

JACEK JAWORSKI

*Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej
Trojdena 4, 02-109, Warszawa
E-mail: jaworski@iimcb.gov.pl*

BIAŁKA Z RODZINY +TIP – „AGENCI” ŚLEDZĄCY MIKROTUBULE W ROZWOJU I PLASTYCZNOŚCI NEURONÓW

WPROWADZENIE

Mikrotubule, które są jednym z trzech elementów cytoszkieletu, są polimerami zbudowanymi z α - i β -tubuliny. Ich podstawową funkcją jest zapewnienie prawidłowego transportu wewnątrzkomórkowego zarówno białek, mRNA, jak i organelli. Mikrotubule pełnią również istotną rolę w utrzymaniu kształtu komórek oraz generowaniu sił mechanicznych wewnątrz komórki (np. w trakcie rozdziału chromosomów). Jednak, aby mikrotubule mogły spełniać swoje funkcje komórkowe, konieczna jest liczna grupa białek je wiążących, odpowiedzialnych za ich polimeryzację, stabilizację i dynamikę, jak również transport ładunku wewnątrzkomórkowego. Specjalną grupę białek wiążących mikrotubule (ang. microtubule associated proteins, MAP) stanowią białka wiążące tylko jeden koniec mikrotubuli (tzw. plus koniec), odznaczający się naprzemiennymi cyklami wzrostu i depolimeryzacji (tzw. zjawisko dynamicznej niestabilności omówione szczegółowo poniżej). Dynamiczna niestabilność mikrotubul stanowi podstawę ich szybkiej odpowiedzi na sygnały zewnątrzkomórkowe i jest regulowana między innymi przez wspomniane już białka śledzące plus koniec mikrotubuli (ang. microtubule plus-end tracking proteins, +TIP) (AKHMANOVA i HOOGENRAAD 2005, JAWORSKI i współaut. 2008, BAJER i KASPRZAK 2009, GOUVEIA i AKHMANOVA 2010). Rola mikrotubul i klasycznych białek MAP w komórkach nerwowych, szczególnie w rozwoju i neuropatologii, była przedmiotem badań od wielu lat (CONDE i CACERES 2009). Dobrym przykładem może być białko

Tau, którego nadmierna fosforylacja, prowadząca do utraty funkcji, jest obserwowana w chorobach neurodegeneracyjnych, np. w chorobie Alzheimera. Natomiast badania nad +TIP mają krótszą historię i dopiero w ostatnich 10 latach w sposób bardziej szczegółowy zbadano ich udział w rozwoju i plastyczności komórek nerwowych (JAWORSKI i współaut. 2008, VAN DE WILLIGE i współaut. 2016).

Neurony (komórki nerwowe) są komórkami pobudliwymi, przystosowanymi do przetwarzania i przekazywania informacji poprzez połączenia synaptyczne. Stanowią one podstawową jednostkę funkcjonalną układu nerwowego. W budowie komórki nerwowej wyróżnia się trzy podstawowe części (przedziały komórkowe): ciało komórki (perikarion), dendryty i akson. Dendryty stanowią część neuronu wyspecjalizowaną w odbieraniu informacji od innych komórek nerwowych, podczas gdy akson służy jej przekazywaniu. Informacja przepływająca przez komórkę nerwową jest kodowana w postaci impulsów elektrycznych, zaś pomiędzy neuronami – chemicznych (neurotransmitery). Przekaznictwo chemiczne odbywa się poprzez synapsy, struktury znajdujące się na połączeniu aksonu i dendrytu. W klasycznym ujęciu, synapsy składają się z części presynaptycznej, szczeliny synaptycznej i części postsynaptycznej. Część presynaptyczna jest wyspecjalizowaną częścią aksonu, zaś postsynaptyczna dendrytu. Ta ostatnia często jest zlokalizowana w zakończeniach wypustek formowanych przez dendryty, zwanych kolcami dendrytycznymi. Nawet ten bardzo skrótowny opis morfologii „typowej” komórki nerwowej pokazuje jej podstawową cechę jaką

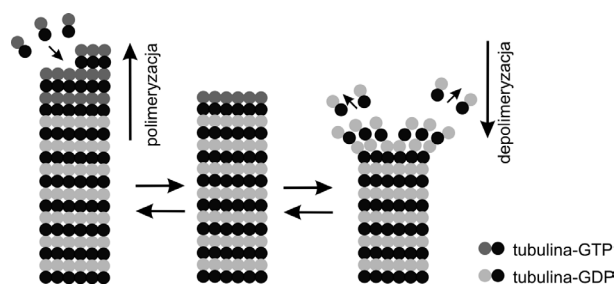
Słowa kluczowe: białka śledzące koniec plus mikrotubuli, mikrotubule, neurorozwój, plastyczność neuronalna, układ nerwowy

jest bardzo silna polaryzacja, zarówno morfologiczna, jak i funkcjonalna. Rozwój komórek nerwowych jest procesem wieloetapowym. Neurony powstają na drodze różnicowania z neuralnych komórek macierzystych (FARKAS i HUTTNER 2008). Nowopowstałe neurony początkowo nie wykazują polaryzacji i często muszą przemieścić się na znaczne odległości, do swojej lokalizacji docelowej w rozwijającym się mózgu (migracja), zanim zostaną zainicjowane procesy formowania się aksonu i dendrytów (URBANSKA i współaut. 2008, HATANAKA i współaut. 2016). Zarówno za migrację, jak i wytworzenie oraz utrzymanie polaryzacji w dużej mierze odpowiedzialny jest cytoskielet, w tym mikrotubule (WU i współaut. 2014). Dodatkowo, w trakcie migracji oraz w późniejszych etapach „życia neuronu” poszczególne jego przedziały zachowują się w sposób dynamiczny (np. kolce dendrytyczne). To właśnie w trakcie tych dynamicznych zjawisk kluczową rolę pełnią białka +TIP (JAWORSKI i współaut. 2008).

W pierwszej części niniejszego artykułu czytelnik będzie miał okazję zapoznać się z podstawowymi informacjami na temat dynamiki mikrotubul, jak i białek +TIP. Natomiast jego druga część jest w głównej mierze poświęcona roli białek +TIP w rozwoju i plastyczności neuronów.

MIKROTUBULE BUDOWA I DYNAMIKA

Jak wspomniano powyżej podstawowym budulcem mikrotubul są dimery α i β tubuliny, które łącząc się według schematu głowa-ogon budują strukturę wyższego rzędu zwana protofilamentem (Ryc. 1). Z kolei protofilamenty (zwykle jest ich 13) tworzą ściany mikrotubuli, która jest pustym cylindrem o średnicy około 25 nm. Sposób polimeryzacji protofilamentów powoduje, iż powstałe końce mikrotubuli nie są równocenne. Na jednym, „starszym” końcu (zwanym końcem minus) znajduje się α -tubulina, podczas gdy koniec „nowszy” (tzw. koniec plus) zakończony jest β -tubuliną. Klasyczny model zakładał, iż *in vitro* polimeryzacja zachodzi w głównej mierze na końcu plus, podczas gdy depolimeryzacja odbywa się szybciej na końcu minus mikrotubuli. Jednak w komórce, koniec minus jest najczęściej zabezpieczony przez białka znajdujące się w strukturach zwanych centrami nukleacji lub centrosomami i w związku z tym jest bardzo stabilny. W takiej sytuacji, zarówno polimeryzacja, jak i depolimeryzacja mikrotubuli odbywa się na jej końcu plus. A zatem, mikrotubula może znajdować się w jednym z trzech stanów: polimeryzacji, pauzy lub depolimeryzacji. Przejścia pomiędzy poszczególnymi stanami mogą zachodzić bardzo szybko, przy czym szczególnie spektakularna



Ryc. 1. Dynamika mikrotubul w komórkach zachodzi głównie na końcu plus mikrotubuli.

Schemat przedstawia model dynamicznej niestabilności mikrotubuli, zjawiska uważanego obecnie za podstawę dynamiki mikrotubul w komórkach. W modelu tym zarówno polimeryzacja jak i depolimeryzacja zachodzą na końcu plus mikrotubuli i są regulowane m.in. przez białka z rodziny +TIP.

jest błyskawiczna depolimeryzacja mikrotubul zwana w literaturze katastrofą. O tym, w którym momencie cyklu znajduje się mikrotubula decyduje wiele czynników, w tym rodzaj związanego z tubuliną nukleotydu, modyfikacje potranslacyjne tubuliny oraz interakcje z wybranymi białkami MAP. Jednym z podstawowych mechanizmów regulujących polimeryzację mikrotubuli jest zachodząca w jej trakcie hydroliza GTP związanego z β -tubuliną do GDP. β -tubulina, występująca w formie wolnych dimerów z α -tubuliną, aby ulec przyłączeniu do rosnącego końca mikrotubuli musi być związana z GTP. Po przyłączeniu do plus końca mikrotubuli, z pewnym opóźnieniem dochodzi do hydrolizy GTP do GDP. W ten sposób im szybsza polimeryzacja, tym większa pula β -tubuliny-GTP na plus końcu mikrotubuli. Ten fragment mikrotubuli zwany jest czapeczką (ang. GTP-cap), a jego długość decyduje o stabilności powstałej struktury (wg zasady im dłuższa czapeczka, tym stabilniejszy jest nowopowstały koniec plus). Jest to związane z konformacją przestrzenną powstającego protofilamentu. Protofilamenty złożone na końcu z tubuliny-GTP są ułożone równolegle, co nie wytwarza napięć w strukturze cylindra. Natomiast protofilamenty pozbawione β -tubuliny-GDP odginają się na zewnątrz, co sprzyja szybkiej depolimeryzacji (Ryc. 1). Powyższe informacje prowadzą do wniosku, iż polimeryzujący koniec mikrotubuli jest odmienny od pauzującego i stanowi, do pewnego stopnia, inne środowisko biochemiczne. Istotnie, liczne białka charakteryzują się zdolnością wiązania wyłącznie mikrotubul na ich dynamicznie zmieniającym się końcu plus. Białka te, ze względu na tę właściwość, pomimo różnych funkcji komórkowych i braku homologii, zgrupowano w jedną rodzinę - białek +TIP (AKHMANOVA i HOOGENRAAD 2005,

JAWORSKI i współaut. 2008, BAJER i KASPRZAK 2009, GOUVEIA i AKHMANOVA 2010).

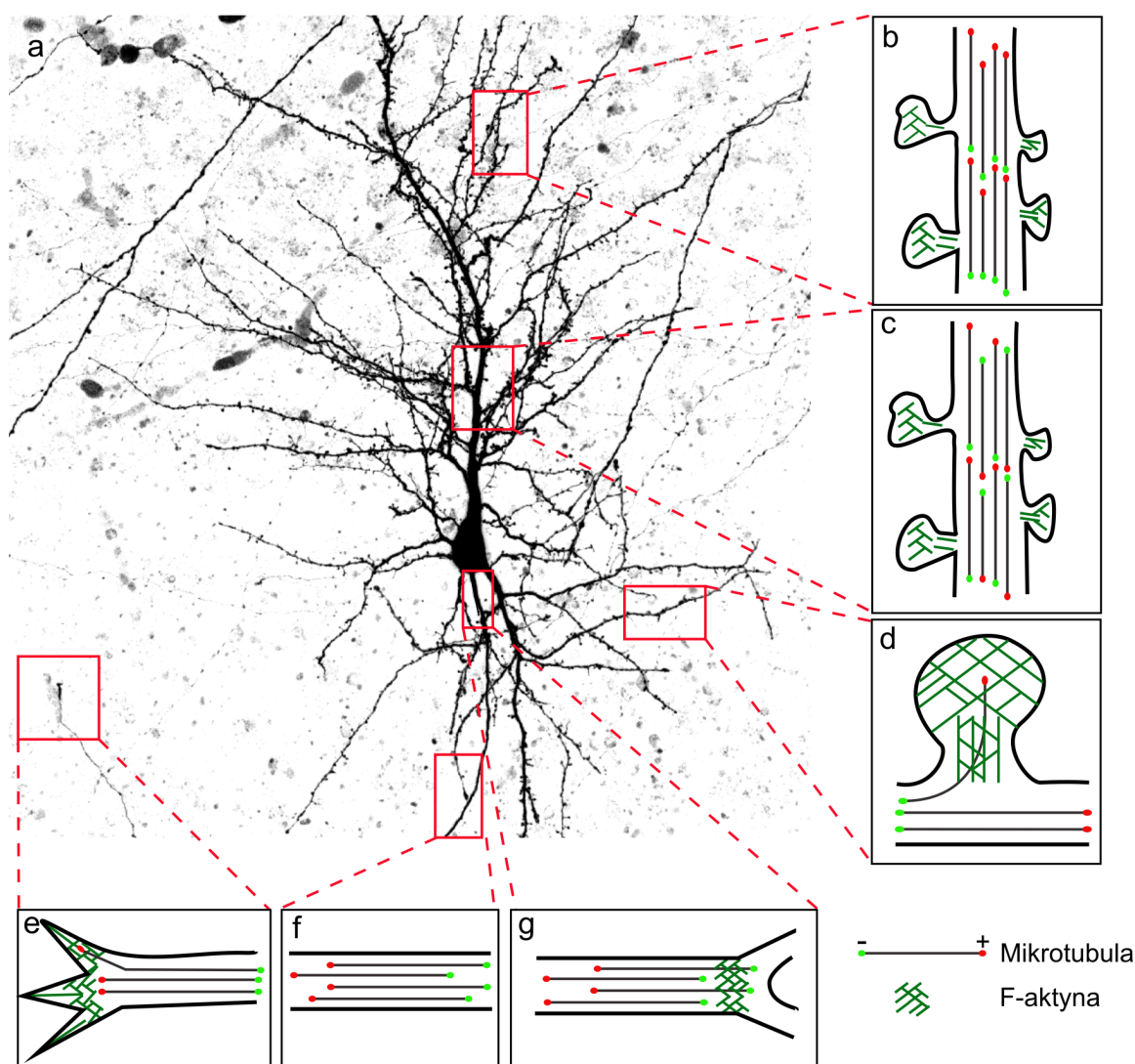
BIAŁKA RODZINY +TIP

Pierwsze białko z rodziny +TIP, CLIP-170 (ang. CAP-Gly domain-containing linker protein 1) zostało odkryte w 1999 r. (DIAMANTO-

POULOS i współaut. 1999, PEREZ i współaut. 1999). W chwili obecnej rodzina +TIP liczy już prawie 30 białek i wciąż się powiększa (Tabela 1). Jak wspomniano, cechą konieczną do uznania danego białka za +TIP jest zdolność wiązania dynamicznie zmieniającego się plus końca mikrotubuli. Jednym z najprostszych sposobów wykazania takiej

Tabela 1. Przykłady udziału białek +TIP w kolejnych etapach neurogenezy.

Etap rozwoju	Białko +TIP	Praca źródłowa
Podziały komórkowe	CDK5AP2 (cep215)	BOND i współaut. 2005, BUCHMAN i współaut. 2010
	LIS1	TSAI i współaut. 2005
	TACC3	XIE i współaut. 2007, YANG i współaut. 2012
Migracja	Amer2	PFISTER i współaut. 2012
	APC	EOM i współaut. 2014
	FILIP1	NAGANO i współaut. 2002
	KIF11	FALNIKAR i współaut. 2011
	LIS1	HIROTSUNE i współaut. 1998, TSAI i współaut. 2005
	MACF1	KA i współaut. 2014
	NAV1-3	MARTÍNEZ-LÓPEZ i współaut. 2005
	TRIO	PENG i współaut. 2010
aksonogeneza	APC	SHI i współaut. 2004, KOESTER i współaut. 2007, PURRO i współaut. 2008
	CLASP1/2	LEE i współaut. 2004, HUR i współaut. 2011, MARX i współaut. 2013
	CLIP-115, CLIP-170	NEUKIRCHEN i BRADKE 2011
	ch-TOG/XMAP215	VAN DER VAART i współaut. 2012, LOWERY i współaut. 2013
	DDA3	HSIEH i współaut. 2012
	EB1	JIMENEZ-MATEOS i współaut. 2005, GERALDO i współaut. 2008
	KIF11	MYERS i BAAS 2007, NADAR i współaut. 2008
	LIS1	GRABHAM i współaut. 2007
	MACF1	KA i KIM 2016
	NAV1	MULEY i współaut. 2008
	SLAIN1/2	SHIM i współaut. 2013
	TACC3	VAN DER VAART i współaut. 2012
	TRIO	NWAGBARA i współaut. 2014
		DEGEER i współaut. 2013
Dendrytogeneza	CLIP170	SWIECH i współaut. 2011
	CLIP115	SWIECH i współaut. 2011
	CORTBP2	SHIH i współaut. 2014
	EB3	SWEET i współaut. 2011
	p150 ^{glued}	KONONENKO i współaut. 2017
	KIF11	YOON i współaut. 2005
	LIS1	LIU i współaut. 2000
	MACF1	KA i KIM 2016



Ryc. 2. Mikrotubule i F-aktyna nie są równomiernie rozłożone w poszczególnych przedziałach komórki nerwowej. a) mikrofotografia komórki piramidowej hipokampa szczura. Schemat układu mikrotubul i F-aktyny w poszczególnych przedziałach komórkowych: b) dendrytach dystalnych, c) dendrytach proksymalnych, d) kolcu dendrytycznym, e) stożku wzrostu aksonu, f) aksonie oraz g) wzgórkę aksonalnym.

aktywności jest przyżyciowe obrazowanie wyznakowanych fluorescencyjnie białek w komórce. Wyznakowane białka, wiążąc się z polimeryzującymi końcami mikrotubul, stwarzają optyczne wrażenie przemieszczania się w komórce, a uzyskiwany sygnał przypomina obraz przelatujących komet. O ile zakwalifikowanie do rodziny +TIP jest relatywnie proste, o tyle wewnętrzna klasyfikacja tych białek długo nastroczała kłopotów, ponieważ podstawą przynależności do +TIP nie były cechy zwykle używane w klasyfikacji białek, takie jak podobieństwo sekwencji czy rodzaj pełnionych funkcji. Obecnie białka +TIP dzieli się na podgrupy (i) ze względu na sposób w jaki wiążą koniec plus mikrotubuli oraz (ii) występowanie wyselekcjonowanych motywów w ich sekwencji (VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Pierwszą grupę

stanowią białka EB (ang. end binding proteins). Są to białka bezpośrednio wiążące mikrotubule, które z jednej strony mogą regulować ich dynamikę samodzielnie, ale też stanowią istotny łącznik pomiędzy mikrotubulą i częścią +TIP. Druga grupa wiąże się z mikrotubulami w sposób zależny od białek EB i ze względu na specyficzne motywy sekwencyjne może być dalej podzielona na białka zawierające motyw Cap-Gly (ang. cytoskeletal-associated protein glycine rich, np. CLIP-170, p150^{Glued}) lub SxIP [np. MACF1 (ang. microtubule-actin cross-linking factor 1), NAV 1-3 (ang. neuron navigators)]. Ostatnią grupę stanowią białka +TIP, których nie da się przyporządkować do żadnej z pozostałych kategorii [np. XMAP215 (ang. microtubule-associated protein 215 kDa)]. Poszczególne białka +TIP mogą pełnić róż-

norodne funkcje. Często jedno białko spełnia liczne funkcje na końcu mikrotubuli. Dobrym przykładem takiego wielofunkcyjnego białka +TIP jest wspomniane wcześniej CLIP-170 (GALJART 2005, LANSBERGEN i AKHMANOVA 2006). Z jednej strony wykazano, iż wiążąc się z dynamicznym końcem mikrotubuli zapobiega ono katastrofom poprzez przesunięcie równowagi na korzyść efektywniejszego wzrostu. Inną ważną funkcją CLIP-170 jest udział w inicjacji transportu ładunku komórkowego wzdłuż mikrotubul w kierunku końca minus. W końcu, CLIP-170 pośredniczy w interakcji mikrotubul z mikrofilamentami, co pozwala na przejściowe ustabilizowanie mikrotubuli pod błoną komórkową.

ROLA BIAŁEK +TIP W ROZWOJU KOMÓREK NERWOWYCH

Dla lepszego zrozumienia szczególnej roli +TIP w rozwoju i plastyczności komórek nerwowych konieczne jest krótkie wprowadzenie na temat organizacji mikrotubul i mikrofilamentów (elementów cytoszkieletu zbudowanych ze spolimeryzowanej aktyny, F-aktyny) w formowanych przez neurony aksonach i dendrytach (Ryc. 2). W aksonach mikrotubule ułożone są podobnie jak w komórkach niespolaryzowanych, tzn. końcem minus w kierunku ciała komórki, zaś końcem plus w kierunku zakończenia aksonu (JAWORSKI i współaut. 2008, VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Taki układ zapewnia bardzo uporządkowany transport ładunku od i do zakończeń synaptycznych. Jeśli chodzi natomiast o mikrofilamenty, ich wzbogacenie występuje w tzw. wzgórku aksonalnym (część aksonu bezpośrednio przy ciele komórki) oraz w zakończeniach presynaptycznych. We wzgórku mikrofilamenty najprawdopodobniej pełnią funkcję filtru dla ładunku, który nie powinien przeniknąć do aksonu (LETERRIER i DARGENT 2014). Natomiast w zakończeniach presynaptycznych aktyna jest zaangażowana w różne formy procesu endocytozy, koniecznej dla sprawnej transmisji synaptycznej (WU i współaut. 2016). W przypadku rozwijającego się aksonu, szczególnie bogaty w F-aktynę jest jego stożek wzrostu (LOWERY i VAN VACTOR 2009). Jest to struktura odpowiedzialna za przyrost aksonu, jednocześnie umożliwiająca szybką odpowiedź na bodźce kierunkujące ze środowiska zewnętrznego. Dynamika stożka wzrostu jest przede wszystkim warunkowana przez szybkie zmiany stanu F-aktyny. Jednak, jego wzrost w pożądanym kierunku jest związany z dynamiką plus-końca mikrotubuli, jego interakcji z F-aktyną oraz siłą wywieraną przez mikrotubu-

le na błonę komórkową (CONDE i CACERES 2009, LOWERY i VAN VACTOR 2009).

W przeciwieństwie do aksonów, układ mikrotubul w dendrytach nie jest jednolity. W dendrytach bliższych ciału komórki mikrotubule są ułożone bipolarnie, tzn. dowolnym końcem w kierunku ciała komórki (JAWORSKI i współaut. 2008, VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Procent mikrotubul w danej orientacji jest specyficzny gatunkowo, jak również zależy od podtypu komórki nerwowej (VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Natomiast w przypadku dendrytów wyższego rzędu, czyli rozgałęzień oddalonych od ciała komórki, układ mikrotubul staje się unipolarny i analogiczny do tego w aksonach (JAWORSKI i współaut. 2008, VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Przez wiele lat nie wykazywano obecności mikrotubul w kolcach dendrytycznych. Te części dendrytu były uważane za struktury bogate w aktynę i pozbawione innych elementów cytoszkieletu. Powszechnie uważano, iż dynamika F-aktyny, błony komórkowej i receptorów na jej powierzchni są w pełni wystarczające dla zmian morfologicznych kolców dendrytycznych, które są korelatem stanu funkcjonalnego znajdujących się w nich synaps pobudzeniowych. Jednak nowe techniki obrazowania przyżyciowego oraz lepsze poznanie mechanizmu działania białek rodziny +TIP pozwoliły wykazać, iż dynamiczne mikrotubule penetrują kolce dendrytyczne. To ważne odkrycie zostanie omówione bardziej szczegółowo poniżej.

Jak już wspomniano, rozwój neuronu jest procesem wieloetapowym. Część z tych etapów jest podobna dla różnych rodzajów komórek (np. niesymetryczne podziały komórek macierzystych, migracja) i wiadomo, iż dynamika mikrotubul jest dla nich istotna (Tabela 1). Białka +TIP biorące udział w tych właśnie etapach wymieniono w Tabeli 1. Spośród etapów rozwoju typowych dla neuronów, udział rodziny białek +TIP został szczególnie dobrze opisany w procesie aksonogenezy (JAWORSKI i współaut. 2008, SAYAS i ÁVILA 2014, BEARCE i współaut. 2015), dlatego też zagadnienie to zostanie omówione dość skrótowo. Dużo mniej natomiast wiadomo na temat ich udziału w formowaniu drzewek dendrytycznych (dendrytogenezie) i temu tematowi poświęcono więcej uwagi.

Proces formowania się aksonu można podzielić na 3 podstawowe etapy. Pierwszy to formowanie neurytów. Są to wypustki komórkowe, z których następnie powstaje akson i dendryty. W następnym dochodzi do złamania symetrii, czyli jedna z wypustek, w sposób wciąż słabo opisany na poziomie molekularnym, staje się aksonem. Jest to sygnał dla wszystkich pozostałych neurytów, że staną się dendrytami. Nowopowstały ak-

son rośnie intensywnie w kierunku struktur docelowych, nawigując przez środowisko zewnątrzkomórkowe, pełne chemicznych sygnałów kierujących (tzw. chemoatraktantów i chemorepelentów), oddziałujących na jego stożek wzrostu. I właśnie ten ostatni etap jest szczególnie uzależniony od +TIP. W aktywnych stożkach wzrostu dynamika mikrotubul jest bardzo duża, a kierunek polimeryzacji i stabilizacja mikrotubul w jego wnętrzu bezpośrednio przekłada się na kierunek jego wzrostu. Chemoatraktanty zwiększają stabilność mikrotubul promując wzrost stożka wzrostu w ich kierunku, podczas gdy chemorepelenty skutkują depolimeryzacją mikrotubul (BUCK i ZHENG 2002). Jednak rola +TIP w stożku wzrostu nie sprowadza się tylko i wyłącznie do bezpośredniej regulacji dynamiki końca plus. Równie ważną ich funkcją jest zapewnienie prawidłowej interakcji mikrotubul z F-aktyną znajdującą się w stożkach wzrostu. Z jednej strony, pozwala to na stabilizację mikrotubul w odpowiednich miejscach pod błoną stożka wzrostu, a z drugiej, może wpływać na dynamikę F-aktyny, drugiego elementu cytoszkieletu niezbędnego do prawidłowego wzrostu aksonu (LOWERY i VAN VACTOR 2009). Szczegółowa lista białek +TIP biorących udział w regulacji wzrostu aksonu została zamieszczona w Tabeli 1.

Pomimo licznych podobieństw w rozwoju aksonu i dendrytów, białka śledzące mikrotubule były studiowane mniej intensywnie w dendrytogenezie. Pierwsze dowody na udział +TIP w regulacji tego etapu rozwoju w komórkach ssaków zostały przedstawione przez nasz zespół badawczy. W prowadzonych eksperymentach wykazaliśmy, iż białka CLIP-170 i CLIP-115 regulują wzrost drzewek dendrytycznych u ssaków (SWIECH i współaut. 2011). Wykorzystując neurony szczurze hodowane pozaustrojowo i technikę interferencji RNA, pozwalającą na selektywne niszczenie wybranych mRNA, zaobserwowaliśmy, iż komórki pozbawione CLIP-170 lub CLIP-115 nie są w stanie utworzyć odpowiednio złożonych drzewek dendrytycznych (SWIECH i współaut. 2011). Dalsze poszukiwania mechanizmu molekularnego wskazały, iż zadaniem CLIP-170 w trakcie dendrytogenezy jest umożliwianie interakcji plus końców mikrotubul z F-aktyną za pośrednictwem białka IQGAP1 (ang. IQ motif containing GTPase activating protein 1). Podobnie, badania KA i KIM (2016) wykazały, iż inne białko +TIP - MACF1 (ang. microtubule-actin cross-linking factor 1), regulujące prawidłowe interakcje mikrotubul i F-aktyny oraz stabilność tych elementów cytoszkieletu, kontroluje prawidłową morfologię drzewka dendrytycznego. Natomiast uzyskane przez nas wyniki sugerowały, iż wspomaganie interakcji mikrotubul i F-aktyny nie jest

jedyną funkcją CLIP-170 w dendrytogenezie. Równie istotna wydawała się być zdolność tego białka do inicjacji transportu ładunków wewnątrzkomórkowych w kierunku końca minus mikrotubuli poprzez interakcję z innym białkiem +TIP - p150^{glued} (dynakty-na-1). p150^{glued} jest podjednostką kompleksu dynaktyny, odpowiedzialnego wraz z dyneiną za transport ładunku od końca plus do końca minus mikrotubuli. Potwierdzeniem tej hipotezy może być obserwacja, że brak tego białka w rozwijającym się neuronie skutkuje silnym zaburzeniem dendrytogenezy. Jest to najprawdopodobniej związane z nieprawidłową inicjacją transportu receptorów dla mózgowopochodnego czynnika wzrostu (ang. brain-derived neurotrophic factor, BDNF) (KONONENKO i współaut. 2017). W przypadku neuronów muszki owocowej opisano również inne, dodatkowe funkcje +TIP. Dwa spośród nich - EB1 i APC, są najprawdopodobniej odpowiedzialne za właściwe ukierunkowanie wzrostu polimeryzujących mikrotubul w rozgałęzieniach dendrytycznych (WEINER i współaut. 2016). W zaproponowanym modelu, w miejscu rozgałęzienia dendrytów, białka +TIP znajdujące się na końcu polimeryzującej mikrotubuli, po napotkaniu mikrotubuli stabilnej oddziałują z poruszającą się wzdłuż niej kinezyną-2, co prowadzi do zmiany kierunku polimeryzacji na równoległy do stabilnych mikrotubul. Dotychczasowe doświadczenia mało skupiały się na udowodnieniu, że regulacja dynamiki końca plus mikrotubul przez +TIP jest kluczowa dla dendrytogenezy. Jednak istnieją na to liczne dowody pośrednie. Na przykład, farmakologiczne zamrożenie dynamiki końców plus prowadzi do uproszczenia drzewek dendrytycznych. Również obniżenie dostępności EB3, poprzez jego konkurencyjne wiązanie do PSD95, którego efektem jest zaburzenie dynamiki końca plus mikrotubuli, prowadzi do podobnych zaburzeń morfologii neuronów (SWEET i współaut. 2011). Co ciekawe, wzrost ilości PSD95 zachodzi w trakcie dojrzewania neuronów, kiedy to intensywność rearanżacji drzewka dendrytycznego spada. W końcu, obniżenie poziomu CORTBP2 (ang. cortactin binding protein-2) w rozwijających się neuronach prowadziło do zmniejszenia puli stabilnych mikrotubul, co skutkowało uproszczeniem ich drzewek dendrytycznych (SHIH i współaut. 2014).

ROLA BIAŁEK +TIP W PLASTYCZNOŚCI KOMÓREK NERWOWYCH

Ze względu na brak stabilnych mikrotubul w kolcach dendrytycznych, prawie do końca pierwszej dekady XXI w. nie badano ich bezpośredniego zaangażowania w procesy plastyczności neuronalnej. Co najwyżej,

uwzględniano je jako struktury konieczne dla transportu wewnątrzkomórkowego ładunków istotnych dla tego procesu (np. receptorów dla neurotransmiterów). Jednak w latach 2008-09 trzy grupy badawcze niezależnie, wykorzystując przyżyciowe obrazowanie mikrotubul lub/i białek +TIP (np. EB3) doniosły, iż dynamiczne końce mikrotubul penetrują kolce dendrytyczne i zjawisko to jest istotne dla morfologii kolców dendrytycznych (GU i współaut. 2008, HU i współaut. 2008, JAWORSKI i współaut. 2009). Poczynione obserwacje wskazywały na to, iż penetracja dynamicznie polimeryzującej mikrotubuli do wnętrza kolca dendrytycznego, indukowała wzrost jego objętości. Z kolei, stymulacja neuronalna, powodująca obniżoną penetrację kolców dendrytycznych przez mikrotubule, prowadziła do zmniejszenia objętości kolców. Ponieważ morfologia kolca odzwierciedla stan funkcjonalny znajdującej się w nim części synapsy (TADA i SHENG 2006, ALVAREZ i SABATINI 2007), świadczyło to, iż dynamika mikrotubul może wpływać na plastyczność synaptyczną. Istotnie, wspólnie z zespołami prof. Caspara Hoogenraada i prof. Harma Krugersa z Holandii wykazaliśmy, iż dynamika mikrotubul jest konieczna dla zjawiska długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (JAWORSKI i współaut. 2009), które uważa się za komórkowe podłoże takich procesów jak uczenie się i powstawanie pamięci. W jaki zatem sposób mikrotubule zmieniają morfologię kolców, a poprzez tę zmianę wpływają na plastyczność? Pierwsze prace postulowały dwa mechanizmy, które następnie udowodniono. Pierwsza z hipotez zakładała, iż penetracja mikrotubuli pozwala na bardziej celowane i efektywne dostarczenie odpowiednich białek (np. receptorów błonowych) do tych kolców, które wymagały zmiany funkcjonalnej (HU i współaut. 2008). Z kolei nasze prace skoncentrowały się na oddziaływaniu pomiędzy +TIP i F-aktyną wypełniającą kolce dendrytyczne (JAWORSKI i współaut. 2009). Kombinacja metod mikroskopowych i biochemicznych pozwoliła nam wykazać, iż EB3, wiążąc kolejne białko +TIP - p140Cap, wpływa na aktywność kortaktyny, białka ważnego dla regulacji dynamiki F-aktyny w kolcach dendrytycznych. Badania innych grup wskazały kolejne białka istotne dla regulacji aktyny jako oddziałujące z +TIP, np. drebrynę (MERRIAM i współaut. 2013). Dlaczego ilość i sposób polimeryzacji F-aktyny ma znaczenie dla plastyczności neuronalnej? Wydaje się, iż F-aktyna pełni różne funkcje w kolcach dendrytycznych (HOTULAINEN i HOOGENRAAD 2010), m.in. stanowi w nich główną ścieżkę transportu ładunku, wytwarza siły molekularne ważne dla procesu endocytozy oraz wytwarza siły konieczne dla wzro-

stu objętości kolca. To z kolei przekłada się na powierzchnię błony synaptycznej dostępną dla kanałów jonowych odpowiedzialnych z depolaryzację błony, jak również uruchomienie odpowiednich szlaków przekazywania sygnału w komórkach. W dużym uproszczeniu, im większa powierzchnia błony synaptycznej, tym więcej receptorów i tym silniejsze pobudzenie części postsynaptycznej może zostać osiągnięte przez wydzieloną porcję neurotransmitera. EB3 i p140CAP były pierwszymi, ale nie jedynymi białkami +TIP, których obecność zaobserwowano w kolcach dendrytycznych. Podobne wyniki otrzymano dla CORTBP2 (CHEN i HSUEH 2012). CORTBP2 reguluje mobilność kortaktyny w kolcach dendrytycznych, wpływając w ten sposób na dynamikę F-aktyny w tych strukturach. Pozostałe białka +TIP zaangażowane w regulację morfologii kolców dendrytycznych wymieniono w Tabeli 1.

POTENCJALNY UDZIAŁ BIAŁEK +TIP W CHOROBAH UKŁADU NERWOWEGO

Ważną kwestią, nieporuszaną w niniejszej pracy do tej pory, jest wpływ mutacji w genach kodujących +TIP na choroby układu nerwowego. Ich lista jest bardzo długa. Część z chorób powodowanych przez mutacje w genach kodujących +TIP jest śmiertelna [np. *DCNT1* (ang. dynactin subunit 1) i *STIM1* (ang. stromal interaction molecule 1) - stwardnienie zanikowe boczne]. Mutacje w innych prowadzą do poważnych zaburzeń rozwojowych, np. lizencefalii (gładkomózgowie, np. *LIS-1*; ang. lissencephaly 1). Z kolei, mutacje w *APC* (gen kodujący białko APC, ang. adenomatous polyposis coli) i *CTTNBP2* (gen kodujący CORTBP2) mogą być przyczyną autyzmu. Natomiast mutacje w *Nav1* przyczyniają się do powstawania niektórych guzów mózgu (np. neuroblastomy). Jednak, w świetle dotychczasowych badań wcale nie jest oczywiste, czy zaburzona aktywność tych białek na końcu plus mikrotubul jest odpowiedzialna za dysfunkcję komórek nerwowych. Dobry przykład ilustrujący ten problem stanowią patogenne mutacje w *DCNT1* kodującym p150^{glued}. W literaturze opisano kilka mutacji w domenie Cap-Gly p150^{glued} istotnej dla wiązania przez to białko zarówno białek EB, jak i mikrotubul. Pierwsza z nich, G59S, powoduje dziedziczną neuropatię ruchową (ang. hereditary motor neuropathy 7B, HMN7B) i skutkuje tworzeniem przez p150^{glued} toksycznych dla motoneuronów agregatów białkowych (LEVY i współaut. 2006). Sugerowano także, iż mutacja ta wpływa w aksonach na efektywność transportu zależnego od dyneiny. Natomiast nie wydaje się, aby potencjalne zaburze-

nia związane z funkcją p150^{glued} jako +TIP były istotne dla rozwoju choroby. Pozostałe mutacje w domenie Cap-Gly p150^{glued}, choć znajdują się relatywnie w pobliżu G59, tzn. G71(R/E/A), T72P i Q74P są przyczyną bardzo rzadkiej odmiany parkinsonizmu (ang. Perry syndrome) (FARRER i współaut. 2009, LIPKA i współaut. 2013). Co ciekawe, mutacje te prowadzą do dysfunkcji neuronów w substancji czarnej, ale nie obserwuje się w tym przypadku ani tworzenia się agregatów białkowych ani poważnych zaburzeń transportu aksonalnego. Stwierdzono natomiast, iż w zależności od mutacji dochodzi albo do zaburzeń interakcji p150^{glued} z EB na końcu mikrotubul (G71R) lub z mikrotubulami oraz wolną tubuliną (Q74P). Najprawdopodobniej skutkuje to, odpowiednio, problemami z inicjacją transportu wstecznego w aksonie lub zwiększoną częstotliwością katastrof końca plus (MOUGHAMIAN i HOLZBAUR 2012, LAZARUS i współaut. 2013). p150^{glued} jest jednym z najlepiej poznanych białek w kontekście mechanizmów chorób związanych z mutacjami w genach kodujących białka +TIP. W przypadku pozostałych, często dotychczas nie powiązano specyficznie ich funkcji na plus końcu mikrotubuli z patologią (np. TTBK2 i ataksja mózdkowordzeniowa typu 11) lub zakłada się, że muszą to być właśnie te funkcje, ponieważ inne, póki co pozostają nieznane (np. CLIP-115 i Zespół Williamsa) (JAWORSKI i współaut. 2008, VAN DE WILLIGE i współaut. 2016). Zdaniem autora niniejszej pracy przeglądowej, te przykłady dobrze ilustrują, jak niewiele naprawdę wiadomo o mechanizmach molekularnych leżących u podstaw wpływu mutacji w genach kodujących +TIP na choroby układu nerwowego.

PODSUMOWANIE

Badania ostatniej dekady pozwoliły lepiej poznać wpływ aktywności dynamiki mikrotubul, a co za tym idzie rolę +TIP w rozwoju i plastyczności komórek nerwowych. Niniejszy artykuł poglądowy, wykorzystując przykłady wybranych +TIP, miał na celu pokazanie, w jakie procesy na poziomie molekularnym są zaangażowane białka tej rodziny. Można do nich zaliczyć 3 podstawowe funkcje, jakimi są: bezpośrednia regulacja polimeryzacji i stabilności plus końców mikrotubul, kontrola interakcji mikrotubul z F-aktyną oraz wpływ na inicjację transportu mikrotubularnego. Dotychczasowe badania nie zawsze pozwalają stwierdzić, czy w przypadku poszczególnych białek tylko jedna czy na przykład wiele ich aktywności jako +TIP jest koniecznych dla prawidłowego rozwoju i plastyczności komórek nerwowych. Co więcej, część z tych białek ma też funkcje nie związane ze

swoją aktywnością na plus końcu mikrotubul (np. p150^{glued}, APC). Warto pamiętać, iż natura doświadczeń bazujących na usuwaniu genów czy mRNA kodujących poszczególne białka nie zawsze pozwala rozdzielić te funkcje. Być może dynamicznie rozwijające się technologie edytowania genów pozwolą na wprowadzanie bardziej subtelnych zmian w poszczególnych domenach wybranych białek, co przybliży nas do lepszego zrozumienia udziału poszczególnych funkcji +TIP w rozwoju i funkcjonowaniu układu nerwowego. To samo podejście będzie kluczowe dla ustalania czy mutacje patogenne w genach kodujących +TIP prowadzą do neuropatologii rzeczywiście poprzez zaburzenie aktywności +TIP na plus końcu mikrotubul.

Streszczenie

Mikrotubule są jednym z elementów cytoszkieletu a ich rolą jest zapewnienie prawidłowego transportu wewnątrzkomórkowego, utrzymanie kształtu komórek oraz generowanie sił mechanicznych. Aby mikrotubule mogły pełnić swoje funkcje komórkowe konieczna jest liczna grupa białek je wiążących, odpowiedzialnych za ich polimeryzację, stabilizację i dynamikę. Należą do nich między innymi białka śledzące koniec plus mikrotubul (ang. microtubule plus-end tracking proteins, +TIP). W ciągu ostatnich 10 lat poczyniono ogromne postępy w rozumieniu zarówno podstawowych aspektów działania tych białek na poziomie molekularnym, jak i ich udziału w rozwoju i plastyczności komórek nerwowych. Celami niniejszego artykułu są: zapoznanie czytelnika z podstawowymi informacjami na temat białek +TIP oraz z rolą jaką pełnią one w neuronach w trakcie powstawania aksonu, dendrytów i plastyczności synaptycznej.

LITERATURA

- AKHMANOVA A., HOOGENRAAD C. C., 2005. *Microtubule plus-end-tracking proteins: mechanisms and functions*. Curr. Opin. Cell Biol. 17, 47-54.
- ALVAREZ V. A., SABATINI B. L., 2007. *Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines*. Annu. Rev. Neurosci. 30, 79-97.
- BAJER S., KASPRZAK A. A., 2009. *Plus end tracking proteins and their role in mitotic spindle organization*. Post. Biochem. 55, 223-231.
- BEARCE E. A., ERDOGAN B., LOWERY L. A., 2015. *TIPsy tour guides: how microtubule plus-end tracking proteins (+TIPs) facilitate axon guidance*. Front. Cell. Neurosci. 9, 241.
- BOND J., ROBERTS E., SPRINGELL K., LIZARRAGA S. B., LIZARRAGA S., SCOTT S., HIGGINS J., HAMPSHIRE D. J., MORRISON E. E., LEAL G. F. i współaut., 2005. *A centrosomal mechanism involving CDK5RAP2 and CENPJ controls brain size*. Nat. Genet. 37, 353-355.
- BUCHMAN J. J., TSENG H.-C., ZHOU Y., FRANK C. L., XIE Z., TSAI L.-H., 2010. *Cdk5rap2 interacts with pericentrin to maintain the neural progenitor pool in the developing neocortex*. Neuron 66, 386-402.
- BUCK K. B., ZHENG J. Q., 2002. *Growth cone turning induced by direct local modification of microtubule dynamics*. J. Neurosci. 22, 9358-9367.

- CHEN Y.-K., HSUEH Y.-P., 2012. Cortactin-binding protein 2 modulates the mobility of cortactin and regulates dendritic spine formation and maintenance. *J. Neurosci.* 32, 1043-1055.
- CHEN Y., DUBE C. M., RICE C. J., BARAM T. Z., 2008. Rapid loss of dendritic spines after stress involves derangement of spine dynamics by corticotropin-releasing hormone. *J. Neurosci.* 28, 2903-2911.
- CONDE C., CACERES A., 2009. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 319-332.
- DEGEER J., BOUDEAU J., SCHMIDT S., BEDFORD F., LAMARCHE-VANE N., DEBANT A., 2013. Tyrosine phosphorylation of the Rho guanine nucleotide exchange factor Trio regulates netrin-1/DCC-mediated cortical axon outgrowth. *Mol. Cell. Biol.* 33, 739-751.
- DIAMANTOPOULOS G. S., PEREZ F., GOODSON H. V., BATELIER G., MELKI R., KREIS T. E., RICKARD J. E., 1999. Dynamic localization of CLIP-170 to microtubule plus ends is coupled to microtubule assembly. *J. Cell Biol.* 144, 99-112.
- EOM T.-Y., STANCO A., GUO J., WILKINS G., DESLAURIERS D., YAN J., MONCKTON C., BLAIR J., OON E., PEREZ A. i współaut., 2014. Differential regulation of microtubule severing by APC underlies distinct patterns of projection neuron and interneuron migration. *Dev. Cell* 31, 677-689.
- FALNIKAR A., TOLE S., BAAS P. W., 2011. Kinesin-5, a mitotic microtubule-associated motor protein, modulates neuronal migration. *Mol. Biol. Cell* 22, 1561-1574.
- FARKAS L. M., HUTTNER W. B., 2008. The cell biology of neural stem and progenitor cells and its significance for their proliferation versus differentiation during mammalian brain development. *Curr. Opin. Cell Biol.* 20, 707-715.
- FARRER M. J., HULIHAN M. M., KACHERGUS J. M., DÄCHSEL J. C., STOESEL A. J., GRANTIER L. L., CALNE S., CALNE D. B., LECHEVALIER B., CHAPON F. i współaut., 2009. DCTN1 mutations in Perry syndrome. *Nat. Genet.* 41, 163-165.
- GALJART N., 2005. CLIPs and CLASPs and cellular dynamics. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 6, 487-498.
- GERALDO S., KHANZADA U. K., PARSONS M., CHILTON J. K., GORDON-WEEKS P. R., 2008. Targeting of the F-actin-binding protein drebrin by the microtubule plus-tip protein EB3 is required for neuritogenesis. *Nat. Cell Biol.* 10, 1181-1189.
- GOUVEIA S. M., AKHMANOVA A., 2010. Cell and molecular biology of microtubule plus end tracking proteins: end binding proteins and their partners. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 285, 1-74.
- GRABHAM P. W., SEALE G. E., BENNECIB M., GOLDBERG D. J., VALLEE R. B., 2007. Cytoplasmic dynein and LIS1 are required for microtubule advance during growth cone remodeling and fast axonal outgrowth. *J. Neurosci.* 27, 5823-5834.
- GU J., FIRESTEIN B. L., ZHENG J. Q., 2008. Microtubules in dendritic spine development. *J. Neurosci.* 28, 12120-12124.
- HATANAKA Y., ZHU Y., TORIGOE M., KITA Y., MURAKAMI F., 2016. From migration to settlement: the pathways, migration modes and dynamics of neurons in the developing brain. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 92, 1-19.
- HIROTSUNE S., FLECK M. W., GAMBELLO M. J., BIX G. J., CHEN A., CLARK G. D., LEDBETTER D. H., MCBAIN C. J., WYNshaw-BORIS A., 1998. Graded reduction of *Pafah1b1* (*Lis1*) activity results in neuronal migration defects and early embryonic lethality. *Nat. Genet.* 19, 333-339.
- HOTULAINEN P., HOOGENRAAD C. C., 2010. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. *J. Cell Biol.* 189, 619-629.
- HSIEH P.-C., CHIANG M.-L., CHANG J.-C., YAN Y.-T., WANG F.-F., CHOU Y.-C., 2012. DDA3 stabilizes microtubules and suppresses neurite formation. *J. Cell Sci.* 125, 3402-3411.
- HU X., VIESSELMANN C., NAM S., MERRIAM E., DENT E. W., 2008. Activity-dependent dynamic microtubule invasion of dendritic spines. *J. Neurosci.* 28, 13094-13105.
- HUR E.-M., SAJJILAFU LEE B. D., KIM S.-J., XU W.-L., ZHOU F.-Q., 2011. GSK3 controls axon growth via CLASP-mediated regulation of growth cone microtubules. *Genes Dev.* 25, 1968-1981.
- JAWORSKI J., HOOGENRAAD C. C., AKHMANOVA A., 2008. Microtubule plus-end tracking proteins in differentiated mammalian cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 40, 619-637.
- JAWORSKI J., KAPTEIN L. C., GOUVEIA S. M., DORTLAND B. R., WULF P. S., GRIGORIEV I., CAMERA P., SPANGLER S. A., DI STEFANO P., DEMMERS J. i współaut., 2009. Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron* 61, 85-100.
- JIMENEZ-MATEOS E. M., PAGLINI G., GONZALEZ-BILLAULT C., CACERES A., AVILA J., 2005. End binding protein-1 (EB1) complements microtubule-associated protein-1B during axonogenesis. *J. Neurosci. Res.* 80, 350-359.
- KA M., KIM W.-Y., 2016. Microtubule-actin crosslinking factor 1 is required for dendritic arborization and axon outgrowth in the developing brain. *Mol. Neurobiol.* 53, 6018-6032.
- KA M., JUNG E.-M., MUELLER U., KIM W.-Y., 2014. MACF1 regulates the migration of pyramidal neurons via microtubule dynamics and GSK-3 signaling. *Dev. Biol.* 395, 4-18.
- KOESTER M. P., MÜLLER O., POLLERBERG G. E., 2007. Adenomatous polyposis coli is differentially distributed in growth cones and modulates their steering. *J. Neurosci.* 27, 12590-12600.
- KONONENKO N. L., CLASSEN G. A., KUIJPERS M., PUCHKOV D., MARITZEN T., TEMPES A., MALIK A. R., SKALECKA A., BERA S., JAWORSKI J. i współaut., 2017. Retrograde transport of TrkB-containing autophagosomes via the adaptor AP-2 mediates neuronal complexity and prevents neurodegeneration. *Nat. Commun.* 8, 14819.
- LANSBERGEN G., AKHMANOVA A., 2006. Microtubule plus end: a hub of cellular activities. *Traffic* 7, 499-507.
- LAZARUS J. E., MOUGHAMIAN A. J., TOKITO M. K., HOLZBAUR E. L. F., 2013. Dynactin subunit p150(Glued) is a neuron-specific anti-catastrophe factor. *PLoS Biol.* 11, e1001611.
- LEE H., ENGEL U., RUSCH J., SCHERRER S., SHEARD K., VAN VACTOR D., 2004. The microtubule plus end tracking protein Orbit/MAST/CLASP acts downstream of the tyrosine kinase Abl in mediating axon guidance. *Neuron* 42, 913-926.
- LETERRIER C., DARGENT B., 2014. No Pasaran! Role of the axon initial segment in the regulation of protein transport and the maintenance of axonal identity. *Semin. Cell Dev. Biol.* 27, 44-51.
- LEVY J. R., SUMNER C. J., CAVISTON J. P., TOKITO M. K., RANGANATHAN S., LIGON L. A., WALLACE K. E., LAMONTE B. H., HARMISON G. G., PULS I. i współaut., 2006. A motor neuron disease-

- associated mutation in p150Glued perturbs dynactin function and induces protein aggregation. *J. Cell Biol.* 172, 733-745.
- LIPKA J., KUIJPERS M., JAWORSKI J., HOOGENRAAD C. C., 2013. Mutations in cytoplasmic dynein and its regulators cause malformations of cortical development and neurodegenerative diseases. *Biochem. Soc. Trans.* 41, 1605-1612.
- LIU Z., STEWARD R., LUO L., 2000. *Drosophila* Lis1 is required for neuroblast proliferation, dendritic elaboration and axonal transport. *Nat. Cell Biol.* 2, 776-783.
- LOWERY L.A., VAN VACTOR D., 2009. The trip of the tip: understanding the growth cone machinery. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10, 332-343.
- LOWERY L. A., STOUT A., FARIS A. E., DING L., BAIRD M. A., DAVIDSON M. W., DANUSER G., VAN VACTOR D., 2013. Growth cone-specific functions of XMAP215 in restricting microtubule dynamics and promoting axonal outgrowth. *Neural Develop.* 8, 22.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ M. J., ALCÁNTARA S., MASCARÓ C., PÉREZ-BRANGULÍ F., RUIZ-LOZANO P., MAES T., SORIANO E., BUESA C., 2005. Mouse neuron navigator 1, a novel microtubule-associated protein involved in neuronal migration. *Mol. Cell. Neurosci.* 28, 599-612.
- MARX A., GODINEZ W. J., TSIMASHCHUK V., BANCHEAD P., ROHR K., ENGEL U., 2013. Xenopus cytoplasmic linker-associated protein 1 (XCLASP1) promotes axon elongation and advance of pioneer microtubules. *Mol. Biol. Cell* 24, 1544-1558.
- MERRIAM E. B., MILLETTE M., LUMBARD D. C., SENGSAWANG W., FOTHERGILL T., HU X., FERHAT L., DENT E. W., 2013. Synaptic regulation of microtubule dynamics in dendritic spines by calcium, F-actin, and drebrin. *J. Neurosci.* 33, 16471-16482.
- MOUGHAMIAN A. J., HOLZBAUR E. L. F., 2012. Dynactin is required for transport initiation from the distal axon. *Neuron* 74, 331-343.
- MULEY P. D., MCNEILL E. M., MARZINKE M. A., KNOBEL K. M., BARR M. M., CLAGETT-DAME M., 2008. The atRA-responsive gene neuron navigator 2 functions in neurite outgrowth and axonal elongation. *Dev. Neurobiol.* 68, 1441-1453.
- MYERS K. A., BAAS P. W., 2007. Kinesin-5 regulates the growth of the axon by acting as a brake on its microtubule array. *J. Cell Biol.* 178, 1081-1091.
- NADAR V. C., KETSCHKE A., MYERS K. A., GALLO G., BAAS P. W., 2008. Kinesin-5 is essential for growth-cone turning. *Curr. Biol.* 18, 1972-1977.
- NAGANO T., YONEDA T., HATANAKA Y., KUBOTA C., MURAKAMI F., SATO M., 2002. Filamin A-interacting protein (FILIP) regulates cortical cell migration out of the ventricular zone. *Nat. Cell Biol.* 4, 495-501.
- NEUKIRCHEN D., BRADKE F., 2011. Cytoplasmic linker proteins regulate neuronal polarization through microtubule and growth cone dynamics. *J. Neurosci.* 31, 1528-1538.
- NWAGBARA B. U., FARIS A. E., BEARCE E. A., ERDOGAN B., EBBERT P. T., EVANS M. F., RUTHERFORD E. L., ENZENBACHER T. B., LOWERY L. A., 2014. TACC3 is a microtubule plus end-tracking protein that promotes axon elongation and also regulates microtubule plus end dynamics in multiple embryonic cell types. *Mol. Biol. Cell* 25, 3350-3362.
- PENG Y.-J., HE W.-Q., TANG J., TAO T., CHEN C., GAO Y.-Q., ZHANG W.-C., HE X.-Y., DAI Y.-Y., ZHU N.-C. i współaut., 2010. Trio is a key guanine nucleotide exchange factor coordinating regulation of the migration and morphogenesis of granule cells in the developing cerebellum. *J. Biol. Chem.* 285, 24834-24844.
- PEREZ F., DIAMANTOPOULOS G. S., STALDER R., KREIS T. E., 1999. CLIP-170 highlights growing microtubule ends in vivo. *Cell* 96, 517-527.
- PFISTER A. S., TANNEBERGER K., SCHAMBONY A., BEHRENS J., 2012. Amer2 protein is a novel negative regulator of Wnt/ β -catenin signaling involved in neuroectodermal patterning. *J. Biol. Chem.* 287, 1734-1741.
- PURRO S. A., CIANI L., HOYOS-FLIGHT M., STAMATAKOU E., SIOMOU E., SALINAS P. C., 2008. Wnt regulates axon behavior through changes in microtubule growth directionality: a new role for adenomatous polyposis coli. *J. Neurosci.* 28, 8644-8654.
- ROSENBERG M. M., YANG F., MOHN J. L., STORER E. K., JACOB M. H., 2010. The postsynaptic adenomatous polyposis coli (APC) multiprotein complex is required for localizing neuroligin and neuroligin to neuronal nicotinic synapses in vivo. *J. Neurosci.* 30, 11073-11085.
- SAYAS C. L., ÁVILA J., 2014. Crosstalk between axonal classical microtubule-associated proteins and end binding proteins during axon extension: possible implications in neurodegeneration. *J. Alzheimers Dis.* 40 (Suppl. 1), S17-22.
- SHI S.-H., CHENG T., JAN L.Y., JAN Y.-N., 2004. APC and GSK-3 β are involved in mPar3 targeting to the nascent axon and establishment of neuronal polarity. *Curr. Biol.* 14, 2025-2032.
- SHIH P.-Y., LEE S.-P., CHEN Y.-K., HSUEH Y.-P., 2014. Cortactin-binding protein 2 increases microtubule stability and regulates dendritic arborization. *J. Cell Sci.* 127, 3521-3534.
- SHIM S., ZHENG J. Q., MING G.-L., 2013. A critical role for STIM1 in filopodial calcium entry and axon guidance. *Mol. Brain* 6, 51.
- SUDAROV A., GOODEN F., TSENG D., GAN W.-B., ROSS M. E., 2013. Lis1 controls dynamics of neuronal filopodia and spines to impact synaptogenesis and social behaviour. *EMBO Mol. Med.* 5, 591-607.
- SWEET E. S., PREVITERA M. L., FERNÁNDEZ J. R., CHARYCH E. I., TSENG C.-Y., KWON M., STAROVYTOV V., ZHENG J. Q., FIRESTEIN B. L., 2011. PSD-95 alters microtubule dynamics via an association with EB3. *J. Neurosci.* 31, 1038-1047.
- SWIECH L., BLAZEJCZYK M., URBANSKA M., PIETRUSZKA P., DORTLAND B. R., MALIK A. R., WULF P. S., HOOGENRAAD C. C., JAWORSKI J., 2011. CLIP-170 and IQGAP1 Cooperatively Regulate Dendrite Morphology. *J. Neurosci.* 31, 4555-4568.
- TADA T., SHENG M., 2006. Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16, 95-101.
- TSAI J. W., CHEN Y., KRIEGSTEIN A. R., VALLEE R. B., 2005. LIS1 RNA interference blocks neural stem cell division, morphogenesis, and motility at multiple stages. *J. Cell Biol.* 170, 935-945.
- URBANSKA M., BLAZEJCZYK M., JAWORSKI J., 2008. Molecular basis of dendritic arborization. *Acta Neurobiol. Exp.* 68, 264-288.
- VAN DE WILLIGE D., HOOGENRAAD C. C., AKHMANOVA A., 2016. Microtubule plus-end tracking proteins in neuronal development. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 2053-2077.
- VAN DER VAART B., FRANKER M. A. M., KUIJPERS M., HUA S., BOUCHET B. P., JIANG K., GRI-

- GORIEV I., HOOGENRAAD C. C., AKHMANOVA A., 2012. *Microtubule plus-end tracking proteins SLAIN1/2 and ch-TOG promote axonal development*. J. Neurosci. 32, 14722-14728.
- WEINER A. T., LANZ M. C., GOETSCHUS D. J., HANCOCK W. O., ROLLS M. M., 2016. *Kinesin-2 and Apc function at dendrite branch points to resolve microtubule collisions*. Cytoskeleton 73, 35-44.
- WU Q., LIU J., FANG A., LI R., BAI Y., KRIEGSTEIN A. R., WANG X., 2014. *The dynamics of neuronal migration*. Adv. Exp. Med. Biol. 800, 25-36.
- WU X.-S., LEE S. H., SHENG J., ZHANG Z., ZHAO W.-D., WANG D., JIN Y., CHARNAY P., ERVASTI J. M., WU L.-G., 2016. *Actin is crucial for all kinetically distinguishable forms of endocytosis at synapses*. Neuron 92, 1020-1035.
- XIE Z., MOY L. Y., SANADA K., ZHOU Y., BUCHMAN J. J., TSAI L.-H., 2007. *Cep120 and TACCs control interkinetic nuclear migration and the neural progenitor pool*. Neuron 56, 79-93.
- YANG Y.-T., WANG C.-L., VAN AELST L., 2012. *DOCK7 interacts with TACC3 to regulate interkinetic nuclear migration and cortical neurogenesis*. Nat. Neurosci. 15, 1201-1210.
- YOON S. Y., CHOI J. E., HUH J.-W., HWANG O., LEE H. S., HONG H. N., KIM D., 2005. *Monastrol, a selective inhibitor of the mitotic kinesin Eg5, induces a distinctive growth profile of dendrites and axons in primary cortical neuron cultures*. Cell Motil. Cytoskeleton 60, 181-190.

KOSMOS Vol. 67, 1, 139-149, 2018

JACEK JAWORSKI

International Institute of Molecular and Cell Biology in Warsaw, 4 Trojden Str., 02-109, Warsaw, E-mail: jaworski@iimcb.gov.pl

+TIP FAMILY PROTEINS – MICROTUBULE TRACKING “AGENTS” IN THE DEVELOPMENT AND PLASTICITY OF NEURONS

Summary

The role of microtubules, one of the three components of cytoskeleton, is to ensure proper intracellular transport, maintain cell shape and generate mechanical forces. In order to fulfill by microtubules their cellular functions, a large number of binding proteins responsible for their polymerization, stabilization or dynamics are needed. These include *inter alia* plus-end tracking proteins (+TIPs). Over the past 10 years, a great progress has been made in terms of understanding both, the fundamental aspects of these molecules at molecular level and their contribution to the development and plasticity of nerve cells. The purpose of this article is to provide the readers the basic information about the +TIP proteins and the role they play in neurons in the formation of axon, dendrites and synaptic plasticity.

Key words: microtubules, microtubule plus-end tracking proteins tracking, the nervous system, neuronal development, neuronal plasticity.