

РОЛЬ ФИЛАМИНА В ПРОВЕДЕНИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИГНАЛА

© Ф. М. Комалетдинова, Г. П. Пинаев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

В обзоре рассматриваются строение и функции актинсвязывающего белка филамина. Установленные к настоящему времени факты демонстрируют, что филамин принимает участие в осуществлении многих регуляторных процессов в клетке. В число его многочисленных функций входят: участие в формировании и пространственной организации актиновых структур, осуществление связи цитоскелета с поверхностными рецепторами, регуляция взаимодействия актина с миозином. Помимо основной роли структурного белка цитоскелета филамин служит также матрицей для сборки комплексов разнообразных сигнальных молекул. Он взаимодействует с рядом транскрипционных факторов и непосредственно вовлечен в процесс передачи сигнала от плазматической мембраны в ядро. С-концевой фрагмент филамина, отщепляемый протеазой кальпаином, вместе с сидящим на нем андрогеновым рецептором транслируется в ядро. Приведенные в обзоре экспериментальные данные свидетельствуют о наличии непосредственной связи внутриклеточной сигнализации, в которую вовлечены актинсвязывающие белки, с пространственной реорганизацией цитоскелета.

Ключевые слова: филамин, внутриклеточная передача сигнала, транскрипционные факторы, цитоскелет.

Согласно существующим в настоящее время представлениям, цитоскелет играет важную роль в проведении внутриклеточного сигнала и в регуляции экспрессии генов (Ingber, Folkman, 1989; Schmidt, Hall, 1998; Ingber, 2002). Эти представления сформировались главным образом на основе экспериментов, показавших, что разрушение структур цитоскелета специфическими токсинами приводит к отмене или модификации поступающего с поверхности клетки сигнала (Puck, 1977).

Кроме того, было установлено, что взаимодействие биологически активных молекул с поверхностными рецепторами клетки наряду с индукцией сигнальных каскадов приводит к реорганизации системы актиновых микрофиламентов (Schmidt, Hall, 1998). Показано также, что некоторые актинсвязывающие белки, локализованные под поверхностной мембраной клетки (эзрин, зиксин, паксиллин и альфа-актинин), способны мигрировать в ядро (Kaul et al., 1999; Nix et al., 2001; Woods et al., 2002; Бабаков и др., 2004). Эти данные привели к предположению о том, что транслокация переносимых белков в ядро может быть связана с передачей сигнала, однако их непосредственное участие в этом процессе не было установлено. К настоящему времени накоплено большое количество косвенных фактов, свидетельствующих о взаимодействии разнообразных сигнальных молекул с белками цитоскелета (Mayer, Baltimore, 1993; Yamada, Geiger, 1997; Are et al., 2000; Stossel et al., 2001; Ingber, 2003). Тем не менее, несмотря на обилие подобных данных, указывающих на возможное участие актинового цитоскелета в передаче внутриклеточного сигнала, молекулярные механизмы, с помощью которых может осуществляться этот процесс, остаются до сих пор неясными.

Совокупность наших знаний о строении и функции белков цитоскелета позволяет высказать несколько предположений о возможных способах участия актинсвязывающих белков в индукции и передаче внутриклеточного сигнала.

Во-первых, на начальной стадии передачи сигнала актинсвязывающие белки могут устанавливать необходимую для передачи сигнала связь между актиновыми структурами и поверхностными рецепторами клетки при их взаимодействии с белками внеклеточного матрикса, ростовыми факторами и другими внешними биологически активными молекулами.

Во-вторых, актинсвязывающие белки и образуемые ими структуры могут играть роль матрицы (или, как принято называть в англоязычной литературе, скаффолда), на которой собираются комплексы взаимодействующих между собой сигнальных молекул.

В-третьих, они могут осуществлять непосредственный перенос связанных с ними сигнальных молекул в ядро.

Настоящий обзор посвящен анализу роли одного из давно известных белков цитоскелета — филамина — в проведении внутриклеточного сигнала. Показано, что кроме основной роли структурного белка цитоскелета он служит матрицей для сборки сигнальных молекул и передачи сигнала (Stossel et al., 2001). Недавно было установлено, что филамин реально принимает участие в осуществлении сигнальных процессов. Фрагмент его молекулы мигрирует в ядро вместе со связанным с ним адгезивным рецептором, который в ядре взаимодействует с ДНК и индуцирует экспрессию соответствующих генов (Ozanne et al., 2000; Loy et al., 2003). В самых последних исследованиях показано, что и полноразмерный

филамин также может мигрировать в ядро, что дает основание авторам делать вывод о возможном участии филамина в регуляции транскрипции (Berry et al., 2005).

Рассматривая свойства филамина и его взаимодействия с разными цитоскелетными и сигнальными молекулами, важно установить, какие особенности структурной организации молекулы филамина могут обеспечить его участие в проведении сигнала с поверхности клетки в ядро.

Структура филамина и его изоформы

Актинсвязывающий белок филамин, названный ABP-280 (actin-binding protein), был впервые выделен из мускульного желудка цыпленка. Вначале было установлено, что он способен вызывать желирование растворов актина, сшивать между собой актиновые филаменты, а также формировать из них ортогонально ветвящиеся структуры (Hartwig, Stossel, 1975; Wang et al., 1975). В дальнейшем он был найден в альвеолярных макрофагах кролика (Hartwig, Stossel, 1975), в тромбоцитах человека (Lucas et al., 1976) и в клетках гладких мышц цыпленка (Wang et al., 1975). Позднее группа гомологичных белков была обнаружена в различных немышечных клетках и было показано, что эти белки, как правило, сосредоточены на концах стресс-фибрилл (Stossel, Hartwig, 1975; Weihing, 1985; Hock, Condeelis, 1987). Впоследствии они получили название филаминов, т. е. белков, способствующих образованию пучков активных филаментов.

К настоящему времени известны три изоформы филамина млекопитающих — А, В и С. Филамин А обозначают также как ABP-280 (Gorlin et al., 1990) или филамин-1, филамин В — как ABP-278/276 (Xu et al., 1998), β-филамин (Takafuta et al., 1998) или филамин-3. Филамин С сначала также имел разные названия: гамма-филамин, ABPL (Xie et al., 1998) или филамин-2 (Thompson et al., 2000). Первичные структуры этих изоформ имеют высокую гомологию (от 60 до 80 %), за исключением двух «hinge» (петлевидных) участков, характеризующихся большим разнообразием последовательностей аминокислот (Feng, Walsh, 2004). Все три изоформы экспрессируются в клетках во время развития организма. Филамин А синтезируется в большом количестве в немышечных клетках практически всех тканей. Филамин В также находят во многих тканях, но его содержание зависит от типа ткани. Филамин С экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах и миокарде (Feng, Walsh, 2004).

Наиболее хорошо изучено строение филамина А. Он представляет собой гомодимер, состоящий из двух субъединиц с мол. массой 280 кДа. Каждая субъединица содержит N-концевой актинсвязывающий домен, 24 tandemных повтора по 96 аминокислот каждый, а также 2 коротких участка с уникальной последовательностью, образующих «петлевидные структуры» (hinges) между повторами 15 и 16, а также 23 и 24. С-концевой повтор филамина (24-й) является сайтом димеризации субъединиц (рис. 1) (Stossel et al., 2001).

Взаимодействие филамина с актином

Все белки, имеющие два актинсвязывающих домена, соединенных длинными аминокислотными последовательностями, способны принимать участие в формиро-

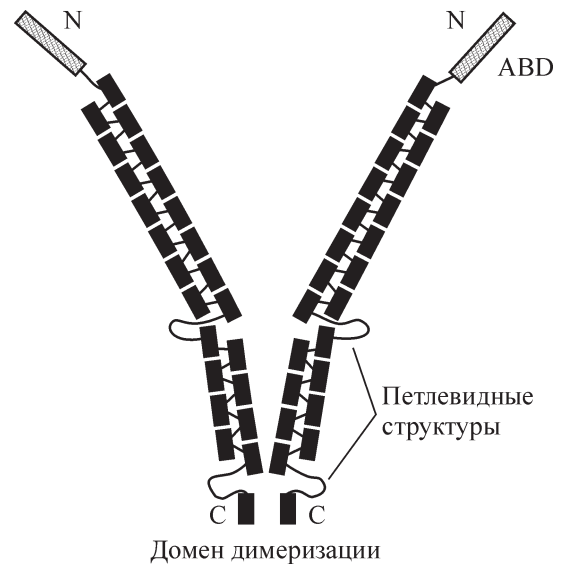


Рис. 1. Структура филамина А человека (Stossel et al., 2001).

ABD — актинсвязывающий домен; петлевидные структуры — сайты протеолиза кальпаином. Рисунок публикуется с любезного разрешения авторов.

вании трехмерных актиновых структур. Филамин, образующий подобные димеры, соединяет актиновые филаменты в сеть и желирует растворы актина *in vitro*. В отличие от другого актинсвязывающего белка — альфа-актинина, который формирует пучки параллельно ориентированных микрофиламентов, филамин связывает вместе две актиновые нити под прямым углом. Этим он способствует образованию другого типа организации актиновых структур — ортогональной сети филаментов, которая выявляется в ламеллоподиях на ведущем крае клетки. Полагают, что такой способ укладки актиновых структур способствует перемещению клетки в пространстве (Alberts et al., 2002).

Впоследствии было установлено, что характер организации актиновых структур, формирующихся при взаимодействии филамина с актином, не всегда одинаков и зависит от количественного соотношения между этими белками. При низком содержании филамина формирует ортогональные структуры, а при высоким способствует образованию пучков параллельно ориентированных нитей актина, подобно тому как это делает альфа-актинин. По-видимому, от этого соотношения зависит клеточная подвижность. Так, например, Сато и Нагано установили, что от содержания филамина в клетке зависят форма нейробластов и их миграция. Дефицит филамина приводит к задержке нейробластов в вентрикулярной зоне. Напротив, повышение содержания филамина в клетках приводит к изменению их формы, стимулирует и ускоряет нейрональную миграцию (Sato, Nagano, 2005). Приведенные данные согласуются с результатами давних исследований, в которых было установлено, что филамин оказывает влияние на взаимодействие миозина с актином. Показано, что добавление филамина к растворам тромбоцитарного актомиозина подавляет его АТФазную активность и способность к суперпреципитации под действием АТФ.

В активированных тромбоцитах филамин подвергается расщеплению протеазой кальпаином. При этом он теряет свою способность как связывать F-актин, так и

подавлять АТФазную активность актомиозина. Эти данные свидетельствуют о том, что филамин может принимать участие в регуляции двигательной функции клетки, разобщая взаимодействие миозина с актином (Onji et al., 1987).

Участие филамина в формировании новых актиновых структур

Помимо непосредственного взаимодействия с фибриллярным актином филамин принимает участие в формировании новых актиновых структур путем активации малых ГТФаз (Schmidt, Hall, 1998; Stossel, Hartwig, 2003). Исследования ряда авторов свидетельствуют о том, что воздействие внешних лигандов на интегрины вызывает активацию ГТФаз Rho, вследствие чего происходят распластывание клеток на внеклеточном матриксе и формирование в них цитоскелетных структур (Clark et al., 1998; Price et al., 1998). Филамин А взаимодействует с семейством Rho малых ГТФаз с помощью некоторых регуляторных кофакторов, вовлеченных в регуляцию процесса формирования актиновых структур и активации миозина (Stossel, Hartwig, 2003). Одним из таких белков, непосредственно взаимодействующих с филамином, является мигфилин (Takafuta et al., 2003; Tu et al., 2003). Взаимодействие интегринов, Mig-2, мигфилина и филамина приводит к реорганизации системы актиновых филаментов, связанной с адгезионными контак-

тами (Stossel, Hartwig, 2003). Белок Mig-2 является компонентом фокальных контактов и непосредственно взаимодействует с мигфилином (Gkretsi et al., 2005; Wu, 2005). Мигфилин связывается с 21-м повтором сайта димеризации филаминов А и С (Tu et al., 2003) и с 10—13-м повторами филамина В (Takafuta et al., 2003). С этим же 21-м повтором филамина А взаимодействуют также и малые ГТФазы — Rho, Rac, Cdc42 и RalA (Ohta et al., 1999), которые регулируют полимеризацию актина и индуцируют создание новых актинсодержащих структур разного типа с помощью серин-треониновых киназ RSK и PAK1 (Feng, Walsh, 2004; Woo et al., 2004). С филамином также взаимодействует GEF-фактор (гуанозин-нуклеотидный обменный фактор) Trio. Он специфически активирует Rac1, RhoA и RhoG и катализирует переход связанного с филамином комплекса из Rac1-GDP в Rac1-GTP-состояние. Затем Rac1-GTP активирует PAK1 (Brakebusch, Fässler, 2003). Известно, что в мембране клеток промиелоидной лейкемии человека линии HL-60 Rac1 взаимодействует с изоформами PAK (Nisimotoa, Ogawa, 2002).

Мигфилин связывает адгезионные комплексы с активным цитоскелетом путем прямого взаимодействия с белками Mig-2, филамином и VASP. Как именно Mig-2 и мигфилин активируют ГТФазы (непосредственно или с помощью других белков), пока еще не выяснено. Тем не менее механизмы регуляции реорганизации актина при участии малых ГТФаз достаточно хорошо известны (Stossel, Hartwig, 2003). На основании последних данных,

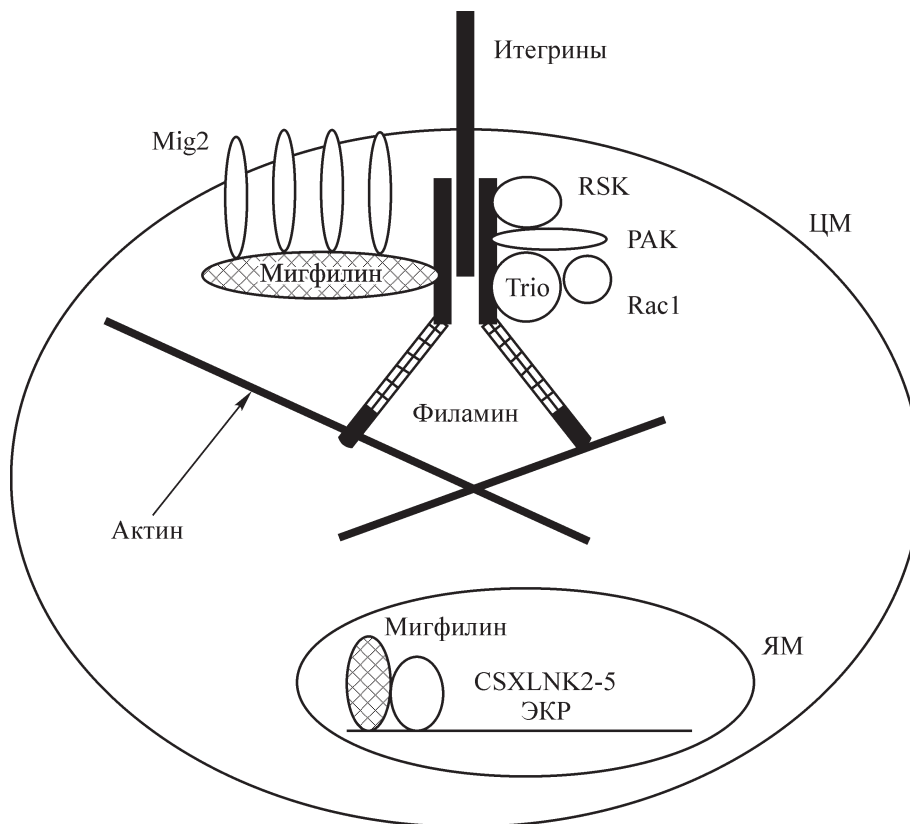


Рис. 2. Схема взаимодействий филамина с актином, мигфилином и другими белками, принимающими участие в реорганизации и пространственной организации актина.

ЦМ и ЯМ — соответственно цитоплазматическая и ядерная мембраны, ЭКР — экспрессия кардиальных генов, Rac1 — ГТФаза семейства Rac, RSK — рибосомальная S6-киназа, PAK — p21-активируемая киназа 1, CSXLNK2-5 — транскрипционный фактор кардиальных генов, Trio — гуанозин-нуклеотидный обменный фактор, Mig2 — белок.

полученных рядом исследователей (Nisimotoa, Ogawa, 2002; Vadlamudi et al., 2002; Brakebusch, Fässler, 2003; Stossel, Hartwig, 2003; Takafuta et al., 2003; Woo et al., 2004; Gkretsi et al., 2005; Wu, 2005), составлена схема взаимодействий филамина с другими белками, принимающими участие в реорганизации и пространственной организации актиновых структур (рис. 2).

Филамин осуществляет связь актиновых структур с поверхностными рецепторами

Филамин является одним из основных цитоскелетных белков, способствующих взаимодействию актинодержавших структур с клеточной мембраной. Он принимает участие в организации кортикального цитоскелета, поддерживающего механическую стабильность плазматической мембраны. Взаимодействие филамина с актином и участие в образовании связи актинового цитоскелета с мембраной зависят от степени фосфорилирования филамина. В нефосфорилированном состоянии филамин не может осуществлять эти процессы. Показано, что фосфорилируются остатки серина, расположенные на N-конце молекулы, обеспечивающие контакт филамина с актином. Филамин связывает цитоскелет с мембраной путем взаимодействия с трансмембранными рецепторами, в число которых входят прежде всего интегрины, осуществляющие контакт клетки с внеклеточным матриксом. Ключевую роль в этом взаимодействии играют цитоплазматические домены β -интегринов (Pfaff et al., 1998). Показано, что связь с интегринными $\beta 1A$, $\beta 1D$ и $\beta 2,3,7$ осуществляется посредством 20—24-го повторов филамина (Stossel et al., 2001; Stossel, Hartwig, 2003).

Филамин взаимодействует с адгезионным рецептором тромбоцитов гликопротеином GPIb-IX-V. Это взаимодействие играет важную роль в поддержании формы тромбоцитов через взаимодействие с сетью актиновых филаментов и поддержании механорецепторных свойств комплекса (Berndt et al., 2006; Nakamura et al., 2006). Фосфатаза SHIP2 (SH2-содержащая 5'-инозитолфосфатаза) взаимодействует с филамином и формирует тетрамерные комплексы с филамином, актином и гликопротеином GPIb-IX-V IP-2 в активированных тромбоцитах, осуществляя регуляцию концентрации фосфатидилинозитола (Dyson et al., 2001, 2003).

S-концевая часть филамина способна взаимодействовать и с другими трансмембранными рецепторами: с рецептором инсулина, с Toll-рецептором, а также с рецепторами G-белков — рецепторами глутамата типа 7, кальцитониновым рецептором (CaR), опиоидными и дофаминовыми рецепторами (Edwards et al., 1997; Lin et al., 2001; Enz, 2002; Onoprishvili et al., 2003; Seck et al., 2003).

Взаимодействуя с трансмембранными рецепторами, филамин не только поддерживает механическую стабильность клетки, но и принимает участие в регуляции передачи сигнала с поверхности клетки. Например, филамин является адаптором при взаимодействии цитоплазматической части Toll-рецептора с Rel-белками (Edwards et al., 1997). Предполагается, что филамин является интегральным компонентом системы регулирования стабильности сигнальных комплексов рецептор—G-белок и уровня их рециклирования. Взаимодействие филамина с кальцитониновым рецептором защищает рецептор от де-

градации. Такое взаимодействие необходимо для активации рецептором MAP-киназного сигнального каскада (Seck et al., 2003; Zhang, Breitwieser, 2005).

Филамин осуществляет связь μ -опиоидного рецептора с актиновым цитоскелетом, принимая участие в транспорте рецептора и его регуляции. В клетках, дефицитных по филамину A, μ -опиоидные рецепторы могут функционировать, но уровень их интернализации сильно редуцирован (Onoprishvili et al., 2003).

Филамин участвует также в регуляции взаимодействия дофаминового рецептора с G-белками (Kim et al., 2005). При недостатке филамина в клетке наблюдаются редукция комплекса рецептор—G-белок и нарушение проведения сигнала, что говорит об участии филамина в осуществлении взаимодействия рецептора с G-белком (Kim et al., 2005).

Одним из наиболее постоянных стимулов, запускающих сигнальные процессы, является механическое воздействие на клетку, которое передается только с помощью интегринов, но не других трансмембранных молекул. Согласно существующим в настоящее время представлениям, развиваемым Ингбером (Ingber, 2003) и рядом других авторов (Choquet et al., 1997), воздействие механических сил на клетку через систему межмолекулярных взаимодействий белков внеклеточного матрикса, интегринов и цитоскелета приводит к запуску сигнальных процессов. В частности, они активируют тирозиназные фосфатазы, которые в свою очередь запускают каскад ферментативных реакций, оказывающих влияние на механорецепторные процессы в клетке. Поскольку филамин встроен в систему взаимодействия интегринов с цитоскелетом, можно было ожидать, что он принимает участие в этих процессах. Действительно, было установлено, что приложение силы к магнитным шарикам, открытым RGD-пептидом (фрагментом фибронектина) и взаимодействующим с интегринными, приводит к фосфорилированию филамина по серину и накоплению фибриллярного актина и примембранной области. При ингибировании протеинкиназы C не происходит фосфорилирования филамина и реорганизации актиновых структур под действием силы.

Исследования последних лет показали, что в передаче механического сигнала при участии филамина помимо микрофиламентов вовлечены и микротрубочки. Обнаружен новый белок CLIP-170, который взаимодействует с растущим концом микротрубочек и способен перемещаться от центра их организации к периферии клетки (D'Addario et al., 2003). Исследователи показали, что белок CLIP-170 непосредственно взаимодействует с β -актином и филамином, причем взаимодействие с β -актином усиливается под воздействием силы. С помощью метода иммунопреципитации были выявлены комплексы, содержащие тубулин, актин и филамин A. На рис. 3 представлена схема взаимосвязи актинового цитоскелета с микротрубочками и их участия в экспрессии филамина (D'Addario et al., 2001, 2002, 2003; Wang et al., 2005).

Показано, что филамин участвует также и в регуляции проводимости ионных каналов SAC (stretch-activated, calcium-permeable channels), активируемых растяжением (Glogauer et al., 1998). Передача механического сигнала осуществляется через внеклеточные адгезионные контакты и связана с реорганизацией кортикального актина при участии филамина. В клетках, дефицитных по филамину, не наблюдается сосредоточения фибрил-

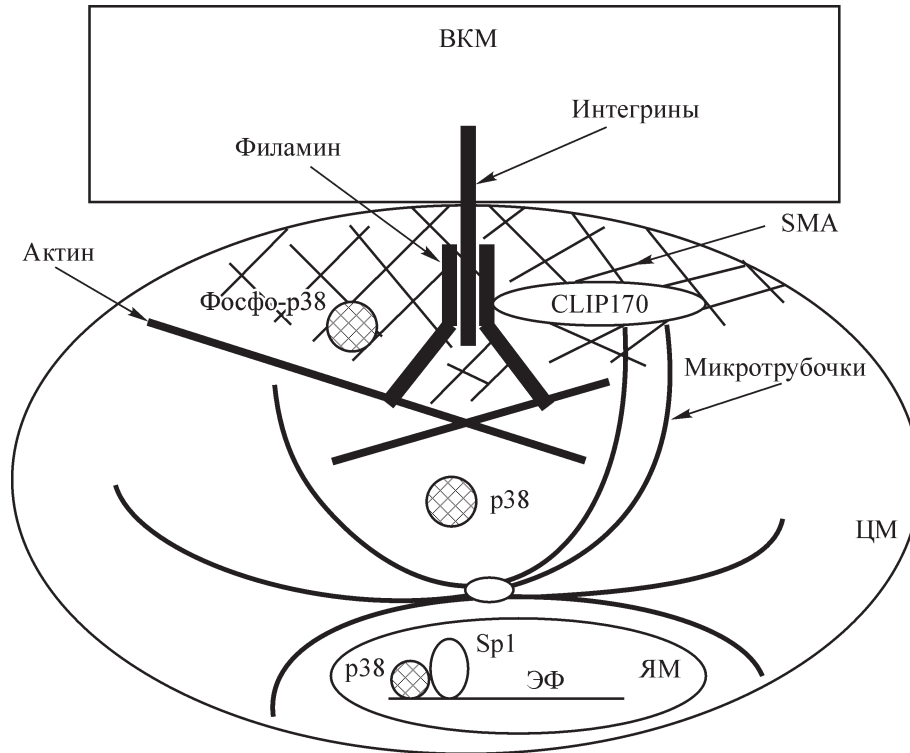


Рис. 3. Схематическое представление влияния актинового цитоскелета и микротрубочек на экспрессию филамина.

ВКМ — внеклеточный матрикс, ЦМ и ЯМ — соответственно цитоплазматическая и ядерная мембраны, ЭФ — экспрессия филамина, CLIP170 — цитоплазматический линкер-170 (cytoplasmic linker protein-170), p38 — митогенактивируемая протеинкиназа, фосфо-p38 — фосфорилированная форма митогенактивируемой протеинкиназы, SMA — гладкомышечный актин, Sp1 — транскрипционный фактор.

лярного актина под мембраной в ответ на приложение силы (Glogauer et al., 1998).

Помимо участия в проведении механического сигнала филамин осуществляет также защитную функцию, предохраняя клетки от гибели при действии на них избыточного растяжения или давления. Оказалось, что защитная функция филамина определяется уровнем его синтеза в клетке (Glogauer et al., 1998). Установлено, что в гладкомышечных клетках экспрессия филамина индуцируется под действием механической силы путем взаимодействия транскрипционных факторов Sp1 и p38 с промотором гена филамина (D'Addario et al., 2001). Механический сигнал передается через адгезионный комплекс $\alpha 2\beta 1$ интегрин с гладкомышечным актином (SMA) и активирует митогенактивируемую протеинкиназу p38. Фосфорилированная p38 вступает во взаимодействие с актиновыми филаментами и перераспределяется в ядро (Wang et al., 2005). В ядре p38 связывается с транскрипционным фактором Sp1, что приводит к его фосфорилированию и экспрессии филамина. Следует отметить, что вышеупомянутый белок CLIP-170, который связывает микротрубочки и актиновый цитоскелет, также участвует в модуляции экспрессии филамина (D'Addario et al., 2002, 2003).

Взаимодействие филамина с протеинкиназами

С филамином взаимодействует ряд протеинкиназ, выполняющих важную роль в регуляции сигнальных молекул и в передаче внутриклеточного сигнала. К ним от-

носятся некоторые серин-треониновые киназы: протеинкиназа А, протеинкиназа С, Ca^{2+} -кальмодулинзависимая протеинкиназа II и p90-рибосомальная S6-киназа (RSK).

Эти киназы, связываясь с филамином, прежде всего фосфорилируют его и тем самым регулируют все его основные функции. Так, фосфорилирование филамина протеинкиназой А повышает его устойчивость к протеолиту кальпаином. Ca^{2+} -кальмодулинзависимая протеинкиназа II снижает его актинсвязывающую активность (Stossel et al., 2001), а рибосомальная S6-киназа обеспечивает взаимодействие филамина с другой протеинкиназой — p21-активируемой киназой I (Pak1), ответственной за реорганизацию цитоскелета и формирование раффлов. Показано, что RSK фосфорилирует Ser²¹⁵² филамина (Woo et al., 2004). Фосфорилирование этого аминокислотного остатка необходимо для взаимодействия филамина с Pak1, контролирующего возникновение мембранного раффлинга (Vadlamudi et al., 2002; Woo et al., 2004).

Одной из важных сигнальных молекул, влияющих на рост и дифференцировку клеток, является серин-треониновая протеинкиназа С (PKC). Тиггес с коллегами (Tigges et al., 2003) показали, что PKC связывается с филамином и фосфорилирует его. Филамин имеет два сайта взаимодействия с PKC. Связывание регуляторного домена протеинкиназы с этими сайтами зависит от присутствия Ca^{2+} и фосфолипидов. Было обнаружено также, что фосфорилируются только изоформы филамина А и С, но не филамин В.

Другой серин-треонинкиназой, взаимодействующей с филамином, является SEK1 — представитель стрессактивируемого Jun-киназного сигнального каскада. Этот

каскад включает в себя киназы MEKK, SEK1 и SAPK (стрессактивируемая протеинкиназа) и приводит к фосфорилированию транскрипционного фактора C-jun. Он активируется стрессовыми факторами, такими как интерлейкин 1 (IL1), фактор некроза опухолей- α (TNF α), тепловой шок, УФ-излучение и ингибирование белкового синтеза. SEK1 активирует SAPK, фосфорилирует и активирует киназу p38 (Derijard et al., 1995; Marti et al., 1997). Активируется ли экспрессия филамина при взаимодействии SEK1 с филамином и последующей активации p38, неизвестно.

Таким образом, путем непосредственного взаимодействия с протеинкиназами и другими белками филамин помимо выполнения основных своих структурных функций оказывается вовлеченным в сложную систему сигнальных процессов.

Взаимодействие филамина с транскрипционными факторами

Филамин взаимодействует не только с протеинкиназами, но и с транскрипционными факторами и их регуляторами. Наибольший интерес представляет его взаимодействие с андрогеновым рецептором человека, являющимся лигандзависимым транскрипционным фактором, ответственным за развитие мужского фенотипа. В отсутствие лиганда он локализован в цитоплазме. Под действием его естественного лиганда — 5 α -дигидротестостерона — происходит перемещение андрогенового рецептора в ядро, где он становится транскрипционным фактором, индуцируя экспрессию соответствующих генов. Для выявления белков, непосредственно взаимодействующих с андрогеновым рецептором, Озанне с коллегами (Ozanne et al., 2000) применили двухгибридный анализ. В результате этих исследований было установлено, что аминокислотные остатки 1788—2121 филамина А взаимодействуют с аминокислотными остатками 622—670 «hinge»-домена андрогенового рецептора и что филамин является негативным регулятором функции рецептора. Для выявления функционального значения этого взаимодействия в клетках меланокарциномы M2, дефицитных по филамину А, был экспрессирован зеленый флуоресцирующий белок, слитый с андрогеновым рецептором. Оказалось, что в клетках, дефицитных по филамину, рецептор остается в цитоплазме даже после длительного воздействия лиганда. Транспорт же его в ядро восстанавливается только после введения в клетки генетической конструкции, обеспечивающей экспрессию полноразмерного филамина дикого типа (Ozanne et al., 2000).

Далее выяснилось, что филамин не только способствует транслокации андрогенового рецептора, но и перемещается в ядро совместно с ним. При этом в ядре выявляется не полноразмерный филамин, а только его С-терминальный фрагмент 100 кДа, с которым непосредственно связан рецептор. Отщепление этого фрагмента осуществляется цистеиновой протеазой кальпаином в присутствии кальция под действием 5 α -дигидротестостерона.

В присутствии филамина рецептор не способен выполнять свою трансактивирующую функцию. Это становится возможным только после вытеснения фрагмента из комплекса коактиватором транскрипции транскрипционным промежуточным фактором 2 (transcriptional in-

termediary factor 2, TIF2), активирующим функцию андрогенового рецептора (Loy et al., 2003).

Каким образом перемещается в ядро фрагмент филамина с сидящим на нем андрогеновым рецептором, еще неизвестно.

В последнее время появилась статья, демонстрирующая, что другой транскрипционный фактор (FOXС1) способен взаимодействовать как с аминокислотными последовательностями 1779—2289 С-концевого домена филамина, так и с N-концевыми последовательностями 571—866 и 867—1154. Данный транскрипционный фактор важен для формирования мезодермальных клеточных слоев и невральных выступов (Berry et al., 2005). Однако филамин в этом случае выступает не в качестве активатора этого транскрипционного фактора, а, наоборот, негативного регулятора. Негативная регуляция осуществляется при участии белка PBX1, также непосредственно взаимодействующего с филамином и образующего неактивный комплекс с FOXС1. Кроме того, в этой же работе (Berry et al., 2005) впервые было показано появление полноразмерного филамина в ядре, что противоречит данным о возможности транслокации в ядро только его С-терминального фрагмента. Сейчас трудно сказать, является это результатом введения в клетку генетической конструкции или действительно в ядро может перемещаться не только фрагмент, но и полная молекула филамина. Дело в том, что накопление в ядре полноразмерного филамина происходит только при оверэкспрессии филамина. Это может означать, что при избытке в клетке свободного, не связанного с актином филамина часть его может переходить в ядро.

Другим примером взаимодействия филамина с транскрипционными факторами и влияния на транскрипцию генов является его взаимодействие со SMAD-белками. Представители семейства SMAD взаимодействуют с рецептором TGF- β . Белки SMAD находятся в неактивном состоянии в примембранной области цитоплазмы. При активации рецептора TGF- β 1 и 6 факторов SMAD (R-SMAD) активируется и связывается со SMAD4 и образованный комплекс R-SMAD—SMAD4 направляется в ядро для взаимодействия с промотором соответствующего гена (Wrana, 2000). С помощью двухгибридного анализа было установлено, что С-концевой участок филамина взаимодействует непосредственно с транскрипционными факторами SMAD1—6 (Sasaki et al., 2001). В клетках, дефицитных по филамину, нарушаются TGF-зависимый сигнальный каскад и транспорт фактора в ядро. Возможно, филамин служит коровым белком, для поддержания конформационно активного состояния SMAD-белков и обеспечения их локализации в местах взаимодействия с рецепторами (Sasaki et al., 2001).

Вполне вероятно, что с помощью механизмов, аналогичных механизмам регуляции функции адренергического рецептора, филамин и в этом случае подвергается расщеплению и транспортируется в ядро совместно со SMAD-белками. Такие данные, однако, в литературе отсутствуют.

Еще одним белком, взаимодействующим с филамином и участвующим в активации транскрипционных факторов, является TRAF2, который включен в MAP-киназный путь. Он принимает участие в передаче сигнала с рецептора TNF. Было показано, что в клетках M2 меланокарциномы передача сигнала через TRAF-комплексы зависит от степени экспрессии филамина. В клетках, дефицитных по филамину, TNF не активирует NF- κ B и

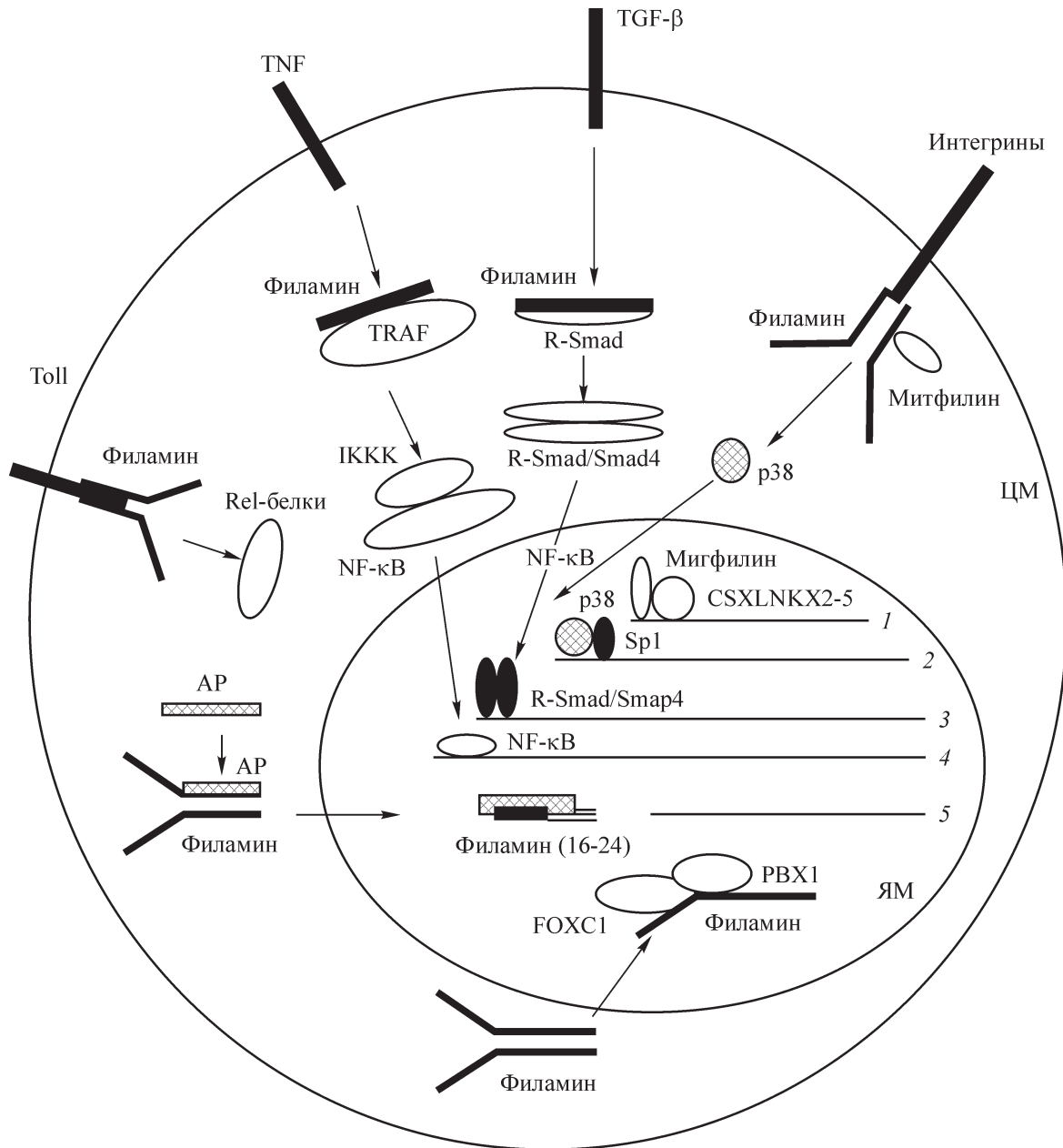


Рис. 4. Схема взаимодействий филамина с транскрипционными факторами и транспорта филамина в ядро.

ЦМ и ЯМ — соответственно цитоплазматическая и ядерная мембраны, TGF-β — трансформирующий фактор роста β, TNE — фактор некроза опухолей, CSXLNK2-5 — кардиальный транскрипционный фактор, FOXC1 — семейство транскрипционных факторов (Forkhead Box (FOX)), RBX1 — регуляторный элемент транскрипционных комплексов, AP — андрогеновый рецептор, NF-κB — транскрипционный фактор NF-κappaB, p38 — митогенактивируемая протеинкиназа, Sp1 — транскрипционный фактор, IKKK — киназа IκB-киназы, TRAF — фактор, ассоциированный с рецептором TNF, R-Smad/Smad4 — комплекс между SMAD4 и любым из SMAD1-6 (R-SMAD). 1 — экспрессия кардиальных генов, 2 — экспрессия филамина, 3 — экспрессия генов-мишеней серин-треониновыми киназами под контролем Smad и других транскрипционных факторов (p38), 4 — экспрессия генов-мишеней NF-κB, 5 — экспрессия генов-мишеней адренергического рецептора.

SAPK. Наряду с этим гиперэкспрессия филамина также ингибирует активацию NF-κB, индуцированную рядом факторов (Leonardi et al., 2000).

Таким образом, филамин может выполнять функцию и активатора, и ингибитора сигнальных белков, а результат его действия зависит от уровня экспрессии этого белка в клетке. Появились, в частности, данные о том, что инсулиновый рецептор напрямую взаимодействует с филамином. Экспрессия филамина вызывает селективное ингибирование передачи инсулинового сигнала, который регулирует активность MAP-киназного каскада (He

et al., 2003). В соответствии с ролью негативного регулятора избыточная экспрессия филамина А ингибирует способность инсулина активировать различные сигнальные интермедиаты (Shc, SOS и MARK) (He et al., 2003).

Недавно выяснили, что и мигфилин — белок, взаимодействующий со всеми изоформами филамина и являющийся компонентом межклеточных и адгезионных контактов клетки, также мигрирует в ядро, где взаимодействует с транскрипционным фактором сердца (CSX/NKX2-5) и активирует дифференцировку кардиомиоцитов (Akazawa et al., 2004; Gkretsi et al., 2005; Wu, 2005).

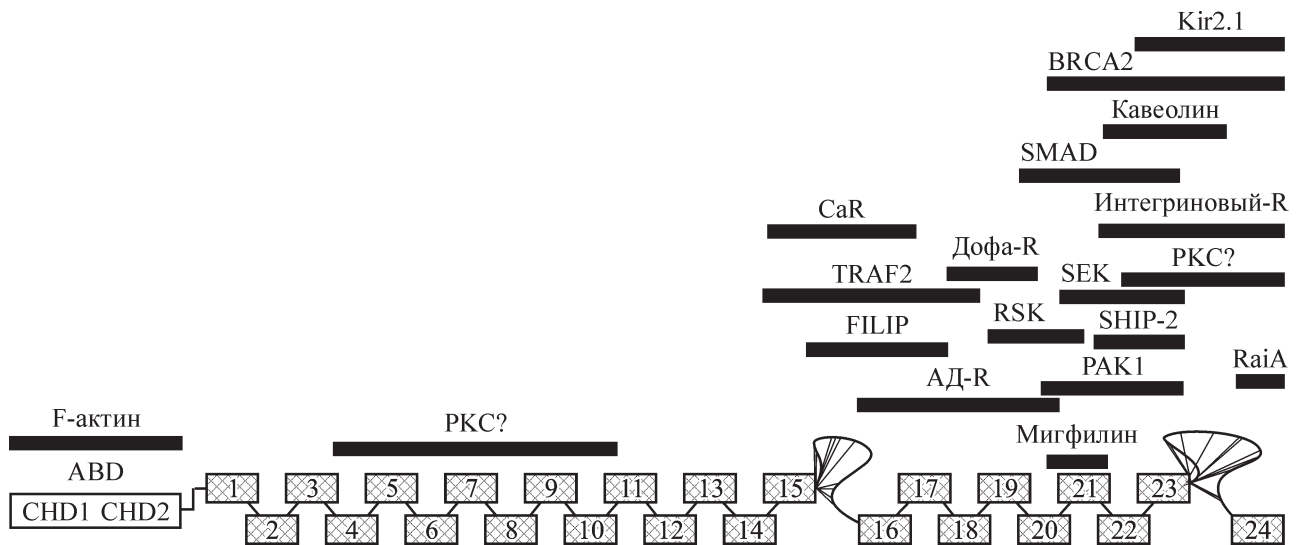


Рис. 5. Схема взаимодействий филамина (Feng, Walsh, 2004).

АД-R — андрогеновый рецептор, Дофа-R — дофаминовый рецептор, Интегриновый-R — интегринный рецептор, *прямоугольниками* обозначены повторы филамина с 1-го по 24-й; петлевидные структуры изображены между повторами 15—16 и 23—24, ABD — актинсвязывающий домен, BRCA2 — гены наследственного рака груди, CaR — кальцитонинный рецептор, FILIP — белок, взаимодействующий с филамином А, Kir2.1 — калиевые каналы, ПАК1 — p21-активируемая киназа 1, ПКС — протеинкиназа С, RaiA — GTPаза семейства Rac, RSK — рибосомальные киназы S6, SEK — киназа MAP-киназы, SHIP-2 — инозитолфосфатаза-5, содержащая домен SH2, SMAD — транскрипционный фактор. Рисунок публикуется с любезного разрешения авторов.

Схема взаимодействия филамина с транскрипционными факторами и транспорт филамина в ядро представлены на рис. 4.

Заключение

Приведенные в обзоре данные показывают, что филамин является полифункциональным белком, способным выполнять четыре разные, но взаимосвязанные функции. Во-первых, как структурный актинсвязывающий белок он принимает участие в организации уже существующих и в формировании новых структур актиновых филаментов и связывает их с плазматической мембраной клетки. Во-вторых, он выполняет роль матрицы, с которой взаимодействует ряд рецепторов, сигнальных молекул и транскрипционных факторов. В-третьих, филамин является обязательным элементом системы передачи сигналов с поверхности клетки на цитоскелет, что особенно ярко проявляется при передаче механического сигнала. И наконец, он обеспечивает доставку сигнальной молекулы (андрогенового рецептора) непосредственно в ядро и принимает участие в регуляции ее взаимодействия с ДНК.

Несмотря на большое число имеющихся в литературе данных о взаимоотношениях филамина с разнообразными белковыми молекулами, остается еще много неясного в механизмах этих взаимодействий. Для того чтобы представить себе в полной мере степень его участия в сигнальных процессах, необходимо ответить по крайней мере на два главных вопроса: каким образом отщепляющийся от филамина фрагмент, несущий на себе андрогеновый рецептор, перемещается в ядро и как это сочетается с ролью филамина в качестве матрицы для сборки и взаимодействия сигнальных комплексов?

На приведенном рис. 5 (Feng, Walsh, 2004) представлено большинство взаимодействующих с филамином

молекул и указаны конкретные аминокислотные последовательности, с которыми они связываются. Обращает на себя внимание обилие этих контактов с С-терминальным доменом молекулы филамина. Более того, с одной и той же аминокислотной последовательностью способно взаимодействовать сразу несколько белков. Например, с 21—23-м повторами связываются ПАК1, PSK, SHIP2, SEK, SMAD и кавеолин. Аналогичные группы молекул взаимодействуют с другими повторами. Возникает вопрос: конкурируют эти молекулы между собой за места связывания или могут связываться одновременно, что дает возможность свести вместе разные элементы сигнального комплекса и облегчить их контакт между собой?

К настоящему времени известно, что некоторые белки, взаимодействующие с филамином, являются компонентами одного сигнального комплекса. Например, фосфатаза SHIP2 и гликопротеин GPIb-IX-V формируют тетрамерные комплексы с филамином и актином, регулируя концентрацию фосфотидилинозитола (Dyson et al., 2001, 2003; Berndt et al., 2006; Nakamura et al., 2006). Другой белковый комплекс включает в себя Trio, Rho-ГТФазы и серин-треониновые киназы, участвующие в реорганизации и пространственной организации актиновых филаментов: Trio и ПАК1 взаимодействуют с филамином и образуют сигнальные комплексы с Rac1. Trio специфически активирует Rac1, RhoA и RhoG и катализирует переход связанного с филамином комплекса от Rac1-GDP к Rac1-GTP. Затем Rac1-GDP активирует ПАК1 (Brakebusch, Fässler, 2003). Непосредственное взаимодействие Rac1 и ПАК1 на филамине не доказано, однако известно, что в клетках HL-60 Rac1 взаимодействует с изоформами ПАК (Nisimotoa, Ogawa, 2002).

Таким образом, филамин является скаффолдом для образования сигнальных комплексов и регуляции сигнальных процессов в клетке. Вполне возможно, однако, что конкурентный характер взаимодействия также имеет место.

Является многоплановость в функционировании филамина уникальной или такое поведение присуще и другим актинсвязывающим белкам? Если сравнивать их с филамином по отдельным свойствам, то между ними можно обнаружить много сходства. Например, целый ряд примембранных актинсвязывающих белков — зиксин (Nix et al., 2001), паксиллин (Woods et al., 2002), эзрин (Kaul et al., 1999) и альфа-актинин (Бабаков и др., 2004), как и филамин, способны мигрировать в ядро. Известно также, что они могут служить матрицами, с которыми взаимодействуют сигнальные молекулы. При этом, однако, неизвестно, несут ли они на себе при миграции в ядро транскрипционные факторы или другие сигнальные молекулы, индуцирующие процесс экспрессии генов. Исключение составляет альфа-актинин, для которого показано, что он взаимодействует с транскрипционным фактором NF-κB и мигрирует вместе с ним в ядро (Are et al., 2000; Бабаков и др., 2004).

Транслокация филамина в ядро становится возможной только после того, как кальпаин отщепляет С-концевой фрагмент, несущий на себе андрогеновый рецептор. С другой стороны, полноразмерный филамин также обнаружен в ядре, где он взаимодействует с транскрипционным фактором FOXC1 (Ozanne et al., 2000; Loy et al., 2003; Berry et al., 2005). Как филамин попадает в ядро, в настоящий момент неясно, однако известно, что под действием механических сил происходит активация транскрипции филамина. В этих условиях при оверэкспрессии филамина в клетке избыток полноразмерного филамина может переходить в ядро и участвовать в регуляции транскрипции (D'Addario et al., 2002).

Спектрин, талин и винкулин являются мишенями кальпаина, и от них также отщепляются фрагменты (Reid et al., 1993; Nath et al., 1996; Huh et al., 2001; Yan et al., 2001). При этом, однако, остается неизвестным, перемещаются ли эти фрагменты в ядро и несут ли они на себе сигнальные молекулы. Что касается механизмов транслокации в ядро всех без исключения актинсвязывающих белков, то они до настоящего времени не установлены. Можно предполагать, что эту роль выполняют импортины или кариоферины, но о механизмах их перемещения в ядро также ничего неизвестно.

Следует обратить внимание на возможные последствия фрагментирования филамина и других подмембранных актинсвязывающих белков. Все они в той или иной степени принимают участие в формировании пространственной организации цитоскелета и в осуществлении его связи с трансмембранными рецепторами. Следовательно, как фрагментация этих белков, так и их транслокация в ядро без расщепления должны сопровождаться локальной или генерализованной реорганизацией актинового цитоскелета. Действительно, подобная реорганизация наблюдается в клетках в процессе их миграции и при действии на них ростовых факторов или других растворимых лигандов. Несмотря на то что эти факты были установлены, остается неясным, связаны ли эти перестройки цитоскелета с перемещением в ядро вышеупомянутых белков в процессе передачи внутриклеточного сигнала.

Таким образом, сходство свойств ряда актинсвязывающих белков и филамина позволяет прийти к заключению о потенциальной способности актинсвязывающих белков принимать участие в проведении внутриклеточного сигнала по сходному с филамином алгоритму.

Список литературы

- Бабаков В. Н., Бобков Д. Е., Петухова О. А., Туроверова Л. В., Кропачева И. В., Подольская Е. П., Пинаев Г. П. 2004. Альфа-актинин-4 и субъединица p65/RelA транскрипционного фактора NF-κB в клетках A431 локализируются совместно и мигрируют в ядро при действии эпидермального фактора роста. Цитология. 46 (12) : 1065—1073.
- Akazawa H., Kudoh S., Mochizuki N., Takekoshi N., Takanashi H., Nagai T., Komuro I. 2004. A novel LIM protein Cal promotes cardiac differentiation by association with CSX/NKX2-5. J. Cell Biol. 164 : 395—405.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 2002. Molecular biology of the cell. 4th ed. New York: Garland Sci. Publ. 1463 p.
- Are A. F., Galkin V. E., Pospelova T. V., Pinaev G. P. 2000. The p65/RelA subunit of NF-κB interacts with actin-containing structures. Exp. Cell Res. 256 : 533—544.
- Berndt M. C., Cranmer S. L., Andrews R. K. 2006. Filamin A interaction with GPIIb: the platelet shapes up. Blood. 107 : 1745.
- Berry F. B., O'Neill M. A., Coca-Prados M., Walter M. A. 2005. FOXC1 transcriptional regulatory activity is impaired by PBX1 in a filamin A-mediated manner. Mol. Cell. Biol. 25 : 1415—1424.
- Brakebusch C., Fässler R. 2003. The integrin—actin connection, an eternal love affair. EMBO J. 22 : 2324—2333.
- Choquet D., Felsenfeld D. P., Sheetz M. P. 1997. Extracellular matrix rigidity causes strengthening of integrin-cytoskeletal linkages. Cell. 88 : 39—48.
- Clark E. A., King W. G., Brugge J. C., Symons M., Hynes R. O. 1998. Integrin-mediated signals regulated by members of the Rho family of GTPases. J. Cell Biol. 142 : 573—586.
- D'Addario M., Arora P. D., Ellen R. P., McCulloch C. A. G. 2002. Interaction of p38 and Sp1 in a mechanical force-induced, integrin-mediated transcriptional circuit that regulates the actin-binding protein filamin-A. J. Biol. Chem. 277 : 47 541—47 550.
- D'Addario M., Arora P. D., Ellen R. P., McCulloch C. A. G. 2003. Regulation of tension-induced mechanotranscriptional signals by the microtubule network in fibroblasts. J. Biol. Chem. 278 : 53 090—53 097.
- D'Addario M., Arora P. D., Fan J., Ganss B., Ellen R. P., McCulloch C. A. G. 2001. Cytoprotection against mechanical forces delivered through beta 1 integrins requires induction of filamin A. J. Biol. Chem. 276 : 31 969—31 977.
- Derijard B., Raingeaud J., Barrett T., Wu I. H., Han J., Ulevitch R. J., Davis R. J. 1995. Independent human MAP-kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms. Science. 267 : 682—685.
- Dyson J. M., Munday A. D., Kong A. M., Huysmans R. D., Matzaris M., Layton M. J., Nandurkar H. H., Berndt M. C., Mitchell C. A. 2003. SHIP-2 forms a tetrameric complex with filamin, actin, and GPIIb-IX-V: localization of SHIP-2 to the activated platelet actin cytoskeleton. Blood. 102 : 940—948.
- Dyson J. M., O'Malley C. J., Becanovic J., Munday A. D., Berndt M. C., Coghill I. D., Nandurkar H. H., Ooms L. M., Mitchell C. A. 2001. The SH2-containing inositol polyphosphate 5-phosphatase, SHIP-2, binds filamin and regulates submembraneous actin. J. Cell Biol. 155 : 1065—1079.
- Edwards D. N., Towb P., Wasserman S. A. 1997. An activity-dependent network of interactions links the Rel protein Dorsal with its cytoplasmic regulators. Development. 124 : 3855—3864.
- Enz R. 2002. The actin-binding protein filamin-A interacts with the metabotropic glutamate receptor type 7. FEBS Lett. 514 : 184—188.
- Feng Y., Walsh C. A. 2004. The many faces of filamin: a versatile molecular scaffold for cell motility and signaling. Nature Cell Biol. 6 : 1034—1038.
- Gkretsi V., Zhang Y., Tu Y., Chen K., Stolz D. B., Yang Y., Watkins S. C., Wu C. 2005. Physical and functional association of migfilin with cell-cell adhesions. J. Cell Sci. 118 : 697—710.
- Glogauer M., Arora P., Chou D., Janmey P. A., Downey G. P., McCulloch C. A. G. 1998. The role of actin-binding protein 280 in

intergrin-dependent mechanoprotection. *J. Biol. Chem.* 273 : 1689—1698.

Gorlin J. B., Yamin R., Egan S., Stewart M., Stossel T. P., Kwiatkowski D. J., Hartwig J. H. 1990. Human endothelial actin-binding protein (ABP-280, nonmuscle filamin): a molecular leaf spring. *J. Cell Biol.* 111 : 1089—1105.

Hartwig J. H., Stossel T. P. 1975. Isolation and properties of actin, myosin, and a new actin binding protein in rabbit alveolar macrophages. *J. Biol. Chem.* 250 : 5696—5705.

He H.-J., Kole S., Kwon Y.-K., Crow M. T., Bernier M. 2003. Interaction of filamin A with the insulin receptor alters insulin-dependent activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. *J. Biol. Chem.* 278 : 27 096—27 104.

Hock R. S., Condeelis J. S. 1987. Isolation of a 240-kilodalton actin-binding protein from *Dictyostelium discoideum*. *J. Biol. Chem.* 162 : 394—400.

Huh G. Y., Glantz S. B., Je S., Morrow J. S., Kim J. H. 2001. Calpain proteolysis of alpha II-spectrin in the normal adult human brain. *Neurosci. Lett.* 316 : 41—44.

Ingber D. E. 2002. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.* 91 : 877—887.

Ingber D. E. 2003. Mechanosensation through integrins: cells act locally but think globally. *PNAS.* 100 : 1472—1474.

Ingber D., Folkman J. 1989. Mechanochemical switching between growth and differentiation during fibroblast growth factor-stimulated angiogenesis *in vitro*: role of extracellular matrix. *J. Cell Biol.* 109 : 317—330.

Kaul S. C., Kawai R., Nomura H., Mitsui Y., Reddel R. R., Wadhwa R. 1999. Identification of a 55-kDa ezrin-related protein that induces cytoskeletal changes and localizes to the nucleolus. *Exp. Cell Res.* 250 : 51—61.

Kim K. M., Gainetdinov R. R., Laporte S. A., Caron M. G., Barak L. S. 2005. G protein-coupled receptor kinase regulates dopamine D3 receptor signaling by modulating the stability of a receptor—filamin—arrestin complex. *J. Biol. Chem.* 280 : 12 774—12 780.

Leonardi A., Ellinger-Ziegelbauer H., Franzoso G., Brown K., Siebenlist U. 2000. Physical and functional interaction of filamin (actin-binding protein-280) and tumor necrosis factor receptor-associated factor 2. *J. Biol. Chem.* 275 : 271—278.

Lin A. R., Karpa K., Kabani N., Goldman-Rakic P., Levenson R. 2001. Dopamine D2 and D3 receptors are linked to the actin cytoskeleton via interaction with filamin. *PNAS.* 98 : 5258—5263.

Loy C. J., Sim K. S., Yong E. L. 2003. Filamin-A fragment localizes to the nucleus to regulate androgen receptor and coactivator functions. *PNAS.* 100 : 4562—4567.

Lucas R. C., Detwiler T. C., Stracher A. 1976. The identification and isolation of a high molecular weight (270,000 dalton) actin-binding-protein from human platelets. *J. Cell Biol.* 70 : 259 a. (Abstract).

Marti A., Luo Z., Cunningham C., Ohta Y., Hartwig J., Stossel T. P., Kyriakis J. M., Avruch J. 1997. Protein-280 Binds the stress-activated protein kinase (SAPK) activator SEK-1 and is required for tumor necrosis factor-alpha activation of SAPK in melanoma cells. *J. Biol. Chem.* 272 : 2620—2628.

Mayer B. J., Baltimore D. 1993. Signalling through SH2 and SH3 domains. *Trends Cell Biol.* 3 : 8—13.

Nakamura F., Pudas R., Heikkinen O., Permi P., Kilpeläinen I., Munday A. D., Hartwig J. H., Stossel T. P., Ylänne J. 2006. The structure of the GPIb—filamin A complex. *Blood.* 107 : 1925—1932.

Nath R., Raser K. J., Stafford D., Hajimohammadreza I. R., Pozner A., Allen H., Talanian R. V., Yuen P., Gilbertsen R. B., Wang K. K. W. 1996. Non-erythroid α -spectrin breakdown by calpain and interleukin 1 β -converting-enzyme-like protease(s) in apoptotic cells: contributory roles of both protease families in neuronal apoptosis. *Biochem. J.* 319 : 683—690.

Nisimoto Y., Ogawa H. 2002. Interaction between p21-activated protein kinase and Rac during differentiation of HL-60 human promyelocytic leukemia cell induced by all-trans-retinoic acid. *Eur. J. Biochem.* 269 : 2622—2629.

Nix D. A., Fradelizi J., Bockholt S., Menichi B., Louvard D., Friederich E., Beckerle M. C. 2001. Targeting of zyxin to sites of actin membrane interaction and to the nucleus. *J. Biol. Chem.* 276 : 34 759—34 767.

Ohta Y., Suzuki N., Nakamura S., Hartwig J. H., Stossel T. P. 1999. The small GTPase RalA targets filamin to induce filopodia. *PNAS.* 96 : 2122—2128.

Onji T., Takagi M., Shibata N. 1987. Calpain abolishes the effect of filamin on the actomyosin system in platelets. *Biochim. biophys. acta.* 912 : 283—286.

Onoprishvili I., Andria M. L., Kramer H. K., Ancevska-Taneva N., Hiller J. M., Simon E. J. 2003. Interaction between the μ opioid receptor and filamin a is involved in receptor regulation and trafficking. *Mol. Pharmacol.* 64 : 1092—1100.

Ozanne D. M., Brady M. E., Cook S., Gaughan L., David E. N., Robson C. N. H. 2000. Androgen receptor nuclear translocation is facilitated by the f-actin cross-linking protein filamin. *Mol. Endocrinol.* 14 : 1618—1626.

Pfaff M., Liu S., Erle D. J., Ginsberg M. H. 1998. Integrin β cytoplasmic domains differentially bind to cytoskeletal proteins. *J. Biol. Chem.* 273 : 6104—6109.

Price L. S., Leng J., Schwartz M. A., Bokoch G. M. 1998. Activation of Rac and Cdc42 by integrins mediates cell spreading. *Mol. Biol. Cell.* 9 : 1863—1871.

Puck T. T. 1977. Cyclic AMP, the microtubule-microfilament system, and cancer. *PNAS.* 74 : 4491—4495.

Reid D. M., Jones C. E., Luo C. Y., Shulman N. R. 1993. Immunoglobulins from normal sera bind platelet vinculin and talin and their proteolytic fragments. *Blood.* 81 : 745—751.

Sasaki A., Masuda Y., Ohta Y., Ikeda K., Watanabe K. 2001. Filamin associates with Smads and regulates transforming growth factor- β signaling. *J. Biol. Chem.* 276 : 17 871—17 877.

Sato M., Nagano T. 2005. Involvement of filamin A and filamin A-interacting protein (FILIP) in controlling the start and cell shape of radially migrating cortical neurons. *Anat. Sci. Int.* 80 : 19—29.

Schmidt A., Hall M. H. 1998. Signalling to the actin cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.* 14 : 305—338.

Seck T., Baron R., Horne C. W. 2003. Binding of filamin to the C-terminal tail of the calcitonin receptor controls recycling. *J. Biol. Chem.* 278 : 10 408—10 416.

Stossel T. P., Condeelis J., Cooley L., Hartwig J. H., Noegel A., Schleicher M., Shapiro S. S. 2001. Filamins as integrators of cell mechanics and signaling. *Mol. Cell Biol.* 2 : 138—145.

Stossel T. P., Hartwig J. H. 1975. Interactions between actin, myosin, and an actin-binding protein from rabbit alveolar macrophages. Alveolar macrophage myosin Mg²⁺-adenosine triphosphatase requires a cofactor for activation by actin. *J. Biol. Chem.* 250 : 5706—5712.

Stossel T. P., Hartwig J. H. 2003. Filling gaps in signaling to actin cytoskeletal remodeling. *Develop. Cell.* 4 : 444—445.

Takafuta T., Saeki M., Fujimoto T. T., Fujimura K., Shapiro S. S. 2003. A new member of the LIM protein family binds to filamin B and localizes at stress fibers. *J. Biol. Chem.* 278 : 12 175—12 181.

Takafuta T., Wu G., Murphy G. F., Shapiro S. S. 1998. Human α -filamin is a new protein that interacts with the cytoplasmic tail of glycoprotein Ib alpha. *J. Biol. Chem.* 273 : 7531—7538.

Thompson T. G., Chan Y.-M., Hack A. A., Brosius M., Rajala M., Lidow H. G. W., McNally E. M., Watkins S., Kunkel L. M. 2000. Filamin2 (FLN2): a muscle-specific sarcoglycan interacting protein. *J. Cell Biol.* 148 : 115—126.

Tigges U., Koch B., Wissing J., Jockusch B. M., Ziegler W. H. 2003. The F-actin cross-linking and focal adhesion protein filamin-a is a ligand and *in vivo* substrate for protein kinase C α . *J. Biol. Chem.* 278 : 23 561—23 569.

Tu Y., Wu S., Shi X., Chen K., Wu C. 2003. Migfilin and Mig-2 link focal adhesions to filamin and the actin cytoskeleton and function in cell shape modulation. *Cell.* 113 : 37—47.

Vadlamudi R. K., Li F., Adam L., Nguyen D., Ohta Y., Stossel T., Kumar R. 2002. Filamin is essential in actin cytoskeletal assembly mediated by p21-activated kinase1. *Nature Cell Biol.* 4 : 681—690.

Wang K., Ash J. F., Singer S. J. 1975. Filamin, a new high-molecular-weight protein found in smooth muscle and non-muscle cells. PNAS. 72 : 4483—4486.

Wang J., Fan J., Laschinger C., Arora P. D., Kapus A., Seth A., McCulloch C. A. 2005. Smooth muscle actin determines mechanical force-induced p38 activation. J. Biol. Chem. 280 : 7273—7284.

Weihing R. R. 1985. The filamins: properties and functions. Can. J. Biochem. Cell Biol. 63 : 397—413.

Woo M. S., Ohta Y., Rabinovitz I., Stossel T. P., Blenis J. 2004. Ribosomal S6 kinase (RSK) regulates phosphorylation of filamin-a on an important regulatory site. Mol. Cell. Biol. 24 : 3025—3035.

Woods A. J., Roberts M. S., Choudhary J., Barry S. T., Mazaki Y., Sabe H., Morley S. I., Critchley D. R., Norman J. C. 2002. Paxillin associates with poly (A)-binding protein 1 at the dense endoplasmic reticulum and the leading edge of migrating cells. J. Biol. Chem. 277 : 6428—6437.

Wrana L. J. 2000. Regulation of Smad activity. Cell. 100 : 189—192.

Wu C. 2005. Migfilin and its binding partners: from cell biology to human diseases. J. Cell Sci. 118 : 659—664.

Xie Z., Xu E. W., Davie D. W., Chung D. W. 1998. Molecular cloning of human ABPL, an actin-binding protein homologue. Biochem. Biophys. Res. Commun. 251 : 914—914.

Xu L., Gonzalez-Agost C., Beauchamp R., Pinney D., Sterner C., Ramesh V. 1998. Analysis of molecular domains of epitope-tagged merlin isoforms in Cos-7 cells and primary rat Schwann cells. Exp. Cell Res. 238 : 231—240.

Yamada K. M., Geiger B. 1997. Molecular interactions in cell adhesion complexes. Curr. Opin. Cell Biol. 9 : 76—85.

Yan B., Calderwood D. A., Yaspan B., Ginsberg M. H. 2001. Calpain cleavage promotes talin binding to the beta 3 integrin cytoplasmic domain. J. Biol. Chem. 276 : 28 164—28 170.

Zhang M., Breitwieser G. E. 2005. High affinity interaction with filamin A protects against calcium-sensing receptor degradation. J. Biol. Chem. 280 : 11 140—11 146.

Поступила 24 V 2006

THE FILAMIN IN CELL SIGNALING

F. M. Komaludinova, G. P. Pinaev

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg

This review describes structure and functions of the group of actin-binding proteins — the filamins. Up-to-date facts demonstrate that filamins take part in different regulatory processes in the cell. The filamins have diverse functions — organization of actin polymers into orthogonal networks (three-dimensional scaffolding), attachment of actin filaments to transmembrane receptors, regulation of actin—myosin interaction, regulation of actin assembly. In addition to its main role of the cytoskeleton structural protein, filamin can serve as scaffold protein for formation of signal proteins complexes. One interacts with transcription factors and takes part in signal transduction from cytoplasmic membranes to the nucleus. C-terminal end of filamin interacts with androgen receptor and through cleavage by calpain translocates to the nucleus. Analysis of reviewed experimental data suggests the conception that intracellular signalization mediated by cytoskeleton proteins is connected with reorganization of the cytoskeleton.

Key words: filamin, signaling, transcription factors, cytoskeleton.