

Received: 2011.06.14
Accepted: 2011.10.21
Published: 2011.11.17

Białka Rho – kluczowe regulatory cytoszkieletu w przebiegu mitozy i cytokinezy

Rho proteins – the key regulators of cytoskeleton in the progression of mitosis and cytokinesis

Anna Klimaszewska^{1*}, Anna Stenzel^{1*}, Jakub Marcin Nowak¹, Alina Grzanka^{1,2}

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

² Bydgoska Szkoła Wyższa

Streszczenie

Białka Rho są małymi GTP-azami, należącymi do nadrodziny białek Ras. Pełnią one główną rolę w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych i kontrolowaniu wielu istotnych procesów komórkowych, takich jak: migracja, transport błonowy, adhezja, polarność czy zmiana kształtu. Będąc ogniwem wielu szlaków sygnałowych prowadzących do reorganizacji filamentów aktynowych, białka Rho regulują również progresję mitozy i cytokinezy. Zaangażowane są w formowanie i usztywnienie korteksu podczas mitotycznego zaokrąglania komórek, tworzenie wrzeciona podziałowego oraz wiązanie mikrotubul wrzeciona do kinetochorów. Ponadto w trakcie cytokinezy uczestniczą w wyznaczaniu płaszczyzny podziału komórki, formowaniu pierścienia kurczliwego i bruzdy podziałowej oraz ostatecznym rozdzieleniu komórek siostrzanych. Znane są też jako regulatory progresji cyklu komórkowego na przełomie faz G1/S oraz G2/M. W związku z tym szlaki sygnalizacyjne, w których biorą udział białka Rho, wydają się łączyć dynamikę cytoszkieletu aktynowego i mikrotubularnego z progresją cyklu komórkowego. Niniejsza praca przedstawia obecny stan wiedzy na temat molekularnej natury szlaków sygnałowych GTP-az Rho, które regulując przebudowę cytoszkieletu aktynowego i mikrotubularnego wpływają na progresję fazy podziałowej komórki.

Słowa kluczowe:

białka Rho • cytoszkielet • mitoza • cytokineza

Summary

The Rho proteins are members of the Ras superfamily of small GTPases. They are thought to be crucial regulators of multiple signal transduction pathways that influence a wide range of cellular functions, including migration, membrane trafficking, adhesion, polarity and cell shape changes. Thanks to their ability to control the assembly and organization of the actin and microtubule cytoskeletons, Rho GTPases are known to regulate mitosis and cytokinesis progression. These proteins are required for formation and rigidity of the cortex during mitotic cell rounding, mitotic spindle formation and attachment of the spindle microtubules to the kinetochore. In addition, during cytokinesis, they are involved in promoting division plane determination, contractile ring and cleavage furrow formation and abscission. They are also known as regulators of cell cycle progression at the G1/S and G2/M transition. Thus, the signal transduction pathways in which Rho proteins participate, appear to connect dynamics of actin and microtubule cytoskeletons to cell cycle progression. We review the current state of knowledge concerning the molecular

* Równorzędne pierwsze autorki.

mechanisms by which Rho GTPase signaling regulates remodeling of actin and microtubule cytoskeletons in order to control cell division progression.

Key words: Rho proteins • cytoskeleton • mitosis • cytokinesis

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=966197>

Word count: 4771

Tables: –

Figures: 1

References: 53

Adres autorki: prof. dr hab. n med. Alina Grzanka, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-094 Bydgoszcz;
e-mail: agrzanka@cm.umk.pl

Wykaz skrótów: **ABP** – białka wiążące się z aktyną (actin binding proteins); **Arp2/3** – białko spokrewnione z aktyną 2/3 (actin related protein 2/3); **Cdk** – kinazy cyklinozależne (cyclin-dependent kinases); **CK** – kinaza citronowa (Citron kinase); **DAD** – diaphanous autoinhibitory domain; **Dck** – ortolog ssaczkiej kinazy citronowej u *Drosophila* (*Drosophila* citron kinase); **DID** – Diaphanous inhibitory domain; **FH1** – domena homologiczna forminy 1 (formin homology domain 1); **FH2** – domena homologiczna forminy 2 (formin homology domain 2); **GAP** – białko stymulujące aktywność GTP-azową małych białek G (GTPase-activating protein); **GDI** – białko hamujące aktywność małych białek G (guanine nucleotide dissociation inhibitor); **GDP** – guanozyno-5'difosforan (guanosine-5'diphosphate); **GEF** – białko zaangażowane w wymianę GDP na GTP, aktywujące małe białka G (guanine nucleotide exchange factor); **GTP** – guanozyno-5'trifosforan (guanosine-5'triphosphate); **GTP-aza** – guanozyno-5'trifosfataza (guanosine-5' triphosphatase); **LIMK** – kinaza LIM (LIM kinase); **mDia** – białko efektorowe białek z rodziny Rho (mammalian homologue of *Drosophila* diaphanous); **MLC** – lekkie łańcuchy miozyny (myosine light chains); **MLCK** – kinaza lekkich łańcuchów miozyny (myosine light chains kinase); **MLCP** – fosfataza lekkich łańcuchów miozyny (myosine light chain phosphatase); **MT** – mikrotubule (microtubules); **PAK** – kinaza serynowo-treoninowa (p21-activated kinase); **PIP2** – fosfatydyloinozytolo-4,5-bisfosforan (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate); **Pik1** – polokinaza 1 (polo-like kinase 1); **Rac** – małe białko G z rodziny Rho; **Ras** – małe białko G kodowane przez protoonkogen ras będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie mięsaka myszy (rat sarcoma); **Rho** – białko należące do rodziny małych białek G (Ras homologous); **ROCK** – Rho-zależna kinaza (Rho kinase); **PRK2/PKN2** – kinaza serynowo-treoninowa (protein kinase C-related kinase 2); **WASP** – białko syndromu Wiskott-Aldrich (Wiskott-Aldrich syndrome protein); **WAVE** – białka należące do rodziny białek WASP (WASP family verprolin homologous protein).

WPROWADZENIE

Rodzinę Rho, należącą do nadrodziny białek Ras (małych białek G, małych GTP-az) tworzą monomeryczne białka o masach cząsteczkowych 20–30 kDa [22]. Są to białka o znacznym stopniu homologii sekwencji aminokwasowej, szeroko rozpowszechnione w komórkach Eukaryota, od mikroorganizmów, poprzez rośliny, aż do kręgowców [13,22]. Wspólną cechą strukturalną białek nadrodziny Ras jest domena GTP-azowa, przy czym występowanie w jej obrębie 13-aminokwasowego insertu (Rho insert domain) pomiędzy piątym łańcuchem β a czwartą helisą α , wyróżnia białka Rho spośród pozostałych małych białek G [31,33,47]. Białka Rho funkcjonują jako molekularne przełączniki, oscylując między postacią aktywną (związane z GTP) a nieaktywną (związane z GDP) [45]. Wymiana i hydroliza nukleotydów jest kontrolowana przez

trzy grupy białek regulatorowych: GEF (guanine nucleotide exchange factor), GAP (GTPase-activating protein) oraz GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor) [13,45]. Nieaktywne Rho są utrzymywane w cytoplazmie komórki w postaci związanej z białkami GDI, które hamują wymianę GDP na GTP. Rola GEFs sprowadza się do aktywacji białek Rho, ponieważ czynniki te ułatwiają zarówno dysocjację GDI, jak również wymianę GDP na GTP. Białka Rho mają niską wewnętrzną aktywność GTP-azową, dlatego też ich przejście ze stanu aktywnego w nieaktywny wymaga białek regulatorowych GAP, które promują hydrolizę GTP do GDP [22,45].

GTP-azy Rho znane są przede wszystkim jako ogniwa licznych szlaków sygnałowych w komórce, które regulują stopień polimeryzacji i depolimeryzacji aktyny oraz poziom fosforylacji miozyny. Istotny jest również ich wpływ na

dynamikę mikrotubul, drogi wewnątrzkomórkowego transportu czy aktywność czynników transkrypcyjnych. Poprzez te oddziaływania białka Rho kontrolują wiele ważnych komórkowych procesów i zjawisk, takich jak np. migracja, egzocytaza, endocytaza, fagocytaza, zmiana kształtu, tworzenie połączeń międzykomórkowych, podział komórki czy skurcz mięśni gładkich [12,13,22].

U ssaków wykryto dotąd 20 genów kodujących białka Rho (m.in. RhoA, RhoB, RhoC, RhoD, RhoE, Rac1, Rac2, RacE, Cdc42Hs, TC10) [22,45]. Najlepiej poznanymi oraz pełniącymi ważną rolę w kontroli organizacji cytoszkieletu są białka Rho, Rac i Cdc42 [22]. Aktywne RhoA stymuluje formowanie włókien naprężeniowych oraz ognisk kontaktowych, podczas gdy białka Cdc42 i Rac m.in. indukują powstawanie, odpowiednio filopodiów i lamelipodiów [16].

W pracy omówiono obecny stan wiedzy na temat molekularnych mechanizmów, za pośrednictwem których białka Rho regulują procesy mitozy i cytokinezy. Szczególną uwagę zwrócono na szlaki, w których sygnał przesyłany jest od białek regulatorowych GTP-az Rho, poprzez ich efekторы aż do filamentów aktynowych, których dynamika odgrywa nadrzędną rolę w przebiegu podziału komórki [3]. We wczesnych etapach mitozy reorganizacja cytoszkieletu aktynowego przyczynia się do zaokrąglenia komórki i usztywnienia jej korteksu sprawiając, że staje się gotowa do kolejnych procesów mitotycznych, takich jak segregacja chromosomów czy powstanie pierścienia aktomiozyny – podstawowej struktury tworzącej mechanizm napędowy cytokinezy [16,20]. Zatem regulacja cytoszkieletu aktynowego i progresji cyklu komórkowego wydają się połączone. Jednak natura funkcjonalnego powiązania obu tych procesów nie została jak dotąd w pełni poznana. W ostatnich latach uwagę naukowców zwróciły więc małe białka z rodziny Rho, które oprócz istotnej roli w modulacji organizacji filamentów aktynowych, funkcjonują również jako regulatory progresji cyklu komórkowego na granicy faz G1/S i G2/M [16].

FUNKCJA BIAŁEK RHOA I RAC W PIERWSZYCH ETAPACH MITOZY

Profaza jest pierwszą fazą podziału mitotycznego. W czasie jej trwania dochodzi do powiększenia jądra, zaniku jąderki oraz osłonki jądrowej, a także kondensacji chromosomów. Charakterystyczne dla tej fazy jest również powstanie układu wrzeciona podziałowego między centrosomami oraz zaokrąglenie komórek (mitotic cell rounding) [48].

Mitotyczne zaokrąglenie komórek jest istotne zarówno dla segregacji chromosomów, jak i ustalenia pozycji brzozy podziałowej (positioning of the cytokinetic furrow). W komórkach interfazowych filamety aktynowe zorganizowane są głównie w uporządkowane, równoległe wiązki zwane włóknami naprężeniowymi (stress fibers), które obecne są w całej cytoplazmie. Podczas wejścia komórki w fazę podziałową włókna te ulegają demontażowi, a filamety aktynowe tworzą gęstą, trójwymiarową sieć w peryferyjnej warstwie cytoplazmy, nazywanej także korteksem (cell cortex). Te zmiany w organizacji cytoszkieletu aktynowego prowadzą do usztywnienia i zaokrąglenia komórek mitotycznych. Dotąd nie poznano dokładnego mechanizmu regulującego zaokrąglenie komórek podczas mitozy. Ze względu na istotną funkcję cytoszkieletu aktynowego

w tym procesie przypuszcza się, że białko RhoA bierze udział w zmianie kształtu komórek podczas wczesnych etapów mitozy. Maddox i wsp. uważają, że RhoA uczestniczy w reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, a co za tym idzie, wpływa na usztywnienie komórki i zmianę jej kształtu [25]. Ponadto badacze ci zaobserwowali, że istotną rolę w przekazywaniu sygnału z RhoA do cytoszkieletu podczas zamiany kształtu komórek odgrywa kinaza zależna od białek Rho (ROCK, kinaza Rho, Rho kinase). Badania polegające na blokowaniu aktywności białka RhoA lub kinazy Rho potwierdziły, że brak jednego z tych białek hamuje zmianę kształtu komórek. Aktywacja szlaku RhoA/ROCK powoduje, że korteks komórki staje się sztywny i sferyczny, co umożliwia dokładną i szybką segregację chromosomów. Udowodniono również, że RhoA i kinaza Rho odpowiadają za usztywnienie komórki, które następuje w preanafazie. Za zmianę aktywności RhoA odpowiedzialne są dwa białka regulatorowe: p190RhoGAP i GEF. Podczas interfazy obserwuje się mniejszą aktywność białka RhoA niż w czasie mitozy, dlatego też w interfazie nie dochodzi do zjawiska zaokrąglenia komórek. Przyczyną zwiększonej aktywności RhoA w fazie M jest inaktywacja białka GAP (inhibitora RhoA) [25].

Oprócz mechanizmu bazującego na aktywacji RhoA, Maddox i wsp. wykryli również mechanizm niezależny od RhoA, prowadzący do zaokrąglenia komórek w czasie mitozy u szczurów. Okazało się, że stała nadprodukcja p190RhoGAP nie prowadzi do całkowitego zahamowania zaokrąglenia się komórek mitotycznych [25]. Wyniki te świadczą o złożoności procesów prowadzących do mitotycznego zaokrąglenia komórek, jednak dokładny mechanizm kierujący tym procesem nie został jeszcze w pełni poznany.

Kolejnym ważnym punktem profazy i prometafazy jest rozpoczęcie wiązania mikrotubul (MT) wrzeciona do kinetochorów. Proces ten zależny jest od białek regulatorowych (Lfc) oraz efektorowych (mDia1) RhoA [4,16]. U gryzoni czynnikiem wymiany GTP w białkach Rho jest Lfc (ludzkim analogiem tego białka jest GEF-H1). Czynnikiem ten reguluje aktywność nie tylko RhoA, ale również Rac1. Lfc zaangażowany jest w tworzenie wrzeciona mitotycznego, które odbywa się w profazie i prometafazie. Zahamowanie aktywności Lfc blokuje formowanie wrzeciona, co przyczynia się do opóźnienia mitozy oraz akumulacji komórek prometafazalnych. Komórki z niedoborem Lfc, którym uda się zakończyć mitozę, często zawierają mikrojądra, w przeciwieństwie do komórek kontrolnych. Zastosowanie przeciwciał skierowanych przeciwko Lfc powoduje nieprawidłową organizację chromatyny jądrowej, a wrzeciono mitotyczne tych komórek jest cienkie i osłabione. Defekty Lfc w obrębie jego domen katalitycznych powodują niemalże całkowitą depolimeryzację mikrotubul. Doniesienia te wskazują, że Lfc odpowiedzialne jest za prawidłową segregację chromosomów do komórek potomnych. Białkiem efektorowym Lfc jest białko RhoA, które jest zaangażowane w regulację tworzenia dwubiegunowego wrzeciona podczas wczesnych stadiów mitozy. Bakal i wsp. uważają, że RhoA jest niezbędne do wytworzenia wrzeciona mitotycznego na przełomie profazy i prometafazy. Efekтором białka RhoA jest mDia1 [4]. Przypuszcza się, że zarówno mDia1, jak i inne białko z rodziny mDia – mDia3 (efektor Cdc42), odpowiedzialne

są za wiązanie białek kinetochorowych (np. CENBP-A), umożliwiając przyłączenie MT wrzeciona do kinetochorów chromosomów. Konstytutywna aktywacja oraz hamowanie ścieżki zależnej od mDia1 podczas mitozy powoduje defekty wrzeciona [4].

Nie tylko aktywacja RhoA, ale także białek Rac ma podstawowe znaczenie dla prawidłowego przebiegu wczesnych etapów mitozy. Aktywność GTP-azy Rac regulowana jest przez białko Tiam1, należące do grupy czynników GEF. Tiam1 zaangażowane jest w migrację, adhezję komórkową, przeżycie oraz proliferację komórek. Zarówno Tiam1, jak i Rac są umiejscowione w centrosomach podczas profazy i prometafazy. Regulator Tiam1, działając poprzez Rac, uniemożliwia przedwczesne rozdzielanie centrosomów w profazie podziału mitotycznego. Ścieżka sygnałowa Tiam1-Rac działa antagonistycznie w stosunku do kinazy 5 (Eg5; białka motorycznego mikrotubul) podczas tworzenia dwubiegunowego wrzeciona. Defekty szlaku Tiam1-Rac uniemożliwiają prawidłową separację centrosomów w profazie, co skutkuje wydłużeniem czasu trwania prometafazy oraz nieprawidłowym ułożeniem chromosomów w płycie metafazalnej [49].

REGULACJA METAFAZY ZALEŻNA OD GTP-AZ RHO

Metafaza to stadium, podczas którego obserwuje się ustawienie chromosomów w tzw. płaszczyźnie równikowej komórki i wytworzenie wrzeciona podziałowego. Istotną rolę w prawidłowym przebiegu tej fazy pełnią białka kinetochorowe, umożliwiające przyłączenie mikrotubul wrzeciona podziałowego do chromosomów w miejscu zwanym kinetochorem oraz prawidłowe formowanie wrzeciona podziałowego [48].

Ważną funkcję podczas metafazy odgrywa białko Cdc42. Jest ono jednym z głównych białek odpowiedzialnych za przyłączenie mikrotubul wrzeciona mitotycznego do kinetochorów [32,44]. Połączenie to jest niezbędne do prawidłowego podziału chromosomów pomiędzy dwie komórki potomne. Aktywność Cdc42 regulowana jest głównie poprzez białka Ect2 oraz MgcRacGAP. Ect2 działa jako GEF, a zatem aktywuje białka z rodziny Rho poprzez wymianę GDP na GTP (patrz wstęp) [32]. Lokalizacja kinazy Ect2 jest ściśle związana z progresją cyklu komórkowego. Podczas interfazy białko to występuje głównie w jądrze komórkowym, natomiast w metafazie jest uwalniane z jądra i umiejscawia się w obrębie wrzeciona podziałowego [32,44]. Uważa się, że we wczesnej fazie mitozy dochodzi do fosforylacji Ect2 przez Cdk1, co zapoczątkowuje asocjację Ect2 do wrzeciona podziałowego. Możliwe jest również, że umiejscowienie Ect2 zależne jest od oddziaływania z MgcRacGAP (np. w komórkach *Drosophila*) lub spowodowane jest fosforylacją różnych białek przez Cdk1, które następnie oddziałują z Ect2 [28]. MgcRacGAP należy do rodziny białek GAP (GTPase activating proteins), aktywujących hydrolizę GTP do GDP. Podobnie jak Ect2, MgcRacGAP podczas interfazy jest umiejscowione w jądrze komórkowym, natomiast w metafazie – w obrębie wrzeciona [32,44].

Białka Ect2 oraz MgcRacGAP, oprócz regulacji aktywności Cdc42, wpływają także na rekrutację Cdc42 do wrzeciona podziałowego w czasie metafazy podziału mitotycznego. Innymi słowy Ect2 generuje wiązanie GTP do

Cdc42 w obrębie kinetochorów chromosomów metafazalnych. Oceguera-Yanez i wsp. udowodnili, że komórki wykazujące syntezę zmutowanej postaci Ect2 (pozbawionej domen odpowiedzialnych za wiązanie GTP) cechują się mniejszą ilością zaktywowanego Cdc42 [32]. W komórkach tych poziom aktywnej postaci Cdc42 w metafazie jest porównywalny z poziomem GTP-Cdc42 w prometafazie komórek wykazujących syntezę niezmięnionej Ect2. Mutacja w obrębie genu Ect2 skutkuje opóźnieniem przejścia z metafazy do anafazy, zwiększeniem liczby komórek mających dwa równej wielkości jądra komórkowe lub komórek charakteryzujących się zmianami morfologicznymi jądra, wrębami w jego obrębie czy obecnością mikrojąder. Obserwowane są również komórki z rozproszonymi chromosomami, zatrzymane w prometafazie podziału mitotycznego. Mutacja w genie kodującym MgcRacGAP (znosząca aktywność GAP) powoduje przedwczesne nagromadzenie GTP-Cdc42 (poziom GTP-Cdc42 w prometafazie jest zbliżony do poziomu tego białka w metafazie komórek wykazujących syntezę MgcRacGAP typu dzikiego). Skutki tej mutacji są podobne do zmian opisanych wyżej, zaistniałych w wyniku mutacji Ect2 [32].

Aktywne białko Cdc42 oraz inne GTP-azy Cdc42-podobne: TC10, TCL, Wrch1 lub Wrch2 (Chp) umożliwiają aktywację białka efektorowego: forminy (mDia3). Białko mDia3 reguluje wiązanie mikrotubul wrzeciona do kinetochorów najprawdopodobniej poprzez aktywację białek APC i EB1. Oba białka APC i EB1 są istotne dla prawidłowego wiązania MT do kinetochorów. Aktywacja mDia3 przez Cdc42 i inne białka Cdc42-podobne pozwala na wytworzenie dwubiegunowego wiązania MT do kinetochorów, co z kolei przyczynia się do prawidłowego ustawienia chromosomów w płaszczyźnie podziałowej komórki i umożliwia ich dalszą segregację [16,28].

Forminy (mDia3) tworzą ponadto kompleks z GTP-azą Cdc42 w kinetochorach, który umożliwia kondensację chromosomów i stabilizuje połączenie dwóch kinetochorów z MT wrzeciona, wybiegającymi z przeciwnych biegunów. Proces ten umożliwia prawidłowe gromadzenie się chromosomów w obrębie strefy równikowej komórki. Do chromosomów metafazalnych przyłączane są włókna kinetochorowe, co prowadzi do wytworzenia płytki metafazowej. Jednocześnie zachodzą procesy związane z wytworzeniem kompleksu zwanego centralspindliną (centralspindlin), który składa się z białka MgcRacGAP oraz kinazy MKLP1. Za regulację aktywności centralspindliny odpowiedzialne są białka sieciujące Cep55 oraz PRC1, a także białko Cdc20 (obecne w kinetochorach) i Ect2 (należące do RhoGEF). Aktywacja centralspindliny umożliwia przejście do anafazy podziału mitotycznego, dzięki ulokowaniu tego kompleksu w obrębie włókien astralnych [20].

Białko Cdc42 może również wpływać na postęp podziału mitotycznego w sposób zależny od białka PRC1 (protein-regulating cytokinesis 1). Badania przeprowadzone przez Bana i wsp. wykazały, że białko PRC1 (białko towarzyszące wrzecionu mitotycznemu) powoduje destabilizację MgcRacGAP i przez to pośredniczy w aktywacji Cdc42 [5]. Aktywna postać Cdc42, oprócz regulacji wiązania MT wrzeciona do kinetochorów, może kontrolować także stabilizację cytoskieletu mikrotubularnego [29]. Ban i wsp. w dyskusji zasugerowali, że aktywne Cdc42 umożliwia

aktywację białka p65PAK, które z kolei może uczestniczyć w inaktywacji statminy (stathmin). Statmina jest zachowanym w ewolucji białkiem powodującym destabilizację włókien MT. Do pełnej inaktywacji statminy potrzebna jest fosforylacja jej czterech reszt serynowych, z których jedna (Ser-16) fosforylowana jest przez p65PAK [5].

Podczas metafazy istotne funkcje pełni także białko RhoA, które z udziałem licznych białek regulatorowych i efektorowych jest w stanie kontrolować położenie wrzeciona oraz stopień polimeryzacji aktyny. Jak już wspomniano, jednym z efektorów RhoA jest kinaza ROCK, która aktywuje następnie białko efektorowe, jakim jest kinaza LIM (LIMK1) odpowiadająca za regulację dynamiki aktyny poprzez fosforylację kofiliny (białka odpowiedzialnego za depolimeryzację aktyny) [13,31]. W komórkach metafazalnych ufosforylowaną kofilinę obserwuje się głównie w cytoplazmie (białko to jest transportowane do cytoplazmy z warstwy korteksu). Ufosforylowana, nieaktywna postać kofiliny umożliwia polimeryzację włókien aktynowych, co pozwala na prawidłową regulację dynamiki wrzeciona. Aktywacja kinazy LIM, zachodząca podczas metafazy, powoduje zatem stabilizację oraz akumulację włókien aktynowych w komórce. Nadmierna ilość opisywanego efektora prowadzi do formowania się komórek wielojądrzastych, a niedobór LIMK1 odpowiedzialny jest za opóźnienie postępu mitozy, nieregularną orientację wrzeciona (irregular spindle orientation), destabilizację aktyny kortykalnej oraz mikrotubul astralnych [21].

Inne białka należące do rodziny Rho, tj. Rac oraz Cdc42, są także zaangażowane w regulację stopnia polimeryzacji filamentów aktynowych. Rac oraz Cdc42 aktywują kinazę PAK, która następnie stymuluje białko efektorowe, kinazę LIM. Aktywacja LIMK w sposób zależny od Cdc42 i Rac pokazuje, że również te białka wpływają na organizację mikrofilamentów [13,31].

UDZIAŁ GTP-AZ RHO W REGULACJI PROCESU CYTOKINEZY

Cytokineza jest końcowym etapem cyklu podziałowego komórki i polega na fizycznym odseparowaniu nowo powstałych komórek siostrzanych [19,30,52]. Proces ten wymaga dynamicznej reorganizacji cytoszkieletu aktynowego oraz interakcji miozyny II z filamentami aktynowymi, co pozwala na wytworzenie struktury przejściowej cytoszkieletu zwanej pierścieniem kurczliwym (contractile ring), którego obkurczanie prowadzi do pogłębiania się bruzdy podziałowej (cleavage furrow) aż do całkowitego rozdzielania komórek potomnych. Cytokineza w komórkach zwierzęcych rozpoczyna się w anafazie uformowaniem centralnego wrzeciona mitotycznego (central spindle) i jest procesem precyzyjnie regulowanym w czasie i przestrzeni. Prawidłowe jej zajście jest bowiem podstawowe dla utrzymania stabilności genomu [52]. Ze względu na to, że składniki cytoszkieletu tworzą mechanizm napędowy cytokinezy, białkom Rho przypisuje się zasadniczą rolę w kontroli tego procesu, przy czym aktywność polipeptydu RhoA wydaje się tu najważniejsza. Jednak, mimo że udział pozostałych białek z rodziny Rho w kontroli podziału cytoplazmy komórek ssaków jest słabo poznany i wydaje się mieć niewielkie znaczenie, to w przypadku innych organizmów (m.in. drożdży) analogi białek Cdc42 i Rac pełnią istotną rolę w opisywanym procesie [36,39].

Aktywne RhoA, promując nukleację i elongację mikrofilamentów oraz ruch ślizgowy aktyny względem miozyny, reguluje proces formowania pierścienia kurczliwego, wpuklanie się bruzdy podziałowej oraz jej stabilizację [36,40]. Pierwsze doniesienia o głównej roli RhoA w podziale cytoplazmy komórki pochodzą z badań przeprowadzonych w 1993 r. na jajach jeżowca (sand dollar eggs). W komórkach, do których przed utworzeniem bruzdy, a w drugim wariancie doświadczenia w czasie cytokinezy, wprowadzono swoisty inhibitor RhoA, transferazę C3 z *Clostridium botulinum*, nie obserwowano tworzenia się bruzdy podziałowej (wynik I wariantu doświadczenia) lub dochodziło do jej regresji (wynik II wariantu doświadczenia). Uzyskane dane wskazują, że aktywność białka RhoA jest niezbędna zarówno na etapie inicjacji, jak i progresji cytokinezy [24].

REKRUTACJA BIAŁKA RHOA DO MIEJSCA PODZIAŁU CYTOPLAZMY

Inicjacja procesu cytokinezy wymaga wyznaczenia płaszczyzny podziału (tj. ustalenia pozycji bruzdy podziałowej), uformowania pierścienia kurczliwego oraz pierwotnego wpuklenia się bruzdy podziałowej [53]. Na tym etapie cytokinezy najistotniejszym momentem jest prawidłowe ulokowanie i aktywacja RhoA w miejscu podziału. Podczas interfazy RhoA jest bowiem równomiernie rozmieszczone w cytoplazmie, a po zapoczątkowaniu fazy M zaczyna gromadzić się w korowej części komórki. W anafazie RhoA lokuje się tuż pod powierzchnią błony komórkowej w równikowym obszarze komórki (equatorial cortex), będącym potencjalnym miejscem montażu pierścienia kurczliwego i bruzdy podziałowej, co sugeruje, że funkcja tego białka związana jest z powstawaniem obu wspomnianych struktur. W telofazie RhoA utrzymywane jest w obrębie bruzdy podziałowej, a ostatecznie kumuluje się w ciałku pośrednim (midbody) [30].

W wyznaczaniu pozycji bruzdy podziałowej zasadniczą rolę przypisuje się mikrotubulom astralnym i mikrotubulom centralnego wrzeciona mitotycznego. Badania Nishimura i wsp. wykazały, że wspomniane mikrotubule odpowiadają również za rekrutację RhoA do strefy równikowej. W celu wyjaśnienia molekularnego mechanizmu odpowiadającego za przemieszczanie RhoA do miejsca podziału poszukiwano białek, które umiejscowiłyby się zarówno w MT astralnych, jak i MT centralnego wrzeciona mitotycznego, a jednocześnie odpowiadałyby za regulację aktywności RhoA. Białkami spełniającymi założone kryteria okazały się: Ect2, MgcRacGAP oraz kinezyzna MKLP1, która tworzy z MgcRacGAP wspomniany wyżej heterotetrametryczny kompleks zwany centralspindliną [30]. Zgodnie z tym mechanizmem centralspindlina, występująca we włóknach astralnych i w korteksie przylegającym do wrzeciona mitotycznego w strefie równikowej, rekrutuje Ect2 do strefy podziału [20,30]. Ect2 aktywuje RhoA i tym samym pośredniczy w uformowaniu i obkurczaniu pierścienia bruzdy podziałowej. Reasumując, w modelu zaproponowanym przez Nishimura i wsp. MT aparatu mitotycznego mogą, za pośrednictwem centralspindliny i Ect2, przesyłać sygnały do korteksu komórki w celu wyznaczenia płaszczyzny podziału i akumulacji RhoA w tej strefie [30]. Zaskakujące jest, że pozytywny regulator RhoA – czynnik Ect2 jest bezpośrednio kontrolowany przez negatywny regulator białek Rho – MgcRacGAP. Paradoks ten tłumaczony jest tym, iż we wczesnym stadium cytokinezy MgcRacGAP

funkcjonuje jako białko GAP dla GTPazy Rac i Cdc42, ale nie dla RhoA [53]. Fosforylacja MgcRacGAP przez kinazę Aurora B sprawia, że białko MgcRacGAP centralspindliny jest funkcjonalnie zmienione na białko RhoGAP [20]. Kinaza Aurora B pojawia się w komórce dopiero wówczas, gdy proces pogłębiania bruzdy podziałowej zbliża się ku końcowi [53].

Badania przeprowadzone przez Zhao i Fanga wykazały, że udział MgcRacGAP w procesie cytokinezy nie ogranicza się do rekrutacji Ect2 do strefy równikowej i aktywacji RhoA, ale odpowiada ono także za wbudowanie aniliny do wrzeciona podziałowego [53].

Dalsze badania nad rolą centralspindliny w procesie cytokinezy udowodniły, że hamowanie białka Rac przez MgcRacGAP jest niezbędne do prawidłowego formowania i pogłębiania się bruzdy. Rac pośredniczy w aktywacji kompleksu Arp2/3 przez białka WASP^{WSP-1} i WAVE^{WVE-1}. W regionie tworzącej się bruzdy aktywny kompleks Arp2/3 może zakłócać obkurczanie pierścienia kurczliwego poprzez rozgałęzianie wcześniej istniejących mikrofilamentów, co może stanowić strukturalną barierę dla wpuklania się bruzdy podziałowej [8].

Kolejnym białkiem biorącym udział w rekrutacji RhoA do strefy podziału jest polokinaza 1 (Plk1, polo-like kinase 1). Yoshida i wsp. analizując rolę drożdżowej polokinazy Cdc5 w podziale cytoplazmy wskazali na istnienie dwóch odmiennych mechanizmów odpowiedzialnych za przemieszczanie Rho1 (funkcjonalny homolog ssaczego RhoA) do przewężenia pomiędzy komórką rodzicielską a pączkiem (bud neck). Pierwszy z nich, tzw. RhoGEF-zależny, angażuje białka Tus1 i Rom2 (GEF dla Rho1), które podczas anafazy podlegają fosforylacji przez Cdc5, po czym aktywują Rho1 w miejscu podziału [52].

Analogiczny szlak sygnałowy (Plk1-Ect2-RhoA) funkcjonuje w komórkach ssaków [7,34]. Petronczki i wsp. zasugerowali, że kinaza Plk1, rekrutując białko Ect2 do centralnego wrzeciona podziałowego, promuje inicjację procesu cytokinezy i przyczynia się do wyznaczenia płaszczyzny podziału komórki [34].

Po wyjściu komórek z mitozy, RhoGEF-niezależny mechanizm odpowiada za koncentrację Rho1 w mikrodomenach błony komórkowej [51]. GTP-azy Rho są syntetyzowane w cytoplazmie i zanim ulegną przemieszczeniu do równika komórki muszą zostać dostarczone do błony komórkowej. Aby to nastąpiło, białka Rho przechodzą posttranslacyjną modyfikację (tzw. prenylację) polegającą na przyłączeniu izoprenoиду do cysteiny w umiejscowionym na C-końcu cząsteczki motywie CAAX. Taka pojedyncza prenylacja jest niezbędna, ale niewystarczająca do połączenia białka Rho z błoną komórkową. Rho musi ulec modyfikacji lipidowej w dodatkowym miejscu lub też zawierać (w sąsiedztwie motywu CAAX) wielozasadową sekwencję (PBS, polybasic sequence), która oddziałuje elektrostatycznie z ujemnie naładowanymi fosfolipidami błony komórkowej, tj. PIP2 [18]. Rho1 drożdży, podobnie jak RhoA ssaków, podlega pojedynczej prenylacji oraz zawiera PBS [2]. Yoshida i wsp. zasugerowali, że bezpośrednio oddziaływanie pomiędzy sekwencją PBS Rho1 a PIP2 może się przyczyniać do utrzymywania puli Rho1 (uczestniczącej

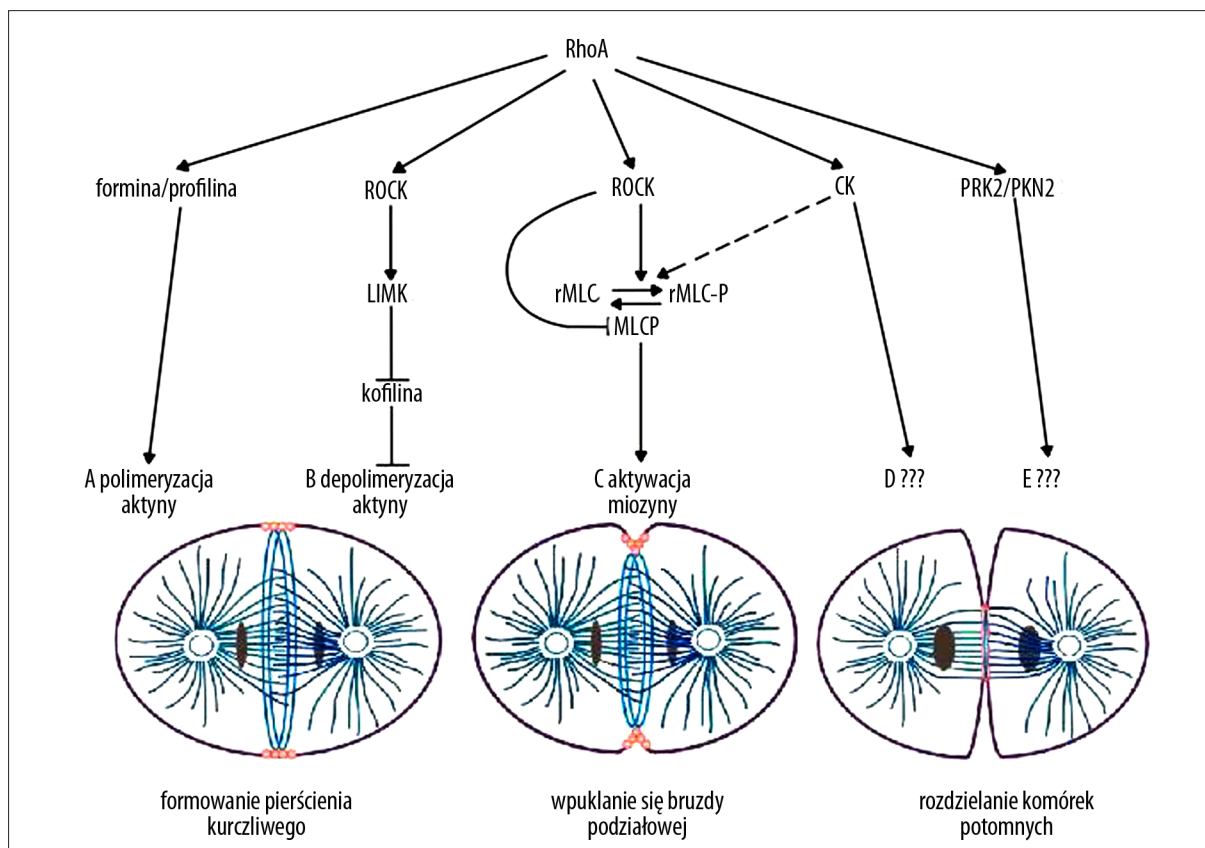
w późniejszych wydarzeniach cytokinezy, takich jak wytworzenie przegrody wtórnej czy rozdzielenie potomnych komórek) w miejscu podziału. Co więcej, przypuszcza się, że przedstawiony mechanizm może być powszechny, ponieważ w wielu typach komórek zaobserwowano znaczne nagromadzenie PIP2 w miejscu podziału [51].

Białkiem bezpośrednio oddziałującym z RhoA okazała się również anilina, wyizolowana po raz pierwszy z embriónów *Drosophila* jako białko wiążące filamenty aktynowe (ABP, actin binding protein). Piekny i wsp. wykazali, że ludzka anilina gromadzi się w czasie cytokinezy w regionie bruzdy podziałowej, w sposób zależny od RhoA i odpowiada za jego stabilizację. Anilina ma zachowaną w ewolucji C-końcową domenę, istotną dla jej funkcji i lokalizacji, zdolną do interakcji z RhoA. Podczas cytokinezy anilina jest również wymagana do utrzymania aktywnej formy miozyny w strefie równikowej sugerując, że stanowi ona białko szkieletowe (scaffold protein) łączące RhoA ze składnikami pierścienia kurczliwego, aktywną i miozyną [35].

UDZIAŁ BIAŁKA RHOA W INICJACJI I PROGRESJI CYTOKINEZY

Białko RhoA kontroluje proces podziału komórki poprzez wiązanie i regulowanie swoistych białek efektorowych, które wpływają na formowanie mikrofilamentów i kurczliwość struktur aktomiozynowych. Głównymi efektorami RhoA zaangażowanymi w przebieg cytokinezy są białka z rodziny formin, Rho-zależna kinaza (ROCK) oraz kinaza citronowa (CK, citron kinase) [36]. Rycina 1 przedstawia udział białka RhoA w regulacji kolejnych etapów procesu cytokinezy.

Poprzez interakcję z forminą RhoA stymuluje polimeryzację G-aktyny w filamenty aktynowe (ryc. 1A) [36]. Tolliday i wsp. wykazali, że proces polimeryzacji aktyny wymagany jest do utworzenia i utrzymania dynamicznej struktury cytoszkieletu – pierścienia kurczliwego [43]. Główną rolę forminy i profiliny w procesie cytokinezy podkreśla to, że pozbawienie komórek aktywnej postaci którejkolwiek z tych białek zakłóca formowanie bruzdy podziałowej i jest przyczyną zmiany fenotypu na charakterystyczny dla komórek traktowanych inhibitorami polimeryzacji aktyny. Po związaniu z RhoA, aktywna formina promuje nukleację aktyny i elongację mikrofilamentów. Zdolność formin do wiązania aktyny uwarunkowana jest obecnością w ich strukturze zachowanych w ewolucji domen FH1 i FH2 (formin homology domain) [36]. Domena FH2 wiąże się z aktyną i jest istotna w procesie nukleacji i elongacji aktyny. Z kolei domena FH1 odpowiada za wiązanie kompleksu wolnej aktyny z profiliną oraz odpowiednie umiejscowienie podjednostek aktyny względem domeny FH2 [26]. Ponadto forminy mają N- i C-koniec (odpowiednio DID, diaphanous inhibitory domain oraz DAD, diaphanous autoinhibitory domain), które stanowią potencjalne miejsca oddziaływania z RhoA. Forminy promują nukleację *de novo* mikrofilamentów, indukując asocjację dwóch monomerów aktyny oraz tworząc miejsce wiązania dla trzeciego monomeru [36]. Podczas elongacji filamentu formina pozostaje związana z rosnącym końcem (barbed end) i chroni go przed białkami czapeczkującymi (capping proteins), umożliwiając dołączanie kolejnych podjednostek aktyny [26,36]. Z kolei profilina przyłącza związane z ATP monomery aktyny oraz wiąże się z bogatą w reszty prolinowe



Ryc. 1. Udział białka RhoA w regulacji kolejnych etapów procesu cytokinezy (opis w tekście) (wg [36] zmodyfikowano)

domeną FH1 forminy, wpływając tym samym na wzrost tempa elongacji mikrofilamentów [6,36]. Warto również wspomnieć, że Böttcher i wsp. wykazali, że w dzielących się chondrocytach profilina nie jest wymagana do uformowania aktomiozynowego pierścienia, lecz jest niezbędna w końcowym etapie cytokinezy, przyczyniając się do generacji siły potrzebnej do rozdzielania komórek potomnych [6]. Przy braku RhoA w komórce większość formin zaangażowanych w proces cytokinezy podlega autoinhibicji przez wewnątrzcząsteczkowe oddziaływanie pomiędzy domenami C- i N-końcową. Miejsce wiązania dla RhoA w cząsteczce forminy częściowo pokrywa się z DID, dlatego też RhoA znosi autoinhibicję forminy [36].

Kolejny szlak sygnałowy indukowany przez RhoA, odpowiedzialny za akumulację F-aktyny angażuje kinazy ROCK oraz LIM (ryc. 1B) [14]. Abe i wsp. wykazali, że blokada kofiliny wymagana jest do prawidłowego zajścia procesu cytokinezy [1]. Aktywacja szlaku RhoA/ROCK/LIMK/kofilina może się w sposób pośredni przyczyniać do utworzenia pierścienia kurczliwego, poprzez stabilizowanie struktur zbudowanych z filamentów aktynowych [14].

Udział RhoA w regulacji procesu cytokinezy związany jest również z wpływem tego białka na aktywność miozyny II, drugiego podstawowego komponentu pierścienia kurczliwego (ryc 1C) [36]. Miozyna II jest heksamerem zawierającym dwa łańcuchy ciężkie, których regiony globularne związane są z dwoma łańcuchami lekkimi – MLC1 (myosin light chain 1; określane też regulacyjnym, rMLC) i MLC2 (myosin light chain 2; nazywany również istotnym). Fosforylacja zachowanej w ewolucji reszty seryny

w pozycji 19 rMLC pozwala na włączenie miozyny w sieć mikrofilamentów, tworząc aktomiozynowy układ kurczliwy komórek [9]. Badania wykazały, że kilka kinaz białkowych (m.in. ROCK, CK czy MLCK) zdolnych jest do fosforylacji miozyny w miejscu Ser19 [36].

Kosako i wsp. zaobserwowali, że podczas cytokinezy, aktywowana przez RhoA kinaza ROCK gromadzi się w regionie bruzdy podziałowej i odpowiada za fosforylację łańcuchów regulatorowych miozyny II [23]. ROCK, w sposób niezależny od Ca^{2+} , fosforyluje tę samą resztę serynową MLC co swoista, Ca^{2+} -zależna kinaza lekkich łańcuchów miozyny (MLCK, myosin light chain kinase) [22,37].

Regulacja stopnia fosforylacji miozyny przez ROCK może również wynikać z wpływu tego białka na fosfatazę lekkich łańcuchów miozyny (MLCP, myosine light chain phosphatase), która katalizuje defosforylację rMLC-Ser19. Rho-zależna kinaza, poprzez fosforylację wiążącej miozynę podjednostki MBS (myosin-binding subunit) fosfatazy MLC prowadzi do zmniejszenia aktywności tego enzymu, a w konsekwencji do wzrostu stopnia ufosforylowania miozyny. Tak więc ROCK może również pośrednio przyczyniać się do zwiększenia aktywności miozyny II [13,36,38,46].

Innym białkiem zdolnym do fosforylacji rMLC, lokującym się w regionie tworzącej się bruzdy w sposób zależny od RhoA jest kinaza citronowa (ryc. 1D) [11,50]. Enzym ten należy do zachowanej w ewolucji rodziny kinaz serynowo-treoninowych wykrytych u człowieka, myszy, szczura i muszki owocowej [41]. Yamashiro i wsp. wykazali, że CK

funkcjonuje jako kinaza łańcucha lekkiego miozyny, przyłączając reszty fosforanowe w pozycji Ser19 i Thr18 [50].

UDZIAŁ BIAŁKA RHOA W ROZDZIALE KOMÓREK POTOMNYCH

Poza etapami inicjacji i progresji cytokinezy, RhoA uczestniczy także w końcowej fazie tego procesu, jaką jest ostateczne rozdzielanie komórek siostrzanych (abscission) [36]. W większości komórek zwierzęcych pogłębiająca się bruzda podziałowa zapewnia niemal całkowite odseparowanie komórek potomnych, które jednak pozostają połączone wydłużającym się, aż do przerwania międzykomórkowym mostem (intercellular bridge) [27]. Proces pogłębiania bruzdy dobiega końca w chwili osiągnięcia przez nią przeciwnoległych wiązek mikrotubul, które zachodzą na siebie w centralnym regionie międzykomórkowego mostu, określanym jako ciało pośrednie [42]. Ukończenie procesu cytokinezy wymaga stabilizacji wspomnianego mostu, demontażu pierścienia kurczliwego, specjalizacji domen błonowych oraz wytworzenia dodatkowej błony plazmatycznej [15,27]. Elementy błony dostarczane są do bruzdy w postaci pęcherzyków wydzielniczych powstałych w systemie trans aparatu Golgiego, a ich fuzja z błoną pomaga w rozdziale cytoplazmy [20,40].

Wyniki badań przeprowadzonych przez Naima i wsp. sugerują, że enzym Dck (*Drosophila* citron kinase), będący ortologiem ssaczej kinazy citronowej u *Drosophila*, pełni główną rolę w końcowym etapie cytokinezy. Mutanty *Drosophila* z utratą funkcji białka Dck miały prawidłowo uformowane wrzeciono podziałowe oraz pierścień aktomiozyny, którego obkurczanie prowadziło do prawidłowego pogłębiania się bruzdy podziałowej. Jednakże takie komórki wykazywały liczne defekty w późnej telofazie (m.in. zmiany w morfologii mostu łączącego komórki potomne) i nie kończyły cytokinezy, co sugerowało problem z rozdzielaniem komórek siostrzanych [27].

Jak już wcześniej wspomniano, zarówno CK jak i ROCK katalizują fosforylację rMLC. Dlatego też zastanawiające jest, że u myszy z defektem genu kinazy citronowej obserwowano zaburzenia przebiegu cytokinezy, mimo że komórki te wykazywały wzmoczoną syntezę Rho-zależnej kinazy. Te dane świadczą o odmiennej roli obu białek w procesie cytokinezy. Istotna różnica w aktywności tych enzymów związana jest z tym, że fosfataza lekkich łańcuchów miozyny jest substratem ROCK, ale nie kinazy citronowej. Brak możliwości zahamowania aktywności MLCP przez kinazę citronową wskazuje, że enzym ten nie hamuje defosforylacji reszt aminokwasowych łańcuchów regulatorowych miozyny II. Z kolei aktywna kinaza Rho, blokując MLCP może przekształcić większość rMLC do postaci ufosforylowanej. Zablockowanie defosforylacji MLC może utrudniać prawidłowe ukończenie cytokinezy, ponieważ rozdzielanie komórek potomnych wymaga demontażu pierścienia, a proces ten prawdopodobnie zależy m.in. od defosforylacji MLC [50]. Tak więc Rho-zależna kinaza oraz kinaza citronowa wydają się pełnić odmienną rolę w procesie cytokinezy, promując odpowiednio, obkurczanie pierścienia aktomiozyny i rozdzielanie komórek potomnych [36].

Kolejnym efektem białka RhoA niezbędnym do ukończenia procesu cytokinezy jest serynowo-treoninowa kinaza PRK2/PKN2 (ryc. 1E). Podczas telofazy białko to,

w sposób zależny od Ect2 i Rho, gromadzi się w bruzdzie podziałowej, a następnie w ciałku pośrednim. Schmidt i wsp. zaobserwowali, że wyciszenie ekspresji genu PRK2 w komórkach HeLa S3 nie zakłóca działania bruzdy podziałowej czy formowania ciałka pośredniego, natomiast nie pozwala na przerwanie międzykomórkowego mostu łączącego komórki potomne, które ostatecznie ulegają fuzji i stają się dwujędrówce [40].

Biochemiczna rola kinazy PRK/PKN w rozdziale komórek siostrzanych nie została jednak dotąd poznana [40]. Jak wynika z piśmiennictwa, PRK2 oddziałuje z białkową fosfatazą tyrozynową PTP-BL, która podczas cytokinezy kolokalizuje z nią w bruzdzie podziałowej, a następnie w ciałku pośrednim i zdaje się pełnić istotną rolę w regulacji podziału cytoplazmy [17]. Innym białkiem lokującym się w czasie cytokinezy w regionie śródciałka i wiążącym się z PKN/PRK1 jest CG-NAP (centrosome and Golgi localized protein kinase N-associated protein). Niezbędne są jednak dalsze badania, aby ustalić czy wymienione białka uczestniczą w szlaku kinaz PRK zaangażowanym w kontrolę rozdziału komórek potomnych podczas cytokinezy [40].

Udział białek Rho w ostatecznym rozdzielaniu komórek potomnych może być także związany z promowaniem sekrecji [51]. Naukowcy sugerują bowiem, że pęcherzyki wydzielnicze dostarczane z aparatu Golgiego w okolice ciałka pośredniego, łącząc się ze sobą oraz z błoną plazmatyczną, prowadzą do przebudowy błony otaczającej komórki siostrzane, a następnie ich rozdziału [15,40,42]. Aktywne Rho1 wiąże istotne dla procesu sekrecji białko Sec3 oraz odpowiada za jego prawidłowe umiejscowienie w komórce [51]. Dobbelaere i wsp. wykazali, że Sec3 uczestniczy w procesie cytokinezy u drożdży, promując oddzielenia pączka od komórki rodzicielskiej [10].

PODSUMOWANIE

GTP-azy Rho pełnią istotną rolę w regulacji organizacji cytoszkieletu, wpływając zarówno na filamenty aktynowe, jak i mikrotubule. Aktywność tych białek regulowana jest przez białka GEF, GAP oraz GDI, które kontrolują wiązanie i hydrolizę GTP. Liczne badania wskazują na udział białek Rho w regulacji mitozy i cytokinezy poprzez reorganizację cytoszkieletu aktynowego i mikrotubularnego. W przebiegu mitozy istotne funkcje pełni białko Cdc42, które kontroluje tworzenie dwubiegunowego wiązania MT wrzeciona do kinetochorów (zależnie od formin), a także wpływa na dynamikę wzrostu mikrotubul (hamując statminy). Kolejne białko – RhoA podczas podziału mitotycznego aktywuje białka efektorowe, m.in. kinazę ROCK i LIM oraz białko mDia. Efektory te kontrolują formowanie korteksu komórkowego, dynamikę tworzenia wrzeciona oraz wiązanie mikrotubul wrzeciona do kinetochorów. Białko RhoA pełni również istotne funkcje podczas cytokinezy. Oprócz aktywacji ROCK i LIMK, które regulują procesy formowania i stabilizacji pierścienia kurczliwego a w konsekwencji bruzdy podziałowej, RhoA aktywuje także kinazę citronową. Kinaza ta kontroluje proces ostatecznego rozdzielania siostrzanych komórek i tym samym umożliwia zakończenie cytokinezy. Przedstawione mechanizmy kontroli podziału komórkowego zależne od reorganizacji cytoszkieletu wskazują na to, że białka Rho mogą stanowić pomost łączący obydwa te procesy.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abe H., Obinata T., Minamide L.S., Bamburg J.R.: Xenopus laevis actin-depolymerizing factor/cofilin: a phosphorylation-regulated protein essential for development. *J. Cell Biol.*, 1996; 132: 871–875
- [2] Abe M., Qadota H., Hirata A., Ohya Y.: Lack of GTP-bound Rho1p in secretory vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.*, 2003; 162: 85–97
- [3] Amano T., Kaji N., Ohashi K., Mizuno K.: Mitosis-specific activation of LIM motif-containing protein kinase and roles of cofilin phosphorylation and dephosphorylation in mitosis. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 22093–22102
- [4] Bakal C.J., Finan D., LaRose J., Wells C.D., Gish G., Kulkarni S., DeSepulveda P., Wilde A., Rottapel R.: The Rho GTP exchange factor Lfc promotes spindle assembly in early mitosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 9529–9534
- [5] Ban R., Irino Y., Fukami I., Tanaka H.: Human mitotic spindle-associated protein PRC1 inhibits MgcRacGAP activity toward Cdc42 during the metaphase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 16394–16402
- [6] Böttcher R.T., Wiesner S., Braun A., Wimmer R., Berna A., Elad N., Medalia O., Pfeifer A., Aszódi A., Costell M., Fässler R.: Profilin 1 is required for abscission during late cytokinesis of chondrocytes. *EMBO J.*, 2009; 28: 1157–1169
- [7] Burkard M.E., Randall C.L., Larochelle S., Zhang C., Shokat K.M., Fisher R.P., Jallepalli P.V.: Chemical genetics reveals the requirement for Polo-like kinase 1 activity in positioning RhoA and triggering cytokinesis in human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 4383–4388
- [8] Canman J.C., Lewellyn L., Laband K., Smerdon S.J., Desai A., Bowerman B., Oegema K.: Inhibition of Rac by the GAP activity of centralspindlin is essential for cytokinesis. *Science*, 2008; 322: 1543–1546
- [9] Chadoir B., Kowalczyk P.A., Chisholm R.L.: Regulatory light chain mutations affect myosin motor function and kinetics. *J. Cell Sci.*, 1999; 112: 1611–1620
- [10] Dobbelaere J., Barral Y.: Spatial coordination of cytokinetic events by compartmentalization of the cell cortex. *Science*, 2004; 305: 393–396
- [11] Eda M., Yonemura S., Kato T., Watanabe N., Ishizaki T., Madaule P., Narumiya S.: Rho-dependent transfer of Citron-kinase to the cleavage furrow of dividing cells. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 3273–3284
- [12] Etienne-Manneville S., Hall A.: Rho GTPases in cell biology. *Nature*, 2002; 420: 629–635
- [13] Fabczak A.: Rodzina białek Rho a cytoskielet. *Kosmos*, 2001; 50: 283–293
- [14] Glotzer M.: Animal cell cytokinesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2001; 17: 351–386
- [15] Guizetti J., Gerlich D.W.: Cytokinetic abscission in animal cells. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2010; 21: 909–916
- [16] Heng Y.W., Koh C.G.: Actin cytoskeleton dynamics and the cell division cycle. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2010; 42: 1622–1633
- [17] Herrmann L., Dittmar T., Erdmann K.S.: The protein tyrosine phosphatase PTP-BL associates with the midbody and is involved in the regulation of cytokinesis. *Mol. Biol. Cell*, 2003; 14: 230–240
- [18] Hoe W.D., Inoue T., Park W.S., Kim M.L., Park B.O., Wandless T.J., Meyer T.: PI(3,4,5)P3 and PI(4,5)P2 lipids target proteins with polybasic clusters to the plasma membrane. *Science*, 2006; 314: 1458–1461
- [19] Huckaba T., Pon L.A.: Cytokinesis: Rho and formins are the ringleaders. *Curr. Biol.*, 2002; 12: R813–R814
- [20] Kaczanowska J., Kaczanowski A.: Dynamika mitozy i cytokinezy symetrycznej i asymetrycznej. *Postępy Biochem.*, 2010; 56: 29–40
- [21] Kaji N., Muramoto A., Mizuno K.: LIM kinase-mediated cofilin phosphorylation during mitosis is required for precise spindle positioning. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 4983–4992
- [22] Kłopocka W., Barańska J.: Rola białek z rodziny Rho w kontroli migracji komórek pęłających. *Postępy Biochem.*, 2005; 51: 36–43
- [23] Kosako H., Yoshida T., Matsumura F., Ishizaki T., Narumiya S., Inagaki M.: Rho-kinase/ROCK is involved in cytokinesis through the phosphorylation of myosin light chain and not ezrin/radixin/moesin proteins at the cleavage furrow. *Oncogene*, 2000; 19: 6059–6064
- [24] Mabuchi I., Hamaguchi Y., Fujimoto H., Morii N., Mishima M., Narumiya S.: A rho-like protein is involved in the organisation of the contractile ring in dividing sand dollar eggs. *Zygote*, 1993; 1: 325–331
- [25] Maddox A.S., Burrige A.: RhoA is required for cortical retraction and rigidity during mitotic cell rounding. *J. Cell Biol.*, 2003; 160: 255–265
- [26] Maruniewicz M., Kasprzowicz A., Wojtaszek P.: Roślinna twarz formin – organizatorów cytoskieletu aktynowego. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 196–200
- [27] Naim V., Imarisio S., Di Cunto F., Gatti M., Bonaccorsi S.: *Drosophila* Citron kinase is required for final step of cytokinesis. *Mol. Biol. Cell*, 2004; 15: 5053–5063
- [28] Narumiya S., Ocegüera-Yañez F., Yasuda S.: A new look at Rho GTPases in cell cycle. Role in kinetochore-microtubule attachment. *Cell Cycle*, 2004; 3: 855–857
- [29] Narumiya S., Shingo Y.: Rho GTPases in animal cell mitosis. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2006; 18: 199–205
- [30] Nishimura Y., Yonemura S.: Centralspindlin regulates ECT2 and RhoA accumulation at the equatorial cortex during cytokinesis. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 104–114
- [31] Nowak J.M., Grzanka A., Źuryń A., Stepiń A.: Rodzina białek Rho i ich rola w cytoskielecie komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 110–117
- [32] Ocegüera-Yañez F., Kimura K., Yasuda S., Higashida C., Kitamura T., Hiraoka Y., Haraguchi T., Narumiya S.: Ect2 and MgcRacGAP regulate the activation and function of Cdc42 in mitosis. *J. Cell Biol.*, 2006; 168: 221–232
- [33] Parri M., Chiarugi P.: Rac and Rho GTPases in cancer cell motility control. *Cell Commun. Signal.*, 2010; 8: 23
- [34] Petronczki M., Glotzer M., Kraut N., Peters J.M.: Polo-like kinase 1 triggers the initiation of cytokinesis in human cells by promoting recruitment of the RhoGEF Ect2 to the central spindle. *Dev. Cell*, 2007; 12: 713–725
- [35] Piekny A., Glotzer M.: Anillin is a scaffold protein that links RhoA, actin, and myosin during cytokinesis. *Curr. Biol.*, 2008; 18: 30–36
- [36] Piekny A., Werner M., Glotzer M.: Cytokinesis: welcome to the Rho zone. *Trends Cell Biol.*, 2005; 15: 651–658
- [37] Ramachandran C., Patil R.V., Combrink K., Sharif N.A., Srinivas S.P.: Rho-Rho kinase pathway in the actomyosin contraction and cell matrix adhesion in immortalized human trabecular meshwork cells. *Mol. Vis.*, 2011; 17: 1877–1890
- [38] Riddick N., Ohtani K., Surks H.: Targeting by myosin phosphatase-RhoA interacting protein mediates RhoA/Rock regulation of myosin phosphatase. *J. Cell Biochem.*, 2008; 103: 1158–1170
- [39] Rincon S., Coll P.M., Perez P.: Spatial regulation of Cdc42 during cytokinesis. *Cell Cycle*, 2007; 6: 1687–1691
- [40] Schmidt A., Durgan J., Magalhaes A., Hall A.: Rho GTPase regulate PRK2/PKN2 to control entry into mitosis and exit from cytokinesis. *EMBO J.*, 2007; 26: 1624–1636
- [41] Shandala T., Gregory S.L., Dalton H.E., Smallhorn M., Saint R.: Citron kinase is essential effector of the Pbl-activated Rho signalling pathway in *Drosophila melanogaster*. *Development*, 2004; 131: 5053–5063
- [42] Steigemann P., Gerlich D.W.: Cytokinetic abscission: cellular dynamics at the midbody. *Trends Cell Biol.*, 2009; 19: 606–616
- [43] Tolliday N., VerPlank L., Li R.: Rho1 directs formin-mediated actin ring assembly during budding yeast cytokinesis. *Curr. Biol.*, 2002; 12: 1864–1870
- [44] Touré A., Mzali R., Liot C., Seguin L., Morin L., Crouin C., Chen-Yang I., Tasy Y.-G., Dorseuil O., Gacon G., Bertoglio J.: Phosphoregulation of MgcRacGAP in mitosis involves Aurora B and Cdk1 protein kinases and the PP2A phosphatase. *FEBS Lett.*, 2008; 582: 1182–1188
- [45] Van Aelst L., D'Souza-Schorey C.: Rho GTPase and signaling networks. *Genes Dev.*, 1997; 11: 2295–2322
- [46] Wang Y., Zheng X.R., Riddick N., Bryden M., Baur W., Zhang X., Surks H.K.: ROCK isoform regulation of myosin phosphatase and contractility in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 2009; 104: 531–540
- [47] Wennerberg K., Channing J.: Rho-family GTPases: It's not only Rac and Rho (and I like it). *J. Cell Sci.*, 2004; 117: 1301–1312
- [48] Wolniak S.M. Mitosis. <http://www.cfls.umd.edu/cbm/faculty/wolniak/wolniakmitosis.html> (05.05.2011)
- [49] Woodcock S.A., Rushton H.J., Castaneda-Saucedo E., Myant K., White G.R., Blyth K., Sansom O.J., Malliri A.: Tiam1-Rac signaling counteracts Eg5 during bipolar spindle assembly to facilitate chromosome congression. *Curr. Biol.*, 2010; 20: 669–675

- [50] Yamashiro S., Totsukawa G., Yamakita Y., Sasaki Y., Madaule P., Ishizaki T., Narumiya S., Matsumura F.: Citron kinase, a Rho-dependent kinase, induces di-phosphorylation of regulatory light chain of myosin II. *Mol. Biol. Cell*, 2003; 14: 1745–1756
- [51] Yoshida S., Bartolini S., Pellman D.: Mechanisms for concentrating Rho1 during cytokinesis. *Genes Dev.*, 2009; 23: 810–823
- [52] Yoshida S., Kono K., Lowery D.M., Bartolini S., Yaffe M.B., Ohya Y., Pellman D.: Polo-like kinase Cdc5 controls the local activation of Rho1 to promote cytokinesis. *Science*, 2006; 313: 108–111
- [53] Zhao W., Fang G.: MgcRacGAP controls the assembly of the contractile ring and the initiation of cytokinesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 13158–13163

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.