

## НЕСПРИНЫ — БЕЛКИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ЦЕЛОСТНОСТЬ ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТКИ

© *Е. Г. Першина*,<sup>1</sup> *К. Н. Морозова*,<sup>1, 2</sup> *Е. В. Киселева*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, и*

<sup>2</sup> *Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
кафедра цитологии и генетики;  
morozko@bionet.nsc.ru*

Настоящий обзор посвящен неспринам — относительно недавно открытым белкам ядерной оболочки. Несприны необходимы для поддержания клеточной архитектуры, а мутации кодирующих их генов приводят к различным тканеспецифичным заболеваниям, включая липодистрофии, дисфункции сердечных и скелетных мышц и потерю слуха. Эти белки характеризуются наличием большого числа изоформ и содержат спектриновые повторы, обеспечивающие взаимодействие неспринов с белками ядерной оболочки, цитоскелета и внутриядерного матрикса. В обзоре приведены современные представления о структурной организации и функции неспринов в клетке. В отдельный раздел вынесены заболевания, связанные с нарушением экспрессии неспринов.

**Ключевые слова:** несприны, ядерная оболочка, ламинопатии, цитоскелет, ядерный матрикс.

**Принятые сокращения:** ЯдО — ядерная оболочка, ЯПК — ядерный поровый комплекс, СП — спектриновые повторы, ПФ — промежуточные филаменты, ЭПР — эндоплазматический ретикулум, LINC — линкер ядерного скелета и цитоскелета (linker of the nucleoskeleton and cytoskeleton), EDMD — мышечная дистрофия Эмери—Дрейфуса.

Открытие неспринов обусловлено существенным прогрессом в исследовании особенностей структурно-функциональной организации ядерной оболочки (ЯдО) — высокоорганизованной мембранной структуры, обеспечивающей полупроницаемый барьер между ядром и цитоплазмой. Наружная и внутренняя мембраны ЯдО, разделенные перинуклеарным пространством, сливаются в области ядерных поровых комплексов (ЯПК), регулирующих ядерно-цитоплазматический транспорт ионов, белков и РНК (Warren et al., 2005; Губанова, Киселева, 2007). Белки ЯдО и прилегающей к ней ламины, представляющей собой сеть промежуточных филаментов, играют важную роль в организации хроматина и регуляции экспрессии генов (Prunuske, Ullman, 2006; Smith et al., 2011). Мутации белков ламины А/С (кодируемых геном LMNA) и белков внутренней мембраны ядерной оболочки (эмерин и др.) служат причиной широкого ряда заболеваний человека, включающих в себя частичную липодистрофию, нейропатию Шаркот—Мари—Туса второго типа (СМТ2) и прогерия Хатчинсона—Гилфорда (HG), которые общеизвестны как ламинопатии (Zhang et al., 2007; Malhotra, Mason, 2009; Naque et al., 2010).

До недавних пор оставалось неясным, каким образом нарушения в организации и конформации белков ядерной мембраны и ламины могут быть причиной настолько различных клинических синдромов. Ситуация прояснилась с открытием у млекопитающих семейства белков неспринов (Nesprins — nuclear envelope spectrin-repeat

proteins), способных взаимодействовать как с эмерином, так и с белками ламины (Warren et al., 2005). Структура различных изоформ неспринов позволяет предположить, что они формируют белковый «скаффолд», который связывает ЯдО с компонентами ядра и цитоплазматическими органеллами, а также с клеточной мембраной. Высказана гипотеза о том, что именно они обеспечивают передачу механических сигналов между ядром и цитоплазмой, вследствие чего многие ламинопатии возникают в результате нарушения взаимодействия неспринов с белками ЯдО и ламины (Cartwright, Karakesisoglou, 2013).

### Открытие неспринов

Несприны были идентифицированы в 2001—2002 гг. параллельно несколькими исследовательскими группами (Zhang et al., 2001, 2002; Mislou et al., 2002; Zhen et al., 2002). По этой причине, а также из-за множества изоформ и сложной экспрессии на начальном этапе использовали различные названия этих белков (см. таблицу, столбец 1). В настоящее время используется другая номенклатура неспринов (см. таблицу, столбец 2).

Для неспринов характерно наличие нескольких специфических доменов (рис. 1). Имеются основной «стержневой» домен, представляющий собой цепочку спектриновых повторов (СП), С-концевой домен KASH, соединяющий несприны с белками ЯдО, и несколько различных

**Номенклатура изоформ первых изученных неспринов млекопитающих и их аналоги в соответствии с современной классификацией (по: Warren et al., 2005)**

Первоначальное название	Современное название изоформ несприна	Предполагаемая функция
Syne-1A	Несприн-1A	Участие в нейромышечных соединениях
Syne-1B	Фрагмент несприна-1B	Структура и функции комплекса Гольджи
Munc-1	Несприн-1A	Связывание с ламинем (в мышцах)
CPG2	N-концевые изоформы несприна-1	Реакция на свет (в мозге)
ENAPTIN	Гигантская изоформа несприна-1	Связывание актинового цитоскелета с ядерной оболочкой
Syne-2	Частично несприн-1 $\gamma$	Неизвестно
NUANCE	Гигантская изоформа несприна-2	Связывание актинового цитоскелета с ядерной оболочкой

доменов, связывающих эти белки с компонентами цитоскелета. Ниже приведены характеристика этих доменов и их предполагаемая функция.

### Спектриновые повторы

Домены, содержащие СП, впервые были описаны для спектрина — белка цитоскелета (De Matteis, Morgow, 2000). Кроме того, СП были выявлены в многочисленных белках линейной формы, которые являются компонентами цитоскелета либо связаны с ним (например, дистрофин и утrophин) (Warren et al., 2005). Именно СП формируют основу неспринов. Предполагают, что они функционируют в качестве белковых якорей, координируя специфические белок-белковые взаимодействия и опосредуя, таким образом, множество процессов в клетке — от поддержания внутриклеточной структуры до внутриклеточной сигнализации (De Matteis, Morgow, 2000; Warren et al., 2005).

Белки из семейства спектринов имеют консервативные СП, что позволяет им димеризоваться через взаимо-

действие этих последовательностей (Warren et al., 2005). В хорошо изученных неспринах-1 и -2 наиболее консервативные повторы локализованы вплотную к С-концу, а также в виде кластеров различного размера по всей длине гигантских белков. Кластеры СП разделены менее консервативными доменами, которые, как предполагают, позволяют неспринам быть очень гибкими (Zhang et al., 2001). Более того, показано, что несприн-1 $\alpha$  может взаимодействовать сам с собой через СП3 и СП5 (Mislow et al., 2002; Warren et al., 2005), однако пока неизвестно, демонстрирует ли это наблюдение способность неспринов димеризоваться и проявляют ли данное свойство другие изоформы неспринов.

### Трансмембранный KASH-домен

Каждый из неспринов обладает С-концевым KASH-доменом из 50—60 аминокислотных остатков, образующим трансмембранную спираль в просвете ядерной оболочки. KASH-домен (Klarsicht/ANC-1/Syne Homology) гомологичен С-концу белка Klarsicht у *Drosophila* (Zhang et al., 2001; Warren et al., 2005). Домен KASH (другое название KLS) локализован на С-конце неспринов и представляет собой высококонсервативный участок длиной около 35 аминокислот (Starr, Fischer, 2005). Локализация KASH-доменов на наружной ядерной мембране зависит от взаимодействия с белками SUN (Sad1/UNC-84), расположенными на внутренней ядерной мембране. KASH-домен неспринов встраивается в ЯДО либо с внутренней, либо с наружной стороны ядра и связывается в перинуклеарном пространстве с SUN-доменом белков ЯДО (Padmakumar et al., 2005), обеспечивая взаимодействие нуклеоскелета с цитоскелетом и формируя так называемый LINC-комплекс (Linker of the Nucleoskeleton and Cytoskeleton). Схема организации LINC-комплекса представлена на рис. 2. Таким образом, KASH-домен ответствен за обеспечение физической связи неспринов с ядерной оболочкой (Haque et al., 2006).

В соматических клетках млекопитающих семейство SUN-белков представлено белками Sun1 и Sun2. Ассоциация между неспринами и белками Sun1 и Sun2 включает в себя прямое взаимодействие их соответствующих последовательностей KASH- и SUN-доменов в перинуклеарном пространстве (Sosa et al., 2012). Таким образом, несприны и SUN-белки представляют собой звенья в молекулярной цепи, охватывающей внутреннюю и наружную ядерные мембраны, которые механически связывают ядерные структуры с цитоскелетом. Гиперэкспрессия фрагментов KASH-домена и нокаут по таким компонен-

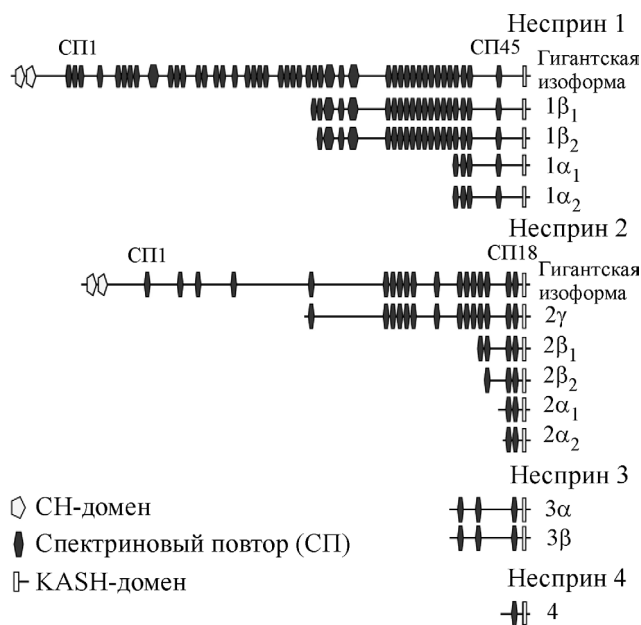


Рис. 1. Схема строения неспринов-1—4 и их изоформ.

Изоформы различаются по размеру, содержат различное число повторов на N-конце и консервативный С-концевой KASH-домен (Mellad et al., 2011, с изменениями).

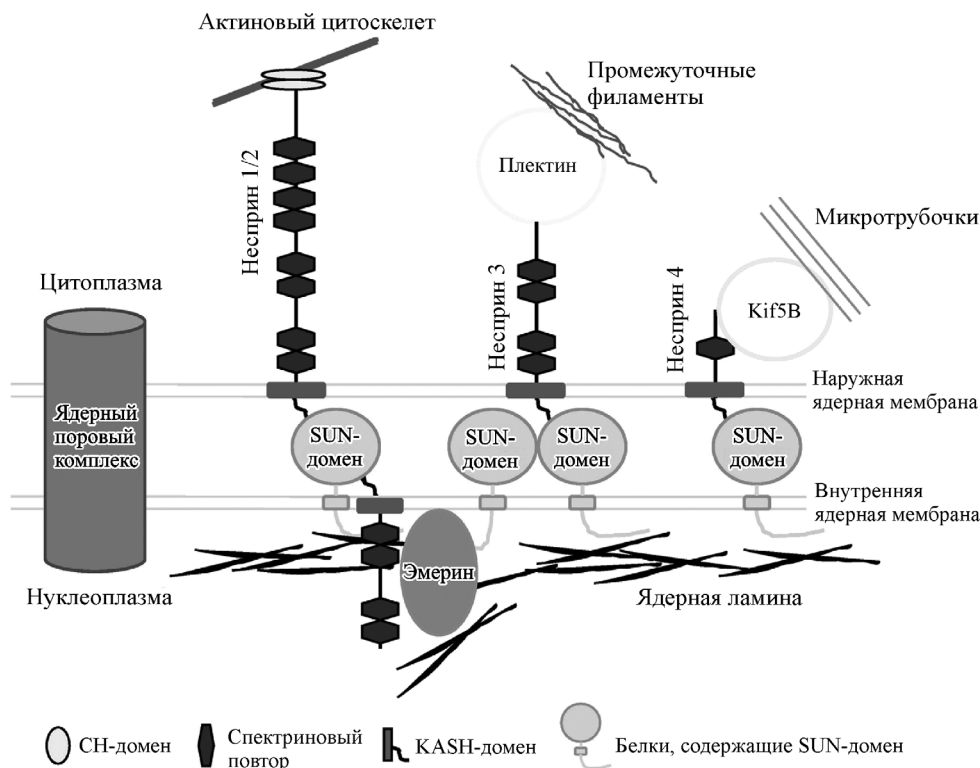


Рис. 2. Схема организации LINC-комплекса, включающего в себя несприны-1—4 и SUN-белки. Комплекс обеспечивает взаимодействие компонентов ядерной оболочки и цитоскелета (Mellad et al., 2011, с изменениями).

там LINC-комплекса, как несприна-1, несприна-2, Sun-1, Sun-2 или ламины, вызывают отсоединение ядра от цитоскелета и снижение его механической жесткости (Razafsky, Hodzic, 2009; Mellad et al., 2011).

### Структура неспринов-1 и -2

Эти два типа белков были открыты первыми в семействе неспринов примерно в одно и то же время (2001—2002 гг.), имеют сходные функции и являются наиболее изученными в настоящий момент (рис. 1). Вначале было исследовано несколько мелких изоформ белков, имеющих спектриновые повторы и связанных с ядерной оболочкой. Выяснилось, что это транскрипты двух генов, расположенных на хромосомах 6q25 и 14q23 соответственно. Дальнейшие поиски по гомологии в базе данных генома человека позволили предположить существование гигантских изоформ неспринов-1 и -2. Размеры этих белков составляли 1.01 МДа и 796 кДа соответственно (Zhang et al., 2002; Warren et al., 2005). Эти гигантские изоформы были независимо идентифицированы в нескольких лабораториях и вследствие этого получили разные наименования, такие как ENAPTIN/Syne-1 для несприна-1 и NUANCE/Syne-2 для несприна-2 (см. таблицу). Предполагается, что эти гигантские изоформы связывают наружную ядерную мембрану с актиновым цитоскелетом (Warren et al., 2005; Starr, Fridolfsson, 2010) и содержат длинные промежуточные сегменты, потенциально способные связать множество белков. Остальные изоформы неспринов-1 и -2 создаются путем альтернативной инициации и терминации транскрипции, а также альтернативного сплайсинга и представляют собой, та-

ким образом, комбинации нескольких доменов гигантских изоформ (Warren et al., 2005) (рис. 1). В настоящее время известно несколько десятков изоформ неспринов-1 и -2. Для неспринов этих типов характерно наличие N-концевых спаренных доменов, гомологичных кальпонины, или СН-доменов (calponin-homology domains). Известно, что в некоторых белках, таких как дистрофин и утрофин, тандем СН-доменов служит в качестве актинсвязывающих модулей (Stradal et al., 1998), тогда как единичные домены неспособны связываться с актином (Gimona, Winder, 1998; Gimona et al., 2002). В неспринах спаренные СН-домены разделены участком из 30 аминокислот, функциональное значение которого пока неизвестно. Это не нарушает взаимодействия с актином, однако может обеспечивать СН-доменам неспринов новые возможности для связывания с другими белками (Zhang et al., 2002; Warren et al., 2005).

Кроме того, показано, что несприны-1 и -2 могут связываться не только с актином, но и с другими компонентами цитоскелета. Так, например, одни изоформы взаимодействуют с белком мекелином (Meckelin) и участвуют в формировании эпителиальных ресничек (Dawe et al., 2009), а другие способны связываться с моторным белком кинезином-1 (Schneider et al., 2011), а также динеином и динактином, опосредуя связь ядра с центросомами (Zhang et al., 2009). Интересно отметить, что получены данные о наличии сигнальных последовательностей (NLS) в неспринах: как минимум шести в гигантской молекуле несприна-1 и четырех — в гигантской молекуле несприна-2 (Fontes et al., 2003; Warren et al., 2005). Неизвестно, функциональны ли эти последовательности, однако, возможно, они служат для правильного присоединения специфических изоформ, не имеющих

KLS-домена, к ядру через ядерные поры (Warren et al., 2005).

### Несприн-3

В 2005 г. группа исследователей из Нидерландов идентифицировала ген, кодирующий белок семейства неспринов, расположенный в той же хромосоме (14q23), что и ген несприна-2, но в другом ее районе (Wilhelmsen et al., 2005). Транскрипты этого гена, названные несприн-3, по общему строению сходны с неспринами-1 и -2, но не имеют N-концевого актинсвязывающего СН-домена (рис. 1, 2). В настоящее время известны 2 изоформы несприна-3 —  $\alpha$  и  $\beta$  (Ketema et al., 2007). Изоформа несприна-3 $\alpha$  с мол. массой 116 кДа изучена более подробно. Было показано, что N-концевая последовательность несприна-3 $\alpha$  может взаимодействовать с плектином, который в свою очередь связывается с белками промежуточных филаментов. Кроме того, было показано, что несприн-3 $\alpha$  может обеспечивать связь ядра с микротрубочками через его взаимодействие с факторами BRAG1 и MACF (Ketema, Sonnenberg, 2011). Экспериментально доказано, что несприн-3 необходим для поддержания формы клеток эндотелия и клеточной поляризации, а также связи ядра с centrosомами (Morgan et al., 2011). Несприн-3 $\beta$  экспрессируется только в раннем онтогенезе. Известно лишь, что в его N-концевом спектриновом повторе отсутствуют 7 аминокислот, в результате чего он неспособен к связыванию с плектином (Postel et al., 2011).

Недавние исследования показали, что несприн-3 регулирует форму клеток эндотелия сосудов, обеспечивает прикрепление centrosом к ядерной оболочке, определяя околядерную архитектуру цитоскелета и важные аспекты механотрансдукции (Morgan et al., 2011). Несприн-3 присоединяет плектин и виментин к ядерной оболочке клеток Сертоли (Ketema et al., 2013).

### Несприн-4

Относительно недавно, в 2008 г., был обнаружен несприн-4 — еще один тип белков семейства неспринов. Это белок наружной ядерной мембраны, содержащий только один повтор спектрина и не имеющий СН-доменов связывания с актином. Несприн-4 способен связываться с микротрубочками через кинезин-1. Несприн-4 состоит из 388 аминокислот и имеет мол. массу около 42 кДа (Roux et al., 2009). В то время как несприны-1—3 экспрессируются в клетках разных типов, несприн-4 был обнаружен пока только в секреторных клетках эпителия (Burke, Roux, 2009). Несприн-4 функционирует как адаптер между ядерной оболочкой и кинезином-1, моторным белком плюс-конца микротрубочек.

### Гомологи неспринов у *C. elegans* и *D. melanogaster*

Поскольку несприны эволюционно высококонсервативны, их функции изучают не только в клетках млекопитающих, но и с использованием генетических моделей, включающих в себя дрожжи, нематоду и дрозофилу. Рис. 3 демонстрирует различную организацию и функции LINC-комплексов в клетках разных организмов. Для

*C. elegans* и *D. melanogaster* детально исследовано по одному гомологу гена несприна-1 (ген *ANC-1* для *C. elegans* и *MSP-300* для *D. melanogaster*) (Starr, Han, 2003; Fischer et al., 2004; Warren et al., 2005).

*ANC-1 C. elegans*. *ANC-1* заякорен на наружной мембране ЯДО через свой KLS/KASH-домен и, как предполагают, привязывает ядро к актиновому цитоскелету при помощи СН-доменов. Мутации в *ANC-1* либо *UNC-84* (гене, кодирующем белок с SUN-доменом, необходимым для локализации *ANC-1* в ЯДО) нарушают нормальное расположение ядер в синцитиях. Мутации в *ANC-1* нарушают также расположение митохондрий в одноядерных клетках (Starr, Han, 2003). Результаты этих исследований предполагают структурную роль неспринов в миграции ядер и расположении основных органелл (Starr, Han, 2003).

*MSP-300 D. melanogaster*. *MSP-300* был описан изначально как частичная последовательность кДНК, соответствующая фрагменту N-концевого домена несприна у *Drosophila* (Zhang et al., 2002; Warren et al., 2005). *MSP-300* локализован на периферии клеток, участвующих в присоединении экзоскелета, а также в Z-линиях саркомеров. Мутации в этом гене обуславливают нарушение работы мышц, вызванное, как предполагают, неправильной локализацией интегринов в плазматической мембране, что приводит к нарушению прохождения сигналов от внеклеточного матрикса к ядру (Warren et al., 2005; Xie, Fischer, 2008). Эти исследования свидетельствуют о важной роли неспринов в структурной организации саркомеров и, что важно, в проведении сигналов от внеклеточного матрикса к ядру.

### Функции неспринов в клетках млекопитающих

Функции неспринов обусловлены их взаимодействием с наружной мембраной ядра и цитоплазматическим актином. Как упоминалось выше, несприны связываются с наружной мембраной ядра с помощью C-концевых трансмембранных KASH-доменов. В перинуклеарном пространстве эти домены связываются с SUN-доменами (*Sad1p-UNC84*) белков *Sun1* и *Sun2*, которые в свою очередь взаимодействуют с ламинной внутри ядра (Padmakumar et al., 2005). Очевидно, что функции неспринов по обеспечению связи ядра и цитоплазмы необходимо рассматривать в связи с составом трансмембранных LINC-комплексов, сформированных неспринами и Sun-белками (Razafsky, Hodzic, 2009). Наиболее изученные несприновые LINC-комплексы связывают ядро с актиновым цитоскелетом, причем данная непосредственная связь ЯДО с F-актином определяет механические свойства всей клетки посредством механотрансдукции между ядром и цитоплазмой (Mellad et al., 2011). Нарушение этой структурной связи у мышей, нокаутных по KASH-домену или C-концевым спектриновым повторам несприна-1, приводит к смещенному расположению ядер мышечных клеток и нарушению передачи механических сигналов от клетки к ядру (Zhang et al., 2010). Было показано, что форма всей клетки в целом и ядра в частности зависит от расположения пучков актина и миозина, покрывающих ядро снаружи (perinuclear actin cap) (Khatau et al., 2009). Авторами показано, что перинуклеарная локализация и правильная организация этой структуры зависят от целостности LINC-комплексов и ламины.



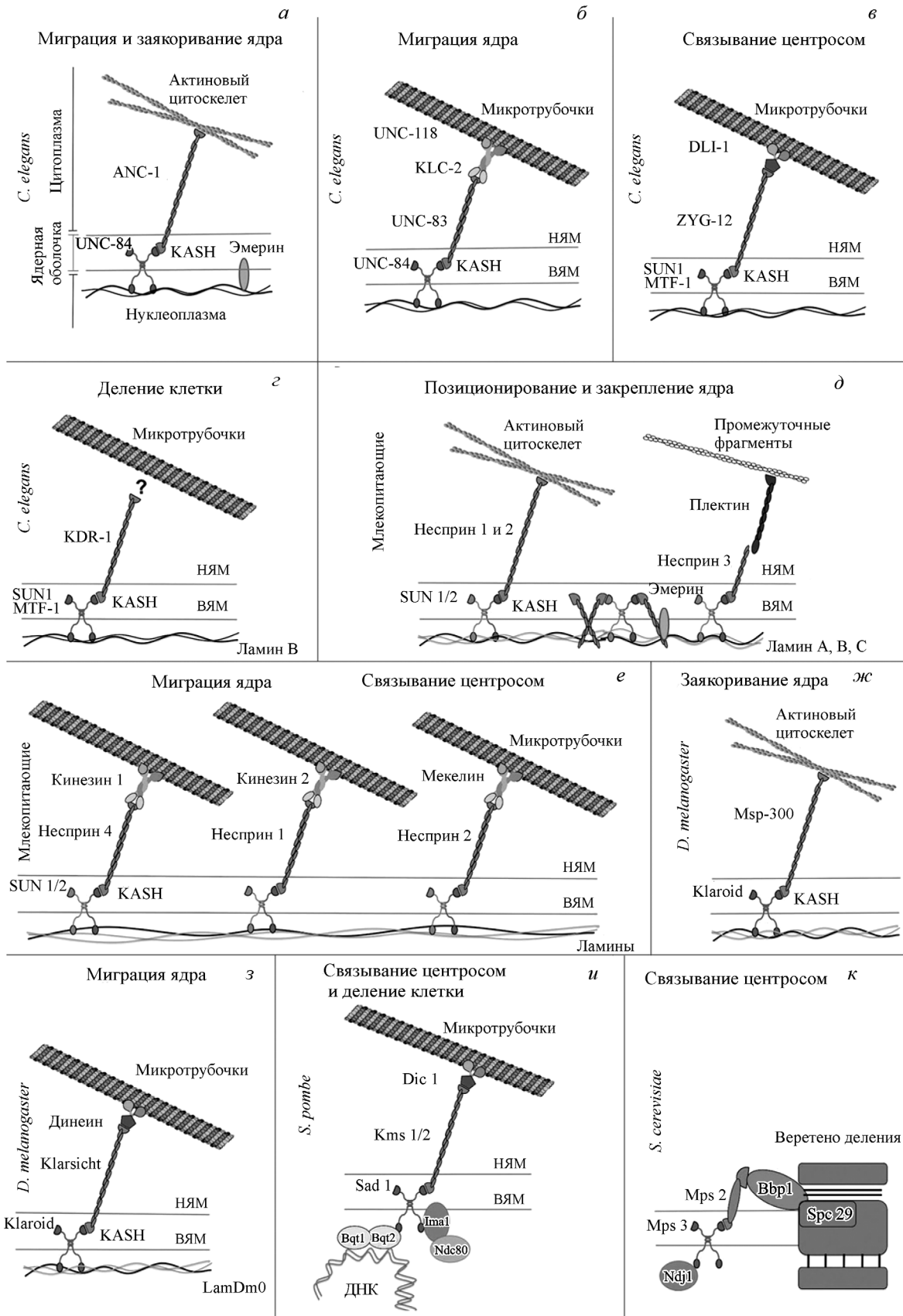


Рис. 3. Различная организация и функции LINC-комплексов в клетках нематоды *C. elegans* (а–г), млекопитающих (д–е), дрозофилы *D. melanogaster* (ж–з) и дрожжей *S. pombe* (и) и *S. cerevisiae* (к).

Белки LINC-комплексов играют важную роль в перемещении и локализации ядра в клетке (а, б, д–з), взаимодействии ядра с центросомами (в, е, и, к) и клеточном делении (г, и, к). НЯМ — наружная ядерная мембрана, ВЯМ — внутренняя ядерная мембрана (Méjat, Misteli, 2010, с изменениями).

Изменение позиции ядра является важным компонентом клеточной дифференцировки и развития и происходит во всех клетках, включая нейроны, эпителиальные клетки и миоциты. Известно, что перемещение ядра по клетке и его «заякоривание» в строго определенном месте существенно зависит от комплекса актина, микротрубочек и промежуточных филаментов (Dupin, Etienne-Manneville, 2011). Недавно было выяснено, что во время миграции фибробластов ядро смещается в заднюю часть клетки путем взаимодействия с движущимися актиновыми филаментами (Luxton et al., 2011). Это взаимодействие опосредуется белковым комплексом, названным авторами TAN-lines, представляющим собой LINC-комплекс несприна-2G и белка SUN2. Отсоединение ядра от актинового цитоскелета вызывает изменение формы клетки и снижение ее упругости (Lombardi et al., 2011). Потеря упругости влияет на созревание фокальных адгезий, определяющих направление действия механических сил, и другие сигналы, а также нарушает полярность и подвижность клеток. Таким образом, связь ядра с актиновым цитоскелетом посредством неспринов важна не только для передачи внешних сигналов к ядру, но и для организации сети F-актина по всей клетке (Mellad et al., 2011).

N-концевые спаренные СН-домены на сегодняшний день являются единственными охарактеризованными модулями связывания несприна-1 и несприна-2 с F-актином, однако получены свидетельства существования альтернативных связей с актиновым цитоскелетом. Например, дермальные фибробласты, нокаутные по СН-домену несприна-2, содержат дольчатые ядра *in vitro*, характерные для тех, что наблюдаются при разрушении LINC-комплекса (Luke et al., 2008). Однако после нескольких пассажей эти фибробласты постепенно начинают экспрессировать новую, усеченную с N-конца гигантскую изоформу несприна-2, что приводит к нормализации фенотипа. Предполагается, что подобно своим гомологам дистрофину и утروفину спектриновые повторы неспринов также могут прямо или опосредованно взаимодействовать с фибриллярным актином при участии специфических, пока еще неизвестных белков-посредников (Mellad et al., 2011). Таким образом, обеспечение связи ядра с актиновым цитоскелетом необходимо для поддержания формы клетки и передачи механических сигналов от плазматической мембраны к ядру. Интересно отметить факт малого количества не только ламин, эмерина и белков промежуточных филаментов, но и LINC-комплексов в гранулоцитах крови, а также в макрофагах моноцитарного происхождения (Olins et al., 2009). Эти клетки имеют характерную «дольчатую» форму ядра, что также наблюдается у других клеточных линий в экспериментах с нокаутом по неспринам-1 и -2. Слабая связь ядра с цитоскелетом, как предполагают авторы, объясняется высокой мобильностью этих клеток и необходима им для беспрепятственного продвижения по капиллярам, а также миграции через эндотелий посткапиллярных венул в интерстициальное пространство.

### **Взаимодействие неспринов с внутренней мембраной ядра и внутриядерным актином**

К настоящему моменту накопилось значительное количество данных, свидетельствующих о локализации неспринов не только в цитоплазме, но и внутри ядра (Worman, Gundersen, 2006; Haque et al., 2010; Morris, Randles, 2010). Исследования локализации белков ЯдО в несколь-

ких типах клеток с использованием антител показали, что эмерин, ламин А/С и некоторые малые изоформы неспринов-1 и -2 часто располагаются в ЯдО в непосредственной близости друг от друга (Warren et al., 2005). Эксперименты с использованием коиммунопреципитации и иммуноэлектронной микроскопии позволили выявить прямое связывание изоформ как несприна-1, так и несприна-2 с внутриядерными белками ламин А/С и эмерином (Mislow et al., 2002; Zhang et al., 2005; Libotte et al., 2005). Электронная иммуногистохимия с использованием меченных золотом антител продемонстрировала колокализацию эпитопов неспринов-1 и -2 с гетерохроматином, расположенным около ЯдО в интерфазных клетках (Zhang et al., 2005). Таким образом, несприны, по-видимому, связаны с белками внутренней ядерной мембраны и гетерохроматином, однако остается неясным, могут ли они связываться с эухроматином и играть роль в транскрипции (Warren et al., 2005).

Согласно мнению ряда авторов, крупные изоформы несприна, включая гигантские, локализируются исключительно на наружной ядерной мембране, тогда как более мелкие, например эмерин (размером 29 кДа), могут располагаться на внутренней мембране ЯдО, проникая в ядро через центральный канал ядерных пор (Worman, Gundersson, 2006; Morris, Randles, 2010). С помощью иммуноэлектронной микроскопии было выявлено наличие изоформ несприна-2 в области ядрышка и вблизи внутренней мембраны ЯдО (Zhen et al., 2002; Libotte et al., 2005; Rajgor, Shanahan, 2013). К настоящему времени получено много данных, свидетельствующих о наличии F-актина внутри ядра, его связи с внутренней мембраной ЯдО и взаимодействии с ламинной, тельцами Кахала и внутриядерными филаментами (Parfenov et al., 1995; Kiseleva et al., 2004; Simon et al., 2010). При деполимеризации актина выявлены нарушения в расположении внутриядерных структур (Морозова, Киселева, 2008; Maslova, Krasikova, 2012). Логично предположить, что присутствующие в ядре изоформы неспринов могут связываться с внутриядерным актином. Однако особенности распределения актинсодержащих филаментов в ядре все еще остаются предметом обсуждений. Дальнейшие исследования требуются также для решения вопроса о том, являются ли несприны, входящие в состав внутренней мембраны ЯдО, и внутриядерный актин компонентами LINC-комплекса (Mellad et al., 2011). Таким образом, данные о присутствии и функциях неспринов с внутренней стороны ЯдО пока во многом противоречивы. До сих пор однозначно не установлено, каким образом несприны могут связываться с компонентами внутренней мембраны ЯдО и какие функции они выполняют внутри ядра (Morris, Randles, 2010).

### **Взаимодействие неспринов с системой промежуточных филаментов в ядре и цитоплазме**

Несприны взаимодействуют с комплексом промежуточных филаментов в ядре (ламина) и цитоплазме, выполняя посредством этих связей важную роль во внутриклеточной регуляции различных процессов (Mellad et al., 2011). Как несприны, так и ламины взаимодействуют с различными мембранными белками в составе ЯдО, и одна из важных функций этих сложных комплексов связана с организацией гетерохроматина. В этом процессе

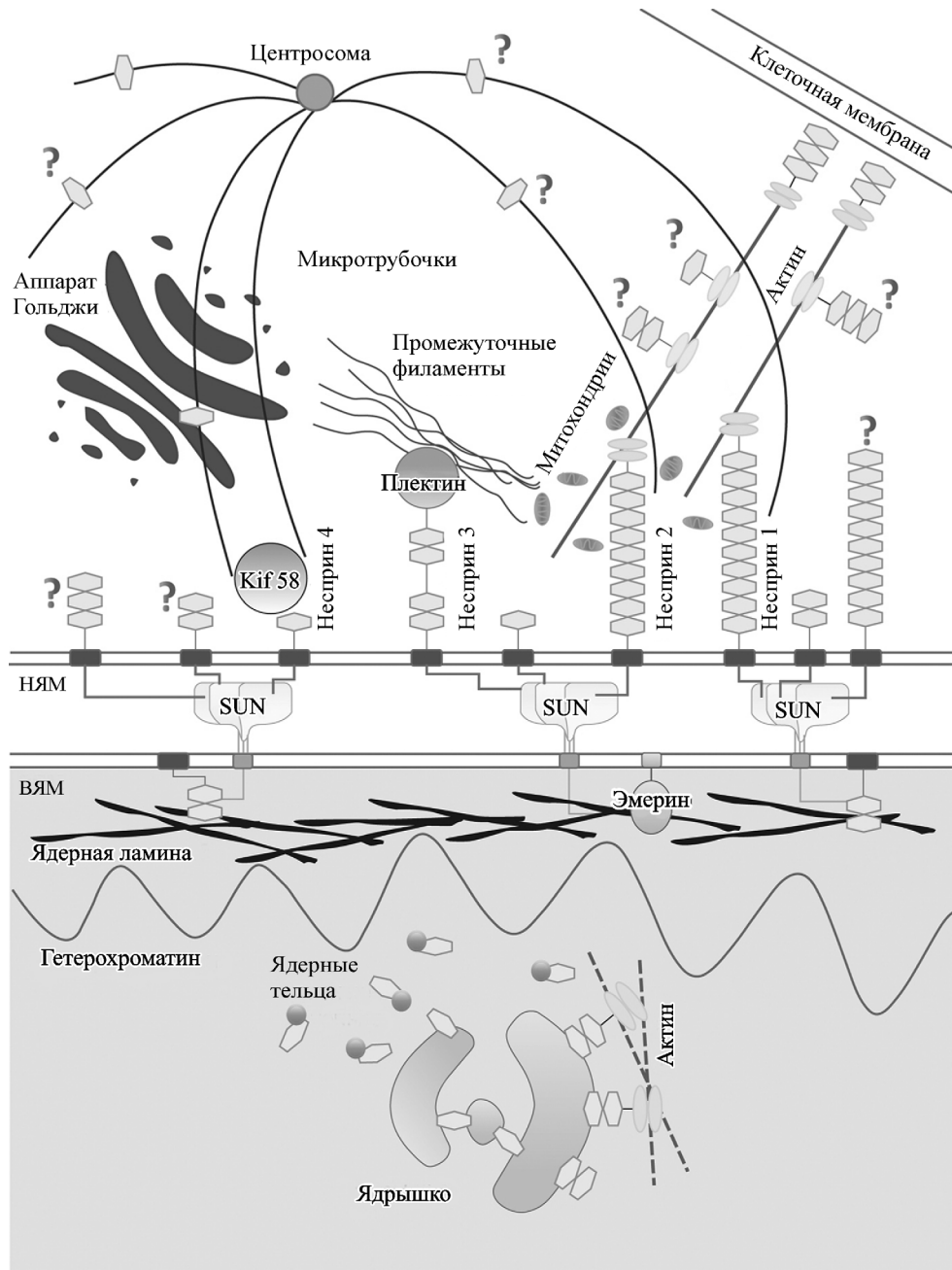


Рис. 4. Схема, демонстрирующая линкерную функцию неспринов, формирующих скаффолд для множества взаимодействующих внутриклеточных органелл. *Вопросительными знаками* обозначены неопределенные белковые комплексы или органеллы, связанные с различными изоформами неспринов. НЯМ — наружная ядерная мембрана, ВЯМ — внутренняя ядерная мембрана (Rajgor, Shanahan, 2013, с изменениями).

участвуют вспомогательные белки — BAF, LAP2 $\alpha$  и, возможно, мелкие изоформы несприна-1 и несприна-2 (Malik et al., 2010). Было показано, что при нокауте этих неспринов в клетках U2OS (линия клеток человеческой остеосаркомы) и фибробластах происходят не только нарушение локализации эмерина, ламин А/С и расхождение мембран ядерной оболочки, но и утолщение и уплотнение участков гетерохроматина, прилегающего к оболочке, а также телец Кахала внутри ядра (Zhang et al., 2007). Наблюдаемые изменения могут быть связаны с отсутствием неспринов в составе внутренней мембраны ЯДО и вследствие этого с нарушением организации архитектуры ядра и хроматина, хотя данное предположе-

ние требует дальнейшего исследования (Mellad et al., 2011).

Взаимодействие неспринов и сети промежуточных филаментов в цитоплазме является областью наиболее интенсивных исследований функции этих белков. Как упоминалось выше, несприн-3 связывается с белком семейства плакинов — плектином, который обеспечивает сшивку промежуточных филаментов. С другой стороны, в кератиноцитах с плектином связывается  $\beta 4$ -субъединица интегрина — компонента полудесмосом (Wilhelmsen et al., 2005). Это позволяет предполагать наличие связи полудесмосом на поверхности клетки с ядерной оболочкой через сеть промежуточных филаментов и неспринов,



что обеспечивает дополнительную механическую поддержку специфической архитектуры клеток и передачу механических сигналов от клетки к клетке. Несприн-3, вероятно, играет в этом случае центральную роль в функционировании LINC-комплекса, поскольку показано, что и плектин, и кератины смещаются к периферии ядра при гиперэкспрессии несприна-3 $\alpha$  в кератиноцитах (Wilhelmsen et al., 2005). Связь несприна-3 с промежуточными филаментами была продемонстрирована на примере не только кератина, но также виментина, являющегося белком промежуточных филаментов в клетках мезодермального происхождения (Morgan et al., 2011).

### Взаимодействие неспринов с мембранными органеллами клетки

Известно, что белки спектринового ряда (спектрин, дистрофин, утروفин и  $\alpha$ -актинин) важны для связи различных клеточных органелл с цитоскелетом (Kobayashi et al., 2006). Данные, полученные на *C. elegans*, свидетельствуют о том, что несприны могут способствовать перемещению не только ядер, но и других органелл, обеспечивая их связь с актиновым цитоскелетом (Warren et al., 2005). Действительно, на начальном этапе исследования неспринов была обнаружена изоформа несприна-1 мол. массой около 25 кДа, локализованная на мембранах комплекса Гольджи и содержащая 2 спектриновых повтора, представляющих собой домен связывания с комплексом Гольджи (Gough et al., 2003). В гигантской молекуле несприна-1 млекопитающих этой же группой исследователей было определено два различных сайта, способных связываться с белками мембран комплекса Гольджи. Повышенная экспрессия изоформы этого несприна, содержащей такие сайты, приводит к изменению морфологии комплекса Гольджи. Дополнительные исследования показали, что несприн-1 играет также роль в транспорте пузырьков комплекса Гольджи к ЭПР (Gough, Beck, 2004). В 2006 г. в составе мембран комплекса Гольджи была обнаружена еще одна изоформа несприна-1 мыши мол. массой 56 кДа GSRP-56 (Golgi-localized SR-containing Protein, спектринодержащий белок, локализующийся в аппарате Гольджи), представляющая собой транскрипт другого участка гена. Этот белок характеризовался способностью связываться с ионным каналом TRPV2, что свидетельствует о возможном его участии в регуляции морфогенеза аппарата Гольджи (Kobayashi et al., 2006).

Помимо этого, LINC-комплексы неспринов участвуют в закоривании и расположении органелл в цитоплазме. Например, мутанты по *ANC-1* (Actin-NonComplementing gene — актин-некомплементирующий ген) у *C. elegans* характеризуются аномальным распределением митохондрий (Starr, Han, 2003). Кроме того, избыточная экспрессия изоформ несприна-1 вызывает разрушение аппарата Гольджи и формирование плотных структур вблизи centrosом в эпителиальных клетках (Gough et al., 2003). На основании данных о присутствии изоформ неспринов во многих органеллах можно предполагать их участие в регуляции связи мембран ЭПР, лизосом и различных вакуолей с цитоскелетом, а также их важную роль в функционировании плазматической мембраны (Warren et al., 2005). Схематически взаимодействие неспринов с различными внутриклеточными органеллами представлено на рис. 4.

### Взаимодействие неспринов с микротрубочками и их роль в клеточном цикле

Несприны формируют множественные не прямые контакты с сетью микротрубочек, формируя микротрубочковые моторные LINC-комплексы (Mellad et al., 2011). Аналогично роли UNC-83 (UNCordinated) и ZYG-12 (zygote defective) белков у *C. elegans*, а также Klarsicht у *Drosophila* эти комплексы необходимы для правильной локализации ядра и centrosом и, следовательно, обеспечивают трехмерную архитектуру клеток (рис. 3; Razafsky, Hodzic, 2009). Несприн-4 был охарактеризован как партнер кинезина-1, который обеспечивает связь наружной мембраны ЯДО с микротрубочками. Взаимодействие между несприном-4 и кинезином-1 регулирует расположение ядра в эпителиальных клетках и их полярность, а гиперэкспрессия несприна-4 резко смещает centrosомы и комплекс Гольджи относительно ядра (Burke, Roux, 2009; Roux et al., 2009). Несприн-1 и несприн-2 в составе LINC-комплексов взаимодействуют с динеином/динактином и кинезином-1 в развивающемся мозге мыши, и это взаимодействие играет ключевую роль в процессе нейрогенеза и миграции нейронов (Zhang et al., 2009). Важность связи несприна-2 с динактином, необходимой для миграции ядер в фоторецепторных клетках, была продемонстрирована в экспериментах с нокаутом и гиперэкспрессией этого белка у рыб *Danio rerio* (Mellad et al., 2011). Интересно, что центральная область спектриновых повторов несприна-1 также связывается с одной из субъединиц кинезина-2 и, по-видимому, играет роль в цитокинезе и внутриклеточном транспорте мембран (Mellad et al., 2011).

Согласно перечисленным данным, несприны связывают ядро с микротрубочками и centrosомами. Закономерно предположить их регуляторную роль в клеточном цикле: как в изменениях, претерпеваемых ядерной оболочкой во время митоза, так и в движении хромосом. В настоящее время роль неспринов в клеточном цикле точно не установлена (Figueroa et al., 2011). Было показано, что при развитии нервных клеток мыши на стадии G<sub>1</sub> клеточного цикла несприн-1 присоединяется к кинезину, расположенному на (+)-конце микротрубочек, что приводит к движению ядра от centrosомы (Zhang et al., 2009). На стадии G<sub>2</sub> несприны-1 и -2 присоединяются к (-)-концевому белку динеину и возвращают ядро к centrosоме перед началом митоза. В 2009 г. был открыт взаимодействующий с LINC-комплексом белок внутренней мембраны ЯДО Samp1, который при митозе ассоциируется с микротрубочками веретена деления (Buch et al., 2009; Gudise et al., 2011). У высших эукариот с открытым типом митоза выявлена эндомембрана веретена деления, располагающаяся вдоль микротрубочек в составе веретена деления и образованная, по-видимому, из мембран ЭПР и ядерной оболочки (Figueroa et al., 2011). Вполне возможно, что белки ЯДО, и в частности несприны, выполняют какие-то функции в составе этой структуры. Можно предположить, что функции неспринов в клеточном цикле не ограничиваются их ролью в миграции ядра в клетке, но заключаются также в участии в процессах перемещения структур на стадиях метафазы и анафазы. Не исключено, что несприны и их связь с цитоскелетом важны для процессов сборки и разборки ЯДО во время митоза, так как было показано, что в процесс разборки ядерной оболочки вовлечены партнер связывания неспринов динеин, а также астральные микротрубочки (Beaudouin et al., 2002; Salina et al., 2002).



### Тканеспецифичность неспринов

Каждый тип клеток в организме характеризуется различными биомеханическими и морфофункциональными свойствами, что обеспечивается, вероятно, в том числе и характерными особенностями взаимодействий плазматической мембраны, ядра и цитоплазмы. Подобная специализация клеток может реализовываться через тканеспецифичную экспрессию генов и изоформ неспринов, которые определяют тканеспецифичные «настройки» взаимодействий между отдельными компонентами клетки, необходимыми для ее функционирования как целостной структурной единицы (Mellad et al., 2011). Например, активная экспрессия несприна-4 была обнаружена в клетках специализированного секреторного эпителия. Снижение экспрессии несприна-4 в этих клетках нарушает расположение centrosом и полярность клеток (Roux et al., 2009). Аналогичным образом несприн-1 важен для формирования нейромышечных соединений, а несприн-2 в большом количестве выявлен в ядрах фоторецепторных клеток, хотя функциональный смысл этой специфичности пока неясен (Zhang et al., 2009, 2010). Несприн-1 и несприн-2 особенно широко представлены в мышцах, где экспрессируются их изоформы, специфичные для мышечных клеток. Более того, мутации в генах несприна-1 и -2 вызывают мышечную дистрофию, в то время как другие ткани при этом характеризуются слабыми изменениями (Mellad et al., 2011). Следует также упомянуть о гранулоцитах и моноцитах крови, для которых характерно практически полное отсутствие LINC-комплексов, что позволяет им изменять форму при движении по капиллярам и миграции в окружающие ткани (Olins et al., 2009). В процессе дифференцировки мышечных клеток человека также происходит замена более крупных изоформ неспринов на изоформы меньших размеров в составе ЯдО. Этот процесс может иметь важное значение для функционирования LINC-комплекса, что позволяет клеткам изменять фенотип от динамичного подвижного к стабильно сократительному, причем такая мобильность характерна именно для неспринов, но не для SUN-белков (Randles et al., 2010).

Наконец, в дополнение к данным о биомеханических функциях LINC-комплексов результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что несприны могут играть роль сигнальных белков. Было установлено, что  $\alpha$ -катенины могут связываться с несприном-2 и формировать комплексы, содержащие также  $\beta$ -катенин и эмерин (Neumann et al., 2010).  $\alpha$ - и  $\beta$ -катенины играют важную роль в клеточной адгезии и сигнальном пути Wnt (названного по гену дрозофилы *wingless*, мутация которого подавляет развитие крыльев, и гомологичному гену позвоночных *Int*). Исследование функций этих двух генов привело к открытию целого класса лигандов, регулирующих эмбриогенез и дифференцировку тканей (Yang, 2012). При активации сигнального пути Wnt повышается концентрация  $\beta$ -катенина, который, проникая в ядро, усиливает экспрессию определенных генов. Нокаут по несприну-2 снижает уровень  $\beta$ -катенина в нуклеоплазме, что, вероятно, связано с нарушением связывания комплекса  $\alpha$ - и  $\beta$ -катенинов с ЯдО и, следовательно, с нарушением их транспорта в ядро. Таким образом, функция неспринов может быть связана с регуляцией сигнального пути Wnt, имеющего важное значение для процессов эмбриогенеза, дифференцировки клеток и развития и, возможно, межклеточной адгезии (Neumann et al., 2010).

### Функция изоформ неспринов, не содержащих KASH-домена

Исследования неспринов до настоящего времени были сконцентрированы на вопросах нарушения организации цитоскелета и биомеханических свойств клеток при повреждении изоформ неспринов, взаимодействующих с ЯдО. В то же время эксперименты с использованием антител к различным доменам изоформ неспринов-1 и -2, GFP-мечение и иммунофлуоресценция показали, что несприны выявляются также на плазматической мембране в структурах, богатых актином (фокальных адгезивных контактах, филоподиях и ламеллоподиях) (Zhen et al., 2002; Zhang et al., 2005; Mellad et al., 2011). Мекелин, трансмембранный белок, локализующийся на ресничках и плазматической мембране, был идентифицирован как новый партнер связывания несприна-2 (Dawe et al., 2009). Важно отметить, что несприн-2 и мекелин колокализуются на филоподиях и микроворсинках. Это свидетельствует о том, что несприны могут выполнять дополнительные функции, принимая участие в прикреплении сети филаментов цитоскелета к плазматической мембране аналогично функции этих белков в области ЯдО. Пока неизвестно, имеют ли эти изоформы несприна, взаимодействующие с плазматической мембраной, KASH-домен. Однако получены данные о том, что изоформы неспринов, не имеющие этого домена, идентифицируются по всему объему клеток (Dawe et al., 2009; Zhang et al., 2009; Mellad et al., 2011). По-видимому, первичной функцией этих неспринов, не содержащих KASH-домена, является передача сигналов между точными компартментами (Mellad et al., 2011), однако для полного выяснения специфических функций этих белков требуются дальнейшие исследования.

### Нарушения экспрессии неспринов и их роль в развитии заболеваний человека

В настоящее время известно, что нарушение экспрессии многих белков ядерной оболочки является причиной ряда серьезных заболеваний человека, в том числе сердечных и скелетных миопатий, липодистрофии, периферической невропатии и преждевременного старения с ранней смертью (рис. 5). Несмотря на сравнительно недавнее открытие неспринов, уже установлено, что они также играют роль в развитии этих синдромов. Основным заболеванием, связанным с нарушением экспрессии неспринов, является мышечная дистрофия Эмери—Дрейфуса (EDMD), проявляющаяся в недостаточном развитии мускулатуры, ее атрофии, контрактурах суставов и нарушениях работы сердца, нередко приводящих к внезапной смерти в молодом возрасте. Ранее было известно о мутациях в двух генах, вызывающих эту патологию: нарушение экспрессии либо гена *EDMD*, кодирующего эмерин (что вызывает EDMD, связанную с X-хромосомой и проявляющуюся, как правило, у мужчин), либо гена *LMNA*, кодирующего ламины A/C, что обуславливает развитие аутосомной доминантной формы EDMD (Zhang et al., 2007). В последние годы стало известно, что это заболевание может также развиваться при нарушении экспрессии генов, кодирующих несприны. Во-первых, выяснилось, что у некоторых пациентов с EDMD аминокислотный состав неспринов-1 $\alpha$  и -2 $\beta$  отличается от нормы. В участках неспринов, ответственных за связывание с эме-

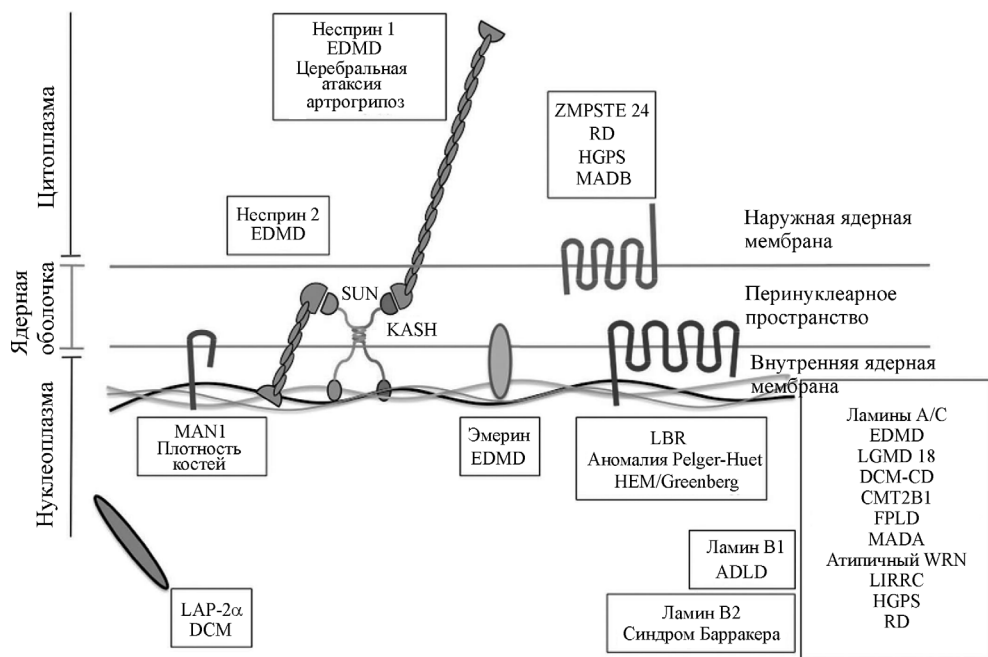


Рис. 5. Белки ядерной оболочки и заболевания, связанные с нарушением их функций.

ADLD — аутосомальная доминантная лейкодистрофия, CMT — болезнь Шарко—Мари—Тута, DCM — дилатационная кардиомиопатия, EDMD — мышечная дистрофия Эмери—Дрейфуса, FPLD — семейная частичная липодистрофия, HGPS — синдром прогерии Хатчинсона—Гилфорда, LGMD — мышечная дистрофия поясных конечностей, MADA/MADB — мандибулоакральная дисплазия типа A/B, RD — ограничительная дермопатия, WRN — синдром Вернера (Méjat, Misteli, 2010, с изменениями).

рином или ламинами A/C, происходят замены, причем в генах эмерина и ламин мутаций у этих пациентов обнаружено не было (Méjat, Misteli, 2010). Во-вторых, разрушение KASH-домена несприна-1, а также нокаут по несприну-2 вызывают изменения, аналогичные нокауту по гену LMNA, т. е. появление фенотипа, характерного для EDMD (Zhang et al., 2007; Méjat, Misteli, 2010). Мутации в неспринах приводят либо к бессимптомному носительству, либо к глаженному течению, но иногда возникают и тяжелые формы мышечной дистрофии и патологии сердца, требующие трансплантации. Нередко встречается одновременное сочетание мутаций в генах, кодирующих несприн-1α и несприн-1β (Syne-1 и Syne-2) (Zhang et al., 2007; Meinke et al., 2011).

Кроме EDMD выявлен ряд заболеваний другого типа, возникающих в результате нарушения структуры белков, входящих в состав LINC-комплексов. Мутации в гигантских изоформах несприна-1 и несприна-2 обуславливают развитие аутомной рецессивной церебральной атаксии, а также приводят к тяжелой рецессивной форме миогенного артрогриппоза — заболевания, для которого характерны контрактуры, т. е. ограничение подвижности нескольких крупных суставов (Gros-Louis et al., 2007; Attali et al., 2009; Mejat, Misteli, 2010). Было показано, что за развитие дилатационной кардиомиопатии (DCM) могут быть ответственны мутации в гене *Syne-1* несприна-1 (Nikolova-Krstevski et al., 2011). У пациентов с мутацией вблизи KASH-домена несприна-1 выявляется тяжелая форма доминирующей кардиомиопатии с необходимостью трансплантации сердца (Puckelwartz et al., 2010). Эти данные отражают важность LINC-комплекса для нормального функционирования сердечной мышцы.

Экспрессия изоформ неспринов может быть нарушена в случае других заболеваний сердечно-сосудистой, мышечной и нервной системы. К примеру, снижение экс-

прессии неспринов в клетках эндотелия сосудов может способствовать развитию атеросклероза (Zhang et al., 2001). Установлено, что мутация гена, кодирующего несприн-4, приводит к потере слуха за счет неправильной миграции ядер в волосковых клетках внутреннего уха (Horn et al., 2013). В отсутствие несприна-4 теряется связь кинезина-1 с цитоплазматической поверхностью ядерной оболочки, вследствие чего ядра не контактируют с микротрубочками цитоскелета, что приводит к изменению позиции ядра в сенсорных эпителиальных клетках (Horn et al., 2013). Относительно несприна-3 однозначных данных пока нет, но вполне вероятно, что нарушение связей, обеспечиваемых этим белком, также может быть причиной разнообразных функциональных отклонений.

Изменение регуляции экспрессии изоформ неспринов было продемонстрировано также при некоторых видах рака — рака яичников, матки, щитовидной и поджелудочной желез, легких и прямой кишки (Schuebel et al., 2007; Marmé et al., 2008; Tessema, Belinsky, 2008). Таким образом, первостепенное значение приобретает оценка сигнальных путей, регулирующих экспрессию генов и сплайсинг пре-мРНК различных изоформ неспринов. Подобные данные могут выступать важным фактором успешности терапии рака, а также иметь большое значение для изучения клеточной дифференцировки и развития (Randles et al., 2010).

## Заключение

В последние годы ЯдО рассматривается не только как высокоорганизованная структура со специфическими регуляторными функциями, но и как центральный комплекс, белки которого определяют трехмерную пространственную организацию эукариотической клетки. Откры-

тие неспринов и результаты исследований с нокаутированием кодирующих их генов способствуют укреплению и развитию этих представлений. Существование таких белков, как несприны, позволяет клетке функционировать как единое целое, отвечая на внешние стимулы генерализованно и в кратчайшие сроки. За последние несколько лет произошло лавинообразное увеличение объема наших знаний о функциональной роли этих белков, обеспечивающих тесную связь периферических ядерных структур и цитоскелета, однако полного представления о механизмах взаимодействия неспринов с филаментными системами цитоскелета пока не получено. В ближайшие годы будут, несомненно, открыты новые изоформы неспринов, хотя причина их многочисленности и тканеспецифичности неясна. На сегодняшний день описано и клонировано лишь небольшое количество различных вариантов неспринов. Ближайшие исследования неспринов будут направлены на анализ функциональных характеристик отдельных изоформ с использованием специфических антител, мРНК и, возможно, трансгенных животных как моделей для выяснения функций отдельных эндогенных изоформ в условиях *in vivo*.

Одной из актуальных задач является изучение взаимодействующих с неспринами белков. На сегодняшний день идентифицированы многие партнеры связывания с неспринами, однако они представляют собой лишь небольшую долю от общего числа клеточных белков. Необходимо получить ответ на вопрос о том, способен ли белок, взаимодействующий с определенными СП в одной изоформе несприна, связываться с теми же СП в других его вариантах. Кроме того, белки-партнеры неспринов могут различаться в разных тканях и клеточных линиях, что ведет к разной локализации определенных изоформ неспринов и изменению их функций в различных типах клеток.

Особенно важным является идентификация специфических несприновых партнеров, регулирующих внутриклеточные сигнальные пути, нарушение экспрессии которых регистрируется при неспринассоциированных заболеваниях. Соотношение изоформ неспринов, динамически изменяющееся в процессе клеточной дифференцировки, может являться одним из ключевых факторов в регуляции раннего эмбрионального развития. Показано, что в процессе дифференцировки эмбриональных стволовых клеток просвет ядерной оболочки сужается и несприн-1 значительно усиливает свою активность (Smith et al., 2011). Динамическая регуляция KASH-изоформ несприна-1, влияющих на структуру ЯД во время дифференцировки эмбриональных стволовых клеток, может иметь большое значение для поддержания их плюрипотентного состояния. Однако молекулярные механизмы нарушения функций неспринов, а также их точная роль в патогенезе многих заболеваний человека во многом еще не раскрыты и будут являться предметом будущих исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджетного проекта № 60.1.3.

### Список литературы

Губанова Н. В., Киселева Е. В. 2007. Структурная организация и функции ядерной оболочки. Цитология. 49 (4): 257—269. (Gubanova N. V., Kiseleva E. V. 2007. Structural organization and function of nuclear envelope. Tsitologiya. 49 (4): 257—629.)

Морозова К. Н., Киселева Е. В. 2008. Изменение организации ядра и цитоплазмы ооцитов ксенопуса после разрушения актиновых филаментов латрунгулином. Цитология. 50 (5): 394—406. (Morozova K. N., Kiseleva E. V. 2008. Nuclear and cytoplasmic organization in xenopus oocytes after disruption of actin filaments by latrunculin. Cell Tissue Biol. 3 (6): 300—310.)

Attali R., Warwar N., Israel A., Gurt I., McNally E., Puckelwartz M., Glick B., Nevo Y., Ben-Neriah Z., Melki J. 2009. Mutation of SYNE-1, encoding an essential component of the nuclear lamina, is responsible for autosomal recessive arthrogyriposis. Hum. Mol. Genet. 18: 3462—3469.

Beaudouin J., Gerlich D., Daigle N., Eils R., Ellenberg J. 2002. Nuclear envelope breakdown proceeds by microtubule-induced tearing of the lamina. Cell. 108: 83—96.

Buch C., Lindberg R., Figueroa R., Gudise S., Onischenko E., Hallberg E. 2009. An integral protein of the inner nuclear membrane localizes to the mitotic spindle in mammalian cells. J. Cell Sci. 122: 2100—2107.

Burke B., Roux K. J. 2009. Nuclei take a position: managing nuclear location. Develop. Cell. 17: 587—597.

Cartwright S., Karakesisoglou I. 2013. Nesprins in health and disease. Semin. Cell. Develop. Biol. doi: 10.1016/j.semcdb.2013.12.010.

Dawe H. R., Adams M., Wheway G., Szymanska K., Logan C. V., Noegel A. A., Gull K., Johnson C. A. 2009. Nesprin-2 interacts with meckelin and mediates ciliogenesis via remodelling of the actin cytoskeleton. J. Cell Sci. 122: 2716—2726.

De Matteis M. A., Morrow J. S. 2000. Spectrin tethers and mesh in the biosynthetic pathway. J. Cell Sci. 113: 2331—2343.

Dupin I., Etienne-Manneville S. 2011. Nuclear positioning: mechanisms and functions. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 43: 1698—1707.

Figueroa R. A., Gudise S., Hallberg E. 2011. Microtubule-associated nuclear envelope proteins in interphase and mitosis. Biochem. Soc. Trans. 39: 1786—1789.

Fischer J. A., Acosta S., Kenny A., Cater C., Robinson C., Hook J. 2004. Drosophila klarsicht has distinct subcellular localization domains for nuclear envelope and microtubule localization in the eye. Genetics. 168: 1385—1393.

Fontes M. R., Teh T., Jans D., Brinkworth R. I., Kobe B. 2003. Structural basis for the specificity of bipartite nuclear localization sequence binding by importin- $\alpha$ . J. Biol. Chem. 278: 27981—27987.

Gimona M., Djinovic-Carugo K., Kranewitter W. J., Winder S. J. 2002. Functional plasticity of CH domains. FEBS Lett. 513: 98—106.

Gimona M., Winder S. J. 1998. Single calponin homology domains are not actin-binding domains. Curr. Biol. 8: 674—675.

Gough L. L., Beck K. A. 2004. The spectrin family member Syne-1 functions in retrograde transport from Golgi to ER. Biochim. biophys. acta. 1693: 29—36.

Gough L. L., Fan J., Chu S., Winnick S., Beck K. A. 2003. Golgi localization of Syne-1. Mol. Biol. Cell. 14: 2410—2424.

Gros-Louis F., Dupré N., Dion P., Fox M. A., Laurent S., Verreault S., Sanes J. R., Bouchard J. P., Rouleau G. A. 2007. Mutations in SYNE1 lead to a newly discovered form of autosomal recessive cerebellar ataxia. Nat. Genet. 39: 80—85.

Gudise S., Figueroa R. A., Lindberg R., Larsson V., Hallberg E. 2011. Sampl is functionally associated with the LINC complex and A-type lamina networks. J. Cell Sci. 124: 2077—2085.

Haque F., Lloyd D. J., Smallwood D. T., Dent C. L., Shanahan C. M., Fry A. M., Trembath R. C., Shackleton S. 2006. SUN1 interacts with nuclear lamin A and cytoplasmic nesprins to provide a physical connection between the nuclear lamina and the cytoskeleton. Mol. Cell. Biol. 26: 3738—3751.

Haque F., Mazzeo D., Patel J. T., Smallwood D. T., Ellis J. A., Shanahan C. M., Shackleton S. 2010. Mammalian SUN protein interaction networks at the inner nuclear membrane and their role in laminopathy disease processes. J. Biol. Chem. 285: 3487—3498.

Horn H. F., Brownstein Z., Lenz D. R., Shivatzki S., Dror A. A., Dagan-Rosenfeld O., Friedman L. M., Roux K. J., Koz-



- lov S., Jeang K. T., Frydman M., Burke B., Stewart C. L., Avraham K. B. 2013. The LINC complex is essential for hearing. *J. Clin. Invest.* 123 : 740—750.
- Ketema M., Kreft M., Secades P., Janssen H., Sonnenberg A. 2013. Nesprin-3 connects plectin and vimentin to the nuclear envelope of Sertoli cells but is not required for Sertoli cell function in spermatogenesis. *Mol. Biol. Cell.* 24 : 2454—2466.
- Ketema M., Sonnenberg A. 2011. Nesprin-3 : a versatile connector between the nucleus and the cytoskeleton. *Biochem. Soc. Trans.* 39 : 1719—1724.
- Ketema M., Wilhelmsen K., Kuikman I., Janssen H., Hodzic D., Sonnenberg A. 2007. Requirements for the localization of nesprin-3 at the nuclear envelope and its interaction with plectin. *J. Cell Sci.* 120 : 3384—3394.
- Khatau S. B., Hale C. M., Stewart-Hutchinson P. J., Patel M. S., Stewart C. L., Searson P. C., Hodzic D., Wirtz D. 2009. A perinuclear actin cap regulates nuclear shape. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 106 : 19 017—19 022.
- Kiseleva E., Drummond S. P., Goldberg M. W., Rutherford S. A., Allen T. D., Wilson K. L. 2004. Actin- and protein-4.1-containing filaments link nuclear pore complexes to subnuclear organelles in *Xenopus* oocyte nuclei. *J. Cell Sci.* 117 : 2481—2490.
- Kobayashi Y., Katanosaka Y., Iwata Y., Matsuoka M., Shigekawa M., Wakabayashi S. 2006. Identification and characterization of GSRP-56, a novel Golgi-localized spectrin repeat-containing protein. *Exp. Cell Res.* 312 : 3152—3164.
- Libotte T., Zaim H., Abraham S., Padmakumar V. C., Schneider M., Lu W., Munck M., Hutchison C., Wehnert M., Fahrenkrog B., Sauder U., Aebi U., Noegel A. A., Karakesisoglou I. 2005. Lamin A/C-dependent localization of Nesprin-2, a giant scaffold at the nuclear envelope. *Mol. Biol. Cell.* 16 : 3411—3424.
- Lombardi M. L., Jaalouk D. E., Shanahan C. M., Burke B., Roux K. J., Lammerding J. 2011. The interaction between nesprins and sun proteins at the nuclear envelope is critical for force transmission between the nucleus and cytoskeleton. *J. Biol. Chem.* 286 : 26 743—26 753.
- Lüke Y., Zaim H., Karakesisoglou I., Jaeger V. M., Sellin L., Lu W., Schneider M., Neumann S., Beijer A., Munck M., Padmakumar V. C., Gloy J., Walz G., Noegel A. A. 2008. Nesprin-2 Giant (NUANCE) maintains nuclear envelope architecture and composition in skin. *J. Cell Sci.* 121 : 1887—1898.
- Luxton G. G., Gomes E. R., Folker E. S., Worman H. J., Gundersen G. G. 2011. TAN lines: a novel nuclear envelope structure involved in nuclear positioning. *Nucleus.* 2 : 173—181.
- Malhotra R., Mason P. K. 2009. Lamin A/C deficiency as a cause of familial dilated cardiomyopathy. *Curr. Opin. Cardiol.* 24 : 203—208.
- Malik P., Zuleger N., Schirmer E. C. 2010. Nuclear envelope influences on genome organization. *Biochem. Soc. Trans.* 38 : 268—272.
- Marmé A., Zimmermann H. P., Moldenhauer G., Schorpp-Kistner M., Müller C., Keberlein O., Giersch A., Kretschmer J., Seib B., Spiess E., Hunziker A., Merchán F., Möller P., Hahn U., Kurek R., Marmé F., Bastert G., Wallwiener D., Ponstingl H. 2008. Loss of Drop1 expression already at early tumor stages in a wide range of human carcinomas. *Int. J. Cancer.* 123 : 2048—2056.
- Maslova A., Krasikova A. 2012. Nuclear actin depolymerization in transcriptionally active avian and amphibian oocytes leads to collapse of intranuclear structures. *Nucleus.* 3 : 300—311.
- Meinke P., Nguyen T. D., Wehnert M. S. 2011. The LINC complex and human disease. *Biochem. Soc. Trans.* 39 : 1693—1697.
- Méjat A., Misteli T. 2010. LINC complexes in health and disease. *Nucleus.* 1 : 40—52.
- Mellad J. A., Warren D. T., Shanahan C. M. 2011. Nesprins LINC the nucleus and cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 23 : 47—54.
- Mislow J. M., Holaska J. M., Kim M. S., Lee K. K., Segura-Totten M., Wilson K. L., McNally E. M. 2002. Nesprin-1alpha self-associates and binds directly to emerin and lamin A *in vitro*. *FEBS Lett.* 525 : 135—140.
- Morgan J. T., Pfeiffer E. R., Thirkill T. L., Kumar P., Peng G., Fridolfsson H. N., Douglas G. C., Starr D. A., Barakat A. I. 2011. Nesprin-3 regulates endothelial cell morphology, perinuclear cytoskeletal architecture, and flow-induced polarization. *Mol. Biol. Cell.* 22 : 4324—4334.
- Morris G. E., Randles K. N. 2010. Nesprin isoforms: are they inside or outside the nucleus? *Biochem. Soc. Trans.* 38 : 278—280.
- Neumann S., Schneider M., Daugherty R. L., Gottardi C. J., Eming S. A., Beijer A., Noegel A. A., Karakesisoglou I. 2010. Nesprin-2 interacts with {alpha}-catenin and regulates Wnt signaling at the nuclear envelope. *J. Biol. Chem.* 285 : 34 932—34 938.
- Nikolova-Krstevski V., Leimena C., Xiao X. H., Kesteven S., Tan J. C., Yeo L. S., Yu Z. Y., Zhang Q., Carlton A., Head S., Shanahan C., Feneley M. P., Fatkin D. 2011. Nesprin-1 and actin contribute to nuclear and cytoskeletal defects in lamin A/C-deficient cardiomyopathy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 50 : 479—486.
- Olins A. L., Hoang T. V., Zwerger M., Herrmann H., Zentgraf H., Noegel A. A., Karakesisoglou I., Hodzic D., Olins D. E. 2009. The LINC-less granulocyte nucleus. *Eur. J. Cell Biol.* 88 : 203—214.
- Padmakumar V. C., Libotte T., Lu W., Zaim H., Abraham S., Noegel A. A., Gotzmann J., Foisner R., Karakesisoglou I. 2005. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J. Cell Sci.* 118 : 3419—3430.
- Parfenov V. N., Davis D. S., Pochukalina G. N., Sample C. E., Bugaeva E. A., Murti K. G. 1995. Nuclear actin filaments and their topological changes in frog oocytes. *Exp. Cell Res.* 217 : 385—394.
- Postel R., Ketema M., Kuikman I., de Pereda J. M., Sonnenberg A. 2011. Nesprin-3 augments peripheral nuclear localization of intermediate filaments in zebrafish. *J. Cell Sci.* 124 : 755—764.
- Prunuske A. J., Ullman K. S. 2006. The nuclear envelope: form and reformation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18 : 108—116.
- Puckelwartz M. J., Kessler E. J., Kim G., Dewitt M. M., Zhang Y., Earley J. U., Depreux F. F., Holaska J., Mewborn S. K., Pytel P., McNally E. M. 2010. Nesprin-1 mutations in human and murine cardiomyopathy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 48 : 600—608.
- Rajgor D., Shanahan C. M. 2013. Nesprins: from the nuclear envelope and beyond. *Expert Rev. Mol. Med.* 15 : 1—17.
- Randles K. N., Lamle T., Sewry C. A., Puckelwartz M., Furling D., Wehnert M., McNally E. M., Morris G. E. 2010. Nesprins, but not sun proteins, switch isoforms at the nuclear envelope during muscle development. *Develop. Dynamics.* 239 : 998—1009.
- Razafsky D., Hodzic D. 2009. Bringing KASH under the SUN: the many faces of nucleocytoplasmic connections. *J. Cell Biol.* 186 : 461—472.
- Roux K. J., Crisp M. L., Liu Q., Kim D., Kozlov S., Stewart C. L., Burke B. 2009. Nesprin 4 is an outer nuclear membrane protein that can induce kinesin-mediated cell polarization. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 106 : 2194—2199.
- Salina D., Bodoor K., Eckley D. M., Schroer T. A., Rattner J. B., Burke B. 2002. Cytoplasmic dynein as a facilitator of nuclear envelope breakdown. *Cell.* 108 : 97—107.
- Schneider M., Lu W., Neumann S., Brachner A., Gotzmann J., Noegel A. A., Karakesisoglou I. 2011. Molecular mechanisms of centrosome and cytoskeleton anchorage at the nuclear envelope. *Cell. Mol. Life Sci.* 68 : 1593—1610.
- Schubel K. E., Chen W., Cope L., Glöckner S. C., Suzuki H., Yi J. M., Chan T. A., Van Neste L., Van Criekinge W., van den Bosch S., van Engeland M., Ting A. H., Jair K., Yu W., Toyota M., Imai K., Ahuja N., Herman J. G., Baylin S. B. 2007. Comparing the DNA hypermethylome with gene mutations in human colorectal cancer. *PLoS Genet.* 3 : 1709—1723.
- Simon D. N., Zastrow M. S., Wilson K. L. 2010. Direct actin binding to A- and B-type lamin tails and actin filament bundling by the lamin A tail. *Nucleus.* 1 : 264—272.
- Smith E. R., Zhang X. Y., Capo-Chichi C. D., Chen X., Xu X. X. 2011. Increased expression of Synel/Nesprin-1 facilitates nuclear envelope structure changes in embryonic stem cell differentiation. *Develop. Dynamics.* 240 : 2245—2255.
- Sosa B. A., Rothballe A., Kutay U., Schwartz T. U. 2012. LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins. *Cell.* 149 : 1035—1047.



- Starr D. A., Fischer J. A. 2005.* KASH'n Karry: the KASH domain family of cargo-specific cytoskeletal adaptor proteins. *Bioessays*. 27 : 1136—1146.
- Starr D. A., Fridolfsson H. N. 2010.* Interactions between nuclei and the cytoskeleton are mediated by SUN-KASH nuclear-envelope bridges. *Annu. Rev. Cell. Develop. Biol.* 26 : 421—444.
- Starr D. A., Han M. 2003.* ANChors away: an actin based mechanism of nuclear positioning. *J. Cell Sci.* 116 : 211—216.
- Stradal T., Kranewitter W., Winder S. J., Gimona M. 1998.* CH domains revisited. *FEBS Lett.* 431 : 134—137.
- Tessema M., Belinsky S. A. 2008.* Mining the epigenome for methylated genes in lung cancer. *Proc. Amer. Thorac. Soc.* 5 : 806—810.
- Warren D. T., Zhang Q., Weissberg P. L., Shanahan C. M. 2005.* Nesprins: intracellular scaffolds that maintain cell architecture and coordinate cell function? *Expert Rev. Mol. Med.* 7 : 1—15.
- Wilhelmsen K., Litjens S. H., Kuikman I., Tshimbalanga N., Janssen H., van den Bout I., Raymond K., Sonnenberg A. 2005.* Nesprin-3, a novel outer nuclear membrane protein, associates with the cytoskeletal linker protein plectin. *J. Cell Biol.* 171 : 799—810.
- Worman H. J., Gundersen G. G. 2006.* Here come the SUNs: a nucleocytoskeletal missing link. *Trends Cell Biol.* 16 : 67—69.
- Xie X., Fischer J. A. 2008.* On the roles of the *Drosophila* KASH domain proteins Msp-300 and Klarsicht. *Fly (Austin)*. 2 : 74—81.
- Yang Y. 2012.* Wnt signaling in development and disease. *Cell. Biosci.* 2 : 1—9.
- Zhang J., Felder A., Liu Y., Guo L. T., Lange S., Dalton N. D., Gu Y., Peterson K. L., Mizisin A. P., Shelton G. D., Lieber R. L., Chen J. 2010.* Nesprin 1 is critical for nuclear positioning and anchorage. *Hum. Mol. Genet.* 19 : 329—341.
- Zhang Q., Bethmann C., Worth N. F., Davies J. D., Wasner C., Feuer A., Ragnauth C. D., Yi Q., Mellad J. A., Warren D. T., Wheeler M. A., Ellis J. A., Skepper J. N., Vorgerd M., Schlotter-Weigel B., Weissberg P. L., Roberts R. G., Wehnert M., Shanahan C. M. 2007.* Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity. *Hum. Mol. Genet.* 16 : 2816—2833.
- Zhang Q., Ragnauth C., Greener M. J., Shanahan C. M., Roberts R. G. 2002.* The nesprins are giant actin-binding proteins, orthologous to *Drosophila melanogaster* muscle protein MSP-300. *Genomics*. 80 : 473—481.
- Zhang Q., Ragnauth C. D., Skepper J. N., Worth N. F., Warren D. T., Roberts R. G., Weissberg P. L., Ellis J. A., Shanahan C. M. 2005.* Nesprin-2 is a multi-isomeric protein that binds lamin and emerin at the nuclear envelope and forms a subcellular network in skeletal muscle. *J. Cell Sci.* 118 : 673—687.
- Zhang Q., Skepper J. N., Yang F., Davies J. D., Hegyi L., Roberts R. G., Weissberg P. L., Ellis J. A., Shanahan C. M. 2001.* Nesprins: a novel family of spectrin-repeat-containing proteins that localize to the nuclear membrane in multiple tissues. *J. Cell Sci.* 114 : 4485—4498.
- Zhang X., Lei K., Yuan X., Wu X., Zhuang Y., Xu T., Xu R., Han M. 2009.* SUN1/2 and Syne/Nesprin-1/2 complexes connect centrosome to the nucleus during neurogenesis and neuronal migration in mice. *Neuron*. 64 : 173—187.
- Zhen Y. Y., Libotte T., Munck M., Noegel A. A., Korenbaum E. 2002.* NUANCE, a giant protein connecting the nucleus and actin cytoskeleton. *J. Cell Sci.* 115 : 3207—3222.

Поступила 18 II 2014

## NESPRINS — NUCLEAR ENVELOPE PROTEINS ENSURING INTEGRITY

E. G. Pershina,<sup>1</sup> K. N. Morozova,<sup>1,2</sup> E. V. Kiseleva<sup>1</sup><sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, and <sup>2</sup> Novosibirsk State University; e-mail: morozko@bionet.nsc.ru

This review describes the nesprins (nuclear envelope spectrin-repeat proteins), which are recently discovered family of nuclear envelope proteins. These proteins play an important role in maintaining the cellular architecture and establish the link between the nucleus and other sub-cellular compartments. Many tissue-specific diseases including lipodystrophies, hearing loss, cardiac and skeletal myopathies are associated with nesprins mutations. These proteins comprise of multiple tissue specific isoforms which contain spectrin repeats providing interaction of nesprins with other nuclear membrane proteins, cytoskeleton and intranuclear matrix. We summarize recent findings and suggestions about nesprins structural organization and function inside the cell. Human diseases caused by abnormal nesprins expression are also described.

Key words: nesprins, nuclear envelope, laminopathies, cytoskeleton, nuclear matrices.