

NOWE FUNKCJE LAMIN – STARZY ZNAJOMI W NOWYM ŚWIETLE

LAMINS – A FRESH LOOK AT OLD FRIENDS

Magdalena ZAREMBA-CZOGALLA, Magda DUBIŃSKA-MAGIERA,
Ryszard RZEPECKI

Pracownia Białek Jądrowych, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie: Jądro komórkowe jest wydzielone z cytoplazmy otoczką jądrową. Struktura ta zbudowana jest z podwójnej błony lipidowo-białkowej, kompleksów porowych oraz blaszki jądrowej. Głównym składnikiem ostatniej z wymienionych są laminy, białka należące do filamentów pośrednich typu V. Intensywne badania dotyczące lamin prowadzono już w latach siedemdziesiątych XX wieku. Początkowo postrzegano je jedynie jako elementy strukturalne. Wraz z rozwojem nauki odkrywano nowe ich funkcje i zadania. Obecnie wiemy, że laminy pełnią funkcje mechaniczne budując podporę dla otoczki jądrowej. Chronią materiał genetyczny przed działaniem sił mechanicznych, decydując o kształcie, wielkości i lokalizacji jądra. Wpływają na właściwe rozlokowanie kompleksów porowych i połączenie cytoszkieletu ze szkieletem jądrowym. Wpływają także na podstawowe procesy zachodzące na terenie jądra, takie jak replikacja i transkrypcja. Sądzi się również, iż mogą one brać udział w fizjologicznych procesach starzenia, mitozie, różnicowaniu komórki, procesach nowotworzenia, apoptozie oraz wpływać na przebieg infekcji wirusowych. Mutacje w genach kodujących laminy są przyczyną licznych chorób dziedzicznych, określanych wspólnym mianem laminopatii.

Słowa kluczowe: laminy, otoczka jądrowa, funkcje lamin, laminopatie.

Summary: The nuclear envelope separates the nucleoplasm from the rest of the cell. It includes two lipid bilayers, nuclear pores and the nuclear lamina. Lamins are major protein components of the nuclear lamina and are present in the nuclear interior as well. They are type V intermediate filament proteins. Intensive research on lamins has been conducted since early 1970s. At first lamins were known only as major structural components of the nucleus. As our knowledge progressed, their novel functions and roles were revealed. Currently, it is clear that lamins are responsible not only for mechanical functions but also organization of chromatin, DNA replication, regulation of transcription factors, epigenetics, DNA repair, transcription, cell cycle regulation, cell development and differentiation, nuclear migration and apoptosis. Recent studies have provided evidences in support of lamin function in virus infection, tumorigenesis, mitosis and for linking the nucleoplasm to all major cytoskeletal networks. Mutations in nuclear lamina genes may cause a wide range of heritable human diseases.

Praca dotowana ze środków Wrocławskiego Centrum Badań EIT+ w ramach realizacji projektu „Biotechnologie i zaawansowane technologie medyczne” – BioMed (POIG.01.01.02-02-003/08) finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka, Poddziałanie 1.1.2).

Key words: lamins, nuclear envelope, lamin functions, laminopathies.

Skróty: **CeLam** – jedyna lamina występująca u nicienia *Caenorhabditis elegans*, **HGPS** (ang. *Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome*) – progeria Hutchinsona-Gilforda, **INM** (ang. *Inner Nuclear Membrane*) – wewnętrzna błona jądrowa, **LAP** (ang. *Lamina Associated Polypeptide*) – białka asocjujące z chromatyną, **LMNA** – ludzki gen kodujący laminy typu A/C, **LMNB1** – ludzki gen kodujący laminę B1, **LMNB2** – ludzki gen kodujący laminy B2 i B3, **NLS** (ang. *Nuclear Leading Sequence*) – sekwencja kierująca do przedziału jądrowego, **NPC** (ang. *Nuclear Pore Complex*) – kompleks porowy, **PKC** (ang. *Protein Kinase C*) – kinaza białkowa C, **ZMPSTE24/FACE1** (ang. *Zinc MetalloProteinase STE 24 homology*) – metaloproteinaza zależna od jonów cynku.

LOKALIZACJA JĄDROWA I TYPY LAMIN

W komórkach eukariotycznych jądro komórkowe jest wydzielone z cytoplazmy złożoną strukturą nazywaną otoczką jądrową – NE (ang. *Nuclear Envelope*). Zbudowana jest ona z podwójnej błony lipidowo-białkowej rozdzielonej przestrzenią perinuklearną, kompleksów porowych oraz blaszki jądrowej wyścielającej nukleoplazmatyczną powierzchnię błony wewnętrznej. Miejszem bezpośredniego oddziaływania cytoszkieletu i szkieletu jądrowego jest kompleks LINC (ang. *Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton*), w skład którego wchodzi białka mające na C-końcu cząsteczki konserwatywną domenę KASH oraz oddziałujące z nimi białka z domeną SUN, np. Sun1 i Sun2 [83]. Wewnętrzna błona otoczki jądrowej jest wyścielona blaszką jądrową nazywaną laminą. Jest to struktura o grubości od 30 do 300 nm [2], w zależności od typu komórki i jej stanu fizjologicznego, wykazująca również różnice grubości w obrębie jednego jądra komórkowego. Głównym jej składnikiem są laminy – białka należące do rodziny filamentów pośrednich typu V [53]. Laminę zidentyfikowano u wielokomórkowych eukariontów, wyjątek stanowią rośliny i grzyby [72]. Obok lokalizacji w otoczce jądrowej, laminy wykrywa się także wewnątrz jądra, w nukleoplazmie. Nie wiadomo, czy występują tam jako dimery, tetramery lub oligomery, czy może formy wysokopolimeryzowane. W pojedynczym jądrze komórkowym mogą znajdować się miliony cząsteczek lamin. Szacuje się, iż w komórce HeLa jest ok. 10^6 kopii [97]. Ze względu na wzór ekspresji kodujących je genów, sekwencję aminokwasową, właściwości biochemiczne i lokalizację wewnątrzkomórkową laminy można podzielić na dwie główne klasy: laminy A/C oraz laminy B. Laminę typu B występują we wszystkich rodzajach komórek organizmu, w czasie mitozy w większości pozostają połączone z frakcją błonową (pęcherzykami mitotycznymi), występują w formie izoprenylowanej. Z kolei, ekspresja genu lamin typu A/C jest zależna od stadium rozwoju (identyfikuje się je w komórkach różnicujących się lub zróżnicowanych), podczas podziału jądra komórkowego występują w formie rozpuszczalnej lokalizując się w cytoplazmie [72]. W warunkach *in vitro* laminy obu typów mogą tworzyć heterodimery [75], jednak wydaje się, że w komórce oba typy formują niezależne sieci, które oddziałują ze sobą, przy czym laminy typu B pozostają prawdopodobnie bliżej błony [21, 78]. W toku ewolucji wzrasta liczba genów odpowiedzialnych za kodowanie lamin, a także różnorodność

produktów ich ekspresji [53]. Ssaki mają 3 geny lamin: *LMNA*, *LMNB1* oraz *LMNB2*, które poprzez proces alternatywnego splicingu mRNA i potranslacyjnej modyfikacji są podstawą do syntezy wielu różnych wariantów lamin. U *Homo sapiens* opisano 7 izoform lamin. Lamin A, C, C2 i AΔ10 powstają w procesie alternatywnego splicingu genu *LMNA*, który składa się z 12 egzonów. Lamina B1 jest jedynym produktem genu *LMNB1*, z kolei gen *LMNB2* koduje laminy B2 i B3. Lamina B2 jest obecna w komórkach somatycznych, lamina B3 – w spermatocytach [72].

FUNKCJE LAMIN JAKO ELEMENTÓW STRUKTURALNYCH JĄDRA KOMÓRKOWEGO

Budowa cząsteczek laminowych oraz wpływ lamin na strukturę jądra

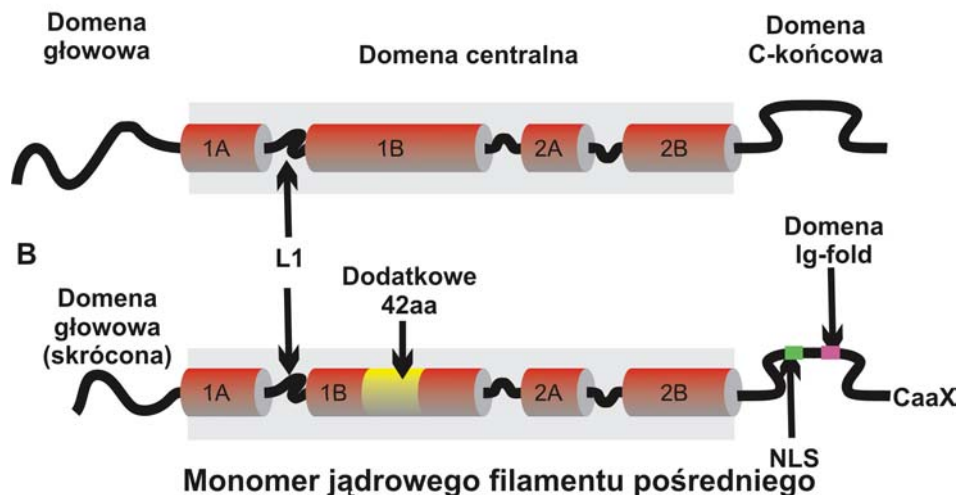
Laminy tworzą włóknistą strukturę sieci zwaną blaszką jądrową i być może wchodzi w skład szkieletu wewnątrzjądrowego. Stąd też od dawna uznawano je za ważny element strukturalny jądra komórkowego, niezbędny do utrzymania jego prawidłowej architektury. Pod względem strukturalnym białka te charakteryzują się trójczęściową budową (ryc. 1).

In vitro i *in vivo* laminy niespolimeryzowane występują w postaci dimerów i mogą polimeryzować w struktury typu: głowa do ogona lub przez antyrównolegle ułożone dimery tworzą tetramery polimeryzujące w grubsze włókna. Filamenty laminowe są zorganizowane w trójwymiarową sieć blaszki jądrowej, zapewniającą mechaniczną podporę dla otoczki jądrowej i ochronę dla materiału genetycznego. Ten tworzony przez laminy i ich partnerów białkowych dynamiczny szkielet decyduje o kształcie, sztywności i wielkości jądra komórkowego [14, 53]. Świadczą o tym obserwacje dotyczące obniżenia poziomu ekspresji genów lamin powodujące wyraźne zmiany w strukturze i kształcie jądra komórkowego [45]. Ponadto, obecność jądrowych filamentów pośrednich jest konieczna do właściwego rozmieszczenia kompleksów porowych w obrębie otoczki jądrowej. Prawidłowe umiejscowienie porów jądrowych wiąże się z interakcjami lamin z białkiem Nup153, składnikiem nukleoplazmatycznego pierścienia NPC [80] oraz być może Nup53 [29]. Obie wspomniane nukleoporyny oddziałują z laminami typu B [29, 80].

Oddziaływanie cytoszkielet-szkielet jądrowy

Dziś wiemy już, że struktury cytoszkieletu i szkieletu jądrowego oddziałują ze sobą poprzez kompleks LINC, co może odgrywać rolę w pozycjonowaniu jądra w obrębie komórki, wiązaniu centrosomu do otoczki jądrowej, lokalizacji telomerów w czasie mejozy [81, 92, 98] oraz odpowiedzi komórki na stres mechaniczny [32, 83]. Białka z domeną SUN stanowiące element opisywanego kompleksu są w większości integralnymi białkami wewnętrznej błony jądrowej. Oddziałują one bezpośrednio z laminami typu A i B [12]. Drugim składnikiem kompleksu LINC są białka z domeną KASH [82]. Nazwa tej domeny, zbudowanej z ok. 50 reszt aminokwasowych,

A Monomer cytoplazmatycznego filamentu pośredniego

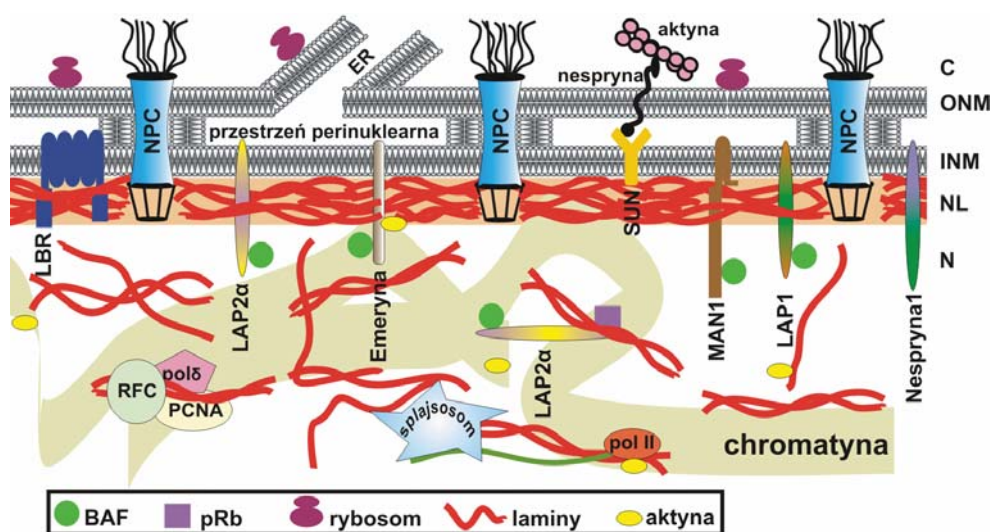


RYCINA 1. Porównanie budowy monomerów cytoplazmatycznych filamentów pośrednich (panel A) i lamin (panel B). Lamiны charakteryzują się skróceniem globularnej domeny głowowej, nietypową sekwencją linkerową L1, wydłużeniem zwoju 1B o 42 reszty aminokwasowe. W domenie C-końcowej jądrowe filamety pośrednie zawierają sygnał kierujący do kompartmentu jądrowego (NLS), domenę Ig-fold oraz motyw CaaX (C – cysteina, a – aminokwas alifatyczny, X – dowolna reszta aminokwasowa), dzięki któremu lamiны podlegają potranslacyjnym modyfikacjom umożliwiającym ich kotwiczenie do błony jądrowej (izoprenylacja, proteoliza i karboksymetylacja). Na schemacie oznaczono cztery α -helikalne zwoje (1A, 1B, 2A, 2B)

FIGURE 1. Comparison of the cytoplasmatic (Panel A) and nuclear intermediate filaments (Panel B). Lamins globular head domain is short, in the alpha helical rod domain there is a 42aa extension of coil 1B. Tail domain contains a nuclear localization signal sequence (NLS), Ig-fold domain and CaaX sequence (C – cysteine, a – aliphatic, X – any amino acid residue) – a site of posttranslational modifications (farnesylation, carboxyl methylation, proteolytic cleavage) and nuclear membrane association. The coiled-coil domains are marked as 1A, 1B, 2A and 2B.

pochodzi od białek, w których ją zidentyfikowano: Klarsicht, ANC-1 oraz SYNE1. Mogą one oddziaływać z trzema podstawowymi składnikami cytoszkieletu [32, 76]: aktyną [100], z filamentami pośrednimi poprzez pektynę [93] i poprzez dyneinę z mikrotubulami, a także z centrosomami [48]. Pamiętać należy, że białka z domeną KASH, podobnie jak białka z domeną SUN, nie są specyficzne dla przedziału jądrowego, występują one również w innych organellach komórkowych, mogą mieć także różne lokalizacje w obrębie samego jądra komórkowego [82]. Poprzez interakcje białek SUN z białkami z domeną KASH, występującymi w zewnętrznej błonie otoczki jądrowej, tworzy się „most” pomiędzy cytoszkieletem i szkieletem jądrowym (ryc. 2).

W komórce występuje zatem złożona sieć fizycznie połączonych ze sobą składników strukturalnych, która z kolei oddziałuje z elementami macierzy zewnątrzkomórkowej. Obok roli strukturalnej, sieć ta umożliwia również przekazywanie sygnału bezpośrednio do jądra komórkowego w sposób mechaniczny (przez zmiany naprężenia). Umożliwia to komórce szybką odpowiedź na działający



RYCINA 2. Schemat budowy otoczki jądrowej. Pokazano lokalizację lamin oraz interakcje z partnerami białkowymi. Zaznaczone zostały integralne białka wewnętrznej błony jądrowej oddziałujące z laminami (Lap1, Lap2 β , emeryna, MAN 1, nespryna 1, LBR), kompleks replikacyjny (polimeraza DNA δ , PCNA, RFC), splajsosom. Pokazano również oddziaływanie lamin z chromatyną, polimerazą RNA II, białkiem retinoblastomy (pRb) i Lap2 α . Na schemacie wskazano także kompleks stanowiący miejsce bezpośredniego oddziaływania cytoszkieletu i szkieletu jądrowego, w skład którego wchodzi nespryna oraz dimer białka SUN. Oznaczenia: BAF – białko BAF; C – cytoplazma, ER – retikulum endoplazmatyczne, INM – wewnętrzna błona jądrowa, N – nukleoplazma, NL – blaszka jądrowa, NPC – kompleks porowy, ONM – zewnętrzna błona jądrowa

FIGURE 2. Schematic diagram of the nuclear envelope and the molecular linking between lamins and their protein partners. The integral nuclear membrane proteins (Lap1, Lap2b, emerin, MAN 1, nesprin 1, LBR), replication complex (DNA d polymerase, PCNA, RFC) and spliceosome are shown. Lamin interactions with chromatin, RNA polymerase II, pRb and Lap2a are marked. A bridge that physically connects the nucleoskeleton to the cytoskeleton formed by nesprin and SUN-domain proteins is also demonstrated. C – cytoplasm, ER – endoplasmic reticulum, INM – inner nuclear membrane, N – nucleoplasm, NL – nuclear lamina, NPC – nuclear pore complex, ONM – outer nuclear membrane

mechaniczny czynnik stresowy (np. przez aktywację niektórych genów) [32]. Brak laminy B1, powodujący prawdopodobnie zahamowanie oddziaływań szkieletu jądrowego z cytoszkieletem, objawia się wzmożoną „rotacją” jąder komórkowych [37]. Potwierdzono również, że nieobecność lamin typu A zaburza integralność szkieletu komórkowego jako całości. Konsekwencją braku opisywanego białka są defekty we właściwej lokalizacji jądra oraz centrum organizacji mikrotubul (MTOC) [33]. Sądzi się, że obniżenie sztywności w fibroblastach pozbawionych lamin typu A/C [42] jest również efektem zaburzenia struktury kompleksu LINC [83]. Laminę wpływają na polarność komórki i regulują pozycję jądra. Na przykład u muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) laminę determinują polarność oocyty, kontrolują migrację jąder w czasie wydłużania i rozgałęziania tchawek [25], a także wpływają na wędrówkę jąder w fotoreceptorowych komórkach oka [62].

Laminy w mitozie jako składnik macierzy wrzeciona podziałowego

Podczas procesu mitozy laminy obu typów podlegają specyficznej fosforylacji, która umożliwia demontaż blaszki jądrowej. Częsteczki lamin uwolnione ze struktur polimerowych są rozproszone w komórce. Jednak pewna niewielka frakcja lamin typu B, prawdopodobnie w efekcie zmiany wzoru fosforylacji i/lub uwolnienia z kompleksu z importynami α i β przez RanGTP, występuje w postaci spolimeryzowanej stanowiąc składnik macierzy wrzeciona podziałowego [87]. Wyciszenie ekspresji genów lamin B w komórkach HeLa oraz genu laminy CeLam u *C. elegans* powoduje defekty wrzeciona, zaburzenia segregacji chromosomów oraz opóźnienia prometafazy [45, 87]. W tworzeniu macierzy wrzeciona podziałowego w sposób zależny od dyneiny bierze udział białko Nudel (ang. *NudE-like*), które oddziałuje bezpośrednio z laminami typu B. Brak funkcjonalnej dyneiny lub Nudel uniemożliwia formowanie wrzeciona mitotycznego, podczas gdy brak laminy B prowadzi jedynie do spowolnienia procesu [47].

INNE FUNKCJE LAMIN

Rola lamin jako białek strukturalnych, stanowiących mechaniczną osłonę i budulec jądra komórkowego, wydaje się bezsporna. Jednak doniesienia ostatnich lat mówią coraz częściej o innych ich funkcjach. Potwierdzono, że kompleksy laminowe wpływają na podstawowe procesy zachodzące na obszarze jądra komórkowego, takie jak replikacja i transkrypcja [24, 35, 53].

Rola lamin w procesie replikacji DNA

W badaniach nad replikacją wskazuje się na rolę lamin zlokalizowanych w nukleoplazmie. Wchodzą one w skład „centrów replikacyjnych” i oddziałują z PCNA (ang. *Proliferating Cell Nuclear Antigen*) [79] oraz dużą podjednostką RFC (ang. *Replication Factor C*) wpływając na proces elongacji DNA. Zaburzenia struktury lamin powodują zmienioną dystrybucję wymienionych kofaktorów polimerazy DNA delta, które tworzą agregaty w nukleoplazmie, co w konsekwencji blokuje wydłużanie DNA. Jednocześnie nie zmienia się lokalizacja białek związanych z inicjacją replikacji, która nadal zachodzi [55, 79].

Wpływ lamin na organizację przestrzenną chromatyny oraz ekspresję genów

Białka otoczki jądrowej uczestniczą w regulacji transkrypcji na kilku poziomach, począwszy od bezpośrednich interakcji z czynnikami transkrypcyjnymi, poprzez kontrolę struktury chromatyny, po indukcję epigenetycznych modyfikacji histonów.

Laminy kontrolują organizację przestrzenną chromatyny stanowiąc miejsce zakotwiczenia domen chromatynowych i w ten sposób mogą regulować ekspresję zawartych w niej genów [2, 77]. Wiadomo także, iż rozlokowanie chromosomów w jądrze komórkowym nie jest przypadkowe i najprawdopodobniej zależy od ilości

(gęstości) zawartych w niej genów [11]. Rejony ubogie w geny znajdują się na peryferiach jądra, w pobliżu blaszki, a rejony bogate – w jego wnętrzu. Za właściwe rozlokowanie chromosomów odpowiada prawdopodobnie jądrowa aktyna w kompleksie z miozyną, emeryną i laminą A [52]. Domeny chromatynowe oddziałujące z laminami zawierają więcej markerów wyciszania transkrypcji (H3K9me2, H3K27me3) i są ubogie w geny [63]. Przypuszczano, że lokalizacja w pobliżu otoczki jądrowej i interakcje z laminami powodują wyciszenie ekspresji genów, co potwierdzały liczne eksperymenty [66]. Jednak ostatnie doniesienia literaturowe dowodzą, że nie jest to regułą, a w pobliżu otoczki jądrowej są zlokalizowane zarówno nieaktywne, jak i aktywne transkrypcyjnie geny [68]. Rola lamin w regulacji transkrypcji jest bezsporna, jednak dokładny mechanizm ich działania wymaga dalszych badań.

Występowanie lamin w jądrze nie jest ograniczone jedynie do struktur blaszki jądrowej. Znajdują się one również w jego wnętrzu. Mogą więc wpływać na regulację ekspresji genów przez bezpośrednie interakcje z czynnikami transkrypcyjnymi [16]. Dotyczy to zwłaszcza lamin typu A/C. Coraz częściej pojawiają się dane eksperymentalne wskazujące na udział pary: lamina A-LAP2 α w kompleksie z białkiem retinoblastoma (pRB) w bezpośredniej regulacji procesu ekspresji genów przez wpływ na czynniki transkrypcyjne z rodziny E2F [50]. Kompleks lamina A-LAP2 α może regulować aktywność pRB na różnych szlakach. Wiadomo, że komórki pozbawione lamin A charakteryzują się obniżonym poziomem białka retinoblastomy. Podobny efekt wywołuje obniżenie poziomu LAP2 α . Laminę stabilizują pRB chroniąc je przed degradacją proteosomalną [38]. Formuluje się również hipotezy zakładające, że regulacja aktywności pRB zachodzi przez rekrutację enzymów modyfikujących chromatynę bądź współzawodnictwo z innymi partnerami białkowymi pRB [16, 28]. Laminę mogą wpływać na poziom ufosforylowania pRB. Potwierdzono interakcje lamin A/C z fosfatazą PP2A (ang. *Protein Phosphatase 2A*), enzymem odpowiedzialnym za indukowaną przez TGF- β 1 (ang. *Transforming Growth Factor- β 1*) defosforylację pRB oraz SMAD2 [88].

Potwierdzono również oddziaływanie lamin A/C z innymi czynnikami transkrypcyjnymi: białkiem SREBP-1 (ang. *Sterol Regulatory Element Binding Protein*) regulującym procesy biosyntezy cholesterolu, lipogenezy i adipocytogenezy [46], MOK-2 [18] oraz białkiem c-Fos, składnikiem kompleksu czynnika transkrypcyjnego AP1 (ang. *Activating Protein 1*) [36]. Przypuszcza się, że również białko BAF (znany partner lamin, zaangażowany w kontrolę organizacji chromatyny) bierze udział w regulacji ekspresji genów [56]. Ponadto udowodniono, iż sama lamina A, ekspresjonowana jako białko fuzyjne z domeną wiązania DNA z drożdżowego białka Gal4, łącząc się do sekwencji promotorowych działa jak represor transkrypcji [41].

Wiadomo, że ekspresja genów jądrowych regulowana jest epigenetycznie, poprzez modyfikacje zasad azotowych w określonych sekwencjach DNA (np. sekwencje CpG) lub poprzez specyficzne, potranslacyjne modyfikacje histonów w określonym obszarze chromatyny (tzw. epigenetyczny „kod histonów”). Pojawiają się również dowody potwierdzające, że epigenetyczny „kod histonów” może być częściowo zapisany w otoczce jądrowej, a dokładniej – w składzie budujących ją białek [77].

Na przykład w komórkach pacjentki cierpiącej na progerię Hutchinsona-Gilforda, u której ekspresjonowany jest zmutowany gen laminy A, obserwowano usunięcie z nieaktywnego chromosomu X markera blokującego transkrypcję (H3K27me3) oraz obniżenie aktywności metylotransferazy EZH2, enzymu odpowiedzialnego za wspomnianą modyfikację [22]. Podobnie w hodowlach ludzkich fibroblastów, w których ekspresjonowana jest zmutowana wersja genu laminy A, obserwuje się redukcję lub brak markera heterochromatyny (H3K9me3) [9, 74].

Laminy wpływają również na transkrypcję zależną od polimerazy RNA II [40]. Ostatnio wykazano, że zaburzenie struktury szkieletu laminowego, przez wyciszenie ekspresji genu laminy B1 w ludzkich komórkach HeLa, obniża kilkukrotnie poziom syntezy RNA, co wiąże się z pojawieniem nieprawidłowości w budowie jądra komórkowego [85].

Rola lamin w procesie starzenia

Wyniki prac zespołu Scaffidi i Misteli sugerują udział lamin typu A/C w fizjologicznym procesie starzenia [73], pokazując fenotypowy efekt mutacji polegających na konstytutywnym uaktywnieniu miejsca splicingowego w egzonie 11. Powoduje to produkcję krótszej o 50 reszt aminokwasowych wersji białka zwanej progeryną lub LAΔ50 [22, 67], która nie jest trawiona przez proteazę ZMPSTE24/FACE1. Lamina przez utratę sekwencji rozpoznawanej przez proteazę ZMPSTE24 ma na karboksylowym końcu farnezylowaną cysteinę i w związku z tym wykazuje zmienioną lokalizację (do wewnętrznej błony otoczki jądrowej), co jak się przypuszcza jest główną przyczyną wykształcenia progerii typu Hutchinsona-Gilforda (HGPS) [96]. Jednak podobne zmiany występują spontanicznie również w zdrowych komórkach (tu miejsce splicingowe uaktywniane jest sporadycznie), a poziom ekspresji krótszej wersji laminy A jest pozytywnie skorelowany z wiekiem. Ponadto, jądra komórkowe osób starszych charakteryzuje występowanie zmian fenotypowych podobnych do obserwowanych u pacjentów z HGPS: zmiany poziomu modyfikacji histonów, zwiększenie ilości uszkodzeń DNA [67, 73] czy skorelowane pozytywnie z wiekiem obniżenie tempa importu białek do przedziału jądrowego [65]. Na poziomie komórkowym HGPS wiąże się ze zmianami w organizacji chromatyny, opóźnieniem odtwarzania otoczki jądrowej po podziale komórkowym oraz defektami segregacji chromosomów [15] i hamowaniem importu białek do jądra komórkowego [3]. Obniżenie ilości progeryny w takich komórkach przywraca fenotyp dziki [74]. Podwyższona synteza zmienionej wersji laminy A, jak również zwiększenie poziomu normalnego białka, skorelowana jest z szybszym tempem skracania telomerów i deformacjami jądra [34]. U dorosłych osobników *C. elegans* w czasie starzenia obserwuje się deformacje jąder, przemieszczenia heterochromatyny oraz zmniejszenie poziomu laminy CeLam w blaszce jądrowej, przy jednoczesnym zwiększeniu puli laminy wewnątrzjądrowej. W przypadku wyciszenia ekspresji genu *CeLam* proces starzenia się nicienia zachodzi szybciej, skracając okres życia zwierzęcia [26].

Do dziś brak pełnej odpowiedzi na pytanie o molekularne podłoża efektu fenotypowego wywołanego pojawieniem się w ludzkich komórkach laminy

LAΔ50. Wyniki eksperymentów sugerują, że mogą to być zmiany we właściwościach mechanicznych blaszki jądrowej [13]. W hodowlach fibroblastów zaobserwowano, że synteza progeryny lub konstytutywnie farnezylowanego białka laminy A (L647R) powoduje zaburzenie proliferacji transdukowanych komórek i pojawienie się zmian morfologicznych podobnych jak w przypadku jąder komórek pobranych od pacjentów z HGPS. Zmiany w proliferacji (nie morfologii) mogą zostać zniesione przez inaktywację p53 lub stabilną ekspresję genu katalitycznej podjednostki ludzkiej telomerazy hTERT (ang. *human Telomerase Reverse Transcriptase*). Wskazuje to, że podłożem molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za wykształcenie progerii mogą być zmiany w dynamice lub strukturze telomerów [39]. Biorąc pod uwagę efekt fenotypowy wywołany obecnością laminy L647R (w pozycji 647 białka w miejscu reszty aminokwasowej leucyny występuje reszta argininy) można przypuszczać, iż mechanizm pojawienia się blokady proliferacji wynika z błędnej lokalizacji laminy A. Następuje wtedy przeniesienie oddziaływań charakterystycznych dla wewnątrzjądrowej laminy A do obszaru blaszki i otoczki jądrowej, gdzie zmieniona lamina A jest „kotwiczona” przez farnezylację.

Laminy w komórkach nowotworowych

Ostatnio dyskutowana jest również funkcja lamin w procesie nowotworzenia. Wiadomo, iż laminy typu A/C wraz z ich partnerami białkowymi mogą wpływać na szlaki regulacji wzrostu komórki: laminy A w kompleksie z LAP2α kontrolują aktywność supresora wzrostu pRb [17], natomiast w kompleksie z emeryną wpływają na aktywność β-kateniny [86]. Ponadto kompleks lamina A-MAN1 oddziałuje ze SMAD jako antagonistą TGF-β [44]. Wykazano, że komórki LMNA^{-/-} są niewrażliwe na czynniki białkowe zatrzymujące cykl komórkowy (p16ink4a oraz p14arf) [58].

Zmiany poziomu laminy mogą być skorelowane ze zmianami w poziomie ekspresji genów w komórkach nowotworowych. W komórkach raka piersi obserwowano zmiany w wiązaniu się lamin do chromatyny i rearanżacje domen chromatynowych [30]. W pewnych typach nowotworów obserwuje się zmiany w poziomie lamin typu B. Na przykład w komórkach nowotworu prostaty dochodzi do podwyższenia poziomu laminy B [10]. Podobnie w przypadku nowotworu wątroby – HCC (ang. *HepatoCellular Carcinoma*) poziom laminy B1 koreluje pozytywnie z postępem rozwoju i wielkością guza. Cechy te czynią laminę B1 potencjalnym biomarkerem w badaniach klinicznych [84]. Laminy B są obecne we wszystkich ludzkich komórkach, dlatego występują też w komórkach po transformacji nowotworowej. Obecność lamin typu A/C charakteryzuje komórki różnicujące się i zróżnicowane, stąd też brak lamin tego typu może być charakterystyczny dla komórek nowotworowych. W wielu typach nowotworów obserwowano obniżenie poziomu lamin typu A/C, jednak nie jest to regułą i zależy od typu nowotworu, jego stopnia rozwoju i złośliwości oraz może być modyfikowane przez działanie różnych substancji [64]. Obecności lamin A i/lub C nie wykrywa się w pewnych typach nowotworów skóry, gdzie obserwuje się korelacje pomiędzy rodzajem laminy a tempem proliferacji

komórek nowotworowych. Brak lamin A koreluje z szybkim rozwojem guza, podczas gdy odwrotna zależność zachodzi dla lamin C [59, 98]. Odnotowano, że ekspresja genu lamin typu A/C może być biomarkerem zwiększonego ryzyka i stanowić złą prognozę dla pacjentów cierpiących na raka okrężnicy. Śmiertelność wśród osób, u których zanotowano obecność lamin A/C, wzrastała dwukrotnie w stosunku do pacjentów, u których białko to nie było obecne w komórkach nowotworowych. Ekspresję genu lamin powiązano ze zwiększoną inwazyjnością, która jest efektem wpływu białka na reorganizację szkieletu aktynowego przez podwyższenie poziomu T-plastyny. Prowadzi to do obniżenia w komórce poziomu adhezyjnego białka E-kadheryny i w konsekwencji zmniejszenia adhezyjności takiej komórki [94, 95]. W przypadku niektórych tkanek ekspresja genu lamin może być markerem stopnia zróżnicowania nowotworu. Potwierdzono to dla jednego z typów raka jajnika – OSC (ang. *Ovarian Serous Carcinoma*), gdzie podwyższony poziom lamin typu A/C wiąże się z bardziej zaawansowanym stadium rozwoju nowotworu [91]. Zastosowanie spektrometrii masowej w badaniach proteomu komórek nowotworowych pokazało, że linie komórkowe A549 (raka płuc) charakteryzuje wyższa zawartość ufosforylowanych lamin A/C [69]. Przedstawione powyżej i opisane w literaturze badania kliniczne dają nadzieję na powiązanie poziomu lamin z tempem proliferacji nowotworu, jego stopniem zróżnicowania czy inwazyjnością, co może uczynić te białka użytecznymi markerami diagnostycznymi.

Rola lamin w apoptozie i różnicowaniu się komórek

Sugeruje się, że laminy w pewnym stopniu wpływają na apoptozę komórki. W czasie programowanej śmierci komórki dekondukcja chromosomów, fragmentacja DNA oraz pakowanie materiału jądrowego do ciałek apoptotycznych jest poprzedzone proteolizą lamin przy udziale kaspazy 6 [8]. Wydaje się, że proteoliza lamin A umożliwia kondensację chromatyny [70], a zwiększony poziom białka przedłuża proces proteolizy. Natomiast wyciszenie ekspresji genów lamin B1 i B2 indukuje apoptozę [27]. Stwierdzono, że apoptotyczna fragmentacja lamin skorelowana jest pozytywnie z podwyższonym poziomem ich fosforylacji, co prawdopodobnie odpowiada za rozluźnienie zwartej struktury blaszki jądrowej i zwiększenie dostępności dla proteaz [7].

Charakterystyczny wzór syntezy lamin typu A/C (obecne są w komórkach różnicujących się i zróżnicowanych) sugeruje, iż biorą one udział w różnicowaniu komórki. Zauważono, że mysie fibroblasty *LMNA*^{-/-} proliferują szybciej niż komórki typu dzikiego [45]. Mysie mioblasty C2C12 w wyniku syntezy nieprawidłowej lamin A (R453W) znacznie wolniej się różnicują [20].

Badania ostatnich lat pokazują korelacje pomiędzy poziomem lamin typu A/C a otyłością i występowaniem cukrzycy typu drugiego. W podskórnej tkance tłuszczowej pacjentów dotkniętych tymi schorzeniami obserwuje się postępujące podwyższenie poziomu mRNA dla genu *LMNA* [54]. Wiadomo, że poziom lamin wzrasta w czasie różnicowania adipocytu [43]. Oddziałują one z czynnikami transkrypcyjnymi zaangażowanymi w procesie adipogenezy [97]. Ich bezpośrednia rola nie jest w pełni

poznana. Ostatnie dane sugerują, że kluczowym elementem łącznikowym pomiędzy laminami i lipodystrofią oraz potencjalnie cukrzycą typu II może być modulacja szlaku sygnalizacyjnego Wnt/ β -katenina przez emerynę i laminy A/C. Odbywa się to albo w kierunku szlaku PPAR γ , albo szlaku poprzez β -kateninę i zależną od kinazy GSK3 β degradację β -kateniny [86]. Jednak molekularny mechanizm i bezpośrednia rola lamin nie jest jeszcze w pełni poznana. Wiadomo, że laminy oddziałują z cząsteczkami sygnałnymi mogąc w ten sposób wpływać na różne szlaki przekazywania sygnału w komórce. Partnerami białkowymi lamin typu A/C są: kinaza PKC α , fosfatazy PP1 oraz PP2, a także kinaza MAPK (Erk) [51].

Modyfikacje lamin

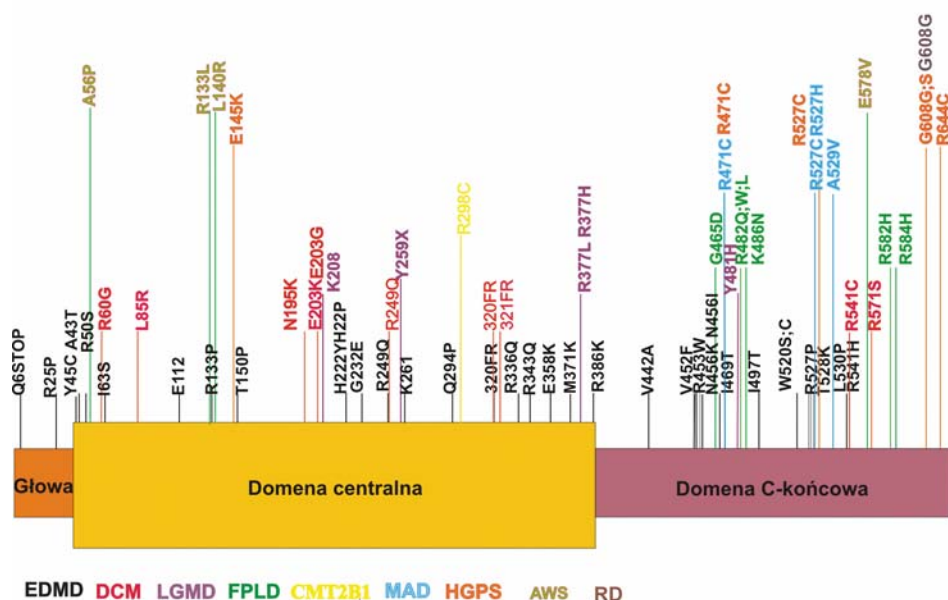
Laminy w komórce podlegają licznym potranslacyjnym modyfikacjom. Modyfikowany jest motyw CaaX (C – cysteina, a – aminokwas alifatyczny, X – dowolna reszta aminokwasowa) zlokalizowany na C-końcu białka [71]. Laminy podlegają fosforylacji. Wiadomo, że specyficzna fosforylacja lamin jest konieczna do pełnej depolimeryzacji otoczki jądrowej w czasie podziału jądra komórkowego [49]. Kolejną potranslacyjną modyfikacją lamin jest SUMOylacja zachodząca na reszcie lizyny w pozycji 201 w obrębie domeny centralnej białka [99].

Zdarza się, że zaburzenia prawidłowych modyfikacji lamin powiązane są z występowaniem fenotypu chorobowego, np. nieprawidłowa obróbka C-końca białka wiąże się z fenotypem progerii typu Hutchinsona-Gilforda [19], niższy poziom fosforylacji N-terminalnej części laminy A/C – z dystrofiami mięśniowymi [6], SUMOylacja – z kardiomiopatią [99]. Wiadomo, że odwracalna fosforylacja lamin kontroluje stopień polimeryzacji blaszki jądrowej. Umiejętność depolimeryzacji blaszki jądrowej i otoczki jądrowej komórek gospodarza została „nabyta” w procesie ewolucji wirusów z rodziny Herpeswirus. Powodem tego jest zapewne wielkość nukleokapsydów wirusowych uniemożliwiająca ich transport przez kompleksy porowe, co zmusza wirusy do pokonania bariery otoczki jądrowej [4]. Wykorzystują one w tym celu możliwość destabilizacji struktury blaszki jądrowej poprzez fosforylację lamin i białek integralnych błony, takich jak emeryna. Aby przedostać się przez barierę otoczki jądrowej, kapsydy wirusowe muszą punktowo destabilizować jej zwartą strukturę, nie dopuszczając jednocześnie do pełnej dysocjacji [61]. Prawidłowa otoczka jest potrzebna do rozwoju wirusa, co potwierdzają badania komórek pozbawionych laminy B1, w których utrudniona jest replikacja wirusa opryszczki pospolitej HSV (ang. *Herpes Simplex Virus*) [57].

Choroby wynikające z mutacji genów kodujących białka jądrowe

O znaczeniu lamin dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka świadczą konsekwencje mutacji w genach kodujących te białka. Efektem takich zmian są liczne choroby dziedziczne nazywane ogólnie laminopatiami. W ludzkich genach *LMNA*, *LMNB1* oraz *LMNB2* zlokalizowano ponad 200 mutacji powiązanych z co najmniej 13 typami chorób. Należą do nich schorzenia związane z mutacjami w genie kodującym laminę typu A/C: autosomalna dominująca dystrofia

mięśniowa typu Emery-Dreifussa (AD-EDMD), autosomalna recesywna dystrofia mięśniowa typu Emery-Dreifussa (AR-EDMD), obręczowo-kończynowa dystrofia typu B1 (LGMD1B), dysplazja żuchwowo-obojęzykowa (MAD), rodzinna dystrofia typu Dunningana (FPLD), choroba Charcot-Marie-Tooth 2B1 (CMT2B1), idiopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa (DCM1A), progeria Hutchinsona-Gilforda (HGPS), ogólna lipodystrofia (LDHCP), atypowy syndrom Wernera (AWS), dermatopatia restryktywna (RD) [1, 5]. Mutacje chorobowe w genie *LMNA* mają zazwyczaj fenotypowy efekt substytucji pojedynczych aminokwasów, czasami zmian ramki odczytu, delecji lub wprowadzenia kodonu STOP. Mogą również powodować aktywację miejsc splicingowych (ryc. 3).



RYCINA 3. Zmiany w laminach typu A/C związane z laminopatiami. Rycina zawiera przykładowe mutacje chorobowe. Różne typy laminopatii zaznaczone są odmiennymi kolorami. Zastosowane skróty: EDMD – dystrofia mięśniowa typu Emery-Dreifussa (czarny), DCM – idiopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa (czerwony), LGMD1B – obręczowo-kończynowa dystrofia typu B1 (fioletowy), FPLD – rodzinna dystrofia typu Dunningana (ciemnozielony), CMT2B1 – choroba Charcot-Marie-Tooth 2B1 (żółty), MAD – dysplazja żuchwowa (niebieski), HGPS – progeria Hutchinsona-Gilforda (pomarańczowy), AWS – atypowy syndrom Wernera (szaro-zielony), RD – dermatopatia restryktywna (brązowy)

FIGURE 3. Schematic representation of the mutations in A/C lamins. Mutations causing autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD) are colored black, dilated cardiomyopathy (DCM) are shown in red, limb girdle muscular dystrophy 1B (LGMD1B) in violet, Dunningan-type partial lipodystrophy (FPLD) in green. Mutation connected with Charcot-Marie-Tooth disorder (CMT2B1) are marked in yellow, mandibuloacral dysplasia (MAD) in blue, Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS) in orange. Mutations associated with atypical Werner syndrome (AWS) and restrictive dermatopathy (RD) are shown light green and brown respectively

Zdecydowanie rzadziej laminopatie są spowodowane zmianami w genach kodujących laminy typu B. Prawdopodobnie dlatego, iż konsekwencje wynikające z braku prawidłowo funkcjonujących form lamin tego typu są poważniejsze – efektem braku laminy B jest śmierć komórki [27]. Myszy, u których laminy B1 pozbawione są ważnych domen funkcjonalnych (między innymi sekwencji NLS, motywu CaaX), umierają w trakcie porodu [90]. Pierwszym opisanym typem choroby powiązanym z genem *LMNB1* jest leukodystrofia – ADLD (ang. *Adult-onset Autosomal Dominant LeukoDystrophy*), charakteryzująca się fenotypem podobnym do objawów stwardnienia rozsianego. Pacjenci dotknięci tym schorzeniem mają dodatkową kopię genu kodującego laminę B1, co powoduje podwyższenie poziomu białka [60]. Ostatnio udało się powiązać fenotyp syndromu Barraquera-Simonsa – APL (ang. *acquired partial lipodystrophy*) z mutacjami w drugim ludzkim genie kodującym laminę typu B – *LMNB2* [31].

Objawy defektu laminowego, chociaż najczęściej są efektem zmiany pojedynczej reszty aminokwasowej w białku, są bardzo poważne i różnorodne. Symptomy chorobowe dotyczą różnych typów tkanek i funkcjonowania całego organizmu. Jedną z charakterystycznych cech laminopatii jest niejednorodność poziomu manifestacji danego genotypu w różnych organach i tkankach. Geny laminy ekspresjonowane są we wszystkich komórkach organizmu, a defekty w genach je kodujących powodują szerokie spektrum objawów, które w zależności od rodzaju mutacji odnoszą się tylko do wybranego typu tkanki. Powstało kilka hipotez wyjaśniających opisywane zjawisko [23].

PODSUMOWANIE

Dane literaturowe ostatnich lat ukazują laminy w nowym świetle. Białka postrzegane początkowo jedynie jako elementy strukturalne budujące jądro komórkowe, okazały się ważnym elementem wpływającym na różnorodne procesy komórkowe. Wciąż wzrasta liczba i różnorodność znanych partnerów białkowych lamin. Potwierdzono istnienie interakcji lamin z wieloma integralnymi białkami wewnętrznej błony jądrowej (emeryna, MAN1, LBR, otefina, YA, białka z rodziny LAP1 oraz LAP2, nespryna-1 α , białka kompleksu porowego i kompleksu LINC) oraz białkami nukleoplazmatycznymi pełniącymi różnorakie funkcje w komórce, takimi jak: dimer histonów H2A i H2B, jak również LAP2 α , pRB, MOK2, c-Fos, ERK-1/2, SREBP-1, aktyna jądrowa, kinaza PKC α , składniki kompleksu polimerazy RNA II oraz antygen proliferacyjny PCNA i czynnik replikacyjny RFC [72, 97].

PIŚMIENNICTWO

- [1] BILIŃSKA ZT, FIDZIAŃSKA A. Laminopatie-problem multidyscyplinarny. *Kardiologia Polska* 2008; 335–339.
- [2] BRIDGER JM, FOEGER N, KILL IR, HERRMANN H. The nuclear lamina. Both a structural framework and a platform for genome organization. *Febs J* 2007; 274: 1354–1361.

- [3] BUSCHA A, KIEL T, HEUPEL WM, WEHNERT M, HÜBNER S. Nuclear protein import is reduced in cells expressing nuclear envelopathy-causing lamin A mutants. *Exp Cell Res* 2009; **315**: 2373–2385.
- [4] CANO-MONREAL GL, WYLIE KM, CAO F, TAVIS JE, MORRISON LA. Herpes simplex virus 2 UL13 protein kinase disrupts nuclear lamins. *Virology* 2009; **392**: 37–47.
- [5] CAPELL BC, COLLINS FS. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry. *Nat Rev Genet* 2006; **7**: 940–952.
- [6] CENNI V, SABATELLI P, MATTIOLI E, MARMIROLI S, CAPANNI C, OGNIBENE A, SQUARZONI S, MARALDI NM, BONNE G, COLUMBARO M, MERLINI L, LATTANZI G. Lamin A N-terminal phosphorylation is associated with myoblast activation: impairment in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *J Med Genet* 2005; **42**: 214–220.
- [7] CHIARINI A, WHITFIELD JF, ARMATO U, DAL PRA I. Protein kinase C-beta II is an apoptotic lamin kinase in polyomavirus-transformed, etoposide-treated pyF111 rat fibroblasts. *J Biol Chem* 2002; **277**: 18827–18839.
- [8] COHEN M, LEE KK, WILSON KL, GRUENBAUM Y. Transcriptional repression, apoptosis, human disease and the functional evolution of the nuclear lamina. *Trends Biochem Sci* 2001; **26**: 41–47.
- [9] COLUMBARO M, CAPANNI C, MATTIOLI E, NOVELLI G, PARNAIK VK, SQUARZONI S, MARALDI NM, LATTANZI G. Rescue of heterochromatin organization in Hutchinson-Gilford progeria by drug treatment. *Cell Mol Life Sci* 2005; **62**: 2669–2678.
- [10] CORADEGHINI R, BARBORO P, RUBAGOTTI A, BOCCARDO F, PARODI S, CARMIGNANI G, D'ARRIGO C, PATRONE E, BALBI C. Differential expression of nuclear lamins in normal and cancerous prostate tissues. *Oncol Rep* 2006; **15**: 609–613.
- [11] CREMER T, CREMER M, DIETZEL S, MULLER S, SOLOVEI I, FAKAN S. Chromosome territories – A functional nuclear landscape. *Curr Opin Cell Biol* 2006; **18**: 307–316.
- [12] CRISP M, LIU Q, K. R, RATTNER JB, SHANAHAN C, BURKE B, STAHL PD, HODZIC D. Coupling of the nucleus and cytoplasm: role of the LINC complex. *J Cell Biology* 2006; **172**: 41–53.
- [13] DAHL KN, SCAFFIDI P, ISLAM MF, YODH AG, WILSON KL, MISTELI T. Distinct structural and mechanical properties of the nuclear lamina in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 10271–10276.
- [14] DECHAT T, PFLEGHAAR K, SENGUPTA K, SHIMI T, SHUMAKER DK, SOLIMANDO L, GOLDMAN RD. Nuclear lamins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin. *Genes Dev* 2008; **22**: 832–853.
- [15] DECHAT T, SHIMI T, ADAM SA, RUSINOL AE, ANDRES DA, SPIELMANN HP, SINENSKY MS, GOLDMAN RD. Alterations in mitosis and cell cycle progression caused by a mutant lamin A known to accelerate human aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 4955–4960.
- [16] DORNER D, GOTZMANN J, FOISNER R. Nucleoplasmic lamins and their interaction partners, LAP2alpha, Rb, and BAF, in transcriptional regulation. *Febs J* 2007; **274**: 1362–1373.
- [17] DORNER D, VLCEK S, FOEGER N, GAJEWSKIA, MAKOLM C, GOTZMANN J, HUTCHISON CJ, FOISNER R. Lamina-associated polypeptide 2alpha regulates cell cycle progression and differentiation via the retinoblastoma-E2F pathway. *J Cell Biol* 2006; **173**: 83–93.
- [18] DREUILLET C, HARPER M, TILLIT J, KRESS M, ERNOULT-LANGE M. Mislocalization of human transcription factor MOK2 in the presence of pathogenic mutations of lamin A/C. *Biol Cell* 2007; **100**: 51–61.
- [19] ERIKSSON M, AL. E. Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2003; **423**: 293–298.
- [20] FAVREAU C, HIGUET D, COURVALIN JC, BUENDIA B. Expression of a mutant lamin A that causes Emery-Dreifuss muscular dystrophy inhibits *in vitro* differentiation of C2C12 myoblasts. *Mol Cell Biol* 2004; **24**: 1481–1492.
- [21] GOLDBERG MW, HUTTENLAUCH I, HUTCHISON CJ, STICK R. Filaments made from A- and B-type lamins differ in structure and organization. *J Cell Sci* 2008; **121**: 215–225.
- [22] GOLDMAN RD, SHUMAKER DK, ERDOS MR, ERIKSSON M, GOLDMAN AE, GORDON LB, GRUENBAUM Y, KHUON S, MENDEZ M, VARGA, COLLINS FS. Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 8963–8968.
- [23] GOTZMANN J, FOISNER R. A-type lamin complexes and regenerative potential: a step towards understanding laminopathic diseases? *Histochem Cell Biol* 2006; **125**: 33–41.
- [24] GRUENBAUM Y, MARGALITA, GOLDMAN RD, SHUMAKER DK, WILSON KL. The nuclear lamina comes of age. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; **6**: 21–31.

- [25] GUILLEMIN K, WILLIAMS T, KRASNOW MA. A nuclear lamin is required for cytoplasmic organization and egg polarity in *Drosophila*. *Nat Cell Biol* 2001; **3**: 848–851.
- [26] HAITHCOCK E, DAYANI Y, NEUFELD E, ZAHAND AJ, FEINSTEIN N, MATTOUT N, GRUENBAUM Y, LIU J. Age-related changes of nuclear architecture in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 16690–16695.
- [27] HARBORTH J, ELBASHIR SM, BECHERT K, TUSCHL T, WEBER K. Identification of essential genes in cultured mammalian cells using small interfering RNAs. *J Cell Sci* 2001; **114**: 4557–4565.
- [28] HARPER M, TILLIT J, KRESS M, ERNOULT-LANGE M. Phosphorylation-dependent binding of human transcription factor MOK2 to lamin A/C. *FEBS J* 2009; **276**: 3137–3147.
- [29] HAWRYLUK-GARA LA, SHIBUYA EK, WOZNIAK RW. Vertebrate Nup53 interacts with the nuclear lamina and is required for the assembly of a Nup93-containing complex. *Mol Biol Cell* 2005; **16**: 2382–2394.
- [30] HE S, DUNN KL, ESPINO PS, DROBIC B, LI L, YU J, SUN JM, CHEN HY, PRITCHARD S, DAVIE JR. Chromatin organization and nuclear microenvironments in cancer cells. *J Cell Biochem* 2007; **104**: 2004–2015.
- [31] HEGELE RA, CAO H, LIU DM, COSTAIN GA, CHARLTON-MENYS V, RODGER NW, DURRINGTON PN. Sequencing of the reannotated LMNB2 gene reveals novel mutations in patients with acquired partial lipodystrophy. *Am J Hum Genet* 2006; **79**: 383–389.
- [32] HOUBEN F, RAMAEKERS FC, SNOECKX LH, BROERS JL. Role of nuclear lamina-cytoskeleton interactions in the maintenance of cellular strength. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1773**: 675–686.
- [33] HOUBEN F, WILLEMS CH, DECLERCQ IL, HOCHSTENBACH K, KAMPS MA, SNOECKX LH, RAMAEKERS FC, BROERS JL. Disturbed nuclear orientation and cellular migration in A-type lamin deficient cells. *Biochim Biophys Acta* 2009; **1793**: 312–324.
- [34] HUANG S, RISQUES RA, MARTIN GM, RABINOVITCH PS, OSHIMA J. Accelerated telomere shortening and replicative senescence in human fibroblasts overexpressing mutant and wild-type lamin A. *Exp Cell Res* 2007; **314**: 82–89.
- [35] HUTCHISON CJ, WORMAN HJ. A-type lamins: Guardians of the soma? *Nat Cell Biol* 2004; **6**: 1062–1067.
- [36] IVORRA C, KUBICEK M, GONZALEZ JM, SANZ-GONZALEZ SM, ALVAREZ-BARRIENTOS A, O'CONNOR JE, BURKE B, ANDRES V. A mechanism of AP-1 suppression through interaction of c-Fos with lamin A/C. *Genes Dev* 2006; **20**: 307–320.
- [37] JIJY, LEE RT, VERGNES L, FONG LG, STEWART CL, REUE K, YOUNG SG, ZHANG Q, SHANAHAN CM, LAMMERDING J. Cell nuclei spin in the absence of lamin b1. *J Biol Chem* 2007; **282**: 20015–20026.
- [38] JOHNSON BR, AL E. A-type lamins regulate retinoblastoma protein function by promoting subnuclear localization and preventing proteosomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 9677–9682.
- [39] KUDLOW BA, STANFEL MN, BURTNER CR, JOHNSTON ED, KENNEDY BK. Suppression of proliferative defects associated with processing-defective lamin A mutants by hTERT or inactivation of p53. *Mol Biol Cell* 2008; **19**: 5238–5248.
- [40] KUMARAN RI, MURALIKRISHNA B, PARNAIK VK. Lamin A/C speckles mediate spatial organization of splicing factor compartments and RNA polymerase II transcription. *J Cell Biol* 2002; **159**: 783–793.
- [41] LEE DC, WELTON KL, SMITH ED, KENNEDY BK. A-type nuclear lamins act as transcriptional repressors when targeted to promoters. *Exp Cell Res* 2009; **315**: 996–1007.
- [42] LEE JS, HALE CM, PANORCHAN P, KHATAU SB, GEORGE JP, TSENG Y, STEWART CL, HODZIC D, WIRTZ D. Nuclear lamin A/C deficiency induces defects in cell mechanics, polarization, and migration. *Biophys J* 2007; **93**: 2542–2552.
- [43] LELLIOTT CJ, LOGIE L, SEWTER CP, BERGER D, JANI P, BLOWS F, O'RAHILLY S, VIDAL-PUIG A. Lamin expression in human adipose cells in relation to anatomical site and differentiation state. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 728–734.
- [44] LIN F, MORRISON JM, WU W, WORMAN HJ. MAN1, an integral protein of the inner nuclear membrane, binds Smad2 and Smad3 and antagonizes transforming growth factor-(beta) signaling. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: 437–445.
- [45] LIU J, BEN-SHAHAR TR, RIEMER D, TREININ M, SPANN P, WEBER K, FIRE A, GRUENBAUM Y. Essential roles for *Caenorhabditis elegans* lamin gene in nuclear organization, cell cycle progression, and spatial organization of nuclear pore complexes. *Mol Biol Cell* 2000; **11**: 3937–3947.
- [46] LLOYD DJ, TREMBATH RC, SHACKLETON S. A novel interaction between lamin A and SREBP1: implications for partial lipodystrophy and other laminopathies. *Hum Mol Genet* 2002; **11**: 769–777.

- [47] MAL, TSAI MY, WANG S, LU B, CHEN R, III JR, ZHU X, ZHENG Y. Requirement for Nudel and dynein for assembly of the lamin B spindle matrix. *Nat Cell Biol* 2009; **11**: 247–256.
- [48] MALONE CJ, MISNER L, LE BOT N, TSAI MC, CAMPBELL JM, AHRINGER J, WHITE JG. The *C. elegans* hook protein, ZYG-12, mediates the essential attachment between the centrosome and nucleus. *Cell* 2003; **115**: 825–836.
- [49] MARGALITA, VLCEK S, GRUENBAUM Y, FOISNER R. Breaking and making of the nuclear envelope. *J Cell Biochem* 2005; **95**: 454–465.
- [50] MARKIEWICZ E, DECHAT T, FOISNER R, QUINLAN RA, HUTCHISON CJ. Lamin A/C binding protein LAP2 alpha is required for nuclear anchorage of retinoblastoma protein. *Mol Biol Cell* 2002; **13**: 4401–4413.
- [51] MARMIROLI S, BERTACCHINI J, BERETTI F, CENNI V, GUIDA M., DE POL A, MARALDI NM, LATTANZI G. A-type lamins and signaling: the PI 3-kinase/Akt pathway moves forward. *J Cell Physiol* 2009; **220**: 553–561.
- [52] MEHTA IS, ELCOCK LS, AMIRA M, KILL IR, BRIDGER JM. Nuclear motors and nuclear structures containing A-type lamins and emerin: is there a functional link? *Biochem Soc Trans* 2008; **36**: 1384–1388.
- [53] MELCER S, GRUENBAUM Y, KROHNE G. Invertebrate lamins. *Exp Cell Res* 2007; **313**: 2157–2166.
- [54] MIRANDA M, CHACÓN MR, GUTIÉRREZ C, VILARRASA N, GÓMEZ JM, CAUBET E, MEGÍA A, VENDRELL J. LMNA mRNA expression is altered in human obesity and type 2 diabetes. *Obesity* (Silver Spring) 2008; **16**: 1742–1748.
- [55] MOIR RD, SPANN TP, HERRMANN H, GOLDMAN RD. Disruption of nuclear lamin organization blocks the elongation phase of DNA replication. *J Cell Biol* 2000; **149**: 1179–1191.
- [56] MONTES DE OCA R, SHOEMAKER CJ, GUCEK M, COLE RN, WILSON KL. Barrier-to-autointegration factor proteome reveals chromatin-regulatory partners. *PLoS One* 2009; **4**: e7050.
- [57] MOU F, WILLS EG, PARK R, BAINES JD. Effects of lamin A/C, lamin B1, and viral Us3 kinase activity on viral infectivity, virion egress and the targeting of Herpes Simplex Virus UI34-encoded protein to the inner nuclear membrane. *J Virol* 2008; **82**: 8094–8104.
- [58] NITTA RT, JAMESON SA, KUDLOW BA, CONLAN LA, KENNEDY BK. Stabilization of the retinoblastoma protein by A-type nuclear lamins is required for INK4A-mediated cell cycle arrest. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 5360–5372.
- [59] OGUCHI M, MATSUMOTO K. Expression of lamins depends on epidermal differentiation and transformation. *Br J Dermatol* 2002; **147**: 853–858.
- [60] PADIATH QS, SAIGOH K, SCHIFFMANN R, ASAHARA H, YAMADA T, KOEPPEN A, HOGAN K, PTACEK LJ, FU YH. Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy. *Nat Genet* 2006; **38**: 1114–1123.
- [61] PARK R, BAINES JD. Herpes Simplex Virus type 1 infection induces activation and recruitment of protein kinase C to the nuclear membrane and increased phosphorylation of lamin B. *J Virol* 2006; **80**: 494–504.
- [62] PATTERSON K, MOLOFSKY AB, ROBINSON C, ACOSTA S, CATER C, FISCHER JA. The functions of klarsicht and nuclear lamin in developmentally regulated nuclear migrations of photoreceptor cells in the *Drosophila* eye. *Mol Biol Cell* 2004; **15**: 600–610.
- [63] PICKERSGILL H, KALVERDA B, DE WIT E, TALHOUT W, FORNEROD M, VAN STEENSEL B. Characterization of the *Drosophila melanogaster* genome at the nuclear lamina. *Nat Genet* 2006; **38**: 1005–1014.
- [64] PROKOCIMER M, MARGALIT A, GRUENBAUM Y. The nuclear lamina and its proposed roles in tumorigenesis: projection on the hematologic malignancies and future targeted therapy. *J Struct Biol* 2006; **155**: 351–360.
- [65] PUJOL G, SÖDERQVIST H, RADU A. Age-associated reduction of nuclear protein import in human fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **294**: 354–358.
- [66] REDDY KL, ZULLO JM, BERTOLINO E, SINGH H. Transcriptional repression mediated by repositioning of genes to the nuclear lamina. *Nature* 2008; **452**: 243–247.
- [67] RODRIGUEZ S, COPPEDÉ F, SAGELIUS H, ERIKSSON M. Increased expression of the Hutchinson-Gilford progeria syndrome truncated lamin A transcript during cell aging. *Eur J Hum Genet* 2009; **17**: 928–937.
- [68] RUAULT M, DUBARRY M, TADDEI A. Re-positioning genes to the nuclear envelope in mammalian cells: impact on transcription. *Trends Genet* 2008; **24**: 574–581.

- [69] RUBPORN A, SRISOMSAP C, SUBHASITANONT P, CHOKCHAICHAMNANKIT D, CHIABLAEM K, SVASTI J, SANGVANICH P. Comparative proteomic analysis of lung cancer cell line and lung fibroblast cell line. *Cancer Genomics Proteomics* 2009; **6**: 229–237.
- [70] RUCHAUD S, KORFALI N, VILLA P, KOTTKE TJ, DINGWALL C, KAUFMANN SH, EARNSHAW WC. Caspase-6 gene disruption reveals a requirement for lamin A cleavage in apoptotic chromatin condensation. *EMBO J* 2002; **21**: 1967–1977.
- [71] RUSINOL AE, SINENSKY MS. Farnesylated lamins, progeroid syndromes and farnesyl transferase inhibitors. *J Cell Sci* 2006; **119**: 3265–3272.
- [72] RZEPECKI R. The nuclear lamins and nuclear envelope. *Cell Mol Biol Lett* 2002; **7**: 1019–1035.
- [73] SCAFFIDI P, MISTELI T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science* 2006; **312**: 1059–1063.
- [74] SCAFFIDI P, MISTELI T. Reversal of the cellular phenotype in the premature aging disease Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nat Med* 2005; **11**: 440–445.
- [75] SCHIRMER EC, GUAN T, GERACE L. Involvement of the lamin rod domain in heterotypic lamin interactions important for nuclear organization. *J Cell Biol* 2001; **153**: 479–489.
- [76] SCHNEIDER M, NOEGEL AA, KARAKESISOGLOU I. KASH-domain proteins and the cytoskeletal landscapes of the nuclear envelope. *Biochem Soc Trans* 2008; **36**: 1368–1372.
- [77] SHAKLAI S, AMARIGLIO N, RECHAVI G, SIMON AJ. Gene silencing at the nuclear periphery. *FEBS J* 2007; **274**: 1383–1392.
- [78] SHIMITI, PFLEGHAAR K, KOJIMA S, PACK CG, SOLOVEI I, GOLDMAN AE, ADAM SA, SHUMAKER DK, KINJO M, CREMER T, GOLDMAN RD. The A- and B-type nuclear lamin networks: microdomains involved in chromatin organization and transcription. *Genes Dev* 2008; **22**: 3409–3421.
- [79] SHUMAKER DK, SOLIMANDO L, SENGUPTA K, SHIMITI, ADAM SA, GRUNWALD A, STRELKOV SV, AEBI U, CARDOSO MC, GOLDMAN RD. The highly conserved nuclear lamin Ig-fold binds to PCNA: its role in DNA replication. *J Cell Biol* 2008; **181**: 269–280.
- [80] SMYTHE C, JENKINS HE, HUTCHISON CJ. Incorporation of the nuclear pore basket protein Nup153 into nuclear pore structures is dependent upon lamina assembly: evidence from cell-free extracts of *Xenopus* eggs. *EMBO J* 2000; **19**: 3918–3931.
- [81] STARR DA. A nuclear-envelope bridge positions nuclei and moves chromosomes. *J Cell Sci* 2009; **122**: 577–586.
- [82] STARR DA, FISCHER JA. KASH 'n Karry: The KASH domain family of cargo-specific cytoskeletal adaptor proteins. *Bioessays* 2005; **27**: 1136–1146.
- [83] STEWART-HUTCHINSON PJ, HALE CM, WIRTZ D, HODZIC D. Structural requirements for the assembly of LINC complexes and their function in cellular mechanical stiffness. *Exp Cell Res* 2008; **314**: 1892–905.
- [84] SUN S, XU MZ, POON RT, DAY PJ, LUK JM. Circulating Lamin B1 (LMNB1) Biomarker Detects Early Stages of Liver Cancer in Patients. *J Proteome Res* 2010; **9**: 70–78.
- [85] TANG CW, MAYA-MENDOZA A, MARTIN C, ZENG K, CHEN S, FERET D, WILSON SA, JACKSON DA. The integrity of a lamin-B1-dependent nucleoskeleton is a fundamental determinant of RNA synthesis in human cells. *J Cell Sci* 2008; **121**: 1014–1024.
- [86] TILGNER K, WOJCIECHOWICZ K, JAHODA C, HUTCHISON C, MARKIEWICZ E. Dynamic complexes of A-type lamins and emerin influence adipogenic capacity of the cell via nucleocytoplasmic distribution of {beta}-catenin. *J Cell Sci* 2009; **122**: 401–413.
- [87] TSAI MY, WANG S, HEIDINGER JM, SHUMAKER DK, ADAM SA, GOLDMAN RD, ZHENG Y. A mitotic lamin B matrix induced by RanGTP required for spindle assembly. *Science* 2006; **311**: 1887–1893.
- [88] VAN BERLO JH, VONCKEN JW, KUBBEN N, BROERS JL, DUISTERS R, VAN LEEUWEN RE, CRIJNS HJ, RAMAEKERS FC, HUTCHISON CJ, PINTO YM. A-type lamins are essential for TGF- β 1 induced PP2A to dephosphorylate transcription factors. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: 2839–2849.
- [89] VENABLES RS, MCLEAN S, LUNY D, MOTELEB E, MORLEY S, QUINLAN RA, LANE EB. Expression of individual lamins in basal cell carcinoma of the skin. *Br J Cancer* 2001; **84**: 512–519.
- [90] VERGNES L, PETERFY M, BERGO MO, YOUNG SG, REUE K. Lamin B1 is required for mouse development and nuclear integrity. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2004; **101**: 10428–10433.
- [91] WANG Y, WU R, CHO KR, THOMAS DG, GOSSNER G, LIU JR, GIORDANO TJ, SHEDDEN KA, MISEK DE, LUBMAN DM. Differential Protein Mapping of Ovarian Serous Adenocarcinomas: Identification of Potential Markers for Distinct Tumor Stage. *J Proteome Res* 2009; **8**: 1452–1463.

- [92] WILHELMSSEN K, KETEMA M, TRUONG H, SONNENBERG A. KASH-domain proteins in nuclear migration, anchorage and other processes. *J Cell Sci* 2006; **119**: 5021–5029.
- [93] WILHELMSSEN K, LITJENS SH, KUIKMAN I, TSHIMBALANGAN, JANSSEN H, VAN DEN BOUT I, RAYMOND K, SONNENBERG A. Nesprin-3, a novel outer nuclear membrane protein, associates with the cytoskeletal linker protein plectin. *J Cell Biol* 2005; **171**: 799–810.
- [94] WILLIS ND, COX TR, RAHMAN-CASAÑS SF, SMITS K, PRZYBORSKI SA, VAN DEN BRANDT P, VAN ENGELAND M, WEIJENBERG M, WILSON RG, DE BRUINE A, HUTCHISON CJ. Lamin A/C is a risk biomarker in colorectal cancer. *PLoS One* 2008; **3**: e2988.
- [95] WILLIS ND, WILSON RG, HUTCHISON CJ. Lamin A: a putative colonic epithelial stem cell biomarker which identifies colorectal tumours with a more aggressive phenotype. *Biochem Soc Trans* 2008; **36**: 1350–1353.
- [96] YANG SH, META M, QIAO X, FROST D, BAUCH J, COFFINIER C, MAJUMDAR S, BERGO MO, YOUNG SG, FONG LG. A farnesyltransferase inhibitor improves disease phenotypes in mice with a Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation. *J Clin Invest* 2006; **116**: 2115–2121.
- [97] ZASTROW MS, VLCEK S, WILSON KL. Proteins that bind A-type lamins: integrating isolated clues. *J Cell Sci* 2004; **117**: 979–987.
- [98] ZHANG X, XU R, ZHU B, YANG X, DING X, DUAN S, XU T, ZHUANG Y, HAN M. Syne-1 and Syne-2 play crucial roles in myonuclear anchorage and motor neuron innervation. *Development* 2007; **134**: 901–908.
- [99] ZHANG YQ, SARGE KD. Sumoylation regulates lamin A function and is lost in lamin A mutants associated with familial cardiomyopathies. *J Cell Biol* 2008; **182**: 35–39.
- [100] ZHEN Y-Y, LIBOTTE T, MUNCK M, NOEGAL AA, KORENBAUM E. Nuance: a giant protein connecting the nucleus and actin cytoskeleton. *J Cell Sci* 2002; **115**: 3207–3222.

Redaktor prowadzący – J. Kubrakiewicz

Otrzymano: 18.11. 2009 r.

Przyjęto: 19.03. 2010 r.

Ryszard Rzepecki,

Pracownia Białek Jądrowych, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski,

ul. Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław

e-mail: rzepecki@ibmb.uni.wroc.pl