

Изучение локализации ламинов в клеточном цикле в культуре клеток HeLa



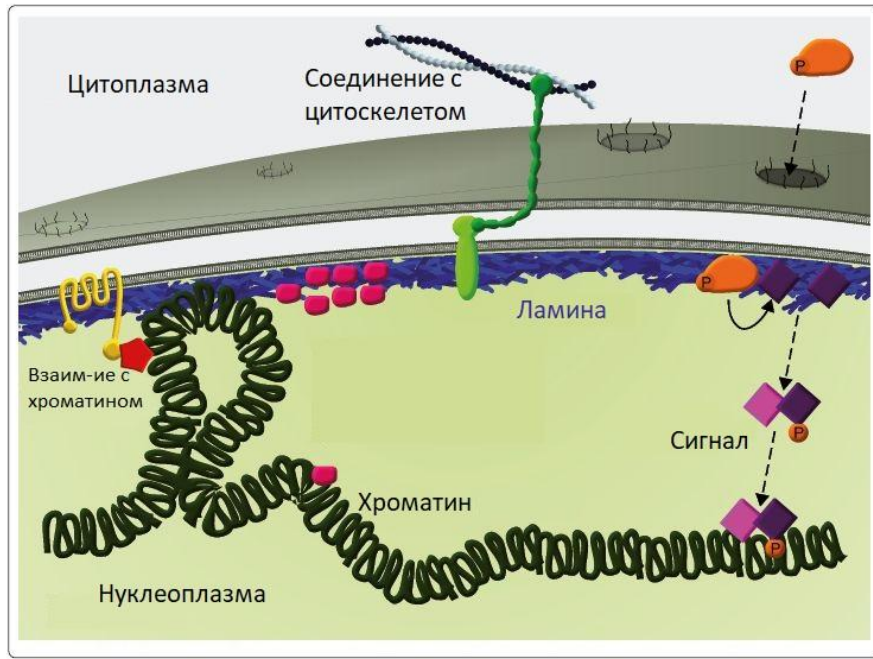
Завьялов Александр
СУНЦ МГУ

Научный руководитель: Курчашова
Светлана Юрьевна

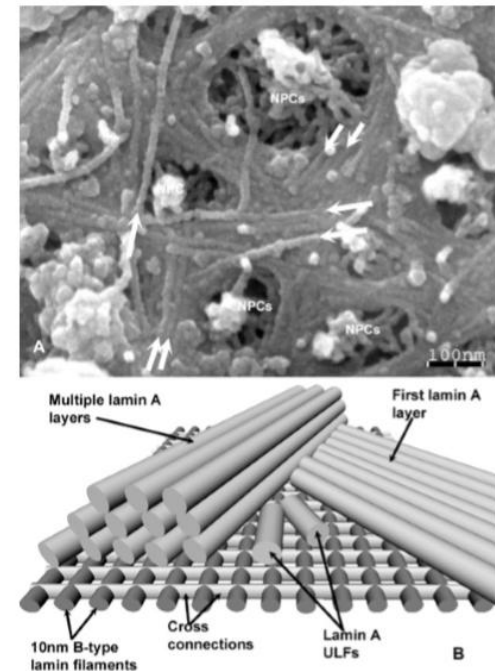


Введение

Ламины являются основными белками, из которых построена ядерная ламина. Они представлены двумя типами А и В.



Адаптировано из <https://en.wikipedia.org/wiki/Lamin>



The A-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization
Takeshi Shimi,^{1,6} Katrin Pfliegerhaa,^{1,2,6} Shin-ichiro Kojima, et.al

Цели и задачи

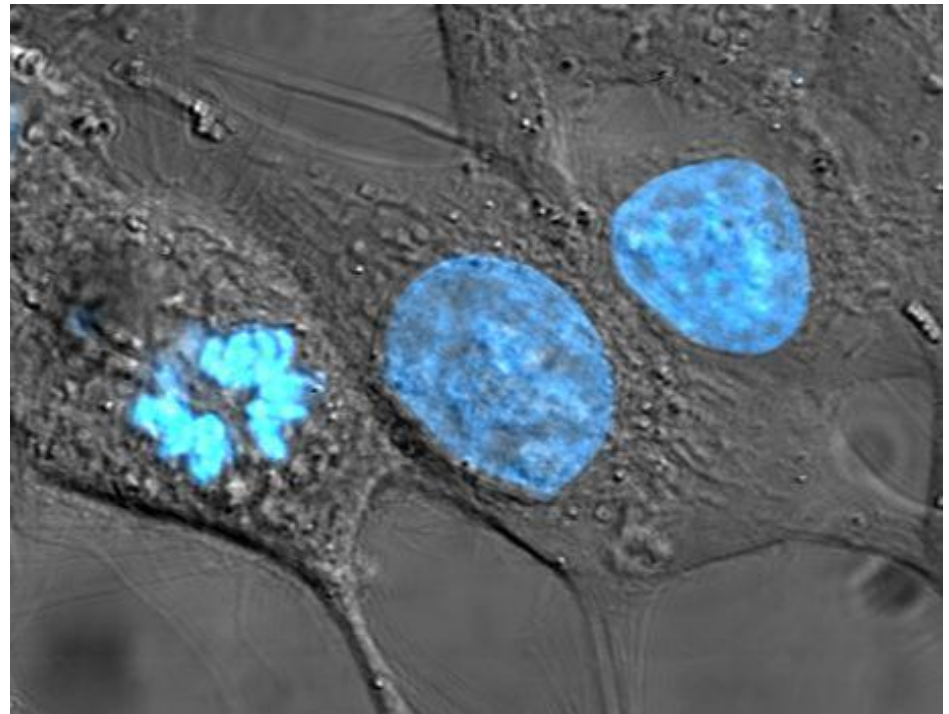
Цель: изучить локализацию ламинов в клеточном цикле в клетках млекопитающих

Задачи:

- Определить локализацию разных типов ламинов в различные фазы клеточного цикла
- Проанализировать полученные результаты
- Выявить зависимость между фазой клеточного цикла и локализацией ламинов

Методы и материалы

Объект исследования: клетки культуры
HeLa, выращенные на стекле

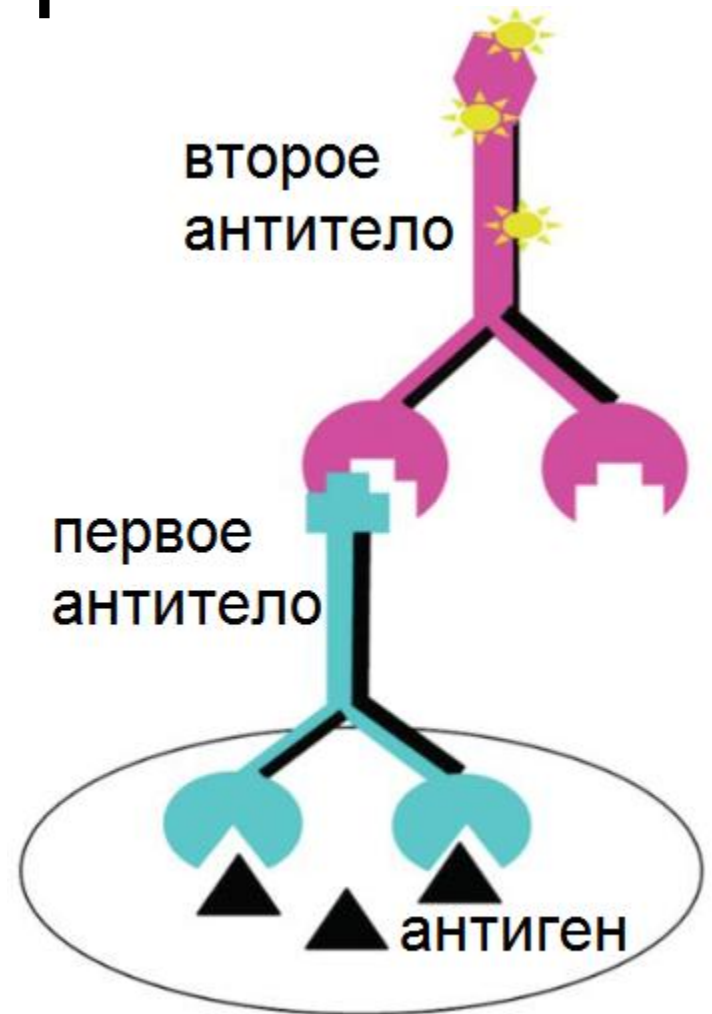


https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%BB:HeLa_cells_stained_with_Hoechst_33258.jpg TenOfAllTrades

Методы и материалы

Методы:

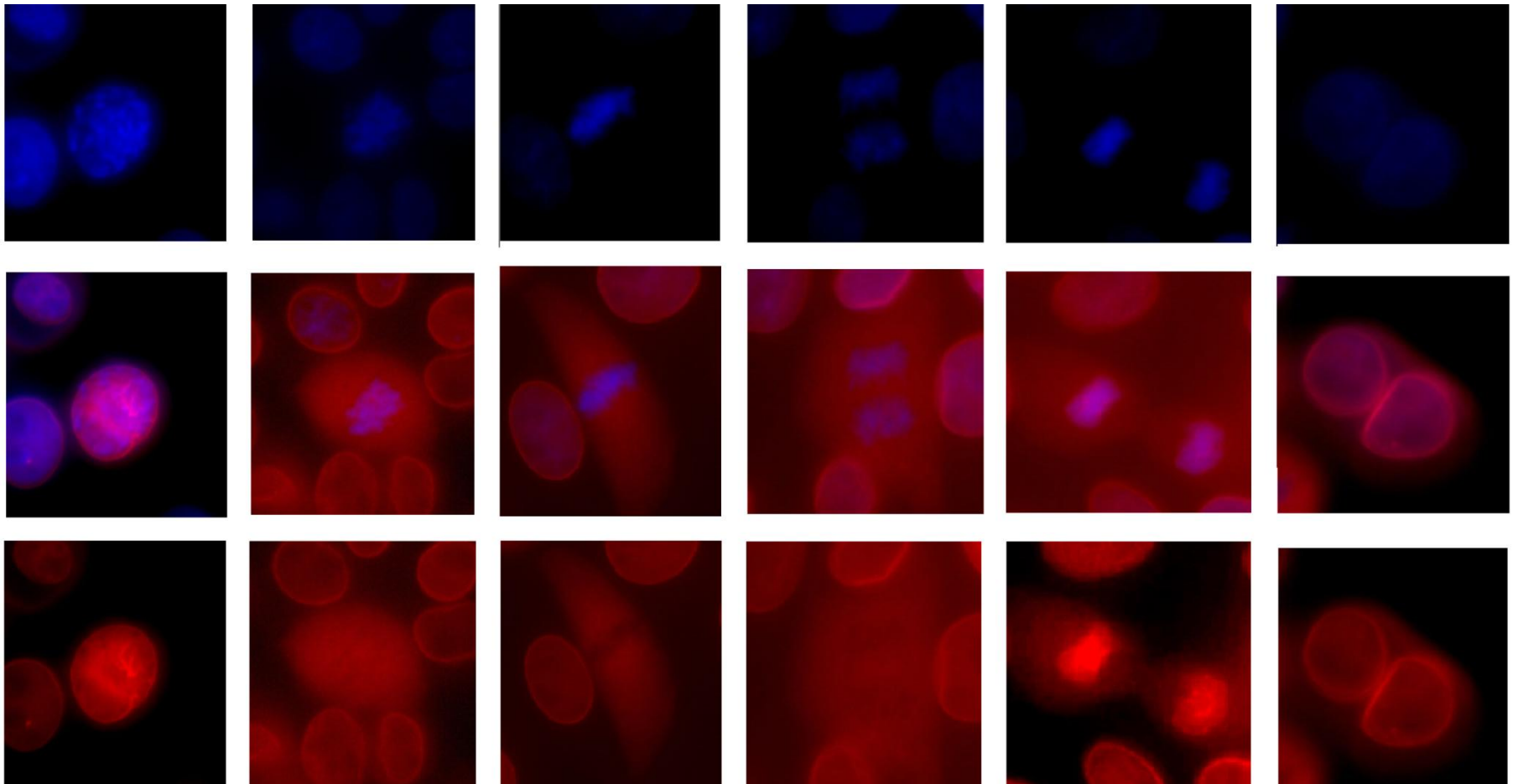
- культивирование клеток in vitro
- иммуноцитохимический непрямой метод Кунса
- метод эпифлуоресцентной микроскопии с фазовым контрастом



Адаптировано по статье «The Importance of Titrating Antibodies for Immunocytochemical Methods» Gloria E. Hoffman, Kelley J. Murphy, and Luciane V. Sita (2016) Curr Protoc Neurosci; 76: 2.12.1–2.12.37.

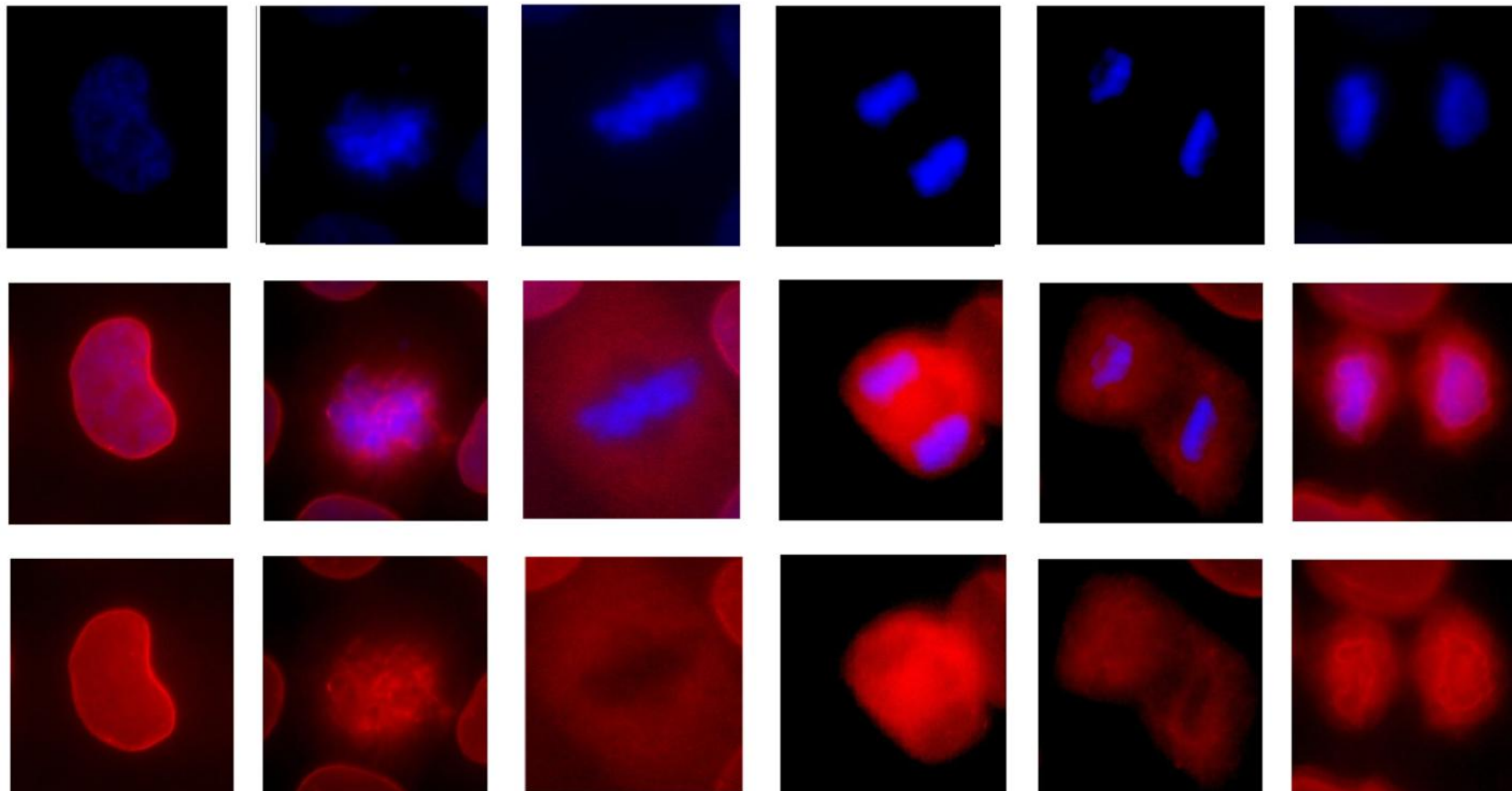
Результаты

Ламин А



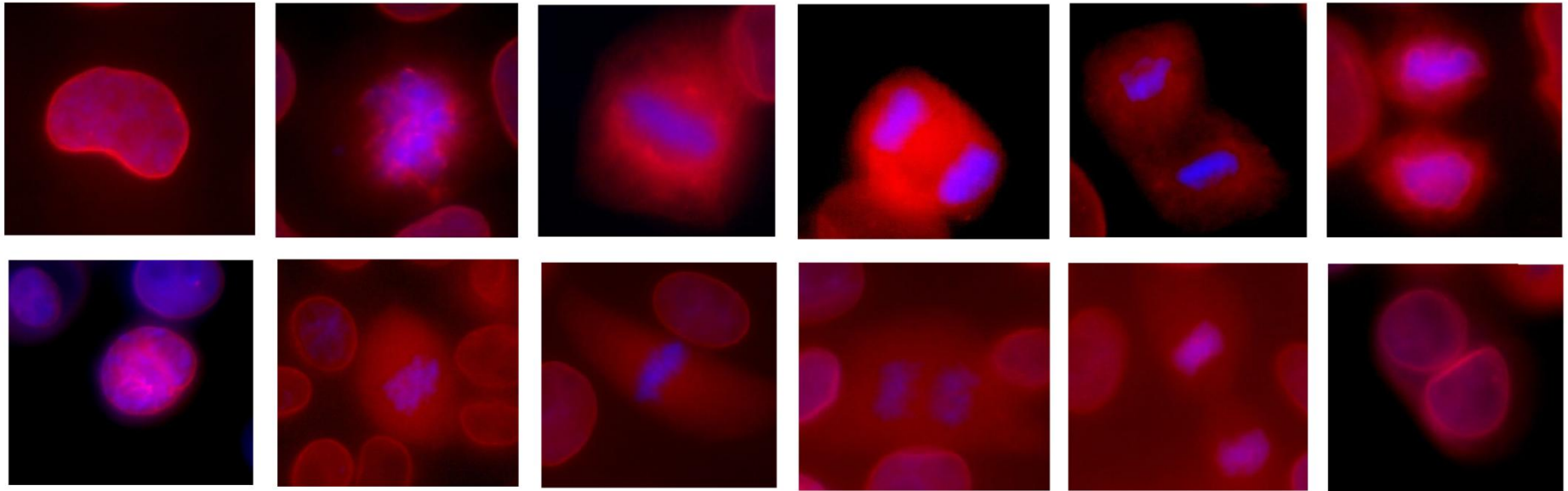
Результаты

Ламин В1



Результаты

Сравнение ламинов А и В1



Ламин Фаза митоза	Ламин А	Ламин В1
1) Профаза	В составе ядерной оболочки	В составе ядерной оболочки
2) Прометафаза	Равномерно растворен в цитоплазме , не связан с хромосомами	Остается связанным с отдельными частями ядерной оболочки и локализуется вокруг хроматина
3) Метафаза	Равномерно растворен в цитоплазме, около метафазной пластинки концентрация незначительно больше	Вокруг хромосом меньше концентрация, наблюдается гранулярность
4) Анафаза	Не связан с хромосомами, равномерно растворен в цитоплазме	Миграция к полюсам клетки, но много еще остается в области хромосом, не связан с хромосомами
5) Телофаза	Включается в ядерные оболочки дочерних клеток, начинает встраиваться позже и локализуется в цитоплазме	Включается в ядерные оболочки дочерних клеток, окружает группы хромосом
6) Цитокинез	Завершение постмитотического формирования ядерных оболочек, в цитоплазме только около хромосом	Завершение постмитотического формирования ядерных оболочек, в цитоплазме практически не обнаруживается

Выводы

- Локализация ламинов А и В1 была определена в интерфазе и митозе

В интерфазе ламины находятся в составе ядерной оболочки и связаны с хроматином, в митозе же эта связь разрушается и восстанавливается после его завершения

В митозе:

- Профаза- в составе ядерной оболочки
- Прометафаза- в цитоплазме вокруг хромосом
- Метафаза и Анафаза- в цитоплазме, отдаляется от хромосом
- Телофаза и Цитокинез- в ядерных оболочках дочерних клеток

Были выявлены некоторые отличия в локализации ламинов А и В1. В случае ламина В1 наблюдается гранулярность, тогда как для ламина А это не характерно, также незначительные отличия концентраций в различных частях клетки

Источники литературы

- Brian Burke; Colin L. Stewart. (2013). The nuclear lamins: flexibility in function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* , 13-24.
- Dhe-Paganon S, Werner ED, Chi YI, Shoelson SE. (2002). Structure of the globular tail of nuclear lamin. *J Biol Chem* , 17381-17384.
- Dwyer, N., and Blobel, G. (1976). *J. Cell Biol.* , 581-591.
- Erlandson, R. A., Harven, E. . (1971). *J. Cell Sci.* , 353-397.
- Furukawa, K and Hotta, Y. (1993). cDNA cloning of a germ cell specific lamin B3 from mouse spermatocytes and analysis of its function by ectopic expression in somatic cells. *EMBO J.* 12 , 97-106.
- Gerace, L., and Blobel, G. (1982). Nuclear lamina and the structural organization of the nuclear envelope. *Cold Spring Harbor Symp Quant. Biol.*
- Gerace, L., Blum, A., and Blobel, G. (1978). Immunocytochemical localization of the major polypeptides of the nuclear pore complex-lamina fraction. Interphase and mitotic distribution. *Cell Biol.* , 546-566.
- Gerace, Larry; Blobel, Gunter. (1980). The nuclear envelope lamina is reversibly depolymerized during mitosis.
- J R Glass, L Gerace. (1990). Lamins A and C bind and assemble at the surface of mitotic chromosomes.
- Jamieson, G. A., Robinson, D. M., Fry, D. J. (1976). in *Mammalian Cell Membranes*. Butterworths Boston , 197-265.
- JLV Broers, FCS Ramaekers, G Bonne. (2006). Nuclear lamins: laminopathies and their role in premature ageing . *Physiological Reviews* , 967-1008.
- Krimm I, O. C.-J. (2002). Krimm I The Ig-like structure of the C-terminal domain of lamin A/C, mutated in muscular dystrophies, cardiomyopathy, and partial lipodystrophy. *Structure* , 811-823.
- L Gerace, B Burke. (1988). Functional organization of the nuclear envelope. In *Annual review of cell biology*.