EWA JOACHIMIAK

*Pracownia Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek
Zakład Biologii Komórki
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
E-mail: e.joachimiak@nencki.gov.pl*

NA GRANICY CIAŁKA PODSTAWOWEGO I RZĘSKI – BARIERA RZĘSKOWA

WSTĘP

Rzęskę, podobnie jak inne organella, wyróżnia unikatowa budowa. Ponieważ nie jest ona oddzielona od wnętrza komórki błoną białkowo-lipidową, plazma rzęskowa mogłaby mieć skład zbliżony do cytoplazmy. Tak jednak nie jest. Co więcej, nie tylko wewnętrzne rzęski, ale także błona otaczająca ją od strony środowiska (tzw. błona rzęskowa, która jest kontynuacją błony komórkowej), charakteryzuje się specyficznym, odmiennym od błony komórkowej, składem białek i lipidów (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Istnienie różnic pomiędzy cytoplazmą a plazmą rzęski oznacza, że funkcjonują mechanizmy, które z jednej strony hamują wnikanie do wnętrza rzęski niepożądanych elementów komórki, a z drugiej, aktywnie transportują białka niezbędne dla prawidłowych jej funkcji (patrz dalej). Wyniki ostatnich lat wskazują, że u podstawy rzęski istnieje tzw. bariera rzęskowa (ang. ciliary gate), umożliwiająca selekcję składników tego organellum.

Dolny odcinek bariery rzęskowej stanowi najbardziej dystalna strefa ciała podstawowego (Ryc. 1A). Tutaj triplety mikrotubularne, zbudowane z tubuli A, B i C (patrz JOACHIMIAK w tym zeszycie KOSMOSU), przekształcane są w dublety. Zakończeniu ulega tubula C tripletów ciała podstawowego, podczas gdy tubule A i B biegną przez całą długość bariery, dając jednocześnie początek mikrotubulom obwodowym rzęski. Na wysokości zakończeń tubul C występują charakterystyczne struktury zwane włóknami przejściowymi (patrz JOACHIMIAK w tym zeszycie

KOSMOSU), których końcówki podłączone są do błony komórkowej (Ryc. 1A).

W górnym odcinku bariery rzęskowej, zwanym strefą przejściową, dubletom mikrotubul towarzyszą liczne wyrostki, zwane łącznikami Y, biorące udział w podczepieniu mikrotubul do błony rzęskowej (Ryc. 1A). Zatem bariera rzęskowa zbudowana jest z fragmentu błony komórkowej i rzęskowej, części ciała podstawowego i rzęski oraz włókien przejściowych i łączników Y. Uważa się, że wspólnie struktury te budują rodzaj sita molekularnego, którego działanie jest niezbędne dla wytworzenia i utrzymania specyficznego składu rzęski.

Budowa i funkcje bariery rzęskowej zostały zbadane w komórkach ssaczek z rzęską pierwotną, w której ciało podstawowe powstaje z przekształcenia centrioli macznej. Natomiast bardzo mało jest danych dotyczących tej struktury w komórkach tworzących rzęski ruchome, zarówno w organizmach wielokomórkowych, jak i u jednokomórkowców.

DYSTALNA STREFA CIAŁKA PODSTAWOWEGO I WŁÓKNA PRZEJŚCIOWE

W dystalnej części ciała podstawowego znajduje się dziewięć trapezoidalnych wyrostków, tzw. włókien przejściowych (Ryc. 1). Struktury te swoją budową odpowiadają wypustkom dystalnym (ang. distal appendages) centrioli macznej (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). O ich homologii świadczy fakt, że w procesie ciliogenezy rzęski pierwotnej

Ryc. 1. Schemat budowy bariery rzęskowej.

A, przekrój podłużny. B, Widok z boku. Objaśnienia w tekście.

wypustki dystalne centrioli matczynej przekształcane są we włókna przejściowe (patrz POPRZECZKO i współaut. oraz JOACHIMIAK w tym zeszycie KOSMOSU).

Budowa włókien przejściowych i wypustek dystalnych jest tylko częściowo poznana. Wiadomo, że w skład tych struktur wchodzi co najmniej sześć białek: Cep83 (ang. centrosomal protein 83), Cep89 (zwanego też *ccdc123* lub *Cep123*), *Scrl1* (ang. sodium channel and clathrin linker 1), *Fbfl* (ang. Fas binding factor 1), *Cep164* i *Cby1* (ang. chibby 1, z języka japońskiego „mały”). Ponadto, w tworzenie włókien przejściowych zaangażowane są białka *Odf1* (ang. oral-facial-digital syndrome 1) i *C2cd3* (ang. C2 calcium dependent domain containing 3), które uważane są za białka części dystalnej centrioli, a także białko *Odf2* (ang. outer dense fiber 2), które buduje zarówno włókna przejściowe/wypustki dystalne, jak i wypustki subdystalne.

Lokalizacja poszczególnych białek ma charakter hierarchiczny (Ryc. 2): *Odf1* i *C2cd3* odpowiadają za przyłączenie białek włókien przejściowych do ciała podstawowego. Ich usunięcie z komórki powoduje rozproszenie składników włókien przejściowych w cytoplazmie (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Z kolei brak *Cep83* nie wpływa na lokalizację *Odf1* i *C2cd3*, ale prowadzi do dyspersji *Cep89* i *Scrl1*. Natomiast *Scrl1* umożliwia podłączenie do włókien przejściowych białek *Fbfl* i *Cep164*, a *Cep164* za podłączenie *Cby1*. To ostatnie białko odpowiada za dokowanie do włókien przejściowych białka *Odf2*. Dostępna literatura do-

starcza jednak niejednoznacznych danych dotyczących roli *Odf2* w barierze rzęskowej. Część badaczy wykazała, że białko to uczestniczy w tworzeniu włókien przejściowych, podczas gdy inni naukowcy tego nie potwierdzili (ISHIKAWA i współaut. 2005, TANOS i współaut. 2013). Te sprzeczne wyniki badań mogą być związane z zastosowaniem różnej metodologii. Podczas gdy pierwsza grupa wykorzystała do badań model zwierzęcy pozbawiony ekspresji genu *Odf2*, druga posłużyła się technologią wyciszania ekspresji, która powoduje obniżenie poziomu danego białka, ale nie jego brak. Jeśli śladowe

Ryc. 2. Schemat hierarchicznej lokalizacji białek włókien przejściowych.

Objaśnienia w tekście. Pozycja poszczególnych białek na schemacie nie oddaje ich rzeczywistej lokalizacji w strukturze włókien przejściowych.

ilości białka Odf2 są wystarczające do wytworzenia włókien przejściowych/wypustek dystalnych, to badanie z użyciem wyciszenia ekspresji może nie wykazać udziału Odf2 w procesie powstawania tych struktur.

Wydaje się, że obecność w komórce jedynie części karboksylowej białka Odf2 jest wystarczająca do tworzenia włókien przejściowych. Produkcja karboksylowego fragmentu Odf2 w komórkach pozbawionych tego białka (i tym samym niezdolnych do wytworzenia włókien przejściowych/wypustek dystalnych) przywracała im zdolność tworzenia w pełni funkcjonalnych struktur włókien przejściowych (TATEISHI i współaut. 2013).

ROLA WŁÓKIEN PRZEJŚCIOWYCH

Włókna przejściowe odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu ciała podstawowego i rzęski. Struktury te są niezbędne do połączenia ciała podstawowego z błoną komórkową/rzęskową oraz inicjacji i kontynuacji procesu ciliogenezy. Ponadto, uczestniczą one w regulacji transportu wewnątrzrzęskowego (ang. intraflagellar transport, IFT).

Wczesne etapy ciliogenezy obejmują podłączenie centrioli matczynej (która zostanie przekształcona w ciało podstawowe) do błony komórkowej, co może odbyć się z użyciem jednego z dwóch mechanizmów. W pierwszym centriola jest transportowana w okolice błony komórkowej, zostaje do niej

podłączona, po czym następuje wzrost rzęski (Ryc. 3A). W drugim, do centrioli najpierw przyłączają się specyficzne pęcherzyki cytoplazmatyczne, tzw. pęcherzyki DAV (ang. distal appendage vesicles), które tworzą tzw. pęcherzyk rzęskowy, otaczający całą część dystalną centrioli. Wytworzenie pęcherzyka rzęskowego skorelowane jest z inicjacją ciliogenezy i przemieszczeniem całej powstającej struktury pod błonę komórkową. Tam dochodzi do fuzji błony pęcherzyka rzęskowego z błoną komórkową, co skutkuje dokowaniem centrioli (w tym momencie przekształconej już w ciało podstawowe) w błonie komórkowej i dalszym wzrostem rzęski w kierunku przestrzeni międzykomórkowej (Ryc. 3B).

Wykazano, że wypustki dystalne (które po przekształceniu centrioli w ciało podstawowe stają się włóknami przejściowymi) są niezbędne dla podłączenia pęcherzyków DAV do ciała podstawowego, co odbywa się poprzez oddziaływanie białek wypustek Cep164 i Cby1 z białkiem pęcherzyków DAV Rabin8 (patrz POPRZECZKO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Brak któregośkolwiek z białek znajdujących się wyżej w hierarchii lokalizacji białek wypustek dystalnych/włókien przejściowych (Odf1, C2cd3, Cep83, lub Odf2) uniemożliwia umiejscowienie Cep164 i Cby1 w wypustkach dystalnych i, w konsekwencji, skutkuje zahamowaniem wiązania centrioli z błoną pęcherzyków (GARCIA-GONZALO i REITER 2017).

Ryc. 3. Schemat przebiegu wczesnych etapów ciliogenezy. Objaśnienia w tekście.

W części dystalnej centrioli ssaczych komórek proliferujących znajduje się tzw. „czapeczka”, zbudowana z białek CP110/Cep97. Jej obecność blokuje wzrost mikrotubul obwodowych rzęski. W interfazie dochodzi do usunięcia „czapeczki” z centrioli matczynej, co umożliwia wytworzenie rzęski. Okazało się, że w usuwaniu białek CP110/Cep97 bierze udział białko włókien przejściowych, Cep164 (patrz POPRZECZKO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU).

Wzrost aksonemy związany jest nie tylko z aktywacją wydłużania mikrotubul rzęskowych, lecz także z wydajnym transportem wewnątrzrzęskowym (patrz POPRZECZKO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU), który również zależy od włókien przejściowych. Wykazano, że poszczególne białka włókien przejściowych wiążą się ze ściśle określonymi składnikami transportu IFT (np.: Cep164 wiąże białko IFT88, Cep83-IFT20, Fbfl-IFT54) (GARCIA-GONZALO i REITER, 2017). Brak białek Cep164 lub Fbfl powoduje zahamowanie transportu IFT i tym samym ogranicza wydłużenie rzęski (WEI i współaut. 2013, ČAJÁNEK i NIGG 2014, GARCIA-GONZALO i REITER 2017).

Wnętrze ciała podstawowego wypełnione jest nieupostaciowanym materiałem, który, z dużym prawdopodobieństwem, uniemożliwia penetrację białek lub innych elementów cy-

toplazmatycznych (patrz JOACHIMIAK w tym zeszycie KOSMOSU). Wydaje się zatem, że przestrzenie pomiędzy włóknami przejściowymi są główną, jeśli nie jedyną, drogą transportu do i z rzęski. Odległość pomiędzy poszczególnymi włóknami przejściowymi wynosi około 60 nm. Oznacza to, że kompleksy transportu wewnątrzrzęskowego IFT, których średnica wynosi około 20-25 nm (VANNUCCINI i współaut. 2016), mogą przedostać się pomiędzy włóknami przejściowymi do wnętrza rzęski, natomiast większe struktury, takie jak np. pęcherzyki cytoplazmatyczne, są na to zbyt duże.

Transport wewnątrzrzęskowy w uformowanej rzęsce również związany jest z aktywnością kompleksów IFT, których podłączenie do podstawy rzęski zależy od włókien przejściowych, nie tylko podczas ciliogenezy, ale także po zakończeniu wzrostu rzęski (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Nie jest jednak jasne, czy włókna przejściowe pełnią wyłącznie rolę „platform dokujących”, czy też aktywnie uczestniczą w przekazywaniu do wnętrza rzęski określonych ładunków.

BUDOWA STREFY PRZEJŚCIOWEJ

Nad włóknami przejściowymi znajduje się tzw. „strefa przejściowa” (ang. transition zone), która stanowi najbardziej proksymalną część rzęski. Jej budowa jest jednak odmienna od struktury pozostałej części aksonemy. Wyłącznie w tej strefie mikrotubule obwodowe rzęski połączone są z makrokompleksami, zwanymi od swego kształtu łącznikami Y (ang. Y-links). Trzony łączników Y umiejscowione są pomiędzy tubulami A i B mikrotubul obwodowych, natomiast rozwidlone w kształt litery Y zakończenia wbudowane są w błonę rzęskową za pośrednictwem białek transbłonowych (Ryc. 1A). Choć nie ma na to bezpośrednich dowodów, wydaje się, że zakończenia łączników Y tworzą w błonie rzęskowej charakterystyczne struktury, przypominające sznuiry koralu (ang. necklace), oplatające błonę rzęskową na całym obwodzie (Ryc. 1B, zielony kolor). Liczba „splotów” może różnić się

Ryc. 4. Schemat budowy kompleksów białkowych strefy przejściowej.

Kolorem niebieskim zaznaczono białka kompleksu NPHP, kolorem zielonym białka kompleksu MKS, kolorem fioletowym białka kompleksu inwersynowego. Kolor szary wskazuje białka nieprzypisane do żadnego z kompleksów. Szczegóły w tekście.

znacząco w zależności od typu rzeski, nawet u tego samego organizmu. W rzeskach fibroblastów zaobserwowano jeden „splot”, podczas gdy w przecikach siatkówki (które zawierają przekształcone rzeski) ich liczba może sięgać nawet 40.

Przy użyciu metod proteomicznych i genetycznych zidentyfikowano kilka kompleksów białkowych, które prawdopodobnie współtworzą łączniki Y (Ryc. 4). Dwa podstawowe to tzw. kompleks NPHP (ang. nephronophthitis), łączący się z mikrotubulami obwodowymi, oraz kompleks MKS (ang. Meckel syndrome), oddziałujący z błoną rzeskową (nephronophthitis i Meckel syndrome to jednostki chorobowe związane z mutacjami białek tworzących odpowiednio kompleksy NPHP i MKS). Skład obu kompleksów jest dobrze poznany (Ryc. 4). W skład kompleksu NPHP wchodzi trzy białka: NPHP1, NPHP4 i NPHP8 (zwane też RPGRIP1L), przy czym NPHP1 i NPHP4 mają zdolność wiązania tubuliny. Kompleks MKS złożony jest z przynajmniej 16 podjednostek. Większość z nich to białka zawierające domenę transbłonową (ang. transmembrane, Tmem): Tmem67, Tmem216, Tmem17, Tmem231, Tmem107 oraz prawdopodobnie Tmem237 i Tmem218. Dodatkowo, kompleks MKS budują także trzy białka z rodziny tektonik: Tctn1, 2 i 3, przy czym dwa z nich to białka transbłonowe (Tctn2 i 3), a trzecie, Tctn1, wydaje się być białkiem sekrecyjnym, połączonym z kompleksem MKS od zewnętrznej strony komórki. Ponadto, w skład kompleksu MKS wchodzi trzy białka podobłonowe, zdolne do wiązania lipidów, lecz bez domeny transbłonowej: Mks1, B9d1 i B9d2, a także dwa białka z domeną superhelisy: NPHP6 (zwane też Cep290) i Mks6 (zwane też Cc2d2a) oraz słabiej scharakteryzowane białko Ahil. Białka NPHP6 i Mks6 pośredniczą w wiązaniu kompleksów MKS i NPHP z udziałem dwóch dodatkowych białek (nie zaliczanych do żadnego z tych kompleksów): NPHP5 i Atxn10. Ponadto, kompleksy MKS i NPHP związane są ze sobą przez tzw. kompleks inwersynowy, w skład którego wchodzi: inwersyna (zwana też NPHP2), NPHP3, kinaza Nek8 i jej prawdopodobne regulatory, Anks3 i Anks6 (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Obecność kinazy sugeruje, że kompleks inwersynowy może brać udział w regulacji oddziaływania pomiędzy kompleksami MKS i NPHP, między nimi a kompleksami transportu IFT lub innymi białkami rzeskowymi, poprzez fosorylację elementów tych kompleksów.

Pomimo szerokiej wiedzy na temat białek kompleksów strefy przejściowej, niewiele jest danych łączących badania strukturalne i proteomiczne, co nie pozwala na jednoznacz-

ne potwierdzenie, czy opisane wyżej białka tworzą łączniki Y. Jedyne dostępne dane lokalizują białko NPHP6 w łącznikach Y (CRAIGIE i współaut. 2010), co wskazuje, ale nie dowodzi, że pozostałe białka kompleksów NPHP i MKS mogłyby również budować te struktury.

Wydaje się, że w skład strefy przejściowej wchodzi także inne białka, które współdziałając z łącznikami Y, umożliwiają jej prawidłową budowę i działanie. Przykładowo, septyna 2 tworzy w strefie przejściowej pierścieniową strukturę (dokładna lokalizacja nie została ustalona), regulując transport do i z rzeski oraz uczestnicząc w prawidłowym rozmieszczeniu białek kompleksu MKS (CHIH i współaut. 2011). U podstawy rzeski występują także nukleoporyny (Nup), białka, które w jądrze komórkowym współtworzą pory jądrowe, umożliwiając transport do i z jądra komórkowego. W pobliżu rzeski wykryto niemal wszystkie klasy jądrowych Nup (Ryc. 5), z wyłączeniem nukleoporyn, kotwiczących kompleksu poru jądrowego w błonie jądrowej, oraz nukleoporyn, tworzących strukturę koszyczka, elementu poru zlokalizowanego od strony nukleoplazmy (KEE i współaut. 2012). Dane doświadczalne dotyczące lokalizacji Nup w strefie przejściowej nie są jednoznaczne, ponieważ ich część wskazuje, że przynajmniej niektóre nukleoporyny lokalizują się wokół ciała podstawowego (DEL VISO i współaut. 2016).

Znacznie mniej wiadomo na temat budowy strefy przejściowej od strony wewnętrznej

Ryc. 5. Schemat budowy poru jądrowego.

U podstawy rzeski zidentyfikowano białka Nup wchodzące w skład włókien cytoplazmatycznych (kolor fioletowy), pierścienia wewnętrznego (kolor żółty) oraz pierścienia zewnętrznego i centralnego (kolor zielony). Natomiast u podstawy rzeski nie lokalizują się białka Nup tworzące pierścień transbłonowy (kolor niebieski) i koszyczek (kolor malinowy).

Ryc. 6. Schemat budowy bariery rzęskowej od strony wewnętrznej mikrotubul obwodowych u organizmów jednokomórkowych.

mikrotubul obwodowych. Badania z użyciem klasycznej mikroskopii elektronowej pokazują, że, przynajmniej u jednokomórkowców, występują tam specyficzne struktury przypominające siatkę (Ryc. 6) (WŁOGA i FRANKEL 2012, DUTCHER i O'TOOLE 2016), jednak ich skład i rola nie są znane.

FUNKCJE STREFY PRZEJŚCIOWEJ

Białka strefy przejściowej są zaangażowane w dwóch procesach: w tworzeniu lub stabilizacji rzęski oraz kontroli jej składu.

Liczne badania z użyciem zwierząt pozbawionych jednego lub kilku białek strefy przejściowej wskazują, że białka wchodzące w skład kompleksów NPHP i MKS są niezbędne w ciliogenezie lub stabilizacji struktury rzęski w sposób tkankowo-specyficzny. Na przykład, brak białka NPHP1 lub NPHP4 u myszy powoduje degenerację komórek fotoreceptorowych (zawierających u podstawy fotoreceptora przekształconą rzęskę) i uszkodzenia plemników, podczas gdy rzęski pierwotne i rzęski ruchome w komórkach nabłonków orzęsionych są prawidłowe (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Z kolei dysfunkcje białek kompleksu MKS lub białka NPHP8 powodują bardziej generalne uszkodzenia rzęsek, które prowadzą do śmierci zwierząt przed urodzeniem. Nie wiadomo dokładnie w jaki sposób nieprawidłowości budowy strefy przejściowej wpływają na zaburzenie ciliogenezy lub stabilizacji rzęski, choć przypuszcza się, że mogą mieć one związek z defektami transportu IFT (GARCIA-GONZALO i REITER 2017).

Strefa przejściowa reguluje skład rzęski, działając jak sito molekularne. Dotychczas nie wiadomo, gdzie jest ono umiejscowione i jak jest dokładnie zbudowane. Wydaje się, że cała bariera rzęskowa może pełnić jego

funkcję (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Działanie sita molekularnego rzęski polega z jednej strony na zatrzymaniu wnikania do wnętrza rzęski elementów niepożądanych, a z drugiej, na ułatwieniu transportu białek rzęskowych. Hamowanie dyfuzji rozpuszczalnych białek niepożądanych jest możliwe dzięki temu, że „pory” sita molekularnego rzęski mają około 8 nm średnicy (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Oznacza to, że małe białka rozpuszczalne, o masie molekularnej około 10 kDa (około 2 nm średnicy), przedostają się do wnętrza rzęski na drodze dyfuzji, zgodnie z kinetyką tego procesu. Większe białka rozpuszczalne, do około 40 kDa, również mogą przenikać do wnętrza rzęski, jednak znacznie wolniej (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Białka o masie molekularnej powyżej 40 kDa lub średnicy powyżej 8 nm nie są w stanie przekroczyć bariery rzęskowej i nie dostają się do wnętrza rzęski (GARCIA-GONZALO i REITER 2017).

Ponieważ przestrzenie pomiędzy łącznikami Y (podobnie jak pomiędzy włóknami przejściowymi) są znacznie większe niż 8 nm, powinny być między nimi zlokalizowane dodatkowe białka, niewykrywane tradycyjną techniką mikroskopii elektronowej (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Możliwe też, że *in vivo* białka łączników Y zajmują większość przestrzeni pomiędzy tymi strukturami. Zaproponowano, że białkami wypełniającymi przestrzeń pomiędzy łącznikami Y mogłyby być wspomniane powyżej nukleoporyny, tworzące w tych miejscach kompleksy działające jako „pory rzęskowe” (Ryc. 7) (TAKAO i VERHEY 2016). Choć samo umiejscowienie, a nawet istnienie „porów rzęskowych” nie jest

Ryc. 7. Zaproponowany model umiejscowienia „porów rzęskowych” (wg TAKAO i VERHEY 2016, zmieniona).

pewne (patrz wyżej), rola Nup w transporcie białek rozpuszczalnych do wnętrza rzęski jest istotna. Co więcej, wydaje się, że transport do rzęski z udziałem nukleoporyn wykorzystuje podobny mechanizm co transport do jądra i wymaga działania systemu importyn i małej GTPazy Ran. Dodatkowo, analogicznie jak w transporcie do jądra, przynajmniej niektóre białka rzęskowe muszą posiadać specyficzną sekwencję sygnałową (ang. ciliary localization sequence, CLS) (DISHINGER i współaut. 2010). Wykazano, że zablokowanie funkcji rzęskowych białek Nup (poprzez mikroiniekcję przeciwciał specyficznie je blokujących) hamowało translokację do wnętrza rzęski kinezyiny KIF17 (białko motoryczne transportu wstępującego IFT) (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Podobny efekt wywołała mutacja białka Ran uniemożliwiająca wiązanie z GTP/GDP lub usunięcie CLS białka KIF17 (DISHINGER i współaut. 2010).

Zdecydowana większość rozpuszczalnych białek rzęskowych, niezależnie od masy molekularnej, jest transportowana do wnętrza rzęski przy udziale systemu kompleksów transportu wewnątrzrzęskowego IFT (patrz POPRZECZKO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Jak już wspomniano, kompleksy IFT oddziałują z włóknami przejściowymi, co umożliwia ich transport do wnętrza rzęski. Przypuszcza się, że również struktury strefy przejściowej oddziałują z kompleksami IFT, jednak brak jest przekonujących danych potwierdzających tę hipotezę. Większość kompleksów IFT ma średnicę znacznie większą niż 8 nm, zatem mechanizm ich przenikania poprzez „pory rzęskowe” nie jest jasny.

Selekcja białek błonowych budujących błonę rzęskową ma inny charakter niż w przypadku białek rozpuszczalnych i odbywa się bez udziału „porów rzęskowych”. Doświadczalne zniszczenie strefy przejściowej prowadzi do przemieszczania białek błony komórkowej do błony rzęskowej, nie wpływając znacząco na transport białek błony rzęskowej (GARCIA-GONZALO i REITER 2017). Zatem obecność strefy przejściowej umożliwia zatrzymanie wielu białek błony komórkowej przy podstawie rzęski, co prowadzi do różnicowania składu błony komórkowej i rzęskowej. Z drugiej strony, brak jest danych dotyczących udziału strefy przejściowej w transporcie białek błony rzęskowej, w którym biorą udział wyspecjalizowane cząsteczki transportu IFT w połączeniu z kompleksami BBS (ang. Bardet-Biedl syndrome) (patrz POPRZECZKO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Dotychczas ukazało się tylko jedno doniesienie, opisujące oddziaływanie białka strefy przejściowej Mks1 z kompleksem BBS/IFT (GOETZ i współaut. 2017),

być może zatem dalsze badania wyjaśnią związek pomiędzy tymi elementami.

Wiedza dotycząca transportu białek rzęskowych przez strefę przejściową jest nadal niekompletna. Jedni autorzy wskazują na brak powiązań pomiędzy białkami łączników Y a transportem białek do wnętrza rzęski, podkreślając raczej znaczenie strefy przejściowej w zabezpieczaniu wnikania do rzęski składników niepożądanych. Inni wykazują aktywny udział strefy przejściowej w transporcie rzęskowym poprzez oddziaływanie z kompleksami transportu IFT. Dopiero dalsze badania pozwolą zrozumieć zależność pomiędzy aktywnym transportem do rzęski a strukturami strefy przejściowej.

Streszczenie

Wnętrze rzęski nie jest oddzielone od cytoplazmy błoną biologiczną, a mimo to ma unikatowy skład. Jest to możliwe dzięki działaniu zlokalizowanej u podstawy rzęski tzw. bariery rzęskowej. W skład tej struktury wchodzi dystalna część ciała podstawowego, proksymalna część rzęski, umiejscowione na nich włókna przejściowe i łączniki Y, a także fragmenty przylegającej do nich błony komórkowej i rzęskowej. Tak złożona budowa umożliwia z jednej strony zatrzymanie u podstawy rzęski białek niepożądanych, a z drugiej, ułatwienie transportu do wnętrza rzęski elementów niezbędnych do jej budowy i funkcjonowania.

LITERATURA

- ČAJÁNEK L., NIGG E. A., 2014. *Cep164 triggers ciliogenesis by recruiting Tau tubulin kinase 2 to the mother centriole*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111, E2841-E2850.
- CHIH B., LIU P., CHINN Y., CHALOUNI C., KOMUVES L. G., HASS P. E., SANDOVAL W., PETERSON A. S., 2011. *A ciliopathy complex at the transition zone protects the cilia as a privileged membrane domain*. Nat. Cell Biol. 14, 61-72.
- CRAIG B., TSAO C. C., DIENER D. R., HOU Y., LECHTREC K. F., ROSENBAUM J. L., WITMAN G. B., 2010. *CEP290 tethers flagellar transition zone microtubules to the membrane and regulates flagellar protein content*. J. Cell Biol. 190, 927-940.
- DEL VISO F., HUANG F., MYERS J., CHALFANT M., ZHANG Y., REZA N., BEWERSDORF J., LUSK C. P., KHOKHA M. K., 2016. *Congenital heart disease genetics uncovers context-dependent organization and function of nucleoporins at cilia*. Dev. Cell 38, 478-492.
- DISHINGER J. F., KEE H. L., JENKINS P. M., FAN S., HURD T. W., HAMMOND J. W., TRUONG Y. N., MARGOLIS B., MARTENS J. R., VERHEY K. J., 2010. *Ciliary entry of the kinesin-2 motor KIF17 is regulated by importin-beta2 and RanGTP*. Nat. Cell Biol. 12, 703-710.
- DUTCHER S. K., O'TOOLE E. T., 2016. *The basal bodies of Chlamydomonas reinhardtii*. Cilia 5, 18.
- GARCIA-GONZALO F. R., REITER J. F., 2017. *Open sesame: how transition fibers and the transition zone control ciliary composition*. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 9, doi: 10.1101/cshperspect.a028134.
- GOETZ S. C., BANGS F., BARRINGTON C. L., KATSANIS N., ANDERSON K.V., 2017. *The Meckel syn-*

- drome-associated protein MKS1 functionally interacts with components of the BBSome and IFT complexes to mediate ciliary trafficking and hedgehog signaling. *PLoS One* 12, e0173399.
- ISHIKAWA H., KUBO A., TSUKITA S., TSUKITA S., 2005. *Odf2-deficient mother centrioles lack distal/subdistal appendages and the ability to generate primary cilia*. *Nat. Cell Biol.* 7, 517-524.
- KEE H. L., DISHINGER J. F., BLASIUS T. L., LIU C. J., MARGOLIS B., VERHEY K. J., 2012. *A size-exclusion permeability barrier and nucleoporins characterize a ciliary pore complex that regulates transport into cilia*. *Nat. Cell Biol.* 14, 431-437.
- TAKAO D., VERHEY K. J., 2016. *Gated entry into the ciliary compartment*. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 119-127.
- TANOS B. E., YANG H. J., SONI R., WANG W. J., MACALUSO F. P., ASARA J. M., TSOU M. F., 2013. *Centriole distal appendages promote membrane docking, leading to cilia initiation*. *Genes Dev.* 27, 163-168.
- TATEISHI K., YAMAZAKI Y., NISHIDA T., WATANABE S., KUNIMOTO K., ISHIKAWA H., TSUKITA S., 2013. *Two appendages homologous between basal bodies and centrioles are formed using distinct Odf2 domains*. *J. Cell Biol.* 203, 417-425.
- VANNUCCINI E., PACCAGNINI E., CANTELE F., GENTILE M., DINI D., FINO F., DIENER D., MENCARELLI C., LUPETTI P., 2016. *Two classes of short intraflagellar transport train with different 3D structures are present in Chlamydomonas flagella*. *J. Cell Sci.* 129, 2064-2074.
- WEI Q., XU Q., ZHANG Y., LI Y., ZHANG Q., HU Z., HARRIS P. C., TORRES V. E., LING K., HU J., 2013. *Transition fibre protein FBF1 is required for the ciliary entry of assembled intraflagellar transport complexes*. *Nat. Commun.* 4, 2750.
- WLOGA D., FRANKEL J., 2012. *From molecules to morphology: cellular organization of Tetrahymena thermophila*. *Methods Cell Biol.* 109, 83-140.

KOSMOS Vol. 67, 1, 171–178, 2018

EWA JOACHIMIAK

Laboratory of Cytoskeleton and Cilia Biology, Department of Cell Biology, Nencki Institute of Experimental Biology PAS, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw, E-mail: e.joachimiaak@nencki.gov.pl

ON THE BASAL BODY AND CILIUM BORDER – CILIARY GATE

Summary

The intraciliary space is not separated from the cell cytoplasm by a membrane, but still it has a unique composition. It is possible due to the existence of so-called ciliary gate localized at the ciliary base. This structure is composed of the distal part of basal body, proximal portion of cilium, transition fibers and Y-links and adjacent part of the cell and ciliary membrane. This complex structure, on one hand retains the unwanted proteins at the ciliary base and, on the other hand, facilitates the intraciliary transport of cargos required for cilia formation and function.

Key words: basal body, ciliary gate, cilium, IFT, transition fibers, transition zone, Y-linkers