

АЛЬФА-АКТИНИНЫ И СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

© Н. В. Панюшев, Д. Г. Тентлер¹

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;

* электронный адрес: dtentler@mail.ru

К настоящему времени накопилось множество данных об участии белков актинового цитоскелета в передаче сигнала от поверхности клетки в ядро, включая регуляцию активности транскрипционных факторов. При этом белки цитоскелета могут выполнять функции, отличные от их структурных функций в цитоплазме. В частности, белок альфа-актинин 4, стабилизирующий актиновые филаменты, способен мигрировать в ядро и регулировать активность ряда транскрипционных факторов. Несмотря на отсутствие сигналов ядерного импорта и ДНК-связывающего домена, альфа-актинин 4 может связываться с промоторными последовательностями и ко-активировать NF-κB-зависимую транскрипцию. Избирательная регуляция генов-мишеней NF-κB может свидетельствовать об участии альфа-актинина 4 в определении специфичности ответа на активацию сигнального пути NF-κB в клетках разных типов.

Ключевые слова: цитоскелет, альфа-актинины, ACTN4, сигнальные пути, NF-κB.

Белки цитоскелета в клеточном ядре

На протяжении последних 20 лет присутствие белков цитоскелета в ядре не подвергается сомнениям. Группа актинсвязывающих белков является одной из самых многочисленных среди белков цитоскелета, функционирующих в клеточном ядре. Большинство из этих белков имеет и специфические для ядра функции, зачастую отличные от их функций в цитоплазме. В качестве иллюстрации можно привести участие актина и актинсвязывающих белков в процессе транскрипции. Несмотря на то что в ядре соматических клеток отсутствуют актиновые филаменты, полимеризация актина в ядре происходит и является необходимой для его участия в элонгации транскрипции (Ye et al., 2008). Актин привлекает фактор элонгации транскрипции Р-TEFb и опосредует взаимодействие с ним РНК-полимеразы II (Percipalle, 2013). Профилин, который является одним из ключевых регуляторов полимеризации цитоплазматического актина, выполняет эту функцию и в ядре. Однако наряду с этим профилин регулирует активность транскрипционного фактора p42POP и, возможно, вовлечен в процесс сплайсинга (Castano et al., 2010). Другим примером разделения функций белков в цитоплазме и ядре могут служить моторные белки системы микрофиламентов и микротрубочек — миозины и кинезины. Показано, что в ядре миозин Ic (MYO1C, также известный как NM1 или NM1β) и кинезины KIF4A и KID (KIF22) обеспечивают конденсацию хромосом в митозе (Hofmann et al., 2006; Samejima et al., 2012).

Список белков цитоскелета, выполняющих некие функции в ядре, продолжает увеличиваться, подвергая сомнению классическую формулу «один белок — одна функция». Примером цитоплазматических белков, впоследствии обнаруженных в ядре, являются альфа-актинины, структура и ядерные функции которых будут рассмотрены ниже.

Альфа-актинины

Альфа-актинины представляют собой группу актинсвязывающих белков, повсеместно встречающихся у эукариот (Virel, Backman, 2007). Они стабилизируют пучки F-актина путем образования поперечных сшивок между рядом лежащими актиновыми филаментами. Альфа-актинины присутствуют в различных клеточных структурах, для функционирования которых необходимы упорядоченные актиновые филаменты. В поперечнополосатых мышцах альфа-актинины участвуют в формировании Z-дисков саркомеров, сходным образом они функционируют в плотных телах гладкомышечных клеток. Альфа-актинины повсеместно встречаются и в немышечных клетках. Во всех клетках альфа-актинины сшивают противоположно направленные актиновые филаменты и таким образом участвуют в формировании вторичных структур актинового цитоскелета (Burrige et al., 1990; Hampton et al., 2007). Альфа-актинины имеют множество белковых партнеров. Они взаимодействуют с белками фокальной адгезии и стресс-фибрилл, такими как винкулин, зиксин, CRP, паксиллин, MEKK1 и PIP2, а также с FAK-киназой. Многие из этих белков также вовлечены в передачу сигнала и регуляцию транскрипции (Hampton et al., 2007).

Структура молекулы. Альфа-актинины найдены у большинства эукариот, и их структура достаточно подробно изучена (Virel, Backman, 2004; Hampton et al., 2007). В различных организмах их мол. масса составляет от 93 до 103 кДа. Актинсвязывающий участок находится на N-конце белка и представляет собой 2 домена кальциевой гомологии (CH-домены), из которых лишь ближайший к N-концу связывается с актином (Galkin et al., 2010). На C-конце располагаются два EF-hand-домена, из которых C-концевой необходим для связывания кальция. Между доменами CH и EF-hand находится ROD-домен,

содержащий несколько спектриновых повторов. Каждый спектриновый повтор состоит приблизительно из 106 аминокислотных остатков, пространственно организованных в тройную спираль (Djinović-Carugo et al., 2002). ROD-домен в молекуле актинина позволяет ей закрутиться влево на 90°, что может способствовать выполнению актинином роли белкового скаффолда (Hampton et al., 2007). За счет спектриновых повторов происходит антипараллельная димеризация альфа-актининов, при которой С-конец одной молекулы сближается с N-концом второй. Вследствие этого сближения связывание кальция с доменом EF-hand одной молекулы изменяет взаимодействие актина с другой, и, таким образом, происходит кальцийзависимая регуляция взаимодействия актина и актинина (Djinović-Carugo et al., 2002; Hampton et al., 2007).

Изоформы альфа-актининов. Альфа-актинины млекопитающих подразделяют на 4 изоформы, каждая из которых кодируется отдельным геном. Изоформы дополнительно подразделяют на мышечные и неммышечные. Кроме того, они различаются по возможности связывания кальция доменами EF-hand. Мышечные альфа-актинины 2 и 3 млекопитающих связываются с актином вне зависимости от концентрации кальция, так как их кальцийсвязывающие домены неактивны. Связывание F-актина неммышечными изоформами (альфа-актинины 1 и 4) регулируется за счет связывания кальция его вторым EF-hand-доменом (Virel, Backman, 2004). Экспрессия мышечных альфа-актининов варьирует в различных типах тканей. Альфа-актинин 3 (ACTN3) экспрессируется исключительно в скелетной мускулатуре, в то время как экспрессия альфа-актинина 2 (ACTN2) идет также в гладких мышцах, миокарде и, кроме того, в некоторых неммышечных клетках. Неммышечные изоформы альфа-актининов встречаются во всех типах тканей. Однако в большинстве клеток, за исключением подоцитов, уровень экспрессии ACTN4 ниже, чем ACTN1 (Honda et al., 1998; Otey, Carpen, 2004).

Немышечные альфа-актинины очень сходны. Последовательность ACTN4 идентична нуклеотидной и белковой последовательностям ACTN1 соответственно на 80 и 86,7%. Не выявлено достоверных различий и в их способности связывать актин и ионы кальция. За счет сходства поверхности изоформы актининов могут образовывать функциональные гетеродимеры, что подтверждено двугибридным анализом и исследованиями *in vitro*. Было обнаружено, что многие иммортализованные клеточные линии млекопитающих содержат более 50% неммышечных актининов в форме гетеродимеров (Foley, Young, 2013). В фокальных контактах альфа-актинины, как считается, сшивают однонаправленные филаменты в поляризованные пучки и специфично связывают их с интегринами (Hampton et al., 2007). Тем не менее, несмотря на большое сходство последовательностей и физических свойств, функции и локализация ACTN4 сильно отличаются от других изоформ актинина в клетке. Несмотря на то что и ACTN1, и ACTN4 локализируются вдоль стресс-фибрилл, ACTN1 в большей степени присутствует в фокальных и межклеточных контактах, а ACTN4 — на переднем крае псевдоподий клетки. В отличие от других изоформ ACTN4 способен мигрировать в ядро (Honda et al., 1998).

Альфа-актинин 4

Полноразмерный ACTN4 человека, согласно базе данных Swiss-Prot (UniprotKB:O43707), содержит 911 аминокислотных остатков и имеет мол. массу 104,8 кДа. Ген ACTN4 человека локализован на длинном плече хромосомы 19 (19q13), состоит из 21 экзона и кодирует мРНК размером 3893 нуклеотида. Пре-мРНК ACTN4 может подвергаться процессу альтернативного сплайсинга в некоторых типах раковых клеток (Honda et al., 1998, 2004; Khurana et al., 2012; Foley, Young, 2013).

Цитоплазматические функции. ACTN4 принимает участие в разнообразных клеточных процессах, и в настоящее время показано множество взаимодействующих с ним белковых партнеров (Chakraborty et al., 2006; Hara et al., 2006; Khotin et al., 2010; Khurana et al., 2011). Одна из ключевых ролей ACTN4 в цитоплазме — участие в организации фокальных клеточных контактов. При образовании контактов этот белок связывает кортикальный актиновый цитоскелет с интегринами, β -катенином и другими трансмембранными белками и также может регулировать активность ряда рецепторов (Burridge et al., 1990; Hayashida et al., 2005). Наличие у ACTN4 спектриновых повторов позволяет ему выполнять функцию скаффолда, соединяя в клетке структурные белки с белками, участвующими в проведении внутриклеточного сигнала (Djinović-Carugo et al., 2002; Otey, Carpen, 2004). При подавлении экспрессии неммышечных актининов происходит нарушение адгезии клеток к лигандам внеклеточного матрикса коллагену I и фибронектину. Поскольку ACTN1 и ACTN4 сходны по динамике связывания актина и чувствительности к кальцию, то при подавлении экспрессии одного из них второй способен частично его заменить (Foley, Young, 2013).

Роль в патологии человека. Определенные точечные мутации в гене ACTN4 приводят к развитию наследственного заболевания человека, называемого фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС; OMIM: 604638) (Kaplan et al., 2000; Yao et al., 2004). Это заболевание является аутосомно-доминантным из-за образования гетеродимеров между нормальной и aberrантной молекулами. У пациентов, гетерозиготных по данным мутациям, заболевание медленно прогрессирует и часто приводит к функциональному отказу почек. При ФСГС в почках происходят типичные морфологические изменения, которые приводят к нарушению функции подоцитов. Любая из аминокислотных замен (K255E, T259I, S262F, S262P, A427T или N748D) приводит к усилению связывания ACTN4 с F-актином, в результате чего происходит образование агрегатов. В то же время в межклеточных контактах и на стресс-фибриллах связывания с актином не происходит. Нарушения структуры цитоскелета подоцитов приводят к нарушениям функции почек (Chakraborty et al., 2006; Weins et al., 2007). Исследования на животных моделях показали, что мыши, гомозиготные по мутации K256E, погибают на 21-й нед после рождения, а с полным нокаутом гена ACTN4 — на 15-й (Henderson et al., 2008).

Кроме того, ACTN4 активно вовлечен в процесс онкогенеза. ACTN4 впервые и был описан как белок, ассоциированный с повышенной миграцией клеток и раком груди. Было установлено, что транслокация ACTN4 в ядро коррелирует с усилением миграции клеток мелкоклеточного рака легких и плохим прогнозом выживаемости больных (Honda et al., 1998). Кроме того, была выявлена связь между повышенным уровнем экспрессии

ACTN4 и развитием инвазивных типов рака груди, мелкоклеточного рака легких, метастазированием опухолей лимфатических узлов толстой кишки, а при раке яичников уровень экспрессии ACTN4 может указывать на клиническую стадию заболевания (Yamamoto et al., 2007). Увеличенное количество копий ACTN4 при раке поджелудочной железы коррелирует с низкой продолжительностью жизни пациентов (Watabe et al., 2014). В то же время подавление экспрессии ACTN4 снижает пролиферацию и инвазивность раковых клеток паренхимы поджелудочной железы (Kikuchi et al., 2008), глиальных опухолей (Quick, Skalli, 2010), мочевого пузыря и плоскоклеточной карциномы полости рта (Koizumi et al., 2010). Следует отметить, что повышение экспрессии ACTN4 также снижает онкогенный потенциал клеток нейробластомы (Nikoloroulos et al., 2000), что указывает на различную роль ACTN4 в опухолеобразовании в зависимости от типа тканей (Hara et al., 2006). По-видимому, перемещение ACTN4 в ядро также стимулирует процесс трансэндотелиальной миграции, которая может быть вызвана нарушением взаимодействия ACTN4 со структурами актинового цитоскелета (Honda et al., 1998; Yamamoto et al., 2007).

Транслокация в ядро. Помимо функционирования в системе микрофиламентов ACTN4 также может выходить из их состава и перемещаться в ядро. Для этого он может подвергаться ряду модификаций: фосфорилированию за счет FAK-киназы по тирозину 12, ограниченному протеолизу кальпаином, а также связыванию со вторичными мессенджерами (фосфатидилинозитолом и Ca^{2+}). За счет подобных модификаций, опосредованных различными сигнальными белками, может осуществляться изменение связывания ACTN4 с актиновым цитоскелетом, вплоть до полного выхода из него (Hsu, Kao, 2013).

Несмотря на важность транслокации ACTN4 в ядро в процессе жизнедеятельности клетки, сам механизм транслокации изучен недостаточно. ACTN4 не содержит классической последовательности ядерного импорта (NLS), тем не менее он может присутствовать в ядре в значительных количествах. Возможно, что его импорт в ядро осуществляется за счет прямого взаимодействия спектринных повторов с FG-повторами нуклеопоринов. Это предположение косвенно подтверждается тем, что при ингибировании ядерных поровых комплексов GFP-меченный ROD-домен ACTN4 не обнаруживался в ядре (Kumeta et al., 2010). Однако при полной делеции ROD-домена ACTN4 сохраняет способность транслоцироваться в ядро, что может свидетельствовать о наличии у ACTN4 более чем одной последовательности, ответственной за ядерный импорт (Aksenova et al., 2013). Ядерный экспорт ACTN4 опосредован CRM1 (chromosome region maintenance 1), для работы которого необходимы последовательности ядерного экспорта (NES). В аминокислотной последовательности ACTN4 присутствуют 2 консенсусных NES. Однако функционален из них только один, расположенный между 141-м и 152-м аминокислотными остатками. Интересно, что локализация ACTN4 сильно изменяется при продвижении по стадиям клеточного цикла. Наибольшее количество ACTN4 присутствует в ядре в фазе G_2 клеточного цикла, а минимальное — в фазе S (Kumeta et al., 2010).

Ядерные функции ACTN4 изучены значительно слабее цитоплазматических, однако в последние годы появляются многочисленные данные о роли ACTN4 в различных ядерных процессах, таких как регуляция экспрес-

сии генов (Poch et al., 2004; Chakraborty et al., 2006; Bolshakova et al., 2007; Zhao et al., 2015) и ремоделирование хроматина (Chakraborty et al., 2006; Kumeta et al., 2010). Кроме того, некоторые ретровирусы (ВИЧ-2, вирус гепатита С, вирус гриппа А) могут использовать ACTN4 для своей репликации (Lan et al., 2003; Mueller et al., 2004; Sharma et al., 2014).

Связь ACTN4 с путями передачи сигнала. ACTN4 может принимать участие в регуляции транскрипции как непосредственно за счет связывания с транскрипционными факторами (Babakov et al., 2008; Aksenova et al., 2013; Zhao et al., 2015), так и за счет взаимодействия с вышележащими белками сигнальных каскадов (Ding et al., 2006). Первые предположения о том, что ACTN4 принимает участие в регуляции транскрипции, были подкреплены данными о его взаимодействии с гистоновыми деацетилазами класса II (HDAC) и фактором коактивации MEF2S (myocyte enhancer factor 2S) за счет прямого взаимодействия на промоторе гена *TAF55* (Chakraborty et al., 2006). Ниже мы суммируем данные из литературы о связи ACTN4 с разными сигнальными путями.

ACTN4 как транскрипционный коактиватор ядерных рецепторов. Ядерные рецепторы (NR), в том числе рецептор витамина D (VDR) и рецепторы стероидных гормонов, например рецепторы эстрогенов, представляют собой активируемые лигандом факторы транскрипции, которые контролируют гомеостаз, дифференцировку клеток, пролиферацию и развитие. Считается, что NR регулируют транскрипцию за счет обмена ассоциированных с ними корепрессоров и коактиваторов. Связывание лигандов рецептором вызывает конформационное изменение рецептора, что приводит к диссоциации корепрессора и привлечению белков-коактиваторов (Zheng et al., 2009). Все коактиваторы несут NR-боксы, необходимый и достаточный для обеспечения взаимодействия рецептора и коактиватора (Chang et al., 1999). NR-боксы состоят из короткого α -спирального мотива LXXLL, где L — лейцин, а X — любой аминокислотный остаток (Savkur, Burris, 2004). Многие актинсвязывающие белки (β -спектрин, несприн 1, плектин, дистонин, MACF1 и филамин В) также содержат этот домен (Zheng et al., 2009). ACTN4 содержит функциональный LXXLL-мотив в домене CH1 (Khurana et al., 2011). Интересно отметить, что все актинины содержат этот функциональный мотив, однако коактивация NR показана только для ACTN4 и ACTN1. Коактивация осуществляется за счет прямого взаимодействия с лиганд-рецепторным комплексом. Способность ACTN4 активировать экспрессию VDR- и $ER\alpha$ -зависимых (estrogen receptor α) генов зависит от NR-боксы. Действительно, при сверхэкспрессии ACTN4 дикого типа экспрессия VDR- и $ER\alpha$ -зависимых генов достоверно возрастает, и эффект исчезает при замене мотива LXXLL на LXXAA (Khurana et al., 2011).

ACTN4 в Akt-сигналинге. Akt, или протеинкиназа В (PKB), — серинтреониновая киназа, изначально идентифицированная по сходству с ретровирусным онкогеном *v-Akt*. Она является одной из ключевых киназ, контролирующих выживание клеток и их пролиферацию. С помощью анализа комплементации белковых фрагментов было показано, что ACTN4 взаимодействует с Akt1 в клетках млекопитающих. Нокдаун ACTN4 существенно уменьшает транслокацию Akt к мембране и ее фосфорилирование. Кроме того, повышается количество ингибитора циклинзависимой киназы p27/Kip1, которая негативно регулируется Akt (Dingetal., 2006). Общий эффект

от снижения количества АСТН4 проявляется в снижении пролиферации как минимум из-за прекращения АСТН4-зависимой активации Akt (Vandermoere et al., 2007).

АСТН4 и WNT/ β -катениновый путь. На основе данных, полученных на животных моделях и клинических образцах, был сделан вывод о том, что АСТН4 способствует эпителиально-мезенхимному переходу и метастазированию. В последующих работах было показано, что взаимосвязь между АСТН4 и β -катенином регулируется посредством E-кадгерина. В клетках неинфильтрирующего рака прямой кишки колокализация АСТН4 и β -катенина происходит преимущественно в ядре. Это может свидетельствовать о том, что в ядре АСТН4 способен регулировать активность β -катенина как транскрипционного фактора (Hayashida et al., 2005).

АСТН4 в регуляции сигналинга NF- κ B. Система микрофиламентов позволяет клетке реагировать на внеклеточные стимулы не только за счет динамического изменения структур цитоскелета, но также благодаря тому, что белки, входящие в состав цитоскелета, способны самостоятельно регулировать транскрипционную активность клетки. Одним из транскрипционных факторов, для которых показана активация за счет актинсвязывающих белков, является NF- κ B (Fazal et al., 2006; Kustermans et al., 2008). Транскрипционный фактор NF- κ B состоит из димеров белков семейства Rel, связывающихся с последовательностями ДНК, известными как κ B-сайты. Пять членов семейства NF- κ B (p50, p52, RelB, cRel и RelA) потенциально могут образовывать 15 комбинаций димеров (Shih et al., 2011). Активация NF- κ B регулируется двумя основными путями. Первый, канонический, путь NF- κ B относится в основном к димерам RelA, c-Rel или p50, которые удерживаются в цитоплазме с помощью ингибиторных белков семейства I κ B (Ma et al., 2011). Канонический путь запускается в ответ на микробные и вирусные инфекции, провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли α (TNF- α). При активации этого пути белки I κ B фосфорилируются киназами ИКК, после чего происходят их протеасомная деградация, высвобождение димеров NF- κ B и их транслокация в ядро. Альтернативный путь запускается некоторыми цитокинами семейства TNF, такими как CD40L, BAFF и лимфотоксин- β (LT β), которые селективно активируют ИКК α , вызывая фосфорилирование p100 (Oeckinghaus et al., 2011). Фосфорилирование приводит к убиквитинзависимой деградации C-концевой части p100 и образованию субъединицы p52, способной к транслокации в ядро (Ma et al., 2011; Shih et al., 2011).

В ядре димеры NF- κ B связываются с κ B-сайтами и регулируют транскрипцию генов-мишеней. Специфическое взаимодействие NF- κ B с κ B-сайтом обеспечивает его N-концевой домен (NTD), тогда как C-концевой домен (CTD) ответствен за димеризацию белка и удержание комплекса на ДНК (Zheng et al., 2011). Было выявлено, что NF- κ B связывается с последовательностями в 13 600 генов человека (Xing et al., 2013; Satoh, 2014). Несмотря на то что NF- κ B связывается со столь большим количеством генов, транскрипция только малого их числа значимо регулируется этим транскрипционным фактором. Это говорит о том, что связывание является необходимым, однако недостаточным условием NF- κ B-зависимой регуляции генов-мишеней. Другие факторы, например состояние хроматина, а также взаимодействие с другими корегуляторными белками, способны влиять на транскрипционную активность NF- κ B (Xing et al., 2013).

Участие в регуляции экспрессии RelA/p65-зависимых генов. Распределение RelA/p65-субъединицы NF- κ B в цитоплазме прямо зависит от состояния актинового цитоскелета. В цитоплазме субъединица RelA/p65 расположена вдоль стресс-фибрилл и в местах фокальных контактов (Are et al., 2000). Показано, что около 7% NF- κ B в клетке находится во фракции актинового цитоскелета, причем белков I κ B в этой фракции не обнаружено (Bolshakova et al., 2013). Под действием эпидермального фактора роста RelA/p65 перераспределяется в ядро вместе с АСТН4 (Бабаков и др., 2004). Накопление АСТН4 в ядре приводит к изменению уровня экспрессии RelA/p65-регулируемых генов *BAX* и *TNC* (Хотин, 2010). Методом коиммунопреципитации было показано взаимодействие АСТН4 и RelA/p65 в клетках линий A431 и HEK293T (Babakov et al., 2008; Khotin et al., 2010; Aksenova et al., 2013). Однако ни подавление, ни сверхэкспрессия АСТН4 не приводят к изменению ядерно-цитоплазматического соотношения RelA/p65, что свидетельствует о регуляции транскрипционной активности RelA/p65. Действительно, сверхэкспрессия АСТН4 приводит к усилению экспрессии некоторых NF- κ B-регулируемых генов (*c-fos* мыши, *MMP-1* и *MMP-3* человека), но только на фоне активации NF- κ B (Aksenova et al., 2013). Факт присутствия АСТН4 на промоторах некоторых генов, зависимых от NF- κ B (IL-1 β и IL8), был подтвержден с помощью ChIP (Zhao et al., 2015). Однако пока вопрос о том, транскрипция каких генов в масштабе целого генома регулируется комплексом NF- κ B и АСТН4, остается открытым.

Заключение

Необходимо отметить, что исследования ядерных функций белков актинового цитоскелета тесно связаны с проблемой специфичности ответа клеток разного типа на активацию одних и тех же сигнальных путей. Как уже отмечалось выше, κ B-сайты присутствуют в промоторных последовательностях большого числа генов человека. Но, как показывают результаты исследований, далеко не все из них влияют на экспрессию в каждом конкретном случае (Li et al., 2012; Aksenova et al., 2013). Изменение экспрессии каждого гена при активации NF- κ B зависит и от активатора и клеточного типа. Данные последних лет о взаимодействии белков цитоскелета (в частности, АСТН4) с путями передачи сигнала и о наличии у этих белков новых ядерных функций делают их хорошими кандидатами на роль регуляторов специфичности транскрипционных факторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-50-00068 «Молекулярно-клеточные технологии для лечения социально значимых заболеваний»).

Список литературы

Бабаков В. Н., Кропачева И. В., Петухова О. А., Туроверова Л. В., Пинаев Г. П. 2004. Внутриклеточное распределение актинсвязывающих белков, фосфорилированных по тирозину, при распластывании клеток A431 на разных лигандах. Цитология. 46 (12) : 1056—1064. (Babakov V. N., Kropacheva I. V., Petukhova O. A., Turoverova L. V., Pinaev G. P. 2004. Intracellular distribution of tyrosine-phosphorylated actin-binding proteins in

A431 cells spread on different ligands. *Tsitologiya*. 46 (12): 1056—1064.)

Xhotin M. G. 2010. Взаимодействие α -актинина 4 с ядерными белковыми комплексами, регулируемыми экспрессией генов: Автореф. канд. дис. СПб. 20 с. (*Xhotin M. G. 2010.* Interaction of α -actinin 4 with nuclear protein complexes regulating gene expression. Ph. D. theses. SPb. 20 p.).

Aksenova V., Turoverova L., Khotin M., Magnusson K.-E., Tulchinsky E., Melino G., Pinaev G., Barlev N., Tentler D. 2013. Actin-binding protein alpha-actinin 4 (ACTN4) is a transcriptional co-activator of RelA/p65 sub-unit of NF- κ B. *Oncotarget*. 4: 362—372.

Are A., Galkin V., Pospelova T., Pinaev G. 2000. The p65/RelA subunit of NF- κ B interacts with actin-containing structures. *Exp. Cell Res.* 256: 533—544.

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- κ B transcription factor associates with α -actinin-4. *Exp. Cell Res.* 314: 1030—1038.

Bolshakova A., Magnusson K.-E., Pinaev G., Petukhova O. 2013. Functional compartmentalisation of NF- κ B-associated proteins in A431 cells. *Cell Biol. Int.* 37: 387—396.

Bolshakova A., Petukhova O., Turoverova L., Tentler D., Babakov V., Magnusson K.-E., Pinaev G. 2007. Extra-cellular matrix proteins induce redistribution of alpha-actinin-1 and alpha-actinin-4 in A431 cells. *Cell Biol. Int.* 31: 360—365.

Burridge K., Nuckolls G., Otey C., Pavalko F., Simon K., Turner C. 1990. Actin-membrane interaction in focal adhesions. *Cell Differ. Develop.* 32: 337—342.

Castano E., Philimonenko V., Kahle M., Fukalová J., Kalendová A., Yildirim S., Dzijak R., Dingová-Krásna H., Hozák P. 2010. Actin complexes in the cell nucleus: new stones in an old field. *Histochem. Cell Biol.* 133: 607—626.

Chakraborty S., Reineke E. L., Lam M., Li X., Liu Y., Gao C., Khurana S., Kao H.-Y. 2006. Alpha-actinin 4 potentiates myocyte enhancer factor-2 transcription activity by antagonizing histone deacetylase 7. *J. Biol. Chem.* 281: 35 070—35 080.

Chang C. Y., Norris J. D., Grøn H., Paige L., Hamilton P. T., Kenan D. J., Fowlkes D., McDonnell D. P. 1999. Dissection of the LXXLL nuclear receptor-coactivator interaction motif using combinatorial peptide libraries: discovery of peptide antagonists of estrogen receptors alpha and beta. *Mol. Cell. Biol.* 19: 8226—8239.

Ding Z., Liang J., Lu Y., Yu Q., Songyang Z., Lin S.-Y., Mills G.B. 2006. A retrovirus-based protein complementation assay screen reveals functional AKT1-binding partners. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 103: 15 014—15 019.

Djinović-Carugo K., Gautel M., Ylanne J., Young P. 2002. The spectrin repeat: a structural platform for cytoskeletal protein assemblies. *FEBS Lett.* 513: 119—123.

Fazal F., Minhajuddin M., Bijli K., McGrath J., Rahman A. 2006. Evidence for actin cytoskeleton-dependent and -independent pathways for RelA/p65 nuclear translocation in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 282: 3940—3950.

Foley K., Young P. 2013. An analysis of splicing, actin-binding properties, heterodimerization and molecular interactions of the non-muscle α -actinins. *Biochem. J.* 452: 477—488.

Galkin V. E., Orlova A., Salmazo A., Djinović-Carugo K., Egelman E. H. 2010. Opening of tandem calponin homology domains regulates their affinity for F-actin. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17: 614—616.

Hampton C., Taylor D., Taylor K. 2007. Novel structures for α -actinin: F-actin interactions and their implications for actin-membrane attachment and tension sensing in the cytoskeleton. *J. Mol. Biol.* 368: 92—104.

Hara T., Honda K., Shitashige M., Ono M., Matsuyama H., Naito K., Hirohashi S., Yamada T. 2006. Mass spectrometry analysis of the native protein complex containing actinin-4 in prostate cancer cells. *Mol. Cell. Proteomics*. 6: 479—491.

Hayashida Y., Honda K., Idogawa M., Ino Y., Ono M., Tsuchida A., Aoki T., Hirohashi S., Yamada T. 2005. E-cadherin regulates the association between beta-catenin and actinin-4. *Cancer Res.* 65: 8836—8845.

Henderson J. M., Al-Waheeb S., Weins A., Dandapani S. V., Pollak M. R. 2008. Mice with altered alpha-actinin-4 expression have distinct morphologic patterns of glomerular disease. *Kidney Int.* 73: 741—750.

Hofmann W. A., Johnson T., Klapczynski M., Fan J.-L., de Lanerolle P. 2006. From transcription to transport: emerging roles for nuclear myosin I. *Biochem. Cell Biol.* 84: 418—426.

Honda K., Yamada T., Endo R., Ino Y., Gotoh M., Tsuda H., Yamada Y., Chiba H., Hirohashi S. 1998. Actinin-4, a novel actin-bundling protein associated with cell motility and cancer invasion. *J. Cell Biol.* 140: 1383—1393.

Honda K., Yamada T., Seike M., Hayashida Y., Idogawa M., Kondo T., Ino Y., Hirohashi S. 2004. Alternative splice variant of actinin-4 in small cell lung cancer. *Oncogene*. 23: 5257—5262.

Kaplan J. M., Kim S., North K. N., Rennke H., Correia L. A., Tong H. Q., Mathis B. J., Rodriguez-Pérez J. C., Allen P. G., Beggs A. H., Pollak M. R. 2000. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Genet.* 24: 251—256.

Khotin M., Turoverova L., Aksenova V., Barlev N., Borutinskaite V. V., Vener A., Bajenova O., Magnusson K.-E., Pinaev G. P., Tentler D. 2010. Proteomic analysis of ACTN4-interacting proteins reveals its a putative involvement in mRNA metabolism. *Biocchem. Biophys. Res. Commun.* 397: 192—196.

Khurana S., Chakraborty S., Cheng X., Su Y., Kao H. 2011. The actin-binding protein, actinin alpha 4 (ACTN4), is a nuclear receptor coactivator that promotes proliferation of MCF-7 breast cancer cells. *J. Biol. Chem.* 286: 1850—1859.

Khurana S., Chakraborty S., Zhao X., Liu Y., Guan D., Lam M., Huang W., Yang S., Kao H.-Y. 2012. Identification of a novel LXXL motif in ACTN4 spliced isoform that is critical for its interaction with estrogen receptor alpha and co-activators. *J. Biol. Chem.* 287: 35 418—35 429.

Kikuchi S., Honda K., Tsuda H., Hiraoka N., Imoto I., Kosuge T., Umaki T., Onozato K., Shitashige M., Yamaguchi U., Ono M., Tsuchida A., Aoki T., Inazawa J., Hirohashi S., Yamada T. 2008. Expression and gene amplification of actinin-4 in invasive ductal carcinoma of the pancreas. *Clin. Cancer Res.* 14: 48—56.

Koizumi T., Nakatsuji H., Fukawa T., Avirmed S., Fukumori T., Takahashi M., Kanayama, H. 2010. The role of actinin-4 in bladder cancer invasion. *Urology*. 75: 357—364.

Kumeta M., Yoshimura S. H., Harata M., Takeyasu K. 2010. Molecular mechanisms underlying nucleocytoplasmic shuttling of actinin-4. *J. Cell Sci.* 123: 1020—1030.

Kustermans G., El Mjiyad N., Horion J., Jacobs N., Piette J., Legrand-Poels S. 2008. Actin cytoskeleton differentially modulates NF- κ B-mediated IL-8 expression in myelomonocytic cells. *Biochem. Pharmacol.* 76: 1214—1228.

Lan S., Wang H., Jiang H., Mao H., Liu X., Zhang X., Hu Y., Xiang L., Yuan Z. 2003. Direct interaction between alpha-actinin and hepatitis C virus NS5B. *FEBS Lett.* 554: 289—294.

Li C. W., Xia W., Huo L., Lim S. O., Wu Y., Hsu J. L., Chao C. H., Yamaguchi H., Yang N. K., Ding Q., Wang Y., Lai Y. J., LaBaff A. M., Wu T. J., Lin B. R., Yang M. H., Hortobagyi G. N., Hung M. C. 2012. Epithelial-mesenchymal transition induced by TNF- α requires NF- κ B-mediated transcriptional upregulation of Twist1. *Cancer Res.* 72: 1290—1300.

Ma X., Becker Buscaglia L. E., Barker J. R., Li Y. 2011. MicroRNAs in NF- κ B signaling. *J. Mol. Cell Biol.* 3: 159—166.

Mueller S. M., Jung R., Weiler S., Lang S. M. 2004. Vpx proteins of SIVmac239 and HIV-2ROD interact with the cytoskeletal protein alpha-actinin 1. *J. Gen. Virol.* 85: 3291—3303.

Nikolopoulos S. N., Spengler B. A., Kisselbach K., Evans A. E., Biedler J. L., Ross R. A. 2000. The human non-muscle alpha-actinin protein encoded by the ACTN4 gene suppresses tumorigenicity of human neuroblastoma cells. *Oncogene*. 19: 380—386.

Oeckinghaus A., Hayden M. S., Ghosh S. 2011. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways. *Nat. Immunol.* 12: 695—708.

Otey C. A., Carpen O. 2004. Alpha-actinin revisited: a fresh look at an old player. *Cell Motil. Cytoskeleton*. 58: 104—111.

Percipalle P. 2013. Co-transcriptional nuclear actin dynamics. *Nucleus*. 4: 43—52.

- Poch M. T., Al-Kassim L., Smolinski S. M., Hines R. N. 2004. Two distinct classes of CCAAT box elements that bind nuclear factor-Y/alpha-actinin-4 : potential role in human CYP1A1 regulation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 199 : 239—250.
- Quick Q., Skalli O. 2010. Alpha-actinin 1 and alpha-actinin 4 : contrasting roles in the survival, motility, and RhoA signaling of astrocytoma cells. *Exp. Cell Res.* 316 : 1137—1147.
- Samejima K., Samejima I., Vagnarelli P., Ogawa H., Vargiu G., Kelly D. A., de Lima Alves F., Kerr A., Green L. C., Hudson D. F., Ohta S., Cooke C. A., Farr C. J., Rappsilber J., Earnshaw W. C. 2012. Mitotic chromosomes are compacted laterally by KIF4 and condensin and axially by topoisomerase II. *J. Cell Biol.* 199 : 755—770.
- Sato H. 2014. Molecular network of ChIP-Seq-based NF- κ B p65 target genes involves diverse immune functions relevant to the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 3 : 94—106.
- Savkur R. S., Burris T. P. 2004. The coactivator LXXLL nuclear receptor recognition motif. *J. Pept. Res.* 63 : 207—212.
- Sharma S., Mayank A. K., Nailwal H., Tripathi S., Patel J. R., Bowzard J. B., Gaur P., Donis R. O., Katz J. M., Cox N. J., Lal R. B., Farooqi H., Sambhara S., Lal S. K. 2014. Influenza A viral nucleoprotein interacts with cytoskeleton scaffolding protein α -actinin-4 for viral replication. *FEBS J.* 281 : 2899—2914.
- Shih V. F.-S., Tsui R., Caldwell A., Hoffmann A. 2011. A single NF- κ B system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Res.* 21 : 86—102.
- Vandermoere F., El Yazidi-Belkoura I., Demont Y., Slomianny C., Antol J., Lemoine J., Hondermarck H. 2007. Proteomics exploration reveals that actin is a signaling target of the kinase Akt. *Mol. Cell. Proteomics.* 6 : 114—124.
- Virel A., Backman L. 2004. Molecular evolution and structure of alpha-actinin. *Mol. Biol. Evol.* 21 : 1024—1031.
- Virel A., Backman L. 2007. A comparative and phylogenetic analysis of the α -actinin rod domain. *Mol. Biol. Evol.* 24 : 2254—2265.
- Watabe Y., Mori T., Yoshimoto S., Nomura T., Shibahara T., Yamada T., Honda K. 2014. Copy number increase of ACTN4 is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma. *Cancer Med.* 3 : 613—622.
- Weins A., Schlondorff J. S., Nakamura F., Denker B. M., Hartwig J. H., Stossel T. P., Pollak M. R. 2007. Disease-associated mutant α -actinin-4 reveals a mechanism for regulating its F-actin-binding affinity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 104 : 16 080—16 085.
- Xing Y., Yang Y., Zhou F., Wang J. 2013. Characterization of genome-wide binding of NF- κ B in TNF α -stimulated HeLa cells. *Gene.* 526 : 142—149.
- Yamamoto S., Tsuda H., Honda K., Kita T., Takano M., Tamai S., Inazawa J., Yamada T., Matsubara O. 2007. Actinin-4 expression in ovarian cancer: a novel prognostic indicator independent of clinical stage and histological type. *Mod. Pathol.* 20 : 1278—1285.
- Yao J., Le T. C., Kos C. H., Henderson J. M., Allen P. G., Denker B. M., Pollak M. R. 2004. An inherited kidney disease caused by an aggregated and rapidly degraded cytoskeletal protein. *PLoS Biol.* 2 : 787—794.
- Ye J., Zhao J., Hoffmann-Rohrer U., Grummt I. 2008. Nuclear myosin I acts in concert with polymeric actin to drive RNA polymerase I transcription. *Genes Develop.* 22 : 322—330.
- Zhao X., Hsu K.-S., Lim J. H., Bruggeman L. A., Kao H.-Y. 2015. α -Actinin 4 potentiates nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B-cell (NF- κ B) activity in podocytes independent of its cytoplasmic actin binding function. *J. Biol. Chem.* 290 : 338—349.
- Zheng B., Han M., Bernier M., Wen J. K. 2009. Nuclear actin and actin-binding proteins in the regulation of transcription and gene expression. *FEBS J.* 276 : 2669—2685.
- Zheng C., Yin Q., Wu H. 2011. Structural studies of NF- κ B signaling. *Cell Res.* 21 : 183—195.

Поступила 30 IX 2015

ALPHA-ACTININS AND SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS

N. V. Panyushev, D. G. Tentler¹

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064;
¹ e-mail: dtentler@mail.ru

Involvement of actin cytoskeleton proteins in signal transduction from cell surface to the nucleus, including regulation of transcription factors activity, has now been supported by a lot of experimental data. Here, cytoskeletal proteins may have different functions than ones they execute in the cytoplasm. Particularly, alpha-actinin 4 stabilizing actin microfilaments in the cytoplasm can translocate to the nucleus and change the activity of several transcription factors. Despite the lack of nuclear import signal and DNA binding domain, alpha-actinin 4 can bind to promoter sequences, and co-activate NF- κ B-dependent transcription. Selective regulation of NF- κ B gene targets may indicate involvement of alpha-actinin 4 in determining the specificity of cell response to NF- κ B activation in cells of different types.

Key words: cytoskeleton, alpha-actinins, ACTN4, signal transduction, NF- κ B.