sítkové elementy (SE):
základní stavební jednotka
floému, pletiva pro rozvod
asimilátů po rostlině.

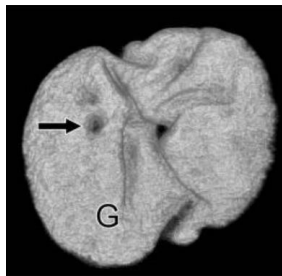
Během vývoje SE dochází k
odbourání některých buněčných
struktur, včetně jádra =
nedokončená PCD. V tomto
stavu SE fungují a odumírají až
po dokončení jejichž funkčnosti –
zpravidla po jedné vegetační
sezóně.

Tvar jader

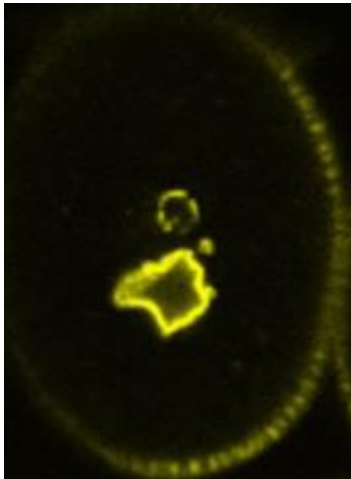
Nejčastěji sférický až elipsoidní u většiny buněk

Změny tvaru během diferenciaci, např.:
tyčinkovitá jádra buněk cévních svazků,
nepravidelný tvar vegetativního jádra pylu.

Povrch je spíše zbrzděný, někdy tvoří jaderný
obal rozsáhlé invaginace:

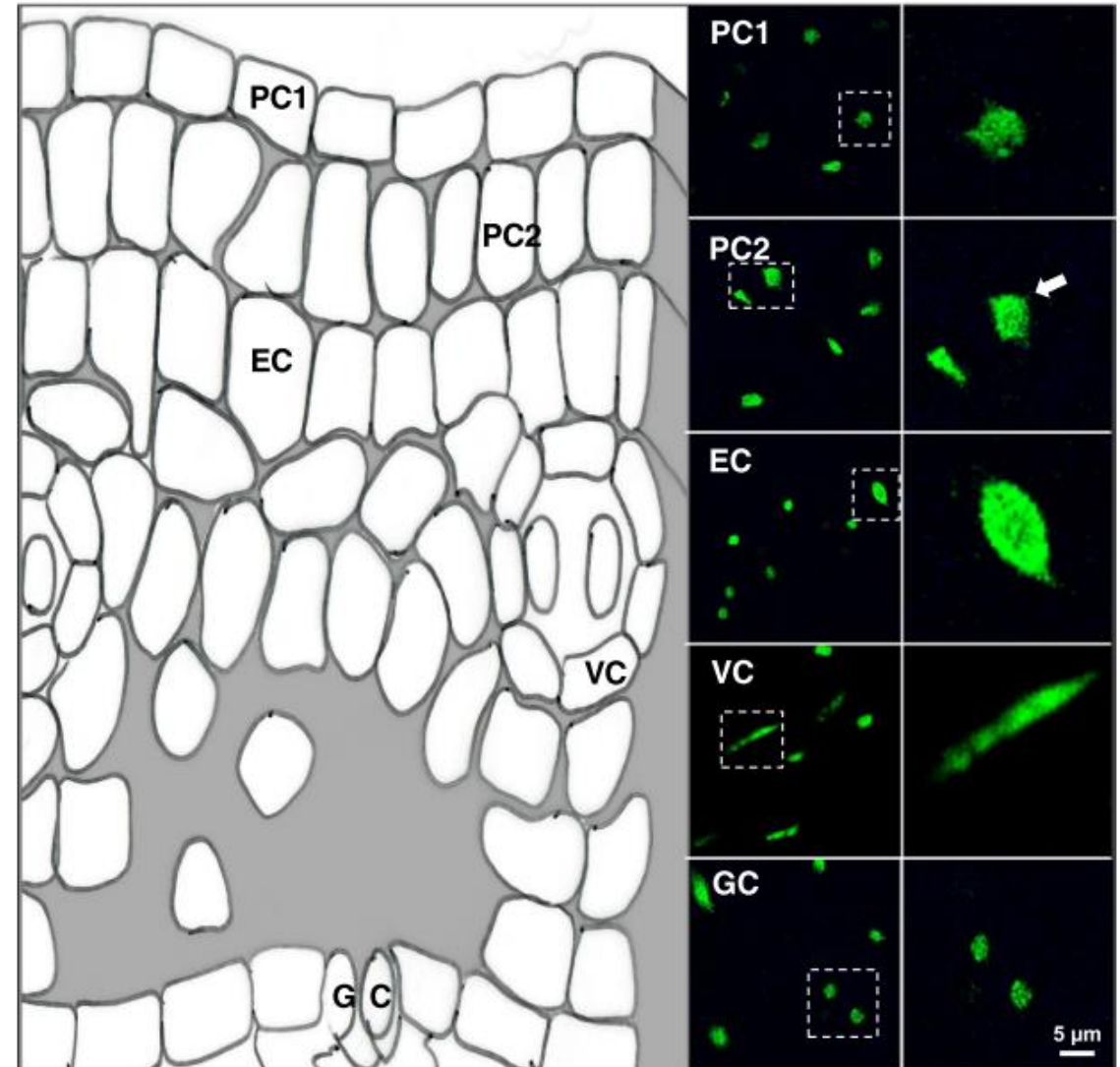


doi: 10.1105/tpc.12.12.2425



doi: 10.3389/fpls.2021.673905

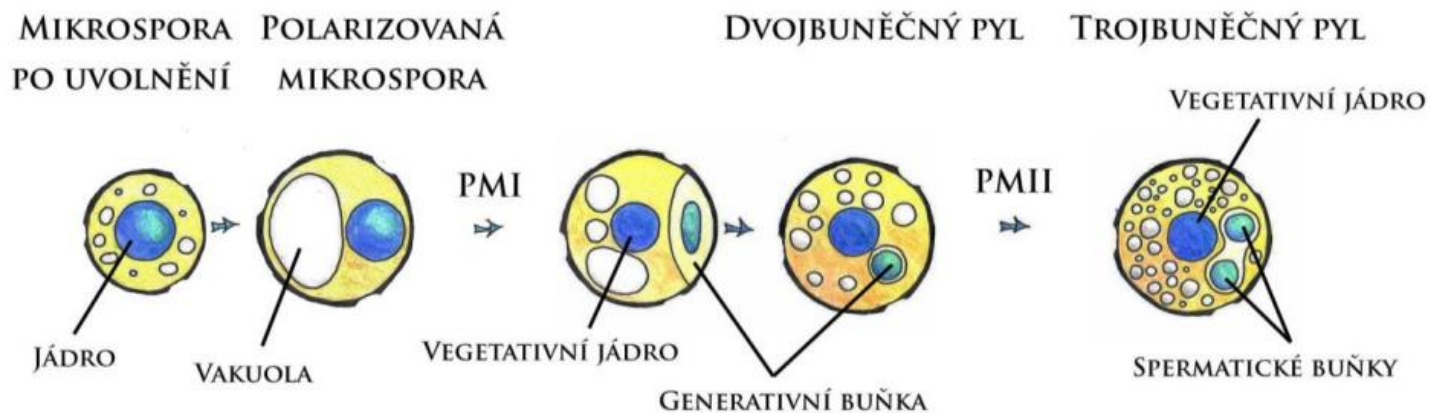
Též změna velikosti
během
diferenciaci díky
endoreduplikaci



<https://doi.org/10.1007/s10577-021-09673-2>

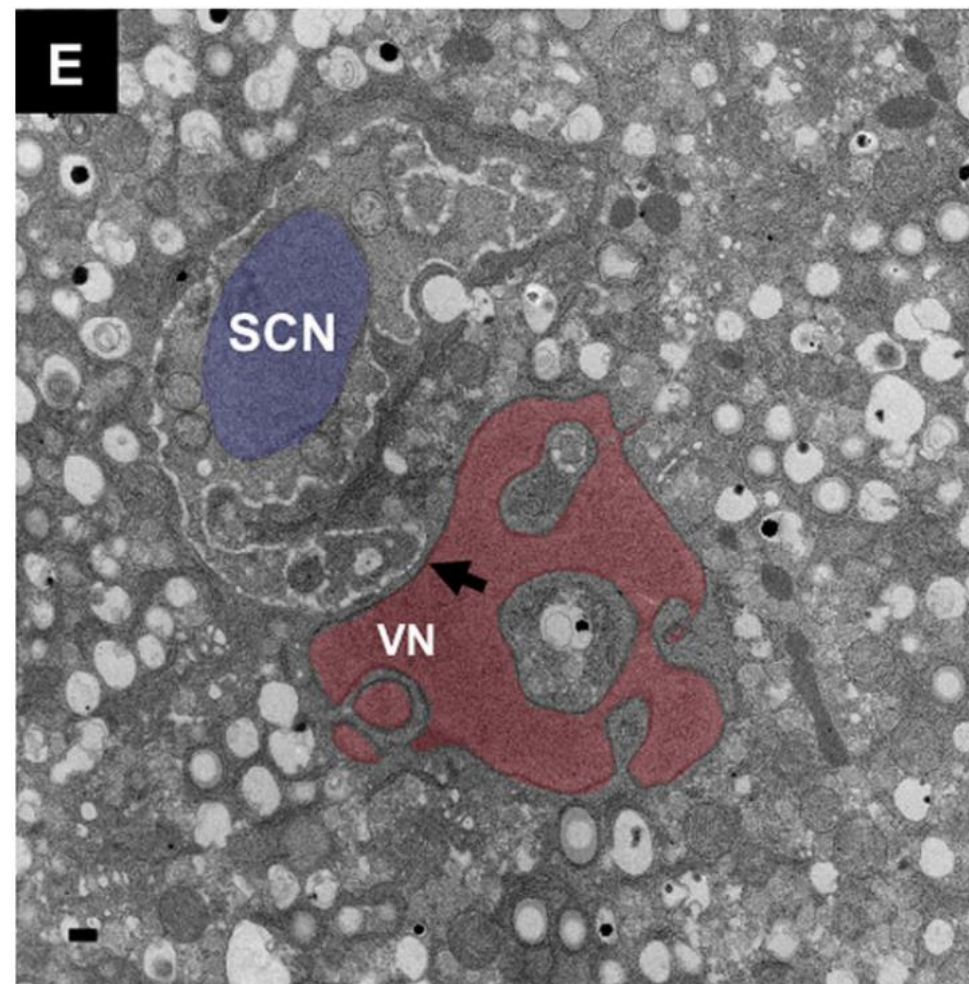
Tvar jader

Vývoj pylu: vznik generativních buněk meiotickým dělením vegetativního jádra



Obr. 1: Vývoj samčího gametofytu. Upraveno podle Borg and Twell, 2011. © Alena Náprstková

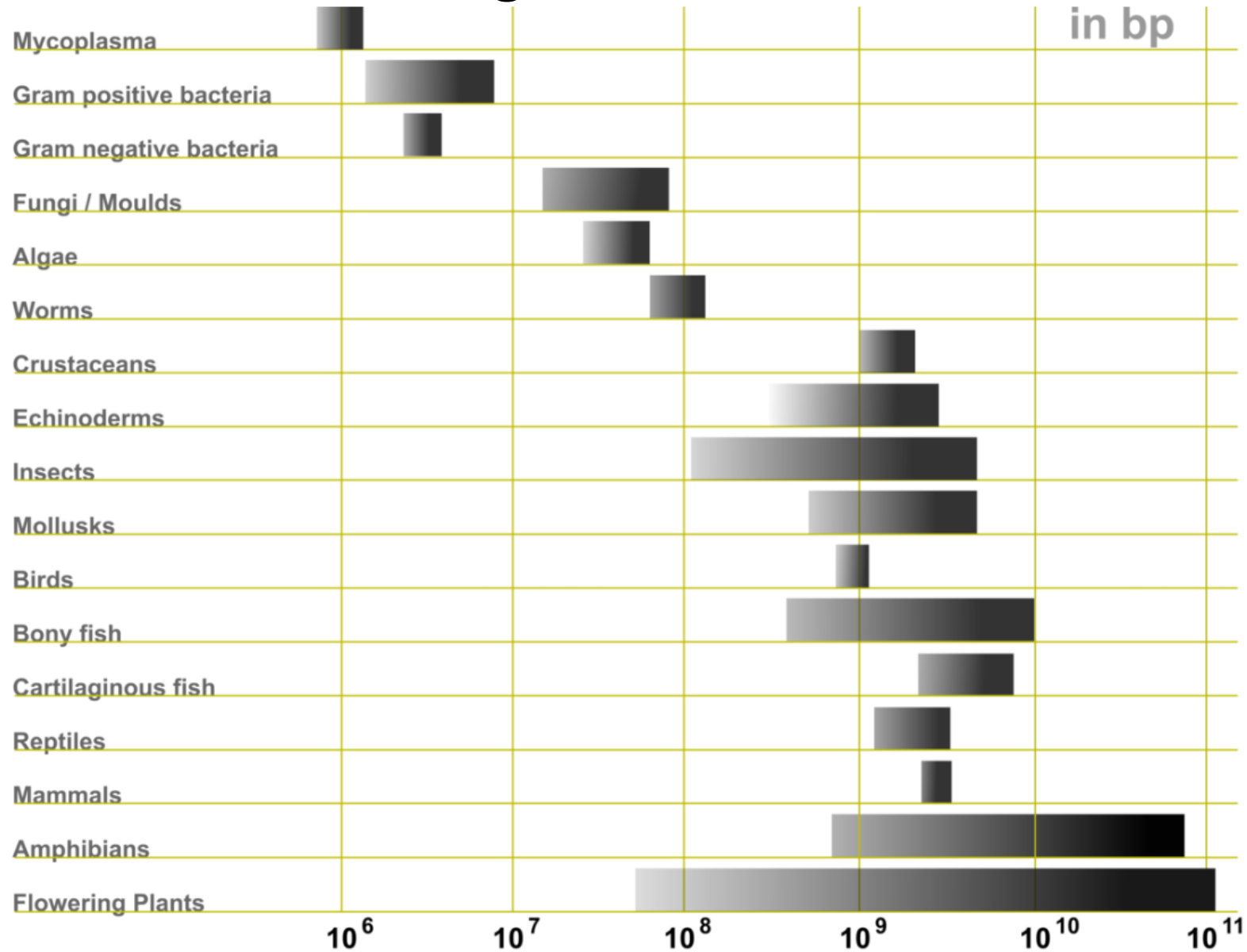
https://lhr.ueb.cas.cz/petrasek/MB130C78/Blok3_popis_uloh_2020.pdf



VN: vegetativní jádro; SCN: jádro spermatické buňky

doi:10.1093/jxb/err032

Velikost genomu: C-value



Velikost genomu: C-value paradox

Gen: úsek chromozomální DNA, který je přepsán do funkční molekuly RNA nebo který je přepsán do RNA a poté přeložen do funkčního proteinu.

Množství genů kódujících funkční proteinový produkt:

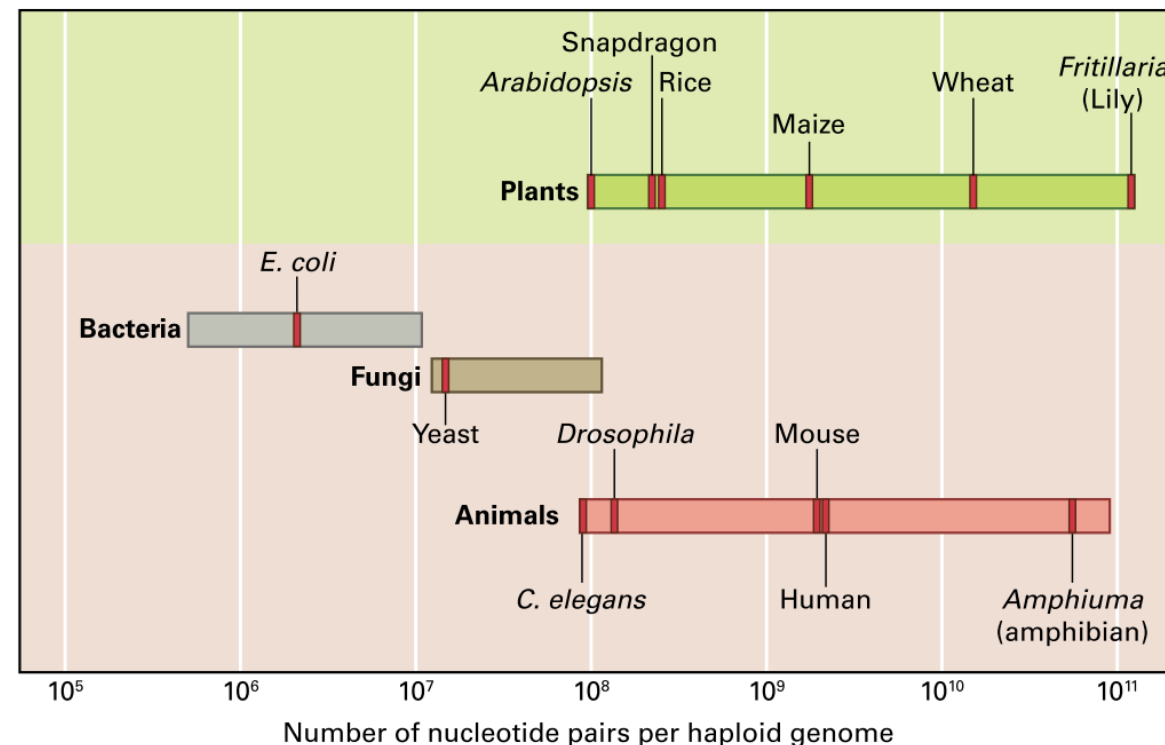
Arabidopsis thaliana: okolo 28 000

Oryza sativa: 36 000

Pšenice (*Triticum aestivum*): 110 000

(hexaploid, každý předek má okolo 35tis genů)

Člověk: 20 000



Velikost genomu: C-value paradox:

množství DNA v haploidním genomu (C-value) příliš neodpovídá složitosti organismu

Co je kódováno genomem

Kromě genů obsahuje DNA též:

-regulační sekvence genů: introny, promotory, regulační sekvence DNA.

-repetitivní sekvence nejrůznějších druhů, které mohou být přítomny ve stovkách až tisícičkách kopií. Typicky se jedná o telomerické či centromerické části, nebo o rDNA.

Genom Arabidopsis:

28,8% sekvencí kódujících proteiny,

15,7% introny,

55,5% mezigenových sekvencí

DNA eukaryot je mnohonásobně delší než buňka
= nutnost organizace DNA v jádře

Organizace DNA v Interfázi:

Heterochromatin

Euchromatin

Organizace DNA během mitózy:

Chromozomy

Organizace DNA v jádře

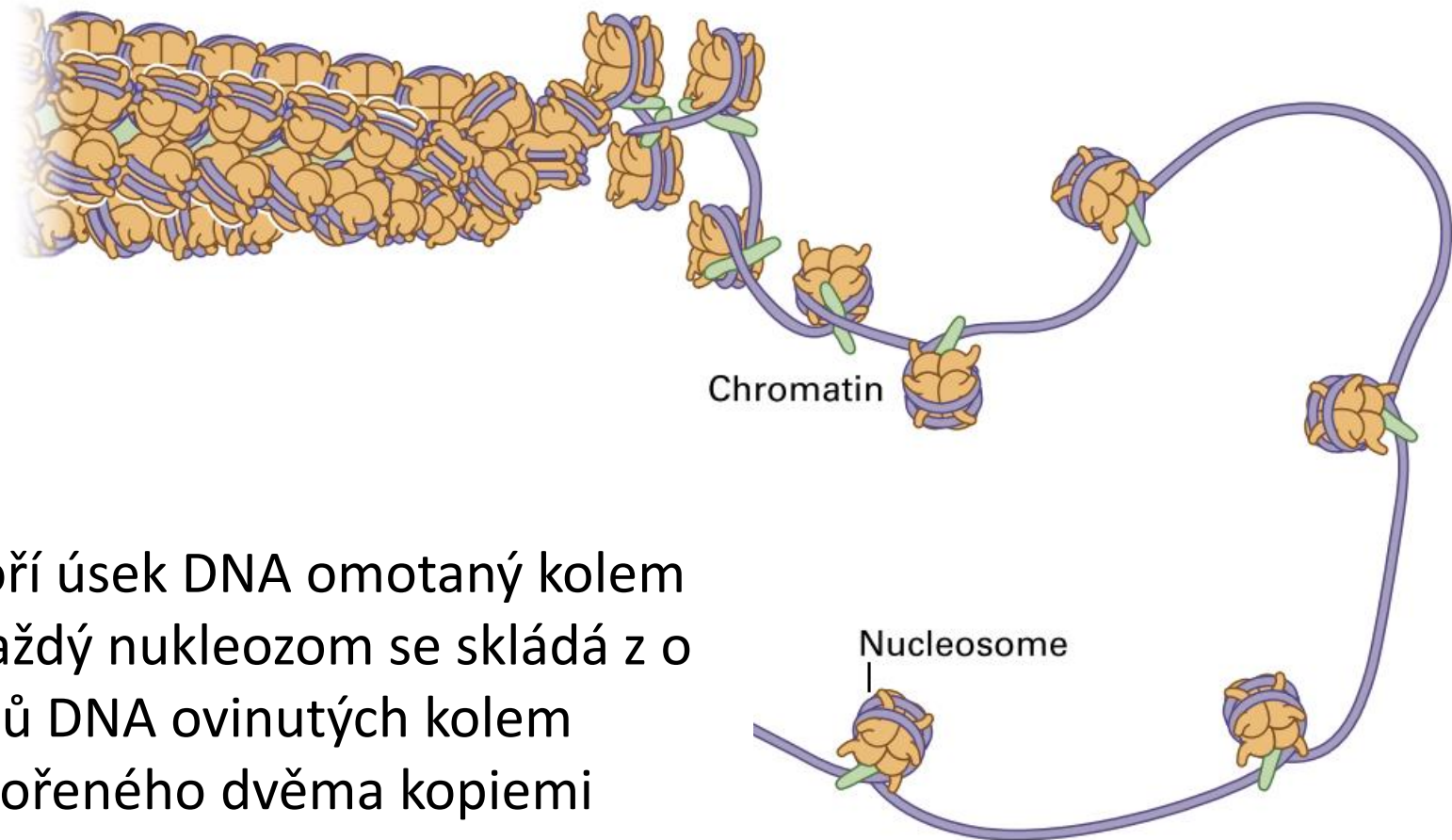
DNA je v jádře sbalována, aby byla redukována její délka.
Sbalení DNA zajišťují různé proteiny – vznik **chromatinu**.

Histony – nejvíce zastoupené proteiny účastnící se sbalování DNA.

Histony jsou relativně malé proteiny, které ve své sekvenci obsahují mnoho bazických aminokyselinových zbytků, což má za následek celkový kladný náboj, který jim umožňuje silně se vázat na záporně nabitou DNA.

Organizace DNA v jádře

Nukleozom: základní strukturní a funkční jednotka chromatinu



Strukturu nukleozomu tvoří úsek DNA omotaný kolem histonového oktameru. Každý nukleozom se skládá z o něco méně než dvou závitů DNA ovinutých kolem histonového oktameru, tvořeného dvěma kopiemi histonových proteinů H2A, H2B, H3 a H4.

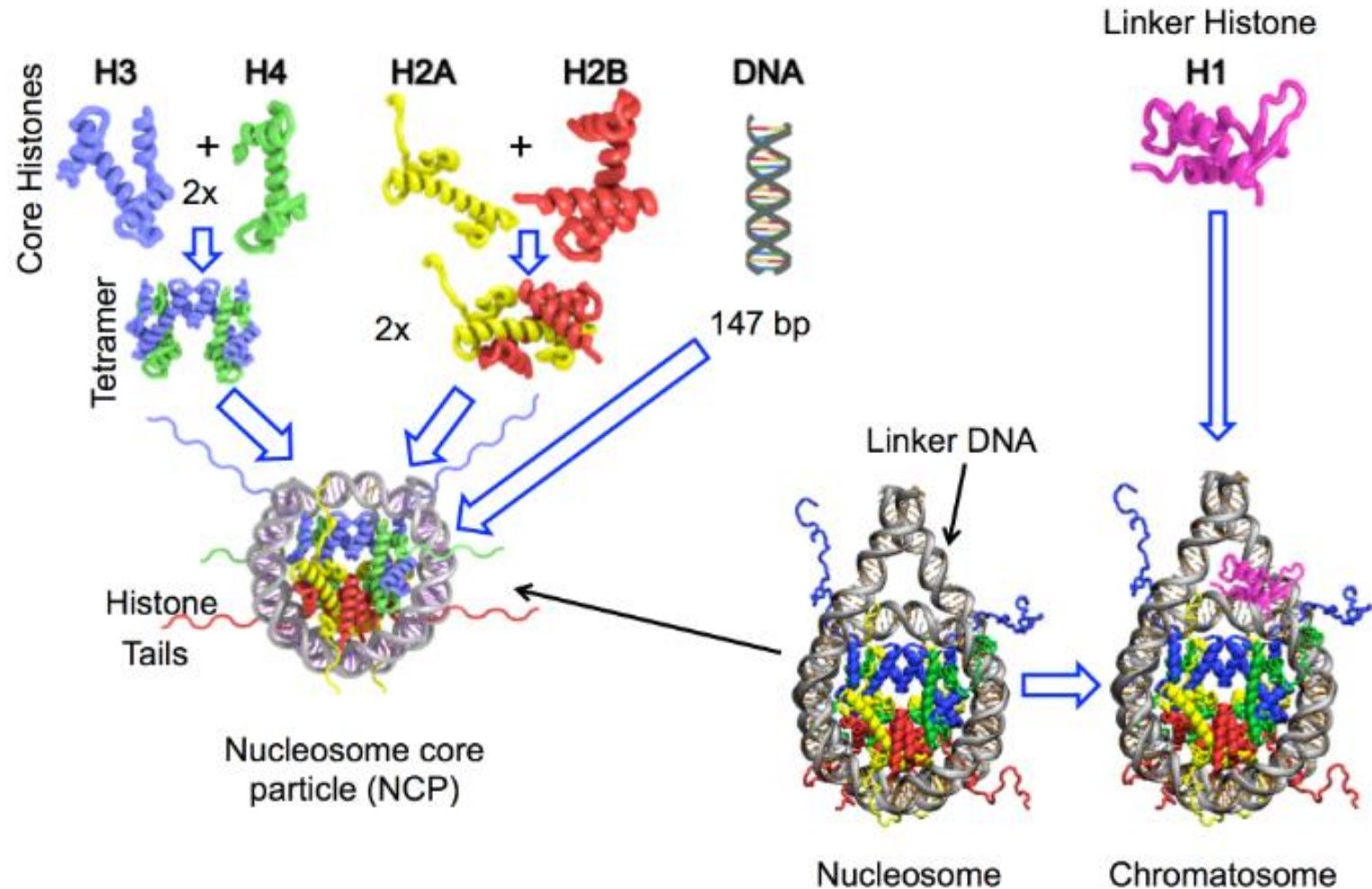
Organizace DNA v jádře

Nukleozom: základní strukturní a funkční jednotka chromatinu

Nukleosom je obtočen 147 bp DNA (cca 1,7 otáčky) kolem oktameru čtyř typů histonů (H3, H4, H2A a H2B - od každého dvě kopie).

Nukleosomy jsou dále propojeny linkerovými vlákny DNA.

Linkerový histon H1 dále interaguje s nukleosomem a linkerovou DNA, čímž usnadňuje tvorbu chromatinových struktur vyššího řádu.

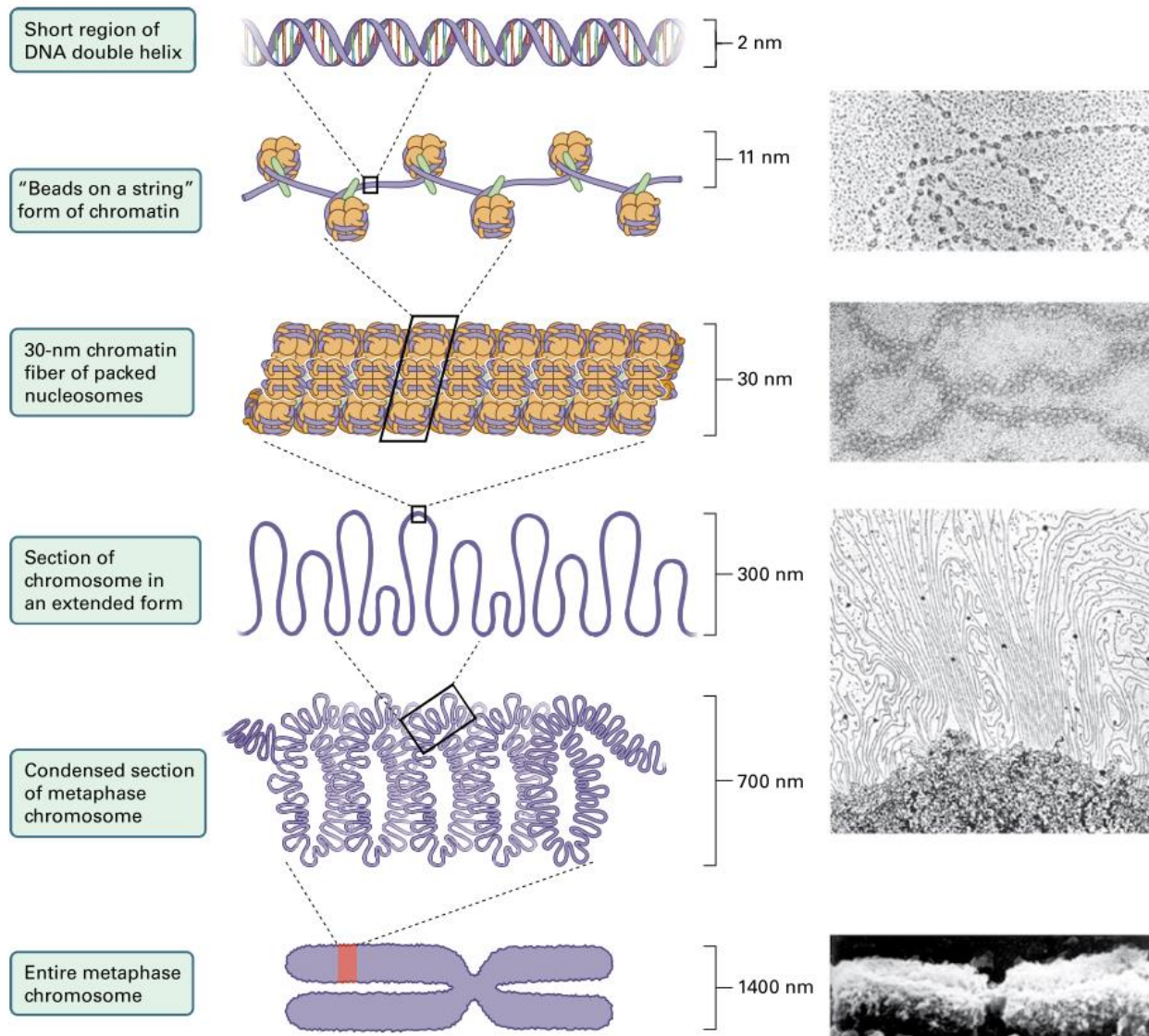


Organizace DNA v jádře

„Korálky na niti“

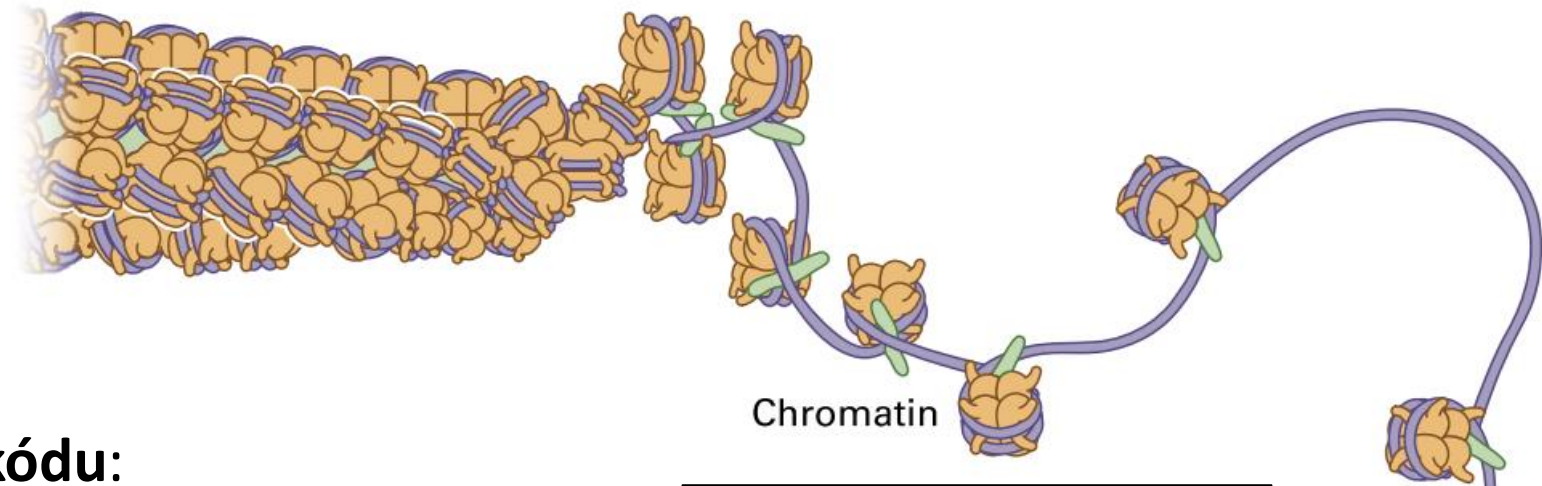
Chromatinové vlákno

Chromozóm v kondenzovaném stavu



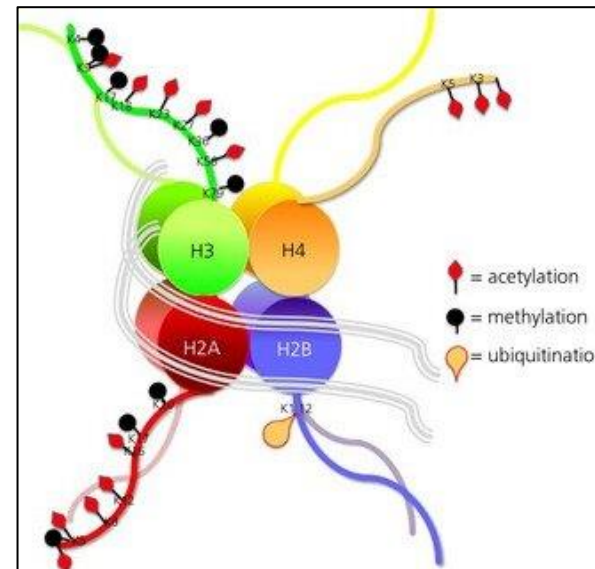
Organizace DNA v jádře

Histonový kód



Hypotéza **histonového kódu**:
posttranslační modifikace histonů ovlivňují
chromatinovou strukturu a tedy expresi
genů.

Epigenetická regulace genové exprese

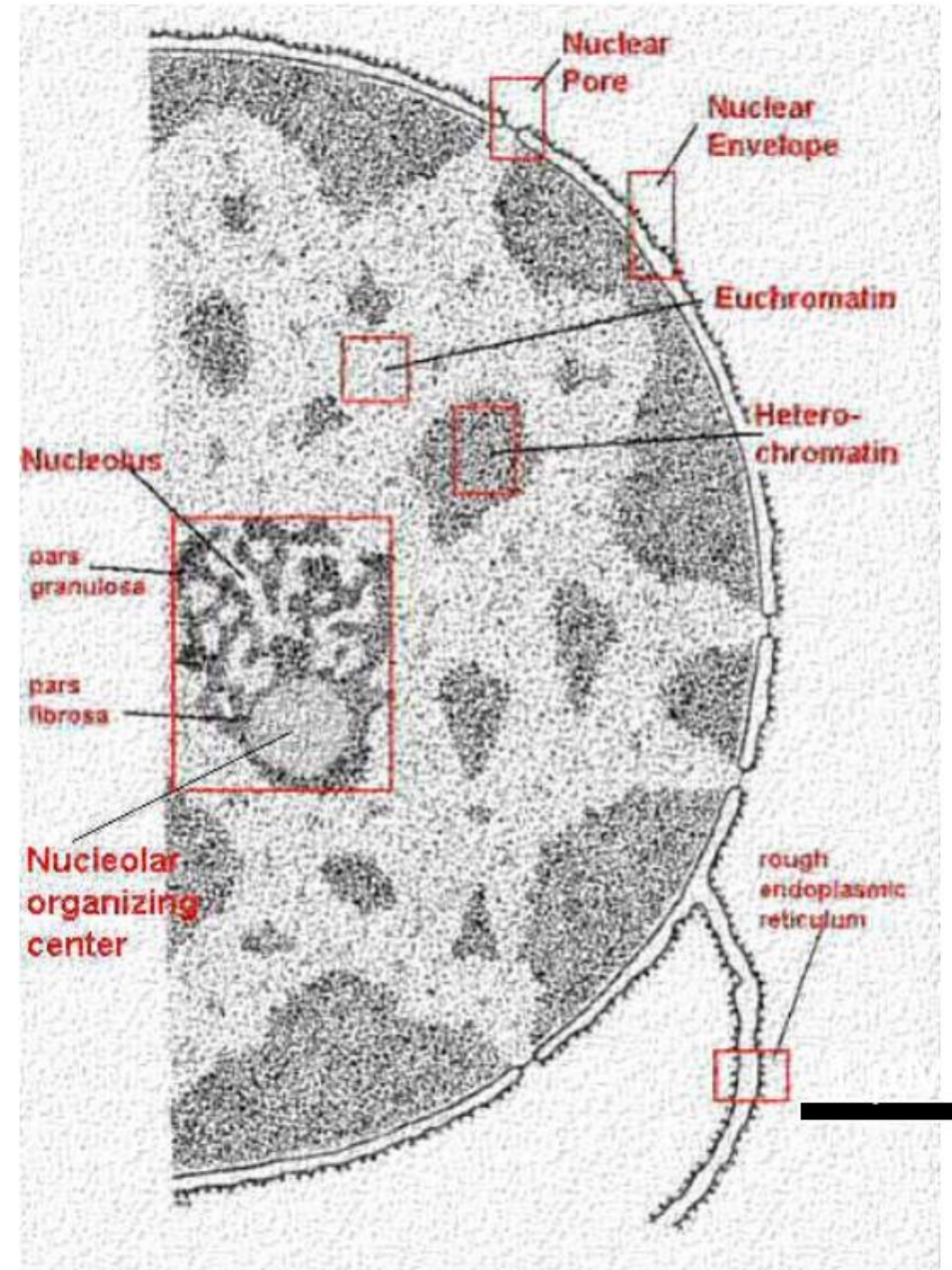
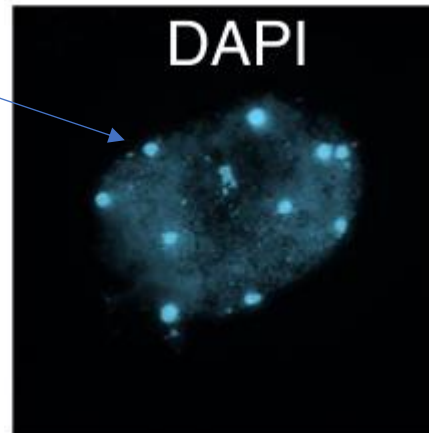


Organizace DNA v jádře

Euchromatin: aktivní, rozvolněný stav chromatinu

Heterochromatin: nečinný, pevně sbalený stav chromatinu. Asociován s jadernou periférií.

Chromocentra: kompaktní domény heterochromatinu



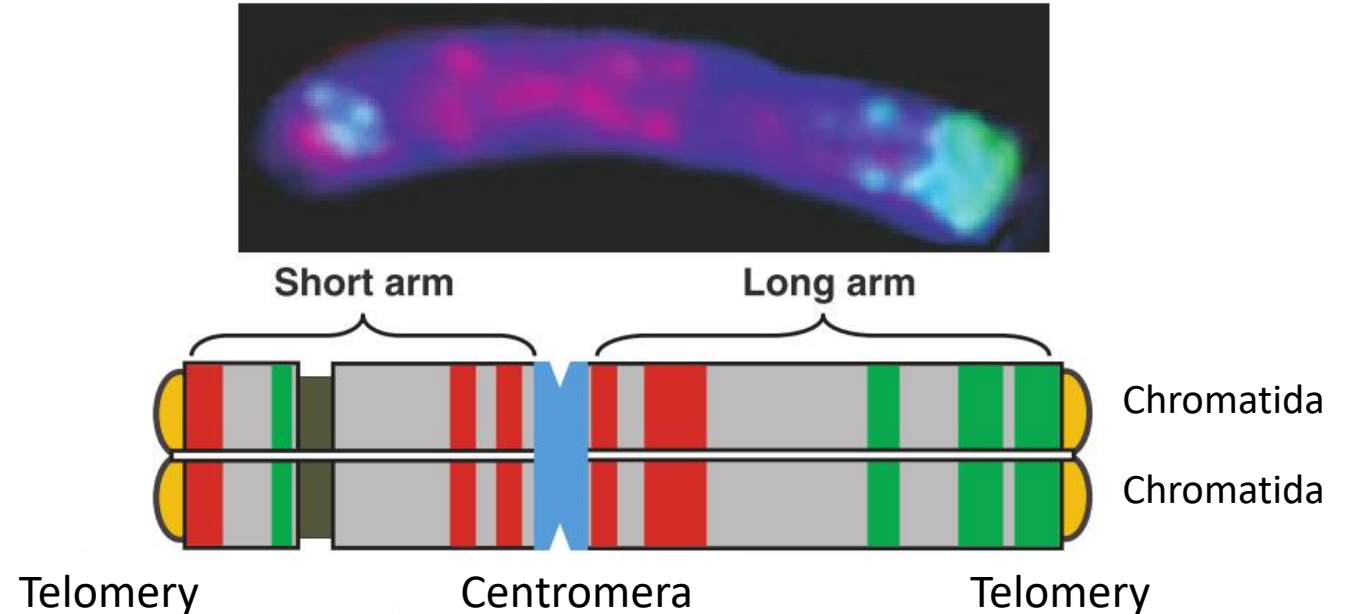
Organizace DNA v jádře chromozómy

Jaderný genom je organizován do jednotlivých chromozómů.

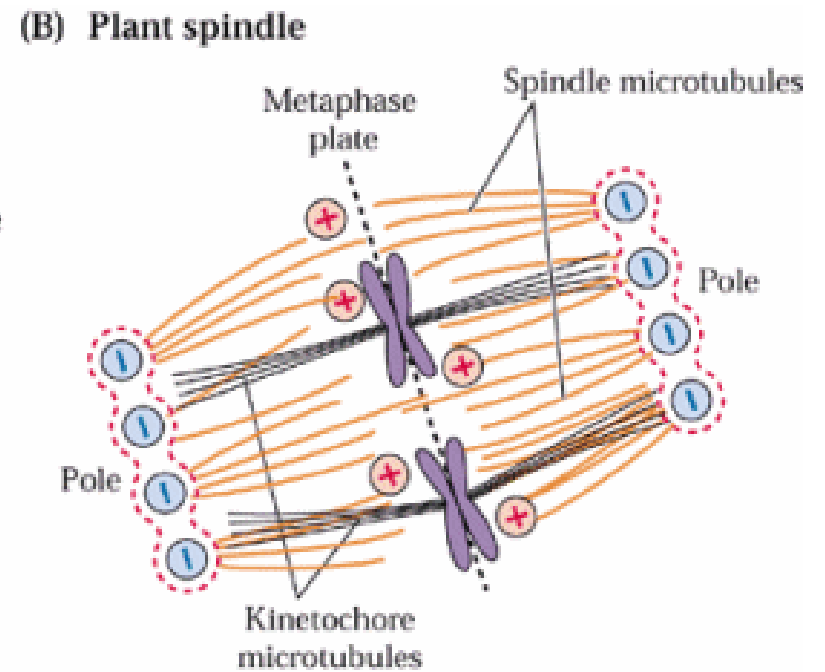
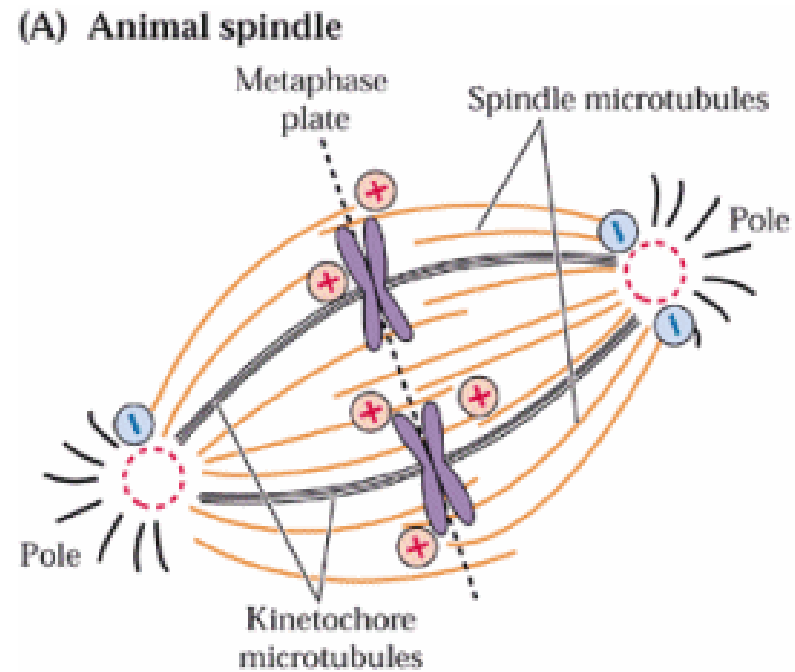
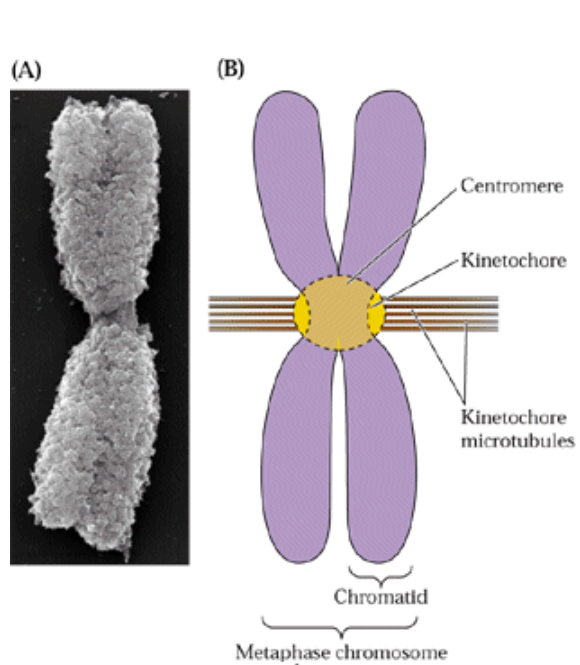
Chromozómy se před mitózou **duplikují** a **spiralizují** → chromozómy v metafázi obsahují dvě identické chromatidy s pevně sbalenou DNA.

Telomery: repetitivní sekvence. Udržují integritu chromozómu stabilizací konců chromozómů.

Centromera: četné repetitivní sekvence. Organizuje **kinetochor**.



Separace chromozómů během mitózy

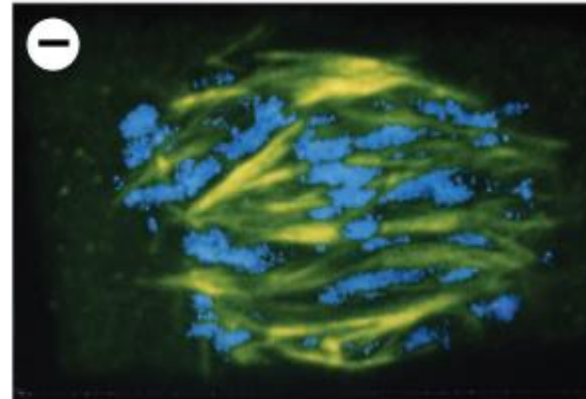
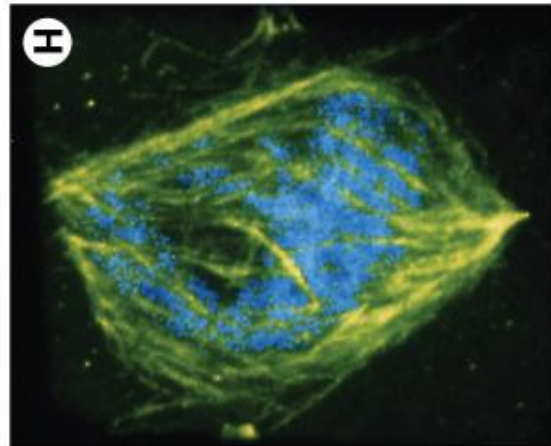
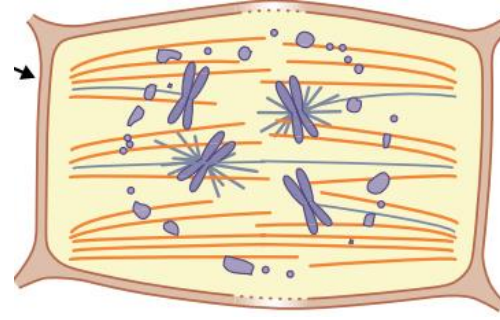
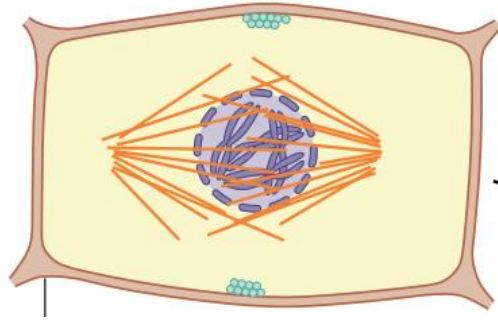


Mitotické vřeténko vyšších rostlin:

Mikrotubuly vřeténka nejsou koncentrované v jednom bodě na pólech; chybí astrální mikrotubuly

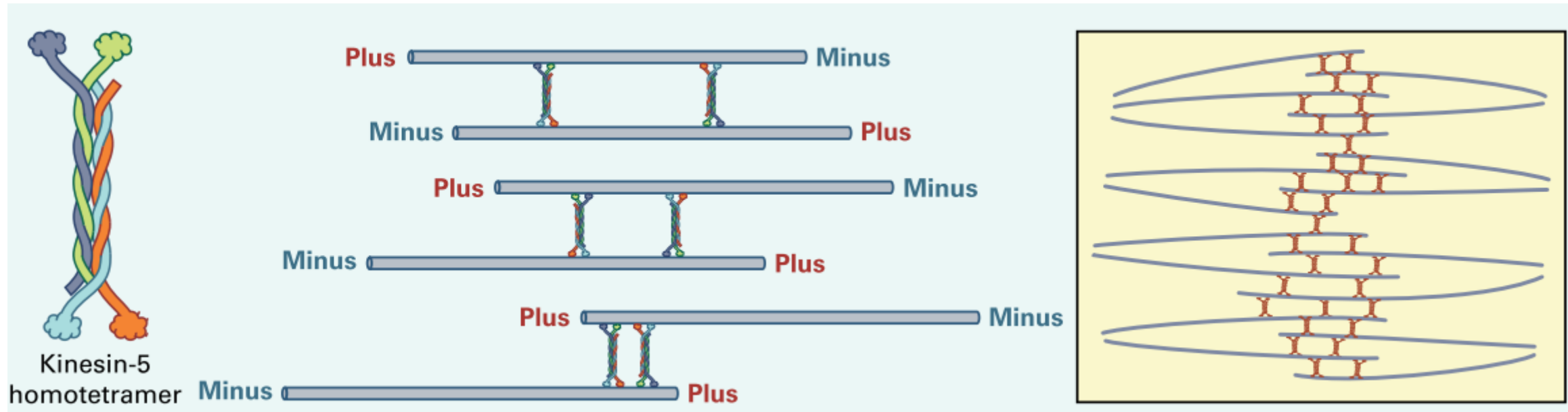
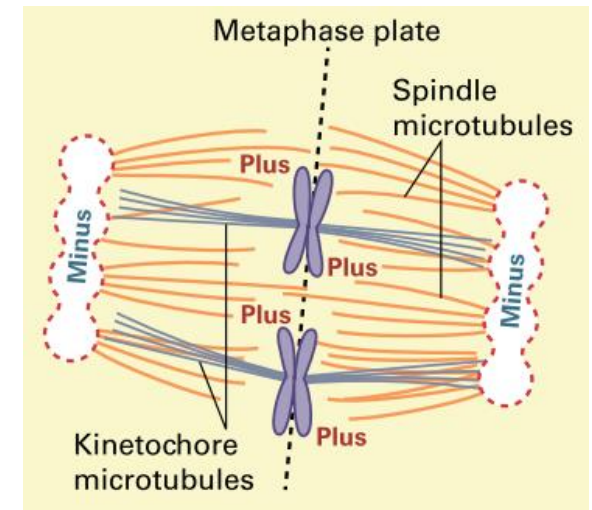
Separace chromozómů během mitózy

Formování rostlinného dělicího vřeténka začíná polymerací mikrotubulů na intaktní jaderné membráně během předprofáze – preprophase mitotic spindle:



Separace chromozómů během mitózy

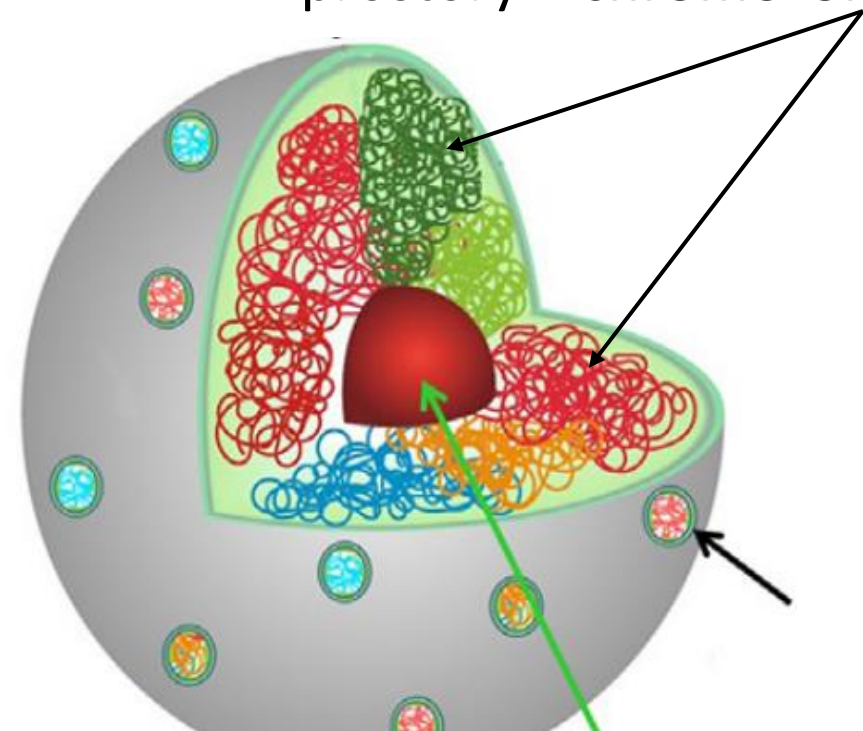
Funkce dělicího vřeténka je zajištěna četnými molekulárními motory, zajišťujícími integritu vřeténka a jeho polaritu: **motorové proteiny jsou hlavním mechanismem vytvářejícím sílu pro dělení DNA pomocí mitotického vřeténka.**



Organizace DNA v jádře chromozómy

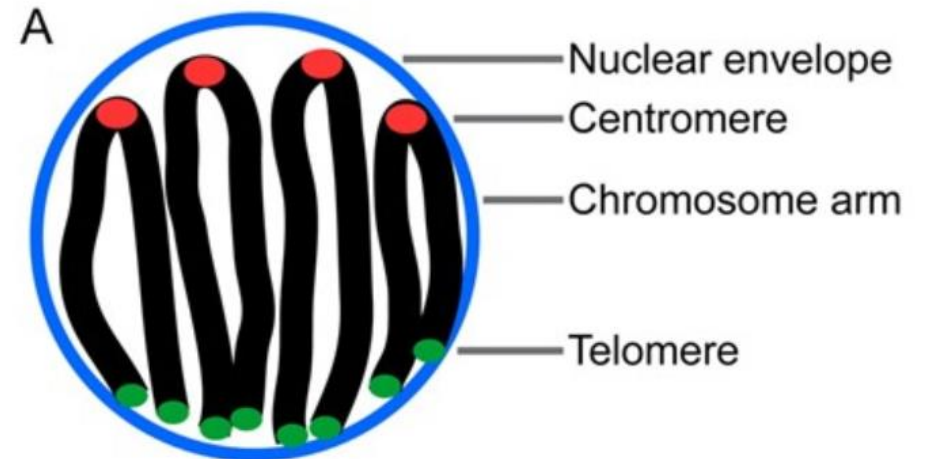
Jaderný genom je organizován do jednotlivých chromozómů.

Během interfáze chromozómy částečně despiralizují. V jádře zaujímají jednotlivé despiralizované chromozómy nepřekrývající se konkrétní prostory – **chromozómová teritoria**. Různé konfigurace.



Příklad tzv. **Rabl organizace** chromozómů v interfázových jádrech. Typické pro rostliny s velkými genomy.

Figure 1.



Organizace DNA v jádře

karyotyp

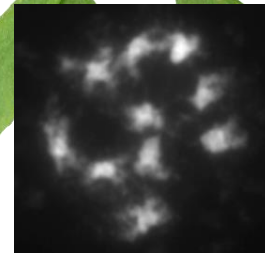
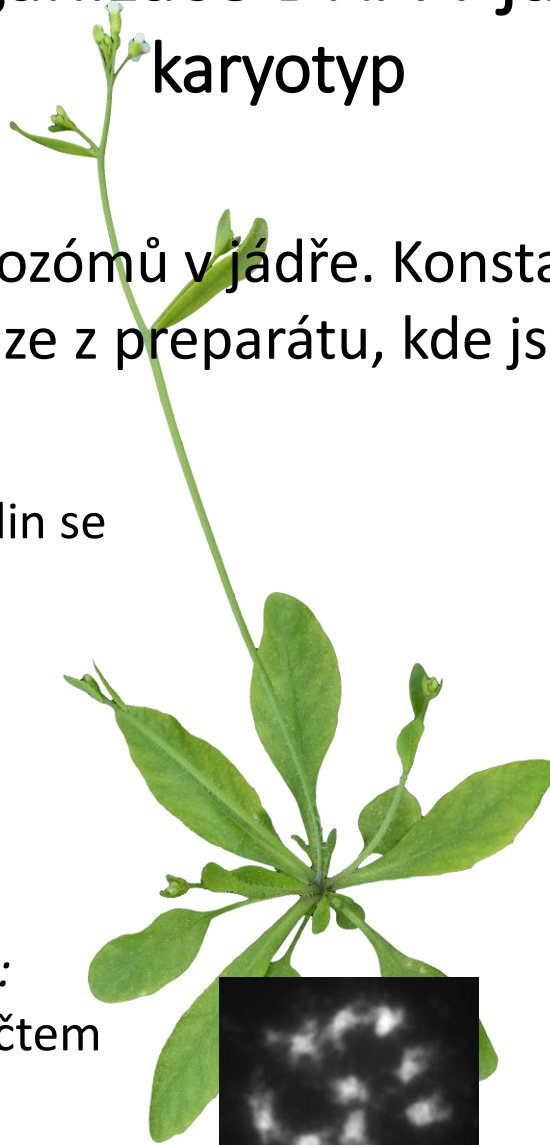
Karyotyp: soubor všech chromozómů v jádře. Konstantní u jednotlivých druhů. Druhový znak. Lze stanovit pouze z preparátu, kde jsou buňky v metafázi mitózy.

Počty chromozómů u kvetoucích rostlin se velmi liší:

Nejnižší: $2n=4$

Arabidopsis: $2n=10$

Kapradina *Ophioglossum reticulatum*:
 $2n=1440$. Organismus s největším počtem chromozómů.



Arabidopsis thaliana



Ophioglossum reticulatum



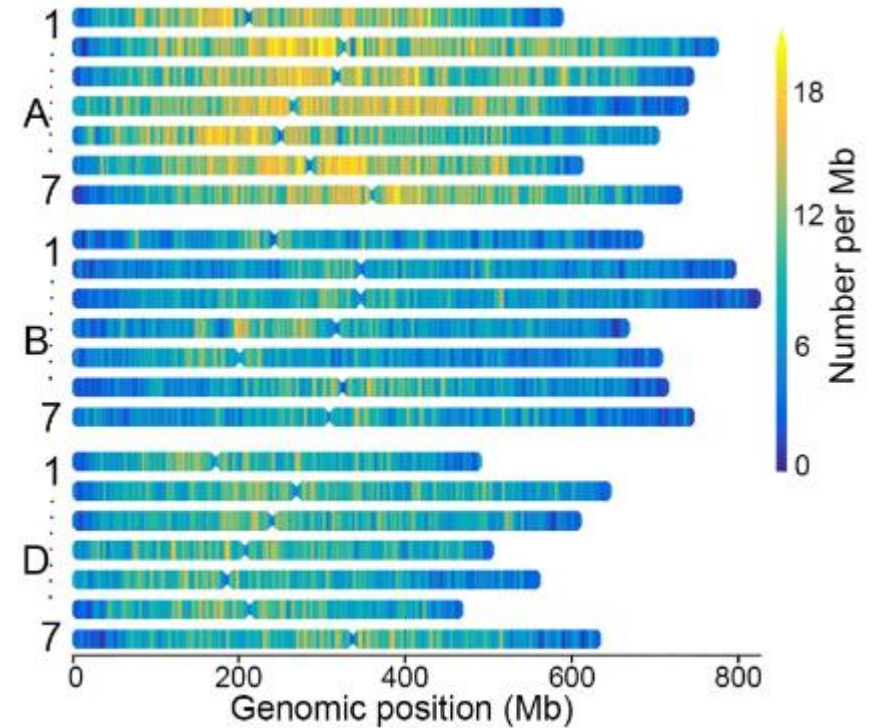
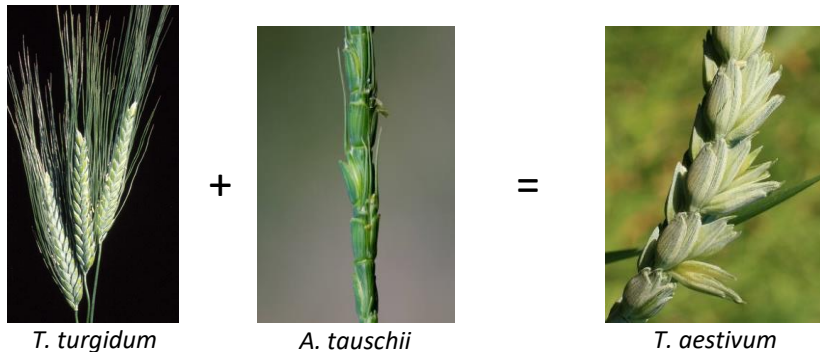
Organizace DNA v jádře karyotyp

Komplexní genotypy rostlin

Karyotyp pšenice seté (*Triticum aestivum*): $2n=6x=42$

Hexaploid, 3 subgenomy A, B a D původem v
ancestrálních genomech tří diploidních druhů.

T. aestivum vznikla hybridizací mezi tetraploidním
předkem pšenice (*T. turgidum*, BBAA) a diploidním
druhem *Aegilops tauschii* (DD) před cca 8500 lety.



Jaderné subkompartmenty

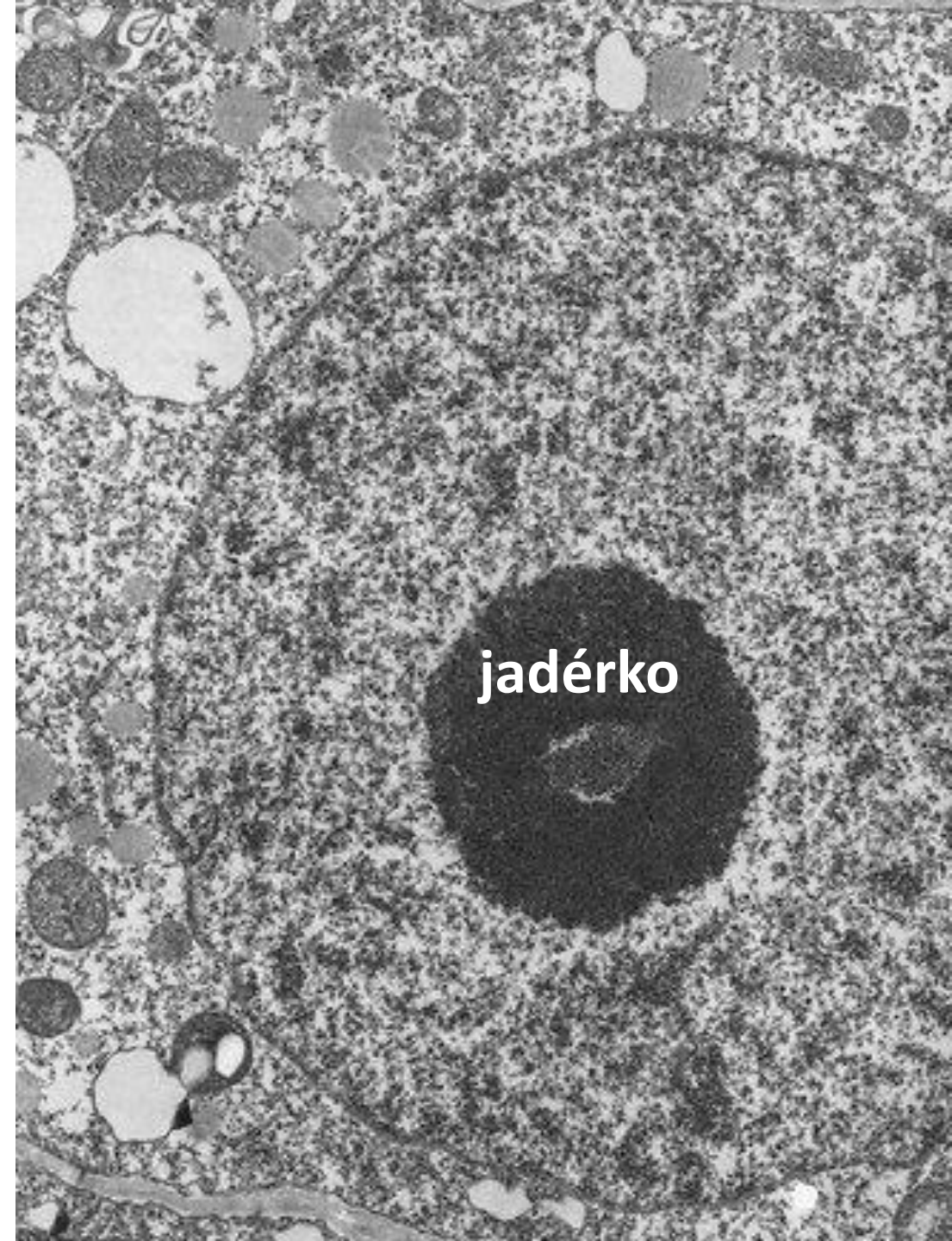
Prostor jádra není homogenní ani statický a obsahuje další **proteiny** nutné pro jeho funkci: balení DNA, replikace DNA, oprava DNA a transkripce včetně produktů těchto procesů.

Jaderné subkompartmenty mohou sloužit ke kompartmentaci faktorů nutných pro jednotlivé procesy a tedy k větší výkonnosti těchto procesů.

Jaderné subkompartmenty jsou dynamické, nejsou obalené membránou.

Jadérko:

- nejdéle známy jaderný subkompartment
- u rostlin často sférické, poloha odpovídá poloze chromozómů s **organizátory jadérka NORs** (nucleolus organizing regions)
- místo vzniku **ribozómů**
- jadérka mohou fúzovat či se rozdělovat na více jadérek
- viskozita podobná medu – droplet organelles



Jadérko

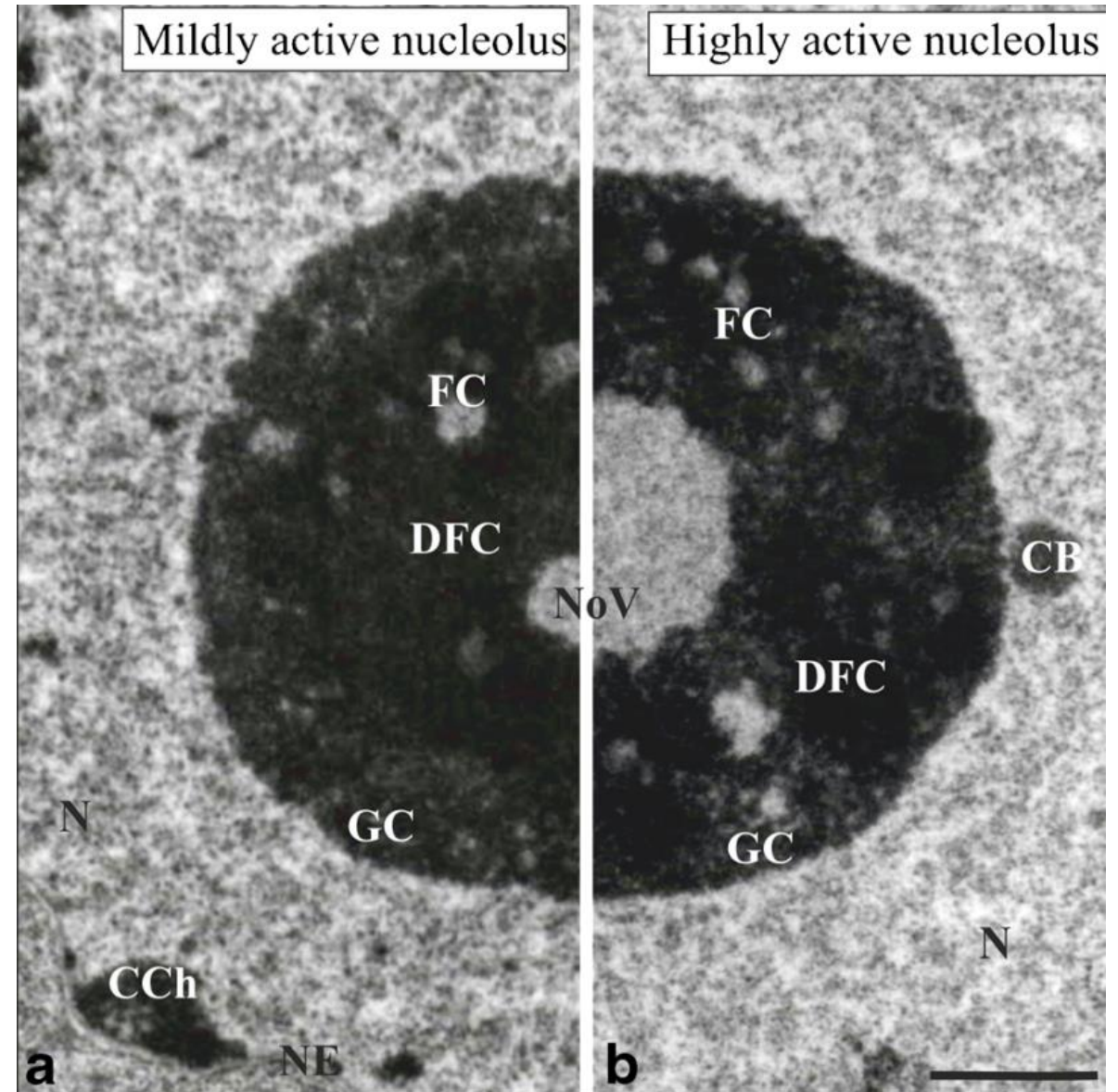
Struktura jadérka:

Fibrilární centra (FC): uskladnění faktorů pro transkripci r-genů

Denzní fibrilární centra (DFC): transkripce r-genů

Granulární centra (GC): formování ribozómů

Jadérková vakuolka (NoV): specifická pro rostliny, funkce neznámá



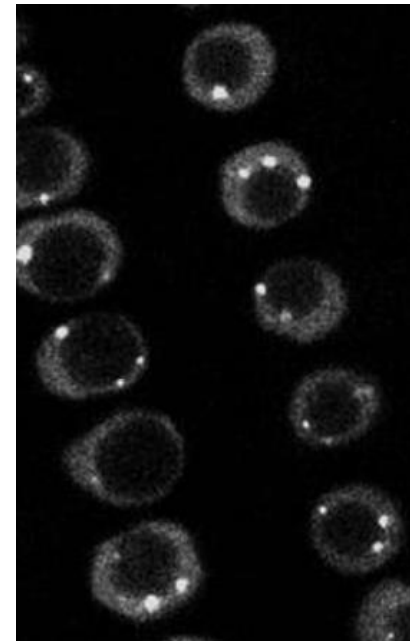
Další jaderné subkompartmenty

Cajalova tělíska: metabolismus RNA a formování ribonukleoproteinových komplexů

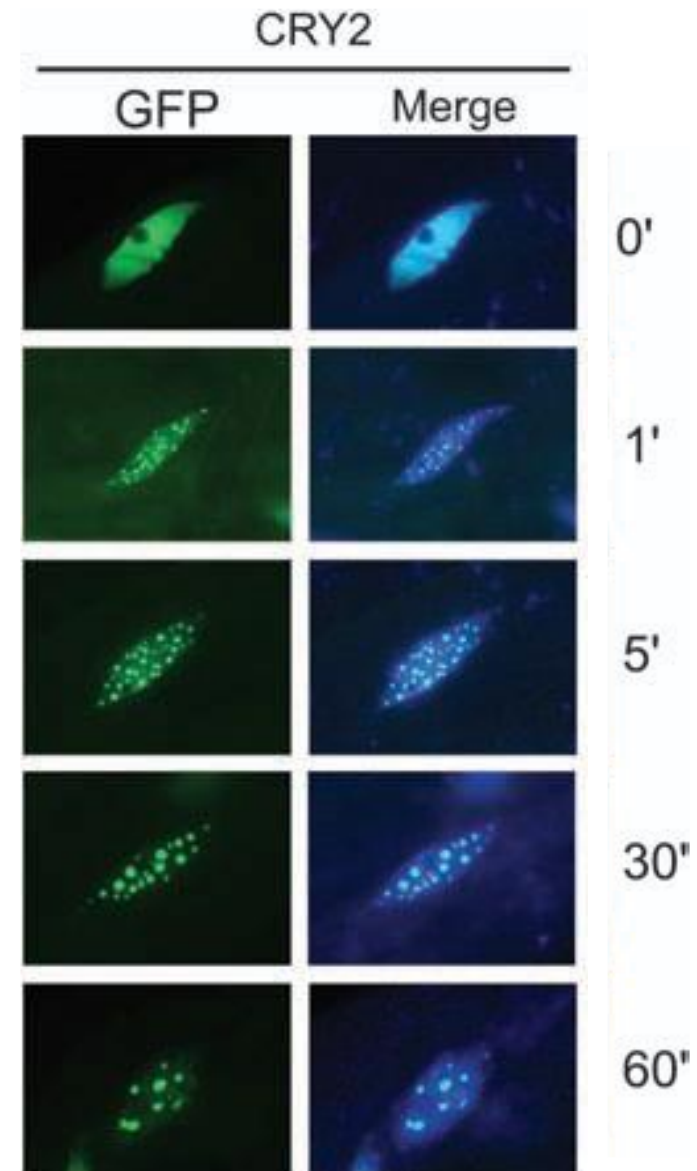
Nuclear speckles: uskladnění faktorů nutných pro sestřih

Photobodies: akumulace kryptochromů (CRY2) během signalizace modrým světlem, rostlinně specifické struktury

Dále u rostlin např. cyclophilin-containing speckles, dicing bodies, AKIP1-containing bodies.



Cajalova tělíska *Arabidopsis*

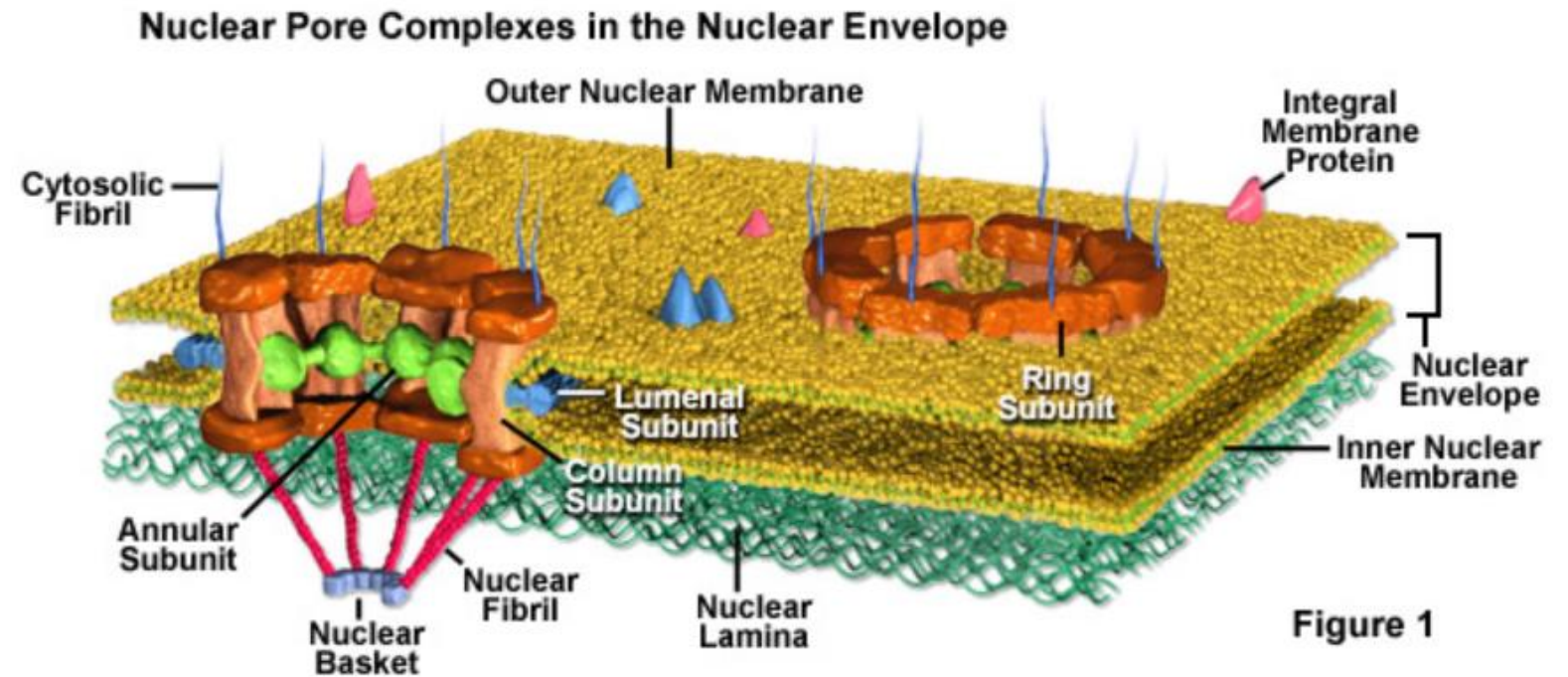


5-denní etiolované hypokotyly vystavené světlu (čas – minuty) a formace photobodies v jádrech buněk. Modrá – DAPI, zelená – CRY2-GFP

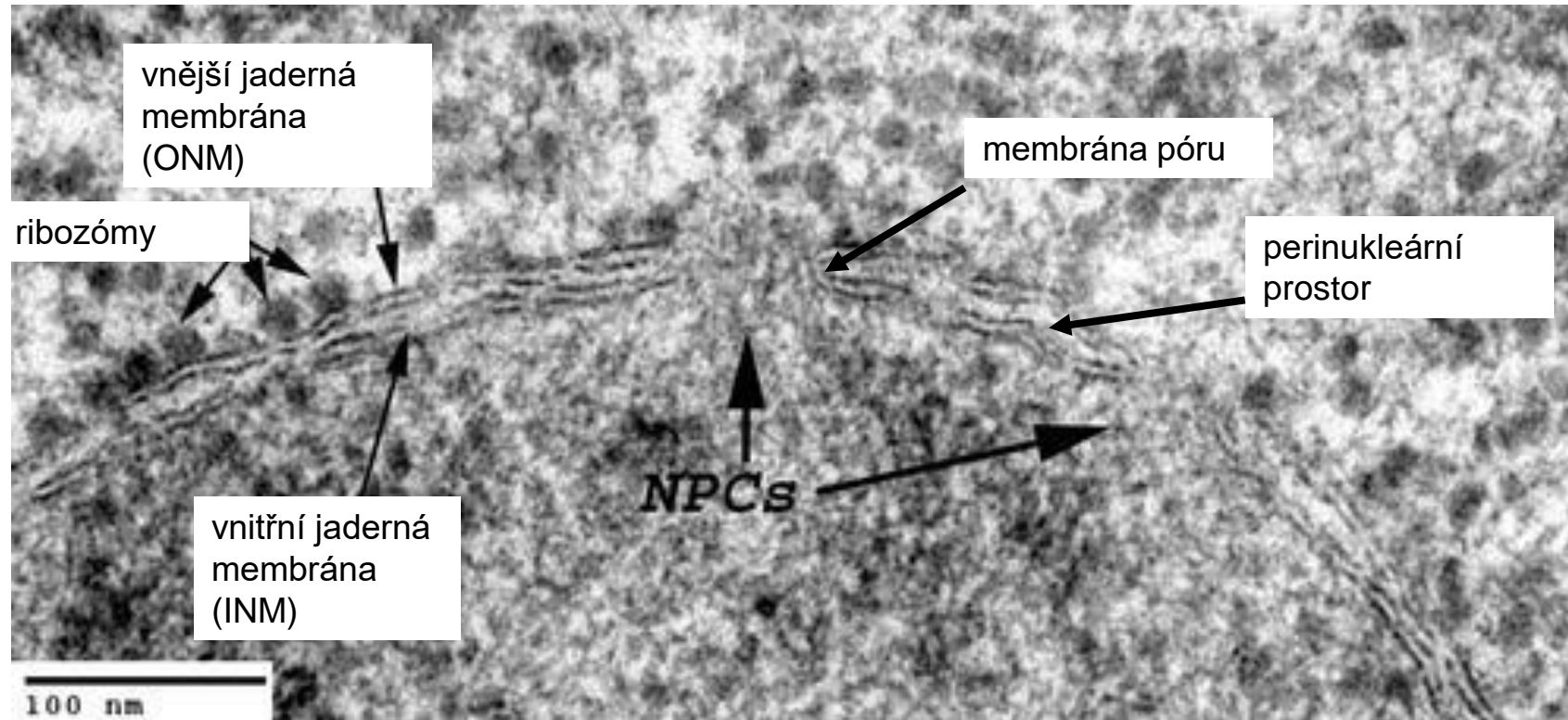
doi: 10.1093/mp/sss007

Jaderná periferie

1. Jaderný obal (NE)
2. Jaderná lamina
3. Jaderné póry



Jaderný obal (nuclear envelope, NE)



ONM: vnější jaderná membrána

Membrána póru: kotvení komplexu jaderného póru (NPC); jediné místo spojení ONM a INM

INM: vnitřní jaderná membrána

Perinukleární prostor: kontinuální s lumen ER

NPC: komplex jaderného póru

Jaderný obal: ONM + INM

Jaderný obal

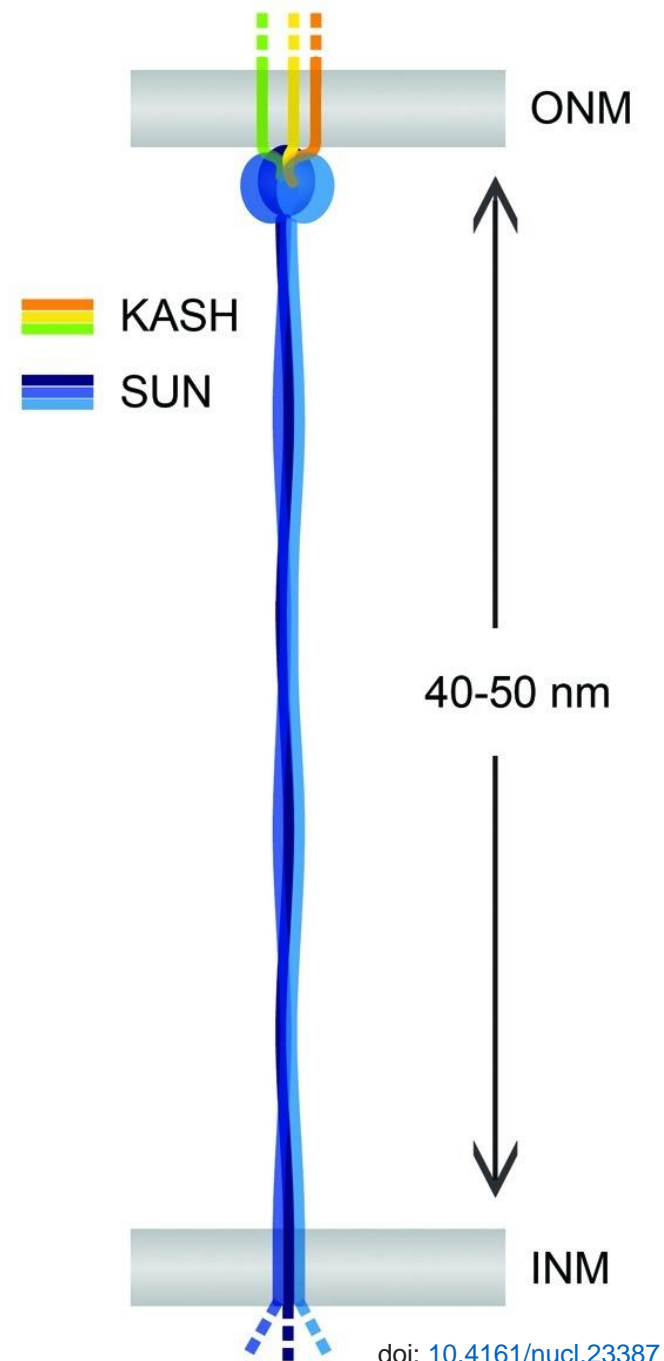
Jaderný obal je tvořen dvěma membránami: **vnější a vnitřní**.

Dvojitou membránou jaderného obalu prostupují proteinové komplexy, které zajišťují interakci jádra a jeho strukturu s cytoskeletem v cytoplazmě: **LINC komplexy** (Linker of nucleoskeleton and cytoskeleton).

LINC komplexy živočišných buněk se skládají z:

KASH proteinů kotvených ve vnější membráně obalu, které interagují s cytoskeletem. (KASH = Klarsicht, ANC-1, Syne Homology).

SUN proteinů tvořících komplexy. SUN proteiny jsou integrální membránové proteiny vnitřní jaderné membrány. V perinukleárním prostoru interagují s KASH proteiny. V jádře interagují s laminy. Definují vzdálenost mezi membránami NE. (SUN = Sad1p, UNC-84)



Jaderný obal

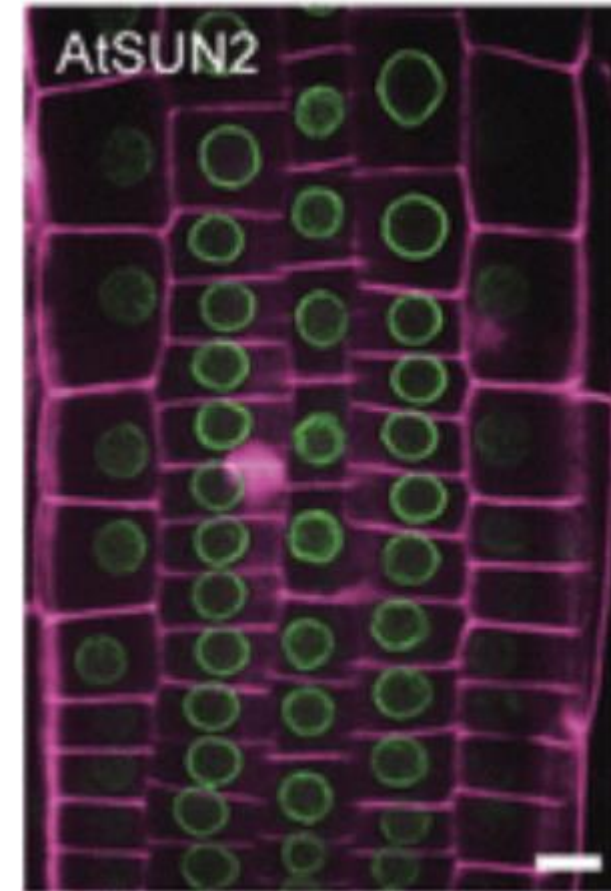
Rostlinné **LINC** komplexy:

Rostlinné KASH proteiny: několik kandidátů s konzervovanými a rostlinně-specifickými funkcemi:

WIP (WPP-domain interacting proteins) proteiny: interakce s aktinovým cytoskeletem (WIT1/2-myozin) a s RanGAP (nukleocytoplazmatický transport)

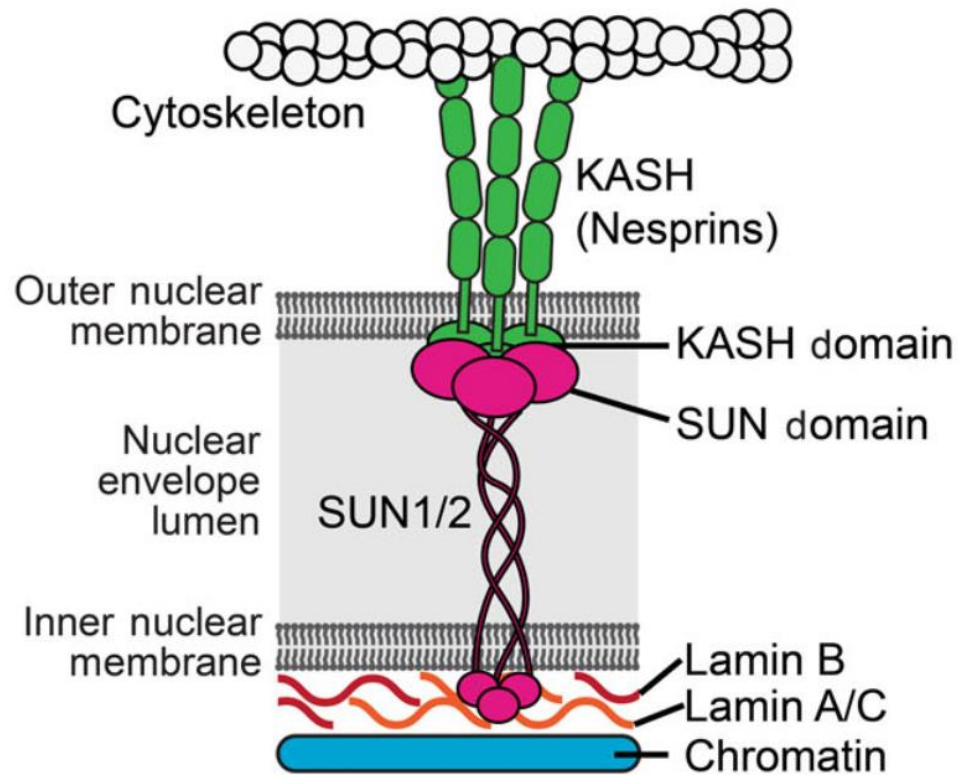
TIKs a **SINE** proteiny: další rostlinné KASH-like proteiny.

Rostlinné SUN proteiny: u rostlin konzervované, SUN1 a SUN2.

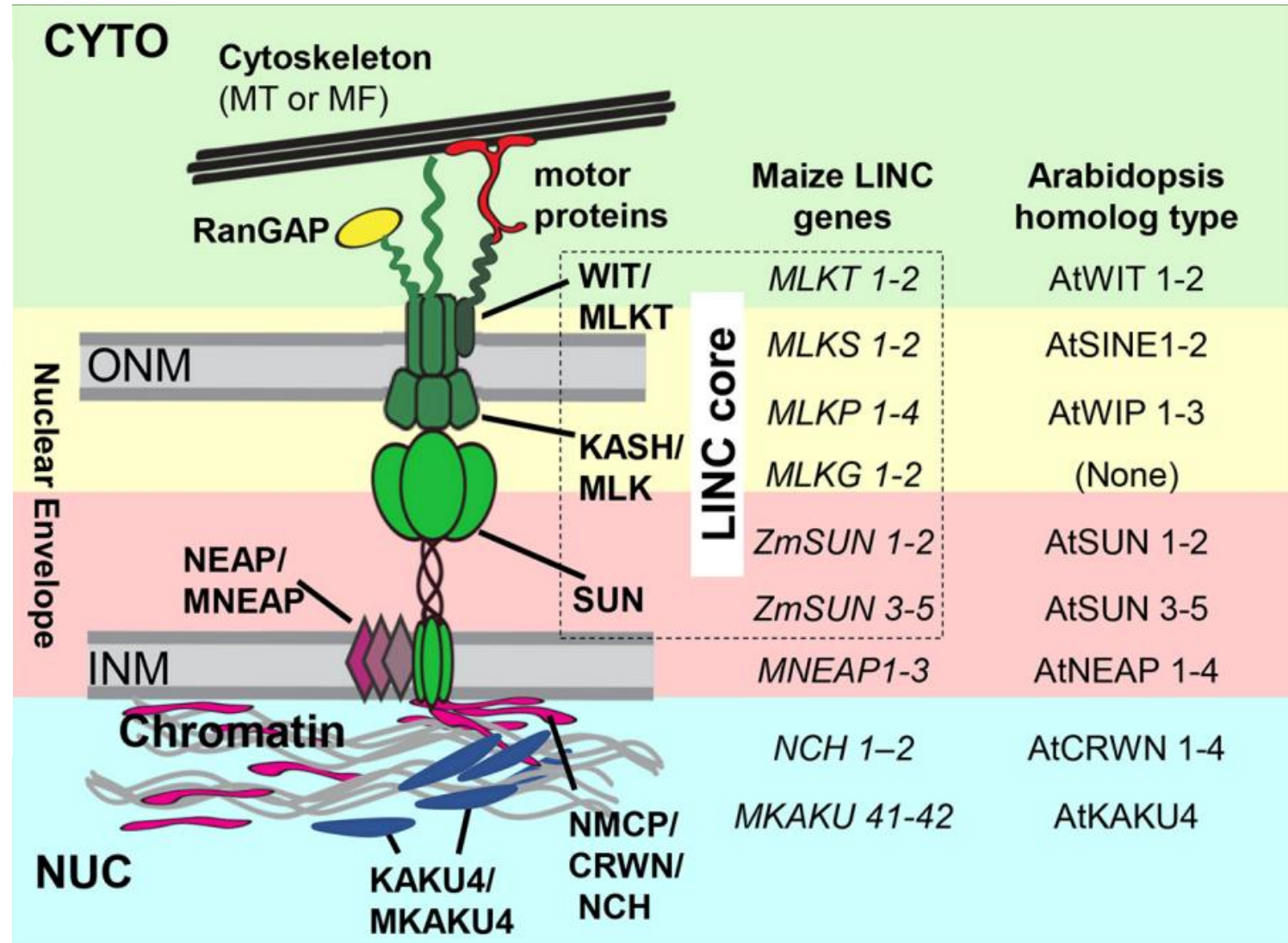


Jaderný obal

Živočichové



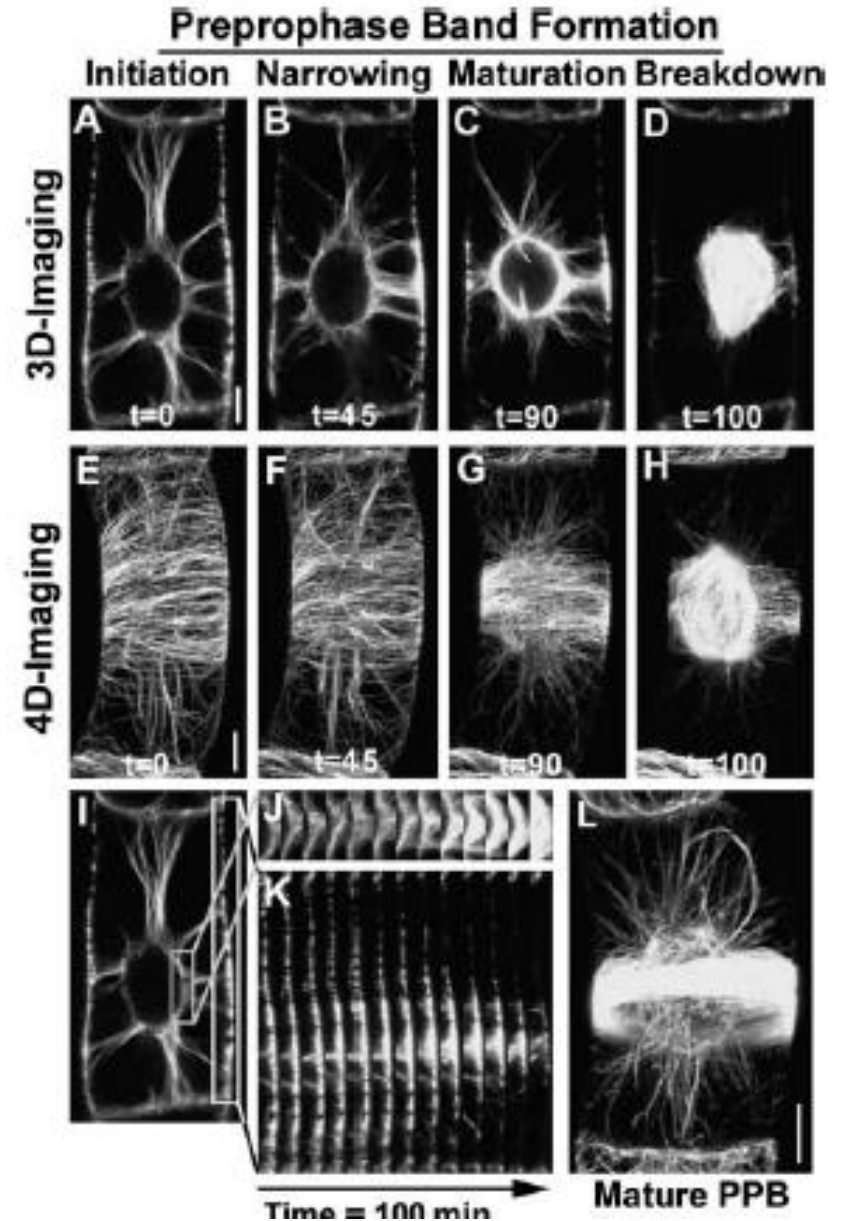
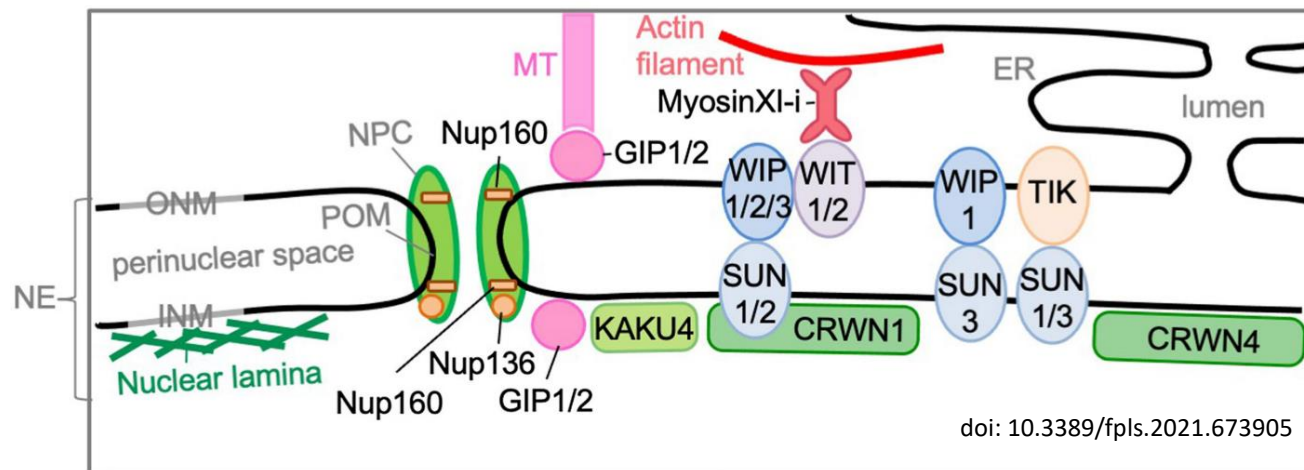
Rostliny



Jaderný obal

Jaderný obal hraje důležitou roli v nukleaci mikrotubulů v rostlinné buňce zvláště během mitózy:

PPB a **předmitotické vřeténko** mikrotubulů nukleovaných z MTOC kotvených v jaderném obalu

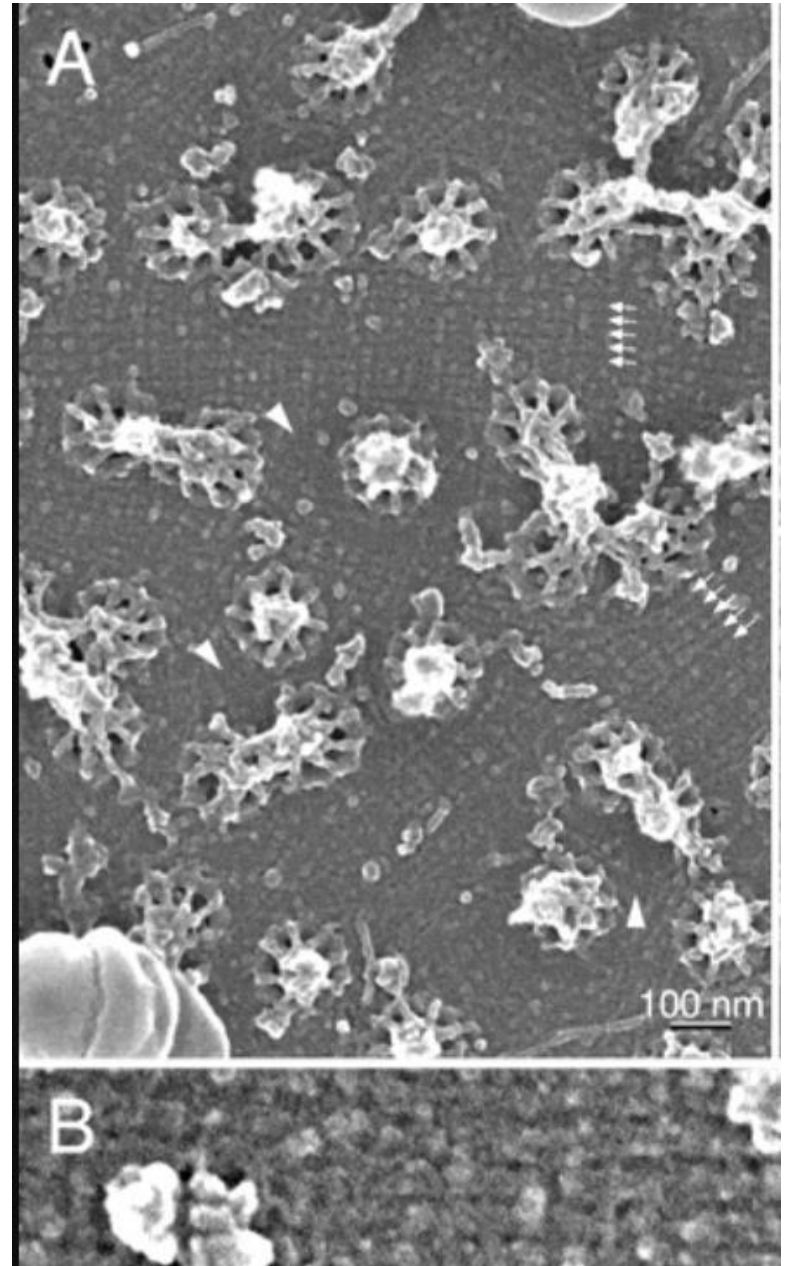


Jaderná lamina

Funkce laminy u živočišných buněk:

- Regulace velikosti, tvaru a mechanických vlastností jádra
- Stabilizace jaderného obalu
- Kotvení jaderných pórů
- Zprostředkovává interakce mezi jádrem a cytoskeletem
- Kotví heterochromatin u jaderného obalu
- Organizuje chromatin
- podílí se na epigenetických modifikacích, DNA replikaci, opravách a transkripci

(Též jaderný skelet, nucleoskeleton)

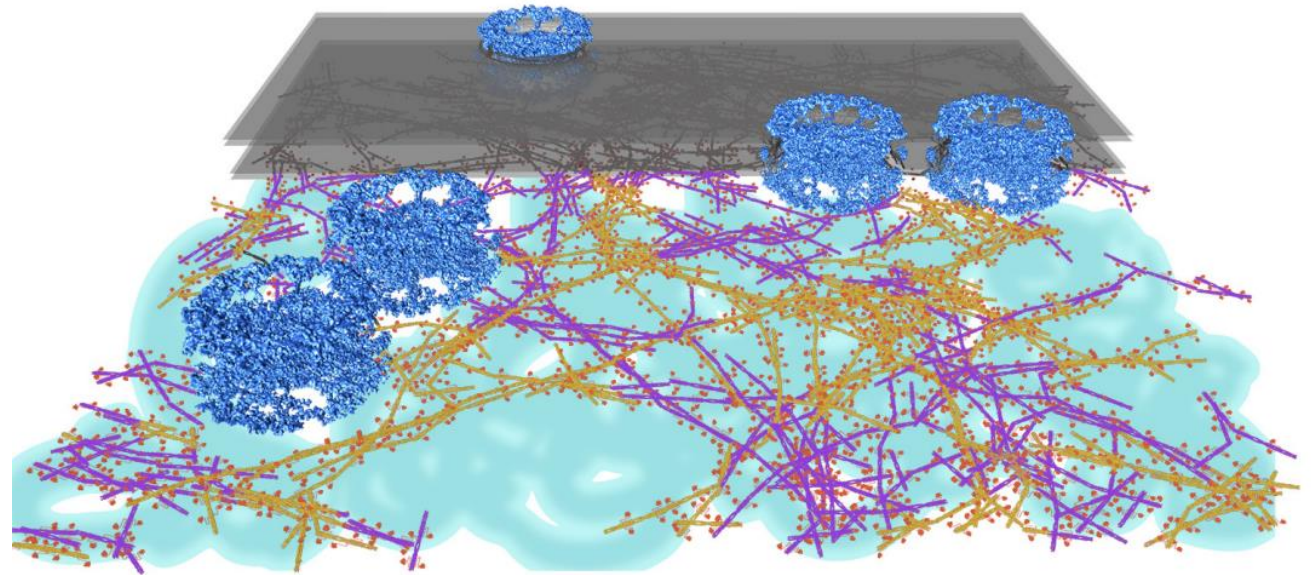


Jaderná lamina

Složení laminy u živočichů (Metazoa):

Intermediární filamenta **LAMINY**

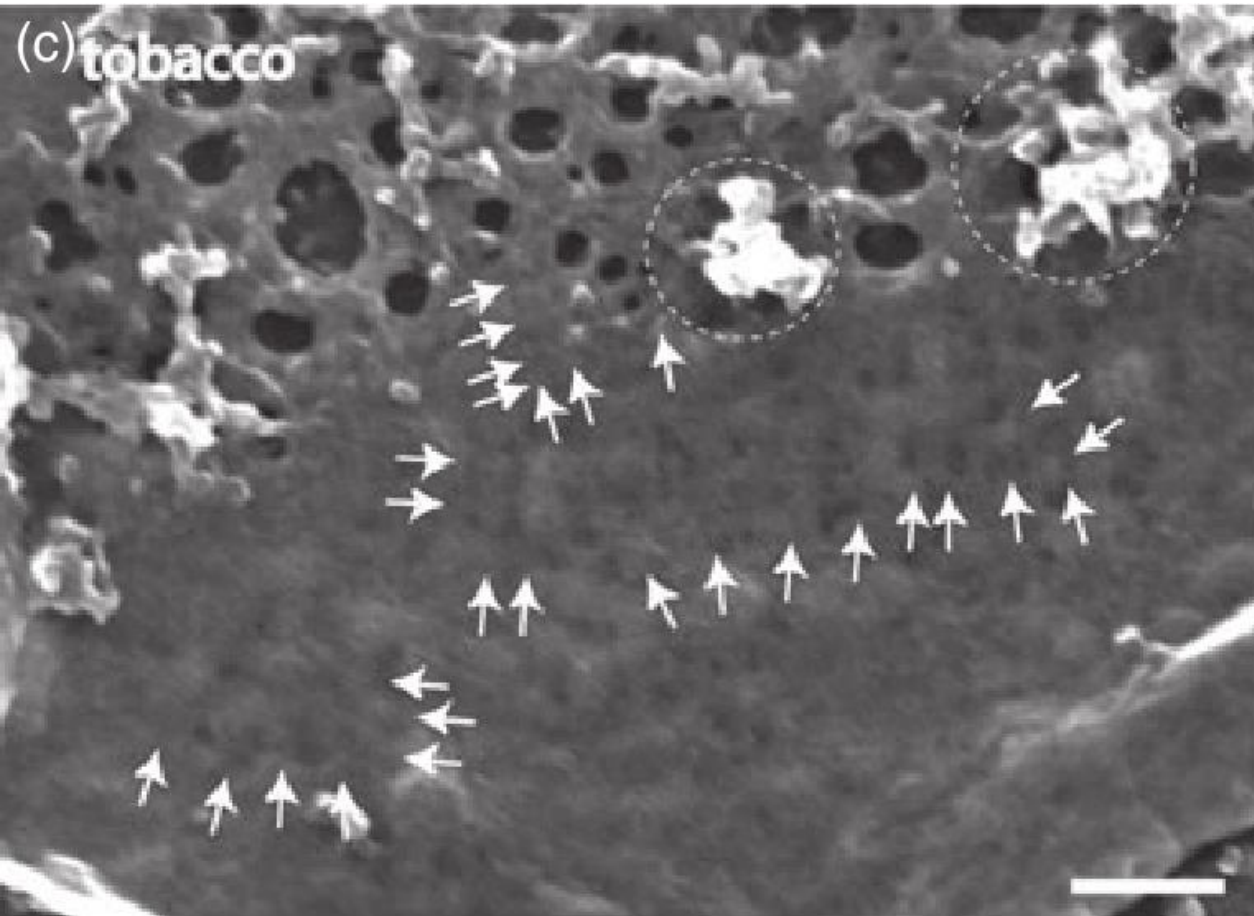
Tvoří tenkou vláknitou strukturu mezi vnitřní membránou jaderného obalu a chromatinem



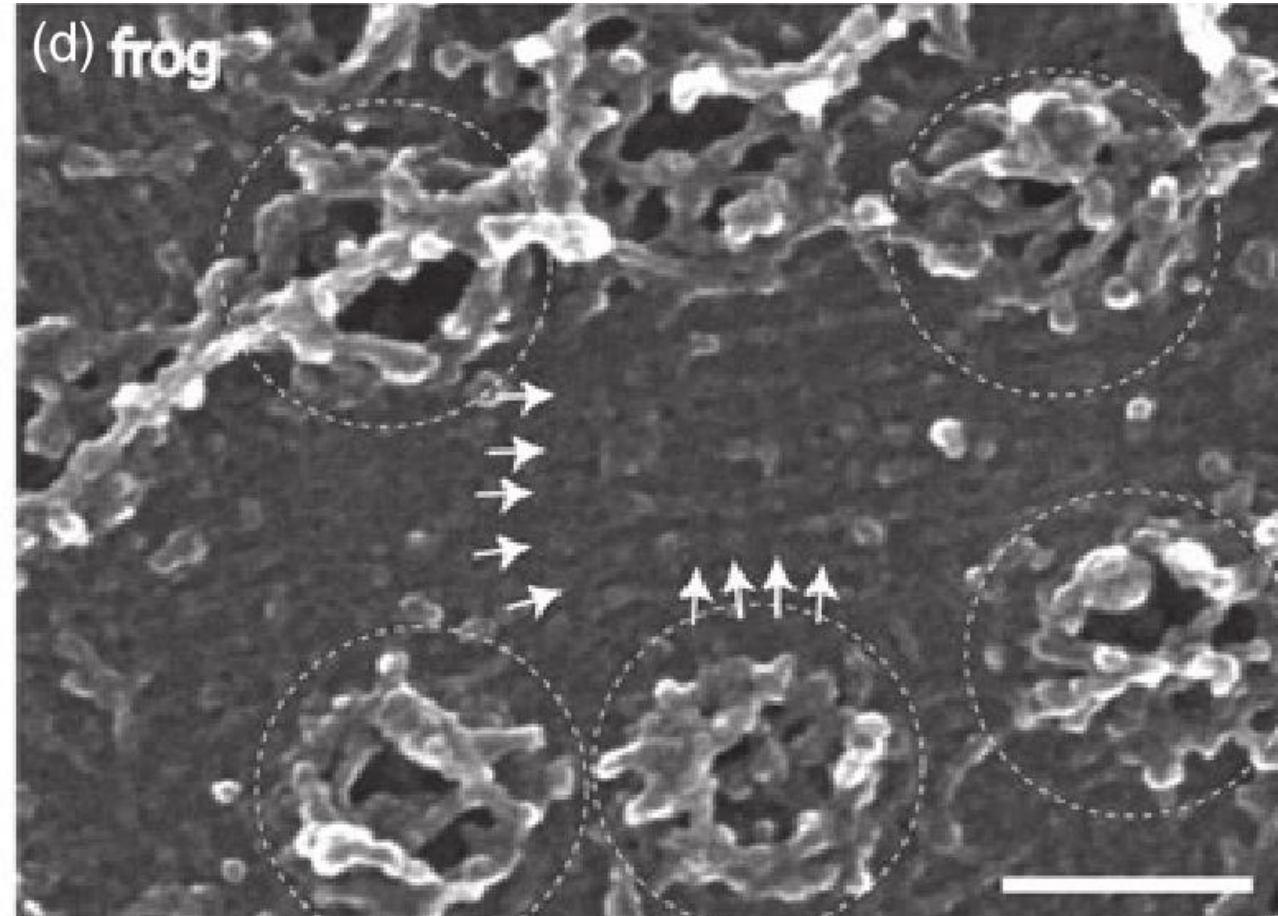
Trends in Cell Biology

Figure 1. Lamins form a filamentous meshwork below the inner nuclear membrane (grey) and are in close contact with chromatin (cyan). A-type (yellow) and B-type (purple) lamins form separate meshworks and are connected to nuclear pore complexes (blue). Ig-folds are shown in orange.

Jaderná lamina



tabáková buňka BY-2

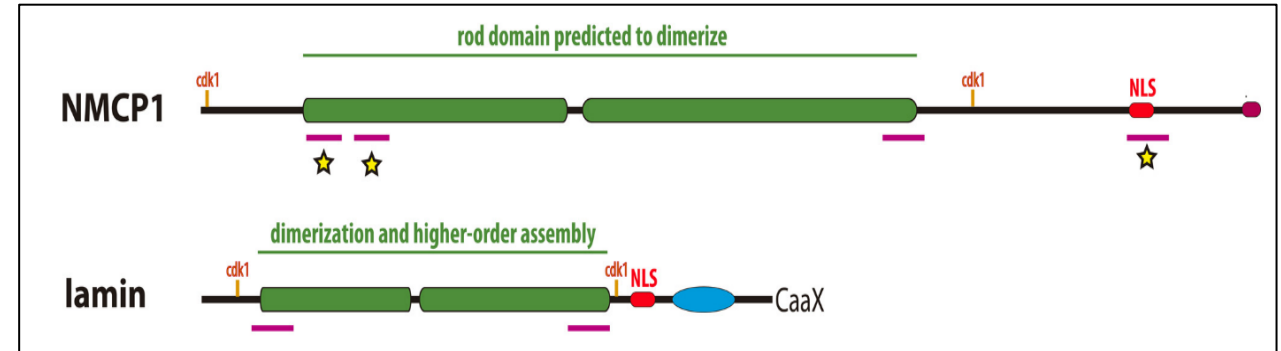


Oocyt žáby drápatky

Rostlinná jaderná lamina

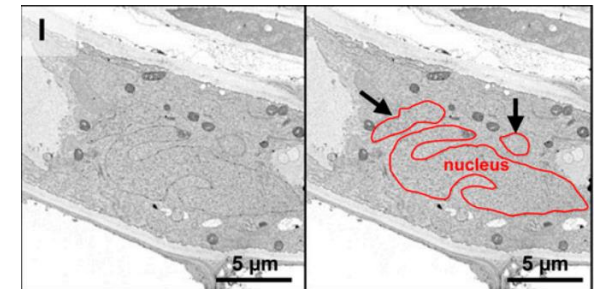
Proteiny CRoWded Nuclei (**CRWN**)1-4 neboli **NMCPs** (Nuclear Matrix Constituent Proteins):

- lokalizace na vnitřní straně NE
- mutanty tvoří malá a kulatá jádra
- interagují se SUN proteiny



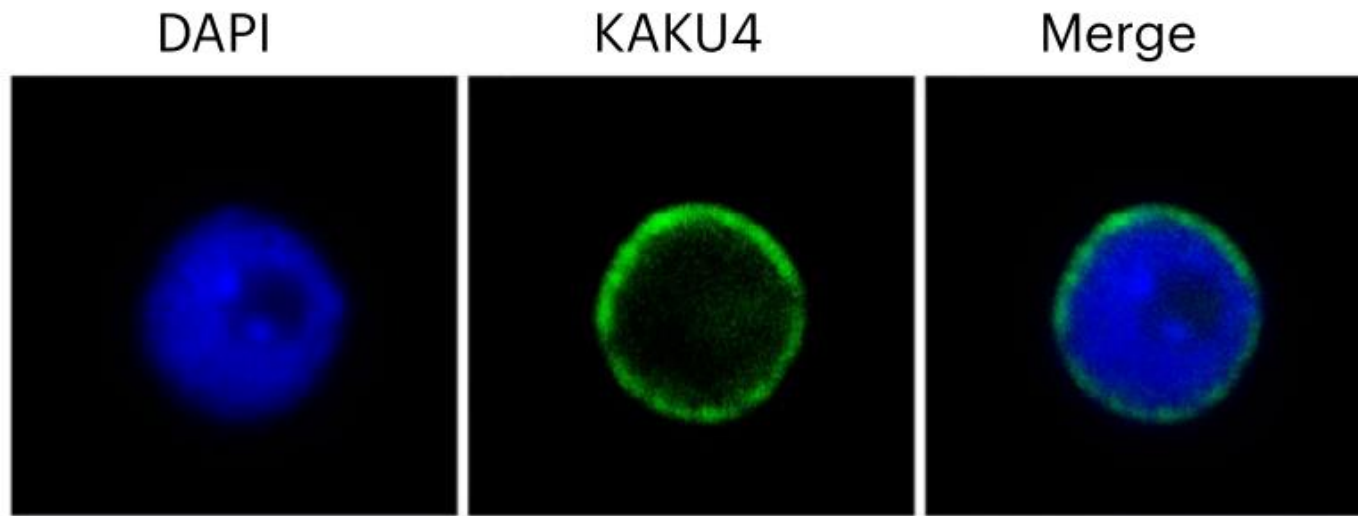
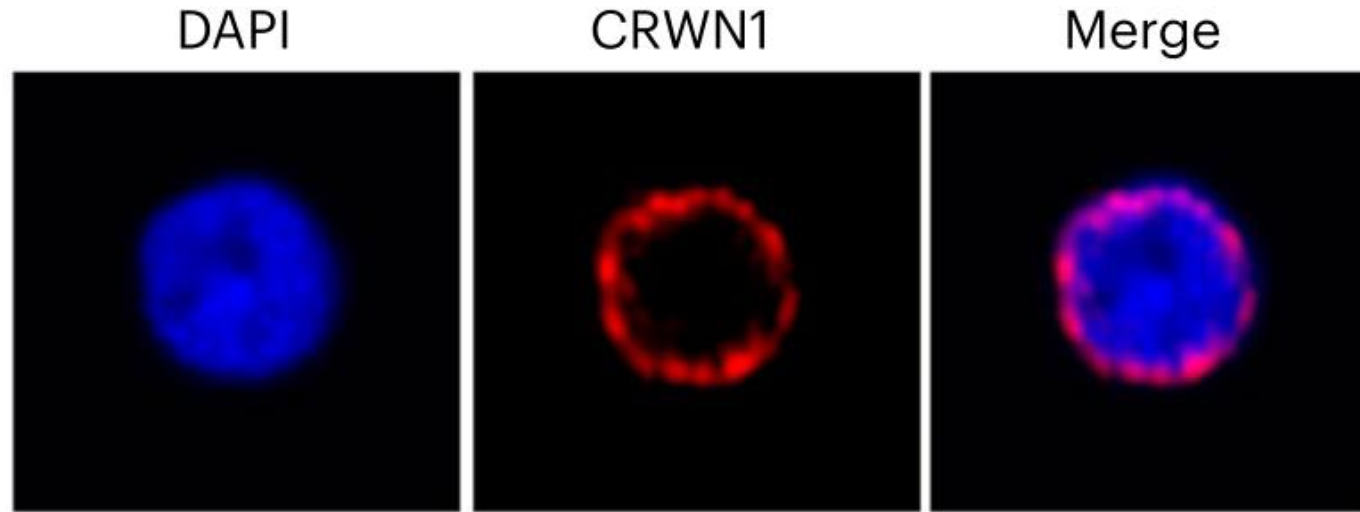
Protein **KAKU4**:

- identifikován opět díky mutantnímu fenotypu malých kulatých jader
- interaguje s CRWN proteiny
- overexpresse: nadměrná tvorba NE



Overexpresse KAKU4 v Arabidopsis a nadměrná tvorba NE.

Rostlinná jaderná lamina

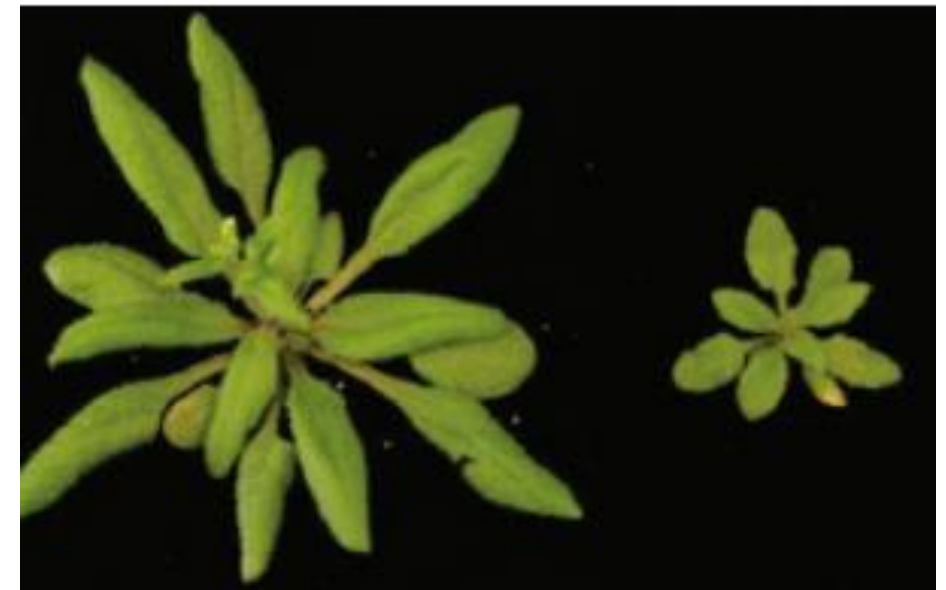
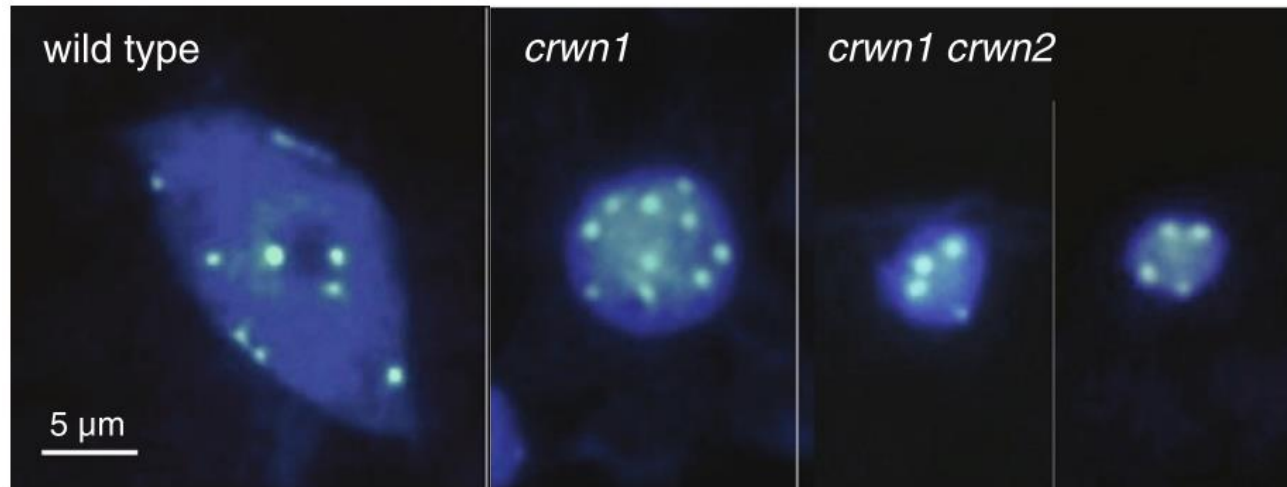


Rostlinná jaderná lamina

Fenotyp rostlin postrádajících proteiny CRWN

wild type

crwn1
crwn2

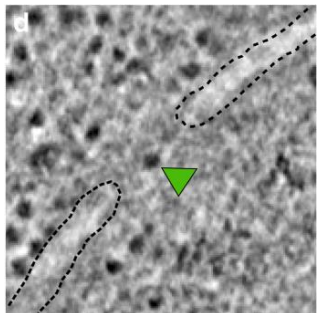


Jaderné póry

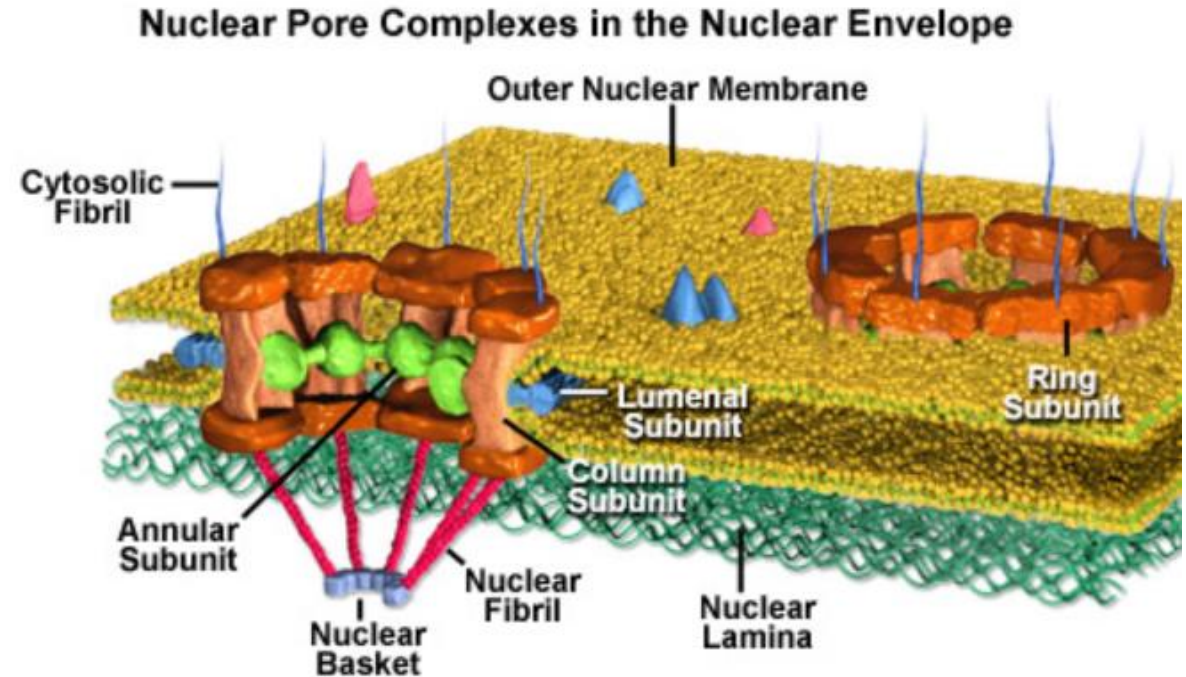
Kompartmentace jaderných a cytoplazmatických procesů

Nutnost transportu řešena jadernými póry

Transport proteinů do a z jádra, transport ribozómů a RNA z jádra

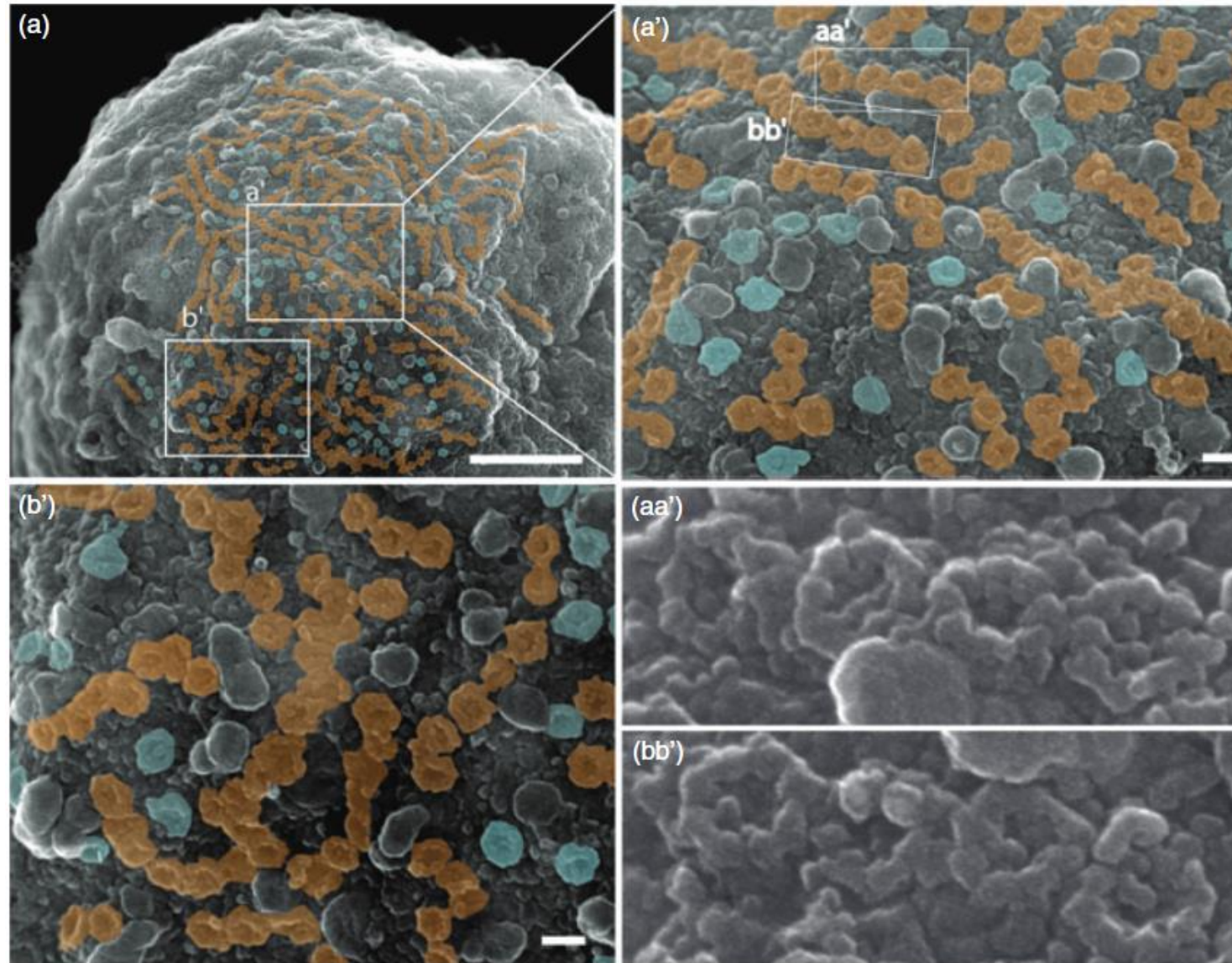


<https://doi.org/10.1038/s41467-019-08342-7>



Jaderné póry

Tabákové buňky,
povrch
izolovaného jádra
s vyznačenými
jadernými póry.
FESEM.



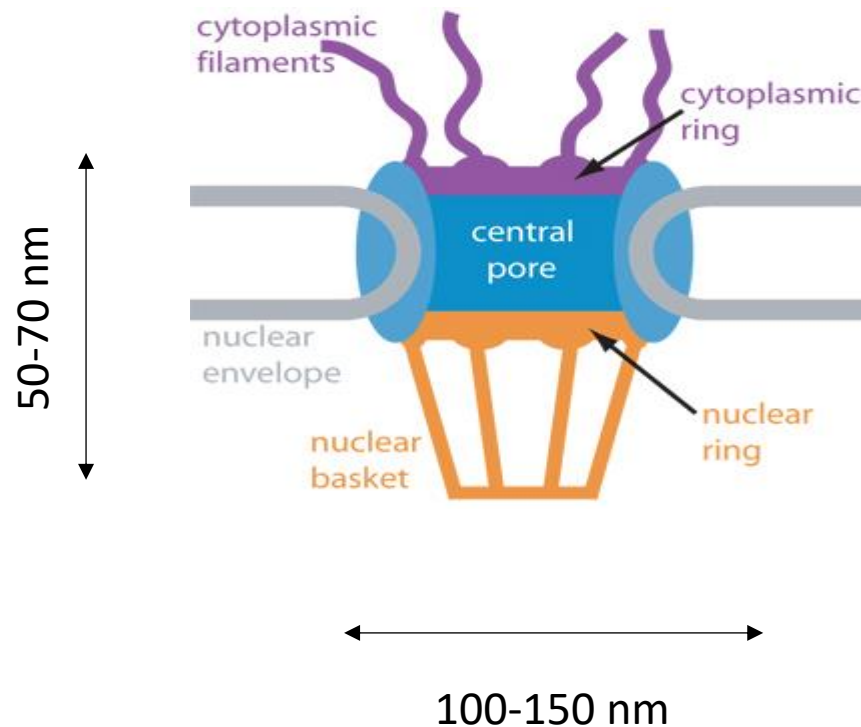
Jaderné póry

125 MDa komplex
jaderného póru nuclear
pore complex (NPC)

Cca 500 proteinů
nukleoporinů

Cca **30 nukleoporinů** →
opakují se v mnoha
kopiích

Osmičetná symetrie,
kruhová struktura



Struktura NPC:

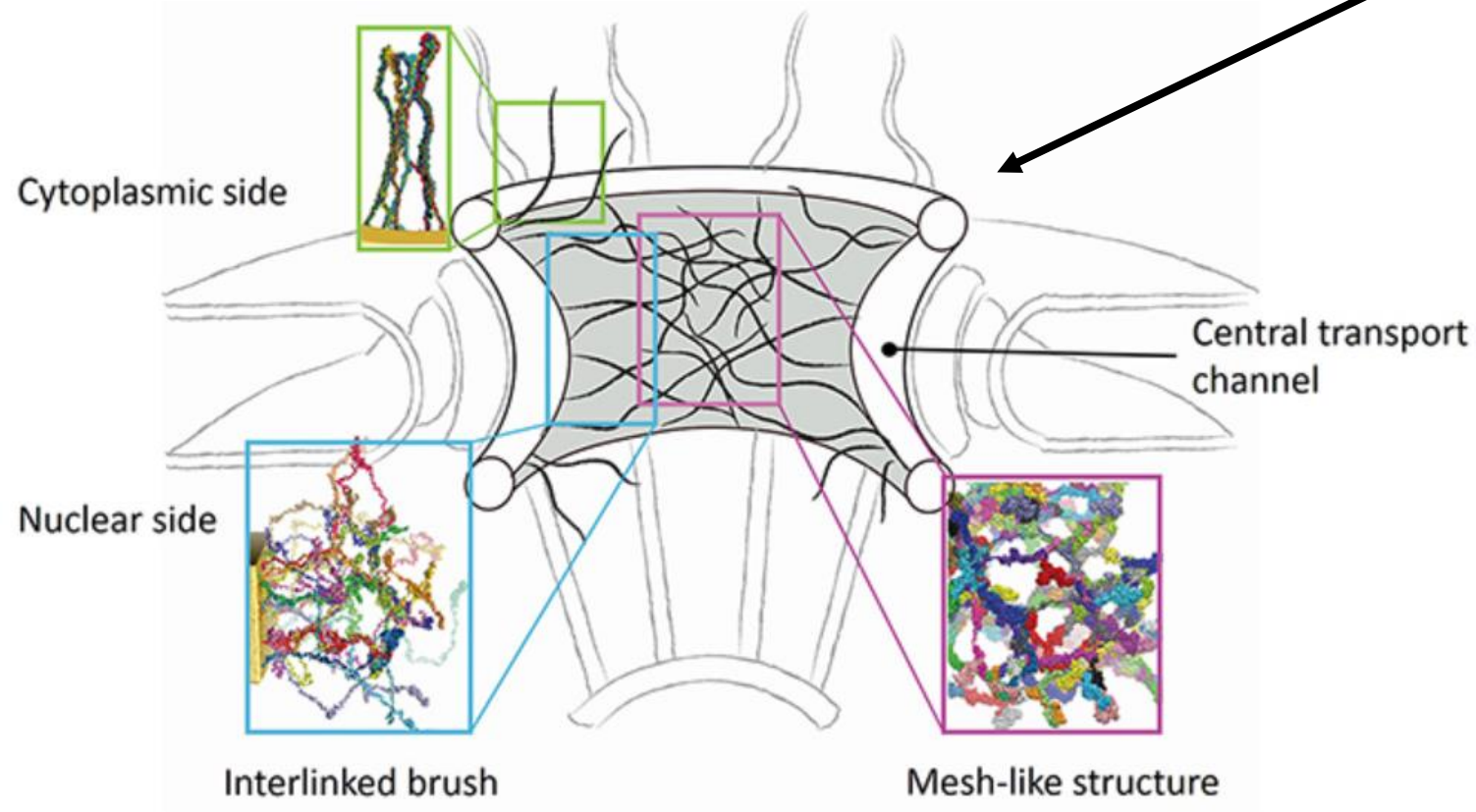
Cytoplazmatická část s
výběžky

Centrální část – interakce
s membránou

Jaderný košíček

Jaderné póry

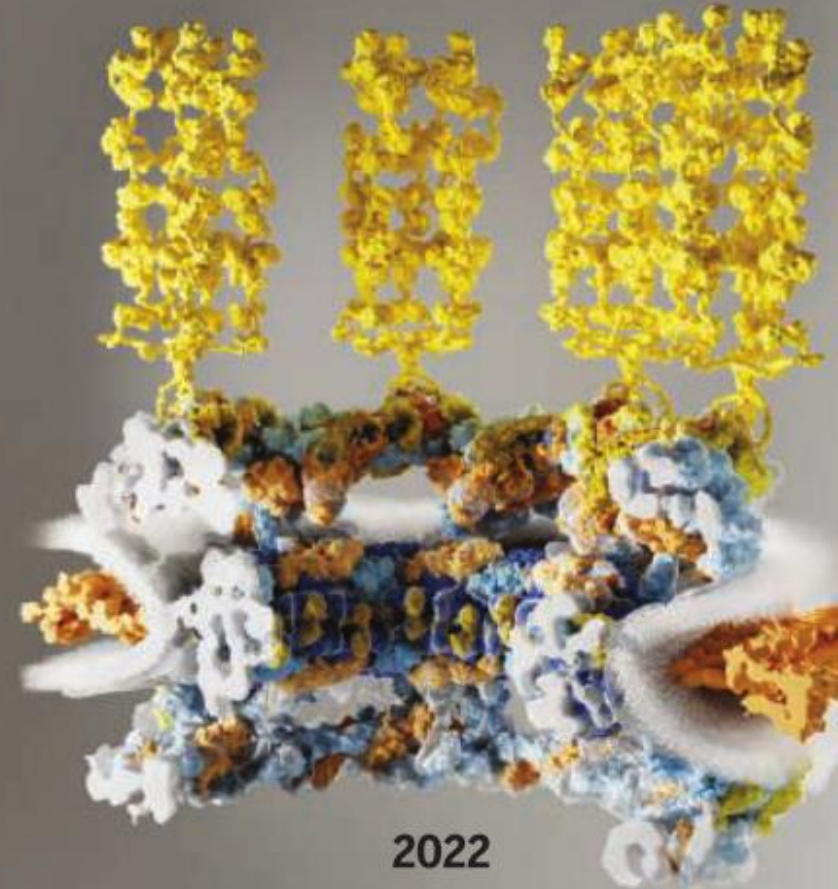
Síťovitá struktura v centrálním transportním kanálu: Domény **FG repeats** nukleoporinů tvoří **selektivní bariéru pro difúzi makromolekul**



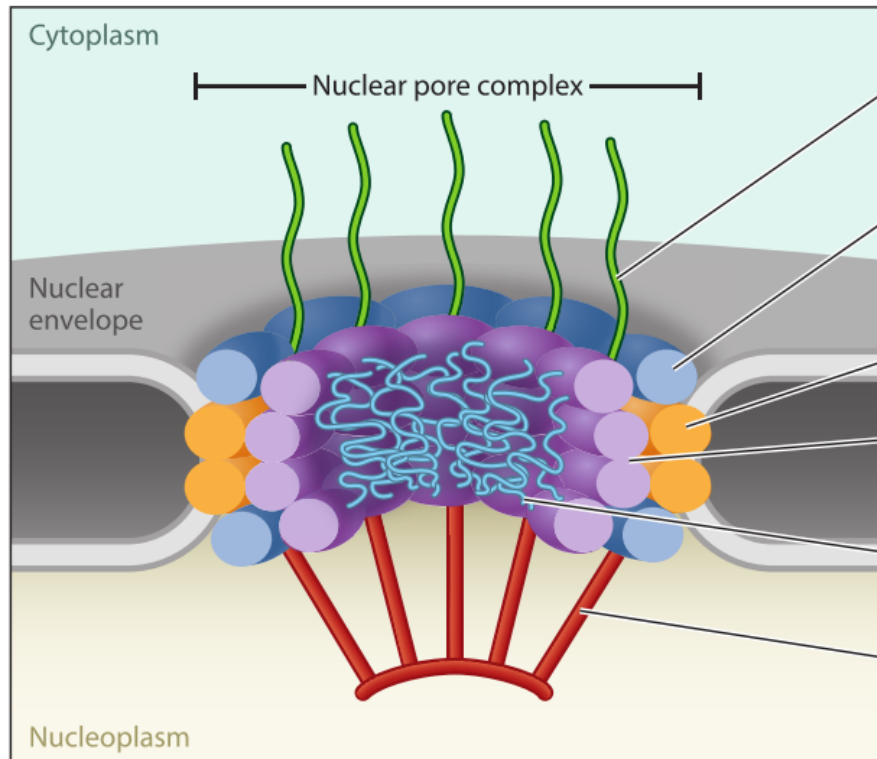


Jaderné póry

struktura studována do
molekulárních detailů



Jaderné póry



PLANTS

METAZOA

Cytoplasmic region

Nup214, LOS4, Gle1, Aladin, CG1, Nup62, Rae1

Nup214, Nup12, Nup358, Nup88, Aladin, Gle1, Nup62, Rae1

Y complex

Nup160, Nup133, Nup107, Nup96, Nup75, Nup43, Sec13, Seh1, HOS1

Nup85, Nup160, Nup107, Nup96, Nup133, Sec13, Seh1, Nup37, Nup43, ELYS

Transmembrane Nups

gp210, NDC1, CPR5

Ndc1, Gp210, Pom212, TMEM33

Nic96 complex

Nup205, Nup188, Nup155, Nup35, Nup93, Nup88

Nup93, Nup188, Nup205, Nup155, Nup35

Phe-Gly Nups

Nup98, Nup62, Nup58, Nup54

Nup98, Nup62, Nup58, Nup54

Nuclear basket

NUA, Nup136, Nup50, ESD4, MAD1, MAD2

Tpr, Nup153, Nup50

Jaderné póry

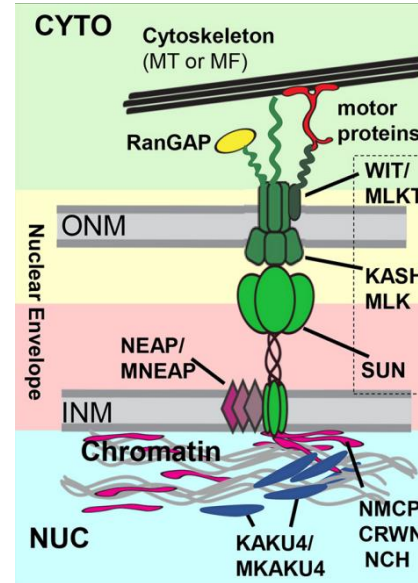
Transport jadernými póry je poháněn **gradientem RanGTPázy:**

RanGEF uvnitř jádra → RanGTP uvnitř jádra
RanGAP vně jádra → RanGDP v cytoplasmě

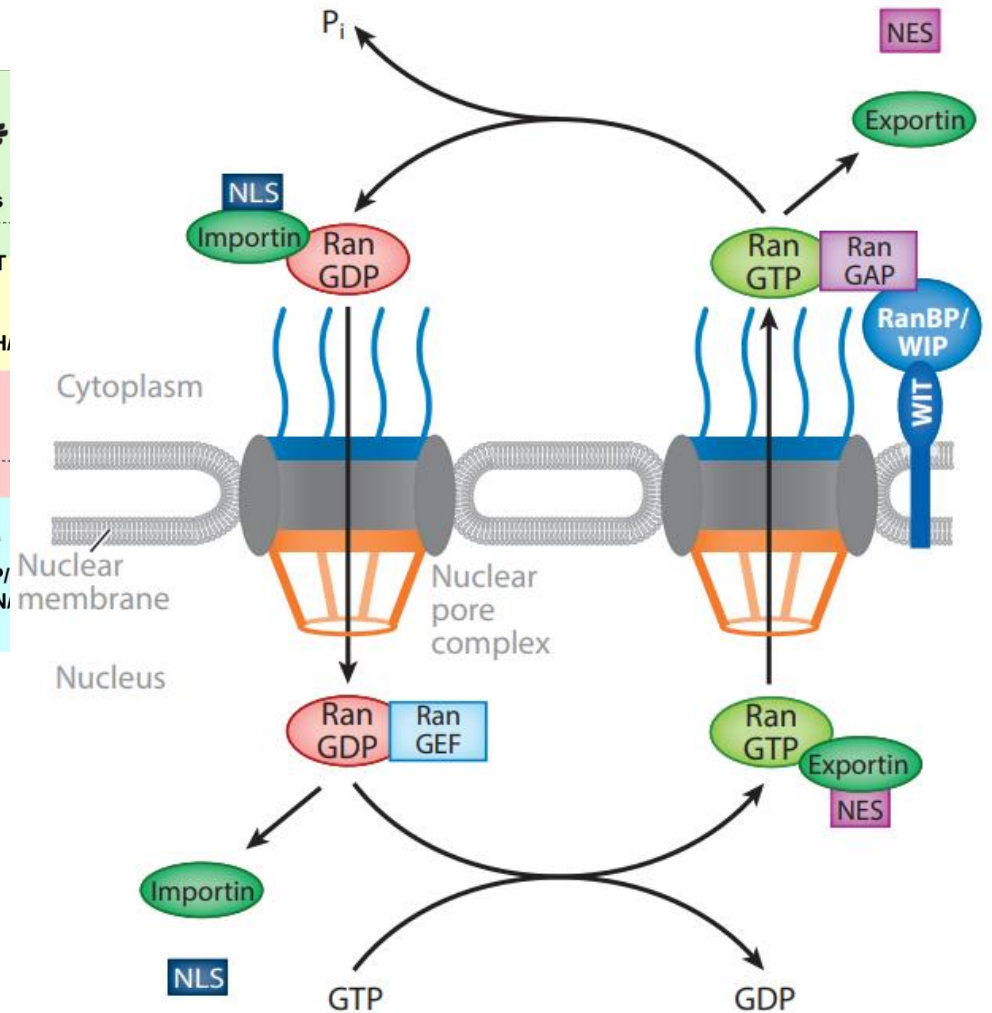
Transport zajišťují proteiny karyoferiny: **importiny a exportiny**

Cyklus RanGTPázy

(proteiny menší než cca 60 kDa procházejí jadernými póry samovolně difúzí)



b Ran GTPase cycle



Shrnutí:

Tvary, počty a velikosti jader

Organizace DNA v jádře

Jaderné subkompartmenty (jadérko atp.)

Jaderný obal

Jaderná lamina

Jaderné póry

Mechanismus transportu proteinů skrze jaderné póry – cyklus RanGTPázy.