

Ćwiczenie C02B

Jądro i cytoszkielet

Budowa jądra komórkowego

Pochodzenie jądra komórkowego

Cytoszkielet

Prof. dr hab. Roman Zieliński

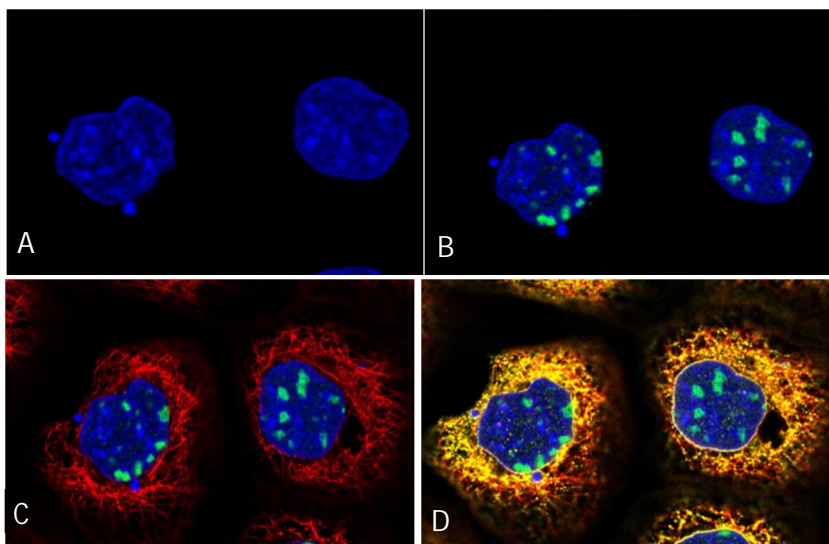
1. Budowa jądra komórkowego

1.1. Morfologia jądra komórkowego w różnych typach komórek

➔ Jądro komórkowe jest najważniejszą i największą strukturą komórki Eukariota. Zajmuje ono 10% objętości komórki. Wymiary jądra mieszczą się w zakresie 1-10 μm . Rozmiary jądra nie są bezpośrednio powiązane z zawartością DNA, gdyż komórki różnych tkanek mają różnej wielkości jądra przy takiej samej zawartości DNA. U różnych gatunków rozmiary jądra są proporcjonalne do rozmiarów komórek. Zmiana rozmiarów komórki, np. jej wydłużenie prowadzi również do wydłużenia jądra.

W regulację kształtu jądra zaangażowane są filamenty aktynowe, natomiast mikrotubule prawdopodobnie mają nieznaczny wpływ. Na kształt jądra wpływają także właściwości macierzy zewnątrzkomórkowej.

Jądra komórek w środowisku płynnym są owalne. Komórki przyłączone do podłoża mają jądra wydłużone. Na kształt jądra wpływa także błona komórkowa, która wywiera ciśnienie na wnętrze komórki (Chen i inni 2015).



Rys. 1.1. Jądra w ludzkiej linii komórkowej U-252 MG (pochodzi z komórek glejaka). A. Jądra barwione fluorescencyjnie. B. Uwidocznione rDNA. C. Widoczne mikrotubule, czerwone. D. Żółta struktura to retikulum endoplazmatyczne.

Jądro jest strukturą konserwatywną. Wszystkie Eukariota zawierają taki sam zestaw genów związanych z porami jądrowymi oraz transportem pomiędzy jądrem a cytoplazmą.

Jądro komórkowe otoczone jest podwójną błoną białkowo-lipidową, która nosi nazwę otoczki jądrowej. Składa się ona z błony zewnętrznej, która jest połączona z błonami reticulum endoplazmatycznego. Od wewnątrz zlokalizowana jest błona wewnętrzna. Pomiędzy błonami jest przestrzeń perynuklearna. Otoczka jądrowa zawiera pory, które umożliwiają transport substancji (RNA, białka, lipidy, węglowodany) pomiędzy jądrem a cytoplazmą. Bezpośrednio przy błonie wewnętrznej zlokalizowana jest blaszka jądrowa, która uczestniczy w utrzymaniu stabilności jądra.

Jądro komórkowe jest strukturą dynamiczną, która podlega regulacji na różnych poziomach. Na ogół jądro jest strukturą sferyczną, owalną (Rys. 1.1). Jednakże struktura jądra może ulegać zmianom w zależności od aktywności komórki oraz środowiska. Morfologia jądra wpływa także na ekspresję genów.

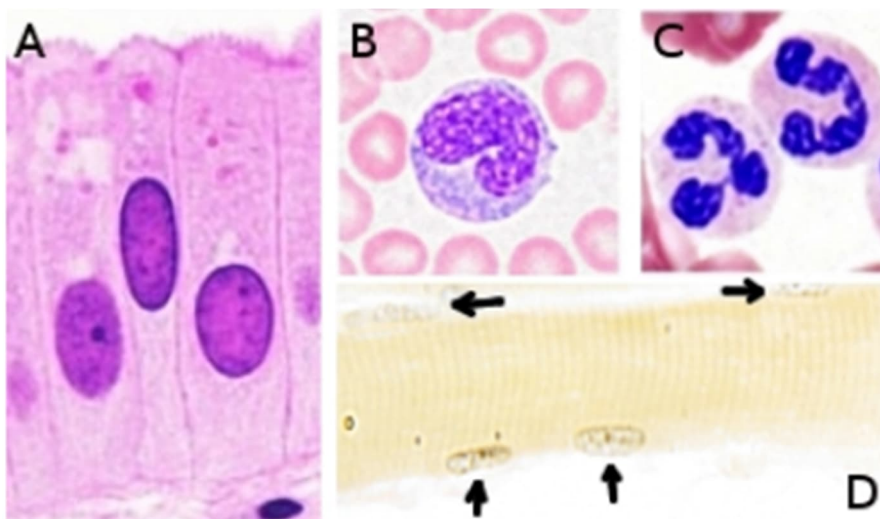
1.1.1. Neutrofile

Neutrofile ssaków oraz heterofile ptaków i gadów mają jądra wielopłatowe, składające się z 2-5 płatów oddzielonych cienkimi filamentami nukleoplazmatycznymi (Rys. 1.1b). Jądra takie powstają ze sferycznych prekursorów w mielocytach.

Chromosomy są losowo rozmieszczone w obrębie płatów, ale ich organizacja ulega zmianie pod wpływem

działania np. bakterii. W obrębie każdego płata regiony ubogie w geny zlokalizowane są w pobliżu peryferii, regiony bogate w geny zlokalizowane są w części wewnętrznej. Nieaktywny chromosom X u samic na ogół zlokalizowany jest w płacie terminalnym. Pozycja chromosomu X w prekursorowych mielocytach determinuje polarność neutrofilii. Nie jest jasne jak uzyskiwana jest polarność neutrofilii w przypadku samców, XY. Hypersegmentacja neutrofilii (>6 płatów) jest związana ze stanami patologicznymi, w tym anemią wynikającą z niedoboru witaminy B12, kwasu foliowego oraz niedoboru żelaza.

Uważa się, że jądro segmentalne (płatowe) ułatwia neutrofilom przechodzenie przez niewielkie pory w śródbłonku oraz w macierzy zewnątrzkomórkowej. Neutrofile charakteryzują się także większą zmiennością długości łącznikowego DNA niż np. limfocyty T. Zmienność długości łącznikowego DNA zwiększa elastyczność chromatyny. (Skinner i Johnson 2017).



Rys. 1.1.1. Różne kształty jąder. A. Podłużne jądra w komórkach nabłonka pęcherzyka żółciowego. B. Jądro w kształcie „nerkowatym” w monocytach. C. Wielopłatowe jądra w neutrofilach. D. Podłużne jądra we włóknach mięśnia szkieletowego.

1.1.2. Monocyty

Monocyty mają jądra dwupłątowe (Rys. 1.1.1). Struktura powstaje w promonocytach, w których pierwotne jądro sferyczne przekształca się w dwa płaty. Domeny chromatynowe w monocytach tworzą agregaty z kanałami między nimi.

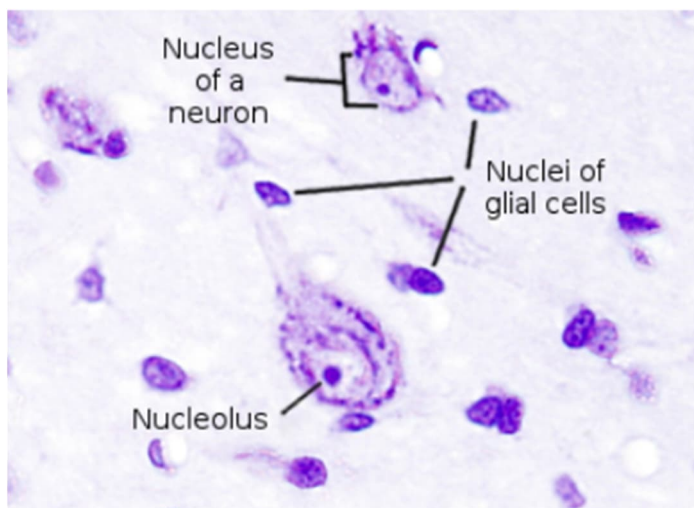
1.1.3. Neurony

Jądra neuronów są owalne, stosunkowo duże. Jądra komórek glejowych mają silnie zbitą chromatynę i są mniejsze (Rys. 1.1.3).

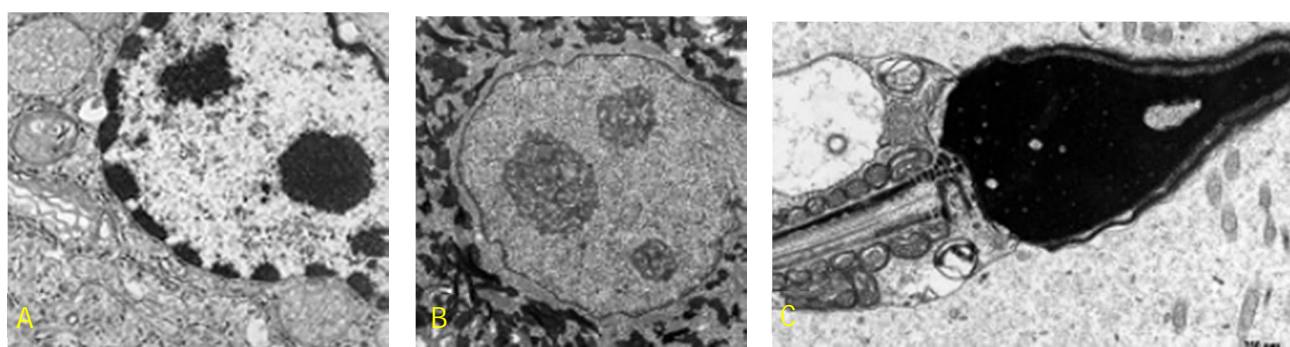
1.1.4. Jądra plemników

Jądra plemników Metazoa mają asymetryczny kształt, a chromatyna jest silnie skondensowana. Podczas spermiogenezy, histony są zastępowane protaminami (białka zasadowe zawierające argininę, mają niską masę cząsteczkową), co umożliwia większą kondensację chromatyny. Silna kondensacja chromatyny zwiększa ruchliwość plemników, chroni DNA przed uszkodzeniem i stanowi dodatkowy poziom regulacji epigenetycznej.

Wraz z kondensacją jądra, rozwijająca się spermatyda traci cytoplazmę. W efekcie prawie cała główka plemnika jest wypełniona jądrem. Kondensacja i ukształtowanie jądra zachodzi przed utratą cytoplazmy, co oznacza, że kształt jądra determinuje kształt główki plemnika, a nie odwrotnie.



Rys. 1.1.3. Zróżnicowanie kształtu jąder w komórkach nerwowych. Jądra neuronów mają mniej zbitą chromatynę, natomiast jądra komórek glejowych mają silnie skondensowaną chromatynę. Jądra komórek glejowych są mniejsze.



Rys. 1.1.4. Jądra w mikroskopie elektronowym (TEM). A. Jądro z widocznymi porami jądrowymi w błonie jądrowej, komórki nabłonka szczura. B. Jądro komórek nabłonkowych w skórze człowieka. C. Silnie skondensowana chromatyna w jądrze plemnika małpy.

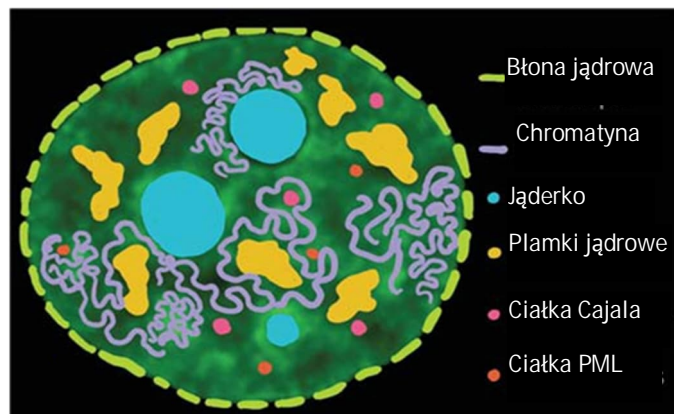
➔ 1.2. Struktura przestrzenna jądra komórkowego

1.2.1. Heterogeniczność jądra komórkowego

Jądro stanowi zróżnicowane środowisko, w którym obok chromatyny, występują różnorodne struktury oraz związki chemiczne, w tym polimery, koloidy, makrocząstki i mikrocząstki. Jądro jest funkcjonalnie zorganizowane, przy czym jest to organizacja dynamiczna obejmująca wiele procesów zachodzących jednocześnie.

Jądro podlega ciągłej restrukturyzacji i reorganizacji. W czasie interfazy rozmiary jądra zwiększają się w ciągu kilku godzin, niewielkie modyfikacje oraz obroty jądra, a także fluktuacje błony jądrowej trwają sekundy. Amplituda fluktuacji spada podczas interfazy, co jest wiarygodnym markerem stadium cyklu życiowego.

Białka zlokalizowane w jądrze, ciała jądrowe, enzymy zaangażowane w procesy jądrowe tworzą kondensaty w obrębie jądra, co prowadzi do kompartmentacji reakcji chemicznych związanych z poszczególnymi procesami biologicznymi. Składniki jądra znajdują się w specyficznym stanie nierównowagi, który obejmuje komponenty aktywne (indukowane przez ATP) oraz pasywne (np. indukowane temperaturą).



Rys. 1.2.1. Schemat heterogeniczności jądra (Zidovska 2020).

W jądrze znajdują się liczne struktury, określane ciałkami jądrowymi. Są to struktury widoczne pod mikroskopem, zawierają specyficzne składniki jądrowe, głównie białka i RNA, ciągle wymieniają skład z otaczającą nukleoplazmą, co różni je od agregatów białkowych.

Ciała jądrowe mają zróżnicowany kształt. Niektóre są jednorodne (np. jąderko), inne wykazują kompartmentację. Czynnikiem sprzyjającym powstawaniu ciałek jądrowych jest znaczna koncentracja białek rusztowania w określonym obszarze jądra. Z kolei białka rusztowania gromadzą się w miejscach transkrypcji specyficznych typów RNA, które wchodzi w interakcję z białkami. W ten sposób powstaje jąderko, ciała P oraz ciała stresowe. Transkrypty snRNA oraz chromatyna zawierająca geny dla snRNA, stanowią miejsca łączenia niezbędne do powstania ciałek Cajala.

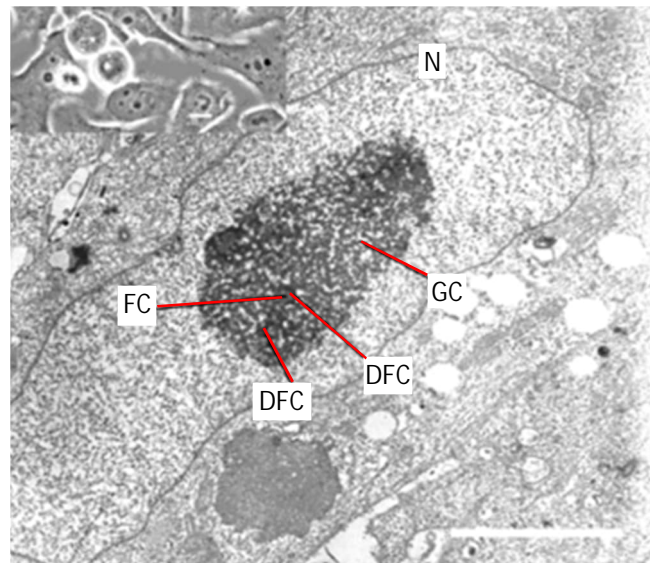
1.2.2. Jąderko

Jąderko jest największym ciałkiem jądrowym. Jest to miejsce składania rybosomów. Tworzy ono specyficzne locus określane jako organizator jąderkotwórczy (NOR, ang. Nucleolus Organizer Regions). W obrębie jąderka zlokalizowane są geny rDNA, które kodują rRNA. Jąderko zachowuje się jak kropla płynu oddzielająca białka jąderkowe i RNA od nukleoplazmy. Powierzchnia jąderka wykazuje niewielkie fluktuacje.

Jąderko formuje się pod koniec mitozy w miejscu występowania tandemowych powtórzeń rDNA. Tworząca się struktura rekrutuje maszynę transkrypcyjną, która uczestniczy w tworzeniu podjednostek rybosomów. Tworzenie rybosomów rozpoczyna się od transkrypcji rDNA za pomocą polimerazy RNA I. Tandemowe powtórzenia genów rDNA sprawiają, że dochodzi do lokalnej koncentracji białek związanych z transkrypcją, obróbką i umieszczeniem rRNA w rybosomach.

Oprócz biogenezy rybosomów, jąderko uczestniczy w wielu innych procesach. Na terenie jąderka dochodzi do modyfikacji RNA i składania licznych kompleksów rybonukleoproteinowych, w tym uczestniczących w splicingu, niektórych tRNA, miRNA oraz cząsteczek sygnałowych (SRP, ang. signal recognition particle).

W strukturze jąderka wyróżnia się składnik ziarnisty (GC, ang. granular component), w którym zanurzony jest gęsty składnik włóknisty (DFC, ang. dense fibrillar component) z centralnym ośrodkiem włóknistym (FC, ang. fibrillar center). Budowa jąderka jest ściśle związana z etapami biogenezy rybosomów. Centralny ośrodek włóknisty, FC zawiera czynniki transkrypcyjne dla polimerazy RNA I. W gęstym składniku włóknistym, DFC znajdują się czynniki dla obróbki pre-RNA. Transkrypcja zachodzi na granicy FC i DFC. Transkrybowany rRNA przemieszcza się do składnika ziarnistego, GC, gdzie dojrzewa, a następnie jest umieszczany w rybosomach (Dubois i Boisvert 2016)



Rys. 1.2.2. Struktura jąderka w komórkach wątroby u człowieka. N: błona jądrowa, GC: składnik ziarnisty, DFC: gęsty składnik włóknisty, FC: centralny ośrodek włóknisty (Lo i inni 2006)

W jąderkach człowieka zlokalizowano 115 znanych domen białkowych i 91 domen unikalnych dla ssaków. Spośród znanych domen, 59 domen (51%) występuje we wszystkich królestwach, 25 domen (21%) występuje u Archaea i Eukariota, 13 domen (11%) jest wspólnych dla Eubacteria i Eukariota.

Wiele białek występujących w obrębie jąderka nie jest związane z biogenezą rybosomów. Większość z tych białek zawiera motyw wiążący RNA i pełni funkcje opiekuńcze. Białka te ewolucyjnie wywodzą się z białek rybosomowych, stąd też najczęściej funkcjonują jako rybonukleoproteiny, które przemieszczają się między jąderkiem a nukleoplazmą (Lo i inni 2006).



1.2.3. Na podstawie informacji w Internecie proszę scharakteryzować:

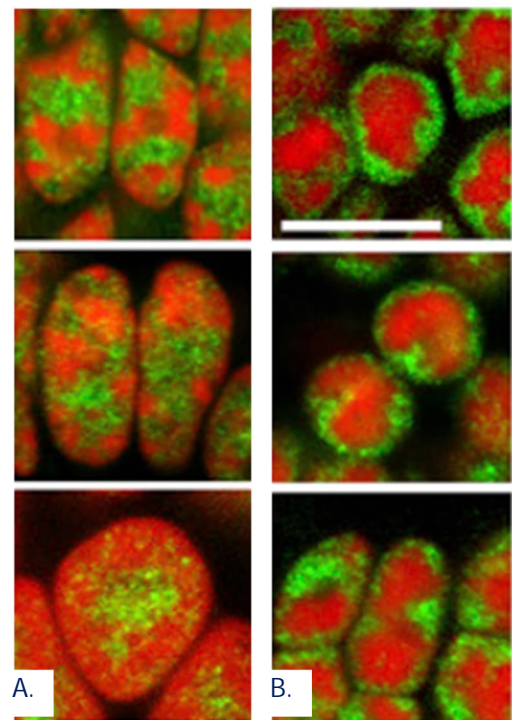
- A. ciała Cajala,
- B. ciała PML,
- C. jądrowe ciała stresowe.

➔ 1.3. Organizacja chromatyny w jądrze komórkowym

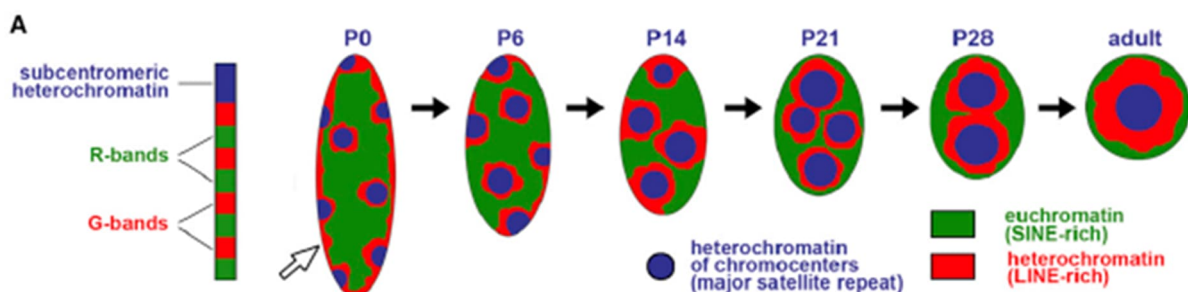
Organizacja chromatyny w jądrze komórkowym nie jest przypadkowa. Rozmieszczenie chromatyny ma znaczenie funkcjonalne. Na ogół euchromatyna występuje w wewnętrznej części jądra, natomiast heterochromatyna zlokalizowana jest w pobliżu wewnętrznej błony jądrowej, pomiędzy porami jądrowymi oraz wokół jąderka. Wyjątkiem jest rozmieszczenie eu- i heterochromatyny w komórkach pręcików światłoczułych siatkówki oka zwierząt nocnych (Rys. 1.3a). Pręciki umożliwiają widzenie czarno-białe przy słabym oświetleniu, natomiast czopki umożliwiają widzenie w normalnym oświetleniu.

U zwierząt nocnych, w celu kompensacji ciągłego narażenia na brak światła, widzenie czarno-białe jest silnie rozwinięte. Okazuje się, że przystosowanie do widzenia nocnego jest także widoczne w odwróconym układzie euchromatyny i heterochromatyny w stosunku do typowego układu. Euchromatyna występuje w pobliżu wewnętrznej błony jądrowej, heterochromatyna tworzy jedynie wyspy. Odwrócony układ chromatyny powstaje po zakończeniu mitozy w wyniku remodelowania chromatyny (Rys. 1.3b).

Remodelowanie nie wpływa na wysoką aktywność transkrypcyjną. Mechanizm remodelowania jest regulowany przez laminy A (gen *Lmna*) oraz receptory dla lamin B (gen *Lbr*). U ssaków z odwróconym układem chromatyny w jądrze nie dochodzi do ekspresji genów *Lmna* oraz *Lbr*. U ssaków z typowym układem chromatyny dochodzi do ekspresji genów *Lbr* i *Lmna*. Początkowo ulega ekspresji gen *Lbr*, a następnie jego ekspresja jest zastępowana przez ekspresję genu *Lmna*. Delecja jednego z genów jest kompensowana dłuższą ekspresją drugiego genu. Delecja obu genów zawsze prowadzi do inwersji układu chromatyny.



Rys. 1.3a. Rozmieszczenie euchromatyny (zielona) i heterochromatyny (czerwona) w jądrach A. zwierząt o dziennym trybie życia (owca, koń, makak) oraz B. nocnym trybie życia (myszokoczek, polatucha, mikrusek) (Solovei et al., 2013).



Rys. 1.3b. Etapy remodelowania chromatyny podczas różnicowania jąder w komórkach pręcików światłoczułych zwierząt prowadzących nocny tryb życia (Solovei et al., 2013).

➔ 1.4. Nukleopatie

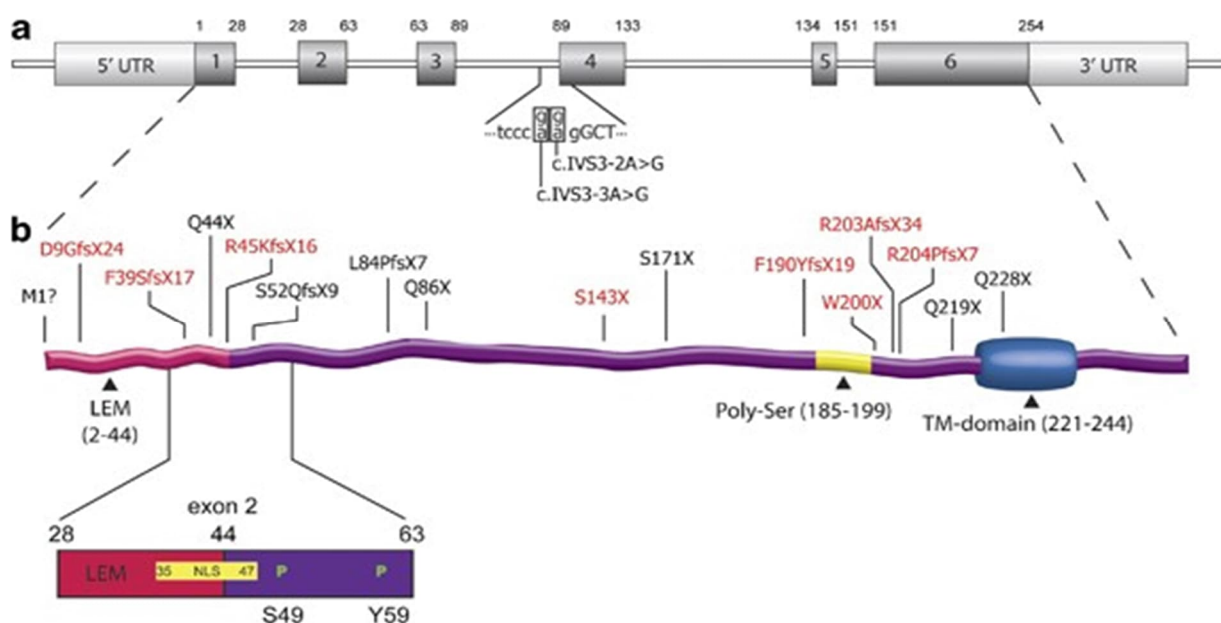
Nukleopatie to choroby wywołane mutacjami w genach kodujących elementy struktury jądra. Enwelopatie jądrowe to choroby wywołane mutacjami w genach kodujących białka błony jądrowej. Nukleolopatie to choroby związane ze zmianą struktury jąderka.

Pierwszą wykrytą enwelopatią jądrową była dystrofia mięśniowa Emery-Dreifuss'a. Choroba jest wywołana mutacją w genie *EMD*, kodującym emerynę i zlokalizowanym na chromosomie X. Obecnie wiadomo, że mutacje w genach kodujących komponenty błony jądrowej zewnętrznej lub wewnętrznej oraz mutacje w genach kodujących geny blaszki jądrowej prowadzą do tkankowo-specyficznych zespołów chorobowych dotyczących mięśni szkieletowych, mięśnia sercowego, nerwów obwodowych oraz tkanki tłuszczowej.

1.4.1. Dystrofia mięśniowa Emery-Dreifuss'a

Wczesne objawy obejmują przykurcze zginaczy łokci, ścięgien Achillesa i mięśni zaszyjkowych, co prowadzi do sztywności kręgosłupa. Objawy pojawiają się w okresie młodości, następnie postępują. W późniejszym okresie pojawiają się choroby serca.

Emeryna jest zlokalizowana w wewnętrznej błonie jądrowej i współdziała z blaszką jądrową. Uczestniczy w regulacji ekspresji genów, sygnalizacji komórkowej i utrzymaniu struktury jądra. Emeryna należy do białek z domeną LEM. Domeny LEM są globularnymi fragmentami zbudowanymi z około 40 aminokwasów, występują w białkach wewnętrznej błony jądrowej Metazoa. Domena LEM łączy się z czynnikiem BAF (Barrier to autointegration), który tworzy kompleksy BAF-DNA i przyczynia się do powstawania nukleoproteinowych struktur. Domena LEM zlokalizowana jest w części N-terminalnej emeryny. Większość mutacji w obrębie emeryny prowadzi do braku jej aktywności (Janin i inni 2017).



Rys. 1.4.1. a. Struktura genu *EMD* u człowieka z zaznaczonymi na szaro egzonami. Cyfry u góry oznaczają pozycje aminokwasów. W pobliżu egzonu 4 zaznaczono mutacje zmieniające splicing. b. Emeryna z domeną LEM (2-44), regionem transmembranowym TM (221-244) oraz regionem poliserynowym (185-199). Powyżej pokazano mutacje. Region kodowany przez egzon 2 zawiera domenę LEM, NLS (nuclear localisation sequence), domenę kinazy białkowej A (S49) i domenę kinazy tyrozynowej (Y59) (Brown i inni 2011).



1.4.2. Na podstawie informacji zawartych w bazie OMIM (<https://www.omim.org/>) proszę podać jaką funkcję pełnią następujące geny i jakie efekty wywołują mutacje w tych genach: *NESP4*, *LMNA*

- A. Proszę podać nazwę kodowanego białka.
- B. Proszę podać lokalizację genu.
- C. Proszę podać funkcję genu.
- D. Jakie efekty wywołują mutacje w tym genie, jaki jest sposób dziedziczenia?

2. Pochodzenie jądra komórkowego

➔ Jądro jest jednym z ważniejszych osiągnięć ewolucyjnych. Błona jądrowa umożliwia oddzielenie ekspresji genów (transkrypcja, dojrzewanie RNA) od syntezy białka (translacja, obróbka potranslacyjna), ale dzięki ciągłości błony jądrowej i reticulum endoplazmatycznego oraz obecności porów jądrowych możliwy jest dwukierunkowy transport. Rozdzielenie transkrypcji od translacji umożliwiło pojawienie się nowych funkcji, zwiększyło możliwości regulacyjne, tym samym przyczyniając się do sukcesu Eukariota.

Pochodzenie jądra komórkowego jest wciąż przedmiotem dyskusji. Dominujące hipotezy zakładają, że jądro powstało autogenicznie u prokariotycznego przodka lub w drodze endosymbiozy.

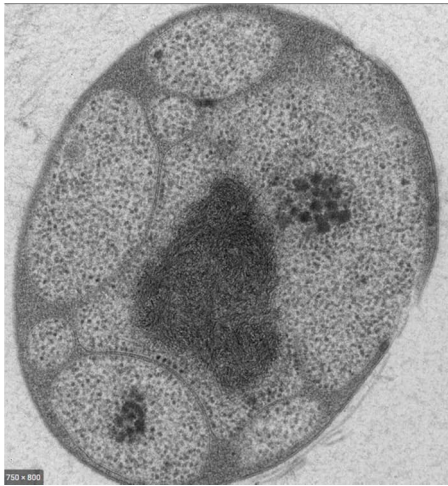
Autogeniczne pochodzenie jądra zakłada jego powstanie na skutek kompartmentacji materiału genetycznego. Endosymbiotyczne pochodzenie jądra zakłada jego ewolucję od wolno-żyjącego organizmu komórkowego lub wirusa, który wszedł w endosymbiozę.

➔ 2.1. Autogeniczne pochodzenie jądra komórkowego

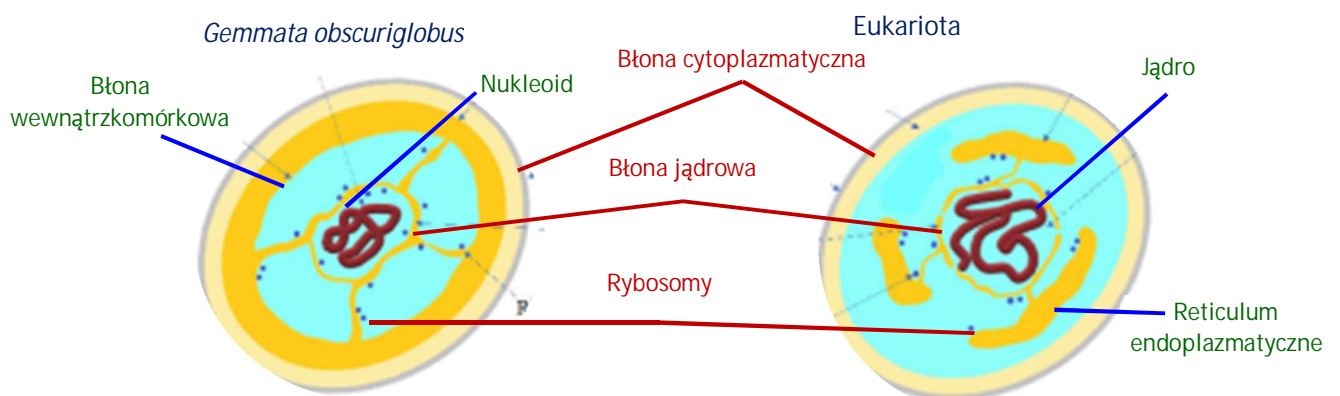
Autogeniczne pochodzenie jądra zakłada jego stopniowe powstanie u prokariotycznego przodka na skutek podziału przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Podział przestrzeni może zachodzić w wyniku szeregu procesów w odpowiedzi na czynniki selekcyjne.

- Chemiczna segregacja polega na samorzutnym rozdzieleniu poszczególnych procesów życiowych, przykładowo u bakterii beztlenowe utlenianie amoniaku na ogół jest oddzielone od innych procesów życiowych.
- Biologiczna segmentacja polega na tworzeniu przedziałów komórkowych przez duże wirusy jako ochrona przez mechanizmami obronnymi gospodarza.
- Unikanie – interakcja między mRNA i rybosomem prowadzi do translacji jednak może się zdarzyć, że mRNA zamiast z rybosomem reaguje z ncRNA, wówczas nie zachodzi translacja, selekcja może przeciwdziałać interakcji i prowadzić do powstania form, u których dochodzi do rozdziału przestrzennego między mRNA i ncRNA.
- Spontaniczne obłonienie poprzez zagięcie fałdów błony wokół materiału genetycznego.

Autogeniczne pochodzenie jądra jest poparte obserwacją bakterii, *Gemmata obscuriglobus* należącej do Planctomycetes. Bakteria ta ma zdolność do samorzutnego podziału przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Błony otaczające wewnątrzkomórkowe kompartymenty posiadają struktury przypominające pory jądrowe Eukariota. Ponadto wykazano istnienie wspólnych domen strukturalnych w białkach *G. obscuriglobus* oraz w białkach błonowych i białkach porów jądrowych Eukariota.



Rys. 2.1a. *Gemmata obscuriglobus*, gram ujemna, tlenowa bakteria. Charakteryzuje się specyficzną organizacją genomu oraz obecnością rozbudowanych błon wewnętrznych. Genom zbudowany jest z 9 Mbp, 8000 genów. Bakteria posiada strukturę błonową, która otacza DNA, zawiera pory i przypomina jądro. Częściowo rozdzielona jest transkrypcja od translacji. Bakteria jest przykładem organizmu, u którego dochodzi do samorzutnego podziału przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Proces ten może wskazywać jak mogło powstać jądro u Eukariota.



Rys. 2.1b. Porównanie komórki *Gemmata obscuriglobus* oraz komórki Eukariota (Duz i Dincer 2021).

➔ 2.2. Endosymbiotyczne pochodzenie jądra komórkowego

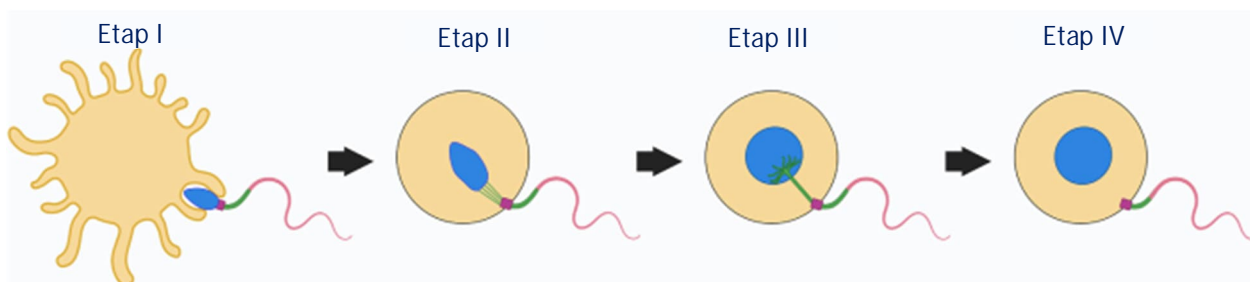
Endosymbiotyczny model pochodzenia jądra zakłada, że jądro powstało w wyniku fagocytozy. Było pierwszym endosymbiontem w komórkach, które dały początek linii Eukariota. Komórki zawierające jądro pojawiły się wcześnie w ewolucji. Ślady kopalne wskazują, że był to stosunkowo szybki proces, gdyż nie są znajdowane formy pośrednie. Konkurencyjna hipoteza, autogenicznego pochodzenia jądra zakłada sukcesywne remodelowanie błon przez szereg etapów pośrednich.

Pierwotnym gospodarzem był prawdopodobnie Archaea o stosunkowo dużych komórkach. Pierwotny Archaea otoczył za pomocą wypustek cytoplazmatycznych mniejszy organizm. Za hipotezą iż gospodarzem był Archaea przemawia podobieństwo elementów cytoszkieletu, który zawiera aktyny podobnie jak Eukariota, zdolność do tworzenia wypustek cytoplazmatycznych, przypadki symbiozy Archaea. Archaea zawierają białka związane z organizacją błon wewnętrznych

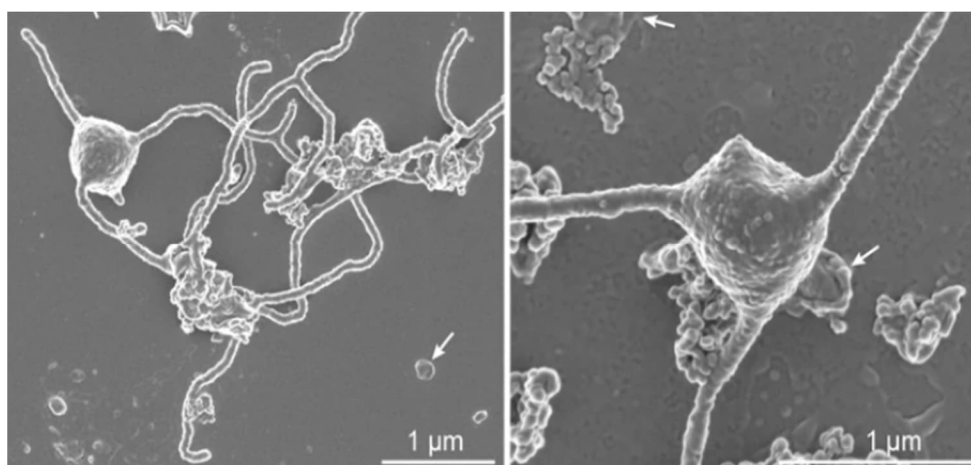
oraz sygnalizacją homologiczną do białek Eukariota. Znacznie więcej niejasności dotyczy endosymbionta. Przyjmuje się, że endosymbiont mógł należeć do Archaea, Eubacteria, a ostatnio coraz więcej danych wskazuje na wirusowe pochodzenie jądra.

2.2.1. Endosymbiotyczny Archaea

Potencjalny Archaea, który jako symbiont wniknął do komórki Archaea musiałby być od niej mniejszy, ruchliwy oraz posiadać flagellę, której podstawa jest zbudowana z tubuliny i centryn (fosfoproteiny występujące w centromerach Eukariota). Filamenty z podstawą zbudowaną z centryn i uczestniczące w zakotwiczeniu jądra komórkowego w ciątkach bazalnych występują obecnie u *Chlamydomonas reinhardtii* oraz u wielu Protista. Centryny występują w centrosomach, biorą udział w organizacji wrzeciona podziałowego. Ponadto uczestniczą w utrzymywaniu struktury genomu. Budowa genomu Archaea także wskazuje, że endosymbiont należał do Archaea. Materiał genetyczny Archaea jest zorganizowany wokół histonów, które są homologiczne do histonów Eukariota. Geny Archaea mają introny, a do transkrypcji wymagane są czynniki transkrypcyjne podobnie jak u Eukariota. U bakterii nie występują czynniki transkrypcyjne (Baluska i Lyons 2021). Przeciwno hipotezie, że endosymbiont należał do Archaea przemawia budowa cytoszkieletu u roślin nasiennych i niektórych grzybów.



Rys. 2.2.1a. Hipotetyczne etapy powstania jądra komórkowego w wyniku endosymbiozy Archaea-Archaea. Etap I: duża komórka z aktywnym cytoszkieletem tworzy wypustki cytoplazmatyczne otaczające mniejszą komórkę z flagellą, której podstawa zbudowana jest z tubuliny i centryn. Etap II: dochodzi do wewnątrzkomórkowej symbiozy obu organizmów. Etap III: połączenie obu organizmów, jądro zakotwiczone w ciątkach bazalnych przez włókna z centrynami w podstawie. Etap IV: typowa komórka Eukariota z flagellum zakotwiczonym w ciątkach bazalnych (Baluska i Lyons 2021).



Rys. 2.2.1b. *Prometheoarchaeum syntrophicum*, anaerobowy archeont uważany za potencjalnego gospodarza, który wszedł w endosymbiozę dającą początek Eukariota, zawiera wiele genów „eukariotycznych”. Uważany za pierwszego wspólnego przodka Eukariota.

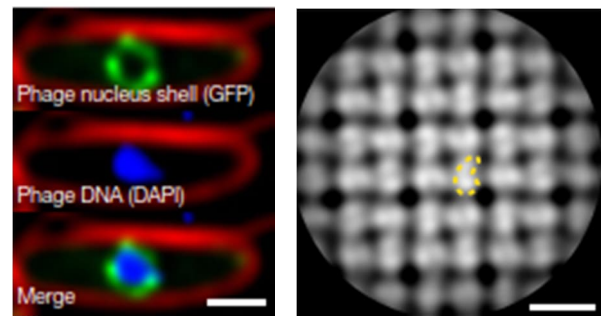
2.2.2. Wirusowe pochodzenie jądra komórkowego

Hipoteza wirusowego pochodzenia jądra zakłada, że jądro powstało w odpowiedzi na infekcję wirusową komórki Archaea. Wirusy pojawiły się wraz z ewolucją materiału genetycznego i wiele z nich istniało, gdy powstały pierwsze Eukariota.

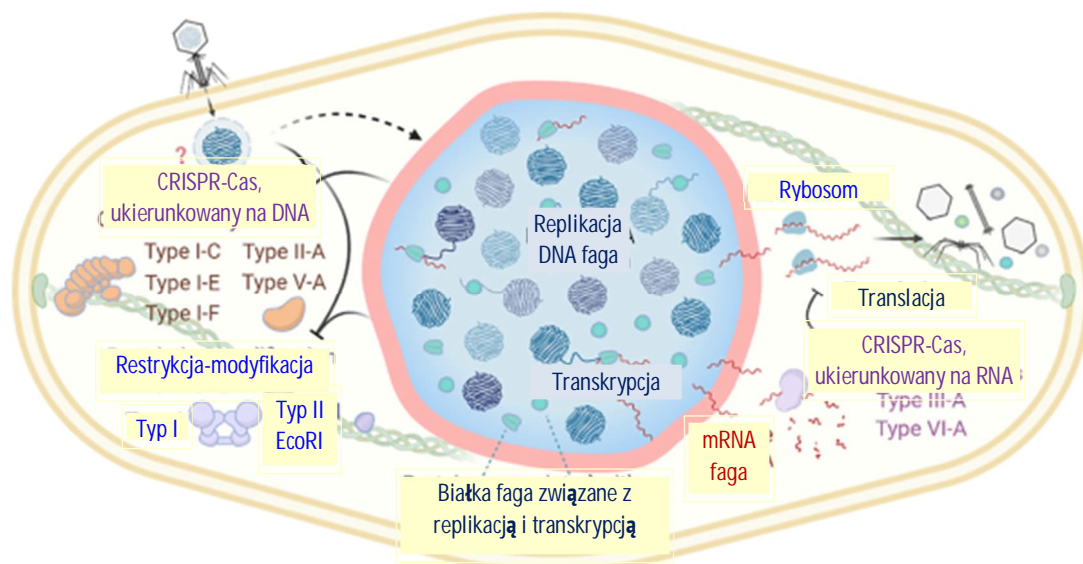
Wirusy infekujące niektóre bakterie mają zdolność tworzenia struktur jądropodobnych, co umożliwia rozdział transkrypcji od translacji. Przykładowo, infekcja *Pseudomonas chlororaphis* wirusem — jumbofagiem 201Φ2-1, prowadzi do kompartmentacji komórki bakterii. Po infekcji, jumbofag tworzy dynamiczny przedział białkowy, w którym odbywa się replikacja i

transkrypcja fagowego DNA, a następnie mRNA jest transportowany na zewnątrz przedziału białkowego, gdzie odbywa się translacja i składane są wiriony. Otoczka białkowa stanowi pojedynczą warstwę białek ułożonych w powtarzalne tetramery (Rys. 2.2.2a).

Tworzenie jądropodobnych struktur występuje także u *P. aeruginosa* po infekcji fagami ΦPA3 i ΦKZ. We wszystkich przypadkach, infekcja prowadzi do ekspresji wirusowego genu *PhuZ*, kodującego homolog tubuliny. Ekspresja tego genu umożliwia tworzenie wrzeciona, które pozycjonuje strukturę jądropodobną, podobnie do funkcji tubuliny u Eukariota (Hendrickson i Poole 2018).



Rys. 2.2.2a. Lewa: Jądropodobne struktury tworzone przez jumbowirusy: otoczka wybarwiona białkiem GFP, DNA wybarwione DAPI, połączony obraz. Prawa: budowa otoczki białkowej jądropodobnych struktur tworzonych przez jumbowirusy po infekcji bakterii (Laughlin et al. 2022).

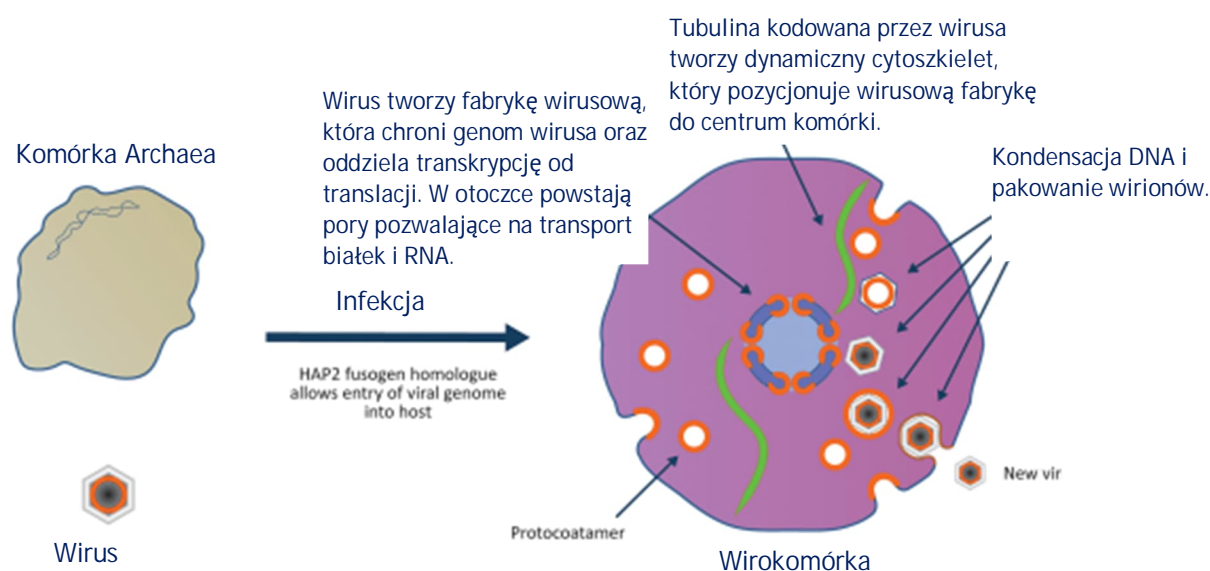


Rys. 2.2.2b. Tworzenie jądropodobnych struktur w komórkach bakteryjnych na skutek infekcji przez jumbofagi. Jądropodobne struktury umożliwiają ochronę przez mechanizmami obronnymi gospodarza (enzymy restrykcyjne, CRISPR) oraz umożliwiają rozdział transkrypcji od translacji. Otoczka jądropodobnych struktur zbudowana jest z białek (Guan i Bondy-Denomy 2021).

Dowodów wskazujących na wirusowe pochodzenie jądra komórkowego dostarczyły wirusy olbrzymie. Poxwirusy mają zdolność wytwarzania mRNA z „czapeczką” na końcu 5'. Poxwirusy stanowią starą ewolucyjnie linię należącą do wirusów NCLDV (Nucleocytoplasmic Large DNA Viruses), której przedstawiciele zawierają 30-50 genów związanych z tworzeniem czapeczki m⁷G na końcu mRNA. Wirusy te posiadają liniowe chromosomy oraz są zdolne do rozdziału transkrypcji i translacji. Ponadto, istnieje podobieństwo między polimerazą DNA Eukariota (polimeraza α) a polimerazami DNA poxwirusów. Transfer genów kodujących polimerazę RNA z wirusów NCLDV do protoeukariotycznej komórki doprowadził do ewolucji trzech typów polimerazy RNA. Z kolei pandowirusy posiadają geny z intronami. Niedawno odkryty medusawirus posiada pełen zestaw genów kodujących histony H1, H2A, H2B, H3 i H4. Większość wirusów należących do NCLDV tworzy wiropłazmy (fabryki wirusowe), które umożliwiają unikanie mechanizmów obronnych gospodarza.

Potwierdzeniem hipotezy o związku poxwirusów z jądrem komórkowym jest tworzenie struktur przypominających jądra (fabryki wirusowe) przez *Acanthamoeba* zainfekowane mimivirusem. DNA replikuje wewnątrz jądra oraz wewnątrz fabryki wirusowej, która jest otoczona błoną. Rybosomy są usuwane z fabryki wirusowej.

Hipoteza wirusowego pochodzenia jądra zakłada, że linia wirusów typu NCLDV infekująca Archaea dała początek współczesnym wirusom NCLDV oraz stanowiła linię wyjściową dla jądra komórkowego. Zdolność do rozdziału transkrypcji od translacji, tworzenie czapeczki mRNA oraz synteza białka eIF4E wiążącego się z czapeczką mRNA, współczesne Eukariota odziedziczyły od wirusów NCLDV. Nie znaleziono zdolności wytwarzania czapeczki mRNA u Prokariota, co może wykluczać pochodzenie jądra od symbiotycznego Archaea. Wydaje się, że wirusy wykształciły zdolność wytwarzania fabryk wirusowych aby unikać systemu obronnego Prokariota. Te wirusowe fabryki mogły dać początek jądra komórkowemu. Z kolei cytoplazma pochodzi od Archaea typu *Prometheoarchaeum syntrophicum*.



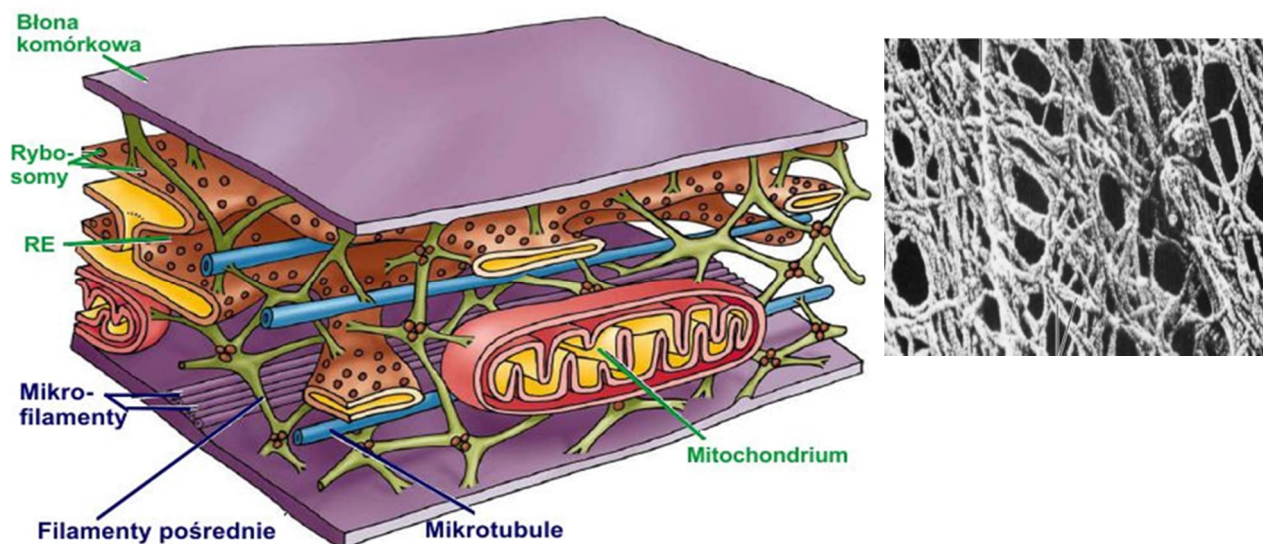
Rys. 2.2.2c. Wirusowa kolonizacja gospodarza Archaea i powstanie jądra komórkowego (Bell 2022).



2.2.3. Na podstawie materiałów internetowych proszę znaleźć informacje na temat wirusów olbrzymich (giant viruses).

3. Cytoszkielecik

Cytoszkielecik utrzymuje ksztacik komorki, umożliwia utrzymanie organelli, zapewnia ruch oraz wpływa na aktywność komorki. Cytoszkielecik stanowi sieć włókien, które przechodzą przez cytoplazmę tworząc swoistą siatkę. Białka budujące cytoszkielecik są konserwatywne. W skład cytoszkieleciku wchodzi trzy rodzaje włókien, mikrotubule, filamety pośrednie oraz filamety aktywne.



Rys. 3. Schematyczne przedstawienie cytoszkieleciku.

➔ 3.1. Elementy cytoszkieleciku

3.1.1. Mikrotubule

Mikrotubule: najgrubsze włókna cytoszkielecikowe o zewnętrznej średnicy 25 nm, determinują ksztacik i ruch komorki w trakcie mitozy. W trakcie interfazy mikrotubule są zakotwiczone blisko jądra, w centrum organizacji mikrotubul (MTOC) skąd rozciągają się do wszystkich części komorki. Odgrywają rolę w transporcie organelli i rybonukleoprotein. Ruch mikrotubul odpowiada za charakterystyczne rozmieszczenie reticulum endoplazmatycznego, apartu Golgiego i innych organelli. Mikrotubule są także istotne w ruchu flagelli, wówczas współpracują z białkami motorycznymi jak kinezy i dyneiny. W trakcie mitozy kinezy i dyneiny działają na mikrotubule, co przyczynia się do ruchu chromosomów. Mikrotubule charakteryzują się dużą zdolnością do zginania.

3.1.2. Filamety pośrednie

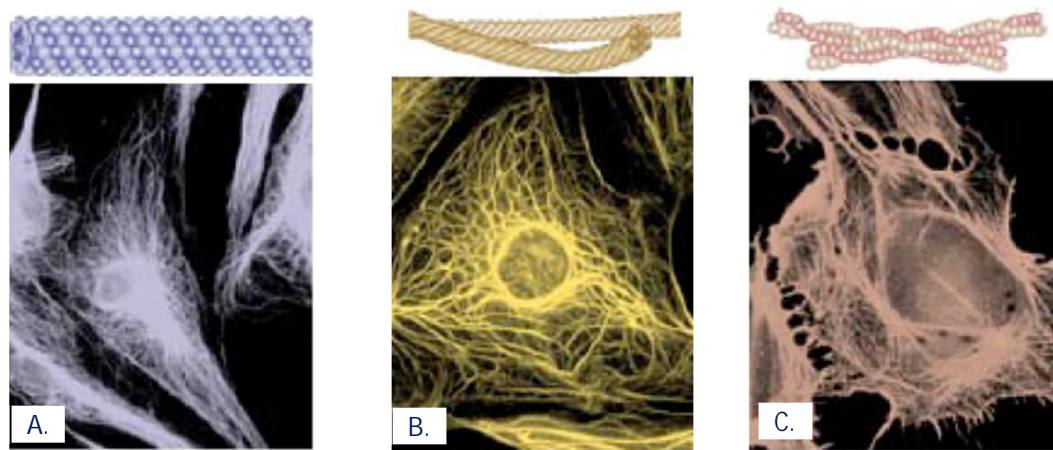
Filamety pośrednie o średnicy 10 nm stanowią szkielet komorki, nie uczestniczą w ruchu. Stanowią zróżnicowaną grupę. Mają tendencję do występowania w pobliżu błony jądrowej. Dlatego uważa się, że uczestniczą w zakotwiczeniu jądra komórkowego.

Zidentyfikowano około 50 genów, które kodują elementy filamentów pośrednich. Na podstawie podobieństwa sekwencji aminokwasowej można je pogrupować w sześć grup.

Filamety pośrednie stanowią 1% wszystkich białek komorki, ale w keratynocytach nabłonkowych oraz neuronach mogą stanowić nawet 85% białek komórkowych.

3.1.3. Filamenty aktynowe (mikrofilamenty)

Filamenty aktynowe (mikrofilamenty) o średnicy 7 nm odpowiadają za ruch i wiążą się z miozyną. Występują one w peryferyjnych częściach komórki, pod błoną komórkową tworząc wiązki nazywane włóknami stresowymi. Polimeryzacja aktyny jest czynnikiem inicjującym przemieszczanie się komórek przy pomocy filopodiów.



Rys. 3.1. Mikrotubule (A), filamety pośrednie (B), filamety aktynowe (C) w fibroblastach.



3.2. Znaczenie cytoszkieletu w powstawaniu chorób neurodegeneracyjnych

Cytoszkielet jest kluczową strukturą utrzymującą funkcję komórek nerwowych. Neurony różnią się od innych komórek obecnością ciała komórki, dendrytów, aksonu i zakończeń aksonu. Cytoszkielet pełni inną funkcję w każdej z tych struktur. Mikrotubule i filamenty aktynowe charakteryzują się dużą dynamiką w komórkach nerwowych. W dojrzałych aksonach filamenty aktynowe tworzą stabilne struktury typu pierścieni, ale również struktury dynamiczne. W aksonach rozwijających się lub regenerujących się, filamenty aktynowe tworzą filopodia. Z kolei mikrotubule umożliwiają transport aktywnych mitochondriów i mRNA

Zmiany w ekspresji genów kodujących białka cytoszkieletu, zmiana dynamiki i stabilności cytoszkieletu w komórkach nerwowych prowadzi do schorzeń neurodegeneracyjnych. Mutacje w genach kodujących aktyny prowadzą do destabilizacji filamentów aktynowych, zaburzenia formowania dendrytów. Mutacje w genach tubulin blokują transport aksonalny. Przykładowo, mutacja w genie *TUBB2A* prowadzi do postępującej ataksji i neuropatii. Z kolei mutacja w genie *TUBB4B* prowadzi do wrodzonej ślepoty Lebera polegającej na stopniowej utracie wzroku na skutek utraty zdolności reagowania na światło przez fotoreceptory oka. Mutacja w genie *TUBA1A* jest najczęstszą przyczyną bezzakrętowości, wrodzonej wady związanej z nieprawidłową migracją neuroblastów.

4. Literatura

- Baluska F, Lyons S. 2021. Archaeal origin of Eukaryotic cell and nucleus. *BioSystems* 203: 104375. Dostęp: <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2021.104375>
- Bell PJ. 2022. Eukaryogenesis: the rise of an emergent superorganism. *Front Microbiol* 13:858064. doi: 10.3389/fmicb.2022.858064
- Brown CA, Scharner J, Felice K, Meriggioli MN, Tarnopolsky M, Bower M, Zammit PS, Mendell JR, Ellis JA. 2011. Novel and recurrent EMD mutations in patients with Emery–Dreifuss muscular dystrophy, identify exon 2 as a mutation hot spot. *Journal of Human Genetics* 56: 589-594. doi:10.1038/jhg.2011.65
- Chen B, Co C, Ho C-C. 2015. Cell shape dependent regulation of nuclear morphology. *Biomaterials* 67: 129-136. doi:10.1016/j.biomaterials.2015.07.017
- Dubois M-L, Boisvert F-M. 2016. The nucleolus: structure and function. In: Bazett-Jones DP, Delleire G (eds.), *The functional nucleus*. pp. 29-49. DOI 10.1007/978-3-319-38882-3_2
- Duz NB, Dincer PR. 2021. A review on the theories on the origin of the nucleus in modern Eukariotes. *Gene Technology* 10: 1000175.
- Guan J, Bondy-Denomy J. 2021. Intracellular organization by jumbo bacteriophages. *J Bacteriol* 203: e00362-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00362-20>.
- Hendrickson HL, Poole AM. 2018. Manifold routes to nucleus. *Front Microbiol* 9: 2604. doi: 10.3389/fmicb.2018.02604
- Janin A, Bauer D, Ratti F, Millat G, Méjat A. 2017. Nuclear envelopathies: a complex LINC between nuclear envelope and pathology. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 12:147. DOI 10.1186/s13023-017-0698-x
- Laughlin TG, Deep A, Prichard AM, Seitz C, Gu Y, Enustun E, Suslov S, Khanna K, Birkholz EA, Armbruster E et al. 2022. Architecture and self-assembly of the jumbo bacteriophage nuclear shell. *Nature* 608: 429. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05013-4>
- Lo SJ, Lee CC, Lai H-J. 2006. The nucleolus: reviewing oldies to have new understandings. *Cell Research* 16: 530-538. doi:10.1038/sj.cr.7310070
- Skinner BM, Johnson EEP. Nuclear morphologies: their diversity and functional relevance. *Chromosoma* 126: 195-212. DOI 10.1007/s00412-016-0614-5.
- Solovei I, Wang AS, Thanisch K, Schmidt CS, Krebs S, Zwerger M, Cohen TV, Devys D, Foisner R, Peichl L et al. 2013. LBR and Lamin A/C sequentially tether peripheral heterochromatin and inversely regulate differentiation. *Cell* 152: 574-596. Dostęp: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.009>
- Zidovska A. 2020. The rich inner life of the cell nucleus: dynamic organization, active flows, and emergent rheology. *Biophysical Review* 12: 1093-1106. Dostęp: <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00761-x>

Odpowiedzi

1. Budowa jądra komórkowego

1.2. Struktura przestrzenna jądra komórkowego

1.2.2. Na podstawie informacji w Internecie proszę scharakteryzować:

A. ciałka Cajala

- Średnica 0,1-2 μm , zawierają krótkie cząsteczki RNA, w tym snRNA, który uczestniczy w wycinaniu intronów, snoRNA, który uczestniczy w biogenezie rRNA.
- Ciałka Cajala są zaangażowane w składanie funkcjonalnego spliceosomu.
- W ciałkach zlokalizowane jest białko koilina, które odgrywa rolę w zapłodnieniu i embriogenezie. Koilina łączy się z snRNA prowadząc do połączenia sekwencji genów snRNA z ciałkami Cajala.
- Występują w jądrach komórek aktywnych metabolicznie, a także proliferujących. Są charakterystyczne dla organizmów wyższych.
- Na terenie ciałek Cajala zlokalizowane są także transkrypty dla podjednostek polimerazy II.

B. ciałka PML

- Średnica 0,3-1 μm , zaangażowane w wiele procesów i szlaków komórkowych, w tym w naprawę DNA, odpowiedź anty-wirusową i odpowiedź na stres.
- Indukowane są przez stres oksydacyjny i razem z ligazą ubikwityny promują degradację białek o błędnej strukturze II i III-rzędowej.
- Zawierają enzymy związane z obróbką po-translacyjną białek.
- Zawierają kinazę ATR istotną dla utrzymania telomerów oraz alternatywnego ich wydłużania.
- Ograniczają infekcję wirusową przez tworzenie otoczki wokół wirionów.

C. jądrowe ciałka stresowe

- Średnica 0,3-3 μm , unikalne struktury jądrowe powstające w odpowiedzi na stres cieplny.
- Powstają w wyniku interakcji między czynnikiem transkrypcyjnym szoku termicznego (HSF1) oraz perycentrycznymi powtórzeniami tandemowymi.
- Uczestniczą w szybkim, globalnym przegrupowaniu chromatyny oraz zmianie ekspresji genów.
- Rzadko wykrywa się je w komórkach, które nie zostały poddane stresowi.

1.4. Nukleopatie

1.4.2. Na podstawie informacji zawartych w bazie OMIM (<https://www.omim.org/>) proszę podać jaką funkcję pełnią następujące geny i jakie efekty wywołują mutacje w tych genach: *NESP4*, *LMNA*

- A. Proszę podać nazwę kodowanego białka.
- B. Proszę podać lokalizację genu.
- C. Proszę podać funkcję genu.
- D. Jakie efekty wywołują mutacje w tym genie, jaki jest sposób dziedziczenia?

● **NESP4 (NESPRIN4, SYNE4), Nuclear Envelope Spectrin Repeat Protein 4**

- A. Białko otoczki jądrowej z powtórzeniami spektrynowymi.
- B. Gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 19.
- C. Białko zlokalizowane w zewnętrznej błonie jądrowej, jest częścią kompleksu LINC, uczestniczy w pozycjonowaniu organelli komórkowych, w tym jądra, jest to białko wiążące kinezyne, które uczestniczy w pozycjonowaniu jądra przy pomocy mikrotubul. Nadekspresja powoduje oddzielenie jądra od centrosomu oraz aparatu Golgiego od jądra.
- D. Mutacja obejmująca delecję 2 bp w egzonie 2 prowadzi do utraty słuchu. Dziedziczenie autosomalne recesywne, częstość allele 0,013.

● **LMNA**

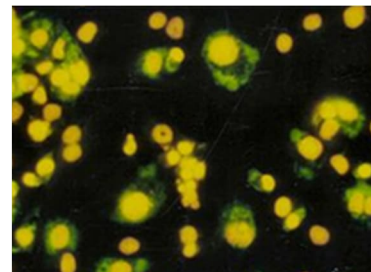
- A. Białko: Lamina A i C.
- B. Gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 1, dziedziczenie autosomalne recesywne lub dominujące.
- C. Laminy są białkami strukturalnymi blaszki jądrowej, która determinuje kształt i rozmiar jądra. Występuje lamina A i C. Są to białka typu filamentów pośrednich. Gen składa się z 24 kbp i 12 egzonów. Alternatywny splicing egzonu 10 prowadzi do powstania dwóch form, prelaminy A i C. Prelamina A zawiera zmodyfikowaną cysteinę w pozycji 661 (prenylacja), która jest przekształcana w dojrzałą laminę za pomocą ZMPSTE24. Inhibitory proteaz stosowane w terapii HIV blokują ZMPSTE24 i prowadzą do gromadzenia się prelaminy A, co powoduje uboczne efekty terapii.
- D. Mutacje prowadzą do licznych chorób. Około 10 różnych syndromów klinicznych jest związanych z genem LMNA, wiele z nich ma nakładające się efekty, które klasyfikuje się w 4 grupy: dystrofię mięśniową i choroby mięśnia sercowego, lipodystrofię, neuropatię i przedwczesne starzenie. Mutacje te dziedziczą się autosomalnie recesywnie lub dominująco.

2. Pochodzenie jądra komórkowego

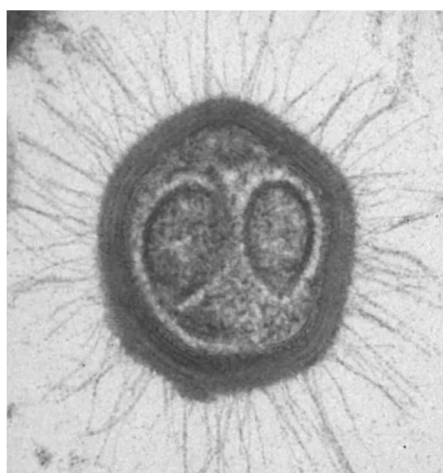
2.2. Endosymbiotyczne pochodzenie jądra komórkowego

2.2.3. Na podstawie materiałów internetowych proszę znaleźć informacje na temat wirusów olbrzymich (giant viruses).

- „Giant viruses”, giruses, wirusy olbrzymie to wirusy z bardzo dużymi genomami, zawierają geny, które nie są znajdowane u innych form żywych. Genom wirusów może mieć >200 kb, największe wirusy mają genomy 2,5 Mbp (Pandoraviridae). Pierwszego wirusa (Acanthamoeba polyphaga mimivirus) wyizolowano w 2003 r. Początkowo uważano go za bakterię.
- Mają duży kapsyd (200-400 nm) otoczony warstwą białek fibrylarnych.
- Materiałem genetycznym jest dwuniciowy DNA, który zawiera 300–1000 genów.
- Replikacja odbywa się w cytoplazmie gospodarza w obrębie wiropłazmy (fabryka wirusowa). Wiropłazma to ciątka w komórce stanowiące miejsce replikacji i składania wirusa, zlokalizowane są w przestrzeni perynuklearnej lub w cytoplazmie. Wiropłazma chroni przed mechanizmami obronnymi gospodarza. Uważa się, że jest efektem koewolucji gospodarza i wirusa. Wiropłazma może być infekowana przez wirofagowe wirusy satelitarne, które hamują replikację wirusów tworzących wiropłazmę.
- Wirusy olbrzymie wyizolowane z ekosystemów oceanicznych, lądowych (np. Amazonka, ściółka leśna) oraz z człowieka zawierają gen cytochromu P450 (oksygenaza, zawiera hem).
- Genomy wirusów olbrzymich zawierają geny niezbędne do translacji jak syntetazy aminocylo tRNA. Może to świadczyć, iż wyewoluowały one od komórkowego przodka poprzez redukcję genomu.



Rys. 2.2.3a. Wiropłazma zaznaczona na zielono.



Rys. 2.2.3b. Mimivirus



Rys. 2.2.3c. Pandovirus