

Olszewska, Maria J.

Sprawozdanie z działalności Towarzystwa : Sprawozdanie z działalności Wydziałów TNW : Wydział IV nauk biologicznych : Streszczenia : Zmiany ilościowe i jakościowe DNA jądrowego podczas różnicowania komórek

Rocznik Towarzystwa Naukowego Warszawskiego 50, 156-160

1987

Artykuł został zdigitalizowany i opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych oraz w kolekcji mazowieckich czasopism regionalnych mazowsze.hist.pl.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

Staralem się wykazać, że niektóre układy biologiczne zostały niesłusznie wyrzucone poza burtę parazytologii. Układy te mieszczą się w sferze zainteresowań innych dyscyplin naukowych. Jak już jednak podkreśliłem, zainteresowania te dotyczą innych, nie parazytologicznych aspektów tych układów. Dzieje się tak ze szkodą dla rozwoju podstaw teoretycznych parazytologii. Wydaje się, że prędzej czy później parazytologia będzie musiała znacznie rozszerzyć zakres badań zmierzających do stworzenia uniwersalnej teorii układów pasożytniczych.

Maria J. Olszewska

ZMIANY ILOŚCIOWE I JAKOŚCIOWE DNA JĄDROWEGO PODZAS RÓŻNICOWANIA KOMÓREK

Zwiększenie zawartości podstawowej (2C) DNA podczas wzrostu i różnicowania komórek zachodzi dwiema drogami: 1 — w wyniku prawidłowej mitozy, po której nie następuje cytokineza; powstaje w ten sposób komórka dwujądrowa; jądra ulegają fuzji, wskutek czego komórka ostatecznie zawiera jedno jądro o podwojonej zawartości DNA; 2 — w rezultacie replikacji DNA, po której nie następuje mitoz. Pierwszy mechanizm jest rozpowszechniony np. w wątrobie ssaków; wielokrotne mitozy bez cytokinezy doprowadzają do powstania komórek poliploidalnych o zawartości chromosomów $32n$. Drugi sposób powszechnie występuje u zwierząt niższych, w komórkach troficznych u wszystkich grup zwierząt oraz u roślin okrytozalążkowych. Liczba rund replikacji DNA może być bardzo znaczna; np. w wyniku kolejnych 12 replikacji DNA jego zawartość zwiększa się 8192 razy w porównaniu z jądrem diploidalnym. Zwykle, po wielokrotnym powtórzeniu tego procesu, zwanego endoreplikacją jądrowego DNA, ujawniają się chromosomy politeniczne, powstające w rezultacie nierozłączenia się siostrzanych chromatyd.

Stwierdzenie występowania endoreplikacji DNA jest dokonywane metodami morfologicznymi i cytochemicznymi. Metody morfologiczne polegają bądź na bezpośrednim zaobserwowaniu endomitozy, tj. na stwierdzeniu zatrzymania mitozy na etapie wczesnej profazy i przekształcenia się zreplikowanych chromosomów siostrzanych wewnątrz otoczki jądrowej w chromatynę interfazową; jądro takie zawiera dwa razy więcej chromosomów niż jądro macierzyste; taki typ endomitozy występuje rzadko. Druga metoda morfologiczna polega na analizie rozmiarów jąder i ich heterochromatyny: w wyniku endomitotycznej replikacji DNA następuje rytmiczne zwiększanie zarówno objętości jądra, jak i rozmiarów heterochromatyny. Uzyskane tymi metodami wyniki wyraża się wielokrotnością n (n =haploidalna liczba chromosomów). Metody cytochemiczne polegają na wykazaniu syntezy DNA (np. poprzez autoradiograficzną analizę włączania ^3H tymidyny) w komórkach, któ-

re utraciły zdolność do podziału oraz na pomiarach cytofotometrycznych zawartości DNA w jądrach zabarwionych metodą specyficzną dla DNA — np. metodą Feulgena. Wyniki wyraża się wielokrotnością C (C = haploidalna zawartość DNA). Metody cytochemiczne, a w szczególności cytofotometryczne, przyczyniły się do dokładniejszego poznania występowania endoreplikacji DNA oraz mechanizmów regulujących ten proces.

W 1976 r. W. Nagl przedstawił hipotezę, w myśl której im niższa jest podstawowa — $2C$ — zawartość DNA u danego gatunku, tym większe jest prawdopodobieństwo powstania jąder endopoliploidalnych lub politenicznych w niektórych komórkach. Hipoteza ta była oparta na nielicznych dowodach doświadczalnych uzyskanych metodą cytofotometryczną. Ponadto Nagl uważał, że endoreplikacja DNA, politenia, a ogólnie — somatyczna poliploidalność — stanowią ewolucyjną strategię, która zastępuje brak filogenetycznego zwiększania zawartości jądrowego DNA. Zatem na podstawie tej hipotezy można było oczekiwać odwrotnej zależności między podstawową ($2C$) zawartością DNA a osiąganym poziomem endopoliploidalności.

U roślin okrytozależkowych występuje ogromne zróżnicowanie w zakresie $2C$ DNA: od ok. 0,5 pg do ok. 150 pg u gatunków diploidalnych. Stanowią więc one dobry obiekt do badania praw rządzących dynamiką endoreplikacji DNA. Badania takie zostały przeprowadzone przez nasz zespół. Główna część naszych obserwacji była dokonana na najbardziej rozpowszechnionej w organizmach roślinnych tkance mięsistej.

W korzeniu kolejne odcinki zawierają komórki merystematyczne, następnie strefę wzrostu komórek, strefę różnicowania i strefę zróżnicowaną. Synteza DNA w strefie merystematycznej warunkuje realizację cyklu komórkowego, natomiast powyżej strefy merystematycznej — jest dowodem świadczącym o endoreplikacji DNA. U gatunków, u których zachodzi endoreplikacja DNA, indeks znakowania 3H tymidyną jest najwyższy w strefie merystematycznej, poczem stopniowo zmniejsza się w kolejnych strefach wzrostu i różnicowania komórek. U niektórych gatunków średnie wyznaczenie jąder powyżej strefy merystematycznej jest wyższe, co wskazuje na wyższy poziom replikacji DNA niż w merystemie, tj. powyżej poziomu $4C$. U gatunków, u których nie stwierdzono cytofotometrycznie zwiększania zawartości DNA podczas wzrostu i różnicowania komórek, nie następowało włączanie 3H tymidyny w strefie ponadmerystematycznej.

Badania cytofotometryczne przeprowadziliśmy na korzeniach 160 gatunków, wśród których w większości po raz pierwszy oznaczyliśmy podstawową — $2C$ — zawartość DNA. Wykazaliśmy, że dynamika endoreplikacji jądrowego DNA, wyrażona maksymalną wielokrotnością C w jądrach komórek zróżnicowanych, jest cechą rodziny. Wśród dwuliściennych najwyższą dynamiką endoreplikacji DNA charakteryzuje się

rodzina *Cruciferae* (*Brassicaceae*), najmniejszą — *Compositae* (*Asteraceae*) i *Ranunculaceae*, nie można zatem upatrywać zależności ewolucyjnej. Wśród jednoliściennych najwyższą dynamikę endoreplikacji wykazują gatunki z rodziny *Cramineae*, najmniejszą — z rodziny *Ameryllidaceae* i *Iridaceae*.

W obrębie tej samej rodziny gatunki jednoroczne charakteryzują się większą dynamiką endoreplikacji w miększu kory korzeni niż byliny, drzewa i krzewy. Tylko wśród gatunków z tej samej rodziny i o tym samym typie cyklu życiowego występuje postulowana przez Nagla (1976) odwrotna zależność między zawartością 2C DNA a dynamiką endoreplikacji DNA.

U dwuliściennych w mezofilu kolejnych liści z kwitnących roślin maksymalna zawartość DNA jądrowego jest zbliżona lub identyczna jak w miększu korzeni. U jednoliściennych mezofil jest diploidalny, natomiast komórki pochwy okołowiązkowej podczas kolejnych etapów ich wzrostu i różnicowania wykazują dynamikę endoreplikacji zbliżoną do miększu korzeni.

Bielmo należy do tkanek troficznych, o których wiadomo, że charakteryzują się wysoką dynamiką endoreplikacji. Podczas rozwoju bielma różnice dynamiki endoreplikacji DNA u poszczególnych gatunków są podobne do międzygatunkowych różnic w komórkach miększowych korzeni i liści z tym jednak, że w bielmie osiągniany jest wyższy poziom bądź pojawia się endoreplikacja na niskim poziomie u gatunku, u którego proces ten nie zachodził w komórkach miększowych.

Stwierdziliśmy, że w miększu korzeni generatywna poliploidalność, mimo podwojenia 2C DNA, nie modyfikuje wzoru i dynamiki endoreplikacji. Podobnie indukowana kolchicyną somatyczna poliploidalność nie ogranicza spontanicznej endopoliploidyzacji: w korzeniach zawierających indukowane kolchicyną jądra poliploidalne występują jądra o wyższej zawartości DNA niż w korzeniach kontrolnych.

Powyzsza prawidłowość, wskazująca, że wzór endoreplikacji jest cechą genomu i nie jest modyfikowany ani przez generatywną, ani indukowaną poliploidalność, skierowała naszą uwagę na poszukiwanie tych cech genomu — poza 2C DNA — które mogłyby decydować o dynamice endoreplikacji DNA. Zwróciliśmy uwagę na zawartość heterochromatyny, tj. frakcji DNA zawierającej satelitarny DNA, charakteryzujący się wielokrotnym powtórzeniem krótkich, identycznych sekwencji, nie transkrybowanych *in vivo*. Ocena zawartości heterochromatyny w genomie podstawowym, tj. w chromosomach mitotycznych merystemu korzeniowego, była dokonywana jedyną wiarygodną metodą, tj. metodą wybarwiania prążków C. Dane dotyczące zawartości heterochromatyny u poszczególnych gatunków zostały zaczerpnięte z literatury oraz z wyników własnych. Stwierdziliśmy istnienie pozytywnej korelacji ($P=0,001$) między zawartością heterochromatyny a dynamiką endoreplikacji DNA.

Gatunki jednoroczne charakteryzują się większą zawartością heterochromatyny niż byliny, co wyjaśnia mniejszą dynamikę endoreplikacji DNA u tych ostatnich. W regulowaniu dynamiki endoreplikacji szczególną rolę wydaje się odgrywać zawartość heterochromatyny interkalarniej.

Podczas różnicowania tkanek w niektórych komórkach następuje zróżnicowana replikacja DNA. Dowody świadczące o istnieniu tego procesu polegają na stwierdzeniu różnic ilościowych i jakościowych DNA komórek różnicujących się lub zróżnicowanych w porównaniu z genomem podstawowym (komórki merystematyczne). Wybiórcze włączanie ^3H tymidyny do euchromatyny oraz zwiększenie stosunku zawartości DNA euchromatyny (DNA heterochromatyny wskazuje na przewagę endoreplikacji DNA euchromatyny). Hybrydyzacja *in situ* DNA z fragmentami odpowiednio piętnowanymi określonych sekwencji DNA, o ile wykazuje większą ilczbę miejsc hybrydyzacji, niż można by oczekiwać na podstawie całkowitej zawartości DNA, jest metodą umożliwiającą stwierdzenie amplifikacji DNA, tj. wybiórczego powielenia określonych genów. U gatunków bogatych w heterochromatynę w miększu korzeni jest ona replikowana w mniejszym stopniu niż euchromatyna, będąca — w przeciwieństwie do heterochromatyny — nośnikiem informacji genetycznej.

Ogólnie przyjmuje się, że endoreplikacja DNA powoduje wzmoczenie transkrypcji i translacji dzięki zwielokrotnionej zawartości wzorca (DNA). Posługując się podwójnym barwieniem — metodą Feulgena dla DNA i dinitrofluorobenzenem wiążącym się z białkami — oraz pomiarami cytofotometrycznymi mogliśmy zmierzyć w tej samej komórce zawartość DNA w jądrze oraz zawartość białek w jądrze, jąderku i cytoplazmie. Podczas wzrostu i różnicowania komórek miększowych korzenia u gatunków z endoreplikacją DNA zawartość białek cytoplazmatycznych jest wyższa w komórkach endopoliploidalnych niż w komórkach diploidalnych tej samej strefy korzenia, lecz zwiększenie ilości białek cytoplazmy nie jest proporcjonalne do zwielokrotnienia zawartości DNA. Najwyższy przyrost zawartości białek cytoplazmatycznych podczas różnicowania komórek korzenia wykazuje gatunek o wysokiej zawartości 2C DNA, bardzo ubogi w heterochromatynę, u którego endoreplikacja nie występuje.

Przedstawione wyniki upoważniają do następujących wniosków:

- 1 — dynamika endoreplikacji DNA u roślin okrytozalążkowych jest cechą toksonomiczną, specyficzną dla rodziny i gatunku;
- 2 — poziom endoreplikacji DNA jest wyższy w tkance troficznej (bielmo) niż w komórkach miększowych;
- 3 — charakterystyczny wzór endoreplikacji nie jest modyfikowany ani przez generatywną, ani indukowaną poliploidalność;
- 4 — w obrębie tej samej rodziny, przy zbliżonej zawartości 2C DNA, większą dynamikę endoreplikacji wykazują gatunki jednoroczne niż byliny, krzewy i drzewa;

5 — tylko wśród gatunków z tej samej rodziny i o tym samym typie cyklu życiowego występuje postulowana przez Nagla (1976) odwrotna zależność między zawartością 2C DNA a dynamiką endoreplikacji;

6 — zawartość heterochromatyny, a w szczególności heterochromatyny interkalarnej, jest czynnikiem decydującym o dynamice endoreplikacji DNA;

7 — cytoplazma komórek endopoliploidalnych zawiera więcej białek niż cytoplazma komórek diploidalnych będących na tym samym etapie różnicowania, lecz różnice te nie są skorelowane z zawartością jądrowego DNA;

8 — endoreplikacja DNA wydaje się być procesem rekompensującym wysoką zawartość heterochromatyny, byłaby zatem mechanizmem umożliwiającym komórce wzmożenie potencjału transkrypcyjnego podczas różnicowania.

Zdzisław A. Wojciechowski

STEROLE W ŻYCIU ROŚLIN

Wśród licznych substancji sterydowych, jakie wyodrębniono dotąd z tkanek roślin wyższych, szczególne miejsce przypada, co najmniej z trzech powodów, sterolom. Po pierwsze, sterole są jedyną grupą sterydów powszechnie występującą w roślinach. Przeprowadzone dotąd badania całkowicie uzasadniają pogląd, że zdolność do biosyntezy steroli jest najprawdopodobniej uniwersalną cechą wszystkich roślin zaliczanych do *Eukaryota* (z wyłączeniem nielicznych gatunków prymitywnych grzybów) a także sinic i niektórych bakterii. Po drugie, w odróżnieniu od wielu innych typów sterydów roślinnych — takich jak sapogeniny sterydowe, alkaloidy sterydowe, kardenolidy lub bufadienolidy — które, podobnie jak wiele innych typowych wtórnych metabolitów roślinnych, mogą się u niektórych roślin nagromadzać w ogromnych ilościach, sięgających czasem kilkudziesięciu procent suchej masy tkanki — zawartość steroli w komórkach roślinnych jest względnie stała i rzadko wykracza poza granice od kilku setnych do kilku dziesiątych procenta suchej masy. Po trzecie, przeprowadzone w ciągu ostatnich 25 lat rozległe badania metaboliczne jednoznacznie wskazują na to, że sterole są biogenetycznymi prekursorami wszystkich innych rodzajów sterydów roślinnych. Jakkolwiek szlaki metaboliczne wiodące od steroli do innych typów związków sterydowych nie zawsze zostały szczegółowo wyjaśnione, nie ulega wątpliwości, że synteza tych ostatnich zachodzi na drodze enzymatycznych modyfikacji cząsteczek steroli polegających m.in. na hydroksylacji lub animacji układu pierścieniowego lub łańcucha bocznego, częściowej lub całkowitej eliminacji węglowodorowego łańcucha