

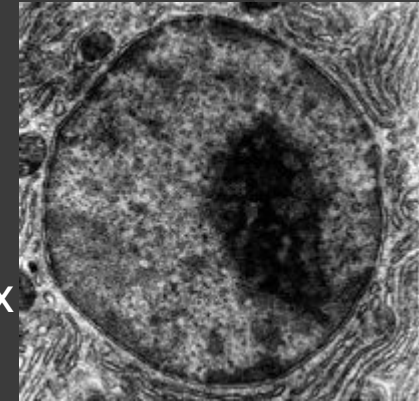
Molecular Cell  
Review

# THE NUCLEOLUS UNDER STRESS

Se´verine Boulon,<sup>1</sup> Belinda J. Westman,<sup>1</sup> Saskia Hutten,<sup>1</sup>  
Francois-Michel Boisvert,<sup>1</sup> and Angus I. Lamond<sup>1,\*</sup>

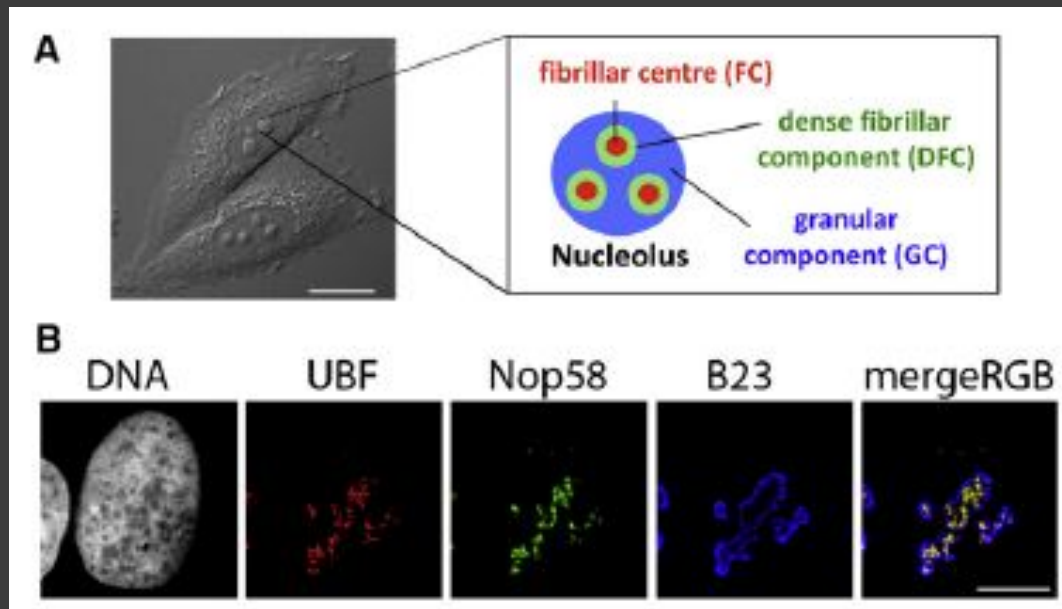
<sup>1</sup>Wellcome Trust Centre for Gene Regulation and Expression, University of Dundee,  
Dundee DD1 5EH, UK

# 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



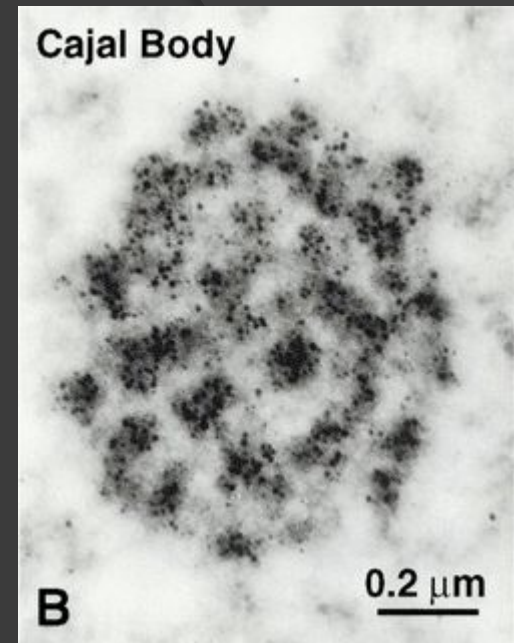
Фибриллярный центр (FC) – транскрипция рДНК.

Плотный фибриллярный компонент (DFC) – факторы процессинга.

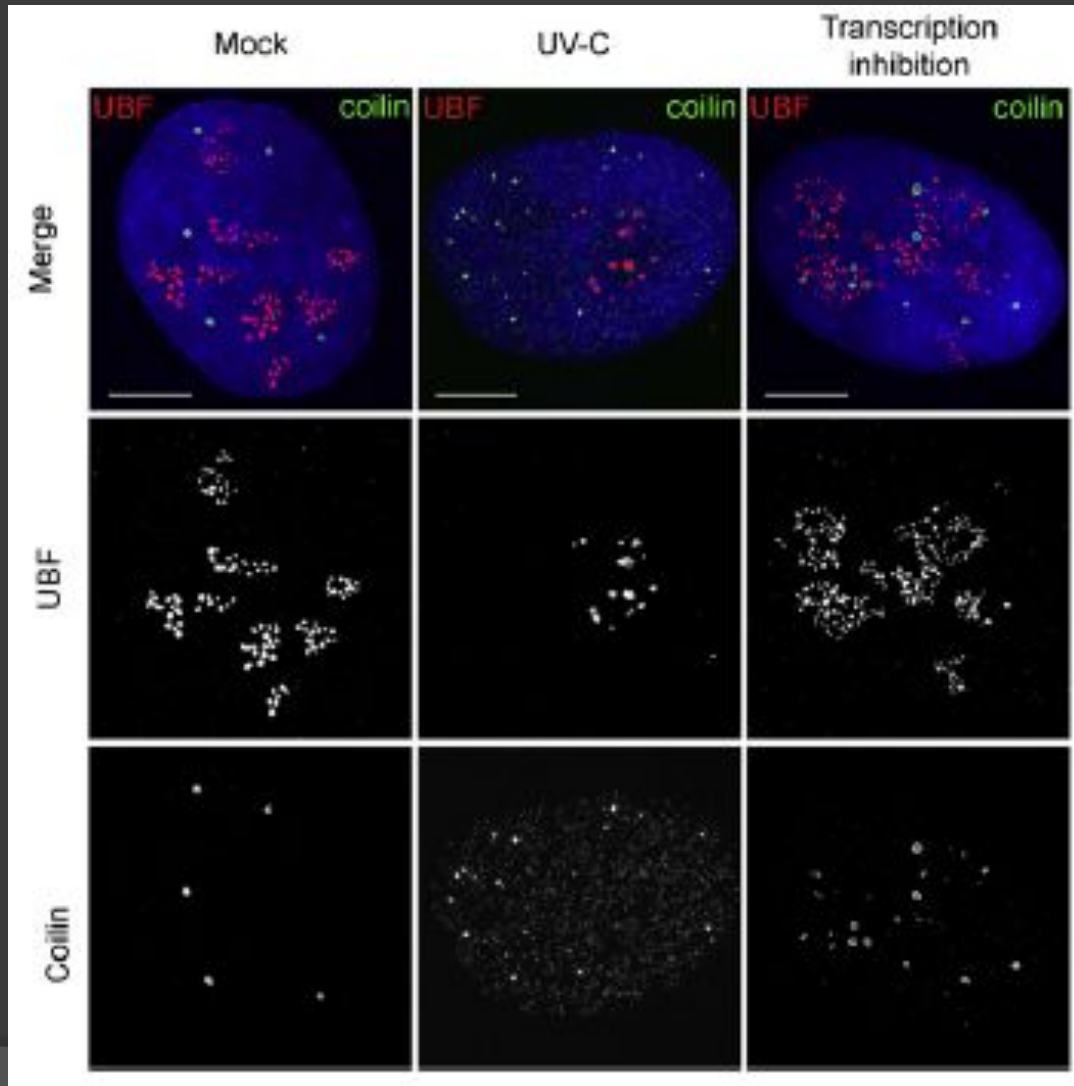
Гранулярный компонент (GC) – сборка прерибосом.

# Тельца Кахала

- ❖ Основная функция - созревание некоторых РНК (например малой ядерной/ядрышковой РНК, процессинг гистоновой мРНК)
- ❖ Основной структурный компонент телец Каххала – белок p80 (coilin)
- ❖ Максимальный размер этих структур приходится на фазовый переход G1/S



# Реорганизация ядрышка и телец Кахала при стрессе



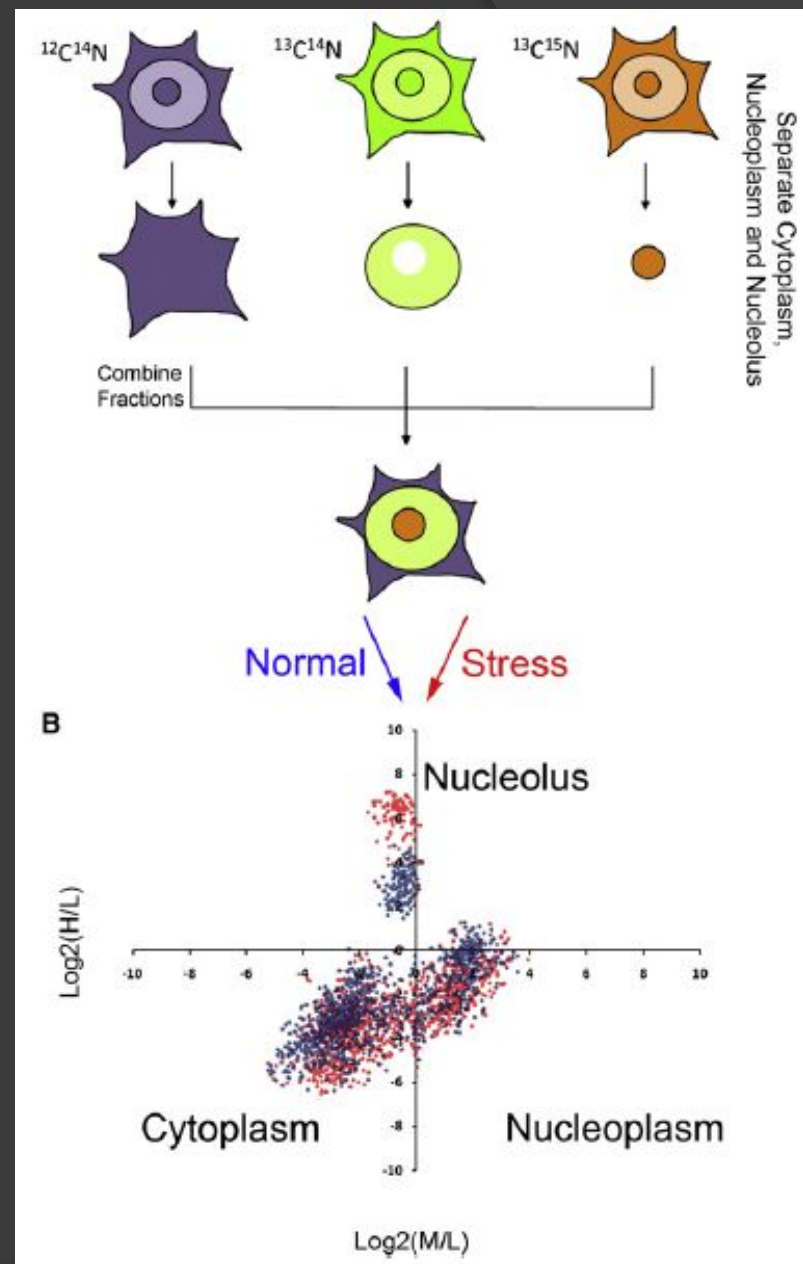
- ❖ Mock – нормальные условия
- ❖ UV-C – ультрафиолетовый стресс
- ❖ Transcription inhibition – ингибирование транскрипции агентом DBR – (5,6-dichloro-1-b-D-ribobenzimidazole)
- ❖ UBF – маркер фибриллярного центра ядрышка
- ❖ Coilin – маркер телец Кахала

# Стрессорные факторы

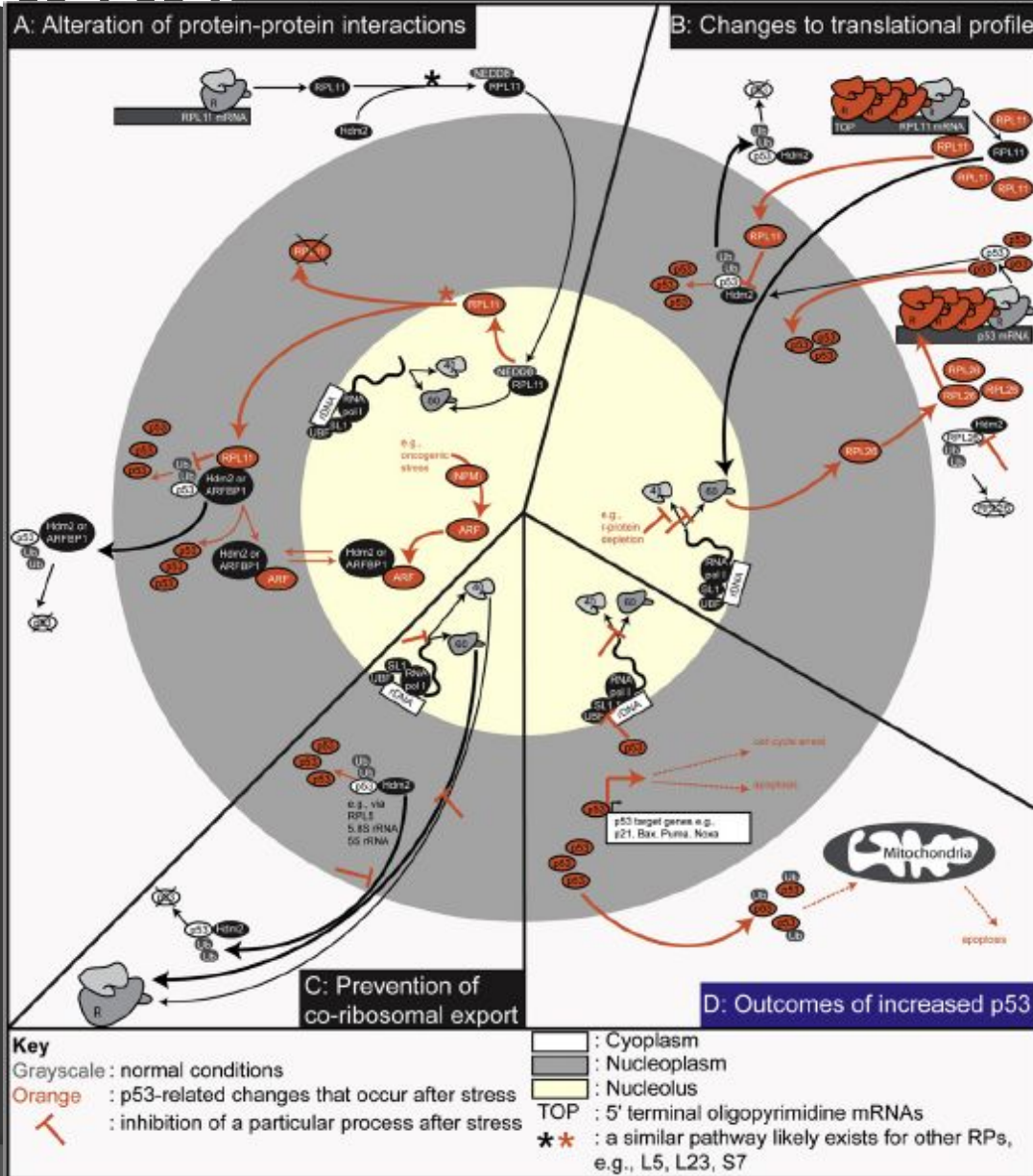
| Stress Type                                 | Trigger   | p53 Stabilization | Effects on Nucleolus   | Effects on CBs  | References  |
|---|---|-------------------|--|---|---|
| DNA damage/<br>genotoxic stress             | UV-C  | ✓                 | Nucleolar segregation,<br>delocalization of Ki-67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

# Динамика белков клетки при стрессовых условиях

- ❖ Метод – mass-spec-based SILAC (stable isotop 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!**