

Received: 2015.11.03  
Accepted: 2016.08.06  
Published: 2016.12.20

## Macierz jądrowa – struktura, funkcja i patogeneza

### Nuclear matrix – structure, function and pathogenesis

Piotr Wasąg<sup>1,2</sup>, Robert Lenartowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Genetyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, UMK w Toruniu

<sup>2</sup>Pracownia Izotopowa i Analizy Instrumentalnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, UMK w Toruniu, Toruń.

#### Streszczenie

Przebieg wielu procesów jądrowych determinują interakcje swoistych czynników *trans* i *cis*, w których uczestniczy struktura szkieletowa jądra komórkowego tzw. macierz jądrowa (NM). Struktura jest opisywana jako pozachromatynowy, rybonukleoproteinowy zrąb jądrowy, odporny na działanie roztworów o dużej sile jonowej, detergentów niejonowych oraz enzymów nukleolitycznych. W komórce pełni funkcję strukturalną odpowiadając za utrzymanie kształtu jądra komórkowego oraz przestrzenną organizację chromatyny. Wskazuje się na zaangażowanie NM w przebieg wielu procesów komórkowych, takich jak replikacja i naprawa DNA, ekspresja genów, transport RNA, przekazywanie sygnałów, regulacja cyklu komórkowego, różnicowanie komórek, a także apoptoza i nowotworzenie. Głównym elementem *cis* umożliwiającym wypełnianie opisywanych funkcji są krótkie sekwencje nukleotydowe tzw. S/MAR, będące miejscami przyczepu pętli chromatynowych do białek macierzy jądrowej (NMP). Dynamika składu polipeptydowego NM uwarunkowana rodzajem i stopniem zróżnicowania tkanki/komórki oraz zachodzącymi procesami fizjologicznymi wpływa na zróżnicowaną ekspresję genów i koreluje ze zmianami miejsc kotwiczenia sekwencji S/MAR.

W pracy usystematyzowano wiadomości na temat struktury szkieletowej jądra komórkowego, ze szczególnym uwzględnieniem funkcjonujących w literaturze modeli organizacji NM oraz roli jaką pełni w wybranych procesach komórkowych. Omówiono również choroby wywołane zaburzeniami prawidłowego funkcjonowania NM lub poszczególnych jej składników.

#### Słowa kluczowe:

białka macierzy jądrowej • ekspresja genów • epigenetyka • laminopatie • macierz jądrowa • nowotworzenie • patogeneza • S/MAR • szkielet jądrowy

#### Summary

The nuclear matrix (NM), or nuclear skeleton, is the non-chromatin, ribonucleoproteinaceous framework that is resistant to high ionic strength buffers, nonionic detergents, and nucleolytic enzymes. The NM fulfills a structural role in eukaryotic cells and is responsible for maintaining the shape of the nucleus and the spatial organization of chromatin. Moreover, the NM participates in several cellular processes, such as DNA replication/repair, gene expression, RNA transport, cell signaling and differentiation, cell cycle regulation, apoptosis and carcinogenesis. Short nucleotide sequences called scaffold/matrix attachment regions (S/MAR) anchor the chromatin loops to the NM proteins (NMP). The NMP composition is dynamic and depends on the cell type and differentiation stage or metabolic activity. Alterations in the NMP composition affect anchoring of the S/MARs and thus alter gene expression.

This review aims to systematize information about the skeletal structure of the nucleus, with particular emphasis on the organization of the NM and its role in selected cellular processes. We also discuss several diseases that are caused by aberrant NM structure or dysfunction of individual NM elements.

#### Key words:

nuclear matrix proteins • genes expression • epigenetics • laminopathies • nuclear matrix • carcinogenesis • pathogenesis • S/MAR • nuclear skeleton

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1226626>

**Word count:** 5966

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 136

**Adres autora:** dr Robert Lenartowski, Pracownia Izotopowa i Analizy Instrumentalnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, UMK w Toruniu, ul. Lwowska 1, Toruń: e-mail: rlenart@umk.pl

**Wykaz skrótów:** **A** – adenina, **AD-EDMD** – dystrofia mięśniowa Emery’ego-Dreifussa forma autosomalna dominująca, **ADLD** – autosomalna dominująca leukodystrofia, **ALS** – stwardnienie zanikowe boczne postać rodzinna, **AONs** – antysensowne oligonukleotydy, **APL** – zespół Barraquera-Simonsa, **AR-EDMD** – dystrofia mięśniowa Emery’ego-Dreifussa forma autosomalna recesywna, **Arg** – arginina, **C** – cytozyna, **CMT2B1** – choroba Charcot-Marie-Tooth typu 2B1, **CT** – terytoria chromosomowe, **Cys** – cysteina, **DCM1A** – kardiomiopatia rozstrzeniowa typu 1A, **EDMD** – dystrofia mięśniowa Emery’ego-Dreifussa, **FPLD2** – rodzinna dystrofia Dunningana, **FSHD** – dystrofia twarzowo-łopatkowo-ramieniowa, **G** – guanina, **Gln** – glutamina, **HGPS** – progeria Hutchinsona-Gilforda, **hnRNA** – heterogenny jądrowy RNA, **HSC** – hematopoetyczne komórki macierzyste, **IC** – domena interchromatynowa, **INM** – macierz wewnętrzna, **LCR** – region kontrolny *locus*, **LGMD1B** – dystrofia obręczowo-kończynowa typu 1B, **IncrRNA** – długi niekodujący RNA, **MADA** – dysplazja zuchwowo-obończykowa typu A, **MHC-I** – główny układ zgodności tkankowej klasy I, **NM** – macierz jądrowa, **ori** – miejsce inicjacji replikacji, **PCR** – reakcja łańcuchowa polimerazy, **Phe** – feniloalanina, **RD** – dermatopatia restrykcyjna, **rDNA** – rybosomalny DNA, **RNP** – rybonukleoproteiny, **rRNA** – rybosomalny RNA, **S/MAR** – sekwencja DNA wiązana przez NMP, **Ser** – seryna, **shRNA** – interferencyjne RNA o strukturze spinki do włosów, **snRNA** – mały jądrowy RNA, **snRNP** – małe jądrowe RNP, **T** – tymina, **TCR** – receptor limfocytów T, **Th1**, **Th2**, **Th17** – subpopulacje limfocytów T pomocniczych, **T<sub>reg</sub>** – limfocyty T regulatorowe, **Trp** – tryptofan.

## WSTĘP

Jądro komórkowe jest wyspecjalizowaną strukturą, która dzięki obecności funkcjonalnych domen tworzy środowisko dla wielu głównych procesów, takich jak replikacja i naprawa DNA, transkrypcja oraz alternatywne składanie RNA (splicing). Mimo znacznego rozwoju technik badawczych wciąż nie udało się wyjaśnić zależności istniejących między organizacją jądra komórkowego, a realizacją informacji genetycznej zawartej w DNA. Szeroko dyskutowaną kwestią prowadzonej w ostatnim półwieczu debaty jest udział w tym procesie struktury szkieletowej jądra komórkowego.

Jednym z istotnych osiągnięć wieloletnich badań nad organizacją jądra komórkowego było uzyskanie przez Berezneya i Coffeya w warunkach *in vitro* szkieletu jądrowego szczurzych hepatocytów, izolowanego 2M roztworem NaCl z jednoczesnym wytrawieniem chromatyny. Wprowadzony przez autorów termin macierzy jądrowej (NM) odnosił się do resztkowej struktury jądra komórkowego, o charakterze rybonukleoproteinowym (RNP), pozostającej po działaniu roztworów soli, detergentów oraz nukleaz [8]. Analiza biochemiczna wykazała, że NM ma charakter polipeptydowy i jest zbudowana głównie (>97%) z białek niehistonowych o kwaśnym odczynie. Ponadto w jej skład wchodzi śladowe ilości RNA, fos-

folipidów i DNA, a uzupełnieniem struktury są cukry w postaci glukozy oraz niewielkiej domieszki galaktozy i mannozy [9]. Badania prowadzone początkowo na zwierzęcych i ludzkich liniach komórkowych rozszerzono wkrótce o niższe *Eucaryota* oraz organizmy roślinne, używając strukturę określaną przez poszczególnych badaczy mianem: rusztowania jądrowego, karioszkieletu, nukleoszkieletu czy endoszkieletu jądrowego [92,124]. Wyniki tych eksperymentów potwierdzały obecność zrębu jądrowego, którego skład biochemiczny pozostawał w związku z filo- i ontogenetycznym stopniem rozwoju organizmu, pochodzeniem tkankowym, fazą cyklu komórkowego czy rodzajem bodźca zakłócającego homeostazę organizmu [79].

## MACIERZ JĄDROWA

### Charakterystyka wybranych składników macierzy jądrowej

#### Białka macierzy jądrowej

Białka NM (NMP) wchodzi w skład resztkowej otoczki jądrowej, budującej macierz peryferyczną, fibrylarno-granularnej struktury macierzy wewnętrznej oraz resztkowego jąderka. Skład polipeptydowy NM charakteryzuje się znaczną dynamiką w zależności od rodzaju

i stopnia zróżnicowania tkanki/komórki, fazy cyklu komórkowego lub rodzaju zachodzącego procesu, włączając apoptozę i nowotworzenie [52,79]. Stosując zróżnicowane kryteria klasyfikacji, NMP można podzielić ze względu na ich budowę, funkcję oraz umiejscowienie jądrowe. Badania proteomu NM mysiej linii komórkowej PD36 wykazały obecność białek z domenami strukturalnymi typu RNP-1, DEAD/DEAH, Brix, D111/G-patch,  $\alpha/\beta$ , coiled coil, obszarami bogatymi w prolinę oraz powtórzeniami WD40 [43]. Analiza funkcjonalna NMP ujawniła ich zróżnicowaną rolę i zaangażowanie w przebieg wielu procesów komórkowych. Wśród zidentyfikowanych struktur polipeptydów znalazły się białka o charakterze strukturalnym, białka szoku cieplnego, enzymy, składniki kompleksów replikacyjnych, transkrypcyjnych, translacyjnych, remodelujących chromatynę, a także uczestniczące w dojrzewaniu i transporcie RNA, procesie różnicowania czy transdukcji sygnału [43,59].

Strukturalna rola NMP została potwierdzona m.in. w badaniach Ma i wsp. [84], którzy wykazali, że usunięcie 90% histonów i rozpuszczalnych białek frakcji jądrowej nie zaburza terytoriów chromosomowych (CT). Jedną z pierwszych analiz składu peptydowego NM ujawniła obecność trzech frakcji polipeptydów, zidentyfikowanych jako składniki blaszki laminowej [8,50]. Znaczenie lamin w organizacji i stabilizacji otoczki jądrowej oraz CT i chromatyny wykazano wielokrotnie, także w trakcie funkcjonalnych interakcji z innymi polipeptydami. Wśród polipeptydów tych zidentyfikowano m.in. składniki kompleksu LINC łączącego nukleo- i cytoskielet, białka LAP1, LAP2 $\alpha$ , LCO1, LEM2, emerynę czy NUP153 zaangażowane w organizację jądrową oraz kotwiczenie chromatyny i kompleksów porowych [27,77,118]. Oprócz typowo peryferyjnego umiejscowienia lamin ich obecność stwierdzono również wewnątrz jądra komórkowego w elektronowo gęstych ziarnistościach, filamentach i wpukleniach wewnętrznej błony otoczki jądrowej tworzących wewnątrzjądrowe kanały [3,50,77]. Na podstawie wyników uzyskanych za pomocą mikroskopii świetlnej, konwencjonalnej mikroskopii elektronowej oraz wielu metod biochemicznych wykazano, że wśród białek strukturalnych NM znajduje się także wimentyna, NuMA,  $\beta$ -aktyna, tubulina, miozyna IC, aktynina  $\alpha$ , fibrylaryna, matryna 3, spektryna, tytyna czy białko p27<sup>BBP</sup>/eIF6 [21,43,59,101]. Mimo że dane literaturowe potwierdzają zdolność większości z nich do tworzenia polimerów, jak dotąd nie udało się ustalić głównego składnika strukturalnego trójwymiarowej sieci rozgałęzionych filamentów NM.

Obecność w puli NMP polimeraz RNA, topoizomerazy I, deacetylazy histonów 1 (HDAC1) oraz wielu czynników transkrypcyjnych sprawia, że NM reguluje proces transkrypcji i ekspresji genów [43,54,95,125,126]. Identyfikacja licznych elementów spliceosomu jako rezydentów NM pozwala na powiązanie szkieletu jądrowego z procesem dojrzewania RNA. Wśród rozpoznanych macierzywych czynników splicingowych znajdują się polipeptydy z rodziny Sm, białka pomocnicze wchodzące

w skład kompleksów snRNP, niektóre czynniki splicingowe SR oraz inne elementy *trans*, tj. PUF60, Prp6, Prp8 i Syf1 [12,43,109,136]. Polimerazy DNA  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ , topoizomeraza II, prymaza, RNaza H, metylaza DNA, egzonukleaza 3'-5' i jądrowy antygen komórek proliferujących (PCNA) stanowią główne składniki NM odpowiedzialne za proces replikacji DNA [62,95,119]. Ze strukturą NM asocjują komponenty szlaków sygnalizacyjnych, do których należą fosfolipazy A<sub>2</sub> i D, sfingomielinaza oraz kinazy białkowe C, CK2 i PI4KA [59,119]. Ponadto do funkcjonalnych składników NM są zaliczane elementy systemu naprawy DNA [5,59], niehistonowe białka HMG [23], składniki kompleksów SWI/SNF remodelujących chromatynę [111], niektóre białka szoku cieplnego [51], białka rybosomowe [59] czy składniki systemu proteasomowego [43,64].

Rosnąca liczba doniesień jednoznacznie wskazuje na powiązanie strukturalnej i funkcjonalnej roli macierzy jądrowej przez poszczególne NMP. Takim przykładem są laminy, które odpowiadając za utrzymanie architektury jądra komórkowego uczestniczą jednocześnie w procesie regulacji ekspresji genów i naprawy DNA [76,77]. Dzięki kompleksowemu charakterowi NM jest swoistą „platformą” umożliwiającą przebieg najważniejszych procesów jądrowych, a w konsekwencji, i komórkowych.

#### RNA

W czasie badań ultrastrukturalnych NM ludzkiej linii komórkowej HeLa, He i wsp. zaobserwowali, że około 70% całkowitego jądrowego RNA jest odporne na ekstrakcję 2M roztworem NaCl pozostając związane z tą strukturą [58]. Zastosowanie metod mikroskopowych i biochemicznych wykazało, że cząsteczki syntetyzowanych transkryptów asocjują z macierzą jądrową wchodząc w interakcje z NMP. Wynikiem tych oddziaływań jest ich obecność w elementach fibrylarnych oraz granulach zawieszonych w przestrzeni jądrowej [58,60,66,131]. Część puli RNA związanego z NM stanowi nieoczapeczkowany hnRNA lub cząsteczki pozbawione ogona poliA na 3' końcu [46,58]. Obecność hnRNA w NM potwierdza analiza składu biochemicznego NM embrionów *D. melanogaster*, która ujawniła obecność mRNA oraz niekodujących sekwencji transkrybowanych z obu nici DNA, zawierających w większości powtórzenia mikrosatelitarne AAGAG [105]. W strukturze szkieletowej jądra komórkowego stwierdzono również obecność snRNA i rRNA [60,136].

Trawienie preparatów NM enzymami rybonukleolitycznymi powoduje, oprócz spadku zawartości RNA, uwalnianie zasocjowanych białek [3,46,58,64]. Wiąże się to z zanikiem filamentów jądrowych i elementów granularnych oraz zaburzeniami organizacji CT wywołanymi zapadaniem się tej struktury i agregacją chromatyny [3,46,58,84,98]. Wyniki jednoznacznie wskazują, że przynajmniej część RNA jest składnikiem strukturalnym powiązanym z białkami NM [3,46,55,57,58,84,98,105,120].

Obecnie duże zainteresowanie wzbudza rola niekodującego RNA jako składnika NM. Liczne doniesienia wskazują zarówno na strukturalne, jak i funkcjonalne znaczenie długiego niekodującego RNA (lncRNA) w tej strukturze. Przykładowo:

- lncRNA *Hotair* – swoiście oddziałuje z kompleksami PRC2 i CoREST/REST remodelującymi chromatynę, które hamują proces transkrypcji przez metylację histonów w obrębie docelowych obszarów chromatyny [36,112],
- lncRNA *Firre* – kolokalizuje z miejscami transkrypcji. Wykazano, że za właściwą lokalizację *Firre* odpowiada jego zdolność do interakcji z białkiem NM hnRNP/SAF-A/Sp120, sugerując jednocześnie udział *Firre* w regulacji ekspresji genów [55],
- *Malat1/Neat2* – oddziałuje z czynnikami splicingowymi z rodziny SR uczestnicząc w regulacji procesu dojrzewania RNA [10,123]. Ponadto wskazuje się na udział *Malat1/Neat2* w utrzymaniu prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego, ruchliwości komórek oraz procesie ekspresji genów czy apoptozy [10],
- *Xist* – bierze udział w inaktywacji chromosomu X. Badania na liniach komórkowych wykazały bezpośrednie interakcje *Xist* z białkiem NMP1/YY1, odpowiedzialnym za tworzenie tzw. centrum nukleacji na chromosomie X [69]. Właściwe umiejscowienie *Xist* oraz promowany proces transkrypcyjnego wyciszania genów wymaga dodatkowo obecności macierzywnych czynników hnRNP/SAF-A/Sp120, SATB1 i SATB2 [1,56,69]. Oddziaływanie *Xist* z kompleksem PRC2 wywołuje reakcję trimetylacji lizyny 27 histonu 3 (H3K27me3) wzdłuż inaktywowanego chromosomu X, począwszy od centrum nukleacji [10],
- lncRNA *Gomafu* – wpływa na proces ekspresji genów. Wykazano, że nadekspresja genu *Gomafu* w komórkach neuronalnych wiąże się z obniżoną ekspresją powiązanych ze schizofrenią genów *DISC1* i *ERBB4* oraz ich alternatywnych wariantów splicingowych [7]. Wykazano również interakcje lncRNA *Gomafu* z czynnikami splicingowymi SF1 i QKI [7]. Dyskutowana jest także rola tego lncRNA w procesie piętnowania rodzicielskiego [120].

#### DNA

Obecnie funkcjonujący model organizacji chromatyny zakłada przestrzenną izolację chromosomów w wydzielonych CT [33,80]. Wykorzystanie metod mikroskopowych oraz biochemicznych doprowadziło do wniosku, że ułożenie chromosomów w obrębie jądra komórkowego nie jest przypadkowe i wykazuje swoistość tkankową i komórkową [33,103]. Doniesienia te są zgodne z wcześniejszymi wynikami badań wskazującymi na peryferyjne położenie w jądrze komórkowym chromosomów o wyższym stopniu kondensacji, uznawanych za późno replikujące [19,45]. Zaproponowany przez zespół Cremera model przestrzennej organizacji CT został potwier-

dzony metodą Hi-C, ujawniającą wzajemne interakcje małych, bogatych w geny chromosomów [80].

Jednym z poziomów organizacji materiału genetycznego są pętle chromatynowe [73,90,117]. Ich powstanie jest możliwe dzięki wzajemnym interakcjom NM z sekwencjami kotwiczącymi, które zmapowano w obrębie telomerów, centromerów oraz chromatynie rozdzielającej te obszary [2,37,44,81,90]. Elementy te w zależności od metody izolacji określono mianem MAR (Matrix Associated Region) bądź SAR (Scaffold Attachment Region) [81]. Jak opisują Linneman i wsp. sekwencje MAR wydają się usytuowane w rejonach intergenowych, podczas gdy SAR są skupione w obrębie genów [81]. Jednocześnie ci sami autorzy wykazali, że mimo różnic w stosowanych metodach izolacji NM, położenie części sekwencji kotwiczących jest niezmiennie, dlatego w literaturze często przyjmuje się nazwę S/MAR na określenie miejsc przyczepu do NM. Zgodnie z definicją S/MAR tworzy swoisty 100-1000 pz fragment DNA zasocjowany z NM po trawieniu endonukleazami [29,49,87]. Wśród motywów charakterystycznych dla S/MAR znajdują się sekwencje:

- bogate w pary AT i TG,
- podatne na zakrzywienie/zagięcie oraz skręcenie,
- tworzące struktury spinki do włosów,
- rozpoznawane przez topoizomerazę II lub
- będące przypuszczalnymi miejscami startu replikacji (*ori*).

W obrębie S/MAR stwierdzono większe nagromadzenie sekwencji rozpoznawanych przez liczne białka regulatorowe w porównaniu do średniej wartości dla całego genomu [13,15]. Kotwiczenie S/MAR do NM jest uwarunkowane wieloma czynnikami począwszy od składu nukleotydowego sekwencji kotwiczącej, poziomu jej metylacji, profilu NMP, a skończywszy na statusie transkrypcyjnym komórki [13,23,42,72]. Na opisywane interakcje wpływa również poziom zróżnicowania i typ komórki, rodzaj bodźca zaburzającego jej homeostazę czy faza cyklu komórkowego [6,23,26,49,73,81,117]. Z tego powodu dokładna liczba S/MAR jest trudna do określenia. Przyjmuje się, że w genomie ssaków może się znajdować 60-64 tys. sekwencji tego typu [13,81]. Pod względem roli pełnionej w komórce S/MAR podzielono na strukturalne i funkcjonalne [13]. Pierwsza z funkcji wynika ze zdolności S/MAR, obecnych w podstawach pętli chromatynowych, do interakcji z NMP i tworzenia funkcjonalnych domen [13,28,64,73,81]. Sekwencje te pełnią wówczas rolę elementów granicznych zdolnych do utrzymania zróżnicowanego statusu transkrypcyjnego w obrębie zdefiniowanych, izolowanych domen. Może to wynikać m.in. z kolokalizacji S/MAR z miejscami rozpoznawanymi przez białka wiążące insulatory [23,99,121]. Jednocześnie wykazano, że wielkość tworzonych pętli koreluje z utrzymaniem otwartej struktury chromatyny lub jej kondensacją, a więc wyciszeniem genów w poszczególnych obszarach chromosomu [74]. Badania dotyczące położenia S/MAR w jednostkach transkrypcyjnych wykazały, że znajdują się one na ich 5' i 3' końcach, jak również wewnątrzgenowo [23,28,29,73,74,81,90,99].

Funkcjonalna rola S/MAR wiąże się z ich zdolnością do oddziaływań z regulatorowymi NMP. Rodzaj wiążanego czynnika *trans* określa właściwości S/MAR jako elementu regulatorowego *cis* w selektywnej ekspresji genów, *per se* bądź w złożeniu z innymi sekwencjami determinującymi ten proces.

Wykazano również udział S/MAR w procesie replikacji i integracji wirusów, ich kolokalizację z ruchomymi elementami genomu oraz niesparowanymi fragmentami DNA. Rozplecenie S/MAR w obrębie miejsc kotwiczenia do NM może spowodować ich nadwrażliwość na działanie nukleaz [2,13,74,87]. Doniesienia z ostatnich lat wskazują na możliwość nakładania się roli strukturalnej i funkcjonalnej S/MAR [23].

### Ultrastruktura macierzy jądrowej – modele organizacji NM

Zróżnicowanie poglądów dotyczących budowy NM oraz przestrzennej organizacji chromatyny znalazło odzwierciedlenie w licznych modelach prezentowanych przez wiele grup badawczych. Analiza większości z nich pozwala na wyłonienie kilku wspólnych elementów NM, do których należą blaszka laminowa z wyraźnie zaznaczonym kompleksem porowym, struktura wypełniająca wnętrze jądra komórkowego oraz znajdujące się w jej obrębie szczątkowe jąderko. Ponadto większość badaczy wskazuje na znaczenie NM zarówno w utrzymaniu sferycznego kształtu jądra komórkowego, jak i w licznych procesach komórkowych [9,58,67].

Pod względem organizacji przestrzennej modele NM można pogrupować na dwa zasadnicze typy, tj. fibrylarny oraz oparty na strukturze kanałowej. W myśl koncepcji fibrylarny NM tworzy trójwymiarową sieć ograniczoną przez szczątkową otoczkę jądrową, złożoną z lamin oraz pozostałości kompleksów porowych jądra komórkowego [9,58]. Warstwa laminy tworzy barierę jądrową pozostając jednocześnie w bezpośrednim kontakcie zarówno z filamentami pośrednimi cytoplazmy, jak i filamentami wewnątrzjądrowymi [58]. Ponieważ w genomach roślinnych nie stwierdzono obecności genów kodujących laminy oraz ortologów białek wiążących laminy, prowadzone badania mają na celu ustalenie składnika strukturalnego resztkowej otoczki jądrowej w komórkach roślinnych. Najprawdopodobniej są to białka z rodziny NMCP/LINC/CRWN uważane za roślinne analogi lamin [27]. Rozpościerająca się od blaszki laminowej ku wnętrzu jądra komórkowego macierz wewnętrzna (INM) jest zbudowana z gęsto ułożonych, polimorficznych włókien, z którymi wiąże się elektronowo gęste ziarnistości oraz macierz jąderkowa [3,9,18,46,58,67,92]. Sieć filamentów INM ma charakter rybonukleoproteinowy o zróżnicowanym składzie biochemicznym [3,58]. Model jest zgodny z wcześniejszymi doniesieniami zespołu Buscha, który na poziomie mikroskopii elektronowej dowodził obecności rybonukleoproteinowej sieci w wolnej od chromatyny przestrzeni jądra komórkowego komórek nowotworowych

raka piersi oraz szczurzych hepatocytów [8,33]. Intensywne ekstrakcje NM buforami o wysokich stężeniach soli powodują usunięcie większości białek wchodzących w skład włókien, ujawniając rdzeniowy charakter filamentów. Te cienkie, regularne struktury wykazują wyższy poziom uporządkowania przestrzennego w porównaniu z grubszymi włóknami obserwowanymi po ekstrakcji NM solami o niskich stężeniach. Dzieje się tak ponieważ grube włókna NM budują wiązki złożone z kilku filamentów rdzeniowych [58]. Istnienie ultracienkich filamentów wykazali również Barboro i wsp. na podstawie obserwacji jąder komórkowych szczurzych hepatocytów [3]. Miały one średnicę 4,1-4,8 nm i wykazywały podobieństwo do oktamerów profibryli wchodzących w skład filamentów pośrednich. Także w trakcie elektroelucji trawionego DNA z jąder komórek zatopionych w mikrokapsułkach agarozowych ujawniono obecność rozgałęzionych struktur włóknistych, pozostających w kontakcie ze szczątkowymi skupiskami chromatyny. Tak otrzymane nukleofilamenty ultrastrukturalnie przypominały filamente pośrednie [67]. Mimo znacznych różnic w technikach izolacji NM, filamente uzyskiwane przez zespoły Berezhneya, Penmana i Cooka miały zbliżoną grubość 7-15 nm oraz podobną morfologię, co pozwala sądzić, że są to struktury analogiczne.

Podobnych informacji dostarczyły zdjęcia ultrastruktury NM pochodzenia roślinnego, na których INM jest widoczna w postaci sieci filamentów udekorowanych elektronowo gęstymi ziarnistościami [18,92]. W odróżnieniu od preparatów NM izolowanych z komórek zwierzęcych, ziarnistości te nie tworzą dużych skupisk i są wyłącznie w obrębie INM. Ponadto rozmieszczenie komponentu granularnego nie jest homogenne, co może wskazywać na istnienie domen o odmiennej strukturze i składzie polipeptydowym. Liczne doniesienia potwierdzają, że roślinna NM jest bardziej stabilna niż zwierzęca, a jednym z proponowanych wyjaśnień jest zróżnicowany skład NMP. Roślinna macierz jąderkowa inaczej niż w swoim odpowiedniku u zwierząt ma złożoną strukturę fibrylarną, w obrębie której nie zaobserwowano zarówno składnika granularnego, jak również gęstego składnika fibrylarnego [92].

Nieco odmienny pogląd na organizację NM przedstawił zespół Razina, opisując macierz wewnętrzną nie jako sieć filamentów, lecz połączone z porami jądrowymi kanały umożliwiające transport między jądrem komórkowym a cytoplazmą. Tworzą one rozgałęzioną sieć, która lokalnie może formować tzw. kawerny – miejsca przestrzennej organizacji kompleksów enzymatycznych. Pojawiające się w czasie izolacji NM filamente zdaniem autorów są wynikiem zapadania się kanałów i agregacji znajdujących się w nich komponentów [110]. Struktury tego typu obserwowano w mikroskopie świetlnym oraz elektronowym, zarówno w komórkach pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego. Miały postać wpukleń otoczki jądrowej, nazwanych *nucleoplasmic reticulum* i stanowiły przedłużenie siateczki śródplazmatycznej [86]. Wśród innych opisywanych struktur znajdują się

utworzone przez filamenty białkowe kanały będące przedłużeniem porów jądrowych, które mogą umożliwiać transport między cyto- a nukleoplazmą [118].

Inny model organizacji jądra komórkowego zaproponowali Cremer i wsp. [34]. W myśl tej koncepcji trójwymiarowa przestrzeń jądra komórkowego podzielona jest na dwa kompartmenty – CT, odpowiedzialny za organizację chromatyny oraz domenę interchromatynową (IC), wykazującą znaczne zróżnicowanie na poziomie strukturalnym i funkcjonalnym. IC rozciąga się od porów jądrowych, otaczając CT i wnikając częściowo do ich wnętrza. Do interakcji białek i niewielkich kompleksów białkowych o właściwościach regulatorowych dochodziłoby zdaniem autorów na powierzchni CT naładowanej ujemnie [33]. W założeniu modelu CT-IC biofizyczne właściwości IC mogą sprzyjać formowaniu w jej obrębie filamentów o charakterze rybonukleoproteinowym, co upodabnia ten model do fibrylarniej koncepcji NM [33,34]. Zakładając jednak, że IC jest odpowiednikiem systemu kanałów przenikających CT, nie można także nie zauważyć podobieństw tego modelu do organizacji jądra komórkowego opisanego przez Razina. Wydaje się więc, że model CT-IC organizacji jądra komórkowego łączy w sobie wiele cech fibrylarniej oraz kanałowej organizacji NM.

### Rola macierzy jądrowej w procesach komórkowych

#### *Ekspresja genów*

Szczegółowa analiza na poziomie ultrastrukturalnym wskazuje, że miejscem przebiegu procesu transkrypcji w NM są struktury o granularno-fibrylarnym charakterze [122,127]. Wykazano, że nowo powstały, znakowany RNA tworzy hybrydy z matrycowym DNA w obrębie tzw. włókien okołochromatynowych, położonych na peryferiach skupisk skondensowanej chromatyny oraz gęstego składnika fibrylarnego i składnika granularnego jąderka [61,122]. Obecnie funkcjonujący model zakłada organizację elementów maszyneryi transkrypcyjnej w postaci tzw. fabryk transkrypcyjnych [41,68]. Badania Jacksona i wsp. [68], którzy uwidocznili miejsca transkrypcji za pomocą technik mikroskopii świetlnej poparto metodami biochemicznymi, umożliwiającymi izolację kompleksów białkowych wchodzących w skład fabryk transkrypcyjnych [88]. Wśród zidentyfikowanych białek znajdowały się m.in. czynniki transkrypcyjne SATB1, AML-1, NMP1/YY1, PIT-1, hnRNPU/SAF-A/Sp120, Sp1-Sp4, ATF, OCT-1 i 2, Fos, Jun, C/EBP $\beta$ , c-myc, CREB1 i Nfx1, polimerazy RNA I, II i III oraz pozostałe elementy regulatorowe kompleksu transkrypcyjnego [43,54,95,125,126]. Wielokrotnie wykazano, że składniki fabryk transkrypcyjnych, podobnie jak nowo powstający transkrypt, pozostają zasocjowane ze strukturą NM i są wystarczające do zainicjowania oraz przeprowadzenia tego procesu [9,66,68,88,93,127].

Liczne doniesienia literaturowe wskazują na korelację między aktywnością transkrypcyjną genów, a wiązaniem ich chromatyny przez S/MAR do NM [26,42,102]. Miejsca

S/MAR oskrzydlaające sekwencję genu wraz z jego elementami regulatorowymi mogą stanowić granice funkcjonalnej jednostki transkrypcyjnej. Po utworzeniu pętli chromatynowych regulatorowe działanie S/MAR może się rozciągać na znaczne odległości obejmując skupiska jednostek transkrypcyjnych, jak w przypadku genów globinowych człowieka regulowanych przez powiązany z NM region LCR (Locus Control Region) [102]. W obrębie ukonstytuowanych domen następuje wiązanie swoistych bądź powszechnie występujących regulatorów transkrypcji, rekrutacja acetylotransferaz histonowych oraz kompleksów remodelujących [23]. Doświadczenia, w których wykorzystano izoschizomery endonukleaz różniące się wrażliwością na metylację dinukleotydu CpG ujawniły, że mniej niż połowa genów *rDNA* w szczurzych fibroblastach była oporna na trawienie nukleolityczne. Geny *rDNA* niezwiązane z NM charakteryzowały się wyższym poziomem metylacji sekwencji [117]. Obecnie obowiązujący model przebiegu transkrypcji zakłada, że składniki kompleksu transkrypcyjnego pozostają zasocjowane z NM, podczas gdy DNA jest elementem ruchomym [61,66,89]. Funkcjonalnym następstwem unieruchomienia fabryk transkrypcyjnych jest możliwość jednoczesnej ekspresji wielu genów w oparciu o jeden kompleks białkowy.

Syntetyzowany hnRNA oraz pośrednie i końcowe produkty jego splicingu pozostają zasocjowane z NM [66,131,136]. Miejsca transkrypcji, w których występuje polimeraza II RNA są czasowo i przestrzennie powiązane z kompleksami splicingowymi [35,93,122,127]. Istotne znaczenie odgrywają tu wzajemne interakcje białek SR i kompleksu snRNP U1 z polimerazą II RNA. Dowiedziono, że zachodzące podczas transkrypcji przyłączanie składników spliceosomu wpływa zarówno na efektywność splicingu, jak i reguluje etap elongacji transkrypcji [35,123]. Uwidocznione za pomocą mikroskopu elektronowego kompleksy splicingowe mają postać ziarnistości otoczonych przez elementy fibrylarnie tworzone przez nowo powstałe transkrypty [12]. Wśród czynników splicingowych główną rolę odgrywają białka SR oraz snRNA U [11,12,136]. Macierzowy czynnik hnRNP U/SAF-A/Sp120 jest powiązany z niezbędnymi elementami maszyneryi splicingowej ssaków wchodząc jednocześnie w interakcje z hnRNA, w tym ze wszystkimi znanymi klasami lncRNA [130]. Dojrzewanie RNA pozostaje skorelowane z transportem końcowych produktów tego procesu. Wykazano, że obecny w kompleksie splicingowym czynnik SRm160 oprócz funkcji koaktywatora splicingu uczestniczy również w transporcie jądrowym [126].

#### *Replikacja i naprawa DNA*

W fazie S cyklu komórkowego procesy transkrypcji i replikacji zachodzą w odrębnych domenach funkcjonalnych [68,127]. Składniki kompleksu replikacyjnego tworzące fabryki replikacyjne, jak i nowo powstałe produkty procesu replikacji, pozostają w ścisłym kontakcie ze strukturą szkieletu jądrowego [62,65,128]. Fabryki

replikacyjne zostały uwidocznione w postaci skupisk na poziomie mikroskopii świetlnej oraz w postaci elektronowo gęstych ziarnistości na poziomie ultrastrukturalnym [62,96]. Ziarnistości charakteryzują się różną wielkością oraz położeniem w zależności od fazy cyklu komórkowego. Na przełomie faz  $G_1/S$  dochodzi do wzrostu ich liczby, a struktury te są widoczne w postaci niewielkich skupisk rozproszonych w przestrzeni jądrowej. Po aktywacji kompleksów wraz z upływem fazy S następuje ich agregacja i nagromadzenie wokół jąderka oraz na peryferiach jądra komórkowego. Późną fazę S cechuje obecność nielicznych skupisk replikacyjnych o dużych rozmiarach, które są umiejscowione w centralnej części jądra komórkowego [63]. Obserwacje są zgodne z danymi literaturowymi opisującymi jądrową dystrybucję obszarów wcześnie i późno replikujących [96,128].

W obrębie fabryk replikacyjnych zlokalizowano m.in. polimerazę DNA  $\alpha$ , PCNA, jak również stwierdzono obecność zależnego od fazy cyklu komórkowego białka ORC1. Funkcją ORC1 jest rekrutacja komponentów kompleksu replikacyjnego w miejscu *ori* i skierowanie go do NM [62,128]. Podobnie jak w przypadku procesu transkrypcji ustalono, że asocjacja fabryk replikacyjnych z NM wymusza przewijanie matrycowego DNA przez immobilizowany kompleks białkowy [62,65]. Potwierdziły to wyniki reakcji PCR, w których za pomocą swoistych starterów namnażano fragmenty domeny genów albuminowych na matrycach DNA związanych z NM szczurzych hepatocytów, regenerujących po częściowej hepatektomii [113]. Ponadto, wykazano kolokalizację miejsc *ori* i sekwencji S/MAR w promotorze genu *c-myc* komórek embrionalnych *X. laevis* i komórkach raka zarodkowego myszy [53]. Stwierdzono, że w zależności od fazy cyklu komórkowego wielkość domen ulega znacznym wahaniom i koreluje z postępowaniem procesu replikacji. Wykazano, że wejście komórki w fazę S powoduje skrócenie długości pętli DNA w porównaniu z rozmiarami osiąganymi w fazach  $G_1$  i  $G_2$  [32]. Ujawniono ponadto, że w regenerującej wątrobie szczura podczas replikacji dochodziło do zmiany wzorca kotwiczenia chromatyny, który był odtwarzany po zakończeniu tego procesu [113].

#### Zmiana struktury macierzy jądrowej a procesy nowotworzenia

Towarzyszące transformacji nowotworowej zmiany w strukturze jądra komórkowego zaburzają prawidłowe funkcjonowanie komórki [78]. Wielokrotnie udowodniano, że procesowi nowotworzenia towarzyszą zmiany składu polipeptydowego NM. Charakter zmian zależy od rodzaju nowotworu, jego położenia w organizmie oraz stopnia zróżnicowania komórek guza [4,5,6,23,40,78,119,133]. Analiza technikami Western blot i spektroskopii masowej ujawniła w profilu NMP komórek raka pęcherza moczowego oraz zdrowego nabłonka dróg moczowych obecność białek o zróżnicowanym znaczeniu funkcjonalnym. Wśród polipeptydów zidentyfikowano białka występujące zarówno w komórkach zdrowych i nowotworowych, typowe dla komórek zdro-

wych, charakterystyczne dla komórek nowotworowych niezależnie od stadium oraz spotykanych tylko w najbardziej zaawansowanej postaci raka [6]. Analogiczne wyniki uzyskano dla innych typów nowotworów m.in. wczesnego stadium raka wątrobowokomórkowego, raka stercza czy raka piersi [4,5,40,133]. Skład NMP zmieniał się nie tylko w zależności od stopnia zróżnicowania komórek nowotworowych, ale również w obrębie organu oraz podtypu nowotworu [52].

Obserwacje dotyczące zmiany profilu NMP w procesie nowotworzenia mogą posłużyć do wyłonienia markerów molekularnych i opracowania odpowiednich testów diagnostycznych. W diagnostyce raka pęcherza moczowego zastosowanie znajduje białko NMP22, którego stężenie rośnie w komórkach nowotworowych nabłonka dróg moczowych [132]. Jak podaje Xylinas i wsp. opracowano dwa testy diagnostyczne oparte na pomiarze stężenia NMP22 w moczu [132]. Natomiast Barboro i wsp. wskazują jako biomarker polipeptyd  $p54^{nrb}$ , którego nadekspresja koreluje ze wskaźnikiem śmiertelności pacjentów po cystektomii [6]. Badania immunohistochemiczne pozwoliły także na identyfikację innego białka NM, SATB2, jako potencjalnego markera raka jelita grubego. W komórkach tego nowotworu ekspresja SATB2 znacząco rośnie w odróżnieniu od innych przebadanych nowotworów, takich jak rak stercza, piersi, żołądka, trzustki, jajnika czy płuc. Wykazano, że swoistość badań diagnostycznych raka jelita grubego z udziałem przeciwciał anti-SATB2 wynosi 85% i wzrasta do 97% po zastosowaniu markerów SATB2 i cytokeratyny 20 (CK20) [85]. Ponadto SATB2 może być markerem pomocniczym w badaniach diagnostycznych nowotworów pochodzenia osteoblastycznego [31]. W diagnostyce raka piersi mogą to być białka p114 i NMP66. Analiza metodą Southwestern ujawniła obecność p114 w badanych odmianach raka piersi, czego nie obserwowano w zdrowej tkance oraz zmianach o charakterze łagodnym [83,133]. NMP66 wykrywano w próbkach krwi pacjentek z nowotworem piersi na etapie stadium wczesnego, późnego oraz raka z przerzutami [83], co zaowocowało stworzeniem przez firmę Matritech GmbH testu diagnostycznego wykrywającego białko NMP66.

#### Patogeneza laminopatii

Analiza składu polipeptydowego NM wskazuje, że stanom patofizjologicznym towarzyszą oscylacje wewnątrzjądrowej puli NMP [4,5,6,23,40,52,78,119,133]. Coraz częściej zaburzenia ekspresji NMP są identyfikowane jako bezpośrednia lub pośrednia przyczyna schorzeń. Doskonałym przykładem są laminopatie pierwotne, heterogenna grupa chorób powstałych na skutek mutacji genów laminowych (*LMNA*, *LMNB1*, *LMNB2*). Jak dotąd scharakteryzowano ponad 400 mutacji sekwencji, z których większość została powiązana z genem *LMNA* [16]. Jeden z funkcjonujących obecnie systemów klasyfikacji laminopatii pierwotnych obejmuje cztery kategorie schorzeń wyszczególnione na podstawie typu tkanki którego dotyczy. Wśród nich znajdują się:

- choroby mięśni poprzecznie prążkowanych,
- lipodystrofie,
- neuropatii obwodowe oraz
- zaburzenia związane z przyspieszonymi procesami starzenia [129].

Najlepiej opisaną chorobą związaną z tkanką mięśniową poprzecznie prążkowaną jest dystrofia mięśniowa Emery'ego-Dreifussa (EDMD) obejmująca trzy typy schorzeń, pierwszy powiązany z chromosomem X i powstający na skutek mutacji genów emeryny (EMD) lub *FHL1* oraz dwa kolejne będące wynikiem mutacji *LMNA* – postać autosomalna dominująca (AD-EDMD) oraz autosomalna recesywna (AR-EDMD). AR-EDMD jest najrzadziej spotykanym typem z zaledwie kilkoma odnotowanymi przypadkami klinicznymi [14,108]. Jak opisuje Jimenez-Escrig i wsp. [70] jednym z wariantów mutacji *LMNA* odpowiedzialnym za recesywną postać EDMD jest substytucja zachowywanej ewolucyjnie reszty argininy (Arg225Gln) w łańcuchu aminokwasowym lamininy. Mutacje *LMNA* związane z EDMD mogą występować na całej długości genu zarówno wewnątrz eksonów, jak również na granicy ekson/intron. Najczęściej mają charakter zmiany sensu z przewagą substytucji 1357C>T, skutkującej podstawieniem Arg453Trp w łańcuchu aminokwasowym, a w mniejszym stopniu wykazują cechy mutacji nonsensownych lub innych warunkujących haploinsuficjencję lamin typu A [14,108,114,129]. Objawy kliniczne towarzyszące EDMD charakteryzującą się dużą zmiennością fenotypową [14,108,114]. Typowy przebieg choroby wiąże się z występowaniem przykurczy ścięgien, postępującym osłabieniem i zanikiem mięśni oraz zaburzeniami pracy serca w tym m.in. zaburzeniami przewodzenia czy kardiomiopatią rozstrzeniową. Ostatnie z wymienionych dolegliwości mogą doprowadzić do nagłej śmierci na skutek zatrzymania akcji bądź postępującej niewydolności serca. Obserwowany w AD-EDMD zanik mięśni nasila się po trzeciej dekadzie życia doprowadzając do całkowitej lub częściowej utraty zdolności chodzenia oraz kardiomiopatii rozstrzeniowej [14]. W AR-EDMD fenotyp jest podobny do AD-EDMD jednak zaburzenia pracy serca nie występują lub są wyraźnie opóźnione [14,108].

Mutacje *LMNA* powiązано również z innymi chorobami mięśni poprzecznie prążkowanych, dziedzicznymi w sposób autosomalny dominujący. Należą do nich dystrofia obręczowo-kończynowa typu 1B (LGMD1B) oraz kardiomiopatia rozstrzeniowa typu 1A (DCM1A) [14]. LGMD1B charakteryzuje się powolnym, postępującym osłabieniem mięśni początkowo w obrębie obręczy miednicowej, a następnie barkowej, jednak bez typowych dla EDMD wczesnych przykurczów [94]. W DCM1A obserwuje się zaburzenia sercowe charakteryzujące się poszerzeniem komór serca powiązanych z zakłóceniami przewodzenia przedsionkowo-komorowego, które mogą także towarzyszyć LGMD1B [14].

Wśród lipodystrofii oraz neuropatii obwodowych na uwagę zasługują odpowiednio rodzinna dystrofia Dunningana (FPLD2) oraz choroba Charcota-Mariego-Tootha

typu 2B1 (CMT2B1). Za główną przyczynę FPLD2 uznaje się substytucje, umiejscowione w obrębie całego genu *LMNA* [75]. Choroba ma charakter autosomalny dominujący z typowymi objawami obejmującymi postępującą utratę podskórnej tkanki tłuszczowej kończyn z jednoczesnym odkładaniem jej w okolicach karku i twarzy. Pacjentów charakteryzuje wiele zaburzeń metabolicznych w postaci hiperlipidemii, insulinooporności oraz cukrzycy typu 2 [14,75]. Natomiast CMT2B1 jest aksonalnym podtypem neuropatii, który podlega dziedziczeniu w sposób autosomalny recesywny [14,39]. Przyczyną CMT2B1 jest substytucja nukleotydowa w eksonie 5 *LMNA* prowadząca do podstawienia zachowywanej w toku ewolucji reszty argininy przez cysteinę (Arg298Cys). Obraz badania elektrofizjologicznego pacjentów wskazuje na aksonalne uszkodzenie nerwów obwodowych, natomiast typowe objawy kliniczne obejmują arefleksję, osłabienie i zanik mięśni odsiebnych oraz deformacje stóp. Badania dotyczące człowieka potwierdzono na modelach zwierzęcych wykorzystując homozygotyczne myszy z nokautem genu *LMNA*. Osobniki charakteryzowały się zaburzeniami motorycznymi oraz zmianami histopatologicznymi objawiającymi się m.in. demielinizacją nerwów kulszowych [39].

Ostatnim typem laminopatii są progerie, fenotypowo przypominające proces starzenia obserwowany przedwcześnie o znacznej intensywności przebiegu [20]. Wśród najczęściej opisywanych chorób znajduje się progeria Hutchinsona-Gilforda (HGPS), dermatopatia restryktywna (RD) czy dysplazja żuchwowo-objoczykowa typu A (MADA). W 2003 r. zidentyfikowano mutację 1824 nukleotydu C>T w genie *LMNA* jako odpowiedzialną za występowanie HGPS [38]. Ta pojawiająca się *de novo* w eksonie 11 mutacja powoduje aktywację kryptycznego miejsca splicingowego i powstanie tzw. progeryny, charakteryzującej się utratą 50 reszt aminokwasowych obejmujących miejsce cięcia metaloproteiny FACE1/ZMPSTE24. Molekularnym następstwem delecji jest pozostanie farnetylowanej reszty Cys na C-końcu prelamininy, co zaburza proces dojrzewania lamininy A i powoduje akumulację progeryny w jądrze komórkowym [20,38]. Fenotypowo HGPS ujawnia się opóźnieniem wzrostu, któremu towarzyszą m.in. osteoliza, osteoporoza, zanik tkanki mięśniowej i tłuszczowej, atrofia skóry czy łysienie. Śmierć następuje średnio w wieku 13,5 lat [20].

Badania Navarro i wsp. [97] ujawniły, że mutacja w obrębie miejsca donorowego intronu 11 *LMNA* wywołująca delecję 90 reszt aminokwasowych (G567\_Q656del) wiąże się także z dermatopatią restryktywną. Ta śmiertelna choroba charakteryzuje się artrogrypozą, zaburzeniami dermatologicznymi, obniżoną gęstością kości oraz dysmorfią twarzy [20,97].

Mutacja zmiany sensu w obrębie genu *LMNA* powodująca zmianę reszty argininy w pozycji 527 na histydynę została wykazana przez Novelli i wsp. [100] jako genetyczne podłoże MADA. Schorzenie jest dziedziczone w sposób autosomalny recesywny, natomiast objawy kliniczne obejmują



m.in. opóźnienie wzrostu, hipoplazję żuchwy, osteolizę obojczyków, lipodystrofię czy atrofię skóry połączoną ze zmianami pigmentacji. U pacjentów mogą również wystąpić zaburzenia metaboliczne w postaci insulinooporności oraz cukrzycy [typu 1 czy 2] [14].

Za główną przyczynę rzadkich schorzeń związanych z mutacjami genów *LMNB1* i *2* w ogólnej puli laminopatii uważa się brak funkcjonalnych lamin typu B [16,135]. Letalność tego efektu potwierdzają badania prowadzone na myszach, w których homozygoty *Lmnb2*<sup>-/-</sup> umierały w przeciągu godziny po urodzeniu. Jak wykazano w czasie ich rozwoju embrionalnego stwierdzono zaburzenia migracji neuronów ze strefy komory do płytki korowej, skutkujące nieprawidłowym wykształceniem się mózgu [30]. Jedną z chorób dziedzicznych związanych z patologią genu *LMNB1* jest autosomalna dominująca leukodystrofia (ADLD), fenotypowo przypominająca stwardnienie rozsiane. U pacjentów z ADLD występuje dodatkowa kopia genu, co podwyższa ekspresję laminy typu B1. Natomiast mutacje *LMNB2* powiązane ze stopniową utratą podskórnej tkanki tłuszczowej w górnych partiach ciała towarzysząca syndromowi Barraquera-Simonsa (APL) [104,135].

Mimo znacznego postępu w badaniach molekularne podłoże laminopatii jak dotąd nie zostało w pełni scharakteryzowane. Jednym z pytań pozostających bez odpowiedzi jest to w jaki sposób mutacje jednego genu, jakim jest *LMNA*, wywołują tak wiele chorób i towarzyszących im objawów. Podejmując próbę rozwikłania tej zagadki należy wziąć pod uwagę rosnącą liczbę doniesień dokumentujących udział lamin w różnych procesach komórkowych [76,77]. Przyjmuje się, że mutacje w genach kodujących laminy zaburzają interakcje między NMP oraz innymi składnikami otoczki jądrowej, zmieniając kształt jądra komórkowego, powodując niewłaściwe umiejscowienie rezydentów białkowych kompleksów jądrowych, zaburzając organizację chromatyny, funkcjonowanie szlaków sygnałowych czy transport między nukleo- a cytoplazmą [20].

Obecnie nie ma jeszcze skutecznego leku przeciwko laminopatiom, a stosowane terapie mają charakter prewencyjny lub objawowy [14,16]. Wśród opracowywanych metod leczenia obiecujących wyników dostarczają badania nad inhibitorami transferazy farnazylowej oraz statynami, które u pacjentów z HGPS zwiększają gęstość tkanki kostnej, tempo jej wzrostu oraz poprawiają funkcjonowanie naczyń krwionośnych. Należy jednak pamiętać, że zastosowanie inhibitorów nie prowadzi do całkowitego wyleczenia, lecz jedynie opóźnia postęp choroby. nierozwiązanym wciąż pozostaje problem wpływu tych substancji na inne białka, a przez to procesy komórkowe [16]. Doniesienia Gabriel i wsp. [47] wskazują na korzystny wpływ sulforafanu, naturalnego izotiocyjanianu o właściwościach antyoksydacyjnych, który w komórkach fibroblastów pacjentów z HGPS redukuje stężenie progeryny, jak i obniża poziom uszkodzeń DNA na skutek zwiększe-

nia aktywności proteasomowej komórek oraz procesu autofagii [47]. Wcześniejsze doniesienia Liu i wsp. [82] dokumentują również możliwość zastosowania naprawy uszkodzonych genów za pośrednictwem rekombinacji homologicznej z wykorzystaniem wektorów wirusowych niosących poprawne sekwencje DNA. Opisywane badania wskazują, że efektywny proces rekombinacji zachodzi zarówno w indukowanych pluripotencjalnych oraz mezenchymalnych komórkach macierzystych człowieka i skutkuje zanikiem ekspresji progeryny na rzecz funkcjonalnej postaci laminy A [82]. Innym obiecującym kierunkiem w terapii laminopatii jest opisane przez Scharnera i wsp. [115] zastosowanie antysensownych oligonukleotydów (AONs). AONs mogą maskować miejsca splicingowe, kryptyczne oraz rejony wzmacniające splicing, doprowadzając do pominięcia eksonu lub przywrócenia prawidłowego procesu składania transkryptów. Wyniki badań prowadzonych na mysich fibroblastach z nokautem genu *LMNA* ujawniły, że skrócone postaci ludzkich lamin z delecją eksonu niosące mutacje nonsensowne mogą niwelować nieprawidłowości związane z laminopatiami [115].

Mimo że laminopatie są najbardziej znaną grupą chorób wywołanych zaburzeniami struktury i funkcji NM dane literaturowe wskazują na istnienie innych schorzeń powiązanych ze szkieletem jądrowym. Na przykład zmiany w łańcuchu aminokwasowym Ser85Cys oraz Phe115Cys matryny (*MATR3*) zostały zidentyfikowane jako przyczyna rzadkiej rodzinnej postaci stwardnienia zanikowego bocznego (ALS) objawiającego się degeneracją neuronów motorycznych w mózgu i rdzeniu kręgowym, prowadzącą do śmierci na skutek niewydolności oddechowej [71,116]. Innym schorzeniem wywołanym zmianą miejsca przyczepu sekwencji S/MAR do NM w obrębie locus 4q35 jest dystrofia twarzowo-łopatkowo-ramienna (FSHD). Fenotypowo FSHD objawia się postępującym osłabieniem oraz zanikiem mięśni twarzy i obręczy barkowej. Molekularne podłoże choroby jest związane z częściową delecją tandemowo powtórzonego elementu D4Z4, w obrębie którego zlokalizowano element enhancerowy. Delecja D4Z4 wiąże się z dysocjacją sekwencji S/MAR (tzw. FRR-MAR) i zmianą przestrzennej organizacji chromatyny w domenie. Badania prowadzone na liniach komórkowych ujawniły, że FRR-MAR jest elementem strukturalnym oddzielającym powtórzenia D4Z4 od sąsiadujących z nimi genów *FRG2*, *FRG1* i *SLC25A4*. Uzyskane wyniki pozwoliły autorom na zaproponowanie modelu, w którym utrata miejsca przyczepu powoduje aktywność transkrypcyjną *FRG2*, *FRG1* i *SLC25A4*, co może pełnić główną rolę w powstawaniu FSHD [106,107].

### Odpowiedź immunologiczna

Nadrzędną funkcją łączącą NM i układ immunologiczny jest utrzymanie homeostazy organizmu. Właściwe działanie systemu odpornościowego jest związane z odpowiednim składem polipeptydowym szkieletu jądrowego wpływającym modulująco na odpowiedź immunologiczną. Jednym z głównych składników NM biorących udział w tym procesie jest białko SATB1, czynnik transkrypcyjny odpowie-

działny za epigenetyczną regulację ekspresji genów [24]. Wyciszenie ekspresji SATB1 ujawniło istotną funkcję tego białka w organizacji chromatyny *locus* genów klasy I głównego układu zgodności tkankowej (MHC-I) człowieka. Ponadto wykazano, że ukonstytuowanie pętli chromatynowych w *locus* MHC-I ma charakter swoisty komórkowo i zależy od odpowiedniego poziomu ekspresji SATB1. Różnicowanej organizacji domen chromatynowych towarzyszy selektywna zmiana aktywności transkrypcyjnej genów MHC, co potwierdzają doświadczenia *in vivo* z użyciem shRNA wyciszającym ekspresję SATB1 [48].

Białko SATB1 jest zaangażowane również w procesy różnicowania hematopoetycznych komórek macierzystych (HSC) począwszy od hamowania spontanicznej polaryzacji HSC po regulację wczesnych i końcowych etapów dojrzewania poszczególnych subpopulacji limfocytów. Regulacja odbywa się na poziomie przestrzennej i czasowej kontroli ekspresji genów docelowych kodujących m.in. cytokiny i czynniki transkrypcyjne, których produkty odgrywają główną rolę w kształtowaniu fenotypu komórek. Stwierdzono, że ponad 300 genów regulowanych przez SATB1 jest włączonych w różnicowanie ludzkich limfocytów T CD4<sup>+</sup> w kierunku subpopulacji komórek Th1 i Th2. Udowodniono również, że białko to w wyniku interakcji z  $\beta$ -kateniną odgrywa istotną rolę w procesie dojrzewania limfocytów Th2 zależnym od szlaku sygnałowego Wnt. Wspomniane oddziaływania stanowią element kontroli ekspresji genu GATA-3, kodującego główny regulator transkrypcji linii Th2 [17]. SATB1 jest również negatywnym regulatorem różnicowania i utrzymania subpopulacji limfocytów T regulatorowych (T<sub>reg</sub>). Nadrzedną rolę w tym procesie odgrywa czynnik FoxP3, który hamuje ekspresję SATB1 w sposób bezpośredni wiążąc się z 3' UTR transkryptu SATB1. Wykazano jednocześnie, że ektopowa ekspresja SATB1 w limfocytach T<sub>reg</sub> powoduje utratę ich funkcji supresorowych oraz nabywanie fenotypu komórek efektorowych [17,134].

W 2000 r. Chattopadhyay i wsp., w oparciu o badania prowadzone na tymocytach myszy, opisali inne białko NM, SMAR1 oddziałujące z miejscem S/MAR w obrębie *locus* genu receptora  $\beta$  limfocytów T (TCR) [22]. SMAR1 pełni rolę immunomodulatora rekrutującego czynniki remodelujące chromatynę, takie jak mSin3A czy HDAC1 oraz zaangażowanego w epigenetyczną regulację procesu rekombinacji genów VDJ [24,121]. Wykazano, że SMAR1 może funkcjonować jako wewnątrzkomórkowy przełącznik molekularny zaangażowany w proces różnicowania limfocytów T. Potwierdzają to wyniki badań z wykorzystaniem transgenicznym myszy z nokautem genu SMAR1, u których zaobserwowano obniżoną reakcję immunologiczną zależną od komórek Th2 w odpowiedzi na indukowaną alergiczną chorobę dróg oddechowych. Stwierdzono, że różnicowanie limfocytów dziewiczych izolowanych od tych osobników było zahamowane w warunkach *in vitro* i korelowało ze wzrostem poziomu mRNA genów *IFN- $\gamma$* , *T-bet* oraz *IL-17*. Analizując molekularny mechanizm zjawiska ujawniono w obrębie promotorów *T-bet* i *IL-17*

obecność sekwencji S/MAR wchodzących w interakcje z białkiem SMAR1 oraz dodatkowymi czynnikami, tj. SMRT i HDAC1. Wiązanie tych białek z docelowymi elementami *cis* promotorów w komórkach Th2 powodowało hamowanie aktywacji genów *T-bet* i *IL-17*, a w konsekwencji negatywną regulację procesu różnicowania subpopulacji limfocytów Th1 i Th17 oraz utrzymanie fenotypu Th2 [25]. Udział SMAR1 w różnicowaniu limfocytów T potwierdzono również w warunkach *in vivo* podczas indukowanego chemicznie nieswoistego zapalenia jelit u myszy. Wykazano także, że SMAR1 odgrywa istotną rolę w utrzymaniu równowagi między subpopulacjami limfocytów regulatorowych (T<sub>reg</sub>) i Th17. U transgenicznych myszy z nokautem genu SMAR1 następowała utrata funkcji supresorowej limfocytów T<sub>reg</sub> oraz wzrost ekspresji genów kodujących cytokiny prozapalne TNF- $\alpha$ , IL-17 i IFN- $\gamma$ . Wydaje się, że ważną rolę w utrzymaniu fenotypu komórek T<sub>reg</sub> odgrywają wzajemne interakcje między SMAR1 a czynnikami FoxP3 i STAT3, jednak obecne rozumienie tych oddziaływań jest fragmentaryczne [91].

Liczne doniesienia literaturowe wskazują również na udział innych NMP zarówno w proces różnicowania, jak i funkcjonowania elementu układu odpornościowego. Znajdują się wśród nich zarówno pojedyncze polipeptydy bądź złożone kompleksy białkowe np. YY1, Bright, Gfi-1, SWI/SNF, MeCP2, PARP, HMG czy HP1 [24]. Tak szeroki udział NMP w sposób bezsprzeczny dowodzi roli NM w kreowaniu odpowiedzi immunologicznej organizmu, chociaż wskazanie bezpośrednich zależności między poszczególnymi elementami tej skomplikowanej sieci wymaga dodatkowych badań.

## PODSUMOWANIE

Na podstawie licznych doniesień literaturowych istnienie struktury szkieletowej jądra komórkowego nie powinno obecnie budzić wątpliwości. Wielokrotnie wykazano, że NM jest zaangażowana w wiele procesów komórkowych, ważnych z punktu widzenia utrzymania homeostazy całego organizmu. Niewątpliwie duże znaczenie odgrywa tu charakter omawianej struktury powiązany z dynamiką składu komponentu rybonukleoproteinowego i ściśle dopasowany do przeprowadzanego procesu. Ponadto jednoznacznie wykazano, że нефизjologiczne zmiany kompozycji NMP powodują występowanie różnorodnych stanów patologicznych, które są prawdziwym wyzwaniem współczesnej medycy.

Chociaż w ciągu ostatnich 40 lat odnotowano znaczny postęp w poznaniu NM wiele kwestii w dalszym ciągu pozostaje przedmiotem dyskusji środowiska naukowego. Wśród nich można wymienić chociażby opisywane w pracy modele organizacji struktury szkieletowej jądra komórkowego. Prawdziwym wyzwaniem stawianym obecnie przed badaczami jest również identyfikacja pełnej listy czynników wchodzących w skład NM, w tym głównego składnika strukturalnego, co stanowiłoby przełom w badaniach nad tą strukturą i umożliwiłoby pełne zrozumienie roli jaką pełni w komórce.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Agrelo R., Souabni A., Novatchkova M., Haslinger C., Leeb M., Kommenovic V., Kishimoto H., Gresh L., Kohwi-Shigematsu T., Kenner L., Wutz A.: *SATB1* defines the developmental context for gene silencing by *Xist* in lymphoma and embryonic cells. *Dev. Cell*, 2009; 16: 507-516
- [2] Amati B., Gasser S.M.: *Drosophila* scaffold-attached regions bind nuclear scaffolds and can function as ARS elements in both budding and fission yeasts. *Mol. Cell. Biol.*, 1990; 10: 5442-5454
- [3] Barboro P., D'Arrigo C., Diaspro A., Mormino M., Alberti I., Parodi S., Patrone E., Balbi C.: Unraveling the organization of the internal nuclear matrix: RNA-dependent anchoring of NuMA to a lamin scaffold. *Exp. Cell Res.*, 2002; 279: 202-218
- [4] Barboro P., D'Arrigo C., Repaci E., Bagnasco L., Orecchia P., Carnemolla B., Patrone E., Balbi C.: Proteomic analysis of the nuclear matrix in the early stages of rat liver carcinogenesis: identification of differentially expressed and MAR-binding proteins. *Exp. Cell Res.*, 2009; 315: 226-239
- [5] Barboro P., Repaci E., D'Arrigo C., Balbi C.: The role of nuclear matrix proteins binding to matrix attachment regions (MARs) in prostate cancer cell differentiation. *PLoS One*, 2012; 7: e40617
- [6] Barboro P., Rubagotti A., Orecchia P., Spina B., Truini M., Repaci E., Carmignani G., Romagnoli A., Introini C., Boccardo F., Carnemolla B., Balbi C.: Differential proteomic analysis of nuclear matrix in muscle-invasive bladder cancer: potential to improve diagnosis and prognosis. *Cell. Oncol.*, 2008; 30: 13-26
- [7] Barry G., Briggs J.A., Vanichkina D.P., Poth E.M., Beveridge N.J., Ratnu V.S., Nayler S.P., Nones K., Hu J., Bredy T.W., Nakagawa S., Rigo F., Taft R.J., Cairns M.J., Blackshaw S.: The long non-coding RNA *Gomafu* is acutely regulated in response to neuronal activation and involved in schizophrenia-associated alternative splicing. *Mol. Psychiatry*, 2014; 19: 486-494
- [8] Berezney R., Coffey D.S.: Identification of a nuclear protein matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974; 60: 1410-1417
- [9] Berezney R., Coffey D.S.: Nuclear matrix. Isolation and characterization of a framework structure from rat liver nuclei. *J. Cell Biol.*, 1977; 73: 616-637
- [10] Bergmann J.H., Spector D.L.: Long non-coding RNAs: modulators of nuclear structure and function. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2014; 26: 10-18
- [11] Blencowe B.J., Issner R., Nickerson J.A., Sharp P.A.: A coactivator of pre-mRNA splicing. *Genes Dev.*, 1998; 12: 996-1009
- [12] Blencowe B.J., Nickerson J.A., Issner R., Penman S., Sharp P.A.: Association of nuclear matrix antigens with exon-containing splicing complexes. *J. Cell Biol.*, 1994; 127: 593-607
- [13] Bode J., Goetze S., Heng H., Krawetz S.A., Benham C.: From DNA structure to gene expression: mediators of nuclear compartmentalization and dynamics. *Chromosome Res.*, 2003; 11: 435-445
- [14] Bonne G., Quijano-Roy S.: Emery-Dreifuss muscular dystrophy, laminopathies, and other nuclear envelopathies. *Handb. Clin. Neurol.* 2013; 113: 1367-1376
- [15] Boulikas T.: Chromatin domains and prediction of MAR sequences. *Int. Rev. Cytol.*, 1995; 162A: 279-388
- [16] Burke B., Stewart C.L.: Functional architecture of the cell's nucleus in development, aging, and disease. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 2014; 109: 1-52
- [17] Burute M., Gottimukkala K., Galande S.: Chromatin organizer *SATB1* is an important determinant of T-cell differentiation. *Immunol. Cell Biol.*, 2012; 90: 852-859
- [18] Calikowski T.T., Meulia T., Meier I.: A proteomic study of the arabidopsis nuclear matrix. *J. Cell. Biochem.* 2003; 90: 361-378
- [19] Carvalho C., Pereira H.M., Ferreira J., Pina C., Mendonça D., Rosa A.C., Carmo-Fonseca M.: Chromosomal G-dark bands determine the spatial organization of centromeric heterochromatin in the nucleus. *Mol. Biol. Cell*, 2001; 12: 3563-3572
- [20] Cau P., Navarro C., Harhour K., Roll P., Sigaudy S., Kaspi E., Perin S., De Sandre-Giovannoli A., Lévy N.: Nuclear matrix, nuclear envelope and premature aging syndromes in a translational research perspective. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2014; 29: 125-147
- [21] Ceci M., Offenhäuser N., Marchisio P.C., Biffo S.: Formation of nuclear matrix filaments by p27<sup>BBP</sup>/eIF6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 295: 295-299
- [22] Chattopadhyay S., Kaul R., Charest A., Housman D., Chen J.: SMAR1, a novel, alternatively spliced gene product, binds the Scaffold/Matrix-associated region at the T cell receptor beta locus. *Genomics*, 2000; 68: 93-96
- [23] Chavali P.L., Funa K., Chavali S.: Cis-regulation of microRNA expression by scaffold/matrix-attachment regions. *Nucleic Acids Res.*, 2011; 39: 6908-6918
- [24] Chemmannur S., Chattopadhyay S.: Role of nuclear matrix associated region (MAR) binding proteins in the regulation of T helper cell differentiation. *Proc. Indian Natn. Sci. Acad.*, 2014; 80: 269-288
- [25] Chemmannur S.V., Badhwar A.J., Mirlekar B., Malonia S.K., Gupta M., Wadhwa N., Bopanna R., Mabalirajan U., Majumdar S., Ghosh B., Chattopadhyay S.: Nuclear matrix binding protein SMAR1 regulates T-cell differentiation and allergic airway disease. *Mucosal Immunol.*, 2015; 8: 1201-1211
- [26] Ciejek E.M., Tsai M.J., O'Malley B.W.: Actively transcribed genes are associated with the nuclear matrix. *Nature*, 1983; 306: 607-609
- [27] Ciska M., Moreno Diaz de la Espina S.: The intriguing plant nuclear lamina. *Front. Plant Sci.*, 2014; 5: 166
- [28] Cockerill P.N.: Nuclear matrix attachment occurs in several regions of the IgH locus. *Nucleic Acids Res.*, 1990; 18: 2643-2648
- [29] Cockerill P.N., Garrard W.T.: Chromosomal loop anchorage of the kappa immunoglobulin gene occurs next to the enhancer in a region containing topoisomerase II sites. *Cell*, 1986; 44: 273-282
- [30] Coffinier C., Chang S.Y., Nobumori C., Tu Y., Farber E.A., Toth J.I., Fong L.G., Young S.G.: Abnormal development of the cerebral cortex and cerebellum in the setting of lamin B2 deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 5076-5081
- [31] Conner J.R., Hornick J.L.: *SATB2* is a novel marker of osteoblastic differentiation in bone and soft tissue tumours. *Histopathology*, 2013; 63: 36-49
- [32] Courbet S., Gay S., Arnoult N., Wronka G., Anglana M., Brison O., Debatisse M.: Replication fork movement sets chromatin loop size and origin choice in mammalian cells. *Nature*, 2008; 455: 557-560
- [33] Cremer T., Cremer C.: Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. *Nat. Rev. Genet.*, 2001; 2: 292-301
- [34] Cremer T., Dietzel S., Eils R., Lichter P., Cremer C.: Chromosome territories, nuclear matrix filaments and inter-chromatin channels: a topological view on nuclear architecture and function. *W: Kew Chromosome Conference IV, red.: P.E. Brandharn, M.D. Bennett. Royal Botanic Gardens, Kew 1995, 63-81*
- [35] Das R., Yu J., Zhang Z., Gygi M.P., Krainer A.R., Gygi S.P., Reed R.: SR proteins function in coupling RNAP II transcription to pre-mRNA splicing. *Mol. Cell*, 2007; 26: 867-881
- [36] Davidovich C., Zheng L., Goodrich K.J., Cech T.R.: Promiscuous RNA binding by Polycomb repressive complex 2. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2013; 20: 1250-1257

- [37] de Lange T.: Human telomeres are attached to the nuclear matrix. *EMBO J.*, 1992; 11: 717-724
- [38] De Sandre-Giovannoli A., Bernard R., Cau P., Navarro C., Amiel J., Boccaccio I., Lyonnet S., Stewart C.L., Munnich A., Le Merrer M., Lévy N.: Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science*, 2003; 300: 2055
- [39] De Sandre-Giovannoli A., Chaouch M., Kozlov S., Vallat J.M., Tazir M., Kassouri N., Szepietowski P., Hammadouche T., Vandenberghe A., Stewart C.L., Grid D., Lévy N.: Homozygous defects in LMNA, encoding lamin A/C nuclear-envelope proteins, cause autosomal recessive axonal neuropathy in human (Charcot-Marie-Tooth disorder type 2) and mouse. *Am. J. Hum. Genet.*, 2002; 70: 726-736
- [40] Debalde M., Franken S., Heukamp L.C., Linke A., Wolfgarten M., Walgenbach K.J., Braun M., Rudlowski C., Gieselmann V., Kuhn W., Hartmann G., Walgenbach-Brünagel G.: Identification of specific nuclear structural protein alterations in human breast cancer. *J. Cell. Biochem.*, 2011; 112: 3176-3184
- [41] Edelman L.B., Fraser P.: Transcription factories: genetic programming in three dimensions. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2012; 22: 110-114
- [42] Eivazova E.R., Markov S.A., Pirozhkova I., Lipinski M., Vassetzky Y.S.: Recruitment of RNA polymerase II in the *Irfng* gene promoter correlates with the nuclear matrix association in activated T helper cells. *J. Mol. Biol.*, 2007; 371: 317-322
- [43] Engelke R., Riede J., Hegermann J., Wuerch A., Eimer S., Dengel J., Mittler G.: The quantitative nuclear matrix proteome as a biochemical snapshot of nuclear organization. *J. Proteome Res.*, 2014; 13: 3940-3956
- [44] Erukashvili N.I., Lobov I.B., Kukalev A., Podgornaya O.I.: A nuclear matrix protein related to intermediate filaments proteins is a member of the complex binding alphaoid DNA *in vitro*. *Cell Biol. Int.*, 2000; 24: 483-492
- [45] Ferreira J., Paoletta G., Ramos C., Lamond A.I.: Spatial organization of large-scale chromatin domains in the nucleus: a magnified view of single chromosome territories. *J. Cell Biol.*, 1997; 139: 1597-1610
- [46] Fey E.G., Krochmalnic G., Penman S.: The nonchromatin substructures of the nucleus: the ribonucleoprotein (RNP)-containing and RNP-depleted matrices analyzed by sequential fractionation and resinless section electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 1986; 102: 1654-1665
- [47] Gabriel D., Roedel D., Gordon L.B., Djabali K.: Sulforaphane enhances progerin clearance in Hutchinson-Gilford progeria fibroblasts. *Aging Cell*, 2015; 14: 78-91
- [48] Galande S., Purbey P.K., Notani D., Kumar P.P.: The third dimension of gene regulation: organization of dynamic chromatin loopscape by SATB1. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2007; 17: 408-414
- [49] Gasser S.M., Laemmli U.K.: The organisation of chromatin loops: characterization of a scaffold attachment site. *EMBO J.*, 1986; 5: 511-518
- [50] Gerace L., Blum A., Blobel G.: Immunocytochemical localization of the major polypeptides of the nuclear pore complex-lamina fraction. Interphase and mitotic distribution. *J. Cell Biol.*, 1978; 79: 546-566
- [51] Gerner C., Holzmann K., Meissner M., Gotzmann J., Grimm R., Sauermann G.: Reassembling proteins and chaperones in human nuclear matrix protein fractions. *J. Cell. Biochem.*, 1999; 74: 145-151
- [52] Getzenberg R.H.: Nuclear matrix and the regulation of gene expression: tissue specificity. *J. Cell. Biochem.*, 1994; 55: 22-31
- [53] Girard-Reydet C., Grégoire D., Vassetzky Y., Méchali M.: DNA replication initiates at domains overlapping with nuclear matrix attachment regions in the xenopus and mouse *c-myc* promoter. *Gene*, 2004; 332: 129-138
- [54] Guo B., Odgren P.R., van Wijnen A.J., Last T.J., Nickerson J., Penman S., Lian J.B., Stein J.L., Stein G.S.: The nuclear matrix protein NMP-1 is the transcription factor YY1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 10526-10530
- [55] Hacisuleyman E., Goff L.A., Trapnell C., Williams A., Henao-Mejia J., Sun L., McClanahan P., Hendrickson D.G., Sauvageau M., Kelley D.R., Morse M., Engreitz J., Lander E.S., Guttman M., Lodish H.F. i wsp.: Topological organization of multichromosomal regions by the long intergenic noncoding RNA Firre. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2014; 21: 198-206
- [56] Hasegawa Y., Brockdorff N., Kawano S., Tsutui K., Tsutui K., Nakagawa S.: The matrix protein hnRNP U is required for chromosomal localization of *Xist* RNA. *Dev. Cell*, 2010; 19: 469-476
- [57] He D.C., Martin T., Penman S.: Localization of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein in the interphase nuclear matrix core filaments and on perichromosomal filaments at mitosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 7469-7473
- [58] He D.C., Nickerson J.A., Penman S.: Core filaments of the nuclear matrix. *J. Cell Biol.*, 1990; 110: 569-580
- [59] Hirano Y., Ishii K., Kumeta M., Furukawa K., Takeyasu K., Horigome T.: Proteomic and targeted analytical identification of BXDC1 and EBNA1BP2 as dynamic scaffold proteins in the nucleolus. *Genes Cells*, 2009; 14: 155-166
- [60] Hozák P.: The nucleoskeleton and attached activities. *Exp. Cell Res.*, 1996; 229: 267-271
- [61] Hozák P., Cook P.R., Schöfer C., Mosgöller W., Wachtler F.: Site of transcription of ribosomal RNA and intranucleolar structure in HeLa cells. *J. Cell Sci.*, 1994; 107: 639-648
- [62] Hozák P., Hassan A.B., Jackson D.A., Cook P.R.: Visualization of replication factories attached to nucleoskeleton. *Cell*, 1993; 73: 361-373
- [63] Hozák P., Jackson D.A., Cook P.R.: Replication factories and nuclear bodies: the ultrastructural characterization of replication sites during the cell cycle. *J. Cell Sci.*, 1994; 107: 2191-2202
- [64] Ioudinkova E., Razin S.V., Borunova V., de Conto F., Rynditch A., Scherrer K.: RNA-dependent nuclear matrix contains a 33 kb globin full domain transcript as well as prosomes but no 26S proteasomes. *J. Cell. Biochem.*, 2005; 94: 529-539
- [65] Jackson D.A., Cook P.R.: Replication occurs at a nucleoskeleton. *EMBO J.*, 1986; 5: 1403-1410
- [66] Jackson D.A., Cook P.R.: Transcription occurs at a nucleoskeleton. *EMBO J.*, 1985; 4: 919-925
- [67] Jackson DA, Cook P.R.: Visualization of a filamentous nucleoskeleton with a 23 nm axial repeat. *EMBO J.*, 1988; 7: 3667-3677
- [68] Jackson D.A., Hassan A.B., Errington R.J., Cook P.R.: Visualization of focal sites of transcription within human nuclei. *EMBO J.*, 1993; 12: 1059-1065
- [69] Jeon Y., Lee J.T.: YY1 tethers *Xist* RNA to the inactive X nucleation center. *Cell*, 2011; 146: 119-133
- [70] Jimenez-Escrig A., Gobernado I., Garcia-Villanueva M., Sanchez-Herranz A.: Autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy caused by a novel mutation (R225Q) in the lamin A/C gene identified by exome sequencing. *Muscle Nerve*, 2012; 45: 605-610
- [71] Johnson J.O., Piro E.P., Boehringer A., Chia R., Feit H., Renton A.E., Pliner H.A., Abramzon Y., Marangi G., Winborn B.J., Gibbs J.R., Nalls M.A., Morgan S., Shoai M., Hardy J.: Mutations in the *Matrin 3* gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat. Neurosci.*, 2014; 17: 664-666
- [72] Kisseljova N.P., Dmitriev P., Katargin A., Kim E., Ezerina D., Markozashvili D., Malysheva D., Planche E., Lemmers R.J., van der Maarel S.M., Laoudj-Chenivesse D., Lipinski M., Vassetzky Y.S.: DNA polymorphism and epigenetic marks modulate the affinity of a scaffold/matrix attachment region to the nuclear matrix. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2014; 22: 1117-1123

- [73] Kramer J.A., Krawetz S.A.: Matrix-associated regions in haploid expressed domains. *Mamm. Genome*, 1995; 6: 677-679
- [74] Kulkarni A., Pavithra L., Rampalli S., Mogare D., Babu K., Shiekh G., Ghosh S., Chattopadhyay S.: HIV-1 integration sites are flanked by potential MARs that alone can act as promoters. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 322: 672-677
- [75] Lanktree M., Cao H., Rabkin S.W., Hanna A., Hegele R.A.: Novel LMNA mutations seen in patients with familial partial lipodystrophy subtype 2 (FPLD2; MIM 151660). *Clin. Genet.*, 2007; 71: 183-186
- [76] Lee D.C., Welton K.L., Smith E.D., Kennedy B.K.: A-type nuclear lamins act as transcriptional repressors when targeted to promoters. *Exp. Cell Res.*, 2009; 315: 996-1007
- [77] Legartová S., Stixová L., Laur O., Kozubek S., Sehnalová P., Bártošová E.: Nuclear structures surrounding internal lamin invaginations. *J. Cell. Biochem.*, 2014; 115: 476-487
- [78] Leman E.S., Madigan M.C., Brünagel G., Takaha N., Coffey D.S., Getzenberg R.H.: Nuclear matrix localization of high mobility group protein I(Y) in a transgenic mouse model for prostate cancer. *J. Cell. Biochem.*, 2003; 88: 599-608
- [79] Lenartowski R., Goc A.: Rola macierzy jądrowej w przestrzennej organizacji procesów jądrowych. *Post. Biochem.*, 2002; 48: 252-261
- [80] Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L., Imakaev M., Ragozcy T., Telling A., Amit I., Lajoie B.R., Sabo P.J., Dorschner M.O., Sandstrom R., Bernstein B., Bender M.A., Groudine M., Gnirke A. i wsp.: Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009; 326: 289-293
- [81] Linnemann A.K., Platts A.E., Krawetz S.A.: Differential nuclear scaffold/matrix attachment marks expressed genes. *Hum. Mol. Genet.*, 2009; 18: 645-654
- [82] Liu G.H., Suzuki K., Qu J., Sancho-Martinez I., Yi F., Li M., Kumar S., Nivet E., Kim J., Soligalla R.D., Dubova I., Goebl A., Plongthongkum N., Fung H.L., Zhang K. i wsp.: Targeted gene correction of laminopathy-associated LMNA mutations in patient-specific iPSCs. *Cell Stem Cell.*, 2011; 8: 688-694
- [83] Lüftner D., Possinger K.: Nuclear matrix proteins as biomarkers for breast cancer. *Expert. Rev. Mol. Diagn.*, 2002; 2: 23-31
- [84] Ma H., Siegel A.J., Berezney R.: Association of chromosome territories with the nuclear matrix. Disruption of human chromosome territories correlates with the release of a subset of nuclear matrix proteins. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 531-542
- [85] Magnusson K., de Wit M., Brennan D.J., Johnson L.B., McGee S.F., Lundberg E., Naicker K., Klingner R., Kampf C., Asplund A., Wester K., Gry M., Bjartell A., Gallagher W.M., Rexhepaj E. i wsp.: SATB2 in combination with cytokeratin 20 identifies over 95% of all colorectal carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2011; 35: 937-948
- [86] Malhas A., Goulbourne C., Vaux D.J.: The nucleoplasmic reticulum: form and function. *Trends Cell Biol.*, 2011; 21: 362-373
- [87] Mamillapalli A., Pathak R.U., Garapati H.S., Mishra R.K.: Transposable element 'roo' attaches to nuclear matrix of the *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Sci.*, 2013; 13: 111
- [88] Melnik S., Deng B., Papantonis A., Baboo S., Carr I.M., Cook P.R.: The proteomes of transcription factories containing RNA polymerases I, II or III. *Nat. Methods*, 2011; 8: 963-968
- [89] Mercer T.R., Mattick J.S.: Understanding the regulatory and transcriptional complexity of the genome through structure. *Genome Res.*, 2013; 23: 1081-1088
- [90] Mirkovitch J., Mirault M.E., Laemmli U.K.: Organization of the higher-order chromatin loop: specific DNA attachment sites on nuclear scaffold. *Cell*, 1984; 39: 223-232
- [91] Mirlekar B., Ghorai S., Khetmalas M., Bopanna R., Chattopadhyay S.: Nuclear matrix protein SMAR1 control regulatory T-cell fate during inflammatory bowel disease (IBD). *Mucosal Immunol.*, 2015; 8: 1184-1200
- [92] Moreno Díaz de la Espina S.M.: Nuclear matrix isolated from plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 1995; 162B: 75-139
- [93] Mortillaro M.J., Blencowe B.J., Wei X., Nakayasu H., Du L., Warren S.L., Sharp P.A., Berezney R.: A hyperphosphorylated form of the large subunit of RNA polymerase II is associated with splicing complexes and the nuclear matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 8253-8257
- [94] Muchir A., Bonne G., van der Kooij A.J., van Meegen M., Baas F., Bolhuis P.A., de Visser M., Schwartz K.: Identification of mutations in the gene encoding lamins A/C in autosomal dominant limb girdle muscular dystrophy with atrioventricular conduction disturbances (LGMD1B). *Hum. Mol. Genet.*, 2000; 9: 1453-1459
- [95] Nakagawa S., Prasanth K.V.: eXIST with matrix-associated proteins. *Trends Cell Biol.*, 2011; 21: 321-327
- [96] Nakayasu H., Berezney R.: Mapping replicational sites in the eucaryotic cell nucleus. *J. Cell Biol.*, 1989; 108: 1-11
- [97] Navarro C.L., De Sandre-Giovannoli A., Bernard R., Boccaccio I., Boyer A., Geneviève D., Hadj-Rabia S., Gaudy-Marqueste C., Smitt H.S., Vabres P., Faivre L., Verloes A., Van Essen T., Flori E., Hennekam R. i wsp.: Lamin A and ZMPSTE24 (FACE-1) defects cause nuclear disorganization and identify restrictive dermatopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Hum. Mol. Genet.*, 2004; 13: 2493-2503
- [98] Nickerson J.A., Krochmalnic G., Wan K.M., Penman S.: Chromatin architecture and nuclear RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 177-181
- [99] Niu Y., Li J.S., Luo X.R.: Enhancement of expression of survivin promoter-driven CD/TK double suicide genes by the nuclear matrix attachment region in transgenic gastric cancer cells. *Gene*, 2014; 534: 177-182
- [100] Novelli G., Muchir A., Sangiuolo F., Helbling-Leclerc A., D'Apice M.R., Massart C., Capon F., Sbraccia P., Federici M., Lauro R., Tudisco C., Pallotta R., Scarano G., Dallapiccola B., Merlini L. i wsp.: Mandibuloacral dysplasia is caused by a mutation in LMNA-encoding lamin A/C. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71: 426-431
- [101] Ocampo J., Mondragón R., Roa-Espitia A.L., Chiquete-Félix N., Salgado Z.O., Mújica A.: Actin, myosin, cytokeratins and spectrin are components of the guinea pig sperm nuclear matrix. *Tissue Cell*, 2005; 37: 293-308
- [102] Ostermeier G.C., Liu Z., Martins R.P., Bharadwaj R.R., Ellis J., Draghici S., Krawetz S.A.: Nuclear matrix association of the human beta-globin locus utilizing a novel approach to quantitative real-time PCR. *Nucleic Acids Res.*, 2003; 31: 3257-3266
- [103] Parada L.A., McQueen P.G., Misteli T.: Tissue-specific spatial organization of genomes. *Genome Biol.*, 2004; 5: R44
- [104] Parnaik V.K., Chaturvedi P., Muralikrishna B.: Lamins, laminopathies and disease mechanisms: possible role for proteasomal degradation of key regulatory proteins. *J. Biosci.*, 2011; 36: 471-479
- [105] Pathak R.U., Mamillapalli A., Rangaraj N., Kumar R.P., Vasanthi D., Mishra K., Mishra R.K.: AAGAG repeat RNA is an essential component of nuclear matrix in *Drosophila*. *RNA Biol.*, 2013; 10: 564-571
- [106] Petrov A., Allinne J., Pirozhkova I., Laoudj D., Lipinski M., Vasetzky Y.S.: A nuclear matrix attachment site in the 4q35 locus has an enhancer-blocking activity in vivo: implications for the facio-scapulo-humeral dystrophy. *Genome Res.*, 2008; 18: 39-45
- [107] Petrov A., Pirozhkova I., Carnac G., Laoudj D., Lipinski M., Vasetzky Y.S.: Chromatin loop domain organization within the 4q35 locus in facioscapulohumeral dystrophy patients versus normal human myoblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 6982-6987
- [108] Raffaele Di Barletta M., Ricci E., Galluzzi G., Tonali P., Mora M., Morandi L., Romorini A., Voit T., Orstavik K.H., Merlini L., Trevisan C.,

- Biancalana V, Hausmanowa-Petrusewicz I, Bione S, Ricotti R. i wsp.: Different mutations in the LMNA gene cause autosomal dominant and autosomal recessive Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000; 66: 1407-1412
- [109] Rappsilber J, Ryder U, Lamond A.I., Mann M.: Large-scale proteomic analysis of the human spliceosome. *Genome Res.*, 2002; 12: 1231-1245
- [110] Razin S.V., Gromova I.I.: The channels model of nuclear matrix structure. *Bioessays*, 1995; 17: 443-450
- [111] Reyes J.C., Muchardt C., Yaniv M.: Components of the human SWI/SNF complex are enriched in active chromatin and are associated with the nuclear matrix. *J. Cell Biol.*, 1997; 137: 263-274
- [112] Rinn J.L., Kertesz M., Wang J.K., Squazzo S.L., Xu X., Bruggmann S.A., Goodnough L.H., Helms J.A., Farnham P.J., Segal E., Chang H.Y.: Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human *HOX loci* by noncoding RNAs. *Cell*, 2007; 129: 1311-1323
- [113] Rivera-Mulia J.C., Hernández-Muñoz R., Martínez F, Aranda-Anzaldo A.: DNA moves sequentially towards the nuclear matrix during DNA replication *in vivo*. *BMC Cell Biol.*, 2011; 12: 3
- [114] Scharner J., Brown C.A., Bower M., Iannaccone S.T., Khatri I.A., Escobar D., Gordon E., Felice K., Crowe C.A., Grossmann C., Meriggioli M.N., Asamoah A., Gordon O., Gnocchi V.F., Ellis J.A. i wsp.: Novel LMNA mutations in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy and functional characterization of four LMNA mutations. *Hum. Mutat.*, 2011; 32: 152-167
- [115] Scharner J., Figeac N., Ellis J.A., Zammit P.S.: Ameliorating pathogenesis by removing an exon containing a missense mutation: a potential exon-skipping therapy for laminopathies. *Gene Ther.*, 2015; 22: 503-515
- [116] Senderek J., Garvey S.M., Krieger M., Guergueltcheva V., Urtizberea A., Roos A., Elbracht M., Stendel C., Tournev I., Mihailova V., Feit H., Tramonte J., Hedera P., Crooks K., Bergmann C. i wsp.: Autosomal-dominant distal myopathy associated with a recurrent missense mutation in the gene encoding the nuclear matrix protein, matrin 3. *Am. J. Hum. Genet.*, 2009; 84: 511-518
- [117] Shiue C.N., Nematollahi-Mahani A., Wright A.P.: Myc-induced anchorage of the rDNA IGS region to nucleolar matrix modulates growth-stimulated changes in higher-order rDNA architecture. *Nucleic Acids Res.*, 2014; 42: 5505-5517
- [118] Simon D.N., Wilson K.L.: The nucleoskeleton as a genome-associated dynamic 'network of networks'. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2011; 12: 695-708
- [119] Sjakste N.I., Sjakste T.G.: Enzyme activities of nuclear matrix. *Biochemistry*, 1994; 59: 1239-1246
- [120] Sone M., Hayashi T., Tarui H., Agata K., Takeichi M., Nakagawa S.: The mRNA-like noncoding RNA *Gomafu* constitutes a novel nuclear domain in a subset of neurons. *J. Cell Sci.*, 2007; 120: 2498-2506
- [121] Sreenath K., Pavithra L., Singh S., Sinha S., Dash P.K., Siddappa N.B., Ranga U., Mitra D., Chattopadhyay S.: Nuclear matrix protein SMAR1 represses HIV-1 LTR mediated transcription through chromatin remodeling. *Virology*, 2010; 400: 76-85
- [122] Trentani A., Testillano P.S., Risueño M.C., Biggio M.: Visualization of transcription sites at the electron microscope. *Eur. J. Histochem.*, 2003; 47: 195-200
- [123] Tripathi V., Song D.Y., Zong X., Shevtsov S.P., Hearn S., Fu X.D., Dunder M., Prasanth K.V.: SRSF1 regulates the assembly of pre-mRNA processing factors in nuclear speckles. *Mol. Biol. Cell*, 2012; 23: 3694-3706
- [124] Tsutsui K.M., Sano K., Tsutsui K.: Dynamic view of the nuclear matrix. *Acta Med. Okayama*, 2005; 59: 113-120
- [125] van Wijnen A.J., Bidwell J.P., Fey E.G., Penman S., Lian J.B., Stein J.L., Stein G.S.: Nuclear matrix association of multiple sequence-specific DNA binding activities related to SP-1, ATF, CCAAT, C/EBP, OCT-1, and AP-1. *Biochemistry*, 1993; 32: 8397-8402
- [126] Wagner S., Chiosea S., Nickerson J.A.: The spatial targeting and nuclear matrix binding domains of SRm160. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 3269-3274
- [127] Wei X., Somanathan S., Samarabandu J., Berezney R.: Three-dimensional visualization of transcription sites and their association with splicing factor-rich nuclear speckles. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 543-558
- [128] Wilson R.H., Coverley D.: Relationship between DNA replication and the nuclear matrix. *Genes Cells*, 2013; 18: 17-31
- [129] Worman H.J., Bonne G.: "Laminopathies": a wide spectrum of human diseases. *Exp. Cell Res.*, 2007; 313: 2121-2133
- [130] Xiao R., Tang P., Yang B, Huang J., Zhou Y., Shao C., Li H., Sun H., Zhang Y., Fu X.D.: Nuclear matrix factor hnRNP U/SAF-A exerts a global control of alternative splicing by regulating U2 snRNP maturation. *Mol. Cell*, 2012; 45: 656-668
- [131] Xing Y.G., Lawrence J.B.: Preservation of specific RNA distribution within the chromatin-depleted nuclear substructure demonstrated by *in situ* hybridization coupled with biochemical fractionation. *J. Cell Biol.*, 1991; 112: 1055-1063
- [132] Xylinas E., Kluth L.A., Rieken M., Karakiewicz P.I., Lotan Y., Shariat S.F.: Urine markers for detection and surveillance of bladder cancer. *Urol. Oncol.*, 2014; 32: 222-229
- [133] Yanagisawa J., Ando J., Nakayama J., Kohwi Y., Kohwi-Shigematsu T.: A matrix attachment region (MAR)-binding activity due to a p114 kilodalton protein is found only in human breast carcinomas and not in normal and benign breast disease tissues. *Cancer Res.*, 1996; 56: 457-462
- [134] Yokota T., Kanakura Y.: Role of tissue-specific AT-rich DNA sequence-binding proteins in lymphocyte differentiation. *Int. J. Hematol.*, 2014; 100: 238-245
- [135] Zaremba-Czogalla M., Dubińska-Magiera M., Rzepecki R.: Nowe funkcje lamin – starzy znajomi w nowym świetle. *Postępy Biol. Kom.*, 2010; 37: 507-524
- [136] Zeitlin S., Parent A., Silverstein S., Efstratiadis A.: Pre-mRNA splicing and the nuclear matrix. *Mol. Cell. Biol.*, 1987; 7: 111-120

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.