Review Article

An Overview to the Structure and Function of Nuclear Matrix

M. Shahhoseini, Ph.D.[1, 2*], A. Rabbani Chadegani, Ph.D.[1]

1. Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Tehran, Iran
2. Stem Cells Department, Cell Sciences Research Center, Royan Institute, ACECR, Tehran, Iran

** Corresponding Address: P.O.Box: 19395-4644, Stem Cells Department, Cell Sciences Research Center, Royan Institute, ACECR, Tehran, Iran*
Email: m.shahhoseini@royaninstitute.org

Abstract

Received: 6/May/2008, Accepted: 17/Sep/2008

Although the genome is defined by its primary sequence, its functional properties, are determined by far more complex mechanisms and depend on multiple layers of nuclear organization. The architecture of the nucleus includes two overlapping structures: the chromatin and a framework structure named the nuclear matrix. Ultra-structural studies reveal that the nuclear matrix is a network consisting of branched core filaments masked with a large number of hnRNPs and regulatory proteins. This scaffold has been demonstrated to be an active and dynamic structure, anchoring the nuclear processes such as replication, transcription and splicing making nuclear domains/foci. It is postulated that the nuclear matrix serves as a dynamic support to bring together specific DNA sequences with factors involved in the regulation of genome functions. In this review, we attempt to introduce the structure and function of nuclear matrix as an active intra-nuclear factor, having a critical dynamic role to organize different nuclear functions. Studying *in vivo* variations of this epigenetic parameter has been suggested to all investigators interested in the field of chromatin structure and itsdynamics.

Keywords: Nuclear Matrix, Nuclear Organization, Chromatin, Matrin

Yakhteh Medical Journal, Vol 10, No 4, Winter 2009, Pages: 232-241

مروری بر ساختار و عملکرد ماتریکس هسته

مریم شاه‌حسینی .Ph.D*[۲،۱]، عذرا ربانی چادگانی .Ph.D[۱]

۱. دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی-بیوفیزیک، تهران، ایران
۲. پژوهشکده رویان، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، گروه سلول‌های بنیادی، تهران، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، گروه سلول‌های بنیادی

پست الکترونیک: Email: m.shahhoseini@royaninstitute.org

چکیده

دریافت مقاله: ۸۷/۳/۶، پذیرش مقاله: ۸۷/۶/۲۷

اگرچه ژنوم هر موجود به واسطه توالی اسید نوکلئیکی آن مشخص می‌شود، ولیکن ویژگی عملکردی آن توسط مکانیسم‌های تنظیمی مختلفی کنترل می‌شود که سازماندهی هسته‌ای نام دارد. ساختار هسته از دو بخش کروماتین و ماتریکس هسته تشکیل شده است که در ارتباط تنگاتنگ با هم هستند و کل فضای سه بعدی هسته را فرا گرفته اند. ماتریکس هسته یک ساختار شبکه مانند از فیلامان‌های مرکزی ظریف و منشعب است که توسط ریبونوکلئوپروتئین‌های هسته‌ای و پروتئین‌های تنظیمی مختلف پوشیده شده است. مطالعات، بیانگر این واقعیت است که شبکه ماتریکس هسته یک ساختار فعال و پویاست که عملکردهای مختلف هسته ای مثل همانندسازی، رونویسی، پردازش RNA و غیره برروی آن انجام می شود. بنابراین چنین به نظر می‌رسد که ماتریکس هسته در زمان‌های مختلف حیات سلول به صورت یک بستر پویا عمل می‌کند و باعث کنار هم قرار گرفتن توالی‌های خاصی از DNA در مجاورت عوامل هسته ای تنظیم کننده عملکرد ژنوم می شود. در این مقاله مروری ساختار و عملکرد ماتریکس هسته به عنوان یک عامل درون هسته‌ای فعال که در سازماندهی عملکردهای مختلف هسته‌ای نقش پویا و حیاتی به عهده دارد مطرح شده است و بررسی این پارامتر اپی‌ژنتیکی به صورت *in vivo* در کنار عوامل اپی ژنتیکی دیگر تغییر دهنده ساختار ژنوم به محققان و علاقه‌مندان در این زمینه پیشنهاد می‌شود.

* **کلیدواژگان:** ماتریکس هسته، سازماندهی هسته‌ای، کروماتین، ماترین

فصلنامه پزشکی یاخته، سال دهم، شماره ٤، زمستان ۸۷، صفحات: ۲۴۱-۲۳۲

مقدمه

هسته سلول‌های یوکاریوت حاوی اطلاعات ژنتیکی موجود زنده و مرکز فرماندهی و انجام فرایندهای بسیار مهم و پیچیده سلول است. این اندامک کوچک که تنها چند صد میکرون مکعب حجم دارد، حدود ۲ متر ماده ژنتیکی و نیز تقریبا سه برابر این مقدار محتوای پروتئینی را در داخل خود جای داده، به گونه‌ای که قادر است فرایندهای مهم سلول مانند رشد، تمایز و تکثیر را با دقت وصف ناپذیری هدایت کند. همین امر بیانگر وجود یک آرایش مولکولی بسیار دقیق، منظم و حساب شده در داخل هسته سلول است که از آن به عنوان معماری هسته (Nuclear Architecture) نام برده می‌شود (۱).

سابقا تصور می‌شد، هسته سلول حاوی شیره یا مایعی به نام نوکلئوپلاسم است که محتویات ژنتیکی در داخل آن شناور است و فرایندهای هسته‌ای به طور پراکنده در آن انجام می‌پذیرد. در سال ۱۹۷۴ دو دانشمند به نام‌های رونالد بریزنی و دونالد کافی (۲) طی آزمایش های خود بر روی هسته سلول‌های کبد موش صحرایی به این نتیجه رسیدند که هسته این سلول‌ها پس از انجام تیمارهای مختلف با دترجنت‌هایی مثل Triton X-۱۰۰ و نمک‌های $MgCl_2$ و NaCl، به همراه هضم آنزیمی با DNase-I که باعث از بین رفتن دیواره فسفولیپیدی و نیز قسمت اعظم کروماتین در آنها می شود، همچنان ساختار کلی خود را حفظ می‌کنند. این دو دانشمند برای نخستین بار مفهومی به نام ساختار شبکه‌ای و ماتریکس پروتئینی (Framework Structure and Protein Matrix) را مطرح کردند (۲). از آن زمان به بعد مفهوم ساده شیره هسته‌ای جای خود را به مفهوم سازماندهی هسته‌ای داد و اینکه در داخل هسته یک شبکه در هم‌پیچیده و منسجمی از پروتئین‌ها به نام ماتریکس هسته (Nuclear Matrix) وجود دارد و فرایندهای مختلف هسته بر روی آن سازماندهی می‌شود (۳).

مفهوم ماتریکس هسته

در مورد ماتریکس هسته دو فرضیه متضاد مطرح می‌شود:

الف. کروموزوم‌های اینترفازی به جایگاه‌های ثابت و حفظ شده‌ای از ماتریکس هسته متصل هستند و عوامل درگیر در انجام فرایندهای متابولیکی هسته مثل همانندسازی DNA، الگوبرداری و پردازش RNA، آزادانه در بین این نواحی متصل شده حرکت می‌کنند و جایگاه‌های مربوط به عملکرد خود را یافته و بر روی آن کار می‌کنند. این حالت تحت عنوان مدل ثابت یا استاتیک نامیده می‌شود.

ب. شبکه ماتریکس درون هسته‌ای، خود به طور فعال در انجام فرایندهای هسته‌ای مثل همانندسازی DNA، الگوبرداری و پردازش RNA وارد عمل می‌شود و خود نقش تنظیمی و تعیین‌کننده‌ای دارد. این حالت تحت عنوان مدل فعال یا دینامیک مطرح می‌شود.

اگرچه وجود نواحی تنظیمی در ساختار ژنوم مثل Enhancer, Promoter در تنظیم فرایندهای مهم هسته‌ای چون همانندسازی و الگوبرداری نقشی لازم و ضروری دارد، ولیکن آرایش خطی و ساده آنها درطول ژنوم نمی‌تواند به تنهایی در

شکل‌گیری مکانیسم‌های تنظیمی با چنان ظرفیت بالا و قدرت عمل خیره‌کننده‌ای که در شرایط *in vivo* طی فرایندهای مختلفی چون رشد، تمایز، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و غیره مشاهده می‌شود مؤثر واقع شود. ژنوم باید به گونه‌ای باشد که بتواند در شرایط مختلف، ساختار و آرایش فضایی خود را به سرعت و با دقت تغییر دهد که این قابلیت به واسطه دینامیک بودن ساختار ماتریکس هسته فراهم می‌شود (۴).

ساختار ماتریکس هسته

مطالعه در خصوص ساختار ماتریکس هسته در دو زمینه مختلف است:

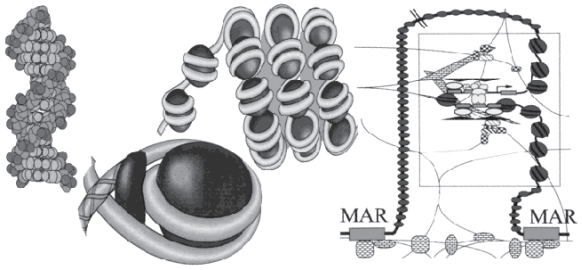
الف. مطالعات میکروسکوپی که همان مشاهده مستقیم زیر میکروسکوپ است. ماتریکس هسته یک ساختار درونی است که توده کروماتین آن را پوشانده است، لذا به منظور مشاهده آن زیر میکروسکوپ روش‌های تیمار مناسب لازم است تا این توده‌های پوشاننده از روی آن برداشته شود. لازم به ذکر است که این روش های تیمار که در ادامه به آنها اشاره خواهد شد می‌تواند به نوبه خود باعث تغییر مورفولوژی ساختار ماتریکس هسته شود، که در واقع همین مساله عمده‌ترین مشکل بررسی میکروسکوپی ساختار ماتریکس هسته محسوب می‌شود (۵).

ب. مطالعات بیوشیمیایی، که به واسطه به کارگیری روش‌های مناسب استخراج ترکیبات داخل هسته امکان‌پذیر است. در این زمینه نیز باز روش‌های استخراج که در حضور نمک‌های مختلف و نیز آنزیم‌های هضمی کروماتین انجام می‌شود باعث بروز واسرشتگی (Denaturation) و نیز تجمع (Aggregation) ترکیبات تشکیل دهنده ماتریکس هسته می‌شود، که این نیز از مشکلات عمده بررسی بیوشیمیایی ساختار ماتریکس هسته است (۵، ۶).

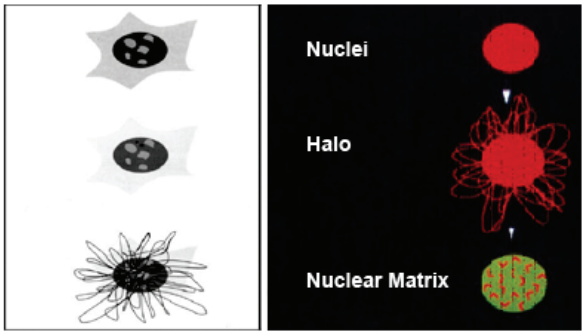
با در نظر گرفتن این پیش فرض، حال به بررسی ساختار ماتریکس هسته می‌پردازیم.

همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، کروماتین در داخل هسته سلول یوکاریوت از سطوح مختلف سازماندهی و نظم فضایی تشکیل شده است (۷). مولکول دو رشته‌ای DNA به واسطه پروتئین‌های هیستونی ساختار نوکلئوزوم را تشکیل می‌دهد که قطری حدود ۱۰ نانومتر دارد. این رشته‌های ۱۰ نانومتری از طریق میان‌کنش هیستون‌ها با هم که اغلب در حضور پروتئین‌های تنظیمی دیگر صورت می‌گیرد رشته‌هایی به قطر ۳۰ نانومتر را به وجود می‌آورند.

در هسته سلول‌های اینترفازی، فیبرهای ۳۰ نانومتری در فواصل حدود ۵-۲۰۰ کیلوباز به جایگاه‌های خاصی از ماتریکس هسته متصل می‌شوند و لوپ‌های DNA را تشکیل می‌دهند (شکل ۲) (۹-۷). ارتباط ژنوم با ماتریکس هسته به واسطه توالی‌های خاصی از مولکول DNA انجام می‌شود که اصطلاحا Matrix Attachment Region (MAR) نامیده می‌شوند (۱۰، ۱۱). این توالی‌ها به طور متوسط حدود ۵۰۰ کیلوباز طول دارند و بر روی هر کروموزوم انسانی حدود ۵۰۰۰-۲۰۰۰ از آنها یافت می‌شود (۱۱). توالی‌های MAR که عموما نواحی تنظیمی ژن‌ها را تشکیل می‌دهند، شامل بخش‌های غنی از A/T هستند که تحت تاثیر عوامل مختلف به صورت تک رشته در می‌آیند (۱۲). مطالعات آنالیز توالی که بر روی طیف وسیعی از MARهای شناسایی شده از منابع مختلف صورت گرفته است بیانگر این واقعیت است که این توالی‌ها عموما در نواحی دو انتهای واحدهای الگوبرداری، به ویژه در نواحی Enhancer مشاهده می‌شوند. همچنین این توالی‌ها در نواحی شروع همانندسازی و نیز در مکان‌هایی که محل‌های برش آنزیم توپوایزومراز II است به وفور مشاهده می‌شوند. نکته جالب توجه دیگر اینکه این گونه توالی‌های غنی از A/T در نقاطی از ژنوم که جایگاه اتصال پروتئین‌های هومئودمین (Homeodomain) هستند نیز گزارش شده‌اند که بیانگر نقش آنها در فرایند تمایز محسوب می‌شود (۱۰).



شکل ۱: سطوح مختلف سازماندهی فضایی ژنوم در داخل هسته سلول یوکاریوت (۷)



شکل ۲: ارتباط ماتریکس هسته سلول‌های یوکاریوت با نواحی خاصی از توالی ژنوم و تشکیل لوپ‌های DNA (۷)

در خصوص چگونگی اتصال توالی‌های MAR به ماتریکس هسته، مطالعات زیادی انجام شده است. شناخته شده‌ترین مولکول پروتئینی ماتریکس هسته که اتصال آن به توالی‌های MAR به خوبی شناخته شده است پروتئین Special AT-rich Binding (SATB-1) است که عمدتا در سلول‌های تیموسیت بیان می‌شود (۱۳) (شکل ۳). این پروتئین به عنوان یک فعال‌کننده الگوبرداری ژن CD8 در سلول‌های تیموسیت است و مطالعات اخیر نشان داده که موش‌های SATB-1-Knockout به دلیل عدم رشد و نمو سلول‌های T خود بلافاصله پس از تولد دچار مرگ می‌شوند. پروتئین دیگری که اتصال آن به توالی‌های MAR به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفته است پروتئین EAST در دروزوفیلا است که بررسی‌ها نشان داده، بیان زیاد ژن کدکننده این پروتئین باعث افزایش حجم هسته سلول‌های مورد بررسی می‌شود (۱۴).

مشاهده میکروسکوپی ساختار ماتریکس هسته

همان‌طور که قبلا نیز ذکر گردید، ماتریکس هسته یک ساختار درون هسته‌ای است که توسط توده کروماتین پوشانده شده است. بنابراین برای مشاهده آن زیر میکروسکوپ لازم است از روش‌های

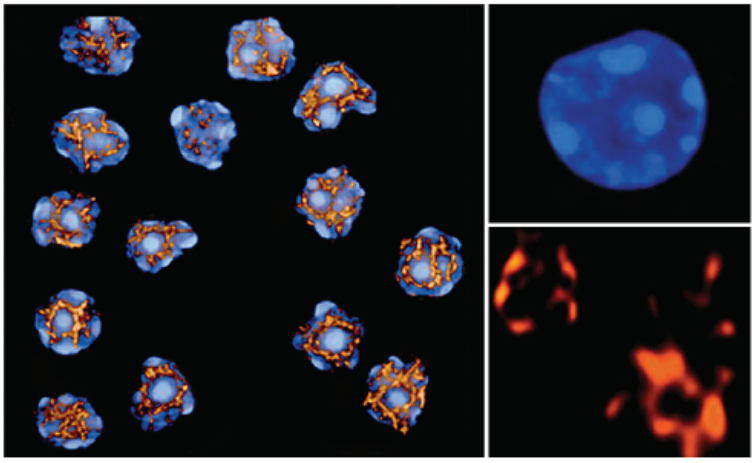
تیمار مناسب برای حذف این توده‌های پوشاننده استفاده شود. در این راستا عموما از دو سطح تیمار مختلف استفاده می‌شود که هر یک به صورت انتخابی بخشی از ساختارهای پوشاننده ماتریکس هسته را حذف می‌کنند. این دو سطح تیمار عبارتند از:

الف. هضم کروماتین توسط آنزیم نوکلئازی DNase-I

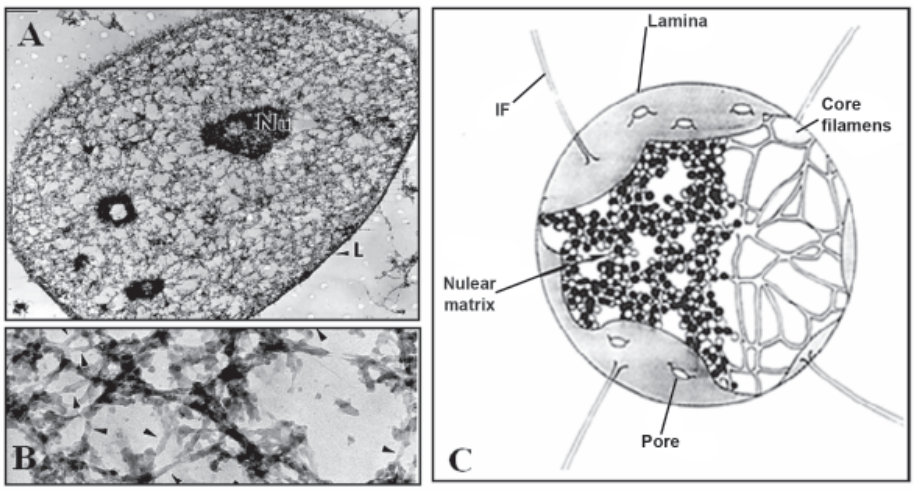
در این مرحله بخشی از کروماتین که ساختار آزادتری دارد در حضور DNase-I دچار هضم آنزیمی می‌شود و در مرحله بعد با کمک محلول‌های نمکی ملایم مثل سولفات آمونیوم ۰/۲۵ مولار این قطعات هضم شده کروماتینی برداشته می‌شوند. در این مرحله ساختار داخلی هسته شامل لامین‌های هسته و ماتریکس داخل هسته خواهد بود که این ماتریکس داخلی به شکل فیبرهای ضخیم و پلی مورف متشکل از پروتئین‌ها و خصوصا ریبونوکلئوپروتئین‌های ناهمگون هسته‌ای (hnRNP) در زیر میکروسکوپ قابل مشاهده است (شکل ۴A). در این سطح از ساختار ماتریکس هسته پروتئین‌ها و hnRNPs بر روی فیلامان‌های مرکزی ظریفی آرایش یافته‌اند که در مرحله دوم تیمار از روی آنها برداشته می‌شود، به طوری که این فیلامان‌های مرکزی را می‌توان به خوبی در زیر میکروسکوپ مشاهده کرد (شکل ۴B).

ب. استخراج محتوای داخلی هسته توسط بافرهای نمکی با غلظت‌های بالا

در این مرحله محتوای داخلی هسته‌های تیمار شده با DNase-I در حضور بافرهای نمکی با غلظت‌های بالا (عموما NaCl دو مولار) استخراج می‌شود. این امر باعث برداشته شدن توده‌های پروتئینی و hnRNP از روی فیبرهای ضخیم و پلی‌مورف می‌شود و بدین ترتیب فیلامان‌های مرکزی که به نام فیبرهای ۱۰ نانومتر نیز نامیده می‌شوند قابل مشاهده خواهند بود (۱۵). همان طور که در شکل ۴B نشان داده شده است این فیلامان‌های ظریف مرکزی تمام سطح هسته را پوشش می‌دهند و در اطراف هسته نیز با لامینای هسته در ارتباطند. این فیلامان‌ها، ساختاری منشعب دارند و اسکلت اصلی ماتریکس هسته را تشکیل می‌دهند.



شکل ۳: تصویربرداری با میکروسکوپ دلتاویو از ساختارهای شبکه‌ای قفس مانند پروتئین SATB1 در سلول‌های رنگ‌آمیزی ایمونوسیتوشیمی شده تیموسیت موش. پروتئین SATB1 به رنگ طلایی و محتوای DNA سلول که با DAPI رنگ‌آمیزی شده به رنگ آبی روشن نمایان است (۱۳)



شکل ۴: A و B) تصاویر میکروسکوپ الکترونی فیبرهای ضخیم و نازک ماتریکس هسته سلول‌های CaSki (۵) C: مدل شماتیک ساختار ماتریکس هسته (۱۵)

پروتئین‌های تشکیل دهنده فیلامان‌های ماتریکس هسته

در خصوص ماهیت بیوشیمیایی فیلامان‌های مرکزی ۱۰ نانومتری تاکنون مطالعات بسیاری انجام شده و ترکیبات مختلفی به عنوان مولکول‌های تشکیل دهنده این ساختارهای مرکزی منشعب معرفی شده‌اند. در مطالعه‌ای که توسط هاربرت و همکارانش صورت گرفته است پروتئین هسته‌ای NuMA را به عنوان یک پروتئین با خاصیت خود تجمعی معرفی کرده‌اند که قادر است ساختار داخلی ماتریکس هسته را تشکیل دهد (۱۶). همچنین پروتئین اکتین توسط عده‌ای از محققان به عنوان مولکول تشکیل دهنده فیلامان‌های ماتریکس هسته پیشنهاد شده است (۱۷). پروتئین دیگری که در این راستا بسیار بر روی آن کار شده است پروتئین لامین است (۱۸) و اعتقاد بر این است که این مولکول‌های پروتئینی کوچک با آرایش خاص پلیمری خود نه تنها لایه لامینای هسته ای را تشکیل می‌دهند، بلکه در داخل هسته نیز شبکه منسجم و منظمی را تشکیل می‌دهند که در واقع اسکلت اصلی ماتریکس هسته را شامل می‌شوند و پروتئین‌ها و ترکیبات دیگر ماتریکس هسته بر روی آنها آرایش می‌یابند. این نظریه امروزه بیشترین طرفدار را دارد و در سال ۲۰۰۵ نیز پروتئین لامین به عنوان بهترین کاندید برای تشکیل رشته های درونی ماتریکس هسته مطرح شده است (۱، ۱۹).

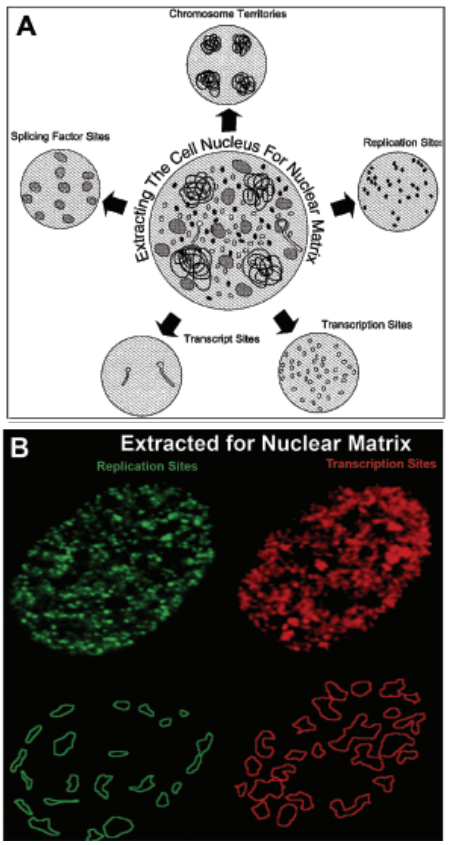
همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد فیبرهای ضخیم و پلی‌مورف ماتریکس هسته از گرفتن ترکیبات پروتئینی مختلف بر روی فیلامان‌های مرکزی ۱۰ نانومتر ایجاد می‌شوند. مطالعات آنالیز الکتروفورز دوبعدی بر روی این ترکیبات پروتئینی که تحت عنوان کلی ماترین (Matrin) نامیده می‌شوند نشان می‌دهد که اینها بیش از ۲۰۰ مولکول بیوشیمیایی مختلفند که در الگوهای حاصله از مطالعات الکتروفورز دوبعدی به صورت لکه‌های پراکنده‌ای در سطح ژل قرار می گیرند (۲۰). بخش عمده این ترکیبات ماهیت ریبونوکلئوپروتئینی دارند که با عنوان کلی hnRNP های ماتریکس هسته نامگذاری می‌شوند. تحقیقات نشان می‌دهد بیشتر پروتئین‌های ماتریکس هسته در سلول‌های مشابه یکسانند. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که بر روی انواع سلول‌های مختلف مربوط به رده انسانی انجام گرفته نشان داده شده است که بیش از ۷۰ درصد این پروتئین‌ها در انواع سلول‌های این رده مشترکند (۲۱). البته لازم به ذکر است بخش کوچکی از آنها در سلول‌های مختلف به صورت ویژه بوده (۲۲) و احتمالا همین پروتئین‌ها هستند که در فرایند تمایز سلولی نقش دارند. همچنین بررسی ها نشان می‌دهد که الگوی پروتئین‌های ماترین در سلول‌هایی که دچار فرایند سرطانی شدن هستند نسبت به سلول‌های طبیعی بسیار متفاوت است (۲۳-۲۵).

اگرچه تا کنون گزارش‌های بسیاری در خصوص معرفی پروتئین های تشکیل دهنده ماتریکس هسته ارائه شده و توالی آمینواسیدی تعدادی از آنها نیز تعیین شده است، ولیکن تنها تعداد بسیار محدودی از ماترین‌ها با استفاده از روش‌های ایمونوفلورسانس قابل شناسایی بوده و نیز بخش بسیار اندکی از آنها به لحاظ میان‌کنش‌های پروتئین-پروتئین در ساختار ماتریکس هسته مشخص شده‌اند که این زمینه‌ها نیازمند تحقیقات بیشتر و دقیق‌تری است.

از مجموع مطالعات ساختاری که بر روی ماتریکس هسته صورت گرفته است می‌توان چنین نتیجه گرفت که این ساختار به صورت شبکه‌ای از رشته‌های باریک ۱۰ نانومتری که به احتمال زیاد از پلیمریزه شدن پروتئین‌های لامین حاصل شده‌اند داخل هسته گسترده شده و پروتئین‌ها و به خصوص hnRNPهای مختلف بر روی این رشته‌های مرکزی قرار گرفته‌اند (شکل 4C).

نقش ماتریکس هسته در فرایندهای مختلف هسته سلول

امروزه بر اساس مطالعاتی که بر روی ساختار هسته و به‌کارگیری روش‌های مختلف میکروسکوپی، تصویربرداری و نشانه‌گذاری صورت گرفته، تصویر جدیدی از ساختار داخلی هسته معرفی شده است که با مفهوم ابتدایی شیره هسته‌ای یا نوکلئوپلاسم بسیار متفاوت است. براساس دیدگاه جدید، کروماتین هرگز ساختار نامنظم و تصادفی ندارد بلکه با توجه به عملکرد خود سطح بالایی از سازماندهی و نظم درون هسته‌ای دارد (۱). بنابراین در این حالت عملکردهای مختلف هسته‌ای نیز به صورت تصادفی در سطح ژنوم پراکنده نیستند بلکه هریک در جایگاه‌های ویژه و کاملا مشخصی صورت می‌گیرند که از آنها تحت عنوان دمین‌ها یا کانون‌های هسته‌ای (Nuclear Domain/Foci) نام برده می‌شود (۴). این دمین‌ها که در شکل ۵ به صورت شماتیک نشان داده شده است، شامل مکان‌های انجام فرایندهای مختلف هسته‌ای شامل همانندسازی، الگوبرداری، پردازش RNA و نیز جایگاه‌های استقرار کروموزوم‌های مرحله اینترفازی هستند. هریک از این دمین‌ها متشکل از عوامل پروتئینی هستند که در انجام فرایند هسته‌ای مربوط به آن دمین دخالت دارند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که موقعیت این دمین‌ها در داخل فضای سه بعدی هسته کاملا حفظ شده‌اند و طی مراحل جداسازی ماتریکس هسته که شامل برداشته شدن پوشش هسته، هضم و استخراج محتوای کروماتینی هسته و همچنین استخراج پروتئین‌های محلول هسته است، این دمین‌ها همچنان شکل و جایگاه خود را در داخل هسته حفظ می کنند (شکل ۵).



شکل ۵: A) شمایی از کانون‌های هسته‌ای مختلف و ارتباط آنها با ماتریکس هسته. B) تصاویر میکروسکوپ فلورسنت از سازماندهی درون هسته‌ای جایگاه‌های همانندسازی و رونویسی و ارتباط آنها با ماتریکس هسته (۴)

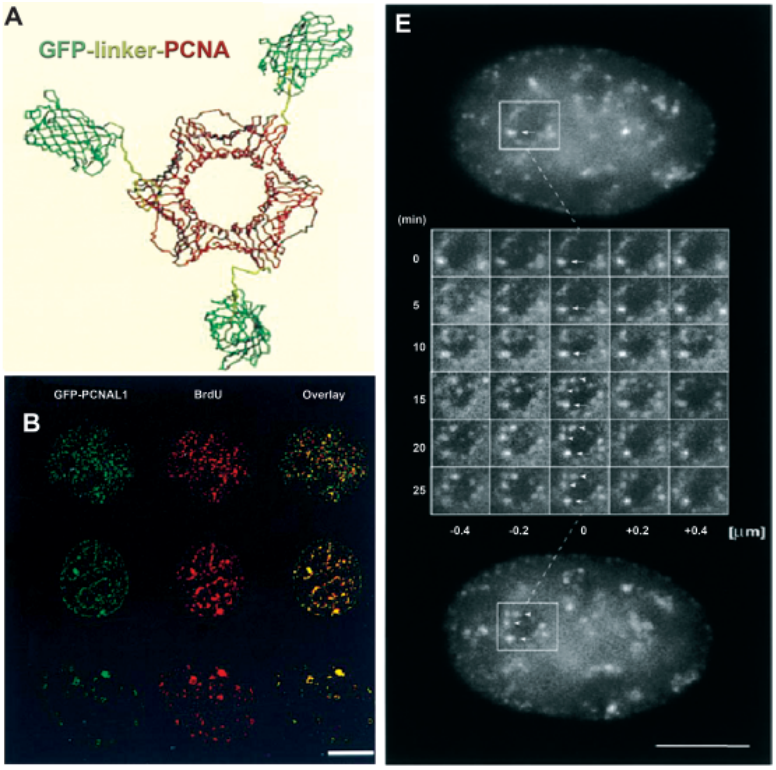
مطالعات بسیاری در مورد کانون‌های هسته‌ای و چگونگی پراکندگی آنها در فضای سه بعدی هسته انجام گرفته است که ارتباط تنگاتنگ آنها را با ماتریکس هسته به اثبات می‌رساند و در ادامه پیرامون هر یک از این دمین‌ها بحث خواهد شد.

ماتریکس هسته و کانون‌های هسته‌ای فرایند همانندسازی مولکول DNA

گروهی از محققان در سال ۲۰۰۰ با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و به منظور مشاهده جایگاه‌های قرارگیری ماشین همانندسازی در داخل هسته سلول زنده در حال همانندسازی، از ابتکار جدیدی استفاده کردند. به این ترتیب که آنها از سلول‌هایی استفاده کردند که ژن Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) در آنها همراه با پروتئین فلورسنت GFP کلون شده بود و بدین ترتیب محل قرارگیری پروتئین PCNA که طی فرایند همانندسازی به عنوان یک پایه برای ماشین همانندسازی در طول مولکول DNA عمل می‌کند را به صورت *in vivo* مطالعه کردند (شکل ۶A) (۲۶). نتایج کار این محققان بیانگر این واقعیت بود که مکان‌های همانندسازی در داخل فضای سه بعدی هسته سلول‌های یوکاریوت، به صورت کانون‌های مجزا از هم و با ابعاد متفاوت پراکنده شده است. این محققان با استفاده از BrdU نشان دادند که این مکان‌ها بر روی جایگاه‌های شروع همانندسازی منطبقند (شکل ۶B). نکته جالب در کار آنها این بود که به منظور بررسی علت تغییر در اندازه کانون های همانندسازی درطول فاز S (چیزی که قبلا گزارش شده و توسط محققان مختلف بر روی آن بحث شده بود)، با استفاده از تکنیک تصویربرداری زمان‌دار (Time-lapse) نشان دادند که این کانون‌ها به صورت *de novo* تشکیل می‌شوند و جایگاه آنها در داخل فضای هسته کاملا ثابت است و تغییر در اندازه آنها مربوط به فرایند تجمع/جداشدن (Assembly/Disassembly) در درون این کانون ها است (شکل ۶C). در این حالت هر کانون از تعداد زیادی رپلیکون یا همان ماشین همانندسازی تشکیل شده است که تعداد آنها در طول فاز S دچار تغییر می‌شود، ولیکن مکان تشکیل آنها که در واقع همان مکان‌های شروع همانندسازی است کاملا ثابت و حفظ شده است. این جایگاه‌ها پس از انجام تیمارهای لازم برای استخراج ماتریکس هسته، همچنان مکان خود را بر روی شبکه سه بعدی ماتریکس هسته حفظ کرده و به عبارت دیگر ماتریکس هسته محل استقرار این کانون‌ها در فضای سه بعدی هسته محسوب می‌شود.

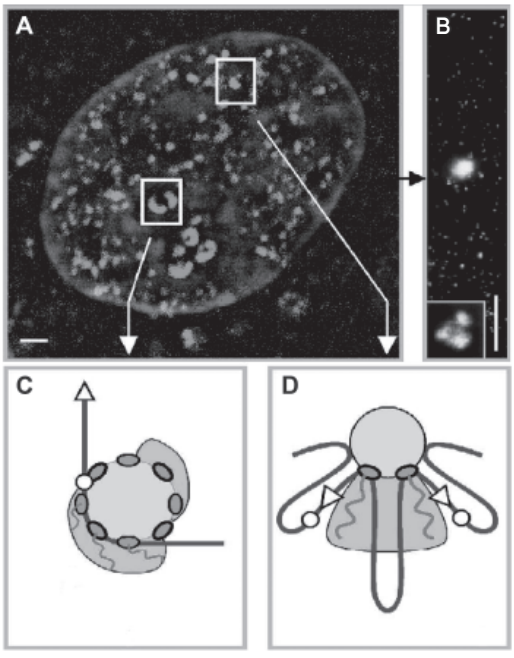
ماتریکس هسته و کانون‌های درگیر در فرایند الگوبرداری

با استفاده از روش‌های مختلف نشاندار کردن، حضور بیش از ۲۰۰۰ کانون الگوبرداری فعال در داخل یک سلول رده پستانداران گزارش شده است (۲۷). مطالعات نشان می‌دهد این کانون‌ها که غنی از آنزیم RNA پلیمراز و عوامل رونویسی و همچنین مولکول RNA در حال الگوبرداری‌اند (شکل ۷)، طی مراحل تیمار هسته‌ای جایگاه خود را داخل فضای سه بعدی درون هسته حفظ می‌کنند (۲۸). ارتباط کانون های الگوبرداری با ماتریکس هسته، در دو سطح ارتباط کمپلکس RNA پلیمرازی (۲۹) و نیز ارتباط فاکتورهای الگوبرداری (۳۰) مورد بحث قرار می‌گیرد.



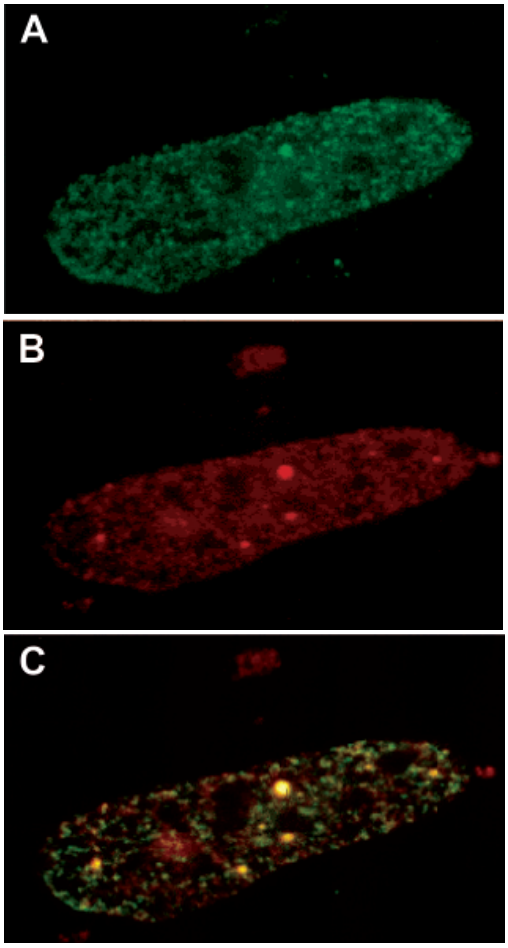
شکل ۶: A) مدل‌سازی مولکولی پروتئین (Proliferating Cell Nuclear Antigen: PCNA) نشان‌دارشده با GFP
B) مکان‌یابی درون هسته‌ای جایگاه‌های همانندسازی در سلول‌های C2C12 ترانسفرم شده با GFP-PCNA
C) پویایی جایگاه‌های همانندسازی در یک سلول زنده که در فواصل زمانی صفر تا ۲۵ دقیقه تصویربرداری شده است (۲۶).

مطالعات زیادی در خصوص ارتباط فاکتورهای رونویسی با ماتریکس هسته انجام شده است که از آن جمله می توان به فاکتورهای c-myc (۳۱، ۳۲)، Large T-antigen (۳۳)، پروتئین EAST (۳۴) و به ویژه خانواده پروتئینی Acute Myelogenous Leukemia (AML) (۳۵، ۳۶) اشاره کرد. نکته جالب توجه در ارتباط با گروه پروتئینی اخیر که فرایند خون‌سازی را در بافت استخوان کنترل می‌کنند این است که در تمامی اعضای این خانواده یک توالی پپتیدی ۳۰ آمینواسیدی به نام Nuclear Matrix Targeting Signal (NMTS) شناسایی شده است که در اتصال این پروتئین‌ها به ماتریکس هسته و متعاقبا عملکرد مناسب و صحیح آنها در فرایند الگوبرداری از ژن‌های مربوطه بسیار حایز اهمیت است (۳۷). بررسی‌های ایمونوفلورسانس نشان می دهد جایگاه قرارگیری فاکتورهای رونویسی خانواده AML برروی ماتریکس هسته کاملا در ارتباط با مکان‌های فعال الگوبرداری است که غنی از کمپلکس RNA پلیمراز هستند (شکل ۸). این امر ارتباط تنگاتنگ ماتریکس هسته در کنترل و تنظیم فرایند بیان ژن را در هسته سلول‌های یوکاریوت نشان می‌دهد.



شکل ۷: (A، B) تصاویر میکروسکوپ فلورسنت از کانون‌های الگوبرداری در سلول HeLa، به همراه شمایی از این کانون‌ها در هستک (C) و فضای نوکلئوپلاسم (D) (۲۸)

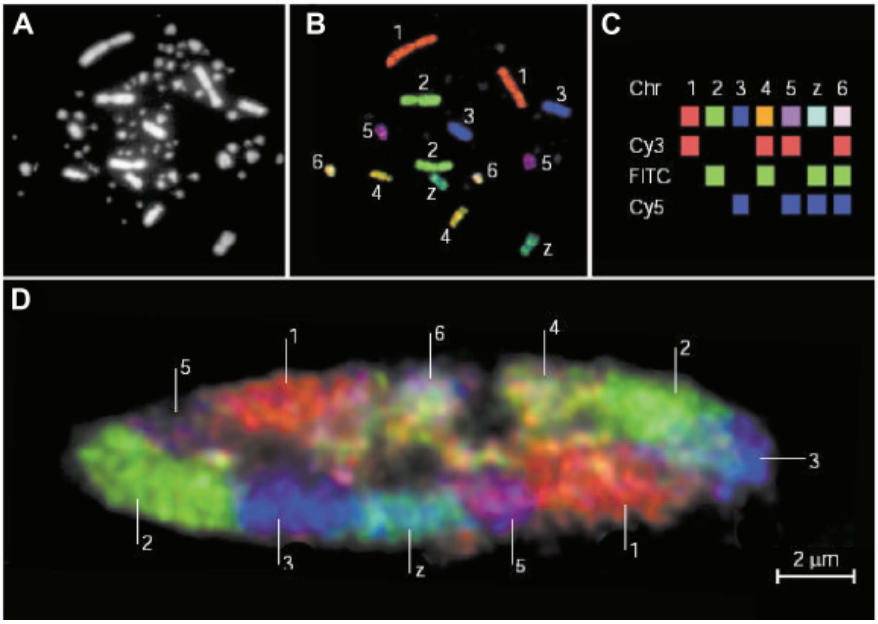
نکته جالب توجه دیگر این است که ارتباط عوامل تاثیرگذار در فرایند الگوبرداری با ماتریکس هسته تنها محدود به فاکتورهای فعال‌کننده رونویسی نمی‌شود. در مطالعه اخیری که روی یکی از پروتئین‌های هسته‌ای خانواده LMG انجام گرفته مشخص شده است این عامل هسته‌ای که در ارتباط با ماتریکس هسته است (۳۸) در فرایند الگوبرداری اثر مهاری از خود نشان می‌دهد (۳۹، ۴۰). اگرچه مکانیسم مهاری این پروتئین هنوز به طور دقیق مشخص نشده است، ولیکن بر اساس مطالعاتی که در خصوص میان‌کنش آن با مولکول دو رشته‌ای DNA انجام شده است (۴۱) امکان اتصال رقابتی این پروتئین ماتریکس هسته با مولکول DNA در حال الگوبرداری مطرح می‌شود، که این نظریه با سنجش میزان الگوبرداری در حضور غلظت‌های مختلف پروتئین در شرایط *in vitro* مورد تایید قرار گرفته است (۴۰).



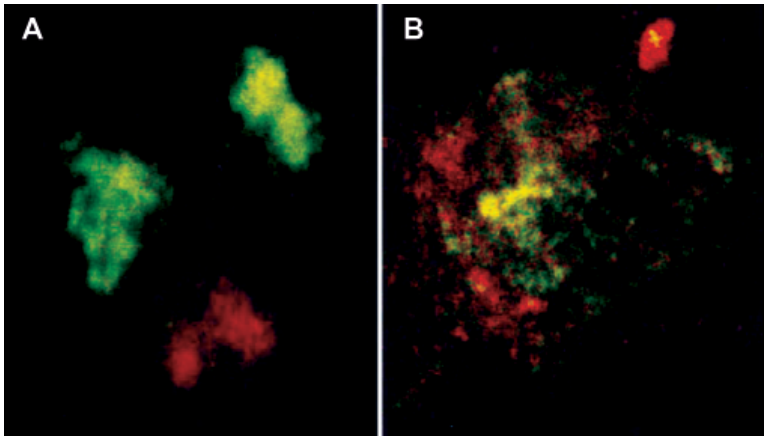
شکل ۸: تصویر میکروسکوپ فلورسنت از جایگاه قرارگیری فاکتور رونویسی AML-1B (A رنگ سبز) و آنزیم RNA پلیمراز II (B رنگ قرمز). نقاط زرد رنگ موجود در تصویر C مکان‌های هم‌پوشانی این دو جایگاه را نشان می‌دهد (۲۷).

ماتریکس هسته و کانون‌های درگیر در فرایند پردازش مولکول RNA

از جمله دمین‌های دیگر هسته‌ای که ارتباط آنها با ماتریکس هسته به خوبی شناسایی شده، نواحی خال‌دار (Speckled Domain) است که در واقع کانون‌های غنی از عوامل دخیل در فرایند پردازش RNA به شمار می‌آیند (۴۲). مطالعات اسپکتروسکوپی جرمی که بر روی این نواحی صورت گرفته، نشان می‌دهد که برخی از پروتئین‌های تشکیل دهنده این ساختارها مانند SRm 160 و SRm 300 پیشتر به عنوان پروتئین‌های ماتریکس هسته شناسایی شده بودند (۴۳، ۴۴). این نتایج نشان می‌دهد که پروتئین‌های ماتریکس هسته به صورت پل‌هایی بین کمپلکس‌های پردازشگر و ساختار ماتریکس هسته عمل می‌کنند و بنابراین می‌توان گفت که این دمین‌های هسته‌ای به واسطه این پروتئین‌ها و پروتئین‌های احتمالی دیگری که هنوز شناسایی نشده‌اند با ماتریکس هسته در ارتباط تنگاتنگ هستند.



شکل ۹: مکان‌یابی فضایی نواحی کروموزومی کروموزوم‌های هومولوگ در هسته سلول فیبروبلاست جوجه. A. گستره کروموزومی رنگ‌آمیزی شده با DAPI از کروموزوم‌های متافازی هسته سلول‌های فیبروبلاست جوجه، B. همان گستره کروموزومی بعد از رنگ‌آمیزی با رنگ‌های فلورسانس، C. پروب‌های رنگی با استفاده از آنتی‌بادی‌های ثانویه نشاندار شده با FITC،Cy3 و Cy5 ، D. تصویر میکروسکوپی نواحی کروموزومی در هسته فیبروبلاست جوجه که موقعیت قرارگیری جدا از هم کروموزوم‌های هومولوگ را در فضای داخل هسته نشان می‌دهد (۴۵).



شکل ۱۰: A. رنگ‌آمیزی کروموزوم‌های ۱ و ۹ سلول‌های WI-38 در حالت دست نخورده و B. پس از تیمار با آنزیم RNase-A و نمک NaCl دو مولار (۴۶)

مطالعات ایمونوفلورسانس میکروسکوپی انجام شده بر روی این دمین‌های خال‌دار نشان می‌دهد که این کانون‌ها جایگاه خود را در داخل هسته کاملا حفظ کرده و پس از انجام تیمارهای مربوط به استخراج ماتریکس هسته و برداشته شدن کروماتین با DNase-I، همچنان در ارتباط با ماتریکس هسته باقی می‌مانند.

ارتباط ماتریکس هسته با کروموزوم‌های اینترفازی

بحث پیرامون سازماندهی هسته‌ای و وجود دمین‌های عملکردی خاص بر روی ماتریکس هسته که فرایندهای مختلف هسته‌ای را به پیش می‌برند، این مفهوم را در ذهن ایجاد می‌کند که احتمالا این سازماندهی و نظم در سطوح بالاتر که همان آرایش کلی ساختار ژنوم است نیز مطرح خواهد بود (۱). واقعیت چنین است که ژنوم یوکاریوتی که از کروموزوم های مختلفی تشکیل شده در داخل فضای سه بعدی هسته آرایش تصادفی و بی‌نظمی نداشته، بلکه هر یک از کروموزوم‌های اینترفازی در داخل هسته در جایگاه‌های خاص خود قرار گرفته‌اند که از این جایگاه‌ها تحت عنوان نواحی کروموزومی (Chromosome Territories) نام برده می‌شود (شکل ۹) (۴۵).

بررسی‌ها نشان می‌دهد جایگاه نواحی کروموزومی در ارتباط تنگاتنگ با ماتریکس هسته‌اند به طوری که کروموزوم‌ها پس از انجام تیمارهای مربوط به استخراج ماتریکس هسته، همچنان مکان‌های ویژه خود را در داخل هسته حفظ می‌کنند. این در حالی است که با انجام تیمارهای ویژه که باعث به هم ریختن ساختار ماتریکس هسته می‌شود (در حضور NaCl دو مولار و RNase-A)، این مکان‌ها نیز به طور کلی از بین رفته و کروموزوم‌های اینترفازی در درون فضای هسته

پراکنده می‌شوند (شکل ۱۰) (۴۶).

لازم به ذکر است بر اساس تحقیقات جدید ساختار تلومر نیز به عنوان یک عامل درون کروموزومی در ارتباط با توپوگرافی کروموزوم‌ها در درون هسته و ارتباط آنها با ماتریکس هسته‌ای مطرح می‌شود (۴۷).

نتیجه‌گیری

از مجموع یافته‌های ارائه شده در این مقاله می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در داخل هسته سلول‌های یوکاریوت سطح بسیار بالایی از سازماندهی و نظم فضایی به چشم می‌خورد که هسته سلول را قادر می‌سازد در مراحل مختلف زندگی سلول، فرایندهای پیچیده هسته‌ای را با نظم فوق‌العاده‌ای پیش ببرد. ماتریکس هسته با ماهیت دینامیک خود و به واسطه ارتباط تنگاتنگی که با دمین‌های مختلف درگیر در فرایندهای هسته‌ای دارد، نقش بسیار مهمی در شکل‌گیری این سازماندهی و نظم حیرت‌انگیز هسته‌ای دارا است.

از آنجایی که در هر فرایند تقسیم سلولی، کل محتوای ژنوم عینا همانندسازی می‌شود و به سلول‌های دختری منتقل می‌شود و همچنین در طول عمر یک سلول نیز همواره بخش‌های خاصی از ژنوم در معرض ماشین الگوبرداری هستند، بنابراین محتوای کروماتین یک سلول می‌بایست به‌گونه‌ای آرایش یافته باشد که پیوسته امکان بازشدن جزئی بخش‌هایی از آن در زمان‌های خاصی از چرخه سلولی و به منظور انجام فرایندهای مختلف هسته‌ای فراهم باشد. این موقعیت ترجیحی ژن‌ها ارتباط تنگاتنگی با عملکرد آنها دارد به‌گونه‌ای که در بین انواع سلول‌ها و بافت‌های مختلف و نیز در طی رشد و نمو یک سلول، الگوی قرارگیری فضایی ژن‌ها در درون هسته و نیز بر روی کروموزوم مربوطه دستخوش تغییر و دگرگونی خواهد شد. این تغییرات که با عنوان کلی «پویایی هسته‌ای» مطرح می‌شود، امروزه به عنوان یک پارامتر اپی‌ژنتیکی مهم در روند تغییرات سلولی مورد توجه و بررسی محققان است و می‌توان از آن به عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی تغییرات سلولی مختلفی چون بنیادینگی، تمایز، سرطانی شدن، آپوپتوز و غیره بهره جست.

References

1. Misteli T. Concepts in nuclear architecture. Bioessays. 2005; 27: 477-87.
2. Berezney R, Coffey DS. Identification of a nuclear Protein matrix. Biochem Biophys Res Commun. 1974; 60: 1410-1417.
3. Pederson T. Thinking about a nuclear matrix. J Mol Biol. 1998; 277: 147-159.
4. Berezey R, Wei X. The new paradigm: Integrating genomic function and nuclear architecture. J Cell Biochem. 1998; 30/31 Suppl: 238-242.
5. Nickerson JA. Experimental observation of a nuclear matrix. J Cell Sci. 2001; 114: 463-474.
6. Pederson T. Half a century of the nclear matrix. Mol Biol Cell. 2000; 11: 799-805.
7. Gerdes MG, Carter KC, Moen PT, Lawrence JB. Dynamic changes in the higher-level chromatin organization of specific sequences revealed by in situ hybridization to nuclear halos. J Cell Biol. 1994; 126: 289-304.
8. Gasser SM, Amati BB. Studies on Scaffold attachment sites and their relation to genome function. Int Rev Cytol. 1989; 119: 57-96.
9. Jackson DA, Dichinson P, Cook PR. The size of chromatin loops in HeLa cells. EMBO J. 1990; 9: 567-571.
10. Boulikas T. Nature of DNA Sequences at the attachment regions of genes to the nuclear matrix. J Cell Biochem. 1993; 52: 14-22.
11. Linnemann AK, Platts AE, Doggett N, Gluch A, Bode J, Krawetz SA. Genomewide identification of nuclear matrix attachment regions: an analysis of methods. Biochem Soc Trans. 2007; 35: 612-617.
12. Bode J, Kohwi Y, Dichinson L. Biological Significance of unwinding capacity of nuclear matrix –associating DNAs. Science. 1992; 255: 195-197.
13. Cai S, Han HJ, Kohwi-Shigematsu T. Tissue-specific nuclear architecture and gene expression regulated by SATB1. Nat Genet. 2003; 34: 42-51.
14. Wasser M, Chia W. The EAST Protein of drosophila controls on expandable nuclear endoskeleton. Nat Cell Biol. 2000; 2: 268-275.
15. He D, Nickerson JA, Penman S. Core filaments of the nuclear matrix. J Cell Biol. 1990; 110: 569-580.
16. Harborth J, Wang J, Guth-Hallonet. Self assembly of NuMa: multiarm oligomers as structural units of a nuclear matrix. EMBO J. 1999; 18: 1689-1700.
17. Rando OJ, Zhao K, Crabtree GR. Searching for a function for nuclear actin. Trends Cell Biol. 2000; 10: 92-97.
18. Goldman RD, Gruenbaum Y, Moir RD. Nuclear lamins: building blocks of nuclear ribonucleoproteins. Mol Bio Cell. 2002; 11: 1547-1554.
19. Tan J, Wooley JC, Lestourgeon WM. Nuclear-matrix like filaments and fibrogranular complexes forms through the rearrangement of specific nuclear ribonucleoproteins. Mol Biol Cell. 2000; 11: 1547-1554.
20. Capco DG, Wan KM, Penman S. The nuclear matrix: three-dimensional architecture and protein composition. Cell. 1982; 29: 847-858.
21. Mattern KA, Van Goetham REM, de Jang L. Major internal nuclear matrix proteins are common to different human cell types. J Cell Biochem. 1997; 65: 42-52.
22. Fey EG, Penman S. Nuclear matrix Proteins reflect cell type of origin in cultured human cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1988; 85: 121-125.
23. Keesce SK, Meneghini MD, Saro RP. Nuclear matrix proteins in human colon cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 1994; 91: 1913-1916.
24. Getzenberg RH, Konety BR, Oeler TA. Bladder Cancer-associated nuclear matrix Proteins. Cancer Res. 1996; 56: 1690-1694.
25. Kallajoki M, Osbom M. Gel electrophoretic analysis of nuclear matrix fraction isolated from different human cell lines. Electrophoresis. 1994; 15: 520-528.
26. Leonhard H, Rahn HP. Dynamics of DNA replication factories in living cells. J Cell Biol. 2000; 144:

271-279.
27. Stein GS, Wijen AJ, Stein JL. Interrelationships of nuclear structure and transcriptional control: functional consequences of being in the right place at the right time. J Cell Biochem. 1998; 70: 200-212.
28. Cook PR. The organization of replication and transcription. Science. 1999; 284: 1790-1795.
29. Stein GS, Wijnen AJ. Interrelationships of transcriptional machinery with nuclear architecture. Crit Rev Euk Exp. 1999; 9: 183-190.
30. Nardozza TA, Quigley MM, Getzenbetg RH. Association of transcription factors with the nuclear matrix. J Cell Biochem. 1996; 61: 467-477.
31. Zeng C, Cai S, Zhou F, Zhang J, Wang P. Anchoring of c-myc on nuclear matrix proteins in process of mouse thymic T lymphocyte proliferation induced by Con A. Sci China C Life Sci. 1996; 39: 511-516.
32. Chou RH, Churchill JR, Mapstone DE, Flubacher MM. Sequence-specific binding of a c-myc nuclear-matrix-associated region shows increased nuclear matrix retention after leukemic cell (HL-60) differentiation. Am J Anat. 1991; 191: 312-320.
33. Deppert W, Von Der Weth A. Functional interaction of nuclear transport-defective simian virus 40 large T antigen with chromatin and nuclear matrix. J Virol. 1990; 64: 838-846.
34. Mel'nikova LS, Krivega IV, Georgiev PG, Golovnin AK. Nuclear matrix protein EAST is involved in regulation of transcription of the yellow gene in Drosophila melanogaster. Dokl Biol Sci. 2007; 415: 313-316.
35. Iarovaia OV, Shkumatov P, Razin SV. Breakpoint cluster regions of the AML-1 and ETO genes contain MAR elements and are preferentially associated with the nuclear matrix in proliferating HEL cells. J Cell Sci. 2004; 117: 4583-4590.
36. Zeng C, McNeil S, Pockwinse S, Nickerson J, Shopland L, Lawrence JB, et al. Intranuclear targeting of AML/CBFalpha regulatory factors to nuclear matrix associated transcriptional domains. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95: 1585-1589.
37. Zeng C, van Wijnen AJ, Stein JL, Meyers S, Sun W, Shopland L, et al. Identification of a nuclear matrix targeting signal in the leukemia and bone related AML/CBF-alpha transcription factors. Proc Natl Acad Sci USA. 1997; 94: 6746.
38. Shahhoseini M, Rabbani-Chadegani A. Evidence for the ribonucleoprotein entity of nonhistone protein LMG160 as a RNP component of the RNP-containing nuclear matrix. FEBS J. 2006; 273 Supl 1: 311.
39. Shahhoseini M, Rabbani-Chadegani A, Abdosamadi S. Identification of nonhistone protein LMG160 as a ribonucleoprotein of the nuclear matrix with a role in transcription in vitro. Biochimie. 2007; 89: 1343-1350.
40. Shahhoseini M, Rabbani-Chadegani A. Transcriptional inhibition by a non-histone protein from low mobility group in homologous and heterologous in vitro systems. Mol Biol Rep. 2008; 35: 189-193.
41. Fallah S, Rabbani-Chadegani A. Interaction of a low mobility group protein LMG160 with deoxyribonucleic acid. Int J Biol Micromol. 2003; 31: 217-221.
42. Wei X, Somanatham S, Samarababdu J. Threedimentional visualization of O-sites and their association with splicing factor-rich nuclear speckles. J Cell Biol. 1999; 146: 573-558.
43. Mintz PJ, Patherson SD, Neuwald AF. Purification and biochemical characterization of interchromatin granule clusters. EMBO J. 1999; 18: 4308-4320.
44. Blencowe BJ, Nicherson JA. Association of nuclear matrix antigens with exon-containing spicing complexes J Cell Biol. 1994; 127: 593-607.
45. Cremer T, Cremer C. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian Cells. Nature Rev Gen. 2001; 2: 293-301.
46. Ma H, Siegel AJ, Berezney R. Association of chromosome territories correlates with the release of a subset of nuclear matrix proteins. J Cell Biol. 1999; 146: 531-541.
47. Heun P, Taddei A, Gasser SM. From snapshots to moving pictures: new perspectives on nuclear organization. Trends Cell Biol. 2001; 11: 519-525.