

LIPOTUBULOIDY – DOMENY CYTOPLAZMY BOGATE W KULE LIPIDOWE OPLECIONE SYSTEMEM MIKROTUBUL, AKTYWNE W SYNTEZIE LIPIDÓW*

LIPOTUBULOIDS – DOMAINS OF CYTOPLASM
RICH IN LIPID BODIES ENTWINED BY MICROTUBULE SYSTEM,
ACTIVE IN LIPID SYNTHESIS

Maria KWIATKOWSKA, Katarzyna POPŁOŃSKA, Dariusz STĘPIŃSKI,
Agnieszka WOJTCZAK

Katedra Cytofizjologii Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie: Lipotubuloidy były dotychczas opisywane jedynie u śniedka (*Ornithogalum umbellatum*), ostatnio ich obecność stwierdzono również u hemantusa (*Haemanthus albiflos*). Są to domeny cytoplazmy, w których zgromadzona jest wielka liczba kul lipidowych oplecionych systemem mikrotubul. Mikrotubule te łączą ze sobą pojedyncze kule lipidowe, wskutek czego lipotubuloid porusza się w komórce jako jedno ciało. Jest ono otoczone na znacznej powierzchni tonoplastem, gdyż wpukla się w wakuolę komórki. Oprócz kul lipidowych i mikrotubul w obszarze lipotubuloidów występują rybosomy, retikulum endoplazmatyczne, a także pojedyncze mitochondria, struktury Golgiego i mikrociała (peroksosomy lub glioksysomy), a w końcowych stadiach ich rozwoju również wakuole autolityczne zawierające kwaśną fosfatazę i lipazę. Lipotubuloidy przemieszczają się w komórce ruchem postępowo-rotacyjnym. Obroty odbywające się w różnych kierunkach są generowane przez autonomiczne siły motoryczne. Prędkość obrotowa lipotubuloidów jest bowiem wielokrotnie większa niż dynamika ruchu cytoplazmy, a zablokowanie cyklozy 2,4-dwunitrofenolem nie powoduje równoczesnego zablokowania ruchów obrotowych lipotubuloidów, które są kontynuowane przez pewien czas i stopniowo wygaszane. Lipotubuloidy są miejscem aktywnego włączania ³H-kwasu palmitynowego do lipidów. Rozpraszanie się ziaren srebra, po przeniesieniu materiału do środowiska nieradioaktywnego po uprzedniej inkubacji w radioaktywnym kwasie palmitynowym, świadczy o wykorzystywaniu i metabolizowaniu lipidów przez komórki, gdyż ziarna te nie zanikają całkowicie po ekstrakcji lipidów rozpuszczalnikami tłuszczów. Autoradiografia na poziomie mikroskopu elektronowego dowodzi, że miejscem aktywnym w syntezie lipidów jest powierzchnia kul lipidowych, do której przylegają mikrotubule, współuczestniczące prawdopodobnie w tej syntezie.

Słowa kluczowe: lipotubuloid, kule lipidowe, mikrotubule, synteza lipidów, obrotowy ruch autonomiczny.

*Praca powstała podczas realizacji zadań badawczych w ramach Sieci Mechanizmy Ruchów Komórkowych MOBILITAS.pl oraz grantu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr NN 303 359035.

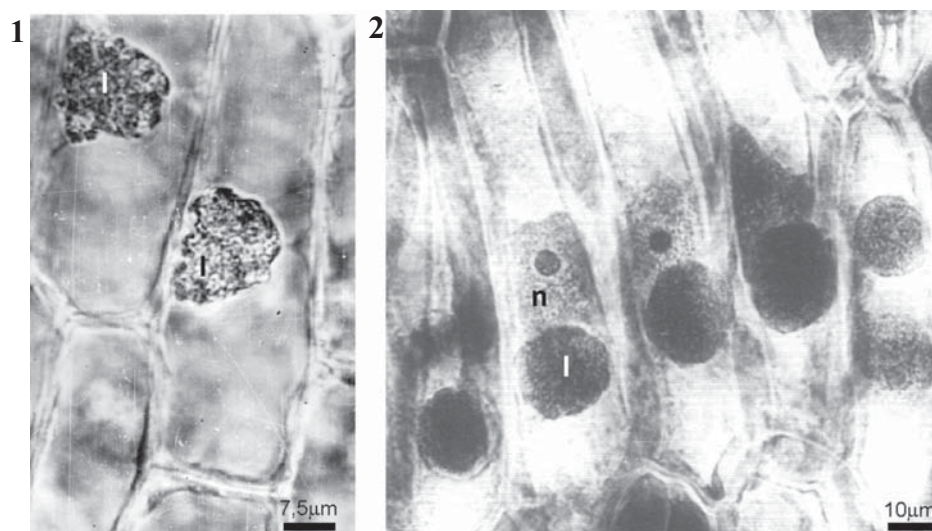
Summary: Lipotubuloids were first described in *Ornithogalum umbellatum* and now they have been found in *Helianthus albiflos*. They are cytoplasmic domains containing a great number of lipid bodies surrounded by a network of microtubules, which join one lipid body with the others. This makes a lipotubuloid move as an integrated body. It is largely surrounded by a tonoplast since it invaginates into a cell vacuole. Lipotubuloids also contain ribosomes, endoplasmic reticulum and some mitochondria, Golgi structures and microbodies (glyoxisomes or peroxisomes) as well as autolytic vacuoles containing acid phosphatase and lipase, which appear at the final stages of lipotubuloid development. Lipotubuloids move in different directions with a progressive-rotary movement which is generated by autonomic drive. The peripheral speed of the rotating lipotubuloids is several times greater than that of the cytoplasmic motion. Moreover, 2,4-dinitrophenol-induced cyclose blockade does not stop the rotation of lipotubuloids which is continued and gradually terminated. Lipotubuloids are the site of active incorporations of ^3H -palmitin acid into lipids. Dispersion of autoradiographic grains resulting from non-radioactive postincubation shows that lipids are used and metabolized by a cell since these grains do not disappear after extraction with use of lipid solvent. EM autoradiography silver grains localised at the surface of lipid bodies proves that it is the active site in lipid synthesis. Microtubules adjacent to lipid bodies probably take part in this synthesis.

Key words: lipotubuloid, lipid bodies, microtubules, lipid synthesis, autonomic rotary movement.

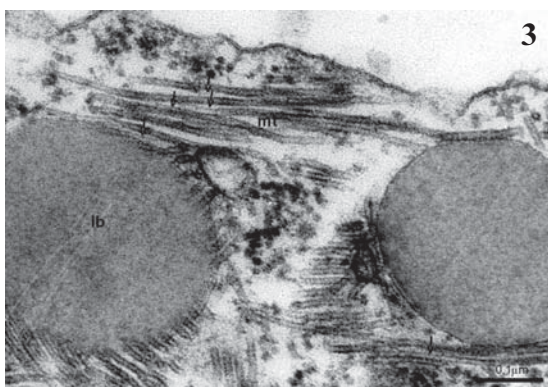
Wykaz stosowanych skrótów: **DAG** – diacylglicerol, **DGAT** – diacylgliceroacyltransferaza, **DNP** – dinitrofenol, **ER** – siateczka śródplazmatyczna, **TAG** – triacylglicerol.

WPROWADZENIE

Co to są lipotubuloidy? Termin ten został wprowadzony w 1971 r. (cyt. za [20]) dla struktur o charakterze tłuszczowym, dorównujących wielkością jądra komórkowemu (ryc. 1, 2), opisanych u śnieodka (*Ornithogalum umbellatum*) w epidermie

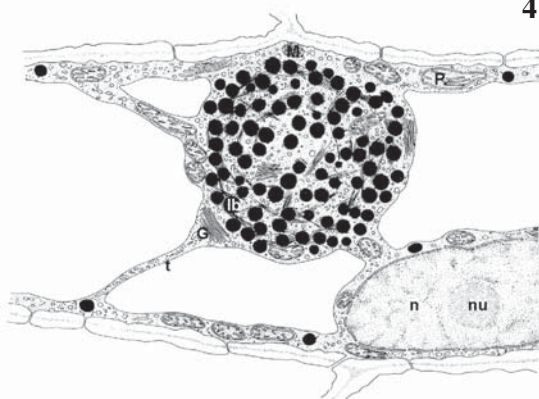


RYCINA 1-2. 1 – Lipotubuloidy *O. umbellatum* w żywych komórkach epidermy zalążni: l – lipotubuloid; 2 – Epiderma zalążni po utrwaleniu OsO_4 : l – lipotubuloid, n – jądro z jąderkiem (wg [8], za zgodą redakcji)
 FIGURE 1-2. 1 – Lipotubuloids of *O. umbellatum* in living ovary epidermis cell: l – lipotubuloid; 2 – Ovary epidermis after OsO_4 fixation: l – lipotubuloid, n – nucleus with nucleolus (according to [8], with permission of redaction)



3

RYCINA 3-4. 3 – Kule lipidowe lipotubuloиду oplecione mikrotubulami. Na powierzchni kuli widać jednowarstwę fosfolipidową (*half unit-membrane*): lb – lipidowe kule, mt – mikrotubule; małe strzałki oznaczają mikrofilamenty aktynowe (wg [8], za zgodą redakcji); 4 – Schematyczny obraz fragmentu epidermy *O. umbellatum* z lipotubuloidem: lb – lipidowe kule, G – diktiosom, M – mitochondrium, P – plastyd, t – tonoplast, n – jądro, nu – jąderko (wg [20a], za zgodą redakcji)



4

FIGURE 3-4. 3 – Lipid bodies of lipotubuloid entwined with microtubules. Half unit-membrane is visible at the surface of lipid body: lb – lipid bodies, mt – microtubules; actin microfilaments are indicated by small arrows (according to [8], with permission of redaction); 4 – Schematic view of *O. umbellatum epidermis* fragment with lipotubuloid: lb – lipid bodies, G – dictiosome, M – mitochondrium, P – plastid, t – tonoplast, n – nucleus, nu – nucleolus (according to [20a], with permission of redaction)

załążni i przykwiatków. Na podstawie badań w mikroskopie elektronowym struktury te okazały się być domenami cytoplazmy zawierającymi wielką liczbę kul lipidowych, oplecionych systemem mikrotubul (ryc. 3, 4). Nazwę tę zaproponowano dla podkreślenia, iż nie są to plastydy, jak mylnie sugerował termin „elajoplasty” stosowany wcześniej w ich opisach. Zmiana nazwy stała się konieczna tym bardziej, że elajoplastami, zgodnie ze znaczeniem tego słowa, nazywane są obecnie przez wielu autorów plastydy, które produkują tłuszcze. Oprócz tych dwóch elementów, tj. kul lipidowych i mikrotubul, w lipotubuloïdach występują rybosomy, cysterny i pęcherzyki ER oraz sporadycznie mitochondria, struktury Golgiego (ryc. 4), mikrociała (otoczone pojedynczą dwuwarstwą fosfolipidową ziarniste ciała, które są glioksysomami lub peroksysomami), a w pewnych stadiach rozwojowych epidermy również wakuole autolityczne [20,21,22,23], zawierające lipazę i kwaśną fosfatazę. Błona otaczająca kule lipidowe, w odróżnieniu od błony mikrociał i pęcherzyków oraz cystern ER, stanowi jednowarstwę fosfolipidową nazywaną również połówką błony elementarnej (ang. *half unit membrane*; ryc. 3) (cyt. za [20]). Obecność tej błony została stwierdzona dopiero po zastosowaniu utrwalania świeżo przygotowaną mieszaniną kwasu osmowego i aldehydu glutarowego. Dzięki temu osmofilne granule tworzące lipotubuloïd mogły być zidentyfikowane jako kule lipidowe (ang. *lipid droplets* lub *lipid bodies*). Wnętrze kul lipidowych zawiera tłuszcze obojętne barwiące się błękitem nilu na czerwono oraz wolne kwasy tłuszczowe zidentyfikowane metodą histochemiczną Fischlera (cyt. za [20]).

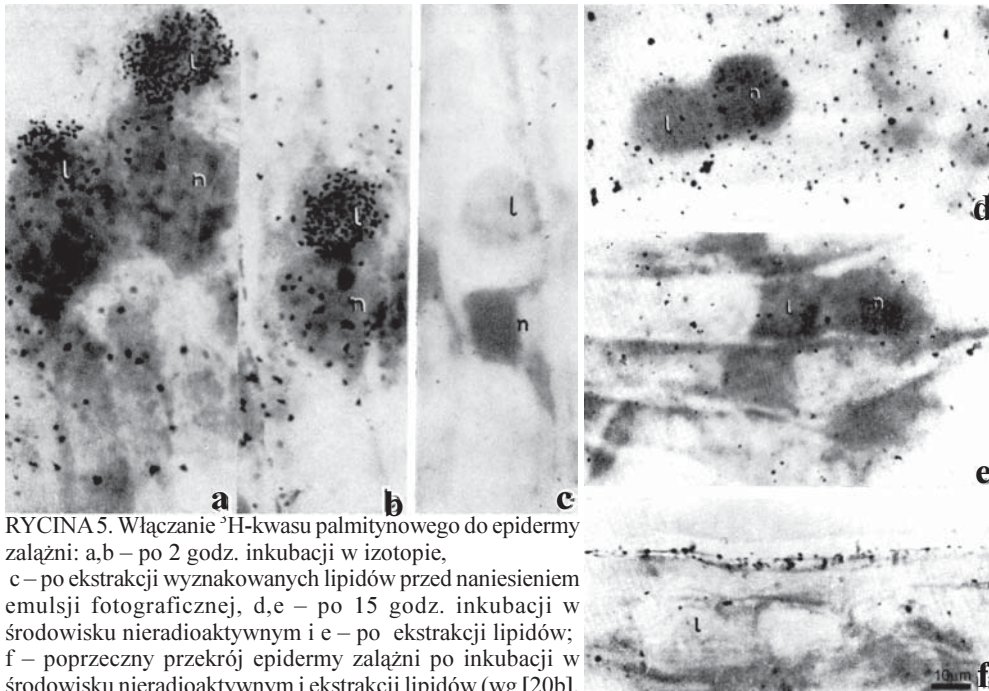
Lipotubuloidy powstają w młodych komórkach w wyniku skupiania się pojedynczych kul lipidowych, a po osiągnięciu maksymalnych rozmiarów przez komórkę ulegają rozpadowi na pojedyncze kule lipidowe [22].

RUCH LIPOTUBULOIDÓW W KOMÓRCIE

Lipotubuloidy nie mają własnej błony; wpuklając się w głąb wakuoli otaczane są na znacznej powierzchni tonoplastem (ryc. 4). Mimo to poruszają się one w komórce jako jedno ciało dzięki temu, że mikrotubule otaczające kule lipidowe łączą je ze sobą (ryc. 3). W okresie poprzedzającym rozpad lipotubuloиду na pojedyncze kule, mikrotubule ulegają zanikowi [22]. Lipotubuloidy przemieszczają się w komórce skomplikowanym ruchem postępowo-obrotowym o zmiennej prędkości, kierunku oraz osi obrotów. Badania z zastosowaniem techniki filmowania wykazały, że ruch postępowy lipotubuloidów zależy od ruchu cytoplazmy, natomiast ich ruchy obrotowe są autonomiczne, generowane przez siły motoryczne zlokalizowane wewnątrz tych struktur. Wykazano bowiem, że prędkość obrotowa lipotubuloidów jest często ok. 6 razy większa niż prędkość ruchu cytoplazmy. Ponadto w komórkach, w których ruch cytoplazmy został zablokowany działaniem 2,4-dwunitrofenolu (DNF), obserwuje się nadal ruch obrotowy lipotubuloidów, lecz z coraz mniejszą prędkością [21]. Istnieją przesłanki sugerujące, że ruch lipotubuloidów generowany jest przy udziale mikrotubul i mikrofilamentów. Te ostatnie ujawnione zostały w lipotubuloidach na podstawie badań ultrastrukturalnych (ryc. 3) [21] i reakcji immunocytochemicznej z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko aktynie (dane niepublikowane tych samych autorów). Zaobserwowano zmiany w średnicy mikrotubul zależne od dynamiki ruchu lipotubuloidów. W przypadku intensywnego ruchu lipotubuloidów wśród mikrotubul utworzonych z takiej samej liczby protofilamentów wyodrębniają się dwie populacje: mikrotubule szersze (43–48 nm) i węższe (24–39 nm). Po zablokowaniu ruchu obecna jest tylko jedna populacja mikrotubul o średnich rozmiarach (34–48 nm). Wydaje się prawdopodobne, że różne rozmiary mikrotubul to skutek ich interakcji z filamentami aktynowymi [21]. Z kolei na podstawie badań szeregu autorów wiadomo, że zmiany średnicy mikrotubul są rezultatem modyfikacji odległości pomiędzy protofilamentami tworzącymi ich ściankę [6,25,27]. Stwierdziliśmy, że istotnie w mikrotubulach lipotubuloidów o większej średnicy odległości między protofilamentami są większe niż w mikrotubulach węższych. Mniejsze są także same podjednostki tubuliny [Kwiatkowska i wsp., dane niepublikowane].

SYNTEZA LIPIDÓW W LIPOTUBULOIDACH

Osobny problem dotyczący lipotubuloidów wynika z faktu, iż zachodzi w nich synteza lipidów. Zjawisko to stwierdzono na podstawie badań autoradiograficznych z zastosowaniem znakowanego trytem kwasu palmitynowego na poziomie mikrosko-



RYCINA 5. Włączanie ^3H -kwasu palmitynowego do epidermy zalążni: a,b – po 2 godz. inkubacji w izotopie, c – po ekstrakcji wyznakowanych lipidów przed naniesieniem emulsji fotograficznej, d,e – po 15 godz. inkubacji w środowisku nieradioaktywnym i e – po ekstrakcji lipidów; f – poprzeczny przekrój epidermy zalążni po inkubacji w środowisku nieradioaktywnym i ekstrakcji lipidów (wg [20b], za zgodą redakcji)

FIGURE 5. ^3H -palmitic acid incorporation into ovary epidermis: a, b – after 2h incubation in isotope, c – after extraction of labeled lipid and prior to covering with light sensitive emulsion, d,e – after 15h incubation in non-radioactive medium and e – after lipid extraction, f – cross section of ovary epidermis after incubation in non-radioactive medium and lipid extraction (according to [20b], with permission of redaction)

pu świetlnego i elektronowego. Po 2 godz. inkubacji w obecności izotopu obserwuje się intensywnie wyznakowane lipotubuloidy (ryc. 5a, b). Po usunięciu lipidów w wyniku ekstrakcji rozpuszczalnikami tłuszczów lipotubuloidy są wolne od ziaren srebra (ryc. 5c). Gdy po 2-godzinnej inkubacji w obecności izotopu zastosowano 15-godzinną inkubację w środowisku nieradioaktywnym w ciemności, znakowanie ulega całkowitemu rozproszeniu na terenie komórki (ryc. 5d), a po ekstrakcji lipidów nie wszystkie ziarna srebra zanikają (ryc. 5e), co dowodzi, że znakowane lipidy uległy lipolizie, a produkty ich degradacji zostały włączone do różnych szlaków metabolicznych. Wówczas na przekroju poprzecznym epidermy można zaobserwować nagromadzenie ziaren srebra tuż pod kutykulą (ryc. 5f). Jest wobec tego prawdopodobne, że składniki powstające w wyniku przemian biochemicznych lipidów zostały wbudowane głównie do elementów ściany komórkowej (kutykuli lub warstwy subkutykularnej) (cyt. za [20]).

Obserwacje dynamiki wzrostu komórek epidermalnych zalążni wykazały, że nie dzielą się one, a jedynie znacznie powiększają rozmiary podczas rozwoju tego organu. Jednocześnie powiększają się lipotubuloidy znajdujące się wewnątrz komórek epidermy oraz następuje zwiększenie w drodze endoreduplikacji zawartości DNA w jądrze tych komórek. Zaobserwowano, że maksymalna wielkość lipotubuloidów poprzedza najintensywniejszy okres powiększania się komórek. Jednocześnie wzrost rozmiarów

lipotubuloidów jest bardziej dynamiczny w komórkach rosnących bardziej intensywnie (górną część załąźni) niż w komórkach wolniej rosnących (dolną część załąźni). Dane te wskazują na udział lipotubuloidów w regulacji wzrostu komórki. Badania dotyczące zawartości giberelin w obydwu częściach załąźni wskazują, że drugim czynnikiem wpływającym na wzrost komórek epidermy jest kwas giberelinowy [22].

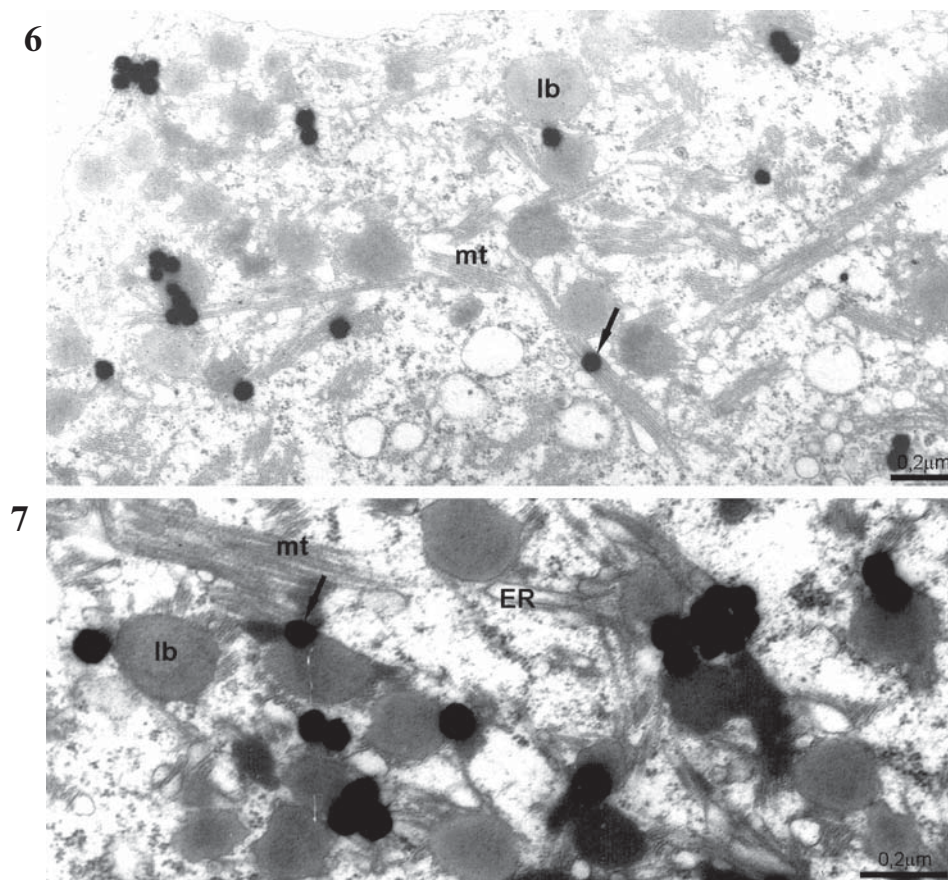
Jest oczywiste, że dynamiczne ruchy postępowo-obrotowe lipotubuloidów ułatwiają znakomicie zarówno wnikanie do ich wnętrza prekursorów lipidów i kompleksów enzymatycznych nieodzownych do ich syntezy, jak również rozprzestrzenianie się w komórce produktów rozpadu lipidów zawartych w lipotubuloidach.

PRZYPUSZCZALNA ROLA MIKROTUBUL W SYNTEZIE LIPIDÓW

Autoradiograficzne badania na poziomie mikroskopu elektronowego z zastosowaniem ^3H -kwasu palmitynowego zdają się świadczyć, że istnieje funkcjonalny związek między mikrotubulami i kulą lipidową w syntezie lipidów. Po 40 min inkubacji w obecności izotopu ziarna srebra występują głównie nad pasmami mikrotubul (ryc. 6) pomiędzy kulami lipidowymi, zaś po 2 godz. inkubacji ziarna te zlokalizowane są już w miejscach zetknięcia mikrotubul z powierzchnią kul lipidowych (ryc. 7). Na tej podstawie wysunięto przypuszczenie, że powierzchnia kuli lipidowej jest miejscem aktywnej syntezy lipidów. Obecność mikrotubul w miejscach występowania ziaren srebra sugeruje natomiast możliwość współdziałania tych organelli w procesie syntezy lipidów [20].

W literaturze światowej, we wcześniejszych badaniach cytologicznych, fizjologicznych i biochemicznych, kule lipidowe były traktowane jako struktury bierne, stanowiące jedynie rezerwar związków wysokoenergetycznych. W ostatnim 10-leciu ukazało się natomiast szereg publikacji, w których wykazano, że są to struktury dynamiczne, odgrywające ważną rolę w homeostazie lipidów, przekazywaniu wewnątrzkomórkowych sygnałów, okresowym gromadzeniu białek i ich degradacji, a zaburzenia w ich funkcjonowaniu są skorelowane z szeregiem problemów zdrowotnych u zwierząt i ludzi [16,19,28].

Istnieje powszechnie przyjęty pogląd, że synteza triacylogliceroli wypełniających wnętrze kul lipidowych odbywa się przez ich akumulację wewnątrz dwuwarstwy błon ER [24]. Nagromadzone lipidy powodują wybrzuszenie jednowarstwy fosfolipidowej razem z zakotwiczonymi w niej białkami. U roślin są nimi oleozyny i kaweoliny [5], natomiast u zwierząt białka z rodziny perylipin [2,33]. Przyjmuje się, że u drożdży kule lipidowe tworzą się w ER przez pączkowanie przy udziale specyficznych enzymów, a po oddzieleniu się pączka w postaci kuli tłuszczowej, na jej powierzchni znajdują się cząsteczki diacylogliceroloacyltransferazy (DGAT), które uczestniczą w końcowej transformacji diacylogliceroli (DAG) do triacylogliceroli (TAG), umożliwiając dalsze powiększanie się kuli lipidowej [7]. Podobna konkluzja wynika z ostatnich badań z zastosowaniem techniki znakowania złotem koloidalnym



RYCINA 6-7. 6 – Autoradiografia ultrastrukturalna lipotubuloidów *O. umbellatum*. Autoradiograficzne ziarna (ozn. strzałkami) nad mikrotubulami oraz 7 – na granicy mikrotubule/kule lipidowe: lb – kule lipidowe, mt – mikrotubule, ER – siateczka śródplazmatyczna (wg [14], za zgodą redakcji)

FIGURE 6-7. 6 – Ultrastructural autoradiography of *O. umbellatum* lipotubuloids. Autoradiographic grains (arrows) above microtubules and 7 – at the microtubule/lipid bodies border: lb – lipid bodies, mt – microtubules, ER – endoplasmic reticulum (according to [14], with permission of redaction)

na poziomie ultrastrukturalnym, która ujawniła obecność cząsteczek jednej z izoform DGAT (DGAT2) na powierzchni lipidowych kul fibroblastów COS7 [19]. Te ostatnie wyniki [7,19] są zgodne z przedstawionym powyżej przypuszczeniem wynikającym z wcześniej opublikowanych naszych badań autoradiograficznych przeprowadzonych techniką mikroskopii elektronowej wskazujących, że powierzchnia kul lipidowych lipotubuloidów śniedka jest miejscem aktywnym w syntezie lipidów [20].

Czy w świetle danych literaturowych jest prawdopodobne, że synteza lipidów odbywa się przy udziale mikrotubul, jak sugerują badania lipotubuloidów śniedka? Sądzimy, że taka możliwość istnieje, gdyż np. fosfolipaza D kosedymentuje z mikrotubulami [10,14], a z kolei fosfolipaza PLD1 reguluje tworzenie się lipidów cytoplazmatycznych [1]. Z drugiej strony istnieje hipoteza, w myśl której mikrotubule,

za pośrednictwem związanej z nimi dyneiny, uczestniczą w fuzji małych kul lipidowych w duże kule, gdyż destrukcja mikrotubul nokodazolem blokuje ten proces [4]. Inni autorzy wykazali natomiast, że kolchicyna i taksol oddziałując z mikrotubulami, blokują biogenezę kul lipidowych w monocytach myszy wywołaną odpowiedzią na infekcję [26]. Można mieć nadzieję, że dalsze precyzyjne badania z zastosowaniem metody koloidalnego złota i substancji powodujących rozpad mikrotubul pozwolą wyjaśnić ten problem.

„ELAJOPLASTY” A LIPOTUBULOIDY ORAZ POJEDYNCZE KULE LIPIDOWE ZWIĄZANE Z MIKROTUBULAMI

Dotychczas znane były jedynie lipotubuloidy śniedka. Mimo to, iż opisano je po raz pierwszy 38 lat temu, nie ukazała się, jak dotąd, żadna publikacja o ich występowaniu u innych roślin, z wyjątkiem pracy dotyczącej merystemu korzeni malw (*Althea rosea* i *Malva neglecta*), w której opisane zostały skupienia osmofilnych granул podobne do lipotubuloidów śniedka, ze szczątkowymi, zniszczonymi mikrotubulami (cyt. za [20]).

Ostatnio natomiast okazało się, że „elajoplasty” znalezione wcześniej u hemantusa (*Haemanthus albflos*) (cyt. za [23]) mogą być uznane za lipotubuloidy [23]. Są to, tak jak lipotubuloidy śniedka, domeny cytoplazmy z licznymi kulami lipidowymi otoczonymi mikrotubulami, zawierające rybosomy, ER w postaci pęcherzyków i cystem, wśród których sporadycznie występują mitochondria, diktiosomy i mikrociała oraz wakuole autolityczne. Należy jednak podkreślić, że mikrotubule hemantusa są bardzo labilne i trudne do ujawnienia w mikroskopie elektronowym. Są one niewidoczne po konwencjonalnym utrwaleniu aldehydem glutarowym i czterotlenkiem osmu. Można je było zidentyfikować dopiero po wstępnym potraktowaniu materiału taksolem, tj. czynnikiem stabilizującym mikrotubule. Ostatnie nasze badania z zastosowaniem techniki immunozłota i przeciwciał skierowanych przeciw tubulinie α wykazały, że lipotubuloidy hemantusa są równie silnie wyznakowane ziarnami złota, jak lipotubuloidy śniedka.

Przyпускаjemy, że wysoka labilność mikrotubul i ich niewielkie rozmiary są przyczyną braku doniesień o występowaniu lipotubuloidów u innych roślin. Wtórne modyfikacje biochemiczne tubuliny – PTM (ang. *Post-translational Tubulin Modifications*), takie jak: acetylacja, tyronizacja, detyronizacja, modyfikacja Delta 2, poliglutamylacja, poliglicylacja, fosforylacja i palmitoylacja [13,17,31,32], mogą stanowić bowiem źródło niejednakowej stabilności mikrotubul różnych organizmów. Wyjątkowa trwałość mikrotubul śniedka może być np. związana z tym, że mikrotubule te są pokryte warstwą polisacharydów (cyt. za [20], podobnie jak również stabilne mikrotubule obecne w neuronach (cyt. za [20])). Innym powodem większej stabilności mikrotubul śniedka może być również fakt, iż rozwój jego kwiatostanów rozpoczyna się bardzo wczesną wiosną, kiedy temperatura wynosi około 0°C. Wiadomo zaś, że traktowanie chłodem może powodować powstawanie bardziej stabilnych

mikrotubul w wyniku adaptacji organizmów do niskiej temperatury [8,30]. Istnieją także specyficzne białka stabilizujące mikrotubule (np. AtMAP65-2, które wyizolowano z rzodkiewnika *Arabidopsis thaliana*) [18]. Zapewne wśród struktur opisywanych u szeregu roślin jako „elajoplasty” niebędące plastydami, występujące np. w komórkach *Malva neglecta*, u 12 gatunków *Gentiana*, *Dahlia variabilis*, *Clivia nobilis* (cyt. za [20]), uda się w przyszłości zidentyfikować dalsze przykłady lipotubuloidów, po znalezieniu odpowiedniego sposobu utrwalenia zawierających je komórek.

Naszym zdaniem związek kul lipidowych z mikrotubulami jest bardziej powszechnym zjawiskiem, niż dotąd można było sądzić i nie jest on ograniczony do sytuacji, gdy kule lipidowe/mikrotubule tworzą specyficzne domeny – lipotubuloidy. Pogląd ten sugeruje fakt, iż zidentyfikowano mikrotubule otaczające pojedyncze kule lipidowe u krasnorostu *Gelidium robustum* [9], a także wokół kul lipidowych nasion sałaty (*Lactuca sativa*) [29]. Również nasze wstępne badania wskazują, że mikrotubule występują wokół kul lipidowych malwy i rzodkiewnika oraz w „elajoplastach” *Vanilla planifolia* i *Funkia Sieboldiana*. Wobec tego wyjaśnienie związku mikrotubul z ewentualną syntezą lipidów stanowi problem bardziej ogólny, szczególnie w odniesieniu do roślin i nie jest on ograniczony do lipotubuloidów. Te ostatnie mogą być dogodnym obiektem takich badań ze względu na zgromadzenie w niewielkim obszarze komórki ogromnej liczby kul lipidowych i mikrotubul.

Niejasna jest natomiast sprawa istnienia związku mikrotubul i kul lipidowych w komórkach zwierzęcych. Z badań niektórych autorów [26] wynika, że powstające w komórkach monocytów myszy kule lipidowe (pod wpływem czynników zapalnych) są zależne od mikrotubul ujawnianych metodą immunocytochemiczną w mikroskopie świetlnym. Natomiast przebieg różnicowania adipocytów jest związany z pojawianiem się wokół kul lipidowych innych elementów cytoszkieletu – bardziej trwałych niż mikrotubule – 10 nm filamentów wimentynowych, które zostały zidentyfikowane metodą immunozłota w mikroskopie elektronowym (ref. [13]). Można oczekiwać, że zwrócenie baczniejszej uwagi na ultrastrukturę komórek zwierzęcych i obecność mikrotubul w bliskości kul lipidowych wyjaśni tę sprawę.

LITERATURA

- [1] ANDERSSON L, BOSTRÖM P, ERICSON J, RUTBERG M, MAGNUSSON B, MARCHESAN D, RULZ M, ASP L, HUANG P, FROHMAN MA, BOREN J, OLOFSSON S-O. PLD1 and ERK2 regulate cytosolic lipid droplet formation. *J Cell Sci* 2006; **119**: 2246–2257.
- [2] ATHENSTAEDT K, DAUM G. The life cycle of neutral lipids: synthesis, storage and degradation. *Cell Mol Life Sci* 2006; **63**: 1355–1369.
- [3] AUDEBERT S, KOULAKOFF A, BERWALD-NETTER Y, GROS F, DENOULET PH, EDDE B. Developmental regulation of polyglutamylated α - and β -tubulin in mouse brain neurons. *J Cell Sci* 1994; **107**: 2313–2322.
- [4] BOSTRÖM P, RUTBERG M, ERICSSON J, HOLMDAHL P, ANDERSSON L, FROHMAN MA, BORÉN, OLOFSSON S-O. Cytosolic lipid droplets increase in size by microtubule-dependent complex formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; **25**: 1945–1951.
- [5] BROWN DA. Lipid droplets: Proteins floating on a pool of fat. *Curr Biol* 2001; **11**: R446–R449.

- [6] CHRÉTIEN D, FLYVBJERG H, FULLER SD. Limited flexibility of the inter-protofilament bonds in microtubules assembled from pure tubulin. *Eur Biophys J* 1998; **27**: 490–500.
- [7] CZABANY T, ATHENSTAEDT K, DAUM G. Synthesis, storage and degradation of neutral lipids in yeast. *BBA* 2007; **1771**: 299–309.
- [8] DETRICH III HW, PARKER SK, WILLIAMS RC, NOGALES E, DOWNING KH. Cold adaptation of microtubule and dynamics: Structural interpretation of primary sequence changes present in the α - and β -tubulins of Antarctic fishes. *J Biol Chem* 2000; **275**: 37038–37047.
- [9] DELIVOPOULOS SG. Ultrastructure of cytocarp development in *Gelidium robustum* (Gelidiaceae: Gelidiales: Rhodophyta). *Mar Biol* 2003; **142**: 659–667.
- [10] DHONUKSHE P, LAXALT AM, GOEDHART J, GADELLA TWJ, MUNNIK T. Phospholipase D activation correlates with microtubule reorganization in living plant cells. *Plant Cell* 2003; **15**: 2666–2679.
- [11] DRABIK P, GUSAROV S, KOVALENKO A. Microtubule stability studied by three-dimensional molecular theory of solvation. *Biophysics J* 2007; **92**: 394–403.
- [12] FUJIMOTO T, OHASAKI Y, CHENG J, SUZUKI M, SHINOHARA Y. Lipid droplets: a classic organelle with new outfits. *Histochem Cell Biol* 2008; **130**: 263–279.
- [13] FUKUSHIMA N, FURUTA D, HIDAKA Y, MORIYAMA R, TSUJIUCHI T. Post-translational modifications of tubulin in the nervous system. *J Neurochem* 2009; **109**: 683–693.
- [14] GARDINER JC, COLLINGS DA, HARPER JDI, MARC J. The effects of phospholipase D-antagonist 1-butanol on seedlings development and microtubule organization in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 2003; **44**: 687–696.
- [15] GOODMAN JM. The gregarious lipid droplets. *J Biol Chem* 2008; **283**: 28005–28009.
- [16] GUO Y, CORDES KR, FARESE RV, JR, WALTHER TC. Lipid droplets at a glance. *J Cell Sci* 2009; **122**: 749–752.
- [17] HAMMOND JW, CAI D, VERHEY KJ. Tubulin modifications and their cellular functions. *Curr Opin Cell Biol* 2008; **20**: 71–76.
- [18] HUA L, XIAN Z, ZI-QIANG L, QIU-TAO M, MING Y, TONG-LIN M. *Arabidopsis* microtubule-associated protein AtMAP65-2 acts as a microtubule stabilizer. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 313–324.
- [19] KUERSCHNER L, MOESSINGER C, THIELE C. Imaging of lipid biosynthesis: How a neutral lipid enters lipid droplets. *Traffic* 2008; **9**: 338–352.
- [20] KWIATKOWSKA M. The incorporation of ^3H -palmitic acid into *Ornithogalum umbellatum* lipotubuloids, which are a cytoplasmic domain rich in lipid bodies and microtubules. Light and EM autoradiography. *Acta Soc Bot Pol* 2004; **73**: 181–186.
- [20a] KWIATKOWSKA M. Changes in the diameter of microtubules connected with the autonomous rotary motion of the lipotubuloids (elaioplast). *Protoplasma* 1972; **75**: 345–357.
- [20b] KWIATKOWSKA M. Autoradiographic studies on the incorporation of [^3H]palmitic acid into lipotubuloids of *Ornithogalum umbellatum* L. *Folia Histochem Cytobiol* 1972; **10**: 121–124.
- [21] KWIATKOWSKA M, POPŁOŃSKA K, STĘPIŃSKI D. Actin filaments connected with the microtubules of lipotubuloids – cytoplasmic domains rich in lipid bodies and microtubules. *Protoplasma* 2005; **226**: 163–167.
- [22] KWIATKOWSKA M, POPŁOŃSKA K, KAŻMIERCZAK A, STĘPIŃSKI D, ROGALA K, POLEWCZYK K. Role of DNA endoreduplication, lipotubuloids, and gibberellic acid in epidermal cell growth during fruit development of *Ornithogalum umbellatum*. *J Exp Bot* 2007; **58**: 2023–2031.
- [23] KWIATKOWSKA M, STĘPIŃSKI D, POPŁOŃSKA K, WOJTCZAK A, ROGALA K. Elaioplasts of *Haemanthus albidiflos* are lipotubuloids (cytoplasmic domains rich in lipid droplets and microtubules). *Acta Bioch Pol* 2008; **55**: Suppl 3: 28.
- [24] LUNG S-C, WESELAKE RJ. Diacylglycerol acyltransferase: a key mediator of plant triacylglycerol synthesis. *Lipids* 2006; **41**: 1073–1088.
- [25] NOGALES E. A structural view of microtubule dynamics. *Cell Mol Life Sci* 1999; **56**: 133–142.
- [26] PACHECO P, VIEIRA-DE-ABREU A, GOMES RN, BARBOSA-LIMA G, WERMELINGER LB, MAYA-MONTEIRO CM, SILVA AR, BOZZA MT, CASTRO-FARIA-NETO HC, BANDEIRA-MELO C, BOZZA PT. Monocyte chemoattractant protein-1/CC chemokine ligand 2 controls microtubule-driven biogenesis and leukotriene B₄-synthesizing function of macrophage lipid bodies elicited by innate immune response. *J Immunol* 2007; **179**: 8500–8508.
- [27] PAMPALONI F, FLORIN EL. Microtubule architecture: inspiration for novel carbon nanotube-based biomimetic materials. *Trends Biotechnol* 2008; **26**: 302–310.

- [28] ROBENEK H, HOFNAGEL O, BUERS I, ROBENEK MJ, TROYER D, SEVERS NJ. Adipophilin-enriched domains in the endoplasmic reticulum membrane: sites of lipid droplet biogenesis. *J Cell Sci* 2006; **119**: 4215–4214.
- [29] SMITH MT. Studies on the anhydrous fixation of dry seeds of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *New Phytol* 1991; **119**: 575–584.
- [30] TARTAGLIA LJ, SHAIN DH. Cold-adapted tubulins in the glacier ice worm, *Mesenchytraeus solifugus*. *Gene* 2008; **423**: 135–141.
- [31] VERDIER-PINARD P, PASQUIER E, XIAO H, BURD B, VILLARD C, LAFITTE D, MILLER LM, ANGELETTI RH, HORWITZ SB, BRAGUER D. Tubulin proteomics: towards breaking the code. *Anal Biochem* 2009; **384**: 197–206.
- [32] VERHEY KJ, GAERTIG J. The tubulin code. *Cell Cycle* 2007; **6**: 2152–2160.
- [33] WOLINS NE, BRASAEMLE DL, BICKEL PE. A proposed model of fat packing by exchangeable lipid droplet proteins. *FEBS Letters* 2006; **580**: 5484–5491.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 14.05. 2009 r.

Przyjęto: 27.05. 2009 r.

Prof. dr hab. Maria Kwiatkowska

Katedra Cytofizjologii Uniwersytetu Łódzkiego,

ul. Pilarskiego 14, 90-231 Łódź,

e-mail: kwiat@biol.uni.lodz.pl