

Ćwiczenie 02

Wielokomórkowość i etapy jej powstawania Transpozony HERV.

Kornelia Polok

1. Przodkowie organizmów wielokomórkowych

1.1. Pytania i zagadnienia

- 1.1.1. Proszę wymienić mechanizmy prowadzące do wielokomórkowości?
- 1.1.2. Jakie znaczenie mają Choanoflagellatae w zrozumieniu ewolucji wielokomórkowości?
- 1.1.3. Jakie procesy muszą zajść aby powstał organizm wielokomórkowy?.

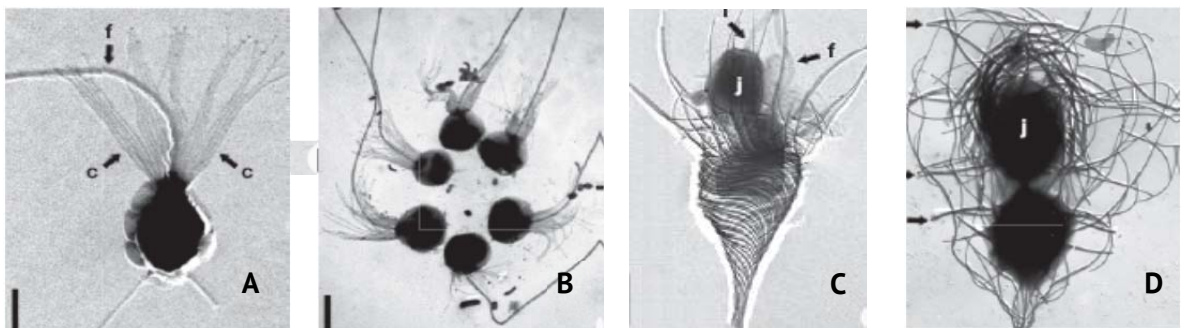
1.2. Wiciowce kołnierzykowe – siostrzana grupa Metazoa



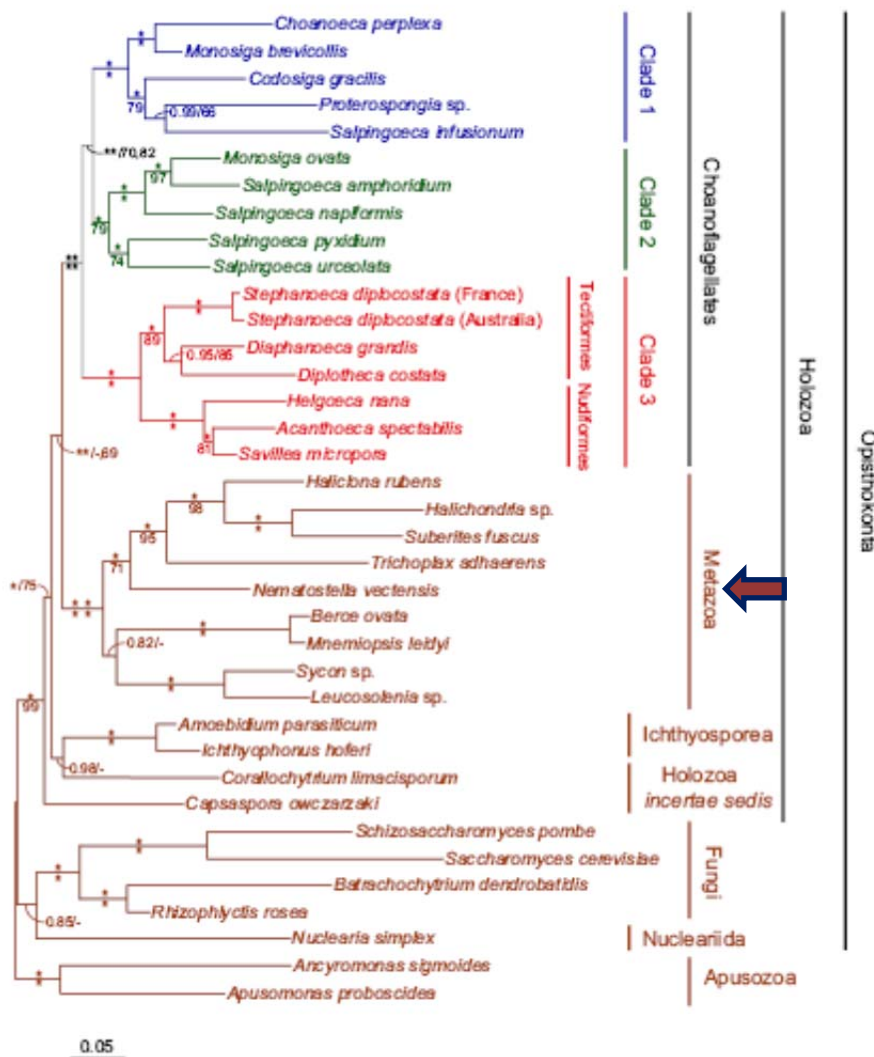
- 1.2.1. Proszę podać systematykę wiciowców kołnierzowatych z uwzględnieniem nazw łacińskich. **(1 punkt)**
- 1.2.2. Czy u Choanoflagellatae występuje lub mogło występować rozmnażanie płciowe? Proszę uzasadnić odpowiedź. **(2 punkty)**

Czas wykonania 15 min.

1.2.3. Filogeneza Choanoflagellatae (Rys. 1, 2)



Rys. 1. A. *Monosiga ovata*, c: kołnierz, f: witka. B. *Salpingoeca amphoridium*, pterosporgia tworzące kolonie. C. *Acanthoteca spectabilis*, krótko po podziale, j: nowa komórka. D. *Stephanoeca diplocostata*, dwie połączone komórki potomne.



Wiciowce kołnierzykowe stanowią linię siostrzaną dla Metazoa, co oznacza, że mają wspólnego przodka z Metazoa. Większość gatunków Choanoflagellatae występuje w środowisku morskim. Przodek również był organizmem żyjącym w morzach. Dał on początek zarówno wiciowcom kołnierzykowym jak i wielokomórkowym Metazoa.

Rys. 2. Powiązania filogenetyczne Choanoflagellatae oraz Metazoa.

1.3. Co wspólnego mają wiciowce kołnierzykowe z człowiekiem?



1.3.1. Czym są i jaką funkcję pełnią pęcherzyki synaptyczne? (1 punkt)

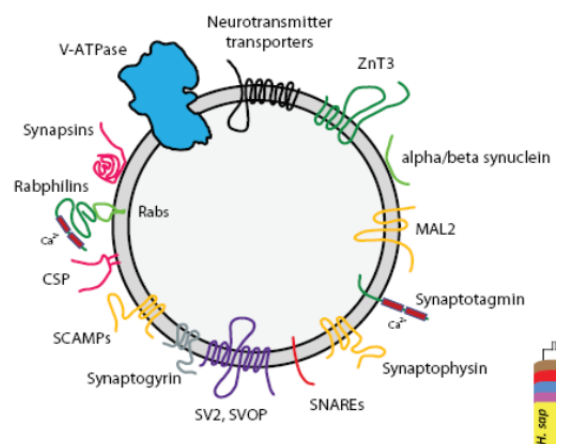
1.3.2. Jaką funkcję pełnią białka SNARE? (2 punkty)

Czas wykonania: 15 min.



1.3.3. Budowa pęcherzyków synaptycznych Metazoa (Rys. 3).

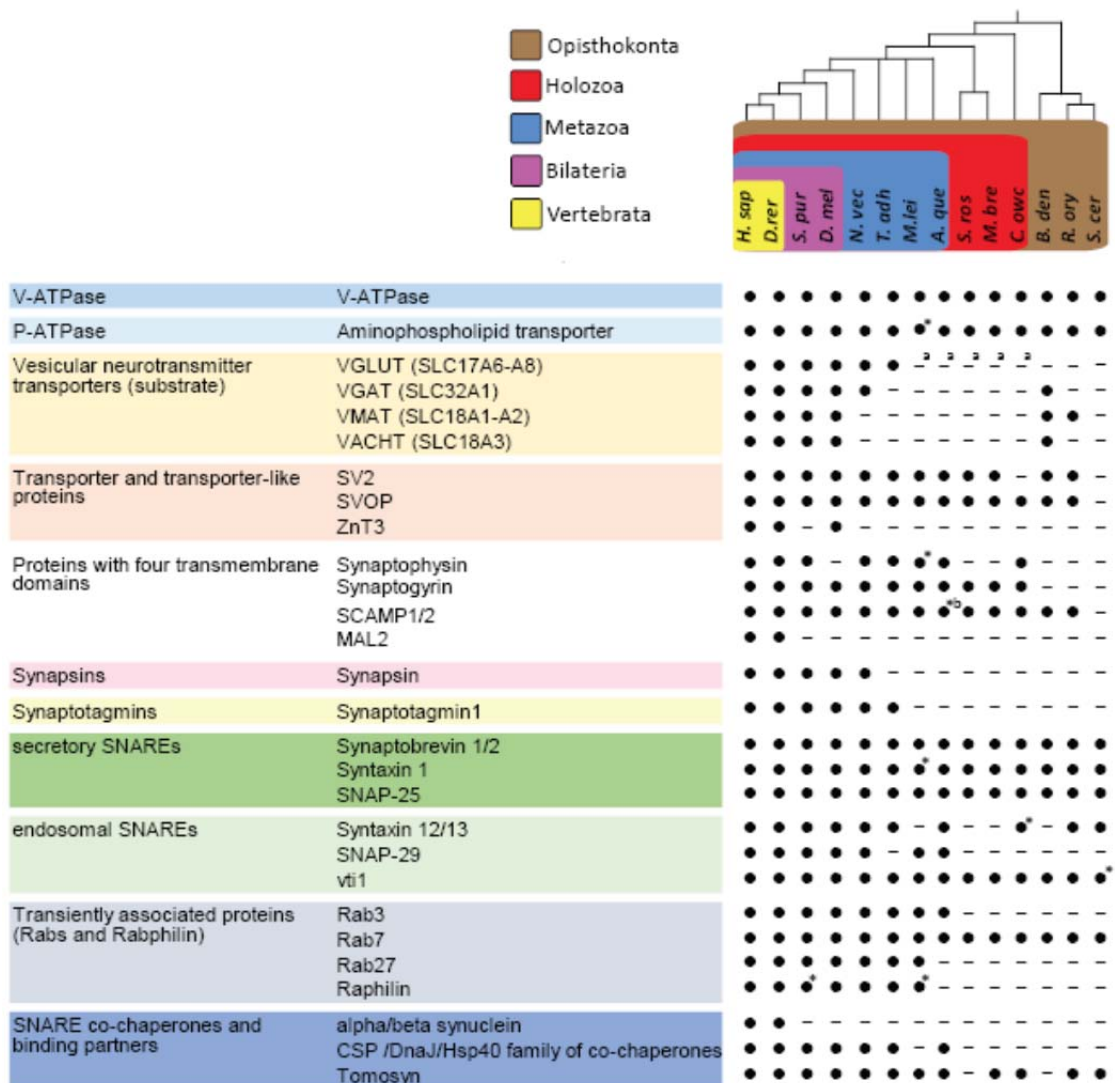
Białka błonowe pęcherzyków synaptycznych obejmują:



Rys. 3. Pęcherzyk synaptonemalny Metazoa.

- V-ATPazy będące transporterami neuroprzekaźników;
- transportery;
- białka z czterema transmembranowymi domenami;
- synapsyny; synaptogeryny, synaptofezyny;
- synaptotagminy;
- białka SNARE o funkcji sekrecyjnej.

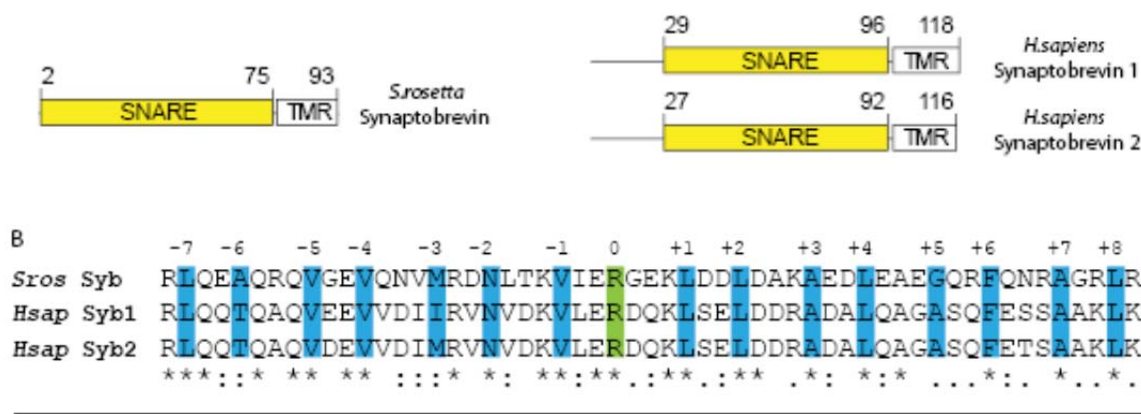
1.3.4. Białka błony pęcherzyków synaptycznych wykazują duże podobieństwo u różnych grup Metazoa oraz Choanoflagellatae. Białka te są homologiczne, tzn. wywodzą się od wspólnego przodka.



Rys. 4. Homologia białek pęcherzyków synaptycznych u Opisthokonta (inne gatunki), Opisthokonta, Holozoa (Choanoflagellatae: *Salpingoeca rosetta*, *Monosiga brevis*, *Capsaspora owczarzaki*), Opisthokonta, Holozoa, Metazoa, Vertebrata (*Homo sapiens*, *Danio rerio*)

1.3.5. U Choanoflagellatae zidentyfikowano pęcherzyki zbliżone do pęcherzyków synaptycznych Metazoa. Ich funkcja nie jest znana. Uważa się, że pęcherzyki w części bazalnej zawierają lektynę niezbędną do tworzenia kolonii. Z kolei pęcherzyki w części apikalnej, w pobliżu pęcherza najprawdopodobniej zawierają enzymy niezbędne do trawienia zewnętrznego. Dodatkowo w pęcherzykach apikalnych występuje kwas sjałowy, asparaginowy lub glutaminowy, które są niezbędne w komunikacji międzykomórkowej.

W genomie Choanoflagellatae zlokalizowano jedno locus synaptobrewiny, białka wchodzącego w skład rodziny SNARE. Synaptobrewina Choanoflagellatae zawiera konserwatywny region zbudowany z silnie zwiniętych helis α (coiled-coil region) oraz C-końcową domenę transmembranową. Białko to wykazuje 38% podobieństwa do ludzkiej synaptobrewiny 1 oraz 36% podobieństwa do ludzkiej synaptobrewiny 2. Synaptobrewina 1 i 2 to paralogi, czyli geny które powstały w drodze duplikacji.



Rys. 5. Struktura domenowa synaptobrewiny Choanoflagellatae (po lewej) oraz synaptobrewiny 1 i 2 człowieka (po prawej). Poniżej przedstawiono uliniowanie aminokwasów. Na niebiesko zaznaczono aminokwasy niezbędne w powstawaniu kompleksu SNARE. Większość pozycji jest konserwatywna, co potwierdza wspólne pochodzenie.

2. Transpozony HERV w genomie człowieka

2.1. Czym są i skąd się wzięły sekwencje HERV?

2.1.1. Na podstawie danych zawartych w źródłach internetowych proszę scharakteryzować transpozony HERV.



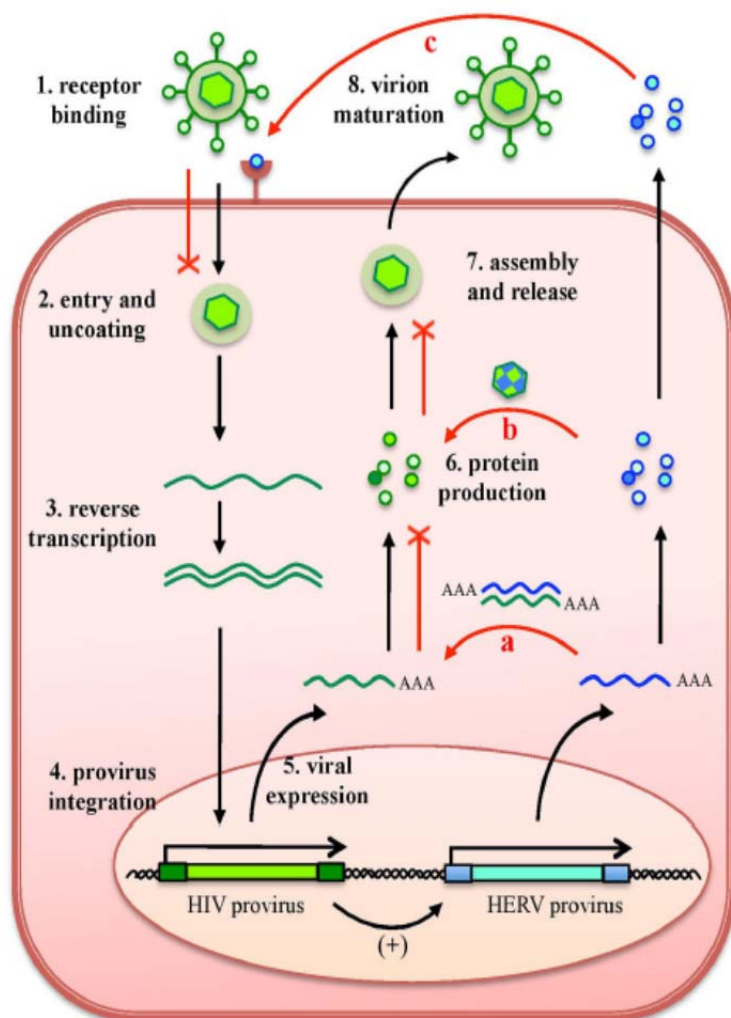
2.1.2. Elementy ruchome odgrywają istotną rolę w ewolucji, w tym w ewolucji człowieka. Miejsca insercji transpozonów są konserwatywne u wielu grup roślin i zwierząt. U ssaków wykazano insercję transpozonów w pobliżu genów regulujących procesy komórkowe. Tym samym transpozony są głównym miejscem przyłączania się czynników transkrypcyjnych wpływając na regulację ekspresji genów. Transpozony HERV wpływają na ekspresję genów, ale także same wykazują aktywność transkrypcyjną prowadząc do wytwarzania transkryptów RNA pochodzących z regionów kodujących i niekodujących.

2.1.3. Przykładem roli transpozonów HERV w rozwoju kręgowców, w tym człowieka jest **syncytyna**, która jest białkiem odpowiedzialnym za fuzję komórek. W genomie ludzkim występują dwa geny syncytyny, które znajdują się w obrębie transpozonów HERV:

- gen dla syncytyny 1 – HERV-W na chromosomie 7;
- gen dla syncytyny 2 – HERV-FRD na chromosomie 6.

Geny syncytyny wykazują homologię z genami *env* wirusów takich jak Ebola i HIV. Syncytyna 1 jest niezbędna w rozwoju łożyska i utrzymaniu homeostazy w trakcie rozwoju płodu. i niezbędnym do rozwoju łożyska. Mutacje w genie syncytyny 1 prowadzą do zaburzeń neurologicznych. Syncytyna 2 jest niezbędna dla powstania matczynej tolerancji immunologicznej na zagnieżdżenie się płodu.

2.1.4. Elementy HERV odgrywają także istotną rolę w regulacji ekspresji genów, w tym mogą chronić przez egzogenne infekcjami, np. wirusem HIV (rys. 6).



Rys. 6. Rola transpozonów HERV w reakcji obronnej na skutek infekcji wirusem HIV (Grandi i Tramontano, 2018).

Mechanizmy reakcji mogą być różnorodne, jednakże najpowszechniejszym typem ochrony jest ekspresja HERV po wniknięciu wirusa HIV. Prowadzi to do wytworzenia na matrycy HERV mRNA, które jest komplementarne do sekwencji mRNA wirusa HIV. W efekcie powstaje heterodupleks mRNA HERV – mRNA HIV. Jest on wykrywany przez receptory komórkowej odporności wrodzonej, co prowadzi do unieczynnienia wirusa. Innym mechanizmem jest komplementacja białek HERV z białkami wirusa HIV, co uniemożliwia tworzenie kapsydu. Wreszcie białka HERV łączą się z receptorami komórkowymi rozpoznawanymi przez wirus HIV, tym samym uniemożliwiając przyłączenie się wirusa HIV do receptorów komórkowych. W efekcie wirus HIV nie ma możliwości wniknięcia do komórki.

Zaburzenia tego procesu mogą prowadzić do wniknięcia HIV do komórek i rozwoju choroby.

1. Przodkowie organizmów wielokomórkowych

1.1. Pytania i zagadnienia

1.2. Wiciowce kołnierzykowe – siostrzana grupa Metazoa



1.2.1. Proszę podać systematykę wiciowców kołnierzowatych z uwzględnieniem nazw łacińskich.

• Domena	Jądrowe	Eucaryota
• Supergrupa		Opisthokonta
• Supergrupa		Holozoa
• Kład/Klasa	Wiciowce kołnierzykowe	Choanoflagellata

1.2.2. Czy u Choanoflagellata występuje lub mogło występować rozmnażanie płciowe? Proszę uzasadnić odpowiedź.

- Choanoflagellata rozmnażają się wegetatywnie przez podział. Jednakże najnowsze dane wskazują, że zmiany środowiskowe, w tym obecność niektórych bakterii może zainicjować rozmnażanie płciowe.
- Poziom ploidalności nie jest znany jednakże obecność sekwencji retrotranspozonowych oraz genów zaangażowanych w mejozę sugerują, że organizmy te wykorzystywały rozmnażanie płciowe w cyklu życiowym.
- Przykłady rozmnażania płciowego stwierdzono u *Saplingoeca rosetta*, natomiast geny „mejotyczne” występują u *Monosiga brevicolis* i *Monosiga ovata*.

1.3. Co wspólnego mają wiciowce kołnierzykowe z człowiekiem?

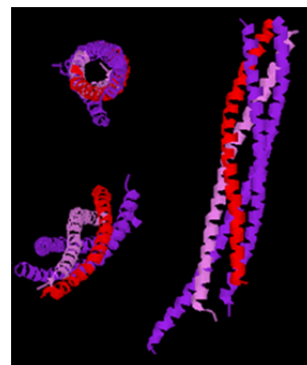


1.3.1. Czym są i jaką funkcję pełnią pęcherzyki synaptyczne?

Pęcherzyki synaptyczne: znajdują się w komórkach presynaptycznych, blisko błony synaptycznej. Zawierają one neuroprzekaźniki. W trakcie depolaryzacji błony dochodzi do fuzji błony pęcherzyka z boną presynaptyczną i uwolnienie zawartości pęcherzyka do szczeliny synaptycznej.

1.3.2. Jaką funkcję pełnią białka SNARE?

Białka SNARE: rodzina białek transbłonowych występująca między innymi u ssaków i drożdży. Pośredniczy w fuzji błony pęcherzyków egzocytarnych z docelową boną komórkową. Tym samym białka SNARE uczestniczą w egzocytozie, także w przypadku pęcherzyków synaptycznych. Neuronalne białka SNARE są receptorami dla neurotoksyn, np. botuliny. Dlatego botulina prowadzi do zaburzeń neurologicznych. Rdzeń białek SNARE zbudowany jest z kompleksu czterech helis α : po jednej helisie synaptobrewiny (czerwone), syntaksyny (różowe) oraz dwie helisy SNAP-25 (fioletowe).



2. Transpozony HERV w genomie człowieka, odpowiedzi

2.1. Czym są i skąd się wzięły sekwencje HERV?

2.1.1. Na podstawie danych zawartych w źródłach internetowych proszę scharakteryzować transpozony HERV.

HERV: ang. Human Endogenous Retroviruses, ruchome elementy genetyczne klasy I, retrotranspozony, które przemieszczają się za pomocą mechanizmu „copy and past” (kopiuj i wklej). Stanowią one około 8% ludzkiego genomu. Uważa się, że ich inwazja rozpoczęła się 100 mln. lat temu poprzez integrację retrowirusów, które obecnie wyginęły. Odgrywają one ważną rolę w regulacji ekspresji genów. Niektóre prace wskazują, że retrowirusy powstały z retrotranspozonów, w tym HERV. W wyniku mutacji retrotranspozony mogły utracić zdolność do wbudowania się do genomu. W efekcie po RNA takiego retrotranspozonu zamiast zostać przepisane na DNA i wbudowane do genomu stało się cząstką patogenną.