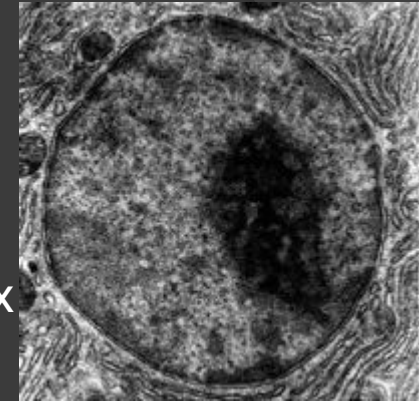


THE NUCLEOLUS UNDER STRESS

Se´verine Boulon,¹ Belinda J. Westman,¹ Saskia Hutten,¹
Francois-Michel Boisvert,¹ and Angus I. Lamond^{1,*}

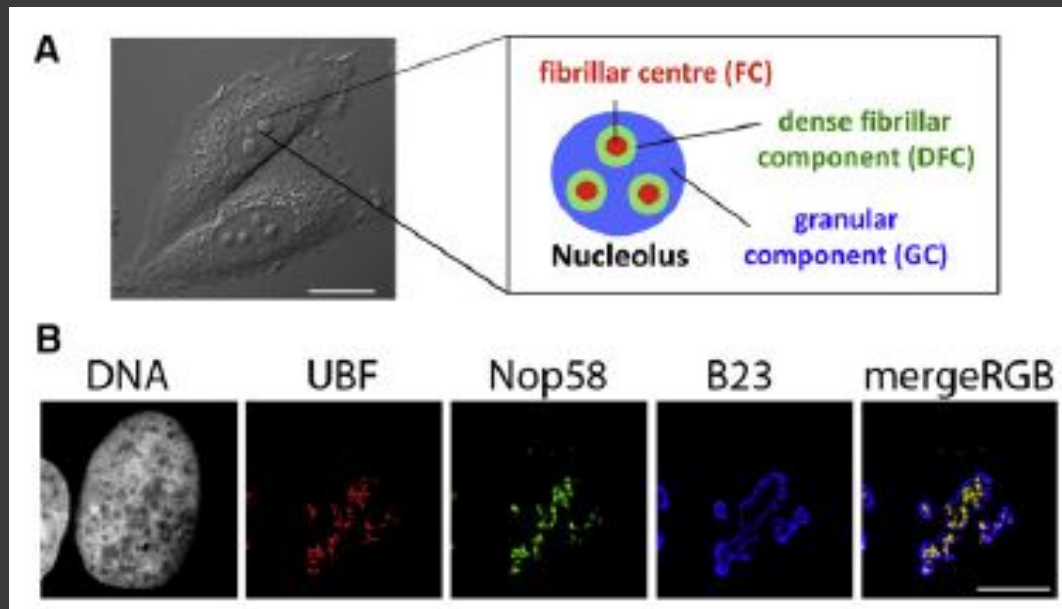
¹Wellcome Trust Centre for Gene Regulation and Expression, University of Dundee,
Dundee DD1 5EH, UK

Ядрышко



- ❖ Основная функция ядрышек – быстрая продукция малых и больших субъединиц рибосом.
- ❖ Структура ядрышек весьма консервативна (от дрожжей к человеку)
- ❖ Ядрышки разбираются при делении клеток и собираются снова в конце митоза в районах кластеров рДНК (Ядрышковые организаторы)
- ❖ Размер ядрышка зависит от его активности, а активность, в свою очередь, от стадии клеточного цикла и клеточного метаболизма.

Субкомпартменты ядрышка



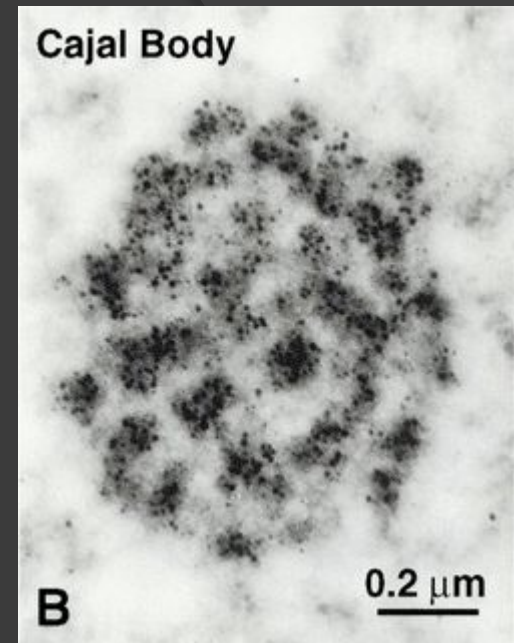
Фибриллярный центр (FC) – транскрипция рДНК.

Плотный фибриллярный компонент (DFC) – факторы процессинга.

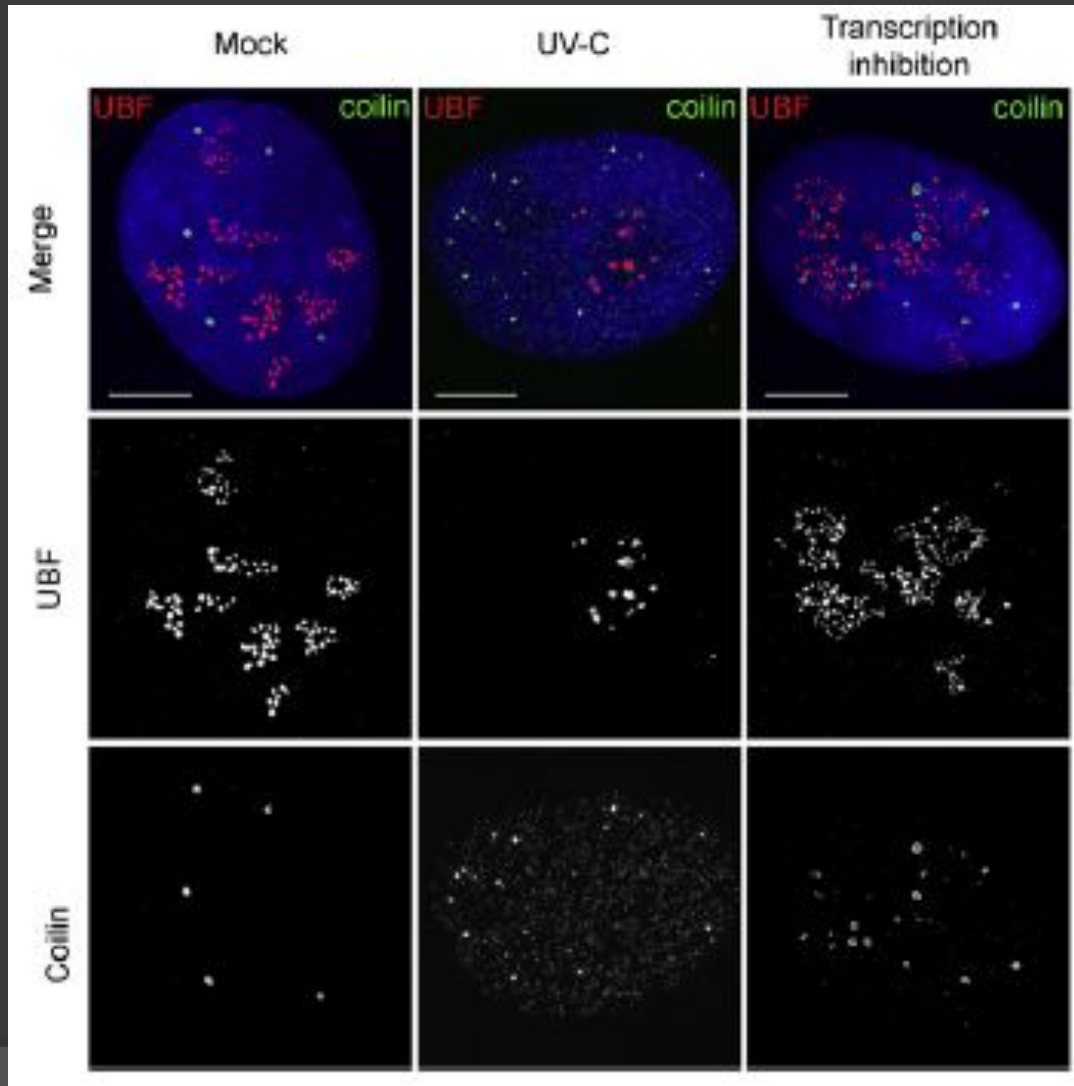
Гранулярный компонент (GC) – сборка прерибосом.

Тельца Кахала

- ❖ Основная функция - созревание некоторых РНК (например малой ядерной/ядрышковой РНК, процессинг гистоновой мРНК)
- ❖ Основной структурный компонент телец Каххала – белок р80 (coilin)
- ❖ Максимальный размер этих структур приходится на фазовый переход G1/S



Реорганизация ядрышка и телец Кахала при стрессе



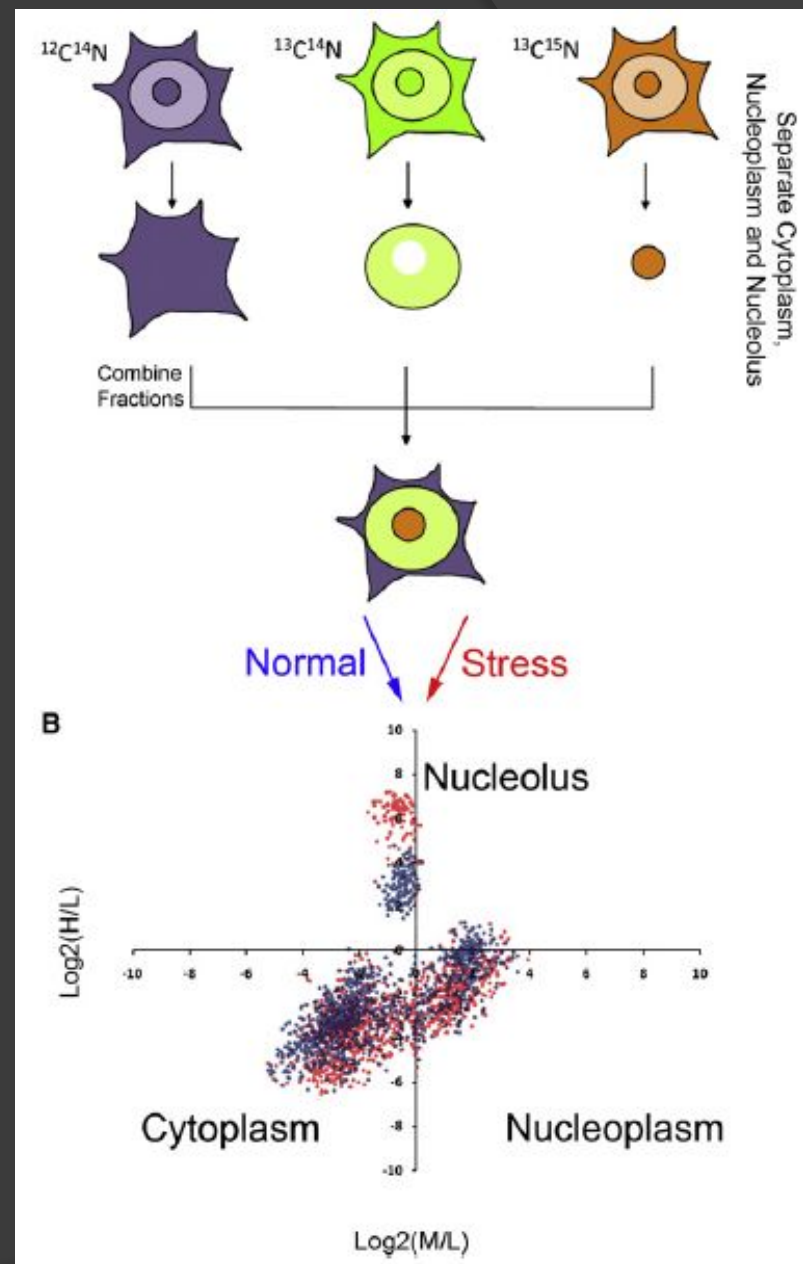
- ❖ Mock – нормальные условия
- ❖ UV-C – ультрафиолетовый стресс
- ❖ Transcription inhibition – ингибирование транскрипции агентом DBR – (5,6-dichloro-1-b-D-ribobenzimidazole)
- ❖ UBF – маркер фибриллярного центра ядрышка
- ❖ Coilin – маркер телец Кахала

Стрессорные факторы

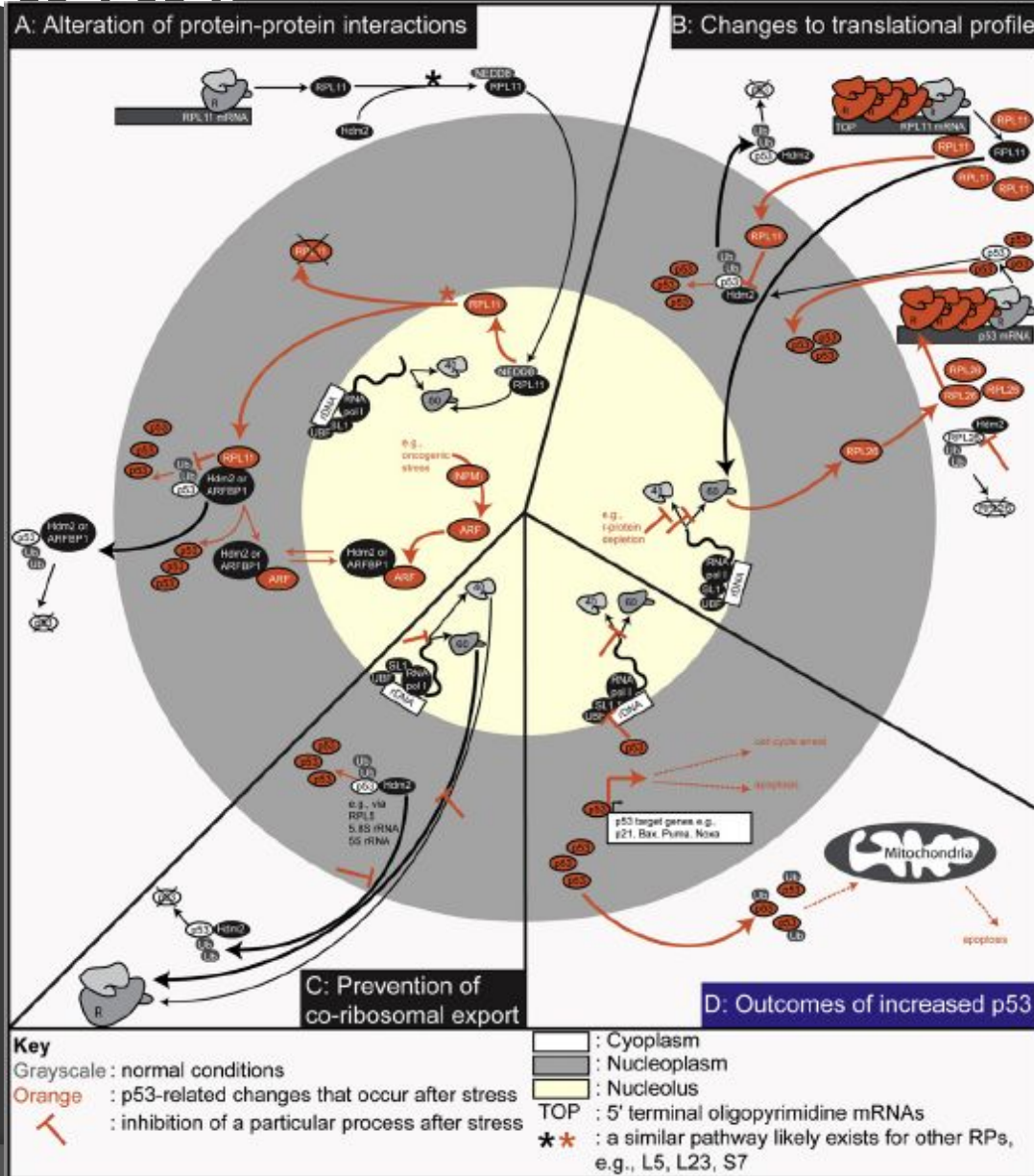
Stress Type	Trigger	p53 Stabilization	Effects on Nucleolus	Effects on CBs	References
DNA damage/ genotoxic stress	UV-C	✓	Nucleolar segregation, delocalization of Ki-67	CB disruption and coilin in nucleoplasmic microfoci	Rubbi and Milner, 2003; Al-Baker et al., 2005; Cibce et al., 2006
	IR (DSB)	✓	Nucleolar disruption, ATM-dependent inhibition of RNA pol I activity	No major effect on coilin distribution	Rubbi and Milner, 2003; Kruhlak et al., 2007
	Camptothecin Bleomycin	✓	Nucleolar disruption	N/A	Rubbi and Milner, 2003
Temperature change	Heat shock	✓	Nucleolar disruption	CBs smaller at 39 °C; micro-CBs in <i>Xenopus</i>	Rubbi and Milner, 2003; Carmo-Fonseca et al., 1993; Handwerker et al., 2002
	Cold shock			CBs bigger at 32 °C	Carmo-Fonseca et al., 1993
Hypoxia	-	✓	Nucleolar disruption, VHL-dependent reduction of rRNA transcription	N/A	Rubbi and Milner, 2003; Mekhail et al., 2006
Osmotic stress		N/A	N/A	Disruption of CBs	Cibce et al., 2006
Viral infection	Adenovirus, Coronavirus, HCV, HIV, HPV, HSV-1, Poliovirus, West Nile virus	N/A	Changes in nucleolar morphology and proteome	Coilin in nucleoplasmic microfoci and rosettes (adenovirus); ICP0- induced accumulation of coilin at damaged centromeres (HSV-1)	Greco, 2009; Rebelo et al., 1996; James et al., 2010; Morency et al., 2007
Nutrient stress	Serum starvation	N/A	Reduction in ribosomal biogenesis	CB number decreases	Mayer and Grummt, 2006; Murayama et al., 2008; Hoppe et al., 2009; Zhou et al., 2009; Tanaka et al., 2010; Andrade et al., 1993
Inhibition of RNA polymerase I and/or II	Actinomycin D	✓	Nucleolar disruption, release of RPs into the nucleoplasm	Coilin in nucleolar caps	Lindstrom, 2009; Warner and McIntosh, 2009; Zhang and Lu, 2009; Carmo-Fonseca et al., 1992; Shav-Tal et al., 2005
	DRB	✓	Nucleolar disruption	Nucleolar association of coilin	Rubbi and Milner, 2003
	α-Amantin	✓	Nucleolar disruption	Coilin in cap-like structures associated with the nucleolus	Rubbi and Milner, 2003; Carmo-Fonseca et al., 1992
Inhibition of nuclear export	Leptomycin B (LMB)	✓	No disruption of nucleolar integrity	Nucleolar association of coilin	Rubbi and Milner, 2003; Sleeman et al., 2001
Inhibition of phosphatases	Okadaic acid	N/A	N/A	Accumulation of coilin in the nucleolus	Lyon et al., 1997
Inhibition of DNA and RNA synthesis	5-Fluorouracil	✓	Nucleolar disruption, release of RPs into the nucleoplasm and p53 stabilisation. rRNA processing disrupted in the nucleolus	N/A	Lindstrom, 2009; Warner and McIntosh, 2009; Zhang and Lu, 2009; Burger et al., 2010

Динамика белков клетки при стрессовых условиях

- ❖ Метод – mass-spec-based SILAC (stable isotope labeling by amino acid in cell culture)
- ❖ Метод позволяет:
- ✓ Измерить количественные отношения между белками цитоплазмы/ядра/ядрышка.
- ✓ Изучить динамику ответа клетки на стрессорное воздействие (в данном случае камптотекина – специфическим ингибитором топоизомеразы)



Ядрышковый сигналинг p53 при стрессовом ответе.



А. Изменение белок-белковых взаимодействий при стрессорных условиях.

В. Механизмы повышения уровня p53, основанные на трансляции.

С. Рибосомальная ко-транспортировка p53 и/или Hdm2

Д. Освобождение p53, остановка клеточного цикла и апоптоз.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!