

ANNA FILIPEK, AGNIESZKA GÓRAL

*Pracownia Białek Wiążących Wapń
Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
e-mail: a.filipek@nencki.gov.pl*

BIĄŁKO CACYBP/SIP I JEGO ROLA W ORGANIZACJI CYTOSZKIELETU*

WSTĘP – CHARAKTERYSTYKA BIAŁKA CACYBP/SIP

Białko CacyBP/SIP (ang. calcyclin binding protein/Siah-1 interacting protein) zostało zidentyfikowane po raz pierwszy w komórkach raka wysiękowego Ehrlicha (FILIPEK i WOJDA 1996, FILIPEK i KUŹNICKI 1998), jako białko wiążące się z S100A6 (kalcykliną), a następnie, przez inną grupę badaczy, jako białko oddziałujące z Siah-1 (ang. seven in absentia homolog 1) (MATSUZAWA i REED 2001).

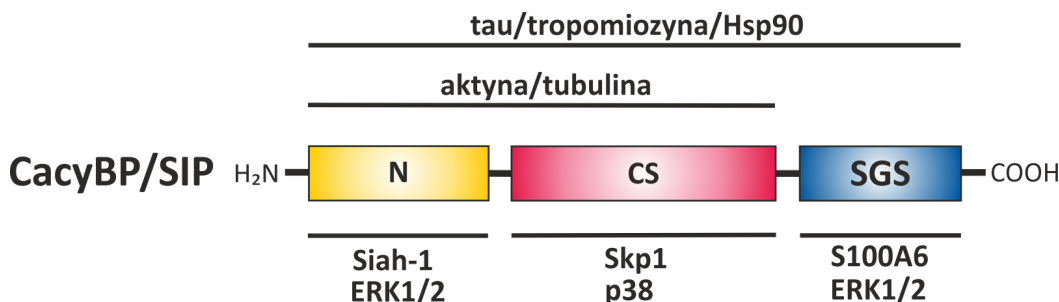
CacyBP/SIP występuje w różnych komórkach i tkankach ssaków. Wysoki poziom tego białka notowany jest w mózgu i śledzionie, umiarkowany – w mięśniach gładkich żołądka, wątrobie i mięśniach sercowym oraz niski – w nerkach, węzłach chłonnych i odbytnicy (FILIPEK i KUŹNICKI 1998, ZHAI i współaut. 2008). Analiza immunohistochemiczna skrawków mózgu szczura wykazała, że białko to występuje głównie w neuronach mózdzku, hipokampa i kory (JASTRZEBSKA i współaut. 2000). Badania z wykorzystaniem komórek neuroblastoma NB2a dowiodły, iż CacyBP/SIP występuje głównie w cytoplazmie, ale na skutek wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} lub na skutek stresu oksydacyjnego przemieszcza się do jądra komórkowego (FILIPEK i współaut. 2002a, TOPOLSKA-WOŚ i współaut. 2015). Zwiększony poziom CacyBP/SIP zaobserwowano też w jądrze zróżnicowanych komórek neuroblastoma (WU i współaut. 2003, KILAŃCZYK i współaut. 2009) oraz w jądrze komórek nowotworowych (ZHAI i współaut. 2008).

CacyBP/SIP ma masę cząsteczkową około 26 kDa i składa się z 228 reszt aminokwasowych (ortolog ludzki) lub z 229 reszt (ortolog myszy). Sekwencja ludzkiego CacyBP/SIP wykazuje 93% identyczności z sekwencją mysiego białka, a różnica dotyczy reszt znajdujących się na końcu aminowym. W cząsteczce CacyBP/SIP można wyróżnić trzy główne domeny: N-końcową i środkową zwaną CS (ang. domain present in CHORD and Sgt1), obie o charakterze globularnym, oraz nieustrukturyzowaną domenę C-końcową zwaną SGS (ang. Sgt1 specific) (Ryc. 1). Sekwencja aminokwasowa domeny C-końcowej CacyBP/SIP (reszty 178-229), wykazuje wysoki stopień podobieństwa do sekwencji domeny SGS białka Sgt1 (KITAGAWA i współaut. 1999, BHATTCHARYA i współaut. 2005). Co ciekawe, przyłączenie do tej domeny białka S100A6 zmienia jej konformację, w wyniku czego powstają dwie α -helisy (LEE i współaut. 2008). Wyniki wcześniejszych badań sugerowały, iż ludzki ortolog białka CacyBP/SIP ma zdolność tworzenia dimeru (MATSUZAWA i REED 2001). W ostatnim czasie, stosując różne metody, wykazano, że mysie białko CacyBP/SIP również tworzy dimer (TOPOLSKA-WOŚ i współaut. 2015).

ODDZIAŁYWANIE CACYBP/SIP Z BIAŁKAMI EFEKTOROWYMI

Jak dotąd, znanych jest kilka białek, które oddziałują z CacyBP/SIP. Należą do nich białka z rodziny S100, składniki kompleksu ligazy ubikwityny E3: Skp1 i Siah-1,

*Praca finansowana z projektu Narodowego Centrum Nauki, grant 2011/03/B/NZ1/00595 dla AF oraz działalności statutowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN.



Ryc. 1. Schemat przedstawiający domeny CacyBP/SIP: N-końcową (reszty 1-77), środkową CS (reszty 78-178), C-końcową SGS (reszty 179-229) oraz miejsca wiązania białek efektorowych. Miejsca wiązania tropomiozyny, białka tau i Hsp90 nie zostały do tej pory zidentyfikowane.

białko opiekuńcze Hsp90, białka cytoszkieletu: aktyna, tubulina, tropomiozyna, białko tau oraz kinazy z rodziny MAP: ERK1/2 i p38. Schemat obrazujący domeny CacyBP/SIP wraz z zaznaczonymi miejscami wiązania poszczególnych ligandów przedstawia Ryc. 1.

ODDZIAŁYWANIE CacyBP/SIP Z BIAŁKAMI WIĄZĄCYMI WAPŃ Z RODZINY S100

CacyBP/SIP zostało odkryte jako białko wiążące się z jednym z białek S100, S100A6, ale wkrótce potem wykazano, że oddziałuje także z innymi białkami z rodziny S100, tj. z S100A1, S100A12, S100B i S100P (FILIPEK i WOJDA, 1996, FILIPEK i współaut. 2002b). Oddziaływanie pomiędzy CacyBP/SIP a białkami S100 jest zależne od stężenia jonów Ca²⁺ i zachodzi w fizjologicznych stężeniach tego kationu (FILIPEK i KUŹNICKI 1998). Jak wspomniano wcześniej, związanie S100A6 w obrębie nieustrukturyzowanej domeny SGS białka CacyBP/SIP powoduje utworzenie w tym obszarze dwóch krótkich α -helis (LEE i współaut. 2008). Pomimo licznych badań nie udało się do tej pory jednoznacznie określić funkcji kompleksów CacyBP/SIP-S100. Sugeruje się jedynie, że S100A6, poprzez związanie CacyBP/SIP, może hamować aktywność ligazy ubikwityny Siah-1-CacyBP/SIP-Skp1-TBL1 (SCF^{TBL1}) i w ten sposób wpływać na poziom protoonkogenu β -kateniny (NING i współaut. 2012). Wykazano również, że związanie S100A6 z C-końcową domeną CacyBP/SIP hamuje aktywność fosfatazową CacyBP/SIP względem białka tau (WASIK i współaut. 2013).

ODDZIAŁYWANIE CacyBP/SIP ZE SKŁADNIKAMI KOMPLEKSU LIGAZY UBIKWITYNY

W 2001 r. opublikowano wyniki badań wskazujących na wiązanie się CacyBP/SIP z dwoma składnikami ligazy ubikwityny SCF (ang. Skp1-cullin-1-F-box), tj. białkiem Siah-

1 i białkiem Skp1 (ang. S-phase kinase associated protein 1) (MATSUZAWA i REED 2001). Dokładniejsze analizy wykazały, że Siah-1 wiąże się w obrębie N-końcowej domeny CacyBP/SIP z sekwencją PAAVVAP (reszty 60-66) (MATSUZAWA i współaut. 2003, SANTELLI i współaut. 2005), zaś Skp1 oddziałuje ze środkową domeną CS białka CacyBP/SIP (reszty 74-178) (FILIPEK i współaut. 2002b, BHATTACHARYA i współaut. 2005). Wyniki przeprowadzonych badań sugerowały również, że CacyBP/SIP tworzy, wraz z Siah-1 i Skp1 oraz białkiem TBL1, nowy kompleks ligazy ubikwityny zwany SCF^{TBL1}, rozpoznający nieufosforylowaną formę β -kateniny (MATSUZAWA i REED 2001). Jak dotąd, aktywność tego kompleksu nie została potwierdzona (DIMITROVA i współaut. 2010). Można jedynie przypuszczać, że CacyBP/SIP aktywuje tę ligazę poprzez przyłączanie innych, dodatkowych białek (BHATTACHARYA i współaut. 2005). Z uwagi na fakt, że β -katenina jest zaangażowana w procesy związane z proliferacją i nowotworzeniem (JIANG i współaut. 2015), można przypuszczać, iż CacyBP/SIP, poprzez wpływ na ligazę ubikwityny SCF^{TBL1}, hamuje proliferację komórek nowotworowych. Potwierdzeniem tego mogą być wyniki badań opublikowane w 2007 r., mówiące o tym, że CacyBP/SIP, prawdopodobnie poprzez obniżenie poziomu β -kateniny, hamuje proliferację komórek raka żołądka i raka nerki (NING i współaut. 2007, SUN i współaut. 2007). Późniejsze badania wykazały, że efekt ten zależy od poziomu S100A6, liganda CacyBP/SIP (NING i współaut. 2012).

ODDZIAŁYWANIE CacyBP/SIP Z BIAŁKIEM HSP90

Najnowsze badania z naszego zespołu pokazały, że CacyBP/SIP występuje w kompleksach tworzonych z udziałem białka opiekuńczego Hsp90 w cytoplazmie ludzkich komórek HEp-2 (GÓRAL i współaut. 2016). Bardziej szczegółowe analizy dotyczące kompleksu CacyBP/SIP-Hsp90 dowiodły, że Ca-

cyBP/SIP wiąże się najprawdopodobniej w obrębie domeny środkowej Hsp90, a zahamowanie aktywności Hsp90, przy użyciu dwóch inhibitorów, radicikolu lub nowobiocyny, nie wpływa na tworzenie się kompleksów CacyBP/SIP-Hsp90. Wykazano również, że CacyBP/SIP wiąże się z Hsp90 w sposób bezpośredni. Co więcej, doświadczenia z zastosowaniem elektroforezy dwukierunkowej (2D), pokazały, że CacyBP/SIP może defosforylować Hsp90. Przeprowadzono też badania dotyczące roli białka CacyBP/SIP w odpowiedzi komórek na działanie czynników stresowych. Wykazano, iż szok cieplny i inhibitory Hsp90, radicikol i nowobiocyna, nie powodują obniżenia poziomu białka CacyBP/SIP w komórkach HEP-2. Sugeruje to, że CacyBP/SIP nie jest substratem Hsp90, ale może działać jako białko współopiekuńcze wobec Hsp90. Z uwagi na fakt, iż ekspresja białek związanych z odpowiedzią komórki na stres, w tym wielu białek opiekuńczych i współopiekuńczych, jest regulowana przez czynnik transkrypcyjny Hsf1 (ang. heat shock factor 1), sprawdzono wpływ tego czynnika na ekspresję genu *CacyBP/SIP*. Analiza *in silico* sekwencji promotora genu *CacyBP/SIP* oraz wyniki testu lucyferazy i analizy poziomu mRNA CacyBP/SIP po nadprodukcji Hsf1 w komórkach pokazały, że czynnik ten reguluje ekspresję CacyBP/SIP w warunkach stresu (Góral i współaut. dane niepublikowane). Co więcej, stosując test MTT, który umożliwia pomiar żywotności komórek zaobserwowano, iż komórki HEP-2 z nadprodukcją CacyBP/SIP poddane działaniu stresu cechują się zwiększoną przeżywalnością, w stosunku do komórek kontrolnych. Jest to najprawdopodobniej związane z faktem, iż CacyBP/SIP wykazuje właściwości opiekuńcze wobec innych białek. Stwierdzono bowiem, że CacyBP/SIP, podobnie jak Hsp90, hamuje indukowaną termicznie agregację syntazy cytrynianowej i chroni lucyferazę przed denaturacją. Podsumowując, wyniki dotyczące oddziaływania CacyBP/SIP-Hsp90 sugerują udział CacyBP/SIP w ochronie komórek przed działaniem czynników stresowych.

Oddziaływanie CacyBP/SIP z tubuliną, aktyną, tropomiozyną, białkiem tau, kinazą ERK1/2 i kinazą p38, z uwagi na potencjalną rolę w organizacji cytoszkieletu, omówiono poniżej w oddzielnym rozdziale.

POTENCJALNA ROLA CacyBP/SIP W ORGANIZACJI CYTOSZKIELETU

ODDZIAŁYWANIE Z TUBULINĄ

Tubulina, będąca podstawowym składnikiem budującym mikrotubule, była pierw-

szym białkiem cytoszkieletu zidentyfikowanym jako ligand CacyBP/SIP (SCHNEIDER i współaut. 2007). Wykazano, iż oba białka ko-lokalizują w komórkach mysiej linii neuroblastoma NB2a oraz, że CacyBP/SIP stymuluje tworzenie kulistych skupisk tubuliny w warunkach *in vitro*. Dalsze badania pokazały, iż tubulina wiąże się bezpośrednio z fragmentem CacyBP/SIP, obejmującym domenę N-końcową i środkową (CS) (reszty 1-179). Choć przedstawione wyniki badań nie wskazują na bezpośredni wpływ CacyBP/SIP na tworzenie mikrotubul, nie można jednak wykluczyć, że w komórkach takie kuliste skupiska tubuliny mogą ułatwiać syntezę i wydłużanie mikrotubul zwłaszcza, że obecność oligomerów tubuliny wydaje się być niezbędna do zapoczątkowania syntezy tych struktur (CAUDRON i współaut. 2002). Sugeruje się również, że frakcja tubuliny zaangażowana we wzrost neurytów może być transportowana w formie heterodimerów bądź oligomerów (FUNAKOSHI i współaut. 1996, MILLER i JOSHI 1996). Tworzone w obecności CacyBP/SIP różne struktury tubuliny mogłyby więc ułatwiać transport tego białka do miejsc, w których zachodzi intensywna przebudowa cytoszkieletu mikrotubularnego.

ODDZIAŁYWANIE Z AKTYNĄ

Aktyna to kolejne białko cytoszkieletu oddziałujące z CacyBP/SIP (SCHNEIDER i współaut. 2010). Podobnie jak w przypadku tubuliny, wiązanie CacyBP/SIP z aktyną jest bezpośrednie i zachodzi z udziałem fragmentu CacyBP/SIP obejmującego reszty 1-179. Wykorzystując metodę ko-sedymentacji i mikroskopii elektronowej wykazano, że zarówno białko CacyBP/SIP pełnej długości, jak i jego fragment pozbawiony domeny C-końcowej stymulują polimeryzację G-aktyny. Z kolei, dzięki technice immunofluorescencji wykazano współwystępowanie obu tych białek w komórkach NB2a. Warto też podkreślić, że CacyBP/SIP może wiązać się jednocześnie z tubuliną i aktyną, a zatem może pełnić funkcję łącznika pomiędzy cytoszkieletem mikrotubularnym i aktynowym. Dodatkowo, badania na komórkach fibroblastów NIH 3T3 z podwyższonym poziomem CacyBP/SIP dowiodły, że komórki te charakteryzują się zwiększoną adhezją do lamininy i fibrynogenu oraz obniżoną migracją. Dane te jednoznacznie wskazują na wpływ CacyBP/SIP w regulacji cytoszkieletu w tak ważnych procesach jak np. ruch komórek.

ODDZIAŁYWANIE Z TROPOMIOZYNĄ

Wyniki badań dotyczących oddziaływania CacyBP/SIP z białkami cytoszkieletu wskazują na tworzenie się kompleksu CacyBP/

SIP z tropomiozyną, składnikiem filamentów aktywnych (JUREWICZ i współaut. 2013). Białka te wiążą się bezpośrednio, ale jak dotąd miejsce wiązania się tropomiozyny w cząsteczce CacyBP/SIP nie jest znane. Zaobserwowano natomiast, że CacyBP/SIP zmienia orientację przestrzenną tropomiozyny względem filamentu aktywnego. Co więcej, obecność tropomiozyny wzmaga efekt hamowania aktywności ATPazy akto-miozynowej przez CacyBP/SIP. Wszystkie te obserwacje sugerują, iż kompleks CacyBP/SIP-tropomiozyna może hamować oddziaływanie aktywny z miozyna.

ODDZIAŁYWANIE Z BIAŁKIEM TAU

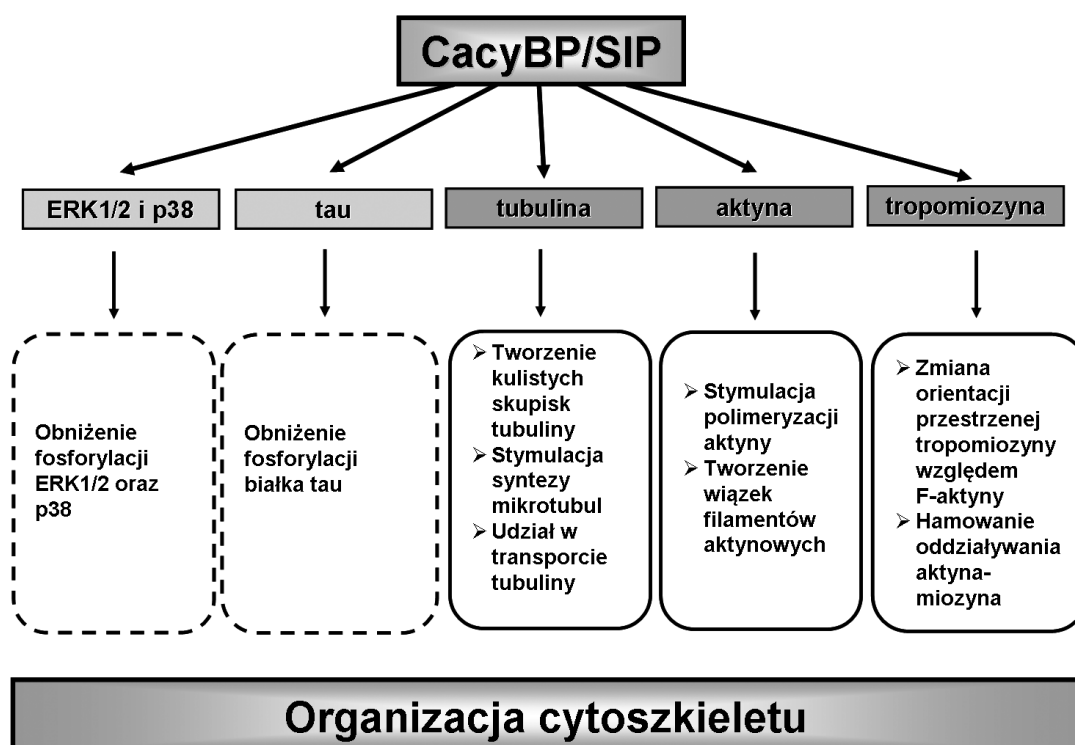
Badania z wykorzystaniem skrawków mózgu ssaków dostarczyły wyników sugerujących rolę CacyBP/SIP w organizacji cytoszkieletu komórek nerwowych. Wykazano bowiem, że wewnątrzkomórkowa lokalizacja CacyBP/SIP zmienia się w neuronach podczas neurodegeneracji. Ponadto, wyniki uzyskane metodą elektroforezy dwukierunkowej dowiodły, że CacyBP/SIP może działać jako fosfataza względem białka tau oraz, że defosforylacja tau przez CacyBP/SIP w komórkach NB2a jest hamowana na skutek zwiększonego poziomu białka S100A6 (WASIK i współaut. 2013). Białko tau, charakterystyczne dla komórek nerwowych, związane jest z mikrotubulami i odpowiada za ich stabilizację (MIETELSKA-POROWSKA i współaut. 2014). Nadmierna fosforylacja tau powoduje, iż dysocjuje ono od mikrotubul i, w konsekwencji, destabilizuje te struktury, prowadząc do tworzenia w mózgu splątków neurofibrylarnych, których liczba koreluje z nasileniem objawów choroby Alzheimera. Zatem CacyBP/SIP, poprzez zmianę poziomu fosforylacji tau, może regulować funkcje cytoszkieletu mikrotubularnego, a tym samym mieć swój udział w patogenezie choroby Alzheimera.

ODDZIAŁYWANIE Z KINAZAMI MAP – ERK1/2 I P38

Kilka lat temu opublikowano wyniki wskazujące, że kinaza ERK1/2 (ang. extracellular signal-regulated kinase 1/2), należąca do rodziny kinaz MAP (ang. mitogen activated protein kinase), jest ligandem CacyBP/SIP, a konsekwencją oddziaływania tych dwóch białek w komórkach NB2a jest spadek aktywności czynnika transkrypcyjnego Elk-1 (KILAŃCZYK i współaut. 2009). Dalsze badania pokazały, że obserwowane zmiany są wynikiem defosforylacji kinazy ERK1/2 przez CacyBP/SIP (KILAŃCZYK i współaut. 2011). Wykazano też, że miejsce wiązania ERK1/2 znajduje się w obrębie C-końcowej domeny CacyBP/SIP i pokrywa

się z miejscem wiązania S100A6, co sprawia, że S100A6 i ERK1/2 współzawodniczą o oddziaływanie z CacyBP/SIP. Ponadto pokazano, że zamiana kwasu glutaminowego w pozycji 217 CacyBP/SIP na lizynę (E217K), znacznie obniża zdolność wiązania się tego białka z ERK1/2 (nie wpływa jednak na wiązanie się z S100A6), co sugeruje elektrostatyczny charakter oddziaływania CacyBP/SIP-ERK1/2. Ostatnie badania dowodzą, że CacyBP/SIP może też regulować aktywność czynnika transkrypcyjnego CREB i NFAT (KILAŃCZYK i współaut. 2015, ROSIŃSKA i współaut. 2016).

Przeprowadzona analiza bioinformatyczna sekwencji CacyBP/SIP pokazała, że białko to wykazuje wysokie podobieństwo w strukturze pierwszorzędowej do niektórych fosfataz z rodziny MKP (ang. MAP kinase phosphatases). Co więcej, w sekwencji CacyBP/SIP zidentyfikowano dwa motywy KIM (ang. kinase interaction motif) odpowiedzialne za oddziaływanie z kinazami, jeden motyw zlokalizowany w obrębie domeny C-końcowej, a drugi, w obrębie domeny N-końcowej. Jak wykazały badania przeprowadzone z wykorzystaniem poszczególnych domen CacyBP/SIP, do pełnej aktywności fosfatazowej tego białka niezbędne są oba motywy (TOPOLSKA-WOŚ i współaut. 2015). Wykazano też, że zamiana dwóch aminokwasów wchodzących w skład N-końcowego motywu KIM (lizyny w pozycji 25 i argininy w pozycji 26), powoduje całkowity zanik aktywności fosfatazowej CacyBP/SIP względem ERK1/2. Warto dodać, iż w obrębie tego samego motywu KIM znajdują się reszty odpowiedzialne za tworzenie dimeru CacyBP/SIP, co może świadczyć o współzależności między dimeryzacją tego białka a jego aktywnością fosfatazową (TOPOLSKA-WOŚ i współaut. 2015). Z kolei motyw KIM, znajdujący się w obrębie C-końcowej domeny CacyBP/SIP, pokrywa się z miejscem wiązania białek S100, co wyjaśnia współzawodnictwo pomiędzy białkiem S100A6 i ERK1/2 o wiązanie się z CacyBP/SIP (KILAŃCZYK i współaut. 2009, 2011). Co ciekawe, nie tylko S100A6, ale też modyfikacje potranslacyjne, głównie fosforylacja, mogą pełnić ważną rolę w regulacji aktywności fosfatazowej CacyBP/SIP. I tak, fosforylacja reszt seryny w pozycji 22 i treoniny w pozycji 23 przez kinazę białkową C (PKC) ma dodatni wpływ na aktywność fosfatazową CacyBP/SIP (KILAŃCZYK i współaut. 2012). Odwrotny efekt ma fosforylacja reszty treoniny w pozycji 184 przez kinazę kazeinową II (CKII). Mutant CacyBP/SIP naśladujący fosforylację w tej pozycji (CacyBP/SIP-T184E) wykazywał bowiem niższą aktywność fosfatazową względem ERK1/2 niż CacyBP/SIP typu dzikiego (WASIK i współaut. 2016).



Ryc. 2. Schemat przedstawiający wpływ CacyBP/SIP i jego ligandów (bezpośredni – linia ciągła i pośredni – linia przerywana) na organizację cytoszkieletu.

Najnowsze dane pokazują, że również inna kinaza z rodziny MAP, kinaza p38, oddziałuje z CacyBP/SIP (TOPOLSKA-WOŚ i współaut. 2017). Analiza białek rekombinowanych, p38 oraz CacyBP/SIP pełnej długości i jego domen wskazała, że środkowa domena CS białka CacyBP/SIP oddziałuje i defosforyluje kinazę p38. Co więcej, defosforylacja kinazy p38 przez CacyBP/SIP w komórkach neuroblastoma NB2a poddanych działaniu stresu oksydacyjnego jest znacznie bardziej efektywna niż w komórkach kontrolnych.

Wiadomo, że szlak sygnałowy ERK1/2-Elk-1 jest zaangażowany w ekspresję genów związanych z proliferacją, m.in. ekspresję *c-fos* (VICKERS i współaut. 2004, DEMIR i KURNAZ 2008), zaś zahamowanie aktywności Elk-1, poprzez jego defosforylację, prowadzi do uruchomienia procesów związanych z różnicowaniem komórek (SHARROCKS 2001, VANHOUTTE i współaut. 2001). Z kolei, szlak sygnałowy z udziałem p38 uczestniczy w ścieżkach przekazywania sygnału, odpowiedzialnych za przeżywalność i śmierć komórek. Zatem CacyBP/SIP, poprzez wiązanie i defosforylację kinaz ERK1/2 i p38, może regulować ścieżki przekazywania sygnału odpowiedzialne za proliferację, różnicowanie, przeżywalność bądź śmierć komórek. Ponieważ każdy z tych procesów związany jest z przebudową cytoszkieletu, można uznać, że

CacyBP/SIP nie tylko poprzez bezpośrednie wiązanie z tubuliną, aktyną czy tropomiozyną, ale też w sposób pośredni, poprzez regulację aktywności kinaz ERK1/2 i p38 oraz białka tau, uczestniczy w organizacji cytoszkieletu (PULLIKUTH i CATLING 2007) (Ryc. 2).

PODSUMOWANIE

Przedstawione dane, dotyczące oddziaływania CacyBP/SIP z tubuliną, aktyną, tropomiozyną, białkiem tau oraz kinazami z rodziny MAP, ERK1/2 i p38, sugerują bezpośrednią bądź pośrednią rolę CacyBP/SIP w reorganizacji cytoszkieletu, jaka ma miejsce podczas proliferacji, migracji, wzrostu i różnicowania komórek, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak też w nowotworzeniu, starzeniu czy chorobach neurodegeneracyjnych (AU i współaut. 2006, FILIPEK i współaut. 2008). Jednak w celu pełniejszego poznania mechanizmu działania CacyBP/SIP w funkcjonowaniu cytoszkieletu, w warunkach prawidłowych, jak też w różnego rodzaju stanach chorobowych, niezbędne są dalsze badania.

PODZIĘKOWANIA

Autorki pragną podziękować Dr G. Schneider za cenne wskazówki merytoryczne.

Streszczenie

Białko CacyBP/SIP występuje w różnych komórkach i tkankach ssaków, a jego wysoki poziom notowany jest w mózgu, śledzionie, grasicy oraz w wielu nowotworach. CacyBP/SIP oddziałuje z wieloma białkami efektorowymi, w tym z białkami cytoszkieletu: aktyną, tubuliną, tropomiozyna. Wskazuje to, iż CacyBP/SIP bierze udział w procesach komórkowych, którym towarzyszą zmiany w organizacji cytoszkieletu zarówno w warunkach fizjologicznych jak też w różnych stanach chorobowych. W niniejszej pracy przedstawiono charakterystykę oddziaływania CacyBP/SIP z białkami cytoszkieletu oraz rolę tych interakcji w różnych procesach komórkowych.

LITERATURA

- AU K. W., KOU C. Y., WOO A. Y., CHIM S. S., FUNG K. P., CHENG C. H., WAYE M. M., TSUI S. K., 2006. *Calcyclin binding protein promotes DNA synthesis and differentiation in rat neonatal cardiomyocytes*. J. Cell. Biochem. 98, 555-566.
- BHATTACHARYA S., LEE Y. T., MICHOWSKI W., JASTRZEBSKA B., FILIPEK A., KUZNICKI J., CHAZIN W. J., 2005. *The modular structure of SIP facilitates its role in stabilizing multiprotein assemblies*. Biochemistry 44, 9462-9471.
- CAUDRON C. N., ARNAL I., BUHLER E., JOB D., VALIRON O., 2002. *Microtubule nucleation from stable tubulin oligomers*. J. Biol. Chem. 277, 50973-50979.
- DEMIR O., KURNAZ I. A., 2008. *Wild type Elk-1, but not a SUMOylation mutant, represses egr-1 expression in SH-SY5Y neuroblastomas*. Neurosci. Lett. 437, 20-24.
- DIMITROVA Y.N., LI J., LEE Y.T., RIOS-ESTEVEZ J., FRIEDMAN D.B., CHOI H.J., WEIS W.I., WANG C.Y., CHAZIN W.J., 2010. *Direct ubiquitination of beta-catenin by Siah-1 and regulation by the exchange factor TBL1*. J. Biol. Chem. 285, 13507-13516.
- FILIPEK A., WOJDA U., 1996. *p30, a novel protein target of mouse calcyclin (S100A6)*. Biochem. J. 320, 585-587.
- FILIPEK A., KUZNICKI J., 1998. *Molecular cloning and expression of a mouse brain cDNA encoding a novel protein target of calcyclin*. J. Neurochem. 70, 1793-1798.
- FILIPEK A., JASTRZEBSKA B., NOWOTNY M., KWIAKOWSKA K., HETMAN M., SURMACZ L., WYROBA E., KUZNICKI J., 2002a. *Ca²⁺-dependent translocation of the calcyclin-binding protein in neurons and neuroblastoma NB-2a cells*. J. Biol. Chem. 277, 21103-21109.
- FILIPEK A., JASTRZEBSKA B., NOWOTNY M., KUZNICKI J., 2002b. *CacyBP/SIP, a calcyclin and Siah-1-interacting protein, binds EF-hand proteins of the S100 family*. J. Biol. Chem. 277, 28848-28852.
- FILIPEK A., SCHNEIDER G., MIETELSKA A., FIGIEL I., NIEWIADOMSKA G., 2008. *Age-dependent changes in neuronal distribution of CacyBP/SIP: comparison to tubulin and the tau protein*. J. Neural. Transm. 115, 1257-1264.
- FUNAKOSHI T., TAKEDA S., HIROKAWA N. J., 1996. *Active transport of photoactivated tubulin molecules in growing axons revealed by a new electron microscopic analysis*. J. Cell Biol. 133, 1347-1353.
- GÓRAL A., BIEGANOWSKI P., PRUS W., KRZEMIEN-OJAK Ł., KADZIOLKA B., FABCZAK H., FILIPEK A., 2016. *Calcyclin binding protein/Siah-1 interacting protein is a Hsp90 binding chaperone*. PLoS ONE 11, e0156507.
- JASTRZEBSKA B., FILIPEK A., NOWICKA D., KACZMAREK L., KUZNICKI J., 2000. *Calcyclin (S100A6) binding protein (CacyBP) is highly expressed in brain neurons*. J. Histochem. Cytochem. 48, 1195-1202.
- JIANG H. L., JIANG L. M., HAN W. D., 2015. *Wnt/ β -catenin signaling pathway in lung cancer stem cells is a potential target for the development of novel anticancer drugs*. J. BUON 20, 1094-1100.
- JUREWICZ E., OSTROWSKA Z., JOZWIAK J., REDOWICZ M. J., LESNIAK W., MORACZEWSKA J., FILIPEK A., 2013. *CacyBP/SIP as a novel modulator of the thin filament*. Biochim. Biophys. Acta 1833, 761-766.
- KILAŃCZYK E., JASTRZEBSKA B., FILIPEK A., 2009. *CacyBP/SIP binds ERK1/2 and affects transcriptional activity of Elk-1*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 380, 54-59.
- KILAŃCZYK E., FILIPEK S., FILIPEK A., 2011. *ERK1/2 is dephosphorylated by a novel phosphatase-CacyBP/SIP*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 404, 179-183.
- KILAŃCZYK E., WASIK U., FILIPEK A., 2012. *CacyBP/SIP phosphatase activity in neuroblastoma NB2a and colon cancer HCT116 cells*. Biochem. Cell Biol. 90, 558-564.
- KILAŃCZYK E., FILIPEK A., HETMAN M., 2015. *Calcyclin-binding protein/Siah-1-interacting protein as a regulator of transcriptional responses in brain cells*. J. Neurosci. Res. 93, 75-81.
- KITAGAWA K., SKOWYRA D., ELLEDGE S. J., HARPER J. W., HIETER P., 1999. *SGT1 encodes an essential component of the yeast kinetochore assembly pathway and a novel subunit of the SCF ubiquitin ligase complex*. Mol. Cell 4, 21-33.
- LEE Y. T., DIMITROVA Y. N., SCHNEIDER G., RIDENOUR W. B., BHATTACHARYA S., SOSS S. E., CAPRIOLI R. M., FILIPEK A., CHAZIN W. J., 2008. *Structure of the S100A6 complex with a fragment from the C-terminal domain of Siah-1 interacting protein: a novel mode of S100 protein target recognition*. Biochemistry 47, 10921-10932.
- MATSUZAWA S. I., REED J. C., 2001. *Siah-1, SIP, and Ebi collaborate in a novel pathway for beta-catenin degradation linked to p53 responses*. Mol. Cell 7, 915-926.
- MATSUZAWA S., LI C., NI C. Z., TAKAYAMA S., REED J. C., ELY K. R., 2003. *Structural analysis of Siah1 and its interactions with Siah-interacting protein (SIP)*. J. Biol. Chem. 278, 1837-1840.
- MIETELSKA-POROWSKA A., WASIK U., GORAS M., FILIPEK A., NIEWIADOMSKA G., 2014. *Tau protein modifications and interactions: their role in function and dysfunction*. Int. J. Mol. Sci. 15, 4671-4713.
- MILLER K. E., JOSHI H. C., 1996. *Tubulin transport in neurons*. J. Cell Biol. 133, 1355-1366.
- NING X., SUN S., HONG L., LIANG J., LIU L., HAN S., LIU Z., SHI Y., LI Y., GONG W., ZHANG S., CHEN Y., GUO X., CHENG Y., WU K., FAN D., 2007. *Calcyclin-binding protein inhibits proliferation, tumorigenicity, and invasion of gastric cancer*. Mol. Cancer Res. 5, 54-1262.
- NING X., SUN S., ZHANG K., LIANG J., CHUAI Y., LI Y., WANG X., 2012. *S100A6 protein negatively regulates CacyBP/SIP-mediated inhibition of gastric cancer cell proliferation and tumorigenesis*. PLoS One 7, e30185.
- PULLIKUTH A. K., CATLING A. D., 2007. *Scaffold mediated regulation of MAPK signaling and*

- cytoskeletal dynamics: A perspective.* Cellular Signalling 19, 1621-1632.
- ROSINSKA S., LESNIAK W., FILIPEK A., 2016. *Distinct effect of CacyBP/SIP on the ERK1/2-CREB-BDNF pathway in undifferentiated and differentiated neuroblastoma NB2a cells.* Neurochem. Int. 97, 65e72.
- SANTELLI E., LEONE M., LI C., FUKUSHIMA T., PREECE N. E., OLSON A. J., ELY K. R., REED J. C., PELLECCIA M., LIDDINGTON R. C., MATSUZAWA S., 2005. *Structural analysis of Siah1-Siah-interacting protein interactions and insights into the assembly of an E3 ligase multiprotein complex.* J. Biol. Chem. 280, 34278-34287.
- SCHNEIDER G., NIEZNANSKI K., KILANCIK E., BIEGANOWSKI P., KUZNICKI J., FILIPEK A., 2007. *CacyBP/SIP interacts with tubulin in neuroblastoma NB2a cells and induces formation of globular tubulin assemblies.* Biochim. Biophys. Acta 1773, 1628-1636.
- SCHNEIDER G., NIEZNANSKI K., JOZWIAK J., SLOMNICKI L. P., REDOWICZ M. J., FILIPEK A., 2010. *Tubulin binding protein, CacyBP/SIP, induces actin polymerization and may link actin and tubulin cytoskeletons.* Biochim. Biophys. Acta 1803, 1308-1317.
- SHARROCKS A. D., 2001. *The ETS-domain transcription factor family.* Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2, 827-837.
- SUN S., NING X., LIU J., LIU L., CHEN Y., HAN S., ZHANG Y., LIANG J., WU K., FAN D., 2007. *Overexpressed CacyBP/SIP leads to the suppression of growth in renal cell carcinoma.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 356, 864-871.
- TOPOLSKA-WOŚ A. M., SHELL S. M., KILANCIK E., SZCZEPANOWSKI R. H., CHAZIN W. J., FILIPEK A., 2015. *Dimerization and phosphatase activity of calcyclin-binding protein/Siah-1 interacting protein: the influence of oxidative stress.* FASEB J. 29, 1711-1724.
- TOPOLSKA-WOŚ A. M., ROSIŃSKA S., FILIPEK A., 2017. *MAP kinase p38 is a novel target of CacyBP/SIP phosphatase.* Amino Acids 49, 1069-1076.
- VANHOUTTE P., NISSEN J. L., BRUGG B., GASPERA B. D., BESSON M. J., HIPSKIND R. A., CABOCHÉ J., 2001. *Opposing roles of Elk-1 and its brain-specific isoform, short Elk-1, in nerve growth factor-induced PC12 differentiation.* J. Biol. Chem. 276, 5189-5196.
- VICKERS E. R., KASZA A., KURNAZ I. A., SEIFERT A., ZEEF L. A., O'DONNELL A., HAYES A., SHARROCKS A. D. 2004. *Ternary complex factor-serum response factor complex-regulated gene activity is required for cellular proliferation and inhibition of apoptotic cell death.* Mol. Cell Biol. 4, 10340-10351.
- WASIK U., SCHNEIDER G., MIETELSKA-POROWSKA A., MAZURKIEWICZ M., FABCZAK H., WEIS S., ZABKE C., HARRINGTON C. R., FILIPEK A., NIEWIADOMSKA G., 2013. *Calcyclin binding protein and Siah-1 interacting protein in Alzheimer's disease pathology: neuronal localization and possible function.* Neurobiol. Aging 34, 1380-1388.
- WASIK U., KADZIOLKA B., KILANCIK E., FILIPEK A., 2016. *Influence of S100A6 on CacyBP/SIP phosphorylation and Elk-1 transcriptional activity in neuroblastoma NB2a cells.* J. Cell Biochem. 117, 126-131.
- WU J., TAN X., PENG X., YUAN J., QIANG B., 2003. *Translocation and phosphorylation of calcyclin binding protein during retinoic acid-induced neuronal differentiation of neuroblastoma SH-SY5Y cells.* J. Biochem. Mol. Biol. 36, 354-358.
- ZHAI H., SHI Y., JIN H., LI Y., LU Y., CHEN X., WANG J., DING L., WANG X., FAN D., 2008. *Expression of calcyclin-binding protein/Siah-1 interacting protein in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey.* J. Histochem. Cytochem. 56, 765-772.

KOSMOS Vol. 67, 1, 131-137, 2018

ANNA FILIPEK, AGNIESZKA GÓRAL

Laboratory of Calcium Binding Proteins, Department of Molecular and Cellular Neurobiology, Nencki Institute of Experimental Biology
PAS, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw, e-mail: a.filipek@nencki.gov.pl

CACYBP/SIP PROTEIN AND ITS ROLE IN CYTOSKELETON ORGANIZATION

Summary

The CacyBP/SIP protein is present in different mammalian cells and tissues. Its particularly high level is observed in brain, spleen, thymus and in many cancers. CacyBP/SIP interacts with different targets including cytoskeletal proteins such as tubulin, actin, tropomyosin. This indicates that CacyBP/SIP is involved in cellular processes associated with changes in cytoskeleton organization under physiology and pathology. In the present work the characteristics of complexes formed between CacyBP/SIP and cytoskeletal proteins and the role of those interactions are presented.

Key words: CacyBP/SIP; cancers, cytoskeleton, differentiation, proliferation, neurodegeneration, target proteins