Morfogeneza i rola ciała Balbianiego w oocytach kręgowców i bezkręgowców

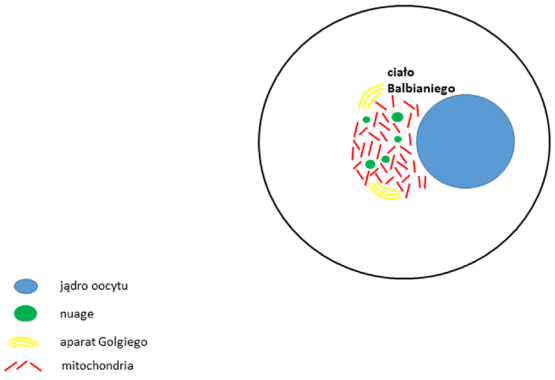
STRESZCZENIE

Ciało Balbianiego to nieobłoniony kompleks organelli komórkowych (m.in. mitochondriów, siateczki śródplazmatycznej, aparatów Golgiego, a także tzw. materiału *nuage*) zlokalizowany w bezpośrednim sąsiedztwie jądra oocytu. Klasyczne analizy histologiczne i ultrastrukturalne wykazały, że ciało Balbianiego nawet blisko spokrewnionych organizmów może być zbudowane odmiennie. Podstawowe różnice dotyczą zazwyczaj zarówno składu organelli, jak i ich wzajemnych relacji. Wyniki badań molekularnych są również niejednoznaczne i wskazują, że ciało Balbianiego może brać udział w rozmaitych procesach zachodzących w żeńskich komórkach linii płciowej. Najlepiej poznano funkcjonowanie ciała Balbianiego w transporcie i lokalizacji specyficznych białek i cząsteczek mRNA, a także organelli (mitochondriów) do ściśle określonych rejonów oocytu i (konsekwentnie) komórki jajowej. W ostatnich latach wykazano ponadto, że ciało Balbianiego, związane jest nie tylko z transferem mitochondriów do zygoty i kolejnych pokoleń komórek organizmu potomnego, ale odgrywa też rolę w selekcji tych organelli, tj. eliminacji jednostek niefunkcjonalnych, zawierających zmutowany mtDNA.

WPROWADZENIE

Rozwijające się oocyty prawie wszystkich badanych gatunków zwierząt zawierają duży, nieobłoniony zespół (kompleks) organelli nazywany tradycyjnie (od nazwiska odkrywcy) ciałem Balbianiego [1-8]. Z reguły, kompleks ten zlokalizowany jest w oocycie asymetrycznie, na jednym z biegunów pęcherzyka zarodkowego (tj. jądra oocytu). Ciało Balbianiego nie jest stałym elementem budowy ooplazmy (cytoplazmy oocytu) – występuje ono przejściowo, w ściśle określonych fazach oogenezy, a następnie ulega rozproszeniu. Ciało Balbianiego zostało opisane po raz pierwszy w połowie XIX wieku, w oocytach pająków i wijów [9-11], a następnie wykazywano jego obecność w żeńskich komórkach linii płciowej kolejnych gatunków kręgowców i bezkręgowców. Zarówno klasyczne, jak i współczesne badania morfologiczne wskazują, że ciała Balbianiego, nawet blisko spokrewnionych gatunków, mogą różnić się pod względem budowy oraz funkcji. Pomimo różnorodności morfologicznej, ciało Balbianiego zawsze zawiera dwa podstawowe elementy strukturalne: liczne mitochondria oraz akumulacje charakterystycznego ziarnisto-włóknistego materiału, tzw. materiału *nuage* [1]. Ponadto, w skład ciała Balbianiego mogą wchodzić elementy siateczki śródplazmatycznej, aparaty Golgiego, elementy cytoszkieletu, a także centriole (Ryc. 1, 3 i 4).

Liczne w ostatnich latach badania zarówno organizmów modelowych jak i niemodelowych pozwoliły stwierdzić, że ciało Balbianiego bierze udział w kilku istotnych procesach zachodzących podczas wzrostu i rozwoju oocytu. Najważ-



Rycina 1. Schematyczna budowa ciała Balbianiego.

dr hab. Wacław Tworzydło✉

mgr Małgorzata Sekuła,

prof. dr hab. Szczepan M. Biliński

Zakład Biologii Rozwoju i Morfologii Bezkręgowców, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

https://doi.org/10.18388/pb.2021_410

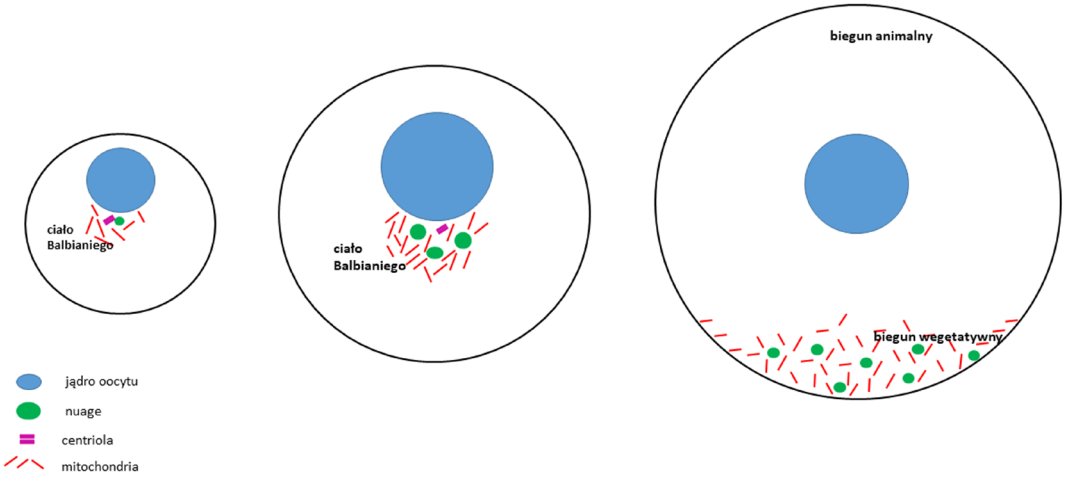
✉autor korespondujący: w.tworzydlo@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: mitochondria, mtDNA, dynamika mitochondrialna, dziedziczenie mitochondriów, ciało Balbianiego, oogeneza

Wykaz stosownych skrótów: ATP – adenozynotrójfosforan; Drp-1 – ang. *dynamin related protein 1*; Mfn1 – mitofuzyna 1; Mfn2 – mitofuzyna 2; mtDNA – mitochondrialne DNA; Opa1 – ang. *optic atrophy 1*

Podziękowania: Praca finansowana z subwencji Ministerstwa Nauki i Edukacji nr N18/DBS/000013.

Niniejszy artykuł dedykujemy Pani Profesor Małgorzacie Kloc (Houston Methodist Research Institute, Houston, USA) w podziękowaniu za wprowadzenie w tematykę dotyczącą ciała Balbianiego, inspirujące i motywujące dyskusje oraz nieustającą pomoc.



Rycina 2. Morfogeneza ciała Balbianiego *Xenopus laevis* w kolejnych fazach oogenezy.

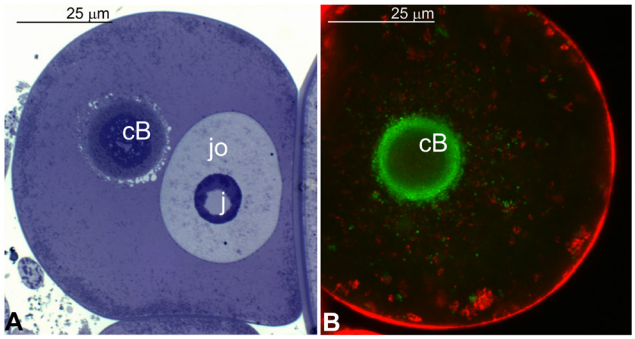
niejsze z nich to: (a) lokalizacja determinantów komórek linii płciowej (specyficznych białek i pewnych klas RNA), do tzw. plazmy płciowej lub plazmy biegunowej [4,12]; (b) transport mitochondriów do określonych regionów oocytu [13,14] i konsekwentnie, ich transfer do cytoplazmy zygoty, a więc komórek organizmu potomnego; (c) eliminacja mitochondriów o obniżonym potencjale błony wewnętrznej (inaczej: selekcja mitochondriów) oraz (d) biogeneza kropli lipidowych (wyłącznie w oocytach niektórych pająków) [5].

MORFOGENEZA I FUNKCJA CIAŁA BALBIANIEGO W OOCYTACH KRĘGOWCÓW MODELOWYCH

O ile budowa ciała Balbianiego w prawie wszystkich grupach (taksonach) kręgowców i bezkręgowców została poznana bardzo dobrze (nawet na poziomie ultrastruktury), o tyle szczegółowe informacje dotyczące powstawania, składu molekularnego oraz kolejnych faz rozwoju (morfogenezy) tego kompleksu organelli pochodzą prawie wyłącznie z badań zaledwie dwóch organizmów modelowych – ryby danio pręgowanego (*Danio rerio*) oraz żaby szponiastej (*Xenopus laveis*). Najdokładniejszą analizę morfogenezy i funkcji ciała Balbianiego przeprowadzono wykorzystując oocyty tego drugiego gatunku. W tym przypadku, ciało Balbianiego powstaje w bardzo wczesnych fazach oogenezy na drodze stopniowej agregacji mitochondriów i elementów siateczki śródplazmatycznej wokół centrioli [1,2]. Podczas fazy szybkiego wzrostu oocytu (tzw. witellogenezy) ciało Balbianiego ulega rozproszeniu, a jego składniki transportowane są do specyficznego rejonu ooplazmy, tzw. plazmy płciowej zlokalizowanej na biegunie wegetatywnym oocytu (Ryc. 2). Szczegółowe bada-

Tabela 1. Molekularne składniki ciała Balbianiego *Xenopus laevis*.

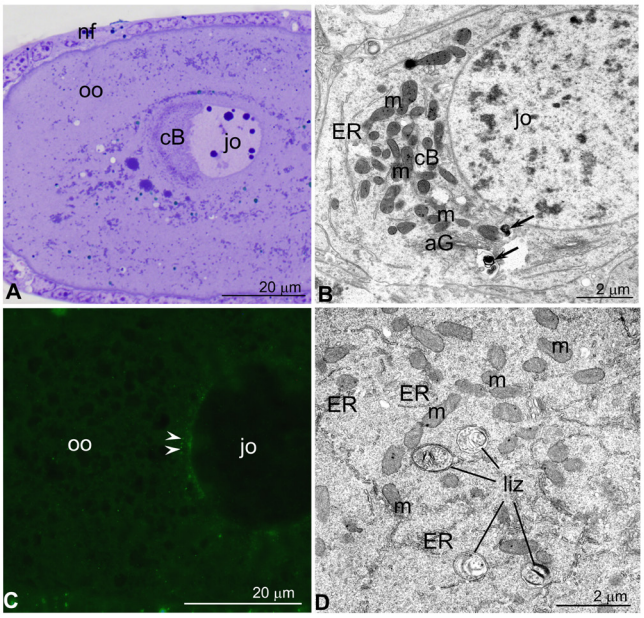
mRNA kodujące białka wiążące RNA:
nanos (Xcat2)
Xdazl
Dead-end
Hermes
helikaza Centroid
helikaza DeadSouth
mRNA kodujące białka związane z migracją komórek prapłciowych:
trim36,
Grip2,
germes
mRNA kodujące białka związane z tworzeniem rusztowania oraz rekrutacją składników plazmy płciowej:
Xpat
mRNA niekodujące:
Xlsirt
gpt/1
białka represory translacji
białkowe czynniki antytranspozonowe
białka regulujące cykl komórkowy
białka związane z transportem i lokalizacją RNA



Rycina 3. Ciało Balbianiego w oocytach pająków. (A) Oocyt *Xysticus* sp. Ciało Balbianiego (cB) zlokalizowane w bliskim sąsiedztwie jądra oocytu (jo), jąderko (j) – skrawek półcienki barwiony błękitem metylenowym, mikroskop świetlny (zdjęcie udostępnione dzięki uprzejmości dr hab. Izabeli Jędrzejowskiej z Uniwersytetu Wrocławskiego). (B) Oocyt *Clubiona* sp. Inkubacja z BODIP™ 493/503 Y wykazała obecność licznych kropli lipidowych (zielona fluorescencja) w obrębie ciała Balbianiego (cB) – preparat całościowy, mikroskop konfokalny (zdjęcie udostępnione dzięki uprzejmości dr. Arnolda Garbca z Uniwersytetu Wrocławskiego).

nia molekularne pozwoliły stwierdzić, że wraz z fragmentami ciała Balbianiego do plazmy płciowej transportowane są rozmaite białka oraz cząsteczki tzw. zlokalizowanego mRNA; pełnią one rolę determinantów linii płciowej (determinantów komórek płciowych) [1,2,15,16]. Udział ciała Balbianiego w lokalizacji tych determinantów w oocytach obu wymienionych gatunków modelowych to niewątpliwie najlepiej poznana funkcja tego kompleksu organelli. Rozmaitym aspektom tego niezwykle interesującego zagadnienia poświęcono liczne i wyczerpujące prace przeglądowe [np. 1,2,15]. Ponieważ ramy niniejszego opracowania nie pozwalają na jego szczegółowe przedstawienie, zainteresowanego Czytelnika odsyłamy do wymienionych pozycji. Skład molekularny ciała Balbianiego żaby szponiastej przedstawia Tabela 1.

Pomimo intensywnych badań, mechanizmy odpowiedzialne za stopniowe formowanie ciała Balbianiego nie zostały ostatecznie wyjaśnione. Dotychczas wykazano jedynie, że aktywność dwóch genów: *bucky ball* (u danio pręgowanego) oraz *Xvelo* (u żaby szponiastej) jest niezbędna podczas powstawania (a także rozpraszania) ciała Balbianiego [4,16-17]. Analiza sekwencji białka Xvelo (kodowanego przez gen *Xvelo*), pozwoliła wykazać, że białko to zawiera na N-końcu charakterystyczną domenę, tzw. domenę prionopodobną [18]. Domena ta odpowiada za samoagregację cząsteczek białka Xvelo [17,18]. W tym świetle zaproponowano, że tworzenie ciała Balbianiego *Xenopus* inicjowane jest przez agregację cząsteczek białka Xvelo, a następnie rekrutację (do tego rejonu) mitochondriów oraz cząsteczek RNA. Warto w tym miejscu dodać, że agregacja cząsteczek białka Xvelo przypomina agregację amyloidu β zachodzącą podczas formowania płytek amyloidowych w mózgu osób chorych na chorobę Alzheimera. W tym świetle wydaje się, że dalsze analizy powstawania, a szczególnie rozpraszania ciała Balbianiego (a więc amyloidu β), mogą dostarczyć cennych danych dotyczących zarówno przyczyn jak i rozwoju choroby Alzheimera.



Rycina 4. Ciało Balbianiego w oocytach owadów. (A). Oocyt (oo) *Metripotera brachyptera*. Jądro oocytu (jo), ciało Balbianiego (cB), nabłonek folikularny (nf) – skrawek półcienki barwiony błękitem metylenowym, mikroskop świetlny. (B). Fragment oocytu *Thermobia domestica*. Ciało Balbianego (cB) zbudowane z licznych mitochondriów (m), elementów siateczki śródplazmatycznej (ER) oraz aparatów Golgiego (aG). Strzałkami oznaczono mitochondria wykazujące ślady degeneracji; jądro oocytu (jo) – skrawek ultracienki, mikroskop elektronowy. (C). Oocyt *Meconema meridionale* inkubowany z przeciwciałem skierowanym przeciwko białku Drp-1, punktowe rozmieszczenie białka Drp-1 (groty), jądro oocytu (jo) – mikroskop fluorescencyjny. (D). Fragment oocytu *Meconema meridionale*. W sąsiedztwie mitochondriów (m) ciała Balbianiego zlokalizowane są liczne lizosomy (liz) oraz cysterny siateczki śródplazmatycznej (ER) – skrawek ultracienki, mikroskop elektronowy.

BIOGENEZA KROPLI LIPIDWYCH W OOCYTACH PAJĄKÓW: ROLA CIAŁA BALBIANIEGO

Jak wspomniano wyżej, ciało Balbianiego w oocytach pająków zaobserwowano już w XIX wieku [9-11]. Klasyczne analizy histologiczne pozwoliły stwierdzić, że w tej grupie bezkręgowców, ciało Balbianiego pojawia się w sąsiedztwie jądra oocytu stosunkowo wcześnie i może być morfologicznie niezwykle złożone [patrz literatura zebrana w 5,19]. Ciekawe wyniki przyniosły współczesne badania ultrastrukturalne i histochemiczne rozwijających się oocytów zaawansowanego ewolucyjnie pająka *Clubiona* sp. Badania te pokazały, że w obwodowej części ciała Balbianiego tego gatunku powstają, a następnie gromadzone są liczne krople lipidowe [5] (Ryc. 3). Na tej podstawie zaproponowano, że przynajmniej u niektórych przedstawicieli pająków ciało Balbianiego bierze udział w biogenezie kropli lipidowych. Po zapłodnieniu, w czasie wstępnych etapów rozwoju zarodkowego, krople te stanowią materiał zapasowy dla rozwijającego się zarodka [2,5].

MITOCHONDRIA I SIECI MITOCHONDRIALNE

Mitochondria, podstawowy element budujący ciało Balbianiego (Ryc. 4), to półautonomiczne organelle komórkowe zawierające własny materiał genetyczny, tzw. mitochondrialny DNA. Mitochondrialny DNA (mtDNA) ma, podobnie jak w komórkach organizmów prokariotycznych, postać

kolistą. W komórkach żaby i szczura, mitochondria zawierają od 5 do10 kolistych cząsteczek mtDNA, natomiast w mitochondriach drożdży jest ich od 2 do 50 [20]. Mitochondria posiadają również własny aparat syntetyzujący białka, m.in. enzymy uczestniczące w procesie oddychania komórkowego. Główną funkcją mitochondriów jest zaopatrywanie komórek w energię (w formie ATP), która powstaje w czasie fosforylacji oksydacyjnej. Produktem „ubocznym" tego procesu są tzw. reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS). Jednym z negatywnych efektów działania ROS jest stosunkowo szybkie gromadzenie mutacji w mtDNA. Proces ten prowadzi do upośledzenia metabolicznych funkcji mitochondriów oraz spadku potencjału ich błony wewnętrznej [20].

W ostatnich latach wykazano, że mitochondria to struktury wysoce dynamiczne; podlegają one w komórkach naprzemiennie dwóm procesom: fuzji (ang. *fusion*) i fragmentacji (ang. *fission*). Te dwa przeciwstawne procesy określane są wspólnie jako homeostaza lub dynamika mitochondrialna [21-23]. Fuzja pojedynczych mitochondriów prowadzi do powstania silnie rozgałęzionych i morfologicznie skomplikowanych struktur tzw. sieci mitochondrialnych, podczas gdy fragmentacja skutkuje rozpadem tych sieci na niewielkie, pojedyncze organelle. Co istotne, dynamika mitochondrialna odgrywa podstawową rolę w kontroli jakości mitochondriów. Według ostatnio zaproponowanych modeli, po rozpadzie sieci na pojedyncze organelle, organelle niefunkcjonalne (o obniżonym potencjale wewnętrznej błony mitochondrialnej, zawierające uszkodzony mtDNA) są eliminowane wewnątrz lizosomów, na drodze tzw. mitofagii [problematykę te przedyskutowano m.in. w 21-26]. Równocześnie, tworzenie sieci mitochondrialnych może przeciwdziałać gromadzeniu się mutacji w mtDNA [26-28]. W procesach fuzji i fragmentacji mitochondriów zaangażowane są białka z nadrodziny dynamin, wykazujące aktywność GTPazy [29]. W komórkach ssaków, w fuzji mitochondriów biorą udział mitofuzyny (Mfn1 i Mfn2) oraz białko Opa1 [30], natomiast głównym regulatorem fragmentacji mitochondriów jest wysoce konserwatywne białko Drp1 [31-33]. Wykazano, że białko Drp1 ulega polimeryzacji tworząc charakterystyczny spiralny pierścień otaczający „przewężenie" dzielącego się mitochondrium. Pierścień ten (w mikroskopie fluorescencyjnym widoczny jako jasno świecący punkt, Ryc. 4C) wchodzi w kontakt z błoną mitochondrialną umożliwiając odseparowanie powstających indywidualnych organelli [31-34]. Ostatnie badania wykazały ponadto, że w procesie fragmentacji mitochondriów, poza białkiem Drp1, biorą udział mikrofilamenty oraz elementy szorstkiej siateczki śródplazmatycznej lub lizosomy [35,36].

DZIEDZICZENIE MITOCHONDRIÓW

Mitochondria, a więc również cząsteczki mtDNA, przekazywane są z pokolenia na pokolenie wraz z cytoplazmą żeńskich komórek płciowych, pochodzą więc wyłącznie z komórki jajowej, podczas gdy mitochondria plemników eliminowane są w czasie zapłodnienia. Nieliczne wyjątki od tej reguły opisano jedynie u małży [37]. Teoretycznie, „matczyny" sposób dziedziczenia mitochondriów, ze względu na brak rekombinacji materiału genetycznego, powinien prowadzić do bardzo szybkiego gromadzenia szkodliwych mutacji w mtDNA. Dane doświadczalne nie potwierdzają takiego założenia, sugerują więc, iż w żeńskich komórkach płciowych działa specyficzny i precyzyjny mechanizm ograniczający liczbę uszkodzonych kopii mtDNA [24,25]. Mechanizm ten nie został w pełni poznany; obecnie zakłada się, iż obejmuje on cztery procesy:

(a) losową segregację mitochondriów (a więc rozmaitych typów mtDNA) do kolejnych pokoleń komórek podczas podziałów mitotycznych oogoniów (tzw. *bottleneck effect*);
(b) eliminację dysfunkcyjnych (zawierających liczne mutacje w mtDNA) mitochondriów;
(c) ekspansję funkcjonalnych (nieobarczonych mutacjami w mtDNA) mitochondriów w obrębie ooplazmy;
(d) eliminacje (na drodze apoptozy) żeńskich komórek płciowych zawierających nadmierną liczbę zmutowanych cząsteczek mtDNA [38-43].

Według aktualnych poglądów, w rezultacie współdziałania wymienionych procesów organizmy potomne otrzymują mitochondria w pełni funkcjonalne i w znacznym stopniu „oczyszczone" z mutacji w mtDNA (Ryc. 2).

ROLA CIAŁA BALBIANIEGO W SELEKCJI MITOCHONDRIÓW

Analiza trójwymiarowej organizacji ciała Balbianiego na poziomie mikroskopii elektronowej wskazuje, że w oocytach owadów pierwotnych (np. szczeciogonków, prostoskrzydłych) mitochondria wchodzące w skład tego kompleksu organelli łączą się, tworząc lokalne sieci mitochondrialne [7,44]. Co istotne, potencjał błony wewnętrznej tych sieci (a więc potencjał błony wewnętrznej budujących je mitochondriów) jest wyraźnie wyższy od potencjału mitochondriów zlokalizowanych poza ciałem Balbianiego. Obserwacja te, w świetle aktualnych modeli funkcjonowania sieci mitochondrialnych (por. rozdział Mitochondria i sieci mitochondrialne) wskazują, że ciało Balbianiego, przynajmniej u niektórych gatunków, poza transferem mitochondriów do komórek organizmu potomnego, może brać udział w selekcji tych organelli, tj. eliminacji jednostek niefunkcjonalnych, zawierających zmutowany mtDNA. Koncepcję tę potwierdza obecność licznych nieaktywnych i najprawdopodobniej degenerujących mitochondriów, a także lizosomów (autofagosomów) w bezpośrednim sąsiedztwie aktywnego ciała Balbianiego (Ryc. 4D).

Z drugiej strony analizy aktywności mitochondriów, przeprowadzone z użyciem takich markerów jak MitoTracker czy JC-1 wskazują, że do ciała Balbiniego rekrutowane są wyłącznie mitochondria nieuszkodzone (funkcjonalne, o wysokim potencjale błony wewnętrznej). Według Hill i wsp. oraz Zhou i wsp. zakumulowane w ciele Balbianiego nieuszkodzone mitochondria, w następnej fazie morfogenezy tego kompleksu organelli, intensywnie dzielą się i namnażają [45,46]. Tę koncepcję potwierdzają wyniki klasycznych już badań autoradiograficznych przeprowadzonych przez Tourte i wsp. wskazujących na wysoki poziom replikacji mtDNA w ciele Balbianiego żaby szponiastej [47], a także obecność białka Drp1 (biorącego udział w podziałach mitochondriów, patrz wyżej) w sąsiedztwie i/lub na terenie ciała Balbianiego owadów.

Przedstawione wyniki pozwalają sądzić, że ciało Balbianiego bierze udział zarówno w eliminacji mitochondriów dysfunkcjonalnych, jak i ekspansji mitochondriów w pełni prawidłowych. Jest więc istotnym „graczem" w procesach gwarantujących ograniczenie liczby zmutowanych kopii mtDNA w rozwijających się oocytach i komórkach jajowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Kloc M, Bilinski S, Etkin LD (2004) The Balbiani body and germ cell determinants: 150 years later. Curr Top Dev Biol 59: 1-36
2. Kloc M, Jedrzejowska I, Tworzydlo W, Bilinski SM (2014) Balbiani body, nuage and sponge bodies – germ plasm pathway players. Arthropod Struct Dev 43: 341-438
3. Pepling ME, de Cuevas M, Spradling C (1999) Germline cysts: a conserved phase of germ cell development? Trends Cell Biol 9: 257-262
4. Marlow FL, Mullins MC (2008) Bucky ball functions in Balbiani body assembly and animal-vegetal polarity in the oocyte and follicle cell layer in zebrafish. Dev Biol 21: 40-50
5. Jędrzejowska I, Kubrakiewicz J (2010) Yolk nucleus – the complex assemblage of cytoskeleton and ER is a site of lipid droplet formation in spider oocytes. Arthropod Struct Dev 39: 350-359
6. Tworzydlo W, Kisiel E, Jankowska W, Bilinski SM (2014) Morphology and ultrastructure of the germarium in panoistic ovarioles of a basal „apterygotous" insect, *Thermobia domestica*. Zoology 117: 200-206
7. Tworzydlo W, Kisiel E, Jankowska W, Witwicka A, Bilinski SM (2016) Exclusion of dysfunctional mitochondria from Balbiani body during early oogenesis of *Thermobia*. Cell Tissue Res 366: 191-201
8. Bilinski SM, Kloc M, Tworzydlo W (2017) Selection of mitochondria in female germline cells: is Balbiani body implicated in this process? J Assist Reprod Genet 34: 1405-1412
9. Wittich W (1845) De observationes quoedam de ananearum ex ovo evolutione. Halis Saxonum, Germany
10. Carus JV (1850) Ueber die Entwicklung des Spinneneies. Z Wiss Zool 2: 97-104
11. Balbiani EG (1864) Sur la constitution du germe dans l'oeuf animal avant la fecundation. CR Hebd Seances Acad Sci 58: 584
12. Kloc M, Etkin LD (1995) Two distinct pathways for the localization of RNAs at the vegetal cortex in *Xenopus* oocytes. Development 121: 287-297
13. Cox RT, Spradling AC (2003) A Balbiani body and the fusome mediate mitochondrial inheritance during *Drosophila* oogenesis. Development 130: 1579-1590
14. Zhou RR, Wang B, Wang J, Schatten H, Zhang YZ (2010) Is the mitochondrial cloud the selection machinery for preferentially transmitting wild-type mtDNA between generations? Rewinding Müller's rachet efficiency. Curr Genet 56: 101-107
15. Kloc M, Biliński SM (2002) Rola plazmy płciowej w specyfikacji komórek linii płciowej u bezkręgowców i kręgowców. Postępy Biologii Komórki 29: 301-317
16. Bontems F, Stein A, Marlow F, Lyautey J, Gupta T, Mullins MC, Dosch R (2009) Bucky ball organizes germ plasm assembly in zebrafish. Curr Biol 19: 414-422
17. Boke E, Ruer M, Wühr M, Coughlin M, Lemaitre R, Gygi SP, Alberti S, Drechsel D, Hyman AA, Mitchison TJ (2016) Amyloid-like self-assembly of a cellular compartment. Cell 166: 637-50
18. Alberti S, Halfmann R, Lindquist S (2010) Biochemical, cell biological, and genetic assays to analyze amyloid and prion aggregation in yeast. Methods Enzymol 470: 709-734
19. Jedrzejowska I, Kubrakiewicz J (2007) The Balbiani body in the oocytes of a common cellar spider, *Pholcus phalangioides* (Araneae: Pholcidae). Arthropod Struct Dev 36:317-326
20. Balaban RS, Nemoto S, Finkel T (2005) Mitochondria, oxidants and aging. Cell 120:483-495
21. Youle RJ, van der Bliek AM (2012) Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science 337: 1062-1065
22. Westermann B (2010) Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. Nat Rev Mol Cell Biol 11: 872-884
23. Friedman JR, Nunnari J (2014) Mitochondrial form and function. Nature 505: 335-343
24. Palozzi JM, Jeedigunta SP, Hurd TR (2018) Mitochondrial DNA purifying selection in mammals and invertebrates. J Mol Biol 430: 4834-4848
25. Lieber T, Jeedigunta SP, Palozzi JM, Lehmann R, Hurd TR (2019) Mitochondrial fragmentation drives selective removal of deleterious mtDNA in the germline. Nature 570: 380-384
26. Mitra K (2013) Mitochondrial fission-fusion as an emerging key regulator of cell proliferation and differentiation. Bioessays 35: 955-964
27. Mattie S, Krols M, McBride HM (2019) The enigma of an interconnected mitochondrial reticulum: new insights into mitochondrial fusion. Curr Opin Cell Biol 59: 159-166
28. Whitley BN, Engelhart EA, Hoppins S (2019) Mitochondrial dynamics and their potential as a therapeutic target. Mitochondrion 49: 269-283
29. Ramachandran R, Schmid SL (2018) The dynamin superfamily. Curr Biol 28: 411-416
30. Kawalec M, Beręsewicz M, Zabłocki K, Zabłocka B (2016) Mitofuzyna 2 i dynamika mitochondriów w normie i patologii. Postępy Biochemii 62: 149-157
31. Smirnova E, Griparic L, Shurland D-L, van der Bliek AM (2001) Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. Mol Biol Cell 12: 2245-2256
32. Reddy PH, Reddy TP, Manczak M, Calkins MJ, Shirendeb U, Mao P (2011) Dynamin related protein 1 and mitochondrial fragmentation in neurodegenerative diseases. Brain Res 67: 103-118
33. Friedman JR, Nunnari J (2014) Mitochondrial form and function. Nature 505: 335-343
34. Michalska B, Duszyński J, Szymański J (2016) Mechanizm fragmentacji mitochondriów – struktura i funkcja białka Drp1. Postępy Biochemii 62: 127-137
35. Kleele T, Rey T, Winter J, Zaganelli S, Mahecic D, Perreten H, Ruberto FP, Nemir M, Wai T, Pedrazzini T, Manley S (2021) Distinct fission signatures predict mitochondrial degradation or biogenesis. Nature 593: 435-439
36. Chakrabarti R, Higgs HN (2021) Revolutionary view of two ways to split a mitochondrion. Nature 593: 346-347
37. Ghiselli F, Maurizii MG, Reunov A, Ariño-Bassols H, Cifaldi C, Pecci A, Alexandrova Y, Bettini S, Passamonti M, Franceschini V, Milani L (2019) Natural heteroplasmy and mitochondrial inheritance in bivalve molluscs. Integr Comp Biol 59: 1016-1032
38. Tworzydlo W, Sekula M, Bilinski SM (2020) Transmission of functional, wild-type mitochondria and the fittest mtDNA to the next generation: bottleneck phenomenon, Balbiani body and mitophagy. Genes 11: 104
39. Milani L (2015) Mitochondrial membrane potential: A trait involved in organelle inheritance? Biol Lett 11: 20150732
40. Van Blerkom J, Davis P, Mathwig V, Alexander S (2002) Domains of high-polarized and low-polarized mitochondria may occur in mouse and human oocytes and early embryos. Hum. Reprod 17: 393-406
41. Kogo N, Tazaki A, Kashimno Y, Morichika K, Orii H, Mochii M, Watanabe K (2011) Germ-line mitochondria exhibit suppressed respiratory activity to support their accurate transmission to the next generation. Dev Biol 349: 462–469
42. Faron J, Bernas T, Sas-Nowosielska H, Klag J (2015) Analysis of the behavior of mitochondria in the ovaries of the earthworm *Dendrobaena veneta* Rosa 1839. PLoS One 10: e0117187
43. Stewart JB, Freyer C, Elson JL, Wredenberg A, Cansu Z, Trifunovic A, Larsson NG (2008) Strong purifying selection in transmission of mammalian mitochondrial DNA. PLoS Biol 6: e10
44. Sekula M, Tworzydlo W, Bilinski SM (2020) Morphogenesis of the Balbiani body in developing oocytes of an orthopteran, *Metrioptera*

brachyptera, and multiplication of female germline mitochondria. J Morphol 281: 1142-1151

45. Hill JH, Chen Z, Xu H (2014) Selective propagation of functional mitochondrial DNA during oogenesis restricts the transmission of a deleterious mitochondrial variant. Nat Genet 46: 389-392
46. Zhou RR, Wang B, Wang J, Schatten H, Zhang YZ (2010) Is the mitochondrial cloud the selection machinery for preferentially transmitting wild-type mtDNA between generations? Rewinding Müller's ratchet efficiently. Curr Genet 56: 101-107
47. Tourte M, Mignotte F, Mounolou JC (1981) Organization and replication activity of the mitochondrial mass of oogonia and previtellogenic oocytes in *Xenopus laevis*. Dev Growth Differ 23: 9-21

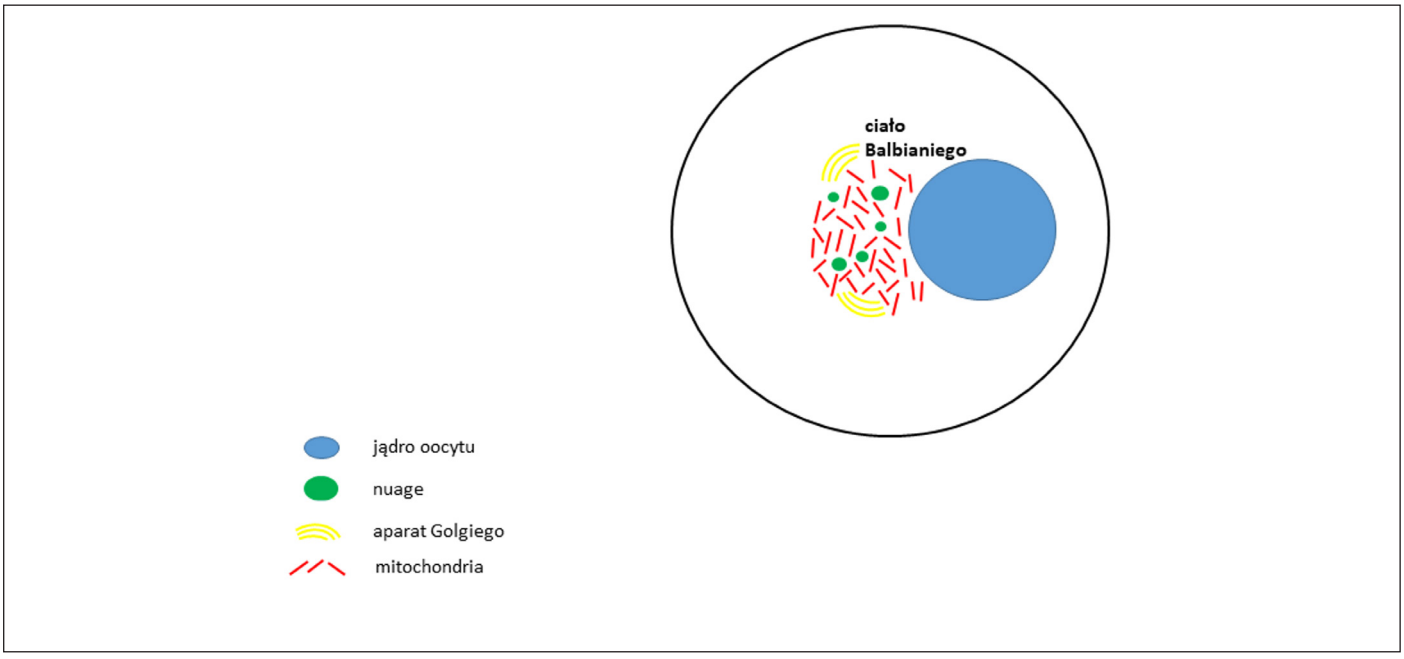
The Balbiani body: morphogenesis and functioning in the oocytes of vertebrates and invertebrates

Wacław Tworzydło✉, Małgorzata Sekuła, Szczepan M. Biliński

Department of Developmental Biology and Invertebrate Morphology, Institute of Zoology and Biomedical Research, Faculty of Biology, Jagiellonian University in Kraków

✉corresponding author e-mail: w.tworzydlo@uj.edu.pl

Keywords: mitochondria, mtDNA, mitochondrial dynamics, mitochondria inheritance, Balbiani body, oogenesis

ABSTRACT

The Balbiani body is an organelle assemblage (termed sometimes a super-organelle) characteristic for the developing oocytes of almost all investigated animal species. In the vast majority of species, this complex resides next to the germinal vesicle and comprises such organelles as mitochondria, elements of endoplasmic reticulum, Golgi complexes as well as accumulations of nuage material. Comparative analyses have shown that the Balbiani bodies, even in closely related organisms, are often morphologically different. The differences concern not only the composition of this assemblage but also mutual relations between its components. So far, it has been found that the Balbiani body is implicated in several cellular processes undergoing in female germline cells. Most importantly this organelle complex is responsible for the delivery and localization of certain macromolecules and organelles to specific regions of the ooplasm (oocyte cytoplasm), as well as in the transfer of mitochondria to the zygote, i.e. to the next generation. Moreover, it has been shown recently that at least in some species the Balbiani body participates in the elimination of nonfunctional, damaged mitochondria from the developing oocytes and egg cells.