

МЕХАНИЗМЫ СЕГРЕГАЦИИ ИЗОФОРМ АКТИНА В КЛЕТКЕ

© С. Ю. Хайтлина

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: skhspb@yahoo.com*

Актин является одним из наиболее консервативных белков клетки. В цитоплазме две изоформы актина, β - и γ -актин, различаются только 4 из 374 аминокислотных остатков. Тем не менее результаты биохимических, иммуноцитохимических и молекулярно-биологических экспериментов показывают, что количество изоформ актина и их локализация находятся под строгим контролем клетки. Хотя на ранних стадиях дифференцировки потенциально возможна экспрессия любого гена актина, в дифференцированных клетках изоформы актина пространственно разделены. Разные изоформы актина не могут заменить друг друга, и изменения в скоординированной экспрессии изоформ актина сопровождаются структурными и функциональными нарушениями клетки, что указывает на функциональную специфичность каждой изоформы. В обзоре обсуждаются данные о сегрегации изоформ актина в клетках и анализируются механизмы, предложенные для объяснения пространственной сегрегации цитоплазматических изоформ.

Ключевые слова: мышечный актин, β - и γ -актины, внутриклеточный сортинг, сортинг мРНК, N-концевой процессинг.

Актин, один из основных белков сократительного аппарата мышц, является также одним из основных белков цитоскелета, и его содержание в клетке очень высоко. С актиновыми структурами цитоскелета связаны поддержание формы, движение и деление клеток, эндо- и экзоцитоз, передача медиаторов, свертывание крови, а также процессы, происходящие в эмбриогенезе (Pollard, Cooper, 1976; Egea et al., 2006; Malacombe et al., 2006). Предполагается участие цитоскелета в регуляции активности ионных каналов (Negulyaev et al., 1996, 2000; Shumilina et al., 2003; Mazzocci et al., 2006), передаче внутриклеточного сигнала в геном (DeLanerolle, Cole, 2002), транспорте мРНК и транскрипции (Bassell, Singer, 1997; Grummt, 2006; Mirales, Visa, 2006; Percipalle, Visa, 2006), в передаче медиаторов (Rosenmund, Westbrook, 1993; Prekeris et al., 1996; Dillon, Goda, 2005) и регуляции активности ферментов (Su et al., 2005). Характерной особенностью актиновых структур цитоскелета является их динамичность. В отличие от актиновых нитей стабильного сократительного аппарата скелетных мышц, образующихся однократно, микрофиламенты цитоскелета способны собираться и разбираться в зависимости от физиологического состояния клетки. Наиболее ярко это проявляется при распластывании клетки на субстрате (Moreau, Way, 1999; Small et al., 1999; Borisi, Svitkina, 2000; Faix, Rottner, 2006), в акросомной реакции сперматозоидов (Tilney et al., 1973, 1983), при перемещении патогенных бактерий внутри клетки (Cossart, Sansonetti, 2004). Нарушение процессов сборки и разборки актиновых структур приводит к нарушению нормальной жизнедеятельности клетки, в том числе к ее опухолевой трансформации (Janmey, Charonniere, 1995; Prasad, 2005; Yamaguchi, Condeelis, 2007).

Динамика микрофиламентов цитоскелета основана на двух фундаментальных свойствах актина: способности к обратимой трансформации из глобулярного состояния (G-актин) в полимер (F-актин) и взаимодействию с актинсвязывающими белками, которые могут ускорять или ингибировать полимеризацию, фрагментировать актиновые нити или связывать их в пучки и прикреплять к клеточной мембране (Pantaloni et al., 2001; Dos Remedios et al., 2003; Pollard, Borisy, 2003; Winder, Ayscough, 2005). Это означает, что динамика разных микрофиламентных структур в значительной степени определяется свойствами самого актина. Актин представлен в клетках разными изоформами. Миофибриллы скелетных мышц и сердца содержат α -изоформы актина, микрофиламенты цитоскелета состоят из β - и γ -изоактинов (Vandekerckhove, Weber, 1978). Специфические изоформы актина обнаружены в гладких мышцах, тканях беспозвоночных животных, в растениях и одноклеточных организмах. В клетке поддерживается определенное соотношение между разными изоформами актина, которые компартиментализованы и, по-видимому, выполняют разные задачи.

Сопоставление данных о распределении изоформ актина в разных сократительных системах и разных частях клетки, с одной стороны, с данными о различиях в полимеризации изоактинов — с другой, указывают на то, что свойства изоактинов соответствуют функциональным способностям тех сократительных систем, в которые они входят: мышечный α -актин способен к образованию более стабильных филаментов, в то время как филаменты β - и γ -актинов труднее образуются и легче диссоциируют (Khaitlina, 2001). Однако механизмы, которые регулируют «попадание» нужной изоформы актина в нужное

место клетки, до недавнего времени были мало изучены. Прорыв в этом направлении произошел за последние годы.

В настоящем обзоре обсуждаются данные о сегрегации изоформ актина в мышечных и неммышечных клетках и анализируются механизмы, предложенные для объяснения сегрегации β и γ -изоформ в цитоплазме неммышечных клеток. Более подробное описание свойств изоактинов и их локализации в клетках разных типов в норме и при патологии можно найти в более ранних обзорах (Rubenstein, 1990; Herman, 1993; Gunning et al., 1998; Khaitlina, 2001).

Классификация изоформ актина

Актины образуют семейство белков, кодируемых отдельными генами и более консервативных, чем большинство других белков: максимальные различия аминокислотных последовательностей актинов, выделенных из разных клеток и тканей, не превышают 10 % (Sheterline et al., 1995). Аминокислотные замены распределены по всей молекуле актина, кроме тех ее областей, которые участвуют в образовании межмономерных связей в полимере актина. С другой стороны, существуют участки повышенной варибельности. Одним из таких участков является N-концевой сегмент полипептидной цепи, который содержит кластер отрицательно заряженных аминокислотных остатков. Варибельность N-концевого сегмента, расположенного на поверхности молекулы, отражается на общем заряде актина, который можно оценить с помощью изоэлектрического фокусирования. В соответствии с подвижностью разных актинов при изоэлектрическом фокусировании в направлении уменьшения отрицательного заряда молекулы были выделены три изоформы актина — α , β и γ (Garrels, Gibson, 1976; Storty et al., 1976; Whalen et al., 1976; Rubenstein, Spudich, 1977). N-концевой сегмент α -актина содержит четыре заряженных аминокислотных остатка: в актине скелетных мышц это Asp-Glu-Asp-Glu. Соответствующий сегмент β - и γ -актинов содержит три остатка: Asp-Asp-Asp и Glu-Glu-Glu (Vandekerckhove, Weber, 1978). Эти изоформы можно также различить с помощью высоковольтного двухмерного электрофореза N-концевых пептидов актина, полученных трипсинолизом (Vandekerckhove, Weber, 1981).

Хотя разница между изоформами актина невелика, сравнение аминокислотных последовательностей показало, что миофибриллы скелетных и сердечных мышц содержат разные α -изоформы — скелетный и сердечный α -актины. Еще одна α -изоформа — гладкомышечный α -актин — является доминирующей в гладких мышцах сосудов. В гладких мышцах кишечника основным является γ -актин, который отличается от цитоплазматического γ -актина. Неммышечные клетки содержат цитоплазматические β - и γ -изоформы (Storty et al., 1976; Rubenstein, Spudich, 1977). При этом сердечный и гладкомышечный α -актины отличаются от α -актина скелетных мышц 4 и 8 заменами соответственно. Гладкомышечный γ -актин отличается от γ -актина скелетных мышц 6 заменами. Цитоплазматические β - и γ -изоформы отличаются от мышечных актинов примерно на 10 % и почти идентичны друг другу, причем все четыре различающие их замены находятся на N-конце молекулы: это N-концевые Asp-Asp-Asp или Glu-Glu-Glu и замена Val10 на Ile. Наиболее отличающимся цитоплазматическим актином яв-

ляется актин дрожжей (Ng, Abelson, 1980; Gallwitz, Sures, 1981).

Другая классификация изоформ актина основана на специфичности N-концевого процессинга. N-конец молекулы актина ацетилирован, и ацетилированный аминокислотный остаток (N-ацетил-Asp или N-ацетил-Glu) появляется в результате посттрансляционного многоступенчатого процесса (Rubenstein, 1990). Изоактины, названные молекулами класса I, кодируются как полипептиды, содержащие на N-конце Met-Asp/Glu. Этот N-конец удаляется, и новый N-концевой остаток (Asp или Glu) ацетируется, давая зрелую форму белка. Этот класс объединяет цитоплазматические β - и γ -актины и гладкомышечный γ -актин. Молекулы класса II кодируются как полипептиды, содержащие на N-конце Met-Cys-Asp/Glu. В этих актинах завершающее ацетилирование N-концевого Asp или Glu происходит после ступенчатого процесса, включающего в себя удаление Met, ацетилирование Cys-Asp/Glu и удаление ацетил-Cys. Класс II включает в себя скелетномышечный, сердечный и гладкомышечный α -актины. Актины большинства низших эукариот и беспозвоночных также являются молекулами класса II (Rubenstein, 1990).

Таким образом, синтез изоактинов тканеспецифичен. Так как каждая изоформа актина кодируется отдельным геном, специфичность синтеза регулируется на уровне экспрессии соответствующих генов. Соотношение между цитоскелетными изоформами актина, с одной стороны, и мышечными изоформами — с другой, может, по-видимому, дополнительно регулироваться при N-концевом процессинге, который является для них двухступенчатым или многоступенчатым соответственно.

Сегрегация изоформ актина в клетке

Компартментализация изоформ актина в мышечных клетках. Приведенные выше данные показывают, что в неммышечных и мышечных клетках синтезируются разные изоформы актина. Так как предшественниками мышечных клеток являются неммышечные клетки, в ходе миогенеза происходит замещение цитоплазматических изоформ актина на изоформы, характерные для данной мышечной ткани (табл. 1). С другой стороны, повреждения мышечных клеток часто сопровождаются возвращением к набору изоформ актина, характерному для ранних стадий миогенеза (Gabbiani et al., 1984; Franke et al., 1996; Schaub et al., 1997; Harden et al., 1998; Charonniere, Gabbiani, 2004; Moll et al., 2006). Смена изоформ актина во времени коррелирует с аккумуляцией соответствующих мРНК (Storti, Rich, 1976; Pateron, Eldridge, 1982; Hayward et al., 1988). Очевидно, что на промежуточных стадиях дифференцировки сосуществуют разные изоформы актина. Однако, как показывают данные табл. 1, разные изоформы актина сосуществуют и в дифференцированных клетках и тканях. Каким образом распределены эти разные изоформы в клетке?

С помощью специфических антител к разным изоформам актина α -актин выявляют в центральной части скелетных мышечных клеток, в миофибриллах, тогда как цитоплазматические актины локализованы на периферии клеток, в кортикальном слое филаментов (Lubit, Schwartz, 1980; Pardo et al., 1983; Otey et al., 1988). Цитоплазматические изоактины обнаружены также в участках сарколеммы, в которых миофибриллы подходят

Таблица 1

Смена изоформ актина в ходе миогенеза

Мышца, тип		Изоформы актина на стадии		Литературный источник
		эмбриональной	взрослой	
Скелетная	In vivo	β - и γ -цитоплазматические, α -сердечный, α -скелетный	α -скелетный (основной), β - и γ -цитоплазматические	Storti et al., 1976; Whalen et al., 1976; Vandekerckhove et al., 1986
	В культуре клеток	β - и γ -цитоплазматические, α -сердечный, α -скелетный, α -гладкомышечный		Rubenstein, Spudich, 1977; Caplan et al., 1983; Vandekerckhove et al., 1986
Сердечная	In vivo	α -скелетный, α -сердечный, α -гладкомышечный	α -сердечный (основной), β - и γ -цитоплазматические	Wiens, Spooner, 1983; Vandekerckhove et al., 1986
	В культуре клеток	То же	То же	Eppenberger-Eberhardt et al., 1990; Van Bilsen, Chien, 1993
Гладкая	In vivo	β - и γ -цитоплазматические, α -гладкомышечный	α -гладкомышечный (основной), β - и γ -цитоплазматические	Gabbiani et al., 1984; Owens et al., 1986; Skalli et al., 1987
	В культуре клеток		γ -гладкомышечный, α -гладкомышечный, β - и γ -цитоплазматические	Franke et al., 1980; Gabbiani et al., 1984

к мембране, и в Z-дисках (Craig, Pardo, 1983). Антитела, специфичные к γ -актину, выявили его присутствие в митохондриях (Pardo et al., 1983), а β -актин был обнаружен в нервно-мышечных контактах (Hall et al., 1981) и в ацетилхолиновых рецепторах (Lubit, 1984).

Кардиомиоциты предсердия взрослых мышц, культивируемые в присутствии ростовых факторов или гормонов, начинают синтезировать не только сердечный α -актин, но и значительное количество гладкомышечного α -актина (Eppenberger-Eberhardt et al., 1990). При этом локализация сердечного α -актина ограничена центральной частью кардиомиоцита, а гладкомышечный α -актин аккумулируется в стресс-фибриллах, за пределами зоны миофибрилл, и эти зоны разделены четкой границей (Harden et al., 1998). Таким же образом в культивируемых гладкомышечных клетках сосудов и перицитах гладкомышечный α -актин локализуется в стресс-фибриллах, которые являются в этих клетках аналогами миофибрилл, и не смешивается с немышечными актинами, локализованными в отдаленной от центра, кортикальной цитоплазме (DeNofrio et al., 1989; Herman, 1993). В мускульном желудке цыпленка *in vivo* гладкомышечные α - и γ -изоактины обнаруживаются в сократительной области клеток, содержащей миозин, а цитоплазматический β -актин локализован в цитоплазматических компартментах, в том числе в плотных телах, где он локализован с десмином и филамином (North et al., 1994).

Таким образом, если изоформы актина одновременно синтезируются в мышечных клетках, имеет место их компартментализация. Мышечные актины входят в состав миофибрилл, а немышечные изоформы используются в цитоплазматических структурах

Внутриклеточный сортинг β - и γ -изоформ актина. В разных клетках соотношение между двумя цитоплазматическими изоформами актина (β и γ) различно (табл. 2). Например, эритроциты позвоночных содержат только β -актин (Pinder, Gratzner, 1983). В щеточной каемке и микроворсинках эпителия кишечника цыпленка (Bretscher, Weber, 1978; Vandekerckhove, Weber,

1981), а также в слуховых волосковых клетках цыпленка (Hofer et al., 1997) доминирующим является γ -актин. Однако в большинстве клеток соотношение между β - и γ -актином составляет 2 : 1 (табл. 2). Клетки, по-видимому, поддерживают это постоянное соотношение, даже если синтез одной из изоформ изменяется за счет введения дополнительных генов. В частности, показано, что высокий уровень экзогенного мутантного β -актина в трансфицированных фибробластах одинаково снижает синтез эндогенных β - и γ -актинов и соотношение между ними сохраняется, а увеличение суммарного уровня β -актина приводит к драматическим изменениям цитоскелета трансфицированных клеток (Leavitt et al., 1987).

Специфическая локализация β -актина в клетке по отношению ко всему пулу цитоплазматического актина была впервые обнаружена в микроваскулярных перицитах (Hoock et al., 1991). Антитела к β -актину выявили его присутствие под клеточной мембраной, в ламелле и на концах стресс-фибрилл, подходящих к плазматической мембране, в то время как флуоресцентно меченный фаллоидин окрашивал стресс-фибриллы. В мигрирующем после ранения монослое эндотелиальных клеток и 3Т3-фибробластов β -актин был локализован в раффлах мембраны, псевдоподиях и на краю цитоплазмы в ламелле. Как только клетки подходили друг к другу и останавливались, образуя монослой, окраска в лидирующем крае исчезала. При этом флуоресцентно меченный фаллоидин окрашивал филаментный актин, который не окрашивался антителами к β -актину, что указывало на присутствие γ -актина в покоящихся частях клетки (Hoock et al., 1991). Появление β -актина на краю раны коррелировало с 2—3-кратным возрастанием уровня его мРНК, и, по данным гибридизации *in situ*, эта мРНК была локализована на периферии клетки (Hoock et al., 1991; Herman, 1993). Результаты этих экспериментов показали, что β -актин аккумулируется на границе между цитоскелетом и клеточной мембраной, в областях двигающейся цитоплазмы, а локализация γ -актина, по-видимому, ограничена стресс-фибриллами.

Т а б л и ц а 2

Соотношение между β - и γ -актином в разных клетках и тканях

Клетки и ткани	β/γ	Литературный источник
Эритроциты человека	1.0	Pinder, Gratzner, 1983
Слуховые волосковые клетки цыпленка	0.5	Hofer et al., 1997
Щеточная каемка интестинального эпителия цыпленка	0.6	Vandekerckhove, Weber, 1981
Париеальные клетки желудка цыпленка	1.4	Yao et al., 1995
Тромбоциты человека	2.0	Gordon et al., 1977
Мозг эмбриона цыпленка	1.0	
Печень крысы	2.5	Vandekerckhove, Weber, 1981
Тимус быка	2.6	
Эндотелиальные клетки аорты быка	2.3	Gabbiani et al., 1984
Мозг крысы	1.9	Otey et al., 1988
Сердце крысы	6.1	
Почка крысы	2.2	
Легкие крысы	1.8	
Селезенка крысы	1.8	
Остеобласты крысы	2.9	Watanabe et al., 1998
Клеточные линии:		
карцинома человека (HeLa)	2.1	Vandekerckhove, Weber, 1981
почка хомячка (ВНК)	1.7	
почка кенгуровой крысы (PtK2)	1.9	
эмбриональные фибробласты цыпленка	3.5—4.2	Leavitt et al., 1987
фибробласты человека KD и HuT12	1.7	
миобласты мышцы C2	2.0	Schevzov et al., 1992

Сегрегация β - и γ -актинов в пространстве и во времени была также обнаружена в париеальных клетках желудка (Yao et al., 1995), слуховых волосковых клетках (Hofer et al., 1997), остеобластах (Watanabe et al., 1998) и в нейронах (Weinberger et al., 1996; Ulloe, Avila, 1996; Hannan et al., 1998; Micheva et al., 1998). Для всех этих клеток характерно повсеместное присутствие γ -актина. Напротив, локализация β -актина зависит от физиологической функции клеток и стадии их дифференцировки, с явным предпочтением к отросткам и вновь образующимся компартментам. Так, в дифференцирующихся нейронах в культуре β -актин аккумулируется в конусе роста (Ulloe, Avila, 1996; Bassell et al., 1998; Hannan et al., 1998; Micheva et al., 1998), тогда как в зрелых нейронах β -актин обнаруживается в дендритах и в меньшей степени — в теле клетки, но не обнаруживается в аксонах (Weinberger et al., 1996). В развивающейся коре мозжечка аккумуляция актина также происходит в активно растущих структурах, т. е. в филоподиях конуса роста, теле клетки и в аксональном тракте. В зрелой коре мозжечка β -актин обнаруживается преимущественно в отростках дендритов — структурах, которые во взрослом мозге сохраняют способность к морфологическим модификациям (Micheva et al., 1998).

Таким образом, и соотношение между β - и γ -актинами в цитоплазме, и их локализация специфичны для разных клеток и клеточных компартментов, что указывает на существование механизмов внутриклеточного сортирования изоформ актина и позволяет предположить, что изоформы актина функционально различны.

Функциональная неэквивалентность изоформ актина. Функциональные различия между мышечными и цитоплазматическими изоформами актина

были выявлены в экспериментах с трансгенными животными. Непрямые летательные мышцы дрозофилы содержат специфическую изоформу актина, которая отличается от скелетно-мышечного актина позвоночных 28 заменами и сходна с цитоплазматическим β -актином позвоночных (Brault et al., 1999). Инактивация гена *Act88F*, который кодирует этот актин, приводит к потере мухами летательной функции. Функция не восстанавливалась при введении нуль-мутантам гена цитоплазматического β -актина (Brault et al., 1999). Аналогичные результаты были получены при замещении 18 аминокислотных остатков актина дрозофилы соответствующими остатками немускульного актина (Fyrborg et al., 1998). Показано также, что миогенные клетки фибросаркомы, которые не синтезировали скелетно-мышечный α -актин, не образовывали при дифференцировке саркомеры, хотя немускульные актины в этих клетках синтезировались (Antin, Ordahl, 1991). Это означает, что как бы ни малы были различия в первичной структуре изоформ актина, все вместе они обеспечивают уникальность каждой изоформы.

В других экспериментах большинство мышечных, у которых ген сердечного α -актина был разрушен гомологичной рекомбинацией, погибали до рождения или в течение 2 нед после рождения, хотя в сердце новорожденных мышечных был повышен уровень скелетного и гладкомышечного α -актинов. При введении гена гладкомышечного γ -актина такие мыши выживали, но обладали увеличенными и гипертрофированными сердцами с ослабленной сократимостью (Kumar et al., 1997). Трансфекция неонатальных и взрослых кардиомиоцитов гена-

ми цитоплазматических β - и γ -актинов также вызывала быстрое исчезновение сокращения и драматические изменения морфологии — уплощение клеток и появление филоподий; вновь синтезированные цитоплазматические актины были локализованы диффузно в неисчерпанных филаментных структурах и под мембраной (Von Arx et al., 1995). Похожие изменения морфологии и функции наблюдали в кардиомиоцитах, трансфицированных конструкцией, которая кодировала химерный белок, содержащий первые 83 аминокислотных остатка сердечного α -актина и C-концевую порцию цитоплазматического γ -актина. Белок, содержащий N-концевые остатки 1—83 цитоплазматического γ -актина и остатки 84—375 сердечного α -актина, был локализован как мышечный актин (Von Arx et al., 1995). Совокупность этих результатов показывает, что цитоплазматические изоформы актина не могут заменить мышечные изоформы ни в структуре мышц, ни в их сокращении.

В свою очередь индукция синтеза гладкомышечного α -актина в фибробластах снижала подвижность этих клеток (Ronnov-Jessen, Petersen, 1996). Кроме того, в эндотелиальных и эпителиальных клетках экзогенные скелетный и сердечный α -актины редко включались в стресс-фибриллы, а оставались в цитоплазме, часто в виде длинных кристаллоподобных включений (Mounier et al., 1997). Сердечный α -актин, синтезирующийся в трансфицированных нейронах, также образовывал цилиндрические структуры и только изредка присутствовал в отростках дендритов (Mounier et al., 1997). Эти данные указывают на то, что экзогенный мышечный актин может включаться в нетипичные для него структуры, но функциональные свойства клеток при этом нарушаются.

Разная роль двух цитоплазматических изоформ актина исследована только в экспериментах со сверхэкспрессией генов β - и γ -актинов. Показано, в частности, что повышенный синтез β -актина в мышечных миобластах С2 стимулировал распластывание клеток. Напротив, в клетках с высоким уровнем γ -актина площадь поверхности уменьшалась и вместо хорошо организованных стресс-фибрилл появлялась диффузная организация цитоскелета (Schevzov et al., 1992). Специфичность этих эффектов подтверждалась тем, что высокий уровень синтеза экзогенного мутантного β -актина с пониженной полимеризуемостью вызывал такие же изменения, как увеличение уровня γ -актина, а синтез экзогенного нестабильного мутанта β -актина не влиял на морфологию клеток и структуру цитоскелета (Schevzov et al., 1992). Увеличение уровня β -актина по отношению к γ -актину, обусловленное экспрессией двух разных мутантных генов β -актина, также приводило к значительным изменениям морфологии нормальных фибробластов и клеток Hut12 (Leavitt et al., 1987). С другой стороны, эффекты, вызванные трансфекцией кардиомиоцитов (Von Arx et al., 1995) или гладкомышечных, эндотелиальных и эпителиальных клеток (Mounier et al., 1997) генами β - и γ -актинов, были одинаковыми.

Таким образом, цитоплазматические изоформы актина не способны поддерживать сокращение, а мышечные изоформы не могут заменить β - и γ -актины в стресс-фибриллах и других структурах цитоскелета. Данные о функциональных различиях цитоплазматических изоформ не так однозначны, что может быть связано со специфичностью клеток и их физиологическим состоянием, а в экспериментальных условиях может объясняться недостаточно высоким уровнем экспрессии

внесенных генов по отношению к эндогенным аналогам. Однако большинство имеющихся данных позволяет предположить, что две цитоплазматические изоформы актина не могут заменить друг друга без существенных нарушений клеточной морфологии. Другими словами, каждая изоформа актина, по-видимому, функционально специализирована в той ткани, в которой она доминирует, и уникальна.

Регуляция компартиментализации β -актина

В дифференцирующихся клетках появление и специфический уровень цитоплазматических β - и γ -актинов могут регулироваться на уровне экспрессии соответствующих генов во времени. В дифференцированных клетках соотношение между β - и γ -актинами поддерживается на постоянном уровне и основной является регуляция пространственного распределения β - и γ -актинов. Имеющиеся в настоящее время данные указывают на то, что эта регуляция может осуществляться вследствие сегрегации мРНК (и/или) с помощью механизмов, использующих различия в свойствах самих изоактинов.

Механизмы внутриклеточного сортировки мРНК. Временная и пространственная сегрегация изоформ актина, выявляемая с помощью специфических антител, качественно сходна с появлением и распределением соответствующих мРНК. В частности, колокализация β -актина и его мРНК обнаружена в подвижном лидирующем крае фибробластов (Lawrence, Singer, 1986; Sundell, Singer, 1991) и микроваскулярных перicyтов (Hoock et al., 1991; Herman, 1993), а также в филоподиях конуса роста и в отростках дендритов развивающихся и зрелых нейронов (Bassell et al., 1998; Hannan et al., 1998; Eom et al., 2003; Tiruchinapalli et al., 2003). Показано, что распределение мРНК β -актина коррелирует с интенсивностью движения клетки и его направлением (Kislauskis et al., 1997). При добавлении в культуральную среду сыворотки, содержащей ростовые факторы, мРНК β -актина, до этого диффузно распределенная внутри миобластов и фибробластов, перемещалась в движущуюся ламеллу за минуты (Hill et al., 1994; Latham et al., 1994), в то время как распределение мРНК γ -актина не изменялось (Hill et al., 1994). Эти данные указывают на то, что аккумуляция β -актина на лидирующем крае происходит благодаря направленному перемещению мРНК в эту область клетки и что в этом процессе, по-видимому, участвуют не вновь синтезированные белки, а компоненты системы передачи сигнала.

Известно, что ключевую роль в направленной локализации мРНК в клетках эукариот играет консервативный элемент в 3'-нетранслируемой области мРНК, который называют «зип-кодом». Другими компонентами механизма направленной локализации мРНК являются РНК-связывающие и моторные белки, обеспечивающие доставку мРНК к месту трансляции (Kislauskis, Singer, 1992). Оказалось, что 3'-нетранслируемые области мРНК сердечного α -актина и цитоплазматического β -актина различаются, а их присутствие в трансфицированных миобластах и фибробластах необходимо и достаточно для локализации мРНК в перинуклеарной и периферической областях клетки соответственно (Kislauskis et al., 1993). Олигодоксинуклеотиды, комплементарные к последовательности «зип-кода», ингибировали перераспределение мРНК β -актина на периферию клетки и снижали

подвижность фибробластов (Kislauskis et al., 1997). В транспорте мРНК β -актина участвуют микрофиламенты (Sundell, Singer, 1991). Установлено также, что белок ZBP1 (zipcode binding protein 1) связывается с «зип-кодом» мРНК β -актина, который является элементом 3'-нетранслируемой области, стимулируя перемещение нетранслирующейся мРНК к протрузиям первичных фибробластов и нейронов, в которых аккумулируется β -актин (Ross et al., 1997; Farina et al., 2003). Связывание ZBP1, по-видимому, нарушает взаимодействие малой и большой субъединиц рибосомы, не давая необходимому для трансляции 80S-рибосомному комплексу образоваться на транскрипте. В таком неактивном состоянии мРНК доставляется к месту назначения, где она должна быть реактивирована.

Оказалось, что взаимодействие белка ZBP1 с мРНК β -актина нарушается в результате фосфорилирования аминокислотного остатка Tyr396 в ZBP1 Src-киназой (Huttelmaier et al., 2005). Кроме того, связывание ZBP1 значительно ослаблялось при замене Tyr396 на глутамат, который имитировал фосфорилирование. Увеличение активности Src-киназы в клетках приводило к усилению трансляции мРНК, содержащей «зип-код» β -актина. Снижение экспрессии гена *zbp1* существенно уменьшало рост дендритов, а для их восстановления необходимо было введение экзогенного *zbp1*, но не его мутанта, не чувствительного к фосфорилированию. Усиление экспрессии *zbp1* приводило также к увеличению содержания β -актина на лидирующем крае большинства распластывающихся клеток. Напротив, экспрессия экзогенного мутанта ZBP1, не чувствительного к фосфорилированию, уменьшала аккумуляцию β -актина на периферии клеток (Huttelmaier et al., 2005). Так как Src-киназа, по-видимому находится только на периферии клетки (Bromann et al., 2004; Playford, Schaller, 2004), предполагается, что локальная активация трансляции мРНК β -актина может определяться именно ограниченной локализацией киназы (Huttelmaier et al., 2005).

Таким образом, пространственный сортинг β -актина может регулироваться на уровне трансляции. Эта регуляция включает в себя существование специфического «зип-кода» в 3'-нетранслирующейся части мРНК β -актина, его взаимодействие с «зип-код»-связывающим белком ZBP1, ингибирующим трансляцию, а затем фосфорилирование ZBP1 Src-киназой, локализованной на периферии клетки, что приводит к распаду комплекса ZBP1—мРНК, сборке рибосом и синтезу β -актина на лидирующем крае.

Пока неясно, приложим ли этот механизм к другим изоформам актина, в частности к γ -актину, распределение которого в клетке не всегда равномерно. Важно также отметить, что изоформы актина часто занимают более обширную область клетки, чем соответствующие им мРНК. Например, в миобластах мРНК γ -актина локализована в перинуклеарном пространстве и ближней к нему цитоплазме, а сам белок обнаружен в стресс-фибриллах и около мембраны, и его распределение не совпадает с распределением мРНК (Hill, Gunning, 1993). Еще более удивительно, что в развивающихся нейронах большая часть β -актина сконцентрирована в конусе роста, где находится только малая порция соответствующей мРНК (Hannan et al., 1998). Эти данные указывают на то, что специфическое распределение мРНК является не единственным механизмом сегрегации β - и γ -актинов в клетке.

Посттрансляционные модификации как фактор сегрегации β - и γ -актинов. Хотя посттрансляционные модификации белков играют значительную роль в регуляции клеточных функций (см., например: Walsh, Jefferis, 2006), достоверной информации о их роли в сегрегации изоформ актина до недавнего времени не существовало. Актин большинства эукариот содержит 3-метил-His-73, который образуется в результате посттрансляционной модификации (Johnson et al., 1969; Yao et al., 1999), и в ранних работах обсуждались изменения в степени метилирования His-73 в ходе миогенеза (Krzyzik et al., 1971). Однако эти результаты не были подтверждены ни в более поздних исследованиях метилирования актина (Cass et al., 1983), ни при сравнении аминокислотных последовательностей разных актинов (Vandekerckhove, Weber, 1978, 1981). Как уже отмечалось выше, посттрансляционное ацетилирование N-концевого аминокислотного остатка роднит цитоплазматические β - и γ -актины и гладкомышечный γ -актин, с одной стороны, и скелетно-мышечный, сердечный и гладкомышечный α -актины — с другой (Rubenstein, 1990). Поэтому различие механизмов ацетилирования не может объяснить ни сегрегацию цитоплазматических актинов в одной клетке, ни функциональную специфичность мышечных изоформ. В этой связи особый интерес представляют недавно опубликованные данные о том, что на стадии N-концевого процессинга, предшествующей ацетилированию, цитоплазматический β -актин в отличие от γ -актина может подвергаться аргинилированию (Karakozova et al., 2006).

Аргинилирование — это процесс переноса аргинина с тРНК на N-концевые Asp, Glu и Cys, осуществляемый специфической трансферазой. Предполагается, что этот процесс необходим для убиквитинирования белка и его последующей деградации. Однако при исследовании аргинилирования актина в лизатах эмбриональных фибробластов методами двухмерного электрофореза и масс-спектрометрии был обнаружен только один аргининсодержащий пептид, соответствующий N-концу β -актина (Karakozova et al., 2006). Модификация уменьшала отрицательный заряд молекулы β -актина. Аргинилирование γ -актина не обнаружено ни в эмбриональных фибробластах, ни в других исследованных тканях (Karakozova et al., 2006; Kashina, 2006). Оказалось также, что β -актин, выделенный из фибробластов, лишенных аргининтрансферазы, образует короткие, легко агрегирующие филаменты (Karakozova et al., 2006). На основании этих данных авторы сделали вывод о том, что аргинилирование β -актина является фактором, обеспечивающим функциональные различия между β - и γ -актинами, способствуя образованию сети аргинилированных β -актиновых филаментов на лидирующем крае и плотных пучков неаргинилированного γ -актина в центральных областях клетки (Karakozova et al., 2006; Kashina, 2006).

Таким образом, посттрансляционные модификации могут быть еще одним фактором, влияющим на сегрегацию цитоплазматических β - и γ -актинов. Пока неясно, почему γ -актин не подвергается аргинилированию. Кроме того, образование надфиламентных структур клетки обеспечивается не латеральной агрегацией актиновых филаментов, связанной с поверхностным зарядом, а актинсвязывающими белками. Однако очевидно, что если цитоплазматические β - и γ -актины различаются только N-концевым триплетом и консервативной заменой Val10 на Ile, то функциональное различие между этими изо-

формами должно быть связано со свойствами и(или) модификацией N-концевого пептида и аргинилирование является хорошим кандидатом на роль модификатора.

Заключение

Клетки млекопитающих содержат шесть изоформ актина — α -скелетномышечный, α -сердечный и α -гладкомышечный, β - и γ -цитоплазматические и γ -гладкомышечный, существование которых коррелирует с их специфической локализацией в клетке и функцией. Экспрессия изоформ актина зависит от специализации клетки и стадии дифференцировки. Изоактины специфически локализованы в компартментах клетки и не могут замещать друг друга, не изменяя морфологию и функции клетки. Все это указывает на существование механизмов, регулирующих сегрегацию изоформ актина в клетках. В связи с тем что, несмотря на минимальное различие в структуре, цитоплазматические β - и γ -актины участвуют в разных клеточных процессах, выявление механизмов их сегрегации особенно актуально.

В результате внутриклеточного сортировки цитоплазматических β - и γ -изоформ актина β -актин оказывается функционально связанным с движением цитоплазмы, тогда как γ -актин образует более стабильную часть цитоскелета. Эти различия коррелируют с направленной трансляцией мРНК β -актина, которая может происходить только после того, как специфический РНК-связывающий белок фосфорилируется Src-киназой, локализованной на периферии клетки. Кроме того, сортировка β -актина может регулироваться посттрансляционными модификациями, в частности аргинилированием N-концевого аминокислотного остатка. Известно, что N-конец молекулы актина участвует во взаимодействии актина со многими актинсвязывающими белками (Sheterline et al., 1995). Известно также, что β -актин лучше, чем мышечный актин, взаимодействует с профилином (Larsson, Lindberg, 1988; Ohshima et al., 1989), с белками семейства плазмин/фимбрин (Hofer et al., 1997; Prassler et al., 1997), эрином (Shuster, Herman, 1995; Yao et al., 1995, 1996) и дистрофином/утрофином (Winder et al., 1995). Кроме того, β -актин специфически взаимодействует с копирующим белком β -cap73, который связан с мембраной клетки (Welch et al., 2005). Разное взаимодействие этих белков с изоформами актина, в том числе и модифицированное аргинилированием, может влиять на правильную локализацию изоформ актина в клетке. Однако для проверки этого предположения необходимо сравнение свойств выделенных β - и γ -актинов друг с другом, а не с мышечным α -актином. Это тем более существенно, что в ряде экспериментов наблюдалось распределение химерных актинов в соответствии с их C-концом (Von Arx et al., 1995; Kaech et al., 1997). Еще одним фактором, регулирующим специфическое распределение изоформ актина в клетке, может быть разная скорость полимеризации изоформ актина (Prochniewicz, Yanagida, 1981; Toyama, Toyama, 1988; Khaitlina et al., 1999; Khaitlina, Hinssen, 2000), однако это предположение также требует сравнения между собой цитоплазматических изоформ. Поэтому совершенствование методов выключения отдельных белков *in vivo* и способов разделения высокомолекулярных белков *in vitro* необходимо для того, чтобы понять, как различные факторы кооперируют в регуляции сегрегации изоформ актина в клетке.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 05-04-49604) и программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Список литературы

- Antin P. B., Ordahl C. P. 1991. Isolation and characterization of an avian myogenic cell line. *Develop. Biol.* 143 : 111—121.
- Bassell C. G., Singer R. H. 1997. mRNAs and cytoskeletal filaments. *Curr. Opin. Cell Biol.* 9 : 109—115.
- Bassell C. J., Zhang H., Byrd A. L., Femino A. M., Singer R. H., Taneja K. L., Lifshitz L. M., Herman I. M., Kosik K. S. 1998. Sorting of beta-actin mRNA and protein in neurites and growth cones in culture. *J. Neurosci.* 18 : 251—265.
- Borisi G. G., Svitkina T. M. 2000. Actin machinery: pushing the envelope. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12 : 104—112.
- Braut V., Reedy M. C., Sauder U., Kammerer R. A., Aebi U., Schoenenberger C.-A. 1999. Substitution of flight muscle-specific actin by human β -cytoplasmic actin in the indirect flight muscle of *Drosophila*. *J. Cell Sci.* 112 : 3827—3839.
- Bretscher A., Weber K. 1978. Localization of actin and microfilament-associated proteins in the microvilli and terminal web of the intestinal brush border by immunofluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* 79 : 839—845.
- Bromann P. A., Korkaya H., Courtneidge S. A. 2004. The interplay between Src family kinases and receptor tyrosine kinases. *Oncogene.* 23 : 7957—7968.
- Caplan A. I., Fiszman M. Y., Eppenberger H. M. 1983. Molecular and cell isoforms during development. *Science.* 221 : 921—927.
- Cass K. A., Clark E. B., Rubenstein P. A. 1983. Is the onset of actin histidine methylation under developmental control in the chick embryo? *Arch. Biochem. Biophys.* 225 : 731—739.
- Chaponnier C., Gabbiani G. 2004. Pathological situations characterized by altered actin isoform expression. *J. Pathol.* 204 : 384—395.
- Cossart P., Sansonetti P. J. 2004. Bacterial invasion: the paradigm of enteroinvasive pathogens. *Science.* 304 : 242—248.
- Craig S. W., Pardo J. V. 1983. Gamma actin, spectrin and intermediate filament proteins colocalize with vinculin in costamers, myofibril-to-sarcolemma attachment sites. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 3 : 449—462.
- DeLanerolle P., Cole A. B. 2002. Cytoskeletal proteins and gene regulation. *Sci. STKE.* 139 : PE30.
- DeNofrio D., Hook G., Herman I. M. 1989. Functional sorting of actin isoforms in microvascular pericytes. *J. Cell Biol.* 109 : 191—202.
- Dillon C., Goda Y. 2005. The actin cytoskeleton: integrating form and function at the synapse. *Annu. Rev. Neurosci.* 28 : 25—55.
- Dos Remedios C. G., Chhabra D., Kekic M., Dedova I. V., Tsubakihara M., Berry D. A., Nosworthy N. J. 2003. Actin binding proteins: regulation of cytoskeletal microfilaments. *Physiol. Rev.* 83 : 433—473.
- Egea G., Lazaro-Dieguez F., Vilella M. 2006. Actin dynamics at the Golgi complex in mammalian cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18 : 168—178.
- Eom T., Antar L. N., Singer R. H., Bassell G. J. 2003. Localization of a β -actin messenger ribonucleoprotein complex with zip-code protein modulates density of dendritic filopodia and filopodial synapses. *J. Neurosci.* 23 : 10 433—10 444.
- Eppenberger-Eberhardt M., Flamme I., Kurer V., Eppenberger H. M. 1990. Reexpression of α -smooth muscle actin isoform in cultured adult rat cardiomyocytes. *Develop. Biol.* 130 : 269—278.
- Faix J., Rottner K. 2006. The making of filopodia. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18 : 18—25.
- Farina K. L., Huttelmaier S., Musunuru K., Darnell R., Singer R. H. 2003. Two ZBP1 KH domains facilitate β -actin mRNA

localization, granule formation, and cytoskeletal attachment. *J. Cell Biol.* 160 : 77—87.

Franke W. W., Schmid E., Vandekerckhove J., Weber K. 1980. Permanently proliferating rat vascular smooth muscle cell with maintained expression of smooth muscle characteristics, including actin of the vascular smooth muscle type. *J. Cell Biol.* 87 : 594—600.

Franke W. W., Stehr S., Stumpp S., Kuhn C., Held H., Rackwitz H.-R., Schnolzer M., Baumann H., Holzhausen H.-J., Moll R. 1996. Specific immunohistochemical detection of cardiac/fetal α -actin in human cardiomyocytes and regenerating skeletal muscle cells. *Differentiation.* 60 : 245—250.

Fyrberg E. A., Fyrberg C. C., Biggs J. R., Saville D., Beall C. J., Ketchum A. 1998. Functional nonequivalence of *Drosophila* actin isoforms. *Biochem. Genet.* 36 : 271—287.

Gabbiani K., Kocher O., Bloom W. S., Vandekerckhove J., Weber K. 1984. Actin expression in smooth muscle cells in rat aortic intimal thickening, human atheromatous plaque and cultured rat aorta media. *J. Clin. Invest.* 73 : 148—152.

Gallwitz D., Sures I. 1981. Structure of a split yeast gene: complete nucleotide sequence of the actin gene in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 77 : 2546—2550.

Garrels J. I., Gibson W. 1976. Identification and characterization of multiple forms of actin. *Cell.* 9 : 793—805.

Gordon D. J., Boyer J. L., Korn E. D. 1977. Comparative biochemistry of non-muscle actins. *J. Biol. Chem.* 252 : 8300—8309.

Grummt I. 2006. Actin and myosin as transcription factors. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 16 : 191—196.

Gunning P., Hardeman E., Jeffrey P., Weinberger R. 1998. Creating intracellular structural domains: spatial segregation of actin and tropomyosin isoforms in neurons. *BioEssays.* 20 : 892—900.

Hall Z. W., Lubit B. W., Schwartz J. H. 1981. Cytoplasmic actin in postsynaptic structures at the neuromuscular junction. *J. Cell Biol.* 90 : 789—792.

Hannan A. J., Gunning P., Jeffrey P. L., Weinberger R. P. 1998. Structural compartment within neurons: developmentally regulated organization of microfilaments isoform mRNA and protein. *Mol. Cell. Neurosci.* 11 : 289—304.

Harden B. A., Hefti M. A., Eppenberger H. M., Schaub M. C. 1998. Differential protein localization in sarcomeric and non-sarcomeric contractile structures of cultured cardiomyocytes. *J. Struct. Biol.* 122 : 162—175.

Hayward L. J., Zhu Y. Y., Schwartz R. J. 1988. Cellular localization of muscle and non-muscle actin mRNAs in chicken primary myogenic cultures: the induction of α -skeletal actin mRNA is regulated independently of α -cardiac gene expression. *J. Cell Biol.* 106 : 2077—2086.

Herman I. M. 1993. Actin isoforms. *Curr. Biol.* 5 : 48—55.

Hill M. A., Gunning P. 1993. Beta- and gamma-actin mRNAs are differently located within myoblasts. *J. Cell Biol.* 122 : 825—832.

Hill M. A., Schedlich L., Gunning P. 1994. Serum-induced signal transduction determines the peripheral location of β -actin mRNA within the cell. *J. Cell Biol.* 126 : 1221—1230.

Hofer D., Ness W., Drenckhahn D. 1997. Sorting of actin isoforms in chicken auditory hair cells. *J. Cell Sci.* 110 : 765—770.

Hoock T. C., Newcomb P. M., Herman I. 1991. β -Actin and its mRNA are localized at the plasma membrane and the regions of moving cytoplasm during the cellular response to injury. *J. Cell Biol.* 112 : 653—664.

Huttelmaier S., Zenklusen D., Lederer M., Dictenberg J., Lorenz M., Meng X.-H., Bassel G., Condeelis J., Singer R. H. 2005. Spatial regulation of β -actin translation by Src-dependent phosphorylation of ZBP1. *Nature.* 438 : 512—515.

Janney P. A., Chaponnier C. 1995. Medical aspects of the actin cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7 : 111—117.

Johnson P., Loble G. E., Perry S. V. 1969. Distribution and biological role of 3-methyl-histidine in actin and myosin. *Biochem. J.* 105 : 361—370.

Kaech S., Fischer M., Doll T., Matus A. 1997. Isoform specificity in the relationship of actin to dendritic spines. *J. Neurosci.* 17 : 9565—9572.

Karakozova M., Kozak M., Wong C. C., Bailey A. O., Yates J. R., Mogilner A., Zebroski H., Kashina A. 2006. Arginylation of β -actin regulates actin cytoskeleton and cell motility. *Science.* 313 : 192—196.

Kashina A. S. 2006. Differential arginylation of actin isoforms: the mystery of the actin N-terminus. *Trends Cell Biol.* 16 : 610—615.

Khaitlina S. Yu. 2001. Functional specificity of actin isoforms. *Int. Rev. Cytol.* 202 : 35—98.

Khaitlina S. Yu., Antropova O. Yu., Kuznetsova I. M., Turorov K. K., Collins J. H. 1999. Correlation between conformational changes and polymerizability in scallop β -like actin and skeletal muscle α -actin. *Arch. Biochem. Biophys.* 368 : 105—111.

Khaitlina S. Yu., Hinssen H. 2000. Comparison of rabbit skeletal muscle α -actin and scallop adductor muscle β -like actin at different steps of spontaneous and gelsolin induced-nucleated polymerization. *J. Muscle Res. Cell Motility.* 21 : 349.

Kislauskis E. H., Li Z., Singer R. H., Taneja K. I. 1993. Isoform-specific 3'-untranslated sequence sort α -cardiac and β -cytoplasmic actin messenger RNAs to different cytoplasmic compartments. *J. Cell Biol.* 123 : 165—172.

Kislauskis E. H., Singer R. H. 1992. Determinants of mRNA localization. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4 : 975—978.

Kislauskis E. H., Zhu X., Singer R. H. 1997. β -Actin messenger RNA localization and protein synthesis augment cell motility. *J. Cell Biol.* 136 : 1263—1270.

Krzysik B., Vergnes J. O., McManus I. R. 1971. Enzymatic methylation of skeletal muscle contractile proteins. *Arch. Biochem. Biophys.* 46 : 34—38.

Kumar A., Crafword K., Close L., Madison M., Lorenz J., Dotcshman T., Pawlowski S., Duffy J., Neumann J., Robbins J., Boivin G. P., O'Toole B. A., Lessard J. L. 1997. Rescue of cardiac α -Actin-deficient mice by enteric smooth muscle γ -actin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 94 : 4406—4411.

Larsson H., Lindberg U. 1988. The effect of divalent cations on the interaction between calf spleen profilin and different actins. *Biochim. biophys. acta.* 953 : 95—105.

Latham V. M., Kislauskis E. H., Singer R. H., Ross A. F. 1994. β -Actin mRNA localization is regulated by signal transduction mechanisms. *J. Cell Biol.* 126 : 1211—1219.

Lawrence J. B., Singer R. H. 1986. Intracellular localization of messenger RNAs for cytoskeletal proteins. *Cell.* 45 : 407—415.

Leavitt J., Ng S. Y., Aebi U., Varma M., Latter G., Burbeck S., Kedes L., Gunning P. 1987. Expression of transfected mutant β -actin genes: alterations in cell morphology and evidence for autoregulation in actin pool. *Mol. Cell. Biol.* 7 : 2457—2466.

Lubit B. W., Schwartz J. H. 1980. An antiactin antibody that distinguishes between cytoplasmic and skeletal muscle actins. *J. Cell Biol.* 86 : 891—897.

Lubit W. M. 1984. Association of beta-cytoplasmic actin with high concentrations of acetylcholine receptor (AChR) in normal and anti-AChR-treated primary rat muscle cultures. *J. Histochem. Cytochem.* 32 : 973—981.

Malacombe M., Bader M. F., Gasman S. 2006. Exocytosis in neuroendocrine cells: new tasks for actin. *J. Histochem. Cytochem.* 32 : 973—981.

Mazzocci C., Benos D. J., Smith P. R. 2006. Interaction of epithelial ion channels with the actin-based cytoskeleton. *Amer. J. Physiol. Renal Physiol.* 291 : F1113—F1122.

Micheva K. D., Vallee A., Beaulieu C., Herman I. M., Lercer N. 1998. Beta-actin is confined to structures having high capacity of remodeling in developing and adult rat cerebellum. *Eur. J. Neurosci.* 10 : 3785—3798.

Miralles F., Visa N. 2006. Actin in transcription and transcription regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18 : 261—266.

Moll R., Holzhausen H.-J., Mennel H.-D., Kuhn C., Baumann R., Taage C., Franke W. W. 2006. The cardiac isoform of α -actin in regenerating and atrophic skeletal muscle, myopathies and rhabdomyomatous tumors: an immunohistochemical study using monoclonal antibodies. *Virchows Arch.* 449 : 175—191.

- Moreau V., Way M. 1999. *In vitro* approaches to study actin and microtubule dependent cell processes. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11 : 152—158.
- Mounier N., Perriard J.-C., Gabbiani G., Chaponnier C. 1997. Transfected muscle and non-muscle actins are differentially sorted by cultured smooth muscle and non-muscle cells. *J. Cell Sci.* 110 : 839—846.
- Negulyaev Yu. A., Khaitlina S. Yu., Hinszen H., Shumilina E. V., Vedernikova E. A. 2000. Na channel activity in leukemia cells is directly controlled by actin polymerization. *J. Biol. Chem.* 275 : 40 933—40 937.
- Negulyaev Yu. A., Vedernikova E. A., Maximov A. V. 1996. Disruption of actin filaments increases the activity of sodium-conducting channels in human myeloid leukemia cells. *Mol. Biol. Cell.* 7 : 1857—1864.
- Ng R., Abelson J. 1980. Isolation and sequence of the gene for actin in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 77 : 3912—3916.
- North A. J., Gimona M., Lando Z., Small V. 1994. Actin isoform compartments in chicken gizzard smooth muscle cells. *J. Cell Sci.* 107 : 445—455.
- Ohshima S., Abe H., Obinata T. 1989. Isolation of profilin from embryonic chicken skeletal muscle and evaluation of its interaction with different actin isoforms. *J. Biochem.* 105 : 855—857.
- Otey C. A., Kalnoski M. H., Bulinski J. C. 1988. Immunolocalization of muscle and nonmuscle isoforms of actin in myogenic cells and adult skeletal muscle. *J. Cell. Biochem.* 34 : 113—124.
- Owens G. K., Thompson M. M. 1986. Developmental changes in isoactin expression in rat aortic smooth muscle cells *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 261 : 13 373—13 380.
- Pantaloni D., Le Clairche C., Carlier M.-F. 2001. Mechanism of actin-based motility. *Science.* 292 : 1502—1506.
- Pardo J. V., Pittenger M. F., Craig S. V. 1983. Subcellular sorting of isoactins: selective association of γ -actin with skeletal muscle mitochondria. *Cell.* 32 : 1093—1103.
- Paterson B. M., Eldridge J. D. 1982. α -Cardiac actin is the major sarcomeric isoform expressed in embryonic avian skeletal muscle. *Science.* 224 : 1436—1438.
- Percipalle P., Visa N. 2006. Molecular functions of nuclear actin in transcription. *J. Cell Biol.* 172 : 967—971.
- Pinder J. C., Gratzer W. S. 1983. Structural and dynamic states of actin in the erythrocyte. *J. Cell Biol.* 96 : 768—775.
- Playford M. P., Schaller M. D. 2004. The interplay between Src and integrins in normal and tumor biology. *Oncogene.* 23 : 7928—7946.
- Pollard T. D., Borisy G. G. 2003. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell.* 113 : 453—465.
- Pollard T. D., Cooper J. A. 1976. Actin and actin-binding proteins. A critical evaluation of mechanisms and functions. *Annu. Rev. Biochem.* 55 : 987—1035.
- Prasad G. L. 2005. Regulation of the expression of tropomyosin and actin cytoskeleton by ras transformation. *Methods Enzymol.* 407 : 410—422.
- Prassler J., Stocker S., Marriott G., Heidecker M., Kellermann J., Gerisch G. 1997. Interaction of a *Dictiostellium* member of the platin/fimbrin family with actin filaments and actin-myosin complexes. *Mol. Biol. Cell.* 8 : 83—95.
- Prekeris R., Mayhew M. W., Cooper J. B., Terrian D. M. 1996. Identification and localization of an actin-binding motif that is unique to the epsilon isoform of protein kinase C and participates in the regulation of synaptic function. *J. Cell Biol.* 132 : 77—90.
- Prochniewicz E., Yanagida T. 1981. Comparison of intermolecular interactions within polymers of chicken gizzard and rabbit skeletal muscle actins. *J. Biochem.* 89 : 1215—1221.
- Ronnov-Jessen L., Petersen O. W. 1996. A function for filamentous alpha smooth muscle actin: retardation of mobility in fibroblasts. *J. Cell Biol.* 134 : 67—80.
- Rosenmund C., Westbrook G. L. 1993. Calcium-induced actin depolymerization reduces NMDA channel activity. *Neuron.* 10 : 805—814.
- Ross A. F., Oleynikov Y., Kislauskis E. H., Taneja K. L., Singer R. H. 1997. Characterization of a β -actin mRNA zipcode-binding protein. *Mol. Cell. Biol.* 17 : 2185—2165.
- Rubenstein P. A. 1990. The functional importance of multiple actin isoforms. *BioEssays.* 12 : 309—315.
- Rubenstein P. A., Spudich J. A. 1977. Actin microheterogeneity in chick embryo fibroblasts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 74 : 120—123.
- Schaub M. C., Hefti M. A., Harder B. A., Eppenberger H. M. 1997. Various hypertrophic stimuli induce distinct phenotypes in cardiomyocytes. *J. Mol. Med.* 75 : 901—920.
- Schevzov G., Lloyd C., Gunning P. 1992. High level expression of transfected β - and γ -actin genes differentially impact on myoblast cytoarchitecture. *J. Cell Biol.* 117 : 775—785.
- Sheterline P., Clayton J., Sparrow J. C. 1995. Actin. Protein profile. New York: Acad. Press. 2 (Issue 1) : 121.
- Shumilina E. V., Negulyaev Yu. A., Morachevskaya E. A., Hinszen H., Khaitlina S. Yu. 2003. Regulation of sodium channel activity by capping of actin filaments. *Mol. Biol. Cell.* 14 : 1709—1716.
- Shuster C., Herman I. M. 1995. Indirect association of ezrin with F-actin: isoform specificity and calcium sensitivity. *J. Cell Biol.* 128 : 837—848.
- Skalli O., Pelte M.-F., Pecelet M.-C., Gabbiani G., Gugliotta P., Bussolati G., Ravvazola L., Orci L. 1987. α -Smooth muscle actin, a differentiation marker for smooth muscle cells, is present in microfilament bundles in pericytes. *J. Histochem. Cytochem.* 37 : 315—321.
- Small V., Rottner K., Kaverina I. 1999. Functional design in the actin cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11 : 54—60.
- Storti R. V., Coen D. M., Rich A. 1976. Tissue specific forms of actin in developing chick. *Cell.* 8 : 521—527.
- Storti R. V., Rich A. 1976. Chick cytoplasmic actin and muscle actin have different structural genes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 2346—2350.
- Su Y., Kondrikov D., Block E. R. 2005. Cytoskeletal regulation of nitric oxide synthase. *Cell Biochem. Biophys.* 43 : 439—449.
- Sundell C. L., Singer R. H. 1991. Requirement of microfilaments in sorting of actin messenger RNA. *Science.* 253 : 1275—1277.
- Tilney L. G., Bonder E. M., Colluccio L. M., Mooseker M. S. 1983. Actin from *Thyone* sperm assembles on only one end of an actin filament. A behavior regulated by profilin. *J. Cell Biol.* 97 : 112—124.
- Tilney L. G., Hatano S., Ishikawa H., Moosiker M. S. 1973. The polymerization of actin: its role in the generation of the acrosome process in certain echinoderm sperm. *J. Cell Biol.* 59 : 109—126.
- Tiruchinapalli D. M., Oleynikov Y., Kelic S., Shenoy S. M., Hartley A., Stanton P. K., Singer R. H., Bassell G. J. 2003. Activity-dependent trafficking and dynamic localization of zipcode binding protein 1 and β -actin mRNA in dendrites and spines of hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 23 : 3251—3261.
- Toyama S., Toyama S. 1988. Functional alterations in β' -actin from a KB cell mutant resistant to cytochalasin B. *J. Cell Biol.* 107 : 1499—1504.
- Ulloe L., Avila J. 1996. Involvement of gamma- and beta-actin isoforms in mouse neuroblastoma differentiation. *Eur. J. Neurosci.* 8 : 1441—1451.
- Van Bilsen M., Chien K. R. 1993. Growth and hypertrophy of the heart: towards an understanding of cardiac specific and inducible gene expression. *Cardiovascul. Res.* 27 : 1140—1149.
- Vandekerckhove J., Bugaisky G., Buckingham M. 1986. Simultaneous expression of skeletal muscle and heart actin proteins in various striated muscle tissues and cells. *J. Biol. Chem.* 261 : 1838—1843.
- Vandekerckhove J., Weber K. 1978. At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino terminal tryptic peptide. *J. Mol. Biol.* 126 : 783—802.
- Vandekerckhove J., Weber K. 1981. Actin typing on total cellular extracts. A highly sensitive protein-chemical procedure able to distinguish different actins. *Eur. J. Biochem.* 113 : 395—603.

- Von Arx P., Bantle S., Soldati T., Perriard J. C. 1995. Dominant negative effect of cytoplasmic actin isoforms on cardiomyocytes cytoarchitecture and function. *J. Cell Biol.* 131 : 1759—1773.
- Walsh G., Jefferis R. 2006. Post-translational modifications in the context of therapeutic proteins. *Nat. Biotechnol.* 24 : 1241—1252.
- Watanabe H., Kislauskis E. H., Mackay C. A., Mason-Savas A., Marks S. C. 1998. Actin mRNA isoforms are differently sorted in normal osteoblasts and sorting is altered in osteoblasts from a skeletal mutation in the rat. *J. Cell Biol.* 111 : 1287—1292.
- Weinberger R., Schevzov G., Jeffrey P., Gordon K., Hill M., Gunning P. 1996. The molecular composition of neuronal microfilaments is spatially and temporally regulated. *J. Neurosci.* 16 : 238—252.
- Welch A. Y., Riley K. N., D'Souza-Schorey C., Herman I. M. 2005. Arf6 modulates the beta-actin specific capping protein, beta-cap73. *Methods Enzymol.* 404 : 377—487.
- Whalen R. G., Butler-Browne G. S., Gros F. 1976. Protein synthesis and actin heterogeneity in calf muscle cells in culture. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 2018—2022.
- Wiens D., Spooner B. S. 1983. Actin isotypes biosynthetic transitions in early cardiac organogenesis. *Eur. J. Cell Biol.* 30 : 60—66.
- Winder B. J., Hemmings L., Maciver S. K., Boltob S. J., Tinsley J. M., Davies K. E., Kritchley D. R., Kendrick-Jones K. 1995. Utrophin actin binding domain: analysis of actin binding and cellular targeting. *J. Cell Sci.* 108 : 63—71.
- Winder S. J., Ayscough K. R. 2005. Actin-binding proteins. *J. Cell Sci.* 118 : 651—654.
- Yamaguchi H., Condeelis J. 2007. Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. *Biochim. biophys. acta.* 1773 : 200—220.
- Yao X., Chaponnier C., Gabbiani G., Forte J. G. 1995. Polarized distribution of actin isoforms in gastric parietal cells. *Mol. Biol. Cell.* 6 : 541—557.
- Yao X., Cheng L., Forte J. G. 1996. Biochemical characterization of ezrin-actin interaction. *J. Biol. Chem.* 271 : 7224—7229.
- Yao X., Grade S., Wriggers W., Rubenstein P. A. 1999. His-73, often methylated, is an important structural determinant for actin. *J. Biol. Chem.* 274 : 37 443—37 449.

Поступила 26 XII 2006

MECHANISMS OF SPATIAL SEGREGATION OF ACTIN ISOFORMS

S. Yu. Khaitlina

Institute of Cytology RAS, S. Petersburg; e-mail: skhspb@yahoo.com

Actin sequences are conserved to a much greater degree than those in almost any other proteins, so that two cytoplasmic isoforms differ by only four of 374 amino acid residues. Nevertheless, the results of biochemical, immunocytochemical and molecular biology experiments demonstrate that appearance, amount and localization of actin isoforms are strongly controlled by cell machinery. Although at the early stages of cell differentiation expression of any actin gene is potentially possible, under normal physiological conditions, while differentiation proceeds, synthesis of specific actin isoforms is temporally regulated and the produced proteins are segregated spatially. Pathological situations of tissue injury or mammalian disease correlate either with up- and down-regulation of distinct actin genes returning to a fetal gene program or with a failure to sort actin isoforms. Different actin isoforms cannot substitute for each other, and changes in expression of specific actin genes are accompanied by alterations in cell structure and function suggesting that specific actin isoforms perform unique cellular functions. This article summarizes the data on segregation of actin isoforms in cell compartments and analyses the mechanisms suggested to explain spatial segregation of cytoplasmic actin isoforms within a cell.

Key words: muscle actin, cytoplasmic β - and γ -actin, intracellular sorting, mRNA sorting, N-terminal processing.