

MARIUSZ SACHARCZUK¹, ARTUR H. ŚWIERGIEL² i KAZIMIERZ JASZCZAK¹

¹*Zakład Cytogenetyki Molekularnej i*

²*Zakład Zachowania się Zwierząt*

Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu

E-mail: M.Sacharczuk@ighz.pl

ORGANIZACJA I FUNKCJA CIAŁEK CAJALA

Wiele procesów przebiegających w jądrze komórkowym związanych jest ze strukturami pozabłonowymi. Klasycznym ich przykładem są ciała Cajala (ang. Cajal bodies, również coiled bodies, CBs), odkryte 100 lat temu przez hiszpańskiego neurologa Santiago Ramón y Cajala (CAJAL 1903, GALL 2000). Są to małe, jądrowe organelle o kulistym kształcie zawierające wszystkie trzy eukariotyczne polimerazy oraz różne czynniki zaangażowane w transkrypcję i dojrzewanie RNA (Ryc. 1).

Wykrycie ciałek Cajala było wynikiem badań nad strukturą neuronów, za co w 1906 r. Cajal otrzymał nagrodę Nobla z dziedziny fizjologii i medycyny (CAJAL 1906). Ciała Cajala wykryto również w wielu innych typach komórek, zarówno roślin, jak i zwierząt (LAFONTAINE 1965). Struktury o bardzo podobnym charakterze występują nawet u drożdży (VERHEGGEN i współaut. 2002).

W 1906 r., a więc bezpośrednio po wykryciu ciałek Cajala, Loyez opisał bardzo podobne morfologicznie struktury w oocytach ptaków. Pojawiają się one w momencie rozpoczęcia przez oocyty fazy wzrostu i lokalizują w okolicach heterochromatynowych, najczęściej w pobliżu centromeru chromosomów (LOYEZ 1906, GAGINSKAYA 1972, SACHARCZUK 1998) (Ryc. 2). Przyjmując za kryterium tylko ich morfologię można by je utożsamiać z ciałkami Cajala. Wydaje się to jednak niepoprawne. Definicja jakichkolwiek organelli komórkowych obejmuje bowiem nie tylko ich morfologię, lecz również budowę molekularną, która określa ich funkcję w komórce. Pod wieloma wzglę-

dami ciała białkowe (ang. protein bodies) obecne w oocytach ptaków nie mogą być uznane za struktury homologiczne do ciałek Cajala. Różnią się one w sposób bardzo zasadniczy strukturą molekularną, co w konsekwencji zmienia zakres funkcji tych organelli (GAGINSKAYA 1972).

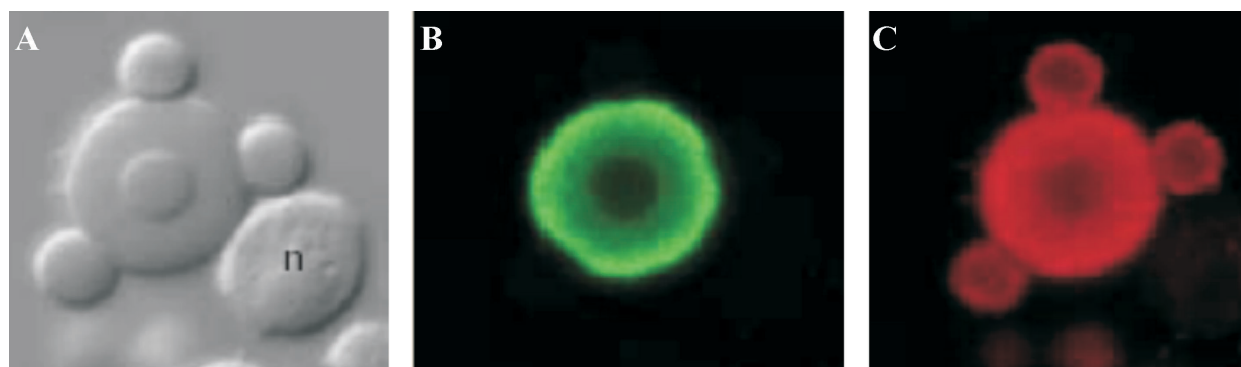
Opisując morfologicznie ciała Cajala za najbardziej charakterystyczną cechę można przyjąć ich okrągły kształt, niezależnie od rodzaju komórki czy organizmu, z którego pochodzą. Liczba ciałek jest zmienna i zależna od wielu czynników. W komórkach somatycznych ssaków występują w liczbie od jednego do kilku, natomiast w oocytach płazów do kilkuset, przeważnie w postaci wolno zawieszonych struktur w nukleoplazmie lub w połączeniu z jąderkami, a tylko nieliczne związane są z chromosomami w miejscu (ang. loci) genów histonowych (FREY i MATERA 1995).

Liczbę ciałek Cajala oprócz typu komórki determinuje również faza cyklu komórkowego. Najwięcej ciałek Cajala w komórkach somatycznych występuje w postaci małych struktur w nukleoplazmie, w średniej i późnej fazie G1. W fazie S i G2 ciała Cajala stają się większe i jednocześnie zmniejsza się ich liczebność. Ciała Cajala zawierają białko p80 koilinę (ang. p80 coilin) (Ryc. 1B). Podczas mitozy koilina podlega fosforylacji co przyczynia się do dezagregacji ciałek Cajala (ANDRADE i współaut. 1993). Ciała Cajala są bardzo labilne w trakcie podziału komórki, również w wyniku drastycznego obniżenia procesów energetycznych, co prowadzi do tzw. efektu głodzenia komórki. W

tym czasie komórka traci lub przynajmniej znacznie ogranicza kontakt z otoczeniem. Po uformowaniu dwu potomnych komórek dochodzi ponownie do reaktywacji ciałek Cajala. Reaktywacja ciałek Cajala jest jednak w największym stopniu uzależniona od aktywności transkrypcyjnej komórki i możliwa tylko w momencie podjęcia przez potomną komórkę procesu transkrypcji. Dlatego struktury te są bardzo wrażliwe na jakiegokolwiek zmiany metabolizmu komórkowego. W komórkach będących pod działaniem aktynomycyny D, α -amanityny

Szerokie zainteresowanie funkcjonalnym znaczeniem ciałek Cajala datuje się od momentu wykrycia w tych strukturach snRNA. Barwione metodą Bernharda ujawniają swój charakter rybonukleoproteinowy (BERNHARD 1969, MONNERON i BERNHARD 1969).

SnRNA, obok innych czynników jądrowych, towarzyszy od momentu transkrypcji powstałemu pre-mRNA czy pre-rRNA. Są to głównie cząsteczki U1, U2, U4, U5, i U6 RNA. Wpływają one na dojrzewanie, transport, lokalizację, a także na stabilność RNA. Funkcjonują



Ryc. 1. Ciało Cajala (CB) z jądra oocyty traszki.

A – obraz w kontraście fazowym, widoczna struktura CB z centralnie położonym snurposomem C i trzema dołączonymi snurposomami B; B – obraz uzyskany po reakcji ciała Cajala z przeciwciałem rozpoznającym koilinę sprzężonym z zielonym fluorochromem, widoczny brak koiliny w snurposomach B; C – immunofluorescencja po reakcji z przeciwciałem rozpoznającym niskocząsteczkowy RNA (snRNA). Za zgodą Josepha G. Galla, Department of Embryology, Carnegie Institution of Washington, USA.

czy też szoku termicznego dochodzi do uwalniania niskocząsteczkowego RNA (ang. SnRNA, snurps RNA) z ciałek Cajala i łączenia się koiliny z jąderkiem. Jeżeli zahamowana zostanie transkrypcja, wówczas nukleoplazmatyczne ciała Cajala ulegają dezintegracji, a zawarta w nich koilina agreguje w nukleoplazmie (CARMO-FONSECA i współaut. 1992, REBELO i współaut. 1996).

Najmniej ciałek Cajala spotyka się w ściśle przylegających do siebie komórkach. Adhezja międzykomórkowa wydaje się w tym przypadku być czynnikiem hamującym liczbę tych struktur. Dobrze ten przykład ilustrują komórki nowotworowe, w których liczba ciałek Cajala wzrasta dramatycznie. Wyłamują się one spod kontroli międzykomórkowej i nie reagują na sygnały antyproliferacyjne (właściwie antytranskrypcyjne) płynące z otoczenia innych komórek (SPECTOR i współaut. 1992).

Wysoki konserwatyzm międzygatunkowy ciałek Cajala może świadczyć o ważnej funkcji, jaką prawdopodobnie spełniają w komórce.

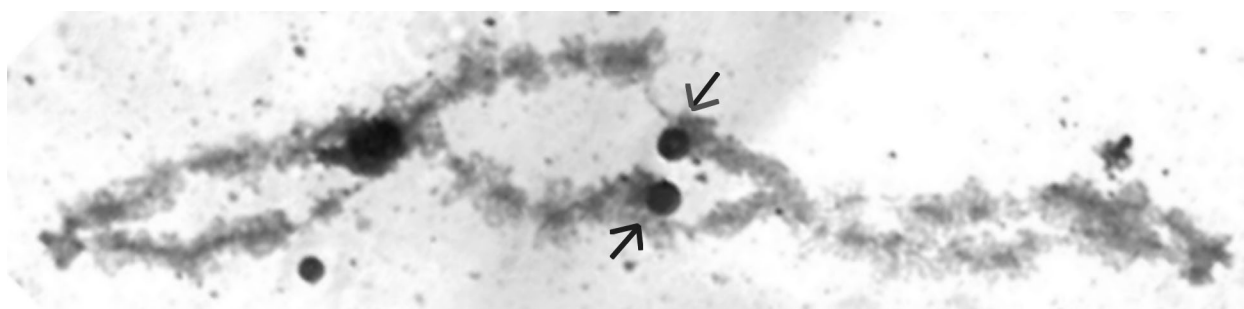
one jako podjednostki kompleksów przeprowadzających składanie pre-RNA (tzw. splajzozomów) przez wycinanie intronów (GALL i CALLAN 1989) (Ryc. 3). Populacja snRNA zawiera również frakcje U3-snRNA (zwaną również snoRNA) oraz U8-snRNA o analogicznej nazwie snoRNA. Uczestniczą one w odróżnieniu od pozostałych podtypów snRNA w dojrzewaniu pre-rRNA i zlokalizowane są przede wszystkim w jąderkach (LAMOND i EARNSHAW 1998).

SnRNA wykazuje różny poziom organizacji: od pojedynczych cząsteczek zlokalizowanych w sąsiedztwie transkrybowanego RNA, np. na pętach chromosomów szczoteczkowych, do niewielkich (1–4 μ m), międzychromosomowych ciałek w liczbie kilku tysięcy, określanych mianem snurpozomów (ang. snurposomes) (WU i współaut. 1993). Te, które zawierają tylko U1 snRNP nazywane są snurpozomami A, natomiast granule zawierające wszystkie rodzaje snRNA snurpozomami B. W jądrze znajduje się jeszcze jeden typ granul określany jako

snurpozomy C. Charakteryzuje się on obecnością U7 snRNA, który w kompleksie z białkiem SLBP1 (ang. stem-loop-binding protein) uczestniczy w trakcie usuwania poliadenylowanego końca 3' histonowego pre-mRNA (FREY i MATERA 1995, ABBOTT i współaut. 1999). Zazwyczaj na ich powierzchni występują snurpozomy B. To właśnie snurpozomy C, z przyłączonymi do nich snurpozomami B, tworzą podstawową strukturę ciałek Cajala, struktur jądrowych o średnicy około 0,5–1,0 μm w komórkach somatycznych i do 10 μm w oocytach (GALL i CALLAN 1989) (Ryc. 1).

współaut. 1991, RASKA i współaut. 1991). W komórkach somatycznych człowieka koilina jest zbudowana z 576 aminokwasów, co w przybliżeniu daje masę około 80 kDa. Białko to podlega międzycząsteczkowym interakcjom tworzącym większe kompleksy za które odpowiedzialny jest końcowy fragment aminowy o długości 93 aminokwasów. Region ten determinuje również zdolność wiązania koiliny z ciałkami Cajala (HEBERT i MATERA 2000).

Koilina jest autoantygenem, stąd bywa często używana do wykrywania tych struktur (ANDRADE i współaut. 1991). Z drugiej strony, koilina nie warunkuje istnienia struktury



Ryc. 2. Chromosom gęsi w stadium szczoteczkowym z typową strukturą chromosomów szczoteczkowych: dużymi rozmiarami i wysoką aktywnością transkrypcyjną na pętlach lateralnych.

Charakterystyczną cechą widoczną na fotografii jest obecność tzw., ciałek białkowych w postaci czarnych, kulistych struktur (SACHARCZUK 1998).

Syntetyzowane w rybosomach różne rodzaje snRNA, zanim trafią do ciałek Cajala, przechodzą wcześniej proces dojrzewania. Bezpośrednio po transkrypcji trafiają one do cytoplazmy, gdzie łączą się z białkiem Sm tworząc snRNP. Po wytworzeniu kompleksu rybonukleoproteinowego wracają do jądra tworząc snurpozomy, po czym lokalizują się w ciałkach Cajala (SLEEMAN i LAMOND 1999) (Ryc. 3).

Naszym zdaniem struktury o charakterze organelli rybonukleoproteinowych występują w większości komórek żywych organizmów, a warunkiem ich pozytywnej identyfikacji jest posiadanie odpowiedniego przeciwciała identyfikującego obecność najbardziej powszechnego markera tych struktur, jakim jest koilina. Ze względu bowiem na dużą zmienność budowy, koilina nie ma jednego czy nawet kilku przeciwciał, które mogłyby być wykorzystywane standardowo u wszystkich gatunków.

Odkrycie genu i przeciwciał dla koiliny przyspieszyło badania nad strukturą, występowaniem i funkcją ciałek Cajala (ANDRADE i

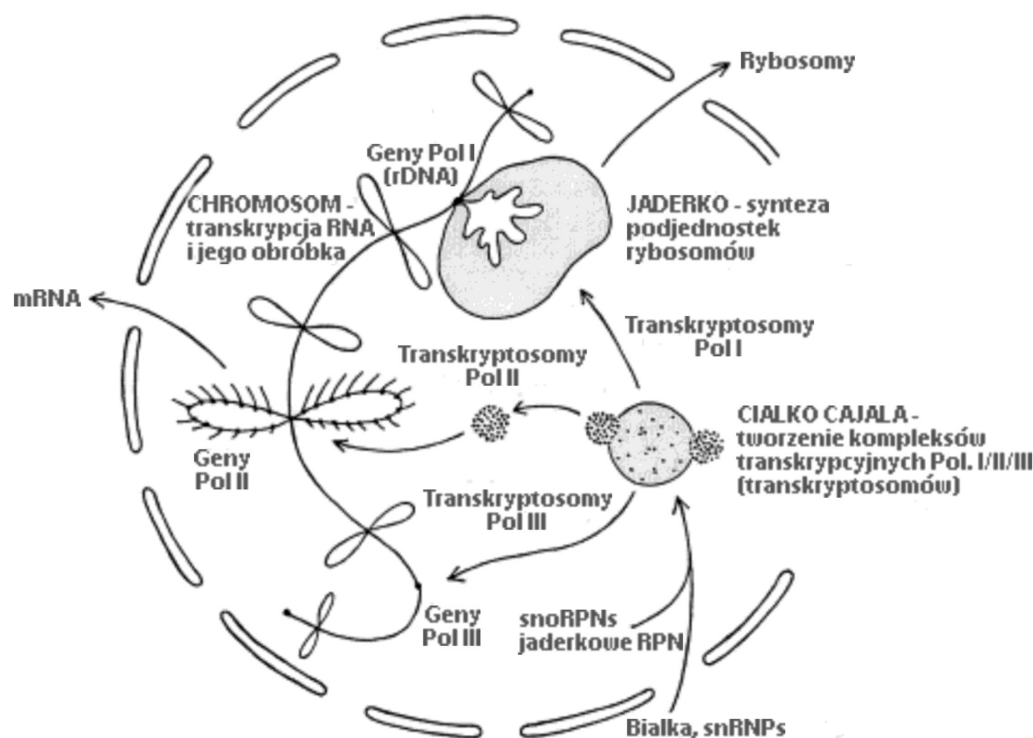
ciałek Cajala, więc nie może być ich bezwzględnym markerem. Wnioski takie oparto na podstawie doświadczeń z nokautem genu koiliny u myszy (BAUER i GALL 1997).

Sekwencja genu koiliny nie jest wysoce konserwatywna, co powoduje, że jest ona najbardziej zmiennym komponentem ciałek Cajala, odróżniającym te struktury u poszczególnych organizmów. W oocytach płazów analogiem koiliny jest białko określane jako SPH-1 (LAMOND i EARNSHAW 1998). Ma ono ta samą masę cząsteczkową co koilina, różni natomiast składem aminokwasowym.

Koilina występuje również w postaci rozproszonej w nukleoplazmie, pozostając w dynamicznej równowadze z frakcją ciałkową. W żadnym jednak wypadku nie stwierdzono konstytutywnej obecności koiliny w cytoplazmie (PLATANI i współaut. 2000). Występuje natomiast jako białko wędrujące pomiędzy cytoplazmą a jądrem w kompleksie z białkiem wahadłowym Nopp 140. Koilina i Nopp 140, prawdopodobnie łącznie z fibrylaryną, mogą

być częścią systemu transportowego pomiędzy cytoplazmą, jąderkami i ciałkami Cajala (OCHS i SMETANA 1991, ISAAC i współaut. 1998).

czają się do ciałek Cajala, co świadczy, że przed ich przemieszczeniem do miejsc transkrypcji i dojrzewania różnych postaci RNA są one gromadzone w ciałkach Cajala. Prawdopodobnie



Ryc. 3. Schemat funkcjonowania ciałek Cajala w komórce.

Poza snRNA i koiliną, ciałka Cajala zawierają wszystkie trzy eukariotyczne polimerazy oraz różne czynniki zaangażowane w transkrypcję i dojrzewanie RNA (GALL 1991) (Tabela 1). W ciałkach Cajala brak jest natomiast DNA jako matrycy (RASKA i współaut. 1991, THIRY 1994) oraz rybonukleoprotein nie będących snRNP (RASKA i współaut. 1991, CARMO-FONSECA i współaut. 1992). Świadczy to, że ciałka Cajala nie są prawdopodobnie miejscem transkrypcji DNA czy składania pre-mRNA. Wniosek taki nasuwa się jeszcze z kilku względów: po pierwsze ciałka Cajala pozbawione są substratu, jakim jest poly(A)RNA. Ponadto ciałka Cajala nie inkorporują znakowanej urydyny, co byłoby bezpośrednim dowodem na zachodzący proces transkrypcji.

Ciałka Cajala uczestniczą w transkrypcji i dojrzewaniu jądrowego RNA nie jako miejsce tych procesów, lecz jako transkryptosomy (GALL 1991). Różne czynniki zaangażowane w transkrypcję i dojrzewanie RNA, jak również podjednostki polimerazy (pol) I, II i III podane do komórki szybko i specyficznym przemieszczają się do ciałek Cajala, co świadczy, że przed

przechodzą one również w tych strukturach proces dojrzewania do postaci aktywnej. Zgodnie z tym modelem, ciałka Cajala przemieszczają się do specyficznych dla polimerazy miejsc transkrypcji w chromosomach czy w jąderkach tworząc z nimi przejściowe połączenia (GALL i współaut. 1999, PAULE i WHITE 2000). Z racji swej funkcji, w przypadku polimerazy I są to przeważnie jąderka, natomiast polimerazy II i III są związane przez aktywne regiony chromosomów (Ryc. 1) (MORGAN i współaut. 2000, MURPHY i współaut. 2002).

Przemieszczanie się ciałek Cajala w nukleoplazmie możliwe jest dzięki mobilnym właściwościom tych struktur. Szybkość z jaką się one przemieszczają (0,1 do 1 $\mu\text{m}/\text{min}$) jest mniejsza niż większość zależnych od ATP procesów motorycznych w komórce. Obecnie nie ma żadnych dowodów, że właściwość ta jest warunkowana specyficznymi białkami motorycznymi. Prawdopodobnie za proces przemieszczania się ciałek Cajala odpowiedzialny jest mechanizm okresowego podziału tych struktur w dwie mniejsze, a następnie ich po-

nownej fuzji. Proces podziału-fuzji prowadzi do asymetrycznego rozdziału białek obecnych w ciałkach Cajala, co stanowi ważną jego właściwość. Na przykład, podział ten może doprowadzić do tego, że jedno z mniejszych ciałek Cajala będzie posiadało więcej koiliny, w drugim natomiast zdeponowana zostanie za-

Gdy znakowany snRNA wprowadzono do jądra, był on natychmiast wychwytywany przez ciałka Cajala (GALL i współaut. 1999). Podobnie było z białkami Sm tj. B, D1 lub E, które lokalizowały się początkowo w ciałkach Cajala i jąderkach (SLEEMAN i LAMOND 1999). Dowody na fizyczny związek ciałek Cajala z jąderka-

Tabela 1. Lista znanych składników ciałek Cajala.

Składnik	Funkcja
Koilina	Podstawowe białko (fosfoproteina) ciałek Cajala, będące jego autoantygenem. Oddziałuje silnie z genem SMN (spinal muscular atrophy gene), odpowiada za komunikację z homologicznymi strukturami ciałek Cajala – gems.
Polimerazy I, II, III	Przechowywane i transportowane przez ciałka Cajala do miejsc aktywnych transkrypcyjnie.
Fibrylaryna	Wysoko konserwatywne białko, prawdopodobnie metylotransferaza RNA niezbędna w procesie dojrzewania pre-rRNA.
Nopp-140	Białko połączone z kasetą H/ACA snoRNA, bierze udział w pseudourydynylacji pre-rRNA.
TFIIF (RAP74)	Czynnik transkrypcyjny.
TMG cap	Są to cztery rodzaje snRNP (U1, U2, U4 and U5), hypermetylowane w cytoplazmie przy końcu 5', tworząc w ten sposób czapkę trójmetylguanozynową, co umożliwia tworzenie kompleksu z białkiem SM- i specyficznymi białkami snRNP.
scaRNA	Niskocząsteczkowy RNA charakterystyczny dla ciałek Cajala, katalizuje uczestniczy potranskrypcyjnie metylację i pseudourydynację innych rodzajów snRNA.
U7 snRNA	Niskocząsteczkowy RNA, bierze udział w dojrzewaniu końca 3' histonowego pre-mRNA.
TFIIIA	Czynnik transkrypcyjny
SMN	Białko neuronów (ang. survival of motor neurons protein), oddziałuje z białkami Sm (B/B', D1-3, E-G), prawdopodobnie odpowiada za recykling kompleksów dojrzewania RNA, defekt w genie tego białka odpowiedzialny jest z wrodzoną rdzeniową atrofię mięśni.
XCAP-E i XCAP-D2	Kondensyny, biorą udział w regulacji kondensacji chromatyny.
ELL	Czynnik elongacji polimerazy II, oddziałujący z białkiem EAF1.

Ogólnie ciałko Cajala składa się z macierzy centralnie położonego snurposomu C i zmiennej liczby dołączonych snurposomów B.

sadnicza część fibrylaryny, stanowiącej strukturalną macierz jąderkową (OCHS i SMETAWA 1991). Zjawisko to wskazywać może na udział ciałek Cajala w transporcie nukleoplazmatycznym (PLATANI i współaut. 2000, 2002).

Wyniki badań wskazują, że ciałka Cajala mogą brać udział w biogenezie niskocząsteczkowych rybonukleoprotein (snRNA i snoRNA), tj. w ich gromadzeniu i dojrzewaniu.

mi i dojrzewaniem rRNA znane były od dawna. W mikroskopie elektronowym wygląda to na komunikację za pomocą sieci włókienek (RASKA i współaut. 1990, LYON i współaut. 1997). Ponadto ciałka Cajala zawierają srebrochłonne białka obszaru NOR (ang. nucleolar organizer regions) (RASKA i współaut. 1990, SACHARCZUK i współaut. 2003). Dlatego przypuszcza się, że ciałka Cajala pochodzą

mogą z jąderek i w toku ewolucji uzyskały pewną autonomię nukleoplazmatyczną (RASKA i współaut. 1991).

Interakcja pomiędzy ciałkami Cajala i snRPNs a jąderkami może mieć związek z dojrzewaniem 3U i 8U snoRNA (ang. small nucleolar RNA), który w wielu przypadkach podlega tym samym modyfikacjom co rRNA (LYON i współaut. 1997). Modyfikacje te przebiegają przy udziale specyficznego dla ciałek Cajala małowcząsteczkowego RNA (ang. scaRNA-small Cajal RNA). Częsteczki te modyfikują kasety C/D i H/ACA snoRNA poddając je odpowiednio 2-O-metylacji i pseudourydynacji. scaRNA-85 modyfikuje również U5-snRNA oraz U2-snRNA (NARAYANAN i współaut. 1999, DARZACQ i współaut. 2002, RICHARD i współaut. 2003).

W komórkach ssaków ciała Cajala są również czasami obserwowane wewnątrz jąderek (OCHS i współaut. 1994), co stanowi jeszcze głębszy wyraz związku pomiędzy jąderkami a ciałkami Cajala. Obecnie nie są znane dokładne przyczyny tego zjawiska. Niemniej jednak pewną wskazówką może być szczególnie częste ich występowanie w jąderkach komórek nowotworowych. Sugerować to może jako przyczynę mutacje w obrębie genu koiliny o charakterze translokacji, rearanżacji czy insercji i w konsekwencji do zmian w przestrzennej strukturze tego białka. Wówczas jego charakter nukleoplazmatyczny zmienia się w jąderkowy (OCHS i współaut. 1994). Na rolę mutacji w tworzeniu się ciałek Cajala w jąderkach, wskazują obserwacje nad przejściową ekspresją zmutowanej koiliny (punktowa mutacja Ser → Asp) w komórkach ssaków (SLEEMAN i współaut. 1998). Analogiczny efekt tworzenia się ciałek Cajala wewnątrz jąderek powodowany jest przez kwas okadajowy, który jest inhibitorem fosfatazy białkowej. W tym przypadku hipofosforylacja koiliny jest prawdopodobną przyczyną tworzenia wewnątrzjąderkowych struktur ciałek Cajala (LYON i współaut. 1997).

Obecność ciałek Cajala w jąderkach można również tłumaczyć w kontekście fizjologicznym i cyklu komórkowego. Niemniej jednak czynnik mutacyjny ma prawdopodobnie charakter pierwotny, natomiast skala tego zjawiska jest już modulowana czynnikami fizjologicznymi (np. hormonalnymi) i cyklu komórkowego (ANDRADE i współaut. 1993). Ciała Cajala obecne w jąderkach są znacznie mniejsze od ich form nukleoplazmatycznych. Przypuszcza się, że wynika to z agregacji koiliny,

występującej w postaci wolnej w nukleoplazmie, do ciałek Cajala lub agregacji samych ciałek (OCHS i współaut. 1994). Nasza sugestia odnośnie obecności ciałek Cajala w jąderkach wiąże się z właściwościami białka Nopp 140, z którym jako kompleks koilina przekracza barierę cytoplazmatyczno-jądrową. Białko Nopp 140 tym się charakteryzuje, że po przejściu tej bariery osiada początkowo w jąderkach (ISAAC i współaut. 1998). Chociaż właściwości tej nie potwierdzono w kompleksach z koiliną, to jednak nie można tego mechanizmu wykluczyć. Być może przeprowadzono zbyt małą liczbę doświadczeń. Dlatego należy wyjaśnić, czy przekroczenie bariery cytoplazmatyczno-jądrowej jest czynnikiem inicjującym bezwzględną dysocjację kompleksu koilina-Nopp 140, czy też kompleks ten może wędrować do jąderek.

W ciałkach Cajala znajdują się również inne czynniki niezbędne w transkrypcji i dojrzewaniu transkryptów polimerazy II, jak np. białko wiążące się z sekwencjami regulacyjnymi TA-TA-box (TBP, TATA Box Protein): PTF- γ , TAFII70, TFIIA, TFIIF i TFIIH (BUCCI i współaut. 2001).

Wszystkie defekty dojrzewania RNA związane np. z brakiem lub nieprawidłowym funkcjonowaniem jakiegokolwiek z czynników składowych, a wywołane np. mutacją w genie kodującym ten czynnik mają bardzo poważne konsekwencje zarówno na poziomie komórkowym, jak i osobniczym (CARVALHO i współaut. 1999). Część z nich nie jest jednak bezwzględnie letalna. Prawdopodobnie uruchamiane są wówczas mechanizmy kompensacyjne, w przypadku mutacji w genie koiliny, który powoduje dysfunkcję ciałek Cajala. Jedną z przyczyn, dla których uznano, że anomalie czynników dojrzewania nie są obligatoryjnie letalne, jest kontynuowanie procesu transkrypcji nawet przy całkowitym wyłączeniu procesu dojrzewania. Wniosek taki wynika z doświadczenia z zastosowaniem antysensownych oligonukleotydów (TSVETKOV i współaut. 1992). Antysensowny oligonukleotyd U2 snRNA podany do jądra, podobnie jak inne oligonukleotydy, powoduje całkowitą destrukcję U2 snRNA, natomiast tylko częściową U1 i innych snRNA. Po wyjściu z okresu inkubacji z antysensownymi oligonukleotydami dochodzi do szybkiej restytucji snRNA związanego ze snurposomami B, jak też z pętlami i podjęcia na nowo transkrypcji przez polimerazę. Na tym etapie U2 snRNA jest jeszcze nieobecny. Prze-

przewodząc to doświadczenie TSVETKOV i współaut. (1992) doszli do wniosku, że U2 snRNA nie wpływa w żaden znany sposób na przebieg transkrypcji. Jest jednak obligatoryjnym komponentem w procesie dojrzewania RNA. Na tej podstawie można stwierdzić, że również proces dojrzewania RNA nie wpływa na przebieg transkrypcji, a zatrzymanie transkrypcji następuje pod wpływem samych antysensownych oligonukleotydów. Świadczy to jednocześnie o braku autoregulacji procesu transkrypcji, np. przez formy dojrzałego RNA, lub przez introny usuwane w procesie jego dojrzewania.

Ciałka Cajala są obecnie przedmiotem licznych badań. Rozwój technik pozyskiwania i oczyszczania poszczególnych składników ciałek przyczynił się do znaczącego poznania morfologii tych struktur (LAM i współaut. 2002). Jednak pod względem funkcjonalnego znaczenia ciała Cajala pozostają ciągle strukturami enigmatycznymi.

Na podstawie immunolokalizacji różnych czynników transkrypcyjnych w ciałkach Cajala przypuszcza się, że struktury te mogą brać udział w gromadzeniu i dojrzewaniu czynników transkrypcyjnych (GALL 2000). Inną potencjalną ich funkcją może być udział w regulacji ekspresji genów. Funkcję regulacyjną ciałek Cajala postuluje się na podstawie ich obecności w pobliżu loci niektórych genów, m.in. różnych snRNA czy loci genów histonowych (MATERA 1998).

Z punktu widzenia postulowanego udziału ciałek Cajala w wielu procesach komórko-

wych, wszelkie nieprawidłowości w budowie tych struktur mogą być przyczyną wielu chorób. Postuluje się na przykład udział ciałek Cajala w powstaniu choroby Huntingtona, jak i innych schorzeń, których etiologia wynika z ekspansji wewnątrz genów powtórzeń poliglutaminowych (YAMADA i współaut. 2001).

Nieprawidłowa struktura i wynikająca z niej dysfunkcja ciałek Cajala wynikać może z mutacji w genie SMN (ang. survival of motor neurons protein), oddziałującym z białkami Sm. Kompleks ten prawdopodobnie odpowiada za recykling kompleksów dojrzewania RNA. Defekt w genie tego białka odpowiedzialny jest za 95% przypadków wrodzonej rdzeniowej atrofii mięśni (ang. spinal muscular atrophy, SMA). SMA jest dziedziczną chorobą genetyczną o autosomalnym i recesywnym wzorze dziedziczenia, prowadzącą do apoptozy neuronów ruchowych rdzenia kręgowego i postępującej atrofii mięśni kończyn i tułowia (FRUGIER i współaut. 2000).

Omówione aspekty dotyczące struktury, funkcji, jak i konsekwencji nieprawidłowego funkcjonowania ciałek Cajala z pewnością nie wyczerpują całości problematyki związanej z tymi strukturami. Mamy jednak nadzieję, że artykuł ten przybliży poruszoną tematykę, dotychczas bardzo skąpo przedstawioną w polskojęzycznej literaturze. Wyjaśnienie całości zagadnień związanych z ciałkami Cajala może przyczynić się do lepszego zrozumienia patogenyzy niektórych chorób, a także wdrożenia skuteczniejszej, przyczynowej terapii.

ORGANIZATION AND FUNCTIONS OF CAJAL BODIES

S u m m a r y

There is much interest in recent years in the possible role of different nuclear bodies (NBs) in cellular functions. NBs include the well-characterized Cajal bodies (CBs; or coiled bodies), which were first described in vertebrate neurons by Ramón y Cajal nearly 100 years ago and since then demonstrated in a variety of organisms and cell types, including both animals and plants. Cajal bodies contain C snurposomes with their associated B snurposomes. Many discussions of CB function emphasize their possible involvement in assembly, modification, or storage of RNA processing factors, especially small nucleolar ribonucleoprotein

particles (snoRNPs), splicing small nuclear ribonucleoprotein particles (snRNPs), and the U7 snRNP. Moreover, some evidence suggests that CBs play an even wider role in transcription. Taking into account the composition of CBs and the targeting of various transcription and processing factors to CBs, we conclude that they may be the primary site for assembly of the transcription machinery of the nucleus. The objective of this article is to summarize some aspects of these nuclear bodies, including their proposed roles in cells and in human diseases.

LITERATURA

- ABBOTT J., MARZLUFF W. F., GALL J. G., 1999. *The stem loop binding protein (SLBP1) is present in coiled bodies of the Xenopus germinal vesicle*. Mol. Biol. Cell 10, 487–499.
- ANDRADE L. E. C., CHAN E. K. L., RASKA I., PEEBLES C. L., ROOS G., TAN E. M., 1991. *Human autoantibody to a novel protein of the nuclear coiled body: immunological characterization and cDNA cloning of p80-coilin*. J. Exp. Med. 173, 1407–1419.
- ANDRADE L. E. C., TAN E. M., CHAN E. K. L., 1993. *Immunocytochemical analysis of the coiled body in the cell cycle and during cell proliferation*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 90, 1947–1951.
- BAUER D. W., GALL J. G., 1997. *Coiled bodies without coilin*. Mol. Biol. Cell 8, 73–82.
- BERNHARD W., 1969. *A new staining procedure for electron microscopical cytology*. J. Ultrastruct. Res. 27, 250–265.
- BUCCI S., GIANI L., MANCINO G., PELLEGRINO M., RAGGHianti M., 2001. *TAFII70 protein in Cajal bodies of the amphibian germinal vesicle*. Genome 44, 1100–1103.
- CAJAL S. R., 1903. *Un sencillo metodo de coloracion selectiva del reticulo protoplasmatico y sus efectos en los diversos organos nerviosos de vertebrados e invertebrados*. Trab. Lab. Invest. Biol. 2, 129221.
- CAJAL S. R., 1906. *The structure and connections of neurons*. Nobel Lecture 220–253.
- CARMO-FONSECA M., PEPPERKOK R., CARVALHO M. T., LAMOND A. I., 1992. *Transcription-dependent colocalization of the U1, U2, U4/U6, and U5 snRNPs in coiled bodies*. J. Cell Biol. 117, 1–14.
- CARVALHO T., ALMEIDA F., CALAPEZ A., LAFARGA M., BERCiano M. T., CARMO-FONSECA A., 1999. *The spinal muscular atrophy disease gene product, SMN: a link between snRNP biogenesis and the Cajal (coiled) body*. J. Cell Biol. 147, 715–727.
- DARZACQ X., JÁDY B. E., VERHEGGEN C., KISS A. M., BERTRAND E., KISS T., 2002. *Cajal body-specific small nuclear RNAs: a novel class of 2'-O-methylation and pseudouridylation guide RNAs*. EMBO J. 21, 2746–2756.
- FREY M. R., MATERA A. G., 1995. *Coiled bodies contain U7 small nuclear RNA and associate with specific DNA sequences in interphase human cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 5915–5919.
- FRUGIER T., TIZIANO F. D., CIFUENTES-DIAZ C., MINIOU P., ROBLOT N., DIERICH A., LE MEUR M., MELKI J., 2000. *Nuclear targeting defect of SMN lacking the C-terminus in a mouse model of spinal muscular atrophy*. Hum. Mol. Genet. 9, 849–858.
- GAGINSKAYA E. R., 1972. *The nuclear structures in oocytes of adult birds. II. Protein bodies and the karyosphere*. Tsitologiya 14, 568–577.
- GALL J. G., 1991. *Spliceosomes and snurposomes*. Science 252, 1499–1500.
- GALL J. G., 2000. *Cajal bodies: the first 100 years*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 16, 273–300.
- GALL J. G., CALLAN H. G., 1989. *The sphere organelle contains small nuclear ribonucleoproteins*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 6635–6639.
- GALL J. G., BELLINI M., WU Z., MURPHY C., 1999. *Assembly of the Nuclear Transcription and Processing machinery: Cajal Bodies (Coiled Bodies) and Transcriptionosomes*. Mol. Biol. Cell 10, 4385–4402.
- HEBERT M. D., MATERA A. G., 2000. *Self-association of coilin reveals a common theme in nuclear body localization*. Mol. Biol. Cell. 11, 4159–4171.
- ISAAC C., YANG Y., MEIER U. T., 1998. *Nopp140 functions as a molecular link between the nucleolus and the coiled bodies*. J. Cell Biol. 142, 319–329.
- LAFONTAINE J. G., 1965. *A light and electron microscope study of small, spherical nuclear bodies in meristematic cells of Allium cepa, Vicia faba, and Raphanus sativus*. J. Cell Biol. 26, 1–17.
- LAM Y. W., LYON C. E., LAMOND A. I., 2002. *Large-scale isolation of Cajal bodies from HeLa cells*. Mol. Biol. Cell. 13, 2461–2473.
- LAMOND A. I., EARNshaw W. C., 1998. *Structure and function in the nucleus*. Science 280, 547–553.
- LOYEZ M., 1906. *Recherches sur le développement ovarien des oeufs meroblastiques a vitellus nutritif abondant*. Archiv. Anat. Microsc. Morph. Exp. 8, 369–397.
- LYON C. E., BOHMANN K., SLEEMAN J., LAMOND A. I., 1997. *Inhibition of protein dephosphorylation results in the accumulation of splicing snRNPs and coiled bodies within the nucleolus*. Exp. Cell Res. 230, 84–93.
- MATERA A. G., 1998. *Of coiled bodies, gems, and salmon*. J. Cell. Biochem. 70, 181–192.
- MONNERON A., BERNHARD W., 1969. *Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells*. J. Ultrastruct. Res. 27, 266–288.
- MORGAN G. T., DOYLE O., MURPHY C., GALL J. G., 2000. *RNA polymerase II in Cajal bodies of amphibian oocytes*. J. Struct. Biol. 129, 258268.
- MURPHY C., WANG Z., ROEDER R. G., GALL J. G., 2002. *RNA polymerase III in Cajal bodies and lampbrush chromosomes of the Xenopus oocyte nucleus*. Mol. Biol. Cell 13, 3466–3476.
- NARAYANAN A., SPECKMANN W., TERNS R. M., TERNS M. P., 1999. *Role of the Box C/D motif in the localization of small nucleolar RNAs to coiled bodies and nucleoli*. Mol. Biol. Cell 10, 2137–2147.
- OCHS R. L., SMETANA K., 1991. *Detection of fibrillarin in nucleolar remnants and the nucleolar matrix*. Exp. Cell Res. 197, 183–190.
- OCHS R. L., STEIN T. W., TAN E. M., 1994. *Coiled bodies in the nucleolus of breast cancer cells*. J. Cell Sci. 107, 385–399.
- PAULE M. R., WHITE R. J., 2000. *Transcription by RNA polymerases I and III*. Nucleic Acids Res. 28, 12831298.
- PLATANI M., GOLDBERG I., SWEDLOW J. R., LAMOND A. I., 2000. *In vivo analysis of Cajal body movement, separation, and joining in live human cells*. J. Cell Biol. 151, 1561–1574.
- PLATANI M., GOLDBERG I., LAMOND A. I., SWEDLOW J. R., 2002. *Cajal body dynamics and association with chromatin are ATP-dependent*. Nat. Cell Biol. 4, 502–508.

- RASKA I., OCHS R. L., ANDRADE L. E. C., CHAN E. K. L., BURLINGAME R., PEEBLES C., GRUOL D., TAN E. M., 1990. *Association between the nucleolus and the coiled body*. J. Struct. Biol. 104, 120-127.
- RASKA I., ANDRADE L. E. C., OCHS R. L., CHAN E. K. L., CHANG C. M., ROOS G., TAN E. M., 1991. *Immunological and ultrastructural studies of the nuclear coiled body with autoimmune antibodies*. Exp. Cell Res. 195, 27-37.
- REBELO L., ALMEIDA F., RAMOS C., BOHMANN K., LAMOND A. I., CARMO-FONSECA M. 1996. *The dynamics of coiled bodies in the nucleus of adenovirus-infected cells*. Mol. Biol. Cell. 7, 1137-1151.
- RICHARD P., DARZACQ X., BERTRAND E., JADY B. E., VERHEGGEN C., KISS T., 2003. *A common sequence motif determines the Cajal body-specific localisation of box H/ACA scaRNAs*. EMBO J. 22, 4283-4293.
- SACHARCZUK M., 1998. *Analiza chromosomów szczotczkowych gęsi*. Praca magisterska. AP Siedlce.
- SACHARCZUK M., JASZCZAK K., SADOWSKI B., 2003. *Chromosomal NOR activity in mice selected for high and low swim stress-induced analgesia*. Behav. Genet. 33, 435-441.
- SLEEMAN J., LYON C. E., PLATANI M., KREIVI J. P., LAMOND A. I., 1998. *Dynamic interactions between splicing snRNPs, coiled bodies and nucleoli revealed using snRNP protein fusions to the green fluorescent protein*. Exp. Cell Res. 243, 290-304.
- SLEEMAN J. E., LAMOND A. I., 1999. *Nuclear organization of pre-mRNA splicing factors*. Curr. Opin. Cell Biol. 11, 372-377.
- SPECTOR D. L., LARK G., HUANG S., 1992. *Differences in snRNP localization between transformed and nontransformed cells*. Mol. Biol. Cell 3, 555-569.
- THIRY M., 1994. *Cytochemical and immunocytochemical study of coiled bodies in different cultured cell lines*. Chromosoma 103, 268-276.
- TSVETKOV A., JANTSCH M., WU Z., MURPHY C., GALL J. G., 1992. *Transcription on lampbrush chromosome loops in the absence of U2 snRNA*. Mol. Biol. Cell 3, 249-261.
- VERHEGGEN C., LAFONTAINE D. L. J., SAMARSKY D., MOUAIKEL J., BLANCHARD J. M., BORDONNÉ R., BERTRAND E., 2002. *Mammalian and yeast U3 snoRNPs are matured in specific and related nuclear compartments*. EMBO J. 21, 2736-2745.
- WU Z., MURPHY C., WU C. H., TSVETKOV A., GALL J. G., 1993. *Snurposomes and coiled bodies*. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 58, 747-754.
- YAMADA M., SATO T., SHIMOHATA T., HAYASHI S., IGARASHI S., TSUJI S., TAKAHASHI H. 2001. *Interaction between neuronal intranuclear inclusions and promyelocytic leukemia protein nuclear and coiled bodies in CAG repeat diseases*. Am. J. Pathol. 159, 1785-1795.