

THE CELL AS MIRACLE
OF ARCHITECTURE
Part 3. Unity
and divisibility of cell

Yu. M. VASIL'EV

The ability of cytoplasm for self-organization, that is, for restoration of distribution of its components after distortions of its structure and two alternative types of such distortions: separation of cytoplasmic fragments from the whole cell or fusion of several mononuclear cells into a multinuclear cell are considered. Possible mechanisms of self-organization of cytoplasms based on the restructuring of cytoskeletal structures are shown.

Рассмотрены способность цитоплазмы к самоорганизации, то есть к восстановлению распределения клеточных компонентов после нарушений структуры двух типов: выделения безъядерных цитоплазматических фрагментов и слияния нескольких одноядерных клеток в одну многоядерную гигантскую клетку. Обсуждаются возможные механизмы такой самоорганизации, основанные на перестройках цитоскелетных структур.

КЛЕТКА КАК АРХИТЕКТУРНОЕ ЧУДО Часть 3. Клетка единая, но делимая

Ю. М. ВАСИЛЬЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

В предыдущих статьях [1, 2] я рассказал о цитоскелете и о трех системах динамичных волокон (актиновых микрофиламентах, микротрубочках и промежуточных филаментах), ответственных за форму клетки и ее движения. Темой этой статьи является еще одно замечательное свойство цитоплазмы клетки, также зависящее от цитоскелета, — способность отделенных от клетки фрагментов цитоплазмы самоорганизоваться, то есть восстанавливать взаимное расположение своих структур, подобное тому, которое было характерно для целой клетки.

Общеизвестно, что каждая клетка содержит сложный набор структур, например: покрытые мембранами “пузырьковые” органеллы (митохондрии, цистерны эндоплазматического ретикулума, лизосомы, жировые гранулы, секреторные гранулы, пигментные гранулы у специализированных пигментных клеток и т.д.), рибосомы, центросомы и, наконец, ядро. Ни одна из этих структур не располагается в клетке где попало. Напротив, все время поддерживается правильное взаимное расположение этих структур. Особенно легко наблюдать за таким взаимным расположением структур в культуре, где каждая тканевая клетка, например фибробласт или эпителиоцит, приобретает форму уплощенной пластинки, прикрепленной к плоскому прозрачному дну культуры, так называемой подложке — стеклу или пластику. Поэтому за живыми клетками и их крупными органеллами в такой культуре легко наблюдать при помощи микроскопа, соединенного с видеокамерой. У таких культуральных клеток ядро обычно располагается приблизительно в центре, а рядом с ним образуется зона так называемой эндоплазмы, где скапливается большинство пузырьковых органелл. Здесь же чаще всего располагаются центросомы, от которых радиально расходятся к наружным краям клетки микротрубочки (рис. 1).

Кнаружи от эндоплазмы располагается тонкая пластинка цитоплазмы (ламелла), где пузырьковые органеллы встречаются редко. Основные компоненты ламеллы — это видимые лишь при специальных окрасках элементы цитоскелета: упомянутые уже микротрубочки и располагающийся под мембраной кортикальный слой микрофиламентов [1].

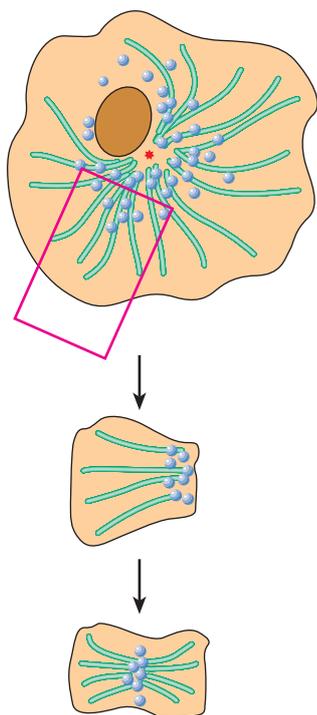


Рис. 1. Схема опыта с микрохирургическим выделением безъядерного фрагмента цитоплазмы (прямоугольник) из целой клетки. В таком фрагменте восстанавливаются радиальная система микротрубочек (зеленые линии) и центральное расположение органелл (малые кружки)

Вблизи наружных краев ламеллы на нижней поверхности клетки располагаются фокальные адгезии — сложные, построенные из нескольких белковых бляшки, прикрепляющие клетку к поверхности подложки [3]. У движущихся клеток при видеосъемке на некоторых участках края ламеллы непрерывно образуются выросты — псевдоподии, прикрепляющиеся к подложке и сокращающиеся, при помощи таких псевдоподий клетки ползают по подложке [2].

КЛЕТОЧНЫЕ ФРАГМЕНТЫ САМООРГАНИЗУЮТСЯ В МИНИ-КЛЕТКИ

Упорядоченное взаимное расположение клеточных структур создается и поддерживается самой живой цитоплазмой, способностью этой цитоплазмы к самоорганизации. Действительно, даже малые фрагменты цитоплазмы, отделенные от остальной клетки, способны восстанавливать подобное взаимное расположение сохранившихся структур. Отрежем от периферии культуральной клетки под микроскопом микроножом небольшой кусочек цитоплазмы, составляющий лишь 3–5% клеточной массы. Через короткое время такой безъядерный фрагмент самоорганизуется: в центральной его час-

ти скапливаются пузырьковые органеллы, образуя эндоплазму, а на периферии формируются тонкие ламеллы, прикрепленные по краям к подложке фокальными адгезиями (рис. 1). По краю ламеллы часто возникают псевдоподии, и при их помощи фрагмент может ползать по подложке. Старый центр организации микротрубочек — centrosoma обычно не попадает во фрагмент, и сохранившиеся в нем периферические куски микротрубочек расположены вначале почти параллельно друг другу, однако вскоре эти микротрубочки реорганизуются в единую радиальную систему, у них возникает подобие центра, из которого микротрубочки расходятся во все стороны к краям фрагмента. Разумеется, такие фрагменты в отличие от целых клеток погибают обычно через 1–2 суток: ведь у них нет ядра и потому невозможен синтез новых информационных РНК, следовательно, быстро тормозится синтез белков, необходимых для роста и просто замещения разрушающихся со временем белковых молекул. Тем не менее способность фрагментов к самоорганизации в мини-клетки и движениям в течение отведенного им короткого срока жизни замечательна.

МНОГОЯДЕРНЫЕ КЛЕТКИ-ГИГАНТЫ ТОЖЕ САМООРГАНИЗУЮТСЯ

Фантазия Дж. Свифта создала лилипутов — людей, нормально организованных несмотря на миниатюрные размеры. Ясно, что затем почти неизбежно должен был появиться рассказ о великанах, нормально организованных несмотря на резко увеличенные размеры. Сходным образом логика требует, чтобы за рассказом о самоорганизации клеточных фрагментов следовал рассказ о противоположных системах — гигантских клетках, размеры которых резко превышают нормальные.

Действительно, такие клетки существуют и самоорганизуются. Многоядерные гиганты в культуре можно получить двумя способами. Первый способ — слить несколько обычных одноядерных клеток в одну (рис. 2), применив специальные агенты, например полиэтиленгликоль или белки некоторых вирусов. Эти агенты способны превратить две контактирующие друг с другом мембраны соседних клеток в одну. В результате таких повторных слияний получается большая многоядерная клетка. Механизмы подобного слияния мембран довольно сложны, и мы их рассматривать не будем. Второй способ получения гигантов — блокада цитокинеза, последней стадии клеточного деления: разделения цитоплазмы двух дочерних клеток после расхождения хромосом. Как известно, цитокинез — результат образования под мембраной клетки между двумя дочерними ядрами сократимого кольца из актиновых микрофиламентов и миозиновых молекул, такое кольцо постепенно сжимается, разделяя две клетки. Функцию сократимого кольца и разделение клеток можно блокировать цитохалазином — веществом,

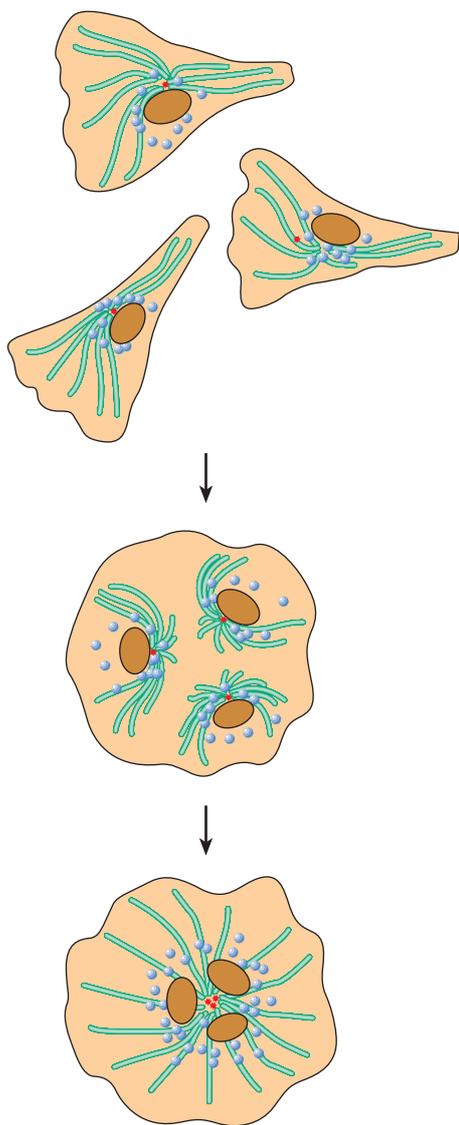


Рис. 2. Схема опыта со слиянием нескольких одноядерных клеток. В образовавшейся многоядерной клетке ядра и органеллы собираются в единой центральной части, а несколько систем микротрубочек реорганизуются в единую радиальную систему

специфически нарушающим формирование микротиламентов. Цитохалазин нарушает только цитокинез, но не предшествующие стадии деления, поэтому в среде с цитохалазином клетка становится двуядерной. Если блокирование цитохалазином повторять в нескольких циклах деления, то можно получить клетки с 4, 8 и большим числом ядер.

Гигантские клетки, полученные обоими способами, могут жить в культуре долго — многие дни и недели. Для нас важно то, что уже вскоре после образования клетки реорганизуются в единую струк-

туру. Чаще всего такие клетки имеют дисковидную форму, но иногда могут вытягиваться и двигаться. Их ядра обычно собираются в единую группу, занимающую центр клетки, а вокруг них скапливаются везикулярные органеллы, образующие эндоплазму. Вокруг эндоплазмы располагается тонкая ламелла. Как и в одноядерных клетках, на краю гигантов постоянно образуются и сокращаются псевдоподии, а на нижней поверхности ламеллы вблизи края формируются фокальные адгезии, прикрепляющие клетку к дну культуры.

Таким образом, в двух различных системах, в небольших фрагментах, отделенных от клетки, и многоядерных гигантах, полученных слиянием нескольких клеток или блокадой их деления, цитоплазма способна самоорганизоваться в структуру, принципиально сходную со структурой нормальной клетки.

МЕХАНИЗМЫ САМООРГАНИЗАЦИИ ЦИТОПЛАЗМЫ СВЯЗАНЫ С ЦИТОСКЕЛЕТОМ

Каковы механизмы удивительной способности клеточной цитоплазмы к самоорганизации? Точно ответить на этот вопрос мы пока не можем, но некоторые соображения могут быть высказаны. Самоорганизация происходит даже в безъядерных клеточных фрагментах, следовательно, ядро для нее не нужно. Как мы видели, важнейшей частью самоорганизации являются перемещения цитоплазматических органелл, образующих эндоплазму в центральной части фрагмента или гиганта, туда же в гигантских клетках перемещаются и ядра. Естественно предположить, что за эти движения ответственны те же структуры, что и за все другие движения в клетке: фибриллы цитоскелета с прикрепленными к ним и органеллам моторными молекулами [1].

Один из конкретных механизмов такого рода связан с микротрубочками. Напомню еще раз, что в целой клетке микротрубочки растут радиально из centrosомы, расположенной около ядра, при этом каждая микротрубочка имеет два конца: центральный минус-конец и периферический плюс-конец. Хотя в отрезанном фрагменте центра нет, микротрубочки в нем перераспределяются, образуя радиальную систему с плюс-концами в центре фрагмента и минус-концами на периферии (рис. 1). Механизм этого перераспределения был недавно проанализирован Родионовым и Бориси [4]. Эти исследователи приготовили фрагменты из пигментных клеток (меланоцитов) кожи черных аквариумных рыбок. Дело в том, что эти клетки содержат в цитоплазме множество черных пигментных гранул, за движениями которых легко наблюдать в культуре. Во фрагментах цитоплазмы таких клеток пигментные гранулы при самоорганизации скапливались в центре, а микротрубочки расходились радиально из центра на периферию. В нормальной клетке различные органеллы, в том числе пигментные гранулы, двигаются при помощи специальных связанных с микротрубочками

моторных молекул, динеинов и кинезинов [1]. При этом динеины двигают органеллы к минус-концу микротрубочки, а кинезины — к плюс-концу. Оказалось, что, применив специальный ингибитор, угнетающий действие динеина, можно подавить самоорганизацию микротрубочек и гранул во фрагменте. Ингибиторы кинезинов оказались неэффективными. Таким образом, перемещение гранул и минус-концов микротрубочек в центр фрагмента оказалось результатом их перемещений, осуществляемых при помощи динеина (рис. 3). Эта работа Родионова и Бориси доказала реальное существование по крайней мере одного зависимого от цитоскелета механизма самоорганизации. Однако известно, что элементы самоорганизации во фрагментах могут сохраняться даже после деполимеризации микротрубочек. Поэтому весьма вероятно, что существуют и другие механизмы, зависящие от других цитоскелетных структур — микрофиламентов.

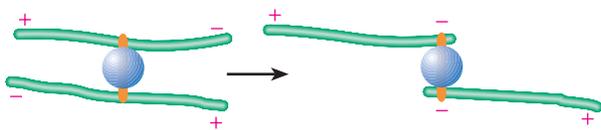


Рис. 3. Упрощенная схема возможного механизма самоорганизации микротрубочек и органеллы во фрагменте цитоплазмы, основанная на данных Родионова и Бориси [4]. Слева — две микротрубочки, соединенные с разными участками одной органеллы (кружок). Предполагается, что присоединение осуществляется через посредство специального белка — динеина, способного двигать органеллы вдоль микротрубочек от плюс-конца к минус-концу. Справа — вызываемые динеином взаимные перемещения микротрубочек и органеллы привели к тому, что эта органелла образовала подобие центра, от которого отходят в противоположные стороны две микротрубочки, ориентированные плюс-концами к периферии

Под наружной мембраной каждой клетки расположен сократимый кортикальный слой актиновых микрофиламентов, у клеток, прикрепленных к дну культуры, этот слой растянут. Можно сравнить кортекс с растянутой резиновой лентой, стремящейся сократиться к своему центру. Очевидно, если разрезать эту ленту на фрагменты, то каждый из фрагментов будет сокращаться к своему новому центру. Наоборот, если несколько кусков ленты склеить друг с другом, то объединенная лента будет сокращаться по направлению к новому единому центру. Сходным образом, кортекс клеток и фрагментов во всех ситуациях натянут относительно центра. Натяжение будет ориентировать микрофиламенты кортекса: представьте себе сетку, которую кто-то растянул, все нити в ней станут ориентироваться относительно направлению натяжения. Ориентировка микрофиламентов может направлять зависящие от этих микрофиламентов движения органелл

к центру. Этот довольно простой механизм пока остается гипотетическим. У нас нет пока прямых данных, подтверждающих его роль в самоорганизации. Изучение механизмов самоорганизации лишь начинается.

ГИГАНТСКИЕ КЛЕТКИ И КЛЕТОЧНЫЕ ФРАГМЕНТЫ В НАШЕМ ОРГАНИЗМЕ

Было бы удивительно, если бы замечательная способность цитоплазмы к самоорганизации не использовалась клетками в организме для различных физиологических целей. И действительно, в нашем организме многие клетки способны проделывать самостоятельно те же реорганизации, которые мы вызываем искусственно в культуре: соединяться друг с другом в гигантские многоядерные клетки и, наоборот, отделять от себя безъядерные цитоплазматические фрагменты, которые способны самоорганизоваться и выполнять важные физиологические функции.

Примерами многоядерных клеток могут служить миофибриллы поперечнополосатых мышц, образующиеся путем слияния одноядерных миобластов. По всей вероятности, здесь благодаря гигантским размерам ускоряется и синхронизируется реакция мышечной клетки на нервный сигнал, вызывающий ее сокращение: такой сигнал распространяется очень быстро от нервного окончания (синапса) по всей единой мембране, окружающей многоядерную клетку.

Еще один тип многоядерных клеток — гигантские клетки инородных тел. Такие клетки образуются под кожей или в других тканях из одноядерных клеток, макрофагов, прилипших к поверхности инородного тела, застрявшего в этих тканях, например пули или иглы. Макрофаги безуспешно пытаются фагоцитировать инородное тело. Смысл слияния в гиганты заключается, по-видимому, в том, чтобы увеличить фагоцитирующую поверхность. Вероятно, по сходным причинам в костной ткани становятся многоядерными особые клетки (остеокласты), которые разрушают излишнее костное вещество.

Тромбоциты крови — самый интересный и важный пример образования отделенных от клеток цитоплазматических фрагментов, способных к самоорганизации. Тромбоциты играют центральную роль в свертывании крови, образовании тромбов — сгустков, закрывающих просвет разорвавшегося кровеносного сосуда и останавливающих кровотечение из этого сосуда [5]. Патологическое тромбообразование — основа самых распространенных сердечно-сосудистых заболеваний, в особенности инфарктов и инсультов. Неактивированные тромбоциты, циркулирующие в крови человека, представляют собой небольшие безъядерные образования (рис. 4), покрытые мембраной и содержащие в цитоплазме много неполимеризованного актина, а также гранул разного состава. При действии химических веществ,

связывающихся с рецепторами на наружной стороне их мембраны, например коллагена, тромбоциты активируются. Такая активация – начальный этап свертывания крови. На поверхности активированного тромбоцита выпячиваются многочисленные псевдоподии. У тромбоцитов, так же как и у больших ядерных клеток [2], молекулярной основой образования псевдоподий является полимеризация актиновых микрофиламентов из растворимого актина. К микрофиламентам присоединяются миозин и другие молекулы. В результате псевдоподии, как и у больших клеток, становятся сократимыми, способными прикрепляться к различным поверхностям, например к коллагеновым волокнам (рис. 4). Тромбоцит расстилается на таких поверхностях и может даже перемещаться по ним на небольшие расстояния. Гранулы, собранные в центральной части цитоплазмы активированного тромбоцита, сливаются с наружной мембраной и секретируют свое содержимое в среду (кровь или тканевую жидкость). При этом активные вещества, вышедшие из таких гранул, действуют на белки крови, стимулируя дальнейшее тромбообразование (подробнее см. [5]). Через несколько часов активированный тром-



Рис. 4. Тромбоциты человека, находящиеся на разных стадиях активации. В центре – тромбоцит, выпустивший много псевдоподий и уплотнившийся при прикреплении к твердой поверхности. Рядом – еще не активировавшийся дисковидный тромбоцит без псевдоподий. По периферии – тромбоциты с единичными псевдоподиями (самая начальная стадия активации). Сканирующая электронная микрофотография.

Препарат Е.Ю. Васильевой

боцит, подобно клеточным фрагментам в культуре, погибает. “Родителями” тромбоцитов, циркулирующих в крови, являются особые многоядерные клетки костного мозга – мегакариоциты. На поверхности мегакариоцита образуются длинные отростки, от которых отщепляются цитоплазматические фрагменты, попадающие затем в кровь. Мы еще не знаем точно механизма отделения и упаковки таких фрагментов.

Таким образом, тромбоциты можно рассматривать как фрагменты цитоплазмы, естественно образующиеся из структур противоположного типа – гигантских клеток. Эти фрагменты могут длительно сохраняться в крови в упакованном виде, но при необходимости могут однократно активироваться и самоорганизоваться, а затем, выполнив свою функцию, активировав свертывание, погибать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способность к самоорганизации – важнейшее свойство цитоплазмы. Эта способность является основой распределения компонентов в каждой клетке, а также используется в организме для специальных целей – образования многоядерных клеток и естественно отделяющихся фрагментов, таких, как тромбоциты. Возможно, что механизм самоорганизации используется и в тех случаях, когда в клетке выделяются (сегрегируются) особые участки, способные к относительно самостоятельным движениям, но остающиеся связанными с остальной клеткой. Пример такого участка – пластинка цитоплазмы, образующаяся на конце растущего отростка нервной клетки, так называемый конус роста [2]. Конус роста непрерывно выбрасывает на краях псевдоподии и движется относительно самостоятельно в нужном направлении, таща за собой весь прикрепленный к нему сзади отросток. Интересно, что если отрезать конус роста от остального отростка, то он продолжает в течение некоторого времени ползать самостоятельно, то есть ведет себя как самоорганизованный фрагмент цитоплазмы.

Недавно наша группа [6] показала, что, обрабатывая большую дисковидную многоядерную клетку эпителия особым белком, выделяемым в организме некоторыми тканями (так называемым рассеивающим фактором), можно вызвать разделение этой клетки на несколько самостоятельно ползающих участков, связанных друг с другом шнурами цитоплазмы, не способными активно двигаться (рис. 5). Этот феномен – еще один пример частичной сегрегации цитоплазмы на самоорганизующиеся участки. Такая сегрегация является, вероятно, важным способом морфологических превращений клеток в организме. Конкретные пути таких превращений – интересная тема для будущих исследований.

Хотя многое в механизмах самоорганизации остается еще непонятным, очевидно, что их основой является динамика цитоскелета, в особенности

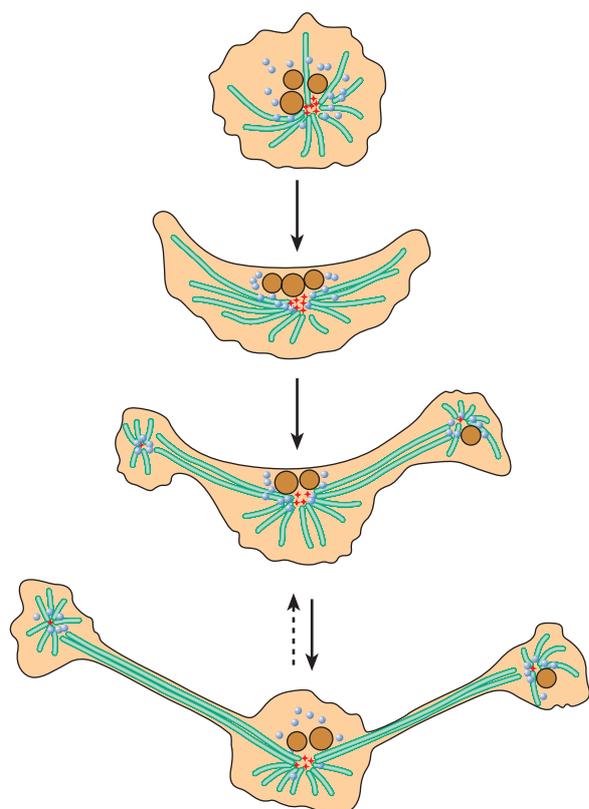


Рис. 5. Схема, основанная на данных Александровой и др. [6]. Многоядерная эпителиальная клетка (вверху) под воздействием специального белка (так называемого рассеивающего фактора) разделяется на несколько пластинчатых участков (ламеллопластов), соединенных друг с другом узкими шнурами цитоплазмы (кабелями). Каждый ламеллопласт содержит свою centrosому (крестик) с отходящими от нее микротрубочками и свои органеллы. Каждый ламеллопласт способен выпускать псевдоподии и двигаться, волока за собой присоединенный к нему кабель. Ядра есть в некоторых, но не во всех ламеллопластах

микротрубочек и микрофиламентов. Эта динамическая архитектура клетки уникальна. Ничего подобного в архитектурных конструкциях, создаваемых человеком, нет. Трудно себе представить отделенный от целого здания фрагмент, самостоятельно реорганизующийся в “мини-дом”. Между тем цитоплазма легко выполняет такие преобразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев Ю.М. Клетка как архитектурное чудо. Ч. 1. Живые нити // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 2. С. 36–43.
2. Васильев Ю.М. Клетка как архитектурное чудо. Ч. 2. Цитоскелет, способный чувствовать и помнить // Там же. № 4. С. 4–10.
3. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. Ч. 2. Клетки строят ткань // Там же. № 5. С. 20–25.
4. Rodionov V.I., Borisy G.G. Self-centring Activity of Cytoplasm // Nature. 1997. Vol. 386. P. 170.
5. Зубаиров Д.М. Как свертывается кровь // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 3. С. 46–52.
6. Alexandrova A.Y., Dugina V.B., Ivanova O.Y. et al. Scatter Factor Induces Segregation of Multicellular Cells into Several Discrete Motile Domains // Cell Motility and Cytoskeleton. 1998. Vol. 39. P. 147–158.

* * *

Юрий Маркович Васильев, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры вирусологии МГУ, зав. лабораторией Всероссийского онкологического научного центра. Автор 200 научных работ, включая шесть монографий на русском и английском языках.