

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

ASIMETRIČNA DIOBA STANICE I „DIFERENCIJALNO NASLJEĐIVANJE
STAROSTI“

ASYMMETRIC CELL DIVISION AND “DIFFERENTIAL INHERITANCE OF AGING“

Viktorija Herceg
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Dunja Leljak-Levanić

Zagreb, 2009.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PROKARIOTSKA STANICA	2
3. ASIMETRIČNA DIOBA STANICE KVASCA	4
3.1. NASLJEDIVANJE POLARNIH TJELEŠACA	4
3.2. NASLJEDIVANJE rDNA	5
3.3. NASLJEDIVANJE PROTEINSKIH AGREGATA	6
3.4. NASLJEDIVANJE mRNA I PROMJENA SPOLA	6
3.5. KVASAC KAO MODEL ZA ISTRAŽIVANJE OŠTEĆENJA DNA I NASTANKA RAKA	7
4. ASIMETRIČNA DIOBA U VINSKE MUŠICE	8
4.1. ACD I NASLJEDIVANJE CENTROSOMA	8
4.2. DIFERENCIJALNO NASLJEDIVANJE DETREMINANATA KOJE ODREĐUJU SUDBINU STANICA	9
5. ASIMETRIČNA DIOBA STANICE I STARENJE U SISAVACA	11
5.1. NASLJEDIVANJE CENTROSOMA KOD SISAVACA	11
5.2. NASLJEDIVANJE PROTEINA NAMIJENJENIH RAZGRADNJI	11
6. ZAKLJUČAK	13
7. LITERATURA	14
8. SAŽETAK	17
9. SUMMARY	17

1. UVOD

Asimetrična dioba stanice (ACD-od engl. Asymmetric Cell Division) je proces u kojem nastaju stanice kćeri koje su međusobno različite. One se mogu razlikovati u morfologiji (npr. veća i manja stanica), funkciji, ili u oboje. Asimetričnost diobe određena je unutrašnjim i vanjskim čimbenicima. ACD je mehanizam zaslužan za diferencijaciju stanica kod viših eukariota. Stanice kćeri mogu od stanice majke naslijediti različite stanične determinante (npr. RNA, proteine) koje određuju njihovu daljnju sudbinu, ali za njihov razvoj može biti zadužena i okolina koja ih različitim signalima navodi na određeni životni put (npr. kod diobe stanica neuroblasta vrste *Drosophila melanogaster*, vinska mušica). U zadnje se vrijeme sve češće postavlja pitanje o porijeklu asimetrične diobe. Evolucijski, nastanak asimetrične diobe možemo povezati s procesom starenja.

Starenje je osnovna osobina svih živih bića. Nedavna otkrića dovela su do spoznaje da je starenje nastalo evolucijski vrlo rano, još u jednostaničnih prokariota. Ako se organizam koji stari razmnožava, strukture koje su se tijekom njegovoga života mijenjale neće biti jednako raspoređene. Za organizme koji stare, razmnožavanje je, bilo ono spolno ili ne, zapravo pomlađivanje (Ackermann i sur. 2007). Bakterije (Lindner i sur. 2008) i kvasci (Erjavec i sur. 2007, Aguilaniu i sur. 2003) ne raspodjeljuju svoje stanične strukture simetrično tijekom diobe, nego mnoge strukture ostaju samo u jednoj stanici. Tu stanicu možemo nazvati stanica majka, ona stari i asimetričnom diobom stvara pomlađeno potomstvo. Za stanice kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) i stanice bakterije *Escherichia coli* kažemo da replikativno stare. Replikativno starenje definirano je kao broj stanica kćeri nastalih diobom majčinske stanice prije nego što se ona prestane dijeliti. Ono je asimetrično jer majčinska stanica stari, a dob stanica kćeri je „nula“ (Henderson i Gottschling 2008, Nyström 2007).

Cilj ovoga rada je usporediti mehanizme nasljeđivanja različitih staničnih komponenti pri ACD kako bi povezali proces starenja s ACD u različitim organizmima.

2. PROKARIOTSKA STANICA

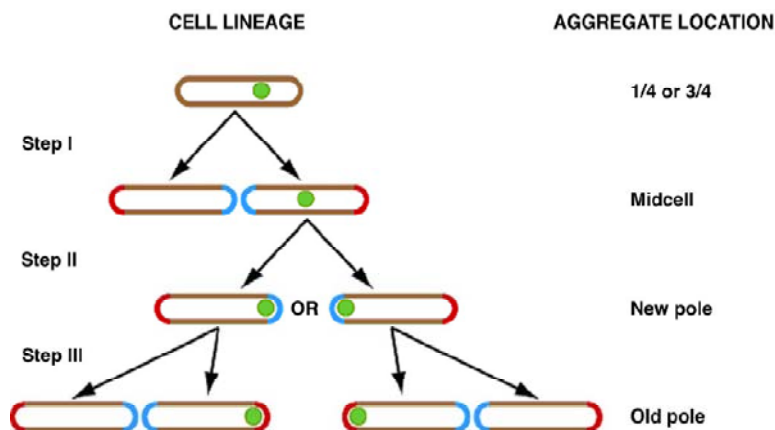
Za bakterijske stanice se do nedavno vjerovalo da ne stare. Mislilo se da pri binarnoj diobi bakterijske stanice dolazi do jednake raspodjele neoštećenih i oštećenih sastavnica, da ne postoji odrasli oblik bakterijskih stanica te da populacije bakterija nisu starosno strukturirane. Međutim, istraživanja provedena u zadnjih nekoliko godina pokazuju da je dioba prokariotske stanice ustvari asimetrična, a da je starenje bitan dio života bakterija (Ackermann i sur. 2007, Nyström 2007, Watve i sur. 2006).

Caulobacter crescentus je prva bakterijska vrsta kod koje je zabilježen fenomen replikativnog starenja (Ackermann i sur. 2007). To je mala, Gram-negativna štapičasta bakterija koja se dijeli asimetričnom diobom kojom nastaju dvije stanice kćeri koje se međusobno razlikuju i u strukturi stanice, i u funkciji (Sl.1.). Veća stanica na jednom polu ima dršak kojim se pričvršćuje na površinu neke tvari, biljke ili mikroorganizma, a manja stanica posjeduje bič za pokretanje u vodenom mediju u kojem obitava (<http://www.microbewiki.kenyon.edu/>). Replikacija kromosoma i dioba događaju se samo u većoj stanici s drškom. Manja pokretna stanica s vremenom gubi bič i diferencira se u stanicu s drškom te onda i ona može stvoriti potomstvo. Međutim, sa svakom staničnom diobom produžuje se vrijeme potrebno da stanica s drškom proizvede pokretnu stanicu (Ackermann i sur. 2007.).



Slika 1. Asimetrična dioba stanice kod vrste *Caulobacter crescentus*. Ovom diobom nastaju veća stanica s drškom (gornja) i manja stanica s bičem (donja). Preuzeto iz <http://www.microbewiki.kenyon.edu/>.

Druga bakterijska vrsta koja pokazuje znakove replikativnog starenja je *Escherichia coli*. Ona se dijeli binarnom diobom, koja se, na prvi pogled, čini simetričnom. Produžuje se os cilindra, a onda nastaje septum. Ipak, novonastale stanice nisu u potpunosti identične jer su im polovi različitog porijekla. Jedan pol potiče od majčinske stanice, a drugi nastaje *de novo*. Nakon nekoliko generacija majčinska stanica nasljeđuje sve stariji pol, ona pokazuje znakove replikativnoga starenja: raste sporije i dijeli se manjom frekvencijom. Stewart i sur. (2005). Pratile su polove stanica kod bakterije *E. coli* i mjerili povećanje dužine stanica za vrijeme rasta. Izračunali su generacijsko vrijeme individualnih stanica i otkrili da stopa rasta pada kod stanica koje su naslijedile stariji pol. Uz nasljeđivanje starog pola, vezano je još jedno obilježje asimetričnosti diobe u vrste *E. coli*: odvajanje oštećenog materijala u stanicu koja je naslijedila stari pol. Naime, bakterija *E. coli* pokazala se kao model pogodan u istraživanjima agregacije proteina *in vivo*. Lindner i sur. (2008) pratili su pojavnost i nasljeđivanje spontano nastalih proteinskih agregata kod stanica bakterije *E. coli* uzgajanih u uvjetima bez stresa. Proteinski agregati su se prilikom diobe akumulirali u stanicama sa starijim polovima (Sl. 2.).



Slika 2. Lokalizacija proteinskih agregata (zeleno) na starom polu pri uzastopnim binarnim diobama. Preuzeto iz Lindner i sur., 2008.

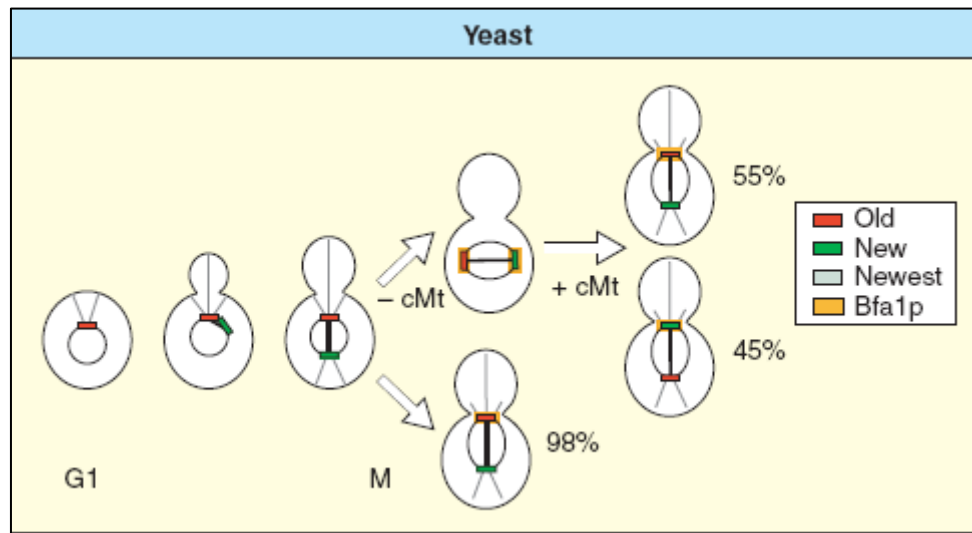
3. ASIMETRIČNA DIOBA STANICE KVASCA

Stanice kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) postoje u haploidnom i diploidnom obliku. Haploidne stanice imaju jednostavan životni ciklus mitoze i rasta, a u uvjetima stresa ne preživljavaju. Diploidne stanice su, za razliku od haploidnih, efikasnije u popravku oštećenja DNA, a u uvjetima stresa sporuliraju - ulaze u mejotičku diobu kojom nastaju haploidne spore. Stanice kvasca se međusobno razlikuju i po spolu koji može biti A ili α . Ako se takve haploidne stanice spare nastat će diploidni organizam. Asimetrija diobe je dvojaka: morfološka i funkcionalna. Morfološki razlikujemo diobe haploidne i diploidne stanice. Kod haploidnih stanica pup se na majčinskoj stanici formira aksijalno, a kod diploidnih stanica bipolarno, tj. na kraju suprotnom od onog na kojem je nastao pup u prethodnoj diobi. Funkcionalna razlika proizlazi iz mogućnosti promjene spola majčinske stanice za vrijeme diobe (Macara i Mili 2008). Stanica kvasca se u svom životu može podijeliti 20-30 puta. Kako stari, stanica gubi neke osobine asimetrije. Stare majčinske stanice eksprimiraju gene oba spola i njihovom diobom nastaju velike stanice kćeri čiji je životni vijek kratak (Sinclair i sur. 1998).

3.1. NASLJEĐIVANJE POLARNIH TJELEŠACA

Polarno tjelešće (SPB-od engl. Spindle Pole Body) je ekvivalent centrosoma viših eukariota. Nalazi se uklopljeno u jezgrinu ovojnici te, kao i centrioli, organizira mikrotubularni citoskelet. Obje se strukture smatraju centrima organizacije mikrotubula (MTOC - od engl. Microtubule Organizing Center). Polarna tjelešca imaju konzerviranu duplikaciju koja se događa u interfazi staničnog ciklusa (G1). Nastaje jedno staro i jedno novo polarno tjelešće (Bornens i Piel 2002). Oni se razdvajaju i u mitozu tvore nasuprotne polove mitotičkog vretena. Citoplazmatski mikrotubuli orijentiraju polarna tjelešca duž osi majka-pup i povlače jezgru kroz vrat u pup. Pereira i sur. (2001) istraživali su nasljeđivanje polarnih tjelešaca kod kvasca i pokazali su da je staro polarno tjelešće ono koje uvijek ulazi u pup, tj. nasljeđuje ga stanica kćer, a novosintetizirano polarno tjelešće ostaje u stanici majci. Ovo istraživanje postavilo je temelje hipoteze o „besmrtnom polarnom tjelešču“ jer majčinska stanica stari i umire, a najstarije polarno tjelešće uvijek nasljeđuje stanica kćer te tako ono izbjegne tu sudbinu (Macara i Mili 2008). Pokazalo se da segregacija polarnih tjelešaca ovisi o

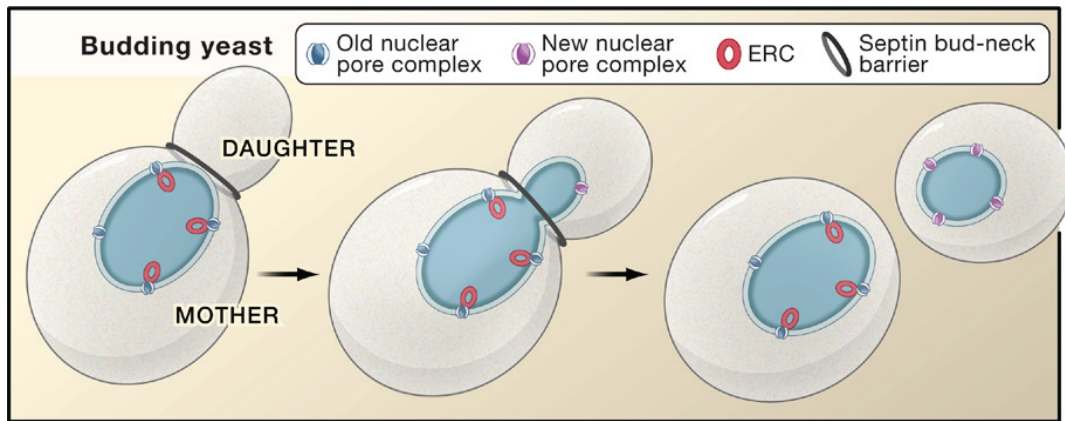
funkcionalnim citoplazmatskim mikrotubulima: za vrijeme anafaze mitoze polarno tjelešće najbliže pupu biva translocirano kroz vrat pupa u buduću stanicu kćer (Sl. 3., Siller i Doe 2009, Bornens i Piel 2002).



Slika 3. Segregacija SPB pri mitozu stanice kvasca. Staro SPB (crveno) u pravilu nasljeđuje stanica kći, ali ako dođe do poremećenja citoplazmatskih mikrotubula, onda će segregacija starog i novog (zeleno) SPB biti nasumična. Preuzeto iz Bornens i Piel 2002.

3.2. NASLJEĐIVANJE RIBOSOMSKE DNA

Starenje kvasca povezano je s akumulacijom malih ekstrakromosomalnih krugova DNA koji nastaju iz ribosomalnog lokusa (Sinclair i Guarente 1997). U genomu kvasca, ali i u viših eukariota, postoji 100-200 tandemskih ponavljanja gena koji sadrže uputu za sintezu ribosomskih RNA (rRNA) (Macara i Mili 2008). Homolognom rekombinacijom između uzastopnih ponavljanja nastaju kružne molekule ribosomske DNA (rDNA) koje nazivamo ERC-ovi (od engl. Extrachromosomal Ribosomal DNA Circles). ERC-ovi se mogu dijeliti samo jednom, u S fazi staničnoga ciklusa, a za vrijeme stanične diobe ostaju usidreni u kompleksu pora jezgrine ovojnice koja ostaje sačuvana zbog difuzijske barijere septina (Shcheprova i sur. 2008). Zbog takvog načina kompartmentizacije ERC-ovi ostaju u majčinskoj stanici i s vremenom se akumuliraju (Sl. 4.). Njihova akumulacija je u korelaciji s raspadanjem nukleolusa i starenjem stanice.



Slika 4. Diferencijalno nasljeđivanje rDNA krugova u mitozu stanice kvasca. Za vrijeme mitoze, jezgra prodire u pup, ali difuzijska barijera koju čine Septini sprječava kretanje pora kompleksa jezgrine ovojnice iz majčinske stanice. ERC-ovi koji pridonose procesu starenja kvasca usidreni su u kompleksu i ostaju u majčinskoj stanici. Preuzeto iz Shcheprova i sur. 2008

3.3. NASLJEĐIVANJE PROTEINSKIH AGREGATA

U procesu replikativnog starenja u kvasca dolazi do nakupljanja proteina oštećenih oksidacijom. Nastajanje takvih proteinskih agregata potpomognuto je šaperonom Hsp104p, koji, u interakciji s aktinskim citoskeletom, te agregate u mitozu zadržava u majčinskoj stanici (Erjavec i sur. 2007, Aguilaniu i sur. 2003). Kvašćev protein Sir2p je NAD-ovisna histon deacetilaza koja ima ulogu u utišavanju transkripcije. Povećanom ekspresijom proteina Sir2p smanjuje se rekombinacija kojom nastaju ERC-ovi i tako se produžuje životni vijek stanice (Macara i Mili 2008). Sir2p sudjeluje i u procesu segregacije prije spomenutih proteinskih agregata (Erjavec i sur. 2007).

3.4. NASLJEĐIVANJE mRNA I PROMJENA SPOLA

Kao što sam istaknula u uvodu, asimetričnom diobom nastaju stanice kćeri različitih sudbina. Za takav ishod bitno je diferencijalno nasljeđivanje molekula RNA. Jedan od najbolje opisanih primjera je nasljeđivanje mRNA za protein ASH1 u samo jednu stanicu kćer za vrijeme mitoze *S. cerevisiae* (Gonsalvez i sur. 2005). ASH1 koji nastaje translacijom negativni je regulator transkripcije gena *HO* koji se u majčinskoj stanici prepisuje samo pri

prijelazu iz G1 u S fazu staničnog ciklusa. Produkt gena *HO* je endonukleaza koja omogućuje promjenu spola u kvasca. Stanica kćer koja je nasljedila mRNA za protein ASH1 ne može promijeniti spol (Scheres i Benfey 1999).

3.5. KVASAC KAO MODEL ZA ISTRAŽIVANJE OŠTEĆENJA DNA I NASTANKA RAKA

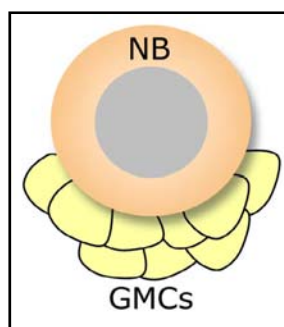
Fabrizio i Longo (2003) razvili su metodu proučavanja starenja u kvasca koja se zove kronološko starenje (engl. "chronological life span"), a temelji se na preživljenju populacija stanica koje se ne dijele. Madia i sur. (2007) služili su se ovom metodom kako bi analizirali različite vrste mutacija u molekuli DNA i tako otkrili utjecaj starenja na stabilnost genoma. Primjenom te metode identificirali su dva puta u stanici koja reguliraju kronološko starenje: Ras/PKA/Msn2/4 i Sch9. Negativna regulacija bilo kojeg od ova dva puta produžuje život stanice kvasca. Slični regulatorni mehanizmi (insulin/IGF-I-like) reguliraju dužinu života kod viših eukariota što sugerira na očuvano zajedničko evolucijsko porijeklo. Ras i Sch9 su funkcionalni homolozi dvaju važnih onkogenih nađenih u sisavaca: Ras i Akt. To pokazuje da je nastanak raka u uskoj vezi sa starenjem stanica.

4. ASIMETRIČNA DIOBA U VINSKE MUŠICE

U stanicama viših eukariota nalazimo centrosome. Dva centriola u međusobno okomitom položaj čine jezgru centrosoma i okruženi su pericentriolarnim materijalom (PCM) u kojem se nalazi osnovni čimbenik nukleacije mikrotubula γ -tubulin (Lüders i Stearns 2007). U animalnim stanicama duplikacija centrosoma je konzervirana. Za regulaciju i uspješni ishod diobe bitno je mitotičko vreteno koje je bipolarno s dva sestrinska centrosoma na polovima. Centrosomi su neposredno zaduženi i za regulaciju izlaska stanice iz mitoze. Oni koncentriraju anafazni potpomagajući kompleks (APC-od engl. Anaphase-Promoting Complex) na minus krajeve mikrotubula. Nakon što primi signal koji dolazi od plus-kraja mikrotubula, APC okida izlazak iz mitoze, odvija se citokineza te se uspostavljaju veze između jezgre i perifernog citoskeleta kako bi se osiguralo da svaka stanica kćer naslijedi samo jednu jezgru (Bornens i Piel 2002). Različitost centrosoma i njihovo nasljeđivanje najbolje je istraženo kod vinske mušice u matičnim stanicama muške zametne loze (Yamashita i sur. 2007) i u neuroblastima embrija i ličinke (Rusan i Peifer 2007).

4.1. ACD I NASLJEĐIVANJE CENTROSOMA

Neuroblasti (NB) su odličan model za proučavanje asimetrične diobe matičnih stanica. Matična stanica NB dijeli se na stanicu koja ostaje matična (NB) i na stanicu koja će se diferencirati, ganglijska majčinska stanica (GMC- od engl. Ganglion Mother Cell). Dioba NB je strogo mjesno specifično određena. Svaka GMC stanica nastaje pridružena u odnosu na prethodnu GMC (Akong i sur. 2002). GMC stanice tako stvaraju kapu koja s jedne strane okružuje populaciju stanica NB (Sl. 5., Rusan i Peifer 2007).



Slika 5. Mjesno specifičnom diobom NB stanica nastaju GMC stanice koje stvaraju kapu na jednoj strani. Preuzeto iz Rusan i Peifer 2007.

Rusan i Peifer (2007) otkrili su da kod NB postoji različita prostorna i vremenska regulacija dvaju centrosoma. Sazrijevaju asinkrono i udaljeni su jedan od drugoga, U interfazi, dva se centriola odvajaju, ali samo je jedan od njih aktivan, on zadržava pericentriolarni materijal te iz njega nastaje „dominantni centrosom“. On se ponaša kao centar organizacije mikrotubula za vrijeme čitavoga staničnog ciklusa i ostaje stacionaran, formirajući jedan pol budućega mitotičkog vretena. Drugi je centriol inaktivan i kreće se na suprotnu stranu stanice prije nego što postane aktivan kao centrosom/MTOC. Rusan i Peifer (2007) pretpostavljaju da stanica koja ostaje matična (NB) nasljeđuje stari, tj. „dominantni“ centrosom, ali to još nije eksperimentalno potvrđeno.

4.2. DIFERENCIJALNO NASLJEĐIVANJE DETERMINANATA KOJE ODREĐUJU SUDBINU STANICA

Kod vinske mušice stanica prekursor središnjeg i perifernog živčanog sustava dijeli se asimetrično pri čemu se različito nasljeđuju transkripcijski faktor Prospero i signalni protein Numb (Knoblich 2008, Scheres i Benfey 1999). Numb i Prospero kolokaliziraju u majčinskoj stanici stvarajući polumjesec na bazalnoj strani. Za njihovu lokalizaciju bitan je aktinski citoskelet, a za njihovo ispravno smještanje, u odnosu na os diobenog vretena i u odnosu na apikalno-bazalnu os, važni su mikrotubuli (Knoblich i sur. 1997). Pri diobi NB samo GMC nasljeđuje Prospero. Za ACD stanica NB bitno je i nasljeđivanje proteinskog kompleksa Par (Par-3 i Par-6) i protein kinaze C (aPKC) (Macara i Mili 2008). Proteini Par kompleksa važni su za zadržavanje determinanata na suprotnom polu stanice koja se dijeli, i za orijentaciju

samih polova u diobi. Njih nasljeđuje apikalna stanica kćer koja zadržava karakteristike matične stanice (Knoblich 2008).

5. ASIMETRIČNA DIOBA STANICE I STARENJE U SISAVACA

Zbog kompleksnosti organizma kod sisavaca, većina istraživanja koja se bave ACD i starenjem, izvodi se *in vitro* (Funtealba i sur. 2008, Hernebring i sur. 2006) na kultiviranim staničnim linijama. Kad govorimo o starenju stanica sisavaca redovito mislimo na nastanak mnogih oštećenja za vrijeme njihova života. Najbolje su istražena oštećenja proteina i nastanak proteinskih agregata. Agregirani proteini direktno su vezani za degeneraciju stanica u mnogim bolestima povezanim sa starošću: Huntingtonova bolest, Alzheimerova bolest, Parkinsonova bolest, spongiformne encefalopatije, nastanak katarakti, dijabetes.

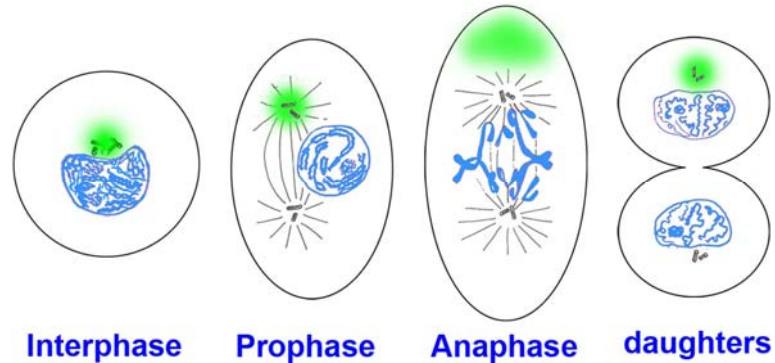
5.1. NASLJEĐIVANJE CENTROSOMA KOD SISAVACA

U stanicama sisavaca duplikacija centriola je konzervativna dok je duplikacija centrosoma semikonzervativna. Nakon mitoze, stanica nasljeđuje centrosom u kojem se centrioli međusobno razlikuju strukturalno i biokemijski. Stari majčinski centriol, nastao prije 1.5 generacija, ima razvijene strukture za nukleaciju i za usidrenje astralnih mikrotubula. Kod mlađeg centriola, nastalog u prethodnoj S fazi staničnog ciklusa, razvijena je samo struktura bitna za nukleaciju mikrotubula. Taj centriol ne može usidriti astralne mikrotubule i nije u potpunosti funkcionalan (Bornens i Piel 2002).

5.2. NASLJEĐIVANJE PROTEINA NAMIJENJENIH RAZGRADNJI

Istraživanja provedena na ljudskim embrionalnim matičnim stanicama (Funtealba i sur. 2008, Rujano i sur. 2006, Hernebring i sur. 2006) i na drugim kultiviranim staničnim linijama sisavaca pokazala su da su mnoge mitotičke diobe asimetrične zbog segregacije proteina namijenjenih razgradnji (Funtealba i sur. 2008, Rujano i sur. 2006). Funtealba i sur. (2008) pretpostavljaju da do nejednake raspodjele proteina namijenjenih razgradnji dolazi zbog toga što, kad se centrioli razdvoje u prijelazu iz G2 u M fazu staničnog ciklusa, periferni centrosomalni materijal u kojem su takvi proteini ostaje na jednoj strani te ga nasljeđuje samo jedna stanica kći (Sl. 6.). Takva asimetrija može populacijama stanica koje se dijele pružiti

jednostavan fiziološki mehanizam čišćenja od proteina čija je sudbina razgradnja (Fuentelba i sur. 2008).



Slika 6. Model koji prikazuje asimetrično nasljeđivanje pericentrosomalnog materijala (zeleno) u mitozu. U interfazi, centrosomi i centrioli okruženi su pericentrosomalnim materijalom u kojem se koncentriraju proteini namijenjeni degradaciji. Za vrijeme mitoze centrioli i njima pridruženi centrosomalni MTOC proteini (kao γ -tubulin i pericentrin) raspodjeljuju se jednako, dok pericentrosomalni materijal ostaje na jednom polu. Preuzeto iz Fuentelba i sur. 2008.

Starenje je, zbog nakupljanja oštećenja u DNA, glavni rizični faktor za nastanak raka u čovjeka (Cairns 2006, Madia i sur. 2007). Nažalost, mehanizmi odgovorni za utjecaj starenja na nastanak tumora još su jako slabo istraženi, djelomično je za to kriv i nedostatak pogodnih modela za istraživanje ove problematike. Kao što je već prije rečeno, najpogodniji model za istraživanje raka za sada je kvasac (Madia i sur. 2007) zbog toga što se u tom jednostaničnom eukariotu, za vrijeme života, nakupljaju ista oštećenja kao i u stanicama čovjeka, ali i zato što miševi, na kojima se isto provode takva istraživanja imaju duži životni vijek, relativno su nepogodni za manipulaciju, a u vezi s njima postoje još neriješena etička pitanja.

6. ZAKLJUČAK

ACD je povezana s procesom starenja u svim organizmima. ACD je prvotno mogla nastati kako bi jednostanični organizmi pri diobi stvorili stanicu oslobođenu oštećenih komponentata te tako prenijeli svoj genetički materijal u bolje uvjete koji bi jamčili njegovo očuvanje, a time i osiguranje života same vrste (Ackermann i sur. 2007, Watve i sur. 2006). Iz tog razloga, kod stanica vrste *E. coli* oštećene proteine pri diobi nasljeđuje stanica sa starim polom, dok druga stanica kćer ostaje „čista“. Tako nastaju dvije populacije stanica: populacija u kojoj se nalaze stanice obogaćene oštećenjima i ona s malo oštećenja. Stanice s malo oštećenja ostaju reproduktivno kompetentne, dok stanice s više oštećenja postaju genetički mrtve, tj. ne mogu se više kultivirati (Desnues i sur., 2003). U procesu starenja stanica, u njima se nakupljaju oštećeni proteini koji pomoću šaperona tvore agregate (Erjavec i sur. 2007). Pokazalo se da je njihovo asimetrično nasljeđivanje kod bakterija (Lindner i sur. 2008), kvasca (Erjavec i sur. 2007, Aguilaniu i sur. 2003), vinske mušice (Fuentealba i sur. 2008) i čovjeka (Fuentealba i sur. 2008, Rujano i sur. 2006) povezano s procesom starenja. Štoviše, kod ljudi je akumulacija proteina u živčanim stanicama središnjeg živčanog sustava koje se ne mogu dijeliti direktno povezana s nastankom bolesti kao što su Alzheimerova bolest, Parkinsonova bolest, i druge.

Kod višestaničnih organizama, ACD je bitna za embrionalni razvoj i diferencijaciju stanica (Akong i sur., 2002, Rusan i Peifer, 2007, Yamashita i sur., 2007). Odrasle matične stanice održavaju populacije visoko diferenciranih, ali kratkoživućih stanica za vrijeme čitavoga života jedinke. Da bi se zadržala ravnoteža između matičnih stanica i diferenciranih populacija, matične stanice se dijele asimetrično. Kod te je diobe bitna raspodjela determinanti, koje odlučuju o sudbini stanica kćeri (Knoblich, 2008, Macara i Mili, 2008). Asimetrično nasljeđivanje proteina i mRNA odvija se na nekoliko, do sada, opisanih načina: usidrenjem determinanti za kompleks pora jezgrine ovojnice (kompartimentalizacija) (Scheprova i sur. 2008), pomoću mikrotubula (Rujano i sur. 2006), te asocijacijom sa centrosomom kojeg će specifično naslijediti jedna stanica kći (Fuentealba i sur. 2008, Lambert i Nagy 2002).

Do boljeg razumijevanja ACD i njezine povezanosti s procesom starenja doći će unapređenjem tehnika molekularne biologije koje omogućuju vizualizaciju krhkih struktura staničnoga citoskeleta i praćenja lokalizacije proteina i molekula RNA.

7. LITERATURA

- Ackermann M, Chao L, Bergstrom CT, Doebeli M, 2007. On the evolutionary origin of aging. *Aging Cell* **6**, 235-244.
- Aguilaniu H, Gustafsson L, Rigoulet M, Nyström T, 2003. Asymmetric inheritance of oxidatively damaged proteins during cytokinesis. *Science* **299**, 1751-1753.
- Akong K, McCartney B.-M., Peifer M, 2002. Drosophila APC2 and APC1 have overlapping role sin the larval brain despite their distinct intracellular localization. *Developmental Biology* **250**, 71-90.
- Bornens M, Piel M, 2002. Centrosome inheritance: Birthright or dispatch the privilege of maturity? *Current Biology* **12**, R71-R73.
- Cairns J, 2006. Cancer and the immortal strand hypothesis. *Genetics* **174**, 1069-1072.
- Desnues B, Cuny Y, Gregory G, Dukan S, Aguilaniu H, Nyström T, 2003. Differential oxidative damage and expression of stress defence regulons in culturable and non-culturable *Escherichia coli* cells. *The EMBO Journal* **4**, 400-404.
- Erjavec N, Larsson L, Grantham J, Nyström T, 2007. Accelerated aging and failure to segregate damaged protein sin Sir2 mutants can be suppressed by overproducing the protein aggregation-remodeling factor Hsp104p. *Genes & Development* **21**, 2410-2421.
- Fabrizio P, Longo VD, 2003. The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae*. *Aging Cell* **2**, 73-81.
- Fuentealba L.-C., Elvers E, Gelssert D, Taelman V, De Robertis E.-M., 2008. Asymmetric mitosis: Unequal segregation of proteins destined for degradation. *Proceedings of the National Acadademy of Science* **15**, 7732-7737.
- Gonsalvez G.-B., Urbinati C.-R., Long R.-M., 2005. RNA localization in yeast: Moving towards a mechanism. *Biology of the Cell* **97**, 75-86.
- Henderson K.-A., Gottschling D, 2008. A mother's sacrifice: what is she keeping for herself? *Current Opinion in Cell Biology* **20**, 723-728.

- Hernebring M, Brolén G, Aguilaniu H, Semb H, Nyström T, 2006. Elimination of damaged proteins during differentiation of embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Science* **103**, 7700-7705.
- Knoblich J.-A., 2008. Mechanisms of asymmetric cell division. *Cell* **132**, 583-597.
- Knoblich J.-A., Jan L.-Y., Jan YN, 1997. The N terminus of *Drosophila* Numb protein direct membrane association and actin-dependent asymmetric localization. *Proceedings of the National Academy of Science* **94**, 13005-13010.
- Lambert J.-D., Nagy L.-M., 2002. Asymmetric inheritance of centrosomally localized mRNAs during embryonic cleavages. *Nature* **420**, 682-686.
- Lindner A.-B., Madden R, Demarez A, Stewart E.-J., Taddel F, 2008. Asymmetric segregation of protein aggregates is associated with cellular aging and rejuvenation. *Proceedings of the National Academy of Science* **105**, 3076-3081.
- Lüders J, Stearns T, 2007. Microtubule-organizing centres: a re-evaluation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **8**, 61-167
- Macara I.-G., Mili S, 2008. Polarity and differential inheritance-universal attributes of life? *Cell* **135**, 801-812.
- Madia F, Gatazzo C, Patrizio P, Longo V.-D., 2007. A simple model system for age-dependent DNA damage and cancer. *Mechanisms of Ageing and Development* **128**, 45-49.
- Nyström T, 2007. A bacterial kind of aging. *Public Library of Science Genetics* **3**, 2335-2337.
- Pereira G, Tanaka T.-U., Nasmyth K, Schiebel E, 2001. Models of spindle pole body inheritance and segregation of the Bfa1p-Bud2p checkpoint protein complex. *The EMBO Journal* **20**, 6359-6370.
- Rusan N.-M., Peifer M, 2007. A novel centrosome cycle in asymmetric cell division. *Journal of Cell Biology* **177**, 13-20.
- Rujano M.-A., Bosveld F, Salomons F.-A., Dijk F, van Waarde M.-A., van der Want J.-J., de Vos R.-A., Brunt E.-R., Sibon O.-C., Kampinga H.-H., 2006. Polarised asymmetric

- inheritance of accumulated protein damage in higher eukaryotes. *Public Library of Science Biology* **4**, 2325-2335.
- Shcheprova Z, Baldi S, Frei S.-B., Gonnet G, Barral Y, 2008. A mechanism for asymmetric segregation of age during yeast budding. *Nature* **454**, 728-734.
- Scheres B, Benfey PN, 1999. Asymmetric cell division in plants. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* **50**, 505-537.
- Siller K.-H., Doe CQ, 2009. Spindle orientation during asymmetric cell division. *Nature Cell Biology* **11**, 365-374.
- Sinclair D, Milis K, Guarente L, 1998. Aging in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annual Reviews of Microbiology* **52**, 533-560.
- Sinclair D, Guarente L, 1997. Extrachromosomal rDNA circles-a cause of aging in yeast. *Cell* **91**, 1033-1042.
- Stewart E.-J., Madden R, Paul G, Taddei F, 2005. Aging and death in an organism that reproduces by morphologically symmetric division. *Public Library of Science Biology* **3**, 0295-0300.
- Watve M, Parab S, Jogdand P, Kenl S, 2006. Aging may be a conditional strategic choice and not an inevitable outcome for bacteria. *Proceedings of the National Academy of Science* **103**, 1431-14835.
- Yamashita Y.-M., Mahowald A, Perlin J.-R., Fuller M.-T., 2007. Asymmetric inheritance of mother versus daughter centrosome in stem cell division. *Science* **315**, 518-521.
- <http://www.microbewiki.kenyon.edu/>

8. SAŽETAK

Asimetričnom staničnom diobom nastaju stanice kćeri koje su međusobno različite. Pri takvoj diobi dolazi do diferencijalnog nasljeđivanja centrosoma, molekula DNA, molekula RNA, proteina i proteinskih agregata. Kod viših eukariota asimetrična je dioba osnovni mehanizam diferencijacije stanica. S evolucijskog gledišta asimetričnu staničnu diobu možemo povezati s procesom starenja.

U ovom radu uspoređeni su mehanizmi nasljeđivanja navedenih staničnih komponenti pri asimetričnoj diobi stanica različitih vrsta. Zbog njihove jednostavnosti, povezanost asimetrične diobe i starenja najbolje se može istražiti kod bakterija i kvasca. Centrosomi, kompartmentalizacija i citoplazmatski mikrotubuli su stanične strukture zadužene za nejednaku raspodjelu determinanti u stanice kćeri nastale asimetričnom diobom. U cilju boljeg razumijevanja povezanosti asimetrične stanične diobe i procesa starenja potrebno je unaprijediti postupke vizualizacije mikrotubula te lokalizacije proteina i molekula RNA.

9. SUMMARY

Asymmetric cell division is a process in which different daughter cells arise. During that division there is a differential inheritance of centrosomes, DNA molecules, RNA molecules, proteins and protein aggregates. In higher eukaryotes, asymmetric cell division is a fundamental mechanism of cell differentiation. From the evolutionary point of view, asymmetric cell division can be related with aging process.

In this work, mechanisms of cell components inheritance during asymmetric cell division in different organisms were compared. Because of their simplicity, bacteria and yeast are the best organisms to study the relation between asymmetric cell division and aging process. Centrosomes, compartmentalization and cytoplasmic microtubules are structures responsible for differential distribution of determinants in two daughter cells during asymmetric cell division. In the purpose of better understanding the relation between asymmetric cell division and aging process it is needed to improve the quality of methods required for microtubules visualization and protein and RNA localization.