

# Изоформы актина и неопластическая трансформация

В.Б. Дугина<sup>1</sup>, Г.С. Шагиева<sup>1</sup>, Н.В. Хромова<sup>2</sup>, П.Б. Копнин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119992 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Павел Борисович Копнин [pbkopnin@mail.ru](mailto:pbkopnin@mail.ru)

Цитоплазматические изоформы актина ( $\beta$  и  $\gamma$ ) играют важную роль в ключевых клеточных процессах, таких как адгезия, миграция, поляризация и цитокинез. Понимание специфических механизмов, лежащих в основе этих процессов, является связующим звеном между фундаментальными и клиническими исследованиями, так как модуляции актиновых изоформ прямо или косвенно связаны с различными патологиями. Исследованию функций цитоплазматических изоформ актина, связанных с подвижностью и делением нормальных и опухолевых клеток, адгезионными структурами, а также изучению соответствия их экспрессии и/или структурной организации нормальным и патологическим функциям клеток посвящен данный обзор. Селективная редукция  $\beta$ - или  $\gamma$ -цитоплазматических актинов позволила определить функциональные различия между этими изоформами. Преимущественную роль в сократительных и адгезионных активностях играет  $\beta$ -актин, тогда как цитоплазматический  $\gamma$ -актин участвует в образовании подмембранной сети, необходимой для клеточной пластичности и подвижности. Определяющую роль в установлении и поддержании нормальной архитектуры и динамики эпителиальных плотных и адгезионных межклеточных контактов играет связь с актиновым цитоскелетом. Продемонстрирована уникальная роль  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в регуляции и поддержании целостности адгезионных и плотных межклеточных контактов соответственно. Похожие результаты были получены при сравнении опухолевых клеток с нормальными эпителиальными клетками в культуре и на срезах патологических тканей молочной железы, кишечника, легких и шейки матки человека. Изоформ-специфичная перестройка актинового цитоскелета и адгезионных межклеточных контактов является важным шагом в приобретении инвазивности эпителиальными опухолями.

**Ключевые слова:** цитоплазматическая изоформа актина,  $\beta$ -актин,  $\gamma$ -актин, неопластическая трансформация, опухолевая клетка, цитоскелет

DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-1-08-16

## Actin isoforms and neoplastic transformation

V.B. Dugina<sup>1</sup>, G.S. Shagieva<sup>1</sup>, N.V. Khromova<sup>2</sup>, P.B. Kopnin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>A.N. Belozerskiy Research Institute of Physico-Chemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University; 1, Build. 40 Leninskie Gory, Moscow 119992, Russia;

<sup>2</sup>Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia

The cytoplasmic actins ( $\beta$  and  $\gamma$ ) play crucial roles during key cellular processes like adhesion, migration, polarization and cytokinesis. 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. The major goal of the research was to elucidate the function of the actin isoforms during motile activities, adhesions and cell division and to investigate whether their expression and/or structural organization is related to pathological function. Selective depletion of  $\beta$ - and  $\gamma$ -cytoplasmic actins allowed attributing functional diversities of  $\beta$ - and  $\gamma$ -cytoplasmic actins.  $\beta$ -Cytoplasmic actin plays a preferential role in contractile activities, whereas  $\gamma$ -cytoplasmic actin mainly participates in the formation of a submembranous network necessary for cell shape flexibility and motile activity. The roles of isoforms in regulating the integrity of adherens and tight junctions respectively were demonstrated. Unique roles of  $\beta$ - and  $\gamma$ -cytoplasmic actins in normal cells were shown. Similar results were obtained in cancer cells compared with normal epithelial cells in culture and in human pathological tissue sections of mammary gland, colon, lung and cervix. Malignant cell transformation requires changes in the ability of cells to migrate. The disruption of actin cytoskeleton and intercellular adhesions is an important component of the acquisition of invasive properties in epithelial malignancies.

**Key words:** cytoplasmic actin isoform,  $\beta$ -actin,  $\gamma$ -actin, neoplastic transformation, tumor cell, cytoskeleton

### Актин. Общие сведения

Эукариотические клетки содержат 3 различные цитоскелетные системы: актиновые микрофиламенты, микротрубочки и промежуточные филаменты. Они обладают совершенно разными свойствами: сборки,

архитектурной организации, динамическим поведением и механическими свойствами. Актин, который вовлечен во множество функций, является мажорным белком в разных типах клеток и высококонсервативен между видами. Самая высокая концентрация актина

(порядка 20 % от общего количества белка в клетке) обнаруживается в виде стабильной системы микрофиламентов, собранной в миофибриллы — сократимые структуры поперечнополосатых мышц. Помимо специализированной роли в мышечном сокращении, актин присутствует во всех клетках и выполняет разнообразные функции в зависимости от клеточного контекста. Актин играет важную роль в поддержании структуры клетки и отвечает за выполнение механических функций, обеспечивая внутриклеточную сократимость и/или натяжение, а также клеточную подвижность. Динамика актинового цитоскелета поддерживается 2 факторами: 1) способностью актина к обратимому переходу из мономерного (G-актина, глобулярного) в полимерное (F-актин, филаментозное) состояние; 2) взаимодействием актина с актин-связывающими белками (actin binding proteins, ABPs), которые могут ингибировать или стимулировать актиновую полимеризацию, разрезать полимеры, связывать актиновые филаменты в пучки или трехмерные сети из микрофиламентов и присоединять их к мембране клетки.

Для движения клетки, транспорта и многих других аспектов биологии клетки необходимы динамичное образование и разборка сетей актиновых филаментов, их прикрепление к клеточной мембране, молекулярным моторам и другим внутриклеточным структурам. Помимо сборки полимерных сетей, которые определяют механические свойства клеток, актиновые субъединицы и филаменты связываются с сотнями внутриклеточных лигандов и выполняют многие клеточные функции, некоторые из которых только начинают обнаруживаться. Изменения в организации микрофиламентов приводят к дезорганизации клеточной морфологии и ориентации, неконтролируемому клеточному росту и аномальному ответу на внеклеточное окружение.

### Изоформы актина у высших позвоночных

У высших позвоночных идентифицировано 6 изоформ актина [1], первичная структура которых почти не меняется от птиц до человека [2]. У человека 6 генов актина локализованы на разных хромосомах [3]:  $\alpha$ -скелетный (*ACTA1*) — на хромосоме 1;  $\alpha$ -кардиальный, или сердечный (*ACTC1*), — на хромосоме 15;  $\alpha$ -гладкомышечный (*ACTA2*) — на хромосоме 10;  $\gamma$ -гладкомышечный (*ACTG2*) — на хромосоме 2;  $\beta$ -цитоплазматический (*ACTB*) — на хромосоме 7;  $\gamma$ -цитоплазматический (*ACTG1*) — на хромосоме 17. Изоформы актина кодируются набором структурно родственных генов, которые происходят от общего предшественника и имеют высокоомологичные нуклеотидные последовательности [4]. Несмотря на некоторые отличия в первичной структуре, расположенные по всей молекуле, основные различия между изоформами сосредоточены на N-конце [1]. Эта вариабельность вносит вклад в различный общий заряд молекул, что может быть определено с помощью

изоэлектрофокусирования. В результате этого актины были классифицированы как  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоформы в порядке возрастания изоэлектрических точек (5,40; 5,42 и 5,44 соответственно) [5, 6]. Несмотря на сходные трехмерные структуры, несколько аминокислотных замен, распределенных в первую очередь в субдоменах 1 и 3, могут вызывать значительные изменения в конформации актина. Таким образом, 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 [7]. N-концевой домен молекулы актина может участвовать во взаимодействиях с ABPs [8]. Известно о дифференцированном сродстве изоформ актина к ABPs. В экспериментах *in vitro* показано селективное взаимодействие несаркомерных изоформ миозина с изоформами актина [9]. Выявлено преимущественное по сравнению с  $\alpha$ -скелетным актином взаимодействие цитоплазматических изоформ актина с профилином [10, 11], тимозином  $\beta 4$  [12], L-пластином [13], эрином [14, 15],  $\beta$ CAP73 [16], дистрофином и утрофином [17]. При сравнении взаимодействия ABPs с  $\beta$ - или  $\gamma$ -актином обнаружено преимущественное связывание  $\gamma$ -актина с аннексином V [18]. Эти результаты предполагают, 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 изолированы внутри специфических цитоплазматических доменов изоформ-специфическими ABPs.

Неизменность аминокислотных последовательностей актинов свидетельствует о важной роли актина в первичных взаимодействиях, которые сохранились и поддерживались в эволюции и являются фундаментальными для клеточного выживания. В общем виде в норме во взрослом организме  $\alpha$ -скелетный и  $\alpha$ -сердечный актины ограничены скелетными и сердечными мышцами, а  $\alpha$ - и  $\gamma$ -гладкомышечные актины экспрессируются в основном в гладких мышцах сосудов и кишечника. Цитоплазматические  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины обнаружены во всех клетках. Эти изоформы актина экспрессируются в мышечных и неммышечных клетках в соотношениях, регулируемых во времени и пространстве [5].

Специфические изоформы полимеризуются в различные филаментозные структуры, которые входят в состав разнообразных внутриклеточных структур, таких как миофибриллы, стресс-фибриллы, ламеллиподии или филоподии [19]. Структурно-функциональное разнообразие актиновых структур в неммышечных клетках возможно благодаря специфическому взаимодействию изоформ актина, миозина и тропомиозина [20]. С помощью криоэлектронной микроскопии недавно получена структура комплекса актомиозин—тропомиозин с высоким разрешением для цитоплазматического

$\gamma$ -актина, немышечных миозина 2C и тропомиозина 3.1 человека [21].

### Регуляция экспрессии изоформ актина

Различия в экспрессии и распределении изоформ могут происходить на уровне генов (через различные промоторные элементы), и/или на уровне матричных РНК (мРНК) (через разные UTRs), и/или на уровне белка (через специфические взаимодействия с ABPs). мРНК изоформ актина отличаются между собой более значительно, чем кодируемые ими белки [19]. 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 [22, 23]. Целый комплекс взаимодействующих между собой регуляторных элементов был обнаружен в промоторном районе актиновых генов. Отдельные сигнальные молекулы воздействуют на все изоактиновые гены, но существуют и другие, специфичные для каждой изоформы актина. Такие элементы избирательно модулируют экспрессию изоформ актина: напрямую или через взаимодействие с другими регуляторными элементами. Индукция экспрессии актинов сывороточными респонсивными факторами (serum response factor, SRF) представляет собой одну из наиболее интересных ситуаций [24]. Все промоторные области изоактинов содержат в своей последовательности несколько SRF-связывающих элементов, которые могут оказывать похожее действие на экспрессию изоформ актина [25]. Неполимеризованный актин (G-актин) может ингибировать экспрессию генов, связываясь с транскрипционными факторами MRTF-A (MAL) и MRTF-B. Повышение полимеризации актина (например, через RhoA-сигнальный путь) автоматически уменьшает цитоплазматический пул G-актина, вызывая высвобождение транскрипционных факторов и последовательную экспрессию генов-мишеней [25].

Механизм сортировки для изоформ актина может работать на уровне белка и/или на уровне мРНК [26, 27]. Асимметричный сортировка транскрипта  $\beta$ -актина достигается транспортом вдоль микротрубочек и актиновых филаментов [28, 29]. Локализация мРНК позволяет клеткам пространственно регулировать трансляцию и тем самым создавать функциональные компартменты с разными компонентами. Известно, что мРНК  $\beta$ -актина специфически локализована на ведущем крае фибробластов [30, 31]. Долгое время считалось, что локализация белка  $\beta$ -актина на ведущем крае клетки, где имеет место его полимеризация, зависит от локализации его мРНК [32]. Изучение механизма этого явления привело к пониманию того, что все мРНК содержат *cis*-элементы, чаще всего располагающиеся на 3'-UTR, с которыми связываются *trans*-факторы для определения их локализации. В фибробластах для подобной локализации мРНК  $\beta$ -актина достаточно

наличия коротких регуляторных фрагментов 3'-UTR. Один из таких фрагментов, 54-нуклеотидная последовательность, которая образует петлеобразную структуру, продемонстрировал наибольшую локализирующую активность и был назван zip-кодом мРНК  $\beta$ -актина. Локализирующие факторы, обладающие *trans*-действием (*trans*-факторы), которые связываются с zip-кодом  $\beta$ -актина, назвали zip-код-связывающими белками. Белок 68 кДа, который связывается с zip-кодом, был назван zip-код-связывающим белком 1 (ZBP1) [33]. Взаимодействие мРНК  $\beta$ -актина с ZBP1 необходимо для ее локализации в ламеллиподиях фибробластов, что играет определяющую роль в клеточной полярности и движении [29, 34], особенно для нематазирующих клеток.

Для рака молочной железы человека и крысы показано, что низкий уровень ZBP1 коррелирует с инвазией и метастазированием опухолевых клеток [35]. Более того, ZBP1 был экзогенно экспрессирован в крысиной линии метастазирующей аденокарциномы молочной железы (MTLn3), в которой эндогенный уровень ZBP1 низок и мРНК  $\beta$ -актина деллокализована. Оказалось, что заново синтезированный актин вносит незначительный вклад во фракцию мономерного актина на ведущем крае [36]. Методом трекинга одиночных мРНК  $\beta$ -актина обнаружено, что ZBP1 транспортирует мРНК  $\beta$ -актина в места фокальных контактов, где он задерживается на некоторое время, приводя к стабилизации фокальных контактов и регулируя направленность движения фибробластов [37].

В качестве дополнения к транскрипционному и трансляционному контролю конкуренция между изоформами за включение в специфические структуры и разное сродство к ABPs могут определять внутриклеточную локализацию изоформ актина. Поскольку распределение изоформ актина часто отличается от распределения соответствующих мРНК [38], изоформ-специфический сортировка мРНК скорее определяет сайты синтеза и сборки, чем локализацию актиновых изоформ в клетке [39].

По одной из гипотез, в качестве главного механизма регуляции сегрегации изоформ актина было предложено аргинилирование. Данная посттрансляционная модификация актиновых изоформ должна происходить в результате экспозиции N-конца молекулы как потенциальной мишени для аргинилирования (Cys2/Asp3 в  $\alpha$ -актинах, Asp2/Asp3 в  $\beta$ -актинах и Glu2/Glu3 в  $\gamma$ -актинах). Обнаружено, что  $\beta$ -, но не  $\gamma$ -актин, в иммортализованных SV-40 фибробластах подвержен N-концевому аргинилированию [40]. По мнению авторов, это индуцировало образование «слабой»  $\beta$ -актиновой сети на ведущем крае клетки [41]. По результатам масс-спектрологии предполагалось, что этот тип модификации выявляется в 20–40 % молекул  $\beta$ -актина, но уровень модификации в различных типах клеток может быть и меньше. В противоположность этим предположениям, позднее было показано,

что аргинилирование может происходить на любом N-концевом остатке, включая многочисленные белки цитоскелета. Помимо актина, некоторые ABPs аргинилированы *in vivo*, в том числе Agr3, филамин, спектрин, немышечный миозин 1 и талин [42]. Аргинилирование Agr3, одного из компонентов комплекса, нуклеирующего актин (участвующего в полимеризации и ветвлении актиновых пучков) на ведущем крае клетки, может участвовать в формировании сети. Аргинилирование других белков, таких как филамин и спектрин, может менять организацию актина в цитоплазме [43]. Исследование F. Zhang и соавт., которое показало, что 2 цитоплазматические изоформы актина аргинилированы по-разному, никем в дальнейшем не подтверждено. Была проверена метаболическая устойчивость экзогенно экспрессированных аргинилированных и неаргинилированных изоформ актина [43]. В немышечных клетках аргинилированный  $\gamma$ -, но не  $\beta$ -актин, оказался нестабильным и легко деградировал. Нестабильность регулировалась различиями в кодирующих нуклеотидных последовательностях между 2 изоформами актина, которые обеспечивали разные скорости трансляции. Как следует из той же работы, аргинилированный  $\beta$ -актин действительно более стабилен, чем аргинилированный  $\gamma$ -актин, но остается менее стабильным, чем неаргинилированные изоформы.

### 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 избирательно удалены, экспериментально восстановлены или гиперэкспрессированы; 3) определение структурных и функциональных дефектов; 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 специфических антител к изоформам позволило существенно продвинуться в изучении распределения и функций изоформ.

### Цитоплазматические актины: внутриклеточная организация и функции

Цитоплазматические актины ( $\beta$  и  $\gamma$ ) 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  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины в различных пропорциях [44].  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины отличаются только по 4 аминокислотным остаткам в положениях 1, 2, 3 и 9. По данным мутационных и нокаутных исследований на мышечных моделях, а также соответствующих патологий [45, 46], для многих мышечных изоформ предполагались специфические функции, однако о возможных специфических ролях  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов было известно мало. Гипоморфный аллель  $\beta$ -актина оказался летальным на эмбриональном уровне [47], а нокаутные по  $\gamma$ -актину мыши выживали [48]. Тем не менее у мышей без  $\gamma$ -актина наблюдались задержки эмбрионального развития, нарушения роста и выживаемости [49, 50].

Локализация белков  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в различных внутриклеточных компартментах ранее была описана, но результаты довольно противоречивы, вероятно, из-за вариативности экспериментальных условий. Использование поликлональных антител к  $\gamma$ -СУА, не распознающих  $\beta$ -СУА, но реагирующих с гладкомышечными актинами, по-видимому, благодаря общей аминокислотной последовательности AcEEE на N-конце, усложняло интерпретацию результатов. Мезенхимальные клетки в культуре, например фибробласты, помимо цитоплазматических актинов экспрессируют  $\alpha$ -гладкомышечный актин. Тщательно отобранные моноклональные антитела (mAbs), высокоспецифичные для  $\gamma$ -актина, т.е. не реагирующие с  $\beta$ -актином и гладкомышечными актинами, были использованы для изучения распределения цитоплазматических изоформ актина и функциональных исследований [51]. Несмотря на то что mAbs к  $\beta$ -актину существовали ранее, отсутствие специфических mAbs к  $\gamma$ -актину не давало возможности проводить сравнительное изучение распределения этих 2 изоформ в клетках. Отсутствие окрашивания  $\beta$ -актина в стресс-фибриллах ошибочно характеризовало эти структуры как образованные из  $\gamma$ -актиновых филаментов. Даже с подходящими антителами окраска отсутствовала, по-видимому, из-за недоступности эпитопа, так как для демаскировки N-концевой последовательности актина необходимы специфические условия фиксации [51, 52].

В основе способности клеток к делению, движению, генерации натяжения и сократимости и поддержанию формы лежат специализированные актин-содержащие структуры. С помощью высокоспецифичных моноклональных антител исследована внутриклеточная локализация цитоплазматических  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в неподвижных (покоящихся) клетках и на различных моделях распластывания, миграции, деления и сократимости. Результаты получены с помощью одновременной специфической иммунодетекции  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в одной и той же клетке. Впервые было продемонстрировано, что эти изоформы сегрегированы в цитоплазме мезенхимальных и эпителиальных клеток в состоянии покоя, а также при движении и делении

[51]. Для сравнительного исследования цитоплазматических изоформ актина были протестированы различные линии и первичные культуры клеток животных и человека. Особое внимание уделено линиям клеток нормального эпителия, так как в клетках этого типа экспрессируются только 2 изоформы актина,  $\beta$  и  $\gamma$ . Сегрегация изоформ наблюдалась во всех изученных типах нормальных немышечных клеток, что указывает на универсальность данного феномена.

Для исследования функциональных ролей  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов мы применяли метод малых интерферирующих РНК для избирательного уменьшения экспрессии изоформ. Селективное уменьшение экспрессии этих изоформ с помощью малых интерферирующих РНК показало, что каждая изоформа различным образом принимает участие в организации клеточной морфологии, полярности и подвижности.

Нами получены данные о сравнительной структуре и белковой композиции кортикальных и ламеллиподиальных  $\gamma$ -сетей, а также  $\beta$ -актиновых пучков и контактных структур в нормальных и неопластически трансформированных эпителиальных клетках [51, 53, 54]. Анализ трехмерной взаимной организации  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в интерфазе и на разных стадиях митоза был проведен с использованием лазерной конфокальной микроскопии. Показано, что  $\beta$ -актин преимущественно локализован в филоподиях, стресс-фибриллах, кольцевых пучках и адгезионных межклеточных контактах, что означает роль этой изоформы в клеточной адгезии и сокращении [51, 54]. В зависимости от клеточной активности  $\gamma$ -актин организован по-разному. В движущихся клетках он представлен в виде кортикальных и ламеллиподиальных сетей, что предполагает его важную роль в клеточной подвижности. Сортинг  $\beta$ -актина в миозин-2-зависимые сократимые пучки (стресс-фибриллы, кольцевые пучки, сократимые кольца) показывает роль этой изоформы в клеточном сокращении. Еще одним аргументом в пользу роли  $\beta$ -актина в клеточной сократимости является четкая локализация этой изоформы в сократимом кольце при цитокинезе, в то время как  $\gamma$ -актин концентрируется в основном в субмембранном домене в течение всех митотических фаз. Наши данные об образовании большого количества многоядерных (в основном двуядерных) клеток в эпителиальных  $\beta$ -актин-дефицитных клетках полностью согласуются с данными об участии  $\beta$ -актина в образовании сократимого кольца при клеточном делении.

Обе изоформы локализованы в апикальной части поляризованных эпителиальных клеток в районе межклеточных контактов [51, 55], но регулируют разные адгезионные комплексы в эпителии:  $\beta$ -актин связан с адгезионными межклеточными контактами, а  $\gamma$ -актин — с плотными контактами [54]. Предварительные исследования организации и распределения  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоформ актина в митотическом процессе [51, 56], а также в мейотических делениях клетки и ранних

эмбриональных делениях [57] выявили существенные морфофункциональные различия. Изменение функции  $\gamma$ -актина с помощью микроинъекции изоформ — специфических антител — показало, что  $\gamma$ -актин выполняет основную и специфическую функции в установлении и/или поддержании асимметрии в первом делении мейоза и поддержании кортикальной целостности. Возможно, различие в экспрессии  $\gamma$ -актина является одним из ранних маркеров, определяющих клеточную судьбу при эмбриональном развитии организма, а также при неопластической трансформации и прогрессии.

### Реорганизация изоформ актина при неопластической трансформации

Понимание специфических функций изоформ актина представляет дополнительный фундаментальный материал для использования детекции этих белков в диагностике и лечении различных патологий, таких как фиброзы, сердечно-сосудистые и онкологические заболевания. При опухолевой трансформации происходит реорганизация актинового цитоскелета, ведущая к изменению клеточной подвижности, инвазии и метастазированию. Известно об изменениях экспрессии специфических мышечных изоформ актина при различных патологиях, таких как фиброматозы, гипертрофированные рубцы, стромальные реакции при неоплазиях и др. [45]. Данные об изменениях организации немышечного актина при опухолевой трансформации достаточно противоречивы, но в большинстве работ наблюдалась корреляция исчезновения пучков микрофиламентов с повышением миграционной активности или метастатического потенциала опухолевых клеток [58, 59]. Описано изменение специфических мышечных изоформ актина в некоторых опухолях. Получены данные об исчезновении  $\alpha$ -гладкомышечного актина в спонтанно трансформированных клетках [60] при трансформации фибробластов опухолеродными вирусами и онкогенами в культуре (вирусом саркомы Рауса [61], аденовирусом 12-го типа, v-H-Ras) или уменьшении его экспрессии в трансформированных канцерогенами или вирусом SV40 низкотуморогенных клеточных линиях [62]. Те же авторы указывают на возможное изменение синтеза немышечных актинов при трансформации и супрессии  $\beta$ -актина в метастазирующих вариантах. Известно о мутациях в  $\beta$ -актиновом гене *ACTB*: G244D, вызывающей неопластическую трансформацию фибробластов человека [63, 64], и R28L, связанной со злокачественным прогрессированием клеток мышшиной меланомы [65]. Характер подвижности нормальных фибробластов и фибробластов, лишенных  $\beta$ -актина или, особенно,  $\gamma$ -актина, различается. Это свидетельствует о том, что изоформы актина играют разные роли в клеточной подвижности [51]. Следует отметить, что  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины колокализованы в ламеллиподии, обе изоформы присутствуют в ламелле, но распределены в разных филаментных структурах.  $\beta$ -Актин локализован в пучках микрофиламентов,

концы которых соединены с фокальными контактами [51]. В нормальных фибробластах мРНК  $\beta$ -актина концентрируется во фронтальной части ламеллы, но заново синтезированный актин вносит незначительный вклад во фракцию мономерного актина на ведущем крае клетки [36]. Новым методом трекинга одиночных мРНК  $\beta$ -актина показано, что транспортировка этих мРНК в места фокальных контактов приводит к стабилизации контактных структур [37]. Эти результаты также согласуются с нашими данными о роли этой изоформы актина в клетке.

Ранее показано, что локализация мРНК  $\beta$ -актина на ведущем крае фибробластов, эндотелиальных клеток и миоцитов связана с направленным движением нормальных клеток, а делокализация — с потерей стабильной клеточной поляризации и направленного движения, что характерно для многих метастазирующих клеток [36]. Тем не менее той же группой R. H. Singer опубликованы данные о том, что взаимодействие ZBP1, необходимое для локализации мРНК  $\beta$ -актина на ведущем крае фибробластов, вызывает стабильный поляризованный фенотип у опухолевых клеток, но редуцирует их хемотактически зависимую подвижность, инвазивность и метастатический потенциал [66]. Частичная супрессия  $\gamma$ -актина в клетках SH-EP нейробластомы [67] с помощью малых интерферирующих РНК значительно угнетала миграцию в экспериментальную «рану» и через фильтры, а также происходили потеря поляризации и снижение скорости движения при одиночной миграции клеток. Более того, значительно возрастало количество фокальных контактов и их размеры, а также уменьшалось количество фосфорилированного паксиллина — маркера ранних инициальных контактов. Изменения цитоскелета сопровождалась активацией Rho-киназного сигнального пути [67]. В 2012 г. показано, что угнетение миграционного потенциала эмбриональных фибробластов с выключенным геном *ACTB* происходит из-за компенсаторной экспрессии  $\alpha$ -гладкомышечного актина и повышенной сократимости таких клеток. Ингибирование повышенной сократимости восстанавливало миграционную способность фибробластов без  $\beta$ -, но с  $\gamma$ -актином [68]. Дальнейшее изучение фенотипических изменений клетки при опухолевой трансформации, а именно изменений распределения и экспрессии цитоплазматических изоформ актина, а также исследование регуляции  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов в нормальных и опухолевых клетках явились необходимыми для понимания функциональных ролей актиновых изоформ.

Другие данные о роли цитоплазматических актинов в клеточной миграции были получены в результате сравнительного изучения нормальных и неопластически трансформированных клеток. Обнаружено, что трансформированные клетки теряют  $\beta$ -актин-содержащие стресс-фибриллы, но в них выявляются хорошо развитые  $\gamma$ -актинсодержащие сети. Основное свойство клеточной трансформации состоит в реорганизации

актомиозинового цитоскелета, ведущей к повышенной клеточной подвижности и инвазии. Исчезновение актиновых стресс-фибрилл в трансформированных клетках продемонстрировано во многих работах [69–72].

Наши результаты показали, что при различных типах онкогенной трансформации происходит изменение специфической изоформы актина —  $\beta$ -актина [51, 53, 55, 73]. Более того, иммуноморфологическое исследование клинического материала подтверждает данные, полученные на клеточных культурах. Значительное уменьшение иммуногистохимической окраски на  $\beta$ -актин наблюдалось в клетках карцином молочной железы по сравнению с доброкачественными пролифератами [55]. Исключение составляли редкие формы инфильтративного рака молочной железы (так называемые базальноподобные), в которых содержание  $\beta$ -актина было снижено только в инвазирующих участках [74]. При иммуногистологическом исследовании образцов опухолевой ткани шейки матки также выявлено снижение окрашивания на  $\beta$ -актин в структурах рака *in situ* и инвазивного рака по сравнению с нормальной тканью экзоцервикса и интраэпителиальными неоплазиями [53]. Кроме того, методом белкового иммуоблоттинга обнаружены снижение экспрессии  $\beta$ -актина и повышение экспрессии  $\gamma$ -актина в трансформированных и опухолевых линиях эпителиальных клеток по сравнению с неопухолевыми. При эпителиально-мезенхимальном переходе в культурах клеток цервикальных карцином помимо изменений в распределении и экспрессии известных маркеров Snail, E- и N-кадгерина и виментина происходила реорганизация структур  $\beta$ -актина и изменение соотношения экспрессии цитоплазматических изоформ актина [53].

Фенотипическая нормализация трансформированных фибробластов и эпителиальных клеток под действием митохондриально-направленных антиоксидантов приводит к восстановлению  $\beta$ -актиновой системы пучков и сопряженных с ними фокальных контактов у фибробластов и адгезионных межклеточных контактов у эпителиальных клеток [73, 75].

Эксперименты по уменьшению экспрессии изоформ актина с помощью малых интерферирующих РНК, а также по экзогенной экспрессии цитоплазматических изоформ актина в опухолевых клетках (карциномах легкого и кишки) позволили выявить существенную функциональную разницу между изоформами. Уменьшение экспрессии  $\beta$ - или  $\gamma$ -актина с помощью малых интерферирующих РНК и экзогенная экспрессия актинов вызывали различные изменения морфологии, подвижности и пролиферации изучаемых культур. Сравнение инвазивных свойств клеток с измененными уровнями экспрессии  $\beta$ - и  $\gamma$ -актинов было проведено с использованием тестирования направленного движения в матрице. Также было проверено влияние изменения

соотношения изоформ на рост подкожных опухолевых ксенографтов. Функциональные данные подтвердили наши предположения о роли  $\beta$ -актина в поддержании нормального фенотипа и противоположной роли  $\gamma$ -актина в усилении неопластических свойств [76]. Реорганизация системы актиновых филаментов играет важную роль при неопластической трансформации клеток. Мы обнаружили, что изменение соотношения  $\beta$ - и  $\gamma$ -цитоплазматических актинов в клетках карцином легкого и толстой кишки человека: 1) характерно как для клеток, растущих *in vitro*, так и для тканевых опухолевых образцов; 2) напрямую связано с онкогенными свойствами и ростом опухолевых ксенографтов [76]. Повышение относительного уровня экспрессии  $\beta$ -актина ингибировало проявление онкогенного фенотипа и опухолевый рост, тогда как повышение экспрессии  $\gamma$ -актина усиливало онкогенный потенциал путем взаимодействия с регуляторными белками ERK1/2, p34-Arc, WAVE2, кофилином 1 и PP1. Положительная взаимозависимость экспрессии  $\gamma$ -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.

На различных клеточных культурах продемонстрировано, что модуляция экспрессии  $\gamma$ -актина приводит к похожим функциональным изменениям в нормальных и трансформированных клетках [51, 67, 76, 77]. Две цитоплазматические изоформы играют разные роли в неопластической трансформации. Недавно нами показано, что  $\beta$ -актин играет роль опухолевого супрессора, вызывая эпителиальную дифференцировку, торможение клеточного роста и инвазии в культурах клеток карциномы легкого и кишки, а также замедление опухолевого роста *in vivo*. Напротив,  $\gamma$ -актин связан с усилением неопластических свойств опухолевых клеток [76, 77].

Таким образом, результаты морфофункциональных исследований изоформ актина уже в настоящее время представляют возможность использования специфических моноклональных антител к  $\beta$ - и  $\gamma$ -изоформам актина, помимо широко применяемого в патологической морфологии  $\alpha$ -гладкомышечного актина, в качестве дополнительных иммуногистологических маркеров в дифференциальной диагностике злокачественных новообразований.

#### Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00467).

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Vandekerckhove J., Weber K. 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* 1978;126(4):783–802. DOI: 10.1016/0022-2836(78)90020-7.
- Kabsch W., Vandekerckhove J. Structure and function of actin. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1992;21:49–76. DOI: 10.1146/annurev.bb.21.060192.000405.
- Gunning P., Ponte P., Kedes L. et al. Chromosomal location of the co-expressed human skeletal and cardiac actin genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;81(6):1813–7.
- Hightower R.C., Meagher R.B. The molecular evolution of actin. *Genetics* 1986;114:315–32.
- Garrels J.I., Gibson W. Identification and characterization of multiple forms of actin. *Cell* 1976;9(4 Pt 2):793–805.
- Rubenstein P.A. The functional importance of multiple actin isoforms. *Bioessays* 1990;12:309–15. DOI: 10.1002/bies.950120702.
- Schutt C.E., Myslik J.C., Rozycki M.D. et al. The structure of crystalline profilin-beta-actin. *Nature* 1993;365(6449):810–6. DOI: 10.1038/365810a0.
- Sheterline P., Clayton J., Sparrow J. Actin. *Protein Profile* 1995;2(1):1–103.
- Müller M., Diensthuber R.P., Chizhov I. et al. Distinct functional interactions between actin isoforms and nonsarcomeric myosins. *PLoS One* 2013;8(7):e70636. DOI: 10.1371/journal.pone.0070636.
- Larsson H., Lindberg U. The effect of divalent cations on the interaction between calf spleen profilin and different actins. *Biochim Biophys Acta* 1988;953(1):95–105.
- Ohshima S., Abe H., Obinata T. Isolation of profilin from embryonic chicken skeletal muscle and evaluation of its interaction with different actin isoforms. *J Biochem* 1989;105(6):855–7.
- Weber A., Nachmias V.T., Pennise C.R. et al. Interaction of thymosin beta 4 with muscle and platelet actin: implications for actin sequestration in resting platelets. *Biochemistry* 1992;31(27):6179–85.
- Namba Y., Ito M., Zu Y. et al. Human T cell L-plastin bundles actin filaments in a calcium-dependent manner. *J Biochem* 1992;112(4):503–7.
- Shuster C.B., Herman I.M. Indirect association of ezrin with F-actin: isoform specificity and calcium sensitivity. *J Cell Biol* 1995;128(5):837–48.
- Yao X., Cheng L., Forte J.G. Biochemical characterization of ezrin-actin interaction. *J Biol Chem* 1996;271(12):7224–9.
- Shuster C.B., Lin A.Y., Nayak R., Herman I.M. Beta cap73: a novel beta actin-specific binding protein. *Cell Motil Cytoskeleton* 1996;35(3):175–87. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0169(1996)35:3<175::AID-CM1>3.0.CO;2-8.
- Winder S.J., Hemmings L., Maciver S.K. et al. Utrophin actin binding domain: analysis of actin binding and cellular targeting. *J Cell Sci* 1995;108(Pt 1):63–71.
- Tzima E., Trotter P.J., Orchard M.A., Walker J.H. Annexin V relocates to the platelet cytoskeleton upon activation and binds to a specific isoform of actin. *Eur J Biochem* 2000;267(15):4720–30.
- Gunning P., Weinberger R., Jeffrey P., Hardeman E. Isoform sorting and the creation of intracellular compartments. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998;14:339–72. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.14.1.339.
- Manstein D.J., Mulvihill D.P. Tropomyosin-mediated regulation of cytoplasmic myosins. *Traffic* 2016;17(8):872–7. DOI: 10.1111/tra.12399.
- von der Ecken J., Heissler S.M., Pathan-Chhatbar S. et al. Cryo-EM structure of a human cytoplasmic actomyosin complex at near-atomic resolution. *Nature* 2016;534(7609):724–8. DOI: 10.1038/nature18295.
- Gunning P., Mohun T., Ng S.Y. et al. Evolution of the human sarcomeric-actin

- genes: evidence for units of selection within the 3' untranslated regions of the mRNAs. *J Mol Evol* 1984;20(3–4): 202–14.
23. Yaffe D., Nudel U., Mayer Y., Neuman S. Highly conserved sequences in the 3' untranslated region of mRNAs coding for homologous proteins in distantly related species. *Nucleic Acids Res* 1985;13(10):3723–37.
  24. Treisman R., Alberts A.S., Sahai E. Regulation of SRF activity by Rho family GTPases. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1998;63:643–51.
  25. Posern G., Treisman R. Actin' together: serum response factor, its cofactors and the link to signal transduction. *Trends Cell Biol* 2006;16(11):588–96. DOI: 10.1016/j.tcb.2006.09.008.
  26. Singer R.H. The cytoskeleton and mRNA localization. *Curr Opin Cell Biol* 1992;4(1):15–9.
  27. Gunning P., Hardeman E., Wade R. et al. Differential patterns of transcript accumulation during human myogenesis. *Mol Cell Biol* 1987;7(11):4100–14.
  28. Latham V.M., Kislauskis E.H., Singer R.H., Ross A.F. Beta-actin mRNA localization is regulated by signal transduction mechanisms. *J Cell Biol* 1994;126(5):1211–9.
  29. Oleynikov Y., Singer R.H. Real-time visualization of ZBP1 association with beta-actin mRNA during transcription and localization. *Curr Biol* 2003;13(3):199–207.
  30. Kislauskis E.H., Li Z., Singer R.H., Taneja K.L. Isoform-specific 3'-untranslated sequences sort alpha-cardiac and beta-cytoplasmic actin messenger RNAs to different cytoplasmic compartments. *J Cell Biol* 1993;123(1):165–72.
  31. Lawrence J.B., Singer R.H. Intracellular localization of messenger RNAs for cytoskeletal proteins. *Cell* 1986;45: 407–15.
  32. Shestakova E.A., Singer R.H., Condeelis J. The physiological significance of beta-actin mRNA localization in determining cell polarity and directional motility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(13):7045–50. DOI: 10.1073/pnas.121146098.
  33. Ross A.F., Oleynikov Y., Kislauskis E.H. et al. Characterization of a beta-actin mRNA zipcode-binding protein. *Mol Cell Biol* 1997;17(4):2158–65.
  34. Kislauskis E.H., Zhu X., Singer R.H. beta-Actin messenger RNA localization and protein synthesis augment cell motility. *J Cell Biol* 1997;136(6): 1263–70.
  35. Wang W., Goswami S., Lapidus K. et al. Identification and testing of a gene expression signature of invasive carcinoma cells within primary mammary tumors. *Cancer Res* 2004;64(23):8585–94. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1136.
  36. Condeelis J., Singer R.H. How and why does beta-actin mRNA target? *Biol cell* 2005;97(1):97–110. DOI: 10.1042/BC20040063.
  37. Katz Z.B., Wells A.L., Park H.Y. et al.  $\beta$ -Actin mRNA compartmentalization enhances focal adhesion stability and directs cell migration. *Genes Dev* 2012;26(17):1885–90. DOI: 10.1101/gad.190413.112.
  38. Hill M.A., Gunning P. Beta and gamma actin mRNAs are differentially located within myoblasts. *J Cell Biol* 1993;122(4):825–32.
  39. Hannan A.J., Gunning P., Jeffrey P.L., Weinberger R.P. Structural compartments within neurons: developmentally regulated organization of microfilament isoform mRNA and protein. *Mol Cell Neurosci* 1998;11(5–6):289–304. DOI: 10.1006/mcne.1998.0693.
  40. Karakozova M., Kozak M., Wong C.C. et al. Arginylation of beta-actin regulates actin cytoskeleton and cell motility. *Science* 2006;313(5784):192–6. DOI: 10.1126/science.1129344.
  41. Kashina A.S. Differential arginylation of actin isoforms: the mystery of the actin N-terminus. *Trends Cell Biol* 2006;16(12):610–5. DOI: 10.1016/j.tcb.2006.10.001.
  42. Wong C.C., Xu T., Rai R. et al. Global analysis of posttranslational protein arginylation. *PLoS Biol* 2007;5(10):e258. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050258.
  43. Zhang F., Saha S., Shabalina S.A., Kashina A. Differential arginylation of actin isoforms is regulated by coding sequence-dependent degradation. *Science* 2010;329(5998):1534–7. DOI: 10.1126/science.1191701.
  44. Otey C.A., Kalnoski M.H., Bulinski J.C. Identification and quantification of actin isoforms in vertebrate cells and tissues. *J Cell Biochem* 1987;34(2):113–24. DOI: 10.1002/jcb.240340205.
  45. Chaponnier C., Gabbiani G. Pathological situations characterized by altered actin isoform expression. *J Pathol* 2004;204(4):386–95. DOI: 10.1002/path.1635.
  46. Lambrechts A., Van Troys M., Ampe C. The actin cytoskeleton in normal and pathological cell motility. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(10):1890–909. DOI: 10.1016/j.biocel.2004.01.024.
  47. Shawlot W., Deng J.M., Fohn L.E., Behringer R.R. Restricted beta-galactosidase expression of a hygromycin-lacZ gene targeted to the beta-actin locus and embryonic lethality of beta-actin mutant mice. *Transgenic Res* 1998;7(2):95–103.
  48. Perrin B.J., Ervasti J.M. The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskeleton (Hoboken)* 2010;67(10):630–4. DOI: 10.1002/cm.20475.
  49. Belyantseva I.A., Perrin B.J., Sonnemann K.J. et al. Gamma-actin is required for cytoskeletal maintenance but not development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:9703–8. DOI: 10.1073/pnas.0900221106.
  50. Bunnell T.M., Ervasti J.M. Delayed embryonic development and impaired cell growth and survival in ACTG1 null mice. *Cytoskeleton (Hoboken)* 2010;67(9):564–72. DOI: 10.1002/cm.20467.
  51. Dugina V., Zwaenepoel I., Gabbiani G. et al. Beta and gamma-cytoplasmic actins display distinct distribution and functional diversity. *J Cell Sci* 2009;122(Pt 16): 2980–8. DOI: 10.1242/jcs.041970.
  52. Franke W.W., Stehr S., Stumpp S. et al. Specific immunohistochemical detection of cardiac/fetal alpha-actin in human cardiomyocytes and regenerating skeletal muscle cells. *Differentiation* 1996;60(4):245–50. DOI: 10.1046/j.1432-0436.1996.6040245.x.
  53. Шагиева Г.С., Домнина Л.В., Чипышева Т.А. и др. Реорганизация изоформ актина и адгезионных контактов при эпителиально-мезенхимальном переходе в клетках цервикальных карцином. *Биохимия* 2012;77(11):1513–25. [Shagieva G.S., Domnina L.V., Chipysheva T.A. et al. Actin isoforms and reorganization of adhesion junctions in epithelial-to-mesenchymal transition of cervical carcinoma cells. *Biokhimiya = Biochemistry* 2012;77(11):1513–25. (In Russ.)].
  54. Baranwal S., Naydenov N.G., Harris G. et al. Nonredundant roles of cytoplasmic  $\beta$ - and  $\gamma$ -actin isoforms in regulation of epithelial apical junctions. *Mol Biol Cell* 2012;23(18):3542–53. DOI: 10.1091/mbc.E12-02-0162.
  55. Дугина В.Б., Чипышева Т.А., Ермилова В.Д. и др. Распределение изоформ актина в клетках нормальной, диспластической и опухолевой ткани молочной железы. *Архив патологии* 2008;70(2):28–31. [Dugina V.B., Chipysheva T.A., Ermilova V.D. et al. Distribution of actin isoforms in normal, dysplastic and cancer breast cells. *Arkhiv patologii = Pathology Archive* 2008;70(2):28–31. (In Russ.)].
  56. Dugina V., Arnoldi R., Janmey P.A., Chaponnier C. Actin. In: *The Cytoskeleton and Human Disease*. Ed. by M. Cavallaris. Humana Press-Springer, 2012. Pp. 3–28.
  57. Brockmann C., Huarte J., Dugina V. et al. Beta- and gamma-cytoplasmic actins are required for meiosis in mouse oocytes. *Biol Reprod* 2011;85(5):1025–39. DOI: 10.1095/biolreprod.111.091736.
  58. Pokorná E., Jordan P.W., O'Neill C.H. et al. Actin cytoskeleton and motility in rat sarcoma cell populations with different metastatic potential. *Cell Motil*

- Cytoskeleton 1994;28(1):25–33.  
DOI: 10.1002/cm.970280103.
59. Sahai E., Marshall C.J. Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis. *Nat Cell Biol* 2003;5(8):711–9.  
DOI: 10.1038/ncb1019.
  60. Leavitt J., Gunning P., Kedes L., Jariwalla R. Smooth muscle alpha-actin is a transformation-sensitive marker for mouse NIH 3T3 and Rat-2 cells. *Nature* 1985;316(6031):840–2.
  61. Witt D.P., Brown D.J., Gordon J.A. Transformation-sensitive isoactin in passaged chick embryo fibroblasts transformed by Rous sarcoma virus. *J Cell Biol* 1983;96(6):1766–71.
  62. Okamoto-Inoue M., Taniguchi S., Sadano H. et al. Alteration in expression of smooth muscle alpha-actin associated with transformation of rat 3Y1 cells. *J Cell Sci* 1990;96(Pt 4):631–7.
  63. Vandekerckhove J., Leavitt J., Kakunaga T., Weber K. Coexpression of a mutant beta-actin and the two normal beta- and gamma-cytoplasmic actins in a stably transformed human cell line. *Cell* 1980;22(3):893–9.
  64. Leavitt J., Ng S.Y., Aebi U. et al. Expression of transfected mutant beta-actin genes: alterations of cell morphology and evidence for autoregulation in actin pools. *Mol Cell Biol* 1987;7(7):2457–66.
  65. Sadano H., Taniguchi S., Kakunaga T., Baba T. cDNA cloning and sequence of a new type of actin in mouse B16 melanoma. *J Biol Chem* 1988;263(31):15868–71.
  66. Lapidus K., Wyckoff J., Mouneimne G. et al. ZBP1 enhances cell polarity and reduces chemotaxis. *J Cell Sci* 2007;120(Pt 18):3173–8.  
DOI: 10.1242/jcs.000638.
  67. Shum M.S., Pasquier E., Po'uha S.T. et al.  $\gamma$ -Actin regulates cell migration and modulates the ROCK signaling pathway. *FASEB J* 2011;25(12):4423–33. DOI: 10.1096/fj.11-185447.
  68. Tondeleir D., Lambrechts A., Müller M. et al. Cells lacking  $\beta$ -actin are genetically reprogrammed and maintain conditional migratory capacity. *Mol Cell Proteomics* 2012;11(8):255–71.  
DOI: 10.1074/mcp.M111.015099.
  69. Pawlak G., Helfman D.M. Cytoskeletal changes in cell transformation and tumorigenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11(1):41–7.
  70. Pollack R., Osborn M., Weber K. Patterns of organization of actin and myosin in normal and transformed cultured cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975;72(3):994–8.
  71. Rubin R.W., Warren R.H., Lukeman D.S., Clements E. Actin content and organization in normal and transformed cells in culture. *J Cell Biol* 1978;78(1):28–35.
  72. Verderame M., Alcorta D., Egnor M. et al. Cytoskeletal F-actin patterns quantitated with fluorescein isothiocyanate-phalloidin in normal and transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77(11):6624–8.
  73. Shagieva G., Domnina L., Makarevich O. et al. Depletion of mitochondrial reactive oxygen species downregulates epithelial-to-mesenchymal transition in cervical cancer cells. *Oncotarget* 2017;8(3):4901–13, in print.
  74. Дугина В.Б., Ермилова В.Д., Черемис Г.Ю., Чипышева Т.А. Актины и кератины в диагностике базальноподобного рака молочной железы человека. *Архив патологии* 2010;(72):12–5. [Dugina V.B., Ermilova V.D., Chemeris G.Yu., Chipysheva T.A. Actins and keratins in diagnostics of human basal-like breast cancer. *Arkhiv patologii = Pathology Archive* 2010;72(2):12–5. (In Russ.)].
  75. Агапова Л.С., Черняк Б.В., Домнина Л.В. и др. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии как средство, прерывающее программу старения. SKQ1 подавляет развитие опухолей из P53-дефицитных клеток. *Биохимия* 2008;73(12):1300–16. [Agarova L.S., Chernyak B.V., Domnina L.V. et al. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. Inhibitory effect of SKQ1 on tumor development from P53-deficient cells. *Biokhimiya = Biochemistry* 2008;73(12):1300–16. (In Russ.)].
  76. Dugina V., Khromova N., Rybko V. et al. Tumor promotion by  $\gamma$  and suppression by  $\beta$  non-muscle actin isoforms. *Oncotarget* 2015;6(16):14556–71.  
DOI: 10.18632/oncotarget.3989.
  77. Dugina V., Alieva I., Khromova N. et al. Interaction of microtubules with the actin cytoskeleton via cross-talk of EB1-containing + TIPs and  $\gamma$ -actin in epithelial cells. *Oncotarget* 2016;7(45):72699–715.  
DOI: 10.18632/oncotarget.12236.