STABILNE MOSTKI MIĘDZYKOMÓRKOWE – KANAŁY KOMUNIKACJI MIĘDZYKOMÓRKOWEJ

STABLE INTERCELLULAR BRIDGES – CHANNELS FOR CELL-TO-CELL COMMUNICATION

Piotr ŚWIĄTEK, Karol MAŁOTA, Marta HYRA, Szymon GORGOŃ, Izabela POPRAWA

Katedra Histologii i Embriologii Zwierząt, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski

Streszczenie: W organizmach wielokomórkowych, w czasie ewolucji powstało wiele systemów zapewniających kontakt między komórkami. Plazmodesmy, połączenia szczelinowe, nanorurki, czy stabilne mostki międzykomórkowe to przykłady połączeń zapewniających bezpośredni kontakt między cytoplazmą sąsiadujących komórek. Stabilne mostki międzykomórkowe (SMM, zwane także mostkami cytoplazmatycznymi, mostkami międzykomórkowymi) są to stosunkowo szerokie (do 15µm średnicy) kanały cytoplazmatyczne umożliwiające swobodny przepływ makrocząsteczek, cytoplazmy, a nawet całych organelli komórkowych (np. mitochondria, centriole) pomiędzy połączonymi ze sobą komórkami. W rezultacie, połączone ze sobą komórki stanowią funkcjonalne syncytia, określane w literaturze jako zespoły, cysty czy też grona komórek. SMM powstają w wyniku niedokończenia cytokinezy w trakcie podziału komórkowego. W tym procesie nie dochodzi do ostatecznego rozdzielenia się komórek potomnych, gdyż w ostatnim etapie cytokinezy mostek międzykomórkowy wraz ze śródciałkiem nie ulega przerwaniu, ale stabilizacji, tworząc w konsekwencji SMM. Powstawanie stabilnych mostków międzykomórkowych obserwuje się powszechnie w czasie gametogenezy (szczególnie w spermatogenezie) zwierząt, ale także znaleziono je w pewnych tkankach somatycznych. Dyskutowanych jest wiele koncepcji na temat funkcji tych struktur. Powszechnie sądzi się, że w czasie spermatogenezy odpowiadają one np. za wydajną wymianę (uwspólnianie) składników cytoplazmatycznych, co m.in. powoduje, że genetycznie różne spermatydy są fenotypowo diploidalne. W czasie oogenezy mogą one służyć do kierunkowego transferu makromolekuł i organelli do przyszłej komórki jajowej. Chociaż SMM zostały opisane 50 lat temu, to dopiero badania ostatnich lat dostarczyły wielu danych morfologicznych, molekularnych oraz eksperymentalnych, dzięki którym możemy lepiej zrozumieć jak struktury te powstają i funkcjonują.

Słowa kluczowe: gametogeneza, cytokineza, zespoły komórkowe, mostki cytoplazmatyczne

Summary: Numerous systems for cell-to-cell communication have evolved in multi-cellular organisms. Plasmodesmata, gap junctions, tunneling nanotubes or stable intercellular bridges are channels that ensure a direct cytoplasmic connection between interconnected cells. Stable intercellular bridges (SIBs, also termed cytoplasmic bridges) are wide channels (up to 15μm in diameter) that allow the transfer of macromolecules, cytoplasm or even organelles such as, mitochondria or centrioles between cells. In fact, the cells that are interconnected by SIBs form a kind of functional syncytium and are usually termed cell cysts, clusters or nests. SIBs are formed by incomplete cytokinesis when the transient intercellular bridge is not split (cell abscission is not finished), after which it is somehow stabilized and forms SIB. Cytoplasmic bridges are widespread among animals, especially in germ cells where they interconnect developing gametes. However, they have also been found in some somatic tissues. Several roles for SIBs have been proposed, e.g., they may be necessary for haploid and genetically different spermatids to remain phenotypically diploid. They may provide the directional transfer of macromolecules and cell organelles toward the future egg cell during oogenesis. SIBs were described over 50 years ago, but we have only recently begun to learn how these structures are formed, what functions they perform and how important they are for intercellular communication.

Key words: gametogenesis, cytokinesis, cell cysts, ring canals

WSTĘP

W wielokomórkowych organizmach zwierzęcych współistnieją liczne mechanizmy komunikowania się komórek. Począwszy od produkcji cząsteczek sygnałowych (np. hormony), poprzez połączenia międzykomórkowe, w obrębie których ciągłość cytoplazmatyczna sąsiadujących komórek nie jest zachowana, jak połączenia typu strefa przylegania, desmosom, czy opisane niedawno cytonemy i mostki filopodialne (ang. *filopodia bridges*) [83], po połączenia, w których istnieje bezpośredni kontakt pomiędzy cytoplazmą łączących się komórek, jak połączenia szczelinowe, nanorurki, mostki epitelialne (nabłonkowe) (ang. *epithelial bridges*) i stabilne mostki międzykomórkowe [17, 26, 44, 83]. Ze względu na swoje wyjątkowe właściwości na szczególną uwagę wydają się zasługiwać stabilne mostki międzykomórkowe (SMM). W przeciwieństwie bowiem do innych kanałów umożliwiających bezpośrednią łączność cytoplazmatyczną pomiędzy komórkami (np. w połączeniach szczelinowych średnica koneksonu to 1,5nm a średnica nanorurek pomiędzy komórkami linii PC12 to 50-200nm – [33, 68]) są to połączenia bardzo obszerne o średnicy od 0,2μm do 15μm (tab. 1) [17, 26, 65]. Tak szeroki kanał umożliwia swobodny przepływ pomiędzy komórkami nie tylko makrocząsteczek, ale także cytoplazmy wraz z organellami, w efekcie czego połączone komórki stanowią specyficzny rodzaj syncytium komórkowego. Biorąc pod uwagę średnicę kanału cytoplazmatycznego łączącego sąsiadujące komórki, SMM ustępują jedynie mostkom epitelialnym opisanym niedawno w kulturach *in vitro* ludzkich komórek nabłonkowych z płuc, oskrzeli i gruczołu mlekowego, których średnica może wahać się w granicach 1-20μm [83]. W przeciwieństwie do mostków epitelialnych, SMM (zwane także często mostkami cytoplazmatycznymi), pojawiły się w toku ewolucji ponad miliard lat temu i występują powszechnie u zwie-

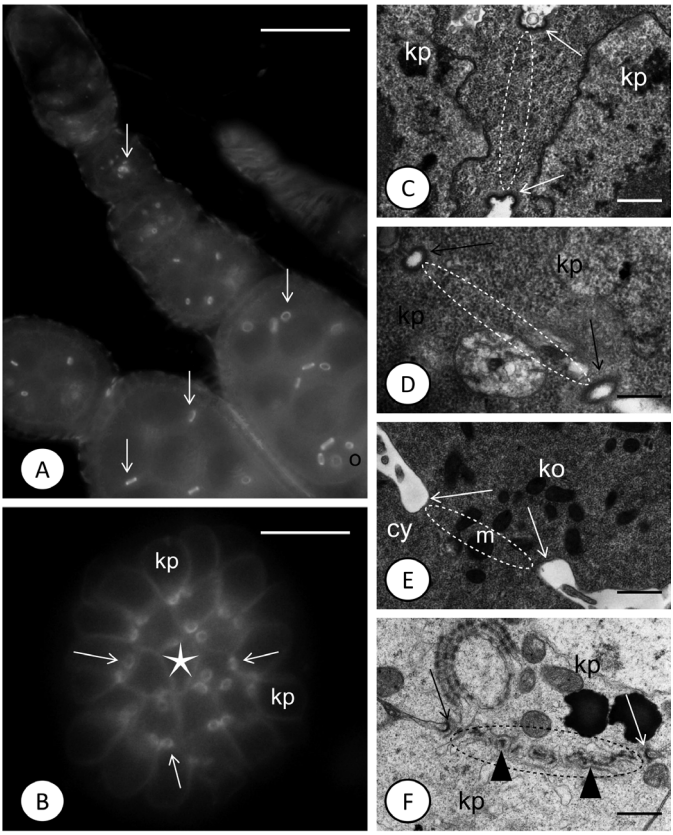
rząt bezkręgowych (ryc. 1, 2) i kręgowców (ryc. 3), głównie w komórkach linii płciowej, jak i w niektórych tkankach somatycznych (tab. 1) [17, 26, 65, 77]. Szczególną rolę przypisuje się SMM w przypadku linii płciowej, gdzie ich obecność w czasie spermatogenezy jest powszechna, w czasie oogenezy – częsta, a zaburzenia w powstawaniu i/lub funkcjonowaniu SMM mogą prowadzić do niepłodności [17, 20, 58]. SMM powstają w czasie podziałów komórkowych, które w przeciwieństwie do podziałów „typowych" nie kończą się pełną cytokinezą. W takich podziałach, w czasie późnej cytokinezy, na etapie tzw. ostatecznego rozdzielenia się komórek siostrzanych (ang. *abscission*) nie dochodzi do zerwania kontaktu pomiędzy komórkami potomnymi. W zamian, pasmo cytoplazmy łączące wciąż komórki siostrzane (tzw. mostek międzykomórkowy, ang. *intercellular brigde*) wraz z ciałkiem pośrednim (śródciałkiem, ang. *midbody*) i pierścieniem zaciskowym, ulegają reorganizacji, formując stabilny mostek międzykomórkowy (ryc. 4) [17, 24, 26]. Pomimo tego, iż SMM występują powszechnie w świecie zwierzęcym, a ich ultrastruktura została po raz pierwszy opisana już ponad 50 lat temu [17], to dopiero badania morfologiczne, molekularne i eksperymentalne ostatnich lat pozwalają nam rozumieć jak powstają, jak funkcjonują i jak ważną rolę spełniają one w komunikacji międzykomórkowej.

STRUKTURA I FUNKCJA SMM W KOMÓRKACH PŁCIOWYCH MUSZKI OWOCOWEJ I MYSZY

Do chwili obecnej najlepiej poznano morfologię i skład molekularny SMM w komórkach płciowych takich modelowych zwierząt jak: muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*) [25, 26] i mysz domowa (*Mus musculus*) [19, 26, 56].

SMM W GONADACH MUSZKI OWOCOWEJ (*Drosophila melanogaster*)

Jajnik *Drosophila melanogaster* składa się z 16-20 rurowatych podjednostek zwanych owariolami (ryc. 1A). Na szczycie każdej owarioli znajduje się strefa proliferacji komórek płciowych (tzw. germarium), w której komórki gonialne, zwane cystoblastami przechodzą szereg podziałów mitotycznych, które nie kończą się pełnymi cytokinezami. W wyniku 4 synchronicznych i niepełnych podziałów mitotycznych cystoblastu powstają zespoły komórkowe składające się z 16 komórek (tzw. cystocytów) połączonych SMM (ryc. 1A, 2A-F) [52]. W tak powstałym zespole, który ma przestrzenną organizację przypominającą rozetę, SMM mają formę pasma cytoplazmatycznego, w którym obszary bezpośrednio sąsiadujące z błoną komórkową wzmocnione są elektronowo-gęstym, włóknistym materiałem zwanym zewnętrzną okładziną (obręczą) mostka (ang. *outer rim*). Okładzina ta przyjmuje kształt pierścienia. U *D. melanogaster* mostki międzykomórkowe nazywane są zwyczajowo

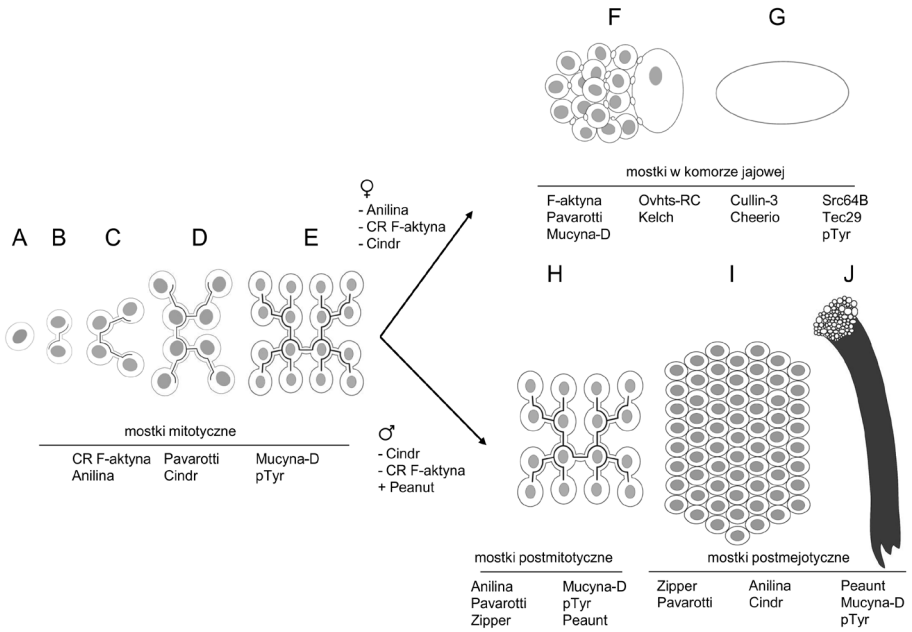


RYCINA 1. A) Fragment jajnika muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) znakowanego przeciwciałem skierowanymi przeciwko białku Ov-htsRC. Stabilne mostki międzykomórkowe (SMM) widoczne jako pierścienie (strzałki). W jednej ze starszych komór jajowych widoczny oocyt (o) posiadający 4 mostki. Preparat całościowy, mikroskop fluorescencyjny, skala 45µm. B) Zespół męskich komórek płciowych z worka nasiennego dżdżownicy *Dendrobaena veneta*. Każda komórka płciowa (kp) połączona jest pojedynczym SMM (strzałki) z centralną masą cytoplazmy zwaną cytoforem (gwiazdka). Preparat całościowy barwiony falloidyną sprzężoną z rodaminą, mikroskop fluorescencyjny, skala 12µm. C) SMM (elipsa) łączący dwie komórki płciowe linii żeńskiej (kp) w gonadzie niesporczaka *Isohypsibius granulifer granulifer*. Widoczna okładzina mostka zbudowana z dwóch warstw różniących się gęstością elektronową (strzałki). Transmisyjny mikroskop elektronowy (TEM), skala 0,42 µm. D) SMM (elipsa) łączący dwie komórki płciowe (kp) w jajniku niesporczaka *Hypsibius dujardini*. Wyraźnie widoczna elektronowo-gęsta okładzina mostka (strzałki). TEM, skala 0,35 µm. E) SMM (elipsa) łączący komórkę odżywczą (ko) z cytoforem (cy) w żeńskim zespole komórek płciowych w jajniku siodełkowca *Potamothrix bavaricus*. Strzałki wskazują krawędzie mostka, brak widocznej okładziny. Na terenie mostka widoczne liczne mitochondria (m). TEM, skala 0,5µm. F) SMM (elipsa) łączący dwie komórki płciowe (kp) w gonadzie zarodkowej owada *Tetrodontophora bielenensis*. Widoczna elektronowo-gęsta okładzina mostka (strzałki), wnętrze mostka wypełnione nieregularnie rozmieszczonym elektronowo-gęstym materiałem (groty strzałek). TEM, skala 0,5µm. Zdjęcie udostępnione przez prof. Jerzego Klaga, Uniwersytet Śląski.

FIGURE 1. A) A fragment of fruit fly (*Drosophila melanogaster*) ovary labeled with the antibody against the Ov-htsRC protein. Stable intercellular bridges have the form of rings (arrows). Note an oocyte (o) with four bridges. Whole mount preparation, fluorescence microscope, bar= 45µm. B) A single male germ-line cyst from the seminal vesicle of an earthworm *Dendrobaena veneta*. Each germ cell (kp) is connected with the central cytoplasmic mass, the cytophore (star) via one stable intercellular bridge (arrows). Whole mount preparation stained with rhodamine conjugated phalloidin, fluorescence microscope, bar= 12µm. C) A stable intercellular bridge (ellipse) connecting two female germ cells (kp) within a tardigrade *Isohypsibius granulifer granulifer* gonad. The bridge rim is composed of two layers of different electron densities (arrows). Transmission electron microscopy (TEM), bar=0,42µm. D) A stable intercellular bridge (ellipse) connecting two germ cells (kp) within a tardigrade *Hypsibius dujardini* ovary. Note the electron-dense bridge rim (arrows). (TEM), bar=0,35µm. E) A stable intercellular bridge (ellipse) connecting a nurse cell (ko) with a cytophore (cy) in a female germ-line cyst from a *Potamothrix bavaricus* ovary. Arrows mark the bridge edges, no rim is visible. Numerous mitochondria are seen within the bridge. TEM, bar=0,5µm. E) A stable intercellular bridge (ellipse) connecting two germ cells (kp) in the embryonic gonad of an insect, *Tetrodontophora bielenensis*. The electron-dense bridge rim is visible (arrows); the bridge is filled with irregular accumulations of electron-dense material (arrowheads) TEM, bar=0,5µm. Thanks to courtesy of Prof. Jerzy Klag, University of Silesia

kanałami pierścieniowymi (ang. *ring canals*) (ryc. 1A) [17, 26, 52]. Wnętrze takiego mostka wypełnia cytoplazma zawierającą tzw. materiał fuzomalny (fuzom) (ryc. 2B-E). Fuzom to struktura o charakterze włóknisto-pęcherzykowym, która w trakcie kolejnych niepełnych cytokinez tworzy rozgałęzioną sieć (tzw. polifuzom), łączącą ze sobą wszystkie cystocyty w obrębie zespołu (ryc. 2B-E). Fuzom odpowiada m.in. za synchronizację podziałów komórkowych w zespole oraz za determinację i polaryzację przyszłej komórki jajowej [43, 52]. Szczegółową budowę i funkcję fuzomu podsumowano w pracy przeglądowej J. Huynh [27]. Po zakończeniu czwartego podziału mitotycznego polifuzom zaczyna ulegać dezintegracji, a każdy mostek międzykomórkowy zyskuje dodatkową wewnętrzną warstwę okładziny (ang. *inner rim*), która ma mniejszą gęstość elektronową, niż warstwa zewnętrzna. Szczegółowe badania wykazały, że skład molekularny mostka nie jest stały, zmienia się dynamicznie w kolejnych fazach oogenezy (ryc. 2 B-F). I tak stwierdzono, iż podczas trzech pierwszych podziałów komórkowych zewnętrzna okładzina mostka zbudowana jest z kurczliwego pierścienia aktynowego (pozostałość pierścienia zaciskowego) oraz takich białek jak Anilina (białko związane z aktyną), Pavarotti (Pav-Klp, homolog białka MKLP1, patrz rozdz. 4), Mucyna-D (glikoproteina) i Cindr (białko sieciujące) (tab. 1, ryc. 2B-D) [15, 25, 26]. Po ukończeniu czwartego podziału w zewnętrznej warstwie okładziny zanika kurczliwy pierścień aktynowy i białko Cindr [25]. W tym stadium warstwa ta zbudowana jest z Anilliny, Pav-Klp, białek zawierających epitopy fosfotyrozynowe (tzw. białka pTyr) oraz innych komponentów (ryc. 2F) [15, 17, 26]. Jak wspomniano, w tym czasie powstaje również wewnętrzna, grubsza warstwa okładziny o mniejszej gęstości elektronowej, w skład której wchodzą obwodowo ułożone filamenty aktynowe. Ponadto w warstwie tej występują białka wiążące się z aktyną jak: adducyno-podobne białko Ovhts-RC i Cheerio (filamina) oraz kinazy tyrozynowe Tec29 i Src64B (ryc. 2F) [15, 17, 26]. Gdy zespół cystocytów jest otaczany przez

komórki folikularne i tworzy się pęcherzyk jajnikowy, w wewnętrznej warstwie okładziny mostka zanika Anilina, a pojawia się wiążące aktynę białko Kelch [15, 26]. Wraz ze wzrostem objętości cystocytów wzrasta średnica łączących je mostków od 0,5 μm do 10 μm [81]. W obrębie 16-sto komórkowego zespołu cystocytów różnicuje się jeden oocyt i 15 komórek pomocniczych zwanych komórkami odżywczymi (trofocyty) (ryc. 2F). Oocytem staje się jedna z dwóch komórek, które mają cztery SMM



RYCINA 2. Powstawanie i skład molekularny stabilnych mostków międzykomórkowych w linii płciowej żeńskiej i męskiej *Drosophila melanogaster.* Linie ciągłe wewnątrz komórek w stadiach B-E i H oznaczają polifuzom. A) Komórka gonialna wchodząca w cykl podziałów niekończących się pełną cytokinezą; B) Stadium 2-komórkowe. C) Stadium 4-komórkowe; D) Stadium 8-komórkowe; E) Stadium 16-komórkowe; F) Zespół komórek płciowych żeńskich, w którym nastąpiła dywersyfikacja losów komórkowych na 1 oocyt 15 komórek odżywczych; G) Dojrzała gameta żeńska; H) 16- komórkowy zespół męskich komórek płciowych wchodzący w mejozę; I) Zespół 64-komórkowy po przejściu mejozy. Dla przejrzystości schematu pominięto SMM i polifuzom; J) Pakiet wydłużonych spermatyd (za [15], zmodyfikowane)

FIGURE 2. The formation and molecular composition of the stable intercellular bridges that connect cells in a female and male germ line of *Drosophila melanogaster*. Solid lines within the cells in B-E and H mark the polyfusome. A) The gonial cell divides without full cytokinesis; B) 2-cell stage; C) 4-cell stage; D) 8-cell stage; E) 16-cell stage; F) Female germ-line cysts with one developing oocyte and 15 nurse cells; G) Mature female gamete; H) A 16-celled cyst of male germline cells entering meiosis; I) A 64-cell male cysts after meiosis. The polyfusome and stable intercellular bridges have been omitted for clarity. J) Elongated spermatids (based on [15], modified)

[17, 26]. Stabilne mostki utrzymują się do końca stadium 10 oogenezy, kiedy to następuje transfer większości cytoplazmy z trofocytów do oocytu. Na początku stadium 11 mostki ulegają zamknięciu, a trofocyty degenerują [71]. Do najważniejszych funkcji SMM w oogenezie *D. melanogaster* należy umożliwienie kierunkowego przepływu makrocząsteczek (np. mRNA *bicoid D* i *oskar*), organelli komórkowych (np. centrosomy i mitochondria) i cytoplazmy z komórek odżywczych do rozwijającego się oocytu (tab.1) [17]. Wykazano także, iż obecność SMM w oogenezie jest niezbędna dla płodności samic [17,26]. I tak mutanty *kelch* nie wykazują zmian fenotypowych, ale są sterylne. Okazuje się, że brak białka Kelch dezorganizuje układ włókien F-aktyny w SMM, uniemożliwiając transport cytoplazmy z komórek odżywczych do oocytu [66]. Ostatnio wykazano, iż małe niefunkcjonalne jaja powstają u mutantów *flapwing*. Flapwing jest konserwatywną fosfatazą odpowiadającą za regulację formowania SMM (patrz poniżej), a w przypadku jej braku powstają nienaturalnie małe SMM, co zaburza transport międzykomórkowy [82].

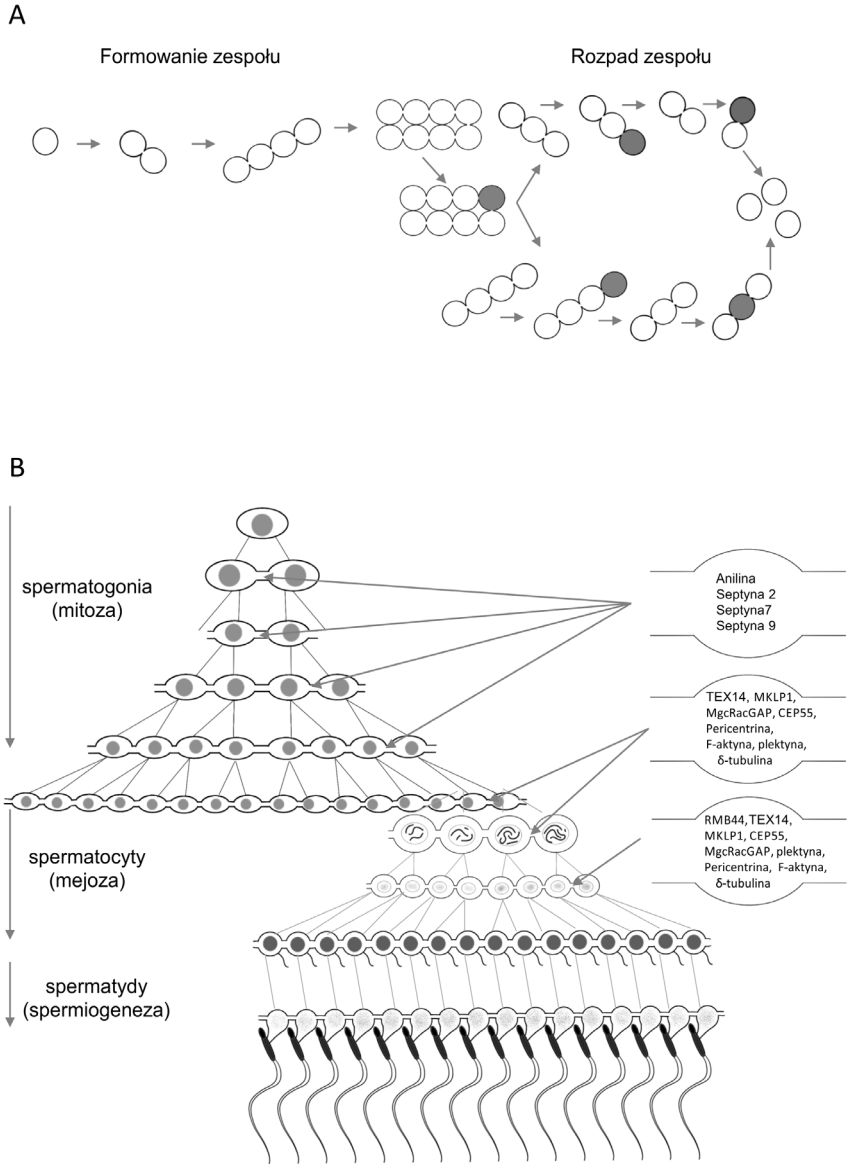
Męska gonada *D. melanogaster* zbudowana jest z cewek jądrowych, które wypełnione są cystami również zawierającymi zespoły komórek płciowych. Podczas spermatogenezy każde spermatogonium przechodzi 4 synchroniczne podziały mitotyczne zakończone niepełnymi cytokinezami, co prowadzi do powstania 16-sto komórkowych zespołów spermatocytów (ryc. 2A-E). Spermatocyty przechodzą synchronicznie mejozę, która również nie kończy się pełnymi cytokinezami i w efekcie powstają zespoły 64 komórek (spermatyd) połączonych SMM (ryc. 2H-I) [15, 17, 26]. Stabilne mostki łączące komórki linii płciowej męskiej mają, podobnie jak SMM w linii żeńskiej, formę pasm cytoplazmatycznych, których ściany wzmocnione są pierścieniem elektronowo-gęstej okładziny. Wewnątrz mostków również obserwuje się fuzom, który także tworzy polifuzom, ale w przeciwieństwie do polifuzomu w linii żeńskiej, nie ulega on dezintegracji, lecz utrzymuje się przez cały proces spermatogenezy (ryc. 2H) [26, 27]. W przeciwieństwie do samic, u samców muszki owocowej SMM posiadają tylko jedną, elektronowo-gęstą okładzinę mostka. Co więcej, ku zaskoczeniu badaczy, skład molekularny mostków samców różni się znacząco od tego znanego u samic. Różnice te podsumowano na ryc. 2, z której wynika, że w pełni uformowane mostki u samic i samców mają tylko 3 wspólne składniki (Pavarotti, Mucyna-D i białka pTyr). W całkowicie uformowanych mostkach w linii męskiej nie obserwuje się F-aktyny oraz białek Ovhts-RC i Kelch, za to obecne są w nich Anilina i co najmniej 3 septyny: Peanut, Septyna 1 i Septyna 2 (ryc. 2I) [15, 17, 26] czy też nowo odkryte w mostkach białko sieciujące Cindr [15]. Stabilne mostki międzykomórkowe w linii męskiej nie zmieniają znacząco swojej średnicy w trakcie procesu spermatogenezy, co obserwuje się w linii żeńskiej. Zazwyczaj ich średnica nie przekracza 1-1,5 μm [81]. Mostki w przypadku spermatogenezy przede wszystkim zapewniają swobodny przepływ składników cytoplazmy pomiędzy komórkami, a przez to synchronizację podziałów komórek i ich dojrzewania (tab. 1) [26, 81]. Wykazano również, że obecność mostków jest niezbędna dla płodności samców [17, 26].

SMM W GONADACH MYSZY DOMOWEJ (*Mus musculus*)

W rozwoju zarodkowym myszy pierwotne komórki płciowe, które zasiedlają jajnik, wykazują wysoką aktywność mitotyczną i rozpoczynają serie podziałów komórkowych prowadzących do zwiększenia ich liczby. Podziały te nie kończą się pełnymi cytokinezami, co prowadzi do powstania zespołów (często 2, 4, 8, 16-sto komórkowych o niejasnej organizacji przestrzennej), w których komórki połączone są między sobą za pomocą SMM (ryc. 3A) [49, 56]. Stabilne mostki międzykomórkowe mają postać pasm cytoplazmatycznych o średnicy 0,5-1 μm, których krawędź wzmocniona jest jedną elektronowo-gęstą okładziną. W obrębie SMM nie obserwowano typowego materiału fuzomalnego [19, 56, 57], aczkolwiek Pepling i współpracownicy [58] sugerują, że pewne bogate w pęcherzyki struktury występujące w komórkach linii płciowej myszy mogą pełnić podobne funkcje co fuzom *D. melanogaster*. Dotychczas znamy dwa składniki molekularne SMM u samic myszy, są to białka TEX14 (białko pierwotnie wykryte jako specyficzne dla jąder, ang. *testis expressed*) i MKLP1 (jeden ze składników centralspindliny – więcej na temat tych białek poniżej) (tab. 1) [19]. Problemem w badaniach SMM u samic ssaków jest bardzo krótki czas ich trwania. Obserwowano je tylko w gonadach zarodkowych, tj. u myszy pomiędzy 10,5 a 13,5 d.p.c. (d.p.c. – dzień po kopulacji) [56]. Już około 20,5-22,5 d.p.c. zespoły te ulegają rozpadowi (ryc. 3A) i poszczególne komórki płciowe otaczane są przez komórki folikularne, co prowadzi do powstania pierwotnych pęcherzyków jajnikowych [55, 56, 57]. Należy tu wspomnieć, iż istnieją także doniesienia wykazujące obecność SMM w jajnikach nowonarodzonych myszy [38]. Według Pepling i Spradling [57] około jedna trzecia komórek z każdego zespołu rozwija się w oocyty, a pozostałe są eliminowane na drodze apoptozy (ryc. 3A). Uważa się, że SMM w jajniku myszy odpowiadają za synchronizację podziałów mitotycznych komórek i rozpoczęcie podziału mejotycznego. Sugeruje się także możliwy transfer przez SMM takich organelli komórkowych jak mitochondria i siateczka śródplazmatyczna (tab. 1) [19, 49, 56, 57]. Dyskusja na temat funkcji mostków międzykomórkowych w linii żeńskiej ssaków może zacząć się na nowo, bowiem ku zaskoczeniu badaczy okazało się, że brak SMM nie wpływa w żaden sposób (ani negatywnie, ani pozytywnie) na płodność samic myszy. Po usunięciu genu *tex14* za pomocą nokautu (białko TEX14 jest niezbędne do formowania SMM u myszy, patrz poniżej) okazało się, że pomimo braku SMM, proces oogenezy zachodzi prawidłowo [19]. Autorzy tych badań [17, 19] sugerują, iż w linii żeńskiej SMM mogą istnieć jako struktury szczątkowe (niefunkcjonalne), tylko dlatego, iż są niezbędne w linii męskiej. Z drugiej strony, inni badacze na podstawie analizy ultrastrukturalnej oocytów w jajnikach noworodków mysich, sugerują, że SMM wraz z centriolami działają jak swoiste centra nadające oocytom biegunowość

[38]. Według autorów takie „łamanie" symetrii oocytów przy udziale SMM byłoby fundamentalnym i konserwatywnym mechanizmem obserwowanym w czasie oogenezy [38]. Sprawę jeszcze bardziej komplikuje fakt, iż zarówno starsze dane, jak i badania z ostatnich lat (wykonane na jajnikach myszy będących chimerami) dają przesłanki, by sądzić, iż zespoły komórek płciowych obserwowane w jajnikach tych gryzoni, mogą powstawać nie tylko na drodze niekompletnych podziałów, ale również na drodze agregacji [49, 55].

Proces spermatogenezy zachodzi w gonadzie męskiej przez cały okres życia zwierzęcia i jest zależny od stałego namnażania komórek macierzystych linii płciowej [26]. Powstające spermatogonia podlegają kilku synchronicznym podziałom mitotycznym (u gryzoni 9-11), w wyniku których powstają spermatocyty, które następnie przechodzą mejozę dając haploidalne spermatydy [17]. Zarówno podziały mitotyczne, jak i mejotyczne zakończone są niepełnymi cytokinezami, co prowadzi do powstania zespołów komórkowych połączonych SMM (ryc. 3B) [17, 26]. Zespoły takie mają charakter liniowy, tj. każda komórka w rzędzie połączona jest z sąsiednimi komórkami za pomocą dwóch SMM. Jedynie komórki skrajne posiadają jeden mostek (ryc. 3B). Mostki powstające w procesie spermatogenezy u myszy mają postać kanałów cytoplazmatycznych o średnicy ok. 1-1,5 μm. Ściany kanału wzmocnione są pojedynczą elektronowo-gęstą okładziną. W tworzącym się mostku międzykomórkowym, w obrębie okładziny, wykazano obecność Anilliny oraz kilku Septyn (Septyna 2, Septyna7, Septyna 9) (ryc. 3B), przy czym komponenty te nie są wykrywane w całkowicie uformowanym SMM [18]. W obrębie w pełni wykształconego SMM zlokalizowano: białko TEX14, dwa składniki centraspindliny (MKLP1 i MgcRacGAP), białka centrosomalne (CEP55 i Pericentrina) oraz F-aktynę, plektynę (ang. *plectin*) i δ-tubulinę (tab. 1, ryc. 3B) [12, 18, 28]. Ponadto w SMM powstałych w czasie podziału mejotycznego opisano występowanie białka RMB44 (białko posiadające motyw łączący się z RNA, ang. *RNA Binding Motif 44*) (ryc. 3B). Białka tego nie obserwowano w obrębie SMM łączących spermatydy [29]. W literaturze dyskutowano wiele hipotez dotyczących roli SMM w czasie spermatogenezy [przegląd w 17, 23]. Do podstawowych funkcji SMM myszy należą: synchronizacja podziałów mitotycznych i wejścia komórek w podział mejotyczny oraz rozprowadzanie produktów genów, co powoduje, że genetycznie różne spermatydy są fenotypowo diploidalne [26]. Zaburzenia w powstawaniu SMM lub całkowity ich brak prowadzi do sterylności u samców [20]. Dokładniej wykazano, iż brak mostków powoduje, że spermatocyty nie mogą dokończyć I podziału mejozy i tylko niewielka ich liczba osiąga stadium pachytenu. Okazało się natomiast, że brak mostków nie przeszkadza w proliferacji mitotycznej spermatogoniów [20].



RYCINA 3. A) Powstawanie i rozpad zespołów komórek płciowych w trakcie wczesnej oogenezy u myszy. Na szary kolor oznaczono obumierające komórki (na podstawie [57], zmienione). B) Powstawanie zespołów męskich komórek płciowych i skład molekularny SMM powstających w trakcie spermatogenezy u myszy

FIGURE 3. A) The formation and breakdown of germ-line cysts during early oogenesis in a mouse. Note the dying cells (grey) (according to [57], modified). B) The formation of male germ-line cysts and the molecular composition of the intercellular bridges during spermatogenesis in a mouse

TABELA 1/ TABLE 1.

Organizm	Typ mostka i tkanka	Znane składniki molekularne	Średnica i morfologia	Proponowane funkcje	Literatura
Żeńska linia płciowa					
Ssaki (człowiek, szczur, chomik, królik)	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	0,5-1 µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja podziałów mitotycznych i wejścia w mejozę, degeneracja komórek płciowych, transport organelli	[26]
Nietoperz *Carollia perspicillata*	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	~0,5µm brak elektronowo-gęstej okładziny; wewnątrz kanału mostka mikrotubule i mikrofilamenty	Synchronizacja podziałów mitotycznych i wejścia w mejozę	[41] S. Biliński informacja ustna
Mysz domowa (*Mus musculus*)	SMM łączące komórki w zespołach	TEX14, MKLP1	0,5-1 µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja podziałów mitotycznych i wejścia w mejozę, degeneracja komórek płciowych, transport organelli, udział w polaryzacji oocytów; obecność SMM nie jest niezbędna do produkcji gamet – są to struktury niefunkcjonalne, szczątkowe;	[19, 26, 38]
Kura domowa (*Gallus gallus domesticus*)	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	0,5-1 µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja cykli komórkowych, komunikacja międzykomórkowa	[26]
Żaba szponiasta (*Xenopus laevis*)	SMM łączące komórki w zespołach	F-aktyna, Ov-htsRC, Kelch	0,5-1 µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Prawdopodobnie kierunkowy transport makromolekuł do wzrastającego oocytu	[37]
Karp (*Cyprinus carpio)*	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	~0,5µm jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja wczesnych etapów oogenezy	[46]
Muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*)	SMM łączące komórki w zespołach	W pełni uformowane: F-aktyna, Ov-htsRC, Kelch, Cheerio, Cullin-3, Pav-Klp,Tec29, Src64B, Mucyna-D, pTyr, Visgun Przejściowo: Cindr, Anilina	0,5-10 µm, dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Kierunkowy transport z trofocytów do oocytu organelli, białek, makromolekuł, (obecność SMM jest niezbędna dla płodności)	[2, 15, 26, 52]

Organizm	Typ mostka i tkanka	Znane składniki molekularne	Średnica i morfologia	Proponowane funkcje	Literatura
Żeńska linia płciowa					
Mucha mięsna (*Calliphora erythrocephala*)	SMM łączące komórki w zespołach	F-aktyna	1,5-14,7µm dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Kierunkowy transport z trofocytów do oocytu organelli, białek, makromolekuł,	[3]
Pszczoły: *Scaptotrigona postica* i *Apis mellifera*	SMM łączące komórki w zespołach	F-aktyna	~4-5µm jedna elektronowo-gęsta okładzina oraz włókna biegnące w poprzek mostka	Kierunkowy transport z trofocytów do oocytu organelli, białek, makromolekuł	[53, 54]
Inne owady (np. muchówki, mszyce, chrząszcze)	SMM łączące komórki w zespołach	F-aktyna	~4-5µm	Kierunkowy transport z trofocytów do oocytu organelli, białek, makromolekuł	[7, 26, 45, 62, 74]
Skrzelonogi: *Cyzicus tetracerus* i *Lynceus brachyurus*	SMM łączące komórki w zespołach	F-aktyna	1µm jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchroniczny rozwój komórek w zespole; umożliwienie transportu makromolekuł i organelli	[30]
Roztocze *Hermannia gibba*	SMM łączące komórki z cytoforem	Brak danych	jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja rozwoju i organizacja przestrzenna oocytów	[40]
Niesporczak *Isohypsibius granulifer granulifer*	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	1,25 – 2,3µm dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Transport organelli i makromolekuł (w tym kul żółtka) z trofocytów do oocytu	dane niepublikowane
Niesporczaki: *Hypsibius dujardini* i *Dactylobiotus dispar*	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	0,9 - 2,2µm jedna elektronowo-gęsta okładzina	Transport organelli i makromolekuł (w tym kul żółtka) z trofocytów do oocytu	[59]; dane niepublikowane
Wieloszczet *Ophryotrocha labronica*	SMM łączące komórki w zespołach	pTyr	2µm dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Kierunkowy transport z trofocytów do oocytu organelli, białek, makromolekuł w tym kul żółtka białkowego	[5, 6]

Organizm	Typ mostka i tkanka	Znane składniki molekularne	Średnica i morfologia	Proponowane funkcje	Literatura
Żeńska linia płciowa					
Siodełkowce: *Branchiobdella parasitica, Piscicola geometra*, *Chaetogaster diaphanus, Stylodrilus heringianus*	SMM łączące komórki z cytoforem	F-aktyna	2,5-4,5µm (*Ch. diaphanus*) 1,4-9,4 µm (*S. heringianus)* jedna elektronowo-gęsta okładzina	Prawdopodobnie transport organelli i makromolekuł z trofocytów do oocytu	[70, 76, 78]; dane niepublikowane
Męska linia płciowa					
Ssaki (człowiek, koza, chomik, kot, wiewiórka, królik)	SMM łączące komórki w zespołach	Aktyna (wykazana u szczura i wiewiórki)	1-1,5µm jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę. Umożliwiają wymianę produktów genowych	[26]
Mysz domowa (*M. musculus*)	SMM łączące komórki w zespołach	Aktyna, TEX14, MKLP1, CEP55, Perycentryna, plektyna, δ-tubulina, RBM44	1-1,5µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę. Umożliwiają wymianę produktów genowych. Niezbędne dla płodności	[17, 18, 26, 29]
Ryby	SMM łączące komórki w zespołach	brak danych	jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę.	[67, 69]
Liczne bezkręgowce (gąbki, parzydełkowce, robaki płaskie, wstężnice, nicienie, mięczaki, pierścienice, pazurnice, skorupiaki, owady, wije, mszywioły, szczecioszczękie)	SMM łączące komórki w zespołach lub komórki z cytoforem	Brak danych	Jedna elektronowo-gęsta okładzina, lub brak danych	Synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę	[1, 31, 64]
Muszka owocowa (*D. melanogaster*)	SMM łączące komórki w zespołach	Po zakończeniu mejozy: Zipper, Anilina, Peanut, pTyr, Pav-Klp, Cindr Mucyna-D, Visgun Przejściowo: F-aktyna	1-1,5µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę. Niezbędne dla płodności.	[2, 15, 26]

Organizm	Typ mostka i tkanka	Znane składniki molekularne	Średnica i morfologia	Proponowane funkcje	Literatura
Męska linia płciowa					
Niesporczaki: *Xerobiotus pseudohufelandi*, *Isohypsibius granulifer granulifer*	SMM łączące komórki w zespołach	Brak danych	0,8-1,3 µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Prawdopodobnie synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę	[63]; dane niepublikowane
Dżdżownica *Dendrobaena veneta*	SMM łączące komórki z cytoforem	F-aktyna	~1µm jedna elektronowo-gęsta okładzina	Prawdopodobnie synchronizacja rozwoju, oraz wejścia w mejozę	[75]; dane niepublikowane
Tkanki somatyczne					
Danio pręgowany (*D. rerio*)	SMM łączące komórki epiblastu w gastruli	β-Aktyna, α-Tubulina	do 1µm, do 350µm długości, brak badań ultrastrukturalnych	Wymiana białek między komórkami	[9]
Kałamarnica długopłetwa (*Loligo pealei*)	SMM łączące komórki blastodermy	Brak danych	0,6-0,9µm, jedna elektronowo-gęsta okładzina, okresowo pojawia się system poprzecznych błon	Wymiana produktów genowych, synchronia produkcji białek w obrębie zespołu	[11]
Muszka owocowa (*D. melanogaster*)	SMM łączące komórki folikularne	F- aktyna, Pav-Klp, Anilina, Mucyna-D, Visgun, Cindr	0,2-0,5 µm, dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Wymiana białek między komórkami, koordynacja zachowania się komórek.	[2, 26]
Muszka owocowa (*D. melanogaster*)	SMM pomiędzy komórkami w mózgu larw	Anilinia, Pav-Klp, Cindr, Mucyna-D	0,2-0,5µm, dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Brak danych	[26]
Muszka owocowa (*D. melanogaster*)	SMM łączące komórki nabłonkowe w tarczach imaginalnych.	Anilinia, Pav-Klp, Cindr, Mucyna-D, Visgun	0,2-0,5µm, dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Koordynacja zachowania komórek.	[2, 26]

Organizm	Typ mostka i tkanka	Znane składniki molekularne	Średnica i morfologia	Proponowane funkcje	Literatura
Tkanki somatyczne					
Inne owady (błonkówki, muchówki, wojsiłki)	SMM łączące komórki folikularne	Brak danych	0,2-0,5μm, dwie okładziny o różnej gęstości elektronowej	Koordynacja zachowania komórek.	[7, 26]
Nicień *Caenorhabditis elegans*	Pierścienie pomiędzy blastomerami	Aktyna	~1μm, brak badań ultrastrukturalnych	Regulacja podziałów komórkowych	[26]
Stułbia *Hydra oligactis*	SMM pomiędzy knidoblastami	Brak danych	~0,5μm, jedna elektronowo-gęsta okładzina	Synchronizacja różnicowania się knidoblastów w nematocysty	[26]

STRUKTURA I FUNKCJA SMM W KOMÓRKACH SOMATYCZNYCH

Stabilne mostki międzykomórkowe występujące w komórkach somatycznych opisano u wielu gatunków zwierząt takich jak stułbia *Hydra oligactis,* nicień *Caenorhabditis elegans*, głowonóg *Loligo pealei*, owady (np. *D. melanogaster*), czy ryba *Danio rerio* (tab. 1) [2, 9, 11, 26, 48]. U owadów (głównie *D. melanogaster*) SMM łączące komórki somatyczne znaleźć można m.in. w mózgu, tarczach imaginalnych, czy też w jajniku pomiędzy komórkami folikularnymi [26, 39, 48, 66].

Jak dotąd najlepiej poznane pod względem budowy, składu molekularnego i funkcji wydają się mostki międzykomórkowe powstające w komórkach folikularnych i dyskach imaginalnych *D. melanogaster.* Mostki te różnią się od tych spotykanych w komórkach płciowych tym, że nie występują we wszystkich komórkach danej tkanki. Oznacza to, że nie każda cytokineza tych komórek jest niekompletna. Ponadto mostki w komórkach somatycznych mają mniejszą średnicę niż SMM stwierdzone w komórkach linii płciowej [2, 39]. I tak SMM łączące komórki w tarczach imaginalnych oraz w komórkach folikularnych posiadają średnicę od 0,2 do 1 μm. [2, 26, 39, 66]. Podobnie jak w przypadku komórek płciowych, SMM w komórkach somatycznych stanowią pasmo cytoplazmy, którego krawędzie sąsiadujące z błoną komórkową są znacznie gęstsze (okładzina mostka – występuje tylko jedna) niż wypełnione cytoplazmą wnętrze. Niektórzy autorzy podkreślają tu podobieństwo ogólnej organizacji SMM znalezionych w komórkach folikularnych *D. melanogaster* z SMM obecnymi w linii męskiej tego gatunku [17]. W skład mostków łączących komórki folikularne w jajnikach *D. melanogaster* wchodzą takie białka jak: F- aktyna, kinezyna Pavarotti, Anilina, Mucyna-D, Visgun (glikoproteina), oraz

Cindr (tab. 1) [2]. Obecność w mostkach takich białek jak Pavarotti, Anilina oraz Cindr potwierdza, że mostki te pochodzą z zatrzymanego pierścienia zaciskowego (patrz poniżej). Ponadto istnieją sugestie, iż możliwy jest również podział istniejących już SMM na mostki potomne, w wyniku działania pierścienia zaciskowego [2]. Podobna sytuacja została opisana w przypadku SMM w komórkach linii płciowej u pierścienic [75] (patrz poniżej).

Organizacja przestrzenna zespołów komórek folikularnych *D. melanogaster* różni się od układów znanych z opisanych wcześniej zespołów komórek linii płciowej tego owada. W nabłonku folikularnym znaleziono wiele niezależnych zespołów komórek, które nie wykazują jednolitej morfologii: czasami ułożone są liniowo, czasem obserwuje się asymetryczne rozgałęzienia. Sugeruje to, że podziały komórek folikularnych, niekończące się pełną cytokinezą, nie są tak dobrze zsynchronizowane jak w linii płciowej [2]. Liczba mostków przypadających na jedną komórkę waha się od 1 do 4, przy czym najwięcej jest komórek z dwoma mostkami (44%) [2, 26]. Jak wspomniano wcześniej, niewielka grupa komórek w obrębie nabłonka folikularnego (5-10%) może w ogóle nie posiadać takich połączeń międzykomórkowych [39].

Obecnie przypisuje się SMM obecnym w komórkach somatycznych różnorodne funkcje. Przez analogię do mostków w komórkach płciowych, uważa się, że SMM w komórkach somatycznych mogą odpowiadać za transport (wymianę) cytoplazmy, organelli, białek sygnałowych oraz komponentów błon [2, 26]. W efekcie tych procesów komunikacja międzykomórkowa jest ułatwiona, co może prowadzić do synchronizacji podziałów komórkowych, ich wspólnego różnicowania oraz koordynacji zachowań komórek. Przez mostki pomiędzy komórkami folikularnymi oraz w komórkach tarcz imaginalnych *D. melanogaster* obserwowano przepływ białek, co sugeruje, że SMM mają tutaj znaczenie przy wyrównywaniu poziomu białek w zespołach połączonych komórek [48]. Co ciekawe, transport niektórych substancji przez mostki wydaje się być selektywny, tak więc nie do każdej z połączonych komórek w obrębie nabłonka folikularnego trafiają te same substancje [2].

Na uwagę zasługują także wyjątkowo długie mostki cytoplazmatyczne (maksymalnie 350μm długości – średnio 215μm) stwierdzone pomiędzy komórkami epiblastu w gastruli ryby *Danio rerio*. Mostki takie powstają także w wyniku niepełnych cytokinez i mogą mieć do 1μm średnicy, a w ich obrębie wykryto F-aktynę i mikrotubule [9].

POWSTAWANIE SMM

W czasie cytokinezy, która kończy podziały komórkowe (mitoza, mejoza) można wyróżnić 3 główne etapy: 1) wyznaczenie pozycji bruzdy podziałowej – inicjacja cytokinezy; 2) wpuklanie się bruzdy podziałowej i formowanie pierścienia zaciskowego – progresja cytokinezy; 3) ostateczne rozdzielenie komórek siostrzanych – za-

kończenie cytokinezy (ryc. 4A-D1'). Proces cytokinezy został omówiony szczegółowo w wielu pracach [np. 4, 8, 24, 32, 72]. W niniejszej pracy podano jedynie jej ogólny zarys, natomiast szczególnie uwzględniono te etapy cytokinezy, które mają duże znacznie w formowaniu SMM.

Wiadomo, że za lokalizację bruzdy podziałowej odpowiadają mikrotubule wrzeciona podziałowego. Tworzy się ona w kortykalnej warstwie cytoplazmy na wysokości miejsca, które wcześniej zajmowała płytka metafazowa (ryc. 4A) [4, 32, 42, 72]. Bruzda podziałowa wpukla się dzięki powstaniu w kortykalnej warstwie cytoplazmy pierścienia zaciskowego (pierścienia kurczliwego) (ryc. 4B). W pierścieniu zaciskowym, podobnie jak w mięśniach, przeciwrównoległe włókna F-aktyny ślizgają się dzięki oddziaływaniu z miozyną II, w wyniku czego zmniejsza się średnica pierścienia, a bruzda podziałowa pogłębia się. Podobnie jak we wcześniejszym przypadku, i tu uważa się, że wrzeciono podziałowe, a szczególnie jego część równikowa, odpowiada za regulację procesu pogłębiania się bruzdy podziałowej [4, 42]. Wśród wielu białek, które zidentyfikowano w obrębie części równikowej wrzeciona, na wyjątkową uwagę zasługuje kompleks białkowy zwany centralspindliną (ang. *centralspindlin*). Centralspindlina to heterotetramer złożony z dwóch cząsteczek kinezyny MKLP1 (ang. *Mitotic Kinesin-Like Protein 1*) i dwóch cząsteczek białka MgcRac GAP (białka z rodziny Rho zdolnego do aktywacji GEFGTPaz typu Rac, znanego w literaturze także jako RACGAP1 lub CYK4 bądź ZEN-4) [17, 32, 42]. Ten kompleks białkowy wydaje się mieć kluczowe znaczenie dla przebiegu cytokinezy organizując pierścień zaciskowy, kontrolując aktywność małych białek G takich jak RhoA i Rac w czasie pogłębiania się bruzdy (rola białek Rho w czasie cytokinezy omówiona jest w [36]). Centralspindlina wiąże także wrzeciono podziałowe do błony komórkowej i rekrutuje białka związane z ostatecznym rozdzieleniem się komórek [42].

W późnej cytokinezie pogłębianie się bruzdy podziałowej dobiega końca w chwili, gdy nastąpi jej kontakt z wiązkami przeciwrównolegle ułożonych mikrotubul tworzących strefę równikową wrzeciona. W tej chwili komórki siostrzane nie ulegają jeszcze rozdziałowi, ale ciągle połączone są wydłużonym i cienkim (ok. 1,5µm w komórkach HeLa – [24]) kanałem cytoplazmatycznym zwanym mostkiem międzykomórkowym (ryc. 4C) [24]. Mostek międzykomórkowy zawiera przeciwrównoległe wiązki mikrotubul, które nakładają się w jego strefie środkowej, tworząc wraz z licznymi białkami elektronowo-gęstą strukturę, zwaną ciałkiem pośrednim lub śródciałkiem (ang. *midbody*) (ryc. 4C) [13, 24, 72]. By komórki potomne mogły się od siebie ostatecznie oddzielić musi dojść jeszcze do demontażu pierścienia kurczliwego i wrzeciona podziałowego, specjalizacji domen błonowych i powiększenia powierzchni błony komórkowej poprzez fuzję pęcherzyków pochodzących z aparatu Golgiego z błoną komórkową. Aktualnie rozpatrywanych jest kilka alternatywnych mechanizmów prowadzących do ostatecznego rozdzielenia się komórek (szczegóły w: [13, 24, 72]). W obrębie mostka międzykomórkowego zlokalizowano

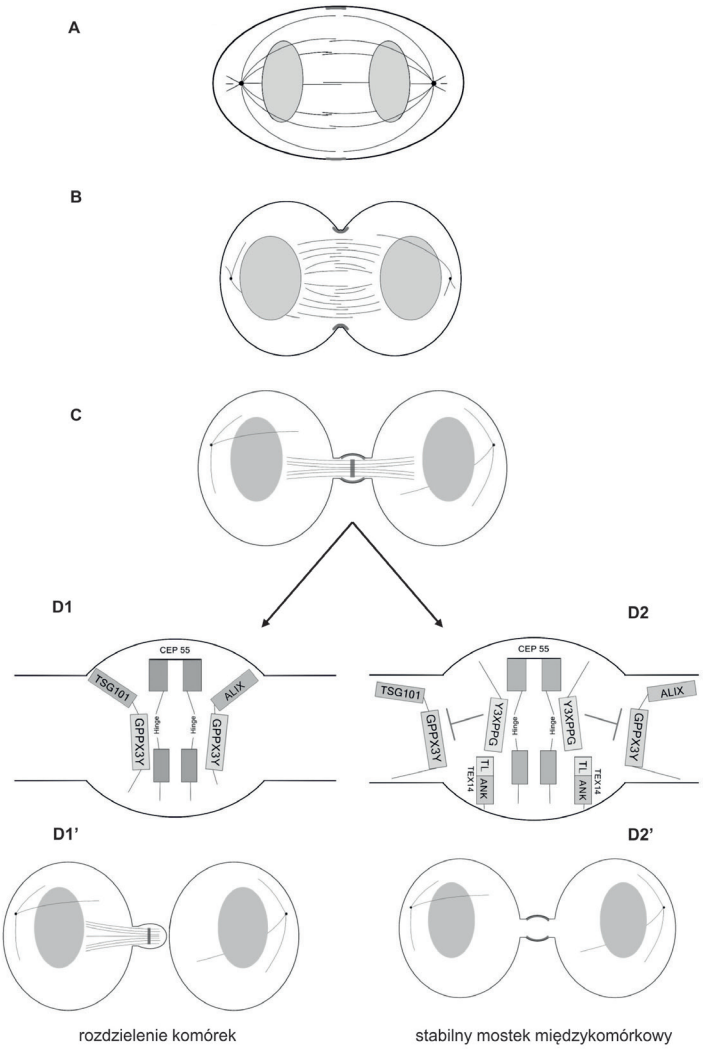
wiele białek istotnych dla ostatecznego oddzielenia się komórek, należą do nich m.in. związane z fuzją błon białka z grupy SNARE (ang. *Solube N-ethylmaleimide-Sensitive Factor [NSF] Attachement protein Receptors*), takie jak syntaksyna 2 i endobrewina (ang. *syntaxin 2*, *endobrevin*) [17]. Inne białka mające istotne znaczenie dla rozcięcia mostka międzykomórkowego i oddzielenia się komórek potomnych to białka, które pierwotnie uważano za związane jedynie z centrosomem. Jednym z takich białek zlokalizowanych także w śródciałku komórek HeLa jest centriolina (ang. *centriolin*) [21]. Jak wykazały eksperymenty z wykorzystaniem interferencyjnego RNA, utrata centrioliny skutkuje powstaniem długich i cienkich mostków międzykomórkowych, które łączą komórki potomne [21]. Okazało się, że centriolina niezbędna jest w rekrutacji do ciałka pośredniego takich białek z rodziny SNARE jak syntaksyna 2, endobrewina i snapina (ang. *snapin*) oraz białek z kompleksu egzocyst (ang. *exocyst complex*) takich jak Sec3, Sec5, Sec8, Sec15 i Exo84 [22]. Kolejnym bardzo ważnym ze względu na pełnioną funkcję białkiem związanym z centrosomem, a które lokalizuje się także w ciałku pośrednim, jest centrosomowe białko 55kDa (ang. *Centrosome Protein 55kDa,* CEP55). Białko sieciujące CEP55 łączy się z centralspindliną i tworzy homodimery, które posiadają rejon zawiasowy i dwie domeny superhelikalne. Jak wykazano eksperymentalnie, brak białka CEP55 powoduje zatrzymanie się cytokinezy i tworzenie komórek wielojądrowych [10, 50, 84]. Co więcej, aby komórki mogły prawidłowo rozdzielić się, do białka CEP55 muszą zostać dołączone białka z grupy ESCRT (ang. *Endosomal Storting Complex Required for Transport*) takie jak ALIX (ang. *ALG-2 interacting protein X*) i TSG101 (składnik ESCRT-I) (ryc. 4D1), co z kolei umożliwia rekrutację białek ESCRT-III i ostateczne oddzielenie się komórek siostrzanych (ryc. 4D1') [8, 17, 26]. Co ważne, białka ALIX i TSG101 posiadają specyficzną sekwencję aminokwasową zwaną motywem GPPX3Y (G – glicyna, P – prolina, P –prolina, (X3) – trzy dowolne aminokwasy, Y – tyrozyna), za pomocą której łączą się ze wspomnianym rejonem zawiasowym dimerów białka CEP55 (ryc. 4D1).

Do jakich modyfikacji cytokinezy dochodzi w czasie formowania SMM? W ostatnim czasie ukazało się wiele prac poświęconych temu problemowi, przedstawiających wyniki badań prowadzonych na układach modelowych takich jak muszka owocowa i mysz domowa wskazujących, że za formowanie SMM mogą odpowiadać procesy zachodzące w rozmaitych fazach cytokinezy. I tak pierwsze modyfikacje cytokinezy wydają się mieć miejsce już w czasie zaciskania się pierścienia kurczliwego. Badania nad regulacją aktywności miozyny II, (która jak wiadomo jest składnikiem pierścienia kurczliwego), w żeńskiej linii płciowej *D. melanogaster* wskazują, iż w przypadku, gdy nie następuje defosforylacja jej lekkiego łańcucha przez fosfatazę lekkich łańcuchów miozyny (ang. *Myosin Light Chain Phosphatase,* MLCP), to pierścień zaciskowy kurczy się zbytnio i w efekcie powstają SMM wyraźnie mniejsze niż w szczepie dzikim [51]. Powstałe mostki są tak małe, że do rosnących oocytów nie mogą być przez nie transportowane np. centriole

[51]. Ostatnio wykazano także, iż konserwatywna fosfataza Flw (*flapwing*) negatywnie reguluje aktywność miozyny II w czasie tworzenia SMM w żeńskiej linii płciowej *Drosophila* [82].

Wydaje się oczywistym, że stabilizacja mostka międzykomórkowego powinna także prowadzić do nieukończenia cytokinezy i uformowania SMM. W SMM w żeńskiej linii płciowej *D. melanogaster* w czasie ich rozwoju i wzrostu odkładane są m. in. takie białka jak F-aktyna, Ov-htsRC i Kelch, tworząc tzw. okładzinę wewnętrzną mostka (patrz powyżej, tab. 1). Jak już wcześniej wspomniano, w SMM w linii męskiej muszki owocowej nie obserwuje się występowania F-aktyny, w tym przypadku wydaje się, że rolę stabilizującą mogą pełnić septyny, nie obserwowane w SMM linii żeńskiej (tab. 1). Zarówno septyny, jak i F-aktyna były także wykryte w SMM w komórkach somatycznych (tab. 1) [26, 65]. Inne składniki, które mogą brać udział w stabilizacji mostka międzykomórkowego to białka sieciujące takie jak Anilina, Cindr oraz kinezyna MKLP1 [26]. Anilina występuje w SMM linii męskiej *Drosophila* i w komórkach somatycznych (tab. 1). Białko to działa podczas wielu etapów procesu cytokinezy (szczegóły w [14]), a ostatnio wykazano, że Anilina odpowiada za rekrutację białka Cindr do SMM w przechodzących mejozę komórkach linii męskiej *D. melanogaster* [15]. Białko MPKL1 (u *Drosophila* Pavarotti) wydaje się być konserwatywnym składnikiem SMM (tab. 1), a także, jak już wspomniano, wraz z MgcRacGAP tworzy centralspindlinę, a więc kluczowy kompleks białkowy, regulujący cytokinezę, w tym powstawanie śródciałka i mostka międzykomórkowego [42]. Wydaje się, że MPKL1 może też aktywnie uczestniczyć w stabilizacji mostka międzykomórkowego, tezę tę popierają obserwacje w mikroskopie elektronowym, wskazujące na podobieństwo strukturalne śródciałka i okładziny SMM [26].

Na bardzo ważny mechanizm formowania się SMM w czasie ostatecznego oddzielania się komórek siostrzanych wskazuje analiza procesów zachodzących w linii płciowej myszy. W tym modelu istotne znaczenie dla tworzenia się stabilnych mostków ma obecność w komórkach linii płciowej białka TEX14 (ang. *Testis-Expressed gene 14*). Okazało się mianowicie, iż białko TEX14 posiada także wspomnianą już wcześniej domenę GPPX3Y i łączy się z zawiasowym rejonem homodimerów białka sieciującego CEP55. Uniemożliwia to z kolei dołączenie do tej domeny białka CEP55 takich białek z grupy ESCRT jak ALIX i TSG101 (Ryc. 4D2) i w konsekwencji nie jest możliwe dokończenie cytokinezy (ryc. 4D2') [17, 28]. Potwierdzeniem takiej właśnie roli białka TEX14 jest jego dokładna kolokalizacja z białkiem CEP55 w SMM w mysich komórkach linii płciowej w czasie spermatogenezy. U samic myszy taka kolokalizacja obserwowana była natomiast w zarodkowej gonadzie u osobników 18,5 dniowych [17]. Wykazano, że w komórkach linii płciowej tego gatunku białko TEX14 pojawia się stosunkowo szybko w mostkach międzykomórkowych i łączy się z jednym ze składników centralspindliny, mianowicie z kinezyną MKLP1. W rezultacie białko TEX14 może efektywnie kon-



RYCINA 4. Przebieg pełnej i niepełnej cytokinezy u myszy. A) Wczesna anafaza – powstanie pierścienia zaciskowego; B) Wpuklanie się bruzdy podziałowej; C) Telofaza – tworzenie się mostka międzykomórkowego zawierającego mikrotubule i śródciałko; D1) Regulacja ostatecznego rozdzielenia się komórek (szczegóły w tekście); D2) Stabilizacja mostka międzykomórkowego (szczegóły w tekście); D1') Ostateczne rozdzielenie się komórek; D2') Powstanie stabilnego mostka międzykomórkowego (na podstawie [17, 24], zmodyfikowane)

FIGURE 4. Complete and incomplete cytokinesis in a mouse. A) Early anaphase – contractile ring formation; B) Furrow ingression, C) Telophase – the formation of an intercellular bridge with microtubules and a midbody; D1) Regulation of abscission (details in the text); D2) Stabilization of the intercellular bridge (details in the text), D1') Abscission, D2') Formation of a stable intercellular bridge (based on [17, 24], modified)

kurować z białkami ALIX i TSG101 o połączenie się z CEP55. Takie połączenie TEX14 z CEP55 nie tylko umożliwia blokadę cytokinezy, ale również stabilizuje mostek międzykomórkowy. Od tej chwili białko CEP55 z czynnika, który rekrutuje do ciałka pośredniego kolejne białka niezbędne do rozdzielenia się komórek, staje się jednym z głównych składników SMM, a kompleks białkowy TEX14:CEP55 należy uważać za kluczowy dla formowania się SMM u myszy (ryc. 4D2) [17, 28].

SMM W WYBRANYCH UKŁADACH NIEMODELOWYCH

Zdecydowana większość aktualnej wiedzy na temat powstawania, składu molekularnego i funkcji SMM pochodzi z dwóch organizmów modelowych jakimi są muszka owocowa i mysz domowa (tab. 1). Jednak SMM obserwuje się u zwierząt powszechnie, zwłaszcza w komórkach linii płciowej. Zazwyczaj w takich przypadkach opisywana jest jedynie morfologia takich mostków, natomiast autorzy rzadko dostarczają jakichkolwiek danych na temat ich składu molekularnego. Ponadto, wiedza na temat SMM jest mocno rozproszona, prace przeglądowe dotyczą prawie wyłącznie gatunków modelowych, dlatego też w niniejszej pracy starano się także zebrać najnowsze dane literaturowe dotyczące obecności i charakterystyki SMM innych zwierząt (tab. 1). Najczęściej wykrywanym składnikiem molekularnym SMM jest F-aktyna. Poza muszką owocową i myszą stwierdzono jej obecność w SMM u takich zwierząt jak np. pszczoły, pewne skorupiaki, czy pierścienice (tab. 1). Wyjątkiem wydają się być SMM w linii żeńskiej *Xenopus laevis,* gdzie oprócz F-aktyny wykazano obecność w nich białek Ov-htsRC i Kelch [37]. Wyjątkiem są także SMM takich pierścienic jak wieloszczet *Ophryotrocha labronica,* czy skąposzczety *Enchytraeus albidus* i *Tubifex tubifex,* gdzie w obrębie okładziny mostka wykazano obecność białek pTyr (*O. labronica* – [5, 6]; *E. albidus* i *T. tubifex* – A. Urbisz, dane niepublikowane). Obrazy morfologiczne opisywanych przez autorów SMM wyglądają często podobnie do tych opisanych u muszki owocowej, czy myszy, niekiedy jednak różnią się dosyć istotnie.

SMM powszechnie występują zarówno w trakcie gametogenezy żeńskiej [59, 60, 61] jak i męskiej [63] niesporczaków (Tardigrada). W linii żeńskiej *Isohypsibius granulifer granulifer* SMM morfologicznie podobne są do tych występujących w jajniku *D. melanogaster* – mają dwuwarstwową okładzinę, w której warstwa zewnętrzna ma większą gęstość elektronową niż warstwa wewnętrzna (ryc. 1C). Natomiast SMM obserwowane w jajniku niesporczaka *Hypsibius dujardini* mają jednolitą, elektronowo-gęstą okładzinę (ryc. 1D). Morfologia SMM w linii męskiej niesporczaków przypomina natomiast mostki obserwowane w linii męskiej *D. melanogaster*, a mianowicie posiadają one tylko jedną elektronowo-gęstą okładzinę (I. Poprawa, dane niepublikowane). W przypadku dwóch gatunków pierścienic: pijawki *Barbronia weberi* i skąposzczeta *Potamothrix bavaricus* w jajnikach obser-

wowano zespoły komórek płciowych, które często oprócz „typowych" SMM, były połączone mostkami, w których nie udało się zaobserwować elektronowo-gęstej okładziny (ryc. 1E) [79, 80]. Podobną sytuację stwierdzono także u *Carpoglyphus lactis* (roztocze), gdzie spermatocyty połączone są SMM pozbawionymi elektronowo-gęstej okładziny [16]. Ostatnio opisano także nietypowe, silnie wydłużone i pozbawione gęstej okładziny oraz wypełnione mikrotubulami i mikrofilamentami stabilne mostki w zarodkowym jajniku nietoperza *Carollia perspicillata* [41]. U wielu owadów np. skoczogonków *Tetrodontophora bielanensis* i *Allacma fusca*, komórki linii płciowej połączone są specyficznie zbudowanymi SMM. Mostki takie posiadają elektronowo-gęstą okładzinę, znajdującą się pod błoną komórkową, a wewnątrz mostka obserwuje się elektronowo-gęsty materiał tworzący sieć. Sieć ta wydaje się przegradzać (zamykać) mostek międzykomórkowy. Funkcja tej struktury nie jest znana (ryc. 1F) [34, 35]. Struktury przegradzające SMM opisywane były także w czasie spermatogenezy niektórych gryzoni (szczur, chomik) [47] oraz w komórkach blastodermy w rozwijających się zarodkach kałamarnicy długopłetwej, *Loligo pealei* [11]. U gryzoni struktury te pojawiają się w czasie podziałów komórek płciowych w późnej profazie, zanikają w późnej telofazie i mają postać licznych, biegnących w poprzek mostka cystern wypełnionych elektronowo-gęstą substancją. Uważa się, że system poprzecznych błon przegradzających SMM ma uniemożliwić przemieszczenie się materiału genetycznego pomiędzy połączonymi już komórkami w czasie kolejnych podziałów. Ponadto sugeruje się, że struktury te zabezpieczają poszczególne komórki przed rozprzestrzenianiem się sygnałów śmierci komórkowej na cały zespół [47]. Za specyficznie zmodyfikowane SMM uważa się tzw. sznury odżywcze, łączące oocyty z komórkami odżywczymi w meroistycznych telotroficznych owariolach owadów [73].

Na zakończenie warto wspomnieć jeszcze o odmiennym sposobie powstawania SMM. Jak opisano powyżej u muszki owocowej, czy myszy SMM powstają poprzez modyfikację cytokinezy, ale zawsze mostki takie powstają *de novo* pomiędzy dwiema komórkami potomnymi. U wielu gatunków pierścienic z gromady siodełkowców (Clitellata) opisano natomiast powstawanie nowych SMM poprzez rozdzielenie przez pierścień zaciskowy już istniejącego mostka na dwa potomne [75]. Mechanizm taki nie był obserwowany w badanych układach modelowych i charakteryzuje się tym, iż niezależnie od liczby przebytych podziałów, każda komórka w zespole ma tylko jeden mostek międzykomórkowy. Zespoły takie charakteryzuje ponadto obecność pozbawionej jąder komórkowych centralnej masy cytoplazmy zwanej rachis lub cytoforem. Cytofor stanowi swoisty łącznik pomiędzy poszczególnymi komórkami w obrębie zespołu (ryc. 1B, szczegóły w: [75]). Zespoły zaopatrzone w centralną masę cytoplazmy występują także np. u nicieni (m. in. u *C. elegans*), robaków płaskich oraz wieloszczetów [75]. Niestety mechanizmy molekularne prowadzące do tak nietypowych cytokinez nie są wciąż znane.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z działalności statutowej 1S-0113-001-1

LITERATURA

[1] Adiyodi KG, Adiyodi RG. Reproductive biology of invertebrates, Vol. 2: Spermatogenesis and sperm function. New York: John Wiley & Sons 1983; 1-648.
[2] Airoldi SJ, Mclean PF, Shimada Y, Cooley L. Intercellular protein movement in syncytial *Drosophila* follicle cells. *J Cell Sci* 2011; **124**: 4077-4086.
[3] Anan'ina TV, Vedernikov AE, Khodzhanov AE, Stegnii VN. Development of ovarioles and nurse cells cytoskeleton in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera; Calliphoridae). *Cell Tissue Biol* 2010; **4**: 192-198.
[4] Barr FA, Gruneberg U. Cytokinesis: Placing and making the final cut. *Cell* 2007; **131**: 847-860.
[5] Brubacher JL, Huebner E. Development of polarized female germline cysts in the polychaete, *Ophryotrocha labronica. J Morphol* 2009; **270**: 413-429.
[6] Brubacher JL, Huebner E. Evolution and development of polarized germ cell cysts: new insights from a polychaete worm, *Ophryotrocha labronica*. *Dev Biol* 2011; **357**: 96-107.
[7] Büning J. The Insect Ovary: Ultrastructure, Previtellogenic Growth and Evolution. New York: Chapman & Hall 1994; 1-400.
[8] Caballe A, Martin-Serrano J. ESCRT machinery and cytokinesis: the road to daughter cell separation. *Traffic* 2011; **12**: 1318-1326.
[9] Caneparo L, Pantazis P, Dempsey W, Fraser SE. Intercellular bridges in vertebrate gastrulation. *PLoS ONE* 2011; **6(5)**: e20230.
[10] Carlton JG, Martin-Serrano J. Parallels between cytokinesis and retroviral budding: a role for the ESCRT machinery. *Science* 2007; **316**: 1908-1912.
[11] Cartwright Jjr, Arnold JM. Intercellular bridges in the embryo of the Atlantic squid, *Loligo pealei*. I. Cytoplasmic continuity and tissue differentiation. *J Embryol Exp Morphol* 1980; **57**: 3-24.
[12] Chang YC, Chen YJ, Wu CH, Wu YC, Yen TC, Ouyang P. Characterization of centrosomal proteins Cep55 and pericentrin in intercellular bridges of mouse testes. *J Cell Biochem* 2010; **109**: 1274-1285.
[13] Chen CT, Ettinger AW, Huttner WB, Doxsey SJ. Resurrecting remnants: the lives of post-mitotic midbodies. *Trends Cell Biol* 2013; **23**: 118-128.
[14] D'avino PP. How to scaffold the contractile ring for a safe cytokinesis – lessons from Anillin-related proteins. *J Cell Sci* 2009; **122**: 1071-1079.
[15] Eikenes ÅH, Brech A, Stenmark H, Haglund K. Spatiotemporal control of Cindr at ring canals during incomplete cytokinesis in the *Drosophila* male germline. *Dev Biol* 2013; **337**: 9-20.
[16] Florek M, Witaliński W. Spermatogenesis and sperm structure in *Carpoglyphus lactis* (L.) (Acari: Astigmata). *Arthropod Struct Dev* 2010; **39**: 41-51.
[17] Greenbaum MP, Iwamori T, Buchold GM, Matzuk MM. Germ cell intercellular bridges. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; **3(8)**: a005850.
[18] Greenbaum MP, Ma L, Matzuk MM. Conversion of midbodies into germ cell intercellular bridges. *Dev Biol* 2007; **305**: 389-396.
[19] Greenbaum BD, Rabadan R, Levine AJ. Patterns of oligonucleotide sequences in viral and host cell RNA identify mediators of the host innate immune system. *PLoS ONE* 2009; **4(6)**: e5969.
[20] Greenbaum MP, Yan W, Wu MH, Lin YN, Agno JE, Sharma M, Braun RE, Rajkovic A, Matzuk MM. TEX14 is essential for intercellular bridges and fertility in male mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; **103**: 4982-4987.

[21] Gromley A, Jurczyk A, Sillibourne J, Halilovic E, Mogensen M, Groisman I, Blomberg M, Doxsey S. A novel human protein of the maternal centriole is required for the final stages of cytokinesis and entry into S phase. *J Cell Biol* 2003; **161**: 535-545.
[22] Gromley A, Yeaman C, Rosa J, Redick S, Chen CT, Mirabelle S, Guhna M, Sillibourne J, Doxsey SJ. Centriolin anchoring of exocyst and SNARE complexes at the midbody is required for secretory-vesicle-mediated abscission. *Cell* 2005; **123**: 75-87.
[23] Guo GQ, Zheng GC. Hypotheses for the functions of intercellular bridges in male germ cell development and its cellular mechanisms. *J Theor Biol* 2004; **229**: 139-146.
[24] Guizetti J, Gerlich DW. Cytokinetic abscission in animal cells. *Semin Cell Dev Biol* 2010; **21**: 909-916.
[25] Haglund K, Nezis IP, Lemus D, Grabbe C, Wesche J, Liestol K, Dikic I, Palmer R, Stenmark H. Cindr interacts with anillin to control cytokinesis in *Drosophila melanogaster*. *Curr Biol* 2010; **20**: 944-950.
[26] Haglund K, Nezis IP, Stenmark H. Structure and functions of stable intercellular bridges formed by incomplete cytokinesis during development. *Commun Integr Biol* 2011; **4**: 1-9.
[27] Huynh JR. Fusome as a cell-cell communication channel of *Drosophila* ovarian cyst. In Baluska F, Volkmann D, Barlow PW eds. Cell-cell channels. Nowy Jork: Springer 2006; 217-235.
[28] Iwamori T, Iwamori N, Ma L, Edson MA, Greenbaum MP, Matzuk MM. TEX14 interacts with CEP55 to block cell abscission. *Mol Cell Biol* 2010; **30**: 2280-2292.
[29] Iwamori T, Lin YN, Ma L, Iwamori N, Matzuk MM. Identification and characterization of RBM44 as a novel intercellular bridge protein. *PLoS ONE* 2011; **6(2)**: e17066.
[30] Jaglarz MK, Kubrakiewicz J, Jędrzejowka I, Gołdyn B, Bilinski SM. Ultrastructural analysis of the ovary and oogenesis in Spinicaudata and Laevicaudata (Branchiopoda) and its phylogenetic implications. *Zoology* 2014; http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2013.12.002
[31] Jamieson BGM, Dallai R, Afzelius BA. Insect s. Their spermatozoa and phylogeny. New Hampshire: Science Publishers 1999; 1-530.
[32] Kaczanowska J, Kaczanowski A. Dynamika mitozy i cytokinezy symetrycznej i asymetrycznej. *Postępy Biochem* 2010; **56**: 29-40.
[33] Kilarski W. Strukturalne podstawy biologii komórki. Warszawa: PWN 2003; 92-102.
[34] Klag J, Ostachowska-Gąsior A. A cytochemical study on "nuage" accumulations in primordial germ cells of *Tetrodontophora bielanensis* (Insecta, Collembola). *Folia Biol (Krakow)* 1997; **45**: 15-20.
[35] Klag J, Świątek P. Differentiation of primordial germ cells during embryogenesis of *Allacma fusca* (L.) (Collembola: Symphypleona). *Int J Insect Morphol Embryol* 1999; **28**: 161-168.
[36] Klimaszewska A, Stenzel A, Nowak JM, Grzanka A. Białka Rho − kluczowe regulatory cytoszkieletu w przebiegu mitozy i cytokinezy. *Postępy Hig Med Dosw* 2011; **65**: 704-713.
[37] Kloc M, Biliński S, Dougherty MT, Brey E, Etkin LD. Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*. *Dev Biol* 2004; **266**: 43-61.
[38] Kloc M, Jaglarz M, Dougherty M, Steward MD, Nel-Themaat L, Biliński S. Mouse early oocytes are transiently polar: Three-dimensional and ultrastructural analysis. *Exp Cell Res* 2008; **314**: 3245-3254.
[39] Kramerova IA, Kramerov AA. Mucinoprotein is a universal constituent of stable intercellular bridges in *Drosophila melanogaster* germ line and somatic cells. *Dev Dyn* 1999; **216**: 349-360.
[40] Liana M, Witaliński W. Female and male reproductive systems in the oribatid mite *Hermannia gibba* (Koch, 1839) (Oribatida: Desmonomata). *Int J Acarol* 2012; **38**: 648-663.
[41] Lechowska A, Biliński S, Rasweiler JJ, Cretekos CJ, Behringer R, Kloc M. Early oogenesis in the short-tailed fruit bat *Carollia perspicillata*: Transient germ cell cysts and noncanonical intercellular bridges. *Genesis* 2012; **50**: 18-27.
[42] Lekomtsev S, Su KC, Pye VE, Blight K, Sundaramoorthy S, Takaki T, Collinson LM, Cherepanov P, Divecha N, Petronczki M. Centralspindlin links the mitotic spindle to the plasma membrane during cytokinesis. *Nature* 2012; **492**: 276-279.
[43] Lighthouse Dv, Buszczak M, Spradling Ac. New components of the *Drosophila* fusome suggest it plays novel roles in signaling and transport. *Dev Biol* 2008; **317**: 59-71.

[44] Marzo L, Gousset K, Zurzolo C. Multifaceted roles of tunneling nanotubes in intercellular communication. *Front Physiol* 2012; **3**:**72** doi:10.3389/fphys.2012.00072.
[45] Mazurkiewicz M, Kubrakiewicz J. Intercellular cytoplasm transport during oogenesis of the moth midge *Tinearia alternata* Say (Diptera: Psychodidae). *Folia Biol (Kraków)* 2001; **49**: 205-213.
[46] Mazzoni Ts, Grier Hj, Quagio-Grassiotto I. Germline cysts and the formation of the germinal epithelium during the female gonadal morphogenesis in *Cyprinus carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). *Anat Rec (Hoboken)* 2010; **293**: 1581-1606.
[47] Miething A. The formation and dissolution of the bridge-partitioning complex in intercellular bridges of dividing germ cells in the testis of the golden hamster. *J Submicr Cytol Pathol* 2003; **35**: 271-276.
[48] McLean P, Cooley L. Protein equilibration through somatic ring canals in *Drosophila*. *Science* 2013; **340**: 1445-1447.
[49] Mork L, Tang H, Batchvarov I, Capel B. Mouse germ cell clusters form by aggregation as well as clonal divisions. *Mech Dev* 2012; **128**: 591-596.
[50] Morita E, Sandrin V, Chung HY, Morham SG, Gygi S, Rodesch CK, Sundquist WI. Human ESCRT and ALIX proteins interact with proteins of the midbody and function in cytokinesis. *EMBO J* 2007; **26**: 4215-4227.
[51] Ong S, Foote C, Tan C. Mutations of DMYPT cause over constriction of contractile rings and ring canals during *Drosophila* germline cyst formation. *Dev Biol* 2010; **346**: 161-169.
[52] Ong S, Tan C. Germline cyst formation and incomplete cytokinesis during *Drosophila melanogaster* oogenesis. *Dev Biol* 2010; **337**: 84-98.
[53] Patrício K, da Cruz-Landim C. Ultrastructural aspects of the intercellular bridges between female bee germ cells. *Braz J Biol* 2006; **66**: 309-315.
[54] Patrício K, da Cruz-Landim C, Machado-Santelli GM. Cytoskeletal organization of bee ovarian follicles during oogenesis. *Micron* 2011; **42**: 55-59.
[55] Pepling ME. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis* 2006; **44**: 622-632.
[56] Pepling ME, Spradling AC. Female mouse germ cells form synchronously dividing cysts. *Development* 1998; **125**: 3323-3328.
[57] Pepling ME, Spradling AC. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Dev Biol* 2001; **234**: 339-351.
[58] Pepling ME, de Cuevas M, Spradling AC. Germline cysts: a conserved phase of germ cell development? *Trends Cell Biol* 1999; **9**: 257-262.
[59] Poprawa I. The ovary structure, previtellogenic and vitellogenic stages in parthenogenetic species *Dactylobiotus dispar* (Murray, 1907) (Tardigrada: Eutardigrada). *Tissue Cell* 2005a; **37**: 385-392.
[60] Poprawa I. The structure and the formation of egg shells in the parthenogenetic species *Dactylobiotus dispar* Murray, 1907 (Tardigrada: Eutardigrada). *Folia Biol (Kraków)* 2005b; **53**: 173-177.
[61] Poprawa I. Ultrastructural studies of the formation of the egg capsule in hermaphroditic species *Isohypsibius granulifer granulifer* Thulin, 1928 (Tardigrada: Eutardigrada). *Zoolog Sci* 2011; **28**: 37-40.
[62] Pyka-Fosciak G, Szklarzewicz T. Germ cell cluster formation and ovariole structure in viviparous and oviparous generations of the aphid *Stomaphis quercus*. *Int J Dev Biol* 2008; **52**: 259-65.
[63] Rebecchi L. Ultrastructural study of spermiogenesis and testicular and spermathecal spermatozoon of gonochoristic tardigrade *Xerobiotus pseudohufelandi* (Eutardigrada, Macrobiotidae). *J Morphol* 1997; **234**: 11-24.
[64] Renkawitz-Pohl R, Hemple L, Hollmann M, Schäfer MA. Spermatogenesis. In Gilbert K, Iatrou K, Grill SS eds. Comprehensive molecular insect science Vol. 1. Oxford: Elsevier BV 2005; 157-178.
[65] Robinson DN, Cooley L. Stable intercellular bridges in development: the cytoskeleton lining the tunnel. *Trends Cell Biol* 1996; **6**: 474-479.
[66] Robinson DN, Cant K, Cooley L. Morphogenesis of *Drosophila* ovarian ring canals. *Development* 1994; **120**: 2015-2025.
[67] Rupik W, Huszno J, Klag J. Cellular organisation of the mature testes and stages of spermiogenesis in *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei)-structural and ultrastructural studies. *Micron* 2011; **42**: 833-839.

[68] Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 2004; **303**: 1007-1010.
[69] Schulz RW, de França LR, Lareyre J-J, Legac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega RH, Miura T. Spermatogenesis in fish. *Gen Comp Endocr* 2010; **165**: 390-411.
[70] Spałek-Wołczyńska A, Klag J, Bielecki A, Świątek P. Oogenesis in four species of *Piscicola* (Hirudinea, Rhynchobdellida). *J Morphol* 2008; **269**: 18-28.
[71] Spradling AC. Developmental genetics of oogenesis. In Bate M, Martinez Arias A eds. The development of *Drosophila melanogaster*. New York: CHS Laboratory Press 1993; 1-70.
[72] Steigemann P, Gerlich DW. Cytokinetic abscission: cellular dynamics at the midbody. *Trends Cell Biol* 2009; **19**: 606-616.
[73] Szklarzewicz T. Struktura, rozwój i anageneza jajników czerwców (Insecta, Hemiptera, Coccinea). Rozprawy Habilitacyjne nr 342. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego. 1999; 1-45.
[74] Świątek P. Structure and development of ovaries in the weevil *Anthonomus pomorum* (Coleoptera, Polyphaga). II Germ cells of the trophic chamber. *Folia Biol* (Kraków) 2002; **50**: 153-163.
[75] Świątek P, Kubrakiewicz J, Klag J. Formation of germ-line cysts with a central cytoplasmic core is accompanied by specific orientation of mitotic spindles and partitioning of existing intercellular bridges. *Cell Tissue Res* 2009; **337**: 137-148.
[76] Świątek P, Urbisz AZ, Strużyński W, Płachno BJ, Bielecki A, Cios S, Salonen E, Klag J. Ovary architecture of two branchiobdellid species and *Acanthobdella peledina* (Annelida Clitellata). *Zool Anz* 2012; **251**: 71-82.
[77] Telfer WH. Development and physiology of the oocyte-nurse cell syncytium. *Adv Insect Physiol* 1975; **11**: 223-319.
[78] Urbisz AZ, Świątek P. Ovary organization and oogenesis in two species of Lumbriculida (Annelida, Clitellata). *Zoology (Jena)* 2013; **116**: 118-128.
[79] Urbisz AZ, Krodkiewska M, Świątek P. Ovaries of Tubificinae (Clitellata, Naididae) are meroistic and resemble ovary cords found in leeches (Clitellata, Hirudinea). *Zoomorphology* 2010; **129**: 235-247.
[80] Urbisz AZ, Lai Y-T, Świątek P. *Barbronia weberi* (Clitellata, Hirudinida, Salifidae) has ovary cords of the Erpobdella type. *J Morphol* 2014; **275**: 479-488.
[81] Ventelä S. Cytoplasmic bridges as cell-cell channels of germ cells. In Baluska F, Volkmann D, Barlow PW eds. Cell-cell channels. Nowy Jork: Springer 2006; 208-216.
[82] Yamamoto S, Bayat V, Bellen HJ, Tan C. Protein phosphatase 1ß limits ring canal constriction during *Drosophila* germline cyst formation. *PLoS ONE* 2013; **8(7)**: e70502.
[83] Zani BG, Edelman ER. Cellular bridges: Routes for intercellular communication and cell migration. *Commun Integr Biol* 2010; **3**: 215-220.
[84] Zhao WM, Seki A, Fang G. Cep55, a microtubule-bundling protein, associates with centralspindlin to control the midbody integrity and cell abscission during cytokinesis. *Mol Biol Cell* 2006; **17**: 3881-3896.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 02.04.2014
Przyjęto: 12.05.2014
Piotr Świątek
Katedra Histologii i Embriologii Zwierząt, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Śląski
ul. Bankowa 9, 40-007 Katowice
tel.: +48 32 3591361
fax: + 48 32 3591318
e-mail: piotr.swiatek@us.edu.pl