

СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ КЛЕТКИ: ОТ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ К РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ФУНКЦИЙ

© Г. П. Пинаев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес: pinaev@mail.cytspb.rssi.ru

Обзор посвящен анализу последовательных изменений наших представлений о структурной организации и функциональной значимости актин-миозиновой системы в жизнедеятельности клетки. Изначально ее рассматривали как сократительный аппарат исключительно мышечных клеток. Затем актин и миозин, а также сопутствующие им белки были выявлены в цитоплазме всех немышечных клеток и на них была возложена ответственность за осуществление разных видов клеточной подвижности. Впоследствии выяснилось, что актин является высокополиморфным белком, способным принимать участие в формировании разных структур и выполнении разнообразных клеточных функций вплоть до проведения внутриклеточного сигнала и реорганизации хроматина. И наконец, самые последние данные свидетельствуют о непосредственном участии актина и миозина в транскрипции генов и сплайсинге информационных РНК. Таким образом, накопленные к настоящему времени данные дают основание рассматривать их как универсальную структурно-регуляторную систему, позволяющую объединять на единой молекулярной основе протекание плохо сочетаемых биохимических процессов.

Ключевые слова: актин, миозин, актансвязывающие белки, сократительный аппарат, цитоскелет, проведение сигнала, транскрипция.

Для человека всегда было очень важно отличать в своем окружении живое от неживого. С одной стороны, живое могло быть источником пищи, а с другой — представлять опасность для жизни. И первым признаком живого была его способность перемещаться в пространстве. Вероятно, по этой причине двигательные системы животных стали одни из первых объектов детальных физиологических и биохимических исследований. Кроме того, мышцы наглядно демонстрировали свою двигательную активность и были легко доступны для проведения экспериментов. Естественно, что исследователей интересовало то, каким образом осуществляется сокращение мышц и какие механизмы лежат в его основе.

Одним из первых, кто выделил в середине IX в. сократительную субстанцию из мышц лягушки и назвал ее энзимом, или миозином, был немецкий ученый Кюне (Kuehne, 1859). Позднее он описал ее как вещество, которое при определенных условиях способно формировать сокращающийся сгусток. Более подробно эту субстанцию исследовал Халлибуртон (Halliburton, 1887), который экспериментировал мышечную ткань млекопитающих разными способами и сравнивал поведение полученных экстрактов с формированием и сокращением сгустка крови. Он называл этот экстракт миозиновым ферментом. В те далекие годы не существовало еще современных методов выделения и анализа чистых белков, поэтому выделенный из мышц и частично охарактеризованный миозин по сути дела являлся, как мы понимаем это сегодня, смесью нескольких белков, которая позднее получила название актомиозина.

Следующим и чрезвычайно важным шагом на пути понимания механизмов мышечного сокращения было от-

крытие Энгельгардтом и Любимовой наличия у миозина АТФазной активности (Engelhardt, Lubimova, 1939; Энгельгардт, Любимова, 1942). Ими же было обнаружено, что гель миозина под влиянием АТФ способен изменять свой объем. На основании этих данных они высказали предположение, подтвердившееся в дальнейшем, о том, что расщепление АТФ миозином является движущей силой мышечного сокращения.

Наиболее важные открытия были сделаны во время Второй мировой войны в период 1941—1942 гг. Альбертом Сент-Дьёрди и Бруно Штраубом в Сегедском университете Венгрии (Straub, 1942; Szent-Gyorgyi, 1945, 1947, 1951, 2004). Они показали, что гидролиз АТФ миозином происходит в присутствии другого белка, обнаруженного в препаратах. Этот белок был выделен, и так как он активировал ферментативную активность миозина, его назвали актином, а комплекс этих двух белков, обладающий контракtilьными свойствами, получил название актомиозина. Вместе с тем весьма важные вопросы, касающиеся механизмов использования энергии расщепленных макроэргических связей АТФ молекулами миозина в двигательном акте и молекулярных механизмов его осуществления, оставались непонятными. Ведущие ученые мира пытались установить или по крайней мере выдвинуть обоснованные предположения о том, как могут протекать химические процессы, обеспечивающие сократительную работу актомиозина. Основная трудность состояла в том, что в то время не было еще четких представлений о структурной организации сократительного аппарата мышечных клеток.

Настоящий прорыв в этой области был сделан работами Хью Хаксли. Вначале при анализе нормальной и око-

ченевшей мышц методом дифракции рентгеновских лучей под малыми углами ему удалось показать, что сократительный аппарат построен из двух систем нитей (Huxley, 1953). В дальнейшем при изучении сверхтонких срезов скелетной мышцы под электронным микроскопом им было подтверждено наличие тонких и толстых нитей в саркомерах миофибрилл. Путем избирательной экстракции срезов удалось показать, что толстые нити состоят из миозина, а тонкие — из актина. Более того, с помощью появившейся к тому времени интерференционной и фазово-контрастной микроскопии на изолированных миофибриллах было показано, что как при растяжении, так и при сокращении толстые миозиновые нити сохраняют свою длину, а длина I-дисков, в которых располагаются актиновые нити, изменяется. На основании этих наблюдений Хаксли и Хансон (Huxley, Hanson, 1954) была сформулирована теория, согласно которой сокращение мышцы осуществляется путем скольжения относительно друг друга двух взаимодействующих нитей актина и миозина. Согласно этой теории, ведущая роль в сократительном акте принадлежит миозину. В процессе гидролиза АТФ головки молекул толстой нити миозина сначала прикрепляются к нити миозина, затем сгибаются, подтягивая актиновую нить к центру саркомера, и, наконец, открепляются от актина, вытягиваются и снова вступают с ним в контакт. Такой цикл повторяется несколько раз до завершения сокращения.

Последующие исследования, проведенные в разных лабораториях мира, подтвердили сформулированные Хаксли положения об организации и механизмах работы сократительного аппарата скелетных мышц. Вместе с тем выяснилось, что помимо актина и миозина в осуществлении этого процесса принимает участие еще целый ряд других белков, выполняющих как структурные, так и регуляторные функции. К ним относились тропомиозин, открытый Бейли в 1948 г. (Beiley, 1948), α -актинин, обнаруженный в 1964 г. (Ebashi et al., 1964), затем тропонины и ряд других белков. Тропонин-тропомиозиновый комплекс, расположенный на тонких нитях актина, под действием кальция сдвигается и открывает доступ головкам миозина к актину (Lynn, Taylor, 1971).

Эксперименты по анализу взаимодействия α -актинина с актином *in vitro* привели к заключению о том, что он способствует поперечному связыванию актиновых протофибрилл. С помощью меченых антител было показано, что он локализован в Z-дисках саркомеров и соединяет между собой концы прикрепляющихся к ним тонких нитей актина (Schollmeyer et al., 1974).

Таким образом, к середине XX в. сформировалось твердое убеждение, которое действовало в научных кругах на правах закона, что истинная сократительная система представляет собой параллельно уложенные и взаимодействующие друг с другом нити актина и миозина. Для связанных с ними других белков также были строго определены конкретные функции, направленные на поддержание структуры сократительного аппарата и обеспечение самого двигательного акта.

Следует подчеркнуть, что все основополагающие исследования в этой области были сделаны на поперечнополосатых быстрых мышцах разных животных. В то же время анализ поведения разных типов мышц, таких как гладкие мышцы внутренних органов, сердечные, а также поперечнополосатые, находящиеся на разных стадиях формирования в процессе онтогенеза, показал, что характер их двигательной активности различается, несмотря на

то что их сократительная система также построена на основе актиновых и миозиновых структур. Возник вопрос о том, могут ли зависеть наблюдаемые различия от особенностей иннервации, пространственной организации сократительного аппарата или же от свойств самих сократительных белков. Анализ молекул актомиозина, полученного из мышц кролика на разных стадиях развития, методом динамического двойного лучепреломления показал, что они действительно различаются по структуре (Пинаев, 1964). Дальнейшие исследования в этом направлении, проведенные в нашей лаборатории, позволили установить, что именно актины разного происхождения различаются по форме и размеру частиц, зависящих от степени полимеризации белка и стабильности образуемых полимеров (Пинаев, Хайтлина, 1972). Полученные результаты привели нас к предположению о возможном существовании разных форм актина в мышечных клетках. В последующих работах других авторов было четко установлено, что актин является высокополиморфным белком (Aebi et al., 1981).

В 1970-е годы начинается интенсивное изучение подвижности немышечных клеток с целью установить сходство сократительных систем. Эти работы вначале встретили сильное сопротивление со стороны тех исследователей, которые считали, что сократительный аппарат мышечных клеток, построенный на основе взаимодействующих актиновых и миозиновых нитей, является единственной и уникальной двигательной системой. На проходивших в те годы конференциях и симпозиумах возникали ожесточенные дискуссии, в ходе которых большинством специалистов в области мышечного сокращения утверждалось, что подвижность немышечных клеток в корне отличается от мышечного сокращения и должна быть построена на других принципах.

Тем не менее исследования продолжались, и благодаря получению специфических антител довольно быстро выяснилось, что все основные — мажорные и минорные белки сократительного аппарата мышц — присутствуют и в немышечных клетках (Lazarides, 1975). Актин был выделен из немышечных клеток различных типов, и оказалось, что он является одним из основных белков цитоплазмы (Pollard, Weihing, 1974). Он выявляется в клетках в виде микрофиламентов, расположенных в кортексе, в подмембранный сети, в микроворсинках, а также в виде длинных пучков, отходящих от клеточной мембраны по направлению к центру клетки, которые в дальнейшем получили название стресс-фибрилл (Goldman et al., 1975). Более того, было продемонстрировано, что уже известные сократительные белки — миозин, тропомиозин и α -актинин — распределяются периодически вдоль стресс-фибрилл аналогично их локализации в миофибриллах скелетных мышц (Gordon, 1978). Поэтому стресс-фибриллы выполняют сходную с миофибриллами двигательную функцию, создавая механическое натяжение, или «тонус» клетки. В то же время другие состоящие из актина структуры либо не содержали этих белков, либо были связаны с ними только частично, что вызывало сомнение в их способности осуществлять двигательную активность. Напротив, в непосредственном контакте с этими структурами были выявлены новые минорные белки, которых не было в составе сократительного аппарата мышечных клеток. Так, например, в филоподиях и микроворсинках с пучками актиновых филаментов, составляющих их основу, взаимодействовали эзрин, моезин и радикин, а в местах непосредственного контакта актиновых структур с кле-

точной мембраной — филамин, винкулин, паксилин, тензин и зиксин.

В эти же годы проведенный нами сравнительный анализ состава сократительных белков запирательных мышц 26 видов двустворчатых моллюсков выявил существенные различия содержания в них актина и миозина в зависимости от структурной организации сократительного аппарата (Маргулис, Пинаев, 1976, 1977; Margulis et al., 1979). По мере перехода от типичных поперечнополосатых мышц к косоискреченным и далее к гладким мышцам наблюдалось последовательное изменение соотношения в них количеств актина и миозина. Если в поперечнополосатых мышцах их содержание было сопоставимо, то в гладких актина было во много раз больше, чем миозина. Последний же, согласно теории Хаксли, являлся главным двигателем сократительного акта. Поэтому полученные нами данные приводили к предположению о том, что актин помимо участия в процессе сокращения даже и в мышечных клетках может выполнять и какие-то другие функции.

Действительно, согласно многочисленным наблюдениям, актиновые филаменты немышечных клеток оказались вовлечеными в осуществление самых разнообразных процессов. Они участвуют в поддержании формы клеток, их миграции, прикреплении к субстрату, распластывании на нем, в цитокинезе, а также во многих других явлениях (Wessels et al., 1971; Goldman, Knipe, 1972). В связи с тем что основная часть перечисленных процессов в той или иной степени связана с перемещением самой клетки или ее отдельных частей в пространстве, разнообразные актиновые структуры можно было рассматривать как элементы общей двигательной системы клетки. Такой взгляд не противоречил сложившемуся общепринятыму представлению о наличии в цитоплазме любых клеток специализированных фибрillлярных структур, предназначенных для осуществления клеточной по-движности. В пользу такого представления служили и наши исследования структурной организации сократительного аппарата культивируемых кардиомиоцитов, которые показали, что в первые дни после перевода клеток в культуру их цитоплазма заполнена большим числом параллельно ориентированных типичных миофибрилл. По мере дальнейшего культивирования одновременно происходят изменения формы клеток, которые начинают напоминать распластанные немышечные клетки, увеличение их размеров и реорганизация сократительного аппарата, постепенно превращающегося в большое число радиально расположенных стресс-фибрилл. Миофибрillлярная структура при этом сохраняется только в центральной части клеток. Приблизительно через 3 нед культивирования происходит обратный процесс, состоящий в восстановлении исходной структуры сократительного аппарата. Клетки вновь оказываются полностью заполненными миофибриллами (Борисов и др., 1989). Эти исследования в очередной раз продемонстрировали, что между сократительными системами мышечных и немышечных клеток нет принципиальных различий. В частности, в структуре образующихся в процессе культивирования стресс-фибрилл выявлялась та же мышечная изоформа α -актинина, которая входила в состав исходных миофибрилл. Что же касается характера их пространственной организации, то он, по-видимому, может зависеть от того микроокружения, в которое попадает клетка.

Существенным отличием сократительных систем немышечных клеток от мышечных является их высокая ди-

намичность. Сократительный аппарат мышечных клеток практически не меняет свою структуру, а если такие изменения и происходят в процессе культивирования, то процесс его реорганизации занимает дни и даже недели. Напротив, содержащие актин структуры немышечных клеток подвергаются постоянным и быстрым перестройкам при переходе клетки из одного состояния в другое.

Эти преобразования цитоскелета особенно ярко выявляются в культивируемых клетках практически всех типов. При помещении суспензии клеток в питательной среде в культуральный сосуд они сначала имеют круглую форму и демонстрируют полное отсутствие в цитоплазме каких-либо выраженных структур цитоскелета. Актин выявляется на этой стадии лишь в виде диффузного окрашивания, что свидетельствует о том, что в данное время он находится в клетке лишь в виде коротких олигомеров. Затем в течение нескольких часов происходят постепенное прикрепление клеток к поверхности сосуда и распластывание на ней, которое сопровождается формированием разного типа актиновых структур, в первую очередь стресс-фибрилл. При начале движения клеток по субстрату изменяются их форма и пространственная организация уже сформированной системы актиновых структур. Вначале на переднем крае клетки образуется широкая ламелла, насыщенная сетью пучков актиновых филаментов. Одновременно с этим происходит разборка или переориентация сохранившихся в цитоплазме стресс-фибрилл. При осуществлении межклеточных взаимодействий клетки создают длинные филоподии, заполненные пучками параллельно уложенных актиновых филаментов. При переходе клеток к митозу они снова приобретают округлую форму, а вся разветвленная система актиновых структур разбирается. Зато в области последующего разделения материнской клетки на две дочерние образуется мощный актомиозиновый тяж, который, сжимаясь, соединяет друг с другом противоположные стороны клеточной мембраны и таким образом приводит ее к делению.

Поведение клеток в физиологических условиях существования в составе тканей регулируется как постоянно присутствующими и контактирующими с ними белками внеклеточного матрикса, так и растворимыми биологически активными молекулами — ростовыми факторами, гормонами и хемотактическими пептидами. Адгезионные контакты клетки с внеклеточным матриксом устанавливаются с помощью специфических поверхностных рецепторов интегринов, и образующиеся при этом лиганд-рецепторные комплексы оказывают решающее влияние на динамику и архитектуру системы микрофиламентов (Yamada, Miyamoto, 1995). При этом под мембраной клетки формируются так называемые фокальные контакты, состоящие из уже упомянутых ранее актинсвязывающих белков, от которых отходят стресс-фибриллы. Таким образом, устанавливается прямая связь между внеклеточным матриксом и цитоплазматическими актиновыми структурами (Vasiliev, Gelfand, 1973).

Подобные лиганд-рецепторные комплексы образуют и ростовые факторы. В частности, на клетках линии A431 было показано, что при взаимодействии эпидермального фактора роста (ЭФР) с соответствующими поверхностными рецепторами образуются контакты последних с примембранными микрофиламентами (Van Bergen en Heegeouwen et al., 1989; Van Belzen et al., 1990). Исследуя на тех же клетках процесс кластеризации рецепторов ЭФР, нам удалось показать, что кортикальные актиновые микрофиламенты не только контактируют с этими рецептора-

ми, но и принимают активное участие в их перемещении к полюсу клетки и образовании единого агрегата (так называемый процесс кэпинга). Актинсвязывающие белки спектрин, аннексин и винкулин вместе с актином входят в состав образующихся при этом подмембранных комплексов, причем спектрин принимает участие только в образовании комплекса, а затем выходит из него (Хребтукова и др., 1989; Khrebtukova et al., 1991; Kwiatkowska et al., 1991). Более того, позднее в экспериментах *in vitro* другими исследователями было показано, что рецептор ЭФР способен взаимодействовать и непосредственно с полимерным актином, поэтому авторы назвали его актинсвязывающим белком (Den Hartigh et al., 1992). Заключение, которое сделали авторы этой работы, блестяще демонстрирует неоднозначность наших определений и вытекающих из них последствий. Для всех, кто работает в области исследования механизмов клеточной подвижности, термин «актинсвязывающие белки» означает по умолчанию, что это специализированные белки, в обязанности которых входит участие в построении и обеспечении функционирования двигательных систем клетки. Исходя же из логики данных исследователей актинсвязывающие белки — это белки, которые имеют свои независимые функции, но при определенных условиях способны вступать и во взаимодействие с актином. Тогда правильно ли давать им такое название? И может быть, и это похоже на правду, появляющиеся в литературе все новые и новые актинсвязывающие белки вовсе не исполняют обозначенных ранее для них функций и являются таковыми чисто условно.

Например, на последней конференции по структуре и функции цитоскелета, которая проходила в мае 2008 г. в Стокгольме, был доклад о новом белке, который выделяется при определенных условиях вместе с актином. И хотя авторы не смогли представить какие-либо убедительные данные о его влиянии на основные свойства актина, его, тем не менее, назвали новым актинсвязывающим белком (Ahuja et al., 2008).

По мере изучения взаимодействия клеток с разными белками внеклеточного матрикса, ростовыми факторами и другими биологически активными молекулами постепенно выяснялось, что образование лиганд-рецепторных комплексов сопровождается, с одной стороны, специфичным для данного воздействия клеточным ответом, включая экспрессию соответствующих генов, а с другой — приводит к реорганизации структур актинового цитоскелета. Эти два одновременно протекающих процесса естественно приводили к предположению об участии системы актиновых микрофиламентов в передаче сигнала с поверхности клетки в ядро. Обработка клеток цитохалазином В или циклогексимидом — агентами, избирательно разрушающими структуры цитоскелета, приводила или к прекращению прохождения сигнала, или к его изменению. Эти данные подтверждали высказанные предположения об участии цитоскелета в проведении сигнала.

Наиболее обстоятельно подошел к изучению этого вопроса Теодор Пакк (Puck, 1977). На клетках линии китайского хомячка СНО K1, которые были получены им из злокачественной опухоли и, следовательно, имели деформированный цитоскелет, он показал, что обработка клеток циклическим АМФ приводит к восстановлению нормального фенотипа, в частности к развитию цитоскелета. Разрушение же цитоскелета цитохалазином В или циклогексимидом сопровождалось восстановлением исходного фенотипа, т. е. клетки при трансплантации животным об-

разовывали опухоли, могли культивироваться в полужидком агаре и снова имели деформированный цитоскелет. Он не остановился на этом, а выделил ядра, обработал их ДНКазой I и провел электрофоретический анализ получившихся фрагментов ДНК во всех трех популяциях клеток — исходных, после воздействия циклического АМФ и обработанных агентами, разрушающими цитоскелет. Более того, он провел ДНК—ДНК-гибридизацию с 47 зондами (последовательностями ДНК) и обнаружил, что в хроматине есть такие последовательности, которые становятся доступными для ДНКазы только после обработки клеток цитохалазином В. Из этих результатов он сделал вполне обоснованный вывод о том, что целостность цитоскелета является необходимым условием для нормального проведения сигнала.

Таким образом, вся совокупность имевшихся к концу предыдущего столетия данных свидетельствовала о том, что система актиновых микрофиламентов помимо осуществления в клетках двигательных функций принимает активное участие в проведении внутриклеточного сигнала, а следовательно, и в регуляции экспрессии генов. Об этом широковещательно сообщалось во многих обзорных статьях того времени, но ясных представлений по поводу того, каким именно образом система актиновых микрофиламентов принимает участие в этом процессе, не существует и по настоящее время. А почему именно актиновые филаменты, а не микротрубочки или промежуточные филаменты? Вполне возможно и даже уже неоднократно было показано, что в процессах эндо- и экзоцитоза могут принимать участие все элементы цитоскелета. Поскольку в данном случае речь идет о передаче информации с поверхности клетки в цитоплазму, первым ее воспринимают, если мы говорим о цитоскелете, являются расположенные непосредственно под мембраной актиновые структуры, которые, как уже было показано, изменяют свою пространственную организацию под влиянием внешних лигандов.

Чрезвычайно важные данные для понимания механизмов перестройки актиновых филаментов на этом первом этапе проведения сигнала были получены в результате серии исследований Ридли и Холла (Ridley, Hall, 1992, 1994; Hall, 1994). Они показали, что перестройки цитоскелета регулируются малыми GTFазами суперсемейства онкогена Ras, причем отдельные представители этих GTFаз ответственны за появление вполне определенных актиновых структур. Так, например, активация GTFазы Rho приводит к образованию стресс-фибрилл, Rac способствует формированию ламеллы и подмембранный сети микрофиламентов, а Cdc42 ответственна за формирование филоподий с пучками актиновых филаментов в них (Nobes, Hall, 1995). Кроме того, эти же GTFазы стимулируют и разнообразные сигнальные каскады, приводящие к активации транскрипции и синтезу ДНК (Symons, 1996).

Для того чтобы понять, в какой мере образующиеся актиновые структуры разного типа специфичны для разных лигандов, вызывающих определенный клеточный ответ, мы провели специальное исследование на клетках A431, посаженных на ряд иммобилизованных на подложке белков. В качестве объектов исследования были выбраны фибронектин, ламинин и антитела к рецептору ЭФР. После распластывания на этих белках в течение 1 ч у клеток обнаружился различный характер морфологии и организации актинового цитоскелета, специфичный для каждого типа лиганда. Клетки, распластанные на фибронектине, обладали полигональной формой, в них преобладали

стресс-фибриллы. На субстрате, покрытом ламинином, клетки приобретали вытянутую форму с выраженной ламеллой на ведущем крае. Короткие пучки актиновых микрофиламентов были сосредоточены в ламелле. Кроме того, имелось небольшое количество длинных актиновых нитей, проходящих через всю вытянутую клетку. Клетки, сидящие на антителах к рецептору ЭФР, были покрыты большим числом филоподий, а актин был сосредоточен в них и в циркулярном тяже филаментов непосредственно под мембраной (Are et al., 2001). Для того чтобы проверить, зависит ли такое влияние лигандов на структуру актинового цитоскелета от клеточного типа, такие же эксперименты были проведены на нормальных, иммортализованных и трансформированных эмбриональных фибробластах крысы. Они были посажены на фибронектин и ламинин, и были получены абсолютно такие же результаты, как в предыдущих экспериментах на клетках A431 (Арэ и др., 1999). Из этих данных следовало, что характер пространственной организации системы актиновых микрофиламентов и сопутствующих белков определяется не происхождением клеток, а типом лиганда, с которым они взаимодействуют. Такой вывод вполне соответствовал представлениям других авторов об участии цитоскелета в первой фазе передачи сигнала.

При этом по-прежнему оставались вопросы о том, зачем нужны такие преобразования цитоскелета для дальнейшей внутриклеточной передачи сигнала и с помощью каких молекулярных механизмов цитоскелет может быть включен в этот процесс. Опираясь на весь предыдущий опыт исследований сократительных систем клетки, можно выдвинуть по крайней мере два предположения о возможной роли цитоскелета в передаче сигнала. Во-первых, структуры цитоскелета могут выступать в качестве скаффолда или матрицы, на которой могут собираться и взаимодействовать между собой сигнальные молекулы, состав которых может определяться типом проводимого сигнала. Во-вторых, он может выступать в качестве трансмиссии, по которой с помощью специальных моторных белков активированные сигнальные молекулы доставляются в ядро.

Что касается первого предположения, то в его пользу в литературе имеется уже достаточно много накопленных данных. Результаты разных авторов свидетельствуют о том, что основные и давно уже известные актинсвязывающие белки могут служить в качестве подобных матриц. Мы остановимся только на некоторых примерах.

Филамин — один из первых открытых актинсвязывающих белков. Вначале он так и назывался ABP280 (*actin-binding protein*), но с появлением других белков с такими же функциями его пришлось переименовать. Филамин является гомодимером, и две его субъединицы, взаимодействуя с актином, способствуют образованию ортогранальной сети микрофиламентов, которая обычно выявляется в ламеллоподиях на ведущем крае клетки. Он также осуществляет связь актиновых структур с трансмембранными рецепторами, в частности с интегринами. Помимо выполнения структурных функций он выступает и в качестве матрицы, с которой связывается целый набор сигнальных молекул. Прежде всего, с ним взаимодействует ряд протеинкиназ, выполняющих важную роль в регуляции сигнальных молекул. К ним относятся протеинкиназа А, протеинкиназа С, Ca^{2+} -кальмодулинзависимая протеинкиназа II (Stossel et al., 2001) и RSK p90-рибосомальная S6-киназа (Woo et al., 2004). Кроме того, с ним взаимодействуют андрогеновый receptor, о котором пойдет

речь ниже (Ozanne et al., 2000), и несколько транскрипционных факторов. К ним относятся FOXC1 (Berry et al., 2005), SMAD1—6 (Sasaki et al., 2001) и TRAF2 (Leonardi et al., 2000), включенные в разные сигнальные каскады.

Другим таким белком является α -актинин, который выполняет сходные с филамином функции. Он также связывает между собой актиновые филаменты и устанавливает связь между актиновыми структурами и β -субъединицей интегринов. С α -актинином взаимодействуют PKN-серин/ треонин-протеинкиназа (Mukai et al., 1997), GRK-киназа, фосфорилирующая связанный с G-белком receptor (Freeman et al., 2000), и протеинкиназа MEKK1, активирующая киназы MAP каскада, а также транскрипционный фактор NF- κ B (Christerson et al., 1999). Показано также, что с α -актинином взаимодействуют NMDA-рецептор нейротрансмиттеров (Wyszynsky et al., 1997) и рабфилин 3A, который является мишенью малой GTFазы Rab3A (Kato et al., 1996).

Приведенные данные показывают, что только два структурных белка актинового цитоскелета уже имеют достаточно широкий спектр взаимодействия с сигнальными молекулами и действительно включены в процесс регуляции сигнальных каскадов. Нам также удалось получить чрезвычайно интересные данные в пользу высказанного предположения.

В процессе наших сравнительных исследований влияния белков внеклеточного матрикса на характер пространственной организации актиновых структур в нормальных и трансформированных фибробластах мы обнаружили, что под действием фибронектина в трансформированных клетках полностью восстанавливаются их форма и развитая система актиновых филаментов, неотличимая от той, которой обладают нормальные фибробласти. Возник вопрос: действительно ли происходит нормализация состояния клетки или же это только своего рода имитация ее превращения в это состояние? Необходимо было найти какой-нибудь независимый критерий. Из литературы и собственного опыта было известно, что транскрипционный фактор NF- κ B в нормальных покоящихся клетках находится в цитоплазме, а под влиянием соответствующих индукторов его p65-субъединица транслоцируется в ядро. В трансформированных же клетках этот процесс нарушен, фактор постоянно находится в активированном состоянии и локализуется в ядре (Даринова и др., 1999). Мы решили проверить, оказывает ли фибронектин какое-либо влияние на распределение субъединицы p65 фактора NF- κ B в трансформированных клетках. Наблюдение за локализацией p65 проводили с помощью специфических антител и не обнаружили нормализации в ее распределении под действием фибронектина. Вместе с тем был получен неожиданный результат. Мечение антителами показало, что в клетках, распластанных на фибронектине, транскрипционный фактор NF- κ B в цитоплазме солокализуется со стресс-фибриллами и с фокальными контактами. Более того, при аффинной хроматографии клеточных лизатов на колонках с пришитым к матриксу полимерным актином субъединица p65 NF- κ B входила в число связывающихся с актином белков (Are et al., 2000).

При этом оставалось, однако, неясным, связывается ли транскрипционный фактор непосредственно с актином или с каким-нибудь из присутствующих в лизате актинсвязывающих белков. В связи с тем что в литературе имелись данные о прямом взаимодействии и солокализации в цитоплазме α -актинина и MEKK1-киназы, которая является активатором NF- κ B, представлялось вполне вероят-

ным, что именно этот актинсвязывающий белок может являться партнером для данного транскрипционного фактора. Наши последующие исследования полностью подтвердили это предположение. Эксперименты показали, что одна из изоформ α -актинина действительно сократывается с p65-субъединицей NF-кВ и что они совместно перераспределяются в клетке под действием активаторов транскрипционного фактора (Бабаков и др., 2004).

Нельзя исключить и то, что не только актинсвязывающие белки, но и сам актин может выступать в качестве скаффолда и регулятора некоторых сигнальных процессов. Известно, например, что активация транскрипционного фактора NF-кВ происходит путем отсоединения от него ингибиторной субъединицы I-кВ в результате ее фосфорилирования и последующей протеолитической деградации протеасомами. В то же время нашими исследованиями было показано, что 26S-протеасома, выполняющая эту функцию, непосредственно взаимодействует с фибриллярным актином. Более того, оказалось, что фибриллярный актин способен индуцировать сборку диссоциированного 26S-протеасомного комплекса (Галкин и др., 1998, 2000). Таким образом, в данном конкретном случае как распределение в цитоплазме, так и активация транскрипционного фактора происходят при непосредственном участии актинового цитоскелета.

Рассмотренные примеры взаимодействия сигнальных молекул с элементами цитоскелета убеждают нас в том, что он действительно может выполнять функцию некоторого плацдарма, на котором встречаются, образуют контакты разные белковые молекулы и запускаются сигнальные процессы. Какую роль, однако, играют в этих событиях перестройки актиновых структур, возникающие при участии малых ГТФаз под действием белков внеклеточного матрикса или ростовых факторов? Возможно, конечно, что пространственная реорганизация актинового цитоскелета создает какие-то преимущества для взаимодействия с ним или между собой разных сигнальных молекул, но на сегодняшнем уровне наших знаний о молекулярных взаимодействиях между этими двумя системами явно недостаточно, для того чтобы ответить на этот вопрос.

Продолжая наши эксперименты по влиянию иммобилизованных лигандов на характер организации актинового цитоскелета, мы пришли к выводу о том, что наблюдаемые различия могут являться результатом активации разных малых ГТФаз. Так, формирование в клетках большого числа стресс-фибрилл под действием фибронектина происходило, по-видимому, в результате активации Rho, образование ламеллы и сети микрофилааментов у клеток, сидящих на ламинине, — при активации Rac, а большое количество микроворсинок на поверхности клеток, посаженных на антитела к рецептору ЭФР, могло быть следствием активации Cdc42. Мы решили проверить, действительно ли образование разных актиновых структур является следствием активации соответствующих малых ГТФаз, и обработали клетки, распластанные на разных лигандах, агентами, специфически активирующими Rho (лизофосфатидиловая кислота), Rac (брадикинин) и Cdc42 (ЭФР). Ождалось, что в случае обработки лизофосфатидиловой кислотой клеток, распластанных на фибронектине и заполненных стресс-фибриллами, либо не произойдет никаких изменений, так как Rho уже активирована, либо число стресс-фибрилл увеличится.

Результат получился неожиданный и ошеломляющий. Во всех случаях без исключения обработка перечисленными агентами независимо от типа иммобилизован-

ных лигандов приводила в течение нескольких минут (5—10) практически к полной разборке актинового цитоскелета. На этом процесс не заканчивался, и через 30—40 мин происходило полное восстановление организованной системы микрофилааментов. Как оказалось в наших дальнейших и проводимых в настоящее время экспериментах, подобное влияние на состояние актинового цитоскелета и в те же временные интервалы оказывают самые разнообразные биологически активные молекулы, например конканавалин А, трихостатин, форболовый эфир и др.

Это открытые нами явление может объяснить причину наблюдавшихся реорганизаций системы актиновых микрофилааментов под влиянием широкого спектра взаимодействующих с клеткой биологически активных молекул. Если придерживаться представлений, согласно которым при проведении сигнала цитоскелет может выступать в качестве матрицы для взаимодействия с ней сигнальных молекул, то при длительном и стабильном функциональном состоянии клетки с подобной матрицей должен быть связан определенный набор таких молекул, соответствующих данному состоянию. При появлении нового сигнала, например в результате действия ростового фактора или новых белков внеклеточного матрикса, взаимодействующий с цитоскелетом набор сигнальных и регуляторных молекул должен измениться для перевода клетки в новое функциональное состояние. Произвести это изменение наиболее быстрым и эффективным способом можно путем разборки существующей матрицы и заменой ее другой, на которой может монтироваться уже иной состав взаимодействующих молекул. При этом вновь собранная матрица может иметь предыдущую структуру или создать новую структурную организацию, соответствующую новому функциональному состоянию клетки. Справедливость данных предположений, безусловно, должна быть проверена экспериментально. В том случае, если наша гипотеза получит в дальнейшем экспериментальное подтверждение, описанные здесь драматические преобразования цитоскелета можно будет рассматривать как способ перепрограммирования регуляторных систем клетки.

Таким образом, вся огромная накопленная информация о структуре и функции цитоплазматических сократительных систем клетки свидетельствует о том, что актин и сопутствующие белки выполняют в клетке в первую очередь структурно-регуляторную деятельность, направленную на обеспечение многообразных клеточных процессов. Непосредственно же двигательные функции актомиозина являются лишь частью этой деятельности.

Следующим неожиданным поворотом в наших представлениях о роли сократительных белков или, как теперь стали их называть, белков цитоскелета в жизнедеятельности клетки стало обнаружение их в клеточном ядре. На первые работы, сделанные на ядрах тимуса теленка, ооцитах *Xenopus* и амебах *Dictyostelium* (Onishi et al., 1963; Clark, Merriam, 1977; Fukui, 1978), в которых были выявлены актиноподобные белки, практически не обратили внимания и относились к ним как к неким курьезным и нетипичным случаям. Число работ, демонстрирующих наличие в ядре актина и миозина, а также некоторых актинсвязывающих белков, тем не менее постепенно увеличивалось. Но до тех пор пока с помощью специфических антител не установили ядерную локализацию этих белков в неразрушенных клетках, их рассматривали как некое загрязнение препаратов цитоплазматическим материалом в процессе выделения ядер.

После того как выяснилось, что актин действительно присутствует в ядрах самых разнообразных клеток, встал вопрос о том, в каком виде он там находится и каковы его функции. Прежде всего возникали трудности с его выявлением. В то время как его обнаруживали при электрофорезе, он не окрашивался на цитологических препаратах родамин-фаллоидином — люминесцирующим красителем, с помощью которого актиновые структуры обычно выявляют в цитоплазме. По этому поводу высказывались самые разнообразные предположения. Согласно мнению одних авторов, актин находится в ядрах в мономерной форме или в виде коротких олигомеров, не окрашиваемых родамин-фаллоидином. Другие считали, что он может быть покрыт другими белками и поэтому недоступен для красителя. Исходя из данных о наличии в структуре актина двух экспорт-доменов (доменов, способствующих быстрому выходу молекулы из ядра в цитоплазму), третьи авторы полагали, что актин не находится в ядре постоянно, а все время курсирует между ядром и цитоплазмой.

К сожалению, и по сей день нет полной ясности как по поводу распределения актина в ядерных компартментах, так и обо всех основных его функциях. Фактически имеются только косвенные указания на некоторые из них. В ядре, например, был обнаружен целый ряд актинсвязывающих белков, выполняющих в цитоплазме вполне определенные функции, по которым можно было догадываться о состоянии и поведении в нем актина. Так были найдены тимозин и профилин, обычно взаимодействующие только с мономерным актином и принимающие участие в его переходе в фибрillярную форму. Следовательно, переход G—F актина в ядре, скорее всего, может происходить. Кроме того, были также найдены супервиллин, латерально связывающий нити актина, кэпирующий белок CapG, кофилин, разрезающий филаменты актина на олигомеры, и некоторые другие.

Представляют безусловный интерес данные о присутствии в ядерном матриксе белков 4.1 и спектрина, которые в эритроцитах осуществляют взаимодействие олигомеров актина с клеточной мембраной. Белок 4.1 принимает участие в сплайсинге предшественников мессенджер РНК и иммунопреципитирует вместе с некоторыми сплайсинг-факторами. При его удалении из комплексов соответствующими антителами сплайсинг предшественников РНК *in vitro* подавляется (Lalena et al., 1998). Наряду с этим выяснилось, что предшественники РНК связываются с актином в ядерном матриксе, а обработка матрикса цитохалазином В, разрушающим полимеры актина, приводит к их быстрому выходу в окружающую среду (Schroder et al., 1987).

Другой возможной функцией актина в ядре является его участие в реорганизации структуры хроматина. Было показано, что β -актин и актиноподобный белок BAP53, гомологичный ARP3, входят в состав комплекса, ремоделирующего хроматин. Согласно последним публикациям, актин и миозин вовлечены в межхромосомные взаимодействия, которые влияют на экспрессию генов (Dundr et al., 2007). Все эти наблюдения представляют несомненный интерес, но пока они не дают ответа на главный вопрос: в чем состоит роль актина в этих явлениях, является ли он вместе с миозином двигателем механизмом или же неким связующим элементом белковых комплексов?

В последние годы в научной литературе появились сенсационные публикации о непосредственном участии актина и миозина в акте транскрипции. Вначале было об-

наружено, что актин выделяется из ядер в комплексе с РНК-полимеразой II (Smith et al., 1979). Выяснилось также, что микроинъекции антител к актину или актинсвязывающих белков подавляет транскрипцию на хромосомах (ламповых щетках) хирономуса (Scheer et al., 1984). Затем с помощью антител выявили его локализацию в сайтах транскрипции у мышиных эмбрионов (Nguyen et al., 1998). И наконец, установили, что под влиянием интерферона происходит взаимодействие комплекса РНК-полимеразы II и актина с промотором интерферон-индукционного гена (Hoffman et al., 2004). Почти одновременно с проведением данных исследований другими авторами было установлено, что актин и миозин выполняют аналогичную функцию и при взаимодействии с РНК-полимеразами I и III, поэтому они также необходимы для осуществления транскрипции соответствующих генов (Fomproix, Percipalle, 2004; Hu et al., 2004).

Сделанные открытия вызвали оживленную дискуссию, стимулировали развитие интенсивных дальнейших исследований в этой новой области и поставили новые вопросы (Pederson, 2008; Shleicher, Jockush, 2008). На наш взгляд, наиболее важными вопросами являются следующие. В какой форме — мономерной или полимерной — актин принимает участие в ядерных процессах? Какое именно участие в транскрипционном акте осуществляют актин и миозин? И наконец, происходит ли взаимодействие приходящих в ядро цитоскелетных белков с ядерным актином?

В течение последнего десятилетия появились работы, свидетельствующие о том, что ряд примембранных актинсвязывающих белков при определенных условиях способны мигрировать в ядро. В их число входят зиксин (Nix et al., 2001), паксилин (Woods et al., 2002), эзрин (Kaul et al., 1999), филамин (Ozanne et al., 2002), α -актинин (Бабаков и др., 2004; Babakov et al., 2008) и некоторые другие. Все перечисленные белки могут служить матрицами, с которыми взаимодействуют сигнальные молекулы. При этом, однако, совершенно неизвестно, несут ли они на себе при миграции в ядро какие-нибудь из них, что происходит с ними в ядре и взаимодействуют ли они с внутриядерным актином.

Иключение составляют филамин и α -актинин. О них известно значительно больше. С филамином связан андрогеновый рецептор, который при перемещении в ядро становится транскрипционным фактором. Транслокация филамина в ядро или, вернее, его C-концевого фрагмента, к которому присоединен рецептор, происходит после действия на него протеазы кальпаина, отщепляющей этот фрагмент. Таким образом фрагмент с рецептором попадают в ядро, неизвестно. В присутствии фрагмента рецептор не способен выполнять свою трансактивирующую функцию. Это становится возможным только после вытеснения фрагмента из комплекса находящимся в ядре коактиватором транскрипции TIF2 (Loy et al., 2003).

В результате наших собственных исследований впервые было установлено, что α -актинин-4 вместе с взаимодействующей с ним p65-субъединицей транскрипционного фактора NF- κ B под влиянием ЭФР, трансформирующего фактора роста (TNF_a) и фибронектина транслокируются в ядро, где они выявляются в составе достаточно крупных белковых комплексов (Бабаков и др., 2004; Bolshakova et al., 2007; Babakov et al., 2008). Следует подчеркнуть, что помимо полноразмерной молекулы α -актинина в ядре обнаруживаются и его фрагменты, которые не выявляются в цитоплазме. В связи с тем что ра-

нее была продемонстрирована важная физиологическая функция его фрагментов, вполне можно ожидать, что они оказывают влияние на процесс активации приходящего вместе с ним в ядро транскрипционного фактора (Luikart et al., 1999). Какова роль α -актинина в ядре, пока еще не известно, но проводимые в настоящее время исследования должны дать ответ на этот очень важный вопрос.

Как мы можем видеть из всего рассмотренного экспериментального материала, деятельность актина и миозина не ограничивается чисто двигательными функциями. Локализация этих белков практически во всех имеющихся компартментах клетки вплоть до ядра и хроматина и участие в осуществлении самых разнообразных клеточных функций дают основание рассматривать их как универсальную структурно-регуляторную систему, позволяющую объединять на единой молекулярной основе протекание плохо сочетаемых биохимических процессов. Мы еще очень мало знаем об организации этой системы и причинно-следственных связях, возникающих между участвующими в ее деятельности белковыми компонентами. В частности, на протяжении всего обзора неоднократно упоминалось «об участии актинового цитоскелета в проведении сигнала с поверхности клетки в ядро». Парадоксальность ситуации заключается в том, что именно о механизмах проведения или перемещения элементов сигнальной системы в пространстве и достижения ими конечной цели практически ничего не известно. Существуют представления о том, что в этом процессе могут принимать участие возникающие механические напряжения во всей передающей системе, и это нельзя исключать (Ingber, Folkman, 1989; Ingber, 2002, 2003). В то же время филамин, α -актинин и другие уже упомянутые белки, исходно находящиеся на краю клетки, преодолевают огромные пространства, для того чтобы попасть в ядро. И для этого они должны перемещаться физически. Как это ни странно, но решения именно этой проблемы, наиболее близкой к сократительной или двигательной функции актомиозина, как раз и не происходит.

В заключение я хочу подчеркнуть, что наши собственные исследования сократительных систем мышечных и немышечных клеток были начаты в Лаборатории биохимических основ репродукции начиная с момента ее создания и при всемерной поддержке ее заведующего Владимира Иосифовича Воробьева.

Список литературы

- Арэ А. Ф., Пospelova Т. В., Пинаев Г. П. 1999. Особенности структуры актинового цитоскелета и его реорганизация под влиянием белков внеклеточного матрикса у нормальных, иммортилизованных и трансформированных фибробластов крысы. Цитология. 41 (8) : 707—715.
- 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 p65/RelA-субъединица транскрипционного фактора NF-кВ солокализуются и мигрируют вместе в ядро стимулированных ЭФР клеток A431. Цитология. 46 (12) : 1064—1072.
- Борисов А. Б., Гончарова Е. И., Пинаев Г. П., Румянцев П. П. 1989. Изменения локализации α -актинина и миофibrilllogenеза в кардиомиоцитах во время культивирования. Цитология. 31 (6) : 642—646.
- Галкин В. Е., Бабаков В. Н., Туроверова Л. В., Константина И. М., Пинаев Г. П. 2000. Фибрillлярный актин индуцирует сборку диссоциированного 26S-протеасомного комплекса. Цитология. 42 (9) : 875—883.
- Галкин В. Е., Туроверова Л. В., Константина И. М., Пинаев Г. П. 1998. 26S-комплекс (26S-протеасома) непосредственно взаимодействует с фибрillлярным актином. Цитология. 40 (7) : 618—626.
- Дариева З. А., Поспелов В. А., Поспелова Т. В. 1999. Транскрипционный фактор RelA/NF-кВ конститтивно активирован и локализован в ядре E1A + cHa-Ras-трансформантов. Цитология. 41 (7) : 622—627.
- Маргулис Б. А., Пинаев Г. П. 1976. Сравнительная характеристика фракционного состава сократительных белков запирательных мышц моллюсков. В кн.: Биофизика и биохимия мышечного сокращения. М.: Наука. 53—59.
- Маргулис Б. А., Пинаев Г. П. 1977. Различия в составе и свойствах сократительных белков запирательных мышц двувторчатых моллюсков. Биология моря. 1 (1) : 63—72.
- Пинаев Г. П. 1964. Структурные изменения актомиозиновых частиц скелетных мышц в онтогенезе. Биохимия. 30 (1) : 20—32.
- Пинаев Г. П., Хайтлина С. Ю. 1972. Изменение формы и размера частиц актина в онтогенезе. Журн. эволюц. биохим. физиол. 4 (4) : 369—374.
- Хребтукова И. А., Никольская А. Н., Соркин А. Н., Соркин А. Б., Пинаев Г. П. 1989. Кэплинг рецепторов эпидермального фактора роста и участие цитоскелета в этом процессе в клетках A431. Цитология. 31 (10) : 1211—1220.
- Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. 1942. К механохимии мышц. Биохимия. 7 (1) : 205—211.
- Aebi U., Fowler W. E., Isenberg G., Pollard T. D., Smith P. R. 1981. Crystalline actin sheets: their structure and polymorphism. J. Cell Biol. 91 : 340—351.
- Ahuja R., Pinvol R., Reichenbach N., Custer L., Clingsmith J., Kessels M. M., Qualmann B. 2008. Cordon-bleu is a novel actin nucleation factor and controls neuronal morphology. The cytoskeleton. Regulation and motility. In: The 7th SACR meeting. Djuronas, Sweden. 28.
- Are A. F., Galkin V. E., Pospelova T. V., Pinaev G. P. 2000. The p65/Rel A subunit of NF-кB interacts with actin-containing structures. Exp. Cell Res. 256 : 533—544.
- Are A., Pinaev G. P., Burova E., Lindberg U. 2001. Attachment of A-431 cells on immobilized antibodies of the EGF receptor promotes cell spreading and reorganization of the microfilament system. Cell Motil. Cytoskeleton. 48 : 24—36.
- Babakov V. N., Petukhova O. A., Turoverova L. V., Kropacheva I. V., Tentler D. G., Bolshakova A. V., Podolskaya E. P., Magnusson K.-E., Pinaev G. P. 2008. RelA/NF-кB transcription factor associated with α -actinin-4. Exp. Cell Res. 314 : 1030—1038.
- Bailey K. 1948. Tropomyosin: a new asymmetric protein component of the muscle fibril. Biochem. J. 43 : 271—279.
- Berry F. B., O'Neil M. A., Coca-Parados 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.
- Bolshakova A., Petukhova O., Turoverova L., Tentler D., Babakov V., Magnusson K.-E., Pinaev G. 2007. Extra-cellular matrix proteins induce re-distribution of α -actinin-1 and α -actinin-4 A431 cells. Cell Biol. Int. 31 : 360—365.
- Christerson L. B., Vanderbilt C. A., Cobb M. H. 1999. MEKK1 interact with α -actinin and localizes to stress fibers and focal adhesions. Cell Motil. Cytoskeleton. 43 : 186—198.
- Clark T. G., Merriam R. W. 1977. Diffusible and bound actin in nuclei of *X. laevis* oocytes. Cell. 12 : 883—891.
- Den Hartigh J. C., van Bergen en Heugouwen P. M., Verkleij A. J., Boonstra J. 1992. The EGF receptor is an actin-binding protein. J. Cell Biol. 119 : 349—355.
- Dundr M., Ospina J. K., Sung M. H., John S., Upender M., Ried T., Hager J. L., Matera A. G. 2007. Actin-dependent intranuclear repositioning of an active gene locus *in vivo*. J. Cell Biol. 179 : 1095—1103.
- Ebashi S., Ebashi F., Maruyama K. 1964. A new protein factor promoting contraction of actomyosin. Nature. 203 : 645—646.
- Engelgardt V. A., Lubimova M. N. 1939. Myosin and adenosinetriphosphatase. Nature. 144 : 668—669.

- Fomproix N., Percipalle P. 2004. An actin-myosin complex on actively transcribing genes. *Exp. Cell Res.* 294 : 140—148.
- Freeman J. L. R., Pitcher J. A., Li X., Bennett V., Lefkowitz R. J. 2000. α -Actinin is potent regulator of G protein-coupled receptor kinase activity and substrate specificity *in vivo*. *FEBS Lett.* 473 : 280—284.
- Fukui Y. 1978. Intranuclear actin bundles induced by dimethyl sulfoxide in interphase nucleus of *Dictyostelium*. *J. Cell Biol.* 76 : 146—157.
- Goldman R. D., Knipe D. 1972. Functions of cytoplasmic fibers in non-muscle cell motility. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 37 : 523—534.
- Goldman R. D., Lazarides E., Pollack R., Weber K. 1975. The distribution of actin in non-muscle cells: the use of actin antibody in the localization of actin within the microfilament bundles of mouse 3T3 cells. *Exp. Cell Res.* 90 : 333—344.
- Gordon W. E. 1978. Immunofluorescent and ultrastructural studies of sarcomeric units in stress fibers of cultured nonmuscle cells. *Exp. Cell Res.* 117 : 253—260.
- Hall A. 1994. Small GTP-binding proteins and the regulation of actin cytoskeleton. *Annu Rev. Cell Biol.* 10 : 31—34.
- Halliburton W. D. 1887. On muscle-plasma. *J. Physiol.* 8 : 133—202.
- Hoffman W. A., Stojiljkovic L., Fuchsova B., Vargas W. M., Mavrommatis T., Philimonenko V., Kysela K., Goodrich J. I., Lessard J. L., Hope T. J. 2004. Actin is part of pre-initiation complexes and is necessary for transcription by RNA polymerase II. *Nat. Cell Biol.* 6 : 1094—1101.
- Hu P., Wu S., Hernandes N. 2004. A role for β -actin in RNA polymerase III transcription. *Genes Develop.* 18 : 3010—3015.
- Huxley H. E. 1953. Electron microscopic studies on the organization of filaments in striated muscle. *Biochim. biophys. acta.* 12 : 387—394.
- Huxley H. E., Hanson J. 1954. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. *Nature.* 173 : 973—976.
- 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. E., 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.
- Kato M., Sasaki T., Ohya T., Nakanishi H., Nishioka H., Imamura M., Takai Y. 1996. Physical and functional interaction of rabphilin-3A with α -actinin. *J. Biol. Chem.* 271 : 31 775—31 778.
- 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.
- Khrebtukova I. A., Kwiatkowska K., Gudkova D., Sorokin A. V., Pinaev G. P. 1991. The role of microfilaments in the capping of epidermal growth factor receptor in A-431 cells. *Exp. Cell Res.* 194 : 48—55.
- Kuehne W. 1859. Untersuchungen über Bevegungen und Veränderungen der contractilen Substanzen. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin.* 748—835 (<http://vlp.mpiwg-berlin.mpg.de/references?id=lit1938&page=p0564>).
- Kwiatkowska K., Khrebtukova I. A., Gudkova D., Pinaev G. P., Sobota A. 1991. Actin-binding proteins involved in the capping of epidermal growth factor receptors in A-431 cells. *Exp. Cell Res.* 196 : 255—263.
- Lallena M. J., Martinez C., Valcárcel J., Correas I. 1998. Functional association of nuclear protein 4.1 with pre-mRNA splicing factors. *J. Cell Sci.* 111 : 1963—1971.
- Lazarides E. 1975. Immunofluorescence on the structures of actin filaments in tissue culture cells. *J. Histochem. Cytochem.* 23 : 507—528.
- 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.* 280 : 12 774—12 780.
- Loy C. J., Sim K. S., Yong E. L. 2003. Filamin A fragment localizes to the nucleus to regulate androgen receptor and coactivator functions. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 100 : 4563—4567.
- Luikart S. D., Wahl D., Hinkel T., Mastri M., Oegema T. 1999. A fragment of α -actinin promotes monocyte/macrophage maturation *in vitro*. *Exp. Hematol.* 27 : 337—344.
- Lynn R. W., Taylor E. W. 1971. Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin. *Biochemistry.* 10 : 4617—4624.
- Margulis B. A., Bobrova I. F., Mashansky V. F., Pinaev G. P. 1979. Major myofibrillar protein content and the structure of mollusc adductor contractile apparatus. *J. Comp. Biochem. Biophys.* 64a : 291—298.
- Mukai H., Toshimori M., Shibata H., Takanaga H., Kitagawa M., Miyahara M., Shimakawa M., Ono Y. 1997. Interaction of PKN with α -actinin. *J. Biol. Chem.* 272 : 4740—4746.
- Nguyen E., Besombes D., Debey P. 1998. Immunofluorescent localization of actin in relation to transcription sites in mouse pronucleus. 50 : 263—272.
- Nix D. A., Fradelizi J., Bockholt S., Menichi B., Louvard D., Friederich E., Beckerle M. C. 2001. Targeting of zyxin to sites actin membrane interaction and to the nucleus. *J. Cell Biol.* 276 : 34 759—34 767.
- Nobes C. D., Hall A. 1995. Rho, Rac and Cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia and filopodia. *Cell.* 81 : 53—62.
- Onishi T., Kawamura H., Yamamoto T. 1963. Extraction of a protein resembling actin from the cell nucleus of the calf thymus. *J. Biochem.* 54 : 298—300.
- 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.
- Pederson T. 2008. As functional nucleolar actin comes into view, is it globular, filamentous, or both? *J. Cell Biol.* 180 : 1061—1064.
- Pollard T. D., Weihing R. R. 1974. Cytoplasmic actin and myosin and cell movement. *CRC. Critical Rev. Biochem.* 2 : 1—65.
- Puck T. T. 1977. Cyclic AMP, the microtubule-microfilament system, and cancer. *PNAS.* 74 : 4491—4495.
- Rando O. J., Zhao K., Crabtree G. R. 2000. Searching for a function for nuclear actin. *Trends Cell Biol.* 10 : 92—97.
- Ridley A. J., Hall A. 1992. The small GTP-binding protein Rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response of growth factors. *Cell.* 70 : 389—399.
- Ridley A. J., Hall A. 1994. Signal transduction pathways regulating Rho mediated stress fiber formation: requirement for a tyrosine kinase. *EMBO J.* 13 : 2600—2610.
- 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—17 887.
- Scheer U., Hinssen H., Franke W. W., Jockusch B. M. 1984. Microinjection of actin-binding proteins and actin antibodies demonstrates involvement of nuclear actin in transcription of lampbrush chromosomes. *Cell.* 39 : 111—122.
- Schollmeyer J. V., Goll D. E., Stromer M. H., Dayton W., Singh I., Robson R. 1974. Studied on the composition of the Z disk. *J. Cell Biol.* 63 : 303a.
- Sheicher M., Jockusch B. M. 2008. Actin: its cumbersome pilgrimage through cellular compartments. *Histochem. Cell Biol.* 129 : 695—704.
- Shroder H. C., Tröllsch D., Wenger R., Bachmann M., Diethl-Seifert B., Müller W. E. 1987. Cytochalasin B selectively releases ovalbumin mRNA precursors but not the mature ovalbumin mRNA from hen oviduct nuclear matrix. *Eur. J. Biochem.* 167 : 239—245.
- Smith S. S., Kelly K. H., Jockusch B. M. 1979. Actin co-purifies with RNA polymerase II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 86 : 161—166.

- Stossel T. P., Condeelis J., Cooley L., Hartwig H. G., Noegel A., Schleicher M., Shapiro S. S. 2001.* Filamins as integrators of cell mechanics and signaling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2 : 138—145.
- Straub B. 1942.* Actin. I. Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged. 2 : 7—16.
- Symons M. 1996.* Rho family GTPases: the cytoskeleton and beyond. *Trends Biochem. Sci.* 21 : 178—181.
- Szent-Gyorgyi A. 1945.* Studies on muscle. *Acta Physiol. Scandavica. Supplement XXV.* 20 p.
- Szent-Gyorgyi A. 1947.* Chemistry of muscular contraction. New York: Acad. Press. 378 p.
- Szent-Gyorgyi A. 1951.* Nature of the contraction of muscle. *Nature.* 167 : 380—381.
- Szent-Gyorgyi A. G. 2004.* The early history of the biochemistry of muscle contraction. *J. Gen. Physiol.* 123 : 631—641.
- Van Belzen N., Spaargaren M., Verkleij A. J., Boonstra J. 1990.* Interaction of epidermal growth factor receptor with the cytoskeleton is related to receptor clustering. *J. Cell. Physiol.* 145 : 365—375.
- Van Bergen en Hevengouwen P. M., Delize L. H., de Kroon J., van Damme H., Verkleij A. J., Boonstra J. 1989.* Ligand induced association of epidermal growth factor receptor to the cytoskeleton of A431 cells. *J. Cell. Biochem.* 39 : 455—465.
- Vasiliev J. M., Gelfand I. V. 1973.* Interaction of normal and neoplastic fibroblasts with the substratum. *Ciba Symp.* 14 : 311—331.
- Wessels N. K., Spooner B. S., Ash J. F., Bradley M. O., Luddenden M. A., Taylor E. I., Wrenn J. T., Yamada K. M. 1971.* Microfilaments in cellular and developmental processes. *Science.* 171 : 135—138.
- Woo V. S., Ohita Y., Rabinovitz I., Stossel T. P., Blenis J. 2004.* Ribosomal S6 kinase (RSK) regulates phosphorylation of filamin on an important regulatory site. *Mol. Cell. Biol.* 24 : 3025—3035.
- Woods A. J., Roberts N. 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 I at the dense endoplasmic reticulum and the leading edge of migrating cells. *J. Biol. Chem.* 277 : 6428—6437.
- Wyszynsky M., Lin J., Rao A., Nigh E., Beggs A. H., Craig A. M., Sheng M. 1997.* Competitive binding of α -actinin and calmodulin to the NMDA receptor. *Nature.* 385 : 439—442.
- Yamada K. M., Miyamoto S. 1995.* Integrin transmembrane signaling and cytoskeletal control. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7 : 681—689.

Поступила 7 X 2008

CONTRACTILE SYSTEMS OF A CELL: FROM MUSCLE CONTRACTION TO REGULATION OF CELL FUNCTIONS

G. P. Pinaev

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: pinaev@mail.cytspb.rssi.ru

The review is devoted to analysis of sequential modifications of our views on structural organization and functional significance of actin-myosin system in vital activity of a cell. Originally it was considered as a contractile apparatus of muscle cells only. Then actin, myosin and their accompanying proteins have been found in the cytoplasm of all non-muscle cells and shown to take part and be responsible for different types of cell motility. Later on, it has been found that actin is a highly polymorphic protein, which is able to form different structures and to play a role in a broad spectrum of cellular functions up to signal transduction and chromatin reorganization. And finally, the latest data demonstrate that actin and myosin directly participate in gene transcription and messenger RNA splicing. Thus, the data accumulated to date allow us to consider these proteins as the universal structural-regulatory system which provides a way to unite various poorly combined biochemical processes on the same molecular basis.

Key words: actin, myosin, actin-binding proteins, contractile system, cytoskeleton, signaling, transcription.