

MECHANIZMY KOMÓRKOWE ODPOWIEDZIALNE ZA ZMIANY MORFOLOGICZNE WYSTĘPUJĄCE PODCZAS ANHYDROBIOZY I KRIOBIOZY U NIESPORCZAKÓW (TARDIGRADA)

Niesporczaki, to mikroskopijne bezkręgowce należące do typu Tardigrada, obejmującego obecnie około 1400 gatunków. Niesporczaki mają obustronnie symetryczne ciało zaopatrzone w cztery pary nieczłonowanych odnóży, zwykle zakończonymi pazurami. Ich średnia długość ciała waha się od 40 do 1200 μm . Niesporczaki zamieszkują prawie wszystkie ekosystemy ziemskie, od regionów polarnych po tropiki i od najwyższych gór po głębiny oceanów. Zasadlają mszaki, porosty, glony, glebę, rośliny wyższe, a także ściółkę oraz osady dennie zarówno słodko- jak i słonowodne. Niesporczaki znane są głównie ze względu na zdolność do przetrwania ekstremalnych warunków środowiskowych, takich jak: promieniowanie γ o dużej intensywności, próżnia kosmiczna, wysokie i niskie temperatury, stres osmotyczny, wysokie stężenia różnych substancji chemicznych oraz wysychanie. Niesporczaki są w stanie znieść te warunki dzięki zmianom morfologicznym, fizjologicznym i molekularnym oraz niemal całkowitemu wstrzymaniu metabolizmu, co określane jest mianem kryptobiozy, powszechnie postrzeganej jako stan pomiędzy życiem a śmiercią. Niesporczaki należą do nielicznych zwierząt, które wchodzą w kryptobiozę na wszystkich etapach cyklu życiowego. Wyróżnia się pięć rodzajów kryptobiozy: anhydrobioza (wywoływana odwodnieniem), chemobioza (wywoływana przez szkodliwe substancje toksyczne), kriobioza (wywoływana zamarzaniem), osmobioza (wywoływana poprzez zmiany ciśnienia osmotycznego) i anoksobioza (wywoływana brakiem tlenu). W przypadku osmobiozy, chemobiozy i anhydrobiozy niesporczaki aktywnie kurczą się, uzyskując specyficzną, zwartą morfologicznie formę „baryłki”. Natomiast w kriobiozie kurczą się tylko częściowo. Kiedy warunki zewnętrzne powrócą do optymalnych, niesporczaki wznowiają aktywność. Co ciekawe, może to nastąpić po dziesięcioleciach. Nadal nie do końca wiadomo, jak na poziomie molekularnym niesporczaki regulują zmiany morfologiczne i fizjologiczne podczas kryptobiozy, oraz „wybudzenia się” z niej.

W zmianach morfologicznych w komórkach eukariotycznych pośredniczy cytoszkielet czyli dynamiczna sieć włókien białkowych. Są to mikrotubule, mikrofilamenty aktynowe oraz filamenty pośrednie, przy czym te ostatnie nie występują u bezkręgowców. Cytoszkielet steruje podziałem i ruchem komórek, zarządza też ich kształtem, chroni komórkę przed siłami mechanicznymi oraz uczestniczy w transporcie i sygnalizacji wewnątrzkomórkowej. Organizacja i rola cytoszkieletu podczas kryptobiozy i reaktywacji niesporczaków jest obecnie całkowicie niezbadana.

W ostatnim czasie odkrywanych jest coraz więcej molekularnych mechanizmów kluczowych dla skutecznej kryptobiozy. Jednym z nich jest synteza cząsteczek ochronnych, takich jak specyficzne białka. Wiele niesporczaków lądowych syntetyzuje białka, które wytrzymują bardzo wysokie temperatury (bez nieodwracalnej denaturacji jak to ma miejsce w przypadku „jajka sadzonego”), mają bardzo duże powinowactwo do wody, czyli są hydrofilowe oraz są wysoce nieustrukturyzowane, co oznacza, że mogą elastycznie zmieniać swój kształt. Ta rodzina białek określana jest skrótem TDP (z. ang. „Tardigrade intrinsically Disordered Proteins”). Białka TDP mogą podlegać odwracalnej polimeryzacji, tworząc włókniste struktury, które później tworzą żel, zarówno w próbówce, jak i w komórkach, w warunkach, które zazwyczaj indukują kryptobiozę. Po powrocie warunków optymalnych, włókna TDP ulegają depolimeryzacji, a żele rozpuszczają się. Chcielibyśmy więc zbadać, w jaki sposób włókna TDP wpływają na cytoszkielet (filamenty aktynowe i mikrotubule) i odwrotnie, tj., który system jest główną siłą napędową zmian w morfologii komórek podczas wejścia w kryptobiozę, a następnie w reaktywacji oraz jak mogą one współpracować lub ewentualnie zachowywać się antagonistycznie. Najpierw jednak musimy dowiedzieć się, jak w ogóle wygląda cytoszkielet podczas kryptobiozy i reaktywacji niesporczaków.

Funkcjonalne mitochondria, jako największe fabryki energii komórkowej, jednostki obronne przed niebezpiecznymi reaktywnymi formami tlenu i główne regulatory programowanej śmierci komórek, są również niezbędne dla skutecznej kryptobiozy. Co ciekawe, heterodimery tubuliny, występujące w cytoplazmie podstawowe elementy budulcowe mikrotubul, regulują funkcję mitochondriów. Mianowicie heterodimery tubuliny mogą blokować zależny od napięcia kanał anionowy (VDAC). VDAC znajduje się w zewnętrznej błonie mitochondrialnej (MOM) i odgrywa kluczową rolę w regulacji transportu rozpuszczalnych w wodzie metabolitów i jonów przez MOM, co czyni go głównym regulatorem przepuszczalności MOM, a tym samym funkcji mitochondriów. Co więcej, mikrotubule mogą składać się z podobnych, ale różnych izoform tubuliny. Wykazano, że określone izoformy tubuliny mają różny wpływ na funkcję VDAC. W związku z tym, zakładamy, że skład (różne izoformy) i stan sieci mikrotubul (stosunek depolimeryzacja/polimeryzacja) mogą przyczynić się do pomyślnej kryptobiozy poprzez regulację funkcji mitochondriów przez VDAC.

Nasze zespoły dysponują interdyscyplinarną wiedzą, począwszy od zoologii bezkręgowców po biologię molekularną i komórkową. W naszych badaniach zastosujemy różne metody badawcze w celu badania cytoszkieletu niesporczaków i jego roli w kryptobiozie. Ponadto porównamy ze sobą anhydrobiozę i kriobiozę, które cechują się inną morfologią. Badając dwa gatunki niesporczaków różniące się zdolnością do kryptobiozy, będziemy mogli porównać zarówno różnice wewnątrzgatunkowe między anhydrobiozą i kriobiozą, jak i różnice międzygatunkowe pomiędzy gatunkami o dobrej i słabej zdolności do kryptobiozy.