

Изучение динамики ядрышек неправильной формы в клетках рака толстой кишки человека НСТ116

Научный руководитель – Шеваль Евгений Валерьевич

Швыркова А.А.¹, Кузьменко О.Л.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: anshvyrkova@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: o.leon.kuzm@gmail.com*

Эукариотические клетки могут разделять метаболические пути либо путем формирования мембранных органелл, либо за счет формирования безмембранных компартментов - биомолекулярных конденсатов. Механизм разделение фаз на границе жидкость-жидкость (англ. liquid-liquid phase separation, LLPS) является одним из основных при формировании биомолекулярных конденсатов [1]. Так как ядрышки формируются за счет LLPS, то их форма стремится к шарообразной. Однако существуют некоторые типы клеток, в которых ядрышки имеют отличную от шара разветвленную форму. Мы проанализировали форму ядрышек в шести клеточных культурах человека, и обнаружили, что в двух из них - U2OS и НСТ116 - около четверти ядрышек имеют неправильную форму - вытянутую или разветвленную. Для более детального изучения механизмов поддержания неправильной формы ядрышек мы использовали клетки НСТ116 (рак толстой кишки человека). Ядрышки способны сливаться друг с другом, и на промежуточном этапе сливающиеся ядрышки формируют удлинённую структуру, т.е. неправильная форма может представлять интермедиат слияния ядрышек. Однако прижизненные наблюдения показали, что неправильная форма оставалась неизменной в течение долгого времени (до 13 часов), что указывает на неполное слияние ядрышек. Обработка ингибитором транскрипции актиномицином D (AcD) увеличивала количество ядрышек в клетках НСТ116 и делала их форму более округлой, что указывает на обратимый процесс неполного слияния ядрышек. Прижизненные наблюдения подтвердили это предположение. Конфокальная микроскопия и электронная микроскопия показали, что ядрышки неправильной формы в клетках НСТ116 имеют множественные контакты с отдалёнными областями ядерной оболочки, которые могут создавать постоянную силу натяжения, предотвращающую полное слияние. Эти многочисленные контакты наблюдались на верхней, нижней и латеральной поверхностях ядра, а также с поверхностью ядерных каналов и инвагинаций. Нарушение разделения фаз жидкость-жидкость (LLPS) обработкой 1,6-гександиолом или нокадаун ядрышкового белка NPM1 не изменяли ядрышковую ассоциацию, указывая на то, что сила натяжения со стороны ядерной оболочки не передавалась через гранулярный компонент ядрышка. Ультроструктурный анализ ядрышковых компонентов показывает, что отдельные фибриллярные комплексы в клетках НСТ116 часто образуют цепочки, погруженные в гранулярный компонент. Возможно именно фибриллярные комплексы, являются платформой, вокруг которой формируется гранулярный компонент ядрышка путем LLPS. Таким образом, результаты работы позволяют предполагать, что формирование таких структур, как ядрышко, происходит на основе и вокруг субструктур, которые выступают в качестве платформы для протекающего на их базе процесса обособления фаз.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 21-74-20134)

Источники и литература

- 1) Sawyer I.A., Sturgill D., and M. Dondr M.,2019. Membraneless nuclear organelles and the search for phases within phases. Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA, 10, e1514