

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИЗОФОРМ АКТИНА В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Обзор

© 2019 В.Б. Дугина¹, Г.С. Шагиева¹, П.Б. Копнин^{2*}

¹ НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
119991 Москва, Россия

² НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, 115478 Москва, Россия;
электронная почта: pbkopnin@mail.ru

Поступила в редакцию 15.11.2018

После доработки 12.02.2019

Принята к публикации 13.02.2019

Актин играет важную роль в ключевых клеточных процессах, таких как адгезия, мышечная и немышечная сократимость, миграция, поляризация, митоз и мейоз. Исследование лежащих в их основе специфических механизмов важно для понимания фундаментальных процессов, происходящих в нормальных клетках и тканях, а также при различных патологиях. Данный обзор посвящен исследованию функций изоформ актина, связанных с подвижностью и делением нормальных и опухолевых клеток, адгезионными структурами, а также с изменением экспрессии и структурной организации актиновых изоформ в нормальных и опухолевых клетках. Селективное изменение экспрессии β - или γ -цитоплазматического актина позволило определить функциональные различия между β - и γ -актинами: преимущественную роль β -актина в сокращении и межклеточной адгезии, а γ -актина — в клеточной пластичности и подвижности. Похожие данные были получены в разных экспериментальных системах на культурах неопластических клеток эпителиального и мезенхимального происхождения, а также при иммуноморфологическом сравнении срезов тканей человека в норме и при неопластических заболеваниях. Реорганизация компонентов актинового цитоскелета и межклеточных контактов является важным шагом в изменении пролиферативных характеристик и приобретении инвазивности эпителиальными опухолями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цитоплазматические изоформы актина, β -актин, γ -актин, неопластическая трансформация, опухолевые клетки, цитоскелет.

DOI: 10.1134/S0320972519060010

АКТИН: ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СТРУКТУРЕ И СВОЙСТВАХ

Клетки высших позвоночных содержат три системы цитоскелета, различные по биохимическому составу, морфологическим характеристикам и функциям: *актиновые микрофиламенты*, *микротрубочки* и *промежуточные филаменты*. Система актиновых микрофиламентов обладает присущими ей специфическими механическими свойствами и динамическим поведением. Эта система играет важную роль в ключевых клеточных процессах, таких как адгезия, мышечная и немышечная сократимость, миграция, поляризация, эндо- и экзоцитоз, митоз и мейоз [1]. Основным структурным белком данной системы является актин. Самая высокая концентра-

ция актина (~20% от общего количества белка) обнаруживается в виде системы микрофиламентов, собранных в миофибриллы — сократимые структуры поперечнополосатых мышц. Помимо уникальной роли в сокращении скелетных мышц, актин присутствует во всех мышечных и немышечных клетках и выполняет разнообразные функции в зависимости от тканевой и клеточной специализации. Система актиновых филаментов играет важную роль в поддержании архитектурной целостности клетки и отвечает за выполнение механических функций, клеточную сократимость или натяжение, а также обеспечивает клеточную подвижность. Динамика актинового цитоскелета поддерживается двумя факторами: 1) способностью актина к обратимому переходу из мономерного (G-актина, глобулярного) в полимерное (F-актин, филаментозное) состояние; 2) взаимодействием актина с актин-

* Адресат для корреспонденции.

связывающими белками (ABPs), которые могут ингибировать/стимулировать актиновую полимеризацию, разрезать полимеры, связывать актиновые филаменты в пучки или трехмерные сети, а также обеспечивать прикрепление к клеточной мембране.

Мономер актина (G-актин) имеет нуклеотид-связывающий карман между двумя большими доменами, каждый из которых разделен на два субдомена. Снаружи одного из них, субдомена 1, расположен *N*-конец молекулы. Полимер актина (F-актин) образует двойную спираль, в которой субдомен 1 также расположен на внешней стороне филамента. Это положение позволяет *N*-концевому участку актиновой молекулы взаимодействовать с миозином и другими ABPs и регуляторными белками.

Изменения в архитектуре микрофиламентов приводят к реорганизации клеточной морфологии и ориентации, изменениям пролиферативных свойств, а также перестройкам взаимодействий с окружающим внеклеточным матриксом и другими клетками.

РАЗНООБРАЗИЕ ИЗОФОРМ АКТИНА У ВЫСШИХ ПОЗВОНОЧНЫХ

В тканях высших позвоночных экспрессируется шесть изоформ актина [2], первичная структура которых очень консервативна [3]. Гены актина у человека локализованы на разных хромосомах [4]: α -скелетный (*ACTA1*) – на хромосоме 1; α -кардиальный или сердечный (*ACTC1*) – на хромосоме 15; α -гладкомышечный (*ACTA2*) – на хромосоме 10; γ -гладкомышечный (*ACTG2*) – на хромосоме 2; β -цитоплазматический (*ACTB*) – на хромосоме 7; и γ -цитоплазматический (*ACTG1*) – на хромосоме 17. Изоформы актина кодируются структурно родственными генами с высокомолекулярными нуклеотидными последовательностями [5]. Основные отличия между изоформами локализованы на *N*-конце [2]. Эта вариабельность вносит вклад в общий заряд молекул, который определяют с помощью изо-электрофокусирования. Небольшие различия в изо-электрических точках (5,40; 5,42 и 5,44) легли в основу классификации на α -, β - и γ -изоформы актина [6, 7]. Несмотря на сходные трехмерные структуры, несколько аминокислотных замен, локализованных в субдоменах 1 и 3, могут вызывать значительные изменения в конформации актина. Изоформы могут отличаться как по общему положению малого домена относительно большого домена, так и по локальным конформациям на *N*-конце и, возможно, на *C*-конце [8].

При созревании молекул цитоплазматических актинов (β - или γ -) происходит удаление концевого метионина [9], а при созревании молекул мышечных актинов – удаление метионина и цистеина, с последующим ацетилированием *N*-концевого остатка. Недавно был идентифицирован фермент, особая *N*-терминальная ацетилтрансфераза, которая осуществляет ацетилирование *N*-конца цитоплазматического актина после удаления предшествующего метионина [10, 11]. Отсутствие этого фермента меняет структуру и динамику актинового цитоскелета. Необходимо отметить, что только четыре аминокислотных остатка на *N*-конце отличаются в белковых молекулах β - и γ -актинов, но эти отличия вызывают небольшие изменения в размере и плотности заряда, которые могут приводить к изменению уровня полимеризации, что, с большой вероятностью, может быть использовано при выполнении различных клеточных функций [12].

N-концевой домен молекулы актина может участвовать во взаимодействиях с ABPs [13]. В экспериментах *in vitro* было показано селективное взаимодействие несаркомерных изоформ миозина с изоформами актина [14]. Было выявлено преимущественное, по сравнению с α -скелетным актином, взаимодействие цитоплазматических изоформ актина с профилином [15, 16], тимозином $\beta 4$ [17], L-пластином [18], эзрином [19, 20], β САР73 [21], дистрофином и утrophином [22]. При сравнении взаимодействия ABPs с β - или γ -актином обнаружено преимущественное связывание γ -актина с аннексином V [23]. Эти данные позволили предположить, что в клетке, в которой одновременно экспрессируются разные изоформы актина, присутствие ABPs может приводить к образованию структур, селективно обогащенных одной из изоформ актина. После локальной трансляции изоформы актина могут быть распределены внутри различных цитоплазматических доменов изоформ-специфическими ABPs.

Во взрослом организме α -скелетный и α -сердечный актины, как правило, ограничены скелетными и сердечными мышцами, а экспрессия α - и γ -гладкомышечных актинов происходит, в основном, в гладких мышцах сосудов и внутренних органов. Цитоплазматические β - и γ -актины обнаружены во всех клетках, мышечных и неммышечных, в соотношениях, регулируемых во времени и пространстве [6].

Разные изоформы актина могут избирательно входить в состав разных структур актинового цитоскелета, таких как миофибриллы, стресс-фибриллы, ламеллиподии или филоподии [24]. Морфофункциональное разнообразие актино-

вых структур в немышечных клетках возможно благодаря специфическому взаимодействию изоформ актина, миозина и тропомиозина [25]. С помощью криоэлектронной микроскопии недавно была получена структура комплекса актомиозина-тропомиозина с высоким разрешением [26] для цитоплазматического γ -актина, немышечных миозина-2С и тропомиозина 3.1 человека.

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ИЗОФОРМ АКТИНА

Различия в экспрессии и распределении изоформ могут происходить либо на уровне генов (через промоторные элементы), и/или на уровне мРНК (через UTRs), и/или на уровне белка (через специфические взаимодействия с ABPs). мРНК изоформ актина различаются гораздо сильнее, чем кодируемые ими белки [24]. Во многих случаях 5'- и/или 3'-UTRs мРНК актиновых изоформ отличаются не только по последовательности, кодирующей белок. Эволюционная сохранность некоторых из изоформ-специфических UTRs означает, что они, по всей вероятности, обладают функциональной значимостью [27, 28]. Целый комплекс взаимодействующих между собой регуляторных элементов был обнаружен в промоторном районе актиновых генов. Отдельные сигнальные молекулы воздействуют на гены всех изоформ, но существуют и другие, специфичные для каждой изоформы актина. Такие элементы избирательно модулируют экспрессию изоформ актина: напрямую или через взаимодействие с другими регуляторными элементами. Наиболее интересная регуляция экспрессии происходит через индуцирующие экспрессию актина сывороточные респонсивные факторы (SRF, *serum response factor*) [29]. Все промоторные области актиновых генов содержат в своей последовательности несколько SRF-связывающих элементов, которые могут оказывать регуляторное действие на экспрессию изоформ актина [30]. G-актин может ингибировать экспрессию генов, связываясь с транскрипционными факторами MRTF-A (MAL) и MRTF-B. Полимеризация актина уменьшает цитоплазматический пул G-актина, вызывая высвобождение транскрипционных факторов, что приводит к последовательной экспрессии генов-мишеней [30].

Механизм внутриклеточного распределения изоформ актина может работать как на уровне белка, так и на уровне мРНК [31, 32]. Асимметричный сортинг транскрипта β -актина достигается транспортом вдоль микротрубочек и акти-

новых филаментов [33, 34]. Локализация мРНК позволяет клеткам пространственно регулировать трансляцию и, тем самым, создавать функционально разные компартменты. Известно, что мРНК β -актина специфически локализована на ведущем крае фибробластов [35, 36]. Локализация белка β -актина на ведущем крае фибробластов зависит от локализации его мРНК [37]. Взаимодействие мРНК β -актина с *zip*-код-связывающим белком (ZBP1, [38]) необходимо для ее локализации в ламеллиподии, что играет определяющую роль в клеточной полярности и движении [34, 39], особенно для неметастазирующих клеток.

Низкий уровень ZBP1 коррелирует с инвазией и метастазированием, как было показано для клеток рака молочной железы человека и крысы [40]. Более того, ZBP1 был экзогенно экспрессирован в крысиной линии метастазирующей аденокарциномы молочной железы (MTLn3), в которой эндогенный уровень ZBP1 низок и мРНК β -актина де-локализована. Оказалось, что заново синтезированный актин вносит незначительный вклад во фракцию мономерного актина на ведущем крае [41]. Методом трекинга одиночных мРНК β -актина было показано, что ZBP1 транспортирует мРНК β -актина в места фокальных контактов, где он задерживается на некоторое время, приводя к стабилизации фокальных контактов и регулируя направленность движения фибробластов [42].

В качестве дополнения к транскрипционному и трансляционному контролю конкуренция между изоформами за включение в специфические структуры и разное средство к ABPs может определять внутриклеточную локализацию изоформ актина. Так как распределение изоформ актина часто отличается от распределения соответствующих мРНК [43], изоформ-специфический сортинг мРНК скорее определяет сайты синтеза и сборки, чем локализацию актиновых изоформ в клетке [44].

Существует гипотеза регуляции сегрегации изоформ актина путем *N*-концевого аргинилирования. Обнаружено, что β - (но не γ -актин) в иммортализованных SV-40 фибробластах подвержен *N*-концевому аргинилированию [45]. По мнению авторов, это индуцировало образование «слабой» β -актиновой сети на ведущем крае клетки [46]. По результатам масс-спектроскопии предполагалось, что этот тип модификации случается в 20–40% β -актина. Позднее было показано, что аргинилирование может происходить на любом *N*-концевом остатке, включая не только актины, но и Agr3, филамин, спектрин, немышечный миозин 1 и талин [47]. Тем не менее, строго доказано, что созревание изоформ

актина стартует с *N*-концевого кислого АК остатка *N*-концевым ацелированием. Созревание молекулы актина важно для эффективного взаимодействия с АВРs, особенно, с миозином [48, 49].

Проверка активности рекомбинантной ацетилтрансферазы NAT6 человека [50] выявила специфическую активность данного фермента по отношению к пептидам, соответствующим *N*-концевой последовательности аминокислот разных изоформ актина млекопитающих. В результате нокаута *NAT6* в двух линиях клеток человека не происходило ацелирование первых аминокислотных остатков зрелого β - и γ -актина. Ацелирование этих двух изоформ актина полностью восстанавливалось при экзогенной экспрессии *NAT6*, а также после инкубации экстрактов *NAT6*-дефицитных клеток с низкими концентрациями рекомбинантного *NAT6*. Каталитическая субъединица другой *N*-ацетилтрансферазы, NatA (*NAA10*), которая ацелирует многие внутриклеточные белки, такой активностью не обладала или показывала гораздо меньшую активность в подобных экспериментах. Скелетный актин, экспрессируемый в *NAT6*-дефицитных клетках, не был ацелирован по *N*-концу, что говорит о необходимости *NAT6* и для ацелирования этой изоформы мышечного актина. Таким образом, показана необходимость *NAT6* для последнего этапа созревания актинов путем переноса ацетила на *N*-концевой аминокислотный остаток [50]. Предыдущие этапы созревания молекул актина осуществляются другими ферментами.

ФУНКЦИИ ИЗОФОРМ АКТИНА

Изоформы актина, в основном, тканеспецифичны. Их клеточные функции подтверждаются с помощью различных взаимодополняющих исследовательских подходов: 1) экспрессия изоформ актина в нормальных клетках и тканях в процессе развития организма и при различных патологических ситуациях; 2) мышечные модели (нокаутные и трансгенные), в которых изоформы были избирательно удалены, экспериментально восстановлены или гиперэкспрессированы; 3) структурные и функциональные дефекты; 4) эффекты ингибирования экспрессии или организации изоформ в клетках методом малых интерферирующих РНК или ингибирующими пептидами.

Важным этапом в выяснении специфических биологических ролей актиновых изоформ было описание их тканевого распределения и внутриклеточной локализации. Получение спе-

цифических антител к изоформам позволило существенно продвинуться в изучении распределения и функций изоформ.

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ АКТИНЫ: ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ

Цитоплазматические актины (β и γ) играют определяющие роли в таких ключевых процессах, как клеточная адгезия, миграция, поляризация и цитокинез. В большинстве немышечных клеток позвоночных около половины актинового пула присутствует в мономерном состоянии, что означает активную динамику полимеризации-деполимеризации. Немышечные клетки, такие как эпителиальные, экспрессируют только β - и γ -актины, в различных пропорциях [51]. β - и γ -Актины отличаются только по четырем аминокислотным остаткам в положении 1, 2, 3, и 9. По данным мутационных и нокаутных исследований на мышечных моделях специфические функции для α -мышечных изоформ очевидны [52, 53]. Данные генетических экспериментов с β - и γ -актинами неоднозначны, но скорее указывают на различия функций цитоплазматических актинов [52, 54–57].

Локализация белков β - и γ -актина в различных внутриклеточных компартментах была ранее описана [51, 54], но результаты были довольно противоречивы, вероятно, из-за вариабельности экспериментальных условий и методических подходов. Использование поликлональных антител к γ -актину, не распознающих β -актин, но реагирующих с гладкомышечными актинами, по-видимому, благодаря общей аминокислотной последовательности AcEEE на *N*-конце, усложняло интерпретацию результатов [51]. Мезенхимальные клетки в культуре, например, фибробласты, помимо цитоплазматических актинов экспрессируют α -гладкомышечный актин. Тщательно отобранные моноклональные антитела (mAbs), высокоспецифичные для γ -актина, т.е. не реагирующие с β -актином и гладкомышечными актинами, были использованы для изучения распределения цитоплазматических изоформ актина и функциональных исследований [58]. Несмотря на то, что mAbs к β -актину существовали ранее, отсутствие специфических mAb к γ -актину не давало возможности проводить сравнительное изучение распределения этих двух изоформ в клетках. Отсутствие окрашивания β -актина в стресс-фибриллах ошибочно характеризовало эти структуры как образованные из γ -актиновых филаментов. Даже с подходящими антителами окраска отсут-

ствовала, по-видимому, из-за недоступности эпитопа, так как для демаскировки *N*-концевой последовательности актина необходимы специфические условия фиксации [58, 59].

В основе способности клеток к делению, движению, генерации натяжения и сократимости и поддержанию формы лежат специализированные актин-содержащие структуры. С помощью высокоспецифичных моноклональных антител была исследована внутриклеточная локализация β и γ -цитоплазматических актинов в стабильно поляризованных клетках и на различных моделях индуцированных реорганизаций: в условиях распластывания, миграции, деления и сократимости. Результаты были получены с помощью одновременной специфической иммунодетекции β и γ -актинов в одной и той же клетке (рис. 1–4). Оказалось, что эти изоформы могут формировать разные актиновые структуры в цитоплазме мезенхимальных (рис. 1–3) и эпителиальных клеток (рис. 4) в состоянии покоя, а также при движении и делении [58]. Для сравнительного изучения цитоплазматических изоформ актина были протестированы разные линии и первичные культуры клеток животных и человека. Особое внимание было уделено линиям клеток нормального эпителия, так как в клетках этого типа экспрессируются только две изоформы актина, β и γ . Сегрегацию изоформ наблюдали во всех изученных типах нормаль-

ных немышечных клеток, что указывало на универсальность данного феномена (рис. 1, *a–в*; рис. 4, *a, б*).

Исследования функциональных ролей β и γ -актинов проводили с помощью метода РНК-интерференции для избирательного уменьшения экспрессии изоформ. В результате было показано, что каждая изоформа играет свою роль в организации клеточной морфологии, полярности и подвижности [58]. Метод РНК-интерференции также подтвердил сегрегацию изоформ актина в разные структуры актинового цитоскелета (рис. 3).

Данные о сравнительной структуре и белковой композиции кортикальных γ -актиновых сетей, а также β -актиновых пучков и контактных структур в нормальных и неопластически трансформированных клетках были получены на линиях эпителиальных клеток различного органического происхождения [58, 60, 61]. Анализ трехмерной взаимной организации β - и γ -актина в интерфазе и на разных стадиях митоза был проведен с использованием лазерной конфокальной микроскопии. Было показано, что β -актин преимущественно локализован в филоподиях, стресс-фибриллах, кольцевых пучках и адгезионных межклеточных контактах, что позволило предположить роль этой изоформы в клеточной адгезии и сокращении [58, 61]. γ -Актин организован по-разному в зависимости от клеточной

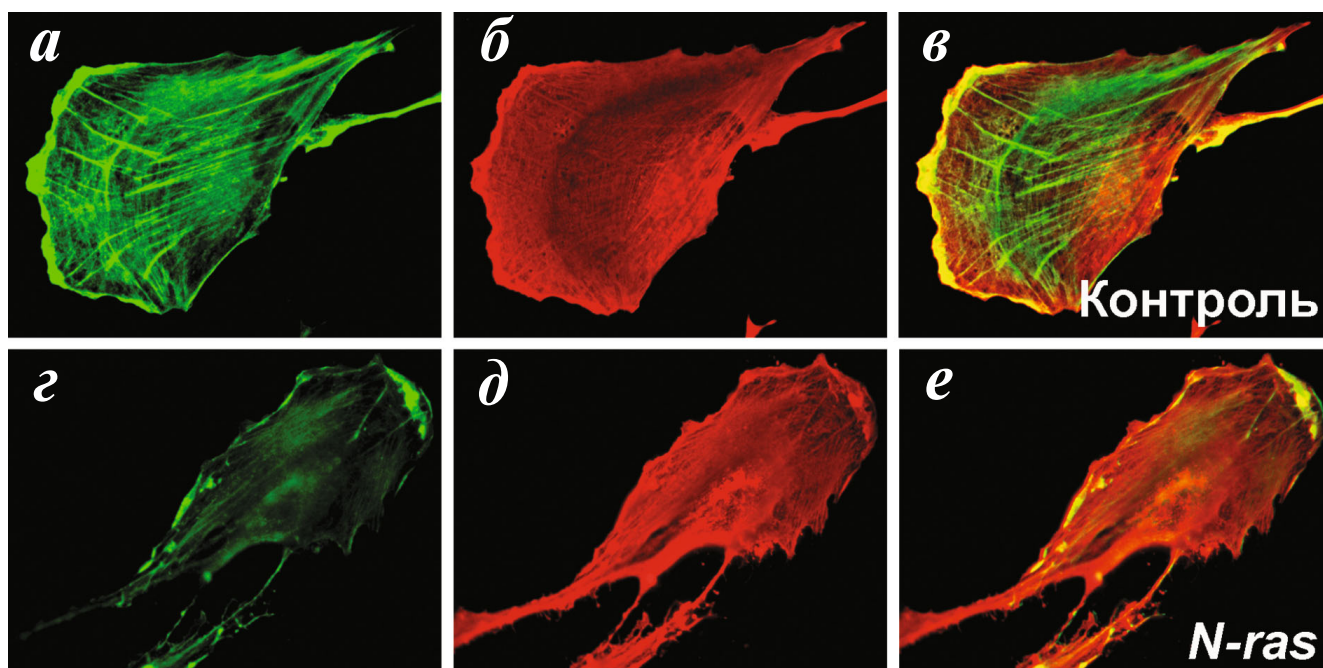


Рис. 1. Реорганизация актинового цитоскелета фибробластов при неопластической трансформации. Нормальный (*a–в*) и трансформированный онкогеном *N-RAS* (*г–е*) подкожные фибробласты человека, окрашивание антителами к β -актину (зеленый) и γ -актину (красный). В трансформированной клетке не выявляются β -актиновые стресс-фибриллы, но сохраняется сеть γ -актина

активности, но преимущественно — в виде кортикальных и ламеллярных сетей в движущихся клетках, что предполагает, что он играет важную роль в клеточной подвижности (рис. 2). Локализация β -актина в миозин II-зависимых сократимых пучках (стресс-фибриллах, кольцевых пучках) свидетельствует о роли этой изоформы в клеточной сократимости. Еще одним аргумен-

том в пользу роли β -актина в клеточной сократимости является четкая локализация этой изоформы в сократимом кольце при цитокинезе, в то время как γ -актин концентрируется, в основном, в субмембранном домене в течение всех митотических фаз. Данные об образовании большого количества двуядерных клеток в не-трансформированных эпителиальных β -актин-

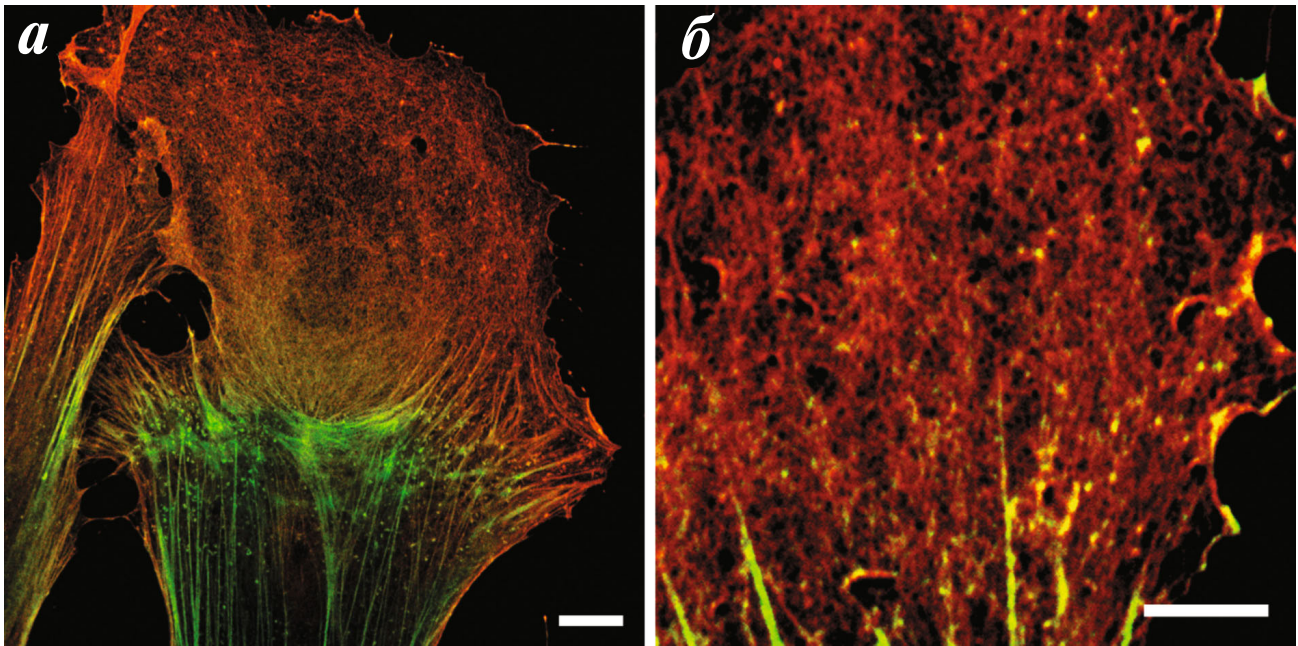


Рис. 2. Различия в распределении β - и γ -актина на ведущем крае клеток при движении в рану. Экспериментальная рана сделана методом удаления части монослоя культуры нормальных подкожных фибробластов человека. Через 3 ч после нанесения раны клетки были зафиксированы и окрашены антителами к β -актину (зеленый) и γ -актину (красный). Выявляются β -актиновые пучки (стресс-фибриллы), сеть γ -актина ярко выражена в протрузиях движущихся клеток. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Масштаб 10 мкм (а), 5 мкм (б)

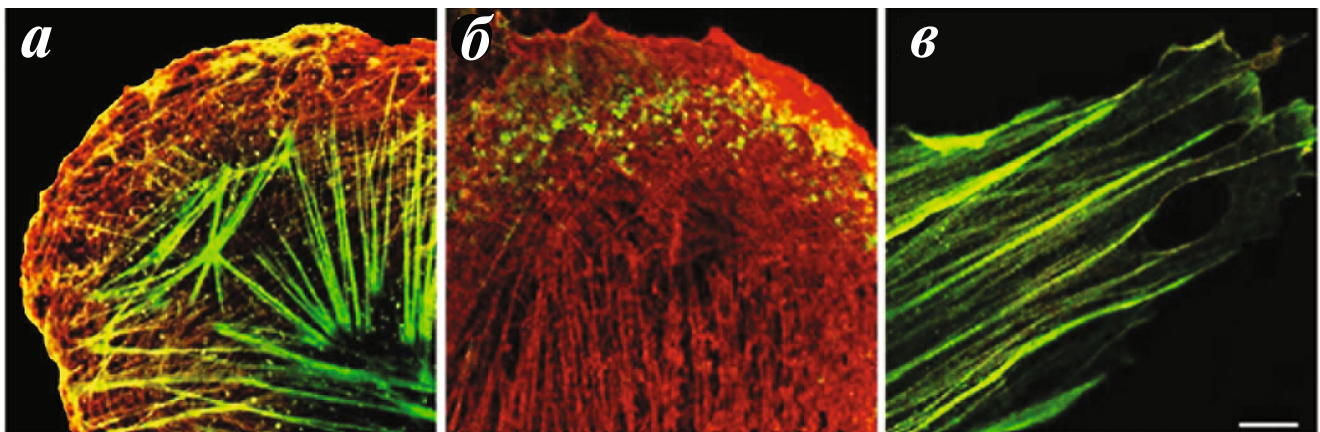


Рис. 3. Реорганизация актинового цитоскелета фибробласта при избирательном уменьшении экспрессии цитоплазматических изоформ актина. Фрагменты ведущего края клетки в контроле (а) и после уменьшения экспрессии β -актина (б) или γ -актина (в) в клетках подкожных фибробластов человека. Окрашивание антителами к β -актину (зеленый) и γ -актину (красный). При уменьшении экспрессии β -актина (б) в клетках не выявляются β -актиновые стресс-фибриллы, но сохраняется сеть γ -актина. При уменьшении экспрессии γ -актина (в) в клетках выявляются β -актиновые стресс-фибриллы. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Масштаб 5 мкм

дефицитных клетках полностью согласуется с участием β -актина в образовании сократимого кольца при клеточном делении.

Обе изоформы локализованы в апикальной части поляризованных эпителиальных клеток в

районе межклеточных контактов [58, 62], но регулируют разные адгезионные комплексы в эпителии: β -актин функционально связан с адгезионными контактами, а γ -актин — с плотными контактами [61]. Исследования организации и

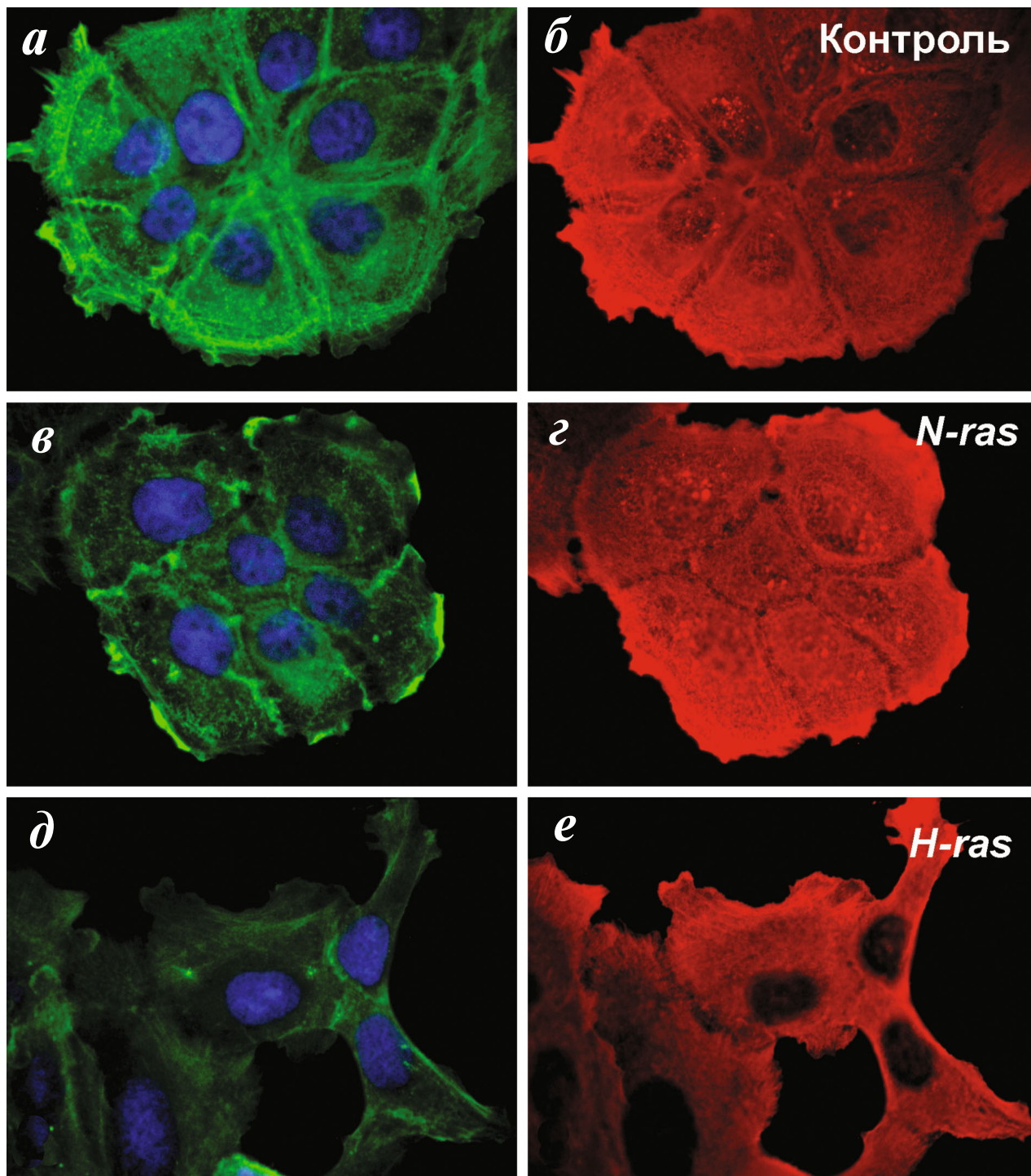


Рис. 4. Реорганизация цитоплазматических актинов в кератиноцитах при трансформации онкогенами *RAS*. Контрольные (*a*, *б*), *N-RAS* (*в*, *з*) и *H-RAS* (*д*, *е*) трансформированные клетки были окрашены антителами к β - (зеленый) и γ -актину (красный). DRAQ5 (ДНК, синий)

распределения изоформ актина в митозе [58, 63], мейозе и ранних эмбриональных делениях [64] выявили существенные морфофункциональные различия. Изменение функции γ -актина с помощью микроинъекции изоформ-специфических антител показало, что γ -актин выполняет основную и специфическую функцию в установлении и/или поддержании асимметрии в первом делении мейоза и поддержании кортикальной целостности. Возможно, различие в экспрессии γ -актина является одним из ранних маркеров, определяющих клеточную судьбу при эмбриональном развитии.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ АКТИНОВЫХ СТРУКТУР ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

В настоящее время известно об изменениях экспрессии специфических мышечных и немускульных изоформ актина при различных патологиях человека [52, 57].

При опухолевой трансформации происходит реорганизация актинового цитоскелета, ведущая к изменению клеточной подвижности, инвазии и метастазированию. Отмечена корреляция между исчезновением стресс-фибрилл и повышением миграционной активности или метастатического потенциала опухолевых клеток [65, 66]. Исчезновение α -гладкомышечного актина происходит при спонтанной, вирусной и канцерогенной трансформации [67–69]. Мутации в гене *ACTB* β -актина вызывают неопластическую трансформацию фибробластов человека [70, 71], а также злокачественную прогрессию мышшиной меланомы [72]. Подвижность фибробластов, лишенных β -актина или, особенно, γ -актина, отличается от подвижности их нормальных предшественников, что указывает на разные роли изоформ актина в движении клеток [58]. Лазерная конфокальная микроскопия выявила колокализацию β - и γ -актина в ламеллиподии, но обе изоформы присутствуют в ламелле фибробластов: β -актин локализован в пучках микрофиламентов, концы которых соединены с фокальными контактами [58], а γ -актин образует сеть кортикального актина. В нормальных фибробластах мРНК β -актина концентрируется во фронтальной части ламеллы, но заново синтезированный актин вносит незначительный вклад во фракцию мономерного актина на ведущем крае клетки [41]. Методом трекинга одиночных мРНК β -актина было показано, что транспортировка этих мРНК в места фокальных контактов приводит к стабилизации контактных структур [42].

Показано, что локализация мРНК β -актина на ведущем крае фибробластов, эндотелиальных клеток и миобластов связана с направленным движением нормальных клеток, а делокализация — с потерей стабильной клеточной поляризации и направленного движения [41]. Взаимодействие ZBP1, необходимое для локализации мРНК β -актина на ведущем крае фибробластов, вызывает стабильный поляризованный фенотип у опухолевых клеток, но редуцирует их хемотактически-зависимую подвижность, инвазивность и метастатический потенциал [73]. Частичная супрессия γ -актина в клетках SH-EP нейробластомы методом РНК-интерференции значительно угнетала миграцию, а также снижала полярность и скорость движения одиночных клеток [74]. Недавно было показано, что ген γ -актина (*ACTG1*) отвечает за усиление пролиферации и миграции клеток рака кожи [75].

Генетические эксперименты выявили угнетение миграционного потенциала мышшиных эмбриональных фибробластов с выключенным геном *ACTB*, но причиной таких изменений была компенсаторная экспрессия α -гладкомышечного актина [76].

Функциональные роли цитоплазматических актинов были также определены при исследовании регуляции β - и γ -актинов в нормальных и опухолевых клетках. При неопластической трансформации происходит реорганизация акто-миозиновой системы с изменением специфической изоформы актина — β -актина (рис. 1, 4) [58, 60, 62, 77], что приводит к повышению клеточной подвижности и инвазии [78–81]. Иммуно-морфологические исследования клинического материала подтверждают данные, полученные на клеточных культурах [60, 62, 82].

Фенотипическая нормализация трансформированных фибробластов, а также опухолевых клеток мезенхимального и эпителиального происхождения под действием митохондриально-направленных антиоксидантов приводит к восстановлению системы пучков β -актина и сопряженных с ними фокальных контактов у фибробластов и адгезионных межклеточных контактов у эпителиальных клеток [77, 83, 84].

Уменьшение экспрессии цитоплазматических изоформ актина с помощью РНК-интерференции, а также экзогенная экспрессия β - и γ -актина в опухолевых клетках выявили функциональную разницу между изоформами. Индуцированные модуляции экспрессии β - или γ -актина вызывали различные изменения морфологии, подвижности, пролиферации, инвазивных и опухолеродных свойств изучаемых культур. Была показана роль β -актина в поддержании нормального фенотипа и противоположная

роль γ -актина в усилении неопластических свойств клеток карцином легкого, кишки и молочной железы [85, 86]. Положительная взаимозависимость экспрессии γ -актина и активации ERK1/2, наряду с преобладанием этой изоформы во всех исследованных опухолевых образцах, указывает на универсальный характер изменений немышечных актинов при развитии некоторых часто встречающихся опухолей. По-видимому, прямое или опосредованное взаимодействие γ -актина с ERK1/2 важно и при изменении характеристик клеточного цикла у клеток карцином [87]. В нормальных фибробластах и эпителиальных клетках происходит сегрегация цитоплазматических изоформ актина, наиболее ярко выраженная при реорганизациях актинового цитоскелета. В нормальных немышечных клетках β - и γ -актины образуют различные структуры (пучки и кортикальную сеть микрофиламентов соответственно), и существуют функциональные различия между цитоплазматическими изоформами актина. Показана связь неопластической трансформации клетки с реорганизациями изоформ актина и модуляциями в их экспрессии. На культивируемых клетках, а также тканевых срезах, выявлено нарушение системы β -актиновых пучков при сохранении кортикальной сети γ -актина при неопластической трансформации. С помощью РНК-интер-

ференции и экзогенного увеличения экспрессии продемонстрировано существование функционально разных актиновых систем в клетке. Преобладание γ -актина приводит к ускоренной пролиферации и инвазии опухолевых клеток, а увеличение экспрессии β -актина, напротив, супрессирует эти свойства.

Таким образом, морфофункциональные исследования изоформ актина выявили качественно новые закономерности организации актинового цитоскелета в нормальных и неопластически трансформированных клетках. Изучение изменений соотношения экспрессии изоформ актина, а также тонких изменений структуры и локализации изоформ может быть удобным экспериментальным подходом при исследовании новых методов диагностики [88], мониторинга и лечения различных заболеваний человека и животных.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (14-15-00467).

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований, где в качестве моделей были использованы люди или животные.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Pollard, T.D., and Cooper, J.A. (2009) Actin, a central player in cell shape and movement, *Science*, **326**, 1208–1212, doi: 10.1126/science.1175862.
- Vandekerckhove, J., and Weber, K. (1978) At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide, *J. Mol. Biol.*, **126**, 783–802, doi: 10.1016/0022-2836(78)90020-7.
- Kabsch, W., and Vandekerckhove, J. (1992) Structure and function of actin, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **21**, 49–76, doi: 10.1146/annurev.bb.21.060192.000405.
- Gunning, P., Ponte, P., Kedes, L., Eddy, R., and Shows, T. (1984) Chromosomal location of the coexpressed human skeletal and cardiac actin genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 1813–1817, doi: 10.1073/pnas.81.6.1813.
- Hightower, R.C., and Meagher, R.B. (1986) The molecular evolution of actin, *Genetics*, **114**, 315–332.
- Garrels, J.I., and Gibson, W. (1976) Identification and characterization of multiple forms of actin, *Cell*, **9**, 793–805, doi: 10.1016/0092-8674(76)90142-2.
- Rubenstein, P.A. (1990) The functional importance of multiple actin isoforms, *Bioessays*, **12**, 309–315, doi: 10.1002/bies.950120702.
- Schutt, C.E., Myslik, J.C., Rozycki, M.D., Goonesekere, N.C., and Lindberg, U. (1993) The structure of crystalline profilin-beta-actin, *Nature*, **365**, 810–816, doi: 10.1038/365810a0.
- Rubenstein, P.A., and Martin, D.J. (1983) NH₂-terminal processing of actin in mouse L-cells *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, **258**, 3961–3966.
- Drazic, A., Aksnes, H., Marie, M., Boczkowska, M., Varland, S., Timmerman, E., Foyn, H., Glomnes, N., Rebowski, G., Impens, F., Gevaert, K., Dominguez, R., and Arnesen, T. (2018) NAA80 is actin's N-terminal acetyltransferase and regulates cytoskeleton assembly and cell motility, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 4399–4404, doi: 10.1073/pnas.1718336115.
- Goris, M., Magin, R.S., Foyn, H., Myklebust, L.M., Varland, S., Ree, R., Drazic, A., Bhambra, P., Stove, S.I., Baumann, M., Haug, B.E., Marmorstein, R., and Arnesen, T. (2018) Structural determinants and cellular environment define processed actin as the sole substrate of the N-terminal acetyltransferase NAA80, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**, 4405–4410, doi: 10.1073/pnas.1719251115.
- Bergeron, S.E., Zhu, M., Thiem, S.M., Friderici, K.H., and Rubenstein, P.A. (2010) Ion-dependent polymerization differences between mammalian beta- and gamma-muscle actin isoforms, *J. Biol. Chem.*, **285**, 16087–16095, doi: 10.1074/jbc.M110.110130.
- Sheterline, P., Clayton, J., and Sparrow, J. (1995) Actin, *Protein Profile*, **2**, 1–103.
- Muller, M., Diensthuber, R.P., Chizhov, I., Claus, P., Heissler, S.M., Preller, M., Taft, M.H., and Manstein, D.J. (2013) Distinct functional interactions between actin isoforms and nonsarcomeric myosins, *PLoS One*, **8**, e70636, doi: 10.1371/journal.pone.0070636.
- Larsson, H., and Lindberg, U. (1988) The effect of divalent cations on the interaction between calf spleen profilin and

- different actins, *Biochim. Biophys. Acta*, **953**, 95–105, doi: 10.1016/0167-4838(88)90013-1.
16. Ohshima, S., Abe, H., and Obinata, T. (1989) Isolation of profilin from embryonic chicken skeletal muscle and evaluation of its interaction with different actin isoforms, *J. Biochem.*, **5**, 855–857.
 17. Weber, A., Nachmias, V.T., Pennise, C.R., Pring, M., and Safer, D. (1992) Interaction of thymosin beta 4 with muscle and platelet actin: implications for actin sequestration in resting platelets, *Biochemistry*, **31**, 6179–6185, doi: 10.1021/bi00142a002.
 18. Namba, Y., Ito, M., Zu, Y., Shigesada, K., and Maruyama, K. (1992) Human T cell L-plastin bundles actin filaments in a calcium-dependent manner, *J. Biochem.*, **112**, 503–507.
 19. Shuster, C.B., and Herman, I.M. (1995) Indirect association of ezrin with F-actin: isoform specificity and calcium sensitivity, *J. Cell Biol.*, **128**, 837–848, doi: 10.1083/jcb.128.5.837.
 20. Yao, X., Cheng, L., and Forte, J.G. (1996) Biochemical characterization of ezrin-actin interaction, *J. Biol. Chem.*, **271**, 7224–7229, doi: 10.1074/jbc.271.12.7224.
 21. Shuster, C.B., Lin, A.Y., Nayak, R., and Herman, I.M. (1996) Beta cap73: a novel beta actin-specific binding protein, *Cell. Motil. Cytoskeleton*, **35**, 175–187, doi: 10.1002/(SICI)1097-0169(1996)35:3<175::AID-CM1>3.0.CO;2-8.
 22. Winder, S.J., Hemmings, L., Maciver, S.K., Bolton, S.J., Tinsley, J.M., Davies, K.E., Critchley, D.R., and Kendrick-Jones, J. (1995) Utrophin actin binding domain: analysis of actin binding and cellular targeting, *J. Cell Sci.*, 63–71.
 23. Tzima, E., Trotter, P.J., Orchard, M.A., and Walker, J.H. (2000) Annexin V relocates to the platelet cytoskeleton upon activation and binds to a specific isoform of actin, *Eur. J. Biochem.*, **267**, 4720–4730, doi: 10.1006/excr.1999.4553.
 24. Gunning, P., Weinberger, R., Jeffrey, P., and Hardeman, E. (1998) Isoform sorting and the creation of intracellular compartments, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **14**, 339–372, doi: 10.1146/annurev.cellbio.14.1.339.
 25. Manstein, D.J., and Mulvihill, D.P. (2016) Tropomyosin-mediated regulation of cytoplasmic myosins, *Traffic*, **17**, 872–877, doi: 10.1111/tra.12399.
 26. Von der Ecken, J., Heissler, S.M., Pathan-Chhatbar, S., Manstein, D.J., Raunser, S., and Cryo, E.M. (2016) Structure of a human cytoplasmic actomyosin complex at near-atomic resolution, *Nature*, **534**, 724–728, doi: 10.1038/nature18295.
 27. Gunning, P., Mohun, T., Ng, S.Y., Ponte, P., and Kedes, L. (1984) Evolution of the human sarcomeric-actin genes: evidence for units of selection within the 3'-untranslated regions of the mRNAs, *J. Mol. Evol.*, **20**, 202–214, doi: 10.1007/BF02104727.
 28. Yaffe, D., Nudel, U., Mayer, Y., and Neuman, S. (1985) Highly conserved sequences in the 3' untranslated region of mRNAs coding for homologous proteins in distantly related species, *Nucleic Acids Res.*, **13**, 3723–3737, doi: 10.1093/nar/13.10.3723.
 29. Treisman, R., Alberts, A.S., and Sahai, E. (1998) Regulation of SRF activity by Rho family GTPases, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **63**, 643–651, doi: 10.1101/sqb.1998.63.643.
 30. Posern, G., and Treisman, R. (2006) Actin' together: serum response factor, its cofactors and the link to signal transduction, *Trends Cell Biol.*, **16**: 588–596, doi: 10.1016/j.tcb.2006.09.008.
 31. Singer, R.H. (1992) The cytoskeleton and mRNA localization, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **4**, 15–19, doi: 10.1016/0955-0674(92)90053-F.
 32. Gunning, P., Hardeman, E., Wade, R., Ponte, P., Bains, W., Blau, H.M., and Kedes, L. (1987) Differential patterns of transcript accumulation during human myogenesis, *Mol. Cell. Biol.*, **197**, 4100–4114, doi: 10.1128/MCB.7.11.4100.
 33. Latham, V.M., Kislauskis, E.H., Singer, R.H., and Ross, A.F. (1994) Beta-actin mRNA localization is regulated by signal transduction mechanisms, *J. Cell Biol.*, **126**, 1211–1219, doi: 10.1083/jcb.126.5.1211.
 34. Oleynikov, Y., and Singer, R.H. (2003) Real-time visualization of ZBP1 association with beta-actin mRNA during transcription and localization, *Curr. Biol.*, **13**, 199–207, doi: 10.1016/S0960-9822(03)00044-7.
 35. Kislauskis, E.H., Li, Z., Singer, R.H., and Taneja, K.L. (1993) Isoform-specific 3'-untranslated sequences sort alpha-cardiac and beta-cytoplasmic actin messenger RNAs to different cytoplasmic compartments, *J. Cell Biol.*, **123**, 165–172, doi: 10.1083/jcb.123.1.165.
 36. Lawrence, J.B., and Singer, R.H. (1986) Intracellular localization of messenger RNAs for cytoskeletal proteins, *Cell*, **45**, 407–415, doi: 10.1016/0092-8674(86)90326-0.
 37. Shestakova, E.A., and Singer, R.H., Condeelis, J. (2001) The physiological significance of beta-actin mRNA localization in determining cell polarity and directional motility, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7045–7050, doi: 10.1073/pnas.121146098.
 38. Ross, A.F., Oleynikov, Y., Kislauskis, E.H., Taneja, K.L., and Singer, R.H. (1997) Characterization of a beta-actin mRNA zipcode-binding protein, *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 2158–2165, doi: 10.1128/MCB.17.4.2158.
 39. Kislauskis, E.H., Zhu, X., and Singer, R.H. (1997) Beta-actin messenger RNA localization and protein synthesis augment cell motility, *J. Cell Biol.*, **136**, 1263–1270, doi: 10.1083/jcb.136.6.1263.
 40. Wang, W., Goswami, S., Lapidus, K., Wells, A.L., Wyckoff, J.B., Sahai, E., Singer, R.H., Segall, J.E., and Condeelis, J.S. (2004) Identification and testing of a gene expression signature of invasive, carcinoma cells within primary mammary tumors, *Cancer Res.*, **64**, 8585–8594, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1136.
 41. Condeelis, J., and Singer, R.H. (2005) How and why does beta-actin mRNA target? *Biol. Cell*, **97**, 97–110, doi: 10.1042/BC20040063.
 42. Katz, Z.B., Wells, A.L., Park, H.Y., Wu, B., Shenoy, S.M., and Singer, R.H. (2012) β -Actin mRNA compartmentalization enhances focal adhesion stability and directs cell migration, *Genes Dev.*, **26**, 1885–1890, doi: 10.1101/gad.190413.112.
 43. Hill, M.A., and Gunning, P. (1993) Beta and gamma actin mRNAs are differentially located within myoblasts, *J. Cell Biol.*, **122**, 825–832, doi: 10.1083/jcb.122.4.825.
 44. Hannan, A.J., Gunning, P., Jeffrey, P.L., and Weinberger, R.P. (1998) Structural compartments within neurons: developmentally regulated organization of microfilament isoform mRNA and protein, *Mol. Cell. Neurosci.*, **11**, 289–304, doi: 10.1006/mcne.1998.0693.
 45. Karakozova, M., Kozak, M., Wong, C.C.L., Bailey, A.O., Yates, J.R., Mogilner, A., Zebroski, H., and Kashina, A. (2006) Arginylation of beta-actin regulates actin cytoskeleton and cell motility, *Science*, **313**, 192–196, doi: 10.1126/science.1129344.
 46. Kashina, A.S. (2006) Differential arginylation of actin isoforms: the mystery of the actin N-terminus, *Trends Cell Biol.*, **16**, 610–615, doi: 10.1016/j.tcb.2006.10.001.
 47. Wong, C.C.L., Xu, T., Rai, R., Bailey, A.O., Yates, J.R., Wolf, Y.I., Zebroski, H., and Kashina, A. (2007) Global analysis of posttranslational protein arginylation, *PLoS Biol.*, **5**, e258, doi: 10.1371/journal.pbio.0050258.
 48. Behrmann, E., Muller, M., Penczek, P.A., Mannherz, H.G., Manstein, D.J., and Raunser, S. (2012) Structure of the rigor actin-tropomyosin-myosin complex, *Cell*, **150**, 327–338, doi: 10.1016/j.cell.2012.05.037.

49. Abe, A., Saeki, K., Yasunaga, T., and Wakabayashi, T. (2000) Acetylation at the *N*-terminus of actin strengthens weak interaction between actin and myosin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **268**, 14–19, doi: 10.1006/bbrc.1999.2069.
50. Wiame, E., Tahay, G., Tyteca, D., Vertommen, D., Stroobant, V., Bommer, G.T., and van Schaftingen, E. (2018) NAT6 acetylates the *N*-terminus of different forms of actin, *FEBS J.*, **285**, 3299–3316, doi: 10.1111/febs.14605.
51. Otey, C.A., Kalnoski, M.H., and Bulinski, J.C. (1987) Identification and quantification of actin isoforms in vertebrate cells and tissues, *J. Cell. Biochem.*, **34**, 113–124, doi: 10.1002/jcb.240340205.
52. Chaponnier, C., and Gabbiani, G. (2004) Pathological situations characterized by altered actin isoform expression, *J. Pathol.*, **204**, 386–395, doi: 10.1002/path.1635.
53. Ampe, C., and van Troys, M. (2017) Mammalian actins: isoform-specific functions and diseases, *Handb. Exp. Pharmacol.*, **235**, 1–37, doi: 10.1007/164_2016_43.
54. Perrin, B.J., and Ervasti, J.M. (2010) The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskeleton (Hoboken)*, **67**, 630–634, doi: 10.1002/cm.20475.
55. Belyantseva, I.A., Perrin, B.J., Sonnemann, K.J., Zhu, M., Stepanyan, R., McGee, J., Frolenkov, G.I., Walsh, E.J., Friderici, K.H., Friedman, T.B., and Ervasti, J.M. (2009) Gamma-actin is required for cytoskeletal maintenance but not development, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 9703–9708, doi: 10.1073/pnas.0900221106.
56. Bunnell, T.M., and Ervasti, J.M. (2010) Delayed embryonic development and impaired cell growth and survival in Actg1 null mice, *Cytoskeleton (Hoboken)*, **67**, 564–572, doi: 10.1002/cm.20467.
57. Latham, S.L., Ehmke, N., Reinke, P.Y.A., Taft, M.H., Eicke, D., Reindl, T., Stenzel, W., Lyons, M.J., Friez, M.J., Lee, J.A., Hecker, R., Fruhwald, M.C., Becker, K., et al. (2018) Variants in exons 5 and 6 of ACTB cause syndromic thrombocytopenia, *Nat. Commun.*, **9**, 4250, doi: 10.1038/s41467-018-06713-0.
58. Dugina, V., Zwaenepoel, I., Gabbiani, G., Clement, S., Chaponnier, C., Clement, S., and Chaponnier, C. (2009) Beta and gamma-cytoplasmic actins display distinct distribution and functional diversity, *J. Cell Sci.*, **122**, 2980–2988, doi: 10.1242/jcs.041970.
59. Franke, W.W., Stehr, S., Stumpp, S., Kuhn, C., Heid, H., Rackwitz, H.R., Schnolzer, M., Baumann, R., Holzhausen, H.J., and Moll, R. (1996) Specific immunohistochemical detection of cardiac/fetal alpha-actin in human cardiomyocytes and regenerating skeletal muscle cells. *Differentiation*, **60**, 245–250, doi: 10.1046/j.1432-0436.1996.6040245.x.
60. Shagieva, G.S., Domnina, L.V., Chipysheva, T.A., Ermilova, V.D., Chaponnier, C., and Dugina, V.B. (2012) Actin isoforms and reorganization of adhesion junctions in epithelial-to-mesenchymal transition of cervical carcinoma cells, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 1266–1276, doi: 10.1134/S0006297912110053.
61. Baranwal, S., Naydenov, N.G., Harris, G., Dugina, V., Morgan, K.G., Chaponnier, C., and Ivanov, A.I. (2012) Nonredundant roles of cytoplasmic β - and γ -actin isoforms in regulation of epithelial apical junctions, *Mol. Biol. Cell.*, **23**, 3542–3553, doi: 10.1091/mbc.E12-02-0162.
62. Dugina, V.B., Chipysheva, T.A., Ermilova, V.D., Gabbiani, D., Chaponnier, C., and Vasil'ev, Iu.M. (2008) Distribution of actin isoforms in normal, dysplastic, and tumorous human breast cells, *Arkh Patol.*, **70**, 28–31.
63. Dugina, V., Arnoldi, R., Janmey, P.A., and Chaponnier, C. (2012) Actin, in *The cytoskeleton and human disease* (Cavallaris, M., ed.), Humana Press–Springer, 3–28, doi: 10.1007/978-1-61779-788-0.
64. Brockmann, C., Huarte, J., Dugina, V., Challet, L., Rey, E., Conne, B., Swetloff, A., Nef, S., Chaponnier, C., and Vassalli, J.-D. (2011) Beta- and gamma-cytoplasmic actins are required for meiosis in mouse oocytes, *Biol. Reprod.*, **85**, 1025–1039, doi: 10.1095/biolreprod.111.091736.
65. Pokorna, E., Jordan, P.W., O'Neill, C.H., Zicha, D., Gilbert, C.S., and Vesely, P. (1994) Actin cytoskeleton and motility in rat sarcoma cell populations with different metastatic potential, *Cell Motil. Cytoskeleton*, **28**, 25–33, doi: 10.1002/cm.970280103.
66. Sahai, E., and Marshall, C.J. (2003) Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis, *Nat. Cell Biol.*, **5**, 711–719, doi: 10.1038/ncb1019.
67. Leavitt, J., Gunning, P., Kedes, L., and Jariwalla, R. (1985) Smooth muscle alpha-actin is a transformation-sensitive marker for mouse NIH 3T3 and Rat-2 cells, *Nature*, **316**, 840–842.
68. Okamoto-Inoue, M., Taniguchi, S., Sadano, H., Kawano, T., Kimura, G., Gabbiani, G., and Baba, T. (1990) Alteration in expression of smooth muscle alpha-actin associated with transformation of rat 3Y1 cells, *J. Cell Sci.*, **96**, 631–637.
69. Witt, D.P., Brown, D.J., and Gordon, J.A. (1983) Transformation-sensitive isoactin in passaged chick embryo fibroblasts transformed by *Rous sarcoma virus*, *J. Cell Biol.*, **96**, 1766–1771, doi: 10.1083/jcb.96.6.1766.
70. Vandekerckhove, J., Leavitt, J., Kakunaga, T., and Weber, K. (1980) Coexpression of a mutant beta-actin and the two normal beta- and gamma-cytoplasmic actins in a stably transformed human cell line, *Cell*, **22**, 893–899, doi: 10.1016/0092-8674(80)90566-8.
71. Leavitt, J., Ng, S.Y., Aebi, U., Varma, M., Latter, G., Burbeck, S., Kedes, L., and Gunning, P. (1987) Expression of transfected mutant beta-actin genes: alterations of cell morphology and evidence for autoregulation in actin pools, *Mol. Cell. Biol.*, **7**, 2457–2466, doi: 10.1128/MCB.7.7.2457.
72. Sadano, H., Taniguchi, S., Kakunaga, T., and Baba, T. (1988) cDNA cloning and sequence of a new type of actin in mouse B16 melanoma, *J. Biol. Chem.*, **263**, 15868–15871.
73. Lapidus, K., Wyckoff, J., Mouneimne, G., Lorenz, M., Soon, L., Condeelis, J.S., and Singer, R.H. (2007) ZBP1 enhances cell polarity and reduces chemotaxis, *J. Cell Sci.*, **120**, 3173–3178, doi: 10.1242/jcs.000638.
74. Shum, M.S.Y., Pasquier, E., Po'uha, S.T., O'Neill, G.M., Chaponnier, C., and Gunning, P.W., and Kavallaris, M. (2011) γ -Actin regulates cell migration and modulates the ROCK signaling pathway, *FASEB J.*, **25**, 4423–4433, doi: 10.1096/fj.11-185447.
75. Dong, X., Han, Y., Sun, Z., and Xu, J. (2018) Actin Gamma I, a new skin cancer pathogenic gene, identified by the biological feature-based classification, *J. Cell. Biochem.*, **119**, 1406–1419, doi: 10.1002/jcb.26301.
76. Tondeleir, D., Lambrechts, A., Muller, M., Jonckheere, V., Doll, T., Vandamme, D., Bakkali, K., Waterschoot, D., Lemaistre, M., Debeir, O., Decaestecker, C., Hinz, B., Staes, A., Timmerman, E., Colaert, N., Gevaert, K., Vandekerckhove, J., and Ampe, C. (2012) Cells lacking β -actin are genetically reprogrammed and maintain conditional migratory capacity, *Mol. Cell. Proteomics*, **11**, 255–271, doi: 10.1074/mcp.M111.015099.
77. Shagieva, G., Domnina, L., Makarevich, O., Chernyak, B., Skulachev, V., and Dugina, V. (2017) Depletion of mitochondrial reactive oxygen species downregulates epithelial-to-mesenchymal transition in cervical cancer cells, *Oncotarget*, **8**, 4901–4913, doi: 10.18632/oncotarget.13612.
78. Pawlak, G., and Helfman, D.M. (2001) Cytoskeletal changes in cell transformation and tumorigenesis, *Curr.*

- Opin. Genet. Dev.*, **11**, 41–47, doi: 10.1016/S0959-437X(00)00154-4.
79. Pollack, R., Osborn, M., and Weber, K. (1975) Patterns of organization of actin and myosin in normal and transformed cultured cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 994–998.
 80. Rubin, R.W., Warren, R.H., Lukeman, D.S., and Clements, E. (1978) Actin content and organization in normal and transformed cells in culture, *J. Cell Biol.*, **78**, 28–35.
 81. Verderame, M., Alcorta, D., Egnor, M., Smith, K., and Pollack, R. (1980) Cytoskeletal F-actin patterns quantitated with fluorescein isothiocyanate-phalloidin in normal and transformed cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 6624–6628, doi: 10.1073/pnas.77.11.6624.
 82. Dugina, V.B., Ermilova, V.D., Chemeris, G.Iu., and Chipysheva, T.A. (2010) Actins and keratins in the diagnosis of human basal-like breast cancer, *Arkh. Patol.*, **72**, 12–15.
 83. Agapova, L.S., Chernyak, B.V., Domnina, L.V., Dugina, V.B., Efimenko, A.Y., Fetisova, E.K., Ivanova, O.Y., Kalinina, N.I., Khromova, N.V., Kopnin, B.P., Kopnin, P.B., Korotetskaya, M.V., Lichinitser, M.R., Lukashev, A.L., Pletjushkina, O.Y., Popova, E.N., Skulachev, M.V., Shagieva, G.S., Stepanova, E.V., Titova, E.V., Tkachuk, V.A., Vasiliev, J.M., and Skulachev, V.P. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 3. Inhibitory effect of SkQ1 on tumor development from p53-deficient cells, *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1300–1316, doi: 10.1134/S0006297908120031.
 84. Titova, E., Shagieva, G., Ivanova, O., Domnina, L., Domninskaya, M., Strelkova, O., Khromova, N., Kopnin, P., Chernyak, B., Skulachev, V., and Dugina, V. (2018) Mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 suppresses fibrosarcoma and rhabdomyosarcoma tumour cell growth, *Cell Cycle*, **17**, 1797–1811, doi: 10.1080/15384101.2018.1496748.
 85. Dugina, V., Khromova, N., Rybko, V., Blizniukov, O., Shagieva, G., Chaponnier, C., Kopnin, B., and Kopnin, P. (2015) Tumor promotion by γ and suppression by β non-muscle actin isoforms, *Oncotarget*, **6**, 14556–14571, doi: 10.18632/oncotarget.3989.
 86. Dugina, V., Alieva, I., Khromova, N., Kireev, I., Gunning, P.W., and Kopnin, P. (2016) Interaction of microtubules with the actin cytoskeleton via cross-talk of EB1-containing +TIPs and γ -actin in epithelial cells, *Oncotarget*, **7**, 72699–72715, doi: 10.18632/oncotarget.12236.
 87. Dugina, V., Shagieva, G., Khromova, N., and Kopnin, P. (2018) Divergent impact of actin isoforms on cell cycle regulation, *Cell Cycle*, **17**, 2610–2621, doi: 10.1080/15384101.2018.1553337.
 88. Novikova, M.V., Rybko, V.A., Kochatkov, A.V., Khromova, N.V., Bogomazova, S.Y., Dugina, V.B., Lyadov, V.K., and Kopnin, P.B. (2017) A change in the expression of membrane-associated proteins and cytoplasmic actin isoforms in the progression of human colon tumors, *Arkh. Patol.*, **79**, 15–21, doi: 10.17116/patol201779215-21.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL IMPORTANCE OF ACTIN ISOFORMS IN NORMAL AND NEOPLASTIC CELLS IN MAMMALS

V. B. Dugina¹, G. S. Shagieva¹, and P. B. Kopnin^{2*}

¹ *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov
Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

² *Institute of Carcinogenesis, Blokhin National Medical Research
Centre of Oncology, Public Health Ministry of Russian Federation,
115478 Moscow, Russia; E-mail: pbkopnin@mail.ru*

Received November 15, 2018

Revised February 12, 2019

Accepted February 13, 2019

Actin plays an important role in key cellular processes, such as adhesion, muscular and non-muscular contractility, migration, polarization, mitosis and meiosis. This review is devoted to the study of the functions of actin isoforms associated with the motility and division of normal and tumor cells, adhesion structures, as well as changes in their expression and structural organization. The understanding of their specific underlying mechanisms would be of major relevance not only for fundamental research but also for clinical applications, since modulations of actin isoforms are directly or indirectly correlated with severe pathologies. Selective changes in the expression of β - or γ -cytoplasmic actin enabled identification of functional differences between β - and γ -actin, i.e., the predominant role of β -actin in contraction and intercellular adhesion and that of γ -actin in cell plasticity and motility. Similar data were obtained in different experimental systems on neoplastic cell cultures of epithelial and mesenchymal origin, as well as in the immunomorphological comparison of sections of normal and pathological human tissues. The reorganization of the components of actin cytoskeleton and of cell–cell contacts is an important step in the changing proliferative characteristics and the acquisition of invasiveness by epithelial tumors.

Keywords: cytoplasmic actin isoforms, β -actin, γ -actin, neoplastic transformation, tumor cells, cytoskeleton