

PAWEŁ POMORSKI

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Zakład Biologii Komórki

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

STRUKTURA I FUNKCJA CYTOSZKIELETU OKOŁOJĄDROWEGO

WSTĘP

Trudno znaleźć bardziej nieszczęśliwy termin biologiczny niż „cytoszkielet”. Powstały przez analogie do szkieletu kręgowców bardzo silnie kształtuje naszą wyobraźnię o tym elemencie strukturalnym komórki. Mówiąc cytoszkielet myślimy przede wszystkim o układzie podporowym, pasywnym, podczas gdy jest on również niezwykle dynamiczny i odpowiada za prawie wszystkie rodzaje aktywności ruchowej, jakie może realizować komórka. To białka cytoszkieletu tworzą aparat kurczliwy mięśni, to one biorą udział w ruchu rzęsek, zarówno w nabłonku naszej tchawicy, jak i na powierzchni pływających w stawie pantofelków. To po włóknach cytoszkieletu są transportowane pęcherzyki wzdłuż aksonów komórek nerwowych. Czasem trudno sobie uzmysłowić, jak wiele jest różnorodnych funkcji cytoszkieletu i jak ważne są one dla komórki. Cytoplazma jest dosłownie wypełniona gęstą siecią białek cytoszkieletu (PENMAN 1995). Aby w pełni zrozumieć rolę, jaką cytoszkielet może pełnić w komórce, jego podobieństwo do szkieletu, trzeba myśleć o układach białek cytoszkieletalnych i włóknach, ich wiązkach, sieciach oraz powiązaniu tych układów z innymi elementami struktury komórki.

Takie układy strukturalne występują nie tylko w cytoplazmie. Znajdujemy je również w obrębie jądra i substancji międzykomórkowej. Dopiero razem tworzą one sieć, w dużym stopniu determinującą losy włączonych w nią komórek.

Może się wydać dziwne, że artykuł poświęcony węższemu zagadnieniu — budowy i funkcji cytoszkieletu okołojądrowego rozpoczynam od rozszerzenia pola zainteresowań na wszystkie właściwe układy włókniste organizmu. Konieczność taka wynika z umowności rozdzielających je granic oraz przedstawiania każdego składnika tego złożonego systemu na tle całości. Jednak pewne trudności sprawia samo określenie, co należy do cytoszkieletu. W swoim fundamentalnym podręczniku biologii komórki ALBERTS i współautorzy (1989) używają dwóch, różniących się definicji tego terminu. W rozdziale poświęconym budowie komórki: cytoszkielet to włókna występujące w cytoplazmie a zbudowane głównie z dwóch białek, aktyny bądź tubuliny. W rozdziale poświęconym samemu cytoszkieletowi autorzy określają go jako: „system podporowo-napędowy komór-

ki", a w skład budujących go białek zaliczają, oprócz aktyny i tubuliny, również włókna pośrednie oraz wiele innych białek łączących włókna cytoszkieletu między sobą z innymi strukturami komórki bądź z błoną komórkową. Mimo że druga definicja jest dużo bliższa prawdy, nadal nie daje nam pełnej odpowiedzi, co jest składnikiem cytoszkieletu, a co nie. Czy białka regulatorowe, tylko przejściowo wiążące się ze strukturami włóknistymi, są jego składnikiem? A związane z cytoszkieletem integryny, białka przenikające błonę komórkową i wiążące się z ligandami substancji międzykomórkowej? Jeśli integryny są składnikami cytoszkieletu, to istnieje ciągłość między nim a włóknistymi strukturami pozakomórkowymi i błona staje się granicą jedynie umowną. Dopiero z tej perspektywy widać, jak trudno będzie określić cytoszkielet perinuklearny. Żeby uniknąć pułapek związanych z precyzyjnym definiowaniem nieprecyzyjnych terminów można użyć zamiast opisowej — definicji operacyjnej, i tak jak określa się cytoszkielet jako struktury włókniste pozostające po ekstrakcji komórki detergentami niejonowymi, to cytoszkielet perinuklearny można zdefiniować jako tą część cytoszkieletu, która pozostaje na powierzchni jądra komórkowego po mikrochirurgicznym usunięciu go z komórki. Ta definicja, choć niedoskonała, pozwala jednak określić zakres poruszanej w tym artykule tematyki. Tak rozumiany cytoszkielet perinuklearny przedstawiony będzie na tle innych systemów włóknistych organizmu, co pozwoli wykazać jego znaczenie funkcjonalne.

BUDOWA CYTOSZKIELETU PERINUKLEARNEGO

Jak już powiedzieliśmy we wstępie, cytoszkielet perinuklearny jest częścią sieci białkowej, wypełniającej wnętrze komórki i tak jak on może składać się z trzech podstawowych typów białek tworzących włókna. Są to: aktyna tworząca mikrofilamenty, tubulina tworząca mikrotubule oraz białka znane pod wspólną nazwą białek włókien pośrednich. Tworzone przez wymienione białka struktury łączą się i wiążą na wiele sposobów, zachowując jednak na tyle wyraźną autonomię, że można wyodrębnić trzy podsystemy włókniste w obrębie cytoszkieletu. W każdym z tych podsystemów podstawowemu białku włóknistemu towarzyszą liczne białka regulatorowe, sieciujące i kotwiczące. Dla przejrzystości wspomnę jednak jedynie o tych białkach towarzyszących, które są istotne ze względu na specyficzne cechy struktury i funkcji cytoszkieletu perinuklearnego. Jeśli o jakimś białku nie będzie tu mowy, nie znaczy to więc, że nie ma go w okołojądrowym obszarze komórki, a jedynie że jego obecność nie jest szczególną cechą tego obszaru.

AKTYNA I MIKROFILAMENTY

Obecność mikrofilamentów wokół jądra została zauważona dzięki użyciu mikroskopu elektronowego przez Frankego w roku 1971 i dokładnie scharakteryzowana w roku 1974. Zastosowanie technik immunofluorescencyjnych pozwoliło na pokazanie, że F-aktyna tworzy zwartą warstwę otaczającą jądro (w komórkach tkankowych — HENDERSON i LOCKE 1992, w komórkach grzybów — BUTT i HEATH 1988).

Szczególnie wyraźnie widać tę warstwę u *Amoeba proteus*, pierwotniaka nie wytwarzającego w interfazie cyklu komórkowego innych białek włóknistych niż aktyna. W amebie można wyróżnić dwa rejony, w których mikrofilamenty występują najliczniej: warstwę korykalną, podścielającą powierzchnie komórki (STOCKEM i współaut. 1984) oraz układ perinuklearny, otaczający jądro (POMORSKI i GRĘBECKA 1993). System perinuklearny jest zapewne, podobnie jak cytoszkielet korykalny, zdolny do generowania siły motorycznej, o czym świadczą ruchy jądra, występujące szczególnie w okresie bliskim podziału komórkowego. Ameba wykazuje półotwarty typ podziału jądra, to znaczy że otoczka jądrowa wraz ze związanym z nią cytoszkieletem aktynowym nigdy całkiem nie zanika. Zamiast tego jądro zachowuje się nieco podobnie do komórki organizmów wyższych wytwarzając strukturę podobną do bruzdy podziałowej. Bruzda ta uczestniczy w mechanicznym podziale jądra macierzystego na dwa jądra potomne, przy czym jądro wykonuje wiele aktywnych ruchów i obrotów. Powstaje pytanie, jak okołojądrowa warstwa aktynowa jest związana z otoczką jądrową. W komórkach tkankowych są znane dwa podstawowe systemy wiążące cytoszkielet aktynowy ze strukturami błoniastymi: układ spektrynowy oraz układ winkuliny z α -aktyniną. Badania przeprowadzone przez Jeon'a z użyciem przeciwciał monoklonalnych skierowanych na różne epitopy spektryny wykazały, że na powierzchni otoczki jądrowej znajduje się znaczna ilość białka spektrynopodobnego. Co więcej, okazało się, że istnieje przynajmniej jeden epitop charakterystyczny jedynie dla układu perinuklearnego i nieobecny w spektrynie wiążącej się z błoną powierzchni komórki (CHOI i JEON 1989). Wyniki te wskazują na inne własności układu wiążącego aktynę do powierzchni komórki od tego, który wiąże ją do powierzchni jądra. Wiemy, że cytoszkielet perinuklearny *Amoeba proteus* może współdziałać w ruchach samego jądra. Czy jest to jedyna jego rola w komórce? Okazuje się, że nie jedyna i prawdopodobnie nie najważniejsza. Wskazują na to doświadczenia przeprowadzane w naszym laboratorium. Mikrochirurgiczne usunięcie jądra powoduje u ameby postępującą dezorganizację układu aktynowego w komórce oraz zanik prawidłowych funkcji motorycznych całej komórki lub jej bezejądrowego fragmentu (GRĘBECKA i współaut. 1995).

W komórkach tkankowych cytoszkielet aktynowy występuje zazwyczaj wraz z innymi białkami włóknistymi i wnioski co do jego roli nigdy nie mogą być tak jednoznaczne. Stąd znaczenie jakie przywiązujemy do prac prowadzonych nad aktyną okołojądrową ameby.

TUBULINA I MIKROTUBULE

Mikrotubule stanowią drugi obok aktyny element cytoszkieletu zdolny do generowania siły mechanicznej oraz biorący udział w polaryzacji komórki. Odgrywają one kluczową rolę w strukturze interfazowego cytoszkieletu w cytoplazmie komórki oraz cytoszkieletu jej obszaru jądrowego podczas podziału. Nawet wspomniana wcześniej *Amoeba proteus*, pozbawiona w interfazie spolimeryzowanej tubuliny, wytwarza podczas podziału jądra mikrotubularne wrzesciono kariokinetyczne (LORCH i JEON 1986). Może dlatego właśnie w polimeryzacji mikrotubul tak istotna jest strefa graniczna pomiędzy nimi, obszar perinuklearny. To właśnie tu jest zlokalizowane miejsce, z którego rozpoczyna się polime-

ryzacja większości mikrotubul w komórce (choć nie wszystkich, gdyż mogą istnieć inne centra nukleacji tej klasy włókien, jak choćby opisane przez HENDERSONA i współautorów (1995) miejsca polimeryzacji położone na powierzchni mysich komórek nabłonkowych.

Jak podaje MAZIA (1987) wszystkie mikrotubule obecne w komórce polimeryzują począwszy od ściśle określonego rejonu, zwanego centrum organizacji mikrotubul lub MTOC (ang. micro tubule organizing center). U zwierząt podstawowy MTOC jest zlokalizowany wokół centrioli, złożonej organelli (listę składających się na nią białek podają KALT i SCHLIWA 1993), zbudowanej, między innymi z bardzo charakterystycznej formy tubuliny, a mianowicie γ -tubuliny. Rolę γ -tubuliny w polimeryzacji mikrotubul dobrze opisuje OAKLEY (1995). Sama centriola nie jest jednak MTOC'em. Świadczy o tym chociażby fakt, że w komórkach roślinnych, w których cytoszkielet mikrotubularny pełni równie ważną rolę morfogenetyczną jak u zwierząt, nie ma centrioli, jest jednak dobrze wyrażony MTOC (LAMBERT 1993). Szczegółowe badania ujawniły obecność wielu substancji występujących wokół centrioli w komórce zwierzęcej (literatura). W rejonach działających jako MTOC w roślinach również znajduje się specyficzne jedynie dla tych obszarów białko (CLAYTON i współaut. 1985 oraz HARPER i współaut. 1989). Co jest ciekawe dlatego, że choć rośliny nie posiadają funkcjonalnych, podlegających transkrypcji genów γ -tubuliny, to ich DNA zawiera niekompletne sekwencje genu tego białka z zachowaną znaczną homologią zarówno do *Xenopus*, jak i *Schizosacharomyces pombe* (STEARNS i współaut. 1991).

W rejonie zwierzęcych centrosomów, pełniących funkcje MTOC odkryto również inne, z naszego punktu widzenia ciekawe białko, centraktynę, w znacznym stopniu homologiczną z aktyną cytoszkieletalną (CLARK i MEYER 1992). Atrakcyjność tego odkrycia wiąże się z obserwowaną kolokalizacją cytoszkieletów aktynowego i mikrotubularnego (STAIGER i CANDE 1991).

WŁÓKNA POŚREDNIE I BIAŁKA LAMINY

Okołojądrowy układ włókien pośrednich zajmuje w tym opisie miejsce bardzo szczególne, jest to bowiem jedyny podsystem cytoszkieletu, o którym wiemy z całą pewnością, że występuje po obu stronach otoczki jądrowej. Istnieje ogromna różnorodność białek tworzących włókna pośrednie. Na podstawie homologii ich sekwencji wyodrębniono spośród nich aż siedem podstawowych typów. Typy od I do III to ważne składniki cytoszkieletu cytoplazmatycznego w większości komórek tkankowych. Typ IV to neurofilamenty i interneksyny — białka specyficzne dla komórek nerwowych. Typ V, niezwykle dla nas istotny, to białka laminy jądrowej tworzące sieć na wewnętrznej stronie otoczki jądrowej. Wreszcie typy VI i VII to białka występujące tylko na niektórych etapach morfogenezy, odpowiednio: komórek mięśniowych i nerwowych. W porównaniu z innymi białkami cytoszkieletu najbardziej uderzającą cechą białek włókien pośrednich jest ich heterogeniczność. Wystarczy powiedzieć, że na typy I i II składa się około 30 różnych białek (dokładny przegląd białek włókien pośrednich zamieszczają w swojej pracy przeglądowej FUCHS i WEBER 1994). Właściwie każdy typ komórki tkankowej ma specyficzny typ białka tworzącego włókna w cytoplazmie (FRANCY i współaut. 1993).

Z tą ogromną różnorodnością cytoplazmatycznych białek włókien pośrednich kontrastuje konserwatywność ewolucyjna sekwencji białek lamininy, występujących we wszystkich organizmach eukariotycznych. Są one prawdopodobnie zbliżone do wspólnego przodka wszystkich białek tej grupy (WEBER i współaut. 1991). Do niedawna uważano, że sieć białek lamininy równomiernie podściela całą otoczkę jądrową. Dziś wiemy już jednak, że jedynie 15%–20% wewnętrznej powierzchni otoczki wchodzi w bezpośredni, fizyczny kontakt z laminą (PADDY i współaut. 1990). Ostatnio odkryto również (LUDÉRUS i współaut. 1992), że jedna z lamin, zwana laminą B, może się specyficznie wiązać z regionami DNA mającymi powinowactwo do macierzy jądrowej (nuclear matrix-associated regions, MAR). Co więcej, HOZAK i współpracownicy (1995) wykazali, że białka lamin mogą być obecne nie tylko przy powierzchni otoczki ale również w głębi macierzy jądrowej. Wszystkie te dane łącznie wskazują, że białka lamininy mogą mieć znacznie większy wpływ na organizację chromatyny, a co za tym idzie również na ekspresję genów, niż to sądzono dotychczas.

Spoglądając na jądro z cytoplazmatycznej strony otoczki również znajdziemy sieć włókien pośrednich (FUCHS i WEBER 1994). Co więcej, wydaje się, że zakotwiczenie włókien pośrednich w otoczce jądrowej odbywa się za pośrednictwem lamininy B (GEORGATOS i BLOBEL 1987). Jeśli tak jest rzeczywiście, to włókna pośrednie są prawdopodobnie jedynym podsystemem cytoszkieletu, który przechodzi przez otoczkę jądrową i rozciąga się zarówno w cytoplazmie, jak i wewnątrz jądra. Ten prosty obraz został ostatnio skomplikowany najnowszymi wynikami prac KAMEI (1995), który doniósł o wykryciu specyficznych utworów, znajdujących się po wewnętrznej stronie otoczki jądrowej a wykrywanych przez przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw jednemu z epitopów wspólnych dla wimentyny i desminy. Utwory te, tworzące wyraźne punkty na powierzchni jądra, wiążą się z włóknami pośrednimi strefy perinuklearnej, zachowują jednak wrażliwość na ekstrakcje detergentami, co nie pozwala na zaliczenie ich do struktur cytoszkieletalnych. Być może to one pośredniczą w wiązaniu włókien pośrednich cytoplazmy ze szkieletem wewnętrznym jądra. Jak twierdzi autor, powszechność tych struktur w komórkach różnych typów wskazuje, że muszą one pełnić jakąś ważną funkcję, być może związaną z przenoszeniem sygnałów i regulacją ekspresji genów.

Warto wspomnieć na koniec, że podobnie jak w przypadku mikrotubul, postuluje się istotną rolę obszaru perinuklearnego w inicjacji polimeryzacji włókien pośrednich (ECKERT i współaut. 1982). Nowsze doświadczenia prowadzone *in vitro* oraz mikroiniekcje białek włókien pośrednich opisane przez FUCHS i WEBER (1994) wskazują jednak, że sama obecność otoczki jądrowej nie jest potrzebna do ich polimeryzacji. Sami autorzy przyznają jednak, że kwestia ta wciąż nie jest rozstrzygnięta.

FUNKCJE CYTOSZKIELETU PERINUKLEARNEGO

PRZEKAZYWANIE SYGNAŁÓW

Ważne wydarzenia zachodzące wokół komórki, takie jak drastyczne zmiany warunków fizykochemicznych czy pojawienie się czynników produkowanych

przez inne komórki, zmuszają znajdującą się w jądrze maszynę transkrypcyjną do podjęcia intensywnej pracy. Aby jednak to nastąpiło, informacja o wydarzeniach zachodzących poza komórką musi dotrzeć do jej wnętrza. Nie ma wątpliwości, że mechanizmy przekazywania sygnałów należą do najważniejszych procesów biologicznych, jakie istnieją. W sposób dosłowny decydują one o przetrwaniu komórki, a co za tym idzie również funkcjonowaniu organów i życiu całych organizmów.

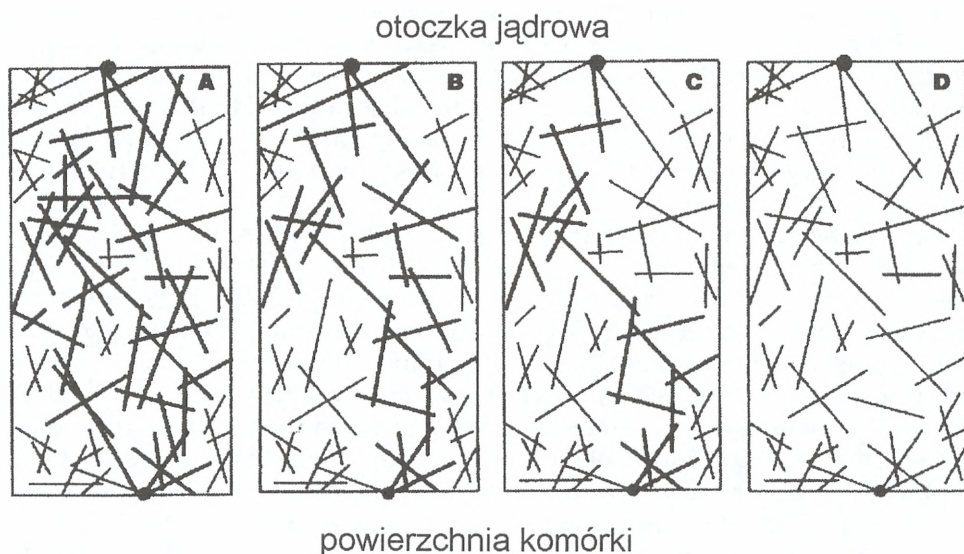
Mówiąc o przekazywaniu sygnałów z otoczenia komórki do jej jądra większość biologów myśli o kaskadzie reakcji chemicznych, zachodzących w cytozolu z udziałem wtórnych przekaźników. Czy jednak samo opisanie zachodzących niewątpliwie w cytoplazmie reakcji daje pełen obraz tego złożonego procesu? Od połowy lat osiemdziesiątych postulowany jest także, komplementarny w stosunku do wyżej wspomnianego sposób przekazywania informacji pomiędzy otoczeniem komórki a jej jądrem. Odkąd Ingber zaproponował, że w przekazywaniu sygnałów w komórce może brać udział również cytoszkielec, powstaje coraz więcej modeli opisujących taką możliwość, a koncepcja przekazywania informacji za pośrednictwem struktury cytoszkieletu nadaje zupełnie nowy sens funkcjonalny istnieniu rozbudowanego i skomplikowanego układu włókien w strefie perinuklearnej. 1993 roku LIN i BISSELL jako pierwsze opisały system różnicowania komórek i regulacji ekspresji genów oparty na zjawiskach zachodzących w cytoszkieciecie i jego kontakcie z macierzą zewnątrzkomórkową.

Proponowane są obecne dwa formalne modele wyjaśniające, w jaki sposób cytoszkielec może uczestniczyć w przekazywaniu informacji. Główną różnicą między nimi jest to, że pierwszy z nich, model Ingbera (INGBER i JAMIESON 1985), zakłada istnienie naprężeń w systemie włókien cytoszkieletu, zaś drugi, model Forgacsa (FORGACS 1995), nie stawia takiego wymagania.

Wcześniejszy model zaproponowany w latach osiemdziesiątych przez Ingbera (INGBER i JAMIESON 1985) opierał się na właściwościach mechanicznych struktur opisanych przez amerykańskiego architekta B. FULLERA (1960). Choć wiele warunków nałożonych na strukturę takiego systemu przez Fullera, takich jak choćby wymaganie równej długości łączonych składników struktury, zostało tu złagodzonych, to wciąż jest zachowane wymaganie istnienia modularnej struktury sieci, zbudowanej z powtarzalnych elementów poddanych stałemu naprężeniu. Od dawna wiadomo, że w sieci cytoszkieletalnej naprężenia istnieją (HARRIS i współaut. 1980) i wydaje się, że model Ingbera, przynajmniej w niektórych komórkach, jest bliski rzeczywistości. Największą jego zaletą jest niezwykle mały wydatek energii, jaki jest potrzebny by zainicjować przenoszenie sygnału we wstępnie naprężonej sieci (INGBER i współaut. 1994).

Model Forgacsa jest oparty na teorii perkolacji (DEUTSCHER i współaut. 1983), która opisuje własności makroskopowe bardzo wielu różnorodnych systemów fizycznych, od tworzenia galaktyk po rozprzestrzenianie się pożarów lasu. Perkolacja jest przykładem przejścia fazowego drugiego typu. Oznacza to, że powyżej punktu przejścia fazowego (w tym wypadku powyżej granicznej gęstości włókien) system zmienia swoje własności liniowo, bez żadnych gwałtownych skoków. W jaki sposób można zastosować perkolację do opisu cytoszkieletu? Wyobraźmy sobie, że w sieci szukamy wszystkich możliwych połączeń pomiędzy dwoma punktami (rys. 1). W gęstej sieci istnieje ich mnóstwo, gdy jednak sieć staje się

coraz rzadsza, ilość takich połączeń spada, aż w pewnym momencie, zwanym punktem perkolacji, nie możemy już znaleźć żadnego połączenia. Od tego momentu ilość połączeń nie zależy już od gęstości sieci. Z naszego punktu widzenia ważne jest, że powyżej tego punktu sieć zachowuje połączenie niezależnie od jej lokalnej dynamiki. Daje to ogromną redundancję i elastyczność systemu, cechy tak ważne dla wydajnego i pewnego przekazywania informacji. Przekroczenie punktu perkolacji w znaczący sposób zmienia zachowanie sieci niezależnie od innych jej parametrów. FORGACS (1995) dowodzi, że siły powstające podczas zmiany konformacyjnej integryny, następującej po związaniu liganda, są wystarczające by zostać mechanicznie przeniesione na otoczkę jądrową za pomocą mikrofilamentów. Największą zaletą tej drogi komunikacji jest szybkość, 10^{-8} do 10^{-9} s na 10 mm w porównaniu ze średnio 10^{-2} s na 10 mm dla prostej dyfuzji (FORGACS 1995).



Rys. 1. Zmniejszająca się gęstość sieci owocuje coraz mniejszą liczbą możliwych połączeń pomiędzy dwoma punktami (a-d). W punkcie perkolacji (d) ciągłość sieci zanika.

Oba modele są jedynie propozycjami i pozostaje wiele problemów, które trzeba będzie rozwiązać zanim będzie można uznać je za opis występujących w naturze mechanizmów. Jednym z najpoważniejszych pośród nich jest dylemat sformułowany przez BISSELL i BARCELLOS-HOFF (1987): „Koncepcja regulacji funkcji komórki przez same tylko zmiany kształtu jest trudna do przełożenia na język mechanizmu. Potrzebujemy w tym celu metody przekładu ciągłej własności, jaką jest kształt na nieciągły język cząsteczek”. Możliwym rozwiązaniem tego dylematu jest połączenie obu dróg przenoszenia sygnałów w komórce, na rzecz którego przemawia wiele argumentów. Okazuje się bowiem, że wiele z elementów klasycznych szlaków przenoszenia sygnałów jest powiązanych lub może się wiązać z cytoszkieletem (JANMEY 1994). Niech za przykłady posłużą nam: kinaza białkowa C (PKC), której zdolność do wiązania z mikrofilamentami i włóknami pośrednimi wykazali MOCHLY-ROSEN i współautorzy (1990) oraz MURTI i współ-

autorzy (1992) czy ujemnie naładowane fosfolipidy, takie jak fosfatydyloinozytol (PIP) i difosfoinozytol (PIP₂), które mogą się wiązać z białkami włókien pośrednich, jak to opisują HORKOVICS-KOVATS i TRAUB (1990) dla wimentyny oraz ASCH i współautorzy (1990) dla cytokeratyn.

Proponowana rola cytoszkieletu w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnałów ściśle wiąże się z jego udziałem w innym, kluczowym dla funkcjonowania żywego organizmu procesie, procesie regulacji ekspresji genów.

REGULACJA EKSPRESJI GENÓW

Jeśli zwracamy uwagę na rolę cytoszkieletu perinuklearnego w przekazywaniu sygnałów między otoczeniem komórki a jej jądrem, to czynimy tak głównie przez wzgląd na jego związek ze strukturą wewnętrzną jądra i co za tym idzie, udziałem w podejmowaniu decyzji, które z genów będą podlegać transkrypcji. Szczególnie ważną rolę odgrywają tu białka włókien pośrednich. Po pierwsze, jak już wspomnieliśmy, są to jedyne białka cytoszkieletu, których obecność w jądrze interfazowym jest ewidentna. Mówiliśmy już o tym przy okazji budowy perinuklearnej sieci włókien pośrednich. Sama obecność jakiegoś białka nie przesądza jednak o jego aktywnym udziale w funkcjonowaniu danego obszaru komórki. Przyjrzyjmy się więc bliżej wzajemnym zależnościom pomiędzy tym typem białek a kwasami nukleinowymi.

Okazuje się, że białka włókien pośrednich dobrze wiążą się z DNA. Siła ich powinowactwa do tego związku jest około 2,5 razy większa niż do RNA, co świadczy o specyficzności wiązania (TRAUB i współaut. 1992). Wszystkie przebadane pod tym względem białka włókien pośrednich mają domeny, które choć strukturalnie różne, są jednak bogate w argininę i mogą odpowiadać za wiązanie DNA (GEISLER i WEBER 1983). Szczególnie ciekawa jest pod tym względem budowa N-końcowej części wimentyny, która przypomina prokariotyczne białka wiążące DNA, w szczególności białko genu 5 bakteriofaga fd (DE JONG i współaut. 1989). Jeśli jednak mamy mówić o cytoszkielecie, to należy się zapytać, czy te właściwości charakteryzują również spolimeryzowane włókna pośrednie? Odpowiedź brzmi tak. Okazuje się, że w tym przypadku powstałe włókna dużo lepiej wiążą się z dwuniciowym DNA niż z jego formą jednoniciową czy RNA (TRAUB i współaut. 1992). Omawiając ten aspekt własności białek włókien pośrednich warto wspomnieć, że zarówno pod względem powinowactwa do DNA, jak i oddziaływań z histonami są one uderzająco podobne do obecnych w jądrze receptorów hormonów steroidowych (UEDA i współaut. 1989).

TRAUB i SHOEMAN (1995) szeroko opisują możliwe mechanizmy udziału włókien pośrednich w inicjalizacji i elongacji transkrypcji DNA. Autorzy proponują podobny sposób działania białek włókien pośrednich, jak ten, który opisano w przypadku genu *zeste* u *Drosophila* (PIROTTA 1991). Produkt tego genu tworzy agregaty pozwalające jednocześnie rozpoznawać specyficzne sekwencje DNA w wielu miejscach, na jednym lub dwóch homologicznych chromosomach politenicznych, gdzie działa jako czynnik transkrypcyjny. Choć strukturalnie zupełnie nie podobne, białka włókien pośrednich mogą również oddziaływać z DNA w wielu punktach na raz. Sklonowanie miejsc DNA szczególnie podatnych na wiązanie się z białkami włókien pośrednich myszy ujawniło, że są wśród nich

sekwencje niezwykle podobne do sekwencji flankujących eksony aktywnych genów.

Mimo że najwięcej danych zgromadzono odnośnie udziału białek włókien pośrednich w ekspresji genów, nie są to jedyne składniki podejrzwane o udział w tych procesach. De Boni od dłuższego czasu postuluje udział w tym procesie ruchów domen chromatynowych powodowanych przez aktomiozynę (DE BONI 1988). Obecność znacznych ilości globularnej aktyny w jądrze jest postulowana już od dawna (DE ROBERTIS 1978). Pojawiają się również doniesienia o wykazaniu obecności aktyny w jądrze metodami mikroskopii elektronowej (NAKAYASU i UEDA 1985, PARFENOV i współaut. 1995). De Boni wykazał kolokalizację pomiędzy obszarami lokalnego nagromadzenia aktyny i miozyny a obszarami o wzmożonej aktywności transkrypcyjnej w jądrze (MILANKOV i DE BONI 1993). Chociaż dane dotyczące obecności aktyny w jądrze są mniej liczne niż w przypadku włókien pośrednich, nie można ich lekceważyć, gdyż udział aktomiozyny w procesach jądrowych wprowadziłby możliwość korzystania przez te procesy z wydajnego źródła siły motorycznej, jakże ważnej dla aktywnych zmian w strukturze chromatyny.

PODSUMOWANIE

Nasza wiedza na temat funkcji cytoszkieletu okołojądrowego jest jeszcze mocno niekompletna. Już dziś można jednak stwierdzić, że cytoszkielet rejonu perinuklearnego pełni ważną rolę tak w strukturze całego cytoszkieletu komórki, jak i w jej funkcjach życiowych. To tu krzyżują się zachodzące w cytoplazmie procesy biochemiczne z procesami przetwarzania informacji zachodzącymi w jądrze i wbrew niedawnym poglądom cytoszkielet nie pozostaje w tym spotkaniu bierny.

Od cytoszkieletu perinuklearnego zależy na pewno motoryczna aktywność jądra. Może być wynikiem mechanicznego kontaktu systemów włóknistych wchodzących w skład cytoszkieletu komórki: perinuklearnego, otaczającego jądra i korytkalnego, podścielającego plazmalemmę. Taki kontakt postulował u komórek tkankowych PIENTA i COFFEY (1992), a u *Amoeba proteus* wykazali POMORSKI i GRĘBECKA 1995.

Kuszącą jest również koncepcja udziału strefy perinuklearnej w organizacji cytoszkieletu komórki. Wiele wskazuje, że tak jest w przypadku cytoszkieletu mikrotubularnego, choćby sąsiedztwo MTOC'ów z powierzchnią jądra, u większości zarówno roślin, jak i zwierząt. Postulat taki jest również podnoszony w odniesieniu do systemu włókien pośrednich, choć sprawa jest bardziej dyskusyjna. Dla aktyny postulat ograniczenia strefy polimeryzacji mikrofilamentów do strefy okołojądrowej byłby oczywiście nieprawdziwy, doświadczenia na bezjądrowych fragmentach *Amoeba proteus* pokazują jednak, że brak perinuklearnego składnika cytoszkieletu prowadzi do dezorganizacji całego systemu włóknistego komórki.

Podsumowując można stwierdzić, że chociaż nie posiadamy wiele informacji na temat budowy cytoszkieletu okołojądrowego, to wiele pracy wymagało będzie jeszcze pełne zrozumienie funkcji tego, jakże ważnego składnika komórki.

STRUCTURE AND FUNCTION OF THE PERINUCLEAR CYTOSKELETON

Summary

Structure and function of the perinuclear cytoskeleton, defined as the fraction of cytoskeleton present on the surface of microchirurgically isolated cell nucleus is described. All main cytoskeletal subsystems, i.e. actin, microtubular and intermediate filamentous structures, are present in the vicinity of nuclear envelope. For most of them, an active role of the perinuclear zone in filament polymerization have been postulated.

The function of perinuclear filamentous system may be essential for information exchange between the nucleus and the cytoplasm. Present models of signal transduction by cytoskeletal structures, in connection with the data about regulation of gene expression by intranuclear filaments, contribute to better understanding of the mechanism of cell response to external stimuli.

LITERATURA

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J. D., 1989. *Molecular Biology of the cell*, Second edition, Garland Publishing, Inc. New York & London, 21 i 613.
- ASCH H. L., MAYHEW E., LAZO R. O., ASCH B. B., 1990. *Lipids noncovalently associated with keratins and other cytoskeletal proteins of mouse mammary epithelial cells in primary culture*. Biochim. Biophys. Acta 1043, 303-308.
- BISSEL M. J., BARCELLOS-HOFF M. H., 1987. Influence of ECM on gene expression, J. Cell Sci. Suppl., 8, 327-343.
- BUTT T. M., HEATH I. B., 1988. *The changing distribution of actin and nuclear behavior during the cell cycle of the mite-pathogenic fungus Neozygites sp.* Europ. J. Cell Biol. 46, 499-505.
- CHOI E. Y., JEON K. W., 1989. *A spectrin-like protein present on membranes of Amoeba proteus as studied with monoclonal antibodies*. Exp. Cell Res. 185, 154-165.
- CLARK S. W., MEYER D. I., 1992. Centractin is an actin homologue associated with the centrosomes, Nature (London) 359, 246-250.
- CLAYTON L. C., BLACK C. M., LLOYD C. W., 1985. *Microtubule nucleating sites in higher plant cells identified by an autoantibody against pericentriolar material*. J. Cell Biol. 101, 319-324.
- DE BONI U., 1988. *Chromatin motion in interphase nuclei, its modulation and its potential role in gene expression*. Anticancer Res. 8, 885-898.
- DE ROBERTIS E. M., LONGTHORNE R. F., GURDON J. B., 1978. *Intracellular migration of nuclear proteins in Xenopus oocytes*. Nature 272, 254-256.
- DEUTCHER G., ZALLEN R., ADLER J., 1983. *Percolation structures and processes*. Annals of the Israel Physical Society. Vol. 5, Adam Hilger, Bristol.
- DE YONG E. A. M., VAN DOUYNHOVEN J. P. M., HARMSENA B. J. M., TESSER G. I., KONINGS R. N. H., HILBERS C. W., 1989. *Two-dimensional ¹H nuclear magnetic resonance studies on the gene V-encoded single-stranded DNA-binding protein of the filamentous bacteriophage Iike. II. Characterization of the DNA-binding wing with the aid of spin-labelled oligonucleotides*. J. Mol. Biol. 206, 133-152.
- ECKERT B. S., DALEY R. A., PARYSEK L. M., 1982. *Assembly of keratin onto PtK1 cytoskeletons: evidence for an intermediate filament organizing center*. J. Cell Biol. 92, 575-578.
- FORGACS G., 1995. *On the possible role of cytoskeletal filamentous networks in intracellular signalling: an approach based on percolation*. J. Cell Sci. 108, 2131-2143.
- FRANCY A. M. F., VAN DE KLUDERT, RAATS J. M. H., BLOEMENDAL H., 1993. *Intermediate filaments: regulation of gene expression and assembly*. Europ. J. Biochem. 214, 351-366.
- FRANKE W. W., 1971. *Relationship of nuclear membranes with filaments and microtubules*. Protoplasma 73, 263-292.
- FRANKE W. W., 1974. *Structure, biochemistry, and functions of nuclear envelope*. Int. Rev. Cytol. Suppl. 4, 71-236.
- FUCHS E., WEBER K., 1994. *Intermediate filaments: structure, dynamics, function and disease*. Annu. Rev. Biochem. 63, 345-382.
- FULLER B., 1960. *Tensegrity*. Portfolio Art News Ann. 4, 115-127.

- GEISLER N., WEBER K., 1983. *Amino acid sequence on glial fibrillary acidic protein (GFA); implications for the subdivision of intermediate filaments into epithelial and nonepithelial members.* EMBO 2, 2059-2063.
- GEORGATOS S. D., BLOBEL G., 1987. *Lamin B constitutes an intermediate filament attachment site on the nuclear envelope.* J. Cell Biol. 105, 117-125.
- GREBECKA L., POMORSKI P., ŁOPATOWSKA A., 1995. *Differences in the motility of Amoeba proteus isolated fragments are determined by F-actin arrangement and cell nucleus presence.* Cell Biol. Int. 19, 847-854.
- HARPER J. D. I., MITCHISON J. M., WILLAMSON R. E., JOHN P. C. L., 1989. *Does the autoimmune serum 5051 specifically recognize microtubule organizing centers in plant cells?* Cell Biol. Int. Rep. 13, 471-483.
- HARRIS A. K., WILD P., STOPAK D., 1980. *Silicone rubber substrate: a new wrinkle in the study of cell locomotion.* Science 208, 177-179.
- HENDERSON S. C., LOCKE M., 1992. *A shell of F-actin surrounds the branched nuclei of silk gland cells.* Cell Motil. Cytoskel. 23, 169-187.
- HENDERSON C. G., TUCKER J. B., MOGENSEN M. M., MACKIE J. B., CHAPLIN M. A., SLEPECKY N. B., LECKIE L. M., 1995. *Three microtubule-organizing centers collaborate in a mouse cochlear epithelial cell during supercellular coordinated control of microtubule positioning.* J. Cell Sci. 108, 37-50.
- HORKOVICS-KOVATSS., TRAUB P., 1990. *Specific interaction of the intermediate filament protein vimentin and its isolated N-terminus with negatively charged fosfolipids as determined by vesicle aggregation, fusion, and leakage measurements.* Biochemistry 29, 8652-8657.
- HOZAK P., SASSEVILLE A. M.-J., RAYMOND Y., COOK P. R., 1995. *Lamin proteins form an internal nucleoskeleton as well as a peripheral lamina in human cells.* J. Cell Sci. 108, 635-644.
- INGBER D. E., JAMIESON J. D., 1985. *Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membranes [W:] ANDERSSON L. C., GAHMBERG C. G., EKBLOM P. (red.) Gene expression during normal and malignant differentiation.* Academic Press, Orlando, FL, 13-33.
- INGBER D. E., DIKE L., HANSEN L., KARP N., LILEY H., MANIOTIS A., MCNAMEE H., MOONEY D., PLOPPER G., SIMS J., WANG N., 1994. *Cellular tensegrity: exploring how mechanical changes in the cytoskeleton regulate cell growth, migration and tissue pattern during morphogenesis.* Int. Rev. Cytol. 150, 173-224.
- JANMEY P. A., 1994. *Phosphoinositides and calcium as regulators of cellular actin assembly and disassembly.* Ann. Rev. Physiol. 56, 169-191.
- KALT A., SCHLIWA M., 1993. *Molecular components of the centrosome.* Trends in Cell Biol. 3, 118-128.
- KAMEI H., 1995. *A nuclear dot-like structure that has a relationship with perinuclear intermediate filaments.* Exp. Cell Res. 218, 155-165.
- LAMBERT A.-M., 1993. *Microtubule-organizing centers in higher plants.* Curr. Op. Cell Biol. 5, 116-122.
- LIN C. Q., BISSELL M. J., 1993. *Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix.* FASEB 7, 737-744.
- LORCH I. J., JEON K. W., 1986. *Different effect of colcemid on mitotic apparatus in amoebae as studied using antitubulin monoclonal antibodies.* Europ. J. Cell Biol. 39, 290-294.
- LUDÉRUS M. E. E., DE GRAAF A., MATTIA E., DEN BLAAUWEN J. L., GRANDE M. A., DE JONGH, VAN DRIEL R., 1992. *Binding of matrix attachment regions to lamin B.* Cell 70, 949-959.
- MAZIA D., 1987. *The chromosome cycle and centrosome cycle in the mitotic cycle.* Int. Rev. Cytol. 100, 49-92.
- MILANKOV K., DE BONI U., 1993. *Cytochemical localization of actin and myosin aggregates in interphase nuclei in situ.* Exp. Cell Res. 209, 189-199.
- MOCHLY-ROSEN D., HENRICH C. J., CHEEVER L., KHANER H., SIMPSON P. C., 1990. *A protein kinase C isozyme is translocated to cytoskeletal elements on activation.* Cell regul. 1, 693-706.
- MURTI K. G., KAUB K., GOORHA R. M., 1992. *Protein kinase C associates with intermediate filaments and stress fibers.* Exp. Cell Res. 202, 36-44.
- NAKAYASU H., UEDA K., 1985. *Ultrastructural localization of actin in nuclear matrices from mouse leukemia L5178 cells.* Cell Struct. Funct. 10, 305-309.
- OAKLEY B. R., 1995. *A nice ring in the centrosome.* Nature (London) 378, 555-556.
- PADDY M. R., BELMONT A. S., SAUMWEBER H., AGARD D. A., SEDAT J. W., 1990. *Interphase nuclear envelope lamins form a discontinuous network that interacts with only the fraction of the chromatin in the nuclear periphery.* Cell 62, 89-106.
- PARFENOV V. N., DAVIS D. S., POCHUKALINA G. N., SAMPLE C. E., BUGAYEVA E. A., MURTI K. G., 1995. *Nuclear actin filaments and their topological changes in frog oocytes.* Exp. Cell Res. 217, 385-394.

- PENMAN S., 1995, Rethinking cell structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 5251–5257.
- PIROTTA V., 1991. *The genetics and molecular biology of zeste in Drosophila melanogaster*. *Adv. Genet.* 29, 301–348.
- PIENTA K. J., CORREY D. S., 1992. *Nuclear–cytoskeletal interactions: evidence for the physical connections between the nucleus and cell periphery and their alteration by transformation*. *J. Cell Bioch.* 49, 357–365.
- POMORSKI P., GREBECKA L., 1993. *Is actin involved in the nuclear division in Amoeba proteus?*, *Cell Biol. Int.* 17, 521–524.
- POMORSKI P., GREBECKA L., 1995. *Nuclear movements and nuclear actin in bilobed nuclei of Amoeba proteus*. *Europ. J. Protistol.* 17, 521–524.
- STAIGERC J., CANDE W. Z., 1991. *Microfilament distribution in maize meiotic mutants correlates with microtubule organization*. *Plant Cell* 3, 637–644.
- STEARNS T., EVANS L., KIRSCHNER M., 1991. γ -Tubulin is a highly conserved component of the centrosome. *Cell* 65, 825–836.
- STOCKEM W., NAIB-MAJANI W., WOLFARTH-BOTTERMANN K. E., 1984. *Preservation and phalloxin-staining of the microfilament system in Amoeba proteus*. *Cell Biol. Int. Rep.* 8, 207–213.
- TRAUB P., MOTHES E., SHOEMAN R. L., SHRÖDER R., SCHERBARTH A., 1992. *Binding of nucleic acids to intermediate filaments of the vimentin type and their effects on filament formation and stability*. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 10, 505–531.
- TRAUB P., SHOEMAN R. L., 1995. *Intermediate filament proteins: cytoskeletal elements with gene-regulatory function?*, *Int. Rev. Cytol.* 154, 1–103.
- UEDA K., ISOHASHI F., OKAMOTO K., YOSHIKAWA K., SAKAMATO Y., 1989. *Interaction of rat liver glucocorticoid receptor with histones*. *Endocrinology (Baltimore)* 124, 1042–1051.
- WEBER K., RIEMER D., DODEMONT H., 1991. *Aspects of evolution of the lamina/intermediate filament protein family: a current analysis of invertebrate intermediate filament proteins*. *Biochem. Soc. Trans.* 19, 1021–1023.