KOSMOS
PROBLEMY NAUK BIOLOGICZNYCH

Tom 67 **2018**
Numer 1 **(318)**
Strony **75–93**

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

JOLANTA NOWAK, MARIA JOLANTA RĘDOWICZ

Pracownia Molekularnych Podstaw Ruchów Komórkowych
Zakład Biochemii
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
E-mail: j.redowicz@nencki.gov.pl

AKTYNA I MIOZYNY W JĄDRZE KOMÓRKOWYM

WPROWADZENIE

Jeszcze niespełna dwie dekady temu doniesienia o obecności aktyny i miozyny oraz innych białek cytoszkieletu w jądrze komórkowym spotykały się z niedowierzaniem i krytycyzmem. Sądzono, że są to artefakty związane bądź z techniką barwienia, bądź z zanieczyszczeniem frakcji jądrowej frakcją cytoplazmatyczną. Coraz liczniejsze prace potwierdzające funkcjonalność aktyny (tak w postaci monomerów, jak i filamentów) oraz szeregu miozyn niekonwencjonalnych w jądrze komórkowym ostatecznie przekonały środowisko naukowe, że aktyna i miozyny są niezmiernie ważne dla prawidłowego przebiegu procesów zachodzących w jądrze (BELIN i MULLINS 2013, KRISTÓ i współaut. 2016).

Dotychczas potwierdzono obecność w jądrze komórkowym ośmiu miozyn niekonwencjonalnych (informacje o nadrodzinie miozyn – patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Są to: dwie formy miozyny IC: a i b, dwie izoformy miozyny V: A i B, miozyna VI, miozyna XVIB oraz dwie izoformy miozyny XVIII: A i B (DE LANEROLLE 2012). W jądrze występuje również miozyna konwencjonalna, ale nie potwierdzono dotąd, która z izoform jest tu obecna (LI i SARNA 2009). Badania z ostatnich lat dostarczyły szeregu informacji o zaangażowaniu tych motorów molekularnych oraz aktyny w procesy replikacji i naprawy DNA, transkrypcji i dojrzewania transkryptów oraz w transporcie wewnątrz jądra. Uważa się również, że obecny w jądrze układ akto-miozynowy pełni ważną rolę w organizacji jądra i struktur jądrowych (DE LANEROLLE 2012, BELIN i MULLINS 2013, SARSHAD i PERCIPALLE 2014, BATTERS i VEIGEL 2016, KRISTÓ i współaut. 2016). Niniejszy artykuł opisuje aktualny stan wiedzy o roli aktyny i związanych z nią motorów molekularnych w jądrze komórkowym.

AKTYNA I NUKLEOSZKIELET AKTYNOWY W JĄDRZE KOMÓRKOWYM

AKTYNA

Aktyna jest jednym z białek najpowszechniej występujących w komórkach eukariotycznych i najbardziej zachowanych w toku ewolucji (patrz RĘDOWICZ w tym zeszycie KOSMOSU). Jest jednym z podstawowych białek cytoszkieletu i aparatu skurczu mięśni, natomiast wciąż mało powszechna jest wiedza o tym, że aktyna występuje również w jądrze komórkowym, gdzie pełni istotną rolę w fundamentalnych procesach jądrowych oraz współtworzy nukleoszkielet warunkujący utrzymanie kształtu i integralności jądra (BELIN I MULLINS 2013). Aktynę, i to w wysokim stężeniu (>100 μM), po raz pierwszy zidentyfikowano we frakcji jądrowej oocytów żaby *Xenopus laevis* (CLARK i MERRIAM 1978). Przez wiele lat nie dowierzano jednak tym doniesieniom sądząc, iż obecność aktyny w jądrze wynika z zanieczyszczenia frakcji jądrowej cytoplazmą.

U ludzi aktyna jest kodowana przez sześć genów, z czego dwa z nich, *ACTB* i *ACTG1*, kodują tzw. cytoplazmatyczne aktyny, odpowiednio β i γ (patrz RĘDOWICZ w tym zeszycie KOSMOSU). W jądrze komórek ludz-

Słowa kluczowe: aktyna, ekspresja genów, miozyna, jądro, jąderko, polimeraza, transkrypcja

kiego czerniaka A375 zidentyfikowano obie cytoplazmatyczne izoformy, ale ich stosunek pomiędzy frakcją cytoplazmatyczną a nukleoplazmatyczną różni się. W jądrze jest więcej izoformy β niż w cytoplazmie w porównaniu z izoformą γ, co sugeruje różnice w regulacji transportu jądrowego monomerów obu izoform aktyny (MIGOCKA-PATRZAŁEK i współaut. 2015).

Badania GIENI i HENDZEL (2009) oraz SKARP i VARTIAINEN (2013) sugerują funkcjonalne powiązanie jądrowej i cytoplazmatycznej puli aktyny, gdyż dochodzi do stałej wymiany monomerów aktyny pomiędzy pulą cytoplazmatyczną i pulą jądrową. Dotyczy to w szczególności monomerów aktyny o masie cząsteczkowej ~42 kDa. W aktynie nie zidentyfikowano sekwencji NLS (ang. nuclear localization sequence) umożliwiającej jej transport do jądra, wykryto natomiast dwie sekwencje eksportu jądrowego NES (ang. nuclear export sequences) (WADA i współaut. 1998). Monomeryczna aktyna przemieszcza się do jądra w kompleksie w kofiliną, białkiem destabilizującym filamenty aktynowe, oraz importyną 9 (Imp9), białkiem maszynerii importu białek do jądra komórkowego. MIYAMOTO i GURDON (2013) wykazali również, że kofilina bierze udział w aktywnym imporcie aktyny tylko wtedy, kiedy w jądrze występuje duże zapotrzebowanie na to białko. Z jądra aktyna jest eksportowana w kompleksie z profiliną przez czynnik eksportu jądra - eksportynę 6 (STUVEN i współaut. 2003, BOHNSACK i współaut. 2006, DOPIE i współaut. 2012). Wysokie stężenie aktyny w dużych jądrach oocytów *Xenopus* wynika najprawdopodobniej z faktu, iż nie ma tam eksportyny 6 (STUVEN i współaut. 2003).

W cytoplazmie aktyna występuje zarówno w postaci monomerów, jak i filamentów. Organizacja aktyny w jądrze może być różna, w zależności od typu komórki, ale zasadniczo obserwowano: (i) mobilną pulę monomerów aktyny, (ii) niemobilną pulę aktyny, w tym monomerów związanych z kompleksami jądrowymi oraz (iii) pulę krótkich filamentów (SCHOENENBERGER i współaut. 2005, MCDONALD i współaut. 2006, DE LANEROLLE i SEREBRYANNYY 2011, DOPIE i współaut. 2012). Struktury F-aktyny w jądrze zostały odnalezione za pomocą przeciwciał, które rozpoznają konformacje unikatowe dla filamentów aktyny (SCHOENENBERGER i współaut. 2005, KISELEVA i współaut. 2004). W warunkach stresu aktyna intensywnie przemieszcza się z cytoplazmy do jądra komórki (FUKUI i KATSUMARU 1980, NISHIDA i współaut. 1987, PENDLETON i współaut. 2003), a dynamika tworzenia jądrowej sieci aktynowej, jak również kształt filamentów znacząco różni się w zależności od warunków środowiska (PLESSNER i współaut. 2015, BELIN i współaut. 2015). W jądrach oocytów *Xenopus* filamenty aktynowe formują nukleoplazmatyczną sieć podtrzymującą architekturę jądra (KISELEVA i współaut. 2004, BOHNSACK i współaut. 2006). Z kolei w jądrach oocytów rozgwiazdy *Patiria miniata* aktyna występuje w większości w formie monomerycznej, a po uszkodzeniu błony jądrowej, polimeryzuje tworząc sieć, która oplata chromosomy i ułatwia ich kondensację (LÉNÁRT i współaut. 2005, MORI i współaut. 2011). Choć organizacja filamentów aktynowych w jądrze do pewnego stopnia przypomina tę w cytoplazmie (KOKAI i współaut. 2014), to regulacja polimeryzacji jest przypuszczalnie inna w jądrze i cytoplazmie. Wynikać to może z faktu, że czynniki niezbędne dla tworzenia sieci filamentów nie są stale obecne w jądrze, lecz przemieszczają się w sposób ciągły pomiędzy cytoplazmą a jądrem (KUMETA i współaut. 2012). Sugeruje to zatem różnorodność mechanizmów regulujących polimeryzację aktyny w jądrze.

Aktyna występuje w określonych przedziałach jądra komórkowego. W komórkach w stanie spoczynku lokalizuje się głównie w rejonie heterochromatyny jądrowej i w centrach fibrylarnych jąderek (ang. fibrillar center, FC), gdzie są obecne rybosomalne RNA, polimeraza RNA I (Pol 1) oraz czynniki transkrypcyjne (DINGOVA i współaut. 2009). Po stymulacji transkrypcji aktynę nadal obserwowano w centrach fibrylarnych jąderek, ale była także obecna [wraz z jądrową miozyną IC (NMI)] w tzw. gęstym obszarze fibrylarnym jąderka (ang. dense fibrillar component, DFC) oraz w składniku ziarnistym (ang. granular component, GC) (KYSELÁ i współaut. 2005)]. Warto wspomnieć, że na granicy pomiędzy FC i DFC odbywa się transkrypcja rDNA, w obszarze ziarnistym jąderka zaś synteza podjednostek rybosomów. Po stymulacji transkrypcji zaobserwowano ponadto translokację aktyny i NMI z obszaru heterochromatyny do aktywnej transkrypcyjnie euchromatyny (KYSELÁ i współaut. 2005, HOFMANN i współaut. 2006). Aktyna została również znaleziona w ziarnistościach interchromatynowych (SAHLAS i współaut. 1993, SAITOH i współaut. 2004). Częściowo współwystępuje też z ciałkami Cajala (kulistymi strukturami zawierającymi wszystkie trzy polimerazy RNA oraz czynniki odpowiedzialne za transkrypcję i dojrzewanie RNA) (GEDGE i współaut. 2005). Pochodzące sprzed czterech dekad badania na żabach (*Xenopus*) i salamandrach (*Pleurodeles watlii*) sugerują, że filamenty aktynowe asocjują z chromosomami szczoteczkowymi (KARSENTI i współaut. 1978, RUNGGER i współaut. 1979). Te duże chromosomy występują w oocytach m.in. ryb i płazów i charakteryzują

się obecnością licznych bocznych pętli DNA, co nadaje im wygląd szczoteczki. Cechuje je wysoka aktywność transkrypcyjna, dlatego już wówczas przypuszczano, że aktyna może uczestniczyć w transkrypcji. I faktycznie, kilka lat później wykazano, że po mikroiniekcji do jąder oocytów *Xenopus* przeciwciał przeciwko aktynie dochodzi do zahamowania zarówno transkrypcji, jak i do zaburzeń w kondensacji chromosomów (SCHEER i współaut. 1984).

Mimo intensywnych badań, organizacja i funkcje aktyny w jądrze komórek somatycznych są mniej poznane. Dotychczas uzyskane dane wskazują na zaangażowanie aktyny w procesie transkrypcji [mikroiniekcja przeciwciała przeciwko aktynie do jąder komórek raka szyjki macicy HeLa hamuje polimerazę RNA I (Pol 1) i II (Pol 2)]. Zaobserwowano ponadto, że po zablokowaniu importu jądrowego aktyny, dochodzi również do zahamowania transkrypcji (HOFMANN i współaut. 2004, PHILIMONENKO i współaut. 2004, DOPIE i współaut. 2012). Inkubacja komórek HEK293T, wyprowadzonych z nerki ludzkiego embrionu, lub ekstraktu jądrowego uzyskanego z tych komórek, z czynnikami zaburzającymi polimeryzację aktyny takimi jak: latrunkulina A i cytochalazyna B, prowadzi do zmniejszenia syntezy pre-rRNA. Efektu tego jednak nie obserwowano w przypadku nadekspresji zmutowanej aktyny, niezdolnej do polimeryzacji (YE i współaut. 2008).

Aktyna wraz z białkami Arp (ang. actin related proteins) wchodzi w skład szeregu kompleksów modyfikujących i remodelujących chromatynę, np.: INO80, SWR1, SNI/SNF i NuA4 (CAIRNS i współaut. 1998, ZHAO i współaut. 1998, SHEN i współaut. 2003, GALARNEAU i współaut. 2000). Te wieloskładnikowe, molekularne maszynerie inicjują dynamiczne zmiany w architekturze chromatyny, ekspresji genów i naprawy DNA. Jądrowe filamenty aktynowe mogą również ułatwiać transport aktywowanych genów, a identyfikacja w jądrze licznych miozyn czyni tą hipotezę bardzo prawdopodobną (KRISTÓ i współaut. 2016). Co więcej, HOFMANN i współaut. (2009) odkryła w jądrze pulę SUMO-ilowanej aktyny, co sugeruje, że SUMO-ilacja może powodować zatrzymywanie aktyny w jądrze, lecz rola tej modyfikacji potranslacyjnej w regulacji jądrowej funkcji aktyny pozostaje wciąż zagadkowa (WASIK i FILIPEK 2014).

Aktyna jest także niezbędna do tworzenia kompleksu transkrypcyjnego RNA, inicjacji transkrypcji i oddziałuje zarówno z nieufosforylowaną, jak i z hipo- (PS5) oraz hiperfosforylowaną (PS2) formą Pol 2 (HOFMANN i współaut. 2004, KUKALEV i współaut. 2005, OBRDLIK i współaut. 2008). Co więcej, ekspresja zmutowanej formy jądrowej miozyny NMI, niezdolnej do wiązania aktyny, skutkuje oddysocjowaniem Pol 2, aktyny i NMI z regionu promotora (ALMUZZAINI i współaut. 2015), co potwierdza udział aktyny (łącznie z miozyną) w aktywacji procesu transkrypcji. Oprócz bezpośredniego zaangażowania aktyny w transkrypcji, uczestniczy ona także w regulacji tego procesu. Bierze ona udział w regulacji białka MAL (ang. myocardin-related transcription factor A), będącego kofaktorem czynnika SRF (ang. serum response factor), aktywującego transkrypcję w odpowiedzi na stymulację komórek surowicą (VARTIAINEN i współaut. 2007, BAARLINK i współaut. 2013, ESNAULT i współaut. 2014). W komórkach, w których nie zachodzi transkrypcja (komórki niestymulowane surowicą), białko MAL krąży pomiędzy jądrem a cytoplazmą, a jego poziom w jądrze jest niski (eksport MAL do cytoplazmy odbywa się w kompleksie z aktyną). W odpowiedzi na stymulację, dochodzi do polimeryzacji aktyny w cytoplazmie i zwiększenia popytu na monomery aktyny. W jądrze obniża się ilość monomerycznej aktyny i dochodzi do zwiększenia poziomu MAL, a w konsekwencji, do aktywacji transkrypcji genów (VARTIAINEN 2008). Powyższy przykład wskazuje, jak zmiany w stopniu spolimeryzowania aktyny w jądrze i cytoplazmie wpływają na aktywację transkrypcji.

U eukariontów, po transkrypcji, pierwotne transkrypty asocjują z białkami, tworząc kompleks rybonukleoprotein (RNPs) i podlegają obróbce potranskrypcyjnej (dojrzewaniu), a następnie eksportowi z jądra. Sama aktyna nie jest zdolna do wiązania RNA, wiąże się natomiast z jądrowymi białkami hnRNPs (ang. heterogeneous nuclear ribonucleoproteins) (BRUNEL i LELAY 1979; MAUNDRELL i SCHERRER 1979; GOUNON i KARSENTI 1981; PERCIPALLE i współaut. 2001, 2002; OBRDLIK i współaut. 2008), co sugeruje jej rolę w dojrzewaniu RNA i jego transporcie. Aktyna uczestniczy również w eksporcie z jądra białek i RNA wirusowych poprzez wiązanie się z eukariotycznym czynnikiem inicjacji 5A (eiF-5A) (HOFMANN i współaut. 2001), a także w eksporcie (z udziałem z NMI) białka S6, małej podjednostki rybosomu SSU (ang. small ribosomal subunit) (CISTERNA i współaut. 2006). Należy jednak zaznaczyć, że aktyna współwystępuje w nukleoplazmie tylko z 10% SSUs, co sugeruje, że zależny od aktyny ruch i eksport małej podjednostki rybosomu stanowi tylko część mechanizmu eksportu rybosomów.

Kolejnym procesem bezpośrednio związanym z aktyną jądrową jest naprawa DNA. Uszkodzenia DNA indukowane różnymi typami czynników genotoksycznych prowadzą do formowania filamentów aktynowych w

jądrze, przy czym komórki z niższym poziomem aktyny jądrowej wykazują mniejszą zdolność do naprawy DNA. W procesie polimeryzacji aktyny w jądrze, podczas odpowiedzi komórek na uszkodzenia DNA, kluczową rolę odgrywają białka polimeryzujące aktynę, m.in. formina-2, Spire-1 i Spire-2 (BELIN i współaut. 2015).

BIAŁKA WIĄŻĄCE AKTYNĘ

W jądrze zidentyfikowano szereg białek wiążących aktynę (ang. actin-binding proteins, ABP), spośród których na uwagę zasługują: tytyna, emeryna, spektryny, tropomiozyna, białko 4.1, białka ERM, miozyny, laminy i małe białka wiążące GTP z rodziny Rho (CASTANO i współaut. 2010, WESTON i współaut. 2012). Główną funkcją ABPs jest regulacja dynamiki aktyny poprzez kontrolę jej ilości oraz utrzymywanie równowagi pomiędzy aktyną monomeryczną i spolimeryzowaną, a także udział w tworzeniu wyspecjalizowanych struktur takich, jak m.in. włókna naprężeniowe, filopodia, lamellipodium lub (cyto)szkielet podbłonowy (patrz RĘDOWICZ oraz KŁOPOCKA i KORCZYŃSKI w tym zeszycie KOSMOSU). Obecność tych białek w jądrze komórkowym wskazuje, że, podobnie jak w cytoplazmie, mogą one wraz z aktyną brać udział w tworzeniu elastycznej sieci odpowiedzialnej za utrzymanie kształtu i integralności jądra, zwanej, *per analogiam* do cytoszkieletu, nukleoszkieletem.

Największe z białek ABPs, tytyna (znana również jako konektyna) o masie cząsteczkowej ~3,8 MDa, lokalizuje się w jądrze w rejonie chromatyny i jest kluczowa dla kondensacji chromosomów i ich segregacji podczas mitozy (MACHADO i współaut. 1998, MACHADO i ANDREW 2000). Tytyna wiąże nie tylko aktynę (TROMBITAS i GRANZIER 1997, LINKE i współaut. 2002), ale również laminy typu A i B (ZASTROW i współaut. 2006) oraz oddziałuje z histonami H2A, H3 i H4 (KING i JHOU 2010). Koniec aminowy tytyny zawiera funkcjonalny motyw NLS i aktywuje szlak WNT-β-katenina (QI i współaut. 2008), podczas gdy charakterystyczny dla tego białka motyw PEVK, bogaty w reszty proliny, jest odpowiedzialny za wiązanie aktyny w drodze zależnej od jonów wapnia.

Kolejne białko wiążące aktynę, emeryna, która należy do rodziny białek związanych z laminami, lokalizuje się na wewnętrznej błonie jądrowej, gdzie oddziałuje z laminą, czynnikiem BAF (ang. barrier-to-autointegration factor), nespryną oraz z jądrową miozyną IC b (NMI) (CLEMENTS i współaut. 2000, LEE i współaut. 2001, MISLOW i współaut. 2002, HOLASKA i WILSON 2007). Przypuszcza się, że emeryna jest zaangażowana w organizację chromatyny i kotwiczenie chromosomów w otoczce jądrowej. Co ciekawe, emeryna przyłącza się do tego samego regionu aktyny, do którego przyłączają się również lamina i represor transkrypcji GCL (ang. germ cell-less) (LATTANZI i współaut. 2003, HOLASKA i współaut. 2004, HOLASKA i WILSON 2007). *In vitro* emeryna promuje polimeryzację aktyny, natomiast w jądrze stabilizuje rosnące filamenty poprzez opłaszczanie końca ostrego filamentu (HOLASKA i współaut. 2004, patrz RĘDOWICZ w tym zeszycie KOSMOSU). Ponadto, emeryna wraz z laminą A/C reguluje aktywność czynnika transkrypcyjnego SRF przez modulację polimeryzacji aktyny (HO i współaut. 2013).

W jądrze znaleziono również białko 4.1. W cytoplazmie białko to stabilizuje oddziaływania pomiędzy spektryną i aktyną w szkielecie podbłonowym, pełniąc kluczową rolę w utrzymaniu kształtu komórki (DIAKOWSKI i współaut. 2006). Białko 4.1 ma funkcjonalny motyw NLS i akumuluje się pod błoną jądrową, gdzie może, poza aktyną i spektryną, oddziaływać także z emeryną i laminą A (CORREAS i współaut. 1986, MEYER i współaut. 2011).

Wspomniana już spektryna bierze udział w sieciowaniu filamentów aktynowych dekorowanych tropomiozyną (patrz MORACZEWSKA w tym zeszycie KOSMOSU) i białkiem 4.1, przyczyniając się do tworzenia w cytoplazmie elastycznej sieci, która jest niezbędna dla zachowania integralności błony komórkowej z wnętrzem komórki i zachowania kształtu komórki (SALOMAO i współaut. 2008). W jądrze znaleziono trzy typy spektryn: izoformy α i β (które tworzą heterodimery α/β) oraz izoformę αII (TSE i współaut. 2001, TANG i współaut. 2003, YOUNG i KOTHARY 2005). Spektryna αII odgrywa rolę w utrzymaniu i stabilności struktury telomerów oraz uczestniczy w procesach naprawy DNA poprzez sieciowanie łańcuchów w dwuniciowym DNA (ang. interstrand cross-linking). Poziom tego białka jest obniżony u pacjentów z anemią sierpowatą, cechującą się zmienioną morfologią erytrocytów (MCMAHON i współaut. 2009, ZHANG i współaut.2015).

Kolejną grupą białek oddziałujących w jądrze z aktyną jest ewolucyjnie zachowana rodzina białek ERM (od anglojęzycznych nazw białek ezrin/radixin/moesin). Białka te są istotnym regulatorem dynamiki aktyny w komórce, gdzie biorą udział w sieciowaniu białek błonowych z podbłonową (kortykalną) siecią aktynową. Niewiele natomiast wiadomo o ich funkcji w jądrze (KRISTÓ i współaut. 2016).

Z kolei małe białka wiążące GTP z rodziny Rho (zwane również małymi GTPazami, acz same nie są zdolne do hydrolizy GTP), o masie cząsteczkowej ~25 kDa, regulują

aktywność wielu białek wiążących aktynę, również tych występujących w jądrze. Do białek regulowanych przez małe białka z rodziny Rho należą m.in.: kofilina, profilina, forminy, filamina A, WASP, N-WASP, WAVE, α-aktynina i tymozyna β4. W jądrze kofilina bierze udział w elongacji transkrypcji - bezpośrednio oraz w kompleksie z G-aktyną (OBRDLIK i PERCIPALLE 2011, DOPIE i współaut. 2012). Profilina, również oddziałująca z monomeryczną aktyną, jest włączona w regulację ekspresji genów, transkrypcję oraz alternatywne składanie (splicing) mRNA (SKARE i współaut. 2003, LEDERER i współaut. 2005, SODERBERG i współaut. 2012). Z kolei forminy odgrywają rolę w polimeryzacji aktyny, transkrypcji zależnej od Pol 1 i naprawie uszkodzeń DNA (MENARD i współaut. 2006, BAARLINK i współaut. 2013, BELIN i współaut. 2015). Dimer filaminy A sieciuje filamenty aktynowe i wspólnie z aktyną wiąże się z aktywnym kompleksem Pol 1 i bierze udział w procesie naprawy uszkodzeń w podwójnej nici DNA (DENG i współaut. 2012, YUE i współaut. 2009).

Laminy to białka należące do heterogennej grupy białek tworzących filamenty pośrednie. Biorą one udział w tworzeniu otoczki jądrowej, która jest najlepiej poznaną strukturą jądra (GRUENBAUM i współaut. 2005, GERACE i HUBER 2012). Oprócz stanowienia mechanicznej podpory, laminy uczestniczą w stabilizacji kompleksu poru jądrowego i organizacji chromatyny, a także regulują replikację DNA, transkrypcję i podział komórkowy (DECHAT i współaut. 2010, HO i LAMMERDING 2012, BURKE i STEWART 2013). Stwierdzono również, że *in vitro* laminy typu A i B bezpośrednio wiążą się z filamentami aktynowymi oraz stymulują tworzenie się wiązek aktynowych (SIMON i współaut. 2010, patrz RĘDOWICZ w tym zeszycie KOSMOSU).

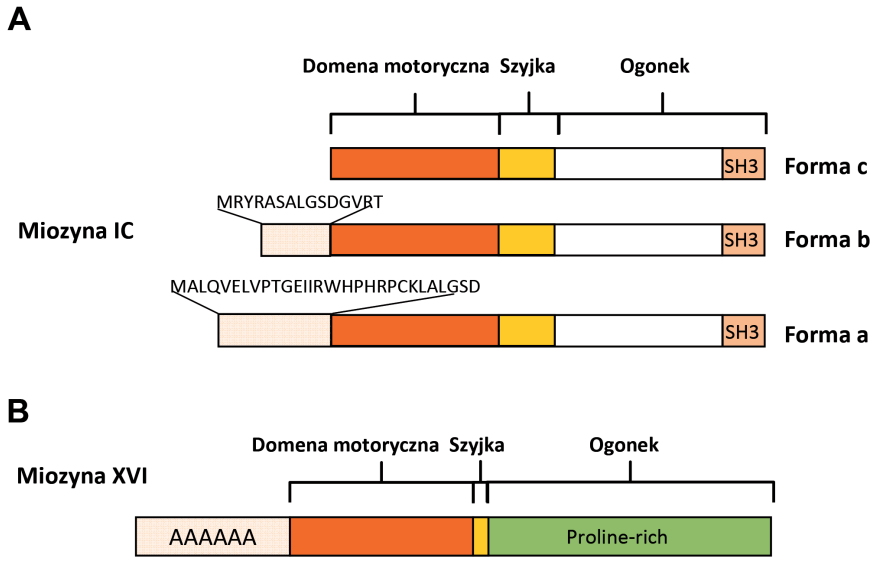
Jak już wspomniano w jądrze są również obecne miozyny, oddziałujące z aktyną motory molekularne. Tej grupie białek poświęcona jest dalsza część artykułu.

MIOZYNY W JĄDRZE KOMÓRKOWYM

Jak już wspomniano powyżej, dotychczas w jądrze wykryto dziewięć izoform miozyny, w tym jedną konwencjonalną. Poniżej omówimy funkcje tych miozyn w jądrze komórkowym. Więcej informacji o miozynach, przydatnych przy lekturze niniejszego artykułu, znajduje się w artykule SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU.

MIOZYNA I

Obecnie znanych jest ponad 30 izoform miozyny I (KORN 2000), 8 z nich (A-H), kodowanych przez odrębne geny występuje u ludzi (GILLESPIE i współaut. 2001), z czego w jądrze komórkowym są dwie formy, a i b, miozyny IC. Miozyna IC jest odpowiednikiem pierwszej miozyny niekonwencjonalnej, odkrytej w *Acanthamoeba castellanii* (POLLARD i KORN 1973). Została ona wówczas oznaczona przez autorów numerem I, ponieważ, w odróżnieniu od dobrze znanych już wówczas miozyn mięśniowych, zbudowana jest z tylko jednego łańcucha ciężkiego, i nie jest zdolna do tworzenia bipolarnych filamentów (występuje w formie monomerycznej) (COLLUCIO



Ryc. 1. Schemat budowy miozyny IC i XVI.

A, budowa form miozyny IC. B, budowa miozyny XVI. Wyjaśnienie skrótów nazw poszczególnych domen w tekście.

2008). Tu należy podkreślić, że monomer w przypadku miozyn oznacza jeden łańcuch ciężki ze związanymi doń łańcuchami lekkimi (patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU).

Łańcuch ciężki miozyn z rodziny I ma masę cząsteczkową 110-150 kDa i ma budowę typową dla wszystkich miozyn (patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Na podstawie różnic w sekwencji aminokwasowej domeny motorycznej, liczby motywów IQ, długości i organizacji ogonka, miozyny należące do rodziny I dzieli się na cztery subklasy (HASSON i MOOSEKER 1996). W szyjce miozyny IC, która następuje po znajdującej się na końcu aminowym domenie motorycznej, znajdują się trzy motywy IQ [nazwa motywu pochodzi od obecnych w nim reszt izoleucyny (I) i glutaminy (Q)] wiążące łańcuchy lekkie (najczęściej kalmodulinę) (Ryc. 1). W ogonku, stanowiącym część karboksylową łańcucha ciężkiego, wyróżniamy domenę TH2 (ang. tail homology domain), zwaną także domeną GPA, bogatą w reszty glicyny, proliny lub glicyny/alaniny oraz glicyny/glutaminy, która stanowi drugie, niezależne od ATP, miejsce wiązania aktyny. Znajduje się tu również złożona z 55 reszt aminokwasowych domena SH3 (ang. Src homology domain), homologiczna do kinazy tyrozynowej Src, która uczestniczy w oddziaływaniu miozyny z innymi białkami (SELLERS 1999). W ogonku miozyny IC zidentyfikowano złożony ze 120 reszt aminokwasowych odcinek o sekwencji homologicznej do domeny plekstrynowej PH (ang. pleckstrin homology domain), która może oddziaływać z domeną SH3 innych białek (HWANG i współaut. 2007). Regulacja aktywności miozyny IC odbywa się poprzez fosforylację przez kinazę PAK (ang. p21-activated kinase) reszty seryny 310, zlokalizowanej w domenie motorycznej lub poprzez wiązanie jonów wapnia przez stanowiące łańcuchy lekkie cząsteczki kalmoduliny (SELLERS 1999; RĘDOWICZ 2001; BARYŁKO i współaut. 2000, 2005; COLUCCIO 2008).

U ludzi miozyna IC jest kodowana przez gen *MYO1C* znajdujący się na chromosomie 17, natomiast trzy występujące formy miozyny IC: a, b i c (Ryc. 1A), powstają w wyniku alternatywnego składania eksonów (IHNATOVYCH i współaut. 2012). Miejsce startu translacji najkrótszej formy c zlokalizowane jest w eksonie 1, miejsce startu translacji dla formy b występuje w eksonie -1 (PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000), zaś miejsce startu translacji dla trzeciej, najdłuższej, formy a znajduje się w eksonie -2 (IHNATOVYCH i współaut. 2012). Forma c została opisana najwcześniej i w odróżnieniu od obecnych głównie w jądrze form a i b, jest klasyczną, cytoplazmatyczną miozyną IC, która początkowo była zwana miozyną Iα (WAGNER i współaut. 1992). Formę tę znaleziono w bogatych w filamenty aktynowe strukturach kortykalnych, tj. filopodiach, lamellipodiach, tratwach lipidowych i w krawędzi wiodącej migrujących komórek (SELLERS 1999). Bierze ona udział w transporcie pęcherzyków błonowych i organelli, migracji komórek oraz organizacji i dynamice cytoszkieletu aktynowego i struktur podbłonowych (BARYŁKO i współaut. 2005). W warunkach prawidłowych forma c nie występuje w jądrze, natomiast wykazano jej obecność w jądrach modyfikowanych komórek, np. w takich, w których doszło do nadprodukcji tej formy bądź do obniżenia syntezy (wyciszenia) jądrowej formy b (IHNATOVYCH i współaut. 2012).

Forma b miozyny IC, znana także jako jądrowa miozyna I (ang. nuclear myosin I, NMI), posiada na końcu aminowym łańcucha ciężkiego 16 dodatkowych, dodatnio naładowanych reszt aminokwasowych, które determinują jej występowanie w jądrze komórkowym (NOWAK i współaut. 1997, PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000) (Ryc. 1). Sekwencja tego odcinka nie przypomina jednak klasycznego motywu NLS. Natomiast zbliżony do klasycznego motywu NLS sygnał lokalizacji jądrowej, zależny od kalmoduliny, znaleziono w drugiej z trzech domen IQ obecnych w szyjce NMI (DZIJAK i współaut. 2012).

Ostatnią wykrytą formą miozyny IC jest forma a, która na końcu aminowym posiada dodatkową (w stosunku do izoformy c) złożoną z 36 reszt sekwencję, determinującą jej obecność w jądrze komórkowym (IHNATOVYCH i współaut. 2012). Nie tylko długość tego odcinka, ale i jego skład aminokwasowy różnią się od tego obecnego w jądrowej izoformie b.

Sekwencje kodujące NMI są zachowane w toku ewolucji; identyczne wstawki znaleziono w miozynach IC u ssaków (człowieka, psa, krowy, myszy i szczura), a sekwencje wykazujące od 35% do 60% identyczności znaleziono u innych kręgowców, np. żaby *Xenopus tropicalis*, kury i ryb. NMI wykryto we wszystkich badanych typach tkanek u myszy (z wyjątkiem komórek w końcowych stadiach spermiogenezy), przy czym najwyższy jej poziom występował w płucach (KAHLE i współaut. 2007). Odpowiednik NMI został również znaleziony u roślin (CRUZ DE LA i współaut. 2008).

Forma a współwystępuje w nukleoplazmie z Pol 2, a pod wpływem inhibitora transkrypcji zależnej od Pol 2, ulega przemieszczeniu do ziarnistości interchromatynowych, gdzie kolokalizuje z rybonukleprote-

iną RNP-U1 (odmiennie niż NMI, czyli forma b) (IHNATOVYCH i współaut. 2012). Warto tu wspomnieć, że ziarnistości interchromatynowe są miejscem przechowywania i modyfikacji dużej liczby białek zaangażowanych w alternatywne składanie (splicing) pre-mRNA i eksport jądrowy. Czynniki transkrypcyjne uczestniczące w inicjacji oraz elongacji transkrypcji nie lokalizują się jednak w ziarnistościach interchromatynowych (LAMOND i SPECTOR 2003, SAITOH i współaut. 2004).

Forma b (czyli NMI) jest niezbędna w transkrypcji zależnej od Pol 2 (PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000, PHILIMONENKO i współaut. 2004) na etapie inicjacji transkrypcji, natomiast po zablokowaniu tego procesu nie ulega przemieszczeniu do ziarnistości interchromatynowych (HOFMANN i współaut. 2006b). Wspomniana powyżej translokacja formy a do tych struktur sugeruje zatem na jej zaangażowanie w późniejszych etapach transkrypcji związanych z dojrzewaniem transkryptów i/lub ich eksportem z jądra. Powyższe obserwacje skłaniają do wysnucia hipotezy, że formy a i b miozyny IC spełniają inne, wyspecjalizowane funkcje w procesie transkrypcji zależnej od Pol 2.

NMI była pierwszą miozyną wykrytą w jądrze komórkowym, stąd też najwięcej wiadomo o roli, jaką tam pełni (NOWAK i współaut. 1997). Znaleziono ją w nukleoplazmie oraz w jąderku, głównie w gęstym składniku fibrylarnym (DFC), gdzie odbywa się transkrypcja rDNA. Aktywacja transkrypcji w ludzkich limfocytach za pomocą fitohemaglutyniny (PHA) prowadzi do trzykrotnego wzrostu poziomu NMI w jąderku (KYSELÁ i współaut. 2005). Badania z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej i techniki znakowania cząstkami złota skoniugowanego z przeciwciałami wykazały również, że w odpowiedzi na aktywację transkrypcji dochodzi do zmiany lokalizacji NMI (wraz z aktyną) z obszaru aktyny skondensowanej do zdekondensowanej (KYSELÁ i współaut. 2005).

Jak wcześniej wspomniano, NMI uczestniczy przede wszystkim w transkrypcji zależnej od Pol 2. NMI współwystępuje i koimmunoprecypituje z Pol 2, a traktowanie komórek inhibitorami transkrypcji, α-amanityną lub aktynomycyną D, znosi współwystępowanie obu białek, co było pierwszym dowodem na udział NMI w transkrypcji zależnej od Pol 2 (PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000). W badaniach *in vitro* zahamowanie funkcji NMI za pomocą specyficznego przeciwciała spowodowało zahamowanie transkrypcji zależnej od Pol 2, dodanie zaś oczyszczonej miozyny zwiększało poziom transkrypcji (PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000). Podobnie, mikroiniekcja przeciwciała przeciwko NMI do komórek, spowodowała zmniejszenie ilości nowopowstałych transkryptów (PESTIC-DRAGOVICH i współaut. 2000).

NMI pełni również kluczową rolę w transkrypcji zależnej od Po1 1, w przeciwieństwie do formy a, która współdziała jedynie z Pol 2 (FOMPROIX i PERCIPALLE 2004, IHNATOVYCH i współaut. 2012). NMI współwystępuje z miejscami aktywnej transkrypcji związanej z Pol 1, a zablokowanie NMI po wstrzyknięciu do jąderka specyficznego przeciwciała, podobnie jak spowodowanie lub obniżenie syntezy NMI techniką siRNA, prowadzi do zahamowania transkrypcji rDNA (PHILIMONENKO i współaut. 2004). Z kolei nadekspresja NMI prowadzi do wzrostu poziomu syntezy pre-RNA. NMI oddziałuje z kompleksem Pol 1 pośrednio, poprzez czynnik inicjujący transkrypcję TIF1A (PHILIMONENKO i współaut. 2004). Oddziaływanie NMI z TIF1A jest konieczne, aby Pol 1 mogła związać się z promotorem rDNA. Wykazano, że Pol 1 koimmunoprecypituje z TIF1A tylko w warunkach aktywnej transkrypcji; zaobserwowano bowiem, że po inkubacji komórek z inhibitorem transkrypcji, aktynomycyną D w stężeniu 50 ng/ml (które blokuje jedynie aktywność Pol 1, nie wpływając na aktywność Pol 2), zmniejsza się ilość powstającego kompleksu (PHILIMONENKO i współaut. 2004). Oddziaływanie TIF1A z NMI nie jest zależne od tego, czy w komórkach aktualnie zachodzi proces transkrypcji, jednak dla utworzenia tego kompleksu wymagana jest fosforylacja reszty seryny 649 w TIF1A przez kinazę RSK (ang. ribosomal S6 kinase). Przyjmuje się, że NMI oddziałując z TIF1A, bierze udział w inicjacji transkrypcji. Związanie polimerazy z kompleksem inicjującym transkrypcję, NMI-TIF1A, jest możliwe dzięki oddziaływaniu NMI z aktyną, która wiąże się bezpośrednio z Pol 1 (GRUMMT 2006). Wykazano następnie, że NMI może pełnić również ważną rolę w etapie późniejszym niż inicjacja (PERCIPALLE i współaut. 2006). Stwierdzono, że NMI jest również składnikiem kompleksu modyfikującego chromatynę B-WICH, w skład którego wchodzą czynnik WSTF (ang. William syndrom transcription factor) i ATPaza SNF2h (ang. switch nuclear ATPase smarca5). NMI bierze także udział w przebudowie chromatyny. Wykazano, że kompleks remodelujący chromatynę oddziałuje z Pol 1 w jąderku oraz rejonem promotorowym kodującym rDNA. W warunkach *in vitro* przeciwciała przeciwko WSTF zmniejszają poziom transkrypcji rDNA na chromatynie, lecz nie na matrycy samego DNA. Także obniżenie syntezy WSTF przy udziale RNAi zmniejsza poziom transkrypcji rDNA *in vivo* (PERCIPALLE 2007).

NMI może być również zaangażowana w transport fragmentów chromosomów wewnątrz jądra (CHUANG i współaut. 2006, HU i współaut. 2008). CHUANG i współaut. (2006) wykazali, że w komórkach jajnika chomika chińskiego (CHO DG44) transkrypcyjnie nieaktywna chromatyna, która jest zlokalizowana głównie w peryferyjnych obszarach jądra, przemieszcza się po aktywacji transkrypcji do centrum jądra. Ruch ten zależy od oddziaływania NMI i aktyny, jest bowiem zahamowany przez zmutowaną formę NMI, która nie jest zdolna do translokacji wzdłuż filamentów aktynowych. Z kolei HU i współaut. (2008) wykazali, że w odpowiedzi na aktywację jądrowego receptora estrogenowego (ERα) dochodzi do translokacji regionów regulatorowych obecnych na dwóch różnych chromosomach i oddziaływania tych obszarów w obrębie ziarnistości interchromatynowych, w których obecne są kluczowe czynniki zaangażowane w elongacji transkrypcji oraz w splicingu pre-mRNA. Prowadzi to do wzrostu ekspresji genów regulowanych przez receptor estrogenowy. Oddziaływanie pomiędzy chromosomami zanika po mikroiniekcji do jąder przeciwciała przeciwko NMI oraz po wyciszeniu ekspresji genu *MYO1C* oraz aktyny, co wykazano w badaniach z użyciem komórek raka piersi (MCF7). Można więc przypuszczać, że NMI pełni kluczową rolę w przebudowie niektórych rejonów jądra, co stanowi nowy mechanizm regulacji transkrypcji określonych genów docelowych receptorów jądrowych (HU i współaut. 2008).

Zaobserwowano także, że NMI współwystępuje z białkiem S6, będącym składnikiem małej podjednostki rybosomu w obszarze ziarnistym jąderka GC, który to obszar zlokalizowany jest na peryferium jąderka (CISTERNA i współaut. 2006). Podczas aktywnego ruchu małej podjednostki rybosomu z jąderka do nukleoplazmy, NMI współwystępuje w porach jądrowych z zasocjowanym z RNA białkiem rybosomalnym S6. Co więcej, zablokowanie NMI lub aktyny prowadziło do akumulacji białka S6 w rejonie jąderka. Powyższe obserwacje wskazują zatem na zaangażowanie NMI w transporcie wewnątrz jądra i w eksporcie jądrowym (CISTERNA i współaut. 2006).

MIOZYNA II

Miozyny konwencjonalne (należące do rodziny II; patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU) pełnią istotną rolę w procesach związanych z translokacją jądra komórkowego podczas migracji komórek, np. podczas przeciskania się komórek nowotworowych przez ściany naczyń krwionośnych (THOMAS i współaut. 2015). Pierwsze doniesienia o bezpośrednim udziale miozyny konwencjonalnej w procesach zachodzących w jądrze komórkowym pochodzą sprzed ośmiu lat (LI i SARNA 2009). Pokazały one nie tylko obecność tej miozyny w jądrze komórkowym, ale i jej udział w transkrypcji genu kodującego cząstkę adhezyjną ICAM-1 (ang. intercellular adhesion molecule 1), należącą do nadrodziny immunoglobulin. Stosując jako model badawczy hodowlę komórek uzyskanych z mięśni gładkich okrężnicy oraz skrawki z tej części jelita grubego wykazano, że miozyna II przyłącza się do minimalnego promotora (ang. core promoter) genu *ICAM-1*. Badania te wydają się potwierdzać wcześniejsze obserwacje, że wzrost transkrypcji genu *ICAM-1* jest związany z dysfunkcją mięśni gładkich w zapaleniu okrężnicy (PAZDRAK i współaut. 2004). LI i SARNA (2009) stwierdzili, że w jądrze defosforylacja regulatorowych łańcuchów lekkich miozyny mięśni gładkich (ang. regulatory myosin ligh chain, RLC) i w efekcie inaktywacja miozyny, zwiększa poziom transkrypcji *ICAM-1*, podczas gdy fosforylacja (a więc aktywacja miozyny) powoduje zmniejszenie poziomu transkrypcji tego genu. Autorzy postulują, że wzrost defosforylacji RLC w zapaleniu okrężnicy (spowodowany inaktywacją znajdującej się również w jądrze kinazy lekkich łańcuchów miozyny) może prowadzić do wzrostu ekspresji *ICAM-1* w błonie mięśniowej okrężnicy. Ci sami autorzy sugerują, że miozyna II może pełnić rolę czynnika transkrypcyjnego. Badania ZHANGA i współaut. (2015) zdają się potwierdzać te przypuszczenia. Wykazali oni bowiem związek fosforylacji RLC z aktywacją transkrypcji genu oksydazy ksantynowej w kardiomiocytach.

MIOZYNA V

Miozyny należące do rodziny V to typowe transportery, przenoszące na długich dystansach ładunek (cargo) w kierunku końca plus filamentów aktynowych. Więcej informacji o budowie i funkcjach izoform miozyny V znajduje się w artykule SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU. Spośród trzech izoform miozyny V (VA, VB i VC) występujących u ssaków (patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU) w jądrze komórkowym wykryto izoformy VA i VB (u ludzi produkty genów *MYO5A* i *MYO5B*), przy czym są one obecne jedynie w jądrach komórek aktywnych transkrypcyjnie (PRANCHEIVICIUS i współaut. 2008).

W przypadku miozyny VA, obecność tego motoru molekularnego w niektórych przedziałach jądra komórkowego zależy od fosforylacji znajdującej się w ogonku reszty seryny (Ser-1650) przez kinazę typu II zależną od jonów Ca^{2+} i kalmoduliny (ang. CAM-kinase II). Obecność ufosforylowanej formy

miozyny VA stwierdzono w ziarnistościach interchromatynowych, gdzie współwystępuje z białkiem SC35, czynnikiem splicingowym uczestniczącym w dojrzewaniu pre-mRNA. Nie znaleziono jej natomiast w rejonie chromatyny skondensowanej, ciałkach Cajala, jąderku i w obszarze okołojąderkowym (ang. perinucleolar cap). Co ciekawe, zahamowanie transkrypcji rDNA przez aktynomycynę D indukuje przemieszczenie ufosforylowanej miozyny VA z ziarnistości interchromatynowych (niezależnie od białka SC35) do jąderka i rejonów sąsiadujących z ziarnistościami interchromatynowymi (PRANCHEIVICIUS i współaut. 2008). Miozyna VA może być również zaangażowana w infekcję adenowirusami, które powodują jej redystrybucję (a także aktyny) do centrów replikacji wirusowego DNA (FUCHOSVA i współaut. 2015).

Z kolei miozyna VB znajduje się w jąderku, gdzie współwystępuje z Pol 1 i z nowo syntetyzowanymi rRNA (LINDSAY i MCCAFFREY 2009). Za kierowanie miozyny VB do jąderka odpowiada zlokalizowany w rejonie szyjki motyw 796-911, bogaty w reszty argininy. Region ten wykazuje znaczącą homologię do domeny wiążącej RNA, która jest kluczowa dla jąderkowej lokalizacji ludzkiego białka Nop25 (FUJIWARA i współaut. 2006). Motyw ten jest również obecny w wielu białkach wirusowych i ssaczych, które bezpośrednio oddziałują z RNA (GUSTAFSON i współaut. 1998, HIRIART i współaut. 2003, MIRON i współaut. 2004). Po traktowaniu komórek inhibitorem transkrypcji rDNA (aktynomycyną D w stężeniu hamującym jedynie aktywność Pol 1) zaobserwowano przemieszczanie się miozyny VB z jąderka na jego peryferia oraz jej współwystępowanie z markerami gęstego składnika ziarnistego jąderka DFC, tzn. białkiem UBF i Pol 1 (LINDSAY i MCCAFFREY 2009). Wskazuje to zatem, że miozyna VB jest również składnikiem tego obszaru i sugeruje jej udział w transkrypcji rDNA. Sugestię tę potwierdzają badania pokazujące, że zahamowanie przez α-amanitynę aktywności Pol 2 nie indukuje zmiany w jąderkowej lokalizacji miozyny VB. Ponadto, inkubacja komórek HeLa z RNAzą nie powoduje zaniku jąderkowej lokalizacji miozyny VB co sugeruje, iż miozyna VB nie jest fizycznie zasocjowana z rRNA, mimo obecności wspomnianego wyżej motywu determinującego wiązanie RNA. Metodą koimmunoprecypitacji wykazano natomiast bezpośrednie oddziaływanie miozyny VB z kompleksem Pol 1 i aktyny, co potwierdza sugestię o udziale tej izoformy miozyny w transkrypcji zależnej od Pol 1 (LINDSAY i MCCAFFREY 2009).

Kwestią otwartą pozostaje wciąż, co obie miozyny V, znane jako typowe motory transportujące, przenoszą podczas ich przemieszczania się do określonych rejonów jądra komórkowego, brak bowiem opublikowanych wyników badań poruszających ten ciekawy problem.

MIOZYNA VI

Miozyna VI jest jedną z najbardziej intrygujących miozyn niekonwencjonalnych, gdyż w odróżnieniu od pozostałych miozyn porusza się w kierunku końca minus filamentu aktynowego (więcej informacji o budowie i funkcjach miozyny VI znajduje się w artykule SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU).

O tym, że miozyna VI jest obecna i działa w jądrze komórkowym wiadomo od 2006 r., kiedy to VREUGDE i współaut. wykazali, że w transkrypcyjnie aktywnych komórkach HeLa białko to współwystępuje z kompleksem Pol 2 oraz z nowopowstałymi transkryptami mRNA. Jak wykazały badania na komórkach HeLa, spośród czterech występujących w komórkach ssaków izoform miozyny VI, możliwych dzięki obecności (lub braku) jednej lub dwóch wstawek (długiej i krótkiej), do jądra komórkowego rekrutowana jest przede wszystkim izoforma bez obu wstawek (FILI i współaut. 2017)

Miozyna VI jest rekrutowana do rejonów promotorowych i intragenowych aktywnych genów kodujących urokinazę, czynnik inicjacji transkrypcji 6 (p27/eIF6) oraz receptor dla lipoprotein o niskiej gęstości (ang. low-density lipoprotein receptor, LDLR). Nie stwierdzono natomiast wiązania miozyny VI z niekodującymi rejonami intergenowymi. Co więcej, zablokowanie aktywności miozyny VI przez swoiste przeciwciała skutkowało obniżeniem ekspresji określonych genów, np. *LDLR*. Autorzy postawili hipotezę, że białko to może uczestniczyć w procesach związanych z ekspresją genów. Zapewne przyczyniła się do tego również wcześniejsza obserwacja YOSHIDY i współaut. (2004) o wysokim poziomie miozyny VI w bardzo inwazyjnym nowotworze jajnika i znaczącym zahamowaniu jego inwazyjności po obniżeniu poziomu syntezy tego białka motorycznego.

Zmiana lokalizacji miozyny VI z cytoplazmatycznej na jądrową i okołojądrową następuje na skutek uszkodzeń DNA, które aktywują systemy naprawcze zależne od czynnika transkrypcyjnego p53 (JUNG i współaut. 2006). Wykazano, że w komórkach prostaty PC3 czynnik p53 wiąże się z promotorem genu miozyny VI, co prowadzi do aktywacji syntezy tej miozyny. Zaobserwowano też, że brak miozyny VI obniża aktywność białka p53, co wpływa na zwiększoną odpowiedź komórek na uszkodzenia DNA. Autorzy sugerują więc, że miozyna VI pełni rolę me-

diatora w zależnym od p53 szlaku prożyciowym, aktywowanym w odpowiedzi komórek na uszkodzenia DNA (JUNG i współaut. 2006).

Badania z ubiegłego roku pozwoliły na stwierdzenie, że w komórkach HeLa oddziaływanie pomiędzy miozyną VI i Pol 2 jest zależne od związania DNA przez ten kompleks (FILI i współaut. 2017). Interakcja ta jest regulowana przez białko NDP52 (ang. nuclear dot protein 52 kDa), będące ko-aktywatorem transkrypcji, a także jednym z postulowanych partnerów miozyny VI (patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Białko to po raz pierwszy opisano wprawdzie w jądrze, ale dotychczas dużo więcej wiemy o jego oddziaływaniu z miozyną VI w procesie autofagii (MORRISWOOD i współaut. 2007). NDP52, przyłączając się do domeny miozyny odpowiedzialnej za wiązanie ładunku (domena cargo; ang. cargo binding domain, CBD), powoduje zmianę konformacji z zamkniętej (nieaktywnej) w otwartą, aktywną, co nie tylko stymuluje dimeryzację łańcuchów ciężkich miozyny VI, ale i umożliwia wiązanie DNA przez miozynę. W wiązaniu DNA uczestniczy również domena cargo, a w szczególności pozytywnie naładowane sekwencje znajdujące się w obrębie dwóch sąsiadujących ze sobą przestrzennie i zachowanych w toku ewolucji pętli w pobliżu motywu WWY, który uczestniczy w wiązaniu miozyny VI z jej partnerami za pomocą oddziaływań hydrofobowych (FILI i współaut. 2017, patrz SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Zidentyfikowano również na końcu karboksylowym miozyny VI bogaty w reszty leucyny motyw LXXLL, oddziałujący z receptorem jądrowym, który bierze udział w wiązaniu estrogenu. Stwierdzono także, iż obniżeniu poziomu miozyny VI lub NDP52 towarzyszy obniżenie poziomu mRNA genów docelowych dla tego receptora (FILI i współaut. 2017). Co ciekawe, miozyna VI może wpływać również na ekspresję genów zależnych od androgenów (LOIKKANEN i współaut. 2009). Powyższe badania sugerują zatem, że miozyna VI może funkcjonować jako motor wspomagający transkrypcję, przyłączając się do kompleksu Pol 2 za pośrednictwem NDP52 (lub innych białek jądrowych). Nie wykluczone też, że wiązanie z Pol 2 może również zachodzić poprzez oddziaływanie z aktyną, która, jak już wcześniej wspomniano, jest składnikiem kompleksu Pol 2.

W łańcuchu ciężkim miozyny VI wykryto siedem potencjalnych sekwencji NLS, w tym jedną dwuczłonową. Pięć z nich znajduje się w ogonku, w tym dwie w domenie cargo (VREUGDE i współaut. 2006, MAJEWSKI i współaut. 2018). Na podstawie badań strukturalnych przeprowadzonych przez WOLLSCHEID i współaut. (2016) przypuszcza się, że długa wstawka (złożona z 31 reszt aminokwasowych), poprzedzająca domenę cargo, może blokować dwuczłonową sekwencję NLS, najprawdopodobniej tę znajdującą się w części aminowej domeny cargo; stąd w jądrze obecność izoformy bez długiej wstawki. Natomiast w ogonku, w rejonie warunkującym dimeryzację łańcuchów ciężkich, znaleziono jedną potencjalną sekwencję NES (MAJEWSKI i współaut. 2018). Wydaje się, że sekwencje warunkujące import miozyny do jądra i jej eksport z jądra są funkcjonalne. Wykazaliśmy bowiem, że inkubacja komórek neurosekrecyjnych PC12 z inhibitorami importu (iwermektyną) i eksportu jądrowego (leptomycyną B) blokuje, odpowiednio, translokację miozyny VI do jądra i jej eksport z jądra (MAJEWSKI i współaut. 2018).

Nasze badania nad rolą miozyny VI w jądrze komórkowym prowadzone były na komórkach neurosekrecyjnych, zarówno z hodowli pierwotnej komórek chromochłonnych rdzenia nadnerczy wołu oraz w komercyjnie dostępnych komórkach PC12, wyprowadzonych z guza chromochłonnego rdzenia nadnerczy (łac. *pheochromocytoma*) szczura (MAJEWSKI i współaut. 2010, 2018). Wykazaliśmy w nich, że ilość miozyny VI w jądrze znacząco wzrasta po stymulacji komórek i towarzyszy temu wzrost jej ko-lokalizacji z aktywną formą Pol 2, białkiem SC35, czynnikiem transkrypcyjnym SP1 (ang. specificity protein 1), aktywną formą histonu H3 oraz białkiem hnRNPU (ang. hetereogenous nuclear ribonucleoprotein U). Po stymulacji komórek dochodzi również do wzrostu aktywności transkrypcyjnej mierzonej w teście inkorporacji BrUTP oraz współwystępowania miozyny VI z nowopowstałymi transkryptami. W komórkach niestymulowanych miozyna występuje przede wszystkim na obrzeżach heterochromatyny, a po stymulacji jest widoczna także w rejonie ziarnistości interchromatynowych. Natomiast zarówno w komórkach stymulowanych, jak i niestymulowanych miozyna VI jest obecna w pobliżu poru jądrowego, zarówno po stronie nukleoplazmy, jak i cytoplazmy. Wskazuje to na możliwość przemieszczania się tego białka pomiędzy jądrem i cytoplazmą w zależności od potrzeb komórki z wykorzystaniem mechanizmów importu i eksportu jądrowego. Zidentyfikowaliśmy także szereg nowych, potencjalnych jądrowych partnerów miozyny, którzy mogą determinować jej funkcjonowanie w jądrze komórkowym. Wśród nich znalazły się m.in. wymieniona już heterorybonukleoproteina hnRNPU, białka z rodziny helikaz DEAD-box, białka rybosomalne (S6) i jąderkowe (nukleolina). Część z tych nowoodkrytych oddziaływań (m.in. z hn RNPU)

udało się nam potwierdzić, m.in. za pomocą ko-immunoprecypitacji oraz ligacji zbliżeniowej *in situ* PLA (ang. proximity ligation assay) (MAJEWSKI i współaut. 2018). Wykazaliśmy także, że obniżeniu poziomu miozyny VI towarzyszyło znaczne obniżenie tempa proliferacji badanych komórek (MAJEWSKI i współaut. 2011).

Nasze badania wstępne wskazują również na możliwy udział miozyny VI w procesie biogenezy rybosomów, związanym z aktywnością Pol 1 (NOWAK i współaut. 2017). Miozyna VI występuje bowiem również w jąderku, głównie w gęstym obszarze fibrylarnym DFC, w którym zachodzi dojrzewanie pre-rRNA. Jest ona także obecna w otaczającym go obszarze ziarnistym GC, w którym ma miejsce tworzenie podjednostek rybosomów. Zaobserwowano współwystępowanie miozyny VI z Pol 1 (która jest markerem centrum fibrylarnego jąderka FC), fibrylaryną (markerem DFC) i nukleoliną (zlokalizowaną na pograniczu DFC i GC). Zahamowanie aktywności Pol 1 prowadzi do zaniku współwystępowania miozyny VI z fibrylaryną, co może wskazywać na udział miozyny VI w transkrypcji rDNA i/lub syntezy rRNA. Analiza przy użyciu mikroskopii elektronowej wykazała, że w komórkach z obniżonym poziomem syntezy miozyny VI ultrastruktura jąderka staje się mniej zwarta. Może to wskazywać na udział miozyny VI w utrzymaniu kształtu i prawidłowej organizacji jąderka, a więc i na zachodzące w nim procesy. Obniżeniu poziomu miozyny VI towarzyszą również zmiany w organizacji struktur siateczki endoplazmatycznej (ER); ER jest bardziej pofragmentowane i mniej uporządkowane, w porównaniu do komórek kontrolnych. Podobne zmiany obserwowaliśmy w strukturze ER mioblastów C2C12 z obniżonym poziomem miozyny VI (KAROLCZAK i współaut. 2015).

Stwierdzono również udział miozyny VI w parowaniu homologicznych alleli chromosomów, co jest istotne dla ekspresji genów związanych z aktywacją limfocytów T, czyli odpornością swoistą (ZORCA i współaut. 2015).

MIOZYNA XVI

Miozyna XVI występuje tylko u ssaków i to głównie podczas rozwoju tkanki nerwowej. U ludzi występują dwie główne formy miozyny XVI, MXVIA i MXVIB, które powstają w wyniku alternatywnego składania transkryptu jednego genu, *MYO16* (PATEL i współaut. 2001). Masa cząsteczkowa łańcuchów ciężkich tych form wynosi, odpowiednio, około 150 i 210 kDa, a ich budowa przedstawia w zasadzie typową dla miozyn strukturę domenową, z domeną motoryczną, szyjką z jednym motywem IQ i ogonkiem (Ryc. 1B). W ogonku obu form nie zidentyfikowano α-helikalnego motywu coiled coil, który umożliwiałby dimeryzację białka, co sugeruje występowanie miozyny XVI w formie monomerycznej (PATEL i współaut. 2001, CAMERON i współaut. 2007). Obie formy różnią się sekwencją ogonka; w ogonku formy MXVIB zidentyfikowano rejony bogate w prolinę, które nie są obecne w formie XVIA. Uważa się, że mogą one brać udział w oddziaływaniach z profiliną, białkiem zaangażowanym w regulację dynamiki cytoszkieletu aktynowego (YARMOLA i BUBB 2006). Charakterystyczną cechą tej klasy miozyn jest występowanie na końcu aminowym białka dodatkowej domeny z sześcioma motywami ankirynowymi (A), która to domena poprzedza domenę motoryczną (Ryc. 1B) (PATEL i współaut. 2001). Sądzi się, że może ona uczestniczyć w wiązaniu z podjednostkami katalitycznymi fosfatazy białkowej 1α i 1γ, która jest zaangażowana m.in. w transkrypcji, dojrzewaniu i transporcie RNA oraz podziałach komórkowych (PATEL i współaut. 2001, COHEN 2002, CEULEMANS i BOLLEN 2004). Sugeruje się, że podczas interfazy miozyna XVI może być odpowiedzialna za transport podjednostki katalitycznej fosfatazy do jądra (PATEL i współaut. 2001). Spośród obu form miozyny XVI, jedynie forma MXVIB została znaleziona w jądrze, natomiast forma MXVIA występuje w cytoplazmie (CAMERON i współaut. 2007). Wykazano, że za kierowanie MXVIB do jądra odpowiada fragment ogonka o wielkości około 35 kDa, znajdujący się na końcu karboksylowym łańcucha ciężkiego, nieobecny w formie MXVIA (CAMERON i współaut. 2007). Nie stwierdzono jednak w tym rejonie klasycznej sekwencji NLS; mechanizm importu miozyny XVI do jądra pozostaje więc nieznany (CAMERON i współaut. 2007). Natomiast motywy NES znaleziono w sąsiedztwie reszt leucyny w pozycjach 340 oraz 1062. Motywy te wydają się być funkcjonalne, gdyż ilość miozyny w jądrze wzrasta po inkubacji komórek z leptomycyną B (CAMERON i współaut. 2013). Badania na komórkach COS-7 (uzyskanych z wątroby koczkodanów *Cercopithecus aethiops*) wykazały, że miozyna XVIB jest obecna w jądrach jedynie podczas interfazy (CAMERON i współaut. 2007). Badania przeprowadzone następnie na szczurzych fibroblastach Rat2 pokazały, że całkowity poziom miozyny XVI zmienia się w zależności od fazy cyklu komórkowego, przy czym najwyższy poziom obserwuje się od późnej fazie G1 po fazę S. Następnie jej ilość znacząco spada wraz z wejściem komórek w mitozę i utrzymuje się na bardzo niskim poziomie podczas mitozy i przejścia z mitozy w fazę G1 następnego cyklu komórkowego. Co ciekawe, poziom miozyny XVI spada

również w odpowiedzi komórek na działanie czynników generujących uszkodzenia DNA, indukujących stres replikacyjny (CAMERON i współaut. 2013).

Miozyna XVI występuje w rejonie chromatyny aktywnej transkrypcyjnie (euchromatyny), zawierającej profilinę i spolimeryzowaną aktynę, co może sugerować jej rolę w polimeryzacji aktyny obecnej w jądrze (CAMERON i współaut. 2007). W regionie, w którym występuje miozyna XVI zaobserwowano również obecność jądrowego antygenu komórek proliferujących (ang. proliferating cell nuclear antigen, PCNA) oraz cykliny A, markerów białkowych fazy S cyklu komórkowego. Może to wskazywać na udział tej miozyny w procesie replikacji i naprawy DNA, aczkolwiek późniejsze badania nie wykazały korelacji pomiędzy spadkiem poziomu miozyny XVI a zaburzeniami replikacji (CAMERON i współaut. 2013). Wykazano też, że nadprodukcja miozyny XVI pełnej długości lub samego tylko ogonka prowadzi do spowolnienia przebiegu fazy S cyklu komórkowego, podczas której odbywa się synteza DNA, poprzedzająca wejście komórek w fazę G2, a następnie mitozę.

Uzyskane dotychczas dane sugerują, że miozyna XVI może pełnić rolę regulatorową w przebiegu cyklu komórkowego, a nie jak pierwotnie przypuszczano być jednym z kluczowych elementów maszynerii replikacyjnej (CAMERON i współaut. 2007, 2013).

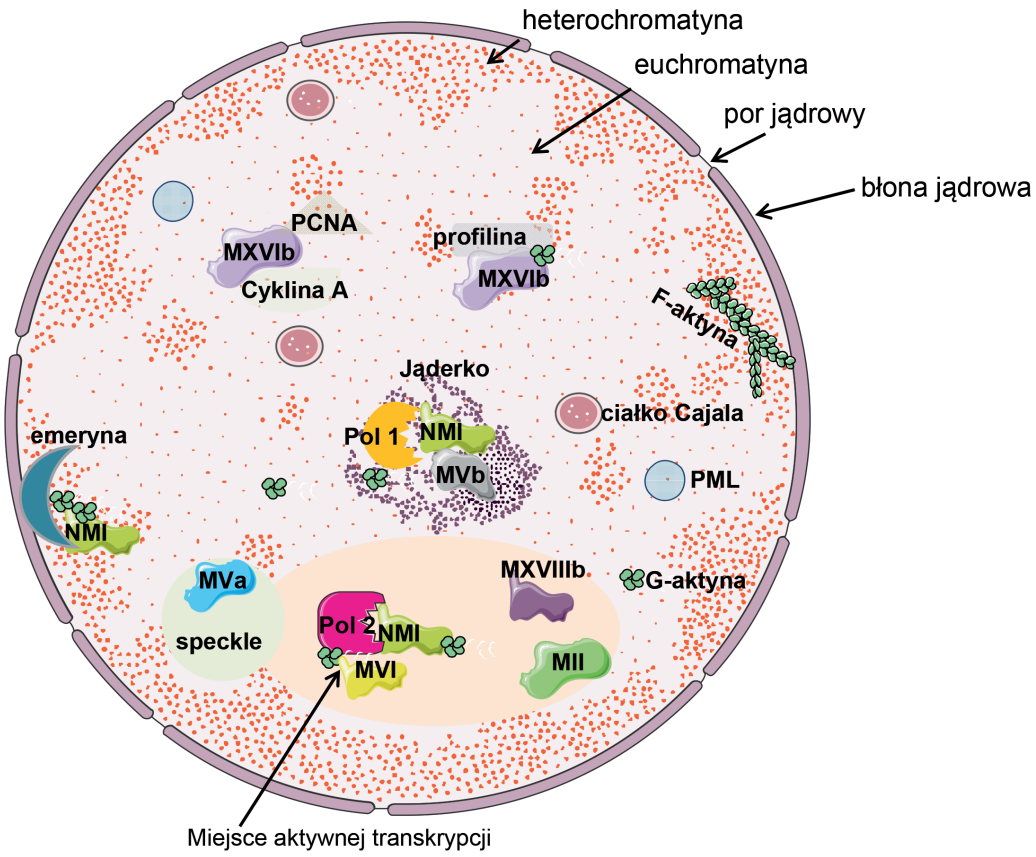
MIOZYNA XVIII

U ludzi obie izoformy miozyny XVIII (MXVIIIA i MXVIIIB), będące produktami genów *MYO18A* i *MYO18B*, są obecne w jądrach komórek (informacje o budowie oraz roli MXVIIIA i MXVIIIB znajdują się w artykule SUSZEK i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). W obu izoformach występują, podobnie jak w przypadku miozyny XVI, dodatkowe domeny poprzedzające klasyczną domenę motoryczną, które znacząco różnią się między sobą nie tylko budową, ale i potencjalnymi funkcjami. MXVIIIA występuje głównie w komórkach hematopoetycznych szpiku kostnego, zaś miozyna XVIIIB przede wszystkim w mięśniach poprzecznie-prążkowanych (SALAMON i współaut. 2003, MORI i współaut. 2005).

Za jądrową lokalizację MXVIIIA odpowiadają motywy KE (bogate w lizynę i kwas glutaminowy) znajdujące się w domenie poprzedzającej domenę motoryczną (FURUSAWA i współaut. 2000, BUSCHMAN i FIELD 2017). Z kolei, za obecność w jądrze MXVIIIB odpowiada sekwencja NLS, obejmująca reszty aminokwasowe 2377-2387, znajdująca się na końcu karboksylowym ogonka (SALAMON i współaut. 2003).

Poza jednym doniesieniem o obecności MXVIIIA w jądrze mysich fibroblastów NIH3T3 i znaczeniu w jądrowej lokalizacji motywów KE (MORI i współaut. 2005), nie ma danych o jej roli w jądrze komórkowym. Więcej natomiast wiadomo o roli, jaką pełni MXVIIIB w jądrze komórkowym i ekspresji genów. Pierwsze badania lokalizacji MXVIIIB wykazały, że w niezróżnicowanych mioblastach podczas różnicowania tych komórek miogennych w miotuby, część cytoplazmatycznej puli MXVIIIB przemieszcza się do jądra, gdzie jest również obecna w mięśniach dorosłych osobników (SALAMON i współaut. 2003). Na tej podstawie przypuszczano, że miozyna ta może uczestniczyć w transkrypcji genów mięśniowych. Przypuszczenie to wydaje się potwierdzać informacja, że MXVIIIB występuje na każdym etapie rozwoju myszy i ryby danio pręgowanego, od stadium embrionalnego aż do dorosłości, a jej poziom znacząco wzrasta podczas różnicowania mioblastów w miotuby (AJIMA i współaut. 2008, GURUNG i współaut. 2017). Co więcej, wykazano, iż mutacje w genie *MYO18B* skutkują zatrzymaniem rozwoju embrionalnego na wczesnych etapach rozwoju, co wskazuje na kluczową rolę, jaką pełni MXVIIIB w rozwoju mięśni (AJIMA i współaut. 2008, GURUNG i współaut. 2017).

Wykazano również, że w komórkach raka płuc występuje niższy poziom MXVIIIB i towarzyszy temu wzrost metylacji DNA oraz deacetylacji histonów (NISHIOKA i współaut. 2002, TANI i współaut. 2004). Obniżoną ekspresję genu *MYO18B* obserwowano również w raku jajnika i odbytu (YANAIHARA i współaut. 2004, NAKANO i współaut. 2005). Wysnuto więc hipotezę, że MXVIIIB może pełnić rolę czynnika supresorowego w procesie kancerogenezy (AJIMA i współaut. 2007, BLEEKER i współaut. 2009). To odwrotnie niż w przypadku miozyny XVIIIA, która jest uważana za jeden z czynników promujących nowotworzenie, w związku z zaangażowaniem tej izoformy w migrację komórek nowotworowych, np. w raka prostaty (BUSCHMAN i FIELD 2017). Poszukiwanie mechanizmów związanych z tą funkcją miozyny doprowadziło do wykrycia istotnej interakcji miozyny XVIIIB z białkiem HOMER2, zaangażowanym w przekazywanie sygnałów związanych m.in. z regulacją wzrostu komórek i ekspresją genów. Ko-ekspresja konstruktów kodujących oba białka wywołała silniejsze zahamowanie wzrostu komórek linii niedrobnokomórkowego raka płuc H1299, w porównaniu z nadekspresją konstruktu kodującego samą tylko miozynę (AJIMA i współaut. 2007).



Ryc. 2. Schemat przestawiający lokalizację i funkcje miozyn w jądrze komórkowym. Wyjaśnienie skrótów nazw poszczególnych białek w tekście.

PODSUMOWANIE

Niniejszy artykuł miał za zadanie przybliżyć czytelnikowi aktualny stan wiedzy o roli aktyny i miozyn w jądrze komórkowym. Wyniki badań uzyskane w ostatnich dwóch dekadach wskazują, że białka te pełnią istotne funkcje w procesach zachodzących w jądrze komórkowym (Ryc. 2). Potwierdzono ich udział m.in. w procesach transkrypcji i naprawy DNA, transporcie zachodzącym wewnątrz jądra oraz imporcie i eksporcie do i z jądra, a także w organizacji struktur jądrowych. Z nielicznymi wyjątkami (np. jądrowe izoformy miozyny IC), izoformy aktyny i miozyny krążą pomiędzy jądrem i cytoplazmą, a jądrowa lokalizacja zmienia się wraz ze stanem fizjologicznym komórki. I tak np., w komórkach neurosekrecyjnych PC12 miozyna VI wędruje do jądra w odpowiedzi na pobudzenie (stymulację komórek) i uczestniczy w transkrypcji zależnej od polimerazy RNA II (Pol 2). Wciąż niewiele wiemy o roli układu akto-miozynowego w jądrze. Kwestią otwartą pozostaje wyjaśnienie m.in.: co determinuje translokację miozyn (i aktyny) z cytoplazmy do jądra (i odwrotnie); czy i co miozyny transportują do i z jądra; jaka jest regulacja oraz kinetyka oddziaływań miozyny z aktyną. Nie wiemy też, czy również inne miozyny cytoplazmatyczne mogą przemieszczać się do jądra. Pojawiają się też pomysły, by wykorzystać zdolność miozyn do translokacji do jądra w dostarczania tam elementów, które mogłyby wesprzeć terapię chorób genetycznych. Wstępem do realizacji tych z pozoru nierealnych zamierzeń mogą być badania opisane w Nature Nanotechnology w styczniu 2018 r.; autorzy skonstruowali funkcjonalną hybrydę miozyny VI z doczepionym do niej RNA (Omabegho i współaut. 2018).

Streszczenie

Aktyna i miozyna to białka kojarzone przede wszystkim z ich kluczową rolą w generacji skurczu mięśni. Natomiast poza izoformami charakterystycznymi dla mięśni są również izoformy aktyny i miozyny, które występują we wszystkich typach komórek i tkanek (patrz artykuł Suszek i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Badania prowadzone w ostatnich dwóch dekadach wykazały niezbicie, że zarówno aktyna (i szereg białek wiążących aktynę) oraz liczne miozyny (przedstawiciele rodzin I, II, V, VI, XVI i XVIII) lokalizują się w jądrze komórkowym gdzie są zaangażowane w procesy transkrypcji i naprawy DNA, transport w nukleoplazmie oraz import i eksport jądrowy, a także w utrzymywanie architektury jądra. Ni-

niejszy artykuł opisuje dotychczasowy stan wiedzy o roli układu akto-miozynowego w jądrze komórkowym.

LITERATURA

AJIMA R., KAJIYA K., INOUE T., TANI M., SHIRAISHI-YAMAGUCHI Y., MAEDA M., SEGAWA T., FURUICHI T., SUTOH K., YOKOTA J., 2007. *HOMER2 binds MYO18B and enhances its activity to suppress anchorage independent growth.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 356, 851-856.

AJIMA R., AKAZAWA H., KODAMA M., TAKESHITA F., OTSUKA A., KOHNO T., KOMURO I., OCHIYA T., YOKOTA J., 2008. *Deficiency of* Myo18B *in mice results in embryonic lethality with cardiac myofibrillar aberrations.* Genes Cells 13, 987-999.

ALMUZZAINI B., SARSHAD A. A., FARRANTS A. K., PERCIPALLE P., 2015. *Nuclear myosin 1 contributes to a chromatin landscape compatible with RNA polymerase II transcription activation.* BMC Biol. 13, 35.

BAARLINK C., WANG H., GROSSE R., 2013. *Nuclear actin network assembly by formins regulates the SRF coactivator MAL.* Science 340, 864-867.

BARYLKO B., BINNS D. D., ALBANESI J. P., 2000. *Regulation of the enzymatic and motor activities of myosin I.* Biochim. Biophys. Acta 1496, 23-35.

BARYLKO B., JUNG G., ALBANESI J. P., 2005. *Structure, function, and regulation of myosin 1C.* Acta Biochim. Pol. 52, 373-380.

BATTERS C., VEIGEL C., 2016. *Mechanics and activation of unconventional Myosins.* Traffic 17, 860-71.

BELIN B. J., MULLINS R. D., 2013. *What we talk about when we talk about nuclear actin.* Nucleus 4, 291-297.

BELIN B. J., LEE T., MULLINS R. D., 2015. *DNA damage induces nuclear actin filament assembly by Formin-2 and Spire-(1/2) that promotes efficient DNA repair.* eLife 4, e07735

BLEEKER F. E., LAMBA S., RODOLFO M., SCARPA A., LEENSTRA S., VANDERTOP W. P., BARDELLI A., 2009. *Mutational profiling of cancer candidate genes in glioblastoma, melanoma and pancreatic carcinoma reveals a snapshot of their genomic landscapes.* Hum. Mutat. 30, E451-E459.

BOHNSACK M. T., STÜVEN T., KUHN C., CORDES V. C., GÖRLICH D., 2006. *A selective block of nuclear actin export stabilizes the giant nuclei of Xenopus oocytes.* Nat. Cell Biol. 8, 257-263.

BRUNEL C., LELAY M. N., 1979. *Two-dimensional analysis of proteins associated with heterogenous nuclear RNA in various animal cell lines.* Eur. J. Biochem. 99, 273-283.

BURKE B., STEWART C. L., 2013. *The nuclear lamins: flexibility in function.* Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 14, 13-24.

BUSCHMAN M. D., FIELD S. J., 2017. *MYO18A: An unusual myosin.* Adv. Biol. Regul., doi: 10.1016/j.jbior.2017.09.005.

CAIRNS B. R., ERDJUMENT-BROMAGE H., TEMPST P., WINSTON F., KORNBERG R. D., 1998. *Two actin-related proteins are shared functional components of the chromatin-remodeling complexes RSC and SWI/SNF.* Mol. Cell 2, 639-651.

CAMERON R. S., LIU C., MIXON A. S., PIHKALA J. P. S., RAHN R. J., CAMERON P. L., 2007. *Myosin16b: The COOH-tail region directs localization to the nucleus and overexpression delays S-phase progression.* Cell Motil. Cytoskeleton 64, 19-48.

CAMERON R. S., LIU C., PIHKALA J. P., 2013. *Myosin 16 levels fluctuate during the cell cycle and are downregulated in response to DNA replication stress.* Cytoskeleton 70, 328-338.

CASTANO E., PHILIMONENKO V. 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. 33, 607-626.

CEULEMANS H., BOLLEN M., 2004. *Functional diversity of protein phosphatase-1, a cellular economizer and reset button.* Physiol. Rev. 84, 1-39.

CHUANG C. H., CARPENTER A. E., FUCHSOVA B., JOHNSON T., DE LANEROLLE P., BELMONT A. S., 2006. *Long-range directional movement of an interphase chromosome site.* Curr. Biol. 16, 825-831.

CISTERNA B., NECCHI D., PROSPERI E., BIGGIOGERA M., 2006. *Small ribosomal subunits associate with nuclear myosin and actin in transit to the nuclear pores.* FASEB J. 20, 1901-1903.

CLARK T. G., MERRIAM R. W., 1978. *Actin in Xenopus oocytes.* J. Cell Biol. 77, 427-438.

CLEMENTS L., MANILAL S., LOVE D. R., MORRIS G. E., 2000. *Direct interaction between emerin and lamin A.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 267, 709-714.

COHEN P. T., 2002. *Protein phosphatase 1 - targeted in many directions.* J. Cell Sci. 115, 241-256.

COLUCCIO L. M., 2008. *Myosin I.* Proteins Cell Regul. 7, 95-124.

CORREAS I., SPEICHER D. W., MARCHESI V. T., 1986. *Structure of the spectrin-actin binding site of erythrocyte protein 4.1.* J. Biol. Chem. 261, 13362-13366.

CRUZ DE LA J. R., TORRE C., MORENO DÍAZ DE LA ESPINA S., 2008. *Nuclear actin in plants.* Cell. Biol. Int. 32, 584-587.

DE LANEROLLE P., 2006. *Nuclear myosin I is necessary for the formation of the first phosphodiester bond during transcription initiation by RNA polymerase II.* J. Cell Biochem. 99, 1001-1009.

DE LANEROLLE P., 2012. *Nuclear actin and myosins at a glance.* J. Cell Sci. 125, 4945-4949.

DE LANEROLLE P., SEREBRYANNYY L., 2011. *Nuclear actin and myosins: life without filaments.* Nat. Cell Biol. 13, 1282-1288.

DECHAT T., ADAM S. A., TAIMEN P., SHIMI T., GOLDMAN R. D., 2010. *Nuclear lamins.* Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2, a000547.

DENG W., LOPEZ-CAMACHO C., TANG J. Y., MENDOZA-VILLANUEVA D., MAYA-MENDOZA A., JACKSON D. A., SHORE P., 2012. *Cytoskeletal protein filamin A is a nucleolar protein that suppresses ribosomal RNA gene transcription.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 1524-1529.

DIAKOWSKI W., GRZYBEK M., SIKORSKI A. F., 2006. *Protein 4.1, a component of the erythrocyte membrane skeleton and its related homologue proteins forming the protein 4.1/FERM superfamily.* Folia Histochem. Cytobiol. 44, 231-248.

DINGOVA H., FUKALOVA J., MANINOVA M., PHILIMONENKO V. V., HOZAK P., 2009. *Ultrastructural localization of actin and actin-binding proteins in the nucleus.* Histochem. Cell Biol. 131, 425-434.

DOPIE J., SKARP K. P., RAJAKYLA E. K., TANHUANPAA K., VARTIAINEN M. K., 2012. *Active maintenance of nuclear actin by importin 9 supports transcription.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, E544-E552.

DZIJAK R., YILDIRIM S., KAHLE M., NOVÁK P., HNILICOVÁ J., VENIT T., HOZÁK P., 2012. *Specific nuclear localizing sequence directs two myosin isoforms to the cell nucleus in calmodulin-sensitive manner.* PLoS One 7,e30529.

ESNAULT C., STEWART A., GUALDRINI F., EAST P., HORSWELL S., MATTHEWS N., TREISMAN R., 2014. *Rho-actin signaling to the MRTF coactivators dominates the immediate transcriptional response to serum in fibroblasts.* Genes Dev. 28, 943-958.

FILI N., HARI-GUPTA Y., DOS SANTOS Á., COOK A., POLAND S., AMEER-BEG S. M., PARSONS M., TOSELAND C. P., 2017. *NDP52 activates nuclear myosin VI* to enhance RNA polymerase II transcription. Nat. Comm. 8, 1871.

FOMPROIX N., PERCIPALLE P., 2004. *An actin-myosin complex on activelytranscribing genes.* Exp. Cell Res. 294, 140-148.

FUCHSOVA B., SEREBRYANNYY L. A., DE LANEROLLE P., 2015. *Nuclear actin and myosins in adenovirus infection.* Exp. Cell Res. 338, 170-182.

FUJIWARA T., SUZUKI S., KANNO M., SUGIYAMA H., TAKAHASHI H., TANAKA J., 2006. *Mapping a nucleolar targeting sequence of an RNA binding nucleolar protein, Nop25.* Exp. Cell Res. 312, 1703-1712.

FUKUI Y., KATSUMARU H., 1980. *Dynamics of nuclear actin bundle induction by dimethyl sulfoxide and factors affecting its development.* J. Cell Biol. 84, 131-140.

FURUSAWA T., IKAWA S., YANAI N., OBINATA M., 2000. *Isolation of a novel PDZ-containing myosin from hematopoietic supportive bone marrow stromal cell lines.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 270, 67-75.

GALARNEAU L., NOURANI A., BOUDREAULT A. A., ZHANG Y., HÉLIOT L., ALLARD S., SAVARD J., LANE W. S., STILLMAN D. J., CÔTÉ J., 2000. *Multiple links between the NuA4 histone acetyltransferase complex and epigenetic control of transcription.* Mol. Cell 5, 927-937.

GEDGE L. J., MORRISON E. E., BLAIR G. E., WALKER J. H., 2005. *Nuclear actin is partially associated with Cajal bodies in human cells in culture and relocates to the nuclear periphery after infection of cells by adenovirus 5.* Exp. Cell Res. 303, 229-239.

GERACE L., HUBER M. D., 2012. *Nuclear lamina at the crossroads of the cytoplasm and nucleus.* J. Struct. Biol. 177, 24-31.

GIENI R. S., HENDZEL M. J., 2009. *Actin dynamics and functions in the interphase nucleus: moving toward an understanding of nuclear polymeric actin.* Biochem. Cell Biol. 87, 283-306.

GILLESPIE P. G., ALBANESI J. P., BAHLER M., BEMENT W. M., BERG J. S., BURGESS D. R., BURNSIDE B., CHENEY R. E., COREY D. P., COUDRIER E., 2001. *Myosin-I nomenclature.* J. Cell Biol. 155, 703-704.

GOUNON P., KARSENTI E., 1981. *Involvement of contractile proteins in the changes in consistency of oocyte nucleoplasm of the newt Pleurodeles waltlii.* J. Cell Biol. 88, 410-421.

GRUENBAUM Y., MARGALIT A., GOLDMAN R. D., SHUMAKER D. K., WILSON K. L., 2005. *The nuclear lamina comes of age.* Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 6, 21-31.

GRUMMT I., 2006. *Actin and myosin as transcription factors.* Curr. Opin. Genet. Dev. 16, 191-196.

GURUNG R., ONO Y., BAXENDALE S., LEE S. L., MOORE S., CALVERT M., INGHAM P. W., 2017. *A Zebrafish Model for a Human Myopathy Associated with Mutation of the Unconventional Myosin MYO18B.* Genetics 205, 725-735.

GUSTAFSON W. C., TAYLOR C. W., VALDEZ B. C., HENNING D., PHIPPARD A., REN Y., BUSCH H., DURBAN E., 1998. *Nucleolar protein p120 contains an arginine-rich domain that binds to ribosomal RNA.* Biochem. J. 331, 387-393.

HASSON T., MOOSEKER M. S., 1996. *Vertebrate unconventional myosins.* J. Biol. Chem. 271, 16431-16434.

HIRIART E., BARDOUILLET L., MANET E., GRUFFAT H., PENIN F., MONTSERRET R., FARJOT G., SERGEANT A., 2003. *A region of the Epstein-Barr virus (EBV) mRNA export factor EB2 containing an arginine-rich motif mediates direct binding to RNA.* J. Biol. Chem. 278, 37790-37798.

HO C. Y., LAMMERDING J., 2012. *Lamins at a glance.* J. Cell Sci. 125, 2087-2093.

HO C. Y., JAALOUK D. E., VARTIAINEN M. K., LAMMERDING J., 2013. *LaminA/C and emerin regulate MKL1-SRF activity by modulatingactin dynamics.* Nature 497, 507-511.

HOFMANN W., REICHART B., EWALD A., MULLER E., SCHMITT I., STAUBER R. H., LOTTSPEICH F., JOCKUSCH B. M., SCHEER U., HAUBER J., DABAUVALLE M., C, 2001. *Cofactor requirements for nuclear export of Rev response element (RRE)- and constitutive transport element (CTE)-containing retroviral RNAs. An unexpected role for actin.* J. Cell Biol. 152, 895-910.

HOFMANN W. A,. STOJILJKOVIC L., FUCHSOVA B., VARGAS G. M., MAVROMMATIS E., PHILIMONENKO V., KYSELÁ K., GOODRICH J. A., LESSARD J. L., HOPE T. J., HOZAK P., DE LANEROLLE P., 2004. *Actin is part of pre-initiation complexes and is necessary for transcription by RNA polymerase II.* Nat. Cell Biol. 6, 1094-1101.

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.

HOFMANN W. A., ARDUINI A., NICOL S. M., CAMACHO C. J., LESSARD J. L., FULLER-PACE F. V., DE LANEROLLE P., 2009. *SUMOylation of nuclear actin.* J. Cell Biol. 186, 193-200.

HOLASKA J. M., WILSON K. L., 2007. *An emerin "proteome": purification of distinct emerin-containing complexes from HeLa cells suggests molecular basis for diverse roles including gene regulation, mRNA splicing, signaling, mechanosensing, and nuclear architecture.* Biochemistry 46, 8897-8908.

HOLASKA J. M., KOWALSKI A. K., WILSON K. L., 2004. *Emerin caps the pointed end of actin filaments: evidence for an actin cortical network at the nuclear inner membrane.* PLoS Biol. 2, E231.

HU Q., KWON Y. S., NUNEZ E., CARDAMONE M. D., HUTT K. R., OHGI K. A., GARCIA-BASSETS I., ROSE D. W., GLASS C. K., ROSENFELD M. G., FU X. D., 2008. *Enhancing nuclear receptor-induced transcription requires nuclear motor and LSD1-dependent gene networking in interchromatin granules.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105,19199-19204.

HWANG K. J., MAHMOODIAN F., FERRETTI J. A., KORN E. D., GRUSCHUS J. M., 2007. *Intramolecular interaction in the tail of Acanthamoeba myosin IC between the SH3 domain and a putative pleckstrin homology domain.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 104, 784-789.

IHNATOVYCH I., MIGOCKA-PATRZALEK M., DUKH M., HOFMANN W. A., 2012. *Identification and characterization of a novel myosin Ic isoform that localizes to the nucleus.* Cytoskeleton 69, 555-565.

JUNG E. J., LIU G., ZHOU W., CHEN X., 2006. *Myosin VI is a mediator of the p53-dependent*

cell survival pathway. Mol. Cell. Biol. 26, 2175-2186.

KAHLE M., PRIDALOVA J., SPACEK M., DZIJAK R., HOZAK P., 2007. *Nuclear myosin is ubiquitously expressed and evolutionary conserved in vertebrates.* Histochem. Cell Biol. 127, 139-148.

KAROLCZAK J., PAVLYK I., MAJEWSKI L., SOBCZAK M., NIEWIADOMSKI P., RZHEPETSKYY Y., SIKORSKA A., NOWAK N., POMORSKI P., PRÓSZYŃSKI T., EHLER E., RĘDOWICZ M. J., 2015. *Involvement of unconventional myosin VI in myoblast function and myotube formation.* Histochem. Cell Biol. 144, 21-38.

KARSENTI E., GOUNON P., BORNENS M., 1978. *Immunocytochemical study of lampbrush chromosomes: presence of tubulin and actin.* Biol. Cell 31, 210-224.

KING L., JHOU C. R., 2010. *Nuclear titin interacts with histones.* Chang Gung Med. J. 33, 201-210

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.

KOKAI E., BECK H., WEISSBACH J., ARNOLD F., SINSKE D., SEBERT U., GAISELMANN G., SCHMIDT V., WALTHER P., MÜNCH J., POSERN G., KNÖLL B., 2014. *Analysis of nuclear actin by overexpression of wild-type and actin mutant proteins.* Histochem. Cell Biol. 141, 123-135.

KORN E. D., 2000. *Coevolution of head, neck, and tail domains of myosin heavy chains.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 12559-12564.

KRISTÓ I., BAJUSZ I., BAJUSZ C., BORKÚTI P., VILMOS P., 2016. *ACTIN, actin-binding proteins, and actin-related proteins in the nucleus.* HISTOCHEM. CELL BIOL. 145, 373-388.

KUKALEV A., NORD Y., PALMBERG C., BERGMAN T., PERCIPALLE P., 2005. *Actin and hnRNP U cooperate for productive transcription by RNA polymerase II.* Nat. Struct. Mol. Biol. 12, 238-244.

KUMETA M., YOSHIMURA S. H., HEJNA J., TAKEYASU K., 2012. *Nucleocytoplasmic shuttling of cytoskeletal proteins: molecular mechanism and biological significance.* Int. J. Cell Biol. 2012, 494902.

KYSELÁ K., PHILIMONENKO A. A., PHILIMONENKO V. V., JANÁCEK J., KAHLE M., HOZÁK P., 2005. *Nuclear distribution of actin and myosin I depends on transcriptional activity of the cell.* Histochem. Cell Biol. 124, 347-358.

LAMOND A. I., SPECTOR D. L., 2003. *Nuclear speckles: A model for nuclear organelles.* Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 4, 605-612.

LATTANZI G., CENNI V., MARMIROLI S., CAPANNI C., MATTIOLI E., MERLINI L., SQUARZONI S., MARALD N. M., 2003. *Association of emerin with nuclear and cytoplasmic actin is regulated in differentiating myoblasts.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 303, 764-770.

LEDERER M., JOCKUSCH B. M., ROTHKEGEL M., 2005. *Profilin regulates the activity of p42POP, a novel Myb-related transcription factor.* J. Cell Sci. 118, 331-341.

LEE K. K., HARAGUCHI T., LEE R. S., KOUJIN T., HIRAOKA Y., WILSON K. L., 2001. *Distinct functional domains in emerin bind lamin A and DNA-bridging protein BAF.* J. Cell Sci. 114, 4567-4573.

LÉNÁRT P., BACHER C. P., DAIGLE N., HAND A. R., EILS R., TERASAKI M., ELLENBERG J., 2005. *A contractile nuclear actin network drives chromosome congression in oocytes.* Nature 436, 812-818.

LI Q., SARNA S. K., 2009. *Nuclear myosin II regulates the assembly of preinitiation complex for ICAM-1 gene transcription.* Gastroenterology 137, 1051-1060.

LINDSAY A. J., MCCAFFREY M. W., 2009. *Myosin Vb localises to nucleoli and associates with the RNA polymerase I transcription complex.* Cell Motil. Cytoskeleton 66, 1057-1072.

LINKE W. A., KULKE M., LI H., FUJITA-BECKER S., NEAGOE C., MANSTEIN D. J., GAUTEL M., FERNANDEZ J. M., 2002. *PEVK domain of titin:an entropic spring with actin-binding properties.* J. Struct. Biol. 137, 194-205.

LOIKKANEN I., TOLJAMO K., HIRVIKOSKI P., VÄISÄNEN T., PAAVONEN T. K., VAARALA M. H., 2009. *Myosin VI is a modulator of androgen-dependent gene expression.* Oncol. Rep. 22, 991-995.

MACHADO C., ANDREW D. J., 2000. *D-titin: a giant protein with dual roles in chromosomes and muscles.* J. Cell Biol. 151, 639-652.

MACHADO C., SUNKEL C. E., ANDREW D. J., 1998. *Human autoantibodies reveal titin as a chromosomal protein.* J. Cell Biol. 141, 321-333.

MAJEWSKI Ł., SOBCZAK M., REDOWICZ M. J., 2010. *Myosin VI is associated with secretory granules and is present in the nucleus in adrenal medulla chromaffin cells.* Acta Biochim. Pol. 57, 109-114.

MAJEWSKI Ł., SOBCZAK M., WASIK A., SKOWRONEK K., RĘDOWICZ M. J., 2011. *Myosin VI in PC12 cells plays important roles in cell migration and proliferation but not in catecholamine secretion.* J. Muscle Res. Cell Motil. 32, 291-302.

MAJEWSKI L., NOWAK J., SOBCZAK M., KARATSAI O., HAVRYLOV S., LENARTOWSKI R., SUSZEK M., LENARTOWSKA M., REDOWICZ M. J., 2018. *MYOSIN VI in the nucleus of neurosecretory PC12 cells: Stimulation-dependent nuclear translocation and interaction with nuclear proteins.* Nucleus 9, 125-141.

MAUNDRELL K., SCHERRER K., 1979. *Characterization of pre-messenger-RNA-containing nuclear ribonucleoprotein particles from avian erythroblasts.* Eur. J. Biochem. 99, 225-238.

MCDONALD D., CARRERO G., ANDRIN C., DE VRIES G., HENDZEL M. J., 2006. *Nucleoplasmic beta-actin exists in a dynamic equilibrium between low-mobility polymeric species and rapidly diffusing populations.* J. Cell Biol. 172, 541-552.

MCMAHON L. W., ZHANG P., SRIDHARAN D. M., LEFFERTS J. A., LAMBERT M. W., 2009. *Knockdown of alphaII spectrin in normal human cells by siRNA leads to chromosomal instability and decreased DNA interstrand cross-link repair.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 381, 288-293.

MENARD I., GERVAIS F. G., NICHOLSON D. W., ROY S., 2006. *Caspase-3 cleaves the formin-homology-domain-containing protein FHOD1 during apoptosis to generate a C-terminal fragment that is targeted to the nucleolus.* Apoptosis 11, 1863-1876.

MEYER A. J., ALMENDRALA D. K., GO M. M., KRAUSS S. W., 2011. *Structural protein 4.1R is integrally involved in nuclear envelope protein localization, centrosome-nucleus association and transcriptional signaling.* J. Cell Sci. 124, 1433-1444.

MIGOCKA-PATRZALEK M., MAKOWIECKA A., NOWAK D., MAZUR A. J., HOFMANN W. A., MALICKA-BLASZKIEWICZ M., 2015. *Beta- and gamma-ac-*

tins in the nucleus of human melanoma A375 cells. Histochem. Cell Biol. 144, 417-428.

MIRON M. J., GALLOUZI I. E., LAVOIE J. N., BRANTON P. E., 2004. *Nuclear localization of the adenovirus E4orf4 protein is mediated through an arginine-rich motif and correlates with cell death.* Oncogene 23, 7458-68. Erratum in: Oncogene. 2005, 24, 4162.

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.

MIYAMOTO K., GURDON J. B., 2013. *Transcriptional regulation and nuclear reprogramming: roles of nuclear actin and actin-binding proteins.* Cell. Mol. Life Sci. 70, 3289-3302.

MORI K., MATSUDA K., FURUSAWA T., KAWATA M., INOUE T., OBINATA M., 2005. *Subcellular localization and dynamics of MysPDZ (Myo18A) in live mammalian cells.* Biochem. Biophys. Res. Comm. 326, 491-498.

MORI M., MONNIER N., DAIGLE N., BATHE M., ELLENBERG J., LÉNÁRT P., 2011. *Intracellular transport by an anchored homogeneously contracting F-actin meshwork.* Curr. Biol. 21, 606-611.

MORRISWOOD B., RYZHAKOV G., PURI C., ARDEN S. D., ROBERTS R., DENDROU C., KENDRICK-JONES J., BUSS F., 2007. *T6BP and NDP52 are myosin VI binding partners with potential roles in cytokine signalling and cell adhesion.* J. Cell Sci. 120, 2574-2585.

NAKANO T., TANI M., NISHIOKA M., KOHNO T., OTSUKA A., OHWADA S., YOKOTA J., 2005. *Genetic and epigenetic alterations of the candidate tumor-suppressor gene MYO18B, on chromosome arm 22q, in colorectal cancer.* Genes Chromosomes Cancer 43, 162-171.

NISHIDA S., HIRUMA S., HASHIMOTO S., 1987. *Immunohistochemical change of actin in experimental myocardial ischemia. Its usefulness to detect very early myocardial damages.* Histol. Histopathol. 2, 417-428.

NISHIOKA M., KOHNO T., TANI M., YANAIHARA N., TOMIZAWA Y., OTSUKA A., SASAKI S., KOBAYASHI K., NIKI T., MAESHIMA A., SEKIDO Y., MINNA J. D., SONE S., YOKOTA J., 2002. *MYO18B, acandidate tumor suppressor gene at chromosome 22q12.1, deleted, mutated, and methylated inhuman lung cancer.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 12269-12274.

NOWAK G., PESTIC-DRAGOVICH L., HOZAK P., PHILIMONENKO A., SIMERLY C., SCHATTEN G., DE LANEROLLE P., 1997. *Evidence for the presence of myosin I in the nucleus.* J. Biol. Chem. 272, 17176-17181.

NOWAK J., MAJEWSKI Ł., SOBCZAK M., LENARTOWSKA M., LENARTOWSKI R., RĘDOWICZ M. J., 2017, *A new role of myosin VI in the nucleolus.* Konferencja 4-D Nucleome: The Cell Nucleus in Space and Time Programme, Poster 17.

OBRDLIK A., PERCIPALLE P., 2011. *The F-actin severing protein cofilin-1 is required for RNA polymerase II transcription elongation.* Nucleus 2, 72-79.

OBRDLIK A., KUKALEV A., LOUVET E., FARRANTS A. K., CAPUTO L., PERCIPALLE P., 2008. *The histone acetyltransferase PCAF associates with actin and hnRNP U for RNA polymerase II transcription.* Mol. Cell. Biol. 28, 6342-6357.

OMABEGHO T., GUREL P. S., CHENG C. Y., KIM L. Y., RUIJGROK P. V., DAS R, ALUSHIN G. M., BRYANT Z., 2018 *Controllable molecular motors engineered from myosin and RNA.* Nat. Nanotechnol. 13, 34-40.

PATEL K. G., LIU C., CAMERON P. L., CAMERON R. S., 2001. *Myr 8, a novel unconventional myosin expressed during brain development associates with the protein phosphatase catalytic subunits 1alpha and 1gamma1.* J. Neurosci. 21, 7954-7968.

PAZDRAK K., SHI X. Z., SARNA S. K., 2004. *TNF alpha suppresses human colonic circular smooth muscle cell contractility by SP1- and NF-kappa B-mediated induction of ICAM-1.* Gastroenterology 127, 1096-1109.

PENDLETON A., POPE B., WEEDS A., KOFFER A., 2003. *Latrunculin B or ATP depletion induces cofilin-dependent translocation of actin into nuclei of mast cells.* J. Biol. Chem. 278, 14394-14400.

PERCIPALLE P., 2007. *GENETIC CONNECTIONS OF THE ACTIN CYTOSKELETON AND BEYOND.* Bioessays 29, 407-411.

PERCIPALLE P., ZHAO J., POPE B., WEEDS A., LINDBERG U., DANEHOLT B., 2001. *Actin bound to the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein hrp36 is associated with Balbiani ring mRNA from the gene to polysomes.* J. Cell Biol. 153, 229-236.

PERCIPALLE P., JONSSON A., NASHCHEKIN D., KARLSSON C., BERGMAN T., GUIALIS A., DANEHOLT B., 2002. *Nuclear actin is associated with a specific subset of hnRNP A/B-type proteins.* Nucleic Acids Res. 30, 1725-1734.

PERCIPALLE P., FOMPROIX N., CAVELLÁN E., VOIT R., REIMER G., KRÜGER T., THYBERG J., SCHEER U., GRUMMT I., FARRANTS A. K., 2006. *The chromatin remodelling complex WSTF-SNF2h interacts with nuclear myosin 1 and has a role in RNA polymerase I transcription.* EMBO Rep. 7, 525-530.

PESTIC-DRAGOVICH L., STOJILJKOVIC L., PHILIMONENKO A. A., NOWAK G., KE Y., SETTLAGE R. E., SHABANOWITZ J., HUNT D. F., HOZAK P., DE LANEROLLE P., 2000. *A myosin I isoform in the nucleus.* Science 290, 337-341.

PHILIMONENKO V. V., ZHAO J., IBEN S., DINGOVÁ H., KYSELÁ K., KAHLE M., ZENTGRAF H., HOFMANN W. A., DE LANEROLLE P., HOZÁK P., GRUMMT I., 2004. *Nuclear actin and myosin I are required for RNA polymerase I transcription.* Nat. Cell Biol. 6, 1165-1172.

PLESSNER M., MELAK M., CHINCHILLA P., BAARLINK C., GROSSE R., 2015. *Nuclear F-actin formation and reorganization upon cell spreading.* J. Biol. Chem. 290, 11209-11216.

POLLARD T. D., KORN E. D., 1973. *Acanthamoeba myosin. I. Isolation from Acanthamoeba castellanii of an enzyme similar to muscle myosin.* J. Biol. Chem. 248, 4682-4690.

PRANCHEVICIUS M. C., BAQUI M. M., ISHIKAWA-ANKERHOLD H. C., LOURENCO E. V., LEAO R. M., BANZI S. R., DOS SANTOS C. T., BARREIRA M. C., ESPREAFICO E. M., LARSON R. E., 2008. *Myosin Va phosphorylated on Ser1650 is found in nuclear speckles and redistributes to nucleoli upon inhibition of transcription.* Cell Motil. Cytoskeleton 65, 441-456.

QI J., CHI L., LABEIT S., BANES A. J., 2008. *Nuclear localization of the titin Z1Z2Zr domain and role in regulating cell proliferation.* Am. J. Physiol. Cell Physiol. 295, C975-C985.

REDOWICZ M. J., 2001. *Regulation of nonmuscle myosins by heavy chain phosphorylation.* J. Muscle Res. Cell Motil. 22, 163-173.

RUNGGER D., RUNGGER-BRÄNDLE E., CHAPONNIER C., GABBIANI G., 1979. *Intranuclear injection of anti-actin antibodies into Xenopus oocytes*

blocks chromosome condensation. Nature 282, 320-321.

SAHLAS D. J., MILANKOV K., PARK P. C., DE BONI U., 1993. *Distribution of snRNPs, splicing factor SC-35 and actin in interphase nuclei: immunocytochemical evidence for differential distribution during changes in functional states.* J. Cell Sci. 105, 347-357.

SAITOH N., SPAHR C. S., PATTERSON S. D., BUBULYA P., NEUWALD A. F., SPECTOR D. L., 2004. *Proteomic analysis of interchromatin granule clusters.* Mol. Biol. Cell 15, 3876-3890.

SALAMON M., MILLINO C., RAFFAELLO A., MONGILLO M., SANDRI C., BEAN C., NEGRISOLO E., PALLAVICINI A., VALLE G., ZACCOLO M., SCHIAFFINO S., LANFRANCHI G., 2003. *Human MYO18B, a novel unconventional myosin heavy chain expressed in striated muscles moves into the myonuclei upon differentiation.* J. Mol. Biol. 326, 137-149.

SALOMAO M., ZHANG X., YANG Y., LEE S., HARTWIG J. H., CHASIS J. A., MOHANDAS N., AN X., 2008. *Protein 4.1R-dependent multiprotein complex: new insights into the structural organization of the red blood cell membrane.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 8026-8031.

SARSHAD A. A., PERCIPALLE P., 2014. *New insight into role of myosin motors for activation of RNA polymerases.* Int. Rev. Cell Mol. Biol. 311,183-230.

SCHEER U., HINSSEN H., FRANKE W. W., JOCKUSCH B. M., 1984. *Microinjection of actin-binding proteins and actin antibodies demonstrates involvement of nuclear actin in transcription of lampbrush chromosomes.* Cell 39, 111-122.

SCHOENENBERGER C. A., BUCHMEIER S., BOERRIES M., SUTTERLIN R., AEBI U., JOCKUSCH B. M., 2005. *Conformation-specific antibodies reveal distinct actin structures in the nucleus and the cytoplasm.* J. Struct. Biol. 152, 157-168.

SELLERS J. R., 1999. Myosins. Oxford University Press, Oxford.

SHEN X., RANALLO R., CHOI E., WU C., 2003. *Involvement of actin-related proteins in ATP-dependent chromatin remodeling.* Mol. Cell 12, 147-155.

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.

SKARE P., KREIVI J. P., BERGSTROM A., KARLSSON R., 2003. *Profilin I colocalizes with speckles and Cajal bodies: a possible role in premRNA splicing.* Exp. Cell Res. 286, 12-21.

SKARP K. P., VARTIAINEN M. K., 2013. *Actin as a model for the study of nucleocytoplasmic shuttling and nuclear dynamics.* Meth. Mol. Biol. 1042, 245-255.

SODERBERG E., HESSLE V., VON EULER A., VISA N., 2012. *Profilin is associated with transcriptionally active genes.* Nucleus 3, 290-299.

STUVEN T., HARTMANN E., GORLICH D., 2003. *Exportin 6: a novel nuclear export receptor that is specific for profilin·actin complexes.* EMBO J. 22, 5928-5940.

TANG Y., KATURI V., DILLNER A., MISHRA B., DENG C. X., MISHRA L., 2003. *Disruption of transforming growth factor-beta signaling in ELF beta-spectrin-deficient mice.* Science 299, 574-577.

TANI M., ITO J., NISHIOKA M., KOHNO T., TACHIBANA K., SHIRAISHI M., TAKENOSHITA S., YOKOTA J., 2004. *CORRELATION BETWEEN HISTONE ACETYLATION AND EXPRESSION OF THE MYO18B GENE IN HUMAN LUNG CANCER CELLS.* GENES CHROMOSOMES CANCER 40, 146-151.

THOMAS D. G., YENEPALLI A., DENAIS C. M., RAPE A., BEACH J. R., WANG Y. L., SCHIEMANN W. P., BASKARAN H., LAMMERDING J., EGELHOFF T. T., 2015 *Non-muscle myosin IIB is critical for nuclear translocation during 3D invasion.* J. Cell Biol. 210, 583-594.

TROMBITAS K., GRANZIER H., 1997. *Actin removal from cardiac myocytes shows that near Z line titin attaches to actin while under tension.* Am. J. Physiol. 273, C662-C670.

TSE W. T., TANG J., JIN O., KORSGREN C., JOHN K. M., KUNG A. L., GWYNN B., PETERS L. L., LUX S. E,. 2001. *A new spectrin, beta IV, has a major truncated isoform that associates with promyelocytic leukemia protein nuclear bodies and the nuclear matrix.* J. Biol. Chem. 276, 23974-23985.

VARTIAINEN M. K., 2008. *Nuclear actin dynamics - from form to function.* FEBS Lett. 582, 2033-2040.

VARTIAINEN M. K., GUETTLER S., LARIJANI B., TREISMAN R., 2007. *Nuclear actin regulates dynamic subcellular localization and activity of the SRF cofactor MAL.* Science 316, 1749-1752.

VREUGDE S., FERRAI C., MILUZIO A., HAUBEN E., MARCHISIO P. C., CRIPPA M. P., BUSSI M., BIFFO S., 2006. *Nuclear myosin VI enhances RNA polymerase II-dependent transcription.* Mol. Cell 23, 749-755.

WADA A., FUKUDA M., MISHIMA M., NISHIDA E., 1998. *Nuclear export of actin: a novel mechanism regulating the subcellular localization of a major cytoskeletal protein.* EMBO J. 17, 1635-1641.

WAGNER M. C., BARYLKO B., ALBANESI J. P., 1992. *Tissue distribution and subcellular localization of mammalian myosin I.* J. Cell Biol. 119, 163-170.

WASIK U., FILIPEK A., 2014. *Non-nuclear function of sumoylated proteins.* Biochim. Biophys. Acta 1843, 2878-2885.

WESTON L., COUTTS A. S., LA THANGUE N. B., 2012. *Actin nucleators in the nucleus: an emerging theme.* J. Cell Sci. 125, 3519-3527.

WOLLSCHEID H. P., BIANCOSPINO M., HE F., MAGISTRATI E., MOLTENI E., LUPIA M., SOFFIENTINI P., ROTTNER K., CAVALLARO U., POZZOLI U., MAPELLI M., WALTERS K. J., POLO S., 2016. *Diverse functions of myosin VI elucidated by an isoform-specific α-helix domain.* Nat. Struct. Mol. Biol. 23, 300-308.

YANAIHARA N., NISHIOKA M., KOHNO T., OTSUKA A., OKAMOTO A., OCHIAI K., TANAKA T., YOKOTA J., 2004. *Reduced expression of MYO18B, a candidate tumor-suppressor gene on chromosome arm 22q, in ovarian cancer.* Int. J. Cancer. 112, 150-154.

YARMOLA E. G., BUBB M. R., 2006. *Profilin: emerging concepts and lingering misconceptions.* Trends Biochem. Sci. 31, 197-205.

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 Dev. 22, 322-330.

YOSHIDA H., CHENG W., HUNG J., MONTELL D., GEISBRECHT E., ROSEN D., LIU J., NAORA H., 2004. *Lessons from border cell migration in the Drosophila ovary: A role for myosin VI in dissemination of human ovarian cancer.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 8144-8149.

YOUNG K. G., KOTHARY R., 2005. *Spectrin repeat proteins in the nucleus.* BioEssays 27, 144-152.

YUE J., WANG Q., LU H., BRENNEMAN M., FAN F., SHEN Z., 2009. *The cytoskeleton protein filamin-A is required for an efficient recombina-*

tional DNA double strand break repair. Cancer Res. 69, 7978-7985.
ZASTROW M. S., FLAHERTY D. B., BENIAN G. M., WILSON K. L., 2006. *Nuclear titin interacts with A- and B-type lamins in vitro and in vivo.* J. Cell Sci. 119, 239-249.
ZHANG C., MALLERY E. L., SZYMANSKI D. B., 2013. *ARP2/3 localization in Arabidopsis leaf pavement cells: a diversity of intracellular pools and cytoskeletal interactions*. Front. Plant Sci. 4, 238.
ZHANG Y. S., LIU B., LUO X. J., ZHANG J. J., LI N. S., MA Q. L., JIANG J. L., LI Y. J., LI Q., PENG J., 2015. *A novel function of nuclear nonmuscle myosin regulatory light chain in promotion of xanthine oxidase transcription after myocardial ischemia/reperfusion.* Free Radic Biol. Med. 83, 115-128.
ZHAO K., WANG W., RANDO O. J., XUE Y., SWIDEREK K., KUO A., CRABTREE G. R., 1998. *Rapid and phosphoinositol-dependent binding of the SWI/SNF-like BAF complex to chromatin after T lymphocyte receptor signaling.* Cell 95, 625-636.
ZORCA C. E., KIM L. K., KIM Y. J., KRAUSE M. R., ZENKLUSEN D., SPILIANAKIS C. G., FLAVELL R. A., 2015. *Myosin VI regulates gene pairing and transcriptional pause release in T cells.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 112, E1587-1593.

KOSMOS Vol. 67, 1, 75–93, 2018

JOLANTA NOWAK, MARIA JOLANTA RĘDOWICZ

Laboratory of Molecular Basis of Cell Motility, Department of Biochemistry, Nencki Instiute of Experimental Biology PAS, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw, E-mail: j.redowicz@nencki.gov.pl

ACTINS AND MYOSINS IN THE NUCLEUS

Summary

Actin and myosins are the proteins mainly known from their key roles in muscle contraction. However, besides typical muscle isoforms there are actins and myosins that are present in all cell and tissue types. Studies performed within the last two decades have irrefutably shown that both the cytoplasmic actin isoforms (along with numerous actin-binding proteins) as well as many myosins (representing class I, II, V, VI, XVI and XVIII) are present within the nucleus. They play important roles in nuclear processes as they are involved in transcription and DNA repair, intranuclear transport as well as nuclear import and export, and in maintenance of nuclear architecture. This article describes the current knowledge on the acto-myosin system in this biggest cellular compartment.

Key words: actin, gene expression, myosin, nucleus, nucleolus, polymerase, transcription